

## · 药理与临床 ·

## 过山蕨总黄酮抗肺癌作用及其对赖氨酰氧化酶抑制活性

刘迎辉, 戚笑笑, 李红, 刘霖鑫, 侯西栋, 李刚刚, 王沛, 杜钢军\*

河南大学药学院 药物研究所, 河南 开封 475004

**摘要:** 目的 观察过山蕨总黄酮对小鼠肺癌的干预作用, 研究其可能的抗肿瘤机制。方法 乌拉坦致小鼠肺癌模型观察过山蕨总黄酮(30、100 mg/kg)对小鼠 Lewis 肺癌的预防作用, 小鼠 Lewis 肺癌被动转移模型考察过山蕨总黄酮(30、100 mg/kg)对小鼠肺癌转移的影响, 小鼠 Lewis 肺癌复发模型验证过山蕨总黄酮(30、100 mg/kg)对小鼠肺癌的机体微环境清道夫作用, Western blotting 和免疫组化染色法考察过山蕨总黄酮(30、100 mg/kg)对肺癌组织赖氨酰氧化酶(LOX)的影响, 通过检测毛细血管通透性考察过山蕨总黄酮对肺癌组织的血管正常化作用。结果 过山蕨总黄酮高、低剂量(100、30 mg/kg)均能显著降低乌拉坦诱导的小鼠肺癌发生率, 明显减少小鼠 Lewis 肺癌被动转移率和小鼠 Lewis 肺癌皮下肿瘤切除后复发率。过山蕨总黄酮高、低剂量均能显著下调小鼠肺癌组织 LOX 表达, 阻止肿瘤切除小鼠血清脂质过氧化物形成, 促进肺癌组织血管正常化。结论 过山蕨总黄酮可能通过抑制 LOX 表达实现对肺癌的干预作用。

**关键词:** 过山蕨总黄酮; 肺癌; 赖氨酰氧化酶; 血管正常化; 肺癌转移

**中图分类号:** R286.91 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)24-3573-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.24.014

## Anti-lung cancer effect of total flavonoids from *Camptosorus sibiricus* and their inhibition on lysyl oxidase

LIU Ying-hui, QI Xiao-xiao, LI Hong, LIU Lin-xin, HOU Xi-dong, LI Gang-gang, WANG Pei, DU Gang-jun  
Intitute of Pharmacy, Pharmaceutical College, Henan University, Kaifeng 475004, China

**Abstract: Objective** To observe the intervention of total flavonoids from *Camptosorus sibiricus* (TFCS) on lung cancer in mice and to study its possible antitumor mechanism. **Methods** The lung cancer model induced by urethane was used to investigate the preventive action of TFCS on lung cancer, the passive pulmonary metastatic model of Lewis lung cancer was used to evaluate the effect of TFCS on tumor metastasis, the scavenger effect of TFCS on system microenvironment was observed in the recurrent tumor model of Lewis lung cancer, the effect of TFCS on lysyl oxidase (LOX) was investigated by Western blotting and immunohistochemical staining, and the vascular normalization function of TFCS was examined by capillary permeability in carcinogenetic lung tissues. **Results** TFCS (30 and 100 mg/kg) could decrease the lung carcinogenesis induced by urethane and reduce the passive pulmonary metastasis and recurrence after tumor removal in Lewis lung cancer-bearing mice. TFCS (30 and 100 mg/kg) could also downregulate the expression of LOX in lung cancer tissue, prevent serum lipid peroxide formation in mice with tumor removal, and promote vascular normalization of lung cancer tissue. **Conclusion** TFCS as an LOX inhibitor has a definite preventive action on lung cancer. **Key words:** total flavonoids from *Camptosorus sibiricus*; lung cancer; lysyl oxidase; vascular normalization; lung cancer metastasis

肿瘤是严重危害人体健康的重大疾病, 虽然传统的治疗方法如手术、化疗和放疗对早期肿瘤控制有了很好疗效, 但由于肿瘤早期症状的隐蔽性, 多数恶性肿瘤一发现即处于中晚期, 加上目前肿瘤发生的病因不完全清楚, 进一步探索肿瘤发生的原因

