

## 基础研究 · Basic Research

## 槐耳颗粒对体外培养的人卵巢癌SKOV-3细胞增殖和凋亡的影响

刘宇<sup>1,2</sup>, 张义军<sup>3</sup>, 李宝玉<sup>4</sup>, 陈霞飞<sup>4</sup>, 王菊<sup>1,2</sup>, 周宗瑶<sup>1,2</sup>Effects of Huaier Particles on the proliferation and apoptosis of human ovarian cancer SKOV3 cells *in vitro*LIU Yu<sup>1,2</sup>, ZHANG Yijun<sup>3</sup>, LI Baoyu<sup>4</sup>, CHEN Xiafei<sup>4</sup>, WANG Ju<sup>1,2</sup>, ZHOU Zongyao<sup>1,2</sup>

## [摘要]

目的：观察槐耳颗粒对卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖和凋亡的影响，并探讨其可能的作用机制。

方法：取对数生长期的 SKOV-3 细胞，用不同质量浓度的槐耳颗粒（0、2、4 和 8 mg/mL）处理 48 h 后，在倒置相差显微镜下观察 SKOV-3 细胞形态的变化；CCK-8 法检测槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞增殖的影响；FCM 法检测槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞凋亡的影响；蛋白质印迹法检测槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞中凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达的影响。

结果：用不同质量浓度的槐耳颗粒处理 SKOV-3 细胞 48 h 后倒置显微镜下观察发现，各组 SKOV-3 细胞的形态均发生改变。CCK-8 检测结果显示，不同质量浓度的槐耳颗粒能显著抑制 SKOV-3 细胞的增殖（ $P < 0.05$ ），且呈时间和剂量依赖性；槐耳颗粒能诱导 SKOV-3 细胞发生凋亡，与对照组相比，早期凋亡率明显增加，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；蛋白质印迹法检测结果显示，槐耳颗粒可下调 Bcl-2 蛋白的表达水平（ $P < 0.05$ ），而上调 Bax 和 cleaved-caspase3 蛋白的表达水平（ $P$  值均  $< 0.05$ ）。

结论：槐耳颗粒在体外可抑制人卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖并诱导其凋亡。

[关键词] 卵巢肿瘤；植物制剂；细胞增殖；细胞凋亡；槐耳颗粒

## [ABSTRACT]

Objective: To investigate the effects of Huaier Particles on proliferation and apoptosis of ovarian cancer SKOV-3 cells *in vitro*, and to explore its possible mechanism.

Methods: The SKOV-3 cells were treated with different concentrations of Huaier Particles (0, 2, 4 and 8 mg/mL) for 48 h. Then the morphological changes of SKOV-3 cells were observed under an inverted phase contrast microscope. The proliferation and apoptosis of SKOV-3 cells were detected by CCK-8 method and FCM, respectively. The expression levels of apoptosis-related protein Bcl-2, Bax and cleaved-caspase 3 were detected by Western blotting.

DOI: 10.3781/j.issn.1000-7431.2016.11.913

## [作者单位]

1. 石河子大学医学院组胚教研室，新疆维吾尔自治区石河子 832002；2. 石河子大学医学院病理系/新疆地方与民族高发病重点实验室，新疆维吾尔自治区石河子 832002；3. 石河子大学医学院第一附属医院药剂科，新疆维吾尔自治区石河子 832002；4. 石河子大学医学院临床医学系，新疆维吾尔自治区石河子 832002

[中图分类号] R737.31 [文献标志码] A  
[文章编号] 1000-7431(2016)06-0644-06

## [基金项目]

兵团青年科技创新资金专项资助课题（编号：2013CB014）

## AUTHORS FROM

1. Department of Histology and Embryology, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 2. Department of Pathology, Key Laboratory for Endemic and Ethnic Diseases, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 3. Department of Pharmacy, First Affiliated Hospital, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; 4. Department of Clinical Medicine, Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: ZHOU Zongyao (周宗瑶)  
E-mail: zongyaozh@163.com

## GRANT

Youth Science and Technology Innovation Foundation of Corps (No. 2013CB014)

TUMOR, 2016, 36 (06): 644-649

FINANCIAL DISCLOSURE: The authors have indicated they have no financial relationships relevant to this article to disclose.

