文章编号:1000-5404(2010)24-2599-05

论著

人参总皂甙对白血病细胞KG1α增殖、凋亡的影响

刘晓岩,李 静,王建伟,姜 蓉,陈地龙 (400016 重庆,重庆医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室,干细胞与组织工程研究室)

【摘要】 **目的** 探讨人参总皂甙(total saponins of panax ginseng,TSPG)对人急性髓系白血病细胞株KG1α增殖的影响。**方法** 取对数生长期的KG1α细胞,调整密度为5×10^8/L,空白对照组予以常规培养;人参总皂甙TSPG组分别加入0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 g/L TSPG。采用MTT比色法测定细胞存活率,瑞氏染色法以及光电镜观察细胞形态学改变。流式细胞仪测定细胞周期分布的变化以及细胞的凋亡率。免疫细胞化学的方法检测细胞中β-catenin、NF-κB p65蛋白表达的变化。RT-PCR半定量检测细胞中β-catenin mRNA和NF-κB p65 mRNA水平的变化。**结果** 人参总皂甙TSPG在体外对KG1α增殖具有明显抑制作用。在0.1~0.8 g/L TSPG浓度范围内,其抑制作用呈浓度依赖性,在浓度0.4 g/L处达到细胞的半数抑制率,且在48 h抑制率达到高峰。0.4 g/L TSPG作用48 h后,可见细胞分散生长,数量明显减少;细胞明显分化或凋亡,产生核分裂象,胞质中产生凋亡小体以及空泡;与对照组相比,加药组KG1α细胞周期分布无明显变化($P>0.05$);与对照组相比,加药组细胞凋亡率显著增高,其改变具有统计学意义($P<0.05$);与对照组相比,加药组细胞内β-catenin蛋白因子表达降低其表达区域由胞核向胞膜转移,NF-κB p65因子的表达也明显减弱其表达区域由胞核向胞膜转移;与对照组相比,加药组β-catenin和NF-κB p65 mRNA的水平降低,其改变具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** TSPG可抑制KG1α细胞增殖诱导细胞凋亡,且TSPG抑制KG1α细胞增殖的作用机制可能与其抑制β-catenin及NF-κB p65蛋白表达,降低β-catenin和NF-κB p65 mRNA的水平有关。

【关键词】 人参总皂甙;KG1α细胞;增殖抑制;凋亡
【中图法分类号】 R285.5;R730.23;R733.7 【文献标志码】 A

Total saponins of panax ginseng suppress proliferation and improve apoptosis of leukemia KG1α cells

Liu Xiaoyan, Li Jing, Wang Jianwei, Jiang Rong, Chen Dilong (Department of Histology and Embryology, Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the effect of total saponins of panax ginseng (TSPG) on the proliferation of acute myelocytic leukemia KG1α cells. **Methods** The density of KG1α cells with logarithmic phase were regulated to 5×10^8/L and incubated with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8 g/L TSPG respectively. The conventional culture was carried out in the blank control group. The effects of TSPG on the proliferation of KG1a cells were examined by MTT assay. Morphological alterations of KG1a cells were observed by light microscopy and electron microscopy. The effect of TSPG on KG1a cell cycle and apoptosis were determined by flow cytometry (FCM). Expression of β-catenin and NF-κB p65 protein was detected by immunohistochemistry. Expressions of β-catenin and NF-κB p65 mRNA were detected by RT-PCR. **Results** TSPG inhibited KG1α cells proliferation significantly *in vitro* in a dose-dependent manner at range of 0.1 to 0.8 g/L. And the efficiency reached its peak at the dose of 0.4 g/L for 48 h. Compared with the blank control, apoptotic cells and morphologic changes were found under microscope after the cell were treated with 0.4 g/L TSPG for 48 h. The analysis of cell cycle showed that there was no significant change compared with that of the blank control ($P>0.05$). The apoptotic rate of cells was significantly raised compared with that of the blank control ($P<0.05$). The expressions of β-catenin and NF-κB p65 proteins were decreased in KG1α cells. The levels of

【基金项目】 国家自然科学基金(30873406)
【通信作者】 陈地龙,电话:(023)68485614,E-mail:chendilong@21cn.com

mRNA of β-catenin and NF-κB p65 were declined compared with the blank control ($P<0.05$). Conclusion TSPG inhibits the proliferation of KG1α cells by inducing apoptosis, probably by the mechanism of inhibiting the expressions of β-catenin and NF-κB at protein and mRNA levels.

