

## 丹皮酚诱导人食管癌 Eca-109 裸鼠移植瘤凋亡的机制探讨

刘思涵,孙国平,杨震,宛新安,王章桂,吴红阳

(安徽医科大学第一附属医院肿瘤科,安徽合肥 230022)

中国图书分类号:R-332;R 284.1;R 329.25;R 394.2;R 73-351;R 735.102.2;R 979.1

文献标识码:A 文章编号:1001-1978(2008)04-0457-04

**摘要:**目的 通过观察用药后 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 的变化,探讨丹皮酚(paeonol, Pae)诱导 Eca-109 食管癌裸鼠移植瘤凋亡的机制。方法 体外培养食管癌 Eca-109 细胞,裸鼠皮下接种 Eca-109 细胞建立裸鼠移植瘤动物模型,36 只荷瘤裸鼠随机分为 6 组,分别为模型对照组、Pae 不同剂量组(25、50、100、200 mg·kg<sup>-1</sup>)和阳性药对照组(cisplatin, CDDP, 5 mg·kg<sup>-1</sup>)。治疗 2 wk 后处死裸鼠,剥取瘤体称重并计算抑瘤率。用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)法检测肿瘤细胞凋亡。免疫组化 S-P 法检测移植瘤组织 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 的表达。结果 Pae 50、100 和 200 mg·kg<sup>-1</sup>组和 CDDP 5 mg·kg<sup>-1</sup>组均能明显抑制裸鼠皮下肿瘤的生长,抑瘤率分别为 23.54%、27.91%、34.46% 和 58.71%,与模型组比较差异均有显著性( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ )。TUNEL 染色可发现棕褐色的凋亡细胞呈散在或片状分布,Pae 各剂量组的凋亡指数(apoptosis

index, AI) 分别为 (11.02 ± 2.58)%、(19.80 ± 2.77)%、(24.48 ± 4.35)% 和 (27.13 ± 4.39)% ,与模型组(4.81 ± 0.83)% 比较,差异均有显著性( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ )。免疫组化结果显示,Pae 能明显抑制移植瘤组织 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 的表达( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ )。结论 Pae 能抑制 Eca-109 食管癌裸鼠移植瘤生长、诱导凋亡而发挥抗肿瘤作用,其机制可能与下调 COX-2 的表达并抑制 Bcl-2 和 Survivin 的表达有关。

**关键词:**丹皮酚;食管癌;细胞 Eca-109;COX-2;Bcl-2;Survivin

食管癌是常见的恶性肿瘤,在我国属高发疾病,许多病人诊断时已属晚期,失去手术治疗的机会。化疗在食管癌的综合治疗中占有重要的地位,但效果仍不理想,原因主要是肿瘤细胞对细胞凋亡抵抗而导致对化疗不敏感<sup>[1]</sup>。

丹皮酚(paeonol, Pae)又称牡丹酚,是毛茛科植物牡丹 *Paeonia Suffruticosa* Andr 根皮和萝藦科植物徐长卿 *Pycnostelma Paniculatum* (Bunge) K Schum 干燥根或全草的主要有效成分。我们在前期研究中发现 Pae 在体内外能抑制人食管癌细胞增殖,诱导凋亡且与顺铂(cisplatin, CDDP)有协同的作用<sup>[2,3]</sup>。环氧化酶(cyclooxygenase, COX)是花生四烯酸(AA)代谢过程中的限速酶。大量的研究显示:COX 的亚型即 COX-2 在多种肿瘤尤其是消化系统肿瘤组

收稿日期:2007-11-28,修回日期:2008-01-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No 30772537);安徽省自然科学基金资助项目(No 050430901);安徽省教育厅自然科学基金重点项目(No KJ2007A032)

作者简介:刘思涵(1982-),男,硕士生,E-mail: zidat\_k4quid@yahoo.com.cn;

