

• 论著 •

放射性肺损伤大鼠血清白细胞介素-6 和 肿瘤坏死因子- α 的动态变化

臧倩, 杨明会

(解放军总医院中医科, 北京 100853)

【摘要】 目的: 探讨放射性肺损伤大鼠血清细胞因子白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的动态变化。方法: 64 只雌性 Wistar 大鼠随机分为照射组(32 只)和对照组(32 只)。照射组用直线加速器以 6 MV 的 X 线照射大鼠右肺, 每次 3 Gy, 每周 2 次, 连续照射 5 周(累积剂量最高为 30 Gy)。于首次照射后 5、8、12 和 26 周末分别从两组中各随机抽取 8 只大鼠, 取眶静脉血行血清细胞因子放射免疫学检查。结果: 照射组各时间点大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平均较对照组低, 其中 IL-6 在第 8 周末明显低于对照组($P < 0.05$), TNF- α 在第 5 周末明显低于对照组($P < 0.05$), 照射组于第 12 周末时 IL-6 和 TNF- α 逐渐恢复, 至 26 周末虽略低于对照组, 但差异无显著性。结论: 血清细胞因子 IL-6、TNF- α 在照射后出现不同程度减低, 然后逐渐恢复。提示放射性损伤过程中存在全身免疫抑制状态, 血清 IL-6、TNF- α 变化有可能成为放射性肺损伤的预测指标。

【关键词】 肺损伤, 放射性; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号: R256.1; Q274 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2007)02-0088-03

Observation of serum interleukin - 6 and tumor necrosis factor - α levels in rats with lung injury induced by radiation ZANG Qian, YANG Ming-hui. Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China

Corresponding author: YANG Ming-hui (Email: ymh9651@yahoo.com.cn)

【Abstract】 **Objective:** To observe the dynamic changes of serum interleukin - 6 (IL - 6) and tumor necrosis factor - α (TNF - α) in rats with lung injury induced by radiation at different time points after irradiation. **Methods:** Sixty - four Wistar rats were randomly divided into control group and irradiation group (each $n = 32$), which was irradiated at right hemithorax of X ray of 6 MV with a dose of 3 Gy once, twice a week for 5 consecutive weeks (30 Gy totally). The levels of serum IL - 6 and TNF - α of 8 rats in each group at the end of the 5 th, 8 th, 12 th and 26 th week after the first irradiation were measured by radioimmunoassay (RIA). **Results:** The levels of serum IL - 6 and TNF - α in irradiation group were lower than those of the control group at all time points of the observation. The IL - 6 of irradiation group was significantly lower at the end of the 8 th week than that of the control group ($P < 0.05$). The TNF - α was significantly lower at the end of the 5 th week than that of the control group ($P < 0.05$). The levels of IL - 6 and TNF - α slowly rised up at the end of the 12 th week, but they were still a little lower than those of the control group, no differences being found between the two groups at the end of the 26 th week. **Conclusion:** The levels of serum IL - 6 and TNF - α exhibit a regular reduction after irradiation and afterwards slow rise. It is suggested that the inhibition of body immunity is present in the radiation - induced injury. The changes of serum IL - 6 and TNF - α may become the predictive criteria for the radiation - induced lung injury.

【Key words】 radiation - induced lung injury; interleukin - 6; tumor necrosis factor - α

放射性肺损伤是胸部肿瘤放疗和骨髓移植预处理的临床常见并发症, 包括早期放射性肺炎和晚期放射性肺纤维化, 轻者症状轻微, 早期放射性肺炎可自行消退, 重者晚期发生广泛纤维化, 导致呼吸功能

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371826)

通讯作者: 杨明会教授, 博士生导师, 主任医师 (Email: ymh9651@yahoo.com.cn)

作者简介: 臧倩(1980-), 女(汉族), 山东省人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤学的研究 (Email: zangqian816@163.com)。

