

宁夏密点麻蜥含药大鼠血清对人胃癌BCG-823细胞凋亡的影响

侯卓成, 白鲁根, 李卫强

侯卓成, 宁夏医科大学中医学院 宁夏回族自治区银川市 750004

白鲁根, 宁夏医科大学临床学院 宁夏回族自治区银川市 750004

李卫强, 宁夏医科大学中医学院中医临床基础系 宁夏回族自治区银川市 750004

侯卓成, 在读硕士, 主要从事脾胃病的基础与临床研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81560769; 2015 宁夏自然科学基金资助项目, No. NZ15089; 2016宁夏高校科研基金资助项目, No. NGY2016110.

作者贡献分布: 李卫强与侯卓成对此文所作贡献均等; 此课题由李卫强设计; 研究过程由侯卓成与白鲁根操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由侯卓成及白鲁根提供; 数据分析与论文写作由侯卓成完成。

通讯作者: 李卫强, 副教授, 750004, 宁夏回族自治区银川市兴庆区胜利街1160号, 宁夏医科大学中医学院中医临床基础系。lwq200309@163.com
 电话: 0951-6880510

收稿日期: 2016-10-03

修回日期: 2016-10-27

接受日期: 2016-11-01

在线出版日期: 2017-01-08

Influence of rat drug containing serum of *Ningxia Eremias multiocellata* on human gastric cancer BCG-823 cell proliferation and apoptosis

Zhuo-Cheng Hou, Lu-Gen Bai, Wei-Qiang Li

Zhuo-Cheng Hou, College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Lu-Gen Bai, Clinical College of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Wei-Qiang Li, Traditional Chinese Medicine Clinical Basic Department of TCM College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81560769; Natural Science Foundation of Ningxia in 2015, No. NZ15089; Ningxia University Research Projects in 2016, No. NGY2016110.

Correspondence to: Wei-Qiang Li, Associate Professor, Traditional Chinese Medicine Clinical Basic Department of TCM College, Ningxia Medical University, 1160 Shengli Street, Xingqing District, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. lwq200309@163.com

Received: 2016-10-03

Revised: 2016-10-27

Accepted: 2016-11-01

Published online: 2017-01-08

Abstract

AIM

To evaluate the influence of high-, medium- and low-dosage *Ningxia Eremias multiocellata* on human gastric cancer BCG-823 cell proliferation and apoptosis, and to clarify the interventional action and mechanism of *Ningxia Eremias multiocellata* on gastric cancer cells.

METHODS

Fifty SPF grade male SD rats were randomly divided into five groups: normal saline control group (group S), high-dosage *Ningxia Eremias multiocellata* group (group XH), mediun-

背景资料

胃癌(gastric cancer, GC)是我国最常见的恶性肿瘤之一, 2005年GC已经成为中国癌症发病率和死亡率首位的恶性肿瘤, 严重威胁人类的健康, 因此寻求有效合理的干预GC的方法具有重要的意义。而中医药在肿瘤临床治疗方面具有其独特的优势和广阔的研究前景。

同行评议者

沙杰, 副主任医师, 江苏省靖江市人民医院消化科; 王蓉, 主任医师, 上海市浦东新区光明中医医院消化内科; 肖秀英, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属仁济医院

■ 研究前沿

宁夏密点麻蜥(Ningxia Eremias multiocellata)具有养血活血、消癥散结的作用,含蛋白质、氨基酸及Fe、Zn等多种微量元素,可提高机体免疫力,有较好的抗癌作用。细胞凋亡是一种由基因所控制的细胞自主的有序的死亡,是机体内细胞死亡的重要途径。药物宁夏密点麻蜥在诱导人GC BCG823细胞的凋亡的机制方面尚未见有报道,因此此次研究其能填补此方向一定的内容。

dosage group (group XM), low-dosage group (group XL), and cinobufagin tablet control group (group HC), with 10 rats in each group. All these rats were killed after gavage of normal saline or corresponding drug for 1 wk. Blood samples were taken from the aorta abdominalis, and then drug-containing serum was prepared after centrifugation. The influence of drug-containing serum on BCG-823 cell proliferation was detected by MTT method. The protein expression of P53, Bax, matrixmetalloproteinase-9, and E-cadherin was measured by Western blot.

