

- 2051-2060.
- [4] 王晓维,金方. 脉冲给药系统的释药机理及研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2003, 34(7): 361-365.
- [5] 李津明. 落叶松阿拉伯半乳聚糖滴丸制备工艺及其速释机制研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(16): 1249-1251.
- [6] 王建筑,郝吉福,李菲,等. 脉冲缓释胶囊用醋酸纤维素胶囊体的制备[J]. 泰山医学院学报, 2012, 11: 792-795
- [7] 车珂科,朱照静,李欣宇. 口服溶蚀塞型脉冲胶囊体的研制[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(7): 858-861.
- [8] 刘静,张良珂,汪程远,等. 5-氨基水杨酸结肠定位柱塞型脉冲胶囊的制备与体外释放[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(2): 99-102.
- [9] 李菲,王道艳,王建筑,等. 尼莫地平固体分散体脉冲控释片的制备[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(18): 1450-1453.
- [10] 莫良侃. 茶碱栓塞控制型脉冲胶囊的研制[D]. 河北医科大学, 2004.
- [11] 张彦,张志荣. 硫酸特布他林脉冲控释片的制备与释放机理研究[J]. 药学学报, 2003, 38(11): 854-858.
- [12] 吴芳,张志荣,丁洪. 灌注法制备脉冲给药装置的新型非渗透性胶囊体[J]. 华西药学杂志, 2006, 21(1): 5-7.
- [收稿日期] 2015-07-28

## 鸦胆子油乳对肺癌细胞的抑制作用

耿国军<sup>1</sup>, 余海彬<sup>2</sup>, 于修义<sup>1</sup>, 李国英<sup>3</sup>, 米彦军<sup>1</sup>, 沈东炎<sup>1</sup>, 石思恩<sup>1</sup>, 李宁<sup>1</sup>, 姜杰<sup>1,2</sup> (1. 厦门大学附属第一医院胸外科, 福建 厦门 361003; 2. 郑州大学第二附属医院, 河南 郑州 450004; 3. 厦门中医院, 福建 厦门 361009)

[摘要] 目的: 探讨鸦胆子油乳在体外对肺腺癌细胞 SPA-A1 的抑制作用。方法: 本研究通过鸦胆子油乳处理肺腺癌细胞 (SPA-A1), 采用 MTT 法观察其对细胞生长的抑制效应; DAPI 染色观察肺腺癌细胞 SPA-A1 凋亡的形态学改变; 流式细胞术测定细胞凋亡率及分析细胞周期变化。结果: 鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 的抑制呈剂量和时间依赖性; 鸦胆子油乳作用后 SPA-A1 细胞呈凋亡形态学改变; 不同浓度的鸦胆子油乳作用 SPA-A1 细胞后, 可以有效地引起细胞凋亡, 且具有明显的剂量依赖性; 并可阻滞 SPA-A1 细胞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。结论: 鸦胆子油乳可抑制肺腺癌 SPA-A1 细胞增殖, 诱导肺腺癌 SPA-A1 细胞凋亡, 并使肺腺癌 SPA-A1 细胞阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。

[关键词] 肺腺癌; SPA-A1 细胞; 鸦胆子油乳; 细胞凋亡; 细胞周期

[中图分类号] R965.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2016)04-0300-05 DOI: 10.13286/j.cnki.chinhosp pharmacy. 2016.04.13

