

金水鲜胶囊联合放射治疗对肺腺癌 A549 细胞抑制率和 VEGF 表达影响的研究

Influence of Goldwater Fresh Capsule Combined with Radiotherapy on Inhibition Rate and VEGF Expression of Lung Adenocarcinoma A549 Cells

LIU Liang, GE Wei, MING Ping-po, et al.

刘 梁, 戈 伟, 明平坡, 郑永法, 黄 玉, 曾建昌
(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘 要: [目的] 研究金水鲜胶囊联合放疗对肺腺癌 A549 细胞增殖的抑制作用, 同时检测采用两者联合治疗对肺癌细胞分泌的 VEGF 蛋白及 mRNA 表达的影响。[方法] 体外培养肺腺癌 A549 细胞, 将处于对数期的 A549 细胞随机分为 4 组: 空白对照组(NC)、金水鲜组(JSX)、放疗组(RT)以及金水鲜与放疗联合组(JSX+RT), 其中联合组又按照时序不同分为 3 个亚组: 先金水鲜后放疗组(JSX→RT), 先放疗后金水鲜组(RT→JSX), 同时金水鲜联合放疗组(JSX+RT)。MTT 法计算细胞生长抑制率, ELISA 法测定 VEGF 蛋白表达的含量, RT-PCR 技术检测各处理组 VEGF mRNA 的表达变化。[结果] ①与对照组相比, 各处理组肺腺癌细胞的生长速度随时间的改变都受到不同程度的抑制, 其中以 JSX+RT 组最为明显, RT 组其次, JSX 组抑制肺腺癌细胞的增殖程度不如其他两个实验组。JSX+RT 组抑制细胞增殖程度与空白对照组、JSX 组、RT 组相比, 均具有显著统计学差异($P<0.05$)。②各处理组细胞表达的 VEGF 蛋白含量有所下降, 其中 JSX 组及 JSX+RT 组在 48h 时 VEGF 蛋白表达量下降的作用明显, 与空白对照组及 RT 组相比, 差异有显著统计学意义($P<0.05$)。③与空白对照组相比, 各处理组 VEGF mRNA 的表达均表现出下降趋势, 在 48h 时 JSX 组及 JSX+RT 组与空白对照组、RT 组相比, 差异有显著统计学意义($P<0.05$), RT 组与空白对照组相比, 差异有明显统计学意义($P<0.05$)。[结论] 金水鲜联合放疗可显著抑制肺腺癌 A549 细胞增殖, 下调 VEGF 蛋白以及 mRNA 的表达, 间接降低新生血管的生成速度和数量, 考虑为金水鲜胶囊在影响血管生成方面能增加放疗对肺癌的杀伤作用。

主题词: 金水鲜胶囊; 放射疗法; 肺肿瘤; A549 细胞; 血管内皮生长因子

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2013)06-0417-06

目前肺癌仍然是国内外发病率与死亡率都位居前列的恶性肿瘤之一, 放射治疗在 75% 左右的肺癌患者中是一种不可或缺的治疗方法, 但因肿瘤不能控制、局部复发或转移, 5 年生存率始终较低。近年来, 具有抗肿瘤血管生成作用的中药由于其价格便宜、副作用低, 已受到肿瘤界学者的广泛关注。金水鲜胶囊是取材于鲜活动物, 根据中医药扶正驱邪的理论, 在金龙胶囊有效成分的基础上加用鲜蛤蚧、鲜西洋参、冬虫夏草。同时金水鲜胶囊含有生理活性多肽、核苷酸以及蛋白水解酶、淀粉酶、脂肪酶和精氨酸脂酶等多种酶类, 对于癌症患者生理免疫活动的

调节起着十分关键的作用。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 通过促进肿瘤血管和淋巴管的形成参与多种肿瘤的生长和转移。肺癌作为一种富含血管的实体肿瘤, VEGF 在其形成、转移和复发中起到重大作用。缺氧是 VEGF 表达增加的主要原因, 而非小细胞肺癌组织中的缺氧情况致使 VEGF 表达增加, 使肿瘤组织对放化疗的敏感性降低, 出现肿瘤的生长和转移。本项目研究现代鲜药金水鲜胶囊抑制血管生成的作用, 进一步探讨与放射治疗联合治疗肺癌的作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 试验药物与试剂

金水鲜胶囊冻干粉 (北京建生药业有限公司惠

基金项目: 中国癌症基金会资助项目 [cfexjs(2009)102]

