

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.16.007

丹参酮通过 VEGF/VEGFR 信号通路抑制肝癌细胞迁移和侵袭能力的实验研究 *

孙岩岩 陈之显 李广恩 杨雨澎 张振龙 张晓亮[△]

(哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探究丹参酮通过 VEGF/VEGFR 信号通路抑制肝癌细胞迁移和侵袭能力的机制。**方法:**体外培养人肝癌细胞 Hep3B、HepG2,并分为:实验组、阳性对照组和空白对照组,实验组使用丹参酮处理,阳性对照组使用阿霉素处理,空白对照为加入 10 μ L DMSO 或生理盐水,使用 CCK8 检测肝癌细胞的增殖情况;分别加入浓度为 31 μ mol/L 和 2.5 μ mol/L 的丹参酮及阿霉素显微镜下观察细胞形态变化;使用流式细胞术检测肝癌细胞的凋亡情况和细胞周期情况;使用 Western blot 检测肝癌细胞 VEGF 及 VEGFR 蛋白表达情况。**结果:**MTT 实验结果显示,随着丹参酮和阿霉素使用浓度的升高人肝癌细胞 Hep3B、HepG2 生长受到显著的抑制($P<0.05$);显微镜下观察发现丹参酮可以抑制肝癌肿瘤细胞增殖;流式细胞检测发现相比空白对照组,阳性对照组和实验组(人肝癌细胞 Hep3B、HepG2)细胞凋亡率显著增加($P<0.05$);相比空白对照组,实验组和阳性对照组 G0/G1 期细胞百分比显著增加($P<0.05$),S 期和 G2/M 期细胞百分比显著降低($P<0.05$);蛋白质印记实验结果显示,相比空白对照组,实验组和阳性对照组 VEGF 及 VEGFR 蛋白表达显著降低($P<0.05$),且实验组表达显著低于阳性对照组($P<0.05$)。**结论:**参酮通可以通过抑制 VEGF/VEGFR 信号通路,将肝癌细胞分裂阻滞在 G0/G1,达到抑制肝癌细胞的增殖及迁移和侵袭能力的效果。

关键词:肝癌;丹参酮;细胞迁移;细胞侵袭

中图分类号:R-33;R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)16-3033-05

Experimental Study on Tanshinone Inhibiting Migration and Invasion Ability of Hepatoma Cells by VEGF/VEGFR Signaling Pathway*

SUN Yan-yan, CHEN Zhi-xian, LI Guang-en, YANG Yu-peng, ZHANG Zhen-long, ZHANG Xiao-liang[△]

(The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To explore mechanism of tanshinone inhibiting migration and invasion ability of hepatoma cells by VEGF/VEGFR signaling pathway. **Methods:** Human hepatoma cells Hep3B and HepG2 were cultured in vitro. They were divided into experimental group, positive control group and blank control group. The experimental group was treated with tanshinone, positive control group was treated with doxorubicin, and blank control was given 10 μ L DMSO or normal saline. CCK8 was applied to detect proliferation of hepatoma cells. 31 μ mol/L and 2.5 μ mol/L tanshinone and doxorubicin were applied. The changes of cell morphology were observed under microscope. The apoptosis and cycle of hepatoma cells were detected by flow cytometry. The expression of VEGF and VEGFR proteins was detected by Western blot. **Results:** The results of MTT assay showed that with increase of tanshinone and doxorubicin concentration, growth of human hepatoma cells Hep3B and HepG2 was significantly inhibited ($P<0.05$). It was found under microscope that tanshinone could inhibit proliferation of hepatocellular carcinoma cells. Flow cytometry test found that compared with the blank control group, apoptosis rates (human hepatoma cells Hep3B, HepG2) were significantly increased in positive control group and experimental group ($P<0.05$). Compared with blank control group, percentage of cells in G0/G1 phase was significantly increased in experimental group and positive control group ($P<0.05$), while percentage of cells in S phase and G2/M phase was significantly decreased ($P<0.05$). The results of Western blot showed that compared with blank control group, expression of VEGF and VEGFR proteins was significantly decreased in experimental group and positive control group ($P<0.05$). And the expression in experimental group was significantly lower than that in control group ($P<0.05$). **Conclusion:** Tanshinone can block hepatoma cell division in G0/G1 phase by inhibiting VEGF/VEGFR signaling pathway, thus inhibit proliferation, migration and invasion of hepatoma cells.

