

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.033

View this article at: https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.033

电离辐射对睾丸生殖功能的影响

杨娟¹ 综述 曾慧红², 邵立健¹ 审校

1. 南昌大学公共卫生学院, 江西省预防医学重点实验室, 南昌大学预防医学研究所, 南昌 330006;
2. 南昌大学基础医学院, 南昌 330006)

[摘要] 电离辐射不仅发生在辐射性恐怖事件或核事故中, 也广泛存在于医疗和日常生活中。目前大量研究集中在电离辐射导致的骨髓和消化道损伤防护, 但对其在雄性生殖功能损伤的有效防护研究甚少。睾丸的正常生殖功能是维持雄性终生生育能力的根本, 其位置浅且对电离辐射敏感, 探究睾丸生殖功能的辐射损伤机制有助于提出高效的辐射损伤防护策略。精原干细胞是实现睾丸生殖功能的基础, 在支持细胞和间质细胞等组成的干细胞微环境中生长发育, 其功能受到胶质细胞源性神经营养因子(glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF)和早幼粒细胞白血病锌指蛋白(promyelocytic leukemia zinc finger, PLZF)等多种因子的调节。电离辐射可通过DNA损伤、氧自由基、不同形式的细胞死亡、激活哺乳动物雷帕霉素靶复合物1(mammalian rapamycin target complex 1, mTORC1)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinase, p38 MAPK)等信号通路对精原细胞及其微环境造成损伤。因此, 抑制细胞凋亡、抗氧化损伤、抑制mTORC1和p38 MAPK信号通路激活为现有的常见睾丸辐射损伤的防护措施。多肽类药物和精原干细胞移植等在电离辐射导致雄性生殖功能损伤防护中有较好的潜力。电离辐射导致雄性生殖功能损伤机制研究的深入有利于探索多种潜在且高效的睾丸辐射损伤防护新思路。

[关键词] 电离辐射; 睾丸; 精原细胞; DNA损伤; 氧自由基

Effects of ionizing radiation on testicular reproductive function

YANG Juan¹, ZENG Huihong², SHAO Lijian¹

(1. School of Public Health; Jiangxi Provincial Key Laboratory of Preventive Medicine; Institute of Preventive Medicine, Nanchang University, Nanchang 330006; 2. School of Basic Medicine, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Ionizing radiation not only occurs in radiation terrorist events or nuclear accidents, but also widely exists in clinical practice and daily life. Presently, many studies have focused on the protection of bone marrow and gastrointestinal damage caused by ionizing radiation while there are few studies on its effective protection in male reproductive function damage upon exposure. The normal reproductive function of testis is essential

收稿日期 (Date of reception): 2021-12-21

通信作者 (Corresponding author): 邵立健, Email: lshao@ncu.edu.cn

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (82073484; 81960104); 江西省自然科学基金 (2020ACB206009)。This work was supported by the National Natural Science Foundation (82073484; 81960104) and Natural Science Foundation of Jiangxi Province (2020ACB206009), China.

to maintain male lifelong fertility. The location of testis is shallow with high sensitivity to ionizing radiation. Exploring mechanisms of testicular reproductive function damage induced by irradiation are beneficial to develop new countermeasures against radiation injury in testis. Spermatogonial stem cells are the basis for efficient testicular reproductive function. Spermatogonial stem cells develop and grow in the stem cell microenvironment which is composed of Sertoli cells and interstitial cells. Their function is regulated by many factors such as glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) and promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) protein. Ionizing radiation can damage spermatogonia and their microenvironment through DNA damage, oxygen free radicals, different forms of cell death, activation of mammalian rapamycin target complex 1 (mTORC1) and p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK). Therefore, inhibition of apoptosis, antioxidants, inhibition of mTORC1 and p38 MAPK signal pathways are the existing common protective measures against radiation-induced testicular injury. Polypeptide drugs and spermatogonial stem cell transplantation have good potential in the protection of male reproductive function under ionizing radiation condition. With the in-depth study of the mechanism of male reproductive function damage caused by ionizing radiation, it will be helpful to explore a variety of potential and efficient new ideas for the protection of radiation-induced testicular injury.

Keywords ionizing radiation; testis; spermatogonia; DNA damage; reactive oxygen species

辐射依其能量的高低及电离物质的能力分为电离辐射和非电离辐射。电离辐射是指波长短、频率高、能量高的射线或粒子与物质作用引起电离的辐射,包括直接产生电离的粒子(α 粒子、 β 粒子、质子等带电粒子等)和间接产生电离的粒子(X线、 γ 线及中子等不带电粒子等),多见于国防、航空勘测、工业、医学诊断和治疗等。非电离辐射是指能量低,不能使物质原子或分子产生电离的辐射,主要包括可见光、红外线、激光、紫外线、手机、笔记本电脑、Wifi和微波炉等产生的非电离辐射,其主要通过热效应方式作用于机体,对机体损伤不明显。电离辐射可对多脏器造成损伤,包括造血系统、消化系统和生殖系统,如照射后导致肠隐窝数量减少、肠绒毛高度增加,影响肠道正常消化功能^[1-2]。电离辐射不仅用于临床疾病诊断,而且是肿瘤的治疗手段之一,通过放射治疗(以下简称放疗)和化学药物治疗(以下简称化疗)技术治疗的癌症患者存活率已经超过80%,不育和性腺功能障碍是大多数男性患者难以避免的不良反应,影响癌症患者的生存和生活质量^[3]。因生精过程调节的复杂性,不论是全身辐射或睾丸局部辐射均对精原细胞造成损伤,导致受照者生殖能力低下甚至终身不育^[4]。

电离辐射在国防、工业、农业、医学等各领域广泛应用,大量人群普遍有接触电离辐射的风险。电离辐射引起精原细胞损伤和数量异常,但是当前的辐射损伤防护策略多以造血系统和胃肠

