

# 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞增殖和迁移的影响及机制<sup>△</sup>

吴艳丽\*, 范楷, 孔守芳, 赵秀芳, 欧阳江华<sup>#</sup>(青岛市中医医院妇科, 山东青岛 266033)

中图分类号 R285;R361<sup>+</sup>.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2021)20-2450-09

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.20.04



**摘要** 目的:初步研究消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞增殖和迁移的影响及作用机制。方法:将雌性SD大鼠随机分为正常对照组、模型组、化学药阳性对照组(米非司酮片2.25 mg/kg)、中药阳性对照组(桂枝茯苓胶囊200 mg/kg)和消癥汤低、中、高剂量组(1.4、2.8、5.6 g/kg),每组15只。除正常对照组外,其余各组大鼠均肌内注射雌激素和孕激素建立子宫平滑肌瘤模型。自建模第2天起,各给药组大鼠灌胃相应药液,正常对照组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续4个月。末次给药后,摘取子宫并观察其形态,计算子宫系数;分离培养子宫平滑肌瘤细胞或子宫平滑肌细胞,采用MTT法检测细胞增殖率,细胞划痕实验检测子宫平滑肌瘤细胞迁移率,流式细胞术检测细胞凋亡率,荧光定量聚合酶链反应技术检测细胞中高迁移率蛋白B1(HMGB1)mRNA表达情况,酶联免疫吸附测定法检测细胞中磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)、核因子κB抑制蛋白α(IκBα)、磷酸化转化生长因子β激活激酶1(p-TAK1)的表达水平,Western blot法检测细胞质内HMGB1、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、p-Akt蛋白和细胞核内核因子κB p65(NF-κB p65)蛋白的表达水平。结果:与正常对照组比较,模型组大鼠子宫肌层明显增厚,子宫平滑肌细胞明显增多且大小不一,部分区域的肌纤维排列紊乱,子宫系数和细胞中HMGB1 mRNA及其蛋白的相对表达水平均显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,消癥汤各剂量组以及各阳性对照组大鼠的子宫平滑肌层增厚等情况均有不同程度改善,子宫系数以及子宫平滑肌瘤细胞增殖率、相对迁移率和细胞中HMGB1 mRNA及其蛋白的相对表达水平,p-Akt、IκBα的表达水平,细胞质中PI3K、p-Akt蛋白的相对表达水平(除消癥汤低剂量组外)均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),子宫平滑肌瘤细胞凋亡率和细胞中p-TAK1的表达水平、细胞核内NF-κB p65蛋白的相对表达水平均显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖的趋势。结论:消癥汤可能通过下调HMGB1、PI3K、p-Akt表达,上调NF-κB p65表达,进而抑制子宫平滑肌瘤细胞的增殖和迁移,并促使其凋亡。

**关键词** 消癥汤;子宫平滑肌瘤;高迁移率蛋白B1;磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B;核因子κB;大鼠

## Effects and Mechanism of Xiaozheng Decoction on the Proliferation and Migration of Uterine Leiomyoma Cells in Rat

WU Yanli, FAN Kai, KONG Shoufang, ZHAO Xiufang, OUYANG Jianghua (Dept. of Gynaecology, Qingdao Hospital of TCM, Shandong Qingdao 266033, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects and mechanism of Xiaozheng decoction on the proliferation and migration of uterine leiomyoma cells in rat. METHODS: Female SD rats were randomly divided into normal control group, model group, chemical medicine positive control group (Mifepristone tablets, 2.25 mg/kg), TCM positive control group (Guizhi fuling capsules, 200 mg/kg), Xiaozheng decoction low-dose, medium-dose and high-dose groups (1.4, 2.8, 5.6 g/kg), with 15 rats in each group. Except for normal control group, other groups were given intramuscular injection of estrogen and progesterone to induce uterine leiomyomas model. On the second day after modeling, rats in administration groups were given relevant medicine intragastrically; normal control group and model group were given constant volume of normal saline intragastrically, once a day, for consecutive 4 months. After last administration, the uterus was removed and its morphology was observed; the uterine coefficient was calculated. Uterine leiomyoma cells or uterine smooth muscle cells were isolated and cultured. The proliferation rate and migration rate of cells were detected by MTT method and cell scratch test; flow cytometry was used to detect the cell apoptosis rate; mRNA expression of HMGB1 were detected by RT-qPCR. The expression of phosphorylated protein kinase B (p-Akt), nuclear factor κB inhibitor α (IκBα) and phosphorylated transforming growth factor β-activated kinase 1 (p-TAK1) were detected by ELISA; the protein expression of HMGB1, phospholipid 3 kinase (PI3K), p-Akt in cytoplasm and nuclear factor κB p65 (NF-κB p65) in nucleus were detected by Western blot assay. RESULTS: Compared with normal control group, the myometrium of the model group was significantly thickened, the number of uterine smooth muscle cells were significantly increased and the sizes were different, the arrangement of muscle fibers in some areas was

<sup>△</sup> 基金项目:山东省重点研发项目(No.ZR201709210139)

\* 医师,硕士。研究方向:妇科肿瘤。电话:0532-83777930。E-mail:763910417@qq.com

<sup>#</sup> 通信作者:主治医师,硕士。研究方向:妇科肿瘤。电话:0532-83777930。E-mail:jianghua\_ouyang@126.com

disordered, the uterine coefficient, and the relative expression of HMGB1 mRNA and protein were increased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, the thickening of uterine myometrium and other symptoms were improved to different extents in Xiaozheng decoction groups and positive control groups; the uterine coefficient, cell proliferation rate, migration rate, mRNA and protein expression of HMGB1, the expression of p-Akt and I $\kappa$ B $\alpha$ , protein expression of PI3K and p-Akt (except for Xiaozheng decoction low-dose group) in cytoplasm were all decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); the cell apoptosis rate, the expression of p-TAK1, protein expression of NF- $\kappa$ B p65 in nucleus were all increased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The effects of Xiaozheng decoction showed a dose-dependent trend. CONCLUSIONS: Xiaozheng decoction can inhibit the proliferation and migration of uterine leiomyoma cells by down-regulating the expression of HMGB1, PI3K and p-Akt, up-regulating the expression of NF- $\kappa$ B p65, so as to promote cell apoptosis.

