

当归红芪超滤物联合重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 对肝癌 H22 细胞辐射增敏的实验研究*

窦春江¹, 寇 炜^{1△}, 李应东², 刘 凯², 张 红³

1. 西北民族大学医学院(兰州 730030); 2. 甘肃中医药大学(兰州 730030); 3. 中国科学院近代物理研究所(兰州 730030)

【摘要】 目的 观察当归红芪超滤物(Radix Angelicae Sinensis and Radix Hedysari, RAS-RH)增强人肝癌 H22 细胞对重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射敏感性的作用,并探讨其可能的作用机制。**方法** H22 细胞分为空白对照组、药物组(给予 RAS-RH)、辐射组(一次性给予 $^{12}\text{C}^{6+}$ 辐射)及联合组(给予 RAS-RH+辐射),用 CCK-8 法检测 RAS-RH 对人肝癌 H22 细胞增殖抑制的影响,筛选合适的 RAS-RH 工作浓度;克隆集落形成实验检测 RAS-RH 对人肝癌 H22 的辐射增敏作用,筛选合适的辐射剂量;通过流式细胞仪检测 RAS-RH 对人肝癌 H22 细胞凋亡的影响,利用 Western blot 法检测 Survivin、Caspase-9 的蛋白表达水平的改变。**结果** RAS-RH 对 H22 细胞的增殖抑制作用在一定的时间(0~72 h)和浓度范围(0~200 mg/L)内呈现时间和剂量依赖性,其细胞抑制率为 20% (IC_{20})时 RAS-RH 的质量浓度为 $(117.60 \pm 2.15) \text{ mg/L}$,以此选定 100 mg/L 为工作浓度;利用 Prism5.0 软件拟合的 H22 细胞生存曲线均向右下呈弧度的曲线,两条曲线明显分开呈一定的距离,联合组与辐射组相比,曲线低剂量区“肩区”缩小变窄,且各剂量点(1~10 Gy)的存活率降低,2 Gy 时,其辐射增敏比(SER)为 1.39 ± 0.07 ,以此选定 2 Gy 为辐射总剂量。联合组(100 mg/L RAS-RH+2 Gy)凋亡率高于其余 3 组($P < 0.01$);Western blot 结果显示联合组的 Survivin 蛋白表达低于其余 3 组($P < 0.01$),而联合组的 Caspase-9 蛋白表达高于其余 3 组($P < 0.01$)。**结论** RAS-RH 联合重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 束对人肝癌 H22 细胞有辐射增敏作用,其辐射增敏机制可能通过下调凋亡抑制因子 Survivin 蛋白表达,上调促凋亡因子 Caspase-9 蛋白表达以促进细胞凋亡有关。

【关键词】 当归红芪超滤物 H22 细胞 重离子 $^{12}\text{C}^{6+}$ 凋亡 辐射增敏

Radix Angelicae Sinensis and Radix Hedysari Enhance Radiosensitivity of Human Liver Cancer Cells to $^{12}\text{C}^{6+}$ Radiation
DOU Chun-jiang¹, KOU Wei^{1△}, LI Ying-dong², LIU Kai², ZHANG Hong³. 1. The Medical College of Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China; 2. The Cooperation of Chinese and Western Medicine Department, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China; 3. The Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730030, China

△ Corresponding author, E-mail: yxkw@xbmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To determine the effect of Radix Angelicae Sinensis and Radix Hedysari (RAS-RH) on radiosensitivity of human liver cancer H22 cells to heavy ion $^{12}\text{C}^{6+}$ and its possible mechanism. **Methods** The experiment involved a comparison of proliferation of H22 cells (detected by CCK-8 assay) between four groups: control, drug (RAS-RH), radiation, and combination (RAS-RH+ radiation). H22 cells were treated with different doses of radiation alone or radiation followed by RAS-RH. The radiation enhancement effect of RAS-RH on H22 was detected by Colony forming assay. The effect of RAS-RH on the apoptosis of H22 cells was detected by flow cytometry. The influence of RAS-RH on the expression levels of related protein Survivin and Caspase-9 was investigated by Western blot. **Results** RAS-RH inhibited the proliferation of H22 cells, with a time and dose dependency [inhibitory concentration 20% (IC_{20}) = $(117.60 \pm 2.15) \text{ mg/L}$]. The survival rate of H22 cells decreased significantly with the increase of heavy ion $^{12}\text{C}^{6+}$. The two survival curves produced by the Graph Pad Prism 5.0 software were clearly separated. The combination group demonstrated smaller shoulder area at low dosage and lower survival rate of cells compared with radiation group, with a sensitization enhancement ratio (SER) of 1.39 ± 0.07 . The combination group (100 mg/L RAS-RH+2 Gy) had higher apoptosis rate and Caspase-9 protein expression level, and lower Survivin protein expression level, compared with other 3 groups ($P < 0.01$). **Conclusion** RAS-RH has radiation sensitization effect on human hepatocellular carcinoma H22 cells. The mechanism may be related to down-regulation of Survivin protein expression and up regulation of Caspase-9 protein expression.

