

# 不同剂量 X 射线联合异体淋巴细胞输注对建立再生障碍性贫血小鼠模型的影响

周晓晓<sup>1</sup>, 徐彩仙<sup>1,2</sup>, 汪桂琴<sup>2</sup>, 洪强<sup>3</sup>, 陶千山<sup>1</sup>, 李丛<sup>1</sup>, 王会平<sup>1</sup>, 翟志敏<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 安徽医科大学第二附属医院血液内科, 合肥 230601; <sup>2</sup> 安徽省晟造源生物科技有限公司, 合肥 230601; <sup>3</sup> 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230032)

**摘要** 目的 探讨不同剂量 X 射线联合异体淋巴细胞输注对建立再生障碍性贫血小鼠模型的影响。方法 取 BALB/c 小鼠 40 只, 随机分为正常对照组 ( $n=12$ )、3 Gy 组 ( $n=9$ )、4 Gy 组 ( $n=9$ )、5 Gy 组 ( $n=10$ )。3 Gy、4 Gy、5 Gy 组指经过相应剂量的 X 射线辐照并在辐照后 4 h 内尾静脉输注 0.2 mL DBA/2 小鼠胸腺、脾脏细胞混合悬液, 浓度为  $1 \times 10^7$  个/mL。对照组不经过 X 射线辐照, 并输注等体积生理盐水。BALB/c 小鼠经眼眶静脉丛采血, 用小鼠血常规分析仪检测外周血红细胞 (RBC)、白细胞 (WBC)、血小板 (PLT)。每日观察小鼠一般情况, 统计各组生存率。实验终点, 取小鼠胫骨做苏木精-伊红染色 (HE), 同时取股骨做骨髓涂片进行形态学检测。在实验终点, 流式细胞术检测 5 Gy 组 T 细胞亚群, 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测细胞因子。结果 3 Gy 组, 全血细胞减少, 但血小板恢复较快, 造模第 17 天恢复正常水平。观察期内小鼠无死亡。实验终点, 骨髓形态学表明骨髓增生活跃, 粒细胞系、红细胞系比值正常, 各阶段细胞形态未见明显异常。HE 结果表明正常组骨髓组织致密, 组织中充满血细胞。4 Gy 组, 全血细胞减少且一直维持到观察终点。观察期内生存率为 90%。实验终点, 骨髓形态学表明骨髓增生降低。HE 结果表明骨髓组织较少脂肪浸润。5 Gy 组, 全血细胞减少, 但红细胞在 24 d 恢复正常水平。观察期内生存率为 50%。实验终点, 骨髓形态学表明骨髓小粒空虚, 造血细胞减少, 多呈非造血细胞。HE 结果表明 5 Gy 组骨髓组织严重脂肪浸润, 几乎无幼稚细胞和造血前体细胞。流式检测结果显示  $CD4^+T$  (%) 细胞比例降低、 $CD8^+T$  (%) 细胞比例增加。ELISA 结果显示负造血调控因子干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的分泌升高。结论 不同剂量的射线联合异体淋巴细胞输注均可导致小鼠外周血 RBC、WBC、PLT 降低。结合骨髓形态学、骨髓 HE 和免疫学相关指标, 5 Gy X 射线联合  $2 \times 10^6$  个异体淋巴细胞输注可用于建立再生障碍性贫血小鼠模型。

**关键词** 再生障碍性贫血; 异体淋巴细胞; X 射线; 外周血; 生存率; 骨髓; 免疫

**中图分类号** R 556.5

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2025)08-1387-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.004

再生障碍性贫血 (aplastic anemia, AA) 是一种由骨髓造血功能衰竭引起的血液病, 其特征是骨髓造血细胞显著减少, 导致外周血全血细胞减少。AA 的确切发病原因尚不完全清楚, 但免疫介导的骨髓抑制被认为是其主要病因之一<sup>[1]</sup>。免疫介导方法构建的再障小鼠模型能够辅助研究并为深入理解发病机制提供支持。射线辐照与异体淋巴细胞输注联合使用成为构建免疫介导骨髓抑制小鼠模型的有效手段<sup>[2]</sup>。射线辐射能够引起骨髓损伤, 而异体淋巴细胞输注通过免疫反应进一步加剧骨髓抑制, 模拟了 AA 的免疫学过程。尽管已有研究表明这一方法

在一定程度上可以模拟 AA 的免疫机制, 但辐射剂量、免疫细胞输注量等因素对模型的影响尚未充分探讨。该研究旨在探讨不同剂量的 X 射线联合异体淋巴细胞输注对 AA 小鼠模型建立的影响, 以确定最适宜的建模方案。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 40 只 8~10 周龄 SPF 级 BALB/c (H-2d, Mlsb) 小鼠, 雌雄各 20 只, 体质量 ( $20 \pm 2$ ) g。5 只 6~8 周龄 SPF 级 DBA/2 (H-2d, Mlsa) 小鼠<sup>[3-4]</sup>, 雌 2 雄 3, 体质量 ( $18 \pm 2$ ) g。小鼠购自斯贝福 (北京) 生物科技有限公司、北京维通利华实验动物技术有限公司。小鼠饲养在合肥综合性国家级科学中心大健康研究院的层流室 (无特定病原体, SPF 级), 自由饮食饮水, 12 h 光照/12 h 黑暗。该研究

