

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.23.012

丹酚酸 A 对大鼠脑缺血 / 再灌注损伤及抗氧化酶活性的影响

魏礼洲 刘卫平[△] 费舟 伊西才 汪凯 罗强 樊才瑞 薛卫星 韩福新

(第四军医大学西京医院神经外科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨丹酚酸 A 对大鼠脑缺血 / 再灌注(cerebral ischemia/reperfusion, CI/R)损伤及抗氧化酶活性的影响。方法:采用大鼠脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)2 h 再灌注 24 h 模型。实验终末,检测脑梗死面积,脑水肿以及评价神经功能损伤,并进一步分析脑组织中三种抗氧化酶的活性水平。结果:与模型组相比,丹酚酸 A 组大鼠脑梗死面积显著减少($P < 0.05$),水肿程度显著减轻($P < 0.05$),神经功能学评分显著下降($P < 0.05$)。模型组再灌注 24 h 后,SOD,GSH-PX 及 CAT 活性显著下降($P < 0.05$);丹酚酸 A 组 SOD,GSH-PX 及 CAT 活性则显著升高($P < 0.05$)。结论:丹酚酸 A 对大鼠 CI/R 损伤具有保护作用,可能与 CI/R 损伤时的脑组织 SOD,GSH-PX 及 CAT 活性显著升高相关。

关键词: 丹酚酸 A; 脑缺血 / 再灌注; 抗氧化酶; 大鼠

中图分类号:Q95-3, R743 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)23-4447-04

Effects of Salvianolic Acid A on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury and Antioxidase Activities in Rats

WEI Li-zhou, LIU Wei-ping[△], FEI Zhou, YI Xi-cai, WANG Kai, LUO Qiang, FAN Cai-rui, XUE Wei-xing, HAN Fu-xin

(Department of Neurosurgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the protection of salvianolic acid A on cerebral ischemia/reperfusion (CI/R) injury and antioxidant activities in rats. **Methods:** The rats were subjected to CI/R by using a thread to occlude the right middle cerebral artery (MCAO). After 2 h of cerebral ischemia, the middle cerebral artery had reperfusion for 24 h. Then, the infarct zone, water content and neurologic function scores were estimated. The activities of three antioxidants in cerebral tissue were also analyzed. **Results:** Compared with the Model group, the infarct zone, water content and neurologic function scores in salvianolic acid A group were significantly decreased ($P < 0.05$). After 24 h CI/R, the activities of SOD, GSH-PX and catelase were significantly decreased ($P < 0.05$). The activities of all the enzymes mentioned above were raised by salvianolic acid A ($P < 0.05$). **Conclusion:** Salvianolic acid A has a protective effect against CI/R injury and this effect may be related to the increase of activities of SOD, GSH-PX and catelase.

Key words: Salvianolic acid A; Cerebral ischemia/reperfusion; Antioxidant enzyme; Rats

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)23-4447-04

前言

近年来随着缺血性脑血管疾病溶栓治疗的开展,脑缺血 / 再灌注(Cerebral ischemia/reperfusion, CI/R)损伤的问题备受医药学家的重视。有研究发现,氧化应激是导致 CI/R 损伤最严重、时程最长的因素^[1]。因此,清除氧自由基的化合物成为防治 CI/R 损伤的一个研究策略。

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge)为唇形科鼠尾草植物的干燥根茎,具有活血凉血、祛瘀止痛、安神除烦的功效^[2]。传统中医调药配方多用丹参水煎成分,近年来关于丹参水溶性成分的研究广泛而全面,其中丹酚酸 A(Salvianolic acid A, Sal A)为咖啡酸多聚体,含有较多的酚羟基,较丹参素等清除氧自由基作用强^[3]。Huaying Fan 等研究发现,Sal A 具有潜在的心肌保护作用,尤其是提高了 H9c2 心肌细胞中 SOD 酶的活力^[4]。这项研究提

示我们,Sal A 可能同样具有对 CI/R 损伤潜在的防治作用。

本实验拟采用大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型,研究 Sal A 的 CI/R 损伤保护作用,进一步阐明其药效机制,可望为中药材丹参的临床研究应用与新药研发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要试剂和仪器 丹酚酸 A 购自成都植标化纯生物技术有限公司;2,3,5- 氯化三苯基四氮唑蓝(TTC)染色剂购自中国医药集团上海化学试剂公司。SOD,GSH-PX 及 CAT 检测试剂盒购于南京建成生物科技有限公司。主要实验仪器:HX-100E 小动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司);TDZ4A-WS 低速台式离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);COOLPIX S1 型照相机(Nikon 公司,日本);5417 型低温高速离心机(Eppendorf 公司)。

