

红景天苷通过VIP-cAMP通路对大鼠腮腺放射性损伤的改善作用及机制^Δ

张春英^{1*}, 阴广维², 陈红¹, 尤鸣达¹, 刘金凤³, 张亚昆², 胡耀杰^{1#} (1.唐山市工人医院头颈外科, 河北唐山 063000; 2.唐山市工人医院外科, 河北唐山 063000; 3.华北理工大学附属医院外科, 河北唐山 063000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)22-2796-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.22.08



摘要 **目的** 探讨红景天苷对大鼠腮腺放射性损伤的改善作用及机制。**方法** 将大鼠随机分为正常组、放射组、红景天苷低剂量(红景天苷-L, 50 mg/kg)组、红景天苷高剂量(红景天苷-H, 100 mg/kg)组、红景天苷-H+抑制剂(100 mg/kg 红景天苷+0.1 μmol/kg H-89)组, 每组10只。除正常组外, 其余各组大鼠通过放射线照射构建腮腺放射性损伤模型。各组大鼠腹腔注射相应药物或生理盐水, 每日1次, 连续40 d。末次给药后, 检测血清中活性氧(ROS)、环磷酸腺苷(cAMP)、超氧化物歧化酶(SOD)、淀粉酶水平, 观察腮腺组织病理学变化, 检测腮腺组织细胞凋亡率和其中B细胞淋巴瘤2(Bcl-2)及其相关X蛋白(Bax)表达情况, 白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)mRNA表达水平, 以及Ⅲ型胶原蛋白(Col Ⅲ)、血管活性肠肽(VIP)蛋白表达水平和cAMP依赖性蛋白激酶(PKA)磷酸化水平。**结果** 与正常组比较, 放射组大鼠ROS、淀粉酶水平, 细胞凋亡率、Bax表达水平和IL-6、TNF-α mRNA表达水平以及Col Ⅲ蛋白表达水平均显著升高, cAMP、SOD水平, Bcl-2表达水平和VIP蛋白表达水平及PKA磷酸化水平均显著降低($P<0.05$); 与放射组比较, 红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠上述指标均显著改善($P<0.05$), 且红景天苷-H组改善更明显($P<0.05$); 抑制剂H-89显著逆转了红景天苷-H组大鼠上述指标的变化($P<0.05$)。**结论** 红景天苷可有效改善大鼠的腮腺放射性损伤, 其机制可能与激活VIP-cAMP通路有关。

关键词 红景天苷; 放射性损伤; 腮腺; VIP-cAMP通路

Improvement effect and mechanism of salidroside on radiation-induced parotid gland injury in rats by VIP-cAMP pathway

ZHANG Chunying¹, YIN Guangwei², CHEN Hong¹, YOU Mingda¹, LIU Jinfeng³, ZHANG Yakun², HU Yaojie¹ (1. Dept. of Head and Neck Surgery, Tangshan Workers' Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 2. Dept. of Surgery, Tangshan Workers' Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 3. Dept. of Surgery, the Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Hebei Tangshan 063000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the improvement effect and mechanism of salidroside on radiation-induced parotid gland injury in rats. **METHODS** Rats were randomly assigned into normal group, radiation group, salidroside low-dose (salidroside-L, 50 mg/kg) group, salidroside high-dose (salidroside-H, 100 mg/kg) group, and salidroside-H+inhibitor (100 mg/kg salidroside+0.1 μmol/kg H-89) group, with 10 rats in each group. Except for the normal group, rats in the other groups were subjected to radiation exposure to establish a model of radiation-induced parotid gland injury. Rats in each group were intraperitoneally injected with the corresponding drug or normal saline, once a day, for 40 consecutive days. After the last administration, the levels of reactive oxygen species (ROS), cyclic adenosine monophosphate (cAMP), superoxide dismutase (SOD), and amylase in serum were detected; the pathological changes of parotid gland tissue were observed; the apoptosis rate of parotid gland tissue cells, the expression levels of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and its associated X protein (Bax), mRNA expression levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α), the protein expression levels of type Ⅲ collagen (Col Ⅲ), vasoactive intestinal peptide (VIP), and the phosphorylation level of protein kinase A (PKA) in parotid gland tissue were determined. **RESULTS** Compared with normal group, the levels of ROS, amylase, apoptosis rate, Bax expression level, mRNA expression levels of IL-6 and TNF-α, and protein expression level of Col Ⅲ in the radiation group were significantly increased, while the levels of cAMP, SOD, Bcl-2 expression level, VIP protein expression level and PKA phosphorylation level were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with radiation group, the above indicators in

