

## 西黄丸醇提液激活法尼酯受体的抗乳腺癌作用研究

项蓉蓉<sup>1</sup>, 江一鸣<sup>2</sup>, 任瑶<sup>1</sup>, 童玉春<sup>3</sup>, 宋捷<sup>1</sup>, 梁文波<sup>2\*</sup>

1. 大连大学 医学院, 辽宁 大连 116622

2. 大连大学 新华临床学院, 辽宁 大连 116000

3. 大连大学 中山临床学院, 辽宁 大连 116021

**摘要:** 目的 研究西黄丸醇提液抑制荷4T1小鼠乳腺癌肿瘤的生长及作用机制。方法 建立荷4T1小鼠乳腺癌模型, 以低、中、高剂量(0.39、0.78、1.95 g/kg) ig给予西黄丸醇提液2周, 分离肿瘤组织, 称质量并计算抑瘤率; 体外培养4T1乳腺癌细胞株, 加入低、中、高浓度(1.25、2.50、5.00 µg/mL)的西黄丸醇提液作用48 h, CCK-8法检测细胞增殖抑制率; TUNEL染色检测细胞凋亡; 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测4T1细胞中FXR mRNA表达, Western Blotting检测法尼酯受体(FXR)蛋白表达。结果 与模型组比较, 西黄丸醇提液低、中、高剂量组荷瘤质量均明显下降( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性; CCK-8结果显示, 作用48 h, 4T1细胞的增殖抑制率随西黄丸醇提液浓度的升高而增加, 高浓度组可达43.13%; TUNEL荧光染色结果显示, 与对照组比较, 西黄丸醇提液低、中、高浓度组4T1细胞凋亡数量显著增加( $P < 0.05$ ); qRT-PCR、Western Blotting结果显示, 4T1细胞中FXR mRNA、蛋白表达水平随西黄丸醇提液浓度的升高显著上调, 且低、中、高浓度组差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 西黄丸可能通过激活FXR受体促进肿瘤细胞凋亡从而抑制肿瘤生长。

**关键词:** 西黄丸; 醇提液; 4T1乳腺癌细胞; 凋亡; FXR

中图分类号: R962.2, R287.4

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)06-1087-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.06.006

## Anti-breast cancer effect of farnesoid X receptor activated by alcohol extract of Xihuang Pill

XIANG Rongrong<sup>1</sup>, JIANG Yiming<sup>2</sup>, REN Yao<sup>1</sup>, TONG Yuchun<sup>3</sup>, SONG Jie<sup>1</sup>, LIANG Wenbo<sup>2</sup>

1. Medical College of Dalian University, Dalian 116622, China

2. Xin Hua Affiliated Hospital of Dalian university, Dalian 116000, China

3. Zhong Shan Affiliated Hospital of Dalian university, Dalian 116021, China

**Abstract: Objective** To study the effect of alcohol extract of Xihuang Pill on the growth of 4T1 mouse breast cancer and its possible mechanism. **Methods** We established a 4T1 mouse breast cancer model. Model mice were administered with alcohol extract of Xihuang Pill at low, medium and high doses for two weeks. Tumor tissues were then removed and weighed, and the tumor inhibition rate was calculated. The 4T1 breast cancer cell line was cultured in vitro. The ethanol extract of Xihuang pill with low, medium and high concentration (1.25, 2.50, 5.00 µg/mL) were added for 48 hours. Tumor cell activity was detected by CCK-8. The apoptosis of tumor cells was detected by TUNEL staining. The mRNA expression of farnesoid X receptor (FXR) in tumor tissue was detected by qRT-PCR and their protein expression levels were detected by Western Blotting. **Results** Compared with model group, tumor volumes and tumor weights in the alcohol extract of Xihuang Pill groups decreased significantly with increasing doses of Xihuang Pill, there were significant differences among low, medium and high concentration groups ( $P < 0.05$ ). CCK-8 results showed that the inhibition rate of tumor cells proliferation was increased with the increase of dose of alcohol extract of Xihuang Pill at 48 h, and that of the high dose group reached 43.13%. TUNEL staining showed that the number of apoptotic tumor cells increased with increasing doses of alcohol extract of Xihuang Pill. qRT-PCR and Western Blotting showed that mRNA and protein expression of FXR in tumor cells increased with increasing doses of alcohol extract of Xihuang pill. There were significant differences among

