

5-脂氧酶/半胱氨酰白三烯途径不参与 大鼠C6胶质瘤细胞缺氧缺糖损伤

黄雪琴¹, 黄晓佳^{1,2}, 张丽慧^{1,3}, 戚玲玲¹, 卢韵碧¹, 张纬萍¹, 魏尔清¹

(1. 浙江大学医学院 药理学系, 浙江 杭州 310058;

2. 江苏大学医学院 药理学教研室, 江苏 镇江 212013;

3. 杭州师范大学基础医学院 药理学教研室, 浙江 杭州 310036)

[摘要] 目的: 观察缺氧缺糖(OGD)是否损伤大鼠C6胶质瘤细胞, 以及5-脂氧酶(5-LOX)/半胱氨酰白三烯(CysLT)途径是否参与OGD损伤。方法: 在OGD处理并恢复不同时间后, 观察C6细胞活性变化, 以及5-LOX抑制剂和CysLT受体拮抗剂的影响; 以免疫细胞化学法观察5-LOX蛋白的细胞内分布; 以RT-PCR法检测CysLT₁和CysLT₂受体mRNA表达; 并观察白三烯D₄(LTD₄)对C6细胞的作用。结果: OGD 4~8 h并恢复24~72 h后, 可诱导C6细胞损伤; 5-LOX抑制剂和CysLT受体拮抗剂对OGD损伤无明显作用。OGD未诱导5-LOX的核膜移位。C6细胞高表达CysLT₂受体, 但CysLT₁受体表达很微弱, OGD不影响它们的表达。此外, LTD₄对C6细胞没有明显作用。结论: OGD可诱导C6细胞损伤, 但5-LOX/CysLT途径不参与OGD诱导的损伤。

[关键词] 神经胶质瘤; 缺氧缺血, 脑; 白三烯类/分析; 白三烯B₄/分析; 半胱氨酸/分析; 白三烯拮抗剂; 花生四烯酸盐-5-脂氧合酶; 细胞, 培养的

[中图分类号] Q 256; Q 421 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2008)05-0456-07

5-Lipoxygenase/cysteinyl leukotriene pathway is not involved in injury of rat C6 glioma cells induced by oxygen-glucose deprivation

HUANG Xue-qin¹, HUANG Xiao-jia^{1,2}, ZHANG Li-hui^{1,3}, QI Ling-ling¹, LU Yun-bi¹, ZHANG Wei-ping¹, WEI Er-qing¹ (1. Department of Pharmacology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Pharmacology, College of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 3. Department of Pharmacology, College of Basic Medicine, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036)

[Abstract] **Objective:** To determine whether oxygen-glucose deprivation (OGD) induces C6 cell injury, and whether 5-lipoxygenase (5-LOX)/cysteinyl leukotriene (CysLT) pathway is involved in OGD-induced injury. **Methods:** After OGD treatment and recovery for various durations, the viability of C6 cells was determined, and the effects of 5-LOX inhibitors and CysLT receptor antagonists were investigated. Intracellular distribution of 5-LOX protein was detected by

收稿日期: 2008-04-21 修回日期: 2008-07-17

基金项目: 国家自然科学基金(30772561); 浙江省自然科学基金(Y204210)。

作者简介: 黄雪琴(1984—), 女, 硕士研究生。

通讯作者: 魏尔清(1952—), 男, 博士, 教授, 博导, 从事神经药理学研究; E-mail: weieq2006@zju.edu.cn.

immunocytochemistry, and the mRNA expressions of CysLT₁ and CysLT₂ receptors were detected by RT-PCR. The effect of leukotriene D₄ (LTD₄) on C6 cells was also investigated. **Results:** OGD for 4~8 h followed by recovery for 24~72 h significantly induced C6 cell injury. Neither 5-LOX inhibitors nor CysLT receptor antagonists inhibited OGD-induced injury. OGD did not induce 5-LOX translocation into the nuclear membrane. C6 cells highly expressed CysLT₂ receptor, but the expression of CysLT₁ receptor was much weaker; the expression was not affected by OGD. In addition, LTD₄ did not affect C6 cells significantly. **Conclusion:** OGD can induce C6 cell injury, but 5-LOX/CysLT pathway might be not involved in OGD-induced injury.

