

## 综述

## 细胞模型在临床营养研究中应用现状

牛江平,霍军生,孙静,黄建,殷继永

(中国疾病预防控制中心营养与健康所,北京 100050)

**摘要:**传统临床营养研究多停留在人群和动物试验阶段,随着临床营养研究的深入发展,细胞模型试验也逐渐成为临床营养研究中的重要方式。本文主要综述了临床营养中的细胞模型试验常用的细胞系,详细阐述了细胞模型在临床营养中的应用现状,涉及动脉粥样硬化性心脑血管疾病、肌肉衰减综合征、肾脏疾病、肿瘤、胃肠疾病、肝损伤、过敏性炎症、烧伤等领域,就我国居民死因排名靠前的4种疾病做了重点阐述,分别指出各种疾病临床营养研究中常用细胞模型、细胞模型试验的应用优势及其科学意义,以及细胞模型发展应用趋势(三维细胞、细胞组、微流控、高通量高内涵),总结了临床营养中传统细胞模型试验的局限性,并对细胞模型试验中新技术新方法的应用前景进行展望。

**关键词:**细胞模型;临床营养;动脉粥样硬化;肌肉衰减综合征;肾脏疾病;肿瘤

**中图分类号:**R155 **文献标识码:**R **文章编号:**1004-8456(2020)04-0465-06

**DOI:**10.13590/j.cjfh.2020.04.022

### Application status of cell models in clinical nutrition research

NIU Jiangping, HUO Junsheng, SUN Jing, HUANG Jian, YIN Jiyong

(National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Traditional clinical nutrition research mostly stay at the stage of human and animal experiments. Cell model experiment has gradually become an important way in clinical nutrition research nowadays. Firstly, this review mainly summarizes the cells commonly used in nutrition research and gives a general introduction of diseases in clinical nutrition using cell models such as atherosclerotic cardio-cerebrovascular disease, sarcopenia, kidney diseases, tumor, gastrointestinal diseases, liver damage, allergic inflammation, burns and so on. Then it focuses mainly on the diseases which are the leading death causes of the Chinese residents, reviewing the use of cell models the advantages as well as their scientific significance and the development and application trend of cell model (3D cell, cytome, microfluidic, high throughput and high content). Finally, the limitations of cell model experiments in clinical nutrition are summarized, and new technologies used in cell model experiments of clinical nutrition are prospected.

**Key words:** Cell model; clinical nutrition; atherosclerosis; sarcopenia; kidney diseases; tumor

细胞模型试验是继体内试验之后的另一个重要研究方法。在临床营养研究中,体内试验能够了解某营养物质对复杂机体整体的影响,论证强度优于体外细胞模型试验,但存在试验周期长、成本高、伦理学矛盾等局限性。而体外细胞模型试验可模拟体内环境,保持人体生物学特性,具有个体差异小、影响因素少、试验条件可控性强等优势。而且能够在体外控制条件下实现对信号通路等的深入

检测,从而获得或补充了营养素影响疾病的分子机制等科学资料,很好地弥补了体内试验的缺陷,是体内试验的有益补充。

#### 1 目前临床营养中常用的细胞系

本文从临床营养研究方法的角度归纳细胞模型,在中国知网、万方、PubMed等数据库分三阶段进行检索:第一阶段用归纳性关键词“细胞模型”“细胞培养”“细胞”“临床营养”“营养”“cell model”“nutrition”等关键词进行检索,为探寻高通量高内涵检测、微流控芯片等新方法新技术在该领域的应用状况,关键词中亦有“微流控”“高通量”“高内涵”“microfluidics”“high throughput”“high content”;第二阶段从营养物质的角度出发,将“营

收稿日期:2020-06-05

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1602103)

作者简介:牛江平 女 硕士生 研究方向为营养与食品卫生学

E-mail:niujiangping01@126.com

通信作者:殷继永 男 副研究员 研究方向为营养与食品卫生学

E-mail:yinjiy@nih.chinacdc.cn

养”细化至七类营养素及各自子集营养物质名称或其他可能表述形式与“细胞”“细胞模型”“细胞培养”组合检索;为全面梳理临床营养研究中细胞模型主要应用的病种,第三阶段从疾病的角度出发,将临床营养常见疾病(胃肠疾病、肝胆胰疾病、心血管疾病、肾脏疾病、内分泌疾病、外科疾病、烧伤、肿瘤、器官衰竭、营养缺乏病)的常见可能表述与上述营养关键词、“细胞”逐一组合,检索是否有细胞模型应用。筛选的主要是近5年(偶有近10年)发表的相关文献。

