³²P-β 射线致急性放射性皮肤损伤模型的建立及损伤机制

武晓丹^{1, 2, 3, 4}, 王治国^{1, 2, 3, 4}, 战 荣^{1, 2, 3, 4}, 张国旭^{1, 2, 3, 4}



文题释义:

³²P: 同位素³²P发射纯β射线,半衰期为14.263 d,平均能量0.695 MeV,组织平均射程为2-4 mm,核事故发生时,放射性核素³²P沾染到皮 肤上可引起放射性皮肤损伤。

急性放射性皮肤损伤:身体局部皮肤受到一次或短时间(数日)内多次大剂量(α、β、γ射线)外照射所引起的急性放射性皮炎及放射性皮肤溃疡。

摘要

背景:急性放射性皮肤损伤的临床表现为反复发作的坏死性溃疡,其发病机制仍不完全清楚,建立合适的动物模型对其发病机制及预防治 疗的研究具有重要临床价值。

目的:建立急性β射线放射性皮肤损伤模型,初步探究其损伤机制。

方法: 69只SD大鼠随机分为30,45和60 Gy β射线照射组(n=21)及对照组(n=6),采用³²P放射性核素对大鼠背部进行单次局部照射,对照组除 不照射外其余操作与各照射组相同。造模后监测各组大鼠体质量,各照射组分别于照射后第7,15,30,45,60天各取3只大鼠切取皮肤 组织观察损伤情况,包括皮肤外观、苏木精-伊红染色、Masson染色、透射电镜、TUNEL实验观察,另外采用免疫组化、Western Blot观察 皮肤样本中Bcl-2、Bax及P53凋亡相关蛋白的表达。

结果与结论:①照射后大鼠无意外死亡,体质量呈逐渐增加趋势;②大鼠皮肤出现不同程度的表皮层坏死、炎症细胞浸润、毛囊及附属器 减少、胶原纤维断裂,以60 Gy、45 Gy表现明显,血清炎症因子白细胞介素6、肿瘤坏死因子α水平显著升高,呈剂量依赖性;③电镜结果 显示细胞内出现不同程度的线粒体数量减少、空泡化以及核固缩,细胞凋亡程度呈现一定的剂量依赖性;④免疫组织化学及Western Blot 结果显示,照射后皮肤组织P53及Bax蛋白表达增加,Bcl-2蛋白表达减弱,45 Gy、60 Gy β射线组与30 Gy β射线组相比差异有显著性意义(P< 0.05); 60 Gy β射线组与45 Gy β射线组相比差异有显著性意义(P < 0.05); ⑤结果提示,³²P放射性核素45 Gy 及60 Gy 照射大鼠背部可成功建立 急性放射性皮肤损伤动物模型,其机制与凋亡相关因子P53、Bax上调及Bcl-2下调有关,该模型可为放射性皮肤损伤预防治疗及相关机制研 究提供参考。

关键词: ³²P; β射线; SD大鼠; 放射性皮肤损伤; 动物模型; P53; Bax; Bcl-2

Establishment of an acute radioactive skin injury model induced by ³²P-beta ray radiation and the mechanism of iniurv

Wu Xiaodan^{1, 2, 3, 4}, Wang Zhiguo^{1, 2, 3, 4}, Zhan Ying^{1, 2, 3, 4}, Zhang Guoxu^{1, 2, 3, 4}

¹General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110016, Liaoning Province, China; ²Nuclear Background Compound War Trauma Treatment Laboratory, Shenyang 110016, Liaoning Province, China; ³Liaoning Key Laboratory of Nuclear Medicine Molecular Imaging, Shenyang 110016, Liaoning Province, China; ⁴High Quality Disciplines of Department of General Logistics Medicine, Shenyang 110016, Liaoning Province, China Wu Xiaodan, Master, Pharmacist in charge, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110016, Liaoning Province, China Corresponding author: Zhang Guoxu, Master, Chief physician, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Abstract

BACKGROUND: The clinical manifestation of acute radiation skin injury is recurrent necrotic ulcers, and its pathogenesis is still not fully understood. The establishment of a suitable animal model will have important clinical implications for the study of its pathogenesis, prevention and treatment.

¹ 中国人民解放军北部战区总医院核医学科,辽宁省沈阳市 110016;²核背景复合战创伤救治实验室,辽宁省沈阳市 110016;³辽宁省核医学分 子影像重点实验室, 辽宁省沈阳市 110016; 4联勤医学优质学科, 辽宁省沈阳市 110016

第一作者:武晓丹,女,1991年生,山西省大同市人,汉族,2016年天津医科大学毕业,硕士,主管药师,主要从事辐射防护与治疗的研究。 通讯作者:张国旭,硕士,主任医师,中国人民解放军北部战区总医院核医学科,辽宁省沈阳市 110016;核背景复合战创伤救治实验室,辽宁 省沈阳市 110016; 辽宁省核医学分子影像重点实验室, 辽宁省沈阳市 110016; 联勤医学优质学科, 辽宁省沈阳市 110016 https://orcid.org/0009-0008-4632-5675(武晓丹) 36 引用本文:武晓丹,王治国,战莹,张国旭.32P-β射线致急性放射性皮肤损伤模型的建立及损伤机制[1].中国组织工程研究, 2024, 28(14):2173-2179.





中国组织工程研究

www.CJTER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research

OBJECTIVE: To establish a model of acute β -ray radiation skin injury and to investigate the mechanism of injury.

研究原著

METHODS: Sixty-nine Sprague-Dawley rats were randomly divided into 30, 45, 60 Gy 32 P- β -ray groups (n=21 per group) and control group (n=6). A single local irradiation of the back of the rats was performed using 32 P radionuclide. The control group was operated in the same way as the irradiated groups except that it was not irradiated. The body mass and skin appearance of the rats were measured at 7, 15, 30, 45, and 60 days after irradiation. Three rats from each group were selected at each observation time point. The skin injury was observed by hematoxylin-eosin staining, Masson staining, transmission electron microscopy, and TUNEL assay. P53, Bcl-2 and Bax protein levels in the skin were measured by immunohistochemistry and western blot assay.

