

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.35.006

亚硒酸钠对人增生性瘢痕成纤维细胞体外增殖的影响

杨陆涛,刘美玲,张友来,辛国华,李国辉,曾元临[△]

(南昌大学第一附属医院烧伤中心,南昌 330006)

摘要:目的 观察亚硒酸钠对人增生性瘢痕成纤维细胞体外增殖的影响。方法 体外培养人增生性瘢痕成纤维细胞,取第 4 代细胞用 CCK-8 检测成纤维细胞的增殖情况,分为试验组和对照组,试验组分为 6 组(A、B、C、D、E、F 组),分别加入等量含 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度亚硒酸钠的 10% 胎牛血清培养基;对照组加入等量的 10% 胎牛血清培养基,分别在 24、48、72、96 h 用 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖情况;Live/dead 试剂检测加入不同浓度亚硒酸钠 24 h 后细胞的存活情况;细胞免疫组织化学法检测加入不同浓度亚硒酸钠 24 h 后,细胞内 I、III 型胶原的表达情况。**结果** (1)亚硒酸钠在 2.5~80.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,在同一时间内随着浓度的增加,对成纤维细胞的抑制率逐步增加($P<0.05$);(2)在相同浓度作用下随着时间的延长,亚硒酸钠对成纤维细胞的抑制率逐渐增加($P<0.05$);(3)Live/dead 试剂检测结果显示,随着亚硒酸钠浓度的增加,凋亡细胞数逐渐增加;(4)随着亚硒酸钠的浓度增加,成纤维细胞内 I、III 型胶原表达逐渐减弱。**结论** 亚硒酸钠在体外能抑制人增生性瘢痕成纤维细胞的增殖,并且可以降低成纤维细胞内 I、III 型胶原的表达。

关键词:亚硒酸钠;瘢痕;成纤维细胞;增殖

中图分类号:R622

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)35-4723-04

Effect of sodium-selenite on human hypertrophic scar fibroblasts proliferation in vitroYang Lutao, Liu Meiling, Zhang Youlai, Xin Guohua, Li Guohui, Zeng Yuanlin[△]

(Burn Center, the First Affiliated Hospital, Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

Abstract: **Objective** To observe the effects of sodium-selenite on human hypertrophic scar fibroblasts proliferation in vitro. **Methods** Human hypertrophic scar fibroblast culture was conducted in vitro, the status of fibroblast proliferation of the 4th generation cells was tested by CCK-8, which was divided into experimental group and control group, the experimental group was divided into six groups (A, B, C, D, E, F), and were added an equal volume-containing 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 80.0 $\mu\text{mol/L}$ concentrations of sodium selenite in 10% FBS culture medium; the control group added an equal volume of 10% FBS culture medium, testing cell proliferation by CCK-8 at 24, 48, 72, 96 h respectively; testing different concentrations of sodium-selenite cell survival situation after 24 h by Live/dead reagent; immunohistochemical was used to test intracellular I, III type collagen expression after 24 h. **Results** (1) With the increased of concentration, the inhibition rate of fibroblasts gradually increased as the concentration of sodium-selenite ranged in 2.5–80.0 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.05$); (2) the inhibition rate of sodium-selenite on fibroblasts gradually increased at the same concentration with time ($P<0.05$); (3) Live/dead reagent test results showed that apoptosis cell number increased with the concentration increasing; (4) With concentrations of sodium-selenite increasing, type I, III collagen expression of fibroblast decreased gradually. **Conclusion** Sodium-selenite can inhibit human hypertrophic scar fibroblast proliferate in vitro and reduce I, III collagen expression of fibroblast type

Key words: sodium nitrite; cicatrix; fibroblast; proliferation

在较严重的皮肤损伤愈合后,特别是深度烧伤的创面较多会以增生性瘢痕的形式愈合,表现为高于周围正常皮肤、质地较硬,有时会出现表面干燥、脱皮、瘙痒等不适症状,在早期和晚期往往会有着不同的临床表现,这不仅严重影响患者的外貌和功能,也会对大部分患者的心理造成不同程度的影响^[1]。因此,抑制增生性瘢痕增生的研究,在临床上具有很大的临床意义。

