

斑蝥素引起小鼠急性中毒的器官损伤

邵好珍, 马齐襄, 胡晓炜, 张鑫, 封艳艳, 孙笑, 金琳, 隋彤彤, 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:**通过建立斑蝥素(cantharidin, CTD)诱导小鼠急性毒性模型,比较CTD急性毒性剂量给药后小鼠各器官损伤情况,探究CTD引起小鼠急性毒性的靶向器官及可能机制。**方法:**取Balb/c小鼠,CTD梯度剂量(2,3,4 mg·kg⁻¹)一次性灌胃给药,观察小鼠的生存状态,并获得CTD急性毒性剂量和最佳取材时间。根据以上结果,以CTD急性毒性剂量给药,3 h后使用戊巴比妥钠对小鼠进行麻醉后检测心电图,取血清检测丙氨酸氨基转移酶、门冬氨酸氨基转移酶、尿素氮、乳酸脱氢酶、肌酸激酶、心肌肌钙蛋白的浓度。取心、肝、肾、肠通过苏木素-伊红(HE)染色进行组织病理学观察分析。**结果:**与正常组小鼠相比,给药组小鼠不同剂量CTD给药后,小鼠的中毒反应随剂量升高而增大,CTD急性毒性剂量为4 mg·kg⁻¹,平均死亡时间为(4.64 ± 1.33)h。与正常组小鼠相比,CTD组急性毒性剂量给药后小鼠心电图出现异常J点上移,心率趋缓。血清中丙氨酸氨基转移酶、门冬氨酸氨基转移酶、尿素氮、心肌肌钙蛋白均明显升高($P < 0.05$),肌酸激酶、乳酸脱氢酶显著升高($P < 0.01$);HE病理染色显示,与正常组相比,CTD组急性毒性剂量给药后引起小鼠小肠、肝脏、肾脏损伤不明显,心脏出现炎症细胞浸润、心肌纤维结构紊乱,心肌间质充血及点状坏死,损伤严重。**结论:**心脏是CTD引起小鼠急性毒性关键靶向器官。

[关键词] 斑蝥素;急性毒性;心脏损伤;丙氨酸氨基转移酶;门冬氨酸氨基转移酶;尿素氮;心肌肌钙蛋白

[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)16-0055-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181617

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180523.1433.008.html>

[网络出版时间] 2018-05-25 9:26

Target Organ for Acute Toxicity of Cantharidin

SHAO Hao-zhen, MA Qi-xiang, HU Xiao-wei, ZHANG Xin, FENG Yan-yan, SUN Xiao,
JIN Lin, SUI Tong-tong, LUO Guang-bin*, MA Zhi-tao*
(School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the target organ for the acute toxicity of cantharidin (CTD) by establishing a cantharidin-inducing acute failure mouse model. **Method:** Balb/c mice were treated with different doses of cantharidin (2, 3, 4 mg·kg⁻¹), and their activities were speculated. After that, the remaining mice were treated with the acute toxic dose by gavage for 3 hours, their blood samples were collected for biochemical analyses, and tissue samples were collected from livers, intestines, kidneys, and hearts for histopathological analyses. For another group, CTD was measured after treatment with 4 mg·kg⁻¹ cantharidin for 3 h, and animals were anaesthetized with pentobarbital sodium. **Result:** Compared with the control group, poisoning response of the CTD mice deteriorated with the increase of concentration. The acute toxicity dose of CTD was 4 mg·kg⁻¹, and the average death time was (4.64 ± 1.33) h. After the administration at the acute toxicity dose, compared with control group, ECG of the mice showed abnormally upward J point and slowdown in heart rate. Cantharidin led to significant increases in the levels of alanine aminotransferase (ALT) ($P < 0.05$), aspartate aminotransferase

[收稿日期] 20180126 (07)

[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] 邵好珍, 硕士, 从事肿瘤转化医学研究, E-mail: haozhen0608@163.com

[通信作者] * 罗广彬, 博士, 教授, 从事肿瘤转化医学研究, Tel: 010-64286526, 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: 010-64286526, E-mail: mzh@buem.edu.cn

(AST) ($P < 0.05$), ream nitrogen (BUN) ($P < 0.05$), creatine kinase (CK) ($P < 0.01$), lactate dehydrogenase (LDH) ($P < 0.01$), and cardiac troponin (cTn) ($P < 0.05$). Cantharidin caused inflammatory cell infiltration and myocardial injury in heart. **Conclusion:** Heart is the target organ of cantharidin at the acute toxic dose. Cantharidin could induce myocardial injury and cardiac structural damage.

