

虎地肠溶胶囊对放射性肠炎的防护作用及其机制

马洪林,周梦丽,饶先玥,汪浩,张明霞

摘要 目的 探讨在大鼠小肠隐窝细胞(IEC-6细胞)电离辐射损伤中,虎地肠溶胶囊的防护作用及其机制。方法 采用(2.4、6.8、10 Gy)的6兆伏的X射线对IEC-6细胞照射,细胞克隆形成实验检测细胞增殖,根据细胞存活率选用6 Gy辐射剂量建立细胞损伤模型。CCK-8法检测虎地肠溶提取液各浓度(12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)对IEC-6细胞活力的影响,检测在(10、20、40、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$)浓度下对辐射后IEC-6细胞活力影响。获取最佳照射剂量和提取液浓度后,将细胞分为对照组、模型组和虎地肠溶提取液组(80 $\mu\text{g}/\text{ml}$),对照组予以伪照射,其他两组均接受6 Gy电离辐射,虎地肠溶提取液组在照射前2 h药物预处理。Annexin V-PI双染色检测细胞凋亡; β -半乳糖苷酶(β -Gal)染色检测细胞衰老;DCFH-DA荧光探针检测活性氧;Western blot检测p16、p21、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD2)的相应蛋白质表达情况。结果 4~10 Gy辐射剂量均可抑制IEC-6细胞增殖($P < 0.001$);浓度为40、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的虎地肠溶提取液可提高受照射的IEC-6细胞的存活率($P < 0.001$);虎地肠溶提取液组细胞凋亡率、 β -Gal阳性率、DCFH-DA荧光强度低于模型组($P < 0.05$);虎地肠溶提取液组细胞中CAT、SOD2的蛋白质表达较模型组升高($P < 0.05$),p16、p21的蛋白质表达较模型组降低($P < 0.05$)。结论 虎地肠溶胶囊减轻了IEC-6细胞的辐射损伤,其作用机制可能与抑制活性氧产生,减少氧化应激,减轻细胞衰老及凋亡有关。

关键词 虎地肠溶提取液;电离辐射;氧化应激;衰老

中图分类号 R 815

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1256-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.002

放射性肠炎是盆腔肿瘤放射治疗中严重并发症之一,常表现为腹痛、腹泻、肠出血、肠梗阻等,严重时可出现肠穿孔危及生命^[1]。一旦出现上述严重并发症,会导致放疗的中止,严重影响了患者的预

后。目前临床缺乏有效的防治药物,但一些中药制剂表现一定疗效。中医学认为放射线属“火热毒邪”,放疗后邪毒侵袭致脾胃功能受损,水湿内生,肠道功能传导失常谓之泄泻^[2]。石文君等^[3]研究表明放射治疗会引起火毒之邪,致脾胃功能减退,体内湿气增加,正气内虚加剧,外邪更旺,是以正气内虚为本,火毒侵袭为标。中医治疗主要为清热利湿,活血化瘀。虎地肠溶胶囊具有清热、利湿作用,可用于治疗非特异性溃疡性结肠炎等^[4]。有研究^[5]表明虎地肠溶胶囊在宫颈癌放疗中使用可延缓放射性肠炎的发生,但具体机制不明。此次实验以大鼠小肠隐窝细胞(IEC-6细胞)为研究对象,探讨虎地肠溶胶囊放射性肠炎防治方面的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 大鼠IEC-6细胞购自上海富衡生物科技有限公司。DMEM高糖培养基、青链霉素双抗溶液购自美国Hyclone公司;澳洲胎牛血清购自美国Gibco公司;虎地肠溶胶囊购自安徽九方制药有限公司(产品批号:190404);Anti-P21、Anti-P16购自英国Abcam公司; β -actin、超氧化物歧化酶2(superoxide dismutase2, SOD2)、过氧化氢酶(catalase, CAT)抗体购自上海信裕生物工程有限公司; β -半乳糖苷酶染色试剂盒购自上海碧云天生物技术公司;活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒、Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自上海皓科生物科技有限公司。

