

空间环境因素对细胞生物学特性的影响

蔡哲 张岚 舒峻 综述 左萍萍 审校

[关键词] 空间飞行;空间辐射;微重力;细胞凋亡;细胞骨架

中图分类号:R854 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2005)01-0042-03

[本文著录格式] 蔡哲,张岚,舒峻,等.空间环境因素对细胞生物学特性的影响[J].中国康复理论与实践,2005,11(1):42-44.

空间是人类活动的新领域,空间环境涉及的微重力及高强度射线辐射是与人类生存的地球完全不同的环境。目前,空间医学研究已证实,空间环境会对人类心血管、骨和骨骼肌、免疫内分泌等系统产生影响,导致心血管功能障碍^[1]、肌肉萎缩^[2]、骨质减少^[3]、免疫功能低下^[4]、内分泌紊乱^[5]等病理变化;地面模拟微重力及辐射生物学研究,也从细胞水平证实了上述因素对细胞生物特性的影响。

1 空间辐射对生物体的影响

1.1 宇宙射线 宇宙射线对生物体的影响是空间医学研究的主要内容之一,宇宙射线包括银河系宇宙射线、地球磁场捕获的高能电子和质子形成的地球辐射带、太阳粒子事件,以及宇宙中的高能粒子在穿越大气层和航天器时,与组成航天器材料中的原子核碰撞产生的,被成为二次粒子射线的电子、中子、质子和 γ 射线。粒子射线和二次粒子射线构成航天器内的宇宙射线环境。由于大气层和磁场的作用,宇宙射线不能到达或极少量到达地球表面,为地球生物营造了温和的生存环境;在大气层外飞行的航天器则完全暴露于强烈的宇宙射线中,空间辐射剂量远远高于地球表面,其作用程度是X射线或 γ 射线的数倍^[6]。Setlow等的研究证实,经历为期3年的深空间飞行,尽管采取屏蔽措施,每个细胞核仍会受到400个质子、0.6个碳核子、0.03个铁核子的轰击,提示生物体3%的细胞会受到高损伤铁核子的轰击,这对哺乳动物细胞影响非常大^[7]。研究宇宙射线对生物体的影响是有效利用宇宙环境的重要问题。

1.2 空间辐射对生物遗传性状变异的影响 空间辐射是长期载人空间飞行的主要限制因素之一。有关细菌、真菌和植物种子的地面空间辐射模拟及空间搭载实验已获得了突变菌株和植物种子,空间辐射对哺乳动物细胞影响的研究也证实了宇宙射线引发的致畸、致癌作用。随着载人飞船、航天飞机和空间站的出现,人类在空间停留的时间逐渐延长,宇宙射线特别是能够穿透飞行器的高能离子及微重力-空间辐射的复合作用,对空间飞行人员健康的影响成为备受关注的问题。为保证长期空间飞行人员的健康,近年来从细胞分子水平展开宇宙射线对生物系统影响的研究。

研究表明,对于空间飞行生物影响最大的主要是能穿透飞行器、有强电离作用的银河宇宙射线、太阳粒子事件及地球辐

射带的电离辐射,主要成分是高能质子,其次为 α 粒子、电子及重离子,其中重离子可致生物大分子损伤。地面粒子加速器产生的类似空间辐射的高能重离子,对动物及动物细胞的致癌、致突、致死等效应较传统电离辐射高,可导致细胞内遗传物质DNA分子的双链断裂,对细胞具有较强的杀伤、致突变和致癌变作用^[8],单一重粒子也可导致体细胞突变^[9]。线虫FEM-3基因座位变异率的地面加速器铁离子和空间辐射对比研究表明,空间2~3 mGy辐射诱发的变异率与地面11 Gy铁离子诱发的变异率相近,提示空间离子辐射对生物体影响是间接的,但仍然是重要的诱变因素^[10]。在分子水平,空间宇宙射线的照射导致动物细胞DNA链损伤,影响细胞修复的正常进行,进一步导致基因变异,产生染色体畸变。由于空间辐射的作用,淋巴细胞染色体失常明显增多,简单易位增加^[11],长期空间飞行出现双着丝粒染色体和着丝粒环^[12]。随着空间辐射时间的延长可加重DNA损伤,染色体畸变率增加^[13]。