Δ 基金项目 河北省医学科学研究课题(No.20240944)
* 第一作者 副主任医师, 硕士。研究方向: 腮腺损伤方向基础研究。E-mail: vf9214@sina.com
通信作者 主任医师, 硕士。研究方向: 腮腺损伤方向基础研究。E-mail: Hu_yyjj@126.com

the salidroside-L group and salidroside-H group were significantly improved ($P<0.05$), and the improvement in the salidroside-H group was more significant ($P<0.05$); inhibitor H-89 significantly reversed the changes in the above indicators of the salidroside-H group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Salidroside can effectively alleviate radiation-induced parotid gland injury in rats, and its mechanism may be related to the activation of the VIP-cAMP pathway.

KEYWORDS salidroside; radiation injury; parotid gland; VIP-cAMP pathway

放疗是治疗头颈部肿瘤最常用的手段之一,在鼻咽癌、口腔癌、甲状腺癌的治疗中尤为重要。但放疗也存在一定的副作用,其中以唾液腺功能减退和口腔干燥综合征较为常见,常导致患者出现食欲不振、黏膜炎加重、吞咽困难等症状,影响其生存质量^[1-2]。因此,保护患者的唾液腺免受辐射损伤至关重要。研究表明,放射性唾液腺损伤的发生机制与辐射造成的细胞凋亡、脂质过氧化、炎症反应以及间质纤维化等密切相关^[3]。故探究这些病理过程在损伤机制中的具体作用,可为减轻放射性唾液腺损伤提供理论依据。

红景天苷是从红景天植物中分离的酚类化合物,具有抗氧化、抗炎和抗纤维化等多种生物活性^[4]。已有研究表明,红景天苷可通过抑制辐射诱导的细胞凋亡、增强抗氧化能力以清除活性氧(reactive oxygen species, ROS),并加速DNA修复,从而发挥辐射防护作用,提示红景天苷对放射性唾液腺损伤可能具有改善作用^[5]。环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)在细胞信号传导中具有核心作用,当细胞外信号分子(如激素或神经递质)与G蛋白偶联受体结合后,可激活G蛋白并进一步刺激腺苷酸环化酶转化为cAMP^[6]。血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)作为一种免疫神经肽,能够促进cAMP的释放^[7]。VIP-cAMP通路唾液淀粉酶分泌障碍密切相关,可能参与放射性唾液腺损伤的发生^[8]。基于此,本研究探究了红景天苷对腮腺放射性损伤模型大鼠的改善作用及对VIP-cAMP通路的影响,旨在为临床防治放射性唾液腺损伤提供实验依据和潜在治疗策略。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括BX61型显微镜(日本Olympus公司)、AU5800型全自动生化分析仪(美国Beckman Coulter公司)、SOMATOM Confidence型CT模拟定位机(德国Siemens公司)、RM2235型石蜡切片机(德国Leica公司)、ELx808型多功能酶标仪(美国BioTek公司)、DYCZ-40型电泳仪(北京六一生物科技有限公司)、L720R-3型冷冻离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司)、Applied Biosystems 7500型荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(美国ABI公司)、JB-P5型组织包埋

机(武汉俊杰电子有限公司)、ChemiDoc XRS型化学发光成像系统(美国Thermo Fisher Scientific公司)、Gel-Doc Go型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。

1.2 主要药品与试剂

红景天苷(批号YT62130)购于北京伊塔生物科技有限公司;cAMP特异性抑制剂H-89(批号HY-15979)购于美国MedChemExpress公司;淀粉酶检测试剂盒(货号ECAM-100)购于北京群晓科苑生物技术有限公司;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(批号E02695)购于上海瓦兰生物科技有限公司;cAMP试剂盒(批号ARD10-M1005)购于广州奥瑞达生物科技有限公司;ROS试剂盒(批号YT62130)购于上海远慕生物科技有限公司;兔源Ⅲ型胶原蛋白(type Ⅲ collagen, Col Ⅲ)、B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)、VIP、cAMP依赖性蛋白激酶(protein kinase A, PKA)、磷酸化PKA(phosphorylated PKA, p-PKA)单抗(批号分别为ab7778、ab196495、ab32503、ab10987、ab32398、ab131261)均购于英国Abcam公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗和兔源 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(批号分别为7074S、3700S)均购于美国Cell Signaling Technology公司;山羊抗兔IgG二抗(批号BA-1000)购于美国Vector Labs公司。

