

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.009

斑蝥素酸镁与斑蝥酸钠对喉癌 Hep-2 细胞抑制活性比较的初步研究 *

卜雯雯¹ 朱欣婷^{1,2} 刘云^{2,3} 晏容^{1,2} 郭侃¹ 张云辉⁴ 李晓飞^{1,2,Δ}

(1 遵义医学院基础医学院 贵州 遵义 563003; 2 贵州省普通高等学校特色药物肿瘤防治特色重点实验室 贵州 遵义 563003;

3 遵义医学院医学与生物学研究中心 贵州 遵义 563003; 4 贵州柏强制药有限公司 贵州 贵阳 550001)

摘要 目的:探讨自主研发产物--斑蝥素酸镁对人喉癌上皮细胞的增殖抑制活性是否好于临床抗癌药物斑蝥酸钠。**方法:**采用磺酰罗丹明染色法(SRB法)、细胞集落形成实验分别考察斑蝥素酸镁和斑蝥酸钠对人喉癌上皮细胞 Hep-2 的影响。**结果:**与斑蝥酸钠相比,斑蝥素酸镁作用喉癌 Hep-2 细胞的效果更加显著。其 IC₅₀ 仅为 2.19 μmol·L⁻¹,远低于斑蝥酸钠的 IC₅₀(15.75 μmol·L⁻¹)。细胞集落形成实验显示,与斑蝥酸钠相比,斑蝥素酸镁明显阻止细胞集落的形成,最低有效浓度为 1.75 μmol·L⁻¹,远低于斑蝥酸钠的最低有效浓度(3.50 μmol·L⁻¹)。**结论:**与斑蝥酸钠相比,斑蝥素酸镁对喉癌 Hep-2 细胞具有更加显著的抑制效果,可进行更加深入的研究。

关键词:斑蝥素酸镁;斑蝥酸钠;人喉癌上皮细胞;SRB 染色法;抗肿瘤;集落形成

中图分类号:R739.65 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)12-2234-04

A Tentative Comparative of the Inhibitory Effects of Magnesium Cantharidate and Sodium Cantharidate on Hep-2 Cells*

BU Wen-wen¹, ZHU Xin-ting^{1,2}, LIU Yun^{2,3}, YAN Rong^{1,2}, GUO Kan¹, ZHANG Yun-hui⁴, LI Xiao-fei^{1,2,Δ}

(1 Basic Medical College, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563003, China;

2 Guizhou Provincial College-based Key Lab for Tumor Prevention and Treatment with Distinctive Medicines, Zunyi, Guizhou, 563003, China; 3 Medical and Biological Research Center, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563003, China;

4 Guizhou Baiqiang Pharmaceutical Co. Ltd., Guiyang, Guizhou, 550001, China)

ABSTRACT Objective: To discuss whether the self-developed magnesium cantharidate possesses better anti-proliferation activity in Hep-2 cells linethan Sodium Cantharidate. **Methods:** The sulforhodamine B (SRB) assay and cell colony forming tests were employed to detect the influence of Magnesium Cantharidate and Sodium Cantharidate on Hep-2 cells. **Results:** Compared with Sodium Cantharidate, Magnesium Cantharidate has higher inhibitory effects on the proliferation of Hep-2 cells. The IC₅₀ of Magnesium Cantharidate and the Sodium Cantharidate was 2.19, 15.75 μmol·L⁻¹, respectively. Cell clone forming experiments suggested that the cell colony was difficult to form when the concentration of Magnesium Cantharidate and the Sodium Cantharidate were 1.75 and 3.50 μmol·L⁻¹. **Conclusion:** Magnesium Cantharidate may have higher inhibitory effects on proliferation of Hep-2 cell than Sodium Cantharidate and has the development potential in suppressing cancer.

