

# 绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用

姚兴梅<sup>1</sup>, 郭丹<sup>1</sup>, 姚帅<sup>2</sup>

(1. 安阳职业技术学院护理系, 河南安阳 455000) (2. 河南大学附属郑州颐和医院, 河南郑州 450046)

**摘要:** 本研究探讨了绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用。采用 DEEM 培养基培养对数生长期的肝癌 HepG2 细胞, 并将其作为对照组, 将浓度分别为 0.11 g/L、0.18 g/L、0.25 g/L、0.50 g/L 的绿茶富硒蛋白为实验组; 将添加二甲基亚砜 (DMSO) 的 DMEM 培养基作为参考组。通过光密度值计算抑制率, 采用流式细胞仪检测凋亡率, 并实验的检测细胞凋亡相关因子。结果表明: 随着时间和绿茶富硒蛋白浓度的增加, 肝癌 HepG2 细胞的抑制率越来越高, 但对照组的抑制率始终为 0。对照组肝癌 HepG2 细胞凋亡率约为 6.17%, 而当绿茶富硒蛋白浓度为 0.50 g/L 时, 肝癌 HepG2 细胞凋亡率达到最大值 30.60%。实验组凋亡因子表达水平整体呈下降趋势, Bcl-2 和 Bax 的比值小于 1, 说明绿茶富硒蛋白浓度越高、培养时间越久, 对肝癌 HepG2 细胞的抑制能力越强, 且绿茶富硒蛋白可使 S 期细胞数目明显减少, 由此说明绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞具有抑制作用。

**关键词:** 绿茶富硒蛋白; 肝癌; HepG2 细胞; 抑制; 凋亡率

文章编号: 1673-9078(2021)04-44-49

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.4.0825

## Inhibitory Effect of Selenium-rich Protein in Green Tea on HepG2 Cells of Liver Cancer

YAO Xing-mei<sup>1</sup>, GUO Dan<sup>1</sup>, YAO Shuai<sup>2</sup>

(1. Nursing Department of Anyang Vocational Technical College, Anyang 455000, China)

(2. Zhengzhou Yihe Hospital Affiliated to Henan University, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract:** The inhibitory effect of the selenium-rich proteins in green tea on HepG2 cells of live cancer was analyzed in this study. HepG2 cells in the logarithmic growth stage were incubated in the DEEM medium and used as a control group. The selenium-rich proteins of green tea at concentrations of 0.11 g/L, 0.18 g/L, 0.25 g/L and 0.5 g/L, respectively, were used as the experimental groups. The DMEM medium supplemented with dimethyl sulfoxide (DMSO) was used as the reference group. The inhibition rate was calculated by the optical density value, the apoptotic rate was detected by flow cytometry, and apoptosis-related factors were detected experimentally. The results showed that the inhibitory rate for the HepG2 cells of liver cancer increased with time and the concentration of selenium-rich proteins in green tea, but the inhibition rate for HepG2 cells for the control group was always zero. The apoptotic rate for the HepG2 cells of the control group was 6.17%, and the maximum apoptotic rate reached the maximum (30.60%) when the concentration of selenium-rich proteins of the green tea was 0.5 g/L. The expression level of apoptosis factors of the experimental groups showed an overall downward trend, the Bcl-2 and Bax ratio was lower than 1, indicating that the higher the concentration of the selenium-rich proteins of green tea, the longer the incubation time, the stronger the ability to inhibit HepG2 tumor cells, selenium-rich proteins. Therefore, green tea's selenium-rich proteins can significantly decrease the number of S-phase cells, which indicates that the green tea selenium-rich proteins can inhibit HepG2 cells of liver cancer.

