

的激活,下调 STAT4 mRNA 表达,进而调节 Th1/Th2 分化失衡有关。而随着喘可治注射液浓度的增加, COPD 大鼠 IFN- γ 、IL-12、IL-12R 及 STAT4 mRNA 的表达量虽呈下降趋势,但未提示明显的量效关系,这可能与低剂量药物浓度已接近或达到药物效能有关。

参考文献:

- [1] Cosio MG. Autoimmunity, T-cells and STAT-4 in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Eur Respir J, 2004, 24(1): 3-5.
- [2] Mottolis S, Cawston T, Carrere S, et al. CD8+ and CD4+ T cell subsets in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Biochen Biophys Res Commun, 1997, 239: 146-149.
- [3] Coccia EM, Passini N, Battistini A, et al. IL-12 induces expression of interferon regulatory factor-1 via stat4 in human T helper type 1 cells[J]. J Biol Chem, 1999, 274(10): 6698-6703.
- [4] Gately MK, Renzetti LM, Magram J, et al. The IL-12/ IL-12R system: role in normal and pathologic immune responses[J]. Annu Rev Immunol, 1998, 16: 495-521.
- [5] Yamada S, T sukada J, Yoshimura A, et al. Computer simulation of the role of SOCS family protein in helper T cell differentiation[J]. Int Immunol, 2006, 18(2): 335-345.
- [6] Ouyang W, Jacobson NG, Bhattacharya D, et al. The Ets transcription factor ERM is specific and induced by IL-12 through a stat4-dependent pathway[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(7): 3888-3893.
- [7] 宋一平, 崔德健, 茅培英, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立及药物干预的影响[J]. 中华内科杂志, 2000, 39(8): 556-557.
- [8] Cosio MG, Majo J. Inflammation of the airways and lung parenchyma in COPD: role of T cells[J]. Chest, 2002, 121(5 Suppl): 160-165.
- [9] Chung KF. Cytokine as targets in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Curr Drug Targets, 2006, 7: 675-681.
- [10] Magno F, Di Stefano A. Contribution of bronchial biopsies in the evaluation of pathogenesis and progression of COPD[J]. Monaldi Arch Chest Dis, 2007, 67(4): 229-233.
- [11] Di Stefano A, Caramori G, Capelli A, et al. STAT4 activation in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Eur Respir J, 2004, 24(1): 78-85.
- [12] 肇静娴, 曾耀英, 王青. 喘可治注射液对外周血单个核细胞 Th1/Th2 细胞因子谱的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(4): 356-359.
- [13] 郑盛杰, 戴勇, 魏成功. 喘可治穴位注射治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期的临床疗效及其对 IL-2、IL-10 的影响[J]. 新中医, 2006, 38(7): 63-64.
- [14] 陈弘群, 余荣环, 黄运平. 喘可治注射液改善 COPD 患者免疫功能观察[J]. 临床肺科杂志, 2007, 12(11): 1162-1163.
- [15] Eppert BL, Wortham BW, Flury JL, et al. Functional characterization of T cell populations in a mouse model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. J Immunol, 2013, 190(3): 1331-1340.
- [16] 王成阳, 李泽庚. 慢性阻塞性肺病大鼠肺功能降低与 Th1/Th2 极化、STAT4/6 表达的关系[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(12): 1233-1236, 1241.

(编辑: 修春)

知母皂苷 AⅢ对黑色素瘤 B16 细胞生长和 Bax, Bcl-2 mRNA 的影响

潘会君¹, 史海霞², 陈中建¹, 姜泽静¹ (1. 上海市皮肤病医院药剂科, 上海 200443; 2. 上海交通大学医学院附属第三人民医院中医科, 上海 201999)

