

文章编号: 1007-4627(2014)02-0201-09

重离子诱导细胞衰老研究

叶才勇^{1, 2, 3}, 张亚楠¹, 王菊芳¹, 周光明¹

(1. 中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000;
2. 中国科学院重离子束辐射生物学重点实验室, 兰州 730000;
3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 综述了细胞衰老诱导因素和衰老细胞的特征, 提出细胞衰老在癌症发生发展过程中具有双重作用效应。同时, 以 X 射线和¹²C⁶⁺离子束对黑色素瘤细胞系 92-1 或人正常成纤维细胞系 MRC5 进行辐照, 观察分析 DNA 损伤应答效应和细胞衰老诱导。实验结果表明, 相对于 X 射线, ¹²C⁶⁺离子束能导致 DNA 团簇损伤, 持续激活 DNA 损伤应答, 更容易诱导细胞衰老; ¹²C⁶⁺离子束能同时诱导癌细胞和正常细胞衰老。这些实验结果暗示开展¹²C⁶⁺离子束诱导细胞衰老研究具有紧迫性。

关键词: 细胞衰老; 肿瘤发生; DNA 团簇损伤; 碳离子束

中图分类号: Q691 **文献标志码:** A **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.31.02.201

1 引言

1961 年, Hayflick 发现体外培养的细胞, 在经历有限次的细胞分裂后, 最终走向细胞衰老^[1]。细胞衰老是独立于细胞凋亡的另外一种死亡方式, 不同于凋亡细胞, 这种衰老细胞能在体内存活数年^[2]。虽然细胞衰老已经被研究了几十年, 但是由于实验技术限制和细胞衰老的复杂性, 细胞衰老的机理和细胞衰老的生物学后果一直不清楚。传统观点认为, 细胞衰老通过诱导细胞周期停顿, 抑制细胞增殖, 从而抑制癌症的发生^[3]。但是近年来, 这种观点却受到挑战。首先, 体外实验发现, 衰老细胞通过激活 p38 信号通路, 诱导大量炎症因子和趋化因子表达和分泌^[4], 而这些因子通过旁分泌机制, 诱导临近细胞增殖^[5]; 此外, 体内实验表明, 不能清除衰老细胞的小鼠, 肿瘤易发, 暗示细胞衰老能促进肿瘤的发生^[6]。因此, 细胞衰老在癌症发生和发展过程中起到双重的作用。

放化疗是癌症治疗的重要手段之一, 而大多数化疗药物和电离辐射, 通过直接或间接的作用, 导致 DNA 损伤, 诱导细胞衰老^[7]。实验表明, 重离子也能诱导细胞衰老。低剂量(1 mGy)¹²C⁶⁺离

子辐照 HFLIII 细胞, 促使其提前衰老^[8]; 大剂量(6 Gy)¹²C⁶⁺离子辐照 NP-2 细胞, 虽然主要诱导细胞凋亡和自噬, 但也有不到 1% 的细胞呈现衰老特征^[9]。这些研究都只停留在¹²C⁶⁺离子诱导细胞衰老的现象描述上, 其机理还需进一步的研究。

最近两项研究发现, 电离辐射诱导的细胞衰老, 来源于持续不可修复的 DNA 损伤, 而这种不可修复的 DNA 损伤位于染色体的端粒部分^[10-11], 但是其详细的机理还不清楚。相较于常规电离辐射, 重离子能诱导较难修复的 DNA 团簇损伤^[12], 暗示其更容易导致细胞衰老。虽然国外开展重离子癌症治疗多年, 已经取得很多有意义的临床实验结果, 但是这些研究都仅限于想象描述, 比如重离子能导致 DNA 团簇损伤, 诱导细胞衰老, 其机理却不得而知, 而在国内, 只有中国科学院近代物理研究所依托兰州重离子研究装置(HIRFL), 进行重离子癌症治疗的研究, 且处于起步阶段, 因此, 开展重离子诱导细胞衰老相关机理研究, 具有非常重要的科学意义。

本文通过探讨诱导细胞衰老的类型, 以及衰老细胞的特征, 提出细胞衰老在肿瘤发生发展过程中的双

收稿日期: 2013-05-14; 修改日期: 2013-05-27

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(973 计划)(2010CB834201); 国家自然科学基金资助项目(U1232125)

作者简介: 叶才勇(1983-), 男, 云南宣威人, 博士研究生, 从事辐射生物效应研究; E-mail: ycyletter@sina.com

通信作者: 王菊芳, E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn; 周光明, E-mail: zhoug@impcas.ac.cn.