1.2 IEC-6细胞培养 IEC-6细胞用含有1%青链霉素双抗、10%胎牛血清的DMEM高糖培养基在37.0 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中,观察细胞密度至90%以上即可传代,选对数生长期的细胞进行实验。虎地肠溶胶囊粉剂加入95%乙醇超声提取,旋转蒸发提纯药物后于真空泵中抽干,提取物溶于二甲基亚砜。因提取物为复方制剂,浓度计算方式为质量/体积。细胞分6组:对照组,未接受辐射及药物;模型组,仅接受最佳照射剂量辐射;虎地肠溶提取液组,

2023-06-07 接收

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(编号:KJ2021A0308);炎症免疫性疾病安徽省实验室开发基金项目(编号:IMMDL202003)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肿瘤放疗科,合肥 230022

作者简介:马洪林,男,硕士研究生;

汪浩,男,主任医师,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: 3639986@163.com;

张明霞,女,副主任医师,责任作者,E-mail: 2659196723@qq.com

将最佳浓度的提取液在照射前 2 h 加入培养基;照射剂量组,单纯接受不同剂量的电离辐射;提取液浓度 A 组,单纯将不同浓度提取液加入细胞培养基,不接受辐射;提取液浓度 B 组,将不同浓度的提取液在照射前 2 h 加入培养基。将 12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g/ml}$ 浓度的提取液在照射前 2 h 加入培养基,测量在各浓度下细胞活力。筛选出安全浓度范围后,在(10、20、40、80 $\mu\text{g/ml}$)虎地肠溶提取液浓度下电离辐射后的细胞活力,选取最佳药物浓度。

1.3 细胞克隆形成实验 对照组和照射剂量组细胞,消化并稀释至 110 个/ml 时,接种于 6 孔板内,每孔 600 个细胞,置于 5% CO_2 、37.0 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养 2 周,当细胞集落出现时,加入纯甲醇固定 15 min,去除固定液,加入 0.1% 结晶紫染色 20 min,洗去染色液,在显微镜下统计细胞克隆数。

1.4 细胞活力检测 细胞悬液按 4 000 个/孔细胞数接种在 96 孔板上,细胞贴壁后,加入不同浓度的虎地肠溶提取液培养 24 h。每孔加 10 μl CCK-8 溶液,放入培养箱内 1 h,450 nm 波长处测吸光度。

1.5 ROS 检测 对照组、模型组及虎地肠溶提取液组细胞照射后 6 h 检测 ROS。将 DCFH-DA 按 1 : 1 000 比例配到无血清培养基中,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤、离心,加入 DCFH-DA 每组 1 ml,放入培养箱内 25 min,无血清 DMEM 培养基和 PBS 洗涤,使用荧光显微镜观察。

1.6 细胞衰老检测 6 孔板内各组细胞辐射后 48 h 进行细胞衰老检测。去除培养液,PBS 洗涤 2 次,

加入 1 ml β -Gal 染色固定液,室温固定 10 min,吸去固定液,PBS 洗涤 3 次。吸除 PBS,加 1 ml 染色工作液。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,需在无二氧化碳环境下孵育。普通光学显微镜下观察。

1.7 细胞凋亡检测 辐射后 24 h 收集细胞,常规消化处理,取 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 消化后的细胞混悬液离心,4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷 PBS 洗涤 1 次,离心弃上清液后,加入 100 μl 缓冲液(稀释的 $1 \times$ Binding Buffer)重悬细胞,加入 5 μl Annexin V-FITC 和 5 μl PI 并混匀。避光 25 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 15 min,再加 400 μl 缓冲液上机检测。