Key words: Hepatoma; Tanshinone; Cell migration; Cell invasion

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

Article ID: 1673-6273(2020)16-3033-05

* 基金项目:黑龙江省卫生计生委科研项目(2017-151);哈尔滨医科大学创新科学研究项目(2017LCZX112)

作者简介:孙岩岩(1982-),男,硕士研究生,研究方向:外科学,E-mail: sunyanyan212@163.com

[△] 通讯作者:张晓亮(1983-),男,硕士研究生,研究方向:外科学,E-mail: doctorzhangxiaoliang@163.com,电话:13091454342

(收稿日期:2020-02-23 接受日期:2020-03-19)

前言

肝细胞癌是全世界范围内严重威胁人类健康和生命的疾病,在我国肝癌的死亡率和转移率在癌症中均排在前列^[1-3]。目前,手术切除肿瘤是首倡的治疗手段^[45]。但是 80% 的肝癌患者同时伴有肝硬化疾病,这就限制了肝切除的容积^[67]。同时,肿瘤通常临近第一、第二、第三肝门,这也造成了手术的困难。因此,只有较少的肝癌患者有机会接受手术治疗^[89]。肝动脉介入法是治疗肝细胞癌的另一主要手段,但往往会出现术后肿瘤复发和转移^[1011]。丹参酮是丹参根中主要的脂溶性成分之一,其抗肿瘤作用机制包括抑制细胞增殖、扰乱肿瘤细胞周期、促使肿瘤细胞凋亡以及抑制肿瘤细胞浸润、迁移等^[12]。同时研究显示丹参酮抗肿瘤和抗血管生成作用与抑制 VEGF 表达有关^[13]。这些研究结果同时显示正常细胞的 VEGF 表达并未受到影响。尽管已有大量研究揭示丹参酮的抗肿瘤作用及其与 VEGF 表达水平的关系,但丹参酮在肝癌肿瘤细胞增殖、肿瘤进展中对 VEGF 及其受体结合的影响尚不清楚。因此我们提出假说:丹参酮的抗肝癌肿瘤细胞作用可能与影响 VEGF/VEGFR 信号通路有关。本研究课题即基于此假说进行研究设计,以探究丹参酮抑制肝癌肿瘤细胞进展和调节血管生成的机制。

1 材料与方法

1.1 主要细胞

人肝癌细胞 Hep3B、HepG2 购自中国科学院细胞库。

1.2 主要试剂与仪器

RPMI1640 培养基购自广州威佳科技有限公司;青霉素钠购自哈药集团制药总厂;Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购自 BestBio- 贝博公司;磷酸缓冲液 PBS 购自天津科密欧有限公司;VEGF 抗体(货号:sc-7269)、VEGFR 抗体(货号:sc-393163)购自美国 Santa Cruz 公司。

TGL-16M 低温离心机购自济南来宝医疗器械有限公司;光学显微镜购自东莞市同创仪器有限公司;荧光分光光度计购自上海仪电分析仪器有限公司;流式细胞仪购自赛默飞世尔科技有限公司;细胞培养箱购自美国 Forma 公司;蛋白电泳及转膜仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 人肝癌细胞 Hep3B、HepG2 培养于含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素 RPMI1640 培养基中,保存在温度为 37℃、CO₂ 浓度为 5% 的培养箱内培养,取对数生长期细胞进行实验。

