

臭牡丹提取物对 H22 荷瘤小鼠体内抑瘤作用及对相关蛋白表达的影响

胡琦¹, 朱定耀¹, 谭小宁², 李勇敏², 朱克俭^{2*}

1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

2. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙 410006

摘要: 目的 研究臭牡丹提取物对 H22 实体移植瘤的抑制作用及与 B 淋巴细胞瘤/白血病-2 (Bcl-2) 和 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达的相关性。方法 皮下接种 H22 瘤株建立小鼠 H22 实体移植瘤模型。60 只荷瘤鼠随机分为模型组、5-氟尿嘧啶 (5-Fu) 组和臭牡丹高、中、低剂量 (2.18、1.09、0.55 g/kg) 组, 每组 12 只, 各组分别给予生理盐水、5-Fu (25 mg/kg, 1 次/d) 及不同浓度的臭牡丹提取物干预。连续给药 14 d 后处死, 检测小鼠体质量变化、抑瘤率及脾脏和胸腺指数; Western blot 法检测 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达水平。结果 与模型组比较, 臭牡丹高、中剂量组小鼠的肿瘤质量均显著降低 ($P < 0.01$), 胸腺和脾脏指数显著增加 ($P < 0.05$); 同时 Bax 蛋白的表达水平显著上调, Bcl-2 蛋白的表达显著降低 ($P < 0.01$)。结论 臭牡丹提取物能够抑制 H22 实体移植瘤生长, 其机制可能与上调 Bax/Bcl-2 比值和免疫调节有关。

关键词: 臭牡丹; H22 荷瘤小鼠; Bcl-2; Bax

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2019) 07-1309-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.07.009

Anti-tumor effect of *Clerodendron bungei* extract on H22 tumor-bearing mice and its effect on expression of related proteins

HU Qi¹, ZHU Dingyao¹, TAN Xiaoning², LI Yongmin², ZHU Kejian²

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, China

Abstract: Objective To study the inhibitory effect of *Clerodendron bungei* extract on H22 solid xenograft and its correlation with the expression of B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and Bcl-2 related X protein (Bax) proteins. **Methods** A mouse H22 solid xenograft model was established by subcutaneous inoculation of H22 tumor strain. Sixty tumor-bearing mice were randomly divided into model group, 5-fluorouracil (5-Fu) group and *Clerodendron bungei* high, medium and low dose groups, 12 rats in each group. Each group was given normal saline and 5-Fu (25 mg/kg, 1 time/d) and different concentrations of *Clerodendron bungei* intervention. After 14 days of continuous administration, the tumor was sacrificed, and the changes in body mass, tumor inhibition rate and spleen and thymus index were measured. Western blot was used to detect the expression levels of Bcl-2 and Bax proteins. **Results** Compared with the model group, the tumor mass of the high, middle and low dose groups of the *Clerodendron Bungei* group was significantly decreased ($P < 0.01$), and the thymus and spleen index increased ($P < 0.05$). At the same time, the expression level of bax protein was up-regulated and the expression of bcl-2 protein was decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** The *Clerodendron bungei* extract can inhibit the growth of H22 solid xenografts, and its mechanism may be related to up-regulating the ratio of bax/bcl-2 to induce apoptosis.

Key words: *Clerodendron bungei*; H22 tumor-bearing mice; Bax; Bcl-2

臭牡丹是我国常见的中草药,是我国著名中医学
家欧阳琦研究员结合多年的临床经验和科研

实践发掘出的民间治疗恶性肿瘤单方^[1-2],它分布区
域广泛,药物资源丰富,性平,味辛、苦,功能活血散

收稿日期: 2019-03-07

基金项目: 国家中医药管理重大项目(国中医药人教函[2012]228号); 湖湘欧阳氏杂病流派辨证恶性肿瘤学术经验的研究(2017XJJJ21)

第一作者: 胡琦, 博士, 讲师, 从事恶性肿瘤的中医药防治研究。Tel: 15873133225 E-mail: 151708440@qq.com

*通信作者: 朱克俭, 博士生导师, 研究员, 从事内科疑难杂症的辨证方法学研究。Tel: 0731-85920369 E-mail: zkjo0731@263.net

