

消癌舒及其含药血清对人宫颈癌 HeLa 细胞体外增殖及迁移的影响

金凤^{1*}, 林凤琴¹, 金敏², 邱敏³, 吴芹¹, 谢笑龙¹, 金海⁴, 王井洪⁵

- (1. 遵义医学院药理学教研室暨贵州省基础药理重点实验室, 贵州 遵义 563000;
2. 贵阳医学院感染科, 贵阳 550004; 3. 包头医学院药学院, 内蒙古 包头 014060;
4. 遵义医学院附属医院消化病研究所, 贵州 遵义 563000;
5. 贵州景红生物科技有限责任公司, 贵州 六枝 553400)

[摘要] 目的:观察消癌舒(XAS)及其含药血清对 HeLa 细胞增殖和迁移的影响,并初步探讨其作用机制。方法:采用倒置显微镜观察 HeLa 细胞形态;四唑盐(MTT)法检测 HeLa 细胞的增殖能力;Transwell 观察 HeLa 细胞的迁移能力;酶联免疫吸附实验(ELISA)检测 HeLa 细胞糖类抗原 125(CA125)的水平;real time RT-PCR 法检测 HeLa 细胞血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 的表达。结果:经消癌舒处理后 HeLa 细胞形态发生了改变,表现为细胞折光度下降,体积明显缩小,形状变圆,消癌舒及其含药血清均明显抑制 HeLa 细胞的增殖,消癌舒减少 HeLa 细胞穿过滤膜的个数,降低 HeLa 细胞 CA125 水平及 VEGF mRNA 的表达,且与顺铂联用效果更佳。结论:消癌舒及其含药血清明显抑制 HeLa 细胞的增殖及迁移能力,与顺铂联用作用更明显,其机制可能与降低 CA125 水平和 VEGF mRNA 的表达有关。

[关键词] 消癌舒; HeLa 细胞; 增殖; 迁移; 糖类抗原 125; 血管内皮生长因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0250-05

[doi] 10.11653/syfy2013240250

Effect of Xiaoaishu and Serum Containing Xiaoaishu on Proliferation and Migration of Human Cervical Carcinoma HeLa Cell

JIN Feng^{1*}, LIN Feng-qin¹, JIN Min², QIU Min³, WU Qin¹, XIE Xiao-long¹, JIN Hai⁴, WANG Jing-hong⁵

- (1. Department of Pharmacology and the Key Laboratory of Basic Pharmacology of Guizhou Province, Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China;
2. Department of Infections Diseases, Guiyang Medical College, Guiyang, 550004, China;
3. Department of Pharmacy, Baotou Medical College, Baotou 014060, China;
4. Institute of Digestive Diseases of Attached Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China;
5. Guizhou Jinghong Biotechnology Limited Liability Company, Liuzhi 553400, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Xiaoaishu (XAS) and serum containing XAS on proliferation and migration of human cervical carcinoma HeLa cell *in vitro*, and investigate the mechanism. **Method:** The morphology of HeLa cell was observed by inverted microscope. Thiazolyl blue (MTT) assay was used to detect HeLa cell proliferation. Migration ability of HeLa cells was measured through transwell assay. The carbohydrate antigen 125 (CA125) level of HeLa cell was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Real time RT-PCR was used to detect the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)

[收稿日期] 20130517(007)

[基金项目] 贵州省科技厅中药现代化专项(黔科合中药字 20115008 号);贵州省教育厅自然科学类科研项目(黔教科 2011056 号);贵州省中医药管理局项目(D274, QZYY2010-59);贵州省科技厅自然科学基金(黔科合 J 字 20092147 号)

[通讯作者] *金凤, 硕士, 副教授, 从事神经药理学研究及新药研发, Tel:86-852-8609623, E-mail:jinfeng1115@yahoo.com.cn

mRNA. **Result:** The morphology of Hela cell was changed after XAS treatment, the main expressions of Hela cell consisted in decreased cell diopter, turned round and small. The proliferation and migration of Hela cells was significantly inhibited by XAS and serum containing XAS. The level of CA125 and the expression of VEGF mRNA were decreased after XAS treatment, and XAS combined with Cisplatin had a better effect. **Conclusion:** XAS and serum containing XAS had obvious effect against the proliferation and migration of Hela cell, which showed much higher superiority to the single medication group combined with cisplatin, and it's mechanism may be related with the reduction of CA125 level and VEGF mRNA expression.

