

· 基础研究 ·

中药辨证干预对非酒精性脂肪性肝病肝细胞
色素氧化酶 I、II、III 表达的影响黎运呈¹ 曾 芳² 丁贤君¹ 郑 迪¹ 杨喆娟¹

摘要 目的 探讨中药辨证干预对非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)肝细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, COX)表达的影响机制。**方法** 取 SPF 级 Wistar 大鼠 40 只,按随机数字表分为 5 组,即:正常组、模型组、对照药物组、药物 A 方组、药物 B 方组。采用高脂饲料诱导大鼠制作 NAFLD 模型,4 周后对照药物组、药物 A 方组、药物 B 方组每天分别予相应组方中药 1 mL/100 g 灌胃给药,第 12 周时,采用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)测定各实验组肝细胞 COXII、COXIII mRNA 表达,Western blot 测定肝细胞 COXI 蛋白表达。**结果** 各组 NAFLD 大鼠肝细胞 COX 表达均降低,经过药物干预后,各药物治疗组 COX 表达有不同程度的升高。与模型组比较,对照药物组、药物 B 方组 COXII mRNA 表达增高($P < 0.01$);且药物 B 方组 COXII mRNA 表达高于药物 A 方组及对照药物组($P < 0.05$)。与模型组比较,对照药物组、药物 A 方组、药物 B 方组 COXI 蛋白表达水平升高($P < 0.01$);且药物 B 方组 COXI 蛋白表达高于药物 A 方组及对照药物组($P < 0.01$)。**结论** 在 NAFLD 病程的后期阶段,运用化痰消瘀、清热利湿、补益肝肾的中药,可提高大鼠肝细胞 COX 表达水平,并显著优于其他治疗措施。

关键词 中医辨证治疗;肝细胞色素氧化酶;非酒精性脂肪性肝病

Effect of Syndrome Differentiation Intervention of Chinese Medicine on the Expressions of Hepatocyte Cytochrome Oxidase I, II, and III in NAFLD Rats LI Yun-cheng¹, ZENG Fang², DING Xian-jun¹, ZHENG Di¹, and YANG Zhe-juan¹ 1 Department of Infectious Diseases, Zhoushan People's Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang (316004); 2 Prenatal Diagnosis Center, Zhoushan Maternal and Child Health Institute, Zhejiang (316004)

ABSTRACT Objective To study the mechanism for syndrome differentiation treatment of Chinese medicine (SDT-CM) on expressions of hepatocyte cytochrome oxidase in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rats. **Methods** Totally 40 Wistar rats of grade SPF were randomly divided into 5 groups, i.e., the normal group, the model group, the control drug group, the drug A group, and the drug B group, 8 in each group. The rat NAFLD model was induced by high fat diet. After 4 weeks corresponding drugs (1 mL/100 g) were administered to rats in the control drug group, the drug A group, and the drug B group respectively by gastrogavage. At week 12 mRNA expressions of COX II and COX III in the liver cells were measured in each experimental group by RT-PCR. The expression of COX I protein in liver cells was measured by Western blot. **Results** The expression of COX in liver cells of NAFLD rats all decreased in each group. And the expression of COX in each drug treatment group increased to various degrees after drug intervention. Compared with the model group, mRNA expression of COX II increased in the control drug group and the drug B group ($P < 0.01$). Besides, mRNA expression of COX II was better in the B group than in the A group and the control drug group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the expression of COX I protein increased in the control drug group, the drug A group, and the drug B group ($P < 0.01$). And the expression of COX I protein increased higher in the B group than in the A group and the control drug group ($P < 0.01$).

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(No. 2013ZQ029);浙江省医药卫生科技计划项目(No. 2013KYA211)

作者单位:1.浙江省舟山医院感染科(浙江 316004);2.浙江省舟山市妇幼保健院产前诊断中心(浙江 316004)

通讯作者:黎运呈, Tel:0580-2065532; E-mail:mylyc2005@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20180205.109

Conclusion In the late stage of NAFLD, Chinese herbs of resolving phlegm and removing stasis, clearing heat and eliminating dampness, nourishing Gan and tonifying Shen could improve expressions of COX in NAFLD model rats, significantly higher than the effect of other therapeutic measures.

