

桃儿七联合伊马替尼对慢性粒细胞白血病 K562细胞增殖的影响

蔡佳¹ 周芳竹¹ 仁青巴松² 旺堆² 黄峥兰¹ 王欣^{3*} 冯文莉^{1*}

(¹重庆医科大学检验医学院临床检验诊断学教育部重点实验室, 重庆 400016; ²西藏昌都地区藏医院, 西藏 854000;
³重庆医科大学附属第一医院血液内科, 重庆 400016)

摘要 该文探讨了桃儿七联合伊马替尼对慢性粒细胞白血病K562细胞增殖的影响。采用桃儿七、伊马替尼(imatinib, IM)单独和联合处理K562细胞, CCK8法和克隆形成实验检测药物对K562细胞生长抑制的影响; 流式细胞术检测药物处理之后K562细胞周期的变化; 间接免疫荧光法以及蛋白印迹法检测药物对BCR-ABL及其下游JAK/STAT信号通路相关分子的影响。结果显示, 与桃儿七或IM单用相比, 两药连用能更有效地抑制K562细胞的生长及克隆形成, 能将K562细胞周期有效地阻滞在G₂/M期。BCR-ABL融合蛋白及其下游STAT5信号通路分子表达及磷酸化水平明显减少。以上结果表明, 桃儿七和低浓度IM联合处理具有协同效应, 能有效地抑制K562细胞的增殖, 其机制可能与细胞周期阻滞和BCR-ABL-JAK-STAT5信号通路抑制有关。

关键词 桃儿七; 慢性粒细胞白血病; 伊马替尼; JAK-STAT5信号通路; 细胞增殖

Effect of *Sinopodophyllum Hexundrum* Combined with Imatinib on Proliferation of K562 Cells in Chronic Myeloid Leukemia

Cai Jia¹, Zhou Fangzhu¹, Ren Qingbasong², Wang Dui², Huang Zhenglan¹, Wang Xin^{3*}, Feng Wenli^{1*}

(¹College of Laboratory Medicine, Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnostics by the Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; ²Tibet Changdu Tibetan Hospital, Tibet 854000, China; ³Hematology, The Hospital Group of the First Affiliated Hospital Of CQMU, Chongqing 400016, China)

Abstract To investigate the effects of *Sinopodophyllum hexundrum* combined with imatinib (IM) on proliferation of chronic myeloid leukemia K562 cells. K562 cells were treated with *Sinopodophyllum hexundrum* Imatinib, and joint processing, the effect of growth inhibition of K562 cells was detected by CCK8 and cell cloning assay method. Cell cycles were measured by flow cytometry analysis (FCM). Indirect immunofluorescence and Western blotting were used to detect the effects of the fusion BCR-ABL protein and its downstream JAK/STAT signaling pathway-related molecules. The results showed that compared with the use of *Sinopodophyllum hexundrum* or IM alone, the *Sinopodophyllum hexundrum* combined with IM can inhibit the growth and clonal formation of K562 cells more effectively, and block the K562 cell cycle in the G₂/M phase. The expression and phosphorylation levels of BCR-ABL fusion protein and its downstream STAT5 signaling pathway were significantly reduced. In conclusion, *Sinopodophyllum hexundrum* and Imatinib has a synergistic effect and can inhibit the proliferation of K562 cells in chronic myeloid leukemia, which may be related to cell cycle arrest and inhibition of BCR-ABL-

收稿日期: 2018-12-26 接受日期: 2019-03-12

重庆市卫生和计生委中医药科技项目(批准号: ZY201402109)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13983802837, E-mail: fengwlcqmu@sina.com; Tel: 18696609008, E-mail: wangxcqmu@sina.com

Received: December 26, 2018 Accepted: March 12, 2019

This work was supported by the Chongqing Municipal Health and Family Planning Commission Chinese Medicine Science and Technology Project (Grant No.ZY201402109)

*Corresponding authors. Tel: +86-13983802837, E-mail: fengwlcqmu@sina.com; Tel: +86-18696609008, E-mail:wangxcqmu@sina.com

网络出版时间: 2019-07-16 17:21:30 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190716.1721.038.html>

JAK-STAT5 signaling pathway.

