

Int, 2010, 9(1): 69-77.

(7): 860-866.

[25] Li Q, Zhao J, Liu J, et al. Survivin stable knockdown by siRNA inhibits tumor cell growth and angiogenesis in breast and cervical cancers[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5

(收稿日期: 2010-05-10 修回日期: 2010-10-10)

· 综 述 ·

## 头颈部肿瘤放射治疗致唾液腺损伤的研究进展\*

彭 哲 综述, 徐志文 审校

(广西医科大学附属第一医院耳鼻喉头颈外科, 南宁 530021)

关键词: 放射性口干; 唾液腺功能; 形态学

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.043

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)14-1446-03

放射治疗(放疗)是鼻咽癌等头颈部肿瘤的主要治疗方式。由于整个或部分唾液腺组织经常被包括在放疗野内, 从而导致唾液腺组织不同程度的损伤, 使大多数患者出现放射性口干<sup>[1-2]</sup>。放射性口干是头颈部肿瘤患者接受放疗后常见的并发症, 从而导致患者生存质量降低<sup>[3-5]</sup>。但其发生机制至今尚未完全明确, 本文主要综述放疗导致的唾液腺损伤在其功能、形态学及细胞水平等方面的变化。

### 1 唾液腺的组成及其生理功能

人类的唾液腺由腮腺、颌下腺和舌下腺三大唾液腺以及分布于黏膜的小唾液腺组成。90%的混合性唾液由三大唾液腺分泌, 在未受刺激的状态下, 2/3的唾液分泌来源于颌下腺; 在刺激状态下, 1/2的唾液分泌来源于腮腺; 其他微小腺体分泌的唾液量约占总唾液量的10%, 但由于其富含黏液, 因此对口腔黏膜起持续性润滑作用。正常生理状态下, 人体每天的唾液分泌量为0.5~1.0 L, pH值为6.5~7.4。唾液的分泌分为两个阶段: 第一阶段是神经递质刺激水分、蛋白质和电解质进入腺泡细胞腔内形成原唾液; 第二阶段是原唾液在导管内的修饰, NaCl的重吸收, K<sup>+</sup>和HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>的排出和一些蛋白质分泌, 随后进入口腔<sup>[6]</sup>。

### 2 放疗后唾液腺功能的改变

唾液腺细胞分裂缓慢, 更新周期长, 理论上应该对电离辐射不敏感, 而临床上通常在放疗后早期患者即发生口干症状<sup>[3]</sup>。因此, 可认为唾液腺是放射敏感组织, 许多学者对此现象进行了广泛的研究和探讨, 但至今放射性唾液腺损伤机制尚未完全阐明。

**2.1 放疗后唾液量的改变** 有相关文献报道放疗后唾液流量的降低是导致口干的重要因素之一, 同时也是检测放疗后唾液腺功能受损最直接的方法。唾液流量减低或被抑制取决于: (1)唾液腺组织的放射敏感性。Jentzen等<sup>[7]</sup>对50位鼻咽癌接受放疗患者进行放疗前、放疗中、放疗后1、3、6个月及1、2年的刺激性和非刺激性的唾液分泌测量, 结果发现, 在8周的放疗过程中, 患者于放疗第4天, 即接受放疗剂量为720 CGy时, 刺激性和非刺激性唾液分泌量下降40%~50%, 且放疗后唾液分泌量随着时间的推移不能恢复。(2)唾液腺组织受照射的范围。Baharudin等<sup>[8]</sup>检测了30例头颈部肿瘤患者已接受放疗的唾液分泌量, 发现在放疗过程中, 全部唾液腺被包括在放疗野内的患者唾液分泌量比只有部分唾液腺被包括在放疗野

的患者下降明显。(3)照射剂量(单次照射量及累积量)。有学者认为当接受头颈部肿瘤放疗的总剂量小于25~30 Gy时, 2年后唾液腺功能可以恢复到放疗前水平<sup>[9]</sup>。正因为剂量相关学说得到了多数学者的认可, 因此近年新发展起来的同步加速调强放疗在提高靶目标吸收剂量的同时, 更好地控制了周围正常组织的剂量吸收率, 特别是使放射敏感的唾液腺组织在一定程度上受到了保护, 从而减轻放疗后口干<sup>[10-12]</sup>。

