

灵芝多糖对小鼠胃肿瘤活性的体内外抑制作用

邢会军*, 侯雷, 孙勇, 刘朋

(承德医学院附属医院, 河北承德 067000)

[摘要] **目的:**通过体外肿瘤细胞抑制实验及体内抗肿瘤实验,探讨灵芝多糖体内外抗肿瘤作用,并阐明其作用机制。**方法:**体外实验,使用胃癌细胞株 MKN45 及 AGS,分为空白组、顺铂组、灵芝多糖(20,10,5 g·L⁻¹)组,加入药物孵育 24,48 h 后,使用细胞计数试剂盒(cell counting kit-8,CCK-8)检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞周期和凋亡的变化。体内实验,60 只 BALB/c 裸鼠随机分为模型组、阿霉素组、灵芝多糖高、中、低剂量(200,100,50 mg·kg⁻¹)组,除空白组外,其余各组使用 Walker-256 肿瘤细胞移植法建立胃肿瘤模型。1 周后,除空白和模型组灌胃蒸馏水外,其余各组给予相应药物灌胃。4 周后测量肿瘤大小,并取部分胃组织,采用实时荧光定量 PCR 法(Real-time PCR)检测 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)基因的表达。**结果:**与空白组比较,灵芝多糖高、中、低剂量组作用 24,48 h 后,均可以明显抑制胃癌细胞株 MKN45 和 AGS 的生长($P < 0.05$);灵芝多糖高、中剂量组作用 24 h 均可以有效促进胃癌细胞 MKN45 和 AGS 的凋亡($P < 0.05$),可以抑制 AGS 胃癌细胞的细胞周期,使其停留在 G₁ 期($P < 0.05$)。体内实验表明,灵芝多糖高、中剂量组可以有效抑制胃部肿瘤的生长,同时增加 Bax 基因表达量,抑制 Bcl-2 基因表达($P < 0.05$)。**结论:**灵芝多糖具有体内外抑制胃肿瘤细胞生长的作用,其作用与增加 Bax 基因表达,抑制 Bcl-2 基因表达,从而促进肿瘤细胞凋亡有关。

[关键词] 灵芝多糖; 胃肿瘤; 细胞凋亡; B 淋巴细胞瘤-2; Bcl-2 相关 X 蛋白
[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)13-0116-05
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130116
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.1128.066.html>
[网络出版时间] 2017-04-20 11:28

Anti-gastric Tumor Effect of Ganoderma Polysaccharides *in Vitro* and *in Vivo*

XING Hui-jun*, HOU Lei, SUN Yong, LIU Peng

(Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the anti-gastric tumor effect and mechanism of Ganoderma polysaccharides based on *in vitro* and *in vivo* experiments. **Method:** In the *in vitro* experiment, MKN45 and AGS cells were used and randomly divided into blank control, cis-platinum, high, middle and low-dose Ganoderma polysaccharides (20, 10, 5 g·L⁻¹) groups. Cell counting kit-8 (CCK-8) and flow cytometry methods were used to detect cell proliferation, and flow cytometry was used to detect apoptosis and cycle change, after incubation for 24 and 48 h. In the *in vitro* experiment, 60 BALB/c naked mice were randomly divided into blank control, model, adriamycin, high, middle and low-dose Ganoderma polysaccharides (200, 100, 50 mg·kg⁻¹) groups. The gastric tumor model was established by transplanting Walker-256 cell. One week later, each group was given the corresponding drugs. And 4 weeks later, the tumor size was measured, and Real-time PCR method was used to observe the changes in Bcl-2 associated X protein (Bax) and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) gene expressions. **Result:** High, middle and low-dose Ganoderma polysaccharides groups showed inhibition in MKN45 and AGS proliferation in 24, 48 h ($P < 0.05$). High and middle-dose Ganoderma polysaccharides could promote MKN45 and AGS cell apoptosis in 24 h ($P < 0.05$), and inhibit AGS cell cycle in G₁ stage ($P < 0.05$). *In vivo*

[收稿日期] 20161230(010)
[基金项目] 河北省卫生厅科研项目(zl20140103)
[通讯作者] *邢会军,硕士,副主任医师,从事胃肠外科方面研究,Tel:0314-2279253,E-mail:xinghuijun2010@sina.com

experiment showed that high and middle-dose Ganoderma polysaccharides could inhibit the growth of gastric tumor. Meanwhile, the increase on Bax gene expression, and inhibition on Bcl-2 gene expression were observed.

