

文章编号: 1007-4627(2012)01-0097-06

3D 组织培养模型及其在辐射诱导旁效应研究中的应用

吴汝群¹, 许安¹, 吴李君¹, 胡步荣²

(1. 中国科学院合肥物质科学研究院, 安徽 合肥 230031;

2. 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 综述了 3D 细胞培养技术(TDCC)的发展, 3 种主要的体外组织构建方法; 辐射诱导 2D 细胞产生旁效应的现象与机理; 人工构建的 3D 组织辐射后诱导的旁效应及其细胞间信号传导机理。重离子(C 离子)辐照作为一种重要的放疗工具, 对其辐射处理 3D 组织后诱导产生的旁效应进行了展望。由于 3D 组织更接近人体细胞生长的真实环境, 因而以 3D 组织作为模型研究辐射诱导的旁效应, 对于辐射旁效应的防护和治疗可能具有重要的指导意义。

关键词: 3D 组织模型; 辐射; 旁效应

中图分类号: R931

文献标志码: A

1 引言

自 Willhelm Roux 于 1885 年从鸡胚中分离细胞首次建立体外单层(Monolayer, 即 2D)细胞培养系统以来, 2D 细胞培养技术已有百余年的历史。它是当前生命科学研究中的一个重要的研究体系, 但 2D 细胞培养系统与生命有机体实际生理环境存在较大差别, 它无法提供细胞在体内生长时(Three dimensional, 简称 3D)的三维环境。例如, 相互接触的周围细胞、细胞外基质(Extra Cellular Matrix, 简称 ECM)和可溶性的化学分子以及作用在细胞上的机械力之间的相互作用^[1-5]。由于 2D 培养细胞用于研究的局限性, 一门新兴的细胞培养技术——三维细胞培养技术(Three-Dimensional Cell Culture, 简称 TDCC), 逐渐得到发展。3D 培养是指利用各种方法及支持材料, 使培养在体外的细胞以更接近于有机体内的模式生长-空间立体方式, 形成类似有机体内的组织结构, 发挥其功能。3D 组织模型展示了体内生长细胞的一些性状, 如它们的生长被抑制, 形成较高级立体结构的性能增强等^[1]。研究结果表明, 与 2D 细胞培养模型相比, 3D 培养模型是一个更适合于用来研究基因功能与生物机体调

节相关通路的理想模型系统^[5]。基于 3D 组织模型的多种优势, TDCC 的应用将在很大程度上弥补了 2D 细胞培养的不足, 促进生命科学的发展与应用。辐射诱导的旁效应现象的发现, 对传统的辐射靶损伤理论及防护安全标准提出了挑战, 针对其现象与机理的研究成为当今辐射生物学领域的一个热点并已获得较大进展。然而, 由于 2D 细胞培养模型的缺陷, 以其为模型的辐射旁效应研究结果用于推测有机体细胞受辐射的情况时可能存在一定的不可靠性。基于 3D 组织模型的优点, 其旁效应的研究结果有望更真实地反映体内受到辐照后产生的旁效应损伤情况, 为辐射安全评估和肿瘤治疗提供可靠的科学依据。

2 三维细胞培养技术(TDCC)

细胞的 3D 培养是利用各种方法及材料, 使细胞呈现空间立体方式生长更接近于有机体内生长模式, 形成类似有机体内组织结构, 发挥其功能。相对于传统的 2D 细胞培养方式, TDCC 是将细胞培植在一定的细胞外基质中, 由细胞外基质蛋白充当生长支架, 使得细胞能够分化产生一定的 3D 组织

收稿日期: 2011-04-14; 修改日期: 2011-05-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(10935009); 中国科学院百人计划资助项目(Y063020BRO); 国家重点基础研究发展规划资助项目(973 计划)(2010CB834201)

