

【实验研究】

苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 增殖和凋亡的影响\*

杜好信<sup>1</sup> 曹云鹏<sup>2△</sup> 耿国军<sup>1</sup> 姚成才<sup>1</sup> 陈隽鹏<sup>1</sup> 张义<sup>1</sup> 陈端扬<sup>1</sup> 姜杰<sup>1</sup>

摘要:目的 探讨中药提取物苦参碱单体(Matrine)对人食管癌细胞株 Eca-109 的诱导凋亡和抑制增殖作用。方法 体外培养人食管癌细胞株(Eca-109),分别给以不同浓度的苦参碱对体外培养的 Eca-109 细胞株进行干预。以 MTT 比色法、Hoechst33342 染色法以及流式细胞术测定苦参碱对 Eca-109 细胞株的诱导凋亡及抑制增殖的作用。结果 MTT 实验显示苦参碱可以明显抑制 Eca-109 细胞株的增殖,流式细胞术检测细胞周期显示 G<sub>2</sub> 期细胞明显增多,S 期细胞显著减少。结论 苦参碱能明显抑制 Eca-109 细胞株的增殖,促进其凋亡,其作用机制可能与细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub> 期有关。

关键词:苦参碱;食管癌细胞;增殖;凋亡;细胞周期

doi: 10. 3969/j. issn. 1003-8914. 2012. 06. 017 文章编号: 1003-8914(2012)-06-1096-06

Investigate the Effects of Matrine on the Proliferation and Apoptosis of Human Esophageal Carcinoma Eca-109 Cell Line

Du Haoxin<sup>1</sup> Cao Yunpeng<sup>2△</sup> Geng Guojun<sup>1</sup> Yao Chengcai<sup>1</sup> Chen Junpeng<sup>1</sup> Zhang Yi<sup>1</sup> Chen Duanyang<sup>1</sup> Jiang Jie<sup>1</sup>

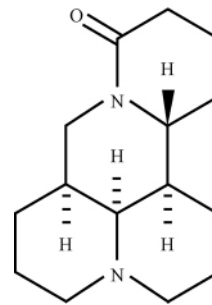
(1. Xiamen Traditional Chinese Hospital, Fujian Xiamen 361009; 2. Medical college of Xiamen University, Fujian Xiamen 361005)

Abstract: Objective To investigate the effects of matrine on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma Eca-109 cell line. Methods Different concentrations of matrine were used in the culture of esophageal carcinoma cells. Proliferation, apoptosis, and cell cycle arrest of esophagus carcinoma Eca-109 cells line were observed by MTT assay, Hoechst33342 staining, and flow cytometry quantitative analysis. Results shows that matrine significantly induced apoptosis of the Eca-109 cell line; The cell cycles measurement by flow cytometry quantitative analysis showed an increase in G<sub>2</sub> phase cells, and S phase cells were significantly reduced. Conclusions Matrine can inhibit proliferation and promote apoptosis of the Eca-109 cell line, and the mechanism may be correlated to the cell cycle arrest at G<sub>2</sub> phase.

Key words: matrine; esophagus carcinoma cell; proliferation; apoptosis; cell cycle

1 引言

苦参碱(Matrine MA)是传统中药苦参根提纯的化学单体之一,是白金雀儿碱(lupanine)的异构体,属于四环的喹诺里西啶类(quinolizidine),分子式: C<sub>15</sub> H<sub>24</sub> N<sub>2</sub> O。分子量: 248. 37,化学结构式如下图。多年来对其大量的药理和临床研究发现,其具有免疫抑制<sup>[1]</sup>、抗炎、抗肝纤维化<sup>[2]</sup>、抗心律失常<sup>[3]</sup>等多种药理作用,广泛应用于临床各科,新近的研究发现,该药还具有抑制多种肿瘤细胞增殖与诱导其凋亡等生物活性<sup>[4, 5]</sup>。本研究通过一定浓度的苦参碱作用于人食管癌细胞后,观察其对食管癌细胞的抑制增殖和凋亡诱导效应,并通过流式细胞学检测其作用后的食管癌细胞的细胞周期变化,探索苦参碱诱导人食管癌细胞凋亡的作用机制。



2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 细胞株 人食管癌细胞株 Eca-109(购自上海细胞库)。

2.1.2 主要试剂 苦参碱(西安轻盈生物工程公司,纯度 >98%); RPMI 1640 培养液(GIBCO 公司); 胰蛋白酶(上海生工); 胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司); 青霉素(厦门泰京); 链霉素(北京拜尔迪); HEPES(BioSharp); Hoechst33342(Calbiochem); Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(凯基生物); PI(凯基生物); MTT(Sigma Chemical Co); DMSO(Sigma

\* 基金项目: 福建厦门市卫生局科研项目( No: 2007-CXB-B)