Conclusion: Ganoderma polysaccharides could inhibit the growth of gastric tumor *in vitro* and *in vivo*. And the mechanism is correlated with improvement on Bax gene expression, inhibition on Bcl-2 gene expression and promotion in tumor cell apoptosis.

[**Key words**] Ganoderma polysaccharides; gastric tumor; cell apoptosis; B-cell lymphoma-2 (Bcl-2); Bcl-2 associated X protein (Bax)

各类型恶性肿瘤是威胁人类健康的重要疾病^[1],我国是胃癌发病率较高的国家之一,每年有高达 16 万人死于该种疾病^[2]。胃部肿瘤是一类与衰老相关的疾病,其死亡率随年龄增加而升高,开发作用明显、毒副作用少的新药具有重要意义。目前治疗恶性胃癌多采用手术配合化疗,在治疗过程中很容易产生肿瘤细胞耐药和一些不良反应,从而致使治疗失败^[3]。从传统中药中寻求肿瘤治疗的突破口一直是新药开发的重要方向之一。灵芝是多孔菌科真菌灵芝的子实体,《本草纲目》中记载,灵芝性平味苦,可以益心气肺气、安神、补中等,属于药物中的上品^[4]。现代药理学研究证实,灵芝及其多糖提取物可以有效的增强机体免疫力、消除自由基并且增强人体的免疫功能^[5]。亦有文献报道,灵芝多糖可以促进免疫细胞的增殖和分化,从而起到抗肿瘤的作用^[6]。本研究观察灵芝多糖增强免疫抗肿瘤的作用,探讨灵芝多糖抗体内外抑制胃癌细胞增殖,促进癌细胞凋亡的作用。体外实验,探究灵芝多糖对胃肿瘤细胞 MKN45 和 AGS 增殖、凋亡及周期的影响;动物实验部分探究灵芝多糖对 BALB/c 裸鼠胃肿瘤的抑制作用,并对其影响凋亡基因 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的作用进行探究,为灵芝多糖用于治疗胃肿瘤奠定实验基础。

1 材料

1.1 动物、细胞和药物 SPF 级 BALB/c 裸鼠 50 只,雄性,体重 18 ~ 20 g。SPF 级 BALB/c 小鼠 10 只,雄性,体重 18 ~ 20 g。购自河北省实验动物中心,合格证号 SCXK(冀)2008-1003。于承德医学院实验动物中心 SPF 级别环境中饲养,光照和黑暗交替 12 h,实验获得承德医学院动物伦理委员会批准,批准号 2015-11-3。

MKN45 细胞购于日本细胞库,AGS 细胞购于美国 ATCC 国家细胞库,用于体外实验的细胞株自购买后传代次数不超过 10 次。Walker-256 细胞株由中国医学科学院馈赠。

