

斑蝥素引起小鼠急性膀胱炎的作用及相关机制

孙笑, 盛鸿昊, 胡晓炜, 邵好珍, 金琳, 罗广彬*, 马志涛*

(北京中医药大学 生命科学学院, 北京 100029)

[摘要] **目的:**探索斑蝥素(cantharidin, CTD)在1/2半数致死量(median lethal dose, LD₅₀)条件下灌胃引起的小鼠急性膀胱炎的病理表现及其相关机制。**方法:**取Balb/c小鼠,分为空白组与CTD给药1~14 d组。给药组分别以CTD 1/2 LD₅₀灌胃给药不同天数,空白组给予等量的0.5%的羧甲基纤维素钠溶液(CMC-Na),最后1次给药3 h后取小鼠膀胱组织,用苏木素-伊红(HE)染色法分别检测CTD给药1~14 d小鼠膀胱的病理组织学变化,用蛋白免疫印迹法(Western blot, WB)检测CTD给药1 d组小鼠的膀胱组织中炎症相关的信号通路中的蛋白表达情况。**结果:**HE染色结果表明,与空白组比较,斑蝥素给药1, 3, 8~12 d组膀胱组织病变比较明显,主要表现为黏膜上皮剥脱、黏膜上皮增生、固有层水肿或伴出血以及黏膜炎细胞浸润等组织炎症性病变。WB结果显示,与空白组相比,CTD给药1 d组,小鼠膀胱组织中磷酸化蛋白激酶B(p-Akt),蛋白激酶B(Akt)蛋白,磷酸化的核转录因子-kappa B(p-NF-κB)p65蛋白,磷酸化的核转录因子kappa B的抑制蛋白alpha(p-IκBα),IκBα蛋白表达水平上升(P<0.01)。**结论:**CTD给药3 h即可引起小鼠急性膀胱炎,且给药前7 d机体对CTD导致的膀胱损伤尚有修复能力,给药8~14 d膀胱表现出不可逆且逐渐加重的炎症性病变,Akt信号通路及NF-κB信号通路的激活与CTD引起的急性膀胱炎存在一定相关性。

[关键词] 斑蝥素; 膀胱; 炎症反应; 蛋白激酶B(Akt)信号通路; 核转录因子-kappa B(NF-κB)信号通路

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5;R96 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0049-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181616

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180523.1620.021.html>

[网络出版时间] 2018-05-24 10:21

Effect of Cantharidin in Inducing Acute Cystitis in Mice

SUN Xiao, SHENG Hong-hao, HU Xiao-wei, SHAO Hao-zhen, JIN Lin,

LUO Guang-bin*, MA Zhi-tao*

(School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the pathology and relevant mechanisms of cantharidin (CTD) in inducing acute cystitis in mice through intragastric administration under the condition of 1/2 median lethal dose (LD₅₀). **Method:** Balb/c mice were divided into control group and 1-14 day cantharidin administration groups. The administration groups were intragastrically given cantharidin at 1/2 LD₅₀ for different days, while the control group was given the same amount of 0.5% carboxymethyl cellulose sodium (CMCNa). 3 h later after the last administration, bladders of 1-14 day cantharidin administration groups were collected for pathological detection by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the bladder protein expressions of the 1 day cantharidin administration group was detected by Western blot (WB). **Result:** Compared with the control group, 1, 3, 8-12 day cantharidin administration groups showed mucosal epithelial exfoliation, mucosal epithelial hyperplasia, edema of the lamina propria with bleeding, and mucosal inflammatory cell infiltration in bladder. Western blot results showed that on the

[收稿日期] 20180126(003)

[基金项目] 北京中医药大学自主选题——特聘教授启动基金项目(1040053310002/002)

[第一作者] 孙笑, 硕士, 从事肿瘤转化医学研究, E-mail: 740193430@qq.com

[通信作者] * 罗广彬, 博士, 教授, 从事肿瘤转化医学研究, Tel: 010-64286492, E-mail: luol35@hotmail.com;

