

龙葵碱对人结肠癌鸡胚移植模型血管生成的影响*

张桃, 谢铭, 贺新媛, 杨雪峰[△]

(遵义医学院附属医院胃肠外科, 贵州遵义 563000)

摘要:目的 建立人结肠癌鸡胚移植模型, 研究龙葵碱对其血管生成的影响。方法 将鸡胚分为对照组和低剂量组、中剂量组、高剂量组(均 $n=10$), 将培养的人结肠癌细胞系 HT-29 细胞株接种到鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)上, 通过立体显微镜、Image-pro plus 6.0 图像分析软件及免疫组织化学苏木精-伊红(HE)染色法, 观察移植瘤在 CAM 上血管生成的特点, 及不同龙葵碱剂量对血管生成的影响。结果 HT-29 细胞接种到 CAM 第 3~5 天, 大量血管向瘤体集中, 长入或跨越瘤体表面, 肿瘤迅速生长。给药后第 5 天进行拍照, 图像分析, 定量计算血管新生面积明显低于对照组, 且呈剂量依赖性, 各组间差异有统计学意义($P<0.01$)。免疫组织化学检测表明不同剂量龙葵碱的微血管密度明显低于对照组, 与血管新生面积相一致; ki-67 抗原表达指数逐渐下降, 实验组低于对照组, 且各组间差异有统计学意义($P<0.01$)。结论 龙葵碱能明显抑制人结肠癌 HT-29 细胞株诱导的血管生成, 从而抑制肿瘤的生长, 为抗肿瘤血管生成的治疗方面提供了重要依据。

关键词:龙葵碱; 人结肠癌 HT-29 细胞株; 鸡胚绒毛尿囊膜; 血管新生面积; 微血管密度

中图分类号:R735.3

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2015)02-0155-03

Effects of Solanine on the human colon cancer in chicken embryo transplantation model angiogenesis

Zhang Tao, Xie Ming, He Xinyuan, Yang Xuefeng[△]

(Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563000, China)

Abstract: Objective To establish chicken embryo transplantation model of human colon cancer and to research the effect of solanine on angiogenesis. **Methods** Cases with chicken embryos were divided into the low-, mid- and high dose solanine group and control group, with 10 cases in each groups, and then the cultured human colon cancer cell line HT-29 cell lines were inoculated to the chicken embryo villus allantois membrane (CAM). We observed the characteristics of the transplanted tumor in CAM angiogenesis by the stereo microscope. Image analysis software of Image-pro plus 6.0 and immunohistochemical method were used to observe the effect of different dose of solanine on angiogenesis. **Results** HT-29 cell lines were inoculated to CAM 3-5 days, a large number of blood vessels concentrated in tumors, growing into or acrossing the surface of tumors. While tumors also rapidly grew. We took photo on the 5th day after receiving medicine and did imaging analysis. Then we calculated the area of angiogenesis in experimental group, which was significantly lower than that of the control group, quantitatively in a dose-dependent manner. There were significant differences among the groups($P<0.01$). Microvascular density of 3 different dose of solanine was significantly lower than that of the control group by immunohistochemical method; the expression of Ki-67 antigen index decreased gradually, which was highest in the control group, and there were significant differences among the groups ($P<0.01$). **Conclusion** Solanine could inhibit angiogenesis induced by human colon cancer HT-29 cell lines obviously, thus inhibiting the growth of tumor and providing an important basis for the treatment of anti-tumor angiogenesis.

Key words: solanine; human colon cancer cell line-HT-29 cell lines; chicken embryo villus allantois membrane; angiogenesis area; microvascular density

结肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一, 其发生、发展及转移与肿瘤血管生成密切相关, 因此抑制肿瘤血管生成过程对于抗肿瘤研究有着重要意义。寻找高效、低毒、较少产生耐药性的血管生成抑制剂是抗肿瘤血管生成治疗的热点之一。作为传统中草药龙葵, 其提取物龙葵碱, 近年来备受关注, 龙葵碱在抗肿瘤方面已取得了较好的成果, 但能否抑制人结肠癌诱导的血管生成, 使肿瘤发展受到影响, 至今无相关报道。因此设计本实验观察龙葵碱对人结肠癌 HT-29 细胞株移植瘤的血管生成的影响, 现报道如下。

