

鸦胆子素 D 对结肠癌 HT29 细胞株增殖的抑制及诱导其凋亡的机制

郑艳艳 陈晶晶 王兆洪

摘要 **目的** 探讨鸦胆子素 D 对结肠癌细胞株 HT29 增殖的抑制及诱导其凋亡的机制。**方法** 人结肠癌细胞株 HT29 经不同浓度鸦胆子素分别作用 24、48、72h 后,应用 CCK-8 (Cell Counting Kit-8) 法检测鸦胆子素 D 对 HT29 细胞的增殖抑制作用;流式细胞术检测鸦胆子素 D 对 HT29 凋亡的影响;Western blot 法检测 HT29 细胞株经不同浓度鸦胆子素 D 处理 24h 后以及 20 $\mu\text{mol/L}$ 的鸦胆子素 D 处理 24、48、72h 后,细胞中 JNK、p-JNK 的表达。**结果** 不同浓度鸦胆子素 D 分别作用结肠癌 HT29 细胞 24、48、72h 后,细胞存活率随药物浓度升高,细胞存活率降低,细胞的凋亡率增加。HT29 细胞株经不同浓度鸦胆子素 D 处理 24h 后以及 20 $\mu\text{mol/L}$ 的鸦胆子素 D 处理 24、48、72h 后,JNK 蛋白表达随鸦胆子素 D 作用时间延长而下调,p-JNK 则相应上调。**结论** 不同浓度的鸦胆子素 D 随着浓度的增加及时间的延长,结肠癌 HT29 细胞的存活率降低、凋亡率增高,呈明显的作用-时间-药物浓度依赖性。

关键词 鸦胆子素 D 结肠癌 增殖 凋亡 JNK p-JNK

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.12.022

Brucein D Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis in Colon Adenocarcinoma Cell Line HT29. Zheng Yanyan, Chen Jingjing, Wang Zhaohong. Department of Anorectal Surgery, Wenzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Department of Hepatobiliary Surgery, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract **Objective** To investigate that brucein D (BD) possesses potent anti-colon cancer activity by inhibiting proliferation and inducing apoptosis in colon adenocarcinoma cell. **Methods** After human colon cancer cell line PANC-1 was treated with BD (0, 5, 10, 20, 30, 80) $\mu\text{mol/L}$ for 24, 48, 72h, the cell proliferation was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. The apoptosis of colon cancer cells was detected using Annexin V-FITC/PI. The protein expressions of JNK and p-JNK were detected using Western blot. **Results** After human colon cancer cell line PANC-1 was treated with BD for 24, 48, 72h, the cell survival rates decreased lower and apoptosis rate increased in concentration- and time-dependent manners. As the concentration of BD got higher or the time got longer, the protein expression of JNK was down-regulated and that of p-JNK up-regulated significantly. In vivo, with the prolonged administration, the mean volume of xenograft tumor grew slowly. The protein expression of JNK was down-regulated and that of p-JNK up-regulated significantly in colon xenograft tumors cells. **Conclusion** With the increase of time and BD's concentration, the survival rates of colon cancer HT29 cells could be lower. Instead, the apoptosis rate has increased in a concentration-time-dependent manners.

Key words Brucein D; Colon cancer; Proliferation; Apoptosis; JNK; p-JNK

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤,病死率在全球所有癌症致死率中排名第 4 位^[1]。目前为止,化疗及放疗仍是除手术以外能有效治疗结肠癌、预防术后复发、延长患者生存时间和提高生活质量的重要手段之一。氟尿嘧啶、奥沙利铂、卡培他滨等化疗药物对治疗结肠癌延长生存时间取得了良好的效果,但对抑制肿瘤的复发进展有限,且毒性不良反应较大。这

对临床上结肠癌的治疗提出了严峻挑战,即寻求有效的手段抑制结肠癌复发从而更为有效治疗结肠癌。因此,寻找一种能有效抑制结肠癌复发且毒性不良反应在可接受范围之内的药物迫在眉睫。经过几千年的积累与沉淀,中国传统医药学在恶性肿瘤治疗方面奠定了丰富的理论知识与治疗经验。随着人们对中药抗结肠癌肿瘤作用及机制研究的不断加深,中药在治疗结肠癌方面的优势与日俱增,不断被大众认同,在提高 5 年生存率、复发率、无症状生存期及毒性不良反应的减少发挥了长处^[2]。研究表明,中药姜黄素、百里醌等多种传统中药可显著抑制恶性肿瘤细胞

