

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.17.018

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200722.1616.006.html\(2020-07-23\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200722.1616.006.html(2020-07-23))

爱康方含药血清对人肺腺癌 A549 细胞 PI3K、Akt 及 p-Akt 表达的影响^{*}

林莹¹, 马科^{2,3△}, 陈丽军⁴, 马治国¹, 周丽萍⁵, 伏柏浓¹, 夏淑敏², 田亚佳²

(1. 宁夏回族自治区银川市中医医院内科 750001; 2. 宁夏医科大学中医学院, 银川 750004;
3. 宁夏医科大学回医药现代化教育部重点实验室, 银川 750004; 4. 宁夏医科大学总医院
内分泌科, 银川 750004; 5. 宁夏医科大学总医院中医科, 银川 750004)

[摘要] **目的** 初步观察爱康方 20% 浓度最佳含药血清对 A549 细胞 PI3K、Akt 及 p-Akt 表达的影响, 探讨其细胞的凋亡作用是否与磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt) 通路有关。 **方法** 参照课题组前期制备含药血清方法制备爱康方含药血清, 将 SD 大鼠 40 只分为 4 组: 生理盐水对照组(NS 组), 爱康方低、中、高剂量组, 每组 10 只, 制备含药血清。将 SD 大鼠分组对应所制备的含药血清, 调配成 20% 最佳含药血清一一对应干预 A549 细胞, 再补充只加 DMEM 培养基的细胞作为空白对照组。采用 Western blot 检测各组细胞 PI3K、Akt、p-Akt 表达。 **结果** 对于 PI3K, 培养 24 h 后, 与 NS 组和空白对照组比较, 除低剂量组, 中、高剂量 PI3K 蛋白表达水平下调($P<0.05$); 培养 48 h 后, 与空白对照组和 NS 组比较, 低、中、高剂量组 PI3K 蛋白表达水平均下调($P<0.05$)。对于 Akt, 培养 24 h 后, 与空白对照组和 NS 组比较, 中、高剂量组 Akt 蛋白表达水平下调($P<0.05$); 培养 48 h 后, 与空白对照组和 NS 组比较, 中、高剂量组 Akt 蛋白表达水平下调($P<0.05$)。对于 p-Akt, 培养 24 h 后, 与空白对照组和 NS 组比较, 高剂量组 p-Akt 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。 **结论** 爱康方含药血清能下调 A549 细胞 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达, 推测其发挥的凋亡作用可能与 PI3K/Akt 信号通路有关。

[关键词] 爱康方; A549 细胞; 磷酸肌醇 3-激酶类; 磷脂酰肌醇 3-激酶; 蛋白激酶 B; 信号传导

[中图法分类号] R734.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)17-2857-04

Effects of serum containing Ai Kang recipe on the expression of PI3K, Akt and p-Akt in human lung adenocarcinoma A549 cells^{*}

LIN Ying¹, MA Ke^{2,3△}, CHEN Lijun⁴, MA Zhiguo¹, ZHOU Liping⁵,
FU Bainong¹, XIA Shumin², TIAN Yajia²

(1. Department of Internal Medicine, Yinchuan Traditional Chinese Medicine Hospital, Yinchuan, Ningxia 750001, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 3. Hui Medical Modern Key Lab of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 4. Department of Endocrinology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China; 5. Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

[Abstract] **Objective** To preliminarily observe the effect of the 20% Ai Kang recipe of the best drug-containing serum on the expression of PI3K, Akt and p-Akt in A549 cells, and to explore the relationship between cell apoptosis and PI3K/Akt pathway. **Methods** Forty SD rats were divided into the control group (NS group), the low, medium and high dose of Ai Kang recipe groups (the low, medium and high group, 10 in each group). The corresponding drug-containing serum of each group of rats was adjusted to 20% concentration of the best drug-containing serum, then the best drug-containing serum was used to intervened the A549 cells. The A549 cells in the NS group were intervened with physiological saline, and then supplemented with the blank control group which interval cells with only DMEM medium. The expression of PI3K and Akt of each group

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金项目(81660829)。 作者简介: 林莹(1991—), 住院医师, 硕士, 主要从事中医药防治肿瘤研究。 △ 通信作者, E-mail: osmnmake@126.com。

was detected by Western blot. **Results** For PI3K, except for the low-dose group, the middle and high dose groups were lower than the NS group and the blank control group after 24 hours of culture ($P < 0.05$); The low, medium and high dose groups were lower than the NS group and the blank control group after 48 hours of culture ($P < 0.05$). For Akt, the high-dose group was significantly reduced when compared with the blank control group and the NS group after 24 hours of culture ($P < 0.05$), compared with the blank control group and NS group, the high and medium dose groups were significantly down-regulated ($P < 0.05$). For p-Akt, the high-dose group was significantly reduced when compared with the blank control group and the NS group after 24 hours of culture ($P < 0.05$). **Conclusion** Ai Kang recipe can down-regulate the expression of PI3K, Akt and p-Akt in A549 cells, which suggests that the apoptotic effect may be related to the PI3K/Akt signaling pathway.

