

王玉全,李程程,苏路路,等. *FOXO3A* 对全身照射小鼠造血系统辐射损伤的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 10-16.

Wang YQ, Li CC, Su LL, et al. Effect of *FOXO3A* on hematopoietic system damage in total-body irradiated mice [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 10-16.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.09.002

FOXO3A 对全身照射小鼠造血系统辐射损伤的影响

王玉全¹,李程程¹,苏路路¹,管博文¹,卢延华¹,关菲菲¹,荣利²,王小春²,
孟爱民^{1*},樊飞跃¹

(1.中国医学科学院医学实验动物研究所,北京协和医学院比较医学中心,国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室,北京市人类重大疾病实验动物模型工程技术研究中心,北京 100021; 2.北京市化工职业病防治院,北京市职业病防治研究院,北京 100093)

【摘要】 目的 利用 *FOXO3A* 基因敲除小鼠探讨 *FOXO3A* 在造血系统电离辐射 (ionizing radiation, IR) 损伤中的影响。方法 *FOXO3A*^{-/-} 小鼠和 WT 小鼠 (FVB/N) 分为野生型小鼠对照组 (WT 组), *FOXO3A*^{-/-} 小鼠对照组 (*FOXO3A*^{-/-} 组), 野生型小鼠照射组 (WT+IR), *FOXO3A*^{-/-} 小鼠照射组 (*FOXO3A*^{-/-}+IR) 四组, 分别接受假照射和 4 Gy X 射线全身照射 (total body irradiation, TBI), 剂量率为 0.9 Gy/min。接受 TBI 后 14 d 检测 *FOXO3A*^{-/-} 小鼠和 WT 小鼠脏器指数、外周血和骨髓细胞计数, 骨髓细胞分型, 造血祖细胞 (HPCs) 粒细胞巨噬细胞集落形成单位 (colony forming unit-granulocyte and macrophage, CFU-GM) 形成能力, 观察 *FOXO3A* 基因敲除对造血系统辐射损伤的影响。结果 生理情况下, *FOXO3A*^{-/-} 小鼠骨髓有核细胞计数下降, HPCs 比例升高 ($P < 0.05$); 小鼠接受 4 Gy X 射线 TBI 后 14 d, *FOXO3A* 基因敲除会加重电离辐射诱导的 HPCs 和造血干细胞 (HSCs) 比例下降, 但也会抑制辐射诱导的骨髓有核细胞数下降和造血祖细胞 CFU-GM 形成能力减退。结论 *FOXO3A* 基因敲除破坏造血系统稳态维持, 加重 TBI 小鼠 HPCs 和 HSCs 的辐射损伤, 对造血细胞辐射敏感性产生一定的影响。*FOXO3A* 在造血系统电离辐射损伤中的调节作用以及能否作为防治损伤的靶点还有待进一步研究。

【关键词】 电离辐射; *FOXO3A*; 造血干细胞; 造血祖细胞; 活性氧; DNA 损伤应答; 小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0010-07

Effect of *FOXO3A* on hematopoietic system damage in total-body irradiated mice

WANG Yuquan¹, LI Chengcheng¹, SU Lulu¹, GUAN Bowen¹, LU Yanhua¹, GUAN Feifei¹, RONG Li²,
WANG Xiaochun², MENG Aimin^{1*}, FAN Feiyue¹

(1. Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC); NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine; Beijing Engineering Research Center for Experimental Animal Models of Human Critical Diseases, Beijing 100021, China.

2. The Beijing Prevention and Treatment Hospital of Occupational Disease for Chemical Industry;
Beijing Institute of Occupational Disease Prevention and Treatment, Beijing 100093)

【基金项目】 协和青年基金(2017310015); 国家自然科学基金青年基金(81703170)。

【作者简介】 王玉全(1992—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 造血系统辐射损伤机制。E-mail: bcybcyyx@163.com

【通信作者】 孟爱民(1963—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 组织干细胞(造血干细胞)放化疗损伤机制研究。E-mail: ai_min_meng@126.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of *FOXO3A* on hematopoietic system damage induced by irradiation exposure in *FOXO3A*-knockout mice. **Methods** *FOXO3A*^{-/-} and WT mice were divided into four groups: wild-type control (WT), *FOXO3A*^{-/-} control (*FOXO3A*^{-/-}), wild-type irradiation (WT+IR), and *FOXO3A*^{-/-} irradiation (*FOXO3A*^{-/-} + IR). Mice received 4 Gy X-ray total body irradiation (TBI) at a dose rate of 0.9 Gy/min. Fourteen days later, peripheral blood measurements, bone marrow cell counts, organ index, bone marrow cell phenotyping, and CFU-GM of hematopoietic progenitor cells were quantified. **Results** Under physiological conditions, bone marrow nucleated cell counts were decreased and proportions of hematopoietic progenitor cells (HPCs) were increased in *FOXO3A*^{-/-} mice ($P < 0.05$). These results indicate an increased decline in the proportion of HPCs/hematopoietic stem cells (HSCs), and reduced number of bone-marrow nucleated cells and colony forming unit-granulocyte and macrophage (CFU-GM) ($P < 0.001$) in *FOXO3A*^{-/-} mice 14 days after 4 Gy X-ray TBI. **Conclusions** *FOXO3A* gene knockout damaged the homeostatic maintenance of the hematopoietic system, and aggravated HPC and HSC injury in TBI mice. The role of *FOXO3A* in regulation of hematopoietic system damage induced by radiation exposure and clinical translation remain to be further studied.

