

医学参考报

放射医学与防护频道

Radiological Medicine and Protection

Number 05

急性放射病 (ARS) 防治药物包括抗放药物和治疗药物。抗放药物是指在受射线照射前或照射后 48 h 内应用能够减轻放射损伤的药物 (辐射防护剂); 治疗药物是指在出现明显症状后应用能够促进恢复的药物。由于 ARS 的特殊性, 在其防治药物研发进程中不可能进行违背伦理的以人为主体的临床疗效评价。因此, 美国 FDA 于 2002 年颁布了动物疗效原则法规 (21CFR314), 允许以动物试验资料当作人体疗效临床证据, 其中要求具备 1 种以上的大动物模型 (如猴、犬) 资料。本文主要总结已在大动物模型上评价疗效或已列装的 ARS 防治药物的研究进展, 根据这些药物的自身特点, 进行分类介绍。

1 激素类抗放药物

“500”“523”目前我国列装的抗放药物“500”和“523”属于雌激素类化合物, 是上世纪经过近 30 年的协作研究成功研制出的抗放药物。在上世纪我国发生的几起辐射事故病人的临床救治中, 该类药物显示出较好的救治作用。然而, 随着近年来的实验及临床验证发现, “500”和“523”对中度骨髓型及其以下的 ARS 的早期治疗效果显著, 但对于重度以上的骨髓型 ARS 的治疗效果并不理想。

5-AED 最近, 美军研究的雌激素类药物 5-AED 显示出良好的抗放效应, 于照射前或照后早期单次给药显著促进受照射动物存活; 而且照射前后连续多次给药效果更佳。多个研究中心或实验室的研究结果表明 5-AED 在非人类灵长类动物 (NHP) 照射模型中防治效果显著。机制研究发现, 5-AED 能够在体外保护受照射造血干祖细胞的克隆形成能力; 而在正常或受照射小鼠体内, 5-AED 均能诱导造血生长因子 G-CSF 的表达水平显著升高。目前 5-AED 作为抗放药物在美国完成了临床 I 期试验。我国开展的相关研究同样表明 5-AED 在照射后 2h 开始给药, 每天一次连续注射 5 天对 γ 射线 6.5Gy 全身照射小鼠和 4.0Gy 全身照射猴治疗作用显著; 但是, 同时也观察到 5-AED 治疗的雌性猕猴出现阴囊肿大的副作用。这提示如何在保证抗放效应的前提下降低激素活性副作用是此类抗放药物开发研究的关键。

BDP 二丙酸倍氯米松 (Beclomethasone Dipropionate, BDP) 系强效外用糖皮质激素类药物, 吸收后肝内代谢失活, 局部外用不会抑制人体皮质功能和因皮质功能紊乱所引起的不良反应。美国 Soligenix 公司首次把 BDP 开发成口服制剂, 用于治疗腹部肿瘤病人放疗引起的放射性肠炎和转基因造血干细胞移植病人移植后宿主病伴随的胃肠综合症, 均已进入 II 期临床研究。2012 年 Soligenix 公司在 12 Gy 全身照射比格犬模型上观察了 BDP 口服制剂对肠型 ARS 的治疗效果, BDP 口服制剂照后 24 h 开始给药, 直至照后 100 d; 治疗组和对照组动物各 6 只, 照后均接受了外周血干细胞移植; 结果对照组动物平均存活时间为 8 d, 治疗组动物平均存活时间为 87 d。在另一组动物实验研究中, BDP 口服制剂照后 2 h 开始给药, 直至照后 100 d; 结果对照组动物平均存活时间也为 8 d, 治疗组动物全部存活。这些实验结果均表明, OrbeShieldTM (口服 BDP) 对肠型 ARS 可能有显著的治疗效果。2013 年美国 Soligenix 公司发布消息: FDA 已同意孤儿药物 OrbeShieldTM (口服二丙酸倍氯米松) 用于辐射事故后受照人员的治疗的临床研究, 以阻止潜在致死性照射所致的人员伤亡。至此, OrbeShieldTM 是美国 FDA 批准进入新药研究 (IND) 阶段的 7 个核辐射损伤防治药物 (另 6 个是 5-AED、Genistein、CBLB502、Ex-RAD、rhIL-12 和 rhG-CSF) 中唯一用于治疗放射引起的肠损伤的药物。

急性放射病防治药物的研究进展

余祖胤 张蕊莹 邢爽 从玉文

2 植物来源的抗放药物

Genistein (金雀异黄酮) 天然来源的植物提取化合物具有来源广泛、毒副作用小的特点, 一直是抗放药物研究的重点领域, 其中黄酮类化合物占有重要地位。文献报道黄酮类化合物具有明显抗放活性, 如 Orientin 和 Vicentin 的 DRF (剂量降低系数) 值为 1.30 和 1.37, 但是由于这些化合物多具有植物雌激素活性副作用而限制了研发。近年来, 另一个黄酮类化合物 Genistein 因其安全性较好且抗放作用明显而备受关注。Genistein 的 DRF 值是 1.16, 连续口服给药能够明显促进致死性照射动物存活, 促进其造血功能恢复。此外, Genistein 还能减轻射线照射所致的小鼠肺损伤, 提示它具有多方面的放射损伤防护作用。研究表明, Genistein 能够诱导体内造血生长因子的表达升高, 这可能与其辐射防护作用相关。Genistein 预防给药可使受照射小鼠体内造血干祖细胞 (LSK) 处于静息期, 保护 LSK 细胞免受损伤, 并增加受照射小鼠体内 LSK 细胞的数量, 这可能是它能促进放射损伤造血恢复的主要原因。目前, Genistein 已由美国 Humanetics 公司进行研发 (代号 BIO300), 经美国 FDA 批准并完成了相关的临床 I 期实验, 数据表明其在人体内的安全性和耐受性良好。然而, 尽管 Genistein 的安全性较好, 但抗放效果并不十分突出, 从目前的研究进程看, 其研究重心已转向辐射肺损伤防护的临床前研究。因此, 从植物来源的天然化合物中筛选出安全性好且抗放作用显著的新型抗放药物是未来研究的重点方向。

维生素 E 及其衍生物 维生素 E 及其衍生物是另一类受到关注的天然植物来源的抗放药物。维生素 E 包括生育酚 (Tocopherols) 和生育三烯酚 (Tocotrienols), 二者在结构上的主要区别在于类异戊二烯基侧链饱和程度不同。其中, 生育酚和生育三烯酚又分别由 α -、 β -、 γ -、 δ - 四个亚型组成。维生素 E 及其衍生物 (如生育酚琥珀酸酯) 因其具有显著的抗氧化和免疫调节作用有望成为颇具潜力的辐射防护药物而受到广泛重视。而实验研究也证实, 维生素 E 及其衍生物辐射防护效果较为显著, 如 α -生育酚、 γ -生育三烯酚、 δ -生育三烯酚和 α -生育酚琥珀酸酯的 DRF 值为 1.23、1.29、1.27 和 1.28, 高于 Genistein (1.16) 和 5-AED (1.18)。研究发现, 它们能够显著促进照射小鼠外周血象恢复, 明显改善胃肠损伤。机理研究表明, α -生育酚、 γ -生育三烯酚和 α -生育酚琥珀酸酯能够诱导正常小鼠和照射小鼠体内生长因子如 G-CSF 和 IL-6 表达增加, 并具有时效性; 应用单克隆抗体中和血清中 G-CSF 活性则加重放射损伤, 增加受照射动物的死亡率, 提示 G-CSF 表达升高可能参与了 VE 类衍生

下转第 2 版

执行主编介绍



董俊兴 研究员

军事医学科学院放射与辐射医学研究所药物化学研究室主任、研究员、博士研究生导师、总后科技银星, 享受国务院政府特殊津贴。主要从事抗病毒、抗辐射等中草药有效成分研究和创新药物与军队特需新药研制, 先后承担国家重大专项等国家和军队重大重点课题 10 余项, 获国家和军队特需新药证书 13 项, 新药临床研究批件 6 项, 国、内外发明专利 14 项。获得军队科技进步一、二等奖各 1 项, 荣立个人二等功 1 次、三等功 2 次。主编专著 3 部, 发表学术论文 60 余篇。

导读

- 辐射防护新药研发的急性放射病动物模型 **3**版
- 辛伐他汀对造血干细胞植入的影响 **4**版
- 辐射引起小鼠产生的造血综合征与胃肠综合症相对独立 **5**版
- 己酮可可碱对分隔照射放射性口腔黏膜炎局部缺氧的影响 **6**版
- MicroRNA-622对结肠癌细胞辐射耐受性的影响 **7**版
- PicoGreen荧光染料法测定循环DNA作为辐射生物剂量计的研究 **8**版

WWW.快X讯.COM

医学参考报社网站已开通, 现正免费注册网站会员, 成为会员后可在网上阅读报纸、参加继续教育等学术活动。

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

◀ 上接第1版

物的抗放作用。

维生素 E 及其衍生物是目前美军重点研究的辐射防护剂之一。2009 年至今美军放射生物研究所 (AFRRI) 连续发表数十篇论文报道 VE 衍生物的抗放作用及其机制研究,并最终选定 γ -生育三烯酚进行临床前研究,开展其在 NHP 等大动物模型上的药物评价,目前已验证了 γ -生育三烯酚对放射损伤猴的显著疗效。维生素 E 及其衍生物

是常见的保健食品或药品,具有副作用小,储存方便,价格低廉,来源广泛的特点,这些特性都符合理想的辐射防护剂的要求。虽然如此,VE 类衍生物的辐射防护研究仍然存在一些问题,首先是体内有效给药剂量偏高,多在 100 mg/kg 以上;其次,口服给药效果不理想。因此,解决好给药途径问题,并降低有效剂量,减少可能的毒副作用风险,是研发此类抗放药物的关键所在。

3 小分子化合物类抗放药物

WR2721 WR2721 即氨磷汀 (amifostine) 是巯基类化合物,因其有较强的抗氧化作用、能够清除体内的自由基而被广泛用于辐射防护研究。它是最早发现的一类辐射防护剂,也是目前国内国外公认抗放效果最好较好的化合物 (DRF 值 2.0)。然而,WR2721 抗放效果好,但救治时间窗窄,仅于照前 30 min 给药有效,且有明显的副作用。因此,目前也只是被 FDA 批准用于肿瘤患者放疗时的辅助治疗。近年来,国内外一直致力于保留 WR2721 的抗放活性而降低其毒副作用的研究。其中, Singh 等最新发现将低剂量 (30 和 50 mg/kg) WR2721 与