[Key words] total saponins of panax ginseng; KG1α cells; inhibit the proliferation; apoptosis

Supported by the National Science Foundation of China (30873406). Corresponding author: Chen Dilong, Tel: 86-23-68485614, E-mail: chendilong@21cn.com

人参是祖国医学的补气要药,人参总皂甙(total saponins of panax ginseng,TSPG)是从人参中提取出的重要成分,具有抗肿瘤作用[1]。采用现代血液学方法已证明:TSPG既能促进$CD34^+$造血干祖细胞增殖分化及其信号转导,又能抑制白血病细胞增殖并诱导其凋亡和向较成熟细胞分化[2-3]。目前,化、放疗对急性髓系白血病(acute myelocytic leukemia,AML)具有较好的治疗效果,但由于其毒副作用较大,故近年来肿瘤的生物治疗日益得到医学研究者的重视。KG1α是人AML细胞株KG1的变异体,它高表达CD34抗原,且对一般化疗药物不敏感。本研究通过体外实验,以急性髓系白血病细胞株为研究对象,观察TSPG能否抑制人急性髓系白血病细胞株KG1α的生长,并初步探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

KG1α细胞由重庆医科大学临床检验系提供。纯度为98%的TSPG,由重庆中药研究所惠赠。MTT(美国Sigma公司),β-catenin抗体(R&D system),NF-κB抗体(中杉试剂公司),Annexin-V双染法测凋亡试剂盒(南京凯基生物公司),DMSO(美国SANTA公司),RPMI1640培养基(HyClone公司),胎牛血清(杭州四季青公司),DEPC(罗氏公司),Trizol(北京天根公司),*Taq*酶(威斯腾生物公司),DNase free(威斯腾生物公司),琼脂糖(TaKaRa公司),溴乙啶(EB)(北京天根公司)Tripure reagent (ROCHE公司),M-Mulv Reverse Transcriptase (Promega公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 KG1α细胞以5×10^8/L接种于RPMI1640培养液含15%的胎牛血清,100 U/ml青霉素,100 g/ml链霉素。在37 ℃,5%的CO_2饱和湿度下常规培养,每隔2~3天传代1次。

1.2.2 细胞增殖MTT比色实验 取对数生长期的KG1α细胞,调整密度为5×10^8/L,分为2组:空白对照组予以常规培养;人参总皂甙TSPG组分别加入0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 g/L TSPG;各组细胞以200 μl的培养体系接种于96孔板,每个浓度分设8个复孔。分别于培养12、24、48、72 h后,每孔加入5 g/L MTT 20 μl,于37 ℃、体积分数为5%的CO_2饱和湿度培养4 h,1 500 r/min离心5 min,弃上清,加入DMSO 150 μl,充分振荡溶解甲瓒颗粒后,用酶标仪(波长570 nm)测定各孔光密度值[D(570)],按公式计算细胞生长抑制率(IR),实验重复3次。

抑制率=[无药组D(570)-用药组D(570)]/无药组D(570)×100%

1.2.3 细胞形态学观察 选择半数抑制浓度的所筛选TSPG处理KG1α细胞,药物最佳作用时间在倒置显微镜下观察实验组KG1α细胞形态,与未加药对照组细胞进行对比并拍照。

1.2.4 瑞氏染色实验 取对数生长期的KG1α细胞培养进行诱导分化实验。对照组:常规培养;TSPG组:培养体系中加入TSPG(终浓度为0.4 g/L)。在培养48 h后取样,经细胞离心涂片后进行瑞氏染色,光镜下观察细胞形态。

1.2.5 KG1α细胞的超微结构改变观察 取对数生长期的KG1α细胞进行分组培养,对照组:常规培养;TSPG组:培养体系中加入TSPG(终浓度为0.4 g/L);在培养48 h后取样,经2.5%戊二醛固定,转入电镜常规超薄切片制备,H-600型透射电镜观察与摄片。观察KG1α细胞超微结构的变化,包括核内染色质、细胞质内细胞器、特殊颗粒、血红蛋白、细胞凋亡等情况。

