

左金方靶向特洛细胞抗胃癌的作用机制研究

陈子平^{1#}, 何 勇^{1, 2#}, 黄庆宝³, 杨舒乔¹, 胡巨豪¹, 余惠旻^{1*}, 周红祖^{1, 3*}

1. 深圳大学 医学部, 广东 深圳 518060

2. 深圳大学总医院, 广东 深圳 518060

3. 广州中医药大学第四临床医学院深圳市中医院, 广东 深圳 518033

摘要: 目的 探究特洛细胞 (TCs) 作为左金方抗胃癌作用的潜在靶标。方法 建立 *N*-甲基-*N'*-硝基-*N*-亚硝基胍 (MNNG) 联合幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 的小鼠胃癌动物模型, 模型成功后将小鼠分为模型组和左金方高、中、低剂量 (1.456、0.728、0.364 g·kg⁻¹) 组, 对照组不造模。每天 ig 给药 1 次, 对照组、模型组给予等体积水。第 38 周收集小鼠胃组织标本, 应用透射电子显微镜 (TEM)、免疫组化、多重荧光免疫组化 (mFIHC) 技术对小鼠胃正常组织中 TCs 的形态、分布及免疫表型进行分析; 苏木素-伊红 (HE) 检测各组小鼠胃病理改变; TEM 观察各组小鼠胃中 TCs 的形态变化; mFIHC 检测各组小鼠胃组织中 TCs 的数量。结果 小鼠胃正常组织中, 黏膜层 TCs 数量较少, 黏膜下层和肌层中 TCs 相对较多, TCs 的胞体呈长梭形或纺锤形, 具有细长伴节状膨大的端足 (Tps), 与血管、神经和平滑肌伴行交联, 形成网状结构; 免疫表型为 CD34⁺/PDGFR- α ⁺/CD31⁻/c-kit⁻, 与人胃组织中的一致。与对照组比较, 小鼠胃癌组织中, TCs 的形态发生改变, 网状结构缺失, 分布密度显著下降, 数量显著减少 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 左金方组均能改善 TCs 的变化, 高剂量组明显减轻了胃组织的病理损伤, TCs 的形态和网状结构逐渐恢复, 数量回升, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论 TCs 在小鼠胃组织各层均有分布, 其免疫表型为 CD34⁺/PDGFR- α ⁺/CD31⁻/c-kit⁻, 逆转 TCs 的缺失可能是左金方抗胃癌作用的重要机制。

关键词: telocytes; 胃癌; 左金方; 靶标

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 12-2800-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.12.010

Research on mechanism of Zuojin Fang targeting telocytes in anti-gastric cancer

CHEN Ziping¹, HE Yong^{1, 2}, HUANG Qingbao³, YANG Shuqiao¹, HU Juhao¹, YU Huimin¹, ZHOU Hongzu^{1, 3}

1. Shenzhen University Medical School, Shenzhen 518060, China

2. Shenzhen University General Hospital, Shenzhen 518060, China

3. Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, the Fourth Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518033, China

Abstract: Objective To explore the potential role of telocytes (TCs) as a target for the anti-gastric cancer effect of Zuojin Fang. **Methods** A mouse gastric cancer animal model was established using *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG) combined with *H. pylori*. After successful modeling, the mice were divided into model group and Zuojin Fang high, medium, and low dose (1.456, 0.728, 0.364 g·kg⁻¹) groups, while the control group was not modeled. Administered ig once a day, and gave equal volumes of water to the control group and model group. Collected mouse stomach tissue specimens in week 38, selected mouse gastric tissue samples were analyzed using transmission electron microscopy (TEM), immunohistochemistry, and multiplex fluorescence immunohistochemistry to study the morphology, distribution, and immunophenotype of TCs in normal gastric tissue. Hematoxylin eosin (HE) was used to detect the pathological changes in the stomach of mice in each group, TEM observation of the morphological changes of TCs in the stomachs of mice in each group, mFIHC was used to detect the number of TCs cells in the gastric tissue of

