

熟地超滤膜提取物对氯化镉诱导骨髓间充质干细胞增殖及遗传稳定性变化的影响

刘永琦^{1,2,3} 张 齐¹ 李静雅¹ 达 瑞¹ 骆亚莉¹ 苏 韞¹ 伍志伟¹ 颜春鲁¹ 聂 蕾¹

摘要 **目的** 探讨熟地超滤膜提取物对氯化镉(CdCl_2)诱导骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)增殖及遗传稳定性变化的影响。**方法** 采用微核实验、染色体分析、流式细胞术观察熟地超滤膜提取物对化学毒性物质 CdCl_2 诱导 BMSCs 增殖、细胞微核率、染色体畸变率及凋亡率的影响。**结果** 与 CdCl_2 组比较,不同分子量段熟地超滤膜提取物在浓度为 0.8 g/L 对 CdCl_2 诱导的 BMSCs 有明显的促进增殖作用($P < 0.05$)。与对照组比较, CdCl_2 组细胞微核率、染色体畸变率及凋亡率均明显增高($P < 0.05$);与 CdCl_2 组比较,不同分子量段熟地超滤膜提取物对 CdCl_2 诱导的 BMSCs 微核率、染色畸变率及凋亡率均明显降低($P < 0.05$),其中 BMSCs 微核率及染色畸变率以 10 000 分子量以下组降低最为明显($P < 0.05$),凋亡率以 10 000 ~ 200 000 分子量组下降明显($P < 0.05$)。**结论** 熟地提取物可以减少 CdCl_2 诱导 BMSCs 的凋亡率,降低 BMSCs 的微核率和染色体畸变率。

关键词 骨髓间充质干细胞;氯化镉;熟地超滤膜提取物;微核率;染色体畸变率;凋亡

Effect of Ultrafiltration-membrane Extracts of *Radix Rehmanniae* Praeparata on Proliferation and Genetic Stability of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Induced by Cadmium Chloride
LIU Yong-qi^{1,2,3}, ZHANG Qi¹, LI Jing-ya¹, DA Rui¹, LUO Ya-li¹, SU Yun¹, WU Zhi-wei¹, YAN Chun-lu¹, and NIE Lei¹
1 Provincial-Level Key Laboratory for Molecular Medicine of Major Diseases and The Prevention and Treatment with Traditional Chinese Medicine Research in Gansu Colleges and Universities, Lanzhou (730020), China; 2 Basic Room of Integrated Chinese and Western Medicine, Gansu Provincial Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou (730020), China; 3 Key Laboratory Co-constructed by Dunhuang Medical and Transformation, Education Ministry of Gansu Province, Lanzhou (730020), China

ABSTRACT **Objective** To study the effect of ultrafiltration-membrane extracts of *Radix Rehmanniae* Praeparata (UMERRP) on the proliferation and genetic stability of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSCs) induced by cadmium chloride (CdCl_2). **Methods** Protective effects on the proliferation, micronuclear rates, chromosome aberration rates, and apoptosis rates were observed by micronuclei test, karyotype analysis, and flow cytometry. **Results** Compared with the CdCl_2 group, UMERRP with different molecular weights at 0.8 g/L could obviously promote the proliferation ($P < 0.05$). Compared with the control group, micronuclear rates, chromosome aberration rates, and apoptosis rates were obviously enhanced in the CdCl_2 group ($P < 0.05$). Compared with the CdCl_2 group, UMERRP with different molecular weights could obviously decreased CdCl_2 induced micronuclear rates, chromosome aberration rates, and apoptosis rates ($P < 0.05$). Of them, BMSC micronuclear rates and chromosome aberration rates decreased most obvious in UMERRP groups with molecular weight below 10 000 ($P < 0.05$). The apoptosis rate decreased most obviously in UMERRP groups with molecular weight ranging 100 000 and 200 000 ($P < 0.05$). **Conclusion** UMERRP could reduce CdCl_2 induced micronuclear

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81360588); 甘肃省高校科研基金项目(No. 0906 - 03)

作者单位: 1. 甘肃中医学院 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 730020); 2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室 中西医结合基础室(兰州 730020); 3. 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室(兰州 730020)

通讯作者: 刘永琦, Tel: 0931 - 8765344, E-mail: liuyongqi73@163.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 04. 0450

rates, chromosome aberration rates, and apoptosis rates.

