

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.07.017

土贝母含药血清对人肺癌细胞增殖和凋亡的影响

米卫国,张 伟[△],刘建军,张昭鹏

陕西省汉中市中心医院胸外科,陕西汉中 723000

摘要:目的 观察土贝母含药血清对人肺癌细胞增殖、凋亡的影响,初步探讨其作用机制。方法 采用灌胃 SD 大鼠土贝母水提物的方法制备其含药血清。应用不同浓度(0.0%、2.5%、5.0%、10.0%、20.0%、40.0%)含药血清处理人肺癌 A549 和 H1299 细胞。采用 MTT、免疫荧光法观察含药血清对人肺癌细胞增殖的影响,采用流式细胞术检测含药血清对人肺癌细胞凋亡的影响,采用 Western blot 方法检测含药血清对肺癌细胞中凋亡相关的裂解型胱天蛋白酶(Cleaved-Caspase-3、Cleaved-Caspase-8、Cleaved-Caspase-9、Bax 和 Bcl-2)蛋白表达水平的影响。结果 土贝母含药血清可明显抑制人肺癌 A549 和 H1299 细胞的增殖,诱导其凋亡;土贝母含药血清处理人肺癌细胞的 Cleaved-Caspase-3、Cleaved-Caspase-9 和 Bax 蛋白水平增加,Bcl-2 蛋白水平降低。结论 土贝母含药血清可明显抑制人肺癌 A549 和 H1299 细胞的增殖,诱导其凋亡,其机制可能与细胞线粒体途径诱导细胞凋亡有关。

关键词:土贝母; 含药血清; 肺癌; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)07-0923-06

Effects of Tubeimu medicated serum on proliferation and apoptosis of human lung cancer cellsMI Weiguo, ZHANG Wei[△], LIU Jianjun, ZHANG Zhaopeng

Department of Thoracic Surgery, Hanzhong Central Hospital of Shaanxi Province, Hanzhong, Shaanxi 723000, China

Abstract: Objective To observe the effects of Tubeimu medicated serum on the proliferation and apoptosis of human lung cancer cells, and to explore its mechanism. **Methods** The Tubeimu medicated serum was prepared by intragastric administration of water extract of Tubeimu in SD rats. Human lung cancer cells A549 and H1299 were treated with different concentrations of Tubeimu medicated serum (0.0%, 2.5%, 5.0%, 10.0%, 20.0%, 40.0%). MTT and immunofluorescence were used to observe the effect of drug serum on the proliferation of human lung cancer cells. Flow cytometry was used to detect the effect of Tubeimu medicated serum on apoptosis of human lung cancer cells. Western blot was used to detect the effect of Tubeimu medicated serum on the protein expression levels of apoptotic Cleaved-Caspase-3, Cleaved-Caspase-8, Cleaved-Caspase-9, Bax and Bcl-2 in lung cancer cells. **Results** The Tubeimu medicated serum could significantly inhibit the proliferation and induce the apoptosis of human lung cancer cells A549 and H1299. The Cleaved-Caspase-3, Cleaved-Caspase-9 and Bax levels of human lung cancer cells A549 and H1299 showed increased while Bcl-2 levels showed decreased after treating with Tubeimu medicated serum. **Conclusion** The Tubeimu medicated serum can significantly inhibit the proliferation and induce the apoptosis of in human lung cancer cells A549 and H1299.

Key words: Tubeimu; medicated serum; lung cancer; cell proliferation; cell apoptosis

肺癌是最常见的癌症之一,也是癌症致死的主要原因,5 年生存率仅为 10%~20%^[1-2],严重影响人类生命健康。然而,用于治疗 and 预防肺癌的传统化疗往往伴随不良反应和耐药性发生。因此,发掘出一种成本低、不良反应小、易于获得的新的治疗药物意义重大^[3]。传统中药含有丰富的生物活性成分,通过靶向与疾病相关的多种分子网络发挥作用。因此,传统中药是可以开发用于预防和治疗的潜在候选药物。土贝母是一种传统中草药,又名假贝母、地苦胆、草贝,为葫芦科土贝母属植物的干燥块茎。性

味苦、微寒,归肺、脾经,有散结、消肿、解毒之功能,原载于清代赵氏所编《本草纲目拾遗》,曾用于乳痈、瘰疬、乳腺炎等。近年来,有研究报道,土贝母具有一定的抗肿瘤作用^[4],但既往研究都只局限于针其单体化合物活性的评价。本研究从土贝母提取物整体着手,通过制备土贝母含药血清,进一步深入评价传统中草药土贝母对肺癌的抗肿瘤活性,为指导临床治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 土贝母购自老百姓大药房连锁股份有限

作者简介:米卫国,男,主治医师,主要从事食管癌、肺癌、主动脉夹层等方面研究。 [△] 通信作者, E-mail: yujiujh@163.com。

本文引用格式:米卫国,张伟,刘建军,等. 土贝母含药血清对人肺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(7): 923-928.