通讯作者: 戈 伟, 主任医师, 硕士生导师, 博士; 武汉大学人民医院肿瘤中心, 湖北省武汉市武昌区张之洞路 9 号 (430060);
E-mail: gewei514@126.com。

收稿日期: 2012-09-04; **修回日期:** 2012-11-11

赠)用生理盐水稀释,经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤,配成 50mg/ml 金水鲜胶囊悬液;MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(南京凯基生物,货号:KGA312);1640 培养基(Gibco,货号:31800-022),胎牛血清(Gibco,10099-141),cDNA 第一链合成试剂盒(Fermentas,货号:#K1622),DL2000 DNA Marker(TAKARA,货号:D501A),DL15000 DNA Marker(TAKARA,货号:D502A)。

1.2 实验细胞

人肺腺癌 A549 原代细胞(购于武汉大学中南医院肿瘤研究所),肺腺癌细胞常规培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液,培养液中加入青霉素 100IU/ml 和链霉素 100 μ g/ml,置于 37 $^{\circ}$ C、5%的 CO₂ 培养箱中培养,每 2d 换液 1 次,显微镜下观察到癌细胞表现为贴壁生长,长满后以 0.05%胰蛋白酶、0.02% EDTA 消化传代,取对数生长期的细胞进行实验。

1.3 实验设备

美国 Varian 公司 23EX 直线加速器,CO₂ 恒温培养箱(SANYO,型号:MCO-15AC),可见—紫外光微孔板检测仪,倒置显微镜(OLYMPUS,型号:IX51),低速离心机(Eppendorf,型号:5702R),全自动酶标仪(Thermo,型号:MULTISKAN MK3),PCR 台式高速冷冻离心机(SIGMA 公司),PCR 检测系统(ABI7500)(宏石公司)。

1.4 实验分组及处理

将培养好的肺癌 A549 细胞随机分为 4 组:空白对照组(NC)、金水鲜组(JSX)、放疗组(RT)以及金水鲜与放疗联合组,其中联合组又按照时序不同分为 3 个亚组[先金水鲜后放疗组(JSX $\rightarrow$ RT),先放疗后金水鲜组(RT $\rightarrow$ JSX),同时金水鲜联合放疗组(JSX+RT)]。①空白对照组:向培养液中加入 20 μ l 的生理盐水;②放射治疗组:使用 6MeV 电子线照射,肿瘤表面覆盖 0.5cm 的组织等效材料,源皮距 SSD 取 100cm。放疗剂量为 2Gy/次,单次照;③金水鲜胶囊组向培养液中加入金水鲜胶囊悬液 20 μ l;④放射治疗+金水鲜胶囊组再分为先放疗后给药(d₁放疗, d₂给药)、先给药后放疗(d₁给药, d₂放疗)、同时治疗(放疗后半小时内给药),3 个亚组给药方法和放疗剂量同单纯放疗组和单用金水鲜组。

1.5 方法

1.5.1 MTT 试验

细胞正常传代,计数,将细胞密度调整到 1 $\times$ 10⁴ 个/100 μ l,接入 96 孔板,每孔 100 μ l 细胞悬液,37 $^{\circ}$ C 培养过夜。每块 96 孔板均同时设空白组,即孔内加入 100 μ l DMEM 培养基,不含细胞;在细胞孔周围孔内加入 100 μ l 无菌 PBS。按实验分组分别处理细胞:将金水鲜胶囊悬液加入细胞孔内;空白对照组加入相同体积生理盐水;联合组按拟定时间进行给药,每组 3 个复孔,37 $^{\circ}$ C 培养。各个实验组在相应处理后分别培养 6、12、18、24、48h 后每孔加入 50 μ l 1 $\times$ MTT (用 Dilution Buffer 将 5 $\times$ MTT 稀释成 1 $\times$ MTT),37 $^{\circ}$ C 培养 4h。小心吸出孔内液体,加入 150 μ l/孔 DMSO,低速振荡 10min,使紫色结晶溶解。OD₅₇₀ 测定各孔吸光值,以 A₅₇₀ 间接反映存活细胞数量。计算肿瘤细胞增殖抑制率:增殖抑制率(%)=(对照组 A 值-实验组 A 值)/对照组 A 值 $\times$ 100%。以上实验重复 3 次,3 次结果取均值统计处理。

