

# 八角莽草酸诱导人肝癌细胞 HepG-2 凋亡及其机制研究

朱开梅<sup>1</sup>, 顾生玖<sup>1\*</sup>, 李美波<sup>1</sup>, 骆彩珍<sup>2</sup>, 许有瑞<sup>1</sup>, 顾小文<sup>1</sup>

(1. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541004; 2. 桂林医学院护理院, 广西 桂林 541004)

**[摘要]** **目的:**研究八角莽草酸诱导人肝癌细胞 HepG-2 凋亡的作用和机制。**方法:**取对数生长期人肝癌 HepG-2 细胞, 随机分为药物组和对照组, 用 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup> 不同浓度八角莽草酸作用人肝癌 HepG-2 细胞, 采用 MTT 法测定莽草酸对 HepG-2 细胞增殖的影响; 通过流式细胞仪检测在以上浓度的莽草酸对肝癌 HepG-2 细胞周期的影响; 通过免疫细胞化学检测凋亡相关基因 B 细胞淋巴瘤白血病 2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax 蛋白) 表达的改变。**结果:**MTT 实验结果表明, 各质量浓度 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup> 的莽草酸对人肝癌 HepG-2 的生长具有显著的抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 呈现时间依赖性和剂量依赖性; 流式结果表明莽草酸将人肝癌 HepG-2 细胞阻滞在 G<sub>1</sub> 期, 使细胞不能顺利地进入细胞 DNA 合成期 S 期, 从而抑制了该细胞的增殖。免疫细胞化学检测凋亡相关基因 Bcl-2 蛋白表达明显减少、Bax 表达明显增加; Bcl-2/Bax 比例明显降低。**结论:**八角莽草酸在体外诱导人肝癌 HepG-2 细胞大量阻滞在 G<sub>1</sub> 期, 进入 S 期细胞减少, 抑制细胞增殖, 其作用可能通过降低 Bcl-2/Bax 比例来诱导细胞凋亡而实现的。

**[关键词]** 八角莽草酸; 肝癌细胞; 肿瘤细胞增殖; 细胞周期阻滞

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0154-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2014080154

## Shikimic Acid Inducing Apoptosis on Hepatocellular Carcinoma HepG-2 Cells Through Decreasing the Ratio of Bcl-2/Bax

ZHU Kai-mei<sup>1</sup>, GU Sheng-jiu<sup>1\*</sup>, LI Mei-bo<sup>1</sup>, LUO Cai-zhen<sup>2</sup>, XU You-rui<sup>1</sup>, GU Xiao-wen<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China;

2. School of Nursing, Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of shikimic acid on inducing hepatocellular carcinoma HepG-2 cells apoptosis *in vitro*. **Method:** The MTT assay was used, and the hepatocellular carcinoma HepG-2 cells in logarithmic phase of growth were randomly divided into control group and treatment group treated with the concentration of 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup> shikimic acid in hepatocellular carcinoma HepG-2 cells. The cell cycle distribution was analyzed by flow cytometry. The protein expression of B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and Bcl-2 associated x protein (Bax) was analyzed by immunocytochemical method. **Result:** Shikimic acid inhibited the growth of cells significantly ( $P < 0.05$ ). The suppression was both in a time- and dose-dependent manner. The flow cytometry showed that shikimic acid can inhibit the proliferation by preventing cells turning into S phase from G<sub>1</sub> phase in cell cycle, at the same time, shikimic acid down-regulated the Bcl-2 expression and up-regulated the Bax expression, the ratio of Bcl-2/Bax was evident decrease. **Conclusion:** Shikimic acid can inhibit proliferation hepatocellular carcinoma HepG-2 cells and induce a G<sub>1</sub> cell cycle arrest and reduce the cell population in S phase, it may induce apoptosis through decreasing the ratio of Bcl-2/Bax.