Received 2015-11-16 Accepted 2016-01-18

Copyright© 2016 by TUMOR All rights reserved

Results: The apoptosis-related morphological changes were observed in SKOV-3 cells treated with different concentrations of Huaier Particle. The proliferation of SKOV-3 cells was inhibited by Huaier Particles in time- and dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ), and the percentage of early apoptosis cells in Huaier Particle treatment group was significantly increased as compared with that in Huaier Particle-untreated group ( $P < 0.05$ ). The expression levels of Bax and cleaved-caspase 3 proteins were significantly up-regulated (both  $P < 0.05$ ), the the expression level of Bcl-2 protein was significantly down-regulated ( $P < 0.05$ ).

Conclusion: Huaier Particles can significantly suppress the proliferation and induce the apoptosis of human ovarian cancer SKOV-3 cells *in vitro*.

[KEY WORDS] Ovarian neoplasms; Plant preparations; Cell proliferation; Apoptosis; Huaier Particles

每年全世界大约有 225 000 名女性被诊断为卵巢癌,占女性肿瘤的 3.7%<sup>[1]</sup>,其病死率高居女性生殖系统恶性肿瘤之首。由于卵巢癌发病隐匿,早期缺乏特异性症状,多数患者初次诊断时已属晚期(Ⅲ/Ⅳ期),常同时伴有广泛的盆腔和腹腔转移,极大的降低了手术清除癌细胞的疗效。目前,卵巢癌的治疗方法主要以手术清除病灶为主,术后再辅以铂类或紫杉醇联合化疗。传统化疗药物通过损伤肿瘤细胞的 DNA 达到抑制肿瘤细胞生长的目的,虽然取得了一定的疗效,但是随之而来的不良反应,包括对正常细胞的损伤及肿瘤原发性耐药现象的出现限制了其广泛的应用。因此,寻找新的、有效的、安全性高的新型抗癌药物成为抗肿瘤药物研究领域的热点。

中药槐耳,在中国已有 1 600 多年的历史,一直是中国民间重要的药用真菌。有研究显示,槐耳的抗癌活性成分多糖蛋白可通过增强巨噬细胞的吞噬功能,并诱导其分泌肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1) 和干扰素  $\alpha$  (interferon- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ ) 等细胞因子增强机体固有免疫和体液免疫能力达到抗肿瘤的目的<sup>[2]</sup>,还可以通过增强自然杀伤细胞的活性和 T 细胞亚群水平,增强机体细胞免疫功能<sup>[3]</sup>。体外研究结果证实,槐耳清膏对肿瘤细胞亦具有直接杀伤的作用,其机制包括阻滞细胞周期于 S 期<sup>[4]</sup>或 G<sub>2</sub>/M 期<sup>[5]</sup>,调节细胞凋亡相关蛋白 p53、Bax、Bcl-2 及 caspase-3 等蛋白的表达<sup>[5]</sup>。另有研究结果证实,槐耳还具有抑制肿瘤血管形成的能力<sup>[6]</sup>。槐耳在逆转部分肿瘤细胞株耐药和增强化疗敏感性上亦表现出了独特的优势,李戎等<sup>[7]</sup>在对人

乳腺癌耐多柔比星(adriamycin, ADR)的细胞 MCF-7/ADR 的研究中发现,槐耳能显著降低 ADR 对 MCF-7/ADR 细胞的半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)值,并且下调 MCF-7/ADR 细胞中耐药基因多药耐药 1 (multidrug resistance 1, MDR1) 基因 mRNA 以及相应的蛋白 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)和多药耐药相关蛋白(multidrug resistance-associated protein, MRP)的表达水平。国内外关于槐耳对卵巢癌的影响的相关研究报道甚少,本研究主要探讨了槐耳对卵巢癌 SKOV-3 细胞凋亡的影响,以期对槐耳在临床上进一步应用于卵巢癌治疗的研究提供一些理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞及试剂