[Key words] cantharidin; acute toxicity; cardiac damage; alanine aminotransferase (ALT); aspartate aminotransferase (AST); urea nitrogen (BUN); creatine kinase (CK)

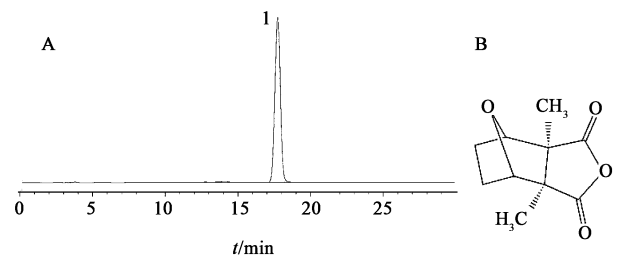
原发性肝癌是最常见的恶性肿瘤之一,世界范围内肝癌发病率呈上升趋势^[1]。由于肝癌发现时大部分已属于中晚期,无法进行手术切除,索拉非尼(Sorafenib)成为晚期肝癌治疗首选药物,但临床应用发现患者易产生耐药及不良反应^[2]。因此,开发新的晚期肝癌治疗药物迫在眉睫。斑蝥是芫青科昆虫黄黑小斑蝥或南方大斑蝥的干燥体,是传统的抗肿瘤中药,其抗肿瘤应用最早可追溯到南宋时期^[3]。近年来,临床报导有人误食斑蝥后中毒死亡,其尸检报告显示斑蝥对该个体以消化系统毒性反应为主,会导致呼吸循环系统衰竭,皮肤、胃肠道、消化道刺激腐蚀非常大^[4]。近些年研究发现,斑蝥素(cantharidin, CTD)是斑蝥抗肿瘤作用的有效成分,对肝癌等消化系统肿瘤具有明显的抑制效果^[5]。但目前临床用药剂量范围的 CTD 给药引起患者泌尿系统毒性以及消化道毒性,严重限制其临床应用^[6]。因此,CTD 药物毒性研究对解决 CTD 临床应用毒副作用问题显得至关重要。肖翹^[7]研究显示斑蝥素能引起小鼠心、肺、肝、脾、肾、脑等脏器组织损伤病理改变,其中肝脏损伤严重。本课题组研究^[8-10]了斑蝥素与其衍生物慢性毒性的主要靶器官及其差异。本课题组等^[11]研究了斑蝥素在小鼠体内的毒性与其药代动力学的关系。本研究重新建立了 CTD 诱导小鼠急性毒性模型,并以此为基础,横向比较了给药后各个器官损伤情况,并推断 CTD 急性毒性剂量的关键靶器官主要在心脏。这一发现将为扫清 CTD 临床应用副作用障碍提供一定的理论参考。

1 材料

1.1 动物 基于团队前期实验基础^[8], Balb/c 雌性小鼠,性格温顺,对 CTD 毒性反应明显。本次实验仍选用 SPF 级雌性 Balb/c 小鼠 6 周,体质量(16 ± 1)g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2016-0002。小鼠于北京中医药大学 SPF 级动物实验室适应性喂养 1 周,经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准(批号 BZHYLL0201),符合实验动物伦理委员会规定,期

间动物自由饮水摄食,温度保持在 $18 \sim 22$ °C,循环通风系统,湿度适中。

1.2 试剂与材料 CTD(成都曼思特生物科技有限公司,批号 MUST-16030502;纯度 $\geq 98\%$, HPLC 法检测结果及结构见图 1);羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 20140520)。苏木素染色液(北京九州柏林生物科技有限公司,批号 20160901);伊红(北京 Biotopped 科技有限公司,批号 170516);多聚甲醛(北京化工厂,批号 20140220);丙氨酸氨基转移酶(ALT),门冬氨酸氨基转移酶(AST),肌酸激酶(CK),尿素氮(BUN),乳酸脱氢酶(LDH)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20170803, 20170802, 20170313, 20170321, 20170514),心肌肌钙蛋白(cTn)酶联免疫检测(ELISA)试剂盒(美国 CST 公司,批号 L170901222)。