【Keywords】 ionizing radiation (IR); *FOXO3A*; hematopoietic stem cell (HSC); hematopoietic progenitor cell (HPC); reactive oxygen species (ROS); DNA damage response; mouse

医疗诊断和治疗中电离辐射 (ionizing radiation, IR) 手段应用增多、核能生产、太空活动增加, 给人类带来巨大的利益与帮助。同时, 人类对 IR 暴露机会增多, 可能对人类健康产生损害^[1-3]。机体的造血系统对 IR 最为敏感, 短期的高剂量辐射暴露和长期的低剂量辐射暴露均能引起造血系统辐射损伤, IR 对造血系统的损伤主要表现为两方面: 急性骨髓抑制和长期骨髓抑制。急性骨髓抑制临床上表现为外周血细胞计数降低, 容易引发急性感染或死亡, 主要是由 IR 引起造血祖细胞 (hematopoietic progenitor cells, HPCs) 和少量造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 的凋亡^[4], 可以给予造血细胞生长因子 (hematopoietic growth factors, HGFs) 治疗以缓解症状^[5], 但是也会影响 HSCs 功能, 加重 HSCs 功能损伤^[6]; 长期骨髓抑制临床表现为再生障碍贫血, 甚至诱发白血病, 是 IR 远期辐射损伤的主要表现, 同时也是临床上进行肿瘤放化疗治疗时出现的严重毒副作用之一^[4], 主要是由于 IR 引起大量 HSCs 凋亡、衰老, 导致骨髓衰竭^[7-8]。长期骨髓抑制具有迟发性, 临床治疗上容易被忽视, 目前尚无有效治疗手段, 死亡率较高^[1]。由此, 造血系统辐射损伤防护与治疗方法的研究一直是人们关注的热点。

IR 诱导的氧化应激是造血细胞辐射损伤的重要机制, IR 诱导的造血细胞及其微环境中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生增加, 促进 HPCs、HSCs 凋亡, HSCs 分化异常导致造血细胞数量减少, 诱导 HSCs 衰老导致其自我更新能力下降, 损伤骨髓基质细胞导致造血干细胞稳态紊乱, 最终导致骨髓抑制, 骨髓衰竭^[8-10]。生理情况下, 机体细胞存在有效的 ROS 清除机制。叉头状转录因子

O 亚族 3 (forkhead box transcription factor O 3, *FOXO3/FOXO3A*) 在氧化应激调节上发挥重要作用, ROS 可以诱导 *FOXO3A* 转录激活, 促进抗氧化酶系基因的表达上调, 清除 ROS, 减轻氧化应激损伤。前期研究发现 *FOXO3A* 转录因子在 HSCs 稳态调节上发挥重要作用^[11], *FOXO3A* 基因敲除小鼠表现 HSCs 自我更新能力的丧失和过早衰竭^[12]。同时, *FOXO3A* 可以通过调节毛细血管扩张性共济失调突变 (ataxia telangiectasia mutated, ATM) 基因和抗氧化酶系的表达调节 HSCs 中 ROS 水平, 维持 HSCs 功能^[13]。范科尼贫血蛋白 2 (Fanconi anemia protein 2, Fancd2) 基因介导的 DNA 损伤修复通路与 *FOXO3A* 基因介导的应激调节通路在 HSCs 维持上存在功能性协同调节作用^[14]。我们前期研究发现全身照射 (total body irradiation, TBI) 小鼠给以抗氧化剂白藜芦醇治疗, 可以抑制辐射诱导骨髓 HSCs ROS 合成增加, 阻止辐射诱导的 HSCs 衰老, 缓解辐射诱导的长期损伤^[13]。而白藜芦醇对 HSCs 辐射损伤的缓解作用可能是诱导去乙酰化酶 Sirt1 激活 *FOXO3A* 调节^[15-16]。这提示 *FOXO3A* 在抗氧化应激调节缓解造血细胞辐射损伤中发挥重要作用。进一步研究 *FOXO3A* 在造血细胞辐射损伤中的作用及机制可以为造血系统辐射损伤的诊断治疗提供资料。由此我们拟利用 *FOXO3A* 基因敲除小鼠模型来探讨 *FOXO3A* 对全身照射小鼠造血系统辐射损伤的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