RESULTS

MTT assay showed that cell proliferation was inhibited in all intervention groups compared with group S, and there was a significant difference among groups XH, XM and XL (P < 0.05). Compared with group S, P53, Bax and E-card protein expression levels were obviously increased, and MMP-9 protein expression level was reduced in all intervention groups. With the increase in drug-containing serum concentration, MMP-9 expression was gradually decreased, but P53, Bax and E-cad expression gradually increased.

CONCLUSION

Ningxia Eremias multiocellata can alter the expression of P53, Bax, MMP-9, and E-cad proteins, inhibit gastric cell proliferation, and induce cell apoptosis, thus having good anticancer effects.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ningxia Eremias multiocellata; Drug containing serum; Human gastric cancer; Cell apoptosis

Hou ZC, Bai LG, Li WQ. Influence of rat drug containing serum of Ningxia Eremias multiocellata on human gastric cancer BCG-823 cell proliferation and apoptosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2017; 25(1): 43-48 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i1/43.htm DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i1.43

摘要 目的

研究宁夏密点麻蜥高、中、低剂量对人胃癌(gastric cancer, GC)BCG-823细胞增殖凋亡的影响,同时测定细胞P53、Bax、基质金属蛋白酶-9(matrixmetalloproteinase-9, MMP-9)

及E-cad蛋白表达水平,阐明宁夏密点麻蜥对GC细胞的干预作用及其机制。

方法

50只SPF级♂SD大鼠,随机分为生理盐水对照组(S组),宁夏密点麻蜥高(XH组)、中(XM组)、低(XL组)剂量组、华蟾素片对照组(HC组),共5组,每组10只。各组用生理盐水及相应浓度宁夏密点麻蜥药物灌胃1 wk后处死,腹主动脉取血,离心,制备含药血清。用MTT法检测药物血清对人GC BCG-823细胞增殖活性的影响;用Western blot检测方法测定GC细胞P53、Bax、MMP-9及E-cad蛋白表达水平,并进行统计分析。

结果

含药大鼠血清各干预组OD均值小于生理盐水对照组;宁夏密点麻蜥高、中、低剂量组之间比较,P<0.05;P53、Bax以及E-cad蛋白表达水平与生理盐水组比显著升高,MMP-9蛋白表达水平与生理盐水组比降低。随着血清药物浓度的增高,MMP-9的表达呈依赖性降低,P53、Bax以及E-cad的表达呈依赖性增强。

结论

宁夏密点麻蜥能影响P53、Bax、MMP-9及E-cad蛋白表达水平,抑制人GC BCG-823细胞增殖,并诱导细胞凋亡,具有良好的抗癌作用。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 宁夏密点麻蜥; 含药血清; 人胃癌细胞; 细胞凋亡

核心提要: 本文采用MTT法测含药血清抗肿瘤活性及Western blot法检测相关因子P53、Bax、基质金属蛋白酶-9(matrixmetalloproteinase-9, MMP-9)及E-cad的表达,以观察宁夏密点麻蜥高、中、低剂量含药血清对人胃癌BCG-823细胞增殖凋亡的影响,以及测定细胞P53、Bax、MMP-9及E-cad蛋白表达水平,提示宁夏密点麻蜥药物能有效诱导人胃癌BCG823细胞的凋亡的机制可能与促进p53、Bax、E-cad基因和抑制MMP9基因蛋白表达有关。

侯卓成, 白鲁根, 李卫强. 宁夏密点麻蜥含药大鼠血清对人胃癌BCG-823细胞凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2017; 25(1): 43-48 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i1/43.htm DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i1.43

■ 相关报道

一些研究发现,复方蜥蜴散能够进一步降低凋亡促进基因p53的突变,下调凋亡抑制基因Survivin的表达,也能抑制凋亡相关蛋白P65、IκB-a的表达,从而实现对干预PLGC和延缓癌变进程的作用。

