

# 明日叶查尔酮对紫外线诱发 HaCaT 细胞损伤的防护作用

李蕾<sup>1</sup>, 孔杭如<sup>1</sup>, 钟文雯<sup>2</sup>

1. 厦门大学公共卫生学院, 厦门 361102

2. 中国人民解放军总医院, 北京 100853

**摘要** 为研究明日叶查尔酮(*Angelica keiskei* chalcones, AC)对紫外线诱发 HaCaT 细胞损伤的防护作用, 采用紫外线照射损伤的 HaCaT 细胞, 分别加入高、中、低剂量依次为 20、10、5  $\mu\text{mol/L}$  终浓度的 AC, 共同培养 24 h, 采用 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide (MTT) 比色法测定细胞增殖活性, 流式细胞仪测定细胞凋亡率, 试剂盒法测定细胞 MDA 含量和 SOD、CAT 及 Caspase-3 的活性, 逆转录聚合酶链式反应方法检测细胞 BCL-2 和 Bax 的 mRNA 表达水平。结果表明, 与正常对照组比较, 照射模型组细胞增殖活性、SOD、CAT 活性、BCL-2 mRNA 表达水平降低, 而细胞 MDA 含量、凋亡率、Caspase-3 活性以及 Bax mRNA 表达水平则升高; 中、高剂量 AC 组细胞增殖活性、SOD、CAT 活性、BCL-2 mRNA 表达水平均高于照射模型组, 而细胞 MDA 含量、凋亡率、Caspase-3 活性以及 Bax mRNA 表达水平则均低于照射模型组。上述各项差别均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。研究发现, 明日叶查尔酮可抑制紫外线照射诱发的 HaCaT 细胞凋亡, 调节 BCL-2 和 Bax 的 mRNA 表达水平, 增强细胞的抗氧化酶活性, 减轻受损细胞的脂质过氧化水平, 对紫外线照射导致的细胞损伤有良好防护作用。

**关键词** 明日叶查尔酮; HaCaT 细胞; 氧化损伤; 凋亡

过量紫外线可引起皮肤晒伤、光敏反应、光老化甚至癌变。紫外线照射细胞可产生大量活性氧自由基, 破坏细胞的 DNA 结构, 引发细胞凋亡<sup>[1-3]</sup>。抗氧化剂可有效清除紫外线产生的活性氧自由基, 抑制紫外线对细胞的损伤。明日叶查尔酮(*Angelica keiskei* chalcones, AC)是从明日叶中提取的一种含有 1, 3-二苯基丙烯酮结构的黄酮类化合物。目前国内外研究发现,

明日叶查尔酮具有良好的抗菌、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤、改善胰岛素抵抗、增强机体免疫力等多种生物学功效。研究发现, 明日叶查尔酮可有效清除活性自由基, 促进抗氧化酶的表达, 增强机体的抗氧化能力<sup>[4-6]</sup>。Tabata 等<sup>[7]</sup>研究发现, 明日叶查尔酮可促进人类神经母细胞瘤和白血病细胞的凋亡, 降低 M2 巨噬细胞的分化和活性, 抑制肿瘤细胞的生长与转移。明日叶查尔酮还

收稿日期: 2018-07-06; 修回日期: 2018-11-29

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2014J05098)

作者简介: 李蕾, 副教授, 研究方向为营养资源的开发与应用, 电子信箱: Lilei2003@126.com; 孔杭如(共同第一作者), 硕士研究生, 研究方向为天然活性物质的开发与应用, 电子信箱: 278976774@qq.com

引用格式: 李蕾, 孔杭如, 钟文雯. 明日叶查尔酮对紫外线诱发 HaCaT 细胞损伤的防护作用[J]. 科技导报, 2019, 37(14): 93-99; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2019.14.012

可以保护胰岛 $\beta$ 细胞,促进葡萄糖的转运,改善糖尿病的胰岛素抵抗<sup>[8-10]</sup>。但关于明日叶查尔酮对紫外线光损伤的人表皮角质形成细胞的保护作用尚未见有报道。

