

山茱萸提取物抗肿瘤作用及机制探讨

贾羲¹, 苏成福², 董诚明^{2*}

(1. 郑州大学第一附属医院, 郑州 450003; 2. 河南中医药大学, 郑州 450008)

[摘要] **目的:**研究山茱萸提取物的抗肿瘤作用及其作用机制。**方法:**取生长良好接种10~14 d的Lewis肺癌C57BL小鼠,制备Lewis肺癌细胞,通过噻唑蓝(MTT)法检测山茱萸提取物对癌细胞的抑制情况,流式细胞仪检测山茱萸提取物对细胞周期和细胞凋亡的影响;激光共聚焦显微镜检测B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2),Bcl-2相关X蛋白(Bax)及p53蛋白表达;用健康C57BL小鼠腋下接种Lewis肺癌细胞悬液,接种成功后按山茱萸提取物100,200,400 mg·kg⁻¹剂量ig给药2周,检测小鼠体内瘤的质量、肺转移灶数;酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定小鼠血清中癌胚抗原的含量。**结果:**与空白组比较,山茱萸提取物可明显抑制肿瘤细胞的增殖($P < 0.05$),山茱萸提取物对Lewis肺癌细胞处理48 h后,细胞周期阻滞在G₀/G₁期($P < 0.05$, $P < 0.01$);与空白组比较,山茱萸提取物400 mg·kg⁻¹组Bcl-2蛋白表达显著降低,Bax及p53蛋白表达显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较,山茱萸提取物400 mg·kg⁻¹组小鼠体内瘤的质量、肺转移灶数均显著降低,小鼠血清中癌胚抗原含量明显降低($P < 0.05$)。**结论:**山茱萸提取物在体内外对Lewis肺癌细胞均有抑制作用,其作用机制与诱导肿瘤细胞的凋亡和干扰细胞周期分布有关。

[关键词] 山茱萸; Lewis肺癌; 细胞周期; B细胞淋巴瘤/白血病-2; Bcl-2相关X蛋白; p53; 癌胚抗原

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0117-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200117

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1056.038.html>

[网络出版时间] 2016-08-04 10:56

Anti-tumor Effect of Extract from Corni Fructus and Its Mechanism

JIA Xi¹, SU Cheng-fu², DONG Cheng-ming^{2*}

(1. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China;

2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-tumor effect of the extract from Corni Fructus and investigate its mechanism. **Method:** Lewis lung cancer C57BL cells were incubated for 10-14 days for preparing Lewis lung cancer cells. MTT method was used to detect the inhibition effect of the extract from Corni Fructus on cancer cells, and flow cytometry was used to detect the effect of the extract from Corni Fructus on cell cycle and cell apoptosis; laser scanning confocal microscope was used to detect the B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax) and p53 protein expressions. Lewis lung cancer cell suspension was incubated at axillary in healthy C57BL mice, and after successful inoculation, the mice were administrated with the extract from Corni Fructus (100, 200, 400 mg·kg⁻¹) for 2 weeks, and then the mass of lung transplantation tumor and number of pulmonary metastatic foci were detected; the content of serum carcinoembryonic antigen in mice was detected with enzyme-linked immunosorbent experiment method (ELISA). **Result:** As compared with the normal group, the extract of Corni Fructus could significantly inhibit the proliferation of tumor cells ($P < 0.05$); after Lewis lung cancer cells were treated with the extract for 48 h, cell cycle was arrested in G₀/G₁ phase ($P < 0.05$, $P < 0.01$). As compared with the normal group, Bcl-2 protein expression was significantly reduced in Corni Fructus group, and

[收稿日期] 20151007(003)

[基金项目] 河南省教育厅科学技术研究重点项目(12A360003)

[第一作者] 贾羲,主管药师,从事临床药学与中药鉴定研究,Tel:0371-66913361,E-mail:jiaxi198504@126.com

[通讯作者] *董诚明,教授,从事中药鉴定研究与中药资源的开发利用工作,Tel:0371-65680041,E-mail:dcm371@hactcm.edu.cn

Bax and p53 protein expressions were significantly increased ($P < 0.05$). As compared with the model group, the mass of the tumor in mice and number of pulmonary metastatic foci were significantly decreased, and the serum carcinoembryonic antigen levels of the mice were decreased significantly in Corni Fructus group ($P < 0.05$).

