

• 药理与临床 •

蜂毒素对人肝癌细胞裸鼠移植瘤的生长抑制作用

宋长城, 吕 祥, 李 柏, 凌昌全*

(第二军医大学长海医院 中医科, 上海 200433)

摘 要:目的 探讨蜂毒素对人肝癌细胞移植瘤在 BALB/C 裸鼠体内生长的影响。方法 建立人肝癌 BEL-7402 细胞裸鼠皮下移植瘤模型, 观察瘤内注射蜂毒素对肝癌细胞移植瘤在裸鼠体内生长的影响。应用 HE 染色观察肿瘤组织形态学变化, 采用免疫组织化学法检测肝癌组织微血管密度 (MVD), 酶联免疫吸附法检测裸鼠血清白细胞介素-8 (IL-8) 的水平, Western blotting 法检测裸鼠肝癌组织中血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 的表达情况。结果 荷瘤裸鼠瘤内注射蜂毒素剂量为 40、60、80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时的抑瘤率分别为 44.64%、62.86%、73.73%, 药物处理组肿瘤体积明显小于模型组 ($P < 0.01$)。光镜下见蜂毒素各组肿瘤组织出现片状坏死, 肿瘤间质内可见肿瘤血管, 并有血管破坏现象。蜂毒素可明显降低裸鼠肝癌组织微血管密度, 药物处理组 IL-8 和 VEGF 的表达显著低于模型组 ($P < 0.01$)。结论 蜂毒素能够明显抑制人肝癌细胞裸鼠移植瘤的生长, 其作用机制可能与下调 IL-8 和 VEGF 的表达, 抑制肿瘤血管生成有关。

关键词: 蜂毒素; 肝癌; BEL-7402

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)06-0868-05

Antitumor effect of melittin on human hepatocellular carcinoma cells
xenograft in nude mice

SONG Chang-cheng, LÜ Xiang, LI Bai, LING Chang-quan

(Department of Traditional Chinese Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University,
Shanghai 200433, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of melittin on the growth of human hepatocellular carcinoma BEL-7402 cells xenograft in BALB/C nude mice and explore its possible mechanism of anti-tumor action *in vivo*. **Methods** BEL-7402 Cells were subcutaneously transplanted into the right axial regions of nude mice. The xenograft tumor growth in mice was measured after intratumoral injection of melittin. Tumor tissue samples were taken and examined by light microscopy to assess the inhibitory effects of melittin. The microvessel density (MVD) was measured by SABC method of immunohistochemistry. The level of interleukin-8 (IL-8) in serum of nude mice was detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and the protein expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) by Western blotting. **Results** When injected with 40, 60, and 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of melittin, the inhibitory rates of tumor growth were 44.64%, 62.86%, and 73.73%, respectively. The tumor volume of xenograft in nude mice was significantly smaller in melittin groups and Thlidomide (TLD) group than that in control group ($P < 0.01$). Histopathological examination revealed the widespread necrosis with massive accumulation of infiltrating lymphocytes and plasmacytes in the tumors. The MVD, level of IL-8, and the expression of VEGF in the melittin groups were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Melittin could inhibit the growth of tumor *in vivo*, which is probably related to inhibiting the angiogenesis in tumor by down-regulating the expression of IL-8 and VEGF.

Key words: melittin; hepatocarcinoma; BEL-7402

肝细胞癌 (HCC) 是全球发病率较高的恶性肿瘤之一。在我国癌症病死率中, HCC 占第2位, 在全

球占第3位^[1], 其恶性程度高, 进展迅速, 术后易于复发转移, 预后差。传统的手术切除、放射治疗及化

收稿日期: 2007-09-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30472223)

