

GANRA 纳米药对淋巴母细胞的辐射防护作用及 辐射敏感 microRNA 的影响

林素兰^{1,2} 丁楠¹ 危文俊^{1,2} 何进鹏¹ 王菊芳¹

¹ (中国科学院近代物理研究所甘肃省空间辐射生物学重点实验室 兰州 730000)

² (中国科学院大学 北京 100049)

摘要 以淋巴母细胞(PENG-EBV)作为细胞模型,采用细胞增殖率检测、微核率检测以及胞内活性氧(Reactive oxygen species, ROS)含量测定等方法检测 GANRA 纳米药对淋巴母细胞的毒性作用和辐射防护效果。同时,检测药物对淋巴母细胞中几种辐射敏感 microRNA (miRNA)辐射的影响。实验结果表明: GANRA 纳米药对淋巴母细胞没有毒性作用,且加药后对细胞增殖有促进作用; GANRA 纳米药预处理可以缓解淋巴母细胞由 X-射线产生的辐射损伤,提高辐照后细胞活性、细胞存活率以及降低细胞的微核形成率,并且对 X-射线辐照产生的自由基具有良好的清除作用。此外, miR-150、miR-57、miR-223 和 miR-34a 对 GANRA 纳米药具有敏感性, GANRA 纳米药可能通过影响辐射敏感 miRNA 的表达发挥辐射防护作用。结果提示,改进后的 GANRA 纳米药物可以作为一种更有优势的辐射防护药物,并且给药后 miRNA 的差异性表达可能是 GANRA 纳米药物发挥作用的一种新机制。

关键词 GANRA 纳米药, X-射线, microRNA/miRNA, 淋巴母细胞

中图分类号 R852.7, TL71

DOI: 10.11887/j.1000-3436.2017.rj.35.030201

Assessment of the protective effects of GANRA nanoparticles against X-ray radiation-induced cellular damage and microRNA alterations

LIN Sulan^{1,2} DING Nan¹ WEI Wenjun^{1,2} HE Jinpeng¹ WANG Jufang¹

¹(Gansu Key Laboratory of Space Radiobiology, Institute of Modern Physics,

Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

²(University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

ABSTRACT The radioprotective effects of GANRA nanoparticles against X-ray radiation were studied in lymphoblast cells. Cytotoxicity and cell proliferation assays were conducted to evaluate the toxicity and radioprotective effects of the nanoparticles. The influence of these nanoparticles on the induction of genomic

资助基金: 国家自然科学基金(31270895), 国家国际科技合作专项(2015DFR30940)和载人航天预先项目(040101)

第一作者: 林素兰, 女, 1990 年 3 月出生, 2014 年毕业于福建农林大学生物学理基地班专业, 现为中国科学院大学硕士研究生, 研究方向为辐射生物学, E-mail: linsl@impcas.ac.cn

通讯作者: 王菊芳, 博士, 研究员, E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn

收稿日期: 初稿 2017-1-18; 修回 2017-3-8

Supported by National Science Foundation(31270895), Special national international technology cooperation (2015DFR30940), and Manned space program in advance (040101)

First author: LIN Sulan (female) was born in March 1990, and graduated from Fujian Agriculture and Forestry University in 2014. Now he is a master candidate in the Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, majoring in biophysics, E-mail: linsl@impcas.ac.cn

Corresponding author: Ph.D. WANG Jufang, professor, E-mail: jufangwang@impcas.ac.cn

Received 18 January 2017; accepted 8 March 2017

instability was determined using the cytokinesis-block micronucleus assay. Our results indicated that GANRA nanoparticles exhibited low toxicity, while protecting lymphoblasts from X-ray radiation-induced damage. Moreover, GANRA nanoparticles acted as free radical scavengers. GANRA nanoparticles could also alter the sensitivity of circulating microRNAs to radiation, as assessed by the relative microRNA expression in lymphoblasts. In conclusion, our results suggest that GANRA nanoparticles have potential use as safe and efficient radioprotectants.

KEYWORDS GANRA nanoparticles, X-rays, microRNA/miRNA, Lymphoblast cells

CLC R852.7, TL71

核科学技术的发展,已经越来越广泛应用在医疗卫生、科学研究、国防和民生等领域中,同时也带来了一系列的辐射安全隐患。人们与核技术的接触日益增多,遭受辐射损伤的可能性也越来越大。电离辐射会导致机体造血系统、神经系统、性腺、眼晶体及免疫系统的损伤,严重时甚至会危及生命。此外,伴随着国家空间项目等深空探索计划的陆续展开,航天员在外太空停留的时间也大幅增加,在长期空间探索任务中,面临空间电离辐射、微重力、心理问题等因素的威胁^[1],造成机体多种损伤,如免疫系统失调、癌症发生、心血管节律失调等^[2-4],其中空间电离辐射是威胁航天员生命健康的重要因素之一,其潜在的危险也是不容忽视的^[5-6]。因此,研究辐射防护手段并积极寻找有效的辐射损伤防护药物具有重要的研究意义和应用价值。

