

平阳霉素诱导人脐静脉血管内皮细胞 HUVEC 凋亡的作用机制

佟 笑 夏思文 康宗辉 胡献惠 薛向阳 黄益灯

摘 要 **目的** 检测不同浓度平阳霉素(pingyangmycin,PYM)作用 24h 对人脐静脉血管内皮细胞 HUVEC 细胞的生长抑制及凋亡的影响,探讨平阳霉素诱导 HUVEC 细胞凋亡最佳浓度及有关作用机制。**方法** 用不同浓度的平阳霉素作用 HUVEC 细胞 24h,以细胞增殖-毒性 8 检测试剂盒(cell counting kit-8,CCK-8)检测比较 0.1、10、100、1000 μ g/ml 平阳霉素作用 24h 后对 HUVEC 细胞的抑制作用,用膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶细胞凋亡检测试剂盒(Annexin-V FITC/PI apoptosis kit)检测不同浓度 PYM 对 HUVEC 细胞凋亡作用的影响,蛋白印迹法(Western blot)检测不同浓度平阳霉素作用 HUVEC 细胞后内质网应激蛋白 GRP78 和 CHOP 的表达。**结果** CCK-8 结果显示随平阳霉素浓度的升高,对 HUVEC 细胞的抑制作用越明显($P < 0.05$);然平阳霉素药物浓度 100 μ g/ml 和 1000 μ g/ml 组相比,差异无显著性统计学意义($P > 0.05$)。流式细胞检测显示 0.1、1、10、100 μ g/ml 平阳霉素作用 24h 后细胞凋亡率分别为 5.37% $\pm$ 1.63%、12.70% $\pm$ 1.57%、24.70% $\pm$ 6.99%、23.60% $\pm$ 0.80%,坏死率分别为 4.87% $\pm$ 2.09%、7.32% $\pm$ 3.88%、39.10% $\pm$ 6.18%、66.30% $\pm$ 0.40%,随药物浓度增加而增高,过高浓度细胞坏死占主导,和对照组相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$);Western blot 法结果显示,平阳霉素各浓度作用 24h 后促进内质网应激蛋白 GRP78 和 CHOP 的表达。**结论** 平阳霉素在体外能明显抑制 HUVEC 细胞生长并促进其凋亡,当平阳霉素浓度达到 100 μ g/ml 时,细胞以坏死为主;平阳霉素可能通过内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)途径诱导 HUVEC 细胞凋亡。

关键词 血管瘤 平阳霉素 糖调节蛋白 78 C/EBP 同源蛋白 内质网应激

中图分类号 R762;R979.14

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.05.020

Apoptotic Relevant Mechanisms of Human Umbilical Vein Endothelial Cells Induced by Pingyangmycin. Tong Xiao, Xi Siwen, Kang Zhonghui, et al. Department of the First Clinical College of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract **Objective** To investigate the viability and apoptosis effect of Pingyangmycin (PYM) on cultured human umbilical vein endothelial cells(HUVEC) in vitro and the possible mechanism. **Methods** CCK-8 reagents was performed to detect the inhibition of HUVEC with 0.1,1,10,100,1000 μ g/ml of PYM for 24h. The apoptosis and necrosis of HUVEC were detected through flow Cytometry. Western blot assay were used to determine GRP78,CHOP by 0.1,1,10,100 μ g/ml of PYM for 24h. **Results** CCK-8 reagents showed that HUVEC were inhibited more significantly with increasing PYM concentration ($P < 0.05$). Annexin V and propidium iodide(PI) staining show that the apoptosis rates of HUVEC induced by 0.1,1,10,100 μ g/ml of PYM for 24h were 5.37% $\pm$ 1.63%, 12.70% $\pm$ 1.57%, 24.70% $\pm$ 6.99%, 23.60% $\pm$ 0.80%, necrosis rate were 4.87% $\pm$ 2.09%, 7.32% $\pm$ 3.88%, 39.10% $\pm$ 6.18%, 66.30% $\pm$ 0.40%. The higher concentration may lead necrosis of cells. Western blot analysis showed that PYM prompted Endoplasmic reticulum stress proteins GRP78,CHOP express. **Conclusion** PYM can inhibit HUVEC cells in vitro effectively in a concentration-dependent manner. The reason that PYM induce the apoptosis of HUVEC cells might be through endoplasmic reticulum stress.