[**Key words**] Glioma; Hypoxia-ischemia, brain; Leukotrienes/anal; Leukotriene B₄/anal; Cysteine/anal; Leukotriene antagonists; Arachidonate 5-lipoxygenase; Cells, cultured

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2008, 37(5):456-462.]

5-脂氧酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)及其产物半胱氨酰白三烯(cysteinyl leukotrienes, CysLTs)参与脑缺血损伤^[1-4]。在体外培养的大鼠皮层神经元,以缺氧缺糖(oxygen-glucose deprivation, OGD)诱导的缺血样损伤后,5-LOX激活,CysLTs释放增加^[5-6]。在大鼠星形胶质细胞,OGD也能激活5-LOX、增加CysLTs释放;再者,较轻的OGD(1 h)处理或较低浓度的白三烯D₄(LTD₄ 1 nmol/L, CysLTs之一),通过激活半胱氨酰白三烯受体1(CysLT₁),促进细胞增殖;较重的OGD(4 h)或较高浓度的LTD₄(100 nmol/L),通过激活CysLT₂受体诱导细胞损伤^[7]。大量研究表明,5-LOX/CysLTs途径参与神经元及星形胶质细胞的缺血性损伤,而且CysLT₁和CysLT₂受体分别介导不同的效应。

除了原代神经元或星形胶质细胞,神经元或胶质细胞来源的细胞株也用于缺血性细胞损伤的研究。在这些细胞株中,大鼠嗜铬细胞瘤PC12细胞可模拟神经元损伤,广泛用于OGD损伤等研究^[8-10];而大鼠胶质瘤C6细胞是来源于星形胶质细胞的肿瘤细胞株,其含有的酶类、膜受体及在递质合成等方面,接近星形胶质细胞,是一个研究胶质细胞炎症反应的模型^[11-12]。本研究观察了C6细胞缺血性损伤以及5-LOX/CysLTs途径的作用。

1 材料与方法

1.1 实验试剂 咖啡酸、MK-886、胰酶、多聚

赖氨酸购于美国Sigma公司;齐留通购于北京高盟化工有限公司;二苯基四氮唑溴盐(MTT)购于上海普飞生物技术有限公司;兔抗人5-LOX多克隆抗体购自Santa Cruz公司。高糖DMEM培养基购于美国Gibco公司,胎牛血清购于杭州四季青公司。

1.2 细胞培养 大鼠C6胶质瘤细胞购于中国科学院上海细胞所。实验用C6细胞控制在传代后第10至40代。从液氮罐中取出冻存的细胞,直接放入37℃水浴箱中快速解冻,当细胞完全解冻时,将液体移入离心管,1 000 r/min离心5 min后,弃上清,加入新鲜培养液,重悬细胞,1 000 r/min离心5 min,清洗1次,弃上清,再次加入新鲜含有胎牛血清的培养液,重悬细胞,移入培养瓶中,在5% CO₂培养箱(美国Forma Scientific公司)37℃培养。当细胞量达培养瓶底面积80%~90%时,以0.25%胰酶消化2~3 min,以完全培养液(DMEM含10%胎牛血清)终止消化,将细胞收集到离心管中,1 000 r/min离心5 min后,弃上清。加入完全培养液重悬细胞,细胞浓度为5×10⁶/ml,接种在96孔和24孔中的细胞浓度分别为2×10⁴/孔、1×10⁵/孔。待细胞接种24 h后,将培养液换成含0.5%血清培养液继续培养48 h后进行实验。

1.3 缺氧缺糖(OGD)处理 按参考文献方法^[5,8],以无糖平衡盐缓冲液(组分以mmol/L表示:NaCl 116.36、KCl 5.36、NaH₂PO₄·2H₂O 0.90、CaCl₂·2H₂O 1.80、MgSO₄·7H₂O

1.62、NaHCO₃ 26.19, pH 7.4) 小心清洗 2 遍, 每孔加入 100 μ l 无糖平衡盐缓冲液, 放入缺氧盒中, 通入 95% N₂/5% CO₂ 的混合气体。30 min 后, 将密封缺氧盒放入 37℃ 恒温箱。缺氧缺糖处理 2~8 h 后, 小心吸取无糖平衡盐缓冲液, 恢复正常培养条件, 加入含糖 DMEM, 在 37℃、5% CO₂ 条件下(简称恢复)继续培养。正常对照组操作同前, 但不进行 OGD 处理。5-LOX 抑制剂及 CysLT 受体拮抗剂于 OGD 处理前 30 min 加入, 并维持在 OGD 以及恢复整个过程中。

