

散结抑癌方联合贝伐珠单抗对 BALB/c 裸鼠结肠癌肺转移的影响

张莹瑄 任建琳 吴杏黎 陆鑫熠 黄人可

【摘要】 目的 探究散结抑癌方联合贝伐珠单抗对 BALB/c 裸鼠结肠癌肺转移的影响,以及对血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达的影响。方法 采用经尾静脉注射对数生长期的入源结肠癌 HCT116 荧光细胞的方法,构建 BALB/c 裸鼠肺转移模型。将造模成功的 20 只裸鼠随机分为 4 组,每组 5 只。中药组,散结抑癌方灌胃;西药组,贝伐珠单抗腹腔注射;联合组,散结抑癌方灌胃+贝伐珠单抗腹腔注射;对照组,生理盐水灌胃。每周进行 1 次活体荧光成像观察肿瘤生长情况,记录小鼠体质量。干预 4 周后取小鼠肺组织,H-E 染色观察小鼠结肠癌肺转移情况,免疫组织化学法检测 VEGF 蛋白表达情况。结果 与干预前比较,对照组在干预后体质量下降最多。干预后,中药组体质量略高于对照组($P>0.05$),联合组体质量略高于西药组($P>0.05$),联合组和西药组体质量均明显高于对照组($P<0.05$)。小动物成像定量分析结果显示,干预后中药组、西药组和联合组生物发光光子数均少于对照组(P 均 <0.05)。H-E 染色结果指出,对照组转移灶面积最大,转移处最多,联合组转移灶面积最小,转移处最少。免疫组织化学检测结果显示,对照组 VEGF 蛋白平均阳性细胞率为 48.57%,高于中药组(39.91%)、西药组(35.82%)和联合组(29.03%),差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。结论 散结抑癌方可以抑制结肠癌肺转移,作用途径可能与 VEGF 蛋白表达相关。

【关键词】 散结抑癌方;结肠癌肺转移;贝伐珠单抗;血管内皮生长因子

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2021.03.011

Effect of San-Jie-Yi-Ai Decoction combined with bevacizumab on lung metastasis of colon cancer in BALB/c nude mice ZHANG Yingxuan, REN Jianlin, WU Xingli, LU Xinyi, HUANG Renke. Department of Oncology, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

【Abstract】 Objective This paper aims to explore the effect of San-Jie-Yi-Ai Decoction combined with bevacizumab on lung metastasis of colon cancer and the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in BALB/c nude mice. **Methods** BALB/c nude mice models of lung metastasis were established by injecting human colon cancer HCT116 fluorescent cells in logarithmic growth phase via tail vein. Twenty nude mice successfully modeled were randomly divided into 4 groups with 5 mice in each group. In the traditional Chinese medicine group, San-Jie-Yi-Ai Decoction was given by gavage. In the western medicine group, bevacizumab was injected intraperitoneally. In the combined group, San-Jie-Yi-Ai Decoction was given by gavage and bevacizumab was injected intraperitoneally. The control group was given normal saline by gavage. The tumor growth was observed by in vivo fluorescence

基金项目:国家自然科学基金项目(81873279);上海市卫生健康委员会卫生行业临床研究专项(201840325);上海市科学技术委员会医学引导类(中、西医)科技支撑项目(19401935200);上海申康医院发展中心临床三年行动计划项目(SHDC2020CR2047B);2019 年上海中医药大学研究生创新培养专项(Y2020074)

作者单位:200071 上海中医药大学附属市中医医院肿瘤科

通信作者:任建琳,Email: renjianlin666@126.com

imaging once a week, and the body weight of mice was recorded. After 4 weeks of intervention, the lung tissues of mice were taken, the lung metastasis of colon cancer was observed by H-E staining, and the expression of VEGF protein was detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with before the intervention, the weight of nude mice in the control group decreased the most. After the intervention, the weight of nude mice in the traditional Chinese medicine group was slightly higher than that in the control group ($P>0.05$), the weight of nude mice in the combined group was slightly higher than that in the western medicine group ($P>0.05$), and the weight of nude mice in the two groups were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). The results of quantitative analysis of small animal imaging showed that the number of bioluminescence photons in the traditional Chinese medicine group the western medicine group, and the combined group were less than those in the control group after intervention ($P<0.05$). The H-E staining showed that the control group had the largest area of metastases and the largest number of metastases, while the combined group had the smallest area of metastases and the smallest number of metastases. The results of immunohistochemistry showed that the positive cell rate of VEGF in the control group was 48.57%, which was higher than that of the traditional Chinese medicine group (39.91%), the western medicine group (35.82%), and the combined group (29.03%), with statistically significant differences (all $P<0.01$). **Conclusion** San-Jie-Yi-Ai Decoction can inhibit lung metastasis of colorectal cancer, and the pathway of action may be related to the expression of VEGF protein.

