

医学参考报

放射医学与防护频道

Radiological Medicine and Protection

Number 03

执行主编介绍



江其生 主任医师

第二炮兵总医院核与辐射损伤实验室

第二炮兵总医院“全军核辐射损伤监测与防治研究中心”主任，主任医师，研究生导师，博士后合作导师，中国放射与防护学会委员，国家核生化医学救治辅助决策系统专家库成员，全军武器装备辐射生物学效应监测与评估专业委员会副主任委员，全军辐射医学专业委员会常委，全军“三防”医学救援专家咨询委员会委员，全军生物技术专业委员会委员，全军优秀专业技术人员岗位津贴获得者，北京市突发公共卫生事件应急救援专家，第二炮兵放射医学与军事毒理专业委员会主任委员，《中华放射医学与防护杂志》等编委，北京师范大学生命科学院、苏州大学放射医学与防护学院等外聘教授。主要从事放射生物学及核事故医学应急救援研究工作。获军队科技进步二等奖2项、三等奖3项，国家发明专利授权3项，立个人三等功1次，在国内外发表专业学术论文80余篇，副主编及参编学术专著2部，主编《北京奥运会及北京市应对核恐怖袭击事件医学应急救援预案》，参编《北京奥运会健康遗产专著》。主持国家自然科学基金、军队后勤重大专项等课题15项。参与北京奥运会等大型活动的应急保障工作。

放射恐怖袭击发生的可能类型、概率与后果

二炮总医院全军核辐射损伤监测与防治研究中心 李峰生 邹跃

2001年发生在美国的“9.11”事件促使一些国家的辐射应急响应部门的关注重点从单纯的核电站或核设施事故向潜在的放射恐怖袭击威胁倾斜。在全球大约有超过10万个废弃的放射源，其中约有1,000个放射源足以对人体造成损伤。IAEA报道全球约有300起放射性材料走私案件发生，表明恐怖分子有可能在未来策划放射恐怖袭击。英国军事情报五处处长伊莱扎·曼宁厄姆·布勒曾说过，恐怖组织使用粗制的某种大规模杀伤性武器向西方某个城市发动攻击“只是时间问题”，这其中就包括放射恐怖袭击。为更好的应对可能发生的放射恐怖袭击，本文探讨了放射恐怖袭击的可能类型、发生概率与后果。

1 利用放射散布装置 (radiologic dispersal device, RDD)

RDD是一种散布放射性材料来污染广大区域和/或大批人员的设备，利用RDD制造的放射恐怖袭击事件可以是隐蔽性或公开性的。虽然散布放射性物质的手段可以有很多种，但最可能被恐怖分子使用的方式是爆炸，也就是所谓的“脏弹”(dirty bomb)。它是将少量的放射性物质附着于常规炸药上，利用常规爆炸物将放射性物质播散到一个广阔区域内。若放射性物质能被气化(例如铯-137)，其影响范围将进一步扩大。

利用RDD，例如“脏弹”，制造放射恐怖袭击被认为是“高度可能”，因为它的制作工艺简单，而且放射性材料来源广泛，例如家用烟雾探测器和铺设柏油路面时所使用的湿度密度计中都含有少量放射性物质，前者在五金商店中即可买到，后者在公路建设中常规使用，美国每年报告的湿度密度计达50多个。2002年，美国破获一起试图制造“脏弹”恐怖袭击的计划；2003年，英国情报部门在阿富汗Herat省发现了一份描述RDD原理的草图；2004年，英国逮捕了一批试图制造“脏弹”，对机场、高速公路等目标发动袭击的恐怖分子。

由于恐怖分子能得到的放射性物质活度较低，因此RDD袭击不太可能会导致受照者发生急性放射病，最可能出现的情况就是极少数人发生放射性沾染或体内污染。RDD袭击的最大后果是对大量公众造成心理恐慌。

2 放置放射暴露装置 (radiation exposure device, RED)

另一种可取代RDD的放射恐怖袭击形式是在人流量大的公共场所隐匿放置放射暴露装置，如放射源，并在一段时间之后向公众公布其存在。在此期间经过附近的路人可能会受到一定剂量的照射，照射方式以外照射为主，如果放射源被有意或意外损坏，内照射也可能出现。

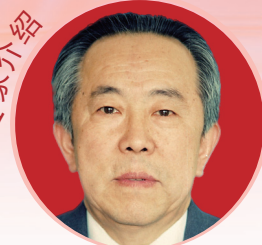
与RDD一样，利用RED进行放射恐怖袭击也被认为是“高度可能的”。与RDD相比，RED甚至更容易制作，恐怖分子只需获得少量放射物质就可以实现。除了前面所提到的家用烟雾探测器、铺设柏油路面时所使用的湿度密度计外，一些用于癌症短距离放疗的小型铯源甚至可以被恐怖分子拿来直接使用，1998年，北卡罗来纳州格林斯博罗的一个医学中心报告丢失了19个铯-137管状源，其总活度约为22GBq。

由于用来制作RED的放射性物质活度同样不太可能很强，因此这种形式的恐怖袭击同样不太可能导致急性放射病的发生，恐怖分子公布RED存在的目的是为了引起公众恐惧和心理恐慌，此外受到照射的人群发生恶性肿瘤的长期风险可能有微小升高。

3 食物和饮水供应中投放放射性物质

通过在食物或饮水供应中投放放射性物质，影响公众健康，造成公众心理恐慌和
下转第2版 ▶

专家介绍



尉可道 教授

中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所

专家点评

在ICRP2007年建议书中建议用三类照射情况取代以前ICRP使用的实践和干预照射分类。所有照射范围都包括这三类照射情况：计划照射、应急照射和现存照射。

计划照射情况指计划引入或操作放射源情况；应急照射情况指在计划照射情况运行过程中可能发生的或由恶意行为引起的并需要采取应急措施的意外照射情况；现存照射情况指当需要采取控制措施时照射已经存在的照射情况如天然本底照和在紧急事件发生后存在持续照射如生活在被污染地区照射情况。

本期《医学参考报—放射医学与防护频道》由二炮总医院“全军核辐射损伤监测与防护研究中心”学科带头人江其生主任为执行主编，由其团队成员对上述三类照射情况中的应急照射情况的一些相关内容作为主线加以介绍。首先介绍放射恐怖袭击发生类型、概率与后果(头版)，重点介绍五种放射性恐怖袭击特点，在当前国内外恐怖活动日益猖獗形势下做好有针对性地预防和应急准备具有重要现实意义；放射性核素内污染及其健康危害与医学处置(2版)，针对不同类型核与辐射事故造成放射性核素内污染监测和促排是医学应急救援一项重要任务，及时地对内污染伤员恰当处置可极大地避免或降低其有害健康效应发生；生物剂量计新方法和新技术研究(5-6版)，在突发性核与辐射事故中，难以对受照射人员采取物理学剂量测量方法提供其受照剂量，而利用伤员自身生物终点作为剂量计进行测量能及时提供受照剂量估算，并有针对性对伤员筛查，分类和后续个体化治疗提供依据，这项研究是目前国内外一个热点，又是一项难点；抗辐射药物及间充质干细胞治疗急性放射病新进展(3、4、8版)，历史经验证明，在一些大范围严重核与辐射事故中，往往会出现群体性急性放射病伤员，有效的抗辐射药物应用可以大大降低各种类型放射病的死亡率。本中心以江其生教授领导下研究团队在开展对急性放射病抗

辐射药物研究中，承担国家和全军研究课题，获得一些有价值的成果。总之，以上内容是应急照射情况下一些重要内容，重点突出，对国内核与辐射事故医学应急救援工作有指导意义。

最后，有关现存照射情况，将在本年度第6期专题介绍。

导读

- 放射性核素内污染及其健康危害与医学处置 **2版**
- 抗辐射药物研究进展 **3版**
- 间充质干细胞在急性放射病治疗中的应用进展 **4版**
- 染色体畸变分析技术的改良与新的生物剂量计研究 **5版**
- miRNA参与辐射生物学效应的调节 **7版**
- 可接受质量剂量(AOD)对诊断参考水平(DRL)的补充 **8版**

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日

放射性核素内污染及其健康危害与医学处置

二炮总医院全军核辐射损伤监测与防治研究中心 李峰生 江其生

各种类型的核与辐射事故都可能造成放射性核素内污染, 及时进行内照射检测和放射性核素的外排是医学应急救援的重要内容。

放射性核素可以通过呼吸道、消化道、皮肤及开放的伤口等途径进入人体, 在核与辐射事故现场去污时要优先对开放伤口进行去污处理, 然后是口鼻及体表。

放射性核素进入体内后, 易于在体内某个特定的组织或器官沉积, 继而损伤靶组织或器官。放射性核素在体内组织或器官沉积的特异性主要取决于其粒子直径、化学形态、生物分子间的相互作用以及代谢特征。放射核素粒子直径越小, 其分布到机体不同组织或器官的效率越高。同样, 可溶形式的放射性核素易被机体快速吸

收并且通过血液循环分布到机体的不同部位。相反, 通过呼吸道吸收的不可溶形式(例如氧化物形态)的放射性核素则易于在肺部长期沉积。

沉积在体内的放射性核素会持续释放射线, 对其周围组织或器官产生持续照射, 引起组织或器官损伤。若放射性核素释放的是 α 粒子 (^{232}Th , 氡) 或者低能 β 射线 (^3H), 那么它只会对其沉积的组织产生损伤效应。如果放射性核素能释放 γ 射线 (^{137}Cs) 或者高能 β 射线 (^{32}P , ^{90}Sr), 那么不但会导致其沉积的靶组织或器官损伤, 而且会导致其周围组织或者器官受损。此外, 镭系和锕系的放射性核素本身属于重金属元素(密度 $> 5000\text{kg/m}^3$), 一旦发生内污染, 这些具有放

