

miR-99b-5p 对紫杉醇致大鼠神经病理性疼痛的缓解作用及对神经细胞焦亡和凋亡的影响*

曾文玉¹, 辜文艳², 徐力¹, 张英¹, 韩聪^{1△}

(1. 西南医科大学附属中医医院疼痛科, 2. 西南医科大学附属中医医院手术室, 泸州 646000)

【摘要】 目的: 研究 miR-99b-5p(非编码 RNA)通过抑制 NLRP3 炎性小体活化缓解紫杉醇化疗后病理性神经痛的干预作用,以及对神经细胞焦亡和凋亡的影响。**方法:** SD 大鼠随机分为空白组(Blank)、模型组(Model)、agomiR-99b-5p 治疗组和 agomiR-NC 对照组,每组 6 只。空白组接受生理盐水治疗作为对照,模型组通过紫杉醇诱导建立疼痛模型,agomiR-99b-5p 组和 agomiR-NC 组为在模型组的基础上注射 agomiR-99b-5p 和 agomiR-NC 进行干预。RT-qPCR 检测空白组、模型组、agomiR-99b-5p 治疗组和 agomiR-NC 组大鼠背根神经节中 miR-99b-5p 的表达差异;vonFrey 纤维丝检测空白组、模型组与治疗组机械缩足阈值(MWT);TUNEL 法测定背根神经节细胞凋亡情况;试剂盒检测大鼠背根神经节中 ROS、MDA 和 SOD;免疫荧光染色检测炎症小体 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β 蛋白的表达。**结果:** 与空白组比较,模型组 miR-99b-5p 含量较低;与模型组比较,agomiR-99b-5p 治疗组可以显著增加大鼠背根神经节 miR-99b-5p 的水平($P<0.05$),增加大鼠机械缩足阈值(MWT)($P<0.05$),抑制背角细胞的凋亡,大鼠背根神经节 ROS 和 MDA 水平降低($P<0.05$),而 SOD 水平增加($P<0.05$)。免疫荧光显示,NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β 的表达水平可被 miR-99b-5p 抑制。**结论:** 在体内 miR-99b-5p 可以通过抑制 NLRP3 活化和改善机体氧化应激以缓解大鼠经紫杉醇化疗后的神经病理性疼痛及神经细胞焦亡和凋亡。

【关键词】 背根神经节; miR-99b-5p; 氧化应激; NLRP3

【中图分类号】 R741

【文献标识码】 A

【文章编号】1000-6834(2024)01-054-005

【DOI】 10.12047/j.cjap.6289.2022.082

miR-99b-5p inhibits the activation of NLRP3 inflammasome to alleviate the neurotoxicity induced by paclitaxel chemotherapy

ZENG Wen-yu¹, GU Wen-yan², XYU Li¹, ZHANG Ying¹, HAN Cong^{1△}

(1. Department of Pain Medicine, the Affiliated T. C. M Hospital of Southwest Medical University. 2. Department of Operating Theatre, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

【ABSTRACT】 Objective: To study the effects of miR-99b-5p (non-coding RNA) in alleviating pathological neuropathic pain after paclitaxel chemotherapy by inhibiting NLRP3 inflammatory vesicle activation and the effects on neuronal cells pyrosis and apoptosis. **Methods:** SD rats were randomly divided into blank group, model group, agomiR-99b-5p treatment group, and agomiR-NC group, 6 rats in each group. The blank group received saline treatment as a control, the model group established a pain model induced by paclitaxel, and the rats in agomiR-99b-5p treatment group and agomiR-NC group were treated with agomiR-99b-5p and agomiR-NC injections, respectively. The expressions of miR-99b-5p in the blank group, model group, and treatment group were detected by RT-qPCR. The mechanical foot retraction threshold (MWT) of the blank group, model group, and treatment group were detected. TUNEL was used to detect the apoptosis of spinal dorsal horn cells. The levels of ROS, MDA, and SOD were detected by ELISA kits. The protein expressions of NLRP3, caspase-1, and IL-1 β were detected by immunofluorescence staining. **Results:** Compared with the model group, the expression level of miR-99b-5p and the MWT were increased significantly in agomiR-99b-5p treatment group ($P<0.05$), the apoptosis of dorsal horn cells was inhibited ($P<0.05$), the level of antioxidant stress was increased in rats, the levels of ROS and MDA were decreased ($P<0.05$), while the level of SOD was increased ($P<0.05$). Immunofluorescence showed that the expressions of NLRP3, caspase-1, and IL-1 β were inhibited by miR-99b-5p. **Conclusion:** miR-99b-5p can alleviate the apoptosis and pyroptosis of neurons after paclitaxel chemotherapy by inhibiting the activation of NLRP3 and improving oxidative stress *in vivo*.

