

响应面法优化民族药地板藤总黄酮提取工艺及其体外抗 EV71 病毒研究

张 洪 朱 雪 王 帅 李 菁 马大龙 张晓平

摘 要 **目的** 研究民族药地板藤中总黄酮最佳提取工艺及其对 EV71 病毒的抑制作用。**方法** 单因素试验确定考察因素及水平,采用 Box - Behnken 响应面法,用总黄酮得率为指标确定最佳提取工艺。体外抗病毒实验确定地板藤总黄酮抗 EV71 病毒效果。**结果** 地板藤中总黄酮的最佳提取工艺条件为提取温度 50℃,料液比 1:40 (g/ml),乙醇浓度 55.4249%,提取时间 1.5h。在此条件下地板藤黄酮得率为 1.169%。地板藤黄酮在体外抗病毒实验中对 EV71 病毒表现出较好抑制作用。**结论** 该法优化下地板藤总黄酮得率可以达到最优,且总黄酮具有一定体外抗 EV71 病毒的活性。

关键词 地板藤 总黄酮 响应面设计 抗病毒 EV71

中图分类号 R914

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.08.024

Optimization by Response Surface Methodology and Study on Against Enterovirus 71 of Total Flavonoids from Ficus Tikoua Bur. Zhang Hong, Zhu Xue, Wang Shuai, et al. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong 250355, China

Abstract **Objective** To study the optimum extraction process and the Inhibition on enterovirus 71 (EV71) of total flavonoids in Ficus tikoua Bur. **Methods** The investigation factors and levels were determined by single factor investigation. We used the yield of flavonoids as the index and Box - Behnken response surface as optimization method to determine the optimum extraction process. The effect of Flavonoids from Ficus tikoua Bur. against EV71 virus condition was determined by in vitro antiviral experiment. **Results** The optimum extraction conditions were found to be extraction at 50℃ for 90min using 50% aqueous ethanol with a solid - to - liquid ratio of 1:40 (g/ml), leading to an extraction yield of 1.235% (m/m). Flavones from Ficus tikoua Bur. showed a good inhibitory effect on EV71 virus in vitro. **Conclusion** The yield of flavonoids could reach the highest under the optimization of response surface methodology. The flavonoids had certain anti - EV71 activity in vitro.

Key words Ficus tikoua Bur.; Total flavonoids; Response surface methodology; Anti - virus; EV71

桑科榕属植物地果 (Ficus tikoua Bur.) 为多年生匍匐木质落叶藤本,又名地石榴、地瓜藤、地枇杷等,全株有白色的乳汁,主要分布于我国云南、贵州、广西、湖北、甘肃等地。藤茎入药为地板藤,始载于《滇南本草》,其味苦,性寒,有清热利湿、活血通络、解毒消肿之疗效,主治小儿消化不良、急性胃肠炎、痢疾、黄疸、风湿痹痛、带下、跌打损伤,是彝、苗、壮、傣、哈尼等民族广泛使用的民族药,资源丰富,药用价值高^[1,2]。本品《中国药典》2015 版未收载,《云南省中药材标准 (第 1 册 2005 版)》有收载。地板藤主要含

有黄酮类、三萜类、甾体类、香豆素类、有机酸类等化合物^[3-9]。

本试验在前期研究的基础上,以乙醇为提取溶剂,以提取温度、提取时间、乙醇浓度、料液比为考察因素进行单因素试验,采用 Box - Behnken 响应面法优化地板藤总黄酮的提取工艺并探究最优提取条件下地板藤总黄酮的抗病毒作用,为地板藤药材的进一步开发提供理论基础^[10-16]。

材料与方法

1. 材料:地板藤药材 (云南省昆明市新螺蛳湾中药材国际商贸城,批号:20160523) 经云南中医学院药用植物学杨耀文教授鉴定为桑科植物地果 Ficus tikoua Bur. 的干燥藤茎 (粉碎,过 40 目筛,备用);肠道病毒 71 型 (EV71);横纹肌瘤细胞 (RD); NaNO₂ (上海沪试化工有限公司,批号 20150708); Al(NO₃)₃ (天津市大茂化学试剂厂,批号 20160103); NaOH (上海沪试化工有限公司,批号 20171110); 培养基 (美国

