

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.01.010

虎杖提取物对人胰腺癌细胞系 Panc-1 增殖与凋亡的影响*

赵 静¹ 杨兴武² 王 旗² 王 亮² 王国泰² 嵇文波² 陈国仓² 王 鑫^{2Δ}

(1 陕西中医药大学 陕西 咸阳 712000; 2 陕西中医药大学附属医院 肝胆外科 陕西 咸阳 712000)

摘要 目的:通过虎杖提取物干预人胰腺癌细胞系 Panc-1,探讨虎杖提取物对人胰腺癌细胞增殖凋亡表型的影响。**方法:**制备不同浓度(0、10、50、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$)的虎杖提取物,将各个浓度的虎杖提取物分别加入待处理的人胰腺癌 Panc-1 细胞系中持续培养 24 h 后,利用 CCK-8 (cell counting kit-8)法检测细胞株 Panc-1 的增殖活性;将 100 $\mu\text{g/mL}$ 虎杖提取物处理人胰腺癌细胞系 Panc-1 24 h 后,利用流式细胞术(FCM)检测其细胞周期及凋亡分布;100 $\mu\text{g/mL}$ 虎杖提取物处理人胰腺癌细胞株 Panc-1 24 h 后,提取细胞总 RNA 及总蛋白,后续利用实时荧光定量 PCR 及 Western blot 分别检测人胰腺癌细胞株 Panc-1 增殖标志基因 PCNA、CDK2 及凋亡标志基因 BAD、BAX 的转录和翻译水平。**结果:**CCK-8 结果表明虎杖提取物对人胰腺癌细胞系 Panc-1 细胞增殖的抑制率随浓度增加;流式细胞术结果显示虎杖提取物抑制人胰腺癌细胞增殖促进其凋亡;荧光定量 PCR 和 Western blot 结果显示虎杖提取物能使人胰腺癌细胞增殖标志基因 PCNA、CDK2 表达量下降,凋亡标志基因 BAD、BAX 表达量上升。**结论:**虎杖提取物能够抑制人胰腺癌细胞系 Panc-1 细胞增殖并促进其凋亡。

关键词:虎杖;胰腺癌;Panc-1;细胞增殖;细胞凋亡

中图分类号:R-33; R735.9; R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)01-50-05

Effects of Polygonum Cuspidate Extract on the Proliferation and Apoptosis of Human Pancreatic Cancer Cell Line Panc-1*

ZHAO Jing¹, YANG Xing-wu², WANG Qi², WANG Liang², WANG Guo-tai², JI Wen-bo², CHEN Guo-cang², WANG Xin^{2Δ}

(1 Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, 712000, China;

2 Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Hepatological Surgery, Xianyang, Shaanxi, 712000, China)

ABSTRACT Objective: The effect of Polygonum cuspidatum extract on Pancreatic cancer cell line Panc-1 was investigated by extracting Polygonum cuspidatum extracts into human pancreatic cancer cell proliferation and apoptosis phenotype. **Methods:** Different concentrations (0, 10, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g/mL}$) of Polygonum cuspidatum extract were prepared, and each concentration of Polygonum cuspidatum extract was added to the human pancreatic cancer Panc-1 cell line to be treated for 24 h. The proliferation activity of the cell line Panc-1 was detected by CCK-8 (cell counting kit-8) method; the human pancreatic cancer cell line Panc-1 was treated with 100 $\mu\text{g/mL}$ Polygonum cuspidatum extract for 24 h, and then flow cytometry was used (FCM) was used to detect the cell cycle and apoptosis distribution; 100 $\mu\text{g/mL}$ Polygonum cuspidatum extract was used to treat human pancreatic cancer cell line Panc-1 for 24 h, and the total RNA and total protein were extracted. Subsequent real-time PCR and Western blot were used to detect human pancreatic cancer. Transcription and translation levels of the cell line Panc-1 proliferation marker genes PCNA, CDK2 and apoptosis marker genes BAD, BAX. **Results:** The results of CCK-8 showed that the inhibition rate of Polygonum cuspidatum extract on the proliferation of human pancreatic cancer cell line Panc-1 increased with concentration. The results of flow cytometry showed that Polygonum cuspidatum extract inhibited the proliferation of human pancreatic cancer cells and promoted its apoptosis. The results of real-time PCR and Western blot showed The extract of Polygonum cuspidatum can decrease the expression of PCNA and CDK2 in human pancreatic cancer cell proliferation, and the expression of apoptosis marker gene BAD and BAX increased. **Conclusion:** Polygonum cuspidatum extract can inhibit the proliferation and promote apoptosis of human pancreatic cancer cell line Panc-1.