【KEY WORDS】 dorsal root ganglion; miR-99b-5p; oxidative stress; NLRP3

*【基金项目】西南医科大学附属中医医院科研项目自然科学基金(2020XYLH-055)

【收稿日期】2022-03-07【修回日期】2022-08-09

△【通讯作者】Tel: 15196090960; E-mail: 408950003@qq.com

紫杉醇是一种常见的化疗药物,被广泛用于多种实体肿瘤的治疗,如肺癌、卵巢癌、乳腺癌^[1]。紫杉醇在对肿瘤有确切的治疗效果同时也具有神经毒副作用^[2]。紫杉醇给药后在背根神经节(dorsal root

ganglia, DRG) 蓄积浓度较其他周围神经浓度较高, 因此 DRG 成为外周神经毒性的主要研究对象^[3]。化疗药物往往导致神经组织的炎症反应和氧化应激反应的发生, 炎症和氧化应激是细胞焦亡的潜在诱导因素之一, 而 NLRP3 激活是神经细胞焦亡和凋亡的重要机制。细胞焦亡 (pyroptosis) 是近几年新发现的一种伴随着炎症反应的细胞程序性死亡方式。主要表现为细胞核固缩、染色质 DNA 断裂片段化, 细胞膜上形成许多 1~2 nm 的孔隙、细胞膜完整性被破坏, 溶解释放胞内容物, 诱发炎症反应。而细胞在发生焦亡的同时释放出 IL-1 β 和 IL-18, 募集更多的炎症细胞, 扩大炎症反应^[4]。紫杉醇能够启动信号(核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3) NLRP3 炎性小体激活^[2]。同时, 抗肿瘤药物在非靶向组织中产生的氧化应激被认为是导致其严重神经毒性的主要因素^[5]。目前, 紫杉醇是抗癌药物中不可缺少的药物, 对其毒副作用发生机制, 和找到缓解其对应症状的有效药物是亟待解决的问题。MicroRNAs (miRNAs) 已经在肿瘤领域被广泛研究, 包括增殖和凋亡^[6]。据报道, miR-99b-5p 与炎症反应有一定关系, 但其在紫杉醇导致的外周神经疼痛中的作用及机制并不明确。另外, agomiRNA 为被化学修饰的 miRNA 激动剂, 能够模拟内源性 miRNA 进入 miRISC (miRNA 诱导的沉默复合物) 发挥调节靶基因的 mRNA 的表达发挥作用。agomiR-99b-5p 为特殊化学修饰的 miR-99b-5p 能够在体内模拟 miR-99b-5p 的生物学功能。本研究旨在探讨 agomiR-99b-5p 对紫杉醇驱动炎症小体复合物的组装和背根神经节中 caspase-1 激活后的生物学调控作用, 并探讨 agomiR-99b-5p 在背根神经节中的抗氧化应激能力, 以期为化疗后疼痛的治疗提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物饲养及模型建立

24 只雄性 SD 大鼠被随机分为 4 组, 分别为空白组 (Blank)、模型组 (Model)、agomiR-99b-5p 治疗组和 agomiR-NC 对照组, 每组 6 只。大鼠体重为 (200 \pm 20) g 饲养于西南医科大学 SPF 级动物房, 生产许可证编号: SCXK(川)2020-030。大鼠自由进食和饮水, 温度控制在约 21 $^{\circ}$ C, 湿度约 50%, 光照控制 12 h 明/12 h 暗, 适应性喂养 7 d 后, 进行药物诱导模型建立。紫杉醇针剂购买于海南中化联合药业, 按照 2 mg/kg 腹腔注射紫杉醇建立大鼠化疗模型, 大鼠在实验第 1、3、5、7 日分别腹腔注射紫杉醇 2

mg/kg 建立疼痛模型 (Model), 对照组 (Blank) 注射等量生理盐水。agomiR-99b-5p 和 agomiR-NC 购买于中国锐博生物, 在实验第 1~14 日的相同时间点每日经尾静脉给大鼠注射 agomiR-99b-5p (miR-99b-5p 激动剂)、agomiR-NC (NC 对照)。