损害, 甚至引起呼吸衰竭, 危及患者生命。目前普遍认为多种细胞因子、炎症介质在放射性肺炎、肺纤维化发生发展中起重要作用。为探讨外周血细胞因子在放射性肺损伤中的变化, 以及外周血清白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平对肺损伤程度的预测作用, 本研究中利用小剂量 X 线多次照射大鼠制模, 观察不同照射时间血清细胞因子 IL-6、TNF- α 水平的动态变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物:健康成年清洁级雌性 Wistar 大鼠 64 只,体重 180~200 g,由解放军总医院医学实验动物中心提供,实验前在动物中心清洁动物房常规适应性饲养 3 d。

1.2 试剂:IL-6、TNF- α 放射免疫试剂盒均购自解放军总医院东亚放射免疫研究所。

1.3 动物分组及模型制备:按随机数字表法将大鼠分为照射组(32 只)和对照组(32 只)。照射组大鼠于照射前使用速眠新注射液 0.06 ml 肌肉注射麻醉,俯卧位固定,用直线加速器以 6 MV 的 X 线经背部照射右肺,模拟机下定位,照射视野为 2 cm \times 3 cm,其余部位用铅块遮挡,每次剂量 3 Gy,每周照射 2 次,连续照射 5 周,最高累积剂量 30 Gy。对照组大鼠同时、同法进行麻醉,但不进行照射。

1.4 血清采集:于首次照射后 5、8、12 和 26 周末,分别从两组随机抽取 8 只大鼠,由眼眶静脉穿刺取静脉血 1.5 ml,4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min(离心半径 15 cm)离心 5 min,分离血清,-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.5 检测指标及方法:TNF- α 采用液相竞争法,标准曲线范围为 0.3~24.3 μ g/L,灵敏度最小检出值 $<$ 0.3 μ g/L。IL-6 采用平衡法,标准曲线范围为 50~4 000 ng/L,灵敏度最小检出值 $<$ 50 ng/L。严格按照说明书要求进行检测。

1.6 统计学处理:数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 统计软件行正态性检验后,两样本均数间比较用 t 检验, $P<$ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型制备情况:本研究采用小剂量重复照射大鼠右肺制模,通过病理学检查证实,早期可出现典型的放射性肺炎表现,晚期可出现典型的肺纤维化病变,表明该制模方法是成功的。照射组 32 只大鼠模型制备全部成功无死亡。

2.2 放射性照射对大鼠血中 IL-6、TNF- α 的影响(表 1):对照组 IL-6 和 TNF- α 不同时间点差异均无显著性(P 均 $>$ 0.05)。照射组 IL-6、TNF- α 于各时间点均低于对照组,其中 IL-6 于第 8 周末

显著降低($P<$ 0.05),TNF- α 于第 5 周末显著降低($P<$ 0.05),在第 12 周之后两组 IL-6、TNF- α 均逐渐回升,第 26 周末照射组 IL-6、TNF- α 仍略低于对照组,但两组之间差异无显著性。

3 讨论

肺内细胞因子在肺内发挥多种生物效应,与放射性肺损伤发生密切相关的细胞因子主要包括转化生长因子- β (TGF- β)、TNF、IL-6 等。既往大量实验研究已经证实,放射性肺损伤过程中上述细胞因子在肺内过度表达,介导了肺内炎症反应,并最终导致肺纤维化的发生。本研究中所采用的制模方法动物死亡率低,模型稳定可靠,可重复性好,特别是该模型更符合临床放疗实际,便于动态观察放射性肺损伤的变化规律。