收稿日期: 2018-09-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573664)

第一作者: 项蓉蓉(1993—), 女, 硕士研究生, 研究方向为抗肿瘤中药基础研究。Tel: 15871765990 E-mail: yxsxrr19930730@hotmail.com

\*通信作者: 梁文波(1962—), 男, 辽宁大连人, 教授, 博士, 研究方向为中药抗肿瘤药理研究。Tel: 13942666741 E-mail: dllwb@126.com

low, medium and high concentration groups ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Xihuang Pill might promote tumor cell apoptosis and further inhibit the tumor growth of 4T1 mouse breast cancer. The mechanism may be related to upregulation of FXR.

**Key words:** Xihuang Pill; alcohol extract; 4T1 breast cancer cells; apoptosis; FXR

乳腺癌已成为全球女性发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,陈万青等<sup>[1]</sup>预测分析,今后10~20年我国恶性肿瘤的负担还将持续上升。乳腺癌在我国女性中居恶性肿瘤首位,以3%~4%的速度递增,且趋于年轻化<sup>[2]</sup>,故防治乳腺癌形势严峻。研究发现,乳腺癌的发病与法尼酯受体(farnesoid X receptor, FXR)的表达异常有关<sup>[3-5]</sup>,FXR是一种具有典型核受体结构的孤儿受体,FXR的主要作用是对一系列的代谢相关基因的表达进行调控。Swales等<sup>[4]</sup>在乳腺组织和癌旁对照组织中检测到FXR的高表达。当FXR与配体通过配体结合域相互作用后,FXR的空间结构发生改变并被活化,活化后的FXR受体向核内转移,从而调节下游靶基因的转录,促进肿瘤细胞的凋亡,综上所述,乳腺癌的发病可能与FXR的低表达有关。近年来关于FXR与肿瘤之间的关系研究越来越多,并取得一定的成果,激活FXR可能成为药物研究抗肿瘤的一个新的靶点。

西黄丸又名犀黄丸,始载于清代王洪绪所创的《外科证治全生集》,由牛黄、乳香、没药、麝香4味中药组成<sup>[6]</sup>,具有清热解毒,活血止痛的功效,可治疗乳岩、横痃等,现代医学常用于治疗乳腺囊性增生、乳腺癌等疾病<sup>[7-8]</sup>。虽然目前西黄丸抗肿瘤的疗效得到了肯定,但对于西黄丸抗肿瘤的作用机制的研究尚不明确。吴超等<sup>[9]</sup>在对西黄丸体外研究中发现不同的溶剂的西黄丸提取物对于肿瘤细胞的影响有巨大差别,其中以乙醇提取物的抗肿瘤作用最为明显。研究显示,西黄丸乙醇提取物<sup>[10]</sup>对Walker 256乳腺癌细胞荷瘤大鼠的肿瘤抑制率达到36.8%,明显比西黄丸的抑制率高,由此可见,乙醇提取物

提高了原制剂的生物利用度。本研究通过体内实验观察西黄丸醇提液对4T1乳腺癌荷瘤小鼠的治疗效果,体外实验观察西黄丸醇提液对4T1细胞活性的影响,以及对信号分子蛋白FXR的调节作用,进而探讨西黄丸醇提液抗乳腺癌的作用机制。

## 1 材料

### 1.1 细胞和动物

4T1乳腺癌细胞株,购于中国科学院上海细胞库。

健康雌性Balb/C小鼠,10周龄,体质量(20±2)g,购于大连医科大学SPF级动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(辽)2013-0003。

### 1.2 药物和主要试剂

西黄丸(批号1040991,北京同仁堂科技发展股份有限公司);胎牛血清(天津灏洋);含双抗的RPMI 1640培养基、BCA含量检测试剂盒、RIPA裂解液、蛋白酶抑制剂(江苏凯基生物有限公司);Trypsin-EDTA(0.25%)、phenol red(美国Thermo Fisher scientific);CCK-8试剂盒(同仁化学,日本);Triton-X-100、TUNEL染色试剂盒(德国Sigma);SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、预染彩色蛋白分子量Marker( $11 \times 10^3 \sim 180 \times 10^3$ )、Tween-20(索莱宝,北京);脱脂奶粉、TBS(CST,美国);一抗: $\beta$ -Actin、Anti-Bile acid Receptor NR1H4 antibody(ab 28480)抗体(Abcam,美国);ECL发光液(美仑生物,大连);Prime Script RT Master Mix(Perfect Real Time)、TB Green Premix Ex TaqII(Takara,日本)。基因特异性引物见表1,由大连瑞真生物技术有限公司合成。

