

# 当归贝母苦参丸含药血清 对胃癌细胞 SGC-7901 抑制作用机制的研究

吴红彦, 荣倩倩, 李海龙, 马春林, 师金凤, 陈杰  
(甘肃中医学院, 甘肃省中医方药挖掘与创新转化重点实验室,  
甘肃省中药新产品创制工程实验室, 兰州 730000)

**[摘要]** **目的:**研究不同浓度当归贝母苦参丸含药血清抑制胃癌细胞 SGC-7901 的机制。**方法:**将 120 只 Wistar 大鼠分为当归贝母苦参丸高、中、低剂量组(0.3, 0.2, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>)和正常组,每组 30 只,ig 2 次/d,连续给药 7 d,制备含药血清,以空白血清处理胃癌细胞 SGC-7901 为空白组,实验组以当归贝母苦参丸含药血清高、中、低剂量组处理 SGC-7901 细胞后用 RT-qPCR 技术检测环氧合酶-2(COX-2), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax), 人第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN) mRNA 表达水平、用免疫细胞化学技术检测 COX-2, BAX, PTEN 蛋白表达情况。**结果:**与正常组比较,高剂量组使 SGC-7901 细胞 COX-2 mRNA 的表达量下降 68%, BAX 和 PTEN mRNA 的表达量分别升高 99.7% 和 85.6% ( $P < 0.05$ ), 含药血清可以降低 SGC-7901 细胞 COX-2 的阳性表达率, 升高其平均灰度值, 升高 BAX 和 PTEN 的阳性表达率, 减低其平均灰度值( $P < 0.05$ )。**结论:**当归贝母苦参丸含药血清能抑制胃癌细胞 SGC-7901, BAX, PTEN, COX-2 mRNA 和蛋白的表达。

**[关键词]** 当归贝母苦参丸含药血清; 胃癌; SGC-7901; 环氧合酶-2; Bcl-2 相关 X 蛋白; 人第 10 号染色体缺失的磷酸酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0137-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020137

## Effect of Danggui Beimu Kushen Wan Medicated Serum on Inhibition of Gastric Cancer Cells SGC-7901

WU Hong-yan, RONG Qian-qian, LI Hai-long, MA Chun-lin, SHI Jin-feng, Chen Jie  
(Gansu College of Traditional Chinese Medicine (TCM) Gansu University of Chinese Medicine, Gansu Province  
Key Laboratory of TCM Prescription Excavate an Innovation Transfrom, Gansu Province Level  
Project Laboratory of TCM New Product, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Danggui Beimu Kushen Wan medicated serum on the inhibition of gastric cancer cells SGC-7901 and its antineoplastic mechanisms. **Method:** The 120 Wistar rats were divided into Danggui Beimu Kushen Wan high dose group, middle dose group and low dose group (0.3, 0.2, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>) and normal group,  $n = 30$  in each group, ig 2 times/d, continuous for 7 days to prepare drug serum. The rats whose gastric cancer cells SGC-7901 were treated by blank serum were used as blank group. In the experiment groups, SGC-7901 cells were treated by high dose, middle dose and low dose Danggui Beimu Kushen Wan medicated serum, and then RT-qPCR technique was used to detect the expression level of mRNA of cyclooxygenase-2 (COX-2), Bcl-associated X protein (Bax), and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN). Immunocytochemical technique was used to test the protein expression level of COX-2, Bax, and PTEN. **Result:** Compared with the normal group, high dose group decreased the expression of COX-2

**[收稿日期]** 20150204(012)

**[基金项目]** 甘肃省高等学校 2013 年科研项目(2013A-088)

**[第一作者]** 吴红彦, 博士生导师, 教授, 从事方剂作用机理及药效物质基础研究, Tel: 13321221438, E-mail: wuhy@163.com

mRNA in SGC-7901 cell by 68%, and increased the expression of Bax and PTEN mRNA by 99.7% and 85.6% respectively ( $P < 0.05$ ). Drug serum can reduce the positive expression rate of COX-2 for SGC-7901 cells, increase its average gray value. increase the positive expression rate of Bax and PTEN, rate and reduce the average gray value ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Danggui Beimu Kushen Wan medicated serum could inhibit the expressions of Bax, PTEN and COX-2 at mRNA and protein level in SGC-7901 gastric cancer cells.

