

藏红花水提取物抑制 人卵巢癌细胞 HO-8910 的增殖作用

徐婧¹, 常青²

(1. 皖西卫生职业学院医学技术系, 安徽六安 237000) (2. 皖西卫生职业学院临床医学系, 安徽六安 237000)

摘要: 本文研究了藏红花水提取物抑制 HO-8910 人卵巢癌细胞的增殖作用。将实验分为细胞组、藏红花水提取物低剂量组 (0.4 mg/L)、中剂量组 (0.8 mg/L)、高剂量组 (1.0 mg/L), HO-8910 细胞培养成功后, 分别用不同浓度的藏红花水提取物进行处理, 检测卵巢癌细胞的增殖能力及细胞外调节蛋白激酶 (ERK)、Bcl-2、Bax 蛋白的含量。结果表明, 在实验浓度范围内, 随着藏红花水提取物浓度的提高, 卵巢癌细胞的增殖率明显受到抑制, 其中, 高剂量组作用时, 24 h、48 h、72 h 的增殖率分别为 14.13%、12.15% 和 11.16%, 显著低于其他各实验组 ($p < 0.05$); 另外, 高剂量组藏红花水提取物作用后, 其对卵巢癌细胞的凋亡率以及对癌细胞侵袭能力的抑制率分别为 20.11% 和 64.24%, 其 ERK、Bcl-2、Bax 蛋白表达量分别为 0.61、0.48 和 0.95, 与其他实验组均具有显著性差异 ($p < 0.05$)。说明藏红花水提取物能够明显抑制卵巢癌细胞活性, 降低卵巢癌细胞增殖能力及侵袭能力, 其作用机制可能与 ERK 信号通路有关。

关键词: 藏红花水提取物; 卵巢癌细胞; 增殖; 凋亡

文章编号: 1673-9078(2020)12-22-26

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.12.0511

Inhibitory Effect of Saffron Water Extract on Proliferation of Human Ovarian Cancer Cell Line HO-8910

XU Jing¹, CHANG Qing²

(1. Department of Medical Technology, West Anhui Health Vocational College, Lu'an, 237000, China)

(2. Department of Clinical Medicine, West Anhui Health Vocational College, Lu'an, 237000, China)

Abstract: The inhibitory effect of saffron water extract on the proliferation of HO-8910 human ovarian cancer cell was investigated. The experiment was divided into cell group, saffron water extract low-dose group (0.4 mg/L), medium dose group (0.8 mg/L) and high-dose group (1.0 mg/L). After HO-8910 cells were successfully cultured, they were treated with different concentrations of saffron water extract. The proliferation ability of ovarian cancer cells and the content of extracellular regulated protein kinase (ERK), Bcl-2 and Bax protein were detected. The results showed that in the experimental concentration range, the growth rate of ovarian cancer cells was significantly inhibited with the increase of saffron water extract concentration. At 24 h, 48 h and 72 h, the proliferation rates of high dose group were 14.13%, 12.15%, and 11.16%, respectively, which were significantly lower than those of other experimental groups ($p < 0.05$). Furthermore, the inhibition rates of saffron water extract on ovarian cancer cell apoptosis and invasion were 20.11% and 64.24%, respectively. The protein expression levels of ERK, Bcl-2 and Bax were 0.61, 0.48 and 0.95, respectively, which were significantly different than those of other experimental groups ($p < 0.05$). These results indicated that saffron water extract could significantly inhibit the activity of ovarian cancer cells, reduce the proliferation and invasion ability of ovarian cancer cells, and its mechanism might be related to ERK signaling pathway.

Key words: saffron water extract; ovarian cancer cell; proliferation; apoptosis

引文格式:

徐婧, 常青. 藏红花水提取物抑制人卵巢癌细胞 HO-8910 的增殖作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 22-26

XU Jing, CHANG Qing. Inhibitory effect of saffron water extract on proliferation of human ovarian cancer cell line HO-8910 [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(12): 22-26

近年来, 研究人员对藏红花活性成分进行研究,

收稿日期: 2020-06-01

基金项目: 安徽省教育厅高校科学研究一般项目 (KJ2019B01)

作者简介: 徐婧 (1987-), 女, 讲师, 研究方向: 天然植物成分及化妆品

发现其中藏红花素、藏红花苦素等均有明显对抗癌作用。对白血病、卵巢癌、结肠癌等都具有明显的抑制作用。陈哲等^[1]研究表明, 藏红花素 I 具有优良的抗氧化活性; 藏红花素 I 在高温、强光照射、强酸强碱

