

青龙衣含药血清抑制胃癌 SGC-7901 细胞生长和诱导凋亡

高启龙¹, 朱亚楠¹, 石变¹, 马旭辉¹, 耿良¹, 张新峰¹, 宁寒冰², 刘怀民^{1*}

(1. 郑州大学附属肿瘤医院, 郑州 450008; 2. 郑州大学第一附属医院, 郑州 450000)

[摘要] 目的:探讨青龙衣含药血清对胃癌 SGC-7901 细胞增殖及凋亡的影响,并探讨其作用机制。方法:Wistar 大鼠随机分为空白组、青龙衣低剂量(25 g·kg⁻¹·d⁻¹),中剂量(50 g·kg⁻¹·d⁻¹),高剂量(100 g·kg⁻¹·d⁻¹)组及顺铂(5 g·kg·d⁻¹)组,连续灌胃给药7 d,空白组灌胃给予等体积生理盐水;末次给药 2 h 后,颈动脉采血,制备青龙衣含药血清;分别采用噻唑蓝(MTT)比色法、流式细胞术、烟酸己可碱(Hoechst)染色、实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞增殖、凋亡率、凋亡指数、凋亡相关基因及凋亡信号通路蛋白表达的影响。结果:与空白组比较,青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞的增殖具有明显抑制作用($P<0.05$),青龙衣含药血清处理 48 h 后的早期、晚期凋亡率,凋亡指数及促凋亡基因 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),Bcl-2 相关 K 蛋白(Bak)mRNA 表达均升高,抗凋亡基因 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)mRNA 表达降低($P<0.05$);青龙衣含药血清组 β -链蛋白(β -catenin),细胞周期蛋白 D₁(Cyclin D₁)及原癌基因(C-myc)蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。结论:青龙衣含药血清对胃癌 SGC-7901 细胞的增殖具有抑制作用,该作用可能与诱导凋亡及抑制分泌型糖蛋白(Wnt)/ β -catenin 通路的活化有关。

[关键词] 青龙衣含药血清;胃癌;细胞增殖;凋亡;分泌型糖蛋白(Wnt)/ β -链蛋白(β -catenin)

[中图分类号] R285.5;R7336.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2017)13-0111-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017130111

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170324.1434.056.html>

[网络出版时间] 2017-03-24 14:34

Serum Containing *Juglans mandshurica* Pericarp Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis of Gastric Carcinoma SGC-7901 Cell

GAO Qi-long¹, ZHU Ya-nan¹, SHI Bian¹, MA Xu-hui¹, GENG Liang¹,
ZHANG Xin-feng¹, NING Han-bing², LIU Huai-min^{1*}

(1. Cancer Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China;

2. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] Objective: To explore the effects of serum containing *Juglans mandshurica* (SCJM) pericarp on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma SGC-7901 cells. Method: Wistar rats were randomly divided into blank control group, low (25 g·kg⁻¹·d⁻¹), medium (50 g·kg⁻¹·d⁻¹) and high (100 g·kg⁻¹·d⁻¹) dose *J. mandshurica* treatment groups and cisplatin group (5 g·kg⁻¹·d⁻¹). The rats in treatment groups received lavage administration for 7 d, and the rats in blank control group received the equivalent volume of normal saline. 2 h after the last treatment, SCJM was prepared by carotid blood serum; cell proliferation, apoptosis rates, apoptosis index, levels of apoptosis related gene and protein expression were evaluated by methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) colorimetry, flow cytometry, Hoechst staining, Real-time PCR and Western blot respectively. Result: SCJM could inhibit the proliferation of SGC-7901 cells ($P<0.05$) as compared with blank group, and 48 h after treatment by SCJM, early-and late-apoptosis rates, apoptosis index and mRNA levels of Bax and Bak

[收稿日期] 20161231(001)

[基金项目] 河南省医学科技攻关计划项目(122300410079);郑州市金水区科技攻关项目(金科201433,第二批39号)

[第一作者] 高启龙,博士,副主任医师,从事中西医结合治疗肿瘤方面的研究,Tel:13213051206,E-mail:3354365800@qq.com

[通讯作者] *刘怀民,博士,主任医师,从事中西医结合治疗肿瘤方面的研究,Tel:13213051206,E-mail:3354365800@qq.com

were increased, but mRNA level of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) was decreased ($P < 0.05$); the protein levels of β -catenin, Cyclin D₁ and C-myc in SCJM-treatment groups were lower than those of control group ($P < 0.05$).
Conclusion: SCJM had inhibitory effect on proliferation of gastric carcinoma SGC-7901 cells, and the effect may be related to the induction of apoptosis and inhibition of Wnt/ β -catenin pathway activation.