Keywords *Sinopodophyllum hexundrum*; chronic myeloid leukemia; imatinib; JAK-STAT5 signal pathways; cell proliferation

慢性粒细胞白血病(chronic myeloid leukemia, CML), 简称慢粒, 是一类血液系统的恶性肿瘤, 90%以上的慢粒患者细胞中存在由t(9;22)(q34;q11)形成的BCR-ABL融合基因, 其编码产生的BCR-ABL融合蛋白具有异常增高的酪氨酸激酶活性, 激活下游多条信号通路, 导致血液细胞的恶性转化^[1-3]。目前, 慢粒治疗主要依赖于放化疗以及酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKIs), 其中伊马替尼(imatinib, IM)作为临床一线用药, 在慢粒的治疗上取得了良好疗效, 延长了患者的生存率^[4]。然而近年来患者向急变期转变以及对TKIs耐药的现象日趋普遍, 因此, 寻找新的慢粒治疗方法是亟待解决的重要问题^[5]。

桃儿七(*Sinopodophyllum hexundrum*)是小檗科桃儿七属植物, 最早于喜马拉雅山脉地区被发现, 于2005年被中国药典收载^[6]。桃儿七是一种广谱的抗肿瘤药物, 以往有研究学者发现, 桃儿七根醇提物可显著抑制人乳腺癌MCF-7细胞的生长^[7]。此外, 有文献报道, 桃儿七的叶萃取物可以通过调节HeLa细胞内DNA损伤机制从而选择性地抑制宫颈癌细胞的增殖^[8]。桃儿七的主要成分为鬼臼毒素, 其对小鼠移植性肝癌有明显的抑制作用^[9]。但桃儿七对慢粒急变期K562细胞的增殖影响尚不清楚。因此, 本研究初步探讨桃儿七联合IM对K562细胞增殖的影响及可能的作用机制, 以期慢粒的临床治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

桃儿七由西藏昌都地区藏医院提供并鉴定其品质, 避光保存, 使用前用RPMI 1640培养基稀释。IM购于瑞士诺华制药有限公司。CCK8试剂购自索莱宝科技有限公司。RPMI 1640培养基、胎牛血清(FBS)购自美国Gibco公司。甲基纤维素购自德国Sigma公司。p-BCR-ABL、BCR-ABI抗体以及P73、P27抗体购自美国Cell signaling technology公司。NF-κB抗体购自英国Abcam公司。β-actin抗体购自三箭生物公司。c-MYC抗体购自美国Origene公司。

试验中所用仪器主要为酶标仪、相差倒置显微镜、倒置荧光显微镜、流式细胞仪、化学发光仪。

1.2 细胞及其培养

慢粒急变期K562细胞由本课题组保存。K562细胞用含1%双抗和10% FBS的RPMI 1640培养基, 置于37 °C、5%的二氧化碳培养箱中培养。取对数生长期的细胞进行后续的实验。

1.3 CCK8法检测K562细胞活性

K562细胞按 2×10^3 个/孔的密度接种于96孔板, 每孔总体积100 μL。5个实验分组如下: 空白对照组(RPMI 1640培养基)、DMSO对照组(0.01% DMSO)、IM处理组(1 μmol/L的低浓度IM)、桃儿七处理组(2 μg/mL桃儿七)、桃儿七联合IM处理组(2 μg/mL桃儿七和1 μmol/L IM)。以上每组设5个复孔, 均培养12 h、24 h、48 h、72 h、96 h后, 加入CCK8, 37 °C孵育4 h, 于酶标仪上测定波长492 nm处吸光度值。

1.4 克隆形成实验检测K562细胞的克隆数

K562细胞分组和处理方法同1.2, 48 h后处理细胞, 500 r/min离心5 min, 重悬计数, 每组取300个细胞铺于24孔板, 设2个复孔。置于37 °C, 5% CO₂细胞孵箱中培养10天, 倒置显微镜下计数细胞克隆的数量。

1.5 间接免疫荧光检测K562细胞中BCR-ABL融合蛋白的表达量

按 1×10^6 /mL的细胞密度将K562细胞铺板于10 cm细胞培养皿中, 分组及处理按照1.3处理方法。涂片自然干燥之后。4%多聚甲醛室温固定15 min, PBS洗涤3遍; 0.1% Triton X-100室温处理15 min, PBS洗涤3遍; 之后山羊血清4 °C封闭1 h; 加入一抗4 °C孵育过夜, 洗涤之后二抗室温孵育1 h, PBS洗涤; 室温条件下DAPI处理15 min, PBS冲洗之后自然干燥, 最后甘油封片, 荧光显微镜下观察并记录结果。

1.6 流式细胞术检测K562细胞周期的变化

按照 1×10^6 /mL的细胞密度铺板于10 cm的细胞培养皿中, 分组及处理同前1.3, 48 h之后收集细胞, PBS洗涤2遍, 70%的乙醇重悬细胞, 4 °C固定过夜, 后续送重庆医科大学生命科学研究院流式检测细胞

