

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.12.001  
文章编号: 1005-8982(2019)12-0001-06

基础研究·论著

## 肺细胞外基质水凝胶治疗大鼠 放射性肺损伤的实验研究\*

吴鹏飞<sup>1</sup>, 施光清<sup>2</sup>, 范贤明<sup>1</sup>, 肖贞良<sup>2</sup>, 周菁<sup>1</sup>

(1. 西南医科大学附属医院 呼吸科, 四川 泸州 646000; 2. 中国人民解放军西部战区总医院 呼吸科, 四川 成都 610083)

**摘要:目的** 探讨气管内注射肺细胞外基质(ECM)水凝胶对大鼠放射性肺损伤的疗效。**方法** 脱细胞法制备肺ECM水凝胶, 单次全肺20 Gy照射复制放射性肺损伤模型。实验一: 照射后30 min将24只大鼠随机分为4组, 分别注射肺ECM水凝胶0、300、500及800  $\mu$ l, 比较注射后30 min的死亡率、动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>), 免疫荧光染色观察水凝胶分布。实验二: 将18只大鼠分为对照组(正常大鼠)、照射组(照射+气管内注射生理盐水)及ECM组(照射+气管内注射肺ECM水凝胶), 注射时间为照射后30 min, 剂量500  $\mu$ l, 照射7 d后行肺病理学检查, ELISA法检测血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)水平。**结果** 气管内注射肺ECM水凝胶300或500  $\mu$ l不会影响大鼠PaO<sub>2</sub>( $P > 0.05$ ), 而800  $\mu$ l则会影响大鼠PaO<sub>2</sub>( $P < 0.05$ ), 300、500及800  $\mu$ l组均能在肺泡表面观察到绿色荧光, 其中800  $\mu$ l分布最均匀; 照射组及ECM组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平较对照组升高( $P < 0.05$ ), ECM组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平较照射组降低( $P < 0.05$ )。**结论** 肺ECM水凝胶能减轻放射性肺损伤早期的炎症反应, 可作为一种新的治疗策略。

**关键词:** 肺损伤; 放射性; 大鼠, Sprague-Dawley; 气管内注射/注射; 肺ECM/水凝胶

**中图分类号:** R563

**文献标识码:** A

## Therapeutic effect of lung ECM hydrogel on radiation-induced lung injury in rats\*

Peng-fei Wu<sup>1</sup>, Guang-qing Shi<sup>1</sup>, Xian-ming Fan<sup>1</sup>, Zhen-liang Xiao<sup>2</sup>, Jing Zhou<sup>1</sup>

(1. Department of Respiration, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Respiration, the General Hospital of Western Theater Command, Chengdu, Sichuan 610083, China)

**Abstract: Objective** To investigate the therapeutic effect of intratracheal injection of extracellular matrix (ECM) hydrogel on radiation-induced lung injury (RILI) in rats. **Methods** Lung ECM hydrogel was prepared by decellularization and RILI model was established by single whole lung 20Gy irradiation. Experiment 1: 24 rats were injected with lung ECM hydrogel half an hour after radiation and randomly divided into 4 groups (0  $\mu$ l group, 300  $\mu$ l group, 500  $\mu$ l group and 800  $\mu$ l group) according to the doses of lung ECM hydrogel. The mortality, PaO<sub>2</sub> and material distribution observed by immunofluorescence staining of each group were compared half an hour after injection. Experiment 2: 18 rats were divided into control group, irradiation group and ECM group. 500  $\mu$ l or equivalent saline of ECM hydrogel was injected half an hour after irradiation. Lung pathology was performed 7 days after irradiation and TNF- $\alpha$  and IL-6 level in serum was detected by Elisa method. **Results** Intratracheal injection of lung ECM hydrogel 300  $\mu$ l and 500  $\mu$ l did not affect the PaO<sub>2</sub> in rats ( $P > 0.05$ ), while 800  $\mu$ l affected the PaO<sub>2</sub> in rats ( $P < 0.05$ ). The green fluorescence distribution was observed on the alveolar surface in 300  $\mu$ l, 500  $\mu$ l, and 800  $\mu$ l

收稿日期: 2018-12-17

\* 基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金 (No: 81700081)

[通信作者] 周菁, E-mail: 8111027@qq.com; Tel: 028-86570345

groups, and distribution was the most uniform in 800  $\mu\text{l}$  group. The serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in ECM group and irradiation group were higher than those in control group, and the serum levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in ECM group were lower than those in irradiation group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Lung ECM hydrogel can alleviate the early inflammatory response of RILI and can be used as a new treatment strategy for RILI.