RESULTS AND CONCLUSION: There was no accidental death after irradiation, and the body mass of rats showed a gradual increase. The rats showed different degrees of epidermal necrosis, inflammatory cell infiltration, reduction of hair follicles and appendages, and collagen fibrillation, which were evident at 60 and 45 Gy. The levels of serum inflammatory factors, interleukin-6 and tumor necrosis factor- α , were significantly increased in a dose-dependent manner. Under the electron microscope, there are varying degrees of mitochondrial reduction, vacuolization and nuclear pyknosis in the cells. The degree of cell apoptosis showed a certain dose-dependence. Immunohistochemistry and western blot results showed an increase in the expression of P53 and Bax proteins and a decrease in the expression of Bcl-2 protein in the skin after irradiation. There were significant differences between the 60 Gy group and the 45 Gy and 30 Gy groups (P < 0.05). To conclude, irradiation with 60 Gy and 45 Gy ³²P radionuclide on the back of rats could successfully establish a practically pre-clinical animal model, and the mechanism is related to the up-regulation of P53 and Bax and the down-regulation of Bcl-2. This model can provide a reference for the establishment of animal models for the study of the mechanism of radiation skin injury and its prevention and treatment. **Key words:** ³²P; β-ray; Sprague-Dawley rat; radioactive skin injury; animal model; P53; Bax; Bcl-2

How to cite this article: WU XD, WANG ZG, ZHAN Y, ZHANG GX. Establishment of an acute radioactive skin injury model induced by ³²P-beta ray radiation and the mechanism of injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28(14):2173-2179.

0 引言 Introduction

随着核技术在各领域的广泛应用,放射性物质给人类带 来许多益处的同时由于其自身的危险属性必然会在使用过程 中发生辐射损害^[1-2]。核事故发生时,皮肤作为人体的第一 道屏障,是辐射的第一个靶器官,放射性核素沾染到人体皮 肤组织表面可引发放射性皮肤损伤 [3-4],其临床表现为发病 缓慢、病程长、反复发作的坏死性溃疡,迁延不愈甚至恶变, 是典型的难愈性创面 [5-7]。核辐射所致皮肤组织损伤程度决 定于射线类型和受照剂量,不同剂量的 α 、 β 、 γ 射线及中子 对皮肤的损伤不全相似,其机制也不完全相同,但皮肤损伤 的表现形式相近^[8-10]。放射性皮肤损伤的分子机制涉及多种 因素,辐射诱导的 DNA 链断裂、炎症反应以及活性氧被认 为是辐射诱发组织损伤的触发因素^[10]。目前认为放射性皮肤 损伤难愈合与照射后产生大量自由基^[10-13]、炎症反应^[12-13], 以及凋亡相关基因^[14-16]、生长因子^[17]、信号通路改变密切相 关^[18]。辐射引起机体细胞产生大量活性氧可损伤 DNA,激活 P53 基因表达,改变 Bcl-2/Bax 比值,进而导致细胞周期阻滞、 DNA 无法修复,诱导细胞进入凋亡状态^[12, 15-16],同时受照后 皮肤组织过度炎症反应抑制细胞增殖及肉芽组织生长,导致 创面难以愈合^[6]。

针对核事故与核辐射突发事件中辐射所致放射性皮肤 损伤,尤其是中重度以上的损伤,一直是临床预防治疗中的 重点及难点^[12-13],研究其致伤机制、生理生化机制以及寻找 有效物理及药物防治手段已成为国内外研究的热点,在研究 中首要的步骤是建立有效可靠的动物模型。国内外有关放射 性核素沾染所致皮肤损伤动物模型构建过程中大多采用电子 线、⁶⁰Co以及X射线照射建立急性放射性皮肤损伤模型,且 在造模过程中的照射剂量、照射方式及损伤程度评价均未统 一^[18-20],所建立的皮肤损伤模型不能完全模拟核沾染所致皮 肤损伤的特点,而放射性核素³²P发射纯β射线,其沾染到 皮肤上可引起放射性皮肤损伤,可作为急性β射线皮肤损伤 的理想放射源。鉴于目前的研究现状,此次实验采用³²P 放 射性核素辐射器敷贴于 SD 大鼠背部模拟建立放射性核素沾 染到皮肤组织引起的β射线皮肤损,通过观察照射后皮肤组 织形态学、炎症反应、细胞凋亡相关基因 (p53、Bax、Bcl-2) 的变化,寻找不同损伤程度放射性皮肤损伤动物模型的最佳 照射剂量,初步探究其致伤机制,以期为β射线所致放射性 皮肤损伤的预防治疗研究提供可靠的动物模型。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验,组间比较采用单因素方差分析。1.2 时间及地点 实验于 2022 年 6 月至 2023 年 1 月在北部 战区总医院动物实验科完成。

1.3 材料

1.3.1 实验动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 69 只,体质量 250-300 g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司,动物许可证号: SCXK (辽)2020-0001,在北部战区总医院动物实验科饲养。标准动物房温度为(22±2)℃,湿度(50±5)%,每隔12 h进行开关灯,饲养笼均设置独立空气净化系统,饲料及纯净水灭菌,待大鼠适应环境1周后称体质量,进行实验操作。实验方案经北部战区总医院动物实验伦理委员会批准,批准号为 2018024号。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》。

1.3.2 实验试剂及仪器 ³²P 同位素溶液购自中国原子高 科股份有限公司,P53 抗体、Bax 抗体、Bcl-2 抗体、内参 Actin(Abcam 公司),HRP-山羊抗兔/小鼠(Servicebio 公 司),TUNEL试剂盒(罗氏公司),苏木精-伊红染液套装、 Masson 染液套装、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6(interleukin 6,IL-6)酶联免疫试剂盒 (Servicebio 公司)。低温高速离心机(贝克曼),透射电子显 微镜(Hitachi 公司),酶标仪(Thermo 公司),光学显微镜(Nikon 公司),倒置荧光显微镜(Nikon 公司)。

1.4 方法

1.4.1 实验动物分组及模型建立 采用随机数字表法将 69 只 SD 大鼠随机分为 4 组,分别为 30 Gy、45 Gy、60 Gy β 射线 组 (*n*=21) 及 0 Gy 对照组 (简称对照组,*n*=6)。制备 ³²P-β 照 射辐射器 (2 cm×2 cm),照射前大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 溶液 (4 mL/kg),背部毛发用剃毛器剃去,将辐射器固定于大

