

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.14.003

甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡的诱导作用*

郑晓珂¹, 王利娟¹, 张红巧¹, 杨小昂²

(1. 郑州大学第五附属医院肿瘤科, 郑州 450052; 2. 郑州大学医药科学研究院, 郑州 450052)

[摘要] **目的** 探讨甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡诱导作用及相关机制。**方法** 以甘草酸苷(0、10、30、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)处理肝癌细胞 SMCC-7721 48 h 后, 咪唑蓝(MTT)法检测肝癌细胞活力的影响; 流式细胞术检测细胞凋亡和线粒体膜电位; 紫外分光光度法检测细胞中含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(Caspase-3)、Caspase-9 活性的影响; Western blot 分析线粒体途径中相关蛋白 p53、细胞色素 C(CytC)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)和 Bcl-2 相关蛋白(Bax)的表达。**结果** 与阴性对照比较, 10、30、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 甘草酸苷可显著降低细胞的活力($P < 0.01$), 诱导细胞凋亡($P < 0.01$), 促进线粒体膜电位去极化($P < 0.01$), 抑制肝癌细胞 SMCC-7721 Caspase-3、Caspase-9 活性($P < 0.01$), 并上调 p53、CytC、Bax 的表达($P < 0.01$), 下调 Bcl-2 的表达($P < 0.01$), 且作用呈现浓度依赖关系。**结论** 甘草酸苷可通过线粒体途径诱导肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡。

[关键词] 肝肿瘤; 细胞凋亡; 甘草酸; 肝癌细胞 SMCC-7721; 甘草酸苷; 线粒体途径

[中图分类号] R735.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)14-1879-03

Induction of glycyrrhizin on apoptosis in hepatocellular carcinoma cell SMCC-7721*

Zheng Xiaoke¹, Wang Lijuan¹, Zhang Hongqiao¹, Yang Xiaolang²

(1. Department of Oncology, the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China;

2. Institute of Medicine, University of Zhengzhou, Zhengzhou, Henan 450052, China)

[Abstract] **Objective** To explore the molecular biological mechanism and induction of glycyrrhizin on apoptosis in hepatocellular carcinoma cell SMCC-7721. **Methods** MTT method was used to detect the viability of SMCC-7721 cells after the cells were cultured with glycyrrhizin of 0 (negative control), 10, 30 and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The mitochondrial membrane potential and cell apoptosis of SMCC-7721 cell was measured by flow cytometry. The activity of Caspase-3, Caspase-9 was assayed by spectrophotometric assay. The mitochondrial pathway related protein p53, cytochrome (CytC), Bax, Bcl-2 was assayed by Western blot. **Results** Compared with negative control group, 10, 30, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ glycyrrhizin inhibited SMCC-7721 cell viability ($P < 0.01$), induced SMCC-7721 cell apoptosis and promoted mitochondrial membrane potential depolarization ($P < 0.01$), as well as inhibited the activity of Caspase-3 and Caspase-9 ($P < 0.01$), upregulated the expression of p53, CytC, Bax ($P < 0.01$) and down-regulated the expression of Bcl-2 ($P < 0.01$). The effects were related with the medicine concentration in does-dependent. **Conclusion** glycyrrhizin could induce SMCC-7721 cell apoptosis, which might be related with mitochondrial pathway.

[Key words] liver neoplasms; apoptosis; glycyrrhizic acid; hepatocellular carcinoma cell SMCC-7721; glycyrrhizin; mitochondrial pathway

肝癌是世界上最常见的癌症之一, 目前临床上使用的化疗药物在杀死癌细胞的同时, 也杀死了正常的细胞, 给患者造成了很大痛苦, 寻找高效、低毒的药物具有显著意义。病毒引起的肝硬化、肝炎是肝癌产生的危险因素^[1-2]。在治疗慢性病毒性乙型肝炎的临床研究中发现, 复方甘草酸苷有降低肝细胞损害的作用^[3]。亦有研究表明甘草酸苷对急性肝衰竭大鼠模型具有保护作用^[4]。本课题考察甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 的凋亡诱导作用及其机制, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 人肝癌细胞 SMCC-7721 购于中国科学院上海细胞库, 目录号为 TCHu 52。复方甘草酸苷注射液, 由日本米诺发源制药株式会社提供, 含甘草酸苷 2 mg/mL, 注册号为 H20030185。兔抗 p53、细胞色素 C(CytC)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)单克隆抗体购自美国 Abcam 公司; Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒、线粒体膜电位检