射性的重金属元素既可通过释放射线对机体产生放射损伤又可对机体产生化学毒性。当内污染的核素为比活度非常低的放射性重金属核素时 (^{238}U 或 ^{232}Th), 其对机体的毒性作用主要是由放射性核素的化学属性引起的, 而当内污染的核素为比活度高的放射性重金属核素时 (^{233}U 或 ^{228}Th), 其对机体的毒性作用来自于放射毒性和化学毒性的累加。

对于放射性核素内污染的检测, 若体内沉积的放射性核素释放的是 γ 射线, 则可通过全身计数器对其进行直接测量。但对于释放 α 射线的核素, 则只能通过检测排泄物中放射性核素的量来对其进行间接估算。

在核与辐射事故或放射恐怖袭击现场, 存在于机体表面

的放射性核素外污染比较容易去除, 通常脱去衣物就可以去除 80% 以上的外污染, 然而放射性核素内污染的处置则比较困难。目前用于应对放射性核素内污染处置的药物可分为两类, 一类为阻止机体对放射性核素吸收的药物(阻吸收药物), 例如碘化钾片和普鲁士蓝。当放射性碘内污染时, 如果在污染后 4~6 小时内服用稳定性碘(碘化钾的形式)可以饱和甲状腺中碘的结合位点, 抑制放射性碘的掺入。普鲁士蓝则是用于阻断肠道对铯-137 的摄取, 并已被美国 FDA 批准。另一类放射性核素内污染处置药物为促进体内放射性核素排出的药物(促排药物), 主要是一些螯合剂。它们能与放射性核素螯合, 形成可溶性化合物, 继而易于从

体内排出。理想的放射性核素螯合剂应该具有以下特征:(1)能与放射性核素特异性结合;(2)在工作剂量水平对机体无毒或无副作用;(3)能够通过生物学屏障, 如细胞膜或血脑屏障;(4)能够与重金属形成稳定化合物;(5)螯合剂对有毒重金属的化学亲和力应该高于其对机体必需金属元素的亲和力;(6)不会被细胞或组织内的生物反应所改变。在多年的研究中, 人们一直未能找到一种具备上述所有特征的螯合剂。目前, DTPA 是最常用的内污染促排剂, 并获得 FDA 的批准, 可用于铯、锶和钡等放射性核素的促排。

核事故常见放射性核素特征、可引起的健康效应以及应对措施见表 1。

下转第 3 版 ▶

◀ 上接第 1 版

社会混乱。放射性物质可以是直接投放于人类食物或饮水中, 也可以是投放于食物链下游, 如牛的食物或饮水, 继而通过食物链传递至公众。

这种形式的放射恐怖袭击是有可能的, 因为恐怖分子同样是只需获得少量放射物质就可以实现。俄罗斯特工利特维年科死于 210 中毒死亡事件就已经证明这种方式恐怖袭击的可行性, 虽然此事件本身不能被定义为放射恐怖袭击。

放射性内污染和重金属中毒是此类放射恐怖袭击的主要后果, 是否引发急性放射病则取决于摄入体内的放射性物质的活度, 利特维年科死于典型的骨髓型放射病。公众恐慌和社会混乱是可以预见的后果, 此外幸存者患肿瘤的长期风险将升高。

其周边地区引爆核武器, 其对人员健康影响和环境破坏将是灾难性的。

这种形式的恐怖袭击被认为是“几乎不可能的”, 但并非完全不可能, 因为据称在前苏联解体后, 一些便携式的“箱式炸弹”发生丢失。这些武器的威力可能与在广岛和长崎投下的两颗终结了二战的原子弹相当。此外, 上世纪 90 年代以来, 全球有十几起记录在案

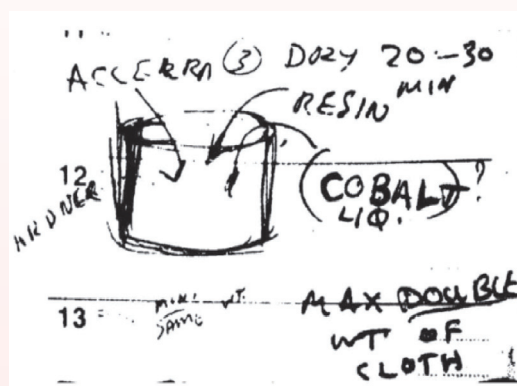
的核材料盗窃和丢失的事件, 表明恐怖组织正想获得这些材料, 用以制造核武器, 如果引爆核武器这种恐怖袭击发生, 即使是引爆不成熟的简易核武器, 其后果也将是灾难性的。数以千计的人将因冲击波和热效应而死去; 成百上千的人将因为 γ 射线和中子暴露而死于或发生急性放射病; 受照后的幸存者将会有患白血病和实体瘤的长期风险。

5 袭击核设施

与引爆核武器相比, 袭击已有的核设施则相对容易实现。IAEA 官员曾预言:“恐怖组织正在尝试袭击位于人烟稠密地区的核设施, 该设施内保存有放射性物质, 甚至可能在某国首都进行。这将引起核污染并会造成千上万人死亡。据我们了解, 恐怖组织正在进行类似活动, 事实上他们有很大的成功机会,

而且比自己搞到核武器的机会更大。”好在核电站等设施的反应堆建筑本身非常坚固, 据称即使受到一架装满燃料的喷气式飞机撞击, 也不会遭到毁坏。相对而言, 贮存于反应堆附近“水池”中的乏燃料元件则可能更易受攻击, 因为目前还没有可广泛应用于乏燃料长期贮存的设施。

通常认为此类的恐怖袭击是不可能发生的, 但是美国情报机构曾称恐怖分子计划发动的袭击目标中包括了能源部的核设施。印度的核设施也曾被恐怖分子列为袭击的目标。如果此类恐怖袭击发生, 并且乏燃料元件中的大量放射性物质扩散到了周边地区。虽然个体的受照剂量可能不足以引发急性放射病, 但是因为清理工作是一个长期而缓慢的过程, 必将会有社会混乱和巨大经济损失。并且受到外照射或是有放射性内污染的人员将有患白血病和实体瘤的长期风险。



英国情报部门 2003 年在阿富汗发现的一张“脏弹”制作草图。



2004 年, 一伙伊斯兰恐怖分子收集了数千个家用烟雾探测器

4 引爆核武器

恐怖分子若在大城市或是

医学参考报		放射医学与防护频道							
理事长兼总编辑: 巴德年 副理事长: 曹雪涛等 理事会秘书长: 周赞	社长: 魏海明 副社长: 吕春雷 副社长: 周赞	名誉主编: 吴祖泽 潘自强 主编: 马力文 副主编: 姜恩海 罗庆良 邹跃 刘长安 常务编委: 陈英 郭亦超 江其生 金顺子 刘芬菊 吕慧敏 李君利 刘强 李蓉 刘英 陆毅 刘玉龙 吕玉民 冉新泽 尚兵 问清华 万玲 朱国英 张淑兰 编委: 崔凤梅 陈红红 陈肖华 崔勇 高林峰 何玲 鞠永健 刘福东 梁莉 刘丽宏 凌光华 马庆录 任福利 吴锦海 邬家龙 乌丽娅 王墨培 王善强 肖德涛 谢萍 邢志伟 姚波 余长林 杨文峰	杨业鹏 尹在哲 赵超英 张继勉 张玉松 张照辉 专家委员会主任委员: 尉可道 专家委员会副主任委员: 贾廷珍 委员: 白光 龚守良 龚治芬 李开宝 施仲齐 童建 王桂林 王洪复 王继先 王文学 周湘艳 编辑部主任: 张照辉 编辑部副主任: 郭亦超 陆毅 编辑: 王墨培 肖宇 曹宝山 岳瑶 学术发展部主任: 梁莉 学术发展部副主任: 刘丽宏 刘强						
社址: 北京宣武区红莲南路30号4层B0403 邮编: 100055 总机: 010-63265066									

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日 ▶	总编室	年 月 日



抗辐射药物研究进展

二炮总医院全军核辐射损伤监测与防治研究中心 李伟 周昆明

抗辐射药物的应用是核与辐射事故伤员救治和医学应急救援的重要内容。尽管在过去60年中,针对急性放射病(ARS)所研制的安全、无毒、有效的药物尚无一种被FDA批准上市,但FDA已批准7种药物可用于治疗ARS的临床研究。本文简要介绍了几种有发展潜力和应用前景的抗辐射制剂。

1. 5-雄烯二醇/Neumune是第一个获得美国FDA批准用于ARS治疗和预防研究的药物。它可以改善整体血液状态,包括增加血小板数量和血浆G-CSF和IL-6水平,还可诱导BAX和BCL-2,上调CDKN1A和DDB1的表达,抑制辐射小鼠脾细胞DNA链断裂,说明5-雄烯二醇/Neumune是G-CSF依赖性的,它通过调整细胞周期和凋亡来减少辐射诱导的损伤。临床试验表明,服用5-雄烯二醇/Neumune可能是安全、有效的,可启动先天性免疫反应和缓解ARS引起的中性粒细胞和血小板的减少。