2025-04-10 接收

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (编号: 82370225); 安徽省转化医学研究院科研基金项目 (编号: 2023zhyx-B08)

作者简介: 周晓晓, 女, 职称;

翟志敏, 女, 职称, 通信作者, E-mail: zzzm889@163.com

已通过合肥综合性国家科学中心大健康研究院伦理委员会审批,伦理审批编号:IHM-AP-2024-002。

**1.1.2 主要仪器** 小动物辐照仪(合肥综合性国家科学中心大健康研究院仪器共享平台,型号:RS2000 Plus);全自动脱水机、石蜡包埋机、石蜡切片机(合肥综合性国家科学中心大健康研究院仪器共享平台,型号:Leica);动物血细胞分析仪(合肥晟造源生物科技有限公司,型号:帝迈 DM61 vet);流式细胞仪(安徽晟造源生物科技有限公司,型号:BD LSRFortessa)、酶标仪(合肥晟造源生物科技有限公司,型号:ThermoScientific)。

## 1.2 方法

**1.2.1 不同剂量 X 射线联合异体淋巴细胞输注** DBA/2 小鼠用异氟烷麻醉,待小鼠完全麻醉后颈椎脱臼法处死小鼠。浸泡在 75% 乙醇中 5 min,无菌取出胸腺、脾脏。将胸腺、脾脏置于 200 目筛网中用组织研磨棒研磨,至没有块状物。用 15 mL PBS 溶液冲洗筛网,并将冲洗液收集于 50 mL 离心管中,1 200 r/min 离心 5 min,弃上清液。用 1 mL 生理盐水重悬胸腺细胞并计数。脾细胞需用 2 mL 红细胞裂解液裂解,3 min 后立即加入 10 mL PBS,1 200 r/min 离心 5 min。用 1 mL 生理盐水重悬脾细胞并计数,配成胸腺 - 脾细胞 2 : 1 的混合淋巴细胞悬液<sup>[5]</sup>。BALB/c 小鼠经不同剂量(5、4、3 Gy)的 X 射线全身照射,4 h 内尾静脉输入供鼠 DBA/2 的淋巴细胞悬液 0.2 mL,含细胞数  $2 \times 10^6$  个。造模当天为实验第 0 天。

**1.2.2 实验分组及处理** BALB/c 小鼠随机分组如下,① 对照组:不进行辐照,输注等体积生理盐水;② 3 Gy 组:接受 3 Gy X 射线辐照,4 h 内输注  $2 \times 10^6$  个异体淋巴细胞;③ 4 Gy 组:接受 4 Gy X 射线辐照,4 h 内输注  $2 \times 10^6$  个异体淋巴细胞;④ 5 Gy 组:接受 5 Gy X 射线辐照,4 h 内输注  $2 \times 10^6$  个异体淋巴细胞。

## 1.3 观察指标

**1.3.1 一般情况检测** 每天观察各组小鼠的一般状况如精神、饮食、活动、毛发、存活率等情况。

**1.3.2 血常规检测** 分别于实验第 7、10、17、24 天采血,进行外周血常规检测。异氟烷麻醉小鼠,用抗凝毛细血管采血针经小鼠眼眶静脉丛采血。一次采血约 100  $\mu$ L,使用帝迈血细胞分析仪进行全血细胞计数,检测红细胞(red blood cells, RBC)、白细胞(white blood cells, WBC)、血小板(platelets, PLT)。

**1.3.3 骨髓形态学检测** 异氟烷麻醉小鼠,配合颈

椎脱臼法处死小鼠。解剖分离股骨,剥离四周肌肉组织。用 PBS 湿润 1 mL 注射器,抽取骨髓液,进行骨髓涂片,待片子完全干燥。进行瑞氏吉姆萨染色, A 液 : B 液为 1 : 3。染色时间随温度变化调节。显微镜下观察骨髓形态学变化。

**1.3.4 小鼠骨髓病理** 从死亡或处死的小鼠身上解剖股骨进行苏木精 - 伊红(HE)染色以评价骨髓的增生程度。4% 多聚甲醛固定 24 h,脱钙液脱钙,待股骨骨质软化后,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,以厚度 3  $\mu$ m 切片<sup>[6]</sup>。将切片全部浸入苏木精中,染色 2 min;自来水冲洗 1 min;1% 盐酸乙醇处理 3 ~ 5 s 后自来水冲洗 30 s;1% 氨水处理 8 ~ 10 s 后自来水冲洗 30 s;切片浸入伊红染液,染色 1 min 后自来水冲洗 30 s;最后将切片干燥并用中性树脂密封并在显微镜下观察。