### Experimental study on inhibitory effects of Brucea javanica oil emulsion against lung cells

GENG Guo-jun<sup>1</sup>, YU Hai-bin<sup>2</sup>, YU Xiu-yi<sup>1</sup>, LI Guo-ying<sup>3</sup>, MI Yan-jun<sup>1</sup>, SHEN Dong-yan<sup>1</sup>, SHI Si-en<sup>1</sup>, LI Ning<sup>1</sup>, JIANG Jie<sup>1,2</sup> (1. Department of Thoracic Surgery, First Hospital Affiliated to Xiamen University, Fujian Xiamen 361003, China; 2. Second Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan Zhengzhou 450004, China; 3. Xiamen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fujian Xiamen 361009, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate effects of Brucea javanica oil emulsion against proliferation of lung adenocarcinoma SPA-A1 cells *in vitro* and its mechanisms. **METHODS** MTT assay was used to determined inhibitory rate of Brucea javanica oil emulsion against proliferation of SPA A1 cells. Apoptosis induced by Brucea javanica oil emulsion was detected by DAPI staining. Apoptotic rate and change in cell cycles were examined by flow cytometry (FCM). **RESULTS** Brucea javanica oil emulsion significantly inhibited proliferation of SPA-A1 cells in a dose and time dependent manner. Typical morphological changes of apoptosis were observed in SPA-A1 cells with DPAI staining after induced by Brucea javanica oil emulsion. Moreover, Brucea javanica oil emulsion arrested cell cycle at phase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> and induced apoptosis in a concentration dependent manner. **CONCLUSION** Brucea javanica oil emulsion can inhibit growth of SPA-A1 cells by reducing proliferation, inducing cell apoptosis and blocking cell cycle.

**KEY WORDS:** lung adenocarcinoma; SPA-A1 cell; Brucea javanica oil emulsion; apoptosis; cell cycle

鸦胆子为苦木科植物鸦胆子 [*Brucea javanica* (L.) Merr] 的成熟种子。现代生物学分析其主要包括鸦胆子苦醇、素、酯、碱、苷、酚、酸等多种成分, 具

有清热解毒, 止痢, 截疟, 腐蚀赘疣、增强免疫等功能。其中鸦胆子苦醇有较强的抗癌活性, 能够抑制肿瘤细胞 DNA 的合成, 诱导肿瘤细胞凋亡和分化,

[基金项目] 福建省中医药科研项目 (编号: Wst201214); 福建省自然科学基金科技项目 (编号: 2015J01546) 河南省卫计委项目 (编号: 201403087) [作者简介] 耿国军, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 肺癌的综合治疗, E-mail: ggj622@126.com [通讯作者] 姜杰, 男, 教授, 研究方向: 胸部肿瘤的综合治疗, 电话: 0592-2137271, E-mail: jiangjie06@126.com

促进机体对肿瘤细胞的免疫反应,并对正常细胞具有免疫保护作用<sup>[1]</sup>。国内外学者在临床利用鸦胆子油乳联合化疗药物治疗恶性胸腔积液<sup>[2]</sup>、恶性腹腔积液<sup>[3]</sup>、急性粒细胞白血病<sup>[4]</sup>、晚期胃癌<sup>[5]</sup>、前列腺癌<sup>[6]</sup>、原发性肝癌<sup>[7]</sup>等,抗癌作用明显,疗效满意。本实验研究鸦胆子油乳对体外肺腺癌细胞株 SPA-A1 的抑制作用,进一步探讨其抑癌机制,可为临床应用提供新思路和科学依据。

## 1 材料与方法

1.1 主要实验材料 SPA-A1 细胞及主要实验材料由厦门大学医学院抗癌研究中心提供。

1.2 MTT 法检测鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 增殖的影响 取对数生长期的 SPA-A1 细胞,消化后制成细胞悬液,调整细胞浓度为  $1 \times 10^4$  / mL,接种于 96 孔培养板上,每孔加 200  $\mu$ L 细胞悬液,培养 24 h 后,加入不同浓度的鸦胆子油乳 (0/0.062 5, 0.02, 0.125, 0.25, 0.5, 1 mg·mL<sup>-1</sup>),另设对照组(不加鸦胆子油乳)和空白对照组(只加培养基),每组设 7 个复孔,分别于加药后 6, 12, 24 h 时加 MTT (5 mg·mL<sup>-1</sup>) 20  $\mu$ L, 孵育 4 h 后,加入二甲亚砜 150  $\mu$ L, 避光振荡 10 min, 酶标仪(波长 570 nm)测定各孔吸光度(OD)值,取平均值,以时间为横坐标,OD 值为纵坐标,绘制细胞生长曲线。根据公式:细胞抑制率 = (OD 对照组 - OD 给药组) / OD 对照组  $\times 100\%$  计算出各组细胞的增殖存活率。