人卵巢癌 SKOV-3 细胞购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC),由本实验室保存并传代;胎牛血清购自以色列 BI (Bioind) 公司;RPMI 1640 培养液和青链霉素购自美国 HyClone 公司;DMSO 购自美国 Gibco 公司;CCK-8 购自日本株式会社同仁化学研究所;Annexin V-FITC/碘化丙啶(propidium iodide, PI)试剂盒购自南京凯基生物科技有限公司;槐耳颗粒(商品名称:金克槐耳颗粒;批准文号:国药准字 Z20000109)购买自启东盖天力药品有限公司。兔抗人 Bcl-2、Bax 和 cleaved-caspase 3 单克隆抗体购自美国 Cell Signaling 公司,鼠抗人  $\beta$ -actin 单克隆购自北京中杉金桥生物技术有限公司,羊抗兔 IgG 及羊

抗鼠 IgG 均购自北京中杉金桥生物技术有限公司, RIPA 细胞裂解液购自北京索莱宝科技有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 细胞培养及药物的配制

将卵巢癌 SKOV-3 细胞培养于含 10% 胎牛血清、100 U 青霉素和链霉素的 RPMI 1640 培养液中,置于 37℃、CO<sub>2</sub> 体积分数为 5% 培养箱中进行培养,培养至对数生长期时用于实验。称取 16 g 槐耳颗粒溶于 1 L RPMI 1640 培养液中,用滤膜孔径为 0.22 μm 的滤器滤过后,配制为质量浓度为 16 mg/mL 的原液储存于 4℃ 冰箱中备用,使用时培养液梯度稀释至工作浓度。

### 1.2.2 细胞形态的观察

取对数生长期的 SKOV-3 细胞,以  $2 \times 10^5$  个/孔的密度接种于 6 孔板中,用不同质量浓度的槐耳颗粒 (0、2、4 和 8 mg/mL) 处理 48 h,倒置显微镜下观察细胞的形态。

### 1.2.3 CCK-8 法检测细胞的增殖抑制率

取对数生长期的 SKOV-3 细胞,以  $2.5 \times 10^3$  个/孔的密度接种于 96 孔板中,用不同质量浓度的槐耳 (0、2、4 和 8 mg/mL) 分别处理细胞 24、48 和 72 h,每个浓度组设 6 个复孔,在免疫酶标仪 450 nm 波长测定吸光度 (*D*) 值。细胞活性 (%) = 实验组平均 *D* 值 / 对照组平均 *D* 值 × 100%。

### 1.2.4 FCM 法检测细胞的凋亡

取对数生长期的 SKOV-3 细胞,用不同质量浓度的槐耳颗粒 (0、2、4 和 8 mg/mL) 处理细胞 48 h,用胰蛋白酶消化细胞后,Binding buffer 重浮细胞沉淀,制备为单细胞悬液,分别加入 5 μL Annexin V 和 PI,4℃ 避光孵育 30 min 后,1 h 内上流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。

### 1.2.5 蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 cleaved-caspase3 的表达

取对数生长期的 SKOV-3 细胞,用不同质量浓度的槐耳颗粒 (0、2、4 和 8 mg/mL) 处理细胞 48 h 后,提取各组细胞的总蛋白,采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒检测蛋白的浓度,取 60 μg 蛋白行 15% SDS-PAGE 分离蛋白,随后将分离后

的蛋白电转移至 PVDF 膜上,用封闭液室温封闭处理 1 h, TBST 洗膜 3 次每次 5 min,加入一抗 [兔抗人 Bax 和 Bcl-2 单克隆抗体、兔抗人 cleaved-caspase 3 单克隆抗体和鼠抗人 β-actin 单克隆 (内参照) (体积稀释比例均为 1 : 1 000)], 4℃ 反应过夜。TBST 洗膜 3 次每次 5 min,加入二抗 [羊抗兔 IgG 和羊抗鼠 IgG (体积稀释比例均为 1 : 15 000)] 室温反应 1 h,采用 ECL 试剂盒进行发光反应 (5 ~ 10 min),显影,定影,扫描胶片,最后行灰度值分析,以目的蛋白的条带灰度值与内参照蛋白条带的灰度值之比表示目的蛋白的相对表达量。

## 1.3 统计学方法

所有实验均独立重复 3 次,应用 SPSS 13.0 统计学软件对所有数据进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用 LSD-*t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞形态的影响