表1 扩增基因引物序列

Table 1 Amplified gene primer sequence

| 名称             | 上游引物(5'-3')               | 下游引物(5'-3')          | 长度/bp |
|----------------|---------------------------|----------------------|-------|
| $\beta$ -actin | CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC | ATGGAGCCACCGATCCACA  | 171   |
| FXR            | GGTCATGCAGACCTGTTGGAA     | TGACGATCGCTGTGAGCAGA | 142   |

### 1.3 主要仪器

CO<sub>2</sub>培养箱(NU-5820E, NAURE, 美国);多功能酶标仪(Spectra Max Plus384, Bio-Tek, 美国);Western Blotting电泳及转膜设备(BIO-RAD, 美国);正置荧光显微镜BX51、倒置显微镜IX73(Olympus, 日本);Real-time PCR仪(CFX 96,

BIO-RAD, 美国);低温高速离心机(CT15RE, Hitachi, 日本)。

## 2 方法

### 2.1 模型的建立

将购置的4T1小鼠乳腺癌细胞株用含有15%灭活胎牛血清的1640培养基培养于37℃、5% CO<sub>2</sub>培

养箱中,经过传代培养后取对数生长期的细胞,用含有0.25% EDTA的胰蛋白酶进行消化清洗,调整细胞浓度至 $1 \times 10^7/\text{mL}$ 。

Balb/C小鼠饲养于无特定致病菌的实验环境中,随机分为对照组、模型组、西黄丸醇提液各剂量组。将上述制备的4T1乳腺癌细胞株悬液接种于模型组和西黄丸醇提液组小鼠的右侧腋下,造模后第7日可触及明显结节。

## 2.2 西黄丸醇提液的制备

取西黄丸180 g,碾碎,将粉末转入500 mL的烧瓶中,加入3倍体积的无水乙醇,超声震荡30 min,加热回流提取2 h,滤过并收集滤液,滤渣重复提取2次,与第1次提取的滤液合并。将滤液水浴挥发4 h,得乙醇提取物,收率为4.87%。

## 2.3 给药

自造模后第2天开始给药,西黄丸醇提液低、中、高剂量组按0.39、0.78、1.95 g/kg给药,按照0.2 mL/次,2次/d,连续ig给药14 d,模型组和对照组分别ig等体积的蒸馏水。末次给药当晚禁食,第15天脱颈处死小鼠。

## 2.4 抑瘤率

于第15天进行眼球取血,取血后颈椎脱臼处死小鼠,无菌剥离肿瘤组织,比较模型组与西黄丸醇提液组的肿瘤质量,按照公式计算各组的抑瘤率。

抑瘤率 = (模型组平均瘤质量 - 用药组平均瘤质量) / 模型组平均瘤质量

## 2.5 CCK-8细胞活性检测

取对数生长期的4T1细胞,用细胞计数板计数后调整至 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的细胞悬液,以100  $\mu\text{L}$ /孔接种于96孔板中,在37℃、5%  $\text{CO}_2$ 的条件下预培养,24 h后向培养板中加入低、中、高浓度(1.25、2.50、5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的西黄丸醇提液,每个孔加100  $\mu\text{L}$ ,对照组加等量的培养基,并设置不含细胞和待测物质的空白孔。分别在培养箱中培养6、12、24、48 h后,向每孔中加入20  $\mu\text{L}$  CCK-8溶液,将培养板放入培养箱孵育2 h,用酶标仪测定在450 nm处的吸光度(A)值,计算细胞增殖抑制率。

细胞增殖抑制率 = (对照组A值 - 给药组A值) / (对照组A值 - 空白组A值)

## 2.6 TUNEL检测

取对数生长期的细胞,用细胞计数板调整至 $1 \times 10^5/\text{mL}$ ,接种于96孔板中,置于37℃、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中预培养24 h后,弃掉原培养液,加入低、中、高浓度(1.25、2.50、5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的西黄丸醇提液,同