较低剂量 (50 mg/kg) γ -生育三烯酚 (小鼠的最佳给药剂量是 200 mg/kg) 联合给药可以增强抗放作用而降低毒副作用。

Ex-RAD Ex-RAD 是美国 Onconova Therapeutics 公司研发的新型抗放药物,其特点是照射前给药或是照射后早期给药均具有保护作用,并且注射或口服给药均有效。它的 DRF 值是 1.16。机制研究发现 Ex-RAD 可能调控 AKT 信号通路参与其抗放作用。目前,Ex-RAD 经美国 FDA 批准已经完成了临床 I 期试验研究,结果显示,口服吸收具有很好的生物利用度以及耐受性,提示该药具有良好的应用前景。

4 细胞因子及多肽类

G-CSF 和 GM-CSF 细胞因子尤其是造血因子用作抗放药物的研究在国内外均开展了大量的工作并取得了长足进步。其中集落刺激因子 G-CSF 和 GM-CSF 能够刺激造血尤其是粒细胞恢复减少感染,对急性放射损伤的治疗效果得到国内外认可,已经被欧美等国家推荐用于大型核辐射事故中受照射人员的应急救治。在我国,G-CSF 和 GM-CSF 曾被用于多起辐射事故数例病人的临床治疗,并取得了较好的疗效。

故所致的 ARS 人的治疗中均没有给予抗放药物救治,而接受了造血因子治疗。

虽然细胞因子应用于辐射损伤的临床治疗已被广泛接受,但迄今为止仍未被正式批准。因此,发现新的有效的造血因子或提供造血因子应用新策略仍然至关重要。

rhTPO 除了刺激粒细胞生成的 GM-CSF 和 G-CSF 外,能够刺激血小板生成的细胞因子重组人白介素 -11 (rhIL-11) 和重组人血小板生成素 (rhTPO) 也受到放射病防治药物研究学者的关注。研究发现 rhTPO 对急性放射损伤的治疗作用显著。由于 rhTPO 在欧美、日本尚未上市,因此这些国家转向于 rhTPO 小分子模拟物的研究。本研究室通过在小鼠和猕猴照射模型实验发现,在照射前 2h 或照后早期注射 1~2 次 rhTPO 可以显著提高致死剂量照射动物的存活率。通过比较,发现 rhTPO 照后早期大剂量给药对重度骨髓型 ARS 的救治效果优于“500”、WR2721 和 CBLB502,是目前救治 ARS 疗效最好的抗放药物。

Toll 样受体激动剂 Toll 样受体 (TLR) 家族是一类在机体固有免疫和获得性免疫应答中发挥重要作用的模式识别受体,目前已发现 11 个 TLR 家族成员。作为 TLR 5 唯一配体的细菌鞭毛蛋白及鞭毛蛋白衍生物 CBLB502 能对致死剂量照射下的小鼠和灵长类动物猕猴起到很好的保护作用。研究表明,CBLB502 的 DRF 值为 1.6,在照前 24 h 至照后 1 h 的时间窗内给药均能有效提高受照射动物的存活率。CBLB502 在 NHP 照射模型中防治效果突出。此外,CBLB502 还能减少放射性肺炎、肺纤维化以及皮肤损伤的发生,显著减轻放射性皮炎和口腔黏膜炎的严重症状,并促进组织修复。CBLB502 作为 TLR5 的配体,以一种 TLR5 依赖的方式激活 NF- κ B 信号通路,实验发现,CBLB502 可以通过活化 NF- κ B,动员机体多种辐射防御机制减轻肠道和造血系统损伤。有意思的是,CBLB502 能够诱导小鼠和 NHP 体内生长因子如 G-CSF 和 IL-6 表达增加,并且其辐射防护作用与诱导细胞因子增加具有相关性。CBLB502 是美军重点研制的抗放药物,已经被美国 FDA 批准开展了临床试验研究,并相继获得了快速 (Fast Track) 和孤儿药 (Orphan Drug) 地位。目前,该药已经完成临床 I 期实验,在体内有较好的安全性和耐受性。

IL-12 最新的研究表明 IL-12 照后 24h 给药明显提高受照射小鼠和猕猴的存活率,并改善受照射后机体造血功能和胃肠组织损伤。Numedica 公司开发的 rhIL-12 (HemaMax) 已获得 FDA 批准进入临床研究阶段,目前已开展大动物临床替代实验研究。IL-12 作为抗放药在我国尚处于临床前研究阶段。

除 CBLB502 外,其它 TLR 配体,如 TLR2 激动剂 CBLB601 及在此基础上优化的 CBLB612,还有能够激活 TLR2/6 的 CBLB613,它们都具有显著的辐射防护效果。有趣的是,这些药物均不同程度的诱导体内 G-CSF 和 IL-6 等细胞因子表达升高,研究认为这些细胞因子可以作为辐射防护作用的生物标记,并可以此来筛选有效的辐射防护药物。

本研究室在小鼠、狗、猕猴等多种急性放射损伤动物模型上,系统研究了 rhG-CSF, rhGM-CSF, rhSCF, rhTPO, rhIL-3, rhIL-6, rhIL-11, rhIL-12 等十余种上市或在研的细胞因子对不同损伤程度的 ARS 的治疗作用,并探讨了多种造血因子配伍方式与用药时机,最终提出了造血因子治疗 ARS 的应用依据和原则。此外,相比我军已列表的抗放药物,造血因子疗效更为突出。因此,自上世纪 80 年代以来,在多起辐射事

结语

理想的辐射防护剂应具有的特点是:①抗放作用显著,②安全性好,③给药途径简便易操作,④给药时间窗较宽,⑤来源广,经济实用,⑥稳定性好、易储存等。尽管通过近百年来数代人的努力,国内外在放射损伤防治药物的研究上取得了极大的进展,但是目前尚没有一个候选药物/分子能够完全满足上述特点。因此,研究发现新型的、理想的放射损伤防治药物任重而道远。

执行主编点评

本文介绍了急性放射病防治药物研究的最新进展,对新型辐射防护剂的研发有较大参考价值。

自 1986 年前苏联切尔诺贝利核电站爆炸事故和 2001 年美国“9.11”严重恐怖袭击事件以来,辐射防护剂研究与开发成为放射医学研究的热点,2011 年日本 9.0 大地震引发特大海啸导致福岛第一核电站发生核泄漏后,更是加快了开发新型辐射防护剂的步骤。研究发现,粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)、粒巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、血小板生成素、5- α -雄烯二醇、二丙酸倍氯米松、细菌鞭毛蛋白衍生物、白介素 -12 等均具有明显地抗放作用,尽管至今无一被美国食品药品监督管理局 (FDA) 正式批准用于人类,但这些新型辐射防护剂已获国际公认,G-CSF 和 GM-CSF 已为美国战略储备采购,美国疾病预防控制中心目前持有在核与辐射突发事件中应用 G-CSF 的紧急使用权。我国在“十一五”和“十二五”期间均设立了多项研发新型辐射防护剂的重大专项,均已取得重大进展,但处于实验室阶段。研究发现新型、理想的放射损伤防治药物任重而道远。

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 主编: 马力文 副主编: 姜恩海 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	潘自强 罗庆良 邹跃 刘长安	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	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		
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

辐射防护新药研发的急性放射病动物模型

【据《Expert Opin Drug Discov》2015年5月报道】题：辐射防护新药研发的急性放射病动物模型（作者 Singh VK 等）

辐射防护药至今无一被美国食品药品监督管理局（FDA）批准用于人类。因伦理的限制，急性放射病（ARS）药物疗效评价均依美国 FDA 动物功效规则在动物模型上进行。良好特征的动物模型，能了解辐射损伤的病理生理学和预测人 ARS 的反应。非人类灵长类动物和犬两个大动物模型对研究辐射损伤具有很好的特点，也有人用小型猪作为放射损伤动物模型。有价值的研究必须有急性照射后能观察早期反应和远期效应的动物模型。美国马里兰州贝塞斯达武装部队放射生物研究所 Singh 教授等评述了用于辐射防护剂新药研发的各种 ARS 动物模型。

小鼠 对造血型和肠型 ARS、肺损伤、不同种类射线（ ^{60}Co γ 射线、X 射线、中子- γ 混合照射）的反应和年龄相关性研究是很好的动物模型。与人不同的是小鼠无潜伏期症状，是肠上皮细胞耗竭及细菌易位研究的突出模型，可用于大多数药物研究。照射后很快出现造血型和肠型 ARS 及肺损伤症状。小鼠品系多，传代时间及寿命短，经济。用小鼠模型评价的辐射防护剂有：17-DMAG，血小板生成素受体激动剂，抗神经酰胺酶抗体，口服抗肿瘤坏死因子抗体，甲硫丙脯酸，CBLB612，CBLB613， δ -三烯生育酚，EGF，Ex-RAD，纤维母细胞生长因子多肽， γ -生育三烯酚，金雀异黄素，GRI977143，组蛋白去乙酰化酶抑制剂，类胰岛素生长因子-1，来立司亭，LY294002，R-脊椎蛋白-1，生长抑素类似物，超氧化物歧化酶，四甲基吡啶，转化生长因子- β ，生育酚琥珀酸酯等。

大鼠 类似于小鼠模型，体型较大，有利于一定的实验程序。异食癖（进食障碍-渴求满足吃非食品项目）作为放射性呕吐的行为指标。已用于评价二噁啉甲烷的辐射防护作用。

豚鼠 对辐射反应快速，寿命短。可用的数据有限。

鼯 潜伏期有干呕和呕吐症状，适用于呕吐的研究。

是研究抗生素后腹泻、肠型 ARS 和肠梗阻最好的动物模型。

家兔 温顺、无攻击性，易于操作。可用的数据有限。

比格犬 是不同类型辐射（ ^{60}Co γ 射线、X 射线、中子- γ 混合照射）照射后有、无治疗的造血型 ARS、剂量率和局部照射以建立大型数据库的典型动物模型，适合于以呕吐作为终点的胃肠损伤研究。用于与灵长类和人类相关的放射性呕吐和胃排空延迟机制研究，肺响应数据可用。已用于口服二丙酸倍氯米松的药效评价。

小型猪 适用于观察呕吐、腹泻、皮肤损伤的研究，身体厚度和病理生理学与人造血型 ARS 反应相似，胃肠道综合征的信息有限，没有犬和雪貂容易发生呕吐。用于粒细胞集落刺激因子的药效评价效果良好。