目前,国内外对于增生性瘢痕的处理主要有手术切除、压力压迫及局部使用激素类药物等处理方法。手术主要用于解决四肢关节的部分功能,对外观的要求不能达到较好的效果;外力压迫疗法对于瘢痕的抑制效果并不理想,治疗过程及时间

较长,大部分患者较难接受;局部注射激素类药物作用范围较小,不适合大面积瘢痕的患者,并且激素的不良反应较大,较多患者不适合使用。大量的研究证实,硒化物有一定的抑制成纤维细胞增殖的作用。硒元素是人体的必需微量元素,亚硒酸钠可补充人体内硒元素的缺乏,且已经广泛应用于临床上,如运用于对克山病的预防及治疗。中华峰等^[2]研究指出亚硒酸钠对 Wistar 大鼠心肌成纤维细胞 I 型胶原合成代谢有抑制作用。本试验组成员胡清泉等^[3]前期工作研究指出,富硒温泉水对体外培养人增生性瘢痕成纤维细胞具有一定的抑制作用。为进一步明确硒对成纤维细胞增殖的影响,作者采用不同浓度的亚硒酸钠对体外成纤维细胞的增殖情况进行研究,现报道

如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 瘢痕组织 增生性瘢痕组织:取 2013 年 2~4 月在南昌大学第一附属医院整形外科行增生性瘢痕整形手术的患者瘢痕组织。年龄 4~12 岁,身体健康,无心、肺等慢性疾病,近期未使任何抗瘢痕药物;瘢痕组织处于稳定期,以四肢为主,高于周围正常皮肤、质地较硬,经临床和病理证实无恶变,征得患者家属的知情同意。

1.1.2 主要试剂和仪器 25 g/瓶亚硒酸钠粉末(美国, Sigma 公司),DMEM 培养基(北京, Solarbio 公司),胎牛血清(北京, 赛默飞公司),0.25%胰蛋白酶(美国, Gibco 公司),CCK-8 检测试剂盒(上海, BestBio 公司),I、III 型胶原多克隆一抗(北京, 博奥森),通用型两步法 PV-9000 检测试剂盒(北京, 中杉金桥),DAB 显色试剂盒(北京, 中杉金桥),Live/dead 试剂盒(美国, Life 公司);CO₂ 孵箱(美国, Fisher),超净工作台(美国, Fisher),倒置显微镜及照相分析系统(日本, Olympus),全自动酶标读数仪(芬兰, Multiskan Ascent),高速离心机(湖南, TS-10),-80 °C 冰箱(英国, New Brunsick Scientific U410)。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度亚硒酸钠溶液培养基的配置 先配置 50 mL 5 mmol/L 浓度的底液溶液,计算得出需要 43.235 mg 亚硒酸钠粉末,用电子秤称 43.235 mg 粉末,溶于 50 mL 灭菌蒸馏水中,轻轻摇匀完全溶解后,用 0.22 μm 大小微孔过滤器过滤除菌。取 6 根无菌离心管,分别标记 A、B、C、D、E、F,分别配置含 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μmol/L 浓度亚硒酸钠的培养基 10 mL,用移液器分别吸取 9.99、9.99、9.98、9.96、9.92、9.84 mL 含 10% 浓度胎牛血清培养基滴入上述离心管中,之后再分别吸取 5、10、20、40、80、160 μL,5 mmol/L 浓度的亚硒酸钠溶液,轻轻摇匀后放入 4 °C 冰箱中储存备用。

