

# 人参皂苷 F2 干预 Caspase 级联反应抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞凋亡

刘迪<sup>1</sup>, 张浩<sup>1</sup>, 张寒雪<sup>2</sup>, 孙宏宇<sup>1</sup>, 郑美玉<sup>1</sup>, 冯宪敏<sup>1</sup>

(1. 吉林医药学院基础医学院, 吉林吉林 132013) (2. 北华大学医学技术学院, 吉林吉林 132013)

**摘要:** 本研究探讨了人参皂苷 F2 对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导人胚肾 HEK-293 细胞损伤的抗凋亡作用。利用试剂盒测定凋亡细胞 Caspase-6 和 Caspase-9 活性水平, 应用 Western Blot 检测凋亡细胞中 Bcl-2 凋亡家族 (Bcl-2 和 Bax) 与 Caspase 凋亡家族 (Cleaved Caspase-3 和 Cleaved PARP) 的蛋白表达量。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤细胞后, Caspase 酶活力提高, 促凋亡蛋白表达提高; 1.25、5、20 μmol/L F2 预处理损伤细胞后, Caspase-6 和 Caspase-9 活力呈浓度依赖性降低 ( $p < 0.05$ ), 当 F2 浓度达到 20 μmol/L 时, Caspase-6 活性降低了 6.83 U/mg protein, Caspase-9 活性降低了 5.88 U/mg protein; Cleaved Caspase-3 和 Cleaved PARP 蛋白表达量显著低于损伤组 ( $p < 0.05$ ), 随着 F2 浓度的升高, Cleaved Caspase-3 表达量分别下降至 280.90%、232.46%、185.26%, Cleaved PARP 表达量随着 F2 浓度升高而降低至 110.36%、85.85%、61.95%; F2 高浓度组的 Bcl-2/Bax 比值 (73.94%) 较损伤组比显著提升 ( $p < 0.05$ )。表明人参皂苷 F2 可以抑制凋亡蛋白 Caspase 的活性, 降低 Bax 促凋亡蛋白与 Caspase 家族上、中、下游蛋白的表达, 通过调控 Caspase 级联反应抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激引起的细胞凋亡。

**关键词:** 人参皂苷; 抗凋亡; HEK-293 细胞; 人参

文章编号: 1673-9078(2020)07-11-16

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.7.0006

## Ginsenoside F2 Interferes with the Cascade Reactions of Caspase to Inhibit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced Apoptosis

LIU Di<sup>1</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>, ZHANG Han-xue<sup>2</sup>, SUN Hong-yu<sup>1</sup>, ZHENG Mei-yu<sup>1</sup>, FENG Xian-min<sup>1</sup>

(1. Academy of Basic Medicine, Jilin Medical University, Jilin 132013, China)

(2. Academy of Medical Technology, Beihua University, Jilin 132013, China)

**Abstract:** In this study, the anti-apoptotic effect of ginsenoside F2 on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury in human embryonic kidney HEK-293 cells was evaluated. Using commercial kits, the activities of Caspase-6 and Caspase-9 of apoptotic cells were examined by measured. Western blot tests were conducted to detect the protein expression of the Bcl-2 family (Bcl-2 and Bax) and Caspase family (Cleaved Caspase-3 and Cleaved PARP). After the cells were injured by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, the activity of Caspase increased and the expressions of pro-apoptotic proteins increased. The activities of Caspase-6 and Caspase-9 decreased in a concentration-dependent manner ( $p < 0.05$ ) after the pretreatment of cells with 1.25, 5, 20 μmol/L ginsenoside F2 to injure cells ( $p < 0.05$ ). At the F2 concentration of 20 μmol/L, the activities of Caspase-6 and Caspase-9 decreased by 6.83 U/mg protein and 5.88 U/mg protein, respectively, and the protein expression levels of Cleaved Caspase-3 and Cleaved PARP were significantly lower than those of the injured group ( $p < 0.05$ ). With the increase of F2 concentration, the expression of Cleaved Caspase 3 dropped to 280.90%, 232.46% and 185.26%, respectively. The expressions of Cleaved PARP decreased to 110.36%, 85.85% and 61.95%, respectively, with the increase of F2 concentration. The ratio of Bcl-2/Bax for the high F2 concentration group (73.94%) was significantly higher than that of the injured group ( $p < 0.05$ ). These results showed that ginsenoside F2 can inhibit the activity of apoptotic protein Caspase, and reduce the