FVB 品系 SPF 级 *FOXO3A* 基因敲除小鼠

(*FOXO3A*^{-/-})及野生型小鼠(*FOXO3A*^{+/+}, WT),于中国医学科学院医学实验动物研究所 SPF 级屏障环境动物房[SYXK(京)2015-0035]中自行繁育鉴定^[17],雄性,体重 25~30 g,8~12 周龄。实验方案通过中国医学科学院医学实验动物研究所实验动物使用与管理委员会(IACUC)审批,IACUC 号为:MAM17002。实验过程中,在不影响实验要求和实验结果的基础上,严格按实验动物使用的 3R 原则关注实验动物福利。

1.2 主要试剂与仪器

EDTA-K₃ 购自 Sigma 公司;甲基纤维素培养基购自 Stem cell Technologies 公司;流式抗体 CD4、CD8、B220、Ter119、Gr-1、CD11b、streptavidin、scal-1、ckit 均购自 BD Bioscience 和 eBioscience 公司。X-RAD 225 高能生物学 X 射线辐照仪(美国);FACS Aria™ II 流式细胞仪(BD Bioscience);DX120 全自动血液分析仪(ABX Pentra);CKX41 倒置显微镜(奥林帕斯)。

1.3 实验方法

1.3.1 小鼠分组和照射

小鼠均分为四组(每组 3~6 只):野生型小鼠对照组(WT 组),*FOXO3A*^{-/-}小鼠对照组(*FOXO3A*^{-/-}组),野生型小鼠照射组(WT+IR),*FOXO3A*^{-/-}小鼠照射组(*FOXO3A*^{-/-}+IR),对照组接受假照射,照射组接受 4 Gy X 射线 TBI,照射剂量率为 0.9 Gy/min。接受 TBI 的小鼠于 SPF 级动物房中饲养,每天观察记录体重变化。

1.3.2 小鼠外周血常规检测

小鼠 TBI 后 14 d 小鼠眼眶静脉丛取血,抗凝管收集外周血,全自动血液分析仪测定外周血中白细胞数(WBC)、红细胞数(RBC)、血红蛋白含量(HGB)和血小板(PLT)等指标。

1.3.3 小鼠胸腺、脾指数测定

小鼠 TBI 后 14 d 称重安乐死,取胸腺、脾并称重,计算脏器指数,脏器指数=脏器(mg)/体重(g)。

1.3.4 骨髓细胞有核细胞计数

小鼠 TBI 后 14 d,无菌分离小鼠胫骨和股骨,剔除肌肉,注射器冲洗骨髓细胞,过滤后采用 KOVA 一次性计数板,显微镜下人工骨髓计数。最终细胞计数结果以每只小鼠×10⁷个细胞表示。

1.3.5 小鼠骨髓细胞表型分析

小鼠 TBI 后 14 d,收集骨髓细胞至流式管,加入 Biotin 标记的混合一抗抗体(CD4、CD8、B220、

Ter119、Gr1、CD11b),孵育后洗涤并重悬细胞,加入混合二抗抗体 streptavidin(percp 标记)、scal-1(PE 标记)、ckit(APC 标记),孵育后洗涤并重悬细胞。流式细胞仪检测 HPCs(Lin⁻c-kit⁺ Sca1⁻ or LSK-cells),HSCs(Lin⁻c-kit⁺ Sca1⁺ or LSK⁺ cells)^[18]在骨髓中所占的比例。

1.3.6 粒细胞巨噬细胞集落形成单位测定^[6]

小鼠 TBI 后 14 d 安乐死,分离骨髓细胞并分组混合,每组接种 40 000 个细胞到分装好的 2 mL 3534 培养基中。按操作说明进行后续接种。接种细胞培养 5~7 d 后于倒置显微镜下读取粒细胞巨噬细胞集落形成单位(colony forming unit-granulocyte and macrophage, CFU-GM)数,细胞数≥50 为阳性集落。结果换算为每 10⁵ 个 BMNCs 中 CFU-GM 的个数。

