

## 【论著】

## 咽部照射致机体免疫功能损伤的菌群因素研究

丁 浩, 王胜资, 王纾宜, 陆神斌, 郭 明, 田 洁

中图分类号: R818 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2009)03-0275-02

【摘要】 目的 观察微生物学等级不同的两种大鼠 SPF级 (specific pathogen free) 和普通级大鼠 (CV级, conventional raised) 在中耳鼻咽喉部照射后外周血 T细胞及亚群的变化, 探讨菌群因素对于电离辐射致机体免疫状态改变中所起的作用。方法 选取 SPF级和 CV级 SD大鼠各 8只放射前做口咽菌群培养、鉴定, 同时比较脾脏脏器系数。随后每组 5只, 分别 6MX直线加速器以 0、10 Gy、20 Gy、30 Gy照射大鼠鼻咽区域, 并与放射后 24~36 h流式细胞仪 (FCM) 检测放射前后两种大鼠外周血中 T淋巴细胞及  $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  T淋巴细胞亚群。结果 ① CV级大鼠口咽部细菌培养阳性率为 100%, 并为铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌等致病菌, SPF级大鼠口咽部细菌培养阳性率为 25%, 且检出菌为常驻菌奇异变形杆菌; ②脾脏系数差别无统计学意义, 但 SPF级大鼠脾脏系数相对较小。③未照射的两种大鼠外周血 T淋巴细胞总数和  $CD_8^+$  淋巴细胞无差异,  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  比值基本相同; 经过照射的 CV级大鼠外周血 T淋巴细胞总数和  $CD_4^+$  淋巴细胞均明显减少,  $CD_8^+$  淋巴细胞增加, 组间差异有统计学意义 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 并与辐射剂量有一定的效应关系, 同时  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  比值呈明显下降趋势, 组间差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); SPF级大鼠照射后外周血 T淋巴细胞总数、 $CD_4^+$  和  $CD_8^+$  淋巴细胞亚群在电离辐射后无明显下降,  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  比值变化统计学组间分析无明显差异。结论 微生物学等级不同的动物其鼻咽放射后机体免疫紊乱的程度是有差异的, SPF级动物损伤的程度较低, 提示菌群因素在机体放射性损伤中可能起着协同作用。

【关键词】 菌群; 外周血 T淋巴细胞; 电离辐射

Study of Microflora Status of Radiation-Induced Peripheral Blood T Cell and its Subgroup Changes DING Hao, WANG Sheng-zhi, WANG Shu-yi, et al. Eye and Ear Nose Throat Hospital, Fudan University, Shanghai 200031, China

【Abstract】 Objective To observe the differences of the radiation-induced peripheral blood T cell and its subgroup changes between SPF and CV rats after nasopharyngeal radiation with gradient doses and explore the microflora factors in the pathogenesis of abnormal radiation-induced immunity status. Methods 8 from each SPF and CV rats were chosen for oral pharyngeal bacteria cultivation and determination and the spleen organ coefficients. The rest were irradiated with 6MX linear accelerator in the nasopharyngeal fields at dose of 0, 10, 20, 30 Gy. 5 in each group. 24~36 h later, blood T lymphocytes and their subgroups were detected by FCM. Results The bacteria of CV rats were pathogen mostly and the one from SPF rats was Proteus mirabilis uniquely. Spleen organ coefficients between two groups showed no statistical difference.  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$  lymphocytes and the ratio of  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  of CV rats decreased dramatically after radiation is in close relation with radiation doses while the  $CD_8^+$  lymphocyte increased a bit. The  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  lymphocytes and the ratio of  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  of SPF rats remained in a stable level. Conclusions There exists the difference of radiation-induced injuries of immune system in relation with different microflora status. Microflora plays an important role in the radiation-induced immune system abnormality.