* 马志涛, 博士, 助理研究员, 从事肿瘤转化医学研究, Tel: 010-64286492, E-mail: mzht@buem.edu.cn

1st day after cantharidin administration, levels of phosphorylated protein kinase B (p-Akt), protein kinase B (Akt), p-nuclear transcription factor-kappa B (NF- κ B) p65, p-NF- κ B inhibitor α (p-I κ B α) and I κ B α increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Acute cystitis in mice can be induced by the 3 h administration with cantharidin. After 1-7 day administration with the drug, the bladder injury caused by CTD could be repaired, but the bladder showed an irreversible and gradually aggravated inflammatory lesion on the 8-14 day. The activation of Akt signaling pathway and NF- κ B signaling pathway is related to CTD-induced acute cystitis.

[Key words] cantharidin; bladder; inflammation; rotein kinase B (Akt) signaling pathway; nuclear transcription factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway

斑蝥为鞘翅目芫青科昆虫南方大斑蝥 *Mylabrisphalerata* 或黄黑小斑蝥 *Mylabrischichorii* 的干燥虫体,国内外药用历史已有 2 000 多年。南宋杨士瀛的《仁斋直指方论》第一次明确地记载了斑蝥有治疗乳癌及腹部癌的作用。斑蝥的天然提取物斑蝥素(CTD)是倍半萜类毒素,为有效抗肿瘤成分,可用于乳腺癌^[1],结直肠癌^[2],胰腺癌^[3],肝癌^[4],肾癌^[5]和膀胱癌^[6]等多种癌症的治疗。此外,CTD 还具有调节免疫^[7],抗真菌^[8],抗氧化损伤^[9]等作用。CTD 制剂对恶性肿瘤晚期治疗效果尤佳。当前临床癌症治疗中,抗癌药物对细胞毒性缺乏选择性,且肿瘤细胞易产生耐药性,因而导致肿瘤治疗效果欠佳。近年来,中药抗肿瘤优势逐渐凸显,CTD 类药物联合化疗治疗,可提高恶性肿瘤患者的短期化疗效果,减轻化疗导致的白细胞降低及胃肠道刺激症,如复方斑蝥胶囊联合化疗治疗老年晚期胃癌中,患者的短期治疗率升高、生活质量提高、白细胞减少情况降低^[10-12];艾迪注射液联合化疗治疗晚期胃癌^[13],肺癌^[14],卵巢癌^[15],结肠癌^[16]等临床疗效显著,不良反应较小,患者生活质量提高。虽然 CTD 类制剂在抗肿瘤治疗中疗效显著,但其毒副作用较多。CTD 毒副作用中强烈的泌尿系统刺激反应和消化道刺激症状,是其临床应用受限制的主要原因^[17]。研究显示斑蝥乙醇提取物经环糊精包合后可以降低斑蝥的结直肠刺激性,且不影响药效^[18]。因减轻 CTD 的消化系统刺激症状已有研究,本文重点研究 CTD 对泌尿系统的刺激。本文通过研究 CTD 在 1/2 半数致死量(1/2LD₅₀)浓度下对小鼠膀胱的急性刺激性,探究 CTD 导致急性膀胱炎的生物学基础机制,为寻找减弱甚至消除 CTD 膀胱刺激性研究提供思路。

1 材料

1.1 动物 SPF 级别 6 周龄正常雌性 Balb/c 小鼠 120 只,体质量(15 ± 3)g,购买于北京市斯贝福实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2016-

0002。小鼠饲养于北京中医药大学 SPF 级动物房,经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准(批号 2015BZHLL0201)。

1.2 试剂 CTD(成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-16030502);羧甲基纤维素钠(CMC-Na,国药集团化学试剂有限公司,批号 20140520);蛋白磷酸酶抑制剂混合物(普利莱基因技术有限公司,批号 PLL-2017-07); β -肌动蛋白(β -actin),蛋白激酶 B (Akt),磷酸化蛋白激酶 B (p-Akt),核转录因子(NF)- κ B p65,磷酸化 NF- κ B p65 (p-NF- κ B p65),NF- κ B 抑制蛋白 α (I κ B α),磷酸化 I κ B α (p-I κ B α),B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)单克隆抗体(美国 Cell Signaling 公司,批号分别为 4967S,4961S,13038S,6956S,3033S,4812S,9246S,15071S,2774S);前体-半胱氨酸蛋白酶-3 (pro-Caspase-3)单克隆抗体(中国 Epitomics 公司,批号 YH0926);RIPA 裂解液(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司,批号 9048-46-8)。

