

辛伐他汀联合顺铂对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖的抑制作用

刘建生¹, 刘书斌¹, 熊丽娇², 王 萍²

1. 赣州市人民医院 肿瘤科, 江西 赣州 341000

2. 赣南医学院第一附属医院 呼吸科, 江西 赣州 341000

摘要: **目的** 研究辛伐他汀联合顺铂对人非小细胞肺癌 A549 细胞的抑制作用, 并探讨其作用机制。**方法** 采用 MTT 法检测 0.625、1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂和 3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀对 A549 细胞增殖抑制率的影响; 考察 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂与 3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀联用对 A549 细胞增殖抑制作用的协同效果; Annexin V-FITC/PI 双染后流式细胞术检测 5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂与 25 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀联合应用对 A549 细胞凋亡率的影响; 分光光度法检测辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 联合顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 对 A549 细胞 caspase-3 活性的影响。**结果** 辛伐他汀或顺铂对 A549 细胞的增殖有显著的抑制作用, 随着浓度的增加、时间的延长, 呈时间、剂量相关性, 其抑制作用增强 ($P < 0.01$)。顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 与不同浓度 (3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$) 辛伐他汀联用对 A549 细胞的增殖有抑制作用, 随着时间的延长, 辛伐他汀剂量的增加, 两者联用抑制作用呈增强的趋势 ($P < 0.01$), 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂联用辛伐他汀 25 $\mu\text{mol/L}$ 的抑制作用具有协同效果。25 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀和 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂能有效地诱导 A549 细胞的凋亡, 而且两者联合使用可以显著增加 A549 细胞的凋亡率。25 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀联合 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂应可以显著增加 A549 细胞的 caspase-3 酶活性。**结论** 辛伐他汀能够显著增强顺铂对 A549 细胞增殖抑制、诱导凋亡的作用, 可能通过上调 caspase-3 活性诱导 A549 细胞凋亡。

关键词: 辛伐他汀; 顺铂; A549 细胞; 抑制作用; 凋亡; caspase-3 活性

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)12-2304-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.12.004

Inhibition of simvastatin combined with cisplatin on human non-small cell lung carcinoma A549 cells

LIU Jian-sheng¹, LIU Shu-bin¹, XIONG Li-Jiao², WANG Ping²

1. Department of Oncology, Ganzhou People's Hospital, Ganzhou 341000, China

2. Department of Respiration, First Affiliated Hospital of Gannan Medical College, Ganzhou 341000, China

Abstract: Objective To evaluate inhibitory effect of simvastatin combine with cisplatin on non-small cell lung carcinoma A549 cell, and explore its mechanism. **Methods** Effects of 0.625, 1.25, 2.5, 5, and 10 $\mu\text{mol/L}$ cisplatin and 3.125, 6.25, 12.5, 25, and 50 $\mu\text{mol/L}$ simvastatin on the proliferation inhibition rate of A549 cells were determined by MTT method. Synergistic effects of 2.5 $\mu\text{mol/L}$ cisplatin combined with 3.125, 6.25, 12.5, 25, and 50 $\mu\text{mol/L}$ simvastatin on the proliferation inhibition of A549 cells were studied. Annexin V-FITC/PI double staining flow cytometry was used to detect the effect of 5 $\mu\text{mol/L}$ cisplatin combined with 25 $\mu\text{mol/L}$ simvastatin on the apoptosis rates of A549 cells. Effects of simvastatin (25 $\mu\text{mol/L}$) combined with cisplatin (2.5 $\mu\text{mol/L}$) on the caspase-3 activity of A549 cells were measured by spectrophotometry. **Results** Simvastatin or cisplatin could significantly inhibit the proliferation of A549 cells in a concentration- and time-dependent manner. With the increase of concentration and the prolongation of time, the inhibitory effect was enhanced ($P < 0.01$). Cisplatin (2.5 $\mu\text{mol/L}$) combined with simvastatin with different concentrations (3.125, 6.25, 12.5, 25, and 50 $\mu\text{mol/L}$) had inhibition on proliferation of A549 cells. With time extension and simvastatin increase, the inhibition was enhanced with the trend of combination ($P < 0.01$). Cisplatin (2.5 $\mu\text{mol/L}$) combined with simvastatin (25 $\mu\text{mol/L}$) had synergistic effect on inhibitory effects. Simvastatin (25 $\mu\text{mol/L}$) and cisplatin (2.5 $\mu\text{mol/L}$) could effectively induce apoptosis of A549 cells, and the combination could significantly increase the apoptosis rate of A549 cells. The

