

二烯丙基二硫对小鼠生精细胞的辐射防护作用

许 帅¹, 李细霞¹, 王 敏¹, 李署平², 廖伟雄^{1*}

(1. 肇庆医学高等专科学校, 广东 肇庆 526020; 2. 肇庆市第一人民医院, 广东 肇庆 526020)

【摘要】 目的 研究二烯丙基二硫(diallyl disulfide, DADS)对小鼠生精细胞的辐射防护效应。方法 利用4 Gy 剂量 X 射线建立动物辐射损伤模型。观察辐照小鼠睾丸组织变化、精子活力及精子畸形率, 检测蛋白质羰基含量、丙二醛(MDA)及8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)含量, 评估生精细胞的辐照损伤程度及DADS对生精细胞的防护效果。测定睾丸组织抗氧化酶系超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力及谷胱甘肽(GSH)含量, western blot 检测 Nrf2 信号蛋白表达, 探讨 DADS 的辐射防护机制。结果 与单纯照射组相比, DADS 预处理组睾丸组织损伤较轻, 精子活力显著提高($P < 0.05$), 精子畸形率降低($P < 0.05$), 蛋白质羰基含量、MDA 及 8-OHdG 水平明显下降($P < 0.05$)。SOD、CAT、GSH-Px 及 GSH 等抗氧化指标显著提升($P < 0.05$), Nrf2 表达明显增强。结论 DADS 通过其抗氧化能力对雄性小鼠生精细胞急性辐射损伤具有一定的防护效应。

【关键词】 二烯丙基二硫; X 射线; 小鼠; 生精细胞; 辐射防护剂

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 04-0027-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.04.005

Protective effect of diallyl disulfide against the radiation damage in germ cells of male mice

XU Shuai¹, LI Xixia¹, WANG Min¹, LI Shuping², LIAO Weixiong^{1*}

(1. Zhaoqing Medical College, Zhaoqing 526020, China. 2. The First People's Hospital of Zhaoqing, Zhaoqing 526020)

【Abstract】 **Objective** To study the radiation-protective effect of diallyl disulfide (DADS) in germ cells of male mice. **Methods** Male mice were whole-body exposed to 4 Gy X-ray irradiation to establish a animal radiation damage model. Testicular histology, sperm motility and sperm deformity rate were observed, protein carbonyl content, malondialdehyde (MDA) and 8-hydroxy deoxyguanosine (8-OHdG) content were tested to assess the degrees of radiation damages of sperm cells and protective effect of DADS. Testicular tissue antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-px) activity and glutathione (GSH) content were examined. The expression of Nrf2 signal protein was detected to explore the radiation-protective mechanism of DADS. **Results** Compared with the pure exposure group, the testicular tissue damages in the DADS pretreatment group were milder, sperm motility increased significantly ($P < 0.05$) and sperm deformity rate decreased ($P < 0.05$), and the protein carbonyl content, MDA and 8-OHdG levels significantly reduced ($P < 0.05$). The antioxidant indexes of SOD, CAT, GSH-px and GSH were markedly improved ($P < 0.05$), and the expression of Nrf2 was dramatically enhanced. **Conclusions** DADS has a protective effect on acute radiation injury in germ cells of male mice by means of anti-oxidative ability.

【Key words】 diallyl disulfide; X-ray; mouse; spermatozoon; radioprotection

【基金项目】 肇庆市科技创新指导类项目(20160403015); 肇庆医学高等专科学校中青年科技基金项目(Zyqy16-0010); 肇庆医学高等专科学校2015年度校级科研项目(2015K66)。

【作者简介】 许帅(1981—), 男, 讲师, 硕士。研究方向: 放射医学。E-mail: xushuai10@sohu.com

【通信作者】 廖伟雄, 副教授。研究方向: 影像医学。E-mail: y2866011@163.com

随着航天科技、核工业技术及核医学的发展,相关职业人员、肿瘤病人及普通大众暴露于电离辐射的危险逐渐增大。电离辐射对机体造成的各种损伤反应中以骨髓抑制、肺损伤、消化、免疫及生殖系统损伤最为严重^[1-5]。因此针对这些电离辐射损伤而进行的辐射防护研究变得越来越重要。除了影响受照射的个体以外,电离辐射通过对生殖细胞的致畸作用还能影响其子代的生命活动。因此生殖系统辐射损伤的后期效应远甚于其他组织器官的辐射损伤。