1.4 MTT 分析和细胞计数 OGD 处理结束后, 测定细胞活性。加入适量 MTT 液(5 g/L, 含糖 DMEM 液配制), 使培养板中每孔终浓度为 0.5 g/L。在 5% CO₂、37℃ 反应 4 h 后, 加入适量二甲基亚砷中止反应, 并抽提生成的 formazan, 在酶标仪上于 490 nm 处测定样品的吸光度值(OD₄₉₀)。在部分实验, C6 细胞经 OGD 处理后, 以胰酶消化并离心收集细胞, 室温下用 0.2% 台盼蓝溶液染色 5 min, 用细胞计数板进行活细胞(台盼蓝拒染)计数。

1.5 RT-PCR 检测 CysLT 受体 mRNA mRNA 提取及 RT-PCR 方法参照文献^[3-4], CysLT₁ 受体的上游引物: 5'-(+) TCT CCG TTG TGG GTT TCT-3', 下游引物: 5'-(+) TAT AAG GCA TAG GTG GTG-3', 基因片段长度为 214 bp; β -actin 上游引物: 5'-(+) TAC AAC CTC CTT GCA GCT CC-3', 下游引物: 5'-(+) GGA TCT TCA TGA GGT AGT CAG TC -3'; 基因片段长度为 620 bp。CysLT₂ 受体的上游引物: 5'-(+) AGC GTT AGG AGT GCC TGG AT-3', 下游引物: 5'-(+) CAA GTG GAT GGT CCG AAG TG-3', 基因片段长度为 520 bp; β -actin 上游引物: 5'-(+) AAC CCT AAG GCC AAC CGT GAA-3', 下游引物: 5'-(+) TCA TGA GGT AGT CTG TCA GGT -3', 基因片段长度为 285 bp。

1.6 免疫细胞化学检测 参照文献方法^[13], 对培养在涂有 0.01% 多聚赖氨酸盖玻片上的 C6 细胞, 以抗 5-LOX 多克隆抗体(1:200)检测 5-LOX 的细胞内分布。

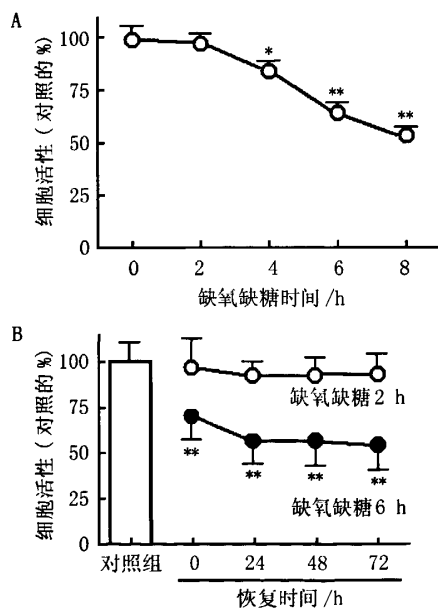
1.7 统计方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS for

Window 10.0 作统计学处理, 两组均数间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为差异具有显著性。

2 结 果

2.1 OGD 诱导 C6 细胞损伤 OGD 处理 2、4、6、8 h 后, 随处理时间增加, 细胞出现损伤。2 h 后细胞活性(MTT 试验的吸光值)尚未改变, 4 h 后开始降低, 6 h 和 8 h 后分别降低约 30% 和 45%(图 1A)。因此选择 OGD 2 h 和 6 h 作为亚损伤和中度损伤的时间点。

OGD 2 h 并恢复 24~72 h 后, 细胞活性与对照组相比无明显变化; 而 OGD 6 h 并恢复 24~72 h 后, 出现较严重的损伤(图 1B)。因此选择 OGD 6 h 恢复 24 h 作为 C6 细胞损伤的条件。