<http://www.npr.ac.cn>

重作用, 并为重离子诱导细胞衰老提供评判依据; 同时, 比对重离子与常规电离辐射诱导细胞 DNA 损伤, 诱发细胞衰老, 为重离子治癌积累数据。

2 细胞衰老的诱导因素

根据细胞衰老的诱导因素, 细胞衰老可分为复制型衰老和胁迫诱导的衰老。

2.1 复制型衰老

复制型衰老的产生与染色体端粒变短及 DNA 损伤有关。体外培养的原代细胞会经历 3 个阶段, 少数细胞分裂阶段、快速的细胞增殖阶段和逐渐的细胞分裂阻滞阶段, 最后进入衰老性的细胞死亡通路^[1]。体外细胞培养伴随染色体端粒变短, 虽然人的端粒长度从几千到 15 kb 不等, 但是与干细胞不同, 体细胞不能表达端粒酶, 伴随体外细胞原代培养, DNA 多聚酶不能复制滞后链, 形成端部复制问题, 每经过一次细胞分裂, 细胞会缺失 50-200 bp 的端部 DNA^[13], 从而导致端粒逐渐变短, 诱导细胞增殖阻滞, 也叫“Hayflick limit”。因端粒变短而导致细胞衰老的证据还来源于, 异位表达端粒酶 hTERT 时, 能克服细胞衰老阻滞^[14]。当端粒变短达到一定的阈值后, 端粒结合蛋白不能有效地保护端粒, 形成 DNA 双链断裂, 激活 DNA 损伤应答 (DDR, DNA damage response), 磷酸化 H2AX, 从而募集下游效应因子, 如 53BP1, NBS1 和 MDC1 等。这些改变能短暂地激活细胞周期阻滞, 为细胞修复赢得时间, 然而, 一旦 DNA 损伤超过一定的阈值, 就不能被有效地修复, 而是持续激活 DDR, 就会诱导长期的细胞周期阻滞, 导致细胞凋亡或衰老。

2.2 胁迫诱导的衰老

除了端粒依赖的复制型衰老以外, DNA 损伤、肿瘤基因激活和抑癌基因失活也能诱导细胞衰老。

2.2.1 DNA 损伤胁迫诱导细胞衰老

在复制型细胞衰老过程中, 端粒变短持续地激活 DNA 损伤应答, 从而诱导细胞周期长期阻滞, 最终导致细胞衰老。同样 DNA 损伤药物 doxorubicin、或者 X 射线也能导致大量的 DSBs 产生, 虽然大部分损伤很快被修复, 但是少部分 DSBs 持续不可修复, 最终导致细胞衰老^[15-16]。最近两个课题组,

用 immuno-FISH 技术, 发现这种不可修复的 DSBs 共定位于染色体端粒处^[10-11]。长期的进化机制, 使端粒具有抑制 DSBs 修复的能力, 以保持线性化的染色体, 避免染色体末端融合, 诱导基因组不稳定^[11]。因此体外胁迫诱导的细胞衰老, 和复制型衰老一样, 同样依赖于端粒处的 DNA 损伤。

2.2.2 肿瘤基因组激活诱导细胞衰老 (OIS, Oncogene-Induced Senescence)

癌症的发生伴随基因突变, 因此认为基因突变是癌症发生的原因, 但是实验中发现, 将肿瘤基因 *H-ras*^{V12} 导入正常细胞 IMR90, 并不能促进细胞增殖和转化, 反而诱导细胞衰老^[17-18], 而这种细胞衰老的诱导, 依赖于 p53 和 p16^{INK4A}-pRB 信号通路。但是细胞具体通过哪条信号通路, 具有物种特异性。小鼠细胞中, p19^{ARF} 作为 p53 的抑制因子, 可能起到感应因子的作用, p19^{ARF} 或 p53 突变能绕过 Ras^{V12} 诱导的衰老^[18], 而对于人的细胞, p16^{INK4A} 似乎比 p53 的作用更加明显^[19]。肿瘤基因突变诱导细胞衰老的机制并不是很普遍, 与细胞的类型和遗传品质有关, 比如失活 p16^{INK4A}-pRB 通路, 能抑制 Ras^{V12} 诱导的细胞衰老^[18], 而失活 p16^{INK4A} 或者是同时沉默 p14^{ARF}, 并不影响 BRAF^{E600} 触发的细胞衰老^[20-21]。癌基因诱导细胞衰老, 可能是癌基因激活诱导基因组复制, 产生复制压力。当癌基因激活时, 通过激活 Ras 和 mTOR 信号通路, 促进细胞增殖, 诱导基因组复制, 但是细胞为了保证基因组的稳定性, 一次细胞周期只能复制一次, 导致复制压的产生, 激活 DDR 通路, 诱导细胞周期阻滞, 从而抑制肿瘤的形成^[22]。此外, 细胞衰老也可通过抑制原初细胞向多能干细胞转换, 抑制癌干细胞的产生, 从而起到抑癌的作用^[23]。

2.2.3 肿瘤抑制因子缺失诱导细胞衰老

类似于癌基因突变激活或过表达能诱导细胞衰老, 抑癌基因的缺失或突变失活, 同样能诱导细胞衰老, 缺失 *PTEN* 基因的小鼠 MEF 细胞, 能激活 p53 表达, 诱导细胞衰老, 而 p53 缺失的细胞能够克服这种衰老效应^[24]。同样的, 抑癌基因 *NF1* 的缺失也能诱导衰老, 并伴随 ERK 和 AKT 信号通路的激活^[25]。另外一个肿瘤抑制因子 VHL 的缺失也能诱导细胞衰老, 可能是通过 pRB 和 p400 信号通路^[26]。

3 细胞衰老的标志及其鉴定

人体主要由少数的有丝分裂细胞和大部分的有丝分裂后细胞组成。这些少数的有丝分裂细胞对机体的维持是必不可少的, 它们主要参与组织或器官的更新和维持。在这些细胞中, 如果发生肿瘤基因突变或端粒危机, 就可能诱导细胞衰老, 呈现多种复杂的细胞衰老特征。

