

网络出版时间:2018-03-09 17:09

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2018.07.001

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20180309.1708.002.html>

苦参碱对奶牛乳腺上皮细胞增殖、凋亡及抗氧化能力的影响

卢金霞^{1,2}, 何芳¹, 冯峰¹, 管翠萍¹, 刘军红¹, 周学章¹

(1 宁夏大学 西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 宁夏 银川 750021;

2 西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】探究苦参碱对体外培养的奶牛乳腺上皮细胞(BMECs)增殖、凋亡及抗氧化能力的影响。【方法】利用含 0(A 组), 25(B 组), 50(C 组), 75(D 组)和 100 $\mu\text{g/mL}$ (E 组)苦参碱的培养基培养奶牛乳腺上皮细胞。通过四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测 BMECs 活性, 采用流式细胞仪(Annexin V/PI 双染法)检测苦参碱对 BMECs 凋亡的影响, 并检测苦参碱对 BMECs 抗氧化酶活性及丙二醛(MDA)含量的影响, 采用 real-time PCR 对 BMECs 中 *Caspase-3*、*p53*、*STAT1* 和 *SOCS3* 基因的相对表达量进行检测。【结果】用药 5 d 时, 低质量浓度(25 和 50 $\mu\text{g/mL}$)苦参碱对 BMECs 增殖具有促进作用, 高质量浓度(75 和 100 $\mu\text{g/mL}$)苦参碱对细胞增殖具有抑制作用; B~E 组 BMECs 的凋亡率均极显著高于 A 组($P < 0.01$); B~E 组 BMECs 培养上清液中 NO 和乳酸脱氢酶(LDH)水平明显高于 A 组。B~E 组 BMECs 的过氧化氢酶(CAT)活性均比 A 组高, 其中 C 组极显著高于 A 组($P < 0.01$); B~E 组的谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性均极显著高于 A 组($P < 0.01$), E 组的超氧化物歧化酶(SOD)水平极显著高于 A 组($P < 0.01$), 各组 MDA 含量无显著性差异。与 A 组相比, 苦参碱上调了 B~E 组 BMECs 中 *Caspase-3*、*p53*、*STAT1* 和 *SOCS3* 基因的相对表达量。【结论】低质量浓度苦参碱能够促进 BMECs 增殖, 高质量浓度苦参碱则会抑制 BMECs 增殖; 不同质量浓度苦参碱均可提高 BMECs 的抗氧化能力, 其中 50 $\mu\text{g/mL}$ 苦参碱提高 BMECs 抗氧化能力的效果最明显。

【关键词】 苦参碱; 奶牛乳腺上皮细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; 抗氧化能力

【中图分类号】 S823.9⁺1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2018)07-0001-06

Effect of matrine on proliferation, apoptosis and antioxidant ability of bovine mammary epithelial cells

LU Jinxia^{1,2}, HE Fang¹, FENG Feng¹, GUAN Cuiping¹,

LIU Junhong¹, ZHOU Xuezhong¹

(1 Key Lab of Ministry of Education for Protection and Utilization of Special Biological Resources in Western China,

Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China; 2 College of Veterinary Medicine,

Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This experiment was conducted to study the effect of matrine on proliferation, apoptosis and antioxidant ability of bovine mammary epithelial cells cultured *in vitro*. 【Method】 Groups A, B, C, D and E were set up and treated with matrine at concentrations of 0, 25, 50, 75 and 100 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The activity of BMECs was detected by MTT assay. The effect of matrine on apoptosis of BMECs was detected by flow cytometry (Annexin V/PI double staining). The effect on antioxidant activity

〔收稿日期〕 2017-04-14

〔基金项目〕 国家自然科学基金项目(31460676)

〔作者简介〕 卢金霞(1990—), 女, 河南商丘人, 在读硕士, 主要从事营养与免疫调控研究。

〔通信作者〕 周学章(1969—), 男, 宁夏石嘴山人, 教授, 主要从事药物毒理学研究。E-mail: zhouxuezhong@nxu.edu.cn

and malondialdehyde (MDA) content were also detected. The relative expressions of *Caspase-3*, *p53*, *STAT1* and *SOCS3* in BMECs were detected by real-time PCR. 【Result】 Low concentrations of matrine (25 and 50 $\mu\text{g/mL}$) promoted cell proliferation after 5 days, while high concentrations (75 and 100 $\mu\text{g/mL}$) inhibited cell proliferation. The apoptosis rates of groups B—E were significantly higher than that of group A ($P<0.01$). The levels of NO and LDH of groups B—E were significantly higher than those of group A ($P<0.01$). The CAT activities of groups B—E were higher than that of group A and there was significant difference between group C and group A ($P<0.01$). GSH-Px activities of groups B—E were significantly higher than that of group A ($P<0.01$). The SOD level of group E was significantly higher than that of group A ($P<0.01$). There was no significant difference in MDA content. Compared with group A, matrine increased the relative expressions of *Caspase-3*, *p53*, *STAT1*, and *SOCS3* in experimental groups. 【Conclusion】 Low matrine concentrations promoted the proliferation of bovine mammary epithelial cells, while high concentrations inhibited cell proliferation and increased the antioxidant abilities of BMECs. Group C with marine concentration of 50 $\mu\text{g/mL}$ was the most effective.