作者单位: 1. 福建厦门市中医院胸外科( 厦门 361009); 2. 福建厦门大学医学院( 厦门 361005)

△通讯作者

Chemical Co)。

**2.1.3 主要仪器设备** HF16 二氧化碳培养箱(Heal Force Development Co., Ltd); AE31/CCIS LWD 倒置显微镜(MOLTIC Co., Ltd); EPICS XL 流式细胞仪(COULTER); Model 3350 酶标仪(Bio-Rad); OLYMPUS IX71 荧光显微镜(OLYMPUS)。

## 2.2 方法

**2.2.1 细胞培养** 人食管癌细胞株 Eca-109 在 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素的 RPMI1640 培养基, 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。当细胞长满培养皿底 80% ~ 90% 时, 进行传代, 传代时吸除培养基, 用 PBS 缓冲液洗两次, 0.5ml 0.25% 胰酶进行消化。根据实验需要, 将细胞接种于不同规格的培养板中进行培养。将苦参碱溶于未加胎牛血清的 RPMI1640 培养基中, 配制成 0.5mg/ml、1.0mg/ml、2.0mg/ml、4.0mg/ml、8.0mg/ml 的浓度用于实验。

**2.2.2 MTT 法测定细胞增殖活性** 将对数生长期的细胞, 制备细胞悬液, 调整细胞浓度为  $5 \times 10^4$  /L, 接种于 96 孔培养板内, 每孔 100 $\mu$ l (每孔  $5 \times 10^3$  个细胞); 细胞接种 24 h 后, 开始加入药物进行处理(不同浓度或不同时间); 每孔加入 20  $\mu$ l 的 5 mg/ml MTT 溶液, 继续培养 4 h; 吸除 MTT 溶液, 每孔加入 150  $\mu$ l 的 DMSO; 脱色摇床摇动 10 min 后, 酶标仪检测波长为 490nm 时各孔 OD 值; 根据公式: 细胞抑制率 = (OD 对照组 - OD 给药组) / OD 对照组  $\times$  100%, 计算出各组细胞的增殖存活率。

### 2.2.3 细胞凋亡的形态学观察 (Hoechst33342 染色)

将对数生长期的细胞接种于盖玻片上, 24 h 后加入药物处理; 按照实验要求, 终止药物处理, PBS 缓冲液洗一次后, 4% 多聚甲醛 4℃ 固定 20 min; PBS 缓冲液洗一次后, 用工作浓度的 Hoechst33342 避光染色 20 min; 封片, 用荧光显微镜观察并拍照。

**2.2.4 细胞凋亡率检测 (Annexin-V/PI 双染法)** 将对数生长期的细胞接种于六孔板中, 24 h 后加入药物进行处理; 按照实验要求, 终止药物处理, 并用不含 EDTA 的胰酶消化收集细胞; 用 PBS 缓冲液洗涤细胞两次, 离心, 吸除上清; 按照 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明书的要求, 收集  $3 \times 10^5$  细胞进行后续实验; 加入 500  $\mu$ l 的 Binding buffer 悬浮细胞; 加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC 混匀后, 再加入 5  $\mu$ l PI, 混匀; 室温, 避光反应 15 min; 在 1 h 内, 进行流式细胞仪检测, 激发波长 Ex = 488nm, 发射波长 Em = 530nm; 数据分析。

**2.2.5 细胞周期检测 (PI 单染法)** 将对数生长期的细胞接种于六孔板中, 24 h 后加入药物进行处理; 按照实验要求, 终止药物处理, 并收集细胞; 用 PBS 缓冲液洗

涤细胞两次, 离心, 吸除上清; 用预冷的 70% 乙醇将  $3 \times 10^5$  细胞于 -20℃ 固定 12 h; 离心去除乙醇, PBS 缓冲液洗涤细胞一次; 加入无 DNase 的 RNase 重悬细胞, 37℃ 孵育 30 min; 加入 5  $\mu$ l 工作浓度的 PI 室温避光染色 30 min; 流式细胞仪检测, 激发波长为 488nm; 数据分析。

**2.2.6 数据处理** 采用 Origin7.5 软件对实验数据进行统计学处理, 所有数据以 means  $\pm$  SD 表示, 进行方差分析等统计学分析,  $P < 0.05$ , 具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 增殖存活率的影响** 为了检测苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 是否具有存活抑制作用, 本研究采用 MTT 法测定人食管癌细胞株 Eca-109 经不同浓度苦参碱 (0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/ml) 处理 24 h 和 2.0 mg/ml 苦参碱处理不同时间 (0、12、24、36、48 h) 后的细胞增殖存活率。从图 2-1 中的结果来看, 人食管癌细胞株 Eca-109 的增殖存活率均随着苦参碱浓度的增加或者处理时间的增加呈下降趋势, 可以说明苦参碱在体外对人食管癌细胞株 Eca-109 具有明显的存活抑制作用, 它们的增殖存活率与苦参碱呈剂量 - 时间依赖关系。