Key words: Polygonum cuspidatum; Pancreatic cancer; Panc-1; Cell proliferation; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.9; R285.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)01-50-05

前言

胰腺癌是恶性程度非常高的一种消化系统肿瘤,进展迅

速,起病隐匿,病程较短,死亡率极高,只有 6 个月的中位生存时间,5 年的生存率小于 5%^[1,2]。近几年,胰腺癌的治疗不管在基础研究还是临床治疗上均有了不少进展,然而胰腺癌总体的

* 基金项目:咸阳市科技局科研项目(2018KT-23)

作者简介:赵静(1992-),女,硕士研究生,主要从事肝胆胰疾病的中西医诊治研究,E-mail:nothingirl@sina.com

Δ 通讯作者:王鑫(1985-),男,主治医师,主要从事肝胆胰肿瘤中医药干预研究,E-mail:doctorwangx@163.com

(收稿日期:2019-04-24 接受日期:2019-05-24)

治疗效果还是不尽如人意^[3]。从中草药物中寻找新型抗胰腺癌药物,并探寻新的抗胰腺癌药物作用靶点成为关注热点^[4,5]。中药虎杖是蓼科植物虎杖的根茎,具有利湿退黄,清热解毒,散瘀止痛,止咳化痰的功效。虎杖提取物中,白藜芦醇(3,4',5'-三羟基二苯乙烯)和大黄素(蒽醌类)是虎杖中的主要功能成分,研究发现白藜芦醇能够减少细胞周期调节基因 cyclinD1 的表达从而抑制肿瘤增殖,此外白藜芦醇能够通过阻碍诸如 JAK-STAT3、JNK-MAPK、NF-KB 等通路的信号传导抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡^[6-9];大黄素可通过死亡受体途径、线粒体通路或内质网途径激活 Caspase 依赖的细胞凋亡等途径发挥抗肿瘤作用^[10]。近年来虎杖提取物的抗肿瘤研究日益受到重视,然而其在胰腺癌领域相关研究较少^[11-14]。因此,本研究通过探究虎杖提取物对 Panc-1 细胞增殖与凋亡表型的影响,明确其在胰腺癌中的生物学效应,进一步为虎杖提取物的临床应用提供细胞生物学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人胰腺癌细胞 Panc-1 系由陕西中医药大学医学科研实践中心提供并保存,且本次实验经陕西中医药大学附属医院伦理委员会批准。中药虎杖购自陕西中医药大学附属医院中药药房,制得提取物终浓度均为 20 mg/mL。临用前用培养液稀释至所需浓度。实验所需试剂包括:DMEM 培养基(Gibco),胎牛血清(Gibco),Lipofectamine 2000 (Invitrogen),PrimeScript RT (TaKaRa),SYBR Green II(TaKaRa),CCK-8 (Multisciences),增殖凋亡标志基因抗体(Abcam)等。

1.2 细胞培养

将 Panc-1 细胞系用含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 生长培养基在 37℃,5% CO₂ 的培养箱中培养。实验将 Panc-1 细胞接种至各式孔板中培养,每组至少 3 个重复。Panc-1 细胞经处理 24 h 后分别进行 CCK8 实验、细胞周期检测、提取总 RNA 及总蛋白进行后续 RT-qPCR、Western blot 实验。

1.3 CCK-8 检测细胞增殖

将 Panc-1 细胞以 1×10^4 个细胞/孔的密度接种到 96 孔板,当细胞密度达到 60% 时,采用不同浓度(0、10、50、100、150、200 $\mu\text{g/mL}$) 的虎杖提取物干预人胰腺癌 Panc-1 细胞,每个处理组 8 个重复,并分别以 PBS 液为阴性对照。在收取细胞测定结果前,向各孔中加入 10 mL CCK-8 试剂,继续培养 4 h。最后使用多功能酶标仪在 450 nm 波长下检测待测样品的吸光度值。计算虎杖提取物对各组 Panc-1 细胞的抑制率,细胞抑制率(%) = $(1 - \text{实验组吸光度均值} / \text{阴性对照组吸光度均值}) \times 100\%$ 。

1.4 流式细胞术检测细胞周期及凋亡

将 Panc-1 细胞以 1×10^6 个细胞/孔的密度接种到六孔板,100 $\mu\text{g/mL}$ 虎杖提取物处理 Panc-1,每个处理组 3 个重复。处理细胞 24 h 后用胰酶消化,并用 PBS 缓冲液洗涤 2 次,活细胞直接送样进行凋亡检测,而经 70% 乙醇固定处理的细胞用于流式细胞仪测细胞周期。

