

呕吐毒素对 HK2 细胞增殖及诱导凋亡蛋白表达的调节作用

张百刚*, 李金亮, 梁海荣, 黄橙辉, 徐冬梅

(兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050)

摘要: 该研究探究了呕吐毒素抑制 HK2 细胞的增殖与诱导凋亡蛋白表达作用。不同浓度的呕吐毒素作用于 HK2 细胞后, 采用 MTT 法检测呕吐毒素对细胞增殖的抑制作用, 通过荧光显微镜观察细胞形态学的变化, 流式细胞术检测细胞凋亡率的变化, 采用 Western blotting 法检测凋亡蛋白 Bax、bcl-2、NF-KB、Caspase-2、3、6、8、9 的表达水平。研究表明, 呕吐毒素可显著抑制 HK2 细胞的增殖, 具有明显的量效关系, 15、30、40、60 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的呕吐毒素对 HK2 细胞的抑制率分别为 61.82%、53.64%、42.43%、38.66% 和 36.54%; 30 $\mu\text{mol/L}$ 的呕吐毒素处理 HK2 细胞 0、12、24、48、72 和 96 h 后, 细胞的存活率分别为 99.84%、80.51%、60.25%、52.22%、62.50% 和 71.34%。15、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的呕吐毒素处理细胞 24 h 后, 细胞的凋亡率分别为 2.30%、30.20% 和 53.50%。Western blotting 结果显示呕吐毒素可上调 Bax、Caspase-2、3、6、8、9 蛋白表达, 抑制了 bcl-2 和 NF-KB 的蛋白表达。结果表明, 呕吐毒素对 HK2 细胞的增殖有明显的抑制作用, 使得细胞发生凋亡, 同时对凋亡蛋白的表达具有一定的调节作用。

关键词: 呕吐毒素; HK2 细胞; 细胞增殖; 蛋白表达

文章编号: 1673-9078(2022)07-309-315

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.7.0996

Regulation of Vomit Toxin on Proliferation and Apoptosis Inducing Protein Expression of HK2 Cells

ZHANG Baigang*, LI Jinliang, LIANG Hairong, HUANG Chenghui, XU Dongmei

(College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: This paper investigated the effects of vomit toxin on inhibiting the proliferation and inducing the expression of apoptotic protein in HK2 cells. After different concentrations of vomit toxin acted on HK2 cells, the inhibitory effect of vomit toxin on cell proliferation was detected by MTT method, the changes of cell morphology were observed by fluorescence microscope, the changes of apoptosis rate were detected by flow cytometry, and the expression levels of apoptotic proteins Bax, Bcl-2, NF-KB, caspase-2, 3, 6, 8 and 9 were detected by Western blotting. The results showed that vomit toxin could significantly inhibit the proliferation of HK2 cells in a dose-response relationship, at the concentration of 15, 30, 40, 60 and 80 $\mu\text{mol/L}$, the inhibitory rates of vomit toxin on HK2 cells were 61.82%, 53.64%, 42.43%, 38.66% and 36.54%, respectively; The survival rates of HK2 cells treated with 30 $\mu\text{mol/L}$ of vomit toxin for 0, 12, 24, 48, 72 and 96 hours were 99.84%, 80.51%, 60.25%, 52.22%, 62.50% and 71.34% respectively. The apoptosis rates of cells treated with 15, 40 and 80 $\mu\text{mol/L}$ of vomit toxin for 24 hours were 2.30%, 30.20% and 53.50% respectively. The Western blotting results showed that vomit toxin upregulated Bax, Caspase-2, 3, 6, 8, 9 protein expression and inhibited the protein expression of bcl-2 and NF-KB. The results showed that vomit toxin significantly inhibited the proliferation of HK2 cells, caused apoptosis and regulated the expression of apoptotic protein.

Key words: vomit toxin; HK2 cells; cell proliferation; protein expression

引文格式:

张百刚,李金亮,梁海荣,等.呕吐毒素对 HK2 细胞增殖及诱导凋亡蛋白表达的调节作用[J].现代食品科技,2022,38(7):309-315

ZHANG Baigang, LI Jinliang, LIANG Hairong, et al. Regulation of vomit toxin on proliferation and apoptosis inducing protein expression of HK2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(7): 309-315

收稿日期: 2021-09-06

基金项目: 甘肃省高等学校科研项目 (2016B-024); 甘肃省自然科学基金项目 (18JR3RA136); 国家自然科学基金地区科学基金项目 (31760495)

作者简介: 张百刚 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 2160693904@qq.com