**[Key words]** shikimic acid; hepatocellular; tumor cell proliferation; cell cycle arrest

**[收稿日期]** 20130727(010)

**[基金项目]** 广西科技攻关项目(129825-21); 广西教育厅项目(201202ZD065); 桂林市科技攻关项目(20130113-1, 20130103-8, 20130103-8; 20120105-8)

**[第一作者]** 朱开梅, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事天然药物分析的研究, Tel: 0773-5899602, E-mail: glzkm@163.com

**[通讯作者]** \* 顾生玖, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事心血管病理学及药物防治研究, Tel: 0773-2295148, E-mail: gushengjiu@163.com

八角茴香系木兰科植物八角茴香 (*Illicium verum* Hook. f.) 的干燥成熟果实, 又称八角, 主产于中国广西云南广东等地, 既是香料和居家调料, 也是我国常用中药材。莽草酸是从八角茴香中提取的一种单体化合物, 有抗炎镇痛作用, 是抗癌药物中间体<sup>[1]</sup>。研究表明, 莽草酸及其衍生物具有抗炎, 抗病毒, 抗血栓, 抗肿瘤<sup>[2]</sup>等作用。恶性肿瘤严重危害着人们的健康和生命。肝癌是一种常见的恶性肿瘤, 其死亡率较高, 仅次于胃癌<sup>[3]</sup>。本研究从八角中提取莽草酸, 并以广西高发的肝癌为研究对象, 在观察八角莽草酸对肝癌 HepG-2 细胞的生长抑制和凋亡作用的基础上, 检测和分析莽草酸对细胞周期及其相关基因表达的影响, 为进一步探讨莽草酸抗肝癌作用机制及其潜在的临床应用提供新的理论依据。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 人肝癌细胞株 HepG-2 购自中国科学院细胞所(上海)细胞库。

**1.2 试剂** 莽草酸对照品(中国药品生物制品检定所提供, 纯度 > 98%, 批号 111607-200301), RPMI 1640 培养基, 0.25% 胰蛋白酶(美国 Gibco 公司), 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT, Sigma 公司), PI 与 RNA 酶(美国 Becton Dicknson), 鼠抗人 Bcl-2 蛋白单克隆抗体, 鼠抗人 Bax 单克隆抗体, 浓缩型 DAB 试剂盒, 两步法免疫组化检测试剂(均购自中衫金桥), 乙醇为分析纯、八角样品由广西药用植物研究所提供, 广西药用植物研究所资源保护中心余丽莹主任鉴定为木兰科植物八角 (*Illicium verum* Hook. f.) 的果实。

**1.3 仪器** NJL07-3 型微波炉(南京杰全微波设备有限公司), UV-2550 紫外分光光度计(日本岛津), BP211D 型电子分析天平(德国), CO<sub>2</sub> 培养箱(Thermo Fisher, 美国), DG3002 型酶联免疫检测仪(国营华东电子管厂), 倒置荧光显微镜(Olympus, 日本), 流式细胞仪(Becton Dicknson, 美国)。

## 2 方法

**2.1 微波提取八角中的莽草酸** 称取八角粉末 10 g, 放入平底烧瓶中, 按照料液比为 1:20 加入蒸馏水浸泡 2 h 后, 采用微波功率为 400 W, 微波温度为 65 °C 条件下萃取 10 min, 抽滤, 回收, 再进行三氯甲烷脱脂, 得莽草酸浓缩液。最后采用硅胶柱层析法<sup>[3]</sup>, 对莽草酸粗提物进行分离纯化, 得莽草酸。HPLC 测量样品含量为 98.1%。

**2.2 细胞培养及分组** 将人肝癌 HepG-2 细胞接

种于含 10% 热灭活小牛血清的 RPMI1640 培养液中, 在 37 °C, 饱和湿度及 5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中传代培养, 每 1~2 d 传代 1 次。取对数生长期细胞进行试验。将八角莽草酸用 pH 7.8 的 PBS 溶解后, 过滤除菌, 于 4 °C 冰箱保存备用, 实验前稀释至所需质量浓度 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup>。