公司; 雄性 SD 大鼠 (SPF 级) 60 只, 体质量 (200 ± 10) g, 购自中国人民解放军空军军医大学实验动物中心 [实验动物生产许可证号: SCXK (军) 2012-0007]; 人肺癌 A549 和 H1299 细胞购自美国典型培养物保藏中心 (ATCC); Gibco 胎牛血清购自 Thermo Fisher Scientific 公司; DMEM-高糖型细胞培养基购自 Hyclone 公司, 双抗 (青霉素、链霉素)、胰蛋白酶 [含乙二胺四乙酸 (EDTA)] 购自北京索莱宝 (Solarbio) 科技有限公司; 兔抗裂解型胱天蛋白酶 3 (Cleaved-Caspase-3) 抗体、兔抗 Cleaved-Caspase-8、兔抗 Cleaved-Caspase-9、兔抗 Bax、兔抗 Bcl-2、兔抗 β 肌动蛋白 (β -actin) 抗体均购自美国 Bioworld Technology 公司; 细胞蛋白提取试剂盒购自碧云天生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 采用含 10% 胎牛血清、1% 双抗 (青霉素、链霉素) 的 DMEM-高糖型培养液, 于 CO₂ 浓度为 5%、温度为 37 °C 的细胞培养箱中培养人肺癌 A549 细胞和 H1299 细胞, 待细胞呈对数生长期时进行实验。

1.2.2 实验药物的提取 取中药材土贝母置于中药煎锅中, 加入 4 倍量水常温浸泡 30 min, 再加热至沸腾, 煎煮 30 min, 过滤收集滤液。滤渣再次加入 2 倍量水, 加热至沸腾, 煎煮 30 min, 稍冷后趁热过滤, 收集下层滤液。滤渣再次加入 2 倍量水, 加热至沸腾, 再次煎煮 30 min, 稍冷后趁热过滤, 弃去滤渣, 收集滤液, 合并 2 次滤液。旋转蒸发仪浓缩药液, 最终获得相当于含土贝母生药材质量浓度为 1.5 g/mL 的水煎液, 分装并密闭保存于 -20 °C 冰箱备用^[4]。

1.2.3 土贝母含药血清的制备 将健康雄性 SD 大鼠随机分为土贝母组和正常对照组, 各 10 只, 灌胃给药前各组大鼠禁食、不禁饮 18 h, 按照 8 g/kg 生药剂量给予大鼠灌胃, 正常对照组灌胃等体积生理盐水。每日分早、晚 2 次给药, 间隔时间为 10 h, 连续灌胃给药 3 d, 正常饮食、饮水。在第 4 天第 1 次大鼠灌胃土贝母提取液 1 h 后, 麻醉大鼠, 剖开腹部, 在腹主动脉采血, 室温静置 0.5 h, 在 5 000 r/min 转速下离心 10 min, 收集上层血清, 即得土贝母水煎液含药血清。同组大鼠含药血清合并混匀, 在 56 °C 水浴条件下灭活 30 min。采用 0.22 μ m 无菌微孔滤膜, 在无菌条件下进行过滤, 收集滤液, 无菌封装, 于 -20 °C 冰箱保存备用。实验时, 采用细胞培养液稀释后使用。

1.2.4 MTT 法检测土贝母含药血清对人肺癌细胞增殖的影响 消化、收集人肺癌 A549 和 H1299 细胞, 以 1×10^4 个/孔细胞密度接种于 96 孔板中, 分为 11 组, 每组设置 6 个复孔, 置细胞培养箱中培养 24 h 后, 移去细胞培养液, 并用磷酸盐缓冲液 (PBS) 漂洗 2 次。对照组细胞更换新鲜培养液, 给药组细胞更换含有 2.5%、5.0%、10.0%、20.0%、40.0% 含药血清的培养液, 以相应浓度的无药血清 (10% 血清) 作为阴性对照组。将 96 孔板置细胞培养箱中孵育 24 h。每孔加入浓度为