辐射防护剂是生物体受辐射前给予其某些化学药物以减轻机体辐射损伤反应并促进损伤组织恢复的药物。辐射防护剂最常用于从事核工业技术的人员、航天工作者及肿瘤放疗的病人。尽管某些药物具有辐射防护效果,但由于其毒性副作用的原因而并未用于人体。在医疗领域,辐射防护剂积极用于肿瘤放疗也并未受到足够关注。因此寻找毒性低、易被人们接受而具有辐射防护效应的药物显得至为关键。

含硫有机物二烯丙基二硫(DADS)是大蒜素中的一种活性物质,淡黄色,溶于油而不溶于水,分子式为 $C_6H_{10}S_2$, 结构式为 $\sim S-S \sim$, 分子量 146.28。经研究表明,DADS 对¹²C⁶⁺束照射小鼠的肝脏组织具有辐射防护效应^[6]。大蒜是生活农副产品,自古就被人们使用于食品添加剂。因此 DADS 用于辐射防护具有诸多优点:毒性低,已被无数劳动者生活实践证实;极易生产获取,使用者众多;脂溶性分子,易穿透血-脑屏障、血-睾屏障及血-气屏障等生理性屏障,起到水溶性药物难以到达的生理部位发挥作用;对于肿瘤放疗病人最为重要的是,DADS 对肿瘤具有辐射增敏效应^[7]。但关于 DADS 对睾丸组织的辐射防护效应研究目前尚未见文献报道。

Nrf2 信号通路是机体进化过程中最主要的抗氧化通路,当机体处于正常无外界刺激时,Nrf2 蛋白水平在细胞中处于较低表达状态,一旦机体受到外界如辐射、毒物等刺激时,Nrf2 从细胞质进入细胞核,与相应的抗氧化原件(antioxidant response elements, ARE)结合,从而激活下游一系列的靶基因,这些靶基因主要为各种抗氧化或解毒蛋白,它们的激活是机体抵御氧化应激损伤的重要屏障^[8-9]。研究表明:DADS 可以促进 Nrf2 蛋白的核转移,提高抗氧化酶蛋白水平的表

达^[10]。但 DADS 对辐射后 Nrf2 信号通路的影响研究并不多。基于生殖系统辐射防护的重要性,本实验建立动物辐射损伤模型,探讨 DADS 对雄性昆明小鼠生精细胞的辐射防护作用及主要分子机理。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 KM 小鼠,48 只,4 周龄,体重 18~22 g,由广东省医学实验动物中心提供[SCXK(粤)2013-0002][SYXK(粤)2013-0002]。饲养环境温度 18℃~25℃。安静环境饲养,动物自由饮食饮水,正常昼夜节律。饲养适应环境 3 d 后进行实验。动物实验经学校伦理委员会批准,并严格按照规定操作。动物实验在肇庆医学高等专科学校机能实验室及病理实验室,肇庆市第一人民医院放疗科进行。

1.2 主要试剂

DADS 购自于 Sigma 公司;MDA 试剂盒、总巯基试剂盒及 8-OHdG 试剂盒购自于碧云天生物技术研究;SOD 试剂盒、CAT 试剂盒、GSH-Px 试剂盒、GSH 试剂盒购于南京建成生物工程研究所;Nrf2 一抗购于 Bioworld 公司;二抗购于北京中杉金桥生物技术有限公司;BCA 试剂盒购于 Thermo 公司;其余为分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 照射条件

肇庆市第一人民医院肿瘤放射治疗仪器 Elekta-Synergy 提供 X 射线。照射参数:能量为 6 MV,源皮距照射,深度 1.5 cm,射野 28×18 cm²,剂量 4 Gy,时间 0.7 min。照射方式为单次全身照射。

1.3.2 实验分组

实验小鼠随机分为 6 组,每组 8 只:C 组为对照组(溶剂 + 0Gy)、HD 组为药物组(40 mg/kg DADS + 0 Gy)、IR 组为照射组(溶剂 + 4 Gy)、LD + IR 组为低浓度药物 + 照射组(10 mg/kg DADS + 4 Gy)、MD + IR 组为中浓度药物 + 照射组(20 mg/kg DADS + 4 Gy)、HD + IR 组为高浓度药物 + 照射组(40 mg/kg DADS + 4 Gy)。溶解稀释 DADS 的溶剂为花生油。照射前 1 h 腹腔注射给药。注射量控制为每只 0.2 mL。对 C 组与 IR 组分别注射每只 0.2 mL 的溶剂。C 组与 HD 组模拟固定照射全过程,但未给予照射。