与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

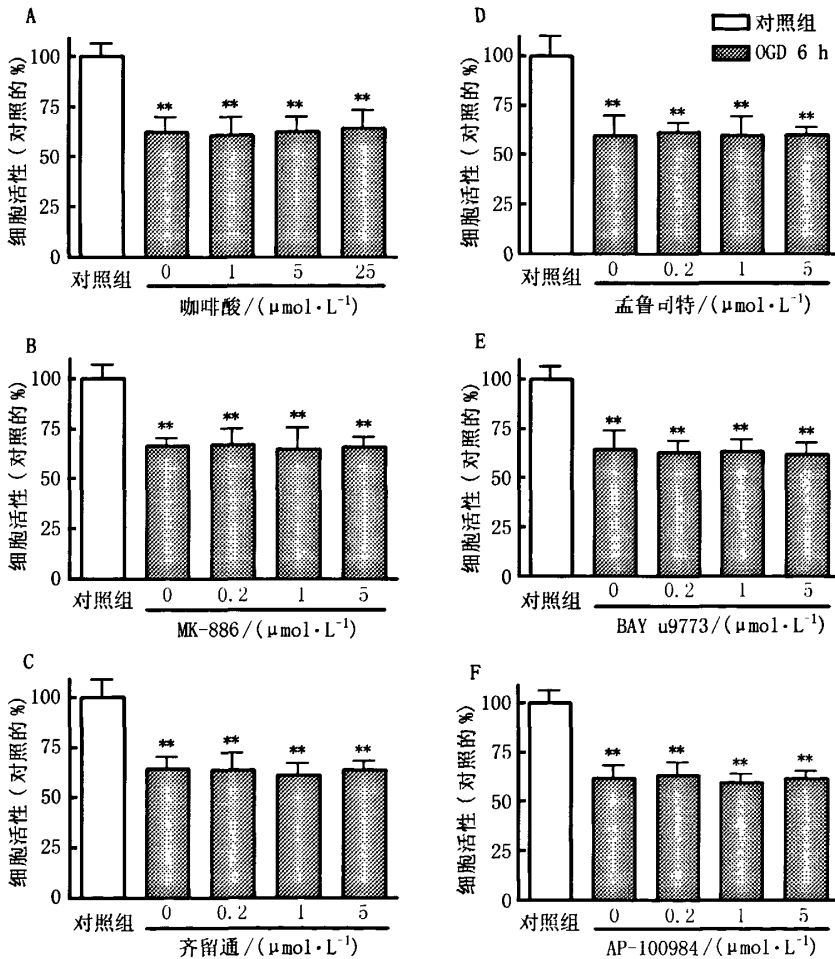
图 1 缺氧缺糖(A)以及恢复不同时间(B)对 C6 细胞活性的影响

Fig. 1 Effect of oxygen-glucose deprivation (A) and various durations of recovery (B) on cell viability in C6 cells

2.2 5-LOX 抑制剂及 CysLT 受体拮抗剂对

OGD 诱导的 C6 细胞损伤的作用 5-LOX 抑制剂咖啡酸和齐留通在 25 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,5-LOX 结合蛋白(FLAP)抑制剂 MK-886 在 5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,对正常 C6 细胞活性没有明显影响(数据未显示),但均不能减少 OGD 6 h、恢复 24 h 引起的细胞活性降低(图

2A~C)。OGD 6 h、恢复 24 h 后 C6 细胞活性的降低,不能被 CysLT₁ 受体选择性拮抗剂孟鲁司特(0.2~5.0 $\mu\text{mol/L}$),CysLT₁ 和 CysLT₂ 受体非选择性拮抗剂 BAY u9773(0.2~5.0 $\mu\text{mol/L}$)以及 CysLT₂ 受体选择性拮抗剂 AP-100984(0.2~5.0 $\mu\text{mol/L}$)所拮抗(图 2D~F)。



C6 细胞 OGD 处理 6 h, 然后恢复 24 h ($\bar{x} \pm s, n=8$); 与对照组比较, ** $P < 0.01$

图2 5-LOX 抑制剂(A~C)及CysLT 受体拮抗剂(D~F)对OGD/恢复后C6 细胞活性降低的作用

Fig. 2 Effects of 5-LOX inhibitors (A~C) and CysLT receptor antagonists (D~F) on the reduced cell viability after OGD/recovery in C6 cells