1.3.2 MTT 法检测细胞的增殖情况 检测丹参酮对肝癌肿瘤细胞增殖的影响:对数生长期 Hep3B、HepG2 细胞计数 6000 个并接种于 96 孔板,加入丹参酮使其终浓度分别为 80、60、40、30、20、15、10、5 及 2.5 μmol/L,另加入阿霉素作为阳性对照,其终浓度分别为 8、4、2、1、0.5 及 0.25 μmol/L,空白对照组为加入 10 μL DMSO 或生理盐水。应用 CCK-8 试剂后孵育 2 小时,测定其 450 nm 处吸光度值,并根据以下公式计算细胞增殖抑制效率:1-[(A1-A4)/(A2-A3)]×100,其中 A1 代表药物处理各组细胞 OD 值,A2 代表空白对照 OD 值,A3 代表空白细胞培养液 OD 值,A4 代表与 A1 相同药物浓度空白细胞培养液 OD 值。

1.3.3 丹参酮对肝癌肿瘤细胞形态的影响 对数生长期肿瘤细胞接种于 6 孔板,生长至 70% 融合度,分别加入丹参酮及阿霉素使其药物终浓度为 31 μmol/L 和 2.5 μmol/L,每 12 小时显微镜下观察细胞形态变化。

1.3.4 流式细胞术检测丹参酮对肝癌肿瘤细胞凋亡及周期影响 消化并接种肿瘤细胞,待其达到 80% 融合度,加入丹参酮至终浓度为 31 μmol/L,同时设置 DMSO 和空白细胞培养液空白对照组,孵育 48 h,收集细胞并冰 PBS 液洗涤,流式细胞检测试剂处理后进行检测。

PBS 处理细胞致细胞周期停滞后加入培养液使其同步化,加入丹参酮(31 μmol/L)孵育 48 小时,细胞处理分组与上部分相同。收集细胞后冰 PBS 洗涤,4℃ 下乙醇固定 24 小时后,RNA 酶孵育,流式细胞检测试剂处理后进行检测。

1.3.5 Western blot 检测蛋白表达水平 Hep3B、HepG2 分别用丹参酮(31 μmol/L)和阿霉素(2.5 μmol/L)孵育 48 小时后裂解细胞收集全蛋白,BCA 法蛋白定量,8% SDS-PAGE 蛋白电泳,转 PVDF 膜,VEGF、VEGFR 一抗 4℃ 孵育过夜,二抗孵育后曝光,GAPDH 为内参。Image J 分析图像数据。

1.4 统计学方法

本研究数据分析和作图采用的软件为 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism5,方差分析使用单因素方差分析,当组间差异存在统计学意义时,采用 SNK 方法进行进一步的比较;使用单因素方差分析时,若 $P < 0.05$ 则表明数据差异有统计学意义,本研究所有检验均为双侧检验。

2 结果

2.1 丹参酮对肝癌细胞的增殖情况

由图 1 可以看出,相比阴性对照组,阳性对照组的肝癌细胞抑制率显著升高($P < 0.05$);相比阴性对照组,丹参酮组肝癌细胞抑制率显著升高($P < 0.05$)。

2.2 丹参酮对肝癌肿瘤细胞形态的影响

由图 2 观察肝癌肿瘤细胞形态可以看出,与空白对照组相比,阿霉素(ADM)及丹参酮(Tan)均可有效抑制肝癌肿瘤细胞增殖。

2.3 丹参酮对肝癌细胞凋亡影响

由表 1 和图 3 流式细胞检验肝癌细胞凋亡可以看出,相比空白对照组,阳性对照组和实验组肝癌细胞(Hep3B、HepG2)凋亡率均显著升高($P < 0.05$)。

2.4 丹参酮对肝癌细胞周期影响

由表 2 和图 4 流式细胞检验肝癌细胞周期情况可以看出,相比空白对照组,阳性对照组和实验组人肝癌细胞(Hep3B、HepG2)凋亡细胞数目均显著升高($P < 0.05$);相比空白对照组,阳性对照组和实验组人肝癌细胞(Hep3B、HepG2)G0/G1 期细胞数目显著升高,S 期和 G2/M 细胞数目显著降低($P < 0.05$)。