KEYWORDS bone marrow-derived mesenchymal stem cell; cadmium chloride; ultrafiltration-membrane extracts of *Radix Rehmanniae* Praeparata; micronuclear rate; chromosome aberration frequency; apoptosis

随着现代工业的迅猛发展,镉污染问题日益严重,大量的研究表明^[1-9]:少量的镉(Cd)进入人体即可产生生物放大作用和生物积累,机体自身不易将其排出,其蓄积时间可达 50 年之久。同时,镉可以引起机体的急性和慢性中毒,对哺乳动物具有较强的致畸、致癌和致突变作用,对机体危害极大。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一群来源于骨髓组织中的非造血干细胞,属于多能干细胞,具有自我更新和多向分化等特性,是临床细胞与移植治疗的重要种子细胞,BMSCs 在生物或化学性致癌环境中的遗传稳定性及其防治措施研究,特别是从中药中筛选可提高 BMSCs 临床安全应用的研究备受关注^[10]。基于“肾藏精,主骨生髓”的中医理论,“肾藏先天之精”,是构成生命的原始物质,具有繁衍生殖、生髓化血、气化化神等多元化生性,与 BMSCs 的多向分化的能力具有相对对应性,故可认为干细胞具先天之精属性,是先天之精在细胞层次的存在形式^[11]。基于此,可以认为补肾类中药应可通过“益精填髓”,从而对促进 BMSCs 增殖、提高其遗传稳定性方面具有优势。熟地为滋阴补肾类代表性中药,本实验观察了其超滤膜提取物对化学毒性物质氯化镉(CdCl_2)诱导 BMSCs 增殖、细胞微核率和染色体畸变率的保护作用,现报道如下。

材料与方法

1 细胞 小鼠 BMSCs 株,由解放军兰州军区总医院骨科研究所赵红斌博士馈赠,购自美国 ATCC 公司(细胞株编号:CRL-10925)。

2 药物 熟地提取物由甘肃省中药药理与毒理学重点实验室中药制药室二级科研实验室经水提法结合超滤法制备,获得分子量为 10 000 以下、10 000 ~ 100 000 及 100 000 ~ 200 000 分子量段的熟地提取物,干燥后置干燥器保存备用。

3 主要试剂与仪器 CdCl_2 (上海泰坦化学有限公司,批号:201201);秋水仙素(上海泰坦化学有限公司,批号:201108);DMEM/F12 培养基(美国 Hyclone 公司,NXL0742);0.25%胰蛋白酶(美国 Gibco 公司,批号:20120708217);胎牛血清(美国 Hyclone 公司,NWL0509);噻唑蓝(北京索莱宝科技有

限公司,批号:0793);吉姆萨染液(上海锐谷生物科技有限公司,批号:201004);Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术研究所以,20110608); CO_2 培养箱(日本 Sanyo 公司,MCO-18AIC);酶联免疫仪(美国 Bio-Rad 公司,iMark 1509);倒置相差显微镜(日本 Olympus,IX81);流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司,XL-100)

4 细胞培养及 CdCl_2 的诱导 将小鼠 BMSCs 株分别接种至含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液中,分装至培养瓶中,置于 37 °C 培养箱静置培养。每 24 h 换液 1 次,待细胞铺到瓶底 80% ~ 90% 时,用含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,收集后吹散细胞,分装到培养瓶中。继续培养、传代。以前期研究筛选出的 CdCl_2 最适宜作用浓度,400 $\mu\text{mol/L}$ 干预小鼠 BMSCs 24 h 作为 CdCl_2 诱导 BMSCs 遗传损伤的细胞模型。

5 观察指标及检测方法

5.1 BMSCs OD 值 实验随机分为 CdCl_2 组(BMSCs + 400 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2),即药物浓度为 0;分子量 10 000 以下熟地超滤膜提取物组(BMSCs + 不同浓度分子量 10 000 以下熟地超滤膜提取物 + 400 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2);分子量 10 000 ~ 100 000 熟地超滤膜提取物组(BMSCs + 不同浓度分子量 10 000 ~ 100 000 熟地超滤膜提取物 + 400 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2);分子量 100 000 ~ 200 000 熟地超滤膜提取物组(BMSCs + 不同浓度分子量 100 000 ~ 200 000 熟地超滤膜提取物 + 400 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2);不同药物浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 g/L。本实验设 CdCl_2 对照组及正常细胞对照组,接种于 96 孔板,培养板同时设调零组(只加入完全培养液),各组 6 个复孔。培养 24 h 后取出培养板,吸弃孔中培养液,对照组和正常组每孔各加 100 μL 完全培养液,诱导组每孔各加 100 μL 含 400 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2 及不同浓度熟地超滤物的诱导液。分别在 24、48、72 h 时取出培养板,每孔加入 10 μL 的 MTT 溶液, CO_2 培养箱中避光孵育 4 h,终止孵育,小心吸弃孔中培养液,每孔加入 150 μL 的 DMSO,摇床低速振荡 10 min 使结晶物充分溶解。同时设置调零孔、对照孔。490 nm 测 OD 值,以该组复孔的平均值作为该组细胞的 OD 值。实