Key words: matrine; bovine mammary epithelial cells; proliferation; apoptosis; antioxidant ability

奶牛乳房炎又称奶牛乳腺炎(Bovine mastitis),是奶牛乳腺受物理、化学、微生物刺激所发生的一种炎症变化,是一种复杂的乳腺综合症,包括乳腺感染、乳腺炎症、乳房微循环和免疫障碍等^[1-2],多发生于产后哺乳期,常可引起奶牛产奶量和奶品质急剧下降甚至失去泌乳能力。在乳腺免疫防御体系中,奶牛乳腺上皮细胞(Bovine mammary epithelial cells, BMECs)具有哨兵作用,其能够及时识别病原菌并释放细胞因子,趋化、激活及调节免疫细胞,进而发挥免疫防御功能^[3]。随着人们对食品安全要求的不断提高和国家对乳制品品质更严格的要求,临床治疗乳房炎常用的抗生素由于存在药物残留将逐渐被限用或禁用。应用中药治疗奶牛乳房炎,已日益为国内外专家所关注。

苦参碱(Matrine)是豆科植物苦参(*Sophora flavescens* Ait.)的主要有效成分,也存在于苦豆子(*S. alopecuroides* L.)、广豆根(*S. subprostrata* Chun et T. Chen)中。苦参碱具有多种生理学活性,具有消炎抗菌、抗过敏、抗心率失常等作用^[4]。有研究发现,苦参碱能显著降低慢性肝炎患者血清中透明质酸、Ⅳ型胶原蛋白和层粘连蛋白的含量,提示苦参碱具有抗炎及抑制肝纤维化的作用^[5]。据报道,主要成分由丹参、茜草、苦参提取物组成的复方茜草灌注液对临床型乳房炎的疗效优于抗生素(青霉素钠+链霉素+生理盐水)^[6]。但有关苦参碱对体外培养的BMECs增殖、凋亡及抗氧化能力影响的研究未见报道。为此,本试验对此进行探讨,为研制苦参碱制剂及其在奶牛乳房炎防治中的应用提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 BMECs由本实验室通过组织块培养法分离鉴定所得。

1.1.2 试剂与仪器 (1)试剂。苦参碱(纯度99.22%)、二甲基亚砷(DMSO),购自 Solarbio 公司;胎牛血清,购自 Gibco 公司;双抗、DMEM/F12培养基,购自 HyClone 公司;氢化可的松、胰岛素、转铁蛋白、孕酮,均购自 Sigma 公司;RNA提取试剂盒,购自天根生化科技有限公司;一氧化氮(NO)试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测试盒、过氧化氢酶(CAT)测试盒、丙二醛(MDA)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、AnnexinV/PI 双染细胞凋亡试剂盒、四甲基偶氮唑盐(MTT)法细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒,均购于南京凯基生物发展有限公司。

(2)仪器。SW-CJ-1F 洁净工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限公司),HF90CO₂ 恒温培养箱(上海力申科学仪器有限公司),AE2000 倒置相差显微镜(Motic 公司),TDL-40B 离心机(上海安亭科学仪器公司),CyFlow Cube 流式细胞仪(德国 Partec 公司),680 酶标仪和 IQ5 荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司),Nanodrop2000 超微量分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.2 苦参碱对 BMECs 增殖的影响

按 1.0×10^4 孔⁻¹ 的量将 BMECs 接种到 96 孔板,分为 A、B、C、D 和 E 5 组,每组 3 个重复,分别用含 0, 25, 50, 75 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 苦参碱的培养基进行

培养,于培养的第 3,4,5 天,弃去培养液,在每孔中加入 50 μL 1 $\times$ MTT,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h 后弃去液体,加入 DMSO 150 μL /孔,平板摇床摇匀后,用酶标仪于 490 nm 下测定吸光度($D_{490\text{ nm}}$)。

1.3 苦参碱对 BMECs 完整性和泌乳能力的影响

按 7.0×10^4 孔 $^{-1}$ 的量将 BMECs 接种到 12 孔板,分组和处理方法同 1.2,于培养的第 5 天,分别用 NO 试剂盒、LDH 测试盒测定细胞培养上清液中 NO 与 LDH 含量。