* 国家自然科学基金(No. 81460677, No. 81160478)资助

△ 通信作者, E-mail: yxkw@xbmu.edu.cn

【Key words】

Radix Angelicae Sinensis and Radix Hedysari

Human hepatocellular carcinoma H22 cells

Heavy ion ¹²C⁶⁺

Apoptosis

Radiosensitivity

肝癌是全球范围内最常见、恶性程度最高的肿瘤之一,严重威胁人类健康,放射治疗(简称放疗)是目前治疗的主要手段。但是在放疗时,出于保护肝脏正常组织的需要,放射剂量受到限制,从而导致癌组织放射抗拒以及再次复发。而放疗与辐射增敏剂的联合使用可以更好地提高放疗的效果,还能一定程度降低放射剂量。因此,寻找高效低毒的辐射增敏剂成为研究的热点。目前研究认为,部分中药有效成分具有肯定的增强免疫、增加放射敏感性及抗肿瘤的作用^[1]。甘肃地道药材当归和红芪被证明具有“扶正祛邪、固本益气”的功效。本研究拟借助当归、红芪超滤膜提取物(Radix Angelicae Sinensis and Radix Hedysari, RAS-RH),探讨其是否具有增强人肝癌 H22 细胞对重离子束¹²C⁶⁺的辐射敏感性及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞与培养

人肝癌 H22 细胞株由西北民族大学中心实验室保存并传代。用含 10% 胎牛血清、10 g/L DMEM 培养液(链霉素和青霉素双抗浓度 0.1%),置于含体积分数 5% CO₂、37 ℃ 细胞恒温箱内中培养,48 h 换液 1 次,取对数生长期的细胞进行实验。

1.2 药品、试剂与仪器

当归、红芪均购自甘肃宕昌和岷县,经甘肃中医药大学药学教研室鉴定,当归是伞形科植物的干燥根,红芪是多序岩黄芪干燥根茎,当归红芪超滤物(RAS-RH)由甘肃省膜科学研究所制备^[2-3]。RAS-RH 成品中,当归、红芪质量比为 1:5。

DMEM、胎牛血清购自兰州吉生物工程有限公司,Trizol 购自美国 Invitrogen 公司,HRP 标记的羊抗兔抗体、SP-9000 及 DAB 染色试剂购自上海碧云天公司,PVDF 膜(FFP30)、Western 配胶试剂盒及 ECL 发光试剂盒购于北京中杉生物(P0012A)。蛋白质印迹法(Western blot)试剂盒购自北京中杉金桥生物有限公司(BS392-MS)。CO₂ 培养箱(Sanyo),P1303 电子天平(上海越平科学仪器有限公司)。重离子辐照实验在中科院近代物理研究所重离子加速器终端进行,束流能量为 166 MeV/u,重离子束类型为¹²C⁶⁺束,将细胞样品置于辐射坪区照射,辐射剂量根据实验的具体辐照要求给予。