A. 检测谱; B. 结构式; 1. 斑蝥素

图 1 斑蝥素检测谱及其分子结构式

Fig. 1 Detection spectrum and molecular structure of cantharidin

羧甲基纤维素溶液制备,称取羧甲基纤维素钠 5 g 溶于双蒸水 1 L,不断加热搅拌,待粉末完全溶解后定容至初始刻度,制成 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液,冷却分装备用。4 g·L⁻¹ CTD 混悬液制备,称取 CTD 4 mg,以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液 10 mL 混悬,置于超声仪中超声 40 min 完全混悬,制成 4 g·L⁻¹混悬液,4 °C 保存备用。

1.3 仪器 Centrifuge 5417R 型离心机(德国 Eppendorf 公司), xMark 10092 型酶标仪(美国 Bio-Rad 公司), IX81 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司), CX4 Pro 型全自动血生化分析仪(美国

Beckman 公司), Cardimax FX-7202 型心电图仪(日本 Eukuda Denshi 公司)。

2 方法

2.1 CTD 急性中毒小鼠模型建立^[8-11] Balb/c 小鼠适应性喂养 1 周,自由给食给水;CTD 灌胃前禁食 12 h;小鼠随机分为 4 组,每组 8 只。分别为正常组,CTD(2,3,4 mg·kg⁻¹)组。给药后,观察记录小鼠活动情况及存活情况。根据小鼠存活时间情况确定小鼠急性毒性致死剂量 4 mg·kg⁻¹时最佳取材时间约为 3 h,以此评估小鼠急性毒性剂量下小鼠各组织损伤情况,并开展进一步的实验。

2.2 血液生化指标检测 根据 2.1 项实验结果,另取 8 只小鼠,以 4 mg·kg⁻¹CTD 给药 3 h,摘眼球采血。血样常温静置 2 h,置于离心机中 4 000 r·min⁻¹,4 ℃离心 15 min,取血清。按要求将血清样本送入自动生化检测仪中检测得到各组小鼠血清中 ALT,AST,BUN,CK,LDH 水平。

2.3 ELISA 试剂盒检测血清中 cTn 的含量 取小鼠血清,制成待测样品。提前准备所需试剂。按照试剂盒步骤严格进行实验。酶标仪设置波长 450 nm 读取各孔的吸光度 A,绘制标准曲线。参考标准曲线,计算相应样品浓度。

2.4 组织病理学苏木素-伊红(HE)染色 取血后脱颈处死小鼠,取肝、肾、小肠、心脏。经 4% 多聚甲醛固定、乙醇脱水、石蜡包埋后,制成 4 μm 厚的石蜡切片。HE 染色,光镜下观察各组织的病理变化情况。

2.5 心电图检测 另取 16 只小鼠,CTD 组 8 只以 4 mg·kg⁻¹CTD 给药 3 h,空白组 8 只以相同体积的溶剂灌胃 3 h 后,腹腔注射戊巴比妥钠(45 mg·kg⁻¹)麻醉,麻醉后将小鼠用胶带固定于鼠板上,仰卧位。将心电图仪各导联分别接于四肢及心脏部位。接通电源,待心率基本稳定后,打印出心电图纸。比较两组小鼠心电图异常变化,统计两组小鼠各项心电图指标变化。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 One-way ANOVA 分析与 *t* 检验,*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同 CTD 给药剂量小鼠存活率以及生存状态 首先建立 CTD 诱导小鼠急性毒性模型,设置 CTD 一次性给药剂量为 2,3,4 mg·kg⁻¹。结果显示,与正常组比较,CTD 2 mg·kg⁻¹组,给药 2 h 后活动减弱,4 h 后逐渐恢复活动能力。CTD 3 mg·kg⁻¹组,给药 3 h 后小鼠活动减弱,4 h 后小鼠趴伏,5 h 后小鼠出现死亡情况,存活小鼠给药 12 h 后活动逐渐恢复,但状态低迷,活动量少,且给药 24 h 后不再有小鼠死亡。CTD 给药 4 mg·kg⁻¹组,给药 2 h,小鼠活动减弱;3 h 小鼠趴伏;3.5 h 开始,部分小鼠死亡,至 7 h 后,小鼠全部死亡。计算 4 mg·kg⁻¹ 给药组小鼠平均死亡时间为(4.64 ± 1.33)h。见图 2。