**KEYWORDS** Xiaozheng decoction; Uterine leiomyoma; HMGB1; PI3K/Akt; NF- $\kappa$ B; Rat

子宫平滑肌瘤是一种由雌激素水平过高引起的平滑肌细胞良性增生,临床表现为下腹部疼痛、月经周期缩短、白带增多、经量增多和经期延长等。子宫平滑肌瘤虽然是一种良性肿瘤,但是如果不及时治疗,还是会对患者身体造成极大的损伤,甚至可能导致不孕<sup>[1]</sup>。目前,除了手术治疗<sup>[2]</sup>外,还有多种中药<sup>[3-4]</sup>和化学药<sup>[5-6]</sup>在实验室和临床上被证实可以有效缓解和治疗子宫平滑肌瘤。与化学药治疗相比,传统的中药因具有副作用少、来源广泛等优点,被临床广泛关注和使用的。

高迁移率族蛋白B1(HMGB1)是一种高度保守的核蛋白,在哺乳动物细胞中普遍表达。有研究指出, HMGB1可通过激活促炎性细胞因子[肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素6(IL-6)等]来参与脓毒症、类风湿性关节炎、结肠炎和急性肺损伤等多种疾病的晚期炎症反应<sup>[7-10]</sup>。此外, HMGB1在子宫平滑肌瘤和子宫内膜癌组织中呈高表达<sup>[11]</sup>,并且可能对子宫平滑肌瘤细胞的增殖具有一定的促进作用<sup>[12]</sup>。有研究表明,干扰HMGB1蛋白的表达可以抑制膀胱癌细胞和血管瘤内皮细胞的增殖,并诱导其凋亡<sup>[13-14]</sup>。

细胞内应激与凋亡反应可以程序性地诱导细胞凋亡或自噬,进而引起多种组织损伤<sup>[15]</sup>。磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路是细胞内重要的信号转导通路之一,可调控包括HMGB1在内的多种蛋白的表达,同时也参与调节细胞内应激与凋亡反应<sup>[16-18]</sup>。核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)可通过调控细胞核内基因的转录,参与细胞对应激等刺激的反应<sup>[19]</sup>。有研究表明,通过直接控制或间接调控PI3K/Akt和NF- $\kappa$ B信号通路的激活,可以有效缓解细胞应激产生的负面影响,如炎症等<sup>[19-20]</sup>。

消癥汤由半枝莲、白花蛇舌草、三棱、莪术、乳香、没药、橘核、皂角刺、海藻、牡蛎、石见穿和荔枝核等药材组成,具有清热利湿、活血止癥的功效<sup>[21]</sup>。在该汤剂中,半枝莲、石见穿和白花蛇舌草是中医常用的抗癌药物,三棱、莪术、乳香、没药可理气行血、活血化瘀,橘核、荔枝核可祛寒止痛、散结消肿,皂角刺可消肿排脓、疏通经络,海藻可化痰消肿、软坚散结,牡蛎可镇惊安神、滋阴补虚<sup>[21]</sup>。前期临床研究发现,消癥汤可有效缩小患者子宫平滑肌瘤大小,可减轻其焦虑以及改善其贫血,且复

发率明显低于化学药米非司酮<sup>[21]</sup>。但消癥汤抑制子宫平滑肌瘤细胞的机制尚未明确。为此,本研究拟基于HMGB1表达以及PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B信号通路初步探讨消癥汤抑制子宫平滑肌瘤细胞增殖和迁移的作用机制,以期为该方在子宫平滑肌瘤临床治疗中的应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Form Steri-Cycle型CO<sub>2</sub>培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司),Axio Vert. A1型倒置光学显微镜(德国Zeiss公司),DYCP-31DN型电泳仪、DYCZ-40D型转膜仪(北京六一生物科技有限公司),Amersham ImageQuant 800型多功能成像仪(美国GE公司),HHM-SY96S型多功能酶标仪(深圳恒美生物技术有限公司),Guava easyCyte HT型流式细胞仪(美国Millipore公司),LightCycler480型荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)分析仪(瑞士Roche公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

米非司酮片(批号43050609,规格25 mg)购自华润紫竹药业有限公司;桂枝茯苓胶囊(批号120805,规格0.31 g)购自江苏康缘药业股份有限公司;MTT、I型胶原酶、0.25%胰酶、胎牛血清(批号分别为M6494、17100017、25200072、10099141)均购自美国Gibco公司;青霉素-链霉素双抗溶液、DMEM/F12培养基(批号分别为J130061、SH30023.01B)均购自美国Hyclone公司;台盼蓝溶液(批号R03130101)购自友康恒业生物科技(北京)有限公司;D-Hanks试液(批号20150504)购自北京索莱宝科技有限公司;膜联蛋白V-别藻蓝蛋白(Annexin V-APC)细胞凋亡检测试剂盒(含结合缓冲液,批号20151218)购自江苏凯基生物技术股份有限公司;二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒、ECL发光液(批号分别为23225、32209)均购自美国Thermo Fisher Scientific公司;脱脂奶粉(批号P0216)购自上海碧云天生物技术有限公司;兔源HMGB1多克隆抗体、小鼠源 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)单克隆抗体、小鼠源PI3K单克隆抗体、兔源磷酸化Akt(p-Akt)多克隆抗体、兔源NF- $\kappa$ B p65多克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的兔源核纤层蛋白B1

(lamin B1)单克隆抗体、HRP标记的免疫球蛋白G二抗(批号分别为 ab18256、ab8226、ab140307、ab183894、ab16502、ab194109、ab6721)均购自英国 Abcam 公司; RNA 提取试剂 SuperfecTRI total RNA isolation reagent(批号 3101-400)购自上海普飞生物技术有限公司; M-MLV 反转录试剂盒(批号 28025013)购自美国 Promega 公司; ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(批号 7E303A9)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; HMGB1 和  $\beta$ -actin 引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司设计、合成; PathScan® Antibody Array 试剂盒(批号 12856S)购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 其余试剂均为实验室常用规格或分析纯, 水为超纯水。

半枝莲、白花蛇舌草、三棱、莪术、乳香、没药、橘核、皂角刺、海藻、牡蛎、石见穿和荔枝核饮片均由青岛市中医医院提供, 经青岛市中医医院主任药师丁月方鉴定均为真品。

### 1.3 实验动物

本研究所用动物为 SPF 级 SD 大鼠, 共 105 只, 3 月龄, 雌性, 体质量为  $(285.0 \pm 16.5)$ g, 由青岛医科大学附属实验动物中心提供, 动物使用许可证号为 SYXK(鲁)2019-0022。本实验方案通过动物伦理委员会批准和审核, 并严格按照青岛医科大学附属实验动物使用和保护的有关规定进行操作。

## 2 方法

### 2.1 消癥汤的配制

按消癥汤处方比例称取半枝莲 15 g、白花蛇舌草 15 g、三棱 10 g、莪术 10 g、(制)乳香 4 g、(制)没药 4 g、橘核 10 g、皂角刺 15 g、海藻 30 g、牡蛎(先煎)30 g、石见穿 15 g 和荔枝核 10 g, 加水 300 mL 煎煮, 煮沸后再文火煎煮 10 min, 收集药液; 药渣再加水 200 mL, 煮沸后再文火煎煮 30 min, 收集药液, 合并后滤过, 将滤液浓缩至 112 mL(以生药总量计质量浓度为 1.5 g/mL), 即得。

### 2.2 分组、造模与给药

将 105 只大鼠随机分为正常对照组、模型组、化学药阳性对照组(米非司酮片 2.25 mg/kg<sup>[22]</sup>)、中药阳性对照组(桂枝茯苓胶囊 200 mg/kg<sup>[23]</sup>)和消癥汤低、中、高剂量组(1.4、2.8、5.6 g/kg, 分别按临床成人用药量的 0.5、1、2 倍换算而得), 每组 15 只。采用肌内注射雌激素和孕激素的方法建立大鼠子宫平滑肌瘤模型<sup>[24]</sup>; 除正常对照组大鼠肌内注射等体积生理盐水外, 其余各组大鼠同时肌内注射己烯雌酚(用大豆油稀释至 0.4 mg/mL)0.1 mL+黄体酮(用大豆油稀释至 10 mg/mL)0.1 mL, 每周 1 次, 连续 15 周。自建模第 2 天起, 各给药组大鼠灌胃相应药液(用生理盐水稀释), 正常对照组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 4 个月。

