

大剂量 γ 射线对小鼠造血功能损伤的比较研究

吴红英, 王月英, 李德冠, 王小春, 张恒, 路璐, 常建辉, 杜利清, 王彦, 孟爱民

中图分类号: R811.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2010)04-0403-02

【摘要】目的 探讨大剂量电离辐射对 RM-2小鼠、C57BL/6J小鼠造血功能损伤及恢复的比较。方法 用¹³⁷Cs γ 射线分别对 RM-2小鼠、ICR小鼠进行 4.0 Gy照射, 照后 9 d检测小鼠造血功能三项(脾指数、CFU-S DNA)指标的变化; 对 RM-2小鼠、C57BL/6J小鼠进行 6.0 Gy照射, 照后 45 d检测小鼠外周血白细胞的变化及绝对值。结果 RM-2小鼠 4.0 Gy照射后 9 d造血功能三项指标均高于 ICR小鼠, CFU-S DNA差异有统计学意义($P < 0.001$)。6.0 Gy照射后 45 d WBC、RBC及 HGB、HCT指标均高于 C57BL/6J小鼠, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 受¹³⁷Cs γ 射线大剂量及亚致死剂量照射后, RM-2小鼠与 C57BL/6J小鼠及 ICR小鼠比较, 造血系统有较强的恢复功能。

【关键词】小鼠; 辐射损伤; 造血功能; 血细胞分类

Comparative Study on Hematopoietic Damage of Mice Caused by High-dose of Gamma-ray Irradiation. WU Hong-yi, WANG Yue-yi, Li De-guan, et al. Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Tianjin 300192, China

【Abstract】Objective To study the effect of high-dose of gamma-ray irradiation on hematopoiesis injury and recovery of RM-2 and C57BL/6J mouse. Methods The experiment was designed to study the effects of radiation (4 Gy) on spleen index, CFU-S and DNA damage on the 9th day of RM-2 and ICR mice and the effects of radiation (6 Gy) on WBC change and its absolute value on the 45th days of RM-2 and C57BL/6J mice. Results The RM-2 mouse spleen index, CFU-S and DNA were higher than ICR mouse on the 9th days, and there were significant difference in CFU-S and DNA ($P < 0.01$). The RM-2 mouse WBC, RMC, HGB and HCT were higher than C57BL/6J mouse on the 45th days, and there were significant difference ($P < 0.01$). Conclusion RM-2 mouse hematopoiesis resumes quicker than C57BL/6J and ICR do after high-dose of gamma-ray irradiation.

【Key words】Mice; Radiation Damage; Hematopoiesis; WBC

造血系统是电离辐射主要靶器官之一, 敏感性高, 辐射后容易导致造血功能损害^[1], 主要表现为外周血全血象减少等。本实验是在前期相关试验的基础上, 用¹³⁷Cs γ 射线分别对 RM-2^[2]等小鼠进行大剂量照射, 对其造血等指标的变化进行探讨, 为 RM-2小鼠作为辐射抗性模型提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料 RM-2近交系小鼠由本所培育, 合格证号 SCXK(津)2005-0004; ICR小鼠、C57BL/6J小鼠由北京维通利华实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(京)2002-0003, 雌性, 体重为 20~22 g。

1.2 照射 ¹³⁷Cs γ 射线, 吸收剂量分别为 4.0 Gy、6.0 Gy, 剂量率为 0.87 Gy/min。

1.3 方法 动物分组及照射: 将 RM-2、ICR、C57BL/6J小鼠分成正常组和照射组, 照射组全身一次性照射, 吸收剂量依具体实验而定。

1.4 脾指数及脾集落生成单位(CFU-S)的测定 吸收剂量 4.0 Gy, 照射后第 9天将小鼠颈椎脱臼处死, 取出脾脏, 称重, 计算脾指数, 脾指数=脾重(mg)/鼠重(g); 并将脾脏放入 Bouin液中固定, 24 h后计数脾脏表面结节数, 1个脾结节表示 1个 CFU-S单位。

1.5 骨髓 DNA含量的测定 吸收剂量 4.0 Gy在照射后的第 9天将小鼠颈椎脱臼处死, 取小鼠一侧股骨, 用 0.005 mol/L CaCl₂冲洗骨髓, 沉淀蛋白质, 离心取沉淀。加入 0.2 mol/L

HClO₄溶解, 加热、过滤, 滤液在 268 nm处测定吸光度。

1.6 外周血白细胞的检测 6.0 Gy照射以造成造血系统损伤。照射后第 45 d摘除眼球取血, 用全自动血细胞计数仪(型号: PCH-100 日本产)检测白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血色素(HGB)、红细胞压积容量(HCT)指标。

1.7 数据统计 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较用 t 检验, 显著性意义以 $P < 0.05$ 表示。