Key words: Magnesium Cantharidate; Sodium Cantharidate; Human laryngeal epithelial cells (Hep-2); Sulforhodamine B (SRB) assay; Anti-tumor; Cell colony forming experiment

Chinese Library Classification (CLC): R739.65 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)12-2234-04

前言

斑蝥(Spanish fly),又名斑蝥、芫菁等,昆虫纲鞘翅目芫菁科,主产于河南、江苏、安徽、广西、贵州、湖南等省区^[1]。据相关文献记载,芫菁科等昆虫体内存在一种活性物质,即斑蝥素(Canthardin),可有效抑制原发性肝癌、喉癌等肿瘤细胞^[2]。有相关研究证实,结合斑蝥素与游离斑蝥素均存在于芫菁科等昆虫体内,且结合斑蝥素作用效果更好^[3-5]。本课题组的前期研究已

经自主研发出斑蝥素酸镁活性化合物,并证明其可有效抑制肝癌细胞以及肺癌细胞的增殖^[6-8],但对喉癌细胞 Hep-2 细胞的作用效果未做考察。本文旨在以喉癌细胞 Hep-2 细胞为实验对象,临床类药物斑蝥酸钠为实验对照,探讨其对喉癌细胞 Hep-2 细胞的抑制效果。并完善其抗癌谱。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81260488);贵州省科技厅社会发展攻关项目(黔科合 SY 字[2011]3031);贵州省科技厅社会发展攻关项目(黔科合 SY 字[2012]3082);贵州省教育厅特色重点实验室建设项目(黔教合 KY 字[2014]212)

作者简介:卜雯雯(1986-),女,硕士研究生,研究方向:药用昆虫资源开发与利用, E-mail:bwv347016@126.com

Δ 通讯作者:李晓飞, E-mail:lixiaofei35@sohu.com

(收稿日期:2014-11-11 接受日期:2014-12-05)

人喉癌细胞 Hep-2 细胞,遵义医学院医学与生物研究中心。斑蝥素酸镁、斑蝥酸钠由自制斑蝥素合成,其中斑蝥素酸镁的制备方法课题组已获国家发明专利授权^[6]。磺酰罗丹明,美国 Sigma 公司;胎牛血清,RPMI-1640 培养基,美国 Gibco 公司;吉姆萨染液,北京诺博莱德科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

全波长酶标仪、3131 型 CO₂ 培养箱、台式离心机,美国 Thermo 公司;超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;显微镜,日本 OLYMPUS 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 取适量培养液(含 10%血清)加入培养瓶,37℃、5% CO₂,静置培养。待长至瓶底面积 70-80%时,吸出培养液,PBS 轻轻冲洗三次。胰酶消化,传代继续培养。

1.2.2 磺酰罗丹明(sulforhodamine B,SRB)染色法 参照文献^[9]方法略有改动,取人喉癌细胞 Hep-2 细胞(对数生长期),经胰酶消化后稀释至 8×10^3 个/mL 的细胞悬液。平行接种于两块板。分别作为实验板(T)以及对照板(T₀)。静置 20 h,固定对照板(T₀),并 4℃ 保存;实验板(T)中加入含斑蝥素酸镁的培养液 100 μL(终浓度分别为 4.37、3.50、2.62、1.75、0.87 μmol·L⁻¹);以及含斑蝥酸钠的培养液 100 μL(终浓度分别为 17.5、14.0、10.5、7.0、3.50 μmol·L⁻¹);阴性对照孔加入培养液 100 μL。每个组设 5 个重复。静置 48 h 后,预冷的 TCA 固定,4℃ 静置 1 h。去离子水洗板,自然晾干。加入 0.4% SRB 染料 100 μL,室温静置 10 min。0.1% 醋酸洗板,自然晾干。加入 10 mmol·L⁻¹ 缓冲 Tris 液(pH 10.5),每孔 200 μL,使其充分溶解。酶标仪检测 OD

值,调整波长为 530 nm,按照下列公式计算抑制率。

$$\text{肿瘤细胞生长抑制率} = [1 - \frac{\text{OD}(T) - \text{OD}(T_0)}{\text{OD}(C) - \text{OD}(T_0)}] \times 100\%$$

(T 为实验组,T₀ 为对照组,C 为阴性对照组)