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是我国最常见的恶性肿瘤之一,其发病率约为36.21/10万,死亡率为25.88/10万^[1],严重威胁人类的健康。有研究^[2]认为胃黏膜癌变过程中存在细胞凋亡的异常。细胞凋亡是一种由基因所控制的细胞自主的有序的死亡,是机体内细胞死亡的重要途径,能够及时清除机体内多余和受损伤的细胞,维持组织器官的稳定性^[3]。目前来说,诱导细胞凋亡已经能够成为评估抗癌药物作用的重要指标之一^[4]。若能抑制肿瘤细胞增殖并诱导其发生凋亡,肿瘤就有可能停止生长^[5]。

近年来,中医药在肿瘤临床治疗中有较多地应用,其优势主要体现在多靶点、不良反应小、不易产生耐药性等方面,能够有效缓解患者的症状,减轻放疗及化疗的不良反^[6]。导师李卫强副教授开展以宁夏密点麻蜥为主的蜥蜴胃康方治疗GC前病变及GC的相关临床和实验研究,取得了较好的效果^[7,8]。本研究在以往研究的基础上,进一步采用血清药理学研究方法,观察宁夏密点麻蜥高、中、低剂量含药血清对人GC BCG-823细胞增殖凋亡的影响,同时测定细胞P53、Bax、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)及E-cad蛋白表达水平,阐明宁夏密点麻蜥对GC细胞的干预作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物: SPF级SD大鼠50只,♂,6-7周龄,体质量140-180 g(动物合格证编号:SCXX(宁)2011-0001)。SPF大鼠生长繁殖饲料(北京科澳协力有限公司)。大鼠及饲料均由宁夏医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 药物及配置剂量:将宁夏密点麻蜥根据浓度不同分为高、中、低3个剂量组,其中高剂量组浓度为0.17 g/mL;中剂量组浓度为0.08 g/mL;低剂量组浓度为0.04 g/mL,以上各组煎液装瓶备用。以上药物由宁夏医科大学附属回医中医医院制剂室提供。中药给药量为每只大鼠2.5 mL/100 g。华蟾素片,0.3 g×20片/瓶,安徽金蟾生化有限公司。华蟾素片用蒸馏水配成浓度为9 mg/mL的混悬液,给药量为每只大鼠1 mL/100 g。阴性对照组给予等量生理盐水。

1.1.3 主要试剂和仪器:人GC细胞BCG-823(中

国科学院上海生科院细胞资源中心);DMEM高糖培养基、胎牛血清(Gibco公司);0.25g/L胰蛋白酶(Hyclone公司);总蛋白提取及定量试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司);兔抗MMP-9多克隆抗体;兔抗P53多克隆抗体;兔抗BAX多克隆抗体;(武汉三鹰生物技术有限公司)。超净工作台(美国NUAIR公司);恒温水浴锅、微型离心机(其林贝儿仪器制造有限公司),HealForce二氧化碳培养箱(香港力康公司);显微镜BH2-RFCA(OLYMPUS公司);微量移液器(Germany);超低温冰箱BCD-201/HC(广东科龙电器公司);C400曝光仪(AZURE)。

1.2 方法

1.2.1 含药血清的制备:将实验大鼠正常饲养1 wk后,随机分为宁夏密点麻蜥高、中、低剂量组、生理盐水对照组和华蟾素片对照组。其中宁夏密点麻蜥高剂量组给予宁夏密点麻蜥熬制滤取浓度为0.17 g/mL的煎液灌胃;中剂量组给予宁夏密点麻蜥熬制滤取浓度为0.08 g/mL的煎液灌胃;低剂量组给予宁夏密点麻蜥熬制滤取浓度为0.04 g/mL的煎液灌胃。华蟾素片组用蒸馏水配成浓度为9 mg/mL的混悬液灌胃。阴性对照组给予等量生理盐水。给药量为每只大鼠1 mL/100 g,灌胃1次/d,连续7 d。各组末次给药后1 h,腹腔麻醉,无菌条件下腹主动脉取血,3000 r/min,离心15 min,血清于56 °C水浴下30 min灭活,于3000 r/min,离心15 min,转移至新的无菌管中经0.22 μm的滤器过滤,封装,-20 °C环境下冷藏备用。