1.5 RT-qPCR、Western blot 检测加药干预后 Panc-1 细胞中的

增殖、凋亡标志基因表达量

使用 Trizol 试剂从 Panc-1 细胞中提取总 RNA;用 Prime-Script RT 试剂盒将 1000 ng 总 RNA 逆转录成 cDNA 用于 RT-qPCR,按照说明书使用 ABI Step One Plus 实时 PCR 系统进行 RT-qPCR (引物序列见表一)。使用 RIPA 试剂从 Panc-1 细胞中提取总蛋白质,加入总蛋白 1/4 的 SDS 上样缓冲液并在 98℃ 下煮沸 10 min 使蛋白变性,上样前使用 BCA 蛋白定量试剂盒使蛋白浓度均一化。制作 SDS-PAGE 凝胶每孔上样 20 μL 蛋白,电泳,转 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭,一抗 4℃ 孵育过夜,TBST 缓冲液洗膜 3 次,二抗常温孵育 2 h,洗膜 3 次,最后用 ECL 发光液检测蛋白条带。

表 1 引物设计序列
Table 1 Primer design sequence

Name	Sequence(5' to 3')
PCNA-F	TGTTGGAGGCACTCAAGGAC
PCNA-R	TAGGTGTCGAAGCCCTCAGA
CDK2-F	GACACGCTGCTGGATGTCA
CDK2-R	GAGGGGAAGAGGAATGCCAG
BAD-F	AGAGTTTGAGCCGAGTGAGC
BAD-R	ATGATGGCTGCTGCTGGTT
BAX-F	AAGCGACTGATGTCCCTGTC
BAX-R	AAAACACAGTCCAAGGCAGC
GAPDH-F	GTCAAGGCTGAGAACGGGAA
GAPDH-R	AAATGAGCCCCAGCCTTCTC

1.6 统计分析

本实验使用 SPSS 22.0 版软件进行数据统计学分析。实验数据基于每组至少 3 个重复实验,测定结果表示为平均值 $\pm$ SEM。t 检验用来比较组间差异,单因素方差分析进行多组间的差异比较,使用 $P < 0.01$ 作为显著性标准(**)。

2 结果

2.1 虎杖提取物对 Panc-1 细胞增殖的影响

CCK-8 检测结果(图 1)显示:随着虎杖提取物浓度的增加,虎杖提取物对 Panc-1 细胞增殖的抑制率增加,表现为剂量依赖性($P < 0.01$)。流式细胞术结果(图 2)显示,经 100 $\mu\text{g/mL}$ 虎杖提取物处理使得 Panc-1 细胞阻滞在 G0/G1 期,S 期相对于对照组显著降低($P < 0.01$),表明过表达虎杖提取物能够抑制 Panc-1 细胞增殖。经 100 $\mu\text{g/mL}$ 虎杖提取物处理,检测增殖标志基因 PCNA, CDK2 的 mRNA 及蛋白水平,RT-qPCR, WB 结果(图 3)均显示处理组细胞 PCNA, CDK2 水平相比对照组显著下降($P < 0.01$),进一步表明虎杖提取物具有抑制 Panc-1 细胞增殖的作用。

2.2 虎杖提取物对 Panc-1 细胞凋亡的影响

100 $\mu\text{g/mL}$ 虎杖提取物处理 PANC-1 细胞后,后利用 RT-qPCR, WB 技术检测凋亡标志基因 BAD、BAX 的表达水平,结果(图 4)显示过处理组相对对照组 BAD、BAX 的 mRNA

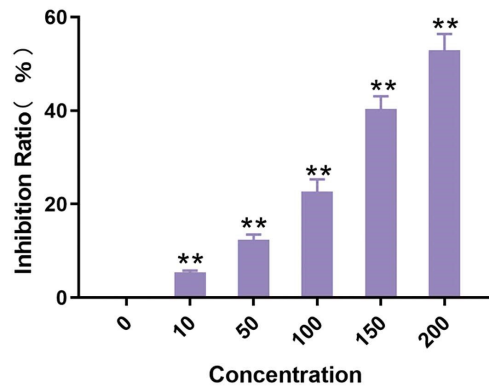


图1 虎杖提取物对胰腺癌 panc-1 细胞增殖的抑制率,** 表示差异显著

Fig.1 Inhibitory effect of polygonum cuspidatum extract on the proliferation of pancreatic cancer panc-1 cells,
** indicates a significant difference.

及蛋白水平显著上升($P<0.01$)。此外,流式细胞术凋亡结果显示处理组细胞较对照组细胞表现出更高的凋亡迹象(图5),这进一步表明虎杖提取物能够促进 Panc-1 细胞凋亡。

3 讨论

胰腺癌早期症状不明显,故发现较晚,且易转移、预后差^[15]。目前胰腺癌的治疗方主要是手术治疗、化疗及放疗,但具有手术难度大、副作用高和放射敏感性低等缺点^[16]。因其发病隐匿,大多数患者症状明显时方来就诊,待确诊时已基本错过手术切除的最佳时期。并且胰腺癌对放化疗不敏感,生物靶向治疗及免疫治疗的疗效尚未确切,致患者后期生活质量差,生存期较短^[17]。因此,想要在胰腺癌治疗方面有所突破,探索新的治疗方法及新型抗癌药物极为重要。近年来中医药与现代西医配合,在胰腺癌的综合治疗中逐渐发挥独特的优势,对一些传统中药的单体及的有效成分的作用机制进行探讨和研究逐步开展,诸多实验结果也证明中药配合治疗胰腺癌是可行的,具有一定的发展前景^[18]。现今从天然药物中寻找新型抗胰腺癌药物,并探寻新的抗胰腺癌药物作用靶点,制定更加合理的胰腺癌治疗方案越来越受到人们的关注。