基金项目:山东省高等学校科技计划项目 (J18KA301); 山东中医药大学大学生研究训练 (SRT) 计划项目 (2018057)

作者单位:250355 济南,山东中医药大学药学院 (张洪、朱雪、王帅、李菁、张晓平); 266005 青岛大学附属医院药品调剂科 (马大龙); 266112 山东中医药大学青岛中医药科学院 (张晓平)

通讯作者:张晓平,电子信箱:xia_opingzhang@126.com

Gibco 公司,批号 8118120);PBS 磷酸盐缓冲液(美国 Gibco 公司,批号 8116531);MTT(美国 VWR Life-Science 公司,批号 1636C097);0.25% Trypsin - EDTA (美国 Gibco 公司,批号 1869505)。

2. 仪器:酶标仪(Epoch 2 微孔板分光光度计,美国 Bio Tek 公司);离心机(TDD5M 台式多管自动平衡离心机);水浴加热锅(DZKW - S - 6 型,北京永光明医疗仪器厂);4℃ 冰箱(BCD - 278TAJ 型,海尔公司产品);-80℃ 冰箱(DW - 86L286 型,海尔公司产品)。

3. 醇提法提取地板藤总黄酮:精确称药材粉末 5g,乙醇回流提取后,浓缩,乙醇溶液定容于 100ml 容量瓶中,摇匀待用。

4. 芦丁标准曲线的制备:精密量取芦丁对照品溶液 1、2、3、4、5、6ml,分别置于 25ml 量瓶中,各加 30% 乙醇至 6.0ml,加 5% NaNO_2 溶液 1ml,混匀,静置 6min,加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1ml,摇匀,静置 6min,加 NaOH 试液 10ml,再加 30% 乙醇至刻度,摇匀,静置 15min,以相应试剂为空白,在 500nm 紫外波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。

5. $\text{NaNO}_2 - \text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 比色法测定地板藤总黄酮含量:精确吸取提取液 1.00ml 加入 10ml 具塞试管中,加 30% 乙醇至 6.0ml,加 5% NaNO_2 溶液 1ml,混匀,静置 6min,加 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 1ml,摇匀,静置 6min,加 NaOH 试液 10ml,再加 30% 乙醇至刻度,摇匀,静置 15min,以相应试剂为空白,在 500nm 紫外波长下测定吸光度。地板藤总黄酮提取率(%) = $\frac{m \times 100}{M} \times 100\%$ 。(m. 测量的样品中总黄酮含量;M. 称取的地板藤干重)。

6. Box - Benhnken 响应面法优化地板藤总黄酮提取工艺:使用依据 Box - Benhnken 中心组合设计原理,在单因素试验的基础上进行 3 因素 3 水平的响应面分析试验,选取影响地板藤总黄酮得率较大的 3 个因素(料液比、提取时间、乙醇浓度)为自变量,以总黄酮得率(%)为响应值,采用 Design - Expert V11.1.0.1 软件对数据进行多项式拟合回归,进一步进行响应面优化设计。

7. 病毒的准备:取 200 μl EV71 病毒毒株接种至长成的单层 RD 细胞上,吸附 30min 后,加入 10ml 2% DMEM 维持液后,在 37℃、5% CO_2 病毒培养箱中培养,同时设置细胞对照,当 90% 以上的细胞出现病变时,反复冻融 3 次,并吹打离心(1000r/min,

