

## 急性放射性皮肤损伤 Wistar 大鼠模型的建立

<https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2981>陈宇彤<sup>1, 2, 3</sup>, 李晨晨<sup>1, 2, 3</sup>, 刘阳<sup>1, 2, 3</sup>, 郑亚琴<sup>4</sup>, 杨喜花<sup>5</sup>, 安美文<sup>1, 2, 3</sup>

2095-4344.2981

投稿日期: 2020-01-20

送审日期: 2020-01-21

采用日期: 2020-03-03

在线日期: 2020-07-31

中图分类号:

R441; R318; R146

文章编号:

2095-4344(2021)02-00237-05

文献标识码: B

## 文章快速阅读:

## 文章特点一

△使用了 32, 38 和 45 Gy X 射线建立急性放射性皮肤损伤大鼠模型;

△根据大鼠皮肤形态、体质量以及炎症浸润确定 38 Gy X 射线照射大鼠后臀部建立急性放射性皮肤损伤大鼠模型。

Wistar 大鼠  
单次局部  
照射 32,  
38, 45 Gy

## 检测指标:

(1) 体质量变化;  
(2) 皮肤外观观察及皮炎情况;  
(3) 辐射后 3 周及 2 个月进行苏木精-伊红染色, 观察炎症浸润情况。

38 Gy X 射线照射组大鼠皮肤符合急性放射性皮炎标准, 对大鼠的皮肤组织进行免疫荧光双标检测 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 及巨噬细胞的定位, 验证模型可靠性。

## 结论:

建立的急性 X 射线皮肤损伤动物模型易于观察、方便取材、皮炎表现明显, 安全性较高, 是一种理想的动物模型。

## 文题释义:

**急性放射性皮肤损伤:** 短时间内接受大剂量的放射线照射后, 会引起急性皮肤损伤, 称急性放射性皮肤损伤, 与照射剂量、时间、曝光速率及个体素质有关, 多数发生于接受放射线治疗的患者, 轻者出现红斑, 严重者可发生水肿、大疱或溃疡, 并常伴有白细胞减少或不同程度的全身症状, 严重者危及生命。

**动物模型:** 以人本身作为对象探讨疾病发生机制在道义上和方法上会受到限制, 动物模型的间接研究可以更准确地观察模型的实验结果并与人类疾病进行比较研究, 有助于更方便、更有效地认识人类疾病的发生发展规律, 研究防治措施, 常见的有大鼠、小鼠、兔、猪等。

## 摘要

**背景:** 目前国内构建放射性皮肤损伤动物模型所用的射线类型、动物种类、照射方式和部位均不一致, 临床上对于放射性皮肤损伤的预防策略和治疗标准并未统一。

**目的:** 建立合适的大鼠急性放射性皮肤损伤模型。

**方法:** 60 只 Wistar 大鼠随机分为 32, 38 和 45 Gy X 射线照射组 ( $n=18$ ) 以及空白对照组 ( $n=6$ )。32, 38 和 45 Gy X 射线照射组对大鼠臀部进行单次局部照射, 剂量为 300 cGy/min, 源皮距 100 cm, 照射时间分别为 10.67, 12.67, 15 min; 空白对照组不照射。实验于 2018-01-08 经山西省肿瘤医院动物伦理委员会审核批准, 批准编号: GDY2018001。

**结果与结论:** ①照射后大鼠未出现意外死亡情况, 照射后 3 d 内大鼠体质量有所下降, 之后呈增加趋势, 在伤口最严重时(约第 15 天)体质量又有所下降, 2 d 后恢复正常; ②照射后 2 周随着 X 射线剂量的增加, 大鼠皮肤附属器官结构被破坏, 大量炎症细胞浸润, 可见急性放射性皮肤损伤在一定范围内呈现剂量依赖; 另一方面, 照射时间越长, 38 与 45 Gy 组的大鼠皮肤损伤程度越深; 而照射剂量相同时, 急性放射性皮肤损伤的严重程度也与时间呈正相关性; ③以 38 Gy 辐照大鼠皮肤 6 h 至 15 d, 巨噬细胞被激活, NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎症因子表达增强, 炎症反应明显, 验证了模型的可靠性; ④结果表明, 采用直线加速器产生 X 射线建立的急性 X 射线皮肤损伤动物模型具有易于观察、取材方便、皮炎表现明显的特点, 且安全性较高, 是一种理想的动物模型。

**关键词:** X 射线; 放射性皮肤损伤; 局部照射; 动物模型; Wistar 大鼠; 炎症; 巨噬细胞; NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3

**缩略语:** NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3: NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3

## Establishment of an acute radioactive skin injury model in Wistar rats

Chen Yutong<sup>1, 2, 3</sup>, Li Chenchen<sup>1, 2, 3</sup>, Liu Yang<sup>1, 2, 3</sup>, Zheng Yaqin<sup>4</sup>, Yang Xihua<sup>5</sup>, An Meiwen<sup>1, 2, 3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, Shanxi Province, China; <sup>2</sup>Shanxi Provincial Key Laboratory of Material Strength and Structural Impact, Taiyuan 030024, Shanxi Province, China; <sup>3</sup>Experimental Center for Nanomaterials and Regenerative Medicine, Taiyuan 030024, Shanxi Province, China; <sup>4</sup>Radiotherapy Technology Center, <sup>5</sup>Animal Laboratory Center, Shanxi Cancer Hospital, Taiyuan 030013, Shanxi Province, China