周期。

蛋白印迹法检测BCR-ABL-JAK-STAT5信号通路及周期相关蛋白的表达情况

将K562细胞($1 \times 10^6/\text{mL}$)接种于10 cm细胞培养皿中, 处理方式及时间同前1.3; 收细胞, 提总蛋白; 经BCA法测定后, 每孔加样50 μg 进行10% SDS-PAGE电泳分离蛋白, 转膜后用含5%的脱脂奶粉TBST缓冲液室温封闭2 h, 一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 洗涤之后室温孵育二抗2 h。化学发光显示条带, 并记录结果。

1.7 统计学分析

实验数据采用GraphPad Prism5软件进行分析, 实验结果的计量数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVN), 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CCK8检测桃儿七联合低浓度IM对K562细胞生长的抑制

分别给予K562细胞桃儿七、低浓度IM单独以及联合处理, CCK8检测细胞生长情况。统计学分析桃儿七和IM的 IC_{50} 值分别为2.36 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3.379 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。结果显示, 与空白对照以及单药处理组相比, 联合处理组能有效地抑制K562细胞的增殖, 且差异有统计

学意义($P < 0.001$)(图1)。最终选取2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 桃儿七和1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的IM作用48 h作为处理条件。

2.2 桃儿七联合低浓度IM对K562细胞克隆形成能力的影响

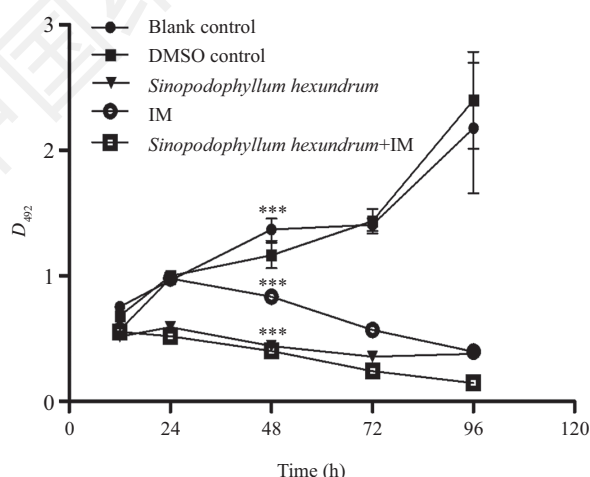
K562细胞经过桃儿七、低浓度IM单独处理以及联合处理48 h之后, 克隆形成结果显示, 与空白组(140.7 ± 17.3)和低浓度IM处理组(56.3 ± 2.1)的克隆数及大小相比, 联合处理组(10.7 ± 2.9)的克隆数显著减少, 克隆大小明显缩小, 差异均具有统计学意义($P < 0.001$)(图2)。克隆形成实验表明, 桃儿七联合低浓度IM处理对K562细胞的增殖有明显的抑制作用。

2.3 间接免疫荧光检测桃儿七联合低浓度IM对BCR-ABL融合蛋白表达的影响

免疫荧光结果显示, 处理48 h后, 空白组、DMSO组以及低浓度IM处理组比较, 融合蛋白BCR-ABL的表达量没有变化(图3)。桃儿七以及桃儿七联合低浓度IM处理组与对照组相比, 其BCR-ABL蛋白的表达量明显下降。

2.4 流式细胞术检测桃儿七联合低浓度IM对K562细胞周期的影响

流式细胞术结果(图4)显示, 空白对照组和DMSO对照组 G_2/M 期所占比例分别是16.92%和12.51%, 而桃儿七(2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)处理K562细胞48 h之后, G_2/M 期细胞所占比例为29.51%, 与对照组相比, 差异具有统计学意