1.4 苦参碱对 BMECs 凋亡的影响

按 1×10^6 孔 $^{-1}$ 的量将 BMECs 接种到 6 孔板,分组和处理方法同 1.2,于培养的第 5 天,采用流式细胞仪(AnnexinV/PI 双染法)测算细胞凋亡率。

表 1 *p53*、*STAT1*、*Caspase-3* 和 *SOCS3* 的引物序列及产物长度

Table 1 Primers and product lengths of *p53*, *STAT1*, *Caspase-3* and *SOCS3* gene

基因 Gene	引物序列(5'→3') Primer design(5'→3')	产物长度/bp Product length
<i>p53</i>	F:CGTCTAGGGTTCCTGCAATC;R: CTCACAACCTCCGTCATGTG	194
<i>STAT1</i>	F:TTCAACATTCTGGGCACTCA;R:ATCACCACGACGGGTAGAGA	236
<i>Caspase-3</i>	F:GACAGTGGTGCTGAGGATGA;R:AGCCTGTGAGCGTGCTTT	167
<i>SOCS3</i>	F:GGCCACTCTCCAACATCTCTGT;R:TCCAGGAAGTCCCGAATGG	99
<i>βactin</i>	F:GACATCCGCAAGGACCTCTA;R:ACATCTGCTGGAAGGTGGAC	205

按 1.0×10^6 孔 $^{-1}$ 将 BMECs 接种到 6 孔板,处理方法同 1.2,培养 5 d 后,严格按照天根总 RNA 提取试剂盒的说明提取细胞总 RNA,使用 Nano Drop 仪器测定总 RNA 浓度和纯度后,采用 Takara 反转录试剂盒进行 cDNA 合成。严格按照 Takara 试剂盒说明书,配制 20 μL real-time PCR 反应体系:SYBR 预混合试剂 Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 2 $\times$ 10 μL ,10 $\mu\text{mol/L}$ PCR 正向引物 0.8 μL ,10 $\mu\text{mol/L}$ PCR 反向引物 0.8 μL ,cDNA 模板 2 μL ,灭菌蒸馏水 6.4 μL 。PCR 反应条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s;65 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 s,共 40 个循环。反应在伯乐 iQ5 real-time PCR System 实时 PCR 检测系统上进行。

1.7 数据分析

用 Excel 对试验数据进行预处理,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示;采用 SPSS 17.0 单因素方差分析(ANOVA)法对试验数据进行统计分析, $P<0.01$ 表示差异极显著, $P<0.05$ 表示差异显著。基因相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行计算。

2 结果与分析

2.1 苦参碱对 BMECs 增殖的影响

由图 1 可知,培养第 3 天,B~E 组 BMECs 的增殖水平均低于 A 组,其中 C、D、E 组与 A 组差异

1.5 苦参碱对 BMECs 抗氧化能力的影响

按 7.0×10^4 孔 $^{-1}$ 的量将 BMECs 接种到 12 孔板,分组和处理方法同 1.2,于培养的第 5 天,用相应试剂盒测定 CAT、GSH-Px、SOD 活性及 MDA 含量。

1.6 苦参碱对 BMECs 中 *p53*、*STAT1*、*Caspase-3* 和 *SOCS3* 基因 mRNA 表达水平的影响

以 *β actin* 为内参基因,采用 real-time PCR 法检测苦参碱对奶牛乳腺上皮细胞 *p53*、*STAT1*、*Caspase-3*、*SOCS3* 基因 mRNA 表达水平的影响。参考文献[7]设计 *p53*、*STAT1*、*Caspase-3*、*SOCS3*、 *β actin* 基因的 real-time PCR 引物,引物序列见表 1,引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。

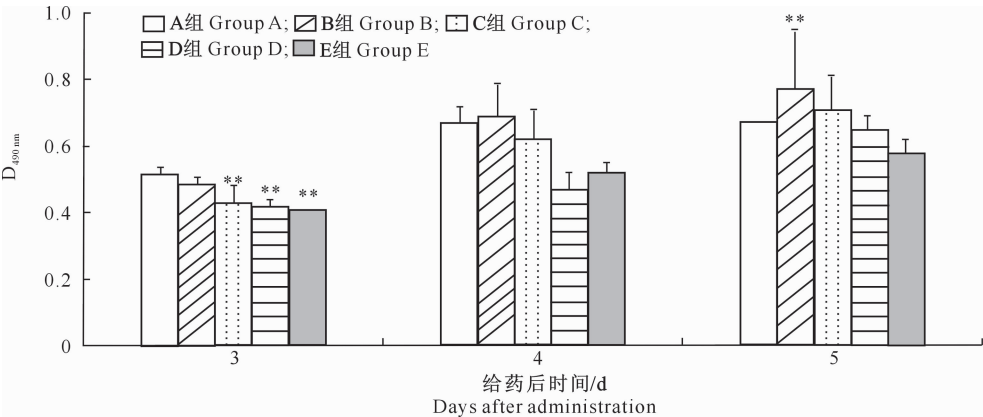
极显著($P<0.01$);培养第 4 天,B、C、D、E 组 BMECs 细胞增殖水平与 A 组相比无显著性差异;培养第 5 天,B、C 组细胞增殖水平高于 A 组,其中 B 组与 A 组差异极显著($P<0.01$),D、E 组细胞增殖水平略低于 A 组,说明低质量浓度(25 和 50 $\mu\text{g/mL}$)苦参碱对细胞增殖具有促进作用,而高质量浓度(75 和 100 $\mu\text{g/mL}$)苦参碱对细胞增殖具有抑制作用。

