

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.04.005

异常黑胆质肝癌移植模型大鼠 Rho/Rock 信号通路相关分子表达研究*

任海燕¹ 胡汉华¹ 乔慧瑛² 汤建安¹ 谢风莲¹ 张敏芳^{1Δ}

(1 新疆医科大学中心实验室电镜室 新疆 乌鲁木齐 830011; 2 吴江区第一人民医院老年医学科 江苏 苏州 215200)

摘要 目的:探讨异常黑胆质证肝癌移植模型大鼠 Rho/Rock 信号通路相关分子的蛋白表达, 诠释异常黑胆质肿瘤高发的分子生物学基础。**方法:**采用足底电击、干寒饲料、铁管制动等多种因素刺激 21 d 建立异常黑胆质证大鼠模型, 在此基础上通过肝内注射 walker-256 瘤细胞建立异常黑胆质大鼠肝癌移植模型, 观察其肝脏组织形态结构变化, 并采用 Western Blot 法检测大鼠肝脏相关蛋白的表达变化。**结果:**异黑肿瘤组肝脏组织形成明显癌巢, 与对照组相比癌旁组织肝索结构紊乱, 癌细胞向肝小叶深部迁移; 异常黑胆质成熟剂给药组癌细胞崩解、凋亡, 胶原纤维增生, 癌旁肝索重构。与对照组相比, 肿瘤组 Cdc42 和 Rock2 蛋白表达均明显增加 ($P < 0.05$), 异黑肿瘤组 Cdc42、Rac1、Rock1、Rock2 和 Myl1 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$); 与异黑肿瘤组相比, 异常黑胆质成熟剂 (ASM) 给药组 Cdc42、Rac1、Rock1、Rock2 和 Myl1 蛋白表达呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$), 且与对照组无显著差异。**结论:**异常黑胆质证肝癌移植模型可能与 Rho/Rock 信号通路分子通过调控肌动蛋白收缩引起的肿瘤细胞侵袭、转移生物学行为等作用有关, 异常黑胆质成熟剂可能通过下调 Rho/Rock 信号通路分子使损伤的组织形态逆转。

关键词:异常黑胆质证候; 肝癌模型; Rho/Rock 信号通路; 异常黑胆质成熟剂 (ASM)

中图分类号:R-33; R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)04-621-06

Research of Expression of Molecules Related to Rho/Rock Signaling Pathway in the Transplanted Hepatoma Rats Model with Abnormal Savda Syndrome*

REN Hai-yan¹, HU Han-hua¹, QIAO Hui-ying², TANG Jian-an¹, XIE Feng-lian¹, ZHANG Min-fang^{1Δ}

(1 Electron Microscope Room of Central Laboratory of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China;

2 Department of Geriatric Medicine of the First People's Hospital of Wujiang District, Suzhou, Jiangsu, 215200, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of molecules related to Rho/Rock signaling pathway in the transplanted hepatoma rats model with abnormal savda syndrome and explain the molecular biology mechanism of high incidence of abnormal savda syndrome tumors. **Methods:** The rats model with abnormal savda syndrome were developed by electric shock, cold feeding, iron pipe braking and other factors for 21 days. Then the transplanted hepatoma rats model were established by inoculating walker-256 ascites tumor cells into the liver. At last the changes of morphological structure was observed and the expression of related proteins was detected by Western Blot method in rats' liver. **Results:** Compared with the control group, obvious tumor nests could be observed in the model with the abnormal savda syndrome group, the adjacent tissue of the cancer was disordered, the cancer cells migrated to the deep of hepatic lobule; Cancer cells disintegration and apoptosis, collagen proliferation, reconstruction of hepatic cord near cancer could be observed in the treatment group with ASM. Compared with the control group, the expression of Cdc42 and Rock2 proteins was significantly higher in the model control group ($P < 0.05$), the expression of Cdc42, Rac1, Rock1, Rock2 and Myl1 proteins was significantly higher in the model with the abnormal savda syndrome group ($P < 0.05$); Compared with the model with the abnormal savda syndrome group, the expression of Cdc42, Rac1, Rock1, Rock2 and Myl1 proteins showed dose-dependent decrease in the treatment group with ASM ($P < 0.05$). **Conclusion:** There was certain correlation between the model with the abnormal savda syndrome and tumor cells invasion, transfer caused by molecules related to Rho/Rock signaling pathway regulating actin contraction, ASM might reverse the injury of histomorphology through down-regulating the molecules related to Rho/Rock signaling pathway.