摘要: **目的** 观察知母皂苷 AⅢ对体外培养黑色素瘤 B16 细胞增殖和凋亡的影响。**方法** 体外培养 B16 细胞, 分别以浓度为 1, 2, 4, 8, 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的知母皂苷 AⅢ作用 24 h, 通过 MTT 比色法检测对细胞生长的影响; 倒置显微镜观察对细胞形态的影响; Annexin V-FITC/PI 双染流式检测对细胞凋亡的影响; 逆转录 PCR 检测对细胞凋亡相关基因 Bax, Bcl-2 的影响。**结果** 8, 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的知母皂苷 AⅢ明显抑制细胞增殖, 24 h 的半数抑制浓度(IC_{50})为 10.16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 细胞形态显示 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的知母皂苷 AⅢ使细胞体积缩小变圆, 细胞减少。与对照组比较, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 知母皂苷 AⅢ细胞凋亡率为 $(4.83 \pm 0.25)\%$ ($P < 0.01$), 而 Bax/Bcl-2 比值升高 ($P < 0.05$)。**结论** 体外实验显示知母皂苷 AⅢ能明显抑制 B16 细胞生长, 并能诱导部分细胞发生凋亡。由于诱导细胞凋亡率与 24 h 的 IC_{50} 有一定差距, 因此知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞生长的影响可能不仅仅与激活凋亡信号通路有关, 还与其他细胞生长信号通路有关。

收稿日期: 2014-09-09

作者简介: 潘会君, 男, 博士。主管中药师, 研究方向: 中药药效。Email: pppphhhjjjj@163.com。

基金项目: 上海市皮肤病医院青年人才培养计划 (No.2013)。

关键词：知母皂苷 AⅢ；黑色素瘤 B16 细胞；生长抑制；凋亡

中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1003-9783(2015)01-0048-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.012

Effects of Timosaponin AⅢ on Cell Growth and Bax, Bcl-2 mRNA of Melanoma B16 Cells

PAN Huijun¹, SHI Haixia², CHEN Zhongjian¹, JIANG Zejing¹ (1. Department of Pharmacy, Shanghai Dermatology Hospital, Shanghai 200443, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Third People's Hospital Affiliated to Medicine School, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201999, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of timosaponin AⅢ on the proliferation and apoptosis of cultured melanoma B16 cells *in vitro*. **Methods** B16 cells were cultured *in vitro* together with timosaponin AⅢ at the concentrations of 1, 2, 4, 8, 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively for 24 h. MTT assay was adopted to detect the cell growth inhibition. The morphological changes of melanoma B16 cells were observed under inverted microscope. The apoptosis of melanoma B16 cells were detected by flow cytometry after stained with Annexin V-FITC/PI. The mRNA expression levels of Bcl-2 and Bax were detected by reverse transcription PCR. **Results** Timosaponin AⅢ (8, 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly inhibited the proliferation of B16 cells, and the IC_{50} was 10.16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ after treatment for 24h. The cell density got less, and the cell shape got small and round after treatment with 16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of timosaponin AⅢ. The apoptotic rate of melanoma B16 cells was $(4.83 \pm 0.25)\%$ after treatment with 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of timosaponin AⅢ ($P < 0.01$). Timosaponin AⅢ (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) significantly increased the mRNA expression levels of Bax/Bcl-2 in melanoma B16 cells. **Conclusion** Timosaponin AⅢ could inhibit the proliferation and induce the apoptosis of melanoma B16 cells *in vitro*. The apoptotic rate and 24-hour IC_{50} were not in the same pace, indicating that the therapeutic mechanism of timosaponin AⅢ on the growth of B16 cells may be not only related to the activation of apoptosis signal pathway, but also be relevant to other cell growth signaling pathway.

