

苦参碱与氧化苦参碱对炎症相关结直肠癌的化学预防作用研究

张 庆, 茹庆国, 刘 艳, 赵博琛, 康 倩, 李 辉, 吴 清*

北京中医药大学, 北京 100102

摘 要: **目的** 研究苦参碱与氧化苦参碱对炎症相关结直肠癌的化学预防作用。**方法** 采用氧化偶氮甲烷/葡聚糖硫酸钠 (AOM/DSS) 模拟炎症相关的结直肠癌的发生发展过程。将小鼠分成对照组、模型组、苦参碱组与氧化苦参碱组, 实验结束后处死小鼠, 取出结直肠, 统计肿瘤发生率; 病理切片观察肿瘤的发生程度、免疫组化法检测结肠组织中增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达情况; Western blotting 法检测结直肠组织中环氧化酶-2 (COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、核转录因子- κ B (NF- κ B)、P53 和 γ H2AX 蛋白表达情况。**结果** 对照组无肿瘤发生, 模型组、苦参碱组与氧化苦参碱组均有肿瘤发生, 但肿瘤发生程度不同。苦参碱与氧化苦参碱能够降低 PCNA 的表达而抑制肿瘤细胞的增殖, 同时降低 COX-2、iNOS、NF- κ B、P53 与 γ H2AX 蛋白的表达。**结论** 苦参碱与氧化苦参碱均能减缓肿瘤的发展进程, 降低肿瘤的严重程度, 具有一定的化学预防作用; 同时能对溃疡性结肠炎进行有效干预, 减缓肿瘤的发生程度甚至降低肿瘤的发生率。

关键词: 苦参碱; 氧化苦参碱; 结直肠癌; 化学预防; 氧化偶氮甲烷; 葡聚糖硫酸钠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)09-1548-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.09.017

Chemoprevention of matrine and oxymatrine on prevention of inflammation related colorectal cancer

ZHANG Qing, RU Qing-guo, LIU Yan, ZHAO Bo-chen, KANG Qian, LI Hui, WU Qing

Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

Abstract: **Objective** To study the chemoprevention of matrine and oxymatrine on the inflammation related colorectal cancer. **Methods** The occurrence and development of the inflammation related colorectal cancer was established by AOM/DSS. The mice were divided into blank group, control group, matrine group, and oxymatrine group, at the end of the experiment, the mice were sacrificed and the colon and rectum were harvested, and tumor incidence was calculated. The occurrence degree of tumor was observed by pathological section; The expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in colorectal tissue was detected by immunohistochemistry; The expression of COX-2, iNOS, NF- κ B, p53, and γ H2AX in colorectal tissue was detected by Western blotting method. **Results** There was no tumor occurred in the blank group, while the control group, matrine group, and oxymatrine group had tumor occurrence, but the degree of tumor was different. Matrine and oxymatrine could inhibit the proliferation of tumor cells, and decrease the expression of NF- κ B, P53, COX-2, iNOS, and γ H2AX. **Conclusion** Matrine and oxymatrine could slow down the development of colorectal carcinoma, reduce the severity of colorectal cancer, and have a certain preventive effect. Taking an effective intervention in ulcerative colitis, the development of colorectal carcinoma can be slowed down and even the incidence can be reduced.

Key words: matrine; oxymatrine; colorectal cancer; chemoprevention; AOM; DSS

目前, 癌症已经成为人类健康的重要威胁, 结肠癌发病率和死亡率呈逐年上升趋势。结直肠癌的具体发病机制尚不明确, 而且临床上针对中晚期的结直肠癌尚缺乏有效的治疗措施。一般认为溃疡性结肠炎相关的结直肠癌经历“炎症-不典型增生-

癌”的演变过程。炎症肠炎和克罗恩病是增加结直肠癌发生的两个重要危险因素。研究报道溃疡性结肠炎能增加患结直肠癌的风险^[1]。化学预防是防治癌症的重要措施, 是高风险癌症发病人群预防癌症的策略之一^[2]。

收稿日期: 2015-09-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81073059)

