

CNIC-01451
SMC-0157

中国核科技报告

CHINA NUCLEAR SCIENCE AND TECHNOLOGY REPORT

放射性皮肤烧伤动物模型的建立及局部组织代谢的改变

THE ESTABLISHMENT OF ANIMAL MODEL OF
RADIATION-SKIN-BURN AND ITS CHANGES
OF TISSUE METABOLISM

(In Chinese)



中国核情报中心
原子能出版社

China Nuclear Information Centre
Atomic Energy Press

图书在版编目(CIP)数据

中国核科技报告 CNIC-01451, SMC-0157: 放射性皮肤
烧伤动物模型的建立及局部组织代谢的改变 / 陆兴安等著.
—北京: 原子能出版社, 2000. 4
ISBN 7-5022-2151-4

I. 中… II. 陆… III. 核技术-中国-研究报告 IV. TL-2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 14050 号

原子能出版社出版发行

责任编辑: 孙凤春

社址: 北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码: 100037

中国核科技报告编辑部排版

核科学技术情报研究所印刷

开本 787×1092 1/16 • 印张 1/2 • 字数 10 千字

2000 年 6 月北京第一版 • 2000 年 6 月北京第一次印刷

定价: 5.00 元



陆兴安：苏州医学院附属第一医院副主任医师，1978年毕业于苏州医学院。

LU Xingan: Associate chief physician of The First Affiliated Hospital to Suzhou Medical College. Graduated from Suzhou Medical College in 1978.

放射性皮肤烧伤动物模型的建立及 局部组织代谢的改变

陆兴安 吴士良 王秀珍 周迎会 冯一中 田野 彭 淼

(苏州医学院, 215007)

摘 要

分别采用直线加速器 β 射线和 ^{60}Co 源 γ 射线外照射动物局部组织, 试建立放射性皮肤烧伤动物模型; 观察了局部组织代谢指标的改变及组织病理变化, 以选择放射性皮肤烧伤的较佳动物模型及揭示放射性皮肤损伤产生的分子机制。实验结果显示: (1) γ 射线外照射可引起局部组织代谢指标的改变, 在大剂量组可引起深部溃疡, 而同时伴有的全身性损伤易引起动物死亡; (2) β 射线外照射在 15 Gy 及以下剂量组可引起局部代谢指标改变, 但不引起致死性损伤, 而 45 Gy 组能产生深 II 度创而溃疡, 且与 γ 射线外照射比较, 死亡率大大降低; (3) 不论 γ 或 β 射线都能引起局部皮肤损伤改变, 并在生化代谢指标方面有诸多相似之处。由此可知: 以直线加速器制造的放射性皮肤烧伤动物模型具有可靠性和易行性, 值得推广采用。

The Establishment of Animal Model of Radiation-Skin-Burn and Its Changes of Tissue Metabolism

(In Chinese)

LU Xingan WU Shiliang WANG Xiuzhen ZHOU Yinghui
FENG Yizhong TIAN Ye PENG Miao

(Suzhou Medical College, 215007)

ABSTRACT

The biochemistry metabolic changes of the tissues induced by ^{60}Co γ radiation or by accelerator β radiation on the animal local tissues were observed. The experiment results were shown as follows: (1) ^{60}Co γ radiation can induce the metabolic changes of the local tissue and led to ulcer or death. (2) Accelerator β radiation at the same dose of γ radiation can only produce ulcer but no death. (3) The biochemistry metabolic changes of the tissues induced by ^{60}Co γ radiation are similar to that by β radiation, but as a radiation-burn animal model, the latter is better.

引言

核事故及肿瘤放射治疗中常会产生放射性皮肤烧伤,而此类烧伤的临床治疗中,常产生原因不明反复发作的坏死性溃疡伴严重的疼痛和晚期恶性变,由此研究放射性烧伤的分子机制并寻找有效防治手段就成为国内外研究热点,在研究中首要的步骤是建立有效可靠的动物模型。为此,我们分别以直线加速器和 ^{60}Co 源造成 β 射线和 γ 射线外照射动物局部组织,并观察照射后局部组织代谢指标变化及形态学变化,以寻找建立放射性烧伤动物模型的最佳方案。

