

小鼠 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞的 多器官年龄分布特征

周 密 李端端 吕定超 石山慧 马秀霞 李燕楠 陈思宇 左 琳

摘 要 **目的** 本研究旨在研究 c-Kit 和 Sca-1 两种干细胞亚型在小鼠多脏器的年龄分布规律,为后续进行相关组织的干细胞抗损伤研究奠定基础。**方法** 选取 C57/BL6 雄性成年小鼠(3 月龄、6 月龄、9 月龄),分离其骨髓、肝脏、肾脏、肺及胰腺组织,采用组织块酶解法分选各脏器中直径小于 30 μ m 的细胞,用 CD45、c-Kit 及 Sca-1 荧光抗体标记细胞,流式细胞仪记录 CD45⁺c-Kit⁺ 以及 CD45⁺Sca-1⁺ 细胞百分比。**结果** 在小鼠骨髓中,CD45⁺c-Kit⁺ 细胞数显著多于 CD45⁺Sca-1⁺ ($P < 0.05$);而在肝、肾、肺和胰腺组织中,CD45⁺Sca-1⁺ 的细胞数量远多于 CD45⁺c-Kit⁺ 干细胞 ($P < 0.05$)。除胰腺组织,9 月龄 CD45⁺Sca-1⁺ 的细胞数目较 3、6 月龄有所升高外,其他组织中干细胞的年龄分布趋势差异不显著 ($P > 0.05$)。**结论** CD45⁺c-Kit⁺ 和 CD45⁺Sca-1⁺ 两种干细胞亚型在小鼠多脏器中均有存在,尤其是数量上占据优势的 CD45⁺Sca-1⁺ 干细胞可能在多数器官的发育及修复中发挥重要作用。

关键词 干细胞 c-Kit Sca-1 分布

中图分类号 R329

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.12.013

Age Distribution of c-Kit and Sca-1 Positive Stem Cells in Multi-organs of Mice. Zhou Mi, Li Duanduan, Lv Dingchao, et al. Department of Physiology, Key Laboratory of Cellular Physiology, Ministry of Education, School of Basic Medical Science, Shanxi Medical University, Shanxi 030001, China

Abstract Objective To investigate the age distribution of c-Kit and Sca-1 positive stem cells in multi-organs which can provide more detailed information for the further researches on anti-damage of stem cells in different tissues. **Methods** C57/BL6 male mice (3months, 6months and 9months) were grouped randomly. The cells less than 30 μ m were isolated by tissue enzyme hydrolysis from bone marrow, liver, kidney, lung and pancreas. These cells were labeled with CD45, c-Kit and Sca-1 fluorescent antibody. The percentage of CD45⁺c-Kit⁺ and CD45⁺Sca-1⁺ stem cells can be calculated by flow cytometry. **Results** The results indicated that the amount of CD45⁺c-Kit⁺ stem cells was larger than CD45⁺Sca-1⁺ stem cells in bone marrow ($P < 0.05$); However, in liver, kidney, lung and pancreas, the percentage of CD45⁺Sca-1⁺ stem cells was higher than CD45⁺c-Kit⁺ cells ($P < 0.05$). In pancreas, the percentage of CD45⁺Sca-1⁺ in 9months was higher than that of CD45⁺c-Kit⁺ in 3months and 6months group ($P < 0.05$). In other organs, there was no significant difference of CD45⁺c-Kit⁺ and CD45⁺Sca-1⁺ stem cells between different age groups. **Conclusion** These results suggested that CD45⁺c-Kit⁺ and CD45⁺Sca-1⁺ stem cells located in many main organs of mice. Especially, CD45⁺Sca-1⁺ stem cells superior in numbers may play an important role in multi-organs' development and repair.