Key words: Abnormal savda; Hepatoma rats model; Rho/Rock signaling pathway; Abnormal Savda Munziq (ASM)

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)04-621-06

前言

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 其起病隐匿、病程短、病死率高。在维吾尔医学理论中, 当机体受到不良因素影响, 导致

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2015211C022)

作者简介: 任海燕 (1984-), 硕士研究生, 主要研究方向: 病理生理学, E-mail: 424732833@qq.com

Δ 通讯作者: 张敏芳 (1976-), 助理研究员, 主要研究方向: 心血管疾病的分子机制, E-mail: 121584719@qq.com

(收稿日期: 2017-10-01 接受日期: 2017-10-24)

体液失衡,最终生成一种产物,称为"异常黑胆质",该产物可能诱导肿瘤等疾病的发生,按照维吾尔医学分型,异常黑胆质型肿瘤构成比占72%,约占比恶性肿瘤的三分之二,说明异常黑胆质的生成最易引起肿瘤^[1]。针对异常黑胆质体液,维医的治疗常采用"成熟-清除疗法",即先采用异常黑胆质成熟剂(Abnormal Savda Munziq, ASM)令该种体液趋于成熟,再将其清除,既往的研究结果也初步证实了该方药对肝癌等肿瘤细胞的抑制作用^[11-13]。

Rho GTPase 是具有 GTP 酶活性的小分子量结合蛋白,属于 Ras 超家族蛋白。近来研究发现,Rho GTPases 家族成员在多种恶性肿瘤中异常表达,并与肿瘤的发生发展尤其是侵袭、转移密切相关^[2,3]。

本研究旨在异常黑胆质证动物模型的基础上建立异常黑胆质肝癌移植大鼠模型;通过检测大鼠肝脏蛋白表达的变化,探讨 Rho/Rock 信号通路在异常黑胆质型肝癌大鼠模型中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物:SD 大鼠 72 只,清洁级,雄性,体重(150±30)g,由新疆医科大学实验动物中心提供。

干寒属性饲料的制备:普通鼠饲料:苕荬子:大麦按 7:1.5:1.5 比例混合,制成颗粒状干饲料,委托自治区医学试验动物中心加工。

主要仪器设备及试剂:RQH-350 型人工气候箱(上海精宏实验设备有限公司);BS-110 型电子天平(北京赛多科斯天平有限公司);低温超速离心机(美国 Beckman 公司);Leica RM2235 切片机;Motic BA-400 全自动显微镜;JEOL 1230 透射电子显微镜;xMarkTM 酶标仪(Bio-Rad, China);Chemscope 3000 化学发光成像仪系统(上海勤翔科学仪器有限公司);Mini-PROTEAN Tetra system 蛋白转膜仪(Bio-Rad, USA);DY-CZ-24DN 电泳仪(Beijing Liuyi, China);异常黑胆质成熟剂(ASM, 新疆维吾尔自治区维吾尔医医院提供)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 将大鼠稳定饲养 3 d 后,随机分为对照组、单纯肝癌移植组、异常黑胆质型肝癌移植组,异常黑胆质成熟剂治疗组(分低、中、高剂量三组),每组 12 只。

1.2.2 模型制备 参照朱峰等^[4]的研究方法,肝癌移植术操作步骤如下:将 walker-256 瘤细胞常规复苏、培养、增殖,收集第 3 代细胞,调整细胞悬液密度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$,给幼鼠腹腔注射(剂量为 1 mL/g),7 d 后幼鼠出现腹水。抽取腹水,800 r/min 离心 3 min,生理盐水洗 3 次,弃上清,调整浓度为 $3 \times 10^6/\text{mL}$ 的细胞悬液备用。将大鼠术前禁食 12 h,2%戊巴比妥钠 40 mg/kg 剂量腹腔注射麻醉,仰卧位固定手术板上,无菌条件下腹中线切 1.5 cm,暴露肝脏,脱出肝左外叶,用 1.5 mL 注射器抽取细胞悬液,针头与肝脏成 30° 斜刺入肝脏 0.5 cm,注入 0.05 mL (1 mL/g)细胞悬液,拔出针头,棉签压迫无渗血关腹。(1)对照组:在室温下(25±3)°C,相对湿度(60-80)%,用普通鼠饲料饲养,随机饮食水,未受任何刺激,饲养 3 w 后行假肝癌移植术(注射生理盐水),术后饲养 2 w 处死动物并取材。(2)单纯肝癌移植模型(以下简称肿瘤组):与对照组相同条件饲养 3 w,行

肝癌移植手术后饲养 2 w,处死动物并取材。(3)异常黑胆质证肝癌移植模型(以下简称异黑肿瘤组):按文献^[5,6]多因素复合作用 3 w,建立维吾尔医学异常黑胆质证载体大鼠模型。行肝癌移植手术后,以生理盐水 1.5 mL/kg 灌胃 2 w,处死动物取材。(4)异常黑胆质成熟剂治疗组:同异黑肿瘤组行肝癌移植手术后,参照祖力皮喀尔等^[7]的研究方法,以异常黑胆质成熟剂(低、中、高剂量分别为 1.5、3.0、6.0 g/kg)灌胃 2 w 后,处死动物取材。

1.2.3 饲养方式 对照组及肿瘤组继续予以普通饲料饲养;异黑肿瘤组及 ASM 给药组继续采取异常黑胆质证载体模型饲养方式,术后每组饲养时长均为 2 w。

1.2.4 样品取材 术后 2 w,将各组大鼠断头处死后取出肝脏并称重,生理盐水清洗干净后以 4%多聚甲醛固定。

1.2.5 光镜标本制作 标本固定于 4%多聚甲醛,乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、苏木素-伊红(HE)染色,光学显微镜观察。