结果发现,目前临床营养中常用细胞系来源覆盖消化、免疫、运动、泌尿、呼吸、循环等多个系统。消化系统细胞系主要有人肝癌细胞 HepG2、Huh7、SMMC-7721,人胃腺癌细胞 SGC-7901,人结直肠腺癌细胞 HT-29、Caco-2、SW480、COLO 205,人结肠癌细胞 RKO 及人肝细胞 HL-7702[L-02]等。其中,人肝癌细胞 HepG2 源于人的肝脏胚胎瘤细胞,其表型与肝细胞极为相似,是国内外公认的研究肝脏组织胰岛素抵抗的细胞模型,在临床营养领域多用于许多功能性成分逆转胰岛素抵抗的作用研究;在植物性功能成分的抗肿瘤研究<sup>[1]</sup>和毒性物质的基因毒性研究<sup>[2]</sup>中也有广泛的应用。人胃腺癌细胞 SGC-7901 源自胃腺癌的淋巴结转移灶,目前在临床营养的研究主要集中于功能性营养素的抗癌作用以及基因调控胃癌发生机制领域<sup>[3]</sup>。免疫系统细胞系主要包括:大鼠嗜碱性粒细胞性白血病细胞 RBL-2H3、小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 RAW264.7、人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 等,其中大鼠嗜碱性粒细胞性白血病细胞 RBL-2H3 源自大鼠保持肿瘤状态的嗜碱性细胞,因其较灵敏的过敏性免疫应答反应而主要应用于食物致敏性鉴定、评价及免疫治疗领域<sup>[4]</sup>;小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 RAW264.7 和人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 在营养物质抗炎、免疫激活和调节等临床营养细胞试验中有广泛应用<sup>[5]</sup>,人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 在植物化学物防治白血病的探索中也有相关应用证据<sup>[6]</sup>。运动系统细胞系主要包括骨骼肌卫星细胞、小鼠成肌细胞 C2C12 等,小鼠成肌细胞 C2C12 是在成年鼠骨骼肌组织中发现的在创伤后重建肌肉组织的前体细胞,多用于各种营养素对肌肉发育和分化作用的体外研究。还有泌尿系统的人肾皮质近曲小管上皮细胞 HK-2,呼吸系统的人非小细胞肺癌细胞 A549 及循环系统的血管平滑肌细胞 T/G HA-VSMC 等细胞系,其中人非小细胞肺癌细胞 A549 是通过肺癌组织移植培养建系,是目前最常用的人类肺癌细胞株,在大分子营养素<sup>[7]</sup>和植物

化学物<sup>[8]</sup>抗肺癌方面都有相关试验证据。

## 2 细胞模型在临床营养中的具体应用

细胞模型在临床营养中的应用涵盖胃肠疾病、癌症、心脑血管疾病、肌肉衰减综合征、白血病、糖尿病、肝损伤、急性早幼粒细胞白血病、过敏性炎症、肾脏疾病、烧伤等领域,未见其在营养缺乏病中的应用。结合《中国卫生健康统计年鉴》<sup>[9]</sup>发布的中国城乡居民主要死因数据及我国人口老龄化现状,本文重点介绍细胞模型在心脑血管疾病、肌肉衰减综合征、肾脏疾病和肿瘤4种慢性非传染性疾病临床营养中的研究现状,并对不同细胞培养方式和新技术的应用进行简单总结和讨论。

