

黄芪甲苷对肝细胞的辐射防护作用

胡雅梦 刘琅嬛 刘宝婵 肖方竹 唐艳 何淑雅 黄波

(南华大学公共卫生学院 衡阳 421001)

摘要 以 γ -射线辐照 L-02 细胞建立辐射损伤模型, 用不同浓度的黄芪甲苷对其进行处理。通过 MTT 法检测细胞存活率; 克隆形成实验观察黄芪甲苷对辐照后 L-02 细胞克隆形成的影响; 生长曲线观察黄芪甲苷对 L-02 细胞的增殖能力的影响; WST-1 法检测总超氧化物歧化酶(SOD)活力; 微板法检测还原型谷胱甘肽(GSH)活力及丙二醛(MDA)含量; DCFH-DA 法检测活性氧(ROS)含量。结果表明: 终浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$ 以下的黄芪甲苷对 L-02 细胞增殖无影响; 辐照后细胞存活率随受照剂量增大而降低, 随辐照后时间增长而降低; 黄芪甲苷能够提高辐射损伤后 L-02 细胞的增殖能力, 抑制辐射所致的胞内 ROS 和 MDA 含量升高, 同时使胞内 SOD 和 GSH 活力有所恢复。推测黄芪甲苷可能是通过清除 L-02 细胞内的自由基降低 γ -射线诱发的氧化损伤发挥辐射防护作用。

关键词 黄芪甲苷, 辐射防护, 活性氧, 肝细胞

中图分类号 TL71

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.060202

Radioprotective effects of astragaloside IV on the liver cell

HU Yameng LIU Langhuan LIU Baochan XIAO Fangzhu

TANG Yan HE Shuya HUANG Bo

(School of Public Health University of South China, Hengyang 42100, China)

ABSTRACT L-02 cells were treated with astragaloside IV of different concentrations, and irradiated with γ -rays to establish the radiation damage models. MTT method was used to detect cell viability. Clone formation assay and growth curves were used to observe the effects of astragaloside IV on clone formation and proliferative capability. WST-1 method, microplate test, and DCFH-DA method were used to detect SOD activity, GSH activity, MDA content, and ROS content, respectively. The results showed that astragaloside IV had no effect on the proliferation of L-02 cells when the concentrations were less than 80 $\mu\text{g/mL}$. The cell viability decreased with the increasing absorbed doses and time after irradiation. Astragaloside IV could improve the proliferative capability of L-02 cells after irradiation and inhibit the increase of intracellular ROS and MDA contents caused by irradiation, as well as rejuvenate the intracellular SOD and GSH activities to some extent. Therefore, astragaloside IV may reduce the oxidative injury

基金资助: 国家自然科学基金项目(81272994)、湖南省卫生计生委科研计划课题项目(C2015-17)、湖南省教育厅科学研究项目(13C805)和南华大学研究生科研创新项目(2014XCX24)资助

第一作者: 胡雅梦, 女, 1989年6月出生, 2013年毕业于南华大学预防医学专业, 现为该校硕士研究生

通讯作者: 黄波, 博士, 副教授, E-mail: huangbo0930@163.com

收稿日期: 初稿 2015-09-07; 修回 2015-10-01

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81272994), Health and Family Planning Commission Scientific Research of Hunan Province (C2015-17), Education Department Scientific Research of Hunan Province(13C805), and Graduate Student Research Innovation Project of University of South China(2014XCX24)

First author: HU Yameng, female, was born in June 1989; graduated from Preventive Medicine Specialty of University of South China in 2013; now is a master candidate

Corresponding author: Ph. D. HUANG Bo, associate professor, E-mail: huangbo0930@163.com

Received 07 September 2015; accepted 01 October 2015

induced by γ -rays by eliminating free radicals within L-02 cells to realize radiation-protective effects.