## 1.3 鸦胆子油乳诱导肺腺癌细胞 SPA-A1 凋亡

1.3.1 DAPI 染色观察肺癌细胞 SPA-A1 凋亡的形态学改变 将对数生长期的细胞接种于盖玻片上,24 h 后加入药物处理;分别予药物作用 4, 8, 12, 24 h 后终止药物处理, PBS 缓冲液洗一次后, 4% 多聚甲醛室温固定 10 min; 0.2% Triton X-100/PBS 室温 10 min; 工作浓度的 DAPI 染色 2 min; PBS 缓冲液洗涤 2 次, 5 min/次; 封片, 进行荧光显微镜观察, 并拍照。

1.3.2 PI 单染法检测细胞膜通透性 将对数生长期的 SPA-A1 细胞接种于六孔板中, 24 h 后加入药物进行处理; 按照实验要求, 终止药物处理, 并用不含 EDTA 的胰酶消化收集细胞; 用 PBS 缓冲液洗涤细胞两次, 离心, 吸除上清; 每孔加入 500  $\mu$ L 的 Binding buffer 悬浮细胞; 每孔加入 5  $\mu$ L PI, 混匀; 室温, 避光反应 10 min; 在 1 h 内, 进行流式细胞仪检测, 激发波长 Ex = 488 nm, 发射波长 Em = 530 nm; 数据分析。

## 1.3.3 流式细胞术检测肺腺癌细胞 SPA-A1 的凋

亡率 不同浓度的鸦胆子油乳 (0/0.062 5, 0.02, 0.125, 0.25, 0.5, 1 mg·mL<sup>-1</sup>) 分别作用于贴壁生长的 SPA-A1 细胞 12 h 后, 胰酶消化, 吹打脱落, 使细胞分散良好, 1 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 弃上清, 加 1 $\times$ 缓冲液 200  $\mu$ L。各管中分别加入 Annexin V 4  $\mu$ L 和 PI 5  $\mu$ L, 用 1 $\times$ 缓冲液将终体积配成 250  $\mu$ L, 冰浴, 上机检查。以不加鸦胆子油乳培养 12 h 的 SPA-A1 细胞作为阴性对照, 用流式细胞仪进行细胞周期分析。

1.3.4 流式细胞仪检测肺腺癌细胞 SPA-A1 的细胞周期 不同浓度的鸦胆子油乳 (control, 0.25, 0.5, 1 mg·mL<sup>-1</sup>) 分别作用于贴壁生长的 SPA-A1 细胞 24 h 后终止药物处理, 收集细胞, PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次, 离心, 弃上清, 预冷的 70% 乙醇将细胞于 -20  $^{\circ}$ C 固定 12 h, 离心, 去除乙醇, PBS 缓冲液洗涤细胞 1 次, 加入无 DNase 的 RNase 重悬细胞, 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 加入 5  $\mu$ L 工作浓度的 PI 室温避光染色 30 min, 流式细胞仪检测, 数据分析。

1.3.5 Western Blot 检测肺腺癌细胞 SPA-A1 细胞周期相关蛋白的表达 蛋白样品加入适量体积的 6x Loading buffer, 100  $^{\circ}$ C 变性 5 min; 根据所需检测的蛋白分子量, 配制合适浓度聚丙烯酰胺凝胶; 将蛋白样品和 marker 加入上样孔, 设置调整合适的电压进行电泳; 电泳结束后, 进行转膜, 采用湿转法, 100 V 转 60 min; 转膜结束后, 将膜用 TBS-T 洗 5 min; 将膜放入 5% 牛奶溶液中进行封闭, 室温 60 min; 加入一抗孵育, 4  $^{\circ}$ C 过夜; TBS-T 洗膜 3 次, 10 min/次; 加入二抗孵育, 室温 1 h; TBS-T 洗膜 3 次, 10 min/次; ECL 反应 3 min 后, 显影。

