

# 中药医院制剂活血益气方对裸鼠抑瘤作用及小鼠急性毒性的实验研究

陈 菲 冯英楠 庄 伟 张 鹏 林晓兰

(首都医科大学宣武医院药剂科,北京,100053)

**摘要** 目的:测试首都医科大学宣武医院药剂科制剂活血益气方抗瘤丸的抑瘤作用及对小鼠的急性毒性。方法:将足够量的大鼠神经胶质瘤 C6 细胞注射至裸鼠右侧腋窝,建立裸鼠荷瘤模型,按瘤块体积随机分组,分别灌胃给予 KLW 的高、低剂量组,以替莫唑胺为阳性对照,以溶媒为阴性对照,期间测量裸鼠体重、瘤体积并观察给药前后动物症状;连续给药 15 d 后,处死全部小鼠,称量裸鼠瘤重量;剥离瘤块,采用 Western Blot 法检测肿瘤组织 Bcl-2, Bax 蛋白。选用 ICR (Institute of Cancer Research, ICR) 小鼠 1 d 内 2 次灌胃给药 KLW,肉眼观察给药前、每次给药后连续 4 h 及 14 d 内小鼠的一般情况,中毒反应及死亡情况,结束观察后解剖,肉眼观察各组织脏器的变化。结果:裸鼠给药期间全部存活,体重正常增长,一般行为学观察未见明显异常。给药 15 d 后,KLW 低、高剂量组,瘤体积、瘤重量较模型对照组显著减小;Bcl-2/Bax 的比例较模型对照组显著增加。急性毒性试验中所有给药组小鼠在观察期内全部存活,一般行为学观察未见明显异常。供试品组 2 个性别的小鼠体重与阴性对照组比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。剖检各组小鼠,肉眼观察各组织脏器未见病理改变。结论:KLW 低、高剂量组对 C6 细胞移植瘤的生长具有明显的抑制作用,该作用与诱导胶质瘤细胞凋亡相关,与阴性对照组比较,差异有统计学意义 ( $P > 0.05$ )。KLW 小鼠灌胃 40 mL/kg BW,最大给药浓度 (0.50 g/mL),相当于临床人用剂量的 107 倍,未见明显毒性反应,使用安全性高。

**关键词** 抗瘤丸;神经胶质瘤;裸鼠;凋亡;小鼠;急性毒性

## Experimental Study on Effects of Huoxue Yiqi Fang Prepared by TCM Hospital in Tumor Inhibited Effects of Nude Mice and Acute Toxicity of Mice

Chen Fei, Feng Yingnan, Zhuang Wei, Zhang Peng, Lin Xiaolan

(Department of Pharmacy, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China)

**Abstract Objective:** To investigate the tumor inhibited effect and acute toxicity to mice by Huoxue Yiqi Fang Kangliu Wan (KLW) prepared by hospital. **Methods:** A plenty of glioma C6 cells were injected into right side of nude mice to establish nude mice model of bearing cancer. According to tumor volume, the nude mice were randomly divided into two groups, and separately to irrigate mice with high or low dose KLW. The temozolomide was as positive group and solvents (pure water) was as negative group. The weight and tumor volume of mice were investigated and symptoms were observed before and after medication. After continuous administration for 15 days, the mice were killed and tumors were weighted, and Western blot was used to detect Bcl-2, Bax. ICR mice were irrigated with KLW twice a day, then the general conditions, toxic reaction and death condition before administration and after administration 4 h and 14 days was reviewed with naked eyes. At last the mice were anatomized and organ changes of mice were observed. **Results:** All nude mice were alive in medication session with weight added, and there was no significant abnormality in general behavioral observation. After administration for 15 days, the tumor volume and weight were significantly declined in both high and low dose group. The scale model of Bcl-2/Bax of control group significantly grew. All administration group mice were alive and there was no significant abnormality in general behavioral observation in the period under observation. There was no significant difference between the two sexes of mice and the negative control group ( $P < 0.05$ ). Anatomical observation on each mice's organ found no abnormality. **Conclusion:** Both high and low dose KLW have significant inhibiting effect on the growth of xenograft of C6 cells, and this effect was related to induced glioma apoptosis. It also has statistical significance compared with negative control group. KLW dose is 40 mL/kg BW and maximum dose is 0.50 g/mL, which are 107 times of human clinical dose. There is no significant toxicity effect, so it is safe.