消化系统为主,靶向生殖能力的损伤防护并未引起重视。同时,当前的辐射防治措施大多聚焦于清除氧自由基以缓解辐射损伤,未能高效防治辐射损伤。本文将主要综述辐射对生殖系统损伤的机制和目前可提供治疗的方法,为探索辐射损伤生殖系统防护措施提供见解。

1 精原细胞的增殖和分化

睾丸左右各1个,位于男性阴囊,是机体的浅表器官,对辐射敏感性仅次于骨髓造血系统和胃肠消化系统。睾丸主要由实质中的生精小管组成,生精小管是精原细胞增殖、分化和产生精子的部位,生精小管结构如图1所示。精原细胞从生精小管的生精上皮经过睾丸屏障,逐级分化最后产生位于生精小管管腔的精子,精子经输出小管转移至附睾发育成熟。生精小管主要有2类生殖细胞,精原细胞和支持细胞,支持细胞为精原细胞供给营养。生精小管周围有血管和间质细胞,两者和支持细胞构成精原细胞微环境。

成年男子中,精子发生过程是最多产的细胞生产系统,每天产生大约1亿个精子。在雄性猪中每天产生多达16亿个精子,每一次心跳大约产生1 000个精子,可见精子发生是一个不断产生和丢失精原细胞以达到自我更新平衡的过程。辐射可导致精原细胞和精子减少,男性生殖能力减弱甚至不育^[5]。

精原干细胞需维持正常的自我更新和分化功能, 以保证精子发生顺利进行^[6], 精原细胞的自我更新与分化调节如图2所示。精原干细胞体外实验^[7]证明: 精原干细胞培养的成功取决于对自我更新和分化机制的理解。DNA被认为是辐射诱导细胞损伤和死亡关键的靶分子, 易造成DNA双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)而诱导形成DNA双链断裂-毛细血管扩张性共济失调突变激酶结合体(DNA double-strand breaks and ataxia telangiectasia mutated, DSB-ATM), 诱导p53BP1结合并激活p53蛋白, p21上调, G1期细胞周期停滞, 减少精原干细胞的自我更新^[8]。胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)是第1个被发现调控精原干细胞自我更新和分化的因子, 其过量表达易导致未分化精原细胞的过度积累。GDNF和胶质细胞源性神经营养因子家族受体(glial cell line-derived neurotrophic factor family receptor alpha, GFR α)特异性结合, 导致酪氨酸激酶(rearranged during transfection, Ret)磷酸化, 激活原癌基因酪氨酸蛋白激酶(proto-oncogenetyrosine protein kinase, Src)和Ras激酶, 介导磷脂酰肌醇3-激酶

(phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K), 活化丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, Akt), 调节细胞增殖和分化, 抑制细胞凋亡。此外, Src/Ras激酶激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路, 调节Etv5, 继而调节bcl6b、miRNA21和Brachyury等转录因子的表达^[9]。成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和GDNF可协同激活Src家族激酶, 进而激活Ras、Akt和MEK信号通路, 促进体外未分化型精原干细胞的自我更新^[10-11]。早幼粒细胞白血病锌指蛋白(promyelocytic leukemia zinc finger, PLZF)和GDNF相关信号通路相互作用调控生殖干细胞自我更新, PLZF间接抑制哺乳动物雷帕霉素靶复合物1(mammalian rapamycin target complex 1, mTORC1)信号通路, 加强未分化精原细胞对GDNF的敏感性, 维持精原细胞的自我更新^[12]。为验证GDNF在辐射致精原干细胞损伤中作用, Creemers等^[13]向辐照后清除精原细胞的睾丸中移植精原干细胞, 发现GDNF高表达的精原细胞可以在原本没有精原干细胞的睾丸中产生生殖细胞群落, 说明GDNF在辐射致精原干细胞损伤修复中起重要作用。