20min),定量分装上清液,待用。

8. CPE 法测定病毒毒力:将上述扩增的 EV71 病毒用 2% DMEM 培养液做 10 个梯度的 10 倍比系列稀释,每个梯度沿纵向重复 4 孔,并依次接种至已长好细胞的 96 孔板中;设置细胞对照与空白对照,置 96 孔板于 37℃、5% CO_2 病毒培养箱中进行培养,倒置显微镜逐日观察。当细胞出现 90% 以上病变时终止培养,吸去孔内培养液,每孔加入 20 μl MTT 溶液(5mg/ml),继续培养 4h,吸去孔内上清液。每孔加入 150 μl 二甲基亚砷,待沉淀结晶完全溶解后,酶标仪 490nm 波长下检测吸光度(A)值,计算 TCID_{50} 。细胞存活率(%) = $\frac{\text{各组细胞 } A \text{ 值}}{\text{正常细胞 } A \text{ 值}} \times 100\%$;细胞病变率 = $1 - \text{细胞存活率}$;细胞比距(%) = $\frac{(\text{高于 } 50\% \text{ 病变率} - 50\%)}{(\text{高于 } 50\% \text{ 病变率} - \text{低于 } 50\% \text{ 病变率})} \times 100\%$; $\text{TCID}_{50} = \text{Antilog}(\text{Ig 高于 } 50\% \text{ CPE 百分率病毒稀释度} + \text{比距} \times \text{稀释因子对数})$ 。

9. Reed - Meuench 公式法计算药物毒性:将试验药物用 2% DMEM 维持也稀释 10 个浓度梯度,接种于已经长成单层的 RD 细胞的 96 孔板中,设 4 个复孔、细胞对照孔和空白对照孔,置 37℃、5% CO_2 病毒培养箱中进行培养,倒置显微镜逐日观察,当细胞出现 90% 以上病变时终止培养,吸去孔内培养液,每孔加入 20 μl MTT 溶液(5mg/ml),继续培养 4h,吸去孔内上清液。每孔加入 150 μl 二甲基亚砷,待沉淀结晶完全溶解后,酶标仪 490nm 波长下检测吸光度 A 值,计算 TC_{50} 。 $\text{TC}_{50} = [\text{Antilog}(\log \text{ 高于 } 50\% \text{ CPE 百分率病毒稀释度} + \text{比距})] \times C$ 。

10. MTT 法进行地板藤总黄酮抗病毒试验:在已长成单层的 RD 细胞中自无毒浓度起每孔加入 100ml 供试品,供试品用 2% DMEM 培养液二倍比系列稀释并设置 10 个浓度梯度,每孔再加入 100 μl 100 倍 TCID_{50} 的病毒液,同时设病毒对照组及空白细胞对照组,每组 4 个复孔,置 37℃、5% CO_2 病毒培养箱中进行培养,48h 后终止培养,吸去孔内培养液,每孔加入 20 μl MTT 溶液(5mg/ml),继续培养 4h,吸去孔内上清液。每孔加入 150 μl 二甲基亚砷,待沉淀结晶完全溶解后,酶标仪 490nm 波长下检测吸光度 A 值,计算药物半数有效浓度(EC_{50})和治疗指数(TI)。 $\text{EC}_{50} = [\text{Antilog}(\text{高于 } 50\% \text{ CPE 百分率病毒稀释度的值} - \text{比距})] \times C$;治疗指数(TI) = 半数毒性浓度(TC_{50})/半数有效浓度(EC_{50})。

结 果

1. 单因素考察试验结果:在单因素试验中,对于提取时间的单因素试验结果见图 1,当提取时间为 0.5h 时,地板藤中总黄酮得率为 0.3405mg/ml,当提取时间达到 1.0h 时总黄酮得率达到最大,为 0.3507mg/ml,0.5~1.0h,地板藤中总黄酮得率随着提取时间的增长而逐渐增大;当提取时间达到 1.5h,总黄酮得率最低,为 0.2518mg/ml,之后随时间延长增加至 0.2950mg/ml,但得率整体下降。因此,选择 0.5、1.0、1.5h 3 个提取时间水平进行优化。对于乙醇浓度的单因素试验结果见图 2,当乙醇浓度为 40%~60%,随着乙醇浓度的增加地板藤中总黄酮得率自 0.2452mg/ml 逐渐增大;当乙醇浓度为 60% 时总黄酮得率最大,为 0.3333mg/ml;乙醇浓度大于 60% 后,总黄酮得率随乙醇浓度增大而逐步下降至 0.2933mg/ml。因此,选择 50%、60%、70% 3 个乙醇浓度水平进行优化。