### 2.1 动脉粥样硬化性心脑血管疾病

动脉粥样硬化是大动脉疾病,是心脑血管疾病的病理基础,若斑块破裂形成血栓极易发生心脏病和卒中等急性临床事件。为探究该病发生发展及其发生机制,研究者们开展了大量体内试验和体外细胞试验。巨噬细胞泡沫化是动脉粥样硬化早期病变的标志之一,目前构建泡沫细胞模型最有效的方法是使用氧化性低密度脂蛋白(oxidized lowdensity lipoprotein, ox-LDL)孵育单核巨噬细胞,小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 RAW264.7 和人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 是最为常用的细胞系<sup>[10]</sup>。前者多用于研究泡沫细胞形成过程中的炎症信号通路以及相关作用机制,如徐强等<sup>[11]</sup>将其经 ox-LDL 胆固醇诱导后形成泡沫细胞,通过铁代谢与动脉粥样硬化的关系探究斑块中巨噬细胞铁代谢紊乱的分子机制。后者常用于研究细胞凋亡、自噬及脂质代谢异常等,相对于前者,后者对 ox-LDL 引起的细胞凋亡更为敏感性,用来探索巨噬细胞凋亡机制更为科学和可靠<sup>[10]</sup>,如 KIM 等<sup>[12]</sup>以人急性单核细胞白血病细胞 THP-1、人皮肤成纤维细胞(human dermal fibroblasts, HDFs)入手,证实 Fe<sup>2+</sup>与果糖共存可以促进促氧化剂的产生,诱导 HDF 衰老;Cu<sup>2+</sup>和 Fe<sup>2+</sup>的共存导致了最快的氧化诱导,促进动脉粥样硬化的产生,该结论与 HOLVOET 等<sup>[13]</sup>之前的动物试验与细胞模型试验结果一致。

除巨噬细胞和泡沫细胞外,血管内皮细胞也是动脉粥样硬化机制研究中较为常用的细胞模型,其表面存在细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1, 内皮细胞炎症反应的指标)特异性受体,当炎症发生时,ICAM-1 是较为灵敏的氧化应激标志物。如 PRASAD 等<sup>[14]</sup>以人急性早幼粒细胞白血病细胞 HL-60、人急性单核细胞白血病细胞 THP-1 和人主动脉内皮细胞(HAEC)为

细胞模型验证了充足的锌可以减少血管内皮炎症因子和氧化应激标志物的产生。HARVEY 等<sup>[15]</sup>利用 HAEC 模型,发现橄榄油在预防动脉粥样硬化方面具有良好临床应用价值,该细胞试验与之前的体内试验结果一致,即橄榄油补充的口服饮食可降低健康中年男性中人类外周血单核细胞 ICAM-1 的表达<sup>[16]</sup>。细胞试验与体内试验同时验证,提示该研究结果的可靠性,但仍需更多体外试验,提供细胞分子水平的证据支持。

巨噬细胞泡沫化形成的泡沫细胞、血管内皮细胞以及炎症因子是纤维斑块的主要成分,以上研究及相关文献资料表明,巨噬细胞、血管平滑肌细胞和血管内皮细胞是临床营养中研究心脑血管疾病的重要细胞系,而且技术较为成熟。它们的应用使血管动脉粥样硬化的机制更加明确,是体内试验的良好补充,为未来临床营养中进一步研究动脉粥样硬化性心脑血管疾病的防治提供了试验基础。

## 2.2 肌肉衰减综合征

肌肉衰减综合征是一种随着年龄增加常被忽视的以骨骼肌质量、力量及功能下降为特征的综合性退行性病症<sup>[17]</sup>。肌肉衰减综合征严重影响老年人的生活质量,在人口老龄化日益加剧的今天,该病症成为卫生工作者重点关注和预防的病症之一。

在临床营养中研究肌肉衰减综合征的可用细胞系主要为肌卫星细胞和骨骼肌成肌细胞。肌卫星细胞是骨骼肌成肌细胞的前体。但自 2010 年以来的文献提示,临床营养中肌卫星细胞的应用较少,仅有咖啡中抗氧化成分<sup>[18]</sup>和亮氨酸<sup>[19]</sup>对肌肉衰减综合征预防作用的相关研究。除此之外,未见其他相关报道,原因可能是肌卫星细胞数量较少,且嵌在肌纤维之间,分析与纯化较复杂,普通方法分离会含有大量的杂质细胞,应用不便。而骨骼肌成肌细胞来源和取材相对容易,体外培养技术较为成熟,在临床营养体外试验中应用较为广泛。例如,为验证维生素 D<sub>3</sub> 对肌肉衰减综合征的预防作用,展开大量骨骼肌成肌细胞体外试验,证实维生素 D<sub>3</sub> 可明显增加肌纤维的平均直径和大小<sup>[20]</sup>,并就其对骨骼肌成肌细胞增殖、发育和分化成肌管的影响及作用机制进行探索。

