

归肝经中药对肝癌 HepG2 细胞增殖抑制及凋亡诱导作用的研究

田雪飞, 肖 竺, 郭永良, 孙 婧

(湖南中医药大学科技处血管生物学实验室, 湖南 长沙 410208)

【摘要】 目的 观察归肝经中药对体外人肝癌细胞株 HepG2 增殖及凋亡的影响, 初步探讨归肝经中药抗肝癌作用的趋向性。方法 归肝经中药选取莪术、水蛭、丹参, 非归肝经中药选取白花蛇舌草为对照, 制备提取物后体外干预 HepG2 细胞。用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测各中药提取物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用, 并计算半数抑制浓度(IC50); 用细胞计数法、流式细胞仪、吖啶橙/溴化乙锭(AO/EB)双染法分析比较归肝经中药莪术、水蛭、丹参提取物与非归肝经中药白花蛇舌草提取物在 IC50 药物浓度下对 HepG2 细胞增殖的影响及诱导凋亡的差异。结果 白花蛇舌草提取物 IC50 药物浓度对应生药量是丹参提取物的 11.39 倍, 水蛭提取物的 16.56 倍, 莪术挥发油的 168.67 倍。IC50 药物浓度作用下, 归肝经中药莪术、水蛭、丹参提取物抑制 HepG2 细胞增殖作用、诱导细胞凋亡率均强于非归肝经中药白花蛇舌草提取物, 归肝经中药可阻止 HepG2 细胞从 G0/G1 期进入 S 期, 而白花蛇舌草提取物对 HepG2 细胞周期无明显影响。结论 归肝经中药对肝癌 HepG2 细胞增殖抑制及凋亡诱导作用强于非归肝经中药白花蛇舌草, 提示归肝经可能与中药抗肝癌趋向作用有关。

【关键词】 肝癌; 凋亡; 归经

中图分类号: R285.5; R256.42 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.04.002

Effects of Chinese material medica passing through liver channel (归肝经中药) on inhibition of proliferation and apoptosis of HepG2 cells TIAN Xue-fei, XIAO Zhu, GUO Yong-liang, SUN Jing. *Vascular Biology Laboratory, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China*

【Abstract】 **Objective** To observe the effect of Chinese material medica passing through the liver channel (归肝经中药) on inhibition of proliferation and apoptosis of HepG2 cells in vitro and preliminarily investigate the trends of its effects on anti-hepatocellular carcinoma. **Methods** Zedoary rhizome (莪术), leech (水蛭) and salvia miltiorrhiza (丹参) passing through the liver channel were selected to compare with hedyotis diffusa (白花蛇舌草) passing through the non-liver channel as the control. The HepG2 cells were treated by extractions from the above drugs. The inhibition of proliferation and 50% inhibitory rate (IC50) were assayed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method. The cell growth and apoptosis of HepG2 cells in vitro which were treated by IC50 drug concentration of all extractions were detected by methods of cell count, flow cytometry and acridine orange/ethidium bromide (AO/EB) staining. The differences of effects were contrasted between zedoary rhizome, leech and salvia miltiorrhiza which pass through liver channel and hedyotis diffusa which passes through non-liver channel. **Results** The IC50 drug concentration equal to the crude drug content of hedyotis diffusa was 11.39 times more than that of salvia miltiorrhiza, 16.56 times more than that of leech and 168.67 times more than that of zedoray rhizome. The results showed that the reduction rates of cell count and apoptosis induced by zedoray rhizome, leech and salvia extraction which pass through the liver channel were higher than those of hedyotis diffusa extraction which passes through the non-liver channel. The results demonstrated that cell cycle could be prevented from the G0/G1 phase into the S phase by drugs which pass through the liver channel, while the HepG2 cell cycle under treatment of hedyotis diffusa extraction had no significant effect. **Conclusion** Chinese material medica passing through the liver channel have stronger effect on the inhibition of proliferation and apoptosis of HepG2 cells than the drug passing through the non-liver channel, such as hedyotis diffusa. It is suggested that the liver channel tropism of the Chinese medicinal drugs be related to the tendency of selective effect on anti-hepatocellular carcinoma.

