

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.12.001
文章编号: 1005-8982(2017)12-0001-08

基础研究·论著

美洲大蠊提取物对人肝癌 HepG₂ 细胞的作用机制研究*

张蕊, 袁发璐, 李婷, 彭芳

(大理大学 药学与化学学院, 云南 大理 671000)

摘要:目的 探讨美洲大蠊提取物体外对肝癌(HCC)HepG₂ 细胞增殖、迁移能力,以及细胞中血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达的影响。**方法** 噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖;划痕实验检测美洲大蠊提取物对 HCC 细胞迁移能力的影响;免疫细胞染色法、酶联免疫吸附试验(ELISA)检测美洲大蠊提取物对细胞中 VEGF 蛋白表达的影响。**结果** MTT 和划痕实验结果表明,美洲大蠊多肽、C II -3 和脱脂膏能抑制人 HCC HepG₂ 细胞的增殖和迁移,且呈时间、剂量依赖关系;免疫细胞化学染色法和 ELISA 法结果显示,美洲大蠊多肽、C II -3 及脱脂膏能下调人 HCC HepG₂ 细胞中 VEGF 蛋白的表达。**结论** 美洲大蠊多肽、C II -3 及脱脂膏能抑制人 HCC HepG₂ 细胞增殖和迁移,同时能降低 HepG₂ 细胞中 VEGF 蛋白的表达,且美洲大蠊多肽的作用优于 C II -3 和脱脂膏。

关键词: 美洲大蠊多肽; HepG₂ 细胞; 增殖和迁移; VEGF 表达

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

Effect of *Periplaneta Aamericana* extracts on HepG2 cells*

Rui Zhang, Fa-lu Yuan, Ting Li, Fang Peng

(College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of extracts from *Periplaneta Aamericana* on *in vitro* proliferation, migration and VEGF protein expression of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. **Methods** Scratch assay was applied to measure the effect of extracts from *Periplaneta americana* on migration of HepG2 cells. Immunohistochemical staining and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect the effect of extracts from *Periplaneta americana* on the expression of VEGF protein in the cells. **Results** MTT assay and Scratch assay showed that *Periplaneta americana* polypeptides, C II -3 and skimmed cream could inhibit the proliferation and migration of HepG2 cells in a time- and dose-dependent manner. Immunohistochemical staining and ELISA indicated that *Periplaneta americana* polypeptides, C II -3 and skimmed cream could down regulate the expression of VEGF protein in the cells. **Conclusions** *Periplaneta americana* polypeptides, C II -3 and skimmed cream can inhibit the *in vitro* proliferation and migration of HepG2 cells *in vitro* in a time- and dose-dependent way, and reduce the expression of VEGF protein in the cells; and the effect of *Periplaneta americana* extracts is better than that of C II -3 and skimmed cream.

Keywords: *Periplaneta americana* polypeptide; HepG2 cells; proliferation and migration; VEGF

肝癌(hepatocellular carcinoma,HCC)是世界上 第 7 种常见的恶性肿瘤,居全球癌症病死率的第 3 位,

收稿日期:2017-01-03

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81560600)

[通信作者] 彭芳,E-mail:pengfang101@sohu.com

恶性程度高,复发率高,易转移^[1-2]。目前,越来越多的研究集中探讨 HCC 微环境的组成,以及对 HCC 发生、发展的作用^[3]。

美洲大蠊为昆虫纲有翅亚纲蜚蠊目蜚蠊科大蠊属昆虫,俗称蟑螂^[4]。本研究用美洲大蠊多肽(periplaneta americana polypeptide, PAP)PAP-1、PAP-2、PAP-3,以及抗肿瘤活性物质 C II -3 和脱脂膏为实验用药,观察并比较美洲大蠊 3 个多肽和 2 个活性物质对人肝癌 HepG₂ 细胞的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

美洲大蠊多肽 1、2 和 3(大理大学昆虫生物医药研究院),美洲大蠊 C II -3(黄褐色冻干粉末)和美洲大蠊脱脂膏(褐色黏稠膏状)(大理大学昆虫生物医药研究院张成桂博士提供),人肝癌 HepG₂ 细胞株(上海海博全尔生物科技有限公司),改良伊格尔培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM)、胎牛血清、胰蛋白酶购自澳大利亚 Gibco 公司,青霉素链霉素混合液(美国 Millipore 公司),二甲亚砜、噻唑蓝 [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT]、沙利度胺购自美国 Sigma 公司,一抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和兔 IgG 免疫组织化学法试剂盒(武汉博士德生物有限公司),人 VEGF 酶联免疫吸附试验(enzymelinked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(深圳欣博盛生物科技有限公司),医用洁净工作台和二级生物安全柜(苏州安泰空气技术有限公司),二氧化碳 CO₂ 培养箱(美国 Nuair 公司),倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 美洲大蠊多肽 PAP-1、PAP-2 及 PAP-3 母液的配制 美洲大蠊多肽 PAP-1、PAP-2 及 PAP-3 均用注射用水配置成浓度为 1 mg/ml 的母液,4℃ 保存。实验时用培养基将药物母液稀释至所需浓度即可。

1.2.2 细胞培养 人肝癌 HepG₂ 细胞株采用含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 完全培养基,置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养,取对数生长期的细胞进行实验^[5-6]。

