专题报道

# 不同程度放射性肺炎非小细胞肺癌患者血浆外泌体 microRNA 表达差异分析

翟舒炜[1],孟胤男[2],梁 旭[1],李月同[3],杨海华[2],封 巍[3]

(1. 浙江中医药大学第二临床医学院，浙江 杭州 310053；2. 温州医科大学附属浙江省台州医院，浙江 台州 317000；3. 中国科学院大学附属肿瘤医院(浙江省肿瘤医院)，中国科学院基础医学与肿瘤研究所，浙江 杭州 310022)

**摘 要**：[目的] 分析发生不同程度放射性肺炎(radiation pneumonia，RP)的Ⅲ期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer，NSCLC)患者的血浆外泌体 microRNA(miRNA)表达差异谱，并应用生物信息学分析差异 miRNAs 的作用。[方法] 收集 NSCLC 患者放疗前血浆，根据放疗完成后发生放射性肺炎程度分为 RP≤1 级组和 RP>1 级组，从中筛选出 5 对患者。分离血浆中的外泌体，通过二代测序技术对 miRNAs 进行精准的定量，并进行差异分析。对差异 miRNAs 进行靶基因预测注释，并进行生物信息学分析，分析其生物学功能及信号通路。[结果] 与 RP>1 级的患者相比，RP≤1 级患者血浆外泌体中 15 个 miRNAs 有显著表达差异 ($Log_2FC>3$，$P<0.05$)。通过生物信息学分析发现，差异靶基因功能主要富集于 TGF-β、Hippo、MAPK、mTOR 等信号通路，涉及 RNA 聚合酶、泛素样蛋白转移酶等多种细胞生化代谢途径，并参与细胞衰老、细胞周期、细胞连接等多种生物学过程。[结论] 发生不同程度放射性肺炎 NSCLC 患者放疗前血浆外泌体 miRNA 表达谱有明显差异，可能通过 Hippo、TGF-β 等信号通路在放射性肺炎的发生发展中发挥生物学调控作用。

**主题词**：非小细胞肺癌；放射性肺炎；血浆；外泌体 miRNAs；生物信息学分析

**中图分类号**：R734.2 **文献标识码**：A **文章编号**：1671-170X(2022)10-0826-07

doi：10.11735/j.issn.1671-170X.2022.10.B005

# Differential Expression of Plasma Exosome microRNAs in Non-small Cell Lung Cancer Patients with Different Degree of Radiation Pneumonia

ZHAI Shu-wei[1], Meng Yin-nan[2], LIANG Xu[1], LI Yue-tong[3], YANG Hai-hua[2], FENG Wei[3]

(1. *The Second Clinical Medical College*, *Zhejiang Chinese Medical University*, *Hangzhou* 310053, *China*; 2. *The Affiliated Taizhou Hospital*, *Wenzhou Medical University*, *Taizhou* 317000, *China*; 3. *The Cancer Hospital of the University of Chinese Academy of Sciences(Zhejiang Cancer Hospital)*, *Institute of Basic Medicine and Cancer(IBMC)*, *Hangzhou* 310022, *China*)

**Abstract**: [Objective] To analyze the differential expression profile of plasma exosome microRNA(miRNA) in stage Ⅲ non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with different degrees of radiation pneumonia (RP). [Methods] The plasma of NSCLC patients before radiotherapy was collected. After radiotherapy the patients were divided into RP≤1 group and RP>1 group according to the degree of RP, from which 5 pairs were selected for further study. Exosomes in plasma were isolated, and exosome miRNAs were quantified by second-generation sequencing techniques, and differential expression profile of miRNAs between RP≤1 group and RP>1 group was analyzed. Target genes were predicted and annotated for differential miRNAs, and bioinformatics analysis was conducted for their biological functions and signaling pathways. [Results] The expression of 15 miRNAs in plasma exosomes of RP≤1 patients was significantly different from that of RP>1 patients($Log_2FC>3$, $P<0.05$). Bioinformatic analysis revealed that the differential target genes were mainly enriched in TGF-β, Hippo, MAPK, mTOR and other signaling pathways, involved in a variety of cellular biochemical metabolic pathways such as RNA polymerase and ubiquitin like protein transferase, and involved in a variety of biological processes such as cell senescence, cell cycle and cell connection. [Conclusion] The miRNA expression profiles in plasma exosomes of NSCLC patients with different degrees of RP before radiotherapy are significantly different, which may be involved in the occurrence and development of RP through Hippo, TGF-β and other signaling pathways.

