

• 药理与临床 •

雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤 RPMI 8226 细胞周期及 P21wap1/cip1 和 P27kip1 表达的影响

刘媛, 陈燕, 赵菲, 李睿, 张纯*, 文璐

(华中科技大学同济医学院附属协和医院 血液科, 湖北 武汉 430022)

摘要:目的 观察雷公藤内酯醇对多发性骨髓瘤细胞 RPMI 8226 增殖和周期的影响, 探讨细胞周期调控蛋白 P21wap1/cip1 和 P27kip1 在其中的作用和意义。方法 采用 MTT 比色法和流式细胞术检测雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响, 半定量 RT-PCR 和 Western blotting 法检测 RPMI 8226 细胞中 P21wap1/cip1、P27kip1 mRNA 和蛋白表达。结果 雷公藤内酯醇能明显抑制 RPMI 8226 细胞增殖, 其抑制作用呈时间、剂量依赖性, 雷公藤内酯醇作用 48 h 的 IC_{50} 值为 $(71.18 \pm 2.01) \text{ nmol/L}$ 。雷公藤内酯醇还可以诱导 RPMI 8226 细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期, 随着雷公藤内酯醇浓度的增加, G_0/G_1 期细胞逐渐增多, S 期细胞逐渐减少。经雷公藤内酯醇干预后周期调节蛋白 P21wap1/cip1 和 P27kip1 的 mRNA 和蛋白表达水平明显上调。结论 雷公藤内酯醇可以抑制 RPMI 8226 细胞增殖, 该抑制作用是通过调控 P21wap1/cip1 和 P27kip1 的表达, 从而阻止细胞周期 G_0/G_1 期过渡实现的。

关键词: 雷公藤内酯醇; RPMI 8226 细胞; 细胞周期; P21wap1/cip1; P27kip1

中图分类号: R286.91 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)11-1819-05

Effects of triptolide on cell cycle and expression of P21wap1/cip1 and P27kip1 in human multiple myeloma RPMI 8226 cells

LIU Yuan, CHEN Yan, ZHAO Fei, LI Rui, ZHANG Chun, WEN Lu

(Department of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of triptolide on cell proliferation, cell cycle distribution, DNA and protein expression regulation of P21wap1/cip1 and P27kip1 in human multiple myeloma RPMI 8226 cells. **Methods** Cell viability was detected by MTT assay and cell cycle distribution was measured by flow cytometry. Effect on mRNA expression of P21wap1/cip1 and P27kip1 was detected by RT-PCR. The change of protein expression was measured by Western blotting. **Results** Triptolide of varying concentration significantly induced the inhibition of proliferation in a dose-dependent manner and G_0/G_1 phase arrest of the cell cycle progression. The events were coincided with the upregulation of the mRNA and protein expression of P21wap1/cip1 and P27kip1. **Conclusion** These results suggest that triptolide might exhibit its strong antitumor effect via alternation of P21wap1/cip1 and P27kip1. It provides framework for a clinical evaluation of triptolide.

Key words: triptolide; RPMI 8226 cells; cell cycle; P21wap1/cip1; P27kip1

雷公藤内酯醇 (triptolide) 是从卫矛科雷公藤属植物雷公藤中分离到的二萜内酯化合物, 是雷公藤的主要有效成分^[1-2], 对多种肿瘤具有抑制增殖、促凋亡和控制转移的作用, 其抗肿瘤作用主要是通过干预细胞周期和抗增殖作用^[3], 激活 caspase-8、caspase-9、caspase-3 和裂解 DNA 修复酶 PARP^[4], 以及直接通过上调核因子 κB 抑制蛋白 (I $\kappa B\alpha$) 抑

制核因子 κB (NF- κB) 的激活^[5]来诱导细胞凋亡。最近研究表明, 雷公藤内酯醇能够通过下调 PI3K/Akt/NF- κB 和 MAPK 通路促进人多发性骨髓瘤细胞耐地塞米松细胞株的凋亡^[6]。本研究通过观察雷公藤内酯醇抑制人多发性骨髓瘤 RPMI 8226 细胞增殖、细胞周期阻滞以及其对 P21wap1/cip1 和 P27kip1 的调控作用, 探讨其间的相互关系, 为雷公