[ **Key words** ] Danggui Beimu Kushen Wan medicated serum; gastric cancer; SGC-7901; cyclooxygenase-2; Bcl-associated X protein; phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten

当归贝母苦参丸出自《金匱要略》，原为治疗妊娠小便难，具有活血补血，化痰散结，清热解毒的功效。与肿瘤的发病正气不足，痰(湿)浊、热毒、瘀血内阻有着共同机制。近年来以其加味治疗宫颈癌、膀胱癌、前列腺癌取得明显疗效<sup>[1]</sup>。其中绝大多数研究都是针对下焦癌变进行，而本研究拓展思路，将研究目光转向中焦胃癌。从基因转录水平和蛋白表达水平检测环氧化酶(cyclooxygenase, COX), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax), 抑癌基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN), 在细胞内的表达, 探讨当归贝母苦参丸含药血清抑制胃癌细胞 SGC-7901 的机制, 为中医药经方抗肿瘤研究提供理论基础。

## 1 材料

**1.1 动物及细胞株** SPF 级 Waster 大鼠, 合格证号 SCXK(甘)2011-0001, 体重(180 ± 20) g, 雌雄各半, 由甘肃中医学院科研中心动物实验室提供。饲养条件: 室温 20 ~ 25 °C, 湿度 45% ~ 55%。动物分笼饲养, 食标准饲料, 饮水自由, 饲料由甘肃中医学院科研中心动物实验室提供。人胃癌 SGC-7901 细胞株购于北京协和肿瘤研究所。

**1.2 药物及试剂** 当归、贝母、苦参购自甘肃中医学院附属医院。DMEM 培养基、胎牛血清(美国 HyClone 公司), 四甲基偶氮唑蓝(上海华舜生物工程有限公司), 二抗(中杉金桥生物技术有限公司), RNAisoTMPlus(批号 D9810A), the PrimeScript RT reagent, kit(批号 DRRO37A), SYBR Premix Ex Taq™(批号 DRR081A, 英国 TakarBio 公司), 国产分析纯试剂(北京化学试剂公司)。

**1.3 仪器** SW-CJ-1D 型超净工作台(苏州苏净化设备有限公司), MCO-18AIC 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(日本三洋公司), CKX41/U-RFLT50 型荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司), 5804R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司), Bio-Rad CFX96 型荧光 PCR 仪(美国伯乐公司)。

## 2 方法

### 2.1 含药血清制备

**2.1.1 中药汤液制备** 将各复方中药药物饮片浸泡 1 h, 煎煮 2 次, 每次 30 min, 纱布粗滤去渣, 药液浓缩为含生药 1, 2, 3 g · mL<sup>-1</sup>。

**2.1.2 给药剂量方式及采血方法** 按完全随机化分组方法, 将 120 只大鼠分为当归贝母苦参丸高、中、底剂量组和空白空白组, 每组 30 只, 中药组和空白组大鼠每天分别灌服中药和生理盐水 0.01 mL · g<sup>-1</sup>, 2 次/d, 均连续给药 7 d, 正常饮食饮水。对每只大鼠于末次给药 2 h 后, 乙醚麻醉, 腹主动脉采血, 3 000 r · min<sup>-1</sup>, 15 min 离心分离血清, 将各组已取得的 30 支血清混合, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 56 °C, 30 min 灭活, -80 °C 保存备用。

**2.2 细胞培养** 人胃癌细胞株 SGC-7901 接种于无菌培养瓶中, 其中 1 组加入空白大鼠血清, 其中 1 组加入 10% 胎牛血清作为空白组, 用于检验空白大鼠血清的特异性, 其他 3 组加入不同浓度的含药血清; 每组都加入含双抗的 DMEM 培养基, 在 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度培养箱中培养。细胞单层贴壁培养, 达到对数生长期时用 0.25% 胰酶, 37 °C 条件下消化, 吹打成细胞悬液后接种传代。