电离辐射除了直接对细胞内的染色体及细胞器造成伤害外,还可以产生大量自由基,对细胞结构及功能造成巨大影响。GANRA 类药物是本课题组合成的一类新型抗辐射药物,其结构中的两个醛基可以有效结合细胞内及体液中的自由基,通过清除自由基达到辐射防护效果。已有的研究表明,GANRA 类药物能显著清除 X 射线、碳离子、紫外线、微波等辐射产生的自由基,并且对辐照后动物的免疫器官具有良好的保护作用^[7-9]。但是 GANRA 类药物难溶于水,生物利用度低^[7],为其今后的实验及应用带来许多困难。近年来纳米药物的研究得到了较大地发展,它具有许多常规药物所不具有的优点,例如缓释药物,提高药物的稳定性,改变膜运转机制等,对药物的吸收利用具有优化作用^[10-11]。

本研究利用脂质纳米材料对 GANRA 药物进行包裹,并对包裹后 GANRA 纳米药物的辐射防护作用进行研究,以期得到一种具有更好溶解性及辐射防护效果的药物。

microRNA(miRNA)是一种内源性非编码 RNA,

参与转录后基因表达调控等多种生物进程。已有的研究表明,miRNA 与细胞的辐射敏感性、辐射诱导肿瘤的发生和辐射旁观者效应有着密切的关系,例如 Wang 等^[12]研究发现 miR-185 可以通过靶向调控关键 DNA 损伤因子 ATR 增强电离辐射诱导的细胞凋亡及增殖抑制。最近有文献报道循环血中 miRNA 的表达水平受到辐射防护药物的影响^[13],这可能是辐射防护药物发挥作用的一种新的途径。因此,本文进一步研究了 GANRA 纳米药物对几种辐射敏感 miRNA 的影响,探究 miRNA 作为辐射防护药靶的可能性。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

实验对象选取 EBV 载体永生化的人淋巴瘤细胞,由中国辐射防护研究院左雅惠研究员提供。在细胞复苏后传代 2 次细胞活力最旺盛时(用含 16.7% 胎牛血清的 1640 培养基于 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度恒温培养箱中传代培养,控制细胞浓度不高于 1×10⁶ 个/mL)进行实验。

TRIzol (Invitrogen), 反转录试剂盒 All-in-one First-stand cDNA Sythesis Kit (Gene Copoeia), 定量 PCR 试剂盒 All-in-oneTM miRNA qRT-PCR Detection Kit (Gene Copoeia), miR-150、miR-223、miR-34a、miR-574 的扩增引物购自广州复能生物科技有限公司; 细胞增殖-毒性检测试剂盒 Cell Counting Kit-8 (biosharp); 细胞松弛素 Cytochalasin B (Solar bio), 活性氧(Reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。

Eppendorf-Centrifuge 400R-低温高速离心机, Faxitron RX-650-X 射线生物辐照系统, BIO RAD-CHROMO4/CFX96-实时荧光定量 PCR 仪, Thermo SCIENTIFIC-HEPA class 100 CO₂ 培养箱, Leica-AF600-荧光显微镜, BD-EISS-FACS Calibur-

流式细胞仪等。

1.2 GANRA 类纳米药的制备

分别称取聚合物 PCL-PEG-PCL(聚乙二醇(PEG)和己内酯通过开环聚合反应生成, PCEC) 材料 96 mg 和 GANRA 药物 4 mg; 用 1 mL 的二氯甲烷溶解 PCEC, 用 0.5 mL 的二氯甲烷溶解 GANRA 药物; 充分溶解后, 将两种溶液混合, 通过旋转蒸发仪将二氯甲烷除去。待二氯甲烷完全挥发后, 在 60 °C 水浴条件下, 向瓶内加入 1 mL 蒸馏水充分溶解。

1.3 X-射线辐照处理

每次尽量将所有细胞放在同一层上的等效位置进行辐照处理, 即处于圆盘的一个同心圆环上。吸收剂量率为 0.45 Gy/min, 吸收剂量率是在等效位置上置于培养皿盖子下方的计数器 1 min 的吸收剂量。

1.4 GANRA 类纳米药的辐射防护效应

1.4.1 药物毒性检测

设置 0、0.625、1.25、2.5、3.75、5、10 $\mu\text{g/mL}$ 的 7 个梯度的药物浓度, 将稀释好的 GANRA 纳米药分别加入 96 孔板 (100 μL 细胞悬液/孔, 约 4 000 个细胞), 每个药物浓度设 5 个复孔。分别在培养 24、48、72 h 后加入 CCK-8, 37 °C 孵育 3 h 后测光密度(Optical density, OD)值。

1.4.2 GANRA 类纳米药的有效作用时间筛选

取对数生长期的淋巴母细胞, 调节细胞浓度, 接种于 $\phi 35\text{ mm}$ 中, 加入 GANRA 纳米药物, 分别于药物处理后 3、4、6 h 进行 X-射线辐照至吸收剂量 2 Gy, 辐照后 24 h 加入 CCK-8, 37 °C 孵育 3 h 后测 OD 值。