收稿日期: 2017-09-18

基金项目: 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ14688)

作者简介: 刘建生 (1973—), 男, 医学硕士, 副主任医师, 副教授, 硕士生导师, 主要从事肺部恶性肿瘤的化学治疗及基础研究工作。

Tel: 18007971977 E-mail: cxlpumc@163.com

caspase-3 activity of A549 cells could be significantly enhanced treated by simvastatin (25 $\mu\text{mol/L}$) and cisplatin (2.5 $\mu\text{mol/L}$).

Conclusion Simvastatin can significantly enhance the proliferation inhibition and apoptosis induced by cisplatin in A549 cells, and it may induce apoptosis of A549 cells by up regulation of caspase-3 activity.

Key words: simvastatin; cisplatin; A549 cell; inhibitory effect; apoptosis; caspase-3 activity

肺癌作为我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤,临床诊断时多数患者往往出现了远处转移,病情属于中晚期,失去手术根治的机会,目前对于没有基因突变的晚期非小细胞肺癌一线治疗仍以化疗为主,尤其是以铂类药物为基础的联合化疗最为常用。顺铂的作用主要靶点是DNA,其进入肿瘤细胞后水解成双氯双氨铂,与DNA形成铂-DNA加合物,干扰DNA的复制和转录,导致DNA错配,诱发细胞凋亡。单用顺铂易引起多药耐药,且毒副作用大,因此寻找高效低毒又能增强放疗敏感性的药物已成为当今的研究热点。研究发现,他汀类药物通过抑制肿瘤细胞增殖、侵袭和转移,诱导肿瘤凋亡和减少毛细血管生成等多通路的作用,在抑制多数癌细胞如乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、黑色素瘤、膀胱癌等的生长方面均显示出良好效果^[1-3]。为了探讨他汀类药物联合铂类药物在肺癌中的可行性,本研究观察了辛伐他汀联合顺铂对A549细胞增殖的抑制作用,并阐明作用机制,为辛伐他汀联合铂类治疗肺癌的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

辛伐他汀(质量分数 $\geq 97\%$,货号S6196)、顺铂(质量分数98.5%,货号P4394)、DMSO(质量分数 $\geq 99.9\%$,货号D5879)、MTT(质量分数 $\geq 97.5\%$,货号M5655)购于美国Sigma公司;DMEM高糖培养基(规格500 mL,货号11965-092)、胎牛血清(规格500 mL,货号10099-141)、胰酶(规格100 mL,货号25200-056)购于美国Gibco公司;Annexin V-FITC/PI(规格50次,货号V13241)双染流式细胞检测试剂盒购于美国Invitrogen公司;Caspase-3检测试剂盒(规格 >20 次,货号AC031)购自碧云天生物技术研究。美国BD biosciences公司FACS Calibur流式细胞仪。

1.2 细胞培养

人肺腺癌细胞A549为赣州市人民医院保存,用含4~5 mmol/L谷氨酰胺、100 U/mL青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素、10%FBS的DMEM高糖培养基培养于含5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 、4~5 mmol/L谷氨酰胺、100 U/mL青霉素、100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素饱和湿度的细胞培