**2.3 MTT 法检测细胞增殖** 取生长状态好, 处于对数生长期的细胞, 制备成密度为 5 × 10<sup>4</sup>/mL 细胞悬液。96 孔板每孔加入细胞悬液 100 μL, 细胞贴壁后, 实验组加入不同浓度的含药血清与培养液, 空白组加入等量的完全培养液, 每个剂量设 8 个复孔。于 24, 48, 72 h 后, 各取一块 96 孔培养板, 每孔加入浓度为 5 g · L<sup>-1</sup> 的 MTT 20 μL。4 h 后弃去培养基, 每孔加 DMSO 150 μL, 摇床震荡 10 min, 酶联仪于 570 nm 处测出各孔吸光度 A, 按下式计算细胞抑制率。

$$\text{细胞抑制率} = (A_{\text{空白组}} - A_{\text{给药组}} / A_{\text{空白组}}) \times 100\%$$

**2.4 RT-qPCR 检测 COX-2, Bax, PTEN 的 mRNA 表达水平** 总 RNA 提取: 分别将空白血清和含药血清处理 24 h 的 SGC-7901 细胞用 PBS 清洗 2 次, 加入

预冷的 Trizol 1 mL,冰上静置 10 min,使用细胞刮刮除细胞,转移至 RNA 酶处理过的 1.5 mL EP 管中,加入 0.2 mL 三氯甲烷,剧烈混匀,冰上静置 5 min; 4 °C, 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心,15 min;之后可见分层,小心吸取上清约 0.5 mL;加入 0.5 mL 异丙醇,上下混匀,冰上静置 10 min;4 °C, 10 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,可见核酸沉淀,弃上清,加入 75% 乙醇溶解;4 °C, 8 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,弃上清;干燥 5 min 后加入适量 DEPC 水,存于 -80 °C。提取 RNA 进行浓度纯度检测后,用 TaKaRa 逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA。使用 CFX96 Real-Time 荧光 PCR 仪扩增目的基因。COX-2 上游引物 3'-GCCTGAATGTGCCATAAGACTG-5',下游引物 3'-AAACCCACAGTGCTTGACACA-5';Bax 上游引物 3'-GGATGCGTCCACCAAGAAG-5',下游引物 3'-GCAAAGTAGAAAAGGGCGACA-5';PTEN 上游引物 3'-GACTCTGGAATATCCCTGGACA-5',下游引物 3'-AGGTTTGTGCATCGACATCTG-5'。

采用荧光定量 PCR 试剂盒说明操作,使用 CFX96 Real-Time 荧光 PCR 仪扩增,条件为:95 °C 10 s 预变性,95 °C 10 s,60 °C 20 s 40 个循环分析溶解曲线,确认扩增产物的特异性,相对表达量计算采取 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算。

**2.5 免疫细胞化学技术检测 COX-2, Bax, PTEN 蛋白量的表达** 在 24 孔培养板中每孔置入无菌 10 mm × 10 mm 的盖玻片,将对数生长期的胃癌 SGC-7901 细胞消化成单细胞悬液,接种于 24 孔培养板中,每孔 500 μL;细胞贴壁后,空白组加入 50 μL 完全培养基,余孔加入空白血清、高、中、低含药血清各 50 μL,每组设 3 个复孔。待细胞爬满盖

玻片后,将爬片置于 4% 多聚甲醛中过夜,PBS 洗 3 次,5 min/次;滴加 50 μL 0.1% Triton X-100 室温下孵育 15 min,PBS 洗 3 次,5 min/次;滴加 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温下孵育 30 min,PBS 洗 3 次,5 min/次;滴加 50 μL 5% BSA 封闭液,室温 20 min,甩去多余液体;滴加 50 μL 稀释过的 Rabbit Anti-collagen Type II (1:100),湿盒中 4 °C 孵育过夜;以 PBS 代替一抗,作为阴性对照,PBS 洗 3 次,2 min/次;滴加生物素化山羊抗兔 IG,37 °C 20 min,PBS 洗 3 次,2 min/次;滴加试剂 SABC,37 °C 20 min,PBS 洗 4 次,5 min/次;DAB 显色,自来水冲洗 1 min;苏木素复染 5 min,0.5% 盐酸乙醇分化 10 s,氨水返蓝 10 s;梯度乙醇(70%, 75%, 80%, 85%, 95%, 100%)脱水干燥,每一个梯度 5 min,二甲苯透明 10 s,甘油封片。倒置相差显微镜观察照相。每张爬片选择 3 个高倍视野,使用图像费你先软件对所拍照片进行分析,测定相对灰度值。

