

纳米雄黄对人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株增殖抑制及诱导凋亡作用的研究

齐元富¹, 李慧杰^{2*}, 聂奔²

(1. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011; 2. 山东中医药大学, 济南 250014)

[摘要] 目的:探讨纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞株增殖抑制及诱导凋亡作用及作用机制。方法:应用 MTT 比色法、流式细胞仪观察纳米雄黄体对人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞的增殖及凋亡情况、RT-PCR 检测纳米雄黄对生存素(Survivin) mRNA, Caspase-3 mRNA 表达的影响。结果:MTT 实验及流式细胞仪提示纳米雄黄具有诱导皮肤鳞癌 A431 细胞凋亡和抑制细胞增殖作用,且随着纳米雄黄剂量的增加作用增强,与顺铂联合应用有协同作用;对照组,5%,10%,20% 纳米雄黄组,DDP 组,DDP + 10% 纳米雄黄组的 Survivin 相对表达量依次为 $(68.74 \pm 1.96)\%$, $(63.93 \pm 3.57)\%$, $(57.12 \pm 3.93)\%$, $(47.64 \pm 6.44)\%$, $(41.44 \pm 4.83)\%$ 及 $(32.18 \pm 4.10)\%$; Caspase-3 相对表达量依次为 $(26.26 \pm 2.07)\%$, $(32.660 \pm 4.42)\%$, $(35.29 \pm 5.26)\%$, $(38.52 \pm 8.37)\%$, $(45.69 \pm 4.19)\%$ 及 $(52.98 \pm 6.52)\%$; 纳米雄黄剂量增加可促进 Caspase-3 的表达,降低 Survivin 的表达。结论:纳米雄黄可通过诱导肿瘤细胞凋亡和抑制其增殖发挥抗肿瘤作用;其作用机制可能与上调 Caspase-3 的表达和下调 Survivin 的表达有关。

[关键词] 纳米雄黄; 人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株; 凋亡; 增殖

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0187-05

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121206.1022.001.html>

[网络出版时间] 2012-12-6 10:22

Proliferation Inhibition and Apoptosis Induced by Realgar Nanoparticles in Skin Squamous Cell Carcinoma A431 Cells

QI Yuan-fu¹, LI Hui-jie^{2*}, NIE Ben²

(1. Affiliated Hospital of Shandong University of Tradition Chinese Medicine, Ji'nan 250011, China;

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To observe effect of realgar nanoparticles (RN) on inhibiting proliferation and inducing apoptosis for human skin squamous cell carcinoma A431 cells, and to explore the related mechanism. **Method:** MTT colorimetric method and flow cytometric were used to observe the influence of RN on proliferation and apoptosis for human skin squamous cell carcinoma A431 cell, and RT-PCR was used to detect the affect of RN on the expression of survivin and Caspase-3. **Result:** MTT assay and flow cytometry technique showed that RN could induce apoptosis in the A431 cells and inhibit their proliferation; and the effects were increased with the dose of RN. The combination of RN with cisplatin showed synergistic effect. In the control group, the 5%, 10% and 20% RN groups, DDP group and DDP + 10% RN group, survivin relative expression levels were $(68.74 \pm 1.96)\%$, $(63.93 \pm 3.57)\%$, $(57.12 \pm 3.93)\%$, $(47.64 \pm 6.44)\%$, $(41.44 \pm 4.83)\%$ and $(32.18 \pm 4.10)\%$ accordingly; while the Caspase-3 relative expression levels were $(26.26 \pm 2.07)\%$, $(32.660 \pm$

[收稿日期] 20120830(508)

[基金项目] 山东省自然科学基金项目(ZR2010HL050)

[第一作者] 齐元富, 主任医师, 医学博士, 博士生导师, 从事中西医结合肿瘤防治研究工作, Tel: 053168617967, E-mail: qiyuanfu@163.com

[通讯作者] * 李慧杰, 在读博士, 从事中西医结合肿瘤防治研究, Tel: 13465926050, E-mail: 2008lihuijie@163.com

4.42)% , (35.29 ± 5.26)% , (38.52 ± 8.37)% , (45.69 ± 4.19)% and (52.98 ± 6.52)% respectively. RN could increase the expression of Caspase-3 and reduce the expression of survivin. **Conclusion:** RN may play an anti-tumor effect by inducing tumor cell apoptosis and inhibiting their proliferation; the mechanism may be related to the increase in Caspase-3 expression and the down-regulation of the expression of survivin.

