

补阳还五汤含药血清对骨髓间充质干细胞 增殖及细胞周期的影响

黄勇¹, 魏立姣², 王小娥¹, 舍雅莉^{1*}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究省级
重点实验室, 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院, 兰州 730000)

[摘要] 目的:研究补阳还五汤含药血清对骨髓间充质干细胞(BMSCs)增殖及细胞周期的影响。方法:以6.5,13,26 g·kg⁻¹补阳还五汤和等量蒸馏水连续灌胃SD大鼠1周,制备3种补阳还五汤含药血清和空白血清。将BMSCs分为补阳还五汤6.5 g·kg⁻¹组(用含10% 6.5 g·kg⁻¹生药制备的血清培养),补阳还五汤13 g·kg⁻¹组(用含10% 13 g·kg⁻¹生药制备的血清培养),补阳还五汤26 g·kg⁻¹组(用含10% 26 g·kg⁻¹生药制备的血清培养),空白组(用含10%空白血清培养)。采用噻唑蓝(MTT)比色法检测各组BMSCs的增殖活性,流式细胞术检测细胞周期,蛋白免疫印迹(Western blot)法检测磷脂酰肌醇-3羟基激酶(PI3K)和磷酸化丝(苏)氨酸蛋白酶(p-Akt)(Ser473)蛋白的表达。结果:13,26 g·kg⁻¹生药制备的补阳还五汤含药血清作用BMSCs 48,72 h后,细胞增殖活性较空白组明显升高($P < 0.05$);3种补阳还五汤含药血清作用48 h后,BMSCs在S期的细胞比率随着药物浓度的升高而升高,与空白组比较有统计学意义($P < 0.05$);13,26 g·kg⁻¹生药制备的补阳还五汤含药血清作用48 h后,PI3K和p-Akt(Ser473)蛋白表达较空白组显著增强($P < 0.01$)。结论:13,26 g·kg⁻¹生药制备的补阳还五汤含药血清可能通过活化PI3K/Akt信号通路促使细胞进入S期,增强BMSCs增殖活性。

[关键词] 补阳还五汤;骨髓间充质干细胞;增殖;细胞周期;磷脂酰肌醇-3羟基激酶/丝(苏)氨酸蛋白酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)20-0150-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017190150

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170731.1030.030.html>

[网络出版时间] 2017-07-31 10:30

Effect of Buyang Huanwutang Serum on Proliferation and Cycle of Bone Mesenchymal Stem Cells

HUANG Yong¹, WEI Li-jiao², WANG Xiao-e¹, SHE Ya-li^{1*}

(1. Provincial Key Laboratory for Molecular Medicine of Major Diseases and Traditional Chinese Medicine (TCM)
Prevention and Treatment Research, Gansu University of TCM, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Buyang Huanwutang serum on proliferation and cycle of bone mesenchymal stem cells (BMSCs). **Method:** Buyang Huanwutang (6.5, 13, 26 g·kg⁻¹) and equivalent distilled water were administered (*ig*) to SD rats for a week, so as to prepare three kinds of Buyang Huanwutang serum and the blank serum. BMSCs cells were divided into Buyang Huanwutang 6.5 g·kg⁻¹ group (cultured with 10% serum from Buyang Huanwutang 6.5 g·kg⁻¹), Buyang Huanwutang 13 g·kg⁻¹ group (cultured with 10% serum from Buyang Huanwutang 13 g·kg⁻¹), Buyang Huanwutang 26 g·kg⁻¹ group (cultured with 10% serum from Buyang Huanwutang 26 g·kg⁻¹), and blank group (cultured with 10% serum from distilled water). Cell

[收稿日期] 20170524(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560667/H2810);甘肃中医药大学中青年科学基金项目(ZQ2010-06)

