

· 综述 ·

微波辐射对基因表达和相关信号通路的影响

赵黎 彭瑞云

微波是一种频率在 300 MHz ~ 300 GHz 的电磁波。随着微波技术广泛应用于农业、交通、通讯、医疗和军事等各领域,其所引起的生物效应越来越受到人们的关注。一定强度的微波辐射可通过热和(或)非热效应造成机体损伤,进而影响中枢神经、心血管、内分泌、消化、造血和免疫等系统的形态和功能、个体的生长发育以及肿瘤的发生等。近年来,对微波的生物效应及其机制的研究不断深入,特别是从基因及蛋白水平探讨微波对生物体的作用已成为研究的热点。本文就微波辐射后基因表达、差异基因和蛋白的筛选以及相关信号通路的变化进行综述。

微波辐射对基因表达的影响

一、热休克蛋白

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一组在结构上高度保守的多肽,参与细胞损伤与修复。许多研究表明,HSP 在正常机体组织中不表达或低表达。在应激等不利条件下,HSP 可以通过提高细胞的抵抗力、增强细胞的耐受程度等,维持其正常代谢和功能,起到应激保护作用^[1]。

一些研究者认为,微波辐射可引起 HSP 表达升高。Frize 等^[2]采用 900 MHz,比吸收率(specific absorption rate, SAR)为 7.5 W/kg 的微波辐射雄性 Wistar 大鼠 4 h,辐射后即刻大鼠脑组织中 HSP70 mRNA 轻度增高,但未见相应蛋白改变。作者认为,热效应可能是 HSP70 mRNA 表达变化的主要原因。Walters 等^[3]采用 2.06 GHz、平均功率密度为 2.2 W/cm² 高功率微波辐射 Sprague-Dawley 大鼠 6 个月及 25 个月。结果表明,在限制摄食的情况下,辐射后 6 h 和 24 h,在大鼠前脑区和背侧脑区中均可检测到 HSP70 表达增加,作者认为上述效应与脑温度升高有关。

但也有研究认为,微波辐射并不能引起 HSP 表达改变。Miyakoshi 等^[4]采用 1 950 MHz, SAR 值分别为 1, 2, 10 W/kg 的微波辐射人类神经胶质瘤细胞 MO54 2 h,辐射后 1 h 和 2 h HSP27 和 HSP70 表达与对照组相比差异均无统计学意义。

微波引起 HSP 表达改变的机制尚未明确。有研究认为微波引起 HSP 表达的改变可能与其参与凋亡信号通路有关。Leszczynski 等^[5]认为 HSP 的上调是细胞对应激的一种正常保护反应,但长期或大量表达则可能诱导 p38MAPK/HSP27 信号通路,一方面通过抑制细胞色素 C/caspase-3 凋亡通路而促进肿瘤的生长;另一方面通过稳定内皮细胞张力丝而增加血脑屏障的通透性,并影响细胞凋亡过程。

二、即早基因

即早基因(immediate early genes, IEGs)是一类对胞外刺激因子作出快速应答的基因,在刺激后数分钟即可激活转录并表

达。IEGs 产物的靶基因可以是维持细胞生命所必需的“管家基因”,也可以是编码不同细胞类型特异产物的“组织特异基因”,其表达改变可能与细胞损伤、学习记忆障碍以及脑肿瘤的发生等有关^[6]。典型代表基因有 c-fos 和 c-jun。

一些研究认为,微波辐射可引起 IEGs 表达升高。Ivaschuk 等^[7]采用 836 MHz、9 mW/cm² 微波辐射大鼠嗜铬细胞瘤细胞 PC12,辐射后 20 min 检测到 c-jun mRNA 表达增加。Goswami 等^[8]分别用 835 MHz 和 847 MHz、0.6 W/kg 的微波辐射小鼠胚胎成纤维细胞 C3H10T1/2,辐射 6 d,发现 c-fos mRNA 表达升高。Frititze 等^[2]用 900 MHz、7.5 W/kg 的微波辐射大鼠 4 h,辐射后即刻大鼠脑组织中 c-fos mRNA 升高。作者认为,微波辐射可能通过激活第二信使,进而激活相应信号通路,特别是 IEGs 启动子触发钙离子流动,引起 IEGs 转录发生变化。

