

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.22.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200924.1438.007.html\(2020-09-24\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200924.1438.007.html(2020-09-24))

爱康方含药血清对人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 caspase-9 和 Bad 表达水平的影响*

马科¹, 夏淑敏¹, 陈丽军², 林莹³, 马治国³, 周丽萍², 李巧玲⁴, 伏柏浓³, 田亚佳¹, 杜海霞¹, 马璐¹

(1. 宁夏医科大学中医学院, 银川 750001; 2. 宁夏医科大学总医院内分泌科, 银川 750004;

3. 银川市中医医院糖尿病科 750001; 4. 银川市明德医院肿瘤科 750001)

[摘要] **目的** 观察爱康方(AKF)含药血清对人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9 (caspase-9)、Bad mRNA 及蛋白表达的影响。**方法** 将 60 只 SD 大鼠随机分为生理盐水(NS)组、AKF 组、环磷酰胺(CTX)组和 AKF 联合 CTX(AKF+CTX)组, 每组 15 只。参照本研究课题组前期采用方法制备含药血清, 各实验组(AKF 组、CTX 组和 AKF+CTX 组)以 20% 最佳含药血清干预人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞。空白对照组细胞仅用 DEME 完全培养液培养。干预 24 h 后, 采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)法检测 caspase-9 及 Bad mRNA 表达水平; 采用 Western blot 检测 caspase-9 及 Bad 蛋白表达水平。**结果** 与 NS 组相比, AKF 组、CTX 组和 AKF+CTX 组 caspase-9、Bad mRNA 及蛋白表达水平均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 各实验组组间比较, AKF+CTX 组 caspase-9、Bad mRNA 及蛋白表达水平均明显高于 CTX 组及 AKF 组($P < 0.05$), CTX 组 caspase-9、Bad mRNA 及蛋白表达水平均明显高于 AKF 组($P < 0.05$)。**结论** AKF 促人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞凋亡可能与调节 caspase-9 及 Bad 表达有关。

[关键词] 肺肿瘤; 爱康方; 含药血清; 肿瘤, 鳞状细胞; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9; Bad

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)22-3698-04

Effect of Aikangfang containing serum on the expression levels of caspase-9 and Bad in human lung squamous cell carcinoma SK-MES-1 cells*

MA Ke¹, XIA Shumin¹, CHEN Lijun², LIN Yin³, MA Zhiguo³, ZHOU Liping²,

LI Qiaoling⁴, FU Bonong³, Tian Yajia¹, DU Haixia¹, MA Lu¹

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan,

Ningxia Hui Autonomous Region 750001, China; 2. Department of Endocrinology, General Hospital

of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region 750004,

China; 3. Department of Diabetes, Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine,

Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region 750001, China; 4. Department of Oncology,

Mingde Hospital of Yinchuan, Yinchuan, Ningxia Hui Autonomous Region 750001, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Aikangfang (AKF)-containing serum on the expression of caspase-9, Bad mRNA and protein in human lung squamous cell carcinoma SK-MES-1 cells. **Methods** A total of 60 SD rats were randomly divided into the normal saline (NS) group, the AKF group, the cyclophosphamide (CTX) group and the AKF combined with CTX (AKF+CTX) group, with 15 rats in each group. The medicated serum was prepared according to the method used in the early stage of this research group. The human lung squamous cell carcinoma SK-MES-1 cells in all experimental groups, including the AKF group, the CTX group and the AKF+CTX group, were intervened by 20% optimal medicated serum. The cells of the blank control were only cultured with DEME complete culture medium. After 24 hours of intervention, real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression levels of caspase-9 and Bad mRNA, and Western blot was used to detect the expression levels of caspase-9 and Bad protein. **Results** Compared with the NS group, the expression levels of caspase-9, Bad mRNA and protein increased in the AKF group, the CTX group and the AKF+CTX group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$).

Among the experimental groups, the expression levels of caspase-9, Bad mRNA and protein in the AKF+CTX group were significantly higher than those in the CTX group and the AKF group ($P < 0.05$), and the expression levels of caspase-9, Bad mRNA and protein in the CTX group were significantly higher than those in the AKF group ($P < 0.05$). **Conclusion** AKF promotes apoptosis of human lung squamous cell carcinoma SK-MES-1 cells, which may be related to the regulation of caspase-9 and Bad expression.

