

管博文,张俊伶,孟爱民. 辐射损伤动物模型 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(8): 1091-1104.

Guan BW, Zhang JL, Meng AM. Animal models for radiation injury research [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(8): 1091-1104.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.08.016

辐射损伤动物模型

管博文¹,张俊伶^{2*},孟爱民^{1*}

(1. 中国医学科学院医学实验动物研究所,国家人类疾病动物模型资源库,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,国家动物模型技术创新中心,北京 100021;2. 中国医学科学院放射医学研究所,天津市放射医学与分子和医学重点实验室,天津 300192)

【摘要】 核和辐射暴露会对受到照射的个人或者公众健康产生危害,建立动物模型对探讨辐射损伤机制、研究和评价防治措施必不可少。由于大剂量急性辐射损伤防护药物难以在临床进行有效性评价,研发与人体对辐射损伤及干预措施反应性一致的动物模型就尤为重要。本文在介绍辐射损伤的基础上,对辐射损伤动物模型研究现状及应用进展进行简要综述。

【关键词】 电离辐射;辐射损伤;动物模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 08-1091-14

Animal models for radiation injury research

GUAN Bowen¹, ZHANG Junling^{2*}, MENG Aimin^{1*}

(1. Institute of Laboratory Animal Sciences, CAMS & PUMC, National Human Diseases Animal Model Resource Center, NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Beijing Engineering Research Center for Experimental Animal Models of Human Critical Diseases, National Center of Technology Innovation for Animal Model, Beijing 100021, China.

2. Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300192)

Corresponding author: MENG Aime.E-mail:ai_min_meng@126.com; ZHANG Junling.E-mail:zhangjunling.@irm-cams.ac.cn

【Abstract】 Exposure to ionizing radiation (IR) result in adverse health effects to individuals and overall public health. Establishing animal models to explore the mechanism of radiation damage is essential to develop and evaluate radiation countermeasures. The efficacy of protective drugs in humans overexposed to IR cannot be evaluated in clinical trials, and animal models that are consistent with human responses to IR and radiation countermeasures should be established. This article provides a brief review of the establishment and applications of animal models for IR research followed by introducing radiation-induced health damage.

【Keywords】 ionizing radiation; radiation injury; animal model

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

核电站的建立、人类太空活动的增加、临床上放射诊疗设备的广泛应用以及持续存在的核武器恐怖威胁等因素,使人类接触电离辐射的机会日益

增加。日本核电站事故及其核污水排放,持续一年的俄乌冲突加剧了核威胁的紧张局势,世界卫生组织(World health Organization, WHO)及世界各国都

【基金项目】国家自然科学基金(81972975)。

Funded by the National Natural Scientific Foundation of China (81972975).

【作者简介】管博文(1992—),男,主管技师,研究方向:放射性疾病、干细胞。Email:guanbw@cnilas.org

【通信作者】张俊伶(1983—),女,副研究员,研究方向:辐射损伤与防护机制。Email:zhangjunling.@irm-cams.ac.cn;

孟爱民(1963—),女,研究员,研究方向:放射性疾病、干细胞衰老。Email:ai_min_meng@126.com。

* 共同通信作者

非常关注核与辐射损伤救治的应急准备^[1-2]。大剂量急性辐射损伤防护药物难以在临床进行有效性评价,研发与人体对辐射损伤及干预措施一致的动物模型就尤为重要。本文在介绍辐射损伤的基础上,对辐射损伤动物模型研究现状及应用进展进行简要综述。

1 辐射暴露及生物学损伤效应

1.1 辐射暴露

辐射分为电离辐射和非电离辐射。电离辐射是指与物质直接或间接作用时使物质电离的辐射。辐射源包括 α 射线、 β 射线、 γ 射线和高速运行的粒子(包括中子、电子和质子等)^[3]。不同暴露情景受到照射的射线性质、剂量等差别很大。核电站事故可能引起大量放射性核素扩散,造成环境放射性污染的主要同位素是水反应堆中的放射性碘和铯。太空辐射包括 γ 射线、高能质子和宇宙射线的特殊混合体。临床放射治疗使用主要是产生 γ 射线的 ^{60}Co 、 ^{137}Cs 、 ^{192}Ir 等放射源;还有在放射诊断和放射治疗应用最广泛的 X 射线。核武器爆炸后释放巨大能量,其中热量约占总能量的 35%;冲击波约占总能量的 50%;辐射约占总能量约 15%^[4],释放出的 γ 射线和中子能够引起急性辐射损伤;因此核爆炸时辐射暴露人员多遭受两种致伤因素,出现核爆复合伤。简易核装置(improvised nuclear device, IND)可能释放 γ 射线和中子。

核和辐射安全对个人和国家安全都至关重要,各个国家发布相应的核和辐射应急策略。核和放射事故医学应急是指对可能出现的各种核与辐射突发事件,运用科学的组织管理和良好的医学处置方法,有计划、有准备、有组织地完成一系列预防和救治活动。通常在大规模核和辐射事故发生后,需要大量医学应急处理的人员实施去污洗消和医疗救治。由专业人员去除或降低设备、场所、环境等放射性污染及组织核应急医学救援力量实施医学诊断、分类,开展医疗救治,包括现场紧急救治、地方医院救治和后方专业救治等^[1]。

1.2 辐射损伤效应

电离辐射作用于生物机体引发生物机体的分子、细胞、组织/器官结构和功能的变化、损伤、伤害及其相应的后果,称为电离辐射生物效应,也称辐射生物效应或放射生物效应。辐射生物学效应包括直接效应和间接效应。直接效应是指射线与细

胞成分相互作用产生的效应。间接效应主要是水分子受到辐射电离产生活性氧,间接作用于生物大分子引起辐射损伤。急性和持续的氧化应激是辐射生物损伤重要分子机制。辐射生物效应又可分为确定性效应(照射后一段时间内出现的组织/器官损伤)或随机性效应(例如细胞突变相关的病理和遗传损伤)。体外的放射源发出的射线对机体产生的照射称为外照射(external exposure);进入体内过量的放射性核素作为辐射源对人体产生的照射,称内照射(internal exposure)^[5]。

由电离辐射造成的全身性疾病称为放射病,根据射线的来源与作用方式可分为外照射放射病、内照射放射病和内外混合照射放射病。外照射急性放射病又称急性核辐射损伤或急性辐射损伤综合症(acute radiation syndrome, ARS),是指人体一次或短时间(数日)内受到大剂量照射引起的全身性疾病。当受到大于 1 Gy 的均匀或比较均匀的全身照射即可引起急性放射病。临床上根据其受照剂量大小、临床特点和基本病理改变,一般分为骨髓型急性放射病(H-ARS, 2 ~ 6 Gy)、肠型急性放射病(GI-ARS, > 6 Gy)、脑型急性放射病(> 10 Gy)3 种类型^[3,5]。急性放射病的死亡风险很高。幸存者还会出现各种迟发或者晚期效应,严重影响患者的生活质量和寿命。

2 辐射损伤动物模型与动物法规

核事故与辐射事故或其他辐射暴露情况引起不同类型的辐射损伤,需要制定相对应的诊断和治理措施。组织吸收的辐射剂量决定了急性放射病或 ARS 临床表现的严重程度,严重时会出现器官系统衰竭,危及生命。辐射防护药物研发由于伦理问题难以进行临床有效性测试,因此建立动物模型开展临床前研究具有不可替代的作用。

2002 年,美国食品和药物管理局发布了“动物法规(Animal Rule)”,旨在加快开发对抗化学、生物、放射性和核威胁的新型药物和生物制剂,该法规仅适用于无法进行明确人体功效新药的研究,在受控良好的动物研究中证明安全且能够对人体产生临床益处的新产品批准上市^[6]。动物法规的内容包括:(1)毒物/药剂(辐射)的损伤/毒性的病理生理机制明确,产品对特定损伤或毒性具有预防或明确的减轻作用;(2)该产品在两种以上动物物种中证明人类反应有效,或单一动物物种中有足够证

据保证能够预测人类反应;(3) 动物研究终点与人类预期结果明确相关,通常降低死亡率或发病率。(4) 可从人体和动物的药物动力学和药效学结果中计算得出有效剂量。《动物法规》不是完全排除药物临床试验,仍需进行临床 I 期研究评估药物的安全性,确定药物在人体中的最佳剂量。

3 辐射损伤动物模型建立及评价

免疫系统、造血系统、胃肠道、肾、皮肤和肺是辐射损伤敏感的系统 and 器官。为探讨辐射损伤机制及评价防护措施已经建立了不同脏器和系统辐射损伤动物模型。由于物种、品系、受照剂量、剂量率、受照后不同时间、检测终点、支持性护理水平、饲养和方案设计等方面存在很大差异,因此利用动物模型评价辐射防护药物疗效时,实验室内结果常常难以进行比较,需要引起注意。另外照射引起辐射损伤可能涉及多个系统,在进行评价时应该注意这些共病对观察终点及防治效果的影响。

