

引用: 邝婉婷, 曾普华, 宁康文, 杨家翔, 兰东强, 简小兰. 健脾消癌方对结肠癌 HCT116/5-Fu 耐药细胞增殖、凋亡、周期的影响研究[J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(11): 174-179.

健脾消癌方对结肠癌 HCT116/5-Fu 耐药细胞增殖、凋亡、周期的影响研究

邝婉婷¹, 曾普华², 宁康文¹, 杨家翔¹, 兰东强², 简小兰²

(1. 湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208;

2. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙, 410006)

[摘要] 目的: 研究健脾消癌方对 HCT116/5-Fu 耐药细胞增殖、凋亡、周期的影响。方法: 采用 5-Fu 浓度递增间断刺激法诱导建立 HCT116/5-Fu 细胞, 制备健脾消癌方含药血清, 设立 10%、15%、20% 含药血清组, 设立相同浓度无药血清对照组及 10% 胎牛血清组。采用 CellTiter GLO 法检测细胞增殖能力并计算细胞抑制率, 采用 PI-FACS 法检测细胞周期变化, 采用 Annexin V-APC 单染法检测细胞凋亡水平。结果: 与对照组相比, 不同浓度含药血清组对 HCT116/5-Fu 细胞增殖均有抑制作用, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且随含药血清浓度的升高而抑制作用增强; 与对照组相比, 不同浓度含药血清组 HCT116/5-Fu 细胞凋亡率均明显提高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 且随含药血清浓度升高细胞凋亡率提高幅度增大; 与对照组相比, 不同浓度含药血清组均可将细胞周期阻滞在 G0/G1 期, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结论: 健脾消癌方可抑制 HCT116/5-Fu 细胞的增殖, 促进 HCT116/5-Fu 细胞的凋亡, 阻滞其细胞周期进程, 且其作用随浓度的升高而明显增强, 具有改善结直肠癌耐药的作用。

[关键词] 健脾消癌方; HCT116/5-Fu 细胞; 增殖; 凋亡; 细胞周期

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2023.11.039

Effect of Jianpi Xiaocai prescription on the proliferation, apoptosis, and cell cycle of colon cancer HCT116 cells resistant to 5-fluorouracil

KUANG Wanting¹, ZENG Puhua², NING Kangwen¹, YANG Jiaxiang¹, LAN Dongqiang², JIAN Xiaolan²

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China;

2. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Jianpi Xiaocai prescription on the proliferation, apoptosis, and cell cycle of colon cancer HCT116 cells resistant to 5-fluorouracil (5-Fu). Methods: HCT116/5-Fu cells were established by intermittent stimulation with increasing concentrations of 5-Fu, and serum containing Jianpi Xiaocai prescription was prepared. The 10%, 15%, and 20% serum containing Jianpi Xiaocai prescription groups were established, as well as non-drug serum control groups at the same concentrations and 10% fetal bovine serum group. CellTiter GLO was used to measure the proliferative capacity of cells and calculate cell inhibition rate; PI-FACS was used to observe the change in cell cycle; Annexin V-APC staining was used to measure the level

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81904109); 湖南省自然科学基金项目 (2023JJ30361); 湖南省中医药科研计划项目 (B2023083)

第一作者: 邝婉婷, 女, 2022 级硕士研究生, 研究方向: 恶性肿瘤的中西医结合防治

通信作者: 简小兰, 女, 医学博士, 硕士研究生导师, 主治医师, 研究方向: 肿瘤病的中西医结合防治方法与规律研究, E-mail: jianxiaolan1988@126.com

of cell apoptosis. Results: Compared with the control groups, the serum containing Jianpi Xiaoi prescription groups at different concentrations showed a significant inhibitory effect on the proliferation of HCT116/5-Fu cells ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the inhibitory effect was enhanced with the increase in the concentration of serum containing Jianpi Xiaoi prescription. Compared with the control groups, the serum containing Jianpi Xiaoi prescription groups at different concentrations showed a significant increase in the apoptosis rate of HCT116/5-Fu cells ($P<0.01$), and the apoptosis rate increased with the increase in the concentration of serum containing Jianpi Xiaoi prescription. Compared with the control group, the serum containing Jianpi Xiaoi prescription groups at different concentrations had the cells arrested in the G0/G1 stage ($P<0.01$). Conclusion: Jianpi Xiaoi prescription can inhibit the proliferation of HCT116/5-Fu cells, promote the apoptosis of HCT116/5-Fu cells, and induce cell cycle arrest, and such effect is significantly enhanced with the increase in concentration. Therefore, it can improve drug resistance in colorectal cancer.