迄今为止的研究提示,空间辐射生物学效应诱发生物有机体遗传性状变异,主要是射线导致细胞内遗传物质的靶分子DNA损伤,DNA损伤的早期修复直接影响染色体的变化,在DNA创伤修复过程中致基因组变异出现突变、肿瘤形成、染色体畸变,进而出现发育异常、致畸和致癌等现象。宇宙射线的辐射对长期空间旅行者具有潜在的危险,利用空间环境从细胞和分子水平研究空间辐射生物学效应对哺乳动物细胞的影响,并阐明其作用机理,有助于辐射防护装置和保护药物的开发,将宇宙射线的影响将至最低,同时还有益于有效利用宇宙射线生物效应为人类服务。

2 空间微重力对细胞生物学特性的影响

2.1 微重力的概念和特性 在轨道上飞行的飞行器,由于离心力与重力相平衡,其舱内物体处于接近零重力的状态,即微重力状态。国际宇宙空间站(ISS)在位于地面400 km高度的轨道飞行,ISS内的微重力是地球表面重力的 $10^{-6} \sim 10^{-4}$ 。在微重力环境下,由重力引起的自然对流基本消除,液体中浮力和液体不同密度引起的组份分离和沉浮现象消失,液体仅由表面张力约束,液滴悬浮无沉降,流体静压力消失。

微重力环境与人类生存的地球环境截然不同,微重力环境对已适应地球重力影响的哺乳动物生物机能的影响,早已成为空间生命科学与空间细胞生物学研究的热点。国内外科学家已发现,微重力环境对细胞形态、超微结构、分裂和增殖、基因表达和功能都产生影响,并对其影响机理开展了深入研究。

2.2 微重力与细胞凋亡 细胞凋亡是有核细胞在一定条件下通过激活自身内部机制开启或关闭某些基因以及内源性DNA

作者单位:1. 100029 北京市,中日友好医院临床医学研究所免疫学研究室(蔡哲、张岚、舒峻);2. 100005 北京市,中国医学科学院基础医学研究所药理学研究室(左萍萍)。作者简介:蔡哲(1960-),女,北京市人,医学博士,主要研究方向:干细胞生物学。

内切酶的活化,导致细胞自然性的死亡过程,在胚胎发育和组织创伤修复中具有重要的生理作用。众所周知,外来因素如紫外线照射、离子辐射和热休克可以导致细胞损伤。重力因素的改变是否也可以诱导外源性细胞凋亡呢?

Uva 等对模拟微重力条件下培养胶质细胞进行了研究,模拟失重 30 min 以后,神经胶质细胞出现细胞皱缩、核断裂碎片和染色质凝聚等典型凋亡形态学特征,免疫组织化学证实,大部分细胞的胞浆中有 caspase-7 酶的存在,TUNEL 方法表明 DNA 断片的存在,DNA 电泳呈梯状条纹,32 h 后细胞密度明显较对照减少,说明微重力可能影响胶质细胞生理性凋亡^[14]。Lewis 等对失重状态下人类淋巴细胞(Jurkat)研究发现,失重 4 h 后,30 % 的细胞显示出典型凋亡特征的 DNA,而地面对照仅 17 % 的细胞出现特征性凋亡 DNA 断片,凋亡相关蛋白 Fas/APO-1 的增加具有时间依存性,提示空间飞行引发的凋亡降低了淋巴细胞的增殖应答^[15]。