Key words Stem cell; c-Kit; Sca-1; Distribution

心脏干细胞(cardiac stem cells, CSCs)属于成体干细胞,能够自我更新并特化形成心脏组织细胞,对心肌损伤有保护作用。目前已确定的 CSCs 亚型有:c-Kit、Sca-1、Isl1、SP 等多种亚型,而由于 CSCs 属于较原始的细胞类型,其表达的蛋白种类相对较少,

因此标志物的筛选比较困难^[1,2]。在这些已经发现的干细胞亚型中,c-Kit 和 Sca-1 都属于膜表面抗原,其分选、筛查相对容易,因此受到研究者的高度重视。那么,这两类干细胞亚型是否只存在于心脏,在机体的其他脏器中是否也有这些类型干细胞的存在,干细胞的类型是否有组织特异性,干细胞的数量随年龄的变化趋势是否有差别?为回答以上问题,笔者设计了本实验。选取 3、6、9 月龄的雄性 C57/BL6 小鼠,通过组织块酶解法,分离骨髓、肝脏、肾脏、肺及胰腺组织中的小细胞,经 CD45、c-Kit、Sca-1 流式抗体

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81200120);山西省青年基金资助项目(面上项目)(201601D202106);山西省回国留学人员科研基金资助项目(2014-036)

作者单位:030001 太原,山西医科大学基础医学院生理学系

通讯作者:左琳,电子信箱:zuol1505@126.com

标记,检测不同组织中 $CD45^{-}c-Kit^{+}$ 及 $CD45^{-}Sca-1^{+}$ 细胞的百分比,以求发现这两类干细胞的不同的脏器中是否有分布的差异,同时比较同一脏器不同月龄干细胞的分布规律有无变化,以此来了解 $c-Kit^{+}$ 、 $Sca-1^{+}$ 两类干细胞亚型在小鼠重要器官、组织中的分布规律,为研究 $c-Kit^{+}$ 、 $Sca-1^{+}$ 干细胞在不同组织损伤修复中的作用奠定一定的理论基础。

材料与方 法

1. 实验动物和主要试剂:实验动物 C57/BL6 小鼠,购自北京军事医学科学院动物中心,动物实验操作过程符合山西医科大学动物伦理学标准,并且获得伦理委员会认可。II 型胶原酶(美国 Worthington 公司),CD117-PE(德国 Miltenyi Biotec 公司),Anti-Sca-1-FITC(德车 Miltenyi Biotec 公司),DMEM/F12 培养液(美国 HyClone 公司),FBS(美国 ScienCell 公司),PBS 缓冲液(中国 Solarbio 公司),消化酶液(DMEM/F12,0.1% II 型胶原酶),流式细胞术 buffer(PBS + 0.5% BSA + 2mmol/L EDTA, pH 值为 7.4, 2~8℃),终止液(DMEM/F12,10% FBS),无菌培养皿(美国 Corning 公司),无菌离心管(美国 Corning 公司),6 孔板(美国 Corning 公司),BJ-1CD 超净台(中国 Boxun 公司),TD5A-WS 台式离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司),SHZ-82A 恒温振荡器(中国国华电器有限公司)。

2. C57BL/6J 成年小鼠骨髓细胞的分离:分别取 3、6、9 月龄的清洁级 C57BL/6J 成年雄性小鼠,用 10% 水合氯醛按 8ml/kg 进行腹腔麻醉,碘伏及 75% 乙醇对皮肤进行消毒,然后剥离双下肢皮肤,于髋关节处剪断,将胫、股骨取出后,逐层剥离附着于骨干的肌肉、筋膜,剪断胫、股骨两端的骺端,PBS 缓冲液冲洗胫、股骨骨髓腔并收集洗液,1300r/min 离心 7min,弃上清,将细胞团块用洗液重悬后,分别用 70 μ m 及 30 μ m 滤器过滤后用于后续的流式检测。

3. 组织块酶解法分离 C57BL/6J 成年小鼠肝脏、肾脏、肺及胰腺细胞:分别取 3、6、9 月龄的清洁级 C57BL/6J 成年雄性小鼠,用 10% 水合氯醛按 8ml/kg 腹腔麻醉,碘伏及 75% 乙醇消毒胸腹部皮肤,沿腹部正中中线做倒 T 形切口,在腹腔中找到肝脏、肾脏、胰腺,并用眼科剪剪下各脏器置于无菌培养皿中;同时打开胸腔,取出肺组织,置于无菌培养皿中,于超净台内进行以下操作:①4℃ 预冷 PBS 缓冲液漂洗各脏器以洗净残血,更换 PBS 缓冲液后用刀片切割脏器至 1mm³ 小块;②加入消化酶(DMEM/F12,0.1% II 型