**Subject words**: non-small cell lung cancer; radiation pneumonia; plasma; exosome miRNAs; bioinformatics analysis

**基金项目**：浙江省医药卫生科技计划(2020PY001)；浙江省卫生健康科技计划项目(2021PY038)；2022 年浙江省放射肿瘤学重点实验室开放课题(2022ZJCCRAD03)

**通信作者**：封 巍，E-mail：fengwei@zjcc.org.cn

**收稿日期**：2022-06-28；**修回日期**：2022-08-20

放射治疗在胸部肿瘤的治疗中起着至关重要的作用，而放射性肺损伤(radiation-induced lung injury，RILI) 是胸部放射治疗中最常见和最严重的并发症之一[1]，其特点是成纤维细胞、肌成纤维细胞、炎症细胞和胶原蛋白等细胞外基质蛋白积累，随后形成瘢痕组织，最终导致致命的呼吸功能不全[2]。在临床中，RILI 仍然是限制肿瘤辐射剂量的最重要因素之一，它对各种胸部肿瘤的局部控制率和患者的长期生活质量产生负面影响[3]。

外泌体(exosomes)是直径为 30~100 nm 的膜结合微囊，在细胞质中形成，并从几乎所有活细胞的表面释放出来[4-5]。因此，外泌体存在于许多不同的体液中，如母乳、血清、尿液和唾液[5]。外泌体由脂质双分子层组成，内含 miRNAs、mRNAs 和蛋白质。脂质双分子层保护其中的遗传物质，从而保护它们免受损害[6]。此外，先前的证据表明，血浆中的大部分 miRNAs 沉积在外泌体中[7]。由于上述外泌体的特点，血浆外泌体中的 miRNAs 被认为是一种新型的生物标志物，可用于各种疾病的诊断和预后评估[8-9]。然而，关于 RILI 外泌体 miRNAs 研究相对较少。

本研究收集Ⅲ期不可手术 NSCLC 患者放疗前血浆，根据放疗完成后放射性肺炎(radiation pneumonia，RP)程度分为 RP≤1 级组和 RP>1 级组，从中筛选出 5 对，确保每对患者的临床基线数据均衡可比，以进行下一步研究。利用 Ilumina 高通量测序技术检测 miRNAs 差异表达谱，对差异 miRNAs 靶基因进行生物信息学分析，分析其涉及的主要生物学功能及信号通路。初步探讨差异表达显著的 miRNAs 在放射性肺炎预测中的价值，以期提前干预 RILI 的发生，改善胸部放疗患者的预后。

# 1 资料与方法

## 1.1 临床资料

收集 2018 年 1 月至 2020 年 3 月在温州医科大学附属浙江省台州医院放疗科接受同步放化疗的不可手术的Ⅲ期 NSCLC 患者，均符合以下标准：(1)年龄≥18 岁，男性，ECOG 评分≤2 分，预计生存期≥1 年；(2)经病理学诊断证实为鳞癌；(3)心脏、肝脏、肾脏等重要脏器功能正常；(4)标本采集时患者不处于炎症状态；(5)完成 IMRT 同步紫杉醇联合卡铂周方案化疗，具体为PGTV：64.8 Gy/30 F，PTV：54 Gy/30 F，紫杉醇 45 mg/m$^2$ $d_1$+卡铂 AUC=2 $d_1$，每周 1 次，放疗期间同步完成 4~6 个周期化疗。患者血浆标本在第一次放疗前采集。以上所有研究内容均经患者知情同意。本研究经浙江省台州医院伦理委员会审查通过。

