

医学参考报

放射医学与防护频道

Radiological Medicine and Protection

Number 04

执行主编介绍



杨文峰 副主任医师

纳西族，放射医学硕士，解放军第307医院副主任医师、硕士生导师、烧伤整形科主任。主要从事急性辐射损伤临床救治、核与辐射事故应急医学处置、放射性体表及结肠损伤的临床治疗和烧伤整形临床治疗研究。主持制定了《放射性皮肤癌诊断》和《放射性骨损伤诊断》等多项国家标准。发表SCI和国内核心期刊文章14篇，获军队医疗成果二等奖、军队科技进步二等奖和军队科技进步三等奖各1项。现兼任中国毒理学会放射毒理专业委员会委员、北京放射损伤与防护专业委员会常委、全军烧伤专业委员会委员、全军整形专业委员会委员和《医学参考报——放射医学与防护频道》、《中华放射医学与防护杂志》编委等职。

导读

单次小剂量rhIL-12可提高致死剂量照射恒河猴60天存活率

2版

维生素E衍生物δ-生育三烯酚的辐射防护作用由G-CSF介导完成

3版

SDF-1调控辐射损伤后血小板生成

4版

全身照射后HSC早衰引起长期骨髓损伤

5版

小肠干细胞体外分析方法

6版

生物剂量估算方法在不同类型核与辐射事故中的应用

7版

电子顺磁共振与放射生物剂量学

8版

血小板生成素与急性辐射损伤

军事医学科学院放射与辐射医学研究所 熊国林 余祖胤, 二炮总医院检验科 杨萌 欧红玲 王欣茹

急性放射病(ARS)的巨核系造血功能障碍是导致ARS患者出血死亡的重要原因之一。造血细胞生长因子——血小板生成素(TPO)能明显刺激巨核系造血干/祖细胞(HSPC)增殖和分化,促进血小板(PLT)生成。上世纪90年代后期,国际上终止原核细胞表达的第一代重组人血小板生成素(rhTPO)的临床试验后,国内加速了用真核细胞表达rhTPO的研发并成为具有我国自主知识产权的唯一上市产品,现已大量用于医源性ARS(造血干细胞移植前大剂量全身照射预处理患者)、免疫性血小板减少症(ITP)和实体瘤患者化疗后PLT减少症的临床治疗,实验结果表明rhTPO作为辐射防护剂效果优于WR2721和“500”。为避免抗TPO抗体产生和血栓形成的不足,TPO受体激动剂TPO肽类模拟物罗米司亭和非肽类模拟物艾曲波帕的研究十分火热。

1 TPO

TPO又称巨核细胞生长成熟因子(MGDF),rhTPO与天然TPO的氨基酸序列和生物学活性完全相同。TPO肽类模拟物罗米司亭(romiplostim)和非肽类模拟物艾曲波帕(eltrombopag)无TPO序列同源性,但与rhTPO一样能竞争性结合巨核细胞(MEG)表面的TPO受体(Mpl),促进MEG集落生长,增加多倍体MEG并促进其成熟,增加PLT生成。

TPO主要由肝脏产生,少量在肾脏和骨髓产生。血浆TPO水平与PLT数成反比,当PLT数增多时,循环血中TPO量减少;PLT数减少时,TPO分泌量及其与Mpl亲和力增加,以此促进MEG发育和增加PLT数。在骨髓移植后病人和再生障碍性贫血患者血清中TPO水平较高;而ITP患者血

清中TPO水平正常或微高。

TPO与Mpl结合,激活细胞内JAK2/STAT3、PI3K/Akt及RAS-MAPK信号通路,从而刺激MEG增殖,增加其数量、大小和倍体,最终生成PLT。TPO还可激活信号通路抑制剂及细胞表面Mpl的TPO关闭信号,避免骨髓细胞的无限增殖。

2. TPO与急性放射病

骨髓型ARS造血功能严重受损,PLT严重减少是导致ARS患者出血死亡的主要原因。研究表明,它不仅能比其它造血因子更有效地增加PLT数,还具促进其它造血细胞恢复的能力。

2.1 实验治疗

小鼠腹腔注射卡铂1.2mg加3.5~5.0Gyγ射线全身照射后给予TPO治疗,与对照组相比,外周血红细胞(RBC)和PLT数提前10~14d恢复,白细胞(WBC)数提前1~2d恢复。对4Gy照射C57小鼠用rhTPO 4.5、9、18μg/kg/d每天一次连续给药22d,rhTPO可剂量依赖性升高外周PLT数,且明显优于IL-11。对8.5Gy照射鼠移植经TPO处理过的骨髓细胞后,受鼠外周PLT数恢复明显加快,网织红细胞数(RET)明显增多。由此提示,致死剂量照射后在HSC移植之前供体应用TPO,是一种促进PLT和RBC恢复的有效手段。

为了克服照射后早期Mpl对TPO的清除,TPO的给药剂量和给药时间对其发挥疗效至关重要。6Gy照射小鼠于照射后0~4h内单次腹腔注射TPO 1.2μg/kg基本无效,而TPO 12μg/kg则可明显阻止辐射所致的PLT严重减少,同时也可加速WBC和RBC的恢复;在照射后0~4h,随着给药时间的推后,TPO疗效逐渐降低,造血刺激作用由多系逐渐转向巨核单系。24只杂种犬全身照射3和3.5Gy,照射后1.5~2h单

次皮下注射TPO 5μg/kg的治疗作用不大,而TPO 10μg/kg可明显促进照射犬外周PLT和WBC数的恢复。7.0Gy照射猴照射后0.5和24h各一次皮下注射rhTPO 10μg/kg,同时比较WR2721和“500”早期给药的保护效果。结果显示,对照、WR2721、“500”和TPO组外周PLT和WBC数最低值分别为(14.7, 21.2, 28.8, 121.5)×10⁹/L和(0.24, 0.29, 0.38, 0.83)×10⁹/L,PLT<50×10⁹/L的持续时间分别为8、8、5和0d,极期输血总量分别为135、120、95和0ml/猴;照射后40d各组动物活存数分别为2/6、5/6、5/6和6/6。表明TPO早期干预对ARS有明显的治疗作用,且优于现有辐射防护剂WR2721和“500”。

为了提高TPO的多系造血活性,TPO与其他细胞因子联合应用备受瞩目,且结果令人鼓舞。对8Gy致死剂量照射小鼠照射后2和24h腹腔注射细胞因子复方SFT3(TPO、G-CSF、FLT-3和IL-3),可使存活率提高81.2%,注射5种细胞因子组合(FLT-3、TPO、IL-3、G-CSF、SDF-1,每种细胞因子剂量为50μg/kg)的存活率为87.5%,单用TPO或SDF-1的活存率分别为58.3%和29.2%;SFT3对5和7Gy照射猴同样起到较好的辐射防护作用。对5GyX射线照射猴每天一次连续21d皮下注射TPO和G-CSF,给药猴外周PLT及RET数恢复明显加快,WBC的恢复明显优于单用G-CSF或TPO组。用rMGDF、PEG-rMGDF和PEG-rMGDF+rhG-CSF治疗7Gy照射猴,照射对照组外周PLT数减少(<20×10⁹/L)时间持续12.2d,最低值为4×10⁹/L;3种治疗方案分别使照射后PLT减少时间缩短至0.25、0和0.5d,PLT数最低值则分别增

下转第2版▶

点评专家介绍



罗庆良 教授

军事医学科学院放射与辐射医学研究所研究员,放射医学专业,博士生导师。长期从事急性放射病实验治疗、抗辐射新药临床前药效评价及辐射事故患者临床救治研究。

TPO与ARS点评

本文介绍了rhTPO对急性放射病的治疗作用及其作用机制,对急性放射病的治疗研究有较大的参考意义。中国仓鼠卵巢细胞(真核)表达生产的rhTPO与天然TPO的氨基酸序列和生物学活性完全相同,是具有我国自主知识产权的全球唯一上市产品,现已大量用于医源性急性放射病和实体瘤化疗后外周血小板数严重减少患者的临床治疗。急性放射病猴实验治疗研究结果显示,16只7Gy照射猴照射后24小时内1~2次皮下注射rhTPO 10μg/kg可明显促进照射猴造血功能恢复,升高外周血小板数,给药猴不需输血,照射后45天动物全部活存,而目前公认的WR-2721和装备药“500”组尽管极期平均输血120和95ml/猴,外周血小板数明显低于rhTPO组,且均有动物死亡,表明rhTPO照射后尽早给药不失为重度骨髓型急性放射病临床救治的首选辐射防护剂。

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

专家介绍



王欣茹 主任

王欣茹, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所放射医学硕士, 第二炮兵总医院主任技师、检验科主任、硕士生导师。主要从事急性和慢性放射病的实验室诊断与临床治疗、细菌耐药机制、快速检测设备研发和实验室质量管理与控制研究。承担全军“十二五”医学科研重点在研课题2项, 在SCI和国内核心期刊发表学术论文30余篇, 参编专著1部, 参译(副主译)专著1部。获军队医疗成果三等奖2项, 军队科技进步三等奖1项。3次荣立个人三等功, 被评为二炮后勤部优秀共产党员, 带领检验科荣立集体三等功2次、连续两年被评为“二炮先进党支部”。现兼任二炮检验医学专业委员会主任委员、全军检验医学专业委员会委员、全军微生物学专业委员会委员、全军医学检验设备质量安全控制专业委员会委员、中国保健国际交流促进会临床检验委员会委员及《国际检验医学杂志》编委和《中华检验医学杂志》审稿专家等职。

◀ 上接第1版

至 $(28.43,30) \times 10^9/L$, 3种方案均可促进中性粒细胞恢复, 与单用 rhG-CSF 组比较, PEG-rMGDF+rhG-CSF 联合治疗组照射后中性粒细胞减少持续时间明显缩短。

2.2 临床应用

rhTPO 是肿瘤放化疗和造血干细胞(HSC)移植预处理等所致 PLT 减少症患者 PLT 生成的强效刺激剂。实体肿瘤患者化疗后 6~24h 开始每天一次连续 14d 皮下注射 rhTPO 1.0 $\mu g/kg$, 可显著减轻化疗后 PLT 下降程度, 特别是 $PLT < 50 \times 10^9/L$ 患者的恢复时间明显缩短, 需 PLT 输注次数和数量均明显减少。rhTPO 能够促进白血病患者异基因 HSC 移植术后 PLT 数的恢复, 明显减少 PLT 悬液的输注量, 降低移植后的出血风险, 减少移植并发症的发生。然而, 关于 rhTPO 的临床应用, 国外文献迄今尚无大型临床资料可供借鉴, 这可能与 rhTPO 仅在国内外上市有关。