作者简介: 张 庆 (1990—), 男, 在读硕士, 专业方向为中药新剂型与新技术研究。Tel: 15810834154 E-mail: zzzhangqing01@126.com

*通信作者 吴 清 Tel: (010)84738611 E-mail: qwu@vip.sina.com

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根, 有清热燥湿、杀虫、利尿的功效^[3-4]。苦参常用来治疗下焦湿热, 临床上有关苦参的复方也用来治疗溃疡性结肠炎, 如肠愈宁胶囊^[5-6]、复方苦参汤^[7-8]等。苦参中的重要有效成分苦参碱与氧化苦参碱具有抗炎、抗肝纤维化、抗肿瘤等作用^[9-10], 研究表明苦参碱与氧化苦参碱均能通过减少炎症因子的分泌, 对溃疡性结肠炎起到治疗或减缓作用^[11-13], 并可以诱导结肠癌细胞凋亡^[14]。本研究在前期研究的基础上, 采用氧化偶氮甲烷 (AOM) 联合葡聚糖硫酸钠 (DSS) 建立溃疡性结肠炎诱发的结肠癌模型, 研究苦参碱与氧化苦参碱对炎症相关结肠癌的化学预防作用。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

苦参碱 (HPLC 测得质量分数 $\geq 98\%$, 批号 140805) 与氧化苦参碱 (HPLC 测得质量分数 $\geq 98\%$, 批号 140801) 均购自四川维克奇生物科技有限公司。AOM、甘氨酸、十二烷基硫酸钠购自美国 Sigma-Aldrich 公司; DSS (相对分子质量 36 000~50 000) 购自美国 MP 公司; 增殖细胞核抗原 (PCNA) 鼠抗 53 兔抗、环氧合酶-2 (COX-2) 兔抗和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 兔抗购自英国 Abcam 公司; 核转录因子- κ B (NF- κ B) 兔抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司; β -actin 鼠抗购自中杉金桥公司; 山羊抗小鼠 IgG 和山羊抗兔 IgG 购自美国 Jackson 公司, 脱脂奶粉购自内蒙古伊利公司, PVDF 膜购自美国 Thermo 公司; 丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺购自 Millipore 公司; 过硫酸铵、N,N,N,N-四甲基乙二胺、聚山梨酯-20、溴酚蓝二硫酸糖醇购自美国 Amersco 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自北京康维试剂公司; 蛋白酶抑制剂购自瑞士 Roche 公司; 10%中性福尔马林固定液购自北京益利精细化学品有限公司; ECL 发光液购自美国 Millipore 公司。

1.2 实验动物

SPF 级雄性 Balb/c 小鼠购自斯倍福 (北京) 实验动物科技有限公司, 动物合格证号 SCXK (京) 2011-0004, 6 周龄, 体质量 18~22 g, 饲养于北京中医药大学动物实验中心, 饲养室保持良好通风, 饲养环境温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 $(50 \pm 10)\%$, 12 h 循环光照。高脂饲料饲养, 自由饮水。正常饲养 1 周以适应环境, 第 2 周开始进行实验。

1.3 分组、模型制备及给药

将 40 只雄性 Balb/c 小鼠随机分成 4 组, 每组 10 只, 分别为对照组、模型组、苦参碱 (30 mg/kg^[11,15-16]) 组和氧化苦参碱 (30 mg/kg^[11,15-16]) 组。除对照组外, 其余各组小鼠单剂量 ip 10 mg/kg 的 AOM 生理盐水溶液, 同时给予 2% DSS 水溶液自由饮用 1 周, 造模第 2 周正常饮水, 第 3 周给予 2% DSS 饮水, 以此循环 3 次, 之后给予正常饮水, 直至第 12 周实验结束。苦参碱组和氧化苦参碱组从造模第 2 周开始每天 ig 给予苦参碱和氧化苦参碱水溶液 1 次, 连续给药 11 周, 模型组和对照组 ig 等量的水直至实验结束。造模时对照组 ip 等量的生理盐水, 正常饮水, 直至实验结束。