2 结果

2.1 ¹³⁷Cs γ 射线照射后 9 d对小鼠造血系统的影响 结果见表 1。在照射后 9 d RM-2小鼠脾结节、骨髓 DNA含量高于 ICR小鼠, 有统计学意义差异 $P < 0.001$; RM-2小鼠的脾指数虽比 ICR小鼠有一定的增加, 但经统计学处理无显著性差异。

2.2 ¹³⁷Cs γ 射线 6.0 Gy照射后 45 d小鼠的血液学值测定结果(表 2) RM-2小鼠与 C57BL/6J小鼠比较, WBC、RBC、HGB、HCT指标均明显高于 C57BL/6J小鼠, 经统计学处理, 有统计学意义差异 $P < 0.01$ 。说明 RM-2小鼠在辐射损伤后其造血功能的恢复好于 C57BL/6J小鼠。

3 讨论

机体的血液系统和免疫系统均对辐射高度敏感, 经亚致死剂量或大剂量照射后, 可导致机体造血功能的损伤, 体液及细胞免疫功能均能降低。当动物受大剂量照射后, 骨髓造血细胞及造血微环境均严重受损, 残留的造血干细胞迁移至脾脏进行增殖, 使脾内出现许多小结节状造血灶, 称为脾集落, 每个脾集落为一个克隆, 称为 CFU-S^[3]。CFU-S系代表一类多向性的造血干细胞群, 它们具有自我更新和向骨髓红系、粒系和巨核细胞分化的能力, 所以 CFU-S反映了造血干细胞的功能及相对数量。从上述实验结果可以看出, RM-2小鼠 4.0 Gy照射后 9 d造血功能三项指标均高于 ICR小鼠, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。尤其 CFU-S数量是 ICR小鼠的 1.5倍。

基金项目: 国家自然科学基金(30770645)、天津市自然科学基金(08JCYBJC07300)、(81072237)、中国医学科学院青年基金(1025)、放射所发展基金(SR0826)

作者单位: 中国医学科学院北京协和医学院放射医学研究所, 天津市分子核医学重点实验室天津 300192

作者简介: 吴红英(1974-), 女, 助理研究员, 研究方向: 放射生物学、实验动物学

通讯作者: 孟爱民, 研究员, 博士生导师

表 1 ¹³⁷Cs γ 射线 4 0Gy照射后 9d对小鼠造血功能的影响 ($\bar{x}\pm s$ n= 12)

组别	开始体重 (g)	结束体重 (g)	脾指数 (mg)/(g)	CFU— S (个)	DNA 吸光度 /根股骨
IRM— 2正常组	25. 2 \pm 0. 3	26. 3 \pm 0. 86	3. 96 \pm 0. 47	0	1. 753 \pm 0. 225
IRM— 2照射组	25. 6 \pm 1. 1	26. 2 \pm 1. 2	2. 44 \pm 0. 22	20. 3 \pm 8. 1 ²⁾	1. 709 \pm 0. 121 ²⁾
CR正常组	25. 5 \pm 1. 93	29. 6 \pm 2. 33	3. 38 \pm 0. 46	0	1. 674 \pm 0. 162
CR照射组	24. 8 \pm 1. 9	27. 8 \pm 1. 98	2. 37 \pm 0. 54	9. 50 \pm 6. 95	1. 459 \pm 0. 172

注: IRM— 2小鼠照射组与 CR小鼠照射组 0比较; 1) P< 0. 01; 2) P< 0. 001

表 2 ¹³⁷Cs γ 射线 6 0Gy照射小鼠外周血象的变化 ($\bar{x}\pm s$ n= 12)

组别	WBC ($\times 10^9$ /L)	相对值 (%)	RBC ($\times 10^{12}$ /L)	相对值 (%)	HGB(g/L)	相对值 (%)	HCT(%)	相对值 (%)
IRM— 2正常组	6. 57 \pm 2. 36	100	10. 47 \pm 0. 49	100	13. 97 \pm 0. 63	100	53. 0 \pm 2. 71	100
IRM— 2照射组	4. 93 \pm 0. 84 ²⁾	75. 0	10. 36 \pm 0. 32 ²⁾	98. 95	13. 8 \pm 0. 41 ¹⁾	98. 78	51. 7 \pm 1. 47 ²⁾	97. 55
C57BL/6正常组	8. 03 \pm 1. 35	100	9. 97 \pm 0. 22	100	13. 9 \pm 0. 29	100	50. 83 \pm 1. 03	100
C57BL/6照射组	3. 37 \pm 0. 25	40. 6	9. 36 \pm 0. 25	93. 88	12. 97 \pm 0. 34	93. 31	47. 7 \pm 1. 48	93. 84