1.4.3 微核检测

取对数生长期的淋巴母细胞, 调节细胞浓度, 接种于 $\phi 35\text{ mm}$ 中, 加入 GANRA 纳米药物预处理, 4 h 后进行 X 射线辐照处理, 随即加入细胞松弛素, 24 h 后收集细胞, 离心后弃上清, 用 200 μL 的 PBS 重悬后, 加入 1 mL 卡诺固定液固定 30 min。离心, 弃上清, 加入 200 μL 的固定液重悬细胞, 滴片。干燥后加入吖啶橙染色 1 min, PBS 淋洗 3 遍, 盖上盖玻片于荧光显微镜下观察并计数。计算 500 个含有双核细胞中微核数, 算出微核率。

1.4.4 ROS 检测

取对数生长期的淋巴母细胞, 调节细胞浓度, 接种于 $\phi 35\text{ mm}$ 中, 加入 GANRA 纳米药物预处理,

4 h 后进行 X-射线辐照处理。辐照后马上收集细胞, 用无血清的培养基洗 3 遍, 悬浮于无血清培养基稀释好的荧光探针 DCFH-DA 中, 37 °C 孵育 20 min。无血清培养基洗 3 次, 重悬于 PBS 中进行流式分析, 详细步骤参见活性氧检测试剂盒说明书。

1.5 GANRA 类纳米药物对辐射敏感的 miRNA 影响

取对数生长期的细胞进行 X-射线辐照处理, 剂量分别 0、0.5、2、4 Gy。辐照后 6 h 收集细胞, TRIzol 法提取细胞总 RNA, 随后进行反转录 PCR (Reverse transcript PCR) 和实时荧光定量 PCR (实验步骤参照试剂盒说明书), 分析辐照后淋巴母细胞中 4 种 miRNA 的表达量。

取对数生长期的淋巴母细胞加入 GANRA 纳米药物处理 3 h 后, 进行 X-射线的辐照处理, 药物浓度分别为 0、2.5 $\mu\text{g/mL}$ 各两组。辐照 6 h 后提取细胞总 RNA, 反转录, 荧光定量分析 (反转录和 PCR 具体实验步骤参照试剂盒说明书)。检测经 GANRA 纳米药物处理与 X-射线辐照后细胞中上述 4 种 miRNA 的表达变化。

1.6 数据统计

所有实验至少完成 3 次重复。实验结果以 “ $\bar{x} \pm s$ ” 表示, 显著性差异分析采用 Student's t-test 进行检验, $n=3$, $*p<0.05$, 视为统计有显著性差异, $**p<0.01$, 视为统计有极显著性差异。

2 结果

2.1 GANRA 纳米药物的合成

GANRA 类药物的结构如图 1(a) 所示, 两个醛基可以有效与自由基结合, 达到清除自由基的目的。GANRA 类药物通过脂类纳米分子包裹成 GANRA 类药物, 向外形成亲水基团, 提高其水溶性 (图 1(b))。GANRA 药物包裹前后效果如图 1(c)所示, 其溶解度明显提高。

2.2 GANRA 纳米药的毒性检测

用不同浓度的 GANRA 纳米药处理人的淋巴母细胞, 于加药后 24、48、72 h 用 CCK-8 法检测细胞增殖活力, 并与无药物处理进行比较。实验结果表明, 不加药时细胞活性随时间成指数增长, 加药组的细胞活性显著高于不加药组 (图 2)。

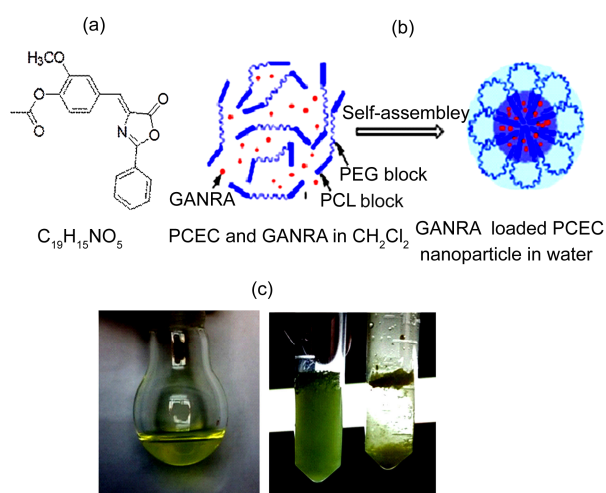


图1 GANRA 纳米药物的制备: (a) GANRA 药物的分子式; (b) GANRA 纳米药物的包裹流程示意图; (c) GANRA 药物包裹前及包裹后的效果

Fig.1 Preparation of GANRA nanoparticle: (a) GANRA; (b) preparation of GANRA nanoparticle; (c) effects of before and after the GANRA particle preparation

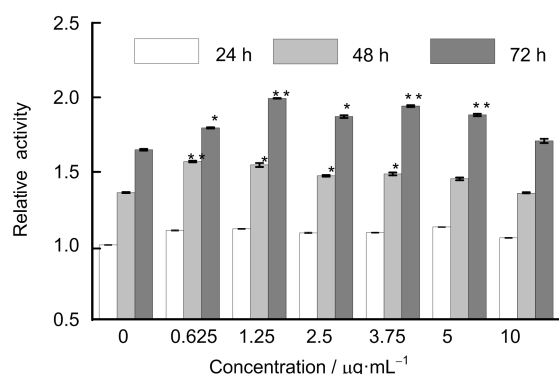


图2 淋巴母细胞的细胞活力

Fig.2 Cell viability of lymphoblast (* $p<0.05$, ** $p<0.01$, $n=3$)