3.1 细胞周期阻滞

长期退出细胞周期是衰老最重要的特征之一, 但是复制失活并不代表细胞衰老, 因为有丝分裂后细胞 (post-mitotic cells) 也有类似的复制停顿, 它们之间根本的不同是, 分化阻滞是生理过程, 并不伴随肿瘤抑制因子调控网络的激活。早期研究认为衰老性的细胞周期阻滞是不可逆的^[27], 但近年来这个观点却受到了挑战, 尽管细胞通过Rb依赖的异染色质结构和激活其它抑制因子将细胞锁定在衰老状态, 但细胞可通过多种方式重新进入细胞周期。例如 p53 或白细胞介素失活都能消除衰老引起的细胞周期阻滞^[28-30]; 具有衰老特征的黑色素细胞痣, 通过分泌大量的炎症因子和趋化因子, 为少部分细胞逃脱细胞周期阻滞提供微环境, 最终形成黑色素瘤^[31]。

3.2 形态改变

衰老细胞常常伴随细胞形态的改变, 如变大、扁平、多核等(如图1所示)。扁平的细胞形态比较普遍, 如肿瘤基因 *H-ras*^{V12} 和 DNA 损伤诱导的衰老等^[32]。体外诱导 BRAF^{E600} 表达或 p400 沉默, 同样能诱导衰老, 但是这种细胞呈现梭形的形态^[20,33], 黑色素细胞经 Ras^{V12} 诱导后也显示衰老特征, 但同时伴随大量空泡的出现, 这些空泡的来源, 可能与大量未折叠或者错误折叠的蛋白有关, 这些错误折叠的蛋白能导致内质网胁迫^[32]。

3.3 诱导 β 半乳糖苷酶表达

β 半乳糖苷酶, 作为细胞衰老标志被普遍使用。在细胞衰老过程中, β 半乳糖苷酶表达上调, 但是非衰老细胞的 β 半乳糖苷酶也会被激活^[34], 因为接触抑制或血清饥饿的细胞或组织, 以及分裂失调的胃肠道表皮细胞 β 半乳糖苷酶都会呈阳性^[35-36]。

3.4 衰老伴随的异染色质 foci(SAHF)

衰老细胞伴随染色体结构改变, 非衰老细胞 DNA 经 DAPI 染色后, 其细胞核均匀分布, 呈现同质性, 而衰老细胞核呈现明显的点状富集(如图 1 所示)^[37], 就像 DNA 损伤形成的 foci 一样, 所以被称为 SAHF。由组蛋白甲基化转移酶 Suv39h1, 结合到 E2F 靶向基因的启动子区, 调节组蛋白 H3-Lys9 甲基化, 形成高甲基化的异染色质, 抑制基因转录, 从而抑制蛋白表达。最近实验表明, microRNA 也可能参与了 SAHF(Senescence-associated Heterochromatin Foci) 的形成, 通过 AGO2, 将 microRNA 定位到 E2F 靶向基因的启动子区, 诱导启动子甲基化修饰^[37]。

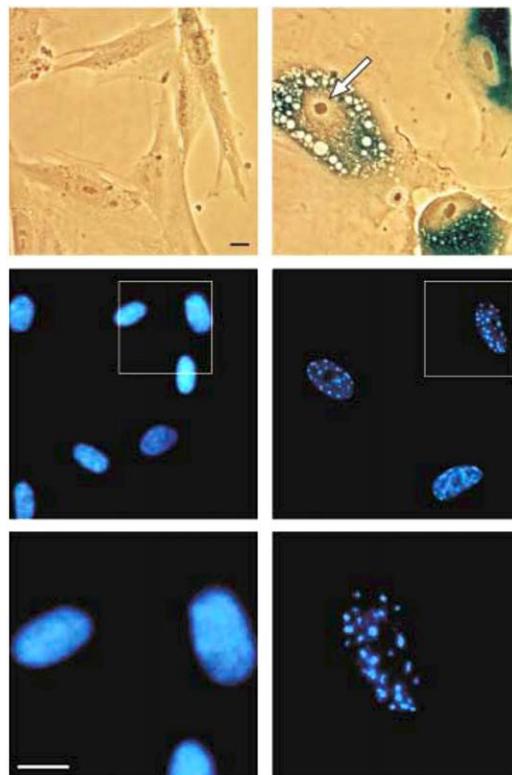


图 1 (在线彩图) 衰老伴随的异染色质 foci^[37]
ras 基因诱导 IMR90 细胞衰老, 对照细胞和衰老细胞的细胞核, 经 DAPI 染色后, 荧光显微镜成像。

p53 与 SAHF 的关系, 与细胞的衰老类型有关。在肿瘤基因诱导的衰老细胞或者复制型衰老细胞中, SAHF 的形成与 p16^{INK4A}-pRB 通路有关, p16^{INK4A} 基因经过 siRNA 干扰后, 细胞绕过衰老。此外, 抑制 p53, *C/EBP β* 或 *IL-6* 等基因的表达, 也能减少 SAHF 的形成, 同时消除细胞衰