1.8 Western blot 法测定蛋白表达 将照射后 24 h 的各组细胞,冰上裂解并提取总蛋白,BCA 法测定蛋白质浓度。经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转移蛋白至 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗稀释液摇床 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。TBST 洗膜,加入二抗稀释液室温摇床 1 h,TBST 洗膜后通过 ECL 反应,胶片曝光成像,Quantity One 软件分析灰度值。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件分析数据,符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间采用单因素方差分析,两两比较用 Tukey's HSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 辐射对细胞增殖的影响 在 4 ~ 10 Gy 剂量辐射后细胞克隆团数低于对照组($P < 0.001$),随着辐射剂量增加,克隆团数量减少($P < 0.001$),见表 1 和图 1。

表 1 电离辐射对细胞增殖的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

项目	对照组	照射剂量组(Gy)					F 值	P 值
		2	4	6	8	10		
细胞克隆团数(个)	271.5 \pm 4.95	253.5 \pm 2.12	180.0 \pm 5.66 ^{###}	136.0 \pm 5.66 ^{###}	105.0 \pm 4.24 ^{###}	85.0 \pm 4.24 ^{###}	557.4	<0.001

与对照组比较:^{###} $P < 0.001$

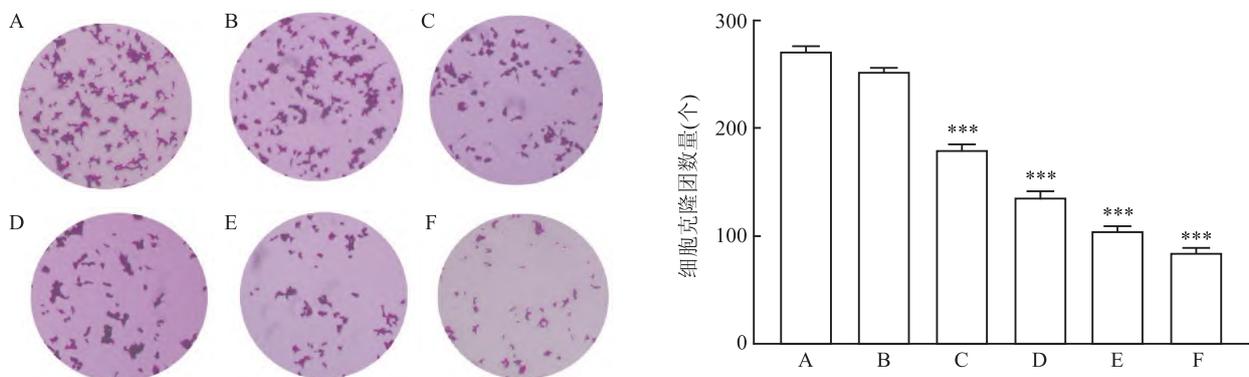


图 1 对照组及照射剂量组电离辐射后细胞克隆团数量 $\times 200$

A: 对照组; B ~ F: 辐射剂量为 2、4、6、8、10 Gy; 与对照组比较: ^{***} $P < 0.001$

2.2 虎地肠溶提取液对细胞活力影响 CCK-8 法进行吸光度值检测,虎地肠溶组浓度为 100、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时与对照组比较细胞吸光度值及存活率下降 ($P < 0.001$),其余浓度下与对照组比较差异无统计学意义,见表 2 和图 2。

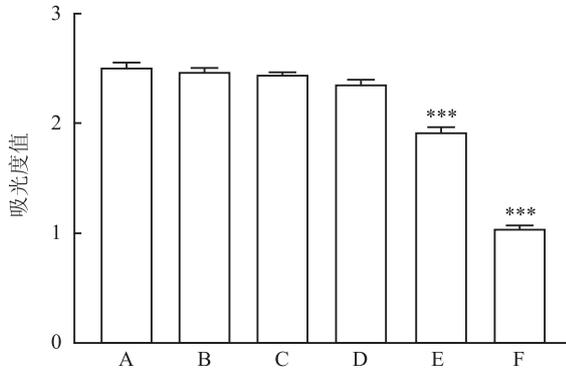


图 2 虎地肠溶提取液对细胞活力影响

A: 对照组; B~F: 提取液浓度分别为 12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 与对照组比较: *** $P < 0.001$

