

党女,卢延华,管博文,等. X线全身照射对2型糖尿病 KKAy 小鼠造血免疫系统功能的影响[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(3):298-304.

Dang N, Lu YH, Guan BW, et al. Effects of X-ray whole body irradiation on the hematopoietic immune system in KKAy mice with type 2 diabetes mellitus [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(3):298-304.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.03.005

X线全身照射对2型糖尿病 KKAy 小鼠造血免疫系统功能的影响

党女¹, 卢延华¹, 管博文¹, 苏路路¹, 李程程¹, 荣利², 王小春², 孟爱民^{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, 国家卫生和计划生育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 100176)

【摘要】 目的 观察 X 线全身照射对 2 型糖尿病模型 KKAy 小鼠的造血免疫系统功能的损伤作用, 并与对照 C57 小鼠进行比较。方法 KKAy 小鼠, 分为对照组和照射组, 照射组小鼠经 X 线全身照射, 剂量 4 Gy, C57 小鼠作为对照。照射后 15 d 检测小鼠的外周血常规, 流式细胞术检测骨髓中造血祖细胞、造血干细胞和长期造血干细胞的比例, 脾中 B 细胞和 T 细胞的比例, 胸腺中 CD4CD8 双阳性 T 细胞、CD4 单阳性 T 细胞和 CD8 单阳性 T 细胞的比例。通过粒细胞集落形成能力实验评价小鼠造血祖细胞的功能。结果 照射前 KKAy 小鼠的 HSC 和 LT-HSC 的比例低于 C57 小鼠。4 Gy 全身照射后, KKAy 小鼠的外周血 WBC、RBC、PLT、HGB 和 LYM% 分别下降了 68.42%、12.17%、8.78%、30.12%、70.84%; 骨髓中 HPC、HSC 和 LT-HSC 的比例分别下降了 34.02%、29.49%、35.74%; 脾 B 细胞和 T 细胞的比例分别下降了 57.85%、58.81%; 胸腺 CD4CD8 双阳性细胞的比例下降了 51.70%。KKAy 小鼠的骨髓 HSC、LT-HSC、外周血 RBC 和 HGB 的降低幅度显著低于 C57 小鼠。结论 4 Gy 全身照射损伤 KKAy 小鼠的造血免疫系统功能, KKAy 小鼠可能比 C57 小鼠表现出对电离辐射较强的耐受性。

【关键词】 电离辐射; X 线; 全身照射; KKAy 小鼠; 2 型糖尿病; 放疗

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 03-0298-007

Effects of X-ray whole body irradiation on the hematopoietic immune system in KKAy mice with type 2 diabetes mellitus

DANG Nv¹, LU Yanhua¹, GUAN Bowen¹, SU Lulu¹, LI Chengcheng¹, RONG Li², WANG Xiaochun², MENG Aimin^{1*}

(1. Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Science & Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College, Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Ministry of Health, Beijing Engineering Research Center for Laboratory Animal Models of Human Critical Diseases, Beijing 100021, China.

2. Beijing Chemical Occupational Disease Prevention and Treatment Institute, Beijing 100176)

Corresponding author: MENG Aimin. E-mail: ai_min_meng@126.com

【Abstract】 Objective To explore the damaging effect of X-ray whole body irradiation on hematopoiesis and immune functions in KKAy mice with type 2 diabetes mellitus. **Methods** KKAy mice were exposed to 4 Gy total body irradiation (TBI), and compared with C57BL/6J mice. All mice were euthanized for routine analysis of peripheral blood,

【基金项目】 国家自然科学基金(81372928, 81573094), 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2017-I2M-3-015); 国家重点研发计划(2017YFA0105200)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(81372928, 81573094), Medical and Health Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Medical Sciences (2017-I2M-3-015), and National Key Research and Development Plan (2017YFA0105200).

【作者简介】 党女(1995—), 女, 硕士研究生, 专业: 放射医学。Email: dangnv1995@qq.com

【通信作者】 孟爱民(1963—), 女, 研究员, 研究方向: 造血干细胞损伤机制和干细胞衰老研究。Email: ai_min_meng@126.com

hematopoietic progenitor cells (HPC), hematopoietic stem cells (HSC), and long-term hematopoietic stem cells (LT-HSC) frequencies and the percentages of splenic lymphocytes and thymic lymphocytes. The function of HPCs was measured by colony-forming unit-granulocyte and macrophage (CFU-GM) assay. **Results** The frequency of HSCs and LT-HSCs in KKAY mice was lower than that in C57 mice. After 4 Gy whole body irradiation, the percentages of WBCs, RBCs, PLTs, HGB and LYM% in peripheral blood of KKAY mice were decreased by 68.42%, 12.17%, 8.78%, 30.12%, and 70.84%, respectively. The percentages of HPCs, HSCs and LT-HSCs in bone marrow were decreased by 34.02%, 29.49%, 35.74%, respectively. The proportions of splenic B and T cells were decreased by 57.85% and 58.81%, respectively. The proportion of thymic CD4⁺/CD8⁺ cells was decreased by 51.7%. The HPC function (CFU-GM) was also impaired. The decrease levels of bone marrow HSC, LT-HSC, peripheral blood RBC and HGB in KKAY mice were significantly lower than those in C57 mice. **Conclusions** Whole body irradiation by 4 Gy X-rays impairs the hematopoiesis and immune functions, and KKAY mice might show a greater tolerance to ionizing radiation than C57 mice.