收稿日期: 2024-09-30

基金项目: 深圳市基础研究面上项目 (JCYJ20220531102208019); 深圳市药学会医院药学研究基金 (恒瑞基金) (SZ2022A25); 深圳市医疗卫生三名工程项目 (SZZYSM202111002); 深圳大学 2024 年度聚徒项目 (聚徒+学术)

*共同第一作者: 陈子平 (2002—), 男, 研究方向为药物抗癌机制。E-mail: 1656624595@qq.com

何 勇 (1990—), 男, 主治医师, 研究方向为药物与骨科材料。E-mail: bravebest@126.com

*共同通信作者: 周红祖, 女, 主任药师, 广东省中医药传承人, 主要从事中药鉴定与药理学研究。E-mail: zhouhuzu@163.com

余惠旻, 男, 副研究员, 博士, 主要从事中药及复方药理研究。E-mail: yuhuimin@szu.edu.cn

mice in each group. **Results** In normal mouse gastric tissue, fewer TCs were found in the mucosal layer, while TCs were relatively more abundant in the submucosal and muscular layers. The cell bodies of TCs were spindle-shaped or fusiform, with long, slender, and beaded Tps, associating with blood vessels, nerves, and smooth muscle, forming a reticular structure. The immunophenotype was $CD34^+ / PDGFR-\alpha^+ / c-kit^+ / CD31^-$, consistent with that in human gastric tissue. In mouse gastric cancer tissue, the morphology of TCs changed, the reticular structure was lost, the distribution density significantly decreased, and the number significantly reduced ($P < 0.01$). Compared with the model group, the Zuojin Fang groups were able to improve the changes in TCs. The high-dose group notably reduced the pathological damage to gastric tissue, and the morphology and reticular structure of TCs gradually recovered, with the number increased, showing a statistically significant difference ($P < 0.01$). **Conclusion** TCs are distributed in all layers of mouse gastric tissue, with an immunophenotype of $CD34^+/PDGFR-\alpha^+/c-kit^+/CD31^-$. The reduction of TCs may be an important mechanism for the anti-gastric cancer effect of Zuo Jin Fang.

Key words: telocytes; gastric cancer; Zuojin Fang; target

2022年胃癌的流行病学资料显示,我国胃癌的死亡率居肿瘤死亡率的第3位^[1-2]。胃癌明确的治疗靶点人表皮生长因子受体-2(HER2),在晚期胃癌患者(中国)中阳性率远低于12.1%^[3],寻找具有治疗潜力的新靶点和靶向治疗药物,成为了研究的热点和难点。出自《丹溪心法》的左金方,由黄连6两与吴茱萸1两组方,以治疗消化系统疾病(肝火犯胃所致的胃炎、胃溃疡等^[4])、非消化系统疾病(糖尿病、高血压、精神症状等^[5])以及多种肿瘤(如结直肠癌、皮肤肿瘤、乳腺肿瘤、肝脏肿瘤等^[6-9])而引起广泛关注。本课题组前期研究又发现,左金方能诱导胃癌细胞凋亡、抑制胃移植瘤的生长^[10],但机制不明确,限制了左金方的临床新用。特洛细胞(TCs)的研究为胃癌的发病机制以及左金方抗胃癌作用的阐明,提供了新的视角。TCs是近年来发现的一种新型的间充质细胞,与肝癌、乳腺癌、基底细胞癌、前列腺癌等肿瘤的发生、发展密切相关^[11-14]。本课题组前期研究证实了人胃中TCs的存在,并发现TCs的丢失可能是胃癌发生的关键因素^[15]。左金方是否通过靶向TCs发挥了抗胃癌的作用,未见文献报道。