[**Key words**] XAS; Hela cell; proliferation; migration; CA125; VEGF

宫颈癌是一种严重威胁女性健康及生命的生殖系统恶性肿瘤,在全球妇女恶性肿瘤中仅次于乳腺癌。消癌舒是我省少数民族经验方,由斑蝥、牡蒿和牛蒡3味药组成,具有驱瘀散结、消肿止痛、活血化瘀、攻毒蚀疮等功效^[1-2]。斑蝥的有效成分斑蝥素及其衍生物对多种肿瘤细胞均有抑制作用^[3-5]。消癌舒民间主要用于宫颈癌、卵巢癌及风湿痛等疾病的治疗,但尚未经过相关实验的研究。本研究拟观察消癌舒及其含药血清对 Hela 细胞体外增殖及迁移的影响,并初步分析其作用机制,为其后续的研发提供理论依据。

1 材料

1.1 细胞株及动物 人宫颈癌 Hela 细胞株购于上海中科院细胞所;雌性 SD 大鼠,月龄 2~3 个月,体重(250±20)g,由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供,清洁级,合格证号 SCXK(渝)20070005。

1.2 药品及试剂 消癌舒(XAS),由贵州景红生物科技发展有限责任公司提供,批号 2010001,由斑蝥、牡蒿和牛蒡3味药组成,各味药在方中的比例分别为 1:12:7,以斑蝥素出膏率为评价指标,用水煎煮法提取;噻唑蓝(MTT,Solarbio 公司);顺铂注射剂(齐鲁制药有限公司);RPMI-1640 培养基(GIBCO 公司);胎牛血清(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司);胰蛋白酶(Serva 公司);CA125 ELISA 检测试剂盒(北京北方生物技术研究所);引物、RNA 提取试剂盒及逆转录试剂盒(TaKaRa 生物工程公司);SYBR superMix 荧光(美国 Bio-Rad 公司);其他试剂为国产分析纯。

1.3 仪器 Icyler IQ 实时荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司);MILLI-Q 超纯水纯化系统(Millipore Trading Co. ltd);Eppend of Mastercycler Gradient PCR 仪及 Eppendorf 5417R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);TU1810 紫外-可见分光光度计(北京普析仪器有限责任公司);iMark 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养及分组 人宫颈癌 Hela 细胞株,用含 10% 小牛血清、100 U·mL⁻¹青霉素和 100 mg·L⁻¹链霉素的 RPMI-1640 培养液,置于 37 ℃,CO₂ 体积分数为 5% 的培养箱中培养,取对数生长期细胞进行实验。消癌舒及顺铂均采用无血清 RPMI-1640 培养基配制为 1 g·L⁻¹ 的母液,充分溶解后,用 0.22 μm 的过滤器过滤,分装保存,实验时根据需要稀释即可。分组:对照组(只有细胞悬液不加任何药物)、消癌舒组(200,400 mg·L⁻¹)、联合用药组(XAS 200,400 mg·L⁻¹ + 顺铂 5 mg·L⁻¹)和阳性对照组(顺铂 5 mg·L⁻¹)。

2.2 细胞增殖检测 将对数生长期的 Hela 细胞制成 5×10⁴ 个/mL 细胞悬液,接种于 96 孔板内,每孔 90 μL,板四周边上的孔不加细胞,防止边缘效应,于 37 ℃,5% CO₂ 培养箱内培养 24 h 后,用 0.5% FBS RPMI-1640 培养液进行细胞同步化,继续培养 48 h 后进行分组加药,每孔加 10 μL。联合用药组先加 XAS,培育 4 h 后再加顺铂^[6]。再分别继续培养 24,48,72 h 后,加入 MTT 溶液 10 μL,再培养 4 h 后终止培养。弃掉孔内的培养液,每孔加入 150 μL 的 DMSO,振荡混匀,使甲瓖颗粒充分溶解后,于波长 490 nm 处测定吸光度(A),每组设 5 个复孔,实验重复 3 次,取其平均值。按以下公式计算细胞生长抑制率:

