

仙慈丹有效部位对小鼠 Lewis 肺癌的抑制作用及机制

李婧¹, 王培培¹, 黄松^{1,2*}, 陈玲玲¹, 冯泓瑞¹, 杜先华¹

(1. 广州中医药大学, 广州 510006;

2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的:探讨仙慈丹对小鼠 Lewis 肺癌的生长抑制,免疫调节,细胞周期及凋亡的影响,并对其抗癌作用机制进行探讨。方法:选择 C57BL/6 小鼠移植性 Lewis 肺癌为实验模型进行试验,造模 5 d 后,分为模型对照组、顺铂给药组、仙慈丹高、中、低剂量组、联合用药组,给药 13 d,给药剂量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别为 0,2.0(ip),0.648(ig),0.324(ig),0.162(ig),0.162(ig)+2.0(ip);观察仙慈丹有效部位对小鼠肺癌的抑制、免疫调节的影响,同时采用流式细胞仪检测肿瘤组织的细胞周期、凋亡率,应用免疫蛋白印记法(Western blot 法)观察仙慈丹有效部位对 p53, Bcl-2 表达的影响。结果:①抑瘤率:阳性药物顺铂组、仙慈丹高、中、低各给药组、联合给药组分别为(63.02±3.21)%, (46.59±2.60)%, (42.48±2.77)%, (15.74±1.94)%, (64.56±1.62)%;②脾脏指数:仙慈丹高、中、低各给药组指数较高,与阳性药物组比较具有显著性差异($P<0.01$);③荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡率:模型对照组、阳性药物组、仙慈丹高、中、低各给药组、联合给药组分别为 0.04%, 30.40%, 14.80%, 17.98%, 16.04%, 20.34%;④阳性药物组、仙慈丹高、中给药组、联合用药组的 G_0/G_1 细胞所占百分比与模型组比较具有显著性差异($P<0.01$);⑤p53 及 Bcl-2 表达量:仙慈丹高、中、低给药组及顺铂仙慈丹联合用药组表达量均降低,与模型组比较具有显著性差异($P<0.01$)。结论:仙慈丹有效部位可以抑制 Lewis 肺癌生长,其抗癌作用与诱导细胞凋亡,调节细胞周期有关。

[关键词] 仙慈丹有效部位; Lewis 肺癌; 细胞周期; 细胞凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0208-05

[doi] 10.11653/syjf2013110208

Inhibition Effect and Mechanism of Xiancidan on Lewis Lung Cancer in Mice

LI Jing¹, WANG Pei-pei¹, HUANG Song^{1,2*}, CHEN Ling-ling¹, FENG Hong-rui¹, DU Xian-hua¹

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Dongguan Institution for Mathematics and Theoretics Engineering Research, Dongguan 523808, China)

[收稿日期] 20121031(011)

[基金项目] 广东省科学技术厅社会发展项目(2010B030700001)

[第一作者] 李婧,实验技术员,从事中药新药开发研究, E-mail: wangpei8201@163.com

[通讯作者] * 黄松,博士,副教授,硕士生导师,从事中药新药开发研究, Tel:020-32503212, E-mail: hsl318@yahoo.com.cn

[9] Peter J Barnes. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Clin Invest, 2008, 118(11): 3546.

[10] Vignola A M, Chanez P, Chiappara G, et al. Transforming growth factor-beta expression in mucosal biopsies in asthma and chronic bronchitis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 156(2 Pt 1): 59.

[11] 冯淬灵, 金焱, 武红莉, 等. 益气活血化痰方对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺组织病理学的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(12): 34.

[12] 冯淬灵, 金焱, 武维屏, 等. 益气活血化痰方对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺功能的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(6): 39.

[13] Mosmann T. Rapid colouration assay for cellular growth and cytotoxicity assay [J]. J Immunol Methods, 1983, 65(1): 55.

[14] Specks U, Nerlich A, Colby T V. Increased expression of type VI collagen in lung fibrosis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1995, 151: 1956.

