

# 珠母贝糖胺聚糖 PG-II 诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的研究

吴红棉, 金晓石, 范秀萍, 胡雪琼, 钟 敏, 雷晓凌  
(广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088)

**摘 要:**目的: 探讨珠母贝糖胺聚糖 PG-II 诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡, 从而抑制其增殖。方法: MTT 法检测珠母贝糖胺聚糖 PG-II 对人宫颈癌 HeLa 细胞生长的抑制作用。倒置显微镜、荧光显微镜观察 HeLa 细胞凋亡的形态学特征, 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 断裂片段, 流式细胞仪定量检测细胞凋亡的百分率及其对细胞周期的影响。结果: MTT 法显示 PG-II 可抑制人宫颈癌 HeLa 细胞的增殖。倒置显微镜和荧光显微镜形态学观察可见 HeLa 细胞凋亡的形态明显变化。琼脂糖凝胶电泳显示 PG-II 作用 HeLa 细胞 24h, 出现分子质量为 200bp 到 2000bp 不等的细胞凋亡的特征性 DNA 梯状条带。流式细胞术测试表明: PG-II 可使 HeLa 细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期, 剂量为 100mg/L 作用 24h 阻滞作用最明显, 凋亡指数为 42.6%。结论: 珠母贝糖胺聚糖 PG-II 可能通过诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡而抑制其增殖。

**关键词:** 珠母贝糖胺聚糖; 人宫颈癌 HeLa 细胞; 细胞凋亡

## HeLa Cells Apoptosis Induced by Glycosaminoglycan Extracted from *Pinctada martensi* Dunker

WU Hong-mian, JIN Xiao-shi, FAN Xiu-ping, HU Xue-qiong, ZHONG Min, LEI Xiao-ling  
(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** Objective: To investigate the apoptosis-inducing and proliferation-inhibitory effect glycosaminoglycan PG-II extracted from *Pinctada martensi* Dunker on HeLa cells. Methods: The growth-inhibitory effect was tested by MTT assay. Morphological observations on HeLa cells apoptosis were carried out under inverted microscope and inverted fluorescence microscope. The biochemical changes of HeLa cell DNA during apoptosis were observed by agarose gel electrophoresis. The percentage of apoptotic cells and cell cycle blockage were detected by flow cytometry. Results: PG- II could inhibit the proliferation of HeLa cells as determined by MTT assay. Morphological changes in apoptotic HeLa cells were observed under inverted microscope and inverted fluorescence microscope. The agarose gel electropherogram of HeLa cells treated with PG-II for 24 h displayed characteristic DNA ladders from apoptotic HeLa cells with molecular mass between 200 bp and 2000 bp. The results of flow cytometry indicated that PG- II could block the HeLa cell cycle at the G<sub>1</sub> phase and that the largest blocking effect was achieved after treatment for 24 h at the dose of 100 mg/L with an apoptosis index of 42.6%. Conclusion: PG- II can induce apoptosis in HeLa cells and consequently inhibit their proliferation.

**Key words:** glycosaminoglycan from *Pinctada martensi* Dunker; HeLa cell; apoptosis

中图分类号: R151.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)03-0238-05

马氏珠母贝(*Pinctada martensii*(Dunker)) 是我国南海珠母贝的主要贝种, 在广东、广西部分地区养殖量极大。珠母贝全脏器俗称珍珠贝肉, 价格低廉, 除部分食用外, 大部分作为饲料, 造成该资源的很大浪费, 亟待开发利用。本课题组长期从事马氏珠母贝全

脏器活性成分的研究, 前期的工作已从马氏珠母贝全脏器中分离纯化得珠母贝糖胺聚糖 PG-II, 分析测得其总氨基己糖含量分别为 59.2%, 硫酸基含量为 2.9%<sup>[1-2]</sup>; 抗肿瘤实验表明其对 HL-60 细胞都有杀伤作用, 与临床抗癌药(5- 氟尿嘧啶)合用有增强抗癌药抑瘤率的作用<sup>[3-4]</sup>。本

收稿日期: 2011-03-21

基金项目: 广东省教育厅自然科学研究项目( 04J006)

作者简介: 吴红棉(1953 —), 男, 教授, 硕士, 研究方向为海洋生物活性物质。E-mail: hxwz247@163.com

实验研究珠母贝糖胺聚糖 PG-II 对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响, 探讨其抑制肿瘤细胞增殖的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

