

ϵ -葡萄素抑制 bFGF 诱导血管新生作用分析

刘景磊^{1,2}, 陈韩英¹, 王晓琴¹, 陈虹¹, 龚福恺¹, 张波^{1,2*}

(1. 石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002;

2. 新疆特种植物药资源教育部重点实验室, 新疆 石河子 832002)

[摘要] **目的:** 葡萄素(viniferin)是一类寡聚芪类物质,存在于葡萄等植物中,本文探讨 ϵ -葡萄素(ϵ -viniferin)对血管新生是否具有抑制作用。**方法:** MTT 比色法测定 ECV304 细胞密度 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 条件下 ϵ -viniferin 浓度分别为 0, 10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 24 h 和 48 h 的增殖抑制率;体外模型以 0.5, 1, 5, 10 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ϵ -葡萄素的含药血清组和空白血清组培养碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)诱导的人脐静脉内皮细胞系 ECV304,用细胞划痕法和重建基底膜法测定药物对细胞迁移作用和内皮细胞拟管腔形成的影响;体内模型,用含 5, 10 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ϵ -葡萄素的基质胶, Matrigel plug 法测定药物对 bFGF 诱导体内新生血管的影响;通过酶联反应法(ELISA 法)检测 5, 10, 20 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 药物处理 24 h 的黑色素瘤细胞系(B16F10)培养上清液中血管内皮生长因子(VEGF)和 bFGF 浓度。**结果:** 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上的 ϵ -葡萄素能有效抑制 ECV304 细胞的增殖, 0.5 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ϵ -葡萄素能抑制 bFGF 诱导的 ECV304 细胞迁移, 在 1 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ϵ -葡萄素的作用下均可抑制 bFGF 诱导的 ECV304 细胞管腔形成, 5 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ϵ -葡萄素在体内 Matrigel Plus 模型也表现出抑制血管新生的活性。5 ~ 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ϵ -葡萄素能抑制黑色素瘤细胞 B16F10 细胞分泌 bFGF 和 VEGF, 其抑制能力强于紫檀芪。**结论:** ϵ -葡萄素可以抑制血管的新生。

[关键词] ϵ -葡萄素; 血管新生; 碱性成纤维细胞生长因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0164-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130164

Analysis of Inhibition of ϵ -viniferin on bFGF-induced Angiogenesis

LIU Jing-lei^{1,2}, CHEN Han-ying¹, WANG Xiao-qin¹, CHEN Hong¹, GONG Fu-kai¹, ZHANG Bo^{1,2*}

(1. Pharmacy School of Shihezi University, Shihezi 832002, China;

2. Key Laboratory of Xinjiang Endemic Phytomedicine Resources, Shihezi 832002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of ϵ -viniferin, a natural oligomeric stilbene in grapevines, on the antiangiogenesis *in vivo* and *in vitro*. **Method:** The pharmacodynamic effects of ϵ -viniferin on the basic fibroblast growth factor (bFGF) induced migration, the tuber formation and the angiogenesis on endothelial cell line ECV304 *in vivo* and *in vitro*. Further, the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and bFGF in ϵ -viniferin-treated B16F10 cells were assayed to ensure the effects. **Result:** ϵ -viniferin inhibit bFGF induced cell proliferation and migration. ϵ -viniferin inhibited endothelial cell tube formation by basic fibroblast growth factor in a dose-dependent manner. ϵ -viniferin also inhibited the angiogenesis in Matrigel plug mouse model. With the increasing of concentration and duration ϵ -viniferin treatments, bFGF and VEGF content in B16F10 cell cultures were gradually reduced in a dose-and time-dependent. **Conclusion:** ϵ -viniferin is a potential agent on angiogenesis.

[Key words] ϵ -viniferin; angiogenesis; basic fibroblast growth factor

[收稿日期] 20140301(016)

[基金项目] 兵团重点领域科技攻关项目(2014BA029);兵团博士基金项目(2011BB018)

[第一作者] 刘景磊, 硕士, 从事肿瘤药理方面的研究, Tel:13279933813, E-mail:davd@qq.com

[通讯作者] * 张波, 教授, 从事中草药活性成分研究, Tel:0993-2057670, E-mail:bozhang_lzu@126.com

人体通过一个复杂的监测与调节机制调整所需血管的数量,组织中诱导和抑制血管新生的两种因子相互作用,完成血管新生和血管消亡的调节。一旦这种平衡被破坏,就会产生各种疾病,据统计有 70 多种表面上看起来互不相干的疾病,都与血管的不正常生长有着密切的联系。这其中肿瘤的发生与血管增生的关系最为密切,血管增生是肿瘤的一个重要标志。事实上,肿瘤在没有血管新生的情况下只能长到 0.5 mm^3 ,这种微型肿瘤被称为“没有病的癌症”,所以阻止肿瘤的血管新生是重要的肿瘤防治方法^[1]。