1.2.3 细胞集落形成实验^[7] 对数细胞生长期细胞,胰蛋白酶消化。制成约 150 个/mL 的细胞悬液,接种于 6 孔板。每孔为 2 mL 细胞悬液。37℃、5% CO₂ 静置 20 h。弃去培养液,加入含斑蝥素酸镁培养液(终浓度分别为 4.37、3.50、2.62、1.75、0.87 μmol·L⁻¹)和含斑蝥酸钠培养液(终浓度分别为 17.5、14.0、10.5、7.0、3.50 μmol·L⁻¹)。设阴性对照。实验组与对照组均设 3 个平行。培养 10 天,期间定时观察集落形成情况。待集落形成,取出培养板。PBS 小心浸洗,室温晾干。甲醇固定细胞 15 分钟。吸出甲醇,室温晾干。配制 Giemsa 染液,染色约 10 分钟。小心洗去染液,室温晾干。计算克隆形成率(%),如下公式。

$$\text{克隆形成率}(\%) = (\text{克隆数} / \text{接种细胞数}) \times 100\%$$

1.2.4 统计方法 分析采用 SPSS16.0 分析软件,实验结果以表示,单因素方差分析进行组间比较,P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 斑蝥酸钠、斑蝥素酸镁对人喉癌 Hep-2 细胞增殖的影响

实验结果显示斑蝥素酸镁对 Hep-2 细胞的抑制效果比斑蝥酸钠更显著,半数抑制浓度(IC₅₀)分别为 2.19 μmol·L⁻¹ 和 15.7 μmol·L⁻¹(表 1)。进一步通过形态学观察发现,相同浓度的斑蝥素酸镁的抑制活性明显强于斑蝥酸钠(图 1)。

表 1 斑蝥酸钠、斑蝥素酸镁对人喉癌 Hep-2 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$, n=5)

Table 1 The influence of Magnesium Cantharidate and Sodium Cantharidate on Hep-2 cells ($\bar{x} \pm s$, n=5)

Group	Concentration (μmol·L ⁻¹)	Sodium Cantharidate			Concentration (μmol·L ⁻¹)	Magnesium Cantharidate		
		OD value	IR(%)	IC ₅₀		OD value	IR(%)	IC ₅₀
Test1	17.5	0.39± 0.06*	59.6	15.7	4.4	0.32± 0.05*	69.7	2.19
Test2	14.0	0.64± 0.03*	32.6		3.5	0.34± 0.07*	68.0	
Test3	10.5	0.80± 0.04*	16.5		2.6	0.42± 0.06*	60.4	
Test4	7.0	0.89± 0.06*	6.9		1.8	0.58± 0.05*	44.8	
Test5	3.5	0.92± 0.05*	3.4		0.90	0.77± 0.06*	26.7	
NC	-	0.95± 0.03	-		-	1.05± 0.05	-	
CT ₀	-	0.36± 0.00	-		-	0.36± 0.00	-	

Note: NC (Negative Control group), CT₀(Control group). Compared with Negative Control group, *P<0.05, n=5.

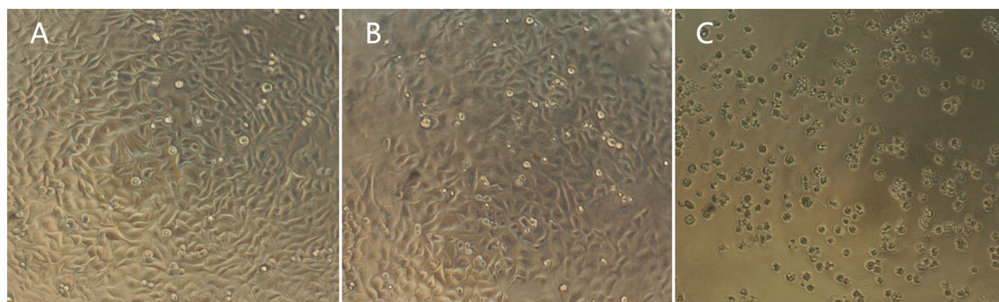


图 1 斑蝥酸钠、斑蝥素酸镁对人喉癌 Hep-2 细胞的形态影响

Fig.1 The influence of Magnesium Cantharidate and Sodium Cantharidate on Hep-2 cells Cell morphology

