

虎杖中白藜芦醇诱导肝癌细胞 HepG-2 凋亡 及其对 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

顾生玖, 李美波, 朱开梅*

(桂林医学院药学院, 广西 桂林 541004)

[摘要] **目的:**探讨虎杖白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 细胞增殖和凋亡。**方法:**采用微波辅助法提取虎杖中白藜芦醇,取对数生长期人肝癌 HepG-2 细胞,随机分为药物组和对照组,药物组用 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 不同质量浓度的白藜芦醇作用人肝癌 HepG-2 细胞 24, 48, 72 h 后,采用 MTT 法检测虎杖白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 细胞生长抑制作用;Hoechst 33342 染色荧光显微镜观察细胞的形态学变化,Western blot 法检测不同浓度白藜芦醇作用 HepG-2 细胞 48 h 后 B 细胞淋巴瘤/白血病 2(Bcl-2)蛋白和 Bcl-2 相关蛋白(Bax)的表达。**结果:**MTT 实验结果表明,不同浓度白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 的生长具有显著的抑制作用,呈现时间依赖性和剂量依赖性,当白藜芦醇质量浓度达到 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其对 HepG-2 细胞增殖抑制作用明显增强,与对照组相比,差异具有显著($P < 0.01$);荧光染色观察随着药物浓度增加,细胞凋亡数量增多,当 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 白藜芦醇作用于人肝癌 HepG-2 细胞 48 h 可出现典型凋亡小体。Western blot 法检测结果显示:随着白藜芦醇浓度的增加 Bcl-2 蛋白的表达逐渐降低,Bax 蛋白的表达逐渐增加。**结论:**虎杖中白藜芦醇可以有效地抑制人肝癌 HepG-2 细胞增殖,诱导细胞凋亡,其诱导该细胞凋亡的作用机制可能是通过下调 Bcl-2 蛋白和上调 Bax 蛋白的表达。

[关键词] 虎杖白藜芦醇; 肝癌 HepG-2 细胞; 细胞凋亡; Bcl-2; Bax

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0168-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150168

Apoptosis of HepG-2 Cell Induced by Resveratrol and Its Effects on Expressions of Proteins Bcl-2 and Bax

GU Sheng-jiu, LI Mei-bo, ZHU Kai-mei*

(College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the effects of resveratrol on the growth and cell apoptosis of human hepatoblastoma-derived HepG-2 cell line. **Method:** The resveratrol was extracted by microwave-assisted method and HepG-2 cells were exposed to resveratrol at the different concentrations. The hepatocellular carcinoma HepG-2 cells in logarithmic phase of growth were randomly divided into drug group and control group, with the concentration of 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ resveratrol in hepatocellular carcinoma HepG-2 cells. Intervention durations were 24, 48, 72 h accordingly. The viability of HepG-2 cells was measured by MTT. Morphology of cell apoptosis was observed by Hoeschst 33342 fluorescence staining and fluorescent. The protein expression of Bcl-2 and Bax was analyzed by western blot. **Result:** Resveratrol inhibited the growth of cells and caused apoptosis significantly. The suppression was both in a time-and dose-dependent manner. The result of MTT showed that, at 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ could inhibit the cell proliferation obviously compared with control group ($P < 0.01$). When HepG-2 cells were treated with the concentration of 50, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ resveratrol in 48 h, the typical apoptotic body can be observed under the fluorescence microscope. The expression of protein Bcl-2 was down-regulated and

[收稿日期] 20130921(006)

[基金项目] 广西科技特派员专项项目(桂科能 129825-21);广西教育厅项目(201202ZD065);桂林市科技攻关项目(20110106-5, 20120105-5, 20120105-16, 20120105-8)

[第一作者] 顾生玖, 博士, 教授, 从事药物化学研究, Tel: 13607733816, E-mail: gushengjiu@163.com

[通讯作者] * 朱开梅, 硕士, 教授, 从事化学致病分子机制和药物防治研究, Tel: 13977375180, E-mail: glzkm@163.com

the expression of protein Bax was up-regulated along with increase in resveratrol concentration. **Conclusion:** Resveratrol can inhibit the proliferation of HepG-2 cells *in vitro* and induce cell apoptosis. Resveratrol may induce apoptosis via down-regulating Bcl-2 and up-regulating of Bax in HepG-2 cells.