【Key words】 hepatocellular carcinoma; apoptosis; channel tropism

基金项目: 国家自然科学基金项目(30801496); 湖南省自然科学基金项目(06JJ4054); 湖南省教育厅青年基金项目(05B036)

作者简介: 田雪飞(1973-), 男(土家族), 湖南省人, 医学博士, 副教授, Email: windsame@163.com.

肝癌属于中医“癥瘕”、“积聚”的范畴,其基本病机为本虚标实。多数医家认为,本虚为“脾虚”,标实为“血瘀、毒结”^[1-2],三者互为因果,相互影响,贯穿于肝癌的整个发展过程。研究表明,多种中药有效部位或成分具有抗肝癌作用,例如柴胡提取物^[3]、去甲基鳖素^[4]、榄香烯^[5]、丹参酮^[6]等,但不同药物之间抑制肝癌细胞增殖的有效浓度和所需时间不同。归经属性是否与中药的抗肿瘤效果差异性有关?为此,本研究对比了归肝经与非归肝经中药提取物对 HepG2 细胞生物学行为的影响,初步探讨中药归经属性与抗肿瘤作用的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料:人肝癌细胞株 HepG2 由本实验室引进并保存,二甲亚砜(DMSO)为美国 Amresco 公司产品,DMEM 培养基、胰酶、新生牛血清为美国 Gibco 公司产品,四甲基偶氮唑盐(MTT)、溴化乙锭(EB)、吖啶橙(AO)为美国 Sigma 公司产品。莪术、水蛭、丹参、白花蛇舌草均一次性购于湖南中医药大学附属第一医院药剂科,并进行生药鉴定。

1.2 方法

1.2.1 HepG2 细胞培养:将细胞加入含体积分数为 10%新生牛血清的 DMEM 培养基中(含青霉素 100 kU/L、链霉素 100 kU/L),37 ℃、体积分数为 5%的 CO₂ 条件下培养。

1.2.2 药物制备:①丹参、白花蛇舌草提取物:用水提醇沉法制备。药物加 10 倍量水提取 2 次,收集滤液浓缩,醇沉过滤,真空干燥,粉碎备用。②莪术挥发油:8 倍量水提取,蒸馏液用乙醚萃取,无水硫酸钠干燥浓缩后得到淡黄色莪术挥发油。③水蛭提取物:由湖南省中医研究院超微工程中心制备成水蛭超微粉,其提取物以液氮快速冻融法制备^[7]。取水蛭超微粉 1.5 g 用双蒸水制成混悬液,离心后液氮中冷冻,37 ℃水浴中融解,重复 3 次,离心取上清液过滤,滤液冷冻干燥后即得水蛭冻干粉,-20 ℃保存备用。临用前以 DMEM 培养基配成实验所需浓度工作液,0.22 μm 滤器正压过滤除菌。

1.2.3 实验分组及药物处理:归肝经中药为莪术、水蛭、丹参提取物,非归肝经中药为白花蛇舌草提取物。根据预实验结果加入各提取物工作液处理肝癌 HepG2 细胞,终浓度分别为:丹参提取物 4、6、8、10、12 g/L,莪术挥发油 1.25、2.50、5.00、10.00、20.00 mg/L,水蛭提取物 1、2、4、6、8 g/L;白花蛇舌草提取物 6.25、12.50、25.00、75.00、100.00 g/L。同时设置对照孔,加等体积的 DMEM 培养液。

1.2.4 MTT 比色法实验:将人肝癌 HepG2 细胞以 1×10⁴ 个/孔接种于 96 孔培养板中,加入不同浓度的各种提取物工作液,48 h 后加入 MTT 工作液 20 μl/孔,4 h 后加入 DMSO 150 μl/孔,酶标仪测定 492 nm 波长处吸光度(A)值,每组重复 5 孔,计算细胞增殖抑制率[细胞增殖抑制率=(对照 A 值-药物 A 值)/对照 A 值×100%],并根据回归方程计算半数抑制浓度(IC50)。