本研究采用N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)联合幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)建立了小鼠胃癌动物模型,以小鼠的胃组织标本为研究对象,通过苏木精-伊红(HE)染色对标本进行病理诊断分型,结合透射电子显微镜(TEM)、免疫组织化学(IHC)和多重荧光免疫组化(mFIHC)等技术,动态监测TCs的变化,阐明左金方靶向TCs发挥抗胃癌的作用机制,为临床胃癌治疗新靶标的发现提供新的思路。

1 材料

1.1 动物

BALB/c小鼠,SPF级,雌雄各半,体质量18~

20 g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号SYXK(粤)2022-0302。

1.2 主要药物与试剂

黄连和吴茱萸均购自康美药业有限公司,由深圳市中医院周红祖主任中药师鉴定,分别为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎和芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 干燥近成熟的果实;牛血清蛋白(货号CF0050,北京金克隆生物技术有限公司);一抗CD34、血小板衍生生长因子受体- α (PDGFR- α)、CD31、c-kit(货号分别为3569、3174、3528、37805,美国Cell Signaling Technology);HRP生物素标记的二抗(货号abs957,上海优宁维生物科技有限公司);DAB试剂盒(货号G1212-200T,武汉赛维尔生物科技有限公司);多重荧光免疫组化试剂盒(货号abs50012,上海爱必信生物科技有限公司);*H. pylori*的SS1菌株(sydney strain 1,澳大利亚莫纳什大学,广州中医药大学中药药理室);MNNG(货号HY-128612,上海皓元医药科技有限公司)

1.3 仪器

APS300S组织脱水机、EG1150C石蜡包埋机、RM2016石蜡切片机、HI1210摊烤烘片机、EM UC7超薄切片机(德国Leica公司);HT7700钨灯丝透射电子显微镜(TEM,日本HITACHI公司);BX51正置荧光显微镜(日本OLYMPUS公司)。

2 方法

2.1 药物制备

取黄连60 g、吴茱萸10 g,加10倍蒸馏水浸泡30 min,按传统方法煎煮3次,每次40 min,滤过后合并滤液,冷冻干燥机干燥,制备左金方冻干粉,1 g干粉中含生药3.98 g。HPLC测定含量,冻干粉中含小檗碱39.85%、巴马汀9.19%、药根碱4.86%、吴茱萸碱0.17%、吴茱萸次碱0.19%^[16]。配

制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的母液,实验时稀释成所需浓度。

2.2 *H. pylori* 的培养

取 *H. pylori* 的 SS1 菌液 $100 \mu\text{L}$,用一次性涂布器涂于培养基上,置 $85\% \text{ N}_2$ 、 $10\% \text{ CO}_2$ 、 $5\% \text{ O}_2$ 的三气培养箱中培养,24 h 后将细菌重悬于 PBS 中,调整至 $1 \times 10^9 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 MNNG 联合 *H. pylori* 致小鼠胃癌动物模型的建立及分组给药

小鼠每日 *ig* $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 MNNG 溶液 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,持续 2 周,禁食不禁水 12 h 后,*ig* 5% 碳酸氢钠溶液 0.2 mL ,30 min 后按照每只 0.2 mL 的剂量 *ig* $1 \times 10^9 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ SS1 菌液,连续 4 次,每次间隔 48 h,之后继续 *ig* MNNG 溶液 2 周。经苏木素-伊红(HE)染色后,在光镜下观察到黏膜上皮细胞不典型增生、腺管结构紊乱等典型胃癌表现证明胃癌造模成功。模型成功后将小鼠分为模型组和左金方高、中、低剂量(1.456 、 0.728 、 $0.364 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组,对照组不造模。每天 *ig* 给药 1 次,对照组、模型组给予等体积水。第 38 周收集小鼠胃组织标本。

2.4 标本处理

2.4.1 石蜡组织标本制作 选取小鼠胃组织标本,按面积约 $15 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ 、厚度约 10 mm 取材,用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗,随后置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 以上,目的部位组织修平整后,梯度脱水,包埋、制成石蜡组织标本。

2.4.2 电镜标本制作 取样针取样后,使用 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸进行固定,梯度脱水,包埋过夜,固化。