1.2.3 MTT 法检测用药后人肝癌细胞 HepG₂ 存活率 HepG₂ 细胞(1 × 10⁵ 个/ml, 100 μl)接种于 96 孔板,培养 24 h。用浓度分别为 6.25、12.50、25.00、

50.00 和 100.00 μg/ml 的美洲大蠊多肽、C II -3、脱脂膏进行干预,每个浓度设 6 个复孔,200 μl/孔,同时设置 200 μg/ml 沙利度胺组和对照组,继续培养 24 h。用酶联免疫检测仪在 490 nm 处检测各孔吸光度值(Absorbance, A)。按以下公式计算细胞抑制率:细胞抑制率(inhibition rate, IR)(%)=[1-A_{加药组}/A_{对照组}] × 100%^[7-8]。

1.2.4 细胞划痕实验 分为对照组,沙利度胺组,美洲大蠊 PAP-1、PAP-2、PAP-3 组, C II -3 组,以及脱脂膏低、中、高剂量组(分别为 25、50 和 100 μg/ml)^[9-10]。HepG₂ 细胞常规消化,按 2 × 10⁵ 个/ml 的密度接种于 6 孔板,2 ml/孔。培养 24 h 后,用 200 μl 枪头在 6 孔板底部划一条直线,磷酸盐缓冲溶液洗涤 2、3 次,按实验分组加入药物。分别对 0 和 24 h 的划痕进行拍照,并测量划痕宽度。以上实验重复 3 次,取平均值计算划痕愈合率。划痕愈合率=(0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度)/0 h 划痕宽度 × 100%。

1.2.5 免疫细胞染色法 实验分组同 1.2.4。取对数生长期的 HepG₂ 细胞,常规消化制备单细胞悬液,按 2 × 10⁵ 个/孔的密度接种于放有细胞爬片的 6 孔板中,2 ml/孔。培养 24 h 后,根据实验分组分别加入不同剂量的美洲大蠊多肽、C II -3、脱脂膏,继续培养 48 h。按照免疫组织化学法步骤和试剂盒说明书进行实验,在倒置显微镜下观察并拍照。

1.2.6 ELISA 实验 HepG₂ 细胞常规消化,以 1 × 10⁵ 个/ml 的密度接种于 96 孔板,37℃ 培养箱中培养 24 h。待细胞贴壁后,按 1.2.4 中实验分组加入不同浓度的药物,每个浓度设置 3 个复孔,200 μl/孔。同时设置空白对照组和阳性对照组。分别培养 24 和 48 h 后收集细胞上清液,3 000 r/min 离心 15 min,取上清,置于 -20℃ 冰箱冷冻保存备用。按照 ELISA 试剂盒说明书进行实验,酶标仪检测 450 nm 处各孔光密度(optical density, OD)值。以标准品的浓度为纵坐标,OD 值为横坐标,绘制标准曲线。根据标准曲线对应的 OD 值,即可算出样品 VEGF 的浓度。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件和 Origin Pro 8.6 作图软件,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 美洲大蠊多肽提取物对人肝癌 HepG₂ 细胞增殖的影响

各组培养 24、48 和 72 h 的细胞抑制率比较,采用重复测量数据的方差分析,结果:①不同时间点测量的抑制率比较,差异有统计学意义($F=4247.101, P=0.000$);②不同药物处理后的抑制率比较,差异有统计学意义($F=2460.773, P=0.000$);③各组的细胞抑制率变化趋势有差异($F=85.030, P=0.000$)。从用药浓度看,同一时间的美洲大蠊多肽、C II -3、脱脂膏对 HepG₂ 细胞增殖的抑制率呈浓度依赖性。200 μg/ml 沙利度胺对 HepG₂ 细胞的增殖抑制率亦呈时间依赖关系,其中以 72 h 抑制率为最高。各药物间作用比较,美洲大蠊 3 个多肽抑制 HepG₂ 细胞增殖的作用优于脱脂膏和 C II -3,其中多肽 PAP-2 抑制效果最好,而脱脂膏的作用又优于 C II -3。见表 1 和图 1~3。

表 1 美洲大蠊提取物对 HepG₂ 细胞增殖的影响 (n=3)

组别	浓度 / (μg/ml)	抑制率 I(%, $\bar{x} \pm s$)		
		24 h	48 h	72 h
对照组	0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
沙利度胺组	200.00	32.55 ± 0.81	45.32 ± 0.45	55.07 ± 0.98
PAP-1 组	6.25	5.16 ± 0.38	10.42 ± 0.73	9.29 ± 0.54
	12.50	9.71 ± 0.38	13.25 ± 0.74	14.18 ± 0.20
	25.00	12.05 ± 0.37	24.99 ± 0.20	25.09 ± 0.09
	50.00	19.01 ± 1.13	34.44 ± 0.43	32.55 ± 0.28
	100.00	24.58 ± 0.64	44.66 ± 0.48	39.46 ± 0.23
PAP-2 组	6.25	3.81 ± 1.38	14.34 ± 0.60	15.53 ± 0.61
	12.50	10.51 ± 0.56	16.97 ± 0.76	19.53 ± 1.05
	25.00	15.80 ± 0.77	27.6 ± 0.96	28.97 ± 0.30
	50.00	22.32 ± 0.13	35.87 ± 0.45	36.99 ± 0.48
	100.00	26.63 ± 0.68	48.77 ± 1.00	45.69 ± 0.69
PAP-3 组	6.25	5.47 ± 0.28	11.94 ± 0.77	10.40 ± 0.94
	12.50	8.24 ± 0.46	12.61 ± 0.45	14.04 ± 0.49
	25.00	13.03 ± 0.87	24.58 ± 0.77	26.18 ± 0.57
	50.00	20.23 ± 0.35	36.21 ± 0.75	35.12 ± 0.30
	100.00	25.54 ± 0.38	46.18 ± 0.20	42.70 ± 0.17
C II -3 组	6.25	2.64 ± 1.19	8.39 ± 0.37	5.07 ± 1.35
	12.50	6.82 ± 1.06	8.79 ± 0.64	8.73 ± 0.85
	25.00	10.00 ± 0.56	11.96 ± 0.56	11.49 ± 0.25
	50.00	11.99 ± 0.57	19.60 ± 1.30	17.24 ± 1.51
	100.00	17.62 ± 0.39	22.53 ± 0.30	23.24 ± 1.35