KEYWORDS syndrome differentiation treatment of Chinese medicine; hepatocyte cytochrome oxidase; nonalcoholic fatty liver disease

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一类肝组织学改变与酒精性肝病相类似,但无过量饮酒史的临床病理综合征。在 NAFLD 的发病中,始终存在着肝脏对脂肪酸的氧化代谢障碍,而脂肪酸的氧化又主要依赖肝线粒体 β 氧化,细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, COX)是肝线粒体氧化能力的关键调节部位。本实验采用高脂饲料诱导的大鼠脂肪肝模型,运用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)、Western blot 检测方法,来观察中药辨证干预对肝 COX II、COX III mRNA 表达和 COX I 蛋白表达的影响。

材料与方法

1 动物 选取 SPF 级 Wistar 大鼠 40 只,雌雄各半,6 周龄,雌雄分隔饲养,体重(190 ± 10)g,购自省实验动物研究中心,动物合格证编号:1404160003,许可证号:SCXK(浙)2014-0001。本实验过程中善待动物,符合动物伦理要求。

2 药物 对照药物由前期实验研究验证具有活血化痰、化痰利湿疗效的复方中药组成,组方:丹参 15 g 生山楂 20 g 海藻 15 g 泽泻 15 g^[1]。NAFLD 早期药物(A 方)有疏肝健脾、活血化痰、化痰利湿功效,组成:柴胡 15 g 茯苓 15 g 海藻 15 g 泽泻 15 g 丹参 15 g 白术 15 g 半夏 10 g;NAFLD 后期药物(B 方)有化痰消痰、清热利湿、补益肝肾功效,组成:丹参 15 g 海藻 15 g 泽泻 15 g 虎杖 20 g 茵陈 30 g 生山楂 20 g 赤芍 15 g 枸杞 20 g。A、B 方的组成来自于临床经验方^[2],按实验等效剂量系数折算法计算实验用药剂量,相当于临床用量的 1 倍,实验各组用药煎成 200% 浓度的水煎剂,由本医院制剂室制备。

3 主要试剂及仪器 反转录试剂盒、高纯总 RNA 快速提取试剂盒,购自 Generay 公司;RNA guard Reagent 试剂购自上海华舜生物工程有限公司;DNA 分子量标准购自北京天为时代公司;COX II、COX III 引物由上海生工合成;兔抗鼠 COX I 抗体购自 Cayman 公司;蛋白 Marker 购自 Generay 公司;羊抗兔 IgG 抗体,购自武汉博士德生物工程有限公司;

司;胆固醇粉,购自上海化成工业公司;猪油及蛋黄粉均购自市场。低温高速台式离心机, TGL-16G 型,上海安亭;PCR 仪, Biometra 公司;紫外分光光度计, UV-755B 型,上海精密科学仪器有限公司;凝胶成像仪:浙江永嘉上塘科教仪器厂;扫描分析软件 Quantity one, BioRad 公司;凝胶成像系统,日本柯达公司; DYY-4 型稳压稳流电泳仪,上海六一制造厂。

4 方法

4.1 动物分组 将 SPF 级 Wistar 大鼠 40 只,按随机数字表法分为 5 组,即:正常组、模型组、对照药物组、药物 A 方组、药物 B 方组,每组 8 只。

4.2 造模和给药 参照文献[3]方法制作脂肪肝模型。除正常组外,采用高脂饲料(高脂饲料的配制:采用普通颗粒饲料加 15% 的猪油、2% 的胆固醇、5% 的蛋黄粉)喂养,自由饮水。实验第 4 周后,模型组加用生理盐水 1 mL/(100 g · d)灌胃;对照组加用对照药物 1 mL/(100 g · d)灌胃;治疗 A 方组加用治疗药物 A 方 1 mL/(100 g · d)灌胃;治疗 B 方组加用治疗药物 B 方 1 mL/(100 g · d)灌胃^[2],给药后继续高脂饮食。

4.3 取材 于实验第 12 周(即灌胃 8 周)时,脱颈椎处死大鼠,开腹摘取全肝,取 1 g 肝组织冻存于液氮过夜后再转移至 -80 °C 低温冰箱,以备 Western blot 检测;取 1 g 肝组织用 RNA guard 保存于 -80 °C 冰箱,以备 RT-PCR 检测。