[第一作者] 黄勇, 硕士, 副教授, 从事中医药防治肿瘤研究, Tel:0931-8765406, E-mail:hy@gszy.edu.cn

[通讯作者] * 舍雅莉, 博士, 副教授, 从事中医药防治肿瘤研究, Tel:0931-8765406, E-mail:sheyali@sina.com

proliferative activity, cell cycle and protein expressions of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), phosphorylation serine/threonine kinase (p-Akt) (Ser473) were detected by MTT, flow cytometry and western blot respectively. **Result:** BMSCs proliferation was increased in Buyang Huanwutang 13, 26 g·kg⁻¹ groups after being cultured for 48, 72 h, compared with the blank group ($P < 0.05$). After being cultured with the three kinds of Buyang Huanwutang serum for 48 h, S-phase cell rate in BMSCs was significantly higher than that in blank group ($P < 0.05$). Protein expressions of PI3K, p-Akt (Ser473) were up-regulated in BMSCs treated with serum from Buyang Huanwutang 13, 26 g·kg⁻¹ for 48 h, compared with blank group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Serum from Buyang Huanwutang 13, 26 g·kg⁻¹ may promote BMSCs into the S phase, and enhance the proliferation of BMSCs by activating PI3K/Akt signaling pathway.

[**Key words**] Buyang Huanwutang; bone mesenchymal stem cell; proliferation; cell cycle; phosphatidylinositol 3-kinase/serine/threonine kinase

骨髓间充质干细胞 (bone mesenchymal stem cells, BMSCs) 是来源于骨髓的一种成体干细胞, 具有多向分化潜能, 因其免疫原性低, 成为细胞移植治疗各系统疾病的理想种子细胞^[1]。但 BMSCs 来源缺乏, 扩增速度慢, 移植进入体内到与宿主细胞产生整合这一过程, 其存活率与增殖活性成为干细胞移植研究的关键。补阳还五汤是中医治疗缺血性脑损伤的传统名方, 研究证实补阳还五汤具有抑制脑缺血动物模型脑组织中神经细胞凋亡的作用^[2], 也能诱导 BMSCs 向神经细胞分化^[3-4], 但能否促进 BMSCs 增殖及作用机制尚不清楚。

磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/丝 (苏) 氨酸蛋白酶 (serine/threonine kinase, Akt) 信号通路与细胞的增殖、分化、凋亡密切相关, 大部分研究集中在肿瘤方面, 近年来研究表明 PI3K/Akt 信号通路可能参与了内皮祖细胞、神经干细胞和骨髓间充质干细胞等的增殖^[5-6]。本研究通过观察补阳还五汤含药血清对体外培养 BMSCs 增殖, 细胞周期, PI3K 和 p-Akt (Ser473) 蛋白表达的影响, 试图阐明补阳还五汤是否促进 BMSCs 增殖及 PI3K/Akt 信号通路可能发挥的作用, 从而为补阳还五汤联合 BMSCs 移植治疗脑缺血损伤提供实验依据。

1 材料

1.1 药物 按《医林改错》补阳还五汤, 黄芪 120 g, 当归 6 g, 地龙 3 g, 赤芍 4.5 g, 川芎 3 g, 桃仁 3 g, 红花 3 g, 均购自兰州市惠仁堂药店, 经甘肃中医药大学中药制药中医药科研二级实验室杨扶德教授鉴定为正品, 符合 2015 年版《中国药典》一部规范。将以上药物水煎, 蒸发浓缩至含生药 0.65, 1.3, 2.6 g·mL⁻¹ 补阳还五汤药液。

1.2 动物与细胞 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 体重

(200 ± 10)g, 购自甘肃中医药大学 SPF 级动物实验中心, 动物合格证号 SCXK(甘) 2015-0001。本研究获得甘肃中医药大学实验动物伦理委员会批准 (编号 2014-087)。鼠 BMSCs 购自于美国模式培养物保藏所 (american type culture collection, ATCC), 细胞编号 CRL-12424。

1.3 试剂 DMEM/F-12 培养基 (上海 Hyclone 公司, 批号 NXL0742), 胰蛋白酶 (上海 Gibco 公司, 批号 20150708217), 噻唑蓝 (MTT, 北京索莱宝科技有限公司, 批号 0793), Western blot 及 IP 细胞裂解液, Triton X-100 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号分别为 P0013, ST795), 兔抗鼠 PI3K 多克隆抗体、兔抗鼠 p-Akt (Ser473) 多克隆抗体 (GenScript 生物科技公司, 批号分别为 A01524-40, A00965-40), 兔抗鼠 GAPDH 多克隆抗体、山羊抗兔二抗 (Bioworld 生物技术有限公司, 批号分别为 AP0063, BS10350)。