1 实验方法与结果

一组以 Wistar 雄性大鼠为实验对象,以直线加速器照射后臀部皮肤制作 β 射线烧伤模型,周围部位以铅板屏蔽,实验动物静脉麻醉条件下一次性照射 4 meV 能量,三种剂量(5 Gy, 15 Gy, 45 Gy)组。5 Gy 组 14 只鼠,其中 7 只照射 2 个月后处死,7 只 3 个月后处死;15 Gy 组 15 只,照射 2 个月后处死 10 只,3 个月后处死 5 只;45 Gy 组 10 只,2 个月后处死。对照组 10 只。

另一组 γ 射线照射组为新西兰大白兔 18 只,雌雄各半,体重 2.0 ± 0.25 kg,雌雄等量,分 5 组,其中第 1~4 组各 4 只,第 5 组为 2 只,第 1 组为对照组,第 2~4 组一次性 ^{60}Co 源治疗机 γ 射线外照射兔后臀部,剂量分别为 2, 6, 12 Gy,第 5 组 2 只为 30 Gy,辐照后 2 周内 30 Gy 组 2 只均死亡疑为全身衰竭,其余各组即在照后 2 周放血处死并观察测定各项指标。

1.1 γ 射线和 β 射线辐照对局部皮肤组织胶原含量的影响

将实验兔和大鼠处死,4℃条件下快速分离剥取后臀部辐照区皮肤一块,面积为 $3\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ (兔)和 $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ (大鼠),对照组同样取材,皮肤去毛脱脂清洗后滤纸吸干称湿重,以 0.2 mol/L , pH 7.2 PBS 缓冲液制备匀浆。对辐照大鼠皮肤采用永井裕^[1]法提取盐溶性胶原, Glimcher^[2]法抽提酸溶性胶原,抽提后残渣为不溶性胶原,对辐照兔则以永井裕法分别提取盐溶性 I, III 型胶原蛋白,其余处理同实验鼠方法。以上所获各型胶原采用 Stegeman^[3]法测定羟脯氨酸量并折算成胶原蛋白含量,结果见表 1 和表 2。 β 射线照射大鼠后辐照局部皮肤胶原蛋白总量及盐溶性、酸溶性胶原含量均有下降,而以盐溶性胶原下降更明显,下降幅度与辐照剂量明显呈相关性。

γ 射线辐照大白兔局部皮肤组织的胶原蛋白总含量及不溶性胶原蛋白含量改变不显著,而酸溶性胶原蛋白和盐溶性 I, III 型胶原蛋白含量均较对照组有不同程度下降,其中 III 型胶原下降更为显著($P < 0.001$),且与辐照剂量负相关。

表 1 γ 射线辐照兔局部皮肤胶原分型含量变化($\bar{X} \pm s$)

mg/g 组织

组别	N	酸溶性胶原	盐溶性 I 型	盐溶性 III 型	不溶性胶原
正常对照	4	1.40 ± 0.273	0.472 ± 0.063	0.365 ± 0.027	2.868 ± 1.292
2.0 Gy	4	$1.291 \pm 0.772^{1)}$	$0.328 \pm 0.077^{2)}$	$0.128 \pm 0.021^{2)}$	$2.617 \pm 0.202^{1)}$
6.0 Gy	4	$1.320 \pm 0.270^{1)}$	$0.378 \pm 0.092^{2)}$	$0.171 \pm 0.055^{2)}$	$2.696 \pm 0.272^{1)}$
12.0 Gy	4	$1.107 \pm 0.502^{2)}$	$0.330 \pm 0.102^{2)}$	$0.107 \pm 0.071^{2)}$	$2.473 \pm 0.302^{1)}$