1.5.2 ELISA 法检测细胞分泌的 VEGF 蛋白含量

细胞处理结束后第 0、6、12、18、24、48h 收集上清液,备用。按 ELISA 试剂盒步骤检测细胞分泌的 VEGF 蛋白含量(具体按试剂盒说明操作)。

实验开始前,各试剂均应平衡至室温,试剂或样品配制时,均需充分混匀,并尽量避免起泡。分别设空白孔、标准孔、待测样品孔;空白孔加样品稀释液 100 μ l,余孔分别加标准品或待测样品 100 μ l;给酶标板覆膜,37 $^{\circ}$ C 孵育 2h,弃去液体,甩干,每个孔中加入 Detection Ab 工作液 100 μ l(在使用前 15min 内配制),酶标板上加覆膜,37 $^{\circ}$ C 温育 1h;弃去孔内液体,甩干,洗板 3 次,每次浸泡 1~2min,大约 350 μ l/孔,甩干并在吸水纸上轻拍将孔内液体拍干。每孔加 HRP Conjugate 工作液(临用前 15min 内配制)100 μ l,加上覆膜,37 $^{\circ}$ C 温育 1h;弃去孔内液体,甩干,洗板 5 次,方法同步骤 3;每孔加底物溶液 100 μ l,酶标板上加覆膜 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15min;每孔加终止液 50 μ l,终止反应,此时蓝色立转黄色,立即用酶标仪在 450nm 波长测量各孔的光密度(OD 值),计算出 VEGF 的含量。

1.5.3 RT-PCR 法测定各组细胞中 VEGF 基因的表达

PCR 引物由武汉金斯瑞公司合成。Real-time PCR 引物设计 β -actin T_m=56, β -actin F:5'-CACGAT-

GGAGGGGCCGGACTCATC-3', β -actin R:5'-TAAA-GACCTCTATGCCAACACACT3'。Homo VEGF A DNA 链长度为 188bp, Homo VEGF A F: 5'-AAGTCCTG-GAGCGTGACGTTG -3' , Homo VEGF A R: 5' -CGTTCGTTTAACTCAAGCTGCCTC-3'。

实时 PCR 反应体系 25 μ l, 内含 5 $\times$ 实时 PCR Buffer 5 μ l, 300 μ mol/L dNTP, 5mmol/L MgCl₂, 上下游引物各 200nmol/L, 相应荧光探针 120nmol/L, Taq 酶 1.25U, cDNA 2 μ l, 水补齐到 25 μ l。95 $^{\circ}$ C 3min 后, 按下述条件进行循环:95 $^{\circ}$ C 15s, 65 $^{\circ}$ C 25s, 40 个循环, 每个样本设 3 个平行反应。换取内参照 PO 基因(编码人酸性核糖体磷酸蛋白)的引物和探针, 按前述同样条件进行 RT-PCR 检测。结果数据采用 Rotor-Gene Real-Time Analysis Software 进行定量分析, 以测定各组细胞中 VEGF 基因表达的变化。

1.6 统计学处理

使用统计软件 SPSS17.0 对实验数据进行统计

分析, 结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组均数间比较使用 F 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肺腺癌 A549 细胞的生长抑制作用