呕吐毒素 (vomitoxin) 是脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON) 的别称。20 世纪 70 年代是由 Yoshizawa 等^[1,2]在镰刀菌污染的小麦和禾谷类食物中发现并鉴定出来的, 它的化合物种类属单端孢霉烯 B 族类化合物, 主要由禾谷镰刀菌、尖孢镰刀菌、雪腐镰刀菌等镰刀菌产生^[3]。DON 的化学名为 3a,7a,15-三羟基草镰孢菌-9-烯-8-酮, 是最常见的霉菌毒素之一。人和动物摄入含 DON 的谷物食品会引起一系列中毒反应, 例如腹胀、头昏、呕吐等一系列的不良反应^[4]。研究者发现高剂量的 DON 可对动物机体的免疫系统产生明显的急、慢性毒性作用。研究表明, 急性染毒 DON 可导致小鼠肝、肾、脾、胸腺的细胞损伤^[5], 并会诱导免疫细胞的凋亡, 抑制其增殖作用^[6]。国内外大量研究发现 DON 过量摄入可引起细胞毒性、遗传毒性和免疫毒性^[7,8]。虽然 DON 的致癌性是不确定的, 但对人体来说具有潜在的危险性^[9]。DON 的细胞毒性, 在人体很多细胞系中被研究^[10], 研究表明在人体肝癌细胞株 (HepG2) 中证明了 DON 对人体细胞产生了明显的毒性, 主要表现为 DON 可以抑制细胞的增殖, 导致细胞存活率的降低, 并且会诱发细胞氧化还原系统的损伤^[11]。

随着人们对食品安全的愈加重视, 人们对所食用的谷物及其制品的要求越来越严格, 目前世界很多国家制定了 DON 的限量标准^[12], 国际癌症研究机构发布数据, DON 已被列为三类致癌物。美国食品及药品管理局规定 DON 的含量为 1 mg/kg 是其安全标准范围。我国食品药品监督管理局规定小麦和谷物类 DON 的含量要求小于 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[13]。然而, 超过此限量会产生一定的危害, 所以研究 DON 的毒性作用与毒性机制, 对保护食品安全和人类健康具有重要意义。虽然研究者对 DON 细胞毒性做了很多研究工作, 但是对其引起人肾细胞毒性的研究还很少。本研究通过探讨 DON 对人肾小管上皮细胞 HK2 的增殖作用和凋亡蛋白表达的作用机制, 对进一步阐明呕吐毒素的细胞毒性提供更多的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株及试验试剂

HK2 细胞株购自兰州大学口腔医学院储存库; DON (白色粉末、纯度 $\geq 95\%$) 购自阿拉丁生物试剂; 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自美国 Hyclone 公司; DMEM 培养基购自上海源培生物股份有限公司; 青霉素和链霉素溶液以及 PBS 溶液购自北京

Solarbio 公司; Hoechst 33328 染色液购自南京建成生物试剂; 流式细胞术试剂购自美国 Becton Dickinson 公司; Bax、bcl-2、Caspase-2、Caspase-3、Caspase-6、Caspase-8、Caspase-9 单克隆抗体均购自美国 Proteintech 公司; 牛血清白蛋白 (BSA) 和 Triton X.100 购自上海 Beyotime 公司; LDH 试剂盒、Western 及 IP 细胞裂解液均购自碧云天公司; LDH 试剂盒碱性磷酸酯酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) 均购自碧云天公司。

1.1.2 实验仪器

MCO-170AICL-PC CO₂ 培养箱, 普和希健康医疗器械有限公司; 3-18KS 高速冷冻离心机, 北京博励行仪器有限公司; Infinite M Nano 多功能酶标仪, 美国 BIO-RAD 公司; CKX53+DP74 荧光倒置显微镜, 上海剑凌信息科技有限公司; Beckman Altra 流式细胞仪, 美国 Beckman 公司; ChemiScope 6100 化学发光成像系统, 上海勤翔科学仪器有限公司; Mini 伯乐垂直电泳槽, 美国 Biorad 公司; Trans blot 伯乐湿式转移槽, 美国 Biorad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

将 HK2 细胞接种于培养瓶中, 完全培养基 (10% 的胎牛血清:DMEM=1:9), 在 5% CO₂, 37 °C 条件下进行培养, 待细胞生长至对数期时, 用 0.25% 胰酶消化传代。

1.2.2 HK2 细胞增殖试验

将 100 μL (4×10^3 cells/孔) HK2 细胞接种到 96 孔板中, 待细胞生长至对数期时, 分别加入浓度为 0、15、30、40、60 和 80 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 DON, 在 37 °C, 含 5% CO₂ 的孵育箱内培养 24 h 后, 向孔板中加入 20 μL /孔的 MTT, 之后在孵育箱内继续培养 4 h 后加入 150 μL /孔 DMSO 溶解液, 放在摇床上缓慢摇动 10 min 至紫色结晶溶解后, 用酶标仪在 490 nm 处测定吸光值。每组各设 6 个复孔, 实验平行 3 次。