孙国平(1961-),男,博士,教授,主任医师,硕士生导师,通讯作者,E-mail: sunguoping@ahmu.edu.cn

## Studies on the metabonomics of rat liver injury induced by ethanol and interfering effects of Yin Chen Hao Tang

WANG Xi-jun, LIU Lian, SUN Hui, SUN Wen-jun, LÜ Hai-tao

(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**Abstract:** **Aim** To determine potential biomarkers contributed to occurrence, development and recovery of ethanol-induced liver injury in rat and elucidate hepatoprotective effect of Yin Chen Hao Tang based on metabonomic investigation. **Methods** A UPLC-Q-TOF/MS based metabonomic method was developed for investigating trajectory change and inter-relationship of urinary metabolome of rats with different treatments. **Results** Four potential biomarkers were determined

which contributed to occurrence, development and recovery of ethanol-induced liver injury in rat, and Yin Chen Hao Tang could significantly recover trajectory change in disorder. **Conclusion** The developed method was successfully applied to investigate ethanol-induced liver injury in rat, and also hepatoprotective effect of Yin Chen Hao Tang was elucidated.

**Key words:** UPLC-Q-TOF/MS; metabonomics; biomarker; Yin Chen Hao Tang; liver injury

组织中表达增强。有报道<sup>[4]</sup>, COX-2 在食管鳞癌和腺癌中的阳性表达率分别是为 91% 和 78%。COX-2 抑制剂如非甾体抗炎药 (NSAIDs) 能诱导多种肿瘤细胞凋亡, 抑制生长, 对食管癌有一定的预防作用<sup>[5]</sup>。近期研究表明, 选择性 COX-2 抑制剂在体外能够通过多种机制诱导食管癌细胞凋亡, 抑制增殖<sup>[6,7]</sup>且 COX-2 与 Bcl-2 及 Survivin 的表达存在正相关<sup>[8,9]</sup>。因此本研究通过观察 Pae 作用后 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 表达的变化, 进一步探讨其诱导凋亡的机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 动物与细胞系** 健康 ♂ BALB/c 裸鼠, 6~8 wk 龄, SPF 级, 由安徽医科大学动物中心提供。人食管癌细胞株 Eca-109 购自中科院上海细胞库。于含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养瓶中, 在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中繁育传代。

**1.2 药品与试剂** Pae 试药为铜陵天时制药厂产品; 小牛血清购于杭州四季青生物材料研究所; RPMI1640 培养粉购于美国 Gibco 公司; COX-2 兔抗人单抗, Bcl-2 兔抗人多抗, Survivin 兔抗人多抗, SP 免疫组化检测试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司; 浓缩型 DAB 试剂盒购自北京中杉公司; 凋亡的原位末端标记 (TUNEL) 检测试剂盒购自美国 Promega 公司。

### 1.3 Eca-109 食管癌裸鼠移植瘤模型建立与分组

取单层对数生长细胞, 胰蛋白酶消化后制成单个细胞悬液, 台盼蓝拒染计数方法确保细胞活力大于 90% 以上, 经无菌生理盐水离心, 洗涤再加入培养液制成细胞浓度约为  $1 \times 10^{10} \cdot \text{L}^{-1}$  悬液待种。用一次性注射器吸取 0.2 ml 细胞悬液接种于裸鼠的左前肢皮下, 接种后的 36 只裸鼠随机分为 6 组, 分别为模型对照组, Pae 不同剂量组 (25、50、100、200 mg · kg<sup>-1</sup>) 和顺铂 (cisplatin, CDDP) 5 mg · kg<sup>-1</sup> 阳性对照组, 每组 6 只。接种 24 h 后 Pae 灌胃给药, 每日 1 次, 连用 14 d; 模型组灌生理盐水, 每日 1 次, 连用 14 d; CDDP 阳性对照组腹腔注射给药每周 2 次, 共 2 wk。给药结束次日处死裸鼠, 剥离瘤体称瘤重。按下列公式计算抑瘤率。

抑瘤率/% = (对照组瘤重 - 用药组瘤重) / 对照组瘤重 × 100%

**1.4 原位细胞凋亡检测** 参照 TUNEL 检测说明书, 组织切片逐级脱蜡、水化、蛋白酶 K 消化后, 分别与 TUNEL 反应混合液及转化剂 POD 37℃ 孵育, DAB 显色, 对比染色, 脱水、透明后封片观察。实验同时设阳性和阴性对照, 普通光镜下观察, 随机选取