动物和人群试验支持支链氨基酸尤其是亮氨酸对肌肉衰减综合征的有效防治作用,但体外细胞培养的应用使其作用机制更加明确,如 HAEGENS 等<sup>[21]</sup>利用小鼠成肌细胞 C2C12 进行试验,发现增加亮氨酸浓度能够促进肌原蛋白合成;同样是应用小鼠成肌细胞 C2C12,EBERT 等<sup>[22]</sup>从亮氨酸缺乏入手,发现亮氨酸的缺失明显抑制小鼠成肌细胞

C2C12 分化过程。

在未来关于肌肉衰减综合征更深入的临床营养研究中,推测骨骼肌成肌细胞将因其独特优势而具有更加广阔的应用前景。

## 2.3 肾脏疾病

肾脏疾病严重危害人类健康,主要包括不同类型的肾炎、急性肾衰竭、肾结石、肾囊肿等。就本文查阅到的资料看,细胞模型在肾脏疾病中的应用最早可追溯到 20 世纪 80 年代,大量研究利用肾小管上皮细胞,探讨寄生虫和细菌的感染以及植物和细菌毒素、致癌物、蛋白质、糖蛋白等对细胞的影响。近年来,各种营养素与肾脏疾病的关系研究逐步增多,细胞系仍以肾小管上皮细胞为主,如 GERSCH 等<sup>[23]</sup>为验证高果糖会加速慢性肾病(chronic kidney disease,CKD)的进展这一假说,分别利用动物模型和肾小管上皮细胞系来源的人肾皮质近曲小管上皮细胞 HK-2 进行试验,结果首次验证了这一假说,虽然具体机制尚不清楚,但动物试验和细胞试验对果糖危害性的双重验证使结果的可信度大大增加,在公共卫生领域慢性肾病的防治方面具有很好的指导作用。

人主动脉血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)也是肾脏疾病中常用的细胞系,如 ALAM 等<sup>[24]</sup>为验证 Ca<sup>2+</sup>对晚期 CKD 的有益作用,将 VSMC 在不同浓度 Ca<sup>2+</sup>的矿化培养基中培养,发现钙剂可能抑制 CKD 患者血管钙化的发展。同样是以 VSMC 为模型,傅碧玲等<sup>[25]</sup>的研究得出高钙导致终末期肾脏病(end stage renal disease,ESRD)患者发生血管钙化的相反结论。提示钙剂补充具有两面性,对不同身体状况人群选择适宜的补钙浓度至关重要,这也为未来临床营养中钙剂补充更加量化的研究提供了一个思路。

## 2.4 肿瘤

肿瘤是指机体在各种致癌因子作用下,局部组织细胞增生所形成的新生物。如何抑制肿瘤细胞的增殖是医学界需要攻克的难题。目前关于肿瘤的临床营养研究中,细胞模型试验在植物化学物和能量方面的应用较为集中,且多为单细胞系培养,常使用的细胞系有人结直肠腺癌细胞 Caco-2 和 HT-29、人乳腺癌细胞 MCF-7、人肝癌细胞 SMMC-7721、人非小细胞肺癌细胞 A549 等。人结直肠腺癌细胞 Caco-2 分离自直肠原位癌,在一定细胞培养条件下可特征性地分化为肠上皮细胞,是研究药物吸收、转运和代谢的最经典的体外模型之一,被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用作药物筛选模型,在临床营养中,人结直肠腺癌细胞 Caco-2 也

常用于食物功能性成分的抗癌作用研究<sup>[26]</sup>。体内试验和临床研究表明,橄榄油对预防结直肠癌有积极作用,但需要体外试验探索其内在机制,STORNILO 等<sup>[27]</sup>通过人结直肠腺癌细胞 Caco-2 试验对其抑癌信号通路做出提示,为体内试验提供有力支持和补充。MATUSIEWICZ 等<sup>[28]</sup>以人结直肠腺癌细胞 Caco-2 为模型,首次证实了沙棘水浸液和 50%乙醇提取液对人结直肠腺癌细胞 Caco-2 活力的影响,通过细胞试验和体内试验进一步验证其抗癌活性机制,将有助于考虑将其作为肿瘤联合治疗的一部分。