1.1.2 实验动物 雄性 SD 大鼠,体重 250 ± 20 克,购自第四军医大学实验动物中心,实验动物生产许可证:SCXK-(军)2007-007。动物分笼饲养(环境温度 24°C ,湿度 60%-70%),术前 12 h 禁食,自由饮水。

作者简介:魏礼洲(1975-),男,主治医师,主要研究方向:中枢神经修复及颅底肿瘤,电话:029-84775328,E-mail:weilz179@aliyun.com

[△]通讯作者:刘卫平,教授,主任医师,电话:029-84775328,

E-mail:liuwp@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2014-02-16 接受日期:2014-03-15)

1.2 实验方法

1.2.1 动物 MCAO 模型制备 大鼠术前禁食 12 h, 自由饮水。采用经颈内动脉尼龙线栓法制备大鼠右侧 MCAO 局灶性脑缺血再灌注模型^[5]: 3%戊巴比妥钠(30 mg/kg, 腹腔注射)麻醉动物, 仰卧位固定, 于颈正中位切口, 暴露颈右侧总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)及翼腭动脉, 在颈总动脉分叉处下方剪一纵形小切口, 将一根预先用酒精灯将两端烧成圆头的尼龙线(3-0)置入颈内动脉内约 17-18 mm, 直到有轻微阻力感为止。阻断血流 2 h 后小心抽出线栓, 即形成再灌注。Sham 组只是不插入尼龙线, 其余步骤同手术组。在缺血期间及再灌注后保持体温在 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。模型成功标志为以大鼠术后出现左侧肢体瘫痪, 站立不稳, 提尾时向一侧转圈为模型成功的判断标准。

1.2.2 实验动物分组 将健康 SD 大鼠随机分为 3 组, 依次为假手术组(Sham 组), 模型组(vehicle+CI/R 组), Sal A 组(Sal A+CI/R 组)。给药组尾静脉注射 Sal A 20 mg/kg, 所采用剂量参考文献报道^[4]。假手术组及模型组尾静脉注射等量生理盐水。给药时间均为再灌注即刻。

1.2.3 神经功能症状评分^[6] 大鼠清醒后, 观察其行为学变化, 按 Longa 评分法随机评估并记录各组动物神经功能缺损评分: 0 分为无功能障碍; 1 分为不能伸展左侧前肢; 2 分为向左侧旋转; 3 分为向左侧倾倒; 4 分为无自主活动伴意识障碍; 分数越高, 表示动物神经功能损伤越大。

1.2.4 脑梗死面积及脑水肿含水量测定^[7,8] 断头处死大鼠, 剪开颅骨取出大脑用 4°C 的生理盐水冲洗干净。使用脑切片模具切成 2 mm 厚的冠状切片, 置于 2% 的 TTC 染色剂中 37°C 孵育约 10 min, 待显色完全后置于 4% 的多聚甲醛溶液中固定 24 h, 然后拍照并用图片分析软件(photoshop)计算脑梗死面积, 其中脑切片红色区域为正常组织, 白色区域为梗死区。拍照后的脑组织放入 100°C 烘箱烘烤 24 h 后取出称干重。脑含水量 = (脑湿重 - 脑干重) / 脑湿重 $\times 100\%$ 。

1.2.5 抗氧化酶活性的测定^[9] 断头取脑, 去掉嗅球、小脑及脑干, 在冰上用 4 mL 缓冲溶液 (250 mmol/L sucrose, Tris-HCl 5 mmol/L, EDTA 0.1 mmol/L, pH = 7.5) 制成 10% 的脑组织匀浆, 经 10,000 r/min 于 4°C 离心 20 min, 取上清液按照试剂盒说明书分别检测 SOD, GSH-PX 及 CAT 的活性。

1.2.6 统计分析 统计分析应用 SPSS18.0 软件, 所有数据用表示, 除神经评分外的数据分析采用 ANOVA 单因素方差分析及 Tukey 多重比较检验方法分析统计实验结果, $P < 0.05$ 有统计学意义。神经评分采用中位数表示结果, 并使用非参数方法 Kruskal-Wallis 检验进行比较。