**2.3 MTT 法测细胞增殖的抑制率** 取对数生长期的人肝癌 HepG-2 细胞, 加入适量 0.25% 胰酶消化, 吹打制成单个细胞悬液, 调整细胞密度为 4 × 10<sup>4</sup> 个/mL, 以每孔 100 μL, 加入 96 孔培养板内, 再加入培养基 80 μL。倒置显微镜观察细胞贴壁后, 加入不同浓度的莽草酸 20 μL, 使其终浓度为 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup>, 再置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的培养箱中分别培养 24, 48, 72 h。每个浓度设 4 个复孔。终止培养后每孔加入 20 μL MTT 溶液, 继续培养 4 h 后吸取上清液, 用 PBS 溶液冲洗 3 次后, 加入 150 μL DMSO, 振荡, 充分溶解结晶, 用酶联免疫检测仪测定 490 nm 处各孔的吸光度(A)。计算细胞增殖抑制率。

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

**2.4 流式细胞法检测细胞周期** 取对数生长期的人肝癌 HepG-2 细胞, 调整密度为 4 × 10<sup>4</sup> 个/mL, 接种于培养瓶中, 再放入 37 °C 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度下的培养箱中进行培养。培养 24 h 后, 于显微镜下观察细胞呈贴壁生长状态, 弃去上清液加药, 分别加入质量浓度为 0, 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup> 的莽草酸溶液。不加药组为阴性对照组。在细胞培养箱中培养 48 h 后, 收集细胞。离心后, 加入 75% 乙醇(4 °C 预冷)固定, 于 -20 °C 过夜。检测时, 加 RNA 酶后孵育 30~60 min 后, 在细胞悬液中加入一定量的 PI 避光染色, 用流式细胞仪检测细胞周期。

## 2.5 免疫细胞化学染色法

**2.5.1 细胞爬片方法** 先滴少量培养基使载玻片紧紧贴于 6 孔板底。取对数生长期人肝癌 HepG-2 细胞, 用 0.25% 胰酶消化分离, 再用完全培养基调整细胞密度为 4 × 10<sup>5</sup> 个/mL 加入 6 孔板中, 用完全培养基调整细胞密度为 2 × 10<sup>5</sup> 个/孔, 放置于 37 °C 培养箱中培养, 次日观察细胞爬片情况, 分别加入不同质量浓度的莽草酸 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup>, 于 48 h 后终止培养, 收集爬片进行免疫细胞化学检测。

**2.5.2 免疫细胞化学检测** 取出药物处理后的 HepG-2 细胞爬片, PBS 溶液清洗。加入一定量的 4% 多聚甲醛固定 15 min, 弃净 4% 多聚甲醛溶液,

空气干燥 5 min, PBS 溶液清洗。加入一定量的 0.5% Triton X-100 孵育 20 min, 用来增加细胞膜的通透性, 促进抗体渗入细胞内, PBS 溶液清洗。滴加 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 孵育 15 min, PBS 溶液清洗。滴加一抗工作液, 37 ℃, 孵育 2 h, PBS 溶液清洗。滴加二抗工作液, 37 ℃, 孵育 30 min, PBS 溶液清洗。滴加新鲜配制 DAB 显色液避光显色 10 min(在显微镜下观察充分显色后及时停止), 蒸馏水冲洗 5 min。苏木树复染 10 min, 蒸馏水冲洗, 乙醇梯度脱水, 二甲苯透明, 树胶封片, 镜下观察。设 PBS 代替一抗为阴性对照。