**2.6 统计学分析** 采用 SPSS 19.0 统计软件分析数据,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 对 SGC-7901 细胞增殖抑制的影响** MTT 法检测细胞活力,空白血清组与空白组相比较,差异不大,所以在下列比较过程中将把空白组作为基准组。发现 10% 浓度的当归贝母苦参丸含药血清对人胃癌 SGC-7901 细胞抑制作用最明显,与空白组比较,含药血清高、中、低组细胞的 A 明显降低,SGC-7901 细胞组 72 h 的抑制率分别为:高剂量组达到 35.21%,中剂量组为 32.39%,低剂量组为 21.12%;差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 当归贝母苦参丸含药血清对 SGC-7901 细胞增殖抑制的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effects of Danggui Beimu Kushen Wan drug serum on proliferation inhibition in SGC-7901 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	给药	24 h/A	48 h/A	72 h/A	抑制率/%
空白	-	1.43 ± 0.04	1.42 ± 0.06	1.42 ± 0.07	-
空白血清	-	1.38 ± 0.05	1.40 ± 0.05	1.42 ± 0.03	-
当归贝母苦参丸	10% 低剂量血清	1.14 ± 0.12 <sup>1)</sup>	1.01 ± 0.03 <sup>1)</sup>	1.12 ± 0.02 <sup>1)</sup>	21.12
	10% 中剂量血清	1.02 ± 0.03 <sup>1)</sup>	1.04 ± 0.03 <sup>1)</sup>	0.96 ± 0.05 <sup>1)</sup>	32.39
	10% 高剂量血清	0.99 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.95 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.92 ± 0.04 <sup>1)</sup>	35.21

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ (表 2~3 同)。

**3.2 对 SGC-7901 细胞 COX-2, Bax, PTEN mRNA 表达的影响** 当归贝母苦参丸含药血清干预胃癌 SGC-7901 细胞后,细胞 COX-2 的表达量与空白组

相比下调,促凋亡基因 Bax 和抑癌基因 PTEN 的表达量与空白组相比较,表达量明显上调,差异明显( $P < 0.05$ )。见表 2。

**3.3 对 SGC-7901 细胞 COX-2, Bax, PTEN 蛋白表达的影响** COX-2 在空白组主要以强阳性和阳性表达为主,在含药血清干预组中,细胞着色逐渐变浅,COX-2 蛋白的阳性表达率由与空白组相比明显下降;促凋亡基因 Bax 在空白组中呈阴性或是弱阳性

表达,在含药血清干预组中,细胞着色逐渐变深,呈阳性或强阳性表达,Bax 蛋白的阳性表达率与空白组相比上升;抑癌基因 PTEN 蛋白着色逐渐变深,表达逐渐增强,呈强阳性或阳性表达,而空白组细胞着色较浅,呈弱阳性或阴性表达。见表 3。

表 2 当归贝母苦参丸含药血清对 SGC-7901 细胞 COX-2, Bax, PTEN mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	给药	$2^{-\Delta\Delta Ct}$		
		COX-2	Bax	PTEN
空白	-	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
空白血清	-	1.97 ± 0.48	1.21 ± 0.07	1.48 ± 0.53
当归贝母苦参丸	10% 低剂量血清	0.71 ± 0.08 <sup>1)</sup>	2.02 ± 0.31 <sup>1)</sup>	2.11 ± 0.03 <sup>1)</sup>
	10% 中剂量血清	0.62 ± 0.01 <sup>1)</sup>	3.95 ± 0.65 <sup>1)</sup>	6.26 ± 0.72 <sup>1)</sup>
	10% 高剂量血清	0.32 ± 0.07 <sup>1)</sup>	29.97 ± 9.97 <sup>1)</sup>	10.07 ± 2.27 <sup>1)</sup>