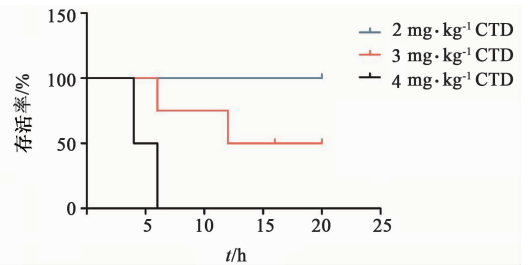


图 2 不同 CTD 给药剂量对小鼠存活的影响

Fig. 2 Effect of different doses of cantharidin on survival of mice

3.2 CTD 急性毒性剂量给药对小鼠血清生化指标的影响 4 mg·kg⁻¹ CTD 给小鼠灌胃 3 h 后,与正常组相比,CTD 组肝功能相关生化指标 ALT,AST,肾功能相关指标 BUN 都有所升高(*P* < 0.05)。CTD 给药组心功能指标 CK 和 LDH 的水平较空白组显著升高(*P* < 0.01),同时 cTn 水平上升显著,表明急性毒性剂量 CTD 引起小鼠心肌细胞损伤。见表 1。

表 1 CTD 对小鼠血液 ALT,AST,BUN,CK,cTn 和 LDH 的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of CTD on serum ALT,AST,BUN,CK,cTn and LDH in mice($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	ALT /U·L ⁻¹	AST /U·L ⁻¹	BUN /mmol·L ⁻¹	CK /U·L ⁻¹	cTn /g·L ⁻¹	LDH /U·L ⁻¹
正常	-	37.13 ± 0.81	110.07 ± 8.91	9.33 ± 0.97	810.30 ± 281.93	169.00 ± 108.20	630.00 ± 113.93
CTD	4	86.33 ± 14.86 ¹⁾	178.33 ± 3.81 ¹⁾	16.15 ± 1.06 ¹⁾	1 794.55 ± 26.84 ²⁾	441.40 ± 122.50 ¹⁾	1 379.67 ± 128.94 ²⁾

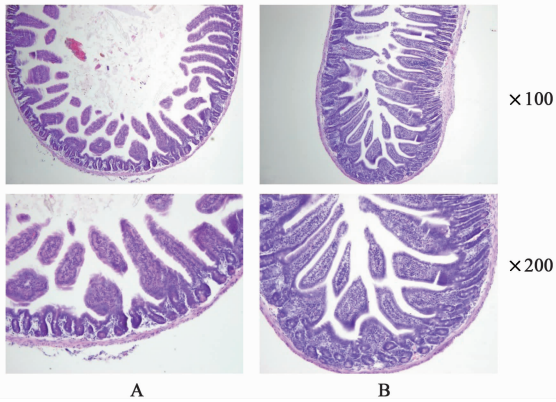
注:与正常组比较¹⁾*P* < 0.05,²⁾*P* < 0.01(表 2 同)。

综上,血清学实验结果显示急性毒性剂量 CTD 给药后小鼠肝、肾、心脏功能均受到了一定影响,哪

个脏器功能受阻是引起 CTD 急性毒性剂量下小鼠死亡的关键原因,实验进一步通过病理切片进行

检测。

3.3 CTD 急性毒性剂量给药对小鼠小肠生理、病理的影响 4 mg·kg⁻¹ CTD 给药 3 h 后解剖发现,小鼠胃部呈饱食样胀满,肠道形态未见异常,小鼠粪便正常,尿液正常。HE 染色结果显示,与空白组相比,CTD 组小鼠肠道绒毛细胞基本完整,小肠上皮细胞结构基本良好。CTD 急性毒性剂量给药后短时间对小鼠肠道未见明显影响。见图 3。



A. 正常组, B. CTD(4 mg·kg⁻¹)组(图4~6同)

图3 CTD 4 mg·kg⁻¹ 给药 3 h 后对小鼠肠道病理变化的影响(HE)
Fig. 3 Pathological changes in small intestine in mice after treatment with 4 mg·kg⁻¹ cantharidin for 3 h(HE)