1.2.2 MTT法测含药血清抗肿瘤活性:人GC细胞BCG-823于实验室中进行常规培养,将其接种于含10%小牛血清的RPMI 1640完全培养液中培养,并置于恒温培养箱中培养48-72 h,其中恒温培养箱为37 °C、50 mL/L CO₂饱和湿度。每24 h更换1次培养液。等GC细胞铺满培养瓶底后,弃去培养液,用PBS洗2次,并用0.25%的胰蛋白酶消化GC细胞,含10%小牛血清的RPMI 1640培养液调整细胞浓度为1.4×10⁶/mL分别接种于60 mm培养皿中。生理盐水组及宁夏密点麻蜥高、中、低剂量组、华蟾素片组予常规培养液的同时,分别加用相应的含药大鼠血清,各组所加大鼠血清占总培养液体积的10%。继续培养48 h,更换不含血清培养液每孔100 μL,加入10 μL的CCK-8,4 h后测定吸光度

■ 创新盘点

本文是在前阶段对GC前病变研究的基础上,阐明宁夏密点麻蜥对GC细胞的干预作用及其机制。研究结果提示宁夏密点麻蜥药物可诱导人GC BCG823细胞的凋亡,表明其能够抑制GC细胞的增殖。目前此方面研究较少,具有一定的创新性。

应用要点

采用血清药理学研究方法, 观察宁夏密点麻蜥含药血清对人GC BCG-823细胞增殖凋亡的影响, 可较好地克服了中药粗制剂直接进入体外实验的缺点, 适合中药及中药复方制剂的研究。在将来, 会有更多的中药被引入抗肿瘤细胞凋亡及诱导细胞凋亡方面的研究, 以更好地服务于临床, 让中医在治疗GC上体现出其自身独特的优势。

表 1 干预后药物血清不同浓度组OD值 (mean ± SD)

分组	OD值
华蟾素对照组(HC)	0.79 ± 0.05
生理盐水组(S)	1.47 ± 0.03
宁夏密点麻蜥高剂量组(XH)	0.49 ± 0.04 ^{ac}
宁夏密点麻蜥中剂量(XM)	0.65 ± 0.04 ^{ac}
宁夏密点麻蜥低剂量组(XL)	0.80 ± 0.06 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs S组比较; ^c $P < 0.05$ vs HC组。

(optical density, OD值). 实验共重复3次。

1.2.3 Western blot检测相关因子MMP-9、E-cad、Bax及P53的表达: 各实验组大鼠分别加用生理盐水、宁夏密点麻蜥高、中、低剂量及华蟾素片含药血清。继续培养48 h后收集细胞后提取蛋白, 用BCA试剂盒测定蛋白浓度。取20 μ L样品上样于十二烷基硫酸钠-上样缓冲液, 电泳至溴酚蓝跑到胶底部。将其转至硝酸纤维素膜上, 以5%脱脂奶粉于4 $^{\circ}$ C封闭1 h; 分别加入MMP-9、E-cad、Bax及P53一抗(稀释比例MMP-9为1:1000, E-cad为1:300, Bax、P53为1:400), 摇床孵育3 h, 洗膜3次, 每次10 min; 分别加入辣根过氧化物酶标记的二抗(稀释比例均为1:4000), 摇床孵育1 h, 洗膜3次, 每次10 min; 加入发光液, 进行图像采集, 分别计P53、Bax、MMP-9及E-cad及灰度值的比值。

统计学处理 采用SPSS19.0统计学软件进行数据处理。实验数据以mean \pm SD表示, 采用完全随机设计资料的方差分析, 检验水准为 $\alpha = 0.05$, 其中以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 宁夏密点麻蜥不同剂量含药血清对人GC BCG-823细胞凋亡的影响 不同药物含药血清干预48 h后各组OD如表1, 2及图1。