[Keywords] X-ray; whole body irradiation; KKAY mice; type 2 diabetes mellitus; radiotherapy

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

目前,全球范围内糖尿病和恶性肿瘤的发病率正逐年增加。2013 年的调查研究显示,中国罹患糖尿病的成年人预计达 11.6%,有 50.1% 的人处于糖尿病前期^[1]。流行病学显示,糖尿病与肿瘤的发生密切相关^[2-3],糖尿病患者的恶性肿瘤发生率明显高于非糖尿病患者。随着老龄化的到来,恶性肿瘤患者合并糖尿病者增多,其治疗问题不容忽视。

现代医学对肿瘤的治疗,主要是手术、放疗、化疗以及分子靶向治疗等手段。放化疗是恶性肿瘤的常规治疗,其杀灭癌细胞的同时会损害正常组织细胞的功能,诱发胃肠道反应,骨髓抑制和造血系统损伤等毒副作用,导致患者难以接受进一步的治疗^[4]。近年来,在小鼠,大鼠和人类中的研究表明,糖尿病可导致骨髓微环境受损,如微血管病变、神经末梢病变和干细胞动员受损等^[5-6]。糖尿病可能破坏骨髓的结构与功能,使未成熟的细胞进入血液,可能损害造血干细胞的潜能。糖尿病患者本身处于“慢性低水平炎症”的状态^[7],骨髓微环境受损,对放化疗的敏感性和耐受性可能会发生变化。

KKAY 小鼠是自发性 2 型糖尿病动物模型,具有高血糖、糖耐量受损、高胰岛素血症、肥胖和高脂血症等临床表现。8 周龄时血糖水平显著升高^[8],且 KKAY 小鼠的实验多采用 C57 小鼠作为对照^[9]。本研究拟建立 KKAY 小鼠的辐射损伤模型,与健康对照 C57 小鼠比较,观察骨髓、胸腺和脾等组织功能细胞比例的变化,比较造血免疫系统损伤的差异,为临床相应情况安全用药提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 20 只,体重 25 ~

30 g,10~12 周龄;SPF 级雄性 KK/upj-Ay/J 小鼠 20 只,体重 28~35 g,10~12 周龄,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供【SCXK(京)2014-0004】。小鼠饲养于中国医学科学院医学实验动物研究所屏障环境动物房【SYXK(京)2015-0035】。饲养环境:昼夜各半交替,湿度恒定,温度 20~25℃。实验方案通过医学实验动物研究所实验动物管理和使用委员会批准(IACUC 号:MAM18002)。

1.1.2 主要试剂及仪器

流式细胞术所需抗体 Biotin-CD45R (B220)、Biotin-Ly-6G/Ly-6C、Biotin-TER-119、Biotin-CD4、Biotin-CD8a、Biotin-CD11b、PE-Sca-1、APC-c-Kit (CD117)、FITC-CD34、APC-CD3、PE-CD8a、PE-Ter119、FITC-Gr-1、APC-CD11b 抗体购于 eBioscience 公司;PerCP-Cy5.5-Streptavidin、PE-B220、PerCP-CD4 抗体购于 BD Biosciences 公司。甲基纤维素非固体培养基 MethoCult GF(M3534)购自 STEMCELL 公司。

X 线辐照仪 (Precision X-ray, X-RAD 225, 美国),流式细胞仪 (BD Biosciences, BD FACS Aria TM II, 美国),全自动血细胞计数仪 (Horiba, ABX Pentra DX 120, 法国)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

为检测电离辐射对健康小鼠和 2 型糖尿病小鼠的造血免疫系统的损伤作用,将 C57BL/6J 小鼠分为对照组 (C57 组) 和照射组 (C57 TBI 组),KK/upj-Ay/J 小鼠分为对照组 (KKAY 组) 和照射组 (KKAY TBI 组)。照射组小鼠用 X 线全身照射 (total body irradiation, TBI),剂量 4 Gy,剂量率:0.95 Gy/min。照射 15 d 后取材,检测相应指标。

1.2.2 外周血常规常规检测

照射 15 d 后,小鼠眶静脉丛取外周血 (大于 0.5

mL),加入使用 EDTAK₃ 抗凝的 EP 管里,用全自动血细胞计数仪测定白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(HGB)和淋巴细胞比率(LYM%)等指标。

