

DOI: 10.13376/j.cblls/2015023

文章编号: 1004-0374(2015)02-0161-07

HSCs辐射损伤机制研究进展

路璐, 孟爱民*

(北京协和医学院中国医学科学院放射医学研究所天津市放射医学与分子核医学重点实验室, 天津 300192)

摘要: HSCs (hematopoietic stem cells, HSCs) 具有自我更新和定向分化能力。电离辐射通过诱导 HSCs 细胞死亡使 HSCs 数量减少、诱导 HSCs 衰老引起 HSCs 自我更新能力的改变, 以及诱导 HSCs 分化异常进而损伤 HSCs, 深入研究 HSCs 辐射损伤机制将为骨髓辐射损伤研究提供新思路。

关键词: HSCs; 辐射损伤; 电离辐射

中图分类号: R329.24; R331.22; R818 **文献标志码:** A

Hematopoietic stem cells injury induced by ionizing radiation: a review of recent progress

LU Lu, MENG Ai-Min*

(Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

Abstract: Hematopoietic stem cells (HSCs) has the potentiality to renew themselves and to differentiate into different lineages of blood cells. Exposure to ionizing radiation (IR) causes HSCs damage, the mechanisms include: induction of HSCs death that leading to the reduction in HSCs reserves, induction of HSCs senescence which impairs HSCs self-renewal capacity, and promotion of HSCs differentiation that changes the balance of hematopoietic lineages. Mechanisms whereby IR damages HSCs will provide new opportunities for developing new strategies to mitigate IR-induced bone marrow(BM) suppression.

Key words: hematopoietic stem cells; radiation injury; ionizing radiation

核事故或恐怖袭击引起的辐射暴露对生命造成严重危害。辐射暴露后导致死亡的首要原因是造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 损伤。保护 HSCs 免受辐射损伤是辐射损伤救治中迫切需要解决的问题。现就 HSCs 在凋亡、分化和衰老等方面的辐射损伤机制研究进展做一综述 (图 1)。

1 HSCs

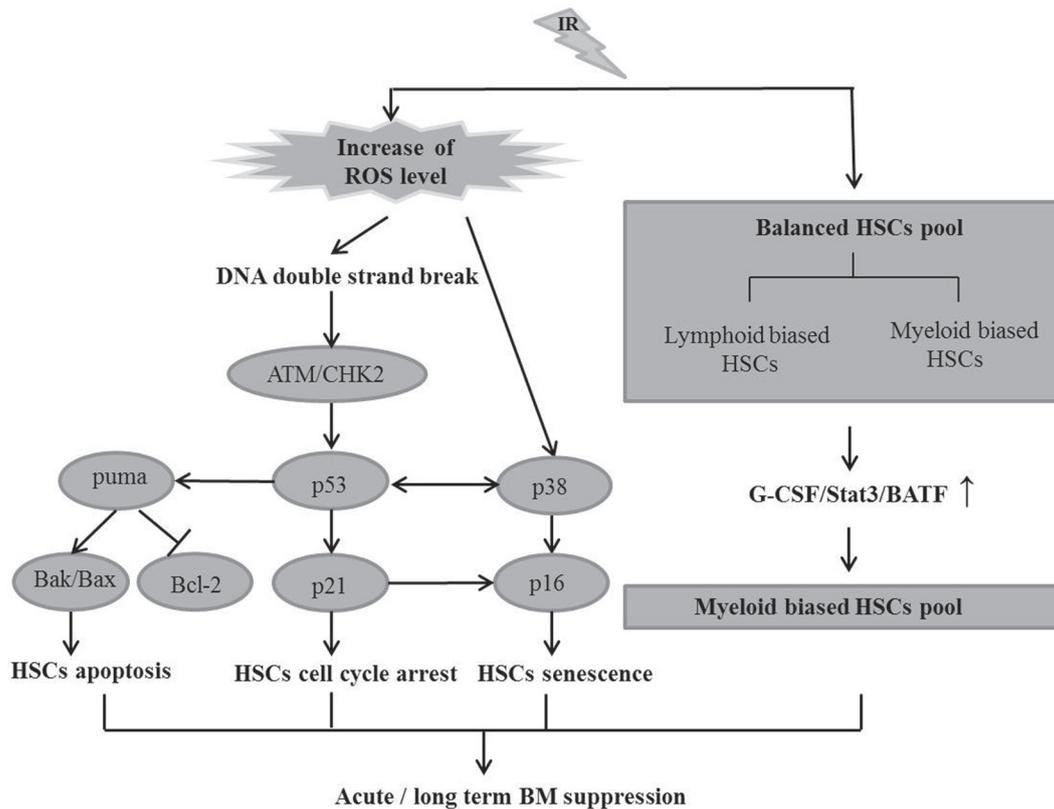
HSCs 是存在于造血组织中一群特殊细胞, 绝大部分存在于骨髓组织, 少部分存在于外周血循环中。HSCs 具有自我更新以及分化生成造血系统中各类成熟血细胞的原始祖细胞的能力。小鼠 HSCs 不表达系特异性抗原 Lin, 即 B 细胞分化抗原 B220、粒细胞分化抗原 Gr-1、单核细胞分化抗原 Mac-1、T 细胞分化抗原 CD4 和 CD8 等, 而高