[责任编辑 聂淑琴]

[Abstract] Objective: To investigate the inhibition effects of Xiancidan (XCD) on the lung-cancer cell in Lewis tumor-bearing mice and explore its mechanism. **Method:** C57BL/6 mice were taken as model, and divided into model group, cis-platinum group, high dose group XCD, middle dose group XCD, low dose group XCD, combination of XCD and control group 5 days later, All groups were administrated for 13 days, and the respective dosage was 0, 2.0 (ip), 0.648 (ig), 0.324 (ig), 0.162 (ig), 0.162 (ig) + 2.0 (ip). To observe the effect of XCD on inhibition of the lung cancer cell and immune regulation, Annexin V-FITC/PI method was applied to determine the apoptosis and cycle of transplanted cancer cells and Western blot method was used to observe the p53, Bcl-2 gene expression. **Result:** ①The inhibition rate in positive control group, high dose group, middle dose group, low dose group of XCD, combination of XCD and control group were $(63.02 \pm 3.21)\%$, $(46.59 \pm 2.60)\%$, $(42.48 \pm 2.77)\%$, $(15.74 \pm 1.94)\%$, $(64.56 \pm 1.62)\%$. ②The spleen Index of high dose group XCD, middle dose group XCD and low dose group were significantly different from model group ($P < 0.01$). ③The apoptosis rate of model group, control group, high dose group XCD, middle dose group XCD, low dose group XCD, the combination group of XCD and positive drug was 0.04%, 30.40%, 14.80%, 17.98%, 16.04%, 20.34%, respectively. ④Compared with model group, the percentage of G_0/G_1 cell in positive control group, high dose group XCD, middle dose group XCD and the combination group was significantly decreased. ⑤The p53 expression and Bcl-2 rate was significantly different from model group. **Conclusion:** The XCD effective parts can inhibit the growth of lewis tumor, which is related to its apoptosis-inducing and immune regulation effect.

[Key words] XCD effective part; Lewis lung cancer; cell cycle; apoptosis

抗肿瘤复方制剂仙慈丹(XCD)是广西某中医院自制中药复方制剂,是以中医药基本理论为指导的临床验方,由北黄芪、冬虫夏草、苏木、田七、柴胡、灵芝、女贞子、西洋参、白花蛇舌草、房姑、甘草等10余味中药组方制成的丸剂^[1]。临床实践验证该制剂具有良好的抗肿瘤药效,尤其对治疗肺癌具有显著的疗效,该组方已申请知识产权保护^[2]。根据罗明琮^[3]等的研究,确定了其有效成分及其提取方法。本研究已通过体外细胞实验^[1],验证了仙慈丹有效成分对肿瘤细胞生长具有抑制作用,并且可以调控细胞周期及促进肿瘤细胞凋亡而发挥抑制作用。本实验通过建立肺癌小鼠模型,探讨XCD有效部分对小鼠Lewis肺癌的生长抑制,免疫调节,细胞周期及凋亡的影响,并对其抗癌作用机制进行深入探讨。

1 材料

1.1 药物 抗肿瘤复方制剂仙慈丹(XCD)是由冬虫夏草、北黄芪、苏木、田七、灵芝、柴胡、女贞子等10余味组方制成的丸剂(广西某中医院医院制剂,批号20110219)。

1.2 细胞株 LLC小鼠荷瘤细胞,购自中国科学院细胞库。

1.3 试剂 顺铂注射液(商品名铂龙,南京制药有限公司,批号20110608),氯化钠注射液(广东利泰制药股份有限公司,批号11071201),Annexin V-

FITC Apoptosis Detecton Kit(美国,Bio Vision公司),PI试剂(广州威佳试剂公司),核糖核酸酶A(RNAase A,Sigma公司),rabbit anti-GAPDH(杭州贤至生物科技有限公司),AB-P-R001p53(1C12) Mouse mAb,Bcl-2(50E3) Rabbit mAb(均为美国CST公司),Goat Anti-Mouse IgG(γ -chainspecific,Cat.BA1050,武汉博士德生物工程有限公司),Goat Anti-Rabbit IgG(γ -chainspecific,武汉博士德生物工程有限公司, Lot. BST10K12H)。

1.4 动物 C57BL/6小鼠100只,雌雄各半,鼠龄4~5周,体重18~22g,SPF级,由广东省实验动物中心提供,许可证号SCXK(粤)2008-0002。

