

基因表达标签相似性比较的抗辐射药物重定位研究

任磊^{1,3}, 郑冰清², 曲新艳², 杨云³, 王建平³, 颜耀东^{3*}

(1. 北京军事医学科学院 放射与辐射医学研究所, 北京 100850; 2. 济南山东中医药大学 药学院, 济南 250355; 3. 北京空军航空医学研究所附属医院 药剂科, 北京 100089)

【摘要】目的: 探讨基于表达谱标签相似性比较的途径从上市药物中筛选发现抗辐射损伤治疗药物。**方法:** 从 GEO 数据库获得辐射损伤基因表达谱数据集 GSE26835, 利用 RMA 和 SAM 软件对表达谱芯片数据进行差异表达基因分析, 获得辐射损伤基因标签, 最后通过 connectivity map 数据库进行检索, 并对检索结果进行实验验证。**结果:** 获得的辐射基因标签包含上调基因 134 个, 下调基因 73 个, 这些基因生理功能主要集中于 DNA 损伤应激, DNA 修复, 细胞周期阻滞等; 通过 Cmap 分析, 筛选到阿米洛利, 潘必啶等候选药物, 其中阿米洛利负相关指数最高, 进一步实验验证证明阿米洛利在体外和体内实验中都具有较好的抗辐射活性。**结论:** 基于基因表达谱的药物重定位可从上市药物中筛选到有效的抗辐射药物为发现老药的新用途提供了新的途径。

【关键词】 基因表达谱; 药物重定位; 抗辐射药物; 阿米洛利

【中图分类号】 R-33

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-3384(2017)03-0019-06

doi:10.3969/j.issn.1672-3384.2017.03.005

Radioprotectors Drug Repurposing Discovery Based on Comparing Similarity of Gene Expression Signature

REN Lei^{1,3}, ZHENG Bing-qing², QU Xin-yan², YANG Yun³, WANG Jian-ping³, YAN Yao-dong^{3*}

(1. Laboratory of Biotechnology, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China; 2. College of pharmacy, Shandong Chinese Traditional Medicine University, Jinan, Shandong, 250355, China; 3. Hospital Attached to Aeromedicine Institute of PLA, Beijing 100089, China)

【Abstract】Objective: To investigate new radio-protectors using network pharmacology based on genome-wide expression profiling technology. **Methods:** The radiation damage gene expression data GSE26835 was obtained from GEO database, and radiation damage gene signature was generated by using RMA and SAM software. The radiation gene signature was used to retrieve connectivity map database, and the permuted results were experimentally validated. **Results:** The radiation gene signature consisted of 134 up-regulated genes and 73 down-regulated genes, and the biological functions of these genes were mainly about DNA damage response, DNA repair and cell cycle arrest. The Cmap permuted result showed some candidate drugs, including amiloride, pempidine and so on. Amiloride had the strongest negative score among them. Further experiment confirmed that amiloride had radioprotection effect both in vitro and in vivo. **Conclusion:** Drug repurposing based on genome-wide expression profiling technology provides a new strategy in drug discovery, and becomes an important part of network pharmacology.

【Key words】 Genome-wide expression profiling; network pharmacology; drug repurposing; radioprotectors; amiloride

电离辐射能对机体造成很严重的伤害, 严重的甚至导致死亡^[1]。核战争, 核恐怖主义, 核电站泄漏事故的威胁, 以及 X 射线等广泛用于肿瘤的放疗过程中, 人们迫切需要找到能够保护正常机体免受电离辐射损害的物质。核子时代的早些时候人们就在

寻找保护剂能够保护正常机体免受核爆炸损害, 到 20 世纪 80 年代肿瘤放疗中正常组织的保护成为了新的研究重点。抗辐射药物的研制是一个世界性难题。

经国内外众多机构几十年的努力, 虽然发现了一些有效药物, 但作为实用还有许多不足之处。含

【收稿日期】 2017-02-10

【作者简介】 任磊, 男, 主管药师; 研究方向: 辐射损伤药物靶标发现和验证; E-mail: renlei.pierre@foxmail.com

【通讯作者】 * 颜耀东, 男, 主任药师; 研究方向: 药理学; E-mail: yyd466@sina.com

硫类辐射预防药的效价一般不强,毒性较大;雌激素类辐射损伤防治药物虽作用与含硫类辐射预防药的效价相当,但其有效剂量却为生理浓度的上千倍,长期使用副作用不易克服;中草药类辐射损伤治疗药物疗效肯定,但系复方,有效单体的结构不明确。因此如何研制高效低毒的辐射防护药物仍是目前辐射生物学家面临的一个主要难题。