1.2.3 造血干细胞和造血祖细胞比例测定

分离的骨髓细胞,调整细胞浓度到 $5 \times 10^7/\text{mL}$,每只小鼠取 100 μL 用于后续染色。按体积比 1:50 加入 biotin 标记的 CD45R (B220)、Ly-6G/Ly-6C、TER-119、CD4、CD8a、CD11b 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,PBS 洗涤一次(1500 r/min 离心 5 min)。离心后弃去上清,加入 100 μL PBS 重悬,加入混合二抗:PerCP-cy5.5 标记的 streptavidin、PE 标记的 Sca-1、APC 标记的 c-Kit(CD117)、FITC 标记的 CD34。4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h,PBS 洗涤一次。离心后弃去上清,加入 300 μL PBS 重悬,流式细胞仪检测造血祖细胞(HPC, Lin-Sca-1⁺c-Kit⁻)、造血干细胞(HSC, Lin-Sca-1⁺c-Kit⁺)、长期造血干细胞(LT-HSC, CD34⁻Lin-Sca-1⁺c-Kit⁻) 在骨髓有核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMNCs)中所占的比例。

1.2.4 粒细胞-巨噬细胞集落形成单位测定 (colony forming unit-granulocyte and macrophage assay, CFU-GM)

参考本实验室前期发表文献^[10],无菌取小鼠骨髓细胞,用 PBS 调整细胞浓度到 $4 \times 10^5/\text{mL}$,每组小鼠取 0.2 mL 细胞加入到 2 mL M3534 培养基中,混合均匀后,加入到 24 孔板,每孔 0.5 mL。将培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO₂ 恒温培养箱中。培养 7 d 后用显微镜观察,计数粒细胞巨噬细胞集落,以检测小鼠造血祖细胞分化为粒细胞和巨噬细胞的能力。

1.2.5 脾淋巴细胞分型测定

分离的脾细胞,加入裂红液裂解红细胞后得到细胞悬液,调整细胞浓度到 $1 \times 10^7/\text{mL}$,每只小鼠取 100 μL 用于后续染色。加入 PE 标记的 B220、APC 标记的 CD3、PerCP 标记的 CD4 混合抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,PBS 洗涤一次(1500 r/min 离心 5 min)。离心后弃去上清,加入 300 μL PBS 重悬,流式细胞仪检测 B 细胞(B220⁺)、T 细胞(CD3⁺)、CD4⁺ T 细胞(CD4⁺CD3⁺)的比例。

1.2.6 胸腺淋巴细胞分型测定

分离的胸腺细胞,调整细胞浓度到 $1 \times 10^7/\text{mL}$,每只小鼠取 100 μL 用于后续染色。加入 PerCP 标记的 CD4、PE 标记的 CD8 混合抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,PBS 洗涤一次。离心后弃去上清,加入 300 μL PBS 重悬,流式细胞仪检测 CD4CD8 双阳性 T 细胞(CD4⁺CD8⁺)、CD4 单阳性 T 细胞(CD4⁺CD8⁻)、CD8 单阳性 T 细胞(CD4⁻CD8⁺)的比例。

1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计分析。计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和 Tukey 多重比较法(Tukey's multiple comparison test),重复测量数据采用重复测量数据方差分析方法。 $P < 0.05$ 差异有显著性。