胶原酶)10ml,将酶液和组织的混合物转移至锥形瓶内,放入 37.5℃ 恒温振荡器中,消化 15min;③将上清转移至终止液中;④重复步骤②和③共 4 次,直至所有组织消化完全;⑤将细胞悬液离心(1300r/min, 7min,4℃),再用洗液重悬后,分别用 70 μ m 及 30 μ m 滤器过滤后用于后续的流式检测。

4. 流式细胞术:从各器官分离的细胞,按照以下流程进行流式细胞术检测:①使用流式细胞术 buffer 重悬各器官的细胞团块;②采用细胞计数板计数,调整细胞浓度为 2×10^6 /ml;③离心(1000r/min, 5min, 4℃)弃上清;④用 40 μ l buffer 重悬细胞;⑤添加 CD45、CD117 和 Sca-1 抗体各 5 μ l,充分混悬后 4℃ 避光孵育 10min;⑥添加 1~2ml buffer 洗涤,离心(1000r/min, 5min, 4℃)弃上清;⑦添加 200 μ l buffer 上机进行流式细胞术检测,并统计不同月龄不同脏器中 $CD45^{-}c-Kit^{+}$ 及 $CD45^{-}Sca-1^{+}$ 细胞百分比。

5. 统计学方法:实验数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Prism 6 统计学软件对数据进行统计分析,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. $c-Kit$ 和 $Sca-1$ 阳性干细胞在小鼠骨髓的年龄分布:经流式细胞术检测结果显示,在 3、6、9 月龄的小鼠骨髓细胞中,3 月龄鼠的 $Sca-1^{+}$ 和 $c-Kit^{+}$ 干细胞的比例分别为 $0.18\% \pm 0.10\%$ 和 $5.65\% \pm 1.48\%$,6 月龄鼠的 $Sca-1^{+}$ 和 $c-Kit^{+}$ 干细胞的比例分别为 $0.56\% \pm 0.13\%$ 和 $7.57\% \pm 2.39\%$,9 月龄鼠的 $Sca-1^{+}$ 和 $c-Kit^{+}$ 干细胞的比例分别为 $0.21\% \pm 0.07\%$ 和 $6.81\% \pm 2.27\%$ (图 1)。以上结果表明,在骨髓中, $CD45^{-}c-Kit^{+}$ 干细胞总量大于同月龄 $CD45^{-}Sca-1^{+}$ 干细胞总量($P < 0.05$), $CD45^{-}Sca-1^{+}$ 干细胞在 6 月龄的数量略高于 3 月龄和 9 月龄的水平,而 $CD45^{-}c-Kit^{+}$ 干细胞在各月龄组分布比较,差异无统计学意义。

2. $c-Kit$ 和 $Sca-1$ 阳性干细胞在小鼠肝脏的年龄分布:经流式细胞术检测结果显示,3 月龄小鼠肝脏中 $Sca-1^{+}$ 和 $c-Kit^{+}$ 干细胞的比例分别为 $29.24\% \pm 4.20\%$ 和 $8.07\% \pm 3.09\%$,6 月龄鼠的 $Sca-1^{+}$ 和 $c-Kit^{+}$ 细胞的比例分别为 $29.94\% \pm 9.42\%$ 和 $8.18\% \pm 1.90\%$,9 月龄鼠的 $Sca-1^{+}$ 和 $c-Kit^{+}$ 细胞的比例分别为 $32.52\% \pm 5.62\%$ 和 $10.52\% \pm 2.72\%$ (图 2)。小鼠肝脏中,各月龄 $CD45^{-}Sca-1^{+}$ 干细胞总量大于 $CD45^{-}c-Kit^{+}$ 干细胞($*P < 0.05$);和 3 月龄及 6 月