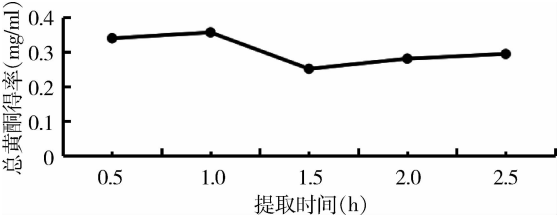


图 1 提取时间对得率的影响

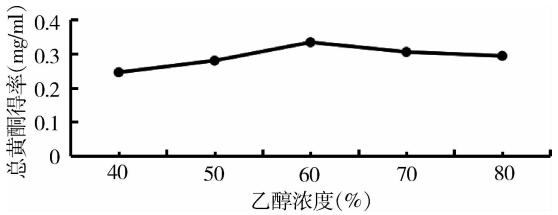


图 2 乙醇浓度对得率的影响

对于料液比的单因素试验结果见图 3,随料液比的增加地板藤中总黄酮得率由 0.1994mg/ml 逐渐增加至 0.3517mg/ml。综合考虑到节约人力、资源等因素,选择 1:20、1:30、1:40g/ml 3 个料液比水平进行优化。对于提取温度的单因素试验结果见图 4,提取温度为 50℃ 时,地板藤中总黄酮得率最高,为 0.3245mg/ml。综合 4 个单因素试验,提取温度对总黄酮得率的影响较小,因此不对提取温度因素进行优化,仅选择 50℃ 作为提取温度的条件使用。

2. Box - Benhnken 响应面法优化提取工艺:利用 Design - Expert V11.1.0.1 软件进行响应面优化,响

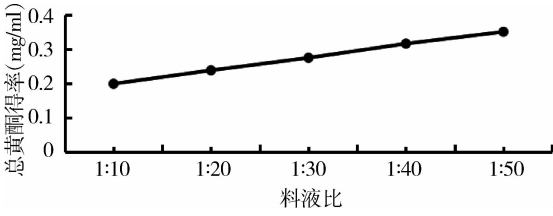


图 3 料液比对得率的影响

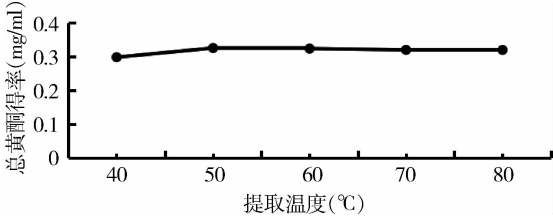


图 4 提取温度对得率的影响

应面实验设计及结果见表 1。各因素对总黄酮得率的影响大小依次为料液比 > 提取时间 > 乙醇浓度。优化的最佳提取工艺为料液比 1:40,提取时间 1.5h,乙醇浓度 55.4249%,在此条件下,总黄酮得率为 1.169%。为便于操作,最终将提取条件调整为料液比 1:40,提取时间 1.5h,乙醇浓度 55%。方差分析结果见表 2,模型回归项 $F = 13.56, P < 0.01$,说明建立的回归模型准确,其中方程失拟项 $P > 0.05$,误差较小,建立的回归模拟方程为 $Y = 0.9529 + 0.0396A + 0.0250B - 0.0221C + 0.0134AB + 0.0287AC - 0.0345BC - 0.0268A^2 + 0.1431B^2 + 0.0480C^2$ ($R^2 = 0.9458$, 决定系数 $R^2_{adj} = 8760$),说明回归模型与实际