1.3 仪器 IX81 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);165-8001 型垂直电泳槽,170-3940 型半干电转印仪,PowerPac™ Basic 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);Azure c600 型多功能分子成像系统(美国 Azure Biosystems 公司)。

2 方法

2.1 药品溶液制备 准确称量 CMC-Na 5 g,溶解于蒸馏水 1 L 中,加热溶解,制备 0.5% 的 CMC-Na 溶液。将 CTD 20 mg 溶解于 0.5% 的 CMC-Na 溶液中,超声混匀,制备成 4 g·L⁻¹ 的混悬液,4 °C 保存。

2.2 分组及给药 小鼠适应性喂养 1 周,取 120 只,随机分成 15 组,每组 8 只,分为空白组与 CTD 给药 1 ~ 14 d 组。据本课题组前期研究发现以 1/2LD₅₀ 剂量 CTD(即 1 mg·kg⁻¹)连续给药 14 d,小鼠膀胱出现移行上皮水肿伴脱落新生等炎症性反应^[19]。为进一步明确小鼠膀胱的病理变化过程,本文做了以 1/2 LD₅₀ 剂量 CTD 分别灌胃给药 1 ~ 14 d 的小鼠膀胱病

理。给药组分别以不同天数灌胃给药 $1/2 LD_{50}$ 剂量 CTD $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 空白组给予等量的 0.5% CMC-Na 溶液。最后一次给药 3 h 后处死小鼠取膀胱组织做病理切片, 提取小鼠膀胱组织蛋白备用。

2.3 组织病理学检测 小鼠膀胱组织用 4% 多聚甲醛固定 48 h, 乙醇脱水, 石蜡包埋, 制成 $3 \mu\text{m}$ 的切片。60 °C 烤片 3 h, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 脱蜡到水, 苏木素染核 10 min, 盐酸分色液分化 3 s, 自来水返蓝 15 min, 伊红溶液染色 5 min, 水洗, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 最后用中性树脂封片, 晾干。显微镜下观察组织病理学改变。炎症细胞浸润评分按照以下标准, 轻度, 黏膜下层中出现散在的炎症细胞浸润 (< 100 个/ mm^2); 中度, 肌层中出现炎症细胞的片状聚集, 但不伴有上皮组织的破坏或淋巴样小结形成 ($100 \sim 500$ 个/ mm^2); 重度, 肌层中炎症细胞呈片状聚集, 伴有上皮组织的破坏或淋巴样小结形成 (> 500 个/ mm^2)^[20]。

