

人参皂苷 F2 对过氧化氢诱导细胞损伤的保护作用

刘迪¹ 张聪² 孙宏宇¹ 时文艳¹ 孔繁利² 冯宪敏¹

1 吉林医药学院病原生物学教研室,吉林 132013; 2 北华大学医学技术学院,吉林 132013

摘要:目的 研究人参皂苷 F2 对人胚肾 293(HEK-293) 细胞氧化应激损伤的保护作用。方法 以 0.4 mmol/L 过氧化氢(H_2O_2) 诱导 HEK-293 细胞氧化应激,1、2.5、5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 预处理,MTS 法检测细胞活力;DCFH-DA 荧光探针考察细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS) 含量;试剂盒检测丙二醛(malondialdehyde, MDA) 水平和抗氧化酶超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性;蛋白质印迹法(Western blot) 和 qRT-PCR 检测核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) /抑制蛋白 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1(kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 信号的蛋白和 mRNA 表达量。结果 1、2.5、5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 处理正常 HEK-293 细胞后对细胞无毒性或促增殖作用;人参皂苷 F2 预处理氧化应激细胞后,细胞活力显著高于损伤组,各组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);氧化损伤组的 DCF 荧光较对照组相比显著增强($P < 0.05$),人参皂苷 F2 预处理后细胞 ROS 相对量呈浓度依赖性降低,各组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);人参皂苷 F2 预处理后细胞 MDA 水平呈浓度依赖性降低,各组间差异均有统计学意义($P < 0.05$),SOD 和 GSH-Px 活性显著高于损伤组($P < 0.05$),5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 能显著提高 CAT 活性($P < 0.05$);人参皂苷 F2 处理后,Nrf2 的 mRNA 和蛋白表达量均显著升高($P < 0.05$),Keap1 的 mRNA 和蛋白表达量显著低于损伤组($P < 0.05$)。结论 人参皂苷 F2 具有细胞保护作用,可降低 HEK-293 细胞 ROS 和 MDA 水平,提高抗氧化酶活性,其作用机制可能是通过调节 Nrf2/Keap1 信号通路以抵抗过氧化氢导致的细胞氧化应激损伤。

关键词: 人参皂苷 F2 氧化应激 核因子 E2 相关因子 2 信号通路

中图分类号: R285.5 Q946.83 Q26 文献标志码: A

Protective effects of ginsenoside F2 on hydrogen peroxide induced cell injury

Liu Di¹, Zhang Cong², Sun Hongyu¹, Shi Wenyan¹, Kong Fanli², Feng Xianmin¹

1 Department of Pathogen Biology, Jilin Medical University, Jilin 132013, China;

2 Academy of Medical Technology, Beihua University, Jilin 132013, China

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the inhibitive effects of ginsenoside F2 on oxidative stress in human embryonic kidney cells (HEK-293). **METHODS** Hydrogen peroxide induced oxidative stress of HEK-293 cell was used as the research

基金项目: 吉林省科技发展规划(No. 20190103148JH); 吉林省教育厅“十三五”科学研究规划项目(No. JJKH20180832KJ); 吉林省卫生技术创新项目(No. 2017J105, 2017J086)