倒置光学显微镜下观察结果 (图 1) 显示,对照组 (未用槐耳颗粒处理) 细胞密度适中,细胞质均匀透亮,细胞核清晰,包膜完整,细胞贴壁生长,而实验组随药物浓度的增加,细胞密度逐渐降低,细胞变狭长、皱缩,细胞体积缩小,折光性差,细胞质浑浊,脱落、漂浮,活细胞数量明显减少。

### 2.2 槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞增殖的影响

CCK-8 法检测结果 (表 1) 显示,不同质量浓度的槐耳颗粒均能显著抑制 SKOV-3 细胞的增殖,且随药物剂量的增加和作用时间的延长,细胞的活性逐渐降低呈剂量-时间效应,与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P$  值均  $< 0.05$ )。

### 2.3 槐耳颗粒可诱导 SKOV-3 细胞发生凋亡

FCM 法检测结果 (图 2) 显示,不同浓度的槐耳颗粒作用于 SKOV-3 细胞 48 h 后,槐耳颗粒 (8 mg/mL) 组 SKOV-3 细胞的早期凋亡率为  $(16.81 \pm 0.96)\%$ ,明显高于槐耳颗粒 (2 mg/mL) 组的  $(8.40 \pm 1.12)\%$  和槐

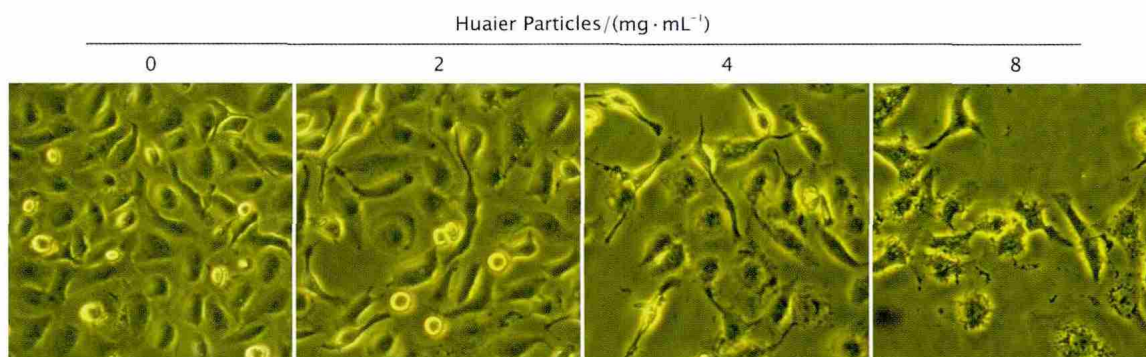


Fig. 1 The morphological changes of SKOV-3 cells treated with different concentrations of Huaier Particles (A-D: 0, 2, 4 and 8 mg/mL) for 48 h were observed under an inverted phase contrast microscope ( $\times 200$ ).

图 1 不同浓度的槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞形态学的影响 ( $\times 200$ )

表 1 CCK-8 法检测槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞增殖的影响

Table 1 Proliferative activity of SKOV-3 cells treated by Huaier Particles were detected by CCK-8 assay ( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

Huaier Particles/(mg·mL <sup>-1</sup> )	Cell viability/%		
	24 h	48 h	72 h
0	100.00 ± 4.21	100.00 ± 3.89	100.00 ± 6.17
2	92.48 ± 4.54 <sup>*</sup>	77.13 ± 2.84 <sup>*</sup>	65.24 ± 3.98 <sup>*</sup>
4	79.65 ± 7.11 <sup>*</sup>	40.60 ± 5.03 <sup>*</sup>	24.94 ± 5.52 <sup>*</sup>
8	55.76 ± 4.53 <sup>*</sup>	27.71 ± 4.63 <sup>*</sup>	14.05 ± 6.62 <sup>*</sup>

<sup>\*</sup> $P < 0.05$ , vs the control (0 mg/mL).