1.3 CCK-8 法检测 RAS-RH 对人肝癌 H22 细胞增殖抑制的影响

收集生长良好的 H22 细胞,调整至 5×10³/孔接种至 96 孔板,分别加入不同质量浓度的 RAS-RH(0、5、10、25、50、100、200 mg/L)培养 0、12、24、48、72 h,同时设置质控〔空白对照(加等量 DMEM)以及阴性对照(加等量 DMSO 溶液)],药物作用结束前 1 h,各孔加入 0.01 mL CCK-8,继续培养 2 h,酶标仪测 450 nm 处吸光度(A),重复 3 次,计算抑制率^[4]。绘制细胞抑制曲线,根据细胞抑制率为 20%(IC₂₀)时的 RAS-RH 质量浓度结果选定后续步骤的 RAS-RH 工作浓度。

1.4 细胞分组及处理

将人肝癌 H22 细胞分成 4 组:空白对照组、药物组、辐射组和联合组。辐射组一次性给予¹²C⁶⁺照射;药物组只给予 RAS-RH 培养;联合组先给予 RAS-RH 培养 48 h(IC₂₀),再一次性给予¹²C⁶⁺照射。

1.5 克隆集落形成法检测 RAS-RH 的辐射增敏作用

取辐射组与联合组生长良好的 H22 细胞,调整至 1×10⁶ mL⁻¹。按 500~10 000 细胞的预置数接种到直径 60 mm 的培养皿中(每组设 3 个平行),待贴壁后,辐射组用无药培养基,5%CO₂ 中培养 48 h;联合组更换成含药培养基,继续在体积分数 5%CO₂ 培养箱中培养 48 h,再更换成无药培养基。然后两组用¹²C⁶⁺束辐射,总剂量分别取 1、2、4、6、8、10 Gy。在培养箱培养 14 d 后经 PBS 漂洗、甲醇固定、Gimsa 染色,显微镜下计数 50 个细胞以上的细胞克隆集落数^[4],Graph Pad 公司 Prism5.0 软件按 $\ln SF = \alpha D + \beta D^2$ 模型拟合 H22 细胞克隆形成率曲线,计算其辐射增敏比(SER)。其中 α 为单次所产生的细胞死亡, β 为损伤累积导致的细胞死亡, D 为单次照射剂量。克隆形成率(plating efficacy, PE)=(克隆数/接种的细胞数)×100%;细胞存活分数(survival fraction, SF)=(联合组 PE/辐射组 PE)×100%;SER=(辐射组 SF2/联合组 SF2)×100%。SF2 为 2 Gy 的 SF。

1.6 流式细胞术(FCM)检测 H22 细胞的凋亡率

取 4 组生长良好的 H22 细胞,调浓度为 1×10⁶ mL⁻¹,药物组和联合组均在辐照前 48 h 给药(含药终质量浓度 100 mg/L),辐射组与联合组分别

给予 2 Gy 辐射总剂量,照射后,以上各组分别在 24 h 收集细胞,离心弃上清,用 PBS 洗 2 次,弃上清,加体积分数为 70% 的乙醇振荡混匀后-20℃固定 30 min,离心弃上清,加入 100 μL PI 染料,振荡混匀后室温避光染色 30 min^[4],用流式细胞分析仪检测细胞凋亡。

1.7 Western blot 检测 H22 细胞 Caspase-9、Survivin 蛋白的表达

照射完成后 24 h,取 4 组细胞,先加入蛋白裂解液于冰上充分裂解,用考马斯亮蓝试剂盒提取总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度,取 80 μg 样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,将电泳后的蛋白转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭后,分别用 Survivin、Caspase-9、β-actin 的一抗(1 : 1 000)孵育,4℃过夜,与羊抗兔二抗(HRP 标记 1 : 1 000)孵育,ECL 发光显色,Bio-Rad 凝胶成像仪摄取凝胶图像,测定条带的灰度值(重复 3 次)。以各条带蛋白与内参照 β-actin 蛋白灰度值的比值为各蛋白相对表达量。

1.8 统计学方法

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多个样本均数的比较采用方差分析,两组间比较用 *t* 检验。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 RAS-RH 对 H22 细胞的增殖抑制作用

见图 1。RAS-RH 对 H22 细胞的抑制率在 72 h 内随 RAS-RH 质量浓度增加而增强。选择 IC₂₀ 时的 RAS-RH 质量浓度(117.60±2.15) mg/L 作为工作剂量参考,在后续实验的药物组和联合组选择与此接近的 100 mg/L 作为工作浓度。

