

西咪替丁对低剂量率照射比格犬肝细胞凋亡的影响及其机制研究^Δ

王庆蓉*, 何颖#, 赵忆宁, 沈先荣, 刘玉明, 李珂娴, 罗群, 陈伟, 侯登勇(海军军医大学海军医学研究所防护医学研究室, 上海 200433)

中图分类号 R966 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)12-1623-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.12.08

摘要 目的:研究西咪替丁对低剂量率照射比格犬肝细胞凋亡的影响及其机制。方法:将健康雄性比格犬随机分为正常对照组、模型对照组、阳性药物组(香菇多糖, 21.33 mg/kg)和西咪替丁低、中、高剂量组(5.33、10.67、21.33 mg/kg), 每组4只。除正常对照组外, 其余各组比格犬均予⁶⁰Co-γ射线(剂量率:0.040 8 mGy/min)累积照射23 d, 各给药组于每日照射前口服相应药物1次。停止照射24 h后, 采用TUNEL法检测各组比格犬肝细胞凋亡情况, 并计算凋亡细胞百分比; 采用免疫组化法检测其肝组织中凋亡相关蛋白[Bax、Bcl-2、胱天蛋白酶3(Caspase-3)、p53]的表达水平。结果:与正常对照组比较, 模型对照组比格犬肝组织中凋亡细胞以及Bax、Caspase-3、p53阳性细胞均明显增加, 凋亡细胞百分比以及Bax、Caspase-3、p53蛋白表达水平均显著升高; Bcl-2阳性细胞明显减少, 其蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型对照组比较, 各给药组比格犬肝组织中上述阳性细胞均有不同程度的变化, 其中各给药组凋亡细胞百分比和p53蛋白表达水平, 阳性药物组和西咪替丁低、高剂量组Bax蛋白表达水平以及西咪替丁各剂量组Caspase-3蛋白表达水平均显著降低; 西咪替丁各剂量组Bcl-2蛋白表达水平均显著升高; 且西咪替丁中、高剂量组凋亡细胞百分比以及西咪替丁各剂量组Caspase-3蛋白表达水平均显著低于阳性对照组, 西咪替丁低剂量组p53蛋白表达水平显著高于阳性药物组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:西咪替丁可抑制低剂量率照射所致的比格犬肝细胞凋亡, 对其具有一定的辐射保护作用。这种作用可能与上调Bcl-2蛋白的表达, 下调Bax、Caspase-3、p53蛋白的表达有关。

关键词 西咪替丁; 低剂量率辐射; 肝脏; 肝细胞凋亡; 凋亡相关蛋白; 比格犬; 防辐射; 机制

Effects of Cimetidine on Low Dose Rate Irradiation-induced Liver Cell Apoptosis in Beagle Dogs and Its Mechanism

WANG Qingrong, HE Ying, ZHAO Yining, SHEN Xianrong, LIU Yuming, LI Kexian, LUO Qun, CHEN Wei, HOU Dengyong (Dept. of Radiation Protection Medicine, Naval Medical Research Institute, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of cimetidine on low dose rate irradiation-induced liver cell apoptosis in Beagle dogs. METHODS: Healthy male Beagle dogs were randomly divided into normal control group, model control group, positive drug group (lentinan, 21.33 mg/kg) and cimetidine low-dose, medium-dose and high-dose groups (5.33, 10.67, 21.33 mg/kg), with 4 Beagle dogs each. Except for normal control group, other groups were given ⁶⁰Co-γ accumulative irradiation (dosage rate:

2017, 8(43):73529-73546.

- [19] 李静平, 顾雯, 倪艺榕, 等. 人参皂苷 Rg3 对糖尿病大鼠难愈创面表皮细胞及血管新生的影响[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(4):551-556.
- [20] MAIJER KI, NOORT AR, DE HAIR MJ, et al. Nuclear factor-κB-inducing kinase is expressed in synovial endothelial cells in patients with early arthritis and correlates with markers of inflammation: a prospective Cohort study [J]. *J Rheumatol*, 2015, 42(9):1573-1581.
- [21] NOORT AR, VAN ZOEST KP, WEIJERS EM, et al. NF-

kappaB-inducing kinase is a key regulator of inflammation-induced and tumour-associated angiogenesis[J]. *J Pathol*, 2014, 234(3):375-385.

