

金龙蛇颗粒对裸鼠原位移植 人胃癌 MKN-45 细胞凋亡的影响

余志红, 魏品康, 许玲, 秦志丰, 施俊, 肖艳, 林晖明
(第二军医大学长征医院中医科, 上海 200003)

[摘要] 目的: 评价金龙蛇颗粒对裸鼠原位移植人胃癌 MKN-45 细胞的抑制作用。方法: 50 只裸鼠建立原位移植人胃癌 MKN-45 细胞模型, 随机分为模型组, 金龙蛇颗粒高、中、低剂量组和 5-FU 干预组。各组裸鼠予以相应药物实施干预。观察各组荷瘤裸鼠一般情况, 肿瘤生长情况及抑瘤率。流式细胞仪检测肿瘤细胞周期分布及细胞凋亡情况。采用膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶 (Annexin V-fluorescein isothiocyanate/ propidium iodide, Annexin V-FITC/ PI) 双标记染色法鉴别早期凋亡细胞、晚期凋亡细胞和坏死细胞。电镜下观察肿瘤细胞的超微结构变化。结果: 金龙蛇颗粒高、中、低剂量组的抑瘤率分别为 68.13%、55.94% 和 50.31%, 呈剂量依赖效应, 与 5-FU 干预组抑瘤率比较, 差异无统计学意义。金龙蛇颗粒各剂量组肿瘤细胞凋亡率为 22.81% ~ 38.54%, 亦呈剂量依赖效应, 且肿瘤细胞主要被阻滞于 G₀/G₁ 期。Annexin V-FITC/ PI 双标记染色结果显示, 金龙蛇颗粒各剂量组以早期凋亡细胞居多, 5-FU 干预组则以晚期凋亡细胞和坏死细胞居多。结论: 金龙蛇颗粒对裸鼠原位移植人胃癌 MKN-45 细胞具有较好的抑制作用, 促进 MKN-45 细胞凋亡可能是其抗肿瘤治疗的主要作用机制之一。

[关键词] 金龙蛇颗粒; 胃肿瘤; 原位移植; 细胞周期; 细胞凋亡; 中医药; 裸鼠; 人胃癌细胞系 MKN-45

[中图分类号] R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2006)03-0275-06

Effects of Jinlongshe Granules on apoptosis of MKN-45 human gastric cancer cells orthotopically transplanted in nude mice

Zhi-Hong YU, Pin-Kang WEI, Ling XU, Zhi-Feng QIN, Jun SHI, Yan XIAO, Hui-Ming LIN

(Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

ABSTRACT **Objective:** To assess the effects of Jinlongshe Granules (JLSG) on tumor growth of gastric carcinoma. **Methods:** Fifty nude mice orthotopically transplanted with MKN-45 human gastric cancer cells were divided into five groups: untreated group, 5-fluorouracil (5-FU)-treated group and high-, medium-, and low-dose JLSG-treated groups. Corresponding antitumor drugs were administered in each group except the untreated group. The antitumor effects in vivo were evaluated. Cell cycle distribution and apoptosis of MKN-45 human gastric cancer cells were determined by using flow cytometry (FCM) and Annexin V-fluorescein isothiocyanate/ propidium iodide (Annexin V-FITC/ PI) staining assay. The ultrastructure of MKN-45 gastric cancer cells was observed by transmission electron microscope. **Results:** In the mice treated with high-, medium-, and low-dose JLSG, the growth inhibition rates of gastric cancer were 68.13%, 55.94% and 50.31% respectively, and this antitumor effect was dose-dependent. In the mice treated with intraperitoneal injection of 5-FU, the growth inhibition rate of gastric cancer was 53.43% and not much different from those treated with JLSG. The apoptotic rates in the high-, medium-, and low-dose JLSG-treated groups were 22.81%, 28.27% and 38.54% respectively, in a dose-dependent manner, with the cell cycle arrested at G₀/G₁.

[基金项目] 上海市科学技术委员会中药现代化专项资助项目 (No. 04DZ19811)

Correspondence to: Prof. Pin-Kang WEI. E-mail: czzyk@smmu.edu.cn

phase. An Annexin V-FITC/PI staining assay revealed that the percentages of early apoptotic cells in the three dose JLSG-treated groups were all significantly higher than that in the 5-FU-treated group, whereas the late apoptotic and necrotic cells were much more in the 5-FU-treated group than those in the three dose JLSG-treated groups. Conclusion: Jinlongshe Granules exert an inhibiting effect on MKN-45 human gastric cancer cells orthotopically transplanted in nude mice by promoting the cell apoptosis.