**Keywords:** lung injury; radioactivity; rats, Sprague-Dawley; intratracheal injection/injection; lung ECM/hydrogel

放射性肺损伤是肿瘤放疗中常见的并发症,目前无有效治疗手段<sup>[1-2]</sup>。其发生包括早期炎症浸润及后期纤维化,抑制炎症反应是治疗的关键<sup>[3]</sup>。

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是组织再生领域的一种新型材料,是离体器官经过洗脱细胞、裂解脂膜后残余的结构和功能蛋白复合体,含有天然的胞外微环境,对细胞的增殖、调亡及免疫等生物学行为具有调节作用<sup>[4-7]</sup>。通过冻干、酶消化等将ECM制成温敏性水凝胶,即室温下为液体,37℃凝固为胶冻样,可黏附于局部组织并持续发挥作用<sup>[6]</sup>。该特性使ECM可能成为一种治疗药物,目前关于ECM水凝胶治疗肺部疾病的研究报道很少。因此,本实验通过气管内注射肺ECM水凝胶治疗大鼠放射性肺损伤研究,初步探讨其可行性及有效性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 动物及材料

**1.1.1 实验动物** SPF级雄性SD大鼠(成都达硕实验动物公司)42只,6周龄,体重(220 $\pm$ 20)g,24只用于气管内注射肺ECM水凝胶的安全性评估,18只用于观察肺ECM水凝胶疗效,常规饲养,12h昼夜交替。动物实验的设计、实施过程操作符合动物伦理。

**1.1.2 仪器与材料** 直线加速器(美国Varian公司),冷冻切片机(英国珊顿公司),倒置相差荧光显微镜(日本Olympus公司),冷冻干燥机(北京盛超科创生物科技有效公司),冷冻研磨仪(上海净信实业发展有限公司)。苏木精及伊红染液(北京索拉宝科技有限公司),生物素(美国Thermo公司),亲和素(武汉博士德生物公司),大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)ELISA试剂盒(上海将来实业股份有限公司)。

### 1.2 方 法

**1.2.1 肺ECM的制备** 根据SONG等<sup>[7]</sup>的肺ECM制备过程,以10%水合氯醛麻醉大鼠,12500u肝素+250ml生理盐水全身灌流肝素化,18G针行肺动脉插管,结扎、固定,紧贴脊柱完整分离肺组织,依次予以

0.1% SDS(2h)、纯水(15min)、1% Triton-X-100(30min)及PBS(72h)灌流。将所获的肺ECM制成冻干粉剂,环氧乙烷消毒后,-80℃长期保存。

**1.2.2 肺ECM水凝胶的制备** 将10mg/ml肺ECM粉末混入0.1mol/L盐酸-胃蛋白酶液(1mg/ml)中,室温搅拌消化48h,用0.1mol/L氢氧化钠NaOH滴定至pH7.4,10倍PBS稀释至1倍,经体外验证,该水凝胶在常温下为液态,在37℃、30min左右可凝结成胶冻状<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 放射性肺损伤动物模型的复制** 36只大鼠以10%水合氯醛麻醉后,仰卧位固定于木板上,充分暴露胸部。照射野上界为两侧腋窝中点的连线、下界为剑突下缘平面,其余部位用5cm厚铅板遮挡,予以6MV-X线直线加速器单次照射,剂量20Gy,剂量率3.5Gy/min,源皮距100cm<sup>[9]</sup>。