3.4 CTD 急性毒性剂量给药对小鼠肝脏病理变化的影响 正常组肝小叶清晰完好,无炎性细胞浸润;肝窦无显著瘀血扩张。与正常组相比,4 mg·kg⁻¹ CTD 组,给药 3 h 后,未见明显炎性细胞浸润,肝窦未见明显扩张,细胞间隙更明显。综上,4 mg·kg⁻¹ CTD 给药 3 h 后对小鼠肝脏影响轻微。见图 4。

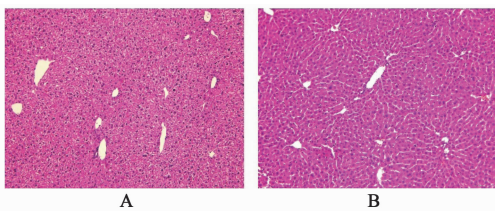


图4 CTD 4 mg·kg⁻¹ 给药 3 h 对小鼠肝脏病理变化的影响(HE, ×200)

Fig.4 Pathological changes in liver in mice after treatment with 4 mg·kg⁻¹ cantharidin for 3 h(HE, ×200)

3.5 CTD 急性毒性剂量给药对小鼠肾脏病理变化的影响 与正常组相比,急性毒性剂量 4 mg·kg⁻¹ CTD 给药 3 h 后,肾组织结构无紊乱,少见肾小管上皮细胞出现肿胀,未见炎性细胞浸润,肾小球结构与空白组小鼠无显著差异。综上,CTD 急性毒性剂量给药后短时间内,小鼠肾脏损伤不明显。见图 5。

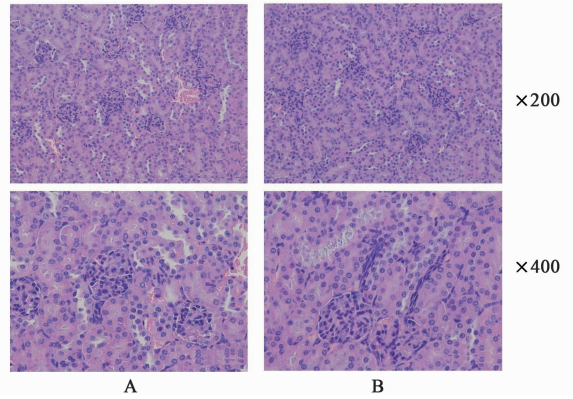


图5 CTD 4 mg·kg⁻¹ 给药 3 h 后对小鼠肾脏病理变化的影响(HE)
Fig.5 Pathological changes in kidney in mice after treatment with 4 mg·kg⁻¹ cantharidin for 3 h(HE)

3.6 CTD 急性毒性剂量给药后对小鼠心脏病理变化的影响 与正常组相比,CTD 4 mg·kg⁻¹ 给药 3 h 后小鼠心肌外膜出现严重的炎性细胞浸润,心肌纤维结构紊乱,心肌间质充血及点状坏死。因此,CTD 急性毒性剂量给药后短时间内,心肌组织出现严重损伤。见图 6。

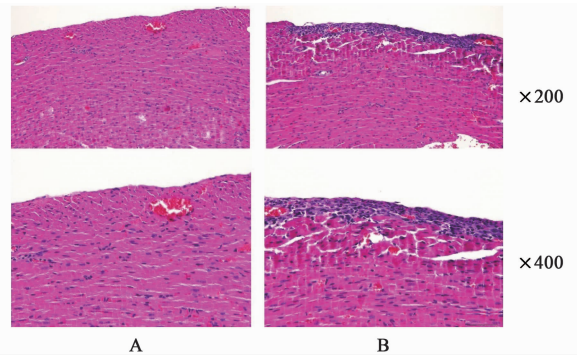


图6 CTD 4 mg·kg⁻¹ 给药 3 h 对小鼠心脏病理变化的影响(HE)
Fig.6 Pathological changes in heart in mice after treatment with 4 mg·kg⁻¹ cantharidin for 3 h(HE)

3.7 CTD 急性毒性剂量给药对小鼠心电图变化的影响 与正常组相比,CTD 给药 3 h 后小鼠心电图有显著的 J 点上移($P < 0.01$)。CTD 给药组小鼠相比正常组小鼠平均心率较缓($P < 0.01$)。因此,表明在 CTD 急性毒性给药早期即出现明显的心电图异常。见表 2。