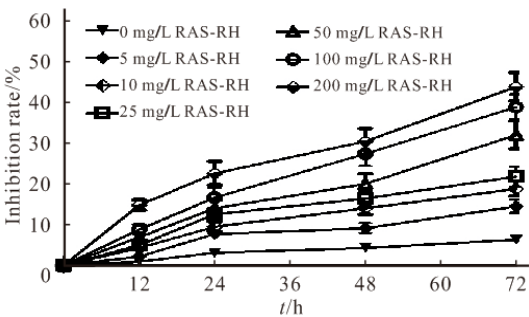


图 1 不同质量浓度 RAS-RH 对 H22 细胞的增殖抑制曲线
Fig 1 RAS-RH induced proliferation inhibition on H22 cells

2.2 RAS-RH 对克隆形成率曲线及其参数的影响

H22 细胞生存曲线向右下呈有弧度的曲线,联合组与辐射组的曲线明显分开呈一定的距离,联合组各剂量点的存活率均低于辐射组,且低剂量“肩

区”比辐射组缩小变窄(图 2)。附表显示:当辐射剂量为 2 Gy 时,两组 H22 细胞的 SF2、α、β 和 α/β 差异有统计学意义($P<0.05$)。设辐射组 SER 为 1,则联合组 SER 为 1.39±0.07,因此后续实验选用 2 Gy 为辐射总剂量。上述结果亦表明,RAS-RH 对肝癌 H22 细胞具有较好的辐射增敏效果,RAS-RH 可以增加 H22 细胞对¹²C⁶⁺离子束的辐射敏感性。

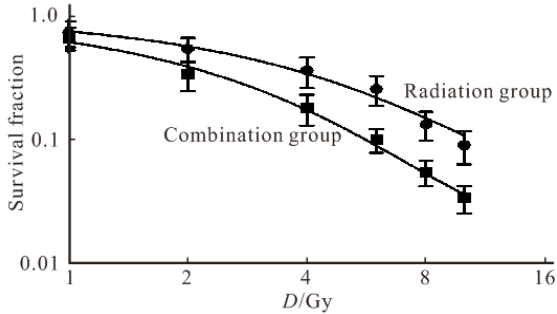


图 2 按线性二次方程拟合 H22 生存曲线
Fig 2 Fitting H22 survival curve according to linear two order equation

附表 H22 辐射组与联合组克隆形成曲线参数比较

Table Parameters of H22 cells in a single-hit multitarget model under different conditions

Parameter	Radiation group (2 Gy)	Combination group (100 mg/L RAS-RH+2 Gy)	P
SF2	0.539 0±0.122 0	0.387 7±0.091 4	0.015 18
SER	1.00	1.39±0.07	0.013 87
α	0.293 0±0.00 2	0.513 7±0.020 0	0.005 51
β	0.018 0±0.011 3	0.023 9±0.030 0	0.008 24
α/β	16.278 0±2.145 0	21.493 0±0.420 0	0.009 27

SF2: Survival fraction under 2 Gy radiation; α: Cell death produced by single clicking; β: Cell death produced by cumulative damage; SER: Sensitization enhancement ratio

2.3 RAS-RH 对 H22 细胞凋亡的影响

100 mg/L RAS-RH 联合 2 Gy¹²C⁶⁺束处理 H22 细胞完成 24 h 后,除药物组(10.89%±1.75%)与辐射组(11.80%±2.01%)的凋亡率无差异外($P=0.093$),联合组(22.42%±3.74%)与对照组(5.35%±0.41%)、药物组、辐射组的凋亡率比较,差异均有统计学意义($P<0.01$)。

2.4 RAS-RH 对 H22 细胞 Caspase-9 和 Survivin 蛋白表达的影响

图 3 结果示:Survivin 蛋白表达联合组(0.21±0.02)较辐射组(0.32±0.04)、药物组(0.51±0.06)、对照组(0.71±0.08)变化明显,其表达值低于各组,差异有统计学意义($P<0.01$),而 Caspase-9 蛋白表达联合组(0.68±0.07)较辐射组(0.49±0.05)、药物组(0.30±0.03)、对照组(0.20±0.02)表达增高($P<$