为保障实验动物福利,在制备辐照损伤模型及相应评价研究时,应申请 IACUC 批准,在动物保定、饲养条件、采样操作及时间点、安乐死等作出明确的规定。

3.1 急性辐射损伤类型

自日本原子弹爆炸之后,各种实验动物模型为辐射损伤机制及防护措施研究提供了重要的技术支持。受到非常高的照射剂量(例如 > 20 Gy)照射引起如急性脑型放射病,主要是辐射引起的神经血管损伤导致的水肿、出血和中性粒细胞浸润等病理生理改变,一般 1 ~ 2 d 内死亡。由于病变进展迅速,难以进行有效的医疗处置。12 ~ 20 Gy 致死性照射引起肠型放射病,潜伏期通常在 5 ~ 10 d 之间,这为后续的干预治疗留出了时间。5 ~ 10 Gy 全身照射引起骨髓型放射病,潜伏期(10 ~ 30 d)比肠型放射病更长。人类骨髓型放射病与动物模型比较,潜伏期至少延长了 2 周,原因未知。急性辐射损伤动物模型获得的生物学终点精确、稳定,具有可重复性,尽管模型动物之间的辐射剂量-时间反应有差异,但与人类急性辐射反应很大程度上是一致的^[7]。

3.2 实验动物的选择

用于研究辐射损伤机制及药物研发、评价的动物模型使用最多的是啮齿类动物,而非人灵长类动物(non human primates, NHP)模型是金标准。根据

不同急性辐射损伤类型,选用不同的动物构建对应的疾病动物模型^[3]。不同的动物模型模拟人类辐射损伤各有特点,如雪貂可以出现呕吐这一典型的前驱症状;小型猪皮肤与人类相似可以做放射性皮肤损伤模型(见表 1)。

3.2.1 造血免疫系统

造血免疫系统损伤研究主要使用大鼠、小鼠、犬类和非人类灵长类动物(NHP)^[8]。NHP 作为模型几乎全面模拟了人类辐射暴露的临床症状和病理损伤,因此被视为放射损伤研究的黄金标准^[3]。评价辐射防护剂疗效时,应使用 2 种及以上小鼠品系。不同近交系小鼠的辐射敏感性差异很大,最常用的 BALB/c、C3H/HeN、B6D2F1 和 C57BL/6 品系的 LD50/30 剂量通常在 6.5 ~ 9.0 Gy 之间,差异高达 2.5 Gy^[8-9]。C57BL/6J 和 C3H/HeN 能很好地反映造血免疫系统辐射损伤改变的过程,是使用最多的小鼠品系。犬更多地用作内照射性放射病模型。

3.2.2 消化系统

犬或雪貂可用于腹部照射后出现呕吐等前驱综合征的研究。啮齿类动物模型缺乏前驱综合征,但在肠细胞耗竭、肠道吸收和分泌变化以及细菌易位方面的研究应用中具有优势。小鼠基因突变的品系较多,有利于机制研究,是首选的小动物模型。大鼠体型相对较大,是进行外科研究的较好模型。犬类和非人灵长类动物是评价治疗呕吐和腹泻缓解剂的重要模型。

3.2.3 呼吸系统

小鼠和大鼠的肺组织放射敏感性与人类相当,放射性肺炎和纤维化的发生时间也相似。一般受照 2 ~ 4 个月左右发生放射性肺炎^[10],4 ~ 6 个月时出现纤维化^[11]。C57BL/6 小鼠在受到 15 Gy 胸部照射后 6 个月发生肺纤维化^[12-13]。C3H/HeN 小鼠在相似的剂量照射后则易出现致命性肺炎^[14],在受照后 8 ~ 16 周的急性期内出现死亡。大鼠接受 10 ~ 15 Gy 胸部照射会出现的剂量相关死亡,但是肺损伤进展相对缓慢,超过 6 ~ 12 个月很少出现肺纤维化表型。小鼠和大鼠放射性肺损伤模型一般使用 10 ~ 15 Gy 的胸部照射剂量^[13,15],如果照射剂量相对较低时(约 10 ~ 12 Gy)^[16],肺结构损伤晚期会恢复。猪、犬和非人灵长类等大型动物模型在放射性肺损伤研究中各有其优缺点^[8]。

3.2.4 泌尿系统

肾放射损伤小动物模型首选大鼠^[17],小鼠则相

表 1 急性放射病(急性辐射损伤综合征)动物模型

Table 1 Animal model of acute radiation sickness (acute radiation syndrome)

动物 Animals	模型特征 Model characteristics	模型优点 Advantages of the model	模型缺点 Model limitations
啮齿类 (大鼠、小鼠) Rodents (mouse and rat)	急性放射病骨髓型、胃肠型、肺损伤、肠上皮缺失及细菌移位的良好模型 Extensively used animal model for H-ARS, GI-ARS, lung injury, enterocyte depletion and bacterial translocation	妊娠期短; 饲养方便;经济; 品系丰富; 易于操作 Short gestation period; Convenient housing; Economical; Large number of strains; Easy to handle	器官结构、生理特点与人类差异较大缺乏前驱症状; 动物寿命短; 体型小,连续采样受限; 遗传同源性,体现个体差异能力差 Organ structure and physiology differs from humans lack prodromal syndrome, Accelerated life span; Small body weight, sequential sampling limited; Genetic homology, unable to simulate individual differences well in humans
豚鼠 Guinea pig	皮肤生理学与人类相似,适用于建立皮肤型辐射损伤模型 Skin physiologically similar to humans suitable model for cutaneous radiation injury	妊娠期短; 对辐射的反应快速 Short gestation period; Fast reaction time to radiation	动物寿命短; 可用于辐射损伤的数据有限 Accelerated life span; Limited data available for radiation injury
兔 Rabbit	免疫学上与人类相似适用于研发辐射相关抗体; 比较好的辐射肺损伤研究模型 Immunologically similar to humans and suitable model for antibody development considered resistant to radiation; Outstanding model for radiation-induced lung injury studies	肺组织的 CT 和核磁共振成像更可行、可靠; 温顺,容易操作 Imaging of lung tissue by CT and MRI is more feasible and reliable; Docile, non-aggressive and easy to handle	数据有限 Limited data available
雪貂 Ferret	前驱症状相关研究的最佳模型。 Best model for prodromal phase study	适合呕吐相关研究 Suitable for emesis study	易出现应用抗生素后的继发细菌感染易并发消化道阻滞或肠梗阻 Prone to post-antibiotic bacteria, GI stasis or ileus
小型猪 Swine (Minipig)	适用于呕吐和腹泻的研究; 皮肤生理特点与人类相似,适用于研究辐射暴露的皮肤效应 Suitable for studies using parameters of vomiting and diarrhea; Skin physiologically similar to humans Suitable for studying skin effects of radiation exposure	H-ARS 的病理生理学与人类的反应相似; 身体厚度与人类类似,皮肤效应与人类具有可比性; Pathophysiology of H-ARS similar to human response; Body thickness similar to human, comparable skin effects	胃肠道综合征数据有限; 呕吐敏感性低于犬、雪貂 Limited data for GI syndrome, Less prone to vomiting than canine and ferret
犬 Canine	适用于使用不同类型射线性质、不同剂量率和局部照射的 H-ARS 研究; 适用于以呕吐为终点的胃肠道损伤研究; 适用于建立辐射吸入模型 Suitable for H-ARS studies using different radiation quality, dose rate, and partial body irradiation; Suitable for GI injury studies where vomiting is used as an endpoint; Model for radiation inhalation studies	辐射损伤大数据库及特征性强的大型动物模型 Large database and well-characterized large animal model for radiation injury	辐射引起的呕吐或胃排空延迟的机制与 NHPS 或人类没有相关性 Mechanisms of radiation-induced vomiting or delayed gastric emptying do not correlate with NHPs or humans
非人灵长类 NHP	H-ARS、GI-ARS 和迟发效应的特征模型; 辐射剂量率和射线类型与发生 H-ARS 反应的数据完整; 可以建立局部照射模型; 与人体暴露后医疗处置措施相同 Well-characterized model for the H-ARS, GI-ARS, and delayed effects; Large database on H-ARS response to radiation dose rate and quality; Used for partial body irradiation model; Use of medical management similar to use for human treatment post-exposure	器官结构、遗传、新陈代谢与人类类似; 寿命长; 可以连续采样; 适用于胃肠道症状(呕吐和腹泻)研究; 最接近人类 Organ structure, genetic homology, metabolism similar to humans; Long life span; Easy sequential sampling; Suitable for GI symptoms (vomiting and diarrhea); As close as possible to humans	伦理问题; 操作风险; 繁殖期长; 设施、喂养和动物采购等成本高; 多毛不适宜研究皮肤 Ethical consideration; Risks associated with handling; Longer breeding period; Increased costs associated with housing, feeding, and animal acquisition; VHirsute nature makes cutaneous studies difficult

注:ARS;急性放射病;H-ARS;骨髓型急性放射病;GI-ARS;肠型急性放射病。

Note. ARS. Acute radiation syndrome. H-ARS. Hematopoietic subsyndrome of ARS. GI-ARS. Gastrointestinal subsyndrome of ARS.