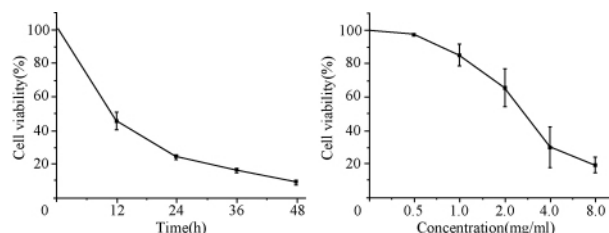


图 2-1 苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 存活的抑制作用

**3.2 苦参碱诱导人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡的形态学观察** 据多项研究表明, 苦参碱可以诱导多种肿瘤细胞发生凋亡。细胞发生凋亡时, 可以出现典型的细胞核形态学改变, 如核皱缩、染色质边集、出现凋亡小体等。Hoechst33342 是一种具有膜通透性的 DNA 特异性结合染料, 它可以经渗透进入细胞内, 与 DNA 结合, 使 DNA 呈现蓝色荧光。若细胞发生凋亡时, 由于染色质高度浓集, 使其对 Hoechst33342 的摄取能力增强, 呈现颗粒状的强蓝色荧光。本研究采用荧光染料 Hoechst33342 对经 2.0mg/ml 苦参碱处理 24 h 的人食管癌细胞株 Eca-109 进行染色, 随即进行荧光显微镜观察分析。图 2-2 显示, 经 Hoechst33342 染色后, 对照组在荧光显微镜下呈均匀微弱蓝色荧光, 可见个别凋亡小体, 而给药组则呈现出明显强于对照组的颗粒状蓝色荧光, 且可见大量凋亡小体的存在。这说明苦参碱可以明显促进人食管癌细胞株 Eca-109 的凋亡。

**3.3 苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡率的影响** 通过形态学观察, 我们发现苦参碱可以有效诱导

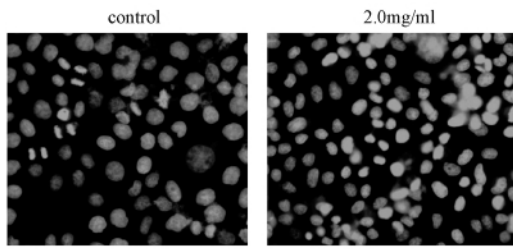


图 2-2 苦参碱诱导人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡的形态学变化  
人食管癌细胞株 Eca-109 发生凋亡的形态学特征变化。为了进一步证实苦参碱具有诱导人食管癌细胞株 Eca-109 发生凋亡的能力,我们进行了凋亡率的定量研究。本研究采用 Annexin V/PI 双染法 经流式细胞

仪检测人食管癌细胞株 Eca-109 经不同浓度苦参碱 (0.0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/ml) 处理 48 h(图 2-3) 和 4.0mg/ml 苦参碱处理不同时间(0、12、24、36、48 h) 后的凋亡率(图 2-4)。结果显示,不同浓度苦参碱 (0.0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/ml) 处理人食管癌细胞株 Eca-109 48 h,可以有效地引起细胞凋亡(0.5mg/ml 组  $P > 0.05$ ),且凋亡细胞的数量随苦参碱浓度增加而增加,具有明显的剂量依赖关系;经 4.0mg/ml 苦参碱处理人食管癌细胞株 Eca-109 不同时间(0、12、24、36、48 h),可以有效引起细胞凋亡,且凋亡细胞数量随苦参碱处理时间增加而增加,表现出明显的时间依赖关系。