长期空间飞行可以导致失重性骨丢失,但发生机制尚不明确。ROSI 7/2.8 成骨样细胞系在回转器模拟微重力环境培养 24 h 后,DNA 断片分析、TUNEL 组织化学染色和 Annexin V 染色的流式细胞检测证实了 ROSI 7/2.8 的细胞凋亡,提示失重性骨丢失可能是由成骨细胞凋亡影响骨形成所致^[16]。进一步研究证实,旋转培养 ROSI 7/2.8 细胞 35 % 出现凋亡,并出现细胞骨架排列的变化,提示微重力通过影响细胞骨架的分布排列诱导细胞凋亡,提出空间飞行的失重环境诱导成骨细胞凋亡,在失重性骨丢失的病理过程中起着重要作用^[17]。Kumei 等的研究证实,成骨细胞在微重力环境下,与 1 G(1 个重力加速度,9.8 m/s²)地面对照相比,JNK、c-Jun N-terminal kinase 和 stress-activated protein kinase 的 mRNA 水平增加,JNK 在 stress-activated 细胞凋亡中起着重要作用,提示微重力对大鼠成骨细胞凋亡与抗凋亡的影响^[18]。Nakamura 等的研究显示,在回转器中培养的正常人类成骨细胞 Bax/Bcl-2 mRNA(凋亡标记物)水平较地面 1 G 对照显著增加,与此同时,XIAP mRNA(抗凋亡分子)水平也较地面 1 G 对照增加。由于有害应激通过线粒体或 Fas 诱导细胞凋亡,因此此研究提示模拟微重力对成骨细胞凋亡信号的调节可能通过线粒体途径^[19]。

Kossmehl 等发现,模拟微重力通过不同途径诱导滤泡甲状腺癌细胞系 ML-1 细胞程序性死亡,凋亡相关蛋白 P53 和 Bax 表达量提高,Bcl-2 表达量降低,电子显微镜观察可见显著细胞凋亡形态学特征,Caspase-3 明显上调,提示微重力条件下可以通过不同途径诱导细胞凋亡^[20,21]。正常甲状腺细胞系(HTU-5)和甲状腺癌细胞系(ONCO-DGI)的模拟微重力实验显示,24 h 后,10 % 的癌细胞进入 Fas 依赖凋亡途径,但也检测到线粒体的破坏和重新分配,微管中断,caspase-3 激活,证实外源与内源途径同时被激活。在旋转培养器中生长的 ONCO-DGI 细胞 Bax 量升高,而 Bcl-2 数量减少。HTU-5 细胞的凋亡现象也被实验证实,电子显微镜的凋亡形态学特征,caspase-3 的激活,Fas 和 Bax 的增加以及 85 kDa 凋亡相关断片的升高,提示重力因素作用于线粒体导致失重时引发甲状腺细胞凋亡^[22]。

2.3 微重力对细胞骨架蛋白的影响 细胞骨架是细胞重要的组成成分,细胞骨架蛋白包括肌动蛋白(微丝)、微管蛋白和中间纤维,其主要作用是维持细胞形态、固定细胞内亚单位、维持细胞内信号转导,并为细胞提供支持,以及为细胞和细胞器的

运动提供机械来源;此外,细胞周期的正常进行亦有赖于细胞骨架正常形态的维持。因此,细胞骨架的改变可以引起细胞形态、结构和生物学特性的改变。

由于细胞骨架可以感受重力并对其作出反应,因此空间微重力诱导的细胞学效应直接影响细胞骨架系统。Lewis 等的研究显示,空间飞行条件下可以出现微丝、微管的解聚,Actin 应激纤维、微管和中间纤维的形态异常,有序性降低,微管变短,细胞核周围的网状结构消失^[23]。模拟微重力环境中培养的血管内皮细胞,其细胞骨架微丝出现重新分布^[24],细胞内肌动蛋白微丝结构改变影响细胞信号转导^[25]。Schatten 等以果蝇(Schneider S-1)细胞为实验模型,发现旋转式生物反应器模拟失重和空间飞行使细胞内微管排列紊乱,胞内线粒体增加,提示实验体系中细胞凋亡的发生可能是失重导致细胞骨架微丝、微管分布异常,进而影响线粒体功能引发的^[26]。