1.3.3 病理组织切片

照射后 12 h, 颈椎脱臼法处死小鼠, 取出一侧睾丸, 剪切部分用福尔马林固定后送往肇庆医学高等专科学校附属医院制作 HE 病理切片。

1.3.4 精子活力、精子畸形率检测

照射后 12 h, 颈椎脱臼法处死小鼠, 取出双侧附睾置于生理盐水中, 剪碎制成精子悬液, 35℃ 孵育 20 min 后注入 35℃ 预热的血细胞计数板中, 高倍镜下观察 100 个精子的活动情况。精子的活动度分 4 级: I 精子成直线快速游动, II 精子不成直线游动而且速度较慢, III 精子原地活动, IV 精子静止。采用精子活力计算公式: $(I + II + III) / (I + II + III + IV) \times 100\%$ [11]。

取制成的精子悬液制作涂片、甲醇固定自然晾干, 1% 伊红染色 1 h, 清水冲洗、干燥。显微镜下观察 1000 个精子计算精子畸形率。畸形精子分为头、体及尾形态畸形。头畸形有双头、巨头、无定型; 体畸形有粗大、折裂、不完整; 尾畸形有双尾、卷尾、缺尾。

1.3.5 蛋白质总巯基含量、MDA 及 8-OHdG 检测

取小鼠剩余的全部睾丸用生理盐水制成 10% 的组织匀浆, 4℃ 下 3500 r/min 离心 10 min, 取上清液分装冷冻储存备用。取备用上清液测定蛋白质总巯基含量、MDA 及 8-OHdG 等损伤指标。实验操作方法严格按照试剂盒说明进行。组织蛋白质浓度用 BCA 试剂盒测定。

1.3.6 抗氧化指标检测

取备用上清液测定 SOD、CAT、GSH-Px 及 GSH 等抗氧化指标。测试方法严格按照试剂盒说明书进行。组织蛋白质浓度用 BCA 试剂盒测定。

1.3.7 Western Blot 免疫印迹检测蛋白表达水平

取备用上清液, BCA 试剂盒测定蛋白浓度。Western 免疫印迹法检测 Nrf2 蛋白表达水平。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 进行数据统计, 实验数据以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组数据采用均值单因素检验。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 DADS 对辐照小鼠睾丸组织形态学的影响

睾丸组织生精小管由精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞及精子等 5 至 6 层细胞构成。如图 1 所示, 与 C 组相比, IR 组生精小管细

胞层次严重受损, 表明 X 射线造成了生精小管上皮细胞的大量丢失。与 IR 组比, LD + IR 组生精小管在形态学上细胞层次出现了增多, 表明 DADS 能降低 X 射线对小鼠生精小管上皮细胞的丢失。MD + IR 组与 HD + IR 组生精小管上皮细胞层次增多更为显著。与 C 组相比, HD 组无形态学改变, 说明 40 mg/kg DADS 没有造成小鼠生精小管上皮细胞丢失。

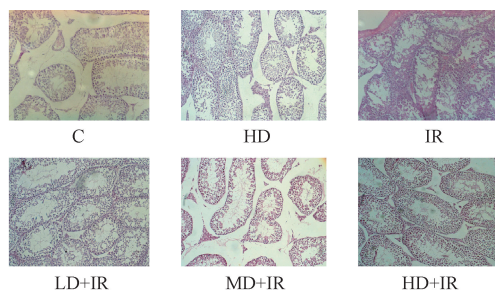
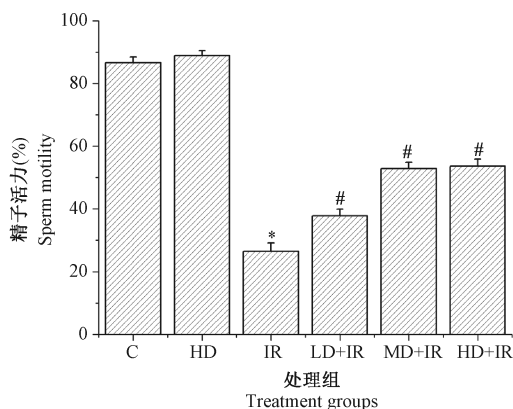