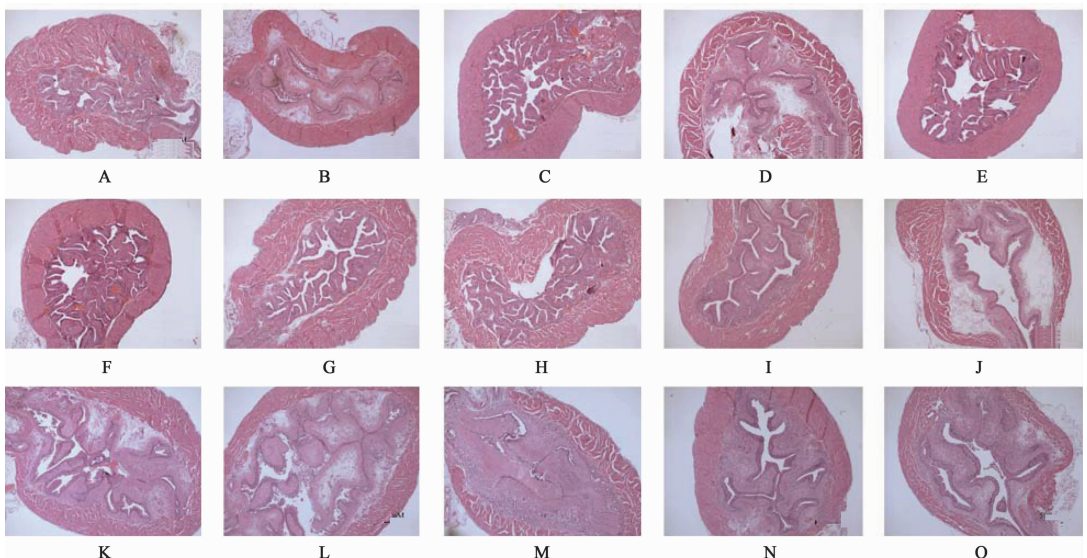
2.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测相关蛋白 脱颈处死小鼠后腹主动脉放血, 无菌操作法摘取小鼠膀胱, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 漂洗后加入 RIPA 蛋白裂解液 200 μL 中研磨充分, 冰上放置 10 min 后吸取蛋白溶液 100 μL , 蛋白变性, 置于 -20 °C 保存。配制 10% 聚丙烯酰胺凝胶, 上样, 150 V 电泳至溴酚蓝色带接近凝胶底部, 半干法转移蛋白至硝酸纤维素膜, quickblock 封闭液封闭 15 min, 一抗 (1:1 000) 4 °C 孵育过夜, 洗膜, 二抗 (1:7 500) 室温孵育 1 h 后洗膜, 以 ECL 法显色、显影, 用 Image J 软

件进行灰度值分析。因每张膜上蛋白的上样量、曝光时间等因素不一致, 造成不同膜上目的蛋白与内参蛋白的比值并不一致, 因此将所有膜上蛋白的比值以空白组的均值为参考, 进行均一化, 从而排除不同膜所带来的差异, 单纯考察给药组和空白组之间蛋白表达量的比例关系, 即蛋白的相对定量。因此, 空白组的均值恒为 1。

2.5 统计学方法 使用 SPSS 20.0 数据分析软件对数据进行统计学分析, 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用独立样本 *t* 检验方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 CTD 给药后小鼠膀胱组织病理变化的影响 以 $1/2 LD_{50}$ 剂量 CTD 分别灌胃给药不同天数, 最后 1 d 给药后 3 h 取小鼠膀胱做病理检测。结果显示, 与空白组相比, CTD 给药 1 d 组, 即给药 3 h 后, 小鼠膀胱发生急性炎症性病变, 具体表现为黏膜固有层增厚水肿剧烈、黏膜上皮剥脱、黏膜上皮增生、黏膜固有层出血。CTD 给药 2 d 组, 膀胱病理改变大幅度修复, 仅有少量黏膜上皮剥脱。CTD 给药 3 d 组, 膀胱病理炎症性改变再次出现, 程度较 1 d 组稍有加重, 黏膜伴少量炎症细胞浸润。CTD 给药 4 ~ 7 d 组膀胱组织炎症性病变再次修复。CTD 给药 8 ~ 14 d 组, 膀胱病理炎症性改变再次出现, 且持续加重, 主要表现为黏膜上皮剥脱、黏膜上皮增生、固有层水肿或伴出血坏死, 黏膜炎细胞浸润等组织炎症性病变。见图 1, 2, 表 1。



A. 空白组; B ~ O. CTD 给药 1 ~ 14 d 组 (图 2 同)

图 1 CTD 给药后对小鼠膀胱病理变化的影响 (HE, $\times 40$)

Fig. 1 Pathological changes of bladder in mice after CTD administration (HE, $\times 40$)