5 mg/mL 的无菌 MTT 溶液 20 μ L, 在细胞培养箱中继续孵育 3 h, 弃去每孔上清液, 再依次每孔加入二甲亚砜 (DMSO) 溶液 200 μ L, 使结晶物充分溶解。用酶联免疫检测仪在 490 nm 波长处测定每孔的吸光度 (A) 值, 计算每组细胞 A 值的平均值, 实验重复 3 次。采用下列公式计算相对增殖率。细胞相对增殖率 (%) = $(A_{\text{给药组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.2.5 土贝母含药血清对人肺癌细胞 Ki67 表达水平的影响 采用免疫荧光方法检测土贝母含药血清处理人肺癌细胞中 Ki67 相对表达量的变化。消化、收集人肺癌 A549 和 H1299 细胞, 接种于无菌 24 孔板中 (含有细胞爬片), 细胞密度为 1×10^5 个/孔。培养 24 h 后, 弃去上清液, 更换含有 10% 土贝母含药血清的培养液孵育细胞, 以相应浓度的无药血清 (10% 血清) 作为阴性对照组, 各组细胞继续孵育 24 h。次日, 弃去上清液, 用 PBS 漂洗 3 次, 弃去 PBS, 室温下用 4% 多聚甲醛固定 10 min。PBS 漂洗 3 次去除多余甲醛。每孔加入 0.05% 的 Triton X-100 溶液 400 μ L, 室温条件下孵育 30 min, 用 PBS 漂洗 3 次后, 弃去 PBS。每孔滴加山羊血清封闭液 300 μ L, 室温孵育 30 min 后, 弃去封闭液, 不洗, 每孔细胞爬片上滴加稀释的 Ki67 抗体 (1 : 1 000), 放入湿盒, 37 °C 条件下孵育 1 h。采用 PBST 洗 3 次, 每次 3 min。再滴加荧光二抗于各组细胞爬片上, 室温避光条件下孵育 30 min。避光条件下用 PBST 洗 3 次, 每次 5 min, 再加入 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (DAPI) 溶液, 室温避光条件下孵育 10 min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min。避光下从 24 孔板中取出各组细胞爬片, 用抗荧光淬灭封片剂避光条件下封片, 于倒置荧光显微镜下观察并拍照, 统计 Ki67 相对表达量。

1.2.6 流式细胞术检测土贝母含药血清对人肺癌细胞凋亡的影响 根据 MTT 试验结果, 选用 5.0% 和 10.0% 浓度的土贝母含药血清处理肺癌细胞, 流式细胞术检测肺癌细胞凋亡情况。消化、收集人肺癌 A549 和 H1299 细胞, 接种于 6 孔板中, 细胞密度为 5×10^5 个/孔, 常规培养 24 h 后, 弃去每孔培养液并用无菌 PBS 漂洗 3 次。分别加入新的含有浓度为 5.0% 和 10.0% 土贝母含药血清的培养液孵育细胞 24 h, 以相应浓度的无药血清作为阴性对照组。24 h 后消化收集各组细胞, 各组细胞用 PBS 漂洗 3 次, 每组样品用 195 μ L 的 Annexin V-异硫氰酸荧光素 (Annexin V-FITC) 结合缓冲液 (10 mmol/L HEPES/NaOH, 140 mmol/L NaCl, 2.5 mmol/L CaCl₂) 重悬细胞。各组样本中加入浓度为 25 μ g/mL 的 Annexin V-FITC 结合缓冲液 5 μ L, 轻轻混匀, 室温避光孵育 10 min。离心 5 min, 收集细胞沉淀并加入 190 μ L Annexin V-FITC 结合缓冲液重悬细胞。再加入 10 μ L 的碘化丙啶 (PI) 溶液 (250 μ g/mL) 轻轻混匀。立即用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.7 Western blot 试验检测土贝母含药血清对人肺癌细胞中凋亡相关蛋白表达的影响 消化、收集人