**1.2.4 动物分组** 实验一:根据气管内注射剂量的不同(0、300、500及800 $\mu\text{l}$ ),24只放射性肺损伤大鼠随机分为0 $\mu\text{l}$ 组、300 $\mu\text{l}$ 组、500 $\mu\text{l}$ 组及800 $\mu\text{l}$ 组,每组6只。实验二:18只大鼠(12只放射性肺损伤大鼠+6只正常大鼠)随机分为照射组(照射+气道内注射生理盐水500 $\mu\text{l}$ )、ECM组(照射+气道内注射肺ECM水凝胶500 $\mu\text{l}$ )及对照组,每组6只。

**1.2.5 肺ECM水凝胶治疗** 将肺ECM水凝胶与事先配好的1mg:180 $\mu\text{l}$ 纯水稀释的生物素按照93:7的浓度混匀。照射30min后,实验一的大鼠麻醉后固定于木板上,取仰卧位,头抬高60°,颈部皮肤竖切口0.5cm,逐层分离暴露气管,环甲膜穿刺,用1ml注射器分别缓慢注入300、500及800 $\mu\text{l}$ 生物素标记的肺ECM水凝胶;实验二大鼠注入500 $\mu\text{l}$ 肺ECM水凝胶或等量生理盐水。

**1.2.6 动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO<sub>2</sub>)检测** 在预实验中,本课题组观察到肺ECM水凝胶在体内约30min成胶,因此在照射1h后,实验一各组大鼠麻醉后腹主动脉取血,检测PaO<sub>2</sub>变化。

**1.2.7 肺组织病理学检测** 实验二各组大鼠在照射 7 d 后取左肺, 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 常规脱水、石蜡包埋及切片, 苏木精-伊红 (HE) 染色, 镜下观察肺组织病理改变。参考 MIKAWA 等<sup>[10]</sup> 的评分方法评价肺损伤程度, 包括: ①肺泡充血; ②肺泡水肿; ③肺泡壁中性粒细胞浸润; ④肺泡壁增厚。根据损伤程度分为: 无损伤 0 分, 每高倍镜视野下损伤范围 <25% 计 1 分, 25% ~ <50% 计 2 分, 50% ~ <75% 计 3 分,  $\geq 75%$  计 4 分, 每项最高 4 分, 总分最高 16 分。

**1.2.8 免疫荧光染色检测** 实验一 300、500 及 800  $\mu\text{l}$  组大鼠照射 1 h 后取左肺, OCT 冷冻切片包埋剂包埋后冷冻切片, PBS 清洗 3 次, 3 min/次、5% 牛血清清蛋白封闭 30 min, PBS 清洗 3 次, 3 min/次、亲和素反应 30 min, PBS 清洗 3 次, 3 min/次, DAPI 染色 3 min, PBS 清洗 3 次, 3 min/次, 抗荧光淬灭剂封片后观察。

**1.2.9 血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 浓度检测** 照射 7 d

后, 实验二各组大鼠腹主动脉取血 3 ml, 常温静置 1 h, 3 500 r/min 离心 15 min, 取上清 0.5 ml。血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量检测按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 酶标仪 450 nm 波长处测定吸光度值。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 LSD- $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 肺 ECM 支架

离体肺组织颜色红润, 脱细胞液灌流后的肺 ECM, 肉眼观察肺组织大体标本变透明, HE 染色未见蓝染的细胞核成分, 绝大多数已经洗脱肺组织有核细胞成分。见图 1。



A: 脱细胞前; B: 脱细胞后; C: 肺 ECM 经 HE 染色未见蓝染的细胞核成分 ( $\times 200$ )

图 1 肺 ECM 支架

### 2.2 各组大鼠 PaO<sub>2</sub> 比较

实验一大鼠气管注射肺 ECM 水凝胶后 30 min 内, 800  $\mu\text{l}$  组大鼠死亡 3 只, 存活率为 50%, 0、300 及 500  $\mu\text{l}$  组无死亡, 存活率均为 100%。注射 30 min 后, 0、300、500 及 800  $\mu\text{l}$  组大鼠 PaO<sub>2</sub> 分别为 ( $84.51 \pm 7.78$ )、( $81.96 \pm 9.97$ )、( $79.29 \pm 7.56$ ) 和 ( $61.51 \pm 8.39$ ) mmHg, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 30.241$ ,  $P = 0.000$ ); 0  $\mu\text{l}$  组与 300  $\mu\text{l}$  组大鼠 PaO<sub>2</sub> 比较, 差异无统计学意义 ( $t = 0.951$ ,  $P = 0.345$ ), 0  $\mu\text{l}$  组与 500  $\mu\text{l}$  组大鼠 PaO<sub>2</sub> 比较, 差异无统计学意义 ( $t = 1.947$ ,  $P = 0.055$ ), 300  $\mu\text{l}$  组与 500  $\mu\text{l}$  组大鼠 PaO<sub>2</sub> 比较, 差异无统计学意义 ( $t = 0.996$ ,  $P = 0.323$ ), 300  $\mu\text{l}$  组与 800  $\mu\text{l}$  组

