

夜香树甾体皂苷抑制人肝癌裸鼠移植瘤的研究

农智新¹, 赵世元^{1*}, 张明艳², 黄之虎¹, 叶海洪¹, 钟振国², 李彩萍²

(1. 广西壮族自治区民族医院, 南宁 530001; 2. 广西中医药大学, 南宁 530001)

[摘要] 目的:观察夜香树甾体皂苷(SSCN)对 HepG2 肝癌移植瘤的抑制作用,并探讨其抑瘤的可能机制。方法:从夜香树叶和嫩枝用有机溶剂提取、分离并鉴定 SSCN。应用人肝癌细胞株 HepG2 皮下接种法建立移植瘤模型,建模成功后将荷人肝癌裸鼠随机分为 5 组:生理盐水组 0.2 mL·次⁻¹、沙利度胺(TLD)组 200 mg·kg⁻¹和 SSCN 低,中,高剂量组 4,6,8 mg·kg⁻¹。隔天 ip 给药,在治疗期间测量皮下移植瘤的长径和短径;30 d 后处死裸鼠,免疫组化法检测移植瘤中微血管密度(MVD)和血管内皮细胞生长因子(VEGF)的表达,用酶联免疫法(ELISA)法检测裸鼠血清中白细胞介素-8(IL-8)的表达。结果:SSCN 低,中,高剂量 ip 给药对肝癌裸鼠移植瘤相对肿瘤细胞增殖率分别为对照组(100%)的 48.26%,42.94%,41.57%,TLD 组的相对肿瘤增殖率为 42.19%。SSCN 各组及 TLD 组的 MVD,VEGF 和 IL-8 的水平都明显低于模型组($P < 0.01$)。结论:夜香树甾体皂苷体内对 BALB/c 裸鼠肝癌移植瘤有一定的抑制作用,其作用机制可能通过抑制 VEGF,MVD 的表达以及 IL-8 的转录,导致肿瘤血管生成受到抑制。

[关键词] 夜香树甾体皂苷; 肝癌细胞 HepG2; 微血管密度; 血管内皮生长因子; 白细胞介素-8

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0239-05

[doi] 10.11653/syjf2013170239

Antitumor Effects of Steroidal Saponins of *Cestrum nocturnum* (SSCN) on Human Hepatocellular Carcinoma Xenografts in Nude Mice

NONG Zhi-xin¹, ZHAO Shi-yuan^{1*}, ZHANG Ming-yan², HUANG Zhi-hu¹,
YE Hai-hong¹, ZHONG Zhen-guo², LI Cai-ping²

[收稿日期] 20121206(001)

[基金项目] 广西科技攻关项目(桂科攻 0816004-17);广西医疗卫生科研课题(Z2008029)

[第一作者] 农智新,硕士研究生,副主任医师,从事消化内科疾病治疗,Tel:08615977739301,E-mail:jane9729@126.com

[通讯作者] *赵世元,硕士研究生,副主任技师,从事教学与中药新药的研究开发,Tel:08613978647518,E-mail:zhaoshiyuan_1105@163.com

- [11] Kociol R D, Horton J R, Fonarow G C, et al. Admission, discharge, or change in B-type natriuretic peptide and long-term outcomes: data from organized program to initiate lifesaving treatment in hospitalized patients with heart failure (optimize-hf) linked to medicare claims[J]. Circ Heart Fail,2011,4(5):628.
- [12] Vuolteenaho O, A Lakop Salaam, Ruskoaho H, et al. BNP as a biomarker in heart disease[J]. Adv Clin Chem, 2005,40(1):1.
- [13] Janice M H, Daniel P K. Mitochondrial energy metabolism in heart failure;a question of balance[J]. J Clin Invest, 2005, 115(3):547.
- [14] 胡元会, 吴华芹, 张百舜. 心复康口服液对心梗后心衰大鼠心肌组织 ATP ADP AMP 影响的研究[J]. 辽宁中医杂志,2008,36(8):1141.
- [15] Beer M, Seyfarth T, Sandstede J, et al. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and failing human myocardium measured noninvasively with (31) P-SLOOP magnetic resonance spectroscopy[J]. J Am Coll Cardiol,2002,40(7):1267.
- [16] Neubauer S. The failing heart-an engine out of fuel[J]. N Engl J Med,2007,356(11):1140.
- [17] Szwed H, Sadowski X, Pactocki R, et al. Anti-ischemic efficacy and tolerability of trimetazidine in elderly patients with angina[J]. Clin Drugs Invest,2000,19(1):91.

