doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.01.006

桃叶珊瑚苷对光损伤 HaCaT 细胞 Bax, Bcl-2, Caspase-3 表达的影响 *

陈巧云 王业秋 曲 岩 祁永华 陈丽娟 张 宁 黄敬文△

（黑龙江中医药大学佳木斯学院 黑龙江 佳木斯 154007）

摘要 目的:探讨桃叶珊瑚苷对紫外线 B 诱导的 HaCaT 细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2、Caspase-3 表达的影响,进一步阐明桃叶珊瑚苷抗光老化的作用机制。**方法:**将指数生长期 HaCaT 细胞随机分为正常对照组、模型对照组、10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} AU 处理组,采用 64 mJ·cm^{-2} 的 UVB 照射建立细胞光损伤模型,以终浓度 10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} AU 处理光损伤细胞,试剂盒检测 ROS 含量、Caspase-3 活性,流式细胞术检测细胞凋亡率,Western-Blot 检测 Bcl-2、Bax 蛋白的表达量。**结果:**UV 照射的 HaCaT 细胞 ROS 含量、细胞凋亡率、Caspase-3 活性、Bcl-2、Bax 蛋白表达量均升高(P＜0.01),Bcl-2/Bax 值降低(P＜0.01);不同浓度桃叶珊瑚苷处理后,ROS 含量、Caspase-3 活性、Bax 蛋白表达量降低,Bcl-2 蛋白表达量、Bcl-2/Bax 值升高,10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 桃叶珊瑚苷组与模型对照组相比,差异具有统计学意义(P<0.05,0.01)。**结论:**桃叶珊瑚苷通过清除 ROS,下调 Bax、Caspase-3 表达,上调 Bcl-2 表达,抑制细胞凋亡,保护受损的 HaCaT 细胞,拮抗光老化。

关键词:桃叶珊瑚苷;光损伤;HaCaT 细胞;Bax;Bcl-2;Caspase-3

中图分类号:R-33;Q682;R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)01-24-04

Effects of Aucubin on the Expression of Bax, Bcl-2, Caspase-3 of Photoaging HaCaT Cells Induced by UVB*

CHEN Qiao-yun, WANG Ye-qiu, QU Yan, QI Yong-hua, CHEN Li-juan, ZHANG Ning, HUANG Jing-wen△

(Jiamusi College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Jiamusi, Heilongjiang, 154007, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effect of aucubin on the expression of Bax/Bcl-2/Caspase-3 in UVB induced HaCaT cells and further investigate its mechanisms. **Methods:** HaCaT cells were randomly divided into the normal group, model group, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5} mol·L^{-1} AU treatment groups, model was established by 64 mJ·cm^{-2} UVB irradiation. After the modeling, final concentration of 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5} mol·L^{-1} aucubin treatment in modeling HaCaT cells. The content of ROS, rate of apoptosis, activity of Caspase-3, protein expression of Bcl-2, Bax were detected. **Results:** After UV irradiation, the ROS content, apoptotic rate, Caspase-3 activity, Bcl-2, Bax protein expression increased and Bcl-2/Bax value decreased (P＜0.01). The ROS content, rate of apoptosis, activity of Caspase-3, Bax protein expression were decreased, Bcl-2 protein expression and Bcl-2/Bax value were increased in HaCaT cells induced by aucubin, significant differences were found between 10^{-6}, 10^{-5} mol·L^{-1} of aucubin group and model control group (P<0.05, 0.01). **Conclusion:** Decrease of ROS, Bax, Caspase-3 and increase of Bcl-2 expression might be involved in the anti-photoaging of aucubin.

Key words: Aucubin; photoaging; HaCaT cells; Bax; Bcl-2; Caspase-3

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q682; R285.5 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2017)01-24-04

前言

由于臭氧层破坏程度日益加剧,皮肤光损伤现象愈来愈严重,研发具有防 UV 功能的化妆品或药物已成为当前研究的热点。皮肤光老化的机制很复杂,目前比较公认的为氧化应激学说,UV 辐射细胞产生过量的 ROS [1-3],ROS 导致细胞氧化应激并产生 Bcl-2 基因蛋白家族和 Caspase 基因蛋白家族等细胞凋亡因子,引起细胞凋亡[4,5]。桃叶珊瑚苷(aucubin, AU)分子式为 $C_{15}H_{22}O$,属环烯醚萜苷类,是杜仲、车前草,等中草药的有效成分,具有广泛的药理活性[6-8]。本课题组前期研究发现 AU 通过抑制氧化损伤,调控 P38 信号通路,调节 TNF-α、IL-6 的表达来拮抗 UVB 对角质形成细胞的光损伤[9]。本研究通过观察 AU 对 ROS、Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 等因子的影响，进一步阐明 AU 抗 UVB 损伤 HaCaT 细胞的作用机制。