TPO 受体激动剂罗米司亭和艾曲波帕已研制成功, 正常受试者药后 5d 外周血 PLT 数均开始升高, 12~14d 达峰值。艾曲波帕是一种口服有效的非肽类 Mpl 激动剂, HSC 移植后 PLT 减少的患者口服艾曲波帕后耐受良好, 可明显减少 PLT 悬液的输注。罗米司亭能增加 ITP 患者的 PLT 数, 并能减少或中断 ITP 其他相关治疗以及明显改善 ITP (尤其是脾切除后) 患者的生活质量。一项 44 例 MDS 患者参加的 II 期临床试验中, 患者每周 1 次连续 3 次皮下注射罗米司亭 300~

1,500 μg , 其中 18 例患者对治疗反应良好。

3 TPO 治疗急性放射病的作用机制

TPO 及其受体激动剂面世后对其刺激造血作用机制进行了深入、广泛研究, 发现促进 HSC 生成、保护 MEG 和改善造血微环境是 TPO 发挥主要作用机制。

3.1 促进造血干细胞的生成

TPO 调控 HSC 的作用机制是通过调节 HSC 静息及其与成骨细胞间的相互作用。HSPC 表达 Mpl 受体, TPO 与 MEG Mpl 受体结合刺激 PLT 生成, TPO/Mpl 信号通路对 HSC 起重要作用。电离辐射可致人体细胞 DNA 双链断裂, HSC 需要有效的 DNA 修复来保持健康状态。DNA 损伤的修复主要通过两个途径: 同源重组和非同源末端连接, 静态 HSC 的 DNA 损伤修复优先使用非同源末端连接机制, 这一修复方式对 HSC 的自我维持十分必要。照射后 Mpl 缺陷的 HSPC gH2AX (DNA 双链断裂标记) 明显增多, 彗星实验也证实 Mpl 缺陷细胞中辐射诱导的 DNA 损伤明显增加。没用 TPO 处理的 HSC 表现出类似 DNA 双链断裂修复缺陷, 而照射前注射 TPO 的小鼠体内 HSC 表达 gH2AX 数量减少, 表明 TPO/Mpl 信号通过 DNA 修复效应直接影响 HSC 的 DNA 修复。干细胞因子和 FLT3 配体等其他造血细胞因子没有 TPO 的这种特有功能。照射前给予 TPO 可抑制辐射诱导的 HSC 损伤, 提高 HSC 重建长期造血功能, 这一结果

彰显 TPO 及其激动剂作为增加健康 HSC 的关键因子, 对保护 DNA 损伤患者体内的 HSC 和治疗 HSC 损伤所致的血液系统疾病均显示了广阔的潜在价值。艾曲波帕在体内、外均可增加人类脐带血 HSPC 扩增, 扩增的人脐带血 HSPC 在骨髓增殖进而促进多系造血。艾曲波帕可选择性作用人骨髓 CD45⁺、CD34⁺ 和 CD41⁺ 细胞, 增加外周 PLT 和 WBC 和 RBC 数。

3.2 刺激巨核细胞发育、保护巨核细胞

TPO 可促进 MEG 成熟, CD41 是 MEG 特异性分化抗原, 其表达持续到 PLT。将 TPO 加入体外 MEG 培养液中可明显增加细胞集落数和 CD41 的表达, 且该作用呈剂量依赖性。在培养体系中加入卡铂或 / 和 TPO, 结果卡铂对 MEG 株 MO7e 的抑制率明显降低, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 约为加入 TPO 前的 2 倍, 显示 TPO 对 MEG 的保护作用。TPO 通过减轻 MEG 株 MO7e 周期 G₀/G₁ 期阻滞, 减少细胞凋亡, 增加细胞存活率, 减轻 MEG 的辐射损伤。

3.3 改善造血微环境

尽管电离辐射对 HSPC 的增殖和分化产生不利影响, 体内残留的 HSPC 仍可分化为巨核细胞生成 PLT。一般情况下, 事故性 ARS 多为不均匀照射, 体内仍有 HSPC 残留, 这就为 TPO 治疗 ARS 提供了物质基础。TPO 是骨髓干细胞的强力动员剂, 照射早期给药可将骨髓中残留 HSPC 和基质细胞动员到外周血中, 有利于干细胞自发向损伤组织“归巢”, 尤其是 MSC 向损伤组织的

趋化作用, 可通过改善造血微环境, 减轻 HSC 损伤, 进而促进巨核系和粒系造血恢复。

4 现存问题

在 HSC 移植患者临床试验中 TPO 可导致血栓形成, 且 60% 血栓患者之前有大静脉血栓病史, 提示高凝患者移植后应当慎重使用 TPO。TPO 可致未成熟细胞增生扩散, 因而 AML 也应慎用。III 期临床试验发现罗米司亭常见的不良反应有头痛、鼻衄、关节痛、失眠等; 2 例患者停药后有血栓形成, 其中 1 例虽经乙酰水杨酸治疗, 最终仍死于颅内出血; 2 例患者骨髓网硬蛋白增加, 所有临床试验都没有发现内源性 TPO 中和抗体; 患者对艾曲波帕主要的不良反应有头痛、鼻咽炎、恶心、腹泻等, 无血栓形成及骨髓网硬蛋白增加的报道。此外, TPO 用药后, 需注意观察患者血小板过度升高状况及其并发症, 及时给予对症治疗。

5 小结

TPO 在实验治疗和临床应用中都表现出很强的造血刺激功能, 不仅能特异性的刺激巨核系干/祖细胞增殖和分化, 促进 MEG 成熟, 升高 PLT 数, 还能促进巨核系、粒系和红系祖细胞的恢复, 动员造血细胞进入外周循环的作用, 对电离辐射所致造血功能障碍起到了关键的防治作用。事故性 ARS 患者伤前多为健康从业者, 且 TPO 在照射后 24h 内 1~2 次给药, 其副作用并不影响 TPO 作为事故性 ARS 临床救治的首选策略。

单次小剂量 rhIL-12 可提高致死剂量照射恒河猴 60 天存活率

【据《J Hematol Oncol》2014 年 4 月报道】题: 单次小剂量 rhIL-12 对致死剂量照射恒河猴造血恢复和存活改善的随机性比较研究 (作者 Gluzman-Poltorak Z 等)

急性放射病 (ARS) 是核

事故和核攻击事件中由于全身或局部暴露于射线, 剂量在短期内大于 1Gy 引起的威胁生命的疾病。ARS 的病理生理学改变包括对造血、消化、中枢神经系统和皮肤在哺乳动物中都有相似损害。ARS 的造血系统

损伤主要是由于骨髓快速消融所致全血细胞减少, 目前尚无美国 FDA 认可的放射医学干预措施。90 年代早期临床前研究已经证明了多种细胞因子和细胞因子联用的辐射防护作用, 如干细胞因子、FMS 样酪

氨酸激酶 3、TPO 和 IL-3 和或长效 PEG G-CSF 已经证实可提高急性辐射损伤啮齿和灵长类动物存活。相比于单细胞因子疗法, 多因子组合增加了药物发展前景和大规模伤亡救

下转第 6 版 ▶

医学参考报		放射医学与防护频道							
理事长兼总编辑: 巴德年 副理事长兼副总编辑: 曹雪涛 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 邹家龙 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									

维生素 E 衍生物 δ -生育三烯酚的辐射防护作用由 G-CSF 介导完成

【据《Life Sci》2014年3月报道】题：G-CSF介导维生素E衍生物 δ -生育三烯酚的辐射防护作用（作者Singh VK等）

维生素E(VE)衍生物 δ -生育三烯酚(DT3)有显著的辐射防护作用，有望成为有效的抗放药物，但其作用机制尚不明确。对VE衍生物生育酚琥珀酸酯(TS)、 γ -生育三烯酚(GT3)和CBLB502等多个抗放药物的研究表明，其抗辐射损伤作用可能与它能刺激G-CSF等细胞因子表达有关。因此，为了研究DT3对小鼠体内细胞因子表达的影响，并探讨G-CSF在DT3抗辐射损伤中的作用，美国武装部队放射生物学研究所放射复合伤研究组Singh VK等开展了以下研究。

首先用多通道Luminex法

检测健康小鼠分别注射DT3、GT3和TS(均为200mg/kg)后血清中40种细胞因子的表达水平。结果表明，较之对照组，DT3组小鼠血清中G-CSF、KC、MCP-1和IL-17F 4个因子水平显著升高，GT3组IL-9、G-CSF、KC、PDGF-bb、IL-17F、CD40L和MIP3- α 7个因子水平显著升高，而TS组KC和MCP-1显著升高。

进一步研究受照小鼠血清中细胞因子表达水平显示，9.2Gy(0.6Gy/min)全身照射(LD_{90/30})雄性CD2F1小鼠血清中多个细胞因子表达水平发生改变，照射后6h G-CSF、KC、PDGF-bb和MIP-3 α 表达显著升高；与照射对照组相比，照前24h分别皮下注射DT3、GT3和TS可以促进多细胞因子表达水平增加，各

组显著升高的因子分别为：DT3组11种(IL-1 β 、IL-2、IL-5、IL-13、eotaxin、G-CSF、KC、MCP-1、M-CSF、MIG和IL-22)，GT3组9种(IL-1 β 、IL-2、IL-5、IL-13、IL-17 α 、eotaxin、G-CSF、MCP-1和MIG)，TS组6种(IL-1 β 、IL-5、IL-13、eotaxin、GM-CSF和TNF- α)。提示这些细胞因子可能在VE衍生物抗辐射损伤过程中起重要作用，其中G-CSF在照射及给药后均发生显著改变表明G-CSF可能对VE衍生物的抗放作用很关键。

为了确认G-CSF在DT3辐射防护中是否起关键作用，作者采用G-CSF中和抗体进行实验：9.2Gy全身照射小鼠分为①对照组、②DT3组、③DT3+G-CSF中和抗体组和④DT3+G-CSF同型对照组(n=16)，

②③④组小鼠于照前24h皮下注射DT3 200mg/kg，③和④组分别于照前16h注射G-CSF中和抗体和同型对照，①组注射溶剂，观察小鼠30天存活情况发现，4组小鼠存活率分别为<10%、100%、0和100%。表明GT3对LD_{90/30}照射小鼠有显著保护作用，且该作用能被G-CSF中和抗体完全阻断。

此后作者进一步检测了健康和受照小鼠血清中G-CSF的表达水平以确定DT3提高受照小鼠存活率的作用是否因其诱导G-CSF生成所致。同上将健康小鼠分为①②③④4组(n=8)，DT3 200mg/kg皮下注射后8h注射G-CSF中和抗体或同型对照，DT3注射后24h取血清分离血清，为了确定G-CSF是否被其抗体特异性中和，作者检测了IL-1 β 、IL-6、