角质形成细胞是皮肤表皮中含量最丰富的细胞组分,具有保护机体免受外界物理、化学和微生物等多种因素损伤的作用。皮肤光老化是近年来的研究热点。中波紫外线(UVB)波长为275~320 nm,主要经表皮吸收,可直接损伤细胞DNA或通过诱发氧化应激反应,产生自由基损伤皮肤,是导致光老化的主要光谱。长期的紫外线辐射,尤其是中波紫外线还可引起皮肤角质形成细胞分泌一系列的炎症因子,诱导皮肤光老化和各种皮肤病发生。HaCaT细胞是一种被转化但非致癌的角质形成细胞,是国际上研究角质形成细胞最为常用的细胞株。本研究通过紫外线B(UVB)诱导HaCaT细胞氧化损伤,建立体外光老化细胞模型,观察明日叶查尔酮对UVB导致HaCaT细胞氧化损伤和凋亡的影响,并探讨相关抗光老化机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

#### 1.1.1 细胞与试剂

人永生化角质形成细胞株(HaCaT细胞系,购自武汉细胞所)。MEM培养基、新生牛血清和胰蛋白酶(Gibco公司)。四甲基偶氮唑蓝(MTT, Sigma公司)。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase-3)分光光度法检测试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司)。

#### 1.1.2 主要仪器

SH4B型紫外线光疗仪和全波长酶标仪为美国Thermo Scientific公司产品,倒置显微镜和流式细胞仪分别为德国Carl Zeiss公司和美国Becton Dickinson公司产品,电泳仪和CO<sub>2</sub>培养箱分别购自美国BIO-RAD公司和日本Sanyo公司。

### 1.2 实验样品

明日叶查尔酮由本实验室制备。将明日叶洗净晾干,取适量干明日叶根部,磨成粉末状,用95%的乙醇溶液浸泡、浓缩、调节pH值。采用乙醇梯度洗脱,收集有黄酮特性的洗脱液,减压浓缩得到总黄酮粗产品。将总黄酮粗产品用乙酸乙酯和5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液萃取3~5

次,再采用反相色谱乙醇溶液梯度洗脱,收集75%乙醇洗脱液。将收集的洗脱液用50%~90%乙腈在HPLC上进行梯度洗脱,收集查尔酮洗脱液,浓缩干燥后得到查尔酮纯品经紫外分光光度法测定含量大于90%。查尔酮标准品购于美国Sigma公司。

### 1.3 细胞培养、处理与分组

在37°C, 5% CO<sub>2</sub>条件下,用含10%(体积比)小牛血清的MEM培养基培养永生化角质形成细胞系HaCaT细胞,调整细胞浓度为1×10<sup>9</sup>个/L,以每孔10<sup>6</sup>个细胞接种于6孔板。细胞90%融合后,将HaCaT细胞分为正常对照组,照射模型组、低、中、高剂量AC组(分别加入终浓度为5、10、20 μmol/L的AC),每组细胞设3个平行孔,进行紫外线照射。除正常对照组外,各组细胞均暴露于15 W的UVB灯管下,距离20 cm,辐照时间为30 min,强度为30 mJ/cm<sup>2</sup>,照射时以少量PBS覆盖,阴性对照组以锡纸覆盖。照射结束后分别加入培养液和不同浓度的AC,继续培养24 h后收集细胞,进行指标测定。

### 1.4 指标测定

#### 1.4.1 细胞增殖活性测定

调整细胞悬液浓度至2.5×10<sup>6</sup>个/mL, 100 μL/孔接种到96孔板上,按照上述方法进行分组,37°C、5% CO<sub>2</sub>(体积比)温箱培养,细胞90%融合后,紫外线30 mJ/cm<sup>2</sup>照射30 min,照射结束后分别加入培养液和不同浓度的查尔酮,继续培养24 h后再加入5 mg/mL MTT 20 μL/孔, 37°C、5% CO<sub>2</sub>继续培养4 h,用酶标仪测595 nm吸光度值(OD值),并计算防护度,防护度=(实验组-照射组)/空白对照组×100%