【Key words】 Microflora; T lymphocytes; Irradiation

放射治疗在头颈部恶性肿瘤的治疗中占据着重要地位。但放射治疗也是一把双刃剑, 杀伤肿瘤的同时, 也对正常组织产生损伤。损伤不仅局限于照射野内组织, 对全身机体特别是免疫功能也产生影响<sup>[1]</sup>。长期以来, 学者一直致力于寻找放射性损伤的影响因素, 从而减少损伤的发生率和程度。人体的表面和体内聚集着大量的正常菌群和条件致病菌, 病理情况下还有致病菌的侵袭。口鼻咽部更是细菌富集区, 菌群差异是否会对辐射后机体免疫系统紊乱带来影响, 本研究将在这一方面作初步探讨。

## 1 材料和方法

1.1 动物选择与分组 各选取 28只微生物学等级不同的动物, SPF级 SD大鼠购自国家啮齿类实验动物种子中心, CV级 SD大鼠购自复旦大学实验动物中心, 在开放环境中饲养一周。先各选 8只作口咽培养和脾脏系数测定。余下平均分为 8组, 每组 5只。

1.2 主要试剂与实验仪器设备 小鼠抗大鼠  $CD_3^+$ -FITC

基金项目: 上海科委基金 (课题编号 060214019)

作者单位: 复旦大学附属耳鼻喉医院, 上海 200031

作者简介: 丁浩 (1968~), 男, 博士, 副主任医师, 研究方向: 头颈肿瘤的化疗和放疗

通讯作者: 王胜资, 女, 教授, 博士生导师。

$CD_4^+$ -Cy3、 $CD_8^+$ -PE为美国 Southern Biotechnology Associates 公司产品, 电子天平 (Sartorius B2245), 流式细胞仪 (FACSCalibur 双色流式细胞仪, BD), 离心机 (Eppendorf 5810R), 直线加速器 (SIEMENS PRIMUS-M)。

1.3 质量控制 SPF级动物饲养有严格的规定, 一经出笼后, 其生活饮食环境较难保证, 因此我们制定了严格的质量控制:

① SPF级大鼠出笼后, 单独送往实验室。取血、咽拭子采集等实验操作均在超净工作台上。②实验人员穿手术衣、戴无菌手套、手术帽、口罩。③直线加速器房间紫外线消毒, 实验器械酒精浸泡, 操作台面擦拭消毒。④ SPF级大鼠照射后置于中科院 SPF级动物房外间, 饮水食物标准与 SPF级动物相同。

## 1.4 实验方法

1.4.1 大鼠口咽细菌取样、培养、鉴定 固定大鼠头, 拉开下颚, 消毒棉签在大鼠咽后壁取样, 无菌试管密封送细菌培养。具体为接种于营养肉汤血平板、SS平板, 35℃培养 18~24 h涂片染色后, 做生化反应。根据涂片染色结果, 选用相应的板条, 接种、孵育 18~24 h后读板。

1.4.2 脾脏脏器系数测定 大鼠称重, 麻醉致死, 后, 打开腹膜将脾脏与周围组织分离, 迅速用天平称脾脏湿重。

计算脾脏脏器系数: 大鼠脾脏系数 = 脾重/体重 × 1000

1.4.3 咽部照射 大鼠复合氯胺酮腹腔注射麻醉, 左卧位, 右

耳向上。6MX直线加速器照射,放射野 2 cm×2 cm(中心为大鼠鼻咽部),源皮距 100 cm,剂量深度 2 cm。按实验要求分别为 0 10 20 30 Gy。放射后 24~36 h取材。

1.4.4 外周血淋巴细胞检测 抗凝真空采血管取大鼠外周静脉血 2 ml,标本在 4 h内作染色处理。分设阴性对照管及试验管,分别加入荧光抗体 CD3+—FITC/CD<sub>4</sub><sup>+</sup>—Cy5/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>—PE单抗,在每管内加入抗凝全血 100 μl,立即充分混匀,室温避光孵育 30 min,加入 FACS溶解液 2 ml裂解红细胞,迅速混匀置室温避光 8~12 min后,以 1 000 离心 5 min,弃上清液,加入 2 ml PBS洗涤 2次,弃上清液,加入 1 ml PBS混匀将细胞悬浮后立即流式细胞仪检测。以三色荧光标准微球,启动 FACSCan软件,利用 CellQuest软件进行标本检测及分析。