2. BIO300作为染料木素被人们所熟知,它是一种植物雌激素,抗氧化剂(自由基清除剂)和蛋白酪氨酸激酶抑制剂。在全身受照前服用染料木素可以减轻⁶⁰Co γ 射线照射对小鼠潜在的致命性损害。皮下使用时换算系数是1.16。大剂量服用时可有效保护小鼠对抗 γ 射线。受照前服用,可以减轻小鼠的肺损伤。受照前皮下注射和肌注可以保护小鼠的造血系统。皮下注射BIO300联合口服甲硫丙脯酸会增加C57BL/6J小鼠的抗辐射作用。虽然由于较低的生物利用度,BIO300的应用曾一度受到限制,但纳米颗粒制剂可解决这个问题。

3. CBLB502为一种沙门氏菌鞭毛蛋白的衍生物,它的药理学特点是靶向细胞TLR-5受体和活化NF- κ B信号通路。纯化的鞭毛蛋白可保护小鼠免受致死剂量辐射损害。G-CSF和IL-6这两种细胞因子是CBLB502发挥抗辐射效应、提高受照动物存活率的关键因素。克利夫兰生物实验室目前正向FDA提交申请。

4. Ex-RAD是一种新型小分子激酶抑制剂。与其他辐射保护剂不同,它不是一个自由基清除剂或者细胞周期阻滞剂。现有的资料显示Ex-RAD可显著保护造血系统,减轻辐射诱导的全血细胞减少,恢复骨髓造血功能。ON01210已完成四期临床研究,尚未有证据显示其有副作用。

5. HemaMax是重组人白

介素12,在调节人炎症反应方面发挥重要作用,可刺激巨噬细胞、自然杀伤细胞、T细胞产生IFN- γ 。实验证实它可以延长小鼠和非灵长类动物的生存期。其作用机制是通过促进造血系统、消化系统和免疫系统的功能恢复来发挥抗辐射效应。应用rhIL-12诱导il-12r2的表达,可促进CD16⁺CD56⁺的NK细胞从外周血迁移到组织,该机制是通过IFN- γ 诱导的CXCL10趋化因子及其受体CXCR3来完成的。

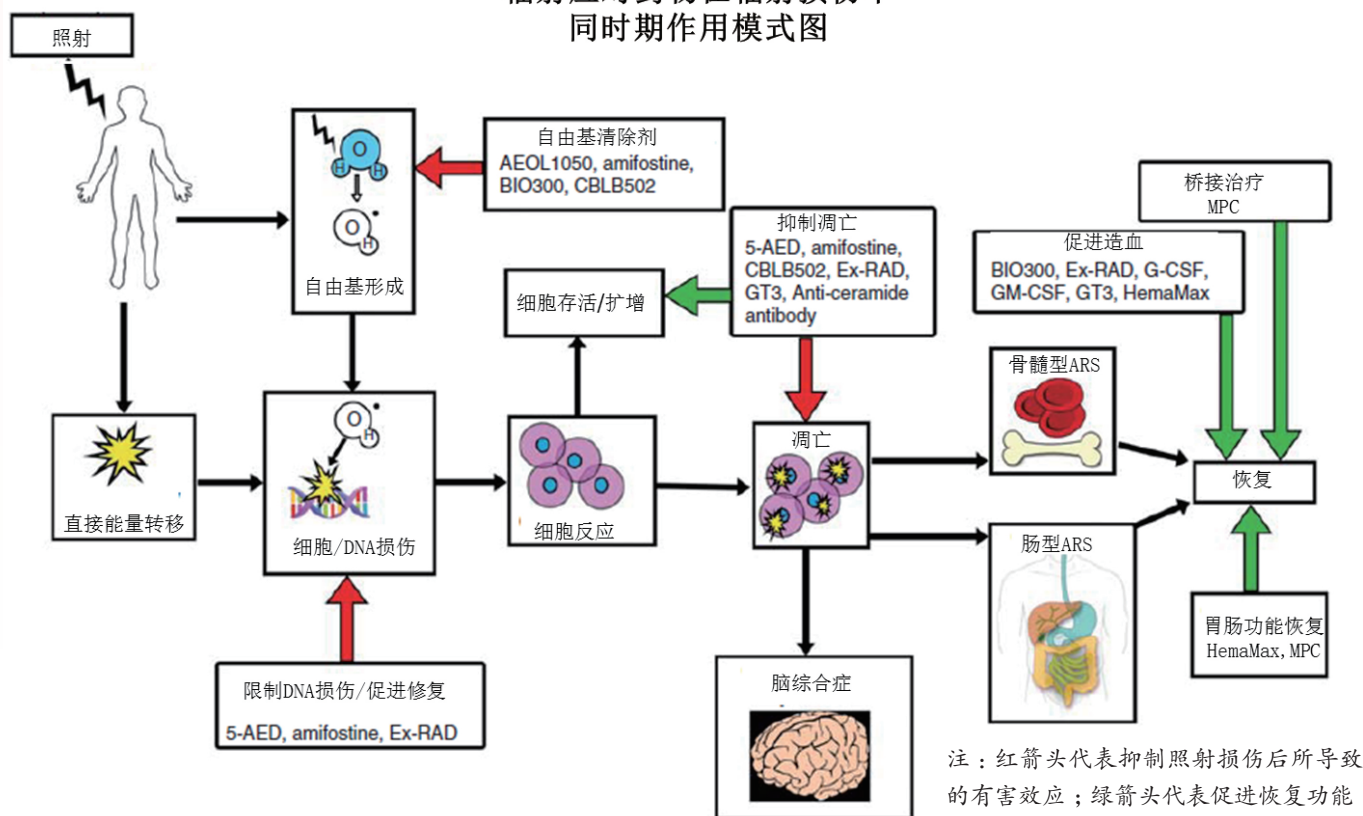
6. BDP是一个有效和有局部活性的皮质类固醇。是由Soligenix Inc.开发的对胃肠道综合征有效的抗辐射药物。相对于全身应用皮质醇,它在局部有较好的抗炎作用。实验研究证实,BDP可拯救辐射导致的胃肠黏膜损伤。

7. 人类R-spondin1(Rspo1)是29 kDa的蛋白质,由263个氨基酸组成,是肠道干细胞的促有丝分裂剂,可以促进肠道隐窝干细胞增值,加速肠上皮细胞再生和改善辐射诱导的胃肠道损伤。在致命性全身照射或腹部局部照射情况下,注射表达人类Rspo1重组腺病毒组小鼠较对照组有更高的生存率。组织学分析显示Rspo1治疗组小鼠表现出显著的小肠再生,免疫组织化学分析证明Rspo1治疗组小鼠体内Lgr5⁺ve隐窝细胞增加,b-catenin从胞浆易位到胞核且b-catenin表达上调,其机制可能与激活Wnt-b-catenin通路,从而促进肠道干细胞再生有关。

8. 生物制剂是抗辐射药物研究的重要领域,一直在寻求获得FDA批准。一些细

胞因子已通过美国FDA EUA批准,应用于辐射事故伤员的治疗。不久前,FDA咨询委员会已推荐支持Neupogen(G-CSF, filgrastim)应用于临床研究。在骨髓抑制的治疗中,Filgrastim、GM-CSF和聚乙二醇G-CSF(培非格司亭)拥有巨大潜力和显著的治疗效果,G-CSF抗辐射的疗效不仅取决于辐射暴露程度,还取决于药物的剂量。在不久的将来它们也许会受到FDA的全面认可。前两种生物制剂已经在美国国家战略储备中,用以应对突发核与辐射事件的应急处置。需要说明的是,美国公共卫生法授权FDA管理生物制剂,但这些治疗ARS的生物制剂无法进行传统的临床试验,而只能由动物实验来替代,因此,这加大了FDA审批的严格性。

辐射应对药物在辐射损伤不同时期作用模式图



上接第2版

表1 事故中常见放射性核素的特征及其对机体影响与促排药物的选择

核素名称	物理半衰期	生物半衰期	释放射线	主要沉积部位	产生的早期和晚期效应	促排/阻吸收剂
锶-241	432年	血液中约30min,骨骼中23年,肾脏中为70-500天,全身为70天,甲状腺中为80天	α 、 γ	肝脏和骨骼	肝脏改变、淋巴细胞减少、血小板减少、骨髓萎缩	Ca/Zn-DTPA
铯-137	30年	全身为70天	γ		血液学改变	普鲁士蓝
碘-131	8.02天	甲状腺80天	β 、 γ	甲状腺	甲状腺癌	碘化钾
铀-239	2.4万年	肺500天,骨表面50年	α 、 β 、 γ	肝脏、骨骼和肺脏	骨肉瘤	Ca/Zn-DTPA
铯-90	20年	骨骼50年	β	骨骼和肌肉	骨肿瘤	稳定性铯、氯化铵、葡萄糖酸钙、海藻酸钠
钍-232	140亿年	骨骼21.9年,肝脏和其它组织1.91年	α 、 β	肝脏、骨骼、脾脏、肺和脑	肝功能改变、肝脏和骨肿瘤、记忆和神经行为改变	Ca/Zn-DTPA
铀-238	450亿年	肾脏4天	α 、 β	肾脏、肝脏和骨骼	肾功能紊乱和认知受损	碳酸氢钠、Ca/Zn-DTPA

间充质干细胞在急性放射病治疗中的应用进展

二炮总医院全军核辐射损伤监测与防治研究中心 宋秀军 李峰生 江其生

骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 具有自我增殖、定向分化和自动归巢能力, 已广泛应用于心、肝、肾、神经等多器官、系统损伤的修复和多种疾病的治疗。核