瘀、祛风解毒、消肿止痛。现代药理学研究发现臭牡丹化学成分包括有机酸类化合物、醇类化合物、过氧化物、甾醇类化合物、萜类化合物、挥发性成分等,具有镇静催眠、局麻、镇痛、抗炎、抑菌、抗肿瘤等药理作用^[3]。近些年中医药在抗肿瘤方面取得一定成绩,研究初步显示许多单味中药都能一定程度抑制肿瘤的发生发展^[4-6]。肝癌为常见的恶性肿瘤之一,发病率高、预后差、生存率低,其中医临床治疗方法以“化瘀解毒、消瘤散结”为主,与臭牡丹的主要功效相符合。相关研究已经发现臭牡丹对肺癌细胞的增殖或者迁移有抑制作用,毒副作用小^[7-9],且临床用于治疗非小细胞肺癌有一定的成效,是一种具有良好应用前景的抗癌中药,但是尚无对其抗肝癌的相关研究报道。本课题组通过前期体外实验研究发现^[10-11],臭牡丹提取物可以显著抑制人肝癌细胞 HepG2 的体外增殖活性,但体内实验较少涉及,也罕见文献报道。单味中药及其有效成分通过细胞毒作用、促进细胞凋亡、对细胞周期的阻滞作用以及调节机体免疫功能等作用机制成为近年来国内外抗肿瘤药物研究的焦点之一^[12-15]。为了更加深入地了解臭牡丹的体内肿瘤抑制作用,本试验利用 H22 荷瘤小鼠考察臭牡丹提取物对小鼠移植性肿瘤的体内抑制作用,观察其对肿瘤细胞凋亡相关因子 Bcl-2 和 Bax 的影响,初步探究其作用机制。

1 材料

1.1 动物及细胞株

实验动物选取 65 只 SPF 级雄性健康昆明小鼠(采购于湖南斯莱克景达实验动物公司),动物许可证号:SYXK(湘)2013-0005,体质量 18~22 g,符合湖南中医药大学实验动物伦理委员会指导原则与要求(动物伦理批号:2016060A)。上海中乔新舟生物科技有限公司购进小鼠肝癌 H22 瘤株,由湖南中医药大学心脑血管防治实验室负责传代、培养(库号 ZQ0109)。

1.2 药物

臭牡丹饮片由湖南省中医药研究院中药研究所提供,由湖南省中医药研究院中药研究所刘浩药师按照《湖南省中药材标准》鉴定其为马鞭草科大青属植物臭牡丹 *Clerodendrum bungei* Steud 的地上部分。5-氟尿嘧啶(5-Fu),旭东海普(批号 FA170405)。

1.3 主要试剂与仪器

DMEM 培养基(美国 Gibco 公司,批号 11965-

092),胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号 10099141),RIPA 裂解液(碧云天公司,批号 P0013B),Tris(美国 Sigma 公司,批号 V900483-500G),Bax、Bcl-2、 β -actin 抗体(美国 Proteintech 公司,批号分别为 50599-2-Ig、60178-1-Ig、60008-1-Ig)。H1650R 型台式高速冷冻离心机(中国湘仪公司),YT-CJ-2NB 型超净工作台(北京亚泰隆公司),FA-A 型微量电子天平(中国民桥公司),E-201-C 型精密 pH 酸度计(中国雷磁公司),164-5050 型电泳仪(美国 Bio-rad 公司),SL02 型台式冷冻离心机(中国知信仪器厂),DYCZ-24EN 型电泳槽(中国北京六一仪器厂),DYCZ-40A 型转膜仪(中国北京六一仪器厂),DHP-500 型恒温培养箱(中国光明公司)。

2 方法

2.1 臭牡丹提取物的制备

借鉴文献方法^[16],选取适量臭牡丹饮片,加水回流提取 2 次,第一次加 12 倍量水,浸泡 1 h,回流提取 1 h,第二次加 7 倍量水,回流提取 1 h,滤过,合并滤液,浓缩至每毫升相当于 2 g 生药,加 95% 乙醇至含醇量 60%,沉淀 24 h,抽滤,滤液回收乙醇至无醇味,继续浓缩至每毫升浸膏相当于 5 g 生药(经换算,1 g 浸膏相当于臭牡丹生药 4.14 g),灌装,灭菌,即得。

2.2 移植瘤模型制备

参照文献方法^[17],将 H22 细胞复苏离心后,用生理盐水稀释成 5×10^6 /mL 浓度的细胞悬液,用于小鼠腹腔接种,每只 0.2 mL,共接种 5 只,其余小鼠适应性饲养 7 d。7 d 后,脱颈处死腹水小鼠,无菌环境下抽取腹水,调整细胞浓度至 5×10^6 /mL,于 60 只小鼠右腋部皮下接种 0.1 mL,肉眼可见瘤块表示造模成功。

