

[文章编号] 1671-587X(2009)04-0595-04

氯化三乙基锡对体外培养大鼠 C6 胶质瘤细胞的增殖抑制作用

张 适¹, 张 悦², 毕晓颖³, 李志超³

(1 北华大学基础医学院病理学教研室, 吉林 吉林 132013; 2 厦门大学附属厦门眼科中心, 福建 厦门 361001;
3 吉林大学公共卫生学院毒理学教研室, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 探讨氯化三乙基锡(TETC)对体外培养大鼠 C6 胶质瘤细胞的增殖抑制作用及其机制, 为胶质瘤治疗提供实验依据。方法: 采用 MTT 法检测 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 对大鼠 C6 胶质瘤细胞作用 24 和 48 h 后细胞增殖抑制率, 采用 Hoechst33258 染色荧光显微镜观察 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 作用 48 h 后 C6 胶质瘤细胞核的形态学变化, 采用流式细胞术(FCM)检测 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 作用 48 h 后 C6 胶质瘤细胞周期和凋亡。结果: 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 在体外可抑制 C6 胶质瘤细胞增殖, 24 h 抑制率分别为 7.92%、9.51% 和 19.03%; 48 h 抑制率分别为 15.62%、36.16% 和 41.92%, 存在剂量依赖性和时间依赖性上升趋势, 48 h 抑制率在各剂量组间及各剂量组与对照组间比较差异有显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。荧光显微镜显示 TETC 作用 C6 胶质瘤细胞 48 h 后, 细胞呈现核浓缩和碎裂的凋亡形态学改变。1.0 和 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 作用 C6 胶质瘤细胞 48 h 后, G_0/G_1 期细胞比例明显高于对照组 ($P < 0.05$), S 期细胞比例明显低于对照组 ($P < 0.05$), 细胞凋亡比例明显高于对照组 ($P < 0.05$)。结论: TETC 对大鼠 C6 胶质瘤细胞有增殖抑制作用, 通过细胞周期阻滞及诱导凋亡可能是 TETC 抑制 C6 胶质瘤细胞增殖的作用机制。

[关键词] 三乙基锡化合物; 胶质瘤细胞; 细胞凋亡

[中图分类号] R739.4; R-332 [文献标识码] A

Inhibitory effect of triethyltin chloride on proliferation of rat C6 glioma cells *in vitro*

ZHANG Shi¹, ZHANG Yue², BI Xiaoying³, LI Zhichao³

(1 Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Beihua University, Jilin 132013, China;

2 Xiamen Eye Center, Xiamen University, Xiamen 361001, China;

3 Department of Toxicology, School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: **Objective** To study the inhibitory effect of triethyltin chloride (TETC) on proliferation of rat C6 glioma cells *in vitro* and its mechanism and provide basis for research on TETC in treatment for glioma. **Methods** MTT assay was performed to determine the inhibitory rate of 0.5, 1.0 and 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC on rat C6 glioma cells for 24 and 48 h. The changes of nucleus of C6 glioma cells treated with 0.5, 1.0 and 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC for 48 h were observed by fluorescent microscope. Flow cytometry was used to assess the effects of 0.5, 1.0 and 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC on cell cycle and apoptosis in rat C6 glioma cells for 48 h. **Results** 0.5, 1.0 and 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC inhibited the proliferation of C6 glioma cells *in vitro*, and the inhibitory rates were 7.92%, 9.51%, 19.03% and 15.62%, 36.16%, 41.92% in 24 h TETC treated group and 48 h TETC treated group, respectively. The inhibitory rate of TETC on C6 glioma cells determined by MTT assay increased in a dose-

[收稿日期] 2009-01-04

[基金项目] 国家自然科学基金资助课题 (30070645)

[作者简介] 张 适 (1970-), 男, 吉林省吉林市人, 副教授, 医学博士, 主要从事重金属生物学效应及肿瘤病理方面的研究。

[通讯作者] 李志超 (Tel: 0431-85619458, E-mail: lizhichao@jlu.edu.cn)

dependent and time-dependent manner, and there were significant differences of the inhibitory rates at 48 h between control and various doses groups as well as between various doses groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Pyknotic nucleus and nuclear fragment were shown by fluorescent microscope. When C6 glioma cells were treated with 1.0 and 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC for 48 h, the ratio of G_0/G_1 phase cells significantly increased compared with control group ($P < 0.05$); while the cells at S phase were decreased ($P < 0.05$); the apoptotic cells were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). **Conclusion** TETC can inhibit the proliferation of rat C6 glioma cells *in vitro*, the mechanism of which may be involved in cell cycle arrest and apoptosis.