表 3 当归贝母苦参丸含药血清对 SGC-7901 细胞 COX-2, Bax, PTEN 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	给药	COX-2	Bax	PTEN
空白	-	0.12 ± 0.02	1.07 ± 0.14	3.14 ± 1.71
空白血清	-	0.11 ± 0.01	1.03 ± 0.31	3.05 ± 0.83
当归贝母苦参丸	10% 低剂量血清	0.36 ± 0.12 <sup>1)</sup>	0.82 ± 0.03 <sup>1)</sup>	2.47 ± 0.23 <sup>1)</sup>
	10% 中剂量血清	0.57 ± 0.07 <sup>1)</sup>	0.63 ± 0.01 <sup>1)</sup>	2.23 ± 0.94 <sup>1)</sup>
	10% 高剂量血清	0.94 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>1)</sup>	1.95 ± 0.26 <sup>1)</sup>

### 4 讨论

胃癌是我国常见的肿瘤之一,其发病率和死亡率均居各类肿瘤的首位,因为早期胃癌无特异性的症状,所以大多数患者在就诊时就已到中晚期,而此时预后效果极差,常常因为术后复发或癌细胞侵袭转移而扩散到其他部位而死亡。肿瘤的发生发展是癌基因激活与抑癌基因受抑制的结果,并受相关基因的影响,其 mRNA 与蛋白的表达量亦影响癌细胞的发展与恶性肿瘤的预后。本研究从 COX-2, Bax, PTEN 3 个不同方向的相关基因探讨抑制肿瘤的机制,为寻找新的药物对其作用加以调控可能对胃癌治疗带来新的策略。

子的释放。本实验研究表明,当归贝母苦参丸含药血清作用于胃癌细胞可以明显降低 COX-2 的表达量,推测可通过抑制 COX-2 的表达降低细胞间黏附的 E-钙黏蛋白活性,减弱肿瘤细胞的侵袭能力。

Bax 基因是 Bcl-2 基因家族内的同源基因, Bax 基因表达异常与多种肿瘤发生密切相关。Bax 缺失在肿瘤的发生中起重要的作用,研究发现在多种肿瘤中存在 Bax 基因的低表达。Kra-jewski<sup>[4]</sup> 检测了 119 例乳腺癌,发现 Bax 缺失率为 34%,而正常的乳腺上皮细胞 Bax 阳性率为 97%。Bax 表达与胃癌的关系研究不多,本研究结果显示当归贝母苦参丸含药血清使胃癌细胞中 Bax 表达阳性率为 99.7%,从而抑制 Bcl-2 功能,加速细胞凋亡,抑制胃癌细胞的生长对胃癌发生、发展过程中可能起重要作用。

COX 是前列腺素 (PGs) 合成的关键限速酶。COX-2 的表达与胃癌的浸润深度密切相关,研究表明表达 COX-2 的细胞能够直接附着于基底膜,破坏基底膜的完整性,从而改变细胞的黏附性,促进肿瘤的浸润转移<sup>[2]</sup>。Hp 黏附于胃黏膜上皮,其释放的毒力因子直接与上皮细胞接触,而胃黏膜上皮损伤诱导 COX-2 表达<sup>[3]</sup> Hp 感染可刺激诱导 COX-2 的白细胞介素 8 (IL-8),血管内皮生长因子 (VEGF) 等因

PTEN 是具有磷酸酶活性的抑癌基因,参与细胞生长调节,并在肿瘤细胞浸润、转移中起一定作用<sup>[5-6]</sup>,恶性肿瘤的发生发展与 PTEN 缺失和突变有关,各类癌的总体突变为 5% ~ 40%<sup>[7]</sup>。PTEN 基因突变可以降低瘤组织中脂质磷酸酶活性,刺激肿瘤细胞生长并抑制凋亡<sup>[8]</sup>。研究表明:PTEN 蛋白的

表达与淋巴结转移、侵袭程度密切相关<sup>[9]</sup>。胃癌组织中 PTEN 基因的检测可了解与判断肿瘤增生,侵袭及转移的能力和程度。本实验研究表明,当归贝母苦参丸含药血清作用于胃癌细胞可以升高 PTEN 的表达量,从而抑制 DNA 的复制;PTEN 升高,去磷酸化作用增强,从而抑制细胞周期,诱导细胞凋亡和分化,抑制其转移。