2.3 动物分组与给药

接种 24 h 后,将小鼠随机分为 5 组,每组 12 只。即模型组、阳性对照组和臭牡丹提取物高、中、低剂量组。臭牡丹提取物根据 60 kg 成人质量 0.5 g/kg 臭牡丹生药用量计算,高、中、低剂量分别 ig 2.18、1.09、0.55 g/kg,阳性对照组 ip 给予 5-Fu 25 mg/kg,1 次/d,对照组 ig 给予生理盐水 0.2 mL/10 g。每组每日给药 1 次,连续给药 14 d。末次给药 24 h 后称小鼠体质量,处死,完整剥离小鼠肿瘤、胸腺及脾脏组织,备用。

2.4 抑瘤率的测定

4 °C 预冷的生理盐水清洗肿瘤组织表面的血迹和组织液后称质量,分别计算瘤体积、抑瘤率。

肿瘤体积 $V(\text{mm}^3) = (\text{长} \times \text{宽}^2) / 2$

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 给药组平均瘤质量) / 模型组平均瘤质量

2.5 免疫器官指数的测定

4 °C 预冷的生理盐水清洗脾脏、胸腺表面的血迹和组织液后称质量, 分别计算脾脏指数和胸腺指数。

脾脏指数(mg/g) = 脾脏质量(mg) / 体质量(g)

胸腺指数(mg/g) = 胸腺质量(mg) / 体质量(g)

2.6 蛋白免疫印迹法检测 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达

剪取 0.025 g 肿瘤组织, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 1 次后加入 RIPA 蛋白裂解液 250 μL 提取细胞总蛋白, 采用苯二甲基氯化铵(BCA)蛋白浓度测定法进行蛋白定量, 通过聚丙烯酰胺电泳按相对分子质量大小分离, 再转移到杂交膜上, 加入封闭液 5 mL, 封闭 1.5 h, 加入一抗(1:1 000), 放入摇床, 4 °C 过夜, 将蛋白条带用 TBST 洗涤 3 次后用稀释后的二抗(1:5 000)与膜共同孵育 90 min。再用 TBST 洗 3 次后, 采用化学发光试剂曝光显影, 扫描底片, 蛋白相对表达量以灰度值比值表示。

2.7 统计学方法

SPSS 21.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据符合正态分布及方差齐性时, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 LSD 法; 数据不符合正态分布或方差不齐时, 则采用非参数检验中多个独立样本 Kruskal-Wallis H 检验。计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 臭牡丹提取物对移植瘤生长的作用

与模型组比较, 臭牡丹提取物组的瘤体质量均有不同程度的减轻, 其中中、高剂量组作用更为明显 ($P < 0.01$); 臭牡丹高剂量组与 5-Fu 组作用比较, 差异无统计学意义, 臭牡丹低、中剂量组在瘤体质量及抑瘤率方面均显著低于 5-Fu 组 ($P < 0.05$), 表

明臭牡丹能剂量相关性地抑制 H22 移植瘤的生长。见表 1。

表 1 臭牡丹提取物对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Effect of *Clerodendron bungei* extract on tumor growth of H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肿瘤质量/g	抑制率/%
模型	—	4.13±0.51	-
5-Fu	0.025	1.16±0.15**	71.91
臭牡丹提取物	0.55	3.09±0.49 [#]	25.18 [#]
	1.09	2.68±0.43 ^{##}	35.11 [#]
	2.18	1.98±0.16**	52.06

与模型组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 5-Fu 组比较: [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ (下表同)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group; [#] $P < 0.05$ vs 5-Fu group; ^{##} $P < 0.01$ (same as bellow)

3.2 臭牡丹提取物对 H22 荷瘤小鼠免疫器官的影响

由表 2 可知, 与模型组相比, 阳性对照组荷瘤小鼠胸腺指数和脾脏指数均显著降低 ($P < 0.05$), 说明 5-FU 对小鼠具有明显的免疫抑制作用; 臭牡丹高、中、低剂量组小鼠的胸腺指数和脾脏指数均较模型组升高, 其中中、高剂量组脾脏指数与模型组差异达显著水平 ($P < 0.01$), 说明臭牡丹提取物能够增大小鼠免疫器官的质量, 增强小鼠的免疫功能。