**Key words:** green tea's selenium-rich protein; liver cancer; HepG2 cells; inhibition; apoptotic rate

引文格式:

姚兴梅, 郭丹, 姚帅. 绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(4): 44-49

YAO Xing-mei, GUO Dan, YAO Shuai. Inhibitory effect of selenium-rich protein in green tea on HepG2 cells of liver cancer [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(4): 44-49

肝癌是世界上常见的恶性肿瘤之一, 致死率一直

收稿日期: 2020-09-02

基金项目: 河南省科技攻关项目 (182102110277); 安阳市社会科学规划项目 (ASKG18256)

作者简介: 姚兴梅 (1982-), 女, 讲师, 研究方向: 护理学

居高不下。到目前为止, 我国患肝癌去世的患者约占世界肝癌患者的 10%, 严重威胁我国国民健康水平<sup>[1,2]</sup>。随着医疗水平的提高, 肝癌的治疗水平和预后也在逐步攀升, 肝癌早期诊断准确率、肿瘤切除率和生存率都有明显提高。但由于肝癌初期临床表征不明显,

往往确认时已经是中晚期,此时癌细胞转移迅速,使得肝癌患者的生存率大幅度降低。

21世纪以来,分子生物学迅速发展,为肝癌治疗提供充分的理论依据和实验结果。相关研究表明,利用HBV中的X蛋白可以对肝癌起到抑制作用,激活肝细胞中的Bel敏感性,能够提高治疗效果<sup>[3-5]</sup>。而对人体内X基因的研究发现,X基因能够使肝组织的病理性发生转变,说明其具有分解肝癌细胞的作用,需要在今后的研究中进行深入探讨<sup>[6]</sup>。

硒是生命活动所必需的微量元素之一。随着对硒化合物生理作用研究的不断深入,其抗癌作用越来越受到广泛的重视。数十年前,有学者通过动物实验模型研究发现硒具有抗癌作用,随后大量的人体实验充分证明硒是人体所必需的营养物质,且具有癌症预防功能。硒使癌细胞克隆增殖受到抑制,引起细胞的主动死亡,硒所触发的细胞凋亡与毒性效应无关,既不引起DNA损伤,也不需要抑癌基因P53参与,对人体造成的伤害小,硒诱导细胞循环蛋白发生改变,阻止癌细胞继续分裂,因此证明了硒对癌细胞具有抑制作用。现今已经发现的具有抗癌作用的含硒物质有大蒜、高良姜、菊花、灵芝、莱菔子、海参、牡蛎、绿茶等。

到目前为止,硒的研究方向逐渐从总硒转移到有机硒,因此对于绿茶富硒蛋白的研究已成最大的热点。在中国,绿茶的种植历史悠久,古时候茶与瓷器一直是中国的代表性产物。绿茶中具有较多的天然物质,在干燥过程中,营养损失流失较小,其中硒蛋白、茶多酚、咖啡碱保留了鲜叶的85%以上,叶绿素保留了50%左右。近些年来,相关领域的学者对绿茶成分与功能进行研究发现,绿茶具有明显的抗氧化作用,可以减缓人体衰老,提高人体免疫力。绿茶富硒蛋白可以破坏合成过程中的癌细胞DNA,抑制癌细胞增殖。绿茶富硒蛋白能提高NK细胞和T细胞的活性,加快巨噬细胞的吞噬作用,提高淋巴细胞的转化率,增加白细胞数量,加快免疫球蛋白的生长等,增强患者体质,使患者的免疫能力得到提升,有利于抵御癌症<sup>[7,8]</sup>。

本文以肝癌HepG2细胞作为靶向细胞,研究绿茶富硒蛋白对其的抑制作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料设备

富硒绿茶,江苏省宜兴市国宗元富硒茶业有限公司;人肝癌HepG2细胞,细胞研究所细胞库;小牛血清,贝森佳生物制药;青霉素、链霉素,四川长威制

药有限公司;乙酸、硫酸铵、氢氧化钠,南京化学试剂股份有限公司;JY98-III超声波细胞粉碎机,上海新芝生物技术研究;Tris-HCl缓冲液、PBS缓冲液,湖北康迪斯化工有限公司;Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒,美仑生物技术有限公司;明胶干粉,上海源叶生物科技有限公司;二甲亚砜(DMSO),动力精细化工有限公司;紫外分光光度计,梅特丽-托利多国际贸易上海有限公司;真空冷冻干燥机(SCIENTZ-50N型),宁波新芝生物科技股份有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 培养细胞