作者简介: 刘迪,女,博士,讲师,研究方向:天然活性物质的研究与开发, E-mail: liudi1542@163.com

通信作者: 冯宪敏,女,博士,教授,研究方向:病原生物学研究, E-mail: fengxianmin28@163.com

object. HEK-293 cells were pretreated with different concentrations of ginsenoside F2 (1.25, 5, 20 $\mu\text{mol/L}$). Cell viability was measured by MTS assay. Malondialdehyde (MDA) level and activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase SOD, glutathione peroxidase GSH-Px, catalase CAT) were measured by corresponding assay kits. DCFH-DA fluorescent probe assay was used to measure the level of intracellular reactive oxygen species (ROS). Quantitative real-time PCR and Western blot were used to detect the expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and kelch-like ECH associated protein 1 (Keap1). **RESULTS** After treated with 1.25, 5, 20 $\mu\text{mol/L}$ ginsenoside F2, no cytotoxic or proliferative effects were shown on normal HEK-293 cells. After pretreatment with ginsenoside F2, the cell viability was significantly higher than that of the injury group ($P < 0.05$) and increased in a concentration-dependent manner. The fluorescence intensity of oxidative DCF in injured group was significantly increased compared with control group ($P < 0.05$). The fluorescence intensity of cells which pretreated with different concentrations of ginsenoside F2 was gradually weakened ($P < 0.05$). The ROS content of control group was chosen as the standard, and the relative amount of ROS pretreated by ginsenoside F2 decreased in a concentration-dependent manner. After pretreatment of ginsenoside F2, the MDA levels decreased in a concentration-dependent manner and the activities of SOD and GSH-Px were significantly higher than those of the injured group ($P < 0.05$). The activity of CAT was significantly increased with pretreatment of higher concentrations of ginsenoside F2 ($P < 0.05$). Furthermore, ginsenoside F2 significantly enhanced the protein and mRNA expressions of Nrf2 and reduced the expressions of Keap1 in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Ginsenoside F2 protect HEK-293 cells against H_2O_2 -induced oxidative stress through reducing intracellular ROS and MDA, as well as activating Nrf2/Keap1 signaling pathway and antioxidant enzymes.

KEY WORDS: ginsenoside F2, oxidative stress, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), signal pathway

氧化应激是指体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量产生,超出了机体清除能力,破坏了机体正常的氧化/还原平衡状态,造成蛋白质、脂质、核酸等生物大分子物质氧化损伤和功能紊乱,影响机体正常代谢过程而形成的一种异常应激状态。它是引起机体衰老、炎症和多种慢性疾病如糖尿病、高血压等的主要原因之一。当细胞受到外源或内源刺激时,产生的 ROS 会激活多条信号通路。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 相关信号通路在细胞抵抗氧化应激的过程中起着至关重要的作用。Nrf2 相关通路可以激活抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE),调节许多抗氧化酶类如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等的表达。

人参皂苷是人参的主要活性成分,有研究表

明人参皂苷能靶向多个组织和器官发挥生物活性^[1]。人参皂苷 F2 是原人参二醇型皂苷如 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。体外研究显示,人参皂苷可以保护细胞防御系统对抗氧化应激,人参皂苷 F2 的前体皂苷 Rb1,能通过激活 Nrf2 相关通路和去乙酰化酶-1 通路有效对抗氧化应激损伤^[2-3]。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,建立 HEK-293 细胞氧化损伤模型,旨在考察人参皂苷 F2 对其的保护作用,并探讨可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

人胚肾 293(HEK-293)细胞购于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。人参皂苷 F2($\geq 98\%$)购于中国药品生物制品检定所。DMEM 培养基、FBS 胎牛血清、青霉素-链霉素、

PBS 缓冲液、非必需氨基酸(美国 Gibco 公司);细胞增殖与毒性检测试剂盒(MTS)、PCR 试剂盒(美国 Promega 公司);TRIzol(美国 Invitrogen 公司),反转录试剂盒和 SYBR premix(日本 Takara 公司);丙二醛(malondialdehyde,MDA)、GSH-Px、CAT 和 SOD 试剂盒(南京建成生物工程研究所);抗体 KEAP1、NFE2L2、GAPDH、HRP 标记山羊抗兔 IgG、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(武汉博士德生物工程有限公司);DCFH-DA(美国 Sigma 公司);其他试剂(分析纯)购于北京试剂厂。

图像采集仪(以色列 DNR 公司),PCR 仪、SDS-PAGE 电泳和转膜仪(美国 Bio-Rad 公司),多功能酶标仪(美国 BioTek 公司),二氧化碳培养箱(上海力申科学仪器有限公司),激光扫描共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 细胞培养

HEK-293 细胞培养采用含 10% FBS、1% PSS 和 1% 非必需氨基酸的高糖 DMEM 培养基,在 37℃、5%二氧化碳培养箱中培养,细胞接种后孵育 24 h。

