

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.01.006

· 基础研究 ·

消癌解毒方抑制肝癌 H22 移植瘤的生长及其机制

陈海彬, 沈波, 李黎, 程海波, 周红光, 王明艳, 吴勉华(南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 研究消癌解毒方(Xiaoai Jiedu Recipe, XJR)对肝癌 H22 细胞小鼠移植瘤的抑制作用及其可能的机制。方法: 建立小鼠 H22 移植瘤模型, 分对照组和 XJR 低、中、高剂量(10、30、90 g/kg)组及顺铂(0.001 g/kg)组进行治疗, 检测各组移植瘤生长情况, H-E 染色观察各组移植瘤组织的病理改变。流式细胞术检测各组移植瘤细胞周期及凋亡率, ELISA 法测定各组移植瘤小鼠外周血 VEGF 水平。结果: 与对照组比较, XJR 各剂量以及顺铂对 H22 移植瘤的生长均具有显著的抑制作用, 抑瘤率分别为 24.5%、42.8%、21.1%、58.6% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。病理观察见中剂量 XJR 组和顺铂组移植瘤组织大片状坏死, 有明显染色质固缩环。中剂量 XJR 和顺铂将移植瘤组织细胞阻滞于 G_0/G_1 期 ($P < 0.05$), S 期细胞数明显减少 ($P < 0.05$)。中剂量 XJR 组移植瘤细胞的凋亡率与顺铂组相当 [$(60.52 \pm 6.40)\%$ vs $(71.32 \pm 16.02)\%$, $P > 0.05$]。中、高剂量 XJR 组和顺铂组小鼠外周血 VEGF 水平均显著降低 [(104.3 ± 6.1) 、 (105.8 ± 7.2) 、 (88.6 ± 4.3) vs (120.7 ± 12.6) ng/ml, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$]。结论: XJR 能抑制 H22 小鼠移植瘤的生长, 促进移植瘤细胞凋亡、抑制 VEGF 的产生可能是其抗癌作用机制之一。

[关键词] 消癌解毒方; H22 肝癌细胞; 移植瘤; 血管内皮细胞生长因子(VEGF); 增殖; 凋亡

[中图分类号] R735.7; R730.54; R730.52 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2011)01-0028-05

Xiaoai Jiedu Recipe inhibits transplanted hepatocarcinoma H22 tumors and the related mechanism

CHEN Hai-bin, SHEN Bo, LI Li, CHENG Hai-bo, ZHOU Hong-guang, WANG Ming-yan, WU Mian-hua (First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effects of Xiaoai Jiedu Recipe (XJR) against transplanted hepatocarcinoma H22 tumors in mice and the related mechanism. **Methods:** H22-transplanted tumor mouse models were established and were divided into control group, XJR treatment groups (10, 30, 90 g/kg), and cisplatin treatment group. The growth of tumors in different groups was measured, and pathology changes of transplanted tumor tissues in different groups were examined by H-E staining. Flow cytometry was applied to examine cell cycle and sub-diploid apoptosis rate of transplanted tumor cells, and VEGF levels in the peripheral blood of mice were measured by ELISA. **Results:** Compared with control group, different XJR groups and the cisplatin group significantly inhibited growth of H22-transplanted tumors (24.5%, 42.8%, 21.1%, 58.6% vs 0, $P < 0.05$, $P < 0.01$), cells in XJR groups showing massive necrosis and obvious chromosome condensation. Medium-dosage XJR and cisplatin blocked transplanted tumor cells in G_0/G_1 phase ($P < 0.05$), and the cells in S phase were significantly reduced ($P < 0.05$). The sub-diploid apoptosis rate of transplanted tumor cells in medium-dosage XJR group was similar to that in cisplatin group (60.52 ± 6.40 vs 71.32 ± 16.02 , $P > 0.05$). Peripheral VEGF levels were significantly lower in the medium-, large-dosage XJR groups and cisplatin group than in the control

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30973742/C190201); 江苏省自然科学基金资助项目(No. BK2007240); 江苏省高校自然科学研究面上项目资助(No. 09KJB360003); 江苏省普通高校研究生科研创新项目资助(No. CX09S_037Z); 江苏省中医药局课题(No. LB09032)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30973742/C190201), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2007240), the Natural Science Foundation of Higher Institutions in Jiangsu Province (No. 09KJB360003), the Science Innovation Foundation for Graduates in Common Higher Institutions of Jiangsu Province (No. CX09S_037Z), and the Science Foundation from the Administration of Traditional Chinese Medicine in Jiangsu Province (No. LB09032)