Key words Angioma;Pingyangmycin(PYM);Glucose-regulated protein 78 (GRP78);C/EBP homologous protein(CHOP);Endoplasmic reticulum stress(ERS)

平阳霉素是由我国研究者自主研制并投入临床

应用的抗肿瘤药物,其化学名称为 N-[3-(4-氨基丁酸)氨基]丙氨基博来霉素 A5,是博来霉素类抗肿瘤药物的新品种。临床研究表明,平阳霉素用于治疗头颈部血管瘤具有疗效高、毒性不良反应小、操作简便,头颈部功能保存好等优点,受到医学界青睐^[1]。但对其治疗血管瘤分子机制的研究报道较少。本研究旨在探讨平阳霉素诱导人脐静脉血管内皮细胞凋亡的作用及机制,为平阳霉素在临床上治疗

基金项目:全军十二五基金资助项目(面上项目)(CWS11J256);南京军区重大专项基金资助项目(15ZD010)

作者单位:325000 温州医科大学第一临床学院(佟笑、黄益灯);325000 温州,中国人民解放军第 118 医院耳鼻咽喉头颈外科(夏思文、康宗辉、胡献惠);325000 温州医科大学分子病毒与免疫研究所(薛向阳)

通讯作者:黄益灯,主任医师,电子信箱:huang_yideng@126.com

血管瘤提供理论基础和新的线索。

材料与方法

1. 主要试剂及仪器:0.25%胰蛋白酶、胎牛血清、PBS、RPMI1640 细胞培养液,购自美国 Gibco 公司产品;膜联蛋白 V - 异硫氰酸荧光素/碘化丙啶细胞凋亡检测试剂盒 (Annexin - V FITC/PI apoptosis kit) 购自美国 BD Biosciences Pharmingen 产品;细胞增殖 - 毒性 8 检测试剂盒 (cell counting kit - 8, CCK - 8) 购自日本同仁堂;注射用盐酸平阳霉素购自天津太河制药有限公司;小鼠抗兔 GAPDH 单克隆抗体购自杭州至贤生物有限公司;小鼠抗 CHOP 单克隆抗体购自 Abcam 公司产品、兔抗 GRP78 单克隆抗体购自 CST 公司产品。3111 型 CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司);流式细胞仪 (美国 BD 公司);DYY - 6C 电泳仪 (北京市六一仪器厂)。

2. 细胞培养:常规方法复苏冻存 HUVEC 细胞,配置含 10% 胎牛血清、1% 100U/ml 青霉素及 100mg/ml 链霉素双抗液的 RPMI1640 完全培养液,在 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养,约 70% ~ 80% 细胞融合时,以质量浓度为 0.25% 的胰蛋白酶消化传代。

3. PYM 溶液的配制:将无菌 PYM 粉剂预先用适量 PBS 溶解,配制成浓缩原 (2 × 10³ μg/ml),4℃ 储存备用,实验前用无血清 RPMI1640 培养液将原液稀释成实验所需浓度。

4. CCK - 8 检测 PYM 对 HUVEC 细胞增殖的抑制:取 HUVEC 对数生长期细胞分别接种于 96 孔平板中,将平板置于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中培养,至约 60% ~ 70% 细胞融合时。吸出上清液,加入平阳霉素无血清培养液 200 μl,使得平阳霉素终浓度为 0.1、1、10、100、1000 μg/ml。实验中每个浓度设 5 个复孔,空白组为等量无血清培养液,继续培养 24h。各孔加入 10 μl CCK - 8 试剂,在培养箱中培养 3h,在 450/630nm 双波长酶标仪检测吸光度值 (A)。计算作用 24h 后各药物不同浓度处理条件下对 HUVEC 细胞的抑制率 (IR) 公式:细胞抑制率 (IR) = [1 - (实验组吸光值 - 空白组吸光值) / (对照组吸光值 - 空白组吸光值)] × 100%,实验重复 3 次取平均值。

5. 流式细胞术检测细胞凋亡率:收集 0.1、1、10、100 μg/ml PYM 作用 24h 的细胞和对照组细胞,用 0.01mmol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤离心 2 次,收集于 EP 管中。各管加入 200 μl Annexin V - FITC 结合液重悬细胞;加入 Annexin V - FITC 染 5 μl 和 PI 染液各 5 μl,空白对照组只加 200 μl Annexin V - FITC