### 2.3 大鼠子宫形态的观察与子宫系数的检测

末次给药后, 称定各组大鼠体质量后断头处死, 摘

取子宫, 称定子宫质量后, 分别以肉眼和显微镜观察子宫形态, 并计算子宫系数: 子宫系数(mg/g)=子宫质量/体质量。

### 2.4 大鼠子宫平滑肌细胞/子宫平滑肌瘤细胞的培养

参照文献[25-26]方法制备、培养大鼠子宫平滑肌细胞/子宫平滑肌瘤细胞: 在无菌条件下, 取正常对照组大鼠的子宫平滑肌组织或模型组、各给药组大鼠的子宫平滑肌瘤组织, 利用无菌磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2, 下同)冲洗表面 3 次, 取 1~2 cm<sup>3</sup>的组织置于无菌培养皿中, 剪碎成 1 mm<sup>3</sup>的小块, 加入混合消化液(含 0.25% I 型胶原酶和 0.25% 胰酶)3 mL, 在 37 °C 下消化 1 h, 再加入含 20% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基 2 mL 终止消化, 过 200 目细胞筛, 弃去组织块, 以 1 000 r/min 离心 10 min, 取上清液置于 35 mm 培养皿中, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养。收集第 1 代和第 2 代细胞, 用台盼蓝染色, 检测细胞存活情况。

### 2.5 大鼠子宫平滑肌瘤细胞增殖率的检测

采用 MTT 法进行检测。将从各组大鼠体内分离到的且处于对数生长期的子宫平滑肌细胞或子宫平滑肌瘤细胞以  $1 \times 10^5$  个/孔接种于 96 孔板中, 每组设 6 个复孔, 其中 3 个孔直接加入 MTT 溶液 10  $\mu$ L, 另外 3 个孔置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中继续培养 48 h, 于实验终止前加入 MTT 溶液 10  $\mu$ L。加入 MTT 溶液后, 各孔均继续培养 4 h, 再加入二甲基亚砜 150  $\mu$ L 终止反应, 振荡 10 min, 利用酶标仪于 490 nm 波长处测定各孔的吸光度值(A)并计算细胞增殖率: 细胞增殖率=(实验组 48 h 时的 A 值-实验组 0 h 时的 A 值)/(正常对照组 48 h 时的 A 值-正常对照组 0 h 时的 A 值)×100%。

### 2.6 大鼠子宫平滑肌瘤细胞相对迁移率的检测

采用细胞划痕实验进行检测。将从模型组和各给药组大鼠体内分离到的且处于对数生长期的子宫平滑肌瘤细胞以  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板中, 每组设 6 个复孔。将各组细胞置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养, 待细胞贴壁且生长至 70%~80% 时, 用 200  $\mu$ L 移液枪枪头垂直划出“十”字划痕, 用 PBS 轻柔洗去未贴壁的细胞, 加入 DMEM/F12 培养基(不含胎牛血清)适量, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养, 利用倒置光学显微镜对细胞板进行拍照, 记录 0 h 和 24 h 时同一位置的照片, 并记录距划痕边缘一定距离的细胞数量。使用 Image J v1.8.0 软件计算各组细胞的相对迁移率: 相对迁移率(%)=(实验组培养 0 h 时的细胞数量-实验组培养 24 h 时的细胞数量)/(模型组培养 0 h 时的细胞数量-模型组培养 24 h 时的细胞数量)×100%。实验重复 3 次。

### 2.7 大鼠子宫平滑肌瘤细胞凋亡率的检测

采用流式细胞术进行检测。将从模型组和各给药组大鼠体内分离到的且处于对数生长期的子宫平滑肌瘤细胞用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 U/mL

链霉素的DMEM/F12培养基重悬,以 $5 \times 10^5$ 个/孔接种于6孔板中,每组设6个复孔。将各组细胞置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%$   $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养,待细胞贴壁且生长至 $70\% \sim 80\%$ 时,收集细胞至 $15\text{ mL}$ 离心管( $\geq 1 \times 10^6$ 个/管)中,以 $1\ 500\text{ r/min}$ 离心 $5\text{ min}$ ,收集细胞沉淀,用 $1 \times \text{D-Hanks}$ 试液( $\text{pH } 7.2$ )重悬和洗涤2次后,将 $1 \times 10^6$ 个细胞重悬于 $1 \times$ 结合缓冲液中,加入Annexin V-APC试剂 $10\ \mu\text{L}$ ,轻轻混合,在室温( $25\text{ }^\circ\text{C}$ )避光条件下孵育 $15\text{ min}$ ,使用流式细胞仪检测细胞凋亡情况并计算凋亡率(以早期凋亡细胞计)。实验重复3次。

## 2.8 大鼠子宫平滑肌细胞/子宫平滑肌瘤细胞中HMGB1 mRNA表达水平的检测

采用RT-qPCR法进行检测<sup>[27]</sup>。将从各组大鼠体内分离到的且处于对数生长期的子宫平滑肌细胞或子宫平滑肌瘤细胞以 $1 \times 10^6$ 个/孔接种于6孔板中,每组设3个复孔。将各组细胞置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%$   $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养 $24\text{ h}$ 后,收集细胞至 $1.5\text{ mL}$ 无DNA/RNA酶离心管中,提取各组细胞的总RNA,按照反转录试剂盒说明书方法操作,将RNA反转录成cDNA。以上述cDNA为模板,用焦碳酸二乙酯(DEPC)水稀释10倍后进行扩增。扩增体系( $20\ \mu\text{L}$ )包括 $2 \times \text{ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix } 10\ \mu\text{L}$ ,上、下游引物( $10\ \mu\text{mol/L}$ )各 $0.4\ \mu\text{L}$ ,cDNA模板 $5\ \mu\text{L}$ ,加水至 $10\ \mu\text{L}$ 。扩增条件如下: $95\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 $3\text{ min}$ ; $95\text{ }^\circ\text{C}$ 变性 $10\text{ s}$ , $60\text{ }^\circ\text{C}$ 退火 $30\text{ s}$ , $72\text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 $30\text{ s}$ ,共40个循环。HMGB1的上游引物序列为 $5\text{'-GAT-GACAAGCAGCCCTAT-3'}$ ,下游引物序列为 $5\text{'-TCCAT-GCCAATTTACAAC-3'}$ ,产物片段大小为 $481\text{ bp}$ ; $\beta$ -actin的上游引物序列为 $5\text{'-TCAGGTCATCACTATCGGC-AAT-3'}$ ,下游引物序列为 $5\text{'-AAAGAAAGGGTGTA-AAACGCA-3'}$ ,产物片段大小为 $432\text{ bp}$ 。利用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法进行分析,将每组所测得的HMGB1 cDNA拷贝数分别与 $\beta$ -actin相比,再将所得值与正常对照组相比,以两者相对拷贝数比值表示HMGB1 mRNA的相对表达水平。实验重复3次。