测试剂盒(JC-1 法)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)、9 分光光度法检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GADPH)购自碧云天生物技术有限公司; 胎牛血清、DMEM 培养基、MTT 购自美国 Gibco 公司。Forma Class II 生化培养箱购自美国 Thermo 公司; ChemiDoc MP 凝胶成像系统购自 Bio-Rad 公司; FACSCalibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司; 双垂直电泳仪、转印电泳仪购自北京六一仪器厂; Tecan Infinite F200/M200 型多功能酶标仪购自瑞士 TECAN 集团公司。

1.2 方 法

1.2.1 MTT 法 将处于对数生长期的肝癌细胞 SMCC-7721, 消化, 调整细胞浓度, 接种, 培养 24 h。加入含甘草酸苷(10、30、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)DMEM 培养基, 继续培养 48 h, 加 MTT (5 mg/mL)20 μL , 4 h 后, 吸弃上清液, 并加入 DMSO 150 μL , 振荡摇匀, 在酶标仪 570 nm 处测定光密度(OD)值。

1.2.2 流式细胞术检测 按 1.2.1 方法接种, 给药 48 h 后, 按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明书的方法进行操作。用 0.25% 的胰蛋白酶[不含乙二胺四乙酸(EDTA)] 消化细胞, 磷酸盐缓冲液(PBS) 洗涤 2 次, 离心收集细胞; 再按顺序依次加入 500 μL Binding Buffer、5 μL Annexin V-FITC 及 5 μL 碘化丙啶(PI), 混匀后, 室温、避光反应 10 min 左右, 在 1 h 内进行流式细胞仪检测。

1.2.3 细胞线粒体膜电位($\Delta\psi\text{m}$)检测 按 1.2.1 方法接种, 给药 48 h 后, 按照 JC-1 法说明书的方法进行操作。用 0.25% 胰蛋白酶(不含 EDTA) 消化, PBS 洗涤 2 次, 离心收集细胞。将 10 \times Incubation Buffer 稀释成 1 \times Incubation Buffer。取 1 μL JC-1 加入到 500 μL 1 \times Incubation Buffer 中配成 JC-1 工作液, 取 500 μL JC-1 工作液, 加入培养板中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 离心收集细胞, 1 \times Incubation Buffer 500 μL 重新悬浮细胞, 流式细胞仪分析。线粒体膜电位检测采用荧光燃料 JC-1 作为跨膜电位指示剂。JC-1 可透过正常细胞膜以单聚体形式聚集细胞内, 并依赖于线粒体跨膜电位的极性, 当其浓度增高可形成多聚体, 并发射红色荧光(Q2 区间); 而细胞发生凋亡时, 线粒体跨膜电位去极化, 细胞内 JC-1 浓度降低, 就以单体的形式存在, 发射绿色荧光(Q4 区间)。根据这一特征检测线粒体膜电位的变化。

1.2.4 Caspase-3、Caspase-9 酶活性检测 按 1.2.1 方法接种, 给药 48 h 后, 按照 Caspase-3、Caspase-9 分光光度检测试剂盒说明书的方法进行操作。用 0.25% 胰蛋白酶(不含 EDTA) 消化, PBS 洗涤 2 次, 离心收集细胞。将 50 μL 预冷的 Lysis Buffer 加入细胞中, 吹打均匀并置冰上裂解 30 min, 每隔 10 s 进行振荡, 4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心 1 min, 小心吸取上清液, 置 4 $^{\circ}\text{C}$ 待测。取 1~2 μL 上清液, 检测其中的蛋白浓度。再吸取 50 μL 含 100~200 μg 蛋白的细胞裂解上清液, 按顺序依次加入 2 \times Reaction Buffer 50 μL 、Caspase-3 Substrate 5 μL , 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 4 h, 用酶标仪检测 405 nm 处吸光度, 计算出每毫克蛋白相当的 OD 值。