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

2.3 细胞迁移检测 取指数生长期的 Hela 细胞,胰酶消化,RPMI-1640 培养基制备细胞悬液,细胞计数,调整细胞数为 4×10⁴ 个/mL。取出 Transwell 小室置于 24 孔板内,下室中加入 500 μL 含 20% FBS 的 RPMI-1640 培养基,上室分别加入 100 μL Hela 细胞悬液,再加入 100 μL 各浓度药物。于 37 ℃,5% CO₂ 培养箱内培养 24 h 后,用 PBS 淋洗两遍,晾干。4% 多聚甲醛固定,苏木素、伊红分别染色。置于显微镜下观察并拍照,随机

选取 5 个低倍视野进行细胞计数,并计算平均值。实验重复 3 次。

2.4 ELISA 检测 CA125 水平 将细胞以 5×10^4 个/mL 的密度接种于 12 孔培养板中,收集经药物处理 48 h 和 72 h 的细胞, $1\ 200\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清液,BCA 法测定蛋白浓度,采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 CA125 的含量,按照试剂盒操作说明进行。

2.5 VEGF mRNA 的表达检测 各组加药培养 48 h 后,按照 Trizol 试剂盒说明书提取总 RNA,引物由宝生物工程大连有限公司合成。VEGF 正义引物: 5'-AGGAGGAGGGC AGAATCATC-3',反义引物: 5'-ATGTCCACCAGGG TCTCGAT-3',扩增产物长度 90 bp; β -actin 正义引物: 5'-AGTCCTGTGGCATCCACGAAAC-3',反义引物: 5'-GCAGTGATCTCCTTCTGCATCC-3',扩增产物长度 148 bp。逆转录反应体系 20 μL ,其中 $5 \times \text{Primescript}^{\text{TM}}$ Buffer 4 μL , $\text{Primescript}^{\text{TM}}$ RT Enzyme Mix I 1 μL , Oligo dT Primer ($50\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 μL , Random 6 mers ($100\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 1 μL , Total RNA 13 μL ;反应条件为 $37\ ^\circ\text{C} \times 15\ \text{min}$, $85\ ^\circ\text{C} \times 5\ \text{s}$ 。PCR 反应体系 15 μL ,其中 SYBR superMix 荧光 7.5 μL ,模板混合液(上游、下游引物)0.5 μL ,超纯水 4 μL ,稀释 2 倍 cDNA 3 μL ;反应步骤为第一步: $95\ ^\circ\text{C} \times 10\ \text{min}$,第 2 步: $95\ ^\circ\text{C} \times 10\ \text{s}$, $60\ ^\circ\text{C} \times 1\ \text{min}$,循环 40 次。目的基因的相对表达量以“目的基因/内参基因”表示。

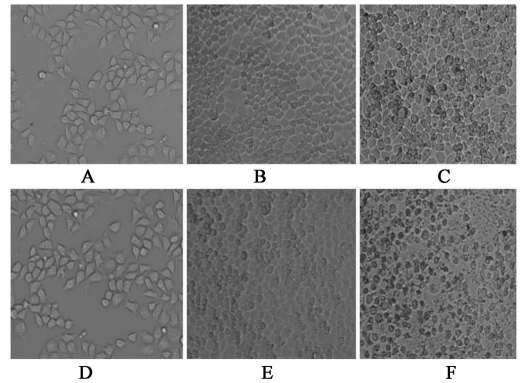
2.6 含药血清的制备 取雌性 SD 大鼠 16 只,随机分为 4 组:对照组及消癌舒低、中、高剂量组。消癌舒低、中、高剂量组分别灌胃消癌舒 1.9, 3.8, 7.6 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,分 2 次灌胃,对照组给予等量生理盐水,连续给药 3 d,给药 2 d 后,晚间禁食 12 h,第 3 天末次给药(禁食不禁水)后 1 h 无菌条件下腹主动脉采血, $1\ 500\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分离上层血清,0.22 μm 滤膜抽率分装, $-20\ ^\circ\text{C}$ 保存。

2.7 含药血清对 HeLa 细胞增殖的影响 操作步骤同上所述。分组如下:对照组,10%,20% 低剂量含药血清,10%,20% 中剂量含药血清,10%,20% 高剂量含药血清。

2.8 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 10.0 统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