1.5 统计分析 结果以均数 ±标准差表示,用 SPSS 11.5 (SPSS Inc Chicago IL, USA)软件进行统计分析,两组间均数比较采用 t检验,多组差别比较用单因素方差分析 (One—way ANOVA Procedure),P<0.05为有显著性差异。

2 结果

2.1 口咽菌群培养 所有细菌培养阳性均为单菌种感染。① 8只 CV级大鼠:细菌培养阳性率 100%,其中奇异变形杆菌阳性 3例,铜绿假单胞菌阳性 2例,金黄色葡萄球菌阳性 1例,亚利桑那沙门氏菌阳性 1例,聚团肠杆菌阳性 1例。② 8只 SPF级大鼠:细菌培养阳性率 25%,其中奇异变形杆菌阳性 2例,培养阴性 6例。

2.2 SPF级 SD大鼠及 CV级大鼠体重、脾脏湿重、脏器系数 (表 1)

表 1 SPF级大鼠及 CV级大鼠脾脏系数比较<sup>1)</sup>

级别	大鼠 (只)	体重 (g)	脾重 (g)	脾脏系数
CV	8	222.6±11.1	0.827±0.065	3.722±0.331
SPF	8	186.6±21.1	0.389±0.081	2.067±0.241

注:1)脾脏系数 P=0.19>0.05,差别无统计学意义。

2.3 不同照射剂量大鼠外周血 T淋巴细胞及亚群变化 CV级大鼠在电离辐射后外周血 T淋巴细胞总数和 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>淋巴细胞均明显减少,组间差异有统计学意义 (P<0.01或 0.05)。随着辐射剂量上升下降明显,与辐射剂量有密切的效应关系。CD<sub>8</sub><sup>+</sup>淋巴细胞放射后上升,组间差异有统计学意义 (P<0.01)。具体见表 2和图 1。

表 2 CV级大鼠不同照射剂量 T淋巴细胞变化 (%)

照射剂量 (Gy)	n	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
0	5	65.89±4.25	48.53±6.17	17.46±1.63
10	5	69.92±4.36	45.07±0.88	25.38±1.41
20	5	55.82±9.43	33.42±7.21	24.01±3.06
30	5	55.11±8.05	28.22±3.03	27.73±5.68
P值		<0.05	<0.01	<0.01

SPF级大鼠在电离辐射后外周血 T淋巴细胞总数、CD<sub>4</sub><sup>+</sup>和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>淋巴细胞亚群无明显下降趋势,其中 T淋巴细胞总数 (CD<sub>3</sub><sup>+</sup>)组间无差异 (P>0.05)。具体见表 3和图 2。

表 3 SPF级大鼠不同照射剂量 T淋巴细胞变化 (%)

照射剂量 (Gy)	n	CD <sub>3</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup>	CD <sub>8</sub> <sup>+</sup>
0	5	52.76±2.67	38.64±3.03	14.13±3.30
10	5	52.96±8.03	37.64±7.63	13.74±2.37
20	5	61.79±8.06	45.51±9.66	18.52±1.96
30	5	50.53±6.15	31.55±7.15	16.37±1.558
P值		>0.05	<0.05	<0.05

2.4 两种大鼠不同剂量照射外周血 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值的比较 CV级大鼠在放射后其 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值呈明显下降趋势,从放

射前的 2.8随辐射剂量的上升逐步下降至 30 Gy时的 1.0左右,组间差异有统计学意义 (P<0.01)。SPF级大鼠放射后 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值随剂量虽有下降,但下降趋势比较 CV大鼠程度较轻,统计学组间分析差异无统计学意义。具体见表 4。