1.2.5 Western blot 检测 按 1.2.1 方法接种, 收集细胞, 用裂解液裂解细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 10 000 r/min 离心 10 min, 获得蛋白样品。BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。蛋白变性, 30~50 ng 蛋白样品上样, 进行十二烷基磺酸钠(SDS) 凝胶电泳 2 h, 湿法转膜 30~60 min, 5% 脱脂奶粉封闭, 加入一抗(1:100) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(TBST) 洗涤 3 次, 后加入二抗(1:500) 室温孵育 1.0~1.5 h, TBST 洗涤 3 次。后加电化学发光(ECL) 曝光液在凝胶成像系统中曝光。并用“Quantity one”软件对蛋白灰度值进行统计分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计处理, 计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

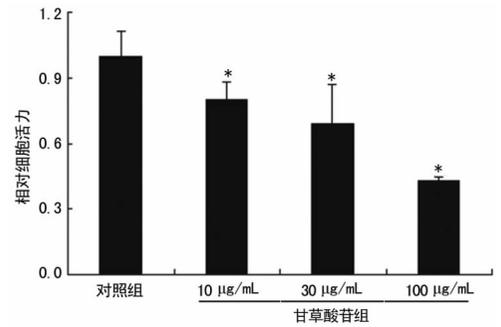
2 结 果

2.1 甘草酸苷对肝癌细胞肝癌细胞 SMCC-7721 活力的影响

随着作用浓度的增加, 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 活力抑制作用逐渐增强, 在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 抑制程度最大, 差异有统计学意义($P<0.01$), 见图 1。

2.2 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡的影响 正常肝癌细胞 SMCC-7721 中仅有少量的细胞发生早期凋亡和晚期凋亡; 随着给药浓度的增加, 早期和晚期凋亡细胞数均显著增加,

与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 1。



*: $P<0.01$, 与对照组比较。

图 1 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 活力的影响

表 1 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡的影响($\bar{x}\pm s$)

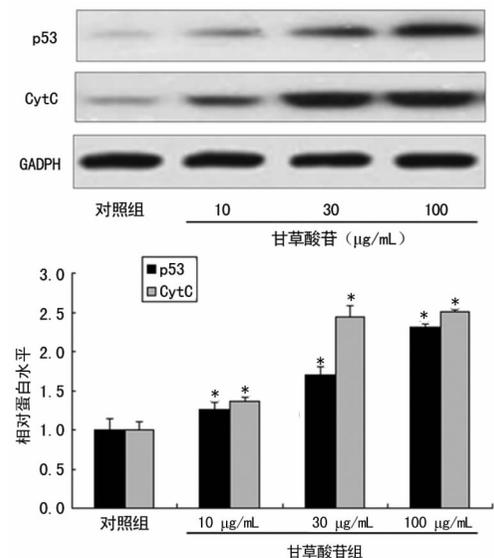
组别	早期凋亡	晚期凋亡
对照组	2.4 \pm 0.56	5.1 \pm 0.23
甘草酸苷 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组	6.0 \pm 0.16 ^a	6.2 \pm 0.56
甘草酸苷 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组	11.7 \pm 0.11 ^a	8.0 \pm 0.29 ^a
甘草酸苷 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组	13.2 \pm 0.13 ^a	10.8 \pm 0.29 ^a

^a: $P<0.01$, 与对照组比较。

表 2 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 线粒体膜电位及 Caspase-3、Caspase-9 活性的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	线粒体膜电位(%)	Caspase-3 (pg/mL)	Caspase-9 (pg/mL)
对照组	7.63 \pm 0.72	6.98 \pm 0.43	4.21 \pm 0.23
甘草酸苷 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组	19.10 \pm 1.90 ^b	4.72 \pm 0.38 ^a	3.70 \pm 0.35 ^a
甘草酸苷 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组	35.74 \pm 3.68 ^b	3.86 \pm 0.37 ^b	2.90 \pm 0.22 ^b
甘草酸苷 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组	48.26 \pm 4.57 ^b	2.84 \pm 0.29 ^b	2.43 \pm 0.25 ^b