Conclusion: The extract of Corni Fructus has inhibitory effect on Lewis lung cancer cells *in vivo* and *in vitro*, and its mechanism may be related to inducing the apoptosis of tumor cells and interfering with the cell cycle distribution.

[Key words] Corni Fructus; Lewis lung cancer; cell cycle; B-cell lymphoma/leukemia-2; Bcl-2 associated X protein; p53; carcino-embryonic antigen

山茱萸产于我国河南、山西、陕西、山东、四川、甘肃、浙江、安徽等省;主要分布在河南和浙江^[1]。《神农本草经》中记载:“其味酸平,治心下邪气寒热,温中,逐寒湿痹,去三虫,久服轻身。”山茱萸又名蜀枣、萸肉等,具有补益肝肾,收敛固脱的作用。中医主要用来治疗头晕目眩,腰膝酸软,虚汗不止,肠胃风邪,寒热疝瘕,老人尿不节等症,如《左归丸》里用其与山药、川牛膝等配伍治真阴不足证。现代药理研究表明山茱萸提取物具有降血糖、调节免疫、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用^[2]。肿瘤是严重威胁人类的生命健康疾病之一,其发病率逐年上升,目前对于肿瘤尚无很好的治疗办法,开发研究新型的抗肿瘤药物是当前研究的热点,有研究表明山茱萸提取物对肿瘤细胞有显著地抑制作用^[3-4],本实验通过体外和体内实验探讨山茱萸的抗肿瘤作用及其作用机制。

1 材料

1.1 动物及细胞株 C57BL 雄性小鼠 60 只,体重(20±2)g,SPF 级,由河南省实验动物中心提供,合格证号 SCXK(豫)2010-0001。小鼠 Lewis 肺癌瘤株,购于上海研域生物工程有限公司。

1.2 药物及试剂 山茱萸药材产于河南济源,由河南中医药大学董诚明教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* 的干燥成熟果肉,山茱萸黄酮提取方法:山茱萸药材粉碎以 10 倍量 95% 乙醇回流提取 8 h,脱脂冷却抽滤,浓缩,乙醇沉淀除去蛋白质,干燥得粗提物^[5]。依托泊苷(南京森贝伽生物科技有限公司,批号 100388),注射用环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 20130710),顺铂(DDP)注射液(江苏豪森药业股份有限公司,批号 H20010743),B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)及 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)一抗(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab79204,ab7977);山羊抗人 IgA(H)二抗及细胞周期与凋亡检测试剂盒(北京康为世纪科技有限公司,批号分别为 CW0174,CW2575);癌胚抗原酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(北京现

代高达生物技术有限公司,批号 C-058)。

1.3 试剂 XS105 DualRange 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),MCO-15AC 型 CO₂ 孵箱(日本 Sanyo 公司),Axiovert 135A 型倒置显微镜(德国蔡司公司),LSM510 型激光共聚焦显微镜(德国 Zeiss 公司),FACS Canto II 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司),DT5-6A 型台式离心机(北京时代北利离心机有限公司),Spectra Max Ms 型酶标仪(美国分子仪器公司)。

2 方法

2.1 细胞悬液制备 取生长良好接种 10~14 d 的 Lewis 肺癌 C57BL 小鼠,脱颈椎处死,75% 乙醇中浸泡 2 min,在超净工作台上取瘤组织中生长良好新鲜部分,按肿瘤质量(g)与生理盐水(mL)1:3 比例研磨成匀浆,制成细胞悬液,过 200 目细胞筛,台盼蓝染色,计数活细胞数 >95%,用生理盐水调整细胞密度为 1×10^6 个/mL。