验重复3次,取平均值,按下式计算细胞增殖率及抑制率。各组分别与 CdCl₂ 组(增殖率为100%)进行比较,取增殖最明显的最小药物浓度为最佳浓度。

细胞增殖率(%) = (药物组 OD 值 - 调零组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 调零组 OD 值) × 100%;

细胞抑制率(%) = [1 - (药物组 OD 值 - 调零组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 调零组 OD 值)] × 100%。

本课题组采用最佳浓度对以上各组进行药物干预实验,即将完全培养液培养的 BMSCs 调整密度为 1×10^4 个/mL,加入 400 μmol/L CdCl₂ 培养 24 h 后,分组为: CdCl₂ 对照组 (BMSCs + 400 μmol/L CdCl₂); 分子量 10 000 以下熟地超滤膜提取物组 (BMSCs + 分子量 10 000 以下熟地超滤膜提取物 + 400 μmol/L CdCl₂); 分子量 10 000 ~ 100 000 熟地超滤膜提取物组 (BMSCs + 分子量 10 000 ~ 100 000 熟地超滤膜提取物 + 400 μmol/L CdCl₂); 分子量 100 000 ~ 200 000 熟地超滤膜提取物组 (BMSCs + 分子量 100 000 ~ 200 000 熟地超滤膜提取物 + 400 μmol/L CdCl₂); 实验组分别加入最佳浓度进行干预,并设正常细胞空白对照组,在 37 °C, 5% CO₂ 饱和湿度的培养箱培养 24 h。

5.2 BMSCs 形态学观察 在倒置相差显微镜下观察 72 h 后各组 BMSCs 的形态特征并予以拍照。

5.3 BMSCs 微核率 实验组和对照组 BMSCs 分别在 CO₂ 培养箱中培养 24 h,胰酶消化细胞后,收集细胞,1 000 r/min 离心 5 min,去上清,加入 37 °C 水浴的 KCl 溶液,水浴锅中静置 30 min,去上清加入甲醇和冰乙酸的固定液,固定细胞,制片。吉姆萨染液中染色,显微镜下观察,每个标本观察 1 000 个细胞,并记录有微核的细胞数,按下式计算微核率^[12-14]。细胞微核率(‰) = 微核细胞数/细胞总数 × 1 000‰。

5.4 BMSCs 染色体畸变率 收集各组细胞培养 24 h 后,分别加秋水仙素培养 3 h,消化细胞,离心收集,加入 37 °C 水浴的 KCl 低渗液,再加甲醇和冰乙酸固定液反复固定细胞,同时准备冰水浸泡玻片,吸管抽吸细胞悬液滴在冰玻片上,干燥后,放入吉姆萨染液中染色 10 min,显微镜下观察,每组各染 3 个标本,每个标本观察 1 000 个细胞,记录染色体缺失及裂隙的数目并按下式计算染色体总畸变率^[15-18]。染色体总畸变率(‰) = (裂隙细胞数 + 断裂细胞数) / 细胞总数 × 1 000‰。

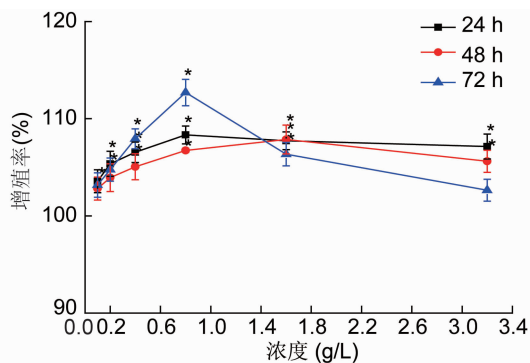
5.5 BMSCs 凋亡率 流式细胞仪检测细胞凋亡。收集各组细胞培养 24 h 后,用 PBS 洗涤细胞,加入适量胰酶消化、收集细胞。4 °C 离心 1 000 r/min,