续表 1

组别	浓度 / (μg/ml)	抑制率 I(%, $\bar{x} \pm s$)		
		24 h	48 h	72 h
脱脂膏组	6.25	5.23 ± 0.56	7.41 ± 0.84	9.15 ± 0.91
	12.50	10.74 ± 1.13	13.74 ± 1.13	9.92 ± 1.00
	25.00	11.96 ± 0.56	16.36 ± 1.13	16.30 ± 0.09
	50.00	15.37 ± 0.66	22.91 ± 0.26	24.87 ± 0.66
	100.00	21.54 ± 0.31	33.04 ± 0.58	27.75 ± 0.32

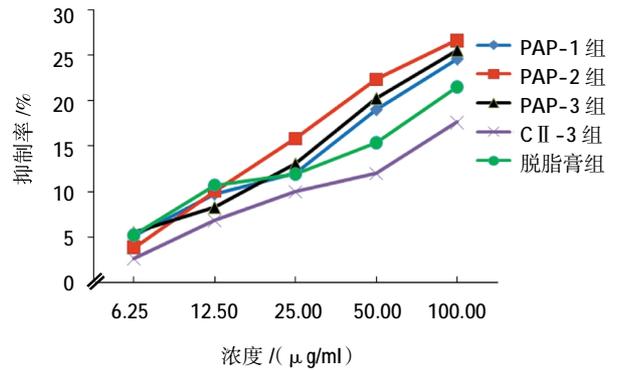


图 1 美洲大蠊提取物干预 24 h 对 HepG₂ 细胞增殖的抑制作用

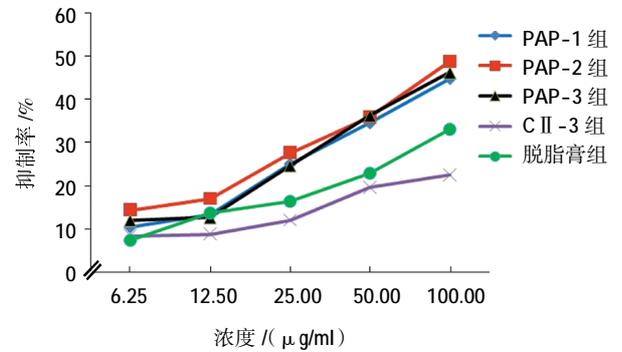


图 2 美洲大蠊提取物干预 48 h 对 HepG₂ 细胞增殖的抑制作用

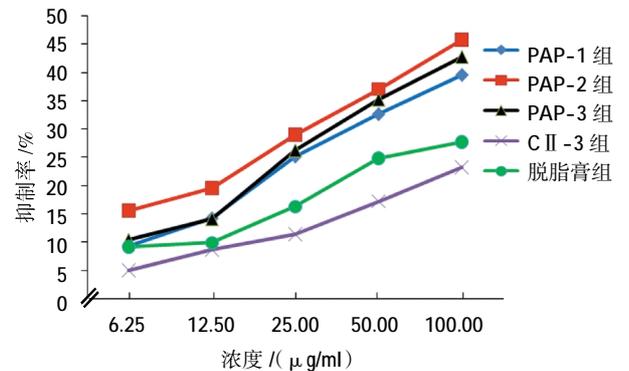


图 3 美洲大蠊提取物干预 72 h 对 HepG₂ 细胞增殖的抑制作用

2.2 美洲大蠊提取物对 HepG₂ 细胞的迁移抑制作用

各组划痕愈合率比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义($F=433.771, P=0.000$)。与对照组、沙利度胺组比较,经过 PAP-1、PAP-2、PAP-3、C II -3 及脱脂膏处理后, HepG₂ 细胞的划痕愈合率降低,并且随着浓度增加,划痕愈合率逐渐降低,抑制细胞迁移具有浓度依赖性。见表 2。

另外各药物对 HepG₂ 细胞迁移抑制作用比较,美洲大蠊多肽 PAP-3 的作用优于 PAP-1、PAP-2、C II -3 及脱脂膏,而脱脂膏的作用好于 PAP-1、PAP-2 及 C II -3。见图 4。