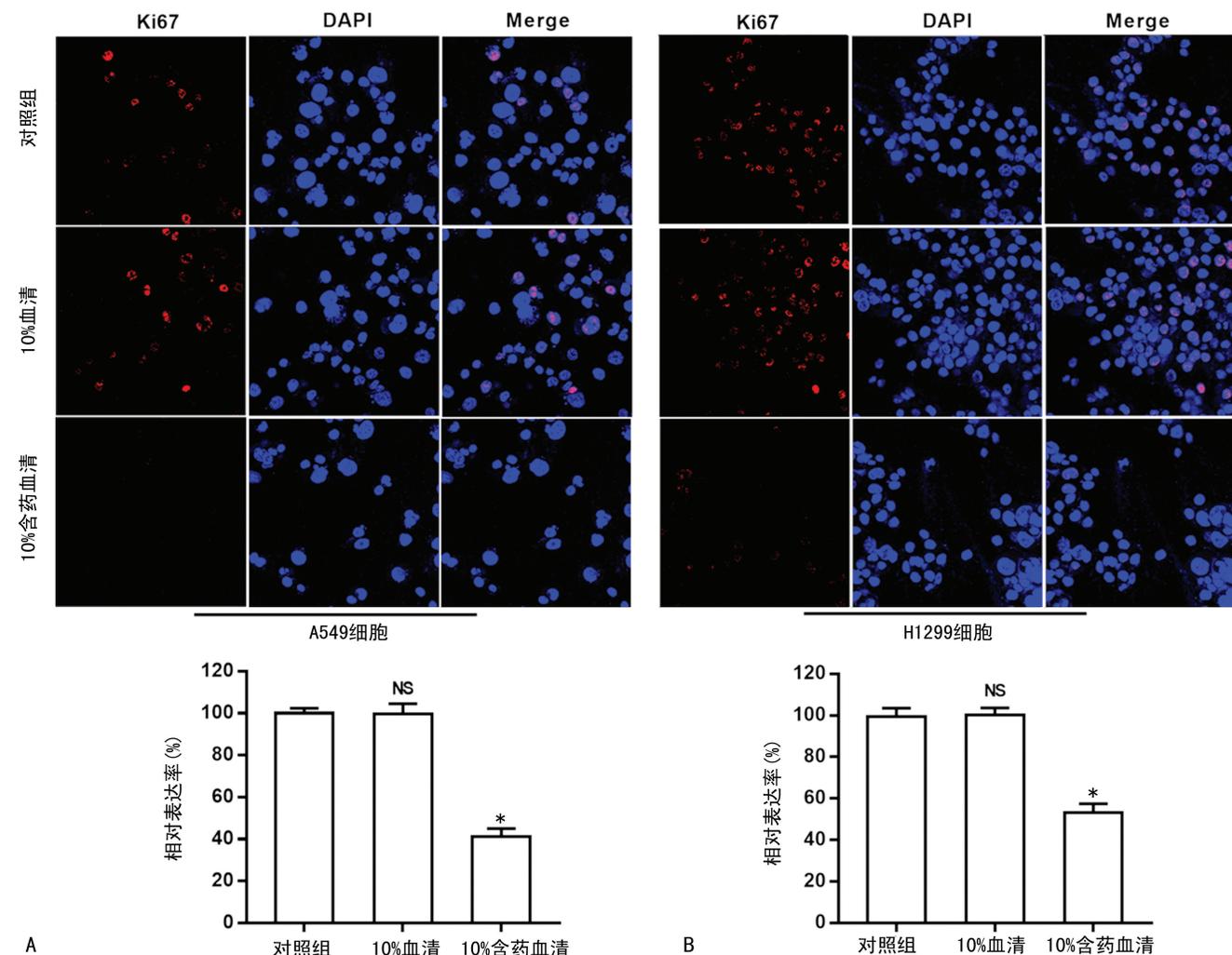
肺癌 A549 和 H1299 细胞,接种于直径为 10 cm 培养皿中,细胞密度为 5×10^5 个/孔,加入细胞培养液 10 mL 在培养箱中培养 24 h。次日,弃去培养液,PBS 洗 2 次,分别加入新的含有浓度为 5.0% 和 10.0% 土贝母含药血清的培养液孵育细胞 24 h,以相应浓度的无药血清作为阴性对照组。24 h 后消化收集各组细胞,每组细胞样本在冰浴中加入蛋白裂解液 200 μ L,裂解 30 min。在 4 $^{\circ}$ C 低温 13 000 r/min 转速下,离心 20 min,收集上清液、弃去沉淀,采用考马斯亮蓝法进行蛋白定量。各组以 40 μ g 蛋白量上样,在 6% 浓缩胶、12% 分离胶上进行 SDS-PAGE 电泳、转膜。采用 10% 脱脂奶粉封闭 2 h,按照常规滴加一抗 (Cleaved-Caspase-3、Cleaved-Caspase-8、Cleaved-Caspase-9、Bax、Bcl-2、 β -actin, 1 : 1 000 稀释),4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜。次日,室温复温 2 h,PBST 洗膜 3 次,每次 5 min。然后加入羊抗兔二抗 (1 : 5 000 稀释),室温孵育 1 h。PBST 洗膜 3 次。采用化学发光方法,通过凝胶化学发光仪拍照,灰度扫描,以 β -actin 为内参。结果以 β -actin 比值进行统计分析,检测土贝母含药血清对人肺癌细胞中 Cleaved-Caspase-3、Cleaved-Caspase-8、Cleaved-Caspase-9、Bax、Bcl-2 蛋白表达水平的影响。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件对数据进行分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组差异比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

