

不同浓度蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞增殖和周期的影响

杨映映 秦甜甜 钱树树 彭 林 刘莉嘉 白松棉 王如峰 蒋 燕 胡秀华

(北京中医药大学,北京,100029)

摘要 目的:探讨不同浓度蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞增殖、周期的影响。方法:光学显微镜下观察蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 细胞形态的影响;利用 MTT 观察药物处理后对 LOVO 细胞的生长增殖情况的影响;采用流式细胞术检测蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞增殖周期的影响。结果:光学显微镜和 MTT 结果发现,低浓度的蜜炙紫菀水煎剂($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)对大肠癌 LOVO 细胞的增殖具有明显的促进作用,增殖率可达到 99.7%;光学显微镜下可见细胞生长状态良好,细胞死亡少。高浓度的蜜炙紫菀水煎剂($>20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)对大肠癌 LOVO 细胞的增殖具有明显的抑制作用,抑制率达到 80.34%以上;光学显微镜下可见细胞的形态改变,细胞大量死亡。流式细胞术结果显示,蜜炙紫菀水煎剂可以使大肠癌 LOVO 细胞周期各个时相(G1 期、S 期和 G2 期)的细胞所占百分数发生改变。 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蜜炙紫菀水煎剂使 S 期中细胞所占的百分数增加; $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蜜炙紫菀水煎剂使 S 期细胞所占的百分数明显减少,G2 期细胞百分数明显增加。结论:蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞增殖的作用是双向的,低浓度($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的蜜炙紫菀水煎剂具有明显的促进 LOVO 细胞增殖作用;高浓度($>20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞的增殖具有明显的抑制作用,且可能是通过 G2 期阻滞来抑制大肠癌 LOVO 细胞增殖的,这为大肠癌的临床治疗提供了新的思路。

关键词 大肠癌 LOVO 细胞;蜜炙紫菀水煎剂;细胞增殖;细胞周期

Effects of Honey-fried Radix Asteris Decoction(HFRAD) on Cell Proliferation and Cell Cycle of Colorectal Cancer LOVO Cells

Yang Yingying, Qin Tiantian, Qian Shushu, Peng Lin, Liu Lijia, Bai Songmian, Wang Rufeng, Jiang Yan, Hu Xiuhua

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To explore the efficacy honey-fried Radix asteris decoction (HFRAD) of different concentration on cell cycle and proliferation of colorectal cancer LOVO cells. **Methods:** The changes of cellular morphology of LOVO cells treated with different concentration HFRAD were observed by optical microscopy. MTT colorimetric assay was applied to observe proliferation of LOVO cells; flow cytometry was used to analyze cell cycle of LOVO cells. **Results:** MTT results indicated that proliferation of LOVO cells treated with low concentration HFRAD ($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) has been obviously promoted, and the cell proliferation rate could be up to 99.7%. Moreover, normal cellular morphology and membrane structure were observed by optical microscopy. Compared with the low concentration groups, it was found that cell proliferation of LOVO cells treated with high concentration HFRAD ($>20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) was obviously inhibited, the cell inhibitor rate can be up to above 80.34%. Optical microscopy results indicated that LOVO cells treated with high concentration HFRAD had lowest cell viability and the number of normal morphology cells can be significantly reduced. Flow cytometry results showed that the proportions of G1, S and G2 phase cells vary from different concentration HFRAD and were significantly different from the control group. The proportion of S phase LOVO cells increased when treated with 10 and $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ HFRAD. However, it was also found that the proportion of S phase LOVO cells decreased and the proportion of G2 phase increased with $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ HFRAD. **Conclusion:** Different concentrate HFRAD has distinct efficacy on cell proliferation and cell cycle of LOVO cells. Cell proliferation of LOVO cells can be significantly promoted in concentration of HFRAD ($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). However, high concentration HFRAD ($>20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) can inhibit cell proliferation. Moreover, inhibition of G2 phase might be due to high concentration HFRAD. Our findings can provide experimental evidences for HFRAD in clinical therapy of Colorectal cancer.