灵芝多糖购于施达科有限公司,批号

20150601。由承德医学院赵春颖研究员鉴定,每 1 g 灵芝多糖相当于生药 22.2 g,主要含有 L-岩藻糖, D-半乳糖, D-甘露糖及葡萄糖等。

1.2 试剂与仪器 顺铂,盐酸阿霉素(大连美仑生物公司,批号分别为 20160930,20151130);胰酶,标准胎牛血清,DMEM,RPMI-1640 培养基(Gibco 公司,批号分别为 1268598,20150106,12491,31800-020);焦碳酸二乙酯(DEPC),二甲基亚砷(DMSO)(Sigma 公司,批号分别为 WXBB3108V, BCBK92970);实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)试剂盒(北京天根生物科技公司,批号 03326); Trizol Reagent(Life 公司,批号 28328);细胞凋亡,细胞周期检测试剂盒(BD 公司,批号分别为 35552, 37401);其余化学试剂均为国产分析纯。引物由上海英潍捷基公司合成, Bax (357 bp): 上游 5'-TGGAGCTGCAGAGGATGATT-3',下游 5'-CAGGGC CTTGAGCACCAGTT-3'; Bcl-2 (328 bp): 上游 5'-GAGGATTGTGGCCTTCTTTG-3',下游 5'-GTTCCAC AAAGGCATCCCAG-3'; β -肌动蛋白(β -actin, 150 bp): 上游 5'-GAAGATCAAGA TCATTGCTCCT-3',下游 5'-TACTCCTGCTTGC TGATCCA-3'。

AC2-S 型生物安全柜(新加坡 ESCO 公司),FC 500 MCL 型流式细胞仪(美国贝克曼公司),D3024R 型高速离心机(美国赛洛捷克公司),FE20K 型 PH 计(德国艾本德公司),3110 型 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司),IX73 型倒置显微镜(德国奥林巴斯公司),CFX96 型荧光定量 PCR 仪(美国伯乐仪器公司)。

2 方法

2.1 细胞增殖抑制率检测 MKN45 及 AGS 胃癌细胞分别置于含有 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基中,初次复苏使用 1% 青霉素-链霉素防止污染。待细胞生长至铺满瓶底的 80% 后,胰酶消化 50 s,并传代至新的培养瓶中。使用传代至第 2 代的细胞进行细胞增殖实验,调整细胞密度至 3 × 10⁵ 个/mL,每孔 100 μ L 接种至 96 孔板中,孵育 6 h 至细胞贴壁。

加入终浓度为 50 μmol·L⁻¹顺铂,及 20,10,5 g·L⁻¹的灵芝多糖,每个药物浓度共有 6 个复孔,另外设定 6 个空白孔。药物与细胞共孵育 24,48 h 后,每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL,2 h 后,酶标仪检测在 450 nm 处的吸光度 A。并计算其抑制率。抑制率 = (A_{空白组} - A_{药物组})/A_{空白组} × 100%。实验重复进行 3 次。

2.2 细胞凋亡和周期检测 MKN45 及 AGS 细胞调整细胞密度至 5 × 10⁵ 个/mL,每孔 1 mL 接种至 6 孔板中,孵育 6 h 至细胞贴壁。加入终浓度为 50 μmol·L⁻¹的顺铂,及 20,10,5 g·L⁻¹的灵芝多糖,每个药物浓度共有 6 个复孔,另外设定 6 个空白孔。待药物孵育 24 h 后,使用不含钙离子的胰酶消化细胞,制备成细胞悬液,按照凋亡试剂盒说明书加入 Annexin-V FITC,PI;按照细胞周期试剂盒说明书加入 PI;流式细胞仪检测灵芝多糖对细胞凋亡及细胞周期的影响。

2.3 小鼠种植性胃肿瘤模型建立、动物分组及给药^[7] 体外使用含有 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基,复苏和传代 Walker-256 细胞株。取第 2 代细胞,调整密度至 1 × 10⁷ 个/mL,0.1 mL/只,腹腔注射 BALB/c 裸鼠。7 d 后,抽取小鼠腹水,台盼蓝染色观察肿瘤细胞存活率,调整密度 3 × 10⁵ 个/mL,接种于 BALB/c 裸鼠后肢皮下,1 周后可见明显肿瘤块状物。取肿瘤并于无菌条件下剪成 0.05 mm² 大小组织块。

