

文章编号:1001-6880(2014)9-1483-05

百里醌对胶原诱导大鼠关节炎模型中 氧化应激和炎症因子的影响研究

孔令宇^{1*}, 王文娟², 席 艳³¹ 新乡医学院第一附属医院急诊科; ² 新乡医学院第三附属医院神经内科; ³ 新乡医学院第一附属医院小儿外科, 卫辉 453100

摘要:本研究探讨百里醌对胶原诱导大鼠关节炎(RA)模型的抗氧化和抗炎机理。实验采用60只Wistar大鼠随机分为6组, 分别为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、百里醌低、中和高剂量组, 每组10只。除正常对照组外, 采用II型胶原(CIA)诱导大鼠RA模型。阳性对照组灌胃给予8 mg/kg吲哚美辛, 百里醌各剂量组分别给予低(10 mg/kg)、中(25 mg/kg)和高(50 mg/kg)三种剂量的百里醌灌胃, 其余各组给予等体积的生理盐水, 连续21日。足趾容积法测定大鼠关节继发性肿胀程度。测定机体关节组织中氧化损伤与抗氧化指标髓过氧化物酶(MPO)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和一氧化氮(NO)。ELISA法测定血清炎症因子白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和IL-6的水平。结果发现25 mg/kg和50 mg/kg的百里醌有效缓解II型胶原引起的足趾肿胀, 降低RA发病中MPO、MDA和NO的含量, 升高组织中SOD的水平, 与模型对照组相比, 差异具有显著性($P < 0.05$)。此外, 百里醌可以显著降低RA大鼠血清IL-1 β 和TNF- α 的含量, 促进IL-10表达($P < 0.05$)。综上, 百里醌可以有效缓解RA的症状, 其机制与维持机体氧化-抗氧化体系的平衡和对抗前炎症因子导致的组织破坏相关。

关键词:百里醌; 关节炎; 氧化应激; 炎症因子

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

Effect of Thymoquinone on Oxidative Stress and Inflammatory Cytokine in Rats with Collagen Induced Arthritis

KONG Ling-yu^{1*}, WANG Wen-juan², XI zan³¹ Department of Emergency, the First Affiliated Hospital; ² Department of Internal Neurology, the Third Affiliated Hospital;³ Department of Pediatric Surgery, the First Affiliated Hospital, Xinxiang Medical University, Henan Weihui 453100, China

Abstract: This study aimed to evaluate mechanisms concerning the antioxidant and antiarthritic effects of thymoquinone on collagen-induced rat arthritis (RA) model. Sixty Wistar rats were randomly divided into a normal control group, a model control group, a positive control group, a low-dose, a medium-dose and a high-dose thymoquinone group ($n = 10$). RA model, except for the normal control group, was established by being induced by type II collagen. For 21 continuous days, the three thymoquinone groups were intragastrically administered with low-dose (10 mg/kg), medium-dose (25 mg/kg) and high-dose (50 mg/kg) thymoquinone, the positive control group was intragastrically administered with 8 mg/kg indometacin, and other groups were intragastrically administered with same volume of normal saline. Secondary joint swelling of the rats was determined by a paw volume method. Biochemical indices for oxidative damage, including levels of myeloperoxidase (MPO), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and nitric oxide (NO), were detected. ELISA assay was used to measure the levels of serum inflammatory cytokine interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and IL-10. The results showed that 25 mg/kg and 50 mg/kg of thymoquinone remarkably relieved type II collagen-induced articular swelling, decreased the levels of MPO, MDA and NO, and increased the SOD activity, being significantly different from those of the model control group ($P < 0.05$). In addition, thymoquinone significantly lowered the contents of IL-1 β and TNF- α in serum and promoted the expression of IL-10 ($P < 0.05$). In conclusion,

thymoquinone managed to effectively mitigate RA with the mechanism related to the maintained balance between oxidation and antioxidation as well as the suppressed tissue lesions caused by proinflammatory cytokines.