1.5 仪器 SW-CJ-2F型医用净化工作台(苏州净化设备厂),CO-150型二氧化碳培养箱(美国NBS公司),CKX-41-32型倒置显微镜(日本,Olympus公司),CU600型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司),FC500型流式细胞仪(美国,贝克曼-库尔特公司,配有Muticycle AV DNA Analysis分析软件),CT14RD型低速冷冻离心机(Techcomp),Bio-Rad Universal型电泳仪及Bio-Rad电泳,转膜相关配套设备,TS-1 Orbital Shaker脱色摇床,(其林贝尔仪器制造有限公司),New Brunswick Scientific超低温冰箱(美国,NBS公司),AX-II X射线摄影暗匣(5"×7",广东粤华医疗器械厂有限公司),感蓝X光胶片(Kodak),RT-2100C自动酶标仪(深圳雷杜

生命科学股份有限公司)。

2 方法

2.1 有效部位制备 取仙慈丹丸打碎成粉,称取 100 g,加水 500 mL,回流提取 1.5 h,过滤,得滤液,冷却,加乙醇至 50%,放置过夜,抽滤,得滤液。将滤液回收至约 100 mL。使滤液通过 AB-8 型大孔树脂柱,分别加水,体积分数 30%,80%,95% 乙醇梯度洗脱,收集 80% 乙醇洗脱液,浓缩至 100 mL。将回收液转移至蒸发皿,水浴蒸干,所得浸膏于烘箱 60 ℃ 烘过夜。得到干膏 0.90 g,得膏率为 0.90%。

2.2 动物模型建立 将 LLC 小鼠荷瘤细胞至对数期,0.25% 胰酶-EDTA 消化后加完全培养基 5 mL,离心(1 500 r·min⁻¹,5 min),弃去上清,加生理盐水重悬,离心(1 500 r·min⁻¹,5 min),再用生理盐水调整细胞密度为 1 × 10⁷/mL,无菌注射器吸取细胞接种于 C57BL/6 小鼠右侧腋下,培养 14 d 后,选择精神状态良好,瘤体饱满的小鼠,于无菌条件下取出瘤体,并研磨,无菌生理盐水稀释瘤液,台盼蓝拒染法检测存活率 >95%,调整细胞密度至 1 × 10⁷/L,每鼠 0.2 mL 于右侧腋窝皮下接种,待形成肿瘤。取肿瘤组织继续在 C57BL/6 小鼠传至第 2 代,同样方法造成实体瘤荷瘤小鼠动物模型。

2.3 分组 第 5 日剔除不合格动物,称小鼠体重,并随机分为空白对照组(模型组)、阳性药物组(顺铂组)、仙慈丹有效部位给药高、中、低 3 组、联合用药组。每组 12 只,雌雄各半。

2.4 给药 在造模后第 5 天肿瘤长至直径约 5 mm 时开始给药,连续给药 13 d。模型对照组:等体积的生理盐水,每天灌胃给药;阳性药物组:顺铂注射液 2.0 mg·kg⁻¹,隔天 ip 注射给药;XCD 有效部位高、中、低剂量给药组(0.648,0.324,0.162 mg·kg⁻¹),每天 ig 给药;联合给药组:每天以 XCD 低剂量 ig 给药同时隔天以顺铂 2.0 mg·kg⁻¹,隔天 ip 给药;每天观察小鼠饮食及肿瘤生长情况,末次给药后 24 h,小鼠称重,处死。

2.5 观察指标及测定方法

2.5.1 抑瘤率(inhibition rate of tumor growth, TGI)

末次给药后 24 h 将小鼠称重,处死,剥取肿瘤组织称重。抑瘤率计算公式为^[4]:

$$TGI = (1 - T/C) \times 100\%$$

其中 T 和 C 分别为给药组和模型对照组的平均瘤重。

2.5.2 胸腺和脾脏指数的测定 摘取小鼠的胸腺和脾脏,用滤纸吸干残血后,称重(mg),计算胸腺指数和脾脏指数。

$$\text{胸腺(脾脏)指数} = \frac{\text{胸腺(脾脏)质量(mg)}}{\text{体重(g)}}$$

2.5.3 细胞凋亡测定 取肿瘤组织,于生理盐水中清洗两遍,用匀浆器于冰水中研成单个细胞,200 目滤布过滤。离心 5 min(1 500 r·min⁻¹),用 PBS 洗 2 遍,计数,调整细胞使细胞数为 10⁶/mL 以上。将数目调整好的细胞分别用 Annexin V-FITC 染色,30 min 后用流式细胞仪分析其凋亡^[5]。