2 结果

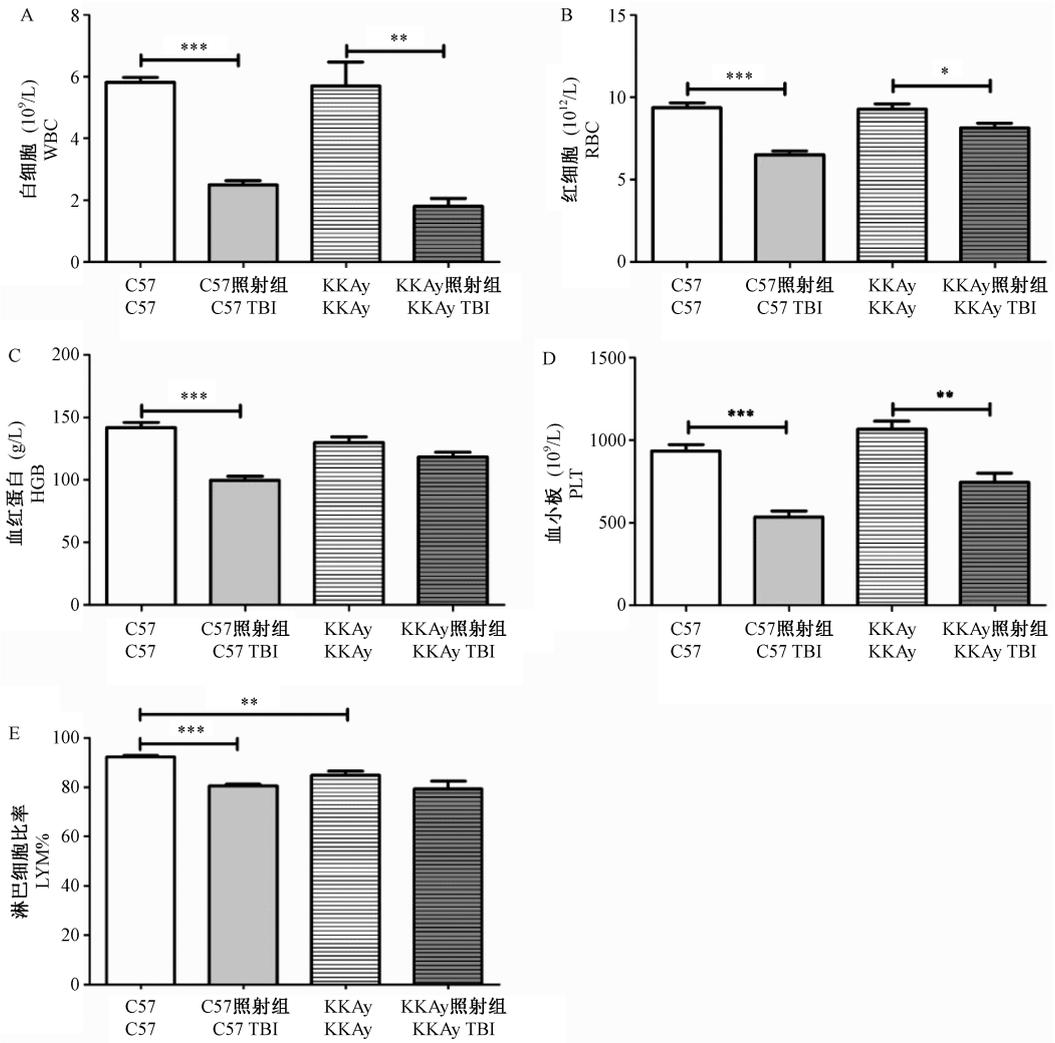
2.1 全身照射对小鼠外周血常规的影响

为检测辐射对 C57 和 KKAy 小鼠造血系统的影响,4 Gy 照射 15 d 后,检测小鼠的外周血计数,结果见图 1。照射前,KKAy 小鼠的 LYM% 显著低于 C57 小鼠, $(84.80 \pm 3.55)\%$ vs $(92.18 \pm 1.18)\%$, $P < 0.01$ (图 1E),其余指标无统计学差异。与对照组小鼠相比,4 Gy 全身照射后,C57 小鼠的 WBC、RBC、HGB、PLT 及 LYM% 均显著降低。同时,与对照组小鼠相比,照射后 KKAy 小鼠的 WBC、RBC 及 PLT 均显著降低,而 HGB 和 LYM% 有下降趋势,但无统计学差异。其中,照射后 KKAy 小鼠的 RBC 和 HGB 的下降幅度明显低于 C57 小鼠,分别为 $(12.17 \pm 6.18)\%$ vs $(30.63 \pm 5.21)\%$ 、 $(8.78 \pm 5.76)\%$ vs $(29.66 \pm 4.78)\%$ 。以上结果表明:C57 小鼠和 KKAy 的 LYM% 可能存在差异,4 Gy 全身照射可降低 C57 和 KKAy 小鼠的 WBC、RBC、HGB、PLT 和 LYM%,而 KKAy 小鼠在 RBC 和 HGB 这两项指标上表现出对电离辐射较强的耐受性。

2.2 全身照射对小鼠造血干细胞和造血祖细胞比例的影响

为探究辐射对小鼠造血干细胞和造血祖细胞比例的影响,小鼠照射后 15 d 后,用流式细胞仪检测小鼠的骨髓细胞。参考已发表文献^[11],流式细胞仪分析时门的设置如图 2 所示。

实验结果如图 3 所示,照射前,KKAy 小鼠的 HSC 和 LT-HSC 的比例显著低于 C57 小鼠(图 3B, 3C)。4 Gy 全身照射后 C57 小鼠的 HPC、HSC、LT-HSC 的比例显著下降;KKAy 小鼠的 HPC 的比例明显下降,但 HSC 和 LT-HSC 有下降趋势,无统计学差异。KKAy 小鼠,照射后 HSC 和 LT-HSC 的下降幅度则显著低于 C57 小鼠,分别为 $(29.49 \pm 13.86)\%$ vs $(62.48 \pm 5.77)\%$ 、 $(35.74 \pm 3.60)\%$ vs $(79.82 \pm 4.21)\%$ 。以上结果表明,C57 小鼠和 KKAy 小鼠的 HSC 和 LT-HSC 比例可能存在差异,4 Gy 辐射暴露降低 C57 和 KKAy 小鼠的 HPC、HSC 和 LT-HSC 的比例,而 KKAy 小鼠反而表现出较强的耐受性。



注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。(下图同)

图1 全身照射对C57和KKAy小鼠外周血常规的影响

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 1 Effect of X-ray whole-body irradiation on the peripheral blood routine test of C57 and KKAy mice