当归贝母苦参丸出自张仲景《金匱要略》。现代药理学研究证实,当归中多糖和阿魏酸可以抑制肿瘤增殖,是诱导肿瘤细胞凋亡或分化的天然诱导剂<sup>[10]</sup>。贝母皂苷具有抗肿瘤作用<sup>[11-13]</sup>。朱晓伟等<sup>[14]</sup>研究表明:苦参碱和氧化苦参碱作用人胃癌 SGC-7901 细胞后,可增加 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞所占百分比,降低 S 期和 G<sub>2</sub>/M 期细胞百分比。李伏娥等<sup>[15]</sup>证实苦参碱对人胃癌(SGC-7901)细胞具有明显抑制作用,诱导细胞凋亡并抑制端粒酶活性。本方中当归为君药,养血和血,行气活血,补虚扶正,增强机体攻癌毒的能力补虚扶正;贝母化痰散结,苦参清热利湿解毒,共为臣药;当归贝母苦参丸作为抗肿瘤的方剂,为古方新用,针对肿瘤的病因病机特点,全方药物切中肿瘤的病因病机,有活血补血,化痰散结,清热解毒祛湿之效,本实验研究结果显示当归贝母苦参丸通过对 COX-2, Bax, PTEN 因子影响来抑制胃癌细胞的生长,但关于当归贝母苦参丸抑制胃癌细胞增殖的机制仍需进一步研究。

[参考文献]

[1] 李宜放,高向军,王晞星. 应用当归贝母苦参丸治疗肿瘤的经验[J]. 山西中医,2011, 27(12):4-7.  
[2] Shen H, Sun W H, Xue Q P, et al. Influences of *Helicobacter pylori* on cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis in rat gastric epithelial cells *in vitro* [J]. J gastroenterol hepatol, 2006, 21(4): 754-758.  
[3] Achyut B R, Ghoshal U C, Moorchung N, et al. Role of cyclooxygenase-2 functional gene polymorphisms in *Helicobacter pylori* induced gastritis and gastric atrophy

[J]. Mol Cell Biochem, 2009, 321(1/2):103-109.  
[4] Krajewski S, Blomqvist C, Franssila K, et al. Reduced expression of proapoptotic gene Bax is associated with poor response rate combination chemotherapy and short survival in women with metastatic breast adenocarcinoma [J]. Cancer Res, 1995, 55(19):4471-4478.  
[5] Worby C A, Dixon J E. PTEN [J]. Annu Rev Biochem, 2014, 83:641-669.  
[6] Molinari F, Frattini M. Functions and regulation of the PTEN gene in colorectal cancer [J]. Front Oncol, 2014, 3:326-327.  
[7] Kurose K, Zhou X P, Araki T, et al. Frequent loss of PTEN expression is linked to elevated phosphorylated Akt levels, but not associated with p27 and cyclin D1 expression in primary ovarian carcinomas [J]. Am J Pathol, 2001, 158(6):2097-2106.  
[8] 陈美霓,郭巍,贺智英,等. 抑癌基因 PTEN 在膀胱癌中的研究进展 [J]. 延安大学学报:医学科学版, 2008, 6(1):3-4.  
[9] Cheney I W, Johnson D E, Vaillancourt M T, et al. Suppression of tumorigenicity of glioblastoma cells by adenovirus-mediated MMAC1/PTEN gene transfer [J]. Cancer Res, 2008, 58(11):2331-2334.  
[10] 陈曦. 当归多糖 APS-3b 酶解片段的制备及其抗肿瘤作用 [D]. 西安:第四军医大学, 2011, 10:220-300.  
[11] 王长秀,马润娣,于立坚. 土贝母苷甲对小鼠 B16 黑色素瘤和 Lewis 肺癌转移的抑制作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(7):764-769.  
[12] 陈美霓,郭巍,贺智英,等. 抑癌基因 PTEN 在膀胱癌中的研究进展 [J]. 延安大学学报:医学科学版, 2008, 6(1):3-4.  
[13] 杨萍,于廷曦,马润娣,等. 土贝母皂苷诱导人宫颈癌 HeLa 细胞周期阻滞和细胞凋亡 [J]. 癌症, 2002, 21(4):346-350.  
[14] 朱晓伟,宝金荣,布仁. 苦参碱和氧化苦参碱抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 化学试剂, 2010, 32(1): 32-36.  
[15] 李伏娥,朱陵群,叶红军,等. 苦参碱诱导人胃癌细胞凋亡及对端粒酶活性的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(12):1809-1812.

[责任编辑 周冰冰]