ε-葡萄糖是一种多酚类化合物,由母体白藜芦醇经过一系列反应生成的低聚物。白藜芦醇具有一系列的抗菌、抗癌、抗氧化、抑制血小板凝集和血管舒张、调节脂蛋白代谢、提高机体免疫力等特性^[2]。特别是在癌症的起始、增进和扩展过程中可作为一种化学预防剂^[3],文献报道白藜芦醇能够通过调节血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 的表达来抑制多发性骨髓瘤的血管新生^[4]。本课题组最近研究发现,白藜芦醇和紫檀芪具有体外抑制内皮细胞 ECV304 增殖和抑制管腔形成来达到抗肿瘤转移的目的^[5]。ε-葡萄糖被报道比白藜芦醇具有更好的抑制血管平滑肌细胞迁移、增殖的作用^[6]。新疆的葡萄资源十分丰富,种植品种以食用葡萄红地球为主,研究发现红地球葡萄中葡萄糖含量丰富^[7]。本文将研究白藜芦醇(Res)的二聚体 ε-葡萄糖的抗血管新生活性,为更好的利用当地资源提供理论依据。

1 材料

1.1 动物与细胞株 C57BL/6 雄性小鼠,体重 $(20 \pm 2) \text{ g}$,购于新疆医科大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(X)2011-0004。内皮细胞 ECV304 和 B16F10 细胞购于上海生命科学院细胞资源中心。

1.2 药物与试剂 紫檀芪(批号 LJ0617S1012Z)和 ε-葡萄糖(批号 BBP00220,杭州广林生物科技公司,纯度 $>98\%$,白色粉末,用 DMSO 配置成 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的母液),RPMI 1640 细胞培养基(Gibcobl 公司),新生牛血清(批号 121004,浙江天杭生物科技有限公司),Matrigel 基质胶(批号 2242644)和 bFGF 冻干粉(批号 3219CY11,美国 BD 公司),Elisa 检测试剂盒(批号 1312262,1312181,上海西塘生物科技有限公司)。

1.3 仪器 Thermo 3131 型 CO_2 培养箱和 Thermo 3001 型多功能酶标仪(美国 Thermo 公司),ZHJH-112B 型超净工作台(上海智诚分析仪器有限公司),MIC00266 型荧光倒置显微镜(德国 ZEISS 公司),H. H. S 型精密恒温水浴锅(江苏省金坛医疗仪器厂),TGL20M 型台式高速冷冻离心机,湖南凯达科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 药物配制 以 DMSO 溶解药物配制成 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的贮存液, $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存备用。处理细胞时用 RPMI 1640 培养基稀释为工作液, DMSO 的终体积分数低于 0.1% 。用超纯水将 bFGF 配制成 $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液后分装。

2.2 细胞株及细胞培养 用含有 10% 热灭活小牛血清的 RPMI 1640 培养基在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 体积分数为 $5\% \text{ CO}_2$ 饱和湿度条件下常规培养细胞株 ECV304,当细胞长满瓶底 80% 并贴壁后用 0.25% 胰酶消化,倒置显微镜下见细胞间隙增大、胞质回缩时消化终止,然后分瓶再培养;待进入对数生长期,弃去原培养基,以 PBS 冲洗后用于实验。

2.3 ε-葡萄糖对 ECV304 的体外增殖的影响 取对数生长期的 ECV304 细胞(细胞数约 5×10^4 个/孔, $200 \text{ } \mu\text{L}$),接种于 96 孔培养板。 $5\% \text{ CO}_2$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 细胞培养箱中培养至充分贴壁后,加入不同浓度的 ε-葡萄糖,终浓度为 $0, 10, 20, 30, 40, 50 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每个浓度设 6 个平行孔,加药后继续培养 $24, 48 \text{ h}$ 。加入 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ MTT 溶液 $40 \text{ } \mu\text{L}$ 静置于 $5\% \text{ CO}_2$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 细胞培养箱 3 h ,弃去上清液,每孔加入 DMSO $150 \text{ } \mu\text{L}$,振荡 10 min ,用酶标仪在 480 nm 波长处测定各孔吸光度(A)。计算细胞的增殖抑制率,并计算其半数抑制浓度(IC_{50})值。