作者简介: 宋长城 (1971—), 男, 甘肃武威人, 博士, 主治医师, 主要从事中西医结合防治肿瘤的研究。

* 通讯作者 凌昌全 Tel: (021) 25070881 E-mail: lingchangquan@gmail.com

疗等疗效尚不能令人满意。目前,蜂毒素的抗肿瘤作用日益受到人们关注。体外研究发现,蜂毒素对骨肉瘤、白血病及宫颈癌等多种肿瘤细胞产生强烈的杀伤作用^[2~4]。本实验室既往研究表明,蜂毒素在体外能够有效抑制人肝癌细胞 BEL-7402 的增殖,阻滞细胞周期于S期,并且诱导细胞凋亡^[5]。本研究采用人肝癌细胞裸鼠移植瘤模型进一步探讨蜂毒素的体内抑瘤效应及其可能的作用机制,将为蜂毒素应用于临床提供更有价值的理论依据。

1 材料

1.1 肿瘤细胞株和实验动物:人肝癌细胞株 BEL-7402 从中国科学院上海细胞生物学研究所引进。BALB/C-nu/nu 裸鼠,4~6 周龄,体质量 18~20 g,雄性,在第二军医大学动物实验中心无特殊病原菌条件下分笼饲养,由中国科学院上海实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(沪)2002-0002。

1.2 药物与试剂:蜂毒素购自 Sigma 公司,质量分数为 99%,批号 104K4016。沙利度胺(TLD)购自常州制药厂有限公司,批号 0601181。抗体:鼠抗人 CD₃₄ 单克隆抗体购自美国 NeoMarker 公司,兔抗人血管内皮细胞生长因子(VEGF)多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司。辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 及羊抗兔 IgG 购自美国 GenScript 公司。RPMI-1640 培养基为美国 Gibco 公司产品。SABC 免疫组化试剂盒及双抗体(DAB)显色试剂盒均购自武汉博士德公司。人白介素-8(IL-8)定量 ELISA 试剂盒购自美国 Biosource 公司。

2 方法

2.1 人肝癌裸鼠皮下移植瘤模型的建立:取对数生长期的人肝癌 BEL-7402 细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化成单细胞悬液,台盼蓝拒染实验示活细胞数>95%。调整细胞浓度至 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$,按 0.2 mL/只接种于 BALB/C-nu/nu 裸鼠右侧腋窝皮下。术前测量体质量。20 d 后待裸鼠皮下肿瘤直径 0.5~0.7 cm 时,将裸鼠随机分为模型组、阳性对照组、3 个不同剂量(40、60、80 $\mu\text{g}/\text{kg}$)蜂毒素组,每组 6 只。阳性对照组选用 200 mg/kg TLD,模型组用生理盐水。除 TLD 组为 ip 给药外,其他各组均为瘤内注射给药,每天 1 次,连续 10 d。每 3 天由专人用游标卡尺测量肿瘤长、短径,并称重裸鼠体质量。实验结束时复测瘤体大小并称质量,经眼眶静脉采血,颈椎脱臼处死裸鼠,在超净台上解剖观察,每只裸鼠各器官取部分组织于 10% 福尔马林溶液中固定,其余在 -80℃ 超低温冰箱保存。

2.2 观察裸鼠一般情况及肿瘤生长情况:裸鼠接种肿瘤细胞后密切观察肿瘤生长情况。给药前及给药后按时测量肿瘤长径(a)和短径(b),按下列公式分别计算肿瘤体积(V)、相对肿瘤体积(RTV)和相对肿瘤增殖率(T/C) [$V = a \times b^2/2$; $\text{RTV} = V/V_0$ (V_0 为给药前测量所得体积, V 为处死前测量所得体积); $\text{T/C} = \text{治疗组 RTV}/\text{模型组 RTV} \times 100\%$]。

2.3 移植瘤质量及肿瘤生长抑制率计算:实验结束时完整剥离肿瘤,去除血污、脂肪等非肿瘤组织,称取瘤体质量,计算抑瘤率。

抑瘤率 = $(1 - \text{治疗组平均瘤质量}/\text{模型组平均瘤质量}) \times 100\%$

2.4 移植瘤组织形态学观察:取在 10% 福尔马林溶液中固定 24 h 的肿瘤组织,石蜡包埋,切片,HE 染色,光镜下观察组织及细胞形态,以及肿瘤周围组织浸润和血管受侵犯情况。