2 结果

2.1 Sal A 对 CI/R 损伤后大鼠神经行为学评分的影响

模型组(vehicle+CI/R 组)大鼠神经行为学评分较假手术组(Sham 组)显著增高($P < 0.05$), 说明局部的脑组织缺血缺氧可造成明显的神经功能障碍; Sal A 组(Sal A+CI/R 组)较模型组(vehicle+CI/R 组)大鼠神经行为学评分显著降低($P < 0.05$), 提示 Sal A 可对 CI/R 的大鼠神经功能损伤具有保护作用, 见图 1。

2.2 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠脑梗死面积的影响

模型组(vehicle+CI/R 组)脑组织 TTC 染色之后出现大范围苍白色梗死灶, Sal A 组(Sal A+CI/R 组)较模型组(vehicle+CI/R 组)梗死面积有所减少, 说明给予 Sal A 后, 脑组织梗

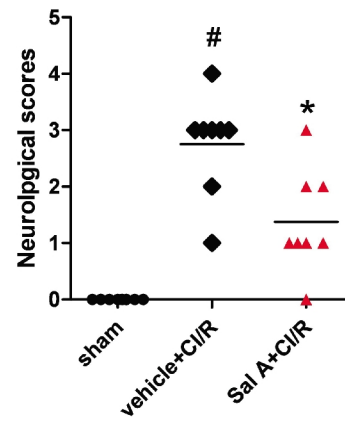


图 1 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠神经行为学评分的影响

Fig. 1 Effect of Sal A on neurological scores against CI/R injury in rats

Note: # $P < 0.05$ vs sham group, * $P < 0.05$; vs vehicle+CI/R group.

死病灶的情况有所缓解。如图 2 所示。与模型组(vehicle+CI/R 组)比较, Sal A 组(Sal A+CI/R 组)的脑梗死面积显著减少($P < 0.05$)。

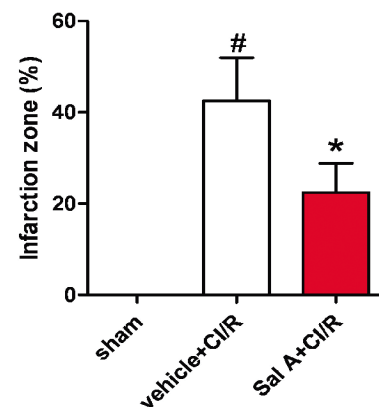


图 2 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠脑梗死面积的影响

Fig. 2 Effect of Sal A on infarct zone against CI/R injury in rats

Note: # $P < 0.05$ vs sham group, * $P < 0.05$; vs vehicle+CI/R group.

2.3 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠脑水肿的影响

实验结果显示: CI/R 后脑组织损伤同侧含水量明显高于假手术组(Sham 组)。Sal A 组(Sal A+CI/R 组)同侧含水量明显低于模型组(vehicle+CI/R 组)。结果如图 3 所示。在灌注 24 h 的脑梗死侧的水含量均升高($P < 0.05$), 而 Sal A 逆转了 CI/R 所引起的水肿($P < 0.05$)。这也提示 Sal A 可对 CI/R 的大鼠具有脑保护作用。

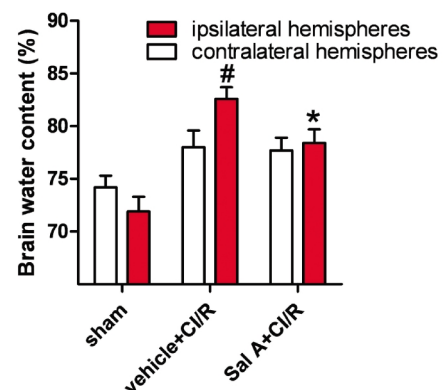


图 3 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠脑水肿的影响

Fig. 3 Effect of Sal A on water content against CI/R injury in rats

Note: # $P < 0.05$ vs sham group, * $P < 0.05$; vs vehicle+CI/R group.