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

2.4 ε-葡萄糖对 bFGF 诱导的内皮细胞迁移的影响 取对数生长期的 ECV304 细胞每孔 2×10^5 个接种于 6 孔板,待细胞铺满底面时,以 $200 \text{ } \mu\text{L}$ 枪头均匀划痕,用含 0.1% 小牛血清的培养基洗去脱落细胞,至显微镜下见刮痕内无细胞。分别加入 bFGF(质量浓度 $10 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$)为阳性对照和 $0, 0.5, 1, 5, 10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ε-葡萄糖, $5\% \text{ CO}_2$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养 48 h 后。用 ZEISS 倒置显微镜拍照,采用 Photoshop 软件测定相同区域的灰度值,计算细胞迁移率。

$$\text{细胞迁移率} = (0 \text{ h 划痕灰度值} - 48 \text{ h 划痕灰度值}) / 0 \text{ h 划痕灰度值} \times 100\%$$

2.5 ε-葡萄糖对内皮细胞管腔结构形成的影响

参照文献[8]的方法,具体步骤为:将枪头和 96 孔板于 -20 ℃ 下预冷,将 Matrigel 胶放在冰水混合物中使其融化。每孔 60 μL Matrigel 胶迅速加入 96 孔培养板,同时避免形成气泡。冰上水平放置 5 min 后,置于 37 ℃ 培养箱促凝 30 min。将 ECV304 细胞 (2 × 10 个/孔) 混匀后加入培养板,5% CO₂, 37 ℃ 孵育 1 h 后,轻轻洗去未贴壁的细胞,加入含 ε-葡萄糖素和 bFGF (终质量浓度 10 ng·L⁻¹) 的 0.1% 小牛血清培养基。以溶媒为阴性对照,培养 6 h 后,显微镜下随机拍照并计算完整的管腔数量。

2.6 ε-葡萄糖素体内抗血管新生作用 参照文献[9]的方法,ε-葡萄糖素加入冰浴中的 Matrigel 基质胶 (含 10 μg·L⁻¹ 的 bFGF、肝素钠 50 U·mL⁻¹) 中混匀。每鼠皮下注射 200 μL 于 C57BL 小鼠的腹部中线,6 只小鼠为一组,注射后 Matrigel 在小鼠皮下形成小包。7 d 后,处死小鼠切开腹部皮肤,取出 Matrigel 种植体,生理盐水冲洗 3 次,拍照。Matrigel 种植体置于冰上干燥 12 h 后,溶于 500 μL Triton-100 中并用吸管吹成悬液,超高速 15 000 × g 离心 15 min。在酶标仪 405 nm 处测量上清液中的血红蛋白的吸收值。

2.7 细胞上清液的制备 取生长较好的 B16F10 细胞,消化后调整细胞浓度至 4 × 10 个/mL,以每孔 1 mL 接种于 6 孔板上。于 37 ℃ 二氧化碳培养箱中孵育至细胞融合度达到 80% 以上时,更换含有 ε-葡萄糖素和紫檀芪的无血清培养基。24 h 后吸取各组的细胞培养上清液于离心管中,离心机中 2 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,弃去底部的细胞碎片和杂质,EP 管收集上清液备用。

2.8 对照品和样品的检测 按照 Elisa 试剂盒中说明书描述的步骤进行操作,作出标准曲线,根据标准曲线求出相应样品中 VEGF 和 bFGF 的含量。

2.9 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对内皮细胞 ECV304 增殖的影响 ε-葡萄糖素在各浓度下均能抑制 ECV304 细胞的增殖,浓度为 10 μmol·L⁻¹ 以内的 ε-葡萄糖素对 ECV304 有微弱的抑制作用,随着 ε-葡萄糖素浓度的增大可以显著抑制细胞增殖,呈时间和剂量依赖性,见表 1。ε-葡萄糖素在 24,48 h 时的 IC₅₀ 为 83.08,43.19 μmol·L⁻¹。