1.3 实验动物

无特异性病原体的SD大鼠50只,雄性,7周龄,体重(260 ± 20)g,购于长沙市天勤生物技术有限公司,生产许可证号为SCXK(湘)2024-0021。大鼠均在温度22~24℃、相对湿度50%~60%、12h光照/黑暗循环的环境中饲养。本研究已获得唐山市工人医院伦理委员会审核批准,编号为【2023】伦审研临第(089)号。

2 方法

2.1 建模、分组与给药

随机选取10只大鼠作为正常组,剩余40只大鼠通过放射线照射构建腮腺放射性损伤模型:以3 Gy/min对大鼠腮腺照射15 Gy放射线,照射面积为2 cm×4 cm,源皮距为100 cm,照射时间为5 min^[9]。照射完成2周后,以大鼠出现精神萎靡和唾液分泌量明显减少为建模成功。将建模成功的40只大鼠随机分为放射组、红景天苷

低剂量(红景天苷-L)组、红景天苷高剂量(红景天苷-H)组、红景天苷-H+抑制剂组,每组10只。红景天苷-L组、红景天苷-H组大鼠分别腹腔注射50、100 mg/kg的红景天苷^[10],红景天苷-H+抑制剂组大鼠腹腔注射100 mg/kg的红景天苷和0.1 μ mol/kg的H-89^[11],正常组和放射组大鼠均腹腔注射等体积生理盐水,每日1次,连续40 d。

2.2 血清中ROS、cAMP、SOD、淀粉酶水平检测

末次给药后,取各组大鼠腹主动脉血,于4℃下3 000 r/min离心15 min,收集上清液,按照试剂盒说明书操作,使用酶标仪检测血清中ROS、cAMP、SOD水平,使用全自动生化分析仪检测血清中淀粉酶水平。

2.3 腮腺组织病理学观察

取血后,分离各组大鼠腮腺组织,取部分腮腺组织固定在4%甲醛溶液(pH 7.0)中,用梯度乙醇脱水,然后用二甲苯处理、包埋、切片(5 μ m),再用苏木精溶液染色5 min,伊红溶液染色3 min,最后用梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。在显微镜下观察各组大鼠腮腺组织病理学变化。

2.4 腮腺组织中Bax和Bcl-2表达检测

取“2.3”项下各组大鼠的腮腺组织切片,经二甲苯和梯度乙醇常规脱蜡、水化后,用3%过氧化氢溶液中和非特异性过氧化物酶活性,并在柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0)中加热诱导抗原修复。切片经山羊血清封闭后,加入Bax、Bcl-2抗体(稀释比例均为1:200),于4℃孵育过夜;加入二抗,室温孵育1 h,随后加入新鲜制备的3,3'-二氨基联苯胺溶液进行显色,再经复染、脱水、透明、封片后,在显微镜下随机选取视野,使用Image-Pro Plus 6.0软件计算目的蛋白的光密度值,以反映表达水平。

2.5 腮腺组织细胞凋亡情况检测

取“2.3”项下各组大鼠的腮腺组织切片,在室温下用过氧化氢处理以淬灭内源性过氧化物酶,蛋白酶K消化去除组织蛋白,随后在37℃下暴露于TUNEL溶液中,加入3,3'-二氨基联苯胺溶液显色,洗涤后用1%盐酸乙醇溶液浸泡,自来水返蓝,常规脱水、透明、封片,在显微镜下随机选取视野,统计TUNEL阳性数量(显棕黄色),并计算其在该视野总细胞数中的占比,作为细胞凋亡率。

2.6 腮腺组织中白细胞介素6和肿瘤坏死因子 α mRNA表达检测

取“2.3”项下各组大鼠的腮腺组织,采用Trizol法提取总RNA并检测其浓度与纯度,随后取1 μ g总RNA反转录合成cDNA。以合成的cDNA为模板进行PCR扩增。以 β -actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算白细胞介素6