胰腺癌在中医诊断中没有明确规定的病名,但它总归属于"癥瘕积聚"、"黄疸"、"痞积"、"伏梁"等病证的范

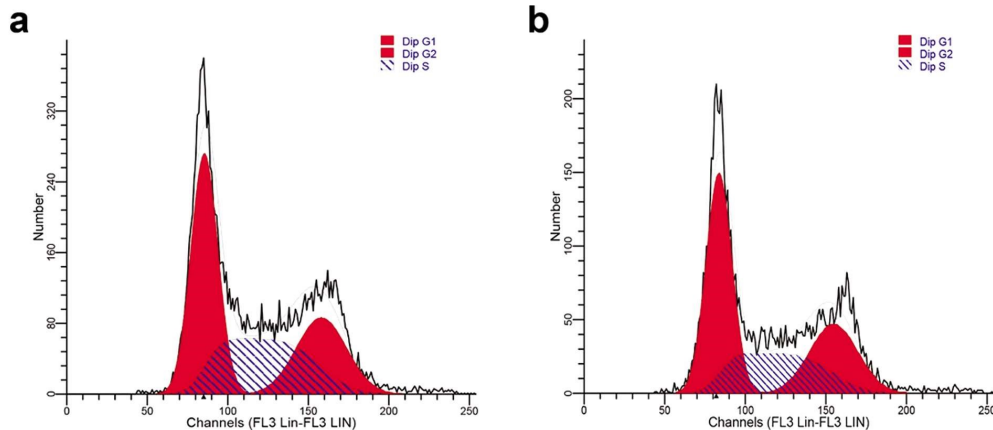


图2 流式细胞仪检测虎杖提取物对胰腺癌 panc-1 细胞的增殖影响(24 h)(a)对照组, (b)处理组

Fig.2 Flow cytometry detection of the effect of polygonum cuspidatum extract on the proliferation of pancreatic cancer panc-1 cells (24 h)

(a) control group, (b) treatment group

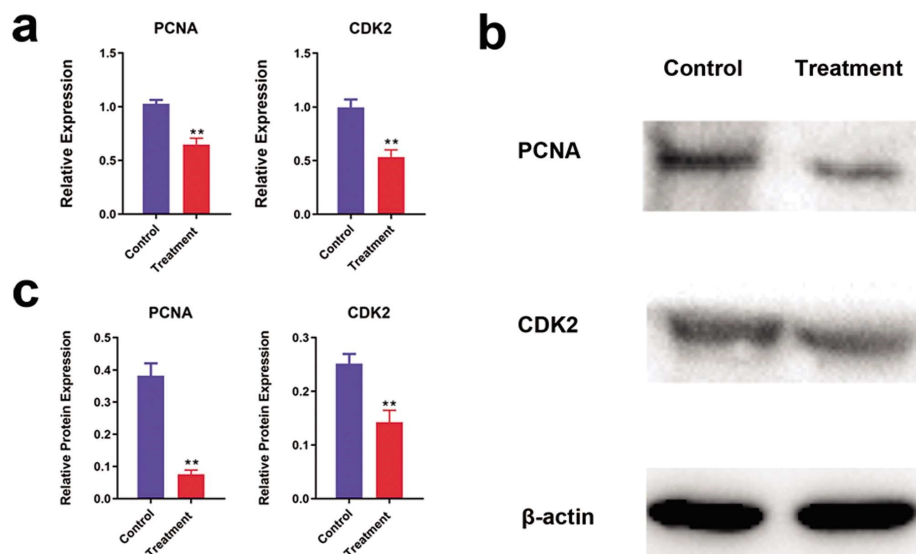


图3 RT-qPCR 及 Western blot 检测虎杖提取物对胰腺癌 panc-1 细胞 PCNA、CDK2 mRNA(a)及蛋白水平(bc)表达的影响(24 h)

Fig.3 Effects of extracts of polygonum cuspidatum on the expression levels of PCNA, CDK2 mRNA(a) and protein(bc) in panc-1 cells of pancreatic cancer by RT-qPCR and Western blot analysis (24 h)