1.4 取材及标本制作

在实验过程中观察记录实验动物的活动状况、进食量、毛发状况、食欲、大便性状等, 每周称量并记录体质量。至第 12 周实验结束, 禁食 24 h, 脱颈椎处死, 剪开小鼠腹腔, 自盲肠末端将直肠与小肠分离, 直至肛门处, 取下整段结肠, 并沿肠管纵轴剖开, 用预冷的 PBS 溶液清洗肠内容物。将冲洗干净的肠管黏膜面朝上, 拍照测量。用洁净滤纸吸干残留的水液, 从结肠的肿瘤发生部位取 2 段长 50~70 mm 的肠段, 一段置于 10%中性福尔马林溶液中用于 HE 染色及免疫组化分析, 另一段置于液氮中保存, 用于 Western blotting 分析。

1.5 HE 染色与组织病理学检查

将结肠组织从 10%中性福尔马林溶液中取出, 常规脱水, 石蜡包埋, 切片, 进行 HE 染色、脱水、二甲苯透明。最后以中性树胶封片, 光学显微镜下观察组织并拍摄。由 2 名经验丰富的病理医师阅片, 按照 WHO 新分类确定各组动物结肠肿瘤发生的程度。

1.6 结肠黏膜中 PCNA 蛋白的免疫组化分析

将各组组织切片梯度脱蜡水化, 抗原热修复, 放入 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液中, 加热 5~10 min 后冷却至室温, PCNA 按照 1:5 000 稀释后加入, 4 $^\circ\text{C}$ 过夜。后用 0.01 mol/L 的 PBS 洗 2 min, 共洗 3 次。DBA 显色, 镜下控制反应时间, 蒸馏水洗涤。苏木素轻度复染, 脱水, 透明, 封片, 观察。每张切片在高倍镜 (20 $\times$ 10) 下随机选取 5 个视野, 采用数码相机, Olympus X 71 多功能显微镜及图像分析软件 (Image Pro Plus 6.0) 进行数据采集及分析, 比较各阳性染色部位的平均吸光度值。

1.7 Western blotting 分析

从液氮中取出结直肠肿瘤组织研碎,称取 10 mg 左右,提取总蛋白,按 BCA 试剂盒的说明书测总蛋白的量,并用 RIPA 调整蛋白浓度,进行 SDS-PAGE 电泳、转膜,滴加一抗、二抗进行免疫反应,化学发光、显影、定影,最后将胶片进行拍照,用 Image-J 软件测定各条带灰度值,以 β -actin 作为内参照,以 iNOS、COX-2、P53、NF- κ B、 γ H2AX 与 β -actin 蛋白条带灰度值之比作为其相对表达的值。

1.8 统计分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析,计量资料表示为 $\bar{x} \pm s$, 各组数据采用单因素方差分析。用 Graph Pad Prism 6.0 作统计图。

2 结果

2.1 一般状况观察及剖检观察

模型组在给予 2% DSS 饮水后小鼠活动减少,进食量减少,精神萎靡不振,逐渐出现大便稀溏,后逐渐发展为便血,换正常饮水后症状逐渐缓解,在实验第 6~12 周再次出现便血现象,并有动物出现脱肛现象,有 3 只动物因便血过重而死亡。给予苦参碱和氧化苦参碱后能显著改善动物的活动状况,但也有 3 只动物在实验过程中因便血过重而死亡。

实验结束取材时发现模型组动物结直肠肠壁增厚、皱缩,结直肠水肿、缩短、增重。结直肠肿瘤的发生部位集中在结肠远端,主要在距离肛门 4~6 cm 的部位,呈弥散状铺开。对照组小鼠结直肠呈淡红色,光滑,厚薄均匀。由于结直肠发生肿瘤部位出现水肿,肿瘤弥散状,不宜统计其肿瘤个数及体积,因此采用 Image-J 统计肿瘤区域面积,通过比较结直肠的长度、结直肠的质量、最大肿瘤体积及肿瘤区域的面积所占比例宏观分析肿瘤的发生程度。如表 1 所示,给予苦参碱和氧化苦参碱后,能够明显降低结直肠的质量,抑制结直肠的缩短,减小肿瘤体积,减少肿瘤区域。