(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) mRNA的表达水平。反应体系(20 μ L)包含10 μ L 2 $\times$ qPCR Mix 1、1 μ L cDNA模板、正反向引物各0.4 μ L、8.2 μ L RNase-free ddH₂O。扩增条件:95℃预变性3 min;95℃变性10 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,共40个循环;最后72℃终延伸5 min,4℃保存。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司提供,IL-6正向序列为5'-CATCCTCGACGGCATCTCAG-3',反向序列为5'-TCACCAGGCAAGTCTCCTCA-3',产物大小为186 bp;TNF- α 正向序列为5'-CCCATGTTGTAGCA-AACCCCTC-3',反向序列为5'-GCTGGTTATCTCTCA-GCTCCAC-3',产物大小为225 bp; β -actin正向序列为5'-CGTAAAGACCTCTATGCCAACA-3',反向序列为5'-TAGGCCAGGGCAGTAATC-3',产物大小为154 bp。

2.7 腮腺组织中Col III、VIP、PKA、p-PKA蛋白表达检测

将“2.3”项下各组大鼠的腮腺组织,加入RIPA缓冲液进行匀浆,超声处理至均匀,离心后取上清液测定蛋白浓度,随后煮沸变性。每孔上样30 μ g变性蛋白,经电泳分离后,转膜,加入Col III、VIP、PKA、p-PKA、 β -actin抗体(稀释比例分别为1:500、1:1 000、1:500、1:1 000、1:1 000),4℃孵育过夜;次日,加入相应二抗(稀释比例为1:2 000),室温下孵育1.5 h;显影后,使用凝胶成像系统采集信号,使用Image J软件分析条带的灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的灰度值比值评价目的蛋白的表达水平,并以p-PKA与PKA的比值评价PKA的磷酸化水平。

2.8 统计学分析

采用SPSS 27.0软件进行统计分析。符合正态分布且方差齐性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两组间比较采用SNK- q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 红景天苷对大鼠血清中ROS、cAMP、SOD、淀粉酶水平的影响

与正常组比较,放射组大鼠血清中ROS和淀粉酶水平均显著升高,cAMP和SOD水平均显著降低($P<0.05$);与放射组比较,红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠血清中ROS和淀粉酶水平均显著降低,cAMP和SOD水平均显著升高($P<0.05$),且红景天苷-H组改善更明显($P<0.05$);与红景天苷-H组比较,红景天苷-H+抑制剂组大鼠血清中ROS和淀粉酶水平均显著升高,cAMP和SOD水平均显著降低($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠血清中ROS、cAMP、SOD、淀粉酶水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	ROS/(U/mL)	cAMP/(ng/mL)	SOD/(U/mg prot)	淀粉酶/(U/L)
正常组	48.52±4.97	2.67±0.29	284.26±28.67	1 143.25±164.19
放射组	85.64±8.78 ^a	0.77±0.09 ^a	123.52±12.44 ^a	2 231.51±234.84 ^a
红景天苷-L组	68.72±7.01 ^b	1.24±0.14 ^b	178.42±18.08 ^b	1 611.54±175.27 ^b
红景天苷-H组	50.24±5.11 ^{bc}	2.34±0.26 ^{bc}	246.75±21.88 ^{bc}	1 253.64±171.62 ^{bc}
红景天苷-H+抑制剂组	70.15±7.14 ^d	1.31±0.15 ^d	181.42±18.29 ^d	1 654.68±178.34 ^d

a: 与正常组比较, $P<0.05$; b: 与放射组比较, $P<0.05$; c: 与红景天苷-L组比较, $P<0.05$; d: 与红景天苷-H组比较, $P<0.05$ 。

3.2 红景天苷对大鼠腮腺组织病理变化的影响

正常组大鼠腮腺组织结构正常,细胞排列整齐,核深染无皱缩,胞质丰富;放射组大鼠腮腺组织呈现典型损伤特征,表现为细胞皱缩,核破碎,间质纤维组织增生,炎症细胞浸润;红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠腮腺组织的病理损伤均有不同程度改善,炎症反应与间质纤维化减轻,细胞形态趋于正常,其中红景天苷-H组改善更明显;红景天苷-H+抑制剂组大鼠腮腺组织的病理损伤程度较红景天苷-H组加重,接近红景天苷-L组。结果见图1。