**Key Words** Kangliu Wan; Glioma; Nude Mouse; Apoptosis; Mouse; Acute Toxicity

基金项目:北京市科委十病十药研发专项(Z20141100002214016);首都中医药研究专项(17Z13)

作者简介:陈菲(1984.11—),女,硕士,主管药师,研究方向:中药学中药新药研发方向,E-mail:chenfeijill@163.com

通信作者:林晓兰(1963.08—),女,学士,主任药师,行政副主任,研究方向:中药学中药制剂研发与医院药学管理方向,E-mail:xllin83@163.com

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.037

胶质瘤是中枢神经系统最常见的,恶性程度极高的一类肿瘤<sup>[1]</sup>。放、化疗不良反应严重,有一定的局限性,且疗效均不理想。中药治疗肿瘤具有一定的有效性,且安全性高,因此受到人们越来越多的重视<sup>[2]</sup>。医疗机构制剂活血益气方抗瘤丸(简称KLW)是针对神经胶质瘤的纯中药复方制剂。临床使用30余年,经验证明安全有效,价格低廉。然而作为医院制剂,缺乏系统的实验研究数据支持其抑瘤疗效及抑瘤机理,严重影响了该药的进一步开发与使用。故本文通过裸鼠抑瘤实验,研究KLW在裸鼠荷瘤模型中的抑瘤作用,以及与诱导胶质瘤细胞凋亡的关系,并通过小鼠急性毒性试验考察KLW的安全性,为KLW的进一步应用、研究、开发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 ICR小鼠,雌雄各半,18~22 g;裸小鼠BALB/c,雄性,18~22 g(北京维通利华实验动物技术有限公司购买)。

1.1.2 药物 供试品医疗机构制剂活血益气方抗瘤丸,阳性药替莫唑胺胶囊(泰道),简称TMZ(购于北京宣武医院)。

1.1.3 试剂与仪器 试剂:试剂胎牛血清(FBS),DMEM培养基,胰蛋白酶,水合氯醛。仪器:CO<sub>2</sub>培养箱(NAPCO 6500型),生物安全柜(CLASS TYPE B2型),台式离心机(Eppendorf centrifuge 5430R),电子数显卡尺(SF2000型),倒置显微镜(Leica DM3000),电子天平(PB602-N,TE2101-L)。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 按瘤块大小分组,使每组裸鼠的瘤块体积和体重平均值相似。制备模型:1)细胞培养:C6细胞培养在含10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基中,置37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中,常规培养。2)裸鼠荷瘤模型建立:将对数生长期的C6细胞悬液注射于裸鼠右侧腋下,5×10<sup>6</sup>个细胞/只。小鼠急性毒性试验分组:将ICR小鼠按体重随机分组,每组雌雄各半。

1.2.2 给药方法 1)裸鼠抑瘤实验:分别灌胃给予不同浓度KLW:低剂量组0.85 g生药/kg,高剂量组3.4 g生药/kg,阳性对照组给予替莫唑胺43 mg/kg,模型对照组给予同体积溶媒(蒸馏水)。1次/d,连续给药15 d。2)小鼠急性毒性试验:分组后1 d内给药2次,给药间隔4 h。给药前禁食12~16 h,按