Key words: triethyltin compounds; glioma cells; apoptosis

恶性脑胶质瘤是颅内最常见肿瘤,其在脑实质内呈浸润性生长,对化疗药物易产生耐药性,对放射线不敏感,使得其在临床治疗中效果不佳,其中位生存期只有9~12个月^[1]。因此目前急需研制新的治疗方案或新的敏感药物。氯化三乙基锡(triethyltin chloride, TETC)是中枢神经系统毒物,脑组织是其靶器官,它具有脂溶性和易透过血脑屏障特性,因此TETC有可能成为一种敏感而有效的抗脑胶质瘤药物。目前国内外未见有关TETC抗脑胶质瘤研究的报道。本实验旨在体外研究TETC对C6胶质瘤细胞增殖抑制作用,并初步探讨其作用机制,为抗脑胶质瘤治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂 TETC (Alfar Aesar 美国), 四甲基偶氮唑盐 MTT、二甲基亚砷 DMSO、Hoechst 33258、碘化丙啶 PI (Sigma), IMDM 细胞培养基 (Gibco), 胎牛血清 (中国医学科学院生物工程研究所)。其余试剂为国产分析纯。

1.2 细胞培养 C6 胶质瘤细胞株 (购自上海细胞所), 为贴壁细胞。C6 胶质瘤细胞在含有 10% 胎牛血清的 IMDM 培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。用 0.25% 胰酶 (PBS 配) 消化传代, 传代浓度一般为 $5 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$, 传至 3 代后细胞用于实验。

1.3 MTT 法检测 TETC 对大鼠 C6 胶质瘤细胞增殖抑制率 将细胞以每孔 1×10^4 个细胞铺 96 孔培养板, 细胞贴壁后 12 h 弃去培养液, 分组加入含不同终浓度 TETC 并含 10% 胎牛血清的 IMDM 培养液, TETC 终浓度分为 0 (生理盐水对照组)、0.5、1.0 及 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (实验组), 对照组设 在第 1 孔, 每一浓度设 4 个平行孔, 每孔 100 μL 培养液。加药后送回培养箱。培养 24 和 48 h 后, 每孔加入 MTT ($5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 20 μL , 继续培养 4 h 后, 弃去培养液, 每孔加入 DMSO 150 μL , 振荡后用酶标仪 (Bio-Rad Model 550 美国), 570 nm 测定

吸光度值 (A 值), 计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率 = $(1 - \text{实验组 A 值} / \text{对照组 A 值}) \times 100\%$ 。

1.4 Hoechst33258 染色法 荧光显微镜观察 C6 胶质瘤细胞核的形态学变化 将盖玻片放入 6 孔培养板中, 按每孔 3×10^5 个细胞接种于 6 孔培养板中, 待细胞贴壁后, 加入 TETC 至终浓度分别为 0 (生理盐水对照组)、0.5、1.0、2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (实验组), 细胞继续培养 48 h 后, 弃去培养液, PBS 清洗 1 次后, 甲醇冰醋酸固定液固定细胞 5 min, 蒸馏水清洗 1 次, 点加 Hoechst 33258 染液, 染色 10 min。蒸馏水清洗, 滤纸沾去多余液体, 封片剂 (pH 5.5, 20 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 枸橼酸、50 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠、50% 甘油) 封片后, 荧光显微镜下观察照相, 荧光显微镜激发滤片选用 UV 激发滤片, 阻断滤片为 400~500 nm。结果判定: 活细胞核呈弥散均匀荧光; 凋亡细胞显示细胞核致密浓染的荧光或可见颗粒块状 DNA 荧光碎片即有核碎裂表现。