1.2 大鼠 MWT 检测

使用 vonFrey 纤维丝推算大鼠 50% 缩足阈: 将透明有机玻璃箱安置在金属筛网上, 使用 von Frey 纤维丝垂直刺激大鼠右侧后肢足底中部, 持续时间 6~8 s, 大鼠表现为抬足或舔足则被判定为阳性反应, 没有则为阴性。最大刺激克数为 15 g, 大于 15 g 时也记为 15 g, 每次刺激间隔 30 s。开始纤维丝刺激为 2 g, 力度刺激不能造成阳性反应, 则使用相邻大一级力度的刺激, 如出现阳性反应则使用相邻小一级力度的刺激, 连续操作, 直到第一次阳性反应出现为止, 再连续测试 4 次。

1.3 RT-qPCR 实验

通过 RT-qPCR 检测 agomiR-99b-5p 对大鼠背根神经节 miR-99b-5p 的影响, 并以 U6 作为内参。采用 Trizol 试剂盒提取大鼠背根神经节总 RNA, 利用反转录试剂盒 (上海翊圣) 在 25 $^{\circ}$ C 下反应 5 min, 55 $^{\circ}$ C 条件下反应 15 min, 85 $^{\circ}$ C 条件下反应 5 min 进行逆转录合成 cDNA。引物由加尾法设计得到: miR-99b-5p: 5'-CACCCGTAGAACCGACCTTGCG-3', 5'-CAGTGCCTGTCGTGGAGT-3'; U6: 5'-CTCGCTTCGCTTCGGCAGCACA-3', 5'-AACGCTTGAGGAATTTGCGT-3'。

1.4 TUNEL 实验

通过 TUNEL 试剂盒检测背根神经节凋亡阳性细胞, 在 DNA 的断裂时会暴露出 3'-羟基 (3'-OH) 末端能够掺入 Alexa Fluor 488-12-dUTP, 从而可以用荧光显微镜检测 (绿色荧光)。将大鼠背根神经节浸泡于 4% 多聚甲醛中固定过夜, PBS 清洗 3 次, 将背根神经节组织与蛋白酶 K 在黑暗中于 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 以使细胞模型具有渗透性。用 100 μ l 1 \times 平衡缓冲液固定 10~30 min。然后, 吸出上清液, 将其与 Alexa Fluor 488-dUTP 标记混合物 (上海翊圣生物科技有限公司) 在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1 h, 用 PBS 冲洗背景, 用含 DAPI 的封片剂密封载玻片, 并在激光共聚焦下观察并采集图片。凋亡率的计算方法为选择 5 个高倍视野 (\times 400), 计算其中 500 个细胞中的阳性细胞 (绿色荧光) 所占的百分比, 最后求取平均数则为实验结果。

1.5 ELISA 实验

通过检测 ROS、MDA 和 SOD 来评定 agomiR-

99b-5p 对大鼠背根神经节氧化应激水平的影响。ROS、MDA 和 SOD 检测试剂盒购买于南京建材生物科技有限公司。取大鼠背根神经节,匀浆,取上清液稀释的待检样品 0.1 ml 加入反应孔中,置 37℃ 孵育 1 h。然后洗涤加入反应液,常温下避光孵育 2 h。反复洗板 5 次后加入反应亲和物,室温孵育,PBS 洗板,加入底物溶液,室温下避光孵育,最后加入终止液终止反应,测定 450 nm 处吸光度(A)值。