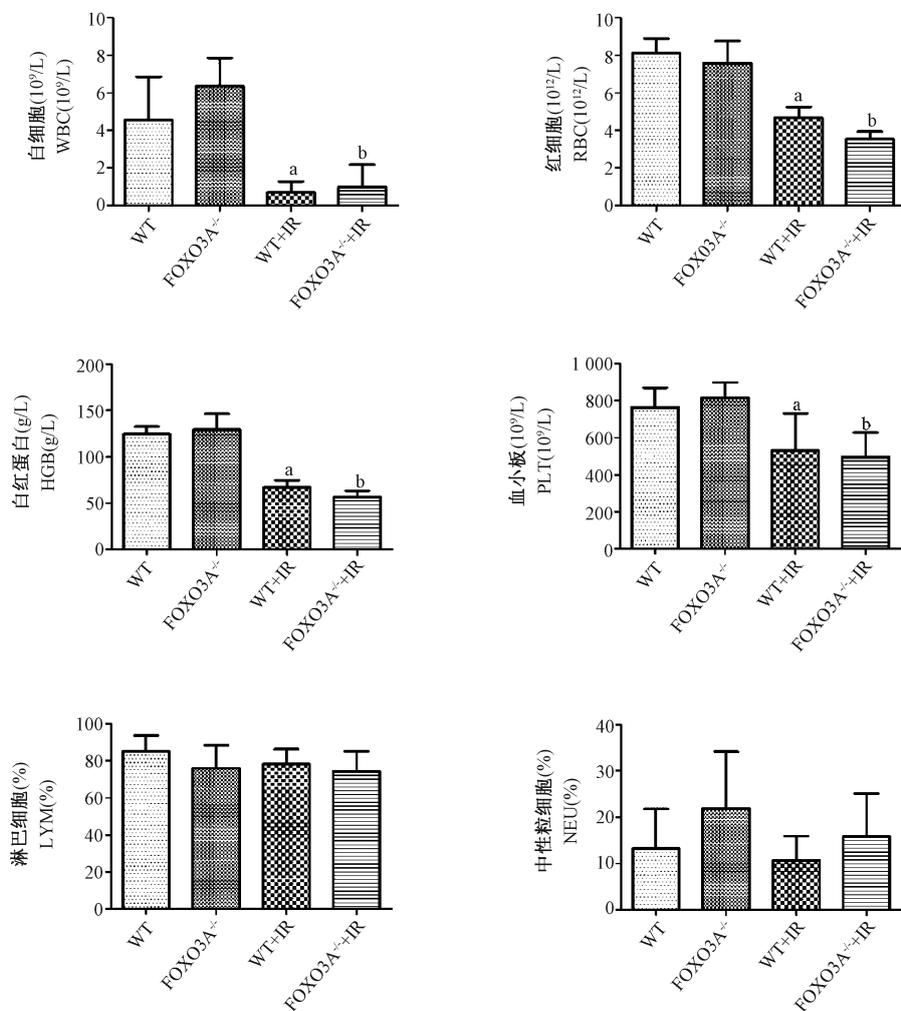
1.4 统计学方法

数据用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对数据进行方差分析(ANOVA)。组间方差分析比较时,使用用于多重比较的 Student-Newman-Keuls test。两组计量资料比较时使用非配对 Student's *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。所有这些分析使用 GraphPad Prism 5 软件(San Diego, CA, USA)。

2 结果

2.1 *FOXO3A* 对受照小鼠外周血计数的影响

TBI 小鼠外周血计数结果如图 1 所示:生理情况下,*FOXO3A*^{-/-}小鼠与 WT 小鼠,白细胞数、红细胞数、血红蛋白含量、血小板计数、淋巴细胞和中性粒细胞比例均未见明显差异($P > 0.05$)。接受 4 Gy TBI 后,*FOXO3A*^{-/-}小鼠和 WT 小鼠白细胞数、红细胞数下降,血红蛋白含量、血小板计数与 *FOXO3A*^{-/-}对照组小鼠和 WT 对照组小鼠相比均降低($P < 0.05$);淋巴细胞和中性粒细胞比例仍未见明显差异($P > 0.05$)。接受 4 Gy TBI 的 *FOXO3A*^{-/-}小鼠和 WT 小鼠间相比,白细胞数目、红细胞数目、血红蛋白含量、血小板含量、淋巴细胞和中性粒细胞比例均未见明显差异($P > 0.05$)。结果表明:生理情况下,小鼠 *FOXO3A* 基因敲除不影响其外周血计数。小鼠接受 4 Gy X 射线 TBI 后 14 d 出现白细胞数、红细胞数下降,血红蛋白含量、血小板计数降低;*FOXO3A* 基因敲除小鼠受照后外周血改变与野生型小鼠没有差异。这提示 *FOXO3A* 基因敲除不会影响受照小鼠外周血计数改变。



注:与 WT 组相比, ^a $P < 0.05$; 与 FOXO3A^{-/-}组相比, ^b $P < 0.05$ 。

图 1 FOXO3A 基因对受照小鼠外周血计数的影响

Note. Compared with the WT group, ^a $P < 0.05$. Compared with the FOXO3A^{-/-} group, ^b $P < 0.05$.