3.3 臭牡丹提取物对 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达的影响

Western blotting 分析显示, BAX 蛋白表达量显著增加, 其中中、高剂量组尤为明显 ($P < 0.01$), 且臭牡丹高剂量组与阳性组无明显差异。而 BCL-2 蛋白的表达量均减少, 高剂量组最为明显, 与模型组相比差异显著 ($P < 0.01$)。Bax/Bcl-2 蛋白比值呈现上升趋势, 与模型组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 3、图 1。

表 2 臭牡丹提取物对 H22 荷瘤小鼠胸腺指数和脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 2 Effect of *Clerodendron bungei* extract on thymus index and spleen index of H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)	脾脏指数/(mg·g ⁻¹)
模型	—	2.14±0.18	3.27±0.77
5-Fu	0.025	1.11±0.49*	1.68±0.74*
臭牡丹提取物	0.55	3.13±0.32	5.00±1.73
	1.09	3.43±0.57 ^{##}	6.33±2.13 ^{###}
	2.18	3.69±0.98 ^{##}	6.36±2.14 ^{###}

表3 臭牡丹提取物对H22荷瘤小鼠肿瘤组织中Bax和Bcl-2蛋白的表达的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)Table 3 Effect of *Clerodendron bungei* extract on the expression of Bax and Bcl-2 proteins in tumor tissues of H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	BCL-2/ β -actin	BAX/ β -actin	BAX/BCL-2
模型	—	0.454±0.009	0.332±0.035	0.731±0.008
5-Fu	0.025	0.113±0.020**	0.565±0.006**	5.000±0.098**
臭牡丹提取物	0.55	0.381±0.018	0.471±0.030*	1.236±0.012
	1.09	0.276±0.009**	0.509±0.014**	1.844±0.014**
	2.18	0.109±0.008***#	0.586±0.020**	5.376±0.104**

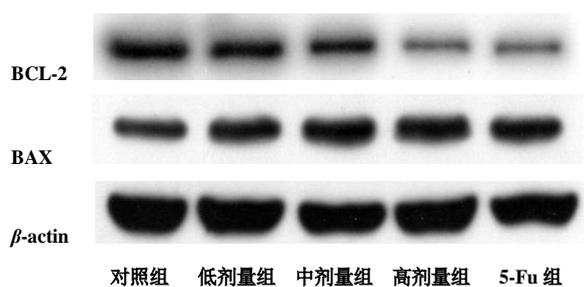


图1 Bcl-2和Bax蛋白表达电泳

Fig. 1 Bcl-2 and Bax protein expression electrophoresis

4 讨论

原发性肝癌(简称肝癌)是发生于肝脏的恶性肿瘤,位居我国十大恶性肿瘤之列,严重威胁人类生命健康。具有发现晚、发展快、治疗难、预后差的特点。其起病隐匿,但病情进展迅速,死亡率极高,自然生存期短^[18-19]。目前常用的手术或者放疗化疗等治疗方式虽起到一定作用,但治疗同时带来的副作用也大大降低患者的生活质量。近年来大量研究表明中医药在防治恶性肿瘤方面不仅有明显抑制肿瘤细胞生长作用,且可以通过多种途径增强患者自身抵抗力,降低放疗化疗副作用,起到改善患者生存质量,延长生存期等作用,一定程度上减少了肿瘤患者的痛苦。欧阳琦为著名中医学家及湖湘欧阳氏杂病流派传承人,对臭牡丹及其复方的抗肿瘤研究开始于20世纪80年代末期,通过近十年的临床及实验研究证实臭牡丹具有较好的抗肿瘤作用,在临床中常用中药臭牡丹治疗肝癌,疗效可观。

细胞凋亡(apoptosis)指机体在凋亡刺激信号作用下经过一系列信号转导途径,发生的细胞程序性变性和死亡的过程^[20],该过程的异常与肿瘤的发生、发展密切相关。细胞凋亡主要受三大途径调控^[21-22],即线粒体介导凋亡途径(内源性途径)、死亡受体介导凋亡途径(外源性途径)、内质网应激介导凋亡途径。其中线粒体凋亡途径和死亡受体激活途径是导致细胞凋亡的主要途径。在内源性凋亡