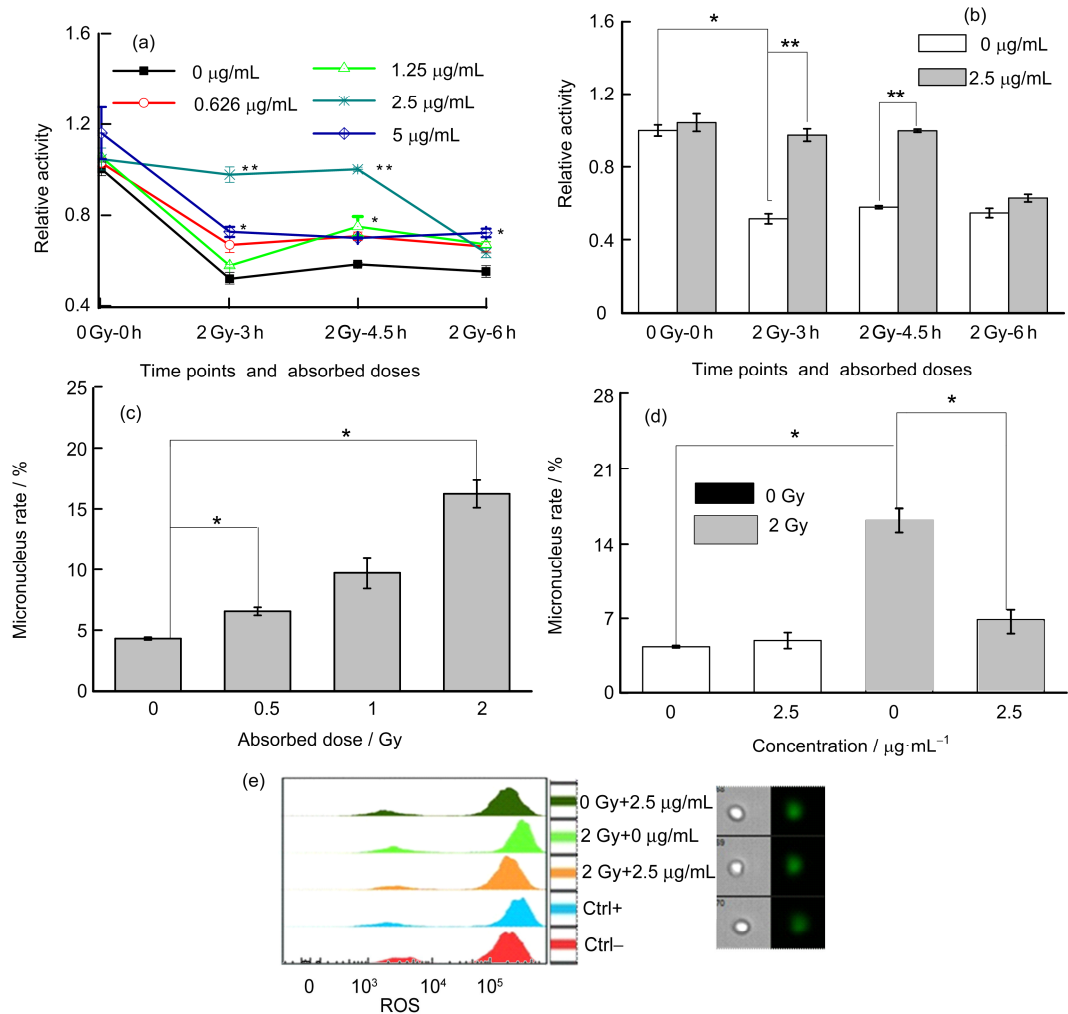
由图2可知,细胞培养24 h时检测到药物处理组的细胞活性略高于不加药处理组,并且没有显著性,说明24 h内药物处理对淋巴母细胞的增殖活力影响不大。细胞培养48 h时,除药物浓度为5、10 $\mu\text{g/mL}$ 处理组外,其余药物处理组的细胞活性均明显高于不加药处理组。细胞培养72 h时,除药物浓度为10 $\mu\text{g/mL}$ 处理组外,其余药物处理组的细胞活性均明显高于不加药处理组,同时各药物浓度处理组间的细胞活性总体无显著性变化。以上结果表明, GANRA 纳米药对淋巴母细胞没有毒害作用,并在一定程度上有促进淋巴母细胞增殖的效果。