4.4 RNA 抽提和 RT-PCR 取 50 mg 肝组织加入 RLT 溶液 500 μ L 匀浆,匀浆液 56 °C 放置 2 min,加入 250 μ L 无水乙醇、混匀;将 GenClean 柱放入 2 mL 收集管,取 700 μ L 样品加入柱中,室温下 8 000 r/min 离心 1 min;弃去收集管中废液,取 500 μ L RW 溶液加入柱中,室温放置 1 min,10 000 r/min 离心 1 min;弃去收集管中废液,加 500 μ L RPE 溶液到柱中,室温 10 000 r/min 离心 1 min;弃去收集管中废液,室温 10 000 r/min 离心 1 min 以去除残液;将 GenClean 柱放入无 RNase 污染的 Ep 管,取 30 μ L DEPC-H₂O 加入柱中膜的中央,50 °C 放置 2 min,室温下 10 000 r/min,离心 1 min,洗脱得 RNA,紫外分光光度计测定总 RNA 含量及纯度, A_{260}/A_{280} 比值为 1.8 ~ 2.0,说明 RNA 质

量较好,计算浓度后将 RNA 冻存于 -80 ℃。

4.5 逆转录合成 cDNA 按试剂盒说明书(cDNA 合成试剂盒 K1622, Fermentas)进行,取总 RNA 5 μg 加入 oligo (dT)₁₈ 1 μL,加 DEPC-H₂O 补足 12 μL,70 ℃ 5 min;加入 5 × 反应缓冲液 4 μL、核糖核酸酶抑制因子 1 μL、10 mmol/L dNTP 混合物 2 μL,37 ℃ 5 min;加入 M-MLV 逆转录酶 1 μL,42 ℃ 60 min、72 ℃ 10 min、4 ℃ 停止,cDNA 产物保存于 -20 ℃。

4.6 目的片段的 PCR 扩增 根据 GenBank 中的 Rattus norvegicus (Wistar) mitochondrial genome sequence 应用 Primer3 进行引物设计:

COX II 上游引物序列: 5'-CGTCTCAACTTT CGGGAGATGGTAC-3', 下游引物序列: 5'-TTT-GATTAGTACTGT AGGGTTAATG-3';扩增片段长度为 372 bp;COX III 上游引物序列:5'-ATTCACCCT-TCTAGTCAGCCTGTACC-3', 下游引物序列: 5'-TGGGTTTGCTTTTTCGGAGTATAAG-3';扩增片段长度为 1001 bp;内对照 β-actin 引物序列: 上游:5' - AAATCGTCGGTGACATCAAA-3', 下游: 5' - ATCGTACTCGTGCTTGCTGA-3', 扩增片段长度为 270 bp;COX II、COX III 及 β-actin PCR 反应体系:冰上进行操作,依次加入 ddH₂O 37 μL、10 mmol/L dNTP 1 μL、10 × Tag-buffer 5 μL、25 mmol/L MgCl₂ 3 μL、20 μmol/L Primer (上游引物) 1 μL、20 μmol/L Primer (下游引物) 1 μL、cDNA 1 μL、TagE 1 μL;稍离心、混匀,放入循环仪,共 50 μL。反应参数:β-actin、COX II 的 PCR 运行程序:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 90 s,56 ℃ 退火 90 s,72 ℃ 延伸 60 s,35 个循环;72 ℃ 7 min,4 ℃ 停止;COX III 的 PCR 运行程序:95 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 40 s,56 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 70 s,30 个循环;72 ℃ 10 min,4 ℃ 停止。取扩增产物 10 μL 溴化乙锭染色(10 mg/L)后,进行 1% 琼脂糖凝胶电泳,通过凝胶成像系统对电泳条带进行光密度扫描,与 β-actin 条带进行比较,用比较所得的值表示 COX II、COX III mRNA 的相对表达水平。

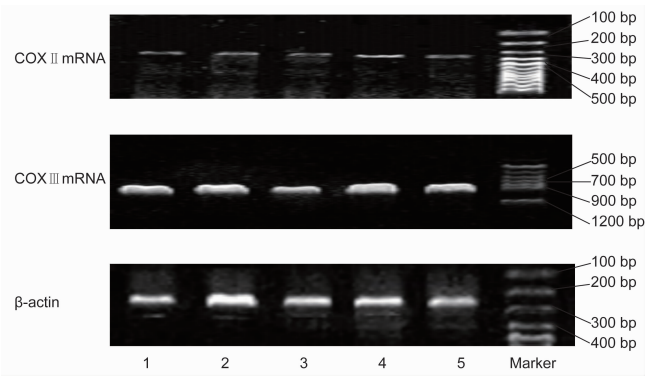
4.7 COX I 蛋白表达 采用 Western blot 检测。取肝组织 200 mg 加入 800 μL 的 RIPA (含 PMSF)的裂解液,置于冰上匀浆,4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 5 min,取上清,蛋白定量后,取 50 μg 蛋白与 1 × 加样缓冲液混合,沸水煮 3 min,蛋白变性,行聚丙烯酰胺凝胶电泳,转移至硝酸纤维素膜,用封闭液室温下脱色摇床上摇动封闭 1 h,4 ℃ 封闭过夜,将膜用 TBS