5 min,去上清,用 PBS 再次洗涤细胞,4 °C 离心 1 000 r/min, 5 min 后,去上清加入 195 μL Annexin V-FITC 结合液轻轻重悬细胞。再加入 5 μL Annexin V-FITC,轻轻混匀,室温避光孵育 10 min。4 °C 离心 1 000 r/min, 5 min,弃上清,加入 190 μL Annexin V-FITC 结合液轻轻混匀并重悬细胞,加入 10 μL PI 染色液,轻轻混匀,冰浴避光静置。

6 统计学方法 应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。所得计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

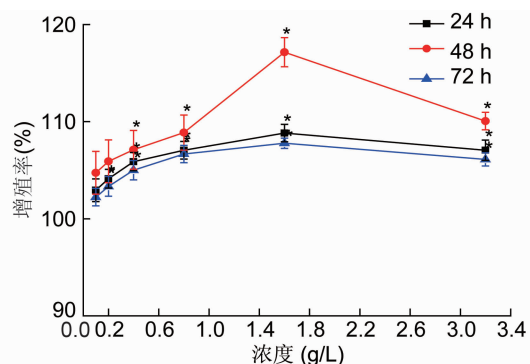
结 果

1 不同浓度熟地超滤物对 CdCl₂ 诱导 BMSCs 增殖的影响(图 1~3) 与 CdCl₂ 组(增殖率为100%)比较,10 000 分子量以下浓度为 0.8 g/L 熟地超滤物对 CdCl₂ 诱导的 BMSCs 的促进增殖作用最为明显 (*P* < 0.05); 10 000 ~ 100 000 分子量浓度为 1.6 g/L 熟地超滤物对 CdCl₂ 诱导 BMSCs 则有明显增殖作用



注:与 CdCl₂ 组比较, **P* < 0.05; *n* = 6

图 1 不同浓度对熟地超滤物 10 000 分子量以下 CdCl₂ 诱导 BMSCs 增殖率比较



注:与 CdCl₂ 组比较, **P* < 0.05; *n* = 6

图 2 不同浓度对熟地超滤物 10 000 ~ 100 000 分子量 CdCl₂ 诱导 BMSCs 增殖率比较

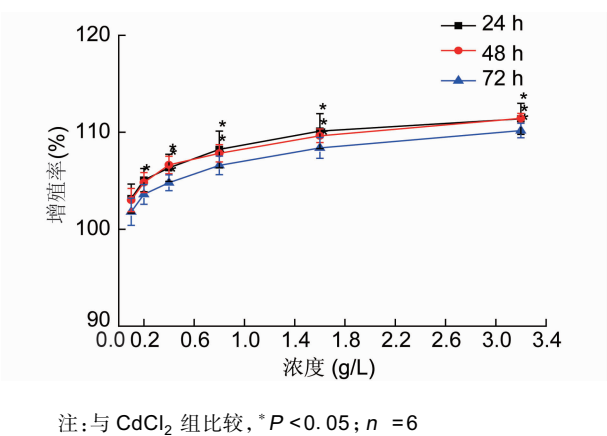
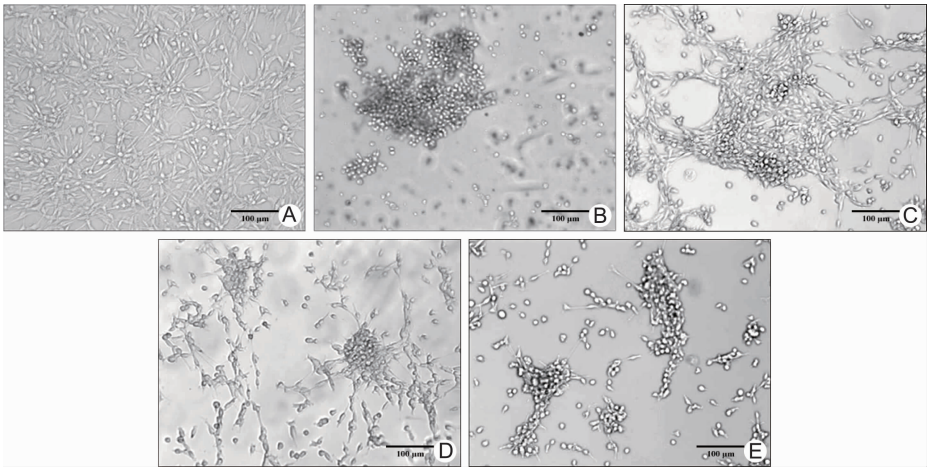