## 1.2 放射性肺炎诊断

放疗期间每周随访 1 次，放疗结束后每隔 3 个月随访 1 次，随访内容包括血常规、血生化、胸部 CT 以及体格检查。基于临床症状和影像学资料，根据常见不良反应事件评价标准(CTCAE，5.0)对放射性肺炎进行诊断和分级。1 级：无症状，仅临床或影像学改变，无需治疗；2 级：症状轻微，体力活动受限，需要药物治疗；3 级：症状严重，日常活动受限，需要吸氧；4 级：危及生命的呼吸道症状，需要紧急治疗；5 级：导致患者死亡。将入组患者中未发生放射性肺炎或发生 1 级放射性肺炎的患者分入 RP≤1 级组，其余患者分入 RP>1 级组。

## 1.3 血浆外泌体提取鉴定

收集患者首次放疗前的清晨空腹全血，4 ℃ 1 600 g 离心 10 min。离心后血液由上至下分为血浆层、白细胞层及红细胞层，用移液器吸取至白细胞层以上 3~4 mm 处的上层血浆至冻存管中。将血浆 4 ℃ 1 600 g 二次离心 10 min 用以去除残余细胞中核酸对游离核酸的干扰，-80 ℃冰箱保存，用于后续研究。取上述血清 1 mL，加入外泌体分离试剂 250 μL。4 ℃ 12 000 g 离心 15 min，静置 2 h，重悬沉淀，即外泌体。吸取样品 10 μL 滴于铜网上，2 min 后用滤纸从铜网边缘吸去多余液体。滴加 20 μL 磷钨酸(3%，pH=7.0)于铜网，最后滴加超纯水于铜网上，待干后将铜网放于槽中使用透射电镜观察。

## 1.4 血浆外泌体总 RNA 的提取及 miRNAs 高通量测序

采用 ExoRNeasy 试剂盒按照试剂说明书提取血浆外泌体，使用 QIAseq 建库法，最大化检测样本中的 miRNAs，构建稳定的 miRNAs 特意文库。通过 UMI 标签法进行建库，可以消除由于反复 PCR 导致的 Duplications 增多，以实现 miRNAs 的精准定量。数据分析流程如下：首先，使用软件 Cutadaptversion 2.7 处理测序接头，低质量、N 较多、小于 16 bp 的短 reads。其次，使用软件 perl5(version 26)处理掉 UMIs 小于 12 bp 的 reads 和没有 UMI 的 reads，并识别 U-

MIs。最后，使用 bowtie(version 1.2.2)软件分别比对到 miRBase 数据库、piRNAbank 数据库、Rfam 数据库，进行 miRNAs 定量，比对定量后得到每个 miRNA 的 UMI counts，将所有样本的 UMI counts 进行合并，使用 CPM(counts per million)对定量 UMI counts 进行标准化。使用 edgeR 包计算 CPM 后进行 $\log_2$ 处理，并进行表达差异计算。

### 1.5 靶基因预测注释以及生信分析

使用 miRTarBase 数据库对差异的 miRNAs 进行靶基因预测注释，miRTarBase 是一个经过实验验证过的 miRNA 靶基因交互数据库。使用 R 包对得到的差异 miRNAs 靶基因进行 GO&pathway 分析。Gene Ontology(GO)是基因功能国际标准分类体系，可分为分子功能、生物过程和细胞组成 3 个部分，通过 GO 富集分析有可能找到导致性状变化的重要功能，并且找到该功能所对应的基因。Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG)是从基因组角度理解生物功能的生物信息学资源，通过 KEGG 分析可以发现差异 miRNAs 最有可能作用的下游信号通路。

### 1.6 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。计量资料比较采用配对 $t$ 检验。所有统计结果均为双侧检验，$P$<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 放射性肺炎程度与临床因素的关系

按照 CTCAE 5.0 评价标准对接受同步放化疗的Ⅲ期 NSCLC 患者进行评估，共入组 207 例患者，其中发生放射性肺炎的共 30 例。为排除其他临床变量对放射性肺炎的影响，从两组中匹配年龄、性别、病理类型、肿瘤体积、PGTV 体积、肺 V20、MLD 均无显著性差异的患者，每组各 5 例。对放射性肺炎等级与患者的临床特征进行分析，显示发生放射性肺炎等级与患者的年龄、GTV 体积、PGTV 体积、V20、MLD 均无关($P$>0.05)(Table 1)。