3 结果

3.1 消癌舒对 HeLa 细胞形态的影响 取不同时间点(加入 MTT 溶液前)细胞倒置显微镜下观察、照相。结果见图 1。普通显微镜下可见正常 HeLa 细胞形状呈多角形、梭形,贴壁牢固,加药处理后的 HeLa 细胞形态发生了改变,细胞折光度下降,形状逐渐变圆,细胞体积缩小,贴壁松弛,随着时间延长,加药组细胞出现变圆、皱缩、脱壁、死亡现象。



XAS 400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组: A. 加药前; B. 加药后 24 h; C. 加药后 72 h; XAS 400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 顺铂 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组: D. 加药前; E. 加药 24 h; F. 加药 72 h

图 1 XAS 加药组不同时间细胞形态(光学显微镜观察, $\times 200$)

3.2 消癌舒对 HeLa 细胞增殖的影响 由表 1 可见,随药物浓度的增加,消癌舒对宫颈癌 HeLa 细胞的抑制作用无明显变化,但随着时间的延长,抑制作用明显增强,且呈时间依赖性;与顺铂联用抑制作用更明显,表现为两药的协同抑制作用。

表 1 XAS 对 HeLa 细胞生长的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

分组	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	24 h		48 h		72 h	
		A	抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%
对照	-	1.292 \pm 0.057	-	1.199 \pm 0.030	-	1.325 \pm 0.038	-
XAS	200	0.899 \pm 0.019 ²⁾	30.4	0.652 \pm 0.008 ²⁾	40.7	0.285 \pm 0.045 ²⁾	78.5
	400	0.862 \pm 0.035 ²⁾	33.3	0.586 \pm 0.015 ²⁾	46.7	0.265 \pm 0.024 ²⁾	80.0
顺铂	5	0.994 \pm 0.042 ²⁾	23.1	0.661 \pm 0.041 ²⁾	44.9	0.482 \pm 0.013 ²⁾	63.6
XAS + 顺铂	200 + 5	0.718 \pm 0.031 ²⁾	44.4	0.372 \pm 0.019 ²⁾	66.2	0.186 \pm 0.013 ²⁾	85.9
	400 + 5	0.726 \pm 0.045 ²⁾	43.8	0.395 \pm 0.007 ²⁾	64.1	0.211 \pm 0.017 ²⁾	84.1

3.3 消癌舒对Hela细胞迁移的影响 药物干预细胞后,由于癌细胞具有迁移能力,各组均有一定穿膜细胞数。与对照组相比,给药24 h后各药物组穿膜细胞数均减少,其中XAS 400 mg·L⁻¹ + 顺铂 5 mg·L⁻¹组细胞穿膜数最少(表2)。

表2 消癌舒加药24 h后Hela细胞穿膜数的比较($\bar{x} \pm s, n = 5$)

分组	质量浓度/mg·L ⁻¹	24 h 细胞迁移数/个
对照	-	66.2 ± 4.3
XAS	200	65.0 ± 13.6
	400	55.8 ± 8.2 ¹⁾
顺铂	5	52.0 ± 7.8 ¹⁾
XAS + 顺铂	200 + 5	50.4 ± 7.1 ¹⁾
	400 + 5	40.4 ± 8.4 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01(表3~4同)。

3.4 消癌舒对CA125分泌量的影响 细胞经过药物作用48,72 h后,CA125分泌量随药物浓度的升高而下降,消癌舒与顺铂联合作用更明显。且细胞在药物作用48,72 h后CA125的分泌量无明显差异(表3)。

3.5 消癌舒对VEGF mRNA表达的影响 药物作用48 h后,与对照组比较,VEGF mRNA的表达随药物浓度的升高而下降,消癌舒与顺铂联合作用更显著(图2)。

表4 消癌舒含药血清对Hela细胞生长的抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 5$)