Keywords: Timosaponin AⅢ; Melanoma B16 cells; Growth inhibition; Apoptosis

知母为百合科植物知母的干燥根茎，具有清热泻火、滋阴润燥等功效，临床用于外感热病、高热烦渴、内热消渴、肠燥便秘等。知母皂苷 AⅢ作为知母的主要药理活性成分之一，近年来其抗肿瘤的作用逐渐被揭示。知母皂苷 AⅢ通过线粒体介导诱发 Hela 肿瘤细胞的凋亡^[1]，还可以通过自噬机制，抑制 Hela 肿瘤细胞的生长^[2]。知母皂苷 AⅢ诱导人乳腺癌细胞 BT474 凋亡与抑制 mTOR 靶点的磷酸化和诱导内质网应激阻断真核起始因子的磷酸化和半胱天冬酶的激活有关^[3]。知母皂苷 AⅢ还能诱导人结肠癌 HCT-15 细胞凋亡和阻止细胞周期，并能抑制 HCT-15 细胞移植瘤动物模型肿瘤生长^[4]。

黑色素瘤是皮肤肿瘤中具有恶性度高，侵袭性强，转移明显的特点，临床上尚无很好的治疗方法和药物。我们在前期研究发现其对胰腺癌有比较好的治疗作用基础上^[5]，推测其可能对黑色素瘤有作用，本研究采用小鼠黑色素瘤 B16 细胞，观察知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞的增殖和凋亡的作用，旨在为黑色素

瘤的治疗提供潜在可能的药物。

1 材料与方法

1.1 仪器 Heal Force HF90/HF240 CO₂ 培养箱，Heal Force 生物安全柜，上海力申科学仪器有限公司；低温高速离心机，美国 Thermo scientific 公司；多模块梯度 PCR 仪，香港 Gene Company Limited 公司；凝胶图像分析系统，美国 Bio-Rad 公司；DL-300c 电泳仪，琼脂糖水平电泳槽，北京东林昌盛生物科技有限公司；流式细胞仪，美国 Beckman Coulter 公司；倒置显微镜，日本 Nikon 公司。

1.2 试剂 知母皂苷 AⅢ，上海同田生物技术股份有限公司，纯度 $\geq 98\%$ ，批号：070503；RPMI Medium 1640、胰蛋白酶、胎牛血清、Trizol，美国 Gibco 公司；MTT，美国 Sigma 公司；Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒，南京凯基生物科技发展有限公司。无水乙醇、三氯甲烷、异丙醇、甲醇(分析纯)，上海国药集团。琼脂糖、Bax、Bcl-2、oligo(dT)18 引

物, 生工生物科技有限公司。M-MLV Reverse Transcriptase (目录号: M1701), promega dNTP Mixtures(目录号: CD117-11), 天根生化科技(北京)有限公司。Taq DNA polymerase, Rnasin Ribonuclease inhibitor, 上海杰庆生物科技有限公司。

1.3 细胞 小鼠黑色素瘤细胞 B16, 中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。B16 细胞用 RPMI Medium 1640 (含 10 % 胎牛血清) 培养, 置于 37 ℃、5 % CO₂ 的培养箱中。

1.4 MTT 比色法测定 B16 细胞生长的抑制率 收集对数期细胞, 接种于 96 孔板, 每孔加入 100 μL 约 5000 个细胞。37 ℃、5 % CO₂ 培养, 细胞贴壁 24 h, 加入 1, 2, 4, 8, 16 μmol·L⁻¹ 浓度的药物, 5 % CO₂、37 ℃ 培养 24 h, 每孔加入 10 μL MTT 溶液, 继续培养 4 h。吸去孔内培养液, 每孔加入 150 μL 二甲基亚砜, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解。在酶标仪 490 nm 处测量各孔的吸光值。肿瘤细胞生长抑制率(%)=[(阴性对照组 A 值 - 用药组 A 值)/阴性对照组 A 值]×100 %。

1.5 细胞形态观察 收集对数期细胞, 接种于 96 孔板, 37 ℃、5 % CO₂ 培养, 细胞贴壁 24 h, 加入 1, 2, 4, 8, 16 μmol·L⁻¹ 浓度的药物, 5 % CO₂、37 ℃ 培养 24 h, 倒置显微镜观察细胞形态。

1.6 AnnexinV-FITC/PI 双染色法流式细胞仪检测凋亡细胞 收集对数生长期 B16 细胞, 接种于 24 孔培养板, 分对照组及 5, 10 μmol·L⁻¹ 知母皂苷 AⅢ实验组。药物作用 24 h 后收集细胞, 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次, 用 500 μL 结合缓冲液重悬细胞, 加入 AnnexinV-FITC 和碘化丙啶(PI)各 5 μL, 混匀于室温避光孵育 15 min, 收集到流式管中, 流式细胞仪检测。