对比较耐受。大型动物包括猪、犬和非人灵长类动物。非人类灵长类动物可能是与人类最相关的模型,但后续观察时间长,需要以年为单位。犬的优势在于有大量犬肾生理学和全身照射后急性反应的文献数据^[18-19]。猪模型也有许多优点:(1)猪与其他哺乳动物不同,肾结构中锥体、乳头较多,与人类相似;(2)猪已被广泛用作人类泌尿系统疾病的模型;(3)猪肾的辐照反应研究较多;(4)猪辐射损伤进展的随访期可能比非人灵长类动物或犬更短^[20-21]。

3.2.5 皮肤

放射性皮炎最常见的研究模型是啮齿类动物,人类和小鼠在辐射引起的皮肤反应性质和外观上相似^[22]。尽管许多小鼠品系的皮肤色素沉着和深色毛发影响了对红斑的观察,但 $1 \sim 3 \text{ cm}^2$ (例如,后肢)皮肤受到 10 Gy 照射数日后出现非常明显的肿胀和炎症,数周后消退,与人类的反应相同。引起小鼠各种皮肤反应的照射剂量通常比人类的剂量高 2 倍,可能与小鼠皮肤细胞乳头密度更高以及啮齿类动物受照射的表面积一般较小有关。照射后黑色素细胞明显减少,出现毛发变白;随着剂量的增加,会发生纤维化和坏死,这些反应都与人类皮肤辐射损伤过程十分相似,皮肤辐射损伤的评分系统早已建立^[22-23]。

虽然啮齿类动物和非人灵长类动物是最常用的辐射损伤动物模型,但在应用时会有各种缺陷和限制。猪是研究辐射暴露的皮肤效应使用最多的大型动物模型^[24]。近年来深入研究提示各种动物模型进行有机组合(包括小型猪和兔)可能会提高临床转化应用^[25]。

在建立辐射损伤动物模型时,除了物种、品系的选择,也要注意动物年龄、性别、体重的控制。相比较于初成年动物,幼年及老年动物对辐射损伤辐射敏感性更高^[26]。3 周龄小鼠 LD50/30 为 7.12 Gy,而 4 ~ 8 周龄小鼠 LD50/30 约为 7.67 ~ 7.87 Gy,相对更耐辐射。成年 C57BL/6 小鼠的辐射诱导致死率雄性和雌性无明显差异,3 ~ 4 周龄则雌鼠对辐射更为敏感,老年雌鼠也更为敏感。另外,不同年龄小鼠在受照射后出现迟发效应的程度也有差异,相同品系的不同亚系的小鼠辐射敏感性也有差异,如 C57BL/6N 比 C57BL/6J 更为敏感。照射时小鼠体重需要一致,否则会影响动物辐射反应的可重复性。年龄、性别对受照后迟发性损伤出现时

间和严重程度也会有影响^[27-32]。

研究过程中受照小鼠是否给予抗菌素、酸化饮用水等防感染措施可能会对实验结果产生影响。照射时动物麻醉可能减轻辐射损伤;受照动物给与湿润饲料可以提高接受致命照射小鼠的存活率,大动物的支持手段可能会降低受照动物的死亡率延迟死亡时间。不同的供应商提供的小鼠可能影响辐射反应(如 LD50/30 漂移)^[8-9]。

3.3 照射条件

3.3.1 射线性质

制备辐照动物模型最常用的是 γ 射线或 X 射线,主要依赖于实验机构可获得的辐照设施使用便利性和照射动物的数量。需要注意辐射源的质量、相对生物效力和剂量率等参数的差异,这些参数都会影响致死率。剂量和剂量率应尽量模拟受照现场情景。低剂量率照射会导致照射时间较长,增加动物的保定应激反应,影响辐射损伤的结果。

3.3.2 照射剂量和剂量率

造血或骨髓辐射损伤是最经典的急性放射损伤,1 ~ 6 Gy 比较低的剂量照射就可以引起。辐射暴露后的造血系统表现为中性粒细胞、血小板和红细胞减少^[33],C57BL/6 模型使用 1.0 Gy 左右的剂量即可引起造血系统损伤。哥廷根小型猪等小型猪或家猪的 LD50/30 剂量在 1.7 ~ 3.7 Gy 范围内,该值约相当于引起人类造血系统损伤的一半剂量(在没有支持性护理的情况下估计值为 3 ~ 4 Gy),而 NHP 的抗辐射能力是人类的 2 倍。NHP 的 LD50/30 约 6.5 Gy,犬的 LD50/30 约 2.6 Gy^[34]。

研究胃肠型放射病一般采用相对高剂量单次辐射;分次或低剂量率辐射暴露将改变胃肠损伤剂量-反应曲线。评价药物时至少使用 3 个照射剂量:LD50/10 照射剂量,另外可取高于或低于 LD50/10 的剂量。

骨髓移植前患者接受全身照射(total body irradiation, TBI),肺是剂量限制器官,可见肺组织具有较高的辐射敏感性。小鼠和大鼠模型使用 10 ~ 15 Gy 的胸部局部照射可以引起早期的放射性肺炎和后期的放射性肺纤维化^[13,15]。

辐射事故和恐怖事件造成的辐射暴露引起的造血系统和胃肠道的急性损伤一直备受关注,但是肾是人类最具放射敏感性的晚期反应器官之一,单次剂量低至 4.5 ~ 6.0 Gy 时就会发生慢性肾损伤。人类肾辐射损伤可能出现在肾受照后的最初几个

月,也可能发生在辐射暴露后数年,出现晚期或慢性放射性肾病,而且前期不一定有急性肾损伤。

放射性皮肤损伤包括放射性损伤及复合伤,前者照射剂量 20 ~ 45 Gy,一般用于进行放射性皮肤损伤药物初筛;后者包括放射性皮肤损伤合并全身辐射损伤及合并局部复合烧伤、复合创伤。此外皮肤损伤模型还要注意射线性质的影响。例如, β 粒子或低 kV 的 X 射线可能只影响表层皮肤,而核爆炸产生的高能 γ 辐射(超铀, ^{137}Cs)则具强穿透性可引起真皮层损伤。因此,基于其穿透深度,小鼠局部皮肤损伤所需的相关 X 射线能量在 30 ~ 100 kV 的范围内。合并 TBI 时,大面积(例如,10% ~ 20% 的皮肤面积)皮肤照射致死率将明显增加,皮肤组织的辐射反应的等效辐射剂量小鼠比人可能高出 2 倍以上。

由于照射条件会影响辐射损伤的性质及防治措施的效果,所以在照射时需要保证照射均匀、剂量准确、照射各种条件、参数一致。 γ 射线(^{137}Cs 或 ^{60}Co 源)的照射剂量应根据照射源的半衰期计算放射性衰变;X 线需要考虑 X 线的能量、管效率以及照射源与受照动物之间的距离。

3.3.3 照射方式

根据辐射暴露不同场景以及不同的研究目的,会采用不同的照射方式。全身均匀照射方式使用最多。造血免疫辐射损伤模型多采用全身均匀照射;肠型辐射损伤模型可以采用全身照射或者保护少量(2%,5%)骨髓的不均匀照射。肺、皮肤、肾则可采用局部照射^[8,13,15,35]。

3.4 动物护理

保证动物模型结果的一致性、可重复性对于研发及评价辐射防护措施非常重要。实验动物的选择、饲养管理、受照后的支持性护理等各个方面因素都会对实验结果产生影响。辐照设备及照射参数的设置;在接受照射时部分骨髓保护等照射方式不同,会改变辐射剂量反应曲线;防护药物给药量、给药途径/部位和频率,以及因血液采样等任何处理,都会影响动物的应激水平,并可能影响死亡率^[36]。在尽可能模拟人类受照情况及医疗处置的基础上,尽可能规范各种条件,保证研究结果的准确性和重现性。