和发现新的治疗药物仍是肿瘤研究的重要任务<sup>[1]</sup>。低氧是实体肿瘤的一个典型特征, 利用这个现象制造的  $2-(^{18}\text{F})\text{-D}$ -脱氧葡萄糖-正电子发射断层扫描技术(FDG-PET)已广泛用于肿瘤影像学诊断, 其在鉴别肿块良、恶性及评价其恶性程度, 判断淋巴结

收稿日期: 2014-03-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81173094); 河南省高校青年骨干教师项目(2010GGJS-025)

作者简介: 刘迎辉(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤药理学。E-mail: lyh\_8811@163.com

\*通信作者 杜钢军, 教授。Tel: 15037883506 E-mail: dgilhh@163.com

转移及远处转移, 辅助临床分期和评估治疗疗效及预后等方面均发挥着重大作用<sup>[2]</sup>。低氧微环境有利于肿瘤细胞抵抗凋亡和基因异质性, 对肿瘤的发生、发展和转移均有促进作用, 也降低肿瘤细胞对放化疗的敏感性, 是制约肿瘤患者治疗效果的主要障碍之一<sup>[3]</sup>, 靶向低氧微环境已经成为发展肿瘤治疗新方法的重要措施。

赖氨酰氧化酶 (lysyl oxidase, LOX) 是一种以铜离子为辅酶、催化细胞外环境中胶原和弹性蛋白共价交联的氨基氧化酶, 决定着细胞外基质和结缔组织的机械性能, 也是肿瘤低氧微环境主要的调控因子低氧诱导因子的执行者<sup>[4]</sup>, 在多种肿瘤中都有明显上调, 对肿瘤发展和转移有促进作用, 是目前肿瘤治疗潜在的重要靶点之一<sup>[5]</sup>。

过山蕨又名马蹄草、还阳草、过桥草, 为铁角蕨科植物过山蕨 *Camptosorus sibiricus* Rupr. 的地上部分, 主产于东北、华北、西北、内蒙古等地, 历代本草未见有关其药用记载, 民间用于治疗外伤出血、子宫出血、血栓闭塞性脉管炎、神经性皮炎、脑栓塞引起的偏瘫以及糖尿病并发症等<sup>[6]</sup>。现代药理研究表明过山蕨水、醇提取液对兔耳血管、蟾蜍后肢血管以及家兔肢体后肢血管有扩张作用, 其有效部位为黄酮和有机酸<sup>[7]</sup>。过山蕨总黄酮是多功能自由基清道夫<sup>[8]</sup>, 推测其可能有很好的预防肿瘤作用, 本研究对其在潜在的抗肿瘤作用及其与抑制 LOX 的相关性进行研究, 为其临床应用提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

过山蕨, 购自开封市天济堂药店, 经河南大学药学院中药鉴定室丛悦教授鉴定为过山蕨 *Camptosorus sibiricus* Rupr. 的地上部分, 并由河南大学药物研究所提取其总黄酮, 分光光度法测定 (以芦丁计) 质量分数 > 65%。丙二醛 (MDA) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); LOX 兔抗鼠多克隆抗体、羊抗兔 IgG-HRP (武汉博士德生物工程有限公司)。乌拉坦 (上海博湖生物技术有限公司); 伊文思蓝 (上海恒远生物科技有限公司); 阿霉素 (浙江海正药业股份有限公司, 批号 20120416)。

### 1.2 动物与细胞

C57BL/6 小鼠, 雄性, 体质量 18~22 g, 北京维通利华实验动物有限公司提供, 动物许可证号 SCXK (京) 20090002, 饲养于河南大学实验动物

中心, 自由饮食及饮水。

Lewis 肺癌细胞, 购自中国科学院上海细胞库。

## 1.3 仪器

UV—2000 型紫外可见光分光光度计 (上海尤尼柯仪器有限公司); LGR16—W 型高速冷冻离心机 (北京京立离心机有限公司); 800 型酶标仪 (Bio-Tek 公司); DYY—7C 电泳仪 (北京六一仪器厂); XDS—500D 型倒置荧光显微镜 (上海蔡康光学仪器有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 对乌拉坦致小鼠肺癌的影响