0.01),结果表明 RAS-RH 下调辐射诱导的 Survivin 蛋白的表达,上调辐射诱导的 Caspase-9 蛋白的表达,从而使 H22 细胞的凋亡增加。

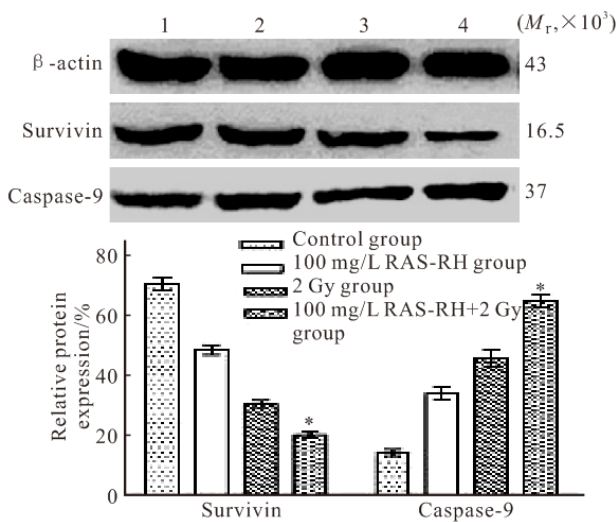


图 3 各组的 Survivin 和 Caspase-9 蛋白表达
Fig 3 Detection of Survivin and Caspase-9 expressions by Western blot

* $P<0.01$, vs. other groups; 1: Control group; 2: 100 mg/L RAS-RH group; 3: 2 Gy group; 4: 100 mg/L RAS-RH + 2 Gy group

3 讨论

本研究主要探讨当归、红芪是否可以增强人肝癌 H22 细胞对重离子¹²C⁶⁺辐射敏感性。当归为伞形科植物的干燥根,其主要成分为多糖、阿魏酸等主要活性组分。现代药理研究表明,当归有效成分具有抗肿瘤、提高免疫和清除自由基等功效^[2-6]。采用 CCK-8 法发现,从当归中提取的多糖 APS-b II,对人肝癌细胞 HepG2、乳腺癌细胞 MCF-7 和结肠癌细胞 SW1116 均有一定的生长增殖抑制作用^[2]。红芪为豆科岩黄芪属植物,其主要成分有红芪多糖、芒柄花素、黄芪总黄酮等组分。利用高效液相色谱法分离出红芪多糖 HPS-1、2、3,发现 HPS-3 可使肝癌细胞 HepG2 增殖明显受到抑制,增加 G₂/M 期阻滞,提高凋亡率,其机制可能与下调 Bcl-2 表达、上调 Caspase-3 表达相关^[7],上述研究证实当归、红芪的有效组分可以抑制肿瘤细胞的增殖。

本研究小组采用截留相对分子质量为 100×10^3 的超滤膜对当归红芪(1:5)进行超滤^[8],制成当归红芪超滤物(RAS-RH),利用 CCK-8 法发现,RAS-RH 对人肝癌 H22 细胞的抑制率在 72 h 内随 RAS-RH 质量浓度增加而增强;克隆形成率曲线证实,细胞 H22 的存活曲线向右下约呈弧形,联合组

与药物组的曲线明显分开一定距离,曲线各参数($SF2$ 、 α 、 β 和 α/β)显示 RAS-RH 能增加人肝癌细胞 H22 对¹²C⁶⁺束的辐射增敏性($P<0.05$),因此本研究认为 RAS-RH 可增加人肝癌细胞 H22 对重离子¹²C⁶⁺束的辐射敏感性。

目前研究认为,放疗杀伤肿瘤细胞的主要机制之一是辐射可以通过线粒体信号转导途径诱导肿瘤细胞凋亡^[9-10],而 Caspase 家族式激活并溶解是凋亡形成的核心机制,Survivin 能够通过抑制 Caspase-9 前体,阻滞 Caspase-9 形成 Cyt c/dATP/Apaf-1,从而抑制 Caspase-9 下游的 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-7 分解和凋亡信号传导,BOMMER 等^[11]发现辐射诱导凋亡、肿瘤细胞的辐射敏感性均与 Survivin 蛋白表达水平呈负相关,为此,CHU 等^[12]还利用反义寡核苷酸技术,发现下调 Survivin 表达可增加胰腺癌细胞和 HeLa 细胞的凋亡率,从而增强这两种细胞的辐射敏感性。另外,Caspase 蛋白表达一旦降低,这两种细胞将会产生对辐射的抗拒性。

