

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.06.027

虾青素抑制 H_2O_2 诱导的 HeLa 细胞凋亡

闫孟利, 杨力, 刘科

(1. 四川大学生命科学学院 生物资源与生物环境重点实验室, 成都 610065)

摘要: 为了阐明虾青素的抗氧化作用与细胞凋亡的关系, 探究虾青素预处理对 H_2O_2 诱导 HeLa 细胞氧化应激的影响. 通过 CCK-8、活性氧探针染色、流式细胞术、蛋白质免疫印迹、实时荧光定量 pcr 等, 分别检测细胞存活率和活性氧的积累、细胞凋亡、蛋白含量、基因相对表达量改变. 结果表明虾青素预处理组细胞活力较对照组提高了 29.54% 以上且其可以将 H_2O_2 诱导的活性氧降低至对照水平, 同时提高 Nrf2 蛋白表达量 3 倍之多, 过氧化氢酶基因相对表达量 1.5 倍. 说明虾青素可以有效缓解 H_2O_2 诱导的 HeLa 细胞氧化应激, 从而抑制细胞凋亡.

关键词: 虾青素; 过氧化氢; 活性氧; 转录因子; 凋亡

中图分类号: Q591 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)06-1163-06

Protective role of astaxanthin against H_2O_2 -induced apoptosis in HeLa cells

YAN Meng-Li, YANG Li, LIU Ke

(1. Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: In order to clarify the relationship between Astaxanthin's antioxidant effect and cell apoptosis, cell survival rate, accumulation of reactive oxygen species, cell apoptosis, protein content and relative gene expression were detected by CCK-8, reactive oxygen probe staining, flow cytometry, western blotting, and real-time quantitative fluorescence PCR to explore the effect of astaxanthin pretreatment on oxidative stress induced by H_2O_2 in HeLa cells. The results showed that the cell activity of astaxanthin pretreatment group was 29.54% higher than that of the control group, and it could reduce H_2O_2 -induced reactive oxygen species to the control levels, meanwhile, it can also increase the Nrf2 protein expression by 3 times, and increase the relative expression of the catalase gene by 1.5 times. The results indicated that astaxanthin could effectively alleviate the oxidative stress of HeLa cells induced by H_2O_2 , thereby inhibiting apoptosis.

Keywords: Astaxanthin; H_2O_2 ; Reactive oxygen species; Transcription factor; Apoptosis

1 引言

氧化应激一直是生物研究的重点, 在生物代谢过程中有多种活性氧 (reactive oxygen species,

ROS) 产生, 如羟自由基、超氧自由基和过氧化氢, 过氧化氢是强氧化剂, 被广泛用于构建细胞氧化应激模型^[1]. 活性氧在谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase,

收稿日期: 2019-02-27

基金项目: 国家自然科学基金(31870849)

作者简介: 闫孟利(1995-), 女, 河南洛阳, 硕士生, 主要从事抗衰老相关研究. E-mail: 524374197@qq.com

通讯作者: 刘科. E-mail: kliu@scu.edu.cn

SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的作用下最终分解为氧气和水.在健康的机体中活性氧的浓度通常很低,但动脉硬化^[2-3]、高血压^[4-5]、糖尿病^[6-7]、癌症^[8]、神经退行性疾病^[9-11]等,往往会引发过量的活性氧产生,消耗内源性抗氧化物质,导致氧化应激.氧化应激诱导脂质过氧化、破坏细胞膜结构、DNA 断裂、线粒体损伤等,最终导致细胞凋亡、衰老^[12-13].故而抗氧化剂一直是研究热点,意图通过抗氧化剂缓解氧化应激^[14].