1.6 组织免疫荧光检测

通过免疫荧光检测 agomiR-99b-5p 对大鼠背根神经节 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β 表达的影响。将大鼠背根神经节组织在 4% 多聚甲醛中固定 24 h。将组织用乙醇和二甲苯梯度脱水,固定在石蜡中,切成薄片(4 μ m)进行接下来的处理。一抗 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β 抗体购买于 Abcam。对于免疫荧光,将石蜡切片用二甲苯和 3% 的过氧化氢去石蜡,以在室温下血清(Gibco)固定。然后,将切片一抗固定孵过夜,PBST 清洗 4 次,荧光二抗(DyLight 488 AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG+L,艾美杰科技)孵育 30 min。随机选择 5 个视野,并使用 BA400 数码显微镜(厦门,中国,Motic)评估免疫反应区域。通过 Image-Pro Plus 软件(Media Cybernetics, Inc., Rockville, MD, USA)分析图像的光密度。

1.7 统计学处理

实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计分析,在多组间进行两两比较时采用 *q* 检验。

2 结果

2.1 agomiR-99b-5p 对紫杉醇诱导的 SD 大鼠神经痛行为学的影响

测定大鼠疼痛基础阈值,去除差异较大个体。大鼠最后一次注射 agomiR-99b-5p 后 1 h 后足 MWT 实验结果显示,与 Blank 组比较,Model 组 MWT 值减少($P<0.05$),agomiR-99b-5p 治疗组 MWT 值接近于空白组;与 Model 组比较,agomiR-NC 组 MWT 值之间差异无显著性(表 1)。

Tab. 1 Effects of agomiR-99b-5p on MWT in rats (g, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Group	Base threshold	After treatment
Blank	14.78 \pm 0.30	13.71 \pm 0.27
Model	13.98 \pm 0.61	8.85 \pm 0.55*
AgomiR-99b-5p	14.27 \pm 0.25	14.56 \pm 0.38#
AgomiR-NC	14.53 \pm 0.54	9.06 \pm 0.34

* $P<0.05$ vs blank group; # $P<0.05$ vs model group

2.2 agomiR-99b-5p 对紫杉醇诱导的神经痛 SD 大鼠氧化应激的影响

与 Blank 组比较,Model 组的 MDA 及 ROS 水平显著增加($P<0.05$),而 SOD 显著减少($P<0.05$);与 Model 组比较,agomiR-99b-5p 组的 MDA 及 ROS 水平显著减少($P<0.05$),而 SOD 水平显著增加($P<0.05$);与 Model 组比较,agomiR-NC 组上述指标水平之间的差异无显著性($P>0.05$,表 2)。

Tab. 2 The levels of MDA, SOD and ROS in rat dorsal root ganglion ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Group	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)	ROS (%)
Blank	1.48 \pm 0.18	15.31 \pm 0.36	7.89 \pm 0.12
Model	2.10 \pm 0.13*	10.32 \pm 0.12*	10.82 \pm 0.03*
AgomiR-99b-5p	1.70 \pm 0.05#	14.32 \pm 0.18#	7.23 \pm 0.25#
AgomiR-NC	2.15 \pm 0.06	10.68 \pm 0.31	10.05 \pm 0.36

* $P<0.05$ vs blank group; # $P<0.05$ vs model group

2.3 agomiR-99b-5p 对紫杉醇诱导的神经痛 SD 大鼠背根神经节 miR-99b-5p 水平及细胞凋亡的影响

完成行为学实验后处死大鼠,收集大鼠背根神经节进行 RT-qPCR 检测 agomiR-99b-5p 注射后大鼠 miR-99b-5p 的变化,结果表明,治疗组 miR-99b-5p 表达水平明显高于模型组而与空白组没有差异,而 agomiR-NC 与模型组无差异,说明 agomiR-99b-5p 对大鼠背根神经节 miR-99b-5p 具有显著的激活作用(表 3)。TUNEL 染色检测凋亡细胞结果表明,阳性细胞用 Alexa Fluor 488-dUTP Labeling Mix 染色为绿色。Blank 组未见明显绿色荧光,模型组和 agomiR-NC 组绿色荧光细胞多于 agomiR-99b-5p 治疗组(图 1)。提示 agomiR-99b-5p 可改善紫杉醇化疗诱导的神经毒性,抑制背根神经节细胞凋亡。

Tab. 3 Expressions of agomiR-99b-5p detected by RT-qPCR and apoptotic cells determined by TUNEL

Group	miR-99b-5p level	Apoptotic cells (%)
Blank	1.01 \pm 0.12	0.04 \pm 0.01
Model	0.56 \pm 0.26*	11.84 \pm 0.52*
AgomiR-99b-5p	1.68 \pm 0.05#	6.64 \pm 0.07#
AgomiR-NC	0.63 \pm 0.11	11.83 \pm 0.35