KEYWORDS Astragaloside IV, Radioprotection, Reactive oxygen species, Liver cell

CLC TL71

肝癌是我国发病率最高的癌症,其发病率为25.7/10万,病死率位于恶性肿瘤第3位,因其易转移和复发的性质,导致预后差,生存率低。而在这些患者中,约70%的人接受放射治疗,从而产生各种不良反应,如骨髓造血抑制、肺纤维化及皮炎等^[1-2],对正常组织细胞的损害已成为放射治疗的缺陷。电离辐射诱导细胞产生大量活性氧(ROS),它与许多疾病的发病机制相关^[3],为了增强正常组织细胞的抗辐射能力,高效低毒或无毒、提高正常组织修复能力的辐射防护药物成为了研究热点。随着现代技术对中药的研究,发现很多中药具有清除自由基、保护造血系统和增强机体免疫的作用^[4],且中药种类多,活性成分多,毒性低,从中研发出符合上述要求的药物的可能性是非常巨大的。

黄芪(*Astragalus membranaceus*)是我国传统的中草药,为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根,其活性成分为黄芪甲苷(Astragaloside IV)和黄芪多糖。黄芪甲苷为环阿尔廷型三萜皂苷类化合物,许多研究证实黄芪甲苷具有治疗心血管疾病^[5]、抗纤维化、抗炎、抗衰老、抗氧化、抗高糖及增强免疫等药理活性^[6-8],且没有明显的毒副作用。然而,仍未有研究发现黄芪甲苷对肝细胞的具1有辐射保护作用。本研究的目的是观察黄芪甲苷对经电离辐射后的肝细胞的保护作用,为开发新的辐射防护药物提供了新的视角和思路。

1 材料与方法

1.1 试剂

黄芪甲苷(南京泽朗医药有限公司),纯度98%,用二甲基亚砜(DMSO)溶解定容100 mg/mL,避光保存,用前以培养基稀释,使DMSO的终浓度小于0.1%。DMSO、MTT(Sigma公司,美国);RPMI1640培养基(Gibco公司,美国);胎牛血清(杭州四季青生物科技公司);活性氧(ROS)测定试剂盒、细胞丙二醛(MDA)测定试剂盒、总超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒、还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);Giemsa染液由本实验室自制。

1.2 仪器

Cs-137生物辐照仪(HXFS-IA型)中国核动力原设备制造厂所研制,辐照类型:时间;模式:连续顺(容器连续顺时针旋转);源行程:0(源固定);剂量率415.3 cGy/min。

1.3 细胞培养及分组

人肝细胞L-02由中国军事医学科学院周平坤教授惠赠,L-02细胞培养于10%FBS、1%双抗的RPMI1640培养基中。

将L-02细胞分为4组:①对照组(不接受辐照和药物处理)、②黄芪甲苷组(给予不同浓度黄芪甲苷处理)、③辐照组(接受不同剂量照射)、④黄芪甲苷+辐照组(黄芪甲苷作用12 h后接受照射)。

1.4 MTT法检测L-02细胞活力

取指数生长期的L-02细胞,接种于96孔板,每孔 1×10^4 个细胞,贴壁后,更换黄芪甲苷终浓度为0、20、40、60和80 $\mu\text{g/mL}$ 的培养液和DMSO(黄芪甲苷溶剂)终浓度0.08%的培养液各200 μL ,每一浓度设6个复孔。继续培养24、48和72 h后,用MTT法检测。

取指数生长期的L-02细胞,用培养液配成单个细胞悬液,置于离心管中,用 γ -射线照射0、0.5、1、2、4、6和8 Gy,照后立即将细胞接种于96孔板中,每孔200 μL 细胞悬液(1×10^4 个细胞)。于照射24、48和72 h后,用MTT法检测。

96孔板每孔加20 μL MTT(5 mg/mL),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育4 h,弃去培养液,每孔加入150 μL DMSO,室温下振荡仪振荡10 min,用酶联免疫检测仪测定490 nm波长处的光吸收值(OD)。

细胞存活率=实验组平均OD值/对照组平均OD值 $\times 100\%$ 。

1.5 生长曲线

取指数生长期的L-02细胞,用培养液配成单个细胞悬液,接种于24孔板中,每孔1 mL细胞悬液(5000个细胞),贴壁后,去掉培养基,加入黄芪

甲苷终浓度为 0、20 和 40 $\mu\text{g/mL}$ 的培养液，每个浓度设 3 个复孔，每隔 24 h 计数一次，连续 7 d。

1.6 细胞克隆形成率实验

取指数生长期的 L-02 细胞，按一定细胞数量接种于 60 mm 培养皿（0、0.5、1 Gy 500 个/皿，2 Gy 1000 个/皿，4、8 Gy 2000 个/皿），接种 4 h 后更换黄芪甲苷终浓度为 0、20、40 $\mu\text{g/mL}$ 的培养液，作用 12 h 后照射不同剂量的 γ -射线，照射后 48 h 撤药继续培养，以上实验点复种 3 皿，每 3 d 换一次新鲜培养液，10 d 后弃上清，PBS 洗一遍，用 75% 乙醇固定 30 min，Giemsa 染色 30 min，计含 50 个细胞以上的克隆数。检测细胞存活分数。