以50 mg/L的青霉素、50 mg/L的链霉素、9%小牛血清制备DMEM培养基;以此培养基培养肝癌HepG2细胞,将其置于常温培养箱内,备用。

#### 1.2.2 制备绿茶富硒蛋白

对富硒绿茶进行干燥处理加,粉碎后过100目筛,在-20℃环境中冻藏备用<sup>[9]</sup>。在富硒绿茶茶渣中依次加入去离子水、0.05 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH 8.0)、0.20 mol/L PBS缓冲液(pH 8.0)、0.50 mol/L NaCl、0.10 mol/L NaOH,混合均匀,之后进行细胞破壁处理,将混合物搅拌均匀,3000 r/min离心30 min,取上清液,加入硫酸铵至50%饱和以沉淀含硒蛋白,放置在恒温箱中4℃静置12 h,2000 r/min离心20 min,将沉淀物用提取液溶解,透析24 h,-40℃冻干,得到绿茶富硒蛋白。通过上述过程所得绿茶富硒蛋白纯度达90.34%以上,有机硒含量为0.87 mg/L。

#### 1.2.3 绿茶富硒蛋白对HepG2细胞抑制实验

取对数生长期的肝癌HepG2细胞,使用2.50 g/L的胰酶对其进行消化,使其成为单个细胞,以此配置细胞悬液,在培养板内每孔接种100 μL,在37℃5%CO<sub>2</sub>培养箱培育1 d,清除上清液,加入180 μL DMEM培养基继续培育1 d,此时肝癌HepG2细胞的生长进入同步化,将其作为对照组,该组不干预肝癌HepG2细胞增殖与凋亡等过程。在此基础上,把浓度为10 g/L的二甲亚砜(DMSO)加入到DMEM培养基,将其作为参考组,该组利用DMSO诱导肝癌HepG2细胞凋亡。在DMEM培养基中加入处理过的绿茶富硒蛋白,配置绿茶富硒蛋白溶液<sup>[10,11]</sup>,浓度分别为:0.11 g/L、0.18 g/L、0.25 g/L、0.50 g/L,用微孔滤膜过滤除菌<sup>[12]</sup>。将4个不同浓度绿茶富硒蛋白溶液为实验组,每组个设置4~5个平行孔,将三组溶液放入培养箱,培养1 d、2 d、3 d后每孔加入15 μL的FITC染色剂,重新放进培养箱培养6 h,吸管吸取培养上清液,弃用,每孔加

入 150  $\mu\text{L}$  DMSO 溶液, 摇晃 20 min, 充分溶解甲贍结晶, 置于酶标仪 450 nm 处, 测定光密度值, 通过光密度值计算绿茶硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的抑制率, 公式为: 抑制率/% = (1 - 实验组光密度值/对照组光密度值)  $\times$  100%。

### 1.2.4 HepG2 细胞凋亡实验

取抑制实验中制备的各组溶液, 使用 0.25% 胰酶采集各组中的细胞, PBS 冲洗两遍, 在 100  $\mu\text{L}$  的 binding buffer 中重悬, 使用 FITC 染色, 采用流式细胞仪检测凋亡率<sup>[13,14]</sup>。

### 1.2.5 肝癌 HepG2 细胞凋亡因子相关表达

取抑制实验中制备的各组溶液, 用试剂 Trizol 提取 RNA, 之后测定 RNA 纯度 (A270/A290 > 1.5), 使用仪器为: 紫外分光光度仪, 逆转录合成 DNA 时运用 1  $\mu\text{L}$  RNA, 凋亡因子 P53、Bcl-2、Bax、VEGF 的表达以 PCR 检测。PCR 反应需要一系列条件: 置于 94  $^{\circ}\text{C}$  下 25 s, 将 primer5 计算得出的 TM 值作为退火温度, 进行 25 s 退火。在 72  $^{\circ}\text{C}$  的温度下, 进行 40 s 的延伸, 循环 30 次, 置放于 72  $^{\circ}\text{C}$  环境下 4 min。在 11 g/L 的 TAE 琼脂糖凝胶电泳, FITC 染色, 需要在凝胶成像分析系统紫外光的条件下进行拍照, 在此基础上进行图像分析, 内参照为  $\beta$ -actin, 基因水平的指标是 Volume<sup>[15,16]</sup>。