- [22] HEINEKE J, AUGER-MESSIER M, XU J, et al. Cardiac myocyte GATA4 functions as a stress-responsive regulator of angiogenesis in the murine heart[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11):3198-3210.
- [23] JIA W, WU W, YANG D, et al. GATA4 regulates angiogenesis and persistence of inflammation in rheumatoid arthritis[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5):503-518.
- [24] SU CM, HUANG CY, TANG CH. Characteristics of resistin in rheumatoid arthritis angiogenesis[J]. *Biomark Med*, 2016, 10(6):651-660.

Δ 基金项目: 国家科技重大专项(No.2014ZX09J14103-07B)

* 高级实验师。研究方向: 辐射防护医学。E-mail: qingrongw@126.com

通信作者: 副研究员。研究方向: 辐射防护医学。E-mail: ying-he_hys@163.com

(收稿日期: 2018-12-14 修回日期: 2019-05-06)

(编辑: 段思怡)

0.040 8 mGy/min) for 23 d; the medication groups were given relevant medicine orally before irradiation, once a day. Twenty-four hours after stopping irradiation, TUNEL method was used to detect the apoptosis of liver cells in Beagle dogs. The percentage of apoptotic cells was calculated. The expression level of apoptosis-related proteins (Bax, Bcl-2, Caspase-3, p53) in liver tissue was detected by immunohistochemistry. RESULTS: Compared with normal control group, apoptotic cells and Bax, Caspase-3, p53 positive cells were increased significantly in liver tissue of Beagle dogs in model control group; the percentage of apoptotic cells, protein expression levels of Bax, Caspase-3 and p53 were increased significantly; Bcl-2 positive cells were decreased significantly, and its protein expression level was decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with model control group, above positive cells of liver tissue in Beagle dogs were changed to different extents in medication groups; the percentage of apoptotic cells and protein expression levels of p53 in medication groups, protein expression levels of Bax in positive drug group, cimetidine low-dose and high-dose groups as well as protein expression levels of Caspase-3 in cimetidine groups were decreased significantly; protein expression levels of Bcl-2 were increased significantly in cimetidine groups. The percentage of apoptotic cells in cimetidine medium-dose and high-dose groups as well as protein expression levels of Caspase-3 in cimetidine groups were all lower than positive control group. Protein expression level of p53 in cimetidine low-dose group was significantly higher than positive drug group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). CONCLUSIONS: Cimetidine can inhibit the low dose rate irradiation-induced apoptosis of liver cells in Beagle dogs, and certainly protect liver cells against irradiation. The mechanism of it may be associated with up-regulating the protein expression of Bcl-2 and down-regulating the protein expression of Bax, Caspase-3 and p53 in liver cells.

KEYWORDS Cimetidine; Low dose rate irradiation; Liver; Liver cell apoptosis; Apoptosis-related proteins; Beagle dogs; Irradiation-resistance; Mechanism

随着核能应用(涉及医学、军事、工业领域)的多样化、普遍化,人们受到辐射损伤的风险也随之升高。低剂量电离辐射(Low-dose radiation, LDR)可通过调节细胞信号转导来改变多种基因和蛋白的表达,从而产生不同于大剂量照射且复杂多样的生物效应^[1-3]。近年来,LDR的健康效应受到了放射生物学家的极大关注,但由于其致机体损伤的作用机制尚存有争议,故现有研究不多。西咪替丁是第一个用于临床的H₂受体拮抗药,主要用于治疗胃及十二指肠溃疡、上消化道出血等疾病。随着药理学研究的不断深入,研究者发现该药具有许多不同于其他H₂受体拮抗药的新用途,如辐射防护作用^[4-6]。本课题组前期研究了西咪替丁对LDR小鼠、大鼠和犬的防护作用,发现其对LDR模型动物的造血系统和抗氧化系统均具有较好的防护效果^[7-9]。在此基础上,本研究以对放射较敏感的肝脏为对象,重点观察了西咪替丁对低剂量率照射(即长期累积剂量超过100 mGy,但剂量率低于5 mGy/h,更接近职业人群实际受辐射情况^[10])致比格犬肝细胞凋亡的保护作用以及对凋亡相关蛋白表达的调节作用,以期阐明该药防护LDR的作用机制、研发新型抗LDR药物奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

JJ-12J型脱水机、JB-P5型包埋机(武汉俊杰电子有限公司);RM2016型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);KD-P型组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);XSP-C204型显微镜(重庆光电仪器有限公司);5418R型台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);TB-214型精密电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