结合液重悬细胞;避光染色 15min 后,冰浴避光反应 10min,流式细胞仪检测、分析。

6. Western blot 法检测 GRP78、CHOP:收集 0.1、1、10、100 μg/ml PYM 作用 24h 后细胞,离心 (1000r/min, 5min),收集贴壁和培养液中的的所有细胞, PBS 洗涤,离心,去上清,每管中加入 150 μl 预冷的 RIPA 细胞裂解液,混匀,然后冰上裂解 30min; 12000r/min,离心 10min,取上清到另一个干净离心管,并分装,BCA 法测细胞总蛋白浓度。然后进行 SDS - PAGE 电泳,再将其转移到 PVDF 膜上,脱脂牛奶封闭 1.5h,加入 CHOP (1:1000) 抗体、GRP78 (1:1000) 抗体 4℃ 孵育过夜,洗膜后,分别加入羊抗兔 (1:5000)、羊抗兔 (1:5000) 抗体 37℃ 孵育 1.5h,洗膜后,采用 ECL 试剂盒曝光后显影,以 GAPDH (全称) 的表达水平作为内部参考。

7. 统计学方法:应用 SPSS 20.0 统计软件进行数据的统计和分析。所有数据都用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,所有数据都通过软件完成。采用单因素方差分析,用独立样本 *t* 检验分析两组数据的差别,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. PYM 对细胞生存率的影响:PYM 作用 24h 后对 HUVEC 有明显的抑制作用, PYM 药物浓度在 0.1、1、10、100 μg/ml 时,随着药物浓度的提高,抑制作用越明显,呈现剂量 - 效应关系,各组间相比,差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 当 PYM 药物浓度为 100 μg/ml 时,对 HUVEC 的抑制率为 91.24%, 药物浓度为 1000 μg/ml 时,抑制率为 92.39%, 两组相比差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 如图 1 所示。

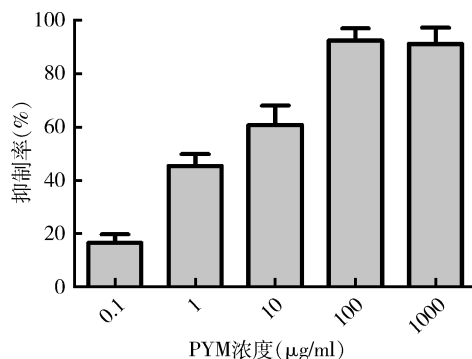


图 1 不同浓度 PYM 作用 24h 后对 HEVC 的抑制作用

2. PYM 对 HUVEC 细胞凋亡的诱导作用:用 PI/Annexin V 双染料标记,利用流式细胞仪检测凋亡细胞。PYM 作用 24h 后可见早期凋亡、晚期凋亡和坏

死细胞在不同象限呈现出来,正常的活细胞不被 Annexin V - FITC 和 PI 染色(图中左下部分 Q4);凋亡早期的细胞仅被 Annexin V - FITC 染色,PI 染色呈阴性(图中右下部分 Q3);坏死细胞和凋亡晚期的细胞可以同时被 Annexin V - FITC 和 PI 染色(图中右上部分 Q2)。图中左上部分(Q1)出现的是许可范围内的检测误差。对照组细胞早期凋亡率为 $1.59\% \pm 0.56\%$,PYM 浓度在 0.1、1、10、100 $\mu\text{g/ml}$ 时的早期凋亡率分别为 $12.70\% \pm 1.57\%$ 、 $24.70\% \pm 6.99\%$ 、 $23.60\% \pm 0.80\%$,晚期凋亡率和坏死率分别为 $4.87\% \pm 2.09\%$ 、 $7.32\% \pm 3.88\%$ 、 $39.10\% \pm 6.18\%$ 、 $66.30\% \pm 0.40\%$;当 PYM 浓度在 0.1、1、10 $\mu\text{g/ml}$ 时随着 PYM 浓度提高细胞凋亡率增加,各组间相比, $P < 0.05$,当 PYM 浓度的达到 100 $\mu\text{g/ml}$ 细胞以坏死占主导地位,如图 2 所示。

