

胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT29 细胞体内外抑制作用的研究

孙浩, 李宏峰, 宋林, 孙雯雯, 张宇

天津市中医药研究院附属医院, 天津 300120

摘要:目的 研究胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT29 细胞的体内外抑制作用。方法 采用 MTT 法测定胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT29 细胞的抑制作用, 并采用流式细胞仪检测结肠癌 HT29 细胞中 CD133⁺ 的表达情况。建立结肠癌 HT29 细胞裸鼠模型, 对照组尾静脉注射生理盐水, 0.2 mL/次, 2 次/周。替加氟组尾 iv 替加氟注射液, 36 mg/kg, 1 次/周; 胃肠安丸组, 用纯净水将按胃肠安丸配成 4 mg/kg, ig 0.2 mL/d; 胃肠安+替加氟组尾 iv 替加氟注射液, 36 mg/kg, 1 次/周; 同时, 用纯净水将按胃肠安丸配成 4 mg/kg, ig 0.2 mL/d。观察胃肠安联合替加氟对荷瘤裸鼠生存状况和结肠癌 HT-29 细胞的影响。结果 与对照组比较, 替加氟组、胃肠安组、胃肠安+替加氟组抑制结肠癌 HT-29 细胞的增殖能力明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 胃肠安+替加氟组明显高于单独使用替加氟组、胃肠安组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 替加氟组、胃肠安组、胃肠安+替加氟组的 CD133⁺ 细胞比例明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 胃肠安+替加氟组明显低于单独使用替加氟组、胃肠安组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗后, 胃肠安组、替加氟组、胃肠安+替加氟组的实体瘤质量明显低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 胃肠安+替加氟组的实体瘤质量明显低于胃肠安组和替加氟组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT29 细胞及其干细胞的增殖有抑制作用。

关键词: 胃肠安丸; 替加氟注射液; 结肠癌

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2019)10-2894-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.10.003

Inhibition of Weichang'an combined with tegafur on colon cancer HT29 cells *in vitro* and *in vivo*

SUN Hao, LI Hong-feng, SONG Lin, SUN Wen-wen, ZHANG Yu

Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Tianjin 300120, China

Abstract Objective To study the inhibitory effects Weichang'an combined with tegafur on colon cancer HT29 cells *in vitro* and *in vivo*. **Methods** The inhibition of Weichang'an combined with tegafur on colon cancer HT29 cells was detected by MTT method. The expression of CD133⁺ was detected by flow cytometry. The nude mouse model of colon cancer HT29 cells was established. Rats in the control group were given normal saline, 0.2 mL/time, twice per week. Tegafur Injection was given by tail vein injection, 36 mg/kg, once per week. Purified water was added into Weichang'an Pills to 4 mg/kg, ig 0.2 mL/d. Rats in Weichang'an + tegafur group were given Tegafur Injection by tail vein injection, 36 mg/kg, once per week. Purified water was added into Weichang'an Pills to 4 mg/kg, ig 0.2 mL/d. The effects of Weichang'an combined with tegafur on living condition of nude mice bearing tumor and colon cancer HT29 cells were observed. **Results** Compared with the control group, the inhibition of Weichang'an combined with tegafur on colon cancer HT29 cells in tegafur group, Weichang'an group, and Weichang'an + tegafur group were significantly increased ($P < 0.05$). The inhibition in Weichang'an + tegafur group was higher than that in tegafur group and Weichang'an group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the proportion of CD133⁺ cell in tegafur group, Weichang'an group, and Weichang'an + tegafur group were significantly decreased ($P < 0.05$). The proportion in Weichang'an + tegafur group was lower than that in tegafur group and Weichang'an group ($P < 0.05$). After treatment, solid tumor mass in tegafur group, Weichang'an group, and Weichang'an + tegafur group were lower than that in the control group ($P < 0.05$). The solid tumor mass in Weichang'an + tegafur group was lower than that in tegafur group and Weichang'an group ($P < 0.05$). **Conclusion** Weichang'an combined with tegafur have the inhibition of

收稿日期: 2019-02-13

基金项目: 天津市卫生健康委、天津市中医药管理局中医、中西医结合科研课题 (2019035)

作者简介: 孙浩 (1964—), 男, 副主任药师, 研究方向临床中药学及中药鉴定学。E-mail: sunhao_852@126.com

proliferation of colon cancer HT29 cells and their stem cells.