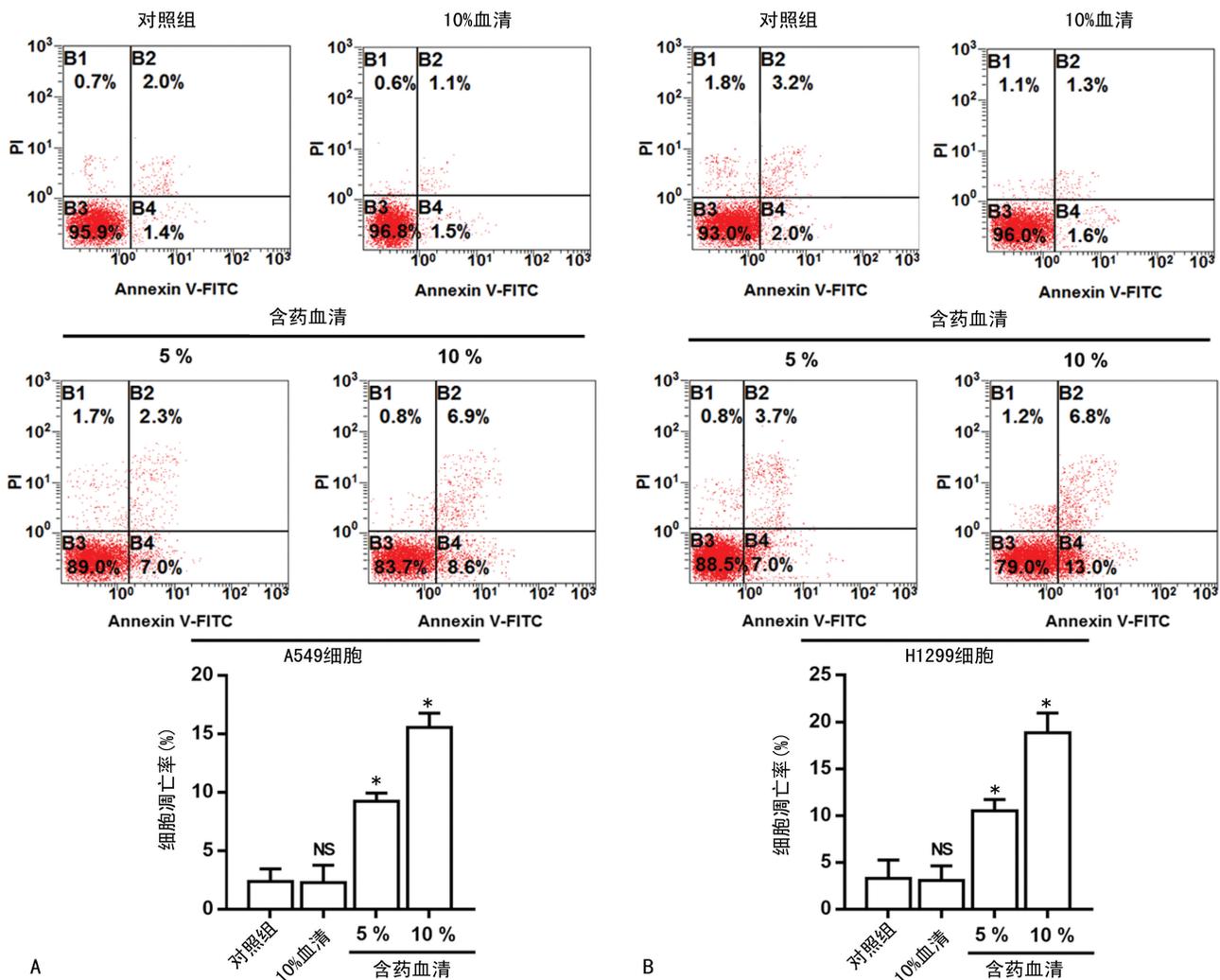
2.1 土贝母含药血清对人肺癌细胞增殖的影响 MTT 检测结果显示,土贝母含药血清明显抑制人肺癌 A549 和 H1299 细胞的增殖,并呈一定剂量依赖性。与对照组比较,5.0%、10.0%、20.0%、40.0% 的土贝母含药血清对人肺癌 A549 细胞增殖抑制率分别为 $(10.65 \pm 2.56)\%$ 、 $(20.22 \pm 2.55)\%$ 、 $(28.48 \pm 2.49)\%$ 和 $(32.72 \pm 3.35)\%$,对 H1299 细胞增殖抑制率分别为 $(9.51 \pm 2.51)\%$ 、 $(16.05 \pm 2.63)\%$ 、 $(26.67 \pm 3.90)\%$ 和 $(30.87 \pm 4.71)\%$,土贝母含药血清对人肺癌 A549 和 H1299 细胞增殖抑制作用明显,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 土贝母含药血清处理人肺癌 A549 和 H1299 细胞 Ki67 相对阳性表达率 给予人肺癌细胞土贝母含药血清处理后,人肺癌细胞中 Ki67 的阳性表达率明显下降,与对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1。



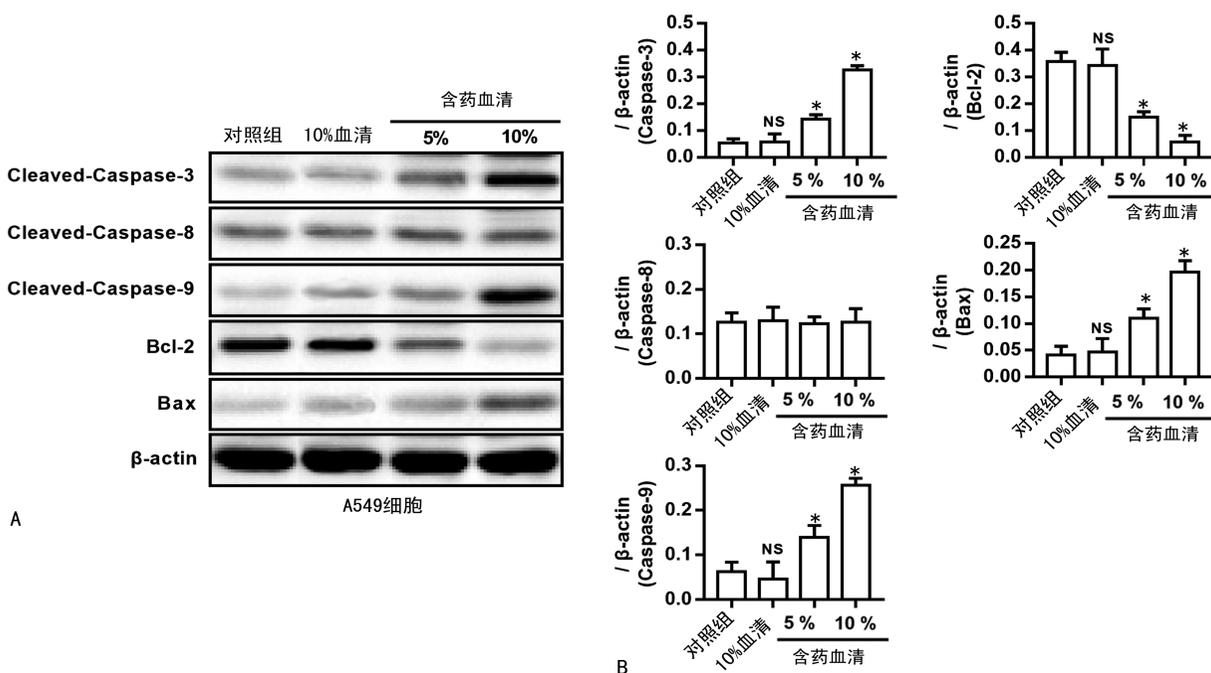
注:A 为肺癌细胞中 Ki67 免疫荧光染色;B 为 Ki67 相对表达率。与对照组比较,* $P < 0.05$;NS 表示与对照组比较, $P > 0.05$ 。