引文格式:

刘迪,张浩,张寒雪,等.人参皂苷 F2 干预 Caspase 级联反应抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞凋亡[J].现代食品科技,2020,36(7):11-16

LIU Di, ZHANG Hao, ZHANG Han-xue, et al. Ginsenoside F2 interferes with the cascade reactions of Caspase to inhibit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7): 11-16

收稿日期: 2020-01-03

基金项目: 吉林省科技发展规划项目 (20190103148JH); 吉林省卫生健康科技能力提升计划项目 (2019Q031); 吉林省中医药科技项目 (2019139)

作者简介: 刘迪 (1988-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 天然活性物质的研究与开发

通讯作者: 冯宪敏 (1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 病原生物学研究

expression of Bax pro-apoptotic protein and the upstream, midstream and downstream proteins of the Caspase family, through inhibiting  $H_2O_2$ -induced apoptosis *via* regulating the Caspase cascade reactions.

**Key words:** ginsenoside F2; anti-apoptosis; HEK-293 cells; ginseng

细胞凋亡是指细胞受到刺激后导致的由基因调控引起的自发的细胞有序死亡, 又称程序性细胞死亡(PDF)<sup>[1]</sup>。细胞在遭受刺激后可引发多种通路, 经过多种反应导致细胞核酸的结构功能变化, 从而引起蛋白质和细胞器功能的紊乱, 发生细胞凋亡, 最终细胞裂解为多个凋亡小体而被其他细胞吞噬。在细胞凋亡过程中有多种蛋白发挥作用, 如 Bcl-2 家族、Caspase 家族的凋亡蛋白及其相关基因的表达。各种损伤因素导致线粒体跨膜电位 ( $\Delta\psi$ ) 的降低、线粒体渗透转运孔 (PT pore) 的开放和细胞色素 C (cyt C) 从线粒体中的释放, 导致 Caspase-9 的激活从而激活 Caspase 级联反应导致细胞凋亡。Bcl-2 在线粒体凋亡途径中具有主要调控作用, 可通过激活下游基因造成细胞凋亡<sup>[2]</sup>。

人参是闻名世界的传统中药材, 在东方国家有几千年的药用历史, 近几十年在西方国家也享有盛誉。人参皂苷是一类达玛烷型三萜类皂苷化合物, 是人参的主要活性成分。研究表明, 人参皂苷具有多种药理功能, 对神经、内分泌、免疫等多种系统产生调节作用<sup>[3]</sup>。根据分子结构可将人参皂苷分为两大类即原人参二醇型皂苷 (protopanaxadiol-type, PPD-type) 和原人参三醇型皂苷 (protopanaxatriol-type, PPT-type)。人参皂苷 F2 是 PPD 型人参皂苷如 Rb1、Rb2、Rc 和 Rd 等失去若干糖而代谢降解形成的次级皂苷之一<sup>[4]</sup>。研究表明, 人参皂苷 Rb1 和 Rd 在预防外界刺激诱导的细胞凋亡方面具有较强的作用<sup>[5,6]</sup>。

此外, 有关研究表明, 氧化应激与细胞凋亡有着十分密切的关系, 引起氧化应激的主要物质 ROS 可以激活介导细胞凋亡的通路从而导致细胞凋亡<sup>[7]</sup>。课题组前期建立了细胞损伤模型, 试验结果表明 F2 能抑制  $H_2O_2$  诱导的细胞氧化应激<sup>[8]</sup>。本研究采用过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 体外诱导人胚肾 293 (HEK-293) 细胞损伤, 基于 Caspase 家族和 Bcl-2 家族蛋白水平考察 F2 对细胞的抗凋亡作用, 探讨其干预 Caspase 级联反应的抗凋亡机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

人胚肾细胞 (HEK-293), 中国科学院细胞库; 人参皂苷 F2 ( $\geq 98\%$ ), 中国药品生物制品检定所; 胎牛血清 (FBS); 青霉素-链霉素 (PSS); DMEM 培养基

非必需氨基酸, Gibco 美国; Caspase-6、Caspase-9 试剂盒, 南京建成; PBST 缓冲液; Anti-Cleaved Caspase-3、Anti-Bcl-2、Anti-Bax、Anti-PARP, Cell Signaling 美国; Anti-GAPDH、HRP 标记山羊抗兔 IgG、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG, 武汉博士德。