非人灵长类动物 是造血型、胃肠型 ARS 和延迟效应的理想动物模型。在造血型 ARS 的照射量率、辐射性质（ ^{60}Co γ 射线、X 射线、中子- γ 混合照射）、局部照射，类似人类照射后的医学处理，能够呕吐和腹泻，高度相似的人类受体，生理途径和支持治疗效果寿命长，为 FDA 接受的黄金标准动物模型。已用于评价的抗放药有：5-雄烯烯二醇，4-羧基苯乙烯基 4-氯苄基磺钠盐，氨基磷，细菌鞭毛蛋白衍生物，粒细胞集落刺激因子，粒巨噬细胞集落刺激因子，白介素-12，聚乙二醇粒细胞集落刺激因子等。

（熊国林 余祖胤 报道）



高剂量抗坏血酸可降低照射小鼠的死亡率

【据《PLoS One》2015年2月报道】题：高剂量抗坏血酸可降低照射小鼠的死亡率（作者 Sato T 等）

抗坏血酸是一种水溶性抗氧化剂，能有效清除体内自由基。研究表明，致死剂量照射的小鼠照射前口服抗坏血酸，可有效预防胃肠道放射综合征。而放射病往往以意外事故发生，伤员受照剂量及照后给药剂量、时间都存在很大不确定性。日本东京陆上自卫队 Sato T 等教授通过研究证明，对照射后的小鼠，腹腔注射高剂量抗坏血酸，同样起到显著的辐射防护作用。作者对 7、7.5 或 8Gy 全身照射雄性 C57BL/6 小鼠，照射后立即腹腔注射抗坏血酸 3 g/kg，可显著增加 60 d 存活率。低于 3g/kg 抗坏血酸给药无效，超过 4 g/kg 会对小鼠产生一定的毒副作用，这可能因小鼠体内钠超负荷而引起的。血象研究表明，高剂量抗坏血酸治疗在照射后 1~2 周内并不能缓解骨髓抑制，但从第 3 周骨髓功能开始显著恢复。经 8Gy 全身照射小鼠 6h 后从股骨取骨髓细胞，通过免疫组化染色发现 3 g/kg 抗坏血酸给药组的 Caspase-3 明显低于对照组，这提示

抗坏血酸可抑制射线照射引起的骨髓细胞凋亡。生化研究表明，腹腔注 3 g/kg 抗坏血酸，30min 后，7.5Gy 全身照射组与非照射组小鼠血浆骨源性碱性磷酸酶（BAP）含量均明显增加，2h 后均降低至正常水平。这表明，照射后给予抗坏血酸治疗，能有效清除辐射产生的自由基；照后第 14d 照射对照组的 IL-1、IL-6 和 IFN- 水平较高，而 3 g/kg 抗坏血酸给药组则显著降低。由此显示，抗坏血酸照射后给药，同样减少辐射引起的炎性细胞因子的产生。7.5Gy 全身照射小鼠，在 1、6、12 或 24h 腹腔注射抗坏血酸 3 g/kg，可有效提高小鼠的存活率；然而，照射后超过 36h 再给予抗坏血酸治疗则无效。值得注意的是，照射后立即腹腔注射 1.5 g/kg 抗坏血酸，连续 2 次或照后 24h 腹腔注射 3g/kg 抗坏血酸均可达到有效的辐射防护作用。由此推断，单次高剂量抗坏血酸给药可分为多次、低剂量给药，同时不影响其辐射防护效果。总之，高剂量抗坏血酸治疗可降低照射小鼠的死亡率。

（杨萌 报道）

单剂量血小板生成素的辐射防护作用

【据《Radiat. Res》2015年1月报道】题：单剂量血小板生成素减轻短期和长期造血干细胞的电离辐射损伤（作者 Tronik-Le Roux D 等）

在稳态条件下或是在损伤应答过程中，造血干细胞（HSC）对于维持血液和免疫细胞的更新均起着关键作用，这得益于干细胞的静息、增殖与分化紧密平衡的完成，而 HSC 的这一过程又依赖于内在的干细胞特性和外在的微环境的共同作用。电离辐射引起 HSC 呈剂量依赖性下降和长期持续性损伤，并减弱其竞争性重建致死性照射受体的能力。阻止或减轻射线引起的细胞抑制能够从根本上使接受放疗的患者或受到意外照射的个体存活。因此，研究者们通过多方面努力，以致力于发现限制射线照射引起的骨髓抑制和长期损伤的细胞因子、生长因子和信号通路。业已证明，造血因子如红细胞生成素、粒细胞集落刺激因子或粒巨噬细胞集落刺激因子能有效治疗化疗或放疗后的贫血和粒细胞减少症。然而，促进射线照射后的造血恢复尤其是远后期的恢复尚有待于进一步研究。

血小板生成素（TPO）是调节巨核细胞生成和血小板产生的最主要的细胞因子。研究表明，骨髓抑制后立即注射 TPO 可以减轻造血损伤并加速全系造血细胞恢复。Laval 等人近日报道，TPO 通过调控 DNA 双链修复机制来限制射线引起的 HSC 损伤。然而，TPO 在体内给药后是否会增强骨髓抑制后残存 HSC 的增殖能力，TPO 是否通过微环境发挥作用，以及 TPO 是否调节 HSC 的功能使其能够更加高效地归巢和再生，这些问题均有待证明。

法国巴黎新生疾病与创新疗法研究所（iMETI）Tronik-Le Roux D 等通过 ^{137}Cs 照射的放射损伤小鼠模型、凋亡细胞检测、CD45.1/CD45.2 小鼠的竞争移植实验、荧光标记 HSC、生物发光活体成像和电子显微镜观察等方法，研究了 TPO 在 HSC（受/不受照射）植入与再生过程中的调节作用，并通过体内实验证明了照射后短时间内（照射后 2h）单次注射 TPO 减轻射线所致的 HSC 损伤并改善其功能。实验结果表明，TPO 治疗不仅减少射线引起的 HSC 凋亡，还诱导其本质特性发生显著改变——促进长期造血干细胞（LT-HSC）的长期造血功能恢复，部分逆转射线照射引起的造血干细胞亚群（LT-HSC 和多潜能干细胞 MPP）细胞比例改变。最重要的是，该研究首次证明，射线照射后，给予 TPO 治疗的小鼠颅骨内巨核细胞和血小板生成增加，提示颅骨是 TPO 诱导的造血细胞发生最有利的位点，这提供了一种 TPO 介导的原始造血细胞与解剖学结构组成之间的关系。

总之，本研究发现了 TPO 作用于干细胞的一些新特征，为放疗患者的治疗选择开创了新的研究领域，并提示在临床上早期给予合适的 TPO 激动剂可以克服以往观察到的 TPO 会产生自身抗体的副作用。

（邢爽 余祖胤 报道）

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



辛伐他汀对造血干细胞植入的影响

【据《Haematologica》2015年4月报道】题: 辛伐他汀抑制辐射所致骨髓脂肪形成和保护造血干细胞促进造血干细胞植入(作者 Bajaj MS 等)

移植前骨髓处理增加了骨髓脂肪形成并且损伤造血干细胞, 这对造血干细胞(HSC)移植有不利影响。在增加成骨细胞量能使HSC数量增加被证实后, 利用造血干细胞靶向治疗来增加HSC移植变得热门起来。被用来治疗高胆固醇血症的他汀类药物具有多种临床用途, 包括体外抑制骨髓间充质干细胞脂肪形成和防止照射引起的组织细胞损伤。假设辛伐他汀处理干细胞移植(SCT)受体可能通过防止辐射诱导脂肪形成和对造血干细胞辐射保护来改善移植和供体HSCs增加。辛伐他汀通过重建造血干细胞促进非照射小鼠HSC数量急速增加。这些数据证明辛伐他汀是既能作用于受体同时作用于供体的改善HSC移植的有效造血干细胞靶向剂。基于辛伐他汀已经广泛应用, 此研究的临床应用可能相对明确。

为了验证上述的假设, 印度浦那国家细胞科学中心 Bajaj 等用辛伐他汀在移植前一周处理 CD45.2 受体或对照(25mg/kg/d), 并且在移植后3周处理 CD45.1 供体细胞(图1A)。血象分析表明, 辛伐他汀处理过的受体外周血(PB)中血小板、中性粒细胞、白细胞较对照组明显升高, 血红蛋白水平与对照组相当。BM 细胞免疫表型分析表明, 辛伐他汀受体给药组 HSCs (FLT3-LSK) 数量明显升高(图1C)。以辛伐他汀处理 Lin⁻ 细胞7天, HSC 数量并未增加, 表明辛伐他汀不直接作用于HSCs。辛伐他汀给药受体组骨髓分选出的供体细胞集落形成单位(CFU)明显升高, 表明给以辛伐他汀有效改善造血再生(图1D)。

移植后16周, 辛伐他汀处理后受体的骨髓中供体 LSK-HSC 数量仍然较高。当分选出的纯的移植供体细胞输入二次受体以观察其长期功能时, 我们观察到, 从辛伐他汀片处理后的受体体内分离出的供体细胞移植入二次受体的效率更高(图1F)。

综上, 这些数据证明辛伐他汀处理受体明显改善供体干细胞的移植和增殖, 并且, 这些新增殖的 HSCs 具有长期功能。

骨髓脂肪形成是导致骨髓移植后骨髓抑制产生的最主要

原因。Naveiras 等证明辐射诱导的骨髓脂肪形成能抑制造血并且对药物抑制 PPAR- γ 后增强供体细胞移植具有抑制作用。骨髓病理表明, 相比对照组, 辛伐他汀处理受体组骨髓脂肪细胞数量明显降低(图2A)。从辛伐他汀处理受体组分选出的 CD45⁻ 基质细胞相比对照组受体, Ppar- γ 表达明显降低并且 Runx-2 mRNA 表达升高(图2B)。这说明辛伐他汀通过抑制主要脂肪生成调节蛋白 PPAR- γ 的表达来阻止辐射诱导的骨髓脂肪形成。

有效的供体 HSCs 移植关

键依赖于最适的造血干细胞功能。成骨细胞, 髓窦内皮细胞, Nestin⁺ MSCs 和 EPCs 在供体细胞移植中起关键作用。因为骨髓抑制损伤这些干细胞, 我们便分析了辛伐他汀处理受体组 BM 中这些细胞。流式分析造血干细胞发现, 辛伐他汀处理受体组小鼠骨髓中的内皮细胞、成骨细胞、成骨细胞前体 MSCs、PDGFR- α ⁺ MSCs 和内皮细胞前体细胞(EPCs)数量明显升高(图2C)。同时, 辛伐他汀处理受体组 Nestin⁺ MSCs 和成纤维细胞集落形成单位(CFU-F)也