3.3 红景天苷对大鼠腮腺组织中Bax和Bcl-2表达的影响

与正常组比较,放射组大鼠腮腺组织中Bax表达显著上调,Bcl-2表达显著下调($P<0.05$);与放射组比较,

红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠腮腺组织中Bax表达均显著下调,Bcl-2表达均显著上调($P<0.05$),且红景天苷-H组改善更明显($P<0.05$);与红景天苷-H组比较,红景天苷-H+抑制剂组大鼠腮腺组织中Bax表达显著上调,Bcl-2表达显著下调($P<0.05$)。结果见图2、图3和表2。

表2 各组大鼠腮腺组织中Bax、Bcl-2表达和细胞凋亡率比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	Bax光密度值	Bcl-2光密度值	细胞凋亡率/%
正常组	0.15±0.02	0.82±0.09	7.58±1.15
放射组	0.75±0.09 ^a	0.22±0.03 ^a	25.61±2.71 ^a
红景天苷-L组	0.48±0.06 ^b	0.46±0.05 ^b	15.32±1.67 ^b
红景天苷-H组	0.22±0.03 ^{bc}	0.74±0.08 ^{bc}	8.24±1.89 ^{bc}
红景天苷-H+抑制剂组	0.44±0.05 ^d	0.51±0.06 ^d	14.95±1.58 ^d

a: 与正常组比较, $P<0.05$; b: 与放射组比较, $P<0.05$; c: 与红景天苷-L组比较, $P<0.05$; d: 与红景天苷-H组比较, $P<0.05$ 。

3.4 红景天苷对大鼠腮腺组织细胞凋亡的影响

与正常组比较,放射组大鼠腮腺组织细胞凋亡率显著升高($P<0.05$);与放射组比较,红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠腮腺组织细胞凋亡率均显著降低($P<0.05$),且红景天苷-H组改善更明显($P<0.05$);与红景天苷-H组比较,红景天苷-H+抑制剂组大鼠腮腺组织细胞凋亡率显著升高($P<0.05$)。结果见图4和表2。

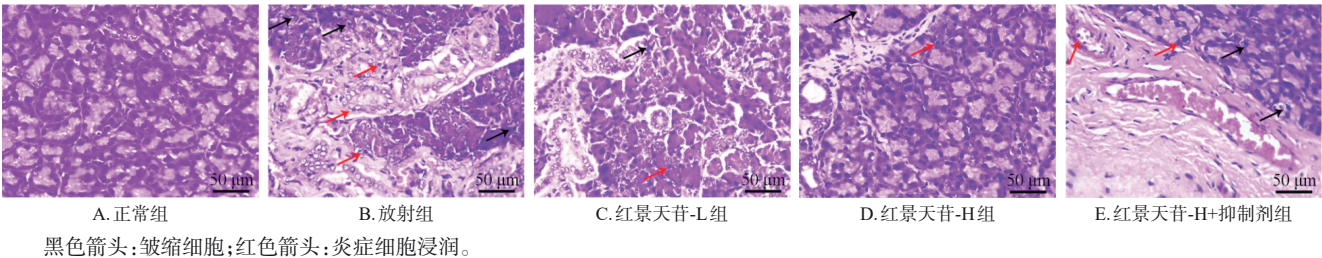


图1 各组大鼠腮腺组织病理显微图(苏木精-伊红染色)