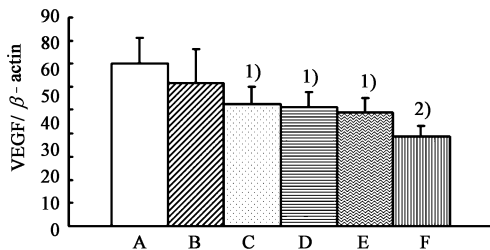
分组	24 h		48 h		72 h	
	A	抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%
阴性对照	1.045 ± 0.034	-	1.135 ± 0.023	-	1.147 ± 0.032	-
10%低剂量含药血清	0.906 ± 0.030 ²⁾	13.32	0.890 ± 0.088 ²⁾	21.6	0.873 ± 0.044 ²⁾	23.9
20%低剂量含药血清	0.882 ± 0.045 ²⁾	15.60	0.844 ± 0.027 ²⁾	25.6	0.788 ± 0.044 ²⁾	31.3
10%中剂量含药血清	0.851 ± 0.037 ²⁾	18.5	0.825 ± 0.03 ²⁾	27.3	0.745 ± 0.016 ²⁾	35.0
20%中剂量含药血清	0.808 ± 0.025 ²⁾	22.66	0.754 ± 0.052 ²⁾	33.6	0.693 ± 0.032 ²⁾	39.6
10%高剂量含药血清	0.756 ± 0.041 ²⁾	27.7	0.693 ± 0.027 ²⁾	39.0	0.630 ± 0.022 ²⁾	45.1
20%高剂量含药血清	0.634 ± 0.073 ²⁾	39.4	0.627 ± 0.022 ²⁾	44.8	0.513 ± 0.022 ²⁾	55.3

4 讨论

消癌舒是我省少数民族经验方,民间主要用于宫颈癌和卵巢癌等疾病的治疗,经民间用药反馈统计,其对延缓恶性肿瘤的发病和缓解恶性肿瘤所导致的疼痛均具有良好效果。本研究发现,消癌舒使Hela细胞形态明显发生了改变,细胞贴壁松弛、折光度下降、形状变圆及体积缩小,且随着药物作用时间的延长,细胞出现皱缩、脱壁及死亡的现象;MTT结果亦表明消癌舒及其与顺铂联用对宫颈癌Hela

表3 消癌舒在不同时间点对Hela细胞分泌CA125的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

分组	质量浓度/mg·L ⁻¹	CA125/U·L ⁻¹	
		48 h	72 h
对照	-	69.07 ± 8.85	71.66 ± 6.71
XAS	200	70.35 ± 9.59	69.47 ± 8.80
	400	56.25 ± 8.46	56.84 ± 10.27 ¹⁾
顺铂	5	59.34 ± 7.68 ¹⁾	56.35 ± 7.42 ¹⁾
XAS + 顺铂	200 + 5	50.30 ± 6.66 ¹⁾	56.87 ± 4.57 ¹⁾
	400 + 5	53.28 ± 4.60 ²⁾	51.77 ± 5.35 ²⁾



A. 对照; B. XAS 200 mg·L⁻¹; C. XAS 400 mg·L⁻¹; D. 顺铂 5 mg·L⁻¹; E. XAS 200 mg·L⁻¹ + 顺铂 5 mg·L⁻¹; F. XAS 400 mg·L⁻¹ + 顺铂 5 mg·L⁻¹

图2 药物对Hela细胞VEGF mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3.6 消癌舒含药血清对Hela细胞增殖的影响 MTT结果表明,随药物浓度的增加及作用时间的延长,消癌舒含药血清对Hela细胞的抑制作用逐渐增强,呈剂量依赖性及时间依赖性(表4)。

细胞具有明显的抑制作用,抑制率随时间延长而逐渐增大,呈现明显的时间依赖性;Transwell研究发现,消癌舒明显减少Hela细胞穿过滤膜的数量。上述研究提示,消癌舒各剂量组均能明显抑制Hela细胞的增殖及迁移,尤其与顺铂联合应用疗效最为显著,据此,笔者推测消癌舒可能通过抑制肿瘤细胞的增殖及迁移来发挥其抗肿瘤作用,且与顺铂联用产生协同作用。