将 100 μL (4×10^3 cells/孔) HK2 细胞接种到 96 孔板中, 待细胞生长至对数期时, 加入终浓度为 30 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 DON, 在 37 °C, 含 5% CO₂ 的孵育箱内分别培养 0、12、24、48、72 和 96 h 后, 向孔板中加入 20 μL /孔的 MTT, 之后在孵育箱内继续培养 4 h 后加入 150 μL /孔 DMSO 溶解液, 放在摇床上缓慢摇动 10 min 至紫色结晶溶解后, 用酶标仪在 490 nm 处测定吸光值。每组各设 6 个复孔, 实验平行 3 次。

细胞存活率的计算公式如下:

$$W/\% = \frac{M}{M_1} \times 100\%$$

式中:

W ——细胞存活率, %;

M ——给药组的 OD 值;

M_1 ——对照组的 OD 值。

1.2.3 细胞凋亡形态检测

取对数生长期的 HK2 细胞, 分别加入浓度为 0、15、30、40、60 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON, 在 37 $^{\circ}\text{C}$, 含 5% CO_2 的孵育箱内培养 24 h, 然后加入 4% 的多聚甲醛 300 μL , 在室温下固定 15 min。固定完成后, PBS 溶液清洗 2 次, 在摇床上缓慢摇动 10 min, 重复 3 次。室温避光条件下每孔加入 300 μL Hoechst33328 染液, 染色 5 min。PBS 溶液清洗后, 用抗荧光猝灭剂封片, 片子避光保存, 在荧光显微镜下观察拍照。

1.2.4 细胞凋亡率测定

取对数生长期的 HK2 细胞, 分别加入浓度为 0、15、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON, 在 37 $^{\circ}\text{C}$, 含 5% CO_2 的孵育箱内培养 24 h, 将细胞培养液吸出, PBS 洗涤细胞 1 次, 加入适量的 0.25% 胰酶消化细胞, 消化完成后吸出胰酶消化液, 加入 3 mL 新的完全培养基 (DMEM:FBS=9:1) 到离心管中, 1000 g 离心 5 min, 弃上清, 收集细胞。按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明进行细胞凋亡率检测。

1.2.5 细胞中 LDH 的测定

取对数生长期的 HK2 细胞接种到 6 孔板/1000 μL , 分别加入浓度为 0、15、30、40、60 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON, 在 37 $^{\circ}\text{C}$, 含 5% CO_2 的孵育箱内培养 24 h, 收集上清液待测。按照试剂盒的说明, 设置空白孔、标准孔、测定孔和对照孔进行实验, 每组实验重复三次。

1.2.6 蛋白质印迹检测 Bax、bcl-2、Caspase 蛋白表达水平

取对数生长期的细胞, 传代到细胞培养瓶中, 待细胞生长 24 h 后, 用浓度为 0、15、30 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 处理细胞 24 h, 收集细胞, 取上清液, BCA 法测定蛋白浓度, 按常规方法提取蛋白。SDS-PAGE 电泳, 10% 分离胶, 每孔上样 50 μg 提取的细胞总蛋白, 电泳完毕后经电转移至 PVDF 膜上, 室温封闭 1 h。按适当比例加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床过夜, TBST 洗膜 3 次, 用 TBST 按 1:10000 比例稀释二抗, 室温孵育 1.5 h。用 Image J 软件进行灰度分析。目的条带与内参条带的比值作为结果, 各处理组样品与空白对照的比值表示蛋白水平。为了实验结果有可比性, 对照组值设为 1。

1.2.7 统计学处理方法

所有实验均重复三次, 数据均以平均值 \pm 标准差 (SE) 表示。采用 SPSS 18.0 统计软件进行单因素方差分析。 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 DON 抑制 HK2 细胞的增殖

不同浓度 DON 对 HK2 细胞的抑制作用如图 1 所示, 由图可知, DON 对 HK2 细胞的生长具有抑制作用, 且随着浓度增大抑制作用越强。15~80 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 对细胞的抑制率分别为 61.82%、53.64%、42.43%、38.66% 和 36.54%; 30 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 处理 HK2 细胞 0、12、24、48、72 和 96 h 后, 细胞的存活率分别为 99.84%、80.51%、60.25%、52.22%、62.50% 和 71.34%。从细胞存活率可知, 30 $\mu\text{mol/L}$ 处理 HK2 细胞 48 h 后细胞毒性达到最大; 但 72 h 后细胞的存活率又有所上升。以上结果表明, DON 对 HK2 细胞的抑制作用有一定的量效关系^[14]。