[**Key words**] resveratrol; HepG-2 cell line; cell apoptosis; Bcl-2; Bax

虎杖为蓼科植物虎杖的干燥根茎和根,其性味苦寒,具有祛风利湿、散瘀定痛、止咳化痰的作用,虎杖中主要含有蒽醌类和芪类化合物,其中芪类中主要有效成分为白藜芦醇(resveratrol)^[1]。白藜芦醇是一种非黄酮类多酚化合物,对大多数肿瘤细胞均有抑制乃至逆转作用,是新型防治肿瘤的绿色抗癌药物,被喻为继紫杉醇之后的又一新的绿色抗癌物质。研究表明白藜芦醇对肺癌^[2]、乳腺癌^[3]、卵巢癌^[4]等多种癌细胞均有很好的增殖抑制作用。但是对肝癌作用的研究较少。本实验旨在用微波辅助提取法从虎杖提取白藜芦醇,并将其作用于人肝癌 HepG-2,探讨虎杖白藜芦醇在肝癌防治中可能作用与机制。

1 材料

1.1 仪器 NJL07-3 型微波炉(南京杰全微波设备有限公司),210 型高效色谱仪(美国 VARIAN 公司),旋转蒸发器(德国, Laborota 4000 efficient),DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司),XF-20 型旋风医药粉碎机(黄骅市振兴机电仪器厂),FA2004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司),倒置相差显微镜(Axiover-40,德国蔡司公司),CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司),DG3002 型酶联免疫检测仪(国营华东电子管厂)。

1.2 细胞株、药物与试剂 人肝癌细胞株 HepG-2 由桂林医学院科学实验中心惠赠。虎杖,于 2011 年 11 月采集于桂林医学院药用植物园,由药学院天然药化教研室付鹏博士鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的根茎及根,将样品阴干,粉碎过 100 目筛,备用,白藜芦醇对照品(上海哈灵生物科技有限公司,99.9%,批号 111535-200502),四氮嘧啶蓝(MTT,批号 1313B12)与二甲基亚砜(批号 1313B10)均购自美国 Amresco 公司,胎牛血清(FBS,浙江天杭生物科技有限公司),1640 培养基(RPMI-1640,美国 Gibco 公司),33342 试剂盒(南京凯基生物科技有限公司),P0010 增强型 BCA 蛋白浓度测定试剂盒、鼠单抗 β -actin、辣根过氧化物酶 HRP 标记山羊抗鼠 IgG 抗体(均购自碧云天),鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体(批号 sc-97845)、鼠抗人 Bax 单克隆抗体(批号 sc-99785)均

购自美国 Santa Cruz,甲醇为色谱纯,水为双蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 提取虎杖中白藜芦醇 准确称取干燥的虎杖粉末 10 g,加入 20 倍 70% 乙醇溶液浸泡 4 h,在微波功率 100 W,温度 25 ℃ 条件下萃取 10 min 后,稍冷,过滤。收集滤液,经旋转蒸发器蒸发乙醇至浓缩液无醇味。将乙醇浓缩液用乙酸乙酯萃取,取乙酸乙酯层,在 40 ℃ 下减压蒸馏至干,最后得到白藜芦醇。

2.2 样品含量的测定

2.2.1 色谱条件^[5] Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μ m),流动相为甲醇-水(35:65),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃,检测波长 303 nm,进样量 10 μ L。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取白藜芦醇对照品 5 mg,用甲醇溶解并定溶于 50 mL 量瓶中,得到 100 mg·L⁻¹ 的白藜芦醇标准储备液。精密吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL,加入 10 mL 的量瓶,加甲醇至 10 mL 定容,得到 2, 4, 6, 8, 10 mg·L⁻¹ 的白藜芦醇标准储备液。按 2.1.1 中色谱条件进行检测,以峰面积 Y 为纵坐标,进样浓度 X 为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 57.45X - 0.00001$ ($r = 0.9993$)。白藜芦醇对照品在 0.001 ~ 0.012 g·L⁻¹,线性良好。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取白藜芦醇提取物 5 mg 于量瓶,用甲醇溶解并定容到 10 mL,经 0.45 μ m 微孔膜滤过,按 2.1.1 项色谱条件进样测定,按 2.1.1 项操作进样测定,白藜芦醇平均回收率为 98.99%,RSD 0.99%。

