

槐花醇提取物促进肝癌大鼠的细胞凋亡

杨欣, 王乐

(河北化工医药职业技术学院, 河北石家庄 050026)

摘要: 探究槐花醇提取物对肝癌大鼠细胞凋亡的干预效果及作用机制。选取 50 只 SD 大鼠, 10 只为正常组, 其余 40 只建立有肝癌 (分为模型组、药物对照组、低、高浓度干预组)。观察各组大鼠细胞周期分布及增殖、凋亡情况, 并检测各组大鼠 PTEN、p-Akt、mTOR 及 Bcl-2、PI3K、Akt 表达。研究结果显示, 高浓度组大鼠癌组织处于 G₁ 期细胞比例、凋亡率、PTEN 相对表达量分别为 54.72%、45.34%、0.73, 均高于模型组、药物对照组、低浓度组 ($p < 0.05$); 增殖率、p-Akt、mTOR、Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量分别为 13.33%、1.33、1.34、1.31、1.32、1.35, 均低于模型组、药物对照组、低浓度组 ($p < 0.05$)。在槐花醇提取物的干预下, 肝癌大鼠癌组织细胞增殖、凋亡能力及周期分布受到明显调控, PTEN、p-Akt、mTOR 及 Bcl-2、PI3K、Akt 表达受到明显的调控, 说明槐花醇提取物能够阻滞肝癌组织细胞周期分布, 抑制肝组织细胞增殖, 促进肝癌组织细胞凋亡, 其能力呈现浓度依赖, 为肝癌症状的临床治疗提供一定参考价值。

关键词: 肝癌; 细胞凋亡; 细胞增殖; 周期分布

文章篇号: 1673-9078(2020)03-17-21

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.3.003

Apoptosis of *Sophora japonica* Extraction on Hepatoma Rats

YANG Xin, WANG Le

(Department of Pharmaceutical, Hebei Chemical & Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050026, China)

Abstract: To investigate the interventional effect and working mechanism of *Sophora japonica* ethanolic extract on apoptosis of hepatoma in rats. Fifty SD rats were selected, with 10 for the normal group and 40 set up to have hepatic carcinoma (which were divided into the model group, drug control group, low- and high-dose intervention group). The cell cycle distribution, proliferation and apoptosis of rats in each group were examined, and the expressions of PTEN, p-akt, mTOR, bcl-2, PI3K and Akt were analyzed. The results showed that the proportion of cells at G₁ phase, apoptosis rate and PTEN relative expression level for the high-dose intervention group were 54.72%, 45.34% and 0.73, respectively, which were all higher than those of the model group, drug control group and low-dose intervention group ($p < 0.05$). The proliferation rate, the relative expression levels of p-Akt, mTOR, Bcl-2, PI3K and Akt were 13.33%, 1.33, 1.34, 1.31, 1.32 and 1.35, respectively, which were all lower than those of the model group, drug control group and low-dose intervention group ($p < 0.05$). The intervention with *sophora japonica* ethanolic extract significantly regulated the cell proliferation and apoptosis of carcinoma tissues as well as the expression of PTEN, p-Akt, mTOR and the Bcl-2, PI3K and Akt in rats with liver cancer. These results indicate that, *Sophora japonica* ethanolic extract can block the cell cycle distribution, inhibit cell proliferation and promote apoptosis of carcinoma tissues in rats. Such capacities depend on the concentration of *sophora japonica* ethanolic extract, which provides certain reference value for clinical treatment of liver cancer symptoms.

Key words: hepatic carcinoma; apoptosis; cell proliferation; periodic distribution

引文格式:

杨欣,王乐.槐花醇提取物促进肝癌大鼠的细胞凋亡[J].现代食品科技,2020,36(3):17-21

YANG Xin, WANG Le. Apoptosis of *Sophora japonica* extraction on hepatoma rats [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 17-21

肝癌主要发生于机体肝脏上皮组织、间叶组织^[1-3]。肝癌的发生发展是一个较为复杂的生理过程, 饮食、环境、病毒感染等都与肝癌的发病具有一定联系。

收稿日期: 2019-07-15

基金项目: 河北省社会科学基金项目 (201703040153)