[Key words] lung neoplasms; Aikangfang; medicated serum; neoplasms, squamous cell; caspase 9; Bad

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,其发病率逐年上升,病死率高居各类恶性肿瘤之首,已经严重威胁了人类的生命健康。在新确诊肺癌病例中约有 85% 的患者被病理诊断为非小细胞肺癌,其中约 57% 的非小细胞肺癌患者最初被确诊时即处于进展期^[1]。目前,针对已处于恶性程度较高阶段的非小细胞肺癌患者,由于失去了手术治疗的机会,经常采取的治疗方式包括放、化疗及靶向治疗,尽管临床上放、化疗技术不断改进,新的靶向药物不断出现,但是非小细胞肺癌患者的 5 年生存率仍只有 4.2% 左右^[1]。与西医治疗肺癌不同,中医在治疗此病上重视生存期的同时更着眼于患者的生存质量,以减轻患者症状,提高患者生存质量为目的^[2]。基于此,本课题组在自拟方爱康方(AKF)上开展了一系列的实验研究,在前期的研究基础上,本研究采用含药血清进行体外实验,观察 AKF 作用 SK-MES-1 细胞后,如何通过促凋亡蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9(caspase-9)和 Bad 发挥作用,以期进一步明确该方的抗癌机制,为以后更好地应用于临床提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

无特殊病原体(SPF)级雄性 SD 大鼠 60 只,体重(220±20)g,由宁夏医科大学实验动物中心提供[生产许可证号:SCXK(宁)2015-0001]。

1.1.2 实验细胞株

人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞株(CL-0213),购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.3 药品与试剂

AKF:金荞麦 30 g,通关藤 30 g,薏苡仁 30 g,紫珠叶 30 g,桃仁 12 g,化血丹 20 g,臭壳虫 6 g。臭壳虫购自云南楚雄市元马镇,其余药物均购自宁夏明德医药有限公司。化疗药:环磷酰胺(CTX)粉针剂(批号:06257008),每支 200 mg,购自宁夏医科大学总院肿瘤医院门诊部。试剂:Trizol(美国 Invitrogen 公司,批号:15596026),cDNA 第一条链合成试剂盒(批号:K1622),荧光定量试剂盒(批号:2043),caspase-9、Bad 及 β -actin 基因引物均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;caspase-9(bs-0049R)、Bad(bs-0892R)一抗均购自北京博奥森生物技术有限公司, β -actin(TA-09)抗体、山羊抗兔的二抗(ZB2301)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 制备含药血清

将 AKF 配伍的各种药(金荞麦 30 g,通关藤 30 g,薏苡仁 30 g,紫珠叶 30 g,桃仁 12 g,化血丹 20 g,臭壳虫 6 g)运用药物传统煎煮方法及前期课题组浓缩剂量方法^[3]进行煎煮,并将药液合并,浓缩至每毫升水煎剂中含生药 4.59 g。将 CTX 用生理盐水溶解稀释至 2 mg/mL。上述药物均放入 4 °C 冰箱备用。60 只雄性 SD 大鼠 1~60 依次编号,然后从随机数字表中任意一行的一个数字开始抄录 60 个随机数字于大鼠编号下,将随机数从小到大进行排列,每组 15 只,即随机将大鼠分为 4 组,分别为生理盐水(NS)组、AKF 组、CTX 组及 AKF 联合 CTX(AKF+CTX)组。根据人与动物体表面积计算公式换算出给药剂量^[4],即 AKF 组给药剂量为 45 g/kg,相当于临床等效剂量的 3 倍;CTX 组以 20 mg/kg 剂量给药。NS 组给予生理盐水,1 mL/100 g,每天 2 次;AKF 组给予 AKF 水煎剂,1 mL/100 g,每天 2 次,连续给药 5 d;CTX 组在实验第 1、3、5 天按 20 mg/kg 腹腔注射 CTX,AKF+CTX 组给予 AKF 水煎剂,1 mL/100 g,每天 2 次,并在实验第 1、3、5 天按 20 mg/kg 腹腔注射 CTX。各实验组大鼠在末次给药 2 h 后,用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,心脏取血,静置 3 h,4 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,同组大鼠所得血清混合以消除个体差异,56 °C 30 min 灭活处理,用 0.22 μ m 滤器过滤除菌后分装,于-80 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 细胞培养及分组