划痕 24 h 后,各组 HepG₂ 细胞发生明显迁移,划痕区域与 0 h 相比变窄,说明细胞 HepG₂ 细胞在划痕后能自动愈合。然而,在经过不同剂量的美洲大蠊多肽、C II -3、脱脂膏及 200 μg/ml 沙利度胺干预 24 h 后, HepG₂ 细胞的迁移距离均缩小,划痕愈合率逐渐降低。见图 5。

2.3 美洲大蠊多肽、C II -3、脱脂膏对 VEGF 蛋白表达的影响

免疫细胞化学染色结果显示, VEGF 的表达存在于 HepG₂ 细胞质中,棕色为 VEGF 蛋白表达,颜色深浅代表蛋白表达量的多少。未加药的对照组染色较深,呈现深棕色颗粒,表明 VEGF 蛋白表达高。美洲大蠊多肽、C II -3、脱脂膏作用后, VEGF 的表达出现下调。且美洲大蠊多肽浓度越高, VEGF 蛋白表达越少。而随着 C II -3 和脱脂膏浓度的升高, VEGF 表达增多。见图 6。

2.4 美洲大蠊提取物干预后 HepG₂ 细胞上清液中 VEGF 含量比较

各组培养 24 和 48 h 后 VEGF 含量比较,采用重

表 2 美洲大蠊多肽提取物对 HepG₂ 细胞迁移的影响 (n=3)

组别	浓度 I (μg/ml)	愈合率 I (% , $\bar{x} \pm s$)
对照组	0.0	62.21 ± 1.67
沙利度胺组	200.0	43.59 ± 0.89 ¹⁾
PAP-1 组	25.0	36.23 ± 0.39 ¹⁾²⁾
	50.0	31.64 ± 0.77 ¹⁾²⁾³⁾
	100.0	23.22 ± 0.94 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
PAP-2 组	25.0	33.79 ± 0.45 ¹⁾²⁾
	50.0	28.27 ± 0.36 ¹⁾²⁾³⁾
	100.0	22.05 ± 0.39 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
PAP-3 组	25.0	32.85 ± 0.57 ¹⁾²⁾
	50.0	25.76 ± 1.51 ¹⁾²⁾³⁾
	100.0	17.76 ± 1.42 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
C II -3 组	37.5	33.32 ± 0.69 ¹⁾²⁾
	75.0	31.04 ± 1.51 ¹⁾²⁾³⁾
	150.0	23.35 ± 0.92 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
脱脂膏组	37.5	26.88 ± 1.55 ¹⁾²⁾
	75.0	25.49 ± 0.55 ¹⁾²⁾³⁾
	150.0	19.42 ± 1.38 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

注:1)与对照组比较, $P<0.05$; 2)与沙利度胺组比较, $P<0.05$; 3)与 25.0 μg/ml 比较, $P<0.05$; 4)与 50.0 μg/ml 比较, $P<0.05$