1.2.2 成纤维细胞体外培养 采用林尊文等^[4]的改良组织块贴壁结合胰蛋白酶消化法体外培养成纤维细胞;从手术中取下新鲜增生性瘢痕,无菌操作,立即至试验室,用手术刀片将瘢痕表皮及皮下脂肪组织彻底清除,残留白色质硬的瘢痕组织;用眼科剪将增生性瘢痕组织剪成 1 mm×1 mm×1 mm 大小的组织块,将剪好的组织块用 0.25% 胰蛋白酶浸润,放入 4 °C 冰箱中冷消化过夜,第 2 天将组织块接种于培养瓶中,组织块间距 0.3~0.5 cm,将培养瓶置于恒温培养箱中干涸约 4 h,再将培养瓶取出,每瓶加入含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基 4 mL,再放入恒温箱中培养,第 4 天时观察可见单个呈梭形状细胞从组织块周围爬出,第 7 天时可见较多细胞爬出,整齐排列于组织块周围,15 d,细胞基本爬满瓶底,将组织块移入另一培养瓶中继续培养,将瓶底细胞按 1:2 传代培养,取第 4 代细胞用于试验研究。

1.2.3 分组及干预 取第 4 代处于对数生长期的细胞消化、离心收集成纤维细胞,将细胞浓度调到 2×10⁷ 个/mL,接种于 4 块相同 96 孔板(用于 4 个时间段观察检测),设置一个空白组,一个对照组,6 个试验组(分别加入含 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μmol/L 浓度亚硒酸钠干预),每组分别设 3 个复孔。空白组只单纯加入 100 μL 正常培养基,对照组和试验组均加入 100 μL 的细胞悬液,同时接种 4 块 96 孔板;放入恒温

箱中培养 24 h 后在倒置显微镜下观察,待细胞完全贴壁后用移液器吸出每孔原培养液,空白组加入 200 μL 正常培养基,对照组加入 200 μL 正常培养基,试验组分别加入含 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μmol/L 浓度亚硒酸钠的培养基 200 μL,4 块 96 孔板相同处理,放入恒温箱中继续培养。

1.2.4 CCK-8 试剂盒检测 分别在培养 24、48、72、96 h 时,用 CCK-8 试剂检测成纤维细胞的增殖情况,将 96 孔板从恒温箱中取出,空白组、对照组和试验组每孔加入 10 μL CCK-8 试剂溶液,37 °C 孵育 3 h,再用全自动酶标读数仪测定在 450 nm 吸光值(A),记录所得数据,以上所有试验均重复 3 次。细胞抑制率(%)=(对照细胞 A-加亚硒酸钠细胞 A)/(对照细胞 A-空白 A)×100%

1.2.5 Live/dead 试剂盒检测 取在对数期生长的第 4 代细胞,经过胰酶消化处理后,均匀加入六孔板,每孔接种 2×10⁵ 个细胞,正常培养 24 h 后弃去原培养基,每孔加入含 0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μmol/L 浓度的亚硒酸钠培养基 2 mL,培养 24 h 后弃去原培养基,用 PBS 轻轻清洗每个孔两变,每孔加入配好的 Live/dead 试剂 300 μL,在室温下孵育 30 min 后在荧光显微镜下拍照细胞图片。