## 2 结果

2.1 鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 增殖的影响 由图 1-A、B、C 可得知细胞增殖抑制率与鸦胆子油乳作用时间和浓度有关。图 1-A 得知鸦胆子油乳对 SPA-A1 细胞的抑制率随着作用时间的延长逐渐增高; 图 1-B 得知随鸦胆子油乳对 SPA-A1 细胞的抑制率随鸦胆子油乳浓度的增高逐渐增高。图 1-C 可得知, 加入 z-vad (caspase 抑制剂) 预处理细胞后, 发现单独只加 z-vad 组与对照组相比, 细胞的存活率并没有太大改变, 但是在 z-vad 和鸦胆子油乳共同处理组和只加鸦胆子油乳处理组相比, 在加入 z-vad 处理后提高了细胞的存活率, 说明 z-vad (caspase 抑制剂) 降低了鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 的抑制作用。

## 2.2 鸦胆子油乳诱导肺腺癌细胞 SPA-A1 凋亡

### 2.2.1 鸦胆子油乳作用肺腺癌细胞 SPA-A1 凋亡

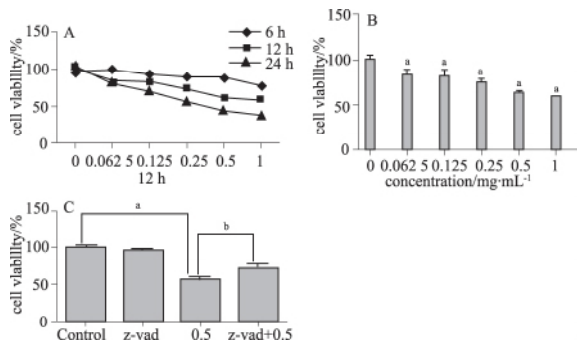


图 1 鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 增殖的影响( $\bar{x} \pm s$ )  
Fig 1 Influences of BJO emulsion on proliferation of SPA-A1 cells ( $\bar{x} \pm s$ )  
注: <sup>a</sup> $P < 0.001$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$

的形态学改变(DAPI 染色) 细胞发生凋亡时可出现典型的细胞核形态学改变,如核皱缩,核破裂,染色质边集,出现凋亡小体等。本研究通过 DAPI 染色后荧光显微镜观察发现,对照组细胞核形态较规则,鸦胆子油乳作用后,随作用时间的延长细胞核形态不规则,染色质高度浓缩聚集,呈现出强于对照组的蓝色荧光(图 2)。从形态学上说明鸦胆子油乳可诱导肺腺癌细胞 SPA-A1 的细胞凋亡。

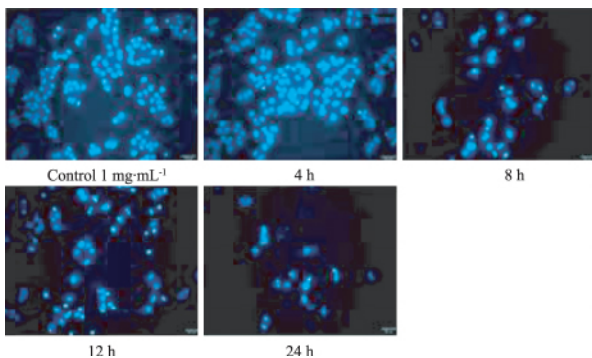


图 2 鸦胆子油乳作用肺腺癌细胞 SPA-A1 凋亡的细胞裂解及 DNA 碎片  
Fig 2 BJO induced cell morphology changes and DNA fragmentation analysis

2.2.2 鸦胆子油乳对人肺腺癌细胞膜通透性的影响 如图 3 所示随着鸦胆子油乳浓度的增加,肺腺癌细胞系 SPA-A1 细胞膜通透性也逐渐增加。在 SPA-A1 细胞中当鸦胆子油乳浓度的增加到  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,流式检测到 PI 的荧光强度从 2.21% 到了 65.99%。

2.2.3 鸦胆子油乳作用后肺腺癌细胞 SPA-A1 的凋亡率 本研究采用 Annexin V/PI 双染法,流式细胞仪检测肺腺癌细胞 SPA-A1 的凋亡率。SPA-A1 细胞经不同浓度的鸦胆子油乳(control,  $0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )作用 12 h 后,细胞凋亡率见(图 4),由此可得知不同浓度的鸦胆子油乳作用 SPA-A1 细胞 12 h 后,可以有效的引