水平表达干细胞抗原 1 (stem-cell antigen 1, Sca1) 和干细胞生长因子受体 / 细胞表面分化抗原抗体 (c-Kit), 简称 LSK ($Lin^{-}Sca1^{+}c-Kit^{+}$)^[1]。根据 HSCs 自我更新能力的差异, 可将其分成 3 个不同亚群: 长期 HSCs (long term hematopoietic stem cells, LT-HSCs)、短期 HSCs (short term hematopoietic stem cells, ST-HSCs) 和多能祖细胞 (multipotent progenitor cells, MPPs)。LT-HSCs 的自我更新能力可以保持在整个生命过程

收稿日期: 2014-08-27; 修回日期: 2014-10-21

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973”项目) (2011CB964800-G); 国家自然科学基金项目 (81372928, 81072237); 协和青年基金和中央高校基本科研业务费专项资金(3332013044)

*通信作者: E-mail: aiminmeng@irm-cams.ac.cn; Tel: 022-85682353



此图是参考HSCs辐射损伤相关研究报道进行归纳总结。电离辐射通过p53-puma途径诱导HSCs凋亡；通过ROS-p38途径诱导HSC衰老；通过激活G-CSF/Stat3/BATF依赖分化检查点，促进HSCs分化

图1 HSCs辐射损伤机制

中，能够使受到致死剂量照射的小鼠终身重建造血，它通过不对称分裂的方式实现自我更新或分化成ST-HSCs，但是数量很少，一般为 $1/10^5 \sim 1/10^4$ 骨髓有核细胞；而ST-HSCs能使受到亚致死剂量照射的小鼠重建造血，但只能维持约两个月的时间，进而产生无自我更新能力的MPPs^[2]。通过流式分选技术，目前根据小鼠HSCs的表面标记主要有3种不同分选方法可将LT-HSCs、ST-HSCs和MPP分离，常见的是基于LKS (Lin⁻c-kit⁺Sca-1⁺)的Flk2/CD34 (LT-HSCs: Flk2⁻CD34⁻LSK cells; ST-HSCs: Flk2⁻CD34⁺LSK cells; MPP: Flk2⁺CD34⁺LSK cells) 或CD150/CD48 (HSCs: CD150⁺CD48⁻LSK cells; MPPs: CD150⁺CD48⁺LSK cells)，以及旁群细胞 (side population, SP) 方法。

稳态条件下HSCs是静止的，作为储备防止各种应激条件下造血系统耗竭。HSCs具有有限的增殖能力，但不具有自我更新能力，HSCs的增殖和分化可以满足正常的造血功能需求，同时也使造血系统在失血、溶血和感染等造血应激状态下迅速和

有效地反应，以满足产生成熟细胞的需求。如果电离辐射或化疗等外源性应激使HSCs耗尽，就会发生急性骨髓抑制。在这种情况下，HSCs可以进行自我更新、增殖和分化补充HSCs，并且恢复动态平衡。当HSCs损伤或其自我更新能力受损时，造血系统会产生长期或永久性损伤和骨髓衰竭，并有可能导致死亡^[3]。

2 HSCs辐射损伤机制

大剂量电离辐射照射后，机体会产生一系列复杂的损伤效应，称为急性辐射综合征 (acute radiation syndrome, ARS)，症状可持续长达数月。照射剂量较小或造血组织仅部分受照射时，造血损伤可以在机体统一调控下被体内正常的造血组织修复。受到致死剂量的辐射照射后，会出现骨髓或造血综合征。造血组织在机体内承担着重要的生理功能，一旦其功能低下或缺失，将产生严重后果，甚至导致机体死亡。

