

人参根提取物增强巨噬细胞 RAW264.7 的自噬水平并提高其增殖和吞噬能力

李芳宇¹, 齐滨¹, 边帅², 赵月¹, 卢姝言², 迟迅^{3*}, 王佳雯^{2*}

¹长春中医药大学药学院; ²长春中医药大学人参科学研究院; ³长春中医药大学科研处, 长春 130117

摘要: 研究人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 的增殖能力、吞噬能力和自噬水平的影响及其相关性。用细胞计数试剂 (CCK-8) 检测不同浓度的人参根以及加入对巨噬细胞 RAW264.7 增殖的影响; 采用中性红吞噬实验检测人参根提取物对巨噬细胞吞噬活性的影响; 采用吖啶橙染色法 (AO 染色法) 检测自噬体的形成; 采用免疫印迹法 (Western blot) 检测自噬相关蛋白 LC3B、ATG7 的表达变化以及自噬通路相关蛋白 AMPK、AKT、mTOR 及 ULK1 磷酸化的变化。引入自噬诱导剂 rapamycin 和自噬抑制剂 CQ 探讨人参根提取物影响细胞自噬与细胞增殖、吞噬能力的相关性。结果显示, 与空白对照组比较, 各组人参根提取物可促进巨噬细胞 RAW264.7 的增殖及吞噬作用; 参根提取物能够增加巨噬细胞 RAW264.7 酸性自噬体的数量, 提高 LC3B、ATG7 的表达、增加 AMPK 和 ULK1 的蛋白磷酸化水平, 时降低 AKT、mTOR 的磷酸化水平。Rapamycin 进一步增强巨噬细胞的增殖以及吞噬能力, 而 CQ 则减弱了人参根提取物所引起的巨噬细胞的增殖以及吞噬能力提高。以上结果表明人参根提取物可能通过增强巨噬细胞 RAW264.7 的自噬水平, 提高其增殖和吞噬能力, 具有激活巨噬细胞增强机体免疫力的潜在作用。

关键词: 人参根提取物; 巨噬细胞; 自噬; 吞噬能力

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)3-0380-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.3.004

Ginseng root extract enhanced the autophagy level of macrophage RAW264.7 and increased its proliferation and phagocytosis

LI Fang-yu¹, QI Bin¹, BIAN Shuai², ZHAO Yue¹, LU Shu-yan², CHI Xun^{3*}, WANG Jia-wen^{2*}

¹College of Pharmacy, Changchun University of Traditional Chinese Medicine;

²College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine Jilin Ginseng Academy;

³Scientific Research Office of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: The aim of this study is to investigate the effect of ginseng root extract on RAW264.7 cells proliferation, phagocytosis and autophagy level and their correlation. Cell counting reagent (CCK-8) was used to detect the effect of ginseng root extract in cell proliferation of RAW264.7 cells. Neutral red phagocytosis experiment was used to detect the effect of ginseng root extract in phagocytic activity of RAW264.7 cells. The formation of autophagosome was detected by acridine orange staining (AO staining). Western blot was used to detect the expression changes of autophagy related proteins LC3B and ATG7 and the phosphorylation changes of autophagy related proteins AMPK, AKT, mTOR and ULK1. Autophagy regulator rapamycin and CQ were introduced to research the relationship of autophagy, cell proliferation and phagocytosis induced by ginseng root extract. The Results shown that different concentration of ginseng root extract could promote the proliferation and phagocytosis of RAW264.7 cells, compared with blank control group. Ginseng root extract could increase the number of acidic autophagosomes in Raw264.7 cells. The expressions of LC3B, ATG7 and the protein phosphorylation levels of AMPK and ULK1 were increased in ginseng root extract treated cells. Meanwhile, the phosphorylation levels of AKT and mTOR were decreased. Rapamycin further enhanced the phagocytosis of macrophages, while CQ attenuated the improvement of macrophage phagocytosis

收稿日期: 2020-10-22 接受日期: 2021-01-15

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1702100); 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目 (JJKH20190478KJ); 中央引导地方科技发展资金吉林省基础研究专项 (202002054JC)

* 通信作者 Tel: 86-015948030952; E-mail: a18004434440@163.com, wangjiawen1229@163.com

induced by ginseng root extract. In conclusion, ginseng root extract may enhance the autophagy level of macrophagy RAW264.7, increase cell proliferation and phagocytosis activity, and has the potential effect of activating macrophages to enhance the immunity of the body.