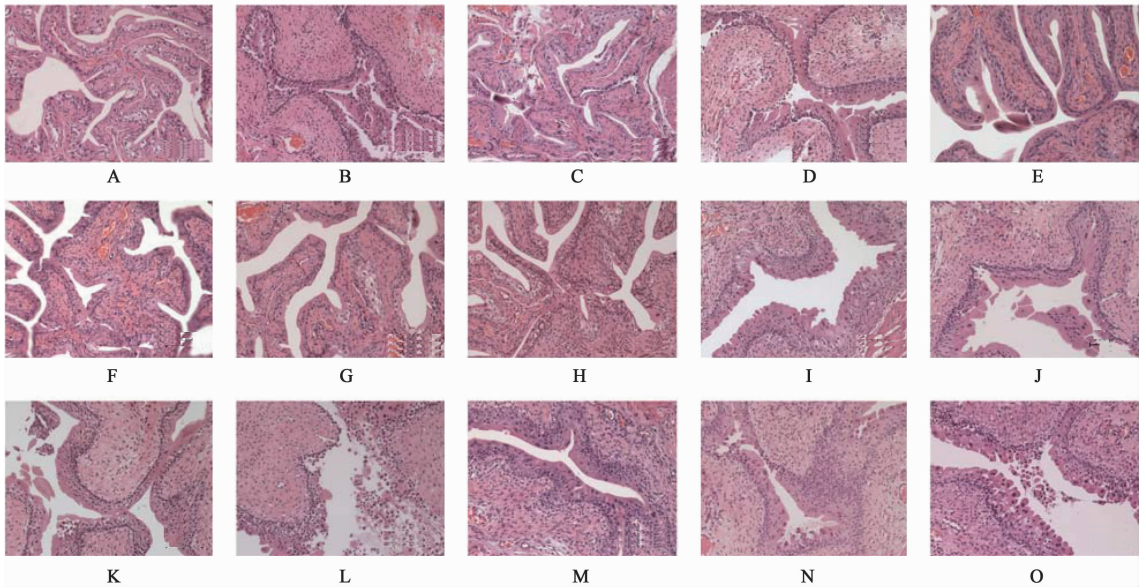


图 2 CTD 对小鼠膀胱病理变化的影响 (HE, ×200)

Fig.2 Pathological changes of bladder in mice after CTD administration(HE, ×200)

表 1 CTD 1 mg·kg⁻¹ 对小鼠膀胱病理变化的影响 (n=8)

Table 1 Semi-quantitative analysis of pathological changes of bladder in mice after 1 mg·kg⁻¹ CTD administration (n=8)

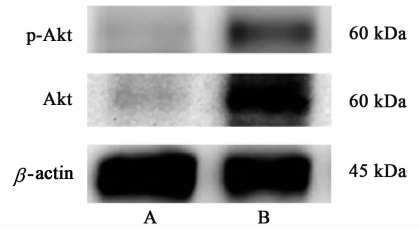
组别	给药 天数 /d	黏膜 上皮 剥脱	黏膜 上皮 增生	黏膜 固有层 增厚或 伴水肿	黏膜 固有层 出血	黏膜炎 细胞 浸润	其他
空白	-	-	-	-	-	-	-
CTD	1	++	+	++	+	-	-
	2	+	-	-	-	-	-
	3	++	+	+++	+	+	-
	4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	+	-
	7	-	-	-	-	+	-
	8	++	++	++	-	-	-
	9	+	++	+++	++	+	-
	10	+	++	++	++	-	-
	11	+++	++	+++	-	++	-
	12	+++	++	++ ¹⁾	-	+	++ ²⁾ , + ³⁾
	13	-	++	++	-	+	-
	14	+++	++	++	-	+	-

注: - . 无变化; + . 病变轻度; ++ . 病变中度; +++ . 病变重度;

¹⁾ 伴血管增生; ²⁾ 局部黏膜坏死; ³⁾ 局部炎症侵及肌层。

3.2 CTD 对小鼠膀胱 p-Akt, Akt 蛋白表达的影响

以上检测结果显示,CTD 给药后 3 h 即出现急性膀胱炎。因此,后续实验选取 CTD 给药 1 d 组进行实验。结果显示,与空白组相比,CTD 给药 1 d 组的小鼠膀胱组织中 p-Akt, Akt 表达水平显著上升 ($P < 0.01$)。CTD 可引起膀胱 PI3K/Akt 信号通路激活。见图 3, 表 2。