随着基因芯片及测序技术的发展,基因组学的研究手段被越来越多的应用于辐射损伤的研究之中^[2]。

近年来,功能基因组学研究手段,例如芯片基因表达谱,已经可以同步观测全基因组表达变化情况。但是同步观测蛋白表达或者修饰的类似方法发展却比较缓慢。利用基因表达谱等组学技术发现抗辐射损伤的药物靶标已经成为一个重要的手段。如何解读海量基因表达谱数据成为限制基因表达谱技术发展的瓶颈,通过生物信息学解读各种组学技术的结果,解决了这个瓶颈问题,同时为新药发现提供了新方法,加速了新药发现的进程。辐射损伤防护药物的发现也应该从网络药理学的角度进行新的发现。近年来,基因表达谱技术在网络药理学药物研发方面的应用越来越广。以网络或表型为基础,基于靶点相似性的推理通常采用的策略有对基因表达标签相似性的扰动。其中以 Lamb 等构建的“connectivity map”活性化合物和药物相关数据库影响最大^[3-4]。

“connectivity map”建立“基因-疾病-药物”之间的关联图,为新药发现提供了一种新的基于化合物或药物基因表达谱的独特模式发现已上市药物的新适应症,成为了一个生物学中新药发现的重要手段。依据基因表达谱的相似性给每个药物疾病对分配一个分值,若分值为负值则表示药物和疾病有相反的标签,提示药物有可能对该疾病具有治疗效果^[5-6]。目前已经有学者成功应用“connectivity map”验证了抗溃疡药可用于治疗肺癌,而抗癫痫药可治疗炎症性肠道疾病^[3,7]。这种成功的先例给我们启示,可以把这种方法应用在抗辐射药物的研究领域。本研究首先从 NCBI 的 GEO 数据库中获得了辐射损伤基因表达谱数据集;然后利用 RMA 和 SAM 软件进行差异表达基因分析,获得辐射损伤差异表达标签基因。通过 Cmap 分析,负性富集分数较高的化合物中可较好的逆转辐射损伤基因表

达谱,提示这些药物可能成为辐射损伤治疗的候选药物。在负性富集分数较高的化合物中,选择已经上市的临床药物进行实验验证,因为已经上市的药物相对来说药效更好,而且对人体的副作用也在可以接受的范围,发现的具有抗辐射活性的药物可以更快的进入临床试验。实验结果发现与辐射负相关指数最高的上市药物 amiloride 具有较好的抗辐射效果。

1 材料与方法

1.1 GEO 数据库中获取辐射损伤基因表达谱数据集

通过 Ftp 工具,从 NCBI 的 GEO 数据库中获得一个辐射损伤基因表达谱数据集,即 GSE26835,来源于费城儿童医院辐射的之后永生的 B 细胞的淋巴瘤细胞系。细胞利用 137Cs 放射源照射 10Gy 照射后 2 h 和 6 h 收取细胞,使用 Affymetrix 人类全基因组 U133A 2.0 芯片平台进行分析。数据集共 1 086 个样本^[8]。

1.2 辐射损伤差异表达基因标签分析

Significance analysis of microarrays (SAM) 是由 Stanford 大学编制的微矩阵显著性分析软件,该软件为 EXCEL 软件的插件,应用方便^[9]。SAM 方法以 *t* 检验为基础,并根据芯片数据噪音大小与表达峰度相关的特点进行修正,其特点是在筛选得到较多特征基因的同时,错误发现率还保持在较低的水平,因此 SAM 非常适用于基因表达数据预处理过程中的基因初步筛选。