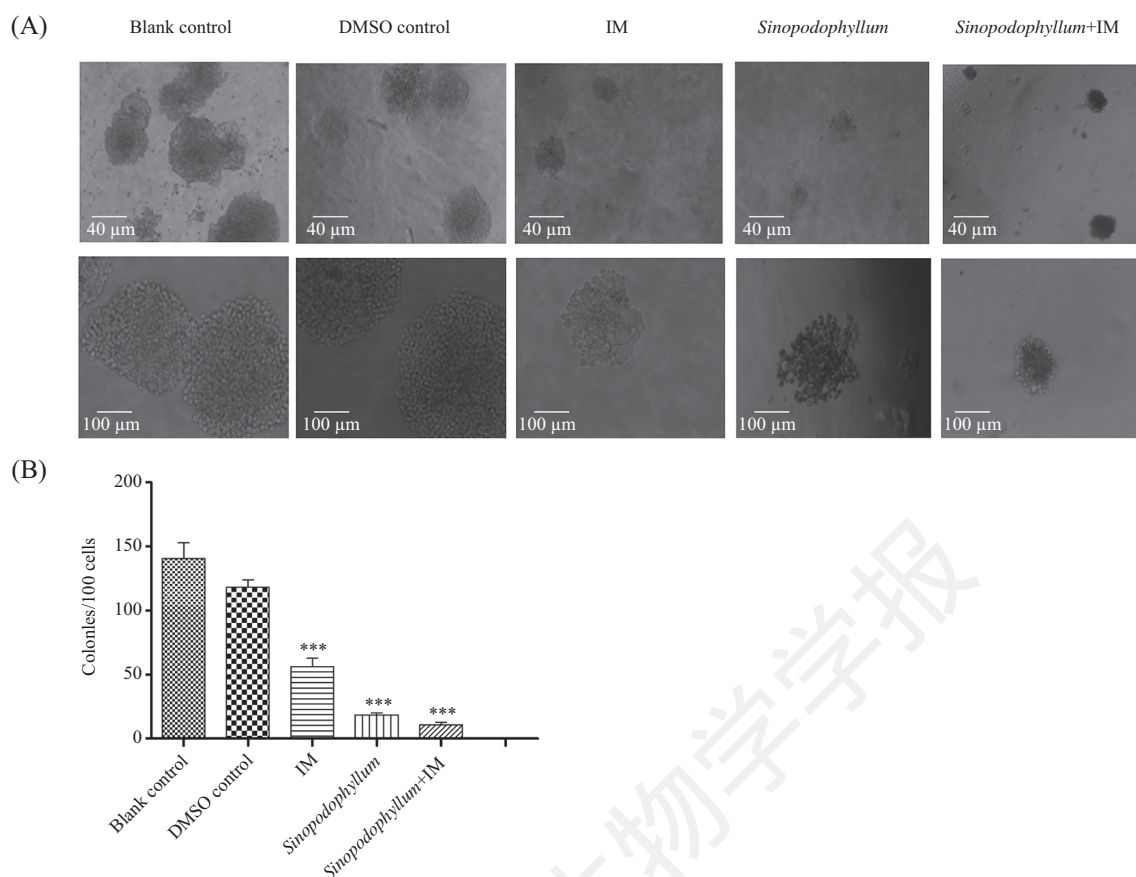


K562细胞分别以*Sinopodophyllum hexundrum*(2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、IM(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)和*Sinopodophyllum hexundrum*(2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)联合IM(1 $\mu\text{mol}/\text{L}$)作用12 h、24 h、48 h、72 h、96 h后检测吸光度值。*** $P < 0.001$, 联合处理组分别与对照组和单药组比较。

The absorbance value of K562 cells were treated with *Sinopodophyllum hexundrum* (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$), IM (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$) and *Sinopodophyllum hexundrum* (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$) combined with IM (1 $\mu\text{mol}/\text{L}$) for 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h. *** $P < 0.001$, the combined treatment group was compared with the blank control group and the single drug group, respectively.

图1 CCK8检测桃儿七联合低浓度IM处理对K562细胞增殖的影响

Fig.1 The effects on cell proliferation of *Sinopodophyllum hexundrum* combined with low concentration imatinib on K562 cells was tested by CCK8



A: 桃儿七、IM以及两药联合处理K562细胞48 h后的细胞克隆结果; B: 处理后的克隆数量。*** $P<0.001$ 。

A: cell clone results of 48h after treatment of K562 cells with *Sinopodophyllum hexundrum*, IM and *Sinopodophyllum hexundrum* combined with IM; B: number of cell clones after treatment. *** $P<0.001$.

图2 桃儿七联合低浓度IM作用对K562 细胞克隆形成能力的影响

Fig.2 Effects of *Sinopodophyllum hexundrum* combined with low concentration imatinib on the colony forming ability of K562 cells