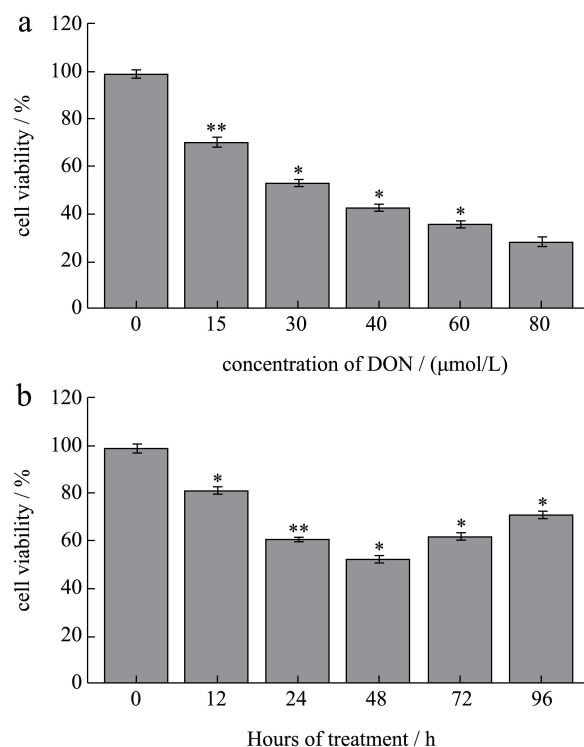


图 1 DON 对 HK2 细胞的抑制作用

Fig.1 Inhibitory effect of DON on HK2 cell

注: a: 不同浓度 DON 对 HK2 细胞增殖的抑制; b: 30 $\mu\text{mol/L}$ DON 处理后不同时间 HK2 细胞的存活率; *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ 。

2.2 细胞形态的变化

由图 2 的显微镜照片可看出, 30 $\mu\text{mol/L}$ 的 DON 可使 HK2 细胞形态发生改变, 与正常细胞相比, 凋亡和死亡比例增大, 说明 DON 对细胞有毒性作用, 并且造成细胞损伤。由图 3 的荧光显微镜照片可看出, 不同浓度 DON 作用细胞后, 对照组染色质均匀、无

浓缩、边集现象, 细胞染色均一, 无明显亮蓝色。实验组核染色质明显聚集、固缩、并且有细胞核碎片, 凋亡小体出现。当 DON 浓度增大到 40 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞内出现凋亡和死亡的比例增大, 当 DON 浓度增大到 80 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞几乎全部凋亡或死亡。

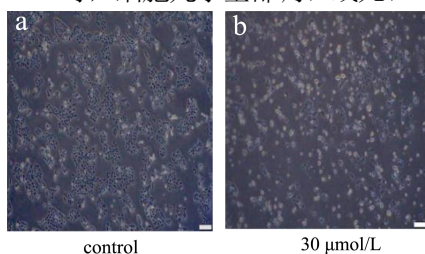


图 2 不同浓度 DON 处理 HK2 细胞图

Fig.2 Map of HK2 cells treated with different concentrations of DON ($\times 100$)

注: a: 对照; b: 30 $\mu\text{mol/L}$ DON。

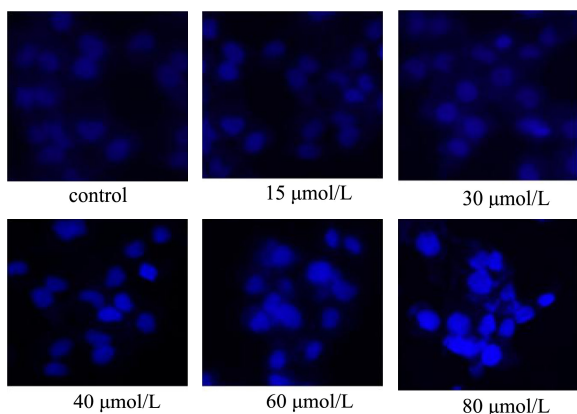


图 3 不同浓度 DON 处理 HK2 细胞 Hoechst33328 荧光染色照片

Fig.3 Different concentrations of DON processed HK2 Hoechst33328 fluorescence staining photos ($\times 100$)

2.3 细胞凋亡率的检测

由图 4 可看出随着 DON 浓度的增大, 细胞凋亡率升高, DON 浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞凋亡率为 2.30%, 当 DON 浓度增大到 40 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞凋亡率为 30.20%, 当 DON 浓度增大到 80 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞凋亡率为 53.50%。由此可说明, 随着 DON 浓度的增大, 细胞凋亡率不断升高, DON 对 HK2 细胞的凋亡有一定的促进作用。