马氏珠母贝(*Pinctada martensii* (Dunder)), 购自雷州市流沙镇珍珠养殖场; 珠母贝糖胺聚糖 PG-II 由本实验室提纯。

人宫颈癌 HeLa 细胞 广东海洋大学海洋药物研究所; 5-氟尿嘧啶(5-Fu) 市售针剂; 琼脂糖凝胶 北京鼎国生物技术的发展中心; DNA Ladder 分子质量标准品 美国 Sigma 公司。

### 1.2 仪器与设备

NAPCO5420-1 CO<sub>2</sub> 培养箱 美国 Precision Scientific 公司; EPPENDORF 5417R 型冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司; DG5031 酶联免疫检测仪 华东电子管厂; CH30RF 200 倒置显微镜 日本 Olympus 公司; EPICS XL 流式细胞仪 美国 Coulter 公司; YLN-200DB 凝胶影像分析系统 北京亚力恩机电技术中心; TE300 荧光倒置显微镜 日本 Nikon 公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 珠母贝糖胺聚糖的分离纯化方法

马氏珠母贝全脏器经双酶水解、醇沉得到珠母贝糖胺聚糖粗品(CPG), 经 DEAE-52 纤维素柱层析得 PG-II。工艺流程: 马氏珠母贝全脏器→匀浆→蛋白酶双酶水解→醇沉→洗涤→真空干燥→糖胺聚糖粗品(CPG)→DEAE-52 纤维素柱层析→PG-II。

#### 1.3.2 MTT 法

取细胞浓度为  $10^4$  个/mL 对数生长期的 HeLa 细胞, 体积 180  $\mu$ L, 加入不同质量浓度的药液 20  $\mu$ L(加药终质量浓度为 10、25、50、100mg/L, 阳性对照组加入临床药物 5-Fu(120mg/L), 对照组加入同体积的 RPMI-1640 培养液, 每组设 4 个平行孔, 充分混匀后于 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度条件下, 继续培养 12、24h(终止培养前 6h, 每孔加 5g/L MTT 20  $\mu$ L)。吸弃上清液 100  $\mu$ L 后, 每孔加 DMSO 100  $\mu$ L, 振荡 5min, 波长 570nm 处测定吸光度, 并计算抑制率和增敏效果<sup>[5]</sup>。

$$\text{抑制率}/\% = (1 - A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}}) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{增敏效果 } q = E_{A+B}/(E_A + E_B - E_A \times E_B) \quad (2)$$

式中:  $E_{A+B}$  为合并用药的抑制率;  $E_A$  和  $E_B$  分别为 A 药和 B 药单独用药的抑制率。

#### 1.3.3 倒置显微镜观察法

将含有细胞的 24 孔培养板直接置于倒置显微镜下观察。比较经过诱导和未经过诱导的细胞形态、大小和

有无凋亡小体的出现, 记录结果。

#### 1.3.4 荧光显微镜观察法

Hoechst33342 标记法<sup>[5-6]</sup>。将预处理的盖玻片置于 6 孔板内, 种入细胞培养过夜。加入 PG-II (终质量浓度为 100mg/L)、PG-II+5-Fu(终质量浓度: PG-II 100mg/L、5-Fu 120mg/L), 刺激细胞发生凋亡后, 吸尽培养液, 用 PBS 摇床洗涤两遍, 每次 3min, 吸尽液体。加入 0.5mL Hoechst 33342 染色液, 染色 15min。用 PBS 洗两遍, 每次 3min。滴一滴抗荧光淬灭封片液于载玻片上, 盖上贴有细胞的盖玻片, 荧光显微镜检测, 激发波长在 350nm 左右, 发射波长在 460nm 左右。

#### 1.3.5 DNA 片断化电泳

培养细胞用 PBS 清洗、离心, 加入细胞裂解液裂解, 高速离心, 上清液用酚/氯仿/醇抽提 3 次, RNA 酶消化, 然后加到含溴化乙锭 1% 的琼脂糖凝胶的样品的孔中进行电泳, 在紫外线灯下观察和摄影。