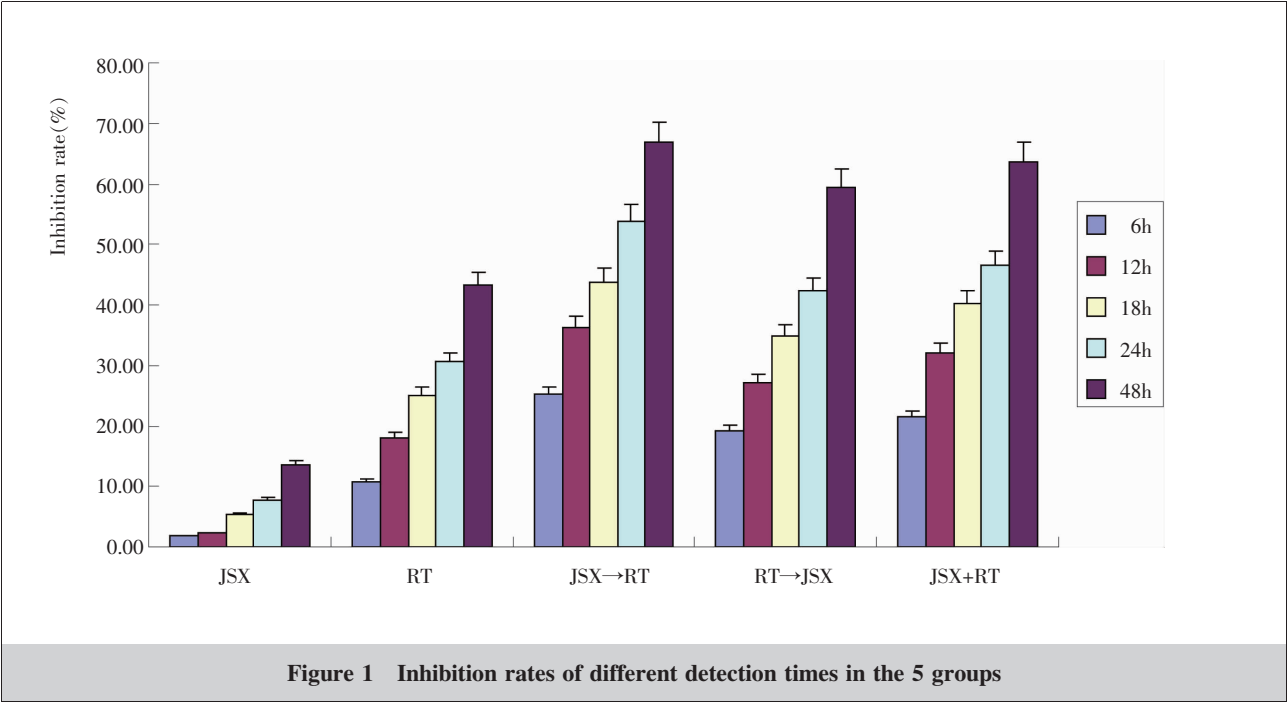
不同处理方法对肺腺癌 A549 细胞的生长均有抑制作用, 且随时间的增加而加强, 具有明显的时效性, 其中 JSX+RT 组与 RT 组对肺腺癌 A549 细胞的生长抑制作用更为明显。另外, 不同时序放疗联合金水鲜处理组间, 不同时间点的生长抑制率(IR)相比, 统计学上并无显著差异; 不同时间点, 放射组对细胞生长抑制值与金水鲜组的差异具有统计学意义($F=2.31, P<0.05$)(Table 1, Figure 1)。

2.2 ELISA 法检测联合治疗后肺腺癌 A549 细胞表达 VEGF 的情况

在处理前各组肿瘤细胞 VEGF 表达量无差异

Table 1 Inhibition rates of different detection times in the 5 groups(%, $\bar{x}\pm s$)

Detection time(h)	Test number	Inhibition rate				
		JSX	RT	JSX $\rightarrow$ RT	RT $\rightarrow$ JSX	JSX+RT
6	3	1.908 $\pm$ 0.827	10.732 $\pm$ 1.227	25.266 $\pm$ 0.517	19.154 $\pm$ 0.159	21.303 $\pm$ 0.389
12	3	2.189 $\pm$ 0.815	17.890 $\pm$ 0.553	36.237 $\pm$ 0.268	27.043 $\pm$ 0.122	31.804 $\pm$ 0.453
18	3	5.373 $\pm$ 0.343	25.053 $\pm$ 0.405	43.798 $\pm$ 0.238	34.926 $\pm$ 0.654	40.216 $\pm$ 0.461
24	3	7.808 $\pm$ 0.433	30.487 $\pm$ 0.481	53.838 $\pm$ 0.346	42.378 $\pm$ 0.261	46.501 $\pm$ 0.175
48	3	13.601 $\pm$ 0.583	43.116 $\pm$ 0.345	66.814 $\pm$ 0.334	59.477 $\pm$ 0.486	63.762 $\pm$ 0.428



($P>0.05$), 处理后肿瘤细胞 VEGF 表达量除空白对照组及 RT 组外, 均明显减少。JSX+RT、JSX→RT、RT→JSX 组之间 VEGF 表达量无明显差别 ($P>0.05$), 但是 JSX+RT 组与其他 JSX、RT、空白对照组有明显差别 ($F=5.44, P<0.01$); JSX 组与其他各组之间也有明显差异 ($F=6.12, P<0.01$) (Table 2, Figure 2)。