注: 1) 与对照组相比差异不显著 $P > 0.05$; 2) $P < 0.05$ 。

表2 β 射线辐照鼠局部皮肤胶原含量变化 ($\bar{X} \pm s$)

mg/g 组织

组别	N	胶原总量	酸溶性胶原	盐溶性胶原	不溶性胶原
正常对照	10	4.713 $\pm$ 0.301	1.680	0.905	2.128
5 Gy	2月	4.206 ¹⁾ $\pm$ 0.562	1.358 ¹⁾ $\pm$ 0.482	0.672 ²⁾ $\pm$ 0.021	2.176 ¹⁾ $\pm$ 0.621
	3月	4.278 ¹⁾ $\pm$ 0.493	1.403 ¹⁾ $\pm$ 0.343	0.604 ²⁾ $\pm$ 0.302	2.271 ¹⁾ $\pm$ 0.543
15 Gy	2月	3.954 ²⁾ $\pm$ 0.262	1.212 ²⁾ $\pm$ 1.140	0.431 ²⁾ $\pm$ 0.019	2.311 ¹⁾ $\pm$ 0.493
	3月	3.581 ²⁾ $\pm$ 0.231	1.234 ²⁾ $\pm$ 0.175	0.392 ²⁾ $\pm$ 0.027	1.955 ¹⁾ $\pm$ 0.493
45 Gy	2月	3.265 ²⁾ $\pm$ 0.347	1.021 ²⁾ $\pm$ 0.089	0.356 ²⁾ $\pm$ 0.33	1.878 ¹⁾ $\pm$ 0.289

注: 1) 与对照组相比差异不显著 $P > 0.05$; 2) 与对照组相比差异显著 $P < 0.05$ 。1.2 局部 γ 及 β 射线外照射对局部组织基质金属蛋白酶-1 活性的影响

γ 射线外照射对 β 射线外照射各组实验动物均取后臀部辐照区皮肤组织, 采用 Maruyama 氏方法制备成组织匀浆后^[4, 5], 以 ^3H -胎牛皮肤 I 型胶原蛋白为底物, 以 ^3H -胶原降解的量代表酶活性 (1 h 降解 1 μg ^3H -I 型胶原蛋白为 1 个酶活性单位), 结果见表 3 和表 4。无论是以 γ 射线还是以 β 射线辐照, 辐照动物局部组织基质金属蛋白酶-1 均较对照组有不同程度的提高, 差异显著, 在 β 照射的中、大剂量组更为明显。

表3 γ 射线辐照兔局部基质金属蛋白酶-1 活性变化 ($\bar{X} \pm s$)

组别	N	酶活性 / (IU/g 组织)
正常对照	4	12.03 $\pm$ 1.12
2.0 Gy	4	15.78 $\pm$ 2.06 ¹⁾
6.0 Gy	4	15.16 $\pm$ 1.07 ¹⁾
12.0 Gy	4	18.19 $\pm$ 2.58 ²⁾

注: 1) 与对照组相比差异显著 $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$ 。表4 γ 射线辐照鼠局部基质金属蛋白酶-1 活性变化 ($\bar{X} \pm s$)

组别	N	酶活性 / (IU/g 组织)
正常对照	10	11.62 $\pm$ 1.04
5 Gy	2月	15.48 $\pm$ 1.57 ¹⁾
	3月	15.30 $\pm$ 0.98 ¹⁾
15 Gy	2月	17.43 $\pm$ 0.87 ¹⁾
	3月	19.91 $\pm$ 1.46 ¹⁾
45 Gy	2月	19.37 $\pm$ 4.21 ¹⁾

注: 1) 与对照组相比差异显著 $P < 0.05$ 。1.3 β 射线及 γ 射线辐照对外周血 SOD, LPO 和局部组织 LPO 含量的影响

测定各组动物全血 SOD 和血浆 LPO 含量及局部辐照组织 LPO 含量。SOD 测定采用分光光度法, LPO 测定采用荧光方法^[6], 试剂盒均购自南京建成研究所。结果提示: 辐照后全血 SOD 活性普遍下降, LPO 在中、大剂量照射组显著升高, 但无论是 γ 射线还是 β 射线辐照, 受照局部组织 LPO 改变均不明显, (见表 5 和表 6)。

表 5 γ 射线辐照兔外周血 SOD, LPO 和局部组织 LPO 含量变化 ($\bar{X} \pm s$)

组别	N	外周血 SOD / $u \cdot ml^{-1}$	外周血 LPO / $nmol \cdot ml^{-1}$	局部组织 LPO / $nmol \cdot ml^{-1}$
正常对照	4	607.16 $\pm$ 29.86	4.27 $\pm$ 1.86	25.86 $\pm$ 3.09
2.0 Gy	4	536.45 $\pm$ 23.53 ²⁾	4.97 $\pm$ 1.03 ²⁾	27.69 $\pm$ 5.74 ¹⁾
6.0 Gy	4	549.17 $\pm$ 36.58 ²⁾	4.78 $\pm$ 0.96 ¹⁾	30.61 $\pm$ 4.58 ¹⁾
12.0 Gy	4	450.22 $\pm$ 35.78 ²⁾	5.73 $\pm$ 1.25 ²⁾	37.51 $\pm$ 1.96 ²⁾