IL-10、IL-12(p70)、G-CSF、GM-CSF、KC和TNF- α 8个因子的表达水平。结果表明DT3诱导产生的G-CSF被G-CSF中和抗体完全特异性中和。进一步以9.2Gy全身照射小鼠为对象的研究表明，照后6h(DT3药后30h)DT3诱导8种细胞因子生成增加，注射G-CSF中和抗体能够完全特异性中和DT3诱导生成的G-CSF。

上述结果表明，DT3诱导小鼠血清中多种细胞因子高表达，注射G-CSF抗体能够完全中和DT3诱导的G-CSF生成并阻断DT3对小鼠的辐射防护作用，这提示DT3的抗辐射损伤作用是由G-CSF介导完成的。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 邢爽报道)

激活 NRF2 介导 Notch 信号通路可促进放射病骨髓损伤的造血恢复

【据《J Clin Invest》2014年2月报道】题：激活NRF2介导Notch信号通路可促进放射病骨髓损伤的造血恢复（作者Kim JH等）

核因子-E2相关因子2(NRF2)被认为是机体抵抗外界氧化和化学等刺激的防御性转导通路，当它与Keap1结合时将处于非活性、易降解的状态；当自由基或化学物质刺激时，NRF2与Keap1解离而活化，并与抗氧化反应原件(ARE)结合，启动机体的抗氧化损伤反应以抵抗机体内外界的有害刺激。最新的研究表明，即使在致死剂量照射后24h给予NRF2特异性激动剂2-三氟甲基-2'-甲氧基抑素(TMC)口服，也能显著减轻小鼠的造血损伤和降低小鼠死亡率，其机制可能是TMC激活造血干、祖细胞的Notch信号通路，并且通过增加骨髓基质细胞Jagged1的表达促进造血干、祖细胞的扩增。由此推断，Notch信号通路的活化与NRF2有关，这也为以NRF2-Notch信号通路为靶点研究新型辐射防护药物提供了可能。

美国约翰霍普金斯布隆伯格公共健康学院环境健康系Kim JH等研究发现NRF2基因敲除小鼠的造血干、祖细胞不能参与造血干细胞移植后的造血重建，推测NRF2信号通路与造血干细胞的功能密切相关，为了验证该实验结果，将具有抑制NRF2作用的Keap1基因从小鼠的造血细胞

内敲除，结果发现基因敲除鼠体内的LSK(Lin-Sca1⁺Kit⁺)细胞数是未敲除鼠的1.7倍(P<0.05)，并且其骨髓细胞集落形成能力也大幅增加(P<0.01)。竞争移植实验结果表明，Keap1基因敲除鼠的LSK细胞植入数量是对照鼠的2倍以上，而且Keap1基因敲除鼠的骨髓基质细胞同样能够更好地支持正常小鼠造血干细胞扩增(P<0.01)，同时基质细胞内的NRF2相关抗氧化基因Nqo1和Gclm表达也显著增强(P<0.001)，由此可见NRF2信号通路能够同时调节造血干、祖细胞和骨髓基质细胞的功能，

共同促进造血损伤的修复。在明确NRF2对造血干细胞和骨髓基质细胞的作用后，研究人员发现NRF2^{-/-}小鼠在7.0和7.25Gy的照射下，其死亡率较NRF2^{+/+}小鼠明显升高(P<0.05, P<0.01)，并且外周血细胞计数也明显降低(P<0.05)，首先证实了敲除小鼠体内的NRF2基因会增强辐射损伤。在此基础上，他们验证了NRF2特异性激动剂TMC是否能有效的防治辐射损伤，结果表明在致死剂量照射后给予小鼠口服TMC(10mg/dl, 次/2d, 共6次)能显著提高小鼠的存活率，而对NRF2^{-/-}

小鼠却并无作用(图1)。同时，照后给予小鼠TMC治疗亦能有助于白细胞、红细胞和血小板的恢复(图2)

为了进一步明确NRF2激动剂TMC的辐射损伤防治机制，研究人员通过高通量测序技术推测出NRF2可能的作用靶点，作为Notch1的配体，同时也是NRF2的转录产物—Jagged1(JAG1)，Notch广泛存在于脊

椎动物和非脊椎动物，调控细胞的分化和发育，Notch缺失的造血干细胞将失去自我更新的功能。为了验证这一设想，他们先后分析了Keap1^{-/-}小鼠TMC治疗小鼠的骨髓细胞，发现Notch以及Notch靶基因Hes1均为高表达。通过检测TMC治疗小鼠小鼠照后2、7、13和20d的骨髓细胞，发现JAG1蛋

下转第7版

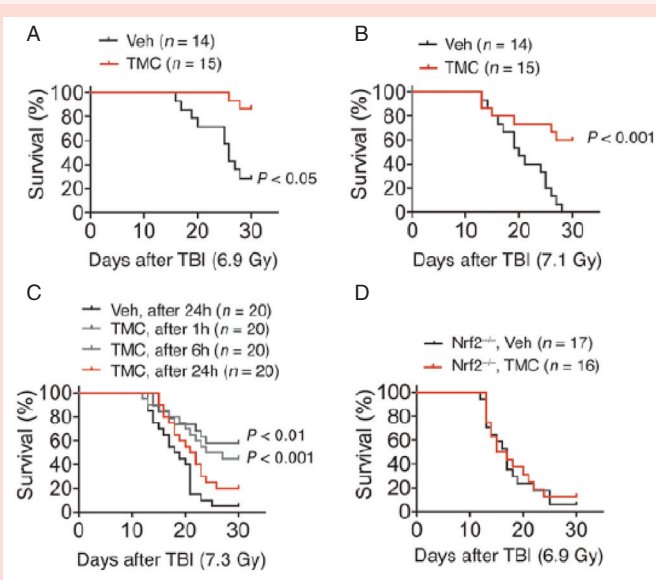


图1 NRF2 活化剂 TMC 给药后减轻全身照射 Nrf2 依赖小鼠的死亡率 6.9 (A) 和 7.1Gy (B) TBI 鼠 TMC 给药 (照射后 24h 给药, 次/2d, 共 6 次) 后 30 天存活率。(C) 7.3Gy 照射后 1、6、24 小时 TMC 6 次给药 (次/2d) 鼠 30 天存活率。(D) 6.9Gy 照射后 24 小时 TMC 6 次给药 (次/2d) Nrf2^{-/-} 鼠 30 天存活率。

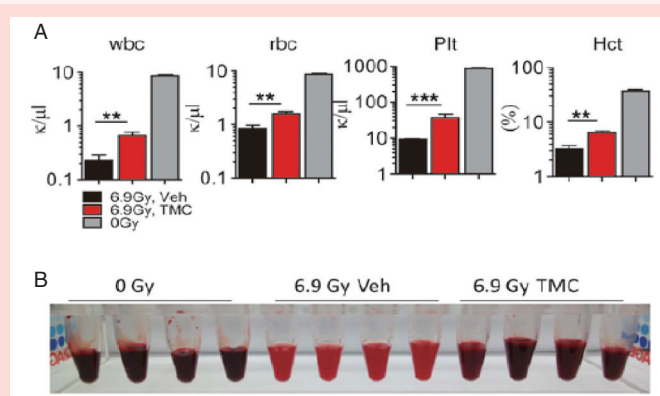


图2 NRF2 活化剂 TMC 减轻全身照射小鼠骨髓抑制 (A) 照射后 23 天血细胞计数, 与对照组相比 **P<0.01, ***P<0.001。(B) 照射后 23 天血液样本图像。

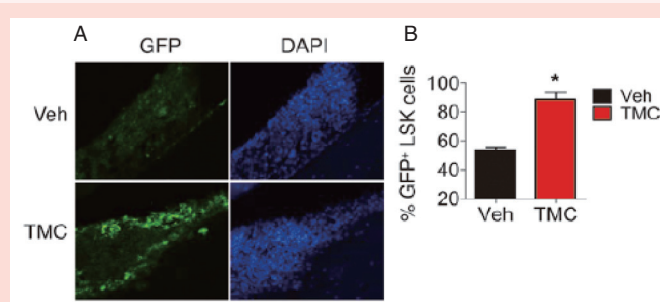


图3 照射小鼠 NRF2 活化剂 TMC 给药后激活 Notch1 信号扩增 HSPCs A、B: TMC 照后 24h 给药 (次/2d, 6 次), 6.9Gy 照射 TNR 小鼠照后 14d 骨髓免疫荧光染色及 LSK 荧光细胞计数, 与对照组相比 *P<0.05。

专家介绍



崔宇 助理研究员

汉族, 中共党员, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所助理研究员, 主要从事急性放射病救治、辐射损伤机制、抗辐射药物的创制等应用基础研究。2012年度军事医学科学院和全军优秀博士论文获得者。近两年分别获得放射与辐射医学研究所“青苗工程”、军事医学科学院军事医学创新基金、国家自然科学基金青年科学基金和“新药创制”科技重大专项的基金资助各1项。2013年获发明专利授权和北京市科学技术奖一等奖各1项。发表论文8篇, 单篇最高影响因子10.1。现兼任全军微血管病专业委员会青年委员。

SDF-1 调控辐射损伤后血小板生成

【据《Blood》2014年4月报道】题: SDF-1 动态调节辐射损伤后巨核细胞龛占位和血小板生成(作者 Niswander LM 等)

SDF-1 在放射损伤条件下快速影响巨核细胞在骨髓龛的定位促进血小板的生成。骨髓中巨核细胞(MK)的发育具有空间性, 它起始于促进 MK 增殖的骨髓龛, 最终成熟于窦状血管龛并在此生成血小板。基质细胞衍生因子1(SDF-1)可通过 CXCR4 通路参与 MK 趋向窦状血管并发育成熟这一进程。研究证实, 无论是静脉给予外源性 SDF-1 还是内源性 SDF-1 都能迅速增强 MK 与血管的联系和血小板生成, 但不改变 MK 数量; 在辐射损伤情况下, 骨髓中 SDF-1 分布呈动态波动, 此波动在空间和时间上与 MK 龛占位变化相关联。改变 SDF-1 梯度水平可直接影响 MK 的定位。一个重要的发

现是, SDF-1 的变化对血小板生成有功能性的调节作用。MK 离开血管龛可以减少循环中的血小板, 反之则增加。通过调节 SDF-1 浓度能有效增强在辐射损伤早期使用 TPO 治疗血小板减少的治疗效果。SDF-1 调控骨髓中 MK 的空间分布和循环中血小板数。了解造血微环境对 MK 系调控作用及机制将有助于对血小板生成减少症的治疗策略的理解和制定。产生血小板的 MK 源自巨核祖细胞(MKP), 一般认为 MKP 生长在骨表面的“骨髓微环境”, 这个微环境在促进其扩增的同时抑制其成熟。多倍体 MK 胞质成熟, 迫使血小板前体与血管窦相接触, 同时生成血小板于外周血中。MK 主要受趋化因子 TPO 的调控, TPO 通过其受体 Mpl 传递信号促进 MKP 扩增以及 MK 成熟。