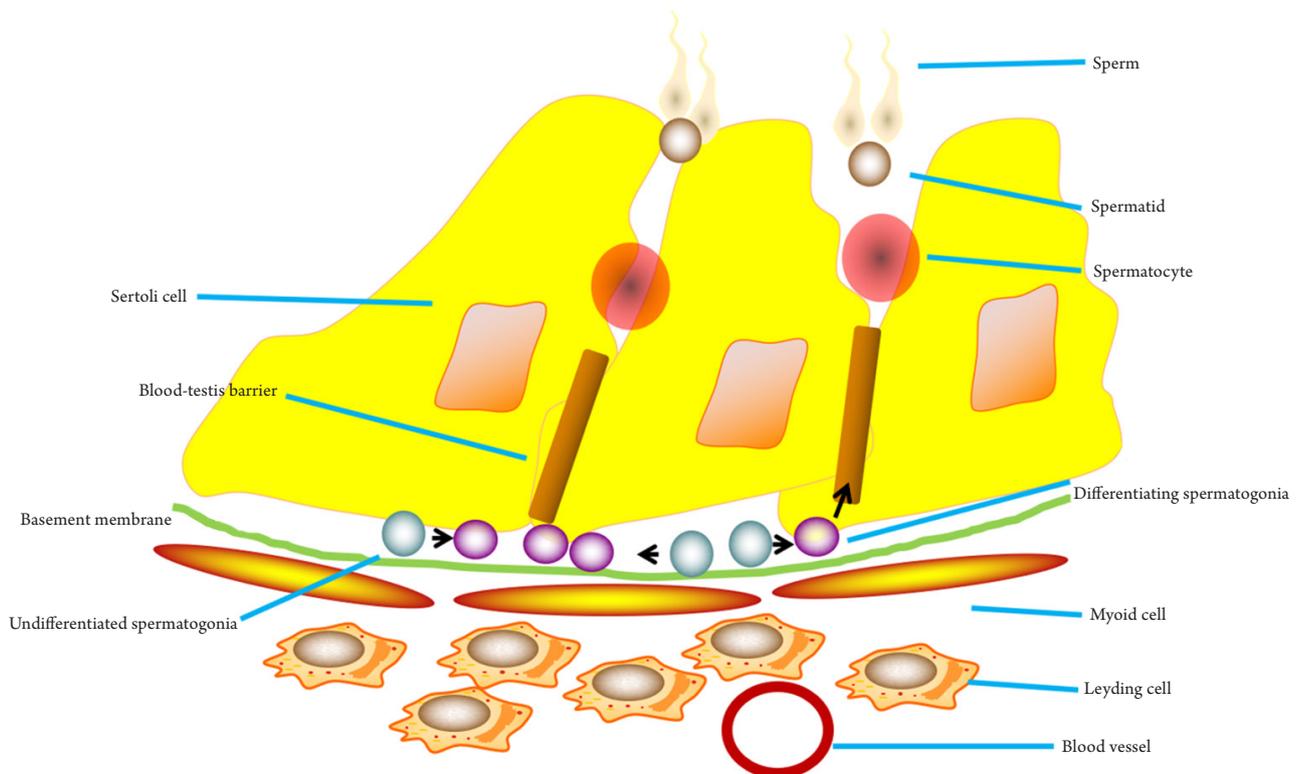


图1 生精小管结构

Figure 1 Structure of seminiferous tubule

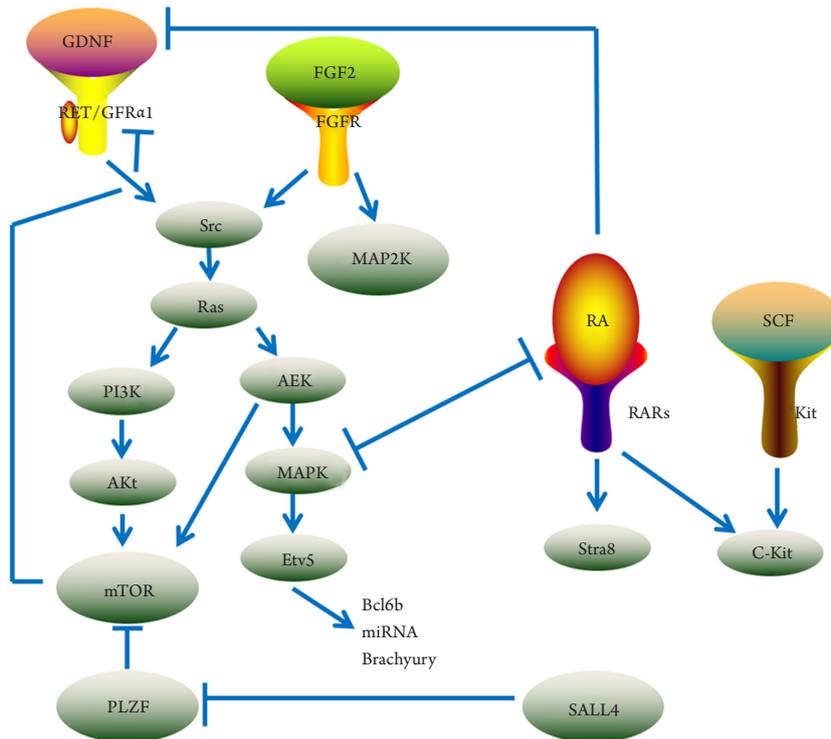


图2 精原细胞的自我更新与分化调节

Figure 2 Modulation of self-renewal and differentiation in spermatogonia

此外，前期实验证实辐射在睾丸组织中可激活mTORC1下游靶基因，用雷帕霉素抑制剂可明显减少辐射造成的细胞损伤。mTORC1由哺乳动物雷帕霉素靶标蛋白(mammalian rapamycin target, mTOR)、mTOR调节相关蛋白(regulatory associated protein of mTOR, Raptor)和结合蛋白mLST8组成，是mRNA翻译、细胞代谢和体内精原细胞异常激活分化的关键调控因子，参与细胞生长、增殖和蛋白质的合成^[14]。mTORC1上调可能通过抑制GFRα1的表达，导致精原干细胞对GDNF敏感性降低，促进精原细胞分化；同时PLZF可抑制mTORC1，提示GDNF和PLZF在mTORC1的调控中维持精原干细胞的分化和平衡^[12,14]。在精原细胞中视黄酸(retinoic acid, RA)是促分化有效的因子，RA是维生素A的活性代谢产物，RA与视黄酸受体(RARγ)结合诱导Kit和Stra8的表达，促进精原细胞的分化^[15]。RA的代谢转运过程异常均会导致精子发生障碍，甚至低剂量的RA受体拮抗剂会导致小鼠精子发生过程出现紊乱，提示RA对精子发生极为重要^[16]。辐射是否会通过干扰精原干细胞自我更新和分化的机制，损伤精原细胞及整个睾丸？在正常情况下，精原细胞经历不断增殖和生理程序性死亡，保证精原细胞

不断自我更新和分化以完成男性生殖功能。但在辐射条件下，精原细胞的自我更新和分化失衡引起精原干细胞过度累积与消耗，这些病理变化与辐射后生精小管有明显空洞可能存在某种联系。

2 辐射导致 ROS 升高损伤精原细胞

睾丸是产生精子和分泌雄性激素的器官，精子发生和精子的最终形成都是在睾丸中发生。辐射对精原细胞和精子形成过程的干扰均可影响各级精原细胞功能及精子形成，削弱和损伤男性生殖能力。电离辐射对生物系统的有害影响主要通过介导活性氧的过度产生引起细胞膜脂质过氧化，从而诱导未分化生殖细胞的DNA损伤。氧化应激和DNA损伤是导致生精细胞增殖、分化和凋亡紊乱的启动因素^[17]。DNA损伤常作为评价细胞辐射损伤的重要观察指标，电离辐射可直接作用于细胞及生物大分子，导致RNA链、DNA链和肽键断裂，破坏分子结构，造成正常生理调节紊乱^[18]。在前期探究辐射对生殖干细胞损伤的研究中，发现辐射导致的DNA损伤常伴随有细胞的增殖异常、分化不平衡、凋亡过度甚至存在铁死亡和自噬等细胞死亡形式(图3)。