环境中均会产生损失,含藏红花素 I 成分的产品应贮存于低温、避光、pH 值为 6 的环境中,且与适量抗坏血酸联用可以提高其稳定性。藏红花其成分主要是藏红花素和藏红花提取物。在传统医学中,藏红花能够用于治疗百日咳、失眠等多种疾病,现代研究还发现其能够缓解经期前综合症状,并且还具有治疗抑郁的作用。它还属于一种保健品,具有抑制食欲的作用,能够提高大脑血清素水平的生物化学物质,而血清素又是一种调节情绪、控制饥饿的化学品,因此能够发挥通过血清素防止体重增加的作用^[2,3]。藏红花的药用和保健功能的成分主要是藏红花提取物,其能够养血活血,调节内分泌,令气血通畅,促进血液循环,进而能够由内而外的全面调理。有研究表明^[4],藏红花素具有活血、养血功能,能够调节内分泌失调。其能够及时促进人体血液循环血氧的供给,调节内分泌,促进血液循环,能够由内向外全面调理。有研究表明^[5],藏红花具有明显的抑癌作用,能够对白血病、结肠癌、软组织肉瘤等均具有较强的抑制作用。其抗癌机理是能够破坏 DNA 合成酶,破坏对细胞 DNA 的合成,进而达到抑制肿瘤细胞生长的作用^[6]。藏红花水提取物对血凝凝固还具有明显的抑制作用,其能够延长凝血酶原的生成、活化时间,进而抑制血小板聚集,进而加速尿激酶、纤维蛋白酶的活性。现已有研究发现藏红花素具有抑制子宫癌、膀胱癌以及白血病等癌症,且对正常细胞无明显毒副作用^[7,8]。

细胞外调节蛋白激酶(ERK)属于一种细胞外信号调节激酶,参与多种细胞的生物学反应,在细胞的增殖、分化、凋亡过程中发挥着重要作用,ERK 信号通路持续活跃参与多种肿瘤的发生和发展^[9]。因此在本文研究中,使用藏红花水提取物研究其对卵巢癌细胞凋亡的影响,以寻找其作用机制,为临床上卵巢癌细胞的研究提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 材料

研究细胞:人源细胞系:人卵巢癌细胞(HO-8910),泉州市睿信生物科技有限公司;藏红花,三原天域生物制品有限公司。

1.2 主要试剂

大鼠抗小鼠 ERK、Bax、Bcl-2 抗体,上海恒斐生物科技有限公司;DMEM 培养基、胎牛血清,北京百奥莱博科技有限公司;曲古霉素 A,美国 Sigma 公司;MTT,美国 Sigma 公司;试剂盒,南京建成生物工程

研究所;胰酶、内参蛋白,Proteintech 公司;其他均为分析纯试剂。

1.3 主要仪器

多功能酶标仪,美谷分子仪器有限公司;CO₂ 培养箱,Thermo Fisher 公司;生物洁净工作台,哈尔滨东联电子技术开发公司;倒置显微镜,日本奥林巴斯公司;离心机,北京医用离心机厂;紫外可见分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;数显恒温水浴锅,金坛市亿能实验仪器厂。

1.4 方法

1.4.1 藏红花水提取物提取过程

取藏红花 1.47 g,加其 50 倍 100 °C 的蒸馏水,将其浸泡 1 h,加入上同蒸馏水浸泡 1 h,收集浸泡上清,将两次上清进行混合,在 80 °C 水浴浓缩质量浓度为 187 g/L。

1.4.2 细胞培养及分组

使用 T-25 细胞培养瓶培养人卵巢癌细胞 HO-8910,使用 10% FBS 的 1640 培养基培养,在温度 37 °C 和 5% CO₂ 的条件下进行培养,若细胞死亡、污染,重新复苏保存,细胞壁生长,2~3 d 换液处理,待生长到 80% 良好状态时,将细胞也丢弃,使用无菌 PBS 进行洗涤 3 次,加入 3~4 滴 0.25% 胰酶,消化处理 1~2 min,在 37 °C 的条件下,并且使用 10% 胎牛血清混合培养终止消化,收集细胞离心管内,进行传代。将培养后的细胞分为细胞组、提取物低剂量组(0.4 mg/L)、提取物中剂量组(0.8 mg/L)、提取物高剂量组(1.0 mg/L)。