都有明显升高(图2D, E)。

由于他汀类化合物对抑制调节蛋白作用的广泛效果, Rho 激酶作为一种具辐射保护剂潜在作用的他汀类化合物获得支持。对辛伐他汀处理和非处理组制备的裂解液进行 Western blot 分析, 发现辛伐他汀抑制照射后 M210B4 基质细胞 MLC-2 (Hho 激酶的下游直接靶点)的磷酸化[图2G]。我们同时发现辛伐他汀处理并照射后的细胞相比单纯照射组细胞中 p-ATM-Ser1981 明显升高(图2H)。这些数据表明辛伐他汀通过抑制 Rho 激酶和有效激活 DNA 损伤修复(DDR)机制来对造血微环境起辐射保护作用。

增加供体骨髓中造血干细胞池固有细胞有利于达到改善移植后造血恢复的目的。因此, 我们通过给以供体小鼠辛伐他汀4周, 来检测辛伐他汀是否对长期稳定造血同样具有调节作用。通过对 HSC 具体分型发现, 辛伐他汀显著促进骨髓中 LSK-HSCs, SLAMF6⁺ LSK-HSCs 和 LSK-CD34⁻ (LT-HSCs), 并不影响骨髓总细胞数或者血常规。作者用竞争移植实验来评价其移植效率。对受体 PB 中供体细胞进行短期(4周)和长期(16周)分析表明, 来自辛伐他汀处理后的供体 BM 细胞在两个时间点都具有更高的嵌合率。综上, 这些结果表明辛伐他汀处理的非照射小鼠功能性 HSCs 增加, 并且不引起任何骨髓增生。因此, 基于更高数量的 HSCs 和 EPCs, 除了处理移植受体, 以辛伐他汀处理供体同样增强移植水平。

总之, 本研究数据表明, 辛伐他汀在 SCT 中是一种靶向造血干细胞的药物。对辛伐他汀这种已上市临床药物同时具有造血微环境保护作用的药物的作用意义深远, 因为省去了费时的临床实验, 不像那些新研发药物。由于辛伐他汀的药代动力学已知, 它对改善造血干细胞移植效果的作用可以在更大范围的临床实验来检验。

(仪丽荣报道)

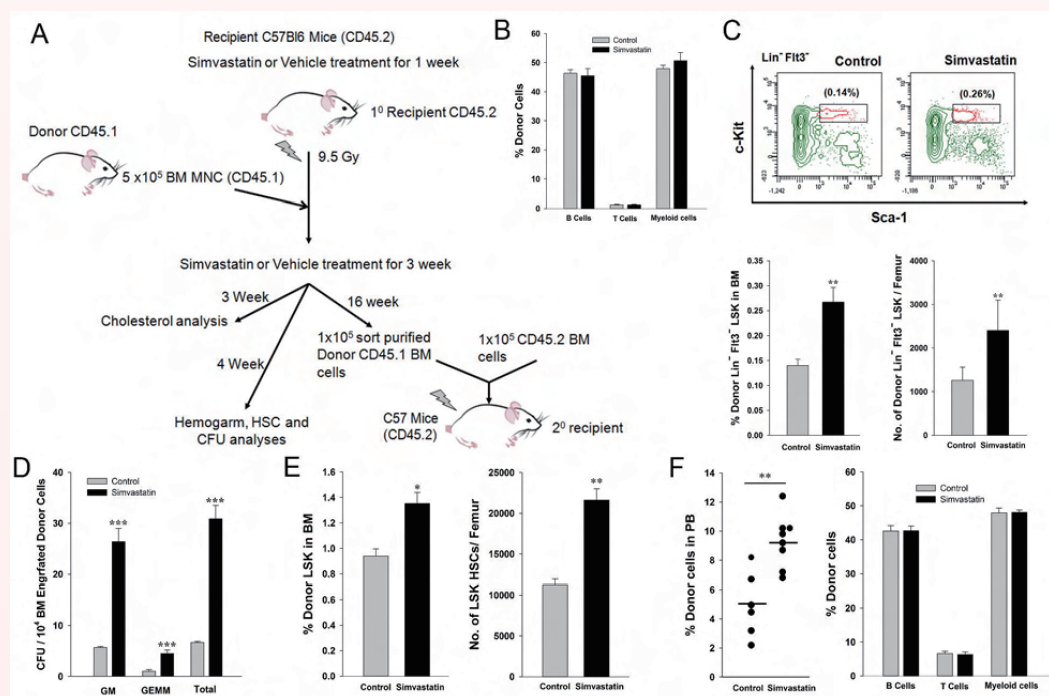


图1 辛伐他汀给药提高供体干细胞移植

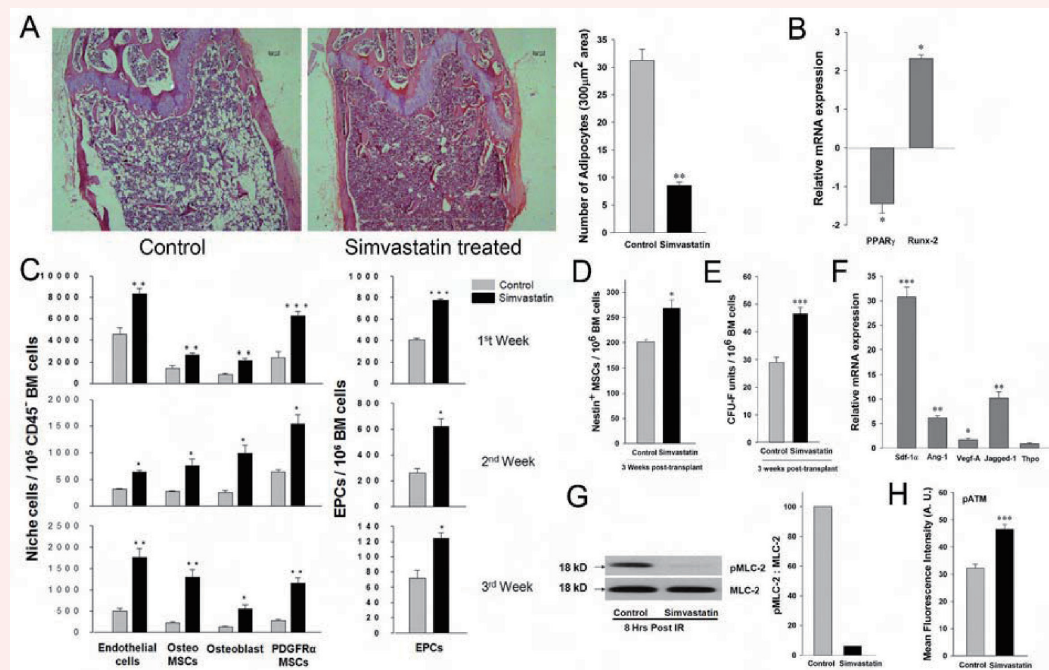


图2 辛伐他汀抑制辐射诱导的脂肪形成并保护骨髓造血干细胞

辐射引起小鼠产生的造血综合征与胃肠综合征相对独立

【据《Nature Communications》2015年3月报道】题:辐射引起小鼠产生的造血综合征与胃肠综合征相对独立(作者 Leibowitz BJ 等)

一定剂量电离辐射照射后,分别可致机体造血、胃肠和中枢神经系统损伤。由于照射剂量及照射部位的不同,可能单独出现某一种损伤,也可能同时存在两种或以上不同系统的。一种系统的损伤程度与另一种系统损伤严重程度之间是否存在相互作用是一个十分关键的问题。其中造血和胃肠系统损伤最为常见,且最具研究意义。研究至今,骨髓及骨髓源子代细胞在辐射引起的急性胃肠综合征中所扮演的角色一直具有争议。小肠上皮是哺乳动物中最迅速更新的组织之一,由于小肠上皮干细胞不断增生和分化,小肠上皮每3~5天即可更新一次。不管在稳态还是伤后再生的情况下,小肠干细胞的自我维持与自我更新的能力同时受到自身信号及微环境信号的调控。在辐射后发生胃肠综合征时,小肠干细胞通过P53调控的凋亡或非凋亡途径而死亡。骨髓移植能够治理照射后小鼠造血综合征而对14Gy以上照射后小鼠产生的胃肠综合征无效。辐射耗尽或抑制非上皮细胞,如骨髓细胞,内皮细胞和肠上皮间质纤维细胞。各种生长因子(FGF-2, IGF-1, KGF, RS1)能够促进小肠隐窝存活及再生。而这些生长因子都能够通过骨髓源细胞的移植而诱发分泌。骨髓来源的细胞通过直接掺入损伤组织可能有助于组织再生,在骨髓移植受者, BM来源的细胞被发现掺入心肌和骨骼肌、血管内皮细胞和神经组织。骨髓来源的细胞的植入率非常低(约1%),在损伤后高度增殖时期植入率略有增加,而其它的研究表明这种细胞很少转化为肠上皮。因此,仍然不清楚到底是损伤骨髓还是源自骨髓的细胞而作用于胃肠综合征及相关急性上皮损伤和再生。

美国宾夕法尼亚匹兹堡大学医学院癌症研究所 Leibowitz 教授等利用骨髓移植、全身照射以及腹部照射等方法探索,发现骨髓源细胞在辐射引起的急性胃肠损伤及其恢复中所起的作用是微乎其微的,说明辐射引起小鼠产生的造血综合征

与胃肠综合征相对独立。p53上调凋亡调控因子(PUMA)是 bcl-2 家族中唯 BH-3 域蛋白,在细胞内维持着一个较低的水平。一旦应激,PUMA 很快通过依赖或不依赖 P53 的途径被激活从而介导细胞凋亡。PUMA 能够通过蛋白与蛋白间高亲和作用来拮抗已知全部五种抗凋亡的 Bcl-2 家族成员,使线粒体凋亡途径得以起始。现已证明,p53-依赖的 PUMA 激活介导辐射诱发的胃肠道和造血伤害及综合征。人们还发现,PUMA 敲除小鼠对辐射引起的造血损伤有很强的耐受性,当野生型小鼠移植 PUMA 敲除的骨髓细胞后能够在两次 9 Gy 全身照射下存活 18 个月以上且不诱发白血病。Leibowitz 教授等利用高度抗辐射 PUMA KO 小鼠来研究骨髓是否对 GI 综合

