

赤芝富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用

江涛, 莫春梅, 张露艺, 龙晓静, 曾英, 林燕华

(广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023)

摘要: 探究赤芝富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡、周期分布、侵袭、迁移能力的影响。选取人肝癌 HepG2 细胞, 分为空白组、药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低、中、高浓度组, 检测六组细胞生物学行为及 Bcl-2、Bax、caspase3 表达。结果显示, 高浓度组细胞增殖率低于其他各组, 凋亡率高于其他各组, G1 期细胞比例为 58.66%, 高于其他各组。高浓度组细胞侵袭、迁移数分别为 28.21、29.66, 低于其他各组 ($p < 0.05$)。高浓度组细胞 Bcl-2、caspase3 表达分别为 0.98、1.01, 均低于其他各组; Bax 表达为 1.03, 高于其他各组 ($p < 0.05$)。使用赤芝富硒蛋白进行干预, 能够影响肝癌细胞增殖、凋亡, 阻滞细胞周期, 抑制侵袭、迁移能力, 调控 Bcl-2、Bax、caspase3 表达, 说明赤芝富硒蛋白能够调控肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移能力, 抑制肝癌 HepG2 细胞的发展和扩散, 为肝癌的临床治疗提供一定的理论依据。

关键词: 赤芝富硒蛋白; 肝癌; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞周期

文章编号: 1673-9078(2020)05-30-34

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.005

Inhibitory Effect of Selenium Rich Protein of *Ganoderma lucidum* on HepG2 Cells

JIANG Tao, MO Chun-mei, ZHANG Lu-yi, LONG Xiao-jing, ZENG Ying, LIN Yan-hua

(The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

Abstract: To explore the effect of *Ganoderma* selenium rich protein on HepG2 cell proliferation, apoptosis, cycle distribution, invasion and migration, human hepatocellular carcinoma HepG2 cells were selected and divided into blank group, drug control group, selenium-free chiroderma lucidum protein group, low, medium and high concentration groups. Biological behaviors of cells and expressions of bcl-2, Bax and caspase3 in the six groups were detected. The results showed that the cell proliferation rate of high concentration group was lower than that of other groups, and the apoptosis rate was higher than that of other groups. The number of cell invasion and migration in high concentration group was 28.21 and 29.66, respectively, lower than that in other groups ($p < 0.05$). The expression of Bcl-2 and Caspase-3 in the high concentration group was 0.98 and 1.01, respectively, lower than that in other groups; the expression of Bax was 1.03, higher than that in other groups ($p < 0.05$). The intervention with *Ganoderma* selenium rich protein can affect the proliferation and apoptosis of hepatoma cells, block cell cycle, inhibit invasion and migration, regulate the expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3, which shows that *Ganoderma* selenium rich protein can regulate the proliferation, apoptosis, invasion and migration of hepatoma HepG2 cells, inhibit the development and diffusion of hepatoma HepG2 cells, and provide certain rationale for the clinical treatment of hepatoma.

Key words: selenium rich protein of *Ganoderma lucidum*; liver cancer; cell proliferation; apoptosis; cell cycle

引文格式:

江涛,莫春梅,张露艺,等.赤芝富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用[J].现代食品科技,2020,36(5):30-34

JIANG Tao, MO Chun-mei, ZHANG Lu-yi, et al. Inhibitory effect of selenium rich protein of *Ganoderma lucidum* on HepG2 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 30-34

肝癌是一种临床较为常见的消化系统恶性肿瘤,多发生于机体肝脏上皮组织,具有发病隐匿、病情进展快、恶性程度高等特点,主要临床表现为四肢乏力、腹胀、肝区疼痛^[1-3]。近年来我国肝癌症状发病率连年

收稿日期: 2019-12-13

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (81760850)

作者简介: 江涛 (1975-), 男, 副主任医师, 研究方向: 临床营养

上升,且具有一定性别、地域差异性,男性、东南沿海地区发病率相对较高。肝癌的发生发展是一种十分复杂的病理过程,肝癌症状的发生可能与饮食、环境以及化学致癌物质有关。肝癌患者病死率较高,因此寻找一种安全有效的治疗手段具有重要意义^[4-6]。

赤芝是一种多孔菌科植物,在我国传统中医中有悠久的入药历史,具有增益心气、调节免疫、抗病

毒、抗衰老、清除自由基、抗肿瘤等药理作用。徐雪峰^[7]等在研究中表示,赤芝多糖具有较强的抗氧化活性。有学者在研究中表示,硒元素是一种机体必不可少的微量元素,具有一定的抗氧化活性,与癌细胞的发生发展密切相关^[8]。赤芝能够将无机硒转化为有机硒,存在于蛋白质中,从而具有较强的抗氧化能力。但是目前关于赤芝富硒蛋白抗肿瘤活性的研究还相对较少。