Note: A: Negative Control(no medicine), B: Sodium Cantharidate(3.5 μmol·L⁻¹), C: Magnesium Cantharidate(3.5 μmol·L⁻¹)

2.2 斑蝥素酸镁和斑蝥酸钠对人喉癌 Hep-2 细胞集落形成的影响

如表 2 所示,经过不同浓度药物处理,集落形成情况也不同,浓度越高,细胞集落数越少。当斑蝥酸钠浓度为 $3.50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

L^{-1} ,斑蝥素酸镁浓度为 $1.75 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,已没有细胞集落的形成(表 2)。对相同浓度的斑蝥素酸镁和斑蝥酸钠进行比较实验,如图 2 中显示斑蝥素酸镁在抑制肿瘤细胞克隆形成方面,明显好于斑蝥酸钠。

表 2 斑蝥酸钠、斑蝥素酸镁对人喉癌细胞 Hep-2 细胞集落形成的影响
Table 2 The influence of Magnesium Cantharidate and Sodium Cantharidate on Hep-2 cellsclone formatio

Group	Sodium Cantharidate			Magnesium Cantharidate		
	Concentration($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Number	Rate(%)	Concentration($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Number	Rate(%)
Test1	4.38	0	0	4.37	0	0
Test2	3.50	0	0	3.50	0	0
Test3	2.63	28 ± 3.6	18.7 ± 2.4	2.62	0	0
Test4	1.75	42 ± 5.6	28.0 ± 3.7	1.75	0	0
Test5	0.87	66 ± 7.9	44.0 ± 5.3	0.87	31 ± 2.6	20.7 ± 1.8
NC	0	116 ± 4.1	77.8 ± 2.8	0	116 ± 4.1	77.8 ± 2.8

Note: NC (Negative Control group), CT0(Control group), Compared with Negative Control group, * $P < 0.05$, $n = 3$.

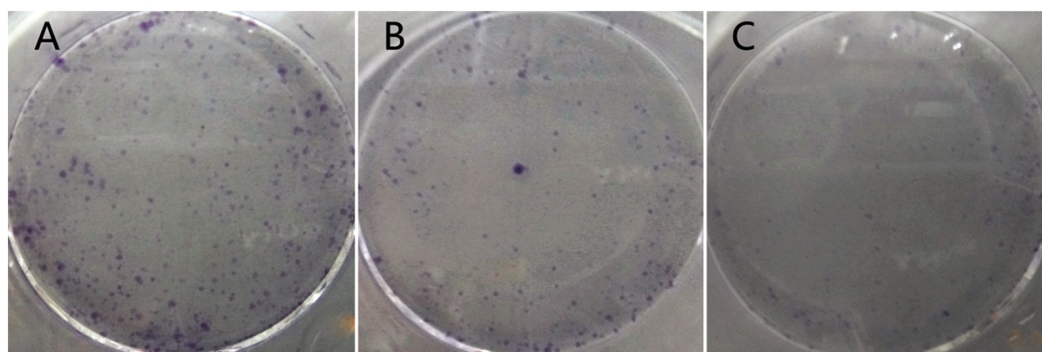


图 2 斑蝥酸钠、斑蝥素酸镁对人喉癌 Hep-2 细胞的集落形成的影响

Fig.2 The influence of Magnesium Cantharidate and Sodium Cantharidate on Hep-2 cells clone formation

Note: A.Negative Control (no medicine), B. Sodium Cantharidate($0.87 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$), C. Magnesium Cantharidate($0.87 \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$)

3 讨论

斑蝥,为我国珍贵的传统药用昆虫之一,是极其宝贵的抗癌中药资源^[10]。斑蝥素及其衍生物也成为人们关注与研究的热门课题。现如今,斑蝥素的药用价值如治疗肿瘤及调节免疫等亦早已被证实^[11]。人们发现,斑蝥类药物尽管已用于临床,但仍存在着自身的一些局限^[12]。因此,其新的衍生物的研发与新的复方制剂的合成以及相关材料结合的新剂型等开始引起广泛关注^[13]。