2.3 GANRA 纳米药的辐射防护作用

为了研究 GANRA 纳米药对辐射损伤的防护作用,用不同浓度的 GANRA 纳米药分别对淋巴母细胞进行预处理,于3、4.5、6 h后分别进行X-射线辐照处理,细胞吸收剂量为2 Gy,并于辐照后24 h检测细胞活力。实验结果显示,药物浓度为2.5 $\mu\text{g/mL}$ 处理组的细胞活力比其余各组高,说明药物最有效作用浓度为2.5 $\mu\text{g/mL}$ (图3(a))。此外,药物处理3、4.5 h后进行辐照的细胞活性比不加药组细胞活性显著上升,而药物处理6 h后进行辐照的细胞活性上升不明显(图3(b)),说明加药后3~4.5 h都是 GANRA 纳米药的有效作用时间。为研究 GANRA 纳米药对辐射损伤引起的遗传物质的稳定性的保护作用,分别检测了吸收剂量为0、0.5、2 Gy X-射线的细胞组微核率,发现淋巴母细胞的微核率与吸收的X-射线剂量成正比(图3(c)),与此同时,比较了加药组与不加药组细胞在吸收2 Gy X-射线辐照后的微核形成率,发现加药组细胞的微核形成率比不加药组显著性降低(图3(d)),表明 GANRA 纳米药对细胞中因电离辐射诱导的遗传物质的不稳定具有保护作用。电离辐射产生的自由基是引起细胞电离损伤的主要因素,本研究分析比较了加药组与不加药组的细胞在吸收2 Gy的X-射线后,细胞中的ROS水平的变化情况,发现加入 GANRA 纳米药预处理的细胞中ROS水平显著比非加药组低(图3(e)),说明 GANRA 纳米药能清除电离辐射产生的自由基。综上, GANRA 纳米药预处理对淋巴母细胞具有很好的辐射防护作用。

2.4 X-射线辐照下几种辐射敏感 miRNA 的表达趋势

为研究在淋巴母细胞中选定的4种miRNA对X射线的敏感性,用不同剂量的X-射线对细胞进行辐照处理,比较辐照后6 h细胞中miRNA的表达变化情况,发现4种辐射敏感miRNA的表达量均发生显著性变化(图4)。其中,miR-150和miR-574经X-射线辐照处理后表达下调,细胞吸收剂量为0.5 Gy时表达量最低(图4(a), (b))。而miR-223和miR-34a表达是上调的,并且其表达量随X-射线吸收剂量升高而升高(图4(c), (d))。以上结果表明,在淋巴母细胞中miR-150、miR-574、miR-223和miR-34a具有辐射敏感性。



(a) & (b) Change of relative activity of lymphoblast in GANRA nanoparticles preprocessing and irradiation by X-rays with absorbed dose of 2 Gy; (c) & (d) lymphoblast micronucleus formation rate after irradiation with X-rays at different doses and the treatment of irradiation combined with GANRA nanoparticles preprocessing; (e) changes of lymphoblast intracellular ROS in treatment of irradiation combined with GANRA nanoparticles preprocessing

图3 GANRA 纳米药的辐射防护效应

Fig.3 Radiation protection effect of GANRA nanoparticles (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $n = 3$)

2.5 辐射敏感 miRNA 对 GANRA 纳米药的响应

为了研究 GANRA 纳米药对淋巴母细胞中辐射敏感 miRNA 表达的影响, 分析比较了加入 GANRA 纳米药预处理与不加药物处理组的细胞在吸收 0.5 Gy 的 X-射线后, 细胞中 miRNA 的表达变化情况, 发现在淋巴母细胞中 4 种辐射敏感 miRNA 对 GANRA 纳米药均有响应 (图 5)。在细胞没有接受辐照时, 经 2.5 µg/mL 的 GANRA 纳米药处理 9 h 后, 4 种辐射敏感 miRNA 均上调表达。其中, 当细胞吸收了 0.5 Gy X-射线后 miR-150 的表达水平显著降低, 而在 X-射线辐照处理前加入 GANRA 纳米药预处理细胞 150 的表达水平比不加药辐照处理显著性升高 (图 5(a))。miR-574 在受 X-射线辐照处理的

细胞中表达显著下调, 而在辐照前加入 GANRA 纳米药预处理的细胞 miR-574 的表达量高于不加药的辐照处理组 (图 5(b))。当细胞吸收了 0.5 Gy X-射线后 miR-34a 表达水平有上调趋势, 但变化不显著; 在辐照处理前加入 GANRA 纳米药预处理的细胞中 miR-34a 表达水平进一步升高 (图 5(c))。miR-223 在吸收了 0.5 Gy X-射线的细胞中表达上调, 而在辐照前加入 GANRA 纳米药预处理的细胞中则是下调表达 (图 5(d))。以上实验结果表明, 在淋巴母细胞中 GANRA 纳米药具有缓解因 X-射线辐照引起的 miR-150 和 miR-574 的表达降低水平, 促使辐照后过表达的 miR-223 的表达降低, 以及进一步促进 miR-34a 的上调表达。