2.5 肿瘤微血管密度(MVD)测定:应用 SABC 法对各组裸鼠肿瘤 MVD 进行 CD₃₄ 免疫组织化学染色。具体步骤为:组织切片经二甲苯、梯度乙醇脱蜡水化。0.3% H₂O₂ 甲醇溶液室温下浸泡后,经微波修复抗原,以 10% 山羊血清封闭切片。先后滴加 1:50 稀释的 CD₃₄ 一抗、生物素化二抗和 SABC 液,用 PBS 液代替一抗做阴性对照。滴加新鲜 DAB 显色液至切片,避光显色后终止反应。梯度乙醇逐级脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,光镜下观察并摄影。MVD 计数^[6]:染成棕色的血管内皮细胞或血管内皮细胞群只要它们与邻近微血管、肿瘤细胞或其他结缔组织分开,就视为一个微血管,血管腔和红细胞不作为判断血管的标准。先在 100 倍视野下观察整张切片的血管分布情况,确定肿瘤区域内微血管最密集的 5 个区域,即“热点”。再在 200 倍光镜下计数每个区域内的血管数,取 5 个区域的平均值,作为该只裸鼠肿瘤的 MVD。

2.6 酶联免疫吸附法检测裸鼠血清 IL-8:给药结束后经裸鼠眼眶静脉采血,室温下静置 30 min,离心后吸取血清,根据试剂盒说明以双抗体夹心方法检测裸鼠血清 IL-8 水平。

2.7 Western blotting 法检测裸鼠肝组织中 VEGF 的表达:从 -80℃ 冰箱中取出保存的裸鼠肝组织,每个样本约 100 mg,在研磨器中将组织粉碎转入 EP 管,加入含蛋白酶抑制剂的组织裂解液,待样品完全裂解后,4℃、12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,即为细胞总蛋白,以 BCA 法进行蛋白定量测定。调整每份样品质量浓度,以每孔 30

μg 的蛋白量加样。样品加入等体积上样缓冲液,沸水煮沸 10 min,经 SDS-PAGE 胶电泳后转膜,以 5% 脱脂奶粉封闭后加入相应的一抗、二抗孵育,用 ECL 发光法检测不同样品 VEGF 蛋白表达情况。多功能图像分析仪(Fluor-S^R MultiImager,美国 Bio-Rad 公司)测定印迹区带的吸光度值及面积,结果以处理组蛋白量相对于阴性对照组蛋白量来表示。

2.8 统计学分析:所有数据采用 SPSS 11.0 统计软件处理。计算资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示。选择单因素方差分析进行方差齐性检验,多组均数间两两比较采用 Student-Newman-Keuls 法。

3 结果

3.1 裸鼠移植瘤的生长情况:裸鼠皮下接种人肝癌 BEL-7402 细胞后,所有动物于一周左右出现肉眼可见的皮下圆形小结节,20 d 左右肿瘤长至 0.5~0.7 cm,接种成功率为 100%。裸鼠皮下移植瘤边界清楚,表面凹凸不平,呈多个结节融合状。治疗前各组裸鼠肿瘤大小无明显差异 ($P>0.05$),提示各组瘤体具有可比性。在治疗过程中,模型组裸鼠肿瘤生长较快,个别肿瘤表面有破溃倾向,而蜂毒素各组及 TLD 组裸鼠肿瘤生长相对缓慢。治疗结束后,蜂毒素低、中、高剂量组及 TLD 组 RTV 与模型组比较,明显减小 ($P<0.01$)。见表 1。

表 1 蜂毒素对人肝癌 BEL-7402 细胞裸鼠皮下移植瘤生长的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of melittin on growth of BEL-7402 cells subcutaneous xenografts in nude mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	V/mm ³		RTV	(T/C)/ %
		治疗前	治疗后		
模型	—	76.72±8.61	690.06±94.69	9.06±1.45	100.0
TLD	200	71.93±15.53	317.19±90.61	4.40±0.89**	48.61
蜂毒素	0.040	72.77±15.11	324.86±88.51	4.42±0.58**	48.78
	0.060	78.29±22.65	268.24±93.25	3.47±0.97**	38.33
	0.080	66.78±10.37	202.35±78.08	3.06±1.23**	33.82