#### 1.3.6 流式细胞仪分析<sup>[7]</sup>

取对数生长期 HeLa 细胞, 加 100mg/L 样品, 另设空白对照组, 于 5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 12、24h 后加入质量分数 0.25% 的胰蛋白酶细胞消化, 1500r/min 离心 10min 后弃上清, 用 PBS 和体积分数 70% 乙醇于一 20℃ 过夜固定, 隔天用 PBS 漂洗后, 用 20mg/L 碘化丙啶(PI)(含 RNA 酶)避光染色 30min, 流式细胞仪检测细胞周期分布和凋亡率。数据用 Multicycle 分析软件处理。

#### 1.3.7 数据处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS13.0 软件进行方差分析,  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 珠母贝糖胺聚糖对 HeLa 细胞增殖的抑制作用

如表 1 所示, PG-II 体外对 HeLa 细胞有显著抑制作用, 其效果与时间和剂量相关, 100mg/L PG-II 作用 HeLa 细胞 12、24h 对细胞生长的抑制率分别为 27.8% ( $P < 0.05$ ) 和 40.0% ( $P < 0.01$ )。如表 2 所示, PG-II 与 5-Fu 联合作用抑制率得到极显著提高 ( $P < 0.001$ )。说明 PG-II 可抑制 HeLa 细胞增殖, 并可增敏抗肿瘤药物 5-Fu 的作用。

### 2.2 珠母贝糖胺聚糖诱导 HeLa 细胞凋亡的形态学变化

用倒置显微镜观察 PG-II 作用下 HeLa 细胞的形态学变化, 如图 1 所示, 对照组细胞形态呈长梭状, 细胞均匀透亮, 贴壁, 呈扁平不规则多角形, 中有圆形核, 细胞紧密相连。加样品组 24h 作用后, 细胞体积变小, 出现皱缩、变圆、脱落现象, 细胞间接触开始消失, 细胞不透亮, 轮廓模糊。

表1 PG-II 对 HeLa 细胞的抑制作用( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 1 Inhibition effect of PG-II on HeLa cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

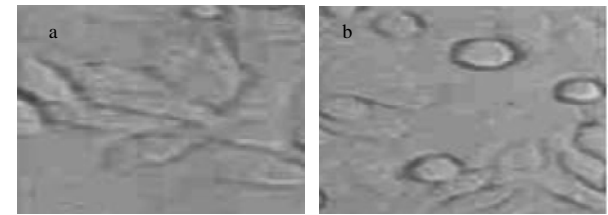
样品	剂量/(mg/L)	12h			24h		
		$A_{570nm}$	抑制率/%	IC <sub>50</sub> /(mg/L)	$A_{570nm}$	抑制率/%	IC <sub>50</sub> /(mg/L)
对照组		0.144 ± 0.008			0.140 ± 0.008		
5-Fu 组	120	0.097 ± 0.002**	32.6	184	0.089 ± 0.004*	36.3	165
	10	0.124 ± 0.011	13.9		0.127 ± 0.004*	9.3	
PG-II 组	25	0.111 ± 0.005*	22.9	63.8	0.107 ± 0.001*	23.6	41.2
	50	0.107 ± 0.012**	25.7		0.092 ± 0.002**	34.3	
	100	0.104 ± 0.003*	27.8		0.084 ± 0.013**	40.0	

注: \*.与对照组相比, 有显著性差异( $P < 0.05$ ); \*\*.与对照组相比, 有极显著差异( $P < 0.01$ )。下同。

表2 PG-II 与 5-Fu 合用对 HeLa 细胞的抑制作用( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 2 Inhibition effect of PG-II combined with 5-Fu on HeLa cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

样品	剂量/(mg/L)	12h				24h			
		$A_{570nm}$	抑制率/%	$q$	增敏效果	$A_{570nm}$	抑制率/%	$q$	增敏效果
对照组		0.144 ± 0.008				0.140 ± 0.008			
5-Fu 组	120	0.097 ± 0.002**	32.6			0.089 ± 0.004*	36.3		
	10+120	0.090 ± 0.010*	37.5	0.89	+	0.107 ± 0.007***	23.6	0.56	—
PG-II+5-Fu 组	25+120	0.079 ± 0.009*	45.1	0.93	+	0.086 ± 0.006***	38.6	0.75	—
	50+120	0.073 ± 0.004**	49.3	0.99	+	0.061 ± 0.009***	56.4	0.97	+
	100+120	0.059 ± 0.022**	59.0	1.15	++	0.034 ± 0.004***	75.7	1.23	++