1 材料与方

1.1 材料 人结肠癌细胞系 HT-29 细胞株由遵义医学院中心实验室提供。实验试剂 RPMI 1640 培养基、南美胎牛血清、胰蛋白酶为 Hyclone 公司产品。龙葵碱(纯度 95%)购自陕西慈缘生物技术有限公司; 明胶海绵由遵义医学院附属医院赠送。受精鸡蛋购自广东南雄养鸡场, 平均 55~60 g/个, 全自动

数显型孵化机购自德州德兴孵化设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HT-29 细胞生长于含 10% 灭活胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度的恒温培养箱中培养, 3~5 d 传代 1 次, 实验时采用对数生长期的细胞。

1.2.2 鸡胚孵育 将受精鸡蛋予以高锰酸钾液消毒后, 气室向上置于温度为 38.2 °C、湿度 60% 的孵化机中孵育, 每天翻蛋 1 次。

1.2.3 龙葵碱液的制备 将纯度 95% 的龙葵碱 5 mg 溶于 1 mL 二甲基亚砜(DMSO)液中, 用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)999 mL 调整含龙葵碱的 DMSO, 使 DMSO 液浓度在 0.1% 以下, 抽取 100 mL 含龙葵碱的 PBS 液分别溶于 30、40、50 mL 的 PBS 液, 配置成剂量为 150、200、250 μg/mL 的龙葵碱, 无菌保存备用。

1.2.4 明胶海绵制备 将明胶海绵剪成大小约 $0.5\text{ mm} \times 0.5\text{ mm}$, 无菌保存备用。

1.2.5 人结肠癌鸡胚移植模型的建立

1.2.5.1 鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)制备 参照参考文献[1]方法并加以改进,在照蛋器下,选取孵育至 9 d 生长较好的鸡胚,距胎头下方 $0.5 \sim 1.0\text{ cm}$ 处划定开窗位置,其大小约 $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$,予 75% 乙醇消毒后置于超净台上,用无菌锯片在鸡胚上沿划定的开窗大小轻轻划开,用无菌眼科镊沿开口打开蛋壳,用 5 mL 的无菌注射器刺破卵壳膜,并加入无菌生理盐水 1 滴后使卵壳膜与 CAM 分离,制造人工气室后去除卵壳膜后暴露 CAM。

1.2.5.2 HT-29 细胞接种 取生长对数期的细胞,消化、离心,用 PBS 调整细胞数为 4×10^6 个/mL^[2],以制作好的明胶海绵为载体,取 $20\ \mu\text{L}$ HT-29 细胞悬液接种于 CAM 相对无血管区域。用无菌封口膜封口,置于孵化机继续孵育。

1.2.6 分组治疗 将接种 HT-29 细胞的鸡胚于继续孵育后的第 2 天,分为对照组 10 个和实验组(低、中、高剂量)各 10 个。实验组去除封口膜后分别加入 $20\ \mu\text{L}$, 剂量为 150、200、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的龙葵碱,做好标记;对照组给予等量的 PBS。封口膜封口后继续孵育 5 d,每天观察鸡胚的生长情况及血管特性。

1.2.7 固定取膜 给药后第 5 天,用 4% 的甲醛溶液原位固定移植瘤 $15 \sim 20\text{ min}$,以接种区为中心用眼科镊剪下 CAM,平铺于平皿中立体显微镜拍照,收集 CAM 上移植瘤血管图片,用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件处理图像,收集数据;取下的移植瘤进行苏木精-伊红(HE)染色,常规石蜡包埋、切片,采用 Envision 二步法,检测肿瘤组织的 CD34 抗原标记的微血管密度(MVD)及 ki-67 抗原表达。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HT-29 细胞移植后肿瘤新生血管的生成 接种 HT-29 细胞 24 h 内,细胞呈淡白色黏附于 CAM 接种区,除 CAM 上原有的正常血管外,未见明显的血管变化。2 d 后接种区域的癌细胞开始聚集,并可见少量微细的血管向瘤体集中。3~5 d