1.2.5 细胞周期及凋亡的检测:用 IC50 浓度药物处理后细胞继续培养 48 h,收集细胞,用体积分数为 75%的乙醇固定,藻红蛋白(PE)染色液染色,用流式细胞仪检测。②收集 IC50 浓度药物处理 48 h 后 HepG2 细胞,调整细胞浓度为 1×10¹⁰/L,AO/EB 双染色后荧光显微镜下观察并拍照。

1.3 统计学处理:实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析和 SNK-q 检验,数据经 SPSS 10.0 统计软件处理,P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同归经中药提取物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用及 IC50 的确定:表 1 中 MTT 实验结果显示,各提取物以剂量依赖性方式抑制 HepG2 细胞增殖,增殖抑制率随提取物药液浓度增高而增加。根据回归方程求出各提取物 IC50 分别为丹参提取物 8.007 g/L,白花蛇舌草提取物 25.041 g/L,莪术挥发油 4.992 mg/L,水蛭提取物 4.002 g/L。

表 1 不同归经中药提取物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用

药物	浓度	抑制率(%)	药物	浓度	抑制率(%)
莪术(mg/L)	1.25	22.20	水蛭(g/L)	1	20.68
	2.50	35.81		2	37.32
	5.00	49.12		4	51.22
	10.00	64.07		6	68.97
	20.00	78.97		8	79.95
丹参(g/L)	4	26.99	白花蛇舌草(g/L)	6.25	24.75
	6	38.49		12.50	40.14
	8	50.48		25.00	53.12
	10	62.30		50.00	60.70
	12	71.54		100.00	72.98

表 2 显示了不同归经中药抑制 HepG2 细胞增殖的 IC50 药物浓度所对应的生药量,结果为:白花蛇舌草 IC50 药物浓度所对应生药量是丹参提取物的 11.39 倍,是水蛭提取物的 16.56 倍,是莪术挥发油的 168.67 倍。归肝经中药莪术、丹参、水蛭提取物抑制 HepG2 细胞增殖的 IC50 药物浓度对应生药量

均低于非归肝经中药白花蛇舌草提取物。

表 2 不同归经中药提取物抑制 HepG2 细胞增殖的 IC50 药物浓度对应生药量

药物	浓度	对应生药量	药物	浓度	对应生药量
莪术	4.992 mg/L	1.54 g/L	丹参	8.007 g/L	22.81 g/L
水蛭	4.002 g/L	15.69 g/L	白花蛇舌草	25.041 g/L	259.75 g/L

2.2 不同归经中药提取物 IC50 药物浓度对 HepG2 细胞增殖的抑制作用(表 3):经 IC50 浓度药物干预后,与对照比较,24 h 时莪术挥发油可以明显抑制 HepG2 细胞增殖($P < 0.05$),其他中药提取物的抑制作用不明显(P 均 > 0.05)。48 h 时归肝经中药莪术、丹参、水蛭提取物可明显抑制 HepG2 细胞增殖,与对照比较差异均有统计学意义(P 均 < 0.01);而非归肝经中药白花蛇舌草提取物抑制作用不明显($P > 0.05$);归肝经中药莪术、丹参、水蛭提取物与非归肝经中药白花蛇舌草提取物比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。72 h 时 4 种中药提取物均较对照有明显抑制作用,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);归肝经中药丹参、水蛭、莪术提取物抑制 HepG2 细胞增殖作用较非归肝经中药白花蛇舌草提取物更强(P 均 < 0.01)。组内不同时间点统计结果显示:72 h 时对照及白花蛇舌草细胞数明显增多,其中对照 72 h 细胞数明显高于 24 h 和 48 h($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$);白花蛇舌草虽然可抑制 HepG2 细胞增殖,但至 72 h 时仍较 24 h 时明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);归肝经中药水蛭、莪术、丹参提取物可以明显抑制 HepG2 细胞增殖,但各时间点间比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

表 3 不同归经中药提取物 IC50 药物浓度对 HepG2 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