MK 和血管窦的物理接触在几十年前就已经得到了重视,

“血管微环境”对 MK 的成熟以及血小板生成的重要意义近期已被阐明。趋化因子 SDF-1 通过其受体 CXCR4 传递信号调控成熟的 MK 定位于血管微环境。CXCR4 在所有巨核系都有表达, 当体外 SDF-1 激动时, 细胞内 Ca^{2+} 移动, 金属基质蛋白酶 9 表达, 细胞表面 CXCR4 增加以及最终 SDF-1 浓度梯度的迁移。在骨髓中有几种细胞均能产生 SDF-1, 包括成骨细胞, 内皮细胞以及外周血管基质细胞。体内实验证明了持续提升血液中 SDF-1 的含量能够增加血小板生成。如今, 内皮细胞生长因子治疗通过上调 MK 的 CXCR4 来增加体内 MK 与血管相互接触作用。造血系统放射损伤后血小板生成严重减少。研究证明受亚致死剂量和致死剂量全身照射的啮齿动物体内持续存在多倍体 MK, 因此, 抗辐射的 MK 在接受不同辐射的周围细胞构成的损伤骨

髓微环境中依然存在, 为血小板提供产生环境的血管窦膨胀损伤周围细胞, 更高剂量照射后可导致渗漏。全身照射(TBI)后 SDF-1 在骨髓中增加随之引起抗辐射性 MK 在骨髓微环境中的重新定位。TBI 动物模型的 MK 的时空分布是否受 SDF-1 引起的微环境变化调节, 以及是否会对血小板的生成产生功能性影响尚不明确。

本文研究了在稳态以及全身照射后 SDF-1 对 MK 在骨髓中定位的影响, 结果证实了内源性 SDF-1 能够调节 MK 和血管系统的接触, 而血管系统的辐射损伤对骨髓中血小板的生成有重要影响。半致死剂量 TBI 后骨髓中 SDF-1 的波动可动态影响 MK 的分布, 而 MK 的定位可影响血小板的生成及其功能。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 白帆 崔宇 报道)

单次低剂量 rhIL-12 触发多系造血效应

【据《Exp Hematol Oncol》2014年4月报道】题: rhIL-12 单次低剂量给药安全地引起多系造血和免疫介导的效应(作者 Gokhale MS 等)

重组人白介素 12(rhIL-12)能够调节造血作用和细胞免疫。基于其造血和免疫调节活性, 目前 rhIL-12 正在被研发用于受致死剂量照射所致的急性辐射造血综合征, 以及用于癌症患者化疗后的辅助治疗, 并且这种治疗作用兼有造血和免疫治疗的双重效果。因此, 美国 Neumedicines 公司 Gokhale 等在健康受试者中评价了可适用于受照射人群以及作为抗肿瘤免疫调节剂的单次低剂量 rhIL-12 的安全性。

两项采用安慰剂对照和双盲法的实验研究评价了 rhIL-12 的安全性、耐受性、药代动力学和药效学。在首次人体剂量递增研究中, 受试对象随机接受单次皮下注射安慰剂和 rhIL-12 2、5、10、20 μ g。由于毒性的影响, 最高给药剂量递降至 15 μ g 再到 12 μ g。在扩大样本量的临床 1b 实验中受试对象随机给予具有安全性和良好耐受性的最高剂量 12 μ g。

32 例受试者入选首次人体给药试验, 在 rhIL-12 (2、5、

10、12 和 15 μ g) 各剂量组中, 每组含 rhIL-12 给药 4 例和安慰剂 2 例, 20 μ g rhIL-12 给药组含给药和安慰剂对照各 1 例, 药后血象改变见图 1。60 名受试者入选大样本量的临床试验, 其中 48 例给予 rhIL-12 12 μ g, 12 例给予安慰剂。在这两项研究中, 最常出现的与 rhIL-12 相关的毒副作用是头痛、头晕和恶寒。未观察到免疫原性。rhIL-12 的体内清除作用具有双相性, 提示其明显的血管外分布。rhIL-12 12 μ g 引起中性粒细胞、血小板、网织红细

胞、淋巴细胞、天然杀伤细胞和 CD34⁺ 造血祖细胞的短时间变化(图 1), 并增加 IFN- γ 和 CXC 趋化因子 10 的表达。

上述结果表明 rhIL-12 单次低剂量皮下注射给药能够引起造血和免疫介导的作用, 且没有异常毒性。因此, 低剂量 rhIL-12 所具有的安全性以及有效诱导多系造血/免疫效应, 为 rhIL-12 研发成为放射医学干预措施和辅助癌症免疫疗法提供了支撑。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 余祖胤 报道)

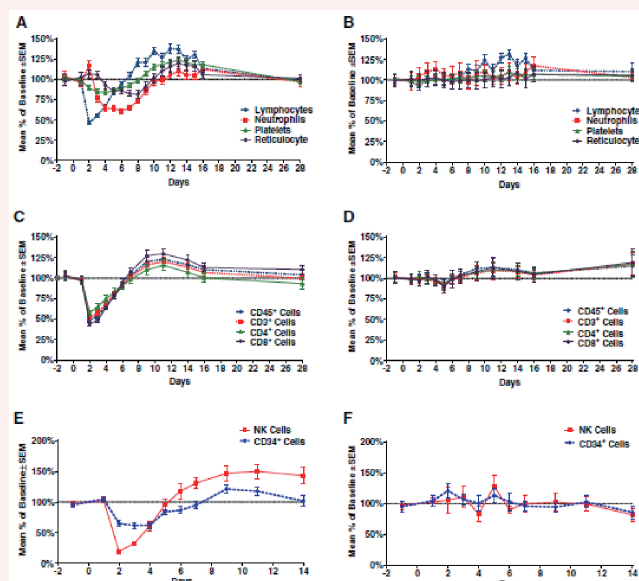


图 1 健康受试者 rhIL-12 12 μ g 药后血液学变化
A\C\E:rHuIL-12 给药组; B\D\F: 安慰剂组

TLR3 的阻断与肠型放射病

【据《Nat Commun》2014年3月报道】题: 阻断 TLR3 保护小鼠免受致死剂量照射引起的肠综合征(作者 Takemura N 等)

高剂量电离辐射引起小肠隐窝干细胞严重的 DNA 损伤导致胃肠综合征(GIS), 表现为腹泻、吸收不良、细菌感染, 甚至死亡, 目前尚无有效的治疗方法。Toll-like receptor (TLR) 家族是天然免疫反应中最有特点的家族之一, 研究表明 TLR3 可以加重放射引起的 GIS。本研究旨在探讨 GIS 发病机制, 为治疗 GIS 提供新的治疗方法。

TLR3^{+/+} 小鼠和 TLR3^{-/-} 小鼠在 10Gy ¹³⁷Cs γ 射线全身照射(TBI)前腹腔注射合成的 TLR3 配体 poly-I:C, 发现 poly-I:C 可明显提高 TLR3^{+/+} 小鼠 TBI 的辐射敏感性, 与 TLR3^{-/-} 小鼠相比腹泻和体重下降等临床症状加重, 在 TLR3^{+/+} 小鼠, 不管是否注入 poly-I:C, 放射引起的隐窝细胞死亡导致存活时间明显缩短。大剂量照射后 TLR3 通过 TRIF-RIP1 引起隐窝细胞的直接死亡导致 GIS。研究 poly-I:C 对隐窝的影响, 在体外人工培养 TLR3^{+/+} 小鼠和 TLR3^{-/-} 小鼠隐窝, 模拟隐窝环境形成绒毛上皮细胞, 腹

膜内注入 poly-I:C 后 TLR3^{+/+} 小鼠隐窝部分消失, 而 TLR3^{-/-} 小鼠仍保留类器官样结构。体内实验 TLR3^{+/+} 小鼠出现隐窝凋亡细胞。TLR 是由外功能区组成, 其配体通过外功能区与受体上的同型 Toll-interleukin 受体(TIR)绑定进行信号转导。TLR3 与 TIR 区域包含的接合器白介素 β (TRIF) 结合。TLR3 是 RIP1 (受体结合蛋白 1) 的下游和 NF- κ B 一起激活诱导凋亡。尽管其他的 TLR 配体对隐窝细胞的辐射保护作用抗凋亡基因通过 NF- κ B 引起的, 但是 TLR3/TRIF/RIP1 信号通路导致凋亡。内源性的分子机制也参与了 TBI 后 TLR3 介导的隐窝细胞死亡, 研究发现自身 RNA 导致 TLR3 介导的隐窝细胞死亡, 从照射后小肠细胞分离出的大 RNAs 通过 TLR3 引起隐窝细胞的死亡, 另外从 TLR3/dsRNA 复合物的抑制剂可以保护 GIS。所以用 TLR3/dsRNA 复合物的抑制剂治疗 GIS 也是有效的, 而且比阻断 TLR3 信号通路更加有效。本研究结果为 GIS 临床治疗研究提供了新的选择。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 赵致维 崔宇 报道)

全身照射后 HSC 早衰引起长期骨髓损伤

【据《Blood》2014年5月报道】题:全身照射通过 Ink4a 和 Arf 独立方式介导 HSC 早衰引起小鼠长期骨髓损伤(作者 Shao L 等)

全身照射(TBI)不仅引起急性放射病造血损伤,而且会造成长期或者骨髓损伤后遗传效应。这种骨髓损伤后遗传效应会导致造血干细胞的持久损伤,包括自我更新损伤,长期归巢能力降低,髓系偏移。活性氧产生的增加、p16^{Ink4a} 和 Arf mRNA 的表达量以及 SA-β-gal 的活性增加,这些都与致使骨髓产生上述缺点有很大关系。但是,这些条件却不会引起端粒的缩短或者凋亡增加,说明 TBI 通过介导 HSC 的早衰来诱导 BM 损伤后遗传效应的。由照射小鼠体内分离的 SA-β-gal⁺HSC 富含 LSK 的细胞在体外集落活性和移植长期植入能力比 SA-β-gal⁻LSK 细胞表现出更多缺点。这些更证明了上面提出的观点。然而,p16 和/或 Arf 基因的缺失对 TBI 诱导的骨髓抑制后遗传效应和 HSC 衰老没有影响,因为来自照射后的 p16 和/或 Arf 基因敲除小鼠的 HSCs 与 TBI 后的 WT 小鼠的 HSCs 有相似的变化。这些结果为以下机制提供重要的新发现,那就是 TBI 以 p16-