2.4 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠脑组织抗氧化酶的影响

在灌注 24 h 后时, 模型组 (vehicle+CI/R 组) 的 SOD, GSH-PX 及 CAT 的活性均显著降低。Sal A 组 (Sal A+CI/R 组) 的以上三种抗氧化酶则显著升高。详细结果见表 1。

表 1 Sal A 对 CI/R 损伤大鼠脑组织抗氧化酶的影响

Table 1 Effect of Sal A on antioxidant activities in cerebral tissue against CI/R injury in rats

group	SOD (U/mg protein)	GSH-PX (U/mg protein)	CAT (U/g protein)
sham	7.63 ± 1.08	14.5 ± 1.3	218 ± 16
vehicle+CI/R	4.15 ± 1.33 [#]	10.6 ± 1.7 [#]	134 ± 13 [#]
Sal A+CI/R	6.02 ± 1.46 [*]	12.9 ± 1.8 [*]	175 ± 17 [*]

Note: [#]P<0.05 vs sham group, ^{*}P<0.05; vs vehicle+CI/R group.

3 讨论

脑缺血后可导致病灶部位缺血、缺氧, 进一步神经变性、坏死。血运重建之后又会使受损的脑组织进一步损伤加重, 即再灌注损伤。大量研究认为: 氧化应激、炎症因子释放、钙离子超载、能量代谢障碍等是引起 CI/R 损伤的致病因素^[10], 其中氧化应激为导致 CI/R 损伤的重要因素, 持续时程长, 损伤程度深^[1]。如何减轻 CI/R 损伤已经备受医学家的广泛关注。

药物干预性措施在实施上具有可预测性、安全性好、操作方便等优点。近年来, 在传统中药中寻找能减轻 CI/R 损伤的低毒高效的天然物质, 已被认为是一种防治 CI/R 损伤的有效策略^[11,12]。传统的活血化瘀中药在 CI/R 损伤的防治中已经取得了长足的进展, 显示出其广阔的应用前景。迄今为止, 国内外学者运用现代科学研究手段和方法进行一系列关于中药的基础研究, 这都为临床寻找防治 CI/R 损伤提供了选药策略。

唇形科鼠尾草植物丹参 (*Salvia miltiorrhiza* Bge) 是活血化瘀的常用中药材, 早已被广泛的应用于冠心病、脑卒中、动脉粥样硬化等的治疗中^[13]。丹参的化学成分分为两类: 水溶性成分和脂溶性成分。但传统中医调药配方多采用其水煎成分, 因此, 近年来关于丹参多研究其水溶性成分。丹参中的水溶性成分主要有: 丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 A、B 等^[14]。其中, Sal A 为丹参中的主要水溶性成分之一^[2]。体外实验已经发现, Sal A 具有潜在的心肌保护作用, 提高了 H9c2 心肌细胞中 SOD 等酶的活力^[4]。那么, Sal A 是否对 CI/R 损伤同样具有潜在的防治作用。

首先本研究通过神经功能评分、脑梗死面积及脑水肿等药效指标来评价 Sal A 对 CI/R 损伤的防治作用。现已证明, CI/R 损伤可引起脑功能的障碍, 影响最明显的部位是脑前区和海马纹状体, 体现在动物行为功能的明显异常^[15]。本研究发现 Sal A 对 CI/R 损伤引起的神经功能障碍有所改善, 提示 Sal A 对 CI/R 的大鼠神经功能损伤具有保护作用。临床上, 脑梗死面积的评估被认为是评价 CI/R 损伤程度的主要指标, 并且脑梗死面积的大小直接关系到患者的预后状况, 脑损伤的保护也正是以缩小脑梗死面积为前提^[16]。本研究还发现 Sal A 显著降低了大鼠的脑梗死面积。脑水肿是 CI/R 损伤的常见后遗症, 并进一步加重脑神经功能的缺失^[8]。在本研究中, 我们进一步评价大鼠脑水肿程度, 发现 Sal A 减轻了 CI/R 损伤引起的脑水肿状况。总之, 以上药效学指标都证实: Sal A 对 CI/R 损伤具有显著的