## 2.9 大鼠子宫平滑肌瘤细胞中p-Akt、NF- $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ 、磷酸化转化生长因子 $\beta$ 激活激酶1表达水平的检测

利用PathScan<sup>®</sup> Antibody Array试剂盒以酶联免疫吸附测定法进行检测。实验参考文献[28]进行操作:将从模型组和各给药组大鼠体内分离到的且处于对数生长期的子宫平滑肌瘤细胞以 $1 \times 10^6$ 个/孔接种于6孔板中,每组设3个复孔。将各组细胞置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%$   $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养 $24\text{ h}$ 后,收集细胞,加入裂解液提取细胞总蛋白,利用BCA蛋白定量法计算各组样品的总蛋白量;将总蛋白置于玻片上,使用试剂盒内的生物素化细胞应激与凋亡通路相关细胞因子抗体混合物进行孵育,依次加入试剂盒中的Streptavidin-conjugated HRP和LumiGLO<sup>®</sup>化学发光液显影。利用多功能成像仪成像并用Image J v1.8.0软件进行分析,以灰度值表示p-Akt、NF- $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ (I $\kappa$ B $\alpha$ )、磷酸化转化生长因子

$\beta$ 激活激酶1(p-TAK1)的表达水平。实验重复3次。

## 2.10 大鼠子宫平滑肌细胞中HMGB1、PI3K、p-Akt和NF- $\kappa$ B p65蛋白表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。将从各组大鼠体内分离到的且处于对数生长期的子宫平滑肌瘤细胞以 $1 \times 10^6$ 个/孔接种于6孔板中,每组设3个复孔。将各组细胞置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%$   $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养 $24\text{ h}$ 后,收集细胞,加入裂解液提取细胞总蛋白,利用BCA蛋白定量法计算各组样品的总蛋白量,并将蛋白煮沸变性;取变性蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,并用含 $5\%$ 脱脂奶粉的PBST溶液室温封闭 $2\text{ h}$ ;加入HMGB1、PI3K、p-Akt、NF- $\kappa$ B p65、 $\beta$ -actin(用于检测细胞质中蛋白表达的内参)和lamin B1(用于检测细胞核中蛋白表达的内参)一抗(稀释比例均为 $1:2\ 000$ ), $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下孵育过夜;用TBST溶液清洗3次后,加入HRP标记的免疫球蛋白G二抗(稀释比例为 $1:5\ 000$ ),室温孵育 $1\text{ h}$ ;用TBST溶液清洗3次后,加入ECL发光液显影。利用多功能成像仪成像并用Image J v1.8.0软件分析,计算目标蛋白与内参蛋白的灰度值比值,再与模型组进行比较,用以表示目标蛋白的相对表达水平。实验重复3次。

## 2.11 统计学方法

采用SPSS 20.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 大鼠子宫形态与子宫系数变化

正常对照组大鼠子宫肌层正常,子宫平滑肌细胞结构完整、分布均匀。与正常对照组比较,模型组大鼠子宫肌层明显增厚,子宫平滑肌细胞明显增多且大小不一,部分区域的肌纤维排列紊乱;消癥汤中、高剂量组和化学药阳性对照组、中药阳性对照组大鼠子宫肌层未见明显增厚,子宫平滑肌细胞分布较均匀;消癥汤低剂量组大鼠子宫肌层有所增厚,但厚度低于模型组,子宫平滑肌细胞数增加,但少于模型组。

与正常对照组比较,模型组大鼠的子宫系数显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠的子宫系数均显著降低( $P < 0.01$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖趋势。结果见表1。

表1 消癥汤对模型大鼠子宫系数的影响( $\bar{x} \pm s, n=15, \text{mg/g}$ )

Tab 1 Effects of Xiaozheng decoction on uterine coefficient of model rats( $\bar{x} \pm s, n=15, \text{mg/g}$ )

组别	子宫系数	组别	子宫系数
正常对照组	$2.63 \pm 0.33$	消癥汤高剂量组	$2.90 \pm 0.44^{##}$
模型组	$9.27 \pm 0.36^{**}$	化学药阳性对照组	$2.77 \pm 0.35^{##}$
消癥汤低剂量组	$6.90 \pm 0.38^{##}$	中药阳性对照组	$2.79 \pm 0.37^{##}$
消癥汤中剂量组	$4.92 \pm 0.37^{##}$		

注:与正常对照组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,## $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, ## $P < 0.01$

### 3.2 大鼠子宫平滑肌细胞/子宫平滑肌瘤细胞的存活情况

大鼠子宫平滑肌细胞/子宫平滑肌瘤细胞均生长良好,活细胞比例达98%,具体表现为细胞界限清楚,细胞无破裂,平滑肌细胞呈长梭形或长形,平滑肌瘤细胞密集呈梭形或椭圆形,背景中基本无细胞碎片,细胞无污染。结果见图1。

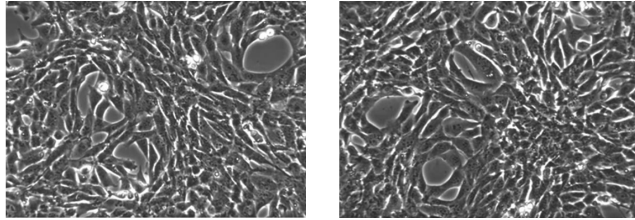
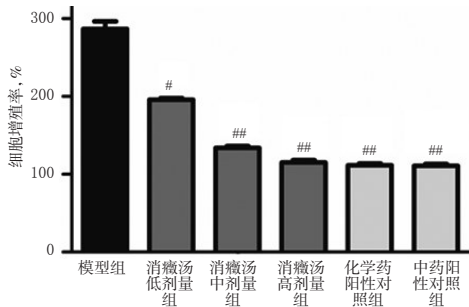


图1 大鼠子宫平滑肌细胞和子宫平滑肌瘤细胞存活情况的显微镜图(台盼蓝染色,×20)

Fig 1 Micrographs of survival of uterine smooth muscle cells and uterine leiomyoma cells in rats (trypan blue staining, ×20)

### 3.3 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞增殖的影响

与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞的增殖率均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖趋势(见图2)。



注:与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$   
Note: vs. model group, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$

图2 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞增殖率的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig 2 Effects of Xiaozheng decoction on proliferation rate of uterine leiomyoma cells in rats ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