2.2 宁夏密点麻蜥不同剂量含药血清对人GC BCG-823细胞凋亡的影响

2.2.1 对GC细胞凋亡相关蛋白P53、Bax的影响: Western blot检测结果显示: 宁夏密点麻蜥不同浓度含药血清作用于人GC BCG-823细胞48 h后, 凋亡相关蛋白P53和Bax蛋白表达水平与生理盐水组比较显著升高。随着药物浓度的升高, P53和Bax蛋白的表达变化也具有明显的剂量依赖性(图2)。

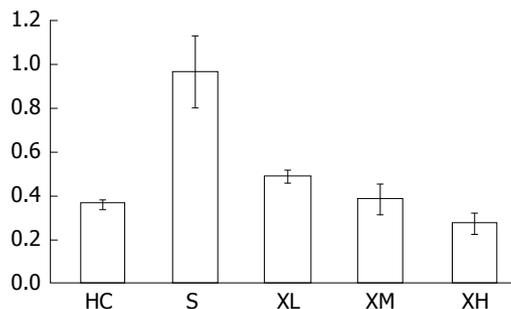


图 1 干预后药物血清不同浓度组OD值. HC: 华蟾素对照组; S: 生理盐水组; XL: 宁夏密点麻蜥低剂量组; XM: 宁夏密点麻蜥中剂量; XH: 宁夏密点麻蜥高剂量组。

2.2.2 对人GC BCG823细胞中MMP-9、E-cad表达的影响: Western blot检测结果显示: 不同浓度宁夏密点麻蜥血清作用于人GC BCG-823细胞48 h后, 细胞内MMP-9的表达较生理盐水组显著减弱, 随着血清药物浓度的增高, MMP-9的表达呈依赖性降低。细胞内E-cad的表达较生理盐水组显著增高, 随着血清药物浓度的增高, E-cad的表达呈依赖性增强。差异有统计学意义($F > 0.05$, $P < 0.05$)(图3)。

3 讨论

研究^[9]表明, GC的发生主要与饮食不当、情绪失调、HP湿热“虫”毒感染等相关, 此类因素可引起脾胃运化失调, 气血生化乏源, 加之浊毒内留, 血络瘀阻, 胃燥失养而致胃络癥瘕形成, 热毒血瘀积聚^[10,11]。因此, 气阴不足、毒瘀交阻是GC的主要病机, 而益气养阴、解毒通络是其主要治法。基于此, 我们组成了蜥蜴胃康基本方等治疗PLGC等病症取得较好疗效。

胃黏膜细胞在缺血缺氧状态下, 激活缺氧诱导因子HIF-1 α 等^[12], 引起细胞异常凋亡、增殖, 黏膜增生肠化, 继而发生癌变。此与中医学认为气阴不足、毒瘀交阻, 致使胃黏膜失却濡养、胃络癥瘕形成的GC病机相一致。我们在以往以宁夏密点麻蜥为主的复方进行干预PLGC研究^[7,8]的基础上, 采用中药血清药理学研究方法, 进一步观察宁夏密点麻蜥对GC细胞的干预作用。中药血清药理学是近些年新发展起来的方法, 该方法将体外实验和体内实验相结合, 可更深入地揭示药物作用机制, 使结果具有真实性和科学性^[13]。能反映中药母体药物及其代谢产物及由药物诱导机体内源性成分所产生的作用^[14], 适合中药及中药复方制剂的研究, 其中在诱导肿瘤细胞凋亡研究方面发

表 2 干预后药物血清不同浓度组OD值 (原始数据)

生理盐水	蜥蜴低剂量	蜥蜴中剂量	蜥蜴高剂量	华蟾素
1.4962	0.8869	0.6653	0.5263	0.8385
1.5076	0.7213	0.6168	0.4683	0.7484
1.4803	0.8229	0.7107	0.4453	0.7578
1.4452	0.7792	0.6388	0.5013	0.8489

■ 名词解释

宁夏密点麻蜥是典型的荒漠草原蜥种, 含蛋白质、氨基酸及Fe、Zn等多种微量元素, 可提高机体免疫力, 有较好的抗癌作用。中药血清药理学是以含药血清代替中药粗提物作为药物源加入离体反应系统中从而研究其药理作用的一种半体内实验方法。