Chen Yutong, Master candidate, Institute of Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, Shanxi Province, China

**Corresponding author:** An Meiwen, MD, Professor, Institute of Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, Shanxi Province, China

<sup>1</sup>太原理工大学生物医学工程研究所, 山西省太原市 030024; <sup>2</sup>山西省材料强度与结构冲击重点实验室, 山西省太原市 030024; <sup>3</sup>纳米生物材料与再生医学实验中心, 山西省太原市 030024; 山西省肿瘤医院, <sup>4</sup>放疗技术中心, <sup>5</sup>动物实验中心, 山西省太原市 030013

**第一作者:** 陈宇彤, 女, 1995 年生, 辽宁省鞍山市人, 汉族, 太原理工大学在读硕士, 主要从事软组织力学研究。

**通讯作者:** 安美文, 博士, 教授, 太原理工大学生物医学工程研究所, 山西省太原市 030024; 山西省材料强度与结构冲击重点实验室, 山西省太原市 030024; 纳米生物材料与再生医学实验中心, 山西省太原市 030024

<https://orcid.org/0000-0001-9827-8665> (陈宇彤)

**基金资助:** 国家自然科学基金项目 (31870934), 项目负责人: 安美文

**引用本文:** 陈宇彤, 李晨晨, 刘阳, 郑亚琴, 杨喜花, 安美文. 急性放射性皮肤损伤 Wistar 大鼠模型的建立 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(2):237-241.



## Abstract

**BACKGROUND:** Nowadays, the ray types, animal species, irradiation modes and sites used in the establishment of animal models of radioactive skin injury in China are not consistent. Meanwhile, there is no uniform standard for the prevention and treatment of radioactive skin injury in clinical practice.

**OBJECTIVE:** To establish an ideal rat model of acute radioactive skin injury.

**METHODS:** Sixty Wistar rats were randomly divided into 32, 38, 45 Gy X-ray groups ( $n=18$ ) and non-irradiated group ( $n=6$ ). Three X-ray irradiated groups (32, 38, 45 Gy) received single irradiation of the right posterior buttock, 300 cGy/min, 100 cm between the skin and irradiated source, for 10.67, 12.67, and 15 minutes respectively. No irradiation was given in the non-irradiated group. The study protocol was approved by the Animal Ethic Committee of Shanxi Cancer Hospital (approval No. GDY2018001).

**RESULTS AND CONCLUSION:** There was no accidental death after irradiation. The body mass of the rats decreased within 3 days after irradiation, and then increased. Irradiated wound was severest at about 15 days after irradiation, and the body mass dropped again, and returned to normal 2 days later. Two weeks after radiation, with the increase of X-ray dose, the structures of rat's skin appendages were destroyed and a large number of inflammatory cells were infiltrated, indicating that the acute radiation skin injury was dose-dependent within a certain range. On the other hand, with the increase of irradiation time, the skin wound in the 38 and 45 Gy groups gradually deepened. At the same dose, the severity of acute radiation skin injury was also positively correlated with the irradiation time. After 6 hours to 15 days of 38 Gy irradiation on the rat skin, macrophages were activated, and the expression of Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3 was enhanced, indicating obvious inflammatory response, and thereby verifying the reliability of the model. To conclude, it is an ideal animal model of acute X-ray skin injury model made by the X-ray linear accelerator, which is easily observed and obtained, with obvious skin inflammation expression. This model is also of high safety and strong tolerance.

**Key words:** X-ray; radioactive skin injury; local irradiation; animal model; Wistar rats; inflammation; macrophage; Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 3

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 31870934 (to AMW)

**How to cite this article:** CHEN YT, LI CC, LIU Y, ZHENG YQ, YANG XH, AN MW. Establishment of an acute radio skin injury model in Wistar rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(2):237-241.

## 0 引言 Introduction

目前临床上 50%–60% 的肿瘤患者选择进行放射治疗，因此放射治疗已成为一种常见的局部治疗方法<sup>[1]</sup>。然而，放射线在作用于病变肿瘤的同时，也会对其周围正常的皮肤组织造成损伤。研究发现，约 95% 的患者在接受放疗或放疗后都会出现皮肤红肿，甚至溃疡，且常伴有脱发脱屑，这说明放射性皮肤损伤是最为常见放射治疗并发症之一<sup>[2]</sup>。X,  $\gamma$ ,  $\beta$  等射线辐照后对局部皮肤组织发生损伤的反应均被称作放射性皮肤损伤<sup>[3]</sup>，可严重影响患者的生存质量，且长期不愈或反复发作，进而引发全身感染，危害患者生命，同时延误治疗进程，并影响治疗效果<sup>[4]</sup>。目前临床上对于放射性皮肤损伤的发病机制及如何预防放疗后皮肤损伤的出现及如何加以治疗并不清楚，因此，研究放射性皮炎的发病机制、预防及治疗尤为重要，所以建立合理可靠的动物模型对于研究其发病机制不可或缺。目前国内放射性皮肤损伤动物模型构建过程中所应用的射线类型、动物种类、照射方式和部位均不一致<sup>[5-9]</sup>，且剂量的选择也与临床使用剂量不尽一致，因而这使得所建立的辐射后大鼠皮肤损伤状态不符合人体放射性皮肤损伤的特点。因此，此次实验拟通过不同剂量的 X 射线单次照射大鼠右后臀，建立合适的急性放射性皮肤损伤模型。