作者简介: 杨欣 (1981-), 女, 讲师, 研究方向: 药物制剂技术

通讯作者: 王乐 (1978-), 男, 讲师, 研究方向: 药物新剂型

据相关流行病学调查数据显示, 随着社会的不断发展, 人们生活水平的不断提升, 肝癌发病率呈现逐年上升趋势, 并且发病人群逐渐趋于年轻化^[4,5]。绝大多数肝癌患者早期无特异性症状, 这也导致了目前我国肝癌的早期诊断率相对较低, 一旦确诊为肝癌, 很有可能病情已经发展为晚期, 临床治疗难度较大, 患者病死率较高, 因此如何提高肝癌临床治疗效果是目

前大多数学者主要的研究课题^[6,7]。

槐花是一种豆科植物的花, 每年4、5月份开花, 在我国华北平原、黄土高原等地区种植较为广泛。槐花是一种药食同源植物, 无毒、味苦, 具有降压、凉血、清热等功效, 能增强毛细血管的抵抗力, 减少血管通透性, 可使脆性血管恢复弹性的功能, 从而降血脂和防止血管硬化。但是槐花性凉, 脾胃虚寒者不宜食用。槐花在我国具有较长时间的药用历史, 我国传统中医认为, 槐花具有清肝、止血、泻火等药用价值, 近年来有学者在研究中表示, 槐花还具有抗氧化、清除自由基、调节免疫、抗肿瘤等诸多药理作用^[8,9], 但是国内外关于使用槐花醇提取物对肝癌进行干预的研究还鲜有报道。

大量实验研究表明, 癌组织的发生发展与细胞周期分布以及增殖、凋亡等生物学行为密切相关^[10], Bcl-2、PI3K、Akt 是广谱的细胞凋亡相关蛋白, 其表达的变化与细胞凋亡密切相关。本文建立肝癌大鼠模型, 并使用槐花醇提取物进行干预, 对肝癌大鼠癌组织细胞增殖、凋亡及周期分布情况以及 Bcl-2、PI3K、Akt 的表达进行检测, 从而分析槐花醇提取物对肝癌大鼠的干预效果及作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

研究动物: 选取50只健康SD雄性大鼠, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供(生产许可证号: SCXK(湘)2016-0002, 实验单位使用许可证号: SYXK(湘)2015-0017), 年龄3~6个月, 平均年龄(4.5±1.2)月, 体重209~238g, 平均体重(223.8±12.6)g。所有大鼠均于干净笼子内喂养, 喂养环境设定为室温(23.1±3.4)℃, 相对湿度35%~40%, 每天保持12h光照, 喂饮纯净水, 饲养1周。本文所做实验均获得伦理委员会批准。

主要试剂: 大鼠抗小鼠 Bcl-2 抗体, Sigma 公司; 小鼠抗大鼠 PI3K、Akt 抗体, Dako 公司; 大鼠抗兔 PTEN 抗体, Invitrogen 公司; 兔抗大鼠 p-Akt、mTOR 抗体, Gibco 公司; MTT 试剂盒, 北京中杉金桥生物技术有限公司; PBS 缓冲液、TBST 液, 上海国药集团化学试剂有限公司。

提取物的制备: 将5000g干燥槐花粉碎成粗粉, 按照1:30的比例加入75%的乙醇, 在95℃的条件下水浴回流2h, 提取两次, 过滤, 分别收集滤液。再用旋转蒸发器将提取液浓缩, 至无酒精为止, 得槐花醇提取物, 槐花醇提取物主要包括芦丁、水仙苷、山柰

酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素等4种黄酮类成分^[11]。

1.2 方法

1.2.1 建模及分组

随机选取10只大鼠作为本文研究正常组, 不作处理, 其余40只大鼠建立肝癌模型。腹腔注射50mg/kg 甲基亚硝胺, 2次/周, 连续注射4周, 第五周起腹腔注射50mg/kg 甲基亚硝胺, 1次/周, 连续注射10周。剖开大鼠腹部, 对大鼠肝脏组织进行观察, 肝脏的表面出现大量灰白色结节表示造模成功, 40只大鼠全部造模成功, 将40只肝癌模型大鼠随机分为模型组以及药物对照组、低、高浓度组各10只。药物对照组大鼠使用消癌平片溶液进行灌肝处理, 低、高浓度组大鼠分别使用20mg/kg、40mg/kg的槐花醇提取物溶液进行灌肝处理, 正常组、模型组大鼠使用生理盐水进行灌肝处理。

1.2.2 免疫组化染色处理

停止用药后, 对五组大鼠进行全麻处理, 采用断头法处死, 取其肝组织, 使用液氮冷冻后用甲醛浸泡固定, 然后进行组织切片, 并使用免疫组化染色对各组大鼠病理组织切片进行染色处理。