2.2 组织病理学检查

根据 WHO 消化系统肿瘤分级评判标准,模型组和给药组的肿瘤全部在腺瘤阶段,未发展成为浸润性腺癌^[17],如图 1 所示。在模型组可以明显看到腺体增生,大小和形状十分不规则,细胞体积增大,细胞核分裂增多,可见腺管共壁和筛样结构,但尚未穿透黏膜肌层,仍局限在黏膜层。模型组存活的 7 只小鼠全部发生肿瘤,肿瘤发生率为 100%,给药组的肿瘤发生率虽然也为 100%,但苦参碱和氧化苦参碱均能延缓肿瘤的发生程度,使肿瘤的发展停留在低级上皮内瘤变,降低高级上皮内瘤变的发生率。结果见表 2。

表 1 各组小鼠结直肠大体形态学指标 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 General morphological data of mouse colorectum in each group ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	结直肠质量/g	结直肠最大肿瘤体积/mm ³	结直肠长度/mm	结直肠肿瘤区域面积比值/%
对照	0.30 $\pm$ 0.06	0.000 $\pm$ 0.000	118.05 $\pm$ 6.57	0.00 $\pm$ 0.00
模型	0.96 $\pm$ 0.35	85.598 $\pm$ 71.967*	83.26 $\pm$ 12.40*	63.89 $\pm$ 7.68*
苦参碱	0.58 $\pm$ 0.13	43.411 $\pm$ 23.820*#	85.51 $\pm$ 24.39*	36.42 $\pm$ 12.97*#
氧化苦参碱	0.45 $\pm$ 0.14	22.183 $\pm$ 25.873*#	104.94 $\pm$ 10.33*#	23.38 $\pm$ 13.75*#

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

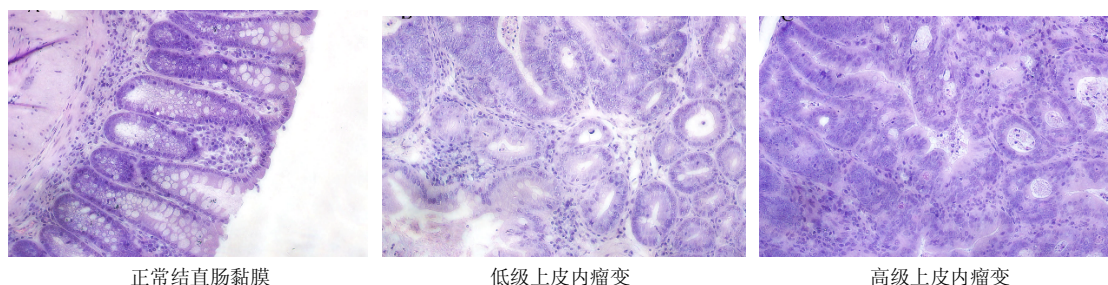


图 1 小鼠结直肠组织 HE 染色

Fig. 1 HE staining of colorectum tissue of mice

表 2 各组小鼠结直肠肿瘤的发生率及结直肠组织 PCNA 免疫组化分析结果

Table 2 Incidence of colorectal carcinoma and results of PCNA immunohistochemistry of colorectum tissue of mice in each group

组别	发生肿瘤动物数/总动物数			PCNA 平均吸光度值 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)
	总体	低级上皮内瘤变	高级上皮内瘤变	
对照	0/8	0/8	0/8	0.06 ± 0.04
模型	7/7	2/7	7/7	0.48 ± 0.24
苦参碱	7/7	7/7	4/7	0.27 ± 0.07
氧化苦参碱	7/7	7/7	3/7	0.26 ± 0.09

2.3 结直肠组织中 PCNA 的阳性表达

PCNA 的表达与细胞增殖紧密相关, 其阳性表达主要位于细胞核内, 呈棕黄色或者棕褐色, 见图 2 和表 2。与对照组相比, 模型组小鼠结直肠组织中 PCNA 阳性表达显著, 在给以苦参碱和氧化苦参碱后其阳性表达显著降低。表明苦参碱与氧化苦参碱抑制结直肠癌的发生发展过程与抑制肿瘤的增殖有关。