各项临床前实验需要得到机构动物使用和管理委员会(IACUC)的批准,针对每种动物模型制定完善的安乐死标准是保证实验动物福利的重要

内容。

3.5 模型评价

放射损伤模型根据构建的种类不同,采用的评价指标有相同的部分也有不同的部分。相同的部分主要是(1)致死率;(2)外周血计数/分类;(3)造血系统损伤。每次照射后在观察终点动物死亡比例要一致,致死率反映了真实的辐射损伤效应,是评价治疗方法有效的关键指标。造血系统受到照射后会出现明显损伤,外周血计数/分类改变,造血细胞计数的下降,干祖细胞比例降低。不同类型损伤模型的评价指标及观察终点见表 2。

需要注意的是,动物照射应在同一时间段(上午或下午)从而便于进行研究机构内和机构之间的比较,因为造血干细胞和祖细胞昼夜节律的变化可能影响结果的一致性^[9]。动物在受到低、中剂量照射后选择不同时间点采样以及给与防护药或支持治疗等操作,都可能会影响到动物的应激状态和生存时间、生存率。

4 辐射损伤动物模型的应用

辐射动物模型对阐明辐射损伤的病理生理机制及防护措施的研究及评价非常重要,是临床转化的重要因素之一。小鼠辐射损伤模型是各种类型急性照射损伤临床前研究的最基本的模型,犬和非人灵长类是辐射损伤研究使用最广泛的大型动物。非人灵长类动物模型在辐射损伤发病过程、生物标志物、药物评价研究中起到了关键作用。本节主要介绍 NHPs 在辐射损伤及辐射防护剂研发中的应用。

4.1 机制研究

恒河猴骨髓型急性放射病(H-ARS)模型有明确致死剂量-反应关系。在 6 MV 线性加速器中接受 7.20 ~ 8.90 Gy 的 X 线照射,剂量率为 0.80 Gy/min,观察 60 d。主要终点观察指标是照射后 60 d 的存活率;次要观察终点包括造血相关参数、输血次数、感染发生率、发热性中性粒细胞减少症、腹泻的严重程度、死亡的平均生存时间和组织病理学。结果显示受照射动物 LD30/60 为 7.06 Gy,LD50/60 为 7.52 Gy,LD70/60 为 7.99 Gy^[37]。

也有采用机体部分高剂量照射恒河猴模型(partial-body irradiation, PBI)(保留 5% 或 2.5% 骨髓)进行骨髓型和肠型放射病病程变化及治疗评价分析^[37-38]。10 Gy 或 12 Gy 照射(保留 2.5% 骨髓)

表 2 各类辐射损伤模型评价指标

Table 2 Evaluation indexes of radiation damage models

辐射损伤模型类型 Types of radiation injury models	评价指标 Evaluation indicators
造血系统损伤模型 Hematopoietic system injury model	小鼠:LD50/30,大动物:LD50/45-60;连续观察:暴露初期连续淋巴细胞计数,包括记录恢复时间,损伤恢复拐点;观察终点:检测单根股骨细胞计数,造血细胞流式细胞术分型(绝对数和百分比);造血细胞集落形成能力;造血细胞移植重建能力(造血干细胞功能测定金标准)。 Mouse: LD50/30, large animals: LD50/45-60; Continuous observation: continuous lymphocyte counts at the beginning of exposure, including recording of recovery time, inflection point of injury recovery; Observational endpoints: cell counts in single femur, flow cytometric typing of hematopoietic cells (absolute and percentage); Hematopoietic cell colony forming ability; Hematopoietic cell transplantation reconstruction capacity (gold standard for hematopoietic stem cell function assay).
胃肠道损伤模型 Gastrointestinal injury model	小鼠:LD50/10; 前驱症状:呕吐,腹泻; 隐窝集落测定和功能测定; 在规定时间内(小肠:3.5 d; 结肠:5.5 d; 胃:10 d) 测定肠的再生隐窝的数量(隐窝干细胞测定金标准); 胃肠损伤功能测定:胃肠动力和通透性、细菌进入血流量及血浆瓜氨酸水平。 Mouse: LD50/10; Prodromal symptoms: vomiting, diarrhea; Crypt colony assay and functional assay; Number of regenerating crypts in the intestine (gold standard for crypt stem cell assay) was determined at defined times (small intestine: 3.5 d; colon: 5.5 d; stomach: 10 d); Functional assays for gastrointestinal injury: gastrointestinal motility and permeability, bacterial translocation into the bloodstream and plasma citrulline levels.
肺损伤模型 Pulmonary injury model	生存率和生存时间;呼吸功能;病理变化急性期:肺炎间质改变,呼吸道水肿,巨噬细胞炎症浸润,上皮细胞丢失; 远期:间质纤维化、HE 染色,Masson 染色,羟脯氨酸含量;炎性细胞及细胞因子表达。 Survival rate and survival time; Respiratory function; Pathologic changes acute stage: interstitial pneumonia changes, respiratory edema, macrophage inflammatory infiltrate, epithelial cell loss; late stage: interstitial fibrosis, HE staining, Masson staining, hydroxyproline content; Inflammatory cell and cytokine expression.
皮肤损伤模型 Skin injury model	皮肤损伤急性期:红斑、干燥、潮湿脱屑和溃疡。晚期:硬化和纤维化;皮肤完整性,炎性细胞浸润;炎性细胞因子; 促纤维化细胞因子;生存率和生存时间。 Acute phase of skin damage: erythema, dryness, moist flaking and ulceration. Late stage: sclerosis and fibrosis; Skin integrity, inflammatory cell infiltration; Inflammatory cytokines; Pro-fibrotic cytokines; Survival and survival time.
肾损伤模型 Renal injury model	组织病理学检测:HE 染色,天狼猩红染色,TUNEL 染色(肾损伤测定金标准); 血尿素氮; 尿蛋白; 凋亡基因、炎性因子基因、衰老相关基因及蛋白检测。 Histopathological testing: HE staining, Sirius scarlet staining, TUNEL staining (Gold standard for kidney injury evaluation); Blood urea nitrogen; Urine protein; Apoptosis gene, inflammatory factor gene, aging-related gene and protein detection.

建立恒河猴肠型放射病模型,进行血浆标志物研究,发现空肠和血浆中瓜氨酸、血清素、酰基肉碱和多种磷脂酰胆碱水平呈正相关。瓜氨酸水平还与小肠隐窝的损伤和再生相关^[39]。受照 3 周后,进行空肠的蛋白质组分析,发现维甲酸途径的蛋白质和维甲酸(维生素 A 的活性代谢产物)的失调^[40-42]。

恒河猴接受 6.5 Gy (剂量率 0.6 Gy/min)⁶⁰Co- γ -射线照射,60 d 后进行全血转录组学分析,结果显示 IL-3 信号传导、肾上腺素受体信号传导、ErbB 信号传导、心血管系统中的一氧化氮信号传导、Wnt/ β -catenin 信号传导和炎症小体信号传导在内的几种途径表达升高,与受照后生存率和生存状态相关^[43]。

恒河猴接受 9.8 Gy 或 10.7 Gy 的全胸 X 线照射(剂量率 600 Gy/min),照射后不同时间点(至 270 d)收取血清进行 miRNome 分析。发现共有 26 种 miRNA 在所有时间点显示出剂量依赖性变化,其中 16 种下调,10 种上调,进一步分析发现 miRNA 可能作为预测全胸照射后早期存活率或并发症的

生物学指标^[44]。近期有报道建立 12 Gy 全身照射(⁶⁰Co- γ 射线)和部分照射(保护 5%骨髓,加速器照射)的两种恒河猴模型观察致死性肺损伤演变过程^[45-46];并且进行肺组织转录组分析,比较两种照射模型肺组织组学改变的异同,为生物标志物的发现提供线索^[47]。

研发针对急性和延迟性多器官损伤的药物需要建立相应的动物模型预测人类对辐射及其治疗的反应。放射性肾损伤以迟发性慢性发病为特征,有实验室以 10 Gy 或 11 Gy 全身照射(保留部分骨髓)诱导急性和慢性肾损伤。急性和慢性肾损伤在 10 ~ 11 Gy 之间似乎与剂量无关。在照射后的前 50 d 出现急性肾损伤,可能在慢性肾损伤发生之前已经消退,而慢性肾损伤到照射后 180 d 才逐渐加重,因此观察终点应该选择 180 d。这些发现提示由于医疗处置缓解了急性放射病的损伤,辐射引起延迟效应才能显现出来。研究还发现使用 G-CSF 可以缓解骨髓型放射病的造血系统损伤,但对后期出