另有研究表明,微波辐射对 IEGs 的表达无明显影响。Morrissey 等^[9]采用 1.6 GHz 连续波或 11 Hz 调制波、0.22 ~ 7.79 W/kg 辐射小鼠 1 h,辐射后即刻脑组织中 c-fos mRNA 与对照组相比未见明显差异。Stagg 等^[10]采用 1.6 GHz、0.16 ~ 5 W/kg 连续波辐射大鼠 2 h,辐射后即刻脑组织中也未检测到 c-fos 和 c-jun 表达改变。

三、丝裂原激活的蛋白激酶

丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)是真核细胞周期调控中重要的信号蛋白家族,其家族是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由 MAPK3、MAPKerk1/2、MAPKp38 等组成。家族中一些成员作为重要的调控因子可以识别理化刺激因素,并编码信号传递给基因组,使基因表达作出适应性调节^[11]。

一些研究表明,微波辐射可引起 MAPKs 家族成员表达增加。Pacini 等^[12]使用 900 MHz、0.6 W/kg 连续波辐射人类皮肤成纤维细胞 1 h,发现 MAPK3 表达增加。Leszczynski 等^[5]用 900 MHz、2 W/kg 连续波辐射人内皮细胞 EA.hy926,发现 p38MAPK 表达增高。作者认为 MAPK 依赖的细胞信号抑制凋亡,可能增加了理化因素引起效应细胞发生突变的危险性,从而增加了癌症发生的几率。

四、细胞核因子-κB

细胞核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)是基因转录的重要调控因子,其介导的细胞信号通路广泛调控着人类免疫和炎症反应中一系列基因的表达。NF-κB 可受一些细胞因子、蛋白激酶、氧化剂、病毒、脂多糖及紫外线等刺激而被激活,活化的 NF-κB 又可诱导细胞因子、生长因子、趋化因子、免疫受体和转录因子等表达,从而参与炎症反应、肿瘤及动脉粥样硬化等多种疾病的病理过程^[13]。

研究表明,微波辐射可激活 NF-κB。Natarajan 等^[14]用 8.2 GHz、50 W/cm² (SAR 值为 10 W/kg) 高功率微波辐射单核细胞 MonoMac-6,持续辐射 90 min,4 h 后可检测到 NF-κB 的 DNA 结合活性明显增加(3.6 倍)。作者认为,微波可能作用于

基金项目:军队“十五”医药卫生杰出人才基金(No. 04J016);国家 863 基金

作者地址:100850 北京,军事医学科学院放射与辐射医学研究所

通讯作者:彭瑞云

细胞膜,启动一条或多条信号通路,并激活 NF- κ B。NF- κ B 的激活可能起到一个分子开关的作用,将微波引起的信号从胞膜传递至胞核,进而引起细胞表型的变化。

五、其它

微波辐射除对上述基因产生作用外,还可引起其它一些基因及蛋白表达发生改变。Kubinyi 等^[15]将孕大鼠于孕期置于 2.45 GHz 连续波或加入 50 Hz 调制波中辐射,全身平均 SAR 值为 4.23 W/kg,每天辐射 100 min,辐射后发现连续波组母鼠和子鼠脑中氨基酰-tRNA 活性降低,而连续波组和调制波组母鼠和子鼠肝中其活性均增加,表明微波辐射可能影响上述器官的蛋白合成能力。

微波辐射后差异基因及蛋白的研究

随着现代生物技术的进步,关于 mRNA 及蛋白表达的研究更为简便。目前,研究基因和蛋白差异表达的技术主要有生物芯片、mRNA 差异显示、抑制消减杂交和蛋白质组学技术等。

Harvey 等^[16]采用 864.3 MHz、7 W/kg 微波辐射人单核细胞 HMC-1,每日 3 次,每次 20 min,共 7 d。基因芯片筛选出多个基因发生上调或下调,其中 3 个基因与凋亡、肿瘤生成等相关,分别为干细胞因子受体 c-kit 增加,凋亡负调节因子 DAD1 降低,以及肿瘤抑制基因 NDPK 降低。