Arf 独立性的方式引起 HSCs 的早衰,并导致长期骨髓抑制。

为了确定照射动物的 HSCs 功能障碍是否是由电离辐射诱导的 HSC 衰老引起的,我们利

用新建立的 SA-β-gal 流式细胞分析方法分析 HSCs 及其子细胞中 SA-β-gal 的活性。像我们所证明的那样,TBI 后主要在 LSK 细胞发现 SA-β-gal 染色增加而非 HPCs(图 1.A)。更多的分析表明,TBI 后 SA-β-gal 阳性细胞中,HSCs(尤其是 LT-HSCs)比 MPPs 更多,这表明 LSK 细胞的 SA-β-gal 染色主要是由于 IR 诱导的 HSC 衰老。相反,TBI 2 个月的小鼠 HSCs 钙磷脂结合蛋白 V 染色分析并未发现显著凋亡变化(图 1.B)。这些结果表明 TBI 诱导的骨髓抑制后遗传效应,至少部分通过选择性诱导 HSC 衰老实现的。照射 HSCs 中 p16 和 Arf mRNA 表达水平分别比未照射 HSCs 中 p16 和 Arf 高 18 和 14 倍(图 1.C)。

在 TBI 之前,基因敲除小鼠的骨髓细胞也产生相似数量的多种 CAFCs;TBI 之后,HSC 集落形成上表现为相对减少,这由 4 和 6 周的 CAFCs 减少证明;这与野生型小鼠细胞照射后表现相类似(图 2A-C)。这些结果表明,p16 和 Arf 并不通过 TBI 介导 HSC 衰老,即使 TBI 可以在 HSCs 中上调它们的表达量。这一结论被我们的发现进一步证实,那就是尽管 p16-Arf 基因敲除小鼠的 HSCs 中检测不到 p16 和 Arf mRNA,但是 TBI 后野生型和 p16-Arf 基因敲

除小鼠骨髓中 ST-HSCs 和 LT-HSCs 中 SA-β-gal⁺ 的数量相近(图 2.D)。

P16 和 Arf 的上调对多种细胞的衰老,包括 HSCs 的衰老作用复杂。例如,在 Bmi1^{-/-} 小鼠的 HSCs 中发现 p16 和 Arf 的表达量上调。然而,其仅表现为 p16 而非 Arf 在介导 Bmi1⁺ HSCs 衰老中发挥重要作用,Arf 主要促进 HSC 的凋亡。另外,p16 和 Arf 基因一同敲除在体外显著增加 HSCs 的克隆扩张,但是在体内却促进 HSC 的自我更新。单独敲除 Arf 基因对 HSC/HPC 的扩张及自我更新无显著益处。共济失调症突变蛋白(ATM)基因突变也会导致 HSCs 中 p16 和 Arf 的上调。失活 P16-Rb 途径可以使 ATM^{-/-} HSCs 功能复现,但是阻断 Arf-p53 途径则没有同样的作用。这些发现表明,p16 在调节 HSC 的自我更新和诱导 HSC 衰老上比 Arf 具有更重要的作用,尽管在衰老的 HSCs 中两种蛋白都过表达。虽然在电离辐射(IR)诱导的衰老 LSK 细胞中 p16 和 Arf 表达量都增加,但是这些蛋白在介导电离辐射诱导的 HSC 衰老和骨髓抑制后遗传效应的作用仍然未知,因此,还有待进一步研究。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 仪丽荣 崔宇 报道)

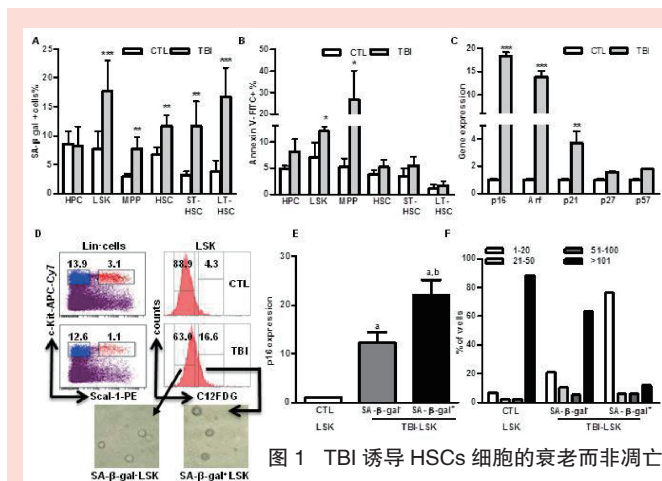


图 1 TBI 诱导 HSCs 细胞的衰老而非凋亡

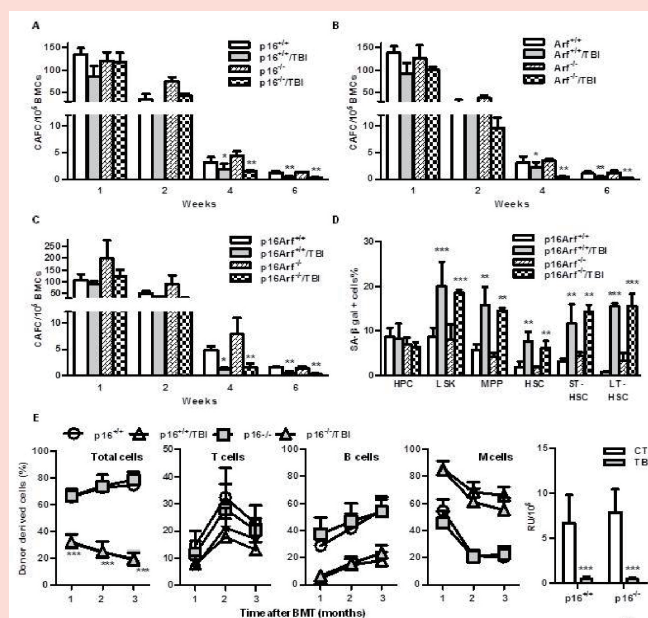


图 2 p16 和/或 Arf 敲除对 TBI 诱导的 HSC 衰老和长期损伤没有作用

放射性肠损伤再生时不可或缺的 Igr5⁺ 干细胞

【据《Cell Stem Cell》2014年2月报道】题:Igr5⁺的干细胞在辐射诱导的小肠损伤再生中是必不可少的(作者 Metcalfe C 等)

小肠上皮细胞能够持续的自我更新,在隐窝底部进行增殖并向上进行移动且分化,最后在分裂后 5 天左右从绒毛处脱落。位于隐窝不同位置的细胞具有不同的特性,都有发展成小肠干细胞(ISC)的潜能。更多的研究表明小肠干细胞位于相对隐窝底部+4 位的位置。+4 位的表面标志有 Bmi1、Hopx、mTERT、Lrig1 等。关于+4 位的假说认为,由于其处于静止状态,具有更大的潜力应对 DNA 的损伤,在辐射后小肠的再生中起到了重要的作用。最近在用流式细胞仪分离出的 Igr5⁺ 细胞中检测到了+4 位的一些基因表达,并且用免疫组化的方法在隐窝中也观察到

了 Bmi1 的存在。这些发现就使谱系追踪更加复杂化:谱系起源于 Igr5⁺ 细胞还是 Igr5⁻ 细胞?为了避免谱系追踪的复杂化,美国南旧金山基因泰克分子肿瘤研究室 Metcalfe C 等应用 Igr5^{DTR} 小鼠模型从 Igr5⁺ 细胞的功能上来研究其在小肠再生中的作用。

首先应用 Igr5^{DTR} 小鼠给予白喉毒素(DT)来杀死 Igr5⁺ 细胞,并在 10Gy 照射后 3d 观察对隐窝的影响。发现与正常组单独给予 DT 组单独照射组相比,既给 DT 又照射的双处理组隐窝大量脱落,Ki67 增殖实验也表明 Igr5⁺ 细胞的减少会影响肠道的再生。即使减少给予 DT 的次数,延长其再生时间,在 10Gy 照射 5d 时依然出现大量的隐窝-绒毛结构的脱落,并且发现隐窝有异常的增殖。在更高剂量(14Gy)照射下也发现 Igr5⁺ 细胞丢失也会

使隐窝-绒毛结构的大量脱落,与 10Gy 照射结果一样。值得说明的是即使在不同时间点给予 DT(照射前 48 小时和照射后 1d 和 2d) Igr5⁺ 细胞的减少对隐窝的表型也没有影响。表明何时给予 DT 使 Igr5⁺ 细胞的减少对 10 和 14Gy 照射下隐窝再生能力的影响没有关系。

随后作者检测了 10Gy 照射下照射后 6h 隐窝 1-10 位的细胞的凋亡。定量凋亡数据,发现单独给予 DT 组和给予 DT 和辐射的双处理组在 1-5 位的凋亡相当,但在 6-9 位时双处理组凋亡更高。单独给予 DT 组的凋亡则比照射引起的凋亡要高。在照射 12h、24h、48h 检测 Igr5 的表达水平发现,单独给予 DT 组在照射 12h 将至 10%~15%,并在 12h 后快速恢复至 50%。单独照射组则在照射 24h 降至 50%。双处理组在照射 12h 降至与单独给予 DT 组同样的水平,

但在随后的 12h 和 24h 内并没有快速的升高,这与之前 10Gy 照射 5d 的结果相符合。说明那些能在表达 Igr5⁺ 细胞的群体在照射后改变了并且这些细胞位于+6 位及以上。

据文献报道+4 位细胞都是高度敏感性的,而且在<1Gy 照射时几乎会全部消失。作者研究了低剂量照射下 Igr5⁺ 细胞的减少对隐窝的影响。发现在 1Gy 和 2Gy 照射下 Igr5⁺ 细胞的减少对隐窝-绒毛的结构和小肠的再生没有影响。但是在 6Gy 照射时有 60% 的隐窝-绒毛结构出现脱落,说明在 Igr5⁺ 细胞缺失的情况下 6Gy 是那些能维持小肠稳态的细胞减少或者功能改变的一个界限。由此证明了在 Igr5⁺ 细胞缺失的情况下,小肠的稳态可以得到维持,但当照射剂量>6Gy 时,则需要 Igr5⁺ 细胞来进行小肠的再生。

同时作者发现在 DT 处理

的 Igr5^{DTR} 小鼠中潘氏细胞也相应的减少。那么潘氏细胞的减少是因为在这些细胞中表达了 Igr5 还是因为其周围 Igr5⁺ 的 CBC 细胞的凋亡所引起的?在照射 6h 检测了凋亡发现只有不到 1% 的潘氏细胞出现凋亡。说明潘氏细胞的减少是 DT 诱导 Igr5⁺ CBC 细胞而间接影响的。