**1.3.5 流式细胞术检测 T 细胞亚群** 实验终点每组取 3 只小鼠,异氟烷麻醉小鼠,待小鼠完全麻醉后颈椎脱臼法处死小鼠。无菌取出小鼠脾脏,制备单细胞悬液。取 100  $\mu$ L 脾脏单细胞悬液,含细胞  $5 \times 10^6$  个。加入 1  $\mu$ L 死活染料(FV510),震荡混匀避光孵育 15 min。离心弃上清液,加 100  $\mu$ L 的 Stain Buffer 重悬细胞。将细胞与 CD3-FITC、CD4-BV605、CD8-APC、CD45-APCcy7 抗体一起避光孵育,离心弃上清液,重悬上机。使用单个抗体阳性管进行补偿调整,空白管区分阴阳分群。按照制造商的说明,使用 BD 仪器进行流式细胞术分析。

**1.3.6 酶联免疫吸附(ELISA)测定细胞因子** 实验终点,异氟烷麻醉小鼠,用毛细血管采血针经小鼠眼眶静脉丛采血。血液样本放置于非抗凝 EP 管中,室温静置 2 h。离心,收集血清。通过 ELISA 试剂盒检测细胞因子干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )。

**1.4 统计学处理** 采用 GraphPad Prism9.5 软件,小鼠生存数据采用 Kaplan-Meier 法进行生存曲线分析,组间差异比较使用 log-rank 检验(Mantel-Cox 检验),统计分析、绘图通过 GraphPad Prism 9.5 软件。所有数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 外周血常规数据** 用动物血细胞分析仪检测外周血 WBC、RBC、PLT,与对照组相比,3 Gy 组 WBC、RBC、PLT 降低,差异有统计学意义。见图 1A、B、C。3 Gy 组 PLT 恢复较快,在造模第 17 天恢

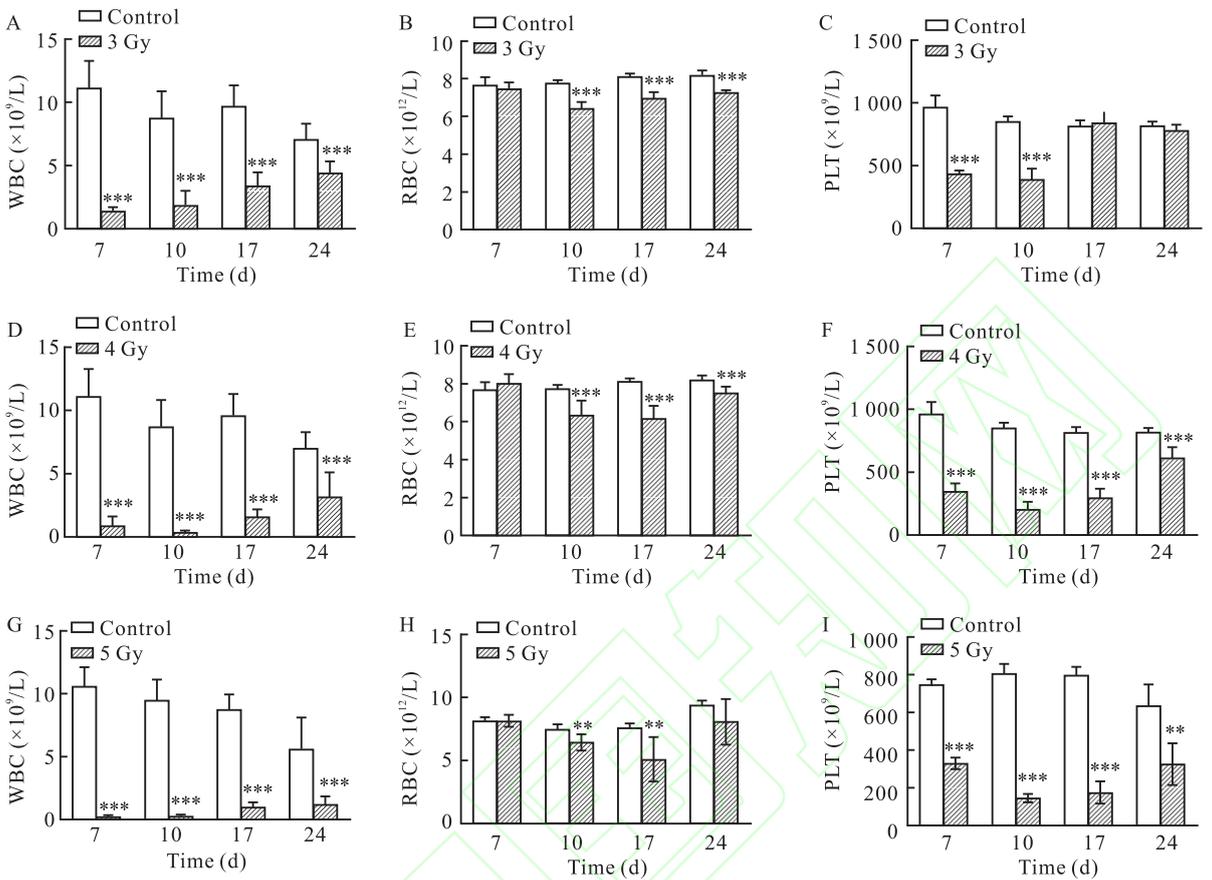


图1 外周血常规数据

Fig.1 Peripheral blood routine test data

\*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 、\*\*\*  $P < 0.001$  vs Control group.