参照文献方法,用 RMA 对信号值进行归一化等数据校正后^[10],我们采用 SAM4.0 软件对 GSE26835 数据集中的样本进行差异表达基因标签分析,最后获得了上调基因 134 个,下调基因 73 个 (fold change > 2)。

1.3 辐射损伤差异表达基因标签功能分析

对于辐射损伤差异表达特征基因进行功能分析,利用 DAVID (Functional Annotation Bioinformatics Microarray Analysis) 在线系统对基因功能进行注释分类^[11]。DAVID 整合了相关生物数据库,用于系统分析大批量基因或者蛋白序列的生物学意义的分析工具,在辐射损伤应激基因的发现方面有着很多研究应用^[12]。

1.4 Connectivity map 数据库筛选抗辐射活性药物

Cmap 数据库是美国麻省理工学院 (MIT)、

哈佛大学及其附属医院联合开发的数据库。当前 Cmap (build 02) 包含有 7 000 个表达谱数据, 涉及 1 309 种化合物在不同细胞系中药物干预情况, 可应用于发现具有相似作用的药物、提示药物作用机制及从现有药物中筛选到与疾病治疗的药物。为了利用 Cmap 数据库筛选潜在抗辐射活性药物, 首先利用 SAM 软件获得辐射损伤差异表达特征基因, 建立 query signature 文件。在 Cmap 网站 <http://www.broadinstitute.org/cmap/>, 导入含有辐射导致的上调基因和下调基因的 query signature 文件, 检索 Cmap 数据库, 对其含有的 1 309 中化合物进行打分排序, 并给出筛选分析结果。

1.5 细胞增殖 CCK8 分析

V79 细胞培养于含有 10% 小牛血清和抗生素的 DMEM 培养液中, 置于 37℃、5% CO₂ 的孵箱中进行培养。用 ⁶⁰Co 源进行照射, 剂量率为 243.74c Gy•min⁻¹, 以假暴露组作为对照。取对数生长期细胞接种 96 孔板, 每个浓度设 3 个重复孔。经药物和电离辐射处理后按照 Cell Counting Kit-8 操作步骤, 每孔加入一种新的四唑复合物 CCK8 10 μL, 在 37℃ 条件下继续培养 90 min, 在波长 450 nm Bio-rad Model 680 多功能酶标仪下测定吸光度 OD 值。试验重复 3 次, 结果通过 student's *t* 检验分析。计算细胞增殖抑制率: 辐射损伤抑制率 % = (OD 对照 - OD 实验组 / OD 对照 - OD 空白) × 100 %。

1.6 小鼠 30 d 存活率实验

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 8 ~ 10w(20 ± 2g), 相对湿度 50% ± 10%, 12 h 灯光 12 h 黑暗。购于中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心 [合格证编号: SCXK(军)-2007-004]。实验前饲养 3 d, 观察有无异常。用 ⁶⁰Co γ 射线放射源 (放射源为军事医学科学院放射所钴源) 对受试小鼠进行一次性全身照射, 照射剂量为 7.5Gy, 照射量率为 243.74c Gy•min⁻¹。C57BL/6J 小鼠按体重随机分组, 每组 10 只, 正常组与辐射对照组腹腔注射等体积生理盐水, 阳性药 WR2721 组按 150 mg•kg⁻¹ 照射前 30 min 腹腔注射, 小分子药物组按 10 mg•kg⁻¹ 剂量照射前 30 min 腹腔给药一次。

30 d 活存状况观察: ⁶⁰Co γ 射线 7.5Gy 照射后 C57BL/6J 小鼠体重减轻, 皮毛干枯, 精神萎靡, 行动迟缓, 团缩拱背, 视力障碍。各给药组, 与辐射组相比, 小鼠的上述体征均有所改善。

1.7 外周血像实验

实验分组: 取 C57BL/6J 雄性小鼠 30 只, 按体重随机随机分组, 阳性药组和各个给药组都是照射 ⁶⁰Co γ 射线 7.5Gy 前 30 min 腹腔给药一次。