1.5 流式细胞术 (FCM) 检测 TETC 作用下 C6 胶质瘤细胞周期和凋亡 按每孔 1×10^5 个细胞接种于 24 孔培养板, 培养 12 h 待细胞完全贴壁后, 加入不同终浓度 0 (生理盐水对照组)、0.5、1.0、2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC (实验组) 培养液, 每一浓度 4 个平行孔, 继续培养 48 h 后收集细胞, 用 PBS 洗 2 次, 加 50 μL RNase ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 200 μL PI ($5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 4 °C 避光孵育 30 min, 流式细胞仪 (EpicsXL-4 流式细胞仪 BECKMAN COULTER, 美国) 测定细胞周期, 收取细胞 (每份样品收取 1×10^4 个细胞), 用 Muticycle 软件分析细胞周期, 结果以细胞周期各时相细胞百分数表示。 G_0/G_1 期之前的亚二倍体峰细胞代表凋亡细胞, 凋亡率以凋亡细胞百分数表示。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 10.0 for Windows 统计软件包进行数据统计学分析, 细胞增殖抑制率、细胞周期及凋亡百分率以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 不同剂量 TETC 作用下大鼠 C6 胶质瘤细胞增殖抑制率 MTT 结果表明, 0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 作用 C6 细胞 24 h 后细胞增殖抑制率分别为 7.92%、9.51% 和 19.03%; 作用 48 h 后抑制率分别为 15.62%、36.16% 和 41.92%, 存在着剂量依赖性和时间依赖性上升趋势, 48 h 抑制率在各剂量组间及各剂量组与对照组间比较, 差异均有显著性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

2.2 Hoechst33258 染色法荧光显微镜观察 C6 胶质瘤细胞核的形态学变化 对照组 C6 胶质瘤细胞核呈现弥散均匀荧光, 0.5、1.0、2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 实验组 TETC 作用 48 h 后 C6 细胞显示细胞核致密浓染的荧光, 可见颗粒块状 DNA 荧光, 显示出凋亡细胞核的形态学改变 (图 1, 见封二)。

2.3 FCM 检测 TETC 作用下大鼠 C6 胶质瘤细胞

周期和凋亡 FCM 检测结果显示, TETC 处理 C6 胶质瘤细胞 48 h 后, 与对照组比较随着药物浓度的增加, 1.0、2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 实验组 G_0/G_1 期细胞数目增多 ($P < 0.05$), S 期细胞数目减少 ($P < 0.05$), 凋亡细胞数目增多 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 TETC 作用下大鼠 C6 胶质瘤细胞增殖抑制率的变化
Tab 1 Changes of the inhibitory rate of the proliferation of C6 glioma cells treated with different doses of TETC in rats
($n = 4, \bar{x} \pm s, \eta/\%$)

Group	Dose ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Inhibitory rate	
		(t/h) 24	48
Control	0	0	0
TETC	0.5	7.92 \pm 0.62*	15.62 \pm 0.45*
	1.0	9.51 \pm 0.91*	36.16 \pm 0.25 [△]
	2.0	19.03 \pm 0.43 ^{*△}	41.92 \pm 0.37 ^{*△}

* $P < 0.05$ vs control group; [△] $P < 0.01$ vs 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC group; [#] $P < 0.01$ vs 1.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC group

表 2 不同剂量 TETC 作用下大鼠 C6 胶质瘤细胞周期和凋亡率的变化

Tab 2 Changes of cell cycle and apoptotic rate in C6 glioma cells treated with different doses of TETC in rats

($n = 4, \bar{x} \pm s, \eta/\%$)

Group	Dose($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Percentage of cells			
		G_0/G_1	S	G_2/M	Apoptotic rate
Control	0	71.90 \pm 2.04	17.80 \pm 1.23	10.25 \pm 0.82	5.70 \pm 0.82
TETC	0.5	73.30 \pm 0.65	15.80 \pm 2.21	10.90 \pm 1.55	5.90 \pm 0.16
	1.0	79.45 \pm 1.72*	10.00 \pm 0.65*	10.60 \pm 2.45	8.40 \pm 1.63*
	2.0	85.80 \pm 2.61 [△]	3.50 \pm 1.96 ^{*△}	10.73 \pm 0.70	12.90 \pm 0.98 ^{*△}

* $P < 0.05$ vs control group; [△] $P < 0.05$ vs 1.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC group