Key words: thymoquinone; arthritis; oxidative stress; inflammatory cytokine

类风湿关节炎(Rheumatic arthritis, RA)是一种病因不明的慢性进行性全身疾病,以自身免疫介导的侵蚀性滑膜炎造成关节结构和功能的显著破坏为特征^[1]。多数患者反复发作,虽经治疗仍可能发生进行性关节损伤、畸形、伤残,甚至早逝。目前治疗RA的药物主要包括缓解病情的药物、非甾体抗炎药和糖皮质激素^[2]。这些药物的使用受限于其严重的消化道、心血管不良反应以及免疫抑制带来的机会性感染,因此不断寻找安全有效治疗RA的新药仍是医药工作者的重点研究方向。天然来源的药物不良反应相对较轻,且具有多环节、多靶点综合治疗的优势,在治疗RA领域中的研究成为持续热点^[3]。

百里醌是黑种草籽油中分离出来的有效单体,被证明具有抑制花生四烯酸生成,抑制肿瘤生长,对抗脂质过氧化,保护顺铂所致的肾毒性等作用^[4]。本课题组前期的研究发现,百里醌对胆管结扎引起的肝外胆汁淤积发病中氧化损伤和肝纤维化起到了一定的保护作用,其机制与维护机体氧化-抗氧化体系的平衡相关^[5]。氧化自由基损伤在RA的病理生理过程中发挥了重要作用。因此,本研究拟在前期研究的基础上,探讨百里醌对胶原诱导大鼠关节炎模型的抗氧化和抗关节炎作用,并进一步评价其对炎症因子的影响。

1 材料与仪器

1.1 实验动物

Wistar雄性大鼠,SPF级,体质量180~200 g,由河南省实验动物中心提供,实验动物合格证号SYXK(No. 00016896)。动物自由饮食能水,12 h明暗交替光照,相对湿度为55%~60%。

1.2 药品与试剂

百里醌(美国Sigma公司,批号H47007);完全弗氏佐剂(Complete Freund's adjuvant,CFA),牛II型胶原(美国sigma公司);吲哚美辛(上海辛帕斯制药有限公司);硫代巴比土酸(Thiobarbituric acid,TBA)、三氯乙酸(Trichloroacetic acid,TCA)、二巯基二硝基苯甲酸(Dithionitrobenzoic acid,DTNB)、乙二胺四乙酸(Ethylenediaminetetraacetic acid,EDTA)、黄嘌呤、黄嘌呤氧化酶等试剂购买于河南省华丰化学试剂有限公司。髓过氧化物酶(Myeloperoxidase,

MPO)、丙二醛(Malondialdehyde,MDA)、超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD)和一氧化氮(Nitric oxide,NO)检测用试剂盒,均为南京建成生物工程公司产品。大鼠血清白介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和IL-6 ELISA试剂盒购自美国eBioscience公司。

1.3 仪器

723PC分光光度计(杭州汇尔仪器设备有限公司);JKI酶联免疫分析仪(上海精学科学仪器有限公司);微量电动组织匀浆器(美国KIMBLE公司);低温高速离心机(湖南仪器仪表离心机厂);YLS-TA型足趾容积测量仪(山东省医学科学院设备站);HS2003S型电子天平(武汉衡瑞称重设备有限公司)。

2 实验方法

2.1 分组及给药方法

Wistar大鼠60只,适应性喂养1 w后,随机分为正常对照组、模型对照组、阳性对照组(8 mg/kg吲哚美辛)、百里醌低(10 mg/kg)、中(25 mg/kg)和高剂量组(50 mg/kg)6组,每组10只。除正常对照组外,各组参考文献方法^[6]制备大鼠关节炎模型,具体如下:采用0.1 mol/L醋酸溶液配制浓度为2 mg/mL的II型胶原溶液,再与完全弗氏佐剂等体积混合,制备II型胶原乳剂;每只大鼠的尾根部及背部多点皮内注射II型胶原乳剂0.2 mL免疫。正常对照组在其余各组接受胶原免疫的同时在尾根部和背部给予等体积的生理盐水。从造模第1日起,阳性对照组灌胃给予吲哚美辛,百里醌各剂量组灌胃给予上述剂量的百里醌,其余各组给予等体积的生理盐水。自造模第3日起每隔6天用足趾容积测量仪测量大鼠左后足体积,以观察百里醌对胶原诱导关节肿胀的影响。