老^[38-39]。染色体浓缩的起始可能与HIRA和PML(Promyelocytic Leukemia Nuclear)有关,其基因的沉默能部分克服细胞衰老,然而SAHF的形成只出现在肿瘤基因突变诱导的衰老和复制型衰老细胞中^[40],而在其它类型的衰老细胞中,p53激活可能拮抗SAHF的形成,因为DNA损伤药物或者辐照胁迫,主要是通过激活p53信号通路,诱导细胞衰老,在我们的实验中,91-1细胞p16启动子被高甲基化失活,但是电离辐照胁迫后,仍然诱导衰老,然而这种衰老细胞缺乏SAHF特征^[41]。最近实验发现,p53激活,直接抑制Suv39h1的表达,从而抑制SAHF的形成^[42]。

3.5 分泌因子

经历衰老的细胞,细胞周期相关基因被抑制,而分泌型的基因被转录激活,包括细胞因子和趋化因子^[43],芯片分析揭示这些因子多数与炎症有关^[44]。衰老细胞分泌促炎症因子,能刺激细胞做出应答,如癌前细胞与衰老的成纤维细胞共同培养,能促进癌前细胞的分裂、迁移(migration)和浸润(invasion)^[45-46]。此外一些炎症因子,如IL-6和IL-8等的分泌,能进一步维持衰老性的细胞周期阻滞,其表达依赖于转录因子C/EBP和NF- κ b信号通路的激活^[47]。目前认为,衰老细胞通过分泌因子,为癌前细胞的增殖提供微环境,促进肿瘤的发生;另一方面,衰老细胞分泌的部分因子,抑制衰老细胞增殖,也可通过激活免疫系统,清除受损细胞,从而抑制肿瘤的扩增。

3.6 活性氧(ROS)

氧水平能影响原代细胞培养的复制潜能,低浓度的氧压能够阻止OIS的发生,也能抑制MEF细胞中胁迫诱导的衰老^[48]。目前认为,ROS通过诱导DNA损伤和p21的表达,诱导细胞衰老,同时与PKC形成一个正反馈调节通路,维持衰老类似的细胞周期阻滞^[49]。

3.7 衰老细胞的鉴定

衰老细胞常常伴随分裂缺失、形态改变、 β 半乳糖苷酶激活、SAHF形成、DDR激活、同时伴随p16^{INK4A}, p15^{INK4B}, p21^{CIP1}和p53等的激活表达^[50],此外还伴随一些炎症因子的分泌,但是不同类

型的损伤导致的衰老,其分子标志可能不同。尽管 β 半乳糖苷酶的激活,被普遍作为衰老的分子标志,但不能作为唯一的标志,因为非衰老细胞 β 半乳糖苷酶表达也会上调。同时SAHF只出现在复制型衰老和OIS,而非DNA损伤药物或电离辐照诱导的细胞衰老。此外,衰老细胞也可能呈现不同的形态特征。但是细胞不可逆地退出细胞周期和 β 半乳糖苷酶表达上调,是所有细胞衰老类型所共有的特征,因此实验中可以用这两个特征来区分细胞是否衰老。

4 细胞衰老在肿瘤发生发展过程中的双重作用

正是衰老细胞具有的2个主要特征,即长期细胞周期阻滞和分泌大量炎症因子和趋化因子,决定了细胞衰老在肿瘤发生和发展过程中的双重作用。肿瘤的发生往往伴随基因突变和DDR的激活^[50-51],而体外实验表明,肿瘤基因突变或者持续激活DDR,都能诱导细胞不可逆地退出细胞周期,进入细胞衰老通路^[7, 18, 52],暗示衰老在癌症早期发展阶段起抑制作用。但是如果这种衰老细胞不能被免疫系统有效地清除,往往导致癌症的发生^[6],这与衰老细胞分泌大量炎症因子或趋化因子有关,体外实验也发现,衰老细胞分泌的因子,可以通过旁分泌途径,诱导临近细胞增殖,从而促进肿瘤的发生^[5],这又提示衰老细胞能促进肿瘤的形成。

5 研究重离子诱导细胞衰老在重离子治癌中作用的紧迫性

5.1 X射线辐射诱导细胞衰老

黑色素瘤细胞92-1经10 Gy X射线或重离子处理后,诱导细胞周期长期阻滞,其中G1/S期阻滞约占40%,G2/M期阻滞约占50%,并维持这种比率直到检测的第6天,且未观察到细胞的增殖和凋亡^[41]。细胞周期长期阻滞的表型,提示辐照处理92-1细胞后,可能激活细胞衰老通路,因为细胞衰老最重要的一个特征就是细胞不可逆地退出细胞周期。如图2所示,92-1细胞经10 Gy X射线处理后, β 半乳糖苷酶表达上调,且阳性细胞比例随着时间的延长而增加,到第5天约50%的细胞都进入衰老性的细胞死亡通路,并且这种细胞呈现变大、扁平的形态特征。

