· 治疗性制剂 ·

# 牦牛肝脏蛋白对人肝癌 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响

郭洁[1,2]，柳青海[1]，李天才[1]

1. 中国科学院西北高原生物研究所，青海 西宁 810008；2. 中国科学院大学，北京 100049

**摘要：目的** 检测牦牛肝蛋白 BGP 对人肝癌 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响，并探讨其体外抗癌活性。**方法** 用不同浓度的 BGP 分别作用于人肝癌 HepG2 细胞，作为实验组，同时设未处理细胞对照组和空白对照组，采用 MTT 法检测 BGP（25、50 和 100 mg／L）作用 HepG2 细胞 12、24、36 和 48 h 对细胞增殖活性的影响，并于倒置显微镜下观察细胞形态变化；采用流式细胞仪检测 BGP（25、50、75、100 mg／L）作用 HepG2 细胞 24 h，对细胞周期及凋亡的影响。**结果** 不同浓度的 BGP 均可抑制 HepG2 细胞增殖，与未处理细胞对照组相比，差异均有统计学意义（$P < 0.05$），其中 100 mg／L BGP 作用 48 h，对 HepG2 细胞抑制率最高（94.99%）。各浓度 BGP 实验组 HepG2 细胞形态发生明显改变，细胞间隙加大，细胞间连接不牢固，胞内颗粒增多，呈现生长受阻状态，甚至有细胞脱落，细胞数目减少，其中 100 mg／L BGP 作用 48 h，凋亡细胞明显增多。不同浓度 BGP 作用 HepG2 细胞 24 h 后，均可不同程度抑制 HepG2 细胞生长并诱导细胞凋亡；与未处理细胞对照组相比，S 期细胞比例明显升高（除 25 mg／L BGP 实验组），G0／G1 期和 G2／M 期细胞比例明显下降，差异均有统计学意义（$P < 0.05$）。**结论** 牦牛肝蛋白 BGP 可抑制 HepG2 细胞增殖，并促进凋亡，具有明显的体外抗肝癌活性。

**关键词：** 牦牛；肝脏蛋白；HepG2 细胞；细胞增殖；细胞凋亡

**中图分类号：** R735.7 R730.54 **文献标识码：** A **文章编号：** 1004-5503（2013）12-1789-05

# Effect of yak liver protein on proliferation and apoptosis of human hepatocarcinoma HepG2 cells

GUO Jie, LIU Qing-hai, LI Tian-cai

*Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008, Qinghai Province, China*

*Corresponding author：LI Tian-cai, E-mail：tcli@nwipb.cas.cn*

**Abstract：Objective** To investigate the in vitro antitumor activity of yak (*Bos grunnisens*) liver protein BGP as well as its effect on proliferation and apoptosis of human hepatocarcinoma HepG2 cells. **Methods** HepG2 cells were treated with BGP at various concentrations, using those untreated as negative control. Blank control was set up. The proliferative activities of HepG2 cells 12, 24, 36 and 48 h after treatment with 25, 50 and 100 mg／L BGP were determined by MTT assay, while the morphologies were observed under inverted microscope. The cell cycle and apoptosis of HepG2 cells 24 h after treatment with 25, 50, 75 and 100 mg／L BGP were determined by flow cytometry. **Results** The proliferations of HepG2 cells treated with BGP at various concentrations were inhibited significantly as compared with those untreated ($P < 0.05$), of which the inhibition rate reached the maximum (94.99%) 48 h after treatment with 100 mg／L BGP. The morphologies of HepG2 cells in various test groups changed significantly, expressed as increased space and loose junction between cells, increased intracellular particles, arrested growth, even death, and decreased count of cells. The count of apoptotic cells increased significantly 48 h after treatment with 100 mg／L BGP. The treatment with BGP at various concentrations for 24 h inhibited the growth and induced the apoptosis of HepG2 cells at different degrees. The percentage of cells after treatment with BGP (except that at a concentration of 25 mg／L) at S phase increased significantly, while that at G0／G1 and G2／M phases decreased significantly (each $P < 0.05$). **Conclusion** BGP inhibited the proliferation and promoted the apoptosis of HepG2 cells, which showed significantly antitumor activity in vitro.