表 4 CV级和 SPF级大鼠不同照射剂量

T淋巴细胞 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值变化

照射剂量 (Gy)	n	CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> 比值	
		CV级	SPF级
0		2.83±0.61	2.92±0.9
10		1.78±0.11	2.74±0.25
20		1.39±0.18	2.46±0.47
30		1.04±0.17	1.94±0.49
P值		0.000	0.113

3 讨论

T淋巴细胞亚群是构成机体免疫防御系统的重要因素。T淋巴细胞有两个主要亚群,即辅助性 T细胞 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>和抑制性 T细胞 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>。CD<sub>4</sub><sup>+</sup>具有调节免疫反应的活性,辅助 B细胞产生抗体,分泌细胞因子,而 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>则有免疫抑制和细胞毒性作用。CD<sub>4</sub><sup>+</sup>下降或 CD<sub>8</sub><sup>+</sup>升高均可使两者比例失调,导致机体免疫功能缺陷。Anderson最早报道了电离辐射能引起免疫系统和淋巴细胞的严重损伤,其外周血淋巴细胞构成及功能都有一定程度的损伤<sup>[2]</sup>。吕志新等对从事辐射工作人员进行研究,发现 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值随着放射工龄的增加,呈逐步减少趋势,提示免疫功能的损害加重<sup>[3]</sup>。有学者研究发现食管癌、肺癌、鼻咽癌患者放疗后 T淋巴细胞,特别是 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>T淋巴细胞明显下降,尤其在鼻咽癌局部复发和远处转移患者中,CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>比值持续处于低水平<sup>[4,5]</sup>,提示恢复 T淋巴细胞功能及保持 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup>正常比值能有助于提高恶性肿瘤的疗效。

人体的表面和体内聚集着大量的细菌。口腔、鼻腔鼻窦、鼻咽、口咽、下咽区更是细菌富集区。有研究表明菌群因素对机体免疫系统也会产生影响,例如抗生素、饮食结构改变、奶粉喂养造成肠道微生物的变化与过敏性疾病的发生率上升直接有关<sup>[6]</sup>。有学者通过不同微生物级别动物的放射性损伤研究,发现无菌动物 (germ free GF)与 CV级动物对射线的反应有多方面的差别,具体表现为:①导致 50%发病率的最小剂量在 GF动物中较高;②在接受全身 X射线照射 (TBI)致死剂量后,GF动物比 CV动物生存期长;③导致肠道粘膜组织学变化的最低 TBI剂量在 GF动物中比 CV动物高,而造成骨髓损伤的 TBI剂量相同。显示出 GF动物比 CV动物对射线有更好的耐受性<sup>[7,8]</sup>。

为了解菌群对于放射后机体免疫功能是否产生影响,以及产生什么影响,我们选取微生物等级差异较大的动物,根据微生物等级标准和环境控制要求的不同,清洁度由低到高依次为 CV级动物、清洁级动物 (clean animal CA)、SPF级动物和 GF动物。SPF级动物是根据我国国情而设立的最高清洁程度的动物,必须饲养在经高效空气过滤的环境中,净化级别达到 10 000级,质量控制符合国标 GB14925—2001<sup>[9]</sup>。为了严格控制实验质量,我们设定了质量控制步骤 (详见材料和方法)。同时进行了实验比较,咽部菌群培养结果显示,SPF级大鼠培养阳性率为 25%,阳性细菌为奇异变形杆菌。该菌为条件致病菌,属于变形杆菌的一种,常驻于宿主的鼻咽、消化道中,在机体免疫功能正常情况下不致病。SPF级动物并不是无菌动物,这与其他作者在 SPF级动物胃肠道细菌培养的结果相一致。本组实验 SPF级大鼠未发现常见的上呼吸道致病菌,而 CV级大鼠口咽细菌培养阳性率为 100%,并发现铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、亚利桑那沙门氏菌等致病菌,证明 SPF级大鼠和 CV级大鼠在咽部微生物数量和种类上是有明显区别的。