### 1.2.6 统计学分析

SPSS 26.0 统计软件分析结果, mean  $\pm$  PD 表示分析结果, 浓度之间比较使用 LSD 法, 利用 t-test 与 One-Way 分析结果。

## 2 结果与讨论

随着绿茶富硒蛋白浓度的逐渐增加, 观察不同时间段肝癌 HepG2 细胞的变化, 发现抑制率不断升高, 说明时间和浓度是影响抑制效果的关键因素, 具有效应关系, 见表 1。

从表 1 可以看出, 随着绿茶富硒蛋白浓度与光密度值的增加, 绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制率呈倍数上升, 浓度越高, 对肝癌 HepG2e 细胞抑制越强。绿茶富硒蛋白浓度为 0.11 g/L, 培养 1 d 的抑制率约为 3.82%; 当浓度升高到 0.50 g/L, 培养 3 d 的抑制率约为 26.92%, 抑制效果最好, 对照组的抑制率始终为 0。但是从数据中可以看出, 在培养 2 d 和 3 d 时, 抑制率上升缓慢, 这是因为抑制肝癌 HepG2 细胞增殖对绿茶富硒蛋白浓度具有依赖性, 说明采用绿茶富硒蛋白进行 HepG2 细胞抑制是一个长期过程。

对照组和实验组对 HepG2 细胞作用 2 d 后显微镜观察结果见图 1, 从图中可以看出绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞具有明显的抑制作用, 肝癌 HepG2 细胞的具体变化见显微图像对比。

表 1 绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞增殖抑制率的影响

Table 1 Effect of green tea selenium rich protein on the inhibition rate of HepG2 cell proliferation

实验组别	绿茶富硒蛋白浓度/(g/L)	抑制率/%		
		培养 1 d	培养 2 d	培养 3 d
对照组	0	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
实验组	0.11	3.82 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>	4.56 $\pm$ 0.98 <sup>b</sup>	4.89 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>
	0.18	6.15 $\pm$ 0.42 <sup>c</sup>	7.59 $\pm$ 0.75 <sup>c</sup>	7.66 $\pm$ 0.32 <sup>c</sup>
	0.25	12.18 $\pm$ 0.37 <sup>d</sup>	13.59 $\pm$ 0.64 <sup>d</sup>	13.85 $\pm$ 0.12 <sup>d</sup>
	0.50	25.59 $\pm$ 0.25 <sup>e</sup>	26.89 $\pm$ 0.42 <sup>e</sup>	26.92 $\pm$ 0.32 <sup>e</sup>
参考组	0	0.12 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	0.06 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

注: 同列数据右肩小写字母不同表示差异性显著,  $p < 0.01$ , 下同。

表 2 肝癌 HepG2 细胞周期分析

Table 2 HepG2 cell cycle analysis of hepatoma

实验组别	绿茶富硒蛋白浓度/(g/L)	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
对照组	0	59.19 $\pm$ 2.39 <sup>a</sup>	30.24 $\pm$ 2.53 <sup>a</sup>	9.52 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>
实验组	0.11	59.58 $\pm$ 4.31 <sup>a</sup>	22.57 $\pm$ 2.89 <sup>b</sup>	10.28 $\pm$ 2.63 <sup>b</sup>
	0.18	59.93 $\pm$ 4.86 <sup>a</sup>	24.38 $\pm$ 3.76 <sup>c</sup>	12.16 $\pm$ 2.87 <sup>c</sup>
	0.25	60.02 $\pm$ 5.23 <sup>a</sup>	27.44 $\pm$ 4.18 <sup>d</sup>	13.28 $\pm$ 1.47 <sup>c</sup>
	0.5	65.57 $\pm$ 6.35 <sup>b</sup>	28.51 $\pm$ 2.46 <sup>d</sup>	15.18 $\pm$ 2.14 <sup>d</sup>
参考组	0	56.31 $\pm$ 4.75 <sup>b</sup>	28.31 $\pm$ 1.62 <sup>d</sup>	12.75 $\pm$ 2.46 <sup>c</sup>