2.2 苦参碱对 BMECs 完整性和泌乳能力的影响

LDH 是机体能量代谢过程中的重要酶,能催化乳酸脱氢生成丙酮酸,一般存在于细胞浆内,细胞膜受损时则会溢出胞外至培养上清中^[8]。由图 2 可知,B~E 组 BMECs 上清液中 NO 水平均高于 A 组,其中 C 组极显著高于 A 组($P<0.01$),表明苦参碱可以提高 BMECs 的泌乳性能;B、C、D 和 E 组 BMECs 细胞上清液中的 LDH 水平均比 A 组的高,其中 B、D 组极显著升高($P<0.01$),C 组显著升高($P<0.05$),说明苦参碱对细胞的完整性有一定的破坏作用。

2.3 苦参碱对 BMECs 凋亡率的影响

由图 3 可知,不同剂量的苦参碱作用于 BMECs 后,对细胞的凋亡率有不同程度的影响,B、C、D、E 组 BMECs 的凋亡率均极显著高于 A 组($P<0.01$),其中 B 组细胞凋亡率最高。



与 A 组比较, * 表示差异显著 ($P<0.05$), * * 表示差异极显著 ($P<0.01$)。下图同
Compared to group A, * indicates significant difference ($P<0.05$) and * * indicates extremely significant difference ($P<0.01$). The same below

图 1 苦参碱对 BMECs 增殖的影响

Fig. 1 Effects of matrine on proliferation of BMECs

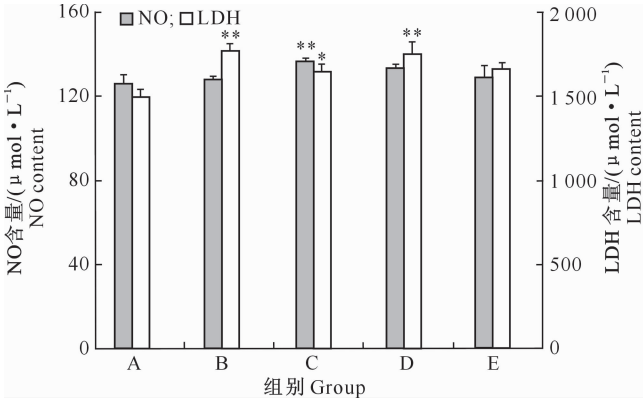


图 2 苦参碱对 BMECs 培养上清液中 NO 和 LDH 含量的影响

Fig. 2 Effects of matrine on NO and LDH contents in culture supernatant of BMECs

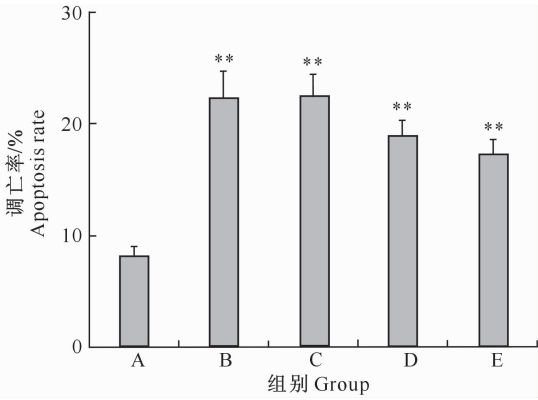


图 3 苦参碱对 BMECs 凋亡率的影响

Fig. 3 Effects of matrine on apoptosis rate of BMECs

2.4 苦参碱对 BMECs 抗氧化能力的影响

由图 4 可知,B、C、D、E 组 BMECs 的 CAT 活性均较 A 组高,其中 C 组极显著升高 ($P<0.01$);B、C、D、E 组的 GSH-Px 活性均极显著高于 A 组 ($P<$

0.01);除 C 组外,B、D 和 E 组的 SOD 活性随着苦参碱质量浓度增加而明显升高,其中 E 组极显著升高 ($P<0.01$);B、C 和 D 组的 MDA 含量较 A 组下降。综上可知,苦参碱可提高 BMECs 的抗氧化能力。