^a: $P<0.05$, ^b: $P<0.01$, 与对照组比较。



*: $P<0.01$, 与对照组比较。

图 2 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 中 p53 及 CytC 水平的影响

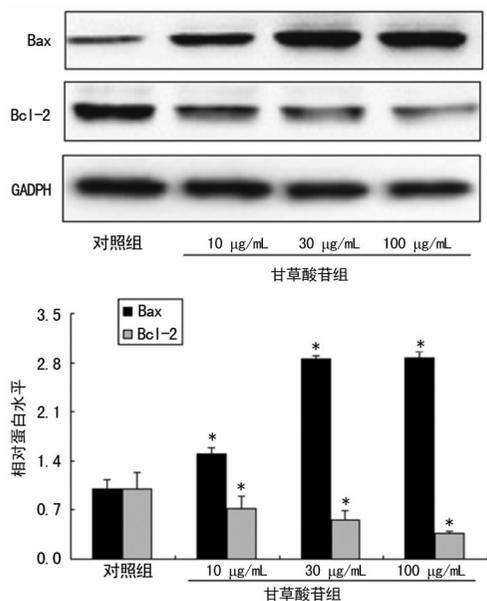
2.3 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 线粒体膜电位的影

响 随着给药浓度的增加,甘草酸苷可显著引起细胞线粒体膜电位去极化,且作用呈现浓度依赖关系,见表 2。

2.4 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 中 Caspase-3、Caspase-9 活性的影响 与对照组相比,随着给药浓度的增加,甘草酸苷能显著抑制肝癌细胞 SMCC-7721 中 Caspase-3、Caspase-9 活性,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.5 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 中 p53 及 CytC 水平的影响 与对照组相比,随着给药浓度的增加,甘草酸苷能显著抑制 p53 及 CytC 的表达,差异均有统计学意义($P<0.01$),见图 2。

2.6 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 中 Bax、Bcl-2 水平的影响 与对照组相比,随着给药浓度的增加,甘草酸苷能显著提高 Bax 的表达,下调 Bcl-2 的表达,差异均有统计学意义($P<0.01$),见图 3。



*: $P<0.01$, 与对照组比较。

图 3 甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 中 Bax、Bcl-2 水平的影响

3 讨 论

肝癌的发生不仅仅因为细胞增殖过度 and 分化异常,细胞程序性凋亡减少也可导致其发生。因此通过诱导肿瘤细胞凋亡使其重新恢复细胞凋亡能力,已成为肿瘤治疗目前的研究热点之一^[5]。乙型肝炎、丙型肝炎病毒感染是肝细胞癌产生的危险因素之一^[1-2]。甘草酸苷具有抗病毒引起的肝炎^[3]。因此本文通过 MTT 实验和 Annexin V-FITC 流式细胞法检测甘草酸苷对肝癌细胞 SMCC-7721 的作用,发现一定剂量甘草酸苷能显著抑制肝癌细胞 SMCC-7721 活力,诱导肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡。

凋亡途径包括内源性和外源性两个通路,内源性通路由线粒体途径介导。线粒体是细胞能量代谢的中心,细胞凋亡会使线粒体功能发生紊乱及障碍,而线粒体功能障碍反之也会促使自由基大量产生、兴奋性氨基酸大量释放、钙离子超载外,也能直接诱导细胞凋亡。当含 Bcl-2 家族的成员在接受细胞内的死亡信号后被激活,会引起线粒体膜通透性明显升高,诱发 CytC 的释放,诱导 Caspase-9 的活化激活级联反应。Bax mRNA

表达低下或缺失参与了肝胆管癌的发生、发展过程^[6]。Bcl-2 过表达参与了肝癌的发生、发展及转移等过程^[7]。通过线粒体途径及上调 Bax 表达,增加 Bax/Bcl-2 比率可诱导肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡^[8]。当甘草酸苷作用 SMMC-721 后,可提高 Bax 表达,抑制 Bcl-2 表达,提示甘草酸苷可通过调节 Bax、Bcl-2 蛋白表达从而诱导肿瘤细胞凋亡。