防治作用。

众所周知, 机体正常时, 体内的氧自由基由于机体的正常代谢及时的清除, 而在 CI/R 损伤的情况下, 自由基清除酶的活性降低, 导致自由基的急剧产生, 引起脂质过氧化的瀑布效应, 最终引起细胞功能的紊乱, 膜功能丧失, 线粒体破坏, 神经元死亡。因此, 氧自由基在 CI/R 损伤的过程中起着重要作用^[17]。其中 SOD 是体内非常重要的抗氧化酶和氧自由基清除剂, 对机体的氧化与抗氧化平衡起重要作用, 减少自由基的产生, 减轻缺血 / 再灌注心肌细胞的损伤, 能直接清除超氧阴离子, GSH-PX 和 CAT 在细胞代谢过程中可还原或清除 H₂O₂^[18]。有研究报道: 含有酚羟基的中药单体化合物, 都具有清除氧自由基的作用^[19,20]。Sal A 为咖啡酸多聚体, 属于多酚酸类化合物, 故具有氧自由基清除作用。本研究进一步通过分析这三种酶活性的变化, 探讨 Sal A 防治 CI/R 损伤的机制是否与抗氧化作用相关。我们的实验结果显示, 在 CI/R 后期, 氧自由基大量产生, 机体滋生的抗氧化酶大量的消耗, 从而导致 SOD, GSH-PX 及 CAT 的活性显著下降。Sal A 可能通过进一步显著抑制 CI/R 后期抗氧化酶活性的降低来保护脑组织免受氧自由基损伤。本研究初步阐明了 Sal A 防治 CI/R 损伤的机制与抗氧化作用相关。

综上所述, 本研究采用 MCAO 模型验证了 Sal A 对大鼠 CI/R 损伤的保护作用, 进一步证实这种保护作用与其显著的抗氧化作用相关。需要指出的是, CI/R 损伤是一个相当复杂的过程, 受多种因素的影响。因此, Sal A 防治 CI/R 损伤的其他机制还有待进一步阐明。

参考文献 (References)

- [1] Brouns R, DeDeyn PP. The complexity of neurobiological processes in acute ischemic stroke[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2009, 111(6): 483-495
- [2] Ma HY, Gao HY, Sun L, et al. Constituents with alpha-glucosidase and advanced glycation end-product formation inhibitory activities from *Salvia miltiorrhiza* Bge[J]. J Nat Med, 2011, 65(1): 37-42
- [3] Cao YY, Wang L, Ge H, et al. Salvianolic acid A, a polyphenolic derivative from *Salvia miltiorrhiza* bunge, as a multifunctional agent for the treatment of Alzheimer's disease [J]. Mol Divers, 2013, 17(3): 515-524
- [4] Fan H, Yang L, Fu F, et al. Cardioprotective effects of salvianolic acid a on myocardial ischemia-reperfusion injury in vivo and in vitro[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012: 508938
- [5] Guo C, Tong L, Xi M, et al. Neuroprotective effect of calycosin on cerebral ischemia and reperfusion injury in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 144 (3): 768-774
- [6] Kam KY, Jalin AM, Choi YW, et al. Ziprasidone attenuates brain injury after focal cerebral ischemia induced by middle cerebral artery occlusion in rats [J]. Prog Neuropsychopharmacol & Biol Psychiatry, 2012, 39 (1): 69-74
- [7] Deng C, Sun Z, Tong G, et al. alpha-Lipoic acid reduces infarct size and preserves cardiac function in rat myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of PI3K/Akt/Nrf2 pathway [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58371
- [8] Chen Y, Wu X, Yu S, et al. Neuroprotection of tanshinone IIA against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibition of macrophage migration inhibitory factor in rats[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e40165
- [9] Wang Z, Liu T, Gan L, et al. Shikonin protects mouse brain against

- cerebral ischemia/reperfusion injury through its antioxidant activity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 643(2-3): 211-217
- [10] Sahota P, Savitz SI. Investigational therapies for ischemic stroke: neuroprotection and neurorecovery[J]. *Neurotherapeutics*, 2011, 8(3): 434-451
- [11] He Y, Wan H, Du Y, et al. Protective effect of Danhong injection on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 144(2): 387-394
- [12] Jia JH, Chen KP, Chen SX, et al. Brevi-scapi-ne, a traditional Chinese medicine, alleviates myocardial ischaemia reperfusion injury in diabetic rats[J]. *Acta Cardiol*, 2008, 63(6): 757-762
- [13] Tu Q, Wang R, Ding B, et al. Protective and antioxidant effect of Danshen polysaccharides on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 60: 268-271
- [14] Chang BB, Zhang L, Cao WW, et al. Pharmacokinetic interactions induced by content variation of major water-soluble components of Danshen preparation in rats[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(5): 638-646
- [15] LeMay DR, Gehua L, Zelenock GB, et al. Insulin administration protects neurologic function in cerebral ischemia in rats [J]. *Stroke*, 1988, 19(11): 1411-1419
- [16] Annapurna A, Ansari MA, Manjunath PM. Partial role of multiple pathways in infarct size limiting effect of quercetin and rutin against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(4): 491-500
- [17] Dhote V, Balaraman R. Anti-oxidant activity mediated neuroprotective potential of trimetazidine on focal cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(5-6): 630-637
- [18] Wei Q, Yin Y, Xi M, et al. Antioxidant properties of magnesium lithospermate B contribute to the cardioprotection against myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo and in vitro[J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33 (1): 85-91
- [19] Ho JH, Hong CY. Salvianolic acids: small compounds with multiple mechanisms for cardiovascular protection[J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18: 30
- [20] Lin LL, Liu AJ, Liu JG, et al. Protective effects of scutellarin and breviscapine on brain and heart ischemia in rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 50 (3): 327-332