[**Keywords**] Jianpi Xiaoi prescription; HCT116/5-Fu cells; proliferation; apoptosis; cell cycle

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病率在消化道恶性肿瘤中排名首位,2020 年全球结直肠癌新发病例约 193 万例,死亡病例 93.5 万例,根据预测,在 2040 年,中国结直肠癌患病率将从 2020 年的 56 万例增加到 91 万例,增幅达到 64%^[1-2],严重威胁人类的生命安全。手术治疗、放射治疗及全身化疗等是结直肠癌的主要治疗手段。5-氟尿嘧啶(5-Fu)是 CRC 化疗最有效的药物之一,随着治疗时间、疗程的增加,许多患者面临 5-Fu 耐药的挑战,积极探索抑制、延迟、逆转耐药发生的药物对结直肠癌的治疗具有重要意义。

中医药对于结直肠癌联合化疗期具有减毒增效、提高生存质量、延长生存期、提高免疫功能等作用^[3]。健脾消癌方是我院治疗结直肠癌的经验方,其以健脾益气、化瘀解毒为治法组方,在临床获得了较好疗效。前期临床观察提示健脾消癌方联合化疗治疗晚期转移性结直肠癌能提高疾病控制率,延长晚期大肠癌的无进展生存期和总生存期,并可以减轻血液学及消化道不良反应、提高患者的生活质量^[4],但联合增效的机制有待进一步探索。本实验将建立结肠癌 HCT116 的 5-Fu 耐药细胞株,以健脾消癌方干预,探索该方对 HCT116/5-Fu 耐药性的改善作用,并初步探索疗效机制,为临床运用提供科学依据。

1 实验材料

1.1 动物和细胞 雄性 SPF 级 SD 大鼠 20 只,7~8 周龄,体质量(200 ± 20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号:SCXK(湘)2020-0008。

人结肠癌细胞株 HCT116 购买于中国科学院细胞库,编号 TCHu99。

1.2 药物 健脾消癌方组成:人参 10 g,薏苡仁 30 g,枳壳 10 g,半枝莲 30 g,郁金 15 g,莪术 10 g,重楼 10 g,甘草 6 g。由湖南省中医药研究院附属医院新绿药颗粒中药房采购并配置,浓度为相当于生药 1.5 g/ml,4℃ 保存,1 周内用完。

1.3 主要试剂及仪器 RPMI 1640(Gibco 公司,批号:8121027),D-PBS(碧云天生物技术有限公司,批号:1203),胎牛血清(Gibco 公司,批号:2296205),Cell Titer-Glo(Promega 公司),碘化丙啶(PI,碧云天生物技术有限公司),凋亡试剂盒(eBioscience 公司),荧光显微镜(奥林帕斯),酶标仪(BioTek Synergy 2),细胞培养箱(Thermo 公司),离心机[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,型号:Fresco21],96 孔板(Corning 公司),流式细胞仪(Millipore,型号:GuavaeasyCyteHT)。

2 实验方法

2.1 细胞的传代和培养 HCT116 细胞株用 RPMI 1640 培养基(含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素)进行培养,细胞培养箱设置条件:恒温 37℃、5% CO₂、饱和湿度,培养至贴壁细胞达 70% 左右,进行细胞传代,更换培养液,按 1:3 比例传代培养后进行后续实验。

2.2 耐药细胞株的建立 采用浓度梯度递增的方法诱导耐药细胞株。预实验检测亲代细胞的 IC₅₀,选择 0.1 μg/L 5-Fu(在此浓度下大部分 HCT116 细胞能够继续存活,属于相对安全的浓