起细胞凋亡,且凋亡细胞的数量随鸦胆子油乳浓度的增加而增加,具有明显的剂量依赖性(图 5)。

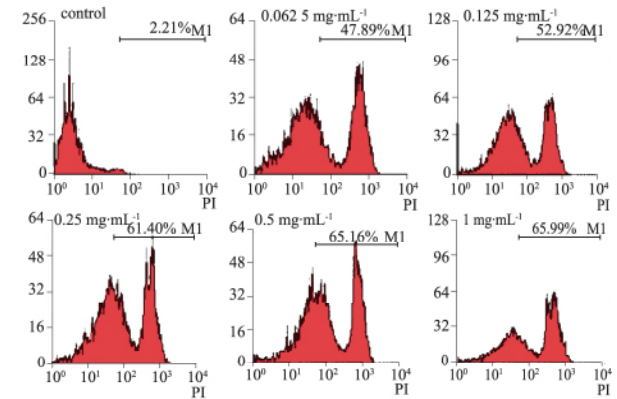


图 3 鸦胆子油乳对人肺腺癌 SPA-A1 细胞膜通透性的影响  
Fig 3 BJO-induced plasma membrane damage of SPA-A1 cells

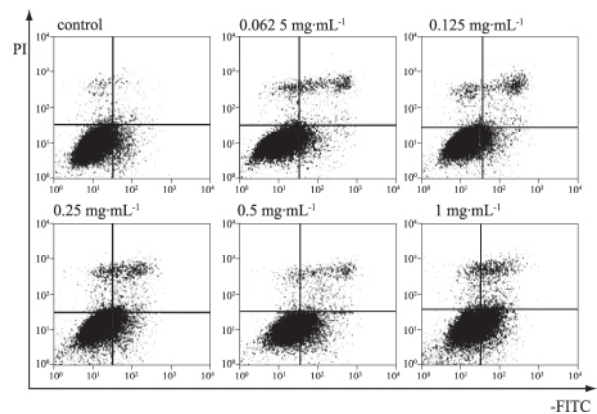


图 4 鸦胆子油乳作用后肺腺癌细胞 SPA-A1 的凋亡率  
Fig4 Annexin V-FITC flow cytometric analysis of apoptotic effects of BJO on SPA-A1 cells

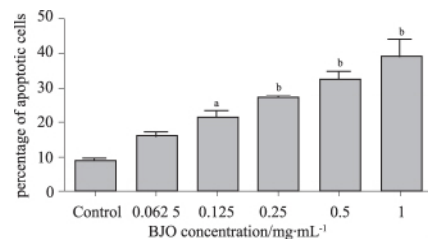


图 5 转化图 4 的凋亡细胞数( $\bar{x} \pm s$ )  
Fig 5 Quantification of apoptotic cells from Fig4 in a bar chart( $\bar{x} \pm s$ )  
注: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.001$

z-vad(caspase 抑制剂)具有细胞通透性,以不可逆的形式与活化的 Caspases 结合从而阻断细胞凋亡。本研究亦加入 z-vad 处理细胞观察鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 的凋亡率的影响。由图 6 可见 z-vad、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  鸦胆子油乳及  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  鸦胆子油乳与 z-vad 共处理后的细胞凋亡率; z-vad 与  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  鸦胆子油乳共处理组与单独  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  鸦胆子油乳处理组相比,共处理组细胞凋亡率明显降低(图 7),说明 z-vad 能抑制鸦胆子油乳引起的细胞凋亡,间接说明鸦胆子油乳诱导肺