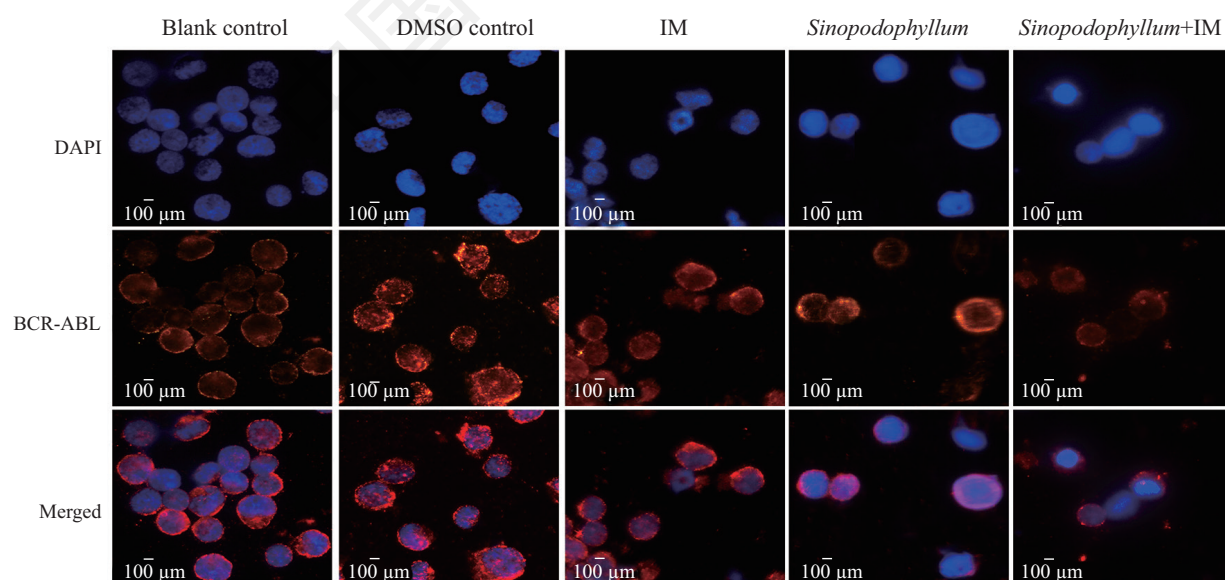
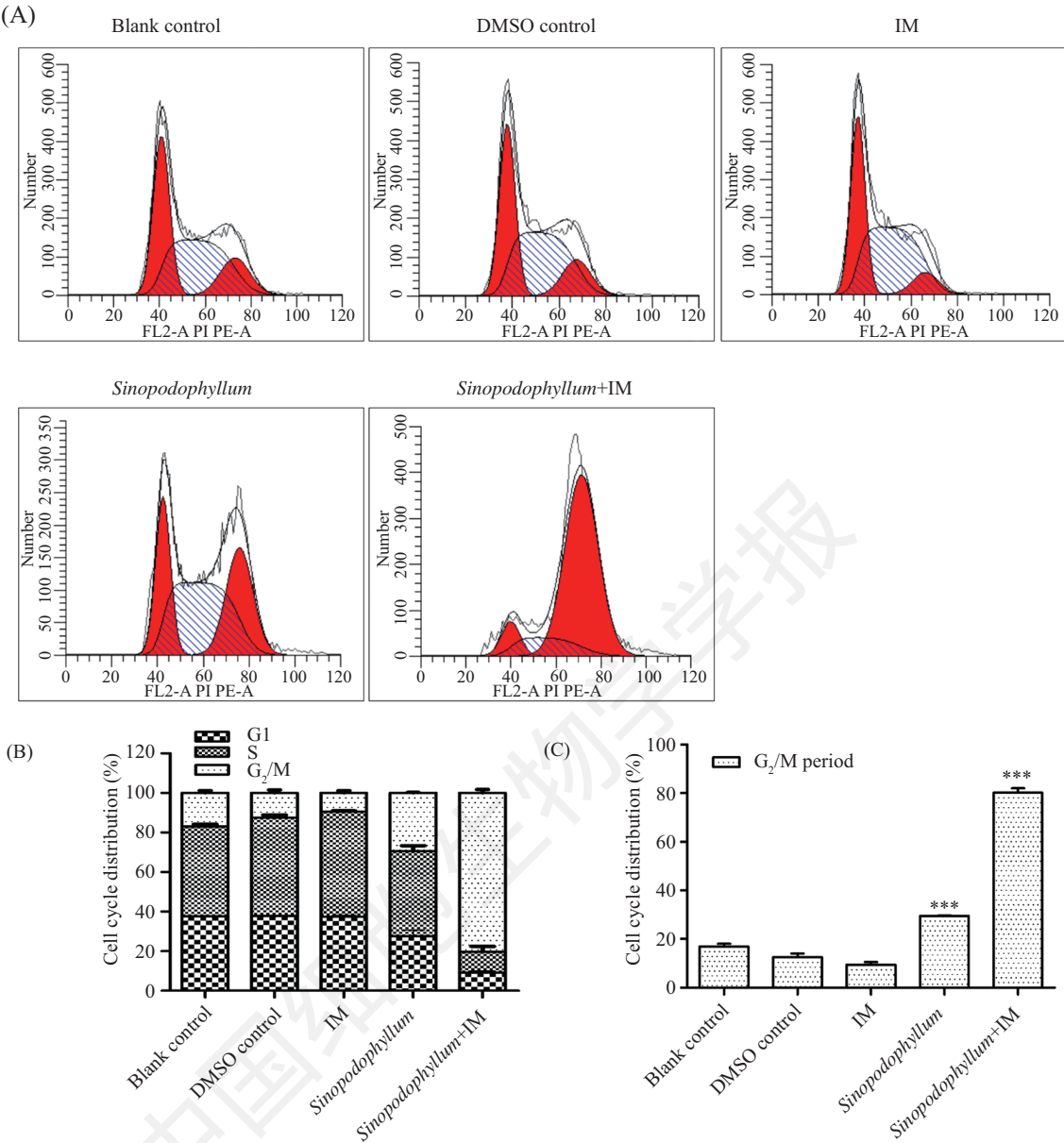