度)作为起始浓度,每48 h更换药物,去除死亡细胞后传代培养。在观察到没有明显细胞死亡后,选取对数生长期的细胞进行传代,并将药物浓度增加25%~50%进行培养。待细胞稳定存活于5 mg/L药物浓度后,进行连续传代培养,未观察到明显细胞死亡后,定义所得的细胞亚株为HCT116/5-Fu耐药细胞株。为保证耐药性的持续存在,该细胞亚株培养时均给予5 mg/L的5-Fu。在对耐药细胞进行检测前,给予耐药细胞株2周的药物洗脱期培养。

2.3 含药血清制备 取20只SPF级SD大鼠,将其随机分为实验组与对照组,每组10只,在20℃左右的光照和黑暗交替的环境下进行饲养,自由摄食饮水。连续7 d对实验组灌胃给予健脾消癌方水煎液,按70 kg成人每日生药用量120 g/d进行人与大鼠等效剂量换算^[5],得出灌胃剂量为10.8 g/kg,每天1次,末次给药1 h后,10%水合氯醛(0.3 ml/100 g)腹腔麻醉,腹主动脉采血,2000 r/min,半径10 cm,离心10 min收集血清,对照组血清采用相同动物蒸馏水灌胃同法收集血清,0.22 μm过滤器过滤。水浴灭活,分装置-20℃冰箱备用。

2.4 CellTiter GLO法检测细胞增殖 设健脾消癌方组(分别为10%、15%、20%浓度)、无药血清对照组(分别为10%、15%、20%浓度)、正常对照组(10%小牛血清),溶液(仅含培养液)调零孔。5-Fu设置浓度梯度0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100 μmol。将处于对数生长期的HCT116/5-Fu细胞胰酶消化后,完全培养基重悬成细胞悬液,并对其进行计数,将浓度调整为 5×10^4 个/ml,在96孔培养板中每孔加入100 μl细胞悬浮液,每组设3个复孔,于37℃孵箱中培养24 h细胞贴壁后吸去培养基,更换含有相应药物及不同5-Fu浓度的培养液,并将其置于培养箱培养72 h。在培养结束之前每孔加入100 μl CellTiter-Glo溶液,反应大约10 min后,用酶标仪检测luciferase值,计算细胞存活率。

2.5 PI-FACS法检测细胞周期 取对数生长期的HCT116/5-Fu细胞,调整浓度为 1×10^5 个/ml,接种于6孔板,每孔2 ml,培养24 h后,吸去培养液,加入分别含10%、15%、20%浓度含药血清,10%、15%、20%浓度空白大鼠血清,10% FBS的高糖培养

液2 ml,后置于细胞培养箱(37℃、5%CO₂)中继续培养细胞72 h。胰酶消化后,完全培养基重悬成细胞悬液,将各组细胞收集于5 ml离心管中,每组设3个复孔。1200 r/min离心5 min,弃上清,用4℃预冷的D-PBS洗涤细胞沉淀1次。1200 r/min离心5 min,4℃预冷的75%乙醇固定细胞1 h。1200 r/min离心5 min,去固定液,D-PBS洗涤细胞沉淀1次。根据细胞量,加入一定体积的细胞染色液(0.6~1 ml)重悬,上机检测并分析数据。

2.6 Annexin V-APC单染法流式细胞仪检测细胞凋亡 取对数生长期中的HCT116/5-Fu细胞,将浓度调整为 1×10^5 个/ml,接种在6孔板上,每孔2 ml,在培养24 h之后,吸去培养液,加入分别含浓度为10%、15%、20%的含药血清,浓度为10%、15%、20%的空白鼠血清,10% FBS的高糖培养液2 ml,之后将其放置于细胞培养箱(37℃、5%CO₂)中,继续培养细胞72 h。将各组细胞收集于5 ml离心管中,每个组设置3个复孔,1500 r/min离心5 min,弃上清,4℃预冷的D-PBS洗涤细胞沉淀,1500 r/min、离心3 min,收集细胞,100 μl的1×binding buffer重悬细胞沉淀,加入5 μl annexin V-APC闭关室温染色10~15 min,1500 rpm 3 min离心去上清,100 μl 1×binding buffer重悬细胞,5 μl PI避光染色5~10 min,1×binding buffer重悬细胞染色缓冲液补足上机体系至600 μl,上机检测。