#### 1.4.2 细胞凋亡的测定

采用流式细胞仪检测明日叶查尔酮对细胞凋亡率的影响,细胞分组处理后,吸出培养液,消化,800 r/min离心15 min,去上清。预冷PBS洗2次,离心收集细胞沉淀,加入70%乙醇,4°C固定过夜,取出复温,离心去乙醇,预冷PBS洗2次,离心后加入0.5 mL Binding Buffer悬浮细胞,在悬浮细胞液中加入5 μL Annexin V-FITC, 2~8°C避光孵育15 min。加入10 μL PI后低温避光孵育10 min后上机检测。

#### 1.4.3 细胞MDA含量测定

收集上述各组6孔板中的细胞,用冷PBS清洗2次,在冰浴中超声(功率400 W,作用3 s,间隔5 s,30次循环)破碎细胞,4°C,12000 g离心15 min,收集上清液于冰上预冷的EP管中。严格按照试剂盒说明书操作,

检测各组细胞MDA含量。

#### 1.4.4 细胞内SOD、CAT和Caspase-3活性的测定

收集上述各组6孔板中的细胞,用冷PBS清洗2次,在冰浴中超声(功率400 W,作用3 s,间隔5 s,30次循环)破碎细胞,4℃,12000 g离心15 min,收集上清液于冰上预冷的EP管中。分别采用SOD和MDA试剂盒,检测各组细胞SOD和CAT的活性。采用分光光度法检测试剂盒,用酶标仪在405 nm波长下,检测各组细胞吸光度值( $OD_{405\text{ nm}}$ ),用 $OD_{405\text{ nm}}$ 表示Caspase-3的相对活性。

#### 1.4.5 细胞内BCL-2与Bax mRNA表达的测定

取各组细胞用Trizol试剂提取总RNA,测定纯度后,在逆转录酶(MLV)催化下合成cDNA,以适量cDNA为模板在TaqDNA聚合酶催化下进行PCR扩增。BCL-2基因上下游引物:5'-CAAGCCGGGAGAA-CAGGGTAT-3'和5'-ACGGTAGCGACGAGAGAAGT-CATCC-3',扩增片段为312 bp;Bax基因上下游引物:5'-AAGCTGAGCGAGTGTCTCCGGCG-3'和5'-GCCA-CAAAGATGGTCACTGTCTGCC-3',扩增片段为284 bp;GAPDH为内参照,上下游引物:5'-TCTCC-GCCCTTCCGCTGAT-3'和5'-CCACAGCCTTGCCAG-CACCA-3',扩增片段为291 bp。所用引物均由厦门闽研生物科技有限公司合成。基因扩增条件:预变性95℃,2 min后进入循环,95℃ 20 s,59℃ 25 s,72℃ 30 s,45个循环后72℃延长5 min。将PCR产物在2%琼脂凝胶系统上电泳,经凝胶成像系统对其条带进行吸光度扫描,以GAPDH为内参物,用目的基因吸光度与GAPDH吸光度比值代表目的基因的相对表达含量。

#### 1.5 统计处理

实验数据 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS 18.0软件进行单因素方差分析,并同时采用LSD进行比较,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准进行显著性检验。

## 2 结果与讨论

### 2.1 明日叶查尔酮对HaCaT细胞增殖活性的影响

细胞增殖活性是反映细胞生命力强弱的一个重要指标。当细胞损伤时,细胞的增殖活性降低。本实验结果显示,照射模型组细胞增殖活性显著低于正常对照组( $P<0.05$ ),中、高剂量AC组细胞增殖活性均高于照射模型组,差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),且高剂量AC组显著高于中剂量AC组,说明AC对UVB辐射诱发的