Key words: ginseng root extract; macrophages; autophagy; phagocytic capacity

巨噬细胞是机体重要的固有免疫细胞之一,具有吞噬、抗原呈递、免疫防御和炎症调节等多种功能^[1]。巨噬细胞主要通过其表达的模式识别受体和病原体并激活相关分子,从而吞噬病原体。

自噬是一种维持机体稳态平衡的过程,能吞噬自身细胞质蛋白或细胞器并使其包被进入囊泡,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物,藉此实现细胞本身的代谢需要和某些细胞器的更新^[2,3]。自噬在巨噬细胞吞噬、抗原呈递、调节免疫应答和炎症反应过程中起重要作用^[4]。巨噬细胞自噬功能下降会影响其吞噬功能。人参具有增强免疫力的作用,在特异性抗体形成、淋巴细胞增殖及巨噬细胞吞噬能力增强等多方面均有所体现^[5]。故本文选用人参根提取物作用于巨噬细胞 RAW264.7,探究其对巨噬细胞的自噬水平、增殖能力及吞噬能力影响,为人参根提取物的深入研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 仪器

Infinite 200 Pro 酶标仪(瑞士,TECAN 公司);111 型二氧化碳培养箱(美国,Thermo 公司);荧光显微镜 IX73(日本,Lympus 公司);1645050 型蛋白质凝胶电泳仪(美国,Bio-Rad 公司);iBright 智能成像系统 FL1000(中国,Invitrogen 公司)。

1.2 药品与试剂

人参药材采购自吉林抚松(采摘时间为2018年9月20日),由长春中医药大学药学院肖井雷副教授鉴定为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根;DMEM(美国 HyClone 公司);BS 缓冲液(美国 Hyclone);胎牛血清(美国 GIBCO 公司);CCK-8 试剂盒(美国 BOSTER);脂多糖(lipopolysaccharide, LPS, 美国 Sigma);中性红试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术公司);吖啶橙(AO, 索莱宝);AKT、p-AKT、AMPK、p-AMPK、m-TOR、p-mTOR、ULK1、p-ULK1、 β -actin 兔多克隆抗体(上海 Bioword);ATG7、LC3B 兔单克隆抗体(美国 CST 公司);自噬诱导剂 rapamycin、自噬抑制剂 CQ 试剂(美国 MCE 公司)。

1.3 方法

1.3.1 人参根提取物制备

精密称取人参 50 g,粉碎,过筛(80 目),料液比 1:10,40 °C 水浴超声提取 2 h,提取液离心过滤,超滤浓缩;残渣加水料液比 1:10,升温至 80 °C 提取 1.5 h,提取液超滤浓缩,浓缩液分别冻干,备用。人参根提取物收率为 21.58%。

1.3.2 细胞培养

将巨噬细胞 RAW264.7 于高糖 DMEM 完全培养液(含有 10% FBS、1% 的链霉素和青霉素),置于 37 °C、含 5% CO₂ 的培养箱内培养。选择对数生长期细胞用于实验。

1.3.3 CCK8 细胞增殖实验

前期经过设置一系列浓度梯度确定了人参根提取物在 0 ~ 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内对巨噬细胞 RAW264.7 无毒性,且能够通过浓度梯度依赖性的方式提高细胞活性(数据未显示)。因此本实验选用 32、125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 三个浓度作为低中高剂量进行研究。

选取对数生长期细胞,按 1×10^5 个/mL,100 μL /孔接种于 96 孔板中,于 37 °C、含 5% CO₂ 的培养箱内培养 24 h 后弃去培养液,加入质量浓度分别为(32、125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的人参根提取物,同时设置空白对照组(完全培养液、细胞)和 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 LPS 阳性对照组;培养 24 h 后每孔加入 10 μL 的 CCK8 于培养箱中继续孵育 40 min,用酶标仪在 490 nm 出测定吸光值,实验重复 3 次,计算细胞的相对存活率。

相对细胞存活率 = $\frac{[(\text{实验组孔吸光值} - \text{空白组孔吸光值}) / (\text{对照组孔吸光值} - \text{空白组孔吸光值})]}{\times 100\%}$

1.3.4 中性红吞噬实验

将密度为 1×10^5 个/mL 细胞接种于 96 孔板中,每孔 100 μL 于 CO₂ 的培养箱内培养 24 h 后弃去培养液,加入质量浓度分别为(32、125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的人参根提取物,同时设置空白对照组(完全培养液、细胞)和 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 LPS 阳性对照组;培养 24 h 后,吸出上清液,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered

saline, PBS) 洗涤 2 次, 每孔加入培养液 200 μL 和中性红染液 20 μL , 于培养箱内继续孵育 3 h; 弃除上清液, 再用 PBS 洗涤 2 次, 每孔加入 200 μL 裂解液, 室温摇床裂解 10 min, 用酶标仪在 540 nm 波长处测定 A 值, 实验重复 3 次, 按公式计算吞噬指数。