暴露于中或高剂量电离辐射，引起HSCs损伤

导致 HSCs 数量减少和自我更新能力下降,进而导致骨髓远期损伤即持久性抑制^[4]。与急性骨髓损伤不同,骨髓远期损伤是潜在性的。骨髓持久性抑制是辐射远期损伤的主要表现,尽管骨髓远期损伤的患者和动物 HSCs 储量减少,但造血稳态和血细胞计数通常已恢复正常^[4]。由于迟发、起病隐匿,骨髓持久性抑制在临床上常被忽视,特别是在使用造血生长因子治疗骨髓损伤时,由于外周血细胞计数、骨髓细胞结构和细胞集落形成单位的数量均已基本恢复,骨髓持久性抑制的重要性进一步被忽视。事实上,使用造血生长因子可能加重放疗和化疗引起的骨髓远期损伤,主要是由于造血生长因子在促进 HSCs 和 HPCs 的增殖和分化的同时消灭了 HSCs 的自我更新能力^[5],这可能会导致 HSCs 的加速耗竭,并进一步危及骨髓造血机能的长期恢复。

2.1 电离辐射对HSCs凋亡的影响

细胞凋亡是指为维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序死亡。细胞凋亡与细胞增殖和分化共同调节造血分化,维持造血稳态。

造血细胞凋亡异常会导致多种病变。电离辐射通过诱导细胞凋亡损伤 HSCs。*bcl-2* 基因是一种原癌基因,它具有抑制凋亡的作用。Domen 等^[6]研究发现,过表达抗凋亡蛋白 *bcl-2* 可以通过保护小鼠造血系统抵抗电离辐射引起的造血功能衰竭和个体死亡。从 *bcl-2* 转基因小鼠中分离的 HSCs 对电离辐射引起的损伤更耐受。这提示减少电离辐射诱导的细胞凋亡可以降低电离辐射对 HSCs 的损伤。

p53 能够诱导细胞凋亡。Lee 和 Bernstern 等^[7]研究证明,从 p53 基因敲除小鼠中分离得到的 HSCs 与野生型小鼠 HSCs 比较,辐射敏感性降低;通过使用 p53 抑制剂抑制 p53 依赖的细胞凋亡可以保护电离辐射诱导的小鼠免于致死性损伤。

Annexin V 作为一种磷脂结合蛋白,与磷脂酰丝氨酸有高度亲和力,它通过细胞外侧暴露的磷脂酰丝氨酸与凋亡早期细胞的胞膜结合。因此,Annexin V 是检测细胞早期凋亡的灵敏指标。Annexin V/7-AAD 是用来检测细胞凋亡的常用方法。使用流式细胞术分析 Annexin V/7-AAD 染色 LSK 细胞群,证明了电离辐射主要通过细胞凋亡而不是坏死诱导 LSK 细胞死亡^[5]。

p53 正向细胞凋亡调控因子 (p53 up-regulated modulator of apoptosis protein, PUMA) 是 p53 诱导凋亡作用的靶蛋白。2010 年,Shao 等^[8]和 Yu 等^[9]报道, p53 和促凋亡蛋白 BH3-only 的下游靶标 PUMA

在电离辐射诱导的 HSCs 凋亡和 ARS 中起着关键作用。他们发现,电离辐射选择性调节 LSK 细胞中 PUMA, PUMA 基因敲除小鼠的 LSK 细胞对电离辐射诱导的细胞凋亡不敏感。因此, PUMA 缺陷小鼠 HSCs 可以以细胞自治方式抵抗高剂量辐射。研究证明, PUMA 可以阻断凋亡通路中 Bax 和 Bak 蛋白之间的相互作用,进而损坏线粒体完整性并导致线粒体释放的 caspase 活化因子 (如细胞色素 c 和 APAF-1) 中断。PUMA 基因敲除小鼠具有很强的辐射抗性^[8]。caspase 级联作为 PUMA 下游,也可以在电离辐射诱导 HSCs 凋亡中发挥重要作用,研究者使用 caspase 抑制剂 Z-VAD 抑制 caspase 活性,阻断电离辐射诱导的 LSK 细胞凋亡, Z-VAD 处理也可以缓解电离辐射诱导的 LSK 细胞数量的减少,并且减少电离辐射诱导的第 28 天和 35 天鹅卵石区细胞形成数量,鹅卵石区细胞形成数量与原始 HSCs 长期再植能力相关^[5]。总之,这些发现提示,促进 HSCs 凋亡不是电离辐射诱导 HSCs 消耗的主要原因之一。

2.2 电离辐射对HSCs分化的影响

HSCs 具有自我更新和分化生成全血细胞的功能。这两个功能都必须严格调控:因为抑制 HSCs 分化可以增强 HSCs 的自我更新,可能会导致 HSCs 异常扩增和白血病;促进 HSCs 分化可降低 HSCs 的自我更新,同时会导致 HSCs 过早耗竭和骨髓抑制^[10]。