细胞增殖活性损伤有良好的防护作用,并且存在剂量-反应关系。本实验结果与翟苗苗等报道的明日叶查尔酮可防护X射线引发的小鼠脾淋巴细胞增殖活性损伤的结果相一致<sup>[11]</sup>。刘硕等<sup>[12]</sup>报道蔓越莓可减轻UVB引发的HaCaT细胞损伤,高剂量组蔓越莓对细胞的防护度为15.22%,而在本实验中,高剂量AC对细胞增殖损伤的防护度高达52.10%,提示AC对UVB辐射引发的细胞增殖活性损伤的防护作用可能高于蔓越莓(表1)。

表1 明日叶查尔酮对细胞增殖活性的影响

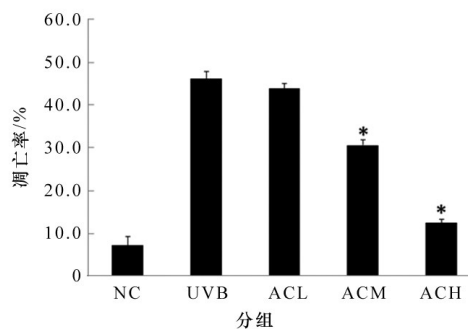
Table 1 The effect of *Angelica keiskei* chalcones on cell proliferation activity

组别	例数	OD值	防护度/%
正常对照组	3	1.67±0.06	—
照射模型组	3	0.36±0.02	0
低剂量AC组	3	0.32±0.01	-2.40
中剂量AC组	3	0.97±0.05*	36.53
高剂量AC组	3	1.23±0.03**	52.10

注:\*与照射模型组比较, $P<0.05$ ;#与中剂量AC组比较, $P<0.05$ 。

### 2.2 明日叶查尔酮对细胞凋亡率的影响

细胞凋亡是细胞在基因控制下的自主有序死亡,当细胞受到外界因素刺激时,会通过不同的信号传递系统,引发细胞凋亡。由图1可见,照射组细胞凋亡率为(46.1±1.8)%,显著高于正常对照组( $P<0.05$ ),中、高剂量AC组细胞凋亡率分别为(30.6±1.2)%和(12.5±0.9)%,均低于照射模型组,差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),说明AC可以有效抑制紫外线辐射引发的细胞凋亡。邓蕙妍等<sup>[13]</sup>研究发现姜黄素可降低UVB照射引发的HaCaT细胞凋亡,减轻细胞损伤,也有研究发现绿茶和红茶提取物可抑制紫外线辐射引起的HaCaT细胞凋亡<sup>[14]</sup>。



注:\*为与照射模型组比较 $P<0.05$ 。NC为正常对照组;

UVB为照射模型组;ACL为低剂量查尔酮组;

ACM为中剂量查尔酮组;ACH为高剂量查尔酮组

图1 明日叶查尔酮对细胞凋亡率的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Fig. 1 The effect of *Angelica keiskei* chalcones on apoptosis rate ( $\bar{x}\pm s$ )

### 2.3 明日叶查尔酮对细胞MDA含量的影响

MDA是脂质过氧化反应链式终止阶段产生的小分子产物,其含量可以间接反应自由基的产生情况和机体组织细胞的脂质过氧化程度。脂质过氧化越活跃则产生的MDA越多。由表2可见,照射模型组细胞MDA显著高于正常对照组( $P<0.05$ ),说明紫外线照射 HaCaT 细胞,促进了活性氧的产生,进而引发细胞的脂质过氧化反应。这与文献报道的紫外线照射可导致 HaCaT 细胞系脂质过氧化程度增加,细胞增殖活性降低的结果相一致<sup>[15]</sup>。中、高剂量 AC 组细胞MDA均低于照射模型组,差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),说明 AC 作为一种良好的抗氧化剂,可减轻 HaCaT 细胞的脂质过氧化程度,保护 HaCaT 细胞,减轻细胞损伤。这与侯芳霖等研究发现的明日叶查尔酮可降低荷瘤小鼠血清MDA水平,减轻脂质过氧化水平的结果相一致<sup>[16]</sup>。

