

^{32}P 低剂量放射治疗可减少卵清蛋白诱发哮喘的气道嗜酸性粒细胞浸润

韩爽¹, 张春玲^{2*}

¹青岛大学医学部, 山东 青岛

²青岛大学附属青岛市中心医院呼吸与危重症医学科, 山东 青岛

收稿日期: 2023年8月19日; 录用日期: 2023年9月14日; 发布日期: 2023年9月20日

摘要

哮喘是一种常见的慢性炎症性气道疾病, 在世界范围内造成相当大的健康负担。尽管进行了有效的药物治疗, 哮喘仍继续损害大多数患者的生活质量。因此, 寻求安全有效的哮喘非药物治疗方法是当前研究的科学问题之一。哮喘是一种异质性疾病, 不同的病理生理机制驱动着不同表型。嗜酸性粒细胞的增加是大多数哮喘表型的标志, 一般来说, 其数量升高与疾病严重程度相关。嗜酸性粒细胞已成为严重嗜酸性粒细胞性哮喘和其他嗜酸性粒细胞相关疾病的主要治疗靶点。靶向嗜酸性粒细胞有效的生物治疗揭示了嗜酸性粒细胞在哮喘中出乎意料的复杂作用, 在本项研究中, 我们使用卵清蛋白(OVA)成功诱导了balb/c小鼠哮喘模型, 评估了 ^{32}P 低剂量放射治疗对哮喘小鼠气道嗜酸性粒细胞浸润情况。为了诱发哮喘, 小鼠被致敏并用OVA进行气道激发。 ^{32}P 敷贴于末次激发后贴在小鼠前颈部30分钟, 剂量为0.3 Gy, 末次激发后24小时, 我们研究了小鼠病理切片的嗜酸性粒细胞浸润及肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比例。我们发现 ^{32}P 低剂量放射治疗减少了嗜酸性粒细胞浸润及肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比例, 会缓解支气管粘膜及血管充血水肿、气道上皮脱落及支气管平滑肌增厚。这些结果表明, ^{32}P 低剂量放射治疗有效抑制了卵清蛋白诱发哮喘的气道嗜酸性粒细胞浸润, 表明 ^{32}P 低剂量放射治疗在治疗哮喘方面有较大潜力。

关键词

哮喘, ^{32}P 低剂量放射治疗, 嗜酸性粒细胞, 卵清蛋白

^{32}P Low-Dose Radiation Therapy Reduces Eosinophilic Infiltration of the Airways in Ovalbumin-Induced Asthma

Shuang Han¹, Chunling Zhang^{2*}

¹Medical College, Qingdao University, Qingdao Shandong

*通讯作者。

Abstract

Asthma is a common chronic inflammatory airway disease that causes a considerable health burden worldwide. Despite effective medications, asthma continues to impair the quality of life of most patients. Therefore, the search for safe and effective non-drug treatment methods for asthma is one of the scientific questions currently being studied. Asthma is a heterogeneous disease with different pathophysiology driving different phenotypes. An increase in eosinophils is a hallmark of most asthmatic phenotypes, and in general, an elevated number correlates with disease severity. Eosinophils have become the main therapeutic targets for severe eosinophilic asthma and other eosinophil-related diseases. Effective biotherapy targeting eosinophils revealed the unexpectedly complex role of eosinophils in asthma, and in this study, we successfully induced balb/c mouse asthma models using ovalbumin (OVA) to evaluate eosinophil infiltration of the airways of asthmatic mice with ³²P low-dose radiation therapy. To induce asthma, mice are sensitized and airway stimulation was used with OVA. ³²P was applied to the front neck of mice for 30 minutes after the last excitation at a dose of 0.3 Gy, and 24 hours after the last excitation, we studied the eosinophil infiltration of the pathological sections of mice and the proportion of eosinophils in alveolar lavage solution. We found that ³²P low-dose radiation therapy reduced eosinophil infiltration and the proportion of eosinophils in alveolar lavage fluid, and relieved bronchial mucosal and vascular congestion and edema, airway epithelial sloughing, and bronchial smooth muscle thickening. These results suggest that ³²P low-dose radiotherapy effectively inhibits ovalbumin-induced eosinophil infiltration of the airway in asthma, indicating that ³²P low-dose radiotherapy has great potential in the treatment of asthma.