存活分数(%)=克隆数/(实验组接种细胞数 $\times$ 细胞贴壁率) $\times$ 100%。

1.7 活性氧(ROS)检测

取指数生长期的 L-02 细胞，将细胞分为①对照组②黄芪甲苷组(80 $\mu\text{g/mL}$)③辐照组(8 Gy)④黄芪甲苷+辐照组(20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ +8 Gy)。黄芪甲苷组和黄芪甲苷+辐照组于照射前 12 h 更换黄芪甲苷终浓度为 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 的培养液，给予 8 Gy 照射后细胞继续培养 48 h。采取原位装载探针，培养液稀释 DCFH-DA，使其终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ ，去掉旧培养液，加入适量稀释好的含 DCFH-DA 的培养液，37 $^{\circ}\text{C}$ 细胞培养箱孵育 60 min 后，制成细胞悬液，收集细胞，用 PBS 洗涤 1-2 次，离心收集细胞沉淀物用于荧光检测，将收集好的细胞用 PBS 重悬，使用荧光分光光度计进行检测（激发波长 500 $\pm$ 15 nm，发射波长 530 $\pm$ 20 nm）。

1.8 MDA、SOD 和 GSH 检测

取对数生长期的细胞，按上述分组及处理后，给予 8 Gy 照射后细胞继续培养 48 h，去掉旧培养液，用冷 PBS 漂洗两遍，加入预冷的细胞裂解液 500 μL ，冰上裂解 40 min，细胞刮收集细胞，4 $^{\circ}\text{C}$ 12 000 r/min 离心 15 min，取上清，BCA 测蛋白浓度，具体操作按试剂盒说明书进行。

1.9 数据分析

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间差异比较采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析，检验水准 $\alpha=0.05$ ，以 $p<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪甲苷对 L-02 细胞存活率的影响

由图 1 可知，0、20、40 和 80 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的黄芪甲苷与 L-02 细胞作用 24、48 和 72 h 后，细胞存活率无明显差别，差异无统计学意义($p>0.05$)。说明此浓度范围的黄芪甲苷对 L-02 细胞的存活率均不会产生影响。

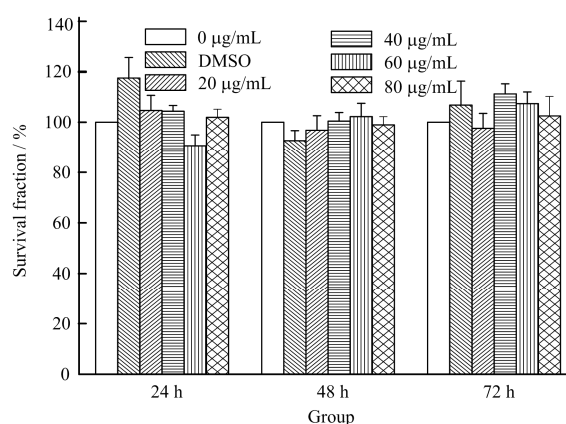


图 1 不同浓度黄芪甲苷对 L-02 细胞存活率的影响
Fig.1 Effects of ASIV concentrations on survival fraction of L-02 cells

2.2 电离辐射对 L-02 细胞存活率的影响

为了确定合适的电离辐射剂量，采用 MTT 实验分析不同剂量(0、0.5、1、2、4、8Gy)的电离辐射、在不同时间下对 L-02 细胞活力的改变。图 2 表明，L-02 细胞活力与受照剂量与时间存在正相关，即与正常对照组相比，各实验组细胞活力随受照剂量增大而降低，随辐照后时间增长而降低。其中照射 8 Gy 组，照后 48 h 时细胞存活率为 63.4%，因此我们选择 8 Gy 作为后续实验的剂量。