[责任编辑 聂淑琴]

(1. Guangxi National Hospital, Nanning 530001, China;
2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antitumor effects and mechanism of steroidal saponins of *Cestrum nocturnum* (SSCN) on human hepatocellular carcinoma xenografts in nude mice *in vivo*. **Method:** SSCN from the leaves and twigs of *cestrum nocturnum*, Linn were separated and their structures were identified by solvent; the animal model of human hepatocellular carcinoma xenografts was constructed by subcutaneous inoculation of hepatocellular carcinoma HepG2 cells into nude mice. The mice were randomly divided into five groups: NS group (0.2 mL), thalidomide (TLD) group (200 mg·kg⁻¹), and SSCN low, medium and high dose groups (4, 6, 8 mg·kg⁻¹). During treatment, tumor size was measured. The mice were killed 30 days later to observe tumor morphology. The angiogenesis was assessed by immunohistochemical staining using anti-vascular endothelia growth factor (VEGF) and cluster of differentiation 34 (CD34) antibodies, the expression of interleukin-8 (IL-8) of serum was detected by ELISA. **Result:** The relative proliferation rate in experimental groups (low, medium and high doses) was 48.26%, 42.94% and 41.57%, respectively, and in positive group (thalidomide) the relative proliferation rate was 42.19%. Compared with the NS group, the expression of MVD, VEGF and IL-8 were markedly lowered in all SSCN treatment groups and TLD group ($P < 0.01$). **Conclusion:** SSCN has a certain inhibitory effect on tumor nude mice *in vivo*. The anti-tumor mechanism is probably related to the inhibition of activity of VEGF, MVD and IL-8, and downregulating the expression of proangiogenic factors.

[Key words] steroidal saponins of *Cestrum nocturnum* (SSCN); human hepatocellular carcinoma cell line HepG2; MVD; VEGF; IL-8

夜香树,茄科夜香树属植物,原产热带美洲,现广植于热带地区,在我国主要分布在南方,其性温、味辛,具行气止痛、镇定之功效,民间用于治疗胃脘痛;课题组前期研究发现,夜香树叶和嫩枝的正丁醇和乙醇提取物体内对人体几种不同来源的肿瘤细胞都有较好的抑制作用^[1-7]。本研究以肝癌细胞株 HepG2 为研究对象,从夜香树叶和嫩枝的正丁醇部位中提取得到甾体皂苷,观察甾体皂苷(以下简称 SSCN)体内对 HepG2 的抑制作用,并初步探讨其抗肿瘤作用机制。

1 材料

1.1 药物(SSCN)的提取 夜香树叶及嫩枝采自广西境内,经广西中医学院药用植物教研室刘寿养教授鉴定为茄科属植物(*Cestrum nocturnum*, Linn)。该化合物在夜香树叶和嫩枝的正丁醇部位含量达 4%^[6]。动物实验前用生理盐水加到所需的浓度,置 HV-50 自动高压灭菌器 120 ℃,30 min,冷却后将其置于超净工作台中(事先以紫外线灯消毒 30 min)分装。药品配好后置 4~8 ℃ 冰箱保存。

1.2 试剂 阳性对照沙利度胺(Thalidomide, TLD)(购自常州制药厂有限公司,使用时用 0.5% 羧甲基纤维素钠溶解),柱层析用硅胶(100~200

目,青岛海洋化工厂生产,批号 01089),SABC 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),人白介素-8(IL-8)ELISA 试剂盒及抗人 IL-8 单克隆抗体(均为美国 Biosource 公司),鼠抗人 CD34 单克隆抗体(美国 Neomarker 公司)。

1.3 仪器 381CO₂ 培养箱(Thermo Forma,美国),TE2000-U 倒置荧光显微镜(Nikon,日本),KHBst360-酶标仪(上海科华产)。Meettler-AE100 电子分析天平(瑞士 Mettler 公司)。