养箱中。细胞单层贴壁生长。隔2 d传代,取对数生长期细胞进行实验。

1.3 MTT法检测细胞增殖

取对数生长期A549细胞,胰酶处理,计数,调整密度后以2 000个/孔接种于96孔板,放入培养箱培养,待A549细胞贴壁后小心弃去原培养液,加入含药物的培养液进行处理。辛伐他汀、顺铂分别用DMSO、双蒸水制备储备液,培养液稀释,-20 $^{\circ}\text{C}$ 储存;均采用培养液稀释,将实验分为空白组(不种植细胞,单加培养液)、对照组(DMSO)、辛伐他汀组、顺铂组、辛伐他汀联合顺铂组,给予不同终浓度的顺铂(0.625、1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$)和辛伐他汀(3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$),作用于细胞24、48、72 h时后,每孔加入5 mg/mL MTT 20 μL ,4 h后弃去上清,加入150 μL DMSO,振荡后570 nm波长处测定吸光度(A)值。每组6个复孔,实验重复3次,计算增殖抑制率。

增殖抑制率=[1-(实验组A值-空白组A值)/(对照组A值-空白组A值)]

1.4 合用指数的计算

根据不同浓度的药物单用和联用抑制率,采用Calculusyn软件对辛伐他汀、顺铂不同浓度单用抑制率及相应浓度联用抑制率等数据进行分析处理,得到合用指数(combination index, CI)值。根据合用指数定义判断药物协同作用,小于0.9为协同作用,0.9~1.10为叠加作用,大于1.10为拮抗作用。

1.5 Annexin V-FITC/PI流式细胞仪检测

取对数生长期、浓度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 的细胞接种于6孔板中,每孔2 mL,采用辛伐他汀(25 $\mu\text{mol/L}$)组、顺铂(2.5 $\mu\text{mol/L}$)组、辛伐他汀(25 $\mu\text{mol/L}$)联合顺铂组(2.5 $\mu\text{mol/L}$)和对照组作用72 h、胰酶消化后收集细胞,按 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 加入结合缓冲液重悬,按照Annexin V-FITC/PI双染试剂盒说明进行操作,加入5 μL Annexin V-FITC,避光10 min后离心,弃上清,再次加入缓冲液重悬,加入10 μL PI染色液,混匀后4 $^{\circ}\text{C}$ 避光染色15 min,30 min内进行上机检测。每组3个复孔,实验重复3次。

1.6 分光光度测定Caspase-3活性

取对数生长期细胞,设置浓度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$,

接种于 12 孔板, 每孔 1 mL。采用辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 组、顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组、辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 联合顺铂组 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 和对照组作用 24 h、胰酶消化后将细胞收集于 EP 管内, 根据 Caspase-3 试剂盒说明进行操作, 酶标仪在 405 nm 波长处进行读数 A_{405} , 设定对照组数据为 0。实验重复 3 次, 每组 6 个复孔, 计算 Caspase-3 活性 (U)。

$$U = A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

1.7 统计分析

采用 SPSS 17.0 软件包进行数据分析, 计量资

料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数比较用 t 检验, 组间比较采用方差分析。

2 结果

2.1 辛伐他汀或顺铂对 A549 细胞增殖的影响

辛伐他汀或顺铂对 A549 细胞的增殖有显著的抑制作用, 呈时间、剂量相关性, 随着浓度的增加、时间的延长, 其抑制作用增强 ($P < 0.01$), 见表 1。2.5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂或 25 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀作用 48 h 或 72 h 的增殖抑制率约 50%, 故以下实验顺铂、辛伐他汀选用的药物浓度分别为 2.5、25 $\mu\text{mol/L}$ 。

表 1 不同浓度辛伐他汀或顺铂作用不同时间对 A549 细胞抑制率的影响

Table 1 Effect of different concentrations and duration of simvastatin or cisplatin on inhibition rates of A549 cells