1.3 MTS 法测定细胞活力

每孔加入 MTS 20 μ L,在 37℃、5% CO₂ 环境培养 1 h,置于酶标仪中测 490 nm 处吸光度值,每组设 6 个平行,重复 3 次。

1.4 建立 H₂O₂ 损伤模型

设空白组、对照组和损伤组,每组设 6 个平行。对照组和损伤组于 96 孔板接种细胞悬液,接种密度为 $(5\sim6)\times 10^4$ 个/mL,每孔 90 μ L,空白组加相同体积培养基,培养 24 h。然后空白组和对照组加培养基 10 μ L/孔,损伤组加入 10 μ L 终浓度为 0.4 mmol/L 的 H₂O₂^[4],培养 6 h 后检测细胞活力。细胞活力 = $(A_{\text{损伤组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.5 细胞毒性试验

设空白组、对照组和人参皂苷 F2 组,每组设 6 个平行。接种方法同上,培养 24 h。根据前期试验和预试验结果,人参皂苷 F2 组加入终浓度为 1.25、5 和 20 μ mol/L 的人参皂苷 F2^[4],10 μ L/孔,对照组补充相同体积培养基,空白组加 100 μ L/孔培养基,培养 24 h 后检测细胞活力。细胞活力 = $(A_{\text{人参皂苷 F2 组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.6 细胞保护试验

设空白组、对照组、H₂O₂ 损伤组和人参皂苷 F2 保护组,每组设 6 个平行。接种细胞悬液密度为 $(5\sim6)\times 10^4$ 个/mL,80 μ L/孔,培养 24 h;保护

组加 1.25、5 和 20 μ mol/L 人参皂苷 F2 培养 12 h;损伤组和保护组加入终浓度为 0.4 mmol/L H₂O₂ 孵育 6 h 后检测细胞活力。细胞活力 = $(A_{\text{H}_2\text{O}_2\text{组/人参皂苷 F2 组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.7 细胞 ROS 测定

细胞以 5×10^4 个/孔的密度接种于 24 孔板,分组设置同上,每组设 3 个平行。H₂O₂ 孵育结束后移除培养基,清洗 2 次,每孔加入含有 10 μ mol/L DCFH-DA 的空白培养基 37℃ 孵育 20 min, PBS 清洗 3 次后置于激光扫描共聚焦显微镜下检测荧光,激发波长 488 nm,发射波长 525 nm。

1.8 细胞 MDA 及抗氧化酶类 CAT、SOD、GSH-Px 水平测定

试验分组同上,细胞悬液密度为 5×10^5 个/mL,以 2 mL/孔接种于 6 孔板,每组设 3 个平行。孵育完成后移除培养基,加入裂解液 500 μ L/孔冰浴裂解 10 min,裂解液 4℃、12 000 r/min 离心 10 min,收集上清测定蛋白含量。根据试剂盒说明检测 MDA、CAT、SOD 和 GSH-Px 等指标含量。

1.9 蛋白质印迹法(Western blot)检测细胞 Nrf2 和 Keap1 的蛋白表达

裂解细胞后加入 loading buffer 和 DTT 于沸水浴加热 5 min,以每孔 20 μ g/孔上样,12% SDS-PAGE 胶电泳,然后将蛋白转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h;1:1000 比例稀释一抗,4℃ 孵育过夜,TBST 清洗后以 1:4000 比例稀释二抗,室温孵育 1 h;TBST 清洗后 ECL 显色,成像系统采集 Nrf2、Keap1 和 GAPDH 的蛋白图像,Image J 软件对蛋白条带图像进行定量分析,结果以对照组为 1.00,计算其他各组的蛋白相对表达量。

1.10 qRT-PCR 法检测细胞 Nrf2 和 Keap1 的 mRNA 表达

Trizol 提取细胞总 RNA,测定 RNA 和 DNA 含量,各组 RNA 含量调整一致,首先用试剂盒去除 DNA,然后反转录成 cDNA,进行基因扩增,反应条件:95℃ 3 min,95℃ 15 s(40 个循环),51.6℃ (Nrf2) 或 58℃ (Keap1) 20 s,72℃ 30 s;在 NCBI 上下载 Nrf2、Keap1 和 GAPDH 全序列,采用 DNAMAN 找出基因片段,Primer Premier 5 设计引物,引物由生工生物工程股份有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	正向(3'-5')	反向(3'-5')
Nrf2	GACTCTACCACTGTTCCCAA	CCATTCTTATTTACCGACG
Keap1	TTCAAGCCGAGTTGCTCA	TTAGTCACCAAGCGGGACG
GAPDH	CCTTCTCTACCACTACCTA	TTTGACACCGCACTACC