症具有保护作用。利用辐射耐受型小鼠(PUMAKO)与野生型小鼠(WT)进行对比试验,分别将辐射耐受型小鼠(PUMAKO)及野生型小鼠(WT)的骨髓细胞移植到受体小鼠,建立骨髓细胞辐射耐受,还有部分敏感性正常的小鼠和全身辐射敏感性正常的小鼠,观察照射后胃肠道损伤是否存在差异。结果表明,12Gy 全身照射后,移植辐射耐受小鼠(PUMAKO)骨髓细胞的小鼠和移植野生型小鼠(WT)骨髓细胞的小鼠,其小肠隐窝凋亡及小肠上皮损伤的程度并无差异。移植了 PUMA KO 小鼠骨髓的小鼠其供体来源的肠道造血细胞(CD45+)和内皮细胞(CD105+)在受照射后得到了保护,但是并不参与辐射损伤后小肠结构的重建。说明小鼠骨髓细胞的

质量与其胃肠道的损伤无关。

作者利用腹部照射模型(ABI,仅小鼠腹部受到辐射损伤而造血系统未受到辐射损伤)及辐射敏感小鼠(p21 KO)进一步研究发现,15 Gy 腹部照射(ABI)小鼠与 15Gy 全身照射(TBI)小鼠照射后存活率基本一致。说明辐射造成的胃肠道损伤是小鼠死亡的主要因素。用辐射敏感小鼠(p21 KO)作为受体,分别移植了 PUMA KO 小鼠及 p21 KO 小鼠骨髓细胞,建立了两种骨髓细胞辐射敏感性相差悬殊的小鼠模型(p21

KO mice with PUMA KO BM;p21 KO mice with p21 KO BM),将两种小鼠同时接受 13.5Gy 及 15Gy 腹部照射。结果表明:两种小鼠的存活率及再生隐窝数量基本相同,证明腹部照射而死亡或胃肠道损伤后小肠干细胞重建与骨髓细胞无关。

研究结果表明,骨髓细胞在辐射引起的急性胃肠损伤及其恢复中所起的作用是微乎其微的,而内皮细胞及肠干细胞损伤才是胃肠综合征的重要诱发因素。

(白帆报道)

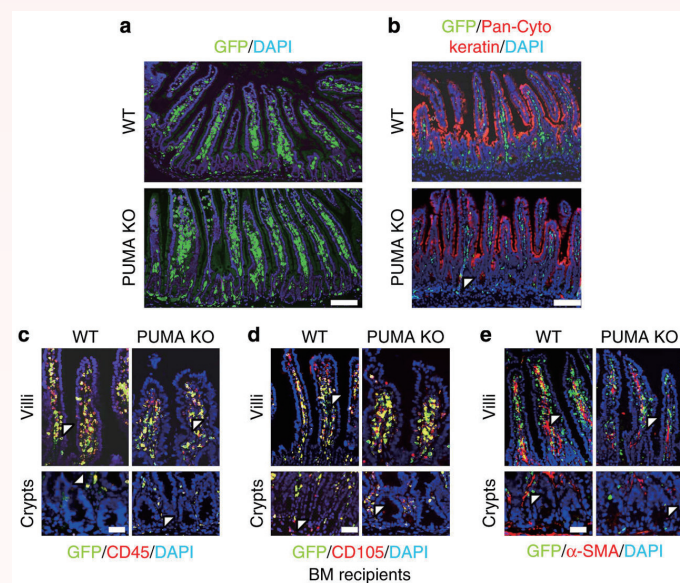


图1 移植骨髓对小肠重建的作用

WT 和 PUMA KO 小鼠骨髓细胞为 GFP+ 细胞:(a) GFP+ 骨髓细胞移植嵌入入小肠的情况,(b) GFP/细胞角蛋白荧光双染色区别小肠上皮细胞。(c) GFP/CD45 荧光双染色区别骨髓源 CD45 细胞。(d) GFP/CD105 荧光双染色区别 CD105+ 供体细胞。(e) GFP/α-SMA 荧光双染色区别 α-SMA+ 供体细胞。

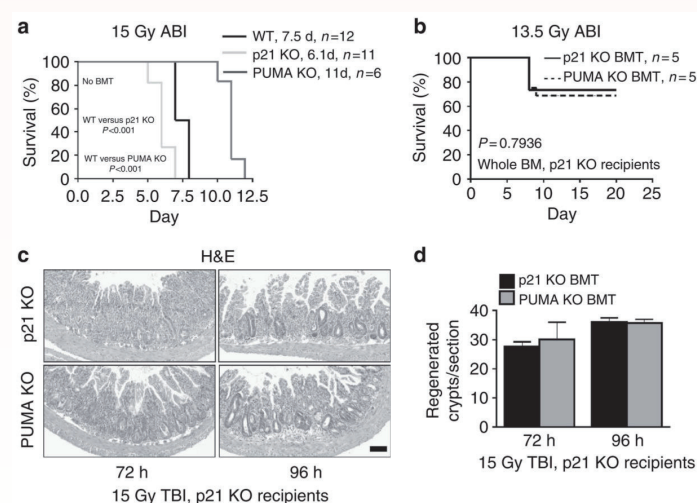


图2 将辐射耐受的骨髓细胞(PUMA KO)移植到辐射敏感小鼠(p21 KO)并不提高高照射后辐射敏感小鼠的存活率及再生隐窝数量

LPA2 受体特异性激动剂同时缓解胃肠道及造血系统急性辐射综合征

【据《Chem Biol》2015年2月报道】题:LPA2受体特异性非脂类激动剂能够同时缓解胃肠道及造血系统的急性辐射综合征(作者 Patil R 等)

人类面临着受高剂量电离辐射损伤的挑战,电离辐射损伤后的药物治疗一直是亟待解决的医学问题。目前,减弱辐射敏感器官损伤的一些药物通常只能在照射后几小时甚至几天使用时才有治疗效果。在这种情况下使用的药物被认为是辐射缓解剂并且将是一类针对辐射的医疗对抗措施,目前尚无获得批准的药物。溶血磷脂酸 LPA 是一种生长因子样脂类介质,研究发现,这种物质能在体外及体内抑制辐射引起的细胞凋亡及细胞损伤。稳定的 LPA 类似物在造血系统和胃肠道放射病动物模型中能够起到辐射缓解的作用。在 Lpar2 基因敲除小鼠的细胞中进行的体外的反加实验研究证明该受体亚型对于辐射导致的肠道细胞死亡及损伤的保护是至关重要的。

溶血磷脂酸的 G 蛋白偶联受体 2 (lysophosphatidic acid LPA2) 的一种特异性激动剂 DBIBB,照射后 72 小时给药能够降低受照射 C57BL/6 小鼠的死亡率,但是对于 LPA2 敲除的小鼠却没有作用。DBIBB 能够缓解肠型放射病小鼠胃肠道损伤症状,提高肠隐窝存活率、促进小肠上皮细胞增殖并且降低细胞凋亡。DBIBB 通过提高 γ -H2AX foci 浓度来增强 DNA 损伤修复、促进辐射后 IEC6 细胞存活、减弱辐射诱导的人类 CD34+ 造血祖细胞的死亡率及增加粒系/单核巨噬系细胞的存活。DBIBB 同样能够增加因受到全身照射而出现造血性急性辐射综合征的小鼠的存活率。

因此,针对 LPA2G 蛋白偶联受体(GPCR)特异性的改进后的非脂类药物类似物是 ARS 的最佳候选药物。美国田纳西大学健康科学中心 Patil 教授等用计算机模拟药物设计出了 GRI-977143 这种非脂类化合物能够非特异性激发 LPA2。但是 GRI-977143 缺少理想的类药性潜能,同时也缺乏特异性因为该药物能同时激活 LPA3。作者还利用来源于 LPA2 配体结合口袋的同源模型的药效团计算机模型来进行药物化学研究,发现了 DBIBB。这个方法曾发现了 LPA2 特异性铵黄酰苯甲酸(SBA)类似物。在后续研究中,也证明了 LPA2 特异性类似物, DBIBB 能够对高剂量(15.69Gy)急性放射病具有良好的治疗效果,具有一定的潜在价值。

(李忠堂报道)

己酮可可碱对分隔照射放射性口腔黏膜炎局部缺氧的影响

【据《Radiotherapy and Oncology》2015年3月报道】题: 己酮可可碱对每天分隔照射造成的小鼠放射性口腔黏膜炎局部组织缺氧的影响(作者 Sylvia Gruber 等)

接受放疗的头颈部肿瘤患者一般都会发生不同等级的口腔黏膜炎。口腔黏膜炎严重影响患者的生活质量, 可能还会造成原发病治疗的中断。目前为止, 对口腔黏膜炎在临床上并没有有效的治疗手段。己酮可可碱(PTX)是一种非特异的磷酸二酯酶抑制剂, 其被建议用于口腔黏膜炎的治疗, 并且在临床前研究中显示出重要的黏膜保护作用。系统应用

己酮可可碱显著减少放射性口腔黏膜炎, 已在小鼠舌模型上得到证明。然而其潜在的作用机制仍然不明。奥地利维也纳医科大学 Gruber 教授等观察了头颈部分割照射小鼠模型舌组织局部缺氧的变化和己酮可可碱干预后其潜在的作用机制。

小鼠头颈部进行每日 $5 \times 3\text{Gy}$ /周(0-4 d, 7-11 d)的分次照射。通过免疫组化方法对单纯照射小鼠和 PTX 给药小鼠舌黏膜进行缺氧标记物 HIF-1 α 和 GLUT1 的观察, 并对其在上皮层不同细胞表达的阳性率和染色强度进行定量分析。

HIF-1 α : 照射前 HIF-1 α

表达在生发上皮细胞和功能上皮细胞的分别为 42.7% 和 70.1%。照射后 HIF-1 α 表达在上皮的生发层渐进性升高, 12 d 天达峰值(85.8%)。功能层 HIF-1 α 的表达在头 4 d 提升至 88.6%, 逐渐保持一个水平(图 2B)。生发层其染色强度从平均值 1.1(a.u.) 增加到第 10 天的 2.5(a.u.) (图 2C), 功能层染色强度从 1.7(a.u.) 到第 8 天和第 10 天的 2.6(a.u.), 之后逐渐下降(图 2D)。

PTX 给药后, 无论哪个时间点 HIF-1 α 在生发层的表达都低于对照组(图 2A)。HIF-1 α 染色强度和非照射组保持同样的范围, 从第 6 天的 1.6(a.u.) 到第 12 天的 1.4(a.u.) (图 2C)。在功能层, 第 2 天和第 4 天的 HIF-1 α 表达率与对照组的相比, 分别从 84.7% 和 88.6% 降低到 48.7% 和 69.1% (图 2B)。

GLUT1: 通过照射, GLUT1 表达从 0 在第 14 天增加到 70.3% (图 2E)。但它在功能层没有表达。照射对照组, GLUT1 在生发层染色强度在从 0.3(a.u.) 逐渐到第 12 天最大值 2.6(a.u.) (图 2F)。PTX 给药, GLUT1 阳性表达率都低于照射对照组, 尤其是在第 10 天和第 14 天(图 2E)。其染色强度也低于对照组(图 2F)。