Table 1 Clinical characteristics of patients with NSCLC

| Characteristic | RP≤1(n=5) | RP>1(n=5) | $t$ | $P$ |
|---|---|---|---|---|
| Age(years old) | 65.4±5.8 | 62.6±8.6 | 0.461 | 0.669 |
| Gender | | | | |
| Male | 5 | 5 | - | 0.99 |
| Female | 0 | 0 | | |
| Pathological type | | | | |
| Squamous carcinoma | 5 | 5 | - | 0.99 |
| Adenocarcinoma | 0 | 0 | | |
| Tumer volume($cm^3$) | 131.4±45.2 | 160.6±106.6 | -0.585 | 0.590 |
| PGTV($cm^3$) | 266.9±88.8 | 302.7±184.3 | -0.410 | 0.703 |
| V20(%) | 21.8±3.8 | 20±4.2 | 1.686 | 0.167 |
| MLD(Gy) | 12.2±2.9 | 12.1±1.7 | 0.086 | 0.936 |

### 2.2 血浆外泌体 miRNAs 测序及差异分析

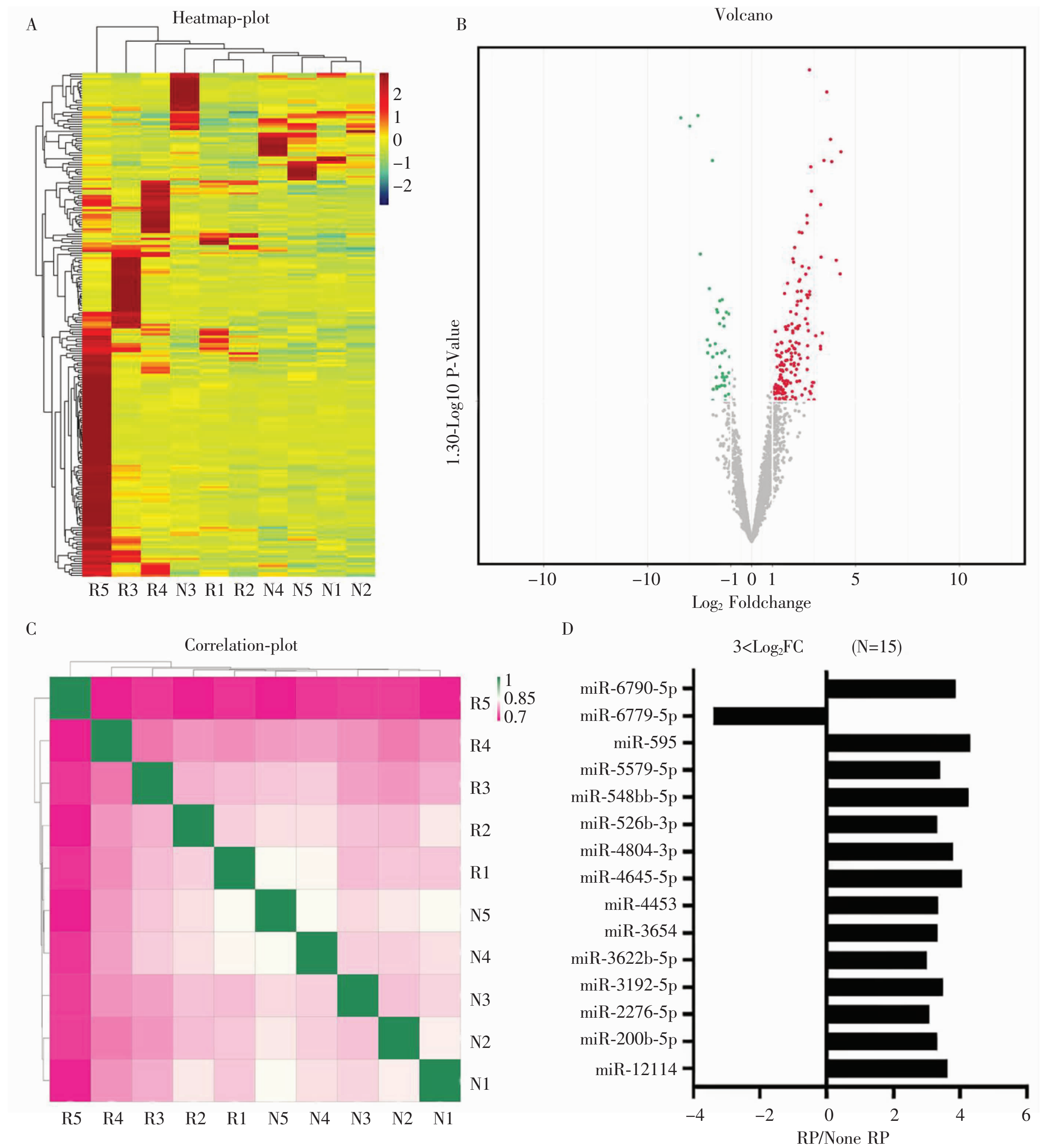
在 RP≤1 组和 RP>1 组的患者血浆外泌体中，表达差异显著的 miRNAs 共 220 个，其中 RP≤1 组表达上调的 miRNAs 169 个，表达下调的 miRNAs 51 个。使用 CPM 方法标准化后数据 $\log_2$ 处理，计算每个样本的 peason 相关性系数并可视化，查看分组间的重复性。差异表达倍数 8 倍以上的 miRNAs 有 15 个，其中 14 个 miRNAs 上调($\log_2FC \geqslant 3$，$P$<0.05)，1 个 miRNA 上调($\log_2FC \leqslant -3$，$P$<0.05)(Figure 1)。