## 1 材料和方法 Materials and methods

### 1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于 2018 年 10 至 12 月在山西省肿瘤医院放疗技术中心及动物实验中心完成。

### 1.3 材料

1.3.1 实验动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 60 只，鼠龄 8 或 9 周，体质量 (300±20) g，于北京维通利华实验动物技术有限公司购买，动物许可证号 SCXK(京)2016-0001，在山西省肿瘤医院动物实验中心饲养。所有实验动物均一鼠一笼饲养，自由饮水摄食。饲养间温度为 (25±2) °C，湿度 50%–70%，12 h 明暗交替。所有动物实验操作均遵循中华人民共和国《实验动物管理条例》以及山西省肿瘤医院实验动物中心的操作指南，同时实验于 2018-01-08 经山西省肿瘤医院动物伦理委

员会审核批准，批准编号：GDY2018001。

1.3.2 实验试剂及仪器 一抗购自英国 abcam 公司；医用电子线直线加速器 4097(X 射线) 购自德国西门子公司；组织包埋机 (Histocentre 3)，全自动组织脱水机 (Excelsior)，石蜡切片机 (Finesse 325) 购自英国 Shandon 公司；荧光显微成像系统 (IX70) 购自日本 Olympus 公司；光学显微镜、倒置荧光显微镜购自日本尼康公司。

### 1.4 方法

1.4.1 实验动物分组及模型建立 60 只大鼠随机分为 32, 38, 45 Gy X 射线照射组 ( $n=18$ ) 以及空白对照组 ( $n=6$ )。照射前，腹腔注射 0.6% 戊巴比妥钠溶液麻醉，以医用电子线直线加速器 (图 1A) 发射的射线单次局部照射，剂量为 300 cGy/min，源皮距 100 cm；照射野为右后臀直径 3 cm 的圆形区域，见图 1B。32, 38, 45 Gy X 射线照射组照射时间分别为 10.67, 12.67 和 15 min。照射完放回笼子，自由饮水摄食。空白对照组除不照射外其余操作与 X 射线照射组相同。

#### 急性放射性皮肤损伤大鼠模型在造模过程的相关问题

造模目的：建立急性放射性皮肤损伤模型

选择动物的条件：SPF 级雄性 Wistar 大鼠 60 只，鼠龄 8 或 9 周，体质量 (300±20) g

动物来源及品系：由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，动物许可证号 SCXK(京)2016-0001

造模技术描述 单次局部照射，剂量为 300 cGy/min，源皮距 100 cm，照射时间分别为 10.67, 12.67 和 15 min

动物数量及分组 60 只大鼠随机分为 32, 38 和 45Gy X 射线照射组 ( $n=18$ ) 以及空白对照组 ( $n=6$ )

造模后观察指标：①大鼠体质量；②大鼠皮肤外观大体观察及组织学变化；③大鼠皮肤表面巨噬细胞 F4/80 及炎症因子 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3) 定位及表达情况

伦理委员会批准：实验于 2018-01-08 经山西省肿瘤医院动物伦理委员会审核批准，批准编号：GDY2018001

1.4.2 动物大体观察 照射后每天同一时间拍照，称取体质量。记录大鼠何时出现红肿、何时破损或有渗出液。照射处皮肤组织皮炎得分遵循 Douglas and Fowler 评分方法<sup>[10]</sup>：0 分

为正常皮肤；0.75分为轻微红肿；1分为严重红肿；1.75分为开始脱毛；2分为脱毛面积为25%；2.25分为脱毛面积为33%；2.5分为脱毛面积为50%；2.75分为脱毛面积为66%；3分为脱毛面积>66%；3.25分为大部分区域脱毛且有渗出物；3.5分为大部分区域脱毛，有渗出物且表面有坏死。

**1.4.3 苏木精-伊红染色** 在辐射后第3周及2个月时，每组各取6只大鼠，剩余6只大鼠继续留观直至伤口愈合，提取皮肤组织样本，置于40 g/L多聚甲醛中性固定液固定24 h以上。样本脱水，将透明后的组织透蜡15 min并包埋；蜡块固定在病理切片机上连续切片；60℃烤片后，依次放入二甲苯I(20 min)、二甲苯II(20 min)溶液、梯度乙醇以及蒸馏水中进行清洗；最后苏木精和伊红染色，脱水封固，光学显微镜观察病理变化。