[**Key words**] serum containing *Juglans mandshurica* pericarp; gastric carcinoma; proliferation; apoptosis; Wnt/ β -catenin

胃癌为临床常见的消化道恶性肿瘤,其死亡率位居所有恶性肿瘤的第 2 位^[1]。我国为胃癌高发国家,患病率呈逐年上升趋势,防治形势严峻。胃癌缺乏早期筛查手段,且发病隐匿,多数患者确诊时已是晚期,无法进行手术治疗,故化疗是治疗胃癌的主要手段。但由于常规化疗药物具有耐药性及较强的毒副作用,限制了其临床使用^[2]。因此,从天然动植物中开发具有高效、低毒的抗肿瘤药物是恶性肿瘤治疗的热点^[3-4]。青龙衣为传统中药材之一,始载于《开宝本草》,为胡桃科胡桃属植物胡桃楸的未成熟果实的外果皮,主产于我国北方地区,具有祛风疗癣、止痛止痢及清热解毒等功效^[5]。青龙衣具有显著的抗肿瘤活性,其活性成分包括醌类、萜类、多酚类、黄酮类及多糖类等,目前关于青龙衣血清药理学方面的研究报道较少^[6-9]。故本研究采用血清药理学方法,探讨青龙衣含药血清对胃癌 SGC-7901 细胞生长的影响及潜在机制,为青龙衣的深入开发及临床应用提供依据。

1 材料

1.1 动物及细胞 SPF 级雄性 Wistar 大鼠,体重 250 ~ 350 g,由北京维通利华实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2015-0010;胃癌 SGC-7901 细胞购于美国 ATCC 细胞库;本实验经郑州大学动物伦理委员会同意,符合实验动物伦理学规定。
1.2 药物及试剂 青龙衣购于本地药材市场,并经郑州大学宁寒冰教授鉴定为胡桃科胡桃属植物胡桃楸 *Juglans mandshurica* 未成熟果实的外果皮;顺铂(德国 Calbiochem 公司,批号 D00117683);优质胎牛血清,RPMI 1640 细胞培养基(美国 HyClone 公司,批号分别为 16010-159,SH30809.01B);胰蛋白酶,细胞裂解液(Trizol,美国 Gibco 公司,批号分别为 151211,160214);噻唑蓝(MTT)检测试剂盒(美国 Amresco 公司,批号 C0009);膜联蛋白 V/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒(北京赛宝生物公司,批号 20160128);Hoechst 33258(美国 Med Chem Express 公司,批号 258843-62-8);兔抗 β -链蛋白(β -catenin),细胞周期蛋白 D₁ (Cyclin

D₁),原癌基因(C-myc)多克隆抗体(美国 Biolegend 公司,批号分别为 844801,681902,626803);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号 E030125)。

1.3 仪器 BSC-1600IIA2 型超净工作设备(中国苏净集团公司),MCO-18AIC 型 CO₂ 培养箱(日本 Sanyo 公司),5810R 型低温离心机(德国 Eppendorf 公司),IX71 型荧光倒置显微镜(日本 Olympus 株式会社),FLx800-MV 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司),CytoFLEX 型流式细胞仪(美国 BD 公司),7000 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),Min-PROTEAN Tera Cell 型蛋白电泳及转印装置(美国伯乐公司),Image Pro Plus 成像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司)。

2 方法

2.1 血清制备 Wistar 大鼠随机分为空白组、青龙衣低、中、高剂量(25, 50, 100 g · kg⁻¹ · d⁻¹)组、顺铂(5 g · kg⁻¹ · d⁻¹)组,连续灌胃给药 7 d,空白组灌胃给予等体积生理盐水;末次给药 2 h 后,颈动脉采血,分离血清;经 56 ℃ 灭活 30 min 及 0.22 μ m 滤膜过滤后,冻存备用。