表2 明日叶查尔酮对细胞MDA水平的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 The effect of AC on MDA level of cells ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	MDA (nmol/mL)
正常对照组	3	1.39±0.26
照射模型组	3	5.78±0.51
低剂量 AC 组	3	5.19±0.35
中剂量 AC 组	3	3.84±0.21*
高剂量 AC 组	3	2.09±0.19*

注: \*与照射模型组比较,  $P<0.05$ 。

### 2.4 明日叶查尔酮对细胞SOD、MDA和Caspase-3活性的影响

SOD和CAT是细胞内源性抗氧化酶。SOD可以催化超氧化物自由基,将细胞内多余的超氧离子转化为 $H_2O_2$ 。CAT与SOD有协同作用,可清除由歧化反应生成的过氧化氢,有效对抗氧化应激造成的机体组织损伤。由表3可见,照射模型组细胞的SOD和CAT活性分别为(4.16±0.32) U/mg和(1.21±0.18) U/mg,显著低于正常对照组( $P<0.05$ ),说明紫外线照射使得细胞内SOD、CAT活力下降,导致细胞内的活性氧自由基不能被有效清除,进而促发脂质过氧化反应,导致HaCaT细胞损伤。中、高剂量 AC 组SOD、CAT活性均高于照射模型组,差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),说明 AC 能够诱发细胞内的抗氧化系统,清除活性氧自由基,保护受损的HaCaT细胞。高扬等<sup>[15]</sup>的研究结果提示竹叶总黄酮能够上调受损 HaCaT 细胞的SOD和CAT等的抗氧化酶的

含量,减轻紫外线照射导致的细胞氧化损伤。

Caspase是执行凋亡的主要酶类,是细胞凋亡的中枢效应器。Caspase-3处于Caspase蛋白酶系的核心地位,是凋亡酶系级联反应的中心环节之一。紫外线照射后产生的活性氧自由基,可增加细胞内钙离子浓度,降低线粒体膜电位,激活半胱氨酸蛋白酶(Caspase)蛋白,引发细胞凋亡。由表3可见,照射模型组细胞Caspase-3活性显著高于正常对照组( $P<0.05$ ),说明紫外线诱导 HaCaT 细胞凋亡与Caspase-3的活化有关。中、高剂量 AC 组Caspase-3活性均低于照射模型组,差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),提示 AC 可通过下调Caspase-3活性,抑制细胞的凋亡。李金莲等<sup>[17]</sup>研究发现,扇贝多肽可通过抑制Caspase-3的激活而降低UVA诱导的HaCaT细胞的凋亡。

表3 明日叶查尔酮对细胞SOD、CAT和Caspase-3活性的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 The effect of AC on the SOD,MDA and Caspase-3 activities of cells ( $\bar{x}\pm s$ )

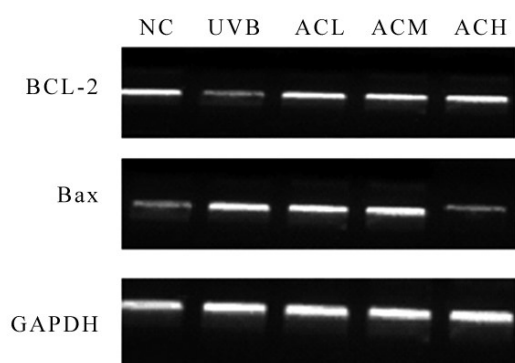
组别	例数	SOD/ (U·mg <sup>-1</sup> )	CAT/ (U·mg <sup>-1</sup> )	Caspase-3/ OD <sub>405nm</sub>
正常对照组	3	13.28±1.37	4.68±0.27	0.05±0.01
照射模型组	3	4.16±0.32	1.21±0.18	0.15±0.02
低剂量 AC 组	3	5.03±0.51	1.49±0.16	0.13±0.03
中剂量 AC 组	3	8.33±0.98*	2.85±0.13*	0.09±0.01*
高剂量 AC 组	3	11.29±1.22*	3.62±0.27*	0.07±0.02*