通过对照射后 0~14 d 的动物组织学观察, 分割照射诱发所有缺氧标志物 HIF-1 α 和 GLUT1 显著的升高, 提示小鼠舌黏膜经过分隔照射后其局部组织缺氧现象在早期就已经发生。血管舒张、充血和组织的氧化反应相关。照射后不断增加的血管直径和异常的血管通透性联合一系列炎症改变在血管微环境中可能导致上皮氧供给的下降, 尤其是在生发层。缺氧诱发炎症反应, 反之亦然, 炎症进一步加速缺氧。我们知道 PTX 在临床上常应用于治疗慢性供血不足, 包括提高红细胞活性, 减少血管通透性。PTX 给药后部分阻止放射诱发的一些缺氧标志蛋白的改变, 可能是通过提升红细胞的活性等改善缺氧环境以降低炎症反应。这潜在说明了药物的黏膜保护作用。但是还需要进一步研究。

(杨超报道)

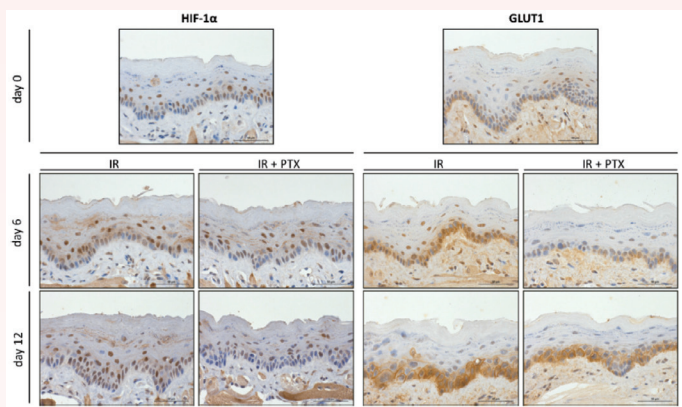


图 1 PTX 给药后对 HIF-1 α 和 GLUT1 的影响

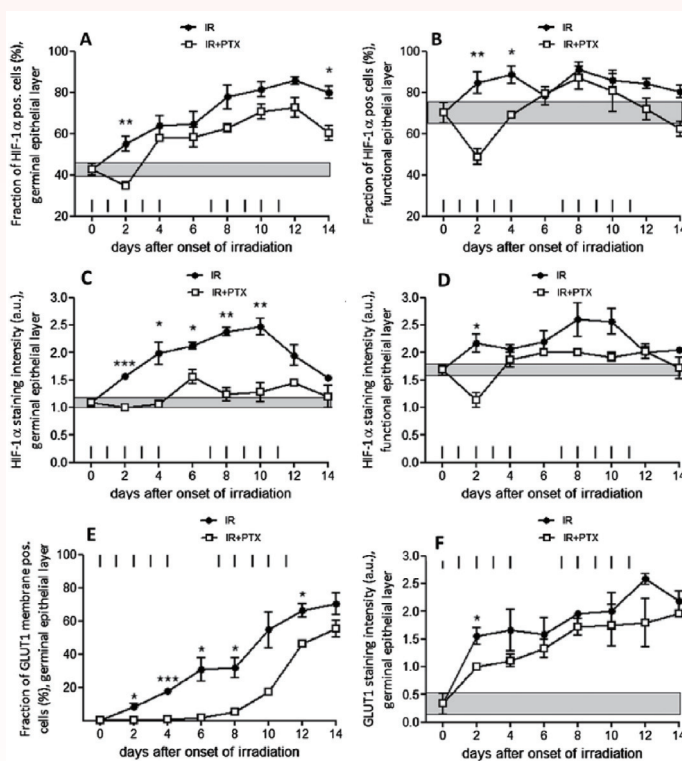


图 2 HIF-1 α 和 GLUT1 在各上层生发细胞和功能细胞的表达率和染色浓度的定量分析(0-14 d)

- A. HIF-1 α 分别在照射对照组和 PTX 给药组的生发细胞中表达率
B. HIF-1 α 分别在照射对照组和 PTX 给药组的功能细胞中表达率
C. HIF-1 α 分别在照射对照组和 PTX 给药组的生发细胞中染色强度
D. HIF-1 α 分别在照射对照组和 PTX 给药组的功能细胞中染色强度
E. GLUT1 分别在照射对照组和 PTX 给药组的生发细胞中表达率
F. GLUT1 分别在照射对照组和 PTX 给药组的生发细胞中染色强度

依达拉奉对放射性口腔黏膜炎的防护作用

【据《J Pharmacol Sci》2015年2月报道】题: 依达拉奉对小鼠放射性口腔黏膜炎的防护作用评价(作者 Nakajima N 等)

放射性口腔黏膜炎(ROM)是放疗后严重副作用之一, 几乎发生在所有接受过放射治疗的头颈部肿瘤患者。放疗可能导致黏膜红斑、糜烂和溃疡性口腔黏膜炎, 造成吞咽困难, 患者体重下降, 严重降低生活质量甚至阻碍原发病的治疗, 造成经济、身体和精神的极大负担。但是目前由于对其发病机制研究仍不明确, 因此缺乏有效的防治措施。临床上多以止痛、抗炎等对症处理为主, 反馈不佳。依达拉奉在临床上常作为脑保护剂用于治疗急性缺血性脑卒中, 疗效显著。其作用机制就是清除缺血形成的大量氧自由基。近期有文献报道依达拉奉的辐射保护作用, 可抑制 X 线诱发的海马神经元凋亡。但是还没有研究指出其能阻止放射性口腔黏膜炎(ROM)的发生。因此, 日本爱媛大学 Nakajima 教授等评价了依达拉奉对 ROM 防护作用。

小鼠舌头接受一次 20 Gy X 线照射能够诱发口腔溃疡。依达拉奉均在照射前 30 min 给药, 分 30 和 300 mg/kg 两组。本研究以体重、存活、口腔溃疡评分、口腔黏膜组织学观察和 TUNEL 检测法、过氧化物酶活性(MPO)和 2-硫代巴比妥酸(TBA)活性物质水平来进行评价。

小鼠口腔溃疡发生后出现进食困难, 体重下降, 在照射后 12 d 下降到最大。12 d 后存活下降, 但各组未发现明显差异。口腔溃疡评分在第 12 d 最严重达到最大分值, 依达拉奉 3 和 300mg 组明显低于对照组。组织学观察口腔黏膜炎均发生在对照组, 在照射后第 8 天产生溃疡; 给药组, 上皮层保持完整且只有少量炎性细胞。凋亡检测显示对照组 23.7% TUNEL+ 细胞; 相比之下, TUNEL+ 细胞在依达拉奉 30 和 300 mg/kg 组分别下降至 9.9% 和 8.6%。MPO 是炎症组织中的中性粒细胞的标记物, 在照射后 12 d 通过检测 MPO 活性发现依达拉奉给药组明显低于对照组, 这与组织学观察其炎性细胞减少一致。TBARS 天然存在于生物标本, 他们包括脂质过氧化物和醛类物质, 其浓度会在氧化应激反应中增加, 照射后通过检测 TBARS 水平发现依达拉奉给药组明显低于对照组, 尤其是 300 mg/kg 组。这些结果均显示依达拉奉可以有效防止 ROM 发生。

X 线导致的细胞死亡有间接和直接两种。第一种, X 射线直接电离或激发细胞中的大分子, 导致细胞损伤。第二种 X 线激发细胞中的水分子, 产生大量活性氧(ROS), 导致细胞死亡。由于 X 线导致的生物学死亡大约 70% 是间接反应导致的。在放射治疗期间, 主要是由细胞毒性活性氧的产生, 会导致过量的细胞凋亡, 上皮层细胞无法及时更新溃疡产生。我们关注依达拉奉的抗氧化效应, 因为它是一种自由基清除剂, 与各种自由基的发生一系列生化反应, 并将最终形成稳定的化学结构。Sasano 等报道称, 高剂量的依达拉奉完全消除 X 射线产生的活性氧, 作者证实了依达拉奉对抗 ROM 的抗氧化效应。或许其对口腔黏膜炎的效应似乎不是很强, 但其抗氧化作用是充分的。并且抗氧化剂已被证明在体内具有协同抗肿瘤作用。其与化疗和放疗的结合已被证明能增加生存时间和减少人体毒性。依达拉奉的这一作用已在前列腺癌患者治疗中得到证实。因此依达拉奉对于头颈部肿瘤患者放疗后诱发的 ROM 的治疗值得进一步研究, 这有望为 ROM 的防治提供新的希望。

(杨超报道)

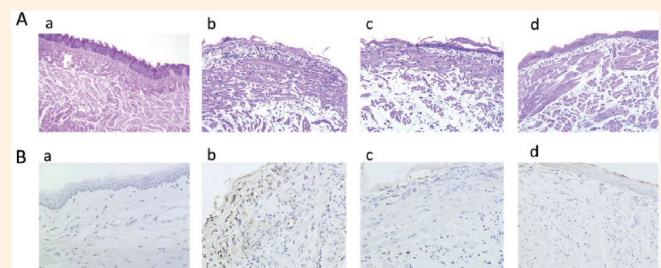


图 1 依达拉奉给药后的组织学改变

- A. HE 染色 a 正常组, b 照射对照组, c 依达拉奉 30mg/kg 组, d 依达拉奉 300mg/kg 组
B. 免疫组化 TUNEL 检测 a 正常组, b 照射对照组, c 依达拉奉 30mg/kg 组, d 依达拉奉 300mg/kg 组

MicroRNA-622 对结直肠癌细胞辐射耐受性的影响

【据《Oncotarget》2015年4月报道】题: 辐射诱导的MicroRNA-622通过下调Rb引起结直肠癌细胞的辐射耐受性(作者 Wenhui Ma 等)

全直肠系膜切除术(TME)术前辅以化疗是目前早期中下段直肠癌的标准治疗方案。然而肿瘤对标准照射剂量的反应性相差很大,只有大约20%的患者其病理检查癌细胞全部消失,其余患者则表现为部分消失或无反应。因此,发现并验证能够提示结直肠癌(CRC)患者存活率的生物标志物,无疑将推动有效治疗措施的发展、最终降低复发性CRC的发病率。