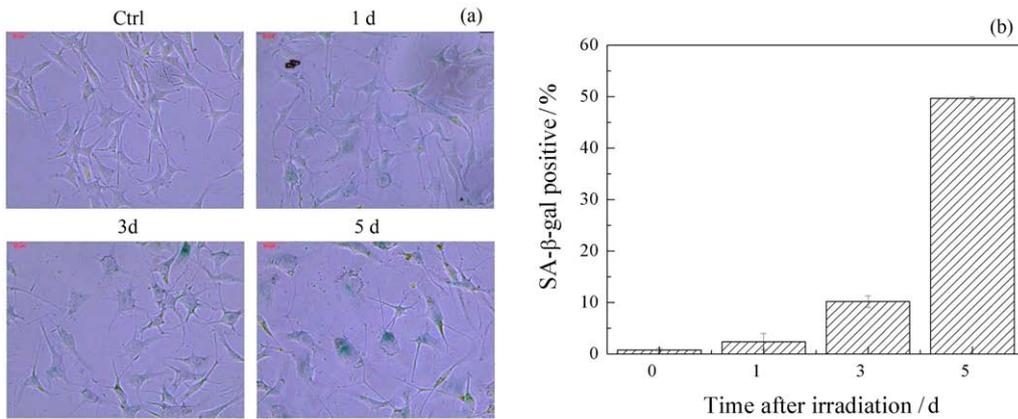


图 2 (在线彩图) X 射线诱导 92-1 细胞衰老

(a) 92-1 细胞经 10 Gy X 射线辐照处理后, 相应的时间取样, β 半乳糖苷酶检测试剂盒染色, 显微镜成像; (b) 并统计 β 半乳糖苷酶阳性细胞所占比率。

5.2 β 半乳糖苷酶上调与细胞衰老

β 半乳糖苷酶表达上调, 作为细胞衰老标志被普遍使用。之前的实验发现, OCM-1 辐照胁迫后, 并不诱导细胞衰老, 经过短暂细胞周期阻滞, 又恢复到下一轮的细胞周期^[41], 但是其 β -半乳糖苷酶却显著上调(如图 3 所示)。因此, 在判断细胞是否衰老时, 还应该结合其他衰老标志。

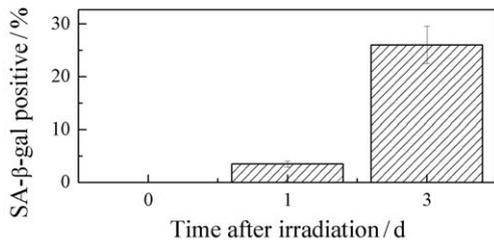


图 3 X 射线诱导 OCM-1 细胞 β 半乳糖苷酶表达上调

5.3 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱导细胞衰老

关于重离子诱导细胞衰老的研究, 还很少有报道。之前的实验结果表明, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束也能诱导 92-1 细胞周期停顿^[41], 暗示 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照同样能诱导细胞衰老, 为了验证这个假设, 92-1 细胞经 0.5 Gy 或 5 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照处理, 5 天后检测 β 半乳糖苷酶的表达。如图 4(a) 所示, β 半乳糖苷酶表达上调, 甚至在 0.5 Gy 处理的细胞中, 也观察到少数衰老细胞。

$^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束治癌涉及到 2 种细胞, 即正常细胞和肿瘤细胞, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束在诱导癌细胞衰老的同时, 是否也能诱导正常细胞衰老? 采用与 92-1 细胞相同处理, 同样在 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照后的正常细胞 MRC5 中, 观察到细胞衰老效应(如图 4(b) 所示)。

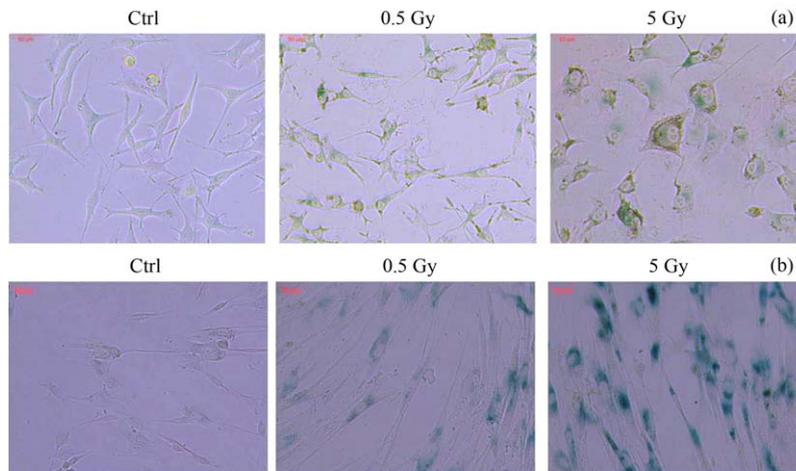


图 4 (在线彩图) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱导细胞衰老

92-1 细胞 (a) 和 MRC5 细胞 (b) 经 0.5 Gy 或 5 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照处理后的第 5 天, 检测 β 半乳糖苷酶的表达, 显微镜成像。

5.4 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱导细胞衰老与 SAHF

为了观察 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐射诱导细胞衰老, 是否伴随 SAHF 的出现, 92-1 和 MRC5 细胞被 5 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照处理, 5 d 后 DAPI 染色观察细

胞核的形态特征, 如图 5 所示, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照处理后, 92-1 细胞和 MRC5 细胞的细胞核都变大, 但是并不伴随 SAHF 的出现, 与报道中的 SAHF 只出现在复制型衰老和 OIS 的结果一致。