与模型组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs model group

3.2 蜂毒素对裸鼠及裸鼠移植瘤的影响:整个实验过程中各组裸鼠行动自如,反应灵敏,进食饮水正常,皮下未见出血点,无一裸鼠自然死亡。实验结束后处死荷瘤裸鼠,各组动物均未发现胸腔及腹腔积液。取裸鼠心、肺、肝、肾及骨组织做石蜡切片,经 HE 染色光镜下未见明显转移病灶。实验期间各处理组裸鼠体重均有增加,且与模型组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),提示蜂毒素在本实验所取剂量范围内无明显不良反应。蜂毒素各组瘤质量与模

型组比较明显减小 ($P<0.01$),蜂毒素低、中、高剂量组的抑瘤率分别为 44.64%、62.86%、73.73%,高、低剂量组与 TLD 组比较差异显著 ($P<0.05$ 、 0.01)。蜂毒素低剂量组与中、高剂量组比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$),而中剂量组和高剂量组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 2。

表 2 蜂毒素对裸鼠皮下移植瘤模型体质量及瘤体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of melittin on body weight and subcutaneous xenografts weight of nude mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	体质量/g		瘤质量/ g	抑瘤率/ %
		治疗前	治疗后		
模型	—	22.30±0.40	22.17±0.66	0.79±0.21	—
TLD	200	22.25±1.34	22.12±0.85	0.42±0.04**	46.25
蜂毒素	0.040	22.30±1.18	23.20±0.64	0.44±0.04**	44.64
	0.060	23.27±0.77	23.48±1.03	0.29±0.05**△	62.86
	0.080	22.37±1.40	23.58±2.04	0.21±0.05**△△	73.73

与模型组比较: ** $P<0.01$

与 TLD 组比较: △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs model group

△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ vs TLD group

3.3 蜂毒素处理后移植瘤组织形态学变化:移植瘤组织形态学显示,模型组肿瘤细胞排列紊乱,细胞密度大,以圆形或椭圆形为主,核浆比例大,核染色深,病理性核分裂像多见。肿瘤实质和间质分界不清,可见新生小血管,但基底膜不完整。蜂毒素各组及 TLD 组肝癌组织中的肿瘤细胞排列疏松,瘤细胞以多边形或梭形为主,细胞密度小,核呈圆形淡染,核仁小而明显,核分裂少,核浆比例明显减小,瘤细胞异型性减少。瘤床内出现片状坏死,其间可见蛋白样物质及细胞碎片,瘤周有淋巴细胞和巨噬细胞浸润。见图 1。

3.4 蜂毒素对裸鼠皮下肝癌移植瘤模型肿瘤 MVD 的影响以及与肿瘤体积的相关性:免疫组织化学分析结果显示,蜂毒素低、中、高剂量组及 TLD 组的 MVD 分别为每高倍镜视野 (11.33±1.86)、(9.17±1.17)、(6.67±1.21)、(6.17±1.17) 条血管,呈棕褐色条索状,微血管密度较稀疏。与模型组 [(16.50±2.35)条]比较,各药物处理组 MVD 明显降低,差异有统计学意义 ($P<0.01$)。蜂毒素中、低剂量组 MVD 明显高于 TLD 组 ($P<0.01$),而高剂量组与 TLD 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。表明蜂毒素具有抑制裸鼠移植瘤血管生成的作用。见图 2。