3 讨论

脑胶质瘤是人类中枢神经系统最常见的恶性肿瘤^[2], 占颅内肿瘤的 40% ~ 50%, 现有的综合治疗疗效尚不满意^[3], 治疗后复发快, 死亡率高。化疗是脑胶质瘤治疗的重要手段, 而恶性胶质瘤对传统的化疗药物易产生耐药性, 影响化疗的疗效。恶性胶质瘤对细胞毒性药物的耐受性是由多种因素决定的, 其外在的耐受机制如血脑屏障 (BBB)、脑肿瘤屏障 (BTB) 和药物代谢改变, 没有显著的个体特异性, 可以通过改变药物的一些物理特性, 如脂溶性、弱的蛋白结合和低离子化来促进其跨过 BBB 和 BTB 的通透性, 避免与可增加细胞色素酶活性的药物合用, 以减少耐药性^[4], 因此寻找易于透过血脑屏障的药物, 或研制出更具杀伤力的化疗

药物, 是胶质瘤化疗的重要研究方向^[5]。TETC 具有脂溶性, 易于通过 BBB, 脑组织是其靶器官, 同时 TETC 在大鼠脑内无代谢无降解^[6], 因而 TETC 有可能成为抗脑胶质瘤的敏感性药物。

MTT 法应用于体外肿瘤药敏试验已经获得较好结果^[7], 本实验结果表明, 0.5、1.0 及 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 作用于 C6 胶质瘤细胞 24 h 后与对照组比较抑制率逐步上升, 2.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 组抑制率高于 0.5 和 1.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 组, 而 0.5 和 1.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC 组抑制率无明显差异。随着药物作用时间的延长, 48 h 后各剂量组与对照组和各个剂量组间抑制率比较均存在差异, 抑制率呈剂量依赖和时间依赖上升趋势。Hoechst33258 染色结果显示, 对照组 C6 胶质瘤细胞核呈弥散均匀荧光, 呈现活细胞核的表现; 而

实验组可见 C6 胶质瘤细胞核呈致密浓染的荧光或颗粒块状荧光即有核碎裂表现, 呈现凋亡细胞核的表现。FCM 检测发现, 随着 TETC 剂量增加, G₀/G₁ 期细胞数目逐渐增加, S 期细胞数目逐渐减少, 凋亡细胞数目亦逐渐增加。

综上所述, 本文作者推断, TETC 抗体外 C6 胶质瘤细胞增殖作用是通过阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡而实现的, 其作用机制尚需进一步探讨。国外学者在研究 TETC 的毒性时发现, 大鼠 C6 胶质瘤细胞对 TETC 的敏感性要高于大鼠星型胶质细胞和小脑颗粒细胞^[8,9], 这为寻找和利用具有靶向性有毒药物来抗脑胶质瘤治疗拓展了新思路。

[参考文献]

[1] Weissenberger J, Loeffler S, Kappeler A, et al. IL-6 is required for glioma development in a mouse model [J]. *Oncogene*, 2004, 23 (19): 3308-3316.

[2] Jeremias I, Steiner HH, Benner A, et al. Cell death induction by betulinic acid, ceramide and TRAIL in primary glioblastoma multiform cells [J]. *Acta Neurochir*, 2004, 146 (7): 721-729.

[3] Brandsma D, Stalpers L, Taal W, et al. Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas [J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9 (5): 453-461.

[4] 王明. 恶性脑胶质瘤个体化治疗的研究进展 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2008, 35 (6): 548-552.

[5] 高进喜. 胶质瘤化疗进展 [J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2004, 9 (5): 233-236.

[6] Watanabe K, Yanase K, Ohhira S. Comparative study of five trialkyltin compounds: their metabolites in rat organs 24 hours after single oral treatment [J]. *Nippon Eiseigaku Zasshi*. 2007, 62 (1): 58-63.

[7] Wu B, Zhu JS, Zhang Y, et al. Predictive value of MTT assay as an in vitro chemosensitivity testing for gastric cancer: one institution's experience [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14 (19): 3064-3068.

[8] Seibert H, Morchel S, Gulden M. Cytotoxic potency of trialkyltins to C6 glioma cells in vitro: impact of exposure conditions [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2004, 20 (5): 273-283.