①收稿日期: 2010-03-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30700882)

作者简介: 刘媛 (1983—), 女, 吉林人, 硕士, 主要研究方向为恶性血液病。Tel: 15050740025 E-mail: liuyuan_jilin@yeah.net

* 通讯作者 张纯 Tel: (027) 85726008 E-mail: zhangchun23@yahoo.com.cn

藤内酯醇的临床应用提供新的理论基础。

1 材料

雷公藤内酯醇, 质量分数 $\geq 98\%$ (HPLC), 购自 Sigma 公司, 用二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, 配成 $1 \mu\text{mol/mL}$, -20°C 避光保存备用。MTT、DMSO、碘化丙锭 (PI)、Hoechst 33258 荧光染液、RNaseA 均购自 Sigma 公司; RNA 抽提试剂 Trizol 和 RPMI 1640 培养基购自 Gibco BRL 公司, 胎牛血清 (FBS) 购自杭州四季青生物工程材料有限公司。氯仿、异丙醇、乙醇为国产分析纯。PT-PCR 试剂盒购自 Toyobo 公司。兔抗人单克隆抗体 P27kip1 和兔抗人多克隆抗体 P21wip1/cip1 购自美国 Cell Signaling 公司。兔抗人抗体 β -actin 和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗均购自美国 Santa Cruz 公司。人多发性骨髓瘤细胞株 RPMI 8226 由华中科技大学同济医学院免疫教研室提供。

2 方法

2.1 细胞培养及处理: RPMI 8226 细胞用含 10% FBS、青霉素 100 U/mL 、链霉素 100 U/mL 的 RPMI 1640 培养基, 37°C 、 $5\% \text{ CO}_2$ 、水饱和湿度条件下培养。每 $1 \sim 2 \text{ d}$ 换液传代 1 次, 取活细胞大于 98% 的对数生长期细胞, 细胞悬液终浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 分别与不同浓度的雷公藤内酯醇共同培养后, 检测各项指标。

2.2 MTT 比色法检测细胞增殖: 将处于对数生长期的 RPMI 8226 细胞 ($1 \times 10^5/\text{mL}$) 接种于 96 孔板, 每孔 $200 \mu\text{L}$, 设 5 个平行孔, 经 30、60、120 nmol/L 雷公藤内酯醇分别处理 24、36、48 h 后, 加入 5 mg/mL MTT $20 \mu\text{L}$, 37°C 继续孵育 4 h, 小心吸去培养上清液, 每孔加入 $150 \mu\text{L}$ DMSO, 震荡 10 min, 使结晶充分溶解后用 Bio-Rad M450 酶标仪于 492 nm 波长处检测各孔吸光度 (A) 值, 计算细胞增殖抑制率 [增殖抑制率 = $(1 - \text{实验组 } A \text{ 值} / \text{对照组 } A \text{ 值}) \times 100\%$]。实验重复 3 次。

2.3 流式细胞术检测细胞周期: 收集分别经 0、30、60、120 nmol/L 雷公藤内酯醇作用 24 h 的 RPMI 8226 细胞 1×10^6 个, 以 PBS 缓冲液清洗 2 次, 用 70% 冷乙醇 4°C 固定过夜, 离心, 用 PBS 洗 1 次, 加入 $20 \mu\text{L}$ RNaseA 于 37°C 水浴 30 min, 再加入 $300 \sim 500 \mu\text{L}$ PI 染液混匀, 至 4°C 避光 30 min, 用流式细胞仪 (美国 Becton Dickinson 公司) 进行检测, 记录激发波长 488 nm 处的红色荧光。