复正常水平,见图1C。实验结果证实3 Gy组外周血三系降低,但无法长期维持模型的稳定性。与对照组相比,4 Gy组WBC、RBC、PLT降低,差异有统计学意义且一直维持到实验终点,见图1D、E、F。实验结果证实4 Gy组外周血三系降低,且可维持模型的稳定。与对照组相比,5 Gy组WBC、RBC、PLT降低,差异有统计学意义,见图1G、H、I。但RBC在实验终点上升,与对照组无统计学差异,见图1H。实验结果证实,5 Gy组可导致外周血三系减少,但对于红细胞的维持较4 Gy组差。

**2.2 不同剂量造模对生存的影响** 实验过程中每日观察小鼠的一般状况,对照组与3 Gy组的生存率为100%。4 Gy组,在实验第6天死亡1只。5 Gy组,在实验的第10、11、14、15、21天各死亡1只,共死亡5只。对照组与3 Gy组、4 Gy组比较,差异无统计学意义。对照组与5 Gy组比较,差异有统计学意义( $P = 0.0498$ )。见图2。

**2.3 骨髓形态学分析** 镜检见对照组骨髓增生活

跃,各阶段比值正常,相互间的比例正常。3 Gy组骨髓增生活跃,粒细胞系、红细胞系占比正常,形态未见明显异常,淋巴、单核细胞比例正常,形态未见明显异常,巨核细胞可见;4 Gy组骨髓增生减少;5 Gy组骨髓镜检骨髓小粒空虚,造血细胞减少,多呈非造血细胞,见图3。

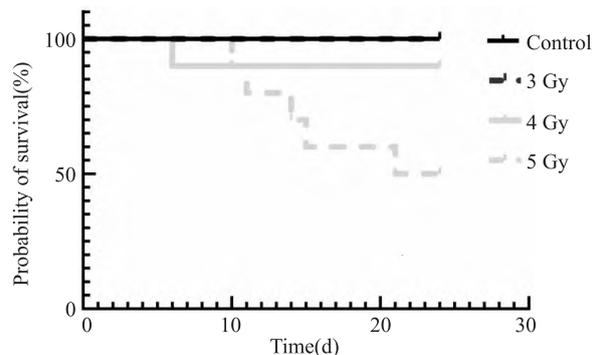


图2 不同剂量造模对生存的影响

Fig.2 The effects of different doses of modeling on survival

**2.4 骨髓 HE 染色** 实验第 24 天的骨髓 HE 结果显示对照组骨髓组织致密,组织中充满血细胞。3 Gy 组骨髓组织致密;4 Gy 组骨髓组织较少脂肪浸润;5 Gy 组骨髓组织严重脂肪浸润,几乎无幼稚细胞和造血前体细胞。见图 4。

**2.5 T 细胞亚群分析** 实验终点处死小鼠,研磨脾脏制备单细胞悬液。进行流式检测,结果显示 CD4<sup>+</sup>T(%) 细胞比例降低、CD8<sup>+</sup>T(%) 细胞比例增加。见图 5。

**2.6 ELISA 测定细胞因子** ELISA 结果显示,干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 两种造血调控因子的分泌水平在 5 Gy 组中显著升高。与对照组相比,5 Gy 组的 IFN- $\gamma$  分泌水平有显著性差异( $P=0.0048$ ), TNF- $\alpha$  同样具有显著性差异( $P=0.0206$ )。这些结果均提示 5 Gy 组造模很好地模拟了再障发病

的免疫内环境。见图 6。

### 3 讨论

建立合理的动物模型是探究再生障碍性贫血的病理机制及开发创新药物成功与否的关键。目前主要使用化学方法、物理方法、免疫介导方法构建再障动物模型。其中免疫介导方法构建的再障小鼠模型与临床再障患者研究结果相符<sup>[7]</sup>。由苯、白消安和氯霉素等有毒化学物质和药物诱导的骨髓衰竭小鼠模型<sup>[8]</sup>,可能引起非特异性的细胞损伤和死亡,导致模型结果的解释复杂化。单独射线照射构建再障模型可能也存在限制,包括对辐射剂量的依赖性、对造血干细胞长期影响的模拟不足<sup>[9-10]</sup>。再障动物模型的建立需要考虑多种因素,包括辐射的类型、剂量、异体淋巴细胞输注的量。常用的射线为  $\gamma$  射线<sup>[11]</sup>,但因很多实验室设备限制且对于操作者要求