图 1 土贝母含药血清处理人肺癌 A549 和 H1299 细胞 Ki67 相对阳性率表达



注:A 为流式细胞术检测肺癌 A549 细胞凋亡情况及细胞凋亡率的半定量分析;B 为流式细胞术检测肺癌 H1299 细胞凋亡情况及细胞凋亡率的半定量分析。与对照组比较,* $P < 0.05$;NS 表示与对照组比较, $P > 0.05$ 。

图 2 土贝母含药血清对人肺癌细胞凋亡的影响



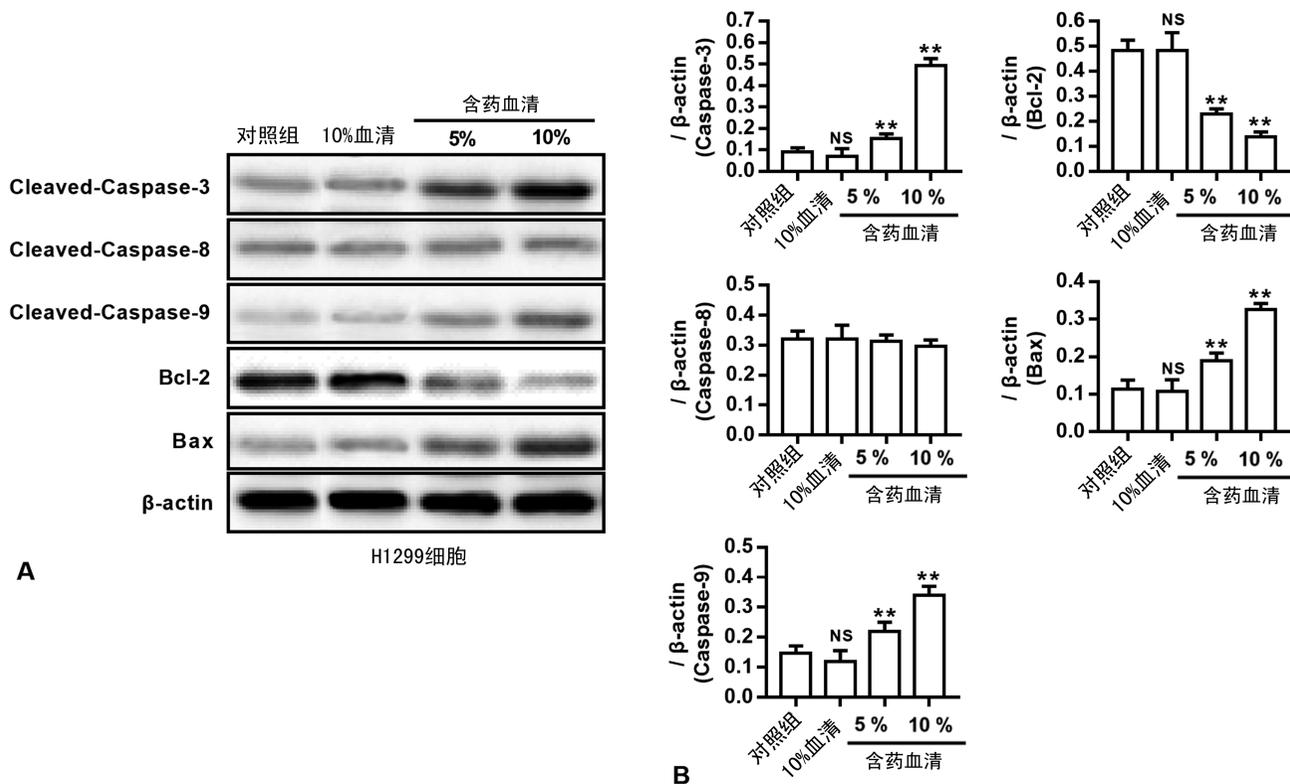
注:A 为 Western blot 试验检测人肺癌 A549 细胞中凋亡相关蛋白的表达;B 为蛋白表达半定量分析。与对照组比较,* $P < 0.05$,NS 表示与对照组比较, $P > 0.05$ 。