大鼠 PaO<sub>2</sub> 比较, 差异有统计学意义 ( $t = 7.629$ ,  $P = 0.000$ )。说明气管注射肺 ECM 水凝胶 300 和 500  $\mu\text{l}$  不会影响大鼠 PaO<sub>2</sub>, 而 800  $\mu\text{l}$  则会影响大鼠 PaO<sub>2</sub>。

### 2.3 各组大鼠肺泡内 ECM 水凝胶的分布

300、500 及 800  $\mu\text{l}$  组能在肺泡表面观察到绿色荧光。800  $\mu\text{l}$  组观察到部分水凝胶在气道内滞留, 300 和 500  $\mu\text{l}$  组未见气道滞留, 且前者比后者肺泡内绿色荧光分布更均匀、广泛。见图 2。

### 2.4 各组大鼠肺组织病理学观察及评分比较

照射 7 d 后通过光镜观察, 与对照组比较, 照射组大鼠肺泡间隔充血水肿、增宽, 细胞浸润增多, 肺

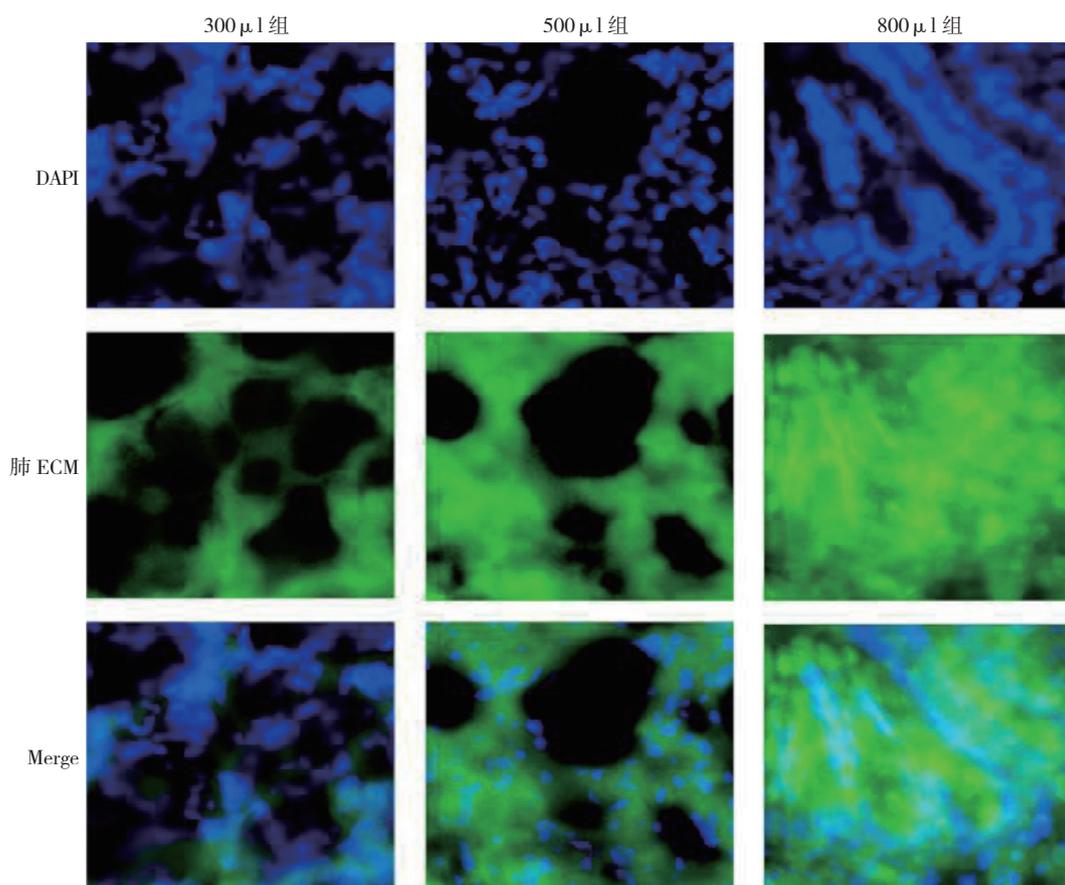


图 2 大鼠肺泡中肺 ECM 水凝胶的分布情况 (免疫荧光染色  $\times 400$ )

泡腔可见渗出, 气管内注射肺 ECM 水凝胶后, 上述病理改变减轻 (见图 3)。照射 7 d 后, 对照组、照射组及 ECM 组的肺组织病理评分分别为 ( $0.90 \pm 0.31$ ) ( $5.50 \pm 1.95$ ) 和 ( $3.50 \pm 0.85$ ) 分, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=34.282$ ,  $P=0.000$ ); 照射组与对照组肺组织病理评分比较, 差异有统计学意义 ( $t=-7.336$ ,  $P=0.000$ ), ECM 组与照射组肺组织病理评分比较, 差异有统计学意义 ( $t=2.437$ ,  $P=0.033$ )。