[**Key words**] realgar nanoparticles; human skin squamous cell carcinoma cell line A431; apoptosis; proliferation

皮肤鳞状细胞癌是最常见的皮肤恶性肿瘤之一,约占 78.5% ~ 90.9%^[1]。目前皮肤癌的治疗仍以手术治愈率最高,但对于某些不适于手术治疗或术后需要预防复发的患者,研究有效的抗肿瘤药物尤为重要。雄黄是传统中医药中常用的硫化物矿物类中药,具有良好的抗肿瘤作用,但存在潜在毒性大、难溶解等缺点,而纳米级雄黄的生物利用度和药效要优于传统雄黄制剂,且毒副作用较小^[2]。本课题观察纳米雄黄对皮肤鳞状癌 A431 细胞株的增殖抑制和诱导凋亡作用,并探讨其相关机制,以期为临床治疗皮肤鳞状细胞癌提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 细胞 人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株,购自中国协和医科大学。

1.2 试剂药品 噻唑蓝、二甲基亚砷、总 RNA 提取试剂盒(北京 Solarbio 科技生物公司), Annexin V FITC KIT 细胞凋亡检测试剂盒(北京四正柏生物公司), Caspase-3 (上游: 5'-GTGGAATT GATGCGTGATG-3', 下游: 5'-GGAATCTG TTTCTTTGCGATG-3', 片断长度 500 bp)、Survivin (上游: 5'-TTCTCAAGGACCACCGCATCT-3', 下游: 5'-CGCACTTTCTCCGCAGTT-3', 片断长度 358 bp)及内参 β -actin(上游: 5'-GACTACCTCATGAAGGTC-3', 下游: 5'-GATCCACATCTGCTGGAA-3', 片断长度 500 bp)的上下游引物(博尚生物公司合成), DMEM 高糖培养基(赛默飞世尔生物化学制品公司), 胎牛血清(杭州四季青生物公司), 纳米雄黄(见 1.4), 顺铂(DDP, 齐鲁制药厂)。

1.3 仪器 BB5060UV 型 CO₂ 培养箱(德国 Heraeus 公司), Class II 2085 型超净工作台(美国 Thermo Forma 公司), 1X50S8F 型倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司), Anthos2010 酶联免疫检测仪, 2010 型自动酶标计数仪(郑州博赛生物工程公司), FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司), T-gradient 型梯度 PCR 仪(德国 Biometro 公司), Sprint 型 PCR 仪(英国 Thermo Hybaid 公司), 2200 型凝胶成像分析系统(美国

Alpha 公司)。

1.4 纳米雄黄制备 雄黄购自陕西康惠制药有限公司(批号 091201), 由山东龙脉科技公司龙脉精研机 LVM-80WE 研磨纳米化, 再于济南微纳颗粒仪器公司“光子相关纳米激光粒度分析仪(型号 Winner801)”测定纳米雄黄颗粒粒径分布, 平均粒径约 72.79 nm, 符合纳米药物制剂要求。纳米雄黄用 KCl 饱和硝酸溶液溶解, NaOH 调 pH 至 7.0, PBS 定容, 配成 2 g · L⁻¹ 的混悬液, 过滤除菌, 4 °C 保存备用。

1.5 细胞培养及其悬液制备 将人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株于含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中, 37 °C, 5% CO₂ 细胞培养箱中培养, 细胞贴壁生长, 待细胞长满贴壁即可传代, 一般 3 d 传代 1 次, 制备细胞悬液时取对数生长期的细胞, 经 0.25% 胰酶消化, 计数后细胞加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中培养待用。

1.6 MTT 比色法测定细胞增殖 常规制备的细胞悬液接种于 96 孔培养板继续培养, 待细胞完全贴壁后按实验分组加药: 对照组(10% 胎牛血清), 5% 纳米雄黄组(100 mg · L⁻¹), 10% (200 mg · L⁻¹) 纳米雄黄组, 20% (400 mg · L⁻¹) 纳米雄黄组, 25% 纳米雄黄组(500 mg · L⁻¹), DDP 组(2 mg · L⁻¹), DDP + 5%, 10%, 20%, 25% 纳米雄黄组。每组设 6 个复孔, 继续培养 24 h, 于培养结束前 4 h, 每孔加入 5 g · L⁻¹ 的 MTT 20 μ L, 继续培养 4 h, 吸弃上清, 每孔加 DMSO 200 μ L, 室温震荡, 使结晶物充分溶解, 酶联免疫检测仪于波长 490 nm 处检测各孔吸光度(A), 计算各组细胞生长抑制率。

$$\text{细胞生长抑制率} = \frac{A_{\text{对照组}} - A_{\text{实验组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100\% \quad [3]$$