Key words: Weichang'an Pills; Tegafur Injection; colon cancer

替加氟为氟尿嘧啶的衍生物, 目前是治疗恶性消化道肿瘤的常用药物, 但大剂量使用单药氟尿嘧啶治疗大肠癌的有效率仅为 10%~15%^[1-2], 而且对消化系统和血液系统可能会产生一系列的不良反应^[3]。胃肠安丸由木香、沉香、枳壳、檀香、大黄、厚朴、人工麝香、巴豆霜、大枣、川芎等组成, 具有芳香化浊、理气止痛、健胃导滞之功效。研究显示胃肠安丸可诱导肿瘤细胞凋亡^[4]。本文旨在利用胃肠安丸扶正祛邪之功效, 来减轻替加氟对机体产生副作用的同时, 探讨其协同增效作用。

1 材料

1.1 实验材料

HT29 细胞系由天津市肿瘤医院惠赠。DMEM 培养基购自 Gibco 公司; 0.25%胰酶消化液购自北京索来宝公司; CD133 磁珠抗体购自德国 Miltenyi 公司; MTT 试剂盒购自瑞士 Roche 公司; 胃肠安丸购自天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂, 规格 0.08 g/4 丸, 产品批号 1530625; 替加氟注射液购自辰欣药业股份有限公司, 规格 0.2 g : 5 mL; Balb/c 裸鼠购自北京维通利华公司, 动物许可证号为 SYXK (京) 2015-0002, SPF 级, 雌性 3~4 周龄, 体质量 16~18 g, 50 只适应性饲养一周。

1.2 主要仪器

荧光倒置显微镜由 Olympus 公司提供; 高速低温离心机由 Eppendorf 公司提供; 流式细胞仪由 Becton Dickinson 公司提供; 磁珠分选仪由 Miltenyi 公司提供; 生物安全柜由 Thermo 公司提供。

2 方法

2.1 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞的体外抑制作用

2.1.1 结肠癌 HT29 细胞的培养 从液氮罐取出结肠癌 HT29 细胞系的冻存细胞, 立即放入 37 °C 水浴锅中解冻, 解冻后用 75% 酒精消毒冻存管, 将其放入生物安全柜内。用吸管吸出细胞悬液加入到含有 5 mL DMEM 培养基的 15 mL 离心管中, 200×g 离心 3 min, 弃上清, 将沉淀细胞重悬于 5 mL DMEM 培养基, 转入 25 cm² 培养瓶, 置于 37 °C、5% CO₂、95% 饱和湿度的培养箱中培养。荧光倒置显微镜下观察细胞生长状态, 每 2 天半量换液, 当细胞达到 80% 融合时进行传代。用 DMEM 培养基调整细胞浓度至 1×10⁵/mL,

接种到两个 25 cm² 培养瓶中, 置 37 °C、5% CO₂、95% 饱和湿度的培养箱中继续培养, 用于后续实验。

2.1.2 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞增殖抑制的影响 取对数生长期 HT29 细胞, 用含 10% 胎牛血清的 RP-MI 1640 培养液制成 5×10⁴ 个/mL 单细胞悬液, 接种于 96 孔培养板中, 每孔加入 180 μL。培养 24 h 后, 加入受试药物。实验共分 4 组: 对照组加入等体积含 DMSO 生理盐水; 替加氟组调节终质量浓度为 36 mg/L, 按照药品使用说明用量; 胃肠安丸组调节终质量浓度为 4 mg/L; 胃肠安+替加氟组, 调节终质量浓度为替加氟注射液 36 mg/L, 胃肠安丸 4 mg/L。将平板在 37 °C、5% CO₂ 的温箱中孵育 3 d, 去除培养液。每孔加入含 0.5 mg/mL MTT 的 PBS 液 100 μL, 37 °C 温育 4 h。弃去上清液, 每孔加入 100 μL DMSO, 置于全自动酶标仪 490 nm 处测定吸光度 (A) 值, 计算抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.1.3 胃肠安联合替加氟体外对结肠癌 HT-29 细胞中 CD133⁺ 细胞表达的影响 取对数生长期的结肠癌 HT-29 细胞, 用 0.25% 胰酶/0.2% EDTA 消化液消化, 观察细胞变圆、连接消失后, 用完全培养基终止消化。将细胞悬液吸入 10 mL 离心管, 400×g 离心 5 min, 弃去培养液, 用 80 μL 缓冲液 (0.5% BSA、2 mmol/L EDTA、0.01 mmol/L PBS) 洗涤, 重悬。加入 20 μL FC 受体阻断剂。加入鼠抗人 CD133 单抗, 加入 2.1.2 项下 3 组药物, 同时在对照细胞中添加相应的同型对照小鼠 IgG2a-PE 10 μL, 避光, 4 °C 放置 30 min, PBS 洗 2 次, 除去未结合的一抗, 离心 400×g 离心 5 min, 去除上清液, 各管加入 500 μL PBS 重悬; 标记好的细胞悬液经 200 目筛网滤过, 上流式细胞仪分析。