**1.4.4 免疫荧光染色** 使用38 Gy的X射线辐照大鼠，辐照方式与模型建立过程一致，选取0 h未照射组，照射后6 h应激反应组，伤口出现红斑的48 h，伤口表征最严重的15 d及伤口刚开始愈合的18 d五个时间点的皮肤样本观察大鼠皮肤中NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor pyrin domain containing 3, NLRP3)及巨噬细胞F4/80的表达和定位。皮肤石蜡样本脱蜡至水，置于EDTA抗原修复缓冲液进行抗原修复，3%牛血清白蛋白封闭，加入配置好的一抗，4℃孵育过夜，加入与一抗相同种属的二抗，避光室温下孵育50 min，滴加DAPI染液复染细胞核，抗荧光淬灭封片剂封固，切片于倒置荧光显微镜下观察并采集图像。

**1.5 主要观察指标** ①大鼠体质量；②大鼠皮肤外观大体观察及组织学变化；③大鼠皮肤表面巨噬细胞F4/80及炎症因子NLRP3定位及表达情况。

**1.6 统计学分析** 实验数值均以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示，采用SPSS 22.0软件(美国IBM公司)进行统计分析，图表用软件Origin Pro 8.5(美国OriginLab公司)进行制作，采用单因素方差分析比较各组差异， $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果 Results

**2.1 实验动物数量分析** 实验过程中无患病及死亡，所有大鼠均进入结果分析。

**2.2 不同剂量X射线对大鼠体质量的影响** 大鼠苏醒后饮水摄食正常。照射前后3 d大鼠较少饮食，之后慢慢恢复正常，体质量呈逐渐增加趋势，到了伤口最严重时(约第15天)，32, 38, 45 Gy X射线照射组大鼠体质量又有所下降，之后逐渐恢复并上升，见图2。

**2.3 不同剂量X射线对大鼠皮肤的损伤的差异** 大鼠经不同剂量X射线损伤后，皮肤损伤出现的时间不同，且损伤程度也不同，但都能出现较为明显的皮肤损伤，见图3。照射前后3 d，32, 38, 45 Gy X射线照射组大鼠毛发较乱，并有不同程度的脱毛现象，之后恢复正常；照射后1周内各组大鼠辐照处皮肤无明显变化；照射后第2周，32 Gy X射线照射组大鼠皮肤仅有轻微红斑、脱皮，并未出现破损；而38 Gy X射线照射组大鼠在(14.8±2.3) d时皮肤出现破损，45 Gy X射线照射组大鼠在(14.7±1.1) d出现皮肤破损，2组出现伤口破

损时间接近。38 Gy X射线照射组皮肤伤口最严重的时间为(17.3±4.5) d，而45 Gy组则在(18.3±3.4) d。照射后第4周，32 Gy X射线照射组大鼠皮肤肉眼可见基本恢复正常；38和45 Gy X射线照射组大鼠皮肤逐渐好转，伤口范围不再扩大。38 Gy X射线照射组大鼠皮肤照射后第10周伤口恢复良好，结痂处痂皮脱落，无毛发生长。照射后3个月(约90 d)，45 Gy X射线照射组的大鼠皮肤仍有部分伤口未愈合，但伤口处毛发生长与38 Gy X射线照射组相似，见图4。

**2.4 不同剂量X射线对大鼠皮肤组织病理学损伤** 苏木精-伊红染色显示，空白对照组大鼠皮肤表皮层细胞排列清晰，皮肤附属器结构完整。照射后第3周，32 Gy X射线照射组大鼠皮肤表皮层角化物增多，皮肤附属器及血管结构较完整，颗粒层及棘层轻微增厚；38 Gy X射线照射组大鼠皮肤附属器毛囊结构明显减少；45 Gy X射线照射组大鼠皮肤表皮层中部分组织坏死；32 Gy X射线照射组大鼠皮肤真皮层中少量炎症细胞浸润，无明显肿胀，胶原纤维基本正常，38 Gy X射线照射组大鼠皮肤真皮层中皮肤附属器结构被破坏，肿胀明显，大量炎症细胞浸润，有较少血管壁增厚的毛细血管出现；所以32 Gy X射线照射组大鼠皮肤表现为轻度炎症反应；38 Gy X射线照射组大鼠皮肤表现为中度皮肤炎症反应，45 Gy X射线照射组大鼠皮肤表现为重度皮肤炎症反应。照射后2个月，3组大鼠皮肤附属器皮脂腺、毛囊数量都明显减少，32 Gy X射线照射组大鼠皮肤角化物增多，而45 Gy X射线照射组的大鼠皮肤角化过度或不全；32 Gy X射线照射组大鼠皮肤表皮明显增厚；38和45 Gy X射线照射组大鼠真皮层中有淋巴细胞浸润，肉芽组织增生明显，见图5。