Wang 等^[11]发现,端粒功能障碍引起 HSCs DNA 损伤,辐射暴露后 HSCs 向淋系分化增强,耗尽 HSC。淋系分化增强是由于 HSCs 中粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)/Stat3/BATF 依赖分化检查点的活化。G-CSF 基因敲除, Stat3 敲降,或者 BATF 缺失可以改善 HSCs 响应电离辐射或端粒缩短时的自我更新能力。进一步研究发现,电离辐射激活 G-CSF/Stat3/BATF 依赖分化检查点后,淋巴偏向的 HSCs 较髓系偏向的 HSCs 敏感,导致辐射小鼠骨髓髓系分化偏移。这些结果表明,通过 G-CSF/Stat3/BATF 途径诱导 HSCs 分化不仅在调节辐射诱导 HSCs 损伤中起重要作用,而且是电离辐射诱导髓系分化偏移的致病因素。虽然针对 G-CSF/Stat3/BATF 通路可以通过抑制电离辐射诱导 HSCs 分化缓解 HSCs 辐射损伤,但同时也会造成 HSCs DNA 损伤的积累^[11],这可能会增加电离辐射后白血病发生的风险。因此,这条通路的抑制剂可能具有有限的辐射防护效用。

DNA 损伤应答 (DNA damage response, DDR) 在调节干细胞分化中发挥重要的作用。Desai 等^[12] 研究证明, Exo1 介导的同源重组修复 (HR) 在静态 HSCs 中对干细胞发挥功能是有可无的, 而它是 HSCs 响应 DNA 损伤应答后进入细胞周期必不可少的, 并且它的缺失不能由非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 补偿。

共济失调毛细血管扩张症突变 (ataxia telangiectasia-mutated gene, ATM) 激酶在维持基因组稳定性中起重要作用。ATM 缺陷 (ATM^{-/-}) 小鼠表现出 HSCs (HSC) 功能障碍, 恶性淋巴瘤高发。Gadd45a 蛋白控制细胞周期阻滞、细胞凋亡和 DNA 修复, 并参与了 ATM 相关的 p53 介导的 DNA 损伤反应。Chen 等^[13] 研究证明, Gadd45a 基因缺陷不能改善 ATM^{-/-} 小鼠 T 细胞和 B 细胞的发育缺陷。相反, HSCs 移植实验研究表明, ATM 和 Gadd45a 双基因敲除 (ATM^{-/-}Gadd45a^{-/-}) 小鼠 HSCs 的自我更新能力较 ATM^{-/-} 小鼠严重。进一步的实验研究表明, ATM^{-/-}Gadd45a^{-/-} 小鼠 HSCs 损伤严重是由于细胞增殖的减少, 与 DNA 损伤积累相关, 其激活的 DNA 损伤反应包括上调 p53-p21 信号通路。总之, ATM^{-/-} 小鼠 Gadd45a 蛋白缺失会加重其 HSCs DNA 损伤的积累, 并进一步损伤其自我更新能力。

2.3 电离辐射对HSC衰老的影响

2.3.1 细胞衰老

细胞衰老有复制性衰老 (replicative senescence) 和早熟性衰老 (premature senescence) 两种类型。复制性衰老是指细胞不断分裂到一定期限后出现的衰老, 主要与细胞 DNA 复制、分裂引起的端粒缩短和端粒酶活性的表达有关。早熟性衰老或早衰是由于受到各种应激或相关信号通路的异常活化出现的细胞衰老。早衰是细胞固有复制寿命缩短而与端粒无关。

细胞发生早衰与复制衰老在表现上没有区别, 均表现出细胞停止分裂并不可逆地停留在 G1 期, 细胞大而扁平, 衰老相关 β -半乳糖苷酶 (senescence-associated β -galactosidase, SA- β -gal) 活性增加, p16 表达升高^[14]。

2.3.2 HSCs衰老

HSCs 中端粒酶活性的表达是中等水平的^[15]。HSCs 正常功能的维持需要端粒酶活性, 如在端粒酶 RNA 组分 TERC 缺失小鼠后代中, 端粒酶活性的缺乏可导致端粒缩短和 HSCs 移植能力下降^[15]。此外, 由于端粒酶逆转录酶 TERT 或 TERC 的突变,

在端粒酶不足患者中观察到再生障碍性贫血或骨髓衰竭^[16]。虽然 TERT 在 HSCs 过表达可以维持 HSCs 端粒的长度, 但在骨髓移植中不能延长 HSCs 的寿命。