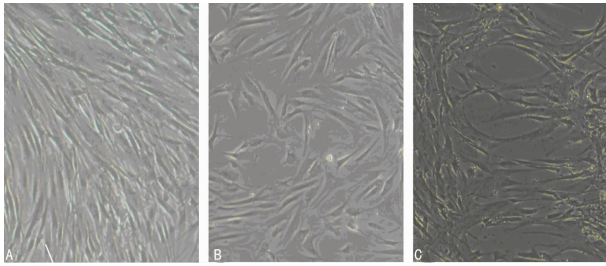
1.2.6 细胞免疫组织化学法检测细胞内 I、III 型胶原的表达 细胞爬片的制备:(1)取 4 块无菌六孔板,每孔置入 1 块无菌圆形盖玻片供细胞爬片;(2)将第 4 代生长旺盛的成纤维细胞消化分装于六孔板中,细胞浓度在 2×10⁵ 个/mL,每孔加入 150 μL 细胞,正常培养 24 h 后弃去原培养基,每孔分别加入含上述不同浓度的亚硒酸钠终浓度的培养基,再培养 24 h 后,观察玻片上细胞生长状况,取出盖玻片置于载玻片上用于免疫组织化学检测。免疫组织化学试验,步骤如下:(1)每张玻片用 pH 7.4 的 PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;(2)用 95% 的乙醇固定细胞,在室温下孵育 15 min,再用 PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;(3)每张玻片加 100 μL 0.5% 的 Triton 试剂,室温下孵育 10 min,再用 PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;(4)每张切片加 1 滴 3% H₂O₂,室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性,PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;(5)每张切片加 1 滴相应(I、III 型胶原)的第一抗体(I、III 型胶原的浓度均为 1:100),阴性组用 PBS 对照,放入 37 °C 下孵育 2 h,PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;(6)除去 PBS 液,每张玻片加 1 滴二抗试剂 1,室温下孵育 30 min,PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;(7)每张玻片加 1 滴二抗试剂 2,室温下孵育 30 min,PBS 冲洗 3×3 min;(8)除去 PBS 液,每张切片加 100 μL 新鲜配制的二氨基联苯胺(DAB 液),显微镜下间断观察 10 min;(9)自来水冲洗,苏木素复染,自来水冲洗,切片经 75%、85%、95%、100% 的梯度乙醇脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固,晾干后在倒置显微镜下观察。

2 结果

2.1 亚硒酸钠对成纤维细胞的形态影响 未加亚硒酸钠的胎牛血清培养基培养的成纤维细胞的形态规则统一,细胞核呈椭圆形或圆形,细胞整体形态呈梭形或多边形,伸出多个触角,整体呈鱼群状。加入了不同浓度的亚硒酸钠的胎牛血清培养基培养的整体细胞数量减少,细胞形状不规整,触角呈现出不同程度的变短或者缺失,细胞质及细胞核浓缩,随亚硒酸钠浓度的增加,细胞的形态呈现进一步变化,见图 1。

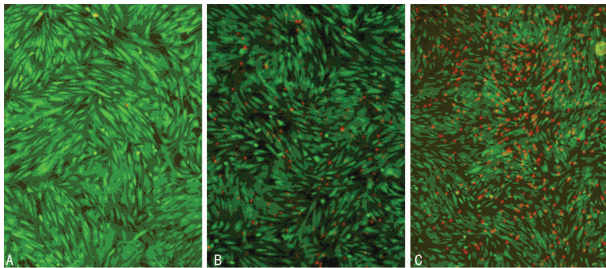
2.2 Live/dead 检测结果 加入不同浓度的亚硒酸钠培养 24

h 后,部分凋亡,荧光染色如下可见,活细胞的颜色为绿色荧光,死细胞的颜色为红色。可见未加亚硒酸钠组的细胞几乎未见凋亡细胞,生长规则,形态基本呈梭形;加入低浓度的亚硒酸钠组可见较少细胞凋亡,绝大多数细胞生长良好,形态统一;加入高浓度的亚硒酸钠组可见较多细胞凋亡,部分细胞形态不规整。见图 2。



A:未加亚硒酸钠培养 24 h;B:加入 2.5 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h;C:加入 80.0 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h。

图 1 亚硒酸钠对细胞形态的影响(倒置显微镜×100)



A:未加亚硒酸钠培养 24 h;B:加入 2.5 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h;C:加入 80.0 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h。

图 2 不同浓度亚硒酸钠对细胞凋亡的影响(荧光倒置显微镜×100)