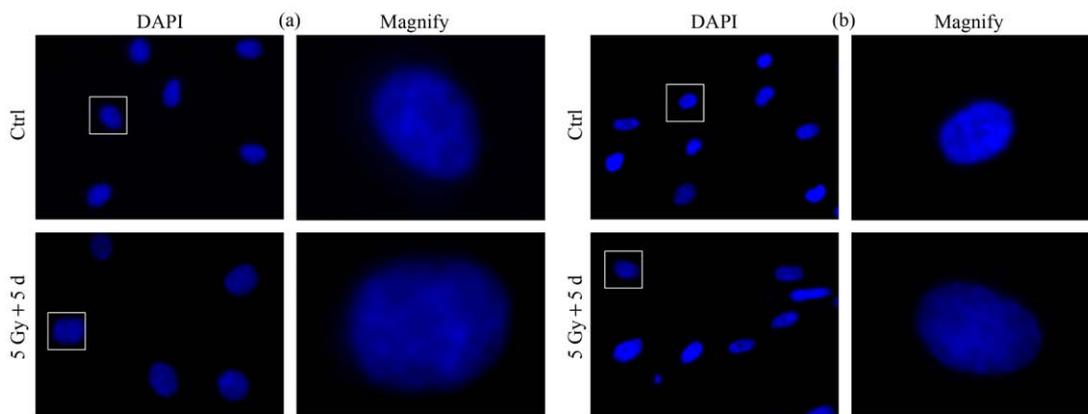


图 5 (在线彩图) X 射线诱导 92-1 和 MRC5 细胞衰老
92-1 细胞 (a) 和 MRC5 细胞 (b) 经 5 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束辐照处理后的第 5 天, DAPI 染色, 显微镜成像观察细胞核形态。

5.5 重离子导致 DNA 团簇损伤, 诱导细胞衰老

细胞衰老, 来源于不可修复的 DNA 损伤, 为了对比重离子和常规辐射诱导细胞衰老的区别, 92-1 细胞经相同剂量的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子和 X 射线处理后, 通过检测双链端粒识别因子 53BP1 形成的 foci, 反映 DNA 双链断裂水平, 其 foci 的大小, 反映损伤的程度。实验结果表明, X 射线诱导的 DNA 损伤呈

弥散状, 均匀分布于细胞核, 且产生的 53BP1 foci 较小, 而 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱导的 DNA 损伤呈不规则分布, 53BP1 foci 比较亮, 且比 X 射线诱导的 foci 大得多 (如图 6 所示), 暗示重离子辐照诱导更为复杂的 DNA 损伤, 即 DNA 团簇损伤^[12], 而这种损伤能形成明显的径迹效应, 在 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子穿过的路径上, 形成线性化的 DNA 损伤 (如图 7 所示)。

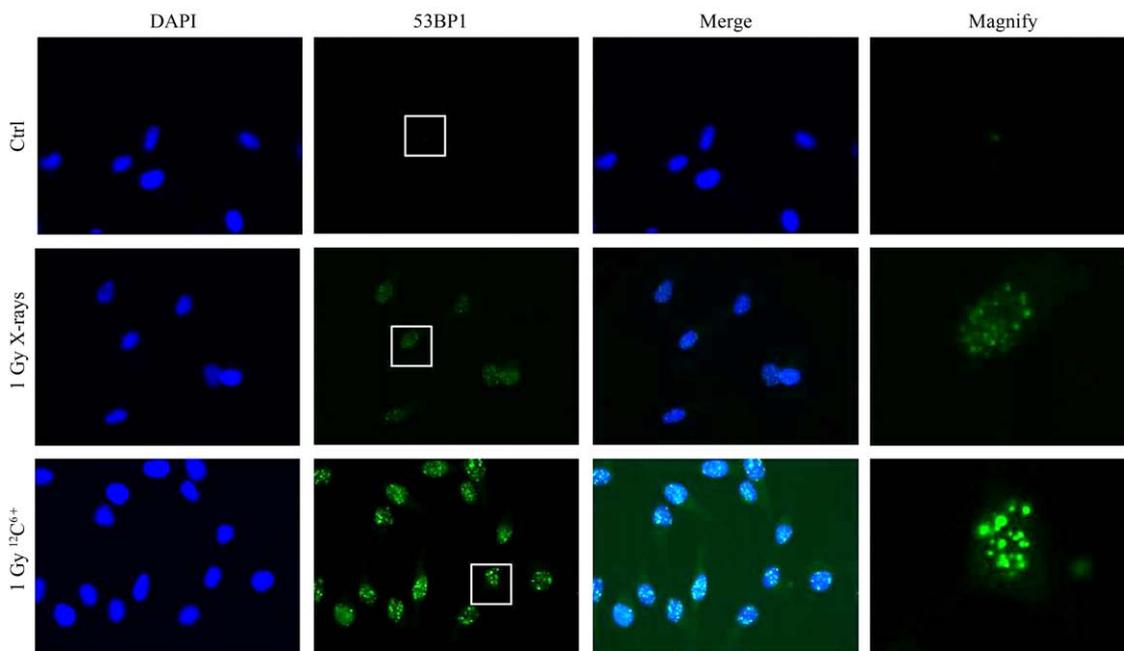
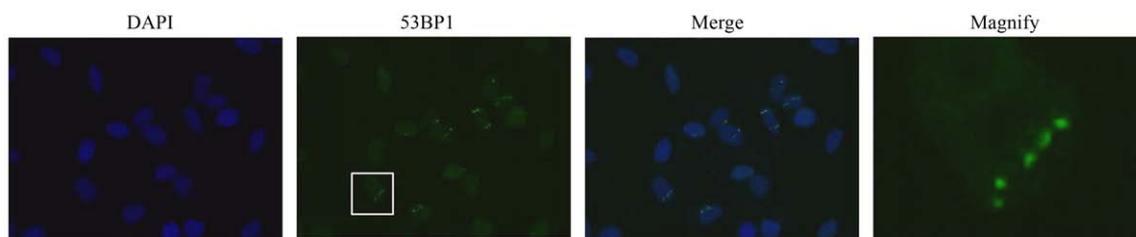