2.5.4 细胞周期分析 取肿瘤组织,于生理盐水中清洗 2 遍,用匀浆器于冰水中研成单个细胞,200 目滤布过滤。离心 5 min(1 500 r·min⁻¹),用 75% 冷乙醇固定过夜,用 PBS 洗两遍,细胞沉淀中加入 PI (50 mg·L⁻¹) 200 μL 和 RNase A (终浓度 50 mg·L⁻¹) 1 mL 染色 30 min ~ 1 h,用流式细胞仪分析其周期^[6]。

2.5.5 检测 p53 及 Bcl-2 的表达^[7] 将 -80 ℃ 保存的小鼠肿瘤组织加入裂解液,12 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上清液,测定蛋白浓度,建立 BCA 蛋白浓度标准曲线,将每个样品的蛋白浓度调整至相同后,加入 4 × 电泳加样缓冲液,混匀后置沸水中加热 5 min,得到蛋白电泳样品。每孔加 100 μg 的蛋白样品电泳,浓缩胶电压 50 V,分离胶电压 80 V,转膜,用 Tris 缓冲液(pH 7.6)短暂漂洗,封闭 1 h,然后将膜放入 1:1 000 稀释的 p53 和 Bcl-2 一抗,孵育 1 h,置于 4 ℃ 冰箱中过夜。回收一抗,用 TBST 漂洗 30 min,将膜置于 1:1 000 稀释的二抗中混合震荡 1 h, TBST 洗膜 30 min,在暗室中用 ECL 试剂孵育 5 min,显影定影。将图片扫描保存为电脑文件,并用 Quantityone 分析软件将图片上每个特异条带灰度值的数字化。

2.6 统计学处理 使用 SPSS 19.0 统计软件进行数据处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析(One-Way ANOVA),方差齐时选用 LSD 法,方差不齐时选 Dunnett's 法,显著性水准设为 $P < 0.05$ 。

3 结果

3.1 XCD 有效部位对 LLC 荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用及免疫功能的影响 顺铂给药组及 XCD 高剂量组抑瘤率较高, XCD 各给药组脾脏指数及胸腺指数较高,见表 1。

3.2 细胞凋亡分析 阳性药物对荷瘤小鼠的肿瘤凋亡影响最明显,联合给药组作用次之, XCD 给药组的影响作用稍低。见表 2。

3.3 细胞周期分析 阳性药物组, XCD 各给药组、联合用药组在 S 期、G₂/M 期具有显著性差异($P <$

表1 XCD 有效部位对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用及小鼠脾脏指数、胸腺指数的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 瘤重/g | 抑瘤率/% | 脾脏指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ | 胸腺指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ |
|----------|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 模型对照 | - | 4.20 ± 0.77 | - | 10.43 ± 1.31 | 0.20 ± 0.19 |
| 顺铂 | 2.0 | 1.55 ± 0.49 ²⁾ | 63.02 ± 3.21 | 7.41 ± 2.05 ²⁾ | 0.21 ± 0.25 |
| XCD 有效部位 | 0.648 | 2.24 ± 0.80 ^{2,3)} | 46.59 ± 2.60 ³⁾ | 12.57 ± 2.26 ^{2,3)} | 0.38 ± 0.37 ^{2,3)} |
| | 0.324 | 2.42 ± 0.97 ^{2,3)} | 42.48 ± 2.77 ³⁾ | 11.15 ± 3.64 ³⁾ | 0.31 ± 0.33 ^{2,3)} |
| | 0.162 | 3.54 ± 1.44 ^{2,3)} | 15.74 ± 1.94 ³⁾ | 15.28 ± 3.01 ^{2,3)} | 0.21 ± 0.20 |
| 顺铂 + XCD | 2.0 + 0.162 | 1.49 ± 0.43 ²⁾ | 64.56 ± 1.62 | 8.15 ± 2.92 ^{2,3)} | 0.38 ± 0.40 ^{2,3)} |

注:与模型对照组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与顺铂 2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组相比³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