2.4 结直肠组织中 COX-2、iNOS、P53、NF-κB P65 与 γH2AX 蛋白的表达

如图 3 和表 3 所示, 模型组 COX-2、iNOS、γH2AX、NF-κB P65、P53 的蛋白表达量均显著增加 ($P < 0.05$), 在给予苦参碱和氧化苦参碱后 COX-2、iNOS、γH2AX、NF-κB P65、P53 的蛋白表达量均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

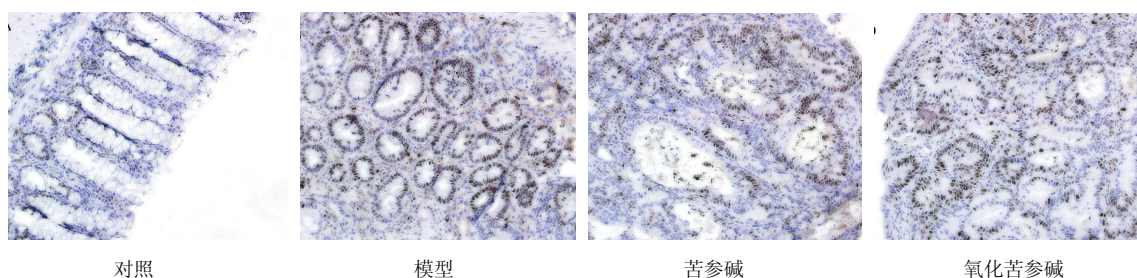


图 2 小鼠结直肠组织中 PCNA 的阳性表达

Fig. 2 Expression of PCNA in colorectal tissues of mice

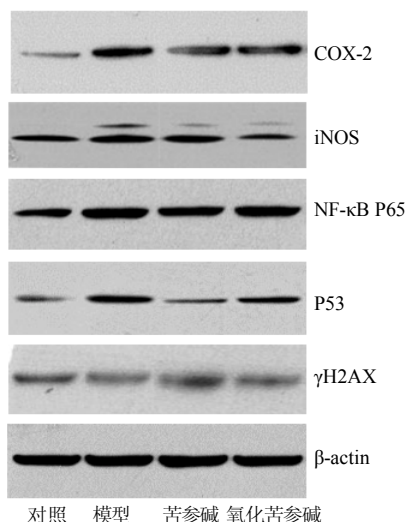


图 3 各组小鼠结直肠组织中 COX-2、iNOS、NF-κB P65、P53 和 γH2AX 蛋白表达情况

Fig. 3 Expression of COX-2, NF-κB, P65, P53, iNOS, and γH2AX in colorectal tissues of mice in each group

3 讨论

AOM/DSS 模型能够模拟炎症肠病诱发结直肠癌的全过程, 而被广泛用于研究炎症性肠病 (IBD) 相关性结直肠癌的癌变机制以及结直肠癌的化学预防研究, 阐明化学预防药物的作用机制研究。本研究大体观察结果表明 AOM/DSS 诱发小鼠发生了结直肠肿瘤, 使小鼠结直肠肠壁增厚、皱缩, 结直肠水肿、缩短、质量增加, 苦参碱和氧化苦参碱给药后能够明显降低结直肠的质量, 抑制结直肠的缩短, 减小肿瘤体积, 减少肿瘤区域。免疫组化结果表明模型组小鼠结直肠组织中 PCNA 蛋白阳性表达增多, 苦参碱和氧化苦参碱能减少 PCNA 的阳性表达, 表明苦参碱与氧化苦参碱抑制结直肠癌的发生发展过程与抑制肿瘤的增殖有关。