2.3 细胞培养 人肝癌 HepG-2 细胞用 RPMI 1640 培养基,在 37 ℃,5% CO₂ 的培养箱中培养,2 ~ 3 d 传代 1 次,取对数生长期细胞进行试验,细胞分空白对照组和白藜芦醇组。

2.4 测定细胞增殖的抑制率 取对数生长期肝癌 HepG-2 细胞,用 0.25% 胰酶消化并计数,按每孔 2×10^5 个细胞接种于 96 孔培养板,待细胞完全贴壁后,吸除培养液。白藜芦醇组将虎杖白藜芦醇溶解于 DMSO,分别以浓度为 12.5, 25, 50, 100 μ mol·L⁻¹ 处理 HepG-2 细胞,并同时设空白对照组(对细胞不做任

何处理)。分别培养 24, 48, 72 h 后每孔加入 MTT 20 μL , 孵育 4 h, 1 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清液, 加入 150 μL DMSO, 振荡, 用酶联免疫检测仪测定 490 nm 处吸光度(A), 充分溶解结晶, 用酶联免疫检测仪测定 490 nm 处各孔的 A, 计算细胞增殖抑制率, 实验重复 3 次, 取平均值。

$$\text{抑制率} = (\text{对照组 } A_{490} - \text{实验组 } A_{490}) / \text{对照组 } A_{490} \times 100\%$$

2.5 Hoechst 33342 荧光染色观察细胞凋亡 收集对数生长期肝癌 HepG-2 细胞, 以 2×10^5 个细胞/孔的密度接种于 6 孔培养板, 待细胞完全贴壁后, 吸除培养液。白藜芦醇组将虎杖白藜芦醇溶解于 DMSO, 分别以浓度为 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 HepG-2 细胞, 并同时设空白对照组(对细胞不做任何处理)。培养 48 h 后弃去培养液。用 PBS 洗涤后用 4% 的多聚甲醛固定 15 min; 再用 PBS 冲洗 3 次后加入 Hoechst 33342 染色 30 min。倒置荧光显微镜下观察拍照。

2.6 检测 Bcl-2, Bax 蛋白表达 收集经 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的白藜芦醇处理 48 h 后的 HepG-2 细胞, 根据蛋白提取试剂盒说明提取细胞总蛋白,

经 BCA 法定量各组蛋白取等量的蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜, 用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 1 h, 用 Bcl-2, Bax 及 β -actin 抗体标记, 室温孵育 1 h, TBST 洗涤后加入 HRP 标记的二抗, 室温平摇 1 h, TBST 充分漂洗膜后, 暗室中化学发光液发光, X 射线光片显影曝光, 实验重复 3 次。

2.7 统计学处理 实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件包进行分析方差分析, 结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 细胞株增殖的影响 不同浓度虎杖白藜芦醇处理肝癌 HepG-2 细胞 24, 48, 72 h 后, 对 HepG-2 细胞体外增殖均有抑制作用。分析结果显示(表 1), 经 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 白藜芦醇作用后, HepG-2 细胞增殖均不同程度受到抑制, 与阴性对照组比较具有显著性差异($P < 0.05$), 且白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 细胞生长抑制影响呈剂量依赖性, 和时间依赖性。随着虎杖白藜芦醇药物浓度的升高, 其抑制率逐渐增大, 且随着时间的延长, 抑制率也逐渐升高, 表明白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 细胞的增殖有抑制作用。

表 1 白藜芦醇对肝癌 HepG-2 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	24 h		48 h		72 h	
		A	抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%
对照	-	0.862 \pm 0.02	-	0.949 \pm 0.00	-	0.960 \pm 0.03	-
白藜芦醇	12.5	0.858 \pm 0.01	0.47	0.856 \pm 0.01 ¹⁾	9.80	0.819 \pm 0.04 ¹⁾	14.68
	25	0.784 \pm 0.01 ¹⁾	9.04	0.843 \pm 0.00 ¹⁾	11.17	0.802 \pm 0.04 ¹⁾	16.46
	50	0.698 \pm 0.04 ²⁾	19.03	0.640 \pm 0.10 ²⁾	32.56	0.617 \pm 0.05 ²⁾	35.73
	100	0.503 \pm 0.03 ²⁾	41.64	0.487 \pm 0.10 ²⁾	48.68	0.396 \pm 0.09 ²⁾	58.75