1.2.3 细胞生物学行为检测

对各组大鼠肝组织细胞增殖、凋亡、周期分布等细胞生物学行为进行检测: 使用MTT法检测各组细胞增殖能力, 使用流式细胞仪检测各组细胞凋亡、周期分布情况。

1.2.4 Western blot 法检测细胞周期、细胞凋亡相关蛋白表达

使用PBS缓冲液清洗标本三次, 分离缓冲液之后裂解0.5h, 对蛋白浓度进行测定。取20μg/孔蛋白质, 加入适量SDS-PAGE蛋白缓冲液后电泳10min, 在10%的牛奶中浸泡电转膜, 摇床上常温封闭1.5h; 与一抗结合之后使用TBST进行稀释, 并孵育、保存; 次日使用TBST液进行清洗, 与二抗结合后常温孵育1h, 再次清洗, 加入显影剂显色, 对细胞周期相关蛋白PTEN、p-Akt、mTOR以及细胞凋亡相关蛋白Bcl-2、PI3K、Akt相对表达量进行检测。

1.3 统计学处理

采用SPSS21.0统计软件进行分析, 计量资料采用($\bar{x} \pm s$)进行描述, 多组间比较采用F值检验, 两组间比较采用实施独立样本t检验, $p < 0.05$ 则说明差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

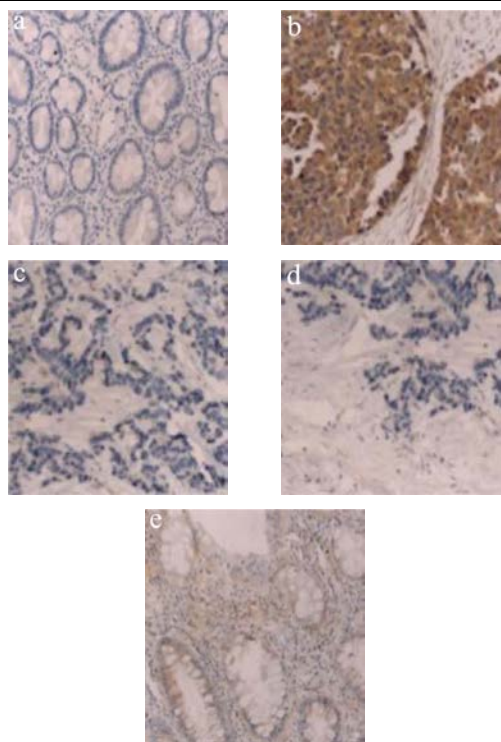


图1 各组大鼠肝组织病理学观察图免疫组化染色(×200)

Fig.1 Immunohistochemical staining of hepatic histopathology in rats of each group

注: a: 正常组; b: 模型组; c: 药物对照组; d: 低浓度组; e: 高浓度组。

表1 大鼠肝组织细胞周期分布情况对比

Table 1 Comparison of cell cycle distribution in gastric mucosa of rats in different groups ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	只数/n	G ₁	S	G ₂
正常组	10	63.88±5.20 ^c	14.98±2.01 ^e	16.76±2.08 ^e
模型组	10	34.95±3.11 ^a	30.33±2.25 ^a	31.66±2.98 ^a
药物对照组	10	50.13±4.16 ^b	22.62±2.31 ^b	24.11±2.13 ^b
低浓度组	10	41.85±3.86 ^c	26.11±2.25 ^c	27.55±2.10 ^c
高浓度组	10	54.72±4.32 ^d	19.36±2.11 ^d	21.85±2.16 ^d

注: 同列右肩字母不同表示差异性显著, $p < 0.05$, 下表同。

2.3 大鼠癌组织细胞增殖率及凋亡率对比

大量实验研究表明, 肝癌的发生发展与癌组织细胞增殖、凋亡密切相关。有学者在研究中表示, 相比正常肝组织细胞, 肝癌组织细胞增殖率相对较高, 凋亡率相对较低^[13]。还有学者在研究中表示, 对肝癌细胞进行适当的干预, 能够抑制肝癌细胞增殖, 促进肝癌细胞凋亡, 进而对肝癌组织的发展起到一定的抑制作用^[14]。槐花醇提取物中主要活性成分山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素是具有抗癌作用的黄酮类物质, 能够抑制癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡, 对食管鳞癌细胞、胃癌细胞的增殖具有一定的抑制作用, 但是关于槐花醇提取物对肝癌细胞增殖抑制作用的研究还相对