2.2 细胞增殖活性检测 胃癌 SGC-7901 细胞复苏后在 37 ℃ 5% CO₂ 饱和湿度条件下,于含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中培养,每隔 24 h 更换培养基,用 0.25% 的胰蛋白酶进行传代消化,稳定传代 3 ~ 5 次。选取处于对数生长期的 SGC-7901 细胞,调整细胞密度为 1 × 10⁵ 个/mL,接种于 96 孔板,每孔 200 μ L,常规条件培养;24 h 后,弃掉培养基,更换为含 10% 药物血清的 PRMI-1640 培养基,继续培养 24,48,72,96 h;加入 5 g · L⁻¹ MTT 10 μ L,培养 4 h,按照试剂盒说明书中操作步骤测定各孔吸光度 A。根据各组 A,计算增殖抑制率,增殖抑制率 = (1 - A_{青龙衣组} / A_{空白组}) × 100% 。

2.3 细胞凋亡率检测 选取处于对数生长期的 SGC-7901 细胞,调整细胞密度为 2 × 10⁵ 个/mL,接种于 6 孔板,每孔 3 mL,常规条件培养;24 h 后,

弃掉培养基,更换为含 10% 药物血清的 PRMI-1640 培养基,继续培养 48 h;离心收集细胞,用 PBS 缓冲液漂洗 3 次,经 Annexin V-FITC/PI 染色后,流式细胞仪检测 SGC-7901 细胞早期及晚期凋亡率。

2.4 凋亡指数检测 选取对数生长期的 SGC-7901 细胞,制成单细胞悬液后按每孔 1×10^4 个/孔细胞接种于 24 孔板(内置多聚赖氨酸铺板的灭菌盖玻片);待细胞贴壁后,弃掉培养基,更换为含 10% 药物血清的 PRMI-1640 培养基;继续培养 48 h 后采用 4% 多聚甲醛固定,采用 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Hoechst 33258 染色细胞核,0.5 h 后荧光显微镜观察,计算凋亡指数。

2.5 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 检测凋亡相关基因 mRNA 水平 离心收集经含 10% 药物血清的 PRMI-1640 培养基培养 48 h 的 SGC-7901 细胞,Trizol 法提取总 RNA,并将其逆转录为 cDNA,反应条件:30 ℃ 10 min,42 ℃ 30 min,95 ℃ 5 min。以 cDNA 为模板,GAPDH 为内参,在 ABI 7000 荧光定量 PCR 仪上进行 Real-time PCR 反应,常规反应条件,实验重复 3 次。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列见表 1。

2.6 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测相关信号通路蛋白表达 离心收集经含 10% 含药血清 PRMI-1640 培养基培养 48 h 的 SGC-7901 细胞,冰水浴,加入细胞裂解液,BCA 法测定总蛋白含量;每孔加等量蛋白,并混入适量上样缓冲液,进行 10% SDS-

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列	长度/bp
Bel-2 相关 X	上游 5'-GGCCCACCAGCTCTGAGCAGA-3'	261
蛋白 (Bax)	下游 5'-GCCACGTGGCGGGTCCCAAAGT-3'	
Bel-2 相关 K	上游 5'-TCAGATCTCGAGCTATGGCTTCG-3'	235
蛋白 (Bak)	下游 5'-ACTGCAGAATTCTCATGATTGA-3'	
B 淋巴细胞	上游 5'-GTGGAGGAGCTCTTCAGGGA-3'	278
瘤-2 (Bcl-2)	下游 5'-AGGCCCCAGGGTGATGCAA-3'	
GAPDH	上游 5'-CCACCCATGGCAAATTCCATGGCA-3'	224
	下游 5'-TCTAGACGGCAGGTCAGGTCCAC-3'	

PAGE 凝胶电泳及转膜,加入 β -catenin, Cyclin D₁ 及 C-myc 抗体(1:1 000);4 ℃ 孵育过夜后,室温加入二抗(1:2 000),继续孵育 2 h;采用 ECL 法显色,经图像处理软件分析各条带灰度值,蛋白表达量以目的蛋白/GAPDH 表示。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 19.0 数据统计软件进行分析处理,计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 LSD 法进行两两比较,单因素方差分析用于多个剂量组间比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞增殖的影响 与空白组比较,青龙衣含药血清各剂量作用 24, 48,72,96 h 后 SGC-7901 细胞增殖抑制率均升高($P < 0.05$),抑制效应呈时间和剂量依赖方式。见表 2。