Key Words Colorectal cancer LOVO cells; Honey-fried Radix asteris decoction (HFRAD); Cell proliferation; Cell cycle

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划课题——基于“肺与大肠相表里”理论研究紫菀及其提取物对大肠癌细胞增殖和迁移的影响(编号:20131002602);国家自然科学基金面上项目(编号:81274044)

通信作者:胡秀华(1975.05—),女,博士后,副教授,研究方向:中西医结合基础,Tel:(010)64286976,E-mail:xiuhuahu@126.com;蒋燕,女,博士,教授,研究方向:中医基础理论

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.11.032

大肠癌包括结肠癌和直肠癌,是常见的消化道恶性肿瘤之一,严重威胁着人类的健康。目前,在全世界范围内大肠癌的发病率男女均处于恶性肿瘤第3位,其中西方发达国家大肠癌的发病率处于第2位。且随着生活水平的提高,饮食结构的变化,大肠癌的发病率呈上升的趋势。手术治疗作为大肠癌治疗的首选方法,5年生存率仅在50%左右。近年来随着吻合器的广泛应用及各种新式化疗药物的出现,国际上很多学者建议采用在手术的基础上辅助以化疗、放疗、同步放化疗、生物治疗和中医药治疗等在内的一系列综合治疗手段^[1]。紫菀为菊科植物,味苦、辛、甘,性微温,归肺经。功效润肺、化痰、止咳,可用于咳嗽有痰诸证。在中医学中将大肠癌分为气滞血瘀、痰浊阻滞、湿热蕴毒等类型,说明大肠癌的发生与痰浊关系密切,紫菀或可通过其化痰功效对大肠癌的发生产生抑制作用。现代研究^[2-7]显示,紫菀中的一些化学成分,如表木栓醇、环状五肽(Astin A、B、C)、卤代环状五肽Asterin(2)、紫菀多糖、槲皮素、大黄素、微量元素(Ca、Mn、Se、Fe、Cu、Mn、Mo)均具有抗肿瘤活性。本实验基于中医“肺与大肠相表里”的理论,依据紫菀的化痰功效及其现代研究,采用细胞培养、MTT法以及流式细胞术来探讨入肺经的中药蜜炙紫菀对大肠癌LOVO细胞增殖和周期的影响,为深入研究蜜炙紫菀治疗大肠癌提供实验基础。

1 资料

1.1 药品及试剂 胎牛血清(Gibco,美国),F-12K培养基(Gibco),0.25%胰蛋白酶(Hyclone公司),生理盐水,碘化丙啶(PI,Sigma公司),RNA酶(Sigma公司),3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐噻唑蓝(MTT,Sigma公司),二甲基亚砷(DMSO,Sigma公司)。蜜炙紫菀(同仁堂)购自北京中医药大学国医堂门诊部;LOVO细胞购自北京协和医学院基础学院细胞中心。

1.2 仪器 倒置显微镜(OLYMPUS日本),酶标仪(Bio-Tek美国),流式细胞仪(BD美国),CO₂培养箱(BINDER德国),96孔细胞培养板、细胞培养瓶(Corning公司)。

2 方法

2.1 药物制备 将同仁堂生产的蜜炙紫菀用精密电子天平称取60g,按照常规中药煎煮方法煎煮。待煎至约100mL时将煎剂倒入150mL的烧杯中,

用培养皿盖住烧杯口(此烧杯和培养皿均经无离子水浸泡、高压灭菌),进行浓缩,直至30mL。然后将其转移至超净工作台,转移至无菌离心管进行1000r/min离心,取上清液。取少许上清液加入培养基,置37℃,5%CO₂的培养箱内静置培养以检菌。24h后观察培养基,结果显示无菌后,密闭保存上清液备用。制取的蜜炙紫菀水煎剂浓度为2g·mL⁻¹,作为原液。

2.2 细胞培养及光学显微镜下观察 结肠癌LOVO细胞株由北京协和医学院基础学院细胞中心提供,用含10%胎牛血清的F-12K培养基,置37℃,5%CO₂的培养箱内静置培养,取对数生长期的LOVO细胞以每孔 $1.3 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于96孔细胞培养板中,每孔100μL,置37℃,5%CO₂的培养箱内培养24h后换液,加入含不同质量浓度蜜炙紫菀水煎剂的培养基(终浓度分别为5、10、20、40、50、60、70、80mg·mL⁻¹),同时设置阴性对照孔,每个组设6个平行孔,继培养48h后,光学显微镜下观察细胞的形态和密度。