1.4 仪器 Mini Protean Tetra Cell Mini Trans-blot cell 型蛋白核酸凝胶电泳转印系统, Chemi DOC XRS + 型凝胶成像分析系统, Benchmark Plus 型连续波长酶标仪 (美国 Bio-Rad 公司); IX51 型倒置式基础型相差显微镜及成像系统 (日本奥林巴斯株式会社); COULTER EPICS XL 型流式细胞仪 (美国 Beckman 公司)。

2 方法

2.1 补阳还五汤含药血清的制备 将 SPF 级 SD 大鼠随机分成补阳还五汤 6.5, 13, 26 g·kg⁻¹ 组和空白组, 每组 10 只。按照 6.25 倍 70 kg 成人剂量给药, 计算大鼠给药量分别为 6.5, 13, 26 g·kg⁻¹, 分别用配置好的补阳还五汤药液 3 mL 灌胃, 空白组等量蒸馏水灌胃, 2 次/d, 连续 7 d, 末次灌胃 1 h 后腹主动脉取血, 离心后取上清, 置于 -20 °C 保存。

2.2 细胞培养 BMSCs 用含 10% 胎牛血清的

DMEM/F-12 完全培养基,置于 37 °C 5% CO₂,饱和湿度的细胞培养箱中培养。当细胞融合度达到 70% ~ 80% 时,加入 PBS 清洗 2 次,用 0.25% 胰酶-0.02% EDTA 消化传代。细胞随机分为 4 组:补阳还五汤 6.5,13,26 g·kg⁻¹ 组和空白组,分别用含 10% 6.5,13,26 g·kg⁻¹ 生药制备的补阳还五汤含药血清和空白血清的 DMEM/F-12 培养基培养。

2.3 细胞形态学观察 在倒置相差显微镜下观察各组 BMSCs 作用 24,48,72 h 后的形态变化,并利用光学显微成像系统进行拍照,记录结果。

2.4 细胞增殖活性检测 细胞数调整到 4 × 10³ 个/孔,接种于 96 孔板,加入 3 种补阳还五汤含药血清和空白血清,培养 24,48 和 72 h,加入 MTT 20 μL,孵育 4 h。弃上清,加入二甲基亚砜 (DMSO) 振荡,酶标仪测定在 570 nm 处的吸光度 A。MTT 实验至少重复 3 次。

2.5 流式细胞术检测细胞周期 将诱导 48 h 后的细胞用胰酶消化,离心收集,使细胞数达到 3 × 10⁵ ~ 5 × 10⁵ 个。用 4 °C 预冷的 PBS 洗涤,加入 4 °C 预冷的 70% 乙醇 1 mL,4 °C 固定 1 h,加入 PBS 500 μL (含 50 mg·L⁻¹ PI,100 mg·L⁻¹ RNase-A,1% Triton X-100),重悬细胞,4 °C 避光孵育 30 min。流式细胞仪测定细胞周期。

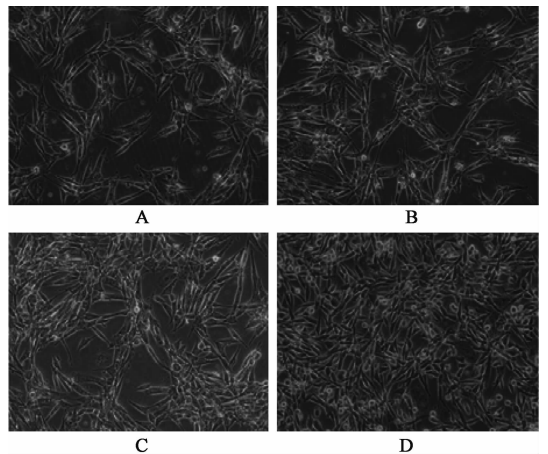
2.6 免疫蛋白印迹 (Western blot) 法检测 PI3K 和 p-Akt (Ser473) 蛋白表达 将诱导 48 h 后的细胞 PBS 清洗 3 次,加细胞裂解液 400 μL,使细胞充分裂解,收集上清检测蛋白浓度。分装蛋白,按 3:1 的比例,加入蛋白上样缓冲液,煮沸变性 10 min。SDS-PAGE 电泳,转膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入兔抗鼠 PI3K 多克隆抗体 (1:1 000),兔抗鼠 p-Akt (Ser473) 多克隆抗体 (1:1 000),兔抗鼠 GAPDH 多克隆抗体 (1:10 000) 孵育,4 °C 过夜。TBST 洗膜后二抗孵育 2 h,显色。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差齐性检验和单因素方差分析 (One-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 补阳还五汤含药血清对 BMSCs 形态的影响 空白组 BMSCs 贴壁生长,呈长梭形或多边形,大小较一致,排列呈旋涡状。补阳还五汤作用后细胞形态改变不明显,补阳还五汤 13,26 g·kg⁻¹ 组作用 48,72 h 后,细胞数目有明显增多。见图 1。