2.3 CCK-8 检测不同浓度亚硒酸钠对成纤维细胞增殖的影响 将含 0、2.5、5.0、10.0、20.0、40.0、80.0 μmol/L 浓度亚硒酸钠的培养基培养成纤维细胞分别培养 24、48、72 和 96 h 后,使用 CCK-8 法检测成纤维细胞的增殖情况,结果显示,不同浓度的亚硒酸钠培养基均对成纤维细胞的增殖有抑制作用,见表 1;随着浓度和时间的增加,对成纤维细胞的抑制越明显,见

表 1 不同浓度亚硒酸钠对成纤维细胞 CCK-8 检测的 A 值(̄x±s)

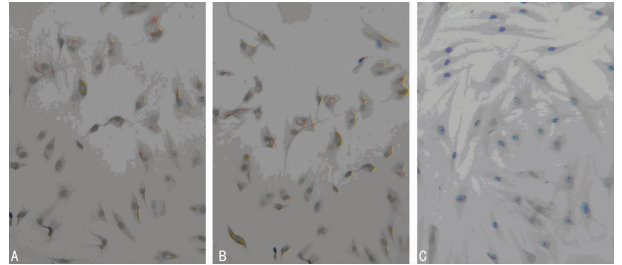
时间	0 μmol/L	2.5 μmol/L	5.0 μmol/L	10.0 μmol/L	20.0 μmol/L	40.0 μmol/L	80.0 μmol/L
24 h	0.474 6±0.004 5	0.463 7±0.003 2	0.434 8±0.001 5	0.403 9±0.001 8	0.391 9±0.001 8	0.376 3±0.001 4	0.351 9±0.001 5
48 h	0.496 5±0.001 3	0.452 4±0.003 4	0.420 1±0.000 4	0.389 1±0.000 8	0.367 3±0.003 0	0.357 5±0.002 6	0.334 5±0.000 7
72 h	0.502 9±0.000 6	0.417 2±0.001 1	0.400 6±0.000 1	0.373 3±0.001 0	0.358 2±0.001 3	0.346 3±0.000 5	0.323 8±0.001 0
96 h	0.515 3±0.001 3	0.396 2±0.001 3	0.386 5±0.002 4	0.365 7±0.000 1	0.350 2±0.000 3	0.332 4±0.000 8	0.315 3±0.003 0

表 2 不同浓度亚硒酸钠对成纤维细胞增殖抑制率的影响(̄x±s,%)

时间	2.5 μmol/L	5.0 μmol/L	10.0 μmol/L	20.0 μmol/L	40.0 μmol/L	80.0 μmol/L
24 h	3.36±0.34	12.22±1.29	21.74±0.5	25.44±0.46	20.23±1.12	37.75±0.75
48 h	12.73±0.75	22.06±0.38	31.02±0.06	370.30±0.70	400.13±0.75	460.77±0.32
72 h	24.32±0.21	29.02±0.11	36.75±0.30	410.05±0.39	44.41±0.07	500.82±0.31
96 h	32.61±0.33	35.26±0.65	400.96±0.17	450.20±0.27	500.06±0.10	540.73±0.99

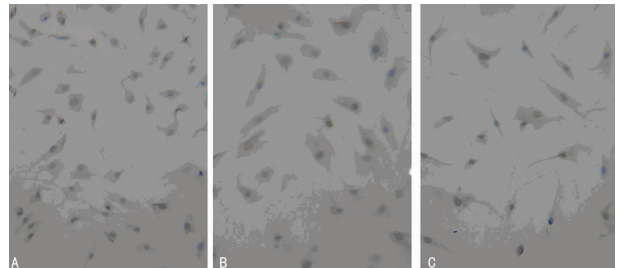
表 2。

2.4 细胞免疫组织化学法测得细胞内 I、III 型胶原的表达情况 I 型胶原表达情况:黄色或者棕黄色为阳性表达,未加亚硒酸钠组阳性明显(98.0±0.7)%,低浓度的亚硒酸钠组阳性表达也较明显(92.0±0.4)%,在高浓度的亚硒酸钠组可见表达阳性较弱(52.0±0.8)%,部分细胞表现出阳性结果,较正常组和低浓度组明显较弱,见图 3。III 型胶原表达情况:正常组阳性表达较强(84.0±0.6)%,低浓度组阳性表达和正常组差异不明显(81.0±0.7)%,高浓度组较少细胞表现出弱阳性结果(38.0±0.9)%,见图 4。