(下转第 279页)

实际测量时仅测量单野条件下的百分深度剂量是不够的,特别双机架 6野照射的百分深度和单野形成的百分深度很不一样,前者没有单野照射时的剂量坪区,最大深度剂量几乎就在模体表面<sup>[8]</sup>。这是由于 6野百分深度量主要来自对中心轴横截面垂直照射野和相邻两野的贡献。因此计算机量时不能采用单野百分深度剂量参数来选择治疗深度和相应得百分深度量。对于 X射线污染不能忽视,是在单野条件下我们测量的污染是 1.8%,但从一些相关研究中<sup>[9]</sup>可看到实际照射条件下患者体中线产生的 X射线污染大约是单野的 2倍,因此做好对患者重要器官的防护是必要的。通常情况下剂量累积因子 MF是在模体表面测量的,有文献报道<sup>[10]</sup> MF随深度的改变会有所不同,这需要根据临床需要测量合适深度的 MF因子。

另外,由于电子线剂量的复杂性,很难仅采用单一仪器设备就能完成测量任务,实际中需要指形电离室、平行板电离室、多通道半导体电离室、胶片、热释光等相互配合,根据实际情况选用方可测得最佳结果。总之,电子线全身照射技术需要以 AAPM23号报告等为参考,各单位根据自身条件对剂量学特性进行调整和实际测量,就能保证临床治疗准确有效的执行。

参考文献:

[ 1 ] Chen Z, Agostinelli AG, Wilson LD, et al. Matching the dosimetry characteristics of a dual— fields Stanford technique to a customized single— field Stanford technique for total skin electron therapy [ J ]. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004 59(3): 872—885

[ 2 ] John A, Antolak Kenneth R, Hogstrom. Multiple scattering

theory for total skin electron beam design [ J ]. Medical Physics 1998 25(6): 851—859

[ 3 ] A Piemattei G, Rossi L, Azaró et al. Dosimetria di fascie elettroniche per la total skin electron therapy( TEST) [ J ]. Rad iol Med 2004 108: 549—559

[ 4 ] AAPM Task Group Report 23. Total skin electron therapy technique and dosimetry [ R ]. New York: American Institute of Physics 1988 4—9

[ 5 ] IAEA Technical report series No 277. Absorbed dose determination photon and electron beams an international code of practice [ R ]. Vienna: International Atomic Energy Agency 1997: 37.

[ 6 ] 胡逸民, 张红志, 戴建荣. 肿瘤放射物理学 [ M ]. 北京: 原子能出版社, 1999 81.

[ 7 ] Weaver RD, Gerbi RJ, Dusenbery KE. Evaluation of dose variation during total skin electron irradiation using thermoluminescent dosimeters [ J ]. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995 33: 475—478

[ 8 ] Jacob Van Dyk. The modern technology of radiation oncology [ R ]. Wisconsin: Medical Physics Publishing 2000 670—674

[ 9 ] Holt JG, Perry DJ. Some physical considerations in whole skin electron beam therapy [ J ]. Med Phys 1982 9: 769—776

[ 10 ] 陈立新, 卢杰, 梁建, 等. 全身皮肤电子束照射剂量学参数的测量和讨论 [ J ]. 中华放射肿瘤学杂志, 2005 14(4): 331—334

(收稿日期: 2009—03—13)

(上接第 276页) 为了避免 SPF级动物由于较少接触免疫原导致免疫功能低下的缺陷, 我们进行了脾脏系数的比较, 脾脏是生物体内重要的免疫器官, 脾脏系数能反映了机体的免疫功能水平, 在机体免疫功能低下时, 脾脏系数会减小。我们分析表明 SPF级大鼠的脾脏系数数值相对较低, 统计学分析二者无明显差别, 但仍从一定程度上说明 SPF级大鼠在微生物刺激程度上相对 CV级大鼠较低。FCM显示虽然 SPF级大鼠外周血成熟淋巴细胞 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 淋巴细胞亚群均较 CV级大鼠少, 但统计学分析 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>、CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 没有明显的区别。并且两种大鼠 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值相同, 均为 2.9左右, 差别无统计学意义。与其他学者研究正常大鼠 CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值一致, 说明两种大鼠未接受照射时免疫功能都是正常的<sup>[10]</sup>。