**Key words：** Yak; Liver protein; HepG2 cells; Cell proliferation; Cell apoptosis

**基金项目：**青海省自然科学基金（2013-Z-917）；青海省科技厅计划项目（2007-G-523）.

**通讯作者：**李天才，E-mail：tcli@nwipb.cas.cn

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

肝癌是世界上常见的恶性肿瘤之一,我国每年约有 11 万人死于肝癌,占全球肝癌死亡数的 45%[1],且有不断上升的趋势。尽管肝癌的临床研究已取得较大进展,但由于其术后高复发和高转移率,治疗预后不佳,每年因肝癌死亡人数仍高居我国恶性肿瘤致死的前列[2],加之其对现有的药物治疗敏感性低,因此,从动植物中分离纯化获得天然、安全和高效的抗癌药物成为治疗肝癌的焦点。牦牛(*Bos grunniens*)是青藏高原特色的优势畜种。牦牛肝脏为牦牛肉制品生产过程中的副产物,资源丰富。据《藏药志》记载,牦牛肝脏是常用的药材资源,常用于肝炎、贫血等的辅助治疗。有研究表明[3-4],从牛肝脏中提取的多肽类物质具有抗癌活性。牦牛生长环境特殊,对适应高寒高山草地有独特的体质形态结构和生理机制,在特殊的生活环境下,其肝脏内的化学成分和生物活性可能具有独特之处。目前,已有对牦牛肝脏蛋白进行体外抗凝血和抗氧化研究的报道[5-6],但有关其抗癌活性的研究尚未见报道。本实验从牦牛肝脏中分离纯化出一个蛋白组分,命名为 BGP,其相对分子质量在 50 000 ~ 60 000 之间,将其配制成不同浓度作用于人肝癌 HepG2 细胞,进行体外抗癌活性研究,为开发具有抗癌活性的蛋白类药物提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞** 人肝癌 HepG2 细胞由上海生研生物科技有限公司提供。

**1.2 主要试剂及仪器** 四甲基偶氮哇盐(MTT)购自美国 Amresco 公司;EMEM 培养基购自美国 Thermo 公司;二甲基亚砜(DMSO)和胎牛血清购自美国 GIBCO 公司;RPMI1640 培养基、消化液(0.25%胰蛋白酶,0.02%EDTA)和细胞 DNA 含量检测试剂盒均购自凯基生物科技发展有限公司;BGP 由本所藏药中心保存;Multiskan Spectrum 酶标仪购自美国 Thermo Scientific 公司;FACSCalibur 流式细胞仪购自美国 Becton,Dickinson and Company。

**1.3 细胞培养** 用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养液(含 100 μg/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素),于 37 ℃,5% $CO_2$ 饱和湿度培养箱中培养 HepG2 细胞。

**1.4 各组细胞增殖活性的检测** 采用 MTT 法。取对数生长期细胞,经消化液消化后,用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养液调整细胞浓度至 $5 \times 10^4$ 个/ml,接种于 96 孔板中,100 μl/孔,于 37 ℃,5% $CO_2$ 恒温箱中培养 24 h 后,分别加入 25、50 和 100 mg/L BGP,100 μl/孔,作为实验组,同时设未处理细胞对照组和空白对照组。培养 12、24、36 和 48 h 后,弃上清,分别加入新鲜培养液,80 μl/孔,MTT 溶液(5 mg/ml),20 μl/孔,于 37 ℃,5% $CO_2$ 恒温箱中继续培养 4 h;弃上清,加入 DMSO,150 μl/孔,振荡 10 min 后,在酶标仪下检测 $A_{570}$ 值,并按下试计算细胞抑制率。

抑制率(%) = (未处理细胞对照组 $A_{570}$ 平均值 - 空白对照组 $A_{570}$ 平均值) - (BGP 实验组 $A_{570}$ 平均值 - 空白对照组 $A_{570}$ 平均值) / (未处理细胞对照组 $A_{570}$ 平均值 - 空白对照组 $A_{570}$ 平均值) × 100%

**1.5 各组细胞细胞凋亡形态学观察** 试验分组同 1.4 项(无空白对照组),分别在培养 12、24、36 和 48 h 时,于倒置显微镜下观察细胞形态。

**1.6 各组细胞细胞周期及凋亡率的检测** 取对数生长期细胞,以 $1 \times 10^6$ 个/孔接种于 6 孔板中,于 37 ℃,5% $CO_2$ 恒温箱中培养 24 h 后,分别加入 25、50、75、100 mg/L BGP,作为实验组,另设未处理细胞对照组,于 37 ℃,5% $CO_2$ 恒温箱中培养 24 h;消化液消化,800 r/min 离心 10 min,收集细胞,PBS 重悬,加入 500 μl 含 50 μg/ml 溴化乙锭(PI)和 100 μg/ml RNase A 的 PBS,4 ℃避光孵育 20 min,上流式细胞仪检测细胞周期,汞激发波长 488 nm,计数 $8 \times 10^3$ 个细胞,采用 WinMDI Version 2.9 软件进行分析。