1.2.6 流式细胞周期测定 取对数生长期的KG1α细胞,接种于6孔板中,使细胞终浓度为1×10^5/ml。对照组:常规培养;TSPG组:加TSPG(终浓度为0.4 g/L)。置37 ℃含5% CO_2的孵箱中培养。在培养48 h后取各组细胞,用0.02 mol/L PBS(pH 7.2)洗涤细胞2次,70%冷乙醇固定,4 ℃存放。测定前去除固定液,加入RNA酶工作液和碘化丙啶,4 ℃染色处理30 min,过300目滤网后上流式细胞仪,每例标本测定3×10^4个细胞,数据经计算机处理,分析得出细胞周期各时相比例。

1.2.7 Annexin-V双染法测定细胞凋亡 取对数生长期的KG1α细胞,接种于6孔板中,使细胞终浓度为1×10^5/ml。对照组:常规培养;TSPG组:加TSPG(终浓度为0.4 g/L)。置37 ℃含5% CO_2的孵箱中培养。在培养48 h后取各组细胞,用0.02 mol/L PBS(pH 7.2)洗涤细胞2次,

1.2.8 免疫细胞化学测定β-catenin和NF-κB p65蛋白 取对照组和经0.4 g/L TSPG诱导48 h的KG1α细胞,经PBS洗涤后离心甩片,以小鼠抗人β-catenin单克隆抗体和小鼠抗人NF-κB p65单克隆抗体进行免疫细胞化学S-P法染色。

1.2.9 RT-PCR半定量测定β-catenin和NF-κB p65 mRNA水平的表达 收集对照组和经0.4 g/L TSPG诱导48 h的KG1α细胞,用Trizol提取总RNA并计算其浓度,按说明书进行逆转录反应,产物-20 ℃保存。逆转录cDNA合成,按M-Mulv Reverse Transcriptas说明书步骤进行。β-catenin(231 bp):上游引物5′-GCTGATTTGATGGAGTTGGACATGG-3′,下游引物5′-

GCCAAACGCTGGACATTAGTGG-3′。β-actin(875 bp):上游引物 5′-GACAACGGCTCCGGCATGTG-3′,下游引物 5′-TGAGGATGCCTCTCTTGCTC-3′。PCR 反应条件:94 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共 35 个循环。PCR 扩增产物电泳:分别取 PCR 产物 β-catenin 5 μl、β-actin 5 μl 和上样缓冲液 2 μl 混匀,取 10 μl 进行 2.0% 琼脂糖凝胶电泳 40 min,紫外灯下观察、拍照,并用机内 UVI-Map 软件进行图像分析,各泳道 β-catenin 与 β-actin 的光密度之比作为 β-catenin mRNA 的相对含量。NF-κB p65(289 bp):上游引物 5′-CGCGGATCCTGGCTCGTCTGTAGTGCACG-3′,下游引物:5′-CCCAAGCTTTAGAAGCCATCCCGGCAGTC-3′。β-actin:上游引物 5′-GACAACGGCTCCGGCATGTG-3′,下游引物 5′-TGAGGATGCCTCTCTTGCTC-3′。PCR 反应条件:94 ℃ 30 s,59 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,共 30 个循环。PCR 扩增产物电泳:分别取 PCR 产物 NF-κB p65 5 μl、β-actin 5 μl 和上样缓冲液 2 μl 混匀,取 10 μl 进行 2.0% 琼脂糖凝胶电泳 40 min,紫外灯下观察、拍照,并用机内 UVI-Map 软件进行图像分析,比较分析各泳道 NF-κB p65 与 β-actin 的光密度之比,作为 NF-κB p65 mRNA 的相对含量。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件对所得数据进行统计处理,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验。

2　结果

2.1　MTT 测定 TSPG 对 KG1α 细胞增殖抑制作用

TSPG 在体外对 KG1α 增殖具有明显抑制作用。在 0.1 ~ 0.8 g/L TSPG 浓度范围内,其抑制作用呈浓度依赖性,在浓度为 0.4 g/L,且在 48 h 时达到半数抑制率,见表 1、2。

表 1　不同浓度 TSPG 作用 72 h 对 KG1α 细胞体外增殖的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	浓度(g/L)	D(570)	抑制率
对照组		2.05 ± 0.15	-
TSPG 组	0.1	2.00 ± 0.09	0.024 ± 0.043
	0.2	1.68 ± 0.19	0.181 ± 0.056
	0.4	0.87 ± 0.27[a]	0.576 ± 0.048
	0.6	0.28 ± 0.09[a]	0.863 ± 0.039
	0.8	0.13 ± 0.02[a]	0.937 ± 0.066