与辐射事故伤员受到一定剂量照射后, 会发生多器官、系统损伤, 因此, MSC 在急性放射病治疗和核与辐射事故医学应急救援中具有令人期待的应用前景。

1. 急性骨髓型放射病治疗面临的问题

急性放射病 (acute radiation disease, ARS) 是机体在短时间内受到一定剂量 (>1Gy) 电离辐射引起的全身性疾病。根据照射剂量大小、病理和临床过程, ARS 可分为三型, 即骨髓型 (1~10 Gy)、肠型 (10~50 Gy) 和脑型 (>50 Gy)。照射剂量在 4~6Gy 为重度骨髓型放射病, 6~10Gy 为极重度骨髓型放射病。目前, 重度、极重度骨髓型放射病的治疗以应用细胞因子 (GM-CSF、G-CSF 等)、输入外源性造血干细胞 (hemopoietic stem cell, HSC) 等作为主要治疗方法。

虽然成功的 HSC 移植可使部分重度、极重度 ARS 患者在短期内恢复造血功能, 但移植后免疫功能抑制、感染、GVHD 的发生以及射线造成的多组织器官损伤及由此引发的多器官功能衰竭, 依然严重影响着 ARS 患者的术后长期生存。此外, HSC 移植除了移植前需要预处理和 HLA 配型外, 还需要一定的造血干细胞数量, 而造血干细胞不能在体外进行大量扩增, 如发生大规模人群的放射性损伤, 就会存在 HSC 来源不足问题。因此, 必须寻找新的治疗手段, 以加快 ARS 患者移植后免疫重建, 降低 GVHD 发生率和严重程度, 加快多组织器官放射损伤修复, 增加极重度 ARS 患者的治愈希望。

2. MSC 在重度、极重度骨髓型放射病治疗中的应用

2.1 MSC 在骨髓造血中的作用

骨髓中的 MSC 构成造血微环境, 能分泌多种调节造血的细胞因子, 如 IL-6、IL-7、IL-8、IL-11、IL-14、IL-15、M-CSF、Flt-3L 及 SFC 等, 并表达造血干细胞归巢相关抗原, 从而支持造血干细胞的生长、成熟与功能发挥。研究表明, MSC 不但能在体外支持造血, 而且能在体内促进造血干细胞的植入和移植后造血重建。MSC 免疫原性弱, 低表达 MHC-I 类分子和 FasL, 不表达与 MHC-II 类分子和识别有关的共刺激分子, 具有免疫调节功能, 可以抑制同种异体的淋巴细胞增殖, 不仅可以抑制初始 T 细胞, 还可以抑制记忆 T 细胞, 下调免疫反应, 降低 HSC 移植后 GVHD 的发生率和严重程度。

2.2 MSC 治疗骨髓型放射病的策略

2.2.1 MSC 与 HSC 联合应用治疗骨髓型放射病

在出现大规模放射性伤员的情况下, 及时处理伤员具有挑战性并需要创新的医疗手段。动物实验结果表明, HSC-MSC 联合输注有利于 HSC 移植和造血功能恢复, 即使是在非理想移植条件下, 如 HSC 数量有限, 或者移植的 HSC 来自两个不同的供体, HSC-MSC 联合输注也能提高 HSC 移植的成功率。这些临床前研究成果正在转化为临床实践中。HSC-MSC 的共同输注已成功应用于烧伤-放射复合伤及肿瘤化疗等恶性和非恶性疾病的治疗。大量研究表明 MSC 在促进造血恢复和延长 HSC 移植患者生存期等方面是安全、有效的。Ball 等人对 14 例接受供体 MSC 和 HLA 不同的外周血 HSC 联合移植患者进行 I/II 期临床研究, 并与 47 例相关病例的受试者进行比较, 结果显示, 接受 MSC 联合治疗的患者平均恢复时间为 11.5 天, 而对照组平均恢复为 14.9 天 ($P=0.009$), 且接受 MSC 治疗的所有患者表现为持续的造血重建, 无不良反应。

2.2.2 单独 MSC 治疗骨髓型放射病

由于 HSC 的来源、配型等因素所限, 能够接受 HSC 移植的 ARS 患者可能是非常有限的。基础和临床研究表明, 异基因 MSCs 单独输注是一个可以实现和有效的替代策略。临床上可用异基因 MSCs 治疗 HSC 移植失败的患者, 因 MSC 可“归巢”到骨髓中, 促进残余 HSC 的生长和成熟, 从而促进患者造血功能恢复。虽然目前资料有限, 但 MSC 应用于 HSC 移植失败患者的治疗总体上显示出积极效果。在核与辐射事故中, 在供体有限的情况下, 大量扩增 MSC 用来治疗大量辐射损伤伤员应是可行的; 此外, 平时储备异体 MSC 也可以用于大量核事故伤员的急救。

3. MSC 在急性胃肠型放射病中的应用

3.1 肠型急性放射病

大多数哺乳动物在全身受到 10 Gy 以上的 γ 射线或等效中子射线照射后, 会出现胃肠道综合征, 最终在数天后 (通常是 3~10 d) 死亡。胃肠道综合征的患者表现为无食欲、呆滞、嗜睡, 通常认为持续数天的腹泻是患者病情严重的一个指征, 因为这意味着患者受照剂量可能超过了 10 Gy。胃肠道综合征的患者有脱水、体重减轻、消瘦和完全虚脱的临床表现; 通常数天后死亡。根据目前的记载, 还没有患者在受到超过 10 Gy 的照射后能存活下来。

3.2 MSC 在胃肠道放射损伤中的应用

肠隐窝中快速分裂的干细胞通常能在正常组织更新过程中补充肠道的上皮细胞层。胃肠道损伤与修复与肠隐窝干细胞的数量与功能密切相关, 一旦放射造成肠隐窝干细胞的缺失、胃肠道屏障破坏、免疫功能抑制, 就会出现致命的感染, 目前尚没有治疗肠型放射病的理想方法。

研究表明, 外源性 MSC 能够促进残留的隐窝干细胞生长, 促进肠上皮屏障恢复。其机制与 MSC 分泌生长因子、趋化因子将上皮祖细胞趋化到组织损伤部位有关。腹部及全身照射临床前模型也已证明, MSC 输注伴有肠隐窝细胞再生、干细胞微生态恢复、肠道抗辐射因子 (包括 R-Spondin1、KGF、PDGF 和 FGF2) 和抗炎性细胞因子的血清水平增加、炎性细胞因子下调。

肠道放射损伤的临床资料极其有限, 曾有前列腺癌患者意外过度照射诱发结肠炎的报道, 该患者在静脉输注同种异体 MSC 后疼痛、腹泻、出血、炎症和瘘管形成等症状、体征均有所减轻; 此外, 也有报道某些炎症性肠疾病, 尤其涉及到显著损失肠上皮细胞的疾病, 如 GVHD 和克隆氏病患者在应用 MSC 治疗后取得了较为满意效果; 最近 MacVittie 等人建立了肠道放射损伤的灵长动物模型, 为肠道放射损伤的治疗提供了研究条件。

4. MSC 在皮肤放射损伤及复合伤中的应用

非穿透性 β 粒子和低能光子可能仅造成皮肤的过量照射, 因此, 无 ARS 发生时也可能发生皮肤放射损伤, 而骨髓型放射病和肠道放射损伤常会伴有放射皮肤损伤。皮肤放射损伤可能在几小时内就很明显, 也可能几周都不出现, 主要取决于受照剂量。皮肤受损症状及体征包括瘙痒、刺痛、脱毛、红斑、水肿, 进一步发展为干性脱屑、湿性脱屑、溃疡, 并随着剂量的增加出现坏死, 慢性皮肤感染和复发性溃疡可能使上述过程变得更为复杂。

MSC 可促进皮肤再生已得到大量实验证实, 包括创伤、烧伤、放射损伤等, 研究结果表明, MSC 可促进伤口愈合、降低感染发生率、增加血管生成和皮肤弹性、减少瘢痕形成。文献报道, 切除大鼠 2% 的体面, 形成创面, 并接受 6Gy 的全身照射, 形成创伤-放射损伤复合伤动物模型, 将 MSC 直接注射于伤口及周围, 在损伤后 14 天, MSC 处理的动物伤口愈合面积较对照组可提高 50% 左右。



图 间充质干细胞

染色体畸变分析技术的改良与新的生物剂量计研究

二炮总医院全军核辐射损伤监测与防治研究中心 李峰生 吕进 王思念 于楠 李振源

在核与辐射事故医学应急救援中,及时进行受照人员生物剂量估算尤为重要,这关系到受照人员和伤员的筛查、确

定以及后续个体化治疗方案的制定。基于细胞遗传学改变的人外周血淋巴细胞染色体畸变分析是目前公认的生物剂量估

算的金标准。但该方法也存在着操作复杂、耗时较长(72h以上)、需要主观经验性判断以及各实验室需要制定自己的

分析曲线等缺点,严重限制了其推广应用。近年来,一些新的技术和方法正在应用于生物学剂量估算的研究中。本文就

FISH 技术用于传统染色体畸变分析的改良以及尿蛋白质组学、miRNA 等作为新的生物学剂量评估方法的进展作一介绍。

作为辐射生物剂量评估金标准的染色体畸变分析是利用人外周血淋巴细胞染色体非稳定性畸变频率与机体受照剂量呈正相关这一特点,在受照后早期(不超过6~8周)采集受照个体外周血,制备淋巴细胞染色体片,在用吉姆萨溶液对染色体进行染色后,对双着丝粒染色体、着丝粒环等非稳定性染色体畸变进行识别并计数,继而根据染色体畸变率,利用已有的剂量-效应曲线对受照剂量进行估算。虽然染色体畸变分析是公认的最可靠的生物剂量评估方法,但在进行畸变人工分析时,对操作者经验要求高,分析效率低。5名经验丰富的操作者7天内仅能分析100个左右的样本,这显然不能满足大规模伤员受照时辐射生物剂量评估的需要。虽然近年来有报道用一些软件对吉姆萨染色后的双着丝粒染色体进行自动评分,但是这些软件存在双着丝粒染色体识别率低(约为50%),染色体中期分裂相易遗漏等缺点,这不但影响结果的准确性,同时还会使检测下限大大降低。常规染色体畸变分析技术的这些不足限制了该技术大规模推广应用。