**2.2 放疗后唾液的电解质及生化改变** 放疗后唾液的电解质和生化的改变使唾液的正常功能受到不同程度的影响, 由此引发的一系列并发症, 包括咀嚼、吞咽、味觉、讲话、睡眠障碍, 甚至免疫功能下降、口腔菌丛失调、口腔和咽喉黏膜炎等<sup>[13]</sup>, 严重影响了患者的生活质量, 造成其日后严重的经济和精神负担。Li等<sup>[14]</sup>采用14只小型猪进行单侧腮腺15、20 Gy的一次性照射, 于放疗前和放疗后4、16周进行唾液流量及唾液生化的测定。结果提示, 在两个放射剂量组中, 唾液中的Ca<sup>2+</sup>、淀粉酶均显著降低, 唾液中的K<sup>+</sup>显著升高。Lee等<sup>[15]</sup>认为受照射后40、90 d这两个时间段内唾液的总蛋白、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>、Ca<sup>2+</sup>的含量均是降低的, 而K<sup>+</sup>含量是升高的。

### 3 放疗后唾液腺的形态学改变

**3.1 早期形态学改变** 由于临床上较难获取患者的唾液腺组织标本, 因此目前放疗后唾液腺形态学改变的标本及文献资料基本来源于动物。因各种动物唾液腺的组织构成与人唾液腺组成是有差别的, 并且不同种属动物之间其唾液腺的构成亦不甚相同, 正由于尚无既定的动物模型, 也无既定的研究放射性唾液腺损伤的放射方式与剂量, 所以其照射后形态学改变尚未得出一致的定论。目前采纳较多的研究动物是鼠类。其优点有: (1)鼠类放射性唾液腺损伤模型的应用方便、可行性强、成本较低; (2)其唾液中的水分及蛋白分泌与人相类似; (3)受照射后快速的唾液分泌下降。

在Boraks等<sup>[16]</sup>的研究中, 给予Wistar大鼠头颈部15 Gy(每次7.5 Gy, 分两周进行)照射后立即将其腮腺行透射电镜观察, 可见照射后的腮腺腺泡出现空泡化、粗面内质网扩张、线粒体结构紊乱以及细胞膜破坏等改变。有文献报道, 家兔头颈部接受一次性15 Gy照射后3 d, 可以观察到由于腮腺细胞膜破裂导致的细胞内水肿, 细胞边界模糊, 散在空泡化及细胞核坏死, 随着放疗后时间的推移, 可以观察到腺泡分泌功能和形态的轻微修复<sup>[17]</sup>。Urek等<sup>[18]</sup>对小鼠头颈部一次性15 Gy大

\* 基金项目: 广西壮族自治区卫生厅重点课题基金资助项目(桂卫重 200634)。

剂量照射后,早期(<10 d)唾液腺形态学的主要变化为:细胞核固缩、腺泡空泡的形成、腺泡及颗粒卷曲导管的松解。

有学者认为放射性唾液腺形态学改变的程度有剂量依赖性<sup>[19]</sup>。放疗后早期唾液腺功能减弱是一定的,但目前的研究尚不能确定其功能减弱的机制,有学者认为早期腺体功能减退是由于腺泡自身功能的受损,而晚期大量细胞丢失归咎于正常增殖细胞的死亡,这是造成晚期腺体功能减退的可能因素之一。

**3.2 晚期形态学改变** Lee等<sup>[15]</sup>予以大鼠头颈部一次性17.5 Gy照射后观察其颌下腺 HE染色形态学改变,可见照射后40 d颌下腺内大量空泡化以及腺泡和导管细胞间的间隙增宽,偶见细胞核固缩;照射后90 d可见组织内严重的纤维化和一些炎症细胞浸润。Urek等<sup>[18]</sup>对小鼠头颈部一次性15 Gy照射后,晚期(>90 d)可以观察到唾液腺细胞空泡化、细胞水肿、细胞核固缩、腺泡及颗粒卷曲导管的松解,最值得关注的是唾液腺组织内有散在性的单核细胞浸润。Muhvic-Urek等<sup>[20]</sup>给予小鼠头颈部7.5、15 Gy的照射后90 d光镜下观察颌下腺,发现腺泡的萎缩,腺泡数量的减少以及严重的空泡化,损伤程度与照射剂量成正比,腺泡细胞比颗粒导管细胞的放射敏感性高。