漂洗数秒后,加入兔抗鼠 COX I 抗体(1:250)孵育 2 h,漂洗后加入辣根过氧化物酶结合的羊抗兔 IgG (1:4 000)孵育 2 h,洗涤后加入化学发光试剂检测,X 线片显影。定量分析采用分子生物学图像分析系统测定各条目的条带积分灰度值,所测结果为扣除背景的积分光密度。

5 统计学方法 采用 SPSS 15.0 软件处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,方差齐者组间两两比较采用 LSD 检验,方差不齐者组间两两比较用 Tamhane's T2 法检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠肝细胞 COX II、COX III mRNA 表达比较(图 1,表 1) 实验第 12 周时,正常组肝细胞 COX II、COX III mRNA 表达较模型组高($P < 0.05$, $P < 0.01$),经过药物干预后,各治疗组肝细胞 COX II、COX III mRNA 表达均有不同程度的升高;与模型组比较,对照药物组、药物 B 方组肝细胞 COX II mRNA 差异有统计学意义($P < 0.01$);与药物 B 方组比较,药物 A 方组及对照药物组肝细胞 COX II mRNA 差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。



注:1 为正常组;2 为模型组;3 为对照药物组;4 为药物 A 方组;5 为药物 B 方组

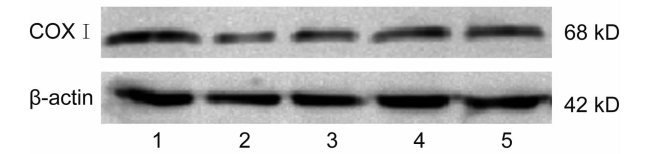
图 1 各组大鼠肝细胞 COX II、COX III mRNA 表达电泳图

表 1 各组大鼠肝细胞 COX II、COX III mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	COX II mRNA	COX III mRNA
正常	8	1.280 ± 0.092	2.560 ± 0.614
模型	8	0.352 ± 0.036 **	1.670 ± 0.698 *
对照药物	8	0.751 ± 0.101 Δ^{Δ}	2.030 ± 0.789
药物 A 方	8	0.672 ± 0.273 Δ	1.730 ± 0.643
药物 B 方	7	1.055 ± 0.123 Δ	2.430 ± 1.163

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$;与药物 B 方组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;下表同

2 各组大鼠肝细胞 COX I 蛋白表达比较(图 2, 表 2) 实验第 12 周时,各组肝细胞 COX I 蛋白均可见阳性扩增条带,模型组肝细胞 COX I 蛋白含量较正常组降低,经过各药物组干预后,各药物治疗组 COX I 蛋白表达水平均有不同程度的升高,与模型组比较,对照药物组、药物 A 方组、药物 B 方组差异有统计学意义($P < 0.01$);与药物 B 方组比较,药物 A 方组、对照药物组差异亦有统计学意义($P < 0.01$)。



注:1 为正常组;2 为模型组;3 为对照药物组;4 为药物 A 方组;5 为药物 B 方组

图 2 各组大鼠肝细胞 COX I 蛋白表达电泳图

表 2 各组大鼠肝细胞 COX I 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	n	COX I /β-actin
正常	5	0.4305 ± 0.0202
模型	5	0.1465 ± 0.0591 **
对照药物	5	0.2593 ± 0.0433 △△
药物 A 方	5	0.2890 ± 0.0253 △△
药物 B 方	5	0.3625 ± 0.0324 △

讨 论

随着人们生活水平的提高,生活方式、饮食结构的变化,NAFLD 发病率正迅速上升,病情进一步发展,能演变为脂肪性肝炎及脂肪性肝硬化,对人们的身体健康造成严重威胁^[4,5]。NAFLD 的发病机制目前认为与脂肪酸的代谢异常、氧化应激、胰岛素抵抗等方面密切相关。脂肪酸 β 氧化功能受损在肝脏脂肪变的过程中起关键作用,而线粒体为脂肪酸 β 氧化的主要部位。肝细胞的脂肪变与线粒体氧化功能的改变又密切相关,因此只要干扰了线粒体呼吸功能和脂肪酸代谢的因素,都会导致肝脏脂肪变^[6,7]。