表 2 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞增殖抑制率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of SCJM on cell proliferation inhibition rate in SGC-7901 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	24 h	48 h	72 h	96 h
空白	-	0	0	0	0
青龙衣含药血清	25	$1.45 \pm 0.36^{1)}$	$5.58 \pm 1.23^{1)}$	$12.31 \pm 2.54^{1)}$	$18.87 \pm 3.80^{1)}$
	50	$10.71 \pm 2.31^{1)}$	$18.67 \pm 3.44^{1)}$	$23.22 \pm 4.59^{1)}$	$34.12 \pm 5.53^{1)}$
	100	$19.37 \pm 3.17^{1)}$	$27.75 \pm 4.69^{1)}$	$37.19 \pm 4.15^{1)}$	$43.54 \pm 5.55^{1)}$
顺铂	5	$26.95 \pm 4.85^{1)}$	$41.97 \pm 5.78^{1)}$	$49.91 \pm 5.08^{1)}$	$61.43 \pm 6.64^{1)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 3~6 同)。

3.2 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞凋亡率的影响 与空白组比较,青龙衣含药血清低、中、高剂量处理 48 h 后早、晚期 SGC-7901 细胞凋亡率均明显升高($P < 0.05$),具有明显的剂量依赖效应。见表 3。

3.3 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞凋亡指数的影响 与空白组比较,青龙衣含药血清低、中、高剂量处理 48 h 后,SGC-7901 细胞凋亡指数均明显升高($P < 0.05$),具有明显的剂量依赖效应。见表 4。

3.4 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞凋亡相关基因水平的影响 与空白组比较,青龙衣含药血清处理 48 h 后的 Bax,Bak mRNA 表达均明显升高,Bcl-2 mRNA 表达明显降低($P < 0.05$)。见表 5。

3.5 青龙衣含药血清对 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达的影响 与空白组比较,经青龙衣含药血清低、中、高剂量处理 48 h 后,SGC-7901 细胞 β -catenin,Cyclin D₁ 及 C-myc 蛋白表达均明显降低

($P < 0.05$)。见表 6,图 1。

表 3 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞凋亡率的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of SCJM on cell apoptosis rate in SGC-7901 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	早期凋亡	晚期凋亡
空白	—	3.09 ± 0.55	2.78 ± 0.62
青龙衣含药血清	25	$7.46 \pm 1.32^{1)}$	$5.32 \pm 1.31^{1)}$
	50	$8.57 \pm 2.51^{1)}$	$6.73 \pm 1.48^{1)}$
	100	$14.65 \pm 3.68^{1)}$	$8.85 \pm 2.57^{1)}$
顺铂	5	$22.59 \pm 3.76^{1)}$	$9.67 \pm 2.36^{1)}$

表 5 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞凋亡相关基因水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Effect of SCJM on apoptosis related gene levels in SGC-7901 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	Bcl-2	Bax	Bak
空白	—	0.95 ± 0.17	0.28 ± 0.02	0.41 ± 0.05
青龙衣含药血清	25	$0.67 \pm 0.13^{1)}$	$0.47 \pm 0.06^{1)}$	$0.52 \pm 0.07^{1)}$
	50	$0.40 \pm 0.05^{1)}$	$0.60 \pm 0.07^{1)}$	$0.72 \pm 0.11^{1)}$
	100	$0.24 \pm 0.07^{1)}$	$0.73 \pm 0.09^{1)}$	$0.89 \pm 0.12^{1)}$
顺铂	5	$0.18 \pm 0.03^{1)}$	$0.98 \pm 0.14^{1)}$	$1.13 \pm 0.19^{1)}$

表 6 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Effect of SCJM on Wnt/ β -catenin signaling pathways in SGC-7901 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	β -catenin/GAPDH	Cyclin D ₁ /GAPDH	C-myc/GAPDH
空白	—	0.69 ± 0.12	0.93 ± 1.02	0.66 ± 0.13
青龙衣含药血清	25	$0.61 \pm 0.08^{1)}$	$0.72 \pm 0.09^{1)}$	$0.51 \pm 0.10^{1)}$
	50	$0.44 \pm 0.11^{1)}$	$0.47 \pm 0.06^{1)}$	$0.47 \pm 0.07^{1)}$
	100	$0.32 \pm 0.14^{1)}$	$0.45 \pm 0.05^{1)}$	$0.49 \pm 0.08^{1)}$
顺铂	5	$0.28 \pm 0.05^{1)}$	$0.33 \pm 0.04^{1)}$	$0.40 \pm 0.05^{1)}$