1.11 统计学分析

SPSS 21.0 软件用于数据分析,结果以平均值±标准差表示,One Way ANOVA 法进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞的毒性作用

1.25、5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 处理后, HEK-293 细胞活力分别为 $(97.46 \pm 3.28)\%$ 、 $(97.41 \pm 3.02)\%$ 和 $(100.04 \pm 1.65)\%$, 与对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞的保护作用

0.4 mmol/L H_2O_2 处理后 HEK-293 细胞活力为 $(53.78 \pm 3.48)\%$, 与损伤组相比, 1.25、5 和

20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 孵育组的细胞活力显著提高, 分别为 $(61.85 \pm 3.74)\%$ 、 $(67.36 \pm 3.66)\%$ 和 $(75.45 \pm 3.87)\%$, 各组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖效应。

2.3 人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞 ROS 水平的的影响

如图 1 所示, 过氧化氢损伤组的绿色荧光与对照组相比显著增强, 说明 H_2O_2 处理后细胞内产生大量 ROS, 不同浓度人参皂苷 F2 预处理组细胞荧光强度逐渐减弱。以对照组 ROS 含量为标准 1, 则损伤组 ROS 相对量为 1.88 ± 0.10 ($P < 0.05$), 经人参皂苷 F2 预处理组细胞 ROS 相对量呈浓度依赖性降低, 分别为 1.73 ± 0.09 、 1.48 ± 0.09 、 1.34 ± 0.05 , 各组间差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

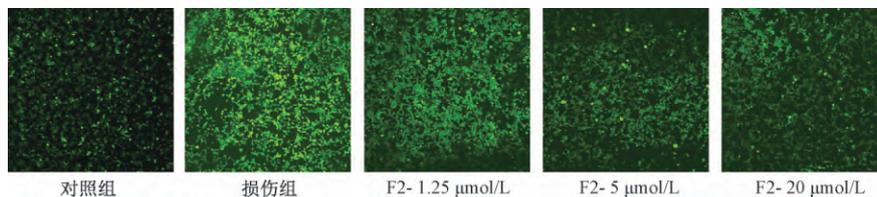


图 1 人参皂苷 F2 对过氧化氢损伤人胚肾 293 (HEK-293) 细胞活性氧水平的影响 ($\times 150$)

2.4 人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞 MDA 水平的影响

如表 2 所示, 过氧化氢处理后细胞 MDA 水平

约是对照组的 3.46 倍 ($P < 0.05$), 不同浓度人参皂苷 F2 预处理后 MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$), 并随人参皂苷 F2 浓度增大而呈浓度依赖性降低。

表 2 人参皂苷 F2 对过氧化氢损伤人胚肾 293 (HEK-293) 细胞丙二醛 (MDA) 水平和超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ ($\mu\text{mol/L}$)	MDA/ (mmol/mg prot)	SOD/ (U/mg prot)	GSH-Px/ (U/mg prot)	CAT/ (U/mg prot)
对照组		4.79 ± 0.28^a	17.21 ± 1.31^a	58.40 ± 5.10^a	154.74 ± 7.76^a
H_2O_2 组	400	16.63 ± 0.97^b	5.89 ± 0.81^b	28.61 ± 2.15^b	50.39 ± 4.26^b
人参皂苷 F2 组	1.25	14.76 ± 0.17^c	7.96 ± 1.02^c	35.06 ± 4.41^c	56.81 ± 6.91^b
	5	9.33 ± 0.70^d	10.99 ± 0.99^c	38.16 ± 4.60^c	70.14 ± 5.14^c
	20	7.94 ± 0.12^e	12.79 ± 0.86^d	45.47 ± 2.90^d	86.22 ± 7.90^d

注: 不同字母表示两组比较, $P < 0.05$

2.5 人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性的影响

如表 2 所示, 过氧化氢处理后细胞 SOD 和 GSH-Px 活力显著降低 ($P < 0.05$), 人参皂苷 F2 预处理后 SOD 和 GSH-Px 呈浓度依赖性提高 ($P < 0.05$); 经过氧化氢损伤的细胞 CAT 活力降低了 $2/3$ ($P < 0.05$), 5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 预孵育后细胞 CAT 活力显著提高 ($P < 0.05$)。