* $P<0.05$ vs blank group; # $P<0.05$ vs model group

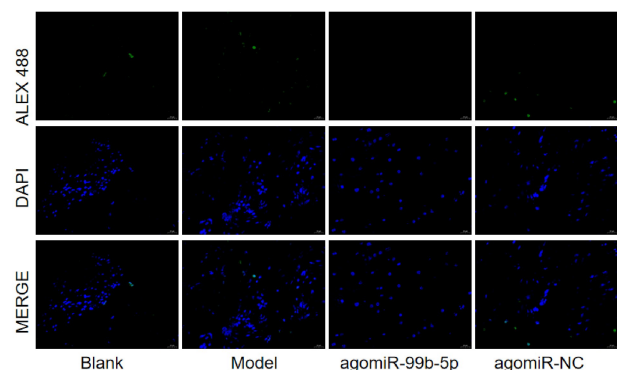


Fig. 1 The results of the rat nerve cells stained by TUNEL kit

2.4 agomiR-99b-5p 对紫杉醇诱导的神经痛 SD 大鼠 NLRP3 炎性小体活化的影响

为了进一步研究 agomiR-99b-5P 对神经细胞损伤的影响,通过免疫荧光测定细胞焦亡途径相关蛋白的表达水平。结果表明,与 Blank 组大鼠相比, Model 组 NLRP3、caspase-1、IL-1 β 荧光强度增加,即蛋白的表达水平较高;而 agomiR-99b-5P 治疗后荧光降低,即蛋白表达水平下降(图 2,表 4)。与 Model 组比较,agomiR-NC 组上述指标水平的差异无显著性。这些数据表明,agomiR-99b-5P 可以通过 NLRP3/caspase1/IL-1 β 途径影响背根神经细胞的活力和氧化应激水平。

Tab. 4 Expressions of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β detected by immunofluorescence ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Group	NLRP3	Caspase-1	IL-1 β
Blank	17.15 \pm 0.23	14.80 \pm 0.38	16.35 \pm 0.32
Model	18.02 \pm 0.43 *	16.57 \pm 0.53 *	18.32 \pm 0.31 *
AgomiR-99b-5p	16.17 \pm 0.45 #	14.52 \pm 0.19 #	16.19 \pm 0.25 #
AgomiR-NC	18.01 \pm 0.28	16.23 \pm 0.10	18.51 \pm 0.57

* $P<0.05$ vs blank group; # $P<0.05$ vs model group

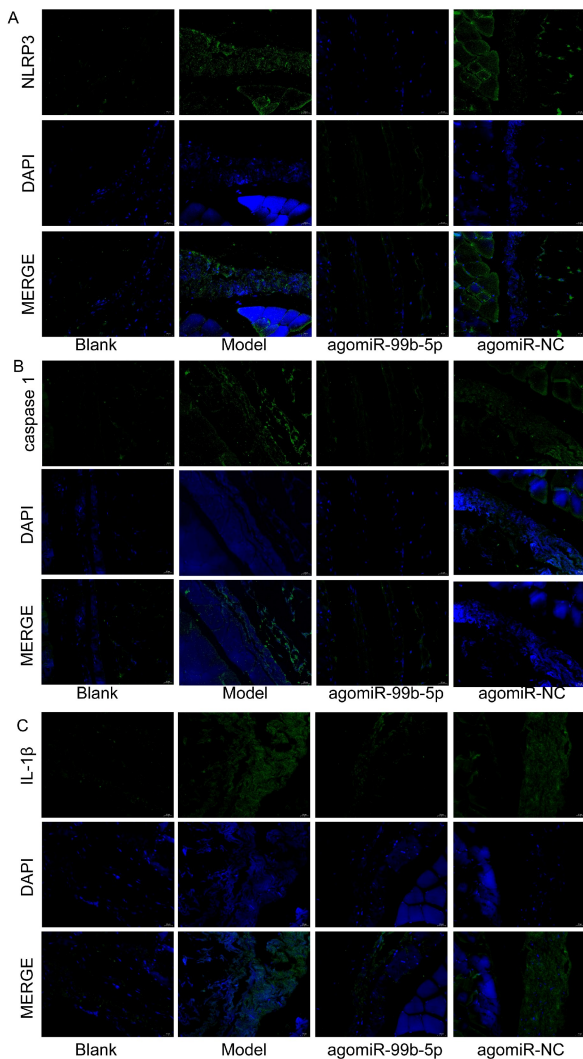


Fig. 2 The protein expression levels of NLRP3, caspase1, and IL-1 β in rat dorsal root ganglia