2.3 RT-PCR 法测定各组肺腺癌细胞 VEGF 基因的表达情况

与空白对照组相比, 除 RT 组外, 各处理组 VEGF mRNA 表达均表现出下降趋势, JSX+RT、

JSX→RT、RT→JSX 各组之间 VEGF mRNA 表达量无明显差别 ($P>0.05$), 但是 JSX+RT 组与其他 JSX、RT、空白对照组有明显差别 ($F=3.53, P<0.01$); JSX 组与其他各组之间也有明显差异 ($F=4.23, P<0.01$) (Table 3, Figure 3)。

3 讨论

应用中药抗肿瘤血管生成作用给放疗增敏具有较强的临床应用潜在价值和独特的优势: ①我国中

Table 2 The expression of VEGF in different groups (pg/ml)

Detection time(h)	NC	RT	JSX	RT→JSX	JSX→RT	JSX+RT
0	983.55±2.27	993.13±1.99	992.86±1.46	982.54±1.66	987.17±1.23	985.52±1.71
6	1126.22±2.29	1368.35±1.25	835.99±1.71	721.11±1.92	677.22±2.81	617.39±2.35
12	1167.80±1.23	1502.03±1.39	763.66±2.46	626.38±1.85	597.38±1.12	515.71±2.81
18	1232.58±1.50	1578.06±1.55	732.71±0.88	603.42±0.94	513.76±2.29	480.60±5.24
24	1385.58±1.16	1583.27±0.95	702.19±1.41	584.88±2.21	504.90±1.93	464.43±3.68
48	1472.19±1.21	1595.91±1.53	667.73±1.13	594.79±2.82	486.76±1.40	447.81±3.29