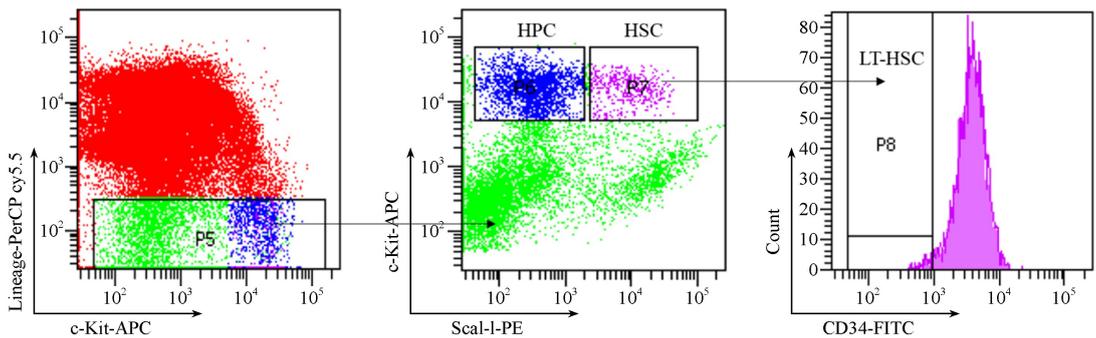


图2 流式细胞仪分析时门的设置

Figure 2 Gate setting of the flow cytometry analysis

2.3 全身照射对小鼠CFU-GM的影响

检测粒细胞巨噬细胞集落形成能力(CFU-GM),以评价小鼠造血祖细胞的增殖能力。实验结果如图4所示,照射前,C57和KKAy的CFU-GM数

目没有统计学差异;4 Gy全身照射后,与对照组相比,C57小鼠和KKAy小鼠的CFU-GM数目明显降低。KKAy小鼠与C57小鼠的降低幅度无统计学差异, $(64.71 \pm 11.15)\%$ vs $(62.93 \pm 7.00)\%$, $P >$

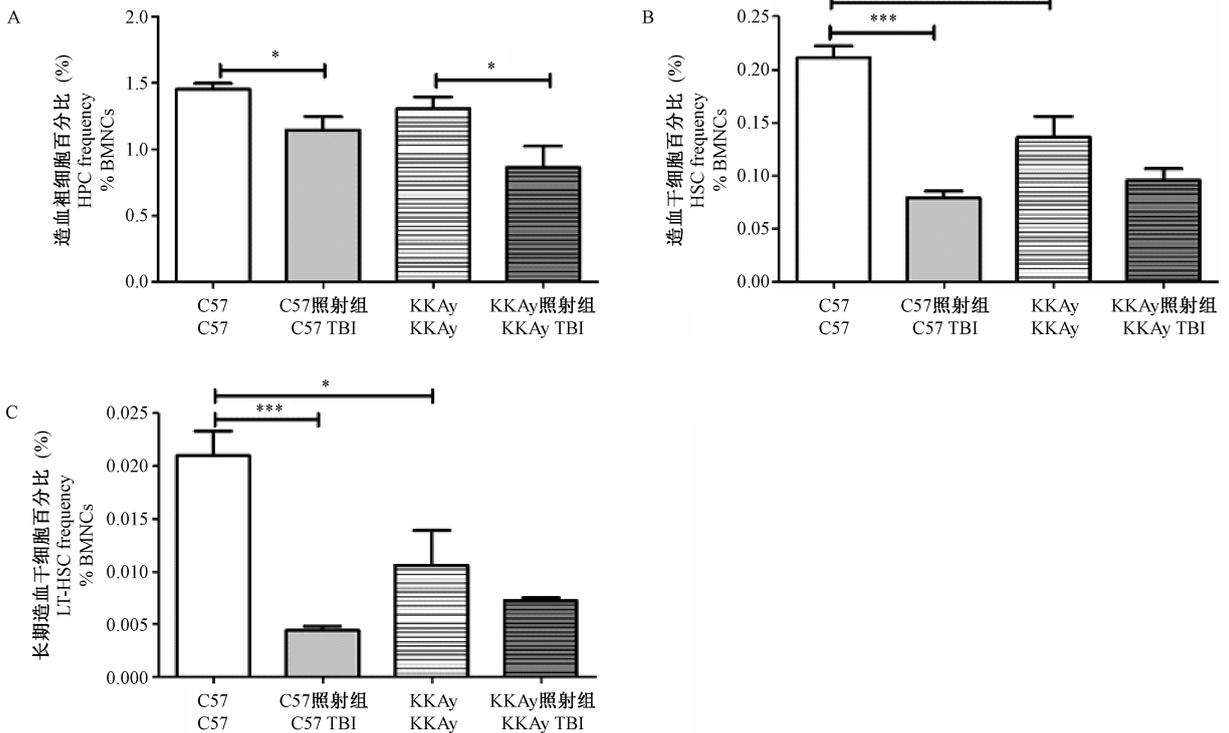


图 3 全身照射对 C57 和 KKAY 小鼠 HPC、HSC 和 LT-HSC 比例的影响

Figure 3 Effect of whole-body irradiation on the percentages of mouse HPC, HSC and LT-HSC