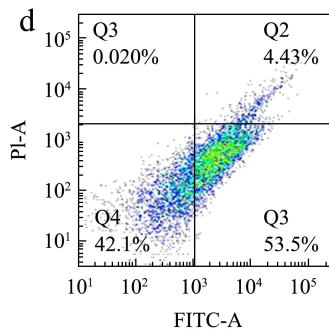
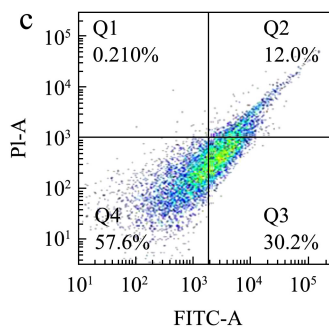
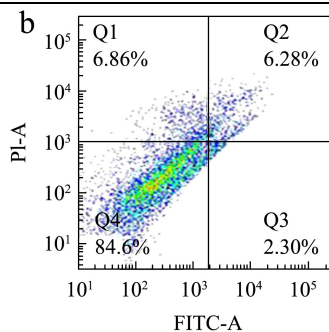
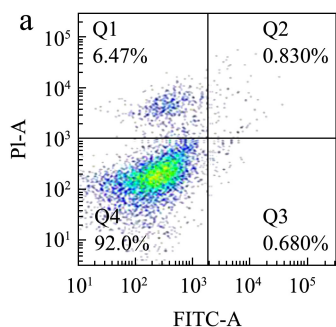


图 4 DON 对 HK2 细胞凋亡率的影响

Fig.4 The effect of DON on HK2 cell apoptosis rate

注: a: 对照; b: 15 $\mu\text{mol/L}$ DON; c: 40 $\mu\text{mol/L}$ DON; d: 80 $\mu\text{mol/L}$ DON。

2.4 细胞内 LDH 的含量

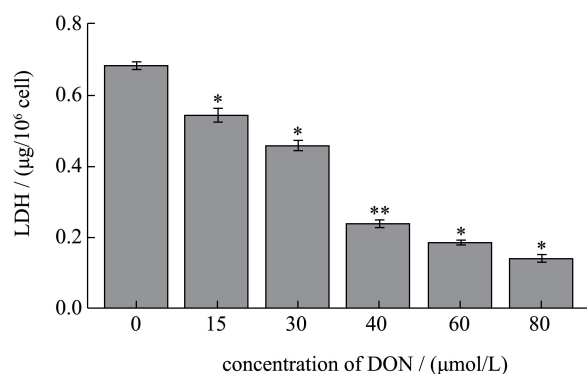


图 5 不同浓度 DON 对 HK2 细胞内 LDH 的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of DON on LDH in HK2 cells

注: *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ 。

由图 5 可知, DON 对 HK2 细胞内 LDH 水平具有一定的影响。随着 DON 浓度增大, 细胞存活率不断

下降,细胞毒性不断上升,细胞内 LDH 水平不断下降。当 DON 浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞内 LDH 含量为对照组的 73.50%。当 DON 浓度为 30 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞内 LDH 含量为对照组的 61.50%。当 DON 浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞内 LDH 含量为对照组 36.50%。当 DON 浓度为 60 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞内 LDH 含量为对照组的 30.90%。当 DON 浓度为 80 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞内 LDH 含量为对照组的 18.20%。这就说明,随着 DON 浓度增大,细胞毒性不断提高,引起细胞发生了凋亡或坏死,结果造成了细胞膜结构的破坏,随后细胞浆内的 LDH 释放到了培养液中。

2.5 DON 对 HK2 细胞内蛋白表达的影响

2.5.1 不同浓度 DON 处理 HK2 细胞对 Bax、bcl-2、NF-KB 蛋白表达的影响

图 6 结果表明, Bax 蛋白随着药物浓度的增加而上调; bcl-2 和 NF-KB 蛋白表达下调。bcl-2 是抗凋亡蛋白,可以抑制蛋白表达量的增加,与此相反, Bax 是促凋亡蛋白,可以促进蛋白量的表达^[15]。当细胞被死亡信号刺激后,相关蛋白酶作用于促凋亡蛋白,使其构象发生变化,引起细胞器各种功能的丧失,最终会引起细胞器的凋亡^[16]。NF-kB 是一种有效的凋亡抑制剂,它会抑制蛋白与 I κ B 相结合,存在于胞质中^[17]。TNF 诱导时, I κ B 首先被磷酸化,然后被泛素降解。但是, NF-kB 二聚体被释放,并转移到细胞核中。这些表达产物能够抑制细胞的凋亡,从而达到抑制细胞凋亡的目的。在 DON 加药诱导后,蛋白表达量增加,说明 DON 激活了细胞内 NF-kB 的表达,但是是否直接激活,还需要进一步研究。

