doi:10.11659/jjssx.08E019014

·基础研究·

PI3K 抑制剂 TGX-221 对人骨肉瘤细胞增殖、周期及凋亡的影响

姜浩力,郭 威,袁善有,宋丽霞 (深圳市第三人民医院骨科,广东 深圳 518000)

[摘 要] **目的** 探究 PI3K 抑制剂 TGX-221 对人骨肉瘤细胞增殖、周期及凋亡的影响。**方法** 培养人骨肉瘤 U2OS 和MG-63 细胞株,分为对照组和实验组,实验组加入 10 μmol/L 的 TGX-221,对照组加入相同剂量的 DMSO。处理 48 h 后,CCK8 法检测 TGX-221 对人骨肉瘤细胞活力及增殖的影响;流式细胞术检测 TGX-221 对人骨肉瘤 U2OS 和 MG-63 细胞的细胞周期及凋亡的作用。**结果** CCK8 检测结果显示,TGX-221 对人骨肉瘤细胞有显著的增殖抑制作用,且具有时间和浓度依赖性;流式细胞术结果显示,TGX-221 将 U2OS 和 MG-63 细胞周期阻滞在 G1 期,并诱导人骨肉瘤细胞凋亡,具有显著的抗肿瘤作用。**结论** PI3K 抑制剂 TGX-221 能够抑制人骨肉瘤细胞的增殖、阻滞细胞周期并诱导细胞凋亡,可能成为一种潜在的抗肿瘤药物。

[关键词] TGX-221;骨肉瘤;细胞;增殖;细胞周期;凋亡

[中图分类号] R738.1 [文献标识码] A [收稿日期] 2019-08-04

Effect of PI3K inhibitor TGX-221 on proliferation, cycle and apoptosis of human osteosarcoma cells

JIANG Hao-li, GUO Wei, YUAN Shan-you, SONG Li-xia (Department of Orthopaedics, Third People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen Guangdong 518000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of PI3K inhibitor TGX-221 on proliferation, cycle and apoptosis of human osteosarcoma cells. **Methods** Human osteosarcoma U2OS and MG-63 cell lines were cultured and divided into the control group and the experimental group. The experimental group was added with 10 μmol/L of TGX-221, and the control group was added with the same amount of DMSO. After 48 hours of treatment, the effect of TGX-221 on the viability and proliferation of human osteosarcoma cells were detected by CCK8 method. The effect of TGX-221 on the cycle and apoptosis of human osteosarcoma U2OS and MG-63 cells were detected by flow cytometry. **Results** CCK8 showed that TGX-221 significantly inhibited the proliferation of human osteosarcoma cells in a time and concentration dependent manner. Flow cytometry revealed that TGX-221 blocked U2OS and MG-63 cell cycle in G1 phase. In addition, TGX-221 also induced apoptosis in human osteosarcoma cells, demonstrating a significant anti-tumor effect. **Conclusion** PI3K inhibitor TGX-221 can inhibit the proliferation of human osteosarcoma cells, and it can block cell cycle and induce apoptosis, which may become a potential anti-tumor drug.

Keywords: TGX-221;osteosarcoma;cell;proliferation; cell cycle;apoptosis

骨肉瘤是儿童及青少年最常见的原发性骨恶性肿瘤,最常见于股骨远端、胫骨近端或肱骨,15% ~20% 的患者在诊断时会发现转移,特别是在肺和骨骼,且发展迅速[1]。典型的临床症状主要是受累骨骼的疼痛和肿胀。目前的治疗策略为术前化疗,然后手术切除原发肿瘤以及可检测的转移性肿瘤,再辅以术后化疗[2]。联合运用甲氨蝶呤、多柔比星和顺铂的多药物化疗方案可以改善患者的预后,未发生转移的患者 5 年生存率为 65% ~70%,已发生转移的患者 5 年生存率为 19% ~30%[3]。尽管随着手术方式的改进和化疗药物的联合应用,骨肉瘤患者的 5 年生存率获得了明显的提高,但进一步改善预后遇到了瓶颈,因此急需开发新的药物改善患者预后,进一步提高患者生存质量[4]。

磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)是脂质激酶,充当中间信号分子,将来自细胞外刺激的信号转化为调节多种信号转导途径的细胞内信号。这些途径调节许多必需的细胞过程,包括细胞生长、分化、增殖、运动和新陈代谢等[5]。PI3K 信号通路是癌症中最常见的失调途径之一,其在调节作为癌症特征的细胞过程(如细胞增殖、凋亡或迁移)中起主要作用。此外,在人类癌症中也经常观察到这些酶的激活突变,导致癌症生长。因此 P13K 途径已经成为抗癌药物开发的主要焦点[6]。TGX-221 是一种高效的、选择性的 PI3K p110β 抑制剂,目前已经在包括胶质瘤、前列腺癌、肾透明细胞癌等肿瘤细胞中发挥抗肿瘤作用,但能否在骨肉瘤中发挥抗肿瘤作用依旧未知。本研究通过体外培养骨肉瘤 U2OS 和 MG-63 细胞,给予 TGX-221 干预,观察其作用及影响,初步探究 TGX-221 对骨肉瘤的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

TGX-221 购自美国 MCE 公司,根据说明书用 DMSO 配置成 5 μmol/L 的工作液,置于 -80 ℃长期保存;U2OS 和 MG-63 细胞株购自中国科学院上海细胞库;胎牛血清购自美国 Gbico 公司;DMEM 高糖培养基、PBS、胰蛋白酶、青/链霉素购自上海吉诺生物科技有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购自碧云天生物有限公司;凋亡试剂盒 PE/7AAD 购自美国 BD 公司;CCK8 购自日本同仁公司;PI 购自安特捷公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人骨肉瘤细胞 U2OS 和 MG-63 细胞用含 10% 胎牛血清、1% 青/链霉素的 DMEM 高糖培养基放置于 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养。当细胞长至融合度达 90% 后用胰酶传代,实验选用处于对数生长期的细胞。

1.2.2 CCK8 法检测 TGX-221 浓度梯度对细胞活力的影响 将处于对数生长期的细胞用胰酶消化,1 000 r/min离心 5 min 后,用完全培养基(含 10% 胎牛血清、1% 青/链霉素的 DMEM 高糖培养基)轻轻冲悬,计数。将人 U2OS 和 MG-63 细胞种植入 96 孔板里,每个浓度梯度设置 3 组复孔,每孔加入 200 μL 的完全培养基培养过夜。第 2 天分别加入 0、2.5、5、10、15、20、25 μmol/L 的 TGX-221,37 ℃培养 48 h 后弃培养基。重新加入 100 μL 含 10 μL CCK8 的完全培养基,37 ℃避光孵育 2 h,酶标仪检测 450 nm 波长处的吸光度(OD)值,实验重复 3 次。

1.2.3 CCK8 法检测 TGX-221 作用时间对细胞活力的影响 将处于对数生长期的细胞消化,离心,计数后按照 6×10^3/孔的密度将细胞种植到 96 孔板里,设置 4 个时间梯度(0 h、24 h、48 h、72 h)。分别在 0 h、24 h、48 h、72 h 测量对应梯度的 OD 值,绘制活性曲线。实验重复 3 次。

1.2.4 流式细胞术检测细胞周期 将处于对数生长期的 U2OS 和 MG-63 细胞用胰酶消化,离心后冲悬。设置实验组和对照组,把相同数目的细胞接种于 6 孔板培养 24 h,然后弃培养基,用 PBS 清洗 2 遍后加入不含血清的高糖培养基,置于 37 ℃培养箱继续培养。24 h 后弃培养基,重新加入完全培养基,实验组加入 10 μmol/L 的 TGX-221,对照组则加入相同剂量的 DMSO。孵育 24 h 后用胰酶消化,离心,PBS 清洗后再次离心,然后加入 -20 ℃预冷的 70% 乙醇 4 mL,震荡冲悬后放置于 -20 ℃固定过夜。第 2 天离心,用 PBS 清洗 2 遍后加入 500 μL 的 PBS 和 10 μL 的 RNA 酶,置于 37 ℃水浴锅温浴 30 min。然后加入 10 μL 的碘化丙啶(PI),避光孵育 20 min 后上机测试。用 ModFit LT 4.1 软件分析细胞周期。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡 将处于对数生长期的细胞种植到 6 孔板里,待细胞长到融合度为 60% 的时候在实验组里面加入 TGX-221,使得培养浓度为 10 μmol/L。对照组里则加入相同剂量的 DMSO,放置于 37 ℃的培养箱孵育 24 h。收集培养基,用不含 EDTA的胰酶消化,离心并用 PBS 清洗残留的培养基。然后加入 1 mL 稀释为 1 × 的 Binding Buffer,冲悬细胞并转移到流式管里。每管细胞各加入 5 μL 的 PE 和 7-AAD,避光室温孵育 10 min 后上机测试。