2.2 细胞增殖抑制检测 取细胞悬液混悬于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,调整细胞密度为 2×10^5 个/mL,接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,培养 24 h 置于培养瓶中,然后依次加入山茱萸提取物低、中、高(20,40,80 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)3 个质量浓度,阴性组加无菌生理盐水,阳性组加入顺铂(DDP,质量浓度为 0.1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$);置 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO₂ 培养箱内,培养 48 h 后取出弃培养液,每孔加 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MTT 溶液 20 μ L。继续孵育 4 h,加入 DMSO 震荡溶解。采用酶标仪在检测波长 490 nm 条件下测定吸光度 A,用下面公式计算药物对细胞的抑制率,实验重复 3 次。

$$\text{抑制率} = (\text{阴性组 } A - \text{给药组 } A) / (\text{阴性组 } A - \text{空白组 } A) \times 100\%$$

2.3 检测细胞周期与细胞凋亡 以山茱萸提取物(20,40,80 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)处理细胞,同时另设正常组(含 0.05% 的 DMSO 的培养基)、阳性药组(0.1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 依托泊苷),培养 48 h 后终止实验,收集细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 遍,缓冲液重悬细胞,加入

固定液 1 mL, -20 ℃ 固定 2 h 以上,后弃去固定液,加入染液 500 μL (含 RNaseA 10 μL,PI 10 μL 和缓冲液 480 μL),室温避光孵育 30 min,上流式细胞仪检测,应用 Cell Quest 软件分析结果,记录细胞不同周期的比例。

2.4 激光共聚焦显微镜检测 Bcl-2, Bax, p53 蛋白表达 标本使用 PBS 漂洗 3 次,加入山羊血清室温孵育 15 min,然后加入一抗(1:1 000),4 ℃ 过夜;加入二抗(1:2 000),室温孵育 20 min;PBS 洗 3 次,使用激光共聚焦显微镜检测,应用 Image Examiner 图像分析软件半定量分析图像相对荧光强度,蛋白表达量以相对荧光强度表示。

2.5 体内抗肿瘤实验 取健康 C57BL 小鼠 60 只,每只小鼠腋下接种细胞悬液 0.2 mL。将接种成功小鼠随机分为模型组、依托泊苷组、山茱萸低、中、高剂量组,实验组每只小鼠隔天按山茱萸提取物 100, 200, 400 mg·kg⁻¹ 剂量 *ig* 给药 1 次;模型组 *ig* 与实验组容积相等的生理盐水;依托泊苷给予环磷酰胺,按 0.03 mg·kg⁻¹ 剂量 *ip* 隔日给药 1 次。给药 2 周,摘眼球取血,颈椎脱臼处死,剥离瘤体及肺脏称质量,检测肺癌移植瘤的质量,计算抑瘤率。完整取出双肺,固定后,镜下计算双肺表面的转移灶数。ELISA 测定小鼠血清中癌胚抗原的含量。

$$\text{抑瘤率} = (\text{阴性组瘤重} - \text{用药组瘤重}) / \text{空白组瘤重} \times 100\%$$

2.6 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计学软件分

表 2 山茱萸提取物对 Lewis 肺癌细胞周期的作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of extract from Corni Fructus on cell cycle of Lewis lung cancer cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/g·L ⁻¹	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M	%
空白	-	52.70 ± 2.52	31.28 ± 5.36	16.10 ± 3.24	
依托泊苷	0.1	75.34 ± 3.78 ²⁾	19.24 ± 2.18 ¹⁾	5.26 ± 1.24 ²⁾	
山茱萸提取物	20	55.38 ± 2.67	16.52 ± 6.12 ²⁾	28.56 ± 3.28 ²⁾	
	40	62.87 ± 2.72 ¹⁾	18.72 ± 5.52 ¹⁾	18.40 ± 4.81	
	80	64.21 ± 1.82 ²⁾	18.56 ± 2.18 ²⁾	19.45 ± 3.54	