基金项目:温州市科技局计划项目(Y20160434)

作者单位:325000 温州市中西医结合医院肛肠外科、温州医科大学附属第二医院肝胆外科

通讯作者:王兆洪,电子邮箱:wangzhaohong55@163.com

的增殖^[3,4]。鸦胆子,别名老鸦胆、苦参子,为苦木科植物鸦胆子的干燥成熟果实。临床上 10% 鸦胆子油乳剂主要用于治疗胃癌、食管癌、原发性肝癌、大肠癌、胰腺癌等位于消化系统的肿瘤,具有显著的治疗效果。Lau 等^[5]研究发现,鸦胆子中的一种单体鸦胆子素 D 能够诱导胰腺癌细胞的凋亡,其可能的机制是通过激活 P38 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路介导的胰腺癌细胞凋亡。本实验在体外运用 CCK-8 法、流式细胞技术、Western blot 法,在体内建立结肠癌移植瘤模型,分析通过研究不同浓度的鸦胆子素 D 不同时间对结肠癌细胞生长的影响及对移植瘤生长的抑制,探讨其可能的作用及机制。

材料与方法

1. 材料:HT29 结肠癌细胞株购于中国科学院上海细胞库;鸦胆子素 D (纯度 > 98%) (美国 Sigma 公司),4~6 周龄健康 BALB/c 雌性裸鼠 (18~20g),购于中科院上海实验动物中心;用 DMSO 配制成 0.2mmol/L (DMSO 的终浓度 < 0.05%);胎牛血清、胰酶、RPMI1640 培养基 (美国 Gibco 公司);Annexin V - FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (中国南京凯基生物发展有限公司);CCK-8 试剂盒 (中国碧云天生物技术研究所);兔抗人 p - JNK 多克隆抗体及兔抗人 β - Actin 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司)。

2. 方法:(1)细胞培养:按 10% 胎牛血清、100 μ g/ml 青霉素和 100 μ g/ml 链霉素的 RPMI1640 的比例配置培养液,细胞培养箱条件:5% 体积分数的 CO₂,温度 37℃。将细胞株培养于已配置好的培养液中,置于细胞培养箱中培养,2~3 天换液 1 次。细胞单层贴壁生长,至 70%~80% 融合时胰蛋白酶消化传代。(2)细胞存活率:本实验采用 CCK-8 法检测细胞存活率,具体操作如下:培养 HT29 结肠癌细胞至对数生长期,收集细胞并接种到 96 孔细胞培养皿 (4 × 10³ 个细胞每孔)。待细胞贴壁后,分别加入不同浓度的鸦胆子素 D (0、5、10、20、30、80 μ mol/L) 分别作用 24、48、72h,每组重复 5 孔,并设置空白调零组 (使用等量的 PBS 代替细胞);药物作用结束前 1h,各孔加入 0.01ml 的 CCK-8,继续培养 1h 后,酶标仪 (Bio - Tek, ELX800) 测 A₄₅₀ 值,计算细胞存活率 (%),实验重复 3 次。细胞存活率 = (实验组 A 值 - 空白调零 A 值) / (对照组 A 值 - 空白调零 A 值) × 100%。(3)细胞凋亡检测:本实验采用 Annexin V - FITC/PI 双染流式细胞术检测细胞凋亡。具体操作方法:培养 HT29 结肠癌细胞至对数生长期,将 4 × 10⁵ 个处于对