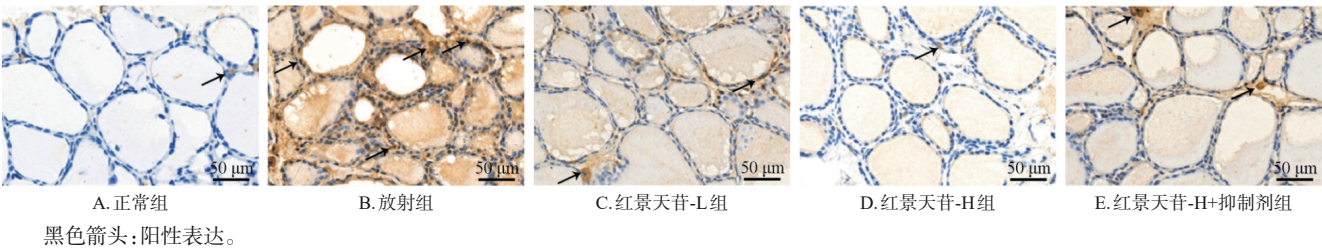


图2 各组大鼠腮腺组织中Bax表达的免疫组化图

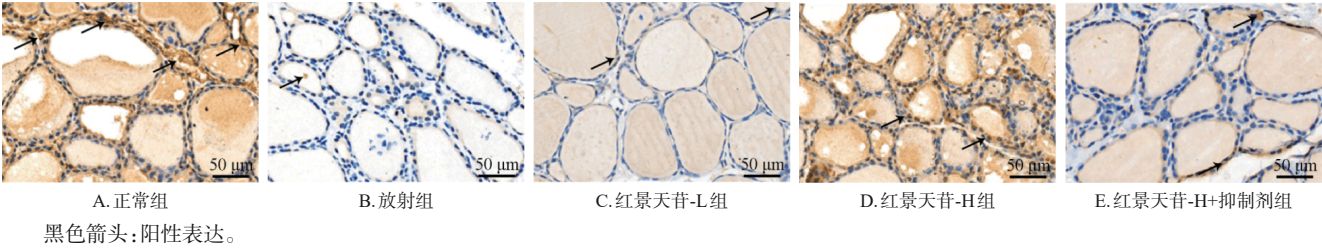
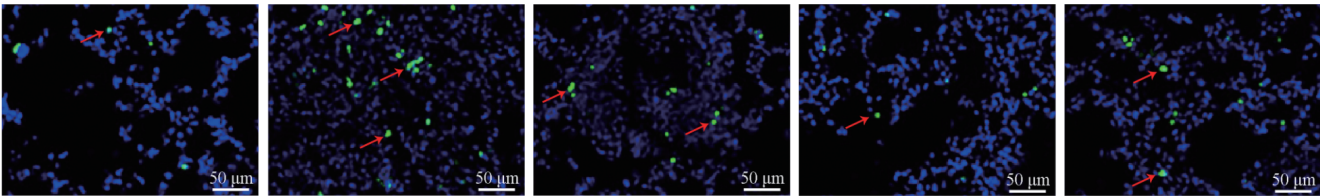


图3 各组大鼠腮腺组织中Bcl-2表达的免疫组化图



A. 正常组 B. 放射组 C. 红景天苷-L组 D. 红景天苷-H组 E. 红景天苷-H+抑制剂组
红色箭头:凋亡细胞。

图4 各组大鼠腮腺组织细胞凋亡的荧光图(TUNEL法)

3.5 红景天苷对大鼠腮腺组织中IL-6和TNF-α mRNA表达的影响

与正常组比较,放射组大鼠腮腺组织中IL-6和TNF-α mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$);与放射组比较,红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠腮腺组织中IL-6和TNF-α mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$),且红景天苷-H组改善更明显($P<0.05$);与红景天苷-H组比较,红景天苷-H+抑制剂组大鼠腮腺组织中IL-6和TNF-α mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠腮腺组织中IL-6和TNF-α mRNA表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	IL-6 mRNA	TNF-α mRNA
正常组	0.98±0.10	1.06±0.11
放射组	2.31±0.25 ^a	2.55±0.28 ^a
红景天苷-L组	1.67±0.18 ^b	1.78±0.18 ^b
红景天苷-H组	1.18±0.13 ^{bc}	1.21±0.14 ^{bc}
红景天苷-H+抑制剂组	1.71±0.18 ^d	1.81±0.19 ^d

a:与正常组比较, $P<0.05$;b:与放射组比较, $P<0.05$;c:与红景天苷-L组比较, $P<0.05$;d:与红景天苷-H组比较, $P<0.05$ 。

3.6 红景天苷对大鼠腮腺组织中ColⅢ、VIP、PKA、p-PKA蛋白表达的影响

与正常组比较,放射组大鼠腮腺组织中ColⅢ蛋白表达水平显著升高,VIP蛋白表达水平和PKA磷酸化水平均显著降低($P<0.05$);与放射组比较,红景天苷-L组和红景天苷-H组大鼠腮腺组织中ColⅢ蛋白表达水平均显著降低,VIP蛋白表达水平和PKA磷酸化水平均显著升高($P<0.05$),且红景天苷-H组改善更明显($P<0.05$);与红景天苷-H组比较,红景天苷-H+抑制剂组大鼠腮腺组织中ColⅢ蛋白表达水平显著升高,VIP蛋白表达水平和PKA磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。结果见图5和表4。