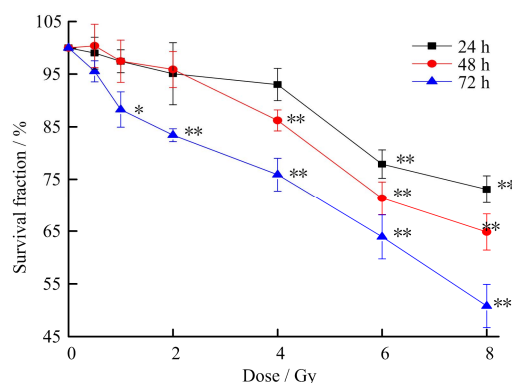


图 2 剂量对 L-02 细胞存活率的影响
Fig.2 Dose effects of radiation on survival fraction of L-02 cells (* $p<0.05$, ** $p<0.01$)

2.3 黄芪甲苷对 L-02 细胞增殖能力的影响

使用 0、20、40 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芪甲苷对 L-02 细胞连续作用 7 d, 图 1 结果显示: 20、40 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷组细胞的增殖能力无明显影响, 仅在第 4 天 40 $\mu\text{g/mL}$ 组与对照组相比细胞个数出现明显增加 ($p<0.05$), 其余天数差异均无统计学意义 ($p>0.05$)。

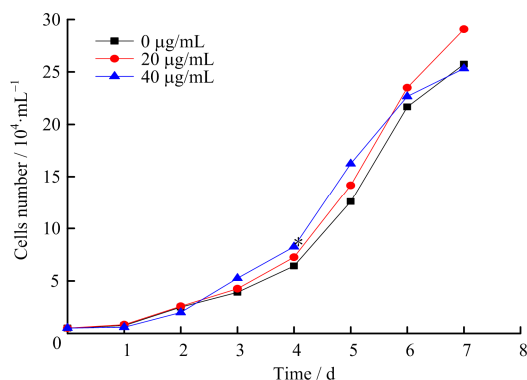


图3 黄芪甲苷对细胞生长的影响
Fig.3 Effects of ASIV concentration on L-02 cell growth (* $p<0.05$)

2.4 黄芪甲苷对辐射后 L-02 细胞存活率的影响

由图 4 可知, 与相同受照剂量的辐照组相比, 黄芪甲苷+辐照组的存活分数均明显提高, 差异有统计学意义 ($p<0.05$), 以 20 $\mu\text{g/mL}$ 浓度组的存活分数提高最明显, 说明辐照前 12 h 使用黄芪甲苷预处理 L-02 细胞能有效的防护电离辐射导致的辐射损伤。20、40 $\mu\text{g/mL}$ 浓度组在 0.5 Gy 处存活分数分别达到 114.2%、106.6%, 可能是黄芪甲苷能够有效的修复低剂量照射对细胞产生的损伤。8 Gy 照射后各浓度组均没有细胞集落形成。

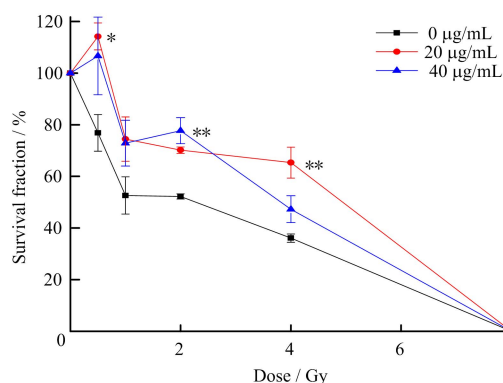


图4 黄芪甲苷对细胞克隆形成的影响
Fig.4 Effects of ASIV concentration on clone formation of L-02 cells (* $p<0.05$, ** $p<0.01$)

2.5 L-02 细胞的 ROS 含量改变

采用荧光探针 DCFH-DA 检测 L-02 细胞内的 ROS 含量, 由图 5 可知: 对照组与黄芪甲苷组 ROS 含量无明显差别 ($p>0.05$); 照射 8 Gy 时 ROS 含量明显增加, 最高达 298.1, 辐照+黄芪甲苷(20、40、80 $\mu\text{g/mL}$)组 ROS 分别为 233.7、156.1 和 135.5。与辐照组相比, 黄芪甲苷+辐照组 ROS 含量明显降低 ($p<0.05$), 且随着黄芪甲苷浓度的增加 ROS 降低越明显, 这表明减少胞内 ROS 含量可能是黄芪甲苷发挥辐射保护作用的机制之一。