1.2 药品与试剂

西咪替丁片(江苏鹏鹞药业有限公司,批号:1509241,规格:0.2 g);香菇多糖片(阳性对照,浙江普洛康裕天然药物有限公司,批号:150401,规格:基片重0.1 g);兔源Bax多克隆抗体(武汉博奥森生物科技有限公司,批号:bs-0127R);兔源p53多克隆抗体(美国OmnimAbs公司,批号:om267038);兔源胱天蛋白酶3(Caspase-3)多克隆抗体、兔源Bcl-2多克隆抗体(英国Abcam公司,批号分别为Ab4051、Ab117115);山羊抗兔辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗、乙二胺四乙酸(EDTA)抗原修复液(pH 9.0)、山羊血清、蛋白酶K工作液、Harris苏木精染色液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为GB23303、G1203、G1208、G1205、G1004);TUNEL检测试剂盒(瑞士Roche公司,批号:11684817910);二氨基联苯胺(DAB)显色剂(丹麦Dako公司,批号:K5007);其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

普通级比格犬24只,雄性,体质量8~10 kg,由上海交通大学农学院教学实验场提供[动物生产许可证号:SCXK(沪)2012-0005]。

2 方法

2.1 分组

所有比格犬均适应性喂养1周后,随机分为6组,即正常对照组、模型对照组、阳性药物组[香菇多糖,21.33 mg/kg;剂量参考犬体质量(12 kg)并按照该药临床成人剂量(800 mg/d)换算而得(换算系数为0.32,下同)]以及西咪替丁低、中、高剂量组[5.33、10.67、21.33 mg/kg,剂量参考犬体质量(12 kg)并分别按照该药临床成人剂量(200、400、800 mg/d)换算而得]^[11],每组4只。实验过程

中,所有比格犬均单笼饲养,自由饮水,并喂以专用膨化饲料,每日2次。

2.2 照射与给药

除正常对照组外,其余各组比格犬均予⁶⁰Co-γ射线累积照射,剂量率为0.040 8 mGy/min,每日照射18 h,连续照射23 d(最后一天照射9 h)。各给药组比格犬均于每日照射前给予相应药物1次(将犬固定,用开口器将犬的数颗门齿固定好,将药物放至比格犬舌根部,迅速闭合口腔,使犬自然吞咽服下药物);正常对照组和模型对照组比格犬不作任何处理。

2.3 样本采集

当累积照射剂量接近1.0 Gy时(即连续照射23 d后),停止照射。于停止照射24 h后,静脉注射3%戊巴比妥钠对各组比格犬进行麻醉,解剖,取出其肝组织适量(约1 cm×1 cm×2 cm),置于10%甲醛溶液中固定2~3 d后,行常规石蜡包埋、切片(厚度约为3 μm),备用。

2.4 肝细胞凋亡情况检测

采用TUNEL法检测比格犬肝细胞的凋亡情况。取“2.3”项下肝组织石蜡切片,脱蜡后置于水中,滴加蛋白酶K工作液适量,于37℃下孵育25 min;以pH 7.4磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次,每次5 min;滴加TUNEL检测试剂盒内试剂1和试剂2的混合溶液[即末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)-三磷酸脱氧尿苷(dUTP),体积比为1:9],于37℃下孵育2 h;以PBS洗涤3次,每次5 min,将样本转移至3% H₂O₂中,于室温下避光孵育15 min,以PBS洗涤3次,每次5 min;经DAB显色后,用水冲洗终止显色;以Harris苏木精染色液轻度复染,脱水、透明、封片,置于显微镜下观察(凋亡阳性细胞的细胞核内可见棕黄色颗粒)。每只犬每张切片随机挑选6个视野拍照,采用ImagePro Plus 6.0软件进行图像分析,并计算凋亡细胞百分比(凋亡细胞百分比=凋亡细胞数/总细胞数×100%)。

2.5 凋亡相关蛋白表达情况检测

采用免疫组化法检测比格犬肝组织中Bax、Bcl-2、Caspase-3、p53蛋白的表达情况。取“2.3”项下肝组织石蜡切片,脱蜡后置于水中,以EDTA抗原修复液进行修复,随后加入3% H₂O₂以灭活内源性过氧化物酶,用10%山羊血清封闭30 min,分别滴加Bcl-2、Bax、Caspase-3、p53多克隆抗体(稀释度均为1:50),4℃孵育过夜;滴加HRP标记二抗(1:1),常温孵育50 min;以DAB显色,Harris苏木精染色液轻度复染,脱水、透明、封片,置于显微镜下观察(p53阳性细胞的细胞核呈棕黄色,其余蛋白阳性细胞的胞质内可见棕黄色颗粒)。每只犬每张切片随机挑选6个视野拍照,采用ImagePro Plus 6.0软件对染色阳性区域进行分析,计算阳性细胞的累积光密度值(IOD)以表示凋亡相关蛋白的表达水平。