2.5 丹参酮对肝癌细胞 VEGF、VEGFR 蛋白表达影响

由图 5 蛋白质印记实验可以看出,相比空白对照组阳性对照组和实验组人肝癌细胞(Hep3B、HepG2)VEGF、VEGFR 蛋白表达均显著降低($P < 0.05$),且实验组人肝癌细胞(Hep3B、HepG2)VEGF、VEGFR 蛋白表达低于阳性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

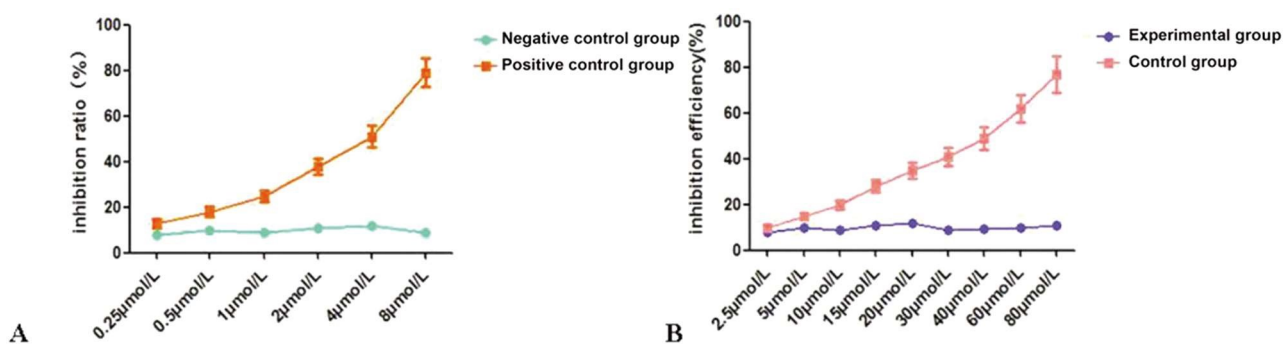


图 1 丹参酮对肝癌细胞的增殖情况

Fig.1 Effects of tanshinone on proliferation of hepatoma cells

Note: A represented comparison of inhibition rates of hepatoma cells between positive control group and negative control group.

B represented comparison of inhibition rates of hepatoma cells between experimental group and control group.

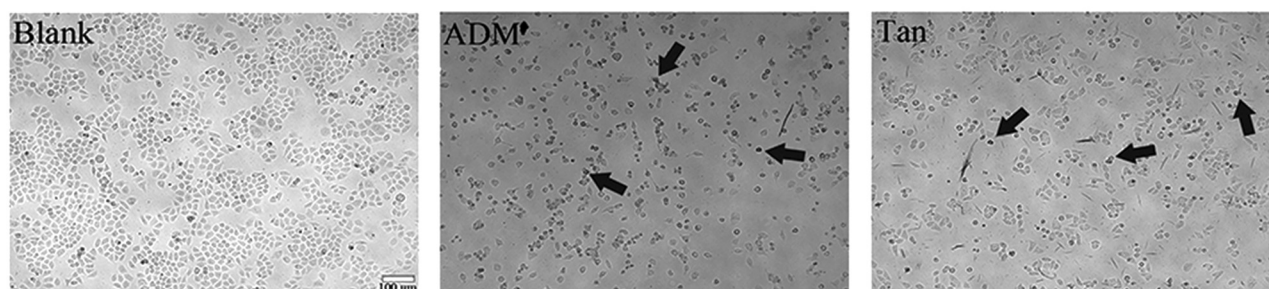


图 2 丹参酮对肝癌肿瘤细胞形态的影响

Fig.2 Effects of tanshinone on morphology of hepatoma tumor cells

Note: Blank represented blank control group. AMD represented positive control group (adriamycin 31 μmol/L).

Tan represented experimental group (2.5 μmol/L).

表 1 丹参酮对肝癌细胞凋亡率影响(%, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of tanshinone on apoptosis rates of hepatoma cells(%, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Human hepatoma cell Hep3B	Human hepatoma cell HepG2
Blank control group	5.62± 2.10	5.11± 1.98
Positive control group	54.36± 8.32**	52.32± 7.98**
Experimental group	31.32± 7.32**	40.32± 5.32**
F	14.019	19.119
P	<0.001	<0.001

Note: Compared with blank control group ** $P < 0.05$.