Keywords

Asthma, ³²P low-Dose Radiate on Therapy, Eosnophils, Ovalbumin

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 介绍

1.1. 哮喘及嗜酸性粒细胞炎症在哮喘中的作用

哮喘是一种异质性疾病, 大约有 4 种主要表型, 分别是早发性轻度过敏性哮喘、早发性过敏性中度至重度重塑哮喘、迟发性非过敏性嗜酸性粒细胞性哮喘以及迟发性非嗜酸性粒细胞性非过敏性哮喘[1]。其中, 嗜酸性粒细胞的增加是大多数哮喘表型的标志[2] [3]。哮喘以慢性气道炎症为特征。通常会出现喘息、呼吸短促、胸闷和咳嗽等症状, 这些症状随时间、发生频率和强度而变化, 存在可逆性的气流限制。哮喘气道炎症促进粘液产生、气道壁重塑和支气管高反应性[4]。轻度哮喘通常可使用针对疾病炎症成分的药物(如吸入性皮质类固醇)或恢复气流的药物(如短效或长效 β_2 肾上腺素能激动剂)来有效控制。然而, 仍有大量难治性、未控制或重度哮喘患者, 常规药物治疗对疾病的控制不足, 这约占哮喘控制相关经济

成本的一半[5]。据报道,在欧洲,哮喘控制的患者治疗成本及间接成本为每人 509 欧元,而哮喘不受控制的患者治疗成本及间接成本为 2281 欧元。因此,探究哮喘的发病机制、寻求安全有效的哮喘非药物治疗方法是当前研究的科学问题之一。

嗜酸性粒细胞是参与各种炎症反应的启动和繁殖的多效多功能白细胞,以及先天性和适应性免疫的调节剂[6]。与许多炎症过程的发病机制有关,包括寄生虫蠕虫,细菌和病毒感染,组织损伤,肿瘤免疫和过敏性疾病。

嗜酸性粒细胞通常积聚在过敏性炎症部位,这有助于支气管哮喘的发展。它们释放许多介质,包括特定的颗粒蛋白,如碱性蛋白,氧自由基;细胞因子,如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和白细胞介素 IL-8,以及脂质介质,如半胱氨酸白三烯。嗜酸性粒细胞有可能通过释放颗粒相关碱性蛋白损伤神经和上皮细胞、释放脂质介质导致支气管收缩和粘液分泌过多,释放活性氧损伤粘膜细胞,这都会对气道粘膜和相关神经造成损害[7] [8]。

炎症环境通过延迟细胞凋亡来促进嗜酸性粒细胞的存活。这包括上皮来源的 GM-CSF 和神经营养因子。嗜酸性粒细胞对 Fas 介导的细胞凋亡也高度敏感。T 细胞上的 Fas 缺乏会产生长期过敏性气道疾病。

嗜酸性粒细胞通常被认为是不变的终末分化效应细胞,但靶向嗜酸性粒细胞生物治疗的有效性揭示了嗜酸性粒细胞在哮喘中的复杂作用,嗜酸性粒细胞不应再被认为是哮喘中寿命短的、不变的、终末程序化的效应细胞[9]。正如临床前模型所表明的那样,通过对严重哮喘的观察以及在治疗中使用抗嗜酸性粒细胞生物制剂,嗜酸性粒细胞肯定比经典范式中设想的更具不稳定性 and 适应性。例如抗原激发后的气道嗜酸性粒细胞对 VCAM-1 (CD106)和其他配体(包括白蛋白、ICAM-1 (CD54)、纤维蛋白原等)的粘附性增强[10]。这种嗜酸性粒细胞的重塑领域需要进一步调查。慢性炎症与重塑之间的确切关系尚不清楚。这是未来研究的一个重要领域,重塑的各种组成部分对气道功能的精确影响也耐人深思。

1.2. 低剂量放射治疗的定义及抗炎机制

广义讲,低剂量和低剂量率概念十分不确定,不同应用目的和场合有不同的标准和解释[11]。从物理角度来讲,低剂量和低剂量率是一个相对大剂量和高剂量率而言的简单物理概念。但在辐射生物效应研究者眼中,低剂量指细胞关键部位在吸收射线能量后,造成的扰动或轻微损伤,完全可以在细胞自身修复机制的引导下得到及时纠正和正确修复的辐射剂量[12]。

辐射防护条例和操作程序的基本假设是风险与剂量成正比,没有阈值。剂量无论多小,都会增加风险。这种线性无阈值(LNT)假说曾被世界各地的监管机构所接受,适用于对人类和环境的保护[13]。然而,这些假设与目前低剂量的已知生物学效应不一致。有研究人员指出,存在一个剂量阈值,高于该阈值,高剂量会产生熟悉的有害影响,从而增加风险,但低于该阈值,低剂量会产生保护性适应性效应,从而降低风险[14]。最近的体内动物证据表明,实际上有两个剂量阈值可以启动保护性适应性反应。首先,低辐射剂量增加到不再引起保护性反应的剂量阈值上限已经在包括人类在内的许多生物体中得到了很好的研究。另一个是较低的剂量阈值,低于该阈值的剂量不再能够启动在较高低剂量下看到的细胞保护机制[15]。