A. 空白组; B. CTD 给药 1 d 组 (图 4, 5 同)

图 3 CTD 治疗后小鼠膀胱中 p-Akt 和 Akt 蛋白表达电泳

Fig.3 Electrophoresis of CTD on Akt signaling pathway in bladder of mice

表 2 CTD 对小鼠膀胱中 p-Akt 和 Akt 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

Table 2 Effect of CTD on Akt signaling pathway in bladder of mice ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	p-Akt /β-actin	Akt /β-actin
空白	-	1.00 ± 0.22	1.00 ± 0.62
CTD	1	2.89 ± 1.11 ¹⁾	5.06 ± 2.22 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

3.3 CTD 对小鼠膀胱 NF-κB 信号通路活性的影响

与空白组相比,CTD 给药 1 d 组的小鼠膀胱组织中 p-IκBα, IκBα, p-NF-κB p65 水平显著上升 ($P < 0.01$), NF-κB p65 蛋白总量无明显变化。CTD 可引起膀胱 NF-κB 信号通路激活。见图 4, 表 3。

3.4 CTD 对小鼠膀胱细胞凋亡影响

与空白组相比,CTD 给药 1 d 组,小鼠膀胱组织中 Bax, Bcl-2, pro-Caspase-3 蛋白水平基本不变。CTD 给药 3 h

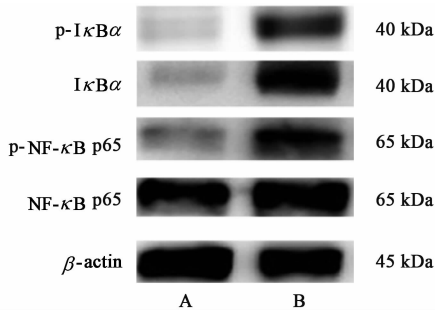


图 4 CTD 治疗后小鼠膀胱中 NF-κB 信号通路蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of CTD on NF-κB signaling pathway in bladder of mice

表 3 CTD 对小鼠膀胱中 NF-κB 信号通路活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3 Effect of CTD on NF-κB signaling pathway in bladder of mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	p-IκBα /β-actin	IκBα /β-actin	p-NF-κB p65/β-actin	NF-κB p65/β-actin
空白	-	1.00 ± 0.33	1.00 ± 0.18	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.91
CTD	1	3.51 ± 0.85 ¹⁾	2.86 ± 1.07 ¹⁾	2.55 ± 1.04 ¹⁾	0.96 ± 0.38

引起的急性膀胱炎可能与细胞凋亡关系不大,需要进一步实验的验证。见图 5,表 4。

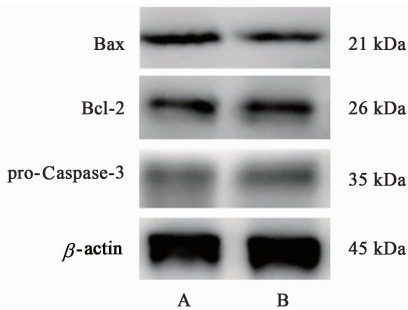


图 5 CTD 治疗后小鼠膀胱细胞凋亡通路蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of CTD on apoptosis pathway of bladder cells in mice

表 4 CTD 对小鼠膀胱细胞凋亡通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 4 Effect of CTD on apoptosis pathway of bladder cells in mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	Bax /β-actin	Bcl-2 /β-actin	pro-Caspase-3 /β-actin
空白	-	1.00 ± 0.07	1.00 ± 0.34	1.00 ± 0.45
CTD	1	0.96 ± 0.28	0.98 ± 0.27	0.87 ± 0.22

4 讨论

中医应用斑蝥治疗肿瘤有悠久历史。其抗癌有效成分 CTD 对多种癌症均有治疗效果,对于原发性肝癌疗效尤佳,但因其泌尿道消化道刺激症状的副作用而使其临床应用受到限制。近年来研究者通过

化学修饰、合成等手段开发出去甲斑蝥素^[17],但去甲斑蝥素虽降低膀胱刺激性却增加了肝肾毒性^[19]。因此,寻找降低 CTD 膀胱刺激性的方法仍是 CTD 更好地在临床上应用的关键,最重要的是研究清楚 CTD 膀胱毒性机制。