1.2.6 Western Blot 蛋白表达分析 (1)蛋白提取:组织样本经液氮研磨后,以 RIPA 裂解液提取蛋白,经离心、分离上清的蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。(2)蛋白变性:加入适量 $5 \times \text{SDS-PAGE loading buffer}$,100°C 沸水加热 5 min,使蛋白充分变性,离心,取上清 -20°C 保存。(3)蛋白分析:每孔加 60 mg 组织蛋白,SDS-PAGE 试剂盒制胶、电泳,经转膜后;以 abcam(一抗)和 Thermo Scientific(二抗)抗体孵育、印迹;经 Thermo Scientific(货号:34080)显色剂显色,ChemiScope mini 化学发光仪检测、拍照,计算目的蛋白的积分光密度值,并与 β -actin 比较,计算目的蛋白的表达丰度。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 16.0 统计软件对所得数据进行处理和分析,正态分布计量资料用 " $\bar{x} \pm s$ " 表示,采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 代表差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况

肿瘤组大鼠毛色无光泽,体形消瘦,腹部隆起明显,体重较对照组轻($P > 0.05$,无显著性差异),肝重较对照组略重($P > 0.05$,无显著性差异),开腹可见较多腹水。异黑肿瘤组大鼠毛色无光泽,体重较对照组和肿瘤组明显减轻[(282.70±23.39)/(364.68±38.65),(340.12±43.63) g, $P < 0.05$],肝重较对照组和肿瘤组明显减轻[(9.79±1.26)/(12.59±1.35),(13.08±2.22) g, $P < 0.05$],腹部略隆起,开腹可见少量腹水,可见腹腔肝外较多肿瘤灶。异常黑胆质成熟剂给药各组均可见体重较异黑肿瘤组增加,高剂量组增加明显[(282.70±23.39)/(332.33±26.64) g, $P < 0.05$],且高剂量组与对照组体重无显著性差异($P > 0.05$);肝重较异黑肿瘤组增加,高剂量组增加明显 [(9.79±1.26)/(11.94±2.22) g, $P < 0.05$],且给药组与对照组体重无显著性差异($P > 0.05$);腹部平坦,开腹未见腹水及肝外肿瘤灶。各组肝脏重量与体重变化。见表 1。

2.2 各组大鼠肝脏肿瘤组织显微结构观察结果

石蜡切片 HE 染色可见,对照组肝组织肝索排列有序,肝细胞、血窦及 Kuffer 氏细胞细胞正常(见图 1.A)。肿瘤组与异黑肿瘤组均可见癌巢中有大量低分化的癌细胞,肿瘤组癌巢周围有大量白细胞聚焦,癌旁肝组织肝板条索不清晰,部分肝细

表 1 各组大鼠体重和肝脏重量比较

Table 1 The comparison of rats' weight and livers' weight in each group

Groups	Control group	Model group	Model group with abnormal savda syndrome	ASM(L) group	ASM(M) group	ASM(H) group
Rats' weight	364.68± 38.65	340.12± 43.63	282.70± 23.39 ^{▼▲}	318.48± 14.94 [▼]	308.68± 36.45 [▼]	332.33± 26.64 [▲]
Livers' weight	12.59± 1.35	13.08± 2.22	9.79± 1.26 ^{▼▲}	11.23± 0.38	11.70± 0.69	11.94± 2.22 [▲]

Note: [▼]compared with Control group: $P < 0.05$; [▲]compared with Model group: $P < 0.05$;

[▲] compared with Model group with abnormal savda syndrome: $P < 0.05$.

胞肿胀、细胞核呈分裂象(见图 1.B)。异黑肿瘤组除癌巢外可见癌细胞浸润肝组织,白细胞少见,肝组织肝细胞排列紊乱,肝细胞肿胀及细胞核分裂象明显,可见泡沫细胞和胶原纤维增生(见图 1.C)。

异常黑胆质成熟剂治疗各组均可见癌细胞变性坏死,癌巢中可见较多泡沫细胞及癌细胞崩解碎片,高剂量组可见胶原纤维增生及新生血管明显等肝小叶重构形态(见图 1.DEF)。