【Key words】 San-jie-Yi-ai Decoction; Lung metastasis of colon cancer; Bevacizumab; Vascular endothelial growth factor

结直肠癌是全球范围内病死率占第 2 位、发病率占第 3 位的恶性肿瘤^[1]。据 2018 年的全球肿瘤数据统计显示,2018 年结直肠癌新增病例 180 万,占全球恶性肿瘤新增人数的 6.1%,死亡人数超过 88 万(占 5.8%)^[2]。目前临床治疗晚期结直肠癌的常用方法包括手术治疗、放射治疗、靶向治疗联合化学治疗。一项有关结直肠癌患者生存率的预测分析报道指出,约 35% 的患者在 II、III 期诊断时表现为转移性结直肠癌,而高达 50% 患者在诊断时表现为非转移性结直肠癌,最终却表现为转移性结直肠癌,提示复发转移仍然是人类治疗结直肠癌需要攻克的主要难题^[3]。中西医结合治疗晚期结直肠癌可在一定程度上延长患者无进展生存期,提高客观缓解率^[4-5]。散结抑癌方为任建琳医师治疗晚期结直肠癌的经验方,在原有健脾复方基础上进一步优化而来,前期研究已证实健脾复方可抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭和转移^[6-7],本研究在此基础上构建了裸鼠结肠癌肺转移模型,观察散结抑癌方对结肠癌的侵袭、转移的影响,以及对血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及细胞株

BALB/c 裸鼠,20 只,SPF 级,5 周龄,雄性,平均体质量为(18±2)g,购自上海斯莱克实验动物有

限责任公司,实验动物许可证号:SCXK(沪)2017-0005。人源结肠癌 HCT116 荧光细胞购自中科院上海生命科学研究院细胞库。

1.2 中药制剂

散结抑癌方:生黄芪 30 g、炒白术 18 g、白茯苓 18 g、制半夏 9 g、炒薏苡仁 30 g、藤梨根 30 g、蛇舌草 30 g、天龙 3 g、蜈蚣 3 g、甘草 6 g。颗粒由江阴天江药业有限公司提供,溶于双蒸水配制成质量浓度约 2.38 g/mL 的溶液。

1.3 动物模型构建及分组

培养、消化并计数人源结肠癌 HCT116 荧光细胞,使用 PBS 稀释细胞至 1×10^7 个/mL,取细胞悬液,固定裸鼠于小鼠固定架上进行尾静脉注射,每只小鼠均注射 200 μ L 细胞悬液,全过程均为无菌操作。造模成功后按小鼠体质量随机分为对照组、中药组、西药组和联合组,每组 5 只。贝伐珠单抗注射液[购自罗氏制药(瑞士)有限公司]配置成质量浓度为 2 mg/mL 的溶液。对照组裸鼠以生理盐水 0.2 mL 灌胃,1 次/d,生理盐水 50 μ L 腹腔注射,2 次/周;中药组裸鼠以散结抑癌方 0.2 mL 灌胃,1 次/d,生理盐水 50 μ L 腹腔注射,2 次/周;西药组裸鼠以贝伐珠单抗 50 μ L 腹腔注射,2 次/周,生理盐水 0.2 mL 灌胃,1 次/d;联合组裸鼠以贝伐珠单抗 50 μ L 腹腔注射,2 次/周,散结抑癌方 0.2 mL 灌