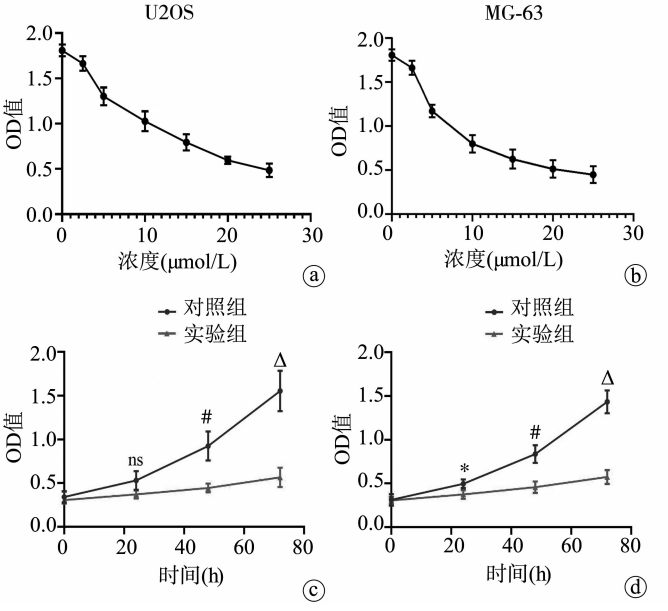
1.3 统计学方法

各组实验数据用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析。数据用均值 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义,$P<0.01$ 为差异有极显著性统计学意义。

2 结果

2.1 TGX-221 可以有效抑制 U2OS 和 MG-63 细胞的增殖

结果显示,随着 TGX-221 作用浓度的增加,450 nm波长处的 OD 值逐渐减小;随着作用时间的延长,对照组和实验组之间的 OD 值差距愈发变大,对照组显示出更强的增殖能力,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。