归经中药 提取物	不同作用时间 HepG2 细胞生长数($\times 10^5$ 个)		
	24 h	48 h	72 h
对照	7.68 \pm 1.44	9.77 \pm 1.42	12.14 \pm 0.93 ^{bc}
白花蛇舌草	6.14 \pm 1.18	8.24 \pm 1.20	9.91 \pm 1.42 ^{cd}
丹参	5.67 \pm 1.93	5.63 \pm 0.97 ^{cd}	5.02 \pm 1.60 ^{de}
水蛭	6.56 \pm 1.53	6.07 \pm 1.09 ^{cd}	5.62 \pm 1.47 ^{de}
莪术	4.51 \pm 1.31 ^d	4.37 \pm 1.08 ^{de}	3.95 \pm 0.52 ^{de}

注:与本组 24 h 比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与本组 48 h 比较,^c $P < 0.05$;与对照比较,^d $P < 0.05$,^e $P < 0.01$;与白花蛇舌草比较,^f $P < 0.05$,^g $P < 0.01$

2.3 不同归经中药提取物 IC50 药物浓度对 HepG2 细胞凋亡及生长周期的影响:流式细胞仪分

析显示(表 4),与白花蛇舌草、水蛭提取物比较,24 h 时丹参、莪术提取物诱导凋亡作用明显增高(P 均 < 0.01)。48 h 时白花蛇舌草提取物作用与对照比较不明显($P > 0.05$);莪术、水蛭、丹参提取物诱导细胞凋亡率较白花蛇舌草提取物明显升高(P 均 < 0.01),其中以莪术提取物作用最强,与丹参、水蛭提取物比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。至 72 h 时,水蛭、莪术、丹参提取物诱导 HepG2 细胞凋亡作用较白花蛇舌草提取物明显增强(P 均 < 0.01),归肝经中药中水蛭、莪术提取物作用强于丹参提取物($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。

表 4 不同归经中药提取物对 HepG2 细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

归经中药 提取物	不同作用时间的细胞凋亡率(%)		
	24 h	48 h	72 h
对照	6.79 \pm 1.94	9.81 \pm 5.36	14.41 \pm 2.04
白花蛇舌草	17.20 \pm 1.69 ^d	21.22 \pm 12.81	35.53 \pm 7.03 ^d
丹参	32.13 \pm 4.90 ^{de}	48.91 \pm 14.94 ^{de}	65.88 \pm 11.29 ^{de}
水蛭	15.98 \pm 2.76 ^{de}	59.83 \pm 8.92 ^{de}	83.20 \pm 10.56 ^{de}
莪术	28.41 \pm 7.43 ^{de}	90.13 \pm 9.18 ^{de}	92.74 \pm 7.41 ^{de}

注:与对照比较,^d $P < 0.05$,^e $P < 0.01$;与白花蛇舌草比较,^f $P < 0.01$;与丹参比较,^g $P < 0.05$,^h $P < 0.01$;与水蛭比较,ⁱ $P < 0.01$

表 5 显示白花蛇舌草提取物对细胞周期的影响与对照比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05),莪术、丹参、水蛭提取物处理后 HepG2 细胞周期表现为 G0/G1 期细胞比例上升,与对照、白花蛇舌草提取物比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。表明丹参、莪术、水蛭提取物对 HepG2 细胞周期分布的影响主要是阻止 HepG2 细胞从 G0/G1 期进入 S 期的转变过程。

表 5 不同归经中药提取物干预 48 h 后对 HepG2 细胞周期分布的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

归经中药 提取物	不同细胞周期的细胞比例(%)		
	G0/G1 期	S 期	G2/M 期
对照	57.6 \pm 7.7	24.4 \pm 3.7	17.8 \pm 1.6
白花蛇舌草	58.9 \pm 4.2	21.4 \pm 0.9	19.8 \pm 2.1
丹参	76.8 \pm 4.8 ^{de}	10.7 \pm 3.2 ^{de}	12.4 \pm 2.1 ^f
水蛭	69.4 \pm 6.0 ^{de}	18.2 \pm 3.2 ^b	12.7 \pm 1.4 ^f
莪术	76.2 \pm 0.8 ^{de}	9.3 \pm 6.0 ^{de}	14.5 \pm 6.1 ^f

注:与对照比较,^d $P < 0.05$,^e $P < 0.01$;与白花蛇舌草比较,^f $P < 0.05$,^g $P < 0.01$;与丹参比较,^h $P < 0.05$