临床上普遍认为,单剂量低于 1.0 Gy 的低剂量放射治疗可以对炎症性疾病和疼痛的退行性疾病发挥抗炎和镇痛作用,且体内及体外实验均表明剂量为 0.3 Gy 的低剂量放射治疗存在最佳的抗炎效果[16] [17] [18]。本次实验应用面积为 $1 \times 1 \text{ cm}$,剂量率为 0.6 Gy/h 的 ^{32}P 敷贴,放置于哮喘小鼠前颈部 30 分钟,使之达到 0.3 Gy 的辐射剂量。

炎症导致的分子事件包括多种基因的上调,涉及识别和修复受损的 DNA,调节细胞周期和细胞死亡。进一步导致的事件包括炎症的诱导,它受各种转录因子的控制,如核因子 NF- κ B 等,这些因子对于各种

免疫系统效应分子, 如细胞因子、粘附分子、酶和参与执行细胞死亡或修复的分子的表达至关重要。低剂量放射治疗的生物效应包括适应性效应, 它通过抗氧化能力、DNA 修复功能、凋亡和免疫功能, 激活生物自我修复和保护系统。还包括兴奋性效应, 它激活正常细胞广谱防御性表观遗传信号, 上调适应性反应相关基因[19][20]。因此, 我们有理由假设它的多种分子机制和细胞成分有助于低剂量放射治疗的临床疗效。

辐射免疫效应的研究一直受到放射学界的重视。UNSCEAR1994 年向联合国大会的报告首次重点讨论了低剂量辐射的免疫增强效应。最近的体内和体外试验证实了低剂量放射治疗的部分抗炎作用, 低剂量放射治疗对内皮细胞、白细胞、巨噬细胞和树突状细胞等都发挥影响[21], 主要是由于降低了 e-选择素表达, 下调 CCL20 释放, 增加转录因子 NF- κ B 活性, 增加转化生长因子- β 1 的表达, 减少了白细胞和单个核细胞对内皮细胞的黏附[22]; 低剂量放射治疗增加了 PBMCs 的凋亡, 导致 TNF-a 和 IL-1 的产生减少, L-选择素的表达减少, 丝裂原活化蛋白激酶和蛋白激酶 B 的表达降低以及抗炎细胞因子 IL-10 的产生增加。低剂量放射治疗后的巨噬细胞可降低 NO 的产生和 iNOS 蛋白的表达, 增加血红素氧合酶-1 和 HSP-70 的表达。低剂量放射治疗显著降低了氧化爆发活性和超氧化物的产生, 导致自由基的产生和释放减少[23]。低剂量放射治疗对免疫系统的影响是复杂的, 本质上是调节性的[24]。总而言之, 低剂量放射治疗通过降低促炎因素, 增加抗炎因素, 创造一种抗炎环境。值得注意的是, 这些作用都表现出相似的剂量依赖性, 双相性和不连续的剂量效应关系。低剂量放射治疗目前已应用在滑囊炎、肌腱炎、关节炎以及严重的肺炎等炎症性疾病中, 并获得很好的临床症状改善, 它的抗炎机制也为哮喘的治疗提供了一种新的可能, 目前低剂量放射治疗还没有在临床上应用于哮喘患者, 但这无疑是一种潜在的有价值的治疗方法。

2. 材料和方法

2.1. 动物及动物分组

健康雌性 SPF 级 Balb/c 小鼠 60 只, 4~6 周龄, 体重 18~20 g。将小鼠随机分为正常对照组 15 只(A 组), 哮喘模型组 15 只(B 组), 32 P 低剂量放射治疗组(C 组)、地塞米松组治疗组(D 组)。

2.2. 小鼠哮喘模型的制备及实验程序

2.2.1. 适应性饲养

各组小鼠于 SPF 级实验动物房适应性饲养 1 周。

2.2.2. 配制明矾致敏佐剂

10%明矾溶液(溶于双蒸水) 2 ml 与 500 ug/mlOVA (溶于 PBS) 2 ml 等量混合后, 用 10M NAOH 调 PH 值至 6.5, 室温孵育 60 min, 750 r/min, 离心 5 min, 去掉上清液, 重溶于 2 ml·PBS。致敏时每只小鼠注射 200 ul, 其中含 2 mg 明矾和 100 ug·OVA。明矾致敏佐剂需现配现用。