CytC 是一种水溶性蛋白,位于线粒体外膜之间,并与内膜松弛相连,当线粒体受损后,线粒体通透性转变孔道开放,CytC 从构建的空隙中进入细胞质中,引起后续的凋亡反应。线粒体的损伤为线粒体凋亡途径中标志性的指标。CytC 的表达是肝癌细胞凋亡的晚期事件^[9]。本试验发现,通过一定剂量甘草酸苷作用肝癌细胞 SMCC-7721 后,细胞质中 CytC 表达上升,线粒体去极化显著。Caspase-家族在程序性细胞死亡过程中发挥了关键的作用。Caspase-9 是凋亡发生的启动者,而 Caspase-3 被认为是 Caspase 级联反应中最重要的执行者,活化的 Caspase-3 可以裂解 PARP 进而引起 DNA 的损伤,还可以诱导细胞骨架结构重构和瓦解^[10]。Caspase-3 低表达在肝癌中的发生、发展过程中起着重要作用^[11]。Caspase-9 的高表达参与了肝癌的发生过程^[12]。本试验也证实肝癌细胞 SMCC-7721 中 Caspase-3、Caspase-9 活性较低,给予一定剂量的甘草酸苷能显著抑制 Caspase-3、Caspase-9 活性的上升。

p53 在细胞凋亡引起的 DNA 损伤过程中是一个关键因素,它是第 1 个被证实的抑癌基因,其产物 p53 蛋白存在于正常的细胞内,参与细胞生长、分化和死亡,与肿瘤的发生密切相关。研究证实 p53 能够引起线粒体介导的 Caspase 依赖性凋亡的发生^[13]。同时 p53 能够调节诱导凋亡与抗凋亡基因之间的平衡,而其激活也是凋亡所需的^[14]。p53 蛋白的低表达是肝癌细胞低分化,高转移潜能,预后差的生物学标志之一^[15]。通过提高 p53 表达,能一定程度上诱导肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡^[16]。本试验也发现,肝癌细胞 SMCC-7721 中 p53 低表达,甘草酸苷作用后,可显著提高 p53 表达。

总之,一定剂量的甘草酸苷能诱导肝癌细胞 SMCC-7721 凋亡,是通过促进细胞线粒体膜电位去极化,上调 p53、CytC、Bax 的表达,下调 Bcl-2 的表达来实现。

参考文献

- [1] Surveillance PA, Age-Specific OC. In relation to the epidemic of hepatitis C infection [J]. J Registry Manag, 2013, 40(3):144-145.
- [2] Strasser SI. Managing hepatitis B to prevent liver cancer: recent advances [J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 8(4):409-415.
- [3] 陈金强. 复方甘草酸苷治疗慢性病毒性乙型肝炎的临床研究 [J]. 中国药业, 2013, 22(4):27-28.
- [4] 裴旭东, 翟玉峰, 张怀宏. 复方甘草酸苷对大鼠急性肝衰竭保护机制的研究 [J]. 实用药物与临床, 2012, 15(8):464-466.
- [5] Liu Q, Chen W, Jiao Y, et al. Pulsatilla saponin A, an active molecule from Pulsatilla chinensis, induces cancer cell death and inhibits tumor growth in mouse xenograft models [J]. J Surg Res, 2014, 188(2):387-395.

(下转第 1885 页)

参考文献

- [1] GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. *Lancet*, 2015, 385(9963):117-171.
- [2] Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives[J]. *Lancet*, 2013, 382(9888):260-272.
- [3] Lane BR, Demirjian S, Derweesh IH, et al. Is all chronic kidney disease created equal? [J]. *Curr Opin Urol*, 2014, 24(2):127-134.
- [4] Chen Y, Tang L, Feng Z, et al. Pathological predictors of renal outcomes in nephrotic idiopathic membranous nephropathy with decreased renal function[J]. *J Nephrol*, 2014, 27(3):307-316.
- [5] 张路霞, 王海燕. 中国慢性肾脏病的现状及挑战——来自中国慢性肾脏病流行病学调查的启示[J]. *中华内科杂志*, 2012, 51(7):497-498.
- [6] 郑法雷, 李雪梅. 早中期慢性肾脏病防治对策: 如何逆转或延缓[J]. *北京医学*, 2009, 31(3):170-172.
- [7] Remuzzi G, Benigni A, Finkelstein FO, et al. Kidney failure: aims for the next 10 years and barriers to success[J].