分组时体重计算给药量,口服灌胃给药按40 mL/kg BW计算。实验组给予抗瘤丸最大给药浓度(0.50 g/mL),阴性对照组灌胃给予等体积溶媒(蒸馏水)。

1.2.3 检测指标与方法 裸鼠抑瘤实验:1)肿瘤体积及瘤重:测量分别在给药第0、3、6、9、12、15 d测量裸鼠体重、肿瘤最大直径L(cm)和最小直径D(cm),计算肿瘤体积V(cm<sup>3</sup>)的大小(肿瘤体积=1/2×L<sup>2</sup>×D),观察裸鼠一般状态。并于给药15 d后处死,剥离瘤块称重。2)肿瘤组织Bcl-2, Bax蛋白Western Blot检测:每组随机取5个瘤块,剪碎组织,加入蛋白裂解液和PMSF,离心,所得上清液使用BCA法检测总蛋白浓度,调平。加入上样缓冲液,取等量蛋白上样,10%的电泳分离胶和5%的电泳浓缩胶中电泳。200 mA电流下转膜约2 h,0.1%脱脂奶粉-TBST封闭1 h,加Bcl-2或Bax一抗(1:200稀释),4℃过夜孵育后,漂洗6次,5 min/次,加入二抗(辣根酶标记山羊抗兔IgG,1:5 000稀释),室温孵育1 h后漂洗,在暗室用显色液显影,成像。3)一般状态观察:分别于给药前、每次给药后连续4 h、给药1次/d后连续观察14 d。观察给药当日对动物外观体征、行为活动、腺体分泌、呼吸、粪便及死亡等进行观察<sup>[3]</sup>。分别于给药当日给药前称体重,给药后第1、4、7、11、14 d称体重(以给药当d为D0d)。饲料加入量每次为150 g/笼,D0d首次给药后7~29 min内每笼加入约50 g饲料。分别于给药后第1、7、14 d收集饲料盒内的剩余饲料,用d天平称重。

24 h摄食量=[(饲料给予量-饲料剩余量)/笼内动物体重的总和]×10 g

每日平均摄食量(g/10 gBW)=[(饲料给予量-饲料剩余量)/(d数×笼内动物体重的总和)]×10 g

4)剖检及观察:腹腔注射4%水合氯醛将小鼠麻醉,对动物进行外观检查,并对小鼠主要脏器,包括心、肝、脾、肺、肾、脑、胃、肠、气管、肾上腺、睾丸及附睾(雄性)、子宫及卵巢(雌性)、胸腺,进行剖检,肉眼观察有无明显的组织器官异常。对肉眼观察异常器官进行病理学检查。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件对数据进行统计学分析,先进行方差齐性检验及单因素方差分析,根据结果,进行Dunnett-*t*检验。计量资料用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 给药后各组裸鼠瘤体积

| 组别       | 瘤体积(mm <sup>3</sup> ) |              |            |              |              |
|----------|-----------------------|--------------|------------|--------------|--------------|
|          | 3 d                   | 6 d          | 9 d        | 12 d         | 15 d         |
| KLW 高剂量组 | 1544 ± 196 *          | 1621 ± 181 * | 2898 ± 325 | 3998 ± 570   | 4862 ± 558 * |
| KLW 低剂量组 | 1607 ± 350 *          | 1939 ± 384 * | 2858 ± 649 | 3632 ± 490 * | 4494 ± 387 * |
| TMZ 组    | 2995 ± 351            | 2856 ± 247   | 2899 ± 321 | 4292 ± 404   | 4036 ± 305 * |
| 模型对照组    | 2545 ± 225            | 3471 ± 221   | 4127 ± 388 | 6081 ± 828   | 7987 ± 817   |

注:与模型组比较 \*  $P < 0.05$

2 结果

2.1 裸鼠抑瘤实验

2.1.1 行为学观察 裸鼠给药期间全部存活,一般状态未见明显异常,且组间比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.1.2 瘤体积 给药 15 d 后,动物试验结果显示,KLW 低、高剂量组, TMZ 组能显著抑制 C6 细胞移植瘤的生长,与模型对照组比较具有统计学意义。见表 1。

2.1.3 瘤体重量 给药 15 d 处死动物后,剥取各组动物瘤块称重进行比较, KLW-1 低、高剂量组,阳性药对照组移植瘤的重量明显 < 模型对照组,差异具有显著性意义。见表 2。

表 2 给药 15 d 各组裸鼠瘤重量比较

| 组别       | 瘤重量(g)      |
|----------|-------------|
| KLW 高剂量组 | 7.8 ± 2.0 * |
| KLW 低剂量组 | 7.4 ± 1.4 * |
| TMZ 组    | 7.7 ± 1.0 * |
| 模型对照组    | 11.1 ± 1.9  |