将人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞株用含 1% 双抗、10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养液在 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱内培养,待细胞长满瓶底的 70%~80% 时进行传代,取处于对数期的细胞进行实验。将 SD 大鼠分组后的含药血清调配至浓度 20% 分别用于干预细胞,即被干预的细胞与 SD 大鼠分组相同,其中 NS 组为对照组,其余 3 组(AKF 组、CTX 组、AKF+CTX 组)为实验组,另外增加只添加 DEME 完全培养液培养的细胞为空白对照组。

1.2.3 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)法检测 caspase-9 和 Bad 的 mRNA 表达水平

将 1×10^6 个细胞于 25 cm 塑料透气培养瓶内培养,待细胞长至瓶底的 70%~80% 时,用 20% 的含药血清对细胞干预 24 h 后,按照总 RNA 提取的步骤将 RNA 提取后进行浓度和纯度检测。特异性产物:

caspase-9 上游 5'-AAG CCA ACC CTA GAA AAC CTT ACC-3', 下游 5'-ATC AC CAA ATC CTC CAG AAC CAA-3'; Bad 上游 5'-CAG AGT TTG AGC CGA GTG AGC-3', 下游 5'-CCT GGC GAT GAT GCT TGC-3'; β -actin 上游 5'-AAG GCC AAC CGC GAG AA-3', 下游 5'-ATG GGG GAG GGC ATA CC-3'。用特异性产物对总 RNA 按照逆转录试剂盒操作获得 cDNA 样品, 根据荧光定量试剂盒说明书依次加入相关试剂至 PCR 八排管(每组设 3 个复孔)后在 RT-qPCR 仪上进行扩增。反应条件为 95.0 °C 2 min; 95.0 °C 10 s, 58.0 °C 30 s, 72.0 °C 30 s, 40 个循环, 启用数据和实时分析; 55.0~98.0 °C 10 s, 每两个循环数增加 0.5 °C, 共 87 个循环, 溶解曲线数据收集分析启用; 4.0 °C 1 min。

1.2.4 Western blot 检测 caspase-9 和 Bad 的蛋白表达

将 2.0×10^6 个细胞在 25 cm 的透气培养瓶培养至铺满瓶底的 80% 时加 20% 的含药血清继续培养 24 h 后提取细胞, 依照蛋白提取试剂盒的步骤提取总蛋白, 用 Western blot 检测各组细胞中 caspase-9 和 Bad 的蛋白表达水平。蛋白电泳及转膜后, 5% 脱脂奶粉封闭, 加 caspase-9、Bad 一抗, β -actin 为内参, 4 °C 孵育过夜。洗膜后用山羊抗兔的二抗室温摇床孵育 1 h, 再次洗膜后用电化学发光(ECL)显影试剂盒荧光显色。实验独立重复 3 次, Quantityone 灰度分析系统测定灰度比值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS23.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 组间均数的多重比较采用 LSD 法或 SNK-*q* 法; 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 AKF 含药血清对人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 caspase-9、Bad mRNA 表达水平的影响

2.1.1 溶解曲线

caspase-9 溶解曲线均为单峰, 基因引物具有特异性, 扩增产物单一, 见表 1A; 各组含药血清作用于人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 24 h 后 caspase-9、Bad 溶解曲线, 见图 1B。

2.1.2 各组人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 caspase-9、Bad mRNA 表达水平比较

NS 组 caspase-9 mRNA 表达水平低于空白对照组, Bad mRNA 表达水平高于空白对照组, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 各实验组 caspase-9、Bad mRNA 表达水平均高于 NS 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各实验组组间比较, AKF+CTX 组 caspase-9、Bad mRNA 表达水平均明显高于 CTX 组及 AKF 组 ($P < 0.05$), CTX 组 caspase-9、Bad mRNA 表达水平