由于潘氏细胞的重要性,作者应用 Gfi1^{KIAI} 小鼠验证了潘氏细胞的丢失对小肠再生的影响。发现在 14Gy 照射下跟正常组相比,潘氏细胞的敲除对隐窝增殖没有促进作用。说明在辐射损伤后小肠的再生不需要潘氏细胞。随后作者应用 Igr5^{DTR} 小鼠和 Gfi1^{KIAI} 小鼠来验证潘氏细胞是否依赖于 Igr5⁺ 细胞在小肠再生中起作用。发现 Igr5^{DTR}; Gfi1^{KIAI} 小鼠在 14Gy 照射下隐窝细胞大量减少,说明在 DT 处理的 Igr5^{DTR} 小鼠的小

下转第 8 版 ▶

专家介绍



王治东 博士

军事医学科学院放射与辐射医学研究所放射医学博士, 主要从事辐射生物剂量学、核与辐射事故应急医学处置和放射生物学领域研究。承担完成国家自然科学基金、北京市自然科学基金、中国博士后科学基金等各类课题5项, 发表SCI和国内核心期刊论文40余篇, 参与编译专著2部, 申报国家发明专利3项。现兼任中国毒理学会放射毒理专业委员会委员、中华医学会放射医学与防护专业委员会青年委员等。

【据《Radiat Environ Biophys》2014年5月报道】题: 一种潜在的辐射生物剂量计——流式细胞分析淋巴细胞和粒细胞 γ -H2AX比(作者Wang ZD等)

在应对大规模的辐射事故过程中, 对受照人员进行分类诊断和快速剂量估算是医学救援的关键。近年来的研究表明, 外周血淋巴细胞中 γ -H2AX是一种非常有潜力的生物标志物。目前对于外周血淋巴细胞中 γ -H2AX的分析主要有两种方法: 1) 荧光显微镜分析细胞中 γ -H2AX聚集点。这种方法准确度高, 灵敏度高, 但是分析速度慢; 2) 采用流式细胞术结

合细胞免疫荧光方法分析细胞中 γ -H2AX含量。这种方法分析速度快, 但是方法实验重复性差, 灵敏度不如 γ -H2AX聚集点分析。本研究建立了一种基于流式细胞分析的新方法——即采用 γ -H2AX的RL/G值(γ -H2AX含量在淋巴细胞与粒细胞中的比值)代替其他报道中采用淋巴细胞中 γ -H2AX荧光强度的方法。从本底水平、时间效应、剂量效应、个体间差异和个体内差异等几个方面评价 γ -H2AX的RL/G值用于辐射事故早期分类诊断和剂量估算的可行性。

共收集62名志愿者外周血(39名男性, 年龄范围23~56岁, 23名女性, 年龄范围24~58岁), 用于本底水平研究。另外, 采取3名健康成人志愿者的外周血, 在37℃条件下用钴-60放射源进行0.5至10Gy不同剂量照射, 照射后在37℃条件下孵育不同时间, 用于分析照射后的时间效应、剂量效应以及个体间和个体内的差异。

结果

(1) γ -射线照射增加淋

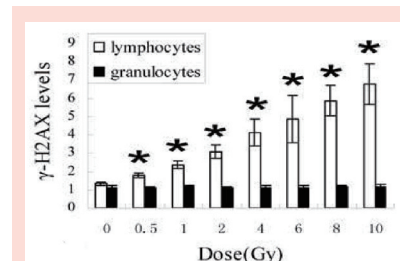


图1 流式细胞分析不同剂量 γ 射线照射后0.5小时外周血淋巴细胞和粒细胞 γ -H2AX的变化

一种潜在的辐射生物剂量计

巴细胞中 γ -H2AX含量, 而对粒细胞没有影响。血样经0.5、1、2、4、6、8和10Gy γ -射线照射, 在照射后1、3、6、12和24小时用流式细胞仪检测, 淋巴细胞中 γ -H2AX含量呈剂量依赖性增加, 而粒细胞中 γ -H2AX含量没有明显改变(图1)。

(2) 健康人群外周血 γ -H2AX的RL/G值本底水平分析。一个理想的生物剂量计, 除了具有良好的剂量依赖关系, 还需要未接触射线时的本底水平越低、影响因素越少、个体间差异越小越好。 γ -H2AX的RL/G本底值介于1.01~1.54之间(平均值 1.21 ± 0.12), 变异系数为9.94%。23名女性志愿者与39名男性志愿者之间没有明显差别(女: 男 $=1.20 \pm 0.10 : 1.22 \pm 0.15$, $P=0.4531$)。各年龄组之间的RL/G值差别不明显(21~30岁、31~40岁、41~50岁和51~60岁组分别为 1.18 ± 0.09 、 1.22 ± 0.13 、 1.20 ± 0.14 和 1.21 ± 0.09 , $P=0.7372$)。在62名志愿者中, 12人有吸烟习惯, 与不吸烟组相比, 吸

烟组的RL/G值并未明显增高($1.21 \pm 0.12 : 1.17 \pm 0.08$, $P=0.2194$)。

(3) 照射后 γ -H2AX的RL/G值的时间-效应分析。照射后1小时RL/G值快速升高从平均 1.21 ± 0.12 到 2.78 ± 0.32 (2Gy)和 5.79 ± 0.84 (10Gy), 这种高水平持续到照射后3h, 随后开始下降。2Gy照射后12h, RL/G值(1.81 ± 0.14)仍高于未照射对照组($P<0.05$), 照射后24h, RL/G值(1.40 ± 0.01)仍然高于未照射对照组($P<0.05$), 但低于本底值中的最大值。10Gy照射后24h, RL/G值(2.67 ± 0.09)仍然明显高于未照射对照组($P<0.01$)。

(4) 实验的重复性和个体间差异分析。在三个不同时间采集三名志愿者的外周血, 进行三次独立实验。血样经0~10Gy照射后培养1h, 分析 γ -H2AX的RL/G值。结果显示, 在各个剂量照射后1h, 不同实验间差异性较小, 变异系数均在10%以内。为了分析个体间的差异, 三名志愿者的血样经0~10Gy照射后, 分别培养1、3、6、12和24h, 分

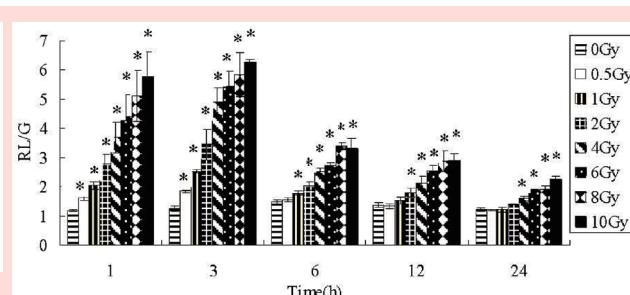


图2 0~10Gy照射后不同时间外周血 γ -H2AX的RL/G值的量效关系

析 γ -H2AX的RL/G值。结果发现, 除6Gy和8Gy照射后1小时的样品(分别为18.25和15.89)之外, 所有样品RL/G值的变异系数均小于15%。

(5) 剂量-效应关系与数学模型拟合。在选定的每一个时间点, γ -H2AX的RL/G值均以剂量依赖方式增加(图2)。我们拟合了5个时间点(1、3、6、12和24h)的剂量效应曲线, 其数学模型: $Y_{1h}=0.501X+1.194$ ($R^2=0.95$); $Y_{3h}=0.798X+1.249$ ($R^2=0.913$); $Y_{6h}=0.21X+1.149$ ($R^2=0.938$); $Y_{12h}=0.174X+1.371$ ($R^2=0.953$); $Y_{24h}=0.099X+1.225$ ($R^2=0.966$)。其中Y为RL/G值, X为照射剂量(Gy)。

根据研究, 可以得出以下初步结论: 1、外周血淋巴细胞 γ -H2AX的RL/G值具有相对均一的本底水平(平均值为 1.21 ± 0.12 , 变异系数9.94%)。如果受检血样的RL/G值大于健康人本底值的95%置信区间上限值(1.47), 可以考虑受到辐射照射。2、在事故发生后24小时之内采集受照者外周血, 根据血样采集与事故发生的间隔时间, 可利用 γ -H2AX的RL/G值进行初步剂量估算。研究表明, 外周血淋巴细胞 γ -H2AX的RL/G值分析可以作为一种辅助方法, 用于辐射事故早期分类诊断和快速剂量估算。这种方法的应用价值还需在实际应用中进一步验证。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 王治东 陈英 报道)

上接第2版

治方案中的给药困难。最佳的造血型ARS的辐射医学干预措施应能促进全血细胞再生且适于大规模辐射损伤的救治, 且应是一种剂量在照射后几小时到几天注射有效。G-CSF只对粒细胞系有效, 且需要每天重复注射给药。先前研究表明, 照射后皮下注射rhIL-12可改善造血型ARS啮齿和雌性非人灵长类动物生存。美国Neumedicines公司的研究进一步观察了rhIL-12对大群体恒河猴的辐射防护作用。59只7Gy(60cGy/min) ^{60}Co γ 射线照射恒河猴分为rhIL-12 0、50、100、250和500ng/kg 5组, 每组动

物数分别为16、12、11、11和9只, 全身照射后24~25小时rhIL-12单次皮下注射给药, 照射后动物的疼痛、腹泻、溃疡给予适当对症处理, 不予输液和输血。活存动物照射后60天麻醉处死。结果表明, 照射后60天各动物存活率分别为11%、33%、39%、39%、50%, rhIL-12治疗猴存活率明显增加, 严重的中性粒细胞和血小板减少症发生率明显减少, 骨髓再生明显活跃, 全身照射后1天单次注射小剂量重组人白介素-12可显著提高生存率和降低辐射所致的造血毒性和感染。(军事医学科学院放射与辐射医学研究所熊国林余祖胤报道)

小肠干细胞体外分析方法

【据《J Radiat Res》2014年3月报道】题: 一种新颖的用于照射后小肠干细胞体外分析的研究方法(作者Yamauchi M等)由Withers和Elkind建立的微克隆形成实验方法可作为评价高剂量(>8Gy)电离辐射后小肠干细胞存活指数的一个金标准, 但这种方法不适用于低剂量的电离辐射。本文作者建立了可用来评价低剂量照射后小肠干细胞存活指数的体外分析方法——体外培养小肠干细胞, 该方法可培养出由四种分化的小肠细胞组成的类器官, 而且此方法比微克隆形成实验更加灵敏, 能检测到

$\geq 1,000\text{mGy}$ 时小肠类器官形成能力的减少。用Lgr5-EGFP-IRES-CreERT2/ROSA26-tdTomato小鼠鉴定Lgr5⁺干细胞以及他们的子代。将十二指肠和空肠组织用裂解酶裂解成单细胞, 经流式细胞仪分选得到了3.11%Lgr5^{high}的细胞, 这些细胞经过培养可形成类器官。随后将这些细胞分别于7.25、29、101、304、1,000、2,000和4,000mGyX射线照射, 照射12天计数分化类器官数目, 观察其在照射后类器官形成的能力。相比正常细胞, 受照射细胞形成类器官的能力可作为评价小肠干细胞存活指数的指标。研究