50 只 BALB/c 裸鼠随机分为模型组、阿霉素组、灵芝多糖高、中、低剂量(200,100,50 mg·kg⁻¹)组。10 只 BALB/c 小鼠作为空白组。BALB/c 裸鼠使用水合氯醛麻醉后,腹正中开口,使用尖镊刺穿胃壁浆膜层,钝性分离后取制备好的肿瘤组织块塞入组织,逐层关闭切口。1 周后,阿霉素组肌肉注射阿霉素(5 mg·kg⁻¹),灵芝多糖组使用灵芝多糖(200,100,50 mg·kg⁻¹)灌胃给药,模型组灌胃等体

积蒸馏水。
2.4 胃肿瘤生长抑制检测 4 周给药结束后,使用游标卡尺测量胃部肿瘤的最长直径(a)及最短直径(b),按照体积 = 0.4a × b 的公式计算得到肿瘤体积。并按照公式计算肿瘤的抑制率,肿瘤抑制率 = (1 - 给药组肿瘤体积/模型组肿瘤体积) × 100%。

2.5 细胞凋亡基因 Bax 和 Bcl-2 表达检测^[8] 4 周给药结束后,取胃组织置于 Trizol 内,按照试剂盒方法提取 RNA,逆转录成 cDNA 后,使用 Real-time PCR 试剂盒检测组织中 Bax 及 Bcl-2 基因表达的变化。RNA 提取参照 Trizol 试剂盒说明书方法,乙醇沉淀,最后使用超纯水溶解 RNA。PCR 扩增条件:94 ℃ 2 min,94 ℃ 20 s,57 ℃ 20 s,60 ℃ 40 s,共计 35 个循环。数据由仪器自带软件分析比较得出,使用 2^{-ΔΔCt} 表示基因相对表达水平。

2.6 统计学方法 所有数据输入 SPSS 22.0 软件进行处理,所有数据均为计量资料,使用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用 ANOVA 法分析,P < 0.05 表示有统计学差异。

3 结果

3.1 灵芝多糖对胃癌细胞 MKN45 和 AGS 生长的影响 与空白组比较,顺铂 MKN45 及 AGS 细胞 24,48 h 组 A 均显著降低(P < 0.01),胃癌细胞株 MKN45 及 AGS 细胞 24,48 h 的生长抑制率均在 55% 以上;与空白组比较,灵芝多糖高、中、低剂量 MKN45 及 AGS 细胞 24,48 h 组 A 均明显降低(P < 0.05,P < 0.01)。见表 1。

3.2 灵芝多糖对 MKN45 及 AGS 细胞凋亡的影响 灵芝多糖作用 24 h 后,与空白组比较,顺铂组、灵芝多糖高、中剂量组胃癌细胞株 MKN45 及 AGS 的凋亡率明显上升(P < 0.05,P < 0.01)。见表 2。

表 1 灵芝多糖对 MKN45 和 AGS 细胞增殖抑制率的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Inhibitory effect of Ganoderma polysaccharides on MKN45 and AGS cell proliferation($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度	MKN45				AGS			
		24 h		48 h		24 h		48 h	
		抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%	A
空白	-	-	1.70 ± 0.04	-	1.96 ± 0.12	-	1.82 ± 0.09	-	1.99 ± 0.14
顺铂	50 μmol·L ⁻¹	70.00	0.51 ± 0.02 ²⁾	75.00	0.49 ± 0.06 ²⁾	59.90	0.73 ± 0.05 ²⁾	63.82	0.72 ± 0.05 ²⁾
灵芝多糖	20 g·L ⁻¹	50.22	0.85 ± 0.05 ²⁾	48.43	1.02 ± 0.02 ²⁾	47.88	0.96 ± 0.04 ²⁾	43.78	1.13 ± 0.04 ²⁾
	10 g·L ⁻¹	43.26	0.96 ± 0.09 ²⁾	48.44	1.01 ± 0.03 ¹⁾	43.91	1.03 ± 0.07 ¹⁾	39.87	1.21 ± 0.04 ¹⁾
	5 g·L ⁻¹	36.09	1.08 ± 0.08 ¹⁾	35.87	1.27 ± 0.04 ¹⁾	29.88	1.29 ± 0.02 ¹⁾	30.52	1.39 ± 0.03 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾P < 0.05,²⁾P < 0.01(表 2,3 同)。