图 1a 中为对照组肝癌 HepG2 细胞培养 2 d, 图 1b 中为肝癌 HepG2 细胞在 0.11 g/L 的绿茶富硒蛋白中培养 2 d。从图片可以看出, 对照组肝癌 HepG2 细胞饱满有活力, 分布均匀, 核膜完整, 形状规律。在绿茶富硒蛋白的作用下, 肝癌 HepG2 细胞出现衰弱, 体积坍塌, 细胞形状变为圆形, 细胞边缘呈现波纹状, 活性降低, 出现凋亡形态。

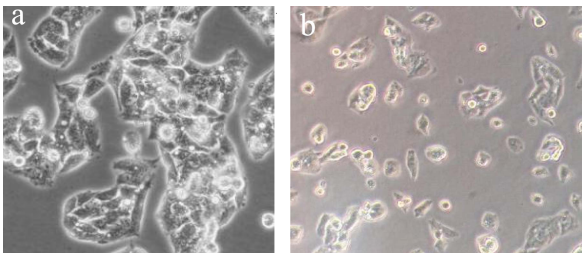


图 1 绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞抑制效果

Fig.1 Inhibitory effect of green tea selenium rich protein on HepG2 cells

HepG2 细胞经不同处理作用 24 h 后, 采用流式细胞仪分析细胞周期, 结果如表 2 所示。

由表 2 可知, 绿茶富硒蛋白可使 S 期细胞数目明显减少, 其结果是促进细胞分化为 G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub> 和 G<sub>2</sub>-M 期, 但随剂量加大, 肝癌 HepG2 细胞主要停留于 G<sub>2</sub>-M 期。说明在绿茶富硒蛋白可有效抑制肝癌 HepG2 细胞, 但是在临床中要把握好用量。

不同浓度的绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞凋亡的诱导作用见表 3。

运用细胞仪检测不同浓度的绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞的凋亡率的影响。通过表 3 可知, 对照组肝癌 HepG2 细胞凋亡率约为 6.17%, 而当绿茶富硒蛋白浓度为 0.50 g/L 时, 肝癌 HepG2 细胞凋亡率最大值约为 30.60%, 参考组肝癌 HepG2 细胞凋亡率约为 10.82%, 且实验组的肝癌 HepG2 细胞凋亡率始终高于

对照组和参考组, 通过对比可知绿茶富硒蛋白具备诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡的能力。根据数据可以看出, 在绿茶富硒蛋白发挥作用 1 d 后, 实验组凋亡率升高, 虽然对照组和参考组也出现细胞凋亡现象, 但大部分是由于细胞代谢。绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞凋亡的相关因子有一定影响, 相关因子分别为: Bcl-2、Bax、VEGF、P<sub>53</sub> mRNA 等, 影响结果见表 4。

表 3 不同浓度的绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞凋亡的诱导作用

Table 3 Induction of apoptosis of HepG2 cells by different concentrations of green tea selenium rich protein

组别	绿茶富硒蛋白浓度/(g/L)	凋亡率/%
对照组	0	6.17±0.48 <sup>a</sup>
	0.11	16.06±1.12 <sup>b</sup>
	0.18	18.70±1.12 <sup>c</sup>
	0.25	24.13±2.02 <sup>d</sup>
	0.5	30.60±6.53 <sup>e</sup>
参考组	0	10.82±2.32 <sup>f</sup>