图 1 DADS 对辐照小鼠睾丸组织形态学的影响 ($\times 200$)

Fig. 1 Influence of DADS on the morphology of testicular tissue in the irradiated mice

2.2 DADS 对辐照小鼠精子活力的影响

如图 2 所示, 与 C 组相比, IR 组精子活力显著下降 ($P < 0.05$)。LD + IR 组与 IR 组比, 精子活力显著上升 ($P < 0.05$), 表明 DADS 能降低 X 射线对小鼠精子活力的影响, 并且随着药物浓度增加效果更好。HD 组与 C 组相比, 精子活力差异无显著性 ($P > 0.05$)。40 mg/kg DADS 没有造成小鼠精子活力下降。



注: 与 C 组相比, $*P < 0.05$; 与 IR 组相比, $\#P < 0.05$ 。

图 2 DADS 对辐照小鼠精子活力的影响

Note. Compared with the group C, $*P < 0.05$. Compared with the IR group, $\#P < 0.05$.

Fig. 2 Influence of DADS on sperm motility in the irradiated mice

表 1 DADS 对辐照小鼠精子畸形率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 1 Influence of DADS on sperm defect rate in the irradiated mice

组别 Groups	DADS (mg/kg)	照射剂量 (Gy) Exposure dose	精子数 (个/只) Sperm count	畸形精子数 (个) Malformed sperm	畸形率 (%) Deformity rate
C	0	0	1000	27.5	2.8 ± 0.4
HD	40	0	1000	25.9	2.6 ± 0.3
IR	0	4	1000	362.9	26.3 ± 3.1*
LD + IR	10	4	1000	205.8	20.6 ± 1.9#
MD + IR	20	4	1000	183.1	18.3 ± 2.0#
HD + IR	40	4	1000	181.5	18.2 ± 2.4#

注:与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 IR 组相比, # $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the group C, * $P < 0.05$. Compared with the IR group, # $P < 0.05$.

2.3 DADS 对辐照小鼠精子畸形率的影响

如表 1 所示, IR 组与 C 组比, 精子畸形率显著性增加 ($P < 0.05$)。与 IR 组相比, LD + IR 组精子畸形率显著性下降 ($P < 0.05$); MD + IR 组与 HD + IR 组相比精子畸形率差异无显著性 ($P > 0.05$)。HD 组与 C 组之间精子畸形率差异无显著性 ($P > 0.05$), 表明 40 mg/kg DADS 未造成小鼠精子畸形率上升。

2.4 DADS 对辐照小鼠睾丸组织中蛋白质、脂质及核酸损伤指标的影响

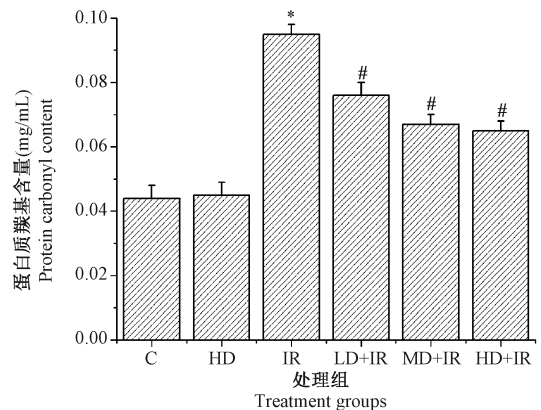
如图 3 所示, IR 组与 C 组比, 蛋白质羰基含量显著性增加 ($P < 0.05$)。与 IR 组相比, LD + IR 组蛋白质羰基含量显著性下降 ($P < 0.05$); MD + IR 组与 HD + IR 组相比蛋白质羰基含量差异无显著性 ($P > 0.05$)。HD 组与 C 组之间蛋白质羰基含量差异无显著性 ($P > 0.05$), 表明 40 mg/kg DADS 未造成小鼠睾丸组织 MDA 量上升。

如图 4 所示, IR 组与 C 组比, MDA 含量显著性增加 ($P < 0.05$)。与 IR 组相比, LD + IR 组 MDA 含量显著性下降 ($P < 0.05$); MD + IR 组与 HD + IR 组相比 MDA 含量差异无显著性 ($P > 0.05$)。HD 组与 C 组之间 MDA 含量差异无显著性 ($P > 0.05$), 表明 40 mg/kg DADS 未造成小鼠睾丸组织 MDA 含量上升。