实验处理: 小鼠于照射后第 3、6、9、14d, 从每只实验小鼠尾静脉取 20 μL 血, 加抗凝剂后用 Sysmex-800 自动血球计数仪检测外周血像。

1.8 细胞凋亡和周期分析

从 C57BL/6J 小鼠股骨头取骨髓, 用注射器冲出骨髓细胞, 用血球计数板计数细胞, 调整至 5 × 10⁵~1 × 10⁶ 个细胞, 4℃、1 000 rpm 离心 10 min, 弃上清。加入 1 mL 预冷的 PBS 轻轻震荡使细胞悬浮, 再进行 4℃、1 000 rpm 离心 10 min, 弃上清。此步骤重复两次。将细胞重悬于 200 μL binding buffur (结合液), 加入 10 μL Annexin V-FITC 轻轻混匀, 避光室温反应 15 min, 加入 300 μL binding buffur (总反应体积 500 μL), 以及 5 μL PI, 上机检测。

1.9 数据处理与分析

统计软件采用 SPSS13.0, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 student-t test, 动物存活率采用生存分析 logrank 检验。P < 0.05 表示数据差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 GEO 辐射损伤基因表达谱数据集

通过 Ftp 工具, 从 NCBI 的 GEO 数据库中获得一个辐射损伤基因表达谱数据集, 即 GSE26835, 来源于费城儿童医院辐射的之后永生的 B 细胞的淋巴瘤细胞系。细胞利用 ¹³⁷Cs 放射源照射 10Gy 照射后 2 h 和 6 h 收取细胞, 使用 Affymetrix 人类全基因组 U133A 2.0 芯片平台进行分析。数据集共 1 086 个样本^[8]。使用 RMA express 软件对芯片样本进行质量分析, 删除一些偏差大的数据集。

2.2 辐射损伤差异表达基因标签构建及功能分析

为了构建辐射损伤差异表达基因标签, 采用 RMA 对信号值进行归一化等数据校正后, 我们采用 SAM4.0 软件对 GSE26 835 数据集集中的样本进行差异表达基因分析, 最后获得了上调基因 92 个, 下调基因 75 个 (fold change > 3)。利用 DAVID (Functional Annotation Bioinformatics Microarray Analysis) 在线系统对基因功能和信号通路进行注释分类^[11], 见表 1。从表 1 中可以看出辐射导致的

上调基因功能主要为 DNA 损伤应激, DNA 修复, 细胞周期阻滞, 细胞增殖负调控以及凋亡有关, 而辐射下调的基因包括细胞周期, 分化, 分裂, 粘连等功能, 这与辐射损伤分子生物学效应基本相符, 说明我们选择的辐射损伤基因标签具有很强的相关性。

表 1 辐射损伤基因标签 GO 功能分类

GO 功能分类	基因标签 (<i>n</i>)	<i>P</i>
辐射上调基因标签		
GO:0006974 response to DNA damage stimulus	9	1.34E-14
GO:0006355 regulation of transcription, DNA-dependent	11	2.26E-09
GO:0006281 DNA repair	5	6.90E-08
GO:0007050 cell cycle arrest	4	7.05E-08
GO:0008285 negative regulation of cell proliferation	5	9.58E-08
GO:0006350 transcription	9	7.80E-07
GO:0006915 apoptosis	5	2.36E-05
辐射下调基因标签		
GO:0007049 cell cycle	8	7.42E-12
GO:0051301 cell division	6	1.33E-11
GO:0007067 mitosis	5	1.01E-09
GO:0006355 regulation of transcription, DNA-dependent	7	3.61E-07
GO:0007155 cell adhesion	5	4.24E-07
GO:0006350 transcription	6	1.05E-05

2.3 Connectivity map 分析结果

利用来源于 GEO 数据库的辐射基因表达标签 (辐射后显著上调和下调的基因) 作为检索标签 (query signature), 检索 Cmap 数据库, 将辐射基因表达标签与药物处理基因表达标签进行统计比较。依据表达谱的相似性给每个辐射 - 药物配对计算一个分值, 若分值为负值提示该药物和辐射损伤有相反的基因标签, 那么这种药物可能对辐射损伤具有较好的治疗的效果。在检索结果中, 我们关注得分为负值的药物, 删除不是显著相关的药物和实验次数较少的药物 ($P < 0.05$, $n < 4$), 再根据药物得分 Mean 值进行排序。在剩下的药物中选择美国 FDA 批准的已经上市的临床药物进行抗辐射活性评价。表 2 中可以看到 amiloride (阿米洛利), 一种强效保钾利尿药符合所有的筛选条件, 负相关分值最高。其中 diclofenac (双氯芬酸) 已经报道