图3 桃儿七联合低浓度IM作用对K562 细胞BCR-ABL融合蛋白合成的影响

Fig.3 The Effects of *Sinopodophyllum hexundrum* combined with low concentration imatinib on the synthesis of BCR-ABL fusion protein in K562 cells



A: K562细胞经过桃儿七、IM单药以及联合处理48 h后, 流式检测细胞周期; B: GraphPad Prism 5软件定量分析对照组和不同处理组的周期; C: 对照组和不同处理组G₂/M期结果。*** $P<0.001$ 。

A: cell cycle results of flow cytometry after K562 cells were treated with *Sinopodophyllum hexundrum*, IM monotherapy and combined treatment for 48 h; B: quantitative analysis of cell cycle results of the control group and different treatment groups by GraphPad Prism5; C: G₂/M phase results of the control group and different treatment groups by GraphPad Prism 5. *** $P<0.001$.

图4 流式细胞术检测IM、桃儿七单独以及联合作用对K562细胞周期的影响

Fig.4 Flow cytometry analysis of the effect of *Sinopodophyllum hexundrum* combined with Imatinib on K562 cell cycle

义($P<0.001$)。桃儿七联合低浓度IM处理K562细胞48 h之后, G₂/M期细胞占比80.24%, 比例明显增高, 与伊马替尼单独处理组相比, 差异具有统计学意义($P<0.001$)。以上结果表明, 桃儿七联合低浓度IM用药能将K562细胞周期阻滞在G₂/M期, 从而抑制拓扑异构酶的活性, 致使DNA断裂, 抑制K562细胞的增殖。

2.5 桃儿七联合低浓度IM对BCR-ABL及其下游STAT信号通路相关分子的影响

K562细胞经桃儿七、低浓度IM单独以及联合处理48 h后, 结果显示, 与空白对照组和单药处理组相比, 联合处理组中BCR-ABL(各组灰度值102.07、96.31、93.91、84.82、55.26)和STAT5(各组灰度值93.66、80.48、49.63、26.44、10.07)以及c-MYC蛋

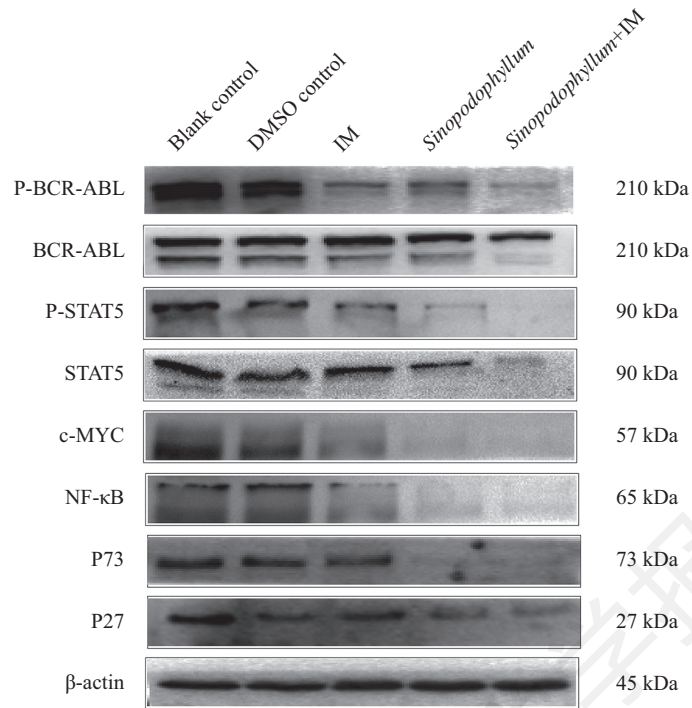


图5 桃儿七联合低浓度IM对BCR-ABL及其下游STAT5信号通路的影响

Fig.5 Effects of *Sinopodophyllum hexandrum* on combined with low concentration of Imatinib on BCR-ABL and its downstream STAT5 signaling pathway