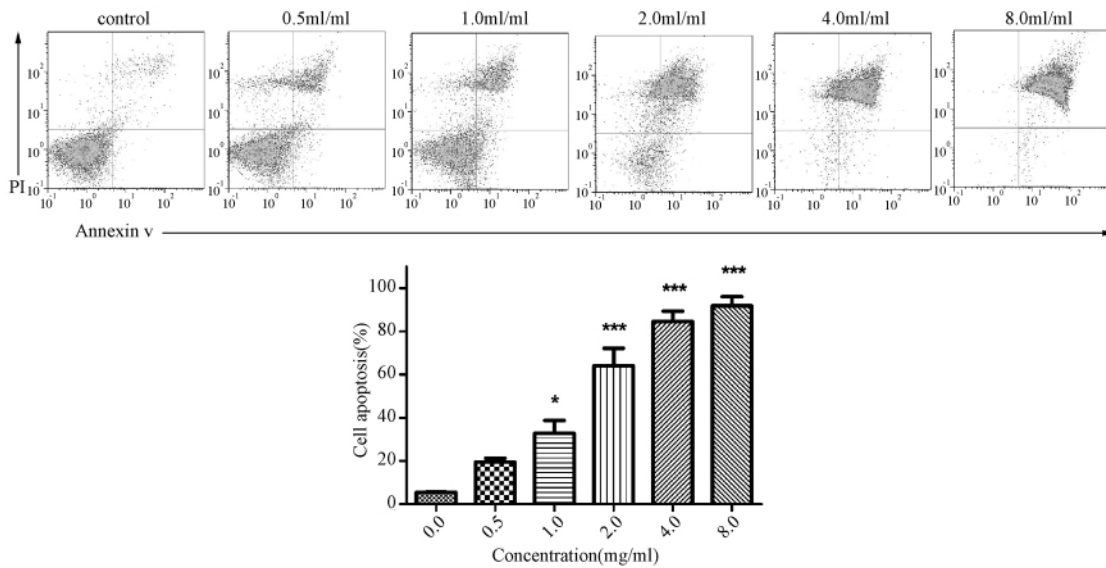


图 2-3 不同浓度苦参碱处理 48 h 诱导人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡  
上图: 人食管癌细胞株 Eca-109 经不同浓度苦参碱(0.0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/ml) 处理 48 h  
下图: 人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡率统计图(\*表示与 control 组比较  $P < 0.05$ ; \*\*\*表示与 control 组比较  $P < 0.001$ )

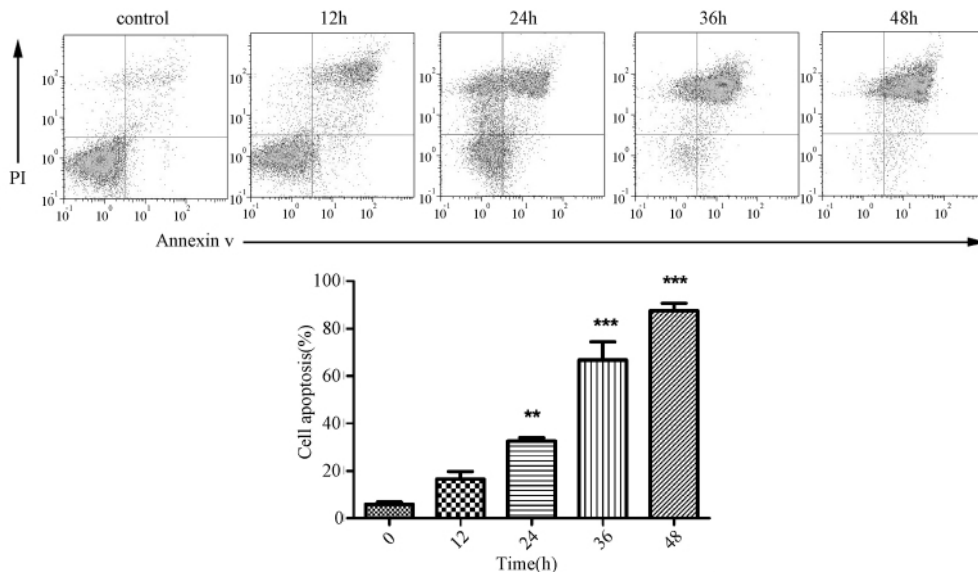


图 2-4 4.0mg/ml 苦参碱处理不同时间诱导人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡  
上图: 人食管癌细胞株 Eca-109 经 4.0mg/ml 苦参碱处理不同时间(0、12、24、36、48 h)  
下图: 人食管癌细胞株 Eca-109 凋亡率统计图(\*表示与 control 组比较  $P < 0.05$ ; \*\*表示与 control 组比较,  $P < 0.01$ ; \*\*\*表示与 control 组比较  $P < 0.001$ )

3.4 苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 周期分布的影响 很多的研究表明,诱导肿瘤细胞凋亡常可以伴随细胞周期阻滞。本研究为了明确苦参碱是否可以引起人食管癌细胞周期阻滞,采用 PI 单染法经流式细胞

仪检测人食管癌细胞株 Eca-109 经不同浓度苦参碱 (0.0.5、1.0、2.0mg/ml) 处理 24 h 后的细胞周期分布情况。结果如图 2-5 所示,苦参碱可以引起人食管癌细胞株 Eca-109 的细胞周期阻滞于 G<sub>2</sub> 期。