3.3 对 Lewis 肺癌细胞 Bcl-2, Bax, p53 蛋白表达的影响 与空白组比较,山茱萸高质量浓度组 Bcl-2 蛋白表达明显降低,Bax 及 p53 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$),低、中质量浓度组也可降低 Bcl-2 蛋白,升高 Bax 及 p53 蛋白但无统计学差异。见表 3,图 1~3。

3.4 对小鼠体内肺癌移植瘤的质量、抑瘤率、肺转移灶数的影响 不同剂量的山茱萸提取物均可抑制体内肿瘤的生长,高剂量组与模型组比较有统计学差异 ($P < 0.05$),抑瘤率可达 (22.66 ± 0.12)%;山

茱萸提取物高剂量组可明显减少肿瘤小鼠的转移灶数 ($P < 0.05$)。见表 4。

3 结果

3.1 对 Lewis 肺癌细胞的生长抑制作用 山茱萸提取物高质量浓度对 Lewis 肺癌细胞均表现出增殖抑制作用,与空白组比较有统计学差异 ($P < 0.05$),且呈现剂量依赖关系。见表 1。

表 1 山茱萸提取物对 Lewis 肺癌细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of extract from Corni Fructus on cell proliferation of Lewis lung cancer cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/g·L ⁻¹	A	抑制率/%
空白	-	2.56 ± 0.37	-
DDP	0.1	1.12 ± 0.14 ²⁾	56.25 ± 0.34
山茱萸提取物	20	2.31 ± 0.56	9.77 ± 0.29
	40	2.18 ± 0.32	14.84 ± 0.16
	80	1.98 ± 0.22 ¹⁾	22.66 ± 0.12

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2,3 同)。

3.2 对 Lewis 肺癌细胞周期的影响 山茱萸提取物对 Lewis 肺癌细胞作用 48 h 后,与空白组比较,G₀/G₁ 期细胞百分率有所升高,高质量浓度组最为明显 ($P < 0.01$),中质量浓度组明显升高 ($P < 0.05$);S 期细胞百分率降低,各质量浓度组与空白组比较均存在显著性差异 ($P < 0.05, P < 0.01$);G₂/M 期细胞百分率较 48 h 有所降低,但与空白组比较仅有低质量浓度组升高明显 ($P < 0.01$)。见表 2。

茱萸提取物高剂量组可明显减少肿瘤小鼠的转移灶数 ($P < 0.05$)。见表 4。

3.5 山茱萸提取物对小鼠血清中癌胚抗原的含量的影响 山茱萸提取物均可降低肺癌小鼠血清中癌胚抗原的含量,随着剂量升高,效果越显著,山茱萸高剂量组与模型组比较,有统计学差异 ($P < 0.05$)。见表 5。