图 3 不同浓度对熟地超滤物 100 000 ~200 000 分子量 CdCl₂ 诱导 BMSCs 增殖率比较

(*P* < 0.05);随着 100 000 ~200 000 分子量熟地超滤物浓度的增加,其对 CdCl₂ 诱导 BMSCs 的促进增殖作用明显 (*P* < 0.05)。0.8 g/L 熟地超滤物在各分子量组中均对 CdCl₂ 诱导后的 BMSCs 有促进增殖作用,故选用此浓度为实验最佳浓度,用于各组药物干预实验。

2 各组 BMSCs 增殖的形态学变化(图 4) 对



注:A 为对照组; B 为 CdCl₂ 组;C 为熟地超滤物 10 000 分子量以下组; D 为熟地超滤物 10 000 ~100 000 分子量组;E 为熟地超滤物 100 000 ~200 000 分子量组

图 4 各组 BMSCs 增殖形态图 (×10)

照组 BMSCs72 h 后贴壁细胞数量增多,逐渐形成数个大小不同的细胞集落,细胞形态均一,排列紧密,多呈长梭形。CdCl₂ 组 BMSCs72 h 时贴壁缓慢,可见细胞悬浮并开始死亡,细胞生长缓慢,数量不多。各分子量段熟地超滤物组 72 h 后均可见少量的悬浮细胞,其余细胞仍贴壁生长,随着培养时间的延长, BMSCs 增殖逐渐减慢。

3 各组 BMSCs 微核率比较(表 1) 与对照组比较,CdCl₂ 组 BMSCs 微核率明显增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与 CdCl₂ 组比较,各分子量段熟地超滤物对 CdCl₂ 诱导的 BMSCs 微核率均明显降低(*P* < 0.05),其中以 10 000 分子量以下组下降最为明显,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

4 各组 BMSCs 染色体畸变率比较(表 2、图 5) 与对照组比较,CdCl₂ 组 BMSCs 染色体总畸变率明显增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与 CdCl₂ 组比较,各分子量段熟地超滤物对 CdCl₂ 诱导的 BMSCs 染色体畸变率均明显降低(*P* < 0.05),其中以 10 000 分子量以下组的降低最为明显,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

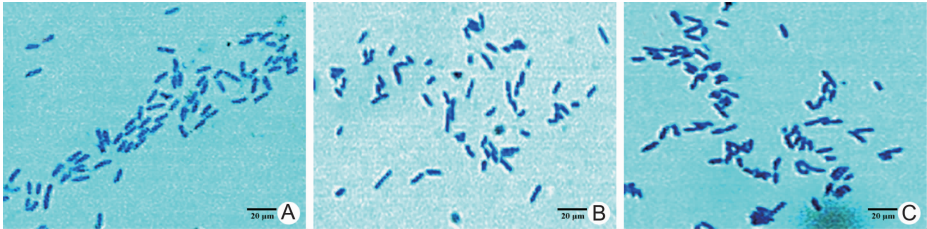
表 1 各组 BMSCs 微核率比较 ($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	细胞数 (个)	微核细胞数 (个)	微核率(%)
对照	3	3 000	14	4.4 ± 1.4
CdCl ₂	3	3 000	275	79.3 ± 1.2 *
熟地超滤物 10 000 分子量以下	3	3 000	94	32.6 ± 2.2 [△]
10 000 ~100 000 分子量	3	3 000	119	40.6 ± 1.2 ^{△▲}
100 000 ~200 000 分子量	3	3 000	186	63.3 ± 2.4 ^{△▲}

注:与对照组比较, **P* < 0.05;与 CdCl₂ 组比较, [△]*P* < 0.05;与熟地超滤物 10 000 分子量以下组比较, [▲]*P* < 0.05

表 2 各组 BMSCs 染色体畸变率比较 ($\bar{x} \pm s$)