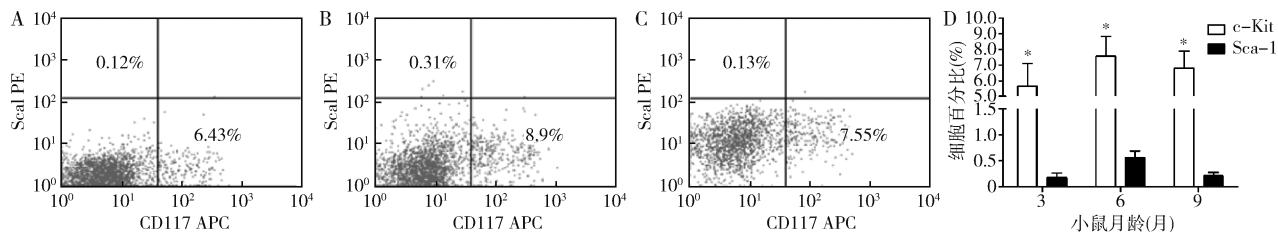


图1 小鼠骨髓中 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞的分布规律

A. 3 月龄干细胞的分布; B. 6 月龄干细胞的分布; C. 9 月龄干细胞的分布; D. 不同月龄 c-Kit、Sca-1 阳性干细胞占比统计图, $n = 6 \sim 10$; 与 Sca-1 细胞比较, $* P < 0.05$

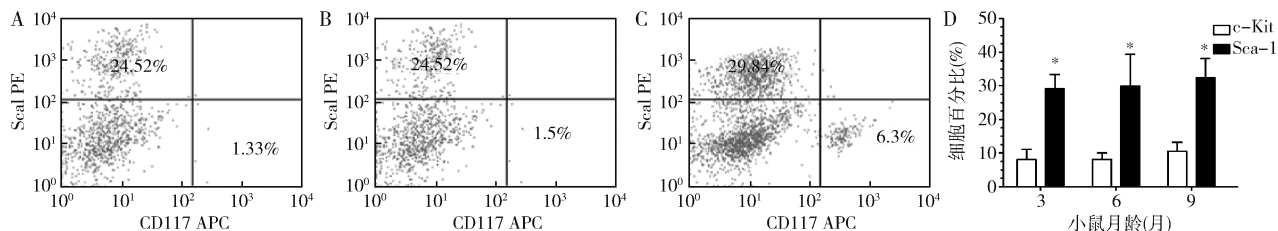


图2 小鼠肝脏中 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞的分布规律

A. 3 月龄干细胞的分布; B. 6 月龄干细胞的分布; C. 9 月龄干细胞的分布; D. 不同月龄 c-Kit、Sca-1 阳性干细胞占比统计图, $n = 5 \sim 8$; 与 c-Kit 细胞比较, $* P < 0.05$

龄比较, 9 月龄小鼠肝脏中的 $CD45^- c-Kit^+$ 和 $CD45^- Sca-1^+$ 干细胞数量并未出现显著减少。

3. c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞在小鼠肾脏的年龄分布: 经流式细胞术检测结果显示, 3 月龄小鼠肾脏 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $52.27\% \pm 3.37\%$ 和 $0.26\% \pm 0.12\%$; 6 月龄 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别

为 $51.84\% \pm 5.27\%$ 和 $1.11\% \pm 0.47\%$; 9 月龄 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $58.51\% \pm 3.74\%$ 和 $0.21\% \pm 0.05\%$ (图 3)。在肾脏中, $CD45^- Sca-1^+$ 干细胞数量显著多于 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞, 但 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的分布在各月龄段间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

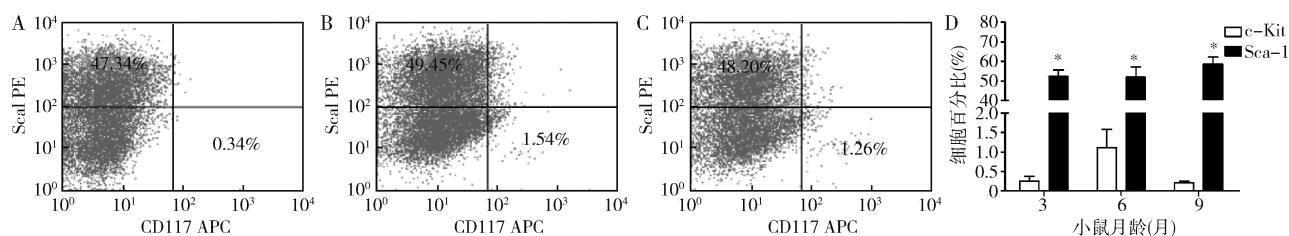


图3 小鼠肾脏中 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞的分布规律

A. 3 月龄干细胞的分布; B. 6 月龄干细胞的分布; C. 9 月龄小鼠干细胞的分布; D. 不同月龄 c-Kit、Sca-1 阳性干细胞占比统计图, $n = 5 \sim 6$; 与 c-Kit 细胞比较, $* P < 0.05$