COX-2、iNOS 与前炎症因子的分泌有关, 与肿瘤的发生和发展关系密切。NF-κB 与肿瘤细胞的

表 3 各组小鼠结直肠组织中 COX-2、iNOS、NF-κB P65、P53、γH2AX 蛋白的相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)Table 3 Relative expression of COX-2, iNOS, NF-κB P65, P53, and γH2AX in colorectal tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	COX-2/β-actin	iNOS/β-actin	NF-κB P65/β-actin	P53/β-actin	γ-H2AX/β-actin
对照	0.122 ± 0.037	0.139 ± 0.029	0.198 ± 0.038	0.161 ± 0.025	0.138 ± 0.051
模型	0.495 ± 0.015 [*]	0.457 ± 0.068 [*]	0.507 ± 0.021 [*]	0.447 ± 0.044 [*]	0.423 ± 0.053 [*]
苦参碱	0.297 ± 0.071 ^{##}	0.290 ± 0.062 [#]	0.368 ± 0.024 [#]	0.285 ± 0.050 [#]	0.313 ± 0.057 [#]
氧化苦参碱	0.284 ± 0.063 ^{##}	0.251 ± 0.015 ^{##}	0.328 ± 0.040 [#]	0.244 ± 0.033 ^{##}	0.271 ± 0.047 ^{##}

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

生长和增殖关系密切,被认为是癌症预防的一个重要靶点之一^[18-19]。γH2AX 被认为是 DNA 双链断裂的分子标志,是 DNA 双链断裂损伤感应的起始信号分子,将一系列 DNA 损伤反应蛋白募集到 DNA 损伤位点,形成 DNA 损伤反应功能复合物,启动 DNA 修复、细胞周期检查点等细胞损伤反应^[20]。P53 基因是一个非常重要的抑癌基因。它与细胞周期蛋白结合形成复合体,抑制依赖细胞周期蛋白的相关激酶活性,使细胞停滞在 G₁ 期,或者引起细胞程序死亡。当 P53 基因发生突变时,可导致稳定的蛋白质不能完成抑制细胞增殖的作用,并且促进细胞恶性转化,侵袭力增强,使 P53 基因由抑癌基因转化为原癌基因^[21]。本研究结果表明模型组小鼠结直肠组织中 COX-2、iNOS、NF-κB P65、P53、γH2AX 蛋白表达量均增加,苦参碱和氧化苦参碱给药后小鼠结直肠组织中 COX-2、iNOS、NF-κB P65、P53、γH2AX 蛋白表达量均显著降低。说明苦参碱和氧化苦参碱能够通过抑制 COX-2、iNOS 的表达,降低炎症反应,延缓肿瘤的发生发展;同时苦参碱与氧化苦参碱通过下调 NF-κB 而发挥作用;苦参碱和氧化苦参碱组的 γH2AX 蛋白表达降低,说明苦参碱与氧化苦参碱能够降低结直肠组织中 DNA 的损伤。在模型组中 P53 蛋白的表达量显著增加,说明在肿瘤组织中 P53 基因发生了突变,给予苦参碱和氧化苦参碱后, P53 的蛋白表达量降低,说明苦参碱与氧化苦参碱能够减少 P53 蛋白的表达,可能与其抑制 P53 基因的突变有关。

本研究结果表明,苦参碱和氧化苦参碱都表现出对结直肠癌的预防作用,具体表现为能改善 AOM/DSS 模型小鼠便血、脱肛等症状,减缓肿瘤的发生程度,抑制细胞的增殖。其作用的分子机制与调节 COX-2、iNOS、NF-κB P65、P53、γH2AX 蛋白表达有关。

本研究中苦参碱与氧化苦参碱均没有减少结直肠癌的发生率,这可能与苦参碱和氧化苦参碱在结直肠组织中分布少,两者口服吸收后在结肠部位分布很少,其药理效应不与血药浓度直接相关,而与效应室-结肠的药物浓度呈良好相关^[22]。因此,在未来的研究中,可通过口服结肠靶向制剂的制备来提高苦参碱与氧化苦参碱在结直肠病灶部位的浓度,从而发挥其癌症化学预防的作用。