重力对神经系统发育具有重要影响。由于重力的作用,胚胎中枢神经元的轴突可以到达各自靶区,维持神经系统正常发育和机能。微重力环境导致神经元骨架蛋白的分布排列紊乱,影响神经系统的细胞发育。Uva 等在模拟微重力实验中也发现,体外培养神经胶质细胞 C6 的细胞骨架微丝 F-actin 和中间丝蛋白 Vimentin 受损,胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)在细胞内排列紊乱,微管蛋白丧失原有的放射状排列,细胞坍塌,细胞核出现染色质压缩,DNA 断裂^[27]。

哺乳动物心脏能够适应外周负荷的变化,出现代偿性心肌肥大和萎缩。模拟微重力实验显示,失重可以诱导代偿性心肌萎缩,导致心肌细胞收缩功能下降^[28]。分子水平研究显示,外周负荷变化可引起心肌结构蛋白基因异常表达,c-fos 和 c-jun 基因表达下调,导致骨架蛋白微丝网络分布重排,细胞形态发生改变^[25],而骨架蛋白中的肌动蛋白是产生正常心肌细胞收缩的结构基础。细胞骨架在微重力环境下出现弥散性变化。Papeit 等发现,微管蛋白组装依赖于重力,失重环境影响微管蛋白组装及微管结构的有序排列^[29];熊江辉等发现,模拟微重力环境培养的心肌细胞发生微丝和微管重排,集中分布于近胞核处,提示细胞骨架的分布与心肌细胞收缩功能有一定的联系,微重力通过细胞骨架的分布变化引发心肌细胞收缩力下降^[30]。姚宇华等利用图像灰度共生矩阵特征参数量化法描述了微重力下心肌细胞骨架中微管形态的弥散性变化,经过 50 幅细胞微管图像的特征性分析证实,微重力环境中微管图像的纹理均匀性降低^[31]。

空间医学的早期研究已证实,空间飞行可导致免疫功能降低、人类白细胞减少;人类造血干细胞生物学研究表明,模拟微重力下造血干细胞 G0/G1 期延长,可较长时间维持在不分化状态,有学者认为微重力环境导致的细胞骨架变化可能是影响因素之一。探空火箭实验表明,微重力可以改变离体培养淋巴细胞骨架结构。细胞骨架不仅维持着细胞的结构和形态,在蛋白质合成、信号传导以及基因表达等方面也起重要作用^[32]。Corgoly-Greuter 等发现,微重力通过影响中间丝 Vimentin 和微管等细胞骨架排列的变化,导致淋巴细胞增殖活性降低,影响白细胞介素(IL)-2 受体表达和 IL-2 分泌^[33]。Xu 等的国际空间站 ISS UF-1 实验结果显示,微重力条件对造血母细胞的细胞骨架蛋白具有降解作用,导致细胞骨架微丝的崩解,从而影响造血

细胞的分化增殖^[34]。

失重性骨质丢失是航天医学尚未解决的重要课题之一。随着空间细胞生物学研究的进展,对失重性骨质丢失的研究已从生理学和组织学水平进入细胞分子生物学水平。失重使成骨细胞自身结构和功能发生改变,部分细胞的表型分化和功能被抑制。Hughes-Fulford 等的研究证实,空间飞行后的成骨细胞出现微管骨架的解聚,微管蛋白不再成放射性排列,聚合受到抑制^[35],致成骨细胞信号转导阻滞,成骨细胞不能正常增殖和分化,骨生成率减缓,骨组织内骨小梁含量明显降低。

综上所述,微重力能够通过改变细胞骨架分布,影响细胞正常形态的维持和信号转导,导致细胞功能和增殖等细胞生物学特性的改变。但其发生机理尚不明确,还有待于进一步深入探讨。