Figure 1 Effect of FOXO3A on peripheral blood cell counts of the irradiated mice

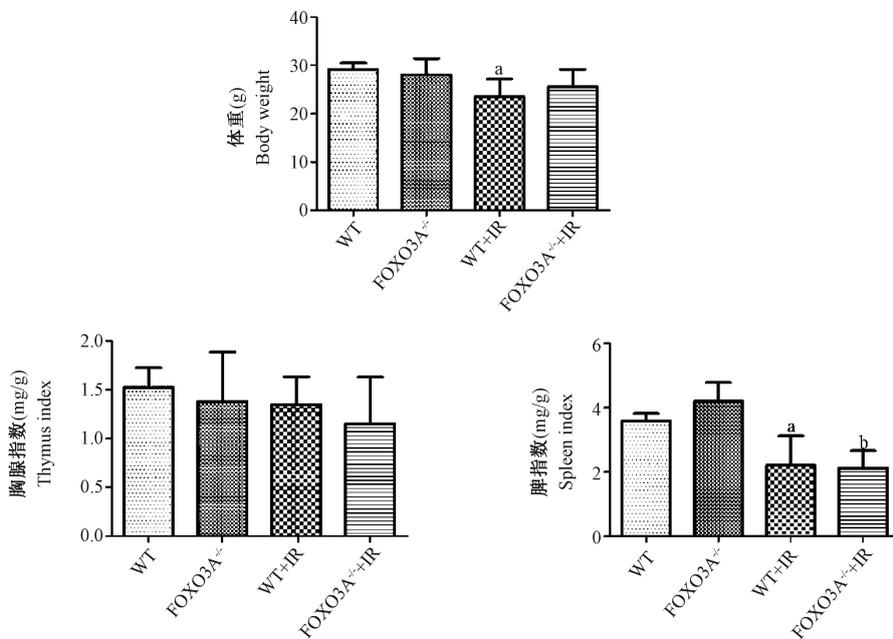
2.2 FOXO3A 对受照小鼠的脏器指数的影响

TBI 小鼠体重及脏器指数结果如图 2 所示:生理情况下, FOXO3A^{-/-}小鼠与 WT 小鼠, 体重、胸腺指数、脾指数均未见明显差异 ($P > 0.05$)。接受 4 Gy TBI 后, WT 组小鼠体重与 WT 对照组小鼠相比降低 ($P < 0.01$), FOXO3A^{-/-}组小鼠体重与 FOXO3A^{-/-}对照组小鼠相比未见明显差异 ($P > 0.05$); WT 组和 FOXO3A^{-/-}组小鼠胸腺指数与 WT 对照组小鼠和 FOXO3A^{-/-}对照组小鼠相比均未见明显差异 ($P < 0.05$), 而脾指数均显著下降 ($P < 0.01$), 但两者下降幅度上未见明显差异 ($P > 0.05$)。结果表明:生理情况下, FOXO3A 基因敲除不影响小鼠体重及脏器指数。FVB 品系小鼠接受 4 Gy X 射线 TBI 后 14 d, 小鼠体重和脾指数降低, FOXO3A 基因

敲除小鼠受照后体重和脾指数下降与野生型小鼠相比未见明显差异。未发现 FOXO3A 基因敲除影响受照小鼠体重及脏器指数变化。

2.3 FOXO3A 对受照小鼠骨髓细胞计数的影响

小鼠骨髓细胞计数结果如图 3 所示。结果发现:生理情况下, FOXO3A^{-/-}小鼠骨髓有核细胞数低于 WT 小鼠 ($P < 0.05$)。接受 4 Gy TBI 后, WT 小鼠骨髓有核细胞数与 WT 对照组小鼠相比降低 ($P < 0.01$); FOXO3A^{-/-}小鼠骨髓有核细胞数与 FOXO3A^{-/-}对照组小鼠相比未发现明显差异 ($P > 0.05$)。进一步分析发现, 经受 4 Gy TBI 的 FOXO3A^{-/-}小鼠骨髓有核细胞数下降率为 9%, 低于 WT 小鼠 51%。结果表明:生理情况下, 小鼠 FOXO3A 基因敲除会降低小鼠体内骨髓有核细胞



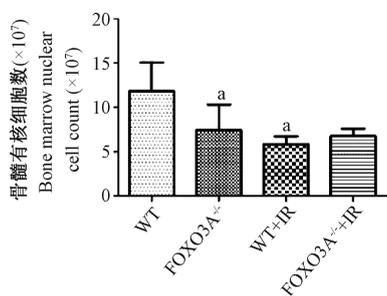
注:与 WT 组相比,^a $P < 0.05$;与 FOXO3A^{-/-}组相比,^b $P < 0.05$;与 WT+IR 组相比,^c $P < 0.05$ 。

图 2 FOXO3A 基因对受照小鼠体重及脏器指数的影响

Note. Compared with the WT group, ^a $P < 0.05$. Compared with the FOXO3A^{-/-} group, ^b $P < 0.05$. Compared with the WT+IR group, ^c $P < 0.05$.