注:与模型组比较 \*  $P < 0.05$

2.1.4 肿瘤组织 Bcl-2, Bax 蛋白 Western Blot 检测结果显示,模型对照组能明显下调 Bax 的表达, KLW 低、高剂量组和 TMZ 组,能明显上调 Bax 的表达,各组的 Bcl-2 都低表达,因此模型对照组 Bcl-2/Bax 的比例降低,各给药组 Bcl-2/Bax 的比例升高,各给药组都具有促进细胞的凋亡。见图 1。

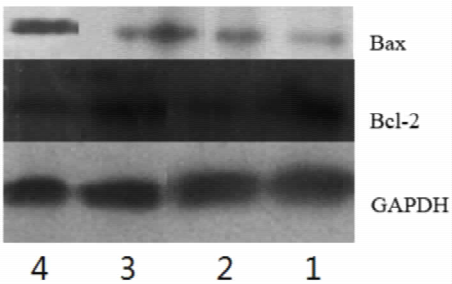


图 1 C6 裸鼠移植瘤中 Bax, Bcl-2 的表达

注:1. 模型对照组;2. KLW 低剂量组;3. KLW 高剂量组;4. 阳性对照组

2.2 小鼠急性毒性试验

2.2.1 小鼠一般状态 小鼠灌胃给药 2 次/d,在每次给药后 4 h 内,状态观察未见明显异常反应。给药后连续观察 14 d,小鼠全部存活一般状态未见明显异常。KLW 组与阴性对照组小鼠摄食量相近。见表 3。

表 3 抗癌丸小鼠口服给药急性毒性试验摄食量结果统计表( $\bar{x} \pm s, g/10 gBW/d$ )

| 组别                | 动物数(只) | 给药后摄食量 |         |          |
|-------------------|--------|--------|---------|----------|
|                   |        | 1 d    | 2 ~ 7 d | 8 ~ 14 d |
| 阴性对照组( $n = 20$ ) | 10     | 2.2    | 2.6     | 2.0      |
|                   | 10     | 2.4    | 3.3     | 2.9      |
| KLW 组( $n = 20$ ) | 10     | 2.3    | 2.7     | 2.1      |
|                   | 10     | 2.4    | 3.3     | 3.1      |

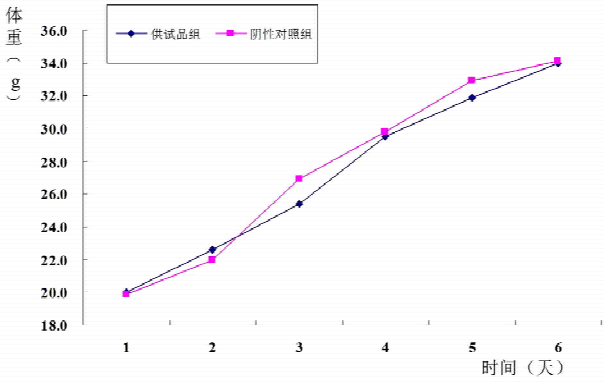


图 2 抗癌丸对雄性小鼠体重的影响

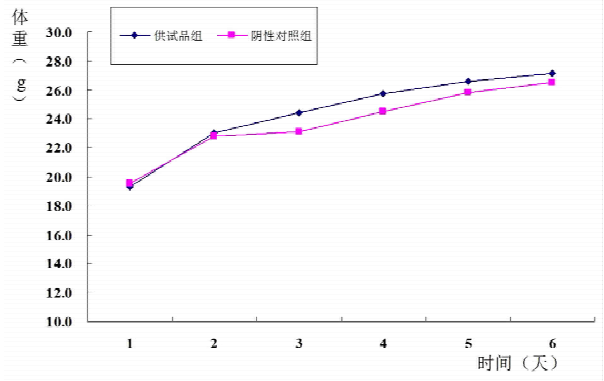


图 3 抗癌丸对雌性小鼠体重的影响

2.2.2 体重测定 KLW 组 2 个性别的小鼠在 14 d 观察期内体重均正常增长,与阴性对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。体重统计结果与体重增长见图 2、3。