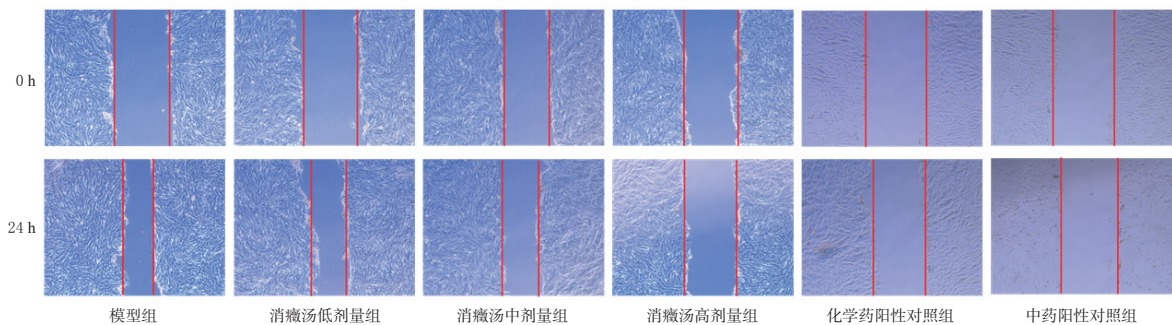


图3 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞迁移影响的显微镜图(×50)

Fig 3 Micrographs of the effects of Xiaozheng decoction on migration ability of uterine leiomyoma cells in rats(×50)

### 3.4 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞相对迁移率的影响

与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞的相对迁移率均显著降低( $P<0.01$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖趋势。结果见表2、图3。

表2 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞相对迁移率的影响( $\bar{x} \pm s, n=6, \%$ )

Tab 2 Effects of Xiaozheng decoction on relative migration rate of uterine leiomyoma cells in rats ( $\bar{x} \pm s, n=6, \%$ )

组别	细胞迁移率	组别	细胞迁移率
模型组	100	消癥汤高剂量组	31.55 ± 2.53 <sup>##</sup>
消癥汤低剂量组	84.15 ± 4.29 <sup>##</sup>	化学药阳性对照组	37.80 ± 2.67 <sup>##</sup>
消癥汤中剂量组	47.90 ± 5.06 <sup>##</sup>	中药阳性对照组	33.65 ± 3.44 <sup>##</sup>

注:与模型组比较,<sup>##</sup> $P<0.01$

Note: vs. model group, <sup>##</sup> $P<0.01$

### 3.5 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞凋亡的影响

与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞的凋亡率均显著升高( $P<0.01$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖趋势。结果见图4、图5。

### 3.6 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中HMGB1 mRNA及其蛋白表达的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中HMGB1 mRNA及其蛋白的相对表达水平均显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中HMGB1 mRNA及其蛋白的相对表达水平均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖趋势。结果见图6~图8。

### 3.7 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞中p-Akt、IκBα、p-TAK1表达水平的影响

与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞中p-Akt、IκBα表达水平均显著降低( $P<0.05$ ),p-TAK1表达水平均显著升高( $P<0.05$ ),且消癥汤的作用有剂量依赖趋势。结果见图9。

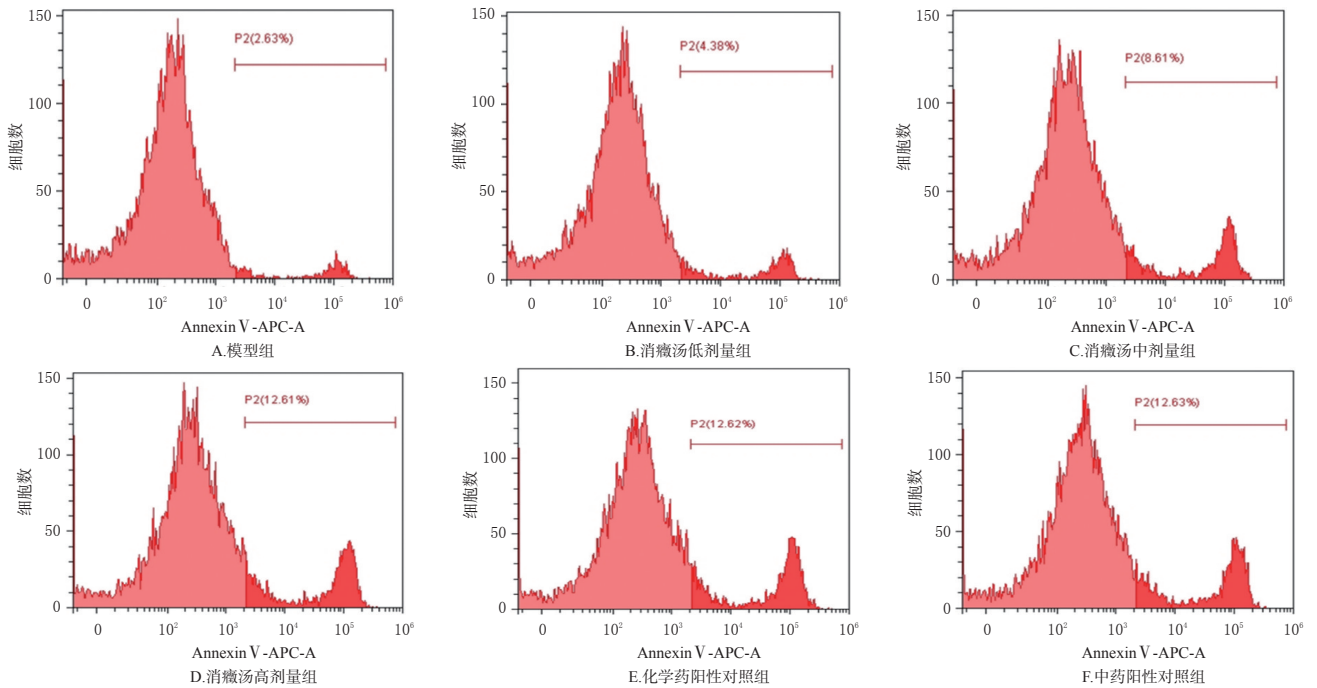
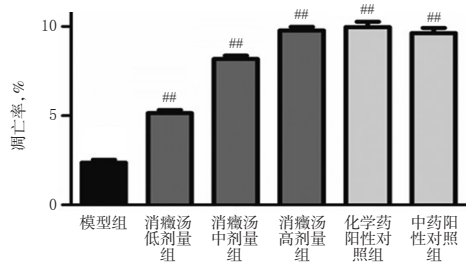


图4 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞凋亡影响的流式图

Fig 4 Flow charts of the effects of Xiaozheng decoction on the apoptosis of uterine leiomyoma cells in rats

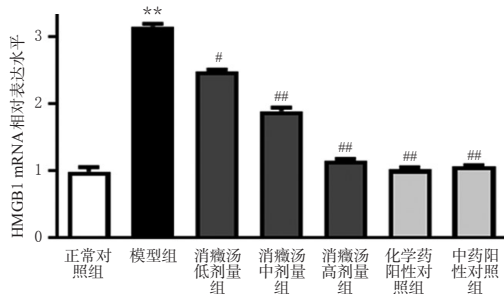


注:与模型组比较,## $P < 0.01$

Note: vs. model group, ## $P < 0.01$

图5 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞凋亡率的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Fig 5 Effects of Xiaozheng decoction on apoptosis rate of uterine leiomyoma cells in rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )



注:与正常对照组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

图6 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中HMGB1 mRNA表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig 6 Effects of Xiaozheng decoction on mRNA expression of HMGB1 in uterine leiomyoma cells of rats ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