1.7 流式细胞仪检测细胞凋亡 取对数生长期人皮肤鳞癌 A431 细胞, 消化计数接种于各实验组培养瓶中培养 24 h, 细胞生长旺盛贴壁后, 弃液, 行去血清同步化, 24 h 后加药: 对照组, 5%, 10%, 20% 纳米雄黄组, DDP 组, DDP + 10% 纳米雄黄组, 再培养 24 h 后常规消化、收集细胞, 离心弃上清液, 并加入

PBS 离心 2 次,以 $1 \times$ binding buffer 制成单细胞悬液,置于流式管,每组设 6 个样,加 Annexin V-FITC 与 PI 各 $5 \mu\text{L}$,混匀后室温下避光孵育 15 min,再加入 $1 \times$ binding buffer 充分混合后于流式细胞仪上检测细胞凋亡情况。

1.8 RT-PCR 法检测 Survivin, Casepase-3 mRNA

将人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞悬液接种于 6 孔板,继续培养待细胞生长旺盛贴壁后弃液,按实验分组加药:对照组,5%,10%,20% 纳米雄黄组,DDP 组,DDP + 10% 纳米雄黄组,继续培养 24 h,经 0.25% 胰蛋白酶液分别制成细胞悬液,分别装入离心管, $400 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心,收集细胞,按总 RNA 抽提试剂盒操作步骤提取各组细胞总 RNA,经 ND-1000 检测 RNA 的纯度与含量用于 RT-PCR 检测,具体参照试剂盒说明书。电泳结束后应用 Alpha 凝胶成像系统摄取图像,并应用其自带分析软件分析各目的条带和内参的灰度,以目的条带灰度与内参灰度之比代表相对表达量^[4]。

1.9 统计学方法 运用 SPSS 17.0 软件进行统计,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

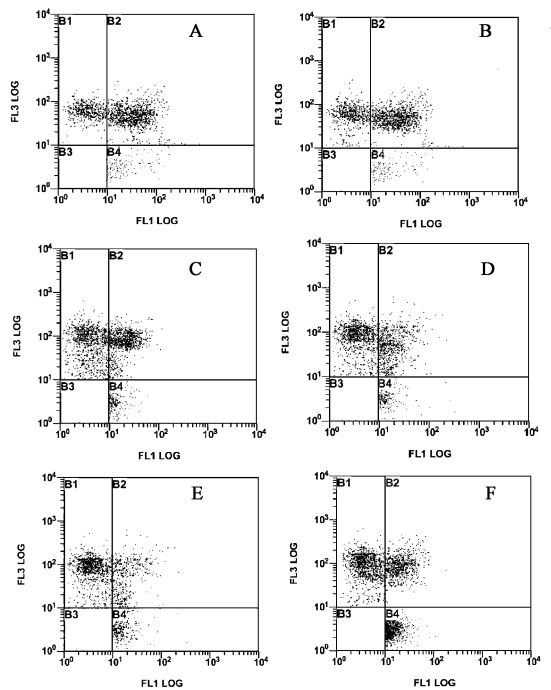
2.1 MTT 法测定纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞的增殖抑制作用 5% 纳米雄黄组与对照组无明显差异,其余纳米雄黄组、DDP 组及 DDP + 纳米雄黄组的 A 均低于对照组 ($P < 0.05$); DDP 组的 A 均低于各纳米雄黄组 ($P < 0.05$); DDP + 5% 纳米雄黄组的 A 较 DDP 组低,但无统计学差异; DDP + 纳米雄黄组 A 均低于同剂量纳米雄黄组 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 MTT 法测定纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞的增殖抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	药物终质量 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	A	抑制率 /%
对照	0	0.9663 ± 0.0785	0
纳米雄黄	100	0.9296 ± 0.0811	3.80
	200	$0.8725 \pm 0.0482^{1,2)}$	9.71
	400	$0.8230 \pm 0.0509^{1,2)}$	14.83
	500	$0.7674 \pm 0.0492^{1,2)}$	20.58
DDP	2	$0.6033 \pm 0.0519^{1)}$	37.57
DDP + 纳米雄黄	2 + 100	$0.5635 \pm 0.0340^{1)}$	41.68
	2 + 200	$0.5259 \pm 0.0444^{1,2,3)}$	45.58
	2 + 400	$0.4856 \pm 0.0467^{1,2,3)}$	49.75
	2 + 500	$0.4460 \pm 0.0500^{1,2,3)}$	53.84