虾青素(astaxanthin, Ast)是一种深红色的植物营养素,叶黄素家族的一种,可从雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)中提取^[15].研究发现虾青素是极强的抗氧化剂,能够清除自由基、增强抗氧化能力^[16-17],并且具有亲脂性和亲水性的特点^[18],通过被动扩散被肠细胞吸收,可被脂肪分子直接带到最需要它的组织和器官中^[19-20].人体临床试验表明,健康成年人每天摄入 6 毫克虾青素是安全的^[21],而且富含虾青素的雨生红球藻提取物也是无毒的^[22-23].多年来流行病学数据同样表明,富含抗氧化剂的均衡饮食对保持身体健康有重要作用^[24].尽管虾青素是强大的抗氧化剂,但还是缺少对其机制的系统研究.在此框架下,我们通过细胞活力,活性氧变化,基因表达情况等系统研究虾青素抗氧化能力,分析虾青素预处理对 H₂O₂ 诱导 HeLa 细胞氧化应激和细胞凋亡的影响.

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验材料 人宫颈癌 HeLa 细胞(四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室提供).

2.1.2 试剂 虾青素(Ast)、双氧水(H₂O₂)、二甲基亚砜(DMSO)、活性氧探针(DCFH-DA)、蛋白酶抑制剂(PMSM)、吐温-20、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、盐酸、氯化钠(Sigma 公司), DMEM 高糖培养基、胰蛋白酶、双抗(青霉素、链霉素)、磷酸缓冲盐溶液(PBS)(HyClone 公司),胎牛血清(Gibco 公司), CCK-8 试剂盒(北京庄盟生物公司)、TRIzol(Invitrogen 公司),逆转录试剂盒、SYBR 实时荧光定量试剂盒(Takara 公司), β -actin 抗体、Nrf2 抗体(Abcam 公司),羊抗鼠 IgG 二抗、ECL 显影液、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术公司),PVDF 膜(Millipore 公司).

2.1.3 仪器与设备 CO₂ 恒温培养箱、-80 °C 超低温冰箱(Therom 公司),生物安全柜(中国苏州安泰有限公司),酶标仪、实时荧光定量 PCR 仪、凝胶成像系统、电泳仪(Bio-rad 公司),倒置荧光显微镜(Nikon eclipse Ti-U),流式细胞仪(Becton Dickinson 公司),超纯水处理系统(Millipore 公司),10 cm 培养皿、6 孔板、96 孔板(Corning 公司).

2.2 实验方法

2.2.1 细胞培养 HeLa 细胞接种于 10 cm 培养皿,培养于 DMEM 高糖培养基,添加 10% 胎牛血清,1% 双抗,置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱.每周传代两次,胰酶消化,1500 r/min,3 min 收集细胞,传代比例 1:3.

2.2.2 细胞增殖检测 Ast 溶于 DMSO 配成 2.5 mmol/L 储备液. HeLa 细胞以 1×10^4 个/孔密度接种于 96 孔板,待 12 h 细胞贴壁后更换新鲜培养基,10 μ mol/L 虾青素预处理 24 h 后弃去培养基,使用 PBS 清洗三次后更换新鲜培养基,添加 H₂O₂ 至终浓度 500 μ mol/L 继续培养 24 h 后弃去培养基, PBS 清洗三次后,每孔添加 90 μ L 培养基,10 μ L CCK-8 试剂,37 °C、5% CO₂ 孵育 60 min,于酶标仪 450 nm 处检测,按照 CCK-8 试剂说明书计算细胞增殖率.

2.2.3 荧光显微镜检测活性氧 HeLa 细胞 5×10^5 个/孔密度接种于 6 孔板中,待 12 h 细胞贴壁后更换新鲜培养基,分对照组、Ast 组、H₂O₂ 组、Ast+H₂O₂ 四组, Ast 10 μ mol/L 预处理 24h, 弃去培养基, PBS 清洗 3 次,每孔添加 1 ml 含有 10 μ mol/L DCFH-DA 活性氧探针的 PBS 溶液,37 °C 避光孵育 30 min, PBS 清洗三遍去除 DCFH-DA 探针,更换新鲜培养基,添加 H₂O₂ 至终浓度 500 μ mol/L,37 °C、5% CO₂ 孵育 30 min,倒置荧光显微镜 1 h 内检测 ROS 变化,独立重复实验进行 3 次.

2.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡 细胞培养、分组同上,虾青素预处理 24 h, PBS 洗涤 3 次,更换新鲜培养基,500 μ mol/L H₂O₂ 处理 24 h,收集细胞, PBS 洗涤 2 次,按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明书,避光染色 30 min,流式细胞仪 1 h 内上机检测,独立重复实验进行 3 次,Flowjo10 软件分析.