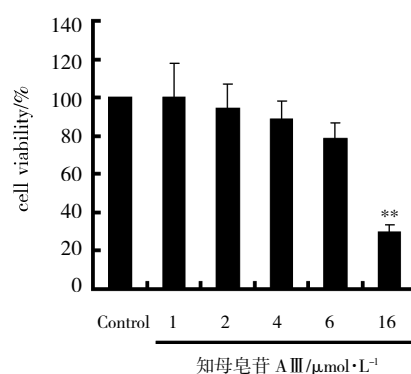
1.7 RT-PCR 检测 mRNA 表达 Trizol 提取细胞总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 并以此为模板进行 PCR 扩增, PCR 产物经 2 % 的琼脂糖凝胶电泳, 用 Bio-Rad 成像系统拍照并分析。Bax 上游引物序列: 5'-GGA GATGAAGTGGATAGCAATATGG-3', 下游引物序列: 5'-GTTTGCTAGCAAAGTAGAAGAGGGC-3', 扩增长

度 160 bp; Bcl-2 上游引物序列: 5'-CTGGCATCTT CTCCTTCCAG-3', 下游引物序列: 5'-GACGGTAGCG ACCGAGAGAAG-3', 扩增长度 183 bp。β-actin 上游引物序列: 5'-AGCTGAGAGGGAAATCGTGCG-3', 下游引物序列: 5'-GTGCCACCAGACAGCACTGTG-3', 扩增长度 300 bp。

1.8 统计学处理方法 采用 SPSS15.0 统计软件进行数据统计, 多组计量资料采用单因素方差分析, 组内两两比较采用 SNK 法检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞生长的影响 终浓度分别为 1, 2, 4, 8, 16 μmol·L⁻¹ 的知母皂苷 AⅢ作用于 B16 细胞 24 h, 细胞生长受到抑制, 随着剂量的加大抑制效果明显, 具有明显的量效关系。见图 1。经计算知母皂苷 AⅢ作用 24 h 的半数抑制浓度(IC₅₀)为 10.16 μmol·L⁻¹。



注: 与 Control 比较, ** $P < 0.01$ 。

图 1 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞生长的影响

Figure 1 Effect of timosaponin AⅢ on cell growth of B16 cells

2.2 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞形态的影响 见图 2。终浓度分别为 1, 2, 4, 8, 16 μmol·L⁻¹ 的知母皂苷 AⅢ作用于 B16 细胞 24 h, 倒置显微镜观察细胞形态, 其中 16 μmol·L⁻¹ 知母皂苷 AⅢ干预细胞, 细胞体积缩小变圆, 细胞减少。8 μmol·L⁻¹ 知母皂苷 AⅢ实验组, 很少部分细胞变圆, 细胞减少, 但大部分细胞形态正常。其余各组细胞形态未见明显形态变化。

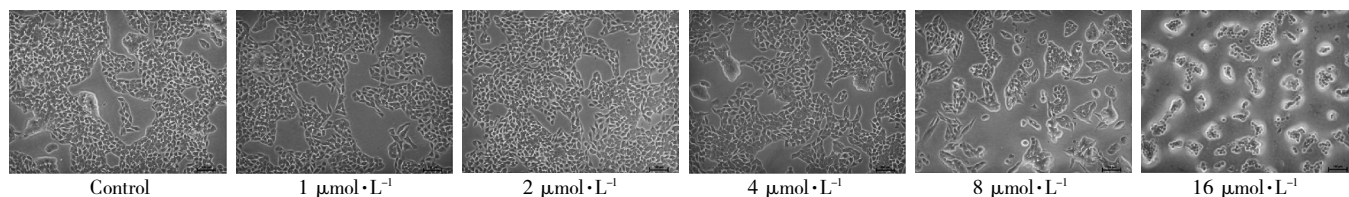
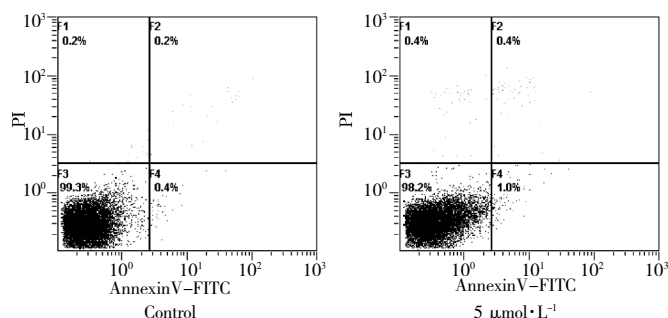