Figure 2 Effect of FOXO3A on body weight and organ index of the irradiated mice

数;接受 4 Gy X 射线 TBI 后 14 d,受照小鼠出现骨髓有核细胞数目降低,FOXO3A 基因敲除减轻受照小鼠骨髓有核细胞数目降低。这提示 FOXO3A 基因敲除对小鼠骨髓有核细胞具有一定损伤作用,同时又能抑制辐射诱导的骨髓细胞数目降低。



注:与 WT 组相比,^a $P < 0.05$ 。

图 3 FOXO3A 基因对受照小鼠骨髓细胞计数的影响

Note. Compared with the WT group, ^a $P < 0.05$.

Figure 3 Effect of FOXO3A on bone marrow cell counts of the irradiated mice

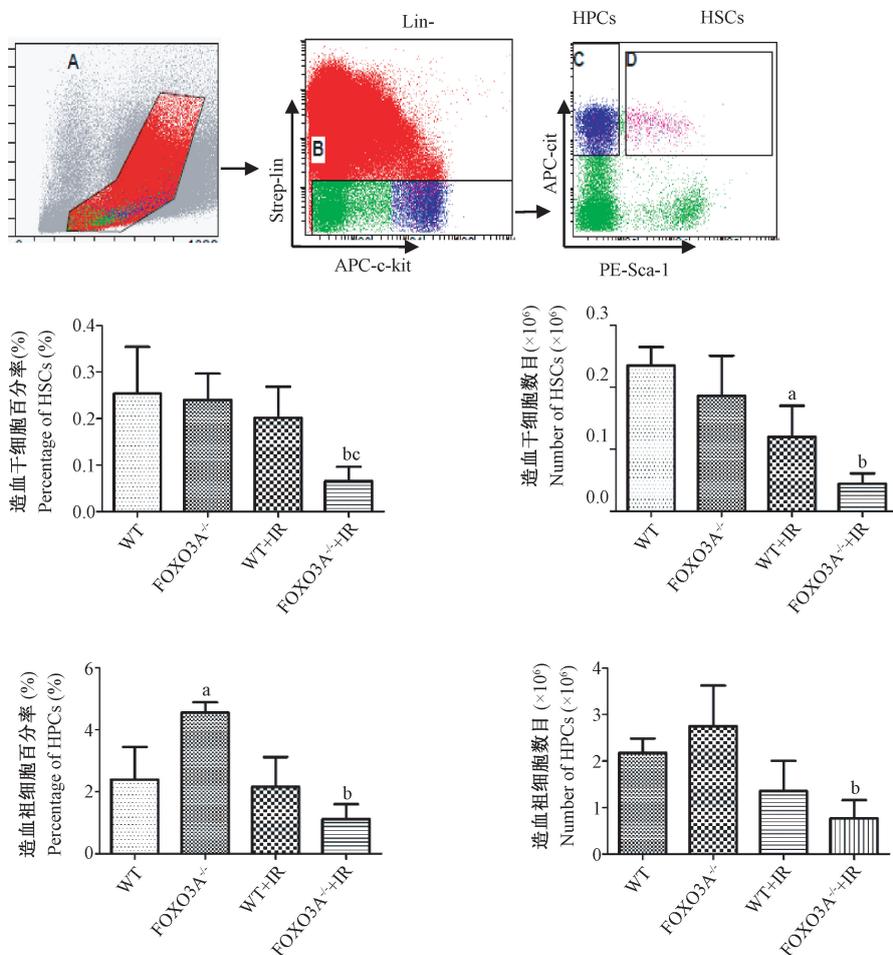
2.4 FOXO3A 对受照小鼠骨髓细胞分型的影响

TBI 小鼠骨髓细胞分型结果如图 4 所示:生理情况下,FOXO3A^{-/-}小鼠 HPCs 比例高于 WT 小鼠($P < 0.05$),HSCs 比例和数目、HPCs 数目均未发现明显差异($P > 0.05$)。接受 4 Gy TBI 后,WT 小鼠

HSCs 数目与 WT 对照组小鼠相比降低($P < 0.01$),FOXO3A^{-/-}小鼠 HSCs 比例和数目、HPCs 比例和数目与 FOXO3A^{-/-}对照组小鼠相比均降低($P < 0.05$)。进一步分析发现,接受 4 Gy TBI 的 FOXO3A^{-/-}小鼠 HSCs/HPCs 比例下降率均显著高于 WT 小鼠。上述结果表明:生理情况下,FOXO3A 基因敲除小鼠体内 HPCs 比例升高;接受 4 Gy X 射线 TBI 后 14 d,FOXO3A^{-/-}受照小鼠出现明显 HSCs、HPCs 比例和数目下降,FOXO3A 基因敲除加重受照小鼠 HSCs、HPCs 比例下降。这提示 FOXO3A 基因敲除能够影响小鼠体内造血细胞稳态,同时又能加重电离辐射诱导小鼠 HSCs、HPCs 损伤。