0.05。以上结果表明:4 Gy 辐射暴露可显著降低 C57 和 KKAY 小鼠的 CFU-GM 数目,但照射前后,两者的造血祖细胞功能均没有表现出差异。

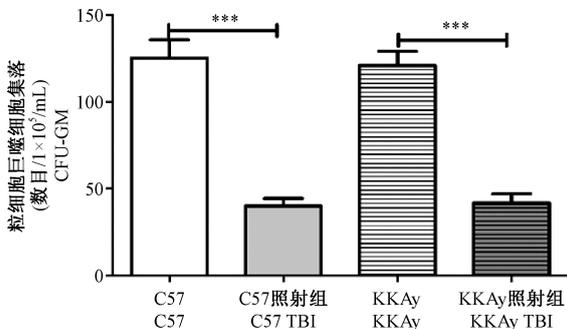


图 4 全身照射对 C57 和 KKAY 小鼠 CFU-GM 的影响

Figure 4 Effect of whole-body irradiation on CFU-GM of the C57 and KKAY mice

2.4 全身照射对小鼠脾淋巴细胞比例的影响

为了检测辐射对小鼠脾免疫细胞的影响,我们检测了脾中 B 细胞、T 细胞以及 CD4⁺ T 细胞的比例。结果如图 5 所示。照射前, KKAY 小鼠与 C57 小鼠相比, B 细胞、T 细胞以及 CD4⁺ T 细胞的比例均无统计学差异。4 Gy 照射后,与对照组相比, C57 小鼠和 KKAY 小鼠的 B 细胞、T 细胞以及 CD4⁺ T 细胞的比例均显著降低。 KKAY 小鼠与 C57 小鼠相

比, B 细胞、T 细胞以及 CD4⁺ T 细胞的下降幅度的比例均无统计学差异。以上结果表明:4 Gy 辐射暴露可显著降低 C57 和 KKAY 小鼠脾中 B 细胞、T 细胞以及 CD4⁺ T 细胞的比例,但照射前后,两者的脾免疫细胞比例没有表现出差异。

2.5 全身照射对小鼠胸腺免疫细胞比例的影响

为了检测辐射对小鼠胸腺免疫细胞的影响,我们检测了胸腺中 CD4CD8 双阳性 T 细胞、CD4 单阳性 T 细胞及 CD8 单阳性 T 细胞的比例。结果如图 6 所示。照射前, KKAY 小鼠的 CD8 单阳性 T 细胞的比例显著低于 C57 小鼠, (2.92 ± 0.51)% vs (4.34 ± 1.10)%, $P < 0.05$, 如图 6C 所示)。4 Gy 照射后,与对照组相比, C57 小鼠的 CD4CD8 双阳性 T 细胞的比例显著降低, CD4 单阳性 T 细胞的比例显著增加, CD8 单阳性 T 细胞的比例略有增加,但无显著性差异; KKAY 小鼠的 CD4CD8 双阳性 T 细胞的比例显著降低, CD4 单阳性 T 细胞和 CD8 单阳性 T 细胞的比例略有增加,但无显著性差异。其中,照射后 KKAY 小鼠的 CD4 单阳性 T 细胞比例升高幅度显著低于 C57 小鼠, (15.30 ± 17.00)% vs (115.90 ± 33.85)%, $P < 0.001$ 。以上结果表明:4 Gy 辐射暴露可显著降低 C57 和 KKAY 小鼠脾中 CD4CD8 双阳性 T 细胞的比例。

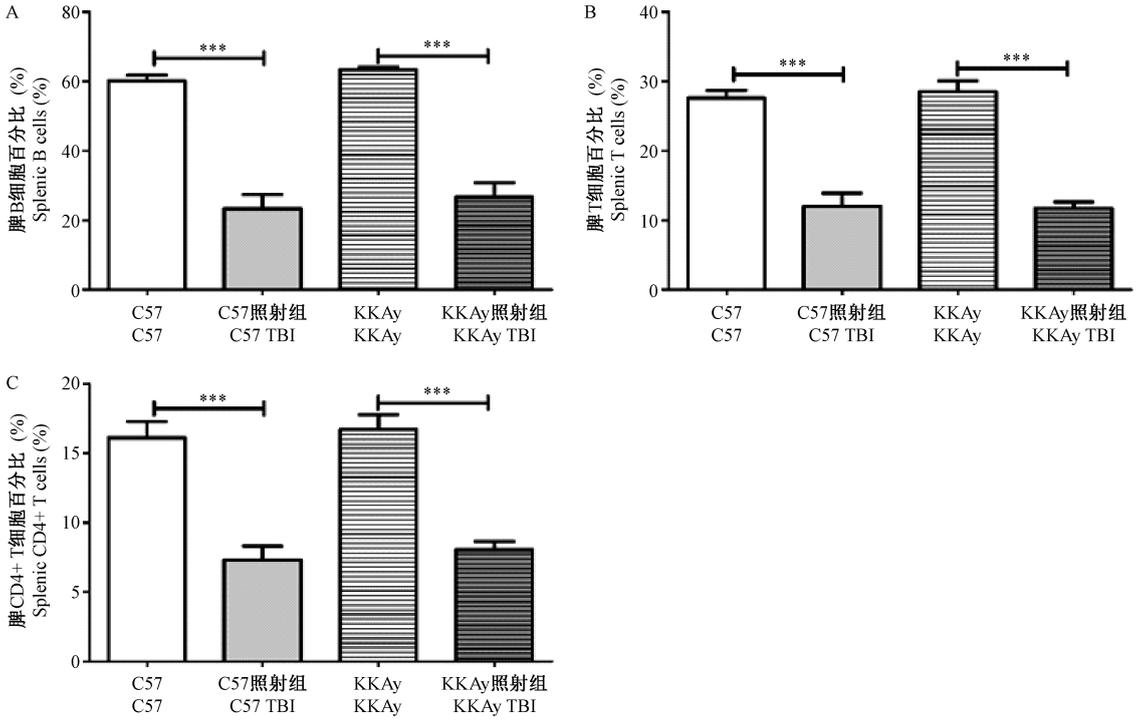


图 5 全身照射对 C57 和 KKAY 小鼠脾淋巴细胞的影响

Figure 5 Effect of whole-body irradiation on the percentages of splenic lymphocytes in the C57 and KKAY mice