KEY WORDS Jinlongshe Granules; stomach neoplasms; orthotopic transplantation; cell cycle; apoptosis; traditional Chinese medicine and pharmacy; nude mouse; human gastric cancer cell line MKN-45

Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao/ J Chin Integr Med, 2006, 4(3): 275-280 www.jcimjournal.com

胃癌是引起癌症死亡的第二大主因^[1]。近年来在一些发达国家的大中城市,胃癌的发病率和死亡率虽然有所下降^[2,3],但胃癌的平均 5 年生存率仍只有 20% 左右^[4]。因此,研究有效、安全的治疗方法和抗癌药物具有重要意义。我们在胃癌经验方——“消痰散结方”基础上研制的金龙蛇颗粒,目前正处于新药临床前研究阶段。鉴于中药复方成分复杂,作用众多,而诱导细胞凋亡是其抑制肿瘤的主要作用机制之一,为此我们对金龙蛇颗粒抑制裸鼠原位移植人胃癌 MKN-45 细胞系的生长及其对 MKN-45 细胞凋亡的影响进行了初步研究,以探讨金龙蛇颗粒治疗胃癌的可能机制。

1 材料与方

1.1 实验动物和瘤株 BALB/c 裸鼠 50 只,雌雄各半,体质量 20~22 g,由中国科学院上海实验动物中心提供,实验动物使用许可证号:SYXK(沪)2004-0001,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2003-0003。实验动物饲养于无特殊病原体(specific pathogen free, SPF)条件下,自由饮食。传代于裸鼠皮下的人胃低分化腺癌 MKN-45 细胞株由中国科学院上海细胞生物研究所提供。

1.2 药物、试剂和仪器 金龙蛇颗粒(Jinlongshe Granules, JLSG)主要由半夏、天南星、鸡内金等组成,原生药材购自上海雷允上药业有限公司,由第二军医大学长征医院制剂室制备成含生药浓度为 6 g/ml 的水煎膏,临用时用蒸馏水配制成相应浓度;5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)注射液,购自上海旭东海普药业有限公司,批号 040209,规格 10 ml (0.25 g)/支;OB 生物胶,购自广州白云医用胶有限公司,批号 040514;氯胺酮注射液,江苏恒瑞医药有限公司生产,批号 02072332,规格 2 ml (0.1 g)/支。H-800 透射电子显微镜,购自日本日立公司;EPICS XL 型流式细胞仪,购自美国 Beckman-Coulter 公司;碘化丙啶(propidium iodide, PI)和 RNaseA,购自美国 Sigma 公司;膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/

碘化丙啶(Annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide, Annexin V-FITC/PI)双染色试剂盒,购自晶美生物工程有限公司,批号 20050910。

1.3 裸鼠原位移植胃癌模型的建立 该模型由本实验室所创立^[5]。本实验所用肿瘤细胞株为第 6 代,自裸鼠身上剥取传代后 14 d 处于对数生长期的 MKN-45 细胞株,选取生长良好的肿瘤组织置于生理盐水中,切成 1 mm×1 mm×1 mm 大小的组织块备用。裸鼠常规消毒,用氯胺酮(50 mg/kg)腹腔麻醉后固定于特制的裸鼠固定架上,自剑突下沿腹中线依次剪开皮肤、腹肌,切口长约 1 cm,暴露腹膜及胃壁;用注射针头刺破胃大弯中部的胃浆膜面,以不出血为度,将组织块植入,滴入 1 滴医用 OB 生物胶,待 40 s 后凝固,用 3/0 丝线分别缝合腹膜及皮肤切口。

1.4 动物分组及药物干预 参照《中药新药研制开发技术与方法》^[6]。造模 48 h 后,将 50 只裸鼠随机分成 5 组,每组 10 只:模型组,予以生理盐水灌胃,0.4 ml/次,1 次/d,每周 6 次,共 6 周;金龙蛇颗粒高、中、低剂量组,分别按 120 g/kg、60 g/kg 和 20 g/kg 予以灌胃,0.4 ml/次,1 次/d,每周 6 次,共 6 周;5-FU 干预组,予以 5-FU 20 mg/kg 腹腔注射,隔日 1 次,每周 3 次,共 3 周。

1.5 抑瘤率的计算 药物干预 6 周后,脱颈处死各组裸鼠,称取瘤重,计算抑瘤率:抑瘤率(%)=(模型组平均瘤重-干预组平均瘤重)/模型组平均瘤重×100。

1.6 细胞周期和凋亡的分析 用机械法将新鲜瘤组织剪碎,经 200 目尼龙网过滤成单细胞悬液^[7]后,分成 2 份,其中 1 份震荡混匀后,沿管壁缓慢加入 70% 冰乙醇固定,4 过夜。测试前用 PBS (0.01 mmol/L, pH 7.2~7.4)漂洗 1~2 次,调整细胞数 1×10^6 /ml,加入 PI 染色液 50 μ l,染色 30 min 后上流式细胞仪检测。采用 Multicycle DNA content and cell cycle analysis 软件进行数据处理,分析各细胞周期细胞数并计算细胞凋亡率。