#### 4 唾液腺组织的凋亡与增殖

早期的学者提出了唾液腺组织的早期损伤可能与细胞凋亡有关,认为唾液腺损伤早期是一种间期细胞死亡(又称即刻死亡);通过观察恒河猴照射后其腮腺组织的形态学,发现浆液性细胞核染色深、呈多种畸形改变,包括细胞核固缩、细胞核碎裂及边缘化等凋亡的形态改变。由于细胞的形态改变与细胞的死亡程度及炎症细胞的浸润程度不相关,因此提示唾液腺浆液性腺细胞是由于凋亡而死亡。在后继的研究中,有学者用原位末端标记法(TUNEL)检测小鼠一次性大剂量照射后颌下腺的凋亡表达,发现照射后3 d凋亡细胞的表达达到高峰且有剂量依赖性<sup>[18]</sup>。Boraks等<sup>[16]</sup>还认为大鼠照射后其腮腺超微结构的改变和细胞的凋亡密切相关。Lee等<sup>[15]</sup>也认同照射后大鼠颌下腺细胞发生凋亡,并且他们的研究发现热休克蛋白25(HSP25)和HSP70i可以有效地降低放射性颌下腺凋亡。然而,在早期的某些研究中,也有报道照射后唾液腺细胞的凋亡是低水平的,分析其原因,认为这是由于所采用的凋亡检测技术不同,早期采用较多的是组织切片HE染色形态学观察,尽管凋亡细胞在光镜下有一定的形态学特征,但是HE染色检测凋亡仍然是相对困难的,因此检出率较低。而近期的研究所采用检测凋亡的是TUNEL和免疫组化法、分子生物学方法检测凋亡通路中一些相关信号转导因子表达的改变<sup>[21-25]</sup>。

在正常组织中,细胞增殖与凋亡是相平衡的,如果增殖与凋亡失衡就会导致器官组织功能的紊乱,那么放疗后引起的唾液腺功能的减退是否也与细胞的增殖和凋亡的失衡相关?临床上高剂量照射腮腺组织(40~60 Gy,20~30次),仍可观察到腮腺功能的部分恢复,提示放疗后存在着细胞增殖现象。Urek等<sup>[18]</sup>通过免疫组化的方法检测增殖细胞核抗原(PCNA)在小鼠颌下腺的表达,发现15 Gy照射后1 d,与对照组相比较,PCNA表达明显降低,在照射结束后6 d,PCNA在照射组的表达达到高峰,而且,细胞的增殖反应也有剂量相关性;在后继研究中还观察到:照射后唾液腺组织内高增殖和高凋亡同时存在,认为唾液腺细胞增殖与凋亡的不平衡亦可能是导致腺体受照射后功能减退的原因之一<sup>[19]</sup>。

#### 5 展 望

随着社会经济的发展、人类生活水平的提高、医学的进步、

医疗环境的改善、生活质量的重视,人们对各种疾病治疗后引起的并发症越来越关注。近年来,放疗技术的改进、组织工程学的发展、基因治疗的进步使这个学科的研究得到了推动。然而要明确放射性口干的机制并探讨可行的预防治疗方法仍然是亟待解决的课题。