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,与 DDP 组比较²⁾ $P < 0.05$; DDP + 纳米雄黄组与等剂量纳米雄黄组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

2.2 流式细胞仪检测纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞凋亡的影响 细胞的凋亡率主要体现于细胞的早期凋亡率,对照组凋亡率 (0.76 ± 0.14)%, 5%, 10%, 20% 纳米雄黄组凋亡率分别为 (1.23 ± 0.17)%, (2.69 ± 0.24)%, (3.72 ± 0.64)%, DDP 组凋亡率 (5.33 ± 0.57)%, DDP + 纳米雄黄组凋亡率 (7.45 ± 0.61)%; 各纳米雄黄组、DDP 组以及 DDP + 纳米雄黄组的早期凋亡率均明显高于对照组 ($P < 0.05$),随纳米雄黄终质量浓度的增加,早期凋亡率也明显增加 ($P < 0.05$), DDP + 纳米雄黄组的早期凋亡率明显高于各终质量浓度纳米雄黄组和 DDP 组 ($P < 0.01$)。正常细胞 Annexin V(-)、PI(-),处于左下象限;坏死细胞 Annexin V(-)、PI(+),位于左上象限;早期凋亡细胞 Annexin V(+)、PI(-),位于右下象限;晚期凋亡细胞 Annexin V(+)、PI(+),处于右上象限,见图 1。



A. 对照组; B. 5% 纳米雄黄组; C. 10% 纳米雄黄组;
D. 20% 纳米雄黄组; E. DDP 组; F. DDP + 10% 纳米雄黄组
图 1 纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞凋亡的影响

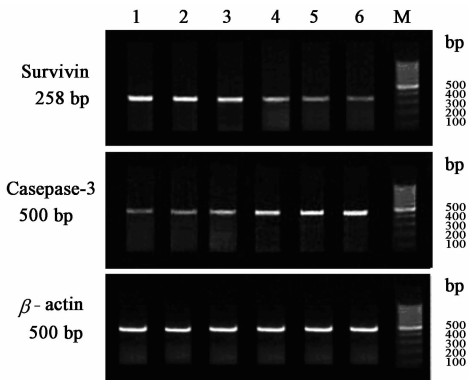
2.3 RT-PCR 法检测 Survivin mRNA, Casepase-3 mRNA 的表达 各纳米雄黄组、DDP 组以及 DDP + 纳米雄黄组的 Survivin 相对灰度均明显低于对照组 ($P < 0.05$), Casepase-3 明显高于对照组 ($P < 0.05$); 随着纳米雄黄质量浓度的升高, Survivin 的相对灰度明显降低, Casepase-3 的相对灰度明显升高, 各组间有显著性差异 ($P < 0.05$); DDP 组的 Survivin 相对

灰度明显低于各纳米雄黄组, Casepase-3 明显高于各纳米雄黄组 ($P < 0.05$); DDP + 纳米雄黄组的 Survivin 相对灰度明显低于各纳米雄黄组和 DDP 组, Casepase-3 相对灰度明显高于各纳米雄黄组和 DDP 组 (均 $P < 0.05$), 见表 2。

表 2 纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞 Survivin mRNA, Casepase-3 mRNA 表达 (相对灰度) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

组别	药物终质量		Survivin	Casepase-3
	浓度	$/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		
对照	0		68.74 ± 1.96	26.26 ± 2.07
纳米雄黄	100		63.93 ± 3.57 ^{1,2)}	32.660 ± 4.42 ^{1,2)}
	200		57.12 ± 3.93 ^{1,2)}	35.29 ± 5.26 ^{1,2)}
	400		47.64 ± 6.44 ^{1,2)}	38.52 ± 8.37 ^{1,2)}
DDP	2		41.44 ± 4.83 ¹⁾	45.69 ± 4.19 ¹⁾
DDP + 纳米雄黄	2 + 200		32.18 ± 4.10 ^{1,2,3)}	52.98 ± 6.52 ^{1,2,3)}