2.7 统计学方法 采用SPSS 25.0软件进行数据分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,2组间比较若符合正态性则采用 t 检验,不符合正态性分布则采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 健脾消癌方对HCT116/5-Fu细胞增殖的影响 与相同浓度对照血清组比较,10%含药血清组在5-Fu浓度为1、100 μmol/L时对细胞的抑制作用增强($P < 0.01$),15%含药血清组在5-Fu浓度为0.1、0.5、50、100 μmol/L时对细胞的抑制作用增强($P < 0.05$),20%含药血清组在5-Fu浓度为0.05、0.5、1、5、10、50、100 μmol/L时对细胞的抑制作用增强($P < 0.01$);提示健脾消癌方对耐药细胞具有明显抑制作用,说明健脾消癌方具有改善耐药作用,与浓度呈正相关。(见表1)

3.2 健脾消癌方对 HCT116/5-Fu 细胞凋亡的影响

与相同浓度的对照血清组比较,不同浓度的含药血清组细胞凋亡率均明显增高($P<0.01$)。随含药

血清浓度增加,细胞凋亡率增大,提示含药血清对细胞凋亡的影响与浓度呈正相关。(见表 2、图 1)

表 1 健脾消癌方对 HCT116/5-Fu 细胞的抑制作用($\bar{x}\pm s, \%, n=3$)

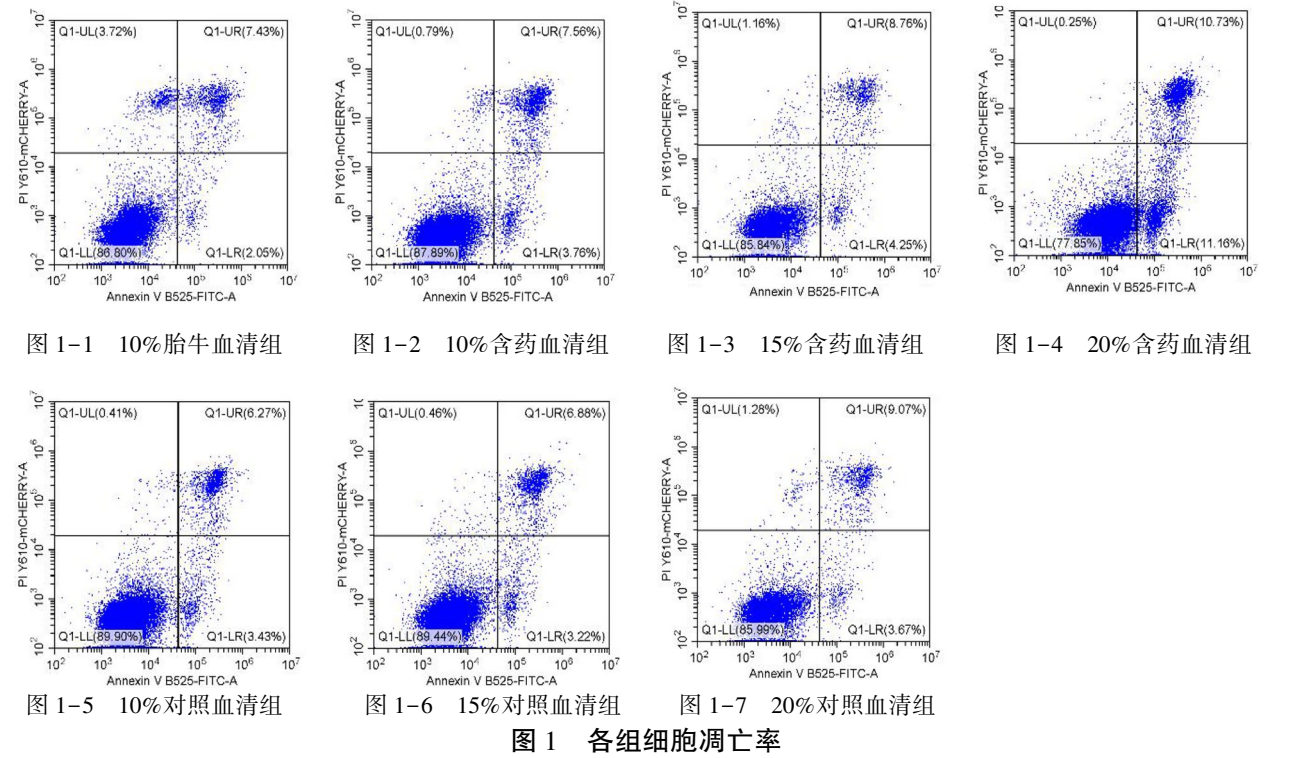
组别	5-Fu 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$								
	0.01	0.05	0.1	0.5	1	5	10	50	100
10%胎牛血清组	5.00±4.58	9.33±0.58	9.00±1.00	9.00±1.00	9.00±1.73	18.33±5.03	27.33±5.03	56.67±1.15	61.67±4.73
10%含药血清组	0.00±1.00	3.67±3.06 ^a	6.33±1.15 ^a	4.33±1.52 ^a	29.67±8.62 ^{ad}	23.00±3.46	34.33±5.51	63.00±6.25	81.00±2.65 ^{bd}
15%含药血清组	0.67±1.53	8.67±3.06	11.33±1.15 ^d	9.33±1.53 ^c	10.00±5.57	19.33±2.89	45.00±10.44	61.33±3.21 ^c	82.67±6.66 ^{ad}
20%含药血清组	0.67±1.53	6.00±1.00 ^{bd}	11.33±5.13	20.67±3.51 ^{bd}	29.67±4.04 ^{bd}	40.67±2.31 ^{bd}	58.67±7.23 ^{bd}	69.67±2.08 ^{bd}	89.33±4.16 ^{bd}
10%对照血清组	2.00±1.73	4.33±0.58 ^b	4.00±1.00 ^b	4.00±1.00 ^b	4.00±1.73 ^a	13.00±5.57	22.33±5.03	53.67±1.15 ^a	59.00±5.29
15%对照血清组	3.00±1.73	5.33±0.58 ^b	5.00±1.00 ^b	5.00±1.00 ^b	5.00±1.73 ^a	13.67±5.13	27.33±5.03	54.00±1.73	59.33±4.93
20%对照血清组	2.67±2.31	10.33±0.58	10.00±1.00	10.00±1.00	10.00±1.73	23.00±4.58	31.00±4.00	56.67±1.15	67.00±2.00