斑蝥酸钠属斑蝥素的盐类衍生物,为已经应用于临床的抗肿瘤药物,具有升高白细胞、提高免疫力,减少泌尿系统毒性,为广谱抗癌药^[14,15]。其可作为斑蝥酸钠维生素 B6 注射液使用,或作为联合用药使用^[16]。目前,斑蝥酸钠对于肝癌、胃癌、肺癌、胰腺癌、宫颈癌、老年膀胱癌等多种癌症患者均起到一定疗效^[17-22]。已经有文献报道,不同肿瘤细胞系对斑蝥酸钠的敏感性不同,如对于卵巢癌、肝癌、肾癌、胃癌等细胞系的敏感性较高,IC₅₀ 依次为 $6.45, 5.19, 4.28, 5.03 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,而对胰腺癌,乳腺癌,前列腺癌,肺癌的敏感性较低,IC₅₀ 表现为 $19.67, 43.25, 23.06, 25.73 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[23]。由此可提供分析参考,斑

蝥酸钠对于不同种类的肿瘤细胞或同一肿瘤细胞的不同类型的敏感性都是不尽相同的。对肺癌细胞 A549 而言,斑蝥素酸镁对 A549 的 IC₅₀ 为 $5.76 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[7],而斑蝥酸钠的 IC₅₀ 为 $25.73 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,可见肺癌细胞 A549 对斑蝥素酸镁的敏感性更强。此外,课题组前期的研究工作中也已证实斑蝥素酸镁和斑蝥酸钠均能抑制肝癌细胞 QGY-7703 的增殖,二者的 IC₅₀ 分别为 $9.48 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}, 33.80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。说明斑蝥素酸镁对肝癌细胞 QGY-7703 增殖的抑制活性强于斑蝥酸钠^[9]。对胃癌细胞 SGC-7901 来说,斑蝥素酸镁的 IC₅₀ 为 $8.65 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,而斑蝥酸钠的 IC₅₀ 为 $27.83 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,可见,胃癌细胞 SGC-7901 对斑蝥素酸镁更具敏感性^[24]。综上所述,有些肿瘤细胞对斑蝥酸钠的敏感性不佳,但是对斑蝥素酸镁却表现出很好的敏感性。

斑蝥素酸镁是本课题组自主开发的一种斑蝥素的盐类衍生物,具有比斑蝥素更好的水溶性,在开发针剂方面具有一定的优势。目前,关于斑蝥素酸镁的合成及相关活性的研究,国内外未见其他相关合成工艺的报道。并且,本课题组已经证实,斑蝥素酸镁的体外抗肿瘤活性要比斑蝥酸钠更强。但是,其抗癌谱尚未涉及到全部肿瘤细胞。本实验在上述研究工作的基础上,进一步拓宽斑蝥素酸镁的抗肿瘤谱,并得到了惊喜的发现。

课题组以临床使用的斑蝥酸钠为对照药物,分别做了斑蝥素酸镁对喉癌 Hep-2 细胞增殖实验和集落形成实验。细胞增殖的实验结果显示,斑蝥素酸镁对喉癌 Hep-2 细胞的抑制作用更加明显,其 IC_{50} 为 $2.19 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,明显低于斑蝥酸钠的 $15.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。提示:在抑制喉癌方面,斑蝥素酸镁同样具有良好的活性。并且,斑蝥素酸镁对喉癌的敏感程度要强于对肝癌细胞的敏感程度,表现为对喉癌细胞的 IC_{50} 明显小于对肝癌细胞的 IC_{50} 。集落形成实验,目的是要检测单个细胞的克隆形成能力,评估细胞的增殖状况^[7]。对恶性肿瘤而言,克隆形成的能力直接反应其恶性程度大小,能力越强则恶性程度越大。本次实验结果显示,在抑制单个细胞克隆的形成方面,与斑蝥酸钠相比,斑蝥素酸镁具有更低的有效浓度,说明斑蝥素酸镁可抑制喉癌细胞的恶化。结合前期的实验结果^[6,7],课题组认为斑蝥素酸镁具有比斑蝥酸钠更好的抗肿瘤活性,极具开发潜力。