**2.5.3 光镜下观察照相, 图片分析** 实验结果采用 ImagePro Plus 软件进行灰度值分析。光镜下连续观察 5 个视野, 得出灰度值, 取均值, 计算其阳性率。

**2.6 统计学处理** 所有实验数据均采用 SPSS 17.0 统计软件进行 One-way ANOVA 检验分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 HepG-2 细胞株增殖的抑制作用** MTT 结果显示: 与对照组比较, 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup> 不同质量浓度的莽草酸作用于人肝癌 HepG-2 细胞, 在 24, 48, 72 h 均出现细胞增殖抑制(图 1), 且对 HepG-2 细胞的增殖抑制率呈现时间和浓度依赖性, 随着时间的延长和浓度的增加, 抑制细胞增殖的效果越加明显。质量浓度为 1 g·L<sup>-1</sup> 的莽草酸作用于人肝癌 HepG-2 细胞 72 h 后, 其对细胞的增殖抑制率可达到 84.3%。相同浓度, 随着时间的延长, 莽草酸对肝癌细胞 HepG-2 生长的抑制率也逐渐增加(图 2)。

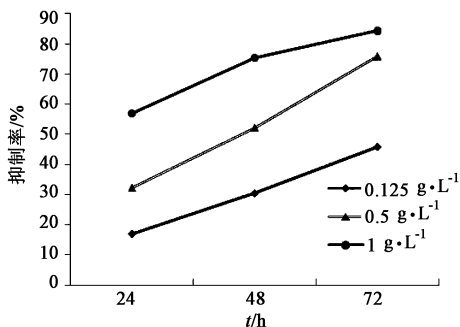


图 1 八角中莽草酸对肝癌细胞 HepG-2 生长的抑制作用的浓度-效应曲线

**3.2 不同浓度莽草酸对人肝癌 HepG-2 细胞周期分布的影响** 经 FCM 分析(表 1), 用 0.125, 0.5, 1 g·L<sup>-1</sup> 质量浓度莽草酸处理人肝癌 HepG-2 细胞 48 h 后, 该细胞周期阻滞在 G<sub>1</sub> 期, 阻滞细胞由 G<sub>1</sub> 期向 S 期的转化。在相同处理时间内, 随处理浓度的增加 G<sub>1</sub> 期细胞含量逐渐上升, S 期细胞逐渐下降, 各

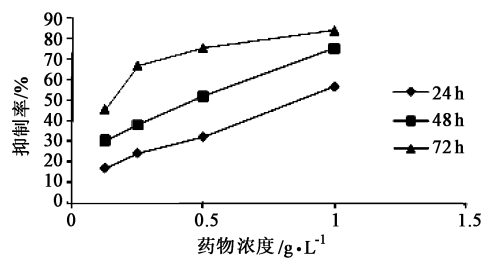


图 2 八角中莽草酸对肝癌细胞 HepG-2 生长的抑制作用的时间-效应曲线

浓度组与对照组比较  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义。

表 1 不同浓度莽草酸对人肝癌 Hep-2 细胞细胞周期影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

莽草酸 /g·L <sup>-1</sup>	G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> 期	S 期
-	57.65 ± 1.28	6.95 ± 0.75	35.40 ± 0.39
0.125	62.5 ± 0.52 <sup>1)</sup>	7.15 ± 0.83	30.31 ± 0.64 <sup>1)</sup>
0.5	68.34 ± 0.38 <sup>1)</sup>	2.90 ± 1.07	28.76 ± 0.95 <sup>1)</sup>
1	73.80 ± 0.50 <sup>1)</sup>	10.22 ± 0.42	16.40 ± 1.16 <sup>1)</sup>