2.4 RT-PCR 方法检测 P21wip1/cip1 和 P27kip1 mRNA 表达: Trizol 法提取细胞总 RNA, 按说明书

合成 cDNA, 以细胞 cDNA 的第一链为模板, 进行 PCR 反应。P21wip1/cip1 的 PCR 扩增条件为: 94°C 、5 min, 94°C 、30 s, 55°C 、30 s, 72°C 、30 s, 循环 32 次; 72°C 延伸 7 min, 4°C 保存。P27kip1 的 PCR 扩增条件为: 94°C 、5 min, 94°C 、30 s, 60°C 、30 s, 72°C 、30 s, 循环 32 次; 72°C 延伸 7 min, 4°C 保存。 β -actin 的 PCR 扩增条件为: 94°C 、5 min, 94°C 、30 s, 60°C 、30 s, 72°C 、30 s, 循环 32 次; 72°C 延伸 7 min, 4°C 保存。PCR 产物的电泳分析: 取 $5 \mu\text{L}$ 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外照相并进行扫描分析, 以 β -actin 为对照进行 P21wip1/cip1 和 P27kip1 mRNA 表达水平的半定量分析。

P21wip1/cip1 的引物序列: 上游为 $5'$ -GGATGTCCGTCAGAACCCA- $3'$, 下游为 $5'$ -CAGGTGCACATGGTCTTCG- $3'$, 扩增产物为 399 bp。P27kip1 的引物序列: 上游为 $5'$ -CCGGCTAACTCTGAGGACAG- $3'$, 下游为 $5'$ -CCGGCTAACTCTGAGGACAG- $3'$, 扩增产物为 224 bp。 β -actin 的引物序列: 上游为 $5'$ -GAGCTACGAGCTGCCTGACG- $3'$, 下游为 $5'$ -CCTAGAAGCATTTGCGGTGG- $3'$, 扩增产物为 416 bp。

2.5 Western blotting 方法检测 P21wip1/cip1 和 P27kip1 蛋白表达水平: 收集分别经 0、30、60、120 nmol/L 雷公藤内酯醇处理 24 h 的 RPMI 8226 细胞, 离心, PBS 洗涤 2 次, 去除洗涤缓冲液, 加入裂解缓冲液, 冰上放置 30 min, 4°C 下 $12\ 000 \text{ r/min}$ 离心 15 min, 取上清用 BCA 法进行蛋白定量, 等量分装后 -80°C 保存。蛋白提取物经定量后, 取 $30 \mu\text{g}$ 在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 凝胶上电泳。然后转膜到醋酸纤维素膜上, 丽春红染色观察转膜情况。转膜成功后用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。加一抗 P21wip1/cip1 和 P27kip1 抗体, 在 4°C 条件下过夜。用 TBST (含 Tris-Buffer solution with Tween 缓冲液) 充分漂洗 3 次, 每次 10 min, 再加二抗 ($1:2\ 000$ 稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG) 震荡孵育 2 h。洗去未结合的二抗, 滴加 ECL 化学发光试剂, X 射线曝光显影。扫描 X 光片, 计算机软件处理, 进行分析, 计算灰度值。

2.6 统计方法: 应用统计学软件 SPSS 13.0 进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 对多发性骨髓瘤细胞 RPMI 8226 细胞增殖的影响: 分别以 30、60、120 nmol/L 雷公藤内酯醇作用 RPMI 8226 细胞后, 各处理组的增殖活性明显低

于对照组。随着雷公藤内酯醇作用时间和作用浓度的逐渐增加,雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞的增殖抑制作用逐渐增强,见图 1,其作用 48 h 的 IC_{50} 值为 (71.18 ± 2.01) nmol/L。

3.2 对 RPMI 8226 细胞周期的影响: 雷公藤内酯

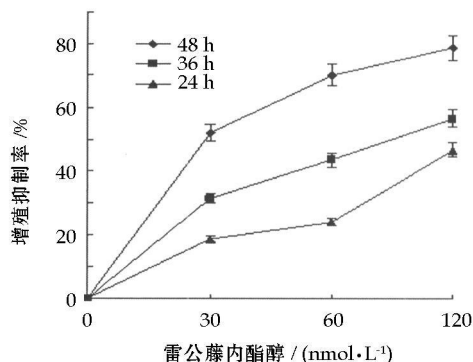


图 1 雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Fig. 1 Inhibition of triptolide on proliferation of RPMI 8226 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