均明显高于 AKF 组 ($P < 0.05$), 见表 1。

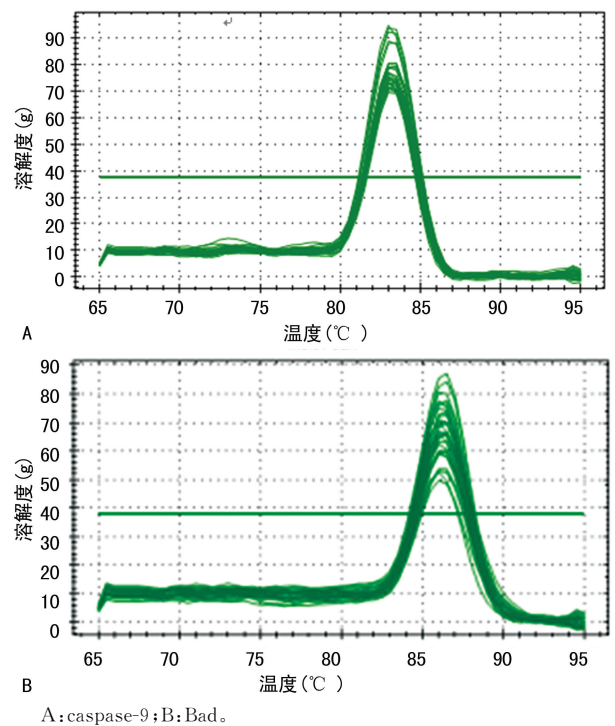


图 1 caspase-9 与 Bad 溶解曲线

表 1 各组含药血清作用人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 24 h 后 caspase-9、Bad mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	caspase-9 mRNA	Bad mRNA
空白对照组	1.000 ± 0.069	1.000 ± 0.071
NS 组	0.982 ± 0.082	1.083 ± 0.038
CTX 组	2.763 ± 0.170 ^{abc}	3.673 ± 0.267 ^{abc}
AKF 组	1.877 ± 0.078 ^{ab}	2.391 ± 0.193 ^{ab}
AKF+CTX 组	3.975 ± 0.321 ^a	5.689 ± 0.861 ^a

^a: $P < 0.05$, 与 NS 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 AKF+CTX 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 AKF 组比较。

2.2 AKF 含药血清对人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 caspase-9、Bad 蛋白表达水平的影响

SK-MES-1 细胞 caspase-9、Bad 蛋白表达趋势相同, 即 AKF+CTX 组 > CTX 组 > AKF 组 > NS 组和空白对照组。NS 组 caspase-9 蛋白表达水平低于空白对照组, Bad 蛋白表达水平高于空白对照组, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 各实验组 caspase-9、Bad 蛋白表达水平均高于 NS 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各实验组组间比较, AKF+CTX 组 caspase-9、Bad 蛋白表达水平均明显高于 AKF 组及 CTX 组 ($P < 0.05$); CTX 组 caspase-9、Bad 蛋白表达水平均明显高于 AKF 组 ($P < 0.05$), 见表 2、图 2。

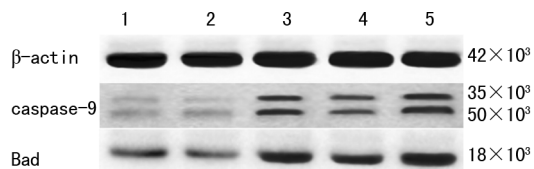
表 2 各组含药血清作用人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 24 h 后 caspase-9、Bad 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	caspase-9	Bad
空白对照组	0.200 ± 0.026	0.240 ± 0.010
NS 组	0.190 ± 0.026	0.250 ± 0.010

续表 2 各组合药血清作用人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 24 h 后 caspase-9、Bad 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	caspase-9	Bad
CTX 组	0.650 ± 0.020 ^{abc}	0.533 ± 0.025 ^{abc}
AKF 组	0.507 ± 0.015 ^{ab}	0.437 ± 0.031 ^{ab}
AKF+CTX 组	0.743 ± 0.021 ^a	0.650 ± 0.010 ^a

^a: $P < 0.05$, 与 NS 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 AKF+CTX 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 AKF 组比较。



1: 空白对照组; 2: NS 组; 3: CTX 组; 4: AKF 组; 5: AKF+CTX 组。

图 2 各组合药血清作用人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞 24 h 后 caspase-9、Bad 蛋白表达