### 2.3 差异 miRNAs 靶基因生物信息学分析

对差异 miRNAs 靶基因进行 GO 功能富集分析以及 KEGG 富集分析，结果显示，这些靶基因在分子功能部分主要参与泛素蛋白连接酶结合、转录因子活性、钙黏蛋白结合等；在细胞组成部分主要参与焦点粘连、细胞底物连接、内吞体膜等；在生物过程部分主要参与内膜系统组成、细胞周期调控及腺体发育等生物学调控。对差异 miRNAs 靶基因进行 KEGG pathway 分析，差异表达 miRNAs 靶基因参与细胞衰老、细胞周期、细胞内吞等调控，并通过 Hippo、AGE-RAGE、TGF-β 等信号通路参与放射性肺炎的生物学调控(Figure 2)。

## 3 讨 论

放射性肺炎是胸部放射治疗的常见并发症之一，约 10%~30%接受胸部放疗的患者会出现放射性肺炎，其中有症状的占 15%~40%，常见的症状包括低热、呼吸困难、干咳和低氧血症，严重者将影响患者的治疗和预后，导致 2%患者死亡。现有的放射性肺损伤生物标志物包括 IL-3、IL-6、IL-7、TNF-α、TGF-β 等可以协助放射性肺损伤的诊断以及判断预后，但无法提前预测放射性肺损伤的发生[10]。目前糖




Notes: R：RP group；N：None RP group；A,B: heatmap and valcano map of differential expressed miRNAs profile；C：correlation peason coefficient for each sample；D：significantly differentially expressed exosomal miRNAs

**Figure 1　Sequencing and differential analysis of miRNAs in plasma exosomes**

皮质激素是治疗放射性肺损伤的常规药物，但糖皮质激素作为强抗炎和免疫抑制药物，长期高剂量使用会导致不良反应发生率高[11]。因此，确定准确的预测标志物和有效的治疗靶点，提前干预放射性肺损伤的发生，对改善胸部放疗患者预后有重要意义。

miRNA 是一种非编码核苷酸，可在转录后调节蛋白表达[12]。miRNA 可被释放到血浆中，并参与细胞-细胞和组织-组织的通讯[13]，它们构成了在循环中发现的小核酸的主要部分，尽管存在高浓度的 RNA 降解酶，循环中的 miRNA 表达水平在重复测量中是稳定的[14]。全身辐射后，小鼠血清中 miRNA 的表达发生了特异性变化[15]。人类，外周血细胞中的