**1.7 统计学分析** 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,组间比较采用 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 BGP 对 HepG2 细胞增殖的影响** MTT 检测结果显示,不同浓度 BGP 均可抑制 HepG2 细胞增殖,其中 50、100 mg/L BGP 实验组作用 12、24、36 和 48 h,抑制率分别从 71.81%和 84.53%上升至 92.58%和 94.99%,与未处理细胞对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 1。

**2.2 细胞形态学变化** 倒置显微镜下观察可见,未处理细胞对照组 HepG2 细胞增殖旺盛,排列紧密,相邻细胞融合成片,边缘清晰,折光度较好,胞浆饱满;与未处理细胞对照组相比,各实验组 HepG2 细胞形态明显改变,细胞间隙增加,细胞间连接不牢固,胞内颗粒增多,呈现生长受阻状态,甚至有细胞脱落,细胞数目减少,其中 100 mg/L BGP 作用 48 h,凋亡细胞明显增多。见图 1。

**2.3 BGP 对 HepG2 细胞细胞周期及凋亡率的影响** 流式细胞仪检测结果显示,不同浓度 BGP 作用细胞

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

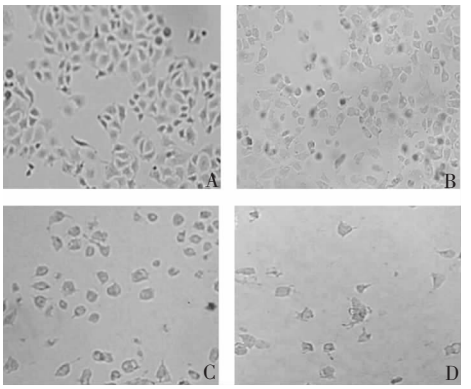
24 h 后,均可不同程度抑制细胞生长并诱导细胞凋亡,见图 2,凋亡率最高达 54. 41%,与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。流式细胞图可见典型的亚二倍体凋亡峰,细胞周期分布显示,不同浓度 BGP 作用细胞 24 h 后,S 期细胞比例明显增高(除 25 mg/L BGP 实验组),G0/G1 期及 G2/M 期细胞比例明显下降,与对照组相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2 和图 3。

**表 1** BGP 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用($\bar{x} \pm s$,n = 3)

**Tab 1.** Inhibitory effect of BGP on cells proliferation of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s$,n = 3)

| 组别 | 12 h | | | 24 h | | | 36 h | | | 48 h | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | *A* 值 | 抑制率(%) | *P* 值 | *A* 值 | 抑制率(%) | *P* 值 | *A* 值 | 抑制率(%) | *P* 值 | *A* 值 | 抑制率(%) | *P* 值 |
| 空白对照组 | 0. 176 ± 0. 008 | 0. 00 | | 0. 110 ± 0. 010 | 0. 00 | | 0. 165 ± 0. 005 | 0. 00 | | 0. 169 ± 0. 010 | 0. 00 | |
| 未处理细胞对照组 | 1. 174 ± 0. 011 | 0. 00 | | 0. 689 ± 0. 018 | 0. 00 | | 1. 027 ± 0. 020 | 0. 00 | | 1. 248 ± 0. 033 | 0. 00 | |
| 实验组 | | | | | | | | | | | | |
| 25 mg/L BGP | 1. 043 ± 0. 050[a] | 13. 12 | 0. 011 | 0. 540 ± 0. 034[aa] | 25. 73 | 0. 003 | 0. 677 ± 0. 058[aa] | 40. 60 | 0. 001 | 0. 609 ± 0. 042[aa] | 59. 22 | 0. 000 |
| 50 mg/L BGP | 0. 457 ± 0. 049[aa] | 71. 81 | 0. 000 | 0. 255 ± 0. 064[aa] | 74. 95 | 0. 000 | 0. 383 ± 0. 096[aa] | 74. 71 | 0. 000 | 0. 249 ± 0. 058[aa] | 92. 58 | 0. 000 |
| 100 mg/L BGP | 0. 330 ± 0. 013[aa] | 84. 53 | 0. 000 | 0. 161 ± 0. 009[aa] | 91. 19 | 0. 000 | 0. 236 ± 0. 024[aa] | 91. 76 | 0. 000 | 0. 223 ± 0. 057[aa] | 94. 99 | 0. 000 |