5 个高倍视野, 计数 1 000 个细胞, 计算阳性细胞数占肿瘤细胞的百分比值, 作为凋亡指数 (apoptosis index, AI)。

### 1.5 免疫组化法检测移植瘤 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 表达

石蜡切片常规脱蜡, 梯度水化。免疫组化 S-P 法步骤按试剂盒操作说明书进行, DAB 显色, 苏木精复染, 中性树胶封片。在 100 倍光学显微镜下观察, 随机选择 5 个视野, 采用 JEOA801D 6.0 图像分析软件测定阳性细胞的平均光密度 (OD) 值。

**1.6 统计学处理** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 Pae 对人 Eca-109 食管癌裸鼠移植瘤的抑制作用

Pae 在 25 mg · kg<sup>-1</sup> 剂量时抑瘤率为 10.67%, 与模型组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。Pae 在 50、100、200 mg · kg<sup>-1</sup> 剂量时, 抑瘤率分别为 23.54%、27.91% 和 34.46%。阳性对照组的抑瘤率为 58.71%, 上述 4 组与模型组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ , Tab 1)。实验过程中, 各组裸鼠均无死亡。

Tab 1 Inhibition of tumor growth by Pae and cisplatin in BALB/c nude mice ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Group	Dose/mg · kg <sup>-1</sup>	Tumor weight/g	Inhibitory rate/%
Control	-	0.412 ± 0.061	-
Pae	25	0.368 ± 0.036	10.67
	50	0.315 ± 0.074 *	23.54
	100	0.297 ± 0.094 *	27.91
	200	0.270 ± 0.099 **	34.46
CDDP	5	0.170 ± 0.033 **	58.71

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

**2.2 Pae 对裸鼠移植瘤细胞凋亡的影响** 光镜下可见模型组有少许细胞核深染为棕褐色的凋亡细胞。Pae 各剂量组凋亡细胞明显增多, 呈散在或片状分布, 凋亡细胞明显核固缩, 致密, 为棕褐色, 多叶状或新月状颗粒, 常聚集在核周边, 非凋亡细胞的核呈蓝色。模型组的凋亡指数为 (4.81 ± 0.83)%。Pae 不同剂量组的凋亡指数分别为 (11.02 ± 2.58)%、(19.80 ± 2.77)%、(24.48 ± 4.35)% 和 (27.13 ± 4.39)%。用药组与对模型组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ , Tab 2)。

### 2.3 Pae 对裸鼠移植瘤组织 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 表达的影响

COX-2、Bcl-2 和 Survivin 阳性染色主要位于肿瘤细胞胞质中, 呈黄色或棕褐色, 部分胞膜亦可见染色。Pae 作用后 COX-2、Bcl-2 和 Survivin 的表达减低, 且随着 Pae 剂量的递增, COX-2、Bcl-2 和 Survivin 表达的阳性细胞数和染色

Tab 2 Effect of Pae on Eca-109 transplanting tumor apoptosis and the expressions of COX-2, Bcl-2 and Survivin in different groups ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Group	Dose/mg · kg <sup>-1</sup>	Apoptosis index/%	COX-2(OD)	Bcl-2(OD)	Survivin(OD)
Control	-	4.81 ± 0.83	0.347 ± 0.051	0.326 ± 0.014	0.302 ± 0.053
Pae	25	11.02 ± 2.58*	0.306 ± 0.019*	0.294 ± 0.016	0.270 ± 0.025*
	50	19.80 ± 2.77**	0.285 ± 0.014*	0.284 ± 0.021	0.252 ± 0.027*
	100	24.48 ± 4.35**	0.264 ± 0.055**	0.257 ± 0.014*	0.227 ± 0.040**
	200	27.13 ± 4.39**	0.238 ± 0.028**	0.254 ± 0.013*	0.196 ± 0.016**