2.2.3. 致敏阶段

B、C、D 组小鼠分别于 0、7、14 天时采取皮内和腹腔多点注射的方法, 注射上述明矾致敏佐剂 0.2 ml, A 组小鼠分别于 0、7、14 天皮内和腹腔多点注射 PBS 溶液 0.2 ml, 正常饮食饲养。

2.2.4. 激发阶段

致敏阶段结束 1 周后, 第 21 天时 B、C、D 组小鼠放入大小鼠雾化给药仪中, 使用 5% OVA 雾化吸入。每天 30 min, 共 7 天。激发后, 观察小鼠表现, 以小鼠出现烦躁不安、呼吸急促、腹肌痉挛等阳性反应作为造模成功标准。A 组采用 PBS 缓冲液雾化吸入, 其他操作均相同。

2.2.5. 治疗阶段(见图 1(a))

激发阶段之后, 评估 B、C、D 组小鼠是否哮喘造模成功。若造模不成功, 则继续进行激发阶段工作, 激发时随时观察小鼠阳性反应。若造模成功, 立即对 A、B、C、D 组小鼠前颈部进行脱毛处理, C 组应用 ^{32}P 敷贴置于小鼠前颈部, 半小时后取下(见图 1(b))。A、C、D 组应用空白敷贴进行贴敷治疗, 方法同上, D 组小鼠腹腔注射地塞米松注射液 1 mg/kg (见图 1(c))。

2.2.6. 标本制备及处理阶段

末次激发 24 h 后(第 28 天)麻醉小鼠, 摘眼球取血, 室温静置 2 h 后于 4℃ 3000 r 离心 10 分钟提取血清, 放入-80 冰箱冻存待用。

将各组小鼠颈椎脱臼致死, 无菌条件下分离气管, 结扎左主支气管后剪开右主支气管插入气管导管并固定, 无菌生理盐水灌洗 3 次。每次生理盐水使用 1 mL/次, 灌洗后收集肺泡灌洗液, 进行细胞学分析。

取左肺组织用 4% 多聚甲醛固定、脱水、石蜡包埋, 4 μm 切片, HE 染色。正常支气管应该无明显炎症细胞浸润, 哮喘小鼠肺组织切片一般可见弥漫性细支气管和血管周围炎性细胞浸润, 其中嗜酸细胞显著增多。气道上皮有不同程度脱落, 支气管黏膜上皮杯状细胞增生, 管腔内可见粘液栓及炎性渗出, 支气管平滑肌显著增厚, 血管周围水肿。

2.2.7. 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 计量数据用均数 \pm 标准差($\bar{X} \pm S$)表示, 组间比较组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