2.2.3 剖检结果 对阴性对照组和 KLW 组小鼠进行剖检,主要器官均未见异常。由于在剖检过程中,肉眼观察未见有病变的组织,器官,故未进行组织病理学检查。在本实验中,给予小鼠抗瘤丸 0.50 g/mL,40 mL/kg BW 时,相当于临床剂量的 107 倍,未见毒副反应。

### 3 讨论

胶质瘤是起源于脑部神经胶质细胞,临床常表现为头痛、恶心、呕吐、视力减退、复视、癫痫发作和精神症状等。本病属中医学“头痛”“真头痛”等疾病范畴。中医认为肿瘤的发生病理机制多由于人体正气不足,感受毒邪所致。胶质瘤毒邪内侵,痰瘀互阻证,日久化热,痰瘀热毒随风流注,善行数变,因此胶质瘤呈浸润性生长,手术难以切除干净,容易复发,因此药物治疗在抗胶质瘤中十分重要。

抗瘤丸清热解毒,活血化瘀,化痰散结,为治疗神经胶质瘤的中药复方制剂,国家“六五”重点科技攻关项目,获北京科技进步一等奖。北京军区总医院、天津医学院附属医院、北京大学第一附属医院等多中心临床试验结果显示,153 例脑胶质瘤的平均有效率为 64.7%<sup>[4]</sup>。回顾性研究表明,院内制剂 KLW 可以延长恶性神经胶质瘤的生存时间,具有肯定疗效<sup>[5]</sup>。然而,作为医院制剂缺乏有效性及安全性实验数据,限制其使用与发展。

恶性肿瘤细胞表现的增殖异常、凋亡抑制等特性在肿瘤的形成与转移中起着重要的作用。大量研究证明,KLW 主要抗癌成分包括三七、白花蛇舌草、半枝莲、白英、山楂、何首乌等抑瘤机理与诱导细胞凋亡相关<sup>[6-14]</sup>。前期裸鼠荷瘤预实验结果显示,KLW 具有良好的抑瘤作用。经细胞学实验证明 KLW 的作用与抑制胶质瘤细胞 C6、U87、U251 的增殖作用有关<sup>[15-17]</sup>。

荷瘤裸鼠模型是经典模型,在肿瘤的前瞻性研究、抗癌药药理研究和抗癌药早期疗效评估中占据十分重要的地位。胶质瘤裸鼠异位移植模型水平的研究,比肿瘤细胞培养水平的研究,更能模拟人体内的肿瘤生长情况及药物吸收代谢情况,故在该模型中验证 KLW 的抑瘤效果能够很好的模拟临床治疗,结果可靠。研究结果显示,KLW 高、低 2 个剂量组均能显著减小胶质瘤体积、降低瘤重量,与模型对照组比较具有统计学差异,证明 KLW 可在一定程度上抑制胶质瘤的生长,从而起到治疗作用。

正常情况下,细胞增殖与凋亡保持动态平衡,而恶性肿瘤细胞表现的增殖异常、凋亡抑制等特性在

肿瘤的形成与转移中起着重要的作用。诱导肿瘤细胞凋亡是肿瘤抑制机理的重要方向<sup>[18]</sup>,在众多的凋亡调控基因中,Bcl-2 蛋白家族备受关注,其中 Bcl-2、Bax 发挥重要作用,尤其是 Bcl-2/Bax 比率是启动细胞凋亡的“分子开关”<sup>[19]</sup>。研究结果显示,KLW 能明显上调 Bax 的表达,导致 Bcl-2/Bax 的比例增加,促进细胞的凋亡。研究证明,KLW 的抑瘤作用与促进胶质瘤凋亡相关。

本实验结果显示 KLW 具有一定的抑制胶质瘤作用,该作用与促进胶质瘤细胞凋亡相关。为进一步研究抗瘤丸作用机理指明方向。急性毒性试验结果显示 KLW 具有较高的安全性,小鼠在临床剂量 107 倍时未能检测到毒性。同时,与胶质瘤指南推荐药替莫唑胺比较,医疗机构制剂抗瘤丸作用较为缓慢,单日服药剂量较大,体现中药需较大剂量、长期服用,但安全性高的特点,为今后临床使用提供依据,为该药的进一步研发奠定基础。