1 材料与方法

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81274035);黑龙江省应用技术研究与开发计划项目(PC13S15);黑龙江省自然科学基金项目(D201231);
黑龙江中医药大学校科研基金(201309);黑龙江中医药大学创新人才支持计划项目(2012);
黑龙江中医药大学佳木斯学院基金项目(2014);黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(201510228036)

作者简介:陈巧云(1981-),硕士,讲师,从事中药抗皮肤光老化研究,电话:0454-6103261,E-mail:chenqy0114@163.com

△ 通讯作者:黄敬文(1980-),博士,副教授,从事中医外科疾病治疗及基础研究,E-mail:1148739983@qq.com

(收稿日期:2016-04-24 接受日期:2016-05-03)

1.1 材料

人皮肤角质形成细胞 HaCaT 购自上海中桥新舟生物科技有限公司；桃叶珊瑚苷购自成都曼思特生物科技有限公司；DMEM 培养基、胎牛血清购自 Thermo Fisher 公司；活性氧、Annexin V-FITC 细胞凋亡、Caspase-3 检测试剂盒购自碧云天生物技术研究所；一抗 Bcl-2 Antibody、Bax Antibody 购自 Cell Signaling Technology；β-actin Antibody 购自北京中衫金桥生物技术有限公司；二抗购自武汉博士德生物工程有限公司；紫外线光疗仪(SS-01B)购自 Sigma 公司；二氧化碳培养箱(HF90)购自上海智城分析仪器有限公司；酶标仪(MK3)购自美国热电公司；电泳仪(powerpac Basic)、半干转膜仪(Trans-Bio SD Cell)购自 Bio-Rad 公司；一体式微型化学发光成像仪(smart chemill)购自北京赛智创业有限公司；流式细胞仪(HPC-150，Handyem)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HaCaT 细胞在含有 10%胎牛血清，1%双抗的 DMEM 培养液，37 ℃，5 % CO_2 条件下培养。

1.2.2 分组及处理 取指数生长期的细胞按照每个孔 1× 10^6 个·mL^{-1} 接种于 6 孔板，在含有 10 %胎牛血清的高糖 DMEM 培养液中培养 24 h，除去培养液，PBS 洗 3 次，加入 1000 μL PBS，按照文献[10]方法，用铝箔盖住空白组，64 mJ·cm^{-2} 的 UVB 照射细胞，按照培养液中 AU 终浓度 10^{-7}、10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 继续培养 24 h，空白对照组、模型对照组换正常 DMEM 培养液继续培养 24 h。

1.2.3 流式细胞术检测细胞中 ROS 含量 AU 作用 48 h 后，将调整好细胞数的 HaCaT 细胞收集到离心管中，于 1000 rpm 4 ℃离心 5 min，弃去上清，用含 DCFH-DA 终浓度为 10 μmol·L^{-1} 的无血清 DMEM 培养液悬浮细胞，37 ℃孵育 20 min，用无血清 DMEM 培养液洗涤细胞三次，用流式细胞仪检测，激发波长 488 nm，发射波长 525 nm，DCF 的荧光强度反映细胞内活性氧的水平。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 AU 作用 48 h 后，将调整好细胞数的 HaCaT 细胞收集到离心管中，于 1000 rpm 4 ℃离心 5 min，弃去上清，加入 195 μL Annexin V -FITC 结合液重悬细胞；依次加入 5 μL Annexin V -FITC，10 μL PI 染色液，轻轻混匀，室温孵育 20 min，流式细胞术检测细胞凋亡率。

1.2.5 Western-Blot 检测细胞中 Bax、Bcl-2 蛋白的表达 AU 作用 48 h 后，弃去 6 孔板中培养液，预冷的 PBS 洗涤 3 次，加入 WIP 裂解液 (含 PMSF)150 μL 置冰上裂解，4 ℃、12000 rpm 离心，取上清；加入上样缓冲液，沸水煮 5 min；SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳；半干法将蛋白转印至 PVDF 膜上；TBST 浸湿；封闭液室温封闭 2 h；一抗 4 ℃孵育过夜；TBST 震荡洗涤 3 次，每次 10 min；二抗室温孵育 2 h；TBST 洗涤 3 次，每次 10 min；吸取多余 TBST，将 ECL 发光液滴加在膜上，吸去多余的工作液。将膜放入化学发光成像仪内，曝光照相及图像分析。