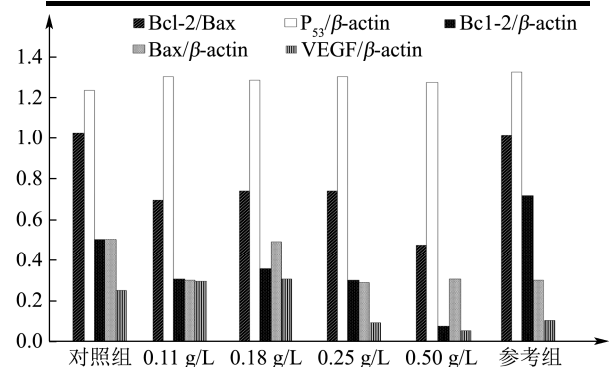


图 2 不同浓度绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞凋亡因子表达水平的影响

Fig.2 Effect of different concentration of green tea selenium rich protein on the expression of apoptotic factors in HepG2 cells

表 4 不同浓度绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞凋亡因子表达水平的影响

Table 4 Effect of different concentration of green tea selenium rich protein on the expression of apoptotic factors in HepG2 cells

实验组别	绿茶富硒蛋白浓度/(g/L)	HepG2 细胞凋亡因子				
		Bcl-2/Bax	P <sub>53</sub> /β-actin	Bcl-2/β-actin	Bax/β-actin	VEGF/β-actin
对照组	0	1.08±0.01	1.24±0.02	0.54±0.02	0.55±0.01	0.23±0.02
	0.11	0.71±0.02*	1.32±0.01*	0.32±0.01*	0.31±0.02*	0.29±0.02
	0.18	0.77±0.02*	1.28±0.03	0.36±0.01*	0.49±0.01*	0.23±0.01
	0.25	0.76±0.01*	1.30±0.04	0.30±0.03*	0.27±0.02*	0.11±0.01*
	0.5	0.46±0.02*	1.24±0.01	0.15±0.02*	0.33±0.02*	0.05±0.01*
参考组	0	1.08±0.02	1.33±0.01*	0.68±0.02	0.32±0.01*	0.14±0.03*

注: \*与对照组相比, p<0.05。

为更好地观察不同浓度绿茶富硒蛋白对 HepG2 细胞凋亡因子表达水平的影响程度, 将表 4 转换成图 2。肝癌细胞的扩散依赖于细胞增殖和凋亡的平衡性,

如果平衡, 癌细胞将会不断增殖与扩散; 如果失衡, 就会使细胞凋亡增加, 提升治疗效果。根据以往研究可得, 细胞凋亡因子中 p<sub>35</sub> 和 Bcl-2 是细胞凋亡信号转

导的决定因素,从功能上看,家族基因蛋白 Bcl-2 分为促凋亡和抑凋亡两类,分别为 Bax 与 Bad 和 Bcl-2 与 Bcl-xl,从图 2 中可以看出,在绿茶富硒蛋白的作用下,肝癌 HepG2 细胞凋亡相关因子表达水平整体呈下降趋势,而且绿茶富硒蛋白浓度越高,对肝癌 HepG2 细胞凋亡相关因子的影响越大,实验组中 P<sub>53</sub>/β-actin 相较于对照组不具备统计学意义, Bcl-2 和 Bax 的比值小于 1,通过这些数据可以看出绿茶富硒蛋白具有促进肝癌 HepG2 细胞凋亡的作用。

### 3 结论

从本文实验可以看出,高浓度的绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞有显著抑制作用,但具有一定依赖性,当浓度为 0.50 g/L 绿茶富硒蛋白对肝癌 HepG2 细胞作用 3 d 时,抑制率高达 29.92%,凋亡率达到 30.60%,可以有效抑制肝癌 HepG2 细胞增殖,此时的肝癌 HepG2 细胞常伴随出现凋亡小体和核质浓集的凋亡形态学特性。由于绿茶富硒蛋白在基因水平上没有对 Bax 蛋白进行调控,所以其基因水平出现下降。肝癌 HepG2 细胞 Bcl-2 和 Bax 比值小于 1,说明绿茶富硒蛋白具有促进肝癌 HepG2 细胞凋亡的作用。