MVD 与裸鼠肿瘤体积:裸鼠荷瘤经蜂毒素作用后,MVD 明显减少,同时肿瘤体积亦明显减小。

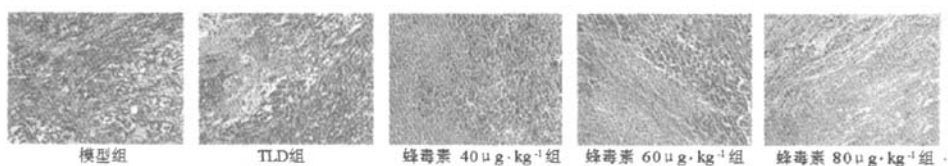


图 1 裸鼠皮下移植性肝癌组织病理形态学观察

Fig. 1 Histological observation of subcutaneous transplantation hepatocarcinoma in nude mice

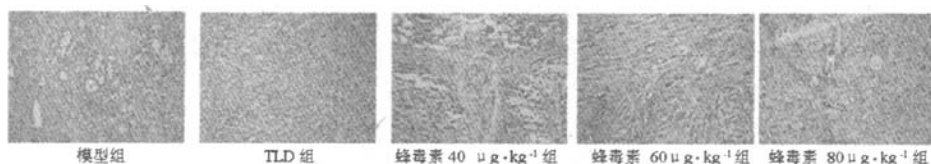
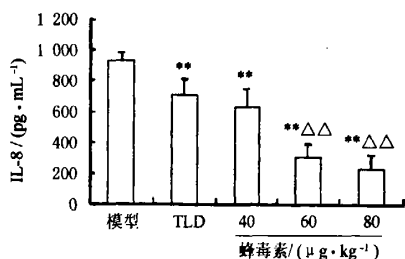


图 2 蜂毒素对裸鼠皮下移植瘤 MVD 的影响

Fig. 2 Effect of melittin on MVD in subcutaneous xenografts in nude mice

经统计学分析,肿瘤组织 MVD 与肿瘤体积呈明显正相关 ($r=0.715, P<0.01$)。提示,蜂毒素可通过抑制裸鼠肝癌血管生成而阻止肿瘤生长。

3.5 蜂毒素对裸鼠血清 IL-8 水平的影响:ELISA 方法检测结果显示,蜂毒素及 TLD 可以明显降低裸鼠外周血 IL-8 水平,与模型组比较差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。蜂毒素各组随着药物剂量的增大其抑制作用也更加明显,呈剂量依赖关系。统计结果还显示,中、高剂量蜂毒素对裸鼠 IL-8 的抑制作用明显强于 TLD 组 ($P<0.01$),而低剂量组与 TLD 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见图 3。



与模型组比较: ** $P<0.01$; 与 TLD 组比较: △△ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs model group; △△ $P<0.01$ vs TLD group

图 3 蜂毒素对肝癌 BEL-7402 荷瘤裸鼠血清 IL-8 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effect of melittin on interleukine-8 level in serum of nude mice bearing BEL-7402 tumor cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.6 蜂毒素对裸鼠肝癌组织中 VEGF 蛋白表达的影响:应用 Western blotting 方法检测各组移植瘤组织中 VEGF 蛋白表达情况。见图 4,蜂毒素低、中、高剂量组及 TLD 组 VEGF 蛋白表达明显低于模型组,其蛋白相对量分别为 36.33%、22.54%、

5.64%、42.33%。蜂毒素各组 VEGF 表达亦明显低于 TLD 组,差异具有统计学意义 ($P<0.01$),并且蜂毒素对肝癌组织 VEGF 蛋白表达的下调呈显著的剂量依赖性。



1-模型组 2-TLD 组 3~5-蜂毒素 40、60、80 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组
1-model group 2-TLD group 3-5-melittin 40, 60, and 80 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ groups

图 4 蜂毒素对裸鼠皮下移植瘤 VEGF 蛋白表达的影响
Fig. 4 Effect of melittin on protein expression of VEGF in BEL-7402 cells subcutaneous xenografts in nude mice