研究发现,CTD 给药 1 d 组,即给药 3 h 后,小鼠膀胱即发生急性炎症性病变,具体表现为黏膜固有层增厚水肿、黏膜上皮剥脱、黏膜上皮增生、黏膜固有层出血,给药前 7 d 机体对 CTD 导致的膀胱损伤尚有修复能力,给药 8 ~ 14 d 膀胱表现出不可逆且逐渐加重的炎症性病变。因 CTD 给药 1, 3, 8 ~ 14 d 组膀胱病理改变大致相同,基于节约实验动物的考虑,故本文选择对 CTD 给药 1 d 组的膀胱组织相关蛋白的表达情况进行研究。

Akt 信号通路在细胞中具有重要作用,其下游与细胞的存活、增殖、周期、凋亡、炎症反应等多种生物学过程相关^[21]。其中,NF-κB 信号通路又是其重要的下游信号^[22],抑制 Akt 的活性可降低 NF-κB p65 的磷酸化水平^[23]。活化的 NF-κB 二聚体 p50/p65 入核后能启动多种炎症因子的表达,促进组织和细胞发生炎症反应^[23]。本研究对膀胱组织 Akt, NF-κB 信号通路研究发现,CTD 给药激活了这两条信号通路。CTD 是一种蛋白磷酸酶 (PP2A) 抑制剂^[24-25]。PP2A 是一种重要的蛋白磷酸酶,主要通过去磷酸化相关蛋白而调控多条信号通路的活化状态。因此,本研究推测,CTD 的作用可能是通过抑制 PP2A 的活性,进而抑制 Akt, NF-κB 蛋白去磷酸化,使得 Akt, NF-κB 信号通路过度激活^[26],进而影响小鼠膀胱状况。而 IκBα 蛋白表达量上升,可能是由于激活的 NF-κB p65 蛋白入核启动 IκBα 基因的转录,从而形成负反馈机制,抑制 NF-κB 信号通路的持续活化^[27]。

诱导凋亡是多种药物抗癌的重要机制,有关 CTD 对肿瘤细胞凋亡的影响也见有报道^[28]。本次研究用 Western blot 检测了 CTD 给药 1 d 组小鼠膀胱的蛋白中凋亡相关蛋白的表达情况,结果发现 CTD 给药 1 d 对 Bax/Bcl-2 等凋亡相关蛋白无显著影响。综上,本研究认为 CTD 引起急性膀胱炎的过程中 Akt 及 NF-κB 信号通路具有重要作用。

[参考文献]

[1] SHOU L M, ZHANG Q Y, LI W, et al. Cantharidin and norcantharidin inhibit the ability of MCF-7 cells to adhere to platelets via protein kinase C pathway-