**2.5 急性放射性皮肤损伤病程变化规律的验证** 38 Gy X射线照射组经X射线照射后，皮肤遵循脱毛-红肿-出现炎症-溃瘍-愈合的病程规律，符合急性放射性皮炎标准<sup>[11]</sup>，采用免疫荧光染色检测进行大鼠皮肤中炎症因子NLRP3及巨噬细胞F4/80的定位，以验证此模型的可靠性。

结果发现正常组织中双阳性表达的细胞中存在皮肤附属器较少，且NLRP3及F4/80表达量较低，照射后6 h，NLRP3及巨噬细胞F4/80的表达量明显增加，且与正常对照组差异有显著性意义( $P < 0.05$ )，主要分布在表皮和真皮层中的皮肤附属器中，F4/80阳性细胞更多分布在真皮深处；到了照射后48 h，分布位置基本不变，但是NLRP3及巨噬细胞F4/80的荧光表达量明显增多，与正常对照组差异有显著性意义( $P < 0.01$ )；照射后15 d，NLRP3及巨噬细胞F4/80表达量下降，双阳性细胞少量存在于表皮层中；照射后18 d，NLRP3及F4/80阳性细胞基本分布在表皮层中，表达量低于正常对照组(图6)。说明38 Gy辐照大鼠皮肤后，大鼠皮肤表面巨噬细胞被激活，氧化应激释放NLRP3炎症小体，大鼠皮肤辐照后皮肤炎症表现明显，证明了本模型的可靠性。

## 3 讨论 Discussion

目前，恶性肿瘤已经成为全世界发病率和死亡率最高的疾病之一，70%以上的患者均需接受不同程度的放射治疗<sup>[12]</sup>。

放射皮肤损伤是放射治疗后的常见并发症之一，临床上患者局部皮肤表现为瘙痒红肿，有渗出液，有的患者皮肤还会出现感染、出血甚至溃疡等，且伤口出现及治疗时间较长，治愈效果不佳<sup>[13]</sup>。严重者可能会导致患者中断治疗过程，甚至放弃，患者的生存质量和治疗效果受到了极大的影响。因此目前研究的一大热点是如何预防并治疗放射性皮肤损伤。所以为了研究放射性皮肤损伤发病机制并在临床上应用，并预防和治疗这种损伤的发生，就需要建立一种合适、可靠且能反映临床病理特征的放射性皮肤损伤动物模型。

目前放射性皮炎通常选取大鼠和小鼠作为研究的动物模型，也有采用猪和兔的模型，但体型较大，费用较高<sup>[14-15]</sup>。照射部位多是背部或四肢（后肢）处皮肤。但由于小鼠个头较小，局部皮肤不易受到辐射，所以此次实验选用 Wistar 雄性大鼠作为造模动物。从射线的选择来说，HOLLER 等<sup>[16-25]</sup> 分别采用<sup>60</sup>Co 射线、β 射线、γ 射线和高能电子线建立大鼠放射性皮肤损伤模型，其中<sup>60</sup>Co 射线源的保存和防护比较复杂，而其中 X 射线是临床上肿瘤患者进行治疗时最常用的，其在照射野内剂量分布均匀且准确可靠，穿透性强，无污染，如照射部位选择后臀部，就可以更好地避免大鼠因 X 射线较强的穿透性而导致的放射性毒性反应。所以此次实验选择 X 射线进行大鼠后臀部造模实验。

照射剂量的选择既应该符合临床使用剂量的范围，又要保证较高的动物生存率<sup>[26]</sup>。当评定放射性皮肤损伤时使用大鼠作为动物模型，剂量应调整到与临床患者使用剂量相似的数值，如大鼠受到 40 Gy 的照射剂量所显现的皮肤损伤状态就与患者放射剂量累计至 16-20 Gy 下的皮肤情况类似<sup>[26]</sup>。当照射剂量小于 35 Gy 时<sup>[26]</sup>，大鼠受到照射的区域皮肤中病理变化不明显，且伤口出现创面较轻或愈合时间较短，不符合人体放射性皮肤损伤的基本要求；当照射剂量大于 50 Gy 时，大鼠在辐射过程中可能较难承受如此大剂量而出现死亡。当照射剂量选择为 38, 43 和 45 Gy 时，大鼠照射区域皮肤的病理改变分别与急性放射性皮炎及溃疡相似<sup>[26]</sup>。所以作者选用 32, 38 和 45 Gy 三种照射剂量。

从大体观察结果可见，大鼠的体质量在照射后前 3 d 内有下降，但之后呈增加趋势，到了伤口最严重时（约第 15 天），大鼠体质量又下降，2 d 后恢复正常。病理学检测结果分析可知，32 Gy X 射线照射组的大鼠皮肤损伤程度较轻，皮肤结构较为完整，为轻度炎症反应；38 Gy X 射线照射组大鼠皮肤在照射后第 18 天皮肤附属器减少，表皮层局部增厚，真皮组织中炎症细胞浸润，与李洋等<sup>[27]</sup> 以 40 Gy 照射大鼠后，皮肤损伤及恢复情况相似，为中度炎症反应。45 Gy X 射线照射组大鼠的皮肤表皮层可见大面积上皮细胞坏死，大量炎症细胞浸润，附属器官结构被破坏，为重度炎症反应。由此可见，急性放射性皮肤损伤在一定范围内呈现剂量依赖。另一方面，时间越长，38 和 45 Gy X 射线照射组大鼠皮肤出现损伤也逐渐加深。因此，剂量相同时，急性放射性皮肤损伤严重程度与时间呈正相关性。