为了使试验结果可信度更高,有些研究者也会采用多个单细胞系的平行培养试验,如姚轶俊等<sup>[29]</sup>利用人肝癌细胞 HepG2、人结直肠腺癌细胞 Caco-2 和人乳腺癌细胞 MBA-MD-231 三个细胞系证实了菜籽蛋白水解物的体外抗增殖活性,但仍需更多体外试验进行验证。

肿瘤的能量代谢研究关乎肿瘤的发生发展乃至预防治疗,对人类攻克肿瘤难题至关重要。而在能量与肿瘤关系的研究中使用的细胞模型不再局限于单个细胞系。继“瓦伯格效应”理论后,“间质调控”假说<sup>[30]</sup>逐步引起科学家重视,即除肿瘤细胞本身以外,肿瘤细胞赖以生存的微环境在其能量代谢中举足轻重。基于这一假说,传统二维细胞及单细胞培养已经无法满足该假说的试验条件,三维细胞及多细胞共存培养逐步被研究者重视和应用。如 LI 等<sup>[31]</sup>采用人结直肠腺癌细胞 HT-29 构建三维细胞模型进行试验,探究反式白藜芦醇抑制人结直肠腺癌细胞 HT-29 的增殖活性及内在机制,为反式白藜芦醇预防治疗结肠癌提供细胞分子学依据。MARTINEZ-OUTSCHOORN 等<sup>[32]</sup>将人皮肤成纤维细胞和人乳腺癌细胞 MCF7 共存培养发现,成纤维细胞的糖摄取率及活性氧产生水平较单细胞培养均有所升高,人乳腺癌细胞 MCF7 通过某种途径从成纤维细胞中提取可循环的营养物质和能量,该细胞共存培养试验结果与“间质调控”假说吻合,虽然文献中未说明所用人皮肤成纤维细胞具体细胞系类型,但该试验为体外细胞共存培养在肿瘤能量代谢领域的应用开辟了一条道路。

新技术的应用实现了三维细胞培养和多细胞共存培养技术的融合,如徐晓东等<sup>[33]</sup>在微流控芯片上构建近似肿瘤生长的三维微环境模型,将人膀胱肿瘤细胞和人皮肤成纤维细胞非接触共存培养,并将二者各自单独培养作为对照。该模型不但考虑了微环境的作用,而且排除了成纤维细胞和肿瘤细胞之间共同培养的障碍,模拟两种细胞产生的各种

物质相互作用的同时,方便高效地观察两种细胞活性、增殖能力甚至小分子物质及线粒体相关蛋白的变化。黄恒顺等<sup>[34]</sup>在其基础上加以改进,通过微流控芯片技术构建了一个具有公共循环的培养通道(模拟公共血液循环),共同培养 4 种细胞(人结直肠腺癌细胞 Caco-2,人脐静脉内皮细胞 HUVEC,人肝癌细胞 HepG2,人乳腺癌细胞 MCF-7)的多器官仿生芯片,在芯片上研究 5-氟尿嘧啶的药代动力学(PK)和药效动力学(PD)过程,所得结果与理论模型计算结果相吻合。

虽然仍有许多问题需后续试验继续研究,但以上研究探索性地应用了微流控技术,不但实现了细胞共存培养,而且采用了三维细胞培养技术,使试验条件更加接近人体内环境,为肿瘤能量研究方法开辟了道路。

### 3 发展应用趋势

#### 3.1 三维细胞培养

传统的细胞培养(二维细胞培养),细胞在培养过程中只能沿平面延伸,与体内微环境差异大,影响细胞的基因表达、信号转导等,而三维细胞培养更贴近体内生理状态,在真实模拟体内微环境方面更有优势,是二维细胞模型和动物试验的桥梁。三维细胞模型支架常用胶原蛋白、丝素蛋白等人造支架或动物脱细胞支架,为使基质成分与超微结构与人体更为接近,人体组织或器官脱细胞基质越来越受到重视和研究<sup>[35]</sup>,为三维细胞模型试验提供了开创性思路。