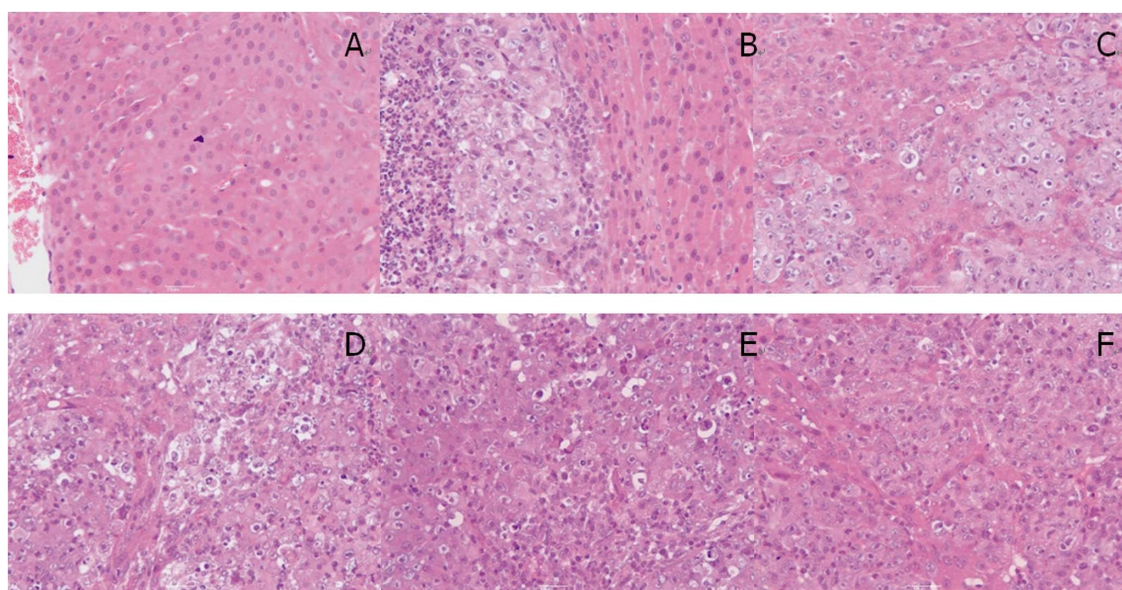


图 1 肝癌移植术后肝脏癌组织 HE 染色结果

Fig.1 HE staining of carcinoma tissues after hepatoma transplantation

Note: A Control group($\times 400$) B Model group($\times 400$) C Model group with abnormal savda syndrome($\times 400$) D Group of low-dose ASM($\times 400$) E Group of middle-dose ASM($\times 400$) F Group of high-dose ASM($\times 400$)

2.3 肝脏相关蛋白表达水平变化

以目的蛋白与 β -actin 积分光密度比值作为衡量指标:与对照组相比,肿瘤组 Cdc42 ($0.431 \pm 0.194/0.714 \pm 0.019$, $P < 0.05$)和 Rock2 ($0.198 \pm 0.140/0.547 \pm 0.132$, $P < 0.05$)蛋白表达均明显增加;异黑肿瘤组 Cdc42、Rac1、Rock1、Rock2 和 Myl1 蛋白表达明显增加($P < 0.05$)。肿瘤组和异黑肿瘤组间各蛋白表达无显著差异。见表 2,图 2。

与肿瘤组相比,异常黑胆质成熟剂中、高剂量组 Cdc42 和 Rock2 蛋白表达明显降低($P < 0.05$),且与对照组无显著差异。与异黑肿瘤组相比,异常黑胆质成熟剂组 Cdc42、Rac1、Rock1、Rock2 和 Myl1 蛋白表达呈剂量依赖性降低($P < 0.05$),且与对照组无显著差异。见表 2,图 2。

3 讨论

维吾尔医学体液论认为,黑胆质体液贮存于脾脏,是一种色略黑、味酸涩的液体,属性干寒。它具有形成沉淀、保持器官形状与特质的功能,且能平衡胆液质、血液质体液的热性,防止机体体液的偏盛。由于各种体内外因素影响,黑胆质体液质和 /

或量失调,即成为可诱发肿瘤等疾病的异常黑胆质体液^[1]。在维吾尔医学理论中,异常黑胆质型肿瘤是占比最高的恶性肿瘤,其发生率是非黑胆质型肿瘤的 2.15 倍^[8]。而针对在异常体液基础上发生发展的各种疾病,尤其是恶性肿瘤,维医理论认为应首先从改善异常体液的角度着手。ASM 组方由 10 味维药合参,属性湿热,具有成熟异常黑胆质体液,利尿、消炎解毒等功效^[9-10]。通过本身的热性使沉淀和凝结的异常黑胆软化稀释、逐渐降低其干寒属性从而恢复正常体液的生成、防止生成异常体液,使体液恢复平衡,发挥治疗异常黑胆质所致的肿瘤等疾病的作用。相关研究表明,ASM 对肿瘤的防治作用可能通过以下途径实现:(1)抑制肿瘤细胞生长同时促进其凋亡;(2)降低肿瘤细胞的侵袭能力,减少肿瘤发生转移;(3)降低肿瘤细胞的耐药性,提高抗肿瘤药物的功效;(4)修复癌变组织,促进组织再生及重构;(5)减轻放化疗的毒副作用,改善机体自身免疫功能,从而提高生活质量^[11-16]。

本实验中,种植癌细胞的肿瘤组腹部隆起明显、开腹观察到较多腹水产生和肝脏肿瘤灶、半薄片显微结构癌巢形成,表明癌细胞移植形成肿瘤模型;肿瘤组癌巢周围淋巴细胞大量

表 2 各组大鼠蛋白相对表达量比较

Table 2 Comparison of proteins' relative expression in each group

Groups	Cdc42	Myl1	Rac1	Rock1	Rock2
Control group	0.431± 0.194	0.114± 0.098	0.304± 0.135	0.185± 0.059	0.198± 0.140
Model group	0.714± 0.019 [▼]	0.361± 0.178	0.442± 0.105	0.341± 0.112	0.547± 0.132 [▼]
Model group with abnormal savda syndrome	0.715± 0.058 [▼]	0.461± 0.168 [▼]	0.633± 0.032 [▼]	0.419± 0.119 [▼]	0.531± 0.053 [▼]
ASM(L) group	0.553± 0.144	0.253± 0.137	0.499± 0.165	0.202± 0.129 [△]	0.295± 0.099 ^{△△}
ASM(M) group	0.407± 0.143 ^{△△}	0.198± 0.218	0.356± 0.121 [△]	0.174± 0.177 [△]	0.263± 0.163 ^{△△}
ASM(H) group	0.387± 0.086 ^{△△}	0.128± 0.098 [△]	0.335± 0.106 [△]	0.166± 0.094 [△]	0.214± 0.048 ^{△△}