如图 5 所示, IR 组与 C 组比, 8-OHdG 含量显著性增加 ($P < 0.05$)。与 IR 组相比, LD + IR 组 8-OHdG 含量显著性下降 ($P < 0.05$); MD + IR 组与 HD + IR 组相比 8-OHdG 含量差异无显著性 ($P > 0.05$)。HD 组与 C 组之间 8-OHdG 含量差异无显著性 ($P > 0.05$), 表明 40 mg/kg DADS 未造成小鼠睾丸组织 8-OHdG 含量上升。

2.5 DADS 对辐照小鼠睾丸组织中抗氧化酶的影响

如表 2 所示, 与 C 组比, IR 组 SOD、CAT、GSH-

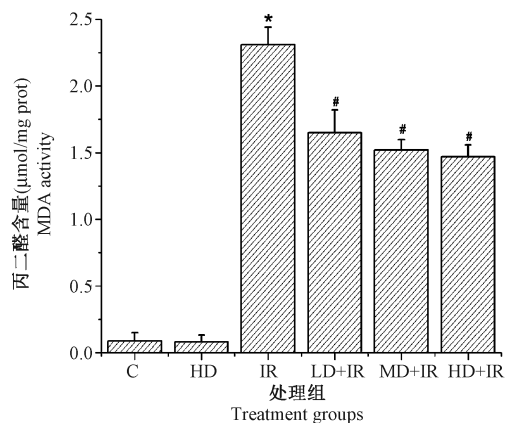


注:与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 IR 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 3 DADS 对辐照小鼠睾丸组织蛋白质羰基含量的影响

Note. Compared with the C group, * $P < 0.05$. Compared with the IR group, # $P < 0.05$.

Fig. 3 Influence of DADS on the contents of protein carbonyl group in the irradiated mice

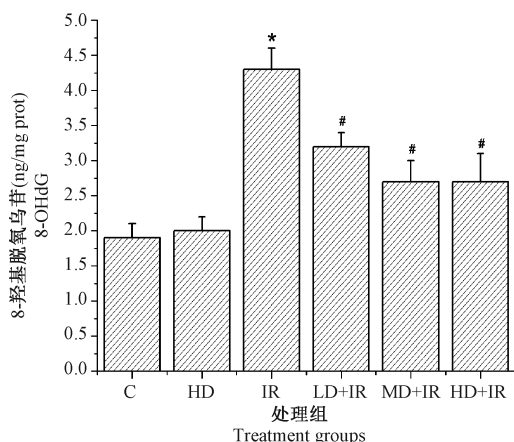


注:与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 IR 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 4 DADS 对辐照小鼠睾丸组织 MDA 的影响

Note. Compared with the in group C, * $P < 0.05$. Compared with the IR group, # $P < 0.05$.

Fig. 4 Influence of DADS on the MDA content in the testicular tissues of the irradiated mice



注:与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 IR 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 5 DADS 对辐照小鼠睾丸组织 8-OHdG 的影响

Note. Compared with the group C, * $P < 0.05$. Compared with the IR group, # $P < 0.05$.

Fig. 5 Influence of DADS on the 8-OHdG content in testicular tissues of the irradiated mice

Px 及 GSH 等各种抗氧化指标均显著性降低 ($P < 0.05$)。与 IR 组相比, LD + IR 组 SOD、CAT、GSH-Px 及 GSH 等各种抗氧化指标均有显著性提升 ($P < 0.05$)。MD + IR 组与 HD + IR 组相比各种抗氧化指标差异无显著性 ($P > 0.05$)。HD 组与 C 组之间各种抗氧化指标差异无显著性 ($P > 0.05$), 表明 40 mg/kg DADS 未造成小鼠睾丸组织各种抗氧化指标下降。

2.6 DADS 对辐照小鼠睾丸组织中 Nrf2 信号通路的影响

当机体受到外界损伤刺激时, Nrf2 信号通路可被激活, 从而起到对细胞的防御作用。如图 6 显示, 与 C 组相比, HD 组中 Nrf2 蛋白水平有所上升。在 IR 组中, Nrf2 蛋白的表达明显被激活。与 IR 组相比, HD + IR 组中 Nrf2 蛋白的表达水平增加。说明 DADS 可以促进电离辐射后 Nrf2 蛋白水平的增加。