注:与未处理细胞对照组比较,a 表示 $P < 0.05$;aa 表示 $P < 0.01$。




A:未处理细胞对照组;B:25 mg/L BGP 作用 12 h;C:100 mg/L BGP 作用 36 h;D:100 mg/L BGP 作用 48 h。

**图 1** 倒置显微镜下观察 HepG2 细胞形态变化(× 100)

**Fig 1.** Morphological changes of HepG2 under inverted microscope (× 100)

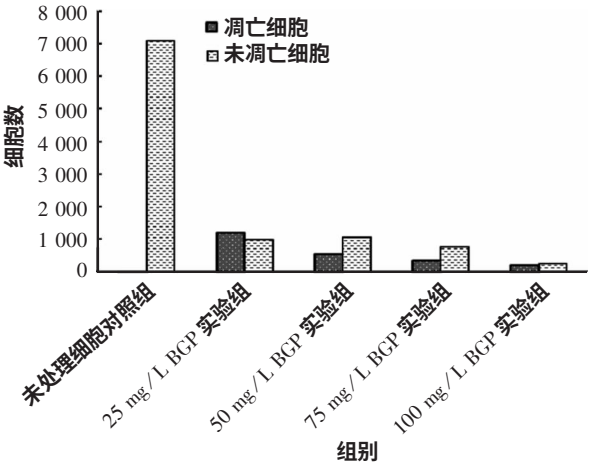
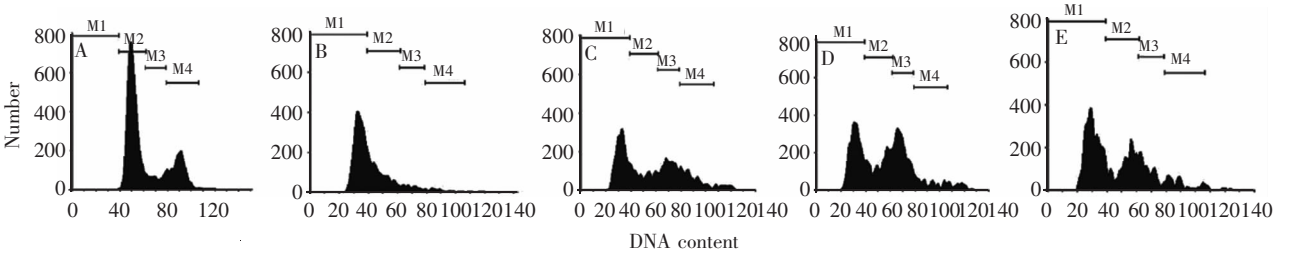



**图 2** 不同浓度 BGP 作用 HepG2 细胞 24 h 的细胞凋亡情况

**Fig 2.** Apoptosis of HepG2 cells 24 h after treatment with BGP at various concentrations




A:未处理细胞对照组;B:25 mg/L BGP 实验组;C:50 mg/L BGP 实验组;D:75 mg/L BGP 实验组;E:100 mg/L BGP 实验组;M1:凋亡碎片;M2:G0/G1 期;M3:S 期;M4:G2/M 期。

**图 3** 不同浓度 BGP 作用 HepG2 细胞 24 h 的细胞周期

**Fig 3.** Cell cycles of HepG2 cells 24 h after treatment with BGP for 24 h

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2 不同浓度 BGP 作用 HepG2 细胞 24 h 细胞周期及凋亡率的变化

Tab 2. Cell cycles and apoptosis rates of HepG2 cells 24 h after treatment with BGP at various concentrations

| 组别 | 不同时相细胞百分比(%) | | | 凋亡率(%) | P 值 |
|---|---|---|---|---|---|
| | G0/G1 | S | G2/M | | |
| 未处理细胞对照组 | 64. 75 | 11. 01 | 24. 06 | 0. 18 | |
| 25 mg/L BGP 实验组 | 33. 94[a] | 7. 51[a] | 4. 41[a] | 54. 41[a] | 0. 014 |
| 50 mg/L BGP 实验组 | 21. 72[a] | 24. 34[a] | 17. 52[a] | 33. 07[a] | 0. 015 |
| 75 mg/L BGP 实验组 | 26. 92[a] | 30. 71[a] | 9. 00[a] | 31. 09[a] | 0. 015 |
| 100 mg/L BGP 实验组 | 28. 71[a] | 16. 71[a] | 9. 00[a] | 45. 24[a] | 0. 014 |