以上述研究为基础,我们利用流式细胞仪研究显示,联合组 H22 细胞的凋亡率要高于对照组、药物组、辐射组,说明 RAS-RH 可以增加¹²C⁶⁺束诱导的 H22 细胞凋亡,同时,利用 Western blot 检测线粒体凋亡途径中的 Survivin 和 Caspase-9 凋亡相关因子,结果显示:RAS-RH 可以通过下调 Survivin 表达和上调 Caspase-9 表达,使 H22 细胞凋亡增加,从而增加 H22 细胞对¹²C⁶⁺束的辐射敏感性,与上述研究结果一致。

综上所述,RAS-RH 具有增强人肝癌细胞株 H22 对重离子¹²C⁶⁺束辐射敏感性的作用,其作用机制可能是通过下调 Survivin 和上调 Caspase-9 表达,通过增加辐射后 H22 细胞的凋亡率以增加其对¹²C⁶⁺辐射敏感性。但本研究只是从当归红芪超滤物增加 H22 细胞凋亡的角度探讨了 RAS-RH 具有一定的辐射增敏作用,还存在一定的局限性,下一阶段的工作和任务将进一步深化凋亡机制研究,同时从重离子¹²C⁶⁺辐射导致细胞 DNA 损伤、细胞周期阻滞的角度,以及体内进行辐射增敏作用的研究,期望从体内和体外同时探讨当归红芪超滤物增加对肿瘤放疗的敏感性的相关作用机制。

参 考 文 献

[1] 杨莹,张宇忠.天然中药抗肿瘤机制的研究进展.医学综述,2010,16(3):363-365. (下转第 861 页)

- [2] BINDER D, TEMMESFELD-WOLLBRÜCK B, WURM R, *et al.* Brain metastases of lung cancer. *Dtsch Med Wochenschr*,2006,131(4):165-171.
- [3] ZIMMERMANN S, DZIADZIUSZKO R, PETERS S. Indications and limitations of chemotherapy and targeted agents in non-small cell lung cancer brain metastases. *Cancer Treat Rev*,2014,40(6):716-722.
- [4] LEE HW, LEE JI, LEE SJ, *et al.* Patient-derived xenografts from non-small cell lung cancer brain metastases are valuable translational platforms for the development of personalized targeted therapy. *Clin Cancer Res*,2015,21(5):1172-1182.
- [5] JONSSON F, YIN L, LUNDHOLM C, *et al.* Low-dose aspirin use and cancer characteristics: a population-based cohort study. *Br J Cancer*,2013,109(7):1921-1925.
- [6] ZHONG X, FAN Y, RITZENTHALER JD, *et al.* Novel link between prostaglandin E2 (PGE2) and cholinergic signaling in lung cancer: the role of c-Jun in PGE2-induced $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor expression and tumor cell proliferation. *Thorac Cancer*,2015,6(4):488-500.
- [7] HARFORD-WRIGHT E, LEWIS KM, VINK R. Towards drug discovery for brain tumours: interaction of kinins and tumours at the blood brain barrier interface. *Recent Pat CNS Drug Discov*,2011,6(1):31-40.
- [8] THOMPSON EM, FRENKEL EP, NEUWELT EA. The paradoxical effect of bevacizumab in the therapy of malignant gliomas. *Neurology*,2011,76(1):87-93.
- [9] LEMASSON B, SERDUC R, MAISIN C, *et al.* Monitoring blood-brain barrier status in a rat model of glioma receiving therapy: dual injection of low-molecular-weight and macromolecular MR contrast media. *Radiology*, 2010, 257 (2):342-352.
- [10] PANG Z, FENG L, HUA R, *et al.* Lactoferrin-conjugated biodegradable polymersome holding doxorubicin and tetrandrine for chemotherapy of glioma rats. *Mol Pharm*, 2010,7(6):1995-2005.
- [11] BLACK KL, YIN D, ONG JM, *et al.* PDE5 inhibitors enhance tumor permeability and efficacy of chemotherapy in a rat brain tumor model. *Brain Res*,2008,1230:290-302[2016-10-10]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899308016028>. doi: 10.1016/j.brainres.2008.06.122.
- [12] CHO MS, VASQUEZ HG, RUPAIMOOLE R, *et al.* Autocrine effects of tumor-derived complement. *Cell Rep*, 2014,6(6):1085-1095.
- [13] ZIMMERMANN S, DZIADZIUSZKO R, PETERS S. Indications and limitations of chemotherapy and targeted agents in non-small cell lung cancer brain metastases. *Cancer Treat Rev*,2014,40(6):716-722.
- [14] BAENA CP, D'AMICO RC, SLONGO H, *et al.* The effectiveness of aspirin for migraine prophylaxis: a systematic review. *Sao Paulo Med J*,2017,135(1):42-49.
- [15] ZHU HM, WU T, CUI L. Study of aspirin on proliferation and apoptosis of human lung Adenocarcinoma cell lines SPCA-1 *in vivo*. *Chinese Pharmacological Bulletin*,2004,20(6):640-643.
- [16] FUKUMOTO K, TAKAGI N, YAMAMOTO R, *et al.* Prostanoid EP1 receptor antagonist reduces blood-brain barrier leakage after cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol*, 2010,640(1/2/3):82-86.