参考文献(References)

- [1] 谭娟杰,章有为,王书永,等. 中国药用甲虫--芫菁科的资源考察与利用[J]. 昆虫学报, 1995, 38(3): 324-331
Tan Juan-jie, Zhang You-wei, Wang Shu-yong, et al. Investigation on the natural resources and utilize of the Chinese Medicinal Beetles-Meloidae[J]. Acta Entomologica Sinica, 1995, 38(3): 324-331
- [2] 张含藻,胡周强,薛震夷,等. 药用斑蝥生态的观察 [J]. 昆虫知识, 1990, 27(4): 228-230
Zhang Han-zao, Hu zhou-qiang, Xue Zhen-yi, et al. Observation of pharmaceutical blister beetle ecology [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 1990, 27(4): 228-230
- [3] 李晓飞,陈祥胜,国兴明. 芫菁科昆虫体内斑蝥素的气相色谱法测定[J]. 昆虫学报, 2007, 44(3): 459-461
Li Xiao-fei, Chen Xiang-sheng, Guo Xing-ming, et al. Gas2-chromatographical study of cantharidin in Meloi dae [J]. Acta Entomologica Sinica, 2007, 44(3): 459-461
- [4] 李晓飞,陈祥胜,王雪梅,等. 芫菁体内结合斑蝥素的含量及存在形式[J]. 昆虫学报, 2007, 50(7): 750-754
Li Xiao-fei, Chen Xiang-sheng, Wang Xue-mei, et al. Contents and existing forms of cantharidin in Meloidae (Coleoptera) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2007, 50(7): 750-754
- [5] 李晓飞. 芫菁体内结合斑蝥素与金属元素含量的比较[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(13): 2762-2764
Li Xiao-fei. Comparison of the Bound Cantharidin with Metal Elements in Meloidae [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(13): 2762-2764
- [6] 李晓飞,姜方明,晏容,等. 三种斑蝥素盐类物质对肝癌 QGY-7703 细胞生长的抑制作用[J]. 中国老年学杂志, 2013, 5(33): 2049-2050
Li Xiao-fei, Lou Fang-ming, Yan Rong, et al. Inhibitory effect on human hepatoma QGY-7703 cell exposed to three kinds of cantharidate [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2013, 5 (33): 2049-2050
- [7] 刘云,胡姗姗,姜方明,等. 斑蝥素酸镁对肺癌细胞增殖的抑制作用 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 26-28
Liu Yun, Hu Shan-shan, Lou Fang-ming, et al. Inhibitory Effect of Magnesium Cantharidate on Proliferation of Lung Adenocarcinoma Cell [J]. Lishizhen Medicine And Materia Medica Research, 2013, 24(1): 26-28
- [8] 李晓飞. 斑蝥素酸镁及其制备方法[P]. 中国专利: ZL201110149288.5, 2013-04-17
Li Xiao-fei. Magnesium Cantharidate and its preparation method[P]. Patent Number of China: ZL201110149288.5, 2013-04-17
- [9] Vanichavinchai, Kanyawin Kirtikara. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening[J]. Nature Protocols, 2006, 1(3): 1112-1116
- [10] 张建辉,陈建伟,李祥. 斑蝥及其近缘种属药用资源研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(6): 647-650
Zhang Jian-hui, Chen Jian-wei, Li Xiang. Research progress on medicinal resources of Mylabris and close origin species [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(6): 647-650