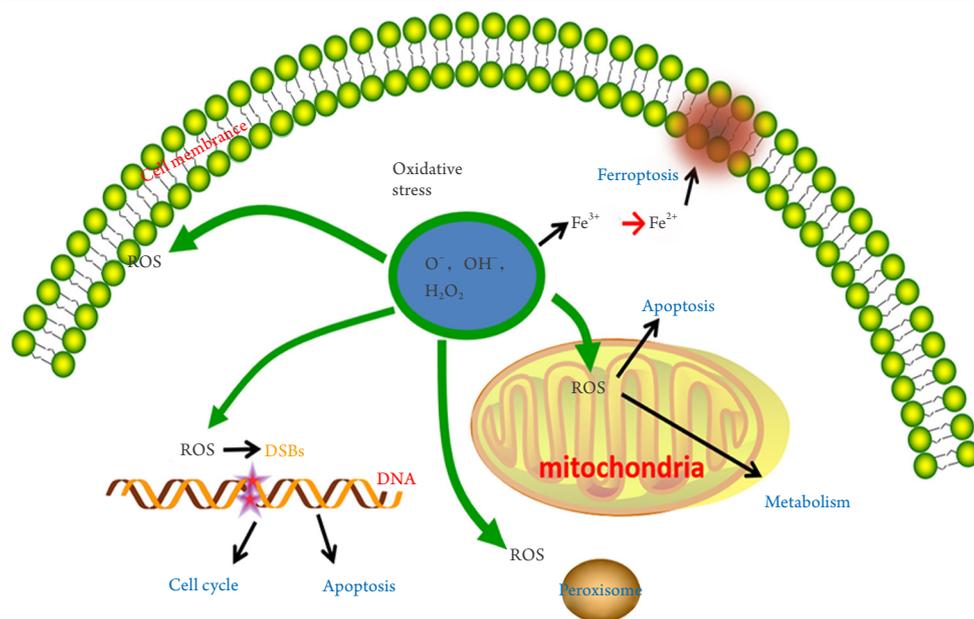


图3 辐射引起精原细胞异常的机制

Figure 3 The mechanism of abnormal spermatogonia induced by radiation

辐射诱发的最明显生殖毒性效应为附睾中精子数量明显减少, 睾丸组织体积明显减小, 睾丸重量与体重之比明显小于未经过辐射暴露的机体。进一步实验探究发现生精小管内各级生精细胞数减少, 生精小管管径变小且有较多空洞, 少见甚至未见成熟的精子, 进而推测精原干细胞形成精子的生精周期可能被破坏, 辐射导致DNA损伤及生殖功能的异常机制目前尚未进行深入探讨。

3 辐射导致细胞死亡损伤精原细胞

辐射可造成睾丸中生精小管管径变小, 精原细胞层明显变薄, 精原细胞稀疏且明显减少。X线照射后, 睾丸生精上皮变性坏死, 各级生精细胞排列混乱、剥离脱落、空洞形成, 生精小管腔内精子数量减少^[19]。精原细胞的缺失、细胞自我更新频率和死亡程度密不可分, 辐射可能通过阻滞细胞自我更新, 造成精原干细胞及祖细胞的缺失, 影响精子发生和男性生殖功能的顺利进行。随着多种细胞死亡形式的深入研究, 辐射导致精原细胞的减少是否与铁死亡、细胞焦亡及细胞自噬等细胞死亡形式相关?

辐射可通过细胞凋亡造成精原细胞大量减少, 成熟且完整的精子显著减少, 辐射对精原干细胞的损伤可能通过调控细胞死亡来实现。辐射可直接导致DNA双链断裂, 53BP1参与精原干细胞

DSBs的DNA修复^[20], 53BP1连接和激活p53蛋白, 刺激Puma上调, 促进细胞凋亡^[20]。Ishii等^[21]在研究辐射介导精原干细胞损伤的通路中发现Trp53-Trp53inp1-Tnfrsf10b信号通路在其中起作用, 缺少Trp53可增加精原干细胞的存活率, 抑制该信号通路的下游因子Tnfrsf10b, 可通过减少细胞凋亡和增加精原干细胞的存活数量。Coureuil等^[22]发现敲除Trail和Puma后, 精原干细胞对辐射诱导的凋亡敏感性降低。应用TUNEL染色和检测Puma等凋亡相关基因表达, 发现辐射的睾丸组织中Puma表达明显上调, TUNEL阳性染色区域明显增多。因此, 辐射对精原干细胞的损伤机制中, 细胞凋亡可能参与其中。

铁死亡是近几年提出的新的细胞死亡形式, 其特征是细胞内铁的积聚和脂质过氧化^[23]。粒-巨噬细胞造血祖细胞铁死亡可引起放射性骨髓出血, 抑制铁死亡能减轻放射性造血损伤^[24], 表明铁死亡有可能是辐射造成细胞损伤另一个机制。辐射诱导的ROS促进脂质过氧化, ROS去除胞膜中的多不饱和脂肪酸如花生四烯酸中的电子, 形成不稳定的脂肪酸自由基和分子氧反应及脂质过氧化物, 通过Fenton反应等破坏胞膜, 引起细胞死亡。辐射可诱发癌细胞发生铁死亡且明显上调关键酶脂酰辅酶A(acyl-CoA synthetase-4, ACSL4)合成酶, ACSL4是铁死亡所需的脂质代谢酶, 其升高可导致脂质过氧化和铁死亡增加^[25]。前期研究中

发现辐射可诱导谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase 4, GPX4)表达下调, 它利用还原型谷胱甘肽将脂质过氧化物转化为脂醇, 从而减轻脂质过氧化和抑制铁死亡。这些结果表明辐射可能通过铁死亡路径诱导精原细胞损伤, 但相关数据有待发掘, 需要更多深入的探索。