$$\text{肿胀度} = (\text{致炎后容积} - \text{致炎前容积}) / \text{致炎前容积} \times 100\%$$

2.2 氧化损伤相关指标测定

造模第21日,股动脉取血,处死动物。取大鼠后足爪,迅速置入液氮保存。称重,切片,采用50 mM的Tris HCl缓冲液进行组织匀浆。匀浆液3000 rpm离心5 min,取上清液,-20℃冰箱冷冻保存待测。按照试剂盒说明书要求,分别检测关节组织中

MPO、MDA、SOD 和 NO 水平。

2.3 炎症因子水平测定

大鼠股动脉血分离血清,置于 EP 管内,-20 ℃冻存待测。按 ELISA 试剂盒说明书要求分别检测 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-10 活性。

2.4 统计学处理

数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,多组计量资料采用单因素方差分析处理数据;方差齐者采用 LSD 法检验,方差不齐者采用 Games-Howell 法检验。

3 实验结果

表 1 百里醌对 II 型胶原诱导大鼠足趾肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of thymoquinone on paw swelling induced by collagen II in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别 Groups	剂量 (mg/kg)	足趾肿胀度 The degree of paw swelling (%)			
		D3	D9	D15	D21
正常对照组 Normal control group	-	8.9 ± 1.2	12.5 ± 2.6	13.4 ± 2.1	15.6 ± 2.3
模型对照组 Model control group	-	10.2 ± 2.2	46.1 ± 3.4 ^{##}	63.3 ± 5.4 ^{##}	79.4 ± 4.6 ^{##}
阳性对照组 Positive control group	8	8.1 ± 0.8	29.9 ± 3.9 ^{* **}	36.7 ± 2.9 ^{* **}	31.5 ± 3.4 ^{* **}
百里醌低剂量组 Low-dose thymoquinone group	10	9.5 ± 1.9	39.2 ± 4.1	54.6 ± 2.7	72.5 ± 4.7
百里醌中剂量组 Medium-dose thymoquinone group	25	8.6 ± 0.9	33.8 ± 1.9 [*]	41.4 ± 3.5 ^{* **}	49.5 ± 2.8 ^{* **}
百里醌高剂量组 High-dose thymoquinone group	50	9.3 ± 1.2	32.5 ± 3.9 ^{* **}	39.9 ± 4.8 ^{* **}	40.1 ± 3.5 ^{* **}

注:与正常对照组相比,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组相比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, ^{##} $P < 0.01$; Compared with model control group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

3.2 百里醌对大鼠关节氧化-抗氧化体系的影响

通过检测大鼠关节组织匀浆中氧化损伤相关指标,结果见表 2。由表 2 可以看出,吲哚美辛对关节炎发病中氧化和抗氧化体系各指标影响不大,仅 MPO 存在显著性差异 ($P < 0.05$),这可能与其抗炎机制未涉及抗氧化损伤途径有关。百里醌中剂量组

3.1 百里醌对大鼠足趾肿胀度的影响

在各组大鼠接受免疫后,模型对照组在第 9 日开始出现明显的足趾肿胀,与正常对照组相比,具有极显著性差异 ($P < 0.01$)。吲哚美辛可以显著降低大鼠的关节肿胀度,百里醌低剂量组虽可在一定程度上缓解关节肿胀,但是与模型对照组相比,差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。百里醌中剂量组和高剂量组均能有效缓解 II 型胶原引起的足趾肿胀,与模型对照组相比,差异具有显著性意义 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