2.3 MTT法测定蜜炙紫菀水煎剂对LOVO细胞的增殖和抑制作用 取对数生长期的LOVO细胞以每孔 $1.3 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于96孔细胞培养板中,每孔100μL,置37℃,5%CO₂的培养箱内培养24h后换液,加入含不同质量浓度蜜炙紫菀水煎剂的培养基(终浓度分别为0.2、0.8、3.2、5、6.4、10、20、40、50、60、70、80mg·mL⁻¹),同时设置阴性对照孔,每个组设6个平行孔,继续培养48h后每孔加入质量浓度为5g·mL⁻¹的MTT溶液100μL,继续培养4h,弃上清,每孔加入150μL DMSO,摇床震荡10min,放入酶标仪上测定570nm处的光吸收值,计算细胞生长增殖率和抑制率,细胞增殖率(%)=(实验组平均吸光度值-对照组平均吸光度值)/对照组平均吸光度值×100%;抑制率(%)=(1-实验组平均吸光度值/对照组平均吸光度值)×100%。

2.4 流式细胞仪检测细胞增殖周期 将对数生长期的LOVO细胞以 2×10^5 个·mL⁻¹接种于25cm²培养瓶中,待80%细胞汇合成片后,弃培养瓶中液体,实验组加入不同浓度的蜜炙紫菀水煎剂,终浓度分别为10、20、30mg·mL⁻¹,并设立对照组,置于37℃,5%CO₂培养箱中培养48h后,收集细胞;用冷生理盐水洗涤细胞(1000r/min,5min),弃上清液,加入4℃预冷的75%乙醇,于4℃固定过夜。取固定

好的细胞,用 4 ℃ 生理盐水洗两次,分别加入 50 μg · mL⁻¹ 的 PI 和 50 μg · mL⁻¹ 的 RNA 酶 1:1 混合液 1 mL,避光 10 min 后上机检测分析细胞的增殖周期。

2.5 数据处理 所有实验均重复 3 次以上,实验结果用($\bar{x} \pm s$)表示,数据采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,2 个独立样本组间均数比较用 *t* 检验,多组间采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 光学显微镜下不同浓度的蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 细胞生长状态的影响 实验结果如图 1 所示,对照组 LOVO 细胞大小均匀,形态完好,细胞膜舒展,未见细胞核固缩,死亡细胞较少,细胞生长状态良好;不同质量浓度的蜜炙紫菀水煎剂处理 LOVO 细胞 48 h 后,LOVO 细胞的形态与对照组相比,5 mg · mL⁻¹、10 mg · mL⁻¹、20 mg · mL⁻¹ 蜜炙紫菀水煎剂组细胞大小均匀,密度较大,形态完好,细胞膜舒展,生长状态良好;其他质量浓度处理组(40 mg · mL⁻¹、50 mg · mL⁻¹、60 mg · mL⁻¹、70 mg · mL⁻¹、80 mg · mL⁻¹)发现 LOVO 细胞有不同程度的细胞形态改变,细胞中空泡增加,细胞体积变小,细胞间隙变大,细胞变圆透亮,细胞膜皱缩,可见不同程度的细胞脱落,同时发现随着蜜炙紫菀水煎剂的质量浓度的增高,LOVO 细胞生长状态越差,细胞死亡越多。