4. c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞在小鼠肺脏的年龄分布: 经流式细胞术检测结果显示, 在 3 月龄小鼠肺脏中, $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $33.27\% \pm 1.87\%$ 和 $1.14\% \pm 0.34\%$; 6 月龄 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $27.21\% \pm 5.07\%$ 和 $3.74\% \pm 3.01\%$; 9 月龄

$CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $43.60\% \pm 4.36\%$ 和 $2.32\% \pm 1.04\%$ (图 4)。结果显示, 在小鼠肺脏中, $CD45^- Sca-1^+$ 干细胞的数量也明显多于 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞, 并且 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞在各月龄段间分布比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

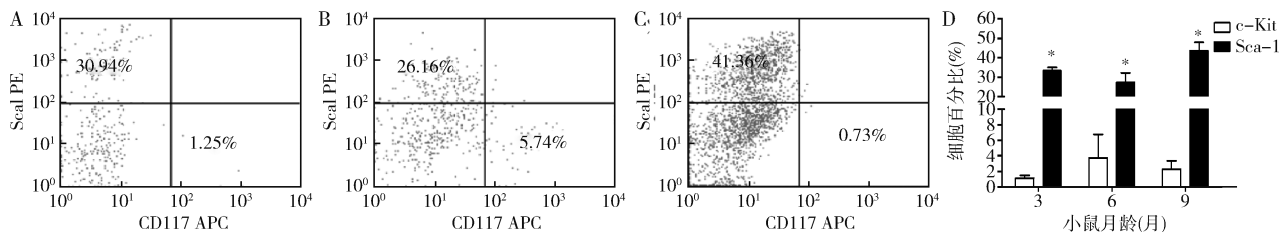


图 4 小鼠肺脏中 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞的分布规律

A. 3 月龄干细胞的分布; B. 6 月龄干细胞的分布; C. 9 月龄干细胞的分布; D. 不同月龄干细胞占比统计图, $n = 4 \sim 7$; 与 c-Kit 细胞比较, $* P < 0.05$

5. c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞在小鼠胰腺的年龄分布: 经流式细胞术检测结果显示, 在小鼠胰腺细胞中, 3 月龄小鼠的 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $5.91\% \pm 1.98\%$ 和 $1.36\% \pm 0.47\%$; 6 月龄小鼠 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的比例分别为 $6.54\% \pm 3.09\%$ 和 $1.24\% \pm 0.62\%$; 9 月龄小鼠 $CD45^- Sca-1^+$ 和 $CD45^- c-Kit^+$

细胞的比例分别为 $21.83\% \pm 3.23\%$ 和 $0.78\% \pm 0.15\%$ (图 5)。以上结果提示, 在小鼠胰腺组织中, $CD45^- Sca-1^+$ 干细胞的数量多于 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞, 且 $CD45^- Sca-1^+$ 干细胞在 9 月龄的百分比显著高于 3 月龄和 6 月龄 ($P < 0.05$, 图 5), 而 $CD45^- c-Kit^+$ 干细胞的分布比较, 差异无统计学意义。

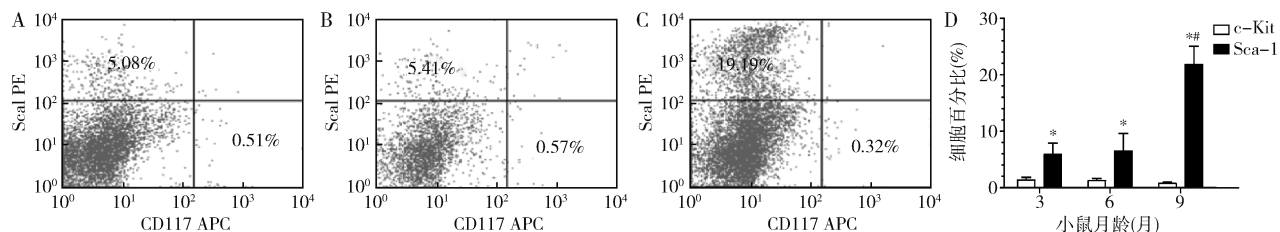


图 5 小鼠胰腺中 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞的分布规律

A. 3 月龄干细胞的分布; B. 6 月龄干细胞的分布; C. 9 月龄干细胞的分布; D. 不同月龄 c-Kit, Sca-1 阳性干细胞占比统计图, 在 3 月龄和 6 月龄, $n = 4 \sim 7$; 与 c-Kit 细胞比较, $* P < 0.05$; 与 Sca-1 细胞比较, $^{##} P < 0.05$