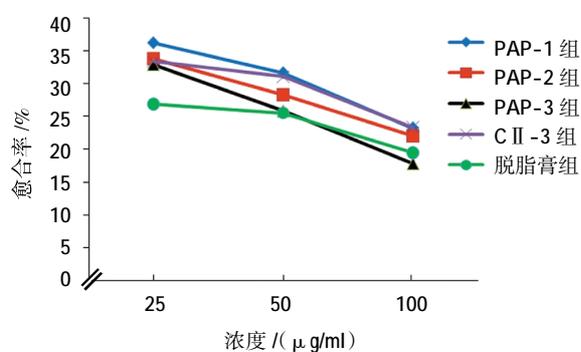
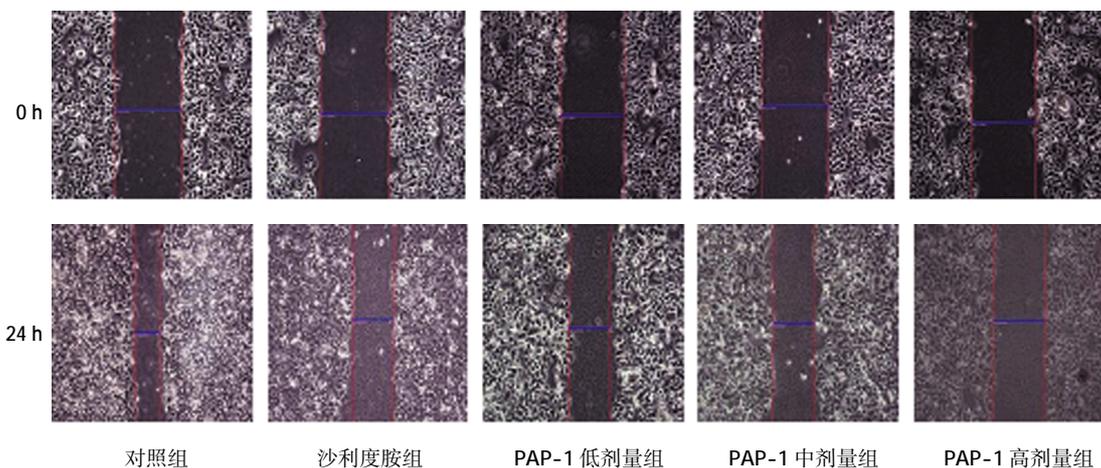
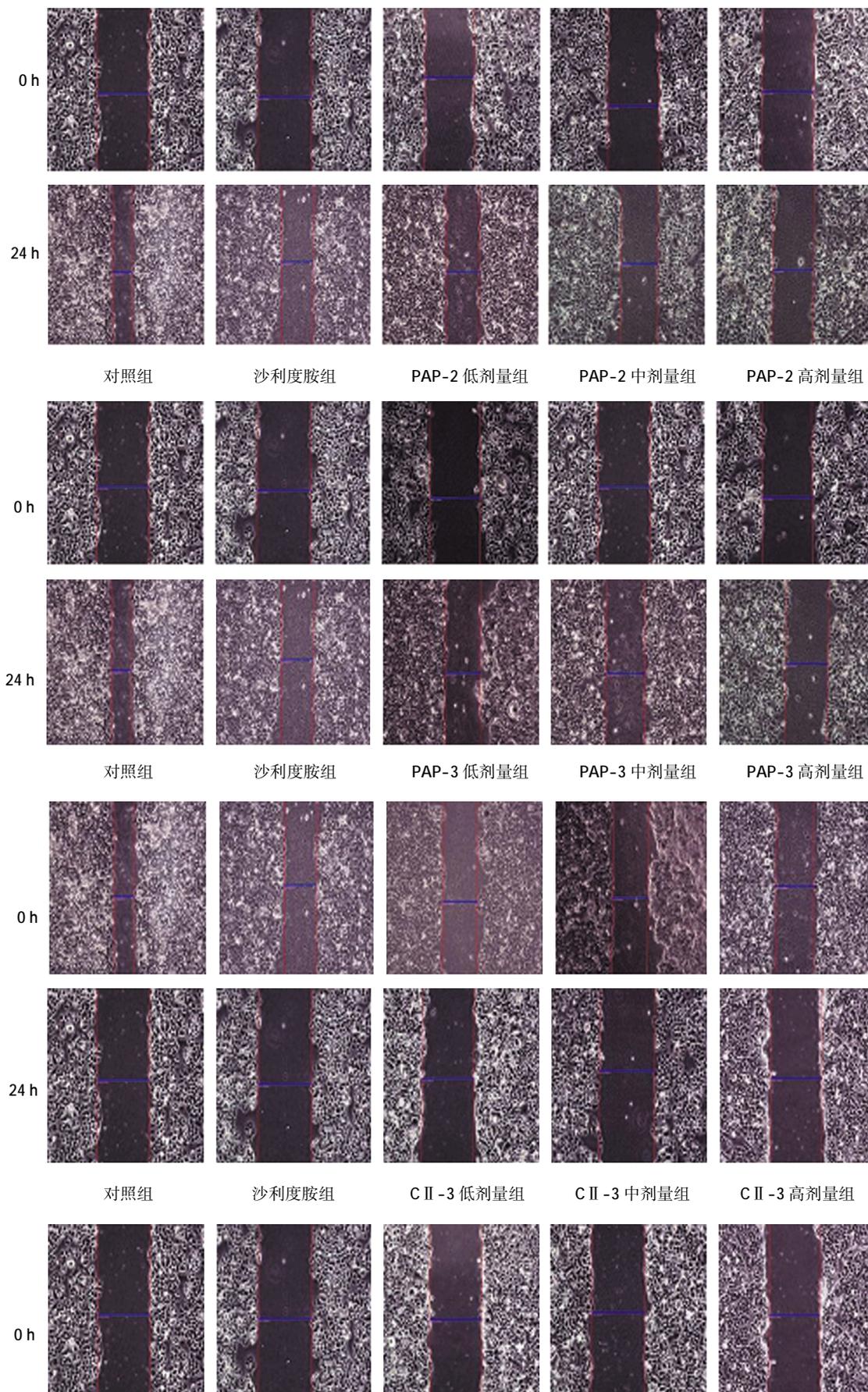


图 4 美洲大蠊提取物对 HepG₂ 细胞划痕愈合率的作用比较





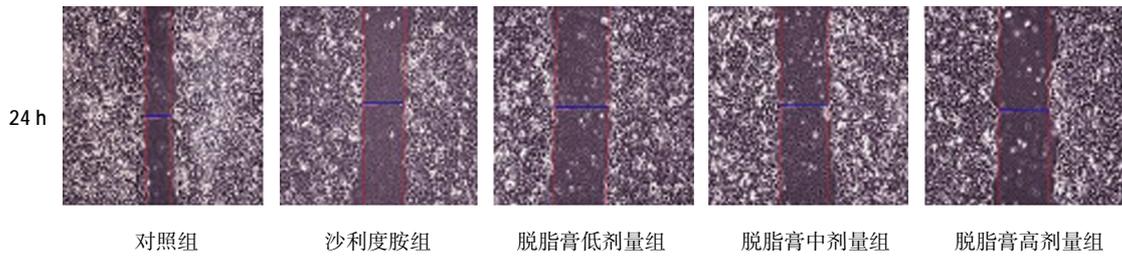


图 5 美洲大蠊提取物干预后 HepG₂ 细胞划痕愈合情况 (×40)