2.5 FOXO3A 对受照小鼠造血祖细胞增殖功能的影响

TBI 小鼠 CFU-GM 实验结果如图 5 所示。结果发现:生理情况下,FOXO3A^{-/-}小鼠与 WT 小鼠 CFU-GM 形成数未见明显差异($P > 0.05$)。接受 4 Gy TBI 后,WT 小鼠 CFU-GM 形成数与 WT 对照组小鼠相比降低($P < 0.001$);FOXO3A^{-/-}小鼠 CFU-GM 形成数与 FOXO3A^{-/-}对照组小鼠相比未见明显差异($P > 0.05$);进一步分析发现,接受 4 Gy TBI 的 FOXO3A^{-/-}小鼠 CFU-GM 形成数高于 WT 小鼠($P < 0.001$)。结果表明:生理情况下,小鼠 FOXO3A 基



注:流式图中的 A、B、C、D 分别代表流式细胞仪分析时门的设置。柱形图中,与 WT 组相比,^a $P < 0.05$;与 FOXO3A^{-/-}组相比,^b $P < 0.05$;与 WT+IR 组相比,^c $P < 0.05$ 。

图 4 FOXO3A 对受照小鼠的骨髓细胞分型的影响

Note. A, B, C, and D in the flow chart represents the gating strategy as analyzed by the flow cytometry, respectively. In the column charts, compared with the WT group, ^a $P < 0.05$, compared with the FOXO3A^{-/-} group, ^b $P < 0.05$, and compared with the WT+IR group, ^c $P < 0.05$.

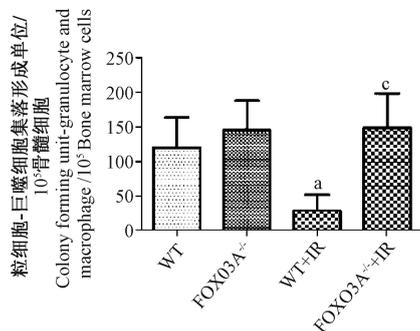
Figure 4 Effect of FOXO3A on bone marrow cell typing of the irradiated mice

因敲除不影响HPCs CFU-GM形成能力。小鼠接受 4 Gy X 射线 TBI 后 14 d, FOXO3A 基因敲除抑制受照小鼠 CFU-GM 形成降低。这提示 FOXO3A 基因敲除抑制受照小鼠造血祖细胞增殖功能减退。

3 讨论

实验结果显示:生理情况下, FOXO3A 基因敲除会降低小鼠体内骨髓有核细胞数,骨髓 HPCs 比例升高。骨髓有核细胞数降低可能是由于 FOXO3A 基因敲除导致的造血细胞损伤性改变。HPCs 比例升高可能是由于 FOXO3A 基因敲除影响了 HSCs 维持静止和自我更新的能力^[12],导致 HSCs 数目下降,出现 HPCs 比例相对升高;也可能 FOXO3A 基因敲除加速 HSCs 分化,导致 HPCs 数目增多,这些提示

了 FOXO3A 基因对 HSCs 功能维持的作用。接受 4 Gy X 射线照射后 14 d, FOXO3A 基因敲除抑制辐射诱导的骨髓细胞数目降低和造血祖细胞 CFU-GM 形成能力减退。FOXO3A 基因敲除减轻辐射诱导的骨髓细胞数目降低,可能与 FOXO3A 基因敲除小鼠未照射时骨髓细胞水平较低有关,也有可能是因为 FOXO3A 基因敲除影响了 HSCs 稳态维持能力,促进造血细胞的增殖。FOXO3A 基因敲除抑制辐射诱导的造血祖细胞 CFU-GM 形成能力减退,可能是由于 FOXO3A 基因敲除阻断电离辐射诱导的 HPCs 增殖抑制,促进 HPCs 的增殖。上述结果中受照后 FOXO3A 基因敲除小鼠 HPCs 比例明显下降,反映 HPCs 增殖功能的 CFU-GM 没有明显改变,提示损伤较重的可能不是粒细胞和巨噬细胞,而是巨核系



注:与 WT 组相比,^a $P < 0.05$;与 WT+IR 组相比,^c $P < 0.05$ 。

图 5 *FOXO3A* 对受照小鼠造血祖细胞增殖功能的影响

Note. Compared with the WT group, ^a $P < 0.05$. Compared with the WT+IR group, ^c $P < 0.05$.