图 6 (在线彩图) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱导 DNA 团簇损伤
1 Gy X 射线或 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子处理 92-1 细胞, 继续培养 1 h 后, 免疫细胞化学检测 DNA 损伤。

图7 (在线彩图) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子径迹

1 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束水平照射 92-1 细胞, 免疫细胞化学显示 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子的运动轨迹。

6 展望

由于重离子具有尖锐的 Bragg 峰、低氧依赖性和对癌干细胞的超杀效应, 能够很好地减少对正常组织的损伤, 最大限度地杀死癌细胞, 因此, 开展重离子束的临床癌症治疗, 具有很好的前景。重离子相较于常规的 X 射线或 γ 射线, 能产生大量的不可修复的 DNA 团簇损伤^[12], 持续地激活 DDR, 诱导细胞周期阻滞, 而持续的 DDR 激活, 正是诱导细胞衰老的原因之一。此外, 细胞衰老对于肿瘤的发生具有双重作用, 一方面, 细胞衰老可以抑制肿瘤的发生, 通过诱导损伤细胞进入细胞衰老, 从而抑制其增殖, 同时也可通过其分泌的炎症因子, 激活免疫系统, 清除衰老细胞; 但另一方面, 如果衰老的细胞不能被机体有效清除, 这些衰老细胞会分泌大量趋化因子和炎症因子, 刺激临近细胞增殖, 导致肿瘤的发生。因此, 在重离子治疗癌症过程中, 通过平衡细胞衰老在癌症发生发展过程中的双重作用, 即在促进细胞衰老抑癌作用的同时, 抑制细胞衰老促癌作用, 以达到最大限度地杀死癌细胞, 尽量避免二次肿瘤发生的目的。

参考文献:

- [1] HAYFLICK L, MOORHEAD P S. *Experimental Cell Research*, 1961, **25**: 585.
- [2] YEGOROV Y E, ZELENIN A V. *FEBS Letters*, 2003, **541**(1/3): 6.
- [3] ACOSTA J C, GIL J. *Trends in Cell Biology*, 2012, **22**(4): 211.
- [4] FREUND A, PATIL C K, CAMPISI J. *The EMBO Journal*, 2011, **30**(8): 1536.
- [5] JACKSON J G, PANT V, LI Q, *et al.* *Cancer Cell*, 2012, **21**(6): 793.
- [6] KANG T W, YEVS A T, WOLLER N, *et al.* *Nature*, 2011, **479**(7374): 547.
- [7] HONG E H, LEE S J, KIM J S, *et al.* *The Journal of Biological Chemistry*, 2010, **285**(2): 1283.
- [8] OKADA M, OKABE A, UCHIHORI Y, *et al.* *British Journal of Cancer*, 2007, **96**(11): 1707.
- [9] JINNO-OUE A, SHIMIZU N, HAMADA N, *et al.* *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 2010, **76**(1): 229.
- [10] HEWITT G, JURK D, MARQUES F D, *et al.* *Nature Communications*, 2012, **3**: 708.
- [11] FUMAGALLI M, ROSSIELLO F, CLERICI M, *et al.* *Nature Cell Biology*, 2012, **14**(4): 355.
- [12] ASAITHAMBY A, HU B, CHEN D J. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, **108**(20): 8293.
- [13] HARLEY C B, FUTCHER A B, GREIDER C W. *Nature*, 1990, **345**(6274): 458.
- [14] BODNAR A G, OUELLETTE M, FROLKIS M, *et al.* *Science*, 1998, **279**(5349): 349.
- [15] WIEBUSCH L, HAGEMEIERS C. *Oncogene*, 2010, **29**(24): 3477.
- [16] SEDELNIKOVA O A, HORIKAWA I, ZIMONJIC D B, *et al.* *Nature Cell Biology*, 2004, **6**(2): 168.
- [17] GORGOLIS V G, HALAZONETIS T D. *Current Opinion in Cell Biology*, **22**(6): 816.
- [18] SERRANO M, LIN A W, MCCURRACH M E, *et al.* *Cell*, 1997, **88**(5): 593.
- [19] BEN-PORATH I, WEINBERG R A. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, **37**(5): 961.
- [20] MICHALOGLOU C, VREDEVELD L C, SOENGAS M S, *et al.* *Nature*, 2005, **436**(7051): 720.
- [21] HAFERKAMP S, SCURR L L, BECKER T M, *et al.* *The Journal of Investigative Dermatology*, 2009, **129**(8): 1983.
- [22] BLAGOSKLONNY M V. *Journal of Cellular Physiology*, 2006, **209**(3): 592.
- [23] BANITO A, RASHID S T, ACOSTA J C, *et al.* *Genes & Development*, 2009, **23**(18): 2134.
- [24] CHEN Z, TROTMAN L C, SHAFFER D, *et al.* *Nature*, 2005, **436**(7051): 725.
- [25] COURTOIS-COX S, GENTHER WILLIAMS S M, Reczek