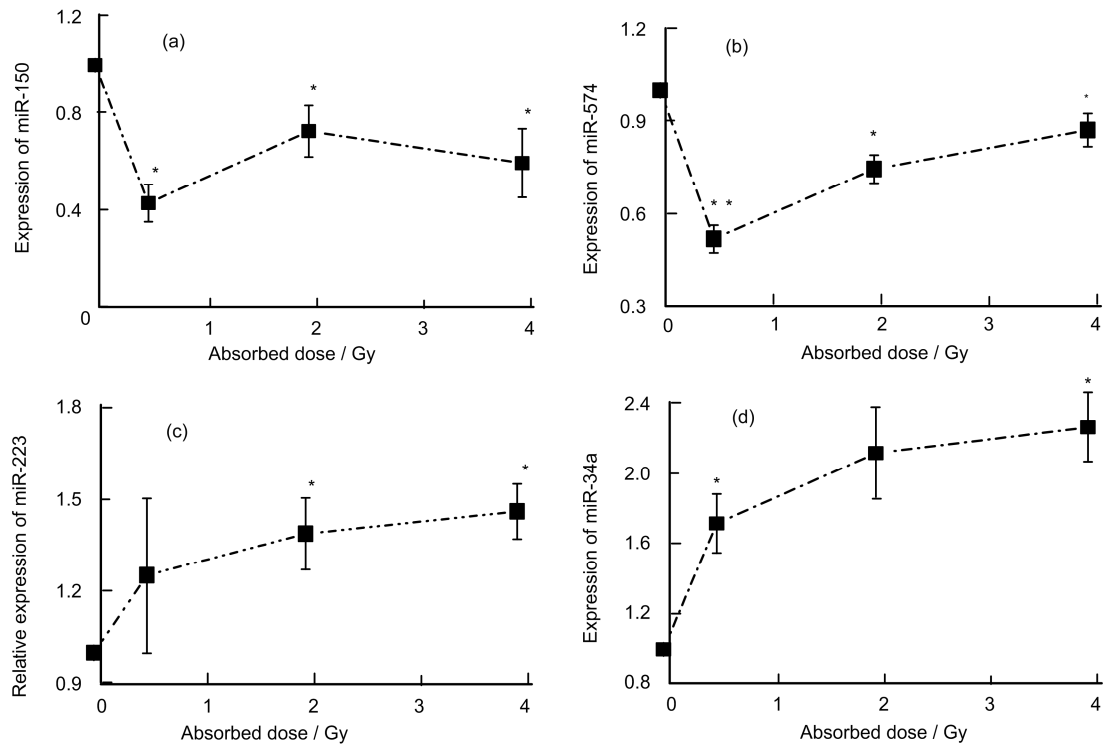
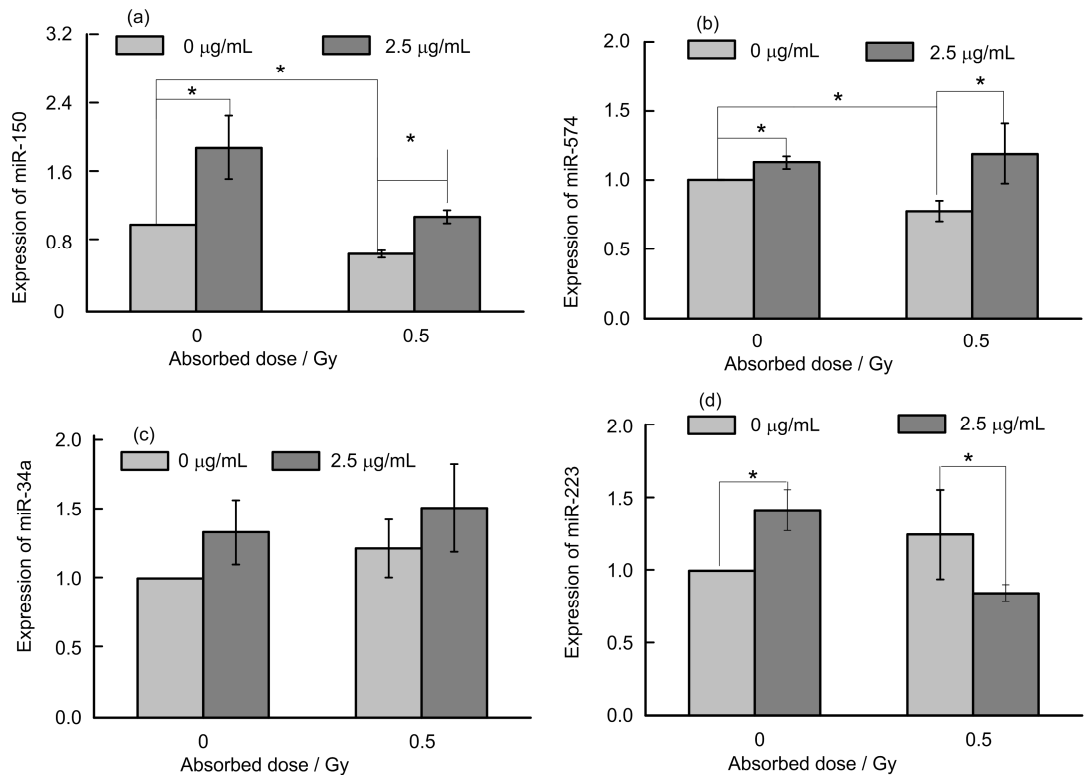