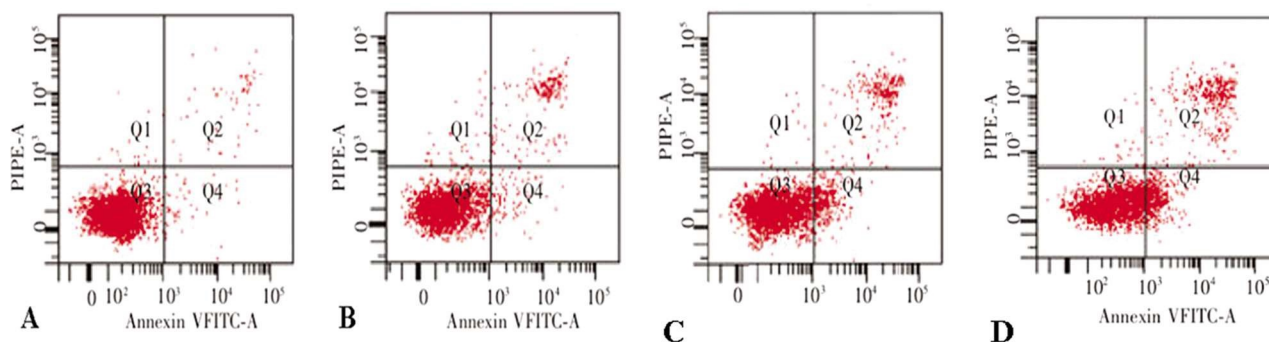


图 3 丹参酮对肝癌细胞凋亡影响

Fig.3 Effects of tanshinone on apoptosis of hepatoma cells

Note: A represented blank control group. B represented experimental group (hepatoma cell Hep3B).

C represented experimental group (hepatoma cell HepG2). D represented positive control group.

表 2 丹参酮对肝癌细胞周期影响(%, $\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effects of tanshinone on cycle of hepatoma cells(%, $\bar{x} \pm s$)

Groups	Apopt(%)	G0/G1(%)	S(%)	G2/M(%)
Blank control group	5.32± 2.21	22.36± 4.32	35.36± 2.36	35.98± 3.32
Positive control group	56.36± 8.32**	38.32± 4.01**	5.32± 2.41**	4.32± 3.01**
Human hepatoma cell Hep3B	31.32± 7.12**	30.21± 4.90**	21.21± 4.32**	19.32± 3.87**
Human hepatoma cell HepG2	40.32± 5.48**	30.54± 5.32**	15.32± 4.21**	18.32± 5.36**
F	12.598	1.536	25.372	10.523
P	<0.001	0.205	<0.001	<0.001

Note: Compared with blank control group ** P <0.05.