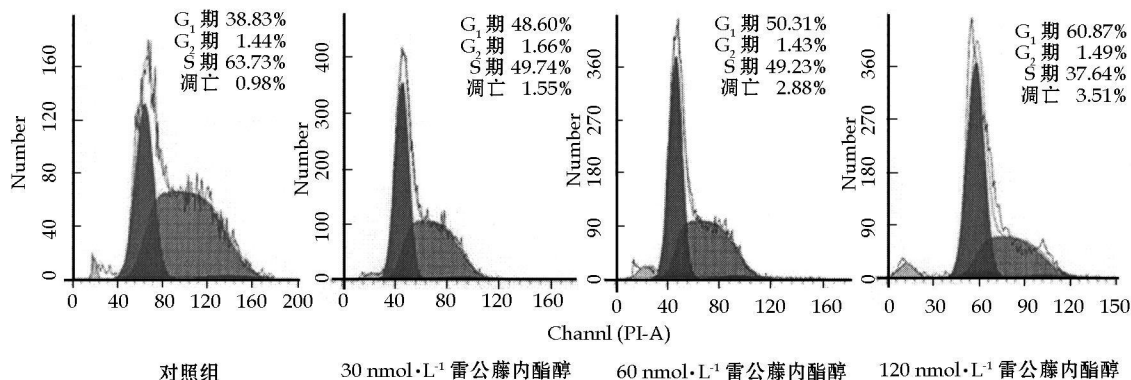
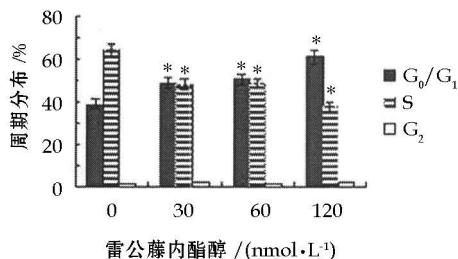


图 2 雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞周期的影响

Fig. 2 Effect of triptolide on cell cycle of RPMI 8226 cells



与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

图 3 雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 3 Effect of triptolide on cell cycle of RPMI 8226 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

醇诱导 RPMI 8226 细胞周期阻滞于 G₀/G₁期,随着雷公藤内酯醇浓度的增加, G₀/G₁期细胞比例越来越多,相应的 S 期细胞数量逐渐减少,而 G₂/M 期细胞数改变不明显。此外,随着雷公藤内酯醇浓度的增加,亚二倍体峰(凋亡峰)越来越明显,见图 2。雷公藤内酯醇阻滞 RPMI 8226 细胞周期于 G₀/G₁期作用具有良好的量效关系,见图 3。

3.3 对 RPMI 8226 细胞 P21w ap1/cip1 和 P27kip1 mRNA 表达的影响: RPMI 8226 细胞分别经 30、60、120 nmol/L 雷公藤内酯醇处理 24 h 后, P21w ap1/cip1 和 P27kip1 mRNA 表达有逐渐增强的趋势,条带逐渐变亮(图 4)。每组实验重复 3 次,与对照组相比均有显著差异 ($P < 0.05$)。

3.4 对 RPMI 8226 细胞 P21w ap1/cip1 和 P27kip1 蛋白表达的调控作用: 研究表明,以 0、30、60、120 nmol/L 的雷公藤内酯醇作用 RPMI 8226 细胞 24 h 后,随着药物浓度的增加,细胞内 P21w ap1/cip1 和 P27kip1 蛋白表达量逐渐增加。每组实验重复 3 次,与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$),见图 5。