讨 论

目前, 心脏干细胞根据筛选标志物不同主要分为以下亚型: c-Kit⁺ 干细胞、Sca-1⁺ 干细胞、SP 细胞、Isl1⁺ 细胞等^[1,2]。其中 c-Kit⁺ 干细胞是发现最早的心脏干细胞, 其是一种酪氨酸激酶受体, 也称为干细胞因子受体 (stem cell factor receptor, SCF-R, CD117) 分布于干细胞膜上, 具有增殖、分化能力, 在一定条件下能诱导分化为心肌细胞、内皮细胞、平滑肌细胞^[1]。科学家从患者右心耳分离出 ckit⁺ 心脏干细胞, 在体外培养后, 通过冠状动脉灌注细胞进行治疗心肌梗死, 结果发现, 与对照组比较干细胞治疗组 4 个月后射血分数改善、梗死范围缩小, 说明 c-Kit 干细胞在心脏再生起着重要作用, 在心肌梗死治疗方面有着不可估量的应用^[3]。近年来, 另外一种干细胞膜表面标记干细胞抗原 1 (stem cell antigen 1, Sca-1⁺) 干细胞也越来越多地受到研究者的关注。Oh 等^[4]分离纯化得到一种 Sca-1 阳性的心脏祖细

胞, 这种细胞表达端粒酶, 缺乏造血干系标志物 CD45 和 CD34, 无造血转录因子的表达 (Lmo2、Gata2、Tal)。不同于 c-Kit⁺ 细胞, Sca-1⁺ 细胞不表达 Nkx2.5 和编码肌小节蛋白基因, 但表达心脏结构基因和其他心脏转录源性因子, 如 GATA-4、MEF-2C 和 TEF-1。同时科学家通过特殊诱导剂作用后发现 Sca-1⁺ 干细胞能诱导分化为内皮细胞和心肌细胞, 在心肌梗死后注射 Sca-1⁺ 干细胞治疗能明显降低致死性缺氧引发的病死率, 同时降低梗死面积提高梗死区域血管密度。这些研究结果表明 c-Kit⁺ 和 Sca-1⁺ 干细胞在心脏再生和心肌梗死治疗方面有着相同的作用^[5-7]。

心脏研究发现的这些干细胞类型是否也存在于小鼠其他脏器中呢? 带着这个问题进行了如下实验。小鼠的重要脏器骨髓、肝脏、肾脏、肺及胰腺被选作了研究组织, 除骨髓是直接冲灌外, 其他组织均采用组织块酶解法分离直径小于 30 μ m 的细胞, 由于 c-Kit 和 Sca-1 阳性干细胞均不表达 CD45, 因此先筛选 CD45⁻

细胞群,再通过 c-Kit 和 Sca-1 的免疫磁珠抗体筛选 Sca-1⁺ 和 c-Kit⁺ 干细胞在各组织脏器的分布情况。研究结果显示,在小鼠不同脏器中均有以上两种干细胞的分布;骨髓细胞中,c-Kit⁺ 干细胞的数量居多,其他脏器中均以 Sca-1⁺ 干细胞的数量占优势。以上结果提示,Sca-1⁺ 干细胞广泛存在于多种组织内,其有可能作为这些组织损伤修复的良好细胞来源^[8-11]。

Torella 等^[12] 研究发现,心脏干细胞与心脏衰老关系密切;随年龄增长,心脏干细胞功能退化、数量减少,引起心脏再生修复能力减弱,最终导致心脏功能减退;针对以上报道,笔者研究了 c-Kit 和 Sca-1 两种干细胞在小鼠不同脏器中的年龄分布规律,发现不同脏器中,随着年龄的增加,干细胞的数量并未出现显著的下降,有的甚至出现了升高的趋势,说明年老脏器的修复能力下降不是由于 c-Kit 和 Sca-1 干细胞数量减少导致的,干细胞随年龄增加而导致的功能下降可能是衰老组织修复能力下降的主要原因。