2.2 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞的体内抑制作用

2.2.1 荷结肠癌 HT29 细胞裸鼠模型的建立 Balb/c 裸鼠 50 只适应性饲养一周, 收集 HT29 细胞, 调整细胞浓度 1×10⁵/mL 无血清培养基与 matrigel 1 : 1 混匀后与细胞均匀混合, 冰上保存, 并尽快接种动物。用微量注射器将 0.2 mL 细胞接种于 Balb/c 裸鼠右侧腋下, 每两天观察一次记录裸鼠成瘤情况。待接种部位出现肿瘤结节、质地较硬等指征认定为成瘤。

HE 染色后, 裸鼠移植瘤组织切片在光学显微镜下检查均为典型结肠中分化腺癌。癌细胞呈腺管状及筛管状排列, 细胞核增大, 明显异型, 并可见多个核分裂象, 局部放大, 可见 2 个核分裂象。

2.2.2 分组及给药 将上述荷瘤裸鼠分为 4 组, 每组 5 只。对照组尾 iv 生理盐水, 0.2 mL/次, 2 次/周。替加氟组尾 iv 替加氟注射液, 36 mg/kg, 1 次/周; 胃肠安丸组, 用纯净水将按胃肠安丸配成 4 mg/kg, ig 0.2 mL/d; 胃肠安+替加氟组尾 iv 替加氟注射液, 36 mg/kg, 1 次/周; 同时, 用纯净水将按胃肠安丸配成 4 mg/kg, ig 0.2 mL/d。

2.2.3 胃肠安联合替加氟对荷瘤裸鼠生存状况和结肠癌 HT-29 细胞的影响 自给药日起, 每天观察各组小鼠的生存状况及死亡情况, 各组存活的裸鼠在治疗 60 d 后处死, 取瘤称其质量, 并计算抑瘤率。

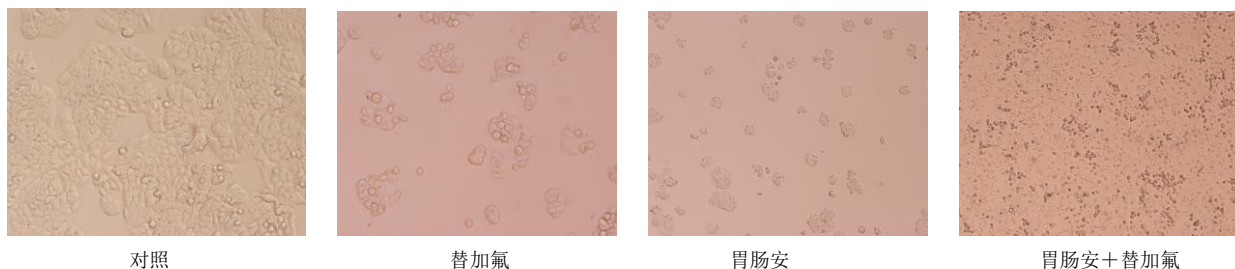


图 1 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞形态的影响

Fig. 1 Effect of Weichang'an combined with tegafur on cell morphology of colon cancer HT29 cells

3.1.2 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞增殖抑制的影响 替加氟组、胃肠安组、胃肠安+替加氟组抑制结肠癌 HT-29 细胞的增殖能力明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 胃肠安+替加氟组的抑制率明显高于单独使用替加氟组、胃肠安组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 但胃肠安组和替加氟组的抑制率比较差异没有统计学意义, 见表 1。