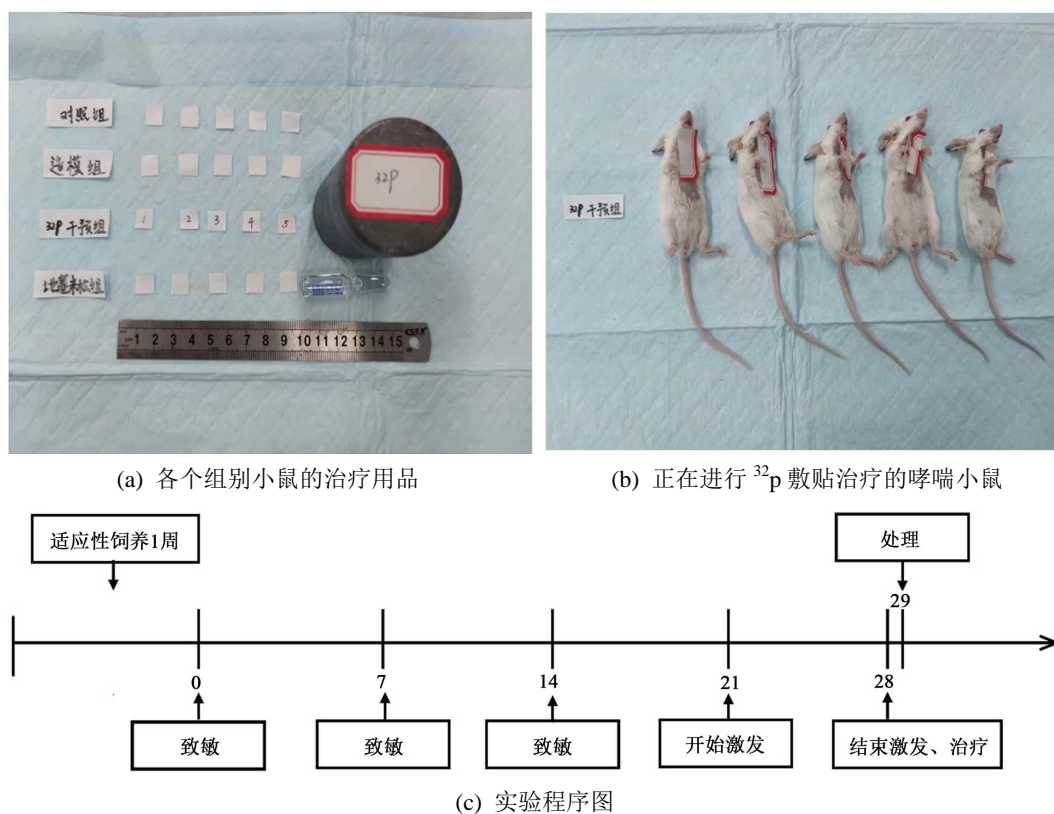


Figure 1. Preparation, treatment and experimental procedures of mouse asthma model

图 1. 小鼠哮喘模型的制备、治疗及实验程序图

3. 结果

3.1. 体征变化

A 组小鼠雾化吸入 PBS 未见异常表现。B、C、D 小鼠激发后, 前 10 分钟小鼠烦躁不安, 活动频繁, 呼吸频率加快。后 10 分钟小鼠静伏不动, 呼吸急促, 萎靡不振。随着激发次数增加以上症状明显加重, 抓耳挠腮, 伸颈缩胸喘息状, 大小便失禁者较前增多。经观察小鼠饮食减少, 毛发无光泽, 行动迟缓(见图 2)。

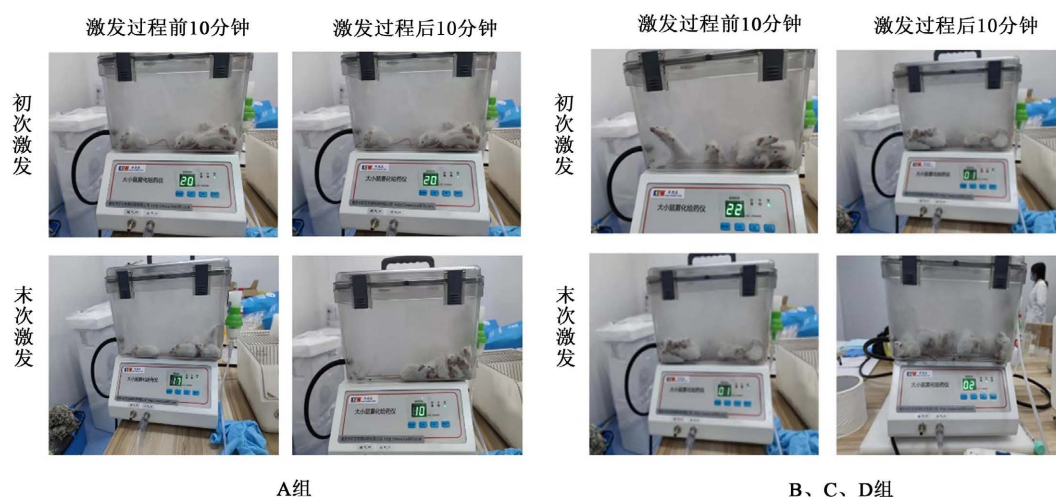


Figure 2. Signs of excitation in each group of mice
图 2. 各组小鼠激发时的体征表现

3.2. 肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比值

与正常对照组(A 组)相比, 哮喘模型组(B 组)小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比值明显增加, 地塞米松组治疗组(D)小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比值明显降低, ³²P 低剂量放射治疗组(C)小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比值介于 C、D 组之间, 各组差别有统计学意义($P < 0.05$) (见图 3)。

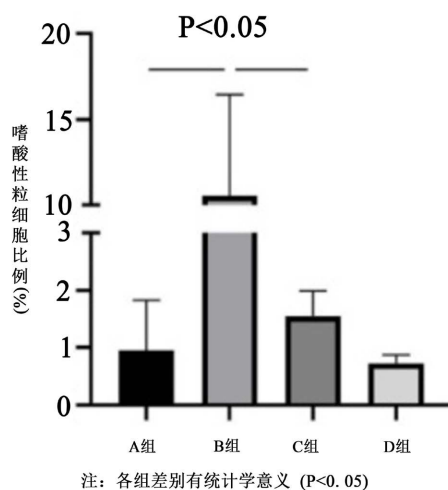


Figure 3. Eosinophil changes in mouse alveolar lavage fluid
图 3. 小鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞变化