A:未加亚硒酸钠培养 24 h;B:加入 2.5 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h;C:加入 80.0 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h。

图 3 不同浓度亚硒酸钠对 I 型胶原帽白的影响(倒置显微镜×400)



A:未加亚硒酸钠培养 24 h;B:加入 2.5 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h;C:加入 80.0 μmol/L 亚硒酸钠培养 24 h。

图 4 不同浓度亚硒酸钠对 II 型胶原蛋白的影响(倒置显微镜×400)

3 讨 论

大面积深度烧伤患者创面愈合后,较多创面会以瘢痕愈合,这种瘢痕主要以增生性瘢痕为主,小部分的瘢痕会过度的增生形成瘢痕疙瘩。增生性瘢痕在早期和晚期往往会有着不同的临床表现,根据瘢痕的部位不同,不仅严重影响患者的外貌和功能,也会对大部分患者的心理造成不同程度的影响。目前临床上对增生性瘢痕的治疗主要有手术治疗和非手术治疗,手术治疗主要用于瘢痕较小或者一些关节活动部位的局部治疗;非手术治疗包括物理治疗和药物治疗,前者主要是瘢痕外用压力压迫瘢痕,抑制瘢痕增生有一定的治疗效果,目前瘢痕治疗的药物种类较多,但还没有一种药物的作用效果特别好,主要用激素局部注射治疗,较大范围难以治疗,且激素不良反应大,难以长期使用。增生性瘢痕的形成过程是多种因素共同参与、共同影响,具体形成机制非常复杂,因此在治疗上仍没有发现一种比较合适的针对增生性瘢痕形成原因进行治疗的方法。因此,进一步明确增生性瘢痕的形成机制并探索一种可行的防治方法对一些瘢痕患者的治疗是一个福音。目前较多研究表明,增生性瘢痕是由于在机体修复缺损的创面和组织的过程中成纤维细胞、细胞外基质及多种细胞因子等相互调节失衡的结果,表现为成纤维大量增殖,细胞外基质过度沉积及各种细胞因子分泌失常。

为了寻找一种安全可靠的药物抑制瘢痕过度生长,根据一些前期研究结果,本课题组就微量元素硒在增生性瘢痕的作用进行研究。较多研究显示,硒元素在人体的作用主要表现为具有较强的抗氧化性^[5]、增强人体免疫能力^[6]、抗肿瘤作用^[7]、抑制心肌成纤维细胞 I 型胶原合成^[2]、抗衰老以及对心血管方面的影响^[8]等,但关于硒在成纤维细胞方面的研究少见报道。目前,研究抑制增生性瘢痕的生长主要是通过药物等抑制成纤维细胞的过度生长和减少 I、III 型等胶原的合成、分泌及过度累积。亚硒酸钠对成纤维细胞的增殖影响结果显示,亚硒酸钠可以促进成纤维细胞的凋亡和减少 I、III 型胶原在细胞中的表达和分泌。I、III 型胶原是成纤维细胞外基质的重要组成部分^[9-10]。亚硒酸钠可促进成纤维细胞的凋亡和降低成纤维细胞中 I、III 型胶原的表达和分泌,减少细胞外基质中胶原的含量,其作用机制可能是:(1)氧化应激能力增强促进细胞凋亡,研究显示细胞中硒的浓度越高,产生的活性氧自由基越多,对细胞的氧化应激也越强,从而促进细胞凋亡或产生具有毒性物质致细胞死亡^[11];(2)硒化合物是较多癌基因(如 p53、Bcl-2 及 myc 基因家族等)表达的调控因子,硒化合物的水平可以影响癌基因与抗癌基因的表达^[12],因此亚硒酸钠可能影响了成纤维细胞中的一些基因的表达,从而抑制成纤维细胞的增殖;(3)硒化合物的抗纤维化的作用,可抑制成纤维细胞中 I、III 型胶原的表达和分泌。在调控细胞凋亡的信号通路当中 Wnt/ β -catenin 信号通路是一条经典的凋亡信号通路,本试验的下一步研究就是继续探明亚硒酸钠抑制增生性瘢痕成纤维细胞的分子机制,研究方向就是 Wnt/ β -catenin 凋亡信号通路方向。增生性瘢痕成纤维细胞的本质就是由于成纤维细胞的过度增生,在细胞增殖的过程中,可能是由于细胞的分裂速度过快或者某些信号通路的异常调节,Wnt/ β -catenin 信号通路的异常激活可