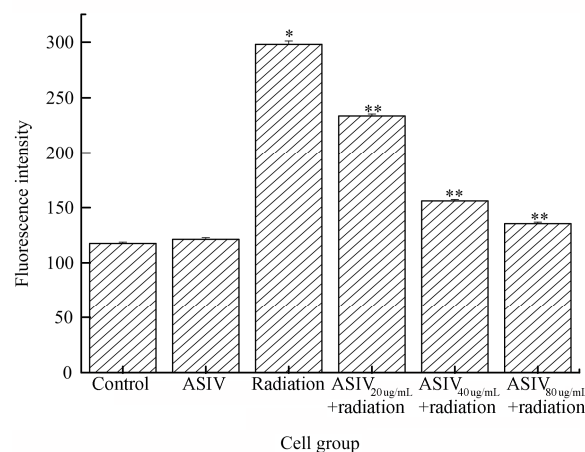


图5 黄芪甲苷对辐射诱导的 L-02 细胞内 ROS 生成的影响
与对照组相比* $p<0.01$; 与辐照组相比** $p<0.01$
Fig.5 Effects of ASIV on intracellular ROS production in L-02 cell induced by irradiation: compared with control
* $p<0.01$; Compared with radiation ** $p<0.01$

2.6 L-02 细胞的 GSH 和 SOD 活力及 MDA 含量的改变

由表 1 所示, 与对照组相比, 黄芪甲苷组 SOD、GSH 活力无明显改变 ($p>0.05$), 辐照组 SOD、GSH 活力明显降低 ($p<0.05$)。在辐照+黄芪甲苷组中, 各组 SOD、GSH 活力均明显高于辐照组 ($p<0.05$ 或 $p<0.01$), 且随着药物浓度的增加 SOD、GSH 活力有逐渐增高的趋势。其中 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷+辐照组 GSH 活力两两之间比较均有显著差异 ($p<0.01$)。20 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷+辐照组 SOD 活力虽有增高但无统计学意义 ($p>0.05$), 20 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷+辐照组与 80 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷+辐照组 SOD 活力比较有显著差异 ($p<0.05$)。与对照组相比, 黄芪甲苷组 MDA 含量无明显改变 ($p>0.05$), 辐照组 MDA 含量明显增高 ($p<0.05$)。在辐照+黄芪甲苷组中, 各组

MDA 含量均明显低于照射组($p<0.05$ 或 $p<0.01$),且随着药物浓度的增加 MDA 含量有逐渐减少的趋

势; 其中 20、40、80 $\mu\text{g/mL}$ 黄芪甲苷+辐照组两两之间比较均有显著差异($p<0.01$)。

表 1 不同组间 L-02 细胞内 SOD、GSH 和 MDA 的变化
Table 1 Comparison of SOD, GSH, and MDA in L-02 cell under irradiation

Groups	SOD / $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$	GSH / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	MDA / $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$
Control	131.18 $\pm$ 5.05	38.00 $\pm$ 0.89	2.40 $\pm$ 0.72
ASIV(80 μmL^{-1})	130.27 $\pm$ 5.37	33.33 $\pm$ 0.27	2.54 $\pm$ 0.73
Radiation(8 Gy)	102.41 $\pm$ 2.70*	20.91 $\pm$ 0.41*	8.86 $\pm$ 0.27*
ASIV(20 μmL)+8 Gy	114.82 $\pm$ 3.62	30.76 $\pm$ 0.93 ^{##}	6.90 $\pm$ 0.15 [#]
ASIV(40 μmL)+8 Gy	129.80 $\pm$ 7.80 [#]	36.23 $\pm$ 0.60 ^{##}	5.07 $\pm$ 0.11 ^{##}
ASIV(80 μmL)+8 Gy	139.13 $\pm$ 7.83 ^{##}	40.70 $\pm$ 0.77 ^{##}	3.11 $\pm$ 0.11 ^{##}

注: 与对照组相比* $p<0.01$; 与辐照组相比[#] $p<0.05$, ^{##} $p<0.01$ 。

Note: Compared with control * $p<0.01$; Compared with radiation group [#] $p<0.05$, ^{##} $p<0.01$.