后移植瘤迅速生长,直径可达 5 mm,大量的新生血管接近肿瘤组织,呈放射状,部分血管长入或跨越瘤体表面,排列紊乱,甚至原有的 CAM 上粗大血管也向移植瘤靠近,瘤体也由最初的苍白色变成深褐色,部分瘤体表面有白色小点,同时鸡胚活动明显,见图 1。

表 1 不同剂量的龙葵碱对微血管面积、MVD、ki-67 抗原的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	微血管面积	MVD	ki-67 抗原
低剂量	13.21 ± 0.89^a	24.45 ± 3.86^a	34.12 ± 3.48^a
中剂量	11.53 ± 0.82^a	20.30 ± 3.68^a	28.24 ± 3.33^a
高剂量	8.92 ± 0.79^a	16.40 ± 3.51^a	24.74 ± 2.31^a
对照组	22.91 ± 1.45	37.83 ± 4.03	58.75 ± 4.29

^a: $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.2 龙葵碱对肿瘤微血管面积及 ki-67 抗原的作用 在实验组中,应用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件定量处理图片和收集数据后,结果表明:不同给药剂量的龙葵碱,CAM 移植后肿瘤的微血管面积分别为 (13.21 ± 0.89) 、 (11.53 ± 0.82) 、 (8.92 ± 0.79) ,明显低于对照组 (22.91 ± 1.45) ($P < 0.01$),其组间的微血管面积也有明显差异 ($P < 0.01$),见表 1、图 2。

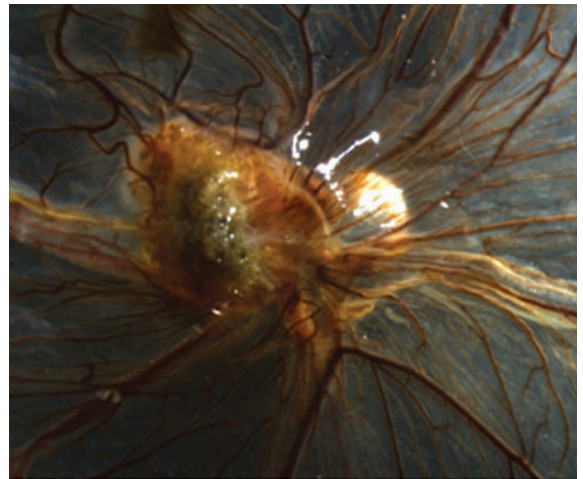
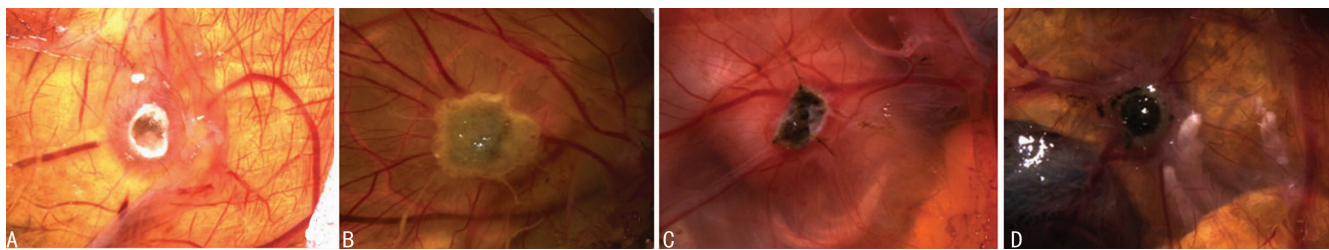
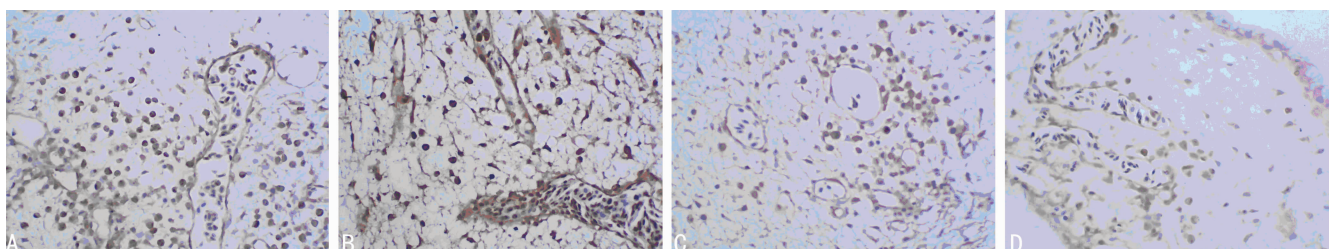