#### 参考文献:

- [1] Dirix P, Nuyts S, Vander Poorten V, et al. The influence of xerostomia after radiotherapy on quality of life: results of a questionnaire in head and neck cancer [J]. Support Care Cancer, 2008, 16(2): 171-179.
- [2] Redman RS. On approaches to the functional restoration of salivary glands damaged by radiation therapy for head and neck cancer, with a review of related aspects of salivary gland morphology and development [J]. Biotech Histochem, 2008, 83(3): 103-130.
- [3] Wang ZH, Yan C, Zhang ZY, et al. Radiation-induced volume changes in parotid and submandibular glands in patients with head and neck cancer receiving postoperative radiotherapy: a longitudinal study [J]. Laryngoscope, 2009, 119(10): 1966-1974.
- [4] Deasy JO, Moiseenko V, Marks L, et al. Radiotherapy dose-volume effects on salivary gland function [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2010, 76(3 Suppl): S58-63.
- [5] Parliament MB, Scrimger RA, Anderson SG, et al. Preservation of oral health-related quality of life and salivary flow rates after inverse-planned intensity-modulated Radiotherapy (IMRT) for head-and-neck cancer [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004; 58(3): 663-673.
- [6] Gresz V. Water and electrolyte secretion by salivary glands [J]. Orv Hetil, 2006, 147(39): 1891-1900.
- [7] Jentzen W, Schneider E, Freudenberg L, et al. Relationship between cumulative radiation dose and salivary gland uptake associated with radioiodine therapy of thyroid cancer [J]. Nucl Med Commun, 2006, 27(8): 669-676.
- [8] Baharudin A, Khairuddin A, Nizam A, et al. Evaluation of irradiated salivary gland function in patients with head and neck tumours treated with radiotherapy [J]. J Laryngol Otol, 2009, 123(1): 108-113.
- [9] 刘景杰, 田野. 头颈部癌调强适形放射治疗保护唾液腺功能的研究现状 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 42(7): 551-553.
- [10] Roesink JM, Terhaard CH, Raaijmakers CP. Saliva and intensity modulated radiotherapy [J]. Ned Tijdschr Tandheelkd, 2008, 115(2): 107-110.
- [11] Eisbruch A. Radiotherapy: IMRT reduces xerostomia and potentially improves QoL [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2009, 6(10): 567-568.
- [12] Vergeer MR, Doornaert PA, Rietveld DH, et al. Intensity-modulated radiotherapy reduces radiation-induced morbidity and improves health-related quality of life: results of a nonrandomized prospective study using a standardized follow-up program [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2009, 74(1): 1-8.

- [13] 赵彩霞,任勇军,文世明,等. 诱导化疗联合放疗 42 例中晚期鼻咽癌近期疗效观察[J]. 重庆医学,2009,38(16):2036.
- [14] Li J,Shan Z,Ou G,et al. Structural and functional characteristics of irradiation damage to parotid glands in the miniature pig[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2005,62(5):1510-1516.
- [15] Lee HJ, Lee YJ, Kwon HC, et al. Radioprotective effect of heat shock protein 25 on submandibular glands of rats [J]. Am J Pathol,2006,169(5):1601-1611.
- [16] Boraks G, Tampelini FS, Pereira KF, et al. Effect of ionizing radiation on rat parotid gland[J]. Braz Dent J,2008,19(1):73-76.
- [17] Hakim SG, Kosmehl H, Lauer I, et al. A comparative study on the protection profile of lidocaine, amifostine, and pilocarpin on the parotid gland during radiotherapy [J]. Cancer Res,2005,65(22):10486-10493.
- [18] Urek MM, Bralic M, Tomac J, et al. Early and late effects of X-irradiation on submandibular gland: a morphological study in mice[J]. Arch Med Res,2005,36(4):339-343.
- [19] Sagowski C, Wenzel S, Jenicke L, et al. Sodium selenite is a potent radioprotector of the salivary glands of the rat: acute effects on the morphology and parenchymal function during fractionated irradiation[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol,2005,262(6):459-464.
- [20] Muhvic-Urek M, Bralic M, Curic S, et al. Imbalance between apoptosis and proliferation causes late radiation damage of salivary gland in mouse[J]. Physiol Res,2006,55(1):89-95.
- [21] Limesand KH, Said S, Anderson SM. Suppression of radiation-induced salivary gland dysfunction by IGF-1 [J]. PLoS One,2009,4(3):e4663.
- [22] Limesand KH, Avila JL, Victory K, et al. Insulin-like growth factor-1 preserves salivary gland function after fractionated radiation[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2010,78(2):579-586.
- [23] Avila JL, Grundmann O, Burd R, et al. Radiation-induced salivary gland dysfunction results from p53-dependent apoptosis[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2009,73(2):523-529.
- [24] Ghosh AP, Walls KC, Klocke BJ, et al. The proapoptotic BH3-only, Bcl-2 family member, Puma is critical for acute ethanol-induced neuronal apoptosis [J]. J Neuropathol Exp Neurol,2009,68(7):747-756.
- [25] Limesand KH, Schwertfeger KL, Anderson SM. MDM2 is required for suppression of apoptosis by activated Akt1 in salivary acinar cells [J]. Mol Cell Biol,2006,26(23):8840-8856.