2.3 OGD 对 C6 细胞 5-LOX 细胞内分布的影响 免疫细胞化学实验表明,在正常 C6 细胞

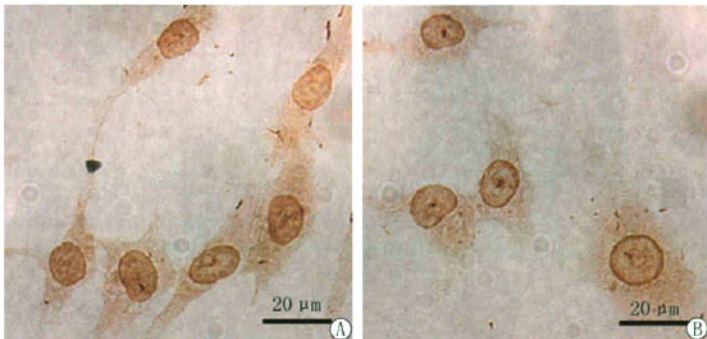
中,5-LOX 分布在 C6 细胞的细胞浆、细胞核膜及细胞核内;OGD 6 h、恢复 1 h 后,5-LOX 的

分布没有明显改变(图 3)。

2.4 C6 细胞的 CysLT₁与 CysLT₂受体 mRNA 表达以及 LTD₄对 C6 细胞的作用 RT-PCR 结果显示,C6 细胞有 CysLT₂受体 mRNA 表达,而 CysLT₁受体 mRNA 表达很弱;OGD 6 h 恢复 48 h 后,C6 细胞 CysLT₁与 CysLT₂受体 mRNA

表达均没有变化(图 4A)。

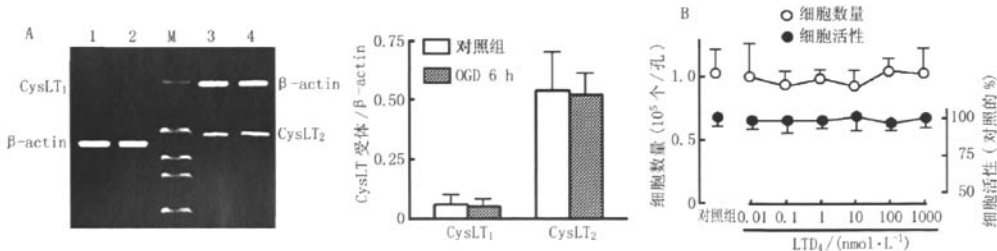
为了进一步研究 C6 细胞损伤与 CysLTs 的关系,观察了 CysLT₁/CysLT₂受体激动剂 LTD₄对 C6 细胞的作用。细胞计数和 MTT 试验均表明,LTD₄ 0.01~1 000 nmol/L 处理 48 h,对 C6 细胞没有明显的作用(图 4B)。



C6 细胞经 OGD 处理 6 h 后恢复 1 h,然后做 5-LOX 免疫染色,实验重复 3 次,结果相似

图 3 OGD 对 C6 细胞内 5-LOX 分布的影响

Fig. 3 Effect of OGD on the intracellular distribution of 5-LOX in C6 cells



A 为 RT-PCR 试验,1,3:对照;2,4:OGD 6 h,恢复 48 h;M:分子标记($\bar{x} \pm s, n=4$)。B 为 C6 细胞以 LTD₄处理 48 h,细胞活性($\bar{x} \pm s, n=8$),细胞数量($n=5$);对照组与 LTD₄处理组比较无显著性差异

图 4 C6 细胞 CysLT₁和 CysLT₂受体 mRNA 表达(A)以及 LTD₄对 C6 细胞的作用(B)

Fig. 4 CysLT₁ and CysLT₂ receptor mRNA expressions in C6 cells (A),and the effects of LTD₄ in C6 cells (B)

3 讨论

本研究表明,体外缺血性损伤(OGD)可引起 C6 细胞时间依赖性活性降低。亚损伤强度 OGD(2 h)处理并恢复 24~72 h,并不影响 C6

细胞活性;而中度 OGD(6 h)处理以及恢复不同时间后,出现 C6 细胞损伤。表明 C6 细胞 OGD 处理可以作为体外缺血性损伤的模型,但 C6 细胞对 OGD 损伤的敏感性比原代培养的星形胶质细胞要低。在星形胶质细胞培养中,亚损伤强