胃,1 次/d。共计干预 4 周。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 转移灶观测 造模后使用活体动物成像仪(购自美国精诺真公司)观测小动物转移灶情况。造模成功后分别测量并记录各组干预前裸鼠体质量,药物干预开始后每 4 天测量并记录 1 次裸鼠体质量,直至 28 d 干预结束。干预开始后每周进行 1 次小动物成像以观察转移灶情况,取 D-荧光素钾盐(购自上海翌圣生物科技有限公司),使用 PBS 稀释至质量浓度为 15 mg/mL 的溶液,每只裸鼠予腹腔注射 100 μ L D-荧光素钾盐溶液,待 10 min 后使用异氟烷麻醉,麻醉后立即进行小动物成像,记录图像并测量生物发光光子数。

1.4.2 H-E 染色 干预结束后以颈椎脱臼法处死所有裸鼠,取肺组织置于 4%多聚甲醛中固定备用。固定 24 h 后放入包埋盒中,流水冲洗 30 min,乙醇脱水后放入二甲苯中浸蜡包埋,置于病理切片机切成 5 μ m 薄片,置于恒温箱中烘干 20 min,取出后分别于二甲苯 I、II 中各脱蜡 10 min,脱蜡后依次置入 100%、95%、85%、75%梯度乙醇各 5 min 脱蜡至水,蒸馏水洗涤。切片经 H-E 染色后,将切片依次放入 95%乙醇 I、II 各 5 min,无水乙醇 I、II 各 5 min 脱水,二甲苯 I、II 透明切片,取出晾干后以中性树胶封片。

1.4.3 免疫组织化学染色 取裸鼠肺组织浸蜡包埋,置于石蜡切片机切成 5 μ m 薄片,放入 40 $^{\circ}$ C 温水中受热展开后置于恒温箱中烘干,依次放入二甲苯 I、II 各 10 min,100%、95%、85%、75%梯度乙醇各 5 min 脱蜡至水,流水冲洗后加入 3% H_2O_2 浸泡 10 min,清洗 2 次后加入柠檬酸(pH=6.0)抗原修复液(购自武汉赛维尔生物科技有限公司),微波炉中火加热 3 min,冷却至室温后再次加热、冷却,修复抗原,水洗、PBS 清洗各 2 次,加入血清,恒温箱中封闭 30 min,敷抗 VEGF 抗体(购自武汉赛维尔生物科技有限公司),隔夜后使用 PBS 清洗 3 次,敷

二抗 30 min,加入 DAB 显色剂,流水冲洗后浸于苏木精中复染 30 s,冲洗后各梯度乙醇、二甲苯脱水,晾干后树胶封片。VEGF 蛋白的 DAB 染色阳性反应表现为棕黄色颗粒,定位于细胞浆。

1.5 统计学方法

应用 SPSS 24.0 及 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用重复测量方差分析,满足正态分布与方差齐性时可进行,若同时满足 Mauchly 球形检验参照主体内效应检验,不满足则参照多变量检验。单因素方差分析参照 ANOVA 效应,符合正态分布与方差齐性时进行,参照事后检验多重比较 Tukey HSD 结果。 $P<0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 散结抑癌方联合靶向药物改善 BALB/c 裸鼠体质量

裸鼠尾静脉造模成功后测量并记录各组裸鼠体质量,按体质量随机分组,药物干预开始后每日观察裸鼠情况,每 4 天测量 1 次裸鼠体质量,药物干预期间未出现裸鼠死亡。开始干预时观察到各组裸鼠精神活泼,饮食饮水正常,皮肤光滑平整,体质量升高,各组间比较差异无统计学意义。干预 12 d 时各组裸鼠精神活泼,饮食饮水正常,裸鼠体质量达到高峰;干预 12 d 后各组裸鼠精神不振,饮食饮水减少,体质量均开始下降,其中对照组裸鼠皮肤出现褶皱。与干预 12 d 时比较,干预 28 d 后各组裸鼠组间差异有统计学意义($P<0.05$),其中对照组裸鼠精神萎靡,拒绝饮食饮水,皮肤毛糙褶皱,体质量下降明显($P<0.05$);中药组裸鼠精神不振,饮食饮水减少,皮肤稍有褶皱,体质量略高于对照组,但差异无统计学意义($P>0.05$);西药组及联合组裸鼠精神不振,饮食饮水减少,皮肤光滑平整,联合组体质量略高于西药组,但差异无统计学意义($P>0.05$),而两组体质量均显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 散结抑癌方对小鼠体质量的影响