图4 X-射线辐照后4种miRNA相对表达变化情况
Fig.4 Relative expression miRNAs after X-ray irradiation (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $n = 3$)



(a) Relative expression of miR-150 for GANRA nanoparticle and X-ray irradiation treatment; (b) relative expression of miR-574 for GANRA nanoparticle and X-ray irradiation treatment; (c) relative expression of miR-34a for GANRA nanoparticle and X-ray irradiation treatment; (d) relative expression of miR-223 for GANRA nanoparticle and X-ray irradiation treatment

图5 GANRA 纳米药对辐射敏感miRNA表达的影响
Fig.5 Relative expression of miRNAs after X-ray irradiation (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $n = 3$)

3 讨论

由于 GANRA 药不溶于水, 已有研究大多采用二甲基亚砜(DMSO)溶解药物进行实验研究。但由于 DMSO 本身存在一定的毒性作用, 会与蛋白质疏水基团发生作用, 导致蛋白质变性, 具有血管毒性和肝肾毒性, 说明 DMSO 不太适用于作为 GANRA 药物的应用媒介。并且, 溶于 DMSO 的 GANRA 药物处理人胚肺细胞 MRC-5, 药物处理组的细胞活性略低于对照组, 也说明将 GANRA 药物溶于 DMSO 进行的给药方案对细胞具有低毒性^[14]。而本研究采用纳米颗粒包裹 GANRA 药, 细胞毒性检测结果显示, 药物处理组的细胞活性明显高于对照组细胞活性, 说明将 GANRA 包裹成纳米药对细胞没有毒性, 且具有优势。GANRA 溶于 DMSO 时, 药物的有效作用时间为加药后 2 h^[7,14], 而本研究中 GANRA 纳米药物处理 3、4.5 h 后进行辐照处理组的细胞活性显著高于不加药组, 说明本研究中的将 GANRA 包裹成纳米药, 可能在一定程度上也具有缓释功能^[10-11], 但具体效果有待进一步研究。

夏洪娇等^[15]研究发现, 用 X-射线照射离体人血, 检测到人血中淋巴细胞的微核率与细胞吸收的射线剂量具有剂量效应曲线, 可用于受照者的受照剂量估算。本研究在体外培养的淋巴母细胞中同样检测到细胞的微核形成率与 X-射线吸收剂量具有相关性, 细胞的微核率随 X-射线吸收剂量的升高而增加。GANRA 纳米药预处理可以提高吸收了 2 Gy X-射线的细胞的活性。电离辐射会使细胞发生氧化应激反应, 以及 DNA 单、双链断裂损伤, 抗氧化是对抗电离辐射损伤的有效手段之一。在本研究中, GANRA 纳米药预处理可以清除淋巴母细胞中因 X-射线辐照诱导产生的 ROS, 说明 GANRA 纳米药具有良好的清除自由基能力, 进一步表明 GANRA 纳米药具有辐射防护作用, 可以作为临床化疗放疗以及航空航天的潜在的辐射防护药物。

本研究中所选的 4 种 miRNA (miR-150, miR-57, miR-223 和 miR-34a)在相关文献报道中均具有辐射敏感性, 而这些 miRNA 参与多种重要的生物过程: miR-150 参与造血系统损伤应答中^[16], 过表达 miR-150 会减弱辐射引起的机体造血系统损伤的恢复能力; miR-223 与乳腺癌手术预后密切相关^[17], 辐射诱导乳腺组织过表达 miR-223 可以通过靶向 EGF 通路预防乳腺癌复发; miR-574-5p 参与 HeLa

细胞的辐射损伤应答中, 紫外辐射会降低 HeLa 中 miR-574-5p 的表达, 从而抑制 HeLa 细胞的迁移^[18]; miR-34a 与胸腺癌细胞辐射敏感性相关, 低剂量 X 射线辐照导致胸腺癌细胞 DNA 损伤会诱导 miR-34a 上调表达^[19]。而我们的研究发现, 人淋巴母细胞经 GANRA 纳米药预处理可以降低因 X-射线辐照诱导的微核发生率升高、提高因 X-射线辐照诱导的细胞活性降低、以及减少细胞因 X-射线辐照诱导产生的 ROS。与此同时, 细胞中因 X-射线辐照诱导的 miRNA 表达水平的变化也因 GANRA 纳米药预处理而发生显著性改变, 表明在淋巴母细胞中这 4 种 miRNA 对辐射及辐射防护药物具有敏感性。而 miRNA 作为一种重要的转录后调控因子, 其表达水平的变化很可能会影响辐射损伤相关的生物学过程。进一步探索这些 miRNA 的功能以及分子机理, 将为 miRNA 作为辐射防护药靶提供研究基础, 并为辐射防护药物发挥功能的机制提供新的思路。