[作者简介] 陈海彬(1971-), 男, 硕士, 江苏省南京市人, 主要从事中医药抗肿瘤作用机制的研究

[通信作者] 吴勉华(WU Mian-hua, correspondence author), E-mail: sannychb@126.com

[网络出版] 2011-01-25; <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110125.1120.015.html>

group (104.3 ± 6.1 , 105.8 ± 7.2 , 88.6 ± 4.3 vs 120.7 ± 12.6 , $P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Xiaoi Jiedu Recipe can inhibit the growth and promote apoptosis of H22-transplanted tumor cells, and inhibition of VEGF may be one of the mechanisms for the anticancer effect.

[**Key words**] Xiaoi Jiedu Recipe(XJR); H22 hepatocarcinoma cell; transplanted tumor; vascular endothelial growth factor; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(1): 28-32]

消癌解毒方(Xiaoi Jiedu Recipe, XJR)是在南京中医药大学周仲瑛教授“癌毒”理论指导下,经长期临床实践总结出的有效抗癌方药^[1-2]。该方方采用消癌解毒方中药汤剂配合化疗药物治疗中晚期恶性肿瘤患者,能提高患者抗肿瘤免疫功能,提高近期临床疗效,减少化疗药物毒性反应,提高患者的生活质量^[3-4],但该方具体的抗癌机制尚不清楚。本研究以荷瘤小鼠瘤质量、抑瘤率、肿瘤细胞周期以及外周血 VEGF 水平的变化为评价指标,研究消癌解毒方对肝癌 H22 细胞小鼠移植瘤生长的影响,探讨其抗癌机制。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

消癌解毒方由白花蛇舌草、僵蚕、蜈蚣、八月扎等中药按特定剂量比例组成^[3],为周仲瑛教授原创组方,其各味中药均购自安徽省亳州市中西药有限公司,由南京中医药大学药理教研室煎制,浓缩成生药量为 2 g/ml 滤液,保存备用。顺铂注射液购自南京制药厂有限公司(批号为 20091118),VEGF-ELISA 试剂盒购自美国 Pierce 公司。

清洁级 ICR 小鼠,雄性,体重(18 ± 20)g,共 72 只,购自上海斯莱克实验动物责任有限公司,动物生产许可证号为 SCXK(沪)2007-0005,使用许可证号为 SYXK(苏)2007-0030,饲料均购自南京市江宁区青龙山动物繁殖场。H22 肝癌种鼠由南京市鼓楼医院动物房提供。抽取种鼠腹水 0.4 ml 接种于 2 只 ICR 小鼠腹腔内进行传代(腹水不稀释,0.2 ml/只),每隔 7 d 左右再次传代 1 次,用于连续实验。

1.2 小鼠 H22 荷瘤模型的建立和实验分组

颈椎脱臼法处死 H22 肝癌种鼠,用碘酒、酒精消毒腹部,抽取种鼠腹水 5 ml,加入 10 ml 的生理盐水稀释,75% 酒精消毒待接种的 ICR 小鼠右腋下皮肤,按每鼠 0.2 ml 接种小鼠右腋下皮下。整个操作在 60 min 内完成,接种 24 h 后称体质量。随机分为 5 组,每组 10 只,即对照组(生理盐水灌胃),顺铂组[顺铂腹腔注射,0.001 g/(kg·d)],消癌解毒方高、中、低剂量组[消癌解毒方 10、30、90 g/(kg·d)灌胃]。以

上剂量依据成人临床拟用量,通过体表面积换算得出。造模后第 2 天起,小鼠每天给药 1 次,连续 10 d。

1.3 观察消癌解毒方对 H22 小鼠移植瘤的抑制

给药前、给药期间用游标卡尺测量小鼠肿瘤直径进行记录,以肿瘤大小变化和给药时间绘制移植瘤生长曲线,并观察各给药组小鼠体质量的变化。给药后第 10 天处死小鼠,严格剥离干净皮下肿瘤组织,使用电子秤称量(精确到 0.01 g),计算各组瘤体平均质量及肿瘤抑制率。按以下公式计算抑瘤率:抑瘤率(%)=(对照组瘤质量-消癌解毒方组瘤质量)/对照组瘤质量×100%。