#### 3.2 微流控

微流控芯片是近年发展起来的极微流体操控平台,可将样品处理、分析等多个步骤集合在一起,相对于平板培养,具有分析剂量小、成本低、速度快、易于集成开发等优势,已经应用于基因检测、蛋白质分析、临床体外诊断、环境监测等多个领域<sup>[36]</sup>。芯片内通道具有与体内微血管相似的尺寸,有利于快速传热、传质和细胞培养环境中物质浓度的精确控制,其细胞培养条件的可控性远超培养皿,更能接近人体内各类复杂的微环境,在微流控芯片上构建单细胞、多细胞群落、三维细胞乃至“器官”<sup>[34]</sup>培养模型,为探索和筛选新药<sup>[37]</sup>提供了新的方法和技术平台。

#### 3.3 细胞组学

细胞组学是近年发展起来的基于单细胞分析的科学,属于系统生物学研究范畴,是细胞基因组、蛋白质组、代谢组及细胞行为网络的总体概括。细胞组学以流式细胞术、酶标仪、激光共聚焦显微镜

等技术为基础<sup>[38]</sup>,对单细胞的不同成分多种分子进行定性定量测定,相对于之前有限的关注点,细胞组学涵盖了细胞中的一切事件,不但着重研究细胞的形态、亚细胞结构及细胞器的功能,还强调细胞的整体行为及内环境和外环境对细胞行为的影响,使研究结果更加全面和可靠。目前尚未见其在临床营养中的应用,但其在单细胞生物微球藻的研究及心肌细胞凋亡研究<sup>[39]</sup>中的应用提供了很好的参考作用。

### 3.4 高通量高内涵

高通量筛选(high throughput screening, HTS)借助快速检验样品的全自动工作站、灵敏快速的检测仪器、强大的计算机控制系统,利用分子水平或细胞水平的试验方法,可以同一时间对数以千万的产品进行检测,具有快速、高效、微量的特点,在创新药物的研究和开发<sup>[40]</sup>中发挥了重要作用。

高内涵筛选(high content screening, HCS)结合了细胞成像和高通量技术,可以在保持细胞结构和功能完整的条件下,同时检测细胞生长、分化、凋亡、代谢途径等多个环节,涉及膜受体、多个细胞器和离子通道等多靶点,具有基于活细胞、实时、多参数、高通量的特点,明显提高了检测效率<sup>[41]</sup>,在药物研发中发挥重要作用,在基于细胞模型试验的植物化学物<sup>[42]</sup>及食品功能研究<sup>[43]</sup>领域具有广泛应用。

毫无疑问,各种新技术之间相互融合匹配能更好地达到研究目的,如三维细胞模型与微流控技术的融合<sup>[33]</sup>,使细胞培养更能接近体内真实状态;微流控技术在细胞模型构建中的应用可以实现细胞的高通量高内涵分析<sup>[44]</sup>,同时获得大量的生物学信息,在节约珍贵细胞资源的同时,提高了细胞培养效率。尚未查阅到细胞组学与微流控芯片融合的相关资料,可作为未来探究的方向。

近年来,细胞模型试验不仅在临床营养中得到广泛应用,在分子生物学、遗传学、免疫学等领域,也逐渐发展成一种重要的生物技术并取得显著成就。但传统细胞模型试验本身及培养体系存在许多局限性,如与体内环境差异大、部分细胞模型培养周期长且费用高、关注点单一、检测效率低、细胞间连接过于紧密、缺乏黏液层等,除寻求与体内试验互补之余,新技术新方法的应用将有效提高细胞模型试验效果,对于细胞模型的应用前景具有至关重要的推动作用。

### 参考文献

[1] LIN J, WANG G Q, BAI L, et al. Two new steroidal saponins from *Maianthemum henryi* and their cytotoxic activity against human HepG2 tumor cells[J]. *Natural Product Research*, 2018,

33(24):3351-3358.