多功能酶标仪, BioTek 美国; 二氧化碳培养箱, 上海力申科学仪器有限公司; SDS-PAGE 电泳和转膜仪, Bio-Rad 美国; 图像采集仪, DNR 以色列。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 细胞培养与分组

接种 HEK-293 细胞至培养皿, 培养基采用含有 10% FBS, 1% PSS 和 1% 非必需氨基酸的 DMEM 培养基, 置于 37 °C、5%  $CO_2$  培养箱内恒温培养 24 h。实验分为 6 个组: 对照组, 空白组, 损伤组, F2 组 (浓度分别为 1.25  $\mu\text{mol/L}$ 、5  $\mu\text{mol/L}$ 、20  $\mu\text{mol/L}$ ), 并为每组设三个平行对比实验。细胞在经过初代培养以后, 加入到 6 孔板中; 空白组每孔加入 2 mL 的细胞培养基, 对照组和损伤组中每孔加入 2 mL、 $5.6 \times 10^5$  个每孔左右密度的细胞, 培养 24 h, 再向空白组、对照组中加入 250  $\mu\text{L}$  完全培养基, 往 F2 组中加入 250  $\mu\text{L}$  不同浓度的人参皂苷 F2, 培养 24 h。后往损伤组和 F2 组中加入 250  $\mu\text{L}$  的  $H_2O_2$  (至  $H_2O_2$  终浓度为 400  $\mu\text{mol/L}$ ), 其余组加入等量完全培养基, 培养 12 h, 以此建立损伤模型。并对每组所得数据进行平均处理。

#### 1.2.2 Caspase-6 和 Caspase-9 的活性测定

使用 Caspase 活力检测试剂盒检测其检测原理在于利用 Caspase 特异催化底物 acetyl-Val-Glu-Ile-Asp-p-nitroaniline (Ac-VEID-pNA) 产生黄色的游离硝基苯胺 p-NA, 再通过分光光度计测定 p-NA 的吸光度进行比较。待测样品减去空白对照就是样品水解底物后产生的 p-NA 的吸光值, 进而确定 Caspase 的活性。

#### 1.2.3 Bcl-2 家族和 Caspase 家族凋亡蛋白表达量的测定

运用 Western Blot (免疫印迹技术) 测定相关蛋白的表达量。收取蛋白后, 将蛋白浓度调整至统一, 后进行 SDS-PAGE 电泳, 每个上样孔内上样 10  $\mu\text{L}$  样品。后将样品转至 PVDF 膜上。后 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 使用 PBST 清洗 2 遍, 后使用一抗 (浓度稀释为 1:1000) 孵育过夜。使用 PBST 清洗 2 遍, 二抗 (浓度 1:4000) 孵育 1 h。PBST 清洗 2 遍, 加入适量显色

剂于 ECL 成像仪中成像, 搜集图像。图像使用 Image J 进行灰度分析。由于 GAPDH 表达较为稳定, 以其为内参基因, 以待测样品的灰度值比上内参的 GAPDH 灰度值得出相对值, 以对照组的相对值为 100%, 得出各组的百分值。其中 Bcl-2 和 Bax 的表达量以 Bcl-2 相对值/Bax 相对值的形式表示, Cleaved Caspase-3 和 Cleaved PARP 的结果以对照组为单位 1, 显示各组的百分比。

### 1.3 数据分析

得出的各组结果取平均值, 并用 SPSS 进行差异分析, 结果以平均值±标准差的形式显示。在图中标注平均值±标准差及显著性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 人参皂昔 F2 对凋亡细胞内 Caspase-6 和

#### Caspase-9 活性的影响

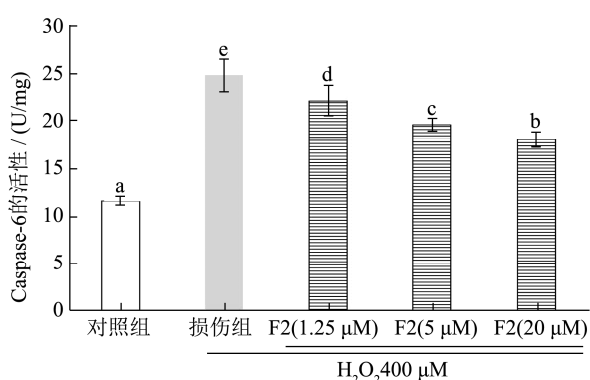


图 1 F2 对 HEK-293 损伤细胞 Caspase-6 活性的影响

Fig.1 Effects of ginsenoside F2 on the activities of Caspase-6 in injured HEK-293 cells