2.6 统计学方法

采用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析。采用

Shapiro-Wilk法进行正态性检验,采用Levene检验进行方差齐性检验。符合正态分布且方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 肝细胞凋亡检测结果

正常对照组比格犬肝组织中偶见凋亡细胞;停止照射后,与正常对照组比较,模型对照组比格犬肝组织中凋亡细胞明显增加,其凋亡细胞百分比显著升高,差异有统计意义($P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组比格犬肝组织中凋亡细胞均有所减少,其凋亡细胞百分比均显著降低,且西咪替丁中、高剂量组显著低于阳性药物组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),详见图1、表1(图中,“→”所指为普通细胞,呈蓝色;“↘”所指为相应凋亡细胞,呈棕黄色;下同)。

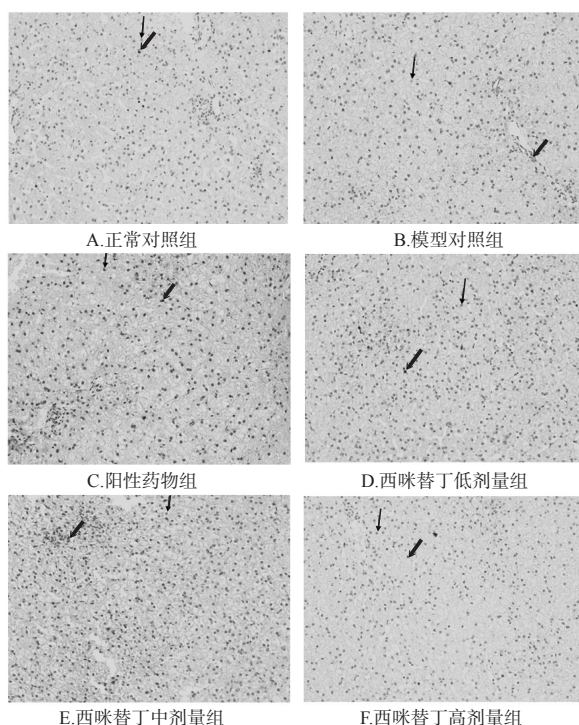


图1 各组比格犬肝细胞凋亡情况显微图(TUNEL法,×200)

Fig 1 Micrographs of liver cell apoptosis in Beagle dogs of each group (TUNEL method, ×200)

3.2 凋亡相关蛋白表达检测结果

正常对照组比格犬肝组织中可见不同程度的Bax、Bcl-2、Caspase-3、p53蛋白阳性染色;停止照射后,与正常对照组比较,模型对照组比格犬肝组织中Bax、Caspase-3、p53阳性细胞明显增多、其蛋白表达水平显著升高,Bcl-2阳性细胞明显减少、其蛋白表达水平显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组比格犬肝组织中凋亡相关蛋白的阳性染色情况均有不同程度的改变,其中阳性药物组和西咪替丁低、高剂量组比格犬肝组织中Bax蛋白表达水

表1 西咪替丁对比格犬肝细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

Tab 1 Effects of cimetidine on liver cell apoptosis and the expression of apoptosis-related protein in Beagle dogs ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	凋亡细胞百分比, %	目标蛋白表达水平(IOD值)			
		Bax	Bcl-2	Caspase-3	p53
正常对照组	1.31 ± 0.71	16 337.03 ± 7 428.11	1 977.21 ± 866.37	455.11 ± 196.13	1 476.51 ± 423.28
模型对照组	4.51 ± 2.13**	25 144.16 ± 10 017.45*	852.49 ± 385.47**	2 636.55 ± 1 168.97**	8 804.54 ± 3 708.36*
阳性药物组	2.76 ± 1.17 [#]	18 737.70 ± 7 372.15 [#]	1 326.31 ± 554.44	2 632.55 ± 1 103.37	891.75 ± 403.45 ^{##}
西咪替丁低剂量组	2.23 ± 1.07 ^{##}	15 624.23 ± 6 777.93 [#]	1 659.69 ± 373.24 [#]	1 317.23 ± 588.54 [#]	2 083.70 ± 589.42 ^{##, Δ, ΔΔ}
西咪替丁中剂量组	1.66 ± 0.55 ^{##, Δ, ΔΔ}	20 126.53 ± 5 067.27	2 096.22 ± 981.05 [#]	1 483.64 ± 574.11 ^{#, Δ}	946.84 ± 415.28 ^{##}
西咪替丁高剂量组	1.06 ± 0.52 ^{##, Δ, ΔΔ}	14 983.49 ± 5 239.46 ^{##}	2 465.14 ± 589.91 [#]	1 349.45 ± 573.37 ^{#, Δ}	755.31 ± 378.79 ^{##}