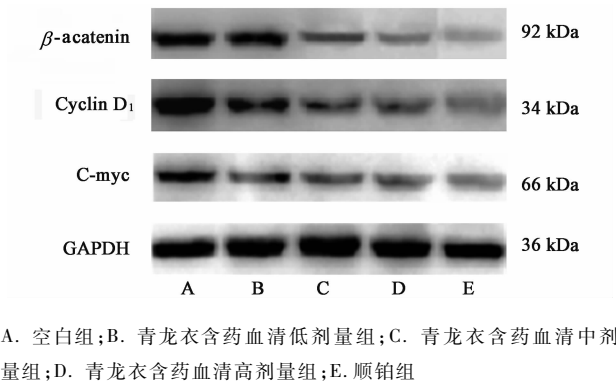


图 1 SGC-7901 细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达电泳
Fig.1 Electrophoresis of Wnt/ β -catenin signaling pathways protein expression in SGC-7901 cells

4 讨论

由于中药化学成分极为复杂,若以单体结构为研究对象,纯化过程较为繁琐,且各单体之间的相互

表 4 青龙衣含药血清对 SGC-7901 细胞凋亡指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of SCJM on cell apoptosis index in SGC-7901 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	凋亡指数/%
空白	—	2.09 ± 0.37
青龙衣含药血清	25	$7.15 \pm 0.82^{1)}$
	50	$12.42 \pm 1.15^{1)}$
	100	$19.58 \pm 2.68^{1)}$
顺铂	5	$29.61 \pm 3.40^{1)}$

关系难以确定;若以粗提物为研究对象,除活性成分外,粗提物的理化性质如鞣质、酸碱度和杂质等对离体实验结果均会产生干预^[10-11]。血清药理学在某种程度上可避免单体化合物纯化的繁琐步骤,同时,也可排除粗提物活性研究时所特有的、难以确定因素的干扰,使结果更为可靠^[12]。本研究采用青龙衣含药血清处理 SGC-7901 细胞后发现,青龙衣含药血清可呈时间和剂量依赖方式降低 SGC-7901 细胞存活率,提示青龙衣含药血清具有抑制胃癌 SGC-7901 细胞增殖的作用。

细胞凋亡启动和执行受到精密调控,该过程在肿瘤的发生及发展过程中扮演着重要角色,同时,部分抗肿瘤药物也是通过作用于凋亡过程的相关中间环节而发挥作用^[13-15]。本研究结果发现,与空白组比较,青龙衣含药血清处理后 SGC-7901 细胞凋亡

率及凋亡指数均明显升高,从细胞水平证实了青龙衣含药血清具有诱导 SGC-7901 细胞凋亡的作用;同时发现,青龙衣含药血清处理后的 SGC-7901 细胞促凋亡基因 Bax, Bak mRNA 表达均升高,抗凋亡基因 Bcl-2 mRNA 表达降低,以上结果进一步从分子水平上表明青龙衣含药血清可诱导 SGC-7901 细胞的凋亡。

经典 Wnt 信号通路异常激活是多种肿瘤的重要发病原因, β -catenin 对于经典的 Wnt 信号通路转导具有重要意义^[16-17]。Wnt 配体与细胞膜上的卷曲蛋白结合后,导致 β -catenin 降解复合物不能形成,从而抑制 β -catenin 降解,使其在细胞内聚集,然后转位入核,实现对下游靶基因的调节。反之,当 Wnt 受体未与 Wnt 配体结合时,细胞内 β -catenin 降解复合物形成,促进 β -catenin 降解,抑制 Wnt 信号转导^[18]。因此, β -catenin 目前已成为治疗肿瘤的重要靶点之一,抑制该通路的活化为肿瘤的治疗提供了新的可行性方案^[19]。故本研究探讨了青龙衣含药血清对 β -catenin 的影响,鉴于 Cyclin D₁, C-myc 为该通路的下游蛋白^[20],因此,本研究进一步分析了青龙衣含药血清对 Cyclin D₁, C-myc 蛋白表达的影响,研究结果发现,青龙衣含药血清处理 SGC-7901 细胞 48 h 后, β -catenin, Cyclin D₁, C-myc 蛋白水平均降低,提示青龙衣含药血清具有抑制 Wnt/ β -catenin 通路的作用。