作者在此次实验中使用了 32, 38 和 45 Gy X 射线建立大鼠急性放射性皮肤损伤动物模型，其中 32 Gy X 射线照射组大鼠皮肤损伤程度较轻，45 Gy X 射线照射组大鼠在 3 个月

内未愈合，38 Gy X 射线照射组照射野内的皮肤遵循毛发脱落、伤口出现红肿、有炎症反应、溃疡直至伤口愈合的放射性皮肤损伤规律特点，且受照射处皮肤组织表皮层存在部分坏死，真皮层内大量炎症细胞浸润，皮肤附属器消失，符合急性放射性皮炎的标准。且照射后 6 h-15 d, 38 Gy X 射线照射组大鼠皮肤中巨噬细胞被激活，炎症因子 NLRP3 表达明显增高，大鼠皮炎反应明显，验证了模型的可靠性。综上，此次实验选取的模型易于观察、方便取材、皮炎表现明显，安全性较高。综合考虑，可将选择 38 Gy X 射线照射大鼠后臀部建立急性放射性皮肤损伤模型。

**作者贡献：**实验设计为第一作者，通讯作者，第二作者和第三作者，实验参与者为全体作者，第一作者成文，通讯作者和第三作者审核。

**经费支持：**该文章接受了“国家自然科学基金项目(31870934)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析 & 报道。

**利益冲突：**文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

**机构伦理问题：**实验于 2018-01-08 经山西省肿瘤医院动物伦理委员会审核批准，批准编号：GDY2018001。实验过程遵循了国际兽医学编辑协会《关于动物伦理与福利的作者指南共识》和本地及国家法规。实验动物在戊巴比妥钠麻醉下进行所有的手术，并尽一切努力最大限度地减少其疼痛、痛苦和死亡。

**写作指南：**该研究遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。

**文章查重：**文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审：**文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

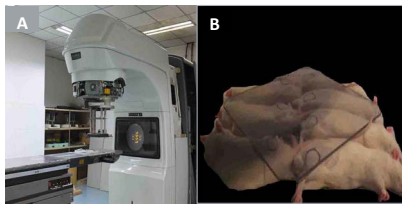
**文章版权：**文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明：**这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

## 4 参考文献 References

- [1] BRODIN NP, VELCICH A, GUHA C, et al. A Model for Precise and Uniform Pelvic- and Limb-Sparing Abdominal Irradiation to Study the Radiation-Induced Gastrointestinal Syndrome in Mice Using Small Animal Irradiation Systems. *Dose Response*. 2017;15(1):1559325816685798.
- [2] MCQUESTION M. Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update. *Semin Oncol Nurs*. 2011;27(2):e1-17.
- [3] GONG W, GUO M, HAN Z, et al. Mesenchymal stem cells stimulate intestinal stem cells to repair radiation-induced intestinal injury. *Cell Death Dis*. 2016;7(9):e2387.
- [4] 王帅. 载血管生长因子壳聚糖纳米粒在防治放射性皮肤损伤中的应用及其作用机制的探讨 [D]. 苏州: 苏州大学, 2016.
- [5] MEI J, ZHAO S, QIAN L, et al. Hydrogen protects rats from dermatitis caused by local radiation. *J Dermatolog Treat*. 2014;25(2):182-188.
- [6] 倪晨, 王贵均, 赵爱国. β 射线致皮肤放射性损伤动物模型的建立 [J]. *中药新药与临床药理*, 2011,22(2):224-225.
- [7] 周迎会, 仇灏, 徐岚, 等. 电子射线局部照射大鼠 I / III 型胶原表达及基质金属蛋白酶改变的研究 [J]. *实验动物与比较医学*, 2006,26(4):227-230.
- [8] OKUNIEFF P, XU J, HU D, et al. Curcumin protects against radiation-induced acute and chronic cutaneous toxicity in mice and decreases mRNA expression of inflammatory and fibrogenic cytokines. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006;65(3): 890-898.
- [9] 周迎会, 吴士良, 王秀珍, 等. β 和 γ 射线放射性皮肤损伤动物模型的初步研究 [J]. *辐射防护*, 2005,25(6):39-43,73.
- [10] DOUGLAS BG, FOWLER JF. The effect of multiple small doses of x rays on skin reactions in the mouse and a basic interpretation. *Radiat Res*. 1976;66(2):401-426.
- [11] 王红光, 曹卫红, 邹晓防, 等. 酸性成纤维细胞生长因子表达对急性放射性皮肤溃疡创面修复的影响 [J]. *中国临床康复*, 2005,9(30):107-109,275.
- [12] 余毅敏, 杨善民, 洪金省, 等. 小鼠高能 X 射线放射性皮炎动物模型的建立 [J]. *菏泽医学专科学校学报*, 2014,26(2):10-11,68.
- [13] 高红林, 张玉民, 褚丽萍, 等. 不同剂量 X 射线对 BALB/c 小鼠放射性皮肤损伤程度比较 [J]. *中国辐射卫生*, 2016,25(2):161-162,166.
- [14] SONG B, ZHOU T, YANG WL, et al. Programmed cell death in periodontitis: recent advances and future perspectives. *Oral Dis*. 2017;23(5):609-619.
- [15] FORCHERON F, AGAY D, SCHERTHAN H, et al. Autologous adipocyte derived stem cells favour healing in a minipig model of cutaneous radiation syndrome. *PLoS One*. 2012;7(2):e31694.