具有一定的抗辐射效果^[13]。我们对这些候选的抗辐射药物进行下一步的实验验证。

表 2 Cmap 数据库筛选的候选抗辐射药物

cmap name	mean	<i>n</i>	enrichment	<i>P</i>
amiloride	-0.572	5	-0.605	0.0272
pempidine	-0.489	5	-0.683	0.00733
levonorgestrel	-0.455	6	-0.688	0.00222
diltiazem	-0.441	5	-0.584	0.03653
naloxone	-0.438	6	-0.601	0.0141
demeclocycline	-0.431	6	-0.609	0.01188
diclofenac	-0.42	5	-0.587	0.03543
mebendazole	-0.412	5	-0.626	0.01878
hydralazine	-0.349	6	-0.527	0.04537

注: Mean 为药物检索得分值, *n* 为药物在数据库中重复试验次数, enrichment 代表辐射基因标签和药物基因标签相似的聚合度

2.4 Amiloride 抑制辐射损伤的效果

V79 细胞筛选结果发现负相关指数最高的 amiloride 对辐射损伤导致的细胞凋亡丧失的抑制效果是最好的, 见图 1。可以看出 amiloride 在 10~80 μM 之间对 10Gy 照射的 V79 细胞的凋亡丧失呈现剂量依赖的抑制效果。

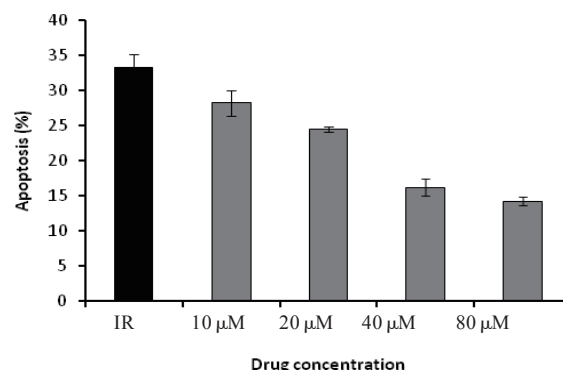


图 1 Amiloride 对辐射导致 V79 细胞凋亡的抑制效果

2.5 Amiloride 对小鼠 30 d 存活率的影响

我们进一步在 C57BL/6J 小鼠模型上观察 amiloride 对小鼠存活率的影响。图 2 中可以看出 amiloride 照射前 30min, 10mg·kg⁻¹ 腹腔给药一次能够提高 7.5Gy 照射的 C57 小鼠 30 d 存活率达到 40%, 辐射对照组全部死亡。这证明 amiloride 在动物体内模型上也具有较好的抗辐射效果。

2.6 Amiloride 对辐射导致小鼠骨髓凋亡和周期的影响

取接受 7.5Gy 辐照后 C57BL/6J, 和 amiloride

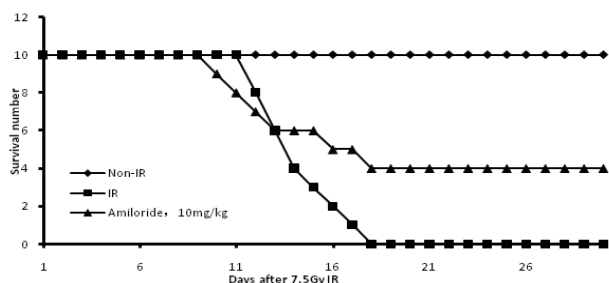


图2 Amiloride 对辐射导致小鼠死亡的效果

($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 处理后的小鼠股骨骨髓, 检测 amiloride 对辐射后小鼠股骨骨髓是否具有保护作用。从图 3 中我们可以看到 amiloride 处理能够明显降低辐射导致的小鼠股骨细胞的凋亡。图 4 中可以看出 amiloride 可以明显减低辐射所导致的骨髓细胞周期阻滞。由此可见 amiloride 的抗辐射机