杨学森等^[17]用 65 mW/cm² 微波辐射小鼠 20 min,使用 cDNA 微阵列发现微波辐射可使小鼠海马多个基因差异表达。结果显示:辐射后即刻出现细胞外信号调节激酶 1 等 5 个基因表达上调;而辐射后 24 h 差异表达基因增加为 30 个,其中 caspase7 等 6 个基因表达上调;G 蛋白结合受体等 24 个基因表达下调。作者认为,辐射后即刻出现一些表达上调基因,主要是一些应激相关基因,表明微波辐射可使机体产生应激反应,一定程度的应激具有保护作用,所以辐射后早期损伤并不严重。辐射后 24 h 差异表达基因增多,并且许多基因的差异表达与神经损伤关系密切,如抑制细胞凋亡的 Bcl-2 相似基因 Bak、凋亡调节因子等表达下调,而促进凋亡的 caspase7 等表达上调,表明微波辐射可诱导海马神经元发生凋亡;DNA 修复基因 HR23A 和 Rad50 表达下调,表明微波辐射能导致细胞 DNA 发生断裂和损伤;此外,还有神经生长因子 α 等其它多种基因出现差异表达,提示微波辐射可能影响神经元多种生理功能,从而表现出明显的神经损伤效应。

采用蛋白质组学技术也发现了一些差异蛋白。Nylund 等^[18]采用 900 MHz、2.4 W/kg 调制波辐射人内皮细胞 EA.hy926,应用二维电泳技术发现有 38 种蛋白发生了显著变化,采用质谱技术识别出其中 2 种蛋白为细胞骨架蛋白,表明微波辐射影响了细胞骨架,并引起相应生理功能的变化。

微波辐射对相关信号转导通路的影响

近年来,有关微波辐射信号转导机制的研究逐步开展,目前已有一些初步的认识,但尚未形成完整的体系。微波辐射信号转导机制的研究主要集中在以下几条信号通路。

一、MAPKs 信号通路

MAPKs 是细胞内的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其超家族包括三个亚家族:ERK1/2、JNK/SAPK 和 p38MAPK。MAPKs 信号通路存在于大多数细胞内,可将细胞外刺激信号转导至细

胞及核内,并在细胞生物学反应(如细胞增殖、分化、转化及凋亡等)过程中具有至关重要的作用^[19]。

研究表明,微波辐射可能作用于 MAPKs 信号通路,进而引起相应的生物学效应。杨学森等^[19]用 65 mW/cm² 微波对大鼠全身辐射 20 min,发现大鼠海马 ERK1 与 JNK1 的 mRNA 及蛋白表达均明显增加,JNK1 和 ERK1 的高表达分别持续至辐射后 3 h 和 12 h,24 h 后两者表达均不同程度低于对照组,辐射后 p38MAPK mRNA 及蛋白表达变化不明显。作者认为,微波辐射可在基因转录和蛋白水平对 ERK1/2 和 JNK/SAPK 两条信号转导通路产生影响,对 p38MAPK 的影响不明显。

二、Ras/Raf/MEK/ERK 通路

Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路中 ras 和 raf 是原癌基因,分别编码 G 蛋白和丝氨酸激酶,Ras 蛋白是上游分子,Raf 蛋白起桥梁的作用。此通路控制着细胞的增殖和分化,与细胞的辐射敏感性密切相关^[20]。

研究表明,微波辐射可影响 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路,并最终引起细胞凋亡。Caraglia 等^[21]采用 1.95 GHz 微波辐射人皮肤癌细胞 KB 3 h,发现 KB 细胞的凋亡呈现时间依赖性,辐射后 3 h 45% 的 KB 细胞发生凋亡。同时检测到 HSP90 表达降低,ras 和 raf-1 减少了 2.5 倍,并激活 erk-1/2。作者认为,辐射使 HSP90 表达降低,从而导致 ras 和 raf-1 的减少,最终通过 Ras-ERK 通路引起凋亡。