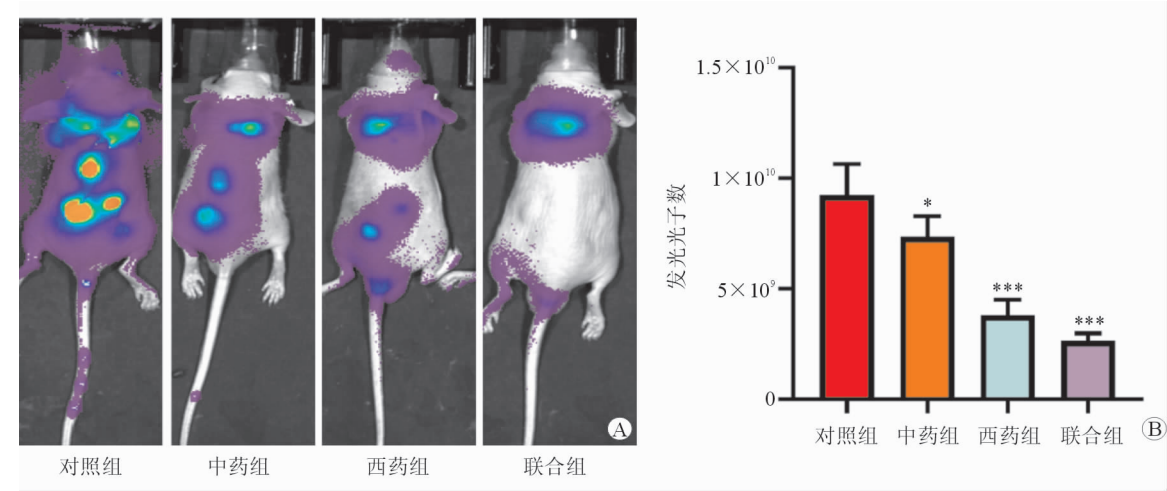
组别	体质量/g							
	1 d	4 d	8 d	12 d	16 d	20 d	24 d	28 d
对照组($n=5$)	19.94 \pm 0.54	21.16 \pm 0.98	21.74 \pm 1.18	22.32 \pm 1.18	21.38 \pm 0.98	20.90 \pm 1.17	20.06 \pm 1.45	18.70 \pm 1.21
中药组($n=5$)	20.16 \pm 0.63	21.60 \pm 0.25	22.14 \pm 0.36	23.32 \pm 0.39	22.46 \pm 1.23	21.82 \pm 0.82	21.20 \pm 0.67	20.36 \pm 0.78
西药组($n=5$)	19.84 \pm 0.79	21.78 \pm 0.72	23.42 \pm 0.93	24.06 \pm 0.66	23.62 \pm 0.91 ^a	22.76 \pm 1.23	22.50 \pm 1.56	22.32 \pm 1.64 ^a
联合组($n=5$)	20.26 \pm 0.65	22.12 \pm 0.90	23.44 \pm 1.15	24.82 \pm 1.02	24.28 \pm 0.99 ^a	23.70 \pm 0.79 ^a	23.14 \pm 0.65 ^a	22.96 \pm 0.68 ^a

注:Mauchly 球形检验 $P>0.05$,治疗效应 $P<0.001$,时间效应 $P<0.001$,治疗 \times 天数效应 $P<0.05$ 。与对照组比较,^a $P<0.05$

2.2 散结抑癌方联合靶向药物抑制人源结肠癌 HCT116 荧光细胞肺转移

裸鼠尾静脉造模后通过小动物成像检测肿瘤细胞生物发光现象,观察到转移瘤造模成功。干预开始后每周进行 1 次小动物成像,观察到干预开始时各组裸鼠均出现少量肺转移,各组间差异无统计

学意义($P>0.05$);干预结束时各组裸鼠均出现转移(见图 2A),对照组裸鼠转移最明显,出现全身转移,转移灶数量最多,而联合组肿瘤转移部位最少。定量分析结果显示,与对照组比较,干预后中药组、西药组和联合组的生物发光光子数均降低,且差异均有统计学意义(P 均 <0.05),见图 2B。