\**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01 vs control group

强度逐渐下降,与模型组比较差异均具有显著性(*P* < 0.05 or *P* < 0.01)。见 Fig 1、Tab 2。

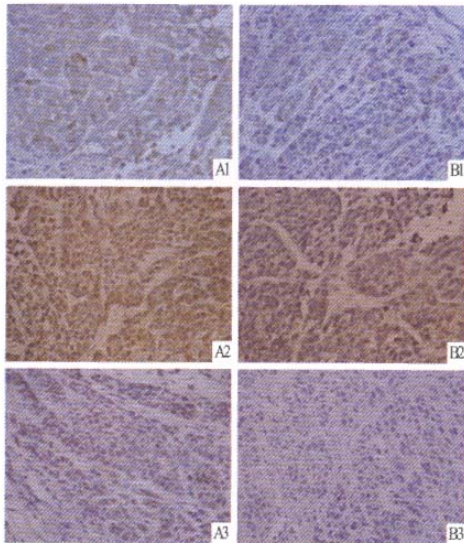


Fig 1 Expressions of COX-2, Bcl-2 and Survivin in Pae groups detected by immunohistochemistry examination (SP × 400)

A1, A2, A3: Control group; B1: Expression of COX-2 with Pae 100 mg · kg<sup>-1</sup>; B2: Expression of Bcl-2 with Pae 100 mg · kg<sup>-1</sup>; B3: Expression of survivin with Pae 100 mg · kg<sup>-1</sup>

### 3 讨论

从天然植物中筛选抗肿瘤药物一直是抗肿瘤药物研究的热点。本研究发现, Pae 具有明显的抗食管肿瘤作用, 在 50、100、200 mg · kg<sup>-1</sup> 剂量时, Pae 的抑瘤率分别为 23.54%、27.91% 和 34.46%。诱导凋亡是抗肿瘤药物发挥重要作用的机制, 凋亡的调控过程相当复杂, 涉及多基因、多分子的相互作用。我们在前期研究中发现 Pae 可通过诱导凋亡在体内外发挥抗肿瘤作用, 但机制仍不十分清楚。本研究发现, Pae 不仅能有效抑制人 Eca-109 食管癌裸鼠移植瘤组织的生长, 诱导其凋亡且在一定程度上抑制 COX-2 的表达, 随着剂量的增加, 抑制作用增强。提示, 抑制 COX-2 的表达可能是 Pae 诱导凋亡, 抑制肿瘤生长中发挥了重要作用。

Bcl-2 是 Tsujimoto 等<sup>[10]</sup> (1985 年) 在类滤泡性

淋巴瘤 t 断裂点发现的一类重要的凋亡抑制基因。Bcl-2 可通过组织线粒体膜上通透性孔道的开放, 干扰细胞色素 C 的活性, 从而在上游阻断 Caspase 蛋白酶连锁反应的激活而抑制凋亡。Survivin 是 1997 年 Ambrosini<sup>[11]</sup> 等发现的凋亡抑制蛋白家族 (inhibitor of apoptosis protein, IAP) 中的成员, 是迄今发现最强的凋亡抑制因子。Survivin 能够阻断生长因子和一些抗肿瘤药物诱导的细胞凋亡, 其机制与直接抑制由线粒体释放的细胞色素 C 以及各种途径激活的 Caspase-3 和 Caspase-7 等蛋白活性有关。本研究发现随着 Pae 剂量的提高, Bcl-2 和 Survivin 表达下降, 细胞凋亡指数升高, 表明 Pae 诱导凋亡可能与抑制 Bcl-2 和 Survivin 的表达有关。

研究认为, 过度表达 COX-2 可增加其产物 PGE<sub>2</sub> 含量, 上调 Bcl-2 水平抵抗凋亡<sup>[12]</sup>, 也可通过 PGE<sub>2</sub> 上调细胞内第二信使 cAMP 水平, 促进 IAPs 的表达, 来发挥抗凋亡作用<sup>[13]</sup>。张林西等<sup>[7]</sup> 研究发现, 阿斯匹林体外能抑制食管癌细胞 Eca-109 增殖并诱导凋亡, 药物作用后 COX-2 酶活性被抑制, PGE<sub>2</sub> 量减少, Bcl-2 表达降低。Yamanaka 等<sup>[14]</sup> 用 COX-2 高选择抑制剂 NS398 作用于肝癌细胞系 SK-Hep1 后, 发现凋亡抑制蛋白 Survivin、XIAP 的表达下降, 细胞的凋亡增加。本研究发现, Pae 在下调人 Eca-109 食管癌裸鼠移植瘤组织 COX-2 表达的同时伴有 Bcl-2 和 Survivin 的表达下降, 因此我们推测, Pae 作用后 Bcl-2 和 Survivin 的表达下调可能与 COX-2 的表达下调具有内在联系。