在 Bmi1^{-/-} 小鼠中观察到 HSCs 衰老。缺乏 Bmi1 基因的小鼠出现进行性骨髓发育不全, 并在出生后不到 2 个月就死亡^[17]。虽然 Bmi1^{-/-} 小鼠有正常的胎肝 HSCs, 移植胎肝 HSCs 至接受致死剂量照射受体后, 受体的造血系统仅出现瞬态重建^[17], 这表明该突变胎肝 HSCs 具有增殖和分化为多潜能 HPCs 的能力, 并能瞬态重构骨髓, 但不具有自我更新和产生 HSCs 的能力, 不能确保造血细胞的长期植入。缺乏 Bmi1 的神经和白血病干细胞不能自我更新, 提示 Bmi1 是干细胞自我更新的调节子^[17]。Bmi1 是多梳基因家族 (polycomb) 的一员, 其下游靶标包括 p16 和 Arf。从 Bmi1^{-/-} 小鼠中分离的 HSCs 高表达 p16 和 Arf^[17]。p16 和 Arf 在 HSCs 中高表达诱导细胞周期阻滞和凋亡, 而 p16 基因敲除能够部分恢复 Bmi1^{-/-} 小鼠干细胞的自我更新能力。

研究证明, HSCs 辐射暴露或化疗后出现细胞衰老。在这些研究中, 我们发现, 暴露于电离辐射或 busulfan 处理诱导体外和体内 HSCs 衰老^[5]。电离辐射和 busulfan 诱导 HSCs 衰老后, 克隆形成能力降低、SA- β -gal 表达升高、p16 和 Arf 高表达。进一步研究表明, 辐射暴露后, HSCs 自我复制能力降低或自我更新能力丧失不会影响 HSCs 耗竭前分化为 MPPs 和成熟子代的能力。此外, 从辐射暴露小鼠中分离的 HPCs 无异常表现且不出现出衰老的迹象。这些结果表明, 电离辐射选择性诱导 HSCs 衰老。

在衰老的过程中, 干细胞的功能会逐渐减退。像其他的长寿命干细胞一样, 随着衰老 HSCs 往往会累积 DNA 损伤。这样的损伤会降低 HSCs 再生血细胞谱系的能力, 提高白血病等疾病的风险。Flach 等^[18] 通过比较年轻和老龄小鼠骨髓的 HSCs 证明, 相比年轻 HSCs, 老化的 HSCs 显示功能衰退并表达 DNA 损伤信号 γ H2AX。进一步比较年轻和老化 HSCs 的基因表达谱, 发现与年轻 HSCs 相比, 老化 HSCs 中编码 MCM4 和 MCM6 的基因表达减少。MCM4 和 MCM6 是正确复制必需的一种 MCM 蛋白复合物的两个组成元件。低水平的 MCM4 和 MCM6 与复制压力会引起 HSCs 功能衰退, 但辐射损伤是否通过此方式引起 HSCs 衰老还有待进一步研究。

2.3.3 ROS

2.3.3.1 ROS对HSC衰老的影响

需氧细胞在代谢过程中产生一系列活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)。电离辐射诱导 HSCs 活性氧产量增加, ROS 升高导致造血系统应激能力下降而出现 HSC 衰老^[19]。HSCs 内调控 ROS 生成的信号分子包括负调控信号分子 ATM^[20]、FoxO^[21]、Bmi1^[22] 等和正调控信号分子 mTOR^[23]、AKT^[24] 等。

其他一些病理条件下也观察到与 HSCs 缺陷关联的 ROS 生成增多, 如 MDM2 (murine double minute2) 缺失, 以及老龄化。Wang 等^[25] 研究发现, 小鼠暴露于亚致死剂量辐射后诱导 HSCs 内 ROS 的产生持续增加, 慢性氧化应激与 HSCs DNA 氧化损伤、HSCs 的克隆形成功能抑制和诱导 HSC 衰老相关; 电离辐射后使用 NAC 治疗经照射的小鼠可以显著降低电离辐射诱导的 HSCs 克隆形成功能抑制并增强移植后 HSC 的长期增殖能力。这些发现为证明电离辐射导致长期骨髓抑制和 HSCs 衰老, 至少部分通过诱导 HSCs 的氧化应激提供了最重要的直接证据。另外, 这提示抗氧化剂如 NAC 可作为减轻电离辐射诱导的残余骨髓损伤的治疗药物。

2.3.3.2 HSC中ROS的来源

ROS 是线粒体呼吸中产生的一个副产物, 通常认为线粒体是细胞产生活性氧的主要来源。研究表明, HSCs 主要利用糖酵解而非线粒体氧化磷酸化生产 ATP^[26]。一些研究证明, 线粒体促进病理条件下 HSCs 内 ROS 的产生增加。从 Bmi1^{-/-} 小鼠中分离出的细胞包括 HSCs 中, 由于线粒体功能异常, 活性氧的生成增多^[22]。