Figure 5 Effect of *FOXO3A* on hematopoietic progenitor cell proliferation of the irradiated mice

细胞和红系细胞^[19],与外周血计数变化趋势一致。最为明显的是 *FOXO3A* 基因敲除加重受照小鼠 HSCs、HPCs 比例和数目下降,表明了 *FOXO3A* 基因敲除增加了 HSCs 和 HPCs 的辐射敏感性。

综上,生理情况下,*FOXO3A* 基因敲除会降低小鼠体内骨髓有核细胞数,导致小鼠体内 HPCs 比例升高;这说明生理情况下,*FOXO3A* 基因敲除会影响小鼠造血系统稳态的维持,导致造血细胞损伤性改变。受到照射后,*FOXO3A* 基因敲除小鼠 HSCs 和 HPCs 损伤最为明显,提示了 *FOXO3A* 基因对 HSCs 和 HPCs 辐射保护中具有重要作用。

FOXO3A 作为机体抗氧化应激和 DNA 损伤应答信号通路中重要的调节分子,*FOXO3A* 基因敲除可能损伤造血系统稳态维持能力和加重造血系统辐射损伤。我们结果显示全身照射后小鼠 HSCs、HPCs 变化符合预期。*FOXO3A* 是否能够成为造血细胞辐射损伤保护的靶点还有待于进一步研究。

致谢:感谢中国医学科学院医学实验动物研究所张连峰教授课题组老师在实验中给予的指导帮助。

参考文献:

[1] Abbas HA, Maccio DR, Coskun S, et al. Mdm2 is required for survival of hematopoietic stem cells/progenitors via dampening of ROS-induced p53 activity [J]. Cell Stem Cell, 2010, 7(5): 606-617.

[2] 杨非,周敏,龚力,等.低剂量电离辐射对放射从业者血小板及白细胞的影响分析[J].中华流行病学杂志,2016,37(12):1578-1582.

[3] Laurier D, Gay D. Risks associated to ionizing radiation from natural sources [J]. Rev Prat, 2015, 65(1): 74-78.

[4] Mauch P, Constone L, Greenberger J, et al. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1995, 31(5): 1319-1339.

[5] Gardner RV, Begue R, Mckinnon E. The effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on primitive hematopoietic stem cell (PHSC) function and numbers, after chemotherapy [J]. Exp Hematol, 2001, 29(9): 1053-1059.

[6] Li C, Lu L, Zhang J, et al. Granulocyte colony-stimulating factor exacerbates hematopoietic stem cell injury after irradiation [J]. Cell Biosci, 2015, 5: 65.

[7] Yong W, Schulte BA, Larue AC, et al. Total body irradiation selectively induces murine hematopoietic stem cell senescence [J]. Blood, 2006, 107(1): 358-366.

[8] Aimin M, Yong W, Gary VZ, et al. Ionizing radiation and busulfan induce premature senescence in murine bone marrow hematopoietic cells [J]. Cancer Res, 2003, 63(17): 5414-5419.

[9] Meng A, Wang Y, Brown SA, et al. Ionizing radiation and busulfan inhibit murine bone marrow cell hematopoietic function via apoptosis-dependent and -independent mechanisms [J]. Exp Hematol, 2003, 31(12): 1348-1356.

[10] Shao L, Luo Y, Zhou D. Hematopoietic stem cell injury induced by ionizing radiation [J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(9): 1447-1462.

[11] Anne W, Elisa L, Andreas T. Balancing dormant and self-renewing hematopoietic stem cells [J]. Curr Opin Genet Dev, 2009, 19(5): 461-468.

[12] Miyamoto K, Araki KY, Naka K, et al. Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool [J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(1): 101-112.

[13] Xu G, Wu H, Zhang J, et al. Metformin ameliorates ionizing irradiation-induced long-term hematopoietic stem cell injury in mice [J]. Free Radic Biol Med, 2015, 87: 15-25.

[14] Rehman A, Kim Y, Kim H, et al. FOXO3a expression is associated with lymph node metastasis and poor disease-free survival in triple-negative breast cancer [J]. J Clin Pathol, 2018, 71(9): 806-813.

[15] Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase [J]. Science, 2004, 303(5666): 2011-2015.

[16] Shaday M, David S. Sirtuins in mammals: insights into their biological function [J]. Biochem J, 2007, 404(1): 1-13.

[17] 王玉全,李程程,苏路路,等.*FOXO3A* 基因敲除小鼠繁殖鉴定及骨髓造血干细胞表型初步分析[J].中国比较医学杂志,2019,29(1):41-46.

[18] Tsai WB, Chung YM, Takahashi Y, et al. Functional interaction between FOXO3a and ATM regulates DNA damage response [J]. Nat Cell Biol, 2008, 10(4): 460-467.

[19] Laurenti E, Gottgens B. From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes [J]. Nature, 2018, 553(7689): 418-426.