图 3 土贝母含药血清对人肺癌 A549 细胞中凋亡相关蛋白表达的影响

2.3 土贝母含药血清诱导人肺癌 A549 和 H1299 细胞的凋亡 与对照组比较,土贝母含药血清处理细胞 24 h 后肺癌细胞凋亡率明显升高。其中 5.0% 的土贝母含药血清处理后,人肺癌 A549 和 H1299 细胞凋亡率分别为 $(9.23 \pm 0.70)\%$ 和 $(10.50 \pm 1.21)\%$, 10.0% 的土贝母含药血清处理后,人肺癌 A549 和 H1299 细胞凋亡率分别为 $(15.57 \pm 1.20)\%$ 和 $(18.83 \pm 2.12)\%$, 与对照组比较,差异均有统计学意

义($P < 0.05$)。见图 2。

2.4 土贝母含药血清对人肺癌细胞中凋亡相关蛋白表达的影响 与对照组比较,不同浓度土贝母含药血清处理细胞后,肺癌细胞中 Cleaved-Caspase-3、Cleaved-Caspase-9 及 Bax 的表达水平明显升高,Bcl-2 表达水平明显下降,对 Cleaved-Caspase-8 表达无影响。差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 3、4。



注:A为Western blot法检测人肺癌H1299细胞中凋亡相关蛋白的表达;B为蛋白表达半定量分析。与对照组比较,* $P < 0.05$;NS表示与对照组比较, $P > 0.05$ 。

图4 土贝母含药血清对人肺癌H1299细胞中凋亡相关蛋白表达的影响

3 讨论

肺癌是全球常见恶性肿瘤之一,其发病率和致死率居高不下,并呈逐年上升及年轻化趋势。目前,临床治疗肺癌常见方法仍然以手术联合放疗和化疗为主,但是肺癌对传统化疗药物有强抗药性,化疗有效率低,并且通常还伴有一系列并发症和严重不良反应,导致患者免疫功能下降、身体衰弱、炎症反应等^[6],严重影响肺癌患者治疗后的生活质量。

中药治疗癌症作为我国独特的治疗方式,以中医理论为指导,从整体辨证施治而形成。能充分体现出现在肿瘤治疗中的个性化、多靶点、多层次治疗原则^[7-8],且其低毒、有效、价格低廉等优势,在临床治疗多种疾病中疗效明显^[9]。中医认为,肺癌是由于邪愈盛而正愈虚,本虚标实,病变错综复杂,病势日益深重。肺癌之本虚以阴虚、气阴两虚多见,标实以气阻、瘀血、痰浊多见,以致癌毒内积。土贝母性味苦、微寒、归肺、脾经,有散结、消肿、解毒之功能,近年来研究表明,其单体化学成分有明显的抗肿瘤活性^[5]。而

中药中单体化学成分不能完全代表其在体内发挥作用的有效物质形式^[10]。因此,中药血清药理学实验方法为中药药理学的体外研究提供了可行性,能够反映中药在体内发挥的药效作用,明确其作用机制^[11]。

本研究采用不同浓度土贝母含药血清处理人肺癌A549和H1299细胞,MTT结果表明,土贝母含药血清对人肺癌A549和H1299细胞增殖呈现一定剂量依赖性的抑制作用。Ki67是与细胞增殖密切相关的核抗原,其在肿瘤细胞中表达阳性率相对越高,提示细胞的增殖能力越强。免疫荧光结果显示,与对照组比较,土贝母含药血清处理的人肺癌细胞中Ki67蛋白水平明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明土贝母含药血清对人肺癌A549和H1299细胞的增殖具有显著抑制作用(图1)。流式细胞术检测人肺癌A549和H1299细胞给予土贝母含药血清处理后,肺癌细胞凋亡率显著升高(图2),提示土贝母含药血清可诱导人肺癌A549和H1299细胞的凋亡。增殖的不可控和抗凋亡是肿瘤细胞恶性进展过程中的重

要特征,细胞凋亡途径主要有线粒体和死亡受体发生的凋亡,Caspase 家族成员在调节细胞凋亡过程中发挥重要作用^[12]。Caspase-3 是其重要成员之一,是细胞凋亡的“执行者”,其受 Caspase-8 介导的细胞死亡受体途径和 Caspase-9 介导的细胞线粒体途径的细胞凋亡过程^[13]。因此,为进一步探讨土贝母水提物含药血清诱导人肺癌 A549 和 H1299 细胞的凋亡的可能作用机制,本研究采用 Western blot 试验检测给予土贝母水提物含药血清处理的人肺癌 A549 和 H1299 细胞中凋亡相关蛋白表达的变化。结果表明,土贝母水提物含药血清处理的肺癌细胞中 Cleaved-Caspase-9、Cleaved-Caspase-3 的表达水平显著升高,并显著增加促凋亡蛋白 Bax 的表达水平,显著抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,对 Cleaved-Caspase-8 表达无显著影响。结果表明,土贝母水提物含药血清可能通过影响人肺癌细胞中 Caspase 介导的线粒体凋亡途径诱导其凋亡,发挥抑制肺癌细胞增殖的作用。