不同剂量照射后, CV级大鼠外周血 T淋巴细胞总数、CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 淋巴细胞均明显减少, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 淋巴细胞上升, 组间有明显差异 (P<0.01或 0.05) 与辐射剂量有效应关系, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值呈明显下降趋势, 组间差异明显 (P<0.01), 提示 CV级大鼠机体免疫功能在辐射因素下明显损伤。而 SPF级大鼠在电离辐射后外周血 T淋巴细胞总数、CD<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 淋巴细胞亚群辐射后无明显下降趋势, T淋巴细胞总数组间无差异, CD<sub>4</sub><sup>+</sup>/CD<sub>8</sub><sup>+</sup> 比值随剂量虽有下降, 但下降趋势比较 CV级大鼠程度较轻, 统计学组间分析无明显差异, 提示 SPF级大鼠放射性机体免疫损伤和 CV级大鼠有所不同。

我们选取的两种动物在品系、性别和体重上均尽量保持相同, 放射前其全身免疫状态均为正常, 两者区别在于微生物级别的不同。SPF级动物由于其体内微生物较少, 口咽部细菌无致病菌, 咽部照射后全身免疫功能紊乱的影响程度较低, 提示菌群因素在辐射损伤中起着一定的作用。

本研究旨在对放射导致机体免疫功能改变的机体菌群因素作初步探讨, 随着实验动物学条件的成熟, 今后利用无菌动物, 使其感染人体常见细菌(悉生动物), 在此基础上进行研究,

将更有助于了解机体菌群对于放射导致的机体免疫功能影响的作用, 同时对免疫指标的检测将进一步丰富。

参考文献:

[ 1 ] Busch DB. Radiation and chemotherapy injury: pathophysiology, diagnosis and treatment [ J ]. Crit Rev Oncol Hematol 1993 15(1): 49—89

[ 2 ] Anderson RE. Ionizing radiation and the immune response [ J ]. Adv Immunol 1976, 24: 215—235

[ 3 ] 吕志新、冯宪勋、徐西桥, 等. 放射工作者 T淋巴细胞亚群测定 [ J ]. 中国辐射卫生, 1999 8(4): 241—242

[ 4 ] 周决、曹世龙、邱杏仙等. 放疗后肿瘤患者机体免疫功能改变初探 [ J ]. 上海免疫学杂志, 1996 16(1): 22—25

[ 5 ] 李虹、马莉、杨洁. 鼻咽癌患者外周血 T细胞亚群及活化 T淋巴细胞的检测及放疗后对其变化的影响 [ J ]. 微量元素与健康研究, 2006 23(3): 10—12

[ 6 ] Noverr MC. Does the microflora regulate immune responses outside the gut? [ J ]. Trend in Microbiol 2004 12 (12): 562—568

[ 7 ] McLaughlin MM, Dacquisto MP, Jacobus DP, et al. Effects of the germfree state on responses of mice to whole— body irradiation [ J ]. Rad iat Res 1964 23: 333—349

[ 8 ] Matsuzawa T. Survival time in germfree mice after lethal whole body X— irradiation [ J ]. Tohoku J Exp Med 1965 85: 257—263

[ 9 ] 郝光荣. 实验动物学 [ M ]. 上海: 第二军医大学出版社, 2版 2004

[ 10 ] 陈华、乔伯英、李春海, 等. SPF 清洁及普通级大鼠部分生物学特性的比较 [ J ]. 中国实验动物学杂志, 1999 9(1): 28—33

(收稿日期: 2009—03—03)