综上所述,青龙衣含药血清对胃癌 SGC-7901 细胞的增殖具有抑制作用,该作用可能与诱导凋亡及抑制 Wnt/ β -catenin 通路的活化有关。

【参考文献】

[1] HUANG Q, SUN Q, FAN X S, et al. Recent advances in proximal gastric carcinoma [J]. J Dig Dis, 2016, 17 (7): 421-432.

[2] 郭锰,魏艳霞,任佳伟,等. 青蒿素联合顺铂对胃癌细胞增殖、凋亡及上皮间质转化的影响[J]. 中成药, 2016, 38 (2): 431-434.

[3] JI Q, LUO Y Q, WANG W H, et al. Research advances in traditional Chinese medicine syndromes in cancer patients [J]. J Integr Med, 2016, 14 (1): 12-21.

[4] LI W, LI C, ZHENG H, et al. Therapeutic targets of traditional Chinese medicine for colorectal cancer [J]. J Tradit Chin Med, 2016, 36 (2): 243-249.

[5] 刘薇,林文翰,季宇彬. 青龙衣毒性作用及体外抗肿瘤作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29 (9): 887-890.

[6] 周媛媛,王栋,牛峰. 抗肿瘤中药青龙衣化学成分的研究[J]. 中草药, 2010, 41 (1): 11-14.

[7] 胡泽成. 青龙衣多糖对结肠癌 HCT-116 细胞增殖、凋亡及 PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (18): 136-139.

[8] 张梅,陈永春. 青龙衣醇提物对人白血病 K562 细胞的基因芯片表达的影响[J]. 中医药导报, 2015, 21 (18): 20-22.

[9] 姬艳菊,徐巍. 青龙衣提取物对人肝癌细胞株抑制作用的实验研究[J]. 中医药学报, 2014, 42 (5): 30-34.

[10] 金凤,林风琴,金敏,等. 消癌舒及其含药血清对人宫颈癌 Hela 细胞体外增殖及迁移的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19 (24): 250-254.

[11] 蔡宇,陈冰,余绍蕾,等. 刺五加提取物含药血清抗肿瘤作用的研究[J]. 上海中医药杂志, 2006, 40 (1): 58-59.

[12] 黄臣虎,陆茵,高骁君,等. 中药血清药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (10): 266-271.

[13] 李爱明,赵惠民,揭俊卿. 芒柄花黄素对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖及上皮间质转化的抑制作用[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, 20 (6): 481-486.

[14] 吴秋芳,唐周舟,张定富. mTOR 通路抑制剂依维莫司对宫颈鳞癌 SiHa 细胞恶性行为的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, 20 (8): 685-689.

[15] 唐鑫,汪俊谷,何新斌. shRNA 靶向 PAX6 对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡及上皮间质转化的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, 20 (11): 967-971.

[16] McCubrey J A, Rakus D, Gizak A, et al. Effects of mutations in Wnt/ β -catenin, hedgehog, Notch and PI3K pathways on GSK-3 activity-Diverse effects on cell growth, metabolism and cancer [J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863 (12): 2942-2976.

[17] SONG L, LI Z Y, LIU W P, et al. Crosstalk between Wnt/ β -catenin and Hedgehog/Gli signaling pathways in colon cancer and implications for therapy [J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16 (1): 1-7.

[18] 刘映孜,金洁利,黄军,等. 粉防己甲素抑制人结肠癌细胞增殖与 Wnt/ β -catenin 信号的关系研究[J]. 中国药理学通报, 2014, 30 (1): 30-34.

[19] 唐化勇,张万生,于航,等. 天南星多糖对人肾癌细胞系 GRC-1 增殖及凋亡作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (14): 155-158.

[20] ZHANG Y S, XIE J Z, ZHONG J L, et al. Acetyl-11-keto- β -boswellic acid (AKBA) inhibits human gastric carcinoma growth through modulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830 (6): 3604-3615.

[责任编辑 张丰丰]