注: 与对照组(不给药)比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ (表 2 同)。

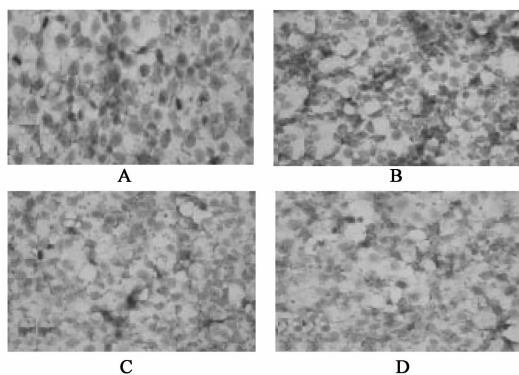
**3.3 细胞免疫化学观察莽草酸对 Bcl-2, Bax 蛋白的影响** Bcl-2 蛋白主要定位于细胞浆。实验结果显示(表 2 和图 3、4): 对照组细胞胞浆染色细胞数量较多, 且呈棕黄色, 实验各组阳性细胞数量明显减少, 细胞浆着色随着浓度的增加而逐渐变浅, 阳性表达率与对照组比较具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Bax 蛋白也主要定位于细胞浆, 染色呈棕黄色。实验结果显示, 对照组胞浆染色细胞数量少, 而加药组阳性细胞数明显增多, 染色加深, 阳性表达率与对照组相比差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。

表 2 不同浓度莽草酸对人肝癌 Hep-2 细胞 Bcl-2, Bax 表达影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4$ )

莽草酸浓度 /g·L <sup>-1</sup>	Bcl-2	Bax
-	101.83 ± 0.96	187.61 ± 0.77
0.125	116.65 ± 1.09 <sup>1)</sup>	170.42 ± 0.45 <sup>1)</sup>
0.5	140.25 ± 0.63 <sup>1)</sup>	158.200 ± 0.34 <sup>1)</sup>
1	162.32 ± 0.78 <sup>1)</sup>	90.07 ± 0.52 <sup>1)</sup>

### 4 讨论

目前中药抗肝癌的研究比较广泛, 主要通过抑制细胞增生、促进细胞分化、诱导细胞凋亡及抑制肿瘤血管生成等环节发挥抗肝癌作用<sup>[4-5]</sup>。研究表明莽草酸作为是抗癌药物的中间体, 不仅有抗病毒、抗



A. 对照组;B. 莽草酸  $0.125 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  
C. 莽草酸  $0.5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;D. 莽草酸  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (图4同)

图3 不同浓度莽草酸对人肝癌 Hep-2 细胞 Bcl-2 表达影响( $\times 200$ )

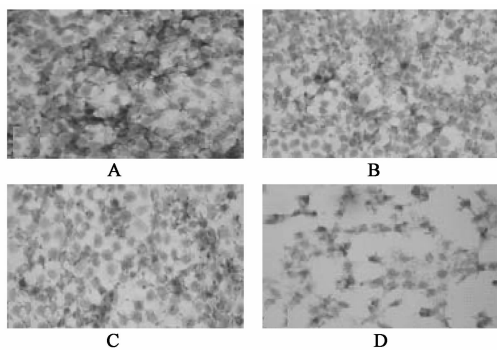


图4 不同浓度莽草酸对人肝癌 Hep-2 细胞 Bax 表达影响( $\times 200$ )

炎镇痛、抑制血小板聚集等作用,还能有效抑制癌细胞的扩散<sup>[6]</sup>。目前对于莽草酸抗肿瘤的作用机制还缺乏深入研究,本研究探索莽草酸对肝癌细胞的增殖抑制作用及其分子机制,希冀为寻找新的抗癌药物提供有价值的信息。

本研究中 MTT 实验表明,莽草酸对体外抑制人肝癌 HepG-2 细胞的增殖有明显的抑制作用,且存在一定的剂量和时间依赖关系,即随着莽草酸浓度的增加和作用时间的延长,活细胞的数量越来越少,作用时间为 24 h 时,莽草酸对细胞的抑制增殖作用不明显,而作用时间达到 72 h 后,细胞的存活率下降比较明显,尤其是莽草酸浓度达到  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,对细胞的抑制率达 84.3%。

肿瘤细胞最显著的特征是生长失控和不分化,细胞周期失控在肿瘤发生中起重要作用<sup>[7]</sup>,表现为细胞周期紊乱,细胞增殖过多,凋亡减少。对细胞周期的有序调控可达到抑制肿瘤生长、增殖的目的<sup>[8]</sup>。Wang<sup>[9]</sup>等研究发现冬凌草素可以抑制人肝癌 HepG-2 细胞增殖,并且把肿瘤细胞阻滞在  $G_2/M$  期。晏芳<sup>[10]</sup>等通过实验发现白藜芦醇阻滞人肝癌