(2017-04-15 收稿,2017-07-28 修回)

编辑 余琳

(上接第 843 页)

- [2] 陈曦,曹蔚,孙阳,等.当归多糖 APS-bII 的结构特征及体外抗肿瘤作用. *科学技术与工程*,2012,10(8):1839-1842.
- [3] 寇炜,李应东,刘凯,等.红芪超滤物对人肝癌 He pG2 细胞辐射敏感性的影响. *中国中西医结合杂志*,2013,33(2):220-224.
- [4] 吴素珍,李加林,陈水亲,等.硫酸酯化当归多糖抗肿瘤实验研究. *时珍国医国药*,2012,23(2):319-320.
- [5] 张雁,吴宏,关雪晶,等.当归多糖预防给药对放射损伤小鼠骨髓单个核细胞黏分子表达及细胞周期的影响. *中国生物制品学杂志*,2012,23(6):627-632.
- [6] 何晓莉,关雪晶,吴宏,等.当归多糖对电离辐射致小鼠骨髓单个核细胞凋亡及氧化损伤的影响. *重庆医科大学学报*, 2012,37(4):315-318.
- [7] 刘华,闫立萍,王小军.红芪多糖 1 联合顺铂对肺癌 A549 细胞凋亡的协同作用及其机制探讨. *肿瘤*,2013,33(11):980-984.
- [8] KOU W, LI YD, LIU K, *et al.* Radix Angelicae Sinensis and Radix Hedysari enhance radiosensitivity of $^{12}C^{6+}$ radiation in human liver cancer cells by modulating apoptosis protein. *Saudi Med J*,2014,35(9):945-952.
- [9] HARTLERODE AJ, MORGAN MJ, WU Y, *et al.* Recruitment and activation of the ATM kinase in the absence of DNA damage sensors. *Nat Struct Mol Biol*,2015,22(9):736-743.
- [10] FU T, WANG L, JIN X, *et al.* Hyperoside induces both autophagy and apoptosis in non-small cell lung cancer cells *in vitro*. *Acta Pharm Sin*,2016,37(4):505-518.
- [11] BOMMER UA, IADEVAIA V, CHEN J, *et al.* Growth-factor dependent expression of the translationally controlled tumour protein TCTP is regulated through the PI3-K/Akt/mTORC1 signalling pathway. *Cell Signal*,2015,27(8):1557-1563.
- [12] CHU X, CHEN L, WANG J, *et al.* siRNA-mediated surviving inhibition enhances chemo-or radiosensitivity of colorectal cancer cells in tumor-bearing nude mice. *Hepatogastroenterology*,2012, 57(104):1445-1452.

(2017-04-20 收稿,2017-08-15 修回)

编辑 吕熙