和高剂量组均可有效降低 RA 发病中 MPO、MDA 和 NO 的含量,升高组织中 SOD 的水平,与模型对照组相比,差异具有显著性意义 ($P < 0.05$)。低剂量百里醌能在一定程度上缓解 SOD 和 MDA 的改变。由此可见,百里醌具有较强的抗氧化损伤能力。

表 2 百里醌对大鼠关节 MPO、MDA、SOD 和 NO 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of thymoquinone on the content of MPO, MDA, SOD and NO in the joints of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别 Groups	剂量 (mg/kg)	MPO (U/g)	MDA (nmol/mg)	SOD (U/mg)	NO (mmol/L)
正常对照组 Normal control group	-	0.46 ± 0.05	2.81 ± 0.24	9.73 ± 0.58	72.82 ± 8.25
模型对照组 Model control group	-	1.62 ± 0.11 ^{##}	23.38 ± 3.25 ^{##}	4.86 ± 0.34 ^{##}	135.21 ± 16.28 ^{##}
阳性对照组 Positive control group	8	1.03 ± 0.19 [*]	26.87 ± 2.55	4.58 ± 0.29	127.43 ± 22.16
百里醌低剂量组 Low-dose thymoquinone group	10	1.54 ± 0.36	19.92 ± 3.98 [*]	6.79 ± 0.36 [*]	125.67 ± 16.45
百里醌中剂量组 Medium-dose thymoquinone group	25	1.22 ± 0.28 [*]	9.43 ± 1.12 ^{* **}	7.74 ± 0.25 ^{* **}	105.80 ± 9.76 [*]
百里醌高剂量组 High-dose thymoquinone group	50	0.99 ± 0.25 ^{* **}	6.18 ± 0.86 ^{* **}	8.45 ± 0.55 ^{* **}	85.46 ± 6.45 ^{* **}

注:与正常对照组相比,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组相比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, ^{##} $P < 0.01$; Compared with model control group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

3.3 百里醌对大鼠血清炎症因子的影响

从表3可以发现,关节炎发病过程中IL-1 β 和TNF- α 含量急剧增加,IL-10含量下降,与正常对照组相比,差异具有极显著性意义($P < 0.01$)。阳性

对照组和百里醌各个剂量组均能有效改善IL-1 β 和TNF- α 的升高,促进IL-10表达,与模型对照组相比,差异具有显著性意义($P < 0.05$)。

表3 百里醌对大鼠血清IL-1 β 、TNF- α 和IL-10活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effect of thymoquinone on the serum activity of IL-1 β , TNF- α and IL-10 in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别 Groups	剂量 Dose (mg/kg)	IL-1 β (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)
正常对照组 Normal control group	-	1.52 ± 0.22	2.01 ± 0.11	46.76 ± 4.84
模型对照组 Model control group	-	4.81 ± 0.67 ^{##}	3.78 ± 0.29 ^{##}	32.45 ± 3.11 ^{##}
阳性对照组 Positive control group	8	2.15 ± 0.31 ^{**}	2.23 ± 0.15 ^{**}	43.35 ± 2.96 ^{**}
百里醌低剂量组 Low-dose thymoquinone group	10	3.82 ± 0.52 [*]	3.02 ± 0.23 [*]	37.14 ± 3.99 [*]
百里醌中剂量组 Medium-dose thymoquinone group	25	3.51 ± 0.28 [*]	2.32 ± 0.18 ^{**}	39.96 ± 1.29 [*]
百里醌高剂量组 High-dose thymoquinone group	50	2.34 ± 0.19 ^{**}	2.11 ± 0.13 ^{**}	45.02 ± 4.27 ^{**}

注:与正常对照组相比,^{##} $P < 0.01$;与模型对照组相比,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, ^{##} $P < 0.01$; Compared with model control group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

4 讨论

胶原诱导的动物关节炎是最常用的研究RA模型,其临床和病理特征与人类RA相似^[7]。因此,本文采用II型胶原诱导大鼠关节炎这一经典模型,探索百里醌对RA的治疗作用及其深入机制,结果发现该药可以有效缓解II型胶原引起的大鼠足趾肿胀,从而减轻关节炎的临床症状。