注: IRM— 2小鼠照射组与 C57BL/6小鼠照射组比较; 1) P< 0. 01; 2) P< 0. 001

外周血白细胞、红细胞、血红蛋白、红细胞压积等在机体受照后也会出现剂量依赖性下降。6 0Gy射线照射小鼠时也观察到了这些指标的下降。在照射后 45 d时,红细胞、血红蛋白、红细胞压积恢复较显著,而白细胞的恢复较慢。IRM— 2、C57BL/6小鼠的恢复趋势相同。但 IRM— 2小鼠比 C57BL/6小鼠恢复的要快。实验结果显示,IRM— 2小鼠造血干细胞功能及辐射损伤恢复功能较强。所以,IRM— 2小鼠更适合应用于电离辐射对造血系统的损伤、肿瘤放疗等方面的研究。

参考文献:

[1] 郝晓玲,吕秋军,周喆,等.补中益气丸等中成药的辐射防护作用[J].中华放射医学与防护杂志,2006,26(4):366—369.
[2] 王月英.IRM— 2近交系小鼠生物学特性与应用前景[J].实验动物科学与管理,2004,21(2):39—41.
[3] 周美娟,郑莉,丁振华.辐射对造血系统的影响[J].国外医学·放射医学核医学分册,2004,28(3):139—142.
(收稿日期:2010—04—22)

(上接 402页)

参考文献:

[1] 殷蔚伯,谷铣之.肿瘤放射治疗学[M].第 4版.北京:中国协和医科大学出版社,350—1352.
[2] Zackrisson B,Mercke C,Stander H, et al. A systematic overview of radiation therapy effects in head and neck cancer[J]. Acta Oncol,2003,42(5—6):443—461.
[3] Pow EH,McMillan AS,Leung WK, et al. Oral health condition in southern Chinese after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: extent and nature of the problem. Oral Dis,2003,9(4):196—202.
[4] Nicolaou Galitis Q, Sotiropoulou—Lontou A, Velegraki A, et al. Oral candidiasis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy with amifostine cytoprotection[J]. Oral Oncol,2003,39(4):397—401.
[5] Kam MK, Chau RM, Suen J, et al. Intensity—modulated radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma: Dosimetric advantage over conventional plans and feasibility of dose escalation[J]. Radiat Oncol Biol Phys,2003,56(1):145—157.
[6] Wei W, Sham JS. Present status of management of nasopharyngeal carcinoma[J]. Expert Rev Anticancer Ther,2001,1(1):134—141.
[7] 赵充,卢泰祥,韩非,等.139例鼻咽癌调强放疗的临床研究[J].中华放射肿瘤学杂志,2006,15(1):1—6.
[8] Kam MK, Teo PM, Chau RM, et al. Treatment of Nasopharyngeal carcinoma with intensity—modulated radiotherapy: the Hong Kong experience[J]. Radiat Oncol Biol Phys,2004,60(5):1440—1450.
[9] Scranzio C, Le Veque F, Swann RS, et al. Effect of Pilocarpine during radiation therapy: results of RTOG97—09, a Phase III randomized study in head and neck cancer patients[J]. J Support Oncol,2006,4(5):252—258.
[10] Antonadou D, Pepelessi M, Synodinou M, et al. Prophylactic use of amifostine to prevent radiochemotherapy—induced mucositis and xerostomia in head— and— neck cancer[J]. Radiat Oncol Biol Phys,2002,52(3):739—747.
[11] Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, Ewer MS, Bianchini JR, Gams RA. Delayed administration of dexrazoxane provides cardioprotection for patients with advanced breast cancer treated with doxorubicin—containing therapy[J]. J Clin Oncol,1997,15(4):1333—1340.
[12] Jelluma AP, Spelman BJ, MM Icr MJ, et al. Radiotherapy alone versus radiotherapy with amifostine 3 times weekly versus radiotherapy with amifostine 5 times weekly: A prospective randomized study in squamous cell head and neck cancer[J]. Cancer,2006,107(3):544—553.
[13] Padraín W, Julie A. Oral pilocarpine: new preparation. Xerostomia after radiation therapy: moderately effective but costly[J]. Prescrire Int,2002,11(60):99—101.
[14] 秦俭,王仁生,滕家安,等.肿节风浸膏对氧自由基作用的研究[J].时珍国医国药,2007,18(12):2945—2946.
[15] 秦俭,王仁生.肿节风浸膏对腮腺急性放射损伤作用的实验研究[J].中华放射医学与防护杂志,2008,28(4):628—631.
[16] 秦俭,滕家安,王仁生,等.肿节风浸膏对腮腺早期放射损伤作用的实验研究[J].中国辐射卫生,2008,17(4):269—271.
(收稿日期:2010—06—21)