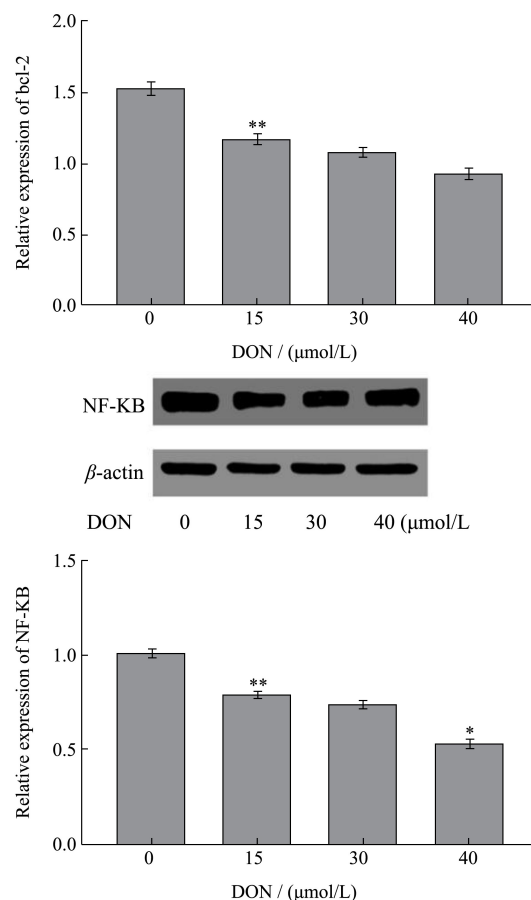
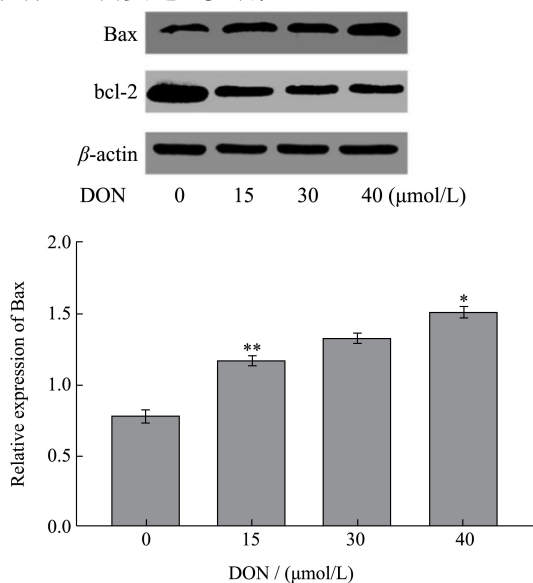


图 6 Bax、bcl-2、NF-KB 蛋白在 HK2 细胞中的表达水平

Fig.6 The expression level of Bax, bcl-2 and NF-KB protein in HK2 cells

注: *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ 。

2.5.2 不同浓度 DON 处理 HK2 细胞对 Caspase 家族蛋白表达的影响

Caspase 属于半胱氨酸蛋白水解酶的家族,它们各个成员的作用主要是引起细胞的凋亡^[18],但是在细胞凋亡的过程中它们扮演着不同的角色。Caspase 凋亡蛋白酶在凋亡过程中起着不同的作用,研究者将其家族分为两大类:始动 Caspase 和执行 Caspase,其中始动 Caspase 包括 Caspase-2、Caspase-8、Caspase-9,执行 Caspase 主要包括 Caspase-3、Caspase-6。Caspase 被激活后,作用于底物蛋白,使蛋白质分解,引起 PCD,这类酶控制着 PCD 的信号转导和实施过程。图 7 结果表明, Caspase 凋亡蛋白都随着 DON 浓度增加呈现表达量上调的趋势,其中 Caspase-3 的变化极为明显,当 DON 浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ 时, Caspase-3 蛋白表达量显著增加($p < 0.001$)。当 DON 浓度为 30 $\mu\text{mol/L}$ 时, Caspase-3 蛋白表达量有一定的增加 ($p < 0.05$)。当 DON 浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时, Caspase-3 蛋白表达量