1.4 细胞及动物 人肝癌细胞株 HepG2,由上海中国科学院细胞库提供。昆明种小鼠,体重 18~22 g,广西医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(桂)2003-0003。雄性 BALB/c 裸鼠,动物许可证编号 SCXK(京)2006-009,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,SPF 级。裸小鼠饲养于广西中医药大学实验动物中心 SPF 级条件下,12 h 采光,12 h 黑暗,恒温 24 ℃,饲养和水经消毒后方能使用,实验均严格按照动物实验室有关条例进行。

2 方法

2.1 肝癌 HepG2 裸小鼠移植瘤模型的建立及检测指标 HepG2 细胞生长于含 10% 灭活小牛血清的 RPMI 1640 培养基中,于 37 ℃,5% CO₂,饱和湿度培

养箱中培养,每2~3 d用0.25%胰酶消化传代。取 2×10^6 个对数生长期的 HepG2 细胞,接种于 BALB/c 裸鼠前腋下,1 d 后在注射处局部出现明显皮丘,1 周后出现小结节,1 个月后瘤块长成长约黄豆大小后,即可进行肿瘤组织块移植。处死 HepG2 荷瘤鼠,在无菌条件下取下荷瘤鼠瘤块,完整取出肿瘤,立即放入含 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 青霉素、链霉素的生理盐水中。剔除周围结缔组织,取肿瘤边缘生长旺盛的组织,首先切成薄片,再切成约 1 mm^3 瘤组织块(尽量大小相等)。用体重 $(20 \pm 2) \text{ g}$ 左右的 BALB/C 裸鼠 40 只,用 5% 戊巴比妥 ip 0.2 mL ,碘酒消毒右前肢腋皮下,用剪刀切一小口,把肿瘤组织移植到皮下,用尼龙线缝合伤口,5 d 后拆线。2 周后可见皮下有 $0.3 \sim 0.5 \text{ cm}$ 大小的肿瘤生成,剔除瘤块未生成的和过大的瘤块移植瘤裸鼠。剩下的 30 只称重并随机分成 5 组,每组 6 只,分为 SSCN 高、中、低剂量组,沙利度胺对照组、阴性对照组(生理盐水组),即开始用药。根据毒性实验结果,按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 等容量不等浓度 ip。首次加大剂量之后隔日给药,连续 30 d。SSCN 高、中、低剂量组分别按每次 $8, 6, 4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 对照组沙利度胺剂量按每次 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 均配成 0.2 mL ip, 阴性对照组 ip 相同体积的生理盐水。每天观察小鼠的自主活动、眼睛和毛色及瘤体大小等情况,随时记录,30 d 后停止给药。观察指标及方法:计算裸鼠皮下移植肿瘤体积、肿瘤相对体积和肿瘤相对增殖率:待皮下移植瘤长至可测量度时,用游标卡尺测量肿瘤最长径(a)和最短径(b),以后分别于给药的前 1 天和给药后的第 3, 6, 9, 12 天以及处死前测量肿瘤体积。按下列公式分别计算肿瘤体积(TV)、相对肿瘤体积(RTV)和相对肿瘤增殖率(T/C): $TV = a \times b^2 / 2$; $RTV = V_i / V_0$ (V_0 为分组给药时测量所得体积, V_i 为每次测量时的体积); $T/C = \text{治疗组 RTV} / \text{阴性对照组 RTV} \times 100\%$ 。并绘出生长曲线。抑瘤效果评价:用肿瘤生长抑制率或相对肿瘤增殖率评价药物抗肿瘤效果,疗效评价标准: $T/C > 60\%$ 为无效; $T/C \leq 60\%$, 并且 $P < 0.05$ 为有效^[8]。

2.2 对瘤组织微血管密度与血管内皮生长因子表达的影响 将各组肿瘤组织浸泡在饱和苦味酸甲醛 100 mL 、冰醋酸 20 mL 混合液 24 h 后,用 70% 乙醇洗涤,将组织制成石蜡块,切成 $4 \mu\text{m}$ 厚度,用胃蛋白酶固化,用免疫组织化学法检测各实验组的肿瘤组织的血管内皮细胞生长因子(VEGF)、微血管密度(MVD)。结果评定由病理科医师采用双盲法进行:

单个内皮或成簇内皮细胞作为 MVD 阳性,步骤:先用低倍镜观察切片中血管密度“热点”区域,然后在高倍镜下计数每个区域内的血管数,5 个视野的均值为 MVD。VEGF 阳性标准:在高倍镜下细胞浆着色为棕褐色或淡黄色表现^[9]。采用病理图像分析系统进行数据统计分析。

2.3 裸鼠血清中 IL-8 测定 各组裸鼠眼眶采血后,室温下静置 30 min , $1500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 离心 10 min , 分离血清,置 $-70 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存。检测时取出标本,室温下解冻 30 min 。按照试剂厂商提供的说明书进行操作。具体步骤如下:①设立待测血清、IL-8 对照品、空白,每份样品设 2 个复孔,对应加入 $100 \mu\text{L}$ 待测血清、IL-8 对照品,于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 2 h ;②将洗涤液注满各孔,静置 1 min ,扣干,重复 3 次;③每孔加入生物素抗体工作液 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$ (除空白孔外),封板, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 1 h 。④重复步骤(2);⑤每孔加酶结合物 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$,封板, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 30 min ;⑥重复步骤(2);⑦每孔加底物显色剂 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 避光孵育 $5 \sim 10 \text{ min}$;⑧加入终止液 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$,用酶标仪检测吸光度($A_{505 \text{ nm}}$)。根据标准品的浓度对应的 A 均值,得出曲线回归方程,通过回归方程计算出待测样品的 IL-8。

2.4 数据处理 采用 SPSS 10.0 统计软件,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对人肝癌 HepG2 细胞裸鼠皮下移植瘤生长的影响 治疗前各组裸鼠肿瘤大小无明显差异,提示各组瘤体具有可比性。在治疗过程中,生理盐水组裸鼠肿瘤生长较快,个别肿瘤表面有破溃倾向,而 SSCN 及沙利度胺组裸鼠肿瘤生长相对缓慢。治疗结束后复测肿瘤大小,结果显示,SSCN 各组及沙利度胺组肿瘤体积明显小于生理盐水组($P < 0.01$),其中 SSCN 各组随着给药剂量的增大其相对肿瘤增殖率逐渐减小。见表 1。

3.2 对裸鼠移植瘤中微血管密度和血管内皮生长因子的影响 从表 2 可以看出,沙利度胺组、CNSS 高、中、低剂量组的 MVD,VEGF 与生理盐水组的结果相比显著下降。见表 2 和图 1, 2。

3.3 对裸鼠血清 IL-8 的影响 SSCN 及沙利度胺治疗裸鼠移植瘤后,裸鼠血清中 IL-8 的表达明显下调,与生理盐水组比较差异非常显著($P < 0.01$)。SSCN 各组随着药物剂量的递增,IL-8 表达下调更加明显。与沙利度胺组比较,CNSS 中、高剂量组裸鼠

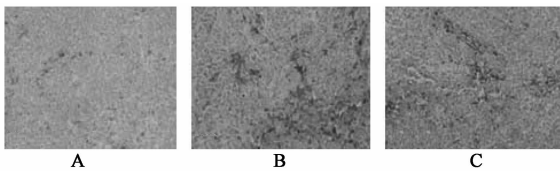
表 1 夜香树甾体皂苷对人肝癌裸鼠移植瘤体积的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肿瘤体积/mm ³		相对肿瘤体积	相对肿瘤 增殖率/%
		治疗前	治疗后		
生理盐水	-	62.08 ± 27.65	1 068.68 ± 103.98	17.21 ± 1.21	100
SSCN	4	53.27 ± 25.54	442.67 ± 96.81	8.31 ± 1.47 ²⁾	48.26
	6	56.90 ± 27.47	420.49 ± 164.93	7.39 ± 0.30 ²⁾	42.94
	8	55.09 ± 15.63	393.89 ± 89.32	7.15 ± 0.92 ²⁾	41.57
沙利度胺	200	58.82 ± 11.67	427.03 ± 79.15	7.26 ± 0.32 ²⁾	42.19

注:与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与沙利度胺组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

表 2 SSCN 对人肝癌裸鼠移植瘤 MVD 和 VEGF 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$) 个