最近 Radhia 等报道了一种基于 FISH 技术的染色体畸变分析技术。在该技术中,前期淋巴细胞培养及染色体制备所用技术与常规淋巴细胞染色体分析技术相同,但在最后一步染色时, Radhia 等利用了 PNA(肽核酸)着丝粒和端粒探针进行荧光原位杂交(FISH),而非常规吉姆萨染色,这就使得操作者可以根

常规染色体畸变分析的一大缺点是在对中期染色体生物剂量评估前需要进行2d的外周血淋巴细胞培养,使淋巴细胞进入有丝分裂期(M期),染色质凝聚为染色体,此时才可以通过显微镜观察到染色体的形态,并据此对染色体畸变进行判断,此过程操作耗时费力。而在核与辐射事故应急救援过程中进行伤员分类时,可能并不需

据荧光信号很容易地识别出染色体的着丝粒区和端粒区,从而方便其对双着丝粒染色体、着丝粒环及断片进行鉴别,大大降低了对操作者的经验要求,同时也减少了主观误判的机率。

此外,在进行常规染色体畸变分析时,当出现姐妹染色单体臂交叉、或是两条染色体空间上靠近或接触时,操作者很容易将其误认为是双着丝粒染色体,导致假阳性。另一方面,

当出现着丝粒与端粒靠的很近或者发生接触,或是双着丝粒染色体的两个着丝粒靠的很近时,则容易发生漏记,即出现假阴性。利用 Radhia 等建立的这种标记着丝粒和端粒的方法

则可以避免上述假阳性或假阴性结果的出现。因此,该方法在提高判读结果准确率,降低对操作者经验要求的同时,还可以显著提高染色体畸变的检出率,从而有可能使其检测下限低于常规染色体畸变分析方法的检测下限(0.1 Gy)。

除了降低对操作者经验要求,提高结果准确率之外,利用这种基于 FISH 技术的染色体畸变分析方法还可实现分析的自动化。在该研究中,作者开发了一种名为 TCScore[®] 的软件来对染色体畸变进行自动分析。该软件对双着丝粒染色体的识别率是人工识别的95%,显著高于现有商业软件的50%识别率。利用 TCScore[®] 得到的双着丝粒剂量-效应曲线与人工识别得到的剂量-效应曲线无显著差异。与人工分析相比,使用 TCScore[®] 软件自动分析可节省90%的时间。举例来说,作者使用 TCScore[®] 软件分析2 Gy 剂量点的200个中期分裂相用时仅需20 min。

综上所述, Radhia 等建立的这种基于 FISH 技术的染色体畸变分析技术是对传统染色体畸变分析技术的一种改良,该方法利用肽核酸探针对染色体的着丝粒和端粒进行染色,更易于检测双着丝粒和着丝粒环,检测结果也更加准确,而且对操作者经验要求不高,因此更易于染色体畸变分析技术的推广,并有望用于低剂量辐射的剂量评估。更重要的是,利用该方法可以在保证精度的情况下实现自动化分析,大大缩短了分析所需时间,从而可以满足大批量伤员受照时剂量评估的需求。

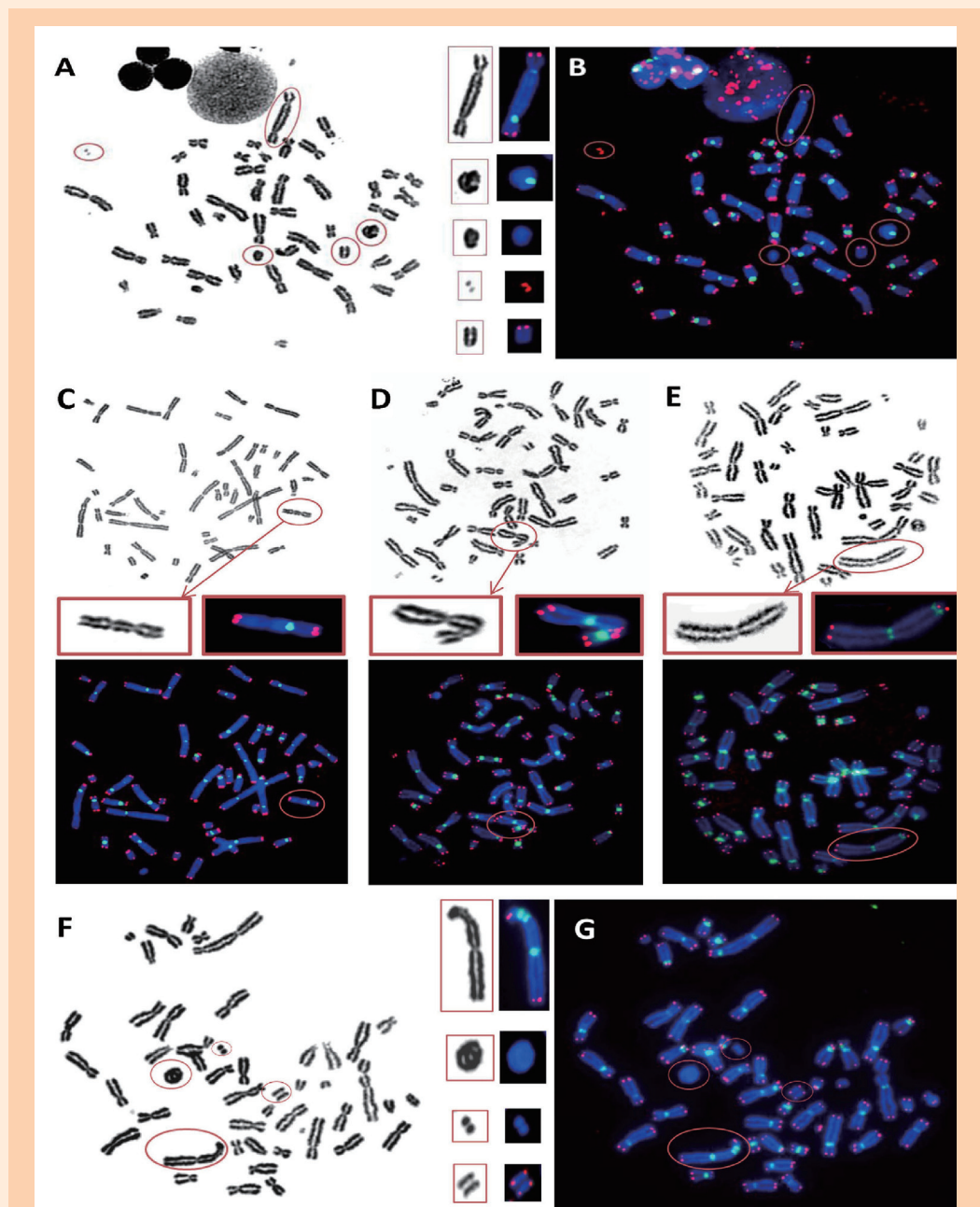


图1 检测健康捐赠者的受照淋巴细胞的不稳定性染色体畸变:(A)吉姆萨染色。(B)与A同视野的PNA染色(端粒为红色,着丝粒为绿色)。A图和B图之间自上而下依次为:(1)双着丝粒染色体:两个绿色的着丝粒信号和4个红色端粒信号;(2)着丝粒环:只有一个绿色信号,没有红色信号;(3)无着丝粒环:没有绿色信号也没有红色信号;(4)和(5)为无着丝粒断片。(C-G)单纯吉姆萨染色不容易分辨的几个例子,其中(C)为通过PNA染色可以看出是非双着丝粒,(D)为两条染色体重叠时通过PNA染色可以很容易排除双着丝粒染色体,(E)为含一个近端着丝粒染色体的双着丝粒染色体,通过吉姆萨染色很难清楚分辨。(G)和(F)为同一视野的吉姆萨染色和PNA染色,PNA染色能够明确地检测三个着丝粒的染色体,无着丝粒环、以及无端粒或有4个端粒的无着丝粒断片。

二、基于 FISH 技术的早熟双着丝粒染色体分析

要立即知道疑似受照伤员的准确生物剂量,而只需尽快知道受照人群中哪些人员的

受照剂量高于了需要进行医学干预的剂量。常规染色体畸变分析技术显然无法满足

这一快速、大批量伤员受照剂量分类的需要。虽然其它一些新技术可以弥补常规染

色体畸变分析耗时费力的缺点,例如基因表达分析和 γ -H2AX分析等,但由于这些方法实际上检测的是辐射诱导的中期细胞DNA损伤和修复过程,因此照射后表达水平会随着时间的推移而迅速降低,这就导致剂量评估的可靠性较低。近期研究表明, γ -H2AX和辐射诱导凋亡同时分析可成为快速且精准的