展 望

现代生物技术的进步为研究微波辐射的效应及机制提供了有利的条件。但各实验室的研究结果存在很大差异,甚至有些结果还相互矛盾,这可能是由于各研究采用的辐射条件不同,包括使用不同的实验动物及细胞、不同辐射频率和 SAR 值、不同辐射时间以及不同的检测方法等,最终造成研究结果之间缺乏一致性及重复性,因此目前尚不能得出明确的结论。微波导致机体损伤并非由某个基因和蛋白的行为引起,而是多基因的协同调控作用及蛋白表达所造成。因此,尽可能全面地从基因表达谱甚至全基因组水平,分析并揭示微波辐射致机体损伤的分子机制,才能为诊断和防治微波辐射损伤提供准确而详实的依据。

参 考 文 献

- 1 张杰,田波. 热休克蛋白及其生物学功能. 国外医学外科学分册, 2003,30:262-267.
- 2 Frize K, Wiessner C, Kuster N, et al. Effect of global system for mobile communication microwave exposure on the genomic response of the rat brain. Neuroscience, 1997, 81:627-639.
- 3 Walters TJ, Ryan KL, Mason PA. Regional distribution of Hsp70 in the CNS of young and old food-restricted rats following hyperthermia. Brain Res Bull, 2001, 55:367-374.
- 4 Miyakoshi J, Takemasa K, Takashima Y, et al. Effects of exposure to a 1950MHz radio frequency field on expression of hsp70 and hsp27 in human glioma cells. Bioelectromagnetics, 2005, 26:251-257.
- 5 Leszczynski D, Joensuu S, Reivinen J, et al. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer-and blood-brain barrier-related effects. Differentiation, 2002, 70:120-129.
- 6 万选才,杨天祝,徐承焘,主编. 现代神经生物学. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1999. 246-252.

- 7 Ivaschuk OI, Jones RA, Ishida-Jones T, et al. Exposure of nerve growth factor-treated PC12 rat pheochromocytoma cells to a modulated radiofrequency field at 836.55 MHz: effects on c-jun and c-fos expression. *Bioelectromagnetics*, 1997, 18: 223-229.
- 8 Goswami PC, Albee LD, Parsian AJ, et al. Proto-oncogene mRNA levels and activities of multiple transcription factors in C3H 10T 1/2 murine embryonic fibroblasts exposed to 835.62 and 847.74 MHz cellular phone communication frequency radiation. *Radiat Res*, 1999, 151: 300-309.
- 9 Morrissey JJ, Rancey S, Heasley E, et al. IRIDIUM exposure increases c-fos expression in the mouse brain only at levels which likely result in tissue heating. *Neuroscience*, 1999, 92: 1539-1546.
- 10 Stagg R, Adey WR, Byus C. Effect of immobilization and concurrent exposure to a pulse-modulated microwave field on core body temperature, plasma ACTH and corticosteroid, and brain ornithine decarboxylase, Fos and Jun mRNA. *Radiat Res*, 2001, 155: 584-592.
- 11 Edmunds JW, Mahadevan LC. MAP kinases as structural adaptors and enzymatic activators in transcription complexes. *J Cell Sci*, 2004, 117: 3715-3723.
- 12 Pacini S, Ruggiero M, Sardi I, et al. Exposure to global system for mobile communication (GSM) cellular phone radiofrequency alters gene expression, proliferation, and morphology of human skin fibroblasts. *Oncol Res*, 2002, 13: 19-24.
- 13 Thanos D, Maniatis T. NF- κ B: A lesson in family values. *Cell*, 1995, 80: 529-532.
- 14 Natarajan M, Meltz ML. NF- κ B DNA-binding activity after high peak power pulsed microwave (8.2 GHz) exposure of normal human monocytes. *Bioelectromagnetics*, 2002, 23: 271-277.
- 15 Kubinyi G, Somosy Z, Thuroczy G. Effect of continuous-wave and amplitude-modulated 2.45 GHz microwave radiation on the liver and brain aminoacyl-transfer RNA synthetases of in utero exposed mice. *Bioelectromagnetics*, 1996, 17: 497-503.
- 16 Harvey C, French PW. Effects on protein kinase C and gene expression in a human mast cell line HMC-1 following microwave exposure. *Cell Biol Int*, 2000, 23: 739-748.
- 17 杨学森, 余争平, 张广斌. 电磁辐射致小鼠海马神经细胞基因表达谱差异. *中国公共卫生*, 2005, 21: 159-160.
- 18 Nylund R, Leszczynski D. Proteomics analysis of human endothelial cell line EA.hy926 after exposure to GSM 900 radiation. *Proteomics*, 2004, 4: 1359-1365.
- 19 杨学森, 龚茜芬, 张广斌, 等. 电磁辐射致大鼠海马损伤中 MAPK 传导通路的差别激活. *中国临床康复*, 2004, 8: 772-774.
- 20 Chong H, Vikis HG, Guan KL. Mechanisms of regulating the Raf kinase family. *Cell Signal*, 2003, 15: 463-469.
- 21 Caraglia M, Marra M, Mancinelli F, et al. Electromagnetic fields at mobile phone frequency induce apoptosis and inactivation of the multi-chaperone complex in human epidermoid cancer cells. *J Cell Physiol*, 2005, 204: 539-548.