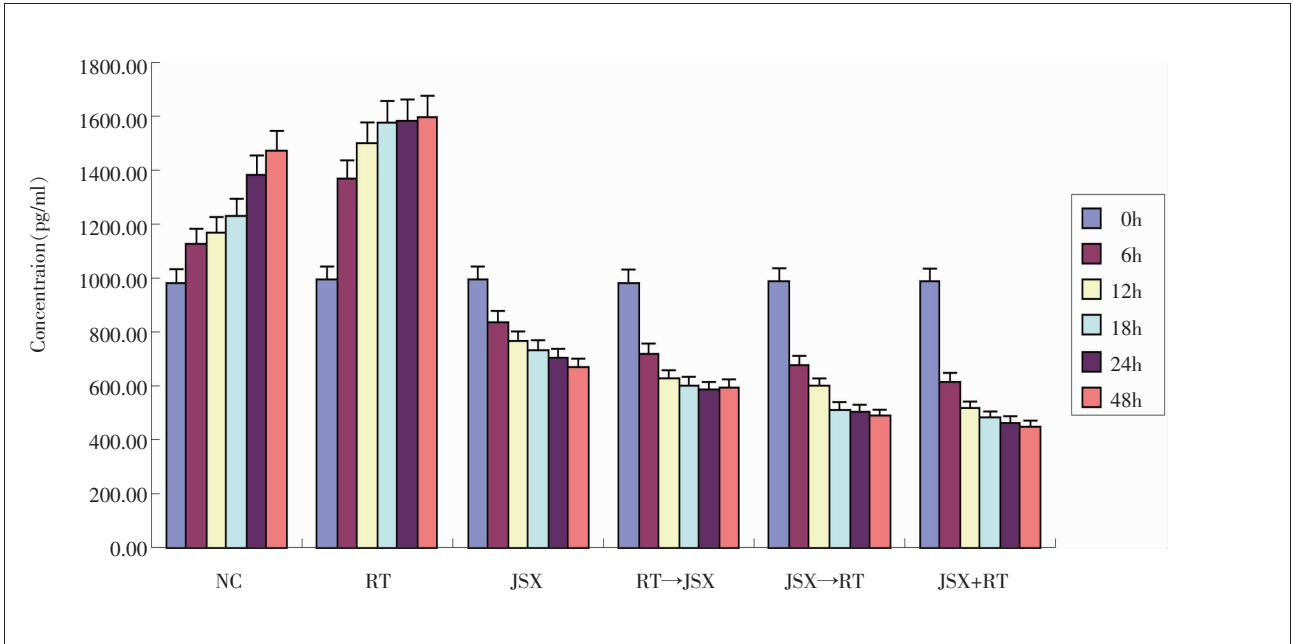
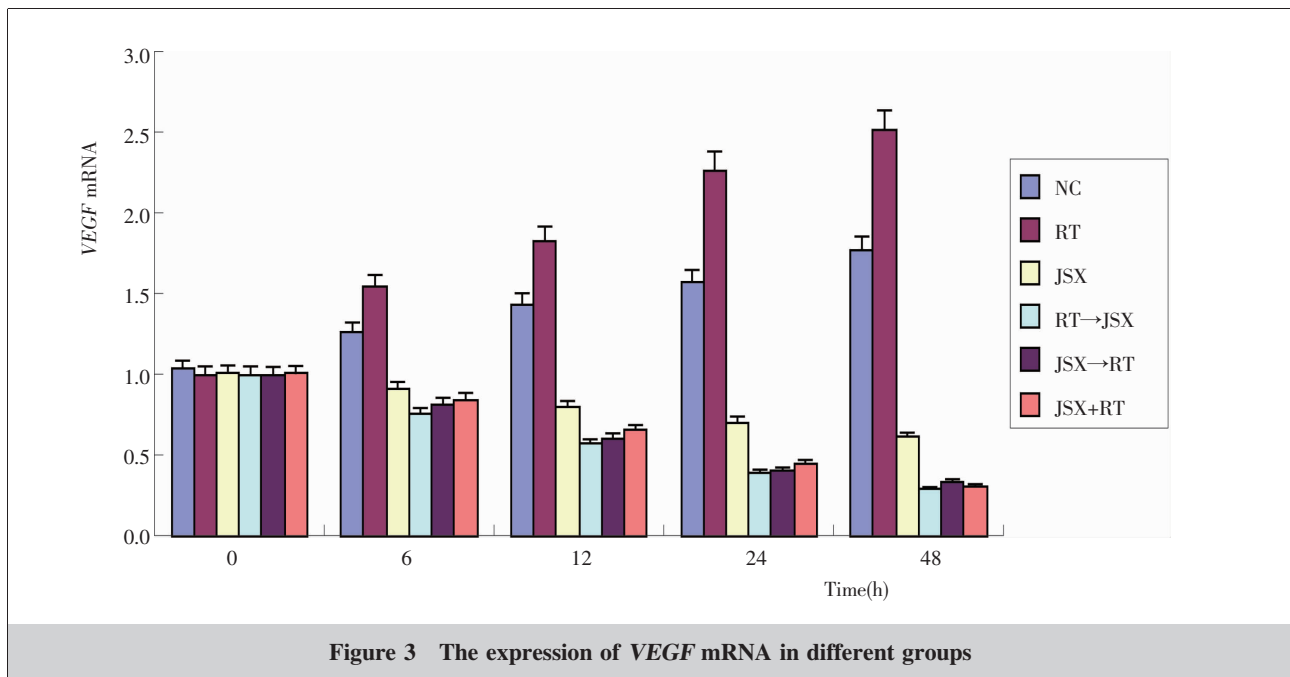


Figure 2 The expression levels of VEGF protein in different groups

Table 3 The expression of VEGF mRNA in different groups ($\bar{x}\pm s$)

Detection time(h)	NC	RT	JSX	RT→JSX	JSX→RT	JSX+RT
0	1.032±0.032	0.999±0.104	1.004±0.072	0.999±0.199	0.996±0.015	1.001±0.111
6	1.257±0.243	1.537±0.261	0.906±0.065	0.753±0.065	0.813±0.064	0.842±0.170
12	1.431±0.280	1.823±0.258	0.795±0.173	0.568±0.044	0.604±0.047	0.652±0.130
24	1.567±0.346	2.267±0.379	0.703±0.231	0.389±0.014	0.402±0.030	0.446±0.065
48	1.764±0.100	2.508±0.978	0.607±0.197	0.287±0.034	0.333±0.005	0.304±0.045



草药种类繁多,价格便宜,但由于缺乏更为系统和科学的机理研究,一直都得不到广泛的应用。研究成功可以为患者带来经济实惠;②中药抗肿瘤药物一般无明显骨髓毒性,也为因体力状态不佳等因素不宜接受常规放化疗的患者带来福音;③中药成分复杂,具有综合作用。金水鲜胶囊已有的研究表明,可以增强免疫力,辅助抵抗肿瘤,无并发症,无严重不良反应,集营养、代谢、免疫、肿瘤坏死因子等作用,调节机体的平衡。