MicroRNA是一种小的非编码RNA分子,通过序列特异性地结合靶mRNAs的3'-非翻译区(UTR),从而导致mRNA降解或抑制mRNA翻译。近年来,已有的研究证实MicroRNA在肿瘤发病机制和预示治疗效果方面具有重要意义。而MicroRNA-622(miR-622)已被证实与CRC相关。越来越多的研究证明miR-622在肿瘤发生发展过程中的重要作用,然而尚无研究系统分析其对CRC患者放疗治疗的影响。

南方医科大学普外科的Wenhui Ma等通过电离辐射处理的CRC细胞筛选CRC相关miRNA,旨在发现和确定与放

疗反应性相关的miRNAs,并分析代表miRNA对辐射耐受的影响。

本研究发现,与对照相比,应用电离辐射处理CRC细胞后miR-622表达显著增加,持续低剂量照射能使存活细胞中miR-622持续稳定表达(图1)。进一步的体外实验表明miR-622过表达能引起辐射耐受性。

视网膜母细胞瘤基因(RB1)是袋蛋白家族的一个成员,由p107和p130组成,是最早被证实的肿瘤抑制基因。视网膜母细胞瘤蛋白(Rb)参与DNA的损伤、修复和复制过程,通过抗凋亡和分化保护细胞。尽管大多数肿瘤表现为RB1基因的缺乏或突变型,但在CRC患者体内保藏有野生型(WT)RB1。实验表明,

miR-622通过靶向结合RB1-3' UTR而抑制Rb表达,而过表达Rb能够逆转miR-622介导的辐射耐受。在受到电离辐射后,Rb-E2F1-P/CAF复合物激活预凋亡基因,如Tap73和Caspase7。随后对17位临床分期为T3-4N⁺的直肠癌患者的术前冰冻切片进行qRT-PCR检测,发现miR-622在接受标准剂量放疗治疗肿瘤对其无反应

的病例中呈显著高表达。

总之本研究结果表明,放疗治疗诱导的miR-622过表达能引起结直肠癌的辐射耐受性以及进一步治疗措施的低反应性。提示miR-622可能成为一个重要的具有提示直肠癌放疗治疗预后的标志物,并且是结直肠癌一个潜在的治疗靶点。

(王丽梅报道)

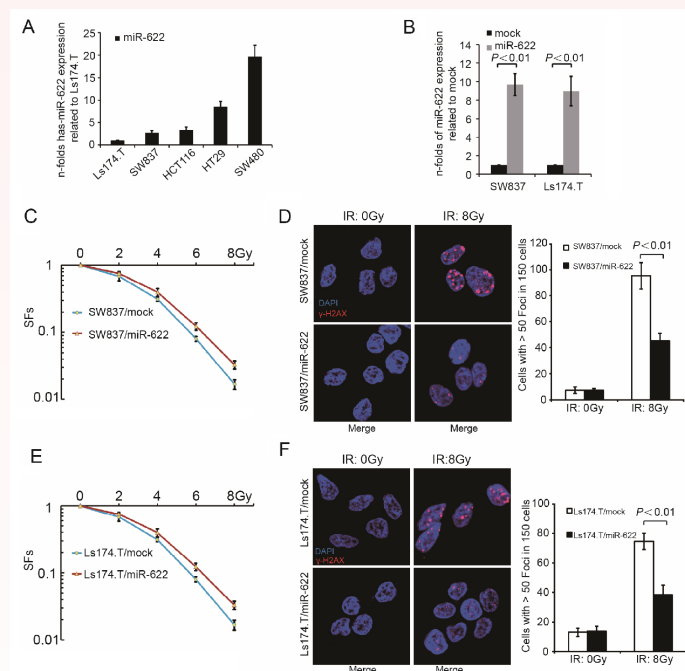


图1 MiR-622与CRC细胞辐射敏感性相关的体外实验 A. 5个CRC细胞系miR-622表达的相对值。B. 慢病毒-miR-622的转染效率。C. SW837细胞系转染慢病毒-miR-622后的存活分数(SF)。D. SW837细胞系转染慢病毒-miR-622后 γ -H2AX的免疫荧光(IF)和定量分析。E. Ls174.T细胞转染慢病毒-miR-622后的SF。F. Ls174.T细胞系转染慢病毒-miR-622后 γ -H2AX的免疫荧光(IF)和定量分析。

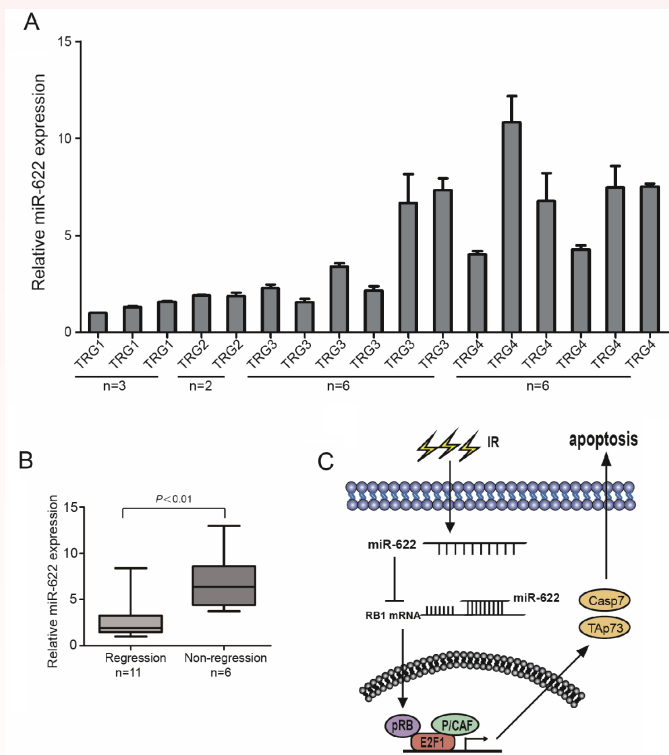


图2 MiR-622在标准剂量放疗无反应直肠癌患者中高表达 A. miR-622在17例直肠癌患者术前的相对表达水平。B. 肿瘤细胞未减少(TRG4)和部分/完全清除(TRG1-3)患者miR-622的表达分析。C. miR-622在结直肠癌患者辐射耐受中的作用。

低剂量辐射对心脏 ApoE^{-/-} 小鼠炎症因子表达的影响

【据《PLoS ONE》2015年3月报道】题: 低剂量辐射影响心脏ApoE^{-/-}小鼠炎症因子的表达(作者 Daniel Mathias 等)

根据对日本原子弹爆炸幸存者流行病学研究分析,发现即使受到中等剂量射线照射,仍会对心脏产生长期威胁,如心血管疾病的发生。从20世纪60年代开始,由于霍奇金病人放疗后长期存活以及放疗治疗广泛应用于恶性肿瘤的治疗,辐射诱发的心脏疾病(RIHD)开始凸显出来。尽管RIHD可以累及心脏各个部位,但目前认为血管是最重要的辐射靶组织,血管损伤引起的各个组织受损被认为是辐射引发迟发性效应的共同发病机制。已有研究表明,基于大动脉损伤和血清胆固醇水平的检测,单次低剂量的射线暴露后的损伤效应与受照剂量无线性

关系,提示剂量率而非剂量可能是判断损伤效应的重要参数。而目前还没有关于低剂量照射对心脏微血管及全身血浆指标影响的详细研究。德国莱比锡大学放射治疗系的Daniel Mathias等人早前已经在小鼠上证实放射能够引起炎症、血栓及纤维化改变,结果类似于人类流行病学和临床学研究的发现。

在本研究中,作者首次探讨了不同剂量率低剂量照射后对心脏炎性、血栓性和纤维变性等迟发性反应的影响。高胆固醇血症的载脂蛋白E(ApoE)缺陷小鼠全身照射0.025、0.05、0.1、0.5或2.0Gy(剂量率1mGy/min或150mGy/min)后分别于3个月和6个月处死,通过免疫荧光和ELASA

定量分析心脏冰冻切片的炎性和血栓性标志物[CD31、E-选择素(E-selectin)、血栓调节蛋白、细胞间粘附分子(ICAM)-1、VCAM(血管细胞粘附分子)-1、胶原IV、Thy-1和CD45]以及血浆中的因子[IL6、KC、MCP-1、TNF α 、IL-1 β 、INF γ 、IL-10、可溶性细胞间粘附分子(sICAM-1)、可溶性E-选择素(sE-selectin)、可溶性血管细胞粘附分子-1(sVCAM-1)和纤维蛋白原]。研究者发现,即使非常低的照射剂量也能诱发迟发性反应,如反映代偿性调节的毛细血管密度增加以及胶原IV和Thy-1水平改变。低剂量(0.025-0.5Gy)照射情况下ICAM-1水平的轻度降低和Thy-1表达的下降,反映出抗炎效应。而高剂量照射(2.0Gy)提高心内膜VCAM-1表达水平则可能表明

由抗炎向促炎反应的转变。血浆样品的检测结果部分证明了上述发现,表现为0.025~2.0Gy照射情况下促炎因子(sVCAM和sICAM)表达降低;相反,反映促炎和促血栓形成的因子(MCP-1、TNF α 和纤维蛋白原)表达增加。多元分析还发现,血浆中年龄依赖的标志物有升高的(KC、MCP-1、纤维蛋白原),也有降低的(sICAM、sVCAM、sE-selectin)。作者还研究了ApoE^{-/-}小鼠模型低剂量照射后局部和全身效应,包括年龄和剂量率依赖效应。

以上关于低剂量照射引起多种炎性/血栓性效应的研究发现可能对照射后远期副作用的个人评估及临床干预具有重要的参考价值,同时也对低剂量照射抗炎治疗具有重要的提示作用。

(王丽梅报道)

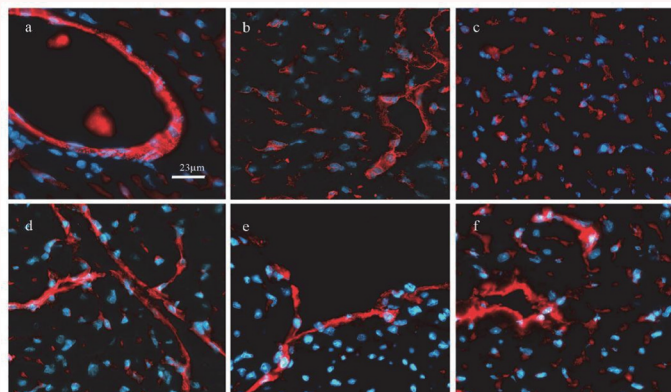


图1 免疫荧光标记内皮标志物 红色(合成色素)代表内皮特异表达的蛋白,蓝色(DAPI)代表复染的细胞核。

PicoGreen 荧光染料法测定循环 DNA 作为辐射生物剂量计的研究

【据《Radiation Research》2015年1月报道】题: PicoGreen 荧光染料法测定循环 DNA 作为辐射生物剂量计(作者 Zhang SB 等)