4 讨论

斑蝥是芫青科昆虫黄黑小斑蝥或南方大斑蝥的干燥体,是传统的抗肿瘤中药,CTD 是斑蝥抗肿瘤作用的有效成分。1974 年,斑蝥素片批量生产用于临床,王广生^[3]记录观察了 800 余例 CTD 制剂治疗原发性肝癌的病例,结果显示 CTD 能够延长原发性

表 2 CTD 给药后对小鼠 ECG 各指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of CTD on mouse ECG indexes ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	心率 /次/min	R-R /ms	QRS /ms	J /mV
正常	-	466.00 ± 1.53	120.33 ± 2.08	22.43 ± 3.11	0.028 ± 0.02
CTD	4	347.75 ± 8.14 ²⁾	161.67 ± 14.22 ²⁾	31.33 ± 2.52 ²⁾	0.167 ± 0.06 ²⁾

肝癌患者的生存期, 用药治疗 1 年生存率达 12.7%^[3]。然而, 使用 CTD 后同时出现较为明显的副作用, 主要体现为对泌尿道严重的刺激症状, 如尿频、尿急、尿痛, 少数患者甚至还会出现血尿、蛋白尿的情况, 以及严重的消化道症状等^[5,12]。因此, 研究 CTD 药物毒性, 对 CTD 减毒增效有重要的借鉴意义。

本团队前期研究 CTD 毒性发现, 1/2 LD₅₀ CTD 连续两周给药小鼠, CTD 毒性主要体现在小肠、膀胱, 小肠淋巴小结因炎症反应不断而分叶, 膀胱移行上皮水肿, 脱落^[8-10]。其结果与临床低剂量长期给药毒性反应相一致。然而缺乏进一步对于小鼠急性致死剂量下毒性的探讨和研究。邹建军等^[11]研究显示, 在 LD₅₀ CTD 给药剂量下, 血清学数据提示 CTD 具有肝肾毒性。而其他学者进一步发现维生素 C 对于 CTD 引起的肝脏毒性具有一定缓解作用^[13]。刘振山等^[14]发现急性 CTD 给药引起大鼠心脏、胃以及小肠还原性尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸脱氢酶 (NADHD) 和细胞色素氧化酶 (CCO) 活性下降, 推测其对心脏、胃以及小肠功能可能造成影响。然而都缺乏对于小鼠损伤后的病理情况考察。本文沿用邹建军等^[11]采用的急性死亡率法, 对小鼠的死亡率进行了统计, 确定小鼠急性毒性给药的最佳剂量及取材时间。在此基础上, 采用 Balb/c 雌性小鼠通过较大剂量 4 mg·kg⁻¹ 建立了 CTD 诱导急性毒性小鼠模型。由此, 本课题组对于小鼠采用 CTD 4 mg·kg⁻¹ 给药后急性毒性的小鼠致死原因进行了探讨。血清生化指标结果显示, CTD 急性毒性给药 3 h 后, CTD 组 BUN 上升约 1.5 倍, 肾脏滤过功能下降。但急性肾衰时 BUN 指标上升可达到 3 倍左右^[15], 因此推断, CTD 急性剂量给药引起小鼠肾功能滤过功能下降可能不是小鼠死亡的关键原因。

CTD 组小鼠血清中 ALT, AST 显著上升。一方面, 参考急性肝损伤模型中 ALT, AST 血清水平会有百倍以上升高^[16], 本课题组推测, CTD 急性剂量给药引起小鼠肝功能受损程度在早期尚不严重。另一方面, 血清学 ALT, AST 上升虽是肝脏损伤一般

性指标, 但是心脏损伤同样对其有所影响^[17]。因此, 本课题组进一步检测心肌相关特征性指标 CK, LDH 及 cTn。结果显示, 与空白组相比, CTD 组小鼠 CK, LDH, cTn 血清水平上升显著, 表明心肌细胞也受到影响。