将 80 只 C57BL/6 小鼠适应性喂养 1 周后随机分为 4 组, 每组 20 只, 分别为对照组、模型组、过山蕨总黄酮低和高剂量 (30、100 mg/kg) 组。对照组和模型组正常饮食和饮水, 过山蕨总黄酮各剂量组按每只小鼠日食量将过山蕨总黄酮按所需剂量加入饲料, 制备各剂量组含药饲料喂饲小鼠, 从实验分组后开始到处死小鼠全程喂饲。除对照小鼠外, 其他各组小鼠于实验第 1 天 ip 乌拉坦 800 mg/kg, 每周 1 次, 共 10 次。第 30 周每组取 10 只小鼠采血, 分离血清, 按试剂盒说明检测 MDA; 颈椎脱臼法处死小鼠, 剥离取出全肺组织, 计数各组出现肺肿瘤的小鼠数量和每只小鼠肺表面出现的肿瘤结节数; 取部分癌变的肺组织用 3.8% 多聚甲醛固定, 进行免疫组化染色; 另将小鼠肺脏于 -80 °C 冻存, 用于癌组织 LOX 检测。每组中的另 10 只小鼠, 尾 iv 2% 伊文思蓝 20 mg/kg, 30 min 后处死小鼠, 剥离取出全肺组织, 计数各组出现肺肿瘤的小鼠数量和每只小鼠肺表面出现的肿瘤结节数; 剪碎肺组织置玻璃匀浆器中按肺质量-生理盐水 (1:9) 研磨制成肺组织匀浆, 以 100 mg 肺组织加 2 mL 甲酰胺的比例混合, 37 °C 水浴 24 h, 离心取上清, 蒸馏水作空白对照, 620 nm 下测吸光度 (A) 值, 通过标准曲线以单位组织中染料提取量来反映肺毛细血管通透性。

### 2.2 对小鼠 Lewis 肺癌被动转移的影响

取对数生长期 Lewis 肺癌细胞, 用生理盐水调细胞数  $5 \times 10^5$ /mL, 以 0.2 mL/只 iv 接种于 40 只 C57BL/6 小鼠。将接种肿瘤细胞的小鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 分别为模型组、过山蕨总黄酮低和高剂量 (30、100 mg/kg) 组、阿霉素 (5 mg/kg) 组, 另设 10 只未接种肿瘤的小鼠平行饲养为对照组。肿瘤接种后次日, 模型组 and 对照组 ig 生理盐水

10 mL/kg; 过山蕨总黄酮低和高剂量组分别 ig 相应剂量的过山蕨总黄酮水溶液, 每日 1 次, 连续 3 周; 阿霉素组尾 iv 给药 5 mg/kg, 每隔 7 天给药 1 次, 共 3 次。第 22 天, 每组随机取 5 只小鼠采血, 分离血清, 按试剂盒说明检测 MDA; 颈椎脱臼法处死小鼠, 剥离取出全肺组织, 计数各组小鼠肺表面出现的肿瘤结节数; 并取部分瘤组织用 3.8% 多聚甲醛固定, 进行免疫组化染色; 另将瘤组织于 -80 °C 冻存, 用于瘤组织 LOX 检测。每组中的另 5 只小鼠, 按“2.1”项下 iv 伊文思蓝处理, 同法测定肺毛细血管通透性。

### 2.3 对小鼠 Lewis 肺癌皮下肿瘤切除复发的影响

取对数生长期 Lewis 肺癌细胞, 用生理盐水调细胞数  $5 \times 10^5$ /mL, 以 0.2 mL/只接种于 80 只 C57BL/6 小鼠右前肢腋部皮下, 建立小鼠皮下移植瘤模型。分组同“2.2”项, 每组 20 只小鼠。肿瘤接种 2 周后手术切除皮下肿瘤, 手术恢复 1 周后按“2.2”项给药方法给药, 观察肿瘤手术切除后 60 d 内各组小鼠的肿瘤复发及存活情况。实验全程结束后各组从剩余小鼠中取 5 只, 采血, 检测血清 MDA, 另取 5 只按“2.1”项下 iv 伊文思蓝处理, 同法测定肺毛细血管通透性。