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{实验组 } A_{540\text{nm}}}{\text{空白对照组 } A_{540\text{nm}}}$$

1.3.5 AO 染色实验

将密度为 1×10^5 个/mL 细胞接种于 6 孔板中, 每孔 2 mL 于 CO_2 的培养箱内培养 24 h 后弃去培养液, 加入质量浓度分别为 (32、125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的人参根提取物, 同时设置空白对照组 (完全培养液、细胞) 和 500 nM 的 rapamycin 阳性对照组; 培养 24 h 后, 吸出上清液, PBS 缓冲溶液洗 3 次, 4% 多聚甲醛室温固定 10 min, 弃上清, PBS 缓冲溶液洗 3 次, 加入终浓度为 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 AO, 室温避光孵育 15 min, 弃上清, PBS 缓冲溶液洗 3 次, 实验重复 3 次, 在荧光显微镜下观察细胞的形态并照相。

1.3.6 Western blot 检测 RAW264.7 细胞因子的蛋白表达

将密度为 1×10^5 个/mL 细胞接种于 6 孔板中, 每孔 2 mL 于 CO_2 的培养箱内培养 24 h 后弃去培养液, 加入质量浓度分别为 (32、125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的人参根提取物, 同时设置空白对照组 (完全培养液、细胞), 培养 24 h 后, 收集细胞, 离心 (1 000 rpm, 5 min), 弃上清, PBS 缓冲溶液洗 3 次, 加入细胞裂解液。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测蛋白浓度。电泳分离, 转膜 (NC 膜)、封闭 30 min 后, 一抗孵育 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 回收一抗, PBST 洗 3 次, 二抗室温孵育 1 h, 实验重复 3 次, 进行显色观察条带。

1.3.7 自噬对细胞增殖及吞噬能力影响检测实验

将密度为 1×10^5 个/mL 细胞接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL 于 CO_2 的培养箱内培养 24 h 后弃去培养液, 设置空白对照组 (完全培养液、细胞)、单独给药组 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物、500 nM 的 rapamycin 和 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物共同给药组、50 μM 的 CQ 和 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物共同给药组; 500 nM rapamycin 组、50 μM CQ 组, 培养 24 h 后, 分别按照“1.3.3”与“1.3.4”实验方法进行检测。

1.3.8 统计学方法

采用 GraphPad Prism 5 软件进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 巨噬细胞 RAW264.7 增殖率检测

由图 1 可知, 与对照组比较, 人参根提取物浓度为 (32、125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和 LPS 阳性组均能提高巨噬细胞 RAW264.7 的增殖率 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 由此可见人参根提取物可直接刺激巨噬细胞 RAW264.7 增殖。

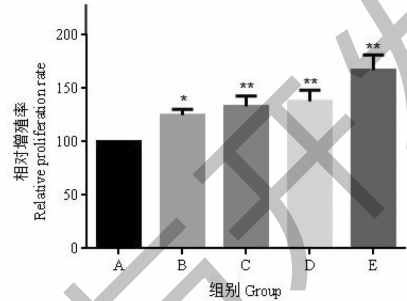


图 1 人参根提取物对巨噬细胞

RAW264.7 增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of Ginseng root extract on RAW264.7 proliferation of macrophages ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

注: A: 空白对照组; B: 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物; C: 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物; D: 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物; E: 阳性对照组。与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。下同。Note: A: Blank control group; B: 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ginseng root extract; C: 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ginseng root extract; D: 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ginseng root extract; E: Positive control group. Compared with the blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. The same below.