参考文献

- 1 Durante M, Cucinotta F A. Heavy ion carcinogenesis and human space exploration[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2008, **8**(6): 465-472. DOI: 10.1038/nrc2391.
- 2 Crucian B, Sams C. Immune system dysregulation during spaceflight: clinical risk for exploration-class missions[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2009, **86**(5): 1017-1028. DOI: 10.1189/jlb.0709500.
- 3 Cucinotta F A, Schimmerling W, Wilson J W, et al. Space radiation cancer risks and uncertainties for Mars missions[J]. *Radiation Research*, 2001, **156**(5 Pt 2): 682-688.
- 4 Hatton D C, Yue Q, Dierickx J, et al. Calcium metabolism and cardiovascular function after spaceflight[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2002, **92**(1): 3-12.
- 5 Crucian B, Stowe R, Mehta S, et al. Immune system dysregulation occurs during short duration spaceflight on board the space shuttle[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2013, **33**(2): 456-465. DOI: 10.1007/s10875-012-9824-7.
- 6 Crucian B, Zwart S, Mehta S, et al. Immune system dysregulation persists during long-duration spaceflight[J]. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*, 2013, **131**(2): Ab210-Ab219. DOI: 10.1155/2015/213928.
- 7 朱明月, 裴海龙, 叶文凌, 等. GANRA 类药物的抗辐射效应研究[J]. *原子核物理评论*, 2012(1): 109-113. DOI: 10.11804/NuclPhyRev.29.01.109.

ZHU Mingyue, PEI Hailong, YE Wenling, et al. GANRA

- type of drug resistance to radiation effect research[J]. Journal of Nuclear Physics, 2012(1): 109-113. DOI: 10.11804/NuclPhyRev.29.01.109.
- 8 Pei H, Chen W, Hu W, *et al.* GANRA-5 protects both cultured cells and mice from various radiation types by functioning as a free radical scavenger[J]. Free Radical Research, 2014, **48**(6): 670-678. DOI: 10.3109/10715762.2014.898843.
- 9 Liu T, Pei H, Xu D, *et al.* GANRA-5 protects mice from X-ray irradiation-induced dysfunction of the immune system[J]. Free Radical Research, 2014, **48**(8): 875-882. DOI: 10.3109/10715762.2014.919389.
- 10 Yih T C, Al-Fandi M. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2006, **97**(6): 1184-1190. DOI: 10.1002/jcb.20796.
- 11 Soppimath K S, Aminabhavi T M, Kulkarni A R, *et al.* Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices[J]. Journal of Controlled Release, 2001, **70**(1-2): 1-20. DOI: 10.1016/S0168-3659(00)00339-4.
- 12 Wang J, He J, Su F, *et al.* Repression of ATR pathway by miR-185 enhances radiation-induced apoptosis and proliferation inhibition[J]. Cell Death & Disease, 2013, **4**(e699). DOI: 10.1038/cddis.2013.227.
- 13 危文俊, 李朋飞, 林素兰, 等. 循环血 microRNA 对辐射和辐射防护药物的敏感性研究[J]. 载人航天, 2016, **22**(2): 246-253. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5825.2016.02.017.
- WEI Wenjun, LI Pengfei, LIN Sulan, *et al.* Study on sensitivity of circulating microRNA to radiation and radioprotective drug[J]. Manned Spaceflight, 2016, **22**(2): 246-253. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5825.2016.02.017.
- 14 姜林, 裴海龙, 朱明月, 等. GANRA-5 对 X 射线和 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐射防护作用研究[J]. 原子核物理评论, 2014, **31**(3): 423-427. DOI: 10.11804/NuclPhyRev.31.03.423.
- JIANG Lin, PEI Hailong, ZHU Mingyue, *et al.* Radioprotective effects of GANRA-5 to X-rays and $^{12}\text{C}^{6+}$ [J]. Journal of Nuclear Physics, 2014, **31**(3): 423-427. DOI: 10.11804/NuclPhyRev.31.03.423.
- 15 夏洪娇, 彭可君, 陈明伟, 等. X 线诱发染色体畸变和微核的剂量-效应关系[J]. 中国现代医学杂志, 2010, **20**(8): 1138-1142. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2010.08.005.
- XIA Hongjiao, PENG Kejun, CHEN Mingwei, *et al.* Relations of the lymphocyte chromosomal aberrations and micronuclei dose-effect by using x's inducing[J]. China Journal of Modern Medicine, 2010, **20**(8): 1138-1142. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2010.08.005.
- 16 Adams B D, Guo S, Bai H, *et al.* An *in vivo* functional screen uncovers miR-150-mediated regulation of hematopoietic injury response[J]. Cell Reports, 2012, **2**(4): 1048-1060. DOI: 10.1016/j.celrep.2012.09.014.
- 17 Fabris L, Berton S, Citron F, *et al.* Radiotherapy-induced miR-223 prevents relapse of breast cancer by targeting the EGF pathway[J]. Oncogene, 2016, **35**(37): 4914-4926. DOI: 10.1038/onc.2016.23.
- 18 Ma D L, Li J Y, Liu Y E, *et al.* Influence of continuous intervention on growth and metastasis of human cervical cancer cells and expression of RNA[J]. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, 2016, **30**(1): 91-102.
- 19 Stankevicius L, Almeida A P, Ventura F, *et al.* MiR-34a is up-regulated in response to low dose, low energy X-ray induced DNA damage in breast cells[J]. Radiation Oncology, 2013, **8**(1): 231-239. DOI: 10.1016/S0168-3659(00)00339-4.