1.4 H-E 染色观察消癌解毒方作用后 H22 移植瘤细胞形态的改变

取处死的小鼠 H22 移植瘤组织,取病变最明显处组织肉眼观察,将标本用 10% 甲醛固定,24 h 后漂洗,逐级酒精脱水,二甲苯透明,石蜡定向包埋,5 μm 厚切片;H-E 染色,中性树脂胶封片,光镜下观察消癌解毒方作用后 H22 移植瘤细胞形态的变化。

1.5 流式细胞术检测 H22 移植瘤细胞周期及亚二倍体凋亡峰

取处死的小鼠 H22 移植瘤组织并剪碎研磨,400 目尼龙网过滤成单细胞悬液,1 000 × g 离心 5 min,快速弃去上清液,加入 PBS 0.5 ml,在混悬仪上缓慢注入 2 ml 4 ℃、75% 的冷乙醇,细胞固定后在 20 ℃ 保存;1 800 × g 离心 10 min 去掉乙醇,加 PBS 2 ml;1 000 × g 离心弃上清液,加 PBS 调细胞密度至 1×10^6 个/ml,使终体积约为 0.5 ml,加 PI 染液混匀,30 min 后上机检测,分析各组 H22 移植瘤细胞周期及亚二倍体凋亡峰,研究该方对肿瘤细胞周期及细胞凋亡的影响。

1.6 ELISA 法检测消癌解毒方对小鼠外周血 VEGF 水平的影响

给药结束后第 2 天小鼠眼眶取血,3 500 × g 离心 15 min,分离血清,置 -70 ℃ 冰箱贮藏。采用 ELISA 法检测各组小鼠外周血 VEGF 的水平,实验步骤严格按 VEGF ELISA 试剂盒说明书操作。

1.7 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS17.0 统计软

件,根据方差齐性采用单因素方差分析和 q 检验比较各组间差异,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 消癌解毒方对 H22 肝癌移植瘤的抑制作用

与对照组比较,消癌解毒方不同剂量组、顺铂组对 H22 移植瘤的生长均具有显著的抑制作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);以消癌解毒方中剂量组效果最好(抑瘤率为 42.8%),与顺铂组(抑制率为 58.6%)效果相当。提示消癌解毒方灌胃给药对 H22 小鼠移植瘤具有较好的抑制作用(表 1)。

表 1 消癌解毒方对 H22 肝癌小鼠移植瘤的抑制 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Inhibition effect of XJR against H22 tumor-bearing mice ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Dose ($g \cdot kg^{-1}$)	Tumor mass (m/g)	Inhibition rate (%)
Control	0	1.187 ± 0.259	0
Low-dose XJR	10	0.896 ± 0.289*	24.5
Medium-dose XJR	30	0.679 ± 0.315**	42.8
High-dose XJR	90	0.936 ± 0.103*	21.1
Cisplatin	0.001	0.492 ± 0.214**	58.6

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; XJR: Xiaoi Jiedu Recipe

2.2 消癌解毒方对 H22 移植瘤细胞形态的影响

对照组 H22 移植瘤组织中见大片状异型细胞浸润,细胞呈上皮样,胞质红,形态不规则,胞核异型

显著,可见小核仁,可见较多病理性核分裂;并见小片状坏死,周围纤维组织增生,多量淋巴细胞浸润。结合种植 H22 细胞系的特性,符合低分化肝细胞癌的特点。消癌解毒方低剂量组移植瘤组织中见片状异型细胞浸润,并见大片状坏死,面积较对照组增大;消癌解毒方中剂量组移植瘤组织中见片状异型细胞浸润,并见大片状坏死,有明显的染色质固缩环,坏死面积较对照组显著增大;消癌解毒方高剂量组移植瘤组织中可见片状异型细胞浸润,并见大片状坏死,面积较对照组增大,并见移植瘤浸润淋巴结组织。顺铂组移植瘤组织中可见片状异型细胞浸润,并见小片状坏死,坏死面积较对照组稍大,有明显的染色质固缩环。消癌解毒方中剂量组和顺铂组移植瘤组织中有明显的染色质固缩环,消癌解毒方低剂量组和高剂量组未见染色质固缩环(图 1)。