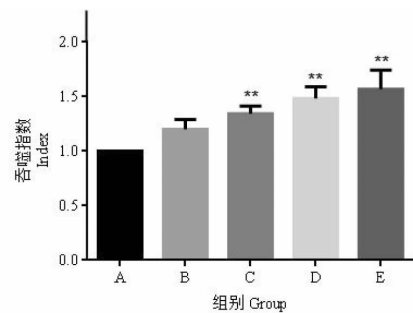


图 2 人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7

吞噬活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effect of ginseng root extract on macrophage RAW264.7 phagocytic activity ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

2.2 巨噬细胞 RAW264.7 吞噬活性检测

由图 2 可知, 与空白对照组相比, 当人参根提取物浓度为 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 吞噬活性的影响无统计学意义。当人参根提取物浓度为 125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时则可提高巨噬细胞的吞噬活性, 且与对照组相比具有显著性差异

($P < 0.01$), 该结果表明, 一定浓度的人参根提取物可提高巨噬细胞 RAW264.7 吞噬能力。

2.3 巨噬细胞 RAW264.7 中酸性囊泡的水平检测

AO 染色被认为是标记自噬溶酶体的特异性方

法, 当自噬水平较低时, 主要观察到绿色荧光; 当自噬水平升高时, 红色荧光将增强。由图 3 可知, 与空白对照相比, 随着人参根提取物浓度的增加, 合并后的荧光颜色由绿色逐渐过渡到黄色, 说明自噬水平升高。

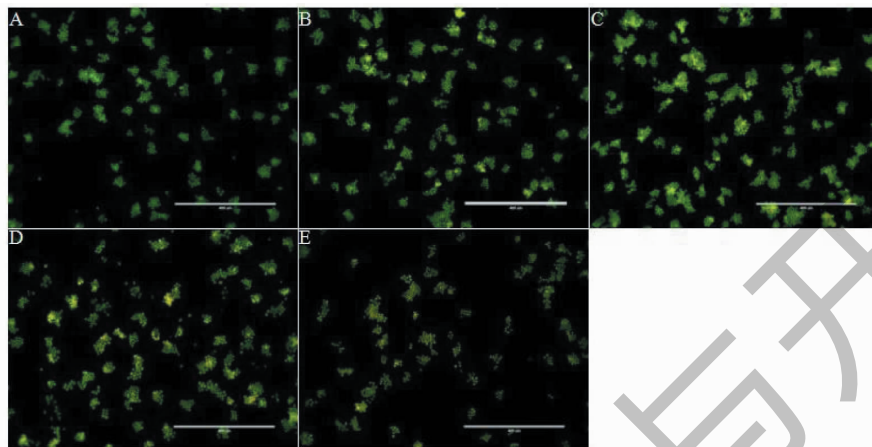


图 3 人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 中自噬体数量的影响 ($\times 20$)

Fig. 3 Effect of ginseng root extract on the number of autophagosomes in RAW264.7 ($\times 20$)

2.4 巨噬细胞 RAW264.7 自噬相关蛋白的表达

由图 4 可知, 与空白对照组相比, 125、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物组巨噬细胞 RAW264.7 中 ATG7 和 p-ULK1 的表达提高, LC3B I 向 LC3B II 的转化增加, 进一步说明自噬被诱导。同时 p-AMPK 蛋白表

达明显升高, 而 p-mTOR 和 p-AKT 表达降低, 具有统计学差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。说明人参根提取物通过促进自噬相关蛋白的增加并激活 AMPK / mTOR 和 AKT / mTOR 信号通路, 诱导巨噬细胞 RAW264.7 发生自噬。

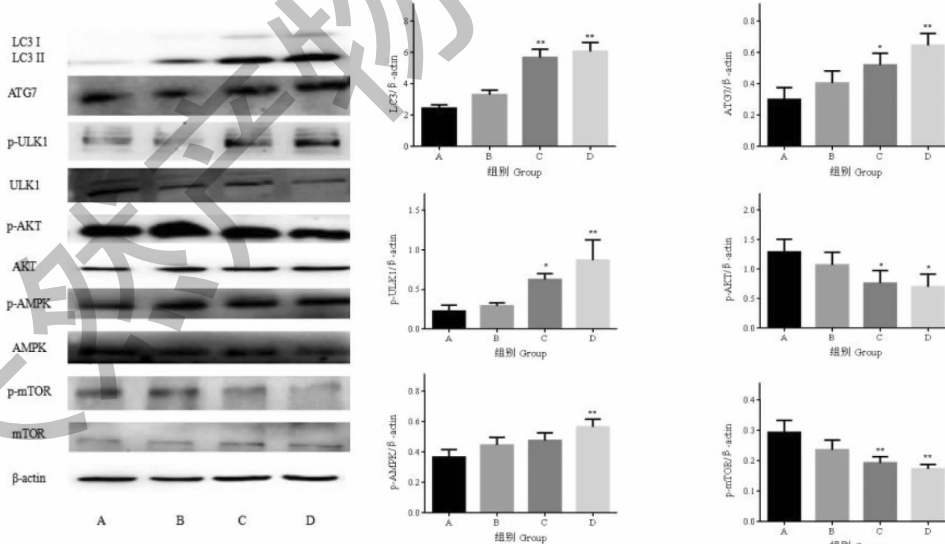


图 4 人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 中自噬相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of ginseng root extract on autophagy-related protein expression in macrophage RAW264.7 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