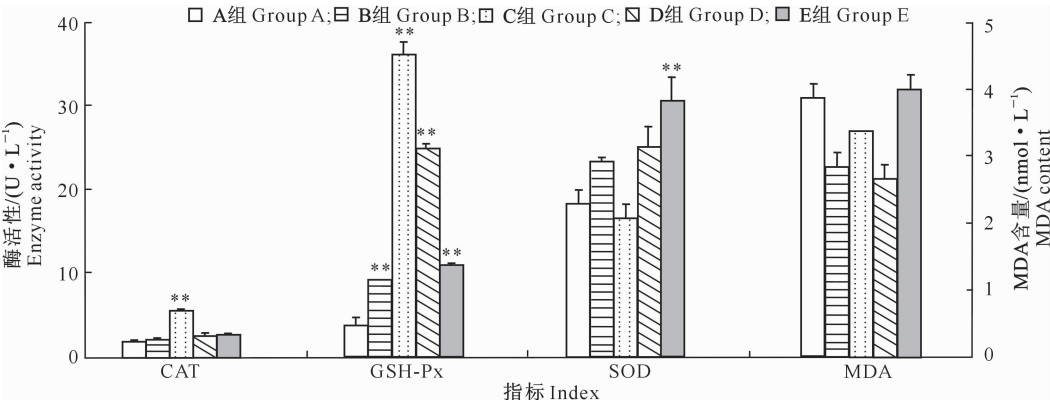


图 4 苦参碱对奶牛乳腺上皮细胞抗氧化能力的影响

Fig. 4 Effects of matrine on antioxidant ability of BMECs

2.5 苦参碱对 BMECs 中 *p53*、*Caspase-3*、*SOCS3* 和 *STAT1* 基因 mRNA 表达的影响

由图 5 可知,B~E 组的 *Caspase-3* 基因相对表达量均高于 A 组,其中 B、D、E 组极显著高于 A 组 ($P<0.01$);B、C、D 组的 *p53* 基因相对表达量极显

著高于 A 组 ($P<0.01$),而 E 组略低于 A 组;苦参碱对各组细胞的 *STAT1* 基因相对表达量无显著影响;B、C、D 和 E 组的 *SOCS3* 基因相对表达量均极显著高于 A 组 ($P<0.01$)。上述结果说明,苦参碱可上调 *Caspase-3*、*p53* 和 *SOCS3* 基因的表达量。

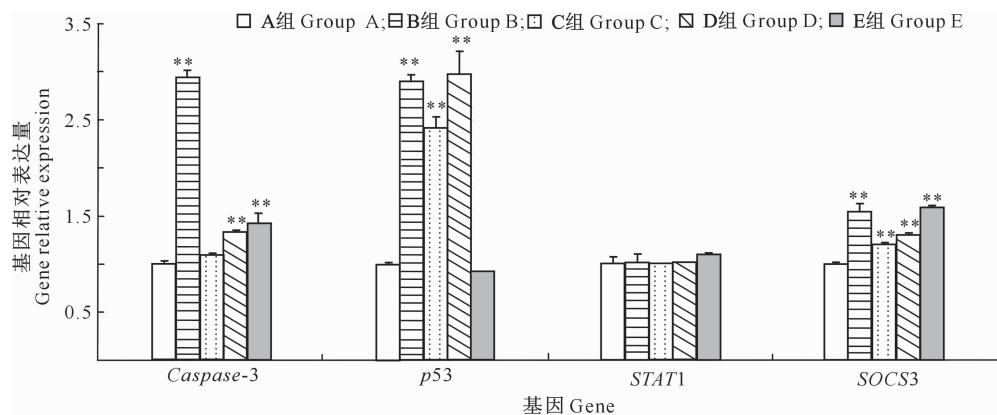


图 5 苦参碱对 BMECs 中 *Caspase-3*、*p53*、*STAT1* 和 *SOCS3* 基因 mRNA 表达量的影响
Fig. 5 Effects of matrine on expressions of *Caspase-3*, *p53*, *STAT1* and *SOCS3* mRNA of BMECs

3 讨论

BMECs 是奶牛机体与外界直接接触的细胞,作为乳腺防御病原菌入侵的第一道防线,其数量大大超过其他参与抵御入侵病原菌的免疫细胞,在免疫防御过程中具有十分重要的作用。细胞增殖和凋亡间的动态平衡是维持机体稳态的一个重要方式^[9]。本试验结果表明,苦参碱作用于 BMECs 第 5 天时,低剂量(25 和 50 $\mu\text{g/mL}$)药物既可促进细胞增殖又可促进细胞凋亡,高剂量(75 和 100 $\mu\text{g/mL}$)苦参碱可抑制细胞增殖而促进细胞凋亡。苦参碱在低剂量时既可促进细胞增殖又可促进细胞凋亡,原因可能为在此质量浓度下,苦参碱对细胞增殖的影响强于苦参碱对细胞凋亡的影响,综合表现为苦参碱促进细胞增殖;而在高质量浓度时,苦参碱既可抑制细胞增殖又可促进细胞凋亡,综合表现为抑制细胞增殖。随着泌乳期的改变,乳腺中 NO 的含量会发生变化,其含量在泌乳前期与妊娠后期达到最大,可见 NO 对促进泌乳具有重要作用^[7]。在本试验中苦参碱提高了细胞的 NO 含量,表明其可以提高 BMECs 的泌乳性能。