3.2 对 bFGF 诱导的内皮细胞迁移的影响。 细胞划痕 24 h 后,阳性对照组细胞迁移率为 (264 ±

表 1 ε-葡萄糖素对 ECV304 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度 /μmol·L ⁻¹	24 h		48 h	
		A	抑制率 /%	A	抑制率 /%
对照	-	0.47 ± 0.01	-	0.63 ± 0.01	-
ε-葡萄糖素	10	0.46 ± 0.04	3.38	0.59 ± 0.03	5.44
	20	0.44 ± 0.05	7.06	0.56 ± 0.05	10.56
	30	0.40 ± 0.06	15.99	0.46 ± 0.04 ¹⁾	25.99
	40	0.36 ± 0.03 ¹⁾	23.76	0.32 ± 0.02 ¹⁾	48.77
	50	0.34 ± 0.02 ¹⁾	29.31	0.23 ± 0.03 ¹⁾	62.42

注:与对照组比较¹⁾ *P* < 0.05。

12)%, 高于阴性对照组 (100 ± 6)%, bFGF 显著增强了内皮细胞的迁移能力。给予不同浓度的 ε-葡萄糖素细胞迁移率较阳性对照组逐渐降低,特别是 10 μmol·L⁻¹ 组,细胞迁移率为 (96 ± 9)% 相比 bFGF 组明显低。表明 ε-葡萄糖素具有抑制 bFGF 诱导的内皮细胞 ECV304 迁移的能力,且随着浓度的升高逐渐增强。见表 2。

表 2 ε-葡萄糖素对 bFGF 诱导细胞迁移的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	药物浓度 /μmol·L ⁻¹	bFGF /ng·L ⁻¹	细胞迁移率 /%
阴性对照	-	-	100 ± 6
bFGF	-	10	264 ± 12 ¹⁾
ε-葡萄糖素	0.5	10	214 ± 5 ²⁾
	1	10	164 ± 8 ³⁾
	5	10	134 ± 7 ³⁾
	10	10	96 ± 9 ³⁾

注:与阴性对照组比较¹⁾ *P* < 0.01, ²⁾ *P* < 0.05; 与 bFGF 组比较³⁾ *P* < 0.01 (表 3 同)。

3.3 对 bFGF 诱导的内皮细胞管腔形成的影响 10 ng·L⁻¹ bFGF 组管腔形成数显著增加,给予不同剂量的 ε-葡萄糖素,降低了管腔形成的数目,ε-葡萄糖素组照片尤其 10 μmol·L⁻¹ 几乎没有管腔形成。管腔形成数量的统计结果 ε-葡萄糖素剂量依赖性地抑制管形成 bFGF 诱导的管腔形成。见图 1 和表 3。

3.4 对 bFGF 诱导的体内血管新生的影响 图 2A, 2B 对比表明, bFGF 有显著的促血管新生作用,含有 bFGF 的胶块颜色呈深红色。在加入 5 μmol·L⁻¹ 的 ε-葡萄糖素的实验组,图 2C 中胶块颜色变浅,加入 10 μmol·L⁻¹ ε-葡萄糖素的实验组,图 2D 胶块颜色接近于空白对照组,说明随着药物浓度的增大 ε-葡萄糖素的体内抗血管新生能力增强。同时对基质胶块进行了血红蛋白含量测定,实验组的血红蛋白

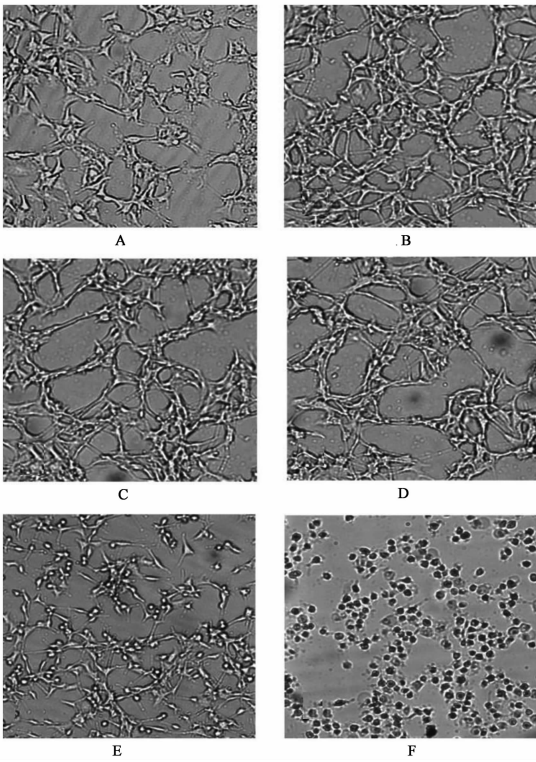


图1 ε-葡萄素抑制 bFGF 诱导的 ECV304 细胞管腔结构形成 (×100)