COX 是肝细胞线粒体内呼吸链电子传递的终末复合物,其位于呼吸链的末端,为电子传递链的限速酶,是调节线粒体氧化能力的关键部位。COX 与细胞能量的产生及线粒体功能密切相关,COX 编码基因的改变、表达及酶活性的发挥对肝细胞在病理和生理情况下的机能、代谢活动和形态结构均有直接影响。在真核细胞中,COX 由肝细胞 nDNA 基因组和 mtDNA 基因组分别进行编码,它是由 13 个亚基共同组成复杂的复合物,其中构成级联反应核心的 3 个亚基(COX I, COX II 和 COX III)是由 mtDNA 编码^[6-9]。

线粒体本身拥有自身的遗传物质 mtDNA,但是缺乏组蛋白的保护,损伤修复系统不健全,在反应性氧代谢产物(reactive oxygen species, ROS)明显增多时,容易受到各种内外源性损害因子的伤害而发生突变,成为脂肪肝“二次打击”的主要靶点^[10-12]。

中医学在防治脂肪性肝病的临床实践中发现,NAFLD 发病的病理因素主要为痰、湿、热、瘀、积相互搏结,痹阻肝脏脉络而发病^[13]。NAFLD 在发病过程中的不同阶段,其病机有所不同。NAFLD 的基本病机为痰湿阻滞、瘀血阻络;在疾病早期,患者常兼有肝郁脾虚表现,治宜疏肝健脾法;在后期则兼有痰瘀互结、正气亏虚,治疗则采用化痰消瘀,补益肝肾法^[2,14]。基于 NAFLD 整个病程中中医病机有所不同的认识,借助大鼠 NAFLD 模型,在前期实验基础上,采用具有活血化瘀、化痰利湿功效的对照药物方,有疏肝健脾、活血化瘀、化痰利湿功效的 A 方,和具有化痰消瘀、清热利湿、补益肝肾功效的 B 方^[15],对大鼠 NAFLD 进行干预,来观察与线粒体脂肪酸 β 氧化功能密切相关的关键酶 COX I 蛋白表达及 COX II、COX III mRNA 表达的变化和中药辨证干预的影响。

本实验结果表明,NAFLD 大鼠在第 12 周时,肝细胞 COX 的表达均出现不同程度下降,对照药物组、药物 A 方组、药物 B 方组均能提高肝 COX I、COX II、COX III 表达水平,但药物 B 方组优于对照药物组及药物 A 方组。因此,运用活血化瘀、化痰利湿作为基本治法的中药防治脂肪肝,其机制可能是通过提高肝细胞 COX 的表达,增强肝线粒体的 β 氧化功能,促进脂肪代谢改善肝细胞脂肪酸堆积状态来实现治疗 NAFLD 的。据文献^[3]研究,NAFLD 大鼠在高脂饮食条件下,12 周时肝细胞的病理表现为汇管区炎症及碎屑样坏死,病程发展也处于 NAFLD 的中后期阶段。针对 NAFLD 的病机,采取辨证施治这一中医学特色,改善线粒体功能,增强其脂质代谢功能,可能是中药防治 NAFLD 的又一途径。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] 李进. 活血化瘀、化痰利湿法对肥胖脂肪肝大鼠游离脂肪酸和脂质过氧化的影响[J]. 中华国际医学杂志, 2004, 4(3-4): 173-176.

[2] 黎运呈, 盛国光. 辨证治疗对非酒精性脂肪性肝病大鼠脂质过氧化及病理的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2008, 18(2): 105-108.

[3] 钟岚, 范建高. 非酒精性脂肪肝动物模型[J]. 国外医学(消化系疾病分册), 1999, 19(3): 175-178.