注: 与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

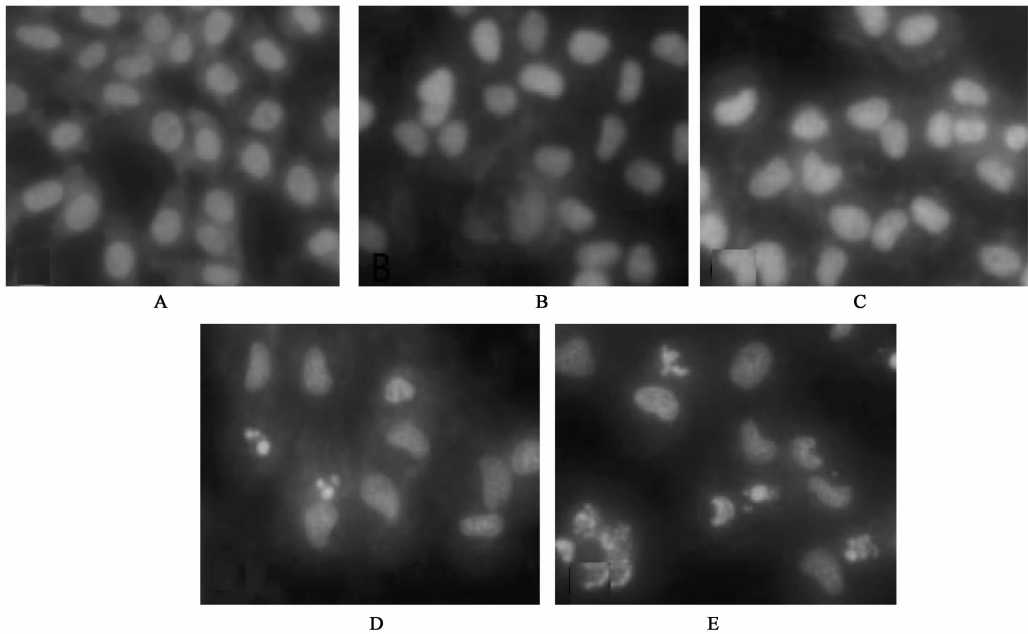
3.2 白藜芦醇使 HepG-2 细胞核形态发生改变 人肝癌 HepG-2 细胞经不同浓度的白藜芦醇处理 48 h 后, 用 Hoechst 33342 荧光染色后在荧光显微镜下观察, 可见正常对照组细胞贴壁生长, 细胞核均匀着色, 核仁大且完整, 细胞发光均匀, 而实验组随药物浓度增加, 贴壁细胞数目减少, 细胞皱缩, 脱落细胞逐渐增加, 当药物浓度达到 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 可见典型的凋亡细胞形态改变: 细胞核皱缩变形, 部分细胞呈现致密浓染, 呈现高度凝聚、边缘化, 甚至裂解为碎块, 产生凋亡小体(图 1)。

3.3 白藜芦醇对 HepG-2 细胞内 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响 Western blot 结果显示, 以 β -actin 作为内参照, 人肝癌细胞 HepG-2 经不同浓度的白藜芦醇干预 48 h 后, 随着白藜芦醇质量浓度增加, 凋亡抑制蛋

白 Bcl-2 蛋白的条带灰度值逐渐减弱, 而凋亡促进蛋白 Bax 蛋白的条带灰度值则逐渐增加, 如图 2。

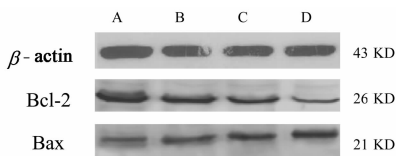
4 讨论

长期以来, 恶性肿瘤已成为威胁人类健康、导致死亡的主要原因。肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC) 是全世界最常见的恶性肿瘤之一, 在我国发病率和死亡率位于癌症的第二位。由于 HCC 的症状隐匿, 大多数患者在临床诊断时已丧失手术机会, 因此, 药物治疗在为患者降低肿瘤的复发转移和延长患者的带瘤生存时间方面起重要作用。因此, 寻找高效低毒的化疗药物, 对于治疗肝癌, 提高病人生存率具有重要意义, 而中医药在预防肝癌发生、抑制瘤灶形成、防止复发转移等方面有着独特的优势^[6]。虎杖具有抗菌、抗病毒和抗肿瘤的功