途径中,Bcl-2蛋白家族是控制线粒体释放致凋亡因子的主要调节因素^[23],其中又以Bcl-2和Bax与肿瘤有的相关性最为明显。Bcl-2基因可抑制细胞凋亡,而Bax基因是Bcl-2同源基因,能促进细胞凋亡。被称为“死亡开关”的Bax/Bcl-2的比值对细胞接受刺激信号后存活与否具有关键作用。Bcl-2/Bax比值越高,细胞生存率高,比值低,细胞凋亡率高,上调Bax或下调Bcl-2都可以促进多种肿瘤细胞凋亡^[24]。多年来研究发现,Bcl-2异常表达与淋巴瘤、乳腺癌、肝癌等多种恶性肿瘤的发生发展有关^[25-26];如研究发现^[27-29]白花蛇草注射液能够通过抑制Bcl-2蛋白表达和上调Bax蛋白表达的方式促进人肝癌SMC-7721细胞的凋亡;香叶木萜能够通过调控Bcl2/Bax比例,促进线粒体细胞凋亡通路的发生,引起HepG2细胞凋亡;杨梅醇能通过调高Bax基因的表达而抑制肝癌细胞HepG2的增殖。

课题组前期研究表明,臭牡丹提取物在体外实验中有较好的抗肝癌效果,故在本实验中,通过H22肝癌小鼠模型,进一步探讨臭牡丹提取物体内抗肝癌的作用及其可能机制。首先建立H22肝癌小鼠模型,干预治疗后处死鼠,取瘤体、脾脏、胸腺分别称重,计算抑瘤率、脾脏指数和胸腺指数。结果表明臭牡丹提取物各剂量组均可抑制瘤体的生长,使肝癌小鼠脾脏和胸腺指数升高,提示臭牡丹提取物增大小鼠免疫器官的质量,增强小鼠的免疫功能。为进一步研究其体内抑瘤机制,通过Western blotting实验发现,与模型组比较,经不同剂量臭牡丹提取物治疗后,各给药组肿瘤细胞Bax蛋白表达强度显著增加,而Bcl-2蛋白表达强度显著减小,Bax/Bcl-2蛋白比值呈现上升趋势($P<0.01$),以高剂量组最为明显。提示臭牡丹提取物可能通过提高Bax/Bcl-2蛋白表达水平而促进肿瘤细胞凋亡。

中医药治疗肝癌是从整体出发,在调节机体免疫力的基础之上,抑制肿瘤增殖、转移及复发,调整

患者的病理状态,减轻术后放疗、化疗的不良反应,改善患者症状,从而提高其生活质量,延长生存期。本实验研究显示臭牡丹提取物可以通过提高 Bax/Bcl-2 蛋白表达水平发挥体内抗肝癌效应,且在研究臭牡丹提取物体内抑制作用的同时,考察了其对小鼠免疫器官的影响,发现臭牡丹的抗癌作用不仅与凋亡相关因子有关,亦与机体免疫调节密切相关。从本实验研究结果可以看出臭牡丹的抗肝癌作用与中医“祛邪不伤正”理论相契合,体现了中医药治疗肝癌的优势所在,为臭牡丹作为抗癌药物的进一步研发提供了基本的实验和理论依据。值得注意的是,肝癌的发生机制复杂,影响因素较多,因此,对臭牡丹抗肝癌机制进行更为深入和清晰的探讨将是下一阶段的研究方向。