注:与胎牛血清组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与相同浓度对照组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$ 。

表 2 健脾消癌方对 HCT116/5-Fu 细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s, \%, n=3$)

组别	凋亡率	组别	凋亡率
10%胎牛血清组	8.99±0.49	10%对照血清组	9.70±0.01
10%含药血清组	11.29±0.15 ^{bc}	15%对照血清组	10.13±0.07 ^a
15%含药血清组	13.46±0.43 ^{bc}	20%对照血清组	12.64±0.16 ^b
20%含药血清组	21.90±0.09 ^{bc}		

注:与胎牛血清组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与相同浓度对照组比较,^c $P<0.01$ 。



3.3 健脾消癌方对 HCT116/5-Fu 细胞周期的影响

与相同浓度对照血清组比较,不同浓度的含药血清组细胞处于 G0/G1 期的比例显著升高,处于 S 期

的比例显著降低($P<0.01$),而处于 G2/M 期的细胞比例无明显差异($P>0.05$),提示健脾消癌方具有细胞周期阻滞作用。(见表 3、图 2)

表 3 健脾消癌方对 HCT116/5-Fu 细胞周期的影响($\bar{x}\pm s, \%, n=3$)

组别	G0/G1 期	S 期	G2/M 期	组别	G0/G1 期	S 期	G2/M 期
10%胎牛血清组	44.42±0.25	32.43±1.81	23.15±1.81	10%对照血清组	45.76±0.53 ^a	29.99±0.98 ^a	24.22±0.51
10%含药血清组	52.76±0.79 ^{bc}	20.42±1.41 ^{bc}	26.82±0.71	15%对照血清组	50.59±0.50 ^b	25.15±0.74 ^b	24.26±0.96
15%含药血清组	55.39±0.25 ^{bc}	18.62±1.85 ^{bc}	25.99±1.82	20%对照血清组	54.20±0.74 ^b	20.70±1.18 ^b	25.10±0.43
20%含药血清组	57.64±0.71 ^{bc}	16.64±0.80 ^{bc}	25.72±0.73				

注:与胎牛血清组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与相同浓度对照组比较,^c $P<0.01$ 。