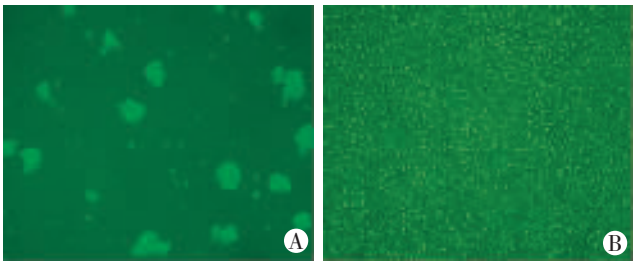
a:$P<0.05$,与正常对照组比较

表 2　0.4 g/L TSPG 作用不同时间对 KG1α 细胞体外增殖的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

时间(h)	D(570)	抑制率
0	1.03 ± 0.10	-
12	1.01 ± 0.20	0.019 ± 0.021
24	0.90 ± 0.23	0.126 ± 0.032
48	0.42 ± 0.09[a]	0.592 ± 0.041
72	0.36 ± 0.09[a]	0.651 ± 0.053

2.2　细胞形态观察

对照组 KG1α 细胞多为成团聚集生长,细胞团大小不一(图 1A)。经 TSPG(0.4 g/L)作用 48 h 后,可见 KG1α 细胞呈分散生长,其数量明显减少,体积较大的细胞散在分布,细胞周边有较多细胞碎片(图 1B)。

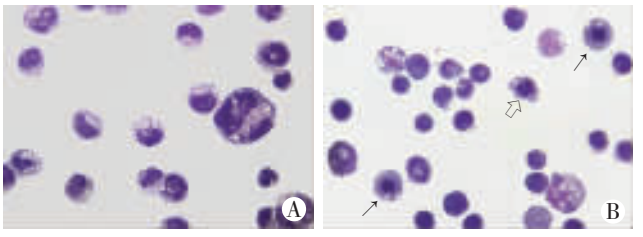


A:对照组;B:0.4 g/L TSPG 组

图 1　倒置显微镜观察 2 组 KG1α 细胞的形态变化　(×400)

2.3　瑞氏染色

对照组 KG1α 细胞形态原始,体积较大,大小不等,细胞质灰蓝无明显颗粒,少数有空泡,胞核不规则,核浆比例大,核染色质细致疏松,核仁明显,多为 1 ~ 3 个(图 2A)。经 TSPG(0.4 g/L)诱导 48 h 后,KG1α 细胞体积明显缩小,部分胞核体积缩小,核浆比例减小,同时可见分叶核(图 2B)。

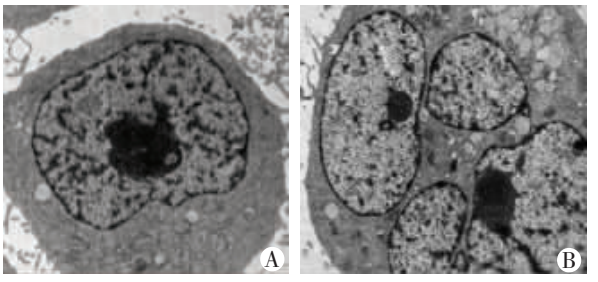


A:对照组;B:0.4 g/L TSPG 组　↑:胞核体积缩小,核浆比例减小;⇧:分叶核细胞

图 2　2 组 KG1α 细胞的瑞氏染色观察　(×400)

2.4　TSPG 诱导后 KG1α 细胞超微结构的观察

对照组 KG1α 细胞为较原始的细胞,细胞体积较大,核幼稚、核仁清楚、常染色质丰富,异染色质少、细胞质内有一定数量线粒体,基质电子密度较高,核糖体丰富,糖原含量低,核浆比例大(图 3A)。经 TSPG(0.4 g/L)诱导 2 d 后,核内异染色质增多,电子密度增加,核仁减小或消失,部分细胞呈现细胞质空泡化,核碎裂等细胞凋亡的表现,还有部分细胞出现分叶核(图 3B)。



A:对照组;B:0.4 g/L TSPG 组

图 3　2 组 KG1α 细胞的透射电镜观察　(×6 000)