癌组织的发生发展与细胞周期分布以及增殖、凋亡等生物学行为密切相关,而癌细胞增殖、凋亡能力的变化可能与细胞凋亡通路蛋白表达的变化密切相关。Bcl-2、Bax、caspase3 是广谱的线粒体凋亡通路蛋白^[9]。本研究中使用赤芝富硒蛋白对肝癌细胞进行干预,观察肝癌细胞生物学行为变化,探讨赤芝富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用。

1 材料与方法

1.1 材料

肝癌 HepG2 细胞(中国医学科学院)。

富硒赤芝子实体、无硒赤芝子实体(安徽省金寨县邵氏生物科技有限公司);小鼠抗大鼠 Bcl-2、Bax 抗体(Gibco 公司);大鼠抗小鼠 caspase3 抗体(BD 公司);Transwell 小室、MTT 试剂盒(上海国药集团化学试剂有限公司)。本实验获我院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 赤芝蛋白制备

取冻干的富硒赤芝子实体样粉末 150 g,加入 1500 mL 蒸馏水,搅拌均匀,提取 8 h 之后进行抽滤,使用蒸馏水对残渣进行洗涤 3 次,抽滤至干,对滤液进行酸化,pH 值至 4.3 之后加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,使饱和度达到 80%,将其放在 4 °C 的环境中 12 h,2000 r/min 离心处理 20 min 后分离上清液,沉淀后使用缓冲液溶解,之后进行超滤过滤,对提取的蛋白质溶液进行干燥、冷冻处理。制备的赤芝富硒蛋白有机硒含量为 (516.33 ± 42.59) μg/g,无机硒含量为 (91.58 ± 12.35) μg/g,蛋白纯度为 90%。无硒赤芝蛋白制备方法与赤芝富硒蛋白制备方法一致。

1.2.2 细胞培养及分组

在 40 °C 的环境中对冻存的肝癌细胞进行火浴处理(40 °C),之后进行充分摇晃,将摇晃均匀的肝癌细胞置于 2 mL 的培养基(10%PBS、1%双抗(青链霉素)RPMI-1640 培养基 500 mL)之内,之后使用 2000 r/min 的离心机进行离心处理,进行重悬处理后

将细胞传代,使用 CO₂ 培养箱对培养基培养 24 h、换液,细胞融合率达 90%后传代。将本研究细胞分为空白组、药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低、中、高浓度组,种板后 1 d 更换培养液时在细胞中加入赤芝富硒蛋白进行预处理,1 d 后变换培养液,加入赤芝富硒蛋白,1 次/d,2 d 后提取细胞蛋白。参照陈利明^[10]等研究中富硒灵芝的用量,并作出适当改动,空白组使用生理盐水干预,药物对照组使用 2 mg/L 顺铂进行干预,无硒赤芝蛋白组加入 0.05 g/mL 无硒赤芝蛋白,低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞分别加入 0.02 g/mL、0.05 g/mL、0.08 g/mL 赤芝富硒蛋白。

1.2.3 细胞生物学行为检测

对各组细胞增殖、凋亡、周期分布、侵袭、迁移能力等细胞生物学行为进行检测。MTT 法检测细胞增殖能力:使用各组细胞制作细胞悬液,于 96 孔培养板每孔内添加 90 μL,每组设置 5 复孔,分别加入生理盐水、顺铂溶液、无硒赤芝蛋白及不同浓度赤芝富硒蛋白进行培养,并分别于 24、48、72 h 三时间点进行观察,每至相应时间点,每孔添加 20 μL MTT 继续孵育,4 h 后吸取上清液,将 150 μL DMSO 加入孔中轻微摇晃 10 s,使用酶标仪测定波长为 570 nm 的细胞组 OD 值,计算细胞增殖率。流式细胞仪检测细胞凋亡、周期分布:将各组细胞传代至 5 孔板,并将其置于 5% CO₂、37 °C 环境中培养,之后添加 0.25%胰蛋白酶进行消化,离心处理 10 min,使用 PBS 缓冲液进行清洗,再次离心处理,之后添加 1 mL PI 染液,置于常温、避光环境 60 min,进行特异荧光标记后按照流式细胞仪操作方法检测细胞凋亡及周期分布。Transwell 小室实验检测细胞侵袭:每组细胞选 3 复孔,对细胞进行消化处理后使用 PBS 缓冲液进行冲洗,使用 10 g/L BSA 进行重悬,之后将细胞密度调至 10⁵ 个/mL,于 Transwell 小室中添加 150 μL 细胞悬液进行培养,1 d 后添加乙醇进行固定,染色后使用显微镜观察细胞侵袭情况。细胞划痕实验检测细胞迁移情况:将各组细胞接种于 18 孔板,其增长至 90%后使用 100 μL 枪头做 3 条垂直线,使用 PBS 缓冲液对细胞进行冲洗,添加 0.5%血清培养基后观察 1 d,使用显微镜观察细胞迁移情况。