### 参考文献

- [1] 中国脑胶质瘤协作组. 中国脑胶质瘤分子诊疗指南[J]. 中华神经外科杂志,2014,30(5):435.
- [2] 冯英楠,陈菲,庄伟,等. 中医药治疗胶质瘤的研究进展[J]. 北京中医药,2014,33(2):154-157.
- [3] 吴鹏飞,吕晶,金鑫,等. 流感病毒 H7N9 型裂解疫苗动物安全性评价[J]. 药物评价研究,2014,6(37):531-533.
- [4] 宋慕玲,徐庆中,冷守忠,等. 中药复方抗瘤丸粉治疗脑胶质瘤疗效的初步观察[J]. 中西医结合杂志,1984,4(1):10-12.
- [5] 庄伟,林晓兰,姜德春,等. 中药 KLW-1 治疗恶性神经胶质瘤的临床研究[J]. 中国新药杂志,2011,20(19):1894-1897.
- [6] 詹合琴,张文熙,闫福林,等. 三七皂苷 Rg1 对脑缺血损伤后大鼠脑组织凋亡因子表达的影响[J]. 广东医学,2014,35(10):1478-1481.
- [7] 邓海进,肖晓山,马松梅. 三七对胃缺血-再灌注损伤大鼠 Bcl-2 及 Bax 的影响[J]. 广东医学,2014,35(13):2007-2010.
- [8] 周进,赵朋. 白花蛇舌草对 Renca 肾癌细胞模型小鼠凋亡相关蛋白 Fas、caspase3 及 caspase7 表达影响[J]. 中国生化药物杂志,2016,36(12):37-45.
- [9] 赵晓芳,李中华,付蕾,等. 半枝莲含药血清对肝星状细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 的影响[J]. 临床医药实践,2013,22(2):112-113.
- [10] 孟兆珂. 非甾体类抗炎药的抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 中国医药,2012,7(5):654-656.
- [11] 董贺,张太平. 山楂中谷甾醇抑制肿瘤细胞的研究[J]. 中国生化药物杂志,2009,30(4):270-272.
- [12] 谭永华. 基于薯蓣皂苷元的抗肿瘤活性衍生物设计与合成研究[M]. 贵阳:贵州大学,2016:20-22.
- [13] 詹奇,胡韶山,郑永日,等. 中药治疗胶质瘤作用机制的研究现状[J]. 哈尔滨医科大学学报,2007,41(5):519-520.

(下接第 2430 页)

血清 ALP 显著升高<sup>[15]</sup>。本研究中,九里香叶中、低剂量组血清 ALP 含量较模型组显著降低,其中九里香叶低剂量组差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示九里香叶可影响骨代谢,没有剂量依赖性。其机制可能与九里香叶具有雌激素样活性,降低骨转换率,间接减少骨吸收有关。ALP 是反映成骨细胞的重要标志<sup>[16]</sup>,提示九里香叶可能也增加成骨细胞活性。

骨组织形态计量学可将二维图像展示的骨组织和细胞结构进行定量分析,为骨结构、骨形成及骨吸收提供客观数据<sup>[17]</sup>。可用以分辨骨质疏松的程度和性质<sup>[18]</sup>。本实验结果显示,去势后小鼠骨小梁平均宽度、骨小梁面积百分率有明显下降,九里香叶高剂量使去势后小鼠骨小梁平均宽度、骨小梁面积百分率均明显提高,说明骨的内部结构得到很好的恢复,对骨质疏松程度有明显的改善作用。

综上所述,九里香叶对去卵巢大鼠体积骨密度有改善作用、影响骨矿物质的代谢、对血液生化指标有一定的改善作用、可明显影响骨组织形态学,但不呈剂量相关性。表明九里香叶具有预防骨质疏松作用,但具体作用机制还需进一步探讨。