Note: [▼]compared with Control group: P<0.05; [△]compared with Model group: P<0.05;

^{△△} compared with Model group with abnormal savda syndrome: P<0.05.

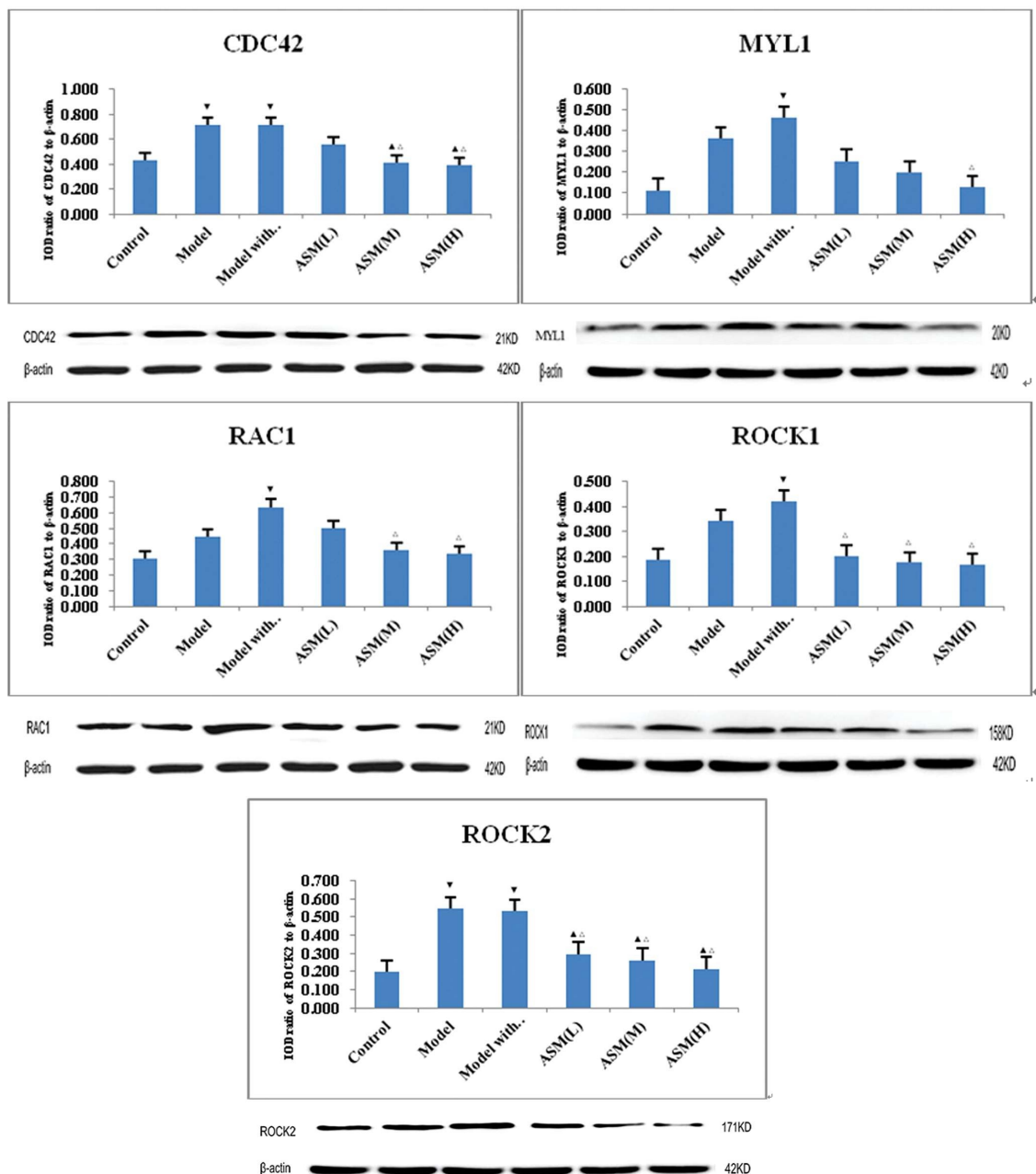


图 2 各组大鼠蛋白相对表达量比较(Western Blot)

Fig.2 Comparison of proteins' relative expression in each group(Western Blot)

Note: compared with Control group: P<0.05; [▲]compared with Model group: P<0.05;

[△] compared with Model group with abnormal savda syndrome: P<0.05.