注: 不同字母表示组间差异显著  $p < 0.05$ , 相同字母表示差异不显著  $p > 0.05$ , 下同。

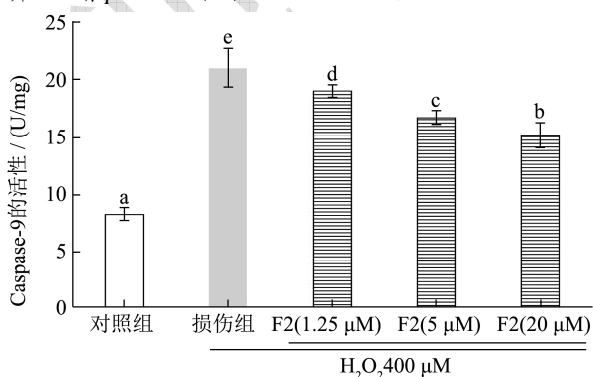


图 2 F2 对 HEK-293 损伤细胞 Caspase-9 活性的影响

Fig.2 Effects of ginsenoside F2 on the activities of Caspase-9 in injured HEK-293 cells

Caspase-6 和 Caspase-9 是 Caspase 家族中的主要成分, 在细胞凋亡中常作为重要指标来检测细胞凋亡的程度。根据图 1 和图 2 可知,  $H_2O_2$  处理后的损伤组 Caspase-6 的活性较正常组上升了 13.22 U/mg protein ( $p < 0.05$ ), Caspase-9 的活性较正常组明显上升了 12.78 U/mg protein ( $p < 0.05$ ), 均为正常组的 2 倍以上, 说明此时有通过启动 Caspase 级联反应而进行的细胞凋亡。而 F2 处理后的损伤中, Caspase-6 和 Caspase-9 的活性略低于损伤组, 但仍明显高于正常组 ( $p < 0.05$ )。随着 F2 浓度的增加, Caspase-6 和 Caspase-9 的活性逐渐降低, 各组间的差异显著 ( $p < 0.05$ ), 当 F2 浓度达到 20  $\mu\text{mol/L}$  时, Caspase-6 的活性较损伤组降低了 6.83 U/mg protein ( $p < 0.05$ ), Caspase-9 的活性较损伤组降低了 5.88 U/mg protein ( $p < 0.05$ )。结果表明, F2 有通过抑制 Caspase-6 和 Caspase-9 的活性来抑制 Caspase 级联反应的进行, 并且, 随着 F2 浓度的升高, 对 Caspase-6 和 Caspase-9 的活性的抑制作用也越来越高, 抑制 Caspase 级联反应的能力也会越来越强。Caspase 家族包括三类: 凋亡启动因子、凋亡执行因子和炎症介导因子, 构成了级联反应, 具有放大反应的效应<sup>[9]</sup>。凋亡启动因子在经一系列反应激活下游相关蛋白, 传导调往通路, 主要通过凋亡执行因子实现细胞损伤, 另外和炎症介导因子也在诱导细胞损伤中发挥重要作用。凋亡启动因子如 Caspase-9 在级联反应的上游, 在经过其他蛋白的作用后活化、识别并激活下游的 Caspase。Caspase-6 位于级联反应的中游, 是传导信号通路的一个中转站, 在经过相关蛋白酶剪切后活化, 激活下游的 Caspase 而介导细胞凋亡。F2 对 Caspase-9 活性的抑制作用, 可导致下游的反应受到抑制, Caspase-6 活性也受到抑制; 此外, F2 对 Caspase-6 可能有着直接的作用。在对 Caspase-9 和 Caspase-6 活性的抑制下, Caspase 级联反应受到抑制, 进而抑制细胞凋亡的进行。Mai 等人的研究也发现, F2 可通过调节 Cleaved Caspase-9 的水平来实现其对乳腺癌干细胞的抗增殖活性<sup>[10]</sup>。人参皂昔 Rb1 糖苷降解后可获得 F2, 有关研究表明 Rb1 可以抑制 Cleaved Caspase-9 的表达, 从而抑制细胞凋亡的进行, 与本试验结果相符<sup>[11]</sup>。