中国组织工程研究 Chinese Journal of Tissue Engineering Research www.CJTER.com

鼠背部皮肤 2 cm×2 cm 方形区域, 吸收剂量分别为 30 Gy、 45 Gy 以及 60 Gy。照射完放回笼子饲养,自由饮水摄食。对 照组除不照射外其余操作与各照射组相同。

³² Ρ-β 射线致急性	放射性皮肤损伤模型在造模过程中的相关问题
造模目的	建立 ³² P-β 射线致急性放射性皮肤损伤模型及损伤机制初探
模型与所研究疾 病的关系	³² P-β 射线致急性放射性皮肤损伤模型,为核沾染所致皮肤损伤 机制及预防治疗药物的研究提供可靠的动物模型
研究问题借鉴已 有标准动物模型 造模	有研究采用直线加速器产生的 X 射线或电子线以及 γ 射线制备 急性放射性皮肤损伤模型,作者认为以上方式虽可模拟急性放 射性皮肤损伤,但其不能模拟核事故发生时放射性核素 ³² P 沾染 到皮肤造成的急性 β 射线所致的皮肤辐射损伤,且 X 射线及 γ 射线穿透性强易造成动物脏器损伤继而大量死亡,直线加速器 设备昂贵,使用成本高,同位素 ³² P 辐射器制备容易,造模面积 及剂量可控
选择动物的条件	SPF 级雄性 SD 大鼠 69 只, 8 周龄,体质量 250-300 g
动物来源及品系	SD 大鼠由辽宁长生生物技术股份有限公司提供
造模技术描述	制备 ³² P-β 照射辐射器 (2 cm×2 cm),单次局部敷贴照射,皮肤吸收剂量分别为 30,45,60 Gy
造模主要诱导用 药	³² P 同位素溶液
动物数量及分组 方法	69 只 SD 大鼠随机分为 4 组, 30 Gy、45 Gy、60 Gy β 射线组 (n=21) 及对照组 (n=6)
造模成功评价指 标	苏木精 - 伊红染色、Masson 染色、透射电镜、TUNEL 法、Bcl-2、 Bax 及 P53 蛋白表达水平评价放射性皮肤损伤模型是否成功
造模后实验观察 指标	大鼠体质量:大鼠皮肤创面大体观察及大鼠皮肤创面愈合时间 及愈合率:苏木精-伊红染色、Masson染色观察创面病理学改 变:ELISA 检测血清白细胞介素 6、肿瘤坏死因子α水平:透射 电镜观察细胞凋亡形态及 TUNEL 法检测细胞凋亡程度:免疫组 化及 Western Blot 检测 P53、Bax 及 Bcl-2 表达水平
造模后动物处理	造模结束后麻醉动物给予安乐死,切取皮肤组织
伦理委员会批准	实验方案经北部战区总医院动物实验伦理委员会批准

1.4.2 动物大体观察 照射后对大鼠进行拍照观察,称取体 质量,记录大鼠的全身状态、创面出现的时间、创面色泽、 渗出液、伤口愈合等情况, 计算各组创面愈合时间及愈合率。 创面愈合率 (%)=(开始照射面面积 - 未愈合创面面积)/开始 照射面面积。创面愈合标准: 创面结痂面积 < 创面面积 5% 或愈合面积>95%为完全愈合。

1.4.3 苏木精 - 伊红染色 照射后第7,15,30,45,60 天, 无菌条件下采集各个时间段各组3只大鼠的创伤皮肤组织 (0.5 cm×0.5 cm),甲醛固定,石蜡包埋、切片。脱蜡至水, 依次进行苏木精染色、梯度乙醇脱水、伊红染色。依次放入 乙醇逐级脱色、二甲苯至透明,中性树胶封固。显微镜镜检, 图像采集分析。

1.4.4 Masson 染色 取 1.4.3 中个各时间段石蜡切片, 浸入 Masson A 液中浸泡过夜。切片依次入 Masson B 液及 Masson C 液等比混合的染液、Masson D 液浸染、Masson E 液浸染。 稍沥干直接入 Masson F 液染, 1% 冰醋酸漂洗分化, 无水乙 醇脱水,中性树胶封固,显微镜镜检,图像采集分析。

1.4.5 ELISA 法 严格按照试剂盒说明书检测大鼠血清中 IL-6、TNF-α水平。

1.4.6 电镜观察 照射后第 30 天, 取各组皮肤组织 4% 戊二 醛固定,1% 锇酸避光室温固定。室温脱水:梯度乙醇脱水,

丙酮洗脱,渗透包埋;将样品插入包埋板后37℃烤箱恒温 聚合,超薄切片机切片,2% 醋酸铀-2.6% 枸橼酸铅溶液染色, 室温干燥过夜,透射电子显微镜下观察,采集图像分析。

1.4.7 TUNEL 实验 取 1.4.3 中个各时间段石蜡切片, TUNEL 法检测创面成纤维细胞和血管内皮细胞凋亡程度。甲醛固定, 严格按照 TUNEL 试剂盒方法进行检测。显微镜下观察皮肤组 织细胞凋亡情况。

1.4.8 免疫组织化学 检测照射后第7,15,30,45,60 天 皮肤样本中 P53、Bax、Bcl-2 及表达情况。取 1.4.3 中备用切片, 依次将切片脱蜡至水; 抗原修复; 体积分数 3% 双氧水溶液 阻断内源性过氧化物酶;在组化圈内滴加 3%BSA 均匀覆盖组 织,室温封闭 30 min; 在切片上滴加 PBS 按一定比例配好的 一抗 (P53、Bax、Bcl-2,比例均为1:500),4℃孵育过夜。 滴加与一抗相应种属的二抗覆盖组织,室温孵育 50 min; DAB显色液显色,显微镜下控制显色时间,自来水终止显色, 苏木精复染细胞核,脱水封固;置于光学显微镜下拍摄,测 量平均吸光度值。