3.1.3 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞中 CD133⁺ 细胞表达的影响 流式细胞仪检测结果显示作用于结肠癌 HT-29 细胞后, 替加氟组、胃肠安组、胃肠安+替加氟组的 CD133⁺ 细胞比例明显低于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 胃肠安+替加氟组的 CD133⁺ 细胞比例明显低于单独使用替加氟组、胃肠安组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 但胃肠安组和替加氟组比较差异没有统计学意义, 见表 2、图 2。

抑瘤率 = 1 - 给药组瘤质量 / 对照组瘤质量

2.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 18.0 进行统计处理, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用单因素方差分析。

3 结果

3.1 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞的体外抑制作用

3.1.1 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞形态的影响 荧光倒置显微镜下可见对照组 HT-29 细胞生长旺盛, 折光率较高, 胞体大, 形态成梭形或多边形, 胞质均匀透明, 核仁清楚, 生长良好。胃肠安丸组、替加氟组和胃肠安+替加氟组细胞增殖减慢, 细胞逐渐变小、变圆, 折光率减弱, 核浓缩, 部分脱落漂浮, 裂解。且胃肠安+替加氟组可见大量悬浮的细胞碎片, 见图 1。

3.2 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞的体内抑制作用

3.2.1 胃肠安联合替加氟对荷瘤裸鼠生存状况的

表 1 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞增殖抑制的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effect of Weichang'an combined with tegafur on inhibition of proliferation of colon cancer HT-29 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	浓度/(mg L ⁻¹)	HT-29 细胞	
		A	抑制率/%
对照	—	1.086 ± 0.103	—
替加氟	36	0.801 ± 0.075*	26.24
胃肠安	4	0.793 ± 0.062*	26.98
胃肠安+替加氟	36+4	0.531 ± 0.043*#▲	51.10#▲

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与替加氟组比较: # $P < 0.05$; 与胃肠安组比较: ▲ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs tegafur group; ▲ $P < 0.05$ vs Weichang'an group

表2 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞中 CD133⁺细胞表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of Weichang'an combined with tegafur on inhibition of CD133⁺ cell expression in colon cancer HT-29 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	浓度/(mg L ⁻¹)	CD133 ⁺ 细胞比例/%
对照	—	36.59 ± 7.62
替加氟	36	26.80 ± 5.38*
胃肠安	4	25.32 ± 5.41*
胃肠安+替加氟	36+4	16.33 ± 3.92**▲

与对照组比较: *P<0.05; 与替加氟组比较: #P<0.05; 与胃肠安组比较: ▲P<0.05
*P < 0.05 vs control group; #P < 0.05 vs tegafur group; ▲P < 0.05 vs Weichang'an group

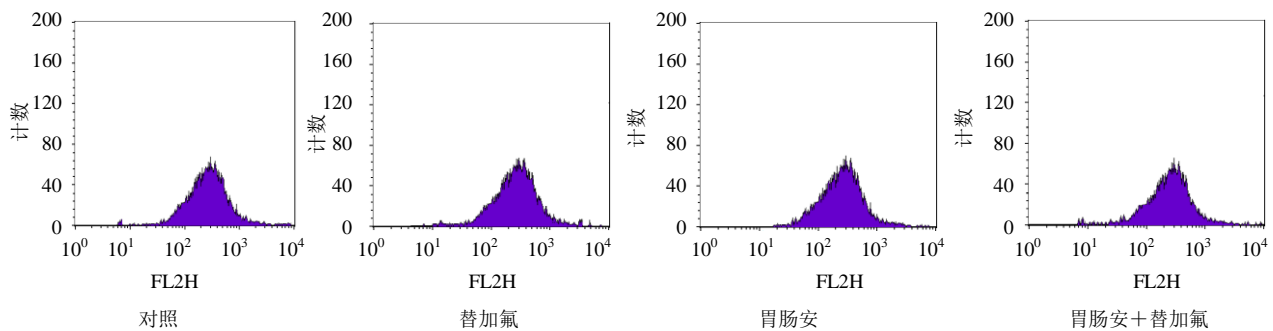


图2 胃肠安联合替加氟对结肠癌 HT-29 细胞中 CD133⁺细胞表达的影响

Fig. 2 Effect of Weichang'an combined with tegafur on inhibition of CD133⁺ cell expression in colon cancer HT-29 cells