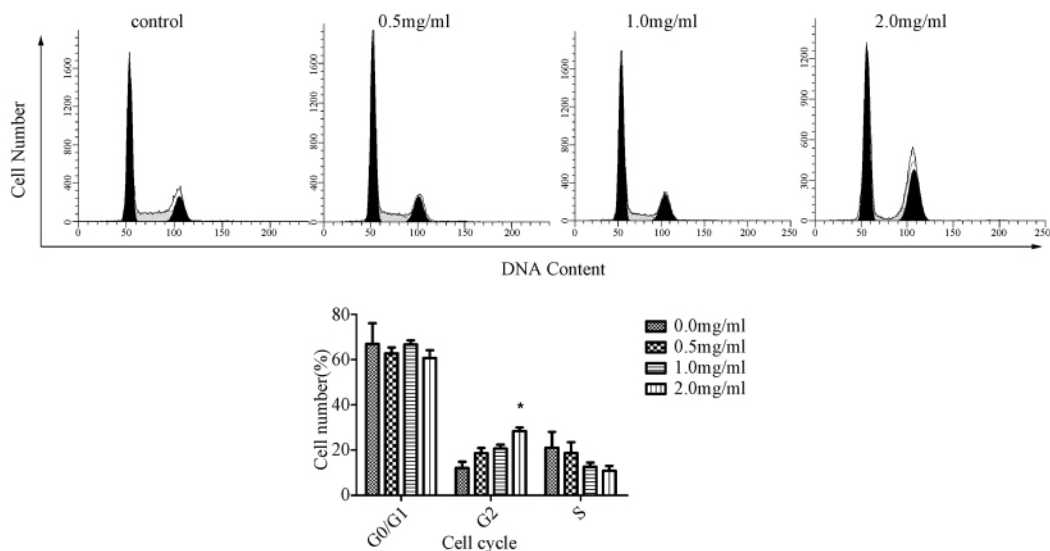


图 2-5 苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 细胞周期分布的影响

上图: 苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 细胞周期分布影响的流式细胞仪检测结果

下图: 人食管癌细胞株 Eca-109 细胞周期分布统计图(\*表示与 control 组比较  $P < 0.05$ )

#### 4 讨论

食管癌是世界上最常见的六大恶性肿瘤之一,显著的地域性分布差异是食管癌流行病学的突出特征,中国是世界上食管癌发病率和死亡率最高的国家。尽管国内外医学工作者经过几十年的探索实践,在食管癌的防治方面取得很大的成绩,但食管癌的具体发病机制仍然不十分清楚,以手术、化疗、放疗为主的综合治疗手段仍不尽如人意,食管癌的预后仍较差,虽然早期食管癌术后 5 年生存率可高达 80%~95%,但中晚期病人仅为 10% 左右<sup>[6]</sup>,后者也正是临床最多见的。当前的研究显示,食管癌缺乏对各种常见抗肿瘤药物的敏感性,导致其化疗的疗效低下。近年来,由于分子生物学在医学研究领域的广泛应用,各种分子靶点治疗药物的开发研究犹如雨后春笋,令包括食管癌在内的恶性肿瘤防治研究展现出新的活力。中药苦参碱作为生物调节剂,具有免疫抑制、抗炎、抗肝纤维化、抗心律失常等多种药理作用,广泛应用于临床。

近几年来,陆续有文献报道,一定浓度的苦参碱具有对多种肿瘤细胞的抑制作用,比如胃癌 SGC-7901 细胞、肺癌 A549 细胞和肝癌 HepG2 细胞、前列腺癌细胞、乳腺癌细胞等等,而且其诱导凋亡的作用随苦参碱的浓度增加或作用时间的延长而增加。一些研究还

对其抗肿瘤机制进行了较为深入的探讨,发现苦参碱具有多种抗肿瘤机制。遗憾的是,众多研究结果中,苦参碱与人食管癌的关系却鲜有报道。本课题选择人食管癌细胞株 Eca-109,围绕苦参碱对其存活增殖的影响,通过各种实验检测方法,从现象到机制展开研究,进一步揭示其诱导人食管癌细胞凋亡的机制,特别是将其与细胞周期的检测进行联系,提出了细胞周期阻滞在苦参碱诱导人食管癌细胞凋亡的过程中发挥了重要的作用。

4.1 苦参碱对人食管癌细胞的存活抑制作用 大量研究证实,苦参碱具有广泛的抑制肿瘤细胞存活的作用。Liu T 等<sup>[7]</sup>通过体内、体外实验发现苦参碱可以通过下调增殖细胞核抗原的表达来抑制胰腺癌细胞的增殖,并且通过降低 Bcl-2/Bax 的比率上调 Fas 的比率来诱导其凋亡。Li H 等<sup>[8]</sup>证实由于苦参碱的抗增殖、抗凋亡、抗血管生成的能力使其可能成为乳腺癌治疗的强有力的“代理”。Zhou X4 等<sup>[9]</sup>发现苦参碱能够通过减少 hTERT 的表达来抑制结肠癌细胞 SW1116 的端粒酶的活性,从而抑制其增殖。Chen K 等<sup>[10]</sup>研究发现苦参碱通过下调雄激素受体和阻滞细胞周期在 G<sub>2</sub>/M 来明显的抑制前列腺癌细胞 NCaP 的体外生长。此外,苦参碱还对肺癌<sup>[11]</sup>、胃癌<sup>[12]</sup>、肝癌<sup>[13]</sup>等肿瘤细胞