2.3 消癌解毒方对 H22 移植瘤组织的细胞周期及肿瘤细胞凋亡的影响

与对照组比较,消癌解毒方中剂量组、顺铂组小鼠移植瘤组织细胞阻滞于 G_0/G_1 期 ($P < 0.05$),S 期细胞数明显减少 ($P < 0.05$);消癌解毒方各剂量组和顺铂组与对照组相比,其移植瘤细胞凋亡率有统计学差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);消癌解毒方中剂量组与顺铂组的差异无统计学意义(表 2)。

2.4 消癌解毒方抑制 H22 移植瘤小鼠外周血 VEGF 的水平

与对照组比较,消癌解毒方中、高剂量组和顺铂组外周血 VEGF 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),消癌解毒方低剂量组与对照组比较差异无统计学意义(表 3)。

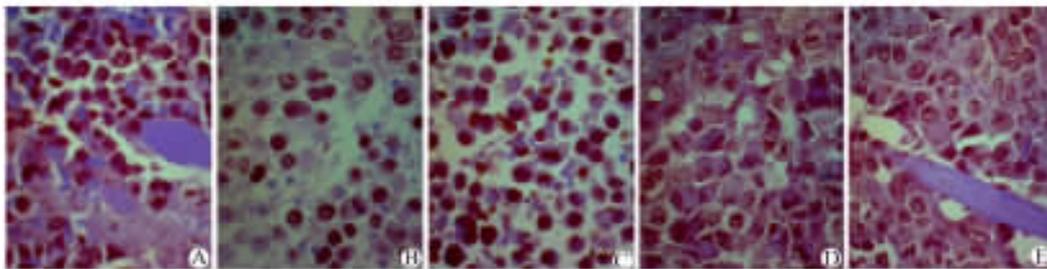


图 1 消癌解毒方对 H22 移植瘤组织病理形态的影响(H-E, ×400)

Fig.1 Effect of XJR on morphology of H22-transplanted tumor cells (H-E, ×400)

A: Low-dose XJR; B: Medium-dose XJR; C: High-dose XJR; D: Cisplatin group; E: Control group

3 讨论

肿瘤生长依赖新生血管的形成^[5], VEGF 在新

生血管生长过程中发挥着重要作用^[6]。VEGF 与肿瘤的侵袭、分化程度、TNM 分期及复发和远处转移等相关;与乳腺癌的浸润转移和预后判断等多方面

有着紧密联系,晚期乳腺癌患者 VEGF 阳性表达明显高于早期乳腺癌患者,VEGF 阳性表达与肿块大小、淋巴结转移有直接的关系,提示 VEGF 不但可作为判断乳腺癌转移的标志物,还可以作为判断乳腺癌预后的指标^[7]。有报道^[8],术前测定外周血 VEGF 浓度可作为判断胃癌临床分期、淋巴结及远处转移的参考指标。VEGF 的表达水平与肿瘤的淋巴结转移和骨转移密切相关^[9]。在非小细胞肺癌组织中 VEGF 阳性表达率与 TNM 分期、淋巴结转移显著相关,提示 VEGF 参与了非小细胞肺癌的发生、

发展,是非小细胞肺癌进展和转移的重要调控因子,VEGF 可作为非小细胞肺癌生物学行为的一项评估指标^[10]。肝细胞癌组织的 VEGF 阳性率显著高于癌旁组织的阳性率($P < 0.05$),且 VEGF 的表达与肝细胞癌 TNM 分期、术前局部转移及术后复发转移有关($P < 0.05$)^[11]。大量的实验和临床资料^[12-13]显示,肿瘤的生长和扩散依赖新血管及 VEGF 的形成,且抑制 VEGF 或其受体的药物对多种实体肿瘤的治疗是有效的。

表 2 消癌解毒方对 H22 移植瘤组织细胞周期及细胞凋亡的影响($n = 10, \bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 2 Effect of XJR on cell cycle and apoptosis of H22 tumor-bearing mice ($n = 10, \bar{x} \pm s, \%$)

Group	Apoptosis rate	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
Control	17.69 ± 16.49	42.14 ± 3.25	38.28 ± 4.85	19.58 ± 1.75
Low-dose XJR	47.16 ± 11.88 *	55.29 ± 3.28	32.16 ± 3.47	12.55 ± 0.69
Medium-dose XJR	60.52 ± 6.40 **	66.07 ± 4.05 *	20.27 ± 5.08 *	13.66 ± 1.87 *
High-dose XJR	57.59 ± 14.51 **	59.38 ± 5.13	29.98 ± 3.53	10.64 ± 1.55
Cisplatin	71.32 ± 16.02 **	68.42 ± 5.14 *	21.29 ± 4.15 *	10.29 ± 2.01 *