1.4.9 Western Blot 照射后第 30 天, 取各组皮肤组织块加入 裂解液,低温充分研磨,4℃,12000 r/min 离心后收集上 清,BCA蛋白试剂盒定量蛋白浓度,根据检测蛋白分子质量 确定浓缩胶浓度为 5%, 电泳后转 PVDF 膜, 4 ℃过夜孵化以 下抗体 P53(1:1000), Bax(1:2000), Bcl-2(1:2000), Actin(1: 2000), 回收一抗, 用 1×TBST 洗涤样品 3次, 室 温下与相应的二抗一起孵育 30 min,再用 1×TBST 冲洗 3 次, 增强化学发光液 ECL 可视化蛋白条带, Image J 进行定量分析。 1.5 主要观察指标 ①大鼠体质量; ②大鼠皮肤创面大体观 察、皮肤创面愈合时间及愈合率;③苏木精-伊红染色、 Masson 染色观察创面病理学改变;④ ELISA 检测血清 IL-6、 TNF-α水平; ⑤透射电镜观察细胞凋亡形态及 TUNEL 法检测 细胞细胞凋亡程度; ⑥免疫组化及 Western Blot 检测 P53、 Bax 及 Bcl-2 表达水平。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 及 GraphPad Prism 8.0.2 统计 软件。计量资料以x±s表示,多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 t 检验, P < 0.05 为差异有显著性意义。文章 统计学方法已经通过北部战区总医院生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 选取 69 只 SD 大鼠,随机分为 30 Gy、 45 Gy、60 Gy β 射线组 (n=21) 及对照组 (n=6),造模后,30, 45 和 60 Gy β 射线组分别于照射后第 7, 15, 30, 45, 60 天 各取3只大鼠切取皮肤组织观察损伤情况,每组中6只大鼠 继续留观直到实验结束,实验过程中无意外死亡,所有大鼠 均进入结果分析。

2.2 不同剂量β射线对 SD 大鼠体质量的影响 30 Gy、45 Gy 以及 60 Gy β 射线单次局部照射后,各组大鼠饮食饮水正常, 体质量呈逐渐增加趋势,各剂量组无统计学差异。与对照 组相比, 60 Gy 剂量组在照射后第 30 天体质量有所下降 (P < 0.05), 之后逐渐恢复, 见图1。

● 中国组织工程研究

www.CJTER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research

2.3 不同剂量β射线对 SD 大鼠皮肤愈合时间及愈合率的影
响 大鼠经不同剂量β射线照射后,均出现不同程度的皮肤损伤,见图2。

照射后第7天,各组大鼠照射部位均出现干性脱皮, 45,60 Gy β射线组开始出现少量充血性红斑。照射后第15 天,30 Gy β射线组出现少量片状红斑,45,60 Gy β射线照 射部位皮肤红肿,出现显著性片状红斑,45,60 Gy β射线照 射部位皮肤红肿,出现显著性片状红斑,40面 结痂;45 Gy β射线组照射野皮肤结痂融合,创面扩大不明显; 60 Gy β射线组照射野皮肤结痂加深、融合,有稀薄渗出液。 照射后第45 天,45 Gy β射线组出现痂皮脱落,60 Gy β射线 组出现少量痂皮脱落,创面有收缩趋势,同时可观察到30 Gy β射线组痂皮脱落创面基本恢复。照射后第50 天,45 Gy β 射线组可见大量新生上皮部分覆盖创面,60 Gy β射线组可 见少量痂皮脱落。照射后第60 天,45 Gy β射线组可 基本恢复,未见毛发生长;60 Gy β射线组大鼠创面仍有大 部分结痂未脱落,且创面溃疡反复迁延不愈。各组大鼠创面 愈合时间及愈合率见**表1,2**。

表1 各组大鼠 Table1 Compa	(x ±s, n=6, d)		
组别		愈合时间	
30 Gy β 射线组 45 Gy β 射线组 60 Gy β 射线组		43.0±2.27 58.3±2.12 ^ª 85.0±3.88 ^{ab}	
表注: 与 30 Gy β 射 表 2 各组大鼠: Table 2 Compa	付线组比较, [®] P < 0.0! 创面愈合率比较 arison of wound he	5;与 45 Gyβ射线组 ealing rate of rats	1比较, [▶] P < 0.05 (x±s, n=6, %)
组别	30 d	45 d	60 d
30 Gy β 射线组 45 Gy β 射线组 60 Gy β 射线组	68.8±1.49 31.45±3.48 ^ª 18.22±4.90 ^ª	99.5±4.55 55.99±3.60 ^a 35.90±4.06 ^{ab}	100 95.24±1.94 ^ª 63.98±1.13 ^{ab}
表注: 与 30 Gy β 身	付线组比较, ^⁰ P<0.0	5; 与 45 Gy β 射线组	且比较, [▶] P<0.05

2.4 苏木精-伊红染色和 Masson 染色观察 β 射线对大鼠皮 肤组织病理学损伤 苏木精 - 伊红染色和 Masson 染色结果 显示: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 15 d, 30 Gy β 射线组表皮细胞、毛囊上皮 细胞肿胀,可见到坏死细胞,附属器减少,周围少量炎症细 胞浸润; 45 Gy 以及 60 Gy β 射线组表皮可见小灶状缺失灶, 浅表糜烂加深,真皮内胶原纤维出现水肿、融解、断裂、排 列紊乱,其内有散在炎症细胞浸润。照射后 30 d, 30 Gy β 射线组真皮内胶原纤维肿胀,胶原纤维断裂,溶解,排列紊乱; 45 Gy β射线组可见上皮细胞变性坏死,真皮层胶原纤维断裂, 炎性细胞浸润; 60 Gy β 射线组真皮层大量断裂,成纤维细 胞很少,大量炎性细胞浸润。照射后 45 d, 30 Gy β 射线组 有新生上皮覆盖创面,新生肉芽组织明显,胶原纤维增生明 显,排列较为整齐;45 Gyβ射线组可见大量胶原纤维增生 及上皮组织向创面中心爬行, 胶原纤维丰富、真皮深层及皮 下组织水肿较轻; 60 Gy β 射线组可见少量胶原纤维增生, 真皮层可见大量炎性细胞浸润。照射后 60 d, 45 Gy β 射线 组有大量新生上皮覆盖创面,胶原纤维增生明显,排列整齐; 60 Gyβ射线组真皮层结缔组织有少量增生,皮肤表层结构 有明显缺损。见图3,4。