1.2.4 Bcl-2、Bax、caspase3 表达

使用 Western blot 法检测空白组、药物对照组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞 Bcl-2、Bax、caspase3 表达。使用 PBS 缓冲液对标本冲洗之后裂解 30 min,测定蛋白浓度。取 20 μg/孔蛋白质,添加蛋白缓冲液后进行电泳,10 min 后将电转膜置于 10%的牛奶中浸泡,常温环境下封闭 90 min。之后结合一抗、

稀释, 孵育 1 d, 取出后使用 TBST 液冲洗, 结合二抗, 60 min 后清洗、显色, 对细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase3 表达进行检测。

1.3 统计学处理

使用 SPSS21.0 软件分析, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 描述, 多组对比行 F 值检验, 组间对比行独立样本 t 检验, $p < 0.05$ 说明差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 各组细胞增殖、凋亡率比较

大量实验研究表明, 癌组织的发生发展与癌细胞的增殖、凋亡能力变化情况有关。刘流^[11]等在研究中

表示, 对肝癌细胞进行有效干预能够改变肝癌细胞增殖、凋亡能力。有学者在研究中表示, 对人肝癌细胞进行适当的干预, 能够调控癌细胞增殖、凋亡能力, 从而影响肝癌的发生发展^[12]。本文研究结果如表 1 所示, 高浓度组细胞增殖率由 43.26% 下降至 19.33%, 低于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低浓度组、中浓度组; 凋亡率由 51.25% 上升至 75.66%, 高于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低、中浓度组 ($p < 0.05$)。说明相比无硒赤芝蛋白, 使用赤芝富硒蛋白进行干预, 能有效抑制肝癌细胞的扩散和发展, 出现这一研究结果的原因可能是因为赤芝富硒蛋白中富含的硒元素能够阻断癌细胞的营养供给, 从而起到抑制癌细胞不断增殖、发展, 促进癌细胞凋亡的作用。

表 1 赤芝富硒蛋白对肝癌细胞增殖、凋亡能力的影响

Table 1 Effect of selenium enriched protein of *Ganoderma lucidum* on proliferation and apoptosis of hepatoma cells $[(\bar{x} \pm s), \%$]

组别	增殖率/%			凋亡率/%		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
空白组	71.66±8.59	68.22±8.31	67.58±8.29	2.36±0.53	2.41±0.51	2.39±0.55
药物对照组	51.21±6.20 ^a	40.33±5.47 ^a	29.33±4.59 ^a	36.97±3.55 ^a	49.32±4.03 ^a	57.22±4.52 ^a
无硒赤芝蛋白组	60.23±6.31 ^{ab}	53.26±6.38 ^{ab}	45.29±6.11 ^{ab}	16.27±2.17 ^{ab}	30.11±3.35 ^{ab}	42.19±3.82 ^{ab}
低浓度组	63.25±7.53 ^{abc}	57.22±7.14 ^{abc}	50.26±6.58 ^{abc}	11.35±1.98 ^{abc}	27.59±3.26 ^{abc}	39.66±3.75 ^{abc}
中浓度组	57.55±6.94 ^{abcd}	47.52±6.11 ^{abcd}	35.22±5.32 ^{abcd}	28.61±3.19 ^{abcd}	37.55±3.62 ^{abcd}	48.66±3.99 ^{abcd}
高浓度组	43.26±5.51 ^{abcde}	30.11±4.42 ^{abcde}	19.33±2.35 ^{abcde}	51.25±4.37 ^{abcde}	62.33±5.76 ^{abcde}	75.66±6.21 ^{abcde}

注: 相比空白组, ^a $p < 0.05$; 相比药物对照组, ^b $p < 0.05$; 相比无硒赤芝蛋白组, ^c $p < 0.05$; 相比低浓度组, ^d $p < 0.05$; 相比中浓度组, ^e $p < 0.05$ 。下表同。