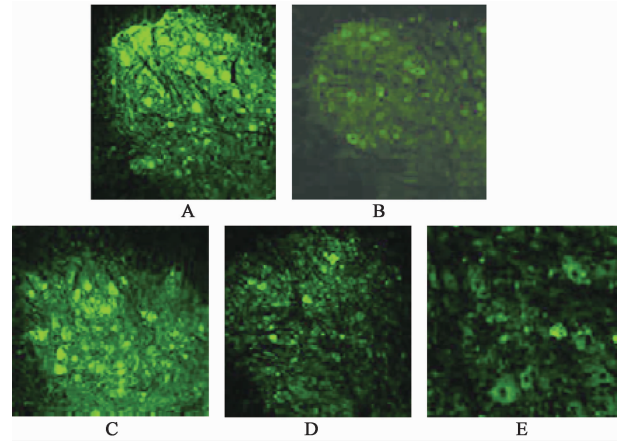
4 讨论

随着环境气候和生活环境的变化,人们患癌症的几率大大增加^[6],传统治疗癌症的方法已满足不

表 3 山茱萸提取物对 Lewis 肺癌细胞 Bcl-2, Bax, p53 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of extract from Corni Fructus on Bcl-2, Bax, p53 protein of Lewis lung cancer cell ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	Bcl-2	Bax	p53
空白	-	2.79 ± 0.32	1.83 ± 0.31	2.08 ± 0.13
DDP	0.1	$1.82 \pm 0.22^{2)}$	$2.75 \pm 0.16^{2)}$	$3.16 \pm 0.31^{2)}$
山茱萸提取物	20	2.55 ± 0.36	2.02 ± 0.28	2.22 ± 0.17
	40	2.32 ± 0.17	2.17 ± 0.26	2.64 ± 0.35
	80	$1.95 \pm 0.27^{1)}$	$2.35 \pm 0.42^{1)}$	$2.73 \pm 0.33^{2)}$



A. 空白组; B. DDP 组; C. 山茱萸提取物 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; D. 山茱萸提取物 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; E. 山茱萸提取物 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组(图 2, 3 同)

图 1 各组 Lewis 肺癌细胞 Bcl-2 蛋白的表达(激光共聚焦, $\times 600$)

Fig. 1 Expression of Bcl-2 protein in Lewis lung cancer cell of each group (confocal laser, $\times 600$)

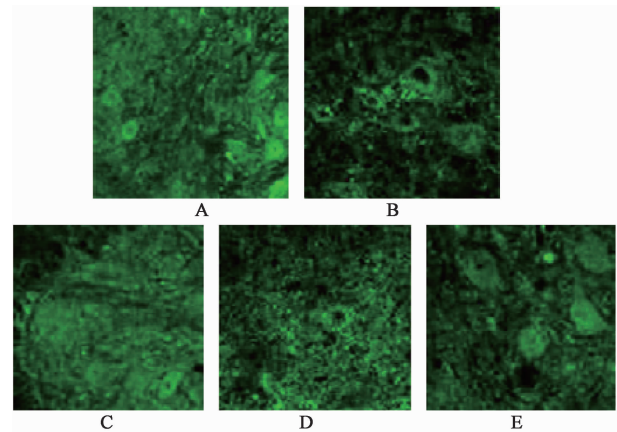


图 2 各组 Lewis 肺癌细胞 Bax 蛋白的表达(激光共聚焦, $\times 600$)

Fig. 2 Expression of Bax protein in Lewis lung cancer cell of each group (confocal laser, $\times 600$)

了人们的要求,由于传统中医药具有多靶点、多效应、多环节的特点,从传统中医药中开发出治疗癌症的新药成为当前研究的热点^[7]。山茱萸扶正固本在中西医结合治疗肿瘤方面发挥重要的作用,很多中药可以通过扶正培本可以增强机体的免疫力,进而增强机体对癌细胞的抵抗能力。山茱萸作为临床常用的一味扶正固本的中药,在抗肿瘤方面也早已

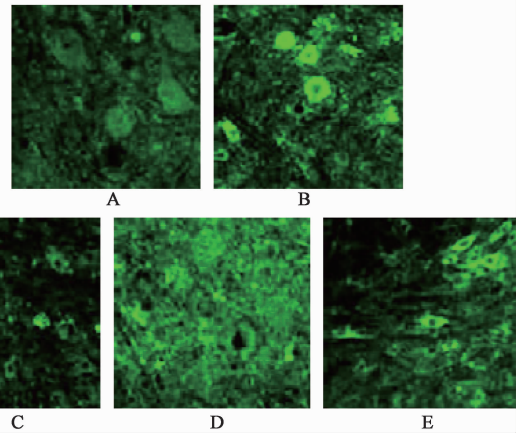


图 3 各组 Lewis 肺癌细胞 p53 蛋白的表达(激光共聚焦, $\times 600$)