2.3 虎地肠溶提取液对辐射后细胞的活力影响 模型组和 10、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的虎地肠溶提取液组细胞吸光度值及存活率低于对照组 ($P < 0.001$)。而 40、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的虎地肠溶组细胞吸光度值及存活率

高于模型组 ($P < 0.001$), 见表 3 和图 3。

2.4 各组之间 DCFH-DA 荧光强度、 β -Gal 阳性率及细胞凋亡率比较 与对照组相比,模型组的 DCFH-DA 荧光强度、 β -Gal 阳性率及细胞凋亡率升高 ($P < 0.05$),与模型组比较,虎地肠溶提取液组 DCFH-DA 荧光强度、 β -Gal 阳性率及细胞凋亡率下降 ($P < 0.05$),见图 4~6。

2.5 虎地肠溶提取液的干预对 P16、P21、CAT、SOD2 表达影响 与模型组比较,虎地肠溶组和对对照组细胞 SOD2、CAT 的蛋白表达升高 ($P < 0.05$),P16、P21 蛋白的表达降低 ($P < 0.05$),见图 7。

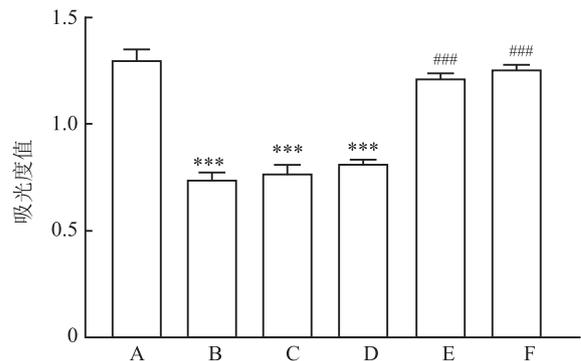


图 3 虎地提取液对辐射后细胞活力影响

A: 对照组; B: 模型组; C~F: 提取液浓度分别为 10、20、40、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$; 与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$

表 2 虎地肠溶提取液对细胞活力影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

项目	对照组	提取液浓度组 A ($\mu\text{g}/\text{ml}$)					F 值	P 值
		12.5	25	50	100	200		
吸光度值	2.519 \pm 0.039	2.475 \pm 0.031	2.452 \pm 0.018	2.364 \pm 0.038	1.927 \pm 0.044###	1.050 \pm 0.024###	875.7	<0.001
存活率 (%)	100.00 \pm 0.00	98.30 \pm 1.91	97.36 \pm 0.75	93.85 \pm 1.57	76.50 \pm 0.49###	41.67 \pm 0.34###	879.2	<0.001

与对照组比较: ### $P < 0.001$

表 3 虎地肠溶提取液对辐射后细胞的活力影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

项目	对照组	模型组	提取液浓度组 B ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				F 值	P 值
			10	20	40	80		
吸光度值	1.305 \pm 0.049	0.744 \pm 0.030***	0.774 \pm 0.038***	0.818 \pm 0.016***	1.220 \pm 0.022###	1.260 \pm 0.021###	213.80	<0.001
存活率 (%)	100.00 \pm 0.00	57.04 \pm 2.05***	59.41 \pm 3.11***	62.81 \pm 2.62***	93.67 \pm 3.91###	96.72 \pm 3.94###	97.48	<0.001