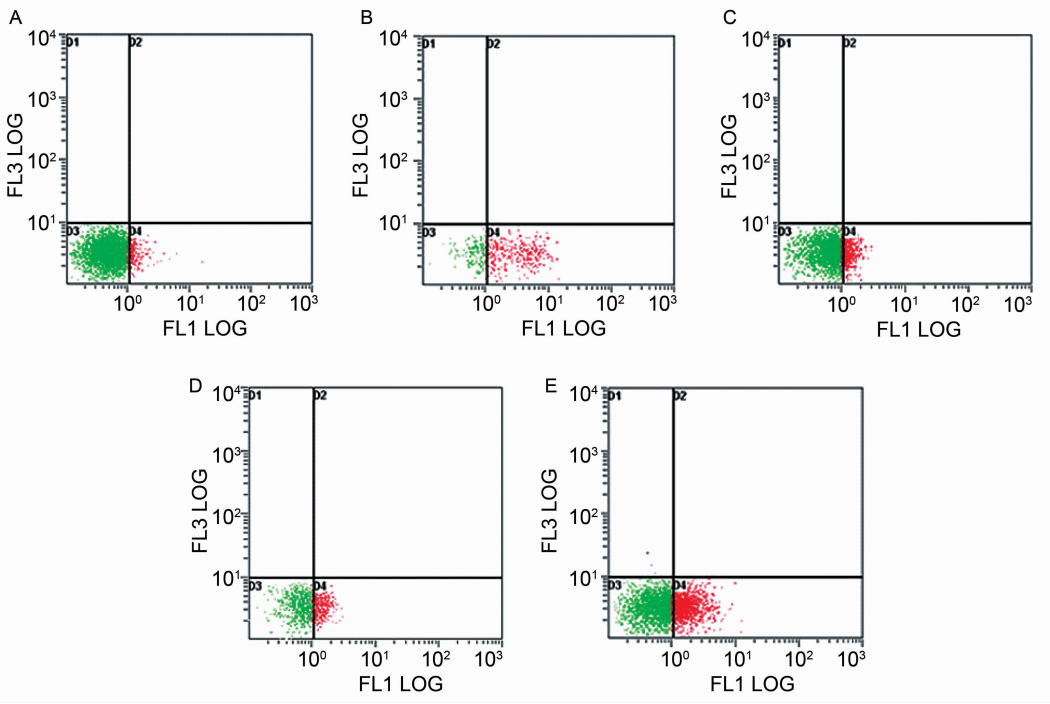
组别	<i>n</i>	细胞数(个)	裂隙细胞数(个)	断裂细胞数(个)	畸变率(‰)
对照	3	3 000	19	0	4.7 ± 1.4
CdCl ₂	3	3 000	132	28	57.3 ± 1.1 *
熟地超滤物 10 000 分子量以下	3	3 000	43	7	17.6 ± 2.9 [△]
10 000 ~ 100 000 分子量	3	3 000	76	11	29.6 ± 1.6 ^{△▲}
100 000 ~ 200 000 分子量	3	3 000	92	19	36.4 ± 1.5 ^{△▲}

注:与对照组比较, **P* < 0.05; 与 CdCl₂ 组比较, [△]*P* < 0.05; 与熟地超滤物 10 000 分子量以下组比较, [▲]*P* < 0.05



注:A 为对照组 BMSCs;B 为 CdCl₂ 组 BMSCs;C 为熟地超滤物干预后 BMSCs

图 5 各组 BMSCs 染色体结果图 (吉姆萨染色, ×40)



注:A 为对照组;B 为 CdCl₂ 组;C 为熟地超滤物 10 000 分子量以下组;D 为熟地超滤物 10 000 ~ 100 000 分子量组;E 为熟地超滤物 100 000 ~ 200 000 分子量组

图 6 各组 BMSCs 凋亡率比较图

5 各组 BMSCs 凋亡率比较(表 3、图 6) 与对照组比较,CdCl₂ 组 BMSCs 凋亡率明显增高,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与 CdCl₂ 组比较,各分子量段熟地超滤物对 CdCl₂ 诱导的 BMSCs 凋亡率均明显降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与 10 000 分子量以下组比较,100 000 ~ 200 000 分子量组细胞凋亡率差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 3 各组 BMSCs 凋亡率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	细胞凋亡率
对照	3	6.8 ± 0.4
CdCl ₂	3	65.2 ± 1.8 *
熟地超滤物 10 000 分子量以下	3	18.7 ± 2.2 [△]
10 000 ~ 100 000 分子量	3	21.3 ± 0.3 [△]
100 000 ~ 200 000 分子量	3	0.3 ± 2.1 ^{△▲}

注:与对照组比较, **P* < 0.05; 与 CdCl₂ 组比较, [△]*P* < 0.05; 与熟地超滤物 10 000 分子量以下组比较, [▲]*P* < 0.05