2.5　TSPG对KG1α细胞增殖周期的影响

0.4 g/L TSPG作用48 h后，TSPG组各期与空白对照组相比，并无统计学差异（$P>0.05$）。见表3。

表3　TSPG对KG1α细胞周期的影响（%，$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

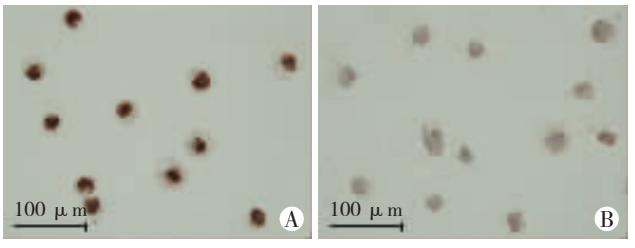
组别	G_0/G_1	G_2+M	S
对照组	49.71±1.13	15.91±0.66	34.39±0.85
0.4 g/L TSPG	52.92±0.07	14.03±0.64	33.14±0.21

2.6　TSPG诱导KG1α细胞的凋亡作用

采用Annexin-V双染法测早期凋亡细胞比例，经统计学分析，对照组的凋亡率明显低于0.4 g/L TSPG处理48 h组[(8.49±0.66) *vs* (23.56±0.99)，$P<0.05$]。提示TSPG的增殖抑制作用可能是通过诱导KG1α细胞凋亡来实现的。

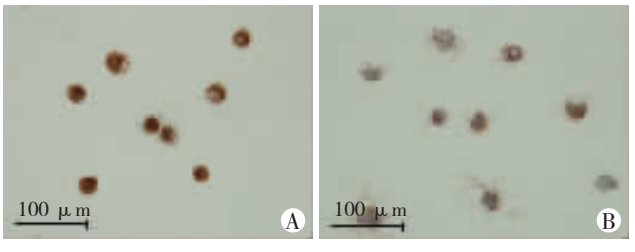
2.7　免疫细胞化学实验测定β-catenin蛋白和NF-κB p65因子的表达

对照组的蛋白主要定位在胞核，且蛋白表达量较高，0.4 g/L TSPG处理细胞48 h后，β-catenin表达量下降，细胞中β-catenin在胞核中逐渐减少，胞浆中β-catenin表达比例逐渐增大，且蛋白总量降低明显，见图4。同时与对照组相比，经0.4 g/L TSPG诱导后的KG1α细胞，NF-κB p65蛋白的表达也明显减弱，细胞中NF-κB p65在胞核中逐渐减少，胞浆中NF-κB p65表达比例逐渐增大，且蛋白总量降低明显见图5。



A：对照组；B：0.4 g/L TSPG组

图4　2组KG1α细胞中β-catenin蛋白表达的变化　(S-P)

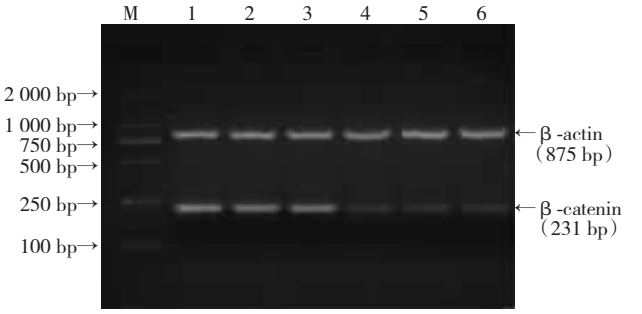


A：对照组；B：0.4 g/L TSPG组

图5　2组KG1α细胞中NF-κB p65蛋白表达的变化　(S-P)

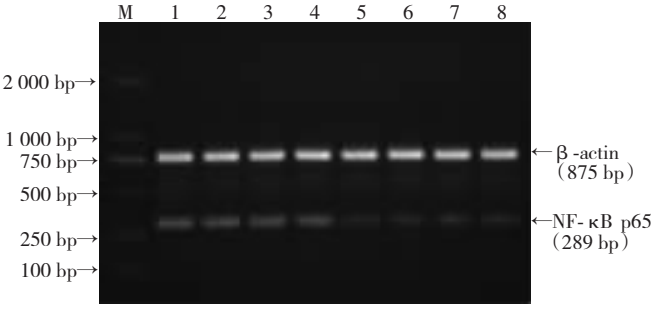
2.8　RT-PCR测定β-catenin mRNA和NF-κB p65 mRNA的表达

经统计学分析，对照组β-catenin mRNA的表达水平明显高于0.4 g/L TSPG处理48 h组[(0.89±0.05) *vs* (0.40±0.01)，$P<0.05$]。对照组NF-κB p65 mRNA的表达水平明显高于0.4 g/L TSPG处理48 h组[(0.82±0.03) *vs* (0.39±0.02)，$P<0.05$]。见图6、7。