1.4.3 人卵巢癌细胞 HO-8910 增殖能力检测

采用 MTT 比色法对卵巢癌细胞 HO-8910 的增殖能力进行检测,将培养后细胞制成细胞悬液,置于 96 孔的培养板中,并加入细胞悬液 90 μL,将三个不同浓度曲古霉素 A 的培养细胞观察时间定为 24 h、48 h 和 72 h,并且分别设置不同的 5 个复孔,将不同浓度的曲古霉素 A 加入其中。参照组细胞每孔加入 10 μL 的培养液,然后按照不同曲古霉素 A 的时间进行培养。当所有细胞组培养到规定时间后,加入 MTT 20 μL 孵育 4 h,吸取孔上的上清液,加入 150 μL 的 DMSO,振荡 10 s,采用酶标仪测定波长为 570 nm 的细胞组 OD 值,按照肿瘤细胞增殖率计算公式,增殖率(%) = (细胞组 OD 值/参照值-1) × 100%,对各组卵巢癌细胞增殖率进行计算。

1.4.4 人卵巢癌细胞 HO-8910 凋亡率检测

胰蛋白消化指数生长期癌细胞,调整细胞密度为

3×10^5 cells/mL, 接种于 6 孔板中 1 mL/每孔。加入不同浓度藏红花水提取物, 48 h 后使用胰酶消化细胞, 冷 PBS 进行洗涤 3 遍, 在室温干燥, 使用 5 mg/L Hoechst 33258 染色 15 min, 置于荧光显微镜上观察细胞形态并计算细胞凋亡率。

1.4.5 人卵巢癌细胞 HO-8910 侵袭率检测

使用 Transwell 试剂盒观察细胞侵袭能力。每组选 3 个复孔, 先用胰酶消化细胞, 之后使用 PBS 缓冲液清洗 1~2 次, 用 10 g/L 的 BSA 重悬细胞, 将细胞密度调整至 $\times 10^5$ cells/mL, 取 150 μ L 细胞悬液加入到 Transwell 小室中, 培养 24 h, 之后乙醇固定 5 min, 使用结晶紫溶液染色, 在倒置显微镜下观察计数穿膜细胞。

1.4.6 ERK 通路蛋白表达量检测

使用蛋白免疫印迹 (Western blot) 对 ERK 通路蛋白进行检测, 提取卵巢癌组织中的样品总蛋白, 将其与上样缓冲液按比例混合, 煮沸 5 min 后, 进行电泳, 并将蛋白电转至 PVDF 膜, 使用 5% 的脱脂奶粉封闭 1~2 h, 然后加入一抗溶液 TBST (ERK、Bcl-2、Bax 按照 1:1000 稀释), 在 4 $^{\circ}$ C 条件下进行震荡过夜, 再次洗涤, 放入二抗溶液 TBST (ERK、Bcl-2、Bax 按照 1:5000 稀释), 室内震荡 120 min 后, 洗涤, 显色成像, 使用软件分析蛋白条带灰度值。内参蛋白是 GAPDH。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 多组间比较采用 F 值检验, 两组间比较采用独立样本 t 检验, $p < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 不同剂量藏红花水提取物对人卵巢癌细胞增殖情况比较

表 1 不同剂量藏红花水提取物对人卵巢癌细胞的增殖比较 (%)

组别	24 h	48 h	72 h
细胞组	38.16 \pm 2.35 ^a	36.66 \pm 3.25 ^a	34.46 \pm 3.11 ^a
低剂量组	35.45 \pm 1.11 ^b	33.15 \pm 1.21 ^b	30.16 \pm 1.33 ^b
中剂量组	21.11 \pm 1.25 ^c	19.15 \pm 1.33 ^c	18.46 \pm 1.21 ^c
高剂量组	14.13 \pm 1.33 ^d	12.15 \pm 1.15 ^d	11.16 \pm 1.11 ^d