[9] Rosa M, Cristofol SG, David V, et al. Neurotoxic effects of trimethyltin and triethyltin on human fetal neuron and astrocyte cultures: A comparative study with rat neuronal cultures and human cell lines [J]. *Toxicol Lett*, 2004, 152 (1): 35-46.

银杏叶片治疗眩晕症疗效观察

长春大学医院药剂科 (吉林 长春 130022) 王健
吉林大学第一医院药房 (吉林 长春 130021) 王法林

1 资料与方法

- 1.1 一般资料 随机将 62 例眩晕症患者分为治疗组和对照组。治疗组 31 例, 男性 13 例, 女性 18 例, 年龄 17~81 岁, 平均 49 岁; 其中椎基底动脉供血不足 18 例, 内耳性眩晕 9 例, 其他病因引起 4 例。对照组 31 例, 男性 12 例, 女性 19 例, 年龄 16~79 岁, 平均 48 岁; 其中椎基底动脉供血不足 17 例, 内耳性眩晕 8 例, 其他病因引起 6 例。
- 1.2 治疗方法 治疗组给予银杏叶片 (江苏扬子江药业集团公司, 每片含总黄酮醇苷 9.6 mg, 萜内酯 2.4 mg) 每次 2 片, 每日 3 次口服, 疗程 14 d。对照组给予曲克芦丁片 (河南驻马店, 每片 60 mg) 每次 2 片, 每日 3 次口服, 疗程 14 d。两组均口服盐酸培他司啉片 (4 mg, 每日 3 次)。
- 1.3 疗效判定标准 显效: 眩晕及其他症状、体征消失; 有效: 眩晕及其他症状、体征明显减轻; 无效: 眩晕及其他症状、体征无明显改善。
- 1.4 统计学处理 两组患者总有效率比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

- 2.1 疗效比较 治疗组显效 21 例, 有效 9 例, 无效 1 例, 显效率 68.0%, 总有效率 96.7%; 对照组显效 16 例, 有效 8 例, 无效 7 例, 显效率 52.0%, 总有效率 77.4%。治疗组总有效率明显高于对照组 ($P < 0.05$)。
- 2.2 不良反应 治疗组无不良反应, 对照组出现 2 例头痛症状。

3 讨论

眩晕是患者感到自身或周围环境物有旋转或摇动的一种主观感觉障碍, 常伴有客观的平衡障碍。一般无意识障碍, 主要由迷路前庭神经、脑干及小脑病变引起, 也可由于其他系统或全身疾病引起。眩晕症是一种临床综合征, 其病因复杂。主要以椎基底动脉供血不足、梅尼埃病等为多见。银杏叶片主要成分为银杏黄酮苷、银杏内酯和白果内酯, 具有抑制血小板聚集、降低血液黏度、抗血栓形成、消除自由基、改善微循环血流量、提高缺氧耐受性、扩张脑血管使脑血流量增加的作用, 对脑部血液循环及脑细胞的代谢有较好的改善作用, 可增加记忆力、改善睡眠等。银杏总黄酮苷和银杏内酯在扩张脑血管时, 除直接扩张椎基底动脉外, 还可扩张颈内动脉及颈外动脉, 通过侧支循环间接增加椎基底动脉供血区脑组织的血流量, 改善脑功能。本组资料显示, 银杏叶治疗眩晕症临床疗效好, 安全无副作用。

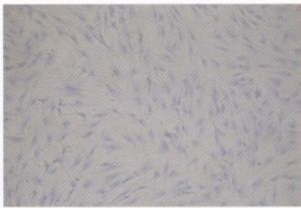


图1 经 Giemsa 染色的第 5 代骨髓间充质干细胞($\times 200$)
Fig.1 Passage 5 BMSCs stained by Giemsa ($\times 200$)
(seen on page 589 in paragraph)

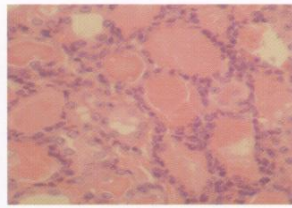


图2 再灌注 24 h 后肾组织病理学变化(HE, $\times 400$)
Fig.2 Pathological changes of the kidney tissues after reperfusion for 24 h (HE, $\times 400$)
(seen on page 589 in paragraph)