2.2.5 免疫印迹分析 细胞培养同上,10 μ mol/L Ast 处理 2 h、4 h、12 h、24 h,冰 PBS 洗 3 遍,用含有 PMSF(1 mmol/L)的 RIPA 裂解液冰上充分

裂解, 细胞刮收集细胞, 冰浴超声, $95\text{ }^\circ\text{C}$ 煮沸 5 min, $12\ 000\ \text{g}$ 离心 5 min, SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, $200\ \text{mA}$ 恒流转 PVDF 膜 2 h, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 细胞核因子 NF-E2 相关因子(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)—抗 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜, TTBS(吐温 20-Tris 缓冲液)摇床洗涤 3 次, 羊抗鼠 IgG 二抗室温孵育 60 min, TTBS 摇床洗涤 3 次, ECL 显影液化学发光, 凝胶成像系统显影, 独立重复实验进行 3 次, Image J 灰度分析。

2.2.6 RNA 提取与实时定量 PCR 分析 细胞培养同上, 虾青素组加入 $10\ \mu\text{mol/L}$ 虾青素处理 24 h, 对照组加入等量的 DMSO 处理 24 h, TRIzol 提取细胞总 RNA, 逆转录试剂盒将 mRNA 逆转录为 cDNA, 实时荧光定量 PCR 检测基因 β -actin、Nrf2、CAT 表达情况。 β -actin 上游引物为 5'-TCACCCACACTGTGCCATCTACGT-3', 下游引物为 5'-CAGCGG-AACCGCTCATTGCCAATGG-3'; Nrf2 上游引物为 5'-CGTGCATGATGCCAA-TGTG-3', Nrf2 下游引物为 5'-GTGAGATGAGCCTCCAAGCG-3'; CAT 上游引物为 5'-CCTATCCTGACACTCACCGCCATCG-3', CAT 下游引物为 5'-GGAT-GCTGTGCTC-CAGGGCAGA-3'。 $25\ \mu\text{L}$ 扩增体系, PCR 扩增参数: $95\text{ }^\circ\text{C}$ 2 min; $95\text{ }^\circ\text{C}$ 30 s, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 60 s, $72\text{ }^\circ\text{C}$ 2 min, 40 个循环。独立重复实验进行 3 次, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 Nrf2、CAT 相对表达量。

3 结 果

3.1 虾青素缓解 H_2O_2 对 HeLa 细胞增殖的抑制

如图 1 所示, $500\ \mu\text{M}$ H_2O_2 显著抑制细胞增殖, 而 Ast 预处理缓解了 H_2O_2 的抑制作用, 且随 Ast 浓度的提高保护作用逐渐增强, 其中 $10\ \mu\text{M}$ Ast 预处理组细胞活力较对照组提高了 29.54% 以上, 效果最佳。

3.2 虾青素缓解 H_2O_2 诱导的细胞 ROS 积累

DCFH-DA 探针检测 HeLa 细胞 ROS 水平, 如图 2 所示, 对照组(Control)组绿色荧光较暗; 与 Control 组比较, Ast 绿色荧光没有显著变化; H_2O_2 处理组绿色荧光与对照组相比显著增强, ROS 水平提高; 与 H_2O_2 处理组比较, Ast 预处理后, H_2O_2 诱导的绿色荧光显著减弱, 表明 ROS 水平降低, Ast 预处理缓解了 H_2O_2 诱导的 HeLa 细胞 ROS 积累。

3.3 虾青素缓解 H_2O_2 诱导的细胞凋亡

流式细胞仪检测细胞凋亡, 结果如图 3 所示, 纵坐标代表坏死, 横坐标代表凋亡。 H_2O_2 处理 24 h 显著诱导 HeLa 细胞凋亡, 细胞早期凋亡率达 16.2%; Ast ($10\ \mu\text{mol/L}$) 预处理 24 h, 显著缓解 H_2O_2 诱导的细胞凋亡, 细胞早期凋亡率降低至 4.93%; Ast 组与 Control 相比细胞凋亡没有显著变化。可见 Ast 缓解 H_2O_2 诱导的细胞凋亡, 凋亡率下降了 70%。