a、b:TGX-221 以剂量依赖性的抑制 U2OS 和 MG-63 细胞的增殖;c、d:TGX-221 呈时间依赖性抑制 U2OS 和 MG-63 细胞的增殖

* :与实验组比较,$P<0.05$; #:与实验组比较,$P<0.01$

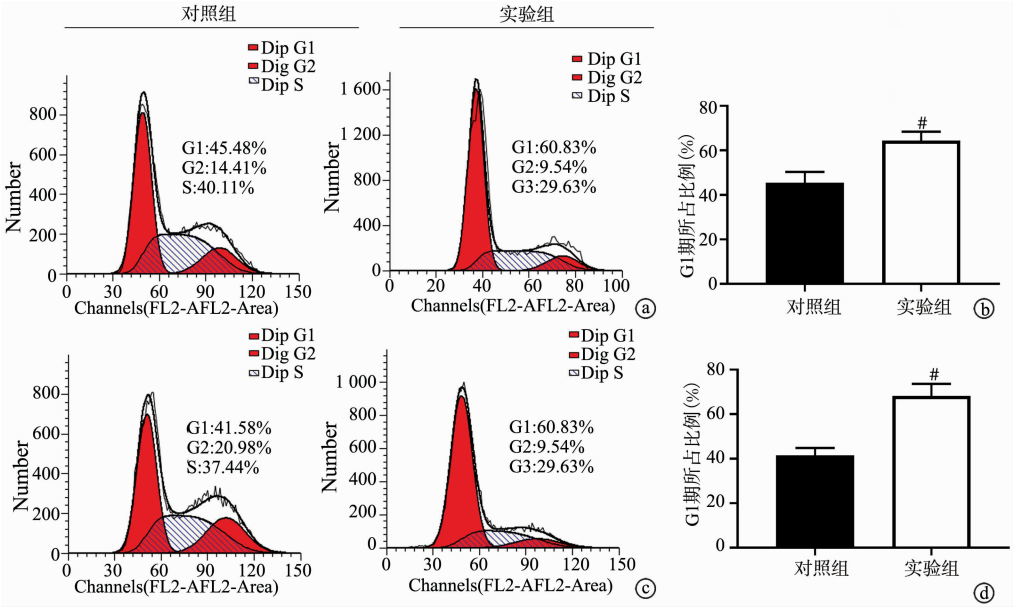
图 1 TGX-221 对人骨肉瘤 U2OS 和 MG-63 细胞增殖的影响

2.2 TGX-221 阻滞 U2OS 和 MG-63 细胞的细胞周期于 G1 期

结果显示,在人骨肉瘤 U2OS 和 MG-63 细胞系中,实验组中处于 G1 期的的细胞比例高于对照组,差异有极显著统计学意义($P<0.01$);同时,实验组中处于 G2 期和 S 期的细胞比例也有不同程度的下降,表明 TGX-221可以阻滞人骨肉瘤细胞的周期进展(图 2)。

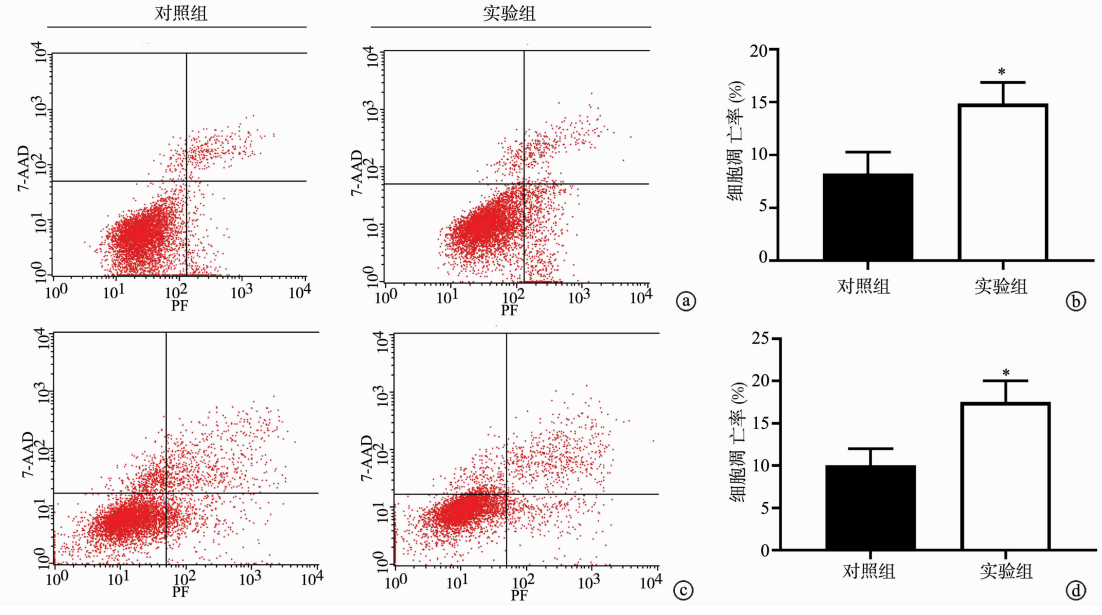
2.3 TGX-221 诱导 U2OS 和 MG-63 细胞凋亡

流式细胞术结果显示,与对照组相比,实验组加入 TGX-221 处理 24 h 后的细胞凋亡比例增加,2 组比较差异有统计学意义($P<0.05$),表明 TGX-221 能够通过诱导人骨肉瘤细胞凋亡发挥抗肿瘤作用(图 3)。



a、b:TGX-221 将人骨肉瘤 U2OS 细胞阻滞于 G1 期;c、d:TGX-221 将人骨肉瘤 MG-63 细胞阻滞于 G1 期 #:与对照组比较,$P<0.01$

图 2 TGX-221 对 U2OS 和 MG-63 细胞周期的影响



a、b:TGX-221 诱导人骨肉瘤 U2OS 细胞凋亡; c、d:TGX-221 诱导人骨肉瘤 MG-63 细胞凋亡 *:与对照组比较,$P<0.05$

图 3 TGX-221 对 U2OS 和 MG-63 细胞凋亡的影响

3 讨论

骨肉瘤是世界上最常见的原发性骨恶性肿瘤,起源于骨骼系统的结缔组织,尤其好发于多发性骨髓瘤患者[7]。骨肉瘤大约占所有癌症的 6% 和儿童及青少年恶性骨癌病例的 56%。目前通常采取多种方式联合治疗,包括最大限度的手术切除、辅助化疗与保肢重建手术。由于化疗的引入和肿瘤的手术切除,局部骨