时设置对照组,继续培养48 h。用PBS冲洗1次,加入新鲜制备的固定液(4%多聚甲醛)于空气中干燥固定1 h, PBS冲洗1次,于破膜液(0.1% TritonX-100)中4℃孵育2 min,将TUNEL反应物混合物按照说明书预混冰上备用,破膜孵育后的样品用PBS冲洗2次,样品干燥后加50  $\mu\text{L}$  TUNEL反应混合物,阴性对照中加50  $\mu\text{L}$  标签溶液,在37℃黑暗潮湿的环境中孵育60 min。PBS冲洗3次后滴加100  $\mu\text{L}$ 的DAPI染液,室温避光染色10 min,弃去染色液, PBS漂洗,加入抗荧光猝灭剂封片后于荧光显微镜下观察。

## 2.7 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测

取对数生长期的细胞,用细胞计数板将细胞调整至 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的细胞悬液,接种于6孔板中,置于37℃、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中预培养24 h后,弃掉原培养液,加入低、中、高浓度(1.25、2.50、5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的西黄丸醇提液,同时设置对照组,继续培养48 h后弃去培养液,用PBS清洗1次,按照Trizol提取试剂盒说明书进行总RNA的提取,紫外分光光度计测量RNA的浓度和纯度;按照Takara Prime Script RT Master Mix试剂盒说明书将上述提取的总RNA逆转录为cDNA第一链;配置20  $\mu\text{L}$ 反应体系:TB Green Premix Ex Taq II (2 $\times$ ) 12.5  $\mu\text{L}$ , FXR上下游引物各2  $\mu\text{L}$ , cDNA模版2.5  $\mu\text{L}$ , DEPC水3  $\mu\text{L}$ ;扩增条件为:95℃预变性30 s, 95℃变性5 s, 60℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 40个循环,于65~95℃生成溶解曲线,每个基因设置3个复孔。以 $\beta$ -actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析各目的基因相对表达量。

## 2.8 Western blotting检测

取对数生长期的细胞,用细胞计数板将细胞调整至 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的细胞悬液,接种于6孔板中,置于37℃、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中预培养24 h后,弃掉原培养液,加入低、中、高浓度(1.25、2.50、5.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的西黄丸醇提液,同时设置对照组,继续培养48 h。按照RIPA裂解液的说明书提取蛋白,进行BCA蛋白定量,煮沸变性待用。按照蛋白的分子量配制SDS-PAGE胶,按照BCA定量结果进行蛋白上样,电泳条件80 V,待目的蛋白泳动至浓缩胶与分离胶界限下缘后转成120 V, 60 min。转膜条件:300 mA, 90 min,冰浴转膜。蛋白转印至PVDF膜,于5%脱脂奶粉中室温封闭1 h, TBST漂洗3次,每次5 min,参照一抗说明书按照比例稀释抗体, Anti-Bile acid Receptor NR1H4 antibody (1:500), 4℃缓慢摇动孵育过夜, TBST清洗3次,每次5 min,二抗室温孵育1 h,

TBST清洗3次,5 min/次。在暗室中用ECL发光液曝光显影,使用Image J软件分析数据。

## 2.9 统计分析

利用SPSS 20.0统计软件进行统计学分析,计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 西黄丸醇提液对小鼠乳腺癌肿瘤生长的影响

如表2所示,与模型组比较,西黄丸醇提液低、中、高剂量组荷瘤质量均明显下降( $P < 0.05$ ),且呈剂量相关性,高剂量组的抑瘤率达34.64%。

表2 西黄丸醇提液对荷4T1小鼠乳腺癌肿瘤生长的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of alcohol extract of Xihuang Pill on tumor growth of breast cancer in 4T1 Mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | 瘤质量/g      | 抑瘤率/% |
|------|--------------------------|------------|-------|
| 模型   | —                        | 0.58±0.03  | —     |
| 西黄丸醇 | 0.39                     | 0.54±0.03* | 7.80  |
| 提液   | 0.78                     | 0.43±0.03* | 26.38 |
|      | 1.95                     | 0.38±0.03* | 34.64 |

与模型组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs group group

### 3.2 西黄丸醇提液对4T1细胞生长的抑制作用

CCK-8 检测结果显示,西黄丸醇提液干预6、12、24 h后对4T1细胞无明显抑制效果;干预48 h,随着药物浓度的增加,细胞增殖抑制率呈明显上升趋势,高剂量效果最显著,抑制率达43.13%。选择西黄丸醇提液作用48 h进行后续实验。结果见图1。