表3 胃肠安联合替加氟对荷瘤裸鼠结肠癌 HT-29 细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effect of Weichang'an combined with tegafur on inhibition of CD133⁺ cell expression in colon cancer HT-29 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	实体瘤质量/g	抑瘤率/%	体质量/g	
				给药前	给药后
对照	—	2.96 ± 0.52	—	21.99 ± 1.06	22.02 ± 1.09
替加氟	36	2.21 ± 0.44*	25.34	22.32 ± 1.11	23.96 ± 1.17
胃肠安	4	2.36 ± 0.46*	20.27	22.12 ± 1.11	23.24 ± 1.15
胃肠安+替加氟	36+4	1.51 ± 0.31**▲	48.31	22.03 ± 1.06	23.96 ± 1.24

与对照组比较: *P<0.05; 与替加氟组比较: #P<0.05; 与胃肠安组比较: ▲P<0.05
*P < 0.05 vs control group; #P < 0.05 vs tegafur group; ▲P < 0.05 vs Weichang'an group

4 讨论

替加氟为氟尿嘧啶的衍生物,在体内逐渐转变为氟尿嘧啶而起作用。长期以来氟尿嘧啶始终是治疗恶性消化道肿瘤的首选药物,虽然不断改进,但其治疗效果仍不理想。研究发现使用大剂量单药氟尿嘧啶治疗大肠癌的有效率仅为10%~15%,其抗癌作用方式是以RNA为靶向的细胞毒性作用^[1-2]。

影响 治疗期间,胃肠安组和胃肠安+替加氟组的荷瘤裸鼠始终活动自如,进食进水正常,情绪平稳。对照组在给药第3周开始出现活动受阻的现象。替加氟组在注射药物后,荷瘤裸鼠活动减弱,进水进食减少,精神萎靡,出现弓背现象,在治疗第2周出现濒死状态。

3.2.2 胃肠安联合替加氟对荷瘤裸鼠结肠癌 HT-29 细胞的影响 治疗后,胃肠安组、替加氟组、胃肠安+替加氟组的实体瘤质量明显低于对照组,差异具有统计学意义(P<0.05);胃肠安+替加氟组的实体瘤质量明显低于胃肠安组和替加氟组,差异有统计学意义(P<0.05);但替加氟组和胃肠安组比较差异没有统计学意义,见表3。

替加氟会对消化系统和血液系统产生一系列的不良反应^[3]。CD133⁺为五次跨膜糖蛋白家族的一员,开始被认为是人造干细胞的选择标志,近年来研究表明 CD133⁺可以作为鉴定及分离结肠癌肿瘤干细胞的标志^[5-6]。据报导,转移性结肠癌和原发性结肠癌的肿瘤细胞中 CD133⁺细胞占3.2%~24.5%,证实只有 CD133⁺细胞具有致瘤性^[7]。本课题组也在前

期的研究中表明 CD133⁺ 细胞可以作为结肠癌 HT29 细胞的干细胞标志^[5]。本研究发现,在体外实验中替加氟可以使结肠癌 HT-29 细胞核浓缩,部分脱落漂浮,抑制 HT-29 细胞增殖,降低肿瘤干细胞(CD133⁺ 细胞)比例的同时,对荷瘤裸鼠具有一定的抑瘤作用,但裸鼠生存状态出现了活动减少,进水进食减少等现象,说明了化疗药在杀伤肿瘤细胞的同时,对机体的毒副作用较大。