鉴于 CTD 给药血清学检测的发现, 同时考虑到血清学指标容易受到血清提取过程中溶血作用的影响, 本课题组采用病理切片方法进一步研究 CTD 急性剂量下小鼠器官受损情况, 对血清学实验结果进行验证。结果显示, CTD 组小肠、肾、肝损伤不明显。小鼠的心脏有炎性细胞浸润、心肌结构紊乱、心肌肌层出现明显分层、心脏结构受损严重。当心肌细胞损伤, 心肌细胞膜内外离子成分及浓度发生改变时, 可影响心肌细胞的极化状态, 这可以通过心电图上的 PR 间期, QRS 间期, ST 段反映出来^[18], QRS 波群的终点与 ST 段交接处称为 J 点, 由于小鼠心电图 (ECG) 上的 ST 段很不明显^[19], 故实验中经常将 J 点作为小鼠的观察指标。为进一步验证心脏的毒性损伤, 本课题组对新的一批小鼠检测心电图。结果发现在急毒剂量给药 3 h 后, CTD 组小鼠即出现 J 点上移, 心率相对较缓。据报道, 小鼠 ECG 的 J 点上移和 T 波平坦、双向和倒置为心肌缺血和炎症的心肌损伤的表现^[20]。可见 CTD 给药后, 小鼠心脏很快产生了较为严重的损伤。由此推断, CTD 急性给药心脏功能受到严重破坏。病理学实验结果和血清学数据结果基本吻合。

综上, 本文发现急性毒性剂量 CTD 在小鼠死亡前对小肠、肝脏、肾脏损伤作用不明显; CTD 急性毒性的关键靶器官是心脏, CTD 急性毒性引起心肌外膜炎性细胞浸润, 心脏结构受损, 导致心脏功能受到影响, 是小鼠在 CTD 急性剂量下致死的关键原因。这一新发现对 CTD 毒性研究提供重要理论证据以及新的明确的毒效作用器官。

[参考文献]

[1] 李焱, 程册. 中晚期肝癌临床治疗进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2014, 30(3): 233-236.
[2] 弋鹏圣, 张鸣, 徐明清. 索拉菲尼治疗晚期肝癌的疗

- 效与安全性评价[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2014, 21(10):1268-1276.
- [3] 王广生. 斑蝥的抗癌应用及其发展[J]. 中国药学杂志, 1980, 15(3):23-26.
- [4] 彭长生, 梁红伟. 斑蝥治疗狂犬病死亡1例[J]. 河南科技大学学报:医学版, 2015, 33(4):296-297.
- [5] 袁礼, 钟思雨, 夏新华. 斑蝥素的研究现状[J]. 中医药导报, 2017, 23(3):79-82.
- [6] 刘思源, 王昊. 自拟斑蝥汤治疗中晚期恶性肿瘤54例临床观察[J]. 湖南中医药导报, 2004, 10(1):13-14.
- [7] 肖翹. 斑蝥素中毒的毒理学初步研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2017.
- [8] 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.
- [9] 封艳艳, 马齐襄, 隋彤彤, 等. 斑蝥素对肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡的影响及其可能机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(15):112-117.
- [10] 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.
- [11] 邹建军, 张胜强, 冯瑞祥. 斑蝥素毒性及其药(毒)动力学研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(5):40-43.
- [12] 于婷, 刘东武, 陈志伟. 斑蝥素及其衍生物的作用机制及临床应用[J]. 生命科学仪器, 2009, 7(2):15-18.
- [13] WU W, SU M, LI T, et al. Cantharidin-induced liver injuries in mice and the protective effect of vitamin C supplementation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1):182-187.
- [14] 刘振山, 刘明俊, 路卫星. 斑蝥素中毒大鼠酶化学研究(I)——NADHD及CCO的组织化学观察[J]. 西安交通大学学报:医学版, 1993, 14(2):145-146, 198.
- [15] 郭晔, 刘晔, 许立功, 等. 氨磷汀对顺铂肾毒性损伤的保护作用及其机制的研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(1):8-12.
- [16] 李大伟, 陆天飞, 华相伟, 等. 对乙酰氨基酚诱导的小鼠药物性肝损伤的模型研究[J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 36(6):805-809.
- [17] Giboney P T. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient[J]. *Am Fam Physician*, 2005, 71(6):1105-1110.
- [18] 崔小岱, 许峥, 马连华, 等. 312例正常小鼠心电图分析[J]. 中国比较医学杂志, 2002, 12(2):99-101.
- [19] Wit A L. Reperfusion arrhythmias and sudden cardiac death: a century of progress toward an understanding of the mechanisms[J]. *Circ Res*, 2001, 89(9):741-743.
- [20] Bagatell F K, Dugan K, Wilgram G F. Structural and biochemical changes in tissues isolated from the cantharidin-poisoned rat with special emphasis upon hepatic subcellular particles [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1969, 15(2):249-261.

[责任编辑 张丰丰]