### 2.2 F2 对 Cleaved Caspase-3 蛋白表达量的影响

本实验通过检测被激活的 Caspase-3 (Cleaved Caspase-3) 表示细胞的凋亡程度。根据图 3 可知, 以对照组的蛋白表达量为 100%, 在  $H_2O_2$  诱导的损伤组中, Cleaved Caspase-3 的蛋白表达量明显升高到 342.52% ( $p < 0.05$ ), 约升至对照组的 3.5 倍。在经过

F2 预处理的损伤组,其蛋白表达量明显下降( $p<0.05$ ),且随着 F2 浓度的升高,蛋白表达量也分别下降至 280.90%、232.46%、185.26%,但都明显高于对照组 ( $p<0.05$ )。Caspase-3 位于 Caspase 家族的下游, Caspase-3 是细胞凋亡的关键蛋白酶(凋亡蛋白),是主要的凋亡执行因子,发挥作用时可导致凋亡细胞的解体。并且, Caspase-3 一旦被激活,便发生下游的级联反应,使凋亡不可中断,目前研究多以出现 Caspase-3 为凋亡不可逆的标志<sup>[12]</sup>。在损伤组中 Cleaved Caspase-3 的表达量明显升高,说明此时细胞凋亡程度较高,建模程度较好。在 F2 组中, Cleaved Caspase-3 的表达量明显低于损伤组,但仍高于对照组,说明此时 F2 对下游显示的 Cleaved Caspase-3 有一定的抑制作用,并且抑制作用随着浓度的升高而升高。相关研究表明,热休克蛋白 70 与人参皂苷 Rg1 联合作用可通过影响 caspase-3 和突触重塑,显著阻断共培养细胞的神经元凋亡,降低神经细胞毒性<sup>[13]</sup>。人参皂苷 Rd 和 Rb1 是 F2 的前体皂苷,研究表明 Rd 可以通过抑制 Cleaved Caspase-3 的表达来保护神经元的凋亡<sup>[6]</sup>, Rb1 可以抑制 Cleaved Caspase-3 的表达,从而抑制细胞凋亡的进行<sup>[11]</sup>,与本文结果相符。结合前文对 Caspase-6 和 Caspase-9 活性的影响,可知, F2 对下游 Cleaved Caspase-3 的影响可能体现在对其上游 Caspase-6 和 Caspase-9 的抑制,也可体现在直接对下游 Cleaved Caspase-3 的抑制作用。综上, F2 在对上游 Caspase-9、中游 Caspase-6 和下游 Cleaved Caspase-3 的抑制作用下,抑制了细胞凋亡。

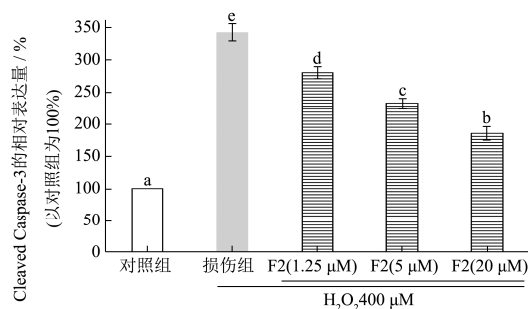


图3 F2 对 HEK-293 损伤细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达量的影响

Fig.3 Effects of ginsenoside F2 on the protein expressions of Cleaved Caspase-3 in injured HEK-293 cells