[Key words] Ai Kang recipe; A549 cells; PI3K/Akt signaling pathway; PI3K; Akt; signal transduction

全球肺癌发病率和病死率一直居高不下, 预计至 2035 年, 全世界死于肺癌的人数将增加至 300 万, 高达 40% 的肺癌患者在 TNM 早期手术切除后复发^[1-3]。有报道表明, PI3K/Akt 信号通路中多个组分可作为单独或联合治疗肺癌的靶点, PI3K 涉及一个复杂信号网。在肺癌细胞中, 沉默 PI3K 的亚基可以减少非小细胞肺癌(NSCLC)细胞的增殖^[4-5]。国内对于 PI3K/Akt 信号通路在中医领域内的相关研究较少, 目前除单味中药外, 复方中药对其通路的研究较之更少。爱康方主要由金荞麦、通关藤、紫珠叶、桃仁、生薏米、臭壳虫、三七、血余炭和花蕊石组成, 临床中具有很好的清热化痰、散瘀解毒排脓的效果^[6]。笔者前期研究已证实爱康方可促进 A549 细胞凋亡^[7-8], 在此基础上, 笔者选取磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路, 以 A549 细胞作为研究对象, 沿袭课题组前期制备含药血清的方法, 以 20% 浓度为最佳含药血清进行细胞培养, 以初步观察爱康方对 PI3K、Akt、p-Akt 表达的影响, 进而探讨该方对细胞的凋亡作用是否与 PI3K/Akt 信号通路有关, 进一步明确爱康方抗 NSCLC 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料、动物及细胞

参照课题组前期动物种属选择及数量要求^[8], 选择 80 只无特定病原体(SPF)级雄性 SD 大鼠[体重(250±20)g, 购自宁夏医科大学动物实验中心, 生产许可证号: SCXK(宁)2016-0001]。人肺腺癌 A549 细胞株购自江苏南京凯基生物有限公司。爱康方由金荞麦(批号 1601687)、通关藤(批号 15000102)、生薏米(批号 1503112)、桃仁(批号 1510031)、紫珠叶(批号 1606102)、三七(批号 20140823)、血余炭(批号 1501073)及花蕊石(批号 20140826)组成(均购自成都明德药业公司)。臭壳虫购自云南楚雄市元谋县元马镇。兔抗人 PI3K p85 $\alpha + \gamma$ 单克隆抗体(# ab74136)购自美国 Abcam 公司, 兔抗人 Akt(包括 Akt1、Akt2、Akt3)多克隆抗体(# 4685), 兔抗人 p-Akt(Ser473)单克隆抗体购自美国 CST 公司。

1.2 主要仪器

CO₂ 培养箱、超净工作台购自苏州苏净安泰公司, 酶标仪、凝胶玻璃板、固定夹、垂直电泳槽、转移电泳槽等购自美国 Bio Rad 公司, 曝光仪购自国制 Chem Doc 公司, UVP 凝胶成像系统购自美国 Invitrogen 公司。

1.3 方法

1.3.1 传统煎药制备^[9-10]

爱康方组成(中药饮片): 薏苡仁 30 g、桃仁 12 g、金荞麦 30 g、紫珠叶 30 g、三七 6 g、血余炭 2 g、花蕊石 12 g、通关藤 30 g、臭壳虫 6 g, 所购买的中药饮片经药品鉴定后, 参照人与动物体表面积换算及课题组前期实验所采用传统水煎药物制备法^[8-9], 药液浓缩至每 1 mL 含生药量分别为 1.58 g(低剂量)、3.16 g(中剂量)、4.74 g(高剂量), 相当于临床等效计量的 1、2、3 倍。所有药物储存条件为 4℃ 备用。

1.3.2 含药血清的制备^[7-8]