下转第6版▶

◀ 上接第5版

生物剂量学分析工具。但是,需要照射后立即采集受害者的血液标本,这就一定程度上限制了该方法的应用范围。

通过细胞融合介导的早熟凝聚染色体(PCC)可以使有丝分裂间期细胞内的染色体提前发生凝聚,呈单条染色单体的形态,从而实现对

间期细胞染色体畸变的分析。PCC联合一些常规技术,比如:C-banding或染色体特异性DNA文库和泛着丝粒探针进行的荧光原位杂交(FISH),可以进行双着丝粒、着丝粒环及染色体易位等染色体畸变分析。大量研究已经证实该方法可用于急性照射的剂量评估。在照射后,尤其是高剂量照射

后2d的培养过程中,DNA损伤可导致有丝分裂延迟及细胞死亡,因而常规染色体畸变评估可能会导致辐射剂量估算值低于真实值(IAEA 2011)。而利用PCC技术时,由于培养时间减少,消除了有丝分裂延迟及细胞死亡的机会,从而避免了因此带来的误差。然而,由于PCC技术得到的染色体形态

不典型,这为畸变的辨别分析带来了一定的困难。

在最近发表的一项研究中,Suto等对传统的PCC技术进行了改良,即利用PNA(肽核酸)着丝粒和端粒探针,对PCC进行FISH检测。该方法可以根据一条提前凝聚的染色体上出现的两个着丝粒信号对双着丝粒染色体进行检测。

有意思的是,经过一定时间修复后,PCC方法检出的双着丝粒数量和常规方法的检出量基本相似,而利用该方法可以在从外周血中分离到单核细胞后6小时对PCC中的双着丝粒畸变进行分析,真正实现了生物剂量的快速评估,有望成为批量伤员快速分类的生物剂量计。

三、尿蛋白质组学分析用于评估辐射生物学剂量

机体受到全身或局部照射后,组织或细胞内蛋白的表达会发生变化,例如出现应激蛋白、与DNA损伤修复、细胞周期调节等相关的蛋白质表达或是一些与辐射后炎症反应相关的蛋白分泌。这其中的某些蛋白在辐射后的变化模式(包括出现时间或是量的变化)必然与机体受照剂量存在某种联系。辐射诱导的蛋白有些本身就属于会进入到血液中的外分泌型蛋白,有些蛋白会因为细胞死亡、裂解而进入到血液中。尿液是血液经肾脏处理后的滤过排泄物,尿液中蛋白质由通过

肾小球滤过的血浆蛋白质和肾脏、泌尿道分泌的蛋白质共同组成。因此机体在受照后蛋白质组学的变化有可能反应在尿蛋白质组学上的改变。另一方面,全身或肾脏局部受到照射后,可能会发生放射性肾损伤,影响肾小球滤过功能,继而使尿液蛋白质组学发生改变。基于这些考虑,有人提出利用尿液蛋白质组学的改变来评估或指示辐射剂量。

尿液蛋白质组学研究资料显示在全身照射和肾局部照射后,尿液中白蛋白和其他主要的血浆蛋白均降低。半胱氨酸

蛋白酶抑制剂C(cystatin C)是由机体所有有核细胞产生的,产生速率稳定。尿液中半胱氨酸蛋白酶抑制剂C可用于评价肾小球滤过率(GFR),继而敏感反映早期肾功能损害。尿液蛋白质组学分析发现全身照射可引起半胱氨酸蛋白酶抑制剂C增加三倍,这可能与辐射导致肾脏损伤有关,而其它一些用于监测肾脏损伤的标志物并未在全身照射后发生改变,因此就发生机制和生物标记物而言,辐射导致的肾脏损伤和临床常见的急性肾损伤可能是不同的。蛋白酶和相应的蛋白酶抑

制剂在细胞损伤反应中很重要,在机体受到照射后,一些蛋白酶在尿液中的含量升高,其中最为显著的是相关KLK1相关激肽释放酶b24前体,同时还在尿液中发现胰凝乳蛋白酶活化产物。与蛋白酶升高相反,尿液中一些蛋白酶抑制剂则出现降低,例如与KLK结合的丝氨酸蛋白酶抑制剂A3K前体。照射除了可引起尿中上述蛋白质含量的改变外,还可以导致尿液中出现修饰蛋白质。研究发现全身照射可导致尿液中氧化蛋氨酸减少以及氧化组氨酸约三倍升高。

尿液与血液等其它生物分析所需样本相比有一定优势,尿液是可以完全无创、连续收集的体液,可以在核事故医学应急救援现场即进行采集。另外尿液蛋白质组相对简单,可以观察到一些丰度较低的蛋白变化。虽然目前的研究还不清楚尿液中这些蛋白变化与辐射剂量的依赖性以及随时间的变化情况,也不清楚这些变化是否具有辐射特异性,但已有的研究结果仍提示受照后尿液蛋白质组学的变化有可能用于辐射剂量初步筛查甚至是剂量确定。

四、MicroRNA 表达分析用于评估辐射生物学剂量

与利用功能基因表达改变估算辐射生物剂量研究相类似,近年来随着微小RNA(miRNA)检测技术的发展,人们开始探索利用miRNA表达估算辐射剂量的可行性。

miRNA作为基因表达调控因子,广泛参与了机体发育、发展、死亡等过程的调节。miRNA与辐射敏感性、辐射诱导肿瘤的发生和辐射旁观者效应相关。越来越多的证据表明,辐射能在不同的组织和细胞中诱导miRNA的表达,且其表达与特定的细胞类型、辐射剂量及照射时间均有密切关系,部分miRNA呈现出剂量依赖性反应。目前,已发现人类基因库中共有2,578种miRNA(MiRBase20),这些miRNA参与不同的细胞过程,如细胞发育时间的调控、细胞增殖、凋亡以及肿瘤的发生。当遇到DNA损伤时,miRNA通过直接或间接激活肿瘤抑制因子靶基因p53而活化细胞周期及停滞衰老。目前,通过实时定量PCR、miRNA芯片技术、基因深度测序等一系列方法进行大规模的miRNA基因表达谱检测,已经鉴定出多种电离辐射(IR)

相关的miRNA。Templin等收集了8例放疗患者在接受全身1.25 Gy X射线照射前及照射后4小时的全血样本,结果显示miRNA表达变化可以作为射线暴露的生物标记物。

IR暴露的生物标志物在医学诊断性成像、职业暴露及辐射事故中非常有用。在大规模伤亡事故中,急需快速鉴定出受严重辐射人员的受照剂量以指导临床治疗。血液循环中的miRNA(血浆、血清及体液)已被用于各种病理及生理条件下的生物标记物,采用循环miRNA作为生物标记物具有很多优势,如:1.在疾病或器官损伤时发生的循环miRNA改变,多具有组织特异性和稳定性且可进行高通量分析等特点;2.miRNA表达分析技术敏感、快速、便捷;3.循环miRNA采集方便,性质稳定。Cui等采用小鼠的全身照射模型,分析血浆中miRNA是否可以作为鉴定2Gy及更高剂量照射的生物标记物。该研究通过加入浓度为0.3到3000pg的miR-159a,制作标准曲线,来计算血浆中其他miRNA的相对表达,并分别验证了

小鼠血浆中32种miRNA在0.5、2及10Gy照射后6h的准确率(97.5%)、敏感性(0.5与2Gy为90%,10Gy为100%)及特异性(0.5与2Gy为100%,10Gy为97%)以及照射后24h血浆中12种miRNA的实验误差(0%)、

准确率(0.5 Gy为97.5%,2与10 Gy为100%)、敏感性(0.5 Gy为90%,2与10 Gy为100%)及特异性(未照射组97%,0.5、2与10 Gy为100%)。另有研究表明,在接受质子射线、γ射线和⁵⁶Fe-ion照射后的小

鼠全血miRNA谱中共有26种miRNA出现差异表达,且表现为剂量依赖性,提示IR诱导的小鼠全血miRNA表达具有射线类型及剂量特异性。Chaudhry等利用0.5Gy和2Gy的X射线照射人淋巴细胞TK6,研究其miRNA表达谱表达变化,结果发现,细胞中miR-15a、miR-16和miR-21在0.5Gy辐射后4、8及12h表达水平上调,而在2Gy照射相同时间此三种miRNA表达下调。另一研究资料监测了1-12Gy受照小鼠血清中600种以上miRNA在24-48h的表达变化,发现在成年及老年鼠体内的不同器官中均可诱导miR-34a的表达改变。miR-34a在受照后血清中稳定存在,有可能作为辐射损伤的一种标志物。miR-150富含于淋巴细胞中,当骨髓移植患者接受全身的预处理照射后,其血清中miR-150表达变化呈现出剂量及时间依赖性下降,提示该指标可以作为淋巴细胞清除程度和骨髓损伤的一种标志物。上述研究资料提示,miRNA在细胞、体液中表达变化有可能作为一种新的辐射剂量计用于受照剂量的评估。