注: \*与照射模型组比较,  $P<0.05$ 。

### 2.5 明日叶查尔酮对细胞BCL-2和Bax的mRNA表达的影响

BCL-2是细胞凋亡的重要抑制基因,而Bax则可促进细胞的凋亡。Bax与BCL-2两种基因编码的蛋白可形成二聚体,两者的比值决定了细胞对凋亡信号的敏感性,BCL-2/Bax比值升高可抑制细胞的凋亡<sup>[18-19]</sup>。本实验结果显示,照射模型组抑制细胞凋亡的BCL-2 mRNA表达量显著降低,而在AC的作用下,BCL-2 mRNA的表达量随着AC剂量的增加而升高(图2)。条带的吸光度值分析结果显示,与照射模型组比较,中、高剂量 AC 组细胞BCL-2/GAPDH吸光度比值升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。照射模型组促进细胞凋亡的Bax mRNA表达量显著增加,而在AC的作用下,Bax mRNA的表达量随着AC剂量的增加而降低(图2)。条带的吸光度值分析结果显示,与照射模型组比

较,中、高剂量 AC 组细胞 Bax /GAPDH 吸光度比值降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )(表 4)。本实验结果说明 AC 可通过上调 BCL-2 mRNA 表达水平,同时降低 Bax mRNA 表达水平,减少紫外线损伤所致的细胞凋亡。这与 AC 对细胞增殖活性损伤的防护作用的结果是一致的。AC 可能通过调节 BCL-2 和 Bax 的表达水平,减轻紫外线诱发的细胞损伤。翟苗苗等<sup>[11]</sup>报道明日叶查尔酮可升高荷瘤小鼠肝细胞 BCL-2/Bax 的比值,抑制细胞凋亡,与本实验的结果相一致。



注:NC 为正常对照组;UVB 为照射模型组;ACL 为低剂量查尔酮组;ACM 为中剂量查尔酮组;ACH 为高剂量查尔酮组

图 2 明日叶查尔酮对细胞 BCL-2 和 Bax mRNA 表达的影响

Fig. 2 The effect of *Angelica keiskei* chalcones on the expression of BCL-2 and Bax mRNA in cells

表 4 明日叶查尔酮对细胞 BCL-2 和 Bax mRNA 表达的影响( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 The effect of AC on the expression of BCL-2 and Bax mRNA in cells ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	BCL-2/GAPDH	Bax/GAPDH
正常对照组	0.73±0.05	0.27±0.00
照射模型组	0.19±0.03	0.61±0.30
低剂量 AC 组	0.23±0.02	0.58±0.02
中剂量 AC 组	0.47±0.01*	0.43±0.02*
高剂量 AC 组	0.67±0.01*	0.31±0.07*

注: \*与照射模型组比较,  $P<0.05$ 。

### 3 结论

综合本次实验结果可以认为,明日叶查尔酮对紫外线照射引发的 HaCaT 细胞损伤有良好的防护作用,这与明日叶查尔酮可增加抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活性,减轻细胞脂质过氧化损伤,抑制 Caspase-3 的激活,

调节 BCL-2 和 Bax 的 mRNA 表达水平,减轻细胞凋亡有关。本研究为明日叶查尔酮在紫外线损伤防护产品的开发应用方面提供了理论依据,具有广阔的应用前景。本实验结果有待于采用体内实验进行深入研究。