细胞焦亡是一程序性细胞坏死, 由炎症小体激活所驱动。炎症小体是一种胞质多蛋白复合物, 负责白细胞介素(interleukin, IL)家族成员(如IL-1 β 和IL-18)的释放, 形成凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein, ASC)斑点, 激活促炎性半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspases)。GSDMD(gasdermin D)是细胞焦亡的关键调控因子^[26], 辐射可激活骨髓中的GSDMD^[27]。炎症小体介导半胱氨酸天冬氨酸酶-1(Caspase-1)激活, GSDMD被Caspase-1蛋白剪切及多聚化, 导致细胞膜表面形成孔道, 表现为细胞核凝聚, 伴随着细胞肿胀, 并在质膜上形成大的气泡, 导致细胞破裂^[28], 抑制细胞焦亡可以减少辐射对大鼠肺部的纤维化和炎症等肺部损伤^[29]。目前, 关于辐射损伤与睾丸中生殖细胞焦亡的研究较少。有相关研究^[30]证实: 辐射可激活体内多种组织中的细胞焦亡, 包括骨髓、小肠、大脑、脾, 抑制ROS的产生可明显下调辐射导致的人晶状体上皮细胞的细胞焦亡。因此, 细胞焦亡在辐射导致生殖系统的损伤中的作用, 值得深入探讨。

4 辐射影响精原细胞生态位

睾丸中精子发生的正常进行不仅和精原干细胞的各种状态紧密相关, 还和精原干细胞经历一系列细胞生命活动的周围环境密切相关。男性生殖和性行为通过下丘脑、垂体、性腺促性腺激素释放激素(gonadotropin releasing hormone, GnRH)、促性腺激素、性腺激素等参与实现反馈与负反馈来调控的。促性腺激素主要包括黄体生成素(luteinizing hormone, LH)和卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)。LH作用于Leydig细胞, 调节睾酮的合成; FSH作用于Sertoli细胞, 调节Sertoli细胞的增殖及相关激素分泌。放射治疗导致睾丸生精功能异常与雄激素缺乏的风险增加有关^[31]。辐射会导致睾丸中的FSH短暂剂量依赖性增加, 可能因此损伤Sertoli细胞的正常功能。辐射引起Sertoli细胞的损伤会产生激素失衡和异常分泌细胞因子。12 Gy的辐射剂量会损害男性青春期发育和性功能, 20~30 Gy的辐射剂量会

损害下丘脑-垂体-性腺轴, 导致原发性性腺功能减退, 雄激素分泌减少, 而雄激素替代疗法可在一定程度上缓解辐射导致的组织损伤。可见, 睾丸的内分泌功能同样对精原细胞及精子发生过程很重要。

支持细胞是多边形的不规则长锥体形, 从生精上皮基底一直伸达至曲细精管管腔, 有利于整个精子发生过程中与生殖细胞的密切接触, 为发育中的生殖细胞与精子提供充分的营养和保护, Sertoli细胞受损会影响精原干细胞的正常功能。支持细胞是睾丸体细胞中的关键细胞, 可以决定睾丸形态的大小、管周肌样细胞的发育、调节睾丸激素的合成, 是精子输出的关键因素^[32]。此外, 支持细胞通过紧密连接、基底胞质特化、桥粒和缝隙连接构成的血睾屏障(blood-testis-barrier, BTB), 为精原干细胞和精子发生过程提供适宜的微环境。支持细胞的功能异常会导致不育, 应用药物治疗去除异常的生殖细胞可以让更新的精原细胞来替代, 促进精子发生^[33]。辐射直接照射盆腔部位或者全身均可对睾丸组织产生损害, 辐射的远端异位效应同样可对睾丸造成损伤^[34]。在胸部辐射过程中, 肿瘤坏死因子 α (transforming growth factor- β , TGF- α)/p38 MAPK诱导的Ras相关C3肉毒菌毒素底物1(RAS-related C3 botulinum toxin substrate 1, Rac1)核移位破坏了Rac1和BTB相关蛋白质之间的蛋白-蛋白相互作用, 使这些蛋白质更容易降解, 从而破坏了远端支持细胞的BTB完整性, 影响精原干细胞的正常功能^[35]。

5 精原细胞的辐射损伤防护

5.1 防护机制

电离辐射可以通过直接和间接作用对精原细胞及睾丸造成损伤。电离辐射作用于分子产生活性氧导致氧化防御系统严重失衡, 精原细胞和睾丸产生更多的氧化产物, 对机体内的基因组、线粒体DNA、生物膜和体内的生物活性物质产生氧化作用, 影响其正常功能。电离辐射诱导氧化物质对机体造成损伤时, 机体同时会分泌抗氧化物质, 如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)等, 可抵抗辐射损伤。辐射诱导组织损伤主要通过形成自由基/活性氧, 其水平超过机体抗氧化系统的能力时, 将引发男性生殖不育等不良反应。氧化应激已被确定为许多已知和未知的男性不育原因的重要病因和/或共同机制^[36]。因此减少

或清除氧化物质和增强抗氧化物质的产生, 可以提高组织的辐射损伤防护能力。

调节电离辐射诱发一系列不良反应的机制可防护精原细胞损伤。睾丸中有多种信号蛋白途径来调节精子发生, 其中包括mTORC1/pS6/Akt1/2和p-FAK-Y407^[37]。X线辐射可激活肾mTORC-1信号通路, 导致肾早期急性损伤^[38]。研究辐射损伤小鼠睾丸发现磷酸化核糖蛋白S6(Phospho-S6, pS6)在睾丸中表达显著增加, pS6是mTORC1的下游信号蛋白。因此, 辐射可能过度激活mTORC1通路介导睾丸损伤, 为此抑制mTORC1通路可能对辐射损伤有预防保护作用。MAPK信号通路几乎参与了睾丸精子发生的每一步, 包括精原干细胞更新(有丝分裂)、生殖细胞周期和减数分裂、精子发生和精子形成^[39]。ROS可明显激活p38 MAPK通路, 引起细胞凋亡, 造成辐射损伤。抑制mTORC1/pS6/Akt1/2、p38 MAPK、TGF- β 、磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)、转录因子- κ B(NF- κ B)等通路可缓解辐射导致的精原细胞损伤, 但其机制没有进行深入和全面的探讨。辐射诱发睾丸和精原细胞的损伤与细胞凋亡密切相关, 采用多种手段减少辐射异常激活的细胞凋亡也许可缓解辐射对精原细胞和睾丸的损伤。此外, 调节辐射引发细胞增殖异常和细胞周期阻滞也许能缓解辐射导致的生殖系统损伤。