具有上升趋势,无显著差异。Caspase-3 是它们成员中参与凋亡的关键酶之一,很多的细胞凋亡信号被其激

活,使得细胞质、细胞核及其细胞骨架中的重要蛋白失活^[13]。

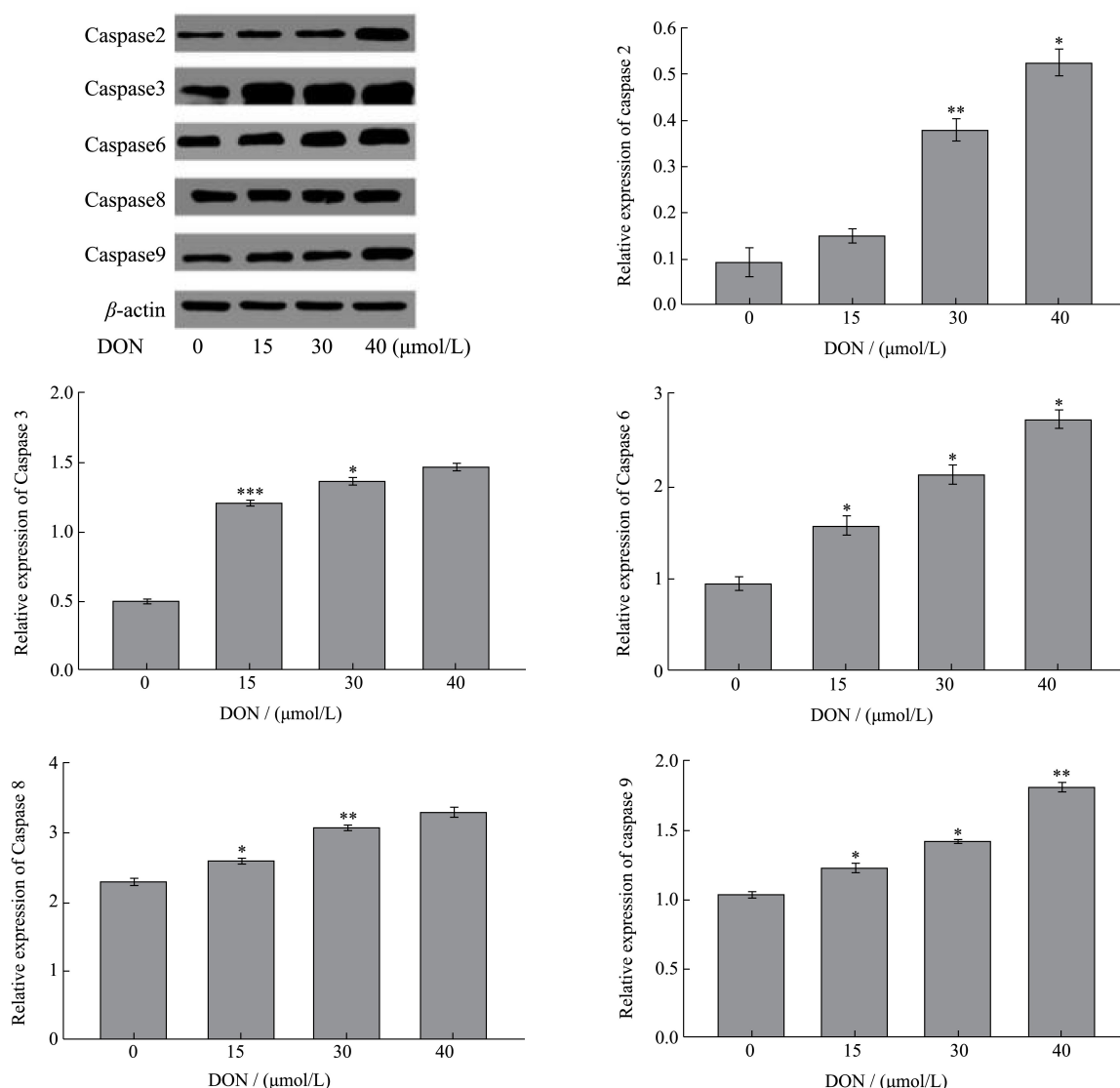


图7 Caspase 2、3、6、8、9 蛋白在 HK2 细胞中的表达水平

Fig.7 Caspase 2, 3, 6, 8, 9 protein expression levels in HK2 cells

注: *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$ 。

3 结论

呕吐毒素可显著抑制人肾小管上皮细胞 HK2 的增殖作用,并呈现明显的时间-效应和剂量-效应关系。呕吐毒素会使 HK2 细胞发生形态学的改变,进而诱导 HK2 细胞发生凋亡,表现出明显的凋亡细胞特征。呕吐毒素引起了 HK2 细胞内 LDH 含量的变化,随着呕吐毒素浓度增大,细胞毒性不断提高,细胞发生了凋亡或坏死,结果造成了细胞膜结构的破坏。呕吐毒素会使 HK2 细胞内凋亡蛋白表达水平发生改变,呕吐毒素可上调 Bax、Caspase-2、3、6、8、9 蛋白表达,抑制了 bcl-2 和 NF- κ B 的蛋白表达。

参考文献

[1] Pestka J J. Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance [J]. Archives of Toxicology, 2010, 84(9): 663-679

[2] Yoshizawa T, Takeda H, Ohi T. Structure of a novel metabolite from deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin, in animals [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2014, 47(9): 2133-2135