注:与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$;与阳性药物组比较, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; vs. positive drug group, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$

平,西咪替丁各剂量组 Caspase-3 蛋白表达水平以及各给药组 p53 蛋白表达水平均显著降低,西咪替丁各剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平均显著升高;且西咪替丁各剂量组 Caspase-3 蛋白表达水平均显著低于阳性药物组,西咪替丁低剂量组 p53 蛋白表达水平显著高于阳性药物组,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),详见图 2~图 5、表 1。

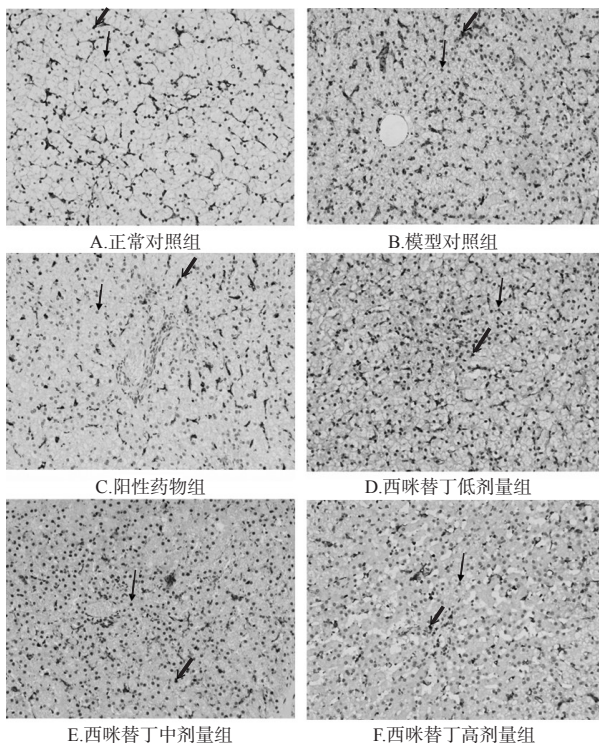


图2 各组比格犬肝组织中 Bax 蛋白表达显微图(免疫组化法, ×200)

Fig 2 Micrographs of Bax protein expression in liver tissue of Beagle dogs of each group (immunohistochemical method, ×200)

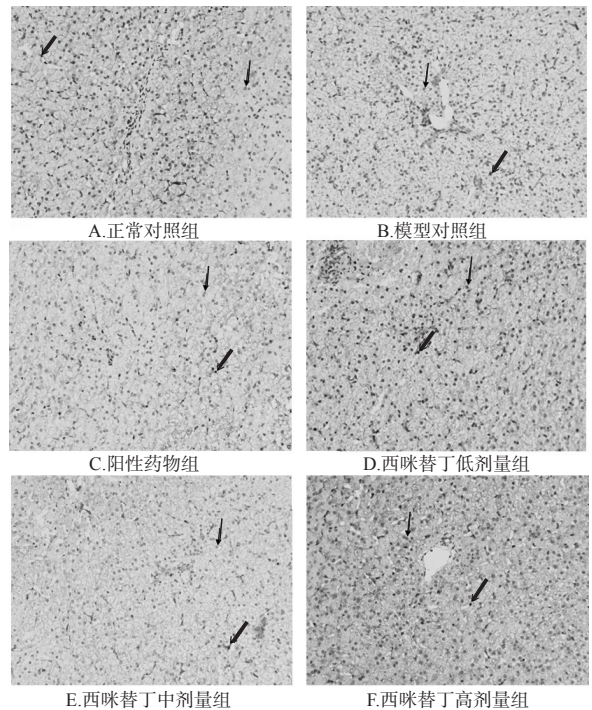


图3 各组比格犬肝组织中 Bcl-2 蛋白表达显微图(免疫组化法, ×200)

Fig 3 Micrographs of Bcl-2 protein expression in liver tissue of Beagle dogs of each group (immunohistochemical method, ×200)