表 1 响应面实验设计及结果

序号	A	B	C	Y. 总黄酮得率(%)
1	0	0	0	0.95550
2	0	0	0	0.95313
3	-1	0	1	0.89233
4	1	0	-1	0.99844
5	0	0	0	0.89962
6	0	0	0	1.01214
7	0	-1	-1	1.09910
8	-1	1	0	1.02511
9	-1	0	-1	0.99175
10	0	1	-1	1.23514
11	0	1	1	1.11985
12	0	-1	1	1.12164
13	1	-1	0	1.08651
14	1	1	0	1.14612
15	-1	-1	0	1.01912
16	0	0	0	0.94419
17	1	0	1	1.01389

表 2 方差分析					
来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	0.1305	9	0.0145	13.56	0.0012
A	0.0125	1	0.0125	11.73	0.0111
B	0.0050	1	0.0050	4.67	0.0675
C	0.0039	1	0.0039	3.65	0.0976
AB	0.0007	1	0.0007	0.67	0.4392
AC	0.0033	1	0.0033	3.09	0.1224
BC	0.0047	1	0.0047	4.44	0.0730
A ²	0.0030	1	0.0030	2.82	0.1369
B ²	0.0862	1	0.0862	80.63	0.0000
C ²	0.0097	1	0.0097	9.06	0.0197
残差	0.0075	7	0.0011	—	—
失拟项	0.0011	3	0.0004	0.22	0.8795
纯误差	0.0064	4	0.0016	—	—
总离差	0.1380	16	—	—	—

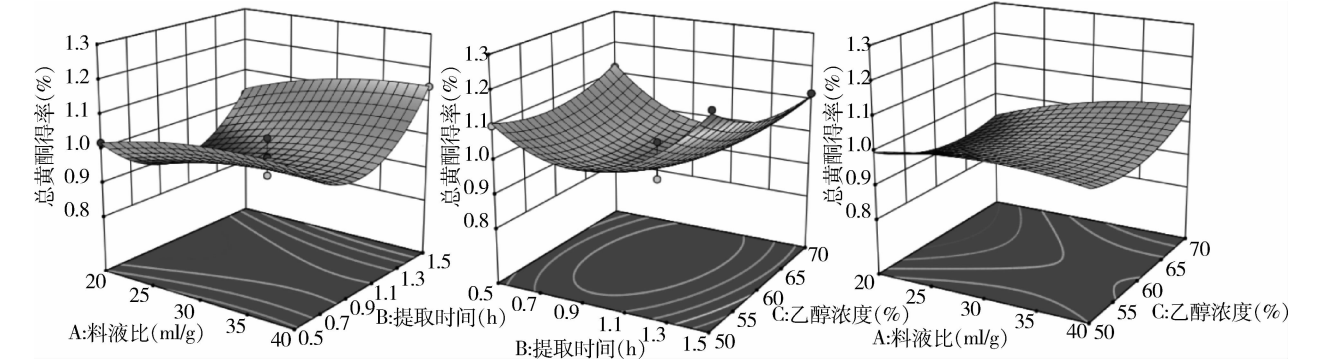


图 5 各因素交互作用对地板藤中总黄酮得率的影响

3. 验证性试验结果:根据优选得到的最佳工艺参数进行验证试验,分别称取样品粉末 10g,各 5 份,测定其总黄酮得率所得率为 1.1687% (RSD = 0.93%, $n = 5$),说明该回归方程对总黄酮得率的预测准确率高,所优化的总黄酮工艺重复性及可操作性均较好。

4. 体外抗病毒试验结果:在病毒的毒力测定试验中,测得 TCID₅₀ 值为 $10^{-4.42}$;在药物的毒性测定试验中,测得 TC₅₀ 值为 0.789;在总黄酮的药物毒性试验中测得 EC₅₀ 值为 0.084,计算得治疗指数 TI 值为 9.39。表明地板藤总黄酮在体外表现出了较好的抗 EV71 病毒作用。

讨 论

响应面优化法(RSM)是一种综合试验设计和数学建模的优化方法,有着试验精度高、次数少、数学模型预测性好等优势,且对试验每个水平均可进行连续分析,克服了正交试验只能对某一独立点进行分析的缺点。响应面优化法主要有 Doehlert(DM)、星点设