2.1 大鼠肝组织的病理学观察图

如图1所示, 正常组大鼠肝组织细胞结构完整, 大小平均, 排列较为规则; 模型组大鼠肝组织细胞排列不规则, 且可见炎症细胞浸润; 高浓度组大鼠肝组织细胞大小较为均一, 排列较为规则, 炎症细胞浸润现象明显缓解。

2.2 大鼠肝组织细胞周期分布的情况对比

有学者研究表示, 肝癌症状的发生发展与机体肝组织的细胞周期分布具有紧密联系^[12]。还有学者在研究中表示, 对肝癌细胞进行适当的干预, 能够对癌细胞周期分布情况造成一定的影响。本文研究结果如表1所示, 正常组大鼠肝组织处于G₁、S、G₂期的细胞比例分别为63.88%、14.98%、16.76%, 模型组大鼠癌组织处于G₁期的细胞比例为34.95%, 处于S期的细胞比例为30.33%, 处于G₂期的细胞比例为31.66%, 使用槐花醇提取物进行干预后, 肝癌大鼠癌组织细胞周期情况受到一定的影响, 高浓度组大鼠癌组织处于G₁期的细胞比例为54.72%, 高于模型组、药物对照组、低浓度组。说明使用槐花醇提取物对肝癌模型大鼠进行干预, 能够起到阻滞肝癌模型大鼠癌组织细胞周期的作用, 并且其能力具有一定的浓度依赖性。

较少。本文研究中对肝癌模型大鼠癌组织细胞增殖、凋亡情况进行检测, 结果如表2所示, 模型组大鼠癌组织细胞增殖、凋亡率分别为39.55%、3.89%, 使用槐花醇提取物进行干预之后, 肝癌大鼠增殖率出现下降, 凋亡率出现上升, 高浓度组大鼠增殖率为13.33%, 显著低于模型组、药物对照组、低浓度组, 凋亡率为45.34%, 显著高于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义($p < 0.05$), 说明使用槐花醇提取物对肝癌模型大鼠进行干预, 能够对肝癌模型大鼠癌组织细胞增殖、凋亡能力进行一定的调控, 进而影响肝癌模型大鼠癌组织的发展, 出现这一研究结果的原因可能是槐花醇提取物中主要活性成分山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素对肝癌大鼠癌组织细胞的增殖、凋

亡能力进行干预。

表2 大鼠癌组织细胞增殖率及凋亡率对比

Table 2 Comparison of proliferation rate and apoptosis rate of rat cancer tissue cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数/n	增殖率/%	凋亡率/%
模型组	10	39.55±3.98 ^d	3.89±0.52 ^d
药物对照组	10	16.35±2.63 ^a	40.29±3.59 ^a
低浓度组	10	29.22±3.61 ^b	31.66±2.97 ^b
高浓度组	10	13.33±2.42 ^c	45.34±3.85 ^c

2.4 细胞周期蛋白 PTEN、p-Akt、mTOR 表达

表3 细胞周期蛋白 PTEN、p-Akt、mTOR 表达

Table 3 Expression of cyclin PTEN, p-Akt and mTOR ($\bar{x} \pm s$)

组别	PTEN	p-Akt	mTOR
正常组	1.00±0.01 ^e	1.00±0.01 ^e	1.00±0.01 ^e
模型组	0.39±0.02 ^a	1.69±0.12 ^a	1.65±0.14 ^a
药物对照组	0.62±0.05 ^b	1.41±0.07 ^b	1.44±0.08 ^b
低浓度组	0.51±0.04 ^c	1.57±0.09 ^c	1.56±0.11 ^c
高浓度组	0.73±0.06 ^d	1.33±0.06 ^d	1.34±0.07 ^d

大量实验研究表明, PTEN、p-Akt、mTOR 的表达与细胞周期分布情况密切相关。有学者在研究中表示, 对机体癌组织细胞进行适当的干预, 能够对癌组织细胞周期相关蛋白 PTEN、p-Akt、mTOR 的表达进行调控, 进而对癌组织细胞周期分布进行调控^[15-17]。本文研究结果如表3所示, 模型组大鼠 PTEN 相对表达量为 0.39, 显著低于正常组, p-Akt、mTOR 相对表达量分别为 1.69、1.65, 均显著高于正常组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 高浓度组大鼠 PTEN 相对表达量为 0.73, 显著高于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 高浓度组大鼠 p-Akt 相对表达量为 1.33, 显著低于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 高浓度组大鼠 mTOR 相对表达量为 1.34, 显著低于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$), 说明使用槐花醇提取物对肝癌模型大鼠进行干预, 能够对癌组织 PTEN、p-Akt、mTOR 相对表达量进行一定的调控, 从而起到阻滞肝癌组织细胞周期的作用, 并且其能力具有一定的浓度依赖性。