HepG-2 细胞周期停留在 S 期。本研究 FCM 分析细胞周期,发现莽草酸将人肝癌 HepG-2 细胞阻滞在  $G_1$  期,使细胞不能顺利地进入细胞 DNA 合成期 S 期,从而抑制了细胞的增殖。

Bcl-2 是最主要的细胞凋亡抑制基因,Bax 是最主要的细胞凋亡促进基因。与其起源组织相比,多数肿瘤的 Bcl-2 蛋白表达水平升高 Bax 蛋白表达水平下降。Bcl-2 和 Bax 的基因产物相互作用,形成同二聚体或异二聚体,它们之间的比例是决定细胞是否凋亡的关键<sup>[11]</sup>。研究表明 Bcl-2 可抑制肿瘤细胞凋亡,延长肿瘤细胞寿命,导致细胞生长周期延长,异常细胞聚集,促进肿瘤发展、浸润及转移<sup>[12]</sup>。杨连君<sup>[13]</sup>在探讨原发性肝细胞癌细胞凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-2 的表达结果表明,肝癌的 Bcl-2 蛋白表达水平上调和 Bax 蛋白表达水平下降导致 Bax/Bcl-2 比例下调,细胞凋亡趋势减弱,在肝癌发生过程的调控中可能具有一定的意义。本研究结果显示 Bcl-2 蛋白的表达量随着药物浓度的增加而逐渐降低,而 Bax 蛋白的表达随着药物浓度的增加而增强,从而使 Bcl-2/Bax 的比例降低。因此,莽草酸可能是通过降低 Bcl-2/Bax 的比例来诱导肿瘤细胞凋亡。

本研究表明,莽草酸对肝癌细胞增殖具有明显的抑制作用,其机制可能是通过干扰肝癌 HepG-2 细胞周期进程和降低 Bcl-2/Bax 的比例促进细胞凋亡来实现的。

## [参考文献]

- [1] 赵秀玲.八角茴香天然活性成分最新研究进展[J].食品工业科技,2012,33(19):370.
- [2] 曾辉,李开祥,陆顺忠.广西八角综合开发利用[J].广西林业科学,2008,37(4):223.
- [3] 何新华,刘玲,刘兴国,等.八角茴香中莽草酸提取和纯化工艺的研究[J].天然产物研究与开发,2008,20(5):914.
- [4] 汪福昌,郭武华.肝细胞癌生物标志物研究进展[J].山东医药,2012,52(42):87.
- [5] 姜子瑜,华海清.中药防治肝癌的分子机制研究进展[J].中国中药杂志,2009,34(10):1310.
- [6] Hirono Iwao, Fushimi Katsumasa, Matsubara Nagaki. Carcinogenicity test of shikimic acid in rats [J]. Toxicol Lett, 1997,1(1):9.
- [7] Weir N M, Selvendiran K, Kutala V K, et al. Curcumin induces  $G_2/M$  arrest apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells by modulating Akt and P38 MARK [J]. Cancer Biol Rher, 2007, 6(2):178.

## 帕病2号方对帕金森病模型大鼠中脑黑质 Nrf2, HO-1 表达的影响

赵贝贝<sup>1</sup>, 郑春叶<sup>2\*</sup>, 雒晓东<sup>2</sup>, 孙玉芝<sup>2</sup>, 吴寿海<sup>2</sup>, 崔晓峰<sup>3</sup>

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东省中医院, 广州 510120;  
3. 中山市黄圃人民医院, 广东 中山 528429)