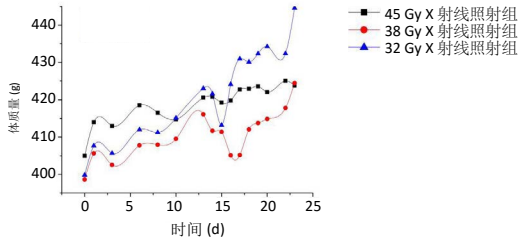




图注：图中 A 为 X 射线仪器——医用电子线直线加速器；B 为大鼠摆放方式

图 1 | 急性放射性皮肤损伤模型建立

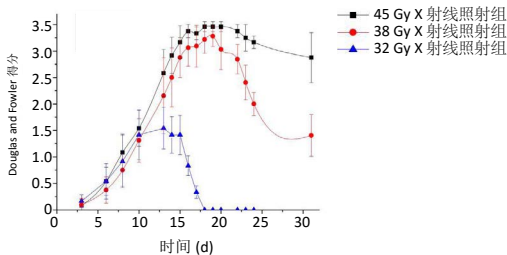
Figure 1 | Establishment of an acute radioactive skin injury model



图注：照射后大鼠体质量整体呈上升趋势，伤口最严重时（约第 15 天），不同剂量照射的大鼠的体质量均发生下降，而后又逐渐恢复

图 2 | 不同剂量 X 射线对大鼠体质量变化情况的影响

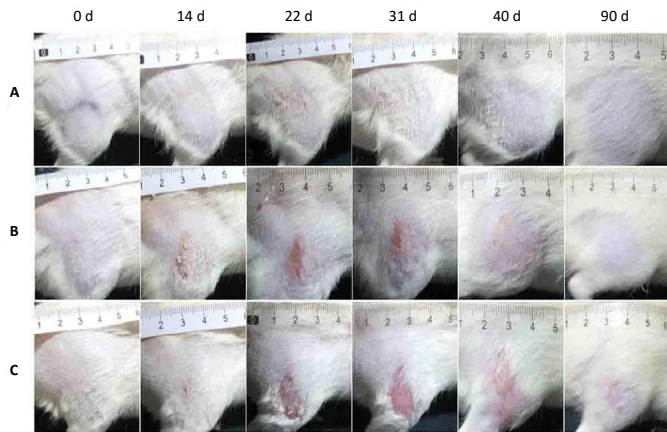
Figure 2 | Effects of different doses of X-ray on the body mass of rats



图注：大鼠经不同剂量 X 射线损伤后，Douglas and Fowler 评分均明显增加，其中 32, 38 Gy X 射线照射组分别在第 13 和 19 天后 Douglas and Fowler 评分逐渐下降，而 45 Gy X 射线照射组的 Douglas and Fowler 评分在 16 d 后基本保持稳定

图 3 | 不同剂量 X 射线照射后大鼠的皮炎得分情况

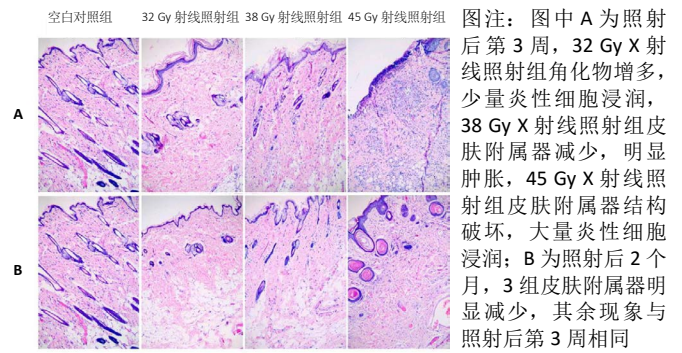
Figure 3 | Douglas and Fowler scores of rats after different doses of X-ray irradiation



图注：图中 A-C 分别为 32, 38, 45 Gy X 射线照射组。32 Gy X 射线照射组损伤程度较轻，38 和 45 Gy X 射线照射组损伤程度较重，且 45 Gy X 射线照射组照射后 90 d 伤口未完全愈合