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group

表 3 消癌解毒方对 H22 移植瘤小鼠外周血 VEGF 水平的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect of XJR on VEGF level in peripheral blood of H22 tumor-bearing mice($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Dose ($g \cdot kg^{-1}$)	VEGF ($\rho_B/ng \cdot ml^{-1}$)
Control	-	120.7 ± 12.6
Low-dose XJR	10	116.1 ± 20.0
Medium-dose XJR	30	104.3 ± 6.1 *
High-dose XJR	90	105.8 ± 7.2 *
Cisplatin	0.001	88.6 ± 4.3 **

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ vs control group

中医药通过对机体整体调节,从多层次、多环节、多靶点发挥抗肿瘤作用,无论是在抑制、杀伤肿瘤细胞,调节机体免疫功能,还是改善症状和体征、减轻放疗化疗毒性反应等方面都发挥着重要作用^[14]。“癌毒”理论^[15]是周仲瑛教授根据近 60 年临床实践总结提出的创新性中医学理论,该理论认为“癌毒”是肿瘤发生、发展的关键,是肿瘤发病过程中体内产生的一种特殊的病理因素,由多种物质、多种因素复

合而成,这些因素同时存在、互为因果^[16]。“癌毒”理论在恶性肿瘤治疗中有其独特的理论与临床意义,在该理论指导下,对恶性肿瘤的治疗以“消癌解毒”为基本治则,倡导“祛毒即是扶正”,抗癌解毒应是积极的、主动的、进攻性的治疗措施^[17-18]。周仲瑛教授在长期临床积累过程中形成了治疗恶性肿瘤的有效抗癌方药——消癌解毒方,该方由白花蛇舌草、僵蚕、蜈蚣、八月扎等按特定剂量比例组成,全方驱邪消癌解毒为主,辅以扶正,临床应用多年,显示出较好的抗肿瘤疗效^[19-21]。

本课题前期临床研究消癌解毒方配合化疗治疗中晚期恶性肿瘤的有效性和安全性,结果显示,治疗组(化疗 + 消癌解毒方组)与对照组(单纯化疗组)的近期有效率分别为 69.16%、32.05%,化疗完成率分别为 97.69%、66.36%,两组差异均有统计学意义($P < 0.05$);治疗组生活质量、机体免疫功能明显高于对照组,毒性作用低于对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$);治疗组 CD3、CD4、CD4/CD8 值及 NK 细胞活性明显高于对照组($P < 0.01$);与治疗前比较,T 细胞亚群中 CD4 明显升高,CD4/CD8 的比值明显上升,NK 细胞活性明显增高($P < 0.05$),而对照组较治疗前明显下降($P < 0.05$);表明消癌解毒方可纠

正患者外周血 T 细胞亚群百分比, 提高 NK 细胞活性, 调节细胞免疫功能, 从而提高患者机体抗肿瘤免疫能力^[3,4]。

本实验研究消癌解毒方对肝癌 H22 移植瘤肿瘤细胞生长、细胞周期及凋亡的影响, 以荷瘤小鼠外周血 VEGF 水平的变化为实验指标, 从分子水平研究该方抗癌机制。结果发现, 与对照组比较, 该方各剂量组和顺铂组对 H22 移植瘤的生长均具有显著的抑制作用及促移植瘤细胞凋亡的作用 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 中剂量组抑瘤率为 42.8%, 与顺铂组(抑制率 58.6%)效果相当; 中剂量组、顺铂组将移植瘤组织细胞阻滞于 G_0/G_1 期 ($P < 0.05$), S 期细胞数明显减少 ($P < 0.05$), 中剂量组与顺铂组效果相当; 中剂量组移植瘤亚二倍体凋亡率与顺铂组效果相当。中、高剂量消癌解毒方组及顺铂组外周血 VEGF 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 低剂量组与对照组比较差异无统计学意义。研究表明, 消癌解毒方能抑制 H22 小鼠移植瘤的生长, 促进移植瘤细胞凋亡和抑制 VEGF 的产生可能是其抗癌作用机制之一。另外, 根据本实验结果, 消癌解毒方各剂量组均能抑制 H22 小鼠移植瘤的生长, 促进移植瘤细胞凋亡, 但只有中剂量组与顺铂组效果相当; 中、高剂量组可以降低外周血 VEGF 水平, 但低剂量组无此作用; 结合光镜病理观察结果, 中剂量组有明显的染色质固缩环, 而低剂量组和高剂量组未见染色质固缩环, 因此消癌解毒方中剂量组抗肿瘤效果最好。