2.5 自噬抑制剂中和了人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 增殖以及吞噬活性的增强作用

由图 5、6 可知, 与空白对照组相比, 单独给药组

(人参根提取物浓度为 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和单独加入自噬诱导剂 (rapamycin) 组可增强巨噬细胞 RAW264.7 增殖以及吞噬能力增强 ($P < 0.01$), 单独加入自噬抑

制剂(CQ)组则降低可巨噬细胞 RAW264.7 增殖以及吞噬能力($P < 0.05$);与单独给药组相比,rapamycin 与人参根提取物共处理可增强巨噬细胞 RAW264.7 增殖以及吞噬能力($P < 0.01$);与单独给药组相比,人参根提取物与自噬抑制剂(CQ)共处理后,巨噬细胞 RAW264.7 的增殖以及吞噬能力明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。由此可见,人参根提取物可能通过增强巨噬细胞 RAW264.7 的自噬水平,提高细胞的增殖以及吞噬能力。

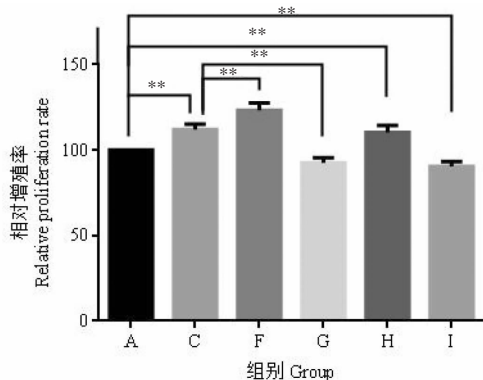


图5 自噬抑制剂中和了人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of ginseng root extract on RAW264.7 proliferation of macrophages neutralized by autophagy inhibitor($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:F:125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物 + rapamycin;G:125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 人参根提取物 + CQ;H: Rapamycin;I: CQ, 下同。Note: F:125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ginseng root extract + rapamycin;G:125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ginseng root extract + CQ;H: Rapamycin;I: CQ, the same below.

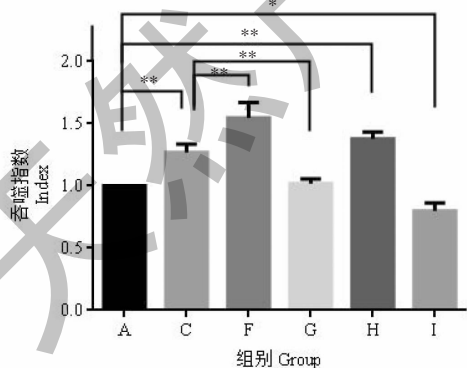


图6 自噬抑制剂中和了人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 吞噬活性的增强作用($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Autophagy inhibitors neutralize ginseng root extract against macrophage RAW264.7 enhancement of phagocytic activity($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3 讨论

增殖是免疫细胞分化成多种功能表型并在免疫应答中发挥相应作用的前提与基础,吞噬作用则是巨噬细胞等吞噬细胞清除外源性病原微生物和内源性衰老和死亡细胞的重要手段^[6]。在本研究中,一定质量浓度的人参根提取物能够显著促进巨噬细胞增殖,增强其吞噬能力,表明人参根提取物能够通过促进巨噬细胞的增殖,以及提高巨噬细胞的吞噬能力,从而达到免疫调节作用。

自噬是一种保守的细胞降解途径。自噬利用溶酶体降解自身受损细胞器及大分子物质,其产生的氨基酸和小分子物质被重新利用,从而实现胞内物质循环和内环境平衡^[7]。自噬形成时,胞浆型 LC3 会酶解一小段多肽形成 LC3-I, LC3-I 与 PE 结合形成(自噬体)膜型(即 LC3-II)^[8],因此,LC3-II/I 比值的大小可估计自噬水平的高低,当哺乳动物细胞发生自噬时,细胞内 LC3 的含量及 LC3-I 向 LC3-II 的转化明显增强。自噬相关蛋白 7 (autophagy related protein7, Atg7) 在自噬过程中可以促进自噬性溶酶体的形成和受损线粒体的分解^[9]。