2.5 HE 染色

石蜡切片机上切片,片厚 $4 \mu\text{m}$,连续切片脱蜡至水,苏木素染色,1% 的盐酸乙醇分化,返蓝,伊红染色,梯度脱水,中性树胶封片,显微镜镜检。

2.6 TEM 观察

超薄切片制备 70 nm 的薄片,双染色剂 3% 醋酸铀-枸橼酸铅染色,于电压为 80 kV 的透射电子显微镜下观察、拍片。

2.7 免疫组织化学(IHC)

石蜡组织标本连续切片,常规脱蜡至水,柠檬酸盐溶液抗原修复,0.3% 甲醇-过氧化氢水溶液灭活,牛血清白蛋白(BSA)封闭,分别加入一抗 CD34($1:100$)、PDGFR- α ($1:400$)、c-kit($1:150$)和 CD31($1:1600$), 4°C 孵育过夜,复温,加一抗放大剂,HRP 生物素标记的二抗孵育,DAB 避光显色,苏木素复染,分化,脱水,封片,阅片。

2.8 多重荧光免疫组化(mFIHC)

常规样本制备,微波抗原修复,灭活,BSA 封闭,第 1 种一抗(CD34、PDGFR- α 、c-kit、CD31)室温保湿震荡孵育 2 h;二抗孵育,第 1 种荧光染色放大信号(TSA520 或 TSA650),抗体洗脱,重复抗原修复,封闭,孵育目的蛋白及其对应二抗和染料,DAPI 染核,滴加抗荧光衰减封片剂封片,阅片。

2.9 统计学方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 22.0 软件进行数据的统计与分析,2 组间比较选择 *t* 检验方法。

3 结果

3.1 TEM 观察小鼠胃中 TCs 的存在

选取小鼠胃正常组织标本,采用 TEM 技术确定小鼠胃中 TCs 的存在。对小鼠胃正常组织中各层——固有层、黏膜肌层、黏膜下层、肌层及浆膜层进行观察,发现均有 TCs 的存在,TCs 胞体呈梨形、长梭形或纺锤形。固有层中,TCs 包绕腺体细胞,形成异型交联(图 1-A)。黏膜下层中,TCs 胞体呈长梭形或纺锤形,伴有细长的端足(Tps),有一条细长伴有节状膨大的突起,细长部和膨大部呈念珠状(图 1-B)。肌层中,TCs 与血管、神经和平滑肌伴行交联,形成网状结构(图 1-C)。

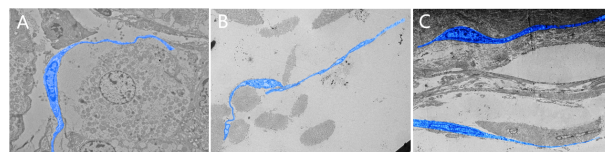


图1 小鼠胃正常组织固有层(A)、黏膜下层(B)、肌层(C) TEM 比较($\times 1000$)

Fig.1 TEM comparison of lamina propria (A), muscularis (B), and submucosa (C) of normal gastric tissues in mice ($\times 1000$)

3.2 IHC 检测小鼠胃中 TCs 的表型

选取小鼠胃正常组织标本,以 CD34、PDGFR- α 、CD31、c-kit 为标记物,通过 IHC,研究小鼠胃组织中 TCs 的免疫表型。结果显示小鼠胃正常组织中 TCs 的免疫表型为 $\text{CD34}^+/\text{PDGFR-}\alpha^+/\text{CD31}^-/\text{c-kit}^-$ (图 2),与人胃中 TCs 免疫表型一致^[15]。

3.3 mFIHC 观察小鼠胃中 TCs 的分布和网状结构

选取小鼠胃正常组织标本,采用 mFIHC 观察 TCs 在各层的分布与网状结构。结果显示(图 3),在小鼠胃各层 TCs 的数量、分布和网状结构存在很大差异,固有层 TCs 数量较少,仅有少量 TCs 包绕腺体发生异型交联,形成网状结构;黏膜肌层中 TCs 与肌细胞伴行;黏膜下层中 TCs 数量较多,胞体延伸方向与黏膜下层走行一致,Tps 与血管内皮细胞形成异