注:与对照组比较,* $P<0.05$,*** $P<0.001$
图 2 小动物成像转移情况 A 药物干预后结肠癌转移灶分布 B 干预后小动物成像发光光子数

H-E 染色结果显示,各组裸鼠肺内均有转移灶,且大小不一。各组均可见高核质比肿瘤细胞,核型多样,核分裂相少量,肿瘤细胞生长旺盛,肿瘤细胞向周围肺组织浸润。定植于血管内的转移灶造成血管损伤、变形。转移灶中部由于血供不足出

现坏死灶,肺泡壁轻度增厚,炎性细胞散在浸润。对照组的转移灶面积最大,转移处最多,联合组转移灶面积最小,转移处最少,提示散结抑癌方联合靶向药物抑制结肠癌转移有较为明显的效果。见图 3。

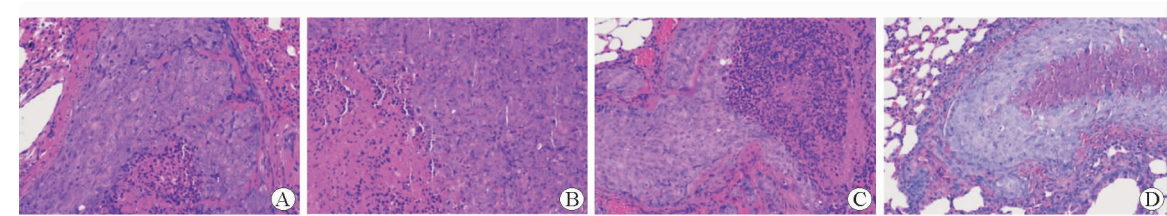


图 3 裸鼠肺转移情况 H-E 染色 $\times 100$ A 对照组 B 中药组 C 西药组 D 联合组

2.3 免疫组织化学染色法检测散结抑癌方对人源结肠癌 HCT116 荧光细胞 VEGF 蛋白表达的影响

由图 4、图 5 可知,对照组中 VEGF 蛋白平均阳

性细胞率为 48.57%,高于中药组(39.91%)、西药组(35.82%)和联合组(29.03%),差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。

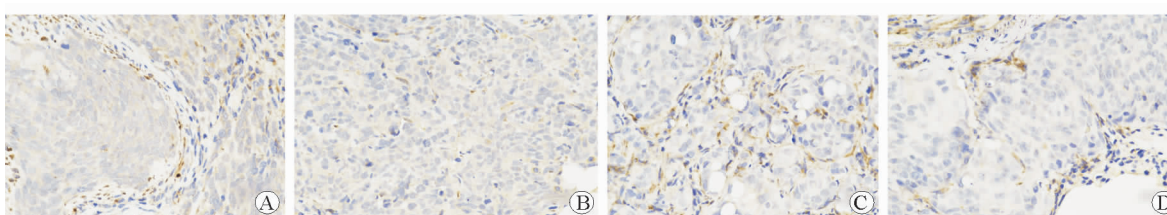


图 4 各组裸鼠肺组织中 VEGF 蛋白的表达 免疫组织化学染色 $\times 400$ A 对照组 B 中药组 C 西药组 D 联合组

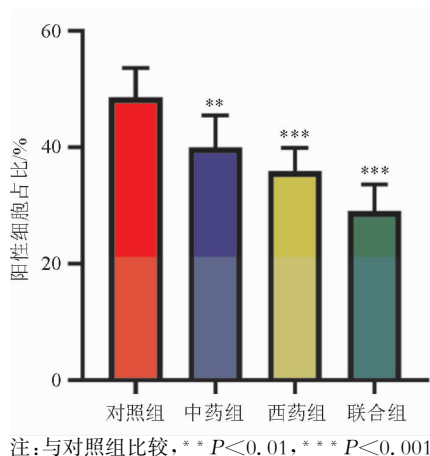


图5 各组裸鼠肺组织中 VEGF 蛋白阳性细胞率定量分析

3 讨论

VEGF 可调控血管新生,在肿瘤的发生、发展和转移中起着重要作用。血管新生受到包括促血管生成因子和抗血管生成因子在内的多种因子共同调控^[8]。肿瘤微环境的两大特点为慢性炎症反应和免疫抑制^[9],肿瘤细胞在开始出现时会受到免疫系统监测和攻击,而部分肿瘤细胞可逃逸免疫系统攻击,此时人体开始进入休眠期,休眠期将持续至免疫系统无法控制肿瘤细胞发生、发展,甚至转移^[10]。血管生成的休眠是由促血管生成因子(如 VEGF)和抗血管生成因子之间的平衡引起的。