综上所述,本研究通过流式细胞术动态检测了小鼠不同月龄和不同组织器官来源的 Sca-1⁺ 和 c-Kit⁺ 干细胞的分布情况,明确了这两类干细胞在不同脏器中均有存在,并且干细胞随着年龄的增长并未出现明显的下降,这表明年老器官修复能力下降可能是干细胞功能的下降引起并不是干细胞数目减少引起。本研究为下一步研究干细胞在各类组织损伤中的作用奠定了基础。

参考文献

- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, *et al.* Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration[J]. *Cell*, 2003, 114(6):763-776
- Pfister O, Mouquet F, Jain M, *et al.* CD31⁻ but Not CD31⁺ cardiac side population cells exhibit functional cardiomyogenic differentiation[J]. *Circ Res*, 2005, 97(1):52-61
- Boyle AJ, Schulman SP and Hare JM. Stem cell therapy for cardiac repair[J]. *Circulation*, 2006, 114(4):339-352
- Oh H, Chi X, Bradfute SB, *et al.* Cardiac muscle plasticity in adult and embryo by heart-derived progenitor cells[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1015(1):182-189
- Li W, Liu H, Liu P, *et al.* Sphingosylphosphorylcholine promotes the differentiation of resident Sca-1 positive cardiac stem cells to cardiomyocytes through lipid raft/JNK/STAT3 and β -catenin signaling pathways[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(7):1579-1588
- Tanaka T, Obana M, Mohri T, *et al.* Interleukin-27 induces the endothelial differentiation in Sca-1⁺ cardiac resident stem cells[J]. *Cytokine*, 2015, 75(2):365-372
- Liu J, Wang Y, Du W, *et al.* Sca-1-positive cardiac stem cell migration in a cardiac infarction model[J]. *Inflammation*, 2013, 36(3):738-749
- Fernandez I, Fridley KM, Arasappan D, *et al.* Gene expression profile and functionality of ESC-derived Lin-ckit⁺ Sca-1⁺ cells are distinct from Lin-ckit⁺ Sca-1⁺ cells isolated from fetal liver or bone marrow[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12):e51944
- Shinkai T, Shinkai M, Pirker MA, *et al.* Spatial and temporal patterns of c-kit positive cells in embryonic lungs[J]. *Pediatr Surg Int*, 2011, 27(2):181-185
- Rangel EB, Gomes SA, Dulce RA, *et al.* C-kit⁺ cells isolated from developing kidneys are a novel population of stem cells with regenerative potential[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(8):1644-1656
- Kubo H, Berretta RM, Jaleel N, *et al.* c-Kit⁺ bone marrow stem cells differentiate into functional cardiac myocytes[J]. *Clin Transl Sci*, 2009, 2(1):26-32
- Torella D, Rota M, Nuszynska D, *et al.* Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression[J]. *Circ Res*, 2004, 94(4):514-524
- Zhang Z, Liu T, Yu M, *et al.* The plant alkaloid tetrandrine inhibits metastasis via autophagy-dependent Wnt/ β -catenin and metastatic tumor antigen 1 signaling in human liver cancer cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):7
- Dang Y, Xu Y, Wu W, *et al.* Tetrandrine suppresses lipopolysaccharide-induced microglial activation by inhibiting NF- κ B and ERK signaling pathways in BV2 cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e102522
- Li W, Yang C, Lu J, *et al.* Tetrandrine protects mouse retinal ganglion cells from ischemic injury[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 21(8):327-339
- Yagi Y, Fushida S, Harada S, *et al.* Effects of valproic acid on the cell cycle and apoptosis through acetylation of histone and tubulin in a scirrhous gastric cancer cell line[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29(1):149
- Sun X, Xu R, Deng Y, *et al.* Effects of tetrandrine on apoptosis and radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*:Shanghai, 2007, 39(11):869-878
- Lee JH, Kang GH, Kim KC, *et al.* Tetrandrine induced cell cycle arrest and apoptosis in A 549 human lung carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2002, 21(6):1239-1244
- Kuo PL, Lin CC. Tetrandrine induced cell cycle arrest and apoptosis in Hep G₂ cells[J]. *Life Sci*, 2003, 73(2):243-252

(收稿日期:2018-02-05)

(修回日期:2018-03-17)

(上接第 49 页)

(收稿日期:2018-03-19)

(修回日期:2018-03-25)