AMPK/mTOR 与 Akt/mTOR 是两条经典的自噬信号通路^[10,11]。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)是一种丝/苏氨酸激酶,其活化(磷酸化)后可抑制 mTOR 活性,提高细胞自噬水平^[12]。蛋白激酶 B (Akt 或称 PKB) 同样也是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,其可协同磷脂酰肌醇依赖性蛋白激酶 1/2 促进三磷酸磷脂酰肌醇与其自身结合, Akt 由胞浆转移至质膜并发生活化(磷酸化), Akt 活化后可激活下游蛋白 mTOR (使其磷酸化),从而抑制自噬的进程^[11]。

研究结果显示,巨噬细胞 RAW264.7 中 Atg7、LC3 蛋白表达量增加, p-AKT、p-mTOR 表达减少, AMPK 磷酸化水平增加,与对照组比较差异均具有统计学意义。说明人参根提取物通过多种途径参与调解巨噬细胞 RAW264.7 的自噬反应。自噬在巨噬细胞行使功能过程中具有重要作用。通过自噬调节剂调节自噬水平,可以增强或中和人参根提取物对巨噬细胞 RAW264.7 功能的影响。

综上所述,人参根提取物能够促进巨噬细胞 RAW264.7 增殖,增强其吞噬功能,通过 AMPK/mTOR 和 AKT/mTOR 信号通路,提高巨噬细胞 RAW264.7 的自噬水平,两者具有相关性。本研究为人参根提取物在细胞自噬、免疫调节中的应用提

供了一定的理论依据,但其作用的分子机制仍有待进行深入研究。

参考文献

- 1 Cheng MQ, Yin JB, Zhang X. Research progress on the role of autophagy in inflammatory diseases[J]. Chin Med Herald (中国医药导报), 2019, 16(21): 35-38.
- 2 Beth L, Guido Kr. Biological functions of autophagy genes: a disease perspective[J]. Cell, 2019, 176(1-2): 11-42.
- 3 Boya P, Codogno P, Rodriguez MN. Autophagy in stem cells: repair, remodelling and metabolic reprogramming[J]. Development, 2018, 145(4): dev146506.
- 3 Sheng LL, Cao XQ, Zhen QJ, et al. Legionella pneumophila activates Nrf2-Keap1 pathway and inhibits RAW264.7 macrophage autophagy in mice[J]. J Cell Mol Immunol(细胞与分子免疫学杂志), 2019, 35: 878-885.
- 4 Shi JR, Li LJ, Zhang ZL, et al. Effect of fish skin collagen peptide compound product on immune function of mice[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32: 224-231.
- 5 Cong YY, Zmila MT, Palida AZ, et al. Effect of Glycyrrhizae polysaccharide on the immune function of RAW264.7 macrophage[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2018, 36: 1043-1047.
- 6 Klionsky DJ. The molecular machinery of autophagy: unanswered question[J]. J Cell Sci, 2005, 118(Pt 1): 7-18.
- 7 Zhang C, Zhang C, Liu XQ, et al. Effect of octreotide on the expression of autophagy related proteins LC3 and Beclin-1 in rats with liver fibrosis[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2019, 35: 147-148.
- 8 Han SK, Peng XQ, Han B. Effect of overexpression of long non-coding RNA H19 on proliferation and autophagy of hepatocellular carcinoma cells and its possible mechanism[J]. J Mod Oncol(现代肿瘤医学), 2020, 28: 2754-2758.
- 9 Xue JF, Shi ZM, Zou J, et al. Inhibition of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway promotes autophagy of articular chondrocytes and attenuates inflammatory response in rats with osteoarthritis[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 89: 1252-1261.
- 10 Zhang Y, Ling Y, Yang L, et al. Liraglutide relieves myocardial damage by promoting autophagy via AMPK-mTOR signaling pathway in Zucker diabetic fatty rat[J]. Mol Cell Endocrinol, 2017, 448(17): 98-107.
- 11 Yu SW, Zhang Y, Tian HL, et al. Effects of Huangjing crude polysaccharide on immune activities of spleen lymphocytes and macrophages *in vitro*[J]. J Med Sci Yanbian Univ(延边大学医学学报), 2019, 42: 107-110.
- 12 Guan F, Ding Y, Zhang Y, et al. Curcumin suppresses proliferation and migration of MDA-MB-231 breast cancer cells through autophagy-dependent Akt degradation[J]. PLoS One, 2016, 11(1): e0146553.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

昆明医科大学药学院

西南交通大学生命科学与工程学院

西南交通大学期刊社