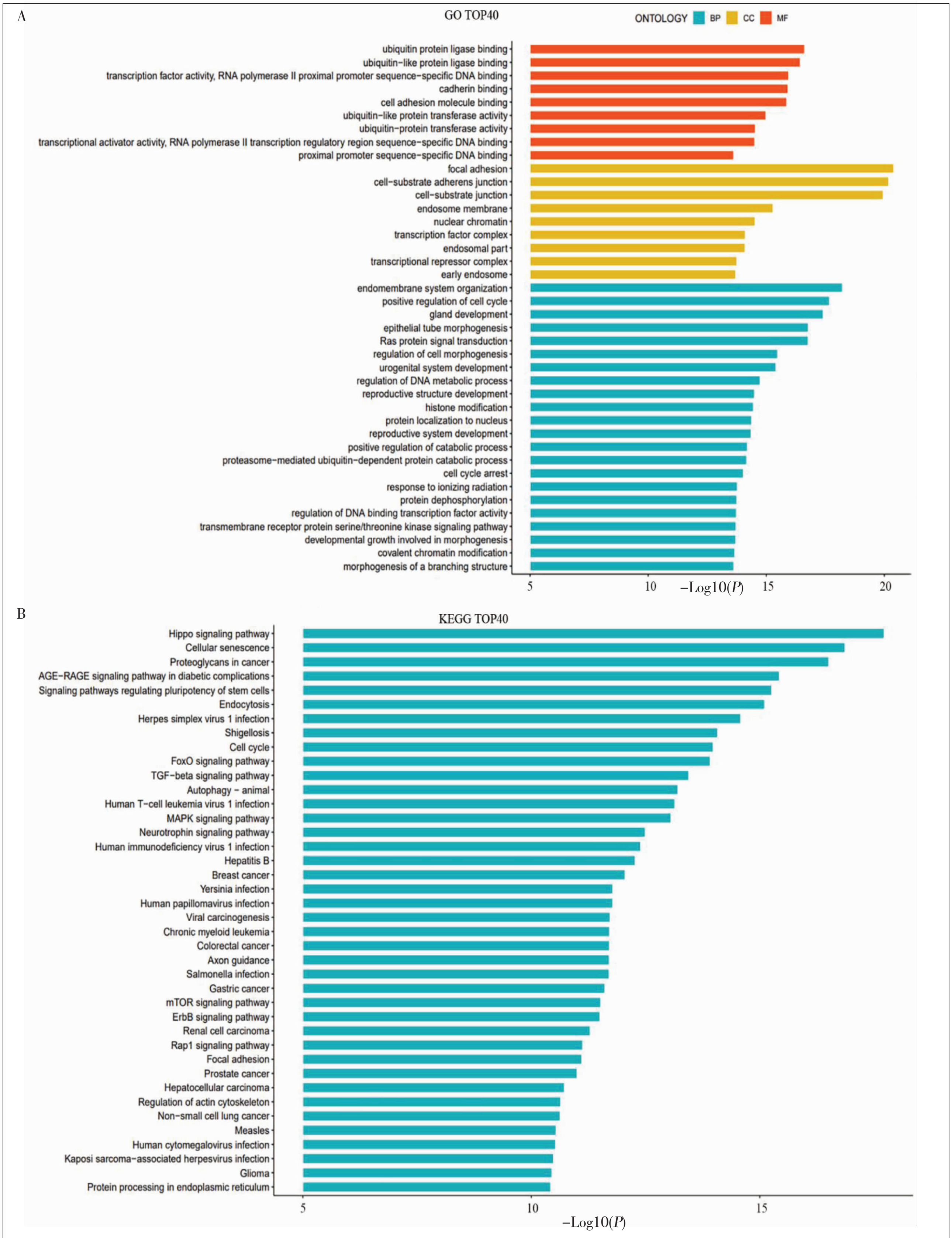



**Figure 2 Go enrichment map and KEGG pathway enrichment of differential miRNA-targeted-genes**

miRNA 表达已被用于准确区分放射前和放射后状态[16]。此外,正常细胞对电离辐射的反应也显示出 miRNAs 水平的改变[17]。因此,循环 miRNA 作为肿瘤辐射反应和正常组织毒性的生物标志物很有吸引力。