Lancet, 2013, 382(9889):353-362.

- [8] Oka Y, Tsuboi A, Fujiki F, et al. "Cancer antigen WT1 protein-derived peptide"-based treatment of cancer-toward the further development[J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(29):3052-3061.
- [9] Arioka Y, Yamamoto Y, Hoshi M, et al. Pre-administration of L-tryptophan improved ADR-induced early renal failure in mice[J]. *Life Sci*, 2012, 91(3/4):100-106.
- [10] 王晨丹, 李荣山, 乔晞, 等. 阿霉素诱发局灶节段性肾小球硬化肾病大鼠模型的建立[J]. *中国医药*, 2011, 6(12):1447-1451.
- [11] 薛痕, 樊均明, 陈亮, 等. 大鼠肾间质纤维化动物模型的实验研究[J]. *四川动物*, 2004, 23(1):16-20.
- [12] 尚小梅, 孙秀丽. 大鼠 5/6 肾切除慢性肾衰竭模型的制作[J]. *包头医学院学报*, 2015, 31(4):20, 22.
- [13] Xiao XY, Mo LQ, Song SL, et al. Compound huang gan delays chronic renal failure after 5/6 nephrectomy in rats[J]. *J South Med Univ*, 2014, 34(11):1661-1667.
- [14] 徐海山, 庄永泽, 曾俊婷. 单侧肾切除+股静脉注射阿霉素制作进展性肾病模型[J]. *当代医学*, 2009, 15(34):41-42.

(收稿日期:2015-11-08 修回日期:2015-12-27)

(上接第 1881 页)

- [6] Zhao W, Zhang B, Guo X, et al. Expression of Ki-67, Bax and p73 in patients with hilar cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Biomark*, 2014, 14(4):197-202.
- [7] 杨闯, 魏振彤, 郑宇, 等. 肝癌中 Bcl-2、Bax 和 C-myc 基因的表达及其临床意义[J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(4):450-451.
- [8] 李海艳, 徐燕丰, 辛海量, 等. 科罗索酸对 SMMC-7721 细胞生长抑制作用的初步研究[J]. *山东医药*, 2011, 51(52):44-46.
- [9] 陈昊, 陈乃玲, 张春芳, 等. 细胞色素 C 及相关细胞凋亡蛋白、基因在原发性肝癌组织表达的临床意义[J]. *中国实验诊断学*, 2011, 15(7):1083-1086.
- [10] Han HJ, Kwon HY, Sohn EJ, et al. Suppression of E-cadherin mediates gallotannin induced apoptosis in Hep G2 hepatocellular carcinoma cells[J]. *Int J Biol Sci*, 2014, 10(5):490-499.
- [11] 郭晓东, 杨美, 郭超楠, 等. 肝癌组织中凋亡调控因子 Fas, FasL 及 Caspase-3 的表达及意义[J]. *肝脏*, 2014, 15(4):250-253.

- [12] 郭晓东, 李志伟, 杨美, 等. Caspase-9 和 Survivin 在肝癌组织中的表达及意义[J]. *临床肝胆病杂志*, 2014, 30(3):253-256.
- [13] Qu C, Chen T, Fan C, et al. Efficacy of neonatal HBV vaccination on liver cancer and other liver diseases over 30-year follow-up of the Qidong hepatitis B intervention study: a cluster randomized controlled trial [J]. *PLoS Med*, 2014, 11(12):e1001774.
- [14] Cheng M, He B, Wan T, et al. 5-Fluorouracil nanoparticles inhibit hepatocellular carcinoma via activation of the p53 pathway in the orthotopic transplant mouse model [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47115.
- [15] 王为东, 李玉军. 肝细胞肝癌中端粒酶、p53 和 CK19 的表达及意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2012, 28(8):862-866.
- [16] 邹夏慧, 张焜和, 陈江, 等. 仙鹤草水提液对 SMMC-7721 肝癌细胞的抗癌作用及其机制[J]. *重庆医学*, 2013, 42(32):3929-3931, 3934.

(收稿日期:2015-11-12 修回日期:2015-12-28)

欢迎投稿

欢迎订阅