肉瘤患者的5年生存率有了显著提高[8-11]。然而,常规化疗也存在不少缺点,例如化疗药物往往对正常组织具有高毒性,易导致贫血、中性粒细胞减少、血小板减少、心脏损伤等一系列不良反应[12]。此外,骨肉瘤化疗还需面临的一大障碍是化疗药物的交叉性耐药,多药耐药基因 MDR1 编码的 P-糖蛋白(P-gp)通过将细胞内药物逆浓度梯度运出细胞外,使细胞内药物浓度不断下降而达不到有效杀伤浓度,从而产生耐药性。因此,新药物的开发具有十分重要的意义[13]。

PI3K 的雷帕霉素/AKT/哺乳动物靶蛋白(mTOR)途径在包括骨肉瘤在内的许多肿瘤中被过度激活,是肿瘤进展和化疗抗性的一个重要因素。PI3K 是由 p85 和 p110 催化亚基组成的异二聚体,是受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase,RTK)下游的主要信号传导组分,PI3K 激活其下游 Akt,其磷酸化影响下游多种底物,涉及多种细胞过程,包括细胞生长、增殖、凋亡和代谢,这些过程对肿瘤发生和进展至关重要。目前已开发出许多靶向该途径的药物,TGX-221 就是其中之一,是一种高效的 PI3K p110β 抑制剂[14-16]。Yang 等[17]研究证实,TGX-221 可以抑制人胶质母细胞瘤细胞的增殖并诱导细胞凋亡。Chen 等[18]研究发现,TGX-221 可以阻断裸鼠中前列腺癌的异种移植肿瘤生长。这些研究表明,TGX-221 可能是一种潜在的抗肿瘤药物,但目前在骨肉瘤中能否发挥抗肿瘤作用和可能的抗肿瘤机制仍不清楚。本研究旨在探究 TGX-221 对人骨肉瘤细胞系 U2OS 和 MG-63 细胞的增殖、细胞周期和凋亡的影响,为未来可能进行的临床试验提供理论依据。

恶性肿瘤最主要的特征就是无限增殖、永生化,因此抑制肿瘤细胞的恶性增殖是药物研发的关键。本研究设置了0、2.5、5、10、15、20、25 μmol/L 共7个浓度,探究骨肉瘤细胞随着 TGX-221 作用浓度增加的活性变化。结果显示,随着作用浓度的增加,测量出的 OD 值逐渐降低,表明 TGX-221 可以剂量依赖性地抑制骨肉瘤细胞的增殖。同时,本研究设置了时间梯度,选择 10 μmol/L 作为实验浓度,分别测量骨肉瘤细胞在 0 h、24 h、48 h、72 h 的 OD 值。结果显示,与对照组相比,实验组的 OD 值增加缓慢,且与对照组之间的 OD 值差距愈发增大,表明 TGX-221 可以有效地抑制人骨肉瘤 U2OS 和 MG-63 细胞的增殖。

细胞周期分为 G1 期、S 期、G2 期和 M 期。G1 期是 DNA 复制前期,主要是为 DNA 的复制做准备;S 期又称 DNA 合成期;G2 期主要为有丝分裂做准备;M 期即有丝分裂期。G1 期被认为是启动细胞周期的关键时期,恶性肿瘤发生的一个核心事件是正常的细胞周期失去调控,导致肿瘤细胞可以无限增殖。本研究探究了 TGX-221 对 U2OS 和 MG-63 细胞周期的影响,结果显示,与对照组相比,实验组处于 G1 期的细胞比例增加,表明 TGX-221 可阻滞细胞周期于 G1 期,这些细胞逐渐失去增殖能力,不再分裂,日趋衰老。这类细胞结构和功能发生高度分化,对肿瘤增殖没有作用,因此 G1 期细胞所占数量越多,肿瘤的恶性程度越低[19]。

肿瘤的生长取决于增殖与凋亡之间细胞的平衡状态,化疗药物就是通过诱导细胞周期阻滞,促进细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤作用[20]。我们在研究前期证实了 TGX-221 在体外抑制骨肉瘤细胞的增殖和诱导细胞周期阻滞。因此,我们进一步探究了 TGX-221 对骨肉瘤细胞凋亡的作用,结果表明,TGX-221 可在体外促进骨肉瘤细胞的凋亡。