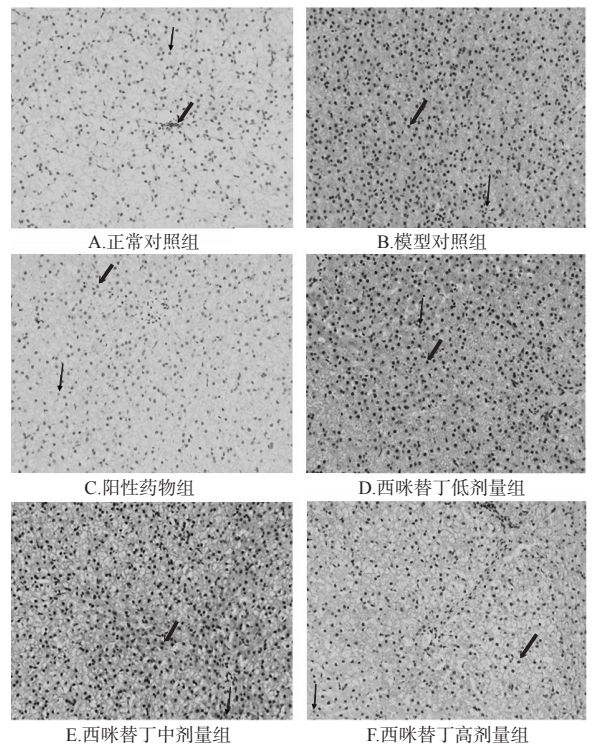


图4 各组比格犬肝组织中 Caspase-3 蛋白表达显微图(免疫组化法, ×200)

Fig 4 Micrographs of Caspase-3 protein expression in liver tissue of Beagle dogs of each group (immunohistochemical method, ×200)

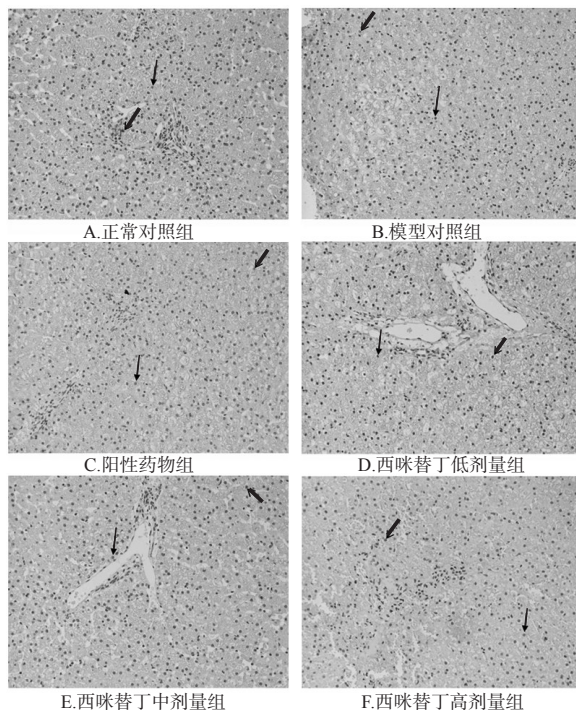


图5 各组比格犬肝组织中p53蛋白表达显微图(免疫组化法,×200)

Fig 5 Micrographs of p53 protein expression in liver tissue of Beagle dogs of each group (immunohistochemical method, ×200)

4 讨论

体内外研究结果表明,西咪替丁具有较好的辐射防护作用,可能与其清除自由基、增加抗氧化酶表达及活性、调节机体免疫功能、保护造血功能等有关^[5-6,12-13],但其具体的作用机制尚不清楚。2002年,日本学者Kojima Y等^[5]通过离体外周血淋巴细胞试验证实了西咪替丁对大剂量X射线诱导的淋巴细胞微核发生和细胞凋亡具有一定的抑制作用。细胞凋亡受多基因共同调控,如Bcl-2家族、Caspase家族、p53等。有研究表明,辐射可激活Caspase-3,并同时诱导Bax编码基因的表达;p53参与辐射诱导的DNA损伤所致的凋亡过程,且其可被Bcl-2编码基因抑制^[14-15]。已有研究表明,抗氧化剂能保护辐射诱导的细胞凋亡,具有明显的辐射防护效应^[16]。西咪替丁具有较强的清除自由基、增强抗氧化酶表达及活性的作用,对大剂量X射线诱导的淋巴细胞凋亡具有保护作用^[8,17-18]。随着核能应用的日益广泛,人们受到LDR(尤其是低剂量率照射)影响的概率要远远高于大剂量电离辐射,但目前有关LDR损伤防护药物的研究却十分有限;Mozdarani H等^[19]报道了西咪替丁对低剂量快中子辐射损伤的防护作用;Jiang DW等^[20]报道了西咪替丁对长期低剂量率中子和γ射线混合照射致大鼠辐射损伤的防护作用。因此,为进一步挖掘相关辐射防护药物,有必要深入开展西咪替丁对LDR(尤其是低剂量率照射)防护作用的研究。