3 讨 论

中医认为肺癌发生与邪实正虚相关, 治法宜祛瘀毒之邪, 扶正气之虚。本研究中所拟经验方 AKF 中药物总体具有清热解毒, 消瘀散结之功效。其中, 金荞麦有祛瘀排毒之效。近年来, 许多研究发现金荞麦的根茎部分在抗肿瘤及预防肿瘤方面有着重要作用^[5]。薏苡仁可排湿热毒, 因其食用及药用价值都很高, 近年来相关研究也越来越多。通关藤味苦、凉, 功效以解毒、平喘、抗癌为主, 现代药理研究表明其提取出的有效成分在抗癌、免疫调节、保肝、利尿等方面作用良好, 并且用其制成的抗肿瘤制剂消癌平注射液在临床上被广泛使用^[6-7]。桃仁最早记载在《神农本草经》里, 具有活血祛瘀、止咳平喘等功效^[8]。研究发现, 桃仁在心血管保护、神经保护、免疫调节、肝肾保护及抗肿瘤等方面均发挥着重要作用^[9]。此外, 紫珠叶具有散瘀、排肺热毒的功效, 臭壳虫有祛毒散结之功用^[10-11]; 花蕊石、三七和血余炭都有止血化瘀之功, 按照 9:6:3 用药比例在 AKF 中又叫“化雪丹”。本课题组前期研究已表明, AKF 单用及联合 CTX 可以发挥抑制人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞增殖的作用^[12]。本实验在课题组前期研究的基础上, 继续探讨 AKF 是否通过调节凋亡蛋白 caspase-9 和 Bad 表达发挥其抗非小细胞肺癌作用。

细胞凋亡是细胞的一种基本生物学现象, 指为维持内环境稳定, 由基因控制的, 细胞自主、有序的死亡, 其在肿瘤发生、发展中起着关键性作用。目前研究发现能影响细胞凋亡的因子很多, caspase-9 和 Bad 为其中两种促凋亡因子。caspase 家族是在细胞凋亡中发挥作用最大的一类蛋白酶, 可直接使凋亡细胞发生解体, 在细胞凋亡网络中地位突出^[13]。caspase 家族成员分为 3 类, 包括凋亡启动因子、凋亡执行因子和炎症介导因子。caspase-9 作为细胞凋亡中的启动

因子之一, 在线粒体凋亡途径里发挥着非常重要的作用^[14]。Bcl-2 家族在细胞凋亡中发挥着重要的调节作用, 其包含两类功能相反的蛋白质, 分别可以抑制细胞凋亡和促进细胞凋亡^[15]。Bad 作为 Bcl-2 家族中的一个凋亡促进因子, 在肿瘤发生及肿瘤细胞凋亡中所起的作用日益受到关注。研究表明, Bad 的编码产物可以结合同家族中的凋亡抑制基因 Bcl-2 和 Bcl-xL, 形成异源二聚体, 从而替换 Bcl-xL/Bax、Bcl-2/Bax 二聚体中的 Bax, 以此达到其促进细胞凋亡的目的^[16]。

本研究结果显示, 含药血清干预细胞 24 h 后, 各实验组 caspase-9、Bad mRNA 表达水平均高于 NS 组, 且 AKF+CTX 组最高, 说明 AKF 单独及联合 CTX 作用人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞可使 caspase-9、Bad 表达在基因水平上有所升高。在蛋白表达上, 各实验组 caspase-9、Bad 蛋白表达水平均高于 NS 组, AKF+CTX 组蛋白表达水平亦最高, 表明 AKF 可上调 SK-MES-1 细胞 caspase-9、Bad 蛋白表达, 且联合 CTX 使蛋白高表达。

综上所述, AKF 含药血清能提高 SK-MES-1 细胞 caspase-9、Bad mRNA 及蛋白表达水平, 且与 CTX 联合发挥作用, 表明其抗非小细胞肺癌的机制可能与调节 caspase-9 和 Bad 表达有关, 但 AKF 对于其他凋亡蛋白是否也发挥作用, 仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 杨婧如, 毕明宏. 非小细胞肺癌抗血管生成治疗研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(1): 165-171.
- [2] 刘嘉湘. 扶正治癌 融汇中西 继承创新[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(1): 10-12.
- [3] 周丽萍, 保婧, 马科, 等. 回药爱康方含药血清对 Lewis 肺癌细胞周期的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2015, 37(4): 357-361.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1167.
- [5] 许筱凰, 李婷, 王一涛, 等. 桃仁的研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(17): 2649-2655.
- [6] 马科, 马立凤, 牛阳, 等. 回药爱康方治疗中晚期原发性肺癌 30 例效果评价[J]. 宁夏医科大学学报, 2009, 31(2): 256-258.
- [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] 周慧, 马科, 周丽萍, 等. 回药爱康方含药血清对人肺鳞癌 SK-MES-1 细胞增殖及周期的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(3): 241-244, 247.
- [9] 弓娟琴, 陈志强, 李文忠. Fas 介导的凋亡与 Caspase 家族[J]. 国外医学(皮肤性病学分册), 2001, 27(5): 279-280. (下转第 3708 页)

44(36):5065-5067.