A. 阴性对照组;B. 白藜芦醇 $12.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;C. 白藜芦醇 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;D. 白藜芦醇 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;E. 白藜芦醇 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

图1 虎杖白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 细胞作用 48 h 后细胞的形态学变化 ($\times 100$)



A. 阴性对照组;B. $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;
C. $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;D. $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

图2 虎杖白藜芦醇对人肝癌 HepG-2 细胞作用 48 h 后 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达

效,白藜芦醇是其主要化学成分,具有抗炎、清除自由基、抗氧化、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化、雌激素样作用等多方面作用药理学活性^[7],可以预防肿瘤的发生和发展,并在癌前病变肿瘤的起始及演变阶段均有抑制作用。体外实验证明:白藜芦醇对大部分肿瘤的起始、增殖、发展阶段具有抑制乃至逆转作用^[8],能够对多种肿瘤细胞产生明显的抑制作用,是一种很有前景的抗肿瘤药物^[9-11]。

本研究实验结果显示,白藜芦醇对肝癌 HepG-2 细胞株的增殖有显著抑制作用,随着作用时间延长和药物浓度的增加,抑制作用逐渐增强,提示这种抑制作用呈时间和浓度依赖性关系。曾斌^[12]等认为白藜芦醇诱导抑癌基因 P21WAF/CIP1 的表达,进而引起 HepG-2 细胞分化,可能是其明显抑制 HepG-2 细胞增殖的原因,但具体作用机制仍需深入研究探讨。Hoechst 33342 荧光染色实验结果表明经不同浓度白藜芦醇作用的 HepG-2 细胞核致密浓染,或

者细胞核裂解为碎块,呈碎片状等多种形态的变化,且随药物浓度增加,发生细胞核形态改变的细胞明显增多,凋亡小体出现。Western blot 法的实验结果表明经各浓度的白藜芦醇作用 48 h 后,HepG-2 细胞凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的表达呈现下降趋势,且随浓度的增加与对照组之间的差异越发显著,而促凋亡蛋白 Bax 的表达则随着白藜芦醇质量浓度的增加而增强。Bcl-2 过表达能过抑制多种因素诱导的多种细胞凋亡;Bax 过表达不仅可使多种细胞发生自发凋亡,而且也可以促进许多因素诱导的多种细胞凋亡^[13-14]。初步推断其诱导凋亡的机制可能与其下调 Bcl-2 蛋白和上调 Bax 蛋白的表达有关。

研究表明虎杖白藜芦醇能很好地抑制肝癌 HepG-2 细胞的增殖活性,其抑制作用可能与诱导细胞凋亡密切相关,其诱导细胞凋亡机制可能与白藜芦醇能通过上调凋亡蛋白 Bax 的表达有关,同时下调抗凋亡基因 Bcl-2 蛋白水平表达,其诱导肝癌 HepG-2 细胞凋亡的具体的调控机制和信号途径还有待在进一步研究探讨。

[参考文献]

[1] 赵婷婷,顾生玖. 白藜芦醇抗肝癌作用的研究进展[J]. 医药前沿, 2012,2(19):382.
[2] 王卫华,李济元,张彦,等. 白藜芦醇对肺癌 A549 细胞增殖及 NF- κ B 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2012,32(14):3003.

西黄丸含药血清经 Wnt 信号转导通路细胞周期蛋白 D1 调控人肺癌干细胞增殖的机制

肖桦*, 秦旭华, 赖宇, 金沈锐, 赖莉
(成都中医药大学, 成都 610075)