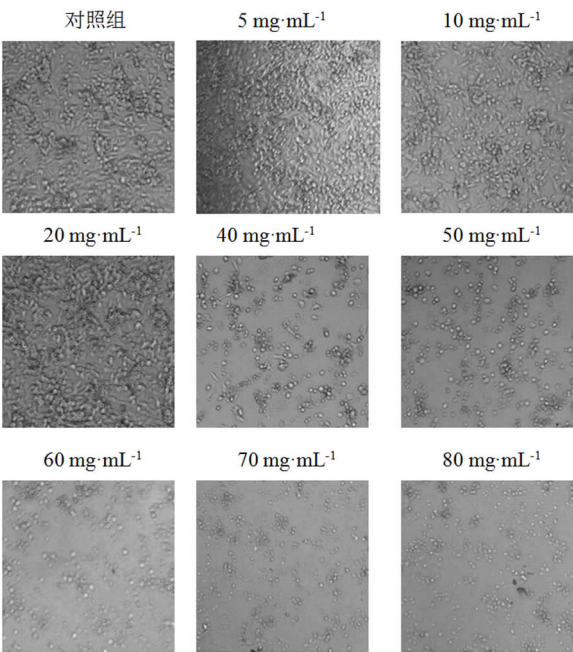


图 1 不同质量浓度紫菀水煎剂作用大肠癌 LOVO 细胞 48 h 后对其形态的影响

3.2 低浓度蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞的生长具有促进作用 分别用不同浓度的蜜炙紫菀水煎剂处理细胞(终浓度分别为 0.2 mg · mL⁻¹、0.8 mg · mL⁻¹、3.2 mg · mL⁻¹、5 mg · mL⁻¹、6.4 mg · mL⁻¹、10 mg · mL⁻¹、20 mg · mL⁻¹),同时设立对照组。MTT 结果如表 1 所示,与对照组相比,在质量浓度为 0.2 ~ 10 mg · mL⁻¹ 之间的蜜炙紫菀水煎剂处理细胞 48 h 后,发现对 LOVO 细胞的增殖具有明显的促进作用,且随着质量浓度的增加,促进增殖的能力越强,增值率分别是 5.45%,10.82%,19.40%,23.96%,40.88%,99.70%,在 10 mg · mL⁻¹ 时增值率达到最高 99.70%,统计学分析显示 *P* < 0.01,差异具有统计学意义。蜜炙紫菀水煎剂浓度达到 20 mg · mL⁻¹ 时增值率由 10 mg · mL⁻¹ 的 99.70% 降低到 36.56%,但和对照组相比 *P* < 0.01,差异具有统计学意义。MTT 结果和我们在倒置显微镜下观察到的细胞生长状态相符。

表 1 MTT 测定蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞的增殖的影响($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

组别	药物浓度 (mg · mL ⁻¹)	A 值(OD)	增值率(%)
空白对照组	0	1.1952 ± 0.0403	0
蜜炙紫菀水煎剂 作用 48 h	0.2	1.2603 ± 0.0296 **	5.45
	0.8	1.3245 ± 0.0300 **	10.82
	3.2	1.4271 ± 0.0903 **	19.40
	6.4	1.6839 ± 0.0667 **	40.88
组别	药物浓度 (mg · mL ⁻¹)	A 值(OD)	增值率(%)
空白对照组	0	0.8260 ± 0.0809	0
蜜炙紫菀水 煎剂作用 48 h	5	1.0239 ± 0.1205 **	23.96
	10	1.6496 ± 0.1930 **	99.70
	20	1.1280 ± 0.1971 **	36.56

注:与空白对照组相比,**P* < 0.05; ***P* < 0.01。

3.3 高浓度蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 细胞增殖的影响 如 3.2 结果中表 1 所示,与对照组相比,在质量浓度 20 mg · mL⁻¹ 之前,蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 的增殖有明显的促进作用,并且在 10 mg · mL⁻¹ 时达到峰值。然后利用终浓度分别为 40 mg · mL⁻¹、50 mg · mL⁻¹、60 mg · mL⁻¹、70 mg · mL⁻¹、80 mg · mL⁻¹ 的蜜炙紫菀水煎剂处理细胞 48 h 后,MTT 结果显示如表 2 所示,与对照组相比,不同浓度实验组均对 LOVO 细胞的生长增殖有不同程度的抑制,抑制率分别为 80.34%、89.50%、90.76%、90.80%、94.90%,统计学分析显示 *P* < 0.01,与对照组相比差异具有统计学意义。MTT 结果和我们在倒置显微镜下观察到的细胞生长状态相符。

表 2 MTT 法测定蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 细胞的抑制情况($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	药物浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	A 值(OD)	抑制率 (%)
空白对照组	0	1.0963 ± 0.0963	0
	40	$0.2152 \pm 0.0199^{**}$	80.34
蜜炙紫菀水煎剂作用	50	$0.1151 \pm 0.0142^{**}$	89.50
	60	$0.1013 \pm 0.0052^{**}$	90.76
48 h 实验组	70	$0.1008 \pm 0.0072^{**}$	90.80
	80	$0.0971 \pm 0.0067^{**}$	94.90