### 2.4 Western blotting 法检测肺癌组织 LOX 表达

将冻存的肺癌组织用 RIPA 强裂解液 (50 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 1% TritonX-100, 1 mmol/L EDTA, 100 mmol/L NaVO<sub>3</sub>, 1 mmol/L PMSF, 0.1% SDS, 1% 去氧胆酸钠, 另加蛋白酶抑制剂混合物) 提取蛋白。上样 50 μg 蛋白, 经 10% SDS-PAGE 电泳分离后转移至 PVDF 膜上, 4 °C、5% 脱脂奶粉-Tris 盐酸缓冲液 (TBS) 封闭, 将鼠抗 LOX 多克隆抗体 (1:100) 或鼠抗 β-actin 加入含 5% 脱脂奶粉的 TBS 中, 室温下与 PVDF 膜结合孵育 1 h, 再与辣根过氧化物酶偶联的鼠抗 IgG (1:200) 二抗室温下在含 5% 脱脂奶粉的 TBS 中结合孵育 30 min。抗原抗体结合物检测用化学发光增强底物试剂盒进行, 光带强度用 LOX 和 β-actin 的强度比值表示。

### 2.5 免疫组化染色法检测肺癌组织 LOX 表达

将贴附于防脱载玻片上的肺癌组织石蜡切片, 经常规脱蜡和水化后于 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液中室温孵育 10 min, 消除内源性过氧化物酶的活性; 将切片放入柠檬酸缓冲液微波煮沸 5 min × 2 次修复抗原; 5% BSA 室温封闭 20 min, 倾去多余液体, 滴加 1:50

稀释的 LOX 兔抗鼠多克隆抗体, 4 °C 过夜; PBS 洗 3 次后, 生物素化羊抗兔 IgG (1:100) 37 °C 孵育 20 min; PBS 冲洗 3 次后滴加 SABC, 37 °C 孵育 20 min; PBS 冲洗 3 次后 DAB 显色剂显色, 苏木素轻度核复染, 封片后在光镜下观察。

### 2.6 统计方法

采用 SPSS 16.0 软件分析, 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用方差分析。

## 3 结果

### 3.1 对乌拉坦致小鼠肺癌的影响

模型组 20 只小鼠全部发生肺癌, 平均每鼠发生肺肿瘤结节的数目为 11.8 个; 过山蕨总黄酮低和高剂量组各 20 只小鼠发生肺癌的小鼠分别为 15 只和 11 只, 平均每鼠发生肺肿瘤结节的数目分别为 7.6 个和 4.5 个, 见表 1。血清 MDA 及肺毛细血管通透性检测结果表明, 模型组小鼠比对照组小鼠有较高的血液 MDA 水平和较高的肺毛细血管通透性 ( $P < 0.01$ ), 过山蕨总黄酮低和高剂量均能显著降低乌拉坦致癌小鼠血液 MDA 水平和肺毛细血管通透性 ( $P < 0.01$ ), 见表 2 和 3。

表 1 过山蕨总黄酮对乌拉坦致小鼠肺癌的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 Effect of TFCS on lung cancer induced by urethane ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	致癌小鼠 / 只	肺结节 / 个 (n=10)
模型	—	20	11.8±3.3
过山蕨总黄酮	100	11	4.5±2.4**
	30	15	7.6±2.5**