药物	浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
辛伐他汀	3.125	7.89 ± 1.42	$10.98 \pm 1.87^{##}$	$22.69 \pm 3.87^{##}$
	6.25	$10.05 \pm 2.13^{**}$	$15.67 \pm 2.28^{***}$	$30.48 \pm 2.88^{***}$
	12.5	$18.79 \pm 3.32^{**}$	$19.25 \pm 2.75^{***}$	$37.11 \pm 2.61^{***}$
	25	$25.47 \pm 5.57^{**}$	$32.36 \pm 2.76^{***}$	$45.69 \pm 3.37^{***}$
	50	$32.97 \pm 3.89^{**}$	$44.63 \pm 3.57^{***}$	$57.25 \pm 3.13^{***}$
顺铂	0.625	9.89 ± 2.32	$24.98 \pm 3.87^{##}$	$32.67 \pm 3.69^{##}$
	1.25	$18.05 \pm 3.12^{**}$	$35.67 \pm 4.28^{***}$	$47.38 \pm 2.89^{***}$
	2.5	$30.79 \pm 3.23^{**}$	$47.45 \pm 3.75^{***}$	$56.11 \pm 7.45^{***}$
	5	$39.47 \pm 3.17^{**}$	$56.36 \pm 2.36^{***}$	$72.69 \pm 7.24^{***}$
	10	$55.97 \pm 3.58^{**}$	$84.63 \pm 3.66^{***}$	$93.25 \pm 3.05^{***}$

与相同时间点最低剂量组比较: $^{**}P < 0.01$; 与相同浓度作用 24 h 组比较: $^{##}P < 0.01$

$^{**}P < 0.01$ vs lowest dosage group at the same time point; $^{##}P < 0.01$ vs treated for 24 h group at the same concentration

2.2 辛伐他汀联合顺铂对 A549 细胞增殖的协同效果

顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 与不同浓度 (3.125、6.25、12.5、25、50 $\mu\text{mol/L}$) 辛伐他汀联用对 A549 细胞的增殖有抑制作用, 随着时间的延长, 辛伐他汀剂量的增加, 两者联用抑制作用呈增强的趋势 ($P < 0.01$)。2.5 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂联用辛伐他汀 25 $\mu\text{mol/L}$ 的抑制作用明显强于单独使用辛伐他汀、顺铂组 ($P < 0.01$)。使用 CalcuSyn 软件计算, 顺铂联合辛伐他汀的 CI 小于 0.9, 提示两药合用具有协同效果。辛伐他汀在一定程度上能够协同顺铂抑制 A549 细胞的生长。见表 2。

2.3 辛伐他汀联合顺铂对 A549 细胞凋亡率的影响

辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 组、顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组、辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 联合顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组处理 A549 细胞 72 h 的凋亡率分别为 (49.22 ± 2.78) %、(63.60 ± 3.98) %、(91.49 ± 3.75) %, 均高于未处理的对照组 (4.55 ± 1.42) % ($P < 0.01$),

见图 1。辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 联合顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组 A549 细胞的凋亡率分别高于辛伐他汀组、顺铂组 ($P < 0.01$), 表明辛伐他汀和顺铂能有效地诱导 A549 细胞的凋亡, 而且两者联合使用可以显著增加 A549 细胞的凋亡率。

2.4 辛伐他汀联合顺铂对 A549 细胞 caspase-3 活性的影响

辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 组、顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组、辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 联合顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组处理 A549 细胞 24 h 后, caspase-3 酶活性均明显高于未处理的对照组 (定义为 1 U/mg) ($P < 0.01$)。且辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 联合顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组 A549 细胞的 caspase-3 酶活性分别高于辛伐他汀 (25 $\mu\text{mol/L}$) 组、顺铂 (2.5 $\mu\text{mol/L}$) 组 ($P < 0.05$)。表明辛伐他汀联合顺铂应可以显著增加 A549 细胞的 caspase-3 酶活性, 从而增加 A549 细胞的凋亡率, 见表 3。

表 2 辛伐他汀联合顺铂对 A549 细胞抑制率的影响

Table 2 Effects of simvastatin and cisplatin on inhibition rates of A549 cells

顺铂/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	辛伐他汀/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
0 (DMSO)	0 (DMSO)	1.23 ± 1.02	1.42 ± 1.37	1.37 ± 1.12
2.5	0	25.79 ± 3.23	$47.45 \pm 3.75^{##}$	$56.11 \pm 2.45^{##}$
2.5	3.125	$35.90 \pm 3.41^{**}$	$58.98 \pm 4.81^{***}$	$67.63 \pm 3.17^{***}$
2.5	6.25	$40.15 \pm 3.17^{**}$	$64.17 \pm 3.18^{***}$	$75.48 \pm 6.81^{***}$
2.5	12.5	$45.89 \pm 4.31^{**}$	$69.25 \pm 6.95^{***}$	$80.19 \pm 6.67^{***}$
2.5	25	$52.48 \pm 5.17^{**}$	$79.32 \pm 5.69^{***}$	$89.68 \pm 7.38^{***}$
2.5	50	$58.92 \pm 4.82^{**}$	$89.66 \pm 7.54^{***}$	$92.27 \pm 5.93^{***}$