2007 年, Lambeth^[27] 研究证明, 细胞是通过 NADPH 氧化酶 (NOXs) 产生 ROS, NOXs 是噬菌细菌氧化酶 PHOX 或 NOX2 的同系物。通过 NOXs 产生的 ROS 参与许多细胞功能的调节, 并且与多种疾病的发病机制相关。5 个不同 NOXs 在不同的组织或细胞中表达, 均具有独特的功能、组织或细胞特异性方式调控机制^[27]。在人类 HSCs 中, 已检测到 NOX1、NOX2、NOX4 和 NOXs 的各种调节亚基的表达^[26]。我们最近的研究表明, NOX1、NOX2、NOX4 在小鼠 LSK 细胞中表达, 而在 HPCs、Lin⁻ 细胞和骨髓单核细胞中仅表达 NOX1、NOX2, 不表达 NOX4, 这提示 NOX4 的表达下调 HSCs 分化, NOX4 在 HSC 功能调节中起着重要的作用^[28]。进一步研究发现, 电离辐射后 HSCs 的 NOX4 表达上调, 而 NOX1、NOX2 表达没有变化。电离辐射

上调 HSCs 中 NOX4 表达提示, NOX4 可能主要介导电离辐射 - 诱导增加 HSCs 中 ROS 产生, 锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 和过氧化氢酶在 HSCs 中的异位表达可以缓和 HSCs 的辐射损伤^[28]。

2.3.4 p38 MAPK通路与HSC

ROS 累积导致 HSCs 损伤, 部分是由于 p38MAPK 通路被激活^[29]。p38MAPK 是丝裂原活化激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 家族的一员, 它可被应激因素激活, 细胞外信号与受体特异性结合后, 通过磷酸化 PAK 和 MLK, 促进 MKK3/6 基因表达, 进而诱导 p38 基因转录^[30]。另外, 氧化应激也可以通过激活细胞凋亡信号调节激酶 1 (ASK1)^[31] 或失活蛋白酪氨酸磷酸酶 (PTPs), 如 MAPK 磷酸酶来激活 p38。通常情况下, ASK1 在细胞中与抑制蛋白硫氧还蛋白形成无活性复合物。这种复合物的形成依赖于还原形式存在的硫氧还蛋白中两个半胱氨酸残基之间的二硫键。ROS 介导的硫氧还蛋白氧化使 ASK1 从硫氧还蛋白解离, 从而通过寡聚化导致 ASK1 的活化, 与肿瘤坏死因子受体相关因子 2/6 的相互作用和苏氨酸的自磷酸化^[32]。研究证明, 从 NOX4 产生的 ROS 可以通过活化 ASK1 激活 p38^[33], 通过 ROS 引起的 PTPs 活化催化半胱氨酸的氧化能可逆地灭活 PTPs, 反过来又可以增加 p38 的活性。ROS 是否通过这样的机制激活 HSCs 内 p38 信号还需要进一步研究。

p38 在调节 HSC 自我更新中起着重要作用, 通过氧化应激激活 p38 能通过上调 p16 诱导 HSC 衰老^[32]。HSCs 早衰/耗竭与持续升高的 ROS 选择性地激活 p38 和上调 p16 基因相关。我们研究发现, 在辐射暴露造血细胞中, 利用骨髓长期培养法观察到 p38 信号被选择性地活化并且在电离辐射后至少持续激活 5 周^[34-35]。使用 p38 抑制剂 SB203580 减少电离辐射诱导骨髓造血细胞功能抑制, p16 表达降低, SA- β -gal 活性降低。体内研究数据显示, 抑制 p38 可以削减电离辐射引起的残余骨髓抑制。这些结果表明, p38 的活化在介导电离辐射诱导的造血细胞衰老和骨髓抑制中发挥着重要作用, p38 途径特定的抑制剂可以用于改善电离辐射诱导的残余骨髓损伤^[34-35]。

近期的研究报道, p38 调控 GATA-3 影响 HSC 自我更新和分化的调节。GATA-3 全称 GATA 结合转录因子 3, 是 GATA 锌指转录因子家族成员。在稳态骨髓中处于长期休眠的干细胞, GATA-3 存在于其细胞质中。当 HSC 循环时, GATA-3 又迁移到

细胞核, 迁移过程取决于 p38 信号通路。该基因转入辐射损伤小鼠后, 减弱了其长期重建能力。去除 GATA-3 能够提高 LT-HSC 的增殖能力, 促进自我更新, 且不影响细胞周期^[36]。