由于多糖具有较好的抗氧化、提高免疫力的作用,故近年来其抗辐射的作用也日益受到学者的关注。香菇多糖片为临床常用药物,主要用于慢性乙型迁延性肝炎和消化道肿瘤放化疗的辅助治疗,已有文献报道了其辐射损伤小鼠的防护作用^[21],因此本研究以香菇多糖片作为阳性对照药物。肝脏是机体重要的代谢器官,也是对放射较敏感的器官之一,其放射敏感性弱于骨髓、淋巴组织、小肠、性腺、胚胎和肾^[22]。本研究以低剂量照射比格犬肝脏为靶器官,以其肝细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达情况为指标,初步探讨了西咪替丁的抗辐射作用及可能机制。

本研究结果显示,以低剂量率连续照射23 d、累积剂量近1.0 Gy时,比格犬肝组织中可见明显的凋亡细胞,其凋亡细胞百分比较正常对照组显著升高。免疫组化试验结果显示,经低剂量率照射后,比格犬肝组织中Bax、Caspase-3、p53阳性染色细胞明显增多,其蛋白表达水平均较正常对照组显著升高;Bcl-2阳性染色细胞明显减少,其蛋白表达水平显著降低。这表明低剂量率(0.040 8 mGy/min)⁶⁰Co-γ射线累积照射近1.0 Gy可导致比格犬肝细胞发生凋亡,造成一定程度的辐射损伤,且这种损伤与上调Bax、Caspase-3、p53蛋白表达,下调Bcl-2蛋白表达有关,这与已有文献结果^[23]基本相符。经西咪替丁预处理后,各给药组比格犬肝组织中凋亡细胞均有不同程度的减少,其凋亡细胞百分比均显著降低。免疫组化结果显示,各给药组比格犬肝组织中凋亡蛋白的表达均有不同程度的改变,其中阳性药物组和西咪替丁低、高剂量组比格犬肝组织中Bax蛋白表达水平,西咪替丁各剂量组Caspase-3蛋白表达水平以及各给药组p53蛋白表达水平均显著降低;西咪替丁各剂量组Bcl-2蛋白表达水平均显著升高。这提示西咪替丁能有效抑制低剂量率照射所致的肝细胞凋亡,并减少Bax、Caspase-3、p53蛋白的表达,促进Bcl-2蛋白的表达,与文献报道的西咪替丁可促进肿瘤细胞凋亡^[24-26]相矛盾。笔者推测这可能与西咪替丁对正常细胞和肿瘤细胞存在双向调节作用有关,但具体作用机制尚不明确,有待进一步研究探讨。此外本研究结果还显示,西咪替丁中、高剂量组比格犬凋亡细胞百分比以及西咪替丁各剂量组比格犬肝组织中Caspase-3蛋白表达水平均显著低于阳性药物组,而西咪替丁低剂量组比格犬肝组织中p53蛋白表达水平显著高于阳性药物组。这提示高剂量西咪替丁对低剂量率照射比格犬肝细胞凋亡的抑制作用可能强于阳性对照药物,而中、高剂量西咪替丁对Bax、Bcl-2、p53等凋亡相关蛋白表达的调控作用则与阳性药物相当。

综上所述,西咪替丁可抑制低剂量率照射所致的比格犬肝细胞凋亡,对其具有一定的辐射保护作用。这种作用可能与上调Bcl-2蛋白的表达,下调Bax、Caspase-3、p53蛋白的表达有关。但西咪替丁对LDR致损