腺癌细胞发生凋亡与经典的 caspase 信号通路相关, z-vad 阻断 caspase 通路后鸦胆子油乳诱导的

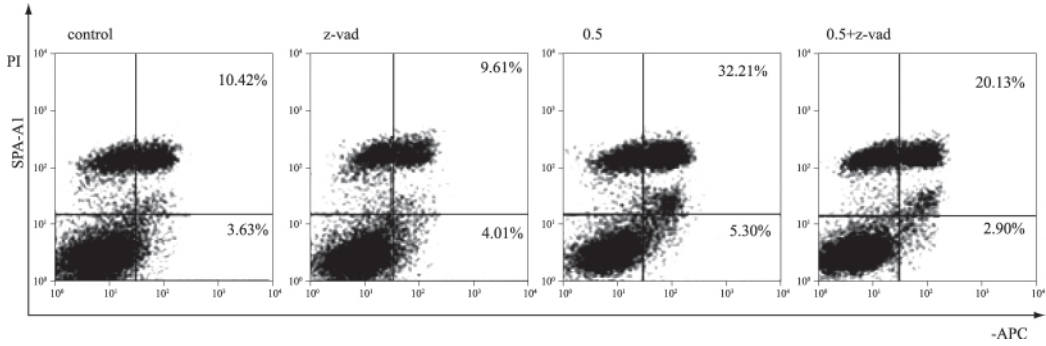


图 6 z-vad 处理后 SPA-A1 细胞凋亡率的变化  
Fig 6 Apoptosis rate change of SPA-A1 cells after z-vad treatment

细胞凋亡也受到抑制。用蛋白免疫印迹法 (Western Blot) 进行凋亡信号通路下游的 Caspase-3 的浓度检测直接证实了“鸦胆子油乳通过经典的 caspase 信号通路诱导肺腺癌细胞发生凋亡”这一论断 (图 8)。

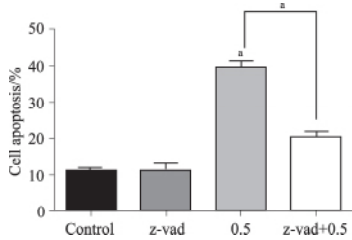


图 7 SPA-A1 细胞凋亡率明显降低 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Fig 7 Significantly reduced apoptosis rate of SPA-A1 cells ( $\bar{x} \pm s$ )  
注: <sup>a</sup> $P < 0.001$

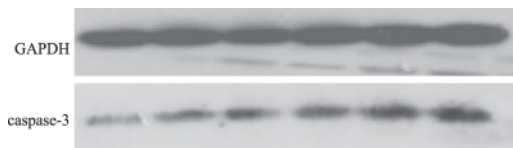


图 8 鸦胆子油乳通过 caspase 信号通路诱导肺腺癌细胞发生凋亡  
Fig 8 BJO-induced caspase-3 concentration in SPA-A1 Cells

2.2.4 鸦胆子油乳作用肺腺癌细胞 SPA-A1 后细胞周期的影响 采用 PI 单染法经流式细胞仪检测 SPA-A1 细胞经不同浓度鸦胆子油乳 (control、0.25、0.5、1 mg·mL<sup>-1</sup>) 作用 12 h 后的细胞周期分布情况, 由图 9, 10 可见, 与对照组相比, 随着鸦胆子油乳浓度的增加, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>、S 期细胞数占总细胞数的比值逐渐增加, G<sub>2</sub> 期细胞数占总细胞数的比值逐渐减少, 说明不同浓度的鸦胆子油乳使 SPA-A1 细胞阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。为进一步研究鸦胆子油乳对人肺腺癌细胞 SPA-A1 周期阻滞的分子机制, 我们采用 Western Blot 检测 SPA-A1 细胞周期相关蛋白 p53、CyclinD1 和 PCNA 的表达情况。结果如图 11 所示, SPA-A1 经鸦胆子油乳处理 12 h 后, 细胞中 p53 蛋白表达随处理浓度增加逐步上调。

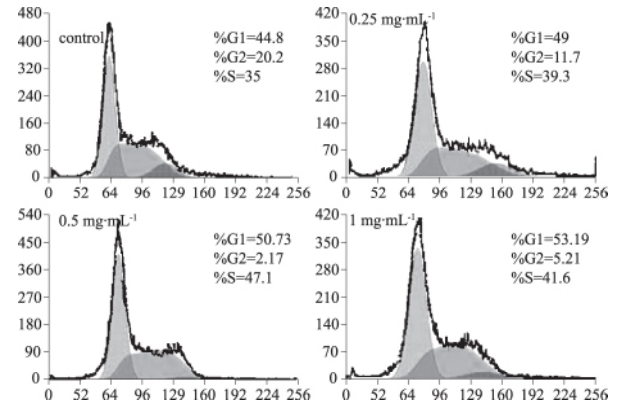


图 9 鸦胆子油乳作用肺腺癌细胞 SPA-A1 后细胞周期的影响  
Fig 9 Influence of BJO on SPA-A1 cell cycle distribution