观察到当照射剂量 $\geq 1,000\text{mGy}$ 时, 干细胞的存活分数将显著下降, 流式分选分析和组织体的传代培养结果均显示照射后干细胞存活率被显著增效。本研究结果与微克隆形成实验相比, 体外试验是定量评估低剂量照射后小肠干细胞的存活分数相对有效的方法, 而且这种方法还有更多的应用, 还可用来评价遗传毒素或者细胞毒素对存活干细胞及其对子代的影响。如果用这种方法培养人类结肠癌细胞将有助于癌症的治疗, 也可用来筛选抗肿瘤的化合物。(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 王俊可 崔宇 报道)

生物剂量估算方法在不同类型核与辐射事故中的应用

【据《Radiat Environ Biophys》2014年5月报道】题:生物剂量估算方法在不同类型核与辐射事故中的应用(作者 Swartz HM 等)

生物剂量估算是指利用电离辐射引起的机体改变估算受照剂量,并在可能的情况下,预测相关的临床上反应。最为理想的是,这些指标改变具有辐射特异性,不受其他疾病影响,在正常人群中的生理水平个体间波动小,也不易受到电离辐射后心理压力和创伤的影响。目前有两种基本类型的生物剂量估算方法,这两种方法具有互补的特点:一类是基于生物学指标的改变,如染色体畸变和基因变化;另一类是基于组织的物理学改变,如EPR方法。不同类型的辐射事故的医学救援任务有所不同,所以对生物剂量估算方法也有不同的需求。本文主要对现有生物剂量估算方法在不同类型核与辐射事故中的应用情况进行综合分析。

一、不同类型核与辐射事故对生物剂量估算的需求

1、涉及大量可能受照伤员的大规模核与辐射事故。对于这类事故,早期伤员分类诊断和受照伤员剂量估算及治疗非常重要。事故规模的界定具有人为因素,伤员数量可为100人或上百万人。

2、小规模核与辐射事故。这类事故中一般涉及数名至数十名受照伤员,需要直接进行剂量估算和相应的医学治疗。目前大部分辐射生物剂量估算的实践经验都来源于这类辐射事故。

3、主要产生远后效应的辐射事故。这类事故中,区分需要进行长期远后效应观察的伤员是主要任务。

二、辐射事故中剂量估算的方法

1、传统的物理剂量估算方法

传统的物理剂量估算方法包括通过物理剂量计对人员进

行直接剂量估算或测定环境中辐射水平,根据事故类型特点和人员离辐射源的距离和暴露时间,通过计算进行间接估算。这些估算方法可用于小规模暴露事故,而不适用于大规模事故中对受照个体进行剂量估算。

2、非传统的物理剂量估算方法

非传统的物理剂量计在小规模核与辐射事故中已经得到应用,如光释光(OSL)或电子自旋共振(EPR)。这类方法是否适合于大规模事故中暴露个体的剂量估算还处于研究中。

3、基于临床症状和体征的个体生物剂量估算方法

机体受到照射后会出现白细胞数量改变、呕吐、皮肤红斑等症状和体征,这些改变中,除了呕吐之外,白细胞数量改变等指标在照射后出现较晚,不适用于早期快速分类诊断。而在辐射事故的情况下,引起呕吐的因素很复杂,这是需要考虑的因素。

4、以血细胞为基础的生物剂量估算方法

基于淋巴细胞分析的生物剂量估算方法主要包括5种:双着丝粒染色体分析(DCA)、早熟凝集染色体分析(PCC)、双核淋巴细胞微核分析(MN)、荧光原位杂交(FISH)和淋巴细胞下降速率分析。这些方法大多已经在小规模事故的个体剂量估算和大规模事故的人群流行病学调查中得到应用。这些方法用于大规模事故存在下面一些问题:除淋巴细胞下降速率之外的四种方法均需要对细胞进行2~3天的体外培养,而且通常需要专业人员进行分析,而淋巴细胞下降速率分析需要对同一个受检者连续分析3次以上,每次间隔6~8小时。这些问题限制这些方法在大规模事故早期伤员分类中的应用。

三、生物剂量估算方法的本质

1、生物剂量估算方法的用途

对于生物剂量估算方法而

言,不同类型的生物剂量方法可用于不同的情况。主要包括下面几个方面:

- (1) 事故早期用于确定需要进行医疗救治的人员;
- (2) 事故早期分类诊断后,用于准确估算伤员的受照剂量;
- (3) 通过剂量估算指导伤员的治疗;
- (4) 受照均匀程度判断,用于指导治疗;
- (5) 判断特定脏器如肺的损伤,进而指导治疗;
- (6) 监测治疗效果;
- (7) 评价长期风险和远后效应。

2、理想生物剂量估算方法应具有的特点

理想的生物剂量估算方法应该满足一系列的标准,但是单一方法很难满足所有的要求,通常需要多种方法相结合予以实现。同时,不同事故类型对生物剂量估算方法的要求也不相同。理想生物剂量估算方法应该满足的条件有:

- (1) 具有电离辐射特异性;
- (2) 对不同类型辐射和不同剂量率的照射具有普遍反应;
- (3) 不易受到健康状况或事故中伴随的创伤和应激状况的影响;
- (4) 具有良好的剂量效应关系,而且个体间波动小;
- (5) 能够反映个体的生物学变化;
- (6) 在一段时间内处于稳定状态或变化情况已知;
- (7) 可以快速提供结果;
- (8) 通量较高,以满足对大批量人员的检测;
- (9) 易于操作,以适应在不同环境中应用。

3、生物剂量估算方法的优点和面临的问题

基于电离辐射后机体生物学改变的生物剂量估算技术可以提供个体自身的生物学信息,有利于对受照者进行个体化治疗。这些生物学改变包括血细胞改变、染色体畸变、微

核、蛋白和mRNA等改变。这一类生物学指标用于生物剂量估算具有共同的优势和潜在的问题:

两个重要的优势:
(1) 反映受照个体的生物学指标改变,治疗中可以根据个体的反应情况选择治疗方案,而不单单依靠估算的剂量,这是因为对于受到同样剂量照射的不同个体,会产生不同的生物学变化和损伤程度。

(2) 个体的生物学指标更为敏感,有利于更为准确、特异的估算剂量。

存在的问题:
(1) 辐射引起生物学指标改变容易受到创伤和应激等因素的影响,这些指标变化多不是辐射特异性的。

(2) 在合并创伤和应激等情况时,生物学指标的改变不能准确反映辐射损伤的程度。

(3) 即使没有合并其他损伤,辐射后生物学指标变化的时间效应较为复杂,为结果的解释增加了难度,样品采集的有效时间也受到影响。

(4) 生物学指标的本底水平容易受到个体间生理差异的影响。

(5) 生物学指标变化的时间-效应和剂量-效应同时受到其本底水平的因素影响。

四、在三种不同类型辐射事故中生物剂量估算方法的选择和应用

生物剂量估算方法可以对个体进行剂量估算,对三种不同类型的事故均有应用价值。在小规模事故中,生物剂量估算方法需要对所有受累人员进行剂量估算,以决定是否需要进行进一步的医学干预。大规模事故中,需要利用生物剂量估算方法对受累人员进行分类诊断,以减少进行医学救治的人员数量。

1、小规模核与辐射事故和大规

模事故伤员分类诊断后的要求

用于小规模事故的剂量估算,要求检测准确度在0.5Gy左右,有效检测剂量范围为1~10Gy。基于淋巴细胞数量变化和染色体畸变分析的方法结合早期临床表现可以满足这一要求。大规模事故经分类诊断后伤员的剂量估算类似于小规模事故的处理。

2、大规模核与辐射事故的需求

在大规模辐射事故中,快速对批量人群进行分类诊断是非常重要的任务。用于分类诊断的方法应具备以下特点:事故后任何时间均可以使用;快速获得检测结果;采集样品、操作设备和分析结果的专业性不强;能够在现场进行,不需要将样品运输到后方,避免增加因为样品运输引起的检测指标时间性变化。根据这些要求,目前的生物剂量估算方法还不能有效满足现场的快速分类诊断问题。

3、核与辐射事故后长期风险评价的要求

用于核与辐射事故后长期风险评价的生物剂量估算方法需要能够检测低剂量水平的照射,样品采集时效性长达数年。针对这些需求,以稳定性染色体畸变分析,尤其是FISH分析和EPR方法可用于长期风险评价的生物剂量估算,这种方法通量较低,需要消耗大量的人力。

五、结论

不同类型核与辐射事故对生物剂量估算方法的需求是不同的。目前的生物剂量估算方法基本可以满足小规模核与辐射事故中伤员剂量估算的需求;对大规模核与辐射事故来说,目前已有的生物剂量估算方法在分类诊断中的作用是有限,是目前生物剂量估算研究的主要方向。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 王治东 陈英 报道)

◀ 上接第3版

小鼠骨髓内的LSK细胞荧光数量的表达也明显上调,并且在照后第7d到达峰值。为了佐证Notch通路的上调确实与TMC有关,研究者采用了转基因的Notch通路报告(TNR)小鼠,一旦Notch信号通路被激活,将会诱导绿色荧光蛋白(GFP)表达,结果表明给予TMC治疗后,

小鼠骨髓内的LSK细胞荧光数量明显增加(图3),因此,他们首先确定了TMC促进造血修复的功能是通过Notch信号途径而实现。

最后,为了验证TMC通过活化骨髓基质细胞的JAG1起作用,研究者用TMC单纯刺激NRF2^{-/-}或NRF2^{+/+}小鼠的骨髓

基质细胞,结果发现NRF2^{+/+}小鼠的骨髓基质细胞JAG1表达升高,且存在明显的量效关系,而NRF2^{-/-}小鼠骨髓基质细胞并不敏感。将照射小鼠的LSK细胞与NRF2^{-/-}或NRF2^{+/+}小鼠的骨髓基质细胞共培养,并给予TMC刺激7d后,NRF2^{+/+}小鼠组的LSK细胞数是对照组的2倍

(P<0.001);而一旦给予JAG1抗体共培养后,LSK细胞数的增加也会同时受到抑制。因此,TMC激活的NRF2能够活化Notch信号通路,并且能够部分上调骨髓基质细胞的JAG1表达,最后通过基质细胞与造血干细胞协同作用刺激造血干细胞的扩增。作者还发现NRF2^{+/+}小鼠在辐照前后