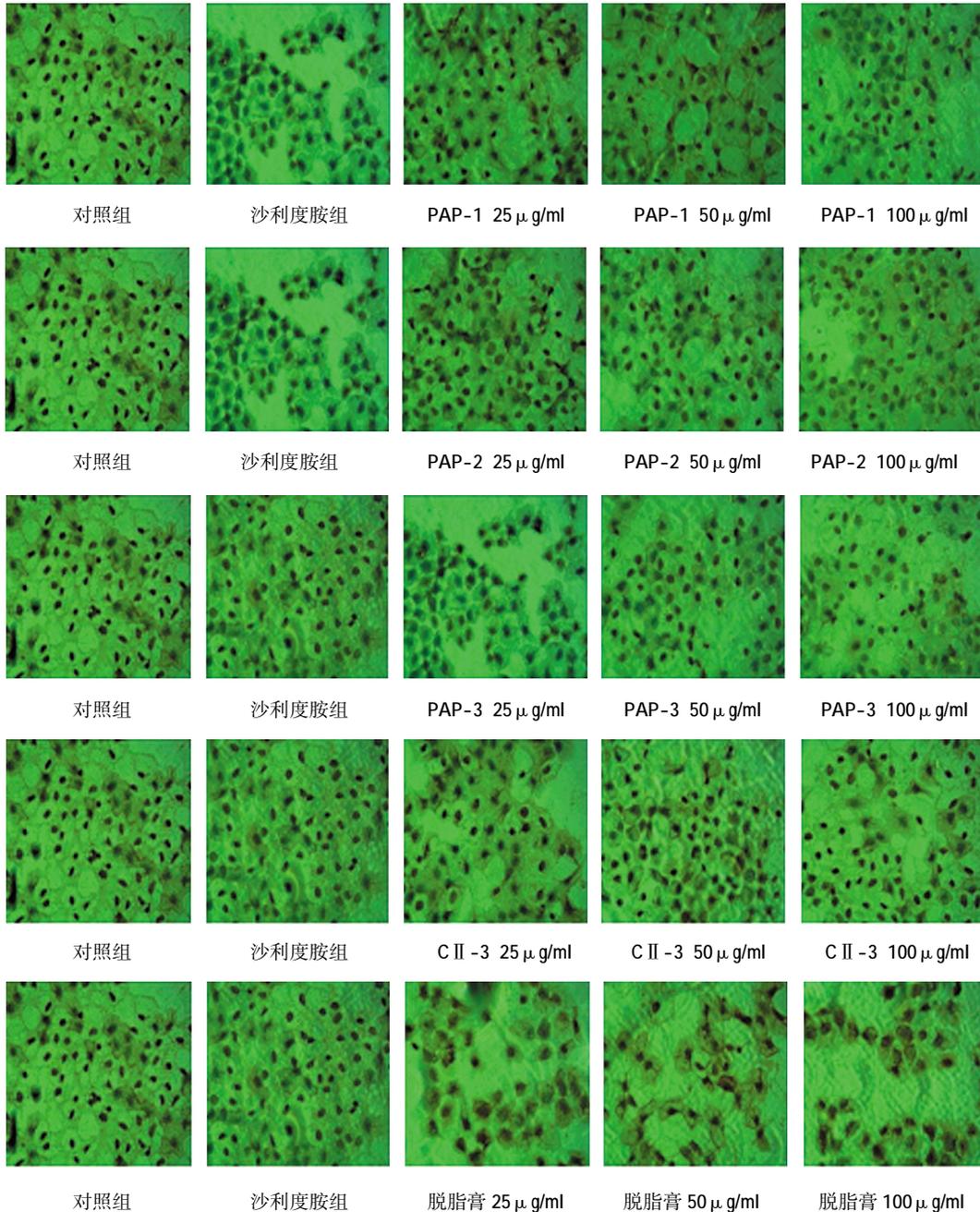


图 6 美洲大蠊多肽提取物对 HepG₂ 细胞中 VEGF 蛋白表达的影响 (×200)

复测量数据的方差分析,结果:①不同时间点 VEGF 含量比较,差异有统计学意义($F=4773.712, P=0.000$); ②不同药物处理后的 VEGF 含量比较,差异有统计学

意义($F=45.148, P=0.000$); ③各组的细胞抑制率变化趋势有差异($F=4.917, P=0.001$)。与对照组比较,美洲大蠊多肽 PAP-1、PAP-2 及 PAP-3 作用 24 h 后,

HepG₂ 细胞上清液中 VEGF 含量降低,且呈浓度依赖性。低剂量和中剂量美洲大蠊 C II -3 对 HepG₂ 细胞上清液中 VEGF 的表达无明显作用,而高剂量 C II -3 促进 VEGF 的表达。低剂量和中剂量脱脂膏对 VEGF 的表达有下调作用,但随着浓度升高,VEGF 的表达反而增多。各药物作用比较,美洲大蠊 3 个多肽下调 VEGF 含量的作用优于脱脂膏和 C II -3,其中多

肽 PAP-3 效果最好,而脱脂膏的作用又优于 C II -3。见表 3 和图 7。

随着时间延长,作用 48 h 后,各组 HepG₂ 细胞上清液中 VEGF 含量增多,但是经过美洲大蠊多肽 PAP-1、PAP-2 及 PAP-3 作用后,VEGF 的含量下降。而 C II -3 和脱脂膏作用后,VEGF 的含量在一定程度上增加。

表 3 美洲大蠊提取物干预后 HepG₂ 细胞中 VEGF 的含量比较 (n=3)