注:a 表示与未处理细胞对照组比较,$P < 0.05$。

## 3 讨 论

人肝癌细胞株 HepG2 的细胞周期分为 G1、S、G2、M 4 个时相,在细胞周期的各个时相中存在着 3 个检测点[7],即 G1、S 和 G2/M 期检测点,能否越过检测点是决定细胞是否增殖的关键。本实验结果表明,牦牛肝蛋白 BGP 抑制 HepG2 增殖并诱导细胞凋亡,其抑制增殖的机制可能与 BGP 诱导的 HepG2 细胞 S 期阻滞有关。周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent protein kinase,CDK)是细胞周期关卡信号转导通路的靶点,各种信号转导通路最终均通过 CDK 对细胞周期产生影响[8],S 期是 DNA 合成复制阶段,细胞进入 S 期后,CDK2 与细胞周期蛋白 A(CyclinA)结合,参与 DNA 和中心体复制调节[9],控制细胞从 S 期至 G2 期转换。Xue 等[10]研究发现,油菜籽多肽可通过影响 Hela 细胞 S 期的 DNA 复制,从而将细胞周期阻滞在 S 期并诱导该细胞株发生凋亡。经 BGP 作用的 HepG2 细胞较对照组细胞 G0/G1 期和 G2/M 期比例降低,S 期细胞比例增加(除 25 mg/L BGP 组外),推断 BGP 可能通过某种方式影响 CyclinA/CDK2 活性,从而影响 DNA 合成或造成 DNA 损伤,最终导致 DNA 复制不完全,HepG2 细胞增殖过程被阻滞在 S 期,无法进入 G2 期。

此外,在细胞凋亡的 3 种信号通路中的线粒体通路,是指含有 BH3 结构域的 Bcl-2 家族成员在收到胞内的死亡信号后激活,与另外的 Bcl-2 家族成员 Bax、Bak 等作用,导致后者寡聚并插入线粒体膜,引起膜通透性改变、跨膜电位丢失、释放细胞色素 C(Cytc)和其他蛋白诱导凋亡的过程[11]。其中 Cytc 的释放是凋亡的主要步骤,在 ATP/dATP 存在的情况下,Cytc 与凋亡肽酶激活因子 1(apoptotic protease activating factor 1,Apaf-1)形成多聚复合体,通过 Apaf-1 氨基端的天冬氨酸蛋白水解酶 caspase 募集域募集胞质中的 caspase-9 前体,并通过 caspase-9 前体的自我活化启动 caspase 级联反应,激活下游的 caspase-3 和 caspase-7,完成底物剪切,引起细胞凋亡[12],在此通路中 Bcl-2/Bax 比率是启动细胞凋亡的"分子开关"。另外,定位于线粒体上的转录因子 p53 可与Bax 等相互作用,在细胞周期阻滞、DNA 损伤方面起重要作用[13]。当细胞 DNA 发生损伤时,p53 基因立即将细胞周期阻滞于某个检测点,等待损伤修复,如果 DNA 的损伤无法修复,凋亡就会发生[14]。Chen 等[15]从眼镜蛇毒液中分离得到一种多肽,该多肽即为为细胞毒素III(CytotoxinIII)。CytotoxinIII通过将 HepG2 细胞周期阻滞于 S 期并依赖于 caspase 家族酶的激活来诱导凋亡。在凋亡细胞中检测到 cyclin D1、cyclin B 和 cyclin A 下调,Bcl-2/Bax 比率改变,并伴有 Cytc 的释放。Li 等[16]用玉米多肽(corn peptide,CP)作用 HepG2 细胞后,HepG2 细胞增殖被阻滞在 S 期,产生凋亡,经 Western Blot 分析发现,Bcl-2 蛋白的表达受抑制,而 Bax 的表达无明显变化,同时 p53 也大量表达,caspase-3 被激活,表明 CP 通过线粒体通路导致 HepG2 细胞凋亡。CP 与 BGP 作用于 HepG2 细胞均使细胞增殖阻滞于 S 期,诱导细胞凋亡。由此推测,BGP 可能与 CP 作用方式一致,也是通过线粒体通路诱导细胞凋亡,从而发挥对 HepG2 细胞增殖抑制作用。

综上所述,牦牛肝蛋白 BGP 作用于人肝癌 HepG2 细胞,可明显抑制细胞增殖,导致细胞体积变小,细胞形态发生改变,细胞周期阻滞在 S 期,推测 BGP 通过影响 CyclinA/CDK2 活性或经线粒体途径诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡,具有明显的体外抗肝癌活性。

参考文献

[1] 梅雀林,李彦豪. 原发性肝癌的介入治疗现状[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2008,17(5):341-344.