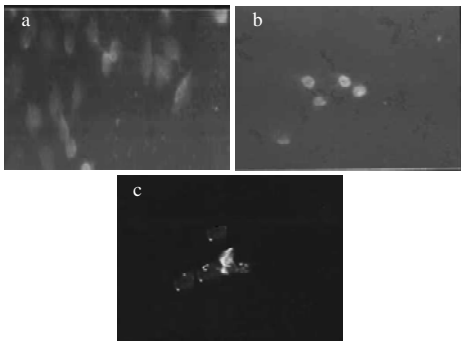
注: \*\*\*.与对照组相比, 有极显著差异( $P < 0.001$ ); +.  $0.85 \leq q \leq 1.15$ , 增敏作用为单纯相加; ++.  $1.15 \leq q \leq 20$  为增强作用; +++.  $q > 20$  为显著增强作用; —.  $0.55 \leq q \leq 0.85$  为拮抗作用; ——.  $q < 0.55$  为明显拮抗作用。



a.对照组; b. PG-II 100mg/L, 作用 24h。

图1 倒置显微镜观察 HeLa 细胞形态学变化( $\times 400$ )

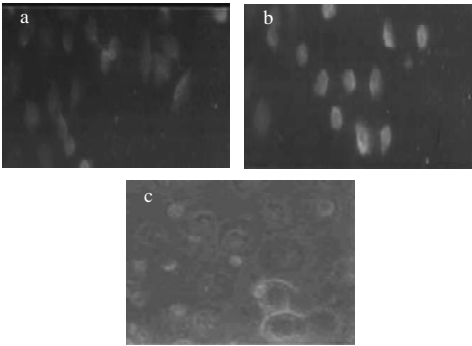
Fig.1 Morphological changes of apoptotic HeLa cells under inverted microscope( $\times 400$ )



a.对照组; b. PG-II 100mg/L, 作用 24h;  
c. 100mg/L PG-II+120mg/L 5-Fu, 作用 24h。

图3 荧光倒置显微镜观察 PG-II 诱导 HeLa 细胞 24h 后的形态学变化( $\times 200$ )

Fig.3 Morphological changes of HeLa cells after 24 h of PG-II induction under inverted fluorescence microscope( $\times 200$ )



a.对照组; b. PG-II 100mg/L, 作用 12h;  
c. PG-II 100mg/L+5-Fu120mg/L, 作用 12h。

图2 荧光倒置显微镜观察 PG-II 诱导 HeLa 细胞 12h 后的形态学变化( $\times 200$ )

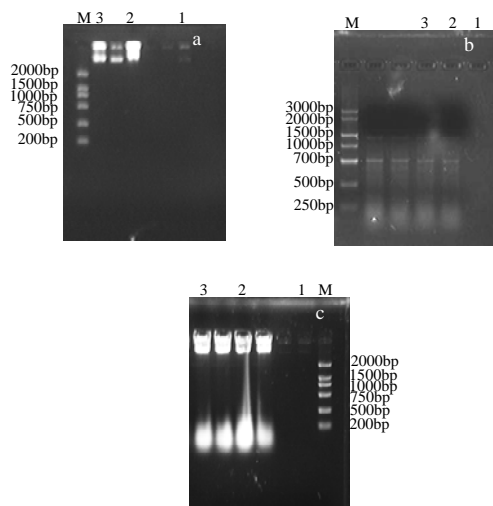
Fig.2 Morphological changes of HeLa cells after 12 h of PG-II induction under inverted fluorescence microscope( $\times 200$ )

用荧光显微镜观察 PG-II 作用 HeLa 细胞的形态学变化, 如图 2、3 所示, 对照组细胞均质透亮, 贴壁, 呈长梭状, 细胞紧密相连。加样品组作用 12h 后, 细胞体积缩小, 出现皱缩、变圆, 细胞膜附近荧光强度增大; 作用 24h 后, 细胞体积明显变小, 出现黄绿色荧光边聚, 细胞质和细胞核荧光渐弱, 直至消失。

2.3 珠母贝糖胺聚糖诱导 HeLa 细胞凋亡的 DNA 片段变化

PG-II 作用 HeLa 细胞后的 DNA 片断化分析结果如图 4 所示, 6h 时显示加样孔附近出现一段大分子质量的条带, 相对分子质量为几万到几十万; 12h 可见典型的 DNA 梯状带; 24h 后 DNA 电泳呈涂片状, 分子质量低