与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$

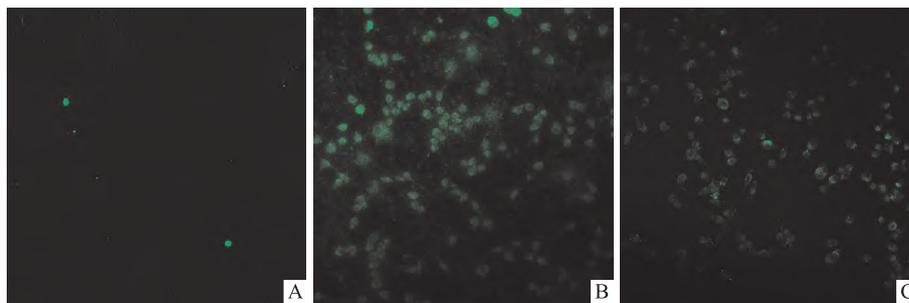


图 4 3 组 IEC-6 细胞内 ROS 变化 $\times 200$

A: 对照组; B: 模型组; C: 虎地肠溶提取液组

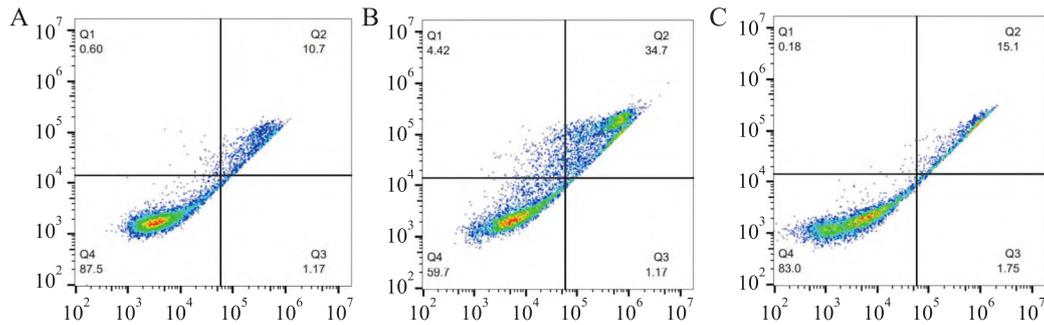
图5 3组 IEC-6 细胞 β -Gal 染色结果 $\times 200$ A:对照组;B:模型组;C:虎地肠溶提取液组; β -Gal 阳性染色呈青绿色

图6 流式细胞术检测各组细胞凋亡水平

A:对照组;B:模型组;C:虎地肠溶提取液组

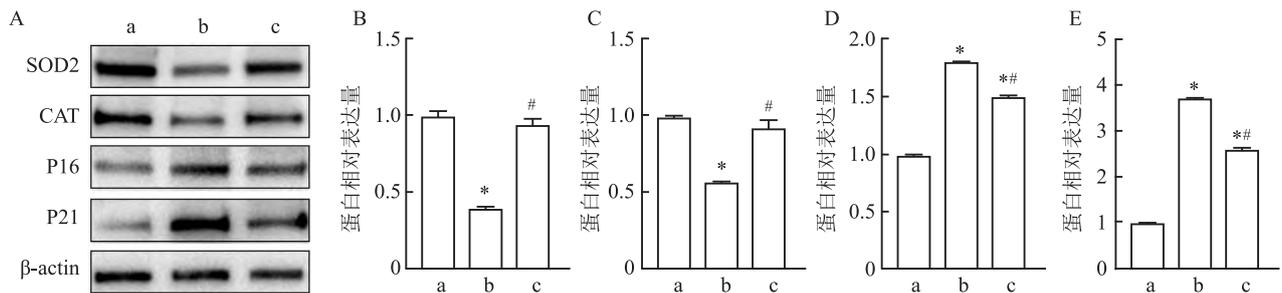


图7 Western blot 检测各蛋白表达情况

A: Western blot 检测各组目的蛋白的表达; B: SOD2 蛋白相对表达量; C: CAT 蛋白相对表达量; D: P16 蛋白相对表达量; E: P21 蛋白相对表达量; a: 对照组; b: 模型组; c: 虎地肠溶提取液组; 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