综上,本研究在骨肉瘤细胞中证实,TGX-221 可以抑制 U2OS 和 MG-63 细胞增殖,阻滞细胞周期于 G1 期并诱导细胞凋亡。因此我们推测,TGX-221 通过将大量的骨肉瘤细胞阻滞于 G1 期,抑制骨肉瘤细胞从 G1 期向 S 期转换,使得骨肉瘤细胞失去了增殖能力,引起细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤作用。

[参考文献]

[1] Adamopoulos C,Gargalionis AN,Basdra EK,et al. Deciphering signaling networks in osteosarcoma pathobiology[J]. Exp Biol Med (Maywood),2016,241(12):1296-1305. doi:10.1177/1535370216648806.

[2] Kansara M,Teng MW,Smyth MJ,et al. Translational biology of osteosarcoma[J] Nat Rev Cancer,2014,14(11):722-735. doi:10.1038/nrc3838.

[3] Bishop MW,Janeway KA,Gorlick R. Future directions in the treatment of osteosarcoma[J]. Curr Opin Pediatr,2016,28(1):26-33. doi:10.1097/MOP.0000000000000298.

[4] 张健烽,刘云霞. 骨肉瘤治疗的研究进展[J]. 浙江医学,2019,41(7):723-727. doi:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.7.2018-1469.

[5] Josephs DH,Sarker D. Pharmacodynamic biomarker development for PI3K pathway therapeutics[J]. Transl Oncogenomics,2016,7(Suppl 1):33-49. doi:10.4137/TOG.S30529.

[6] Faes S,Dormond O. PI3K and AKT:unfaithful partners in cancer[J]. Int J Mol Sci,2015,16(9):21138-21152. doi:10.3390/ijms160921138.

[7] 梁仁政,吉光荣. 自噬与凋亡在骨肉瘤中的作用[J]. 医学综述,2019,25(5):904-908. doi:10.3969/j.issn.1006-2084.2019.05.014.

[8] Zhang Y,Zhao HY,Xu W,et al. High expression of PQBP1 and low expression of PCK2 are associated with metastasis and recurrence of osteosarcoma and unfavorable survival outcomes of the patients[J]. J Cancer,2019,10(9):2091-2101. doi:10.7150/jca.28480.

[9] Li MH,Lu YJ,Long ZY,et al. Prognostic and clinicopathological significance of circulating tumor cells in osteosarcoma[J]. J Bone Oncol,2019,16:100236. doi:10.1016/j.jbo.2019.100236.

doi:10.11659/jjssx.09E019134

·基础研究·

肾透明细胞癌中 MRPS5 的表达与患者预后的关系

韩 博[1],吴 舜[1],何前辉[2],李蜀婧[2],江 沛[1],何先东[1],许桂莲[3],张克勤[1] (1.陆军军医大学第一附属医院肾科,重庆 400038;2.重庆医科大学第二附属医院泌尿肾病中心,重庆 401330;3.陆军军医大学免疫学教研室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 探讨线粒体核糖体蛋白 S5(MRPS5)在肾透明细胞癌(ccRCC)组织中的表达及其与患者预后的关系。**方法** 采用免疫组织化学和免疫印迹技术检测 ccRCC 患者新鲜癌组织和癌旁组织中 MRPS5 的相对表达;采用免疫组织化学技术检测 ccRCC 患者石蜡包埋癌组织标本中 MRPS5 的表达;χ^2 检验分析 MRPS5 表达水平与患者临床病理参数的关系;*Kaplan-Meier* 法描绘生存曲线,*Log-rank* 检验分析 MRPS5 表达水平与患者生存状况的关系;采用 *Cox* 比例风险回归模型分析影响患者预后的临床因素。**结果** 与癌旁组织相比,癌组织中 MRPS5 的表达水平均明显较低;在 104 例 ccRCC 患者癌组织中,64 例(61.5%)高表达 MRPS5,40 例(38.5%)低表达 MRPS5;MRPS5 表达水平与肿瘤 T 分期($P=0.024$)及肿瘤坏死($P=0.044$)显著相关;MRPS5 低表达组的患者总生存期(OS)和无病生存期(DFS)均显著短于高表达组($P<0.05$);单因素 *Cox* 回归分析发现,ccRCC 患者 OS 和 DFS 均与肿瘤大小、T 分期、N 分期、TNM 临床分期、Fuhrman 分级、肿瘤坏死及 MRPS5 表达水平等多种因素相关($P<0.05$);多因素 *Cox* 回归分析发现,ccRCC 患者 OS 与 DFS 均和 N 分期、Fuhrman 分级及 MRPS5 表达水平相关($P<0.05$)。**结论** MRPS5 在 ccRCC 患者的癌组织中的表达低于癌旁组织,MRPS5 低表达是影响患者预后的独立危险因素,有望成为判断患者预后的一种重要生物标志物及新的治疗靶点。