注: 1) $P > 0.05$; 2) $P < 0.05$; 3) $P < 0.01$ 。

表 6 β 射线辐照鼠外周血 SOD, LPO 和局部组织 LPO 含量变化 ($\bar{X} \pm s$)

组别	N	外周血 SOD / $u \cdot ml^{-1}$	外周血 LPO / $nmol \cdot ml^{-1}$	局部组织 LPO / $nmol \cdot ml^{-1}$
正常对照	10	756.34 $\pm$ 45.63	4.08 $\pm$ 1.13	27.88 $\pm$ 4.52
5 Gy ¹⁾	7	601.67 $\pm$ 39.17 ²⁾	4.97 $\pm$ 0.86 ¹⁾	28.42 $\pm$ 3.21 ²⁾
15 Gy ¹⁾	10	543.39 $\pm$ 35.86 ²⁾	4.68 $\pm$ 1.20 ²⁾	32.10 $\pm$ 4.97 ²⁾
45 Gy	10	442.57 $\pm$ 29.42 ²⁾	5.94 $\pm$ 1.58 ²⁾	30.86 $\pm$ 3.73 ²⁾

注: 1) 5 Gy 和 15 Gy 均只测定 2 月组; 2) 差异不显著; 3) 差异显著 $P < 0.05$ 。

1.4 受照局部组织蛋白降解现象电泳观察

为观察辐照是否引起局部组织蛋白降解, 我们对 γ 照射和 β 照射的大剂量组辐照动物局部皮肤组织匀浆按永井裕法去除胶原后 SDS-PAGE 电泳观察, 电泳结果显示, 无论 β 照射还是 γ 照射, 均能引起辐照区低分子量蛋白区带增多, 提示蛋白降解现象的存在 (见图 1 和图 2)。



图 1 γ 射线辐照兔局部组织蛋白质电泳图谱

a. 6 Gy 照射; b. 对照组; c. 12 Gy 照射。



图 2 β 射线辐照鼠局部组织蛋白质电泳图谱

a. 15 Gy 照射; b. 对照组; c. 45 Gy 照射。

1.5 γ 射线和 β 射线对局部组织糖胺聚糖含量的影响

为观察皮肤组织除胶原蛋白外的另一类主要成分——糖胺聚糖是否受辐照影响，我们对 γ 射线辐照兔和 β 射线辐照鼠局部辐照组织匀浆测定其糖胺聚糖含量^[7,8]，结果表明， γ 射线辐照组无明显改变，而 β 射线辐照组有一定影响（见表 7 和表 8）。

表 7 γ 射线辐照兔局部肺组织糖胺聚糖含量变化 ($\bar{X} \pm s$) mg/g 组织

组别	N	糖胺多糖含量
正常对照	4	1.17 $\pm$ 0.36
2.0 Gy	4	1.32 $\pm$ 0.47 ¹⁾
6.0 Gy	4	1.77 $\pm$ 0.66 ¹⁾
12.0 Gy	4	1.12 $\pm$ 0.24 ¹⁾

注：1) 与对照组相比差异不显著 $P > 0.05$ 。

表 8 γ 射线辐照组织糖胺聚糖含量变化 ($\bar{X} \pm s$) mg/g 组织

组别	N	糖胺多糖含量
正常对照	10	1.59 $\pm$ 0.43
5 Gy ²⁾	7	1.07 $\pm$ 0.32 ¹⁾
15 Gy ²⁾	10	1.21 $\pm$ 0.27 ¹⁾
45 Gy	10	0.98 $\pm$ 0.24 ¹⁾

注：1) 与对照组相比差异显著 $P < 0.05$ ；2) 5 Gy, 15 Gy 只测定 2 月组。

1.6 组织形态学改变

结果提示：小剂量 β 辐照形态学改变不明显；中剂量有镜下明显形态改变和细胞凋亡小体形成；大剂量有肉眼可见皮肤溃疡形成且创面迟迟不愈。

2 讨论^[9~12]