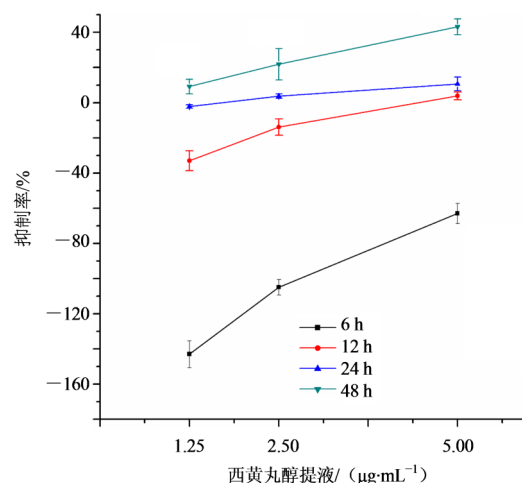


图1 CCK-8法检测西黄丸醇提液对细胞活性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 1 CCK-8 method for detecting effect of alcohol extract of Xihuang Pill on cell activity( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 3.3 西黄丸醇提液对4T1细胞凋亡的影响

如图2所示,与对照组比较,西黄丸醇提液低、中、高浓度组肿瘤细胞凋亡数量显著增加,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 3.4 对4T1细胞FXR mRNA水平的影响

如图3所示,与对照组比较,西黄丸醇提液低、中、高浓度组肿瘤细胞中FXR mRNA水平显著增加,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 3.5 对肿瘤细胞中FXR蛋白表达的影响

如图4所示,与对照组比较,肿瘤细胞中FXR蛋白表达水平随西黄丸剂量的升高上调,低、中、高剂量组差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 4 讨论

西黄丸作为抗肿瘤中成药的经典名方,在现代

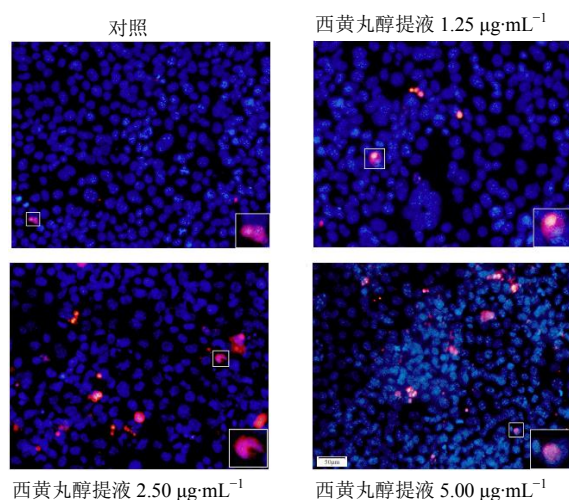
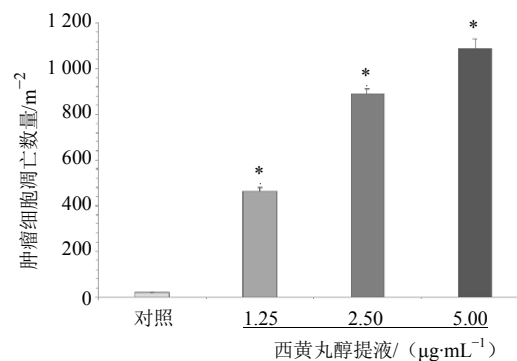


图2 TUNEL染色观察肿瘤细胞凋亡数( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 2 Number of tumor apoptotic cells observed by TUNEL staining( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )



与对照组比较: \* $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group

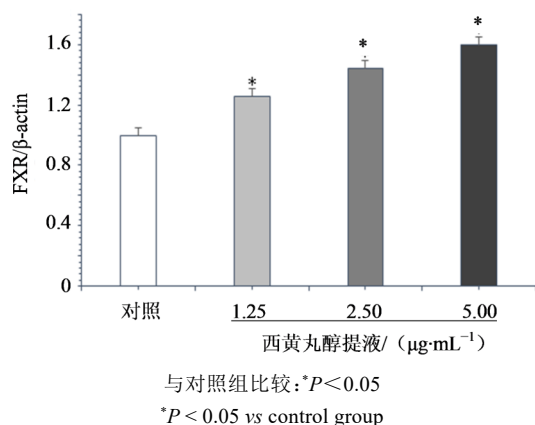


图3 基因表达相对定量分析 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig. 3 Relative quantitative analysis of gene expression ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