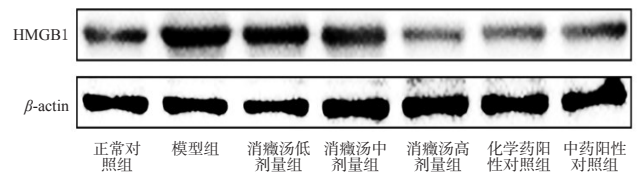
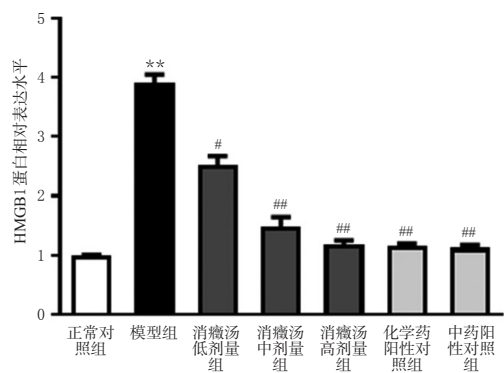


图7 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中HMGB1蛋白表达影响的电泳图

Fig 7 Electrophoretogram of the effects of Xiaozheng decoction on protein expression of HMGB1 in uterine leiomyoma cells of rats

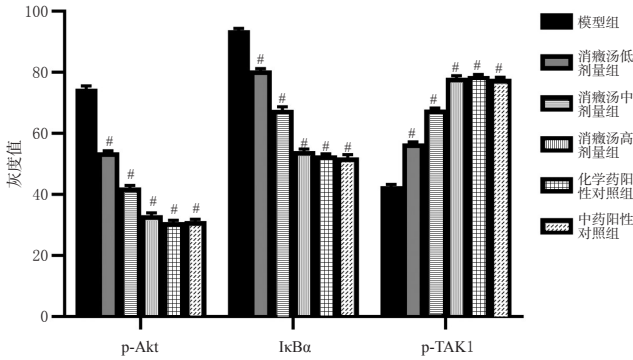


注:与正常对照组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$

Note: vs. normal control group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

图8 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中HMGB1蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig 8 Effects of Xiaozheng decoction on protein expression of HMGB1 in uterine leiomyoma cells of rats ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )



注:与模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$

Note: vs. model group, <sup>#</sup> $P < 0.05$

图9 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞中 p-Akt、IκBα、p-TAK1 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig 9 Effects of Xiaozheng decoction on the expression of p-Akt, IκBα and p-TAK1 in uterine leiomyoma cells of rats ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3.8 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞中 PI3K、p-Akt、NF-κB p65 蛋白表达的影响

与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞质中 PI3K (消癥汤低剂量组除外) 和 p-Akt 蛋白的相对表达量均显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 细胞核内 NF-κB p65 蛋白的相对表达量均显著升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且消癥汤的作用有剂量依赖趋势。结果见图 10、图 11。

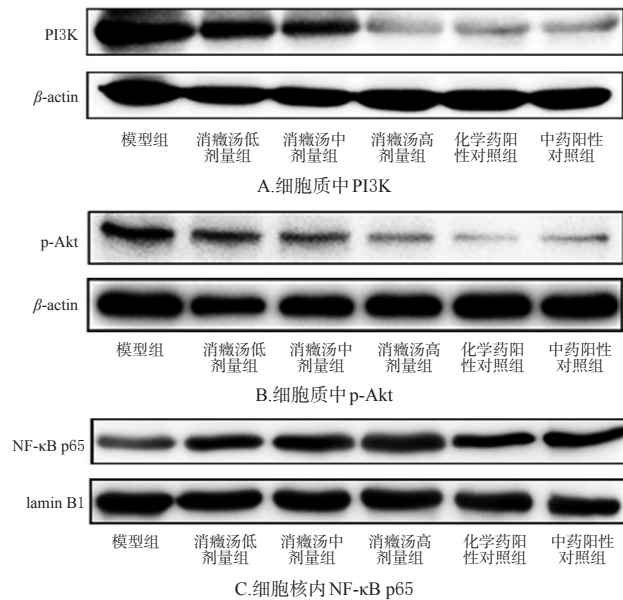
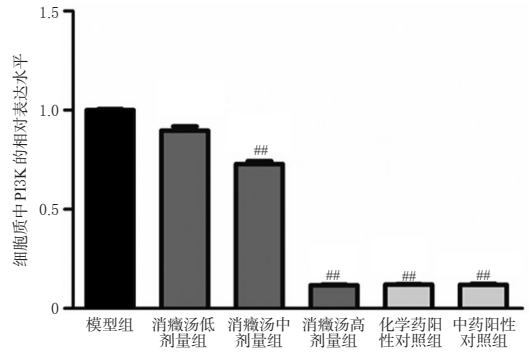
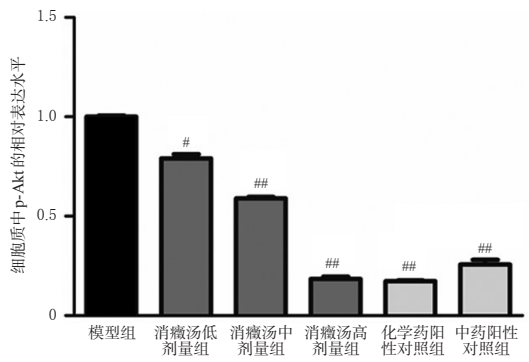


图 10 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中 PI3K、p-Akt 和细胞核内 NF-κB p65 蛋白表达影响的电泳图

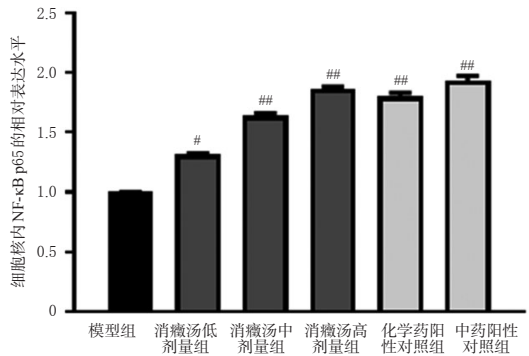
Fig 10 Electrophoretograms of the effects of Xiaozheng decoction on the protein expression of PI3K and p-Akt in cytoplasm and NF-κB p65 in nucleus of uterine leiomyoma cells in rats



A. 细胞质中 PI3K



B. 细胞质中 p-Akt



C. 细胞核内 NF-κB p65

注:与模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$

Note: vs. model group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$

图 11 消癥汤对大鼠子宫平滑肌瘤细胞细胞质中 PI3K、p-Akt 和细胞核中 NF-κB p65 蛋白表达的影响

Fig 11 Effects of Xiaozheng decoction on the protein expression of PI3K and p-Akt in cytoplasm and NF-κB p65 in nucleus of uterine leiomyoma cells in rats