作者简介: 吴汝群(1985—), 女, 安徽淮南人, 硕士研究生, E-mail: wrq2008@mail.ustc.edu.cn

通讯联系人: 胡步荣, E-mail: hubr@impcas.ac.cn

特异性结构,所创建的细胞生长环境与体内环境最大程度地接近。绝大多数用于实验的 3D 组织要求必须足够的薄,以使组织内部可以供给足够的氧气和营养物质,一般厚度约 0.3 mm。用于肿瘤生物学的研究则不同,肿瘤内部营养物质的缺乏会导致肿瘤坏死,反映了肿瘤和机体的相互作用,一定厚度的肿瘤模型有助于肿瘤内诱导血管生成和对治疗药物的抗性研究^[9]。对于构建一般正常的 3D 组织理想的 3D 支架材料是能为细胞提供生存空间、使细胞获得足够的营养物质进行气体交换和细胞按预制形态的 3D 支架生长,成为使细胞生长良好的 3D 界面。目前,市场上商品化的 3D 支架产品多以 Matrigel 和胶原复合物为主。Gelain 等^[10]利用微小的蛋白质片段设计出一种新型 3D“脚手架”,干细胞能够在这种“脚手架”上生长、繁殖并分化成脑组织,这种“脚手架”相容性及可塑性更接近生物有机体本身。Bokhari 等^[11]研制出 3D 多孔聚苯乙烯支架,用它做支架培养的肝脏细胞,其结构和特征与人体中自然生长的肝脏细胞十分相似。

组织工程学的发展为 3D 组织模型的构建创造了基础。而一些相关因素则促进了 3D 组织模型构建的发展,如动物模型无法全面获得人细胞的应答反应,人异种移植瘤模型易受一些动物细胞因子的影响,以及传统 2D 培养系统的局限性等^[12]。现已证实,3D 细胞培养模型是一种高效的实验材料,广泛应用于辐射研究和药物安全测试。目前构建 3D 组织模型的方法概括起来主要有以下 3 种。

(1) 体内器官或组织薄切片外植并在体外培养。严格无菌操作,短期培养可以维持切片中细胞在体内生长时的生理结构,如啮齿类动物神经组织切片可在体外维持数周。培养环境中提供充足的氧气、生长支持物、培养基、约 36 °C 的培养环境,组织中的细胞持续分化,形成与体内类似的组织。这种方法广泛用于胚胎和脑腺体实验^[13-14]。

(2) 一种细胞与 3D 支架物质共同培养构建 3D 组织模型。从分离单细胞开始,如构建细胞系、解离组织、培养干细胞。通用的方法是首先大量培养细胞,然后将细胞种植在 3D 的基质胶支架中,培养形成单细胞或囊状结构。用作 3D 支架的物质通常是纯化均一的分子,包括胶原蛋白 I、生物合成材料、解离前细胞生长胞外物质等。

(3) 多种细胞或细胞与组织共同培养 3D 组织

模型。如人黑色素瘤皮肤模型中角质层细胞和上皮细胞共同培养^[15]。Meier 等^[16-17]构建了皮肤 3D 组织模型,其构建方法为:首先将胶原和皮肤成纤维细胞混匀,种入孔板中,形成胶状物作为皮肤的基层;然后将角质细胞和黑色素细胞混匀种在基层上,加入培养基,完整的细胞培养系统形成一段时间后,需将上层提起并与空气接触,以此促进角质细胞分化。通过组织学分析构建的皮肤组织与正常皮肤基本一致。