聚焦,表明机体的免疫系统激活,形成大量腹水;异黑肿瘤组腹腔肝外较多肿瘤灶,且除癌巢外可见癌细胞浸润肝组织,表明该模型发生了肿瘤转移;ASM 治疗组可见肝癌细胞凋亡趋势,并且出现肝小叶重构形态。上述肝脏组织形态学改变与王延蛟等^[17,18]的研究结果一致:与肿瘤组相比,异黑肿瘤组肝脏组织病变更为显著,转移灶较多,而 ASM 可改善肝癌预后及转归。

RhoA、Cdc42 和 Rac1 是目前研究发现与肿瘤关系密切的三种 Rho GTPases 结合蛋白。RhoA 刺激肌动蛋白丝束形成应力纤维,Rac 促进肌动蛋白重构使细胞膜表面形成层形足板的"片状"结构,Cdc42 引起细胞膜变薄、富含肌动蛋白表面形成丝状伪足^[19,20]。Rho 蛋白以两种形式存在于细胞内:定位于细胞膜呈活化状态的结合型 Rho 蛋白(与 GTP 结合),以及定位于细胞质呈失活状态的结合型 Rho 蛋白(与 GDP 结合),二者可相互转换,其中前者具有磷酸酶活性,可以启动下游信号通路,RhoA 激活下游信号,调节肌动蛋白和肌球蛋白收缩,参与细胞迁移过程中的多个环节^[21,22]。Rho 相关激酶(Rho-associated kinases, Rock) 为 Rho GTPases 下游信号分子,包括 Rock1 和 Rock2 两种亚型,其中前者主要分布于非神经组织中,如肝、肺、脾等,后者则多在脑、心脏、肌肉等组织中表达更高^[23]。Rock 通过使一系列下游靶效应蛋白磷酸化而发挥生物学作用,例如,Rock 可以通过调节肌动蛋白细丝骨架以及局部黏附作用,参与血管平滑肌细胞的迁移和血管重塑,从而在肝癌的病程进展中发挥一定作用^[24]。Rho/Rock 信号通路通过改变生物膜的通透性进而影响癌细胞的转移,而当该通路受到抑制时,多种恶性肿瘤(如肺癌、乳房癌、肝癌、胃癌等)的癌细胞的侵入和转移也会相应减少^[25-27]。研究表明,在人类癌症发生发展过程中,调节上皮细胞与间充质细胞之间的转换扮演着重要角色,RhoA 和 Rock2 通过调节细胞骨架重组和细胞基质粘附,发挥抑制肝脏癌细胞迁移的作用^[28]。本研究发现,肿瘤组 RhoA 蛋白表达与对照组无显著差异,Rock2 蛋白表达比对照组明显增加($P < 0.05$),该结果与课题组前期在 HepG2 细胞体外实验结果相同^[29];肿瘤组 Cdc42 蛋白表达比对照组明显增加($P < 0.05$),Rac1 蛋白表达与对照组无显著差异($P > 0.05$),表明肝细胞癌的发生可能与 Cdc42 表达增加激活下游分子 Rock2 相关效应关系密切,而与 RhoA 和 Rac1 关联不大。异黑肿瘤组除 Cdc42 和 Rock2 蛋白表达比对照组明显增加外,Rac1、Rock1、Myl1 表达也明显增加,表明异常黑胆质症候的发生可能与 Rac1、Rock1 和 Myl1 有关。Myl1 是轻链肌球蛋白(Myosin light chain,MLC)亚型之一,同时肌球蛋白磷酸酶 1(Myosin Phosphatase 1, MYPT1)也是活化 Rock 的底物,在接受 Rho/Rock 的活化信号后磷酸化而失活,阻止了磷酸化的 MLC 脱磷酸失活,使得胞浆内磷酸化 MLC 水平提高,肌球-肌动蛋白交联增加,促进 MLC 磷酸化进而促进肌丝收缩,与肿瘤的侵袭、转移有关^[30]。此外,还有研究表明,作为 Rac1 和 Cdc42 下游的效应因子,丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 PAK5 在肝癌中高表达,且 PAK5 阳性患者的 5 年生存率显著低于阴性患者,PAK5 阳性表达患者术后生存时间显著低于阴性表达患者,该结果说明 PAK5 表达与肝癌患者预后密切相关,是肝癌患者预后的独立影响因素,PAK5 在肝细胞肝癌的发生发展中可能起着重要的作用^[31]。而异常黑胆质成熟剂给药组 Cdc42、Rac1、Rock1、Rock2 和 Myl1

蛋白表达呈剂量依赖性降低,表明异黑肿瘤细胞凋亡、肿瘤移行逆转及肝小叶组织重构可能与 Cdc42 和 Rac1 未能激活 Rock1 与 Rock2、进而抑制 Myl1 促进癌细胞肌丝收缩等机制有关。

4 结论

异常黑胆质证肝癌移植模型可能与 Rho/Rock 信号通路分子通过调控肌动蛋白收缩引起的肿瘤细胞侵袭、转移生物学行为等作用有关,异常黑胆质成熟剂可能通过下调 Rho/Rock 信号通路分子使损伤的组织形态逆转。

参考文献(References)