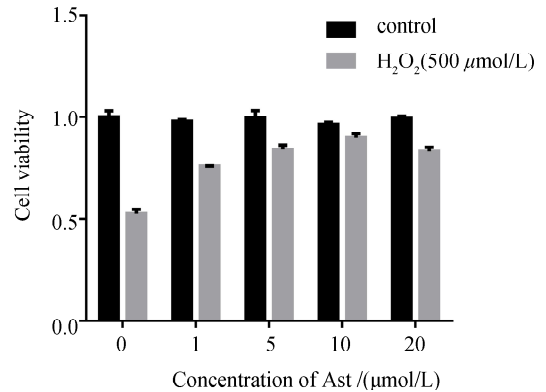


图 1 虾青素预处理对 H_2O_2 ($500\ \mu\text{mol/L}$) 干预下 HeLa 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effect of Astaxanthin on the proliferation of HeLa cells exposed to H_2O_2 ($500\ \mu\text{mol/L}$)

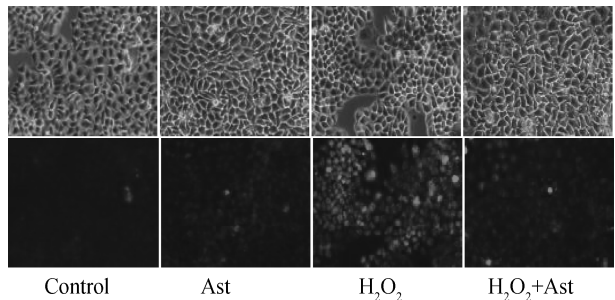


图 2 虾青素 ($10\ \mu\text{mol/L}$) 预处理 24 h 对 H_2O_2 ($500\ \mu\text{mol/L}$) 处理 30 min 后 HeLa 细胞活性氧水平的影响

Fig. 2 Effect of Astaxanthin ($10\ \mu\text{mol/L}$) pretreatment for 24 h on the ROS level of HeLa cells exposed to H_2O_2 ($500\ \mu\text{mol/L}$)

3.4 虾青素提高细胞 Nrf2 蛋白表达

Ast 处理 2、4、12、24 h, 免疫印迹检测 Nrf2 表达量, 结果如图 3 所示。与对照组 (con) 相比, Ast ($10\ \mu\text{mol/L}$) 处理可显著提高 Nrf2 的表达量, 其中 Ast 12 h 处理组 Nrf2 含量较对照组提高了近 3 倍, 可见 Ast 提高了 HeLa 细胞转录因子 Nrf2 的蛋白表达量。

3.5 虾青素促进细胞 Nrf2、CAT mRNA 表达

Ast(10 $\mu\text{mol/L}$)处理 24 h 后,检测 HeLa 细胞 Nrf2、CAT mRNA 相对表达量.如图 5 所示,Ast 组 Nrf2 mRNA 相对表达量显著提高,与

Control 相比提高了 2 倍以上;Ast 组 CAT mRNA 相对表达量较对照组提高 1.5 倍左右,可见 Ast 促进了 HeLa 细胞 Nrf2、CAT 基因表达.