3 3D 组织模型在辐射旁效应研究中的应用

3.1 辐射诱导旁效应及其机理

1992 年, Nagasawa 和 Little^[18]首次提出旁效应的概念。目前,旁效应已成为辐射生物研究的热点。辐射旁效应是指未受到辐照的细胞与近旁受到辐照的细胞表现出相似或相同的生物学反应的现象,包括细胞死亡、细胞间活性氧增加、细胞增生、凋亡、染色体断裂与突变、基因改变、基因不稳定等^[19]。经过十几年的研究,2D 细胞旁效应的现象及其机制已逐渐被人们所了解。引起旁效应的原初物质包括活性氧、活性氮、细胞释放的蛋白因子等^[20-21]。通过细胞间的间隙连接、膜表面分子接触通讯、化学通讯(内分泌、旁分泌、自分泌)由辐射区影响旁区细胞,产生旁效应。研究表明,3D 组织同 2D 细胞一样可以通过细胞间隙通讯连接(Gap Junction Intercellular Communication, 简称 GJIC)^[22]和培养基介导的可溶性信号分子(Media-mediated soluble mediators)^[23]两种方式诱导发生旁效应。GJIC 在旁效应损伤信号传递中起到了重要作用,直接证据来自于 Azzam 等^[22]的实验结果。该实验表明对满度生长的 GJIC 缺陷或正常的细胞进行低剂量 α 粒子辐照,发现在 GJIC 正常表达的未辐射细胞中会出现 p53/p21/Waf1 表达以及微核率上升,而 GJIC 缺陷型的细胞则不表现出这些症状。Lindane 是 GJIC 的抑制剂,处理细胞后同样能够明显抑制旁效应症状的发生。早期 Persaud 等^[24]将标记了含氚胸腺嘧啶的 CHO 细胞和 AL 细胞共同培养最后形成细胞总量达 4×10^6 的混合培养细胞群体。二甲基亚砜(Dimethyl Sulfoxide, 简称 DMSO)单独作用混合培养细胞群不引起遗传毒性和细胞毒性的旁效应;DMSO 和低剂量刺激共同作

用时, 细胞突变率比不加 DMSO 时明显下降。实验表明, 自由基清除剂 DMSO 可以降低低剂量刺激、羟基自由基导致的旁效应产生过程。连接蛋白 43 缺陷型 A_L 细胞培养的混合培养细胞群旁效应显著减少, 表明间隙连接在细胞通讯导致的旁效应中所起的主要作用。利用 3D 组织模型的研究发现, 对 GJIC 的功能抑制后, 可以很有效地抑制旁效应^[25-26]。另外, 活性氧 (Reactive Oxygenspecies, 简称 ROS)^[27]、活性氮 (Nitric Oxide, 简称 NO)^[28-29] 和 TGF- β ^[30] 等也被证实涉及辐射诱导的旁效应。2010 年, Kovalchuk 等^[31] 以 EpiAirway (Air-112) 组织模型实验证实 microRNA 在旁效应中的作用, 他们发现离子辐射导致旁效应区域 miRNA 表达的下调。miRNA 表达量的变化影响了旁效应生物学终点包括凋亡、细胞周期调控、DNA 甲基化。miR-17 表达上调导致细胞周期调控因子 E2F1 和 RB1 表达下调, 表明旁效应区细胞增殖发生变化; 同样 miR-29 家族表达上调使下游目标因子 DNMT3a 和 MCL1 表达下降, 影响了 DNA 甲基化和细胞凋亡; miR-16 表达变化使 BCL2 基因表达发生变化, BCL2 在细胞凋亡中起着调节作用。

3.2 3D 组织模型低剂量辐射旁效应

旁效应研究是低剂量辐射研究领域的重要问题之一, 原因在于以往所获知辐射危害性方面的可靠资料都来源于高剂量辐射案例, 如根据日本原子弹爆炸后所画出的“黄金曲线”。2002 年, Belyakov 等^[32] 报道了用微束 $^3\text{He}^{2+}$ 精确定位辐射尿道外植体的部分研究旁效应, 发现旁区凋亡和微核诱导形成率有所降低。2005 年, Belyakov 等^[33] 应用体外重建的人皮肤 3D 组织来研究辐射旁效应在组织水平上的传导, 结果表明在距离受到辐照细胞 1 mm 内的区域的细胞发生凋亡和产生微核的概率, 分别是对照的 2.8 倍和 1.7 倍。此外, Sedelnikova 等^[34] 用 α 粒子辐照体外重建的人皮肤 3D 组织研究旁区细胞中 DNA 双链断裂 (Double-Strand Break, 简称 DSB) 的产生情况, 发现辐射区细胞在辐照 30 min 后诱导的 DSB 阳性细胞分数达到最大值, 而未辐照细胞的 DSB 阳性细胞分数在 12~48 h 达到最大值, 并在 7 d 内随着时间的增加而递减。这一重要发现揭示了低剂量辐射 (此时未直接受照射的细胞占大多数) 所引起的辐射损伤效应远远比通过线性