### 参考文献:

- [1] Kaufmann S H, Vaux D L. Alterations in the apoptotic machinery and their potential role in anticancer drug resistance [J]. *Oncogene*, 2003, 22(47): 7414-30.
- [2] 杨震, 孙国平, 徐淑萍, 等. 丹皮酚体内外抗人食管癌 Eca-109 细胞增殖及诱导凋亡的作用 [J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(5): 654-8.
- [2] Yang Z, Sun G P, Xu S P, et al. Studies on anti-proliferation and inducing apoptosis effects of paeonol on human esophageal cancer cell line Eca-109 *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2007, 23(5): 654-8.
- [3] 宛新安, 孙国平, 徐淑萍, 等. 丹皮酚增强顺铂对人食管癌细胞

- Eca-109 的抗肿瘤作用[J]. 安徽医科大学学报, 2007, 42(3): 306-8.
- [3] Wang X A, Sun G P, Xu S P, et al. Synergistic anti-tumor effect of paeonol and cisplatin on human esophageal cancer cell line Eca-109[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2007, 42(3): 306-8.
- [4] Zimmermann K C, Sarbia M, Weber A A, et al. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(1): 198-204.
- [5] Farrow D C, Vaughan T L, Hansten P D, et al. Use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of esophageal and gastric cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1998, 7(2): 97-102.
- [6] 张玉军, 刘淑霞, 齐凤英, 等. 戊地昔布诱导人食管癌 Eca109 细胞凋亡的机制研究[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(5): 629-33.
- [6] Zhang Y J, Liu S X, Qi F Y, et al. Induction and mechanism of valdecoxib on the apoptosis of human esophageal cancer cells[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, 22(5): 629-33.
- [7] 张林西, 金春亭, 李玉珍, 等. COX-2 抑制剂(阿司匹林)体外抑制人食管癌细胞的生长及诱导凋亡[J]. 肿瘤, 2007, 27(3): 181-5.
- [7] Zhang L X, Jin C T, Li Y Z, et al. COX-2 inhibitor (Aspirin) inhibited proliferation and induced apoptosis of human esophageal carcinoma *in vitro*[J]. *Tumor*, 2007, 27(3): 181-5.
- [8] 金春亭, 鲁 蓓, 李海军, 等. 环氧化酶-2 选择性抑制剂抑制人食管癌细胞的生长及其诱导凋亡[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(5): 440-6.
- [8] Jin C T, Lu B, Li H J, et al. Effects of cyclooxygenase-2 selective inhibitor NS-398 on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma cell lines[J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 15(5): 440-6.
- [9] 李咏梅, 杨秀荣. Survivin 与 COX-2 在食管鳞癌中的表达及其相关性研究[J]. 临床消化病杂志, 2006, 18(6): 353-5.
- [9] Li Y M, Yang X R. Study of expression of urvin and COX-2 in esophageal squamous carcinoma and their relationship[J]. *Chin J Clin Gastroenterol*, 2006, 18(6): 353-5.
- [10] Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, et al. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma [J]. *Science*. 1985, 228(4706): 1440-3.
- [11] Ambrosini G, Adida C, Altieri D C. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma[J]. *Nat Med*, 1997, 3(8): 917-21.
- [12] Sheng H, Shao J, Morrow J D, et al. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E<sub>2</sub> in human colon cancer cells [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(2): 362-6.
- [13] Nishihara H, Kizaka-Kondoh S, Insel P A, et al. Inhibition of apoptosis in normal and transformed intestinal epithelial cells by cAMP through induction of inhibitor of apoptosis protein (IAP)-2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(15): 8921-6.
- [14] Yamanaka Y, Shiraki K, Inoue T, et al. COX-2 inhibitors sensitize human hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis [J]. *Int J Mol Med*, 2006, 18(1): 41-7.