2.5 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 表达

大量实验研究表明, 细胞凋亡与癌组织的发生发展密切相关, 而 Bcl-2、PI3K、Akt 的表达与细胞凋亡密切相关。Bcl-2 是在线粒体通路中起着调节作用的重要基因, Bcl-2 表达水平的变化与细胞凋亡密切相关^[18]。PI3K 是一种磷脂酰肌醇 3 激酶, 能在机体生长因

子的作用下集成细胞膜^[19]。Akt 是在处于 PI3K 下游的靶蛋白, 将它激活后, 即激活其他靶蛋白, 能促使细胞生长, 具有抗凋亡的作用^[20]。本文研究结果如表4所示, 模型组大鼠 Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量分别为 1.69、1.75、1.67, 均高于正常组大鼠 Bcl-2、PI3K、Akt 相对表达量, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。高浓度组大鼠 Bcl-2 相对表达量为 1.31, 均低于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 高浓度组大鼠 PI3K 相对表达量为 1.32, 均低于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 高浓度组大鼠 Akt 相对表达量为 1.35±, 均低于模型组、药物对照组、低浓度组, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。说明使用槐花醇提取物对肝癌模型大鼠进行干预, 能够对细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 的相对表达量进行适当的调控, 从而起到促进肝癌组织细胞凋亡的作用, 并且具有一定的浓度依赖性。

表4 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 表达

Table 4 Expression of apoptosis-related proteins Bcl-2, PI3K and Akt ($\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2	PI3K	Akt
正常组	1.00±0.01 ^e	1.00±0.01 ^e	1.00±0.01 ^e
模型组	1.69±0.16 ^a	1.75±0.19 ^a	1.67±0.15 ^a
药物对照组	1.43±0.11 ^b	1.45±0.11 ^b	1.46±0.08 ^b
低浓度组	1.53±0.12 ^c	1.59±0.14 ^c	1.55±0.10 ^c
高浓度组	1.31±0.09 ^d	1.32±0.10 ^d	1.35±0.07 ^d

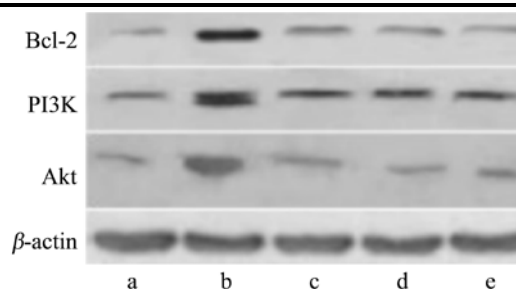


图2 Bcl-2、PI3K、Akt 表达 WB 图

Fig.2WB Map Expressed by Bcl-2, PI3K and Akt

注: a: 正常组; b: 模型组; c: 药物对照组; d: 低浓度组; e: 高浓度组。

3 结论

研究表明, 在槐花醇提取物的干预下, 肝癌模型大鼠癌组织细胞周期分布受到明显的调控, G₁ 期细胞比例明显上升, 肝癌模型大鼠癌组织细胞增殖率下降, 肝癌模型大鼠周期相关蛋白 PTEN、p-Akt、mTOR 的表达受到明显的调控, 癌组织凋亡相关蛋白 Bcl-2、PI3K、Akt 的表达也明显受到了调控, 说明槐