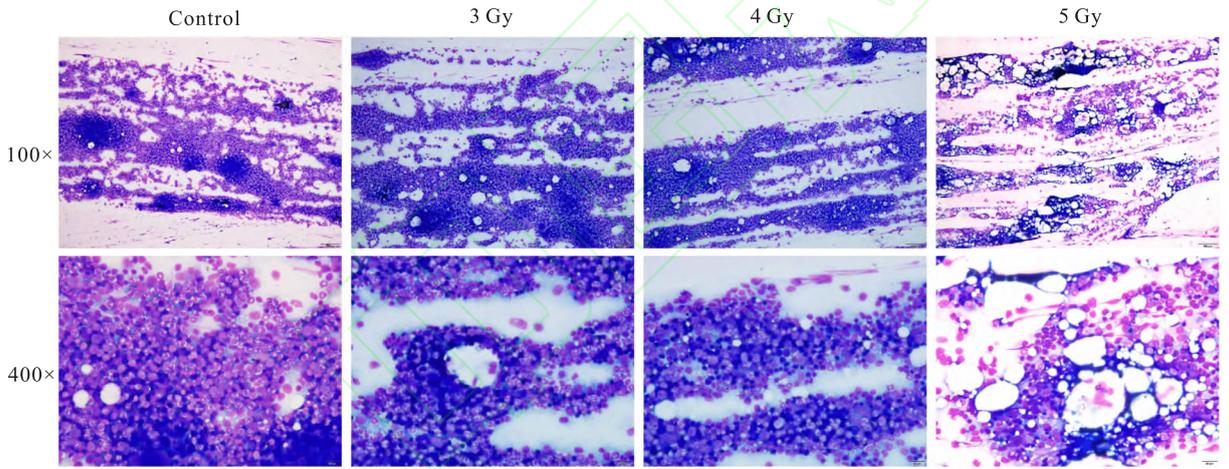


图 3 骨髓涂片结果

Fig.3 Bone marrow smear results

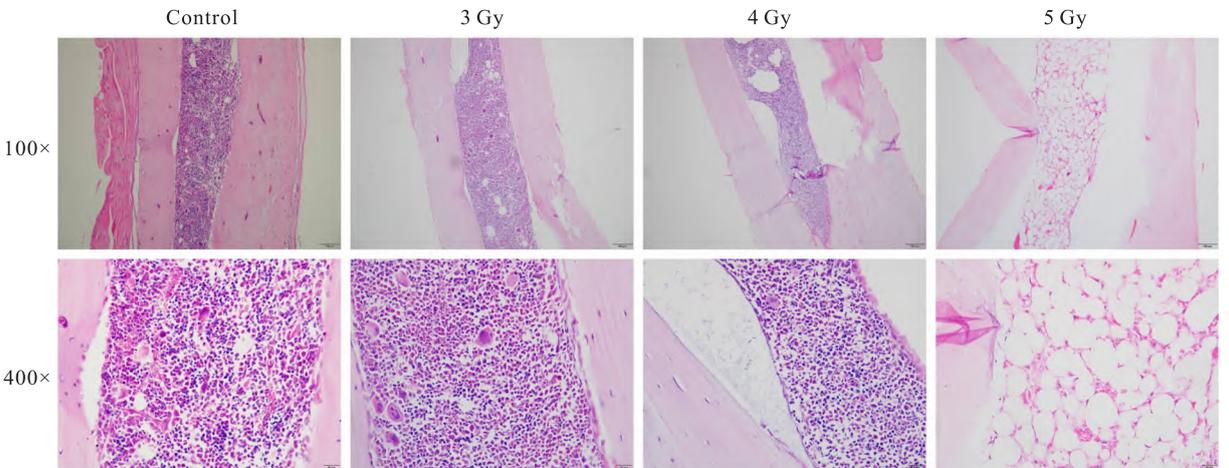


图 4 骨髓 HE 结果

Fig.4 Bone marrow HE staining results

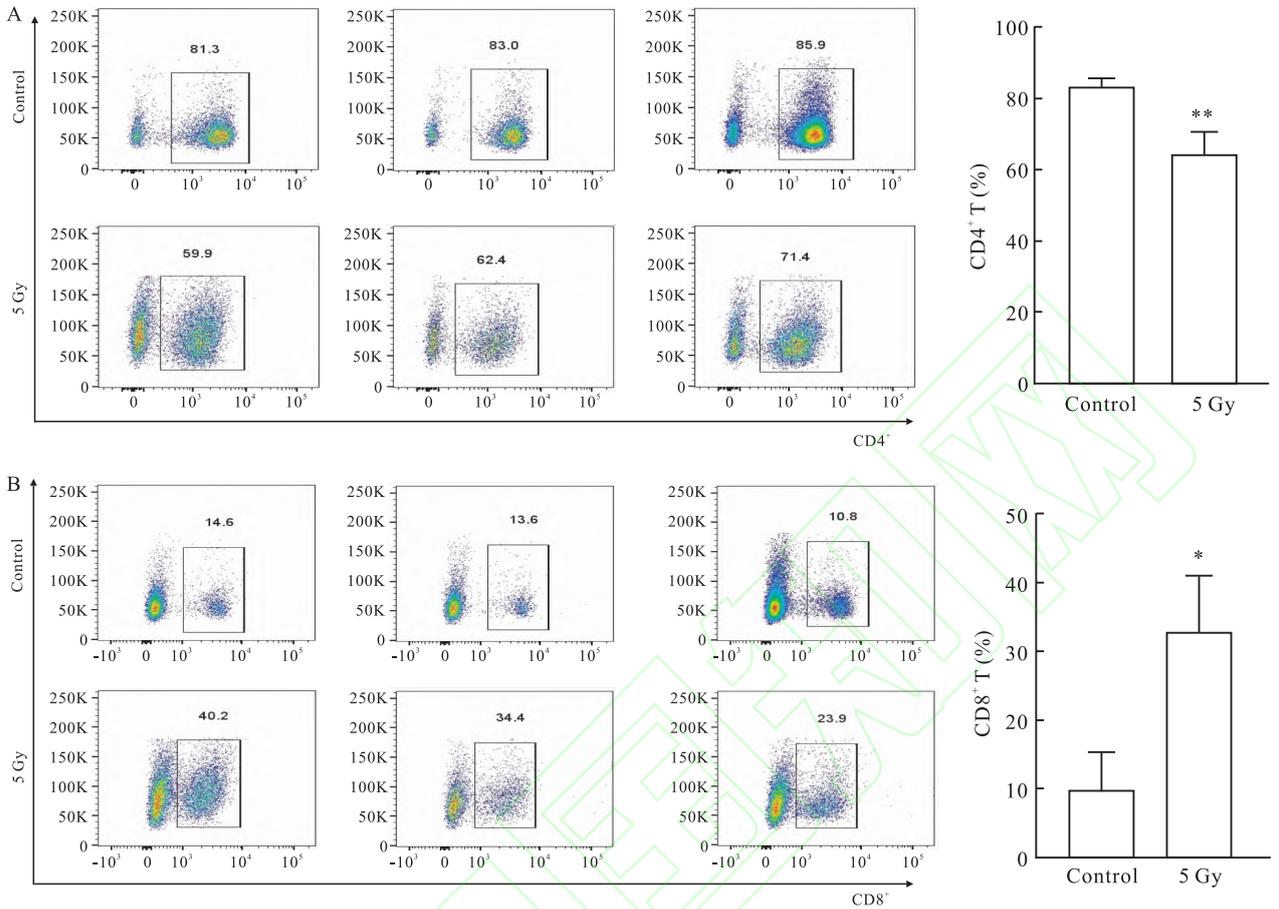


图5 流式检测术 CD4<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>T 比例

Fig. 5 Flow cytometry detection of the ratio between CD4<sup>+</sup>T and CD8<sup>+</sup>T cells

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs Control group.

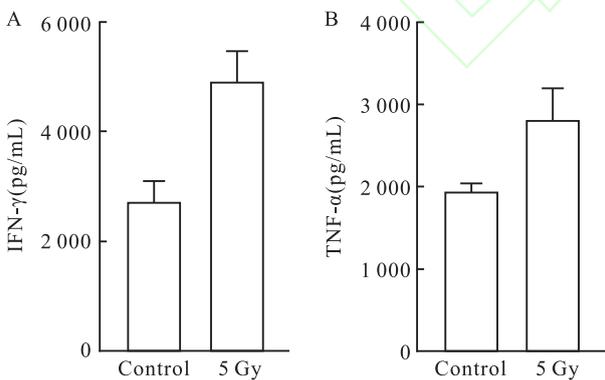


图6 ELISA 检测细胞因子 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$

Fig. 6 ELISA detection of cytokine IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$