外推方式预估出的大得多。人们对低剂量辐射旁效应研究精确评估其对人体的危害时能否仍然根据黄金曲线外推提出了质疑。Ponnaiya 等^[35] 用 α 粒子研究人工皮肤 3D 组织 (EpiDerm) 中的旁效应。以 1 Gy (120 keV/ μm) α 粒子辐照处理皮肤组织, 由于 α 粒子穿透能力有限, 辐照范围局限于下层 25 μm 左右, 其它范围被定义为旁效应区细胞。组织块分别在辐照处理 15, 30, 45 和 60 min 后用 10% 中性福尔马林固定、切片、免疫组化观察目标蛋白的表达变化。结果表明, 旁效应敏感基因 p21/Waf1 在辐照后 15 min 表达量开始上调, 持续到 30 min, 之后恢复到与对照样相同的水平。p53 丝氨酸第 15 位磷酸化水平的变化趋势与 p21/Waf1 的基本相同。已知离子辐照 2D 正常成纤维细胞旁效应可引起微核形成率和基因表达水平的改变^[36], Brian 证实了 3D 皮肤组织旁效应实验结果和 2D 细胞旁效应研究结果基本一致。Schettino 等^[37] 用人造皮肤表皮组织 EPI-200 探究距离辐照区不同距离的旁区微核形成率。EPI-200 由 8~12 层细胞组成, 厚度约 75 μm , 结构上由角质层、透明层、颗粒层和基底层所组成, 与体内表皮组织结构很相似^[38]。由于很多的生物学终点 (如微核和染色体) 分析都需要在单细胞上进行实验, 实验中分别用胰酶和胶原蛋白酶解离 3D 组织, 结果获得具有活力的单细胞继续培养, 解决了 3D 组织和 2D 细胞之间生物学终点检测转换的困难^[39]。同时 Schettino 等^[37] 使用精确到微米的切片机, 将组织切成单片, 并将距离辐照区不同距离的细胞切片收集解离成单细胞用于实验。结果表明, 旁效应微核在靠近辐射区域产生较多, 旁区边缘仍然可检测到微核, 但微核形成率有所下降, 表明在辐射区数微米范围内的旁区均可产生微核。Belyakov 等^[33] 用微束 α 粒子辐照人造表皮组织, 距离辐射区域不同距离固定旁区组织, 切片研究旁区微核形成, 结果同样表明与辐射区距离的远近影响了旁区微核的形成率。

4 3D 组织重离子辐射旁效应研究展望

重离子具有相对生物学效应高、细胞损伤修复效率低等特点, 从而成为当前癌症临床放疗中一项很有应用前景的技术^[40]。通过调节重离子束的能量可精确地将 Bragg 峰区 (高剂量区) 集中在肿瘤部位, 有效杀死肿瘤细胞, 而位于坪区的正常组织获