### 2.3 F2 对 Cleaved PARP 蛋白表达量的影响

PARP 是细胞凋亡核心成员半胱天冬酶(Caspase)的切割底物,经 Caspase 的切割形成 Cleaved PARP,

在 DNA 损伤与细胞凋亡中发挥着重要作用。由图 4 可知,损伤组 Cleaved PARP 的相对表达量明显高于对照组,为 129.57% ( $p<0.05$ )。在 F2 干预后的损伤中, Cleaved PARP 的相对表达量较损伤组有所下降,且其表达量随着 F2 浓度升高而降低至 110.36%、85.85%、61.95%。在 F2 浓度为升高为 20 μmol/L 时,降为正常组的 61.945%,各组之间差异显著 ( $p<0.05$ )。结果表明 F2 通过抑制 Cleaved PARP 的表达抑制细胞凋亡。有相似研究表明人参皂苷可通过 nadp-parp-sirt 轴减弱 PARP 的活性调节氧化损伤,抑制凋亡进程<sup>[14]</sup>。根据前文对 Caspase-9、Caspase-6、Cleaved Caspase-3 的研究,还可说明, F2 可以抑制以上几种蛋白的表达与活性,从而降低了 Cleaved PARP,起到抗细胞凋亡的作用。相关研究表明 Rd 通过增加 Bcl-2 的表达、降低 Bax 的水平、抑制 cleaved-caspase-3 的表达来保护神经元的凋亡<sup>[6]</sup>。由此可以推测, F2 抑制 Cleaved PARP 的表达、参与抑制细胞凋亡与 Rd 抑制凋亡相关蛋白表达的机制是类似的。

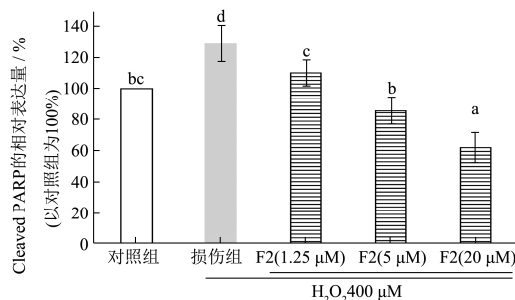


图4 F2 对 HEK-293 损伤细胞 Cleaved PARP 蛋白表达量的影响

Fig.4 Effects of ginsenoside F2 on the protein expressions of Cleaved PARP in injured HEK-293 cells

### 2.4 F2 对 Bcl-2 家族凋亡蛋白的影响

如图 5 所示,损伤组的 Bcl-2/Bax 的比值(44.09%)明显低于对照组 ( $p<0.05$ ),约为对照组的 44.085%左右。而 F2 干预损伤后比值均高于损伤组,分别为 48.28% (1.25 μmol/L)、60.98% (5 μmol/L)、73.94% (20 μmol/L),均低于正常组 ( $p<0.05$ ),随着 F2 浓度的升高,比值逐渐升高,不同浓度之间的差异显著 ( $p<0.05$ )。Bcl-2 家族在细胞凋亡中起关键作用,包括抗凋亡蛋白如 Bcl-2 和促凋亡蛋白如 Bax<sup>[15]</sup>。在发生凋亡过程中, Bcl-2 家族的促凋亡蛋白在损伤因素的激活下,造成线粒体破坏释放内容物,激活下游反应,在细胞凋亡中具有重要作用。Bcl-2/Bax 的比值即抗凋亡蛋白表达量/促凋亡蛋白表达量,可反映抗凋亡蛋白



表达量与促凋亡蛋白表达量的相对关系。Bcl-2/Bax 比值在细胞凋亡状态有重要的决定意义<sup>[16]</sup>。结果说明,在损伤组中,比值下降,抗凋亡蛋白表达量相对降低,促凋亡蛋白表达量相对升高。并且随着 F2 浓度逐渐升高,抗凋亡蛋白表达量随之升高,促凋亡蛋白表达量随之降低。不难看出, F2 可通过上调抗凋亡蛋白的蛋白表达量下调促凋亡蛋白的蛋白表达量来抑制细胞凋亡的进行。此外,有研究证明丹参酚酸/三七皂苷配伍抗心肌缺氧损伤中,其结果也显示可通过抑制促凋亡蛋白的表达、增加抗凋亡蛋白的表达来抑制 Caspase 级联反应的进行,与本实验结果类似<sup>[17]</sup>。Bcl-2 家族蛋白还可调控 Caspase 家族下游蛋白的活性来调节细胞凋亡。所以, F2 可通过抑制 Bcl-2 家族促凋亡蛋白的表达、升高抗凋亡蛋白的表达,也可通过 Bcl-2 家族抑制 Caspase 家族下游蛋白 (Cleaved Caspase-3) 的表达,进而抑制细胞凋亡。F2 的前体皂苷 Rd 同样可以通过增加 Bcl-2 的表达、降低 Bax 的水平、抑制 cleaved-caspase-3 的表达来保护神经元的凋亡<sup>[6]</sup>。类似研究还表明人参皂苷 Rb1 可以提高 Bcl-2/Bax 比值,抑制 cleaved - caspase-3 和 cleaved - caspase-9 的表达,从而抑制细胞凋亡的进行,这些相关研究均与本文结论相符<sup>[11]</sup>。