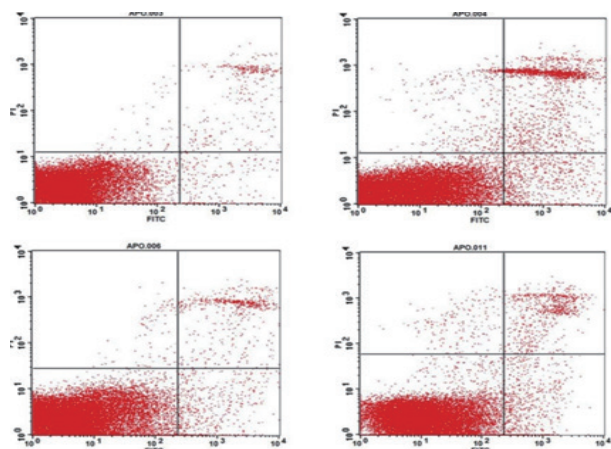


图3 Amiloride 对辐射小鼠股骨骨髓凋亡的影响。上图: 左, 正常组; 右, 辐射组。下图: 左, amiloride, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 右, amiloride, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

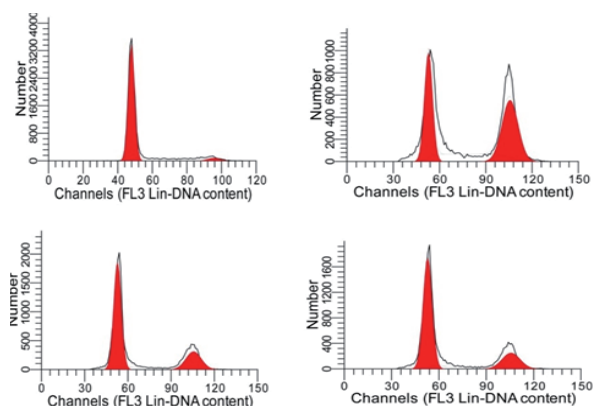


图4 Amiloride 对辐射小鼠股骨骨髓细胞周期的影响。上图: 左, 正常组; 右, 辐射组。下图: 左, amiloride, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 右, amiloride, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

理是通过保护小鼠骨髓细胞免受辐射损伤的作用。

3 讨论

60 年来, 人们都致力于发现理想的应用于各种辐射环境下, 比如核爆炸和肿瘤放疗的理想的抗辐射剂^[14]。应用传统的药物发现手段, 天然药物化学和化合物药物库的大规模筛选, 人们发现了一些抗辐射效果的化合物, 例如氨磷汀, 但是临床应用受限。近些年来, 研究人员主要关注基于辐射损伤分子机理的研究的新型抗辐射剂的发现。CBLB502, 一个来自沙门氏菌鞭毛蛋白多肽类药物, 能够通过结合 Toll 类似受体 5 (TLR5) 并激活核因子 B 信号通路发挥抗辐射活性^[15]。优降糖 (glyburide) 通过小干扰 RNA 库的筛选被证明是一个新的抗辐射剂^[16]。四环素和氟喹诺酮通过高通量化合物库的筛选也被证明有一定的抗辐射作用^[17]。这里我们使用了一种新的药物发现策略, 利用生物信息学整合分析来源于 GEO 数据库的辐射损伤数据集和来源于 Camp 的药物干预基因表达谱数据集。这种计算生物学预测的方法相对与传统药物发现来说具有省时省力, 风险较小的优点。