3 讨论

急性放射性肠炎的发生主要是肠黏膜上具有快速增殖特性的隐窝上皮细胞有丝分裂受到抑制,肠道黏膜的更新能力丧失,导致细胞的衰老、凋亡的发生^[6]。肠上皮细胞的更新主要是隐窝中的肠干细胞维持,隐窝上皮细胞在放射性肠损伤中占重要地位,IEC-6 细胞分离自大鼠小肠隐窝上皮细胞,能更好地模拟放射性肠炎的特性。结合辐射后的细胞存活率,考虑细胞数目过少可能影响实验结果,选择 6 Gy 作为辐射剂量。

电离辐射可以促进细胞氧化应激,通过影响脂质、膜、蛋白质和 DNA 导致结构和功能细胞变化,诱导细胞凋亡并引发炎症反应^[7-9]。DCFH-DA 荧光

探针可以检测出细胞内 ROS 水平,实验显示虎地肠溶提取液可以抑制辐射引起的 ROS 水平升高。这种抑制作用是否与抗氧化能力增加有关,我们可以根据一些抗氧化指标来判断。SOD2 通过清除氧自由基促进了抗氧化、抗凋亡等保护机制^[10]。CAT 也有抗氧化、抗凋亡作用。本实验 Western blot 结果显示虎地肠溶组 SOD2 及 CAT 指标较模型组升高,说明虎地肠溶提取液通过提高细胞抗氧化能力,达到降低 ROS 水平及氧化应激反应的作用。

电离辐射可以直接损伤细胞 DNA,产生大量 ROS 导致氧化应激并诱导衰老^[11]。衰老细胞的生理功能和应激反应下降,对细胞损伤后的自我修复能力下降。 β -Gal 作为一种细胞内溶酶体酶,被认为是衰老细胞的特异性标志物之一^[12]。p16 和 p21

是衰老细胞的特异性基因,其中 *p21* 作为 *p53* 的下游基因参与衰老调控,并通过抑制细胞周期相关蛋白 CDK4、CDK6、CDK2 调控细胞周期^[13-14]。研究^[15]结果显示细胞经电离辐射后 β -Gal 活性增加,*p16*、*p21* 基因表达增加。本研究可以通过上述指标观察细胞的衰老情况。根据 Western blot 检测蛋白和 β -Gal 染色结果,提示虎地肠溶提取液减轻了辐射损伤后的细胞衰老。

通过本次实验结果可以得出结论,虎地肠溶提取液可以通过抑制细胞内活性氧的产生,减少氧化应激,来减轻电离辐射诱导的细胞衰老及凋亡。然而电离诱导细胞损伤的机制是复杂的,作用靶点也是多样的,既可以通过直接损伤传到黏膜屏障,也可以调控细胞衰老和凋亡的信号通路造成细胞的损伤。本实验研究结果仅得出氧化应激与电离辐射损伤相关性,而氧化应激造成细胞损伤的信号通路仍不明确,对于放射性结肠炎的复杂致病机制来说有一定局限性,并且虎地肠溶胶囊作为一种复方中药制剂,其结构及组成也是复杂的,在放射性结肠炎治疗中发挥主要作用的成分未能明确,因此其具体作用机制仍需进一步探讨。

参考文献

- [1] Loge L, Florescu C, Alves A, et al. Radiation enteritis: diagnostic and therapeutic issues[J]. *J Visc Surg*, 2020,157(6):475-85.
- [2] 林明生,黄磊娟,杨舒瑾,等. 放射性肠炎证治体会[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022,28(5):816-8.
- [3] 石文君,贾英杰. 贾英杰治疗放射性结肠炎经验[J]. *湖南中医杂志*, 2019,35(1):23-4.
- [4] Ding P, Liu J, Li Q, et al. Investigation of the active ingredients and mechanism of hudi enteric-coated capsules in DSS-induced ul-