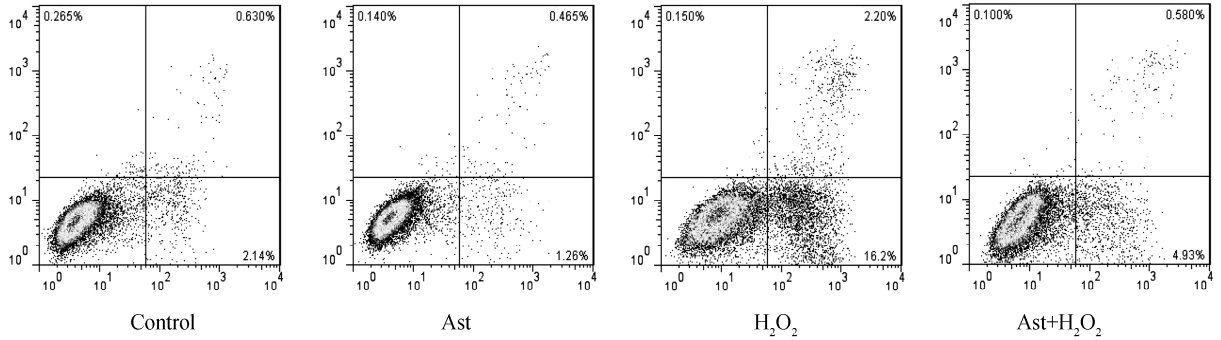


图 3 虾青素(10 $\mu\text{mol/L}$)预处理 24h 对 H_2O_2 (500 $\mu\text{mol/L}$)诱导 HeLa 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of Astaxanthin (10 $\mu\text{mol/L}$) pretreatment for 24h on apoptosis of HeLa cells induced by H_2O_2 (500 $\mu\text{mol/L}$)

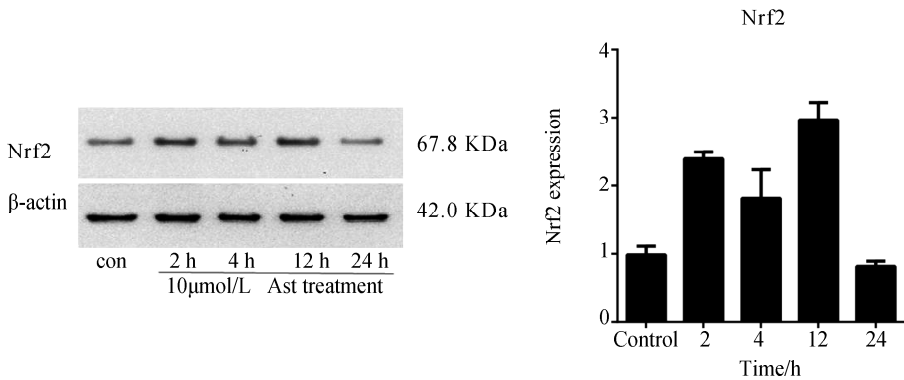


图 4 虾青素对 HeLa 细胞 Nrf2 表达的影响

Fig. 4 Effect of Astaxanthin on the expression of Nrf2 of HeLa cells

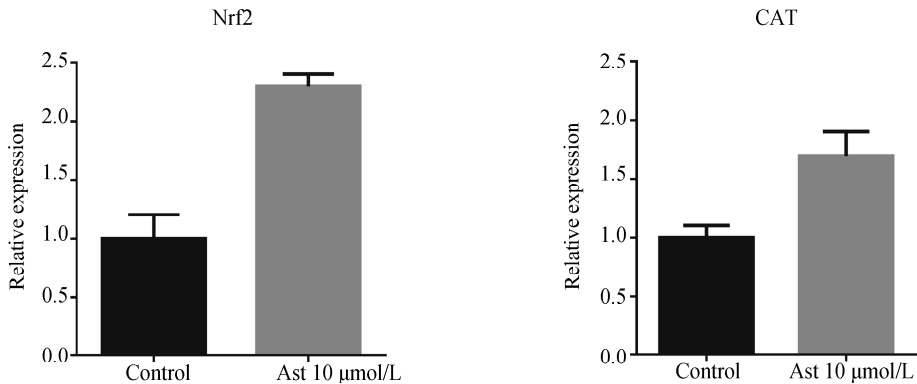


图 5 虾青素对 HeLa 细胞 Nrf2、CAT 基因相对表达量的影响

Fig. 5 Effect of Astaxanthin on the relative gene expression of Nrf2, CAT in HeLa cells

4 讨论

机体控制自由基产生,减少氧化对细胞组织损伤的能力与健康息息相关.尽管氧化应激不是导致疾病的唯一因素,但许多疾病以及衰老都与氧

化损伤有关,自由基的积累往往会导致癌症、炎症、神经退行性疾病等更易发生^[25-28],加剧与年龄相关疾病的发展^[28],故而抗氧化研究一直备受关注.虾青素无毒可食用^[21-23],是强效抗氧化剂,在缓解氧化应激方面备受青睐.本研究发

预处理 HeLa 细胞,有效缓解 H₂O₂诱导的氧化应激,ROS 水平显著降低,促进 CAT 基因表达,缓解了 H₂O₂对细胞增殖的抑制,并且显著抑制 H₂O₂诱导的细胞凋亡,同时发现 Nrf2 表达显著上升.细胞损伤的缓解,可能与虾青素促进 Nrf2 表达有关.