度 OGD 为 1 h, 中度 OGD 为 4 h^[7]。

但是, 与原代神经元^[5-6]、PC12 细胞^[8-10]以及原代星形胶质细胞^[7]不同的是, 5-LOX 及其产物 CysLTs 并不参与 C6 细胞的 OGD 损伤。5-LOX 抑制剂以及 CysLT 受体拮抗剂和激动剂的作用, 以及 5-LOX 在 C6 细胞内的分布, 都表明了这一点。本研究采用的抑制剂和拮抗剂浓度, 均在其他细胞研究中证明是有效浓度^[5-10]。5-LOX 抑制剂咖啡酸和齐留通、5-LOX 激活蛋白抑制剂 MK-886 不能保护 OGD 诱导的 C6 细胞损伤。免疫细胞化学结果也表明, 在 C6 细胞 OGD 并不引起 5-LOX 的核膜移位, 而该移位现象是 5-LOX 激活的主要特征, 在原代神经元^[5-6]以及 PC12 细胞^[8-10]都得到证实。这些结果说明, 5-LOX 代谢途径可能不参与 C6 细胞缺血性损伤。

对于 5-LOX 产物 CysLTs 的作用, CysLT₁/CysLT₂ 受体激动剂 LTD₄ 在 1 000 nmol/L 浓度范围内, 并无诱导 C6 细胞增殖或损伤; CysLT₁ 和 CysLT₂ 受体选择性及非选择性拮抗剂对 C6 细胞 OGD 损伤均无明显作用。此外, CysLT₂ 受体在 C6 细胞有较强的表达, 而 CysLT₁ 受体表达很弱, 两种亚型的表达在 OGD 处理后均无明显改变。这些结果说明, CysLT 受体也可能不参与 C6 细胞 OGD 损伤。在原代培养的星形胶质细胞, OGD 1 h 可诱导 CysLT₁ 受体表达, 并促进细胞增殖; 而 OGD 4 h 及高浓度 LTD₄ (100 nmol/L) 可诱导 CysLT₂ 受体表达, 并诱导细胞损伤; CysLT₁ 和 CysLT₂ 受体拮抗剂分别阻断细胞增殖和损伤效应^[7,14]。在原代培养的神经元, CysLT 受体激动剂和拮抗剂对 OGD 损伤均无明显作用^[15], 而动物实验表明 CysLT₁ 受体拮抗剂对脑缺血损伤有保护作用^[2-3]。在 CysLT₁ 和 CysLT₂ 受体转染的 PC12 细胞, CysLT₁ 受体可减轻 OGD 损伤, 而 CysLT₂ 受体则加重 OGD 损伤^[10]。在人神经母细胞瘤 SK-N-SH 细胞, 仅有 CysLT₁ 受体拮抗剂普鲁司特参与其分化的调节^[16]。说明 CysLT 受体在神经元或神经元样细胞的作用, 受到两种亚型之间或与其他内环境因素的相互影响, 在 C6 细胞是否受这些因素影响, 还有待于进一步研究。

此外, 静息状态的星形胶质细胞 CysLT₁ 受

体有较弱的表达, CysLT₂ 受体几乎没有表达^[7], 这正与 C6 细胞相反。C6 细胞高表达的 CysLT₂ 受体虽然不参与 OGD 损伤, 但可能有其他调节作用, 例如, 在大肠腺癌细胞, CysLT₂ 受体可促进肿瘤细胞分化^[17]。C6 细胞作为一种胶质肿瘤细胞, 可用于抗肿瘤药的研究^[18], 其表达的 CysLT₂ 受体, 将成为今后肿瘤发生及抗肿瘤药机制研究的一个目标。

总之, 我们发现 OGD 可诱导 C6 细胞损伤, 但 5-LOX 及其产物 CysLTs 不参与 OGD 损伤的调节。C6 细胞 OGD 损伤模型可用于今后研究, 其高表达的 CysLT₂ 受体也为今后研究提供了线索。

References:

- [1] CAPRA V, THOMPSON M D, SALA A, et al. Cysteinyl-leukotrienes and their receptors in asthma and other inflammatory diseases: critical update and emerging trends [J]. *Med Res Rev*, 2007, 27(4): 469-527.
- [2] ZHOU Y, WEI E Q, FANG S H, et al. Spatio-temporal properties of 5-lipoxygenase expression and activation in the brain after focal cerebral ischemia in rats [J]. *Life Sci*, 2006, 79(17): 1645-1656.
- [3] FANG S H, WEI E Q, ZHOU Y, et al. Increased expression of CysLT receptor 1 in the brain mediates neuronal damage and astrogliosis after focal cerebral ischemia in rats [J]. *Neuroscience*, 2006, 140(3): 969-979.
- [4] FANG S H, ZHOU Y, CHU L S, et al. Spatio-temporal expression of cysteinyl leukotriene receptor-2 mRNA in rat brain after focal cerebral ischemia [J]. *Neurosci Lett*, 2007, 412(1): 78-83.
- [5] GE Q F, WEI E Q, ZHANG W P, et al. Activation of 5-lipoxygenase after oxygen-glucose deprivation is partly mediated via NMDA receptor in rat cortical neurons [J]. *J Neurochem*, 2006, 97(4): 992-1004.
- [6] GE Q F, HU X, MA Z Q, et al. Baicalin attenuates oxygen-glucose deprivation-induced injury via inhibiting NMDA receptor-mediated 5-lipoxygenase activation in rat cortical neurons