与相同时间点最低剂量组比较: $^{**}P < 0.01$; 与相同浓度作用 24 h 组比较: $^{##}P < 0.01$ $^{**}P < 0.01$ vs lowest dosage group at the same time point; $^{##}P < 0.01$ vs treated for 24 h group at the same concentration

3 讨论

作为临床一线治疗高脂血症的药物, 辛伐他汀近年被多项研究证实具有抗肿瘤作用^[4]。肺癌患者经长期服用辛伐他汀后均可明显降低患病风险^[5-6], 使其成为可能提高肺癌疗效及改善预后的希望。

目前他汀类药物的抗癌作用可能与以下机制相关: (1) 通过影响细胞周期抑制肿瘤增殖, 同时调控信号转导分子 (caspase、survivin 家族等) 的表达诱导细胞凋亡^[7]。(2) 下调 VEGF 的表达, 增加血管通透性, 使更多的化疗药物进入瘤内和瘤周^[8]。(3) 抑制 MMP 合成和分泌, 维持血管基底膜完整性来抑制肿瘤细胞侵袭和转移^[9-10]。本研究中发现, 不同浓度的辛伐他汀作用于 A549 细胞均可抑制细胞的增殖和活力, 尤其以 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 辛伐他汀组作用显著 ($P < 0.01$), 且该作用呈剂量相关性和时间相关性, 这可能与诱导肿瘤细胞凋亡有关。

顺铂是治疗肺癌的一线药物, 但其耐药性和副反应一定程度上限制了临床使用和疗效^[6, 11]。研究显示, 顺铂对 A549 细胞有增殖抑制和诱导凋亡的作用^[12]。caspase-3 是细胞凋亡过程中最主要的执行者, 该酶活化后能剪切多聚 ADP-核糖、聚合酶 PARP 等使其不能正常地修复 DNA 和监测基因完整性, 可通过激活凋亡相关蛋白及启动蛋白酶原、级联放大凋亡信号来启动细胞凋亡^[13-14]。在本研究中, 辛伐他汀联合顺铂组与顺铂、辛伐他汀组比较, 抑瘤作用明显增强, 且显著增加 A549 细胞 caspase-3 的活性, 提示他汀类药物能够增强铂类药物的敏感性, 与顺铂具有协同增强作用, 辛伐他汀能够起到顺铂化疗增敏效果并依赖于上调 caspase-3 活性。