测量值的拟合度较好,能够对响应值(总黄酮得率 A)进行预测。根据拟合方程绘制曲面图及等高线图,结果见图 5。考察拟合后的效应曲面,分析各因素交互作用对地板藤中总黄酮得率影响,当乙醇浓度一定时,总黄酮得率随料液比的增加而呈增大的趋势,随提取时间的增长呈先降低后增加的趋势;当料液比一定时,总黄酮得率随提取时间与乙醇浓度的增加均呈先降低后增加的趋势;当提取时间一定时,总黄酮得率随料液比的增加变化不大,随乙醇浓度的增加呈现较弱的上升趋势。由此可见,料液比与提取时间、提取时间与乙醇浓度的交互影响作用较大,而料液比与乙醇浓度的交互影响较小。

计(CCD)与 Box – Behnken(BBD)3 种常用的实验设计方法。

本实验采用 Box – Behnken 响应面优化法,对地板藤总黄酮的提取工艺进行优化。首先通过单因素考察,发现提取温度、提取时间、乙醇浓度、料液比 4 个因素对醇提总黄酮得率均有不同程度的影响,后以对总黄酮得率作用较显著的 3 个因素作为优化条件,采用响应面优化法对提取工艺进行优化,确定地板藤中总黄酮的最佳提取工艺条件为料液比 1:40,提取时间 1.5h,乙醇浓度 55.4249%,此时总黄酮得率最高,达到 1.169%,该提取方法经济可行,可进一步开发用于工业化生产。地板藤总黄酮表现出较好的抗 EV71 病毒效果,后续加强研究地板藤中总黄酮对其他病毒的抑制作用并进一步分离纯化,以期找到其发挥主要有效成分,为地板藤资源的开发利用奠定良好的基础。

(致谢:本研究在山东中医药大学创新训练平台上完成,项目号 2018057,特此感谢)