Fig. 3 Expression of p53 protein in Lewis lung cancer cell of each group (confocal laser, $\times 600$)

有应用,如《医学衷中参西录》中含有山茱萸的定性汤可以护卫机体,敛阴止汗治疗肿瘤后期的惊悸,气滞血瘀等。近来研究也表明山茱萸可以抑制人肺癌细胞的增殖^[8],且山茱萸可以调节荷瘤小鼠的免疫状态来发挥抗肿瘤作用^[9],但其抗肿瘤的作用机制尚未有详细报道。

本实验结果显示,不同质量浓度的山茱萸提取物对 Lewis 肺癌细胞均表现出增殖抑制作用,且呈现剂量依赖关系。细胞的增殖过程,一般分为 4 个时期,即合成前期(G_1 期),DNA 合成期(S 期),合成后期(G_2 期)和有丝分裂期(M 期)而细胞分裂后进入 G_1 期前存在一个相对静止期(G_0 期)。细胞一般 $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M$ 的顺序进行分离复制,细胞周期中有 3 个调控点,这 3 个调控点分别是 G_0/G_1 , G_1/S , G_2/M , 其中 G_1/S 期和 G_2/M 期转换最为重要^[10]。本实验结果显示山茱萸提取物对 Lewis 肺癌细胞作用 48 h 后, G_0/G_1 期细胞百分率有所升高,高质量浓度组值最高,S 期细胞百分率继续降低, G_2/M 期细胞百分率较 48 h 有所降低,说明此时细胞发生 G_0/G_1 期阻滞,这可能是山茱萸抑制肿瘤细胞增殖的机制之一。

研究表明,在肿瘤的发生和发展过程中,抑制细

表 4 山茱萸对小鼠体内肺癌移植瘤的质量、抑瘤率、肺转移灶数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of extract from Corni Fructus on quality of lung cancer, transplanted tumor inhibitory rate, number of pulmonary metastases in mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	肿瘤质量/g	抑制率/%	转移灶数/个
模型	-	2.56 ± 0.37	-	16.88 ± 2.12
环磷酸胺	0.03	1.12 ± 0.14 ²⁾	56.25 ± 0.34	10.32 ± 1.56 ²⁾
山茱萸提取物	100	2.31 ± 0.56	9.77 ± 0.29	15.92 ± 3.15
	200	2.18 ± 0.32	14.84 ± 0.16	15.12 ± 2.02
	400	1.98 ± 0.22 ¹⁾	22.66 ± 0.12	14.35 ± 1.13 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(表 5 同)。

表 5 山茱萸提取物对小鼠血清中癌胚抗原含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of extract from Corni Fructus on content of serum carcinoembryonic antigen in mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	血清癌胚抗原/μg·L ⁻¹
模型	-	76.52 ± 11.18
环磷酸胺	0.03	36.25 ± 15.37 ²⁾
山茱萸提取物	100	68.19 ± 20.12
	200	60.13 ± 17.45
	400	56.37 ± 15.39 ¹⁾

胞的凋亡比肿瘤细胞的过度增殖所起的作用更重要^[11]。Bcl-2 和 Bax 是在肿瘤细胞凋亡中具有重要的调控作用的 1 对蛋白^[12]。Bcl-2 为抗凋亡蛋白可以增加细胞对刺激凋亡因素的抵抗,可以使 DNA 受损的细胞继续生存,使突变产物聚集,从而促进肿瘤的发生和发展^[13]。Bax 与 Bcl-2 有一定的同源性,可以与 Bcl-2 形成异二聚体复合物,Bax 不直接促进凋亡,但可抑制 Bcl-2 的作用,诱导细胞凋亡^[14-15], p53 基因可以诱导细胞凋亡,其编码的 p53 蛋白能抑制细胞增殖,p53 蛋白作为一种磷酸化蛋白可以下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达从而诱导细胞凋亡^[16]。本实验研究结果表明山茱萸高质量浓度可显著抑制 Bcl-2 蛋白表达,升高 Bax 及 p53 蛋白表达,提示山茱萸的抗肿瘤机制可能与诱导细胞凋亡有关。