3. PYM 影响 HUVEC 细胞 GRP78、CHOP 蛋白的表达:0.1、1、10、100 $\mu\text{g/ml}$ PYM 作用 24h 后能 GRP78、CHOP 蛋白的表达明显增加,与对照组相比,差异具有统计学意义(P 均 < 0.05),且随着药物浓度的增加,GRP78、CHOP 蛋白的表达增加,PYM 为 10 $\mu\text{g/ml}$ 达到高峰,PYM 为 100 $\mu\text{g/ml}$ 时表达下降($P < 0.05$),如图 3 所示。

讨 论

血管瘤是头颈部体表及腔内常见的良性肿瘤之一,严重影响患者的容貌和器官功能,甚至并发大出血或呼吸道梗阻而危及生命^[2,3]。平阳霉素是由平阳链霉素产生的博来霉素(bleomycin,BLM)类细胞毒性糖肽抗肿瘤抗生素,100 多篇国内文献报道平阳霉素用于治疗血管瘤疗效显著^[4]。研究表明,平阳霉素可通过诱导血管内皮细胞凋亡而发挥治疗血管瘤的疗效,然而平阳霉素诱导细胞凋亡的信号通路尚未见报道^[5,6]。本实验 CCK-8 结果证实,平阳霉素能剂量依赖性地抑制 HUVEC 细胞生长,但当 PYM 药物浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 时,对 HUVEC 细胞的抑制率达到了 91.24%,和药物浓度为 1000 $\mu\text{g/ml}$,两组相比差异没有统计学意义($P > 0.05$,图 1)。

考虑到药物浓度 100 $\mu\text{g/ml}$ 、1000 $\mu\text{g/ml}$ 两组间差异无统计学意义($P > 0.05$),笔者以 0.1、1、10、100 $\mu\text{g/ml}$ 的 PYM 浓度进行后续试验。进一步采用 PI/Annexin V 双染法检测细胞凋亡,结果表明当 PYM 浓度在区间(0.1~10.0 $\mu\text{g/ml}$)时,细胞凋亡率增加幅度最大,细胞死亡以凋亡为主,当 PYM 浓度达到 100 $\mu\text{g/ml}$ 时,细胞死亡以坏死为主导地位(图 2)。

因此,根据 PYM 作用于 HUVEC 细胞的剂量-效应的关系,选择合适的浓度使 PYM 最大效应的发挥其促凋亡作用,这对临床上局部注射平阳霉素血管瘤治疗后的炎性反应、外观的恢复以及安全性具有重要意义。

内质网是细胞内蛋白质合成、加工、转运以及储存 Ca^{2+} 的场所,缺氧、氧化应激、细胞毒性物质、营养缺乏等因素可引起未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网腔内积聚以及钙平衡失调,称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)。内质网应激早期通过激活未折叠蛋白质反应(unfolded protein response,UPR)以保护由内质网应激所引起的细胞损伤。持续或强烈的应激损伤了内质网的功能时,会激活下游的凋亡信号分子,如 CHOP、JNK、caspase 家族等通路诱导细胞凋亡^[7]。UPR 是由分子伴侣 GRP78 和内质网应激感受蛋白 PERK(PKR-like ERkinase)、ATF6(activating transcription factor 6)、IRE-1(inositol-requiring enzyme 1)介导。无 ERS 时 GRP78 和这 3 种蛋白结合处于无活性的状态,ERS 存在时,未折叠蛋白在内质网内堆积使 GRP78 从这 3 种跨膜蛋白上解离,转而去结合未折叠蛋白,促进蛋白的正确折叠^[8]。

GRP78 作为内质网稳态的感受器,是启动 ERS 和内质网稳态调节的关键因子之一,被广泛认为是 ERS 激活的标志分子^[9]。GRP78 的表达在一定程度上可反映 ERS 的启动和稳态调节功能,因此,GRP78 在细胞的表达变化可间接反映 ERS 程度。笔者通过 Western blot 法检测 PYM 作用 24h 后 GRP78 蛋白在各组中的表达发现,PYM 作用后各组 GRP78 表达均高于对照组($P < 0.05$),表明 PYM 作用于 HUVEC 细胞促发了 ERS。当 PYM 浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 时 GRP78 的表达降低,这提示内质网应激分子伴侣 GRP78 的表达是有限的,发挥稳定内质网稳态的作用也是有一定限度的。