说明气管内注射肺 ECM 水凝胶能减轻放射性肺损伤早期的病理改变。

## 2.5 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平变化

对照组、照射组和 ECM 组大鼠血清 TNF- $\alpha$  分别为 ( $57.11 \pm 9.11$ )、( $98.79 \pm 12.12$ ) 和 ( $74.49 \pm 20.17$ ) pg/ml, 对照组、照射组和 ECM 组大鼠血清 IL-6 分别为 ( $35.14 \pm 4.25$ )、( $75.67 \pm 9.22$ ) 和 ( $53.49 \pm 8.40$ ) pg/ml, 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 比较, 差异有统计学意义 ( $F=25.088$  和  $71.172$ , 均  $P=0.000$ ), 照射组及 ECM 组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平较对照组升高 ( $P<0.05$ ), ECM 组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平较照射组降低 ( $P<0.05$ )。见图 4。

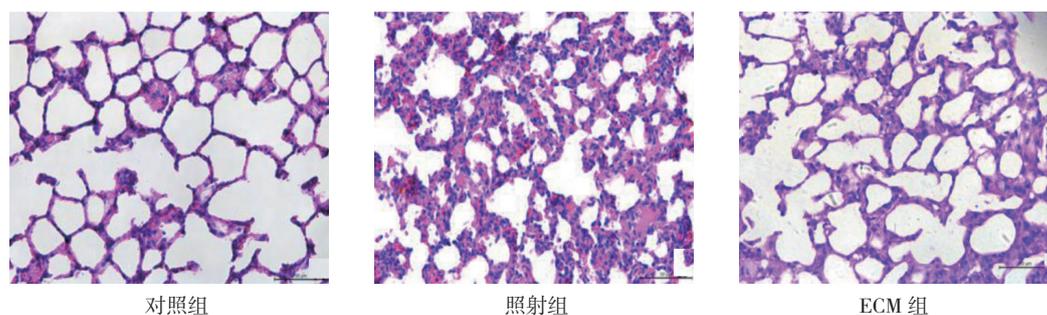


图 3 肺组织病理学观察 (HE 染色  $\times 200$ )