总之, 本研究发现辛伐他汀不但可抑制人肺癌细胞 A549 增殖, 而且还能显著增强顺铂对 A549

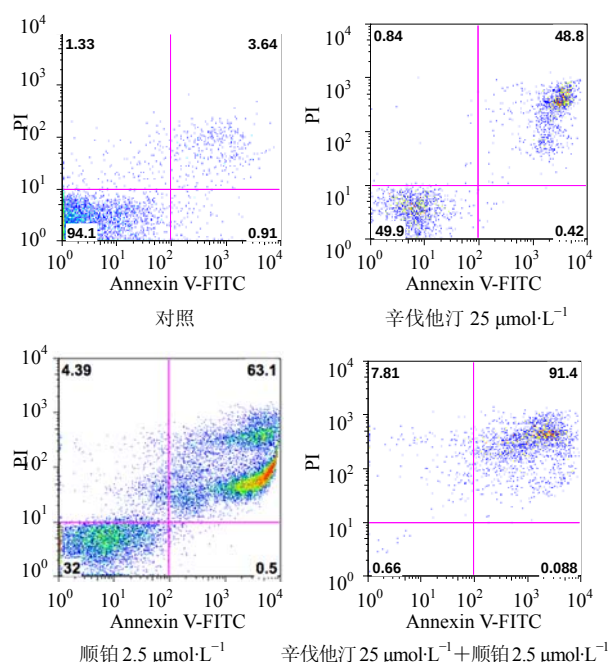


图 1 辛伐他汀和顺铂对 A549 细胞凋亡的影响

Fig. 1 Effects of simvastatin and cisplatin on apoptosis of A549 cells

表 3 辛伐他汀联合顺铂对 A549 细胞的 caspase-3 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)Table 3 Effect of simvastatin combined with cisplatin on activity of caspase-3 in A549 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	caspase-3 活性/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)
对照	—	1.00 ± 0.00
辛伐他汀	25	$3.71 \pm 1.07^{##}$
顺铂	2.5	$5.72 \pm 1.87^{##}$
辛伐他汀+顺铂	25+2.5	$7.78 \pm 2.19^{***\Delta}$

与对照组比较: $^{##}P < 0.01$; 与辛伐他汀组比较: $^{*}P < 0.05$; 与顺铂组比较: $^{\Delta}P < 0.05$ $^{##}P < 0.01$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ vs simvastatin group; $^{\Delta}P < 0.05$ vs cisplatin group

细胞增殖抑制、诱导凋亡的作用,并增加了细胞 caspase-3 活性,三者都具有显著的浓度相关性和时间相关性。这提示辛伐他汀增强了顺铂的化疗效果,可能通过 caspase-3 途径上调 caspase-3 活性诱导 A549 细胞凋亡,但其具体作用机制和信号途径还需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] Zhang J, Yang Z, Lin X, *et al.* Statins, autophagy and cancer metastasis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(3): 745-752.
- [2] Yu O, Eberg M, Benayoun S, *et al.* Use of statins and the risk of death in patients with prostate cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(1): 5-11.
- [3] Vallianou N G, Kostantinou A, Kougias M, *et al.* Statins and cancer [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2014, 14(5): 706-712.
- [4] Altwaigi A K. Statins are potential anticancerous agents (review) [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(3): 1019-1039.
- [5] Tan M, Song X, Zhang G, *et al.* Statins and the risk of lung cancer: a meta-analysis [J]. *Plos One*, 2013, 8(2): e57349.
- [6] Hwang K E, Kim Y S, Jung J W, *et al.* Inhibition of autophagy potentiates pemetrexed and simvastatin- induced apoptotic cell death in malignant mesothelioma and non-small cell lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(30): 29482-29496.
- [7] Corcos L, Jossic-Corcos C L. Statins: Perspectives in cancer therapeutics [J]. *Dig Liver Dis*, 2013, 45(10): 795-802.
- [8] Zecchin A, Brajic A, Carmeliet P. Targeting endothelial cell metabolism: new therapeutic prospects? [J]. *Frontiers Biol*, 2015, 10(2): 125-140.
- [9] Chen Y, Zhang S, Peng G, *et al.* Endothelial NO synthase and reactive oxygen species mediated effect of simvastatin on vessel structure and function: pleiotropic and dose-dependent effect on tumor vascular stabilization [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4): 1325-1336.
- [10] Tremoulet A H. The role of statins in inflammatory vasculitides [J]. *Autoimmunity*, 2015, 48(3): 177-180.
- [11] Psarros C, Economou E K, Koutsilieris M, *et al.* Statins as pleiotropic modifiers of vascular oxidative stress and inflammation [J]. *J Crit Care Med*, 2015, 1(2): 43-54.
- [12] Huang X, Ma J, Xu J, *et al.* Simvastatin induces growth inhibition and apoptosis in HepG2 and Huh7 hepatocellular carcinoma cells via upregulation of Notch1 expression [J]. *Molecul Med Rep*, 2015, 11(3): 2334-2340.
- [13] 刘冰, 阳洁. 辛伐他汀对人非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡及 caspase-9、caspase-3 活性的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2013, 30(4): 503-506.
- [14] 蒋红艳, 邓庆华, 郑小红, 等. 竹节参总皂苷对人肺腺癌 A549 细胞凋亡和 Caspase-3 活性的影响 [J]. 科学技术与工程, 2015, 15(25): 100-103.