3.2 补阳还五汤含药血清对 BMSCs 增殖活性的影



A. 空白组;B. 补阳还五汤 6.5 g·kg⁻¹ 组;C. 补阳还五汤 13 g·kg⁻¹ 组;D. 补阳还五汤 26 g·kg⁻¹ 组 (图 2 同)

图 1 补阳还五汤含药血清作用 48 h 对 BMSCs 的形态影响 (光镜,×200)

Fig. 1 Morphology of BMSCs were treated with Buyang Huanwutang Serum for 48 h (light microscope, ×200)

响 MTT 结果显示,细胞增殖呈现出一定的时间剂量依赖性。BMSCs 经补阳还五汤 13 g·kg⁻¹ 组含药血清作用 48 h 后,与空白组比较,A 明显升高 ($P < 0.05$); 经补阳还五汤 13 g·kg⁻¹ 作用 72 h,26 g·kg⁻¹ 组含药血清作用 48 和 72 h 后,A 较空白组显著升高 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 补阳还五汤含药血清对 BMSCs 增殖活性 (A) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effect of Buyang Huanwutang serum on BMSCs viability (A) ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	24 h	48 h	72 h
空白	-	0.963 ± 0.132	1.200 ± 0.022	1.490 ± 0.060
补阳还五汤	6.5	1.124 ± 0.085	1.497 ± 0.197	1.576 ± 0.136
	13	1.144 ± 0.181	1.628 ± 0.157 ¹⁾	1.978 ± 0.096 ²⁾
	26	1.177 ± 0.163	1.798 ± 0.104 ²⁾	2.093 ± 0.135 ²⁾

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

3.3 补阳还五汤含药血清对 BMSCs 细胞周期的影响 将 BMSCs 用 3 种补阳还五汤含药血清孵育 48 h 后,对细胞周期进行检测。G₁ 期细胞百分数随着补阳还五汤浓度的升高而下降,补阳还五汤 6.5,13,26 g·kg⁻¹ 组与空白组比较显著下降 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),S 期的细胞百分数呈升高趋势,补阳还五汤 6.5,13,26 g·kg⁻¹ 组与空白组比较有明显差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 2。

3.4 补阳还五汤含药血清对 PI3K 和 p-Akt (Ser473) 蛋白表达的影响 Western blot 结果显示,

表 2 补阳还五汤对 BMSCs 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of Buyang Huanwutang serum on cell cycle of BMSCs ($\bar{x} \pm s, n = 3$) %

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	G ₁	S	G ₂
空白	-	72.322 ± 2.917	15.300 ± 2.070	12.378 ± 1.506
补阳还五汤	6.5	65.433 ± 3.597 ¹⁾	21.797 ± 1.984 ¹⁾	12.770 ± 0.998
	13	55.875 ± 2.613 ²⁾	29.775 ± 3.091 ²⁾	14.350 ± 0.827
	26	41.504 ± 1.687 ²⁾	40.520 ± 2.798 ²⁾	17.976 ± 0.896 ²⁾

BMSCs 在补阳还五汤 13, 26 g·kg⁻¹ 组含药血清作用 48 h 后, PI3K 和 p-Akt (Ser473) 蛋白的表达水平和空白组比较均明显升高 ($P < 0.01$)。见表 3, 图 2。