Survivin 各浓度纳米雄黄组条带灰度低于对照组, 5%, 10%, 20% 纳米雄黄组条带亮度依次变低, DDP + 纳米雄黄组条带亮度低于 DDP 组及各纳米雄黄组。Casepase-3 恰恰相反, 内参 β -actin 肉眼未见变化, 见图 2。



1. 对照组; 2~4. 5%, 10%, 20% 纳米雄黄组; 5. DDP 组; 6. DDP + 10% 纳米雄黄组; marker 电泳图

图 2 纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞 Survivin mRNA, Casepase-3 mRNA 表达的影响

3 讨论

雄黄是传统中药中最重要的矿物类药物之一, 最早记载于《神农本草经》, 在中国已有 2000 多年的应用历史, 它是一种含砷的矿物类药物, 其成分比较复杂, 根据《中国药典》中的记载, 其有效的药理作用成分是二硫化二砷 (As_2S_2), 占 > 90.0%, 功能为解毒杀虫、燥湿祛痰、截疟, 用于痈肿疔疮、蛇虫咬伤、虫积腹疼、惊痫、疟疾^[5]。临床应用雄黄治疗皮肤癌及溃破肿瘤效果较好, 但具体机制尚不十分清楚。而肿瘤的发生发展不仅与肿瘤细胞增殖、分化异常有关, 且与细胞凋亡受阻密切相关, 因此, 抑制

肿瘤细胞增殖, 诱导肿瘤细胞凋亡可能是消除肿瘤的关键^[6]。现代研究表明, 雄黄可通过诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制细胞 DNA 合成, 增强机体的细胞免疫功能等多种因素发挥抗肿瘤作用, 而纳米雄黄相对普通雄黄有明显的增效作用, 且在抑制细胞增殖及诱导凋亡方面彰显优势^[7]。詹秀琴等将雄黄制备成 3 种不同粒径的雄黄, 观察到其对 SMMC7721 细胞的增殖抑制作用粒径越小作用越明显^[8]。杨玥等观察到纳米雄黄对肺癌 A549 细胞及其肿瘤干细胞具有凋亡诱导作用, 且随浓度增加细胞凋亡率升高^[9]。

细胞凋亡是由基因调控的细胞自主有序的死亡, 它涉及一系列基因的激活、表达及调控, 凋亡途径主要有死亡受体途径和线粒体途径, 二者均可导致效应性 Caspases-3 活化, 进而激活内切核酸酶, 使链断裂, 最终细胞凋亡^[10-11]。Caspase 是执行凋亡的主要酶类, 是细胞凋亡的中枢效应器, Survivin 蛋白是一种凋亡抑制蛋白, 是目前为止发现的最强凋亡抑制因子, 后者可通过抑制 Caspase-3 和 Caspase-7 的活性阻断细胞的凋亡, 而二者的表达与否对人皮肤鳞状细胞癌的发生、发展和凋亡起到了非常重要的作用^[12-13]。

本研究以纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞株增殖抑制及诱导凋亡的作用为切入点, 进一步探讨其作用可能的分子生物学机制。MTT 比色法结果表明, 纳米雄黄对皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞增殖有明显抑制作用, 且随纳米雄黄质量浓度的增大抑制作用增强, 各质量浓度纳米雄黄对人皮肤鳞癌 A431 细胞的生长抑制作用不及 DDP 组及 DDP + 纳米雄黄组, 纳米雄黄与 DDP 有协同作用。流式细胞凋亡结果表明, 不同质量浓度纳米雄黄、DDP 以及 DDP + 纳米雄黄联合用药均可诱导人皮肤鳞癌 A431 细胞的早期凋亡, 人皮肤鳞癌 A431 细胞的早期凋亡率与纳米雄黄的质量浓度成正相关, DDP + 纳米雄黄联合用药诱导人皮肤鳞癌 A431 细胞的早期凋亡作用优于纳米雄黄及 DDP 单药, 二者联合有协同作用。RT-PCR 结果表明, 纳米雄黄、DDP 及二者联合均能明显抑制 Survivin 的表达, 促进 Casepase-3 的表达, Survivin 表达与纳米雄黄浓度呈负相关, Casepase-3 的表达与纳米雄黄浓度呈正相关, DDP + 纳米雄黄联合用药对 Survivin 表达的抑制作用、Casepase-3 表达的促进作用明显优于纳米雄黄或 DDP 单用, 由此推断二者联合用药对 Survivin 表达及 Casepase-3 表达有协同作用。初步