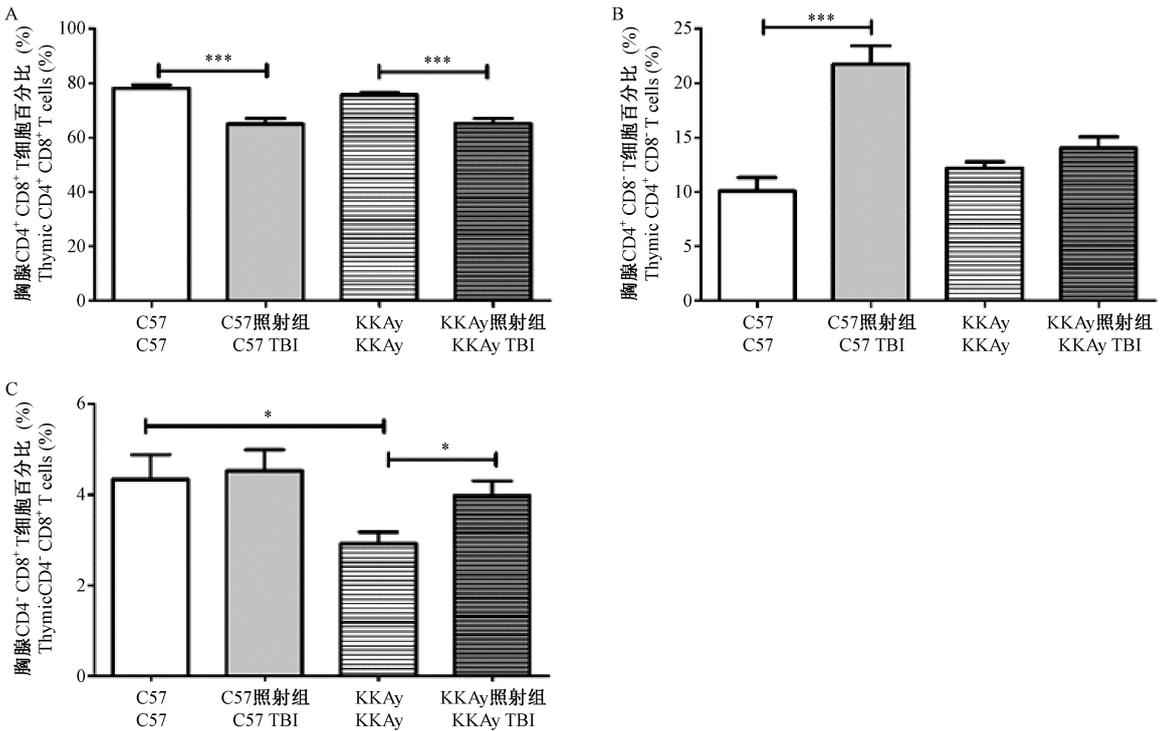


图 6 全身照射对 C57 和 KKAY 小鼠胸腺淋巴细胞的影响

Figure 6 Effect of whole-body irradiation on the percentages of thymic lymphocytes in the C57 and KKAY mice

3 讨论

本次实验采用 X 线亚致死剂量(4 Gy)全身照

射小鼠,实验结果可见电离辐射对小鼠明显的骨髓抑制和免疫功能损伤作用,4 Gy 全身照射小鼠可以损伤造血免疫系统功能,降低外周血 WBC、RBC、

PLT 的数目,降低 HGB 含量和 LYM%,降低 HPC、HSC 和 LT-HSC 的比例,降低脾 B 细胞和 T 细胞的比例,降低胸腺 CD4CD8 双阳性细胞的比例。

比较发现,2 型糖尿病 KKAy 小鼠的 HSC 和 LT-HSC 的比例以及外周血 LYM% 低于 C57 小鼠,提示糖尿病与健康小鼠在造血免疫功能上存在差异。这之前发表的糖尿病中 HSC 功能受损的研究结果一致^[12-13]。4 Gy 全身照射 15 d 后,KKAy 小鼠与 C57 小鼠某些指标降低的幅度也存在显著性差异,KKAy 小鼠的骨髓 HSC 和 LT-HSC 的降低幅度明显低于 C57 小鼠,外周血 RBC 和 HGB 也发生了同样的变化,提示我们 KKAy 小鼠可能比 C57 小鼠表现出对电离辐射更强的耐受性。但由于糖尿病本身造血免疫系统受损,KKAy 小鼠未必表现出对长期的电离辐射更强的耐受性,需要进一步的研究。