外泌体影响放射性肺损伤的机制尚不清楚,放射性肺损伤与氧化应激、血管损伤、炎症因子、免疫调节都有关系,外泌体所携带的信号分子是参与这些过程的重要成分。有研究证明,间充质干细胞来源的细胞外囊泡通过传递 miRNA-214-3p 减弱放射性肺损伤[18],小鼠间充质干细胞来源的外泌体 miR-466f-3p 在辐射诱导肺损伤中通过进入 MLE-12 细胞抑制上皮-间质转化的程度[19]。较少的研究验证了 miRNAs 可以通过外泌体转运至肺上皮细胞内,发挥调控放射性肺损伤的作用。

本研究对接受同步放化疗的Ⅲ期不可切除 NSCLC 患者是否发生放射性肺炎进行评估,在放疗前采集患者血浆,筛选出 5 对放射性肺炎≤1 级和>1 级的患者,对血浆外泌体 miRNAs 进行高通量测序以及定量分析,结果发现发生放射性肺炎≤1 级组中 169 个 miRNAs 显著上调,51 个 miRNAs 显著下调,其中差异表达倍数 8 倍以上的 miRNAs 有 15 个。接着对差异 miRNAs 的靶基因进行生物信息学分析,提示相关差异靶基因分别涉及泛素蛋白连接酶结合、转录因子活性、钙黏蛋白结合、细胞底物连接、腺体发育等多种分子细胞生物过程,并调控细胞衰老、细胞周期、细胞内吞等多种生物学过程,通过 Hippo、AGE-RAGE、TGF-β、MAPK 等多种信号通路参与放射性肺炎的生物学调控。

通过查阅文献,以上 15 个显著差异表达的外泌体 miRNAs 中,miR-200b-5p 在肺部炎症以及肺纤维化中有相关报道。Yang 等[20]发现,miR-200 家族在博来霉素诱导肺纤维化小鼠的肺中显著下调,而 miR-200 的补充降低了小鼠的肺纤维化;同时过表达 miR-200 可以降低肺组织中 TGF-β1 的含量,减轻 TGF-β1 介导的上皮-间质转化,从而减轻肺的纤维化。TGF-β1 在调节辐射诱导的正常组织损伤中发挥关键作用,尤其是放射性肺损伤,它可以促进成纤维细胞的增殖,诱导胶原蛋白的合成,抑制胶原酶的表达,招募大量的促炎免疫细胞,导致放射性肺损伤的发生和加重。Shen 等[21]发现,miR-200b 是一种参与肺部炎症反应的抗衰老因子,miR-200b 可以保护小鼠肺炎模型中的细胞衰老以及炎症反应。Pan 等[22]在辐射诱导肺损伤的小鼠模型中应用衰老细胞清除剂进行治疗,结果发现衰老细胞清除剂可以有效缓解辐射诱导的肺损伤;进一步研究发现,衰老细胞清除剂 ABT263 可以选择性杀死衰老的Ⅱ型肺泡上皮细胞,降低衰老细胞比例。由此可见,miR-200 家族从多种生物学机制出发,来调节放射性肺损伤的发生发展。

综上所述,本研究通过对不同程度放射性肺炎患者的血浆外泌体 miRNAs 测序分析,筛选出 miR-200b-5p 在 NSCLC 患者发生放射性肺炎的预测中有一定的价值。提示放疗前检测血浆外泌体 miRNAs 以预测放射性肺炎的发生,能够指导放疗计划的制定,对放射性肺炎的发生做出提前干预,对改善患者的预后有重要意义。同时本研究存在一定的局限性,如外泌体鉴定中缺乏特异性蛋白标志的检测以及缺乏径粒分析结果;本研究为单中心小样本研究,后续将进一步扩大样本量,深入研究 miR-200b-5p 的下游靶基因以及相应信号通路,进一步探索影响放射性肺炎发生发展的生物学机制,为放射性肺炎的防治提供新的思路。

## 参考文献:


[1] Hanania AN,Mainwaring W,Ghebre YT,et al. Radiation-induced lung injury: assessment and management[J]. Chest, 2019,156(1):150-162.