严重或长时间的 ERS 损伤了内质网的功能时,细胞促凋亡机制占主导地位。CHOP 属 CEBP 转录因子家族成员,是内质网应激特异的转录因子,其在细胞生长停止和细胞死亡中起重要作用^[10]。在非应激状态下,它的表达水平很低,而在 ERS 中,其表达量大大增加,过量表达的 CHOP 能促进细胞凋亡^[11]。启动 UPR 的 3 条信号通路可以激活 ATF6、促进 ATF4 以及 X 盒结合蛋白 1(X-box binding protein, XBP1)的表达,从而减缓或暂停蛋白质的合成、加速

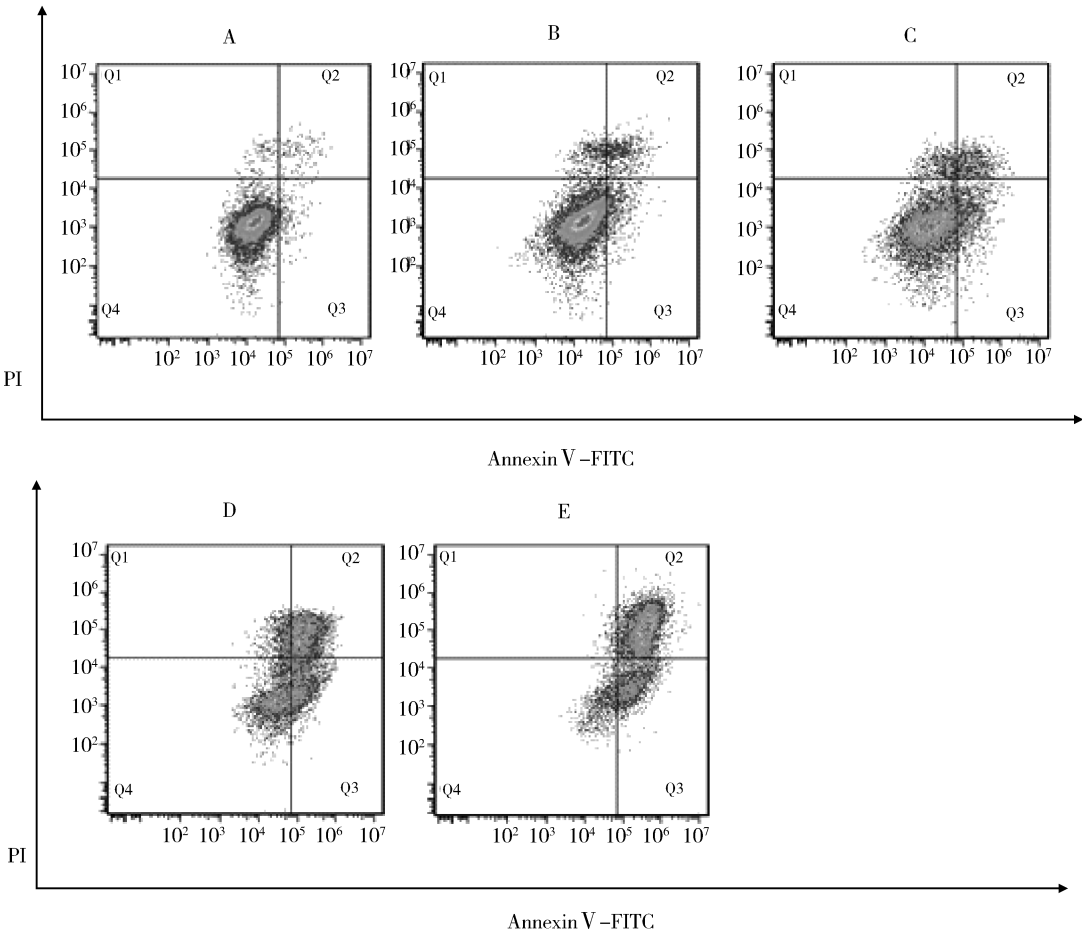


图 2 不同浓度 PYM 作用 24h 对 HUVEC 凋亡的诱导作用

A. 对照组; B ~ D. 0.1、1、10 $\mu\text{g/ml}$ PYM 药物组, 随着药物浓度的增加, HUVEC 细胞凋亡率增加, 与对照组相比, $P < 0.05$; E. 浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ PYM 组