- [11] Han L, Sun YJ, Pan YF, et al. Cantharidin combined with chemotherapy for chinese patients with metastatic colorectal cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(24): 10977-10979
- [12] 邹建军,张胜强,冯瑞祥. 斑蝥素毒性及其药(毒)动力学研究[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(5): 393-396
Zou Jian-jun, Zhang Sheng-qiang, Feng Rui-xiang. The Toxicity and Pharmacokinetics of Cantharidin[J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2002, 33(5): 393-396
- [13] 周杰,吴敬波. 斑蝥素及其衍生物抗肿瘤研究近况 [J]. 西南军医, 2014, 16(3): 271-274
Zhou Jie, Wu Jing-bo. Research Progress on the Anti-tumor of Cantharidin and Its Derivatives [J]. Journal of Military Surgeon in Southwest China, 2014, 16(3): 271-274
- [14] Zhang J, Chen J, Li X. Research progress on medicinal resources of Mylabris and close origin species [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(6): 647-650
- [15] McCluskey A, Ackland SP, Bowyer MC, et al. Cantharidin analogues: synthesis and evaluation of growth inhibition in a panel of selected tumour cell lines[J]. Bioorg Chem, 2003, 31(1): 68-79
- [16] 庞杰,曹阳,陈锐深. 斑蝥酸钠维生素 B6 注射液作用肝癌 H22 的实验研究[J]. 实用肿瘤杂志, 2010, 25(6): 693-697
Pang Jie, Cao Yang, Chen Rui-shen. Effect of disodium cantharidinate and vitamin B6 injection on hepatic carcinoma 22 cell line[J]. Journal of Practical Oncology, 2010, 25(6): 693-697
- [17] Zhan YP, Huang XE, Cao J, et al. Clinical Study on Safety and Efficacy of Qinin (Cantharidin Sodium) Injection Combined with Chemotherapy in Treating Patients with Gastric Cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(9): 4773-4776
- [18] 王上伟,刘宁,韩坤元. 斑蝥酸钠对胃癌 SGC-7901 细胞增殖的影响及其机制的研究[J]. 安徽医药, 2013, 17(4): 558-561
Wang Shang-wei, Liu Ning, Han Kun-yuan. Effect of cell proliferation and mechanism via disodium cantharidinate in gastric cancer cell line SGC-7901 [J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2013, 17(4): 558-561
- [19] 袁贤彬,冯国生,陆水. 斑蝥酸钠维生素 B6 注射液联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察[J]. 河北医药, 2013, 35(18): 2764-2766
Yuan Xian-bin, Feng Guo-sheng, Lu Shui. The clinical observation of Cantharidin acid sodium vitamin B6 injection in non-small cell lung cancer[J]. Hebei Medical Journal, 2013, 35(18): 2764-2766
- [20] 寿柳梅,陶敏. 斑蝥酸钠对胰腺癌细胞株毒性作用的实验研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2014, 19(4): 299-302