- cerative colitis mice based on Network pharmacology and experimental verification[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021,15:4259-73.
- [5] 汪浩,张明霞,蒋俊,等. 虎地肠溶胶囊对宫颈癌放射治疗致急性肠损伤的防护作用[J]. *安徽中医药大学学报*, 2019,38(4):20-4.
- [6] Jang H, Lee J, Park S, et al. Pravastatin attenuates acute radiation-induced enteropathy and improves epithelial cell function[J]. *Front Pharmacol*, 2018,9:1215.
- [7] Jing L, Gao R, Zhang J, et al. Norwogonin attenuates hypoxia-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 cells[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021,21(1):18.
- [8] McBride W H, Schae D. Radiation-induced tissue damage and response[J]. *J Pathol*, 2020,250(5):647-55.
- [9] 郭春玉,张诗晨,方军. 特发性肺纤维化中氧化应激调控机制的研究进展[J]. *安徽医科大学学报*, 2021,56(6):999-1002.
- [10] Zhang Q, Liu J, Duan H, et al. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: an important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress[J]. *J Adv Res*, 2021,34:43-63.
- [11] Aliper A M, Bozdaganyan M E, Orekhov P S, et al. Replicative and radiation-induced aging: a comparison of gene expression profiles[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019,11(8):2378-87.
- [12] Mohamad Kamal N S, Safuan S, Shamsuddin S, et al. Aging of the cells: insight into cellular senescence and detection methods[J]. *Eur J Cell Biol*, 2020,99(6):151108.
- [13] Shmulevich R, Krizhanovsky V. Cell senescence, DNA damage, and metabolism[J]. *Antioxid Redox Sign*, 2021,34(4):324-34.
- [14] 唐帆,黄永周,庞丽娟,等. G3BP2 通过抑制 p53/p21 信号通路抑制结肠癌细胞衰老[J]. *安徽医科大学学报*, 2020,55(2):239-44.
- [15] Su L, Dong Y, Wang Y, et al. Potential role of senescent macrophages in radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2021,12(6):527.

Protective effect of Hudi enteric capsules against radiation enteritis and its mechanism

Ma Honglin, Zhou Mengli, Rao Xianyue, Wang Hao, Zhang Mingxia

(Dept of Oncology Radiotherapy, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the protective effect and mechanism of Hudi Enteric capsules in ionizing radiation injury to small intestinal crypt cells (IEC-6 cells) in rats. **Methods** IEC-6 cells were irradiated with 6 mega electron volt X-rays (2, 4, 6, 8 and 10 Gy), cell clone formation assay was used to detect cell proliferation, and the 6 Gy ionizing radiation was selected to establish a cellular radiation damage model according to the cell survival rate. The effect of each concentration (12.5, 25, 50, 100 and 200 μ g/ml) of Hudi enteric extract on the viability of IEC-6 cells was examined by cell counting kit-8 (CCK-8) method, and the effect on the viability of IEC-6 cells after irradiation at (10, 20, 40 and 80 μ g/ml) concentrations was examined according to the results. After

假单胞菌属中新型 Inc_{pGRT1} 质粒的遗传特性及其潜在传播风险

李昕悦^{1,2}, 王 鹏², 陈方舟², 穆小飞², 卢秀慧², 贺家琪², 郑亚丽², 周冬生^{1,2}, 殷 喆²

摘要 目的 分析来自假单胞菌的 Inc_{pGRT1} 质粒的基因组结构和遗传特征, 阐明其潜在的传播风险。**方法** 对临床分离菌株 15420352 进行分纯和保种后提取基因组 DNA, 随后进行全基因组测序。测序获得了质粒 p420352-strA 的完整序列, 并对其进行质粒型别判断。对所有 5 个已测序的同型别质粒进行了骨架区和外源插入区的精细注释, 其中包括本研究中测序的 1 个质粒 p420352-strA 和来自 GenBank 的 4 个质粒。主要通过 RAST、Plasmidfinder、Blast、ResFinder 和 ISfinder 等核定质粒的 ORFs 并筛查耐药毒力等相关的关键基因。**结果** 5 个质粒被划分为新的 Inc_{pGRT1} 型质粒。它们均存在保守的 Inc_{pGRT1} 骨架标记, 除主复制子 repA_{Inc_{pGRT1}} 外, 还筛查到这些质粒均获取了一个辅复制子。5 个 Inc_{pGRT1} 质粒