2.5 ELISA 法检测各组大鼠血清 IL-6、TNF-α 水平 与 30 Gy β 射线组比较,45,60 Gy β 射线组血清 IL-6、TNF-α 水平显 著升高 (*P* < 0.05);与 45 Gy β 射线组比较,60 Gy β 射线组 IL-6、TNF-α 水平显著升高 (*P* < 0.05)。见表3。

表 3 |照射后 30 d 各组大鼠血清白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α) 水平比较 (x±s, n=6)

Table 3	Comparison of	serum interle	ukin-6 and	tumor	necrosis	factor-o
levels in r	ats 30 days after	irradiation				

指标	30 Gyβ射线组	45 Gyβ射线组	60 Gy β 射线组
IL-6(pg/mL) TNF-α(pg/mL)	21.74±1.29 164.39±12.29	32.23±2.42 ^ª 244.52±9.56 ^ª	41.50±3.54 ^{ab} 330.68±9.32 ^{ab}

表注: 与 30 Gy β 射线组比较, ³P < 0.05; 与 45 Gy β 射线组比较, ^bP < 0.05

2.6 透射电镜观察 B 射线对大鼠皮肤组织的损伤情况 照射 后 30 d,与对照组相比, 30 Gy β 射线组可见成纤维细胞内 粗面内质网增加,轻度扩张,细胞核膜结构完整,线粒体轻 微空泡化、损伤较轻; 45 Gy β 射线组成纤维细胞内见少数 线粒体,呈空泡样变,粗面内质网扩张,细胞间隙增宽,可 见胶原纤维增生,可见少量自噬溶酶体结构: 60 Gy β 射线 组毛囊基本消失,成纤维细胞内见少数线粒体,呈空泡样变, 内质网肿胀明显, 胞浆内有自噬空泡, 细胞间隙明显增宽, 核固缩明显,细胞核调亡,可见大量自噬溶酶体结构。见图5。 2.7 TUNEL法检测细胞凋亡程度 照射后 15 d,各组均有少 量细胞凋亡,主要为炎症细胞和少量的成纤维细胞,各组无 明显差异;照射后 30 d,各组凋亡细胞均增多,主要为成纤 维细胞和血管内皮细胞, 60 Gy 及 45 Gy β 射线组呈表达高峰, 60 Gy β 射线组凋亡细胞数量高于 45 Gy β 射线组 (P < 0.05), 45 Gy β 射线组高于 30 Gy β 射线组 (P < 0.05); 照射后 45 d, 各组凋亡细胞呈下降趋势, 30 Gy 可见少量凋亡细胞, 60 Gy β射线组凋亡细胞数量仍高于45 Gy β射线组 (P < 0.05)。见图 6。 2.8 免疫组化学检测 P53、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达水平 照射 后第15天,3组大鼠皮肤组织中P53及Bax蛋白的表达均呈 阳性, 60 Gy 及 45 Gy β 射线组 P53、Bax 蛋白的表达水平高 于 30 Gy β 射线组;照射后第 30 天,各组表达均呈增长趋势, 60 Gy 及 45 Gy β 射线组大鼠皮肤组织 P53、Bax 蛋白的表达 水平达峰值,且 60 Gy β 射线组高于 45 Gy β 射线组 (P < 0.05), 45 Gy β 射线组高于 30 Gy β 射线组 (P < 0.05); 照射后第 45 天, 60 Gy β 射线组 P53、Bax 蛋白的表达仍呈较高水平, 30 Gy 及 45 Gy β 射线组 P53、Bax 蛋白表达明显减弱 (P < 0.05)。照 射后第15天,3组大鼠皮肤组织中Bcl-2蛋白的表达均呈阳 性;照射第30天,各组 Bcl-2 表达均呈下降趋势,60 Gy 及 45 Gy β 射线组大鼠皮肤组织 Bcl-2 蛋白的表达水平达低峰值, 且 60 Gy β 射线组显著低于 30 Gy 及 45 Gy β 射线组 (P < 0.05), 见图 7; 照射后第 45 天, 60 Gy β 射线组 Bcl-2 蛋白的表达仍 呈较低水平, 30 Gy 及 45 Gy β 射线组 P53、Bax 蛋白表达显 著增加 (P < 0.05)。





图注:照射后各组大鼠体质量呈上升趋势,创面最严重时(约第30天), 60 Gy β 射线组大鼠的体质量发生短暂下降,之后逐渐恢复。与对照组 相比, °P<0.05

图 1 | 不同剂量 β 射线对大鼠体质量的影响

Figure 1 \mid Effects of different doses of β -ray on the body mass of rats



图注: 30 Gy β 射线照射组损伤程度较轻, 45 Gy 及 60 Gy β 射线组损伤 程度较重,且 60 Gy β 射线组照射后创面反复溃疡,经久不愈 图 2 | 不同剂量 β 射线照射后对大鼠皮肤的损伤情况





图 **3** | β 射线对大鼠皮肤的病理损伤 (苏木精 - 伊红染色, ×100) Figure 3 | Pathological damage of β-ray irradiation to the rat skin (hematoxylin-eosin staining, ×100)



图 4 | β 射线对大鼠皮肤的病理损伤 (Masson 染色, ×100) Figure 4 | Pathological damage of β-ray irradiation to the rat skin (Masson staining, ×100)



图注:图A-D分别为电镜下0, 30, 45, 60 Gy β 射线照射后 30d 大鼠皮肤损伤情况 图 5 | 电镜观察不同剂量β射 线对大鼠皮肤的损伤 (×2 500) Figure 5 | Electron microscope observation of skin injury induced by different doses of β-ray in rats (×2 500)



图注: 与 30 Gy β 射线组比较, [®]P < 0.05; 与 45 Gy β 射线组比较, [®]P < 0.05 图 6 | 不同剂量 β 射线照射后大鼠皮肤细胞凋亡情况 (TUNEL 法) Figure 6 | Apoptosis in rat skin cells induced different doses of β-ray (TUNEL assay)