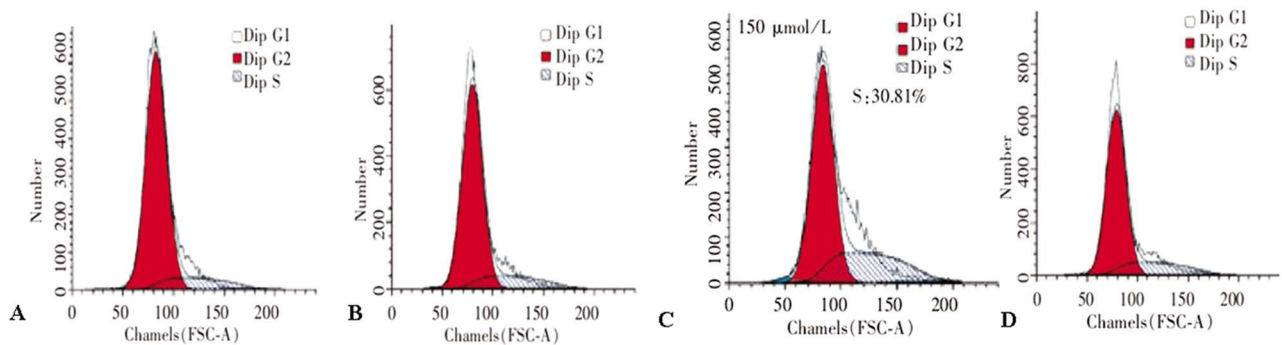


图 4 丹参酮对肝癌细胞周期影响

Fig.4 Effects of tanshinone on cycle of hepatoma cells

Note: A represented blank control group. B represented experimental group (hepatoma cell Hep3B).

C represented experimental group (hepatoma cell HepG2). D represented positive control group.

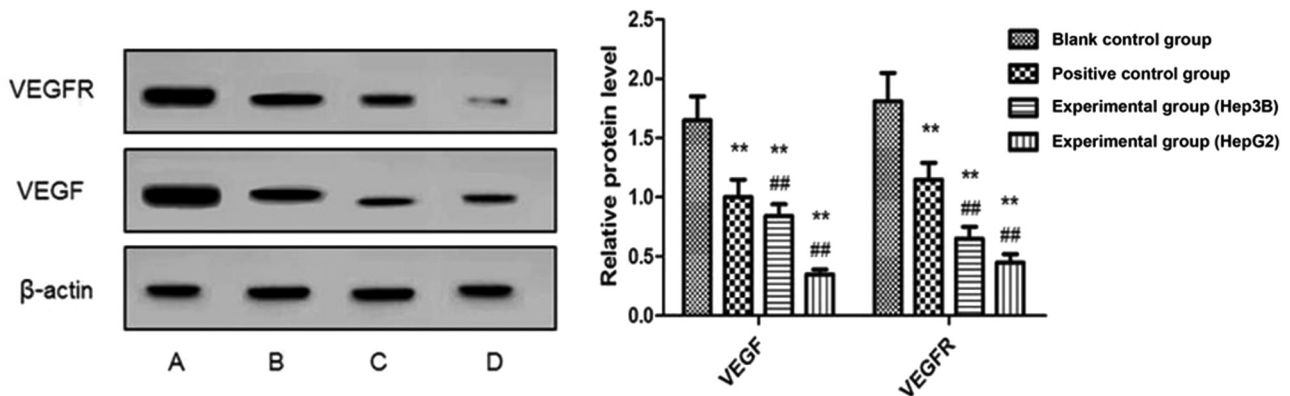


图 5 丹参酮对肝癌细胞 VEGF、VEGFR 蛋白表达影响

Fig.5 Effects of tanshinone on expression of VEGF and VEGFR proteins in hepatoma cells

Note: A represented blank control group. B represented positive control group. C represented experimental group (hepatoma cell Hep3B).

D represented experimental group (hepatoma cell HepG2).

3 讨论

肝癌是一种高度恶性的肿瘤,由于肝癌起病常隐匿,往往到晚期治疗较为困难,死亡率和复发率较高^[14]。目前肝癌的治疗包括手术治疗,切除部分肝脏和肝移植,但由于难度较大,难以推广。非手术治疗包括:经动脉栓塞或经动脉化学性栓塞治疗、经皮无水酒精注射疗法治疗、超声射频治疗、放射治疗及生物治疗。近年来生物治疗兴起。在治疗的同时使用药物复制抑制肝癌细胞的增殖、侵袭及迁移能力并促进其凋亡可以起到较好的辅助治疗的效果。

肿瘤细胞的增殖是其恶性生物学特性之一,抑制肝癌肿瘤细胞的增殖分裂过程,可以有效抑制肿瘤细胞的增殖^[15]。本实验通过流式细胞仪检测不同时期的肝癌细胞发现,使用阿霉素处理后的阳性对照组和使用丹参酮处理后的实验中 G0/G1 期细胞数目显著升高、S 期和 G2/M 细胞数目显著降低。说明丹参酮和阿霉素具有抑制肝癌细胞的又是分裂过程,阻止其 DNA 的合成,并将其阻滞在细胞分裂的 G0/G1,使得肝癌细胞的增殖能力显著降低。陈曦等^[16]研究表明:丹参酮可以将肝癌细胞阻滞在细胞分裂的 G0/G1,有效抑制肝癌细胞的增殖,与本研究得出的结论相一致。