表 2 不同浓度赤芝富硒蛋白对肝癌细胞周期分布的影响

Table 2 Effect of different concentration of selenium rich protein of *Ganoderma lucidum* on cell cycle distribution of hepatocarcinoma

$[(\bar{x} \pm s), \%$]

组别	周期分布		
	G ₁	S	G ₂
空白组	31.25±3.22	33.29±3.28	32.16±3.19
药物对照组	51.23±4.52 ^a	21.36±2.87 ^a	22.36±2.71 ^a
无硒赤芝蛋白组	41.06±3.52 ^{ab}	26.03±2.85 ^{ab}	27.51±2.55 ^{ab}
低浓度组	38.65±3.46 ^{abc}	28.52±3.10 ^{abc}	29.33±3.08 ^{abc}
中浓度组	45.66±3.96 ^{abcd}	24.31±3.15 ^{abcd}	25.33±2.86 ^{abcd}
高浓度组	58.66±4.72 ^{abcde}	18.52±2.63 ^{abcde}	18.11±2.51 ^{abcde}

2.2 赤芝富硒蛋白对肝癌细胞周期分布的影响

有学者在研究中表示, 细胞周期变化能够对细胞凋亡、增殖能力产生一定的影响, 是细胞活动的基础生物学行为^[13]。细胞周期可分为 G₁、S、G₂ 三个时期, 分别为 DNA 合成前期、合成期、合成后期, 有学者在研究中表示, 将癌细胞阻滞在 G₁ 期, 能够提升癌组织的凋亡能力。有学者在研究中表示, 阻滞癌细胞周

期分布对促进癌细胞凋亡具有重要意义。有学者在研究中表示, 对肝癌细胞进行干预, 能够阻滞癌细胞周期分布, 从而起到抑制癌细胞扩散的作用^[14]。本研究对肝癌细胞周期分布情况进行检测, 结果如表 2 所示, 空白组细胞处于 G₁ 期的细胞比例为 31.25%, 显著低于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低浓度组、中浓度组、高浓度组细胞处于 G₁ 期的细胞比例, 差异具有统计学意义 ($p < 0.05$); 高浓度组处于 G₁ 期的细胞比例

为 58.66%，显著高于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低浓度组、中浓度组细胞处于 G₁ 期的细胞比例，差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)。说明使用高浓度赤芝富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞进行干预，能够阻滞肝癌细胞周期分布，从而影响肝癌细胞的不断发展。

2.3 不同浓度赤芝富硒蛋白对肝癌细胞侵袭、迁移能力的影响

表 3 细胞侵袭、迁移数比较

Table 3 Comparison of cell invasion and migration ($\bar{x} \pm s$)

组别	侵袭细胞数	迁移细胞数
空白组	79.66±8.33	81.22±7.95
药物对照组	32.65±3.52 ^a	33.95±3.29 ^a
无硒赤芝蛋白组	57.33±6.74 ^{ab}	60.37±5.77 ^{ab}
低浓度组	62.31±7.50 ^{abc}	65.77±6.03 ^{abc}
中浓度组	45.26±5.31 ^{abcd}	43.22±3.86 ^{abcd}
高浓度组	28.21±3.56 ^{abcde}	29.66±3.06 ^{abcde}

王小明^[15]等在研究中表示，肝癌细胞具有较强的侵袭、迁移能力，与肝癌的发生发展密切相关。有学者在研究中表示，使用川芎嗪干预，能够影响肝癌细胞侵袭、迁移，抑制癌细胞的不断发展和扩散^[16]。本文研究结果如表 3 所示，空白组细胞侵袭、迁移细胞数分别为 79.66、81.22，均高于其他五组 ($p < 0.05$)；高浓度组细胞侵袭细胞数、迁移细胞数分别为 28.21、29.66，低于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低、中浓度组 ($p < 0.05$)。说明相比无硒赤芝蛋白，使用赤芝富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞进行干预，能够有效抑制肝

癌 HepG2 细胞侵袭、迁移能力，并且随着赤芝富硒蛋白浓度的提升，对肝癌 HepG2 细胞侵袭、迁移能力的抑制效果更加明显，出现这一研究结果的原因可能是硒元素具有抑制癌细胞不断发展、扩散的作用。