注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

3.4 流式细胞术检测蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 细胞周期的影响 流式细胞术分析结果如表 3 与图 2 所示,0、10、20、30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蜜炙紫菀水煎剂作用 48 h 后,随着质量浓度的增加细胞增殖周期中的三个时期 G1 期、S 期和 G2 期的细胞所占百分数有不同的改变,其中 G1 期细胞所占的百分数平均值分别为 74.50%、73.84%、58.91%、56.12%,经 T 检验发现与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$)。S 期中细胞所占百分数平均值分别为 14.04%、23.86%、18.98%、11.82%。经 T 检验后发现与对照组相比差异具有统计学意义($P < 0.01$);G2 期中细胞所占百分数平均值分别是 10.46%、5.64%、23.78%、32.26%,与对照组相比 $P < 0.01$,具有统计学意义。

表 3 流式细胞术检测 LOVO 细胞周期中各时相所占百分数($\bar{x} \pm s$), $n = 3$)

药物浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	细胞数占总细胞数的百分比(%)		
	G1 期	S 期	G2 期
0	74.50 ± 0.0242	14.04 ± 0.0066	10.46 ± 0.0166
10	$73.84 \pm 0.0394^{*}$	$23.86 \pm 0.0271^{**}$	$5.64 \pm 0.0257^{**}$
20	$58.91 \pm 0.0172^{**}$	$18.98 \pm 0.0270^{**}$	$23.78 \pm 0.0123^{**}$
30	$56.12 \pm 0.0416^{**}$	$11.82 \pm 0.0312^{**}$	$32.26 \pm 0.0114^{**}$

注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

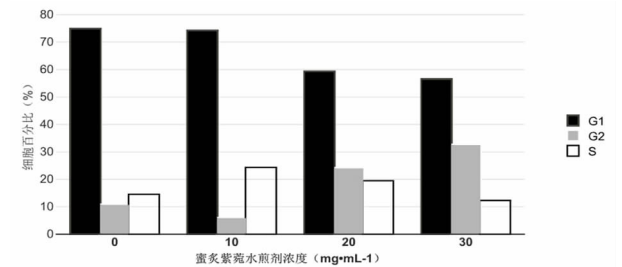


图 2 不同质量浓度的蜜炙紫菀水煎剂对 LOVO 细胞周期中各期细胞百分数的影响

4 讨论

研究发现多种祛湿化痰药物可以用于肺癌的治疗,其中,紫菀水提物能选择性地抑制荷 S180 小鼠肿瘤生长^[8-9];紫菀多糖能抑制胃癌细胞 SGC-7901 的增殖和生长,诱导 SCG-7901 细胞株的凋亡^[10];Du L 等^[11]从紫菀提取物中分离纯化得到一种多聚糖类

物质,命名为 ATP-2,该物质能抑制神经胶质瘤 C6 的增殖。

本实验基于紫菀的化痰功效和抗肿瘤活性,探讨蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞增殖的影响。实验结果表明蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌 LOVO 细胞增殖的作用是双向的,低浓度的蜜炙紫菀水煎剂($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)对大肠癌 LOVO 细胞的增殖具有明显的促进作用,并在 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时促进作用最明显,达到了 99.70%;高浓度的蜜炙紫菀水煎剂($> 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)对大肠癌 LOVO 细胞的增殖有明显的抑制作用,在 $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时抑制率即可以达到 80.34%,光学显微镜下可见细胞的形态改变,细胞大量死亡。 $50 \sim 80 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蜜炙紫菀水煎剂和 $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蜜炙紫菀水煎剂对大肠癌细胞的抑制率差异没有统计学意义($P > 0.05$)。由此确定蜜炙紫菀水煎剂在质量浓度 $20 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的范围内对大肠癌细胞具有细胞毒性,可以抑制大肠癌细胞的增殖。