[2] 黄洁夫. 肝脏胆道肿瘤外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,1999:151.

[3] 傅颖,梅松,来伟旗,等. 新生牛肝活性肽的制备及其毒性检测[J]. 中国生物制品学杂志,2007,20(10):757-759.

[4] 罗小玲,梁安民,李力,等. 胎牛肝细胞低分子天然抑瘤物的制备及其抗肿瘤作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2001,8(2):110-113.

[5] 柳青海,李天才. 藏药牦牛肝蛋白体外抗凝血活性研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(8):1927-1928.

[6] 柳青海,郭洁,李天才. 牦牛肝蛋白分离纯化及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2012,24(5):581-589,604.

(下转第 1796 页)

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

## 3 讨 论

本实验用 HAV 免疫母鸡，成功制备了高效价的特异性抗体 IgY，并成功将其应用于双抗体夹心ELISA 检测疫苗原液的抗原含量。免疫后第 15 天可检测出特异性抗体 IgY，约 28 ~ 30 d 后抗体效价达最高，为 1∶16 000，并可持续高效价达 1 个月。多步骤分离纯化，可获得纯度超过 96%的 IgY。建立的双抗体夹心 ELISA 法 HAV 浓度在 15. 62 ~ 2 000. 00 ng/ml 范围内，HAV 浓度的对数值与 $A_{450}$ 值之间呈线性相关，与市售试剂盒检测结果具有良好的相关性。通过该方法生产的抗体安全性好，特异性强，联合超滤技术和免疫亲和层析技术可实现大规模生产，开发质优价廉的诊断试剂。另外，该技术代替传统的采血技术，也减少了对动物的应激，符合国际动物福利保护法[5]。

综上所述，本实验制备了抗 HAV IgY，并建立了双抗体夹心 ELISA 法，可用于检测甲肝疫苗生产过程中 HAV 的抗原含量。

### 参考文献


[1] Hatta H, Kim M, Yamamoto T. A novel isolation method for hen egg yolk antibody, IgY [J]. Agric Biol Chem, 1990, 54 (10): 2531-2535.

[2] Deignan T, Kelly J, Alwan A, *et al*. Comparative analysis of methods of purification of egg yolk immunoglobulin [J]. Food Agricul Immunol, 2000, 12 (1): 77-85.

[3] Ooi MH, Wang SC, Lewthwaite P, *et al*. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71 [J]. Lancet Neurol, 2010, 9 (11): 1097-1105.

[4] Impens S, Reybroeck W, Vercammen J, *et al*. Screening and confirmation of chloramphenicol in shrimp tissue using ELISA in combination with GC-MS2 and LC-MS2 [J]. Anal Chim Acta, 2008, 483 (1-2): 153-163.

[5] 谢忠平，龙润乡，李华，等. 甲型肝炎灭活疫苗体外相对效力检测方法的研究及应用 [J]. 医学研究杂志，2010，39 (1)：50-52.


收稿日期：2013-05-01　　编辑：何巍

(上接第 1792 页)


[11] Eskes R, Desagher S, Antonsson B, *et al*. Bid induces the oligomerization and insertion of Bax into the outer mitochondrial membrane [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20 (3)：929-935.

[12] Miramar MD, Costantini P, Ravagnan L, *et al*. NADH oxidase activity of mitochondrial apoptosis-inducing factor [J]. J Biol Chem, 2001, 276 (19)：16391-16398.

[13] Yu J, Wang Z, Kinzler, KW, *et al*. PUMA mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100 (4)：1931-1936.

[14] Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy [J]. CA Cancer J Clin, 2005, 55 (3)：178-194.

[15] Chen XY, Lv P, Liu J, *et al*. Apoptosis of human hepatocellular carcinoma cell (HepG2) induced by cardiotoxin III through S-phase arrest [J]. Exp Toxicol Pathol, 2009, 61 (4)：307-315.

[16] Li JT, Zhang JL, He H, *et al*. Apoptosis in human hepatoma HepG2 cells induced by corn peptides and its anti-tumor efficacy in H22 tumor bearing mice [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 51 (1)：297-305.


收稿日期：2013-04-26　　编辑：王佳凤

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net