较高。因此,该文旨在通过用不同剂量 X 射线,建立操作简便、经济可靠、稳定的再障模型。

该实验中 3、4、5 Gy 组均出现外周血三系降低的表现,符合临床诊断再障的标准之一。3 Gy 组,从外周血来看不能维持模型的稳定性。4 Gy 组,实

验终点的骨髓形态学表明骨髓增生减低。HE 结果显示骨髓组织较少脂肪浸润,表明中等剂量辐射加重了造血抑制,但仍未达到再障典型病理状态。5 Gy 组小鼠出现全血细胞减少、骨髓脂肪化及造血细胞耗竭,同时伴随 CD8<sup>+</sup>T 细胞比例升高及 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  显著上调,这一结果与临床再障患者 Th1 型免疫亢进的特征高度吻合<sup>[12]</sup>。高剂量辐射可能通过增强异体淋巴细胞归巢能力、促进 T 细胞克隆扩增及炎症因子释放,协同加剧造血微环境的免疫损伤。

综上所述,该研究表明 5 Gy X 射线联合  $2 \times 10^6$  异体淋巴细胞输注可建立再障模型。通过这些模型,研究人员可以更深入地了解疾病的特点,并为开发新的治疗方法提供科学依据。

参考文献

[1] Zeng Y, Katsanis E. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia[J]. Clin Exp Immunol, 2015, 180(3): 361 - 70. doi:10.1111/cei.12605.