Amiloride 为强效保钾利尿药, 留钾排钠作用不依赖于醛固酮, 它作用于肾小管远端, 阻断钠-钾交换机制, 促使钠、氯排泄而减少钾、氢离子分泌, 能够抑制大多数哺乳动物细胞膜钾, 氢离子的传送。amiloride 能够阻断炎症细胞因子的合成, 这种阻断作用依赖 IkBa /NF-kB 信号通路^[18]。有研究报道称 amiloride 可以抑制大鼠变应性接触性皮炎以及紫外辐射导致的组织水肿^[19]。Crissman 等^[20]发现 amiloride 可以喜树碱, 放线 (菌) 酮以及 20Gy 伽马照射导致的 HL60 细胞的凋亡。实验结果证明细胞膜上的钾氢离子泵以及胞内 pH 值能够影响凋亡信号转导, 影响细胞凋亡过程。这些研究结果表明 amiloride 抗辐射的效果可能是通过减轻辐射导致的炎症反应以及抑制辐射损伤的凋亡有关。

“Connectivity map” 提供了一条与传统药物发现不同的网络药理学途径, 加速了药物发现过程。Cmap 数据库中包含的小分子化合物是大多数是已知的有过很多研究结果的药物, 其中还有很多是 FDA 批准上市的药物, 这些药物相对来说药效明确, 毒性较小, 特别能够加速那些临床低发或罕见疾病的治疗药物发现的过程。

【参考文献】

- [1] Joshi Y, Jadhav T, Kadam V. Radioprotective-A pharmacological intervention for protection against ionizing radiations: A review[J]. The Internet Journal of Internal Medicine, 2010, 8(2):101-105.
- [2] Amundson S A. Functional genomics in radiation biology: a gateway to cellular systems-level studies[J]. Radiation and environmental biophysics, 2008, 47(1):25-31.
- [3] Lamb J. The Connectivity Map: a new tool for biomedical research[J]. Nature Reviews Cancer, 2007, 7(1):54-60.
- [4] Lamb J. The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease[J]. Science Signaling, 2006, 313(5795):1929.
- [5] 张永祥, 程肖蕊, 周文霞. 药物重定位——网络药理学的重要应用领域[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(6):779-786.
- [6] 周文霞, 程肖蕊, 张永祥. 网络药理学: 认识药物及发现药物的新理念[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(001):4-9.
- [7] Dudley J T. Computational repositioning of the anticonvulsant topiramate for inflammatory bowel disease[J]. Science translational medicine, 2011, 3(96):96.
- [8] Smirnov D A. Genetic variation in radiation-induced cell death[J]. Genome research, 2012, 22(2):332-339.
- [9] Tusher V G, Tibshirani R, Chu G. Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, 98(9):5116-5121.
- [10] Irizarry R A. Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data[J]. Biostatistics, 2003, 4(2): 249-264.
- [11] Huang D W. Lempicki, Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nature protocols, 2008, 4(1):44-57.
- [12] Koch-Paiz C A. Functional genomics of UV radiation responses in human cells[J]. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2004, 549(1):65-78.
- [13] Hofer M. Modulation of haemopoietic radiation response of mice by diclofenac in fractionated treatment[J]. Physiological research/Academia Scientiarum Bohemoslovaca, 1996, 45(3):213.
- [14] Weiss J F, Landauer M R. History and development of radiation-protective agents[J]. International Journal of Radiation Biology, 2009, 85(7):539-573.
- [15] Burdelya L G. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models[J]. Science, 2008, 320(5873):226-230.
- [16] Jiang J. Synthetic protection short interfering RNA screen reveals glyburide as a novel radioprotector[J]. Radiation research, 2009, 172(4):414-422.
- [17] Kim K. High-throughput screening identifies two classes of antibiotics as radioprotectors: tetracyclines and fluoroquinolones[J]. Clinical Cancer Research, 2009, 15(23):7238-7245.
- [18] Haddad J J, Land S C. Amiloride blockades lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine biosynthesis in an I κ B- α /NF- κ B-dependent mechanism. Evidence for the amplification of an antiinflammatory pathway in the alveolar epithelium[J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2002, 26(1):114-126.
- [19] Gallo R L, Granstein R D. Inhibition of allergic contact dermatitis and ultraviolet radiation-induced tissue swelling in the mouse by topical amiloride[J]. Archives of dermatology, 1989, 125(4):502.
- [20] Cobo J M. Attenuation of apoptotic DNA fragmentation by amiloride[J]. Journal of cellular physiology, 1998, 175(1):59-67.