表 2 灵芝多糖对 MKN45 和 AGS 细胞凋亡率的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of Ganoderma polysaccharides on MKN45 and AGS cell apoptosis rate($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

组别	浓度	MNK45	AGS
空白	—	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.2
顺铂	50 μmol·L ⁻¹	6.1 ± 1.8 ²⁾	6.6 ± 1.5 ²⁾
灵芝多糖	20 g·L ⁻¹	4.2 ± 0.7 ¹⁾	5.1 ± 0.5 ¹⁾
	10 g·L ⁻¹	2.2 ± 0.4 ¹⁾	3.3 ± 0.6 ¹⁾
	5 g·L ⁻¹	1.3 ± 0.7	1.1 ± 0.7

表 3 灵芝多糖对 MKN45 和 AGS 细胞周期的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of Ganoderma polysaccharides on MKN45 and AGS cell cycles($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

组别	浓度	MKN45			AGS		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
空白	—	68.26 ± 4.27	13.27 ± 1.66	18.48 ± 2.32	69.56 ± 4.73	11.76 ± 1.16	17.98 ± 2.28
顺铂	50 μmol·L ⁻¹	60.43 ± 5.94	13.56 ± 3.17	25.79 ± 2.04 ¹⁾	61.45 ± 11.47	10.78 ± 1.47	27.82 ± 3.64 ¹⁾
灵芝多糖	20 g·L ⁻¹	70.75 ± 7.43	16.64 ± 5.21	14.96 ± 4.66	78.57 ± 4.86 ¹⁾	14.47 ± 3.57	9.06 ± 2.57
	10 g·L ⁻¹	66.86 ± 6.21	11.58 ± 3.11	22.06 ± 5.51	76.90 ± 4.03 ¹⁾	8.99 ± 3.80	15.79 ± 4.77
	5 g·L ⁻¹	67.35 ± 3.74	16.46 ± 2.86	17.82 ± 4.47	72.78 ± 2.79	10.35 ± 3.58	18.44 ± 3.11

肿瘤($P < 0.01$),证明造模成功。与模型组比较,阿霉素组胃肿瘤显著减小($P < 0.01$)。与模型组比较,灵芝多糖高、中剂量组胃肿瘤明显减小($P < 0.05$)。见表 4。

3.5 灵芝多糖对胃肿瘤基因 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达的影响 灵芝多糖灌胃 4 周后,与空白组比较,模型组 Bax mRNA 表达显著降低,Bcl-2 mRNA 表达显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,阿霉素对 Bax, Bcl-2 mRNA 表达无明显影响。与模型组比较,灵芝多糖高、中剂量组 Bax mRNA 表达增加, Bcl-2 mRNA 表达降低($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 灵芝多糖对裸鼠 Bax 和 Bcl-2 基因表达的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of Ganoderma polysaccharides on expressions of Bax and Bcl-2 gene($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	Bax	Bcl-2	Bcl-2/Bax
空白	—	10	0.98 ± 0.01	0.99 ± 0.02	1.01
模型	—	7	0.69 ± 0.11 ¹⁾	1.82 ± 0.18 ¹⁾	2.64
阿霉素	5	8	0.77 ± 0.15	1.67 ± 0.37	2.17
灵芝多糖	200	10	0.81 ± 0.06 ²⁾	1.21 ± 0.10 ²⁾	1.49
	100	9	0.79 ± 0.08 ²⁾	1.55 ± 0.15 ²⁾	1.96
	50	8	0.77 ± 0.11	1.66 ± 0.21	2.15