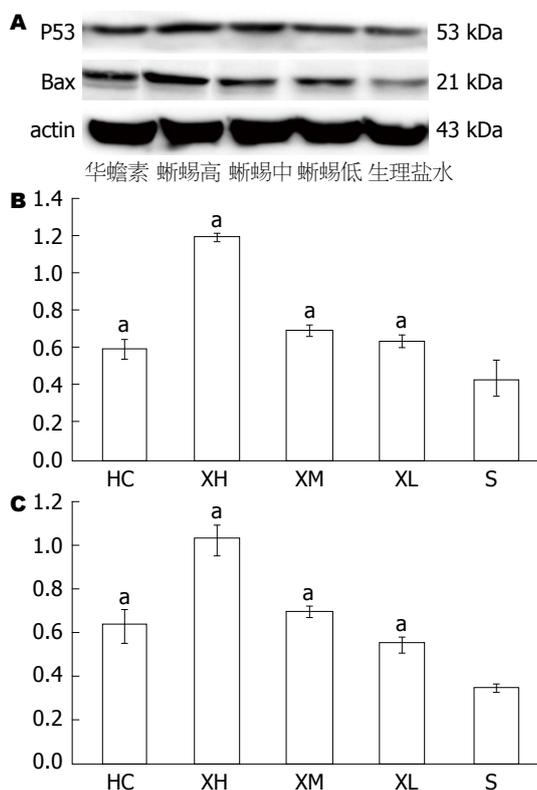


图 2 各组人胃癌BCG823细胞P53、Bax蛋白表达比较。A: Western blot检测各组细胞中P53、Bax的相对水平; B: 各组P53蛋白的相对表达量; C: 各组Bax蛋白的相对表达量。* $P < 0.05$ vs S组。HC: 华蟾素对照组; XH: 宁夏密点麻蜥高剂量组; XM: 宁夏密点麻蜥中剂量组; XL: 宁夏密点麻蜥低剂量组; S: 生理盐水组。

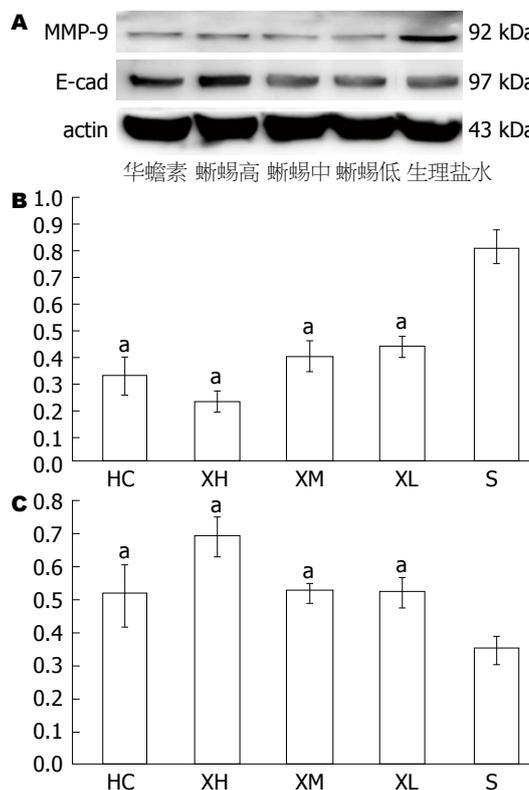


图 3 各组人胃癌BCG823细胞MMP-9、E-cad蛋白表达比较。A: Western blot检测各组细胞中MMP-9、E-cad的相对水平; B: 各组MMP-9蛋白的相对表达量; C: 各组E-cad蛋白的相对表达量。* $P < 0.05$ vs S组。HC: 华蟾素对照组; XH: 宁夏密点麻蜥高剂量组; XM: 宁夏密点麻蜥中剂量组; XL: 宁夏密点麻蜥低剂量组; S: 生理盐水组。