数生长期的 HT29 结肠癌细胞接种在 6 孔培养板中,待生长至 90% 融合时,分别加入不同浓度鸦胆子素 D (0、5、10、20、30、80) μ mol/L,分别作用 24、48、72h 后,胰蛋白酶进行消化,离心 5min (1000r/min)。冷 PBS 洗涤 2 次,根据 Annexin V - FITC/PI 凋亡检测试剂盒的使用说明:500 μ l Binding Buffer 重悬细胞后,加入 5 μ l PI 和 5 μ l Annexin V - FITC 混匀,室温避光作用 15min 后上机检测。检测细胞数为 1 × 10⁴ / 组,激发波长 488nm。发射波长 530nm,Cellquest 软件分析。(4)HT29 结肠癌细胞蛋白 JNK 和 p - JNK 的表达检测:本实验采用 Western blot 法检测 HT29 结肠癌细胞蛋白 JNK 和 p - JNK 的表达,具体操作如下:培养 HT29 结肠癌细胞至对数生长期,收集,经 30 μ mol/L 鸦胆子素 D 作用 24、48、72h 后,RIPA 裂解液裂解,提取上清液并测量蛋白浓度。取等量的蛋白质样品 (20 微克/孔),8% SDS - PAGE 电泳,半干转膜仪转膜,5% 脱脂奶粉封闭后滴加兔抗人 NF - κ B 和 XIAP 抗体为第 1 抗体,HRP 标记的羊抗兔 IgG 为第 2 抗体,ECL 显色,X 线胶片曝光。(5)模型建立、分组及给药方法:将 (5~10) × 10⁶ 个处于对数生长期的 HT29 结肠癌细胞悬浮于 0.2ml 无血清 RPMI1640 培养基中,注射到裸鼠背部靠近右侧后肢皮下,建立结肠癌裸鼠移植瘤模型。接种 2 周后,待移植瘤体积长至 100~150mm³,将裸鼠称重后按随机区组分组的方法,随机分为 4 组,每组 10 只对照组、0.375mg/(kg · d) 组、0.75mg/(kg · d) 组、1.5mg/(kg · d) 组。各组均采用腹腔注射 (ip) 给药,药物注射的最终体积为 0.2 毫升/只,每周 3 次,持续给药 2 周。每周游标卡尺监测肿瘤体积 (V):V = a × b² / 2, a = 肿瘤垂直方向的最大径线, b = 肿瘤垂直方向的最小径线。给药结束后 7 天,处死动物留取肿瘤组织,测量肿瘤体积,计算抑瘤率。测量后将肿瘤组织一部分用 4% 多基甲醛固定,另一部分保存于液氮中备用。抑瘤率 (%) = 1 - (治疗组开始平均体积 - 结束平均体积) / (对照组开始平均体积 - 结束平均体积) × 100%。(6)结肠癌组织中 JNK 和 p - JNK 蛋白的表达检测:本实验采用 Western blot 法检测 JNK 和 p - JNK 的表达变化,具体操作如下:从荷瘤裸鼠中取新鲜的肿瘤组织,用常规方法提取各组肿瘤细胞的总蛋白,BCA 方法定量蛋白浓度。每标本上样约 80 μ g 蛋白于 12% SDS - PAGE 凝胶,电压 80V 约 30min,改电压为 125V 约持续 1h。然后从凝胶中采用半干转膜法转移蛋白质至 PVDF 膜,用含 5% 无脂

牛奶 TBST 封闭,滴加兔抗人抗体 4℃ 孵育过夜,HRP 标记的羊抗兔 IgG 抗体孵育 1h,用 ECL 发光液显色。

3. 统计学方法:应用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计分析处理。所有结果以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA) 进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CCK-8 法鸦胆子素 D 对结肠癌 HT29 细胞株增殖的抑制作用:鸦胆子素 D (0、5、10、20、30、80 $\mu\text{mol/L}$) 分别作用结肠癌 HT29 细胞 24h 后,细胞存活率是 100%、93.83%、82.50%、71.16%、63.39%、38.56%;作用 48h 后细胞的存活率是 100%、82.87%、68.62%、52.25%、39.33%、28.55%;作用 72h 后细胞的存活率是 100%、72.60%、55.37%、40.68%、34.68%、20.01%。不同浓度鸦胆子素 D 分别作用后,结肠癌细胞的增殖均受到抑制,且随浓度的增加细胞存活率减低,随着作用时间的延长,细胞存活率逐渐降低 (图 1)。