3 前景和展望

近 30 年空间离体细胞的研究运用细胞生物学和分子生物学研究技术,使人类对空间飞行宇航员躯体症状的生理认识上升到细胞分子水平,空间生物细胞学研究已成为空间生命科学领域的重要研究内容;对经过空间环境处理的哺乳动物细胞进行形态学、细胞学、分子生物学及生理学研究,有助于了解空间复杂环境对生物有机体的作用和影响,阐明空间生物细胞学的发展规律,开发利用近低轨道的空间环境为未来空间医学服务,造福人类。

[参考文献]

- [1] Mitchell BM, Meck JV. Short-duration spaceflight does not prolong QTc intervals in male astronauts[J]. Am J Cardiol, 2004, 93(8): 1051 - 1052.
- [2] Hansen G, Martinuk KJ, Bell GJ, et al. Effects of spaceflight on myosin heavy-chain content, fibre morphology and succinate dehydrogenase activity in rat diaphragm[J]. Pflugers Arch, 2004, 448(2): 239 - 247.
- [3] Lang T, LeBlanc A, Evans H, et al. Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long duration spaceflight[J]. J Bone Miner Res, 2004, 19(6): 1006 - 1012.
- [4] Sonnenfeld G, Butel JS, Shearer WT. Effects of the space flight environment on the immune system[J]. Rev Environ Health, 2003, 18(1): 1 - 17.
- [5] Macho L, Koska J, Ksinantova L, et al. The response of endocrine system to stress loads during space flight in human subject[J]. Adv Space Res, 2003, 31(6): 1605 - 1610.
- [6] Robbins DE, Yang TC. Radiation and Radiology[A]. In: Nicogossian AE, Huntoon CL, Pool SL. Space Physiology and Medicine[C]. Philadelphia, PA: Lea and Febiger, 1994. 761 - 771.
- [7] Setlow RB. The U.S. National Research Council's views of the radiation hazards in space[J]. Mutat Res, 1999, 430(2): 169 - 175.
- [8] Chatterjee A, Holley WR. Biochemical mechanisms and clusters of damage for high LET radiation[J]. Adv Space Res, 1992, 12(2-3): 33 - 43.
- [9] Hei TK, Wu LJ, Liu SX, et al. Mutagenic effects of a single and an exact number of alpha particles in mammalian cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(8): 3765 - 3770.
- [10] Hartman PS, Hlavacek A, Wilde H, et al. A comparison of mutations induced by accelerated iron particles versus those induced by low earth orbit space radiation in the FEM-3 gene of *Caenorhabditis elegans*[J]. Mutat Res, 2001, 474(1-2): 47 - 55.
- [11] George K, Wu H, Willingham V, et al. Analysis of complex-type chromosome exchanges in astronauts' lymphocytes after space flight as a biomarker of high LET exposure[J]. J Radiat Res (Tokyo), 2002, 43(Suppl): S129 - S132.
- [12] Fedorenko B, Druzhinin S, Yudaeva L, et al. Cytogenetic studies of blood lymphocytes from cosmonauts after long term space flights on Mir