挥着重要的作用^[15]。大鼠与人类生物特性尽量相似^[16], 可作为实验动物。给药途径一般采用灌胃方式^[17]。连续用药5-10 d后, 其制备含药血清的生物学效应是相似的^[18]。孙莉等^[19]运用血清药理学方法, 发现六神丸含药血清能够有效抑制MCF-7细胞血管内皮生长因子、MMP-9的表达, 并且血清浓度升高, 其抑制作用增强。从而认为六神丸可以通过抗肿瘤血管生成途径实现抗肿瘤作用。李东峰等^[20]通过采用血清药理学方法通过观察半夏泻心汤对人GC腹膜转移细胞GC9811-P的作用, 发现半夏泻心汤含药血清对其较为敏感, 而且对其增殖有明显的

抑制作用。

*p53*是一类重要的抑癌基因, 属细胞生长周期中的负调节因子, 与细胞周期的调控、细胞分化、凋亡等重要生物学功能有关, 当其缺失或者突变能导致肿瘤的发生^[21]。目前诸多研究^[22,23]表明其与GC的发生发展密切相关。*Bax*是*Bcl-2*基因家族的细胞凋亡促进基因, 他可以直接促进细胞凋亡^[24], 在高中分化GC的表达率高^[25]。MMP-9属于基质金属蛋白酶家, 能够破坏肿瘤基底膜的完整性, 降解基底膜及周围基质, MMP-9的过度表达可促进肿瘤血管生成, 癌细胞快速增殖^[26]。有研究发现^[27], MMP-9

同行评价

本文采用血清药理学研究方法, 观察到宁夏密点麻蜥含药血清对人GC BCG-823细胞增殖凋亡的影响及其机制, 具有一定的科学性, 为宁夏密点麻蜥能否用于临床为患者服务提供了实验基础。

在GC中过表达与GC临床分期及淋巴结转移有关。上皮钙依赖黏附蛋白(E-cadherin, E-cad)是一种跨膜糖蛋白, 是细胞膜上重要的黏附分子。其表达异常可使得黏附功能丧失, 导致肿瘤细胞的浸润转移^[28,29]。

宁夏密点麻蜥是典型的荒漠草原蜥种, 始载于《中国药用动物志》, 《本草纲目》言其可“消水饮阴癆, 滑窍破血”, 《全国中草药汇编》载, 蜥蜴性寒味咸, 归肾、肝、肺经, 可养血活血、消癥散结, 亦为动物类血肉有情之品。现代研究^[30]表明, 蜥蜴含蛋白质、氨基酸及Fe、Zn等多种微量元素, 可提高机体免疫力, 有较好的抗癌作用。

本实验通过MTT法比较结果及Western blot结果提示宁夏密点麻蜥药物能有效诱导人GC BCG823细胞的凋亡, 并且含药血清浓度升高, 其抑制作用增强, 从而抑制GC细胞的增殖, 其机制可能与促进p53、Bax、E-cad基因和抑制MMP9基因蛋白表达有关。

4 参考文献

- 1 Park JY, von Karsa L, Herrero R. Prevention strategies for gastric cancer: a global perspective. *Clin Endosc* 2014; 47: 478-489 [PMID: 25505712 DOI: 10.5946/ce.2014.47.6.478]
- 2 伍冬梅, 李春鸣. Bcl-2、Bax在胃癌及胃癌前病变中的表达与细胞凋亡的关系. *遵义医学院学报* 2014; 37: 201-203
- 3 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制. *国际妇产科学杂志* 2014; 41: 103-107
- 4 吴琼, 花根才, 李琦. 中医药诱导胃癌细胞凋亡的机制研究进展. *中国全科医学* 2008; 11: 161-165
- 5 吴玲芳, 张家莹, 李师. 藏药余甘子抗肿瘤作用研究进展. *世界科学技术-中医药现代化* 2016; 18: 1177-1181
- 6 张英, 侯祯, 林洪生. 中医药治疗恶性肿瘤临床研究成果与思考. *中医杂志* 2014; 55: 523-525
- 7 李卫强, 朱西杰. 蜥蜴临证应用辨析. *时珍国医国药* 2014; 25: 2724
- 8 张德英, 侯卓成, 李卫强. 蜥蜴胃康基本方及其拆方对胃癌前病变模型大鼠HIF-1 α 、VEGF表达影响的实验研究. *时珍国医国药* 2016; 27: 1292-1294
- 9 郭伟, 张璐, 舒琦瑾. 胃癌中医证型构成及分布规律的文献分析. *中华中医药学刊* 2014; 32: 173-175
- 10 廖楠君, 王常松. 胃癌及其术后中医药因病机临床研