目前,金水鲜胶囊已在临床上应用于治疗原发性肝癌、肺癌、胃癌等多种恶性肿瘤,取得了改善症状、提高生存质量、延长生存期等良好效果。但对全国目前鲜动物中药的资源、临床应用、基础研究、药理毒理研究以及在此基础上的开发利用,还有待于进一步结合现代科学技术作深入研究和广泛探讨。特别是它的抑制肿瘤血管生成作用,目前尚无相关研究结果^[1,2]。

早在 20 世纪 70 年代初,Folkman 提出,肿瘤的生长有赖于血管的生成,需要血管为之提供养料并运走代谢废料。没有血管,肿瘤一般只能生长到直径 1~2mm^[3]。到了 90 年代,又有研究者发现,肿瘤组织直径>1~2mm 时,需要生成新血管为其继续增殖提供足够的氧气和营养物质。肿瘤的血管按照不同的生成方式分为 3 种类型:内皮依赖性血管、血管生成拟态及马赛克血管。因为肿瘤的内皮依赖性血管

与正常血管结构相似,且大多数肿瘤血管是以此形式存在的,因此本课题选择内皮依赖性血管来进行金水鲜胶囊的抗血管研究。

内皮依赖性血管生成的基本步骤为:①肿瘤血管生成促进因子与血管生成抑制因子的失衡。血管生成促进因子主要包括血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血小板源性生长因子(PDGF)等;血管生成抑制因子主要包括血管抑素(angiotatin)、内皮抑素(endostatin)、凝血栓蛋白(TSP-1)等。这两者失衡导致血管生成表型形成;②血管内皮基底膜的降解,在血管内皮基质降解酶系统中基质金属蛋白酶系统(MMPs)发挥重要作用,MMPs 中以 MMP-2 和 MMP-9 研究最多,MMP-2 被认为是肿瘤“血管生成开关”HIF-1 的一种调节因子;③内皮细胞向肿瘤组织迁移及迁移中增殖;④内皮细胞管道化,分支化形成血管环;⑤形成新的基底膜。新生成的不成熟的血管与正常成熟的血管相比,基底膜和胞间复合物少,使肿瘤细胞向四周侵入的增强,而造成肿瘤的转移。可见,新血管的生成是肿瘤迅速增殖和转移的重要条件之一,阻断新血管的生成就可有效地抑制肿瘤的生长和转移^[4,5]。

原超广等^[6]在金龙胶囊联合 GP 方案对晚期非小细胞肺癌血清 VEGF 表达影响的研究中,将 60 例晚期 NSCLC 患者随机分为两组,其中治疗组 30 例为 GP 方案化疗+口服金龙胶囊,对照组 30 例仅给

以 GP 方案化疗。结果显示治疗组和对照组血清 VEGF 的水平分别由治疗前的 $(824.50 \pm 164.82) \text{ pg/ml}$ 和 $(831.07 \pm 143.42) \text{ pg/ml}$ 变为治疗后的 $(542.13 \pm 114.66) \text{ pg/ml}$ 、 $(748.53 \pm 149.52) \text{ pg/ml}$ ，均较治疗前下降，但治疗组血清 VEGF 水平较对照组下降更明显，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。吕永丰等^[7]研究了金龙胶囊对肺腺癌 A549 生长能力影响，观察不同剂量金龙胶囊对 A549 细胞生长的影响，结果给药组生长曲线明显较对照组平缓，并与给药剂量呈显著相关性，给药组凋亡指数明显高于对照组，凋亡指数与给药剂量呈正相关。由于肿瘤中缺氧环境和癌基因激活、抑癌基因失活，HIF-1 基因激活并过量表达，它可以通过多条信号转导通路共同作用，诱导 VEGF 表达^[8]，促使血管的生成，而放疗同样能够对肿瘤 A549 细胞的凋亡及细胞周期的产生影响^[9]，我们的研究表明，与对照组相比，各处理组肺腺癌细胞的生长速度随时间的改变都受到不同程度的抑制，其中以金水鲜联合放疗组最为明显，具有显著统计学差异 ($P < 0.05$)。各药物处理组细胞 VEGF 蛋白的含量有所下降，其中金水鲜组及金水鲜联合放疗组在 48h 时使 VEGF 蛋白表达量下降的作用明显，差异具有明显统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组相比，各处理组 VEGF mRNA 的表达均表现出下降趋势，在 48h 时金水鲜组及金水鲜联合放疗组与对照组差异最明显 ($P < 0.05$)。