尽管许多研究致力于阐明RA的病因学和发病机制,但是其明确的机制至今仍未完全清楚。部分生化物质在启动和维持RA炎症反应中扮演了重要角色,其中包括MPO、MDA、SOD和NO等。MPO是氧化应激和炎症反应的一个重要标志物,MPO催化反应生成过量的氧化剂,导致氧化应激和氧化性组织损伤^[8]。MDA反映了体内脂质过氧化的程度,间接反映出细胞损伤的程度;SOD能有效清除机体氧自由基,两者均为反映体内活性氧水平的重要指标。NO为自由基在炎症过程中重要信使分子,减少NO的产生可以有效缓解RA症状和保护关节组织。Kanter M等^[9]于2005年发现黑种草籽油及其主要组分百里醌可以有效保护乙醇所致的急性胃黏膜损伤,其保护作用与其提高谷胱甘肽(GSH)、SOD和谷胱甘肽S转移酶(GST)水平进而清除氧自由基有关。因此,笔者推测百里醌可以通过改善体内氧化应激状态从而减轻关节的组织损伤。从本文的结果可以看出,百里醌可抑制机体氧化损伤产物MDA产生,降低NO和MPO水平,增加抗氧化酶SOD的

活性,因此其对于机体氧化-抗氧化体系平衡的维护是治疗RA的机制之一。

在RA的发病中,前炎症因子和抗炎因子的平衡决定了炎症发病的程度和范围。前炎症因子如IL-1 β 、TNF- α 和IL-6在类风湿关节接头表达丰富,在发病中发挥了重要作用^[8]。在上述细胞因子的作用下,成纤维细胞如滑膜细胞产生金属蛋白酶类(Metalloproteinases, MMPs)、前列腺素E2(Prostaglandin E2, PGE2)和环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2),进而加重炎症、组织增生和软骨破坏。Tekeoglu I等人报道百里醌可以有效治疗佐剂诱导的关节炎模型,疗效与甲氨蝶呤相当,其机制可能与百里醌的免疫抑制作用密切相关^[10]。Vaillancourt F等人最近的研究发现,百里醌可显著降低人嗜中性细胞弹性蛋白酶(Human neutrophil elastase, HNE)、IL-1 β 、TNF- α 以及骨转换标志物等参与RA发病的一系列物质^[11]。本文也开展了百里醌对关节炎模型中炎症因子的作用研究,结果发现百里醌在胶原诱导RA大鼠模型中可以显著降低前炎症因子IL-1 β 和TNF- α 的水平,促进抗炎因子IL-10的表达,与Vaillancourt F等人在佐剂诱导RA模型中的研究结果一致。

综上所述,百里醌可以有效缓解II型胶原引起的RA关节肿胀症状,其治疗RA的作用与维持机体氧化-抗氧化体系的平衡和对抗前炎症因子的组织破坏相关。本文的研究结果为百里醌用于治疗RA奠定了实验基础。