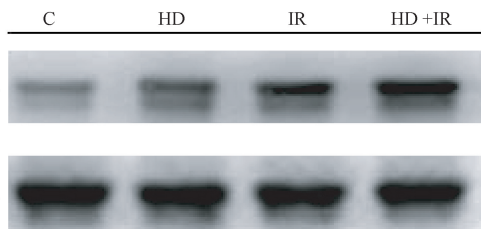


图 6 DADS 对辐照小鼠睾丸组织中 Nrf2 蛋白表达的影响

Fig. 6 Influence of DADS on the expression of Nrf2 in the testicular tissues of irradiated mice

3 讨论

电离辐射可造成生精细胞的大量减少, 影响精子的发生, 其主要原因之一是电离辐射可电解水, 产生自由基, 进而损伤组织细胞。研究表明: 电离辐射可损伤血睾屏障, 进而对生精细胞产生影响^[3], 射线照射氧化水平低表达的家燕后发现, 家燕的畸形精子量明显增多^[12]。而辐射照射产生的精子畸形率的上升可被 β -胡萝卜素、维生素 A、维生素 E 等抗氧化剂所降低^[13]。现今, 越来越多的研究者将目光集中在天然抗氧化剂的筛选上, DADS 作为大蒜中提取的脂溶性化合物, 已被证实可促进前列腺癌、乳腺癌、肺癌、胃癌等癌细胞的凋亡^[14-17]。但 DADS 在辐射防护及抗氧化方面的机制研究还并不清楚。

本研究显示: X 射线 4 Gy 照射小鼠可造成明显的生精小管上皮细胞丢失、精子活力下降, 同时畸形率也显著的升高, 不同浓度的 DADS 处理小鼠后, 都可在一定程度缓解辐射引起的这一急性损伤, 同时这一防护作用呈浓度依赖性。对精子活力和畸形率的检测中, 结果表明 DADS 单纯处理小鼠后, 其精子活力和畸形率相比正常组并没有显著性差异, 而辐射可以明显的降低睾丸组织中精子的活力, 增

表 2 DADS 对辐照小鼠睾丸抗氧化酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 2 Influence of DADS on the activity of testicular antioxidant enzymes in the irradiated mice

组别 Groups	SOD (U/mg prot)	CAT (U/mg prot)	GSH-Px (U/mg prot)	GSH (μ g/mg prot)
C	5.33 \pm 0.37	4.17 \pm 0.43	2.94 \pm 0.46	0.69 \pm 0.05
HD	5.50 \pm 0.33	4.30 \pm 0.49	2.65 \pm 0.36	0.72 \pm 0.06
IR	2.66 \pm 0.42*	2.08 \pm 0.34*	1.15 \pm 0.32*	0.35 \pm 0.03*
LD + IR	3.52 \pm 0.29#	2.99 \pm 0.31#	1.57 \pm 0.24#	0.43 \pm 0.04#
MD + IR	3.60 \pm 0.27#	3.34 \pm 0.58#	1.76 \pm 0.35#	0.52 \pm 0.03#
HD + IR	3.81 \pm 0.80#	3.60 \pm 0.46#	1.83 \pm 0.30#	0.54 \pm 0.03#

注:与 C 组相比, * $P < 0.05$; 与 IR 组相比, # $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the group C, * $P < 0.05$. Compared with the IR group, # $P < 0.05$.

加了精子畸形率。与 IR 组相比, DADS 联合辐射处理组中, DADS 的低中高处理组都可以在不同程度上缓解辐射造成的精子活力下降和畸形率上升的现象。实验结果还发现, 与 C 组相比, 电离辐射可造成蛋白质羰基含量、MDA 含量和 8-OHdG 含量的显著性升高, 而睾丸组织中 SOD、CAT、GSH-Px 和 GSH 四种抗氧化酶活性明显降低说明辐射可造成小鼠睾丸组织中脂质、核酸以及各种蛋白质的损伤。与 IR 相比, 不同浓度的 DADS 联合辐射后, 小鼠睾丸中蛋白质、脂质和核酸的损伤有所缓解。Nrf2 信号通路主要调控细胞的防御外界损伤的能力。与 C 组相比, 单纯 IR 处理小鼠后, Nrf2 蛋白水平上升, 说明电离辐射可以激活细胞的防御通路。在组织切片、精子活力、畸形率及蛋白质、脂质、核酸损伤指标表明, 电离辐射激活的 Nrf2 信号通路的防御能力不足以修复电离辐射引起的损伤。与 IR 相比, 高浓度 DADS 处理后再辐射, Nrf2 蛋白水平进一步上升, Nrf2 蛋白的高表达可激活下游的各种抗氧化酶的表达, 从而实现对机体的辐射防护。从以上实验数据, 可以推论 DADS 可以抑制辐射造成的小鼠睾丸组织的损伤, 其机制与激活 Nrf2 蛋白表达, 增加抗氧化酶活性有关, 是作为潜在的辐射防护药物。但其防护机制还需更进一步的探讨。