本研究旨在建立一种可靠的放射性皮肤烧伤的动物模型。实验采用电子直线加速器制作 Wistar 大鼠的 β 射线皮肤损伤动物模型，采用 ^{60}Co 照射制造新西兰大白兔的 γ 射线皮肤损伤动物模型。在对两种动物模型的比较研究中可以发现以下现象：(1) 无论是 γ 射线还是 β 射线，对局部辐照区动物皮肤组织产生的组织代谢改变结果均有相似之处；(2) γ 射线与 β 射线外照射相比，在相同剂量下， γ 射线易引起动物全身衰竭而导致死亡，如在本实验中， γ 辐照 30 Gy 剂量组的两只实验兔即是如此。在此前的预初实验中，我们曾以 5 Gy 和 15 Gy γ 射线照射大鼠，在 15 Gy 组，大鼠存活期均未超过两周；(3) 放射性外照射动物模型的选择，在开始均试用 Wistar 大鼠，而实验结果发现， β 射线外照射组大白鼠可获成功， γ 射线组则极易死亡，可能与大鼠动物身体小， γ 射线穿透力强，易损伤重要脏器引起衰竭死亡有关；(4) 两种射线相比较， γ 射线对动物局部外照射的损伤常不局限于皮肤，而 β 射线则常局限于皮肤与皮下组织，故就制造放射性皮肤损伤动物模型而言， β 射线优于 γ 射线，就射线产生方式来看，以往常采用敷贴放射性同位素方法，但易致污染，剂量也不容易准确掌握，而采用直线加速器则有剂量容易控制，无污染等优点，但需要一定的仪器设备。

从放射性皮肤损伤的组织代谢变化和病理学结果可以发现,放射性皮肤损伤主要引起胶原含量和结构的改变,特别对可溶性胶原可导致其含量明显下降,已知胶原是涉及创面愈合的主要成分,故放射性皮肤损伤引起的创面难愈合可能与此相关,而导致这一改变的调控机理可能涉及基质金属蛋白酶、细胞因子及粘附分子。这方面的研究工作我们正在继续进行中。

参 考 文 献

- 1 永井裕, 藤本大三郎. コラゲン实验法, 日本: 东京讲谈社第1版, 1985: 32~40
- 2 Glimcher M J, et al. Presence of Organic Phosphorors in Collagens and Gelatins. *Biochem Biophys. Acta*, 1964, 93: 585
- 3 Stegeman H. Determination of Hydroxyproline. *Clinic Chimica Acta*, 1967, 18: 267
- 4 Maruyama. Direct Measurement of Neutral Collagnaes Activity in Homogenates from Baboon and Human Liver. *Biochem. Biophys. Acta*, 1981, 658: 124
- 5 吴士良, 等. The Radioenzymatic Assay of Matrix Metalloprotease-1 Activity. 中国核科技报告, CNIC-01294, SMC-0147, 北京: 原子能出版社, 1998
- 6 大石诚子. 过氧化脂质测定法, 最新医学, 1978, 33: 660
- 7 李玉瑞, 等. 细胞外间质的生物化学及研究方法, 北京: 人民卫生出版社, 第1版, 1989, 195
- 8 翁志根. 皮肤放射损伤的现状和展望. *中华放射医学与防护杂志*, 1996, 16(4): 218~219
- 9 Tuifrok A C, et al. Changes in Radiation Sensitivity of Mouse Skin during Frctionated and Prolonged Treatments, *Radiat Res*, 1994, 139(3): 334
- 10 Fleischmajer R. Biology, Chemistry and Dathology of Collagen, U. S. A. The New york Academy of Science, 1985 154~156
- 11 Bjorn R O, Marcel E M. Collagen IV: Molecular Biology, U. S. A. CRC Press Inc, 1992, 3~15
- 12 Mcgrath M H. Peptide growth factors and wonnd healing. *Chin Plast Surg* 1990, 17: 421

CHINA NUCLEAR SCIENCE & TECHNOLOGY REPORT

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN 7-5022-2151-4



9 787502 221515 >

此为试读, 需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com