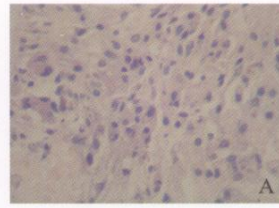


图3 再灌注 4 周后小鼠肾组织病理学变化(HE, $\times 400$)
Fig.3 Pathological changes of kidney tissues after reperfusion for 4 weeks (HE, $\times 400$)
A: Parallel control group; B: Cell transplantation group
(seen on page 589 in paragraph)

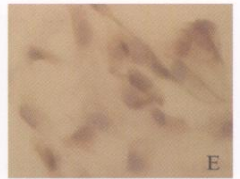
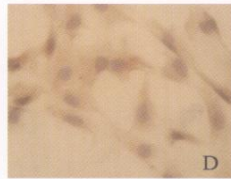
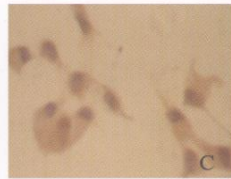
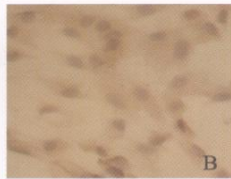
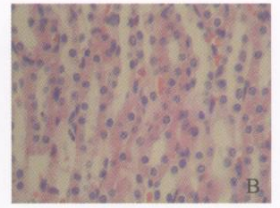


图1 免疫组化染色法检测白屈菜红和依那普利拉对 I 型胶原纤维表达的影响($\times 400$)

Fig.1 Effects of Chele and Ena on collagen I protein expression detected with immunohistochemical staining ($\times 400$)
A: Control; B: Ang II; C: Chele+Ang II; D: Ang II +Chele+Ena; E: Ang II +Ena
(seen on page 593 in paragraph)

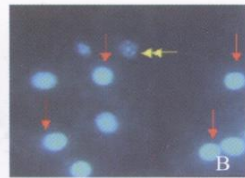
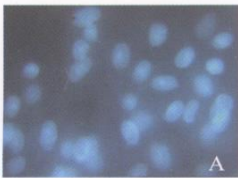


图1 TETC 作用下 C6 胶质瘤细胞核的形态学变化(Hoechst 33258 染色, $\times 200$)
Fig.1 Morphological changes of nucleus of C6 glioma cells treated with TETC (Hoechst 33258 staining, $\times 200$)
A: Control group; B: $2.0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TETC group
(seen on page 597 in paragraph)

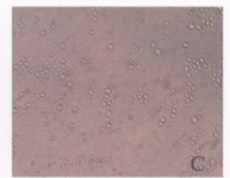


图1 2-SeCD 作用 48 h 后体外培养 H22 细胞的形态学变化
Fig.1 The morphological changes of H22 cells cultured *in vitro* treated with 2-SeCD for 48 h
A: Control; B: 2-SeCD($160 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); C: 2-SeCD($640 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
(seen on page 606 in paragraph)

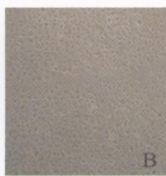
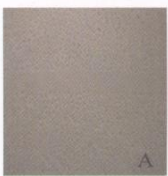


图2 PDGFBB 对 PAE 迁移的促进效应($\times 100$)
Fig.2 Enhancement of PDGFBB on migration of PAE($\times 100$)
A: $0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PDGFBB; B: $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PDGFBB; C: $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PDGFBB; D: $15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ PDGFBB
(seen on page 610 in paragraph)

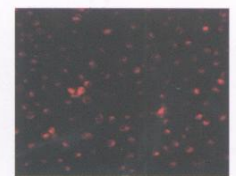
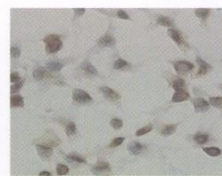


图1 HUVECs VIII 因子相关抗原免疫组化检测结果($\times 400$)
Fig.1 Immunohistochemical assay of HUVECs stained with factor VIII ($\times 400$)
(seen on page 614 in paragraph)

图2 DiI-Ac-LDL 荧光标记的 HUVECs ($\times 300$)
Fig.2 HUVECs incubated with DiI-Ac-LDL ($\times 300$)
(seen on page 614 in paragraph)