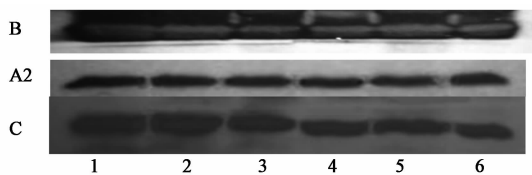
表2 XCD 有效部位干预下 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡和细胞周期情况($\bar{x} \pm s, n=8$)

| 组别 | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 凋亡率 | G ₀ /G ₁ | S | G ₂ /M |
|-------------|--------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 模型对照 | - | 0.04 ± 0.03 | 70.64 ± 3.56 | 17.34 ± 5.06 | 12.02 ± 1.34 |
| 顺铂 | 2.0 | 30.40 ± 4.06 ²⁾ | 79.30 ± 4.02 ²⁾ | 15.42 ± 4.23 ¹⁾ | 5.28 ± 1.42 ²⁾ |
| XCD 有效部位 | 0.648 | 14.80 ± 3.45 ^{2,3)} | 72.14 ± 5.45 ^{2,3)} | 25.56 ± 6.35 ^{2,3)} | 3.30 ± 1.56 ^{2,3)} |
| | 0.324 | 17.98 ± 2.11 ^{2,3)} | 71.48 ± 4.15 ^{1,3)} | 23.46 ± 4.51 ^{2,3)} | 5.06 ± 1.12 ²⁾ |
| | 0.162 | 16.04 ± 3.23 ^{2,3)} | 69.35 ± 3.09 ³⁾ | 23.78 ± 3.67 ^{2,3)} | 6.86 ± 1.67 ²⁾ |
| 顺铂 XCD 联合给药 | 2.0 + 0.162 | 20.34 ± 3.78 ^{2,3)} | 74.04 ± 6.21 ^{2,3)} | 22.87 ± 3.08 ^{2,3)} | 3.09 ± 0.99 ^{2,3)} |

0.01)。见表 2。

3.4 p53 及 Bcl-2 表达 与模型对照组比较,阳性药物组、XCD 有效部位各给药组、联合用药组的荷瘤小鼠组织中的 p53 表达量均降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$);与阳性药物组比较,XCD 有效部位各给药组、联合给药组 p53 表达量较低,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

阳性药物组小鼠肿瘤组织 Bcl-2 的表达量与模型组比较无显著差异,XCD 有效部位各给药组、联合用药组的荷瘤小鼠肿瘤组织中的 Bcl-2 表达均明显减少,与模型对照组及阳性药物组相比差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 1~2。



A2. GAPDH; B. p53; C. Bcl-2;

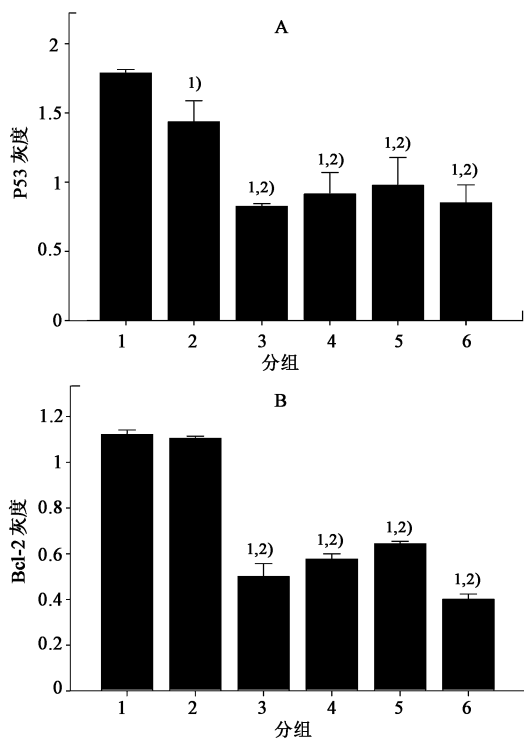
1. 模型组;2. 顺铂 2.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;

3. XCD 0.648 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;4. XCD 0.324 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;

5. XCD 0.162 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;6. 顺铂

2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ + XCD 0.162 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图1 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤组织 p53 及 Bcl-2 蛋白表达(胶片扫描)



与模型对照组相比¹⁾ $P < 0.01$;与顺铂组相比²⁾ $P < 0.01$

图2 Lewis 肺癌肿瘤组织 p53(A) 及 Bcl-2(B) 蛋白表达($\bar{x} \pm s, n=8$)