5.2 当前的辐射损伤防护手段

当前的辐射防护手段多以摄入消除自由基和抗氧化作用的药物为主。5-雄甾烯-3,17-二醇(5-androstenediol, 5-AED)/Neumune是FDA新药临床试验许可的第一种辐射防护药物, 可用于预防和减缓急性放射综合征, 同时采用有效的方式递送药物时, 其辐射防护效果明显改善。硫醇类化合物如氨磷汀可以还原辐射产生的氧化自由基, 氨磷汀已被美国食品药品监督管理局批准上市。N-2巯基丙酰基甘氨酸(N-2 mercaptopropyl glycine, MPG)和5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)可协同氨磷汀增强辐射损伤防护作用^[40], 氨磷汀的去磷酸巯基中间体(WR-106)颗粒因有较强的清除氧化自由基的能力已进行临床前应用试验。抗氧化作用的化合物, 如金雀异黄酮(BIO 300)、AEOL 10150等已被验证在辐射损伤防护中其重要作用, 目前已经处于临床试验阶段。粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)可能对辐射损伤的精原细胞有保护作用。在亚灭菌(5 Gy) γ 射线照射前, 给予中等剂量的G-CSF[100 μ g/(kg·d)], 连续3 d, PLZF⁺未分

化精原细胞中Ki67⁺(增殖)的比例显著增加, 生精功能提高^[41]。G-CSF已经被美国FDA批准用于减轻由致死剂量辐射引起的造血系统急性放射综合征(acute radiation syndrome, ARS)^[42]。因此, 虽然有较多的辐射防护手段, 但目前尚未有针对辐射导致的睾丸组织损伤防护措施。

5.3 可开展的辐射防护手段

西格列汀在小鼠造血系统辐射损伤中有较好的治疗效果, 为寻找造血系统辐射损伤的潜在治疗药物研究打下基础^[43]; Pifithrin是p53抑制剂, 可抑制辐射引发的细胞凋亡^[44], 但其对组织有较大的选择性, 对骨髓造血系统有较好的辐射防护作用, 对胃肠道保护作用较弱, 两种药物均可进一步探索其对生殖系统的辐射损伤保护作用。Kofman等^[45]发现雷帕霉素可以恢复衰老SSCs氧化应激反应基因的正常表达, 并提高SSCs的自我更新能力。FGF9通过p38 MAPK信号通路促进小鼠SSC增殖^[46], p38 MAPK对精原细胞的作用可呈现剂量效应关系, p38 MAPK抑制剂SB203580可减少由活性氧引发的细胞凋亡^[47], 推测p38 MAPK激酶抑制剂类药物在辐射睾丸损伤防护中有保护作用。持续补充褪黑激素可以通过消除ROS和一些未知的机制以有效地抑制白消安诱导的细胞凋亡, 修复精原细胞^[48]。同时, 褪黑素可缓解睾丸损伤, 显著抑制SSCs中ERS相关凋亡基因、ERS标志物和炎症因子的表达, 且其在LPS诱导的睾丸损伤中起到修复和抗感染作用^[49]。

多肽类药物具有生物活性高、特异性强、毒性反应弱、在体内不易产生聚集、与其他药物相互作用比较少、与体内受体亲和性高等优点, 在细胞增殖、分化和免疫防御等生理活动中承担多种功能, 近年来被广泛用于肿瘤、代谢、心血管等疾病防治领域。此外, 活性多肽的高度特异性使其作用于人体时更具安全性、耐受性和有效性, 多肽的成药性高于一般化学分子多肽类药物。蛋白多肽类药物脂质体将蛋白多肽类药物用脂质体包封后形成的载药脂质体, 具有靶向、缓释、良好的稳定性等优点。因此, 逐步强化多肽类药物的创新, 结合活性、特异性、安全性、改造和修饰及生产成本等方面具有较强的优势, 使多肽类药物靶向作用于辐射损伤部位对于减少睾丸辐射损伤将大有益处。多肽类药物的制药技术成熟, 可通过降低毒性、延长半衰期和加大口服药物的生物利用度等方式使其在临床应用方面更具优势^[50]。因此, 多肽类物质有望成为辐射防护

药物的研发方向。

电离辐射多以医源性辐射的方式使受照人群的范围扩大,降低辐射剂量以及增强放射治疗时肿瘤的敏感性可以使机体在辐射剂量降低的情况下依然有较好的治疗作用。放射增敏药能够增强机体的放射敏感性,通过提高肿瘤细胞的放射敏感性,达到降低照射剂量、提高放射疗效、降低正常组织损伤的目的。因此,探索高效的辐射增敏药可减少医疗应用中的正常组织辐射损伤。

小鼠SSC和精原细胞特性的改进以及基因工程小鼠模型的应用有利于研究生精细胞中的DNA损伤反应通路^[51]。为应对辐射对男性造成不可逆性的生殖不育,精原干细胞移植技术应运而生。为提高精原干细胞移植技术,研究^[52]发现在精原干细胞移植入受体以后,用RA短暂抑制供体细胞分化可以增强精原干细胞集落形成能力,将细胞增殖效率提高到恢复不育宿主生育的水平。男性丧失生殖能力的时期可以分为2个阶段:青春期前和青春期及成年期,在可以获得成熟且健康精子时期,可以冻存精子以保存生育能力,未能获得成熟精子时可以通过基因工程技术,通过睾丸类器官以获得生育能力^[53]。目前,精原干细胞移植技术、激素治疗、基因治疗、抗性腺毒性药物保护和体外培养模型等技术的应用为辐射致男性不育的治疗带来新希望。