- [16] EL-MOWAFY A M, KATARY M M, PYE C, et al. Novel molecular triggers underlie valproate-induced liver injury and its alleviation by the omega-3 fatty acid DHA: role of inflammation and apoptosis [J]. *Heliyon*, 2016, 2 (7): e00130.
- [17] WANG Z, LENG Y, TSAI L K, et al. Valproic acid attenuates blood-brain barrier disruption in a rat model of transient focal cerebral ischemia: the roles of HDAC and MMP-9 inhibition [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(1): 52-57.
- [18] KIM J Y, HAN Y, LEE J E, et al. The 70-kDa heat shock protein (Hsp70) as a therapeutic target for stroke [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(3): 191-199.
- [19] HUANG Y C, LEONG C P, WANG L, et al. Effect of kinesiology taping on hemiplegic shoulder pain and functional outcomes in subacute stroke patients: a randomized controlled study [J]. *Eur J Phys Rehabil Med*, 2016, 52 (6): 774-781.
- [20] LIU T, WEN X, KUANG W, et al. Therapeutic effect of Fu's subcutaneous needling for hemiplegic shoulder pain among stroke survivors: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (19): e15507.
- [21] CLAUSEN B H, LUNDBERG L, YLI-KARJA NMAA M, et al. Fumarate decreases edema volume and improves functional outcome after experimental stroke [J]. *Exp Neurol*, 2017, 295: 144-154.
- [22] REN M, LENG Y, JEONG M, et al. Valproic acid reduces brain damage induced by transient focal cerebral ischemia in rats: potential roles of histone deacetylase inhibition and heat shock protein induction [J]. *J Neurochem*, 2004, 89 (6): 1358-1367.
- [23] WEINSTEIN-FUDIM L, ERGAZ Z, SZYF M, et al. Prenatal S-adenosine methionine (SAME) induces changes in gene expression in the brain of newborn mice that are prevented by co-administration of valproic acid (VPA) [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2834.
- [24] KIM H, LIN Q, YUN Z. BRCA1 regulates the cancer stem cell fate of breast cancer cells in the context of hypoxia and histone deacetylase inhibitors [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9702.
- [25] 伍健伟, 梁建峰, 何伟文, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂抑制神经胶质瘤细胞增殖的机制研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2015, 14(6): 547-552.
- [26] BUTT N A, KUMAR A, DHAR S, et al. Targeting MTA1/HIF-1 α signaling by pterostilbene in combination with histone deacetylase inhibitor attenuates prostate cancer progression [J]. *Cancer Med*, 2017, 6(11): 2673-2685.
- [27] FORMISANO L, LAUDATI G, GUIDA N, et al. HDAC4 and HDAC5 form a complex with DREAM that epigenetically down-regulates NCX3 gene and its pharmacological inhibition reduces neuronal stroke damage [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019(2019): 271678X19884742.
- [28] SHI L, TIAN Z, FU Q, et al. miR-217-regulated MEF2D-HDAC5/ND6 signaling pathway participates in the oxidative stress and inflammatory response after cerebral ischemia [J]. *Brain Res*, 2020, 1739: 146835.

(收稿日期: 2020-03-25 修回日期: 2020-08-02)

(上接第 3701 页)

- [10] CHOI Y J, UHM S J, SONG S J, et al. Cytochrome c upregulation during capacitation and spontaneous acrosome reaction determines the fate of pig sperm cells: linking proteome analysis [J]. *J Reprod Dev*, 2008, 54(1): 68-83.
- [11] 黄娜, 李为民. BAD 与肿瘤关系的研究 [J]. *华西医学*, 2011, 26(11): 1747-1749.
- [12] 李闯. 促凋亡基因 Bad 在肿瘤细胞凋亡中的作用及进展 [J]. *湖北民族学院学报(医学版)*, 2013, 30(1): 70-72.
- [13] 陈晓锋, 顾振纶. 金荞麦抗肿瘤作用研究进展 [J]. *中草药*, 2000, 31(9): 715-718.
- [14] 白爽, 李奕诺, 徐鑫, 等. 通关藤化学成分及药理活性研究进展 [J]. *解放军药学学报*, 2015, 31 (3): 260-264.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 296-297.
- [16] 黄兆胜. 中药学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.

(收稿日期: 2020-02-28 修回日期: 2020-07-13)