1.2.6 细胞内 Caspase-3 活性检测 AU 作用 48 h 后，胰酶消化接种于 6 孔板中的细胞，1000 rpm 4 ℃离心 5 min，除去上清液，预冷的 PBS 洗剂一次，细胞计数后，每 200 万细胞加 100 μL 裂解液，重悬细胞，冰浴裂解 15 min，16000 rpm 4℃离心 15 min，取上清液，按照 Caspase-3 活性检测试剂盒说明书进行操作。

1.3 统计学分析

用 SPSS18.0 软件对数据进行统计分析，计量资料数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，多样本间的比较单因素方差分析，两样本间比较采用 LSD 法，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 AU 对 HaCaT 细胞 ROS 水平的影响

如图 1 所示，模型组的 ROS 含量为对照组的 2.38 倍，差异有统计学意义($P<0.01$)，10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 的 AU 处理的细胞中 ROS 含量与模型对照组相比显著降低，差异有统计学意义($P<0.05$，0.01)。

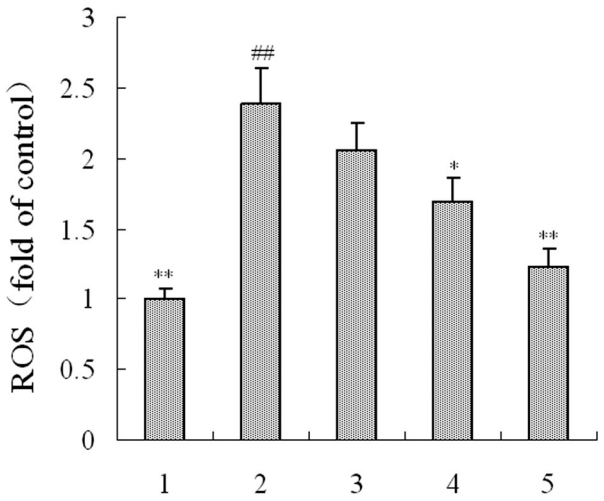


图 1 不同处理组中 ROS 水平

1：空白对照组；2：模型对照组；3：10^{-7} mol·L^{-1}AU 组；4：10^{-6} mol·L^{-1} AU 组；5：10^{-5} mol·L^{-1}AU 组

Fig.1 ROS levels in the different treatment group

1: Blank control group; 2: Model control group; 3: 10^{-7} mol·L^{-1}AU group; 4：10^{-6} mol·L^{-1} AU group; 5:10^{-5} mol·L^{-1} AU group

Note: Compared with the blank control group, ##P<0.01; Compared with the model control group, *P<0.05, **P<0.01.

2.2 不同浓度 AU 对 HaCaT 细胞凋亡率的影响

64 mJ·cm^{-2}UVB 照射后，HaCaT 细胞的凋亡率为 (35.42± 4.83)%，与空白对照组(10.13± 1.25)%相比，差异具有统计学意义($P<0.01$)，AU 处理后，不同浓度 AU 处理后，HaCaT 细胞的凋亡率为分别为 (30.27± 3.56)%、(25.31± 2.96)%、(17.53± 2.42)%，10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 与模型对照组相比差异具有统计学意义($P<0.05$，0.01)。

2.3 不同浓度 AU 对 HaCaT 细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

如图 2 和表 1 所示，64 mJ·cm^{-2}UVB 照射后，HaCaT 细胞中 Bax、Bcl-2 含量均有增加，Bax 含量与空白对照组相比，差异具有统计学意义($P<0.01$)；不同浓度 AU 处理后，HaCaT 细胞中 Bax 含量下降，Bcl-2 含量升高，10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 与模型对照组相比差异具有统计学意义 ($P<0.05$，0.01)，Bcl-2/Bax 比值随 AU 浓度增加逐渐升高。

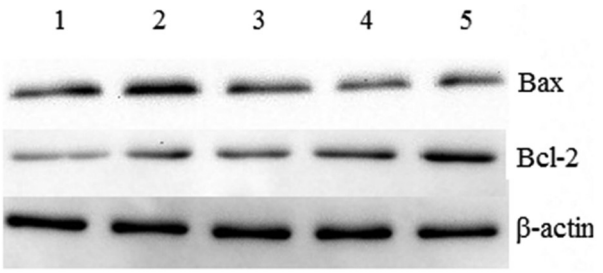


图 2 不同处理组中 Bax、Bcl-2 蛋白表达

1:空白对照组;2:模型对照组;3:10^{-7} mol·L^{-1}AU 组;4:10^{-6} mol·L^{-1}AU 组;5:10^{-5} mol·L^{-1}AU 组