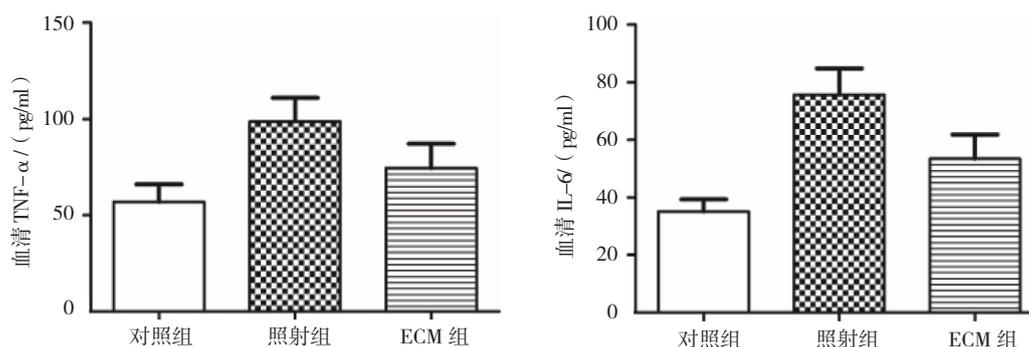


图 4 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平比较 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

### 3 讨论

ECM 材料是近年来组织再生领域研究的热点之一, 其免疫源性低, 含有最天然的细胞外微环境, 是种子细胞生长的理想材料<sup>[11]</sup>。同时, 含有大量活性因子, 体外研究表明 ECM 对组织细胞的行为具有多项调节作用, 因此可能在组织局部发挥抗炎、免疫调节、抗纤维化及改善血管形成等多种生理作用<sup>[5, 12]</sup>。近年来研究报道, 将 ECM 制备成可注射的 ECM 水凝胶, 局部注射后直接作用于受损组织表面, 对受损脑、心肌及皮肤等有治疗作用<sup>[4, 12]</sup>。GHUMAN 等<sup>[13]</sup>将猪膀胱 ECM 水凝胶注射到大鼠脑梗死区域, 当水凝胶浓度为 8 mg/ml 时, 损伤区域宿主细胞浸润明显, 其中 60% 为脑源性细胞, 能显著发挥内源性修复作用。SUN 等<sup>[14]</sup>发现碳纳米管复合水凝胶能促进心肌细胞闰盘形成, 增强其与周围心肌细胞的黏附作用。目前, ECM 水凝胶应用于肺损伤等相关疾病的研究很少。放射性肺损伤多发生在胸部肿瘤放疗后或核辐射暴露后, 是临床治疗的难点之一。如何减少细胞坏死, 减轻炎症反应, 成为其早期治疗的关键<sup>[9]</sup>。既往研究表明, 肺组织受照射后 1 h 内即启动早期炎症反应<sup>[15]</sup>。本实验研究提示 ECM 水凝胶有抗炎作用, 早期给药减轻局部炎症反应, 对放射性肺损伤产生治疗作用。

本研究首先利用脱细胞方法<sup>[7]</sup>制备肺 ECM 支架, HE 染色证实脱细胞效果满意, 然后按照 WOLF 等<sup>[8]</sup>和 PRICE 等<sup>[16]</sup>报道的方法将 ECM 支架制成温敏性水凝胶。在预实验中, 将材料注射到大鼠皮下, 观察周围炎症反应, HE 染色未见局部出血或细胞渗出增多, 组织相容性好。

实验时 ECM 水凝胶给药量和给药方式至关重要。一方面大鼠气管直径小, 注射量过大存在窒息风险, 肺 ECM 水凝胶在终末气道分布过多, 会影响肺

组织气体交换。另一方面, 为确保给药效果, 应使水凝胶充分、均匀地附着在肺泡表面。本研究采用环甲膜穿刺、气管内注射的精确给药方式, 结果显示注射 500  $\mu$ l 肺 ECM 水凝胶后, 水凝胶在肺泡表面均匀、充分分布, 且不会造成大鼠死亡率上升, 确定给药方式和剂量安全有效。杨文等<sup>[17]</sup>在检测 KM 小鼠气管注射耐受量时发现, 32 g 左右的 KM 小鼠, 气管内注射生理盐水的剂量为 3.814 ~ 4.768 ml/kg 时, 小鼠死亡率为 40% ~ 50%, 比本实验结果稍低, 可能是由于 ECM 凝结成胶后较生理盐水对通气及换气功能的影响更大。血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平在放射性肺损伤早期就显著升高, 且与局部肺组织损伤程度相关<sup>[18]</sup>。本实验观察到, 早期气管内注射肺 ECM 水凝胶抑制血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的表达, 降低大鼠局部肺组织损伤病理评分, 初步显示 ECM 水凝胶局部给药有一定的疗效和研究价值。