### 参考文献(References)

- [1] 步犁,程树军,谈伟君,等.人角质细胞紫外线损伤模型筛选抗氧化剂的研究[J].毒理学杂志,2013,27(6):419-423.  
Bu Li, Cheng Shujun, Tan Weijun, et al. The screening study of antioxidant to UV-induced HaCaT model[J]. Journal of Toxicology, 2013, 27(6): 419-423.
- [2] Greinert R B, Henning V S. UVA-induced DNA double-strand breaks result from the repair of clustered oxidative DNA damage[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(20): 10263-10273.
- [3] 胡青梅,景海霞,雷铁池. UVA 及 UVB 诱导人皮肤光生物学反应差异的研究进展[J].临床与病理杂志,2017,37(1):199-202.  
Hu Qingmei, Jing Haixia, Lei Tiechi. Progress on difference of photobiology reaction about UVA and UVB radiation on human skin[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2017, 37(1): 199-202.
- [4] Choi Y H, Lee H S, Chung C K, et al. Protective effects of an ethanol extract of *Angelica keiskei* against acetaminophen-induced hepatotoxicity in HepG2 and HepaRG cells[J]. Nutrition Research And Practice, 2017, 11(2): 97-104.
- [5] Kusuma S A F, Iskandar Y, Dewanti M A. The ethanolic extract of ashitaba stem (*Angelica keiskei*) as future antituberculosis[J]. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research, 2018, 9(1): 37-41.
- [6] 王先红,张照杰,李蕾,等.明日叶查尔酮对糖尿病大鼠氧化应激影响[J].中国公共卫生,2014,30(1):74-76.  
Wang Xianhong, Zhang Zhaojie, Li Lei, et al. Effect of ashitaba chalcone on oxidative stress in diabetic rats[J]. Chinese Journal of Public Health, 2014, 30(1): 74-76.
- [7] Tabata K, Motani K, Takayanagi N, et al. Xanthoangelol, a major chalcone constitute of *Angelica keiskei*, induces apoptosis in neuroblastoma and leukemia cells[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2005, 28(8): 1404-1407.
- [8] Enoki T, Ohnoqi H, Nagamine K, et al. Antidiabetic activities of chalcones isolated from a Japanese Herb *Angelica keiskei* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(15): 6013-6017.
- [9] Fuso A, Nicolai V, Cavallaro R A, et al. DNA methylase and demethylase activities are modulated by one-carbon metabolism in Alzheimer's disease models[J]. Journal of Nutritional