[关键词] 线粒体核糖体蛋白 S5;肾透明细胞癌;生物标志物;预后;总生存期;无病生存期

[中图分类号] R737.11 [文献标识码] A [收稿日期] 2019-09-21

Relationship between MRPS5 expression in clear cell renal cell carcinoma and patient prognosis

HAN Bo[1], WU Shun[1], HE Qian-hui[2], LI Shu-jing[2], JIANG Pei[1], HE Xian-dong[1], XU Gui-lian[3], ZHANG Ke-qin[1] (1. Department of Nephrology, First Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400038, China; 2. Urological and Nephrotic Center, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401330, China; 3. Department of Immuology, Army Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of mitochondrial ribosomal protein S5 (MRPS5) in the tissues of clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) and its relationship with the prognosis of patients. **Methods** MRPS5 expression in fresh cancerous tissues and

[基金项目] 国家自然科学基金(81670684);军事医学与战创伤救治临床新技术计划(SWH2016JSTSYB-38)

[通信作者] 张克勤,E-mail:zhkq2004@163.com

[10] Zhu J, Yu W, Liu B, et al. Escin induces caspase-dependent apoptosis and autophagy through the ROS/p38 MAPK signalling pathway in human osteosarcoma cells in vitro and in vivo[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10): e3113. doi:10.1038/cddis.2017.488.

[11] 鞠 杰,刘焕彩,王巧真. 自噬与骨肉瘤研究进展[J]. 中国老年学杂志,2016,36(23):6024-6027. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2016.23.111.

[12] He JP, Hao Y, Wang XL, et al. Review of the molecular pathogenesis of osteosarcoma[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(15): 5967-5976. doi:10.7314/apjcp.2014.15.15.5967.

[13] 曹 亮,张 寿,邓建超. 骨肉瘤化疗现状及新进展[J]. 海南医学,2015,26(16):2407-2409. doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.16.0868.

[14] Liu P, Cheng HL, Roberts TM, et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer[J]. Nat Rev Drug Discov, 2009, 8(8): 627-644. doi:10.1038/nrd2926.

[15] Pang J, Yang YW, Huang YL, et al. P110β inhibition reduces histone H3K4 Di-methylation in prostate cancer[J]. Prostate, 2017, 77(3): 299-308. doi:10.1002/pros.23271.

[16] Zhu YR, Min H, Fang JF, et al. Activity of the novel dual phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin inhibitor NVP-BEZ235 against osteosarcoma[J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(4): 602-609. doi:10.1080/15384047.2015.1017155.

[17] Yang X, Yang JA, Liu BH, et al. TGX-221 inhibits proliferation and induces apoptosis in human glioblastoma cells[J]. Oncol Rep, 2017, 38(5): 2836-2842. doi:10.3892/or.2017.5991.

[18] Chen RB, Zhao YQ, HuangY, et al. Nanomicellar TGX221 blocks xenograft tumor growth of prostate cancer in nude mice[J]. Prostate, 2015, 75(6): 593-602. doi:10.1002/pros.22941.

[19] 芳符姿,许振胜. 槲皮素对人骨肉瘤 MG-63 细胞周期及自噬流的影响[J]. 广州中医药大学学报,2019,36(6):885-888. doi:10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2019.06.024.

[20] 王 健,李 健,王 勇,等. 黄芩素通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导膀胱癌细胞凋亡[J]. 山东大学学报(医学版),2019,57(9):74-82. doi:10.6040/j.issn.1671-7554.0.2018.1267

(编辑:魏 源)