7 种中草药提取物抗过敏功效及刺激性研究

李杨¹, 董银卯^{1*}, 孟宏², 祝钧¹

(1. 北京工商大学, 北京 100048; 2. 中国中医科学院针灸研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 考查地肤子皂苷、防风多糖、桃仁和金银花水提物、茶多酚、洋甘菊和仙人掌提取物的抗皮肤过敏作用, 探究其刺激性大小, 为作为具有抗过敏功效化妆品添加剂提供依据。方法: 采用透明质酸酶体外抑制试验和红细胞溶血试验, 对 7 种中草药提取物抗过敏特性及其刺激性进行探究。结果: 7 种中草药有效部位或成分的抗过敏抑制率分别为洋甘菊提取物(77.04%) > 金银花水提物(69.54%) > 茶多酚(68.01%) > 仙人掌提取物(62.67%) > 防风多糖(55.51%) > 地肤子皂苷(43.09%) > 桃仁水提物(32.74%); 其中只有茶多酚添加浓度超过 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显示出一定的刺激性, 其他有效成分的溶血率均低于 20%, 刺激性很小。结论: 7 种中草药有效部位或成分均表现一定的抗过敏特性, 且在规定的添加量范围内刺激性均很小, 适合作为抗过敏化妆品添加剂使用。

[关键词] 中草药; 抗过敏; 抗刺激; 化妆品

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0191-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20121206.1027.005.html>

[网络出版时间] 2012-12-6 10:27

[收稿日期] 20121008(548)

[第一作者] 李杨, 硕士研究生, E-mail: yangyangna@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 董银卯, 教授, 从事植物源化妆品功能成分开发与功效检测的研究, Tel: 010-68984917, E-mail: ymdong2008@163.com

揭示纳米雄黄可通过诱导肿瘤细胞凋亡和抑制其增殖发挥抗肿瘤作用, 其作用机制可能与上调 Caspase-3 的表达和下调 Survivin 的表达有关。

[参考文献]

[1] 赵辨. 临床皮肤病学 [M]. 3 版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001: 1106.

[2] 王晓波, 袭荣刚, 李忠亮, 等. 纳米级雄黄粉体的制备 [J]. 解放军药学报, 2002, 18(3): 129.

[3] 赵蓉, 贾荣娣, 汪华君. 紫杉醇对人口腔鳞癌 KB 细胞生长抑制作用及诱导凋亡作用的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 177.

[4] 王秀娟. 六神丸联合化疗治疗中晚期胃癌的临床与诱导肿瘤细胞凋亡的实验研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2011: 27.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 316.

[6] 陈明亮, 谭帅, 张桂英, 等. 雷公藤内酯醇对皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株增殖与凋亡的影响 [J]. 中南大学学报, 2009, 34(7): 638.

[7] 叶晓川, 杨祥良, 徐辉碧. 纳米雄黄研究进展 [J]. 化学进展, 2009, 21(5): 934.

[8] 詹秀琴, 赵凤鸣, 郭立玮. 超细微粒径雄黄的药代动力学研究及抑瘤作用比较 [J]. 实用中医药杂志, 2009, 22(7): 397.

[9] 杨玥, 陈静, 易娟, 等. 纳米雄黄对肺癌 A549 细胞及其肿瘤干细胞的凋亡诱导作用 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(6): 36.

[10] 高天舒, 韩晓晴, 尹慧丝. 补中益气汤对甲状腺功能减退大鼠心肌细胞凋亡及 Fas, FasL 和 Caspase-3 蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 236.

[11] 陈旭, 王娟, 蒋晓山, 等. 莪术醇对肺癌 A549 细胞凋亡诱导因子、聚 ADP 核糖聚合酶及 Caspase-3 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 157.

[12] Kavurma M M, Khachigian L M. Signaling and transcriptional control of Fas ligand gene expression [J]. Cell Death Differ, 2003, 10(3): 36.

[13] Chakravarti A, Noll E, Black P M, et al. Quantitatively determined Survivin expression levels are of prognostic value in humangiomas [J]. Clin Oncol, 2002, 20(7): 1063.

[责任编辑 何伟]