6 结语

辐射涉及生活和生产各个方面,受到辐照的人群越来越多,男性生殖系统受到电离辐射的影响将会越来越大。辐射可通过负调精原细胞的自我更新与分化能力,如GDNF和PLZF表达异常,mTORC1和MAPK通路异常激活,造成生精小管结构异常。同时,辐射可引起细胞异常死亡,包括细胞凋亡、铁死亡和细胞焦亡,造成精原细胞和成熟精子减少。这些辐射可能的影响机制需要更多的实验数据来验证。FDA目前已经通过多种用于减少组织辐射损伤的药物,但是没有高效减少睾丸辐射损伤的药物。多种药物已经在动物实验中证明可以缓解辐射造成的生殖系统损伤,高效的多肽类药物已经在逐步发掘中。同时,多种细胞分子技术,如类器官培养、3D打印技术等生殖功能系统中的应用正在研发。但在临床上尚无有效保护辐射损伤生殖系统的措施,需要在辐射损伤机制及防治措施等方面进行深入研究。

参考文献

1. Zhang Y, Dong Y, Lu P, et al. Gut metabolite Urolithin A mitigates ionizing radiation-induced intestinal damage[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(21): 10306-10312.
2. 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[J]. *Blood*, 2014, 123(20): 3105-3115.
3. Kobayashi Y, Tomizawa SI, Ono M, et al. Tsga8 is required for spermatid morphogenesis and male fertility in mice[J]. *Development*, 2021, 148(8): dev196212.
4. Wang A, Wang L, Lu X, et al. A Chinese herbal prescription Yiqi Jiedu decoction attenuates irradiation induced testis injury in mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123: 109804.
5. Fukunaga H, Kaminaga K, Sato T, et al. Application of an ex vivo tissue model to investigate radiobiological effects on spermatogenesis[J]. *Radiat Res*, 2018, 189(6): 661-667.
6. He Z, Jiang J, Kokkinaki M, et al. Nodal signaling via an autocrine pathway promotes proliferation of mouse spermatogonial stem/progenitor cells through Smad2/3 and Oct-4 activation[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(10): 2580-2590.
7. Huleihel M, Abuelhija M, Lunenfeld E. In vitro culture of testicular germ cells: regulatory factors and limitations[J]. *Growth Factors*, 2007, 25(4): 236-252.
8. Daley JM, Sung P. 53BP1, BRCA1, and the choice between recombination and end joining at DNA double-strand breaks[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(8): 1380-1388.
9. Wu X, Goodyear SM, Tobias JW, et al. Spermatogonial stem cell self-renewal requires ETV5-mediated downstream activation of Brachyury in mice[J]. *Biol Reprod*, 2011, 85(6): 1114-1123.
10. Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Inoue K, et al. Long-term proliferation in culture and germline transmission of mouse male germline stem cells[J]. *Biol Reprod*, 2003, 69(2): 612-616.
11. Saitou M, Miyauchi H. Gametogenesis from pluripotent stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 18(6): 721-735.
12. Hobbs RM, Seandel M, Falciatori I, et al. Plzf regulates germline progenitor self-renewal by opposing mTORC1[J]. *Cell*, 2010, 142(3): 468-479.
13. Creemers LB, Meng X, den Ouden K, et al. Transplantation of germ cells from glial cell line-derived neurotrophic factor-overexpressing mice to host testes depleted of endogenous spermatogenesis by fractionated irradiation[J]. *Biol Reprod*, 2002, 66(6): 1579-1584.
14. Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(5): 307-318.