- [1] 哈木拉提·吾甫尔主编.维吾尔医气质、体液论及其现代研究[M].乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2003: 34-37, 131-133
Haimurat ·Upur Chief editor. Theory of mizaj and hilti uigher medicine and modern study [M]. Xinjiang science and technology press(Urumuqi), 2003: 34-74, 131-133
- [2] 庞博,孙冬琳,孙海明,等. Rho GTPases 与肿瘤侵袭转移相关性的研究进展[J].国际遗传学杂志,2016, 39(1): 15-21
Pang Bo, Sun Dong-lin, Sun Hai-ming, et al. Advances in the correlation between Rho GTPases and cancer invasion and metastasis [J]. International Journal of Genetics, 2016, 39(1): 15-21
- [3] 刘明,黄瑞华,毕锋. Rho GTPases 与肿瘤[J].中国生物化学与分子生物学报,2015, 31(4): 367-372
Liu Ming, Huang Rui-Hua, Bi Feng. The Role of Rho GTPases in Cancer [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2015, 31(4): 367-372
- [4] 朱峰,杨小伟,汤永辉,等. Walker-256 大鼠移植性肝癌模型探讨[J].医学研究杂志,2010, 39(9): 92-93
Zhu Feng, Yang Xiao-wei, Tong Yong-hui, et al. The Establishment of Transplantation Model of Liver Cancer In Walker-256 Tumor-bearing Rats[J]. Journal of Medical Research, 2010, 39(9): 92-93
- [5] 哈木拉提·吾甫尔,阿依努尔·买买提迪克,努尔买买提·艾买提,等.异常黑胆质证载体动物模型的建立及其自然恢复反证[J].新疆医科大学学报,2006, (10): 910-914
Haimurat ·Upur, Aynur ·Matsitik, Nurmammat ·Amat, et al. The establishment and evaluation of abnormal savda syndrome animal model[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2006, (10): 910-914
- [6] 黄静静,张景萍,李小溪,等. 维医异常胆液质载体证候大鼠模型的建立[J].新疆医科大学学报,2016, 39(11): 1353-1358
Huang Jing-jing, Zhang Jing-ping, Li Xiao-xi, et al. Establishment of animal model for abnormal sapra syndrome of the traditional Uyghur medicine [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2016, 39(11): 1353-1358
- [7] 祖力皮喀尔·阿卜杜热合曼,哈木拉提·吾甫尔,斯坎德尔·白克力,等.异常黑胆质成熟剂对多因素诱发肝癌大鼠模型中 p53 和 p21 基因表达的影响[J].新疆医科大学学报,2017, 40(4): 540-544
Abdurahman ·Zulpikar, Upur ·Haimurat, Bakri ·Iskandar, et al. Influence of Abnormal Savda Munziq on expressions of p53 and p21 genes in liver cancer rat model induced by multiple factors[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2017, 40(4): 540-544
- [8] 张莉,哈木拉提·吾甫尔,玛依努尔·艾力,等.恶性肿瘤的维医分型及其神经内分泌免疫网络紊乱研究 [J].中国中医基础医学杂志,2008, 14(2): 119-121