现的急性或慢性肾辐射损伤没有影响^[48-49]。

4.2 药物评价

辐射防护剂的研发已有 60 多年的历史。但目前能够用于临床的药物种类极少。防护剂的研发在小动物实验有效安全的基础上,最终需要经过非人灵长类评价。目前用于缓解辐射事故引起的急性造血系统损伤有白细胞生长因子(LGF)、非格司亭(filgrastim, G-CSF)、聚乙二醇非格司亭(pegfilgrastim, G-CSF)和沙格莫丁(sargramostin, GM-CSF),其中 filgrastim 还被列入 WHO 核与辐射

应急基本药物清单。还有已经在临床使用的药物需要进一步研发扩大适应症用于辐射防护。如抗氧化剂阿米福丁(amifostine),对辐射损伤保护作用明确,但因毒副作用不能作为常规防护剂,因此需利用改变剂型、增加药物稳定性、改变给药途径、降低毒副作用等各种手段以便于核和辐射应急使用;临床前具有辐射损伤防护作用的化合物种类非常多,部分有研发前景的候选药物需要通过大动物的评价进入新药评价程序,如 Bio 300^[50]等。应用猴辐射模型进行辐射防护药物评价部分结果见表 3。

表 3 NHP 辐射损伤动物模型在药物评价中的应用

Table 3 Application of nonhuman primate model for radiation induced injury in development of radiation countermeasures

评价药物 Agent	适应症 Indication	照射条件 Irradiation	给药方案 Schedule	观察终点及指标 Endpoint	辐射防护效果 Radioprotective efficacy
非格司亭 ^[51-52] Filgrastim (Neupogen) ^[51-52]	H-ARS	6 MV, LINAC, TBI, 剂量: 7.50 Gy (LD50/60), 剂量率: 0.80 Gy/min 6 MV, LINAC, TBI, dose: 7.50 Gy (LD50/60), dose rate: 0.80 Gy/min	TBI 后 1 d 开始给药 (10 μg/(kg·d)), 每天持续给药, 直到中性粒细胞绝对计数 (ANC) > 1000 μL, 持续 3 d。 Administered beginning 1 day after TBI (10 μg/(kg·d)) continued daily until the absolute neutrophil count (ANC) was > 1,000 μL for 3 consecutive days.	主要终点 60 d 全因总体死亡率; 次要终点血液学相关参数。 Primary end point was survival to day 60; secondary end points included hematologic-related parameters.	降低了 60 d 总死亡率从 59.1% (13/22) 降低至 20.8% (5/24), 存活率提高 38.3%; 降低白细胞下降持续时间及发热。 Reduced 60 day overall mortality from 59.1% (13/22) to 29.1% (5/24), survival rate increased by 38.3%, decreased the duration of neutropenia and fever.
聚乙二醇非格司亭 ^[53] Pegfilgrastim Neulasta [®] (pegylated granulocyte colony-stimulating factor) ^[53]	H-ARS	6 MV, LINAC, TBI, 剂量 7.50 Gy (LD50/60), 剂量率: 0.80 Gy/min 6 MV LINAC, TBI, dose: 7.50 Gy (LD50/60), dose rate: 0.80 Gy/min	TBI 后第 1 天和第 8 天, 给药 (300 μg/kg) Administered on day 1 and 8 postirradiation (300 μg/kg)	主要终点 60 d 全因总体死亡率; 次要终点血液学相关参数。 The primary, clinically relevant end point was survival to day 60; secondary end points included hematologic-related parameters.	60 d 生存率从对照组的 47.8% (11/23) 提高到 91.3% (21/23); 减少中性粒细胞减少症和血小板减少症的中位持续时间; 促进恢复, 降低革兰氏阴性菌血症。 Increased 60 day survival to 91.3% (21/23) from 47.8% (11/23) in control; decreased the median duration of neutropenia and thrombocytopenia; promoting recovery decreased the incidence of Gram-negative bacteremia.
非格司亭 ^[38] Filgrastim Neupogen G-CSF 聚乙二醇非格司亭 Pegfilgrastim Neulasta [®] (pegylated granulocyte colony-stimulating factor) ^[38]	H-ARS GI-ARS	全身照射 10.0 Gy 或保留 2.5% 骨髓照射, 剂量率 0.80 Gy/min TBI or PBL/BM2.5, dose: 10.0 Gy, 6 MV, dose rate: 0.80 Gy/min	TBI 后第 1 天开始给药。非格司亭 (10 μg/kg), 在暴露后第 1 天或第 3 天开始每天给药, 直到中性粒细胞恢复。 Neulasta (300 μg/kg), 在暴露后第 1、8 和 15 天或第 3、10 和 17 天给药 Neupogen (10 μg/kg), administered daily postexposure following its initiation on day 1 or day 3 until neutrophil recovery Neulasta (300 μg/kg), administered on days 1, 8, and 15 or days 3, 10, and 17 postexposure	主要终点 60 d 全因总体死亡率; 次要终点血液学相关参数。 Primary, clinically relevant end point was survival to day 60; secondary end points included hematologic-related parameters.	不降低 H-ARS、GI-ARS 相关的死亡率; 10 Gy (保存 2.5% 骨髓) 照射 Neulasta (PEG) 及 Neupogen 均可减少白细胞减少严重程度且早期使用效果更好。 Did not affect mortality due to gastrointestinal acute radiation syndrome or mitigate mortality due to hematopoietic acute radiation syndrome (plus gastrointestinal damage). decreased the severity of neutropenia the earlier administration of Neulasta or Neupogen was more effective in PBL/BM2.5.

续表 3

评价药物 Agent	适应症 Indication	照射条件 Irradiation	给药方案 Schedule	观察终点及指标 Endpoint	辐射防护效果 Radioprotective efficacy
γ-生育三烯酚 ^[54] Gamma-tocotrienol (GT3) ^[54]	H-ARS	全身照射, ⁶⁰ Co-γ 射线, 剂量: 5.8 和 6.5 Gy, 剂量率: 0.6 Gy/min TBI, ⁶⁰ Co-γ-radiation, dose: 5.8 and 6.5 Gy, dose rate: 0.6 Gy/min	照射前 24 h, 37.5、75 mg/kg, 皮下注射 1 次 GT3 37.5、75 mg/kg, 24 h prior to irradiation, administered subcutaneously	60 d 生存率 造血系统指标 Survival at 60 days postirradiation; hematologic-related parameters.	未见生存率提高(照射模型组死亡率也低); 减少中性粒细胞和血小板下持续时间; 预防凝血。 5.8 Gy 照射时 75 mg/kg 药效高于 37.5 mg/kg γ-GT3 treatment of irradiated NHPs caused no significant difference in animal survival at 60 days postirradiation (low mortality was observed in irradiated, vehicle-treated groups); reduced group mean neutropenia by 3-5 days and thrombocytopenia by 1-5 days; prevented thrombocytopenia; 75 mg/kg treatment was more effective than 37.5 mg/kg treatment after a 5.8 Gy dose TBI.
γ-生育三烯酚 ^[55] Gamma-tocotrienol (GT3) ^[55]		全身照射, ⁶⁰ Co-γ 射线, 剂量: 4 或者 5.8 Gy, 剂量率: 0.6 Gy/min TBI, dose: 4 or 5.8 Gy, ⁶⁰ Co γ-radiation, dose rate: 0.6 Gy/min	TBI 前 24 h, 37.5 mg/kg, 皮下注射 1 次 Received GT3 (37.5 mg/kg) or vehicle 24 h prior to irradiation (4 Gy and 5.8 Gy), sc	免疫细胞分型、骨髓细胞分型及集落形成能力 Immunophenotype the bone marrow (BM) lymphoid cell populations; clonogenic ability of hematopoietic stem cells (HSCs) was assessed by colony forming unit (CFU) collecting bone marrow cell 2, 7, 14 and 30 post-irradiation.	提高 CD34+ 细胞计数及增殖功能恢复, 促进外周血中性粒细胞和血小板恢复 VGT3 accelerated the recovery in CD34+ cells, increased HSC function as shown by improved recovery of CFU-granulocyte macrophages (CFU-GM) and burst-forming units erythroid (B-FUE), and aided the recovery of circulating neutrophils and platelets.
γ-生育三烯酚 ^[56] Gamma-tocotrienol (GT3) ^[56]		全身照射, ⁶⁰ Co-γ 射线, 剂量: 12 Gy, 剂量率: 0.6 Gy/min TBI, ⁶⁰ Co-γ-radiation, dose: 12 Gy, dose rate: 0.6 Gy/min	TBI 前 24 h, 37.5 mg/kg, 皮下注射 1 次 24 h prior to 12 Gy TBI. 37.5 mg/kg GT3, subcutaneously (sc)	在第 4 天和第 7 天评价近端空肠的结构损伤和隐窝存活率; 用 TUNEL 和 Ki-67 免疫染色评估凋亡细胞死亡和隐窝细胞增殖 Proximal jejunum was assessed for structural injuries and crypt survival on day 4 and 7; Apoptotic cell death and crypt cell proliferation were assessed with TUNEL and Ki-67 immunostaining.	辐照导致绒毛显著缩短, 粘膜表面积减少; GT3 在第 7 天诱导隐窝深度增加, 表明增加干细胞在照射后存活和增殖。GT3 不影响照射后隐窝的存活。GT3 处理在第 4 天和第 7 天显著降低 TUNEL 阳性细胞; 增加第 7 天诱导 Ki-67 阳性细胞 Irradiation induced significant shortening of the villi and reduced mucosal surface area. GT3 induced an increase in crypt depth at day 7, suggesting that more stem cells survived and proliferated after irradiation. GT3 did not influence crypt survival after irradiation. GT3 treatment caused a significant decline in TUNEL-positive cells at both day 4 and 7. Importantly, GT3 induced a significant increase in Ki-67-positive cells at day 7.