- Biochemistry, 2011, 22(3): 242-251.
- [10] Obeid R, Schadt A, Dillmann U, et al. Methylation status and neurodegenerative markers in Parkinson disease[J]. *Clinical Chemistry*, 2009, 55(10): 1852-1860.
- [11] 翟苗苗, 刘玉娟, 刘庆平, 等. 明日叶查尔酮对小鼠急性辐射损伤防护作用的研究[J]. *毒理学杂志*, 2015, 29(3): 204-206.
- Zhai Miaomiao, Liu Yujuan, Liu Qingping, et al. Research on protective effect of Ashitaba Chalcone on acute radiation-injured mice[J]. *Journal of Toxicology*, 2015, 29(3): 204-206.
- [12] 刘硕, 邝梦婷, 朱华伟, 等. 蔓越莓抑制 UVB 诱导 HaCaT 细胞氧化损伤和凋亡的研究[J]. *食品研究与开发*, 2015, 369(11): 5-10.
- Liu Shuo, Kuang Mengting, Zhu Huawei, et al. Study on the inhibition effects of cranberry on UVB-induced oxidative damage and apoptosis of HaCaT cells[J]. *Food Research and Development*, 2015, 369(11): 5-10.
- [13] 邓蕙妍, 高爱莉, 张倩雯, 等. 姜黄素对紫外线诱导损伤的 HaCaT 细胞的保护作用[J]. *中国中西医结合皮肤性病学杂志*, 2014, 13(3): 137-141.
- Deng Huiyan, Gao Aili, Zhang Qianwen, et al. Protective effect of curcumin on human immortalized keratinocytes after acute ultraviolet damage[J]. *Chinese Journal of Dermatovenereology of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2014, 13(3): 137-141.
- [14] 马蕊, 刘仲华, 黄建安, 等. 绿茶和红茶提取物抑制中波紫外线诱导 HaCaT 细胞氧化损伤和凋亡的比较[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2013, 39(4): 377-381.
- Ma Rui, Liu Zhonghua, Huang Jianan, et al. Comparison the inhibitional effects between extracts of green tea and black tea on oxidative damage and apoptosis of HaCaT cells induced by UVB[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2013, 39(4): 377-381.
- [15] 高扬, 易若琨, 宋家乐. 竹叶总黄酮对 UVB 诱导 HaCaT 细胞氧化损伤的保护作用[J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(2): 165-169.
- Gao Yang, Yi Ruokun, Song Jiale. Protective effects of total flavonoids from bamboo leaves on UVB-irradiated oxidative damage in HaCaT cells[J]. *Journal of Nanjing University of Chinese Medicine*, 2015, 31(2): 165-169.
- [16] 侯芳霖, 钟进义, 张燕. 明日叶查尔酮对荷瘤小鼠抗氧化能力影响作用的研究[J]. *世界中西医结合杂志*, 2011, 6(4): 288-290.
- Hou Fanglin, Zhong Jinyi, Zhang Yan. Research of Ashitaba Chalcone on the antioxidant effect in tumor-bearing mice[J]. *World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2011, 6(4): 288-290.
- [17] 李金莲, 严州萍, 陈雪红, 等. 扇贝多肽抑制紫外线 A 波诱导的 HaCaT 细胞凋亡依赖 p38 MAPK 通路和 caspase-3[J]. *中国药理学杂志*, 2007, 42(2): 116-120.
- Li Jinlian, Yan Zhouping, Chen Xuehong, et al. Inhibition of Polypeptide from chlamys farreri on UVA-Induced apoptosis of HaCaT cells depending on p38 MAPK pathway and caspase-3[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2007, 42(2): 116-120.
- [18] Hockenbery D M, Nunez G, Milliman C, et al. BCL-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death[J]. *Nature*, 1990, 348(6299): 334-338.
- [19] Adams J M, Cory S. The BCL-2 arbiters of apoptosis and their growing role as cancer targets[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2018, 25(1): 27-36.

## The protective effect of *Angelica keiskei* chalcones on the damage of HaCaT cells induced by ultraviolet B

LI Lei<sup>1</sup>, KONG Hangru<sup>1</sup>, ZHONG Wenwen<sup>2</sup>

1. Public Health School, Xiamen University, Xiamen 361102, China

2. Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China

**Abstract** The protective effect of *Angelica keiskei* chalcones on the damage of HaCaT cells induced by ultraviolet B(UVB) is investigated.. HaCaT cell with oxidative damage induced by ultraviolet B is incubated with *Angelica keiskei* chalcones at concentrations of 20  $\mu\text{mol/L}$ , 10  $\mu\text{mol/L}$  and 5  $\mu\text{mol/L}$  for 24 h. The cell viability as well as the apoptosis rate are determined by MTT method and flow cytometer, respectively. The MDA content of cells and activities of SOD, CAT and Caspase-3 are determined by kit method. The mRNA expression of BCL-2 and Bax is evaluated by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Compared with the normal control, the cell viability, SOD, CAT activity and the expression level of BCL-2 mRNA in the irradiation model group are decreased while the MDA content, apoptosis rate, Caspase-3 activity and Bax mRNA are increased. The viability, SOD, CAT activity and BCL-2 mRNA expression of cells incubated with 20  $\mu\text{mol/L}$  and 10  $\mu\text{mol/L}$  are increased while the apoptosis rate, Caspase-3 activity and Bax mRNA expression are decreased, compared with the irradiation model group. All the differences are significant ( $P<0.05$ ). *Angelica keiskei* chalcones may protect HaCaT cells from oxidative damage and decrease apoptosis rate by regulating the mRNA expression of BCL-2 and Bax.

**Keywords** *Angelica keiskei* chalcones; HaCaT cell; oxidative damage; apoptosis ●



(责任编辑 田恬)