2.4 各组细胞 Bcl-2、Bax、caspase3 表达对比

肝癌细胞增殖、凋亡能力的变化可能与细胞凋亡通路蛋白表达的变化密切相关。Bcl-2、Bax、caspase3 表达的变化与细胞凋亡能力密切相关。Bcl-2、Bax 是线粒体细胞凋亡通路中的重要基因，二者表达水平的变化与细胞凋亡密切相关^[17]。caspase 家族与细胞凋亡密切相关，caspase3 是 caspase 家族的重要一员^[18]。张猛^[19]等在研究中表示，靶向调控 Bcl-2 表达能够对肝癌细胞的增殖、凋亡能力产生影响，进而影响肝癌细胞的扩散和发展。姜琼^[20]等表示，调控 Bcl-2、Bax 表达能够对肝癌细胞的增殖、凋亡能力产生影响。本文研究结果如表 4 所示，空白组细胞 Bcl-2、Bax、caspase3 相对表达量分别为 1.68、0.41、1.72，使用赤芝富硒蛋白进行干预后，肝癌细胞 Bcl-2、caspase3 相对表达量出现下降，Bax 相对表达量出现上升，高浓度组细胞 Bcl-2、caspase3 相对表达量分别为 0.98、1.01，低于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低、中浓度组，Bax 表达为 1.03，高于药物对照组、无硒赤芝蛋白组、低、中浓度组 ($p < 0.05$)。说明使用赤芝富硒蛋白对 HepG2 细胞进行干预，能够影响细胞线粒体凋亡通路，调控细胞凋亡蛋白 Bcl-2、Bax、caspase3 的表达，从而起到促进肝癌细胞凋亡、抑制肝癌细胞发展的作用。

表 4 细胞 Bcl-2、Bax、caspase3 表达对比

Table 4 Expression of Bcl-2, Bax and caspase 3 in cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2	Bax	caspase3
空白组	1.68±0.31	0.41±0.05	1.72±0.29
药物对照组	1.19±0.16 ^a	0.88±0.11 ^a	1.21±0.15 ^a
无硒赤芝蛋白组	1.41±0.23 ^{ab}	0.60±0.08 ^{ab}	1.44±0.21 ^{ab}
低浓度组	1.49±0.27 ^{abc}	0.52±0.08 ^{abc}	1.53±0.26 ^{abc}
中浓度组	1.33±0.21 ^{abcd}	0.69±0.09 ^{abcd}	1.36±0.19 ^{abcd}
高浓度组	0.98±0.11 ^{abcde}	1.03±0.13 ^{abcde}	1.01±0.13 ^{abcde}

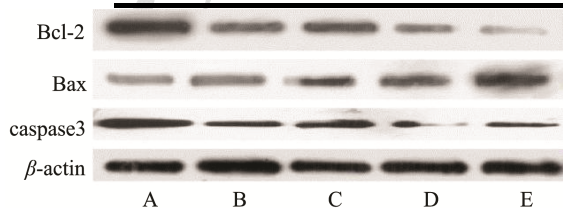


图 1 Bcl-2、Bax、caspase3 表达 WB 图

Fig.3 WB diagram expressed by Bcl-2, Bax and caspase 3

注：A：空白组；B：药物对照组；C：低浓度组；D：中

浓度组；E：高浓度组。

3 结论

在赤芝富硒蛋白的干预下，肝癌 HepG2 细胞增殖率自 71.66% 下降至 19.33%，凋亡率自 2.41% 上升至 75.66%；G₁ 期细胞比例自 31.25% 上升至 58.66%；侵袭、迁移细胞数分别自 79.66、81.22 下降至 28.21、29.66；凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase3 的表达也

受到明显调控,说明赤芝富硒蛋白能够抑制肝癌细胞增殖、促进肝癌细胞凋亡,阻滞肝癌 HepG2 细胞周期分布,抑制细胞侵袭、迁移能力,其促进肝癌 HepG2 细胞凋亡的机制可能是通过调控线粒体凋亡通路相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase3 的表达,从而起到促进细胞凋亡、抑制肝癌细胞发展、扩散的作用。