消癌解毒方是经长期临床实践检验的有效抗癌方药, 本方可通过调节免疫功能、降低外周血 VEGF 水平等发挥抗肿瘤作用, 但本方对 CD4、CD8 及 NK 细胞活性的影响及降低外周血 VEGF 的具体机制还有待进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] 程海波, 吴勉华. 周仲瑛教授“癌毒”学术思想探析 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(6): 866-869.
- [2] 吴勉华. 周仲瑛教授从癌毒辨治恶性肿瘤用药分析 [J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(4): 255-258.
- [3] 周红光, 陈海彬, 吴勉华, 等. 消癌解毒方配合化疗治疗中晚期恶性肿瘤临床疗效 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(7): 1140-1143.
- [4] 陈海彬, 周红光, 程海波, 等. 消癌解毒方对中晚期恶性肿瘤

患者免疫功能的影响 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2009, 29(9): 1257-1259.

- [5] 段泽星, 谢立群. VEGF 在肿瘤生长和血管生成中的作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(27): 2894-2900.
- [6] Roskoski R Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2007, 62(3): 179-213.
- [7] 吴陈滔. VEGF 在乳腺癌中的表达及临床意义 [J]. 中国医药导报, 2008, 5(14): 164-165.
- [8] Shina A, Fujioka S, Kobayashi K. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-C and -D in gastric carcinoma [J]. Int J Clin Oncol, 2006, 11(1): 38-43.
- [9] Shariat SF, Anwuri VA, Lamb DJ, et al. Association of preoperative plasma levels of vascular endothelial growth factor and soluble vascular cell adhesion molecule-1 with lymph node status and biochemical progression after radical prostatectomy [J]. Clin Oncol, 2004, 22(9): 1655-1663.
- [10] 林允恩, 刘祖宏, 蔡伟明. VEGF 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义 [J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(6): 521-522.
- [11] 蒋成英, 陈丽, 戴广海. 肝细胞癌中 Survivin、EGFR 和 VEGF 的表达及临床意义 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2010, 15(9): 779-784.
- [12] Glass CA, Harper SJ, Bates DO. The anti-angiogenic VEGF isoform VEGF165b transiently increases hydraulic conductivity, probably through VEGF receptor 1 *in vivo* [J]. Physiol, 2006, 572(2): 243-2572.
- [13] 李伟, 熊正文, 李宏伟. COX-2、VEGF、E-cad 在乳腺癌中的研究进展 [J]. 医学综述, 2010, 16(19): 2936-3940.
- [14] 戴婷婷, 华海清. 中药抗肿瘤侵袭转移的分子机制研究进展 [J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(3): 348-351.
- [15] 程海波, 吴勉华. 周仲瑛教授从癌毒辨治恶性肿瘤病机要素分析 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(2): 313-316.
- [16] 陈四清. 周仲瑛教授从癌毒辨治肿瘤经验 [J]. 新中医, 2004, 36(2): 7-9.
- [17] 叶丽红, 程海波, 章永红, 等. 原发性肝癌的中医治则与治法探讨 [J]. 南京中医药大学学报: 自然科学版, 2010, 26(1): 10-13.
- [18] 叶丽红, 程海波, 吴勉华, 等. 原发性肝癌中医病机特点思考 [J]. 中医杂志, 2010, 51(6): 557-559.
- [19] 陈四清, 张成铭, 叶丽红. 消癌扶正法治疗肝癌介入后复发 [J]. 江苏中医药, 2007, 39(2): 42-43.
- [20] 叶丽红, 顾勤. 周仲瑛教授的肿瘤观 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(3): 63-64.
- [21] 程海波, 吴勉华, 周红光. 周仲瑛从癌毒辨治恶性肿瘤的经验 [J]. 北京中医药, 2009, 28(11): 844-846.

[收稿日期] 2010-09-20 [修回日期] 2010-12-07

[本文编辑] 韩丹