花醇提物能阻滞癌细胞的周期分布,通过相关蛋白的调控,抑制癌组织的发展。

参考文献

- [1] Katz P. Causes and consequences of fatigue in rheumatoid arthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2017, 29(3): 269-276
- [2] Dequattro K, Imboden J B. Neurologic manifestations of rheumatoid arthritis [J]. *Rheum Dis Clin North Am*, 2017, 43(4): 561-571
- [3] Panga V, Kallor A A, Nair A, et al. Mitochondrial dysfunction in rheumatoid arthritis: A comprehensive analysis by integrating gene expression, protein-protein interactions and gene ontology data [J]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0224632
- [4] Malm K, Bergman S, Bremander A, et al. Discussions of lifestyle habits as an integral part of care management: a cross-sectional cohort study in patients with established rheumatoid arthritis in Sweden [J]. *Rheumatol Adv Pract*, 2019, 3(2): 39
- [5] Wang J, Mao N, Xie X, et al. High expression of multidrug resistance gene-1 can aggravate resistance to methotrexate in rheumatoid arthritis patients [J]. *Proceedings of the Chinese Academy of Medical Sciences*, 2019, 41(5): 595-600
- [6] Li G, Chi W, Bai B, et al. Dose-response associations between metabolic indexes and the risk of comorbid type 2 diabetes mellitus among rheumatoid arthritis patients from northern china: a case-control study [J]. *BMJ Open*, 2019, 9(7): e028011
- [7] 李心怡,陈玲,马逾英,等.不同栽培年限川桔梗中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 的含量比较[J].*中国药房*,2018,29(9): 1249-1252
LI Xin-yi, CHEN Ling, MA Yu-ying et al. Content Comparison of Platycodon Grandiflorum Total Saponin and Platycodon Grandiflorum Saponin D in Platycodon Grandiflorum of Different Cultivation Years [J]. *Chinese Pharmacy*, 2018, 29(9): 1249-1252
- [8] 李盈,王举涛,桂双英,等.桔梗的化学成分及药理作用研究进展[J].*食品与药品*,2016,18(1):72-75
LI Ying, WANG Ju-tao, GUI Shuang-ying, et al. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological effects of platycodon grandiflorum [J]. *Food and Drugs*, 2016,18(1): 72-75
- [9] 柳贵梅,周雪莲,赵巧凤,等.根除幽门螺杆菌治疗对类风湿关节炎患者血清 IL-8、IL-18 水平的影响[J].*中国免疫学杂志*,2015,31(8):1098-1100,1104
LIU Gui-mei, ZHOU Xue-lian, ZHAO Qiao-feng, et al. Effect of helicobacter pylori eradication on serum levels of IL-8 and IL-18 in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2015, 31(8): 1098-1100, 1104
- [10] 孙晓春,张伟强,唐平生,等.桔梗提取物的主要成分和抗氧化性的测定[J].*中国农学通报*,2017,33(31):139-144
SUN Xiao-chun, ZHANG Wei-qiang, TANG Ping-sheng, et al. Determination of the main components and antioxidant activity of platycodon grandiflorum extracts [J]. *China Agricultural Bulletin*, 2017, 33(31): 139-144
- [11] 韩玉生,李东东,侯志涛,等.丹溪痛风胶囊对类风湿性关节炎大鼠血清 IL-17 和 IL-23 水平的影响[J].*中医学报*,2018, 33(9):1705-1708
HAN Yu-sheng, LI Dong-dong, HOU Zhi-tao, et al. Effects of Danxi gout capsule on serum IL-17 and IL-23 levels in rats with rheumatoid arthritis [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2018, 33(9): 1705-1708
- [12] 铁宁,张桂芝.甲氨蝶呤与雷公藤多苷片联用对类风湿性关节炎大鼠的治疗作用[J].*中国中医急症*,2016,25(4):655-657, 674
TIE Ning, ZHANG Gui-zhi. Methotrexate and tripterygium wilfordii polyglycoside tablets in the treatment of rheumatoid arthritis in rats [J]. *Chinese Medical Emergency*, 2016, 25(4): 655-657,674
- [13] Bala A, Mondal C, Haldar PK, et al. Oxidative stress in inflammatory cells of patient with rheumatoid arthritis: clinical efficacy of dietary antioxidants [J]. *Inflammopharmacology*, 2017, 25(6): 595-607
- [14] Alivernini S, Bruno D, Toluoso B, et al. Differential synovial tissue biomarkers among psoriatic arthritis and rheumatoid factor/anti-citrulline antibody-negative rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 116
- [15] Zhai K F, Duan H, Khan G J, et al. Salicin from alangium chinense ameliorates rheumatoid arthritis by modulating the Nrf2-HO-1-ROS pathways [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(24): 6073-6082
- [16] Jacobson G A, Ives S J, Narkowicz C, et al. Plasma glutathione peroxidase (GSH-Px) concentration is elevated in rheumatoid arthritis: A case-control study [J]. *Clin Rheumatol*, 2012, 31(11): 1543-1547

(下转第 259 页)