3 讨论

本研究通过紫杉醇诱导建立大鼠疼痛模型,与空白组比较,模型组大鼠 MWT 耐受性显著低于空白对照组,表明化疗后疼痛模型建立成功,注射 agomiR-99b-5p 后 agomiR-99b-5p 治疗组和空白组 MWT 接近,表明 agomiR-99b-5p 可以缓解疼痛应激反应。另外,尾静脉注射 agomiR-99b-5p 后 miR-99b-5p 在大鼠背根神经节的蛋白表达明显上调,表明 miR-99b-5p 激动剂能够在体内促进 miR-99b-5p 水平增加。本研究也发现,agomiR-99b-5p 可以下调 NLRP3 表达,进而抑制 IL-1 β 和 IL-18 的表达,减轻机体的炎症反应,这些受到抑制的炎症反应表明背根神经节焦亡细胞可能也受到抑制。同时背根神经细胞 ROS 和 MDA 的含量在 agomiR-99b-5p 治疗组显著减少,而 SOD 蛋白的表达水平明显增加,机体抗氧化应激能力增强。同时,从 TUNEL 的实验结果可以看出,注射 agomiR-99b-5p 后,凋亡阳性细胞显著减少,agomiR-99b-5p 也抑制紫杉醇化疗造成的大鼠神经细胞凋亡。

紫杉醇目前仍是无可替代的抗肿瘤药物,良好的治疗效果仍使其身居一线。紫杉醇能够介导 TLR4 下游信号通路的激活,导致 NF- κ B 被激活,机体发生炎症反应,同时紫杉醇被证明也能通过激活炎症小体 NLRP3 的激活加重机体炎症反应^[2, 7, 8]。在肿瘤治疗过程中,紫杉醇造成的炎症反应与细胞氧化应激,也是导致明显的神经毒性的原因。在 NLRs 家族中,NLRP3 炎性小体是免疫调节机制激活的关键介质^[9]。NLRP3 炎性小体引发的炎症反应可由机体多种疾病引发,包括海马内细胞焦亡和炎症反应以及心肌病变^[10, 11]。NLRP3 炎性小体通过募集 procaspase-1 形成蛋白复合物,将 pro-IL-1 β 与 pro-IL-18 转化为成熟的炎性因子 IL-1 β 和 IL-18,炎性因子由前体形式转变为活化状态,分泌到细胞外引起炎症反应^[12]。ROS 是有氧细胞在代谢过程中产生一系列活性氧簇,主要来源于线粒体^[13]。ROS 能够通过激活 NLRP3 炎性小体,导致外周、中枢神经组织中免疫活性细胞炎性小体发生聚集和活化,机体发生炎症反应^[14]。miR-99b-5p 能够在抑制机体 ROS 的产生而进一步抑制 NLRP3 的活化,进而达到治疗效果。miR-99b-5p 通过抑制 NLRP3 的活化抑制机体氧化应激反应的发生,进而抑制背根神经节细胞的凋亡和焦亡。

综上所述,agomiR-99b-5p 干预后,大鼠 MWT 增加,紫杉醇造成的背根神经细胞凋亡减少。miR-

99b-5p 在缓解紫杉醇化疗后的神经毒性具有显著效果,本研究结果进一步丰富紫杉醇诱导神经毒性的机制。然而本实验的研究不足之处为未研究 miR-99b-5p 下游的靶基因,及靶基因介导的生理、病理进程。为进一步验证 NLRP3 在紫杉醇诱导的神经毒性中发挥的作用,待进一步采取沉默 NLRP3 以验证其是否能够成为紫杉醇化疗后遗症的潜在靶点。本研究将 miRNA 运用到疾病的治疗中,为紫杉醇诱导的神经毒性治疗提供新方法。