在机体氧化反应过程中会产生具有传递能量等作用的自由基,但是机体内的自由基应在合适的范围内,过多或者过少都会对机体产生损害。这些自由基具有强氧化作用,会对机体在组织水平、细胞水平或分子水平产生损伤与破坏,最终导致疾病与衰

老的发生^[10]。GSH-Px、CAT 与 SOD 是生物体内重要的抗氧化酶,在清除自由基、 H_2O_2 和过氧化物以及减少羟基自由基形成等方面发挥着非常重要的作用^[11-12]。MDA 是自由基对不饱和脂肪酸引发的脂质过氧化作用的产物,其含量的多少间接反映了细胞内自由基的量。因此,通过测定机体 SOD、CAT、GSH-Px 活性及 MDA 含量,在一定程度上可以反映机体的抗氧化能力^[13]。本研究结果显示,苦参碱可提高 BMECs 的 SOD、CAT、GSH-Px 活性,降低 MDA 含量,表明苦参碱可提高细胞的抗氧化能力。

Zhang 等^[14]研究发现,苦参碱对人红白血病 K562 细胞的增殖抑制呈量-效关系和时-效关系,当苦参碱质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 且作用于细胞 3 d 后,细胞增殖速度明显减缓;当苦参碱质量浓度小于 200 $\mu\text{g/mL}$ 时,对人红白血病 K562 细胞增殖无明显抑制作用;当苦参碱质量浓度大于 200 $\mu\text{g/mL}$ 且作用 2 d 时,细胞增殖受到明显抑制,并表现出较强的杀伤力。周喜汉等^[15]发现,500~2 000 $\mu\text{g/mL}$ 的苦参碱对结肠癌 SW1116 细胞的增殖具有显著抑制作用。本试验发现,25~100 $\mu\text{g/mL}$ 苦参碱作用 3 d 时,BMECs 的增殖受到抑制;25~50 $\mu\text{g/mL}$ 苦参碱作用 5 d 时,可促进细胞的增殖,但当质量浓度在 75~100 $\mu\text{g/mL}$ 时可抑制细胞的增殖,且与苦参碱质量浓度呈负相关。综上所述,在进行体外试验时,不同质量浓度范围内的苦参碱对不同细胞作用

不同,提示在临床上治疗奶牛乳房炎时应选择合适的苦参碱质量浓度,即选择既能促进正常细胞增殖,又可诱导病变细胞凋亡的苦参碱质量浓度。

凋亡是一个蛋白酶级联反应过程。半胱氨酸蛋白酶(Caspase)家族是介导此过程的重要成分,其可分为执行者(包括 Caspase-3、6、7)和启动者(包括 Caspase-8、9、10),其中 Caspase-3、6、7 具有直接降解胞内结构蛋白和功能蛋白从而引起凋亡的作用,但是它们不可通过自催化或自剪接的方式激活;而 Caspase-8、9、10 在接受到信号刺激后能通过自剪接而激活,从而引起 Caspase 级联反应^[16-17]。Caspase-3 是调控细胞凋亡的关键蛋白酶,细胞凋亡的最后通路均与 Caspase-3 的活化有关^[18]。p53 调控一些仅有 BH3 区域的蛋白,诱导细胞凋亡的功能十分显著^[19-20]。p53 与 STAT1 在生物体内对于细胞周期与细胞凋亡有重要作用,且都能抑制细胞的癌变^[7]。细胞因子信号传导抑制蛋白-3(SOCS3)具有负调节多种细胞因子和激素(包括 LIF、IL-11、生长激素、胰岛素和瘦素)产生的信号传导过程的作用,这些信号传导过程的作用就涉及到了控制炎症过程、调节生长发育等方面^[21]。已有研究证实,SOCS3 可以抑制 LPS、LIF、IL-2、IL-3、IL-4、IFN- γ 和 IFN- α 产生的信号传导通路^[22]。总体而言,SOCS3 具有抑制和阻断信号传导通路的作用。在本试验中,苦参碱上调了 Caspase-3、p53、SOCS3 的表达,表明其可促进细胞凋亡,减轻炎症反应。

[参考文献]