2.6 人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞 Nrf2/Keap1 通路的调节作用

如图 2 所示, 过氧化氢损伤组 Nrf2 mRNA 表达量大于对照组, 差异无统计学意义, 而蛋白表达量显著高于对照组 ($P < 0.05$); 1.5、5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 处理后, Nrf2 的 mRNA 表达量显著

增大 ($P < 0.05$), 并且呈浓度依赖性升高, 同样, 蛋白表达量也呈显著升高趋势 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 损伤组 Keap1 mRNA 表达量略有降低, 差异无统计学意义, 而 Keap1 蛋白表达量显著低于对照组 ($P < 0.05$); 与损伤组比, 1.5、5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 处理后, Keap1 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.05$), 并且呈浓度依赖性, Keap1 蛋白表达量也显著降低 ($P < 0.05$), 但 1.25 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 两组间差异无统计学意义。

3 讨论

人参皂苷 Rb1 是人参皂苷 F2 的一个前体皂苷, 有研究表明它可以通过调节小鼠肝星状细胞的活化、增殖、纤维化等, 有效抵抗过氧化氢导致

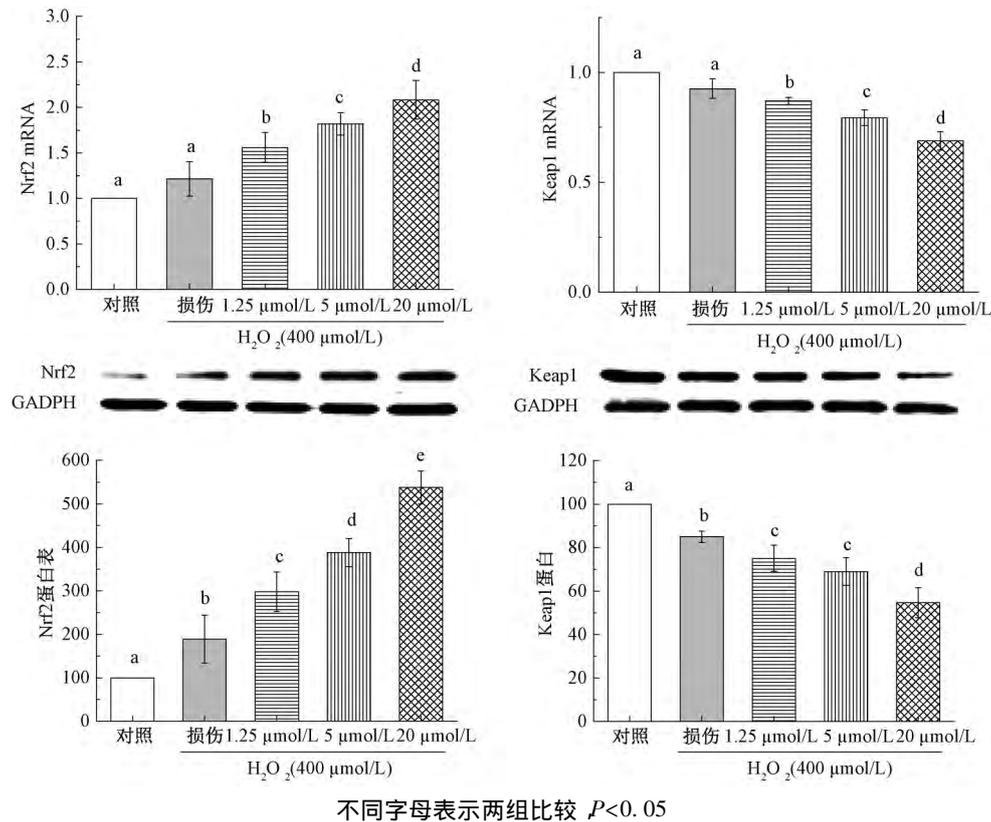


图 2 人参皂苷 F2 对人胚肾 293 (HEK-293) 细胞 Nrf2 和 Keap1 表达的影响

的氧化应激,从而达到抗纤维化作用^[5]。但本研究发现 1.25、5 和 20 $\mu\text{mol/L}$ 人参皂苷 F2 预孵育能明显提高 H_2O_2 损伤人胚肾 HEK-293 细胞活力,且呈浓度依赖效应,并且该浓度范围的人参皂苷 F2 对 HEK-293 细胞没有促增殖作用,说明 F2 提高氧化应激细胞活力与促进细胞增殖无关。本研究发现人参皂苷 F2 预孵育 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤细胞,其 ROS 含量呈浓度依赖性降低,说明人参皂苷 F2 可以通过抑制 ROS 产生和累积从而抑制细胞氧化应激损伤。与前期研究发现人参皂苷能够保护细胞抵抗过氧化氢诱导的 HEK-293 细胞氧化损伤,主要表现在提高细胞活力、减少细胞 ROS 生成量和维持正常细胞形态等的结论相符^[4]。