3 讨论

近年来对黄芪甲苷抗氧化抗辐射的研究越来越多, 实验表明, 在辐照前给予黄芪甲苷预处理小鼠能改变骨髓细胞周期, 减少 DNA 损伤, 下调 Bax/Bcl-2 比值^[9]。此外, 黄芪甲苷能通过抑制 MAPK 和 NF- κ B 活性下调 MMP-1 的表达; 降低 TGF- β 1 浓度, 以及增加 TIMP-1 表达, 降低紫外线照射对人皮肤成纤维细胞的损伤^[10]。一般情况下, 电离辐射使细胞产生自由基导致细胞脂质过氧化损伤, 并且抑制由 SOD、GSH 及其他抗氧化酶构成的抗氧化系统。许多黄芪甲苷抗辐射的研究表明黄芪甲苷是通过清除自由基和提高抗氧化酶活力发挥抗辐射作用。研究发现经辐照后, 与空白组比较黄芪甲苷组小鼠模型组小鼠 30 d 存活率降低, 死亡小鼠平均存活时间缩短; 小鼠肝细胞广泛肿胀, 出现大滴性脂肪变、气球样变, 肝脏细胞点状坏死严重, 炎症因子大面积浸润组织; 外周白细胞计数减少; 骨髓细胞 DNA 含量减少; 血清 SOD 活性减弱^[11]。本实验运用黄芪甲苷作用于正常肝细胞, 发现不同浓度不同时间的黄芪甲苷处理 L-02 细胞后, 细胞存活率均无明显改变。进一步研究表明黄芪甲苷能增强辐照后细胞的增殖能力。电离辐射可以引起细胞内 DNA 损伤、细胞凋亡、细胞周期改变、信号转导、氧化应激反应^[12]。其中氧化应激是指某种原因(如电离辐射)导致细胞内自由基量的增加, 超出机体的清除能力时, 导致活性氧在机体或胞内蓄积造成组织、细胞损伤的一种状态。本实验采用 γ -射线辐照 L-02 细胞, 结果显示, 不同剂量的辐照对细胞存活率的影响存在剂量-效应和时间-效应关系。

电离辐射对细胞的辐射损伤机制可分为直接作

用和间接作用。直接作用指细胞内的大分子直接吸收辐射能量, 通过引起分子电离激发或化学键的断裂而导致分子的化学结构发生变化。间接作用是指电离辐射先作用于水分子, 使之发生电离形成自由基, 这些自由基再与大分子物质发生作用, 导致其结构和功能发生改变。因此抗氧化剂常被用于治疗辐射损伤, 防止遭受细胞免活性氧损伤必须保持胞内抗氧化酶的稳定, 尤其是保持超氧化物歧化酶和谷胱甘肽活力的稳定。SOD 在体内氧化与抗氧化平衡中起着重要作用, 通过清除 O_2^- 降低 OH 含量发挥抗氧化作用保护细胞免受损伤。GSH 是谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽硫转移酶的底物, 能直接清除体内亲电化合物, 是一种重要的抗氧化剂。活性氧(Reactive oxygen species)为自由基的一类, 在外界条件如电离辐射的刺激下, 在体内大量产生, 而机体的抗氧化系统不能及时将其清除则易诱发多聚不饱和脂肪酸的脂质过氧化, 使细胞膜结构和功能发生改变^[13]。MDA 是生物膜中多价不饱和脂肪酸与自由基作用生成的脂质过氧化代谢的终产物, 能引起细胞代谢及功能障碍, 可反映机体内脂质过氧化程度, 因此可通过检测 MDA 含量来反映细胞的损伤程度。本实验研究结果显示, 与对照组相比, 辐照组 SOD、GSH 活力均明显下降, ROS、MDA 含量均升高。与辐照组相比, 黄芪甲苷+辐照组的 SOD、GSH 活力明显增高, ROS、MDA 含量明显减少, 差异有统计学意义($p<0.05$)。说明细胞在辐照前使用黄芪甲苷能有效地减少由辐照诱导的自由基的含量以及减轻脂质过氧化引起的损伤, 提高细胞的抗氧化能力。