M：标准；1～3：对照组；4～6：0.4 g/L TSPG处理组

图6　RT-PCR测定β-catenin mRNA的表达



M：标准；1～4：对照组；5～8：0.4 g/L TSPG处理组

图7　RT-PCR测定NF-κB p65 mRNA的表达

3　讨论

人参是祖国传统医学的“补气”要药。已有研究证实人参有效成分对白血病细胞具有增殖抑制的作用[4-5]。人参总皂甙TSPG是人参中主要的有效药物成分。我们前期工作研究表明：TSPG既能促进$CD34^+$造血干祖细胞增殖分化及其信号转导[6-7]，又可以抑制人慢性髓系白血病细胞K562的增殖，并向成熟方向分化[8-10]。

KG1α是人急性髓系白血病（AML）细胞株KG1的变异体，有研究表明$CD34^+$ $CD38^-$的KG1α细胞是KG1α细胞的早期阶段。同时Bonnet等研究发现只有细胞免疫表型为$CD34^+$ $CD38^-$的白血病细胞才可在NOD/SCID小鼠体内形成人源白血病，故将此类细胞称之为白血病干细胞。故本实验采用了人急性髓系白血病细胞株CD34 CD38 KG1α为研究对象，研究TSPG对其增殖分化所起作用如何。

本实验采用了MTT和形态学方法，较肯定地证明了一定浓度的TSPG可抑制人急性髓系白血病细胞株KG1α的增殖，诱导细胞凋亡，从而发挥抗肿瘤作用，并表现出一定的量效和时效关系。0.4 g/L为最适作用浓度，48 h为最适作用时间。提示TSPG可明显抑制KG1α细胞的生长增殖。

近年的研究认为肿瘤成因之一是由于细胞周期紊

乱所致,周期失控,细胞无限增长,最终导致细胞恶性转化和肿瘤形成。本实验采用流式细胞仪检测结果显示:与空白对照组相比,TSPG 组各期细胞数量并无统计学差异。因此,我们认为 TSPG 并非通过改变细胞周期来发挥肿瘤治疗的作用。

凋亡是多种基因调控的细胞的程序性死亡过程,凋亡障碍与肿瘤发生、发展有关,因此诱导细胞凋亡在一定程度上可阻止肿瘤的进展。本实验证实:经 TSPG 作用后,镜下可观察到细胞凋亡的形态,且 Annexin-V 双染显示 KG1α 细胞早期凋亡率升高,与对照组相比有统计学意义。提示 TSPG 可诱导 KG1α 细胞凋亡,拮抗肿瘤进展。

β-catenin 是重要的细胞粘附蛋白[11]。近年来,研究表明它同时又是一种转录因子,在经典的 WNT 信号转导途径中参与多种基因的表达调控,其信号转导途径的异常激活参与了多种实体瘤的发生[12-13]。WNT/β-catenin 信号转导途径是一个对细胞的分化、迁移、增殖、极性起重要调节作用的途径[14]。它由最上游的配体 WNT 启动,引发细胞质中 β-catenin 的聚集并进而进入细胞核内,在核内与 TcF/LEF(T-cell factor/lymphocyte-enhance-binding-factor)结合而被激活[15]。本实验表明在 TSPG 作用人急性髓系白血病细胞株 KG1α 以后,β-catenin 表达减弱,表达部位由胞核逐渐向胞膜转移。在实体瘤中已经证实,如果 β-catenin 主要在细胞膜上表达,则其主要以介导黏附作用为主,转录活性很低。反之,如果在胞质和(或)胞核中出现聚集,则常常提示 β-catenin/TCF4 活性增强[16]。因此胞核内 β-catenin 的出现常常是 WNT 信号转导途径激活的标志。本实验结果与之相符。NF-κB 是一类核蛋白质因子,位于编码免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子中,具有与某些基因上启动子区中的固定核苷酸序列结合,从而启动基因转录的功能是一种诱导性反式作用因子。NF-κB 蛋白属于 Rel 基因家族的重要成员,这一基因的突变可以引起许多血液系统的恶性肿瘤。白血病细胞内被激活的 NF-κB 转位于核内,与 DNA 结合后改变多种目的基因的表达,保护白血病细胞由促凋亡基因表达引起的凋亡,并提高白血病细胞对放化疗的抵抗作用[17]。如果使恶性肿瘤细胞中的 NF-κB 活性下降,可促进这些肿瘤细胞的凋亡。本实验研究表明在 TSPG 作用人急性髓系白血病细胞株 KG1α 以后,NF-κB p65 表达减弱,表达部位由胞核逐渐向胞膜转移。故初步认为 TSPG 抑制 KG1α 细胞增殖,促进其凋亡,有可能是通过下调 β-catenin及 NF-κB p65 蛋白的表达来实现的。另外,本实验研究表明在 TSPG 作用细胞后,细胞中的 β-catenin mRNA 和 NF-κB p65 mRNA 水平降低,表明 TSPG 有可能是通过降低 β-catenin mRNA 和 NF-κB p65 mRNA 来抑制细胞增殖的。