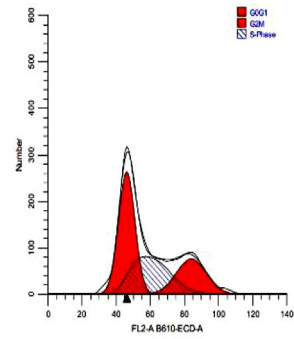


图 2-1 10%胎牛血清组

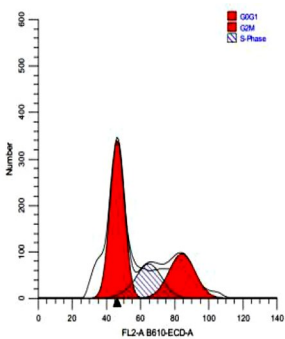


图 2-2 10%含药血清组

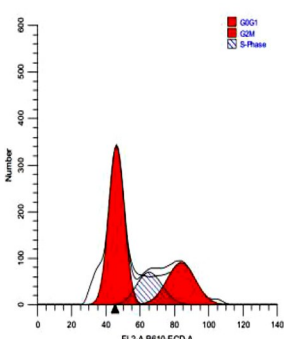


图 2-3 15%含药血清组

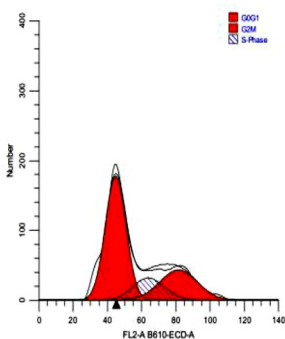


图 2-4 20%含药血清组

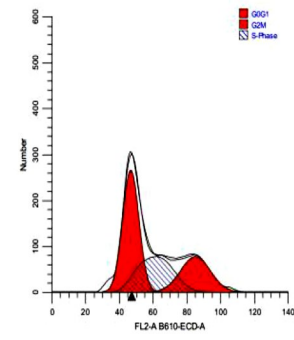


图 2-5 10%对照血清组

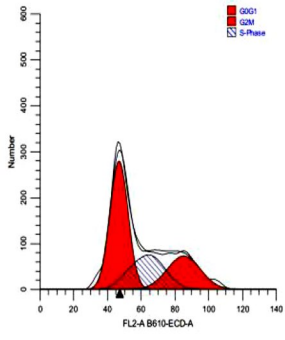


图 2-6 15%对照血清组

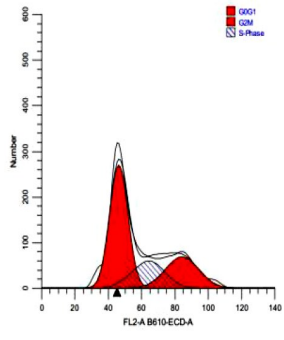


图 2-7 20%对照血清组

图 2 各组细胞周期分布

4 讨 论

近年来,结直肠癌的发病率和病死率逐年上升,且呈现出年轻化的趋势。5-氟尿嘧啶(5-Fu)是治疗结直肠癌最常用的化疗药物之一,四十多年以来,它在各种癌症的治疗中都占有重要地位^[6]。5-Fu 是抗嘧啶类代谢药,它通过抑制胸苷酸酶导致 DNA 损伤,S-相位停滞和细胞凋亡^[7],进而发挥抗肿瘤的作用。但部分患者在化疗期间容易对 5-Fu 产生耐药性。5-Fu 的耐药机制主要分为先天性耐药和获得性耐药,其获得性耐药机理主要与 DNA 修复机制、肿瘤干细胞特性改变、信号转导通路异常激活等相关^[8]。其耐药性导致了許多患者化疗效果不理想。因此,寻找提高结直肠癌化疗敏感性的药物对结直肠癌的治疗具有重大意义。