与模型组比较: \*\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs model group

### 3.2 对小鼠 Lewis 肺癌被动转移的影响

小鼠 Lewis 肺癌被动肺转移后, 模型组 10 只小鼠肺部均出现多处肿瘤转移结节, 与模型组比较, 过山蕨总黄酮低和高剂量组小鼠发生肺转移的数量和肺转移结节数均有明显减少, 见表 4。血清 MDA 和肺毛细血管通透性检测结果表明, 模型组小鼠比对照组小鼠有较高的血清 MDA 水平和较高的肺毛细血管通透性 ( $P < 0.01$ ), 过山蕨总黄酮低和高剂量均能显著降低肺转移小鼠血清 MDA 水平和肺毛细血管通透性 ( $P < 0.01$ )。阿霉素虽然不影响肿瘤转移, 但增加血清 MDA 水平肺毛细血管通透性 ( $P < 0.05$ 、0.01), 见表 2 和 3。

表 2 过山蕨总黄酮对荷瘤小鼠血清 MDA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect of TFCS on serum MDA in tumor-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	血清 MDA / (nmol·L <sup>-1</sup> )		
		乌拉坦致肺癌小鼠 (n=10)	癌肺转移小鼠 (n=5)	肺癌手术切除小鼠 (n=5)
对照	—	2.48±0.32**	2.26±0.28**	2.39±0.31**
模型	—	5.13±0.76	4.18±0.51	4.52±0.53
过山蕨总黄酮	100	2.97±0.36**	2.71±0.35**	2.83±0.35**
	30	3.55±0.42**	3.19±0.39**	3.41±0.42**
阿霉素	5	—	5.22±0.63*	5.75±0.68**

与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01, 下同

\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs model group, same as below

表 3 过山蕨总黄酮对荷瘤小鼠毛细血管通透性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of TFCS on capillary permeability in tumor-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	肺毛细血管通透性 / (μg·g <sup>-1</sup> )		
		乌拉坦致肺癌小鼠 (n=10)	癌肺转移小鼠 (n=5)	肺癌手术切除小鼠 (n=5)
对照	—	35.4±4.1**	34.1±4.0**	36.2±4.2**
模型	—	68.2±8.3	48.6±5.2	51.4±6.1
过山蕨总黄酮	100	41.3±6.2**	36.8±4.3**	38.5±4.4**
	30	53.4±7.1**	39.1±4.5**	41.6±4.5**
阿霉素	5	—	61.3±7.4**	65.4±7.6**

表 4 过山蕨总黄酮对小鼠 Lewis 肺癌被动转移的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of TFCS on passive pulmonary metastasis of Lewis lung cancer in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	肺转移 小鼠 / 只	肺结节 / 个 (n=5)
模型	—	10	22.4±5.6
过山蕨总黄酮	100	6	8.3±4.2**
	30	8	12.5±4.3**
阿霉素	5	10	23.2±6.4**

### 3.3 对小鼠 Lewis 肺癌皮下肿瘤切除复发的影响

模型组小鼠手术切除肿瘤后 20 只有 17 只肿瘤复发, 肿瘤复发小鼠全部有肺转移; 与模型组比较, 过山蕨总黄酮低和高剂量组手术后小鼠肿瘤复发率均明显降低, 且肿瘤复发小鼠发生肺转移的比率也降低, 肺结节数明显降低 (P<0.05、0.01), 见表 5。血清 MDA 及肺毛细血管通透性检测结果表明, 模型组小鼠比对照组小鼠有较高的血清 MDA 水平和较高的肺毛细血管通透性 (P<0.01), 过山蕨总黄酮低和高剂量均能显著降低小鼠血清 MDA 水平和肺毛细血管通透性 (P<0.01), 见表 2 和 3。阿霉素组手术后小鼠肿瘤均全部复发, 且肺转移结节增多 (P<0.05), 血清 MDA 水平升高 (P<0.01),

表 5 过山蕨总黄酮对小鼠 Lewis 肺癌皮下肿瘤切除复发的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Effect of TFCS on recurrence after tumor removal in Lewis lung cancer-bearing mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	复发小 鼠 / 只	肺转移 小鼠 / 只	肺结节 / 个 (n=5)
模型	—	17	17	9.2±2.1
过山蕨总黄酮	100	8	5	4.1±2.0**
	30	12	9	5.3±2.1*
阿霉素	5	20	20	13.8±3.0*