参考文献

- [1] Li HM, Ye ZH. Microenvironment of liver regeneration in liver cancer [J]. *Chin J Integr Med*, 2017,23(7):555-560
- [2] Bruix J, Han KH, Gores G, et al. Liver cancer: Approaching a personalized care [J]. *J Hepatol*, 2015, 62(1 Suppl): S144-56
- [3] Lu B, Zhu L, Wang X, et al. Effects of radiofrequency ablation combined with transarterial chemoembolization and antiviral therapy on the prognosis and quality of life in primary chronic HBV-related liver cancer [J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 1979-1984
- [4] Gao C, Li X, Yu S, et al. Inhibition of cancer cell growth by oleanolic acid in multidrug resistant liver carcinoma is mediated via suppression of cancer cell migration and invasion, mitochondrial apoptosis, G2/M cell cycle arrest and deactivation of JNK/p38 signalling pathway [J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 1964-1969
- [5] Li J, Fu Y, Hu X, et al. Psoralidin inhibits the proliferation of human liver cancer cells by triggering cell cycle arrest, apoptosis and autophagy and inhibits tumor growth *in vivo* [J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 1950-1955
- [6] Luo F, Zhou J, Yan W. A comparative study of laparoscopic precise hepatectomy with conventional open hepatectomy in the treatment of primary hepatocellular cancer [J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 1943-1949
- [7] 徐雪峰,李桂娟,闫浩,等.赤灵芝多糖分离纯化及体外抗氧化性研究[J].*食品与机械*,2017,33(1):143-147
XU Xue-feng, LI Gui-juan, YAN Hao, et al. Study on the separation, purification and *in vitro* antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide [J]. *Food and Machinery*, 2017, 33(1): 143-147
- [8] Sun H, Zhu Z, Tang Y, et al. Structural characterization and antitumor activity of a novel Se-polysaccharide from selenium-enriched *Cordyceps gunnii* [J]. *Food Funct*, 2018, 9(5): 744-2754
- [9] Lu Z, Wu Z, Hu J, et al. MicroRNA-15 regulates the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells by targeting Bcl-2 [J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 2114-2119
- [10] 陈利明,杨红兵,苑留云,等.富硒灵芝对动脉粥样硬化大鼠血脂代谢及内皮细胞损伤的影响[J].*河北中医药学报*,2012, 27(1):10-11
CHEN Li-ming, YANG Hong-bing, YUAN Liu-yun, et al. Effects of selenium enriched *Ganoderma lucidum* on lipid metabolism and endothelial cell damage in atherosclerotic rats [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine, Hebei*, 2012, 27(1): 10-11
- [11] 刘流,郭侃,刘云,等.结合斑蝥素对人肝癌 HepG2 细胞增殖和凋亡的作用[J].*中成药*,2016,38(8):1683-1688
LIU Liu, GUO Kan, LIU Yun, et al. Effects of cantharidin on proliferation and apoptosis of HepG2 cells [J]. *Chinese Patent Medicine*, 2016, 38(8): 1683-1688
- [12] 张彦,祝晨,雷公藤红素对体外人肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡的影响及机制研究[J].*中国药房*,2017,28(10):1342-1345
ZHANG Yan, ZHU Chen-chen. Study on the effect and mechanism of *Tripterygium* on the proliferation and apoptosis of human hepatocarcinoma HepG2 cells *in vitro* [J]. *Chinese Pharmacy*, 2017, 28(10): 1342-1345
- [13] Zeng C, Guo B, Chen J, et al. Antitumor effects of farnesol in optic nerve sheath meningioma cell line and its effects on cell cycle progression, autophagy, cell migration and invasion [J]. *J BUON*, 2019, 24(5): 2168-2172
- [14] 康燕,魏玲,王永霞,等.罗格列酮对肝癌 HepG2 细胞周期和凋亡的影响[J].*实用癌症杂志*,2018,33(4):534-536,540
KANG Yan, WEI Ling, WANG Yong-xia, et al. Effects of rosiglitazone on cell cycle and apoptosis of HepG2 cells [J]. *Journal of Practical Cancer*, 2018, 33(4): 534-536, 540
- [15] 王小明,余珊,赵晓姬,等.miR-206 过表达靶向 VEGFA 对人肝癌 HepG2 细胞侵袭和迁移的抑制作用[J].*中国比较医学杂志*,2018,28(8):95-100
WANG Xiao-ming, YU Shan, ZHAO Xiao-ji, et al. Inhibitory effect of miR-206 overexpression targeting VEGFA on invasion and migration of human hepatocarcinoma HepG2 cells [J]. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 2018, 28(8): 95-100
- [16] 毕蕾,颜晓静,杨焱,等.川芎嗪对肝癌 HepG2 细胞迁移、侵袭和细胞骨架的影响[J].*中国药理学通报*,2016,32(2):194-198
BI Lei, YAN Xiao-jing, YANG Ye, et al. The effect of ligustrazine on the migration, invasion and cytoskeleton of HepG2 cells [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2016, 32(2): 194-198