- [2] Risitano A M. New Challenges to Developing Animal Models for Human Immune-Mediated Marrow Failure [J]. *Clin Med Res*, 2005, 3(2): 63–64. doi: 10.3121/cmr.3.2.63.
- [3] Fan L, Ni R, Wang H, et al. Dioscin alleviates aplastic Anemia through regulatory T cells promotion [J]. *Hematology*, 2024, 29(1): 2326389. doi:10.1080/16078454.2024.2326389.
- [4] Liu Z, Chen L, Xiong D, et al. Salidroside affects the Th17/Treg cell balance in aplastic Anemia via the STAT3/HIF-1 $\alpha$ /ROR $\gamma$ t pathway [J]. *Redox Rep*, 2023, 28(1): 2225868. doi: 10.1080/13510002.2023.2225868.
- [5] Ni R, Fan L, Zhang L, et al. A mouse model of irradiation and spleen-thymus lymphocyte infusion induced aplastic anemia [J]. *Hematology*, 2022, 27(1): 932–945. doi: 10.1080/16078454.2022.2113356.
- [6] 张蕾, 张素梅, 杨振, 等. 基于转录组学分析昆布多糖对 C57BL/6 小鼠非增生性糖尿病视网膜病变的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60(3): 392–8. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2025.03.002.
- [6] Zhang L, Zhang S M, Yang Z, et al. Effects of kombu polysaccharide on non-proliferative diabetic retinopathy in C57BL/6 mice based on transcriptomic analysis [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60(3): 392–8. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2025.03.002.
- [7] Ding S, Liang X, Zhang T, et al. The Effectiveness of Rapamycin Combined with Eltrombopag in Murine Models of Immune-Mediated Bone Marrow Failure [J]. *J Immunol Res*, 2020, 2020: 1798795. doi: 10.1155/2020/1798795.
- [8] Chen J. Animal models for acquired bone marrow failure syndromes [J]. *Clin Med Res*, 2005, 3(2): 102–8. doi:10.3121/cmr.3.2.102.
- [9] Tang X, Xu R, Wang Y, et al. Astragalus polysaccharide ameliorates bone marrow haematopoietic failure in mice with aplastic anaemia via the Hippo/TERT signalling pathway [J]. *Heliyon*, 2024, 10(19): e38452. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e38452.
- [10] Zhang X, Gao L, Hu X, et al. Tetramethylpyrazine promotes bone marrow repair in a C57 mouse model of X-ray-induced immune-mediated bone marrow failure [J]. *J South Med Univ*, 2019, 39(8): 957–63. doi:10.12122/j.issn.1673–4254.2019.08.13.
- [11] Grazda R, Seyfried A N, Maddipati K R, et al. Resolvin E1 improves efferocytosis and rescues severe aplastic Anemia in mice [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(5): 324. doi:10.1038/s41419–024–06705–7.
- [12] Serio B, Giudice V, Selleri C. All roads lead to interferon- $\gamma$ : from known to untraveled pathways in acquired aplastic Anemia [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2023, 59(12): 2170. doi:10.3390/medicina59122170.

## Influence of different doses of X-ray irradiation combined with allogeneic lymphocyte infusion to establish a mouse model of aplastic anemia

Zhou Xiaoxiao<sup>1</sup>, Xu Caixian<sup>1,2</sup>, Wang Guiqin<sup>2</sup>, Hong Qiang<sup>3</sup>,  
Tao Qianshan<sup>1</sup>, Li Cong<sup>1</sup>, Wang Huiping<sup>1</sup>, Zhai Zhimin<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601;

<sup>2</sup>Cellzoy Biotech Co., Ltd, Hefei 230601; <sup>3</sup>School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To investigate the effects of different doses of X-rays irradiation combined with allogeneic lymphocyte infusion on the establishment of aplastic anemia in mice. **Methods** Forty BALB/c mice were randomly divided into four groups: the 3 Gy group ( $n=9$ ), the 4 Gy group ( $n=9$ ), the 5 Gy group ( $n=10$ ), and the control group ( $n=12$ ). In the 3 Gy, 4 Gy, and 5 Gy groups, the experimental mice were exposed to corresponding doses of X-ray and then intravenously infused with 0.2 mL mixed suspension of the thymus and spleen cells from DBA/2 mice, at a concentration of  $1 \times 10^7$  cells/mL, within 4 hours after irradiation. The control group did not undergo X-ray irradiation and infused with an equivalent volume of physiological saline instead. Blood samples were collected from the orbital venous plexus of BALB/c mice and analyzed using an animal automated hematology analyzer to measure peripheral blood parameters, including red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), and platelets (PLT). The general condition of mice was monitored daily, and survival rates were recorded for each group. At the experimental endpoint, the tibias were harvested for hematoxylin and eosin (HE) staining, while the femurs were used to prepare bone marrow smears for morphological examination. For the 5 Gy group, T-cell subsets were analyzed by flow cytometry, and cytokine levels were quantified using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) at the endpoint. **Results** In the 3 Gy group, pancytopenia was observed, but platelet recovery occurred rapidly, returning to normal levels by day 17 post-modeling. No deaths occurred during the observation period. At the experimental endpoint, bone marrow morphological examination revealed hypercellular marrow with a normal myeloid-to-erythroid (M/E) ratio, and no significant morphological abnormalities were noted in cells at any developmental stage. HE staining demonstrated that the control group exhibited densely packed bone marrow tissue filled with hematopoietic cells. In the 4 Gy group, pancytopenia persisted throughout the observation period. The survival