3.3. 肺组织肉眼及病理变化

3.3.1. 肉眼变化

A 组小鼠肺脏颜色呈粉红色, B、C、D 组小鼠肺脏较对照组略苍白, 有的出现黑色斑点或纹理, 有的体积有不同程度的增大。

3.3.2. 肺组织病理变化

A 组: 气管和肺泡结构完整, 管腔光滑, 无闭塞, 未见血管扩张充血, 未见明显炎症细胞浸润。

B 组: 气管壁粘膜, 粘膜下及肺间质可见大量炎性细胞, 主要是嗜酸性粒细胞。支气管粘膜明显充血水肿, 上皮细胞坏死脱落, 支气管平滑肌显著增厚, 肺泡壁结构破坏, 肺泡间质血管充血。

C 组: 气管壁粘膜, 粘膜下及肺间质可见少量炎症细胞, 支气管粘膜及血管充血水肿缓解, 气道上皮未见脱落, 管腔内未见炎性渗出, 支气管平滑肌增厚较模型组缓解。

D 组: 支气管及血管周围炎性细胞浸润大部分消散, 较 ^{32}P 处理组减轻明显, 支气管粘膜及血管充血水肿缓解, 气道上皮未见脱落, 管腔内未见炎性渗出, 支气管平滑肌增厚明显缓解(见图 4)。

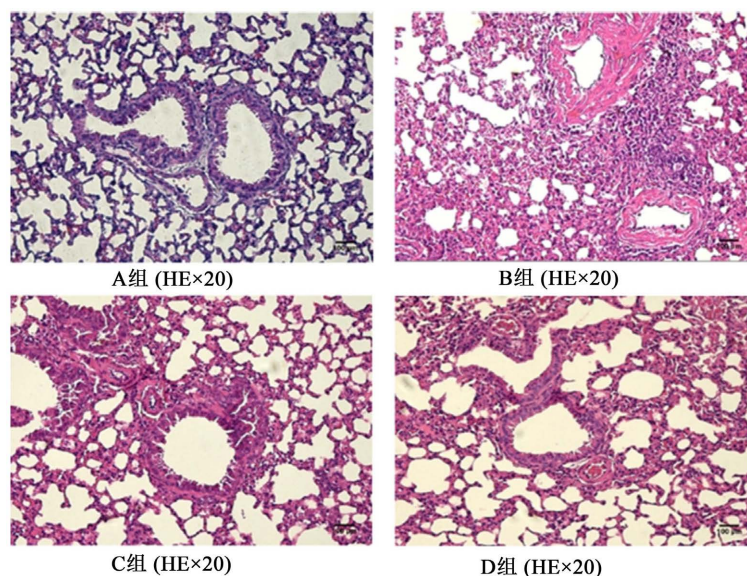


Figure 4. Pathological changes in mouse lung tissue
图 4. 小鼠肺组织病理变化

3.4. 结果总结

3.4.1. 哮喘小鼠造模结果

B、C、D 组小鼠有哮喘的典型体征表现, 双肺肉眼可见苍白且增大, 偶可见黑色斑点, HE 染色示明显炎症细胞浸润, 气管及肺泡壁增厚, 肺泡扩张, 气管粘膜及血管明显充血水肿, 肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞明显增多, 以上提示造模有效。

3.4.2. ^{32}P 低剂量放射治疗减少哮喘小鼠气道嗜酸性粒细胞浸润

经 ^{32}P 低剂量放射治疗后, C 组小鼠 HE 染色示气管壁粘膜, 粘膜下及肺间质见少量炎症细胞浸润, 支气管粘膜及血管充血水肿缓解, 气道上皮未见脱落, 管腔内未见炎性渗出, 支气管平滑肌增厚较 B 组缓解。肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞比例明显降低, 以上提示 ^{32}P 低剂量放射治疗减少哮喘小鼠气道嗜酸性粒细胞浸润。