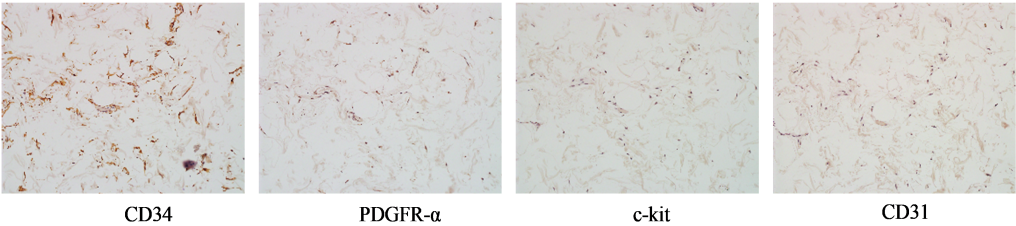
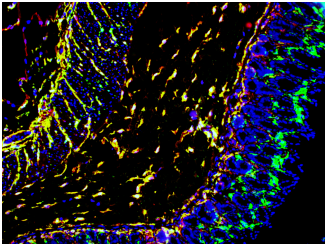


图2 小鼠胃正常组织 IHC 结果(×400)
Fig. 2 IHC results of normal tissues of mouse stomach (×400)



红色-CD34;绿色-PDGFR-α。
red-CD34; green-PDGFR-α。
图3 小鼠胃正常组织 mFIHC 结果(×400)
Fig. 3 mFIHC results of normal gastric tissues in mice (×400)

型交联,并包绕神经结缔组织;肌层中分布大量 TCs,其多与平滑肌细胞伴行,形成网状结构。

3.4 HE 染色观察小鼠胃病理改变

如图4所示,对照组胃组织标本中各层结构完整,未观察到明显炎症细胞浸润;模型组胃组织标本可见黏膜上皮细胞异型性增生,癌细胞排列紊乱,呈柱状、立方状或扁平状增生,固有层中可见扩张的或裂隙状分枝小管样腺体,呈现胃癌病理改

变,说明胃癌模型制作成功;与模型组比较,左金方低、中剂量组癌细胞异型性较明显,高剂量组中,胃固有层可见残存腺体结构,肿瘤细胞异型性低,提示随着左金方给药剂量的增加,胃部病理损伤逐渐减轻。

3.5 TEM 观察小鼠胃中 TCs 的形态变化

如图5所示,模型组 TCs 的胞体由梭形变为球形,甚至发生破裂,Tps 缩短、断裂;与模型组比较,左金方低、中剂量组,TCs 呈椭圆形或梨形,Tps 长度逐渐增加,节状突起恢复,高剂量组的改变更为明显,表明随着左金方药物剂量的增加,TCs 的形态结构趋于正常,网状结构逐渐恢复。

3.6 mFIHC 检测小鼠胃中 TCs 的数量变化

如图6所示,模型组中 TCs 同型交联和异型交联减少,网状结构缺失,TCs 数量显著减少,与对照组比较有显著统计学差异($P<0.01$)(图7);在左金方低、中、高剂量组中,随着左金方药物剂量的增加,TCs 数量呈增多趋势,网状结构逐渐恢复,高剂