得较小能量沉积,从而使周围的健康组织受到较小程度的损伤。应用 2D 培养细胞模型进行的重离子辐照实验,一定程度上为人们展示了重离子辐照特有的生物学效应,并揭示了重离子治癌的部分生物学机理。相关研究也表明,重离子辐照也会诱导 2D 细胞产生一定程度的旁效应^[41]。3D 组织模型与 2D 细胞相比,细胞生长微环境更接近活体内细胞生长生理环境,细胞的形态结构与生理反应更接近有机体状态,因此 3D 组织模型在目前的生命现象与药物效应测试研究中越来越受到重视。肿瘤放射治疗的一个重要目标是对肿瘤细胞最大杀伤的同时最大程度地保护正常组织,以 3D 组织模型研究在重离子治癌过程中诱导的旁效应并建立相应的防护措施,具有重大的现实指导意义。在我们目前正在进行的实验中,参照已有方法^[42],将永生化的人肺支气管上皮细胞 HBEC-3KT 培养在细胞生长基质胶(matrigel)中,构建成人造 3D 器官样肺囊结构(图 1),将此肺囊 3D 组织及同型的 2D 细胞辐照后,与成纤维 2D 细胞共培养。 γ H2AX 免疫组化染色受体成纤维细胞,检测分析共培养后诱导的细胞 DNA 双链断裂位点水平。初步实验结果表明,高 LET 的 $^{12}\text{C}^{6+}$ (2 Gy)辐照后,3D 肺囊组织诱导的受体成纤维细胞中 γ H2AX foci 旁效应少于 2D HBEC-3KT 细胞诱导产生的数量(图 2)。此外,Asaithamby 等^[43] 分析以同种方法培养的 2D 和 3D 结构细胞 Fe 离子辐照后的 DNA 双链断裂修复,3D 结构细胞 Fe 离子辐照后 24 h,诱导的未修复 DSB 数比 2D 结构细胞高 13% 左右。

同一基因背景的细胞系,由于培养条件的不同,其形态结构发生变化的同一类型细胞系细胞,在接受高 LET 辐射诱导产生不同的直接效应和旁效应,这种差异现象的原因是什么呢? Aroumougame 等^[43] 研究同种方法构建的 3D 肺囊模型中细胞有关 DNA 信号通路中关键基因的表达,比较 2D 细胞发现,其细胞周期调控基因 CDC25A 和 CDC25C 表达下调;细胞增殖基因 PCNA、2 号和 4 号染色体结构维持基因 SMC2 和 SMC4 表达下调。这可能表明导致 3D 组织模型细胞与 2D 细胞接受同剂量的照射时细胞应激反应不同,3D 组织模型细胞 DNA 辐射损伤程度较小,同时其修复能力也下降。类推到重离子辐照诱导的旁效应,涉及旁效

应诱导的活性氧、活性氮、TGF- β 及 IL6 等细胞因子,在 3D 结构细胞和 2D 培养细胞被辐照后诱导的产生方式与程度是否存在差异? 是否是决定前述旁效应差异的主要原因,将是下一步的工作重点。

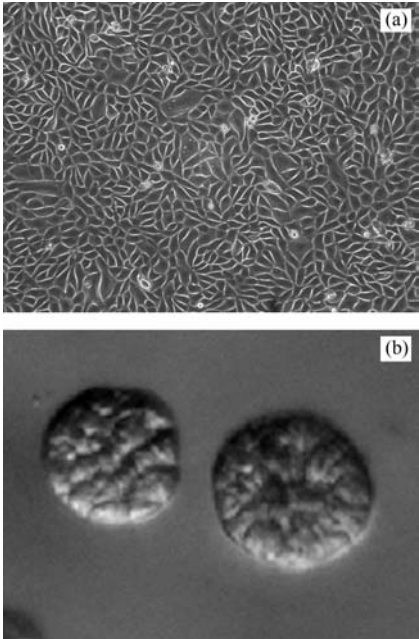


图 1 HBEC-3KT 2D 培养和 3D 培养的形态差异
(a) 生长抑制后 2D 细胞形态呈鹅卵石状; (b) 培养在 Matrigel 中的细胞形态呈囊球状,与人体肺囊相似。