综上所述, 黄芪甲苷可以减轻 γ -射线所导致的肝细胞的氧化应激损伤, 黄芪甲苷能提高受损细胞

的增殖能力,通过抑制脂质过氧化物 MDA、胞内 ROS 含量的升高而发挥抗辐射作用。

参考文献

- 1 Lachumy S J, Oon C E, Deivanai S, *et al.* Herbal remedies for combating irradiation: a green anti-irradiation approach [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013, **14**(10): 5553-5565. DOI: 10.7314/APJCP.2013.14.10.5553.
- 2 胡丽娜,倪瑾,蔡建明. 辐射防护剂和辐射增敏剂的研究进展 [J]. *中国辐射卫生*, 2010(03): 381-383. DOI: 10.13491/j.cnki.issn.1004-714x.2010.03.072.
HU Lina, NI Jin, CAI Jianming. Present status and progress in research on radioprotective and radiosensitize agents [J]. *Chinese Journal of Radiological Health*, 2010 (03): 381-383. DOI: 10.13491/j.cnki.issn.1004-714x.2010.03.072.
- 3 Xu P, Jiang E J, Wen S Y, *et al.* Amentoflavone acts as a radioprotector for irradiated v79 cells by regulating reactive oxygen species (ROS), cell cycle and mitochondrial mass [J]. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, **15**(18): 7521-7526. DOI: 10.7314/APJCP.2014.15.18.7521.
- 4 裴凤锦,彭代银. 中药抗辐射作用的研究进展 [J]. *安徽医药*, 2011(07): 902-905.
CHANG Fengjin, PENG Daiyin. Research advance about anti-radiation effect of traditional Chinese medicine [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2011(07): 902-905.
- 5 Lu M, Tang F, Zhang J, *et al.* Astragaloside IV attenuates injury caused by myocardial ischemia/reperfusion in rats via regulation of toll-like receptor 4/nuclear factor-kappaB signaling pathway [J]. *Phytotherapy Research*, 2015, **29**(4): 599-606. DOI: 10.1002/ptr.5297.
- 6 Qiu L, Yin G, Cheng L, *et al.* Astragaloside IV ameliorates acute pancreatitis in rats by inhibiting the activation of nuclear factor-kappaB [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, **35**(3): 625-636. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2070.
- 7 QI Qing, MAO Yueping, YI Juanjuan, *et al.* Anti-fibrotic effects of Astragaloside IV in systemic sclerosis [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 2014, **34**(6): 2105-2116. DOI: 10.1159/000366405.
- 8 ZHAO Yan, LI Qiang, ZHAO Wenjun, *et al.* Astragaloside IV and cycloastragenol are equally effective in inhibition of endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in the endothelium [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, **169**: 210-218. DOI: 10.1016/j.jep.2015.04.030.
- 9 LI Yurong, CAO Wei, GUO Jun, *et al.* Comparative investigations on the protective effects of rhodioside, ciwujianoside-B and astragaloside IV on radiation injuries of the hematopoietic system in mice [J]. *Phytotherapy Research*, 2011, **25**(5): 644-653. DOI: 10.1002/ptr.3313.
- 10 YANG Bo, JI Chao, CHEN Xiaodong, *et al.* Protective effect of astragaloside IV against matrix metalloproteinase-1 expression in ultraviolet-irradiated human dermal fibroblasts [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2011, **34**(9): 1553-1560. DOI: 10.1007/s12272-011-0918-1.
- 11 刘耀,石英,刘职瑞,等. 黄芪多糖与黄芪甲苷配伍对辐射损伤模型小鼠的保护作用 [J]. *中国药房*, 2014(03): 211-214. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.07.
LIU Yao, SHI Ying, LIU Zhirui, *et al.* Protecctive effects of astragali radix polysaccharides combined with astragaloside IV against radiation injury model mice [J]. *China Academic Journal Electronic Publishing House*, 2014(03): 211-214. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.07.
- 12 Okunieff P, Swarts S, Keng P, *et al.* Antioxidants reduce consequences of radiation exposure [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2008, **614**: 165-178. DOI: 10.1007/978-0-387-74911-2_20.
- 13 Xu Y, Kalyanaraman B. Synthesis and ESR studies of a novel cyclic nitron spin trap attached to a phosphonium group-a suitable trap for mitochondria-generated ROS? [J]. *Free Radical Research*, 2007, **41**(1): 1-7. DOI: 10.1080/10715760600911147.