(修回日期: 2006-06-07)

(本文编辑: 阮仕衡)

· 临床研究 ·

玻璃酸钠液关节腔注射配以针刺、火罐治疗肩关节周围炎

张德清 王刚 林元平 王魁 徐玉华 何建永

肩关节周围炎简称肩周炎, 患者以肩痛及肩关节功能障碍为主要特征, 为康复临床常见疾病, 一般采用针刺、物理因子治疗、推拿、关节松动手术、医疗体操等传统手段治疗, 临床具有一定疗效^[1]。笔者采用玻璃酸钠注射液关节腔内注射配合针刺及火罐治疗, 结果显示对肩关节疼痛缓解和功能改善有明显疗效, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

本研究收集患者为我科 2002 年至 2004 年门诊或病房所收治肩关节周围炎患者共 182 例。所有患者均由我院康复医学科门诊确诊为肩关节周围炎。其中 100 例患者经健康教育等措施后愿意接受玻璃酸钠注射液关节腔内注射疗法, 作为治疗组, 其余 82 例作为对照组。治疗组中, 男 40 例, 女 60 例; 年龄 44~72 岁; 病程 10 d~6 个月; 左肩 62 例, 右肩 38 例。对照组 82 例中, 男 32 例, 女 50 例; 年龄 40~65 岁; 病程 3 d~3 个月; 左肩 50 例, 右肩 32 例。2 组患者一般情况经统计学处理差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

二、治疗方法

1. 治疗组: ①采用针刺配火罐进行治疗, 取穴大椎、肩三针、天宗、巨骨、肩井、曲池。局部皮肤常规消毒后, 用 28 号约 1.5 寸

长 (4.5 cm) 毫针快速进针, 经手指捻转得气后稍作提插运针, 然后分 4 组接上海产 G6805-31 电针仪, 输出连续波, 频率 60~80 Hz, 强度取患者能适应耐受的最大输出量, 每次 30 min, 取针后局部拔火罐 6 个, 10 min 后取下, 每天治疗 1 次, 7 次为 1 个疗程, 连续治疗 3 个疗程。②在采用上述针刺、火罐治疗的同时, 加用山东产的玻璃酸钠注射液 (2 ml/20 mg) 在常规皮肤消毒后行肩关节腔内注射。注射点选择在肩关节腔或肩峰下滑囊内注射, 每次 2 ml, 每周 1 次, 3 周为 1 个疗程。注射后轻轻将肩关节最大限度地各个方向活动数次, 以患者不感觉肩部疼痛为宜, 使注入药液能迅速扩散于关节腔内各关节面。

2. 对照组: 只采用针灸配合火罐, 方法同治疗组。

三、评定标准

疼痛评定采用视觉模拟评分法 (Visual Analogue Scale, VAS), 肩关节功能评定采用《肩周炎康复体疗功能评定方案》^[3] 分内旋、外旋、摸背、摸耳 4 项, 每项为 90 分, 满分 360 分, 于治疗前、治疗 3 周后进行评定。

四、统计学分析

计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

2 组患者治疗后肩部 VAS 及肩关节功能评分与治疗前相比, 均有明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 治疗组改善较对照组更明显, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 详见表 1。