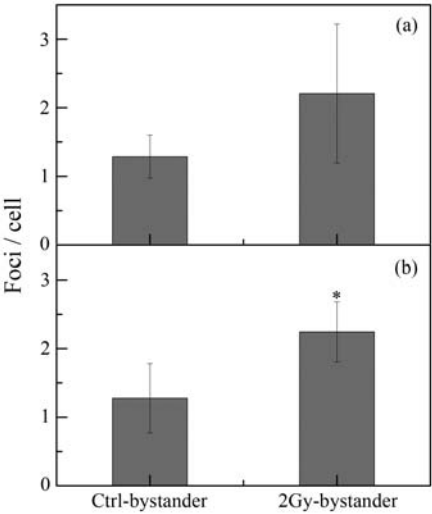


图 2 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐照 2D 细胞和 3D 肺囊旁效应 γ H2AX 形成率
(a) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照单层细胞旁效应; (b) $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照三维组织旁效应。

参考文献(References):

[1] EMERMAN J T, PITELKA D R. In Vitro, 1977, **13**(5): 316.

[2] AZZAM E I, LITTLE J B. Hum Exp Toxicol, 2004, **23**(2): 61.

[3] BEHRAVESH E, EMAMI K, WU H, *et al.* Adv Space Res, 2005, **35**(2): 260.

[4] HEI T K, ZHOU H, IVANOV V N, *et al.* J Pharm Pharmacol, 2008, **60**(8): 943.

[5] WEIGELT B, BISSELL M J. Semin Cancer Biol, 2008, **18**(5): 311.

[6] BIRGERSDOTTER A, SANDBERG R, ERNBERG I. Semin Cancer Biol, 2005, **15**(5): 405.

[7] GRIFFITH L G, SWARTZ M A. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, **7**(3): 211.

[8] CUKIERMAN E, PANKOV R, STEVENS D R, *et al.* Science, 2001, **294**(5547): 1708.

[9] HICKS K O, PRUIJN F B, SECOMB T W, *et al.* J Natl Cancer Inst, 2006, **98**(16): 1118.

[10] GELAIN F, BOTTAI D, VESCOVI A, *et al.* PLoS One, 2006, **1**: e119.

[11] BOKHARI M, CARNACHAN R J, CAMERON N R, *et al.* Biochem Biophys Res Commun, 2007, **354**(4): 1095.

[12] YAMADA K M, CUKIERMAN E. Cell, 2007, **130**(4): 601.

[13] GAHWILER B H, CAPOGNA M, DEBANNE D, *et al.* Trends Neurosci, 1997, **20**(10): 471.

[14] SAKAI T, LARSEN M, YAMADA K M. Nature, 2003, **423**(6942): 876.

[15] SMALLEY K S, LIONI M, HERLYN M. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2006, **42**(8/9): 242.

[16] MEIER F, NESBIT M, HSU M Y, *et al.* Am J Pathol, 2000, **156**(1): 193.

[17] BERKING C, HERLYN M. Histol Histopathol, 2001, **16**(2): 669.

[18] NAGASAWA H, LITTLE J B. Cancer Res, 1992, **52**(22): 6394.

[19] MOTHERSILL C, SEYMOUR C B. Nat Rev Cancer, 2004, **4**(2): 158.

[20] MATSUMOTO H, HAYASHI S, HATASHITA M, *et al.* Radiat Res, 2001, **155**(3): 387.

[21] SHAO C, FOLKARD M, MICHAEL B D, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 2004, **101**(37): 13495.

[22] AZZAM E I, DE TOLEDO S M, LITTLE J B. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, **98**(2): 473.

[23] IYER R, LEHNERT B E, SVENSSON R. Cancer Res, 2000, **60**(5): 1290.

[24] PERSAUD R, ZHOU H, BAKER S E, *et al.* CRR Annual Report of Columbia University, 2005, 17.

[25] BISHAYEE A, RAO D V, HOWELL R W. Radiat Res, 1999, **152**(1): 88.

[26] BISHAYEE A, HILL H Z, STEIN D, *et al.* Radiat Res, 2001, **155**(2): 335.

[27] TARTIER L, GILCHRIST S, BURDAK-ROTHKAMM S, *et al.* Cancer Res, 2007, **67**(12): 5872.