Fig.2 The expression of Bax, Bcl-2 in the different treatment group

1: Blank control group; 2: Model control group; 3: 10^{-7} mol·L^{-1}AU group; 4: 10^{-6} mol·L^{-1}AU group; 5: 10^{-5} mol·L^{-1}AU group

2.4 不同浓度 AU 对 HaCaT 细胞 Caspase-3 活性的影响

与空白对照组相比,64 mJ·cm^{-2} UVB 照射后,HaCaT 细胞中 Caspase-3 活性增强,差异具有统计学意义(P＜0.01);AU 处理后,Caspase-3 活性下降,呈现剂量依赖关系,10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 与模型对照组相比差异具有统计学意义(P＜0.01)。

3 讨论

ROS 是光老化的主要起始因素[10,11]。本次实验中,UVB 照射后,模型对照组的 ROS 含量为空白对照组的 2.38 倍,此照射剂量造成了 HaCaT 细胞的氧化损伤, 加入不同浓度的 AU 处理光损伤的 HaCaT 细胞,ROS 含量下降, 结合前期研究,AU 能提高 SOD、CAT、GSH-Px 活性[9],说明 AU 能诱发细胞内的抗氧化系统清除 ROS 保护受损的 HaCaT 细胞。

表 1 AU 对 HaCaT 细胞中 Bax、Bcl-2 蛋白相对含量的影响($\bar{x}$± s,n=3)

Table 1 Effects of AU on Bax, Bcl-2 relative amount($\bar{x}$± s,n=3)

Group	Bax	Bcl-2	Bcl-2/Bax
Blank control	0.462± 0.033**	0.251± 0.031	0.543± 0.062*
model control	0.839± 0.092	0.324± 0.038	0.386± 0.043
10^{-7} mol·L^{-1}AU	0.662± 0.087	0.352± 0.029	0.532± 0.049*
10^{-6} mol·L^{-1}AU	0.571± 0.062**	0.403± 0.043*	0.706± 0.072**
10^{-5} mol·L^{-1}AU	0.493± 0.057**	0.682± 0.072**	1.383± 0.152**

Note: Compared with the model control group, *P<0.05, **P<0.01.

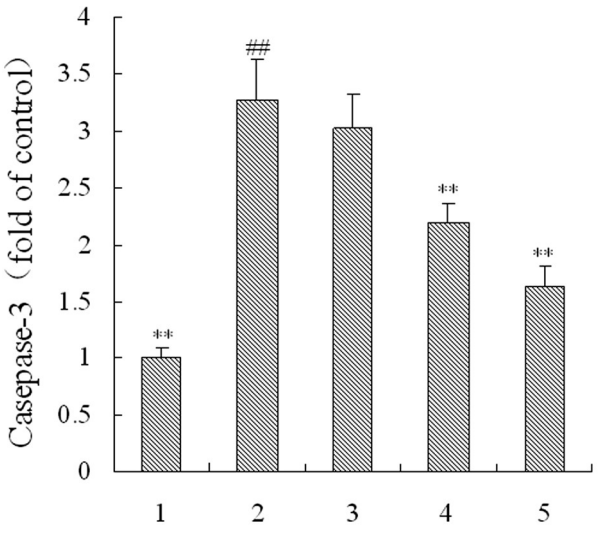


图 3 不同处理组中 Casepase-3 活性

1:空白对照组;2:模型对照组;3:10^{-7} mol·L^{-1}AU 组;4:10^{-6} mol·L^{-1}AU 组;5:10^{-5} mol·L^{-1}AU 组

Fig.3 The activity of Casepase-3 in the different treatment group

1: Blank control group; 2: Model control group; 3: 10^{-7} mol·L^{-1}AU group; 4: 10^{-6} mol·L^{-1}AU group; 5: 10^{-5} mol·L^{-1}AU group

Note: Compared with the blank control group, ##P<0.01; Compared with the model control group, **P<0.01.