图 1 HT-29 细胞移植后肿瘤新生血管的生成



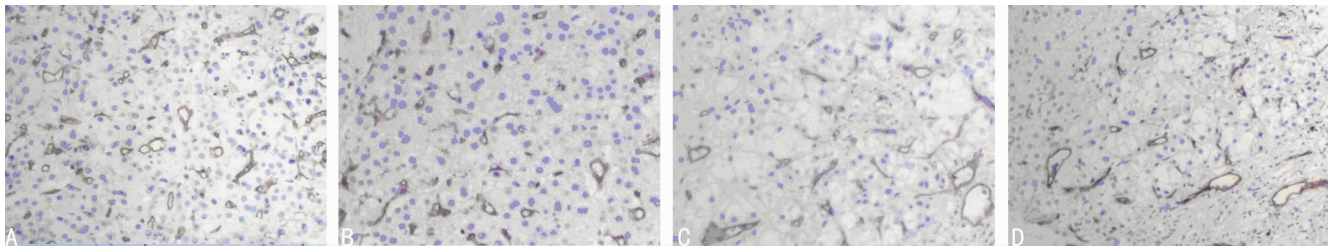
A: 对照组; B: 低剂量组; C: 中剂量组; D: 高剂量组。

图 2 不同剂量龙葵碱血管新生面积



A: 对照组; B: 低剂量组; C: 中剂量组; D: 高剂量组。

图 3 不同剂量龙葵碱 ki-67 抗原表达



A: 对照组; B: 低剂量组; C: 中剂量组; D: 高剂量组。

图 4 不同剂量龙葵碱 CD34 抗原表达

对移植瘤行 HE 染色后,光镜下可见瘤体组织结构与人结肠癌组织相似,表现为细胞分化差,异型性明显,核分裂相常见。部分肿瘤组织形成类似腺管样组织。免疫组织化学显示随着龙葵碱剂量的增加,肿瘤 MVD 也相应降低,且具有剂量依赖性,各组间差异有统计学意义($P < 0.01$),明显低于对照组(37.83 ± 4.03) ($P < 0.01$),与微血管面积的降低程度相一致;ki-67 抗原表达分别为(34.12 ± 3.48)、(28.24 ± 3.33)和(24.74 ± 2.31),与龙葵碱剂量呈负相关($r = -0.789$),同时低于对照组(58.75 ± 4.29) ($P < 0.01$),且各组间差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1,图 3、4。