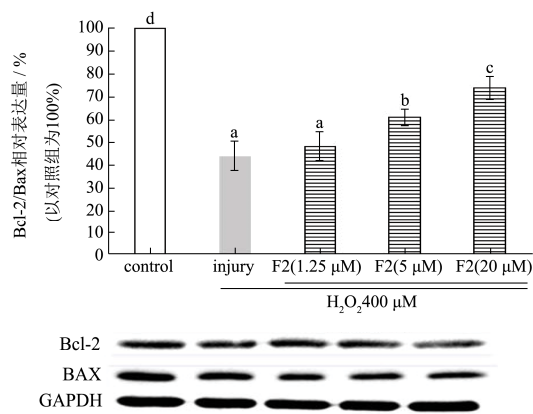


图5 F2对Bcl-2蛋白和BAX蛋白表达量的影响

Fig.5 Effects of ginsenoside F2 on the protein expressions of Bcl-2 and BAX in injured HEK-293 cells

### 3 结论

细胞凋亡是 ROS 等损伤因素刺激引起的,可以引起多种细胞凋亡通路的活化,损伤因素刺激活化多种凋亡途径,激活级联反应,造成细胞和细胞器的损伤,从而发生细胞凋亡。在前文所述中,可知 Caspase 家族的上下游的不同蛋白对细胞凋亡的有着重要的作用; Bcl-2 和 Bax 在凋亡的过程中也有较大的作用。本文研究了 F2 通过 Caspase 级联反应调控细胞凋亡的作用,使用 Caspase 试剂盒测定凋亡细胞 Caspase-6、

9 活性、应用 Western blot 技术测定凋亡细胞中 Bcl-2 蛋白家族和 Caspase 凋亡家族凋亡蛋白的蛋白表达量。经过实验结果得知, F2 能够降低凋亡细胞 Caspase-6、Caspase-9 的活性,降低 Bax 促凋亡蛋白、Cleaved Caspase-3、Cleaved PARP 的蛋白表达量。F2 通过以上作用,实现抑制 Caspase 级联反应进而抑制 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞凋亡。本研究针对人参皂苷对 Caspase 级联反应的抑制作用,且有较好的抑制细胞凋亡作用,扩展了人参皂苷 F2 的应用范围。

### 参考文献

- [1] Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease [J]. *Journal of Internal Medicine*, 2005, 258(6): 479-517
- [2] Tsukahara S, Yamamoto S, Shwe T T, et al. Inhalation of low-level formaldehyde increases the bcl-2/Bax expression ratio in the hippocampus of immunologically sensitized mice [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2006, 13(2): 63-68
- [3] 王海南.人参皂苷药理研究进展[J].*中国临床药理学与治疗学*,2006,11(11):1201-1206  
WANG Hai-nan. Progresses in studies on pharmacologic effects of ginsenosides [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2006, 11(11): 1201-1206
- [4] Hasegawa H, Sung J H, Matsumiya S, et al. Main ginseng saponin metabolites formed by intestinal bacteria [J]. *Planta Medica*, 1996, 62(5): 453-457
- [5] Xue B, Sun L Q, Li X J, et al. Ginsenoside Rb1 relieves glucose fluctuation-induced oxidative stress and apoptosis in Schwann cells [J]. *Neural Regen Res*, 2012, 7(30): 2340-2346
- [6] Liu J F, Yan X D, Qi L S, et al. Ginsenoside Rd attenuates Abeta25-35-induced oxidative stress and apoptosis in primary cultured hippocampal neurons [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2015, 239: 12-18
- [7] 褚启龙.氧化应激与细胞凋亡关系的研究进展[J].*卫生研究*, 2003,32(3):276-279  
ZHU Qi-long. Research progress on oxidative stress and apoptosis [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2003, 32(3): 276-279
- [8] 刘迪,张聪,孙宏宇,等.人参皂苷 F2 对过氧化氢诱导细胞损伤的保护作用[J].*卫生研究*,2019,48(3):452-457  
LIU Di, ZHANG Cong, SUN Hong-yu, et al. Protective effects of ginsenoside F2 on hydrogen peroxide induced cell injury [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2019, 48(3): 452-