4 讨论

腮腺组织主要由浆液细胞组成,对放射线表现出较高的敏感性,其损伤形式以脱颗粒、萎缩等为主^[12]。放疗可直接诱导机体产生大量ROS,造成DNA氧化损伤并启动细胞凋亡程序;同时,ROS还能促进炎症细胞因子释放,加剧组织损伤,放大信号级联反应^[13-14]。Bcl-2是抑凋亡原癌基因,Bax是Bcl-2拮抗剂,放射线照射会

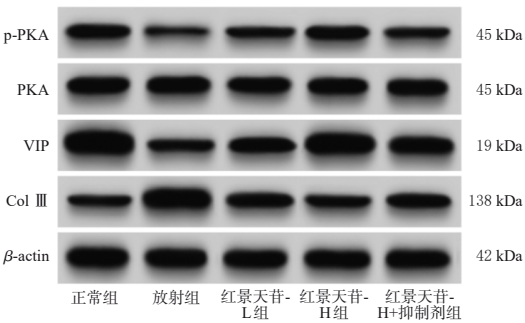


图5 各组大鼠腮腺组织中ColⅢ、VIP、p-PKA、PKA蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠腮腺组织中ColⅢ、VIP蛋白表达水平和PKA磷酸化水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	ColⅢ/β-actin	VIP/β-actin	p-PKA/PKA
正常组	0.46±0.05	1.48±0.16	0.85±0.09
放射组	1.24±0.14 ^a	0.54±0.06 ^a	0.25±0.03 ^a
红景天苷-L组	0.75±0.08 ^b	0.88±0.09 ^b	0.49±0.05 ^b
红景天苷-H组	0.51±0.06 ^{bc}	1.34±0.15 ^{bc}	0.79±0.08 ^{bc}
红景天苷-H+抑制剂组	0.69±0.07 ^d	0.91±0.10 ^d	0.51±0.06 ^d

a:与正常组比较, $P<0.05$;b:与放射组比较, $P<0.05$;c:与红景天苷-L组比较, $P<0.05$;d:与红景天苷-H组比较, $P<0.05$ 。

增加促凋亡蛋白表达并降低抗凋亡蛋白表达^[15]。本研究同样发现,放射线照射可导致大鼠腮腺组织损伤,提升或上调ROS和淀粉酶水平、细胞凋亡率和Bax表达,降低或下调SOD水平和Bcl-2表达,表明放疗能引起氧化应激并促进细胞凋亡。此外,放疗诱导的氧化应激还可促进间质性纤维化进展^[16-17]。ColⅢ是间质纤维化的重要标志物^[18]。本研究结果显示,红景天苷可减轻大鼠放射性腮腺损伤,降低或下调ROS和淀粉酶水平、细胞凋亡率、Bax表达、IL-6和TNF-α mRNA表达、ColⅢ蛋白表达,提高或上调SOD水平和Bcl-2表达。

cAMP作为第二信使分子,可磷酸化PKA表达进而产生一系列的生物学效应。研究表明,cAMP是调节唾液分泌的重要机制,与腺体分泌功能有关^[19]。VIP可通过与细胞膜上的VIP受体(如G蛋白偶联受体)结合,增加细胞内cAMP水平,从而促进PKA磷酸化^[20]。本研究结果显示,红景天苷可提高放射性腮腺损伤大鼠血清中cAMP水平,促进VIP蛋白表达和PKA磷酸化。同时,通过cAMP抑制剂验证发现,H-89能够显著逆转高剂量红景天苷对大鼠腮腺放射性损伤的改善作用。

综上所述,红景天苷可有效改善大鼠的腮腺放射性损伤,其机制可能与激活VIP-cAMP通路有关。但本研究尚未将临床常用的放疗防护剂作为阳性对照,难以直接比较红景天苷的相对疗效优势,也未检测VIP受体表达量及膜定位状态,直接证实VIP受体结合是红景天苷的作用靶点。下一步研究将补充阳性对照实验,并通过检测腮腺组织中VIP受体表达,或通过共聚焦显微镜观察VIP与受体的共定位情况,明确红景天苷是否通过调控受体环节增强VIP-cAMP通路活性。