4 讨论

雷公藤内酯醇是从雷公藤属植物雷公藤中分离提取的一种环氧二萜类化合物,可以通过干预和调节细胞周期,抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡而发挥抗肿瘤作用^[7-8]。本实验以体外培养的人多发性骨髓瘤细胞 RPMI 8226 作为研究对象,观察雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞的生长抑制和诱导凋亡作用,并探讨其可能的机制。

本研究发现雷公藤内酯醇能明显抑制 RPMI 8226 细胞的增殖,且与药物作用浓度和作用时间呈正相关;流式细胞术检测细胞周期结果显示,雷公藤内酯醇诱导 RPMI 8226 细胞周期阻滞于 G₀/G₁期,

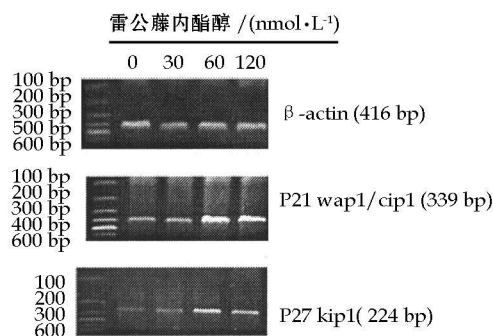
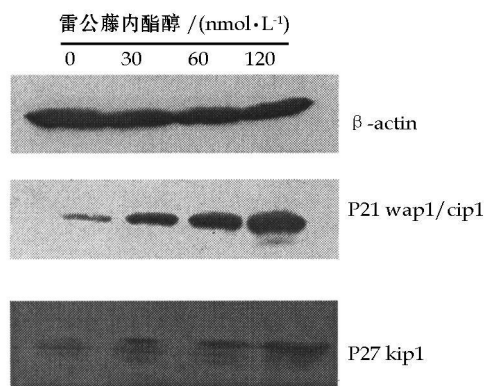
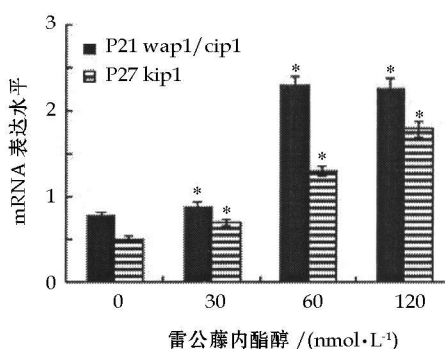
与对照组比较: * $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group图4 雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞内 P21wap1/cip1、P27kip1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Fig. 4 Effect of triptolide on mRNA expression of P21wap1/cip1 and P27kip1 in RPMI 8226 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

图5 雷公藤内酯醇对 RPMI 8226 细胞 P21wap1/cip1 和 P27kip1 蛋白表达的影响

Fig. 5 Effect of triptolide on protein expression of P21wap1/cip1 and P27kip1 in RPMI 8226 cells

随着雷公藤内酯醇浓度的增加, G_0/G_1 期细胞逐渐增加, S 期细胞逐渐减少, 并且细胞凋亡率逐渐增加。另外随着雷公藤内酯醇浓度的增加, P21wap1/cip1、P27kip1 的 mRNA 和蛋白表达水平逐渐增加, 提示雷公藤内酯醇的抗肿瘤作用与其抑制增殖、诱导凋亡和干扰周期有关。

细胞周期的进程是一个高度有序、紧密调节的进程, 细胞周期依赖激酶 (cyclin dependent kinase, CDK) 控制绝大多数真核生物细胞周期的进展, P21wap1/cip1 和 P27kip1 是普遍的 CDK 抑制剂, 控制细胞周期的 G_1/S 调控点, 抑制细胞增殖, 在肿瘤的发生、发展过程中起着重要作用^[9-10]。细胞在增殖分裂过程中, P21wap1/cip1 和 P27kip1 是 G_1/S 限制点的负性调控因素, 其过度表达可以抑制 cyclin、CKD 或 cyclin-CDK 复合物的蛋白激酶活性, 阻碍细胞从 G_0/G_1 进入 S 期, 从而使细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期, 减少 DNA 合成和有丝分裂, 抑制