AO/EB 双染结果显示(彩色插图 1),归肝经中药丹参、水蛭提取物干预 48 h 后可见大量早、晚期凋亡细胞,莪术挥发油干预后以晚期凋亡细胞为

主。而非归肝经中药白花蛇舌草提取物干预后仅见少量早期凋亡细胞。早期凋亡细胞,呈致密浓染的黄绿色染色或出现黄绿色碎片;晚期凋亡细胞,呈致密浓染的鲜红色染色或出现鲜红色碎片。

3 讨论

近年来有研究者发现不同中药或中药制剂对不同肿瘤细胞的抑制效果有差异。如张晨等^[8]观察了榄香烯、鸦胆子油、康莱特注射液(主要成分为薏苡仁油)、生脉注射液等 6 种中药注射液对人肝癌细胞 BEL-7402 的杀伤作用,结果发现榄香烯、鸦胆子抗肝癌作用远大于其他注射液;而康莱特注射液治疗肿瘤的报道以肺癌、胰腺癌等最为多见。马靖等^[9]发现甘草提取物选择性诱导胃癌 MGC803、肺癌 NSCLC 等几种人肿瘤细胞凋亡。黄书铭等^[10]发现灵芝醇对 Hela 细胞、人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖抑制所需的浓度分别为抑制 BEL-7402 细胞所需浓度的 8 倍和 32 倍。通过分析发现,这些药物可发挥较好抑制效果的肿瘤细胞种类与其归经属性基本相符。上述研究表明,不同中药对肿瘤细胞的选择性抑制作用存在某种规律性。

为了初步探索中药归经属性与抗肿瘤效应的差异是否相关,本研究中观察了不同归经的中药提取物对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用,对比分析了归肝经中药莪术、水蛭、丹参与非归肝经中药白花蛇舌草抑制 HepG2 细胞增殖及诱导凋亡作用的差异。结果显示,归肝经中药在体外抑制肝癌 HepG2 细胞增殖以及诱导细胞凋亡等方面要强于非归肝经中药。比较抑制 HepG2 细胞 IC₅₀ 浓度对应生药量,非归肝经中药白花蛇舌草提取物是归肝经中药水蛭、丹参提取物的 10 倍以上,是莪术挥发油的 100 倍以上。进一步比较 IC₅₀ 浓度下不同归经中药对 HepG2 细胞增殖抑制及凋亡诱导作用的影响发现,在处理 48 h、72 h 时,归肝经中药莪术、水蛭、丹参提取物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用明显强于非归肝经中药白花蛇舌草提取物,其细胞凋亡率亦明显高于白花蛇舌草。细胞周期分析结果表明,归肝经中药莪术、丹参、水蛭提取物阻滞 HepG2 细胞从 G₀/G₁ 期进入 S 期,发挥抑制细胞增殖作用,而非归肝经中药白花蛇舌草则对 HepG2 细胞周期无明显影响。同样,细胞形态学观察结果以及 AO/EB 双染观察凋亡细胞形态结果均表明非归肝经中药在抑制 HepG2 细胞增殖及诱导凋亡作用方面均低于归肝经中药。以上实验结果提示归肝经可能与中药抗肝癌靶向作用相关。

此外,本研究中还发现,3 种归肝经中药的抗肝癌作用亦有差异,莪术挥发油作用显著强于丹参、水蛭提取物。水蛭提取物处理 24 h 时诱导 HepG2 细胞凋亡作用弱于丹参提取物,但 72 h 时却强于丹参提取物,两者作用在其他方面无明显差异。三者归经分别为莪术归肝、脾经,水蛭归肝经,丹参归心、肝经。分析归经属性,以水蛭为参照,丹参增加归心经属性,抗肝癌 HepG2 细胞作用并无明显提高,但其在心血管疾病中的良好疗效也与归心经属性相对应^[11-12];而莪术增加归脾经属性,抗肝癌 HepG2 细胞作用可明显提高,是否归脾经可促进抗肝癌作用?有意义的是,从中医病机角度考虑,与肝癌密切相关的脏腑为肝、脾,“肝郁脾虚”为肝癌患者本虚的基本病机,这也从另一侧面提示了研究归经属性与抗肿瘤趋向性关系时,不能简单以现代解剖学概念阐释中医脏腑属性,而应结合疾病的中医基本病机来确定筛选药物的范围。