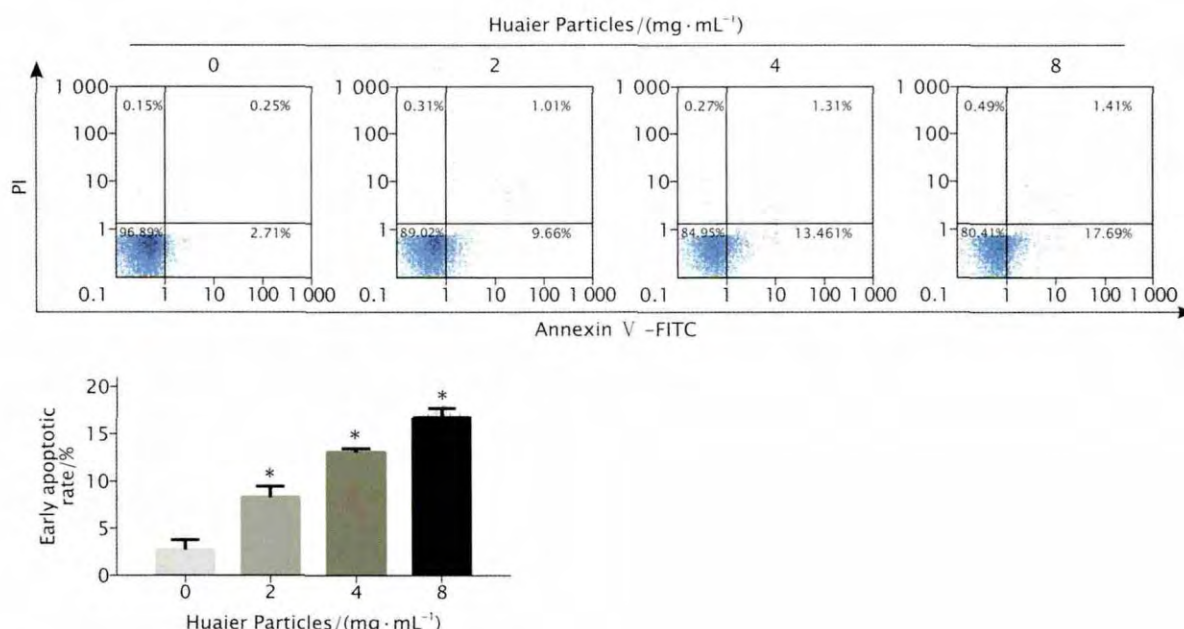


Fig. 2 Effect of Huaier Particles on early apoptosis rate of SKOV-3 cells was detected by FCM assay. SKOV-3 cells were treated with different concentrations of Huaier Particles (2, 4 and 8 mg/mL) for 48 h, while SKOV-3 cells was treated without Huaier Particles (0 mg/mL) as the control.  $P < 0.05$ , vs the control (0 mg/mL) ( $n = 3$ ).

图 2 FCM 法检测不同浓度的槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞早期凋亡率的影响

耳颗粒 (4 mg/mL) 组的 ( $13.19 \pm 0.38$ ) % ( $P$  值均  $< 0.05$ ); 这一结果提示, 槐耳颗粒可诱导 SKOV-3 细胞发生凋亡, 且呈浓度依赖性。

#### 2.4 槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞中 Bcl-2、Bax 和 cleaved-caspase 3 蛋白表达的影响

蛋白质印迹法检测结果 (图 3) 显示,

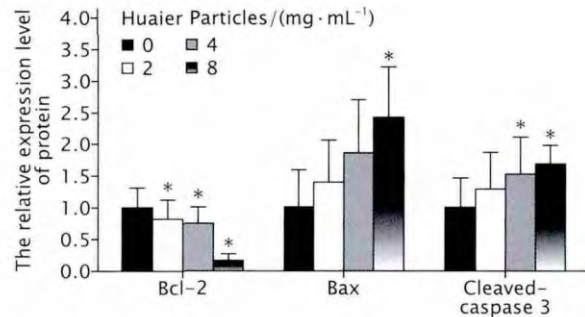
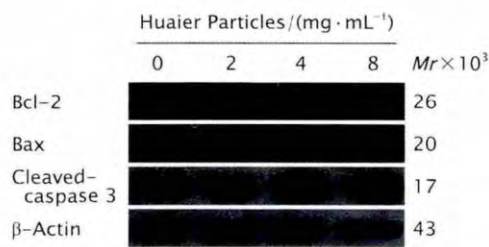


Fig. 3 The expression levels of Bcl-2, Bax and cleaved-caspase 3 proteins in SKOV-3 cells treated with different concentrations of Huaier Particles (0, 2, 4 and 8 mg/mL) for 48 h were detected by Western blotting.  $\beta$ -Actin was used as the internal control.  $P < 0.05$ , vs the control (0 mg/mL) ( $n = 3$ ).