参考文献(References)

- [1] Feldtkeller E, Eriendsson J. Definition of disease duration in ankylosing spondylitis[J]. Rheumatol Int, 2008, 28(7): 693-696
- [2] van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria[J]. Arthritis Rheum, 1984, 27(4): 361-368
- [3] Calin A, Porta J, Fries JF, et al. Clinical history as a screening test for ankylosing spondylitis[J]. JAMA, 1977, 237(24): 2613-2614
- [4] Burgos-Vargas R, Braun J. Inflammatory back pain [J]. Rheum Dis Clin North Am, 2012, 38(3): 487-499
- [5] Dincer U, Cakar E, Kiralp MZ, et al. Diagnosis delay in patients with ankylosing spondylitis: possible reasons and proposals for new diagnostic criteria[J]. Clin Rheumatol, 2008, 27(4): 457-462
- [6] Aggarwal R, Malaviya AN. Diagnosis delay in patients with ankylosing spondylitis: factors and outcomes--an Indian perspective [J]. Clin Rheumatol, 2009, 28(3): 327-331
- [7] Jamshidi AR, Shahlaee A, Farhadi E, et al. Clinical characteristics and medical management of Iranian patients with ankylosing spondylitis [J]. Mod Rheumatol, 2014, 24(3): 499-504
- [8] Rachid B, El ZB, Youseif E, et al. Early diagnosis and treatment of ankylosing spondylitis in Africa and the Middle East [J]. Clin Rheumatol, 2012, 31(11): 1633-1639
- [9] Gerdan V, Akar S, Solmaz D, et al. Initial diagnosis of lumbar disc herniation is associated with a delay in diagnosis of ankylosing spondylitis[J]. J Rheumatol, 2012, 39(10): 1996-1999
- [10] Lie E, van der Heijde D, Uhlig T, et al. Effectiveness of switching between TNF inhibitors in ankylosing spondylitis: data from the NOR-DMARD register[J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(1): 157-163
- [11] Haroon N, Inman RD, Learch TJ, et al. The impact of tumor necrosis factor alpha inhibitors on radiographic progression in ankylosing spondylitis[J]. Arthritis Rheum, 2013, 65(10): 2645-2654
- [12] Landewe R, Braun J, Deodhar A, et al. Efficacy of certolizumab pegol on signs and symptoms of axial spondyloarthritis including ankylosing spondylitis: 24-week results of a double-blind randomised placebo-controlled Phase 3 study [J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(1): 39-47
- [13] Rudwaleit M, Listing J, Brandt J, et al. Prediction of a major clinical response (BASDAI 50) to tumour necrosis factor alpha blockers in ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2004, 63(6): 665-670
- [14] Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewe R, et al. The development of assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection[J]. Ann Rheum Dis, 2009, 68(6): 777-783
- [15] Salvadorini G, Bandinelli F, Delle SA, et al. Ankylosing spondylitis: how diagnostic and therapeutic delay have changed over the last six decades[J]. Clin Exp Rheumatol, 2012, 30(4): 561-565
- [16] Sieper J, van der Heijde D. Review: Nonradiographic axial spondyloarthritis: new definition of an old disease? [J]. Arthritis Rheum, 2013, 65(3): 543-551
- [17] Robinson PC, Brown MA. The window of opportunity: a relevant concept for axial spondyloarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(3): 109
- [18] Robinson PC, Wordsworth BP, Reveille JD, et al. Axial spondyloarthritis: a new disease entity, not necessarily early ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72(2): 162-164
- [19] Hajjalilo M, Ghorbanihaghjo A, Khabbazi A, et al. Ankylosing spondylitis in iran; late diagnosis and its causes[J]. Iran Red Crescent Med J, 2014, 16(4): e11798
- [20] Aggarwal R, Malaviya AN. Diagnosis delay in patients with ankylosing spondylitis: factors and outcomes--an Indian perspective [J]. Clin Rheumatol, 2009, 28(3): 327-331

(上接第 2237 页)

- Shou Liu-mei, Tao Min. Study on the efficacy with sodium cantharidinate against pancreatic cancer cells [J]. Chinese Clinical Oncology, 2014, 19(4): 299-302
- [21] 郝通利, 李刚, 张磊, 等. 口服艾易舒注射液治疗老年膀胱癌临床观察[J]. 现代肿瘤学, 2012, 2(1): 128-131
- Hao Tong-li, Li Gang, Zhang Lei, et al. Clinical effect of oral Aiyishu injection in the older patients with bladder cancer[J]. Journal of Modern Oncology, 2012, 2(1): 128-131
- [22] 陈瑾敖, 杨尚君, 蒲宇, 等. 斑蝥酸钠对入宫颈癌Hela细胞凋亡相关基因表达的影响[J]. 医药前沿, 2011, 1(18): 234-237
- Chen Jin-ao, Yang Shang-jun, Pu-Yu, et al. Sodium cantharidinates effect on Expression of BCL-2 in human cervical carcinoma cell line Hela[J]. Medical Frontier, 2011, 1(18): 234-237
- [23] 赵珍珍, 李俊, 王维刚, 等. 不同癌细胞系对斑蝥酸钠的药物敏感性检测[J]. 同济大学学报, 2013, 34(4): 10-15
- Zhao Zhen-zhen, Li Jun, Wang Wei-gang, et al. Drug susceptibility to sodium cantharidate of different cancer cell lines [J]. Journal of Tongji University, 2013, 34(4): 10-15
- [24] 李晓飞, 曹嵩, 姜方明, 等. 芫菁体内结合斑蝥素对胃癌SGC-7901细胞增殖的抑制作用[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25: 963-966
- Li Xiao-fei, Cao song, Lou Fang-ming, et al. Inhibitory Effect of Bound Cantharidin Extracted from Meloids Mylabris cantharidis on the Proliferation of Cell SGC-7901 [J]. Natural Product Research and Development, 2013, 25: 963-966