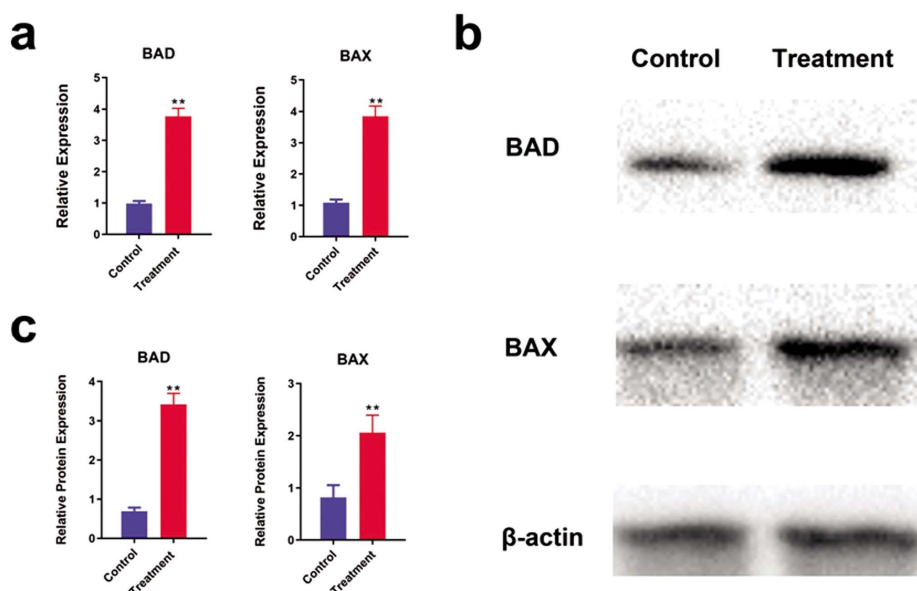


图4 RT-qPCR及Western blot检测虎杖提取物对胰腺癌panc-1细胞BAD、BAX mRNA(a)及蛋白(bc)水平表达的影响(24h)

Fig.4 RT-qPCR and Western blot analysis of effects of polygonum cuspidate extract on BAD, BAX mRNA(a) and protein(bc) levels of pancreatic cancer panc-1 cells (24h)

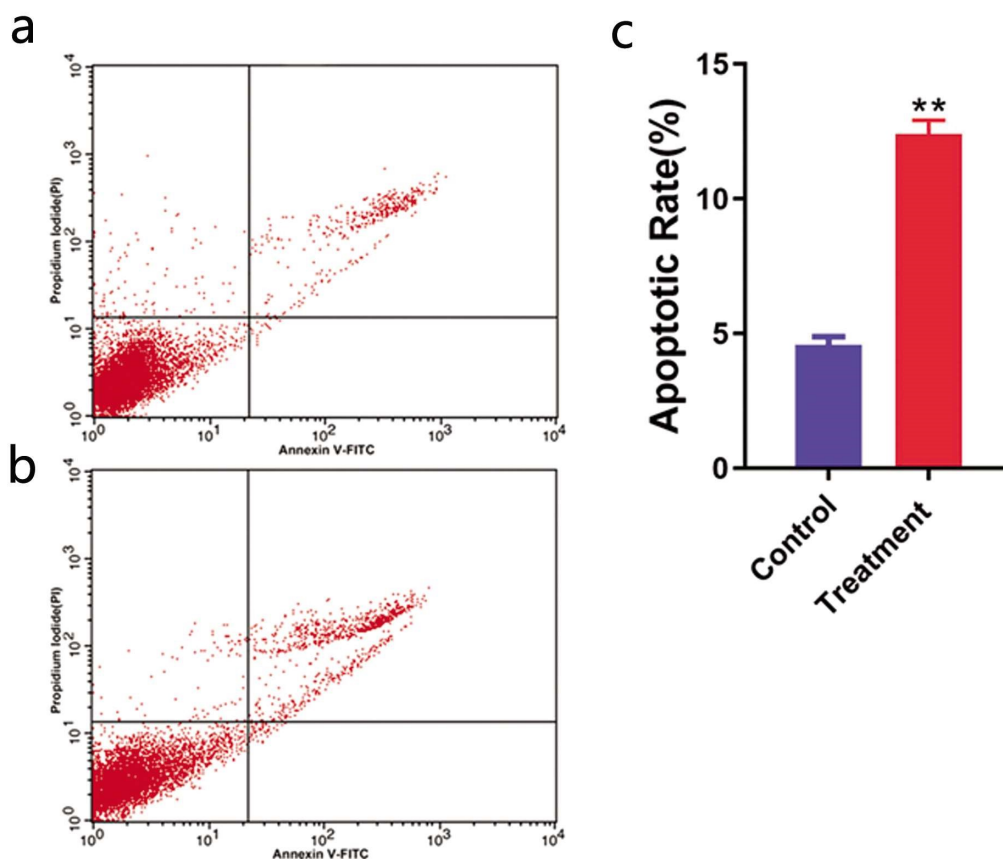


图5 流式细胞仪检测虎杖提取物对胰腺癌panc-1细胞的凋亡影响(24 h) (a)对照组, (b)处理组, (c)细胞凋亡率统计

Fig.5 Flow cytometry detection of the effect of polygonum cuspidatum extract on the apoptosis of pancreatic cancer panc-1 cells (24 h) (a) control group, (b) treatment group, (c) cell apoptosis rate statistics