### 参考文献

- [1] 李世朋,王振,何金丹,等.干扰素  $\gamma$  抑制自噬诱导肝癌 HepG22 细胞凋亡的作用[J].中国临床药理学杂志,2017,33(4):343-346  
LI Shi-peng, WANG Zhen, HE Jin-dan, et al. Function of interferon- $\gamma$  induced HepG22 cell apoptosis *via* inhibiting autophagy [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2017, 33(4): 343-346
- [2] 刘宇,苏海国,周勤梅,等.不同种的灵芝醇提物对肝癌细胞增殖的抑制作用[J].食用菌学报,2018,25(2):121-125  
LIU Yu, SU Hai-guo, ZHOU Qin-mei, et al. Inhibitory effect of ethanol extracts of seven Ganodermataceae species on the proliferation of human hepatoma cell lines [J]. Acta Edulis Fungi, 2018, 25(2): 121-125
- [3] 范洁,张磊,王啸.人参皂苷 Rk3 对肝癌 HepG22 细胞凋亡的影响[J].安徽医科大学学报,2016,51(11):1604-1608  
FAN Jie, ZHANG Lei, WANG Xiao. Effect of ginsenoside Rk3 on apoptosis of HepG22 [J]. Journal of Anhui Medical University, 2016, 51(11): 1604-1608
- [4] 毕蕾,颜晓静,杨焱,等.川芎嗪对肝癌 HepG22 细胞迁移、侵袭和细胞骨架的影响[J].中国药理学通报,2016,2:194-198  
BI Lei, YAN Xiao-jing, YANG Ye, et al. Effect of tetramethylpyrazine on cell migration, cell invasion and cytoskeleton in human hepatocellular carcinoma cell line HepG22 [J]. Chinese Pharmacology Bulletin, 2016, 2: 194-198
- [5] 潘智育,李竟,陈云龙,等.8-溴乙氧基大黄酸的合成及其对肝癌 HepG22.2.15 细胞乙肝病毒抑制作用的研究[J].中国药理学通报,2016,32(8):1175-1180  
PAN Zhi-yu, LI Jing, CHEN Yun-long, et al. Synthesis of 8-bromo-ethoxy rhein and evaluation of its inhibition effect on hepatitis B virus in human hepatoma cells HepG22.2.15 [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2016, 32(8): 1175-1180
- [6] 赵忠伟,韩鹏.龙胆苦苷对人肝癌 HepG22 细胞的抑制作用[J].中国老年学杂志,2016,36(24):6082-6083  
ZHAO Zhong-wei, HAN Peng. Inhibition of gentiopicrin on HepG22 cells of human liver cancer [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2016, 36(24): 6082-6083
- [7] 郭志强,田洪刚.绿茶诱导乳腺癌细胞凋亡的研究[J].中国基层医药,2017,24(15):2371-2375  
GUO Zhi-qiang, TIAN Hong-gang. Study on apoptosis of breast cancer cells induced by green tea [J]. Chinese Journal of Primary Medicine and Pharmacy, 2017, 24(15): 2371-2375
- [8] 张晨,倪成励,王元银.EGCG 对 Tca8113 细胞移植瘤小鼠肿瘤生长的抑制作用研究[J].基因组学与应用生物学,2018,37(8):3726-3732  
ZHANG Chen, NI Cheng-li, WANG Yuan-yin. Inhibitory effect of EGCG on tumor growth in Tca8113 cell transplanted tumor mice [J]. Genomics and Applied Biology, 2018, 37(8): 3726-3732
- [9] 杨晓梅,龚明玉,张力.姜黄素对人肝癌 HepG22 细胞 Notch1 和 NF- $\kappa$ B 表达的影响[J].现代预防医学,2017,44(4):144-146, 150  
YANG Xiao-mei, GONG Ming-yu, ZHANG Li, et al. The effect of curcumin on the expression of Notch1 and NF- $\kappa$ B in human hepatocellular carcinoma HepG22 cells [J]. Modern Preventive Medicine, 2017, 44(4): 144-146, 150
- [10] 占义平,凌昌全.原发性肝癌中医证候研究概述[J].中医杂志,2017,58(2):166-169  
ZHAN Yi-ping, LING Chang-quan. Overview of TCM syndromes of primary liver cancer [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 58(2): 166-169
- [11] 赵燕颖,刘志忠,李然伟,等.血管内皮生长因子 165b 对人肝癌 HepG22 细胞生物学特性的影响[J].吉林大学学报:医学版,2018,44(1):180-182  
ZHAO Yan-ying, LIU Zhi-zhong, LI Ran-wei, et al. Effect of VEGF165b on biological characteristics of human