[2] Li Y,Zou L,Yang X,et al. Identification of incRNA,microRNA,and mRNA-associated ceRNA network of radiation-induced lung injury in a mice model[J]. Dose Response,2019,17(4):1559325819891012.

[3] Jain V,Berman AT. Radiation pneumonitis: old problem, new tricks[J]. Cancers (Basel),2018,10(7):222.

[4] Zhao S,Li J,Zhang G,et al. Exosomal miR-451a functions as a tumor suppressor in hepatocellular carcinoma by targeting LPIN1[J]. Cell Physiol Biochem,2019,53(1):19-35.

[5] Natasha G,Gundogan B,Tan A,et al. Exosomes as immunotheranostic nanoparticles[J]. Clin Ther,2014,36(6): 820-829.

[6] Rekker K,Saare M,Roost A M,et al. Comparison of serum exosome isolation methods for microRNA profiling [J]. Clin Biochem,2014,47(1-2):135-138.

[7] Ge Q,Zhou Y,Lu J,et al. MiRNA in plasma exosome is stable under different storage conditions[J]. Molecules,

2014,19(2):1568–1575.
[8] Sun L,Liu X,Pan B,et al. Serum exosomal miR-122 as a potential diagnostic and prognostic biomarker of colorectal cancer with liver metastasis[J]. J Cancer,2020,11(3):630–637.
[9] Villarroya-Beltri C,Gutiérrez-Vázquez C,Sánchez-Cabo F,et al. Sumoylated hnRNPA2B1 controls the sorting of miRNAsinto exosomes through binding to specific motifs [J].Nat Commun,2013,4:2980.
[10] Yan Y,Fu J,Kowalchuk RO,et al. Exploration of radiation-induced lung injury,from mechanism to treatment: a narrative review[J]. Transl Lung Cancer Res,2022,11(2):307–322.
[11] Adcock IM,Mumby S. Glucocorticoids[J]. Handb Exp Pharmacol,2017,237:171–196.
[12] Bartel DP. MicroRNAs:target recognition and regulatory functions[J]. Cell,2009,136(2):215–233.
[13] Valadi H,Ekstrom K,Bossios A,et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. Nat Cell Biol,2007,9(6):654–659.
[14] Chen X,Ba Y,Ma L,et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res,2008,18(10):997–1006.
[15] Templin T,Amundson SA,Brenner DJ,et al. Whole mouse blood microRNA as biomarkers for exposure to gamma-rays and (56)Fe ion[J]. Int J Radiat Biol,2011,87(7):653–662.
[16] Templin T,Paul S,Amundson SA,et al. Radiation-induced micro-RNA expression changes in peripheral blood cells of radiotherapy patients[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2011,80(2):549–557.
[17] Maes OC,An J,Sarojini H,et al. Changes in microRNA expression patterns in human fibroblasts after low-LET radiation[J]. J Cell Biochem,2008,105(3):824–834.
[18] Lei X,He N,Zhu L,et al. Mesenchymalstem cell-derived extracellular vesicles attenuate radiation-induced lung injury via miRNA-214-3p[J]. Antioxid Redox Signal,2021,35(11):849–862.
[19] Li Y,Shen Z,Jiang X,et al. Mouse mesenchymal stem cell-derived exosomal miR-466f-3p reverses EMT process through inhibiting AKT/GSK3beta pathway via c-MET in radiation-induced lung injury [J]. J Exp Clin Cancer Res,2022,41(1):128.
[20] Yang S,Banerjee S,De Freitas A,et al. Participation of miR-200 in pulmonary fibrosis[J]. Am J Pathol,2012,180(2):484–493.
[21] Shen Z,Xuan W,Wang H,et al. MiR-200b regulates cellular senescence and inflammatory responses by targeting ZEB2 in pulmonary emphysema[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol,2020,48(1):656–663.
[22] Pan J,Li D,Xu Y,et al. Inhibition of bcl-2/xl with ABT-263 selectively kills senescent type Ⅱ pneumocytes and reverses persistent pulmonary fibrosis induced by ionizing radiation in mice[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2017,99(2):353–361.