将 40 只 SD 大鼠按照体重由轻到重进行排序编号, 然后采取随机数字表进行分组, 共分 4 组: 生理盐水对照组(NS 组), 低、中、高剂量组。低、中、高剂量组给药方式: 已浓缩的低、中、高剂量爱康方一次给予 1 L/kg 灌胃, 2 次/天。第 7 天给药 3 h 后, 用 10% 水合氯醛(0.3 mL/kg)麻醉大鼠后采用 10 mL 注射器从心尖部位抽取约 6~8 mL 血液, 立即加入采血管静置, 30 min 后迅速离心(转速 4 000 r/min) 10 min, 用吸管吸取血清, 放在 58℃ 水浴 35 min, 用 0.22 μ m 过滤器过滤并组内进行混合, 置于 -78℃ 冰箱保存。

1.3.3 细胞培养及分组

用含 1% 双抗、10% 胎牛血清高糖型培养基培养 A549 细胞, 将其置于培养瓶放在 37℃、5% CO₂ 条件下的培养箱内培养。第 2 天, 当细胞融合度达 80% 时进行传代, 最后用对数生长期细胞进行实验。依据 SD 大鼠分组对应所制备的含药血清, 每组均调配成 20% 最佳含药血清——对应干预细胞, 所培养的细胞分为 5 组: 空白对照组(不加含药血清, 只加 DEME 培养基)、NS 组、低剂量组、中剂量组、高剂量组。NS 组、

低剂量组、中剂量组、高剂量组分别添加相应等体积的无药血清、低剂量爱康方含药血清、中剂量爱康方含药血清、高剂量爱康方含药血清继续培养 24 h、48 h。

1.3.4 Western blot 检测 PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达

将至少约 1.8×10^6 个 A549 细胞种植于 25 cm 透气培养瓶放入培养箱培养,待药物干预 24、48 h 后收集细胞,依照蛋白总提取试剂盒步骤操作。提取的蛋白经浓度测定比最终调成一个终浓度,煮沸 5 min 使其变性后上样进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),而后 80 V 恒压转膜,洗膜后加一抗(PI3K、Akt 抗体稀释比 1 : 500),将膜放置于在 4 ℃ 条件孵育过夜,再次洗膜后孵育二抗 90 min,在黑暗中进行曝光及条带扫描。所测目的蛋白表达水平以灰度值比值(目的条带灰度值/内参条带灰度值)表示。

1.4 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件进行统计学处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析 LSD 法或 SNK-*q* 法检验,计数资料采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

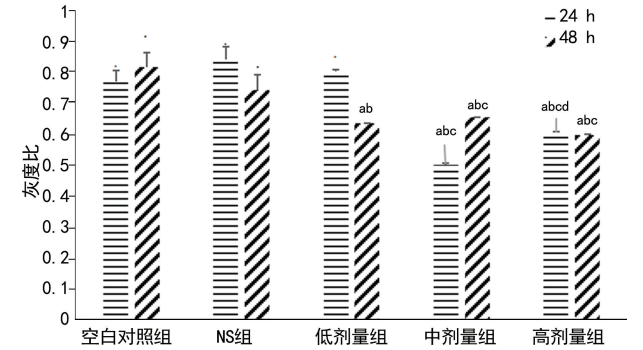
2 结 果

2.1 爱康方对 A549 细胞 PI3K 表达的影响

培养 24 h 时,NS 组细胞 PI3K 表达水平稍高于空白对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$);与 NS 组和空白对照组比较,除低剂量组,中、高剂量 PI3K 表达水平下调,差异有统计学意义($P<0.05$);低、中、高各剂量组两两比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。培养 48 h 时,空白对照组 PI3K 表达水平稍高于 NS 组,但差异无统计学意义($P>0.05$);低、中、高各剂量组 PI3K 表达水平均低于空白对照组和 NS 组($P<0.05$),其中高剂量组 PI3K 表达水平最低;低、中、高各剂量组两两比较,除中、高剂量组间差异无统计意义($P>0.05$),其余比较差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1、4。