表 3 补阳还五汤含药血清对 PI3K 和 p-Akt 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of Buyang Huanwutang serum on PI3K and p-Akt protein expression levels in BMSCs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	PI3K/GAPDH	p-Akt (Ser473)/GAPDH
空白	-	0.886 ± 0.009	0.797 ± 0.015
补阳还五汤	6.5	0.912 ± 0.085	0.827 ± 0.053
	13	1.460 ± 0.018 ²⁾	0.981 ± 0.021 ²⁾
	26	1.589 ± 0.106 ²⁾	1.256 ± 0.150 ²⁾

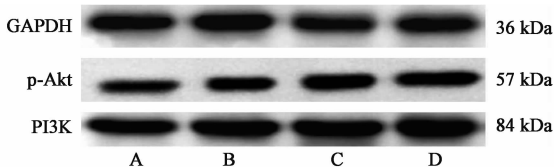


图 2 补阳还五汤对 PI3K 和 p-Akt (Ser473) 蛋白表达的影响
Fig. 2 Effect of Buyang Huanwutang serum on PI3K and p-Akt protein expression levels in BMSCs

4 讨论

2000 年, Woodbury 等^[7]首次将 BMSCs 诱导分化为神经细胞, 随后, 许多动物实验表明 BMSCs 移植能明显减少脑梗死面积和改善脑功能。补阳还五汤为清代医家王清任所创, 始载于《医林改错》, 由黄芪, 当归, 地龙, 赤芍, 川芎, 桃仁, 红花组成, 是治疗半身不遂、痿痹不用诸证的经典名方, 具有补气活血通络之功效。现代药理学研究表明, 补阳还五汤具有抑制脑缺血动物模型脑组织中神经细胞凋亡的作用^[2], 也可以显著促进脑缺血大鼠脑内神经干细胞向缺血区迁移, 从而发挥很好的抗脑缺血损伤作用^[8-9]。近年来, 有研究发现补阳还五汤能诱导 BMSCs 向神经细胞分化, 经静脉注射移植能够迁移到脊髓损伤组织, 并促进神经功能的恢复^[3-4, 10], 这

些特性使补阳还五汤联合 BMSCs 移植治疗神经系统疾病成为可能, 但骨髓中 BMSCs 的含量极低, 占有核细胞的 0.001% ~ 0.010%^[11], 并且大约有 85% 以上的间充质干细胞处于 G₀/G₁ 期^[12], 因此, 移植进入体内后 BMSCs 的增殖成为整个问题的关键。

本研究显示, BMSCs 经补阳还五汤含药血清作用 24 h 后增殖活性均无明显变化, 这可能与含药血清作用时间较短有关, 而补阳还五汤 13, 26 g·kg⁻¹ 组作用 48 和 72 h 后, 能明显促进 BMSCs 增殖, 呈时间剂量依赖关系, 细胞形态也未发生明显改变, 呈长梭形或多边形, 大小较一致, 排列呈旋涡状。

细胞的增殖是通过细胞周期来实现的, 细胞周期的异常会影响细胞正常的分裂、增殖与分化等过程^[13]。流式细胞术结果显示, 空白组 (72.322 ± 2.917)% 的细胞处于 G₁ 期, 提示大多数 BMSCs 增殖能力相对较低, 而补阳还五汤含药血清作用后, G₁ 期细胞所占比例数逐渐降低, S 期细胞比例数逐渐增高, 说明补阳还五汤含药血清可以促进更多处于 G₁ 期的 BMSCs 进入 S 期, 促进细胞 DNA 合成与复制, 利于有丝分裂进行, 这一结果与 MTT 检测结果一致。