2.3.5 Ink4a和Arf与HSC衰老

细胞衰老发生主要由两条信号通路介导: 一是 p53-p21 通路, 由 DNA 损伤或端粒缩短激发; 另一是 p16-Rb 通路, 主要由 p38 MAPK 级联反应激活。任一通路激活均可诱导衰老, 这两条通路可以通过形成复合物而相互联系^[30]。

Ink4a-Arf 基因编码两种肿瘤抑制蛋白 p16 和 Arf。p16 和 Arf 的上调介导多种细胞的衰老, 包括 HSCs。研究显示, 同时敲除 *p16* 和 *Arf* 基因的小鼠 HSCs 的体外克隆形成能力显著增加, 且促进体内 HSC 自我更新^[37]。然而, 仅敲除 *Arf* 基因对 HSCs/HPCs 扩增和自我更新影响不大^[37]。与此相反, 敲除 *p16* 基因通过促进 HSCs 的自我更新增加了 HSCs 的寿命。此外, *ATM* 基因突变也会导致 HSCs 中 p16 和 Arf 表达上调。通过 HPV E7 蛋白的逆转录病毒转染失活 p16-Rb 通路, 可以恢复 *ATM*^{-/-} HSCs 增殖功能, 而用 E6 转染抑制 Arf-p53 通路就没有这样的效果^[37]。这些结果表明, 在调节 HSCs 自我更新和诱导 HSC 衰老中, p16 的作用比 Arf 更显著, 尽管这两种蛋白质在衰老 HSCs 中均过度表达。然而, 它们在调节电离辐射诱导 HSCs 衰老和长期骨髓抑制中的作用却不明显^[3]。

3 结语与展望

总之, HSCs 辐射损伤机制已经进行了广泛研究, 电离辐射可以通过 p53-puma 途径诱导 HSC 凋亡, 通过激活 G-CSF/Stat3/BATF 依赖分化检查点, 促进 HSCs 分化以及通过 ROS-p38 途径诱导 HSC 衰老, 但仍然还有一些问题尚需探讨: 同时抑制多条信号通路是否可以更好地减缓 HSCs 辐射损伤; 辐射损伤 HSCs 中 ROS 的具体调节机制如何; p16-Arf 在调节 HSCs 衰老和长期骨髓抑制中是否发挥重要作用。通过对电离辐射引起的 HSCs 损伤机制的深入研究, 不仅能够为预防和治疗电离辐射导致的 HSCs 损伤的相关系统疾病提供重要的思路和靶点, 而且还可以针对相应的机制研制出造血系统辐射损伤的靶向防护药物。

[参 考 文 献]

- [1] Kondo M, Wagers AJ, Manz MG, et al. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application. *Annu Rev Immunol*, 2003, 21: 759-806
- [2] Wilson A, Laurenti E, Oser G, et al. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell*, 2008, 135(6): 1118-29
- [3] Shao L, Feng W, Li H, et al. Total body irradiation causes long-term mouse BM injury via induction of HSC premature senescence in an Ink4a- and Arf-independent manner. *Blood*, 2014, 123(20): 3105-15
- [4] Mauch P, Constine L, Greenberger J, et al. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995, 31(5): 1319-39
- [5] Meng A, Wang Y, Van Zant G, et al. Ionizing radiation and busulfan induce premature senescence in murine bone marrow hematopoietic cells. *Cancer Res*, 2003, 63(17): 5414-9
- [6] Domen J, Gandy KL, Weissman IL. Systemic overexpression of BCL-2 in the hematopoietic system protects transgenic mice from the consequences of lethal irradiation. *Blood*, 1998, 91(7): 2272-82
- [7] Lee JM, Bernstein A. p53 mutations increase resistance to ionizing radiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(12): 5742-6
- [8] Shao L, Sun Y, Zhang Z, et al. Deletion of proapoptotic Puma selectively protects hematopoietic stem and progenitor cells against high-dose radiation. *Blood*, 2010, 115(23): 4707-14
- [9] Yu H, Shen H, Yuan Y, et al. Deletion of Puma protects hematopoietic stem cells and confers long-term survival in response to high-dose γ -irradiation. *Blood*, 2010, 115(17): 3472-80
- [10] Shao L, Luo Y, Zhou D. Hematopoietic stem cell injury induced by ionizing radiation. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(9): 1447-62
- [11] Wang J, Sun Q, Morita Y, et al. A differentiation checkpoint limits hematopoietic stem cell self-renewal in response to DNA damage. *Cell*, 2012, 148(5): 1001-14
- [12] Desai A, Qing Y, Gerson SL. Exonuclease 1 is a critical mediator of survival during DNA double strand break repair in nonquiescent hematopoietic stem and progenitor cells. *Stem Cells*, 2014, 32(2): 582-93
- [13] Chen Y, Ma X, Zhang M, et al. Gadd45a regulates hematopoietic stem cell stress responses in mice. *Blood*, 2014, 123(6): 851-62
- [14] Campisi J, Kim SH, Lim CS, et al. Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp Gerontol*, 2001, 36(10): 1619-37
- [15] Greenwood MJ, Lansdorf PM. Telomeres, telomerase, and hematopoietic stem cell biology. *Arch Med Res*, 2003, 34(6): 489-95
- [16] Yamaguchi H, Calado RT, Ly H, et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N Engl J Med*, 2005, 352(14): 1413-24
- [17] Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative

- capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature*, 2003, 423(6937): 255-60
- [18] Flach J, Bakker ST, Mohrin M, et al. Replication stress is a potent driver of functional decline in ageing haematopoietic stem cells. *Nature*, 2014, 512(7513):198-202
- [19] Shao L, Li H, Pazhanisamy SK, et al. Reactive oxygen species and hematopoietic stem cell senescence. *Int J Hematol*, 2011, 94(1): 24-32
- [20] Ito K, Hirao A, Arai F, et al. Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature*, 2004, 431(7011): 997-1002
- [21] Miyamoto K, Araki KY, Naka K, et al. Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(1): 101-12
- [22] Park IK, Qian D, Kiel M, et al. Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing hematopoietic stem cells. *Nature*, 2003, 423(6937): 302-5
- [23] Luo Y, Li L, Zou P, et al. Rapamycin enhances long-term hematopoietic reconstitution of *ex vivo* expanded mouse hematopoietic stem cells by inhibiting senescence. *Transplantation*, 2014, 97(1): 20-9
- [24] Juntilla MM, Patjl VD, Calamito M, et al. AKT1 and AKT2 maintain hematopoietic stem cell function by regulating reactive oxygen species. *Blood*, 2010, 115(20): 4030-8
- [25] Wang Y, Liu L, Pazhanisamy SK, et al. Total body irradiation causes residual bone marrow injury by induction of persistent oxidative stress in murine hematopoietic stem cells. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(2): 348-56
- [26] Piccoli C, Ria R, Scrima R, et al. Characterization of mitochondrial and extra-mitochondrial oxygen consuming reactions in human hematopoietic stem cells. Novel evidence of the occurrence of NAD(P)H oxidase activity. *J Biol Chem*, 2005, 280(28): 26467-76
- [27] Lambeth JD. Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43(3): 332-47
- [28] Li H, Wang Y, Pazhanisamy SK, et al. Mn(III) meso-tetrakis-(N-ethylpyridinium-2-yl) porphyrin mitigates total body irradiation-induced long-term bone marrow suppression. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(1): 30-7
- [29] Miao W, Xufeng R, Park MR, et al. Hematopoietic stem cell regeneration enhanced by ectopic expression of ROS-detoxifying enzymes in transplant mice. *Mol Ther*, 2013, 21(2): 423-32
- [30] 李德冠, 孟爱民. HSCs衰老机制研究. *中国药理学通报*, 2008, 24(6): 701-4
- [31] Geest CR, Coffey PJ. MAPK signaling pathways in the regulation of hematopoiesis. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(2): 237-50
- [32] Iwasa H, Han J, Ishikawa F. Mitogen-activated protein kinase p38 defines the common senescence-signaling pathway. *Genes Cells*, 2003, 8(2): 131-44
- [33] Ito K, Hirao A, Arai F, et al. Reactive oxygen species act through p38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells. *Nat Med*, 2006, 12(4): 446-51
- [34] Li D, Wang Y, Wu H, et al. Mitigation of ionizing radiation-induced bone marrow suppression by p38 inhibition and G-CSF administration. *J Radiat Res*, 2011, 52(6): 712-6
- [35] Wang Y, Liu L, Zhou D. Inhibition of p38 MAPK attenuates ionizing radiation-induced hematopoietic cell senescence and residual bone marrow injury. *Radiat Res*, 2011, 176(6): 743-52
- [36] Frelin C, Herrington R, Janmohamed S, et al. GATA-3 regulates the self-renewal of long-term hematopoietic stem cells. *Nat Immunol*, 2013, 14(10): 1037-44
- [37] Ito K, Hirao A, Arai F, et al. Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of hematopoietic stem cells. *Nature*, 2004, 431(7011): 997-1002