细胞增殖, 促进分化。研究表明, 许多诱导分化剂如维甲酸、组蛋白去乙酰化酶抑制剂等都是通过调控 P21wap1/cip1、P27kip1 的表达影响细胞增殖、生长和分化^[11-12]。P21wap1/cip1 可以抑制 CDK2、CDK4 和 CDK6 的活性, 从而使细胞停滞于 G_0/G_1 期, 不能进入 S 期^[13]。另有研究表明, P27kip1 可以阻止 RB 蛋白磷酸化而影响细胞周期进程, 从而抑制细胞生长^[14]。P27kip1 也通过抑制 cyclin E/CDK2 和 cyclin D/CDK4 等激酶复合物的活性, 阻滞细胞由 G_0/G_1 期向 S 期转化的^[15]。本实验结果显示, 在 RPMI 8226 细胞中 P21wap1/cip1、P27kip1 呈低表达, 经不同浓度的雷公藤内酯醇处理后, 其 mRNA 和蛋白水平均以浓度依赖方式逐渐增加, 这表明雷公藤内酯醇可以通过上调 P21wap1/cip1 和 P27kip1 表达, 发挥其细胞增殖抑制和周期阻滞作用。

参考文献:

- [1] 张文娟, 涂胜豪, 胡永红, 等. 正常人外周血单个核细胞对雷公藤内酯醇的耐药特征和机制的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(4): 601-605
- [2] 王曙东, 宋炳生, 李克. 雷公藤内酯醇在组织器官移植中的研究 [J]. 中草药, 2003, 34(10): 附 22 附 23
- [3] Yang S, Chen J, Guo Z, *et al.* Triptolide inhibits the growth and metastasis of solid tumors [J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(1): 65-72
- [4] Choi Y J, Kim T G, Kim Y H, *et al.* Immunosuppressant PG490 (triptolide) induces apoptosis through the activation of caspase 3 and down regulation of XIAP in U 937 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(2): 273-280
- [5] Lou Y J, Jin J, Wang Y G. Triptolide inhibits transcription factor NF- κ B and induces apoptosis of multiple myeloma cells [J]. *Leuk Res*, 2005, 29(1): 99-105
- [6] Yang M, Huang J, Pan H Z, *et al.* Triptolide overcomes dexamethasone resistance and enhanced PS-34F induced apoptosis via PI3K/Akt/NF- κ B pathways in human multiple myeloma cells [J]. *Int J Mol Med*, 2008, 22(4): 489-496
- [7] Carter B Z, Mak D H, Schober W D, *et al.* Triptolide

- induces caspase dependent cell death mediated via the mitochondrial pathway in leukemia cells [J]. *Blood*, 2006, 108 (2): 630-637.
- [8] Liang M, Fu J. Triptolide inhibits interferon gamma induces programmed death ligand 1 surface expression in breast cancer cell [J]. *Cancer Lett*, 2008, 270(2): 337-341.
- [9] Le Sage C, Naqel R, Egan D A, *et al.* Regulation of the P27 (Kip) tumor suppressor by miR-221 and miR-222 promotes cancer cell proliferation [J]. *EMBO J*, 2007, 12: 1-5.
- [10] Liu Y, Xi L, Liao G, *et al.* Inhibition of PC cell-derived growth factor (PCDGF)/granulin epithelin precursor (GEP) decreased cell proliferation and invasion through down regulation cyclin D and CDK4 and inactivation of MMP-2 [J]. *BMC Cancer*, 2007, 29(7): 22-26.
- [11] Lee W K, Kim H J, Lee Y S, *et al.* Acteoside inhibits human promyelocytic HL-60 leukemia cell proliferation via cell cycle arrest at G₀/G₁ phase and differentiation into monocyte [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28: 1928-1936.
- [12] Vuocolo S, Soprano D R, Soprano K J, *et al.* P21/kip mediates retinoic acid induced suppression of ovarian carcinoma cell growth [J]. *Cell Physiol*, 2004, 199: 237-243.
- [13] Onumah, George E J, Zhao Y F, *et al.* Overexpression of catalase delays G₀/G₁ to S phase transition during cell cycle progression in mouse aortic endothelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46: 1658-1667.
- [14] Srirupa R, Malikarjuna G, Kumaraguruparan R, *et al.* p21/Cip1 and p27/Kip1 are essential molecular targets of inositol hexaphosphate for its antitumor efficacy against prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 1166-1173.
- [15] Kim D H. Prognostic implications of cyclin B1, p34cdc2, p27 (kip1) and p53 expression in gastric cancer [J]. *Yonsei Med J*, 2007, 48: 694-700.