- Zhang Li, Haimurat ·Upur, Mayinuer ·Ali, et al. Urgur Traditional Medicine Syndrome classification of Malignant tumor and Neuroendocrine immune network disorders research [J]. Chinese Journal of Basic Medicine Traditional Chinese Medicine, 2008, 14 (2): 119-121
- [9] 刘莹莹, 邓皖利, 刘文先, 等. 异常黑胆质成熟剂治疗肿瘤的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1): 156-158
- Liu Ying-ying, Deng Wan-li, Liu Wen-xian, et al. Study progress of abnormal savda Munziq in the treatment of tumors [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2015, 30(1): 156-158
- [10] 斯依提尼沙汗·吾满尔, 维吾尔药异常黑胆质成熟剂及其成熟作用的机理分析[J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(3): 13-14
- Syitinishahan ·Umaner. Analysis of the mechanism of Abnormal Savda Munziq and its maturation [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2013, 22(3): 13-14
- [11] 胡汉华, 盛磊, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 维药异常黑胆质成熟剂的抗肿瘤作用及其对细胞迁移的影响[J]. 科技导报, 2011, 2(03): 62-65
- Hu Han-hua, Sheng Lei, Haimurat ·Upur, et al. Anti-cancer Effects of Uighur Medicine Abnormal Savda Munzip and Its Influence on Cell Migration[J]. Science & Technology Review, 2011, 2(03): 62-65
- [12] 艾尼娃尔·艾克木, 夏克尔江·苏来曼, 单莲莲, 等. 基于乳腺癌(EAC) 荷瘤模型的异常黑胆质成熟剂对小鼠抗肿瘤作用研究[J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38(02): 153-157
- Ainiwaer ·Aikemu, Xiakeerjiang ·Sulaiman, Shan Lian-lian, et al. Study of abnormal savda munzip inhibitory on mice EAC sarcoma[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2015, 38(02): 153-157
- [13] 玛依努尔·艾力, 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔药异常黑胆质成熟剂总黄酮逆转耐药肝癌耐药性的作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14 (9): 31-33
- Maynuer Aili, Haimurat ·Upur. The Reverse Effect of Uyghur Medicine ASMq on the Drug Resistance Cells of Hepatoma [J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2007, 14(9): 31-33
- [14] 刘莹莹, 邓皖利, 刘文先, 等. 异常黑胆质成熟剂治疗肿瘤的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(1): 156-158
- Liu Ying-ying, Deng Wan-li, Liu Wen-xian, et al. Study progress of abnormal savda Munziq in the treatment of tumors [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2015, 30(1): 156-158
- [15] 阿不都热依木·玉苏甫, 哈木拉提·吾甫尔, 希尔艾力·吐尔逊, 等. 维药 ASM 黄酮类化合物诱导 HepG2 细胞凋亡机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1068-1072
- Abdiryim ·Yusup, Halmurat Upur, Xieraili Tuersun, et al. Study on mechanism of abnormal savda munzip flavonoids in induction of apoptosis of HepG2 cell [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32(11): 1068-1072
- [16] 张莉, 哈木拉提·吾甫尔, 张仑, 等. 异常黑胆质成熟剂提取物对小鼠辐射的防护作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 31(1): 69-74
- Zhang Li, Halmurat Upur, Zhang Lun, et al. Protective effect of abnormal savda munzip on radiation-induced damage in mice [J]. Journal of Central South University (Medical Sciences), 2007, 31(1): 69-74
- [17] 王延蛟, 热沙来提·阿不都瓦衣特, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质型肝癌模型大鼠模型肝脏形态学的影响[J]. 科技导报, 2015, 33(11): 84-89
- Wang Yan-jiao, Abduwayit ·Resalat, Upur ·Halmurat, et al. The effect of abnormal savda munziq on hepatocarcinoma cell morphology of abnormal savda rat [J]. Science & Technology Review, 2015, 33(11): 84-89
- [18] 王延蛟, 哈木拉提·吾甫尔, 依马木·买买提依明, 等. 异常黑胆质型肝癌模型肝脏形态学研究 [J]. 科技导报, 2014, 32(14): 74-78
- Wang Yan-jiao, Upur ·Halmurat, Maimaitiyiming ·Yimamu, et al. A Rat Model of Hepatocarcinoma Carrying Abnormal Savda and Its Morphological Study [J]. Science & Technology Review, 2014, 32 (14): 74-78
- [19] AJ Ridley. Rho GTPase signalling in cell migration [J]. Current Opinion in Cell Biology, 2015, 36: 103-112
- [20] Haga RB, Ridley AJ. Rho GTPases: regulation and roles in cancer cell biology[J]. Small GTPases, 2016, 7(4): 207-221
- [21] Kawano Y, Kaneko-Kawano T, Shimamoto K. Rho family GTPase-dependent immunity in plants and animals [J]. Front Plant Sci, 2014, 5: 522
- [22] Wang HB, Liu XP, Liang J, et al. Expression of RhoA and RhoC in colorectal carcinoma and its relations with clinicopathological parameters[J]. Clin Chem Lab Med, 2009, 47(7): 811-817
- [23] 韩佳寅, 易艳, 梁爱华. Rho/ROCK 信号通路研究进展 [J]. 药科学报, 2016, 51(6): 853-859
- Han Jia-yin, Yi Yan, Liang Ai-hua. Research progress of Rho/ROCK signal pathway[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2016, 51(6): 853-859
- [24] Chen ZY, Yao WJ. Role of Rho/ROCK in the migration of vascular smooth muscle cells [J]. Progress in Physiological Sciences, 2013, 44 (44): 269-274
- [25] Wilhelm I, Fazakas C, Molnár J, et al. Role of Rho/ROCK signaling in the interaction of melanoma cells with the bloodbrain barrier[J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2014, 27: 113-123
- [26] Matsuoka T, Yashiro M. Rho/ROCK signaling in motility and metastasis of gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 13756-13766
- [27] Tsai SH, Huang PH, Peng YJ, et al. Zoledronate attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm through inactivation of Rho/ROCK-dependent JNK and NF- κ B pathway[J]. Cardiovasc Res, 2013, 100: 501-510
- [28] Wong CM, Wei L, AuSL, et al. MiR-200b/200c/429 subfamily negatively regulates Rho/ROCK signaling pathway to suppress hepatocellular carcinoma metastasis [J]. Oncotarget, 2015, 6 (15): 13658-13670
- [29] 张敏芳, 袁芳, 汤建安, 等. 维药异常黑胆质成熟剂对人肝癌 HepG2 细胞生物行为和 Rho/ROCK 信号通路的影响 [J]. 科技导报, 2015, 33(4): 85-90
- Zhang Min-fang, Yuan Fang, Tang Jian-an, et al. Effect of Uyghur medicine ASM on cytobiology behavior and Rho/ROCK signal transduction pathway in human hepatoma HepG2 cells [J]. Science & Technology Review, 2015, 33(4): 85-90
- [30] Sara Ellis, Harry Mellor. The novel Rho-family GTPase Rif regulates coordinated actin-based membrane rearrangements [J]. Current Biology, 2000, 10(21): 1387-1390
- [31] Zhai J, Qu S, Li X, et al. MiR-129 suppresses tumor cell growth and invasion by targeting PAK5 in hepatocellular carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 464(1): 161-167