图 2 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞形态的影响(100×)

Figure 2 Effect of timosaponin AⅢ on the morphology of B16 cells(100×)

2.3 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞凋亡的影响 见图 3。在流式细胞术双参数散点图上：左下象限显示活细胞 (LL: Annexin V -/PI-); 右下象限为早期凋亡细胞 (LR: Annexin V +/PI-); 右上象限为晚期凋亡细胞 (UR: Annexin V +/PI+); 而左上象限是非活细胞, 即坏死细胞 (UL: Annexin V -/PI+)。凋亡细胞为右



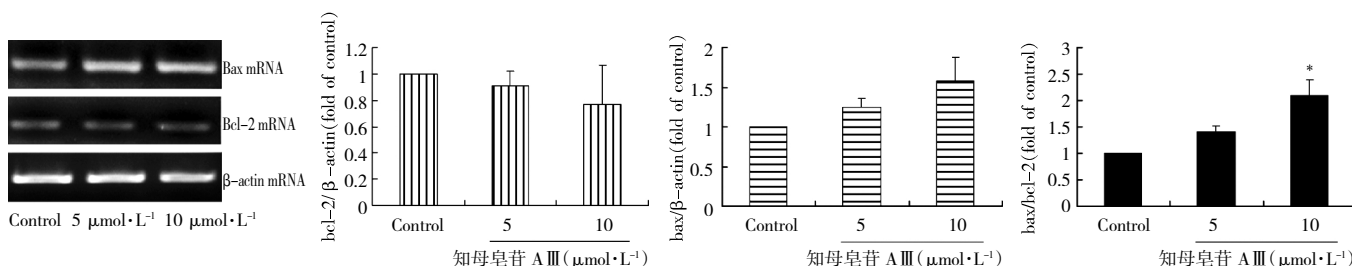
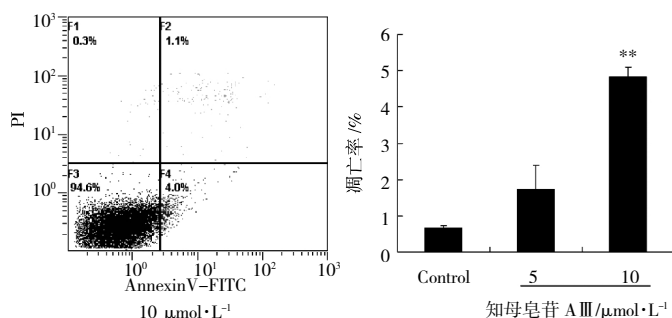
与 Control 比较, ** $P < 0.01$ 。

图 3 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞凋亡的影响

Figure 3 Effect of timosaponin AIII on the apoptosis of B16 cells

2.4 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达的影响 见图 4。知母皂苷 AⅢ作用 B16 细胞 24 h 后, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 知母皂苷 AⅢ处理组能升高 Bax

上象 + 右下象。知母皂苷 AⅢ作用 24 h, 其 IC_{50} 分别为 10.16 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 因此我们选用 IC_{50} 和 $\text{IC}_{50}/2$, 即 5, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 知母皂苷 AⅢ作用 24 h 后检测细胞凋亡。对照组凋亡率 (0.67 ± 0.06)%; 知母皂苷 AⅢ 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 凋亡率 (1.73 ± 0.67)%, 而 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 凋亡率为 (4.83 ± 0.25)% (与对照组比较, $P < 0.01$)。