(上接第 4446 页)

参考文献(References)

- [1] Xiao X, Chen WC, Lin M, et al. Study on expressions and clinical significance of β -catenin /c-myc by immunohistochemical staining to tissue microarray in human colon cancer[J]. *MMJC*, 2007, 9(1): 1-4
- [2] Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin - a linchpin in colorectal carcinogenesis[J]. *Am J Pathol*, 2002, 260: 389-401
- [3] Liu Q, Li BM, Bie J, et al. NK- κ B in oridonin- induced apoptosis of acute lymphoblastic leukemia Molt- 4 cells[J]. *Laser J*, 2013, 43(3): 81-82
- [4] Tang XQ, Zhu BY, Wang WC, et al. Molecular mechanism of oridonin in inhibiting proliferation and inducing apoptosis of osteosarcoma cell MG-63[J]. *Traditional Chin Drug Res Clin Pharm*, 2013, 24(1): 43-47
- [5] Shen W, Xu J, Sun J, et al. Study on cyclin D/Rh/p16 signal pathway of BxPC-3 cell line treated with oridonin [J]. *Chin Academic J*, 2013, 37(5): 595-600
- [6] Zhao D, Liu HY, Zhao H. Inhibiting effect of oridonin on proliferation of bladder cancer T24 cells[J]. *Chin Modern Med*, 2013, 20(14): 4-6
- [7] Wang M, Zhang Y, Xie XR, et al. Oridonin induces MDA-MB-231 cells apoptosis through PI3K/Akt pathway in vitro [J]. *Chin J Clin Pharm*, 2013, 18(2): 161-165
- [8] Tun LL, Li Z, Sun H, et al. The protein phosphorylation profile in oridonin-treated kasumi-1 cells [J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2013, 29 (7): 506-514
- [9] Ding XX, Luo WD, Zhang J, et al. Oridonin-induced GBC-SD cell apoptosis through mitochondrial pathway[J]. *J Med Res*, 2013, 42(3): 111-113
- [10] Liu Q, Wu G, Ye CY, et al. Effects of oridonin on the progress of apoptosis in acute lymphoblastic leukemia Molt-4 cells and its mechanism[J]. *West Chin Med J*, 2013, 28(6): 834-836
- [11] Deng ZC, Chen S, Liu SH. Oridonin inhibits cell growth on human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells by induction of apoptosis [J]. *Chin J Sur Oncol*, 2013, 5(1): 50-54
- [12] Zhang LJ, Li M, Chen Y, et al. Expression of β -catenin and c-myc in human colorectal adenocarcinoma[J]. *J Colorectal Anal Sur* 2007, 13 (5): 275-278
- [13] Yao ZQ, Ou C, Zhu B, Cao J, et al. Expression of beta-catenin, cyclinD1 and c-myc genes in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res on Prevention and Treatment*, 2006, 33(12): 849-852
- [14] He YJ, Liu ZX, Qiao C, et al. Expression and significance of Wnt signaling components and their target genes in breast carcinoma[J]. *Molecular medicine reports*, 2014, 9(1): 137-143
- [15] Dai WB, Ren ZP, Chen WL, et al. Expression and Significance of APC, β -catenin, C-myc, and Cyclin D1 Proteins in Colorectal Carcinoma[J]. *Chin J Cancer*, 2007, 26(9): 963-966
- [16] Giles RH, Van Es JH, Clevers H, et al. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1653(1): 12-241
- [17] Liu X, Wang Y, Yin PH, et al. Wnt / β -catenin signal pathway regulates VEGF expression in human colorectal cancer cells [J]. *Chin Oncol*, 2012, 22(12): 881-885
- [18] Lv ZL, Chuan W, Yuan TX, et al. Bone morphogenetic protein 9 regulates tumor growth of osteosarcoma cells through the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Oncology reports*, 2014, 31(2): 989-994