- [2] ZANETTI T A, BIAZI B I, COATTI G C, et al. Mitotic spindle defects and DNA damage induced by dimethoxycurcumin lead to an intrinsic apoptosis pathway in HepG2/C3A cells [J]. *Toxicology in Vitro*, 2019, 61:104643.
- [3] HU Y W, LIN J H, LIN Y, et al. Overexpression of SIRT4 inhibits the proliferation of gastric cancer cells through cell cycle arrest [J]. *Oncology Letters*, 2019, 17(2):2171-2176.
- [4] SUN N, ZHOU C, ZHOU X, et al. Use of a rat basophil leukemia (RBL) cell-based immunological assay for allergen identification, clinical diagnosis of allergy, and identification of anti-allergy agents for use in immunotherapy [J]. *Journal of Immunotoxicology*, 2015, 12(2):199-205.
- [5] DENG N H, SUN Y, LIU M L, et al. Alpha-momorcharin regulates cytokine expression and induces apoptosis in monocytes [J]. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2019, 41(2):258-266.
- [6] LI Z R, SUO F Z, GUO Y J, et al. Natural protoberberine alkaloids, identified as potent selective LSD1 inhibitors, induce AML cell differentiation [J]. *Bioorganic Chemistry*, 2020, 97:103648.
- [7] LI H Y, LI P, YANG H G, et al. Investigation and comparison of the anti-tumor activities of lactoferrin,  $\alpha$ -lactalbumin, and  $\beta$ -lactoglobulin in A549, HT29, HepG2, and MDA231-LM2 tumor models [J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(11):9586-9597.
- [8] LI H F, HUANG L F, CHEN L H. Chitooligosaccharides inhibit A549 lung cancer cell line proliferation by regulating cell autophagy [J]. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 2019, 33(5):1527-1532.
- [9] 国家卫生健康委员会. 中国卫生健康统计年鉴 [M]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2019:283-297.
- [10] 祁芳菲, 楼滨, 杨青. 鼠、人源巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立及比较 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2019, 46(4):445-453.
- [11] 徐强, 周瑜, 乔彤. 动脉粥样硬化细胞模型建立及细胞内铁代谢紊乱初步研究 [J]. *介入放射学杂志*, 2017, 26(12):1110-1113.
- [12] KIM S H, YADAV D, KIM S J, et al. High consumption of iron exacerbates hyperlipidemia, atherosclerosis, and female sterility in zebrafish via acceleration of glycation and degradation of serum lipoproteins [J]. *Nutrients*, 2017, 9(7):690.
- [13] HOLVOET P, COLLEN D. Oxidized lipoproteins in atherosclerosis and thrombosis [J]. *FASEB J*, 1994, 8(15):1279-1284.
- [14] PRASAD A S. Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent; its role in human health [J]. *Front Nutr*, 2014, 1:14.
- [15] HARVEY K A, XU Z D, PAVLINA T M, et al. Modulation of endothelial cell integrity and inflammatory activation by commercial lipid emulsions [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2015, 14(9):1-16.
- [16] YAQOUB P. Fatty acids and the immune system: from basic science to clinical applications [J]. *Proc Nutr Soc*, 2004, 63(1):89-104.
- [17] CRUZ-JENTOFT A J, BAEYENS J P, BAUER J M, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis;