- 究进展. *辽宁中医药大学学报* 2013; 15: 219-221
- 11 梁云麒, 沈克平, 胡兵. 中医胃癌病机与治法研究. *中华中医药学刊* 2014; 32: 513-515
- 12 赵玉峰, 罗庆丰. HIF-1 α 和VEGF蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义. *实用癌症杂志* 2008; 23: 135-137
- 13 林慧, 梅全喜. 单味中药及其复方制剂抗肿瘤血清药理学研究进展. *中国药房* 2016; 27: 550-552
- 14 杨萃. 中药复方在体外实验的研究进展. *光明中医* 2013; 28: 2229-2231
- 15 黄臣虎, 陆茵. 中药血清药理学研究进展. *中国实验方剂学杂志* 2011; 17: 266-271
- 16 张君涛, 王平, 刘爱峰, 杨光, 李远栋, 张超. 中药含药血清制备方法的研究概述. *中华中医药杂志* 2015; 30: 4006-4009
- 17 陈宁, 宋冬雪, 凌娜, 徐昶儒. 中药血清药理学方法的研究进展. *北京联合大学学报* 2014; 28: 40-43
- 18 梁春敏, 王贤喜, 董群. 玉屏风散对小鼠免疫调节作用的血清药理学研究. *上海免疫学杂志* 2003; 23: 385
- 19 孙莉. 六神丸抗肿瘤血管生成的实验研究. *中国现代药物应用* 2010; 4: 141-142
- 20 李东峰, 赵闻平, 刘喜平, 明海霞, 孙少伯, 张炜. 半夏泻心汤含药血清对人胃癌腹膜转移细胞增殖的影响. *西部中医药* 2014; 27: 14-6
- 21 张潇芸, 姜英, 杨军. p53非依赖性信号通路在DNA损伤致细胞凋亡中的研究进展. *浙江大学学报(医学版)* 2013; 42: 217-222
- 22 张宏, 刘晓伟, 苏秀兰. 胃癌组织中p53蛋白及Ras p21蛋白的表达及意义. *现代肿瘤医学* 2012; 20: 2344-2348
- 23 闫美凤, 张永胜. p53与Gadd45a蛋白在胃癌组织中的表达及临床病理学意义. *医学研究生学报* 2014; 27: 282-285
- 24 吴军, 张志广, 李熾, 卢向东, 闻淑军, 齐凤祥. 胃癌组织中HIF-1 α 、Bax、Bcl-2的表达及意义. *天津医科大学学报* 2010; 16: 226-228
- 25 徐丽, 金清东, 官喜, 刘卉, 周瑞褪. 黑素的抗胃癌效应及其引起的Bcl-2、Bax、p21和p53的表达变化. *生理学报* 2014; 66: 723-729
- 26 Lee LY, Wu CM, Wang CC, Yu JS, Liang Y, Huang KH, Lo CH, Hwang TL. Expression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in gastric cancer and their relation to claudin-4 expression. *Histol Histopathol* 2008; 23: 515-521 [PMID: 18283635]
- 27 李桂青, 王兵. 胃癌组织中HSP60和MMP-9的表达及临床意义. *临床消化病杂志* 2016; 28: 9-12
- 28 李德艳, 刘爱东, 高峰. MMP-7和E-cad在胃癌组织中表达的临床价值. *中国老年学杂志* 2011; 31: 185-186
- 29 李义亮, 王海江, 王胜. P53、C-erbB-2、E-cad蛋白在胃癌组织中的表达及临床病理学意义. *新疆医学* 2010; 40: 1-6
- 30 朱西杰, 李卫强, 钱月慧. 中华虫药-宁夏蜥蜴. 北京: 中国中医药出版社, 2014: 16-21

编辑: 马亚娟 电编: 李瑞芳





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