组别	浓度 / (μg/ml)	VEGF/(pg/ml, $\bar{x} \pm s$)	
		24 h	48 h
正常组	0	280.23 ± 3.17	526.15 ± 7.14
沙利度胺组	200	254.80 ± 0.00	445.74 ± 15.07
PAP-1 组	25	270.32 ± 5.02	503.71 ± 14.59
	50	267.71 ± 0.79	451.16 ± 11.16
	100	254.24 ± 0.79	420.68 ± 5.56
PAP-2 组	25	252.18 ± 6.87	466.68 ± 6.61
	50	240.40 ± 2.91	447.42 ± 5.29
	100	229.37 ± 1.06	438.82 ± 10.05
PAP-3 组	25	253.49 ± 0.26	444.80 ± 3.70
	50	240.03 ± 1.32	427.41 ± 7.14
	100	224.88 ± 2.12	400.29 ± 3.17
C II -3 组	25	277.99 ± 5.29	484.82 ± 4.23
	50	279.67 ± 0.26	528.39 ± 17.72
	100	327.36 ± 11.11	552.14 ± 8.46
脱脂膏组	25	255.74 ± 6.08	482.58 ± 19.04
	50	260.23 ± 0.26	506.33 ± 8.20
	100	279.11 ± 14.81	540.55 ± 9.52

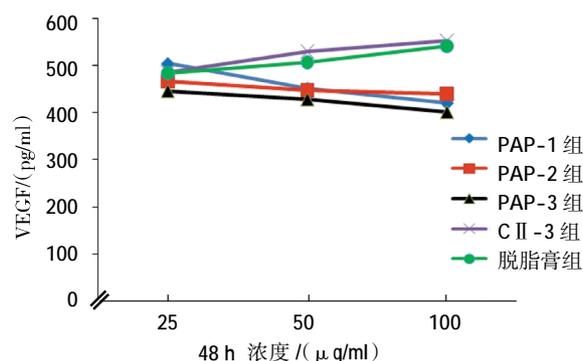
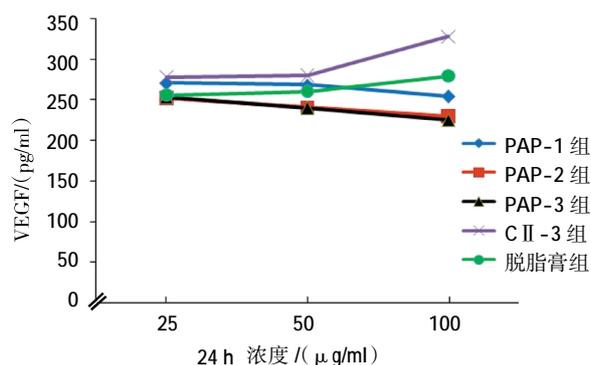


图 7 美洲大蠊提取物干预 24 和 48 h 后 HepG₂ 细胞上清液中 VEGF 含量的变化

3 讨论

VEGF 是一种特异性血管生长因子。有研究显示,其与多种肿瘤的发生、转移有关^[1]。HCC 属于典型的多血管实体瘤,其发生、发展过程与肿瘤血管生成密切相关。实体肿瘤长至直径 2 mm 后,后续的生长、转移及侵袭都需要新生血管生长提供营养^[2]。有研究显示,美洲大蠊脱脂膏和 C II -3 对多种人肿瘤细胞都有较好的抑制作用^[13-19]。此外,C II -3 体内用药也有抑制多种肿瘤的作用^[20-22]。美洲大蠊多肽为美洲大蠊抗肿瘤部位 C II -3 的基本组分。

具有 Arg-Gly-Asp 肽特征的 PAP-1 和 PAP-2 呈现出抑制基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 中 MMP-2 活性,以及明显抑制内皮

细胞 VEGF 表达量的活性。大量研究表明,Arg-Gly-Asp 肽具有抑制细胞黏附与迁移、诱导肿瘤细胞凋亡及抑制肿瘤血管生成的能力^[23-26]。多肽分子 PAP-3 具有 N-糖基化的特征,能提高荷瘤小鼠淋巴细胞增殖和增强 IL-2 分泌量。因此本实验选多肽 PAP-1、PAP-2 和 PAP-3 为主要实验用药。

本实验从细胞增殖开始,观察美洲大蠊多肽、C II -3 及脱脂膏对肝癌 HepG₂ 细胞的作用。结果表明,美洲大蠊多肽 PAP-1、PAP-2、PAP-3、C II -3 及脱脂膏均能抑制 HepG₂ 细胞的增殖和迁移,且呈剂量、时间依赖关系,其中 PAP-2 增殖作用较优,PAP-3 迁移效果较优;此外还能下调 HepG₂ 细胞中 VEGF 的表达,呈剂量依赖性,但随着时间延长,细胞数目增多,VEGF 表达也增多,其中 PAP-3 效果较优。各

部分实验结果综合表明,美洲大蠊多肽对 HepG₂ 细胞作用效果好于 C II -3 和脱脂膏,3 个多肽中 PAP-3 效果较好。该结果与实验预期相符,脱脂膏和 C II -3 为美洲大蠊粗提物,成分与结构不明确,对肝癌细胞的作用是多种成分共同作用,而多肽是从 C II -3 中提取得到的一系列明确的肽类分子,成分相对单一,其对肝癌细胞的作用可联系其系列分析。该结论为本课题组后续将多肽应用于动物体内实验或其他肿瘤细胞实验的相关研究提供有力的支持,也为作用机制的研究提供新的思路,同时为多肽类药物应用于肿瘤治疗提供新的可能性。