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	MVD	VEGF
生理盐水	-	21.85 ± 7.38	5.87 ± 0.95
SSCN	4	15.35 ± 5.26 ^{1,3)}	4.35 ± 0.46 ^{1,3)}
	6	13.46 ± 3.88 ^{1,3)}	3.82 ± 0.44 ^{1,3)}
	8	11.12 ± 4.19 ¹⁾	3.15 ± 0.32 ¹⁾
沙利度胺	200	10.12 ± 4.35 ¹⁾	3.02 ± 0.35 ¹⁾



A. 夜香树皂苷组 8 mg·kg⁻¹; B. 沙利度胺组 200 mg·kg⁻¹;
C. 模型(生理盐水)组(图 2 同)

图 1 SSCN 对裸鼠移植瘤中 CD43 免疫组
化染色显示微血管形成的影响(免疫组化 DAB 染色, ×200)

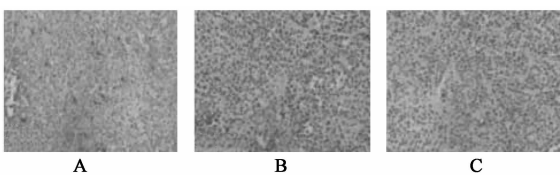


图 2 SSCN 对裸鼠移植瘤中 VEGF 免疫组
化染色显示微血管形成的影响(免疫组化 DAB 染色, ×200)

IL-8 有显著差异($P < 0.01$),见表 3。

表 3 SSCN 对人肝癌裸鼠血清 IL-8 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-8/ng·L ⁻¹
生理盐水	-	958.31 ± 64.61
SSCN	4	651.51 ± 113.42 ²⁾
	6	317.37 ± 68.15 ^{2,4)}
	8	239.98 ± 65.84 ^{2,4)}
沙利度胺	200	724.20 ± 93.84 ²⁾

4 讨论

甾体皂苷广泛存在动植物,很多食物和蔬菜如

燕麦、花生、大豆、扁豆、大蒜、菠菜、洋葱、芦笋、枣子和茶叶都含有相当高含量的甾体皂苷,在很多中药如人参、甘草、马栗树、三叶草、报春花都含有甾体皂苷。研究发现甾体皂苷有很多生理学和药理学活性,如抗肿瘤、抗炎,抗心血管系统疾病和细胞毒活性等^[10-12]。本实验采用人肝癌 HepG2 裸小鼠移植瘤模型评价 SSCN 的体内抗肝癌作用。笔者的研究结果表明 SSCN 各剂量组的 T/C 明显低于生理盐水组。SSCN 各剂量组与 TLD 组的 T/C 比较没有显著差异,说明与 TLD 的疗效相近。可认为 SSCN 对人肝癌 HepG2 裸小鼠移植瘤具有一定的治疗作用。

肿瘤血管生长在实体瘤的产生、发展和转移过程中起关键的作用。但是肿瘤组织的血管在结构和功能都有别于正常组织的血管,如往往具有不规则的内径和不正常的血管分支结构,缺乏内皮细胞和完整的基底膜。VEGF 是很强的促血管生长因子,在肿瘤的生长因子中,只有 VEGF 直接刺激内皮细胞分裂增殖,最直接参与诱导肿瘤血管生成^[13]。MVD 被认为是能反映肿瘤血管生成的一个重要指标。在人卵巢癌裸鼠移植瘤模型中,青蒿琥酯能明显抑制移植瘤的血管生成,下调肿瘤细胞分泌 VEGF 及其受体 KDR/flk-1^[14]。苦参素、莪术油、薏苡仁这 3 种药物的注射剂是目前肿瘤临床常用药物,通过小鼠 S180 移植瘤模型体内实验发现它们均可不同程度地抑制肿瘤血管生成,降低肿瘤组织的 MVD,其作用机制在于抑制瘤体内 VEGF 和 bFGF 的表达,CD34 是肝细胞癌新生血管较成熟的标记物^[15]。本实验研究了 CNSS 在肝癌细胞 HepG2 移植瘤的瘤组织中的 VEGF 和 MVD 的表达,结果显示,经 SSCN 治疗的肝癌细胞 HepG2 移植瘤裸鼠,VEGF 的表达和 MVD 的形成均有显著的降低,说明抑制 VEGF 的表达及 MVD 的形成,是 SSCN 抑制肝癌和降低转移率的机制之一。