图 3 蛋白质印迹法检测不同浓度的槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞中 Bcl-2、Bax 和 cleaved-caspase3 蛋白表达的影响

### 3 讨论

卵巢癌细胞异常增殖和凋亡抑制与肿瘤发生密切相关, 是其难以彻底治愈的关键, 尽管铂类化疗药物在临床治疗中取得了一定的效果, 但原发性和继发性耐药问题日渐明显, 是导致卵巢癌复发和治疗失败的最主要原因之一。寻找有效的、安全的、新型的化疗药物成为已成为现代肿瘤学研究的新方向。

槐耳为多孔菌科真菌槐栓菌的子实体, 多生长于槐树和青檀等树干上, 槐耳清膏为槐耳菌质发酵后的热水提取物, 其主要活性成分包括 6 种单糖、18 种氨基酸和 10 余种矿物质元素<sup>[8]</sup>。近年来, 槐耳因其抗癌特性而受到广泛关注, 其不仅能改善多种恶性肿瘤, 包括结肠癌、乳腺癌、肝癌和胃癌等的预后, 延迟肿瘤进展, 而且对体外培养的肿瘤细胞, 包括黑素瘤细胞 A875、肝癌细胞 Hep-G2 和乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-

SKOV-3 细胞经不同质量浓度的槐耳颗粒 (0、2、4 和 8 mg/mL) 处理 48 h 后, 与对照组比较, Bcl-2 的表达量明显下调, 而 Bax 和 cleaved-caspase 3 的表达量则随药物浓度的增加呈现逐渐上调的趋势, 且在药物浓度较高 (4 和 8 mg/mL) 时, 与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ( $P$  值均  $< 0.05$ )。

MB-231 的增殖同样具有抑制作用<sup>[9-11]</sup>, 但确切机制尚不清楚。Zhang 等<sup>[11]</sup> 研究发现, 槐耳对 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用及以诱导凋亡均呈时间 - 剂量依赖的方式, 同时可明显下调 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中 Bcl-2 蛋白的表达水平, 上调 Bax 蛋白的表达水平, 从而能降低 Bcl-2/Bax 的比值。Cui 等<sup>[5]</sup> 的研究结果同样显示, 槐耳可降低人纤维肉瘤 HT1080 细胞中 Bcl-2/Bax 的比值, 进而激活线粒体依赖的凋亡途径而诱导凋亡。张光军等<sup>[12]</sup> 的体外研究证实, 槐耳可诱导人肝癌 MHCC97H 细胞发生凋亡, 同时上调 Bax 及 p53 的表达水平, 降低 Bcl-2 的表达水平。程若川等<sup>[13]</sup> 研究结果显示, 槐耳既可抑制人直肠癌 HR8348 细胞增殖, 又可诱导其凋亡, 其作用机制可能与 Bak/Bcl-2 和 Bak/Bcl-x 比值的升高和 p53 基因表达上调有关。

本文首先探讨了槐耳颗粒对人卵巢癌

SKOV-3 细胞增殖的影响, 研究结果显示随着培养时间延长及药物浓度增加, 细胞活性逐渐降低, 呈时间-剂量依赖性。给予药物处理 48 h 后细胞活性的降低最为显著。因此后续实验以 48 h 为研究时间点, 探讨了不同浓度的槐耳颗粒对 SKOV-3 细胞凋亡的影响。检测结果显示, 随着浓度的增加, 早期凋亡率明显增加, 与对照组比较, 差异均有统计学意义, 提示槐耳颗粒诱导 SKOV-3 细胞凋亡呈剂量依赖性。