过多的 ROS 可作为第二信使调节与细胞凋亡相关的信号转导通路[12-14]。Bax 基因是一种重要的促细胞凋亡基因,Bcl-2 基因是凋亡抑制基因,二者共同作用,对细胞凋亡产生影响[15-17]。本研究结果显示 Bax、Bcl-2 蛋白在正常细胞中均有表达,但基础含量不高,UVB 刺激后, 细胞凋亡率升高,Bax、Bcl-2 均增多,但 Bax 增加速度高于 Bcl-2,Bcl-2/Bax 比值减小, 与正常对照组相比,差异具有统计学意义(P＜0.05);AU 处理后,细胞凋亡率降低,Bax 表达量减少,Bcl-2 表达量增加,Bcl-2/Bax 比值增大, 与模型对照相比, 差异具有统计学意义 (P＜0.05,0.01)。Casepase-3 是凋亡的关键执行者[18-20]。UVB 照射后激活 Caspase-3,诱导细胞凋亡,AU 处理后,Caspase-3 活性下降,与 AU 浓度呈现剂量依赖关系,10^{-6}、10^{-5} mol·L^{-1} 与模型对照组相比差异具有统计学意义(P＜0.01)。说明 AU 抑制细胞凋亡可能与其下调 Bax、Caspase-3 表达,上调 Bcl-2 表达有关。

综上,桃叶珊瑚苷通过清除 ROS,下调 Bax、Caspase-3 表达,上调 Bcl-2 表达,抑制细胞凋亡,保护受损的 HaCaT 细胞,拮抗光老化。

参 考 文 献(References)

[1] Dwivedi N, Flora SJ. Concomitant exposure to arsenic and organophosphates on tissue oxidative stress in rats [J]. J Food Chem Toxicol, 2011, 49(5): 1152-1159

[2] Zhou BR1, Yin HB, Xu Y, et al. Baicalin protects human skin fibroblasts from ultraviolet A radiation-induced oxidative damage and apoptosis[J]. J. Free Radic Res, 2012, 46(12): 1458-1471

[3] Ito T, Kimura S, Seto K, et al. Peroxiredoxin I plays a protective role against UVA irradiation through reduction of oxidative stress [J]. J. Dermatol Sci, 2014, 74(1): 9-17

[4] 姜丽, 宁可, 包怡敏. 三七总皂苷抗缺血再灌注损伤机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(2): 267-270
Jiang Li, Ning Ke, Bao Yi-min. Review on Mechanisms of Panax Notoginseng Saponins Against Ischemia-Reperfusion Injury [J]. Chinese

Archives of Traditional Chinese Medicine, 2016, 34(2): 267-270

[5] 罗云梅, 付晓霞, 杨丹莉, 等. 淫羊藿苷对 H_2O_2 诱导的人脐静脉内皮细胞氧化损伤的保护作用及机制 [J]. 中国新药与临床杂志, 2016, 35(1): 40-45
Luo Yun-mei, Fu Xiao-xia, Yang Dan-li, et al. Protective effects and action mechanisms of icariin on oxidative injury of human umbilical vein endothelial cells induced by H_2O_2 [J]. Chin J New Drugs Clin Rem, 2016, 35(1): 40-45

[6] 刘秋庭, 姚靓, 涂鄂文, 等. 桃叶珊瑚苷对脑出血大鼠的神经保护作用及对肿瘤坏死因子 α 的影响研究 [J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2015, 23(3): 34-37
Liu Qiu-ting, Yao Liang, Tu E-wen, et al. Neuroprotective effect of Aucubin and its impact on TNF-α in rats with cerebralhemorrhage[J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2015, 23(3): 34-37

[7] Ho J N, Lee Y H, Park J S, et al. Protective effects of aucubin isolated from Eucommia ulmoides against UVB-induced oxidative stress in human skin fibroblasts[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(7): 1244-1248

[8] 牟丽秋, 杜俊, 胡祷耘, 等. 杜仲中槲皮素、京尼平苷及桃叶珊瑚苷对小鼠成骨样细胞系 MC3T3-E1 增殖和分化的影响[J]. 药物评价研究, 2015, 38(2): 165-169
Mu Li-qiu, Du Jun, Hu Yi-yun, et al. Effect of quercetin, geniposide, and aucubin in Eucommia ulmoides on proliferation and differentiation of osteoblast MC3T3-E1 in mice [J]. Drug Evaluation Research, 2015, 38(2): 165-169

[9] 陈巧云, 王业秋, 张宁. 桃叶珊瑚苷对紫外线 B 波损伤皮肤角质形成细胞的保护作用[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(7): 554-558
Chen Qiao-yun, Wang Ye-qiu, Zhang Ning. Protective Effects of Aucubin on Keratinocyte Damaged by Ultraviolet B [J]. Chin Pharm J, 2014, 49(7): 554-558