网络出版时间： 网络出版地址：

# DHX32 在胰腺癌中的功能、临床意义及预后价值

马丹丹,张钦泉,董毅,李中虎,张智勇  
(中部战区总医院普通外科,武汉 430070)

**摘要** 目的 研究 DHX32 在胰腺癌中的表达和预后,观察 DHX32 在胰腺癌细胞系 SW1990 的生物学功能。探讨 DHX32 在胰腺癌中的临床意义及预后价值并预测其可能的相关机制。方法 利用 GEPIA 数据库分析 DHX32 在胰腺癌中的表达及预后,利用 TCGA 数据库分析 DHX32 mRNA 表达水平与胰腺癌患者临床病理特征及预后的关系。采用 EdU 免疫荧光实验、Transwell 实验及划痕实验研究 DHX32 对胰腺癌细胞 SW1990 增殖、侵袭和迁移的影响。利用基因集富集分析(GSEA)预测 DHX32 在胰腺癌中可能参与的信号通路。结果 GEPIA 数据库分析结果显示 DHX32 在胰腺癌肿瘤组织中表达水平显著高于正常胰腺组织( $P < 0.05$ ),且高表达 DHX32 的胰腺癌患者预后均较低表达 DHX32 的患者差( $P < 0.001$ )。Cox 回归分析结果显示 DHX32 的 mRNA 表达水平、M 分期是胰腺癌患者预后的独立危险因素( $P$  均  $< 0.05$ )。EdU 免疫荧光实验、Transwell 实验及划痕实验结果证实过表达 DHX32 促进胰腺癌细胞增殖、侵袭及迁移( $P$  均  $< 0.001$ ),同时沉默 DHX32 则抑制胰腺癌细胞增殖、侵袭及迁移( $P$  均  $< 0.001$ )。GSEA 富集分析结果显示,DHX32 在造血细胞谱系、神经活性配体-受体相互作用、原发性免疫缺陷、剪接体 4 条信号通路中富集( $P$  均  $< 0.05$ )。结论 DHX32 在胰腺癌中高表达,促进胰腺癌细胞增殖、侵袭及转移,并与胰腺癌患者的不良预后密切相关。

**关键词** DHX32;胰腺癌;功能;临床意义;预后

**中图分类号** R 735.9

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2025)08-1393-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.08.005

2025-02-25 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81902501);湖北省自然科学基金项目(编号:2022CFD112)

作者简介:马丹丹,女,硕士,主管技师;

张智勇,男,副主任医师,硕士生导师,通信作者,E-mail:

ptwkzy@163.com

胰腺癌具有起病隐匿、致死率高的特点,是公认恶性程度最高的肿瘤之一<sup>[1]</sup>。外科手术治疗仍是现如今胰腺癌重要的治疗方式,腹腔镜胰十二指肠切除术能够显著降低患者术后的住院时间,并且不增加术后并发症发生率及患者 90 d 病死率<sup>[2]</sup>。但绝大多数胰腺癌患者在就诊时已处于中晚期,无法

rate was 90%. Endpoint analysis showed hypocellular marrow by morphological examination. HE staining indicated minimal fatty infiltration in the bone marrow tissue. In the 5 Gy group, pancytopenia was observed, though erythrocyte counts returned to normal levels by day 24. The survival rate during the observation period was 50%. Endpoint analysis revealed vacuolization of marrow particles and reduced hematopoietic cells with predominantly non-hematopoietic cells in bone marrow morphology. HE staining demonstrated severe fatty infiltration in the bone marrow tissue, with scarcity of immature cells and hematopoietic precursor cells. Flow cytometry analysis showed a decreased proportion of CD4<sup>+</sup>T cells (%) and an increased proportion of CD8<sup>+</sup>T cells (%). ELISA confirmed elevated secretion of negative hematopoietic regulators: interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ). **Conclusion** Combined administration of varying radiation doses with allogeneic lymphocyte infusion consistently induced peripheral blood cytopenia in mice, characterized by reductions in RBC, WBC, and PLT counts. Integrated analysis of bone marrow morphology, histopathological assessment via HE staining, and immunological parameters confirmed that a mouse model of aplastic anemia could be successfully established using 5 Gy X-ray irradiation coupled with infusion of  $2 \times 10^6$  allogeneic lymphocytes.

**Key words** aplastic anemia;allogeneic lymphocyte;X-ray;peripheral blood;survival rate;bone marrow;immunity

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China General Program (No. 82370225);Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2023zhyx-B08)

**Corresponding author** Zhai Zhimin,E-mail: zzzm889@163.com