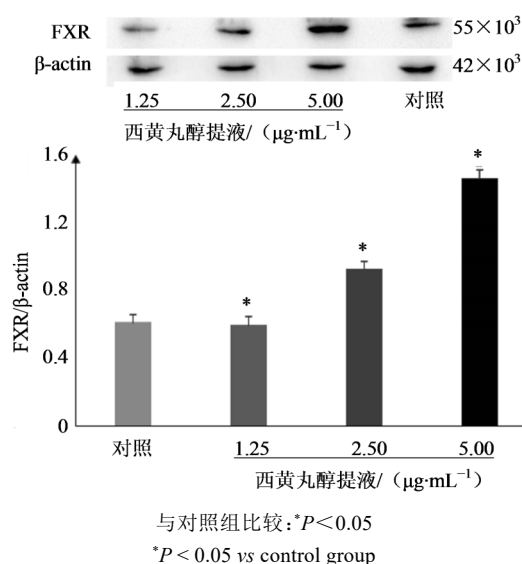


图4 Western Blotting 检测肿瘤细胞中 FXR 蛋白的表达 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig. 4 Detection of FXR protein expression in tumor cells by Western Blotting ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

临床应用广泛,大量临床研究表明西黄丸联合化疗治疗对于中晚期恶性肿瘤具有良好的疗效,可稳定病灶,提高患者生存质量<sup>[11-12]</sup>。由于前人发现西黄丸醇提液的抗癌效果优于西黄丸,本课题组通过西黄丸醇提液干预4T1 荷瘤乳腺癌小鼠,发现西黄丸醇提液有明显的抑瘤效果,且西黄丸醇提液高剂量组的抑瘤率达 34.64%。为进一步探究西黄丸的抗肿瘤机制,本研究首先采用 CCK-8 法检测细胞活性,发现西黄丸醇提液对 4T1 细胞株活性有抑制作用,且对肿瘤细胞的抑制作用随剂量的升高而增加,高剂量效果最显著,抑制率达 43.13%。通过 TUNEL 染色发现,随着药物剂量的增加,肿瘤细胞株的凋亡数量增加。上述结果均可说明西黄丸醇

提液具有抑制细胞活性,促进肿瘤细胞凋亡的作用。

细胞凋亡的产生与大量相关信号通路的影响有关,FXR 作为核受体超家族成员,广泛参与糖脂代谢,调控细胞增殖和凋亡。近年来有研究发现,FXR 具有显著的抑瘤作用<sup>[13]</sup>,FXR 与肿瘤之间的关系成为一个新的研究热点。有研究表明<sup>[14]</sup>,与乳腺纤维腺瘤旁正常乳腺组织比较,乳腺浸润性导管癌 FXR 表达显著降低。本实验通过 qRT-PCR、Western Blotting 法验证了西黄丸醇提物干预后肿瘤细胞中 FXR 的表达增加,且呈明显的剂量相关性。提示,西黄丸可能通过下调 FXR 的表达促进肿瘤细胞的凋亡。

FXR 是胆汁酸的内源性受体,西黄丸中牛黄含有大量的胆汁酸,这可能是西黄丸调控 FXR 的原因。目前有研究通过体外细胞实验发现,鹅脱氧胆酸 CDCA 与 GW4064 可激活 FXR 从而诱导乳腺癌细胞株 MCF-7 和 MDA-MB-468 的凋亡,可能与 FXR 的激活下调了靶基因 MRP1 和 SLC7A5 有关,SLC7A5 可以给肿瘤细胞增殖提供必需氨基酸,因此 FXR 的活化有抑制肿瘤增殖的效应<sup>[13]</sup>。FXR 与乳腺癌的关系可能是一种代谢调控与肿瘤之间的全新机制,FXR 有复杂的特性,FXR 的低表达可能是乳腺癌形成的机制之一<sup>[14]</sup>,虽然目前西黄丸醇提液抗肿瘤的疗效得到肯定,但在乳腺癌中 FXR 如何促进肿瘤细胞凋亡的内在机制还待于进一步的探索。