4 讨论

蜂毒素是从我国传统中药蜂毒中提取的一种有效成分。已有研究表明,蜂毒素在体外对骨肉瘤、白血病及宫颈癌等多种肿瘤细胞产生不同程度的杀伤作用。本实验室以往研究结果显示,蜂毒素在体外对人肝癌细胞株 BEL-7402 的增殖具有较强的抑制作用。它不仅可以诱导肝癌细胞发生凋亡,同时还可影响细胞周期的正常移行,阻止 S 期细胞进入 G_2/M 期^[5]。本实验是在既往研究的基础上,通过建立人肝癌裸鼠移植瘤模型进一步评价蜂毒素在体内的抗肿瘤作用。实验结果显示,蜂毒素对裸鼠皮下移植瘤的生长具有明显抑制作用,随着用药时间的延长,移植瘤体积在大体上有不同程度的缩小,并且处理组移植瘤生长速度较模型组明显减慢,瘤床内出现片状坏死,肿瘤细胞的异型性减少。

肿瘤的生长和转移具有血管依赖性,血管新生和丰富的血流是肿瘤迅速生长与转移的病理基础和重要条件^[7]。因此,肿瘤的血管系统已经成为新的抗肿瘤治疗靶点。HCC 是一种典型的富血管恶性肿瘤,术后复发和转移是影响其预后的主要因素,也是 HCC 防治工作所面临的最棘手的问题之一^[8]。HCC 的血管新生化与其生长、浸润、转移、分期及预后有着密切联系。所以,对多血管的 HCC 术后予以抗血管生成药物有可能预防和治疗肿瘤复发与转移,使患者体内残存的微小转移灶长期处于休眠状态^[9]。在本实验结束时,解剖裸鼠移植瘤发现,经蜂毒素处理的肿瘤颜色较模型组苍白。镜下观察发现,药物处理组肿瘤出现片状坏死,且肿瘤组织内新生血管遭到破坏,这可能与肿瘤血管数量减少、营养供应不足有关。肿瘤 MVD 直接反映其血管新生情况。有研究表明,较高水平的 MVD 预示术后 HCC 已经发生播散或预后较差^[10]。本实验结果表明,蜂毒素和 TLD 一样,能够明显降低裸鼠移植瘤 MVD,破坏肿瘤组织中的新生血管,而且肝癌组织 MVD 与其体积呈正相关。提示,蜂毒素通过减少移植瘤组织内新生血管的密度而控制肿瘤生长,但也不排除蜂毒素有直接抑制肿瘤细胞生长的作用^[5]。

肿瘤的血管生成包括血管发生的启动、内皮细胞的迁移与增殖和新生血管的成熟 3 个阶段。肿瘤细胞(或间质细胞)可分泌促血管生成因子参与调节血管生成,其中以 VEGF 的作用最为突出。研究表明,VEGF 可增加血管通透性,并与内皮细胞膜上的相应受体结合,直接刺激内皮细胞的分裂增殖和移行,促进肿瘤血管构建。有研究发现,HCC 中的 VEGF 表达明显高于正常肝组织,并且随着 HCC 的进展呈上升趋势^[11]。IL-8 是由肿瘤细胞及其周围的单核细胞、淋巴细胞和中性粒细胞分泌的一种促血管生成因子,它可通过阻滞细胞凋亡、促进细胞和细胞间、细胞和基质间黏附,以及自分泌等作用参与肿瘤的发生、发展。有研究表明,HCC 患者血清中 IL-8 水平不仅比正常人显著升高,而且还与肿瘤的大小和分化阶段呈正相关^[12]。本实验结果显示,蜂毒素对裸鼠肿瘤生长具有显著的抑制作用,并可降低裸鼠血清 IL-8 的水平,随着药物剂量的增大抑制效果愈加明显,呈显著的剂量依赖性。Western blotting 检测结果表明,蜂毒素与 TLD 一样可以降

低裸鼠皮下移植瘤 VEGF 蛋白的表达,说明裸鼠肿瘤的生长与 IL-8 和 VEGF 有密切的关系。由此推测,蜂毒素对促血管生成因子 VEGF 和 IL-8 表达的抑制是其降低裸鼠肝癌组织 MVD 的机制之一。