15. Endo T, Romer KA, Anderson EL, et al. Periodic retinoic acid-STRA8 signaling intersects with periodic germ-cell competencies to regulate spermatogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(18): E2347-E2356.
16. Griswold MD, Hogarth CA, Bowles J, et al. Initiating meiosis: The case for retinoic acid[J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(2): 35.
17. Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans[J]. *Fertil Steril*, 2013, 100(5): 1180-1186.
18. Watanabe H, Kohda A, Komura JJ, et al. Preservation of chromosomal integrity in murine spermatozoa derived from gonocytes and spermatogonial stem cells surviving prenatal and postnatal exposure to γ -rays in mice[J]. *Mol Reprod Dev*, 2017, 84(7): 638-648.
19. Khan S, Adhikari JS, Rizvi MA, et al. Radioprotective potential of melatonin against ^{60}Co γ -ray-induced testicular injury in male C57BL/6 mice[J]. *J Biomed Sci*, 2015, 22: 61.
20. Le W, Qi L, Li J, et al. Low-dose ionizing irradiation triggers a 53BP1 response to DNA double strand breaks in mouse spermatogonial stem cells[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2016, 62(2): 106-113.
21. Ishii K, Ishiai M, Morimoto H, et al. The Trp53-Trp53inp1-Tnfrsf10b pathway regulates the radiation response of mouse spermatogonial stem cells[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 3(4): 676-689.
22. Coureuil M, Ugolin N, Tavernier M, et al. Puma and Trail/Dr5 pathways control radiation-induced apoptosis in distinct populations of testicular progenitors[J]. *PLoS One*, 2010, 5(8): e12134.
23. Angeli JPF, Shah R, Pratt DA, et al. Ferroptosis inhibition: mechanisms and opportunities[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(5): 489-498.
24. Zhang X, Xing X, Liu H, et al. Ionizing radiation induces ferroptosis in granulocyte-macrophage hematopoietic progenitor cells of murine bone marrow[J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(5): 584-595.
25. Lei G, Zhang Y, Koppula P, et al. The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression[J]. *Cell Res*, 2020, 30(2): 146-162.
26. Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 660-665.
27. Xiao J, Wang C, Yao JC, et al. Radiation causes tissue damage by dysregulating inflammasome-gasdermin D signaling in both host and transplanted cells[J]. *PLoS Biol*, 2020, 18(8): e3000807.
28. Tang D, Kang R, Berghe TV, et al. The molecular machinery of regulated cell death[J]. *Cell Res*, 2019, 29(5): 347-364.
29. Gao J, Peng S, Shan X, et al. Inhibition of AIM2 inflammasome-mediated pyroptosis by Andrographolide contributes to amelioration of radiation-induced lung inflammation and fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12): 957.
30. Sun Y, Rong X, Li D, et al. Down-regulation of CRTAC1 attenuates UVB-induced pyroptosis in HLECs through inhibiting ROS production[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 532(1): 159-165.
31. Skinner R, Mulder RL, Kremer LC, et al. Recommendations for gonadotoxicity surveillance in male childhood, adolescent, and young adult cancer survivors: A report from the International Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group in collaboration with the PanCareSurFup Consortium[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(2): e75-e90.
32. O'Donnell L, Smith LB, Rebourcet D. Sertoli cells as key drivers of testis function[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 121: 2-9.
33. Yokonishi T, McKey J, Ide S, et al. Sertoli cell ablation and replacement of the spermatogonial niche in mouse[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 40.
34. Asur R, Butterworth KT, Penagaricano JA, et al. High dose bystander effects in spatially fractionated radiation therapy[J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(1): 52-57.
35. Hu S, Zhu L, Song Y, et al. Radiation-induced abscopal reproductive effect is driven by TNF- α /p38 MAPK/Rac1 axis in Sertoli cells[J]. *Theranostics*, 2021, 11(12): 5742-5758.
36. Agarwal A, Finelli R, Selvam MKP, et al. A global survey of reproductive specialists to determine the clinical utility of oxidative stress testing and antioxidant use in male infertility[J]. *World J Mens Health*, 2021, 39(3): 470-488.
37. Wang L, Li L, Wu X, et al. mTORC1/rpS6 and p-FAK-Y407 signaling regulate spermatogenesis: Insights from studies of the adjuvant pharmaceutical/toxicant model[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 121: 53-62.
38. Shao L, Yang W, Xu R, et al. Inhibition of mTORC1 signaling protects kidney from irradiation-induced toxicity via accelerating recovery of renal stem-like cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 219.
39. Li MW, Mruk DD, Cheng CY. Mitogen-activated protein kinases in male reproductive function[J]. *Trends Mol Med*, 2009, 15(4): 159-168.
40. Madhu LN, Kumari NS. Radioprotective effect of sulphhydryl group containing triazole derivative to modulate the radiation-induced clastogenic effects[J]. *Res Pharm Sci*, 2014, 9(1): 23-29.
41. Kotzur T, Benavides-Garcia R, Mecklenburg J, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) promotes spermatogenic regeneration from surviving spermatogonia after high-dose alkylating chemotherapy[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2017, 15(1): 7.
42. Grace MB, Singh VK, Rhee JG, et al. 5-AED enhances survival of irradiated mice in a G-CSF-dependent manner, stimulates innate immune cell function, reduces radiation-induced DNA damage and induces genes that modulate cell cycle progression and apoptosis[J]. *J Radiat Res*, 2012, 53(6): 840-853.
43. Wang M, Dong Y, Wu J, et al. Sitagliptin mitigates total body irradiation-induced hematopoietic injury in mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8308616.
44. Strom E, Sathe S, Komarov PG, et al. Small-molecule inhibitor of p53

- binding to mitochondria protects mice from gamma radiation[J]. *Nat Chem Biol*, 2006, 2(9): 474-479.
45. Kofman AE, McGraw MR, Payne CJ. Rapamycin increases oxidative stress response gene expression in adult stem cells[J]. *Aging (Albany NY)*, 2012, 4(4): 279-289.
46. Yang F, Whelan EC, Guan X, et al. FGF9 promotes mouse spermatogonial stem cell proliferation mediated by p38 MAPK signalling[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(1): e12933.
47. Zhou Z, Zhou B, Chen H, et al. Oxidative stress activates the Nrf2-mediated antioxidant response and P38 MAPK pathway: A possible apoptotic mechanism induced by BDE-47 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gonadal RTG-2 cells[J]. *Environ Pollut*, 2021, 287: 117341.
48. Zhang R, Sun J, Zou K. Advances in isolation methods for spermatogonial stem cells[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2016, 12(1): 15-25.
49. Yang D, Wei Y, Lu Q, et al. Melatonin alleviates LPS-induced endoplasmic reticulum stress and inflammation in spermatogonial stem cells[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(5): 3536-3551.
50. Lau JL, Dunn MK. Therapeutic peptides: Historical perspectives, current development trends, and future directions[J]. *Bioorg Med Chem*, 2018, 26(10): 2700-2707.
51. Marjault HB, Allemand I. Consequences of irradiation on adult spermatogenesis: Between infertility and hereditary risk[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2016, 770(Pt B): 340-348.
52. Nakamura Y, Jörg DJ, Kon Y, et al. Transient suppression of transplanted spermatogonial stem cell differentiation restores fertility in mice[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(8): 1443-1456.e7.
53. Pendergraft SS, Sadri-Ardekani H, Atala A, et al. Three-dimensional testicular organoid: A novel tool for the study of human spermatogenesis and gonadotoxicity in vitro[J]. *Biol Reprod*, 2017, 96(3): 720-732.

本文引用：杨娟, 曾慧红, 邵立健. 电离辐射对睾丸生殖功能的影响[J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(9): 2274-2283. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.033

Cite this article as: YANG Juan, ZENG Huihong, SHAO Lijian. Effects of ionizing radiation on testicular reproductive function[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2022, 42(9): 2274-2283. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.033