[28] SHAO C, STEWART V, FOLKARD M, *et al.* Cancer Res, 2003, **63**(23): 8437.

[29] CHEN S, ZHAO Y, HAN W, *et al.* Br J Cancer, 2008, **98**(11): 1839.

[30] PENAFUERTE C, GALIPEAU J. Cancer Immunol Immunother, 2008, **57**(8): 1197.

[31] KOVALCHUK O, ZEMP F J, FILKOWSKI J N, *et al.* Carcinogenesis, 2010, **31**(10): 1882.

[32] BELYAKOV O V, FOLKARD M, MOTHERSILL C, *et al.* Radiat Prot Dosimetry, 2002, **99**(1-4): 249.

[33] BELYAKOV O V, MITCHELL S A, PARIKH D, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 2005, **102**(40): 14203.

[34] SEDELNIKOVA O A, NAKAMURA A, KOVALCHUK O, *et al.* Cancer Res, 2007, **67**(9): 4295.

[35] PONNAIYA B, MARINO S, GEARD C R, *et al.* Investigation of Radiation-induced Bystander Responses in Artificial Skin Tissues. CRR Annual Report of Columbia University 2005, 28.

[36] PONNAIYA B, JENKINS-BAKER G, BRENNER D J, *et al.* Radiat Res, 2004, **162**(4): 426.

[37] SCHETTINO G, JOHNSON G W, MARINO S A, *et al.* Int J Radiat Biol, 2010, **86**(7): 593.

[38] MONTEIRO-RIVIERE N A, INMAN A O, SNIDER T H, *et al.* Microsc Res Tech, 1997, **37**(3): 172.

[39] HYBBINETTE S, BOSTROM M, LINDBERG K. Exp Dermatol, 1999, **8**(1): 30.

[40] GUO Chuanling, WANG Jufang, JING Xiaodong, *et al.* Nuclear Techniques, 2006, **29**(8): 587(in Chinese). (郭玲玲, 王菊芳, 金晓东, 等. 核技术, 2006, **29**(8): 587.)

[41] SHAO C, AOKI M, FURUSAWA Y. Radiat Environ Biophys, 2003, **42**(3): 183.

[42] CHU J H, YU S, HAYWARD S W, *et al.* Prostate, 2009, **69**(4): 428.

[43] ASAITHAMBY A, HU BURONG, DELGADO O, *et al.* Nucleic Acids Res, 2011, **39**(13): 5474.

Culture of Three-dimensional Tissue Model and Its Application in Bystander-effect Research

WU Ru-qun¹, XU An¹, WU Li-jun¹, HU Bu-rong²

(1. *Hefei Institutes of Physical Science, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;*

2. *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China*)

Abstract: Compared with the cultured monolayer (2D) cells, three-dimensional (3D) tissue could be more similar to the environment in vivo including the physical support, chemical factors, cell-cell and cell-matrix interaction and so on. With the development of three-dimensional cell culture techniques (TDCC), 3D tissue is widely used in the areas of bystander effect research. This review focuses on introducing the TDCC method and its application in bystander-effect research. First, the development process of 3D tissue culture method was introduced. Secondly, the induction of radiation induced bystander effects both in 2D cell and 3D tissue and its mechanisms were reviewed. Finally, because heavy ion (carbon ion beam) has been developed as a useful tool to cure solid cancer, and the 3D tissue model is an ideal material to study the damages on body after being irradiated and to understand the underlying mechanisms, future study about heavy ion radiation inducing bystander effect in 3D tissue was discussed.

Key words: three-dimensional (3D) tissue model; radiation; bystander effect

Received date: 14 Apr. 2011; **Revised date:** 6 May 2011

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(10935009); Hundred Talents Program of Chinese Academy of Sciences (Y063020BRO); Major State Basic Research Development Program of China(973 Program)(2010CB834201)

Corresponding author: HU Burong, E-mail: hubr@impcas.ac.cn