讨 论

间充质干细胞来源于中胚层,骨髓中含量最为丰富,可多向分化为成骨细胞、脂肪细胞、神经细胞等间叶细胞和其他胚层细胞。BMSCs 在自身的分化增殖中可随着微环境的改变而改变,可被诱导分化为神经、肌肉、骨骼等 200 多种人体细胞、组织和器官^[19];同时,本课题前期研究进一步证实,BMSCs 与肺癌细胞共培养及其在氯化镉环境中,其遗传稳定性同样会发生改变,并发生了类肿瘤样细胞转化^[20,21]。

本实验中,CdCl₂ 作为遗传毒性药物诱导 BMSCs 形成遗传损伤模型,采用前期研究筛选出的 CdCl₂ 最适宜作用浓度^[22],与对照组比较,CdCl₂ 组细胞凋亡率、微核率及染色体畸变率均明显增高,与文献报道镉的致畸变作用相一致,因镉是一种毒性很强的重金属,已被美国毒性管理委员会列为第 6 位危害人类健康的有毒物质可引起机体的急性和慢性中毒,对哺乳动物也有致畸、治癌、致突变作用^[6,7];Terracio L^[8]、杨望等^[9]实验表明,镉在细胞转化试验中对动物正常细胞的致畸变作用。

熟地首次记载于《本草图经》,为玄参科多年生草本植物地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)的根,经酒浸、拌蒸、干燥等加工而成^[23]。熟地,具有补血滋阴,益精填髓之功效,是滋阴补肾类中药。现代研究证实熟地及其提取物如苷类、多糖等具有明显的免疫活性,同时具有抗渗出、抗增生、抗炎、保肝以及降血糖等药理作用^[24]。部分药理学研究还证实熟地具有抗 DNA 损伤以及降低染色体畸变率的作用^[25];梁颖等^[26]学者研究发现,熟地多糖对环磷酰胺诱导的小鼠微核率、染色体畸变率、姐妹染色单体交换率具有抑制作用。本课题进一步利用超滤膜分离技术分离熟地的有效成分,分离出不同分子量段的熟地提取物,结果证明,不同分子量熟地超滤膜提取物对 CdCl₂ 诱导 BMSCs 微核率、染色体畸变率、凋亡率均显著降低,这与前述文献^[27]报道熟地具有抗 DNA 损伤作用相一致。现代医学认为熟地保护正常细胞的作用机制可能与其具有免疫调节作用相关^[28,29],而中医学则认为:“肾藏精,精生髓”,“髓者,肾精所在,精足则髓足”^[30],精是构成生命的原始物质,具有繁衍生殖、生髓化血、气化神等多元化生性,与 BMSCs 的多向分化的能力具有相对对应性,故可认为干细胞具先天之精属性,是先天之精在细胞层次的存在形式^[11]。综合文献报道,并结合本研究结果,从骨髓中之骨髓间充质干细胞层面,进一步为补肾类中药

熟地可通过“滋阴补肾,肾主骨生髓”而提高 BMSCs 对致癌 CdCl₂ 诱导恶变的稳定性的理论与实验依据,也为在中医学理论指导下从中药中筛选低毒而又高效可预防 BMSCs 恶变、提高其临床应用的药物提高了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Nakamura Y, Ohba K, Suzuki K, et al. Health effects of low-level cadmium intake and the role of metallothionein on cadmium transport from mother rats to fetus[J]. Toxicol Sci, 2012, 37(1): 149-156.
- [2] Eum KD, Lee MS, Paek D. Cadmium in blood and hypertension[J]. Sci Total Environ, 2008, 407(1): 247-253.
- [3] Cormet-Boyaka E, Jolivet K, Bonnegarde-Bernard A, et al. An NF-kappaB-independent and Erk1/2-dependent mechanism controls CXCL8/IL-8 responses of airway epithelial cells to cadmium[J]. Toxicol Sci, 2012, 125(2): 418-429.
- [4] Chakraborty PK, Scharner B, Jurasovic J, et al. Chronic cadmium exposure induces transcriptional activation of the Wnt pathway and up-regulation of epithelial-to-mesenchymal transition markers in mouse kidney[J]. Toxicol Lett, 2010, 198(1): 69-76.
- [5] 李静慧, 徐兆发. 镉致肾细胞凋亡机制的研究进展及防治[J]. 毒理学杂志, 2014, 28(4): 319-322.
- [6] Rodriguez-Celma J, Rellan Alvarez R, Abadia A, et al. Changes induced by two levels of cadmium toxicity in the 2-DE protein profile of tomato roots[J]. Proteomics, 2010, 73(9): 1694-1706.
- [7] Messaoudi I, Hammouda F, El Heni J, et al. Reversal of cadmium-induced oxidative stress in rat erythrocytes by selenium, zinc or their combination[J]. Exp Toxicol Pathol, 2010, 62(3): 281-288.
- [8] Terracio L, Nachtigal M. Oncogenicity of rat prostate cells transformed *in vitro* with cadmium chloride[J]. Arch Toxicol, 2008, 61(6): 450-460.
- [9] 杨望, 赵先英, 张定林, 等. 镉的毒性及损伤机制进展[J]. 职业与健康, 2012, 29(8): 1000-1003.
- [10] 潘欣宇, 崔颖, 马林祥, 等. 骨髓间充质干细胞的研究进展及临床应用前景[J]. 中国医学工程, 2011, 19(5): 173-174.
- [11] 张进, 徐志伟, 陈群, 等. 干细胞与中医基础理论中的先天之精学说[J]. 中国临床康复, 2006, 10(7): 189-192.
- [12] Okuwa K, Tanaka M, Fukano Y, et al. *In vitro* micronucleus assay for cigarette smoke using a whole smoke exposure system: a comparison of