本研究发现人参皂苷 F2 预处理 H_2O_2 氧化损伤细胞后 MDA 水平呈浓度依赖性降低,而 SOD、GSH-Px 和 CAT 活力显著提高,说明人参皂苷 F2 能通过抑制细胞内脂质过氧化产物丙二醛的产生和累积改善细胞氧化损伤,通过提高细胞抗氧化酶 (SOD、GSH-Px 和 CAT 等) 活力抵抗氧化应激损伤。也有研究表明其他人参皂苷如 Rg2、Rb1、Rg5 等都可以提高 GSH-Px 和 SOD 活力,降低脂质过氧化程度,降低 ROS 水平抑制氧化应激^[6-8]。

本研究发现,人参皂苷 F2 呈浓度依赖性地增加 Nrf2 的 mRNA 表达量和蛋白表达量,提示人参

皂苷 F2 可能是通过促进 Nrf2 表达从而提高抗氧化酶类的活力,进而抑制细胞氧化应激损伤。此外,人参皂苷 F2 可以浓度依赖地下调 Keap1 的 mRNA 表达量和蛋白表达量,提示人参皂苷 F2 可能通过下调 Keap1 表达促进 Nrf2 与 Keap1 解离,释放出更多的 Nrf2,从而抵抗 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤。相关研究表明,人参皂苷 Rg3 可以通过增加 Nrf2 和 HO-1 的 mRNA 和蛋白表达水平,并抑制 Keap1 的过表达,实现心脏保护作用^[9]。人参皂苷 F2 的前体皂苷 Rb1 能通过调节 Nrf2、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 等多条通路抑制氧化应激^[10]。次级皂苷 Rh1 可以通过 MAPKs 和 Nrf2/ARE 通路上调 II 相解毒酶基因的表达,预防由氧化应激引起的神经退行性疾病^[11]。

综上所述,人参皂苷 F2 能提高氧化损伤细胞的活力,保护细胞对抗过氧化氢自由基和 ROS 产生与累积,可通过降低 MDA 水平,提高 SOD、GSH-Px 和 CAT 等抗氧化酶活性,调节 Nrf2/Keap1 信号通路,以抵抗过氧化氢导致的细胞氧化应激损伤。

参考文献

- [1] PARK J Y, CHOI P, KIM T, et al. Protective effects of processed ginseng and its active ginsenosides on