4. 讨论

临床上普遍认为单剂量低于 1.0 Gy 的低剂量放射治疗可以对炎症性疾病和疼痛的退行性疾病发挥抗炎和镇痛作用, 1986 年低剂量放射治疗在急性局部炎症中的疗效得到独立证实, 随后逐渐出现了缓解慢性局部炎症和全身炎症的实验证据[25] [26]。使用低剂量放射治疗肺部疾病已有 80 多年的历史, 低剂量放射治疗应用于肺炎收获了良好的反应率, 大大降低了肺炎的严重程度[27], 但随着青霉素及各类抗生素的发现, 对于低剂量放射治疗的抗炎机制的研究逐渐停滞[28]。近年来, COVID-19 的全球大流行使研究人员再次考虑低剂量放射治疗在减轻 COVID-19 危及生命的症状严重程度方面的抗炎作用, 对低剂量放射治疗的研究再次被大家重视[29]。然而, 它对哮喘的影响尚不清楚。支气管哮喘是一种气道炎症性疾病, 由吸入变应原引起, 其特征为可逆性气道阻塞、黏液生成增加和嗜酸性粒细胞浸润[30]。在本研究中, 剂量为 0.3 Gy 的 ^{32}P 低剂量放射治疗显著降低了哮喘小鼠肺泡灌洗液中的嗜酸性粒细胞比例, 组织学分析显示气管壁粘膜, 粘膜下及肺间质炎症细胞浸润明显减少, 支气管粘膜及血管充血水肿缓解, 气道上皮未见脱落, 管腔内未见炎性渗出, 支气管平滑肌增厚相对缓解, 这些发现表明低剂量放射治疗可能通过减少嗜酸性粒细胞浸润来抑制 OVA 激发引起的支气管哮喘, 这无疑是一种潜在的有价值的治疗方法, 还需要研究者们进一步探索。

参考文献

- [1] Kaur, R. and Chupp, G. (2019) Phenotypes and Endotypes of Adult Asthma: Moving toward Precision Medicine. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **144**, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.05.031>
- [2] Chung, K.F. (2017) Clinical Management of Severe Therapy-Resistant Asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*, **11**, 395-402.
- [3] Casaro, M., Souza, V.R., Oliveira, F.A. and Ferreira, C.M. (2019) OVA-Induced Allergic Airway Inflammation Mouse Model. In: Guest, P., Ed., *Pre-Clinical Models*, Humana Press, New York, 297-301. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_28
- [4] Tiotiu, A. (2021) Applying Personalized Medicine to Adult Severe Asthma. *Allergy and Asthma Proceedings*, **42**, e8-e16. <https://doi.org/10.2500/aap.2021.42.200100>
- [5] Lemanske Jr, R.F. and Busse, W.W. (1997) Asthma. *Journal of the American Medical Association*, **278**, 1855-1873. <https://doi.org/10.1001/jama.278.22.1855>
- [6] Nakagome, K. and Nagata, M. (2018) Involvement and Possible Role of Eosinophils in Asthma Exacerbation. *Frontiers in Immunology*, **9**, Article 2220. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02220>
- [7] Drake, M.G., Lebold, K.M., Roth-Carter, Q.R., et al. (2018) Eosinophil and Airway Nerve Interactions in Asthma. *Journal of Leukocyte Biology*, **104**, 61-67. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR1117-426R>
- [8] Pavón-Romero, G.F., Serrano-Pérez, N.H., García-Sánchez, L., Ramírez-Jiménez, F. and Terán, L.M. (2021) Neuroimmune Pathophysiology in Asthma. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **9**, Article 663535. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.663535>
- [9] McGregor, M.C., Krings, J.G., Nair, P. and Castro, M. (2019) Role of Biologics in Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **199**, 433-445. <https://doi.org/10.1164/rccm.201810-1944CI>
- [10] Van Hulst, G., Bureau, F. and Desmet, C.J. (2021) Eosinophils as Drivers of Severe Eosinophilic Asthma: Endotypes or Plasticity. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 10150. <https://doi.org/10.3390/ijms221810150>
- [11] Mothersill, C., Rusin, A. and Seymour, C. (2019) Towards a New Concept of Low Dose. *Health Physics*, **117**, 330-336. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001074>
- [12] Zeeb, H. (2012) Health Effects of Low-Level Radiation: Any News. *Journal of Radiological Protection*, **32**, E11-3. <https://doi.org/10.1088/0952-4746/32/3/E02>
- [13] Mitchel, R.E. (2015) Adaption by Low Dose Radiation Exposure: A Look at Scope and Limitations for Radioprotection. *Dose Response*, **13**, No. 1. <https://doi.org/10.2203/dose-response.14-025.Mitchel>
- [14] Mitchel, R.E. (2009) The Dose Window for Radiation-Induced Protective Adaptive Responses. *Dose-Response*, **8**, 192-208. <https://doi.org/10.2203/dose-response.09-039.Mitchel>
- [15] Oakley, P.A. and Harrison, D.E. (2021) Are Continued Efforts to Reduce Radiation Exposures from X-Rays Warranted.