## 4 讨论

子宫平滑肌瘤是女性常见的肿瘤之一,其发生与雌激素水平以及遗传因素有关。子宫平滑肌瘤主要由子宫平滑肌细胞增生形成,当肌瘤直径小于 5 cm 且没有生育要求时多采用药物保守治疗。消癥汤由半枝莲、白花蛇舌草、三棱、莪术、乳香、没药、橘核、皂角刺、海藻、牡蛎、石见穿和荔枝核等药材熬制而成,不仅有活血化瘀、抗肿瘤的功效,而且可以滋阴补血,对子宫平滑肌瘤有

潜在的治疗价值<sup>[21]</sup>。

细胞凋亡是一种正常有序的生理现象,是程序性细胞死亡过程,其涉及一系列调控,比如凋亡相关信号通路的激活、抗凋亡因子活性的抑制以及水解酶的活化等<sup>[29]</sup>。本研究结果显示,与模型组比较,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠的子宫系数和子宫平滑肌瘤细胞增殖率均显著降低,细胞凋亡率均显著升高,表明消癥汤对子宫平滑肌瘤细胞有明显的抑制作用。细胞划痕实验结果显示,消癥汤各剂量组和各阳性对照组大鼠子宫平滑肌瘤细胞的相对迁移率均显著低于模型组,进一步证明了消癥汤对子宫平滑肌瘤细胞具有明显的抑制作用。

已有研究显示, HMGB1 在子宫平滑肌瘤等多种肿瘤组织中呈高表达,抑制其表达,可激活细胞凋亡途径,促进细胞凋亡,表明 HMGB1 具有作为肿瘤标志物以及预后检测指标的潜力<sup>[12-13,27]</sup>。本研究结果显示,消癥汤各剂量组大鼠子宫平滑肌瘤细胞中 HMGB1 mRNA 及其蛋白的相对表达水平均显著低于模型组,且随着消癥汤剂量的升高,对 HMGB1 表达的抑制作用有逐渐增强的趋势,说明消癥汤对子宫平滑肌瘤细胞中 HMGB1 的高表达具有明显的抑制作用,且有一定的剂量依赖趋势。

细胞内促凋亡与应激信号通路的活化是细胞凋亡的途径之一。已有研究发现, HMGB1、NF- $\kappa$ B p65 在子宫内肿瘤组织中呈高表达,且通过下调 HMGB1 相关的 NF- $\kappa$ B p65 或 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路可诱导肿瘤细胞(如肝癌细胞和子宫内肿瘤细胞)的凋亡<sup>[30-31]</sup>。本文利用 PathScan<sup>®</sup> Antibody Array 试剂盒分析了细胞中 p-Akt、I $\kappa$ B $\alpha$ 、p-TAK1 的表达情况,结果发现,与模型组比较,消癥汤各剂量组细胞中 p-Akt、I $\kappa$ B $\alpha$  表达水平均显著降低, p-TAK1 表达水平均显著升高。同时,本文通过 Western blot 法检测了细胞中 PI3K、p-Akt、NF- $\kappa$ B p65 蛋白的表达水平,发现与模型组比较,消癥汤各剂量组细胞质中 PI3K(消癥汤低剂量组除外)、p-Akt 蛋白的相对表达水平均显著降低,细胞核内 NF- $\kappa$ B p65 蛋白的相对表达水平均显著升高,说明消癥汤可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路以及激活 NF- $\kappa$ B 信号通路来促进子宫平滑肌瘤细胞的凋亡。

综上所述,消癥汤可能通过下调 HMGB1、PI3K、p-Akt 表达,上调 NF- $\kappa$ B p65 表达,进而抑制子宫平滑肌瘤细胞的增殖和迁移,并促使其凋亡。

## 参考文献

[1] 张丹丹,卢美松.子宫肌瘤与生育及妊娠安全的相关问题[J].中国实用妇科与产科杂志,2019,35(8):864-869.  
[2] 王晓燕.腹腔镜子宫肌瘤剔除术围术期舒适护理的效果[J].河南外科学杂志,2020,26(3):181-182.

[3] 郭士琼.四君子汤合桂枝茯苓丸加减治疗子宫肌瘤的效果观察及有效率影响评价[J/OL].临床医药文献电子杂志,2020,7(26):133,150[2021-03-28].[http://med.wanfangdata.com.cn/Paper/Detail/PeriodicalPaper\\_lcydydzz-202026085](http://med.wanfangdata.com.cn/Paper/Detail/PeriodicalPaper_lcydydzz-202026085). DOI:10.16281/j.cnki.jocml.2020.26.085.  
[4] 曾涛,章蕴毅.抗子宫肌瘤中药提取物 XLS 的抗炎活血作用[J].中国临床药理学杂志,2011,20(3):141-144.  
[5] 毛惠杰,周丽,杨乐.米非司酮联合宫瘤消胶囊治疗子宫肌瘤的效果分析[J].心理月刊,2020,15(11):188.  
[6] 马陈美,郎妙双,邵卓.米非司酮治疗子宫肌瘤的疗效及对患者外周血 microRNA-18a 和 microRNA-200a 水平的影响[J].中国妇幼保健,2020,35(9):1733-1735.  
[7] 马兴龙,姜阳,李佳芯,等.脓毒症患者外周血 TNF- $\alpha$ 、HMGB-1、TF 和 vWF 动态变化及临床意义[J].实用医学杂志,2018,34(4):630-633.  
[8] 米亚英,杨丽丽,孙利平. HMGB1 及 TLR2、TLR4 在类风湿关节炎中的表达及意义[J].基础医学与临床,2013,33(4):476-479.  
[9] 葛文松,沈天天,周韵澜,等. HMGB1/TLR2/NF- $\kappa$ B 在溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中的表达及意义[J].中华保健医学杂志,2010,12(6):452-455.  
[10] 欧阳军,武礼琴,彭心宇,等.创伤性急性肺损伤后高迁移率族蛋白 B1 的临床相关性研究[J].中华创伤杂志,2011,27(12):1123-1126.  
[11] 吴佳捷. HMGB1 在子宫内肿瘤及子宫肌瘤中的表达及其临床意义[D].长沙:中南大学,2008.  
[12] 谢日学,吴佳捷,周翠香,等.高迁移率族蛋白 1 在子宫肌瘤中的表达及临床意义[J].中国现代医学杂志,2011,21(5):608-611.  
[13] 王磊,雷永华,高闫尧,等. HMGB1 对膀胱癌细胞增殖和凋亡的影响及机制[J].临床和实验医学杂志,2018,17(22):2404-2407.  
[14] 姚佐懿,周翔宇,郭科,等.抑制 HMGB1 表达促进血管瘤内皮细胞凋亡的机制研究[J].中国病理生理杂志,2019,35(3):411-417.  
[15] 郑璐,韩冰,汤雷,等.内质网应激诱导的自噬对肝细胞凋亡的影响[J].中国病理生理杂志,2019,35(2):332-339.  
[16] 吴然然,吴佳捷. RNA 干扰抑制 HMGB1 基因表达对子宫内肿瘤的增殖抑制作用及其分子机制[J].中南大学学报(医学版),2014(7):673-680.  
[17] 杨宾,董明,杨得振,等. TLR2 通过 PI3K/Akt 和 NF- $\kappa$ B 通路促进结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭[J].检验医学与临床,2019,16(21):3086-3089.  
[18] 何卫,娄振凯,王兵,等.白藜芦醇修复内皮细胞氧化损伤抑制促血栓分子表达的作用和机制[J].中国组织工程研究,2019,23(3):464-469.  
[19] 颜春鲁,李盛华,安方玉,等.右归丸通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对膝骨关节炎模型鼠软骨组织保护作用的研究[J].中国骨质疏松杂志,2020,26(3):318-322,