PI3K 是细胞内重要的信号转导分子, 可被细胞外信号活化, 在细胞膜上生成 3, 4, 5-三磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate, PIP3), 并作为第二信使与下游分子 Akt 结合, 使 Akt 的 Ser473 和 Thr308 位点磷酸化而活化。活化的 PI3K/Akt 信号通路, 参与调节细胞的增殖、细胞周期、凋亡等生物学效应^[14]。近年来有许多学者致力于研究 PI3K/Akt 信号通路在细胞增殖分化中的作用, 黄芪多糖可能通过促进 Akt 磷酸化, 活化 PI3K/Akt 信号通路, 调节 PI3K/Akt 信号通路下游靶基因, 促进神经干细胞增殖^[15]。体外培养骨髓间充质干细胞, 用 PI3K 抑制剂 LY294002 干预, 发现细胞增殖减少, 表明 PI3K/Akt 信号通路可能参与骨髓间充质干细胞增殖^[6]。本研究中, PI3K 和 p-Akt (Ser473) 蛋白的表达随着补阳还五汤浓度的升高而升高, 这说明补阳还五汤含药血清能够激活 PI3K, 并使 Akt 磷酸化而发挥促进 BMSCs 增殖的作用。

本实验初步表明, 13, 26 g·kg⁻¹ 生药制备的补阳还五汤含药血清体外可以促进 BMSCs 进入 S 期, 增强增殖活性, 可能与活化 PI3K/Akt 信号通路有关, 但是药物作用的有效成分、更深入的作用机制等还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] MA K, Fox L, SHI G, et al. Generation of neural stem cell-like cells from bone marrow-derived human mesenchymal stem cells [J]. *Neurol Res*, 2011, 33 (10): 1083-1093.
- [2] 张继平,刘俊娥,姚晖,等. 补阳还五汤含药血清对缺氧缺糖损伤 PC12 细胞凋亡影响的正交实验研究 [J]. *广州中医药大学学报*, 2015, 32(3): 469-457.
- [3] 聂恒. 补阳还五汤诱导大鼠骨髓间充质干细胞向神经样细胞分化 [D]. 郑州:河南中医学院, 2007.
- [4] 张运克,高峰,张丹,等. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠脑组织 NSE 和 GFAP 表达的影响 [J]. *中医杂志*, 2013, 54 (23): 41-44.
- [5] YUEN H F, CHAN Y P, CHAN K K, et al. Id-1 and Id-2 are markers for metastasis and prognosis in oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *British J Cancer*, 2007, 97 (10): 1409-1415.
- [6] 王学鹏,李茂强,边振宇,等. PI3K/Akt 信号通路在骨髓间充质干细胞增殖及成骨分化调控中的作用 [J]. *中国骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2014, 7 (3): 250-257.
- [7] Woodbury D, Schwarz E J, Proekop D J, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons [J]. *J Neurosci Res*, 2000, 61 (4): 364-367.
- [8] MU Q C, LIU P F, HU X T, et al. Neuroprotective effects of Buyang Huanwu decoction on cerebral ischemia-induced neuronal damage [J]. *Neural Regen Res*, 2014, 9 (17): 1621-1627.
- [9] 翁湘涛,胡伟雄,周倩仪,等. 补阳还五汤治疗中风的系统综述/Meta 分析的方法学质量评价 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(14): 217-221.
- [10] 张国福,王和鸣. 补阳还五汤对骨髓间质干细胞移植治疗大鼠脊髓损伤的影响 [J]. *中国骨伤*, 2006, 19 (8): 452-454.
- [11] ZHOU S H, Greenberger J S, Epperly M W, et al. Age-related intrinsic changes in human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells and their differentiation to osteoblasts [J]. *Aging Cell*, 2008, 7(3): 335-343.
- [12] Amano M, Fukata Y, Kaibuchi K. Regulation and functions of Rho-associated kinase [J]. *Exp Cell Res*, 2000, 261(1): 44-51.
- [13] 秦文,李晓云,杨霄鹏,等. 红景天苷对小鼠 MSCs 的增殖及其细胞周期的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(1): 47-52.
- [14] 李斌,范源,李鑫. 基于 PI3K/Akt 信号通路的中药治疗 2 型糖尿病胰岛素抵抗研究进展 [J]. *中成药*, 2017, 39(1): 151-153.
- [15] 郑利强,江琼,伍亚民,等. APS 通过 PI3K/Akt 信号通路促进神经干细胞增殖 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(10): 1359-1363.

[责任编辑 邹晓翠]