3 讨论

现有的研究表明,中药龙葵的提取物能通过诱导细胞凋亡、改变细胞膜通透性以及抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达等多种途径达到抗肿瘤作用。Lin 等^[3]、高世勇等^[4]研究发现龙葵提取物能增加 Bcl-2 相关 X 蛋白的表达、下调 B 淋巴细胞瘤-2 蛋白,使 B 淋巴细胞瘤-2 蛋白/Bcl-2 相关 X 蛋白比值下降,激活 caspase 家族的活性,诱导细胞凋亡;也有文献报道龙葵碱也可通过活化卡巴蛋白的表达,抑制核转录因子传导通路而诱导细胞凋亡^[5-6];同时研究发现龙葵碱能显著降低膜电位,开放线粒体通透性转变孔道,使细胞外 Ca^{2+} 顺浓度梯度转运至细胞内,使细胞内 Ca^{2+} 升高启动细胞凋亡机制^[7];季宇彬等^[8]研究发现龙葵碱能增加细胞内 α -微管蛋白,使细胞内微管系统发生紊乱,细胞阻滞在 S 期,从而抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的“正常”代谢。常乐等^[9]研究表明龙葵多糖粗提物能使人胃癌 MGC-803 细胞在 G_0/G_1 期和 G_2/M 期的数量下降,阻止细胞周期的进程。聂巧珍等^[10]研究表明激光照射联合龙葵多糖能抑制细胞中 VEGF mRNA 的表达,导致新生血管受到抑制,肿瘤组织增生程度减弱。但龙葵碱是否能抑制结肠癌细胞诱导的血管发生与发展未见报道。本实验发现将不同剂量的龙葵碱于接种 HT-29 细胞成活鸡胚模型中 2 d 后加入接种区域,3~5 d 后肿瘤组织与对照组相比较,周围血管数明显减少,肿瘤组织生长缓慢,且随着龙葵碱的剂量增加,新生血管减少越显著,表现为剂量依赖性。推测龙葵碱可能通过抑制血管内皮细胞的增殖、转移,改变内皮细胞通透性,甚至引起内皮细胞凋亡,继而使新生血管生成减少,肿瘤组织发生缺血坏死。龙葵碱对肿瘤血管内皮细胞的影响机制有待进一步研究。

肿瘤血管的生成是在宿主微血管床基础上,由肿瘤组织诱导内皮细胞增殖和迁移而产生管型血管的过程,也是肿瘤生长、侵袭和转移的必要条件。目前对鸡胚尿囊膜新生血管面积的计数方法主要有:直接计数 CAM 上血管数目,另一个是应用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件对图片进行分析,后者可靠程度高,避免了人为因素的影响而造成的误差,本实验用 Image-pro plus 6.0 图像分析软件分析龙葵碱抑制人结肠癌诱导的 CAM 新生血管,发现不同给药剂量的 CAM 上血管新生面积明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。证实了

龙葵碱对肿瘤血管有着明显的影响,可致肿瘤生长缓慢。

MVD 与肿瘤组织分级、生长、侵袭及转移密切相关,可以作为恶性肿瘤生物学行为的主要参数。目前诸多学者较多采用 CD31、CD34 或者 Υ 因子抗体标记血管内皮细胞,运用 Weidner 技术对标记的细胞计数,进而检测 MVD^[11]。本研究发现龙葵碱组 MVD 值明显低于对照组 MVD ($P < 0.01$),且不同剂量间的 MVD 值差异有统计学意义($P < 0.01$)。提示龙葵碱能降低肿瘤 MVD 值,抑制肿瘤组织生长,可影响肿瘤的侵袭及转移。

Ki-67 抗原与肿瘤细胞增殖标记的相关核抗原,主要分布于细胞核中,其作用与细胞的有丝分裂密切相关,不表达于细胞的 G_0 期, S 、 G_2 期开始升高,在 M 期达到高峰。研究显示 Ki-67 蛋白表达对早期诊断结肠直肠癌有较高的价值^[12],其表达越高,显示肿瘤组织恶性越高,但与结肠直肠癌组织是否有转移及淋巴结转移等无相关性。结果表明 Ki-67 抗原可反映肿瘤组织增生情况,为研究抗肿瘤增殖提供重要依据。本研究结果表明,不同剂量的龙葵碱干扰 HT-29 细胞移植瘤中 Ki-67 抗原的表达明显低于对照组,且随着剂量的增加,低表达越显著,其差异有统计学意义($P < 0.01$)。这现象是龙葵碱直接作用于瘤体组织,还是通过抑制肿瘤诱导的新生血管而抗肿瘤作用,或者同时作用于二者,还待进一步研究。同时在本实验研究中发现,ki-67 的免疫表达背景像更多的脂肪组织,染色较浅,这可能受鸡胚活动的影响。

综上所述,中药龙葵的提取物龙葵碱能明显抑制鸡胚尿囊膜模型上人结肠癌诱导的微血管的生长,阻断了肿瘤组织生长需要的营养物质,从而达到抗肿瘤增殖作用,为临床指导龙葵碱治疗肿瘤方面提供了新的依据。