伤的保护作用分子机制及其抗凋亡的信号通路还有待后续深入研究。

参考文献

- [1] MANCUSO M, PASQUALI E, GIARDULLO P, et al. The radiation bystander effect and its potential implications for human health[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(5): 613-624.
- [2] MARTIN LM, MARPLES B, LYNCH TH, et al. Exposure to low dose ionizing radiation: Molecular and clinical consequences[J]. *Cancer Lett*, 2014, 349(1): 98-106.
- [3] GORI T, MUNZEL T. Biological effects of low-dose radiation: of harm and hormesis[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(3): 292-295.
- [4] FARHAN F, KAZEMIAN A, ALAGHEBAND H. in vitro radioprotective effects of histamine H₂ receptor antagonists against gamma-rays induced chromosomal aberrations in human lymphocytes[J]. *Iran J Radiat Res*, 2003, 1(2): 99-104.
- [5] KOJIMA Y, KONDO T, ZHAO QL. Protective effects of cimetidine on radiation-induced micronuclei and apoptosis in human peripheral blood lymphocytes[J]. *Free Radic Res*, 2002, 36(3): 255-563.
- [6] MOZDARANI H, SALIMI M, FROUGHIZADEH M. Effect of cimetidine and famotidine on survival of lethally gamma irradiated mice[J]. *Iran J Radiat Res*, 2008, 5(4): 187-194.
- [7] 张俊玲, 何颖, 王庆蓉, 等. 西咪替丁对0.7 Gy照射小鼠嗜多染红细胞微核的保护作用[J]. *解放军医学杂志*, 2015, 40(12): 950-954.
- [8] 赵忆宁, 何颖, 沈先荣, 等. 西咪替丁对低剂量电离辐射致大鼠氧化应激的保护作用[J]. *解放军医学杂志*, 2017, 42(2): 128-133.
- [9] 何颖, 赵忆宁, 沈先荣, 等. 西咪替丁对低剂量辐射比格犬的保护作用[J]. *解放军药学报*, 2018, 34(2): 124-126.
- [10] 闵锐. 低剂量/低剂量率电离辐射与辐射生物效应[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2014, 32(6): 3-11.
- [11] 郝光荣. *实验动物学*[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 1999: 232.
- [12] MOZDARANI H. Can cimetidine be used as a radioprotector? [J]. *J Iran Univ Med Sci*, 1996, 3(1/2): 106-117.
- [13] 王庆蓉, 张俊玲, 何颖, 等. 西咪替丁对急性照射小鼠存活率及造血系统改变的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2017, 42(1): 61-65.
- [14] XING F, ZHAN Q, HE Y, et al. 1 800 mHz microwave induces p53 and p53-mediated caspase-3 activation leading to cell apoptosis in vitro[J]. *PLoS One*, 2016. DOI:10.1371/journal.pone.0163935.
- [15] LIU Q, SI T, XU X, et al. Electromagnetic radiation at 900 mHz induces sperm apoptosis through Bcl-2, Bax and caspase-3 signaling pathways in rats[J]. *Reprod Health*, 2015. DOI:10.1186/s12978-015-0062-3.
- [16] USHAKOVA T, MELKONYAN H, KONOVA L, et al. Modification of gene expression by dietary antioxidants in radiation-induced apoptosis of mice splenocytes[J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 26(7/8): 887-891.
- [17] KIRKOVA M, ATANASSOVA M, RUSSANOV E. Effects of cimetidine and its metal complexes on nitroblue tetrazolium and ferricytochrome C reduction by superoxide radicals[J]. *Gen Pharmacol*, 1999, 33(3): 271-276.
- [18] MIURA Y, ANZAI K, UEDA J, et al. Novel approach to in vivo screening for radioprotective activity in whole mice: in vivo electron spin resonance study probing the redox reaction of nitroxyl[J]. *J Radiat Res*, 2000, 41(2): 103-111.
- [19] MOZDARANI H, KHOSHBIN-KHOSHNAZAR AR. In vivo protection by cimetidine against fast neutron-induced micronuclei in mouse bone marrow cells[J]. *Cancer Letters*, 1998, 124(1): 65-71.
- [20] JIANG DW, WANG QR, SHEN XR, et al. Radioprotective effects of cimetidine on rats irradiated by long-term, low-dose-rate neutrons and ⁶⁰Co γ-rays[J]. *Mil Med Res*, 2017. DOI:10.1186/s40779-017-0116-7.
- [21] 柳迎华, 李明春. 香菇多糖注射液对慢性低剂量辐射损伤小鼠的防护作用[J]. *解放军药学报*, 2012, 28(3): 200-204.
- [22] 高东伟. 原发性肝癌正常肝组织放射生物效应的早期实验研究[D]. 济南: 山东省医学科学院, 2007.
- [23] 崔玉芳, 丁彦青, 杜雪梅. 细胞凋亡与辐射免疫损伤研究进展[J]. *国外医学放射医学核医学分册*, 2002, 26(6): 271-274.
- [24] 姜成钢, 李嘉斌, 徐惠绵, 等. 西咪替丁对胃癌细胞SGC-7901增殖及凋亡的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(2): 118-122.
- [25] JIANG CG, LIU FR, YU M, et al. Cimetidine induces apoptosis in gastric cancer cells in vitro and inhibits tumor growth in vivo[J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(3): 693-700.
- [26] 郑溢声, 武宁, 宁允叶, 等. 西咪替丁对人肺腺癌A549细胞增殖和凋亡的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2011, 38(10): 1097-1100.

(收稿日期: 2018-09-08 修回日期: 2019-04-01)

(编辑: 张元媛)