根据大肠癌症状的不同可将其归属于中医学

“肠澼”“便血”等疾病范畴。《医宗必读·积聚》云:“积之成也,正气不足,而后邪气踞之。”肿瘤的形成,本质上是由于机体正气虚弱,无力抵御外邪,邪气入侵,造成气血脏腑损伤,由虚致实,由实致虚。经过多年的临床实践,本课题组总结出虚、瘀、毒并存是结直肠癌的基本病机特点,在治疗中,以健脾益气、化瘀解毒为基本治法,拟方健脾消癌方,主要包含人参、半枝莲、郁金、莪术、薏苡仁、重楼、枳壳、甘草等药物^[9]。临床研究显示健脾消癌方联合化疗具有增效作用^[4],但去增效机制未明,健脾消癌方是否通过改善结直肠癌的化疗耐药性发挥作用值得进一步探索。

肿瘤细胞增殖主要是通过对抗基因诱导的程序性死亡,而耐药细胞表现为对抗性增强,细胞凋亡被阻断。细胞周期调控紊乱与细胞恶性转化和肿瘤细

胞失控性增殖相关^[10],研究发现细胞周期阻滞与化疗耐药密切相关,阻滞细胞周期可以提高化疗药物敏感性^[11]。因此,抑制 HCT116 细胞 5-Fu 耐药细胞的增殖、阻滞细胞周期、促进细胞凋亡是提高结直肠癌化疗敏感性的有效方法。以往研究表明,健脾消癌方可抑制 HCT116 增殖、促进人结肠癌 HCT116 细胞凋亡并将其细胞周期阻滞^[12-13],在此基础上,本研究建立 HCT116 细胞的 5-Fu 耐药株,观察健脾消癌方对耐药细胞作用,结果发现,健脾消癌方含药血清对 HCT116/5-Fu 耐药细胞的具有良好抑制作用,与浓度呈正相关;健脾消癌方各浓度组细胞凋亡率明显增高,与浓度呈正相关;健脾消癌方干预后,耐药细胞被阻滞在 G0/G1 期。

综上所述,健脾消癌方可抑制 HCT116/5-Fu 耐药细胞增殖,促进耐药细胞的凋亡,阻滞耐药细胞周期进程,从而发挥改善结直肠癌耐药性的作用。这为中医药联合化疗治疗结直肠癌提供了一定的理论支持,但还需要对健脾消癌方在结直肠癌耐药中的分子机制作进一步的研究。

参考文献

- [1] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2021,7(2):1-14.
- [2] XI YUE,XU PENGFEI Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040 [J]. Translational Oncology, 2021, 14(10):101174.
- [3] 陈叶,刘金涛,朱源,等. 大肠癌中医辨证及治疗概况[J]. 中国肿瘤,2015,24(4):319-324.
- [4] 王容容,王其美,蒋益兰,等. 健脾消癌方联合化疗治疗晚期转

移性结直肠癌的临床研究[J]. 中华中医药杂志,2016,31(5):1732-1736.

- [5] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(9):1069-1072.
- [6] GROUP QC. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: A randomised study[J]. The Lancet,2007,370(9604):2020-2029.
- [7] BLONDY SABRINA. 5-FU resistance mechanisms in colorectal cancer: From classical path ways to promising processes[J]. Cancer Science,2020,111(9):3142-3154.
- [8] WOOK JIN. Role of JAK/STAT3 Signaling in the regulation of metastasis, the ransition of cancer stem cells, and chemoresistance of cancer by epithelial-mesenchymal transition[J]. Cells, 2020, 9(1):217-217.
- [9] 简小兰,曾普华,李勇敏,等. 健脾消癌方对结肠癌细胞中 Akt/mTOR 信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(7):73-78.
- [10] 詹启敏,陈杰. 细胞周期与肿瘤转化医学[J]. 中国肿瘤临床,2014,41(1):1-7.
- [11] 廖汶晓,闫怡轩,黄艳青,等. 塞来昔布增强口腔癌化疗敏感性 with 阻滞周期进程的相关性[J]. 南方医科大学学报,2013,33(6):885-888.
- [12] 杨晓,唐蔚,蒋益兰,等. 健脾消癌方对人结肠癌 HCT116 细胞周期、凋亡及 Wnt/ β -catenin 信号通路相关因子的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2018,25(6):61-65.
- [13] 任丽芝,宋程,唐蔚,等. 健脾消癌方对人结肠癌 HCT116 细胞 AKT、mTOR 表达的影响[J]. 湖南中医杂志,2022,38(1):165-169.

(收稿日期:2023-04-28)

[编辑:徐琦]