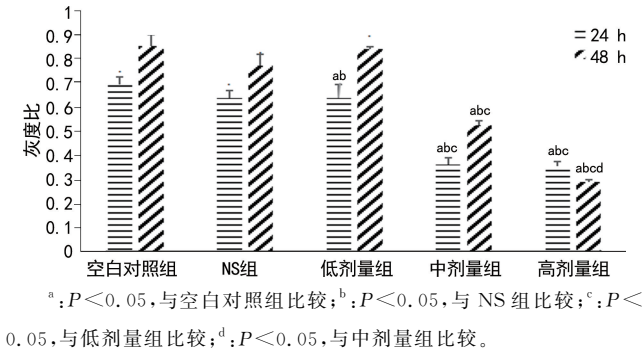
2.2 爱康方对 A549 细胞 Akt 表达的影响

培养 24 h 时,NS 组 Akt 表达水平低于空白对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。低、中、高剂量组分别与空白对照组及 NS 组比较,Akt 表达水平均下调($P<0.05$),高剂量组下调最为显著;低、中、高各剂量组两两比较,中、高剂量组间差异无统计意义($P>0.05$),其余比较差异有统计学意义($P<0.05$)。培养 48 h,空白对照组 Akt 表达水平稍高于 NS 组,但差异无统计学意义($P>0.05$);低、中、高各剂量组与空白对照及 NS 组比较,低剂量组水平稍高于该两组,但差异无统计学意义($P>0.05$),中、高组表达水平明显下调,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2、4。



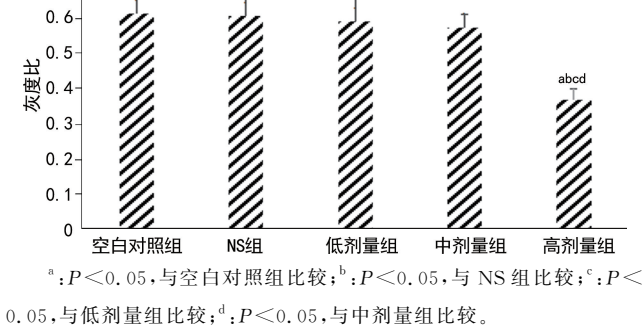
a: $P<0.05$,与空白对照组比较; b: $P<0.05$,与 NS 组比较; c: $P<0.05$,与低剂量组比较; d: $P<0.05$,与中剂量组比较。

图 1 爱康方含药血清作用 A549 细胞 24、48 h PI3K 的表达



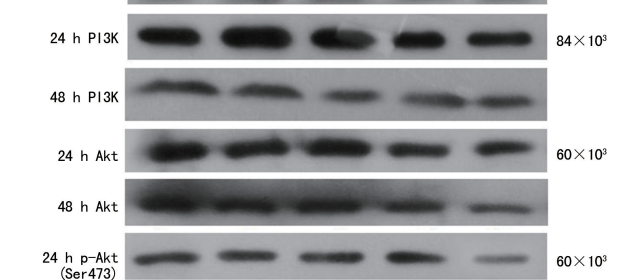
a: $P<0.05$,与空白对照组比较; b: $P<0.05$,与 NS 组比较; c: $P<0.05$,与低剂量组比较; d: $P<0.05$,与中剂量组比较。

图 2 爱康方含药血清作用 A549 细胞 24、48 h Akt 的表达



a: $P<0.05$,与空白对照组比较; b: $P<0.05$,与 NS 组比较; c: $P<0.05$,与低剂量组比较; d: $P<0.05$,与中剂量组比较。

图 3 爱康方含药血清作用 A549 细胞 24 h p-Akt 的表达



1:空白对照组;2:NS组;3:低剂量组;4:中剂量组;5:高剂量组。

图 4 Western blot 检测各组 A549 细胞 PI3K、Akt、p-Akt 表达

2.3 爱康方对 A549 细胞 p-Akt 表达的影响

培养 24 h 时,空白对照组与 NS 组间 p-Akt 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);低、中、高各剂量组分别与空白对照组及 NS 组比较,低、中剂量组 p-Akt 表达水平下调,但差异无统计学意义($P>0.05$),高剂量组 Akt 表达水平下调最为明显,且差异有统计学意义($P<0.05$)。低、中、高各剂量间比较,低、中剂量组组间差异无统计学意义($P>0.05$),比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 3、4。

3 讨论

有研究证实 PI3K/Akt 通路的异常激活会加速 NSCLC 细胞转移、增殖^[11]。IA 型 PI3K 可以被多种因素和特定的致癌基因所激活,使细胞产生 PIP3 与胞内 PH 域相应信号分子或蛋白结合磷酸化 Akt,进而激活其下游一系列相关分子,参予肺癌等细胞的增殖、凋亡、转移等^[11-13]。有研究者收集 NSCLC 术后病例发现癌组织 PI3K、Akt 阳性表达相当于癌旁组织的 5.8 倍,说明 Akt 高表达是 NSCLC 恶病质的重要因素^[14]。隋雨桐等^[15]制备的中药复方芪杉方作用于肺腺癌 A549 细胞后,PI3K、mTOR 表达与空白对照比较明显下调($P<0.01$),且使细胞 DNA 片段化而抑制增殖。