因此，我们可以认为，通过金水鲜联合放疗可显著抑制肺腺癌细胞增殖^[6,9]，诱导细胞凋亡，下调 VEGF 蛋白以及 mRNA 的表达，间接降低血管的生成速度和数量，这种作用机制也考虑为对肺癌放疗增敏的主要原因，后期我们将通过对 HIF-1 蛋白和基因的检测，以及流式细胞仪的检测来进一步确定金水鲜联合放疗更精确的机制^[10-12]。

参考文献：

- [1] Ge W, He D, Hu K, et al. Endostatin combined with radiotherapy on Lewis lung cancer in mice induced by hypoxia inducible factor 1 alpha and vascular endothelial growth factor[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2010, 27 (2): 232-233. [戈伟, 何渡, 胡科, 等. 内皮抑素联合放疗对 Lewis 肺癌小鼠中缺氧诱导因子 1 α 和血管内皮生长因子的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27 (2): 232-233.]
- [2] He D, Ge W, Li CH, et al. Effect of recombinant human endostatin combined with radiotherapy on Lewis lung cancer in mice[J]. Chinese Journal of lung cancer, 2010, 13 (4): 386-390. [何渡, 戈伟, 李长虎, 等. 重组人血管内皮抑制素联合放疗对 Lewis 肺癌小鼠的作用[J]. 中国肺癌杂志, 2010, 13(4): 386-390.]
- [3] Folkman J, Merler E, Abernathy C, et al. Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis [J]. J Exp Med, 1971, 133: 275-288.
- [4] Hu K, Ge W, Zhang YY, et al. Endostar combined with radiotherapy on apoptosis of A549 cell and HIF-1, VEGF expression in rat [J]. Journal of Wuhan University (Medical Science Edition), 2010, 31 (2): 182-185. [胡科, 戈伟, 张彦彦, 等. Endostar 联合放疗对 A549 细胞凋亡及 HIF-1、VEGF 表达的影响 [J]. 武汉大学学报 (医学版), 2010, 31(2): 182-185.]
- [5] Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma[J]. N Engl J Med, 1991, 324: 1-8.
- [6] Yuan CG. Jinlong capsule combined with GP regimen in advanced non small cell lung cancer serum on VEGF expression and Curative effect[D]. Fuzhou: Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 2011. [原超广. 金龙胶囊联合 GP 方案对晚期非小细胞肺癌血清 VEGF 表达和疗效的影响[D]. 福州: 福建中医药大学, 2011.]
- [7] Lv YF, Chen QX, Liang D. Jinlong Capsule on lung adenocarcinoma A549 growth ability influence research[J]. China Practical Medicine, 2010, 25: 32-33. [吕永丰, 陈清霞, 梁丹. 金龙胶囊对肺腺癌 A549 生长能力的影响的研究[J]. 中国实用医药, 2010, 25: 32-33.]
- [8] Nordmark M, Eriksen JG, Gebiski V, et al. Differential risk assessments from five hypoxia specific assays: the basis for biologically adapted individualized radiotherapy in advanced head and neck cancer patients [J]. Radiother Oncol, 2007, 83(3): 389-397.
- [9] Luo LM. Effect of ionizing radiation on lung cancer A549 cell apoptosis and cell cycle effects [J]. Journal of Chinese Oncology, 2009, 15 (5): 410-411. [罗利民. 电离辐射对肺癌 A549 细胞凋亡及细胞周期的影响 [J]. 肿瘤学杂志, 2009, 15(5): 410-411.]
- [10] Dewhirst MW, Cao Y, Li CY, Moeller B. Exploring the role of HIF-1 in the early angiogenesis and response to radiotherapy[J]. Radiother Oncol, 2007, 83(3): 249-55.
- [11] Zhang L, Ge W, Hu K, et al. Endostar down-regulates HIF-1 and VEGF expression and enhances the radioresponse to human lung adenocarcinoma cancer cells [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(11): 89-95.
- [12] Zhang YY, Ge W, Zhao J, et al. Endostatin combined with radiotherapy on the growth of A549 cells and expression of HIF-1 effect[J]. Chinese Journal of Cancer, 2009, 12 (1): 33-37. [张彦彦, 戈伟, 赵娟, 等. 内皮抑素联合放疗对 A549 细胞生长及 HIF-1 表达的影响[J]. 中国肺癌杂志, 2009, 12(1): 33-37.]