在核事故发生早期,对大规模疑似受照人员做出快速剂量估算及分类诊断,对临床确定治疗方案具有很重要的意义,但现有的生物剂量估算法不能满足快速、准确、高通量的要求。美国佛罗里达大学健康癌症中心放疗科 Zhang 等教授开展相关研究,利用 PicoGreen 荧光探针法测定照射后小鼠血浆中双链 DNA 含量水平,用以估算受照者的受照剂量。

Picogreen 染料是一种新型的 dsDNA 染料:其检测灵敏度高、特异性好、检测范围宽。可直接与 DNA 双链结合,结合后荧光强度大大增加,可直接利用 Modulus 检测仪测定其荧光值。研究者首先对实验条件进行优化:①确定最优的血浆稀释比例为 1:10(血液:水);② PicoGreen 荧光染料稀释度为 1:200(荧光染料:

水);③通过标准添加示踪基因组 dsDNA,建立标准曲线,证实荧光值与 DNA 浓度之间存在

良好的线性关系 $r^2=0.997$ 。时间效应关系研究发现,6 Gy 照射 NIH Swiss 鼠血浆

dsDNA 在受照后 1 h 开始增加,9 h 达到峰值,24 h 含量急剧降低(图 1A);BALB/c 鼠照射后

3 h 血浆 dsDNA 开始明显增加,9 h 达到峰值,后逐渐降低(图 1B)。两组小鼠受照后呈现相同的变化趋势,在 0-9 h 内随时间增加血浆中的 DNA 含量水平不断增加,时间效应明显。

剂量效应关系研究表明,照射后 9 h,在 0-10 Gy 较宽剂量范围内,两组小鼠血浆中 dsDNA 含量水平随照射剂量的增加而增加,在 10 Gy 处达到峰值,均呈现较好的线性关系,BALB/c 鼠 $r^2=0.991$ (图 2A);NIH Swiss 鼠 $r^2=0.947$ (图 2B),两组小鼠呈现相同的生长趋势,剂量依赖效应明显。

本研究证实利用 PicoGreen 荧光探针检测小鼠血浆 DNA 水平的可行性,并且初步证实小鼠血浆中 dsDNA 是一种潜在的辐射损伤标志物。采用 PicoGreen 荧光探针检测血浆中 dsDNA 具有检测快速、方法简单的优点,可在 30 min 内估算小鼠受辐射的剂量,这种方法有望发展成为可应用的生物剂量计。

(李琳 王治东 报道)

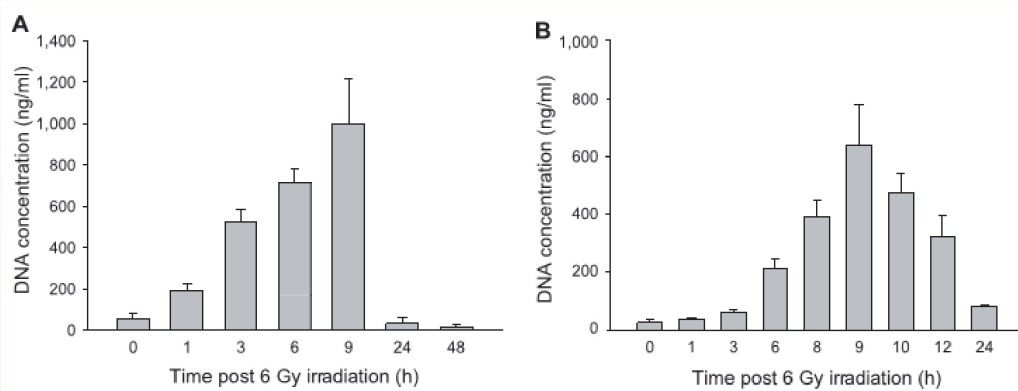


图 1 受 6Gy 全身照射后血液中 DNA 水平随照射后时间的变化关系(图 A: NIH Swiss 鼠;图 B: BALB/c 鼠)

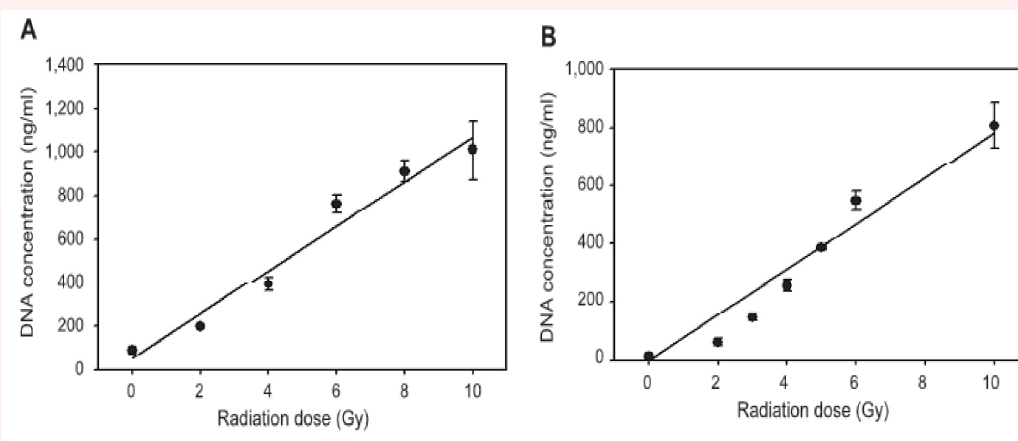


图 2 照射后 9h, 血液中 DNA 水平与受照剂量的关系(图 A: NIH Swiss 鼠;图 B: BALB/c 鼠)

血清 miRNA 分子是辐射所致造血损伤后存活的早期指征

【据《Science Translational Medicine》2015年5月报道】题:血清中 microRNA 是辐射诱导造血损伤后小鼠存活的早期指标(作者 Acharya SS 等)

工业核辐射事故、核恐怖袭击以及核武器战争对人类健康具有巨大威胁。虽然辐射对不同组织器官的损伤效应研究已取得一定进展,但个体受照射后的治疗方案依然依赖于其缓慢的症状表现。造血系统是对辐射损伤最敏感的组织,在相对大剂量照射后其损伤也需要数周或数月才能表现出来,同时现有的生物剂量检测技术并不能有效预测持续损伤的严重程度,这些检测方法包括淋巴细胞动态缺失、DNA 损伤以及染色体异常检测均有明显的不足,测试繁琐且费时。这些情况为针对受照射个体进行及时的医疗干预增加了阻碍。因此,建立快速预测辐射所致多器官系统损伤的特异性指征成为迫切需求。微小 RNA(miRNA)已成为多种病理条件下的有希望的生物标志物。miRNA 可存在于体液如血清和血浆中,有研究业已表明血清/血浆中 miRNA 水平与机体受照射具有相关性。miRNA 在恶劣条件下固有的稳定性及在同一物种个体中的可复制水平使其成为有吸引力的候选无创生物标志物。因此,美国马里兰州哈佛医学院 Dana-Farber 癌症研究所的 Acharya 等在小鼠模型上评价了辐射后即刻血清 miRNA 的变化能否准确预测辐射所致造

血损伤的远期效应。

研究证实了照射后 24h 内的血清 miRNA 特征能够显示全身照射小鼠的远期效应。文章首先系统评估了全身照射对造血系统的影响,确定了残存造血干细胞与增加的照射剂量之间的相关性。研究表明血清 miRNA 指征可以区分非照射和照射小鼠,并与辐射对造血干细胞的作用具有关联性。在照后 3 到 4 周内仅以造血损伤检测难以区分分别接受亚致死剂量(6.5Gy)和致死剂量(8Gy)照射的小鼠。然而,照后 24h 内检测的血清 miRNA 指征则可有效区分。而且,通过分别利用辐射防护剂和照射后骨髓移植,研究确定了血清 miRNA 指征不仅仅与照射剂量相关,还能反映药物的保护作用以及预测小鼠受损伤程度降低。最后,研究利用植入人 CD34⁺造血干细胞的人源化小鼠模型,证实了血清 miRNA 指征能够反映人骨髓细胞的辐射损伤。这项研究结果表明血清 miRNA 可以作为功能性辐射生物标志物,并象征着在辐射所致造血损伤的早期诊断以及医学干预措施救治辐射远期影响的及时运用方面取得潜在突破性进展。

(余祖胤 王治东 报道)

在健康人群中高通量测量 γ -H2AX 的 DSB 修复动力学

【据《PLoS One》2015年5月20日报道】题:在健康人群中高通量测量 γ -H2AX 的 DSB 修复动力学(作者 Sharma PM 等)

γ -H2AX 作为电离辐射损伤的生物标志物,得到国内外的一致认可。建立 γ -H2AX 的快速检测方法是国内外研究的热点问题。哥伦比亚大学研制的快速自动生物剂量估算工具(Rapid Automated Biodosimetry Tool, RABiT)可以利用指尖血定量分析淋巴细胞核内 γ -H2AX 荧光强度,确定照射后单一时间点 DNA 双链断裂的情况,估算受照剂量。最近,美国哥伦比亚大学放射学研究中心 Sharma 教授等采集 94 名健康人外周血,在 ¹³⁷Cs 体外照射 4 Gy 后 0.5、2、4、7 和 24 h 分析淋巴细胞中 γ -H2AX 动力学变化,并从年龄、性别、种族、族群和饮酒等因素对淋巴细胞中 γ -H2AX 内源性水平和辐射暴露后 γ -H2AX 的水平进行统计分析。结果表明, γ -H2AX 内源性水平受到年龄、种族和饮酒习惯的影响。对照射后 γ -H2AX 的动力学变化分析发现, γ -H2AX 在照射后 0.5 h 开始增加,在 2 h 达到峰值,这种动力学变化与年龄、性别和种族关系不大,而饮酒习惯会将 γ -H2AX 峰值出现时间延迟到照射后 4h,但是饮酒并没有影响 γ -H2AX 恢复到正常水平的速度(照射后 24 h)。年龄和种族因素影响 γ -H2AX 达到峰值后 DNA 损伤修复的速率。最后,本研究发现,淋巴细胞中内源性的 γ -H2AX 水平与照射后 γ -H2AX 的产生呈正相关($r=0.257, P=0.02$),而与照射后 γ -H2AX 的残留水平呈负相关($r=-0.521, P<0.0001$)。该研究结果表明,采用 RABiT 分析淋巴细胞中 γ -H2AX 会受到年龄、种族和饮酒习惯等因素的影响。

(李孝鑫 王治东 报道)