1.7 Annexin V-FITC/PI 双标记染色及流式细胞

术鉴别早期凋亡细胞、坏死细胞和死亡细胞 采用 Annexin V-FITC/PI 双标记染色及流式细胞术可以鉴别肿瘤样本中的活细胞、早期凋亡细胞、晚期凋亡细胞和坏死细胞^[7,8]。根据 FITC、PI 荧光作双参数散点图,可获得由四个象限组成的双参数图。左下象限(left lower quadrant, LLQ)为活细胞, Annexin V-FITC(-)、PI(-);右下象限(right lower quadrant, RLQ)为早期凋亡细胞, Annexin V-FITC(+), PI(-);右上象限(right upper quadrant, RUQ)为晚期凋亡细胞和坏死细胞, Annexin V-FITC(+), PI(+);左上象限(left upper quadrant, LUQ)为细胞收集过程中产生的损伤细胞, Annexin V-FITC(-)、PI(+)。每个象限的细胞数就是其在受检总细胞数中所占的比例。

具体实验步骤按精美生物工程有限公司 Annexin V-FITC/PI 试剂盒说明书进行。取上述另一份新鲜肿瘤组织单细胞悬液,用去离子水按 1:4 稀释结合缓冲液,用 4℃ 预冷 PBS 液洗涤细胞 2 次, 250 μl 结合缓冲液重新悬浮细胞,调节其浓度为 1×10^6 /ml;取 100 μl 细胞悬液于 12 mm×75 mm 流式管中,加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI 溶液(20 μg/ml),混匀后室温避光孵育 15 min;在流式管中加入 400 μl PBS;用流式细胞仪进行细胞分析。

1.8 MKN-45 细胞超微结构观察 取模型组、金龙蛇颗粒中剂量组和 5-FU 干预组的肿瘤组织,修剪成 1 mm×2 mm 大小,用 4% 多聚甲醛固定 4 h, PBS(0.1 mol/L)冲洗,1% 锇酸再固定,丙酮梯度脱水,Epon812 环氧树脂包埋,行超薄切片,用醋酸铀及柠檬酸铅染色后,在透射电子显微镜下进行观察。

1.9 统计学方法 所有数据均采用 SAS 6.12 软件处理,计量资料均数用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用完全随机方差分析,LSD-*t* 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组荷瘤裸鼠一般情况及抑瘤率的比较 治

疗第 3 周时,5-FU 干预组 2 只荷瘤裸鼠死亡。部分荷瘤裸鼠上腹部可扪及直径 0.1~0.4 cm 的结节,质地较硬,以模型组最为显著。随着肿瘤结节的逐渐增大,5-FU 干预组裸鼠出现体质量减轻,进食减少,皮肤干枯等现象;模型组和金龙蛇颗粒高、中、低剂量组荷瘤裸鼠则表现为体质量逐渐增加,活动良好。金龙蛇颗粒高、中、低剂量组抑瘤率呈剂量依赖效应,与 5-FU 干预组比较,差异无统计学意义。见表 1。

2.2 各组裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞超微结构的比较 电子显微镜下,金龙蛇颗粒中剂量组可见肿瘤细胞内异染色质边集,染色质浓缩呈环状或新月状,胞质中含有少量空泡,细胞膜完整;5-FU 干预组可见胞质内散在分布的异染色质,呈现空泡化,可见凋亡小体样结构;模型组少量肿瘤细胞内可见染色质边集等现象,但程度较轻。见图 1。

2.3 各组裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞周期分布和凋亡率的比较 金龙蛇颗粒各剂量组 G₀/G₁ 期细胞比模型组和 5-FU 干预组多,但差异无统计学意义;金龙蛇颗粒各剂量组和 5-FU 干预组 S 期细胞均少于模型组,差异有统计学意义;金龙蛇颗粒高剂量组的细胞凋亡率最高,与金龙蛇颗粒低剂量组、模型组和 5-FU 干预组比较差异均有统计学意义;各组 G₂/M 期细胞分布比较无明显差异。金龙蛇颗粒各剂量组和 5-FU 干预组均可检测到细胞凋亡峰。见表 2。