通过体内实验,结果表明山茱萸提取物可显著抑制体内肿瘤的生长,高剂量组抑瘤率可达到(22.66 ± 0.12)% ,并可显著减少转移灶数,但最佳抑瘤剂量尚未找到,需进一步研究。

肿瘤标志物是反映肿瘤自身存在的由肿瘤自身存在的化学物质,癌胚抗原是最初发现于结肠腺癌的光谱肿瘤标志物,可以促进肿瘤转移^[17]。本实验结果显示山茱萸提取物可显著降低血清癌胚抗原的含量,体内抗癌作用显著。

综上所述,山茱萸提取物在体内外对 Lewis 肺癌细胞均有抑制作用,其作用机制与诱导肿瘤细胞的凋亡和干扰细胞周期分布有关。

[参考文献]

[1] 陈随清,董诚明,杨晋,等. 山茱萸栽培品种调查[J].

中药材,2002,25(5):305-306.

[2] 张兰桐,袁志芳,杜英峰,等. 山茱萸的研究近况及开发前景[J]. 中草药,2004,35(8):116-119.

[3] 邹品文,赵春景,李攀,等. 山茱萸多糖的抗肿瘤作用及其免疫机制[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(1):20-22.

[4] 李沐涵. 山茱萸活性成分对肿瘤及衰老细胞模型影响初探[D]. 南京:南京中医药大学,2011.

[5] 张彩莹,张良,惠丰立,等. 山茱萸多糖的提取及含量测定[J]. 时珍国医国药,2007,18(2):313-314.

[6] 丁金霞,王婷,王维利,等. 化疗期癌症患者癌因性疲乏与生命质量的研究[J]. 中华疾病控制杂志,2015,19(5):462-465.

[7] 汪海英,李福安,魏全嘉. 抗肿瘤中药的研究现状[J]. 青海医学院学报,2008,29(4):278-282.

[8] 王恩军,靳祎,季文琦,等. 山茱萸多糖对肺癌细胞的凋亡作用及 Bcl-2、Bax 表达的影响[J]. 中成药,2012,34(5):808-811.

[9] 邹品文,赵春景,李攀,等. 山茱萸多糖的抗肿瘤作用及其免疫机制[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(1):20-22.

[10] 高燕,林莉萍,丁健. 细胞周期调控的研究进展[J]. 生命科学,2005,17(4):318-322.

[11] 杨连君. bcl-2, bax 与肿瘤细胞凋亡[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2003,10(3):232-234.

[12] Guo B, Zhai D, Cabezas E, et al. Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation[J]. Nature,2003,423(6938):456-461.

[13] 王琳,曹永成,牛爱军,等. 胃癌组织中 bcl-2、Bax、p16 和 p53 蛋白的表达和意义[J]. 分子诊断与治疗杂志,2012,4(6):397-399.

[14] 张东庆,戎顺水,刘正湘. 氯沙坦对大鼠心肌缺血再灌注诱导心肌细胞凋亡及对 bcl-2, bax 和 p53 基因表达的影响[J]. 中国新药杂志,2004,13(3):216-219.

[15] 刘珺,徐选福,杨文娟,等. 红花注射液对肝星状细胞 HSC-T6 增殖、凋亡及凋亡相关基因表达的影响[J]. 中草药,2009,40(8):1270-1274.

[16] Thomas A, El Roubi S, Reed J C, et al. Drug induced apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia: relationship between p53 gene mutation and BCL-2/Bax protein in drug resistance[J]. Oncogene,1996,12(5):1055-1062.

[17] 魏晟潇,廖长征,赖秀花. 血清糖类抗原 125 和癌胚抗原在非小细胞肺癌中的诊断价值[J]. 医学综述,2015,21(6):1094-1095.

[责任编辑 周冰冰]