# 基于NF- $\kappa$ B信号通路探讨氯化镧抑制高磷致血管平滑肌细胞钙化的机制<sup>A</sup>

谷超<sup>1\*</sup>,赵璐璐<sup>1</sup>,李刚<sup>1</sup>,高原<sup>1</sup>,王胜男<sup>1</sup>,李晓佳<sup>1</sup>,元晓荣<sup>1</sup>,王琪雯<sup>1</sup>,包勒朝鲁<sup>2</sup>,韩瑞兰<sup>1#</sup>(1.内蒙古医科大学药学院,呼和浩特 010110;2.内蒙古医科大学蒙医药协同创新中心,呼和浩特 010110)

中图分类号 R692.5;R589.5;R965

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2021)20-2458-09

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2021.20.05



**摘要** 目的:探讨氯化镧对高磷致血管平滑肌细胞(VSMCs)钙化的抑制作用及其机制。方法:在MTT法筛选氯化镧作用浓度及时间的基础上,将人VSMCs分为对照组(1 mmol/L磷溶液)、氯化镧高浓度对照组(1 mmol/L磷溶液+60  $\mu$ mol/L氯化镧)、模型组(3 mmol/L磷溶液)、氯化钠组(3 mmol/L磷溶液+180  $\mu$ mol/L氯化钠)、核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路激动剂+氯化镧组(3 mmol/L磷溶液+1  $\mu$ g/mL脂多糖+60  $\mu$ mol/L氯化镧)、阳性对照组(3 mmol/L磷溶液+100  $\mu$ mol/L焦磷酸钠)和氯化镧低、中、高浓度组(3 mmol/L磷溶液+15、30、60  $\mu$ mol/L氯化镧),采用茜素红S染色法和Von Kossa染色法检测经磷溶液作用6 d、相应药物作用2 d后各组细胞的钙化情况,采用Western blot法检测细胞中肿瘤坏死因子受体相关蛋白6(TRAF6)、核因子 $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ (I $\kappa$ B $\alpha$ )、NF- $\kappa$ B p65、骨形态发生蛋白2(BMP-2)、平滑肌22 $\alpha$ (SM22 $\alpha$ )、Runt相关转录因子2(Runx2)蛋白的表达水平,采用实时荧光定量聚合酶链反应法检测细胞中TRAF6、I $\kappa$ B $\alpha$ 、BMP-2、SM22 $\alpha$ 、Runx2 mRNA的表达水平。结果:与对照组比较,氯化镧高浓度对照组细胞没有出现钙化,模型组和氯化钠组细胞均出现明显钙化且光密度(OD)值均显著升高( $P<0.01$ ),细胞质中TRAF6、BMP-2蛋白及其mRNA的表达水平和Runx2 mRNA的表达水平以及细胞核中NF- $\kappa$ B p65、Runx2蛋白的表达水平均显著升高( $P<0.01$ ),细胞质中I $\kappa$ B $\alpha$ 、SM22 $\alpha$ 蛋白及其mRNA的表达水平和NF- $\kappa$ B p65蛋白的表达水平均显著降低( $P<0.01$ )。与模型组比较,氯化镧各浓度组和阳性对照组的钙化均明显改善,OD值均显著降低,上述蛋白及mRNA的表达水平均不同程度逆转( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。与氯化镧高浓度组比较,NF- $\kappa$ B信号通路激动剂+氯化镧组细胞出现明显钙化,OD值显著升高,细胞质以及细胞核中上述指标均显著逆转( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结论:氯化镧可抑制高磷诱导的VSMCs钙化,其机制可能与抑制NF- $\kappa$ B信号通路活化有关。

**关键词** 氯化镧;高磷;血管钙化;核因子 $\kappa$ B信号通路;人血管平滑肌细胞

- 327.
- [20] 陈谱,阮安民,周俊,等.基于NF- $\kappa$ B信号通路探讨芍药苷对LPS诱导的人软骨细胞炎症及退变的作用机制[J].北京中医药大学学报,2020,43(11):903-909.
- [21] 倪小平,马大正,雷丽红.消癥汤治疗子宫肌瘤患者130例临床观察[J].中医杂志,2012,53(7):588-590.
- [22] 杜鹏辉,丁虹.米非司酮腹腔内给药对子宫肌瘤模型大鼠的干预作用[J].医药导报,2007,26(12):1401-1405.
- [23] 蒋秋燕,冯春泉,唐玉云,等.消癥煎膏直肠给药对大鼠子宫肌瘤细胞凋亡的研究[J].广西中医学院学报,2008,11(2):4-6.
- [24] 李玲,叶伟成.瘤净片对雌孕激素造模大鼠内分泌-免疫调节作用的研究[J].上海第二医科大学学报,2001,21(4):320-322.
- [25] 范晶晶.小鼠子宫平滑肌细胞的分离培养及鉴定[J].潍坊学院学报,2012,12(4):64-66.
- [26] 张丽君,贺银燕,徐谦,等.含消癥丸大鼠血清对体外培养人子宫肌瘤细胞增殖、凋亡作用的研究[J].中国中医药信息杂志,2005(8):27-28.
- [27] 刘娟,许海波,向天新,等.HMGB1在急性肝衰竭大鼠中的表达及作用[J/OL].中国肝脏病杂志(电子版),2014(4):57-62[2020-05-28]. <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/zggzbzz2014040024>. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2014.04.016.
- [28] GAO W, HU Y, ZHANG Z, et al. Knockdown of EIF3C promotes human U-2OS cells apoptosis through increased CASP3/7 and Chk1/2 by upregulating SAPK/JNK[J]. Onco Targets Ther, 2019(12):1225-1235.
- [29] 赵毅,王强,赵滢,等.胃肠道间质瘤PI3K-Akt信号转导通路介导的细胞凋亡相关因子的检测及其意义[J].现代肿瘤医学,2010,18(8):1590-1595.
- [30] 武超.黄芪皂苷II通过调控HMGB1-PI3K/AKT/mTOR-溶酶体功能增加顺铂诱导的人肝癌细胞凋亡[D].合肥:安徽医科大学,2016.
- [31] 刘桂云,滕学芹,于辉.HMGB1、NF- $\kappa$ B p65、MMP2在子宫内腺癌组织中的表达及相关性研究[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2014,23(6):538-543.

<sup>A</sup> 基金项目:内蒙古自治区科技重大专项课题(No.zdx201805)

\* 硕士研究生。研究方向:药理学。E-mail:1264524137@qq.com

# 通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:中蒙药药理学。

E-mail:980144634@qq.com

(收稿日期:2021-04-20 修回日期:2021-08-25)

(编辑:邹丽娟)