[摘要] 目的:研究西黄丸含药血清经 Wnt 信号转导通路关键蛋白细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 调控人肺癌干细胞增殖的机制。方法:10 只日本大白兔随机分为 5 组,西黄丸浸出液高、中、低剂量组按 32, 16, 8 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig, 空白组给以等量生理盐水 ig; 环磷酰胺 (CTX) 组按 7.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ ip, 各组连续给药 3 d 后腹主动脉采血, 离心, 获得含药血清。体外培养人肺腺癌细胞系 (LAC), 应用流式细胞荧光激活 (FACS) 技术, 筛选鉴定具干细胞特性的 SP 细胞 (side population cells)。50 只 C57BL/6 小鼠分西黄丸高、中、低剂量组, CTX 组, 模型组 5 组, SP 细胞以培养基稀释调整瘤细胞密度 1 × 10⁷/mL, 于每只小鼠右腋皮下接种 0.2 mL 瘤细胞悬液, 每组分别给予西黄丸药液 32, 16, 8 g·kg⁻¹·d⁻¹ ig, 等量生理盐水 ig 和 CTX 7.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ip, 连续 14 d, 处死小鼠, 剥取瘤块称瘤重, 并计算抑瘤率。SP 细胞密度调至 2 × 10⁶/mL, 分别种入培养瓶, 设西黄丸高、中、低剂量组, CTX 组, 空白组 5 组, 分别加入如前所述制备的各组血清 (血清、培养液体积比 30%), 培养 24 h 后上流式细胞仪检测各组细胞周期。按同样方法制备 5 组 SP 细胞, 加入各组含药血清培养 24 h 后用逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 法和蛋白印迹 (Western blot) 法分别检测 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达。结果:与模型组相比, 西黄丸高、中剂量组和 CTX 组瘤重明显降低 ($P < 0.01$); 与空白组 30% 血清比较, 西黄丸高、中剂量 30% 含药血清组和 CTX 30% 含药血清组 G₁ 期细胞数量比例明显增高, S 期、G₂ 期细胞数量比例明显减少 ($P < 0.05$); 与空白组 30% 血清比较, 西黄丸高、中剂量 30% 含药血清组及 CTX 30% 含药血清组 Cyclin D1 mRNA 及蛋白表达均明显低于空白血清组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:西黄丸可通过抑制 Wnt 信号通路中关键蛋白 Cyclin D1 表达, 阻止肺癌干细胞从 G₁ 向 S 期转化, 从而达到抑制肺癌细胞增殖的作用。

[关键词] 西黄丸; 肺癌干细胞; Wnt 信号通路; 细胞周期蛋白 D1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0172-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150172

[收稿日期] 20140410(013)

[基金项目] 四川省教育厅科研项目(12ZB025)

[通讯作者] *肖桦, 硕士, 讲师, 从事中医药抗肿瘤研究工作, Tel:13679005519, E-mail:892155473@qq.com

- [3] 张亚宏, 郭敬功, 郭子华, 等. 白藜芦醇通过激活 p38-p53 通路诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡[J]. 药理学报, 2011, 46(11):1332.
- [4] 黄春芳, 牛建昭, 王继峰, 等. 白藜芦醇影响 OVCAR3 细胞生长并通过活化 caspase-3 诱导细胞凋亡的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(10):683.
- [5] 赵鸿宾, 陈华国, 周欣, 等. 虎杖中白藜芦醇的提取工艺[J]. 华西药学杂志, 2010, 25(1):85.
- [6] 吴孟超. 中医药在肝癌防治中的作用、地位和存在的问题[J]. 中西医结合学报, 2003, 1(3):163.
- [7] Ozkan O V, Yuzbasioglu M F, Ciralik H, et al. Resveratrol, a natural antioxidant, attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury in rats. [J]. Tohoku J Exp Med, 2009, 218(3):251.
- [8] Adhami V M, Afaq F, Ahmad N. Involvement of the retinoblastoma (p-Rb)-E2F/DP pathway during antiproliferative effects of resveratrol in human epidermoid carcinoma (A431) cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 288(3):579.
- [9] Kundu J K, Surh Y J. Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol: mechanistic perspectives[J]. Cancer Letters, 2008, 269(2):243.
- [10] Goswami S K, Das D K. Resveratrol and chemoprevention[J]. Cancer Lett, 2009, 284(1):1.
- [11] Bishayee A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials [J]. Cancer Prev J Portal, 2009, 2(5):409.
- [12] 曾斌, 李胜昔, 曹文涛, 等. 白藜芦醇体外对肝癌 HepG-2 细胞分化及 P21^{WAF1/CIP1} 表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(8):1130.
- [13] 张力, 龚明玉, 李毅学, 等. 放疗联合热疗诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡及其与 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达关系的研究[J]. 中国全科医学, 2011, 14(20):627.
- [14] Hyun J H, Kim S C, Kang J I, et al. Apoptosis inducing activity of fucoidan in HCT-15 colon carcinoma cells [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(10):1760.

[责任编辑 聂淑琴]