IL-8 属于趋化因子 CXC 基因家族,有研究发现

在多种肿瘤组织中有异常表达,IL-8 具有促进肿瘤新生血管形成的作用^[16]。IL-8 可能是肿瘤组织细胞分泌的一种调节血管生成的调节因子。本实验也研究证明 SSCN 可以减少 IL-8 的分泌,说明抑制 IL-8 的分泌,也是 SSCN 抑制肝癌的机制之一。

综上所述,夜香树叶甾体皂苷(SSCN)对 BALB/c HepG2 肝癌裸鼠移植瘤肿瘤具有一定的抑制作用,其作用机制可能通过抑制 VEGF, MVD, IL-8 等血管生成因子的表达,从而抑制血管内皮细胞的增殖、迁移和小管形成,最终起到抗血管生成和抑制肿瘤的作用。因此,本研究为进一步探索从抗血管生成方面来研究抗肝癌的药物应用打下了一些实验基础。

本实验从抗血管生成方面来研究药物的抗肿瘤机制,但对于激活 VEGF 基因转录的缺氧诱导因子(HIF)和在调控因子中充当着重要角色的血管核转录因子(NF- κ B),它在肿瘤的起源、发展、血管新生及转移中具有重要作用,还有另一个很重要的血管生成调控因子碱性成纤维细胞生长因子(bFGF),本实验还没有涉及到。这些都是研究抗癌药物设计的一个很好靶点。所以在今后的研究中要从上述方向多加探索,为日后的临床用药打下实验基础。

[参考文献]

- [1] 钟振国,赵世元,吕金,等.夜香树提取物体内抗肿瘤作用的实验研究[J].中药材,2008,31(11):1709.
- [2] 赵世元,钟振国,廖文,等.夜香树提取物体外抗肿瘤作用的实验研究[J].天然产物研究与开发,2008,20(1):12.
- [3] 黄燕,李鹏,罗雪菲,等.夜香树提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(15):114.
- [4] 赵世元,黄之虎,叶海洪.夜香树花甾体皂苷诱导 K562 细胞凋亡机制研究[J].中成药,2013,32(11):1977.
- [5] 赵世元,张明艳,李彩萍,等.夜香树甾体皂苷抗人肝癌裸鼠移植瘤的研究[J].中国实验方剂学杂志,

2013,19(7):212.

- [6] 赵世元,农智新,叶海洪,等.夜香树叶甾体皂苷的分离鉴定及抗肿瘤作用[J].中成药,2013,32(12):2108.
- [7] 赵世元,农智新,叶海洪,等.夜香树叶甾体皂苷对人肝癌细胞株 BEL-7404 增殖抑制作用机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):212.
- [8] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. Cell,1996,86(3):353.
- [9] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin,2005,55(2):74.
- [10] Ravikumar P R, Paul H C, Erbal J S. Drug Yunnan Bai Yao journal of pharmaceutical[J]. Sciences, 1979,67(1):900.
- [11] 姚楠,顾晓洁,李友宾.白首乌中 3 个 C21 甾体皂苷类成分对人肺癌 A549 细胞生长及周期的影响[J].中国中药杂志,2009,34(11):1418.
- [12] 刘清华,杨峻山,索茂荣.斑鸠菊属的倍半萜内酯类及甾体皂苷类化学成分及药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2007,32(01):10.
- [13] P M Biselli-Chicote. VEGF gene alternative splicing: pro- and anti-angiogenic isoforms in cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol,2012(138):363.
- [14] 宋长城,吕祥,程彬彬,等.蜂毒素对人肝癌 BEL-7402 细胞增殖和 VEGF、bFGF 表达的影响[J].中国药理学通报,2011(10):46.
- [15] El-Assal ON, Yamanoi A, Soda Y, et al. Clinical significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of cirrhotic liver[J]. Hepatology, 1998,27(6):1554.
- [16] Matsuo Y, Ochi N, Sawai H, et al. CXCL8/IL-8 and CXCL12/SDF-1 α co-operatively promote invasiveness and angiogenesis in pancreatic cancer[J]. Int J Cancer,2009,124(4):853.

[责任编辑 聂淑琴]