畴^[19]。胰腺癌病变主要归于肝、脾胃功能失调,肝气郁滞、饮食不节、运化失司、湿毒内生、邪凝毒结形成肿块,故其中医治疗多选疏肝理气、清热解毒、利湿退黄、消肿散结的药物,本次实验所选的虎杖则为常选药物之一^[20]。虎杖,学名为大花马齿苋,

为蓼科植物虎杖的干燥根茎和根,该药味微苦,性微寒,归肝、胆、肺经,临床常被用于利湿退黄,清热解毒,散瘀止痛,止咳化痰的功效。用于治疗湿热黄疸、淋浊、带下、风痹痛、痈肿疮毒、水火烫伤、经闭、症瘕积聚、跌打损伤、肺热咳嗽等疾病^[21]。研究

证明虎杖与其他中草药组成配方可以较好地缓解各种癌症如胰腺癌、胃癌、直肠癌、肺癌和妇科肿瘤等^[22]。目前,中药以其多靶点抗肿瘤效应成为肿瘤新药研究的热点。相关实验研究发现,虎杖及其提取物均具有良好的抗肿瘤活性,可在体外和动物体内发挥对肿瘤细胞的细胞毒作用,可抑制肿瘤组织的生长^[23,24]。本实验通过 CCK-8、流式细胞术、RT-qPCR 及 Western blot 等细胞生物学手段探究了虎杖提取物对胰腺癌 Panc-1 细胞的增殖、凋亡表型的影响,结果显示虎杖提取物能够抑制胰腺癌细胞在体外的增殖并促进其凋亡,这之前大量实验研究表明虎杖提取物抑癌功能相一致,同时也为虎杖提取物在胰腺癌进展中发挥的作用提供了新的证据。虎杖中两大主要成分白藜芦醇(3,4',5'-三羟基二苯乙烯)和大黄素(蒽醌类)均已被证明有较好的抗肿瘤作用,其作用机制与抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡、抑制血管生成及细胞转移有关^[25,26]。白藜芦醇在大量的研究中证明其有多个细胞内靶点影响细胞增殖、凋亡、侵袭及转移,从而调控胰腺肿瘤细胞的生长周期^[27-30]。现代药理研究证明大黄素可以抑制肿瘤细胞的生长,控制细胞的凋亡^[31]。并且相关研究已证明,大黄素配合吉西他滨,治疗胰腺癌的效果会显著增加。这也提示了中医药与现代医学结合对胰腺癌的治疗是一个新的突破口^[32]。尽管如此,虎杖提取物参与胰腺癌进展的机制仍然不清楚,具体哪种有效成分参与信号通路的确切位点有待进一步研究。