表现出明显的抑制作用。在本课题中,我们采用 MTT 法测定了人食管癌细胞株 Eca-109 经不同浓度苦参碱(0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/ml)处理 24 h 和 2.0 mg/ml 苦参碱处理不同时间(0、12、24、36、48 h)后的细胞增殖存活率。结果表明,苦参碱对人食管癌细胞株 Eca-109 具有明显的存活抑制作用,它们的增殖存活率与苦参碱呈剂量-时间依赖关系。

**4.2 苦参碱可以有效诱导人食管癌细胞凋亡** 细胞凋亡是指在特定时空中发生的、受机体严密调控的细胞“自杀”现象。它呈现其独特的、有别于细胞坏死的形态学和生物化学特点。细胞凋亡的生物学意义极其广泛,它涉及胚胎发育、形态发生、细胞稳态及免疫防御机制等诸多方面。相应的,细胞凋亡的异常可能引起多种疾病如自身免疫性疾病、神经退行性疾病、恶性肿瘤等的发生。随着研究的不断深入,越来越多的资料显示与细胞恶性增殖和分化受阻一样,细胞凋亡异常在大多数恶性肿瘤的发病学上占有重要地位。以选择性地诱导肿瘤细胞凋亡为目标的凋亡干预技术可能成为治疗恶性肿瘤的基本策略。

研究证实,苦参碱可以有效的诱导多种肿瘤细胞凋亡。Han Y 等<sup>[14]</sup>研究发现苦参碱可以通过激活线粒体途径(包括 Bcl-2/Bax 蛋白比率的下调、线粒体跨膜电位的缺失、caspase-3 酶的活化、细胞色素 C 的释放)来诱导人多发性骨髓瘤细胞的凋亡。Dai Z 等<sup>[15]</sup>发现苦参碱通过上调 Fas/FasL 配体的表达以及激活 caspase-3 酶来诱导胃癌 SGC-7901 细胞的体外凋亡。Liu X 等<sup>[16]</sup>发现苦参碱可以通过细胞色素 C 诱发 caspase 酶激活通路来诱导白血病细胞 U937 的凋亡。Luo C 等<sup>[12]</sup>发现苦参碱通过增加促凋亡分子蛋白 Bcl-2 来诱导胃癌细胞 MKN45 的凋亡。

本课题通过形态学观察和定量分析相结合的方法来研究苦参碱所具有诱导人食管癌细胞凋亡的能力。我们首先采用了荧光染料 Hoechst33342 分别对经 2.0 mg/ml 苦参碱处理 24 h 的人食管癌细胞株 Eca-109 进行染色。Hoechst33342 是一种具有膜通透性的 DNA 特异性结合染料,它可以经渗透进入细胞内,与 DNA 结合,使 DNA 呈现蓝色荧光。若细胞发生凋亡时,由于染色质高度浓集,使其对 Hoechst33342 的摄取能力增强,呈现颗粒状的强蓝色荧光。通过荧光显微镜观察,我们发现苦参碱(2.0 mg/ml, 24 h)处理组的细胞株呈现出明显强于对照组的颗粒状蓝色荧光,且可见凋亡小体的存在。这一结果从形态学上证实了苦参碱可以有效诱导人食管癌细胞发生凋亡。随后,为了更为客观的证明该结果,我们采用了 Annexin V/PI 双染法,经流式细胞仪检测人食管癌细胞株 Eca-109 经

不同浓度苦参碱(0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/ml)处理 24 h 和 2.0 mg/ml 苦参碱处理不同时间(0、12、24、36、48 h)后的凋亡率。Annexin V/PI 双染法是目前公认的研究细胞凋亡率较为准确的方法之一。结果显示,不同浓度苦参碱(0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mg/ml)处理人食管癌细胞株 Eca-109 24h,可以有效地引起细胞凋亡;经 2.0 mg/ml 苦参碱处理人食管癌细胞株 Eca-109 不同时间(0、12、24、36、48 h),同样可以有效引起细胞凋亡。该部分的研究从形态学和定量分析两个方面证实了苦参碱可以诱导人食管癌细胞凋亡。