注: 同列数据右肩字母不同表示差异显著, $p < 0.05$, 下同。

藏红花中含有 100 多种挥发性化合物及非挥发性化合物, 其是一种根类草本植物, 是我国名贵的中药材, 并且素有“植物黄金”的称号^[10,11]。藏红花提取物是羟自由基与超氧自由基的强效清除剂, 其具有较好的抗氧化作用, 能够明显改善线粒体, 抑制视网膜的凋亡, 还具有提高免疫力, 抗动脉硬化、抗氧化、保护肾脏等功效^[12]。研究表明^[13], 藏红花提取物具有光谱的抗肿瘤活性、对白血病、结肠癌等恶性肿瘤具有较强的抑制作用, 对正常细胞影响较小, 能够与其他抗癌药物联合使用, 减少抗癌物质的毒副作用。在本文研究发现, 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞有明显抑制其增殖的作用, 中剂量组作用 24 h、48 h、72 h 时, 人卵巢癌细胞增殖率分别为 21.11%、19.15%、18.46%, 而高剂量组作用时, 癌细胞增殖率分别为 14.13%、12.15%和 11.16%, 和细胞组以及低剂量组相比, 增殖率都有极显著的降低, 说明藏红花水提取物能有效抑制卵巢癌细胞的增殖。

2.2 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞凋亡情况比较

表 2 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞凋亡比较

Table 2 Comparison of apoptosis of ovarian cancer cells with different doses of saffron water extracts

组别	凋亡率/%
细胞组	2.48 \pm 0.12 ^a
低剂量组	10.56 \pm 0.22 ^b
中剂量组	18.89 \pm 0.46 ^c
高剂量组	19.11 \pm 1.52 ^c

藏红花水能够诱导卵巢癌细胞凋亡, 并且存在剂量依赖关系, 不同浓度藏红花水作用于 72 h 后, 随着浓度的不断增加, 凋亡率逐渐上升。许存庚等^[14]研究表明, 藏红花素联合顺铂可抑制胃癌细胞 BGC-823 的增殖, 促进其凋亡, 可能与抑制 ERK 信号通路相关。本文研究中发现, 高剂量、中剂量、低剂量卵巢癌细胞凋亡率分别为 19.11%、18.89%和 10.56%, 显著高于细胞组的 2.48%, 高剂量组结果最为明显, 但与中剂量组无差异。

2.3 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞侵袭能力比较

在 Corning 小室微孔膜表面所铺的基底膜 Matrigel 胶与人体内的基底膜组分相似, 肿瘤细胞只有通过分泌基质降解酶分解人工基底膜, 才能够穿过

微孔膜。在本文研究表明,藏红色水提取物中剂量组的侵袭抑制率为52.27%,明显高于低剂量组的17.63%,高剂量组侵袭抑制率为64.24%。结果说明,藏红花水提取物对卵巢癌细胞的侵袭有较好的抑制效果。李婷等^[15]研究结果表明,hepaCAM 过表达腺病毒联合藏红花素可显著抑制 PC3 细胞的侵袭转移,作用机制或与 EMT 和 MMPs 的表达有关。

表 3 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞侵袭能力比较
Table 3 Comparison of the invasion ability of different doses of saffron water extracts to ovarian cancer cells

组别	侵袭能力	
	细胞数(n)	抑制率/%
细胞组	39.46±2.15 ^a	0.00 ^a
低剂量组	36.45±2.33 ^b	17.63 ^b
中剂量组	19.89±4.25 ^c	52.27 ^c
高剂量组	14.11±4.33 ^d	64.24 ^d

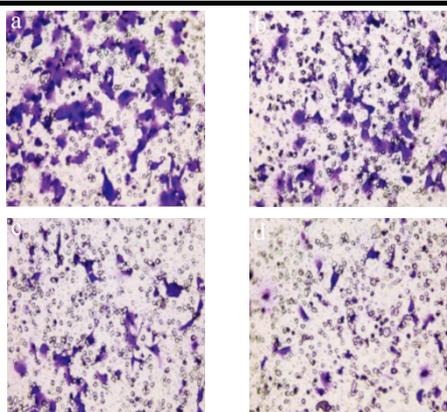


图 1 不同剂量藏红花水提取物对HO-8910 卵巢癌细胞侵袭能力的影响 (HE, ×200)

Fig.1 Effect of different doses of saffron water extracts on the invasion ability of ho-8910 ovarian cancer cells (HE, ×200)

注: a: 细胞组; b: 低剂量组; c: 中剂量组; d: 高剂量组。

2.4 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞组织中 ERK 信号通路蛋白表达量比较

有研究发现,藏红花水提取物能够有效抑制顺铂、环磷酰胺等抗癌药物带来的一些毒副作用,可以预见藏红花与其他抗癌药联合使用,有望减少抗癌药的毒副作用^[16]。另外有学者认为^[17],藏红花素能够提高 ERK1/2 磷酸化水平,能够激活 ERK 通路,达到保护卵巢的作用。ERK 处于细胞质信号转导通路的末端位置,其能激活磷酸化,进入到细胞核中,与 AP-1、NF-κB 等因子相结合,促进基因转录与表达。刘丽冰等^[18]研究结果表明, CART 肽提高 OGD 处理后星形