- station[J]. Adv Space Res, 2001, 27(2): 355 - 359.
- [13] Durante M, Snigiryova G, Akaeva E, et al. Chromosome aberration dosimetry in cosmonauts after single or multiple space flights[J]. Cytogenet Genome Res, 2003, 103(1-2): 40 - 46.
- [14] Uva BM, Masini MA, Sturla M, et al. Microgravity-induced apoptosis in cultured glial cells[J]. Eur J Histochem, 2002, 46(3): 209 - 214.
- [15] Lewis ML, Reynolds JL, Cubano LA, et al. Spaceflight alters microtubules and increases apoptosis in human lymphocytes (Jurkat)[J]. FASEB J, 1998, 12(11): 1007 - 1018.
- [16] Sarkar D, Nagaya T, Koga K, et al. Rotation in clinostat results in apoptosis of osteoblastic ROS 17/2.8 cells[J]. J Gravit Physiol, 2000, 7(2): 71 - 72.
- [17] Sarkar D, Nagaya T, Koga K, et al. Culture in vector-averaged gravity under clinostat rotation results in apoptosis of osteoblastic ROS 17/2.8 cells[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(3): 489 - 498.
- [18] Kumei Y, Morita S, Nakamura H, et al. Does microgravity induce apoptotic signal in rat osteoblasts via cjun N-terminal kinase[J]? J Gravit Physiol, 2002, 9(1): 263 - 264.
- [19] Nakamura H, Kumei Y, Morita S, et al. Antagonism between apoptotic (Bax/Bcl-2) and anti-apoptotic (IAP) signals in human osteoblastic cells under vector-averaged gravity condition[J]. Ann N Y Acad Sci, 2003, 1010: 143 - 147.
- [20] Kossmehl P, Shakibaei M, Cogoli A, et al. Simulated microgravity induces programmed cell death in human thyroid carcinoma cells[J]. J Gravit Physiol, 2002, 9(1): 295 - 296.
- [21] Grimm D, Bauer J, Kossmehl P, et al. Simulated microgravity alters differentiation and increases apoptosis in human follicular thyroid carcinoma cells[J]. FASEB J, 2002, 16(6): 604 - 606.
- [22] Kossmehl P, Shakibaei M, Cogoli A, et al. Weightlessness induced apoptosis in normal thyroid cells and papillary thyroid carcinoma cells via extrinsic and intrinsic pathways[J]. Endocrinology, 2003, 144(9): 4172 - 4179.
- [23] Lewis ML, Cubano LA. The cytoskeleton in space-flown cells: an overview[J]. J Gravit Space Bio Bulletin, 2003, 17(1): 3.
- [24] Burvakova LB, YA Romanov. The role of cytoskeleton in cell changes under condition of simulated microgravity[J]. Acta Astronaut, 2001, 48: 647 - 650.
- [25] Boonstra J. Growth factor-induced signal transduction in adherent mammalian cells is sensitive to gravity[J]. FASEB J, 1999, 13(Suppl): S35 - S42.
- [26] Schatten H, Lewis ML, Chakrabarti A. Spaceflight and clinorotation cause cytoskeleton and mitochondria changes and increases in apoptosis in cultured cells[J]. Acta Astronaut, 2001, 49(3-10): 399 - 418.
- [27] Uva B, Masini MA, Sturla M, et al. Effect of microgravity on the cytoskeleton of cultured nervous cells[J]. J Gravit Space Bio Bulletin, 2003, 17(1): 5.
- [28] Leuvin BD, Zuckerman JH, Pawelczyk JA. Cardiac atrophy after bed-rest deconditioning: a noneural mechanism for orthostatic intolerance[J]. Circulation, 1997, 96(1): 517 - 525.
- [29] Papaseit C, Pochon N, Tabony J. Microtubule self-organization is gravity-dependent[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(15): 8364 - 8368.
- [30] 熊江辉, 李莹辉, 聂捷琳, 等. 模拟微重力和槲皮素对心肌细胞微丝和微管分布的影响[J]. 动物学报, 2003, 49(1): 98 - 103.
- [31] 姚宇华, 严洪, 熊江辉. 基于灰度共生矩阵特征的对模拟微重力条件下心肌细胞骨架的图像分析[J]. 航天医学与医学工程, 2003, 16(6): 422 - 425.
- [32] Cogoli Greuter M, Pippia L, Sciola L, et al. Lymphocytes on sounding rocket flights[J]. J Gravit Physiol, 1994, 1: 90 - 91.
- [33] Cogoli Greuter. Effect of gravity changes on the cytoskeleton in human lymphocytes[J]. J Gravit Space Bio Bulletin, 2003, 17(1): 8.
- [34] Xu K, Holubec KV, Love J, et al. Microgravity affects cluster formation, differentiation, and cytoskeleton organization of raucserch murine erythro-leukemia cells[J]. J Gravit Space Bio Bulletin, 2003, 17(1): 2.
- [35] Hughes-Fulford M. Function of the cytoskeleton in gravisensing during spaceflight[J]. Adv Space Res, 2003, 32(8): 1585 - 1593.

(收稿日期: 2004-10-13)