参 考 文 献:

- [1] YANG J D, ROBERTS L R. Hepatocellular carcinoma: a global view[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010, 7(8): 448-458.
- [2] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [3] 姚蓉蓉, 王艳红. 肝细胞肝癌免疫微环境的研究进展[J]. *中国临床医学*, 2014, 21(4): 487-496.
- [4] 孙星衍. 神农本草经[M]. 北京: 商务印书馆, 1955: 90.
- [5] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养(修订版)[M]. 西安: 世界图书出版公司, 2005: 250.
- [6] LIU D L, LI Y J, YAO N, et al. Acerinol, a cyclolanthane triterpenoid from *Cimicifuga acerina*, reverses ABCB1-mediated multidrug resistance in HepG2/ADM and MCF-7/ADR cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 733(6): 34-44.
- [7] 杨婉, 王盖昊, 王兆林, 等. 苦参碱对人肝癌 HepG2 细胞的作用机制研究[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2016, 26(2): 99-101.
- [8] 彭芳华, 马玄, 邱丽美, 等. 姜黄素增加 HepG2 细胞对顺铂敏感性的作用及机制研究[J]. *肿瘤药学*, 2016, 6(2): 120-125.
- [9] 高俊霞, 吕强. 大黄素对人肝癌 HepG2 细胞迁移侵袭能力及 E-钙黏蛋白、Slug 蛋白表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2016, 23(6): 64-67.
- [10] 毕蕾, 颜晓静, 杨烨, 等. 川芎嗪对肝癌 HepG2 细胞迁移、侵袭和细胞骨架的影响[J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(2): 194-198.
- [11] DVORAK H F, BROWN C F, DETMAR M, et al. Vascular permeability factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis[J]. *Am J Pathol*, 2015, 146(5): 1029-1039.
- [12] 黄纯海, 李学军, 周异曾, 等. EGFL7 在人脑胶质瘤中的表达及其与微血管密度的关系[J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2013, 15(5): 336-345.
- [13] 何正春, 王晓雨, 胡明辉, 等. 美洲大蠊提取物对 3 株人体呼吸系统肿瘤细胞的细胞毒性研究[J]. *中国现代药物应用*, 2009, 3(7): 1-2.
- [14] 何正春, 胡明辉, 王晓雨, 等. 美洲大蠊提取物对 3 株人及小鼠白血病细胞的细胞毒性研究[J]. *云南中医中药杂志*, 2009, 30(5): 56-57.
- [15] 何正春, 王晓雨, 杨雷香, 等. 美洲大蠊提取物对 3 株消化系统肿瘤细胞的细胞毒性研究[J]. *药物研究*, 2009, 18(9): 11-12.
- [16] 何正春, 王晓雨, 杨雷香, 等. 美洲大蠊提取物对 3 株人体生殖系统肿瘤细胞的细胞毒性研究[J]. *西北药学杂志*, 2009, 24(4): 271-272.
- [17] 胡艳芬, 吕小满, 刘光明, 等. 美洲大蠊提取物对两株人肺癌细胞的影响[J]. *药物分析杂志*, 2011, 31(7): 1245-1250.
- [18] 乔婷婷, 牛春丽, 彭芳. 美洲大蠊逆转肝癌多药耐药性的研究[J]. *中国生化药物杂志*, 2015(4): 35-38.
- [19] 刘俊勇, 夏盟恺, 彭芳. 美洲大蠊提取物逆转肝癌耐药性的实验研究[J]. *中国生化药物杂志*, 2015(4): 19-23.
- [20] 何旭, 普小菲, 李娇, 等. 美洲大蠊提取物对 S180 荷瘤小鼠肿瘤抑制作用及免疫功能的影响[J]. *中国实验方剂学*, 2012, 18(15): 179-180.
- [21] 蒋永新, 王熙才, 金从国, 等. 美洲大蠊提取物对 Lewis 肺癌小鼠抑瘤作用的研究[J]. *昆明医学院学报*, 2007, 28(5): 13-16.
- [22] 陈俊雅, 耿玲, 张旭强, 等. 美洲大蠊提取物 C II -3 对 H22 肝癌小鼠血管生成作用的研究[J]. *肿瘤学杂志*, 2012, 18(4): 274-276.
- [23] de JONGE L T, LEEUWENBURGH S C, WOLKE J G, et al. Organic-inorganic surface modifications for titanium implant surfaces[J]. *Pharm Res*, 2008, 25(10): 2357-2369.
- [24] 李茜, 杜永忠, 袁弘, 等. RGD 肽在肿瘤靶向纳米给药系统中的应用[J]. *海峡药学*, 2011, 23(6): 80-82.
- [25] 张春丽, 杨铭, 王荣福. RGD 肽与整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体结合的购效关系及放射性标记配体的设计[J]. *肿瘤学杂志*, 2009, 15(1): 76-81.
- [26] 杨翠红, 张玉民, 刘金剑, 等. RGD 功能化多肽纳米纤维的制备及其体内肿瘤靶向性研究[J]. *中国生化药物杂志*, 2014, 5(34): 5-8.

(童颖丹 编辑)