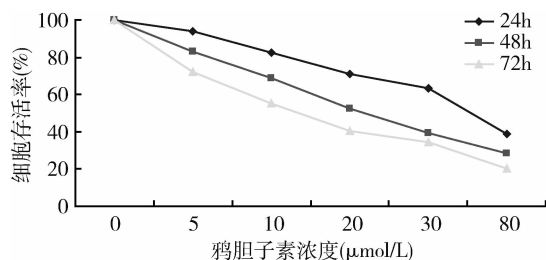


图 1 不同浓度鸦胆子素 D 分别作用后细胞存活率

2. 流式细胞术检测细胞凋亡:采用 Annexin V - FITC/PI 双标记流式细胞术检测 HT29 细胞的凋亡率,不同浓度 (0、5、10、20、30、80 $\mu\text{mol/L}$) 鸦胆子素 D 分别作用结肠癌 HT29 细胞株 24h 后,细胞的凋亡率是 0、10.32%、19.36%、30.61%、43.47%、66.56%;作用 48h 后细胞的凋亡率是 0、19.23%、31.26%、47.63%、58.91%、70.08%;作用 72h 后细胞的凋亡率是 0、27.64%、45.22%、58.28%、64.56%、79.37%。不同浓度 (0、5、10、20、30、80 $\mu\text{mol/L}$) 鸦胆子素处理 HT29 结肠癌细胞 24、48、72h 后,随着作用浓度的增加或随着作用时间的延长,细胞凋亡率不断增加,且有时间浓度依赖性 (图 2)。

3. Western blot 法检测结肠癌 HT29 细胞株中 JNK、p-JNK 蛋白的表达:经不同浓度 (0、5、10、20、30、80 $\mu\text{mol/L}$) 鸦胆子素 D 处理 24h 后,细胞中

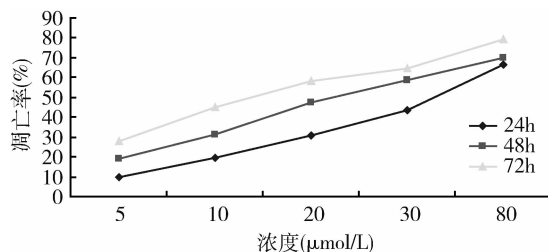


图 2 不同浓度鸦胆子素处理 HT29 结肠癌细胞不同时间后细胞凋亡率

JNK、p-JNK 的表达,随着药物浓度的增加,JNK 蛋白的表达逐渐降低,p-JNK 的表达逐渐升高 (图 3)。20 $\mu\text{mol/L}$ 的鸦胆子素 D 处理 HT29 细胞 24、48、72h 后,细胞中 JNK 的表达随时间延长逐渐降低,而 p-JNK 蛋白的表达随时间延长逐渐升高 (图 4)。

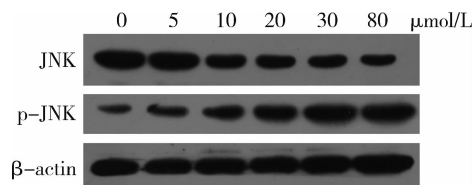


图 3 不同浓度鸦胆子素 D 处理 24h 后细胞中 JNK、p-JNK 的表达

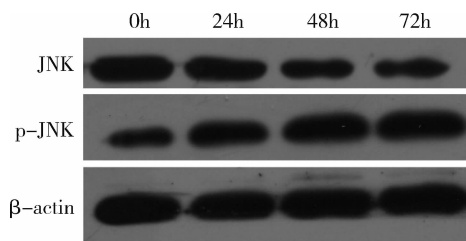


图 4 同一浓度鸦胆子素 D 处理 HT29 细胞不同时间后细胞中 JNK 的表达

4. 各组模型中肿瘤体积及重量的检测:待移植瘤直径均 $\geq 1\text{cm}$ 后,将裸鼠随机区组分组后即开始用药,随后 3 天 1 次,共持续 2 周,共 5 次,每次记录肿瘤长径 a 和短径 b (mm) 计算瘤体体积前后共测量 5 次 (图 5)。随用药时间的延长,药物浓度越高,肿瘤生长越缓慢。裸鼠随机分组时各组的肿瘤的平均体积为 $0.46 \pm 0.23\text{cm}^3$ 。用药 2 周后,再停药 2 周后处死裸鼠称量瘤体质量 (图 6),测量肿瘤体积 (表 1), $0.375\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 组肿瘤平均质量为 $1.63 \pm 0.21\text{g}$,肿瘤平均体积为 $2.42 \pm 0.14\text{cm}^3$,抑瘤率为 31.51%, $0.75\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 组肿瘤平均质量为 $1.09 \pm 0.24\text{g}$,肿