本研究表明,蜂毒素具有显著抑制裸鼠皮下移植性肝癌生长的作用,并且对肿瘤组织血管生成产生较强的阻断效应。降低 IL-8 水平,抑制 VEGF 等促血管生成因子的表达可能是蜂毒素抗血管生成和抑制肿瘤生长的作用机制之一。但其具体的作用靶点,还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Jemal A, Murray Ward E. Cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(1): 10-30.
- [2] Chu S T, Cheng H H, Huang C J, et al. Phospholipase A2-independent Ca^{2+} entry and subsequent apoptosis induced by melittin in human MG63 osteosarcoma cells [J]. *Life Sci*, 2007, 80(4): 364-369.
- [3] Lazarev V N, Parfenova T M, Gularyan S K, et al. Induced expression of melittin, an antimicrobial peptide, inhibits infection by *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma hominis* in a HeLa cell line [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2002, 19(2): 133-137.
- [4] Kubo H, Loegering D A, Adolphson C R, et al. Cytotoxic properties of eosinophil granule major basic protein for tumor cells [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 1999, 118(2-4): 426-428.
- [5] Li B, Gu W, Zhang C, et al. Growth arrest and apoptosis of the human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 induced by melittin [J]. *Onkologie*, 2006, 29(8-9): 367-371.
- [6] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995, 36(2): 169-180.
- [7] So J, Wang F Q, Navari J, et al. LPA-induced epithelial ovarian cancer (EOC) *in vitro* invasion and migration are mediated by VEGF receptor-2 (VEGF-R2) [J]. *Gynecol Oncol*, 2005, 97(3): 870-878.
- [8] 吴孟超. 中医药在肝癌防治中的作用、地位及问题 [J]. *中西医结合学报*, 2003, 1(3): 163-164.
- [9] Blagosklonny M V. Antiangiogenic therapy and tumor progression [J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(1): 13-17.
- [10] Messerini L, Novelli L, Comin C E. Microvessel density and clinicopathological characteristics in hepatitis C virus and hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(8): 867-871.
- [11] Zhao J, Hu J, Cai J, et al. Vascular endothelial growth factor expression in serum of patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Chin Med J*, 2003, 116(5): 772-776.
- [12] Ren Y, Poon R T, Tsui H T, et al. Interleukin-8 serum levels in patients with hepatocellular carcinoma: correlations with clinicopathological features and prognosis [J]. *Chin Cancer Res*, 2003, 9(16 Pt 1): 5996-6001.

蜂毒素对人肝癌细胞裸鼠移植瘤的生长抑制作用

作者：[宋长城](#), [吕祥](#), [李柏](#), [凌昌全](#), [SONG Chang-cheng](#), [L\(U\) Xiang](#), [LI Bai](#), [LING Chang-quan](#)
作者单位：[第二军医大学长海医院中医科, 上海, 200433](#)
刊名：[中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(6)

参考文献(12条)

1. [Jemal A;Murray Ward E](#) [Cancer statistics](#) 2005(01)
2. [Chu S T;Cheng H H;Huang C J](#) [Phospholipase A2 independent Ca2+ entry and subsequent apoptosis induced by melittin in human MG63 osteosarcoma cells](#)[外文期刊] 2007(04)
3. [Lazarev V N;Parfenova T M;Gularyan S K](#) [Induced expression of melittin,an antimicrobial peptide,inhibits infection by Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis in a Hela cell line](#)[外文期刊] 2002(02)
4. [Kubo H;Loegering D A;Adolphson C R](#) [Cytotoxic properties of eosinophil granule majorbasic protein for tumor cells](#)[外文期刊] 1999(2-4)
5. [Li B;Gu W;Zhang C](#) [Growth arrest and apoptosis of the human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 induced by melittin](#)[外文期刊] 2006(8-9)
6. [Weidner N](#) [Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors](#)[外文期刊] 1995(02)
7. [So J;Wang F Q;Navari J](#) [LPA-induced epithelial ovarian cancer \(EOC\) in vitro invasion and migration are mediated by VEGF receptor-2 \(VEGF-R2\)](#) 2005(03)
8. [吴孟超](#) [中医药在肝癌防治中的作用、地位及问题](#)[期刊论文]-[中西医结合学报](#) 2003(03)
9. [Blagosklonny M V](#) [Antiangiogenic therapy and tumor progression](#)[外文期刊] 2004(01)
10. [Messerini L;Novelli L;Comin C E](#) [Microvessel density and clinicopathological characteristics in hepatitis C virus and hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma](#)[外文期刊] 2004(08)
11. [Zhao J;Hu J;Cai J](#) [Vascular endothelial growth factor expression in serum of patients with hepatocellular carcinoma](#)[外文期刊] 2003(05)
12. [Ren Y;Poon R T;Tsuji H T](#) [Interleukin-8 serum levels in patients with hepatocellular carcinoma:correlations with clinicopathological features and prognosis](#) 2003(09)