【参考文献】

- [1] Weaver BA. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(18): 2677-2681.
- [2] Son S, Shim DW, Hwang I, et al. Chemotherapeutic agent paclitaxel mediates priming of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1108-1108.
- [3] Cavaletti G, Cavalletti E, Oggioni N, et al. Distribution of paclitaxel within the nervous system of the rat after repeated intravenous administration [J]. *Neurotoxicology*, 2000, 21(3): 389-393.
- [4] 羽 依, 刘秀萍. Gasdermin E 诱导细胞焦亡的研究进展[J]. *中华病理学杂志*, 2021, 50(4): 421-424.
- [5] Pieniazek A, Czepas J, Piasecka-Zelga J, et al. Oxidative stress induced in rat liver by anticancer drugs doxorubicin, paclitaxel and docetaxel [J]. *Adv Med Sci*, 2013, 58(1): 104-111.
- [6] Wang Z, Zhao Z, Yang Y, et al. MiR-99b-5p and miR-203a-3p function as tumor suppressors by targeting IGF-1R in gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 10119.
- [7] Puzstai L, Mendoza TR, Reuben JM, et al. Changes in plasma levels of inflammatory cytokines in response to paclitaxel chemotherapy [J]. *Cytokine*, 2004, 25(3): 94-102.
- [8] Collins TS, Lee LF, Ting PY. Paclitaxel up-regulates interleukin-8 synthesis in human lung carcinoma through an NF- κ B and AP-1-dependent mechanism [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2000, 49(2): 78-84.
- [9] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. *Nature*, 2010, 464(7293): 1357-1361.
- [10] 姬瑞方, 卞学鹏, 刘蓓蓓, 等. 抗阻运动对胰岛素抵抗小鼠海马内焦亡相关蛋白的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(5): 456-461.
- [11] 杨张良, 徐慧琳, 程 茵, 等. 熊果酸对糖尿病小鼠心肌病变的作用及其机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2018, 34(4): 309-312.
- [12] Vandanmagsar B, Youm YH, Ravussin A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance [J]. *Nat Med*, 2011, 17(2): 179-188.
- [13] Woo SY. IL-17 and IL-22 enhance skin inflammation by stimulating the secretion of IL-1 β by keratinocytes via the ROS-NLRP3-caspase-1 pathway [J]. *Int Immunol*, 2012, 24(3): 147-158.
- [14] Zhou R, Yazdi AS, Menu P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 221-225.
- (上接第 53 页)
- [9] Zhong X, Wang AJ, Wang HY. DHA-inhibited proliferation through the PTEN /PI3K/Akt pathway in gastric cancer SGC 7901 cells [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2013, 40(4): 190-194.
- [10] Cao WG, Yang WP, Fan R, et al. MiR-34a regulates cisplatin-induced gastric cancer cell death by modulating PI3K/AKT/survivin pathway [J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(2): 1287-1295.
- [11] 张洪英, 陈军宝, 卢宏柱. PI3K/Akt 信号通路在肿瘤血管形成中的作用研究进展[J]. *山东医药*, 2012, 52(47): 98-100.
- [12] Veloso M, Fritz W, Klaus K. P53 gene status and expression of p53, mdm2, and 21Waf1/Cip1 proteins in colorectal cancer [J]. *Virchows Arch*, 2000, 437(3): 241-247.
- [13] 李洪霞, 刘 芳, 夏俊华. miR-670-5p 对肺癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(5): 500-505.
- [14] 王 瑜, 何施燕, 朱若婷, 等. 紫草素对肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡的影响及其机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(4): 415-418.
- [15] 丁 璐, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 桦木酸对胃癌 SGC-7901 细胞凋亡的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(5): 495-499.
- [16] 陈亚楠, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 桦木酸对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(6): 628-632.
- [17] 刘久鹏, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 桦木酸对人胃癌 MGC-803 细胞增殖的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(3): 257-261.
- [18] 樊 华, 邵淑丽, 何孟奇, 等. 不同浓度桦木酸对人胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(4): 419-422.
- [19] Yu R, Yu BX, Chen JF, et al. Anti-tumor effects of atractylenolide I on bladder cancer cells [J]. *J Exp Clin Canc Res*, 2016, 35(40): 1-10.