参考文献

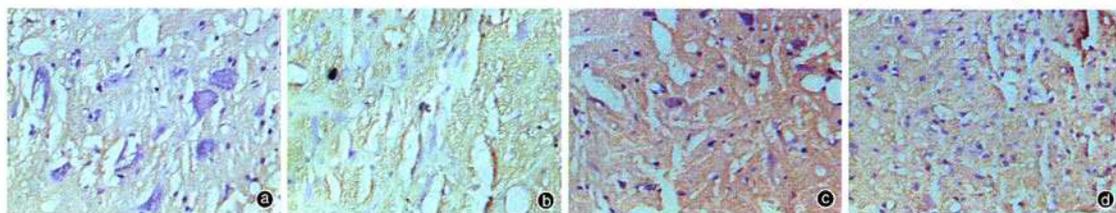
- [1] 朱希,管冬元,方肇勤.健脾益气法下调大鼠肝癌组织信号转导相关基因的研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2007,9(4):47-50.
- [2] 邓欣,杨大国,吴其他,等.正肝方及其拆方影响人肝癌细胞增殖及端粒酶活性的体外实验研究[J].中国中西医结合急救杂志,2005,12(6):338-340.
- [3] 韩晓红,盖晓东,薛延军,等.不同浓度中药柴胡提取物对人肝癌细胞内 Ca²⁺ 和 p53 表达的影响[J].江苏大学学报(医学版),2006,16(1):16-18,22.
- [4] 徐乃玉,张素萍,童建.去甲斑蝥素处理肝癌细胞 SMMC-7721 蛋白质的双向电泳分析[J].实用癌症杂志,2007,22(3):221-223.
- [5] 杨道科,宋一帆.β-榄香烯对人肝癌细胞株的体外放射增敏作用[J].中国现代药物应用,2008,2(17):47-49.
- [6] 李琦,王炎,范忠泽,等.丹参酮 I A 及其纳米粒诱导肝癌细胞凋亡及对 p38 MAPK、TGFβ1 信号蛋白表达的影响[J].肿瘤,2008,28(1):8-12.
- [7] 王厚伟.低温炮制工艺对水蛭水溶性蛋白组成及纤溶活性的影响[J].中药材,2007,30(3):272-275.
- [8] 张晨,吕书勤,张亚妮,等.几种中药注射剂体外对肝癌细胞 BEL-7402 的杀伤作用[J].浙江中医学院学报,2005,29(6):93-95.
- [9] 马靖,彭文烈,徐安龙,等.甘草提取物体外选择性诱导几种人肿瘤细胞凋亡[J].癌症,2001,20(8):806-811.
- [10] 黄书铭,杨新林,王帮武,等.灵芝醇酸性组分的抗肿瘤作用[J].天然产物研究与开发,2004,16(2):146-148.
- [11] 巢胜吾,王玲,樊济海,等.丹参酮 I A 抑制急性心肌梗死患者左室重构的近期疗效观察[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(3):145-146.
- [12] 王荣忠,王顺民,王润林,等.中西医结合治疗心肌梗死后期慢性心力衰竭伴频发室性期前收缩的临床疗效观察[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(3):147-150.

(收稿日期:2009-02-21 修回日期:2009-04-27)

(本文编辑:李银平)

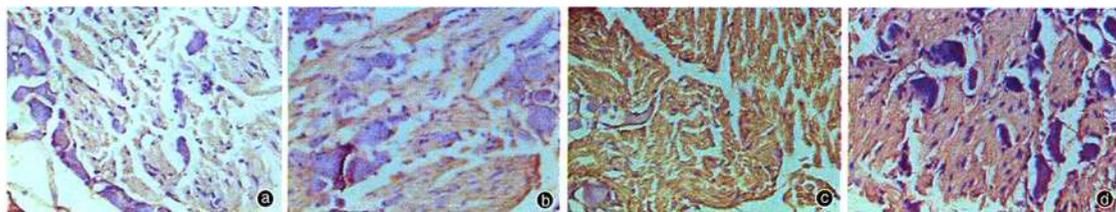
针刺内关穴对心肌缺血/再灌注损伤大鼠脊髓背角和背根神经节内5-羟色胺表达的影响

(正文见195页)