携带了至少 3 个不同的主要外源插入区: *srp* 区域、*msr* 区域、Tn5053 家族转座子。这些质粒中共发现 3 个已知的涉及 2 类抗生素耐药和重金属抗性的基因: *strA*、*strB*、*mer*。并发现这些质粒里携带了至少 1 种毒力因子 *msr* 和 5 种关键的转运蛋白 *srp*、*emrE*、*mod*、*phn* 及 *lpt*。**结论** Inc_{pGRT1} 型质粒已经成为一些耐药基因及毒力基因在假单胞菌属中积累和传播的重要载体, 并提高了菌株的环境适应性。

关键词 假单胞菌属; 移动元件; 质粒; 比较基因组学

中图分类号 R 378.99

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1261-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.003

2023-05-21 接收

基金项目: 国家重点研发计划项目(编号: 2022YFC2303900)

作者单位: ¹ 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230032

² 军事科学院军事医学研究院微生物流行病学研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 北京 100071

作者简介: 李昕悦, 女, 硕士研究生;

殷 喆, 男, 博士, 副研究员, 责任作者, E-mail: jerry9yin@163.com;

周冬生, 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 责任作者, E-mail: dongshengzhou1977@gmail.com

假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 属于假单胞菌科 (*Pseudomonadaceae*) 假单胞菌目 (*Pseudomonadales*), 包含 200 多个亚种^[1]。假单胞菌属菌多为条件致病菌, 对人和动物均有致病性, 并且有很强的环境适应性。细菌感染及耐药率的上升, 很大程度上与质粒的传播相关。质粒是细菌染色体外能自主复制的环状 DNA 分子, 可通过接合在细菌之间进行水平转移^[2]。目前根据质粒不相容性 (plasmid incompatibility) 对质粒进行分类的方法已经非常普遍^[3]。

obtaining the optimal irradiation dose and extract concentration, the cells were divided into control group, model group and Hudi extract group (80 μg/ml), the control group was pseudo-irradiated and the other two groups received 6 Gy of ionizing radiation, and the Hudi enteric extract group was pre-treated with drugs 2 h before irradiation. Apoptosis was detected by Annexin V-PI double staining; cell senescence was detected by β-galactosidase (β-Gal) staining; reactive oxygen species was detected by DCFH-DA fluorescent probe; the corresponding protein expression of p16, p21, Catalase (CAT) and Superoxide dismutase (SOD2) was detected by Western blot. **Results** The proliferation of IEC-6 cells was inhibited by radiation doses ranging from 4 Gy to 10 Gy ($P < 0.001$); the concentrations of 40 and 80 μg/ml of Hudi enteric extract increased the survival rate of irradiated IEC-6 cells ($P < 0.001$), and the apoptosis rate, β-Gal positivity rate and DCFH-DA fluorescence intensity in the Hudi enteric extract group were lower than those in the model group ($P < 0.05$). The protein expressions of CAT and SOD2 in the Hudi extract group were higher than those in the model group ($P < 0.05$), and the protein expressions of p16 and p21 were lower than those in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** The mechanism of action of Hudi enteric capsules that attenuate radiation damage in IEC-6 cells may be related to the inhibition of reactive oxygen species production, reduction of oxidative stress, and attenuation of cellular senescence and apoptosis.

Key words Hudi enteric extracts; ionizing radiation; oxidative stress; senescence