目前临床上放射性肺损伤主要分为两个阶段:急性期在照射后 1~2 个月发生,主要为局部放射性炎症表现;纤维化期在照射后 3 个月~2 年左右发生,通常在 2 年后保持稳定。本实验中不同时间点照射组大鼠血清 IL-6、TNF- α 均低于对照组,其中 IL-6 在第 8 周末达最低点,后逐渐回升;TNF- α 在第 5 周末达最低点以后逐渐回升,其血清最低值发生的时间与病理学急性肺损伤(ALI)发生的时间段相吻合。Lee 等^[1]报道,在 ALI 过程中白细胞等炎性细胞及炎症细胞因子在肺毛细血管内聚集、滞留,存在持续“扣押”现象。这种肺内炎性细胞及炎症细胞因子的过度聚集是造成 ALI 的主要原因,故在肺损伤急性期肺内细胞因子表达增高的同时出现血清细胞因子下降。

肺纤维化形成过程非常复杂,发生机制至今尚未完全阐明,放射性肺炎如果不加干预,发展为肺纤维化并出现影像学表现后往往不可逆转。由于临床缺乏有效的预测指标,因此影响了放疗剂量的个体化设计及早期干预措施的及时应用。目前对于放射性肺损伤的研究主要集中在损伤局部病理改变、局部细胞因子网络失衡等方面^[2,3],放射性肺损伤过程中对机体整体的反应状态仍存在疑问,放射线引起的是炎性应激反应还是发生了免疫抑制?近年来研

表 1 X 线照射后两组不同时间点血清 IL-6 和 TNF- α 水平的变化($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Change of serum IL-6 and TNF- α levels at different time points after X ray in two groups($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	IL-6(ng/L)				TNF- α (μ mol/L)			
	5 周末	8 周末	12 周末	26 周末	5 周末	8 周末	12 周末	26 周末
照射组	76.46 \pm 37.47	66.83 \pm 16.40*	101.78 \pm 20.80	98.41 \pm 29.90	3.06 \pm 0.75*	3.37 \pm 0.87	4.19 \pm 1.27	3.63 \pm 1.12
对照组	111.99 \pm 48.64	103.32 \pm 40.08	105.75 \pm 39.46	106.29 \pm 41.37	4.05 \pm 0.92	4.20 \pm 1.37	4.26 \pm 1.03	4.06 \pm 1.06

注:与对照组比较:* $P<$ 0.05

究表明,多种基因及淋巴细胞在放射性损伤愈合细胞凋亡的调控中起重要作用^[4,5];而血清 TNF- α 、IL-6 等细胞因子作为重要的监测全身炎症反应状态的炎症介质^[6-10],在放射性肺损伤相关实验及临床研究中仍报道较少。临床对于矽肺、严重急性呼吸窘迫综合征(SARS)等肺纤维化相关疾病的几个研究发现,患者血清细胞因子 TNF- α 、IL-8、IL-12 等水平均低于正常对照组^[11-13]。放射性肺损伤与矽肺、SARS、ALI 等有相似之处,而与普通细菌感染性全身炎症反应不同,其血清细胞因子水平下降,可能提示在放射后相当长的一段时期内机体存在免疫抑制。接受照射后细胞因子水平的变化可能成为预测放射性肺损伤发生的风险指标,本实验跟踪观察了自首次照射开始至照射后第 26 周这段时间内的变化,以进一步探讨其变化规律。

参考文献:

- [1] Lee W L, Downey G P. Neutrophil activation and acute lung injury[J]. Curr Opin Crit Care, 2001, 7(1): 1-7.
- [2] Anscher M S, Vujaskovic Z. Mechanisms and potential targets for prevention and treatment of normal tissue injury after radiation therapy[J]. Semin Oncol, 2005, 32(2 Suppl 3): S86-91.
- [3] Rube C E, Rodemann H P, Rube C. The relevance of cytokines in the radiation-induced lung reaction, experimental basis and clinical significance[J]. Strahlenther Onkol, 2004, 180(9): 541-549.
- [4] 崔玉芳,夏国伟,付小兵,等. Bax 和 Bcl-2 基因在单纯和放射复合伤口中的表达及与细胞凋亡和愈合延迟的关系[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14(7): 421-423.
- [5] 崔玉芳,丁彦青,张莹,等. 致死剂量 γ 射线照射小鼠脾淋巴细胞凋亡特征及与 Bax 和 Bcl-X_L 表达的关系[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(2): 109-112.
- [6] Rukavina T, Vasiljev V, Ticac B. Proinflammatory cytokines in antilipopolysaccharide immunity against klebsiella infections[J]. Mediators Inflamm, 2005(2): 88-95.
- [7] Giacometti A, Cirioni O, Ghiselli R, et al. Interaction of antimicrobial peptide temporin L with lipopolysaccharide in vitro and in experimental rat models of septic shock caused by gram-negative bacteria [J]? Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(7): 2478-2486.
- [8] 梅雪,李春盛,王烁. 全身炎症反应综合征患者血清细胞因子动态变化的研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(2): 85-88.
- [9] 杨丙臣. 慢性阻塞性肺病患者血清 IL-8 及 TNF- α 的意义[J]. 临床医学, 2005, 25(4): 17-18.
- [10] 白春洋,宋艳敏,雷素萍. 急性胰腺炎患者血清细胞因子和炎症介质的变化[J]. 军医进修学院学报, 2006, 27(2): 112-113.
- [11] 姬文婕,程东军,杨磊. 矽肺及矽尘作业工人生物监测指标的探讨[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2005, 23(3): 217-218.
- [12] 许礼发,王晓秋,张荣波,等. 煤工尘肺结核患者血清 TNF- α 水平的临床观察[J]. 安徽理工大学学报(自然科学版), 2004, 24(4): 72-74.
- [13] 江振友,高阳,方丹云,等. SARS 患者血清 IL-8、IL-12 和 TGF- β 1 的检测及意义[J]. 中国免疫学杂志, 2004, 20(10): 717-719.

(收稿日期:2006-12-21 修回日期:2007-01-22)

(本文编辑:李银平)

• 消息 •

全国急救医学学术研讨会征文通知

“中华全科医学编辑部”和“河北省急救医学会”定于 2007 年 6 月在湖北省襄樊市召开“全国急救医学学术研讨会”。交流论文经审阅后将刊入国家级医刊《全科医学杂志》。欢迎内、外、妇、儿、中西医等科医护人员参会(会务费 500 元)或赐稿(版面费 350 元)。打印稿件挂号寄:河北省石家庄市新华区华西路 53 号,河北省急救医学会刘苏平秘书长收,邮编:050051;电话:0311-86751855,手机:13785189697;Email:hbsjjyxh@sina.com。收稿截止时间:2007 年 4 月 15 日。稿件上请写明联系电话。(河北省急救医学会)

第九期全国大内科主任心脑血管专题诊疗技术高级研修班招生

第九期全国大内科主任心脑血管专题诊疗技术高级研修班由中国医师协会主办。拟于 2007 年 4 月中旬在北京举办,连续 7 d,培训费 980 元,食宿统一安排,费用自理,学习期满授予国家 I 类继续教育学分。

内容:冠心病、心绞痛、急性冠脉综合征、急性心肌梗死、高血压、代谢综合征、高脂血症、糖尿病药物及胰岛素治疗、心律失常、心力衰竭、肺栓塞、大血管疾病、先天性心脏病、心血管病合理用药、缺血性卒中的诊断策略、重症卒中监护、缺血性脑卒中的溶栓治疗、脑出血等疾病的诊断与治疗。

教师:孙宁玲、杨跃进、刘国仗、向红丁、吴学思、程显声、贺茂林等教授。

学员要求:内科、心内科、神经内科、老年科、急诊科主任及主治以上职称的医师。

报名办法:将姓名、单位、职务、职称、地址、邮编、电话写清后寄到:北京市东城区东四西大街 46 号中国医师协会事业发展部 王海涛收,邮编:100711。信封上请注明“大内高研班”。电话:010-65286512,87835179;传真:010-87835179;Email:1972wht@vip.sina.com。

(中国医师协会)