①:正常对照组; ②:假手术组; ③:模型组; ④:针刺组

图1 各组大鼠脊髓背角内5-HT阳性表达(免疫组化, ×400)

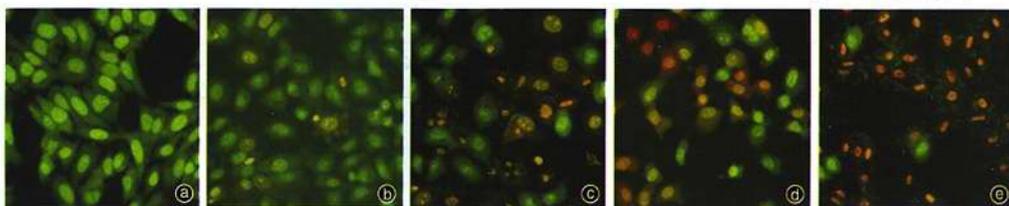


①:正常对照组; ②:假手术组; ③:模型组; ④:针刺组

图2 各组大鼠DRG内5-HT阳性表达(免疫组化, ×400)

归肝经中药对肝癌HepG2细胞增殖抑制及凋亡诱导作用的研究

(正文见199页)

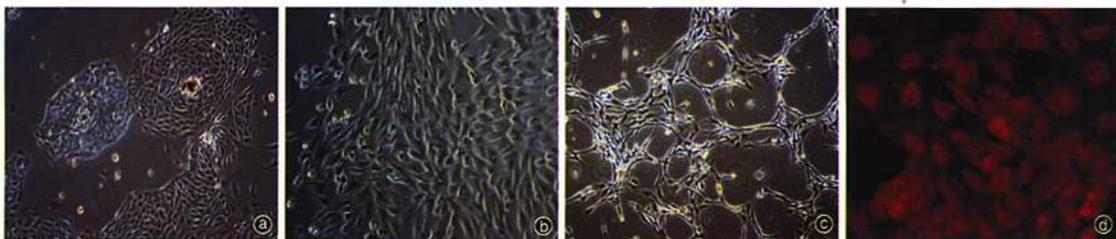


①:对照; ②:白花蛇舌草; ③:丹参; ④:水蛭; ⑤:莪术

图1 不同归经中药IC50药物浓度处理48 h后HepG2细胞凋亡情况(AO/EB双染, ×400)

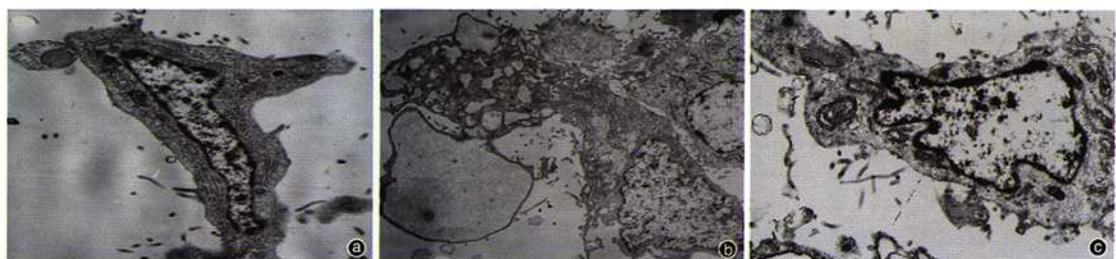
血必净注射液对脂多糖诱导大鼠肾脏微血管内皮细胞组织因子表达的影响及机制探讨

(正文见218页)



①:培养3~4 d; ②:培养6 d; ③:传代后; ④:分离培养后(间接免疫荧光)

图1 倒置显微镜下观察原代分离培养大鼠RMECs不同阶段的变化(×400)



①:对照组(×3 000); ②:10 mg/L LPS作用24 h组(×5 000); ③:血必净25.0 g/L治疗组(×7 000)

图2 透射电镜下观察各组大鼠RMECs形态学变化(轴-铅双染)