**4.3 苦参碱可以使人食管癌细胞周期阻滞于 G2 期** 细胞周期调控机制和肿瘤发生、发展的研究使人们已经清楚地意识到肿瘤是一类细胞周期疾病。针对这个结论,利用各种手段使肿瘤细胞发生细胞周期阻滞,正成为一种新的肿瘤治疗策略。Feng JL<sup>[17]</sup>等研究发现苦参碱可以抑制 DNA 合成,将 JM 细胞周期阻滞在 G1 期,从而抑制其增殖促进其凋亡。Chen C 等<sup>[18]</sup>发现苦参碱能通过降低 Bcl-2/Bax 的 mRNA 比值,促使人类卵巢恶性畸胎瘤细胞 PA-1 的细胞周期被阻滞在 G1 期,从而抑制其增殖。同时,研究还表明,苦参碱诱导肿瘤细胞凋亡常伴随着引起细胞周期阻滞<sup>[10,19]</sup>。细胞周期与细胞的增殖与凋亡有着非常密切的关系。细胞周期的调控直接影响了细胞的动态平衡。当细胞周期发生改变时,会使得细胞的增殖和凋亡均发生变化。为了探索苦参碱抑制增殖和诱导凋亡的机制,我们进一步就苦参碱对人食管癌细胞周期分布的影响进行研究。在本课题中,我们采用 PI 单染法经流式细胞仪检测人食管癌细胞株 Eca-109 经不同浓度苦参碱(0、0.5、1.0、2.0mg/ml)处理 24 h 后的细胞周期分布情况。结果发现,苦参碱可以引起人食管癌细胞株 Eca-109 细胞周期阻滞于 G2 期。这一结果明显有异于苦参碱在其他肿瘤细胞中对其细胞周期分布的影响,从而提示苦参碱对肿瘤细胞周期的影响可能具有细胞特异性。

以上研究结果显示:苦参碱在体外对食管癌细胞的生长增殖有明显的抑制作用,同时可诱导该细胞凋亡,是一种很有希望的抗癌中药。其作用机制可能与细胞周期阻滞有关。随着分子生物学技术的不断发展,必将对苦参碱类药物抗肿瘤作用机制的研究起到很大的推动作用,针对这些机制的研究定会开发出新型的抗肿瘤药物,这将为肿瘤的治疗开辟新的途径。

#### 参考文献

- [1] 赵晨光,李逐波.苦参碱类生物碱的现代药理研究[J].兽医导刊 2009(10):50-52.
- [2] 罗卿,梁晓秋,何振华.苦参碱对博来霉素诱导的大鼠肺纤维化

- 模型肺组织病理变化的影响[J]. 航空航天医药, 2010 (11): 1961-1963.
- [3] 黄彩云, 谢世荣, 黄胜英, 等. 苦参碱抗心律失常作用的实验研究[J]. 大连医科大学学报, 2002, 24(3): 177-179.
- [4] Zhang Y, Zhang H, Yu P, et al. Effects of matrine against the growth of human lung cancer and hepatoma cells as well as lung cancer cell migration[J]. Cytotechnology, 2009, 59(3): 191-200.
- [5] Liu T, Song Y, Chen H, et al. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(10): 1740-5.
- [6] 王立东, 郝树. 食管癌研究的历史回顾和哲学思考[J]. 医学与哲学, 2001, 22(9): 1-5.
- [7] Liu T, Song Y, Chen H, Pan S, et al. Matrine inhibits proliferation and induces apoptosis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(10): 1740-5.
- [8] Li H, Tan G, Jiang X, et al. Therapeutic effects of matrine on primary and metastatic breast cancer[J]. Am J Chin Med, 2010, 38(6): 1115-30.
- [9] Zhou XH, Wei X, Huang ZS, et al. Effects of matrine on proliferation and telomerase activity of colon cancer SW1116 cells[J]. Zhong Yao Cai, 2009, 32(6): 923-5.
- [10] Chen K, Hu ZQ, Wang T, et al. Matrine inhibits the proliferation of prostate cancer cells and the activity of androgen receptor[J]. Zhonghua Nan Ke Xue, 2008, 14(8): 719-22.
- [11] Zhu MY, Jiang ZH, Lu YW, et al. Matrine and anti-tumor drugs in inhibiting the growth of human lung cancer cell line[J]. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 2008, 6(2): 163-5.
- [12] Luo C, Zhu Y, Jiang T, et al. Matrine induced gastric cancer MKN45 cells apoptosis via increasing pro-apoptotic molecules of Bcl-2 family[J]. Toxicology, 2007, 18, 229(3): 245-52.
- [13] Zhang Y, Zhang H, Yu P, et al. Effects of matrine against the growth of human lung cancer and hepatoma cells as well as lung cancer cell migration[J]. Cytotechnology, 2009, 59(3): 191-200.
- [14] Han Y, Zhang S, Wu J, et al. Matrine induces apoptosis of human multiple myeloma cells via activation of the mitochondrial pathway[J]. Leuk Lymphoma, 2010, 51(7): 1337-46.
- [15] Dai ZJ, Gao J, Ji ZZ, et al. Matrine induces apoptosis in gastric carcinoma cells via alteration of Fas/FasL and activation of caspase-3[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 123(1): 91-6.
- [16] Liu XS, Jiang J, Jiao XY, et al. Matrine-induced apoptosis in leukemia U937 cells: involvement of caspases activation and MAPK-independent pathways[J]. Planta Med, 2006, 72(6): 501-6.
- [17] Feng JL, Huang GS, Zhang YQ, et al. Matrine effects on JM cells by inhibiting proliferation and inducing apoptosis[J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2003, 28(5): 437-42.
- [18] Chen CD, Li X, Zhang HC. Inhibitory effect of matrine on proliferation of human ovary malignant teratoma cell line PA-1 in vitro[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2010, 30(7): 723-5.
- [19] Wang WJ, Zhang Y, Huang FX. The expression of IER3IP1 gene in K562 cells treated by matrine and its effect on the cell growth[J]. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi, 2007, 28(12): 823-7.