## Investigation of apoptosis mechanism of Pae on human esophageal cancer Eca-109 cell carcinoma xenograft in nude mice

LIU Si-han, SUN Guo-ping, YANG Zhen, WAN Xin-an, WANG Zhang-gui, WU Hong-yang  
(Dept of Oncology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China)

**Abstract:** **Aim** To investigate the mechanism of apoptosis on human esophageal cancer Eca-109 cell carcinoma xenograft in nude mice induced by paeonol (Pae) by detecting changes of expressions of COX-2, Bcl-2 and Survivin. **Methods** Human esophageal carcinoma Eca-109 cells were cultured *in vitro*. After the nude mice model of the subcutaneous transplanting tumor was established by human esophageal cancer Eca-109, the nude mice were randomly divided into six groups: various dosages of Pae treated groups (25, 50, 100, 200 mg · kg<sup>-1</sup>), cisplatin (CDDP) positive control group (5 mg · kg<sup>-1</sup>) and model group. After two weeks of treatment, mice were killed and the tumors were taken out to weigh. The tumor inhibitory rate was calculated. Cell apoptosis *in situ* was examined by a TUNEL assay in the samples of carcinoma. Immunohistochemistry (S-P) was used to examine the expressions of COX-2, Bcl-2 and Survivin. **Results** The growth of implanted tumor was markedly inhibited in Pae groups (50, 100, 200 mg · kg<sup>-1</sup>) and CDDP group (5 mg ·

kg<sup>-1</sup>), the inhibitory rate being 23.54%, 27.91%, 34.46%, 58.71% respectively ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). It was found that the apoptotic cells which stained yellow distributed scatterly or diffusely by TUNEL techniques. The apoptosis indexes of Pae groups were (11.02 ± 2.58)%, (19.80 ± 2.77)%, (24.48 ± 4.35)% and (27.13 ± 4.39)% respectively, which were significantly higher than (4.81 ± 0.83)% in control group ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The expressions of COX-2, Bcl-2 and Survivin in Pae groups were significantly lower than those of the control group detected by immunohistochemistry ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion** Pae could inhibit the tumor growth and induce apoptosis of human esophageal carcinoma Eca-109 *in vivo*, the mechanism of which might be related with down-regulation of COX-2, Bcl-2 and Survivin.

**Key words:** paeonol; esophageal carcinoma; Eca-109 cell; COX-2; Bcl-2; survivin

查看完整版

付费下载



---

## 【百万古籍库】

<https://www.fozhu920.com/list/>

【易】【医】【道】【武】【文】【奇】【画】【书】

1000000+ 高清古书籍

打包下载





## 【风水】风水命理资料合集\_9500 本

阴宅阳宅、风水堪舆、八字命理、手相面相、符咒卦象、奇门遁甲、紫微斗数.....



## 【中医】中华传统医学资料大全\_15000 本

针灸、推拿、正骨术、汉医、苗医、民间秘方偏方、药洒药方、祖传医术、珍本...



## 【道术】道家法术\茅山术\符咒术\气术\_3000 套

修真秘籍、丹道、道家秘术、胎息功、内丹术、茅山法术、道家符咒、巫术、...



## 【武术】传统武术与现代搏击术\_6200 册

少林、武当、太极拳、形意拳、八极拳、咏春拳、气功、散打、格斗、拳击、...



## **【集藏】经史子集库\_13300 卷**

【经史子集】楚辞、汉赋、诗集、词集、宝卷、正史、编年、别史、纪事本末、地理志...



## **【国画】传世名画 \_ 6100 卷**

唐、金、辽、宋、元、明、清 800 多位画家近 6000 多幅传世...



## **【县志】方志\地方县志\乡志\地理志\_8100 册**

府志、区志、乡志、地理志..... 此合集为全国范围地方县志\府志古籍影印电子版，...



## **【国学】中华古籍库—32 万册古籍书**

32 万册《中华古籍库》【32 万册影印古籍 + 20 多亿字，带检索器和阅读工具】包括各地方志、日本内...

**【更多】** >> <https://www.fozhu920.com/list/>