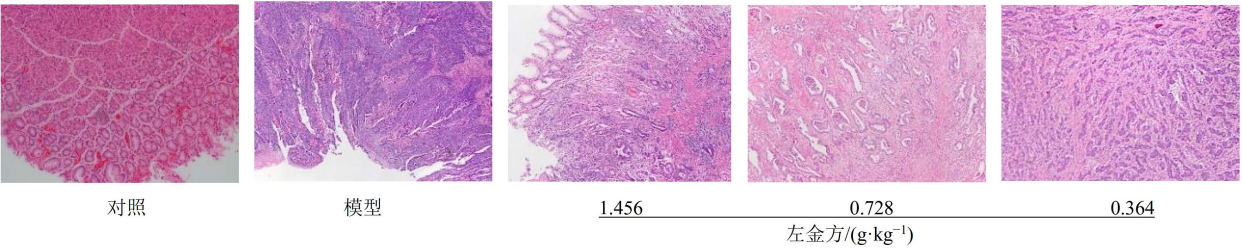


图4 HE 染色(×40)
Fig. 4 HE staining (×40)

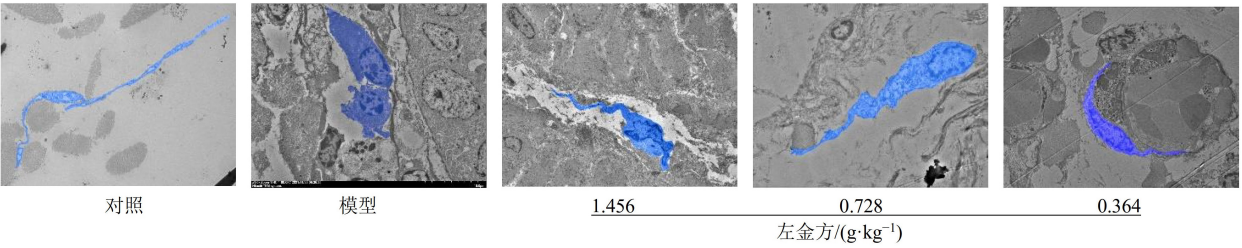


图5 TEM 观察(×1 000)
Fig. 5 TEM observation (×1 000)

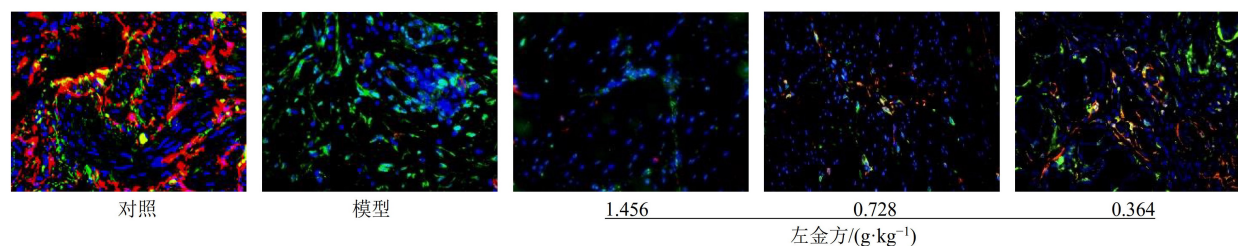
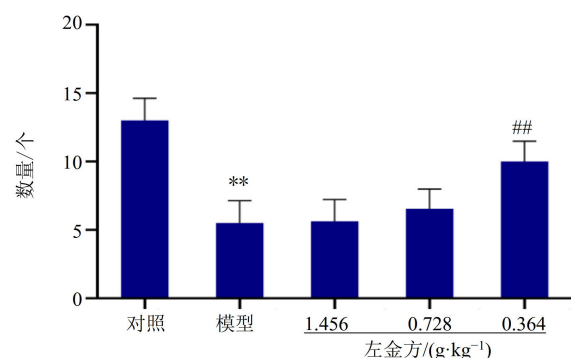


图6 mFIHC (×400)

Fig. 6 mFIHC (×400)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图7 TCs数量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 7 Comparison of number of TCs ($\bar{x} \pm s, n=10$)

量组改变更为明显,可见TCs包绕血管及周围细胞形成异型交联及网状结构,TCs数量显著增多,与模型组相比具有统计学差异($P < 0.01$)。

4 讨论

近年来胃癌治疗方法取得很大的进步,靶向治疗联合化疗虽然可以改善包括胃癌在内的实体瘤患者的预后,但靶点阳性患者比例低,不能明确特定靶点人群的特征,无法做到精准治疗。因此寻找更多有治疗潜力的新靶点成为研究的热点和难点。中药复方治疗癌症具有防治结合、整体调治等优点,但是机制的阐明尚不清晰。