白表达量均减少,磷酸化的p-BCR-ABL、p-STAT5减少(图5)。同时介导BCR-ABL转录的核因子NF-κB以及调控周期相关蛋白P73、P27表达水平也明显下降。实验结果表明,桃儿七联合低浓度IM可能是通过下调BCR-ABL-JAK-STAT5信号通路的蛋白表达水平,从而抑制慢粒K562细胞的增殖。

3 讨论

慢粒是一种恶性克隆增生性血液疾病,在白血病中其发病率约占11%^[10]。临床上将慢粒分为慢性期、加速期、急变期,由于多种原因的存在,慢性期的患者极易向急变期转变,导致对一般的化疗敏感性降低^[11-13]。目前IM作为慢粒治疗的一线用药,临床慢粒患者约有60%取得缓解^[14],但仍有约30%的患者产生耐药性^[15]。此外,患者一旦进入急变期则迅速向急性粒细胞白血病或急性淋巴细胞白血病转变。近年来研究发现,一些药物和TKIs连用能发挥协同效应,对TKIs耐药的慢粒患者治疗有效^[14]。

具有异常增高的酪氨酸激酶活性的BCR-ABL融合蛋白在CML发病中起重要作用,该蛋白可激活下游JAK-STAT5、PI3K-AKT和RAS-MAPK等多条信号通路,导致血细胞恶变^[1-3]。其中JAK是一类位

于胞质的非受体型酪氨酸蛋白激酶,STATs是JAK激酶的作用底物^[15]。JAK/STAT信号通路是多种细胞因子和生长因子在细胞内传递信号的共同途径,对于调节细胞增殖、分化、迁移等具有重要作用^[16]。JAK受到BCR-ABL融合蛋白激活后,其受体分子二聚化,导致胞质中的JAK-JAK交互酪氨酸磷酸化而活化,从而使STATs与受体上磷酸酪氨酸残基结合实现磷酸化。p-STATs表达的升高,能增加JAK-STAT信号通路下游相关分子(如c-MYC等)的表达,从而调节肿瘤细胞的增殖^[17]。IM作为酪氨酸激酶抑制剂之一,能有效地降低p-BCR-ABL和p-STATs蛋白的磷酸化水平,从而抑制慢性粒细胞白血病K562细胞的增殖。

有研究表明,我国传统中药桃儿七作用K562细胞后能与微管蛋白结合,阻止微管蛋白与染色体结合,影响DNA拓扑异构酶的作用从而抑制K562细胞的增殖和周期相关蛋白的表达^[18]。同时高玉桥等^[19]对中药治疗肿瘤所涉及的JAK/STAT信号通路做了总结,发现小檗碱、姜黄素、苦参碱等中药对肝癌、宫颈癌等有积极的治疗作用,其可能的机制为下调JAK-STAT信号通路中蛋白表达水平,阻断细胞信号转导,从而抑制癌细胞增殖。

为了初步探讨桃儿七联合低浓度IM抑制K562细胞增殖的机制, 本实验以慢粒K562细胞为研究对象, CCK8和克隆形成实验结果表明, 桃儿七联合低浓度IM能有效地抑制K562细胞的生长以及其克隆形成。流式细胞术结果显示, 桃儿七联合低浓度IM能将K562细胞大量阻滞在G₂/M期。间接免疫荧光结果表明, 与对照组相比联合处理组中BCR-ABL融合蛋白表达减少。蛋白印迹实验结果发现, K562细胞经过两药联用处理后, BCR-ABL、p-BCR-ABL以及其下游的STAT5、p-STAT5蛋白表达或磷酸化水平降低, 并减少NF- κ B、c-MYC以及p73、p27周期相关蛋白的表达, 从而抑制了K562细胞的增殖。以上结果表明, 桃儿七联合低浓度IM抑制K562细胞增殖的作用机制可能与下调JAK/STAT信号通路以及阻滞周期有关。本实验为桃儿七治疗慢粒奠定了研究基础, 也为IM联合用药提供了新的思路, 有利于深入开发传统中草药在白血病治疗中的应用价值。

参考文献 (References)