肿瘤细胞的凋亡是其生物学特性之一,促进肿瘤细胞的凋亡,可以有效缓解肿瘤的发展^[17]。相比空白对照组,阳性对照组和实验组肝癌细胞(Hep3B、HepG2)凋亡率均显著升高。说明丹参酮和阿霉素具有促进肿瘤细胞凋亡的能力。者可能因为丹参酮可以促进肝癌细胞中相关凋亡基因 Caspase 家族凋亡基因的表达,使得细胞程序性死亡。张强等^[18]研究表明:丹参酮对肝癌细胞有一定的抑制作用且可以促进其凋亡,与本研究得出的结论相一致。

肿瘤细胞的侵袭和迁移是其恶性生物学特性之一,抑制肝癌肿瘤细胞的侵袭和迁移可以有效抑制肿瘤的扩散^[19,20]。其中 VEGF/VEGFR 信号通路是一条经典的调节细胞侵袭、迁移能力的信号通路^[21]。VEGF 是刺激内皮细胞增殖的细胞因子,同时它也是目前已知最强的血管渗透剂,比组胺强 50000 倍^[22]。VEGF 可以增加小静脉血管的渗透性,促使血管壁出现渗漏。因此,VEGF 表达可间接反应肿瘤血管内皮细胞增殖、迁移和血管生成情况,并提示肿瘤生长速度和转移倾向^[23,24]。为了减少肝动脉介入治疗后发生肿瘤复发和转移从而提高生存率,有必要阻断 VEGF 信号传导通路,并下调 VEGF 表达,从而干扰肿瘤血管生成。本实验通过蛋白质印记实验发现,相比空白对照组阳性对照组和实验组人肝癌细胞(Hep3B、HepG2)VEGF、VEGFR 蛋白表达均显著降低,且实验组人肝癌细胞(Hep3B、HepG2)VEGF、VEGFR 蛋白表达低于阳性组。说明丹参酮和阿霉素均可以抑制 VEGF/VEGFR 信号通路相关蛋白的表达,且丹参酮的抑制效果要优于阿霉素。通过抑制 VEGF/VEGFR 信号通路相关蛋白的表达实现抑制肝癌细胞的侵袭和迁移。王晓露等^[25]研究表明:丹参酮可以抑制 VEGF mRNA 和蛋白的表达,实现抑制肝癌细胞的侵袭及迁移能力。

综上所述参酮通可以抑制肝癌细胞的侵袭和迁移能力,并有效抑制其增殖,其作用机制可能与抑制 VEGF/VEGFR 信号通路,将肝癌细胞分裂阻滞在 G0/G1 相关。但本研究对肝癌细胞的凋亡研究较少,在后续的实验中可以进一步探讨参酮通通过其他信号通路及蛋白对肝癌细胞增殖、侵袭、迁移能力的影响。

参考文献(References)