中医认为,正气虚损是肺癌发生的根本,与痰、瘀、毒邪兼夹有关,聚积成痞块郁久化癌毒。爱康方中金荞麦祛瘀排肺热之毒;薏苡仁排肺中湿热毒;紫珠叶散瘀排肺热毒;通关藤、苦、辛、凉,解毒平喘抗癌^[16];臭壳虫在我国民间又叫“骚巴巴”有解毒散结作用^[17]。通关藤、花蕊石参与多种癌细胞凋亡途径,抑制 PI3K/Akt 途径,促进卵巢癌细胞凋亡作用,下调 Bcl-2 抑制肝内癌细胞增殖等^[18-19]。因此,从复方角度出发,在爱康方促进 A549 细胞凋亡的实验基础上,可通过观察其含药血清对 PI3K、Akt、p-Akt 表达的影响,说明 PI3K/Akt 信号通路是否与细胞凋亡的作用有关。

对于 PI3K 蛋白而言,培养 24 时各组与空白对照组和 NS 组比较,除低剂量组,中、高剂量 PI3K 表达水平下调($P<0.05$);培养 48 h 时,低、中、高剂量组 PI3K 表达水平均低于空白对照组和 NS 组($P<0.05$)。对于 Akt 而言,培养 24 h 时,空白对照组与 NS 组组间差异无统计学意义($P>0.05$),剂量分别与上述两组比较,各组 Akt 水平均下调($P<0.05$),高剂量组下调最为显著;培养 48 时,中、高剂量 Akt 表达水平下调。因此,爱康方可下调 A549 细胞 PI3K、Akt 表达。

对于 p-Akt 来说,相较于空白对照组、NS 组,培养 24 h 时,爱康方高剂量组 p-Akt 表达水平显著降低($P<0.05$)。说明不同剂量爱康方可下调 p-Akt 表达

水平。但遗憾的是,由于实验周期和具体实验困难度的问题,培养 48 h 时,Western blot 结果由于蛋白上样跑胶所得到的目的条带产生边缘化效应,从而导致 p-Akt 表达检测结果失败,但培养 24 h 时 Western blot 结果亦可说明该蛋白低表达的问题,课题组后续工作仍在继续,期待有更多的实验结果来支持本次实验结论。

综上所述,爱康方含药血清能下调 A549 细胞 PI3K、Akt、p-Akt 的表达水平,可能于 PI3K/Akt 信号通路发挥的促凋亡作用有关。但该信号通路网复杂交织,且 Akt 包括 Akt1、Akt2 和 Akt3 3 种类型蛋白,到底通过该信号通路哪些具体靶点或作用 Akt 具体哪个位点的研究仍待进一步实施。

参考文献

- [1] DIDKOWSKA J,WOJCIECHOWSKA U,MANCZUK M,et al. Lung cancer epidemiology: contemporary and future challenges worldwide[J]. Ann Transl Med,2016,4(8):150.
- [2] WANG G N,GUO C,ZHAO H,et al. TIPE3 differentially modulates proliferation and migration of human non-small-cell lung cancer cells via distinct subcellular location[J]. BMC Cancer,2018,18(1):260.
- [3] WEN Y,SONGPING X,MENG W,et al. Bioinformatic analysis of prognostic value of ZW10 interacting protein in lung cancer[J]. Onco Targets Ther,2018,11:1683-1695.
- [4] PEREZ-RAMIREZ C,CANADAS-GARRE M,ANGEL MOLINA M,et al. PTEN and PI3K/AKT in non-small-cell lung cancer[J]. Pharmacogenomics,2015,16(16):1843-1862.
- [5] ZHANG M L,SAI B Q,CAO P F,et al. Iron oxide nanoparticles synergize with erlotinib to suppress refractory Non-Small cell lung cancer cell proliferation through the inhibition of ErbB/PI3K/AKT and PTEN activation[J]. J Biomed Nanotechnol,2017,13(4):458-468.
- [6] 马科,陈丽军,姬秀娥,等. 定量 PCR 和 Western blot 结合检测回药爱康方对肺癌细胞 EGFR、NF- κ B 的表达影响[J]. 中华中医药学刊,2016,34(12):2831-2835.
- [7] 边静,马科,陈丽军,等. 回药爱康方含药血清对人肺腺癌 A549 细胞生长增殖的影响[J]. 宁夏医科大学学报,2013,35(4):357-360,364.
- [8] 马科,马治国,周慧,等. 回药爱(下转第 2866 页)