图注: 与 30 Gy β 射线组比 较, ^aP < 0.05; 与 45 Gy β 射 线组比较, ^bP < 0.05 图7 | 免疫组化法检测β 射线照射后 30 d 大鼠皮肤 组织 P53、Bax 及 Bcl-2 蛋 白表达水平

Figure 7 | Effects of different doses of B-ray on the expression levels of P53, Bax and Bcl-2 proteins in rat skin 30 days after irradiation

Bcl-2

2.9 Western Blot 检测 P53、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达水平 见图 8。



图注: 与 30 Gy β 射线组比较, [®]P < 0.05; 与 45 Gy β 射线组比较, [®]P < 0.05 图 8 | Western Blot 检测 β 射线照射后 30 d 大鼠皮肤组织 P53、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达水平

Figure 8 | Western blot detection of the expression levels of P53, Bax and Bcl-2 proteins in rat skin 30 days after β -ray irradiation

研究原著

●TTCR 中国组织工程研究

www.CITER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research

照射后 30 d Western Blot 检测各剂量组皮肤组织中 P53、Bax及Bcl-2蛋白表达水平,60Gy及45Gyβ射线组大 鼠皮肤组织P53、Bax蛋白的表达较30Gyβ射线组显著增功 (*P* < 0.05),且 60Gyβ射线组较45Gyβ射线组显著增加(*P* < 0.05);60Gy及45Gyβ射线组大鼠皮肤组织Bcl-2蛋白的表 达较30Gyβ射线组显著降低(*P* < 0.05),且 60Gyβ射线组 较45Gyβ射线组显著降低(*P* < 0.05)。

3 讨论 Discussion

放射性皮肤损伤是身体局部皮肤受到一次或短时间(数 日)内多次大剂量(α、β、γ射线)外照射所引起的急性放射 性皮肤溃疡^[21],可见于核事故及核战争发生时放射性核素沾 染到皮肤组织或外照射引发的皮肤损伤,也见于临床放射治 疗引起的并发症,其表现为受照皮肤红斑、脱毛、脱屑、色 素沉着、糜烂坏死,严重程度与照射剂量相关^[22-24]。根据皮 肤损伤的临床表现不同,可分为轻度(I度反应)、中度(II 度反应)及重度(III度反应),I度反应表现形式主要为红斑、 烧灼及刺痒感;II度反应主要表现为高度充血、水肿及水疱 形成;III度反应会出现皮肤溃疡、坏死,并迁延不愈^[10]。轻 度皮肤损伤可以自愈,对于中重度以上的损伤目前缺乏有效 的预防和治疗手段,预后极差^[25-26]。鉴于放射性皮肤损伤的 特殊性,研究其致伤机制及预防治疗方法需建立合适的动物 模型。

目前急性放射性皮肤损伤的造模中照射源主要采用电子 线、X 射线以及 y 射线, 剂量为 5-75 Gy 不等。KIM 等^[27] 采 用 6 MeV 电子束单次照射建立猪皮肤辐射损伤模型,以皮肤 损伤微血管密度下降为标志,发现15,30 Gy照射后,皮肤 组织在 4-6 周损伤达高峰, 之后创面逐渐恢复, 但经 50, 75 Gy 照射后的皮肤因损伤严重无法完全恢复。陈宇彤等^[19] 采用 X 射线建立急性 Wistar 大鼠放射性皮肤损伤大鼠模型, 通过检测 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 及巨噬细胞 变化,认为38 Gy X 射线照射组大鼠皮肤符合急性放射性皮 炎标准。FALLAH 等^[28] 发现 15 Gy γ 射线局部照射小鼠皮肤, 照射区域的纤溶酶原水平升高,纤溶酶原被激活为纤溶酶, 导致严重的放射性皮肤损伤。沈国良等^[20]采用 4 MeV 电子 线照射 SD 大鼠臀部皮肤建立 45 Gy β 射线深 II 度烧伤创面。 HOLLER 等^[29] 使用单次剂量为 8.5-45 Gy 的 ⁶⁰Co 射线照射小 鼠背部皮肤建立急性放射性皮肤损伤模型。MEI等^[30]采用 ⁶⁰Co射线照射 SD 大鼠的头颈部建立了 15, 20, 25, 30 Gy 的辐射模型。以上文献研究可知,电子线、X射线、γ射线 以及 ⁶⁰Co 射线照射后均可建立不同损伤程度的放射性皮肤模 型,但X射线及y射线穿透性强易造成动物脏器损伤继而大 量死亡^[31-32],⁶⁰Co射线源的保存和防护比较复杂^[33]。大多研 究者采用直线加速器产生的电子线模拟 β 射线照射所致急性 放射性皮肤损伤。此方法安全性及动物耐受性较好,但尚存 在不足之处,首先直线加速器产生的电子线照射无法完全模 拟核事故或核爆发生中放射性核素沾染到皮肤组织后发射β

2178|中国组织工程研究|第28卷|第14期|2024年5月

射线产生的生物学效应,其次照射剂量未统一^[18],评价指标 尚不明确^[19],照射后创面形状不规则,因此急需建立一种可 靠且能反映损伤病理特征的β射线引起放射性皮肤损伤动物 模型。