续表 3

评价药物 Agent	适应症 Indication	照射条件 Irradiation	给药方案 Schedule	观察终点及指标 Endpoint	辐射防护效果 Radioprotective efficacy
沙门杆菌鞭毛蛋白的衍生物, Toll 样受体 5 ^[57] CBLB502 Entolimod toll like receptor 5, TLR5 ^[57]	ARS	全身照射, ⁶⁰ Co- γ 射线, 剂量: 6.5 ~ 6.75 Gy, 剂量率: 0.8 ~ 1.1 Gy/min 全身照射, 直线加速器, 剂量: 11 Gy, 剂量率: 0.8 ± 0.025 Gy/min TBI, ⁶⁰ Co- γ -radiation, dose: 6.5 ~ 6.75 Gy, dose rate: 0.8 ~ 1.1 Gy/min 6 MV LINAC source, dose: 11 Gy, dose rate: 0.8 ± 0.025 Gy/min	照射后不同时间点单剂量 40 μ g/kg 肌肉注射 Single injection of 40 μ g/kg entolimod in the quadriceps muscle, using a dose volume of 0.2 mL/kg, at 1, 4, 16, 25 or 48 h after the end of irradiation.	40 d 生存率 骨髓和胃肠组织损伤 40 d survival of lethally irradiated NHPs; Bone marrow and gastrointestinal tract injury.	受照后 25 ~ 48 h 给药均能降低死亡率 加快造血和免疫器官恢复 降低血小板和中性粒细胞减少的严重程度和持续时间 增加骨髓细胞集落形成能力 减少胃肠道隐窝细胞凋亡 提高再生能力 Reduced the risk of mortality 2~3-fold; accelerated morphological recovery of hematopoietic and immune system organs, decreased severity and duration of thrombocytopenia, anemia and neutropenia; increased clonogenic potential of the bone marrow reduced apoptosis and accelerated crypt regeneration in the gastrointestinal tract.
白介素-12 ^[58] Interleukin-12 HemaMax TM ^[58]	ARS	全身照射, ⁶⁰ Co- γ 射线, 剂量: 12 Gy, 剂量率: 0.6 Gy/min。 TBI, ⁶⁰ Co source, 6.7 Gy/LD (50/30), dose rate: 60 cGy/minute	照射后 24 h, 皮下注射, 给药剂量: 100 ng/kg, 250 ng/kg 无医疗支持 100 ng/kg and 250 ng/kg, sc, 24 h after TBI unsupported rhesus monkey	30 d 生存率; 血液学指标 30 d survival rate; Hematology.	提高存活率; 抑制白细胞及血小板减少 Significantly increased percent of survival; decreased leukopenia and thrombocytopenia.
白介素-12 ^[59] interleukin-12 HemaMax TM ^[59]	ARS	全身照射, ⁶⁰ Co- γ 射线, 剂量: 7 Gy, 剂量率: 0.6 Gy/min TBI, ⁶⁰ Co source, dose: 7 Gy, dose rate: 0.60 Gy/min	照射后 24 ~ 25 h, 单剂量皮下注射, 给药剂量: 50, 100, 250, or 500 ng/kg; 无医疗支持 rHuIL-12 at doses of 50, 100, 250, or 500 ng/kg (groups 2 ~ 5, respectively), sc, 24-25 h after TBI; unsupported rhesus monkey	60 d 生存率; 造血功能; 感染 Survival rates at Day 60; Hematopoiesis; Infection	提高生存率; 减少严重贫血及感染 增加骨髓再生 Increased percent of survival rate of irradiated rhesus monkeys reduced the incidences of severe neutropenia, severe thrombocytopenia, and sepsis (positive hemoculture). greater bone marrow regeneration
白介素-12 ^[60] interleukin-12 HemaMax TM ^[60]	ARS	全身照射, ⁶⁰ Co- γ 射线, 剂量: 7 Gy, 剂量率: 0.6 Gy/min TBI, ⁶⁰ Co source, dose: 7 Gy, dose rate: 0.60 Gy/min	照射后 24 h, 175 ng/kg, 皮下注射 无医疗支持 175 ng/kg, sc, 24 h after TBI Fluids, antibiotics, and blood products were not used	60 d 生存率; 造血功能; 感染和出血; Survival at day 60; Hematology; Bone marrow evaluation Infection, hemorrhage, mucositis, and gastrointestinal ulcers	单次使用提高生存率, G-CSF 连续使用 18 d 对生存率无影响 提高血细胞计数、加速造血恢复 降低严重贫血发生率 Survival at day 60 was significantly increased for rHuIL-12, increases survival compared with a regimen of 18 consecutive days of treatment with G-CSF increased erythroid, myeloid, and megakaryocyte counts promoted multilineage hematopoietic recovery decreased frequencies of severe cytopenia

续表 3

评价药物 Agent	适应症 Indication	照射条件 Irradiation	给药方案 Schedule	观察终点及指标 Endpoint	辐射防护效果 Radioprotective efficacy
金属卟啉类抗氧化剂, 模拟超氧化物歧化酶 ^[61-62] AEOL 10150 metalloporphyrin antioxidant, superoxide dismutase mimetic ^[61-62]	肺损伤 Lung damage	胸部照射 10.74 Gy, 剂量率: 0.80 ± 0.05 Gy/min target dose: 10.74 Gy, dose rate 0.80 ± 0.05 Gy/min. (6 MV LINAC)	每日 5 mg/kg, sc., 受照后 24 ± 2 h 开始使用, 3 种用药方案: 1) d1 ~ d28; 2) d1 ~ d60; 3) 间断治疗 d1 ~ d28 及 d60 ~ d88. 180 d 之内接受医疗支持 daily subcutaneous injection at 5 mg/kg in each of three schedules, beginning 24 ± 2 h postirradiation; 1) from day 1 to day 28, 2) day 1 to day 60, 3) a divided regimen from day 1 to day 28 plus day 60 to day 88. All animals received medical management and were followed for 180 days.	生存率; 受照后每月 CT 扫描; 肺组织损伤 Survival rate; Postirradiation monthly CT scans; The latency, incidence and severity of lung injury were assessed through clinical, radiographic and histological parameters.	提高生存率 (1 ~ 60 d 用药), 延长用药至 90 d 效果更好, 其他方案无效; 对肺组织损伤发生率及严重程度没有影响 The day 1-60 administration schedule increased survival from 25 to 50%; treatment efficacy could be increased by extending the treatment schedule to 90 days or longer after WTLI. No survival improvement was noted in 2 other schedules It did not affect incidence or severity of pneumonitis/fibrosis as determined by histological evaluation, pleural effusion or pericardial effusion as determined by CT scans.
类肾上腺素素 ^[63] Indralin B-190 adrenomimetic agent ^[63]	ARS	6.8 Gy 全身照射, 剂量率为 0.228 -Gy/min in the experimental 60Co facility of model GUBE-2000 (2000 Ci of 60Co charge) (Russia) at a lethal dose of 6.8 Gy (the radiation dose causing 100% mortality of animals by 30 d after irradiation ie. LD100/30). a dose rate of 0.228 Gy/min	照射前 5 min 肌肉注射 administered intramuscularly (im) to monkeys in the thigh area at doses of 40, 60, 80 or 120 mg/kg as a 2.5% solution 5 min before exposure to radiation.	30 d 生存率造血损伤 30 d survival rate hematopoietic injury	提高 30 d 生存率, 60, 80 or 120 mg/kg 有剂量依赖性; 阻断造血辐射损伤的进展 Promoted survival of irradiated monkeys; Inhibition the development of the haematopoietic syndrome of ARS (Days 9 ~ 20 after exposure).
金雀异黄酮纳米悬浮制剂 ^[50, 64] BIO 300, a Nanosuspension of Genistein ^[50, 64]	H-ARS DEARE	-	50 mg/kg 肌肉注射或口服 50 mg/kg, im and 100 mg/kg, po	药代动力学和代谢组学研究 Pharmacokinetic and Metabolomic Studies	200 mg/kg 的 BIO 300 口服粉在 NHP 中是安全的 A single dose of up to 200 mg/kg of BIO 300 Oral Powder is safe in NHPs and conferred no metabolomic-mediated safety features.