肺毛细血管通透性增强 (P<0.01)。

### 3.4 对肺癌组织 LOX 表达的影响

Western blotting 及免疫组化染色结果表明, 肺癌组织与相应的正常组织比较, LOX 的表达明显升高, 过山蕨总黄酮低和高剂量均明显下调肺癌组织中 LOX 的表达, 见图 1。阿霉素组肺癌组织中 LOX 表达增加。

### 4 讨论

传统的肿瘤治疗药物均以肿瘤为治疗对象, 我国的传统医学认为“正气所在、邪不可干”, 为肿瘤的靶向微环境治疗提供了较好思路。肿瘤的演变一般要经历不典型增生-癌前病变-癌的发展过程,

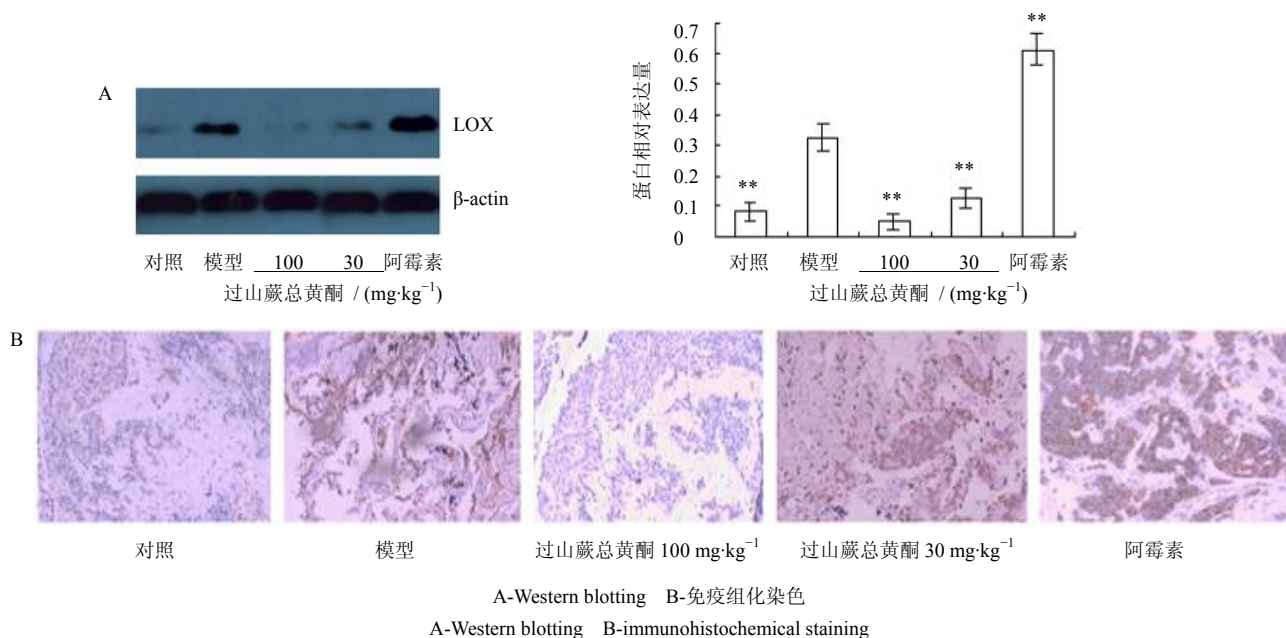


图 1 过山蕨总黄酮对肺癌组织 LOX 表达的影响

Fig. 1 Effect of TFCS on expression of LOX in lung cancer tissue

在这个过程中，与其说是肿瘤的发展导致了机体微环境的改变，不如说是机体微环境的改变促进了肿瘤发展。事实上我国的中医药文化早就提出“治病先治人”的“带瘤生存”肿瘤治疗理念。过山蕨是一味民间草药，《河南地方志》中有治疗肝癌的记载<sup>[9]</sup>。文献总结提出过山蕨总黄酮是一个多功能的自由基清道夫，推测可能有预防肿瘤的潜能。本实验结果表明，过山蕨总黄酮对乌拉坦诱导的小鼠肺癌有预防作用，可以阻止 Lewis 肺癌肺转移和术后复发，与传统肿瘤化疗药物阿霉素增加肿瘤术后复发比较有明显优势。