- smoking regimens[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2010, 62(4): 433–440.
- [13] Reus AA, Usta M, van Meeuwen RN, et al. Development and characterization of an *in vivo* skin photo micronucleus assay in rats[J]. *Mutagenesis*, 2010, 25(4): 236–239.
- [14] Liu Q, Cao J, Liu Y, et al. Follow-up study by chromosome aberration analysis and micronucleus assays in victims accidentally exposed to ^{60}Co radiation[J]. *Health Phys*, 2010, 98(6): 1034–1038.
- [15] Homiski ML, Muehlbauer PA, Dobo KL, et al. Concordance analysis of an *in vitro* micronucleus screening assay and the regulatory chromosome aberration assay using pharmaceutical drug candidates[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2010, 51(1): 39–47.
- [16] Serio G, Gentile M, Pennella A. Characterization of a complex chromosome aberration in two cases of peritoneal mesothelioma arising primarily in the hernial sac[J]. *Pathol Int*, 2009, 59(6): 415–421.
- [17] Tanaka K, Kohda A, Toyokawa T, et al. Chromosome aberration frequencies and chromosome instability in mice after long-term exposure to low-dose-rate gamma-irradiation[J]. *Mutat Res*, 2008, 657(1): 19–25.
- [18] Leme DM, Marin-Morales MA. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – a case study[J]. *Mutat Res*, 2008, 650(1): 80–86.
- [19] 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.
- [20] 秦洁, 李屹, 刘永琦, 等. 骨髓间充质干细胞在肺腺癌微环境中的遗传稳定性及增殖能力[J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(9): 1112–1117.
- [21] 刘永琦, 王倩, 秦洁, 等. 肿瘤微环境对骨髓间充质干细胞形态、生长及增殖的影响[J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(2): 1–4.
- [22] 刘永琦, 达瑞, 窦娟娟, 等. 氯化镉对小鼠骨髓间充质干细胞微核率和染色体畸变率的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(41): 7612–7616.
- [23] 刘朵, 章丹丹, 卞卡. 地黄药理药化及配伍研究[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(3): 748–750.
- [24] 王世婷, 郭竹英, 徐芒华, 等. 重组人Ⅱ型肿瘤坏死因子融合蛋白对脂多糖致大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2009, 2(9): 11–12.
- [25] 江励华. 中药抗 DNA 损伤的研究[J]. *医药导报*, 2004, 23(4): 250–252.
- [26] 梁颖, 徐绍娜, 徐放, 等. 熟地黄多糖对环磷酰胺诱导小鼠的抗突变作用研究[J]. *中医药信息*, 2010, 27(4): 110–112.
- [27] 李芹, 王睿. 多糖抗肿瘤作用研究新进展[J]. *中国药物应用与监测*, 2005, 6(2): 58–61.
- [28] 姚丽芬, 谢宁, 宋琳. 地黄饮子片对老年痴呆模型鼠海马神经元细胞凋亡的影响[J]. *中医药信息*, 2011, 2(3): 362–367.
- [29] 马英丽, 孙永慧, 董培良. 北寄生提取物抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖及诱导凋亡的实验研究[J]. *中医药信息*, 2011, 3(11): 45–49.
- [30] 金珉廷, 郑洪新. 中医肾藏精生髓主骨理论与骨质疏松症[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2009, 11(5): 35–36.

(收稿:2013–11–19 修回:2014–12–23)