注: ARS: 急性放射病; H-ARS: 骨髓型急性放射病; GI-ARS: 肠型急性放射病; DEARE: 急性辐射暴露的延迟效应; LINAC: 直线性加速器。

Note. ARS. Acute radiation syndrome. H-ARS. Hematopoietic subsyndrome of ARS. GI-ARS. Gastrointestinal subsyndrome of ARS. DEARE. Delayed effects of acute radiation exposure. LINAC. Linear accelerator.

5 总结与展望

由于辐射防护剂无法进行临床有效性试验, 辐射损伤动物模型研究具有不可替代的作用。辐射损伤动物模型还需要进一步的完善, 以期更符合核与辐射应急防护剂的研发以及远期损伤效应的观察及防治。

小鼠、犬、恒河猴是进行辐射损伤机制及防治措施研究最常用的实验动物, 对急性和迟发性辐射损伤的病理发展过程有较完整的数据。今后还需要模拟人类受照现场情况, 制备多器官损伤模型以

及多种射线混合照射模型用于生物学标志物筛选、防护药物的筛选及评价。在小动物研究基础上, 还需加强大动物模型的研制及比较医学研究提高临床转化能力^[65]。

除了造血系统和胃肠系统辐射损伤, 对血管、肺、肾和皮肤系统等辐射敏感的器官系统也需要进行深入研究, 要关注多器官系统辐射损伤的相互作用以及防护药物相互作用; 对幸存者的辐射迟发效应的研究及防护措施也应进一步的关注。

以往研究多数针对低 LET (线性能量转移) 辐射, 如 γ 射线或 X 射线。需要加强对特定类型的辐

射(特别是高 LET 辐射)(如质子、中子和重离子)的研究及损伤干预,这也有利于探索空间辐射损伤及防护措施^[66]。

在辐射损伤动物模型的研制和评价应用时,对实验动物的管理和实验设计都需要特别关注,在保证研究结果的可重复性、可信性的同时,也要保证实验动物的福利^[67]。

参 考 文 献(References)

- [1] 中华人民共和国国务院新闻办公室. 中国的核应急 [M]. 北京: 人民出版社; 2016.
Information Office of the State Council of the People's Republic of China. China's nuclear emergency response [M]. Beijing: People's Publishing House; 2016.
- [2] WHO. National stockpiles for radiological and nuclear emergencies: policy advice [M]. Geneva: World Health Organization; 2023.
- [3] Singh VK, Seed TM. A review of radiation countermeasures focusing on injury-specific medicinals and regulatory approval status: part I. Radiation sub-syndromes, animal models and FDA-approved countermeasures [J]. *Int J Radiat Biol*, 2017, 93(9): 851-869.
- [4] Reeves GI. Biophysics and medical effects of enhanced radiation weapons [J]. *Health Phys*, 2012, 103(2): 150-158.
- [5] 樊飞跃. 中华医学百科全书-公共卫生学: 放射卫生学 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社; 2021.
Fan FY. Chinese Medical Encyclopedia-Public Health; Radiological Health [M]. Beijing: China Union Medical University Press; 2021.
- [6] FDA. Guidance for industry: product development under the animal rule [M]. US: Food and Drug Administration; 2015.
- [7] Schae D, McBride WH. Are animal models a necessity for acute radiation syndrome drug discovery? [J]. *Expert Opin Drug Dis*, 2019, 14(6): 511-515.
- [8] Williams JP, Brown SL, Georges GE, et al. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure [J]. *Radiat Res*, 2010, 173(4): 557-578.
- [9] Plett PA, Pelus LM, Orschell CM. Establishing a murine model of the hematopoietic acute radiation syndrome [M]. New York: Humana, 2023.
- [10] Sharplin J, Franko AJ. A quantitative histological study of strain-dependent differences in the effects of irradiation on mouse lung during the early phase [J]. *Radiat Res*, 1989, 119(1): 1-14.
- [11] Sharplin J, Franko AJ. A quantitative histological study of strain-dependent differences in the effects of irradiation on mouse lung during the intermediate and late phases [J]. *Radiat Res*, 1989, 119(1): 15-31.
- [12] Rubin P, Johnston CJ, Williams JP, et al. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1995, 33(1): 99-109.
- [13] Pan J, Li D, Xu Y, et al. Inhibition of Bcl-2/xl with ABT-263 selectively kills senescent type II pneumocytes and reverses persistent pulmonary fibrosis induced by ionizing radiation in mice [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2017, 99(2): 353-361.
- [14] Down JD, Steel GG. The expression of early and late damage after thoracic irradiation: a comparison between CBA and C57BL mice [J]. *Radiat Res*, 1983, 96(3): 603.
- [15] Citrin DE, Shankavaram U, Horton JA, et al. Role of type II pneumocyte senescence in radiation-induced lung fibrosis [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2013, 105(19): 1474-1484.
- [16] Zhang R, Ghosh SN, Zhu D, et al. Structural and functional alterations in the rat lung following whole thoracic irradiation with moderate doses: injury and recovery [J]. *Int J Radiat Biol*, 2008, 84(6): 487-497.
- [17] Stewart FA, Oussoren Y, Bartelink H. The influence of cisplatin on the response of mouse kidneys to multifraction irradiation [J]. *Radiation Oncol*, 1989, 15(1): 93-102.
- [18] Ladiges WC, Storb R, Thomas ED. Canine models of bone marrow transplantation [J]. *Lab Anim Sci*, 1990, 40(1): 11-15.
- [19] van Kleef EM, Zurcher C, Oussoren YG, et al. Long-term effects of total-body irradiation on the kidney of *Rhesus* monkeys [J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76(5): 641-648.
- [20] Robbins ME, Campling D, Rezvani M, et al. Radiation nephropathy in mature pigs following the irradiation of both kidneys [J]. *Int J Radiat Biol*, 1989, 56(1): 83-98.
- [21] Robbins ME, Soranson JA, Wilson GD, et al. Radiation-induced changes in the kinetics of glomerular and tubular cells in the pig kidney [J]. *Radiat Res*, 1994, 138(1): 107-113.
- [22] Urano M, Kenton LA, Kahn J. The effect of hyperthermia on the early and late appearing mouse foot reactions and on the radiation carcinogenesis: effect on the early and late appearing reactions [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1988, 15(1): 159-166.
- [23] Abe Y, Urano M. Fraction size-dependent acute skin reaction of mice after multiple twice-a-day doses [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1990, 18(2): 359-364.
- [24] van den Aardweg GJM, Hopewell JW, Guttenberger R. The kinetics of repair of sublethal radiation-induced damage in pig skin: studies with multiple interfraction intervals [J]. *Radiat Res*, 1996, 145(5): 586.
- [25] Hunter KS, Carnell LS, DiCarlo AL, et al. Interagency approaches to animal models for acute radiation exposure [J]. *Int J Radiat Biol*, 2021, 97(1): S2-S5.
- [26] 陈孟毅, 林帅, 吴丽贤, 等. 不同年龄小鼠造血系统辐射损伤与修复的比较观察 [J]. *国际放射医学核医学杂志*, 2019, 43(5): 442-449.
Chen MY, Lin S, Wu LX, et al. Comparative observation of radiation damage and repair of hematopoietic system in mice of different ages [J]. *Inter J Radiat Med Nucl Med*, 2019, 43(5): 442-449.
- [27] DiCarlo AL, Perez Horta Z, Rios CI, et al. Study logistics that can impact medical countermeasure efficacy testing in mouse models of radiation injury [J]. *Int J Radiat Biol*, 2021, 97(1):