- dependent downregulation of alpha2 integrin[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(3):1059-1066.
- [2] HUANG W W, Ko S W, Tsai H Y, et al. Cantharidin induces G₂/M phase arrest and apoptosis in human colorectal cancer colo 205 cells through inhibition of CDK1 activity and caspase-dependent signaling pathways [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(4):1067-1073.
- [3] LI W, XIE L, CHEN Z, et al. Cantharidin, a potent and selective PP2A inhibitor, induces an oxidative stress-independent growth inhibition of pancreatic cancer cells through G₂/M cell-cycle arrest and apoptosis[J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(5):1226-1233.
- [4] 曾瑶波, 刘晓玲, 李创军, 等. 斑蝥化学成分及体外抗肿瘤活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(5):859-863.
- [5] REN Y, ZHANG S W, XIE Z H, et al. Cantharidin induces G₂/M arrest and triggers apoptosis in renal cell carcinoma [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(6):5614-5618.
- [6] KUO J H, CHU Y L, YANG J S, et al. Cantharidin induces apoptosis in human bladder cancer TSGH 8301 cells through mitochondria-dependent signal pathways [J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(5):1243-1250.
- [7] 周阿高, 张勇, 孔德云, 等. 斑蝥合剂对 H22 肝癌小鼠的抑瘤及免疫调节作用[J]. *中西医结合学报*, 2006, 4(5):504-508.
- [8] 徐春东, 陆钢. 去甲斑蝥素对皮肤致病真菌的药敏实验[J]. *中国兽医杂志*, 2000, 26(3):33-34.
- [9] 高振梅, 万颀, 王芮, 等. 斑蝥素抑制 NIH/3T3 细胞增殖对防治器官组织纤维化的作用[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(2):294-295.
- [10] 李莹, 王季堃, 李巍. 复方斑蝥胶囊联合化疗治疗老年晚期胃癌的疗效观察[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(10):115-117.
- [11] 吕晓明, 胡玲. 复方斑蝥胶囊联合化疗治疗老年晚期胃癌的疗效观察[J]. *河北中医*, 2013, 35(10):1540-1542.
- [12] 朱桂平. 复方斑蝥胶囊联合化疗治疗老年晚期胃癌的疗效观察[J]. *中国医药指南*, 2016, 14(2):178-179.
- [13] 段锋. 艾迪注射液联合化疗方案治疗晚期胃癌疗效观察[J]. *临床合理用药杂志*, 2016, 9(2):55-56.
- [14] 王晋蕊. 艾迪注射液联合含铂化疗在晚期非小细胞肺癌治疗中的效果[J]. *现代养生*, 2015, 8(12):36-37.
- [15] 路琳. 艾迪注射液联合化疗对晚期卵巢恶性肿瘤患者的临床疗效[J]. *中国民康医学*, 2016, 28(1):76-77, 120.
- [16] 杜芳, 王德林, 曹玉娟, 等. 晚期结直肠癌在化疗联合艾迪注射液治疗的效果观察[J]. *中医临床研究*, 2015, 7(33):129-130.
- [17] 邓恺文, 封艳艳, 金琳, 等. 去甲斑蝥素对 12 类主要人类癌症细胞株生长状态的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(15):103-111.
- [18] 安琳娜, 党云洁, 朱春燕. 斑蝥素 β-环糊精包合物的研究[J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44(13):1002-1004.
- [19] 范潇婷, 于睿鹏, 董瑞娟, 等. 斑蝥素及去甲斑蝥素对小鼠毒性靶器官的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(15):118-123.
- [20] 刘柏隆, 陈雪莲, 湛海伦, 等. 间质性膀胱炎的炎症分级与神经纤维密度及临床症状的关系[J]. *中华腔镜泌尿外科杂志:电子版*, 2014, 8(3):171-174.
- [21] WANG Q, CHEN X, Hay N. Akt as a target for cancer therapy; more is not always better (lessons from studies in mice) [J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(2):159-163.
- [22] Arbibe L, Mira J P, Teusch N, et al. Toll-like receptor 2-mediated NF-kappa B activation requires a Rac1-dependent pathway [J]. *Nat Immunol*, 2001, 1(6):533-540.
- [23] ZHAO Q, QIAN Y, LI R, et al. Norcantharidin facilitates LPS-mediated immune responses by up-regulation of AKT/NF-kappaB signaling in macrophages [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9):e44956.
- [24] Didonato J A, Mercurio F, Karin M. NF-kappaB and the link between inflammation and cancer [J]. *Immunol Rev*, 2012, 246(1):379-400.
- [25] Honkanen R E. Cantharidin, another natural toxin that inhibits the activity of serine/threonine protein phosphatases types 1 and 2A [J]. *FEBS Lett*, 1993, 330(3):283-286.
- [26] Andrabi S, Gjoerup O V, Kean J A, et al. Protein phosphatase 2A regulates life and death decisions via Akt in a context-dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(48):19011-19016.
- [27] SUN S C, Ganchi P A, Ballard D W, et al. NF-kappa B controls expression of inhibitor I kappa B alpha: evidence for an inducible autoregulatory pathway [J]. *Science*, 1993, 259(5103):1912-1915.
- [28] 张卫东, 赵惠儒, 阎影, 等. 斑蝥素诱导人肺癌 A549 细胞凋亡及其分子机制的研究[J]. *中华肿瘤杂志*, 2005, 27(6):330-334.

[责任编辑 张丰丰]