- 1 Mintz U, Vardiman J, Golomb HM. Evolution of karyotypes in philadelphia (Ph1) chromosome-negative chronic myelogenous leukemia. *Cancer* 1979; 43(2): 411-6.
- 2 Rowley JD. New consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; 243(5405): 290-3.
- 3 Collins SJ, Groudine MT. Rearrangement and amplification of c abl sequences in the human chronic myelogenous leukemia cell line K 562. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80(15): 4813-7.
- 4 Weisberg E, Manley PW, Cowan-Jacob SW, Hochhaus A, Griffin JD. Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukemia. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(5): 345-56.
- 5 Cortes J, Hochhaus A, Hughes T, Kantarjian H. Front-line and salvage therapies with tyrosine kinase inhibitors and other treatments in chronic myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29(5): 524-31.
- 6 国家药典委员会. 中国药典(I部). 北京: 北京化工工业出版社, 2005: 31.
- 7 李国元. 桃儿七根醇提物对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和凋亡的影响. 中国新药杂志(Li Guoyuan. Effects of ethanol extracts from *podophyllum emodi* var. *chines* on proliferation and apoptosis of breast carcinoma cell line MCF-7. *Chinese Journal New Drugs* 2006; 15(13): 1064-67.
- 8 Jeyaraj M, Rajesh M, Arun R, MubarakAli D, Sathishkumar G, Sivanandhan G, *et al*. An investigation on the cytotoxicity and caspase-mediated apoptotic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using *Podophyllum hexandrum* on human cervical carcinoma cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013; 102: 708-17.
- 9 尚明英, 徐珞珊, 李萍, 徐国钧, 王侑先, 蔡少青. 鬼白类中药及其木脂素类成分的药效学研究. 中草药(Shang Mingying, Xu Luoshan, Li Ping, Xu Guojun, Wang Yixian, Cai Shaoqing. Study on pharmacodynamics of Chinese herbal drug Gujiu and its lignin. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*) 2002; 33(8): 722-4.
- 10 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29.
- 11 Perrotti D, Jamieson C, Goldman J, Skorski T. Chronic myeloid leukemia: mechanisms of blastic transformation. *J Clin Invest* 2010; 120(7): 2254-64.
- 12 Rosti G, Castagnetti F, Gugliotta G, Baccarani M. Tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukaemia: which, when, for whom? *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14(3): 141-54.
- 13 Holyoake TL, Helgason GV. Do we need more drugs for chronic myeloid leukemia? *Immunol Rev* 2015; 263(1): 106-23.
- 14 Fava C, Morotti A, Dogliotti I, Saglio G, Rege CG. Update on emerging treatments for chronic myeloid leukemia. *Expert Opin Emerg Drugs* 2015; 20(2): 183-96.
- 15 薛翔, 刘红梅, 邵旦兵, 唐文杰, 聂时南. JAK/STAT信号通路调节机制的研究进展. 现代生物医学进展(Xue Xiang, Liu Hongmei, Shao Danbing, Tang Wenjie, Nie Shinan. Research Progress of Regulating Mechanism on JAK/STAT Signaling Pathway. *Progress in Modern Biomedicine*) 2015(11): 2161-5.
- 16 Shan Y, Gnanasambandan K, Ungureanu D, Kim ET, Hammarén H, Yamashita K, *et al*. Molecular basis for pseudokinase-dependent autoinhibition of JAK2 tyrosine kinase. *Nat Struct Mol Biol* 2014; 21(7): 579-84.
- 17 扶云碧. BCR/ABL癌基因启动JAK/STAT信号传导途径的机制后果及意义. 国外医学输血及血液学分册(Fu Yunbi. Mechanism and significance of initiation of JAK/STAT signaling pathway by BCR/ABL oncogene. *Foreign Medical Sciences Blood Transfusion and Hematology*) 2001; 24(6): 473-6.
- 18 俞建, 陈彻, 高培龙, 贾正平. 鬼白酰肼对白血病K562细胞株作用的实验研究. 中药材(Yu Jian, Chen che, Gao Peilong, Jia Zhengping. An experimental study on proliferative effects and apoptotic effects of podophyllin acid in K562 cells. *Journal of Chinese Medicinal Materials*) 2005; 28(2): 111-3.
- 19 高玉桥, 苏丹, 张汉辉. 中药干预JAK/STAT信号通路的研究进展. 时珍国医国药(GAO Yuqiao, SU Dan, Zhang Hanhui. Advances in research on intervention of JAK/STAT signaling pathway by traditional Chinese medicine. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*) 2018; 29(09): 2236-40.