结直肠癌组织中 VEGF 表达水平升高、VEGF 受体(VEGFR)活性升高,尤其在转移性结直肠癌中 VEGF 表达水平更高^[11-14]。贝伐珠单抗能与 VEGF-A 的亚型结合,阻断 VEGF-A 与 VEGFR-1 和 VEGFR-2 之间的相互作用,从而抑制结直肠癌进展^[15]。VEGF 在结直肠癌中的表达有赖于肿瘤微环境的形成,中医认为脾虚为肿瘤微环境的关键病机^[9]。研究表明,含有健脾类中药方剂可在一定程度上抑制结直肠癌 VEGF 的表达^[16-17]。另有动物研究表明,蜈蚣、天龙等虫药的抑制肿瘤转移作用可能与 VEGF 有关^[18-19]。目前关于中西医联合用药对 VEGF 表达影响的研究较少,本实验通过尾静脉注射结肠癌细胞建立小鼠结肠癌转移瘤模型,观察散结抑癌方对裸鼠结肠癌肺转移的抑制作用,并检测分析 VEGF 蛋白表达水平。研究结果指出,中西药联合组裸鼠体质量与对照组相比差异显著,表明联合用药能有效减缓裸鼠消瘦。干预后小动物成像定量分析结果表明,散结抑癌方能减少全身转移情况,联合用药后可进一步减少全身转移情况。H-E 染色结果指出,与对照组、中药组、西药组

比较,联合用药组可有效减少结肠癌肺转移。免疫组织化学检测结果表明,散结抑癌方能在一定程度上抑制 VEGF 的表达,与靶向药物联合使用后,协同抑制 VEGF 的作用更强。本研究结果提示,散结抑癌方可能通过下调 VEGF 的表达,抑制血管新生,从而达到抑制结肠癌侵袭、转移的目的。

综上所述,散结抑癌方可以降低 VEGF 蛋白表达,在与贝伐珠单抗联用后效果更为显著,提示散结抑癌方与贝伐珠单抗有协同作用,可以通过降低 VEGF 蛋白表达,抑制血管或淋巴管生成,进一步抑制人源结肠癌 HCT116 荧光细胞肺转移。目前,散结抑癌方降低 VEGF 蛋白表达的机制尚不完全清楚,具体有待进一步实验证明。

参 考 文 献

- Xie YH, Chen YX, Fang JY. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 22.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- Zacharakis M, Xynos ID, Lazaris A, et al. Predictors of survival in stage IV metastatic colorectal cancer[J]. Anticancer Res, 2010, 30(2): 653-660.
- 徐艳霞,王淑琳. 降逆灵联合化疗治疗晚期大肠癌的临床观察[J]. 中国医药导报, 2010, 7(3): 84-85.
- 王国范,吴国庆,郝志军. 中西医结合治疗结直肠癌的临床疗效研究[J]. 中国医学创新, 2015, 12(10): 102-104.
- 臧明泉,任建琳,靖琳,等. 健脾复方对结直肠癌细胞增殖及侵袭迁移的影响[J]. 国际消化病杂志, 2017, 37(6): 382-385, 391.
- 靖琳,闫国良,楼丹飞,等. 健脾复方通过 Exo-Wnt3a/5a 调控 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制大肠癌侵袭转移机制研究[J]. 实用中医药杂志, 2021, 37(3): 345-347.
- Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(12): 871-882.
- 韩钦芮,符秀琼,禹志领,等. 肿瘤微环境的脾虚本质探讨[J]. 中医杂志, 2014, 55(4): 292-294, 298.
- Codony-Servat J, Rosell R. Cancer stem cells and immunoresistance: clinical implications and solutions[J]. Transl Lung Cancer Res, 2015, 4(6): 689-703.
- Lopez A, Harada K, Vasilakopoulou M, et al. Targeting angiogenesis in colorectal carcinoma[J]. Drugs, 2019, 79(1): 63-74.
- Cao D, Hou M, Guan YS, et al. Expression of HIF-1 α and VEGF in colorectal cancer: association with clinical outcomes and prognostic implications[J]. BMC Cancer, 2009, 9: 432.