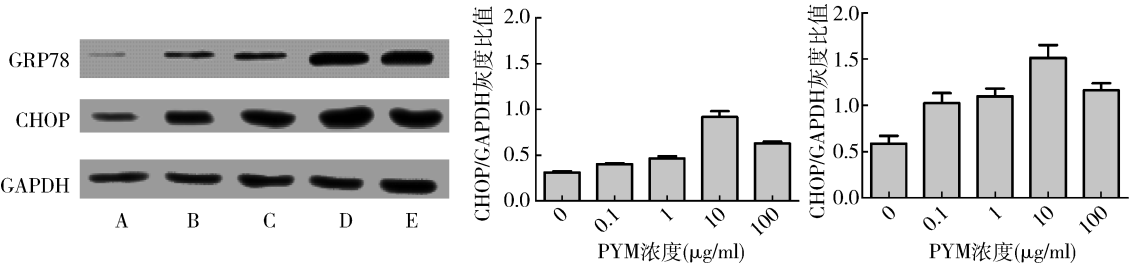


图 3 Western blot 法检测各组 GRP78、CHOP 蛋白的表达情况

A. 对照组, B ~ E. 分别为 PYM 浓度为 0.1、1、10、100 $\mu\text{g/ml}$ 组; 与对照组相比, P 均 < 0.05

错误折叠蛋白的降解^[12,13]。而 CHOP 基因启动子中含有 ATF4、ATF6、XBPI 等蛋白的结合位点, UPR 的 3 条通路均可引发 CHOP 的表达^[14]。因此, 在 ERS 早期, 通过抑制蛋白质的合成对细胞起保护作用、促进细胞的生存, 随着 ERS 时间的延长, 可通过诱导 CHOP 的表达而促进细胞的凋亡。

本研究结果显示 PYM 药物组 GRP78、CHOP 蛋白表达明显高于对照组, 说明在初期保护性因子

GRP78 表达增加, 但是刺激因素持续存在时, 导致损伤性因子 CHOP 的表达量显著增加, 进而激活 ERS 介导的细胞损害。PYM 药物为 0.1、1、10 $\mu\text{g/ml}$ 时, CHOP 的表达量逐渐增加, 提示 PYM 药物浓度的提高可以加剧 HUVEC 细胞 CHOP 蛋白的表达, 使内质网保护性因子 GRP78 和凋亡性因子 CHOP 不对称表达加剧, 引起细胞增殖/凋亡失衡加重。且 CHOP 蛋白的表达量和流式检测细胞凋亡结果相符合, 进一步

提示 PYM 可能通过激活 CHOP 通路介导 HUVEC 细胞凋亡。但当 PYM 药物浓度达到 $100\mu\text{g/ml}$ 时 CHOP 表达量较 $10\mu\text{g/ml}$ 下降,可能是由于药物浓度过大细胞坏死占主导地位。目前,虽然笔者对 CHOP 的上游调节机制有了一定的了解,但其下游的调节机制还不清楚。目前研究认为 CHOP 途径主要与抗凋亡基因 Bcl-2 表达下调、活性氧增加等因素有关^[15]。

综上所述,本研究表明,低浓度的 PYM 作用 HUVEC 细胞后内质网应激水平上调,其介导的 CHOP 凋亡途径可能是 PYM 药物作用于血管瘤的主要机制之一。但是否还有其他信号分子、信号通路的参与有待于进一步研究。

参考文献

- 1 黄益灯,陈建福,夏思文,等. 电子喉镜下平阳霉素注射治疗下咽及喉部巨大血管瘤[J]. 南方医科大学学报,2006,26(4):492-494
- 2 莫小春,周玮,董吉顺. 海绵窦海绵状血管瘤的影像诊断及病理特征分析[J]. 医学研究杂志,2014,43(7):140-144
- 3 Zheng JW, Mai HM, Zhang L, *et al.* Guidelines for the treatment of head and neck venous malformations[J]. Int J Clin Exp Med, 2013,6(5):377-389
- 4 甄永苏,李电东. 抗肿瘤抗生素平阳霉素研究与临床应用 40 年[J]. 中国抗生素杂志,2009,34(10):577-580
- 5 Huang YD, Li P, Tong X, *et al.* Effects of bleomycin A5 on caspase-3, P53, bcl-2 expression and telomerase activity in vascular endothelial cells[J]. Indian J Pharmacol, 2015,47(1):55-58
- 6 Huang YD, Li P, Xia SW, *et al.* Proapoptotic effect and the mechanism of action of pingyangmycin on cavernous hemangiomas[J]. Exp