- cisplatin-induced nephrotoxicity: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *J Agri Food Chem*, 2015, 63 (25): 5964-5969.
- [2] NI N, LIU Q, REN H, et al. Ginsenoside Rb1 protects rat neural progenitor cells against oxidative injury [J]. *Molecules*, 2014, 19(3): 3012-3024.
- [3] SONG Z M, LIU Y, HAO B S, et al. Ginsenoside Rb1 prevents H₂O₂-induced HUVEC senescence by stimulating sirtuin-1 pathway [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): 9.
- [4] LIU D, ZHANG T, CHEN Z, et al. The beneficial effect of ginsenosides extracted by pulsed electric field against hydrogen peroxide - induced oxidative stress in HEK-293 cells [J]. *J Ginseng Res*, 2017, 41(2): 169-179.
- [5] LO Y T, TSAI Y H, WU S J, et al. Ginsenoside Rb1 inhibits cell activation and liver fibrosis in rat hepatic stellate cells [J]. *J Med Food*, 2011, 14 (10): 1135-1143.
- [6] KANG H J, HUANG Y H, LIM H W, et al. Stereospecificity of ginsenoside Rg2 epimers in the protective response against UV-B radiation-induced oxidative stress in human epidermal keratinocytes [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2016 (165): 232-239.
- [7] ZHU Y H C, ZHENG P. Ginsenoside Rb1 alleviates aluminum chloride - induced rat osteoblasts dysfunction [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016 (368): 183-188.
- [8] LI W Y M, LIU Y. Ginsenoside Rg5 ameliorates cisplatin - induced nephrotoxicity in mice through inhibition of inflammation, oxidative stress, and apoptosis [J]. *Nutrients*, 2016, 8(9): 566.
- [9] WANG X, CHEN L, WANG T, et al. Ginsenoside Rg3 antagonizes adriamycin-induced cardiotoxicity by improving endothelial dysfunction from oxidative stress *via* upregulating the Nrf2-ARE pathway through the activation of akt [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22 (10): 875-884.
- [10] LI F, ZHANG Y, ZENG D, et al. The combination of three components derived from Sheng MaiSan protects myocardial ischemic diseases and inhibits oxidative stress *via* modulating MAPKs and JAK2-STAT3 signaling pathways based on bioinformatics approach [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 21.
- [11] JUNG J S, LEE S Y, KIM D H, et al. Protopanaxatriol ginsenoside Rh1 upregulates phase II antioxidant enzyme gene expression in rat primary astrocytes: involvement of MAP kinases and Nrf2/ARE signaling [J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2016, 24 (1): 33-39.

收稿日期: 2018-09-04

(上接第 451 页)

- [6] 赵明旭,张丽锦,盖笑松. 城乡小学生欺负行为及其与孤独感的关系 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2008, 22(10): 757-758.
- [7] 邹逸,殷玉新. 国外网络欺凌研究的热点内容及应对策略研究 [J]. *教育科学研究*, 2017(9): 65-71.
- [8] 陈萌萌,张野,张珊珊,等. 移情对中学生网络欺凌的抑制: 性别、年级的调节作用 [J]. *中小学心理健康教育*, 2016(1): 8-11.
- [9] 张野,张珊珊,刘琳,等. 中学生传统与网络欺凌结构特征的比较研究 [J]. *现代中小学教育*, 2015, 31(8): 58-62.
- [10] 申自力,蔡太生. Rosenberg 自尊量表中文版条目 8 的处理 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2008, 22(9): 661-663.
- [11] 李晓巍,邹泓,刘艳. 孤独感量表在中学生群体中的初步修订 [J]. *中国临床心理学杂志*, 2014, 22 (4): 731-733.
- [12] 夏丹. 基于移情量表(BES) 中文版的信效度及初步应用研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2011.
- [13] 甘怡群. 中介效应研究的新趋势: 研究设计和数据统计方法 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2014, 28(8): 584-585.
- [14] 谢真真. 中学生共情、道德推脱与网络欺负的关系研究 [D]. 石家庄: 河北大学, 2016.
- [15] 宋静静,佐斌,谭潇,等. 留守儿童的自尊在亲子亲合和同伴接纳与孤独感的中介效应 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2017, 31(5): 376-381.
- [16] PFETSCH J S. Empathic skills and cyberbullying: relationship of different measures of empathy to cyberbullying in comparison to offline bullying among young adults [J]. *J Genet Psychol*, 2017, 178(1): 58-72.
- [17] CHANGHO L, NAMIN S. Prevalence of cyberbullying and predictors of cyberbullying perpetration among Korean adolescents [J]. *Comput Human Behav*, 2016, 68(3): 352-358.
- [18] 胡阳,范翠英,张凤娟,等. 初中生不同网络欺负角色行为的特点及与抑郁的关系 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2013, 27(12): 913-917.
- [19] 何丹,申曦,杨欢,等. 父母教养方式与青少年网络欺负: 移情的作用 [J]. *中国健康心理学杂志*, 2017, 25(3): 403-407.
- [20] VARGHESE M E, PISTOLE M C. College student cyberbullying: self-esteem, depression, loneliness, and attachment [J]. *J Coll Couns*, 2017, 20(4): 7-21.
- [21] 杨继平,杨力,王兴超. 移情、道德推脱对初中生网络过激行为的影响 [J]. *山西大学学报(哲学社会科学版)*, 2014, 37(4): 122-128.

收稿日期: 2018-03-18