瘤平均体积为 $1.25 \pm 0.07 \pm \text{cm}^3$, 抑瘤率为 54.2%, $1.5\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 组肿瘤平均质量为 $0.56 \pm 0.14\text{g}$, 肿瘤平均体积 $0.59 \pm 0.06\text{cm}^3$, 抑瘤率为 54.2%, 与对照组 (肿瘤平均质量 $2.38 \pm 0.38\text{g}$, 肿瘤平均体积 $2.42 \pm 0.14\text{cm}^3$) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其余 3 组之间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

5. Western blot 法检测肿瘤组织中 JNK、p-JNK 的表达: 不同剂量的鸦胆子素 D 处理结肠癌模型后, 处死裸鼠, Western blot 法检测肿瘤组织中 JNK、p-JNK 的表达, 随着药物剂量的增加, JNK 的表达降低, 而 p-JNK 的表达升高 (图 7)。

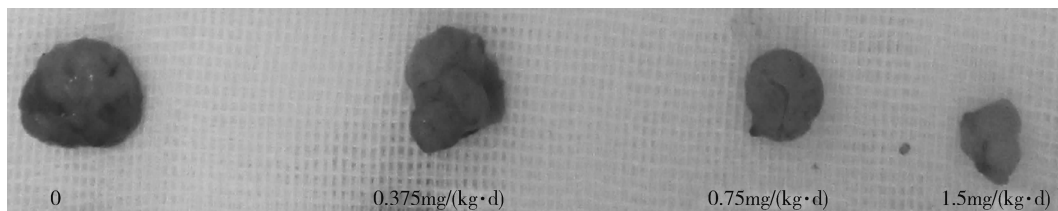


图 6 裸鼠瘤体质量

表 1 不同剂量的鸦胆子素用药后 4 周对裸鼠移植瘤生长的影响

组别	肿瘤质量 (g)	肿瘤体积 (cm^3)	抑瘤率 (%)
对照组	2.38 ± 0.12	2.42 ± 0.14	0
$0.375\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$	$1.63 \pm 0.10^*$	$1.65 \pm 0.15^*$	31.51
$0.75\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$	$1.09 \pm 0.06^{* \#}$	$1.25 \pm 0.07^{* \#}$	54.20
$1.5\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$	$0.56 \pm 0.05^{* \# \Delta}$	$0.59 \pm 0.06^{* \# \Delta}$	76.45

与对照组比较, $^* P < 0.05$; 与 $0.375\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 比较, $^{\#} P < 0.05$; 与 $0.75\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 比较, $^{\Delta} P < 0.05$

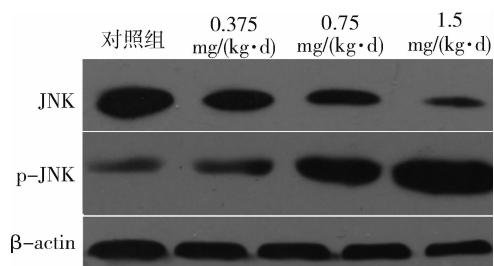


图 7 Western blot 法检测肿瘤组织中 JNK、p-JNK 的表达

讨 论

鸦胆子, 别名老鸦胆、苦参子, 为苦木科植物鸦胆子的干燥成熟果实。临床上鸦胆子油乳剂应用与治疗胃癌、食管癌、原发性肝癌、大肠癌、胰腺癌等消化系统肿瘤疗效显著。鸦胆子素 D 单挑是鸦胆子中发挥抗肿瘤作用的主要成分, 有研究发现鸦胆子中的