参考文献:

[1] Wang T, Mathew B, Wu X, et al. Nonmuscle myosin light chain kinase activity modulates radiation-induced lung injury [J]. *Pulm Circ*, 2016, 6(2): 234 - 239.

[2] Nadi S, Monfared AS, Mozdarani H, et al. Effects of arbutin on radiation-induced micronuclei in mice bone marrow cells and its definite dose reduction factor [J]. *Iran J Med Sci*, 2016, 41(3): 180 - 185.

[3] Zhang T, Liu T, Shao J, et al. Antioxidant protects blood-testis barrier against synchrotron radiation X-ray-induced disruption [J]. *Spermatogenesis*, 2015, 5(1): e1009313.

[4] Li M, Gu Y, Ma YC, et al. Kruppel-like factor 5 promotes epithelial proliferation and DNA damage repair in the intestine of irradiated mice [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(12): 1458 - 1468.

[5] Sudmeier LJ, Samudrala SS, Howard SP, et al. Persistent activation of the innate immune response in adult drosophila following radiation exposure during larval development [J]. *G3 (Bethesda)*, 2015, 5(11): 2299 - 2306.

[6] 许帅, 张红, 刘阳, 等. 二烯丙基二硫对¹²C⁶⁺离子束辐照损伤小鼠的保护作用研究 [J]. *原子核物理评论*, 2013, 30(1): 72 - 78.

[7] 许帅, 张红, 刘阳, 等. 二烯丙基二硫对荷 S180 肉瘤小鼠的辐射增敏效应 [J]. *激光生物学报*, 2013, 22(2): 119 - 124.

[8] Al-Sawaf O, Clarner T, Fragoulis A, et al. Nrf2 in health and disease: current and future clinical implications [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(12): 989 - 999.

[9] Bryan HK, Olayanju A, Goldring CE, et al. The Nrf2 cell defence pathway: Keap-dependent and -independent mechanisms of regulation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(6): 705 - 717.

[10] Shan Y, Wei Z, Tao L, et al. Prophylaxis of diallyl disulfide on skin carcinogenic model via p21-dependent Nrf2 stabilization [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35676.

[11] Li H, He Y, Yan J, et al. Comparative proteomics reveals the underlying toxicological mechanism of low sperm motility induced by iron ion radiation in mice [J]. *Reprod Toxicol*, 2016, 65: 148 - 158.

[12] Moller AP, Surai P, Mousseau TA. Antioxidants, radiation and mutation as revealed by sperm abnormality in barn swallows from Chernobyl [J]. *Proc Biol Sci*, 2005, 272(1560): 247 - 253.

[13] Ben-Amotz A, Yatziv S, Sela M, et al. Effect of natural beta-carotene supplementation in children exposed to radiation from the Chernobyl accident [J]. *Radiat Environ Biophys*, 1998, 37(3): 187 - 193.

[14] Tang H, Kong Y, Guo J, et al. Diallyl disulfide suppresses proliferation and induces apoptosis in human gastric cancer through Wnt-1 signaling pathway by up-regulation of miR-200b and miR-22 [J]. *Cancer Lett*, 2013, 340(1): 72 - 81.

[15] Huang J, Yang B, Xiang T, et al. Diallyl disulfide inhibits growth and metastatic potential of human triple-negative breast cancer cells through inactivation of the beta-catenin signaling pathway [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2015, 59(6): 1063 - 1075.

[16] Castro C, Lorenzo AG, González A, et al. Garlic components inhibit angiotensin II-induced cell-cycle progression and migration: Involvement of cell-cycle inhibitor p27(Kip1) and mitogen-activated protein kinase [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(6): 781 - 787.

[17] Pan MH, Ghai G, Ho CT. Food bioactives, apoptosis, and cancer [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(1): 43 - 52.