- S151-S167.
- [28] Patterson AM, Sellamuthu R, Plett PA, et al. Establishing pediatric mouse models of the hematopoietic acute radiation syndrome and the delayed effects of acute radiation exposure [J]. *Radiat Res*, 2021, 195(4): 307–323.
- [29] Patterson AM, Vemula S, Plett PA, et al. Age and sex divergence in hematopoietic radiosensitivity in aged mouse models of the hematopoietic acute radiation syndrome [J]. *Radiat Res*, 2022, 198(3): 221–242.
- [30] Orschell CM, Wu T, Patterson AM. Impact of age, sex, and genetic diversity in murine models of the hematopoietic acute radiation syndrome (H-ARS) and the delayed effects of acute radiation exposure (DEARE) [J]. *Curr Stem Cell Rep*, 2022, 8(3): 139–149.
- [31] 管博文, 卢延华, 白琳, 等. SD 大鼠老龄化过程中外周血及免疫细胞表型的性别差异研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(12): 57–63.
- Guan BW, Lu YH, Bai L, et al. Gender differences in peripheral blood and immune cell phenotypes in aging Sprague-Dawley rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(12): 57–63.
- [32] 管博文, 卢延华, 石桂英, 等. 老年和青年 SD 大鼠外周血及免疫细胞分型测定分析 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(2): 64–70.
- Guan BW, Lu YH, Shi GY, et al. Differences in peripheral blood and immune cell phenotypes between aged and young Sprague-Dawley rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(2): 64–70.
- [33] Dainiak N. Hematologic consequences of exposure to ionizing radiation [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(6): 513–528.
- [34] Moroni M, Lombardini E, Salber R, et al. Hematological changes as prognostic indicators of survival: similarities between Gottingen minipigs, humans, and other large animal models [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25210.
- [35] Ewing LE, Biju PG, Pathak R, et al. Methods for induction and assessment of intestinal permeability in rodent models of radiation injury [J]. *Methods Cell Biol*, 2022, 168: 235–247.
- [36] Rios CI, Hollingsworth BA, DiCarlo AL, et al. Animal care in radiation medical countermeasures studies [J]. *Radiat Res*, 2022, 198(5): 514–535.
- [37] Farese AM, Cohen MV, Katz BP, et al. A nonhuman primate model of the hematopoietic acute radiation syndrome plus medical management [J]. *Health Phys*, 2012, 103(4): 367–382.
- [38] Farese AM, Bennett AW, Gibbs AM, et al. Efficacy of neulasta or neupogen on H-ARS and GI-ARS mortality and hematopoietic recovery in nonhuman Primates after 10-gy irradiation with 2.5% bone marrow sparing [J]. *Health Phys*, 2019, 116(3): 339–353.
- [39] Kumar P, Wang P, Tudor G, et al. Evaluation of plasma biomarker utility for the gastrointestinal acute radiation syndrome in non-human Primates after partial body irradiation with minimal bone marrow sparing through correlation with tissue and histological analyses [J]. *Health Phys*, 2020, 119(5): 594–603.
- [40] Huang W, Yu J, Liu T, et al. Proteomic evaluation of the natural history of the acute radiation syndrome of the gastrointestinal tract in a non-human primate model of partial-body irradiation with minimal bone marrow sparing includes dysregulation of the retinoid pathway [J]. *Health Phys*, 2020, 119(5): 604–620.
- [41] Huang W, Yu J, Liu T, et al. Proteomics of non-human primate plasma after partial-body radiation with minimal bone marrow sparing [J]. *Health Phys*, 2020, 119(5): 621–632.
- [42] Yu J, Huang W, Liu T, et al. Effect of radiation on the essential nutrient homeostasis and signaling of retinoids in a non-human primate model with minimal bone marrow sparing [J]. *Health Phys*, 2021, 121(4): 406–418.
- [43] Li Y, Singh J, Varghese R, et al. Transcriptome of rhesus macaque (*Macaca mulatta*) exposed to total-body irradiation [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6295.
- [44] May JM, Shankavaram U, Bylicky MA, et al. Serum RNA biomarkers for predicting survival in non-human Primates following thoracic radiation [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 12333.
- [45] MacVittie TJ, Farese AM, Parker GA, et al. Acute radiation-induced lung injury in the non-human primate: a review and comparison of mortality and co-morbidities using models of partial-body irradiation with marginal bone marrow sparing and whole *Thorax* lung irradiation [J]. *Health Phys*, 2020, 119(5): 559–587.
- [46] MacVittie TJ, Farese AM, Parker GA, et al. The time course of radiation-induced lung injury in a nonhuman primate model of partial-body irradiation with minimal bone marrow sparing: clinical and radiographic evidence and the effect of neupogen administration [J]. *Health Phys*, 2019, 116(3): 366–382.
- [47] Vellichirammal NN, Sethi S, Pandey S, et al. Lung transcriptome of nonhuman Primates exposed to total- and partial-body irradiation [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 29: 584–598.
- [48] Cohen EP, Hankey KG, Bennett AW, et al. Acute and chronic kidney injury in a non-human primate model of partial-body irradiation with bone marrow sparing [J]. *Radiat Res*, 2017, 188(6): 661–671.
- [49] Cohen EP. Radiation nephropathy in a nonhuman primate model of partial-body irradiation with minimal bone marrow sparing-part 1: acute and chronic kidney injury and the influence of neupogen: erratum [J]. *Health Phys*, 2019, 116(5): 723.
- [50] Cheema AK, Mehta KY, Santiago PT, et al. Pharmacokinetic and metabolomic studies with BIO 300, a nanosuspension of genistein, in a nonhuman primate model [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1231.
- [51] Farese AM, Cohen MV, Katz BP, et al. Filgrastim improves survival in lethally irradiated nonhuman Primates [J]. *Radiat Res*, 2013, 179(1): 89–100.
- [52] Farese AM, MacVittie TJ. Filgrastim for the treatment of hematopoietic acute radiationsyndrome [J]. *Drugs Today*, 2015, 51(9): 537.

- [53] Hankey KG, Farese AM, Blaauw EC, et al. Pegfilgrastim improves survival of lethally irradiated nonhuman Primates [J]. *Radiat Res*, 2015, 183(6): 643–655.
- [54] Singh VK, Kulkarni S, Fatanmi OO, et al. Radioprotective efficacy of gamma-tocotrienol in nonhuman primates [J]. *Radiat Res*, 2016, 185(3): 285–298.
- [55] Garg TK, Garg S, Miousse IR, et al. Gamma-tocotrienol modulates total-body irradiation-induced hematopoietic injury in a nonhuman primate model [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16170.
- [56] Garg S, Garg TK, Wise SY, et al. Effects of gamma-tocotrienol on intestinal injury in a GI-specific acute radiation syndrome model in nonhuman primate [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4643.
- [57] Krivokrysenko VI, Tshkov IA, Gleiberman AS, et al. The toll-like receptor 5 agonist entolimod mitigates lethal acute radiation syndrome in non-human Primates [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0135388.
- [58] Basile LA, Ellefson D, Gluzman-Poltorak Z, et al. HemaMax™, a recombinant human interleukin-12, is a potent mitigator of acute radiation injury in mice and non-human primates [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30434.
- [59] Gluzman-Poltorak Z, Mendonca SR, Vainstein V, et al. Randomized comparison of single dose of recombinant human IL-12 versus placebo for restoration of hematopoiesis and improved survival in rhesus monkeys exposed to lethal radiation [J]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7: 31.
- [60] Gluzman-Poltorak Z, Vainstein V, Basile LA. Recombinant interleukin-12, but not granulocyte-colony stimulating factor, improves survival in lethally irradiated nonhuman primates in the absence of supportive care: evidence for the development of a frontline radiation medical countermeasure [J]. *Am J Hematol*, 2014, 89(9): 868–873.
- [61] Garofalo MC, Ward AA, Farese AM, et al. A pilot study in rhesus macaques to assess the treatment efficacy of a small molecular weight catalytic metalloporphyrin antioxidant (AEOL 10150) in mitigating radiation-induced lung damage [J]. *Health Phys*, 2014, 106(1): 73–83.
- [62] MacVittie TJ, Gibbs A, Farese AM, et al. AEOL 10150 mitigates radiation-induced lung injury in the nonhuman primate: morbidity and mortality are administration schedule-dependent [J]. *Radiat Res*, 2017, 187(3): 298–318.
- [63] Vasin MV, Semenov LF, Suvorov NN, et al. Protective effect and the therapeutic index of indralin in juvenile rhesus monkeys [J]. *J Radiat Res*, 2014, 55(6): 1048–1055.
- [64] Li Y, Girgis M, Jayatilake M, et al. Pharmacokinetic and metabolomic studies with a BIO 300 oral powder formulation in nonhuman Primates [J]. *Sci Rep*, 2022, 12: 13475.
- [65] Singh VK, Santiago PT, MacVittie TJ. Opportunities and challenges with animal models for acute radiation syndrome drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2018, 13(11): 987–992.
- [66] MacVittie TJ, Jackson W. Acute radiation-induced GI-ARS and H-ARS in a canine model of mixed neutron/ γ relative to reference Co-60 γ radiation: a retrospective study [J]. *Health Phys*, 2020, 119(3): 351–357.
- [67] MacVittie TJ, Farese AM. Recent advances in medical countermeasure development against acute radiation exposure based on the US FDA animal rule [J]. *J Radiol Prot*, 2021, 41(4): S438-S453.

[收稿日期] 2023-04-10