本实验成功获取了肺 ECM 水凝胶, 复制气管内注射肺 ECM 水凝胶治疗大鼠放射性肺损伤模型, 并初步验证其对放射性肺损伤的疗效。肺 ECM 水凝胶对放射性肺损伤的保护作用和机制仍有待进一步研究, 以明确其对肺水肿、肺组织细胞凋亡和肺部炎症反应等的干预作用。

#### 参考文献:

- [1] RAJAN RADHA R, CHANDRASEKHARAN G. Pulmonary injury associated with radiation therapy-assessment, complications and therapeutic targets[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 1092-1104.
- [2] SIMONE C N. Thoracic radiation normal tissue injury[J]. Semin Radiat Oncol, 2017, 27(4): 370-377.
- [3] HUANG Y, ZHANG W, YU F, et al. The cellular and molecular mechanism of radiation-induced lung injury[J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 3446-3450.
- [4] WANG R M, CHRISTMAN K L. Decellularized myocardial matrix hydrogels: in basic research and preclinical studies[J]. Adv Drug

- Deliv Rev, 2016, 96: 77-82.
- [5] WASSENAAR J W, GAETANI R, GARCIA J J, et al. Evidence for mechanisms underlying the functional benefits of a myocardial matrix hydrogel for post-mi treatment[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(9): 1074-1086.
- [6] LIN C Y, LIU T Y, CHEN M H, et al. An injectable extracellular matrix for the reconstruction of epidural fat and the prevention of epidural fibrosis[J]. *Biomed Mater*, 2016, 11(3): DOI: 10.1088/1748-6041/11/3/035010.
- [7] SONG J J, KIM S S, LIU Z, et al. Enhanced in vivo function of bioartificial lungs in rats[J]. *Ann Thorac Surg*, 2011, 92(3): 998-1005.
- [8] WOLF M T, DALY K A, BRENNAN-PIERCE E P, et al. A hydrogel derived from decellularized dermal extracellular matrix[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(29): 7028-7038.
- [9] BAO P, GAO W, LI S, et al. Effect of pretreatment with high-dose ulinastatin in preventing radiation-induced pulmonary injury in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 603(1-3): 114-119.
- [10] MIKAWA K, NISHINA K, TAKAO Y, et al. ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits[J]. *Anesth Analg*, 2003, 97(6): 1751-1755.
- [11] MARX V. Tissue engineering: organs from the lab[J]. *Nature*, 2015, 522(7556): 373.
- [12] SHEN Y I, SONG H G, PAPA A, et al. Acellular hydrogels for regenerative burn wound healing: translation from a porcine model[J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(10): 2519-2529.
- [13] GHUMAN H, MASSENSINI A R, DONNELLY J, et al. ECM hydrogel for the treatment of stroke: characterization of the host cell infiltrate[J]. *Biomaterials*, 2016, 91: 166-181.
- [14] SUN H, TANG J, MOU Y, et al. Carbon nanotube-composite hydrogels promote intercalated disc assembly in engineered cardiac tissues through beta1-integrin mediated FAK and RhoA pathway[J]. *Acta Biomater*, 2017, 48: 88-99.
- [15] RÜBE C E, UTHE D, WILFERT F, et al. The bronchiolar epithelium as a prominent source of pro-inflammatory cytokines after lung irradiation[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 61(5): 1482-1492.
- [16] PRICE A P, ENGLAND K A, MATSON A M, et al. Development of a decellularized lung bioreactor system for bioengineering the lung: the matrix reloaded[J]. *Tissue Engineering Part A*, 2010, 16(8): 2581-2591.
- [17] 杨文, 丁运萍, 刘学旭. KM 小鼠呼吸器官参数及气管注射耐受量的测定 [J]. *四川动物*, 2011(03): 460-462.
- [18] RUBE C E, WILFERT F, PALM J, et al. Irradiation induces a biphasic expression of pro-inflammatory cytokines in the lung[J]. *Strahlenther Onkol*, 2004, 180(7): 442-448.

(李科 编辑)