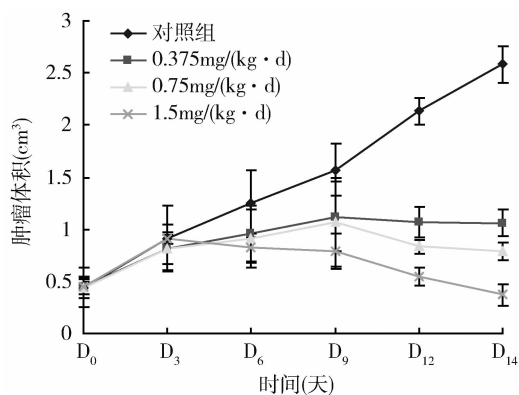


图 5 用药时间与肿瘤体积关系图

一种单体鸦胆子素 D 能够诱导胰腺癌细胞的凋亡^[6]。本实验应用不同浓度的鸦胆子素 D 对结肠癌 HT29 细胞株的增殖均有抑制作用, 且能促进 HT29 细胞的凋亡, 且在一定范围内随时间延长或浓度的增加, 对 HT29 细胞的抑制增殖作用及促凋亡作用更明显, 具有一定的时间及浓度依赖性。结肠癌细胞株种类较多, 经查阅文献及考虑到药物靶点的选择性, 选择 HT29 人结肠癌细胞对鸦胆子素 D 的抑制增殖作用及促凋亡作用进行评估。

JNK 属于促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 家族或 SAPKs 家族^[7,8]。大量实验表明, 细胞因子、辐射、DNA 损伤药物等多种细胞外刺激能使 JNK 信号通路作出应答, 而参与调节细胞的增殖、凋亡及 DNA 损伤修复等多个细胞的生命过程^[9-11]。近年来大量实验研究显示, JNK 信号通路的异常在肿瘤发生、发展、侵袭及转移的过程中起到了重要作用。在本实验中, JNK 均在结肠癌肿瘤细胞中高表达。

JNK 基因有经过选择性剪切形成的 JNK1、JNK2 和 JNK3 3 个亚型组成, 在静止的细胞中, JNK 基因的表达蛋白主要位于细胞质, 其中 JNK1 和 JNK2 蛋白在组织中广泛表达, 而 JNK3 蛋白仅在脑、心和睾丸中表达^[5]。当细胞受到外刺激包括生长因子、细胞因子、热辐射、氧化损伤等应激因素时 JNK 通路激

活,一部分活化的 JNK 就转位到细胞核中,通过磷酸化而激活多种核内转录因子,从而促进相关靶基因的转录和新蛋白质的合成,发挥相应的生物学效应。有研究报道,1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose (PGG)在乳腺癌、肾癌、前列腺癌、肝癌中具有较强的抗肿瘤活性,JNK 在 PGG 导致的细胞凋亡中发挥了重要作用,在 KBM-5 细胞中它可以使 JNK 磷酸化水平显著升高,相反 JNK 抑制剂 D-JNKi 阻止 PGG 引起的细胞凋亡^[12]。JNK 磷酸化后形成 p-JNK,鸦胆子素 D 作用于结肠癌 HT29 细胞后,细胞中 JNK 的表达随药物作用时间延长或药物浓度增加而降低,而 p-JNK 的表达量与 JNK 的表达却相反。在体内实验中,JNK 及 p-JNK 的表达与鸦胆子素剂量及作用时间亦得到了验证。

综上所述,本实验初步探讨了鸦胆子素 D 在体内外抗结肠癌肿瘤的作用及可能的机制,不足之处是由于实验条件和时间的限制,只是阐述了鸦胆子素 D 抗肿瘤部分可能机制。总而言之,中药在治疗结肠癌方面的优势与日俱增,不断被大众认同,在提高 5 年生存率、复发率、无症状生存期及毒性不良反应的减少发挥了长处,鸦胆子中的一种单体鸦胆子素 D 能够抑制结肠癌细胞的增殖并诱导其凋亡,其可能的机制是通过激活 JNK 使其磷酸化实现的。

参考文献

- Nasri H, Rafieiankopaie M. World Cancer Day 2014: "Increasing The Awareness" [J]. Cell J, 2014, 16(3):383-384
- Min LW. Targeting apoptosis pathways in cancer by Chinese medicine [J]. Cancer Lett, 2013, 332(2):304-312
- Shakibaei M, Kraehe P, Popper B, et al. Curcumin potentiates anti-tumor activity of 5-fluorouracil in a 3D alginate tumor microenvironment of colorectal cancer [J]. BMC Cancer, 2015, 15(1):1-15