参考文献

- 1 Madan B, Goh KC, Hart S, et al. SB1578, a novel inhibitor of JAK2, FLT3, and c-Fms for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Immunol*, 2012, 189:4123-4134.
- 2 Singh JA, Furst DE, Bharat A, et al. 2012 update of the 2008 American college of rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2012, 64:625-639.
- 3 Shi K(史坤), He W(贺伟), Xu HM(胥红梅), et al. Effects of several natural extracts on gouty arthritis in rats. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 23:19-20.
- 4 Woo CC, Kumar AP, Sethi G, et al. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83:443-451.
- 5 Kong LY(孔令宇), Wang WJ(王文娟), Xi Z(席鑒). Protection of thymoquinone against oxidative stress and hepatic injury after biliaryligation in rats. *Herald Med*(医药导报), 2013, 32:9-12.
- 6 Zhang MF(张明峰), Zhou SQ(周守勤), Liu SX(刘淑霞), et al. The effect of arsenic trioxide on STAT/SOCS signal transduction in the rat model of collagen induced arthritis. *Chin J Immunol*(中国免疫学杂志), 2011, 27:65-70.
- 7 Cha JH, Lee SH, Lee SW, et al. Assessment of collagen-induced arthritis using cyanine 5.5 conjugated with hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles: correlation with 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography data. *Korean J Radiol*, 2012, 13:450-457.
- 8 Schmidt N, Art J, Forsch I, et al. The anti-inflammatory fungal compound (S)-curvularin reduces proinflammatory gene expression in an in vivo model of rheumatoid arthritis. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 343:106-114.
- 9 Kanter M, Demir H, Karakaya C, et al. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol*, 2005, 11:6662-6666.
- 10 Tekeoglu I, Dogan A, Ediz L, et al. Effects of thymoquinone (volatile oil of black cumin) on rheumatoid arthritis in rat models. *Phytother Res*, 2007, 21:895-897.
- 11 Vaillancourt F, Silva P, Shi Q, et al. Elucidation of molecular mechanisms underlying the protective effects of thymoquinone against rheumatoid arthritis. *J Cell Biochem*, 2011, 112:107-117.

(上接第 1537 页)

- 19 Wu ZM, et al. Transform of an ectopically expressed bulb lectin gene from *Pinellia pedatisecta* into tobacco plants conferring resistance to aphids (*Myzus nicotianae*). *Aust J Crop Sci*, 2012, 6:904-911.
- 20 Xiang Y(向阳), et al. Progress in research on Jacalin-related Lectins. *Plant Physiol J*(植物生理学报), 2013, 49:1023-1029.
- 21 Zhang XF, et al. Insecticidal effect of recombinant endophytic bacterium containing *Pinellia ternata* agglutinin against white backed planthopper, *Sogatella furcifera*. *Crop Prot*, 2011, 30:1478-1484.
- 22 Xiao Y, et al. Transgenic tetraploid *Isatis indigotica* expressing *Bt Cry1Ac* and *Pinellia ternata* agglutinin showed enhanced resistance to moths and aphids. *Mol Biol Rep*, 2012, 39:485-491.
- 23 De Hoff PL, et al. Plant lectins: the ties that bind in root symbiosis and plant defense. *Mol Gen Genom*, 2009, 282:1-15.
- 24 Ling LJ, et al. Expression and characterization of two domains of *Pinellia ternata* agglutinin, a plant agglutinin from *Pinellia ternata* with antifungal activity. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26:545-554.
- 25 Zuo ZY, et al. Purification and characterization of a novel plant lectin from *Pinellia ternata* with antineoplastic activity. *Springer Plus*, 2012, 1:13.
- 26 Liang HL(梁江丽), et al. Prokaryotic expression and characteristics research of *Pinellia Ternate* and *Pinellia Pedatisecta* Lectins. *China Biotechnology*(中国生物工程杂志), 2009, 9(3):80-84.
- 27 Chen K, et al. *Pinellia pedatisecta* agglutinin targets drug resistant K562/ADR leukemia cells through binding with sarcolemmal membrane associated protein and enhancing macrophage phagocytosis. *Plos One*, 2014, 8:74363.
- 28 Lu Q, et al. *Pinellia pedatisecta* agglutinin interacts with the methylosome and induces cancer cell death. *Oncogenesis*, 2012, 1(10):29.
- 29 Zhu L(朱黎), et al. Isolation and purification of *Pinellia Pedatisecta* lectin and its effects on mouse sarcoma S180 cells *in vivo* and *in vitro*. *Med J Wuhan Univ*(武汉大学学报,医学版), 2009, 30:10-15.
- 30 Li X(李新), et al. Mannose-Exposing tumor cells detected by the EGFP-PPA fusion protein. *J Zhejiang Sci-Tech Univ*(浙江理工大学学报), 2010, 27:615-619.