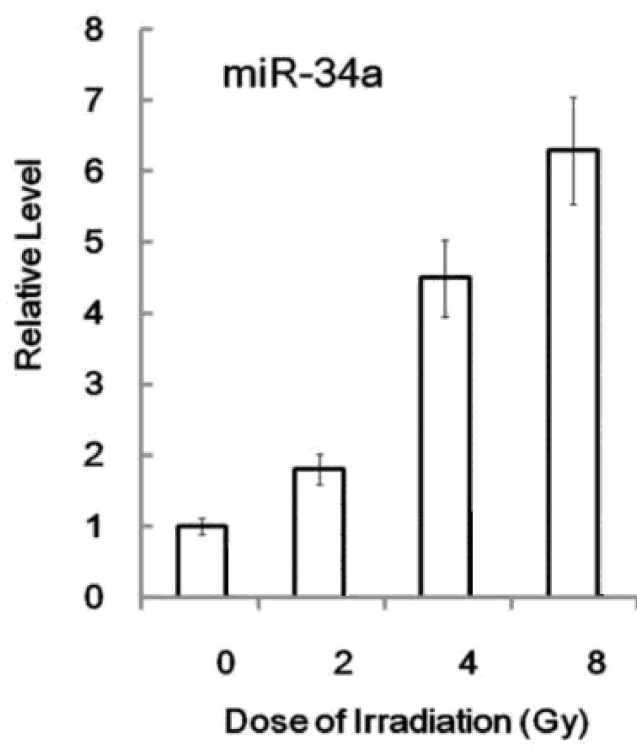


图2 在射线照射后的HCT116p53+/+细胞中,miR-34a的表达呈现出剂量依赖性

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日

miRNA 参与辐射生物学效应的调节

二炮总医院全军核辐射损伤监测与防治研究中心 闫位娟 吕进

辐射作为一种高能物理损伤因素,可直接和间接影响细胞功能,导致细胞基因及蛋白表达改变、染色体畸变、细胞器形态改变、细胞周期紊乱、细胞死亡或旁效应等多种生物学效应。最近研究结果显示,miRNA在辐射诱导的生物学效应中起重要作用。

miRNA是近年来发现的一类长度为19-25nt的内源性非编码小分子单链RNA。miRNA主要通过与其靶基因3'UTR(非翻译区)的完全或不完全配对来降解靶基因mRNA或抑制翻译以调控细胞增殖、分化、发育及代谢等多种生物学过程。miRNA在辐射诱导的生物学效应中的作用可分为以下几个方面。

1. 辐射诱导的 miRNA 表达变化

MiR-34是第一个被鉴定出来的辐射诱导性miRNA,Cha等利用10Gy γ 射线照射人淋巴细胞IM9,miRNA芯片结果显示miR-34a表达上调了3.3倍。低剂量电离辐射全身照射小鼠后,RT-PCR方法验证了小鼠各脏器中miR-34家族的表达,发现miR-34家族表达水平以p53依赖的方式显著增加。

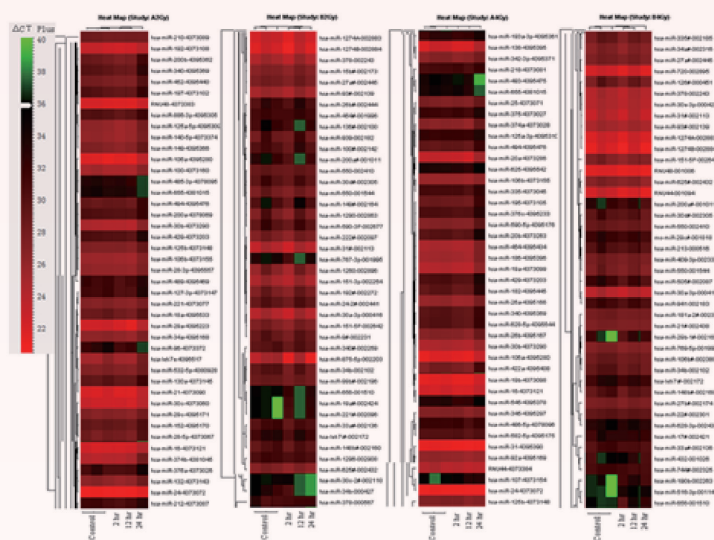


图 本中心利用液基 miRNAs 芯片筛选的 2、4Gy X 线照射后 A549 细胞 miRNAs 表达谱的变化。

HWA JUN CHA 等采用 0、1、10Gy γ 射线照射人淋巴细胞 IM9,与未照射组相比,1、10Gy γ 射线照射 24h 后有 19 个 miRNA 表达异常,10Gy γ 射线照射组有 23 个上调,10 个下调;Olivier C. Maes 等分别采用 0.1 和 2Gy X 射线照射成纤维细胞,分别在 0、0.5、2、6、24h 进行 miRNA 变化的检测,发现 0.1、2Gy 照射后,miRNA 的表达在 0.5、6 和 24h 时下调,2h 出现瞬时表达上调,同一种 miRNA 表达变化趋势基本相同,只是 0.1Gy 的变化量低于 2Gy;miR-137 在两个剂量照射下表达均呈持续性下降;M. Ahmad Chaudhry 等 2Gy γ 射线照射淋巴母细胞 TK6,0、4、8、12、24h 后检测 miRNA 变化,发现 miR-145 在照射后 24h 变化倍数最高,miR-142-3p、miR-142-5p 和 miR-18a 照射后 4h 开始表达升高,8h 后恢复到未照射前水平;let-7e 在 24h 内持续降低,24h 以后恢复到照射前水平;let-7f 只在 4h 表达升高,miR-143、miR-15a 及 miR-17-5p 表达高峰分别在 4、8 及 24h,let-7d、let-7g 和 let-7i 在照射后持续降低。上述研究结果说明,辐射确实可以诱导 miRNA 表达变化,并与受照剂量、时间及细胞类型有关。

2. miRNA 在辐射诱导的生物学效应中的作用

miRNA 通过调控辐射相关的 DNA 损伤反应基因、细胞周期和死亡通路相关基因等,来参与辐射应激反应和辐射敏感性等的调节。

2.1 miRNA 在 DNA 损伤修复中的作用

辐射导致的一个最严重的细胞损伤是 DNA 双链断裂(double strand break, DSB),双链主要通过同源重组和非同源末端连接的方式进行连接修复。细胞电离辐射损伤感应蛋白乳腺癌易感蛋白 1(brest cancer associated gene1, BRCA1)和组蛋白 2A 变异体(histone family 2A variant, H2AX)启动这个进程并激活修复蛋白 RAD, X-线修复交叉互补蛋白 2 和乳腺癌易感蛋白 2,然后在正常模板下合成双链进行损伤修复。Ptryk Moskwa 等利用 K562 细胞进行 3Gy γ 射线照射 0.5h 后,发现 miR-182 表达下调,同时发现抑制 miR-182 表达则可显著提高 BRCA1 的蛋白表达水平,提高了细胞的损伤修复能力,保护细胞免于遭受辐射诱导的细胞死亡,降低了细胞的辐射敏感性。

LAL 等首次发现,在终末分化血细胞中 miR-24 表达升高,并抑制 H2AX 蛋白表达,降低 DSB 的修复能力,这也是细胞增加辐射敏感性的原因之一。

miRNA 也可通过调整组蛋白共价修饰和染色质重塑使修复蛋白更易于进入 DNA 来影响 DSB 损伤反应。Mueller 对乳腺癌细胞进行 5Gy 电离辐射照射后 24h 发现 miR-99 家族表达升高,能靶向染色质重塑因子 SNF2H(sucrose non fermenting protein 2 homologue, SNF2H),降低其表达水平,同时降低 BRCA1 定位到 DNA 损伤区域的能力,使得细胞 DNA 修复能力减弱,增加了细胞的辐射敏感性。

2.2 miRNA 在细胞周期调节中的作用

辐射可阻断细胞周期活动及延长细胞周期,其中起决定作用的是 G₁ 期、S 期和 G₂/M 期细胞周期检查点。它们分别通过不同的信号途径对辐射所致的损伤进行调控。当辐射损伤被修复,细胞重新进入细胞周期,如果损伤太广泛严重,细胞进入凋亡程序,诱导细胞凋亡。毛细血管扩张性共济失调突变基因(ataxia telangiectasia mutated, ATM)是细胞周期的一个主要调控分子,也是细胞损伤信号的一个转导者。它的激活导致细胞分裂周期蛋白 25A(cell division cycle 25A, CDC25A)的抑制和细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)水平的降低,诱导细胞进入一个短暂的细胞停滞过程,为辐射诱导的损伤修复提供时间。Mechthild Wagner-Ecker 等 2Gy X 射线照射人真皮微血管内皮细胞,6h 后发现 miR-18a 表达下降。Libing Song 等利用双荧光报告基因系统检测 miR-18a 与 ATM 的关系,导入 miR-18a 抑制物,细胞中 ATM 表达降低,高表达 miR-18a 则可解除细胞周期停滞,提示辐射诱导的低表达 miR-18a 能通过提高 ATM 活性的方式,导致细胞周期停滞,为细胞损伤修复争取时间。

2.3 miRNA 在细胞死亡中的作用

由于 DNA 损伤修复能力的天然缺失或损伤超出自身的修复能力,受照细胞将启动辐射诱导的细胞死亡程序。J Wang 等研究发现,4Gy X 射线照射胃正常组织、肾细胞癌组织和肾细胞 786-O,4h 后发现 miR-185 表达降低,同时,体外双荧光报告基因系统和体内蛋白 western blot 检测均显示共济失调毛细血管扩张突变基因 Rad3 相关(ATM- and Rad3-related, ATR)蛋白是 miR-185 的靶基因。结合细胞克隆实验证明,辐射诱导的 miR-185 低表达,通过增加 ATR 活性,降低了细胞的凋亡数量,促进了细胞的增殖。另有研究报道,低剂量辐照细胞后,miR-143 表达升高,通过负性调控靶基因 K-RAS 的表达,降低细胞增殖,增加细胞死亡。