Bcl-2/Bax 的比值是决定细胞对凋亡刺激信号敏感的重要因素<sup>[14]</sup>, 其决定着细胞受凋亡刺激后的生存能力<sup>[15]</sup>。因此, 本研究中进一步采用蛋白质印迹法检测了 Bcl-2 和 Bax 的表达情况, 与对照组比较, 不同浓度的槐耳颗粒均可下

调 Bcl-2 蛋白的表达水平, 而上调 Bax 蛋白的表达水平。Caspase-3 是细胞凋亡的最终执行者。研究结果显示, 与对照组比较, 不同浓度的槐耳颗粒均可上调 cleaved-caspase 3 蛋白的表达水平, 以上结果提示, 槐耳颗粒能通过下调 Bcl-2 的表达, 上调 Bax 的表达, 进而活化 caspase-3 而诱导 SKOV-3 细胞发生凋亡。

综上所述, 本初步探讨了槐耳颗粒对体外培养的人卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖和凋亡的影响及可能的作用机制。实验研究结果证实, 槐耳颗粒可明显抑制 SKOV-3 细胞的增殖, 并通过下调 Bcl-2 的表达, 上调 Bax 的表达, 活化 caspase-3 而诱导其发生凋亡。为槐耳颗粒在临床上应用于对肿瘤的辅助治疗提供了可靠的实验依据。

## [ 参考文献 ]

- [1] Sudo T. Molecular-targeted therapies for ovarian cancer: prospects for the future[J]. *Int J Clin Oncol*, 2012, 17(5):424-429.
- [2] 陈慎宝, 丁如宁. 槐耳菌质成分对小鼠免疫功能的影响[J]. *食用菌学报*, 1995(1):21-25.
- [3] 袁林, 杨建青, 潘光栋. 槐耳配合体部伽马刀治疗对原发性肝癌患者免疫功能的影响[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(3):684-686.
- [4] 黄涛, 孔庆志, 卢宏达, 等. 槐耳清膏诱导人肺癌细胞 A549 凋亡的实验研究[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2001, 24(8):503.
- [5] Cui Y, Meng H, Liu W, et al. Huaier aqueous extract induces apoptosis of human fibrosarcoma HT1080 cells through the mitochondrial pathway[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4):1590-1596.
- [6] Wang X, Zhang N, Huo Q, et al. Anti-angiogenic and antitumor activities of Huaier aqueous extract[J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(4):1167-1175.
- [7] 李戎, 谢莎, 张莉, 等. 槐耳颗粒逆转人乳腺癌细胞 MCF-7 耐药初步机制[J]. *中国实用医药*, 2009, 4(17):1-3.
- [8] 庄毅. 抗癌新药槐耳冲剂的研究[J]. *中国药学杂志*, 1998, 33(5):273-275.
- [9] Zhang F, Zhang Z, Liu Z. Effects of Huaier aqueous extract on proliferation and apoptosis in the melanoma cell line A875[J]. *Acta Histochem*, 2013, 115(7):705-711.
- [10] Ren J, Zheng C, Xia X, et al. Inhibitory effect of extract of fungi of Huaier on hepatocellular carcinoma cells[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2009, 29(2):198-201.
- [11] Zhang N, Kong X, Yang Q, et al. Huaier aqueous extract inhibits proliferation of breast cancer cells by inducing apoptosis[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(11):2375-2383.
- [12] 张光军, 郑起, 袁周, 等. 槐耳清膏体外诱导人肝癌细胞 MHCC97H 凋亡[J]. *肿瘤学杂志*, 2010, 16(4):281-284.
- [13] 程若川, 汤礼贵, 兰丽琴. 槐耳清膏诱导人直肠癌 HR8348 细胞凋亡的实验研究[J]. *中国肿瘤*, 2003, 12(2):122-124.
- [14] 李倩, 杨宇明, 畅继武. 细胞黏附分子 CD44v6 对膀胱癌细胞增殖、凋亡及迁移的影响[J]. *肿瘤*, 2012(3):177-181.
- [15] Babu PP, Suzuki G, Ono Y, et al. Attenuation of ischemia and/or reperfusion injury during myocardial infarction using mild hypothermia in rats: an immunohistochemical study of Bcl-2, Bax, Bak and TUNEL[J]. *Pathol Int*, 2004, 54(12):896-903.

[ 本文编辑 ] 林琳