此次实验采用 ³²P 放射性核素辐射器敷贴于大鼠臀背部 成功建立不同损伤程度大鼠皮肤损伤模型,30,45,60 Gv 照射后均可产生明显的放射性皮损且安全性良好,损伤程度 与照射剂量呈正相关。大体观察及病理生化结果显示, 30 Gy 照射后大鼠皮肤为轻度皮肤损伤,仅出现红斑、薄纸样改变, 可见表皮细胞肿胀,少量炎症细胞浸润,短时间创面自愈。 此剂量照射后皮肤病理变化不明显,创面损伤较轻,不符合 急性放射性皮肤损伤模型基本要求^[10, 19, 26]。45 Gy 照射后大 鼠皮肤出现红斑、薄纸样改变、溃疡及结痂,上皮细胞变性 坏死,真皮层胶原纤维断裂,炎性细胞浸润,血清炎症因子 IL-6、TNF-α水平显著升高,照射后 60 d 基本愈合。该结果 与陈字彤等^[19] 采用 38 Gy X 射线建立的大鼠深 II 度急性放射 性皮炎、沈国良等^[20] 采用 4 MeV 电子线照射大鼠建立 45 Gy β射线深II度烧伤创面皮肤损伤情况相似。而 60 Gy β 射线组 真皮层胶原纤维大量断裂,成纤维细胞极少,大量炎性细胞 浸润,皮肤反复溃疡,经久不愈,血清炎症因子 IL-6、TNF-α 水平显著高于 45 Gy β 射线组,为重度炎症反应^[10]。KIM 等^[27] 同样发现皮肤组织经 6 MeV 电子线照射 50, 75 Gy 照射后的 皮肤因损伤严重无法完全恢复,由此可见,电离辐射生物效 应与照射剂量关系密切,在一定范围内皮肤损伤程度与受照 剂量呈正相关性^{119]}。45,60 Gyβ射线照射后均建立急性放 射性皮肤损伤模型,45 Gy 照射后大鼠皮肤依次出现红肿-炎症-溃疡-愈合的病程规律,符合急性放射性皮肤损伤Ⅱ 度反应^[10, 19], 60 Gy 照射后的大鼠皮肤损伤严重,反复溃疡 难以愈合。

细胞凋亡在放射性皮肤损伤发生发展过程中发挥重要作 用,凋亡存在多种相关凋亡基因调控,与凋亡关系最密切的 是 Bcl-2 家族和 P53^[34]。P53 参与调控多种凋亡途径,射线照 射后引起细胞 DNA 损伤,首先激活 P53 基因诱导受照细胞进 入凋亡阶段^[35], Bax 是一种重要的促凋亡蛋白, 它的作用与 其含量密切相关^[36]。在细胞凋亡过程中,Bcl-2是特异性抑 制细胞凋亡的存活基因, Bcl-2/Bax 的比值决定了细胞凋亡是 被抑制还是被加强^[15-16, 37]。CUI等^[38]研究发现 Bax 蛋白的表 达随着细胞凋亡的增加而明显增加,与伤口愈合过程中的细 胞凋亡数量呈正相关,而 Bcl-2 蛋白的表达在细胞凋亡达到 最高点时明显下降,当细胞凋亡明显减少时,Bcl-2蛋白的表 达呈现上升趋势。赵小瑜等^[39]观察大鼠急性β射线皮肤损 伤创面相关凋亡基因表达发现表明 P53 抑制 Bcl-2 抗凋亡活 性,激活促凋亡基因 Bax,使得创面肉芽组织形成延迟,创 面难以愈合。此次实验结果显示β射线皮肤损伤创面形成过 程中,45 Gyβ射线照射后成纤维细胞内线粒体损伤明显,细 胞凋亡数量增加, 60 Gy β 射线照射后线粒体严重损伤, 细胞 核固缩明显,细胞濒临死亡; 45,60 Gy β 射线组 P53、Bax

研究原著

持续高表达,且对应 Bcl-2 表达减弱,由此提示,β射线照射 可导致皮肤凋亡细胞数量明显增加,其机制是通过活化 P53 及促凋亡基因 Bax 活性^[34-36]、抑制 Bcl-2 抗凋亡活性^[16,37], 从不同途径介导细胞凋亡,从而影响细胞增殖分化及相关细 胞因子的合成与分泌,使溃疡肉芽组织形成不良,上皮化过 程延迟,导致创面迁延不愈^[15-16,35]。

综上所述,在β射线皮肤损伤创面愈合过程中相关调亡 基因的表达发挥了重要作用,其机制可能与射线增强皮损细 胞中 P53、Bax 蛋白表达、降低 bcl-2 基因表达、促进细胞凋 亡的作用有关,具体机制仍需进一步验证。此次研究结果推 荐使用 45,60 Gy ³²P 放射性核素建立急性放射性皮肤损伤模 型,其中 45 Gy 可作为 II 度放射性皮肤损伤模型的剂量,所 建立的动物模型具有安全性高、耐受性好、方便观察取材等 特点,可作为β射线所致放射性皮肤损伤预防治疗研究的可 靠动物模型。

作者贡献:实验设计为第一作者、通讯作者,实验实施为全部作者, 论文撰写为第一作者,论文校审为第二作者、通讯作者。

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中不 存在利益冲突。

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。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范:该文章撰写遵守了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稿宗旨。

4 参考文献 References

- 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.
- [2] 刘玉龙, 王优优, 郭凯琳, 等.南京"5.7"192lr源放射事故患者的临床救治[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2016,36(5):324-330.
- [3] TUIENG RJ, CARTMELL SH, KIRWAN CC, et al. The Effects of Ionising and Non-Ionising Electromagnetic Radiation on Extracellular Matrix Proteins. Cells. 2021; 10(11):3041.
- [4] KUMAR A, KUMARCHANDRA R, RAI R, et al. Radiation mitigating activities of Psidium guajava L. against whole-body X-ray-induced damages in albino Wistar rat model.3 Biotech. 2020;10(12):507.
- [5] DA SILVA SANTIN M, KOEHLER J, ROCHA DM, et al. Initial damage produced by a single 15-Gy x-ray irradiation to the rat calvaria skin. Eur Radiol Exp. 2020;4(1):32.
- [6] BORRELLI MR, PATEL RA, SOKOL J, et al. Fat Chance: The Rejuvenation of Irradiated Skin. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2019;7(2):e2092.
- [7] WAN Y, TU W, Tang Y, et al. Prevention and treatment for radiation-induced skin injury during radiotherapy. Radiat Med Prot. 2020;1(2):60-68.
- [8] TENORIO C, DE LA MATA D, LEYVA JAF, et al. Mexican radiationdermatitis management consensus. Rep Pract Oncol Radiother. 2022;27(5):914-926.
- [9] CHU CN, HU KC, WU RS, et al. Radiation-irritated skin and hyperpigmentation may impact the quality of life of breast cancer patients after whole breast radiotherapy.BMC Cancer. 2021;21(1):330.
- [10] 蔡卫超,曹卫红.活性氧与放射性皮肤损伤的研究进展[J].辐射防护,2022, 42(3):111-118.
- [11] JAKUBCZYK K, DEC K, KALDUNSKA J, et al. Reactivr oxygen speciessources.functions.oxidative damage. Pol Merkur Lekarski. 2020;48(284):124-127.
- [12] SHI M, HUANG J, SUN X et al. Effect of rivaroxaban on the injury during endotoxininduced damage to human umbilical vein endothelial cells. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2019;31(4):468-473.