Nrf2 在机体各个组织中广泛表达,是重要的氧化还原敏感性转录因子,对缓解氧化应激起关键作用^[29].Nrf2 正常情况下被胞浆蛋白 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Kelch-like ECH-associated protein-1,Keap1)锚定在胞质中,氧化应激促进 Nrf2 与 Keap1 解离,并从胞浆转位至细胞核,与抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE)结合,调控相关抗氧化酶基因表达^[30-32].本研究发现虾青素处理可以上调 Nrf2 基因,提高其蛋白表达量,同时促进 CAT 基因表达,Dini 等^[33]报道,Nrf2 可以显著促进 CAT 基因表达.CAT 是 H₂O₂分解的主要途径,过量 H₂O₂损伤细胞线粒体膜结构,导致细胞色素 C 释放到胞质,诱导细胞凋亡.虾青素促进 Nrf2 表达,通过 Nrf2-Keap1-ARE 信号通路,提高过氧化氢酶 CAT 的表达,这可能是虾青素缓解 H₂O₂诱导 HeLa 细胞凋亡的主要原因.

参考文献:

- [1] Zhou Y F, Guo B, Ye M J, *et al.* Protective effect of rutin against H₂O₂-induced oxidative stress and apoptosis in human lens epithelial cells[J]. *Curr Eye Res*, 2016, 41: 933.
- [2] Ma L, Guo X, Chen W. Inhibitory effects of oleoylethanolamide (OEA) on H₂O₂-induced human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) injury and apolipoprotein E knockout (ApoE^{-/-}) atherosclerotic mice [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 6301.
- [3] Loru D, Incani A, Deiana M, *et al.* Protective effect of hydroxytyrosol and tyrosol against oxidative stress in kidney cells [J]. *Toxicol Ind Health*, 2009, 25: 301.
- [4] Dikalova A E, Itani H A, Nazarewicz R R, *et al.* Sirt3 impairment and SOD2 hyperacetylation in vascular oxidative stress and hypertension [J]. *Circ Res*, 2017, 121: 564.
- [5] Guzik T J, Touyz R M. Oxidative stress, inflammation, and vascular aging in hypertension [J]. *Hypertension*, 2017, 70: 660.
- [6] Houstis N, Rosen E D, Lander E S. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance [J]. *Nature*, 2006, 440:944.
- [7] Tocchetti C G, Stanley B A, Sivakumaran V, *et al.* Impaired mitochondrial energy supply coupled to increased H₂O₂ emission under energy/redox stress leads to myocardial dysfunction during type I diabetes [J]. *Clin Sci*, 2015, 129: 561.
- [8] Serrano M, Blasco M A. Cancer and ageing: convergent and divergent mechanisms. [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 715.
- [9] Uttara B, Singh A V, Zamboni P, *et al.* Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2009, 7: 65.
- [10] Zhang Q, Huang W, Lv X, *et al.* Puerarin protects differentiated PC12 cells from H₂O₂-induced apoptosis through the PI3K/Akt signalling pathway [J]. *Cell Biol Int*, 2012, 36: 419.
- [11] Islam M T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders [J]. *Neurol Res*, 2017, 39: 73.
- [12] Hu Y, Zhou K Y, Wang Z, *et al.* N-stearoyl-L-Tyrosine inhibits the cell senescence and apoptosis induced by H₂O₂ in HEK293/Tau cells via the CB2 receptor [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 272: 135.
- [13] Wang S, Cao Z, Xue J, *et al.* A positive feedback loop between Pim-1 kinase and HBP1 transcription factor contributes to hydrogen peroxide-induced premature senescence and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292: 8207.
- [14] Finkel T. Radical medicine: treating ageing to cure disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 971.
- [15] Régnier P, Bastias J, Rodriguez-Ruiz V, *et al.* Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* prevents oxidative stress on human endothelial cells without toxicity [J]. *Mar Drugs*, 2015, 13: 2857.
- [16] Aoi W, Naito Y, Takanami Y, *et al.* Astaxanthin improves muscle lipid metabolism in exercise via inhibitory effect of oxidative CPT I modification [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 366: 892.
- [17] Grimmig B, Kim S H, Nash K, *et al.* Neuroprotective mechanisms of astaxanthin; a potential therapeutic role in preserving cognitive function in age and neurodegeneration [J]. *Geroscience*, 2017, 39: 19.
- [18] Baliotti M, Giannubilo S R, Giorgetti B, *et al.* The effect of astaxanthin on the aging rat brain: gender-related differences in modulating inflammation [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96: 615.