胶质细胞的活力,并通过激活 ERK 通路抑制 OGD 处理后细胞 AQP-4 的表达。Bcl-2、Bax 通常被认为是检测凋亡的重要蛋白^[19]。在本文研究中发现,中剂量组、高剂量组 ERK 蛋白表达量低于低剂量组,说明藏红花水提取物能够明显降低 ERK 活性,其抑制肿瘤细胞的生长作用可能与抑制 ERK 通路有关。在实验中发现,随着作用浓度的提高,ERK 和 Bcl-2 蛋白的表达量显著降低,而 Bax 蛋白的表达量显著升高,其中高剂量组的 ERK、Bcl-2/Bax 蛋白的表达量分别为0.61、0.48、0.95,此结果说明,藏红花水提取物能够提高凋亡蛋白的表达促进细胞凋亡。

表 4 不同剂量藏红花水提取物对卵巢癌细胞组织中 ERK 信号通路蛋白表达量比较

Table 4 Comparison of ERK signal pathway protein expression in ovarian cancer cells with different doses of saffron water extract

组别	ERK	Bcl-2	Bax
细胞组	1.15±0.01 ^a	0.75±0.01 ^a	0.69±0.03 ^a
低剂量组	0.81±0.01 ^b	0.65±0.02 ^b	0.71±0.01 ^a
中剂量组	0.63±0.01 ^c	0.51±0.01 ^c	0.79±0.03 ^b
高剂量组	0.61±0.02 ^c	0.48±0.03 ^d	0.95±0.02 ^c

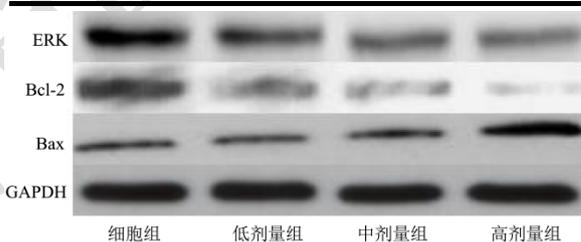


图 2 卵巢癌组织中 ERK 通路蛋白 ERK、Bcl-2、Bax 蛋白 Western blot 图

Fig.2 Western blot of ERK pathway protein ERK, Bcl-2 and Bax protein in ovarian cancer

3 结论

研究表明,在作用浓度范围内,藏红花水提取物能够明显抑制人卵巢癌细胞 HO-8910 的生长,降低其增殖率并提高侵袭的抑制率,同时,还能抑制细胞蛋白激酶的活性,降低其蛋白的表达量,提高 Bax 蛋白的表达,从而抑制癌细胞的增殖。

参考文献

[1] 陈哲,赵庆生,秦雯,等.藏红花素I的分离制备及抗氧化与稳定性研究[J].食品研究与开发,2018,39(24):63-70
CHEN Zhe, ZHAO Qing-sheng, QIN Wen, et al. Separation, preparation, antioxidation and stability of saffron I [J]. Food Research and Development, 2018, 39 (24): 63-70