[10] Kong L, Wang S, Wu X, et al. Paeoniflorin attenuates ultravi olet B-induced apoptosis in human keratinocytes by inhibiting the ROS-p38-p53 pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(4): 3553-3558

[11] 刘娟, 周炳荣, 骆丹. 紫外线辐射的旁观者效应研究进展 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2015, 14(1): 66-68
Liu Juan, Zhou Bing-rong, Luo Dan. Research Progress on bystander effect of ultraviolet radiation [J]. Chin J Dermato Venerol Integ Trad W Med, 2015, 14(1): 66-68

[12] 张亚宏, 甘莹, 郭子华, 等. 紫草素通过 ROS/P38 信号通路诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(6): 864-867
Zhang Ya-hong, Gan Ying, Guo Zi-hua, et al. Involvement of ROS/p38 signal pathway in shikonin-induced apoptosis in HeLa cells [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2011, 27(6): 864-867

[13] 姚庆华, 林妙, 汪玉琪, 等. 氧化应激在姜黄素诱导肺癌细胞凋亡中的作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(2): 614-618
Yao Qing-hua, Lin Miao, Wang Yu-qi, et al. Role and mechanism of oxidative stress on curcumin induces apoptosis in A549 cells[J]. Chinese Journal of traditional Chinese Medicine, 2016, 31(2): 614-618

[14] 杜琴, 沈克平, 胡兵, 等. 白藜芦醇对 Hepa1-6 肝癌细胞凋亡和 ROS 的影响[J]. 中药材, 2012, 35(3): 443-446
Du Qin, Shen Ke-ping, Hu Bing, et al. Effects of Resveratrol on Apoptosis and ROS Production in Hepa 1-6 Hepatocarcinoma Cells [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2012, 35(3): 443-446

[15] 陆佳宁, 张小卿, 田国伟, 等. 针刺对光老大鼠皮肤组织中 Bcl-2、Bax 表达的影响及意义 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(12): 2695-2697
Lu Jia-ning, Zhang Xiao-qing, Tian Guo-wei, et al.The Effect and Significance of Acupuncture on the Expression of Bcl-2 and Bax of Photoaing Rats [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2012, 30(12): 2695-2697

[16] 刘郁东, 郑启新, 吴宏斌, 等. 雷帕霉素对不同肿瘤细胞 Bax/Bcl-2 和活性 caspase-3 表达的影响[J]. 肿瘤, 2013, 33(2): 138-163
Liu Yu-dong, Zheng Qi-xin, Wu Hong-bin, et al. The effects of rapamycin on expression ratio of Bax/Bcl-2 and the expression of activated caspase-3 in diferent types of tumor cells [J]. Tumor, 2013, 33 (2): 138-163

[17] 车军, 江海. Bax、Bcl-2 蛋白在大耳白兔快速光老化模型的表达[J]. 湖北医药学院学报, 2015, 34(1): 48-50
Che Jun, Jiang Hai. Expression of Bax，Bcl-2 Protein in skin of Fast Dermatoheliosis Rabbits Model [J]. Journal of Hubei College of medicine, 2015, 34(1): 48-50

[18] 高蒙蒙, 孙桂波, 斯建勇, 等. 红车轴草总黄酮对 H_2O_2 诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2013, 29(2): 201-207
Gao Meng-meng, Sun Gui-bo, Si Jian-yong, et al. Protective effects of red clover flavonoids against H_2O_2-induced injury in vascular endothelial cells [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2013, 29(2): 201-207

[19] 郑志难, 罗丽娜, 丁劲松. 基于半胱天冬酶 -3 调节的抗肿瘤药物研究进展[J]. 中南药学, 2012, 10(5): 368-372
Zheng Zhi-nan, Luo Li-na, Ding Jin-song. Advances in the research of antitumor drugs based on the regulation of -3 [J]. Central South Pharmacy, 2012, 10(5): 368-372

[20] 宋朝彦, 董晓辉, 谢东. 丁苯酞对大鼠脑创伤后 caspase-3 的表达与细胞凋亡的影响[J]. 临床神经外科杂志, 2015, 12(2): 107-110
Song Chao-yan, Dong Xiao-hui, Xie Dong. Effect of dl-3-n-butylphthalide on expression of caspase-3 and the apoptosis after traumatic brain injury in rats[J]. J Clin Neurosurg, 2015, 12(2): 107-110