于 200bp 的短片段大量出现。说明 PG-II 作用出现了细胞凋亡的特征性的梯形带, 所产生的 DNA 梯形带随时间延长, 条带越来越亮, 显示出凋亡程度越来越大。



M. 标样 2000bp; 1.对照组; 2.5-Fu 120mg/L; 3.PG-II 100mg/L; a.作用 6h; b.作用 12h; c.作用 24h。

图 4 珠母贝糖胺聚糖诱导 HeLa 细胞凋亡的 DNA 片段化分析  
Fig.4 Agarose gel electrophoresis of DNA fragments from HeLa cells after different periods of PG-II induction

## 2.4 珠母贝糖胺聚糖诱导 HeLa 细胞阻滞细胞周期的作用

表 3 100mg/L PG-II 作用 HeLa 细胞后的细胞周期分布( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )  
Table 3 Cell cycle distribution of HeLa cells after induction with 100 mg/L PG-II ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	细胞周期分布 / %			
	Sub-G <sub>1</sub>	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
对照组(12h)	2.13 ± 0.13	59.4 ± 0.7	30.5 ± 0.3	10.0 ± 0.9
实验组(12h)	31.4 ± 2.3**	43.2 ± 2.3**	46.4 ± 0.7*	10.4 ± 1.2
对照组(24h)	5.44 ± 0.18	67.9 ± 1.1	21.3 ± 2.3	10.8 ± 0.3
实验组(24h)	42.6 ± 2.7**	33.0 ± 0.1**	58.1 ± 3.6*	8.9 ± 0.4

如表 3 所示, 剂量为 100mg/L 的 PG-II 作用 HeLa 细胞 12h 后出现凋亡峰, 凋亡指数为 31.4%, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞百分比减少, S 期细胞百分比增加, G<sub>2</sub>/M 期细胞无大的变化; 作用 24h 后出现凋亡峰, 凋亡指数增加为 42.6%, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞百分比显著减少, S 期细胞百分比增加, G<sub>2</sub>/M 期细胞百分比有一定减少。结果表明: PG-II 可使 HeLa 细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期。

## 3 讨 论

大量文献表明, 多糖类化合物可以通过诱导细胞凋

亡而抑制肿瘤细胞的增殖<sup>[6,8-9]</sup>。本研究应用 MTT 法检测到珠母贝糖胺聚糖 PG-II 可以剂量和时间依赖关系抑制人宫颈癌 HeLa 细胞增殖。

细胞凋亡是由内在的有规律的机制引起的, 其特征是细胞首先变圆, 随机与邻周细胞脱离, 失去微绒毛, 胞浆浓缩, 核染色体密度增高呈半月形, 并凝集在核膜周边, 核仁裂解, 进而细胞内陷, 并芽突形成凋亡小体。用荧光探针染凋亡细胞 DNA, 即可在荧光显微镜下直接观察核形态变化<sup>[7, 10]</sup>。本实验通过倒置显微镜和荧光显微镜观察, 从形态学上证实珠母贝糖胺聚糖 PG-II 能够诱发 HeLa 细胞凋亡, 出现凋亡的形态学特征。

细胞凋亡时, 在内源性核酸内切酶的作用下, DNA 在核小体间被切割成 180~200bp 整数倍的单或寡核苷酸片段, 在电泳时表现为特征性的“梯形带”。本研究中通过琼脂糖凝胶电泳显示不同时间段 DNA 梯带, 发现 PG-II 作用 HeLa 细胞 12~24h 时, 出现分子质量为 200bp 到 2000bp 不等的细胞凋亡的特征性 DNA 梯形带, 所产生的 DNA 梯形带随时间延长, 条带越来越亮, 显示出凋亡程度越来越大。此发现进一步证明了珠母贝糖胺聚糖 PG-II 能够诱发 HeLa 细胞凋亡。