从中草药中提取的抗肿瘤药物,其细胞毒性作用的主要机制是诱导细胞周期阻滞和细胞凋亡。抗肿瘤药物可以通过诱导细胞周期阻滞而抑制细胞增殖^[12]。一个完整的细胞周期包括间期(G1 期、S 期和 G2 期)和分裂期(M 期),药物可使细胞周期阻滞在不同时期,包括 G1 期阻滞、G1/S 期阻滞、G2 期阻滞和 G2/M 期阻滞等。研究发现抗肿瘤药物常通过引起肿瘤细胞 DNA 损伤而导致细胞周期阻滞。有 DNA 损伤的细胞常被阻滞在 G1 期,防止受损的 DNA 进入 S 期复制;或被阻滞在 G2 期,以防止在 M 期进行异常分裂^[13]。p53 基因与 G1 期阻滞关系密切,缺失 p53 的肿瘤细胞不能启动 G1 期关卡,因而在抗肿瘤药物使肿瘤细胞 DNA 受损后主要表现为 G2 期阻滞^[14]。而在所有肿瘤细胞中,50% 以上有 p53 基因功能缺陷^[15]。这种情况下,G2 期阻滞就成了抗肿瘤药物使肿瘤细胞发生周期阻滞的重要途径。本实验研究发现蜜炙紫菀水煎剂可以使大肠癌 LOVO 细胞周期各个时相(G1 期、S 期和 G2 期)的细胞所占百分数发生改变。与对照组相比, $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蜜炙紫菀水煎剂实验组细胞周期中 S 期中细胞所占百分数增加,具有统计学意义,说明细胞增殖处于旺盛时期,这与光学显微镜结果及 MTT 结果相一致。但是 $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蜜炙紫菀水煎剂实验组细胞周期中 S 期细胞所占百分数较对照组明显减少,G2 期细胞百分数明显增加,细胞增殖周期可能停滞在 G2 期,这表明蜜炙紫菀水煎剂对

大肠癌 LOVO 细胞的增殖的抑制作用,可能是通过 G2 期阻滞来完成的,由此我们推断 G2 期可能是蜜炙紫菀水煎剂作用于大肠癌 LOVO 细胞的治疗靶点。蜜炙紫菀水煎剂导致大肠癌细胞 G2 期阻滞是否和 p53 的表达相关,是我们进一步的研究重点。

由上可知,中药紫菀在剂量范围 $20 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内对大肠癌 LOVO 细胞的增殖具有抑制作用。在低浓度时 ($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 对大肠癌具有明显的促进增殖作用,在高浓度 ($> 20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 时对抑制大肠癌 LOVO 细胞的增殖具有明显的抑制作用,并且很可能将其阻滞在 G2 期。这为中医临床用药剂量的选择提供了生物学基础,但其作用于大肠癌 LOVO 细胞的分子机制仍有待深入探讨。

参考文献

- [1] 江陈,常家聪. 大肠癌的治疗方法研究进展[J]. 安徽医药,2012,16(2):247.
- [2] 房慧勇,单高威,秦桂芳,等. 紫菀的化学成分及其药理活性研究进展[J]. 医学研究与教育,2012,29(5):73-74.
- [3] 王惠丽,胡子有,苑召虎,等. 槲皮素抗肿瘤机制的研究进展[J]. 热带医学杂志,2013,13(1):126-128.
- [4] 孙桂斌,张萌,严方,等. 大黄素抗肿瘤活性及相关机制研究进展[J]. 药学进展,2013,37(6):248.
- [5] G. Bibi, Ihsan-ul-Haq, N. Ullah, A. Mannan and B. Mirza, Antitumor, cytotoxic and antioxidant potential of *Aster thomsonii* extracts [J]. African Journal of Pharmacy and Pharmacology,2011,5

(2):252-258.