参考文献

- [1] WANG X, WANG Y T, ZENG X L, et al. The single-strand DNA-binding protein SSB1 is involved in the expression of salivary gland radiation injury repair[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1471996.
- [2] AHMED S F, BAKR M A. Will *Nigella sativa* oil protect parotid glands of rats against cranium gamma irradiation? Histological and immunohistochemical evaluation[J]. BMC Complement Med Ther, 2024, 24(1): 111.
- [3] ZHANG T T, LIU C, MA S S, et al. Protective effect and mechanism of action of rosmarinic acid on radiation-induced parotid gland injury in rats[J]. Dose Response, 2020, 18(1): 1559325820907782.
- [4] LIANG K K, MA S H, LUO K, et al. Salidroside: an overview of its promising potential and diverse applications[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(12): 1703.
- [5] FENG T, WANG L B, ZHOU N, et al. Salidroside, a scavenger of ROS, enhances the radioprotective effect of Ex-RAD[®] via a p53-dependent apoptotic pathway[J]. Oncol Rep, 2017, 38(5): 3094-3102.
- [6] ALBERTS B, HEALD R, JOHNSON A, et al. Molecular biology of the cell[M]. 7th ed. New York: W. W. Norton & company, 2022: 892-911.
- [7] 杨伟宁, 姚锐, 王文升. 大黄素对术后肠梗阻大鼠胃肠动力、炎症和氧化应激反应的影响及机制研究[J]. 陕西医学杂志, 2023, 52(3): 252-256.
- [8] 吕慧. 四君子汤对脾虚大鼠腮腺唾液淀粉酶分泌障碍及VIP-cAMP信号通路的影响[J/OL]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(49): 2[2025-08-14]. <https://www.doc88.com/p-65059292688742.html>. DOI: CNKI: SUN: LCWX.0.2019-49-057.
- [9] 李遇春, 高艺榕, 蒋璐慧, 等. 玉郎伞多糖对放射性腮腺损伤模型大鼠的保护作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 78-84.
- [10] 张佑靖, 杨明. 红景天苷通过激活PI3K/Akt通路抑制氧化应激和免疫炎症反应减轻糖尿病大鼠视网膜病变[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(5): 404-409.
- [11] 朱曙光, 李曙晖, 陈鹏, 等. 麦冬皂苷D调节cAMP/PKA/CREB信号通路对炎症性肠病大鼠炎症损伤的影响[J]. 河北医学, 2024, 30(5): 781-787.
- [12] JIANG S J, XIAO X, LI J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide-glycoprotein ameliorates ionizing radiation-induced epithelial injury by regulating oxidative stress and ferroptosis via the Nrf2 pathway[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 204: 84-94.
- [13] GAO Y, CHEN B, WANG R R, et al. Knockdown of RRM1 in tumor cells promotes radio-/chemotherapy induced ferroptosis by regulating p53 ubiquitination and p21-GPX4 signaling axis[J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1): 343.
- [14] CHOI J S, SHIN H S, AN H Y, et al. Radioprotective effects of keratinocyte growth factor-1 against irradiation-induced salivary gland hypofunction[J]. Oncotarget, 2017, 8(8): 13496-13508.
- [15] 李智军, 姜海燕, 边超, 等. LINC01503调控ERK磷酸化促进食管鳞状细胞癌放疗抵抗的机制研究[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(2): 25-31.
- [16] ANNA Z, JOANNA K, SARA Z, et al. N-acetylcysteine supplementation did not reverse mitochondrial oxidative stress, apoptosis, and inflammation in the salivary glands of hyperglycemic rats[J]. Nutr Diabetes, 2021, 11(1): 35.
- [17] 孙丕云, 石彧, 郭会, 等. 益气解毒利咽方灌胃对放射性唾液腺损伤小鼠的治疗作用及机制[J]. 山东医药, 2024, 64(22): 42-46.
- [18] TAN M, LIU S Y, LIU L B. N6-methyladenosine (m6A) RNA modification in fibrosis and collagen-related diseases [J]. Clin Epigenetics, 2024, 16(1): 127.
- [19] 崔荣兴, 战丽彬, 孙晓霞, 等. 阴虚津亏模型小鼠颌下腺AQP5及cAMP/PKA-CREB信号通路的表达与意义[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(6): 149-153, 288.
- [20] LIN L N, JIANG Y Y, LIN P F, et al. Classical famous prescription of Jichuan decoction improved loperamide-induced slow transit constipation in rats through the cAMP/PKA/AQPs signaling pathway and maintained inflammatory/intestinal flora homeostasis[J]. Heliyon, 2023, 10(1): e21870.

(收稿日期: 2025-07-18 修回日期: 2025-11-04)

(编辑: 邹丽娟)