与 Control 比较, * $P < 0.05$ 。

图 4 知母皂苷 AⅢ对 B16 细胞凋亡相关基因的影响

Figure 4 Effect of timosaponin AIII on the apoptosis related genes of B16 cells

3 讨论

黑色素瘤(melanoma)又称为恶性黑色素瘤, 发生于皮肤者以足底部和外阴及肛门周围多见, 由于肿瘤恶性程度高且多发、易转移, 5 年生存率极低。因此, 急需开发新型有效的黑色素瘤治疗药物或方法。近年来从中药或天然植物中寻找有效且副作用小的抗肿瘤药物已成为国内外重要的研究方向。

知母皂苷 AⅢ是知母中甾体皂苷类成分, 经 Pubmed、Cnki、维普检索尚未发现其对 B16 细胞研究的报道。本研究 MTT 增殖实验发现, 知母皂苷 AⅢ对体外培养的黑色素瘤 B16 细胞有明显的抑制作用。在前面的实验基础上, 选用 $\text{IC}_{50}/2$ 和 IC_{50} , 即 5, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 知母皂苷 AⅢ作用 24 h 后检测细胞凋

亡, 流式细胞检测结果显示知母皂苷 AⅢ能诱导部分细胞凋亡。

线粒体在细胞凋亡中的有重要作用, 其中 Bcl-2 基因家族与之的关系密切, Bcl-2 基因是哺乳动物重要的凋亡抑制基因。Bax 是与 Bcl-2 功能相反的一个基因, 促进细胞凋亡。Bax/Bcl-2 可以决定细胞对凋亡或生存信号的反应^[9]。在细胞凋亡过程中主要表现为 Bcl-2 表达减少, Bax 表达增多, Bax/Bcl-2 比例上升, Bax 主要分布在胞浆中。当细胞受到外界刺激, 凋亡信号使 Bax 结构发生变化, 导致 Bax 转位到线粒体外膜并与之结合, 形成渗透性膜转移孔复合物, 建立线粒体膜通道介导发生释放反应, 释放的细胞色素 C, 凋亡诱导因子-1, Caspase-9 结合形成复合体,

在 ATP 参与下,使 Caspase-3 等蛋白酶家族发生酶解级联激活,最后执行凋亡过程^[7-8]。我们采用逆转录 PCR 检测上述基因表达发现, Bax mRNA 有一定程度升高, Bcl-2 mRNA 有一定程度下降,但没有显著性差异,但 Bax/Bcl-2 比值明显升高,说明知母皂苷 A Ⅲ能引起部分 B16 细胞凋亡。因此,我们初步认为其抗黑色素瘤作用可能与诱导部分细胞凋亡有关。

在实验中,我们也发现知母皂苷 A Ⅲ在 24h 诱导细胞凋亡率仅为 4.83 %与 24 h 的 IC₅₀ 有较大差距,从形态学发现,知母皂苷 A Ⅲ在 16 μmol·L⁻¹ 细胞明显固缩,因此我们推测知母皂苷 A Ⅲ对 B16 细胞生长的影响在大于 10 μmol·L⁻¹ 与激活凋亡信号通路及调控细胞增殖相关信号通路有关,小剂量抑制细胞增殖与细胞凋亡信号通路关系不大。李沐涵等^[9]的细胞增殖实验显示没食子酸在 6.25, 12.5 μmol·L⁻¹ (IC₅₀ 为 11.8 μmol·L⁻¹) 时对肝癌细胞 SMMC-7721 的抑制率为 32.8 %, 51.6 %, 流式显示凋亡率为 17.2 %, 41.6 %, 实验剂量大于 IC₅₀ 时流式凋亡率与抑制率相对更接近。有可能我们的实验药物在大于 IC₅₀ 剂量及相应时间点能明显促进细胞凋亡,甚至导致细胞死亡。