- [J]. **Pharmacol Res**, 2007, 55(2): 148-157.
- [7] HUANG X J, ZHANG W P, LI C T, et al. Activation of CysLT receptors induces astrocyte proliferation and death after oxygen-glucose deprivation [J]. **Glia**, 2008, 56(1): 27-37.
- [8] SONG Y, WEI E Q, ZHANG W P, et al. Minocycline protects PC12 cells from ischemic-like injury and inhibits 5-lipoxygenase activation [J]. **Neuroreport**, 2004, 15(14): 2181-2184.
- [9] SONG Y, WEI E Q, ZHANG W P, et al. Minocycline inhibits NMDA-induced 5-lipoxygenase activation and cell injury in PC12 cells [J]. **Brain Res**, 2006, 1085(1): 57-67.
- [10] SHENG W W, LI C T, ZHANG W P, et al. Distinct roles of CysLT₁ and CysLT₂ receptors in oxygen glucose deprivation-induced PC12 cell death [J]. **Biochem Biophys Res Commun**, 2006, 346(1): 19-25.
- [11] NAKATANI K, YAMAKUNI T, KONDO N, et al. gamma-Mangostin inhibits inhibitor-kappaB kinase activity and decreases lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 gene expression in C6 rat glioma cells [J]. **Mol Pharmacol**, 2004, 66(3): 667-674.
- [12] CIAMPA A R, DE PRATI A C, AMELIO E, et al. Nitric oxide mediates anti-inflammatory action of extracorporeal shock waves [J]. **FEBS Lett**, 2005, 579(30): 6839-6345.
- [13] YUAN Yu-mei, LI Cheng-tan, MA Zhen-qi, et al (袁玉梅, 李成檀, 马振秋, 等). Transfection with 5-lipoxygenase/green fluorescence protein for evaluating injury-induced 5-lipoxygenase translocation to the nuclear membrane in PC12 cells [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Science** (浙江大学学报: 医学版), 2007, 36(2): 111-116. (in Chinese)
- [14] CICCARELLI R, D'ALIMONTE I, SANTAVENERE C, et al. Cysteinyl-leukotrienes are released from astrocytes and increase astrocyte proliferation and glial fibrillary acidic protein via cys-LT1 receptors and mitogen-activated protein kinase pathway [J]. **Eur J Neurosci**, 2004, 20(6): 1514-1524.
- [15] HU Xin, GE Qiu-fu, ZHANG Wei-ping, et al (胡欣, 葛求富, 张纬萍, 等). Effects of cysteinyl receptor agonist and antagonists on rat primary neurons [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Science** (浙江大学学报: 医学版), 2007, 36(2): 117-122. (in Chinese)
- [16] PENG Fang, FANG San-hua, ZHENG Xiao-liang, et al (彭芳, 方三华, 郑晓亮, 等). Pranlukast, a cysteinyl leukotriene receptor 1 antagonist, promotes the differentiation of SK-N-SH cells [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Science** (浙江大学学报: 医学版), 2007, 36(2): 123-129. (in Chinese)
- [17] MAGNUSSON C, EHRNSTROM R, OLSEN J, et al. An increased expression of cysteinyl leukotriene 2 receptor in colorectal adenocarcinomas correlates with high differentiation [J]. **Cancer Res**, 2007, 67(19): 9190-9198.
- [18] MA Zhen-qi, HUANG Xiao-jia, ZHANG Wei-ping, et al (马振秋, 黄晓佳, 张纬萍, 等). Dihydroartemisinin inhibits proliferation and induces apoptosis in rat glioma C6 cells [J]. **Journal of Zhejiang University: Medical Science** (浙江大学学报: 医学版), 2007, 36(3): 267-272. (in Chinese)

[责任编辑 黄晓花]