#### 参考文献

- [1]郭培,柳航,朱怀军,等.九里香化学成分和药理作用的研究进展[J].现代药物与临床,2015,30(9):1172-1178.
- [2]李林福,肖海,胡海波,等.九里香叶中的化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(7):50-53.
- [3]单晶,王晓中,马彦冬,等.九里香叶黄酮类成分的研究(I)[J].中国药学杂志,2010,45(24):1910-1912.
- [4]黄锁义,阳文辉,李卫彬,等.超声波提取九里香总黄酮及其鉴别[J].时珍国医国药,2006,17(3):395-396.
- [5]刘冰语,章宸,吕海宁,等.HPLC 方法同时测定九里香中的三个

主要成分[J].Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences,2015,24(2):88-94.

- [6]曹伟国,刘志勤,邵云,等.黄酮类化合物药理作用的研究进展[J].西北植物学报,2003,23(12):2241-2247.
- [7]曾发挥,刘海清,李林福,等.九里香雌激素样作用及其对关节保护作用初步研究[J].安徽农业科学,2013,52(24):9948-9950.
- [8]陶若奇,张建东,顾九君,等.大豆异黄酮对去势大鼠骨质疏松性骨折愈合的影响[J].临床骨科杂志,2015,18(1):110-113.
- [9]解秀兰,孙晓丽,李丽娟,等.壮骨伸筋胶囊对去势大鼠骨密度及骨代谢的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(14):121-124.
- [10]刘文军,廖进民,谭小云,等.椎体骨密度、体积骨密度与生物力学强度的比较[J].中国临床康复,2004,8(5):880-881.
- [11]李远栋,王平,王为民,等.荣筋片治疗肾虚血瘀型原发性骨质疏松症的临床疗效观察[J].世界中医药,2013,8(10):1162-1163.
- [12]龙梓,刘丹霞,廖华卫,等.健骨片对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢骨微结构及骨强度的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(9):163-168.
- [13]李焯,童杰,周衍晶,等.补肾壮骨中药抗骨质疏松有效成分及其药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2015,40(6):1038-1043.
- [14]刘万军.注射用鼠神经生长因子治疗骶骨骨折合并神经损伤的疗效观察[J].中国医药,2012,7(10):1275-1276.
- [15]张洋,杨少峰,卜淑敏.全身垂直振动对去卵巢骨质疏松大鼠血清和骨组织碱性磷酸酶水平的影响[J].中国运动医学杂志,2013,32(1):41-44.
- [16]刘庆利,权铁刚,唐广志,等.中药治疗对去卵巢大鼠骨质疏松动物模型血钙、血磷、碱性磷酸酶与骨密度的影响[J].中国老年学杂志,2008,28(15):1527-1528.
- [17]荣杰生,陶天遵,陶树清.N-脱硫酸肝素对 ICR 雌性小鼠骨形态计量学的影响[J].中国骨质疏松杂志,2006,12(6):620-622.
- [18]Jimi E,Nakamura I,Amano H,et al.Osteoclast function is activated by osteoblastic cells through a mechanism involving cell-to-cell contact[J].Endocrinology,1996,137(8):2187-2190.

(2016-09-01 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第 2426 页)

- [14]杨莹.天然中药抗肿瘤机制的研究进展[J].医学综述,2010,16(3):363-365.
- [15]林晓兰,陈菲,连增林.活血益气方 KLW 对神经胶质瘤细胞抑制作用的实验研究[J].北京中医药,2011,30(5):396-397.
- [16]陈菲,林晓兰,连增林,等.MTT 法测定中药益气活血方 KLW<sub>1</sub>对神经胶质瘤细胞 U87-MG 细胞增殖的抑制作用[J].北京中医药,2012,6(9):466-467.

- [17]张鹏,冯英楠,王海征,等.中药复方抗瘤丸治疗神经胶质瘤作用机制的实验研究[J].北京中医药,2017,36(2):135-1387.
- [18]《中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南》编写组.中国中枢神经系统胶质瘤诊断与治疗指南(2015)[J].中华医学杂志,2016,96(7):485.
- [19]王卫东.Bcl-2/Bax 比率与细胞“命运”[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2007,14(4):393-396.

(2016-06-13 收稿 责任编辑:张文婷)