- report of the European working group on sarcopenia in older people[J]. *Age and Ageing*, 2010, 39(4): 412-423.
- [18] GUO Y, NIU K, OKAZAKI T, et al. Coffee treatment prevents the progression of sarcopenia in aged mice in vivo and in vitro [J]. *Exp Gerontol*, 2014, 50: 1-8.
- [19] 余慕雪, 戴杰民, 庄思齐, 等. 亮氨酸对原代新生大鼠骨骼肌卫星细胞肌管形成和 MyHC 表达的作用研究[J]. *中国儿童保健杂志*, 2016, 24(2): 144-148.
- [20] PIKE J W. Closing in on vitamin D action in skeletal muscle: early activity in muscle stem cells[J]. *Endocrinology*, 2016, 157(1): 48-51.
- [21] HAEGENS A, SCHOLS A M, VAN ESSEN A L, et al. Leucine induces myofibrillar protein accretion in cultured skeletal muscle through mTOR dependent and-independent control of myosin heavy chain mRNA levels[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2012, 56(5): 741-752.
- [22] EBERT S M, DYLE M C, BULLARD S A, et al. Identification and small molecule inhibition of an activating transcription factor 4 (ATF4)-dependent pathway to age-related skeletal muscle weakness and atrophy [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(42): 25497-25511.
- [23] GERSCH M S, MU W, CIRILLO P, et al. Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease [J]. *American Journal of Physiology*, 2007, 293(4): 1256-1261.
- [24] ALAM M U, KIRTON J P, WILKINSON F L, et al. Calcification is associated with loss of functional calcium-sensing receptor in vascular smooth muscle cells [J]. *Cardiovascular Research*, 2008, 81(2): 260-268.
- [25] 傅碧玲, 邹世海, 彭鑫, 等. 高磷、高钙诱导人血管平滑肌细胞钙化的研究[J]. *贵阳医学院学报*, 2015, 40(6): 603-607.
- [26] MAO C Y, YU Z H, LI C L, et al. The functional properties of preserved eggs: from anti-cancer and anti-inflammatory aspects [J]. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 2018, 38(3): 615-628.
- [27] STORNILO C E, MARTÍNEZ-HOVELMAN N, MARTÍNEZ-HUÉLAMO M, et al. Extra virgin olive oil minor compounds modulate mitogenic action of oleic acid on colon cancer cell line [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(41): 1420-1427.
- [28] MATUSIEWICZ M, BĄCZEK K B, KOSIERADZKA I, et al. Effect of juice and extracts from *Saposhnikovia divaricata* root on the colon cancer cells Caco-2 [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(18): 4526.
- [29] 姚铁俊, 袁强, 鞠兴荣, 等. 菜籽蛋白水解物的分离纯化及抗肿瘤活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(7): 47-53.
- [30] CHEN X Z, QIAN Y R, WU S Y. The Warburg effect: evolving interpretations of an established concept [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 79(8): 253-263.
- [31] LI M Y, FENG G P. Acquired multicellular-and extracellular matrix-mediated resistance in a three-dimensional model of HT-29 cancer cells[J]. *Res J Biotechnol*, 2017, 12(1): 22-30.
- [32] MARTINEZ-OUTSCHOORN U E, LIN Z, TRIMMER C, et al. Cancer cells metabolically “fertilize” the tumor microenvironment with hydrogen peroxide, driving the Warburg effect: implications for PET imaging of human tumors[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(15): 2504-2520.
- [33] 徐晓东, 邵世修, 唐冬雪, 等. 三维细胞培养条件下膀胱肿瘤细胞能量代谢的初步探讨[J]. *泌尿外科杂志(电子版)*, 2015, 7(1): 13-17.
- [34] 黄恒顺, 邓九, 李晓瑞, 等. 微流控肠-肝-乳腺癌芯片的构建及其体外药物 PK-PD 分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(2): 104-112.
- [35] 郑幸龙, 刘雯雁, 刘锋锋, 等. 人脂肪肝脱细胞支架的制备及肝癌细胞的体外三维培养[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(8): 930-936.
- [36] 孙薇, 陆敏, 李立, 等. 微流控芯片技术应用进展[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2019, 42(3): 221-224.
- [37] 李文娟, 徐溢, 范琪, 等. 基于微流控芯片技术的天然产物活性成分筛选的研究[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(16): 2492-2497.
- [38] 武彩霞, 魏薇, 刘进军, 等. 组学技术及其在微藻研究中的应用[J]. *河北北方学院学报(自然科学版)*, 2019, 35(7): 57-64.
- [39] 崔巍, 李玉琳, 王吉静, 等. 细胞组学技术在心肌细胞凋亡研究中的应用[J]. *心肺血管病杂志*, 2013, 32(6): 768-772.
- [40] 刘翠, 杨书程, 李民, 等. 药物筛选新技术及其应用进展[J]. *分析测试学报*, 2015, 34(11): 1324-1330.
- [41] LI S Z, HSU C W, SAKAMURU S, et al. Identification of angiogenesis inhibitors using a co-culture cell model in a high-content and high-throughput screening platform [J]. *SLAS Technology*, 2018, 23(3): 217-225.
- [42] 郑淑荣, 高华, 李丹, 等. 高内涵技术筛选抑制 GH3 细胞的天然黄酮类化合物的研究[J]. *中国药物警戒*, 2018, 15(5): 257-259, 263.
- [43] 杨文华, 史志龙, 柏兆方, 等. 铁棍山药促进巨噬细胞吞噬细菌的高内涵分析方法研究[J]. *中草药*, 2017, 48(8): 1604-1610.
- [44] BEN-YAKAR A. High-content and high-throughput in vivo drug screening platforms using microfluidics [J]. *Assay and Drug Development Technologies*, 2019, 17(1): 8-13.