- [4] 俞芹, 谢兆丰, 薛博瑜. 谢兆丰教授治疗非酒精性脂肪肝经验[J]. 四川中医, 2016, 34(7): 23-24.
 - [5] 张广兰, 王泽华, 林美华. 线粒体 tRNA 基因突变和细胞色素 C 氧化酶活性降低在妊高征发病中的作用[J]. 中华妇产科杂志, 1999, 34(7): 403-405.
 - [6] 黎运呈, 李世波, 丁贤君, 等. 肝线粒体在 NAFLD 中的病理变化及中药辨证干预的实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(6): 1285-1287.
 - [7] 史洪涛, 李陶, 陈东风. 肝细胞色素氧化酶 I 在非酒精性脂肪肝大鼠形成中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2006, (2): 160-162.
 - [8] Chinenov YV. Cytochrome c oxidase assembly factors with a thioredoxin fold are conserved among prokaryotes and eukaryotes [J]. J Mol Med, 2000, 78(5): 239-242.
 - [9] Tsukhara T, Aoyama H, Yamashita E, et al. The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 28 [J]. Science, 1996, 272(5265): 1136-1144.
 - [10] Day CP, James OFW. Steatohepatitis: a tale of two hits? [J]. Gastroenterology, 1998, 114(4): 842-845.
 - [11] Robeason G, Leclercq I, Farrell GC. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis II cytochrome P450 enzymes and oxidative stress [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 281(5): G1135-G1139.
 - [12] Koruk M, Taysi S, Savas MC, et al. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. Ann Clin Lab Sci, 2004, 34(1): 57-62.
 - [13] 吴丽, 张峰, 郑仕中, 等. 中医药治疗非酒精性脂肪肝的研究进展[J]. 中成药, 2015, 37(5): 1072-1075.
 - [14] 黎运呈, 丁贤君, 郑迪. 中医不同治法对 NAFLD 大鼠血脂及肝功能影响的实验研究[J]. 甘肃医药, 2017, 36(10): 804-807.
 - [15] 黎运呈, 丁贤君, 李世波, 等. 中医不同组方对非酒精性脂肪性肝病大鼠脂质过氧化及病理学改变的影响[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(1): 19-21.
- (收稿: 2017-04-18 在线: 2018-04-28)
责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶

(上接第 725 页)

- [8] Naryzhny SN. Proliferating cell nuclear antigen: a proteomicsview[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(23): 3789-3808.
 - [9] Strzalka W, Ziemienowicz A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a key factor in DNA replication and cell cycleregulation [J]. Ann Bot, 2011, 107(7): 1127-1140.
 - [10] Xie X, Zhu H, Yang H, et al. Solamargine triggers hepatoma cell death throughapoptosis[J]. Oncology Lett, 2015, 10(1): 168-174.
 - [11] Wang Z, Tang X, Zhang Y, et al. Lobaplatin induces apoptosis and arrests cell cycle progression in human cholangiocarcinoma cell line RBE[J]. Biomed Pharmacother, 2012, 66(3): 161-166.
 - [12] Ling Q, Xu X, Wei X, et al. Oxymatrine induces human pancreatic cancer PANC-1 cells apoptosis via regulating expression of Bcl-2 and IAP families, and releasing of cytochrome c [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30(66): 1-6.
 - [13] Zhao L, Yan X, Shi J, et al. Ethanol extract of Forsythia suspensa root induces apoptosis of esophageal carcinoma cells via the mitochondrial apoptoticpathway [J]. Mol Med Rep, 2015, 11(2): 871-880.
 - [14] Pandey MK, Prasad S, Tyagi AK, et al. Targeting cell survival proteins for cancer cell death [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2016, 9(1): 2-26
 - [15] Su C. Survivin in survival of hepatocellularcarcinoma[J]. Cancer Lett, 2016, 379(2): 184-190.
 - [16] Trabulo S, Cardoso AM, Santos-ferreira T, et al. Survivin silencing as a promising strategy to enhance the sensitivity of cancer cells to chemotherapeuticagents [J]. Molec Pharmaceutics, 2011, 8(4): 1120-1131.
 - [17] Chinh Chung D, Thanh Long L, Nghia Son H, et al. Downregulation of vascular endothelial growth factor enhances chemosensitivity by induction of apoptosis in hepatocellular carcinomacells [J]. Cell, 2015, 17(2): 273-287.
 - [18] Hu Y, Xu K, Yague E. miR-218 targets survivin and regulates resistance to chemotherapeutics in breastcancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2015, 151(2): 269-280.
 - [19] Lange I, Moschny J, Tamanyan K, et al. Scrophularia orientalis extract induces calcium signaling and apoptosis in neuroblastomacells[J]. Int J Oncol, 2016, 48(4): 1608-1616.
- (收稿: 2016-05-12 在线: 2018-04-23)
责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