最近的研究显示,知母皂苷 A Ⅲ能引起 HCC 细胞凋亡,其机制并不依赖 p53 蛋白,而是涉及自噬-溶酶体信号通路的 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)降解^[10]。Tan HK 等^[11]回顾了肿瘤中 mTOR 信号通路并评述了一些天然化合物对该信号通路的影响,其中知母皂苷 A Ⅲ的作用靶点 Akt 和 mTOR。知母皂苷 A Ⅲ在黑色素瘤的作用靶点及相关信号通路是否与 Akt 和 mTOR 及自噬-溶酶体信号通路有关?需要进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] Sy LK, Yan SC, Lok CN, et al. Timosaponin A-III induces autophagy preceding mitochondria-mediated apoptosis in HeLa cancer cells[J]. Cancer Res, 2008, 68(24): 10229-10237.
- [2] Lok CN, Sy LK, Liu F, et al. Activation of autophagy of aggregation-prone ubiquitinated proteins by timosaponin A-III [J]. J Biol Chem. 2011, 286(36): 31684-31696.
- [3] King FW, Fong S, Griffin C, et al. Timosaponin AIII is preferentially cytotoxic to tumor cells through inhibition of mTOR and induction of ER stress[J]. PLoS One, 2009, 4(9): 7283.
- [4] Kang YJ, Chung HJ, Nam JW, et al. Cytotoxic and antineoplastic activity of timosaponin A-III for human colon cancer cells[J]. J Nat Prod, 2011, 74(4): 701-706.
- [5] 潘会君, 聂绪强, 刘朵, 等. 4 种中药单体对人胰腺癌 PANC-1 细胞移植瘤生长的影响及分子机制[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 245-248.
- [6] Farrow S N, Brown R. New members of the Bcl-2 family and their protein partners[J]. Curr Opin Genet Dev, 1996, 6(1): 45-49.
- [7] Jacotot E, Deniaud A, Borgne-Sanchez A, et al. Therapeutic peptides: Targeting the mitochondrion to modulate apoptosis [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757(9-10): 1312-1323.
- [8] Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, et al. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria[J]. Cell Death Differ, 2006, 13(9): 1423-1433.
- [9] 李沐涵, 王明艳, 陈海彬, 等. 没食子酸体外诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡的机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(2): 117-121.
- [10] Wang N, Feng Y, Zhu M, et al. A novel mechanism of XIAP degradation induced by timosaponin AIII in hepatocellular carcinoma [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833(12): 2890-2899.
- [11] Tan HK, Moad AI, Tan ML. The mTOR signalling pathway in cancer and the potential mTOR inhibitory activities of natural phytochemicals [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(16): 6463-6475.

(编辑: 修春)

仁青常觉治疗 MNNG 致大鼠慢性萎缩性胃炎的实验研究

魏 盛¹, 朱德豪¹, 张克升², 薛 玲¹(1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 2. 山东阿如拉药物研究开发有限公司, 山东 济南 250355)

摘要: **目的** 研究仁青常觉对 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG)致慢性萎缩性胃炎大鼠的治疗作用,并探讨其作用机制。**方法** 大鼠自由饮用 8 周 170 mg·L⁻¹ MNNG 水溶液制备大鼠慢性萎缩性胃炎(CAG)模型,并随机分为:模型组,阳性药对照组(胃复春组),仁青常觉高、中、低剂量组,每组 8 只,除模型组外分别灌胃给予相应浓度药物进行治疗,连续给药 8 周。另取 8 只正常大鼠设为空白对照组。于末次给药后麻醉解剖处死

收稿日期: 2014-06-05

作者简介: 魏盛,男,讲师,研究方向:肝藏象病理生理与情志致病机理研究。Email: waysaint@163.com。通讯作者: 薛玲,教授,研究方向:中药调肝方药药理学研究。Email: xxueling@163.com。

基金项目: 藏医药产业技术创新服务平台(2013-488)。