457

- [9] Scatena Roberto, Bottoni Patrizia, Botta Giorgia, et al. The role of mitochondria in pharmacotoxicology: a reevaluation of an old, newly emerging topic [J]. *American Journal of Physiology: Cell Physiology (Print)*, 2007, 293(1): C12-21
- [10] Mai T T, Moon J, Song Y, et al. Ginsenoside F2 induces apoptosis accompanied by protective autophagy in breast cancer stem cells [J]. *Cancer Lett*, 2012, 321(2): 144-153
- [11] Nan F W, Sun G B, Xie W J, et al. Ginsenoside Rb1 mitigates oxidative stress and apoptosis induced by methylglyoxal in SH-SY5Y cells *via* the PI3K/Akt pathway [J]. *Molecular and Cellular Probes*, 2019, 48: 101469
- [12] Visconti R, D'Adamio L. Functional cloning of genes regulating apoptosis in neuronal cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2007, 399: 125-131
- [13] Lu D, Xu A, Mai H, et al. The synergistic effects of heat shock protein 70 and ginsenoside Rg1 against tert-butyl hydroperoxide damage model *in vitro* [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 2015: 437127
- [14] Fan C L, Ma Q, Xu M, et al. Ginsenoside Rb1 attenuates high glucose-induced oxidative injury *via* the NAD-PARP-SIRT axis in rat retinal capillary endothelial cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(19): E4936
- [15] Gross A, McDonnell J M, Korsmeyer S J. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis [J]. *Genes & Development*, 1999, 13(15): 1899-1911
- [16] 杨连君. Bcl-2, Bax 与肿瘤细胞凋亡 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2003, 10(3): 232-234  
YANG Lian-jun. Bcl-2, Bax and apoptosis of tumor cell [J]. *Chin J Cancer Biother*, 2003, 10(3): 232-234
- [17] 龚婉. 丹参酚酸/三七皂苷配伍抗心肌缺氧损伤的作用机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2013  
GONG Wan. Studies on synergistic protective effects of salvianolic acid and panax notoginseng saponins in ischemia-induced myocardial injury [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013

(上接第 172 页)

- [18] LUO Hong-hui, LI Wen-jun, ZHANG Xin, et al. In planta high levels of hydrolysable tannins inhibit peroxidase mediated anthocyanin degradation and maintain abaxially red leaves of *Excoecaria cochinchinensis* [J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 315
- [19] Anna B, Alicja Z Kucharska, Jan Oszmiański. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex [J]. *Food Chemistry*, 2003, 81(3): 349-355
- [20] Kemal S, Bektas T, Cengiz S. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, 77: 12-21
- [21] 曾丹. 荔枝浊汁沉淀多酚和蛋白组成分析及其稳定化技术研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2018  
ZENG Dan. Analysis of polyphenols and protein composition and stabilization technology of turbidized juice precipitation in litchi [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018
- [22] J. Kolniak-Ostek, J Oszmiański, K P Rutkowski, et al. Effect of 1-methylcyclopropene postharvest treatment apple and storage on the cloudy juices properties [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2014, 59(2)
- [23] 王丽颖. 多酚与麦醇溶蛋白复合物的形成机制及结构表征 [D]. 重庆: 西南大学, 2018  
WANG Li-ying. Formation mechanism and structure characterization of polyphenols and melt-soluble protein complexes [D]. Chongqing: Southwest University, 2018
- [24] 王宇明, 钟瑞, 王鲁峰, 等. 加速试验条件下锦橙汁品质劣变关键指标评价 [J]. *食品科学*, 2012, 33(22): 308-313  
WANG Yu-ming, ZHONG Rui, WANG Lu-feng, et al. Evaluation of key index of quality deterioration of orange juice under accelerated test conditions [J]. *Food Science*, 2012, 33(22): 308-313
- [25] 袁星星, 余元善, 吴继军, 等. *Lactobacillus fermentum* 发酵降酸对三华李汁品质的影响 [J]. *现代食品科技*, 2016, 32(11): 134-138, 62  
YUAN Xing-xing, YU Yuan-shan, WU Ji-jun, et al. Effect of *Lactobacillus fermentum* on the quality of Sanhua plum juice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(11): 134-138, 62