能会导致成纤维细胞的增生活跃,导致细胞周期的异常,在这一点上,成纤维细胞和肿瘤细胞的增殖有一定的相似性。进一步研究 Wnt/ β -catenin 信号通路在亚硒酸钠作用后在成纤维细胞内的表达对其抑制成纤维细胞的增殖机制更清楚。

亚硒酸钠是微量元素硒的一种无机物,它药理作用机制复杂,具有较强的抗氧化性、增强免疫力、抗肿瘤作用促进细胞凋亡、抑制心肌成纤维细胞 I 型胶原合成、抗衰老等作用,而这些作用可能协同拮抗增生性瘢痕的增生,在抑制增生性瘢痕成纤维细胞增殖方面的具体作用机制正在进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 岳丽青. 烧伤患者生活质量研究进展[J]. 中华护理杂志, 2006,41(7):652-655.
- [2] 申华峰,任立群,张秀云,等. 硒和维生素 E 对心肌成纤维细胞 I 型胶原合成代谢的影响[J]. 吉林大学学报:医学版,2005,31(5):738-740.
- [3] 胡清泉,熊慧,邹立津,等. 不同浓度富硒温泉水对增生性瘢痕成纤维细胞增殖的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2011,15(37):6923-6926.
- [4] 林尊文,徐少宏,游敏,等. 人增生性瘢痕成纤维细胞的改良培养和鉴定[J]. 实用医学杂志,2011,27(24):4367-4369.
- [5] Bock, Burk RF. Selenium in biology and human Health [J]. New York Springer-Verlag,1994:9-24.
- [6] Carlson BA, Yoo MH, Shrimali RK, et al. Session 2: micronutrients and the immune system role of selenium-containing proteins in t-cell and macrophage function [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2010, 69(3): 300-310.
- [7] Zeng H, Wu M, Methylselenol BJ, et al. Induces cell cycle arrest in G₁ phase and apoptosis via the xtracellular-regulated kinase 1/2 pathway and other cancer signaling genes [J]. J Nutr, 2009, 139(9): 1613-1618.
- [8] 孟惠平,吕明. 微量元素硒的抗衰老作用研究[J]. 微量元素与健康研究,2008,25(5):62-64.
- [9] 陈少军,阴正勤. 激光损伤视网膜后 I/III 型胶原基因表达与伤口愈合、纤维化及瘢痕形成的关系[J]. 现代康复, 2001,5(16):46.49.
- [10] 邱林,金先庆,向代理,等. 胶原构成与不同年龄增生性瘢痕形成的研究[J]. 重庆医科大学学报,2003,28(4):521-524.
- [11] Wu Y, Zhang H, Dong Y, et al. Endoplasmic reticulum stress signal mediators are targets of Selenium action[J]. Cancer Res,2005,65(19):9073-9079.
- [12] 李杨,尚德静. 硒化合物诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展[J]. 中国生化药物杂志,2008,29(1):58-61.