表3 ε-葡萄素对 bFGF 诱导管腔形成的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	药物浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	bFGF / $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	管腔形成数 /个
阴性对照	-	-	13 ± 2
bFGF	-	10	34 ± 5 ¹⁾
ε-葡萄素	0.5	10	24 ± 3 ²⁾
	1	10	17 ± 3 ³⁾
	5	10	7 ± 2 ³⁾
	10	10	2 ± 1 ³⁾

含量低于对照组。此实验结果证实了 ε-viniferin 在体内显示出较强的抗血管新生活性。见表4。

3.5 对 B16F10 细胞 VEGF, bFGF 分泌量的影响

依据 VEGF, bFGF 对照品求出标准曲线后, 计算出细胞上清液中 2 种细胞因子的含量。结果如表 5 和表 6, B16F10 细胞经过 ε-葡萄素和紫檀芪作用 24 h 后, 其细胞上清中 VEGF, bFGF 含量比较对照组减少, 且有显著性差异 ($P < 0.05$)。随着浓度的增高, 细胞上清中 2 种细胞因子的含量变少, 呈负相关的联系。与对照组 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的紫檀芪相比,

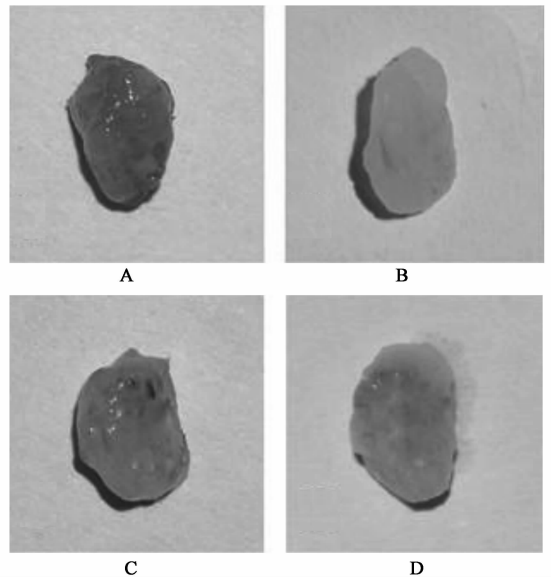


图2 ε-葡萄素抑制 bFGF 诱导的体内血管新生

表4 不同组 Matrigel 中血红蛋白含量 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	bFGF / $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	血红蛋白 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
阴性对照	-	-	0.41 ± 0.01
bFGF	-	10	4.39 ± 0.08
ε-葡萄素	5	10	2.36 ± 0.22 ¹⁾
	10	10	1.47 ± 0.18 ²⁾

注: 与 bFGF 比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

表5 B16F10 细胞上清中 VEGF 含量测定 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

分组	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	VEGF / $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率 /%
阴性对照	-	627 ± 11	-
ε-葡萄素	5	507 ± 7 ¹⁾	19.1
	10	383 ± 8 ^{1,2)}	38.9
	20	304 ± 9 ^{1,2)}	51.5
紫檀芪	10	465 ± 13 ¹⁾	25.8

注: 与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 紫檀芪组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 6 同)。

表6 B16F10 细胞上清中 bFGF 含量测定 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

分组	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	bFGF / $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率 /%
阴性对照	-	138 ± 7	-
ε-葡萄素	5	86 ± 4 ¹⁾	37.7
	10	45 ± 2 ^{1,2)}	67.3
	20	33 ± 3 ^{1,2)}	76.1
紫檀芪	10	58 ± 4 ¹⁾	58.0

10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ϵ -葡萄素组 VEGF 和 bFGF 含量较低,有显著性差异($P < 0.05$)。