2d内,其造血干细胞的NRF2活性会迅速下调,并且缓慢恢复,直到照后12d才恢复至基线水平,同时,骨髓基质细胞的NRF2活性也与此相类似,照射后的造血干细胞NRF2迟发性激活的机制目前尚不明确。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所 申星余祖胤 报道)

电子顺磁共振与放射生物剂量学

【据《Radiat Environ Biophys》2014年5月报道】题: 电子顺磁共振与放射生物剂量学(作者 Wieser A 等)

电子顺磁共振(EPR)国际学术研讨会自1985年首次在日本召开以来,每3~4年召开一届,至今共召开十届,有8个国家先后承办了会议。从1998年开始,EPR国际会议首次与细胞遗传生物剂量学(Biodose)国际会议联合,改名为EPRBioDose国际会议,以后每2~3年召开一届,内容涉及EPR剂量学和生物剂量学两个方面。

EPRBioDose2013国际会议由荷兰莱顿大学医学中心与德国慕尼黑大学医学中心于2013年3月24~28日在荷兰莱顿联合举办。会议论题包括传统EPR剂量学的应用、物理剂量与细胞遗传生物剂量、大批量人群伤亡事件的剂量检测,特别是在生物学检验方面自动分析技术的发展以及在群体伤亡事件剂量估算方面的应用等,涵盖了多方面的新内容。会议的目的是分享自2010年EPRBioDose会议以来的发展成果,提高对电离辐射剂量学方面物理、生物物理和生物学技术的认识。来自世界各国100多个EPR和生物剂量实验室的代表参加了会议。《辐射与环境生物物理学》杂志(《Radiat Environ Biophys》)2014年第53期集中发表了此次会议的文章。下面简要介绍这次会议的主要内容。

1 传统 EPR 剂量学的应用

过去,EPR会议主要是提供一个平台来呈现EPR光谱测量的新进展,内容主要涉及地质、古生物及考古学方面以估算年代为目的的物体吸收剂量测量。而今,EPR建立了完好的年代测量方法,可以解决放射性碳6万年限值以上的

年代测量问题。这次会议上,在EPR应用方面展示了哺乳动物牙齿、甲壳类、软体类和珊瑚等化石的古生物测定、石英和海底沉积物的地质年代测定以及黑曜石和考古学陶瓷器的材料特性等。这方面的大量文章将在《辐射防护剂量学》(《Radiation Protection Dosimetry》)的近期专刊上发表。

早几年的EPR专题研讨会是针对EPR剂量在工业和临床上的应用去开发新的探测材料,并对已知的材料进行研究。最集中研究的EPR探测材料之一就是氨基丙氨酸。会议上报道了氨基丙氨酸/EPR剂量体系可作为辐射计量学的一个参考,在临床用铁离子和中子进行医疗照射时作为剂量的质量保证。扩大丙氨酸/EPR剂量学在临床应用方面的机会和挑战也有专门的综述(Baffa & Kinoshita)。

2 物理与细胞遗传学回顾性剂量

个人剂量重建的经典方法是基于对电离辐射照射后人体组织或体液中产生的稳定性生物终点的分析。物理剂量重建的最重要组织就是能够产生稳定自由基的牙釉质,通过EPR光谱测量来估算剂量。而生物剂量的重建则是采用细胞遗传学技术和光学显微镜,通过检测外周血淋巴细胞的染色体损伤来完成。由于外周血淋巴细胞的半寿期有限,通过双着丝粒(DC)、早熟染色体凝集(PCC)和微核率(MN)来估算染色体损伤的方法仅适合于近期的照射。另外,用PCC可以检测局部照射,对于小于100mGy的照射可以用MN来检测。在EPRBioDose2013会议上,这些方法以及用于估算职业或群体小剂量照射的其他方法均有报道。

对于较大剂量照射,在照

后早期作为DNA损伤信号的蛋白标志物受到关注。一个较有前途的电离辐射标志物就是在DNA双链断裂位点形成磷酸化的组蛋白 γ -H2AX。 γ -H2AX聚集点(Foci)可以用免疫荧光显微镜看到。因此,了解放疗患者其对临床放射敏感性,可以通过检测 γ -H2AX来对DNA双链断裂的修复进行定量。

对于发生于许多年前的受照剂量重建,会议上推荐了一个新的细胞遗传学分析方法——方向基因组杂交,即检测外周血淋巴细胞染色体倒位的方法。倒位的数量戏剧性地依赖于射线的LET。这一发现很重要,预示着可以由此来区分不同品质射线的照射。目前估算发生在数年或数十年前的照射剂量,主要是采用单色荧光原位杂交(sFISH)检测外周血淋巴细胞的染色体稳定性易位。作为高LET辐射的生物标志物和接触铀的核工业工人,对染色体复杂畸变可以用多色FISH(mFISH)检测。在对Mayak从事铀-239装料的产业协会工人的调查中,mFISH分析结果显示,大量细胞具有复杂的染色体互换。在合并有放射性核素或内外照射同时存在的病例中,用FISH方法估算受照剂量的报道也有综述(Ainsbury et al)。

电离辐射在牙釉质中产生稳定的自由基变化。因此,牙釉质的EPR光谱测量特别适合对居民和放射性工人回溯至几年或几十年前的受照剂量进行重建。对于历史性和慢性照射的剂量重建可采用牙釉质EPR光谱测量和外周血淋巴细胞FISH分析。会议上介绍了最近的慢性职业照射及生活在紧靠核试验场的哈萨克斯坦和铀生产厂的俄罗斯Mayak居民的历史性照射的剂量重建情况。对Ozyorsk的居民、Mayak工人以

及他们的家庭成员牙齿吸收剂量的EPR分析也做了报道。乌拉尔居民和马亚科工人代表了重要的流行病学队列,用EPR和FISH进行剂量重建是对这些队列的剂量资料进行最好的评估和验证。通过对 ^{90}Sr 慢性照射产生的易位进行FISH分析则是对Tacha河流剂量体系建立的验证。最新的2008 Mayak工人的剂量资料报道,其中包括了Mayak工人的心血管疾病与照射剂量的关系。

3 群体灾难性事件的剂量回顾

在灾难性的辐射事件中,大批量人员受到辐射损伤之后,需要快速测定个人的吸收剂量,以便决定哪些人员需要接受医学救治,并对灾难进行处置。生物和物理剂量重建的过程也是评估应对突发事件能力的过程。对于任何生物剂量方法,关键的挑战就是在样品量和估算剂量的准确度之间找到一个最好的折中方案。Swartz教授对群体灾难性事件的基本处理原则和生物剂量的必要条件做了主旨发言。

采用细胞遗传学和基因手段对大规模辐射事故进行剂量回顾是近来研究最多的。基因表达的改变对辐射高度敏感,但其不足就是半寿期太短。基因表达在生物剂量方面具有一定潜力,但还需要更多的研究,了解这些方法在生物剂量方面的能力和局限性。传统的细胞遗传学分析目前还是最准确的生物剂量估算方法,尽管是耗时的,对群体灾难性事件的剂量估算是不方便的。不过,可以通过细胞遗传学分析的自动化来加速剂量估算。为了评价实验室在计数双着丝粒方面的能力提高,Romm报告了在实验室网络系统内通过图像计数中期分裂相的经验。

在大规模辐射应急中,对大剂量照射伤员进行快速分类诊断的一种新方法是流式细胞术检测蛋白质标志物。在照射后24小时内采集血样通过检测 γ -H2AX聚焦点在淋巴细胞和中性粒细胞中的比例来快速估算剂量,显示出是有前途的生物标志物(王治东,等)。还有一种高通量的自动生物剂量检测工具可用于大规模辐射事件,它是基于指血测量的方法。将这种方法扩展到测量 γ -H2AX这样的DNA修复蛋白动力学的尝试会上也有报告。

用物理测量方法进行剂量重建既快速又高通量。但是,对于大批量伤亡事件,由于探测材料的有效性,使物理剂量重建变得较为复杂。牙釉质的EPR光谱测量虽然具有非常高的辐射敏感性,但在测量前需要提取牙齿,因而在大规模伤亡事件中可能无法应用。为了克服这一困难,对小块牙釉质活组织样品采用Q-带EPR测量是较好的尝试。另一选择是牙齿EPR在体剂量,这种方法对大规模事故应用具有潜力。会上还报告了EPR测量设备的发展现状、实验室试验以及对未受照人群和放疗患者的实际应用情况的评估(Williams et al)。除了牙齿以外,指(趾)甲也是EPR剂量的一个研究方向。指甲的辐射敏感性虽不如牙齿,但仍然具有某些剂量学的应用潜力,这方面也有报道(Trompier et al)。作为人体组织的选择,可以有各种各样的测量材料,目前正在对其剂量学特性进行广泛研究。作为材料之一的玻璃,存在于小型电子设备比如手机的显示屏上,就代表了世界各地最普遍的能够被用做为剂量计的个人材料。对手触屏的EPR测量在分类诊断上的作用和局限性也有报道(Fatibene et al)。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所陈英报道)

◀ 上接第5版

肠再生可能是由潘氏细胞的丢失引起的。

由于Apc缺失所介导的WNT信号通路的活化也能引起小肠上皮细胞增殖。为此作者用Lgr5^{DTR}、ApcloxP/loxP、Rosa26^{CreERT2}小鼠在给予tamoxifen处理后来研究APC敲除对小肠

再生的影响。发现敲除APC的小鼠出现大量的增殖细胞,并会在tamoxifen处理后5d到达绒毛顶部。说明了在Lgr5⁺细胞减少时APC的敲除能促进小肠隐窝的增殖。随后作者建立了另一模型右旋糖酐硫酸酯钠(DSS)模型也证明了在Lgr5⁺细胞缺失的隐窝也能进行增殖。

与在稳态情况下Lgr5⁺的小肠干细胞丢失所造成的可忽略的影响相比,Lgr5⁺小肠干细胞的丢失则会在辐射诱导的小肠损伤和后续修复中造成隐窝的大量减少及隐窝-绒毛结构的脱落。同时丢失Lgr5⁺细胞的隐窝可以在缺失APC的情况下进行增殖。表明Lgr5⁺

的保留干细胞是辐射敏感的,Lgr5⁺的干细胞则在辐射诱导的小肠损伤再生中有着至关重要的作用但对异常增殖则是非必要的。

由此推测,在一个相对稳定的状态下,Lgr5⁺的干细胞会压制Lgr5⁻的干/祖细胞进行转化的能力,但是在Lgr5⁺细胞丢失

的情况下至少有一些细胞具有激活WNT信号通路的能力。在辐射诱导的损伤中Lgr5⁺细胞丢失造成的增殖反应的削弱不是由于隐窝无法进行增殖可能是Lgr5⁻细胞群体相对敏感度的不同导致的。

(军事医学科学院放射与辐射医学研究所徐铁柱崔宇报道)

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