参考文献:

[1] 方希敏,李原,钱江潮,等. 人参总皂甙对 HL-60 细胞凋亡相关基因 bax、bcl-xl 表达的影响[J]. 中国实验血液学杂志,2008,16(4):781-784.

[2] 王建伟,李荣,王亚平,等. 人参总皂甙体外诱导 $CD34^+$ 造血干/祖细胞增殖的作用[J]. 解剖学杂志,2006,29(4):430-432,449.

[3] 陈地龙,王亚平,陈婷梅. 人参皂甙协同 EPO 和 GM-CSF 对 K562 细胞诱导分化的实验研究[J]. 第三军医大学学报,2003,25(22):2018-2021.

[4] 陈地龙,刘永刚,王亚平,等. 人参多糖对 K562 细胞增殖抑制及诱导分化的实验研究[J]. 第三军医大学学报,2005,27(6):517-520.

[5] 王金良,孔佩艳,徐葳,等. 人参皂苷 Rg3 抑制急性白血病骨髓基质细胞 HIF-1α 及 VEGF 的表达及其机制探讨[J]. 第三军医大学学报,2010,32(7):621-624.

[6] 陈英玉,郑合勇,胡建达,等. 大黄素抑制 HL-60/ADR 耐药细胞增殖和诱导凋亡的作用[J]. 中国实验血液学杂志,2007,15(5):955-960.

[7] 姚根宏,栾建凤,叶东,等. 雷公藤甲素对急性 T 淋巴细胞白血病 Jurkat 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国实验血液学杂志,2008,16(3):506-509.

[8] 杨展,王旭光,吴英健,等. 人参总皂甙对 K562 细胞凋亡相关基因 XIAP 和 Survivin 表达的影响[J]. 中国现代医药杂志,2009,11(2):13-15.

[9] 周烨,马文丽,曲戎梅,等. 人参皂甙对 K562 细胞作用的基因表达谱研究[J]. 南方医科大学学报,2007,27(4):512-514.

[10] 曹唯希,王亚平,刘琼,等. 人参皂甙诱导白血病细胞凋亡及对 Fas、FasL 表达的影响[J]. 第三军医大学学报,2005,27(6):525-528.

[11] 王旭强,郭蓉,郁枫. β-catenin 在藏山羊切牙牙胚发育过程中的表达[J]. 西北农业学报,2010,19(3):13-15.

[12] 邹外一,许多荣,苏畅,等. 慢性髓性白血病患者 β-catenin 的表达及其临床意义[J]. 中国病理生理杂志,2010,26(4):709-712.

[13] 文萍,胡卫华,窦骏. WNT/β-catenin 信号通路在肿瘤干细胞中作用研究进展[J]. 中国医药生物技术,2007,2(6):455-457.

[14] 郑勤,徐瀚峰. WNT/β-catenin 信号通路在肝癌中的研究进展[J]. 国际消化病杂志,2010,30(2):76-78.

[15] 徐启飞,周初松. WNT/β-catenin 信号通路对神经干细胞增殖分化的影响[J]. 颈腰痛杂志,2008,29(6):572-575.

[16] 邓辉洲,汪谦. β-catenin,β-TRCP 在肝癌和癌旁组织中的表达[J]. 现代肿瘤医学,2008,16(8):1348-1350.

[17] 赵谢兰,雷瑚仪,高欣,等. 急性髓性白血病骨髓细胞 NF-κB 活性及其与 WT1 和 Bcl-2 表达的关系[J]. 中国医师杂志,2006,8(7):880-882.

(收稿:2010-07-29 修回:2010-10-30)

(编辑 汪勤俭)