藤黄酸诱导胃癌细胞凋亡及抗肿瘤转移的实验研究

黄恺飞*

(厦门市医药研究所 药物研发中心, 福建 厦门 361003)

摘要:目的 研究藤黄酸对人胃癌 BGC-803 细胞增殖和转移相关能力的影响及其机制。方法 MTT、Hoechst 染色法检测藤黄酸对 BGC-803 细胞的增殖和凋亡的影响; 侵袭小室模型等方法检测藤黄酸对 BGC-803 细胞侵袭、黏附、迁移的影响; 运用 RT-PCR、Western blotting 法分析藤黄酸对胃癌细胞凋亡和转移相关基因 bcl-2、bax、细胞黏附分子 1 (ICAM-1) mRNA 和蛋白表达的影响。结果 藤黄酸抑制 BGC-803 细胞的生长, 其抑制率与药物浓度及作用时间呈依赖关系。低浓度的藤黄酸处理 BGC-803 细胞后, 可明显降低胃癌细胞的黏附、迁移和侵袭能力。随着藤黄酸浓度的增大, bcl-2、ICAM-1 mRNA 和蛋白表达均下调, bax mRNA 和蛋白表达上调。结论 藤黄酸对胃癌细胞 BGC-803 有明显的生长抑制作用, 具有显著的促肿瘤细胞凋亡作用和抑制肿瘤细胞转移相关性质, 其机制可能与下调 bcl-2、ICAM-1 及上调 bax 的表达有关。

关键词: 藤黄酸; 肿瘤; 侵袭; 细胞凋亡; 转移

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)11-1823-06

Experimental study on gambogic acid induced gastric cancer cell apoptosis and anti tumor metastasis

HUANG Kai-fei

(Drug R & D Center, Xiamen Medicine Research Institute, Xiamen 361003, China)

Abstract: Objective To investigate the inhibition of gambogic acid on proliferation and metastasis ability of BGC-803 cells and to study their preliminary mechanism further. **Methods** Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) and Hoechst staining were used to study the effects of gambogic acid induced apoptosis in gastric cancer cell line BGC-803; Invasive methods were used to study the effects of invasion, adhesion, migration by gambogic acid; The influence of gambogic acid on the expression of bcl-2, bax, and ICAM-1 gene in gastric cancer cells was evaluated by RT-PCR and Western blotting. **Results** Gambogic acid was found not only to inhibit the growth of BGC-803 cells but also to induce the cell apoptosis in a dose and time dependent manner. The ability of adhesion, migration, and invasiveness was clearly inhibited by gambogic acid. With the increase of gambogic acid concentration, the expression of bcl-2, ICAM-1 gene, and protein were down regulated and the expression of bax gene and protein were up regulated. **Conclusion** Gambogic acid could inhibit the growth of gastric cancer cells BGC-803 significantly, have a significant role

①收稿日期: 2010-02-05

作者简介: 黄恺飞(1982—), 男, 安徽桐城人, 研究实习员, 硕士研究生, 现工作于厦门市医药研究所, 主要从事药物研发等相关工作。Tel: (0592) 2050262 E-mail: hkf5306@163.com