4 讨论

使用中药进行抗肿瘤的治疗是抗肿瘤药物探索的重要方向之一。而其药物副作用低的特性,也使得中药在治疗老年人疾病上有着独特的优势。灵芝

3.3 灵芝多糖对 MKN45 及 AGS 细胞周期的影响

灵芝多糖作用 24 h 后,与空白组比较,顺铂组处于 G₂/M 期的胃癌细胞株 MKN45 和 AGS 比例明显上升($P < 0.05$);与空白组比较,灵芝多糖高、中剂量组处于 G₀/G₁ 期的胃癌细胞株 AGS 比例明显上升($P < 0.05$)。灵芝多糖高、中和低剂量组对胃癌细胞株 MKN45 的细胞周期无明显影响。见表 3。

3.4 灵芝多糖对体内胃肿瘤的生长的影响

灵芝多糖灌胃 4 周后,与空白组比较,模型组有明显的

表 4 灵芝多糖对裸鼠胃内肿瘤生长的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Ganoderma polysaccharides on growth of gastric tumor($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	肿瘤大小/cm ³	抑制率/%
空白	—	10	0.00 ± 0.00	—
模型	—	7	0.62 ± 0.13 ¹⁾	—
阿霉素	5	8	0.33 ± 0.12 ³⁾	46.8
灵芝多糖	200	10	0.41 ± 0.21 ²⁾	34.9
	100	9	0.45 ± 0.12 ²⁾	28.5
	50	8	0.58 ± 0.11	6.5

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 5 同)。

在中国古代被称之为是“仙草”,具有益心气、安惊魂等多种疗效,《神农本草经》甚至认为灵芝具有延年益寿的作用^[9]。现代药理学研究表明,灵芝及其主要成分多糖具有增强免疫力,消除氧自由基、抗

疲劳、放辐射伤害等多方面的药理作用^[10-13]。灵芝多糖可以有效的抑制两种胃癌细胞 MKN45 及 AGS 的增殖,促进其凋亡,但对其细胞周期的影响却有不同,灵芝多糖仅可以抑制 AGS 的细胞周期。该实验证实灵芝多糖对不同的细胞株会有不同的影响^[14-15],而其具体的作用机制与区别,需要进一步的实验加以证实和探讨。

体外实验证实灵芝多糖具有抑制胃癌细胞增殖的作用,进而选用 BALB/c 裸鼠进行体内实验验证。移植瘤小鼠模型是目前国内外用于研究抗肿瘤作用最常用的动物模型之一,其发病过程及病症均与人体肿瘤发病类似。本研究使用 Walker-256 癌细胞接种 BALB/c 小鼠,成功建立裸鼠肿瘤模型,为研究灵芝多糖体内抗肿瘤作用奠定了基础。Bax 和 Bcl-2 同属于 Bcl-2 家族基因,与一般的癌症基因不同,这两种基因是通过调控细胞凋亡来起到控制细胞生长繁殖作用的^[16]。临床研究表明,多种不同类型的肿瘤均出现了 Bax 基因表达下降,Bcl-2 基因表达升高的现象^[17]。通过 Bax 基因转染癌细胞,也可以促进癌细胞的凋亡^[18]。Bax 及 Bcl-2 对细胞凋亡的调控,不仅体现在自身表达水平的变化上,还与 Bcl-2/Bax 相对表达变化有关,Bcl-2/Bax 升高,会降低细胞对凋亡的敏感性,从而起到抗凋亡的作用。本实验证实了灵芝多糖可以起到抑制在体胃肿瘤增殖的作用,而这个作用通过促进凋亡基因 Bax 和抑制抗凋亡基因 Bcl-2 的表达来起效。同时,实验发现灵芝多糖可以降低 Bcl-2/Bax,从而增强肿瘤细胞的凋亡敏感性。

本文对灵芝多糖体内外抗胃肿瘤的作用进行了研究,证实了灵芝多糖可以有效的抑制胃癌细胞在体外的增殖,促进胃癌细胞的凋亡,抑制胃癌细胞周期,起到治疗胃癌的作用,而其作用机制与促进 Bax 基因表达,抑制 Bcl-2 基因表达,增强肿瘤细胞凋亡敏感性有关。

[参考文献]

[1] HUANG Y, Lichtenberger L M, Taylor M, et al. Anti-tumor and anti-angiogenic effects of aspirin-PC in ovarian cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2016, 15 (12) : 2894-2904.