Dose-Response, **19**, No. 1. <https://doi.org/10.1177/1559325821995653>

- [16] Lumniczky, K., Impens, N., Armengol, G., *et al.* (2021) Low Dose Ionizing Radiation Effects on the Immune System. *Environment International*, **149**, Article ID: 106212. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106212>
- [17] Calabrese, E.J., Dhawan, G., Kapoor, R. and Kozumbo, W.J. (2019) Radiotherapy Treatment of Human Inflammatory Diseases and Conditions: Optimal Dose. *Human & Experimental Toxicology*, **38**, 888-898. <https://doi.org/10.1177/0960327119846925>
- [18] Hall, E.J. (1991) Weiss Lecture. The Dose-Rate Factor in Radiation Biology. *International Journal of Radiation Biology*, **59**, 595-610. <https://doi.org/10.1080/09553009114550531>
- [19] Feinendegen, L.E. and Cuttler, J.M. (2018) Biological Effects from Low Doses and Dose Rates of Ionizing Radiation: Science in the Service of Protecting Humans, a Synopsis. *Health Physics*, **114**, 623-626. <https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000833>
- [20] Sakai, K. (2016) [Biological Responses to Low Dose Radiation—Hormesis and Adaptive Responses]. *Yakugaku Zasshi*, **126**, 827-831. <https://doi.org/10.1248/yakushi.126.827>
- [21] Georgakilas, A.G., Pavlopoulou, A., Louka, M., *et al.* (2015) Emerging Molecular Networks Common in Ionizing Radiation, Immune and Inflammatory Responses by Employing Bioinformatics Approaches. *Cancer Letters*, **368**, 164-172. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.03.021>
- [22] Kern, P.M., Keilholz, L., Forster, C., Hallmann, R., Herrmann, M. and Seegenschmiedt, M.H. (2000) Low-Dose Radiotherapy Selectively Reduces Adhesion of Peripheral Blood Mononuclear Cells to Endothelium *in vitro*. *Radiotherapy & Oncology*, **54**, 273-282. [https://doi.org/10.1016/S0167-8140\(00\)00141-9](https://doi.org/10.1016/S0167-8140(00)00141-9)
- [23] Dhawan, G., Kapoor, R., Dhawan, R., *et al.* (2020) Low Dose Radiation Therapy as a Potential Life Saving Treatment for COVID-19-Induced Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *Radiotherapy & Oncology*, **147**, 212-216. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2020.05.002>
- [24] Kumar, R., Hareesh, K.P., Sharma, D.N., *et al.* (2021) Low-Dose Radiotherapy for COVID 19: A Radioimmunological Perspective. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, **17**, 295-302. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_1045_20
- [25] Kern, P.M. and Keilholz, L. (2009) Radio-Immunological Mechanisms of Anti-Inflammatory Treatment: Is There a Way from the Past into the Future. *Autoimmunity*, **42**, 337-339. <https://doi.org/10.1080/08916930902831027>
- [26] Arenas, M., Gil, F., Gironella, M., *et al.* (2006) Anti-Inflammatory Effects of Low-Dose Radiotherapy in an Experimental Model of Systemic Inflammation in Mice. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, **66**, 560-567. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2006.06.004>
- [27] Chew, M.T., Daar, E., Khandaker, M.U., Jones, B., Nisbet, A. and Bradley, D.A. (2021) Low Radiation Dose to Treat Pneumonia and Other Inflammations. *The British Journal of Radiology*, **94**, Article ID: 20201265. <https://doi.org/10.1259/bjr.20201265>
- [28] Calabrese, E.J. and Dhawan, G. (2013) How Radiotherapy Was Historically Used to Treat Pneumonia: Could It Be Useful Today. *Yale Journal of Biology and Medicine*, **86**, 555-570.
- [29] Venkatesulu, B.P., Lester, S., Hsieh, C.E., *et al.* (2021) Low-Dose Radiation Therapy for COVID-19: Promises and Pitfalls. *JNCI Cancer Spectrum*, **5**, pkaa103. <https://doi.org/10.1093/jncics/pkaa103>
- [30] Mims, J.W. (2015) Asthma: Definitions and Pathophysiology. *International Forum of Allergy & Rhinology*, **5**, S2-S6. <https://doi.org/10.1002/alr.21609>