本研究探讨了土贝母水提物含药血清诱导肺癌细胞凋亡的作用,初步探讨其可能的作用机制,结果表明土贝母水提物含药血清体外抗肺癌作用显著,其可能是通过影响人肺癌细胞中 Caspase 介导的线粒体凋亡途径诱导其凋亡。本研究结果为土贝母是否可作为治疗肺癌的进一步深入研究和指导临床用药提供了新思路。

参考文献

- [1] SHARMA P, MEHTA M, DHANJAL D S, et al. Emerging trends in the novel drug delivery approaches for the treatment of lung cancer[J]. Chem Biol Interact, 2019, 309(25):108720.
- [2] ADJEI A A. Lung cancer worldwide[J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(6):956.
- [3] BANIK K, HARSHA C, BORDOLOI D, et al. Therapeutic potential of gambogic acid, a caged xanthone, to target cancer[J]. Cancer Lett, 2018, 416(1):75-86.
- [4] 晁旭, 赵英永, 魏敏慧, 等. 土贝母皂苷-II 对人肝癌细胞 HepG2 增殖及细胞周期的影响[J]. 江苏医药, 2012, 38

(15):1740-1742.

- [5] 林洁, 王国全, 李翠娟, 等. 加味左金汤灌胃的 SD 大鼠血清通过激活细胞线粒体途径促进人胃癌细胞凋亡[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(10):911-917.
- [6] ARDING J J, ABOU-ALFA G K. Systemic therapy for hepatocellular carcinoma [J]. Chin Clin Oncol, 2013, 2(4):37.
- [7] JIANG Y, LIU L S, SHEN L P, et al. Traditional Chinese medicine treatment as adjuvant therapy in completely resected stage I B-III A non-small-cell lung cancer: study protocol for a multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled trial[J]. Clin Lung Cancer, 2019, 20(5):e541-e547.
- [8] XU Z H, FEI Z, ZHU Y Z, et al. Traditional Chinese medicine Ze-Qi-Tang formula inhibit growth of non-small-cell lung cancer cells through the p53 pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 234(24):180-188.
- [9] BANIK K, RANAWARE AM, DESHPANDE V, et al. Honokiol for cancer therapeutics: a traditional medicine that can modulate multiple oncogenic targets[J]. Pharmacol Res, 2019, 144:192-209.
- [10] SHI B, SHI J, QIN H. Effect of medicated serum of curcumae radix extract on mRNA expression of TIMP-1, MMPs-13 and α -collagen of HSC-T6 cell [J]. Saudi Pharm J, 2017, 25(4):509-512.
- [11] YIN Y, FENG L, WANG L, et al. The role of curcumae rhizoma-sparganii rhizoma medicated serum in epithelial-mesenchymal transition in the triple negative breast cancer: pharmacological role of CR-SR in the TBNC[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99:340-345.
- [12] VAN OPDENBOSCH N, LAMKANFI M. Caspases in cell death, inflammation, and disease [J]. Immunity, 2019, 50(6):1352-1364.
- [13] ZHU J, ZHANG W, ZHANG Y, et al. Effects of Spica prunellae on Caspase-3-associated proliferation and apoptosis in human lung cancer cells in vitro[J]. J Cancer Res Ther, 2018, 14(4):760-763.

(收稿日期:2020-06-20 修回日期:2021-01-12)

(上接第 922 页)

- 病大鼠微炎性反应状态的作用 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(15):2828-2830.
- [4] ZHANG L, YANG L, SHERGIS J, et al. Chinese herbal medicine for diabetic kidney disease: a systematic review and meta-analysis of randomised placebo-controlled trials [J]. BMJ Open, 2019, 9(4):653-659.
 - [5] SHENG T W, MULLINS T P, MELANIE F, et al. Modeling heart failure risk in diabetes and kidney disease: limitations and potential applications of transverse aortic

constriction in high-fat-fed mice[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2018, 314(6):R858-R869.

- [6] 郑彦强, 王俊芳, 王爱华. 血清 VEGF、FABP4 在妊娠期糖尿病早期肾损害诊断中的价值[J]. 中国计划生育学杂志, 2019, 27(1):75-78.
- [7] 康伟, 徐燕颖. 地黄多糖对糖尿病肾病大鼠模型的治疗作用及对 RAGE/NF- κ B 信号通路的影响[J]. 天津中医药, 2015, 32(6):364-367.

(收稿日期:2020-06-11 修回日期:2020-12-17)