- [2] Hosseini A, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Pharmacokinetic properties of saffron and its active components [J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2018, 43(4): 383-390
- [3] Moshiri M, Vahabzadeh M, Hosseinzadeh H. Clinical applications of saffron (*Crocus sativus*) and its constituents: A review [J]. *Drug Res (Stuttg)*, 2015, 65(6): 287-95
- [4] Rameshrad M, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Saffron and its derivatives, crocin, crocetin and safranal: a patent review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2018, 28(2): 147-165
- [5] Doumouchtsis EK, Tzani A, Doulamis IP, et al. Effect of saffron on metabolic profile and retina in apolipoprotein e-knockout mice fed a high-fat diet [J]. *J Diet Suppl*, 2018, 15(4): 471-481
- [6] Jiang SP, Shen Q, Lu Y, et al. Effect of saffron aqueous extract on the level of blood glucose in experimental diabetes mice [J]. *Chinese Journal of Applied Physiology*, 2018, 34(2): 173-176
- [7] Zeka K, Ruparelia K C, Sansone C, et al. New hydrogels enriched with antioxidants from *Saffron crocus* can find applications in wound treatment and/or beautification [J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2018, 31(2): 95-98
- [8] Lotfi L, Kalbasi-Ashtari A, Hamed M, et al. Effects of sulfur water extraction on anthocyanins properties of tepals in flower of saffron (*Crocus sativus* L) [J]. *J Food Sci Technol*, 2015, 52(2): 813-21
- [9] 李兴媚, 罗娜, 关郁, 等. 卡铂联合杨梅素对人卵巢癌 HO-8910 PM 细胞侵袭、转移及 MAPK/ERK 通路的影响 [J]. *中国计划生育和妇产科*, 2018, 10(12): 86-90
- LI Xing-mei, LUO Na, GUAN Yu, et al. Effects of carboplatin combined with myricetin on invasion, metastasis and MAPK/ERK pathway of human ovarian cancer HO-8910 PM cells [J]. *Chinese Journal of Family Planning and Obstetrics and Gynecology*, 2018, 10 (12): 86-90
- [10] Guijarro-Díez M, Nozal L, Marina ML, et al. Metabolomic fingerprinting of saffron by LC/MS: novel authenticity markers [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(23): 7197-213
- [11] GhaffariSh, Hatami H, Dehghan G. Saffron ethanolic extract attenuates oxidative stress, spatial learning, and memory impairments induced by local injection of ethidium bromide [J]. *Res Pharm Sci*, 2015, 10(3): 222-32
- [12] Verjee S, Garo E, Pelaez S, et al. Saffron flower extract promotes scratch wound closure of keratinocytes and enhances VEGF production [J]. *Planta Med*, 2017, 83(14-15): 1176-1183
- [13] 魏琳玲, 丁科. 藏红花水提液对高脂血症模型金黄地鼠肝脏保护作用研究 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2019, 29(1): 16-20
- WEI Lin-ling, DING Ke. Study on the protective effect of saffron water extract on liver of golden hamster with hyperlipidemia [J]. *Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2019, 29 (1): 16-20
- [14] 许存庚, 骆玉霜. 藏红花素联合顺铂通过抑制 ERK 信号通路调控胃癌细胞的增殖和凋亡 [J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(7): 922-927
- XU Cun-geng, LUO Yu-shuang. Saffron and cisplatin regulate the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by inhibiting ERK signal pathway [J]. *Journal of Shanxi Medical University*, 2019, 50 (7): 922-927
- [15] 李婷, 吕长坤, 刘南京, 等. HepaCAM 联合藏红花素抑制前列腺癌细胞 PC3 迁移活性的研究 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, 37(7): 3200-3206
- LI Ting, LYU Chang-kun, LIU Nan-jing, et al. Inhibition of PC3 migration of prostate cancer cells by HepaCAM combined with saffron [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, 37(7): 3200-3206
- [16] 王立哲, 王振贤, 马晓伟. 藏红花素对糖尿病大鼠胰腺组织保护作用的研究 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(5): 102-106
- WANG Li-zhen, WANG Zhen-xian, MA Xiao-wei. Protective effect of saffron on pancreatic tissue of diabetic rats [J]. *Journal of Medical Research*, 2019, 48 (5): 102-106
- [17] VahdatiHassani F, Mehri S, Abnous K, et al. Protective effect of crocin on BPA-induced liver toxicity in rats through inhibition of oxidative stress and downregulation of MAPK and MAPKAP signaling pathway and miRNA-122 expression [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 107(Pt A): 395-405
- [18] 刘丽冰, 王伟, 李烁, 等. CART 肽通过激活 ERK 抑制氧糖剥夺诱导的星形胶质细胞 AQP-4 上调 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(10): 1864-1868
- LIU Li-bing, WANG Wei, LI Shuo, et al. CART peptide inhibits AQP-4 up regulation of astrocytes induced by oxygen glucose deprivation by activating ERK [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2019, 35(10): 1864-1868
- [19] 王海彬, 董志军, 郭立涛, 等. 枸杞多糖对糖尿病大鼠视网膜 caspase-3、Bcl-2 和 Bax 表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(20): 5070-5074
- WANG Hai-bin, DONG Zhi-jun, GUO Li-tao, et al. Effect of lyciumbarbarum polysaccharide on Caspase-3, Bcl-2 and Bax expression in retina of diabetic rats [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2019, 39 (20): 5070-5074