然而,虎杖提取物参与胰腺癌进展的机制仍然不清楚,具体哪种有效成分参与信号通路的确切位点有待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Neoptolemos J P, Palmer D H, Ghaneh P, et al. Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 389(10073): 1011-1024
- [2] 虞先濬, 刘亮, 徐华祥, 等. 胰腺癌综合诊治指南 (2018 版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(10): 77-88
- [3] Campbell P J, Yachida S, Mudie L J, et al. The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2010, 467(7319): 1109-1113
- [4] Ca C, Hh C, Cy K, et al. Plumbagin, isolated from *Plumbago zeylanica*, induces cell death through apoptosis in human pancreatic cancer cells[J]. *Pancreatol*, 2009, 9(6): 797-809
- [5] Ys C, Ln C, Jh W, et al. A review of the pharmacological effects of *Arctium lappa* (burdock)[J]. *Inflammopharmacology*, 2011, 19(5): 245-254
- [6] Battle T E, Frank D A. The role of STATs in apoptosis [J]. *Curr.mol.med*, 2002, 2(4): 1-23
- [7] N L, Du Z, Q S, et al. Resveratrol Enhances Self-Renewal of Mouse Embryonic Stem Cells[J]. *Journal of cellular biochemistry*, 2017
- [8] S C, SK Y, B S, et al. A bis-resorcinol resveratrol congener prevents indomethacin-induced gastric ulceration by inhibiting TNF- α as well as NF- κ B and JNK pathways[J]. *Free radical research*, 2019
- [9] AF K, AE N, AE T. The adaptogenic anti-ageing potential of resveratrol against heat stress-mediated liver injury in aged rats: Role of HSP70 and NF- κ B signalling[J]. *Journal of thermal biology*, 2019
- [10] Lin M L, Lu Y C, Chung J G, et al. Aloe-emodin induces apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma cells via caspase-8-mediated activation of the mitochondrial death pathway [J]. *Cancer Letters*, 2010, 291(1): 46-58
- [11] W L, Q Z, K C, et al. 2-Ethoxystypandrone, a novel small-molecule STAT3 signaling inhibitor from *Polygonum cuspidatum*, inhibits cell growth and induces apoptosis of HCC cells and HCC Cancer stem cells [J]. *BMC complementary and alternative medicine*, 2019[Epub ahead of print]
- [12] FS C, JJ L, JP L, et al. Crude extract of *Polygonum cuspidatum* promotes immune responses in leukemic mice through enhancing phagocytosis of macrophage and natural killer cell activities in vivo [J]. *In vivo (Athens, Greece)*, 2015, 29(2): 255-261
- [13] Peng W, Qin R, Li X, et al. Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb.et Zucc.: a review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(3): 729-745
- [14] XJ Z, L C, Y Z, et al. *Polygonum cuspidatum* extract attenuates fructose-induced liver lipid accumulation through inhibiting Keap1 and activating Nrf2 antioxidant pathway [J]. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 2019. Epub ahead of print]
- [15] T A, R T, S R, et al. Angiogenesis in Pancreatic Cancer: Pre-Clinical and Clinical Studies[J]. *Cancers*, 2019, 11(3)[Epub ahead of print]
- [16] O S, J N, D J, et al. Optimizing the outcomes of pancreatic cancer surgery[J]. *Nature reviews. Clinical oncology*, 2019, 16(1): 11-26
- [17] 张群华, 倪泉兴. 胰腺癌 2340 例临床病例分析 [J]. *中华医学杂志*, 2004, 84(3): 214-218
- [18] 沈晔华, 刘鲁明, 陈震, 等. 中药联合化疗治疗晚期胰腺癌 32 例临床研究[J]. *中医杂志*, 2006, 47(2): 115-117
- [19] 孙韬, 左明煊. 胰腺癌的中医研究进展[J]. *现代中医临床*, 2009, 16(6): 44-46
- [20] 金莉. 胰腺癌中医治疗进展 [J]. *浙江中医杂志*, 2012, 47(11): 855-857
- [21] 薛岚. 中药虎杖的药理研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2000, 25(11): 651-653
- [22] 肖凯, 宣利江, 徐亚明, 等. 虎杖的化学成分研究[J]. *中国药学杂志*, 2003, 38(1): 12-14
- [23] Peng W, Qin R, Li X, et al. Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb.et Zucc.: a review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(3): 729-745
- [24] Wu X, Li Q, Feng Y, et al. Antitumor Research of the Active Ingredients from Traditional Chinese Medical Plant *Polygonum Cuspidatum* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 2313021
- [25] 王明安, 王明奎, 彭树林, 等. 虎杖的化学成分研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2001, 13(6): 16-18
- [26] D S, Mk S, Ap K, et al. Targeted abrogation of diverse signal transduction cascades by emodin for the treatment of inflammatory disorders and cancer[J]. *Cancer letters*, 2013, 341(2):139-49
- [27] T K, M K. Resveratrol Action on Lipid Metabolism in Cancer[J]. *International journal of molecular sciences*, 2019 [Epub ahead of print]