调节机体微环境正常化是中药阻止肿瘤发展的主要机制，研究表明，肿瘤内部血管异常是造成肿瘤微环境异常的重要因素<sup>[10]</sup>。肿瘤血管表现为结构和功能异常，从而导致肿瘤血流分布异质性、间质高压、缺氧和酸中毒、对放化疗的敏感性降低、侵袭性和转移能力增强等<sup>[11]</sup>。机体微环境中的有害物质通过不同途径产生机体毒素损害机体，为肿瘤的发生创造了良好环境，最终使血液 MDA 增加<sup>[12]</sup>，而血管正常化的标志是毛细血管通透性<sup>[13]</sup>。本研究结果表明，过山蕨总黄酮在乌拉坦诱导的肺癌小鼠体内、Lewis 肺癌肺转移小鼠体内及 Lewis 肺癌手术切除后的小鼠体内均能降低血液 MDA 水平，起到血液清道夫作用。过山蕨总黄酮在致癌的肺组织中能降低毛细血管通透性，显示良好的肿瘤血管正

常化作用，这可能是过山蕨总黄酮预防肿瘤的重要原因之一。

肿瘤缺氧是肿瘤发展的动力，也是肿瘤血管异常的主要原因<sup>[14]</sup>。LOX 是低氧信号级联放大的下游掌控者<sup>[15]</sup>，建立在过山蕨总黄酮使肿瘤血管正常化基础上，探索了其预防肺癌与调节 LOX 表达的相关性。实验结果表明，过山蕨总黄酮在致癌肺组织中能下调 LOX 表达，与其降低毛细血管通透性、阻止肿瘤复发和转移一致。结合阿霉素损害血管、上调 LOX 增加肿瘤复发和转移的机率，推测过山蕨总黄酮可以是一个 LOX 抑制剂，有良好的肿瘤预防前景。

#### 参考文献

- [1] 乔建华. 浅谈中医药对肿瘤的认识及其地位 [J]. 中外健康文摘, 2011, 8(41): 136-137.
- [2] 刘 哲, 朱允中. 正电子发射断层扫描在肺癌诊断和治疗中的应用 [J]. 中国肺癌杂志, 2000, 3(4): 311-313.
- [3] 孙学英, 姜 宪, 姜洪池. 针对肿瘤缺氧微环境探寻新的治疗方法 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(17): 1741-1746.
- [4] Heddleston J M, Li Z, Lathia J D, et al. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells [J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(5): 789-795.
- [5] Erler J T, Bennewith K L, Nicolau M, et al. Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis [J]. *Nature*, 2006, 440(7088): 1222-1226.

- [6] 李 宁, 李 锐, 杨世林, 等. 过山蕨中含杂原子类及多元醇类成分的分离鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(6): 368-369.
- [7] 李 宁, 李 锐, 冯志国, 等. 过山蕨中黄酮类成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(14): 1049-1052.
- [8] 杨鑫宝, 刘建勋, 杨秀伟. 过山蕨化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国现代中药, 2012, 14(5): 18-22.
- [9] 黄秀曼, 杜钢军, 孙 婷, 等. 过山蕨总黄酮对肝损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2458-2463.
- [10] 游 捷. 肿瘤微环境和血管正常化在中西医结合治疗肿瘤中的作用机制探讨 [J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(8): 1127-1131.
- [11] Goel S, Duda D G, Xu L, *et al.* Normalization of the vasculature for treatment of cancer and other diseases [J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(3): 1071-1121.
- [12] Fidler I J. The role of the organ microenvironment in brain metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2011, 21(2): 107-112.
- [13] Jain R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307(5706): 58-62.
- [14] Benizri E, Ginouvès A, Berra E. The magic of the hypoxia-signaling cascade [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(7/8): 1133-1149.
- [15] Gao Y J, Xiao Q, Ma H M, *et al.* LKB1 inhibits lung cancer progression through lysyl oxidase and extracellular matrix remodeling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(44): 18892-18897.