(上接第 53 页)

- Ma Tl, Liu H, Chen W, et al. Implanted adipose-derived stem cells attenuate small-for-size liver graft injury by secretion of VEGF in rats [J]. Am J Transplant, 2012, 12(3):620-629
- Kuo YR, Chen CC, Goto S, et al. Proteomic analysis in serum of rat hind-limb allograft tolerance induced by immunosuppressive therapy with adipose-derived stem cells [J]. Plast Reconstr Surg, 2014, 134(6):1213-1223
- Liu K, Shi B. Influence of adult bone marrow mesenchymal stem cells on solid organ transplantation: Significant candidate cells during tolerance induction [J]. CRTER, 2010, 14(1):147-151
- Inoue S, Popp FC, Koehl GE, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in a rat organ transplant model [J]. Transplantation, 2006, 81(11):1589-1595
- Eggenhofer E, Renner P, Soeder Y, et al. Features of synergism be-

- Banerjee S, Kaseb AO, Wang Z, et al. Antitumor activity of gemcitabine and oxaliplatin is augmented by thymoquinone in pancreatic cancer [J]. Cancer Res, 2009, 69(13):5575-5583
- Lau ST, Lin ZX, Leung PS. Role of reactive oxygen species in brucein D-mediated p38-mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B signalling pathways in human pancreatic adenocarcinoma cells [J]. Br J Cancer, 2010, 102(3):583-593
- Lau ST, Lin ZX, Liao Y, et al. Brucein D induces apoptosis in pancreatic adenocarcinoma cell line PANC-1 through the activation of p38-mitogen activated protein kinase [J]. Cancer Lett, 2009, 281(1):42-52
- Li C, Ma D, Man C, et al. Ulinastatin attenuates LPS-induced human endothelial cells oxidative damage through suppressing JNK/c-Jun signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 474(3):572-578
- Ansideri F, Lange A, Elgokha A, et al. Fluorescence polarization-based assays for detecting compounds binding to inactive JNK3 and p38 MAP kinase. [J]. Anal Biochem, 2016, 503:28-40
- Bogoyevitch MA, Kobe B. Uses for JNK: the many and varied substrates of the c-Jun N-terminal kinases [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2007, 70(4):1061-1095
- Liu G, Song J, Guo Y, et al. Astragalus injection protects cerebral ischemic injury by inhibiting neuronal apoptosis and the expression of JNK3 after cerebral ischemia reperfusion in rats [J]. Behav Brain Functions, 2013, 9(1):36
- Xu L, Yu J, Zhai D, et al. Role of JNK activation and mitochondrial bax translocation in allicin-induced apoptosis in human ovarian cancer SKOV3 cells [J]. Evidence-based Complementary Alternative Med: eCAM, 2013, 2014(3):378684
- Kwon TR, Jeong SJ, Lee HJ, et al. Reactive oxygen species-mediated activation of JNK and down-regulation of DAXX are critically involved in penta-O-galloyl-beta-D-glucose-induced apoptosis in chronic myeloid leukemia K562 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 424(424):530-537

(收稿日期:2016-12-26)

(修回日期:2017-04-04)

- tween mesenchymal stem cells and immunosuppressive drugs in a murine heart transplantation model [J]. Transpl Immunol, 2011, 25(2/3):141-147
- Wu S, Wang Z, Bharadwaj S, et al. Implantation of autologous urine derived stem cells expressing vascular endothelial growth factor for potential use in genitourinary reconstruction [J]. J Urol, 2011, 186(2):640-6477
- Lal G, Nakayama Y, Sethi A, et al. Interleukin-10 from marginal zone precursor B-cell subset is required for costimulatory blockade-induced transplantation tolerance [J]. Transplantation, 2015, 99(9):1817-1828
- Moon BI, Kim TH, Seoh JY. Functional modulation of regulatory T cells by IL-2 [J]. PLoS One, 2015, 10(11):e0141864

(收稿日期:2017-02-28)
(修回日期:2017-03-24)