参考文献:

- [1] 付生法,陆应磷,张朝山,等.检测血管生长因子作用的鸡胚绒毛尿囊膜技术[J].军事医学科学院刊,1993,17(4):294-297.
- [2] 陈茂松,黄卓垣,张进华,等.人大肠癌鸡胚移植模型的建立及其形态学和肿瘤生物学研究[J].解放军医学杂志,1998,23(4):284-286.
- [3] Lin HM, Tseng HC, Wang CJ, et al. Induction of autophagy and apoptosis by the extract of Solanum nigrum Linn in HepG2 cells. [J] Agric Food Chem, 2007, 55(9): 3620-3628.
- [4] 高世勇,徐丽丽,季宇彬.龙葵碱调控 Bcl-2 与 Bax 蛋白表达及 caspase-3 活性诱导 HepG2 细胞凋亡的研究[J].中草药,2009,40(10):1607-1612.
- [5] 章俊,施国伟.龙葵碱对前列腺癌细胞系 PC-3 的体外抑制作用[J].中华男科学杂志,2011,17(3):284-287.
- [6] Wang HC, Wu D H, Chang YC, et al. (下转第 160 页)

年大鼠急性大量失血后在未能及时补充血容量的情况下,可以导致其发生以空间学习记忆能力受损为主要表现的认知功能障碍,与曹学照等^[4]的研究结果相一致。

Cao 等^[6]对老年大鼠行肝部分切除术并在术后应用 Morris 水迷宫评估其空间学习记忆能力,证实了中等大小手术创伤可影响实验大鼠的空间学习记忆能力。刘汉兴等^[7]对大鼠进行双侧颈总动脉结扎致大鼠慢性脑缺血来研究,证实慢性脑缺血造成了大鼠的空间学习记忆能力的损害。

目前大量失血导致老年大鼠空间学习记忆能力损害的机制是否与手术创伤或者慢性脑缺血引起其损害的机制相同尚不明确。有文献报道急性大量失血后体循环血容量减少、全脑血流量减少、脑灌注压下降,同时急性贫血导致血液系统携氧能力降低,可使局部组织缺氧^[8-9]。还可能直接影响中枢神经细胞功能,导致海马、前脑室白质及基底神经节等敏感性区域发生缺血缺氧性损害,进而失血后认知功能、记忆能力受到影响^[10-11]。

Paul 等^[12]研究发现空间学习记忆能力依赖于完整的海马结构,但是也有研究发现空间学习记忆功能的障碍也可发生在无海马结构破坏但是有慢性脑血流低灌注导致的脑白质损伤的大鼠^[13]。尚游等^[14]通过对兔失血性休克的研究发现,失血性休克发生时实验兔血浆中的肾上腺素等激素水平明显升高,证实失血性休克引发了严重的应激反应。同时有文献报道,肾上腺皮质激素受体存在于与认知功能密切相关的海马区,应激时糖皮质激素分泌增加,长时间高水平的糖皮质激素可造成海马神经元的损害,这种损害长期存在导致海马区糖皮质激素受体减少,减弱了对肾上腺皮质的反馈抑制作用,进而使糖皮质激素处于高分泌状态,最终使海马神经元发生永久性损害,造成其学习与记忆能力受损^[15]。因此老年大鼠急性大量失血后认知功能障碍发生可能与应激及脑组织缺血缺氧有关,其发生机制还有待于进一步研究。

参考文献:

- Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning[J]. *Int J Neurosci*, 1989, 48(1/2): 29-69.
- Melgar MA, Park H, Rafols JA. A model of global forebrain ischemia/reperfusion in the awake rat[J]. *Neurol Res*, 2002, 24(1): 97-106.
- Peng TC, Liao KW, Lai HL, et al. The physiological changes of cumulative hemorrhagic shock in conscious rats[J]. *J Biomed Sci*, 2006, 13(3): 385-394.
- 曹学照, 郭丽丽, 马虹, 等. 手术创伤对老年鼠和成年鼠术后空间学习记忆能力的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2012, 41(9): 809-812.
- D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory[J]. *Brain Res Rev*, 2001, 36(1): 60-90.
- Cao XZ, Ma H, Wang JK, et al. Postoperative cognitive deficits and neuroinflammation in the hippocampus triggered by surgical trauma are exacerbated in aged rats[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2010, 34(8): 1426-1432.
- 刘汉兴, 章建军, 张磊, 等. Tempol 对慢性脑缺血大鼠脑白质损伤及认知功能的影响[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(17): 1330-1334.
- Karkouti K, Beattie WS, Wijeyesundera DN, et al. Hemodilution during cardiopulmonary bypass is an independent risk factor for acute renal failure in adult cardiac surgery[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 129(2): 391-400.
- Tsui AK, Dattani ND, Marsden PA, et al. Reassessing the risk of hemodilutional anemia: some new pieces to an old puzzle[J]. *Can J Anaesth*, 2010, 57(8): 779-791.
- Dodds C, Allison J. Postoperative cognitive deficit in the elderly surgical patient[J]. *Br J Anaesth*, 1998, 81(3): 499.
- Bekker AY, Weeks EJ. Cognitive function after anaesthesia in the elderly[J]. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 2003, 17(2): 259-272.
- Paul CM, Magda G, Abel S. Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents[J]. *Behav Brain Res*, 2009, 203(2): 151-164.
- Miki K, Ishibashi S, Sun L, et al. Intensity of chronic cerebral hypoperfusion determines white/gray matter injury and cognitive/motor dysfunction in mice[J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(5): 1270-1281.
- 尚游, 袁世荣, 姚尚龙. 高渗氯化钠羟乙基淀粉溶液对失血性休克兔应激反应的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2005, 25(1): 37-39.
- 沈丽娟. 老年人术后认知功能障碍的相关因素[J]. *医学信息*, 2009, 1(6): 1-3.
- Solanum nigrum Linn. water extract inhibits metastasis in mouse melanoma cells in vitro and in vivo[J]. *Agric Food Chem*, 2010, 58(22): 11913-11923.
- 季宇彬, 高世勇. 龙葵碱诱导 HepG2 细胞凋亡的线粒体通路研究[J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43(4): 272-275.
- 季宇彬, 刘家源, 高世勇. 龙葵碱对乳腺癌 MCF-7 细胞微管系统的影响[J]. *中草药*, 2012, 43(1): 111-114.
- 常乐, 刘艺. 龙葵多糖对人胃癌 MGC-803 细胞增殖的影响[J]. *牡丹江医学院学报*, 2012, 33(4): 24-26.
- 聂巧珍, 韩伊林, 苏秀兰. 激光照射联合龙葵多糖对荷瘤小鼠肿瘤增殖的影响[J]. *内蒙古中医药*, 2007, 26(10): 37-38.
- Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early stage breast carcinoma[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1992, 84(24): 1875-1887.
- 王玉环, 王春, 孙振柱. Her-2、P-53 和 Ki-67 在结直肠癌中的表达及意义[J]. *临床荟萃*, 2011, 26(14): 1228-1232.

(收稿日期: 2014-09-14 修回日期: 2014-10-14)

(上接第 157 页)

- Solanum nigrum Linn. water extract inhibits metastasis in mouse melanoma cells in vitro and in vivo[J]. *Agric Food Chem*, 2010, 58(22): 11913-11923.
- 季宇彬, 高世勇. 龙葵碱诱导 HepG2 细胞凋亡的线粒体通路研究[J]. *中国药理学杂志*, 2008, 43(4): 272-275.
- 季宇彬, 刘家源, 高世勇. 龙葵碱对乳腺癌 MCF-7 细胞微管系统的影响[J]. *中草药*, 2012, 43(1): 111-114.
- 常乐, 刘艺. 龙葵多糖对人胃癌 MGC-803 细胞增殖的影响[J]. *牡丹江医学院学报*, 2012, 33(4): 24-26.
- 聂巧珍, 韩伊林, 苏秀兰. 激光照射联合龙葵多糖对荷瘤

(收稿日期: 2014-09-11 修回日期: 2014-10-22)