Ther Med, 2014,7(2):473-477

- 7 Eva S, Susan EL, Adrienne M. *et al.* Mediators of endoplasmic reticulum stress - induced apoptosis [J]. EMBO reports, 2006,7(9):880-885
- 8 Scull CM, Tabas I. Mechanisms of ER stress - induced apoptosis in atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011,31(12):2792-2797
- 9 Gonzalez - Gronow M, Selim MA, Papalas J, *et al.* GRP78: a multifunctional receptor on the cell surface [J]. Antioxid Redox Signal, 2009,11(9):2299-2306
- 10 Oyadomari S, Mori M. Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress[J]. Cell Death Differ, 2004,11(4):381-389
- 11 McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, *et al.* Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down regulating BCL-2 and perturbing the cellular redox state [J]. Mol Cell Biol, 2001,21(4):1249-1259
- 12 Kouroku Y, Fujita E, Tanida I, *et al.* ER stress (PERK/eIF2 α phosphorylation) mediates the poiygutamine - induced LC3 conversion, an essential step for autophagy formation [J]. Cell Death Differ, 2007,14(2):230-239
- 13 Kim I, Xu W, Reed JC. Cell death and endoplasmic reticulum stress: disease relevance and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008,7(12):1013-1030
- 14 Diane RF, Constantinos K. The PERK/eIF2 α /AFT4 module of the UPR in hypoxia resistance and tumor growth [J]. Cancer Biol Ther, 2006,5(7):723-728
- 15 Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress[J]. Nat Cell Biol, 2011,13(3):184-190
(收稿日期:2015-10-08)
(修回日期:2015-12-07)

(上接第 125 页)

- 4 郑丽维,郑国华,葛莉. 白藜芦醇对胃癌 MGC-803 细胞增殖抑制作用[J]. 中国公共卫生, 2009, 25(12):1466-1467
- 5 曹泉. 白藜芦醇对人肝癌细胞株 SMMC-7721 增殖和凋亡的影响[J]. 中南药学, 2009, 7(8):605-608
- 6 Jemal A, Siegel R, Xu J, *et al.* Cancer Statistics, 2010 [J]. Ca Cancer J Clin, 2010, 60(5):277-300
- 7 张雯碧. 卵巢癌化疗耐药相关基因与预后的研究进展[J]. 国外医学妇产科学分册, 2007, 3(34):193-196
- 8 Malist ST, East N, Boraschi D, *et al.* Effects of intraperitoneal recombinant interleukin-1 beta in intraperitoneal human ovarian cancer xenograft models: comparison with the effects of tumour necrosis factor [J]. Br J Cancer, 1992, 65(5):661-666
- 9 梁华茂,姜洁,孔北华,等. Fisher 344 大鼠上皮性卵巢癌动物模型的建立及其生物学特性[J]. 现代妇产科进展, 2003, 12(5):267-269
- 10 郭文菁,曲迅,杨美香,等. 罗勒多糖对荷 NuTu-19 卵巢癌大鼠模型的作用研究[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(8):1467-1470

- 11 张朋,孙媛,姚媛媛,等. 白藜芦醇对女性生殖系统肿瘤作用的研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2015, 4:403-407
- 12 赵丹懿,戴朝霞,陈骏,等. 白藜芦醇对肝癌细胞 Bel-7402 的抑制作用及其效应机制分析[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 07:6-8
- 13 官佳懿,张永红,崔德凤,等. 绿原酸对小鼠脾脏淋巴细胞体外增殖和分泌功能的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(29):27-31
- 14 Baribeau S, Chaudhry P, Parent S, *et al.* Resveratrol inhibits cisplatin-induced epithelial-to-mesenchymal transition in ovarian cancer cell lines[J]. PLoS One, 2014, 9(1):1-12
- 15 Boyman O, Sprent J. The role of interleukin 2 during homeostasis and activation of the immune system [J]. Nat Rev Immunol, 2012, 12(3):180-190
- 16 Mikula - Pietrasik J, Sosińska P, Książek K. Resveratrol inhibits ovarian cancer cell adhesion to peritoneal mesothelium in vitro by modulating the production of $\alpha 5 \beta 1$ integrins and hyaluronic acid[J]. Gynecol Oncol, 2014, 134(3):624-630
(收稿日期:2015-10-26)
(修回日期:2015-11-16)