- [2] 伊文芳,郭坤元,贺信,等.异基因造血干细胞移植后慢性移植物抗宿主病小鼠模型的建立和评价[J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(12): 1501-1505
- [3] 陈伟红,罗畅如,谢媚,等.肥大细胞瘤小鼠异基因造血干细胞移植的急性移植物抗宿主病动物模型的建立和评价[J]. 广西医科大学学报, 2017, 34(9): 1274-1277
- [4] 胡蓉,黄悦,李红,等.小鼠同种异体造血干细胞移植后急性移植物抗宿主病模型的构建[J]. 局解手术学杂志, 2016, 25(8): 547-551
- [5] Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells[J]. Nature Reviews Immunology, 2010, 10(3): 170-81
- [6] Reed W, Fiebig E W, Lee T H, et al. Chapter 53 - Post-Transfusion Engraftment Syndromes: Microchimerism and TA-GVHD [J]. Blood Banking & Transfusion Medicine, 2007: 713-726
- [7] 胡晓丽,李志强.不同照射剂量建立非清髓性移植物抗宿主病模型小鼠外周血 T 细胞消长性研究 [J]. 中国输血杂志, 2017, 30(3): 262-266
- [8] 冯非儿,王谦明,朱晓璐,等.输血相关移植物抗宿主病的发病机制及预防[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(6): 1774-1779
- [9] 叶苑,李志强.移植物抗宿主病小鼠模型研究进展[J]. 临床输血与检验, 2016, 18(2): 197-200
- [10] 惠玉,刘元林,陈秀慧,等.不同照射剂量对急性移植物抗宿主病小鼠模型建立的影响[J]. 军事医学, 2016, 40(2): 122-126
- [11] Mo Q, Huang Y, Wang L, et al. Photochemical inactivation of lymphocytes by riboflavin with visible light for TA-GVHD prevention[J]. Journal of Photochemistry & Photobiology B Biology, 2017, 174: 276
- [12] Gokhale S G, Gokhale S S. Transfusion-associated graft versus host disease (TAGVHD)--with reference to neonatal period[J]. Journal of Maternal-Fetal Medicine, 2015, 28(6): 700-704
- [13] Blazar B R, Korngold R, Vallera D A. Recent advances in graft-versus-host disease (GVHD) prevention [J]. Immunological Reviews, 2010, 157(1): 79-109
- [14] Bahar B, Tormey C A. Prevention of Transfusion-Associated Graft-Versus-Host Disease With Blood Product Irradiation: The Past, Present, and Future [J]. Archives of Pathology & Laboratory Medicine, 2018, 142(5): 662-667
- [15] Jawa R S, Young D H, Stothert J C, et al. Transfusion-Associated Graft Versus Host Disease in the Immunocompetent Patient [J]. J Intensive Care Med, 2013, 30(3): 123-130
- [16] Raina A, Chaudhary G, Dogra T D, et al. Benefit of STR-based chimerism analysis to identify TA-GVHD as a cause of death: Utility of various biological specimens [J]. Medicine Science & the Law, 2016, 56(2): 142-146
- [17] Wilke C M, Wei S, Wang L, et al. Dual biological effects of the cytokines interleukin-10 and interferon- γ [J]. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2011, 60(11): 1529-1541
- [18] 陈墨,周泽平. IL-10 与自身免疫病的研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(2): 218
- [19] Musuraca G, Matteis S D, Napolitano R, et al. IL-17/IL-10 double-producing T cells: new link between infections, immunosuppression and acute myeloid leukemia [J]. Journal of Translational Medicine, 2015, 13(1): 229
- [20] 新型记忆性 CD4T 细胞亚群负向调控树突状细胞成熟和功能及其机制研究[D]. 浙江大学, 2012
- [21] 骨髓初始髓源抑制细胞亚群表型鉴定及对 T 细胞免疫抑制功能的研究[D]. 南华大学, 2011
- [22] 王佳丽,刘丽华. IL-10 对肿瘤免疫双向调节的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(1): 130-134
- [23] Hamidullah, Changkija B, Konwar R. Role of interleukin-10 in breast cancer[J]. Breast cancer research and treatment, 2012, 133(1): 11-21
- [24] Kassianos A J, Hardy M Y, Ju X, et al. Human CD1c (BDCA-1)+ myeloid dendritic cells secrete IL-10 and display an immunoregulatory phenotype and function in response to Escherichia coli[J]. European Journal of Immunology, 2012, 42(6): 1512
- [25] 罗南友,夏庆杰. 白细胞介素 -10 体外抑制慢性乙型重型肝炎患者树突状细胞活性[J]. 华西医学, 2016, (1): 61-65
- [26] 李娟娟,王有为,马凤霞,等. 比较人脐带和胎盘间充质干细胞对小鼠急性移植物抗宿主病的预防作用[J]. 中国组织工程研究, 2017, 38(5): 693-700
- [27] 龚燕萍,张红星,赵超,等. IL-10⁺CD19⁺ 调节性 B 淋巴细胞在慢性乙型肝炎患者外周血中的表达[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(2): 100-104
- [28] 刘超,高慧婕,等. 大黄素对小鼠的免疫调节作用及对脾细胞 TNF- α 和 IL-10 表达的影响[J]. 基础医学与临床, 2018, 38(09): 88-92
- [29] 翟志敏. IL-2 对免疫激活和免疫耐受的双向调节作用[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(3): 319-322
- [30] Mittal S K, Cho K J, Ishido S, et al. Interleukin 10 (IL-10)-mediated Immunosuppression [J]. Journal of Biological Chemistry, 2015, 290(45): 27158-27167

(上接第 54 页)

- [28] XT H, X L, ML X, et al. Resveratrol: Review on its discovery, anti-leukemia effects and pharmacokinetics [J]. Chemico-biological interactions, 2019
- [29] IY A, MKO G, BN Z. Leveraging the Cardio-Protective and Anticancer Properties of Resveratrol in Cardio-Oncology [J]. Nutrients, 2019. [Epub ahead of print]
- [30] V V, E P, E B, et al. Resveratrol and capsaicin used together as food complements reduce tumor growth and rescue full efficiency of low dose gemcitabine in a pancreatic cancer model [J]. Cancer letters, 2017, 390: 91-102
- [31] N L, C W, P Z, et al. Emodin inhibits pancreatic cancer EMT and invasion by up regulating microRNA?1271 [J]. Molecular medicine reports, 2018, 18(3): 3366-3374
- [32] 曾勇,刘岸,童洪飞,等. 大黄素联合吉西他滨对体外人胰腺癌细胞株 BxPC-3 生长及凋亡的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(4): 552-554