4 讨论

在1971年,Folkman教授提出血管生成依赖性肿瘤生长的假设,即新生血管是肿瘤的生长提供营养和氧气所必需器官,并且新生的血管还是肿瘤转移的通道^[10],因此,抗血管生成成为肿瘤治疗的一个靶点。影响肿瘤血管生成的是患者体内的微环境,人体的微环境中,各种促进和抑制血管生成因子控制平衡各肿瘤血管生成的启动和关闭。目前有大约十几个已经发现的诱导血管生长因子,如 VEGF, EGF, bFGF, NOS 均能促进内皮细胞的增殖活性^[11]。

bFGF 在肿瘤血管生成的调控中起着关键的作用。肿瘤血管生成的初期,伴随着瘤体的生长,局部炎症等病理反应刺激 VEGF, bFGF 等血管新生的调控因子分泌增加,打破了正常组织中应有的平衡;血管新生中期 bFGF 能促进表皮、内皮细胞再生,促进血管内皮细胞分裂,诱导其从基膜中分离出来;新生血管的成熟分化期, bFGF 刺激内皮细胞向肿瘤组织趋化运动,并形成管状结构。bFGF 能够诱导内皮细胞增殖、迁移;如果将内皮细胞在细胞外基质环境下培养,即用基质胶模拟的基底膜上培养, bFGF 能够促进内皮细胞形成管状结构;此外, bFGF 能够促进小鼠体内 Matrigel 栓子血管形成,这些实验已普遍用于体外、体内的血管生成模拟^[12]。

既往的研究已经发现, ϵ -葡萄素具有抑制肿瘤生长的活性^[13]。能够通过将肿瘤细胞阻滞分裂早期来达到抗肿瘤的目的^[14]。本实验研究发现 ϵ -葡萄素可以抑制 bFGF 诱导的血管新生:① ϵ -葡萄素能抑制内皮细胞的增殖,并具有时间和浓度依赖性;②在 0.5 ~ 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 能抑制 bFGF 诱导的内皮细胞迁移和管腔形成;③在整体动物模型实验中 ϵ -viniferin 能使含 bFGF 的 Matrigel 基质胶中血红蛋白相对于对照组含量降低,说明其中毛细血管数量减少,即 ϵ -viniferin 具有体内抗血管新生的活性;④ ϵ -葡萄素能降低 B16F10 黑色素瘤细胞分泌 VEGF 和 bFGF 的能力。这些研究说明 ϵ -葡萄素抗肿瘤的作用是多方面的:①直接作用肿瘤细胞,杀死肿瘤细胞;②同时作用血管内皮细胞,抑制肿瘤内血管新生。本实验的研究为 ϵ -葡萄素作为抗肿瘤药物的研发提供了更深一步的实验证据。

[参考文献]

[1] Eichholz A, Merchant S, Gaya A M. Anti-angiogenesis

therapies: their potential in cancer management [J]. *Onco Targets Ther*, 2010, 24(3):69.

[2] 贾玉梅,王君明,崔瑛. 基于二苯乙烯类为主要活性成分的虎杖药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9):263.

[3] 傅蓓蓓,杜冰. 白藜芦醇抗肿瘤机制研究进展[J]. 国外医学:肿瘤学分册, 2003, 30(5):357.

[4] Jang M S. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes [J]. *Science*, 1997, 275 (5297):218.

[5] 郭丹丹,陈姬,于拔萃,等. 白藜芦醇和紫檀芪体外抗肿瘤转移作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(1):61.

[6] Zghonda, Nahla N, Yoshida, et al. Greater effectiveness of ϵ -viniferin in red wine than its monomer resveratrol for inhibiting vascular smooth muscle cell proliferation and migration [J]. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 2011, 75(7):1259.

[7] 谢红旗,刘元宝,杨星星,等. 葡萄植株中白藜芦醇及葡萄素含量动态积累规律研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(8):1079.

[8] 刘亮亮,陈姬,张波,等. 异甘草素与光甘草定抗肿瘤转移作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18):245.

[9] 冯磊,花慧,邱丽颖,等. 合欢皮提取物抑制血管生成的体内药效学研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(2):328.

[10] Folkman J. Tumor angiogenesis; therapeutic implications [J]. *N Engl J Med*, 1971, 285(21):1182.

[11] 张琛,夏海滨. 血管内皮细胞生长因子及其表达调控研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(4):841.

[12] Zhuang P W, Jiang Y B, Zhang Y J, et al. Induction of angiogenesis and neurogenesis by serum from rats treated with Shunaoxin dropping pills [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(1):41

[13] Amico V, Barresi V, Chillemi R, et al. Bioassay-guided isolation of antiproliferative compounds from grape (*vitis vinifera*) stems [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(2):305.

[14] Colin D, Gimazane A, Lizard G, et al. Effects of resveratrol analogs on cell cycle progression, cell cycle associated proteins and 5 fluoro-uracil sensitivity in human derived colon cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(12):2780.

[责任编辑 聂淑琴]