(收稿日期:2010-08-19 修回日期:2010-12-22)

· 综 述 ·

## 细胞外热休克蛋白 70 的释放、受体及功能

李霞绯 综述,刘 纯 审校

(重庆医科大学第一附属医院内分泌科 400016)

**关键词:**热休克蛋白质类;细胞因子类;危险信号;受体;炎症

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.044

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)14-1448-03

热休克蛋白(heat-shock protein, HSP)是一类具有重要生理功能和高度保守的多肽类蛋白质分子家族,普遍存在于原核和真核细胞中,从细菌到哺乳动物体内均可见其表达。人们发现缺血、缺氧、重金属、病毒感染、恶性变等刺激均可引发细胞的应激反应,从而合成 HSPs,故又称为应激蛋白<sup>[1]</sup>。HSP70 是细胞内含量最丰富且最保守的一类 HSP 家族,细胞应激后生成最显著,是目前研究最多的一种 HSP 家族。

细胞内的 HSP70 主要参与新生蛋白质的折叠、解聚、移位,是为保护应激细胞使其存活而服务的。最近许多研究证明 HSP 能释放到细胞外环境中。

### 1 细胞外 HSP(eHSP70)的释放机制

早期认为, HSP70 只有在组织细胞死亡或凋亡时释放出。目前研究认为,在没有细胞坏死的情况下,应激使星形胶质细胞能释放 HSP70,导致 eHSP70 总量的增加。而且当经由细胞外信号调节激酶(ERK1/2)和磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)信号通路转导的信号减弱或抑制性 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路增强时,这种应急情况下 HSP70 释放增加的效应就会受到抑制。因此通过平衡不同活化信号转导途径可以调节 HSP70 的释放<sup>[2]</sup>。胞吐小体是在多泡体内形成的膜性小囊泡,当多泡体的膜与质膜融合时,其内的小囊泡就释放到细胞

外。实验发现经热休克刺激的 B 淋巴细胞所释放的包含有 HSP70 的胞吐小体明显增加,而对外周血淋巴细胞热休克刺激后,释放的胞吐小体数量虽然没增加,但每个胞吐小体内 HSP70 的浓度却增加了<sup>[3]</sup>。脂筏是脂质双层内富含胆固醇、鞘磷脂和酰化的蛋白质的微结构,漂浮于二维流动的质膜结构中,参与细胞内外信号转导和蛋白质转运等重要功能。Bause-ro 等<sup>[4]</sup>研究发现热应激时,提取细胞的脂筏内 HSP70 的水平随应激强度增加而增加;而当脂筏的结构遭到脂筏破裂剂(甲基环糊精)破坏后, HSP70 的释放就显著降低,说明细胞内 HSP70 可以通过脂筏释放。对于血液循环中 HSP70 的升高,目前认为可能与应激时去甲肾上腺素释放有关<sup>[5]</sup>。

### 2 eHSP70 的功能

与细胞内 HSP70 的抗炎作用不同的是, eHSP70 具有明显的免疫刺激特性,因此被称为“分子伴侣”<sup>[6]</sup>。在体外实验中,外源性 eHSP70 能刺激巨噬细胞、树突细胞合成和释放 NO、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)、IL-1 等促炎性细胞因子,从而调节固有免疫反应<sup>[7]</sup>。eHSP70 可通过调节自然杀伤细胞(NK)的活性来参与免疫监视<sup>[8]</sup>。eHSP70 还能不依赖抗体直接激活补体 q1 和补体级联<sup>[9]</sup>。eHSP70 能促进抗原提呈细胞(APC)的成熟和迁移,以及 APC 和 T 淋巴细