图 4 | 不同剂量 X 射线对大鼠皮肤的损伤

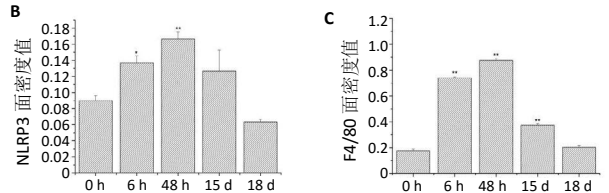
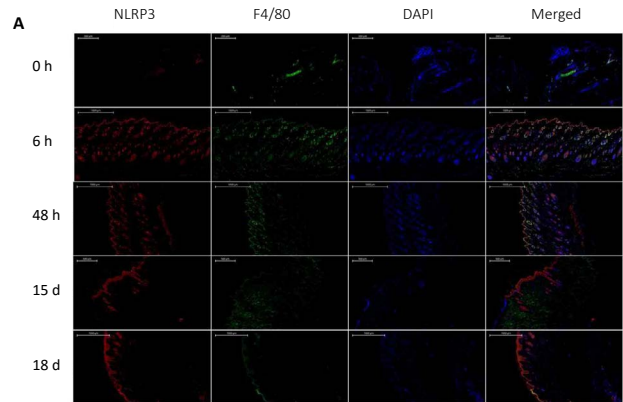
Figure 4 | Damage of different doses of X-ray to the rat skin



图注：图中 A 为照射后第 3 周，32 Gy X 射线照射组角质物增多，少量炎性细胞浸润，38 Gy X 射线照射组皮肤附属器减少，明显肿胀，45 Gy X 射线照射组皮肤附属器结构破坏，大量炎性细胞浸润；B 为照射后 2 个月，3 组皮肤附属器明显减少，其余现象与照射后第 3 周相同

图 5 | X 射线照射对大鼠皮肤的病理损伤（苏木精-伊红染色，×100）

Figure 5 | Pathological damage of X-ray irradiation to the rat skin (hematoxylin-eosin staining, ×100)



图注：图中 A 为巨噬细胞 F4/80 以及 NLRP3 的共定位，B, C 为 NLRP3 以及 F4/80 的表达水平。照射后 6-48 h, F4/80 以及 NLRP3 表达持续增加，且在 48 h 时达到峰值，照射后 15-18 d, F4/80 以及 NLRP3 表达逐渐下降

图 6 | 38 Gy X 射线照射后大鼠皮肤中巨噬细胞 F4/80 以及 NLRP3 的分布及表达情况

Figure 6 | Distribution and expression of NLRP3 and F4/80 in macrophages of the rat skin after 38 Gy X-ray irradiation

[16] HOLLER V, BUARD V, GAUGLER MH, et al. Pravastatin limits radiation-induced vascular dysfunction in the skin. *J Invest Dermatol.* 2009;129(5):1280-1291.  
 [17] DOCTROW SR, LOPEZ A, SCHOCK AM, et al. A synthetic superoxide dismutase/catalase mimetic EUK-207 mitigates radiation dermatitis and promotes wound healing in irradiated rat skin. *J Invest Dermatol.* 2013;133(4):1088-1096.

[18] JOURDAN MM, LOPEZ A, OLASZ EB, et al. Laminin 332 deposition is diminished in irradiated skin in an animal model of combined radiation and wound skin injury. *Radiat Res.* 2011;176(5):636-648.  
 [19] ZHANG S, SONG C, ZHOU J, et al. Amelioration of radiation-induced skin injury by adenovirus-mediated heme oxygenase-1 (HO-1) overexpression in rats. *Radiat Oncol.* 2012;7:4.  
 [20] 谷庆阳, 王德文, 赵梅兰, 等. EGF 和 EGFR 在急性放射性皮肤溃疡组织中的表达水平: 与单纯伤口愈合的对比研究 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2003,21(2):135-138.  
 [21] 沈国良, 陆兴安, 唐俊, 等. 大鼠急性 β 射线皮肤损伤动物模型的建立与应用 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2006,26(6):577-579.  
 [22] 王晶. γ-H2AX 用于辐射生物剂量计研究的动物模型评价 [J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2015,35(5):329-333.  
 [23] 刘秀芳, 李凤玉, 王舒琦, 等. 大鼠电子射线皮肤损伤动物模型的建立 [J]. *山西医药杂志*, 2012,41(4):336-337.  
 [24] 陈强, 程岩, 任淑萍, 等. 放射性皮肤损伤病变规律初探 [J]. *中国实验诊断学*, 2008,12(5):676-677.  
 [25] 龚震宇, 童亚林, 万友华, 等. 高能 X 射线放射性皮肤损伤动物模型的建立 [J]. *中华烧伤杂志*, 2010,26(5):379-381.  
 [26] HARPER JL, FRANKLIN LE, JENRETTE JM, et al. Skin toxicity during breast irradiation: pathophysiology and management. *South Med J.* 2004;97(10):989-993.  
 [27] 李洋, 薛洪范, 闫荣, 等. 水凝胶对大鼠 II 度放射性皮炎创面愈合影响机制探讨 [J]. *社区医学杂志*, 2018,16(14):38-42.