- [13] WANG C, LI TK, ZENG CH, et al.lodine-125 seed radiation induces ROS-mediated apoptosis, autophagy and paraptosis in human esophageal squamous cell carcinoma cells. Oncol Rep. 2020;43(6):2028-2044.
- [14] HAO Q, CHEN J, LIAO J, et al.p53 induces ARTS to promote mitochondrial apoptosis. Cell Death Dis. 2021;12(2):204-209.
- [15] OKAZAKI R. Role of p53 in Regulating Radiation Responses. Life (Basel). 2022; 12(7):1099.
- [16] KIANG JG, CANNON G, OLSON MG, et al.Female Mice are More Resistant to the Mixed-Field (67% Neutron+33% Gamma) Radiation-Induced Injury in Bone Marrow and Small Intestine than Male Mice due to Sustained Increases in G-CSF and the Bcl-2/Bax Ratio and Lower miR-34a and MAPK Activation. Radiat Res. 2022;198(2):120-133.
- [17] GANS I, ABIAD JE, JAMES AW, et al.Administration of TGF-ß Inhibitor Mitigates Radiation-induced Fibrosis in a Mouse Model.Clin Orthop Relat Res. 2021;479(3): 468-474.
- [18] CHANG HP, CHO JH, LEE WJ, et al. Development of an easy-to-handle murine model for the characterization of radiation-induced gross and molecular changes in skin. Arch Plast Surg. 2018;45(5):403-410.
- [19] 陈宇彤,李晨晨,刘阳,等.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.
- [20] 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.
- [21] YANG X, REN H, GUO X, et al. Radiation-induced skin injury: pathogenesis, treatment, and management. Aging(AlbanyNY). 2020;12(22):23379-23393.
- [22] HYMES SR, STROM EA, FIFE C, et al. Radiation dermatitis: clinical presentation, pathophysiology, and treatment 2006. J Am Acad Dermatol. 2006;54(1):28-46.
- [23] MARTIN MT, VULIN A, Hendry JH, et al. Human epidermal stem cells: role in adverse skin reactions and carcinogenesis from radiation. Mutat Res. 2016;770(Pt B):349-368.
- [24] XIAO Y, MO W, JIA H, et al. Ionizing radiation induces cutaneous lipid remolding and skin adipocytes confer protection against radiation-induced skin injury. J Dermatol Sci. 2020;97(2):152-160.
- [25] SHERMAN DW, WALSH SM. Promoting Comfort: A Clinician Guide and Evidence-Based Skin Care Plan in the Prevention and Management of Radiation Dermatitis for Patients with Breast Cancer. Healthcare (Basel). 2022;10(8):1496.
- [26] YEE C, LAM E, GALLANT F, et al. A Feasibility Study of Mepitel Film for the Prevention of Breast Radiation Dermatitis in a Canadian Center. Pract Radiat Oncol. 2021;11(1):e36-e45.
- [27] KIM JW, LEE DW, CHOI WH, et al. Development of a porcine skin injury model and characterization of the dose-dependent response to high-dose radiation. J Radiat Res. 2013;54(5):823-831.
- [28] FALLAH M, SHEN Y, BRODEN J, et al. Plasminogen activation is required for the development of radiation-induced dermatitis. Cell Death Dis. 2018;9(11):1051.
- [29] HOLLER V, BUARDV, GAUGLER MH, et al. Pravastatin limits radiationinduced vascular dysfunction in the skin. J Invest Dermatol. 2009;129(5):1280-1291.
- [30] MEI K, ZHAO S, QIAN L, et al. Hydrogen protects rats from dermatitis caused by local radiation. J Dermatolog Treat. 2014;25(2):182-188.
- [31] BERNHARDT T, KRIESENS, MANDA K, et al. Induction of Radiodermatitis in Nude Mouse Model Using Gamma Irradiator IBL 637. Skin Pharmacol Physiol. 2022;35(4):224-234.
- [32] NIELSEN S, BASSLER N, GRZANKA L, et al. Proton scanning and X-ray beam irradiation induce distinct regulation of inflammatory cytokines in a preclinical mouse model. Int J Radiat Biol. 2020;96(10):1238-1244.
- [33] CHEN Y, ZHANG Q, WU Y, et al. Short-term influences of radiation on musculofascial healing in a laparotomy rat model. Sci Rep. 2019;9(1):11896.
- [34] KESANIEMI J, JERNFORS T, LAVRINIENKO A, et al. Exposure to environmental radionuclides is associated with altered metabolic and immunity pathways in a wild rodent. Mol Ecol. 2019;28(20):4620-4635.
- [35] KOIKE M, SUGASAWA J, KOIKE A, et al. p53 phosphorylation in mouse skin and in vitro human skin model by high-dose-radiation exposure.J Radiat Res. 2005;46(4):461-468.
- [36] BERNHARDT T, KRIESEN S, MANDA K, et al. Induction of Radiodermatitis in Nude Mouse Model Using Gamma Irradiator IBL 637. Skin Pharmacol Physiol. 2022;35(4):224-234.
- [37] YAO C, ZHOU Y, WANG H, et al. Adipose-derived stem cells alleviate radiationinduced dermatitis by suppressing apoptosis and downregulating cathepsin F expression. Stem Cell Res Ther. 2021;12(1):447.
- [38] CUI YF, XIA GW, FU XB, et al.Relationship between expression of Bax and Bcl-2 proteins and apoptosis in radiation compound wound healing of rats.Chin J Traumatol. 2003;6(3):135-138.
- [39] 赵小瑜,何罕亮,祁强,等.急性β射线皮肤损伤创面愈合过程中相关凋亡 基因的表达[J].苏州大学学报(医学版),2012,32(6):853-857+878.

(责任编辑: GD, ZN, WL, LCH)