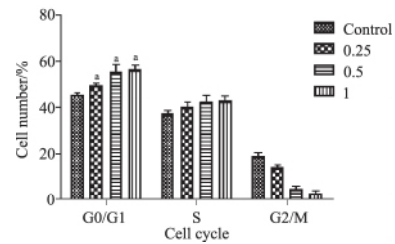


图 10 不同浓度的鸦胆子油乳使 SPA-A1 细胞阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Fig 10 SPA-A1 cells blocked at phase G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> by different concentrations of BJO ( $\bar{x} \pm s$ )  
注: <sup>a</sup> $P < 0.01$

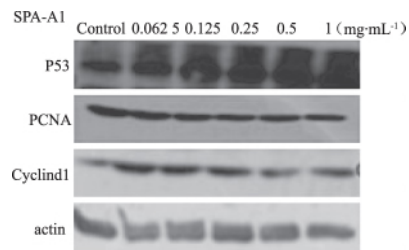


图 11 p53 蛋白及 PCNA 表达随处理浓度增加的变化  
Fig 11 Effects of BJO on p53 protein and PCNA expression in SPA-A1 cells

### 3 讨论

尽管近些年在肺癌的防治方面取得很大的成绩, 但其发病原因仍然不清, 以手术、化疗、放疗为主

的综合治疗手段仍不尽人意,肺癌的发病率及死亡率仍迅速增长<sup>[9]</sup>。中药据报道抗肿瘤的作用是全面而广泛的,包括抗肿瘤增殖<sup>[10]</sup>、诱导分化和凋亡、抑制肿瘤新生血管形成<sup>[11]</sup>、减轻和抑制肿瘤耐药性、减低化疗不良作用、增强肿瘤宿主免疫功能等多个方面。但是针对鸦胆子油乳对肺腺癌细胞(SPA-A1)的抑制方面,国内外尚无报道;具体的抗肿瘤机制还不十分清楚,对于这方面的进一步研究也将是未来肿瘤中药治疗的一个方向<sup>[12]</sup>。

本研究观察鸦胆子油乳体外对肺腺癌 SPA-A1 细胞增殖的抑制作用,结果显示,鸦胆子油乳在体外对肺腺癌 SPA-A1 细胞具有明显的抑制作用,且随鸦胆子浓度的增加及作用时间的延长,其抑制作用逐渐增强,具有剂量和时间依赖性。且发现 z-vad (caspase 抑制剂)提高了肺腺癌细胞 SPA-A1 的存活率,降低了鸦胆子油乳对肺腺癌细胞 SPA-A1 的抑制作用。

细胞凋亡异常与肿瘤的发生发展有关。本研究发现鸦胆子油乳作用肺腺癌 SPA-A1 细胞后,细胞核形态不规则,染色质高度浓缩聚集,从形态学上表明鸦胆子油乳可诱导肺腺癌 SPA-A1 细胞凋亡。另外,PI 单染后经流式检测实验结果说明,肺腺癌细胞膜通透性随着鸦胆子油乳浓度的升高而升高。Annexin V-FITC/PI 双染后流式细胞仪检测结果显示,不同浓度的鸦胆子油乳可以有效的引起 SPA-A1 细胞凋亡,且具有明显的剂量依赖性;且本研究在加入 z-vad (caspase 抑制剂)处理肺腺癌细胞 SPA-A1 后发现 z-vad 能抑制鸦胆子油乳引起的细胞凋亡且 caspase-3 蛋白浓度随鸦胆子油乳浓度增高而增高,由此可知鸦胆子油乳诱导肺腺癌细胞发生凋亡与经典的 caspase 信号通路相关,z-vad 阻断 caspase 通路后鸦胆子油乳诱导的细胞凋亡也受到抑制。