胃肠道 MM 转移早、预后差,早期发现、早期治疗是改善预后的关键。早期以手术治疗为主要治疗方法,手术方式为扩大切除。Ahn 等^[6]发现手术可延长原发性及继发性胃肠道 MM 患者的生存期。Shenoy 等^[6]认为姑息性手术可明显缓解胃肠道转移性 MM 患者症状。对于中晚期患者,术后可联合化学治疗、免疫治疗及靶向治疗。干扰素 α + 达卡巴嗪常作为黏膜 MM 的经典术后辅助化学治疗方案。靶向治疗和免疫治疗是目前治疗恶性 MM 的研究热点。常用的靶向药物包括维罗非尼和伊马替尼。免疫治疗的发展迅速,目前国内已有 2 种 PD-1 单抗获批,分别为帕博利珠单抗和特瑞普利单抗,均可用于治疗接受全身系统治疗失败的、不可切除或转移性黏膜 MM 患者^[7]。

综上所述,胃肠道 MM 临床上较为罕见,恶性程度高,病情进展快,患者生存期短,但因缺乏特异性的临床表现,容易误诊、漏诊。临床医生需提高对该病的认识,早诊断、早治疗尤为重要。

参 考 文 献

1 CSCO 黑色素瘤专家委员会. 中国黑色素瘤诊治指南(2011 版)

[J]. 临床肿瘤学杂志, 2012, 17(2): 159-171.

- 2 Krige J, Nel PN, Hudson DA. Surgical treatment of metastatic melanoma of the small bowel[J]. Am Surg, 1996, 62(8): 658-663.
- 3 Ollila DW, Essner R, Wanek LA, et al. Surgical resection for melanoma metastatic to the gastrointestinal tract[J]. Arch Surg, 1996, 131(9): 975-980.
- 4 Ordóñez NG, Ji XL, Hickey RC. Comparison of HMB-45 monoclonal antibody and S-100 protein in the immunohistochemical diagnosis of melanoma[J]. Am J Clin Pathol, 1988, 90(4): 385-390.
- 5 Ahn JY, Hwang HS, Park YS, et al. Endoscopic and pathologic findings associated with clinical outcomes of melanoma in the upper gastrointestinal tract[J]. Ann Surg Oncol, 2014, 21(8): 2532-2539.
- 6 Shenoy S, Cassim R. Metastatic melanoma to the gastrointestinal tract: role of surgery as palliative treatment[J]. W V Med J, 2013, 109(1): 30-33.
- 7 毛丽丽, 斯璐, 郭军. 2020 版 CSCO 黑色素瘤指南解读[J]. 中华转移性肿瘤杂志, 2020, 3(2): 81-82.

(收稿日期:2020-05-14)

(本文编辑:周骏)

(上接第 204 页)

- 13 Seeber A, Gunsilius E, Gastl G, et al. Anti-angiogenics; their value in colorectal cancer therapy[J]. Oncol Res Treat, 2018, 41(4): 188-193.
- 14 Guba M, Seeliger H, Kleespies A, et al. Vascular endothelial growth factor in colorectal cancer[J]. Int J Colorectal Dis, 2004, 19(6): 510-517.
- 15 Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, et al. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer[J]. Nat Rev Drug Discov, 2004, 3(5): 391-400.
- 16 邓珊, 安红梅, 胡兵. 藤龙补中汤对大肠癌肺转移及肿瘤相关

巨噬细胞作用[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2016, 24(7): 515-519.

- 17 罗星. 健脾消癌方对裸鼠大肠癌肝转移模型 VEGF 以及 VEGFR-2 表达的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2014.
- 18 周恩相. 蜈蚣提取液治疗乳腺癌的实验研究[D]. 长沙: 中南大学, 2011.
- 19 刘菲, 王建刚, 席守民, 等. 中药壁虎抗肿瘤作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(4): 957-959.

(收稿日期:2021-04-07)

(本文编辑:周骏)