- E E, *et al.* *Cancer Cell*, 2006, **10**(6): 459.
- [26] YOUNG A P, SCHLISIO S, MINAMISHIMA Y A, *et al.* *Nature Cell Biology*, 2008, **10**(3): 361.
- [27] ZHU J, WOODS D, MCMAHON M, *et al.* *Genes & Development*, 1998, **12**(19): 2997.
- [28] BEAUSEJOUR C M, KRTOLICA A, Galimi F, *et al.* *The EMBO Journal*, 2003, **22**(16): 4212.
- [29] DIRAC A M, BERNARDS R. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(14): 11731.
- [30] COPPE J P, PATIL C K, RODIER F, *et al.* *PLoS Biology*, 2008, **6**(12): 2853.
- [31] PARK H K, LEONARD D D, ARRINGTON J H, *et al.* *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1987, **17**(2 Pt 1): 285.
- [32] DENOYELLE C, ABOU-RJAILY G, BEZROOKOVE V, *et al.* *Nature Cell Biology*, 2006, **8**(10): 1053.
- [33] SAMUELSON A V, NARITA M, CHAN H M, *et al.* *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, **280**(23): 21915.
- [34] HANNA J, SAHA K, PANDO B, *et al.* *Nature*, 2009, **462**(7273): 595.
- [35] YANG N C, HU M L. *Experimental Gerontology*, 2005, **40**(10): 813.
- [36] GOING J J, STUART R C, DOWNIE M, *et al.* *The Journal of Pathology*, 2002, **196**(4): 394.
- [37] NARITA M, NUNEZ S, HEARD E, *et al.* *Cell*, 2003, **113**(6): 703.
- [38] CHAN H M, NARITA M, LOWE S W, *et al.* *Genes & Development*, 2005, **19**(2): 196.
- [39] YE X, ZERLANKO B, KENNEDY A, *et al.* *Molecular Cell*, 2007, **27**(2): 183.
- [40] NARITA M, NUNEZ S, HEARD E, *et al.* *Cell*, 2003, **113**(6): 703.
- [41] HE J, LI J, YE C, *et al.* *Cell Cycle*, 2011, **10**(9): 1468.
- [42] MUNGAMURI S K, BENSON E K, WANG S, *et al.* *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, **19**(5): 478.
- [43] CAMPISI J. *Cell*, 2005, **120**(4): 513.
- [44] SHELTON D N, CHANG E, WHITTIER P S, *et al.* *Curr Biol*, 1999, **9**(17): 939.
- [45] KRTOLICA A, PARRINELLO S, LOCKETT S, *et al.* *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, **98**(21): 12072.
- [46] YANG G, ROSEN D G, ZHANG Z, *et al.* *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, **103**(44): 16472.
- [47] ACOSTA J C, O'LOGHLEN A, BANITO A, *et al.* *Cell Cycle*, 2008, **7**(19): 2956.
- [48] PARRINELLO S, SAMPER E, KRTOLICA A, *et al.* *Nature Cell Biology*, 2003, **5**(8): 741.
- [49] TAKAHASHI A, OHTANI N, YAMAKOSHI K, *et al.* *Nature Cell Biology*, 2006, **8**(11): 1291.
- [50] COLLADO M, GIL J, EFEYAN A, *et al.* *Nature*, 2005, **436**(7051): 642.
- [51] BARTKOVA J, HOREJSI Z, KOED K, *et al.* *Nature*, 2005, **434**(7035): 864.
- [52] LEONARDO A D, LINKE S P, CLARKIN K, *et al.* *Genes & Development*, 1994, **8**(21): 2540.

Research on Cellular Senescence Induced by Heavy Ion

YE Caiyong^{1, 2, 3}, ZHANG Yanan¹, WANG Jufang¹, ZHOU Guangming¹

(1. *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

2. *Key Laboratory of Heavy Ion Radiation Biology and Medicine of Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

3. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)*

Abstract: Cellular senescence played double roles in the genesis and development of cancer, which was put forward through reviewing the cases and characteristics of cellular senescence. In addition, human uveal melanoma cells and human fetal lung fibroblast (MRC5) cells were irradiated by X-rays or $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beam. DNA damage response (DDR) and cellular senescence were analyzed. The results showed that DDR was activated persistently by the unrepairable clustered DNA damage, which indicated that inducing same ratios of cellular senescence needed lower doses of $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beam than X-rays. Furthermore, both 92-1 cells and MRC5 cells treated by carbon ion beam underwent cellular senescence. These results pointed out the urgency to investigate the mechanism of cellular senescence induced by $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beam.

Key words: cellular senescence; tumorigenesis; clustered DNA damage; carbon ion beam

Received date: 14 May 2013; **Revised date:** 27 May 2013

Foundation item: National Basic Research Program of China(973 Program) (2010CB834201); National Natural Science Foundation of China(U1232125).

Corresponding author: WANG Jufang, E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn;
ZHOU Guangming, E-mail: zhougm@impcas.ac.cn.

<http://www.npr.ac.cn>