(本文校对: 万文蓉 收稿日期: 2011-05-17)

### 《光明中医》杂志征订征稿启事

《光明中医》杂志是国家中医药管理局主管、中华中医药学会主办的国家级中医药科技综合期刊, 刊号 CN11-1592/R, ISSN-8914。国内外公开发行, 每月 20 日在北京出版。以广大基层中医药临床工作者、中医爱好者、中国学术期刊(光盘版)、科技部万方数据库、中文科技期刊数据库全文收录期刊。

《光明中医》杂志是国家级综合性中医药学术期刊, 以“寓医理于临床”为办刊宗旨, 以“面向临床”、“面向科研”、“面向社区”为办刊方针, 实用性强, 读者群广。主要栏目: 论著、实验研究、薪火传承、硕博论坛、针灸探骊、中西医结合、临床研究、医案医话、方药纵横、民族医药、教管论坛、社区医药、护理论坛、科研进展等。

《光明中医》杂志为月刊, 大 16 开, 每册定价 10.0 元, 全年定价 120.0 元, 邮发代号: 82-525。各地邮局均可办理订购。若当地邮局订购有困难, 亦可直接与本刊发行部联系订购。欢迎广大读者、作者、赐稿订阅。

本刊全国唯一专用的投稿、汇款、通联信箱: 北京 105 信箱(相当于通函地址) 邮编: 100036。电话: 010-68581039/0939(传真)。

本刊唯一指定官方网站: <http://www.gmzyzy.com>

本刊唯一指定的在线投稿信箱: [gmzyzy@sina.com](mailto:gmzyzy@sina.com)

本刊社址: 北京市西城区三里河南一巷 11 号院 2 号楼 401 室。

### 《中国中医药现代远程教育》杂志征订征稿启事

《中国中医药现代远程教育》杂志是国家中医药管理局主管的国家级中医药科技期刊, 中国科技期刊统计源期刊, 中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED) 中国期刊全文数据库(CAJED) 及中国核心期刊《遴选》数据库, 中国期刊全文数据库收录期刊, 中国期刊网全文数据库收录期刊, 每月 8 日、23 日出版, 国内统一刊号 CN11-5024/R 国际刊号 ISSN1672-2779。

《中国中医药现代远程教育》杂志服务于全国医药卫生及相关行业的科技人员, 是我国唯一传播中医药远程教育资讯的中医药科技期刊, 是中医药科研及大中专学生的教辅, 是中医药临床教研人员的益友, 也是中医药远程网络教育学员的教参。欢迎订阅, 全国邮局均可征订。国内邮发代号: 82-107, 国外代号 N-1751。可直接与本刊发行部发行。

本刊主要栏目分四大版块: 一是临床版块: ①临床专著; ②薪火传承; ③护理讲坛; ④临证精华; ⑤临床报道; ⑥他山之石。二是科研版块: ①学术论著; ②实验研究; ③科研进展。三是远教版块: ①中远论坛(教育与管理论坛); ②远教辅导; ③试题解析; ④继教讲堂; ⑤名师讲座; ⑥用药精讲。四是时政与文化版块: ①特稿特讯; ②大医精诚; ③医海泛舟; ④杏林文苑; ⑤综合资讯。

地址: 北京市西城区复兴门南大街甲 2 号知医堂 101 室 邮编: 100031

在线投稿信箱: ① [tougao@zyycjy.com](mailto:tougao@zyycjy.com) ② [zhongyuan@ichinamd.com](mailto:zhongyuan@ichinamd.com)  
联系电话: 010-57289308 010-57289309