- [1] Gibbons W J. Disease of cattle [J]. American Veterinary Publications, 1963, 46(7): 427-453.
- [2] Schalm O W. Bovine mastitis lea and febiger [J]. Philadelphia, 1971, 34(2): 1-26.
- [3] Genini S, Badaoui B, Sclep G, et al. Strengthening insights into host responses to mastitis infection in ruminants by combining heterogeneous microarray data sources [J]. BMC Genomics, 2011, 12(1): 225.
- [4] 杨泽松, 牟 君, 陈建斌, 等. 苦参碱通过 MAPK 信号转导通路促进 U937 细胞凋亡 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12): 1553-1556.
Yang Z S, Mou J, Chen J B, et al. Apoptosis of U937 cell line promoted by matrine through MAPK signal transduction pathway [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(12): 1553-1556.
- [5] 申保生, 宋新文. 氧化苦参碱对慢性乙型肝炎患者血清细胞因子及肝纤维化指标的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(1): 17-19.
Shen B S, Song X W. Effects of oxymatrine on serum cytokines and hepatic fibrotic indexes in patients with chronic hepatitis [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2008, 28(1): 17-19.
- [6] 王学红, 梁剑平, 王作信, 等. 复方茜草灌注液对临床型奶牛乳腺炎的疗效观察 [J]. 中国兽医杂志, 2011, 47(12): 57-58.
Wang X H, Liang J P, Wang Z X, et al. Effects of compound madder infusion on mastitis of clinical dairy cow [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2011, 47(12): 57-58.
- [7] 苏效双, 占今舜, 詹 康, 等. 苜蓿黄酮对体外培养的奶牛乳腺上皮细胞增殖与抗氧化的影响 [J]. 草业学报, 2015, 24(12): 139-145.
Su X S, Zhan J S, Zhan K, et al. Proliferation stimulus and antioxidant effect of alfalfa flavonoids on dairy cow mammary epithelial cells cultured *in vitro* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(12): 139-145.
- [8] 崔志文, 黄 琴, 黄 怡. 枯草芽孢杆菌对 Caco-2 细胞抗氧化功能的影响研究 [J]. 动物营养学报, 2011, 23(2): 293-298.
Cui Z W, Huang Q, Huang Y. Effects of *Bacillus subtilis* on antioxidative function of Caco-2 cells [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23(2): 293-298.
- [9] Shao H M, Yang B W. Matrine effectively inhibits the proliferation of breast cancer cells through a mechanism related to the NF- κ B signaling pathway [J]. Oncol Lett, 2013, 69(2): 517-520.
- [10] 周昇昇, 杨月欣. 抗氧化能力体外评价方法的进展和比较 [J]. 卫生研究, 2010, 39(2): 164-167.
Zhou S S, Yang Y X. Progress and comparison of evaluation methods of antioxidant ability *in vitro* [J]. Journal of Hygiene Research, 2010, 39(2): 164-167.
- [11] Li L L, Hou Z P, Yin Y L, et al. Intramuscular administration of zinc metallothionein to preslaughter stressed pigs improves anti-oxidative status and pork quality [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2007, 20(5): 761-767.
- [12] Mccord J M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury [J]. New England Journal of Medicine, 1985, 312: 159.
- [13] 荔 霞, 刘永明, 齐志明, 等. 锌对小鼠机体抗氧化酶活性及 NO、MDA 含量的影响 [J]. 家畜生态学报, 2008, 29(5): 65-68.
Li X, Liu Y M, Qi Z M, et al. Effect of Zn on activity of antioxidant enzymes and content of MDA and NO in mice [J]. Acta Ecologiae Animalis Domastici, 2008, 29(5): 65-68.
- [14] Zhang L P, Jiang J K, Tam J W, et al. Effects of matrine on proliferation and differentiation in K562 cells [J]. Leuk Res, 2001, 25(9): 793-800.
- [15] 周喜汉, 韦 星, 黄赞松, 等. 苦参碱对结肠癌 SW1116 细胞增殖及端粒酶活性的影响 [J]. 中药材, 2009, 32(6): 923-925.
Zhou X H, Wei X, Huang Z S, et al. Effects of matrine on proliferation and telomerase activity of colon cancer SW1116 cells [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2009, 32(6): 923-925.