- [19] Okada Y, Ishikura M, Maoka T. Bioavailability of astaxanthin in Haematococcus algal extract; the effects of timing of diet and smoking habits [J]. *Bio-sci Biotechnol Biochem*, 2009, 73: 1928.
- [20] Parker R S. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids [J]. *FASEB J*, 1996, 10: 542.
- [21] Spiller G A, Dewell A. Safety of an Astaxanthin-rich, haematococcus pluvialis, algal extract: a randomized clinical trial [J]. *J Med Food*, 2003, 6: 51.
- [22] Satoh A1, Tsuji S, Okada Y, *et al.* Preliminary clinical evaluation of toxicity and efficacy of a new astaxanthin-rich haematococcus pluvialis extract [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2009, 44: 280.
- [23] Santocono M, Zurria M, Berrettini M, *et al.* Lutein, zeaxanthin and astaxanthin protect against DNA damage in SK-N-SH human neuroblastoma cells induced by reactive nitrogen species [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2007, 88: 1.
- [24] Guerin M, Huntley M E, Olaizola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition [J]. *Trends Biotechnol*, 2003, 21: 210.
- [25] Blaser H, Dostert C, Mak T W, *et al.* TNF and ROS crosstalk in inflammation [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26: 249.
- [26] Benhar M, Engelberg D, Levitzki A. ROS, stress-activated kinases and stress signaling in cancer [J]. *EMBO Rep*, 2002, 3: 420.
- [27] de Vries H E, Witte M, Hondius D, *et al.* Nrf2-induced antioxidant protection: a promising target to counteract ROS-mediated damage in neurodegenerative disease? [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45: 1375.
- [28] 朱娟霞, 孔令恒, 张超锋, 等. 辣椒素降低线粒体氧化应激水平拮抗心脏缺血再灌注损伤的研究 [J]. *四川大学学报: 医学版*, 2017, 48: 716.
- [29] Sesti F, Liu S, Cai S Q. Oxidation of potassium channels by ROS: a general mechanism of aging and neurodegeneration? [J]. *Trends Cell Biol*, 2010, 20: 45.
- [30] Nguyen T, Nioi P, Pickett C B. The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 13291.
- [31] 王成, 李霞, 刘振, 等. 金丝桃苷对高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤的影响及其机制研究 [J]. *四川大学学报: 医学版*, 2018, 49: 518.
- [32] Barros M, Poppe S, Bondan E. Neuroprotective properties of the marine carotenoid astaxanthin and omega-3 fatty acids, and perspectives for the natural combination of both in krill oil [J]. *Nutrients*, 2014, 6: 1293.
- [33] Dinić S, Grdović N, Uskoković A, *et al.* CXCL12 protects pancreatic β -cells from oxidative stress by a Nrf2-induced increase in catalase expression and activity [J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2016, 92: 436.

引用本文格式:

- 中文: 闫孟利, 杨力, 刘科, 等. 虾青素抑制 H_2O_2 诱导的 HeLa 细胞凋亡 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2019, 56: 1163.
- 英文: Yan M L, Yang L, Liu K. Protective role of astaxanthin against H_2O_2 -induced apoptosis in HeLa cells [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2019, 56: 1163.