参考文献

- [1] 欧阳剑虹,朱克俭. 欧阳琦 [J]. 湖南中医杂志, 1997(6): 2-3.
- [2] 朱克俭,张亚利,欧阳剑虹,等. 保肺饮预防肺癌的临床流行病学研究 [J]. 中国中医药科技, 1997(6): 332-333.
- [3] 陈思勤,朱克俭,程晓燕,等. 臭牡丹化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(2): 141-142.
- [4] 洪梓德,莫志贤. 中药抗肿瘤机制中的 11 种信号通路 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21): 205-218.
- [5] 蔡利,管翰粟. 中药在抗肿瘤过程中的应用及研究进展 [J]. 中医临床研究, 2017, 9(11): 141-142.
- [6] 白云,刘萍,贾博宇,等. 中药抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 中国药师, 2014, 17(8): 1406-1409.
- [7] 余娜,朱克俭,马思静,等. 臭牡丹总黄酮对 A549 细胞增殖迁移侵袭力及 Wnt 通路相关蛋白的影响 [J]. 世界中医药, 2018, 13(4): 978-983, 987.
- [8] 余娜,朱克俭,马思静,等. 臭牡丹总黄酮通过调控 Wnt/ β -catenin 通路影响 A549 细胞上皮间质转化研究 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 663-670.
- [9] 陈思勤,朱克俭,李勇敏,等. 臭牡丹总黄酮抑制小鼠 Lewis 肺癌实体瘤及其与 p53、bcl-2、bax 表达相关性研究 [J]. 世界中医药, 2016, 11(6): 946-949.
- [10] 胡琦,朱克俭,谭小宁,等. 臭牡丹总黄酮对人肝癌 HepG2 细胞增殖作用的实验研究 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(4): 166-168.
- [11] 胡琦,谭小宁,余娜,等. 臭牡丹总黄酮介导 Wnt/ β -catenin 信号转导诱导人肝癌细胞 HepG2 的凋亡 [J]. 世界中医药, 2016, 6(2): 954-957.
- [12] Babichev Y, Kabaroff L, Datti A, et al. PI₃K/AKT/mTOR inhibition in combination with doxorubicin is an effective therapy for leiomyosarcoma [J]. J Transl Med, 2016, 14(1): 67-71.
- [13] Cho D C. Targeting the PI₃K/Akt/mTOR pathway in malignancy: rationale and clinical outlook [J]. Bio Drugs, 2014, 28(4): 373-381.
- [14] 马星,夏伟. 中药抗肝癌细胞增殖和诱导细胞凋亡的信号通路研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(8): 98-101.
- [15] 丁大伟,章永红. 以细胞凋亡通路为靶点的抗肿瘤中药研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(1): 239-241.
- [16] 周红林,刘建新,周俐,等. 臭牡丹提取物抗炎镇痛抗过敏作用的实验研究 [J]. 中国新药杂志, 2006, 15(23): 2027-2029.
- [17] 李慧乐,莫传伟,赵春辉,等. 莪术提取物榄香烯对肝癌 H₂₂ 荷瘤小鼠的抑瘤作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(11): 1345-1348.
- [18] Su T S, Lu H Z, Cheng T, et al. Long-term survival analysis in combined transarterial embolization and stereotactic body radiation therapy versus stereotactic body radiation monotherapy for unresectable hepatocellular carcinoma >5 cm [J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 834.
- [19] 诸佳瑜,陈闯,欧杰,等. 中医辨证治疗原发性肝癌的研究进展 [J]. 当代医药论丛, 2017, 15(10): 32-34.
- [20] Liang S H, Sun K, Wang Y, et al. Role of Cyt-C/caspases-9, 3, Bax/Bcl-2 and the FAS death receptor pathway in apoptosis induced by zinc oxide nanoparticles in human aortic endothelial cells and the protective effect by alpha-lipoic acid [J]. Chem Biol Interact, 2016, 258(1): 40-51.
- [21] Dou C Q, Han M M, Zhang B, et al. Chrysotoxene induces apoptosis of human hepatoblastoma HepG2 cells *in vitro* and *in vivo* via activation of the mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway [J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 4611-4618.
- [22] Lin H F, Hsieh M J, Hsi Y T, et al. Celestrol-induced apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma is associated with the activation of the death receptor and the mitochondrial pathway [J]. Oncol Lett, 2017, 14(2): 1683-1690.
- [23] 徐云峰,刘松坚. Bcl-2 家族的研究进展 [J]. 中国疗养医学, 2014, 23(10): 884-886.
- [24] Li H L, Lv B, Kong L, et al. Noval1 mediates resistance of rat pheochromocytoma cells to hypoxia-induced apoptosis via the Bax/Bcl-2/caspase-3 pathway [J]. Int J Mol Med, 2017, 40(4): 1125-1133.
- [25] 李扩,许秋然,刘欣,等. miR-204 通过下调 Bcl-2 和 Sirt1 表达抑制肝癌细胞生长 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(2): 168-172.
- [26] Williams M M, Cook R S. Bcl-2 family proteins in breast development and cancer: could Mcl-1 targeting overcome therapeutic resistance [J]. Oncotarget, 2015, 6(6): 3519-3130.
- [27] 李文婷,赵凤鸣,戴紫函,等. 白花蛇舌草注射剂抑制人肝癌细胞 SMMC-7721 增殖及调控 Bcl-2/CytC 信号通路诱导线粒体凋亡 [J]. 中成药, 2015, 37(10): 2264-2267.
- [28] 崔明宇,崔轶琼,刘媛媛,等. 香叶木苷对人肝癌 HepG2 细胞凋亡及 Bcl-2/Bax 基因表达的影响 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(11): 1958-1962.
- [29] 陈璇,童晔玲,任泽明,等. 杨梅醇对人肝癌 HepG2 细胞 Caspase-9、Bcl-2、p21 和 Bax 表达水平的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(10): 3656-3658.