TCs是近年来新发现的一种新型间充质细胞,TCs参与了肝癌等多种肿瘤的发生、发展过程^[10-13]。有最新药物研究表明,甲磺酸伊马替尼调控TCs治疗胰腺癌^[17],小檗碱通过调控TCs发挥治疗心血管疾病的作用^[18],提示TCs可能是药物治疗的潜在靶标,左金方是否通过靶向TCs发挥了抗胃癌的作用,国内外未见文献报道。

本研究首次证实了TCs在小鼠胃中的存在,其免疫表型为CD34⁺/PDGFR- α ⁺/CD31⁻/c-kit⁻,与人胃中TCs的免疫表型一致^[10];通过TEM技术观察到小鼠胃中TCs胞体呈长梭形或纺锤形,具有细长伴节状膨大的Tps,并与血管、神经与平滑肌伴行并交联

呈网状结构。mFIHC显示小鼠胃组织黏膜层中TCs数量较少,包绕腺体并与黏膜肌连接呈网状结构,黏膜下层中TCs数量最多,胞体与黏膜下层走行一致,并包绕血管、神经,肌层中TCs包绕在平滑肌细胞周围并彼此交联。

通过建立MNNG联合*H. pylori*的小鼠胃癌动物模型,发现胃癌模型组TCs的胞体由梭形变为球形,甚至发生破裂,同时Tps缩短、断裂,同型交联和异型交联减少,网状结构缺失,TCs数量显著减少,与对照组相比有统计学差异;在胃癌左金方组的小鼠组织标本中,TCs的胞体呈椭圆形,胞体发生破裂的TCs减少,Tps长度较胃癌模型组增加,TCs数量增多,与胃癌模型组相比有统计学差异。以上结果表明随着左金方给药剂量的增加,胃部病理损伤逐渐减轻。TCs的形态结构趋于正常,网状结构逐渐恢复,TCs数量明显增多,与模型组相比具有明显统计学差异。

本研究结果提示,左金方靶向TCs发挥了抗胃癌的作用机制,为胃癌机制的阐明提供了新的视角,为临床胃癌治疗新靶标的发现提供了新的思路。进一步将进行胃TCs的原代培养,通过左金方对TCs的直接作用,为TCs作为左金方抗胃癌的新靶标提供实验依据。阐明TCs在胃癌发病机制及治疗机制中的作用,为从中医药理论出发,阐明胃癌发生发展的中医基础以及中药治疗提供有力的支撑,Tcs深度研究将为中医药理论指导下的中医药的现代研究提供新的途径。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 胃癌筛查与早诊早治方案(2024年版) [J]. 全科医学临床与教育, 2024, 22(8): 676, 685.
National Health Commission of the People's Republic of China. Gastric cancer screening and early diagnosis and treatment plan(2024 Edition) [J]. Clin Educ Gen Pract,