#### 参考文献

- [1] 陈万青, 郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况 [J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(13): 668-674.
- [2] Fan L, Strasser-Weippl K, Li J J, et al. Breast cancer in China [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7): 279-289.
- [3] Journe F, Durbecq V, Chaboteaux C, et al. Association between farnesoid X receptor expression and cell proliferation in estrogen receptor-positive luminal-like breast cancer from postmenopausal patients [J]. Breast Cancer Res Treat, 2009, 115(3):523-535.
- [4] Swales K E, Korbonits M, Carpenter R, et al. The farnesoid X receptor is expressed in breast cancer and regulates apoptosis and aromatase expression [J]. Cancer Res, 2006, 66(20): 10120-10126.
- [5] Koutsounas I, Giaginis C, Theocharis S. Farnesoid X Receptor (FXR) from normal to malignant state [J]. Histol Histopathol, 2012, 27(7): 835-853.

(下转第 1127 页)

- [2] 药物安全药理学研究技术指导原则 [S]. 2014.
- [3] ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals [EB/OL]. (2000-11)[2018-09-01].<http://www.ich.org>.
- [4] 岑小波. 重复给药毒性试验伴随安全药理学研究 [A]// 第二届(2016年)中国安全药理学学术年会暨第五届安全药理学国际学术研讨会论文集 [C]. 济南: 2016.
- [5] 李 凯, 朱星熠, 张雪峰, 等. DT1437对清醒食蟹猴心血管系统和呼吸系统的影响 [A]. 中国药理学学会安全药理学专业委员会成立大会暨第四届安全药理学国际学术研讨会论文集 [C]. 成都: 2015.
- [6] 黄远铿, 杨 威, 肖百全, 等. 浅谈利用马甲式实验动物生理遥测设备结合重复给药毒性试验 [A]. 2016年第六届全国药物毒理学会年论文集 [C]. 重庆: 2016.
- [7] Authier S, Legaspi M, Breault C, et al. Respiratory safety pharmacology: Comparison of conscious beagle dogs and cynomolgus monkey models [J]. J Pharmacol Toxicol Meth, 2008, 58(2): 157.
- [8] 卢祺炯, 陈敏华, 徐 聪, 等. 应用植入遥测技术对恒河猴部分生理指标的观测 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(1): 100-107.
- [9] Moscardo E, McPhie G, Fasdelli N, et al. An integrated cardiovascular and neurobehavioural functional assessment in the conscious telemetered cynomolgus monkey [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2010, 62(2): 95-106.
- [10] Ando K, Hombo T, Kanno A, et al. QT product: *in vivo* QT assay with a conscious monkey for assessment of the potential for drug-induced QT interval prolongation [J]. J Pharmacol Sci, 2005, 99(5): 487-500.
- [11] 齐卫红, 李 伟, 李 欣, 等. 食蟹猴心电图研究 [J]. 中国药事, 2012, 26(5): 449-452.
- [12] ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline S7B: The Non - Clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals [EB/OL]. (2005-05)[2018-09-01]. <http://www.ich.org>.

.....

(上接第1091页)

- [6] 周 杰, 商雪莹, 佟 玲, 等. 西黄丸 HPLC-ELSD 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2219-2224.
- [7] 马 杰, 王一尧, 杨 伟, 等. 西黄丸抗肿瘤作用及其免疫清除功能的实验研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(8): 1499-1501.
- [8] 金 娟, 李志鸿. 西黄丸联合化疗治疗乳腺癌 30 例 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 715-716.
- [9] 吴 超. 西黄丸抗肿瘤活性组分筛选及与西黄滴丸药效学和化学成分的比较研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.
- [10] 马 杰, 杨 伟, 关 硕, 等. 西黄丸乙醇提取物抗肿瘤作用及其免疫学机制实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(4): 43-45.
- [11] 王海燕, 田 菲. 西黄丸联合介入化疗治疗中晚期恶性肿瘤 26 例近期疗效观察 [J]. 云南中医中药杂志, 2012, 33(3): 27-28.
- [12] 沈雁鸣. 西黄丸联合西医治疗乳腺癌随机平行对照研究 [J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(3): 127-128.
- [13] Zimmer A, Gespach C. Bile acids and derivatives, their nuclear receptors FXR, PXR and ligands: role in health and disease and their therapeutic potential [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2008, 8(5): 540-563.
- [14] Swales K E, Korbonits M, Carpenter R, et al. The farnesoid X receptor is expressed in breast cancer and regulates apoptosis and aromatase expression [J]. Cancer Res, 2006, 66(20): 10120-10126.