参考文献

- [1] Lakatos L, Mester G, Erdelyi Z, et al. Risk factors for ulcerative colitis-associated colorectal cancer in a Hungarian cohort of patients with ulcerative colitis: Results of a population-based study [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12(3): 205-211.
- [2] 刘文博, 谭晓斌, 贾晓斌, 等. 基于 Nrf2 通路的中药化学预防肿瘤的研究思路 [J]. *中草药*, 2011, 42(7): 1429-1434.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [4] 顾关云, 肖年生, 蒋 昱. 苦参的化学成分、生物活性和药理作用[J]. *现代药物与临床*, 2009, 24(5): 265-271.
- [5] 谢晶日, 李婷婷. 肠愈宁对溃疡性结肠炎大鼠模型 IL-10 的影响 [J]. *中医药学报*, 2014, 42(1): 53-55.
- [6] 谢晶日, 吴芃瑶, 刘朝霞. 肠愈宁颗粒治疗活动期溃疡性结肠炎 25 例 [J]. *中医杂志*, 2011, 52(6): 517-518.
- [7] 范 恒, 张丽娟, 钟 敏, 等. 复方苦参汤对溃疡性结肠炎 DOR-β-arrestin1-Bcl-2 信号转导通路的干预作用 [J]. *世界华人消化杂志*, 2013, 21(8): 647-654.
- [8] 刘海燕, 陈军贤, 徐平珍, 等. 复方苦参结肠胶囊治疗溃疡性结肠炎 24 例 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2012, 20(2): 86-88.
- [9] 吴 琴, 高 云. 氧化苦参碱药理作用的分子机制研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(6): 759-762.
- [10] 白 煜, 朱志超, 蒋丽佳, 等. 苦参碱对人原代白血病细胞的体外作用研究 [J]. *药物评价研究*, 2015, 38(3): 262-266.

- [11] 吕建芳, 范 恒, 沈 霖, 等. 氧化苦参碱对实验性结肠炎大鼠肠黏膜细胞因子和核因子- κ B p65 表达的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(20): 2289-2294.
- [12] 熊永爱, 韩 丽, 王 淼. 氧化苦参碱对大鼠溃疡性结肠黏膜细胞 NF- κ B mRNA 表达的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 375-378.
- [13] 钟振东, 熊永爱, 杨 玲. 苦参碱对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜细胞因子和自由基的影响 [J]. 中国医药生物技术, 2011, 6(4): 251-254.
- [14] 张绪慧, 郑堰心, 张 丽, 等. 氧化苦参碱对人结肠癌 SW620 细胞 p16/cyclinD1/CDK4 通路的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2201-2205.
- [15] 戴五好, 钱利武, 王丽丽, 等. 苦参碱、氧化苦参碱对小鼠的毒性研究 [J]. 安徽医药, 2012, 16(7): 904-905.
- [16] 王晓燕. 苦参碱抗大肠癌作用及机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2008.
- [17] 袁海锋, 郭 文, 朱明古, 等. 芥菜籽对氧化偶氮甲烷诱导小鼠结直肠癌的影响 [J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(3): 178-181.
- [18] Dolcet X, Llobet D, Pallares J, *et al.* NF- κ B in development and progression of human cancer [J]. *Virchows Arch*, 2005, 446(5): 475-482.
- [19] 杨 洋, 蔡雪婷, 曹 鹏. 肿瘤的化学预防治疗靶点——NF- κ B [J]. 中南医学科学杂志, 2012, 40(5): 433-439.
- [20] 李俊英, 张士猛, 周平坤. H2AX 磷酸化与去磷酸化的分子机制及其对 DNA 损伤修复反应的调节作用 [J]. 军事医学, 2013, 37(3): 227-230.
- [21] 叶 斌, 王西川, 雷 蕾, 等. p53 和 Ki67 在结直肠癌中的表达及其临床意义 [J]. 实用癌症杂志, 2013, 28(1): 42-44.
- [22] 谢兴亮, 韩 丽, 杨 明. 三种原理苦参结肠靶向微丸在大鼠体内转运及释药性能的对比研究 [J]. 中国医药生物技术, 2011, 6(4): 261-265.