通过流式细胞仪可分析细胞凋亡时 DNA 减少的细胞<sup>[11]</sup>。将 DNA 减少的细胞绘制在 DNA 含量直方图上, 在正常 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 细胞群前会出现一 DNA 低染细胞群, 称“亚 G<sub>1</sub> 细胞群, Sub-G<sub>1</sub>”, 即凋亡细胞群, 该峰的大小代表凋亡细胞的多少。本研究通过流式细胞仪分析表明: 剂量为 100 μg/mL 的 PG-II 作用 HeLa 细胞出现了凋亡峰, 使 HeLa 细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期, 且随作用时间的延长, 细胞凋亡比例逐渐增加, 作用 24h 阻滞作用最明显, 凋亡指数可达 42.6%。由此可知, 珠母贝糖胺聚糖 PG-II 对人宫颈癌 HeLa 细胞增殖有抑制作用, 其作用机理可能通过诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡而抑制其增殖的。

目前认为细胞凋亡的触发是一个有多种基因参与的级联式表达的结果, 药物诱导肿瘤细胞凋亡受一个或多个基因的调控。在细胞凋亡的调控因素中, Bcl-2 家族基因备受瞩目, Bcl-2 与 Bax 基因均属于 Bcl-2 家族。Bcl-2 是抑制细胞凋亡的主要基因, 它不仅能抑制肿瘤细胞凋亡, 延长细胞存活; 而且能拮抗其他抑癌基因所介导的细胞凋亡。Bax 是与 Bcl-2 作用相反的基因, 它的过表达可以拮抗 Bcl-2 的促进细胞增殖及抑制凋亡的作用<sup>[12]</sup>; 一方面能和 Bcl-2 形成异源二聚体抑制凋亡, 另一方面其自身还能形成同源二聚体诱导凋亡<sup>[13]</sup>。对多糖抗肿瘤作用机制的研究也表明, Bcl-2/Bax 两蛋白之间的比例是细胞凋亡发生与否的关键因素<sup>[14-15]</sup>。本研究对其凋亡的分子机制还未做相关研究, 需进一步探讨。

## 参考文献:

- [1] 吴红棉, 洪鹏志, 雷晓凌. 珠母贝全脏器中糖胺聚糖粗提物的制备及其生理活性初探[J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(3): 50-55.
- [2] 吴红棉, 雷晓凌, 洪鹏志. 珠母贝糖胺聚糖的结构初探及其生理活性[J]. 水产学报, 2001, 25(2): 166-170.
- [3] 陈方, 吴铁, 艾春媚. 马氏珠母贝全脏器提取物糖胺聚糖抗肿瘤作用的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2002, 7(6): 511-514.
- [4] 范秀萍, 吴红棉, 雷晓凌. 珠母贝氨基多糖的分离纯化及其抗肿瘤活性的初步研究[J]. 中国海洋药物, 2005, 24(2): 32-36.
- [5] 徐叔云, 卞如濂. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1757-1825; 1420-1435.
- [6] 朱彩平, 张声华, 肖军霞. 枸杞多糖诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的形态学研究[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 329-334.
- [7] 梁智辉, 朱慧芬, 陈九武. 流式细胞术基本原理与实用技术[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2008: 60-67.
- [8] 张忠玲, 朱波, 张翠, 等. 海胆肠多糖致 Be17402 人肝癌细胞凋亡的扫描电镜观察[J]. 电子显微学报, 2003, 22(6): 467.
- [9] 崔晓燕, 罗琼, 杨明亮, 等. 枸杞多糖对人宫颈癌细胞生长及细胞凋亡影响[J]. 中国公共卫生, 2006, 22(12): 1411-1412.
- [10] 吴正双, 董捷, 张红城, 等. 蜂胶醇提物对人肝癌细胞 Hep G2 增殖及凋亡的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(21): 344-348.
- [11] 童彤, 郭素平. 阿糖胞苷及云南霉素的细胞周期阻滞作用研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13(20): 1525-1529.
- [12] 赵圆, 尚德静. 多糖诱导肿瘤细胞凋亡机制的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2006, 13(6): 472-475.
- [13] 黄益玲, 黄利鸣, 石新兰. 天花粉蛋白对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 基因表达的影响[J]. 实用医学进修杂志, 2007, 35(1): 32-35.
- [14] 刘凤仙, 宋扬. 刺参酸性粘多糖对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 基因表达的影响[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(12): 2089-2091.
- [15] 于红, 吕锐, 张学成. 螺旋藻多糖对肿瘤细胞生长及 HeLa 细胞早期凋亡作用的实验研究[J]. 海洋科学, 2008, 32(1): 38-40.