CA125是临床公认的卵巢癌、宫颈癌标志物,

在正常人体组织及血清中不表达或低表达,其分泌量对观察疗效及预后有着重要意义^[7],CA125 水平升高与肿瘤的进展及较高的组织学分级显著相关^[8-9]。本研究发现,消癌舒单独应用及其与顺铂联用均明显降低 CA125 的水平,两者联用效果最佳,提示消癌舒抗肿瘤作用与抑制 HeLa 细胞 CA125 的分泌有关。恶性肿瘤的生成、侵袭和转移依赖于肿瘤血管的形成,VEGF 是一个重要的血管新生诱导剂,能直接刺激血管内皮细胞分裂增殖,是高度特异的血管内皮细胞有丝分裂素,直接参与诱导血管生成,在肿瘤血管生成中起着最基础、最关键的作用^[10-11]。在多种实体瘤中表达异常升高,且随着肿瘤恶性程度的增加而递增。VEGF 的过度表达与宫颈癌的浸润发展及转移密切相关,检测 VEGF 对预测宫颈癌的预后有一定的价值,可作为预后不良的指标之一^[12]。本研究中,消癌舒明显抑制 HeLa 细胞 VEGF mRNA 的表达,与顺铂联用效果更佳,提示 XAS 可能通过抑制肿瘤新生血管的生成,从而发挥抗肿瘤作用。

此外,由于中药复方制剂化学成分极其复杂,影响因素多,除有效成分外,粗提物的理化性质如杂质、酸碱度、鞣质等对离体实验结果会产生影响,故以中药粗提物的体外实验结果来评价中药的体内效应不够客观,血清药理学在某种程度上可排除中药制剂直接进行离体实验时所特有的、难以确定因素的干扰,较客观反应药物在体内产生效应的过程,使结果更为可靠^[13-14]。因此,本研究同时观察消癌舒含药血清对 HeLa 细胞增殖的影响,结果显示消癌舒含药血清明显抑制 HeLa 细胞的增殖,且呈时间和剂量依赖性,与直接给药作用相似。由于血清药理学在研究中药复方制剂方面具有诸多优点,因此本课题组拟在前期研究的基础上进一步通过血清药理学实验及体内实验来观察消癌舒对宫颈癌的抑制效应并探索其作用机制。

综上所述,本研究确证了消癌舒及其含药血清均能明显抑制 HeLa 细胞的增殖,消癌舒直接给药明显抑制 HeLa 细胞的迁移,且与顺铂联用产生协同抑制作用,其作用机制与抑制 HeLa 细胞 CA125 的分

泌及 VEGF mRNA 的表达有关,有关其抗肿瘤的更多作用机制有待后续深入研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社,2010:311.
- [2] 张德华,王玲,赵宁. 牡蒿总黄酮提取方法的研究[J]. 生物学杂志,2008,25(3):59.
- [3] 娄田田,杜娟,陈祥盛,等. 斑蝥素及衍生物抗肿瘤机制的研究进展[J]. 亚太传统医药,2012,8(10):205.
- [4] 陈瑾敖,杨尚君,蒲宇,等. 斑蝥酸钠对人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡相关基因表达的影响[J]. 医学前沿,2011,9:8.
- [5] 曹永艳,王猛,黄开顺,等. 复方斑蝥胶囊血清诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞蛋白质组差异表达分析[J]. 中国中药杂志,2007,32(9):831.
- [6] 张秀玲,曲群,王桂贤,等. 青藤碱联合顺铂对人宫颈癌 HeLa 细胞增殖作用的影响[J]. 中国药物与临床,2010,10(10):1117.
- [7] Rai A J, Zhang Z, Rosenzweig J, et al. Proteomic approaches to tumor marker discovery[J]. Arch Pathol Lab Med, 2002,126(12):1518.
- [8] Homma S, Satoh H, Kagohashi K, et al. Production of CA125 by human lung cancer cell lines[J]. Clin Exp Med, 2004,4(3):139.
- [9] 孟君,李英勇,乔玉环,等. CA125 测定在宫颈腺癌诊断中的应用[J]. 中国妇幼保健,2005,20(9):1054.
- [10] 段泽星,谢立群. VEGF 在肿瘤生长和血管生成中的作用[J]. 世界华人消化杂志,2010,18(27):2894.
- [11] 鲁林源,艾开兴,黄新余,等. S100A4、VEGF 的表达与胰腺癌预后的关系[J]. 肿瘤,2008,28(4):326.
- [12] 于立坚,马润娣,廖铭能,等. 福安泰-03 对肿瘤血管生成的抑制作用[J]. 中国药理学通报,2008,24(11):1445.
- [13] 黄臣虎,陆茵,高骁君,等. 中药血清药理学研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):266.
- [14] 牛国庆,武果桃. 中药血清药理学研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2011,13(1):73.

[责任编辑 聂淑琴]