胃肠安丸由木香、沉香、枳壳、檀香、大黄、厚朴、人工麝香、巴豆霜、大枣、川芎等组成,具有芳香化浊、理气止痛、健胃导滞之功效。研究显示胃肠安可诱导肿瘤细胞凋亡,胃肠安低、中、高剂量(15、30、60 mg/kg)组,与对照组比较,荷人 SGC-7901 胃癌细胞裸鼠的生存时间明显延长,移植瘤受到明显抑制,肿瘤组织中 Caspase-3 和 Bax mRNA 表达水平以及细胞凋亡指数明显增加^[4]。胃肠安在抑制荷胃癌 SGC-7901 细胞裸鼠移植瘤增殖的同时,还可诱导肿瘤细胞凋亡。胃肠安可抑制人胃癌 SGC-7901 细胞上皮间质转化,可能与抑制 AKT 表达及磷酸化,下调转录因子 Twist、Snail 蛋白相关^[8]。最近一项研究表明胃肠安作用于荷 SGC-7901 胃癌细胞的裸鼠,移植瘤组织中的 p-AKT 和 Twist 蛋白表达明显降低^[9]。沈克平等^[10] 研究结果显示胃肠安对人胃癌裸鼠皮下移植瘤生长有抑制作用,可能与 ERK1/2 表达相关。胃肠安还可抑制人胃癌细胞 SGC-7901 皮下移植瘤生长,抑制原位移植瘤生长和转移,抑制胃癌细胞增殖和诱导胃癌细胞凋亡,并影响一些相关基因的表达^[11-12]。临床研究表明胃肠安治疗无手术、化疗指征的中晚期胃癌,不仅能部分控制肿瘤的进展,延长患者生命,提高生存质量,而且对术后患者具有防止复发和转移的作用^[13-14]。

本研究发现胃肠安作用于结肠癌 HT-29 细胞,可使细胞部分脱落漂浮,抑制细胞增殖,降低肿瘤干细胞的比例,体内动物实验显示,胃肠安对荷瘤裸鼠具有一定的抑瘤效果,给药期间荷瘤裸鼠生存状态良好,进一步表明了胃肠安在抑瘤的同时毒副作用小,同时发现胃肠安和替加氟之间具有协同作用,表明胃肠安的扶正祛邪之功效,减少了替加氟

的毒副作用,未来工作可在中药与化疗药共治疗方面开展研究,以促进其更大的临床应用。

参考文献

- [1] 刘宇飞,路建伟,黄富麟. 5-氟尿嘧啶联合顺铂低剂量持续输注治疗晚期胃癌伴阻塞性黄疸 3 例报告 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2001, 6(4): 366-367.
- [2] Aiba K. Recent advance in chemotherapy for advanced colorectal cancer [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 1996, 23(5): 535-548.
- [3] 钟润娴,单钰齐,朱结桃,等. 抗肿瘤药物不良反应调查与分析 [J]. 北方药学, 2015, 12(10): 144-145.
- [4] 姬颖华,杨晓煜,王萃楠. 中药复方胃肠安对人 SGC-7901 胃癌细胞裸鼠移植瘤的抑制作用及机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(2): 160-164.
- [5] 孙雯雯,崔晓旭,窦金霞,等. CD133 作为结肠癌 HT29 细胞系干细胞特异性生物标志的研究 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2016, 24(1): 51-53.
- [6] Riether C, Schurch C, Ochsenbein A F. From "magic bullets" to specific cancer immunotherapy [J]. *Swiss Med Wkly*, 2013, 143: w13734.
- [7] O'Brien C A, Pollett A, Gallinger S, et al. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice [J]. *Nature*, 2007, 445(7123): 106-110.
- [8] 沈克平,王海永,胡兵,等. 胃肠安对人胃癌 SGC-7901 细胞 TGF- β 1 诱导上皮间质转化作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 132-135.
- [9] 王海永,沈克平,胡兵,等. 胃肠安对人胃癌细胞(SGC-7901)裸鼠移植瘤 p-AKT 及 Twist 蛋白表达的影响 [J]. 中医学报, 2011, 26(163): 1409-1411.
- [10] 沈克平,王海永,胡兵,等. 健脾解毒中药胃肠安对人胃癌裸鼠皮下移植瘤生长及 ERK1/2 表达作用 [J]. 辽宁中医杂志, 2012, 39(2): 215-217.
- [11] 赵爱光,杨金坤,尤圣富,等. 中药胃肠安诱导裸鼠胃癌移植瘤细胞凋亡的途径及基因调控的研究 [J]. 中西医结合学报, 2007, 5(3): 287-296.
- [12] 杨金坤,赵爱光,赵海磊. 胃肠安诱导人胃癌细胞凋亡的实验研究 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(6): 908-909.
- [13] 卢艳琳,沈克平,何萍. 胃肠安方对大肠癌术后化疗患者生存质量及免疫功能的影响 [J]. 中医学报, 2014, 29(195): 1101-1104.
- [14] 顾纛,韩颖盈,郑坚,等. 胃肠安治疗大肠癌临床疗效分析 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2006, 8(5): 5-6.