本文读者也读过(10条)

1. [张晨](#), [付大鹏](#), [韩大跃](#), [李勇](#), [凌昌全](#), [Zhang Chen](#), [Fu Da-peng](#), [Han Da-yue](#), [Li Yong](#), [Ling Chang-quan](#) [蜂毒素对肝癌细胞磷脂酶A2的影响](#)[期刊论文]-[临床军医杂志](#)2010, 38(2)
2. [靳弟](#), [李俊](#), [吴宝明](#), [王怡苹](#), [赵斌](#) [蜂毒素的体内外抗肿瘤研究](#)[期刊论文]-[安徽医科大学学报](#)2009, 44(5)
3. [钱纯钰](#) [携蜂毒素基因重组增殖型腺病毒的构建及特异性抑制肝癌细胞增殖作用研究](#)[学位论文]2009
4. [关绥平](#) [再论蜂毒和蜂产品伴我抑肿瘤](#)[期刊论文]-[中国蜂业](#)2006, 57(3)
5. [张晨](#), [李柏](#), [黄雪强](#), [张亚妮](#), [苏永华](#), [凌昌全](#) [蜂毒素对肝癌细胞BEL-7402的增殖抑制作用](#)[期刊论文]-[浙江中医药大学学报](#)2007, 31(5)
6. [宋长城](#), [吕祥](#), [程彬彬](#), [杜娟](#), [李柏](#), [凌昌全](#), [SONG Chang-Cheng](#), [LU Xiang](#), [CHENG Bin-Bin](#), [DU Juan](#), [LI Bai](#), [LING](#)

[Chang-Quan](#) [蜂毒素对人肝癌BEL-7402细胞裸鼠皮下移植瘤生长及肿瘤血管生成的影响](#)[期刊论文]-[癌症](#)

2007, 26(12)

7. [李柏](#), [张晨](#), [李绍祥](#), [万旭英](#), [顾伟](#), [凌昌全](#) [蜂毒素基因重组腺病毒对肝癌细胞的杀伤作用](#)[期刊论文]-[中国肿瘤生物治疗杂志](#)2003, 10(1)

8. [王居祥](#), [朱超林](#), [王瑞平](#), [戴虹](#), [杨晨](#), [WANG Ju-xiang](#), [ZHU Chao-lin](#), [WANG Rui-ping](#), [DAI Hong](#), [YANG Chen](#) [蜂毒注射液治疗恶性肿瘤的临床观察](#)[期刊论文]-[南京中医药大学学报](#)2006, 22(3)

9. [李柏](#), [钱纯钰](#), [秦丽萍](#), [钱其军](#) [携蜂毒素基因重组增殖型腺病毒抑制肝癌细胞增殖作用](#)[会议论文]-2009

10. [张晨](#), [李柏](#), [吕书勤](#), [李勇](#), [苏永华](#), [凌昌全](#), [Chen ZHANG](#), [Bai LI](#), [Shu-qin LU](#), [Yong LI](#), [Yong-hua SU](#), [Chang-quan LING](#) [蜂毒素对人肝癌细胞线粒体膜蛋白7A6和凋亡相关基因产物Fas及其配体FasL表达的影响](#)[期刊论文]-[中西医结合学报](#)2007, 5(5)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806025.aspx