Bannon 等^[14]研究发现,2 型糖尿病中造血干细胞的谱系分化改变,在向淋巴细胞分化过程中,糖尿病小鼠与健康小鼠的 HSC 分化偏移不同,糖尿病小鼠更易 M1 型巨噬细胞分化,导致长期的炎症状态,引起糖尿病创面难愈的状态。糖尿病小鼠长期处于“慢性炎症”的应激状态,可能导致其对单次全身照射的耐受更强。此外,2 型糖尿病 KKAy 小鼠表现出对机体辐射损伤的耐受性作用类似于适应性反应。低剂量单次全身照射可诱导小鼠免疫适应性反应^[15],低剂量辐射可激活细胞中的信号传递系统,使损伤后 DNA 修复,通过凋亡等机制清除损伤细胞进而对相继高剂量辐射产生耐受性。糖尿病小鼠中是否存在类似的机制导致其对高剂量辐射产生耐受性也是一个值得研究的内容。

电离辐射可通过引起小鼠造血祖细胞凋亡,造成急性骨髓抑制;通过引起造血干细胞衰老,导致长期的骨髓抑制^[16-17]。细胞衰老与 2 型糖尿病的发生发展密切相关^[18],因此细胞衰老可能与糖尿病小鼠在电离辐射的耐受性有关。

本研究分析比较了糖尿病小鼠与对照小鼠造血免疫细胞辐射损伤,为糖尿病小鼠辐射敏感性深入研究提供了基础资料。糖尿病与恶性肿瘤的放疗损伤敏感性的相关性有待进一步观察和探讨。

参 考 文 献(References)

[1] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. JAMA, 2013, 310(9): 948-959.
 [2] Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, et al. Diabetes and cancer: a consensus report [J]. Diabetes Care, 2010, 33(7): 1674-1685.
 [3] Tsilidis KK, Kasimis JC, Lopez DS, et al. Type 2 diabetes and cancer: umbrella review of meta-analyses of observational studies

[J]. BMJ, 2015, 350:g7607.
 [4] Citrin DE. Recent developments in radiotherapy [J]. N Engl J Med, 2017, 377(11): 1065-1075.
 [5] Oikawa A, Siragusa M, Quaini F, et al. Diabetes mellitus induces bone marrow microangiopathy [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(3): 498-508.
 [6] Fadini GP, Ferraro F, Quaini F, et al. Concise review: diabetes, the bone marrow niche, and impaired vascular regeneration [J]. Stem Cells Transl Med, 2014, 3(8): 949-957.
 [7] Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, et al. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2014, 105(2): 141-150.
 [8] Zhu X, Zhang C, Fan Q, et al. Inhibiting microRNA-503 and microRNA-181d with losartan ameliorates diabetic nephropathy in KKAy mice [J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 3902-3909.
 [9] 陈其明, 史顺娣, 申竹芳, 等. 糖尿病 KK 小鼠生物特性的研究 [J]. 中国医学科学院学报, 1988, 10(6): 416-420.
 Chen QM, Shi SD, Shen ZF, et al., Study on biological characteristics of spontaneous diabetic KK mice [J]. J Chin Acad Med Sci, 1988, 10(6): 416-420.
 [10] 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.
 [11] Zhang H, Zhai Z, Wang Y, et al. Resveratrol ameliorates ionizing irradiation-induced long-term hematopoietic stem cell injury in mice [J]. Free Radic Biol Med, 2013, 54:40-50.
 [12] Chiba H, Ataka K, Iba K, et al. Diabetes impairs the interactions between long-term hematopoietic stem cells and osteopontin-positive cells in the endosteal niche of mouse bone marrow [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2013, 305(7): C693-703.
 [13] Ferraro F, Lymperi S, Mendez-Ferrer S, et al. Diabetes impairs hematopoietic stem cell mobilization by altering niche function [J]. Sci Transl Med, 2011, 3(104): 104ra101.
 [14] Bannon P, Wood S, Restivo T, et al. Diabetes induces stable intrinsic changes to myeloid cells that contribute to chronic inflammation during wound healing in mice [J]. Dis Model Mech, 2013, 6(6): 1434-1447.
 [15] Ishii K, Misonoh J. Induction of radio-adaptive response by low-dose X-irradiation on chromosome aberrations in human embryonic fibroblasts [J]. Physiol Chem Phys Med NMR, 1996, 28(2): 83-90.
 [16] Chang J, Wang Y, Shao L, et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice [J]. Nat Med, 2016, 22(1): 78-83.
 [17] Shao L, Wang Y, Chang J, et al. Hematopoietic stem cell senescence and cancer therapy-induced long-term bone marrow injury [J]. Transl Cancer Res, 2013, 2(5): 397-411.
 [18] Palmer AK, Tehkonian T, LeBrasseur NK, et al. Cellular senescence in type 2 diabetes: a therapeutic opportunity [J]. Diabetes, 2015, 64(7): 2289-2298.