[3] 支媛,方业鑫,刘海波,等.脱氧雪腐镰刀菌烯醇一次经口染毒对雄性小鼠的影响[J].毒理学杂志,2018,32(1):11-17

ZHI Yuan, FANG Yexin, LIU Haibo, et al. Effects of single

- oral administration of deoxynivalenol on male mice [J]. *Journal of Toxicology*, 2018, 32(1): 11-17
- [4] Zhao P, Chen L, A K Nüssler, et al. Current sights for mechanisms of deoxynivalenol-induced hepatotoxicity and prospective views for future scientific research: a mini review [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2016, 37(5): 3428
- [5] 邹忠义,黄斐,孙建利,等.食品添加剂对脱氧雪腐镰刀菌烯醇和 T-2 毒素体外去除作用研究[J].*食品安全质量检测学报*,2016,7(4):1613-1624
- ZOU Zhongyi, HUANG Fei, SUN Jianli, et al. Study on the *in vitro* removal effect of food additives on deoxynivalenol and T-2 toxin [J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2016, 7(4): 1613-1624
- [6] Pestka J J, Islam Z, Amuzie C J. Immunochemical assessment of deoxynivalenol tissue distribution following oral exposure in the mouse [J]. *Toxicology Letters*, 2008, 178(2): 83-87
- [7] Konigs M, Schwerdt G, Gekle M, et al. Effects of the mycotoxin deoxynivalenol on human primary hepatocytes [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2008, 52: 830- 839
- [8] 王莉,罗颖鹏,罗小虎,等.臭氧降解污染小麦中呕吐毒素的效果及降解产物推测[J].*食品科学*,2016,37(18):164-170
- WANG Li, LUO Yingpeng, LUO Xiaohu, et al. Effect of vomiting toxin and degradation products in wheat [J]. *Food Science*, 2016,37(18): 164-170
- [9] Mishra S, Dixit S, Dwivedi P D, et al. Influence of temperature and pH on the degradation of deoxynivalenol (DON) in aqueous medium: comparative cytotoxicity of DON and degraded product [J]. *Food Addit. Contam. (Part A)*, 2014, 31: 121-131
- [10] Nielsen C, Lippke H, Didier A, et al. Potential of deoxynivalenol to induce transcription factors in human hepatoma cells [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2009, 53(4): 479-491
- [11] Li E, Horn N, Ajuwon K M. Mechanisms of deoxynivalenol-induced endocytosis and degradation of tight junction proteins in jejunal IPEC-J2 cells involve selective activation of the MAPK pathways [J]. *Archives of Toxicology*, 2021, 95(6): 2065-2079
- [12] 王金勇,刘颖莉,关舒.2013 年中国饲料和原料霉菌毒素检测报告[J].*今日养猪业*,2014,4:39-42
- WANG Jinyong, LIU Yingli, GUAN Shu. 2013 China feed and raw material mycotoxin test report [J]. *Pigs Today*, 2014, 4: 39-42
- [13] 张百刚,彭晓丽,李光辉,等.棒曲霉毒素对人胚肾细胞增殖与诱导其凋亡的研究[J].*现代食品科技*,2015,31(3):12-17
- ZHANG Baigang, PENG Xiaoli, LI Guanghui, et al. Study on the effect of patulin on the proliferation and inducing apoptosis of human embryonic kidney cells [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(3): 12-17
- [14] Degtarev A, Lugovskoy A, Cardone M, et al. Identification of small-molecule inhibitors of interaction between the BH3 domain and Bcl-xL [J]. *Nature Cell Biology*, 2001, 3(2): 173
- [15] Yang Ling, Li D, Zhou S, et al. DYRK1A suppression restrains Mcl-1 expression and sensitizes NSCLC cells to Bcl-2 inhibitors [J]. *Cancer Biology & Medicine*, 2020, 17(2): 140-153
- [16] Yu Y T, Hong X. NF- κ B expression, comparison of intestinal flora, inflammation and adiponectin and clinical significance in prostate cancer patients [J]. *Clinical Laboratory*, 2021, 67(8): 1775
- [17] Mohammad Piryaei, Bahareh Mehrparvar, Ali Mohammadian, et al. Anti-cancer impact of hypericin in B-CPAP cells: extrinsic caspase dependent apoptosis induction and metastasis obstruction [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2021, 910: 174454-174454
- [18] Thaichinda S, Tancharoen S, Kanekura T, et al. *Pinus maritima* extract induces apoptosis in human malignant melanoma cells via ROS/Caspase-3 signaling [J]. *Natural Product Communications*, 2020, 15(5): 1934578X2092688

(上接第 224 页)

- [36] 马存强,周斌星,杨超,等.HPLC 指纹图谱技术在景迈茶区晒青毛茶鉴别中的应用研究[J].*茶叶科学*,2016,36(4):379-388
- MA Cunqiang, ZHOU Binxing, YANG Chao, et al. Study of the identification of spring sun-dried tea from Jing-mai area by HPLC fingerprint technology [J]. *Journal of Tea Science*, 2016, 36(4): 379-388
- [37] Wang Z, Ma B, Ma C, et al. Region identification of Xinyang Maojian tea using UHPLC-Q-TOF/MS-based metabolomics coupled with multivariate statistical analyses [J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(5): 1681-1691
- [38] Zhou B, Ma C, Wu T, et al. Classification of raw Pu-erh teas with different storage time based on characteristic compounds and effect of storage environment [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 133: 109914