[2] 张晓,周琴,陈清,等. 2003 ~ 2007 年中国恶性肿瘤发病率水平的聚类分析[J]. 中国肿瘤, 2013, 22 (1) : 13-17.

[3] Ito T, Lee L, Jensen R T. Treatment of symptomatic neuroendocrine tumor syndromes; recent advances and controversies[J]. Expert Opin Pharmacother, 2016, 17

(16) : 2191-2205.

[4] 李英波. 从灵芝菌丝体中高效分离制备抗肿瘤灵芝酸单体的研究[D]. 上海:华东理工大学, 2013.

[5] 陈伟,马飞,张琳,等. 灵芝有效成分提取及药理活性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44 (8) : 147-149.

[6] 张莘莘. 黑灵芝多糖的抗肿瘤活性及其分子机制初探[D]. 南昌:南昌大学, 2014.

[7] 陶凯雄,田源,陈道达. 鼠种植性胃肿瘤模型的制作方法 & 抗癌药物的治疗作用[J]. 同济医科大学学报, 2000, 29 (3) : 229-231.

[8] 石兰岚,黄婷,罗辑,等. Real-time PCR 检测 Bcl-2 和 Bax 基因在脊髓钝挫伤大鼠中的表达[J]. 四川解剖学杂志, 2015, 23 (1) : 9-12.

[9] 王家鹏. 灵芝多糖抗自由基与延缓衰老的实验研究[D]. 济南:山东中医药大学, 2005.

[10] 黄生权,潘华新,周联. 两种灵芝多糖对小鼠免疫功能增强作用研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33 (3) : 355-357.

[11] 丁妍,周向毅,崔莉,等. 灵芝多糖对辐射损伤小鼠的防护作用[J]. 医学研究生学报, 2014, 27 (11) : 1152-1155.

[12] 耿卫朴,徐曼,罗玮,等. 灵芝多糖和当归多糖促进人外周血 T 淋巴细胞增殖和分泌 IFN- γ [J]. 中国药理学通报, 2012, 28 (5) : 655-658.

[13] 李广富,陈伟,李昕听,等. 灵芝多糖益生菌酸奶抗衰老的研究[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41 (2) : 41-45.

[14] Zarei M A, Masoomi K M, Bahabadi M, et al. Inhibition of AGS cancer cell proliferation following siRNA-mediated downregulation of VEGFR2[J]. Cell J, 2016, 18 (3) : 381-388.

[15] XIE P, Fujii I, ZHAO J, et al. A novel polysaccharide derived from algae extract induces apoptosis and cell cycle arrest in human gastric carcinoma MKN45 cells via ROS/JNK signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2016, 49 (4) : 1561-1568.

[16] Ghate N B, Das A, Chaudhuri D, et al. Sundew plant, a potential source of anti-inflammatory agents, selectively induces G2/M arrest and apoptosis in MCF-7 cells through upregulation of p53 and Bax/Bcl-2 ratio[J]. Cell Death Discov, 2016, 2 (1) : 15062.

[17] 杨连君. Bcl-2, Bax 与肿瘤细胞凋亡[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 5 (3) : 232-234.

[18] Rodina A V, Sladkova L V, Obukhova V V, et al. Inactivation and sensitization of the tumor cells by the gene Bax transfection[J]. Mol Biol: Mosk, 2005, 39 (1) : 40-47.

[责任编辑 张丰丰]