- [6] Xavier CP, Lima CF, Preto A, et al. lutein, Quercetin and ursolic acid are potent inhibitor of proliferation and inducers of apoptosis in both KRAS and BRAF mutated human colorectal cancer cells [J]. Cancer Letter,2009(281):62-70.
- [7] 彭文静,辛蕊华,任丽花,等. 紫菀化学成分及药理作用研究进展[J]. 动物医学进展,2015,36(3):102-107.
- [8] 阮广欣,周蕾. 调理气机法在肺癌治疗中的应用[J]. 辽宁中医杂志,2010,37(3):442-443.
- [9] 贺志安,马兴科,白素平. 紫菀水提取物体内抗肿瘤作用[J]. 新乡医学院学报,2006,23(4):332-334.
- [10] Zhang Yunxin, Wang Qiusheng, WANG Tie, et al. Inhibition of human gastric carcinoma cell growth in vitro by a polysaccharide from *Aster tataricus* [J]. Int J Biol Macromol,2012,51(4):509-513.
- [11] Du L, Mei H F, Yin X, et al. Delayed growth of glioma by a polysaccharide from *Aster tataricus* involve upregulation of Bax/Bcl-2 ratio, activation of caspase-3/8/9, and downregulation of the Akt [J]. Tumor Biol,2014,27(6):1308-1310.
- [12] 李梅影. 蟾毒灵通过诱导细胞凋亡和细胞周期阻滞在胰腺癌细胞中发挥抗肿瘤作用[D]. 山东:山东大学医学院,2014.
- [13] 王洪鹏,叶琳,王驰. 粉防己碱与抗肿瘤药物相互作用对 HNE-1 细胞周期的影响[J]. 中国中医急症,2010,19(3):482.
- [14] 惠周光,李晔雄,杨伟志,等. UCN-01 去除放射后肿瘤细胞 G2 期阻滞及其相关机制[J]. 癌症,2005,24(1):5.
- [15] 王宏梅,陈龙华. 不同辐射敏感性鼻咽癌细胞株间 G2 期阻滞的比较[J]. 实用医学杂志,2010,26(22):410.

(2015-01-16 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第 1754 页)

- [2] Malena Monteverde, Kenya Noronha, Alberto Palloni, et al. Obesity and excess mortality among the elderly in the United States and Mexico [J]. Demography,2010,47(1):79-96.
- [3] 汤晓冬,张鑫鑫,李伟红. 电针结合埋线疗法治疗单纯性肥胖病 20 例[J]. 针灸临床杂志,2013,29(1):27-29.
- [4] 于向华,何齐芳,陈文通. 穴位埋线治疗单纯性肥胖的研究现状[J]. 中华中医药学刊,2013,31(1):94-95.
- [5] 阮雅丽,阳仁达. 近十年针灸减肥的临床研究进展[J]. 中医药导报,2010,16(2):73-75.
- [6] 王谢欣,李艳慧. 穴位埋线对肥胖模型大鼠瘦素水平及血月旨的影响[J]. 天津中医药,2009,26(1):63-65.
- [7] 高磊,孔显娟,石现. 电针和穴位埋线对单纯性肥胖大鼠脂代谢基因 PPAR- α mRNA 表达及相关脂代谢酶的影响[J]. 中国针灸,2011,31(6):535-538.
- [8] 宋文蔚,潘智敏,王英虎. 调脂积冲剂对高脂诱导肥胖大鼠脂联素、抵抗素影响的研究[J]. 中华中医药学刊,2014,32(5):1074-1076.
- [9] 李忠仁. 实验动物针灸学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:

329-331.

- [10] 孙文善. 微创埋线临床操作规范[J]. 上海针灸杂志,2012,31(1):69.
- [11] 杨水凤,王延武. 埋线疗法对肥胖大鼠大脑纹状体 NO 和 NOS 含量的影响[J]. 浙江中医杂志,2008,43(7):380-381.
- [12] 夏玮. 辨证针刺取穴与埋线治疗青年单纯性肥胖的临床疗效观察[J]. 中国临床研究,2014,27(3):349-352.
- [13] 胡晓茵,王丽,潘婕,等. 脂联素的研究进展及与多种疾病的关系[J]. 现代生物医学进展,2014,23(45):4563-4565.
- [14] 马建华,王昱政,赵琳. 针刺对 2 型糖尿病肥胖大鼠瘦素、胰岛素抵抗和脂联素水平影响的实验研究[J]. 新中医,2012,44(11):134-137.
- [15] 何东,李骊华. 脂联素与抵抗素对动脉粥样硬化的作用及其与血管紧张素受体拮抗剂关系[J]. 中国老年学杂志,2014,34(4):1142-1144.
- [16] 黄言瑾,陈金水. 脂联素国内外研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2014,12(2):234-236.

(2015-03-20 收稿 责任编辑:张文婷)