参考文献

- 1 中国科学院植物研究所. 中国植物志: 第一分册[M]. 北京: 北京科学出版社, 1998: 156 – 158
 - 2 张文平, 张晓平, 刘娜, 等. 民族药地板藤的研究进展[J]. 中国现代中药, 2016, 18(4): 531 – 534
 - 3 Zhou SY, Wang R, Deng LQ, *et al.* A new isoflavanone from *Ficus tikoua* Bur[J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(21): 2516 – 2522
 - 4 张文平, 张晓平, 宋雪兰, 等. 民族药地板藤中芦丁 TLC 鉴别与 HPLC 含量测定研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(13): 33 – 36
 - 5 徐蔚, 王培, 李尚真, 等. 地果根茎化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2): 270 – 272
 - 6 Wei SP, Wu WJ, Ji ZQ. New antifungal pyranoisoflavone from *ficus tikoua* bur. [J]. *Int J Mol Sci (Online)*, 2012, 13(6): 7375 – 7382
 - 7 杨世波, 张润芝, 江志勇, 等. 地板藤根的化学成分研究[J]. 中成药, 2014, 36(3): 554 – 558
 - 8 郭良君, 谭兴起, 郑巍, 等. 地瓜藤化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(9): 1709 – 1711
 - 9 关永霞, 杨小生, 佟丽华, 等. 苗药地瓜藤化学成分的研究[J]. 中草药, 2007, 3: 342 – 344
 - 10 张文平, 张晓平, 邓杰, 等. 民族药地板藤中总黄酮含量的测定[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(11): 25 – 27
 - 11 张文平, 张晓平, 马大龙, 等. 民族药地板藤不同萃取部位体外抗病毒实验研究[J]. 中国现代中药, 2018, 20(3): 288 – 292, 304
 - 12 张文平, 张晓平, 时瑞梓, 等. 民族药地板藤止血抗炎及镇痛作用研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(12): 2905 – 2906
 - 13 林香信, 颜孙安, 姚清华, 等. 响应面法优化超声辅助提取黄秋葵花总黄酮的工艺研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(1): 19 – 27
 - 14 姜月. 响应面法优化提取藏红花中总黄酮的提取工艺[J]. 当代化工研究, 2017, 11: 123 – 124
 - 15 Ma YQ, Liu MH, Tan T, *et al.* Deep eutectic solvents used as extraction solvent for the determination of flavonoids from *Camellia oleifera* flowers by high – performance liquid[J]. *Phytochem Anal*, 2018, 29(6): 639 – 648
 - 16 金青青, 梁洁, 徐晖, 等. Box – Behnken 响应面法优化龙眼叶总黄酮提取工艺[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(12): 2599 – 2601, 2702
(收稿日期: 2018 – 11 – 22)
(修回日期: 2018 – 12 – 06)
-
- (上接第 104 页)
- 6 Zhu J, Shi H, Liu H, *et al.* Long non – coding RNA TUG1 promotes cervical cancer progression by regulating the miR – 138 – 5p – SIRT1 axis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 65253 – 65264
 - 7 Prola A, Pires Da Silva J, Guilbert A, *et al.* SIRT1 protects the heart from ER stress – induced cell death through eIF2 α deacetylation[J]. *Cell Death Different*, 2017, 24(2): 343 – 346
 - 8 Zerr P, Palumbo – Zerr K, Huang J, *et al.* Sirt1 regulates canonical TGF – β signalling to control fibroblast activation and tissue fibrosis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 73(S2): 557 – 561
 - 9 Chaib I, Karachaliou N, Pilotto S, *et al.* Co – activation of P – STAT3 and YES – associated protein 1 (YAP1) pathway in EGFR – Mutant NSCLC[J]. *J Nat Cancer Institute*, 2017, 109(9): 65 – 67
 - 10 Saini U, Naidu S, Elnaggar AC, *et al.* Elevated P – STAT3 expression in ovarian cancer ascites promotes invasion and metastasis; a potential therapeutic target[J]. *Oncogene*, 2017, 36(2): 168 – 170
 - 11 Aryal B, Singh AK, Rotllan N, *et al.* microRNAs and lipid metabolism[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(3): 1 – 3
 - 12 Zhang HJ, Wei QF, Wang SJ, *et al.* LncRNA HOTAIR alleviates rheumatoid arthritis by targeting miR – 138 and inactivating NF – κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 50(2): 283 – 290
 - 13 Patel GK, Khan MA, Bhardwaj A, *et al.* Exosomes confer chemoresistance to pancreatic cancer cells by promoting ROS detoxification and miR – 155 – mediated suppression of key gemcitabine – metabolising enzyme, DCK[J]. *Bri J Cancer*, 2017, 116(5): 609 – 619
 - 14 Zhu Z, Tang J, Wang J, *et al.* miR – 138 acts as a tumor suppressor by targeting EZH2 and enhances cisplatin – induced apoptosis in osteosarcoma cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): 026 – 028
 - 15 Qiu G, Li X, Che X, *et al.* SIRT1 is a regulator of autophagy: implications in gastric cancer progression and treatment[J]. *FEBS Lett*, 2016, 589(16): 2034 – 2042
 - 16 Wang Y, Bi Y, Chen X, *et al.* Histone deacetylase SIRT1 negatively regulates the differentiation of interleukin – 9 – producing CD4⁺ T cells[J]. *Immunity*, 2016, 44(6): 1337 – 1349
 - 17 Ok CY, Chen J, Xumonette ZY, *et al.* Clinical implications of phosphorylated P – STAT3 expression in De Novo diffuse large B – cell lymphoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 20(19): 5113 – 5123
 - 18 Liu Y, Luo F, Wang B, *et al.* P – STAT3 – regulated exosomal miR – 21 promotes angiogenesis and is involved in neoplastic processes of transformed human bronchial epithelial cells[J]. *Cancer Lett*, 2016, 370(1): 125 – 135
(收稿日期: 2018 – 08 – 06)
(修回日期: 2018 – 10 – 23)