- [6] YUMINE N, MATSUMOTO Y, OHTA K, et al. Claudin-1 inhibits human parainfluenza virus type 2 dissemination[J]. *Virology*, 2019, 531: 93-99.
- [7] VEAZEY K J, GOLDING M C. Selection of stable reference genes for quantitative RT-PCR comparisons of mouse embryonic and extra-embryonic stem cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6 (11): e27592.
- [8] AGGARWAL A, JAMWAL M, GANESH K V, et al. Optimal reference gene selection for expression studies in human reticulocytes[J]. *J Mol Diagn*, 2018, 20(3): 326-333.
- [9] HAYWARD S D, LIU J, FUJIMURO M. Notch and Wnt signaling: mimicry and manipulation by gamma herpesviruses[J]. *Sci STKE*, 2006, 2006(335): re4.
- [10] RADONIC A, THULKE S, BAE H G, et al. Reference gene selection for quantitative real-time PCR analysis in virus infected cells: SARS corona virus, Yellow fever virus, Human Herpesvirus-6, Camelpox virus and Cytomegalovirus infections[J]. *Virol J*, 2005, 2: 7.
- [11] WATSON S, MERCIER S, BYE C, et al. Determination of suitable housekeeping genes for normalisation of quantitative real time PCR analysis of cells infected with human immunodeficiency virus and herpes viruses[J]. *Virol J*, 2007, 4: 130.
- [12] ELIN E, NICKY D, ANNA F, et al. Investigation of reference gene expression during human herpesvirus 6B infection indicates peptidylprolyl isomerase A as a stable reference gene and TATA box binding Protein as a gene up-regulated by this virus[J]. *J Virol Methods*, 2016, 227: 47-49.
- [13] SURESH V K, MEENU T, RAHUL K, et al. 18S rRNA is a reliable normalisation gene for realtime PCR based on influenza virus infected cells[J]. *Virol J*, 2012, 9: 230.

(收稿日期: 2020-02-26 修回日期: 2020-05-13)

(上接第 2860 页)

- 康方含药血清对肺癌 A549 细胞凋亡的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(10): 146-150.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 1167.
- [10] 张志文, 戴永福, 马科, 等. 回药爱康方含药血清对人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 Bcl-2 和 p53 蛋白表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(3): 556-559.
- [11] GUERRIERO I, D'ANGELO D, PALLANTE P, et al. Analysis of miRNA profiles identified miR-196a as a crucial mediator of aberrant PI3K/AKT signaling in lung cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19172-19191.
- [12] LIU Q, LI X, LI C, et al. Deoxynojirimycin alleviates insulin resistance via activation of insulin signaling PI3K/AKT pathway in skeletal muscle of db/db mice[J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21700-21714.
- [13] 张希, 谭国民, 廖巾琼, 等. 低表达 DJ-1 调控 PI3K/AKT 通路对肺癌细胞增殖, 凋亡的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(12): 2060-2065.
- [14] 倪琛琛, 于敏, 张志红. EGFR 与 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白在非小细胞肺癌组织中的表达及其意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2011, 46(12): 1264-1266.
- [15] 隋雨桐, 迟文成, 姜家康. 芪杉方联合顺铂对肺癌 A549 细胞 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2018, 41(7): 553-558.
- [16] 姬秀娥, 马科, 马治国, 等. 回药爱康方对 Lewis 肺癌 C57 小鼠瘤细胞 PCNA、SIL-2R 表达的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2016, 43(7): 1515-1518.
- [17] 马科, 孙媛, 周丽萍, 等. 臭壳虫含药血清诱导人肺腺癌 A549 细胞凋亡的研究[J]. *宁夏医科大学学报*, 2018, 40(7): 766-769.
- [18] 王祁民, 孙利民, 许剑峰. 通关藤及其制剂消癌平抗肿瘤的相关性研究[J]. *临床误诊误治*, 2017, 30(12): 102-104.
- [19] 李天娇, 包永睿, 王帅, 等. 基于 PTEN/PI3K/AKT 信号通路花蕊石抗肝癌细胞增殖作用机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(1): 63-67.

(收稿日期: 2020-03-12 修回日期: 2020-05-19)