- [1] Guo Z, Jiang J H, Zhang J, et al. Side population in hepatocellular carcinoma HCCLM3 cells is enriched with stem-like cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2016, 11: 3145-3151
- [2] 曹晶珠, 郑浩, 陶元平, 等. miR-509-3p 在肝癌组织中的表达及对肝癌细胞迁移侵袭的影响[J]. *中国癌症杂志*, 2018, 28(12): 13-19
- [3] 张华鹏, 郭文治, 张水军. 肝癌肝移植治疗[J]. *中华肝脏外科手术学电子杂志*, 2019, 8(6): 473-476
- [4] 严文韬, 邢昊, 王明达, 等. 肝癌术后复发的治疗选择[J]. *中华肝脏外科手术学电子杂志*, 2019, 8(5): 396-399
- [5] 陆录, 钦伦秀. 肝癌外科综合治疗的进展与挑战[J]. *中华普通外科杂志*, 2019, 34(11): 913-915
- [6] 刘辉, 张曦, 肖森林, 等. 肝硬化肝癌患者手术切除预后影响因素的回顾性研究[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 2(20): 62-69
- [7] 陈孝平, 项帅, 黄志勇. 肝癌合并肝硬化肝切除范围的探讨[J]. *中华消化外科杂志*, 2019, 18(4): 303-306
- [8] 于童, 陈喆. 华蟾素注射液治疗中晚期肝癌临床研究进展[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2017, 27(5): 319-320
- [9] 高宏, 龚建平. 肝癌的微创治疗 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(10): 737-740
- [10] 吴宝林, 周军, 李小奇, 等. 成人肝移植术后急性肝动脉血栓介入治疗的疗效分析[J]. *武汉大学学报*, 2017, 38(3): 495-498, 504
- [11] 刘凯, 王立峰, 王福生, 等. 肝硬化与肝癌临床细胞治疗进展与展望[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(11): 822-826
- [12] 单云岗, 俞忠明, 傅跃青. 丹参不同有效成分对黑色素瘤细胞增殖活力和细胞周期影响的研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(2): 435-440
- [13] 韩昭, 张伶, 刘钊, 等. 丹参酮 II A 对黑色素瘤 A375 细胞 CXCR7 及 VEGF 表达的影响 [J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2017, 31(11): 1188-1191
- [14] 张英才, 覃伟, 杨扬. 复发性肝癌行补救性肝移植的疗效[J]. *肝胆外科杂志*, 2014, 22(2): 87-89
- [15] 吕一帆, 罗均然, 荆国杰, 等. 胶质瘤干细胞与胶质瘤非干细胞生物学特性的差异性研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2019, 18(3): 225-232
- [16] 陈曦, 柏林, 王映映, 等. 丹参酮 II A 对人肝癌 HepG2 细胞增殖和迁移的抑制作用及促凋亡作用 [J]. *吉林大学学报*, 2019, 45(03): 33-35
- [17] 李红玲, 陆艺蓓, 马昊然, 等. 细胞凋亡检测技术在瑞香狼毒抗肿瘤研究中的应用[J]. *医学研究与教育*, 2019, 36(1): 1-5
- [18] 张强, 王伟, 席晓志, 等. 丹参酮对肝癌细胞在体内外生长的抑制作用[J]. *中国食品添加剂*, 2017, 5(6): 117-120
- [19] 张东升, 周方正, 陈洁, 等. ADAM-17 抑制剂 TNF484 对肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. *武警医学*, 2018, 29(07): 690-692+697
- [20] Jinli Ding, Yanxiang Cheng, Yi Zhang, et al. The miRa/USP25 axis participates in the pathogenesis of recurrent miscarriage by inhibiting trophoblast migration and invasion[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(2): 22-25
- [21] 高建芝, 闫林洁, 谢芳, 等. Si-HOTAIR 对肝癌裸鼠移植瘤 VEGF/VEGFR 信号通路的影响 [J]. *武警后勤学院学报*, 2017, 26(06): 475-478
- [22] 林秀娟. 血管内皮生长因子在人牙髓组织中的免疫组化研究[D]. 山东大学, 2006
- [23] 高静, 李晓岚, 王敏哲, 等. 血管内皮生长因子、基质细胞衍生因子-1 基因对人微血管内皮细胞增殖、迁移、凋亡的影响[J]. *安徽医药*, 2019, 23(9): 1784-1789
- [24] Farzaneh Chehelcheraghi, Sufan Chien, Mohammad Bayat. Mesenchymal stem cells improve survival in ischemic diabetic random skin flap via increased angiogenesis and VEGF expression[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 2(1): 11-13
- [25] 王晓露, 解方为, 陈曦, 等. 丹参酮 II A 对大鼠移植性肝癌的抑制作用[J]. *现代生物医学进展*, 2011, (11): 72-74