本实验以不同浓度的鸦胆子油乳作用于肺腺癌 SPA-A1 细胞,结果显示与对照组相比,随着鸦胆子油乳浓度的增加,G0/G1、S 期细胞数占总细胞数的比值逐渐增加,G2 期细胞数占总细胞数的比值逐渐减少,说明不同浓度的鸦胆子油乳使 SPA-A1 细胞阻滞于 G0/G1 期。进一步研究 SPA-A1 细胞周期

相关蛋白 p53、CyclinD1 和 PCNA 的表达情况,结果细胞中 p53 蛋白表达随处理浓度增加逐步上调。

综上所述,鸦胆子油乳可能通过经典的 caspase 信号通路上调细胞周期相关蛋白 p53,并使肺腺癌 SPA-A1 细胞阻滞于 G0/G1 期,进而抑制肺腺癌 SPA-A1 细胞增殖,诱导肺腺癌 SPA-A1 细胞凋亡。

#### 参考文献:

- [1] 汤涛,蒙凌华,陈陵际,等. 鸦胆子油乳具有多药耐药逆转和拓扑异构酶 II 抑制作用[J]. 药理学通报,2001,17(5):534-539.
- [2] 穆大成,朱文武,刘劲军. 鸦胆子油乳辅助治疗肺癌胸腔积液的效果观察[J]. 肿瘤学杂志,2012,5(2):24-25.
- [3] 石惠燕,田义洲,黄立萍,等. 鸦胆子油乳经胸、腹腔灌注治恶性胸、腹腔积液 54 例[J]. 江西中医药,2010,3(21):45-46.
- [4] 陈学军,周琴,金兰. 五种中药注射液对人早幼粒白血病 HL-60 细胞增殖的影响[J]. 实用医学杂志,2010,26(4):684-685.
- [5] 王志刚,刘丽梅,孙丽兰. 鸦胆子油乳联合优福定治疗老年晚期胃癌疗效观察[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2009,16(11):242-244.
- [6] 张育军,雒向宁. 鸦胆子油乳联合内分泌治疗中晚期前列腺癌[J]. 现代中西医结合杂志,2010,19(12):1464-1465.
- [7] 李心忠,姜松岭,王亚,等. 鸦胆子油乳肝动脉灌注联合碘油栓塞治疗原发性肝癌的临床观察[J]. 肿瘤基础与临床,2010,23(2):146-148.
- [8] 张晓娇,王雪莲,赵峰,等. 鸦胆子油乳抑制肺癌 NCI-H460 细胞的增殖及其机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2011,18(5):519-523.
- [9] 钱桂生. 肺癌不同病理类型发病率的变化情况及其原因[J]. 中华肺部疾病杂志,2011,2(1):1-5.
- [10] 汤涛,蒙凌华,陈陵际,等. 鸦胆子油乳具有多药耐药逆转和拓扑异构酶 II 抑制作用[J]. 药理学通报,2001,17(5):534-539.
- [11] Hengartner MO. biochemistry of apoptosis[J]. Nature,2000,407(6):770-776.
- [12] 吕峰,王禾,秦卫军. 鸦胆子油乳诱导膀胱癌细胞 J82 凋亡及其机制的初步研究[J]. 中国康复理论与研究,2007,13(5):432-433.
- [13] 吕峰,王禾,秦卫军. 鸦胆子油乳诱导膀胱癌细胞 J82 细胞凋亡及其机制的初步研究[J]. 中国康复理论与研究,2007,13(5):432-433.
- [14] 王晓娜,马力,安春丽,等. 鸦胆子油乳对宫颈癌 SiHa 细胞的抑制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2009,16(5):494-497.
- [15] 尹香菊,栾和芝,安春丽,等. 鸦胆子油乳对宫颈癌 HeLa 细胞的抑制作用及其作用机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2008,15(4):393-395.
- [16] 王芳,曹玉,刘红岩,等. 鸦胆子油乳诱导 HL6-0 细胞凋亡的研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(4):760-762.

[收稿日期]2015-05-04