- 2024, 22(8): 676, 685.
- [2] 符珊珊, 封杰妮, 黎祖鸣, 等. 基于生物信息学探讨胃癌相关基底膜基因及中药预测 [J]. 中草药, 2023, 54(15): 4948-4957.
- Fu S S, Feng J N, Li Z M, et al. Study on stomach adenocarcinoma related basement membrane genes and prediction of traditional Chinese medicine based on bioinformatics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(15): 4948-4957.
- [3] Zhu Y X, Zhu X D, Wei X W, et al. HER2-targeted therapies in gastric cancer [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2021, 1876(1): 188549.
- [4] 孔维军, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 左金丸的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 73-77.
- Kong W J, Zhao Y L, Shan L M, et al. Progress of zuojinwan [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2008, 14(5): 73-77.
- [5] 张骏安, 周红祖, 梁斌发, 等. 左金方的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(12): 2720-2730.
- Zhang J A, Zhou H Z, Liang B F, et al. Advances on chemical compositions and pharmacological effects of Zuojin Formula [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(12): 2720-2730.
- [6] 刘霜, 旺建伟. 左金丸及其主要单体成分抗结直肠癌机制的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(22): 204-214.
- Liu S, Wang J W. Anti-colorectal cancer mechanism of zuojinwan and its main monomer components: A review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(22): 204-214.
- [7] 杨寰, 杜金城, 杜钢军. 左金丸对二甲苯葱/巴豆油诱导小鼠皮肤肿瘤的预防作用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(1): 48-51.
- Yang H, Du J C, Du G J. Preventive effect of Zuojin pill on skin tumors induced by dimethylbenzanthracene/Croton oil in mice [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2019, 25(1): 48-51.
- [8] Du J, Sun Y, Wang X F, et al. Establishment of an experimental breast cancer ZHENG model and curative effect evaluation of Zuo-Jin Wan [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 324732.
- [9] Chao D C, Lin L J, Kao S T, et al. Inhibitory effects of Zuo-Jin-Wan and its alkaloidal ingredients on activator protein 1, nuclear factor- κ B, and cellular transformation in HepG2 cells [J]. Fitoterapia, 2011, 82(4): 696-703.
- [10] 邱菡, 周红祖, 周禹练, 等. 左金方联合 5-FU 抑制人胃癌细胞 RF-48 的增殖作用研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(7): 929-932.
- Qiu H, Zhou H Z, Zhou Y L, et al. Study on the effect of Zuojin Decoction combined with 5-fu inhibits the proliferation of human gastric cancer cell line Rf-48 [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2016, 22(7): 929-932.
- [11] 李福杰. 特络细胞(Telocytes)在肝癌生长中的作用机制研究 [D]. 锦州: 锦州医科大学, 2023.
- Li F J. Study on the mechanism of telocytes in the growth of hepatocellular carcinoma [D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2023.
- [12] Mou Y C, Wang Y, Li J J, et al. Immunohistochemical characterization and functional identification of mammary gland telocytes in the self-assembly of reconstituted breast cancer tissue in vitro [J]. J Cell Mol Med, 2013, 17(1): 65-75.
- [13] Mirancea N, Moroşanu A M, Mirancea G V, et al. Infrastructure of the telocytes from tumor stroma in the skin basal and squamous cell carcinomas [J]. Rev Roum De Morphol Embryol, 2013, 54(4): 1025-1037.
- [14] Gevaert T, Lerut E, Joniau S, et al. Characterization of subepithelial interstitial cells in normal and pathological human prostate [J]. Histopathology, 2014, 65(3): 418-428.
- [15] 黄庆宝, 刘霞, 周红祖, 等. Telocytes 作为抗胃癌中药潜在作用靶点的探究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(12): 2011-2014, 2042.
- Huang Q B, Liu X, Zhou H Z, et al. Research on telocytes as A potential target of anti gastric cancer Chinese medicine [J]. J Basic Chin Med, 2022, 28(12): 2011-2014, 2042.
- [16] 余惠旻, 侯梅轩, 林敬斌, 等. 左金方体内外抑制幽门螺杆菌的实验研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2017, 23(3): 405-407, 422.
- Yu H M, Hou M X, Lin J B, et al. Antimicrobial activities of ZuoJinFang against *Helicobacter pylori* in vivo and in vitro [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2017, 23(3): 405-407, 422.
- [17] Padhi S, Sarangi R, Mallick S. Pancreatic extragastrointestinal stromal tumors, interstitial Cajal like cells, and telocytes [J]. JOP, 2013, 14(1): 1-14.
- [18] Yang M, Yang T, Mei L, et al. The potential of berberine to target telocytes in rabbit heart [J]. Planta Med, 2024, 90(2): 84-95.

[责任编辑 兰新新]