3. miRNA 在放疗敏感性调节中的应用

放疗是肿瘤治疗的一种主要方法。电离辐射诱导的 miRNA 参与了 DNA 损伤修复、细胞周期、凋亡及辐射相关信号转导通路的调节,一定程度影响了细胞对辐射的敏感性或抗性。其中一部分通过促进细胞损伤修复、促细胞周期停滞、促细胞生长或抑制凋亡而使细胞产生辐射抗性;还有一些 miRNA 则是起到相反作用。临床上可利用他们的这些特性,导入引起辐射敏感的 miRNA 分子以增加细胞对放疗的敏感性。如 miR-421、miR-101 等,可负性调控 ATM 表达水平,在细胞中导入其模拟物,降低 ATM 水平,可降低细胞的损伤修复能力,增加细胞的辐射敏感性。目前,利用 miRNA 作为药物来增强放疗敏感性的研究也在进行中。



可接受质量剂量 (AQD) 对诊断参考水平 (DRL) 的补充

【据《British Journal of Radiology》2015年1月报道】
题: 诊断参考水平 (DRL) 的缺陷和建议采用可接受质量剂量 (AQD) 取代 (作者 M.M.Renani 等)

在医学诊断影像的正常情况下, 对于一名患者进行放射检查希望他 (她) 所接受的辐射剂量应在一个合理的标准范围内, 那么试问目前有没有这样一个“标准”范围呢? 实际上正确答案是没有的。然而在世界各国在进行医学成像程序时对患者所受到的辐射照射应用诊断参考水平 (DRL) 作为“标准”。而诊断参考水平的设置实际是根据一组标准尺寸患者或参考患者的剂量分布的某个百分位数而选定的。在一些国家对一个标准尺寸成年患者通常选定 70kg 体重 (而另一些国家可能选择 60~70kg 体重), 用这样一群患者样本的剂量分布的 75% 位数定为国家层面的 DRL 值。在放射诊断学和介入放射学中设置 DRL 用来对患者医疗照射防护最优化目的。通过与 DRL 比较, 就可以在通常条件下由某一个给定的成像程序所给予患者的剂量水平能探查出高于这个值一些异常情况 (如高处部分为 25% 数量)。这里就出现一个问题: 排除 25% 的异常情况是必要的, 但是, 对于在 3/4 位数以内的 75% 的病例不能笼统地认为都是最优化的, 仍然需要对这部分患者进行最优化分析, 即对于这部分群体照射可能性、受照人员数目和个人受照射剂量大小均应

保持在可合理达到的尽可能低的水平 (ALARA) 原则。因此, 在缺乏一个标准剂量情况下, 凡是低于 DRL 的医疗照射实践意味是最优化的, 就是一种错误认识和倾向, 因为在 DRL 范围内的一些医学诊断程序应进一步需要进行最优化分析, 而单纯用 DRL 作为最优化性能水平指导是不够的。

在最近由 D.G.Sutton 等人一篇有关对苏格兰 CT 胸腹骨盆剂量检查数据分析中对 DRL 和“可达到的剂量”作为医学诊断中以用于辐射防护是否已经得到充分最优化工具提出质疑。

总之, 就目前在世界许多国家所使用的 DRL 可以归纳存在如下一些问题:

(1) 目前存在一种倾向把使用 DRL 实际上作为一个不应超过的剂量限值来看待, 这对于那些肥胖体型患者产生有害的影响, 因为这些患者为了能得到适当影像质量实际上需比 DRL 更高些剂量。DRL 在好的和坏的医学实践之间不是一个边界。

(2) 尽管在世界范围内 DRL 应用已存在近 30 年之久, 对成年 DRL 仍限制在代表性的标准尺寸患者或者标准的模体上。而大部分患者普遍地为非标准尺寸。根本的问题在于我们对一些大尺寸的患者没有提供与其相适应的剂量平均值数值。

(3) 对于一项规定诊断成像技术所制定的 DRL, 当这项技术发生变化时, 可以认为应对这个 DRL 加以修订, 但这种

情况很少发生, 但除英国外。实际上, 世界上许多国家使用的 DRL 引用的国际组织或其他国家的值。

(4) DRL 不能使用于对每一名患者最优化防护; 反之, 目前迫切需要对每一名患者的最优化防护。

(5) DRL 与设施中设备相关, 和依赖于回顾性分析得到结果; 反之, 普遍最优化需要涉及到对当前一名患者的前瞻性最优化情况。

(6) 为制定 DRL 所进行大多数剂量调查都假设其影像质量是可接受的, 实际上, 而不是通过实际确认的和书面证实的。

由于英国国家辐射防护局 (现改名英国公共卫生署) 于 1999 年提出另一个概念称为“可达到的剂量”。最近又被美国国家辐射防护和测量委员会所采用。然而, 这个概念如同 DRL 一样也受到一些质疑, 近年不再太多提及了。而最近又宣传“参考范围”的概念, 指它包括 25%~70% 位数范围, 它有助于消除过高值和过低值, 但是在这样情况下又增加一个过低值边界。然而同样与过高值边界一样, 会出现一种错误认识和倾向, 如果一些技术在这样过低值下能提供可接受的诊断影像质量, 那么这种 <25% 位数剂量的诊断程序不是优化的吗? 显然是错误的。

综上所述, DRL 和其延伸几个量如“可达到的剂量”和“参考范围”在防护的最优化过程中未能真正起到一

种有用的作用, 因此, 为了消除它们存在这些缺陷, 而能更好地体现患者在诊断影像中的防护最优化原则, 需要寻找一种新的方法取代 DRL 的应用。

这个量不依赖一名标准尺寸患者而与将要选定患者尺寸有关和这个量所提供的剂量值是所使用成像技术为这名患者所提供前瞻性诊断质量所要求的。因此, 我们建议这个量称之为可接受质量剂量 (acceptable quality dose, AQD)。然而在 D.G.Sutton 等人文章中对使用 DRL 和“可达到的剂量”提出质疑, 但是, 他们并没有提供一种解决方法。

本文建议采用这个新量——可接受质量剂量 (AQD), 具有以下一些固有优点:

(1) 在成年患者每 10kg 体重差别划分一组, 如 41~50、51~60、61~70、71~80 和 80 以上 kg 等体重系列, 对每一个设施由合格的成像专业人员对一项 X 射线摄影检查确定临床上可接受质量的影像后, 对每一个设施测定上述体重系列成年患者的平均剂量值 (\pm 标准偏差)。对于儿童患者的体重分组最好按 5kg 差别得到体重系列, 与上述相类似方法得到各体重组儿童的平均剂量值 (\pm 标准偏差)。

(2) 按当地情况, 地区情况 (低于国家级) 和国家情况可分别测定设施的 AQD 值。

(3) 测定该 AQD 作为该项检查的“标准剂量”, 可与相同医院中另一个机房中的 AQD 加

以比较或者与在一个国家中的其他医院或别的国家中医院进行相互比较。通过使用这种方式能够检查出欠最优化的一些情况。

(4) 当评估患者的 CT 扫描剂量长度乘积 (DLP) 值会超过 AQD \pm 标准偏差, 则前瞻性地使用 AQD 对患者扫描参数加以调整。

(5) 人们也能识别一些患者的影像质量达不到诊断要求或者比诊断要求还要高的实例, 进行调查和用作吸收教训的实例。这样, 就把调查重点从 DRL 中对剂量水平评价改变成从 AQD 对影像质量评价。

由上所述, AQD 概念有许多固有优点, 其中最核心的一点是 AQD 以影像质量为第一位的, 而患者剂量为第二位的。同时, AQD 包括三个关键参数: 影像质量、剂量和患者体型, 而且把这三个参数组成一个概念, 因为它们相互关联的。为此, 在 AQD 中把成年患者划分每 10kg 差值为一组用以处理在成年人中不同的体型差别和把儿童划分成为 5kg 差别为一组处理儿童中不同年龄体型差别。而对于影像质量判断建议采用由临床上合格的影像专家主观评价, 经验证明主观评价与客观影像质量评价显示出很好一致性。归根到底 AQD 与 DRL 唯一差别在于 AQD 真正从最优化角度来评论最优化, 而 DRL 仅从排除超范围高剂量值部分来评论最优化。

(尉可道 报道)

第二炮兵总医院“全军核辐射损伤监测与防治研究中心”简介

以第二炮兵总医院核与辐射损伤实验室 (原“中心实验室”) 为主体的“全军核辐射损伤监测与防治研究中心”于 2006 年通过总后卫生部审批, 先后被评审为“全军后勤科研条件建设重点实验室” (总后司

令部)、“临床基因扩增检验实验室” (原国家卫生部临检中心)、“北京市核安全复检、确诊和国际参考实验室” (北京市卫生局)。

“全军核辐射损伤监测与防治研究中心”先后参加了北

京奥运会、60 周年国庆等重大活动的医学应急保障工作。拥有博士后、博士 5 人, 技术人员 6 人。先后承担国家自然科学基金、全军后勤重大专项、全军后勤重点课题等项目 21 项, 获军队科技进步一等奖 1

项、二等奖 3 项、国家发明专利授权 4 项, 主编及参编学术专著 5 部, 国内外发表学术论文 120 多篇。

“全军核辐射损伤监测与防治研究中心”拥有国内首台“S2275 型肺及全身扫描计数

仪”以及“全自动染色体分析系统”、“遗传分析仪”等设备, 设备总值 1,700 多万元。主要从事放射性核素污染监测、辐射生物学效应评估、放射病诊治以及核事故医学应急救援等研究工作。

终校	排版设计	年 月 日	经营监管部	年 月 日
	编辑出版	年 月 日	总编室	年 月 日