了长足的进步,但整体治愈率依然低下、预后较差^[8]。加强对恶性肿瘤的临床研究和基础,寻找积极有效的治疗方法和实用、经济的药物无疑具有巨大的现实意义^[9]。

本实验研究显示仙慈丹高、中剂量组及联合用

4 讨论

经过数十年的努力,对恶性肿瘤的治疗已经有

药组的抑瘤率均高于 40%，说明仙慈丹具有有效的抗肿瘤作用。实验期间通过对各组小鼠的观察发现，仙慈丹各给药组及联合用药组小鼠生存状态良好，毛发亮泽，精神状态正常；而阳性药物组小鼠出现脱毛、毛发暗淡粗糙、精神萎靡，提示仙慈丹不仅发挥抗肿瘤作用，还可以改善小鼠生存状况。通过对脾脏指数及胸腺指数检测，仙慈丹各给药组指数都高于模型组，说明仙慈丹可以增强小鼠免疫力；联合用药组指数高于阳性药物组，同样说明仙慈丹对化疗药物作用下的肿瘤小鼠免疫力具有修复作用。

近年来的研究表明^[10]，细胞周期失控是细胞增殖失控而导致癌变的重要原因。细胞周期调控与细胞周期不同时相 (G_1 , S, G_2 , M) 间存在的关键调控点密切相关^[11]，其中最重要的调控点是 G_1/S 调控点。通过对荷瘤小鼠肿瘤细胞凋亡率的测定，观察到仙慈丹具有一定的诱导肿瘤细胞凋亡的作用，但作用不及阳性药物；对肿瘤细胞周期进行测定，发现仙慈丹在 G_0/G_1 期（即 DNA 合成前期）阻滞 DNA 的复制，抑制荷瘤小鼠的肿瘤细胞生长，但作用同样不及阳性药物组。本实验通过 Western blot 方法检测各组小鼠肿瘤组织中调控肿瘤细胞凋亡和周期的 Bcl-2, p53 的表达，提示 XCD 可以调控 Bcl-2 及 p53 的表达，促进肿瘤细胞凋亡及抑制细胞增殖。

本研究发现中药复方仙慈丹具有较好的抑瘤率，具有改善荷瘤小鼠生存状况、增强免疫能力、促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖的作用，提示仙慈丹抗肿瘤作用机制是复杂的，针对生命整体状况全面抑制肿瘤生长，体现中药复方抗肿瘤作用的多靶点。笔者认为，对中药复方抗肿瘤药物的开发，需要对其抗肿瘤作用机制的深入研究，结合现代生物技术，对其作用靶点进行准确定位。

[参考文献]

- [1] 王培培,李婧,黄松,等. 仙慈丹有效部位对人肺癌细胞 A549 增殖的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(21):210.
- [2] 喻泽兰,刘欣荣,Michael McCulloch,等. 黄药子抗肿瘤活性组分筛选及作用分析[J]. 中国中药杂志,2004, 29(6):563.
- [3] 罗明琨,黄松,王杰,等. 噻唑蓝法测定抗肿瘤复方制剂仙慈丹的体外抗肿瘤活性[J]. 中国药学杂志, 2010,43(23):1810.
- [4] 陈瑞战,李世哲,刘志强,等. 虎眼万年青多糖的分离纯化和抗肿瘤活性研究[J]. 中国药学杂志,2011,46(21):1630.
- [5] 陈泽涛,董倩,张勇,等. 流式细胞仪检测清开灵注射液及其有效成分诱导 HL-60 细胞凋亡及其机理研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2000,6(6):37.
- [6] 黄伟伟,刘宁,牛红军. 青蒿琥酯对人结肠癌细胞 HCT-8 细胞凋亡和细胞周期的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):225.
- [7] 吴幸,崔海宁,明松林,等. p53 和 Bcl-2 家族蛋白在胰腺癌中的表达[J]. 世界华人消化杂志,2009,17(4):368.
- [8] Mahmud S M, Franco E L, Aprikian A G, et al. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer risk: a meta-analysis [J]. Int J Cancer, 2010, 127(7):1680.
- [9] Lanas, Angel M D. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase inhibition in the gastrointestinal tract: a trip from peptic ulcer to colon cancer [J]. Am J Med Sci, 2009, 338(2):96.
- [10] 赵菊花,祝彼得,黄茜. 圣愈汤对骨髓抑制小鼠骨髓细胞周期和凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(16):199.
- [11] Paul Nurse. Ordering S phase and M phase in the cell cycle [J]. Cell, 1994, 79:547.

[责任编辑 聂淑琴]