- hepatocellular carcinoma HepG22 cells [J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2018, 44(1): 180-182
- [12] 高志强,汪俊峰,陈德华,等.Girdin 基因在肝癌细胞表达及抑制其表达的生物学特性[J].中华实验外科杂志,2017, 34(34):2112
- GAO Zhi-qiang, WANG Jun-feng, CHEN De-hua, et al. Expression of Girdin gene in hepatocellular carcinoma cells and inhibition of its expression on biological characteristics [J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2017, 34(34): 2112
- [13] 彭芳华,马玄,胡秀英.山楂乙醇提取物对肝癌细胞 HepG22 凋亡及相关因子表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016, v.22(7):177-180
- PENG Fang-hua, MA Xuan, HU Xiu-ying. Effect of hawthorn extract on apoptosis and related factors of HepG22 cells [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2016, v.22(7): 177-180
- [14] 芮坚,杨金来,蔡涛,等.异长叶烯基噻唑类化合物的合成及其抑菌、抗肿瘤活性研究[J].林产化学与工业,2016,36(6): 41-48
- RUI Jian, YANG Jin-lai, CAI Tao, et al. Synthesis of isolongifolanyl thiazole compounds and their antibacterial and antitumor activities [J]. Forest Chemistry and Industry, 2016, 36(6): 41-48
- [15] 陈璠,代本才,霍萃萌,等.水杨醛- $\alpha$ -氨基磷酸酯衍生物的合成及抗肿瘤活性[J].精细化工,2018,35(2):1057-1063
- CHEN Jin, DAI Ben-cai, HUO Cui-meng, et al. Synthesis and antitumor activity of salicylaldehyde- $\alpha$ -aminophosphate derivatives [J]. Fine Chemicals, 2018, 35(2): 1057-1063
- [16] 许刚,王燕,吴立广,等.miR-122 对肝癌细胞 HepG22 放疗敏感性影响及其机制研究[J].中华肿瘤防治杂志,2017,24(16): 1130-1136
- XU Gang, WANG Yan, WU Li-guang, et al. miR-122 upregulating the radiosensitivity of liver cancer cells HepG22 through apoptosis pathway [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2017, 24(16): 1130-1136

## (上接第 15 页)

- [17] 黄东旭.不同饮食方式下肠道菌群结构及粪便脂肪酸的关系[D].哈尔滨:东北农业大学,2018:5
- HUANG Dong-xu. Relationship between intestinal microflora structure and fecal fatty acids under different dietary patterns [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018: 5
- [18] 宋克玉,江振友,严群超,等.党参及茯苓对小鼠肠道菌群调节作用的实验研究[J].中国临床药理学杂志,2011,27(2): 142-145
- SONG Ke-yu, JIANG Zhen-you, YAN Qun-chao, et al. Experimental study on the regulatory effect of *Codonopsis pilosula* and *Poria cocos* on intestinal flora in mice [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2011, 27(2): 142-145
- [19] 龙承星.七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道黏膜细菌及乳糖酶基因多样性的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2019
- LONG Cheng-xing. Effects of Qiwei Baizhu powder on intestinal mucosal bacterial and lactase gene diversity in mice with dysbacteriosis diarrhea [D]. Changsha: Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 2019
- [20] 王佳佳,刘玉梅,刘宁,等.家兔源性大肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌的分离鉴定及药敏试验[J].中国兽医科学,2020,50(4): 485-492
- WANG Jia-jia, LIU Yu-mei, LIU Ning, et al. Isolation, identification and drug sensitivity test of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from rabbits [J]. Chinese Journal of Veterinary Sciences, 2020, 50(4): 485-492