**[摘要]** 目的: 观察帕病2号方对6-羟基多巴胺(6-OHDA)所致帕金森病(PD)大鼠中脑黑质组织内核因子E2相关性因子2(Nrf2)以及下游靶基因血红加氧酶1(HO-1)的表达。方法: 采用6-OHDA左侧纹状体两点注射法建立PD大鼠模型, 经阿扑吗啡(APO)诱导表现为恒定右侧旋转且旋转圈数大于210 r·30 min<sup>-1</sup>视为成功PD大鼠模型。24只造模成功大鼠随机分为模型组, 帕病2号方低、中、高剂量组(8.0, 16.0, 32.0 g·kg<sup>-1</sup>), 同时设立正常组, 假手术组。正常组, 假手术组, 模型组给予等容积蒸馏水, 连续灌胃给药4周。Western blot法检测中脑黑质Nrf2细胞核蛋白及HO-1蛋白表达。RT-PCR法检测中脑黑质Nrf2, HO-1 mRNA表达。结果: 与假手术组比较, 模型组Nrf2细胞核蛋白, HO-1蛋白表达上调( $P < 0.01$ ), Nrf2, HO-1 mRNA水平上调( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 帕病2号方低、中、高剂量组大鼠中脑黑质组织Nrf2细胞核蛋白, HO-1蛋白表达明显上调( $P < 0.01$ ), Nrf2, HO-1 mRNA水平上调( $P < 0.01$ ), 帕病2号方高剂量组与中、低剂量组比较有明显差异( $P < 0.01$ )。结论: 6-OHDA造模后可以激活Nrf2/HO-1信号通路; 帕病2号方治疗后可进一步提高Nrf2细胞核蛋白和Nrf2 mRNA表达, 进而上调下游靶基因HO-1蛋白及HO-1 mRNA的表达, 且帕病2号方高剂量组作用更为明显。

**[关键词]** 帕病2号方; 帕金森病; 核因子E2相关性因子2; 血红加氧酶1

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0158-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfix.2014080158

## Research on Expressions of Nrf2 and HO-1 in Substantia Nigra of Rats with Parkinson Disease Treated with Pabing 2 Formula

ZHAO Bei-bei<sup>1</sup>, ZHENG Chun-ye<sup>2\*</sup>, LUO Xiao-dong<sup>2</sup>, SUN Yu-zhi<sup>2</sup>, WU Shou-hai<sup>2</sup>, CUI Xiao-feng<sup>3</sup>

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangzhou 510405, China;  
2. Guangdong Province Hospital of TCM, Guangzhou 510120, China;

**[收稿日期]** 20131124(004)

**[基金项目]** 广东省中医药管理局项目(20132150)

**[第一作者]** 赵贝贝, 博士研究生, 从事中医药治疗帕金森病的临床与实验研究, Tel: 15920450585, E-mail: 64699609@qq.com

**[通讯作者]** \* 郑春叶, 博士, 主治医师, 从事中西医结合治疗神经内科各类疾病, Tel: 13570490496, E-mail: 16021659@qq.com

- [8] Kannan R P, Hensley L L, Evers L E, et al. Hepatitis C virus infection causes cell cycle arrest at the level of initiation of mitosis [J]. J Virol, 2011, 85(16):7989.
- [9] Wang H, Ye Y, Chui J H, et al. Oridonin induces G<sub>2</sub>/M cell cycle arrest and apoptosis through MAPK and p53 signaling pathways in HepG-2 cells [J]. Oncol Rep, 2010, 24(3):647.
- [10] 晏芳, 田雪梅, 马晓冬, 白藜芦醇抑制 HepG2 细胞生长和对细胞间隙连接通讯的影响[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(7):963.
- [11] 孟璐, 张学武, 李正禄. 黄芩苷诱导人肝癌 HepG-2 细胞凋亡及对相关蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9):2212.
- [12] 兰涛, 苑建磊, 王桂华. Bag 及 Bcl-2 在肝癌中的表达及意义[J]. 中国实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(3):257.
- [13] 杨连君, 王文亮, 司晓辉. 肝细胞癌细胞凋亡相关蛋白 Bcl-和 Bax 的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床, 2001, 28(6):411.

[责任编辑 聂淑琴]