- quations for national biomass estimation in China [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2011.
- [21] Parresol B R. Assessing tree and stand biomass: a review with examples and critical comparisons [J]. Forest Science, 1999, 45(4): 573-593.
- [22] 唐守正, 郎奎建, 李海奎. 统计与生物数学模型计算教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- Tang S Z, Lang K J, Li H K. Statistics and mathematical model calculation ForStat Course [M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [23] 唐守正, 李 勇. 一种多元非线性度量误差模型的参数估计及算法 [J]. 生物数学学报, 1996, 11(1): 23-27.
- Tang S Z, Li Y. An algorithm for estimating multivariate nonlinear error-in-measure models [J]. Journal of Biomathematics, 1996, 11(1): 23-27.
- [24] 符利勇, 雷渊才, 曾伟生. 几种相容性生物量模型及估计方法的比较 [J]. 林业科学, 2014, 50(6): 42-55.
- Fu L Y, Lei Y C, Zeng W S. Comparison of several compatible biomass models and estimation approaches [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2014, 50(6): 42-55.
- [25] 蔡兆伟, 孙玉军, 施鹏程. 基于非线性度量误差的杉木相容性生物量模型 [J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(9): 28-32.
- Cai Z W, Sun Y J, Shi P C. Compatible tree biomass models for Chinese Fir plantations based on nonlinear measurement error [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2014, 42(9): 28-32.
- [26] 曾伟生, 骆期邦, 贺东北. 论加权回归与建模 [J]. 林业科学, 1999, 35(5): 5-11.
- Zeng W S, Luo Q B, He D B. Research on weighting regression and modeling [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1999, 35(5): 5-11.
- [27] 曾伟生, 唐守正. 非线性模型对数回归的偏差校正及与加权回归的对比分析 [J]. 林业科学研究, 2011, 24(2): 137-143.
- Zeng W S, Tang S Z. Bias correction in logarithmic regression and comparison with weighted regression for non-linear models [J]. Forest Research, 2011, 24(2): 137-143.
- [28] 曾伟生. 加权回归估计中不同权函数的对比分析 [J]. 林业资源管理, 2013, 10(5): 55-61.
- Zeng W S. Comparison of different weight functions in weighted regression [J]. Forest Resources Management, 2013, 10(5): 55-61.
- [29] 曾伟生, 唐守正. 立木生物量模型的优度评价和精度分析 [J]. 林业科学, 2011, 47(11): 106-113.
- Zeng W S, Tang S Z. Goodness evaluation and precision analysis of tree biomass equations [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2011, 47(11): 106-113.
- [30] 陈 飞, 王健敏, 孙宝刚, 等. 云南松的地理分布与气候关系 [J]. 林业科学研究, 2012, 25(2): 163-168.
- Chen F, Wang J M, Sun B G, et al. Relationship between geographical distribution of *Pinus yunnanensis* and climate [J]. Forest Research, 2012, 25(2): 163-168.
- [31] 戴开结, 何 方, 沈有信, 等. 云南松研究综述 [J]. 中南林业学院学报, 2006, 26(2): 138-142.
- Dai K J, He F, Shen Y X, et al. Advances in the research on *Pinus yunnanensis* forest [J]. Journal of Central South Forestry University, 2006, 26(2): 138-142.
- [32] 皮文林, 罗方书, 万国华. 云南松生长的早晚期相关初探 [J]. 云南植物研究, 1994, 16(1): 90-92.
- Pi W L, Luo F S, Wan G H. The earlier-later period correlation of increment of *Pinus yunnanensis* [J]. Acta Botanica Yunnanica, 1994, 16(1): 90-92.

(上接第 6 页)

- [16] Chowdhury I, Tharakan B, Bhat G K. Caspases-an update [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2008, 151(1): 10-27.
- [17] Watt W, Koeplinger K A, Mildner A M, et al. The atomic-resolution structure of human caspase-8, a key activator of apoptosis [J]. Structure, 1999, 7(9): 1135-1143.
- [18] 胡彦武, 刘 凯, 闫梦彤. 淫羊藿苷对大鼠糖尿病心肌缺血再灌注损伤模型的治疗作用及机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4234-4239.
- Hu Y W, Liu K, Yan M T. Effect and mechanism of icariin on myocardial ischemia-reperfusion injury model in diabetes rats [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(21): 4234-4239.
- [19] Alvarez S, Drane P, Meiller A. A comprehensive study of *p53* transcriptional activity in thymus and spleen of gamma irradiated mouse; high sensitivity of genes involved in the two main apoptotic pathways [J]. International Journal of Radiation Biology, 2006, 82(11): 761-770.
- [20] Vanlandingham J W, Tassabehji N M, Somers R C, et al. Expression profiling of *p53*-target genes in copper-mediated neuronal apoptosis [J]. Neuromolecular Medicine, 2005, 7(4): 311-324.
- [21] Chatterjee P K. Hepatic inflammation and insulin resistance in Pre-diabetes-further evidence for the beneficial actions of PPAR-gamma agonists and a role for SOCS-3 modulation [J]. British Journal of Pharmacology, 2010, 160(8): 1889-1891.
- [22] Qin H, Wilson C A, Roberts K L, et al. IL-10 inhibits lipopolysaccharide-induced CD40 gene expression through induction of suppressor of cytokine signaling-3 [J]. J Immunol, 2006, 177(11): 7761-7771.