2.4 各组裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞 Annexin V-FITC/PI 双标记染色结果 模型组和 5-FU 干预组晚期凋亡细胞较多;金龙蛇颗粒各剂量组和 5-FU 干预组活细胞数均少于模型组,差异有统计学意义;金龙蛇颗粒各剂量组和 5-FU 干预组均有较多的早期凋亡细胞,其中金龙蛇颗粒高剂量组的早期凋亡细胞数多于金龙蛇颗粒中、低剂量组和 5-FU 干预组,差异有统计学意义。见图 2、表 3。

表 1 各组荷瘤裸鼠肿瘤生长情况的比较

Table 1 Antitumor effects on orthotopically transplanted gastric cancer in nude mice in different groups

Group	n	Tumor weight ($\bar{x} \pm s$, g)	Growth inhibition rate (%)
Untreated	10	3.20 ± 0.96	-
High-dose JLSG-treated	10	1.02 ± 0.57**	68.13
Medium-dose JLSG-treated	10	1.41 ± 1.39**	55.94
Low-dose JLSG-treated	10	1.59 ± 1.12**	50.31
5-FU-treated	8	1.49 ± 1.37**	53.43

** P < 0.01, vs untreated group.

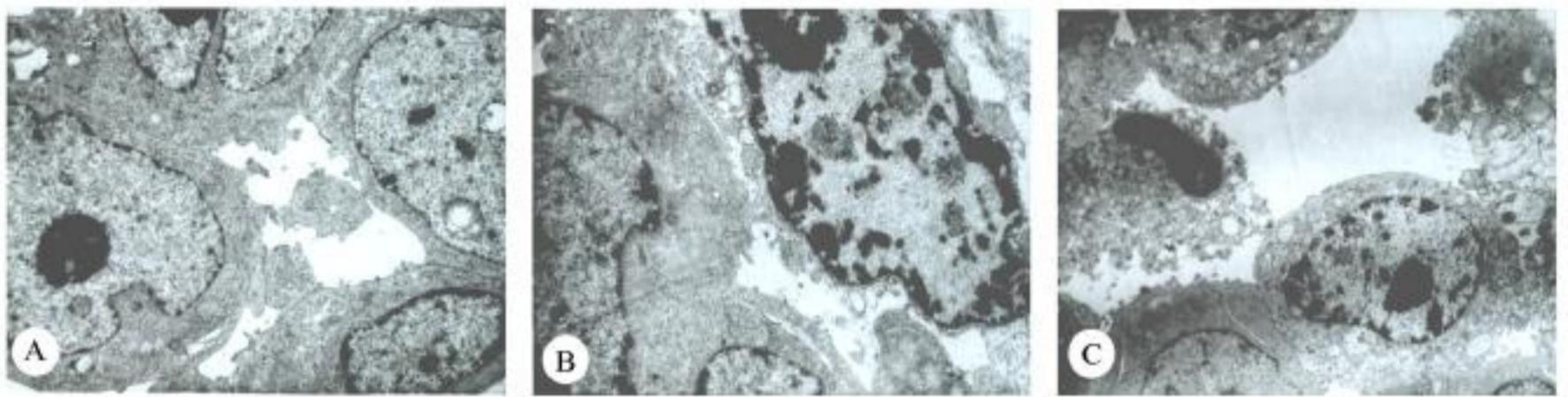


图 1 各组荷瘤裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞的超微结构

Figure 1 Ultrastructures of MKN-45 gastric cancer cells orthotopically transplanted in nude mice in different groups

A: Untreated group (×4 000); B: Medium-dose JLSG-treated group (×6 000); C: 5-FU-treated group (×3 000) .

表 2 各组荷瘤裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞周期分布和凋亡率的比较

Table 2 Cell cycle distribution and apoptotic rate of MKN-45 gastric cancer cells orthotopically transplanted in nude mice in different groups

Group	n	G ₀ / G ₁	G ₂ / M	S	Apoptotic rate
Untreated	10	42.40 ± 11.28	21.28 ± 11.43	36.92 ± 12.21	19.88 ± 14.83
High-dose JLSG-treated	10	50.58 ± 8.78	26.45 ± 12.53	14.56 ± 9.35*	38.54 ± 12.65
Medium-dose JLSG-treated	10	47.55 ± 7.02	26.51 ± 15.05	19.36 ± 12.69*	28.27 ± 11.25
Low-dose JLSG-treated	10	46.37 ± 12.09	25.47 ± 14.79	24.04 ± 13.27*	22.81 ± 10.65
5-FU-treated	8	41.78 ± 4.30	23.59 ± 11.97	19.97 ± 13.31*	24.97 ± 9.93

($\bar{x} \pm s, \%$)

* $P < 0.05$, vs untreated group; $P < 0.05$, vs high-dose JLSG-treated group .

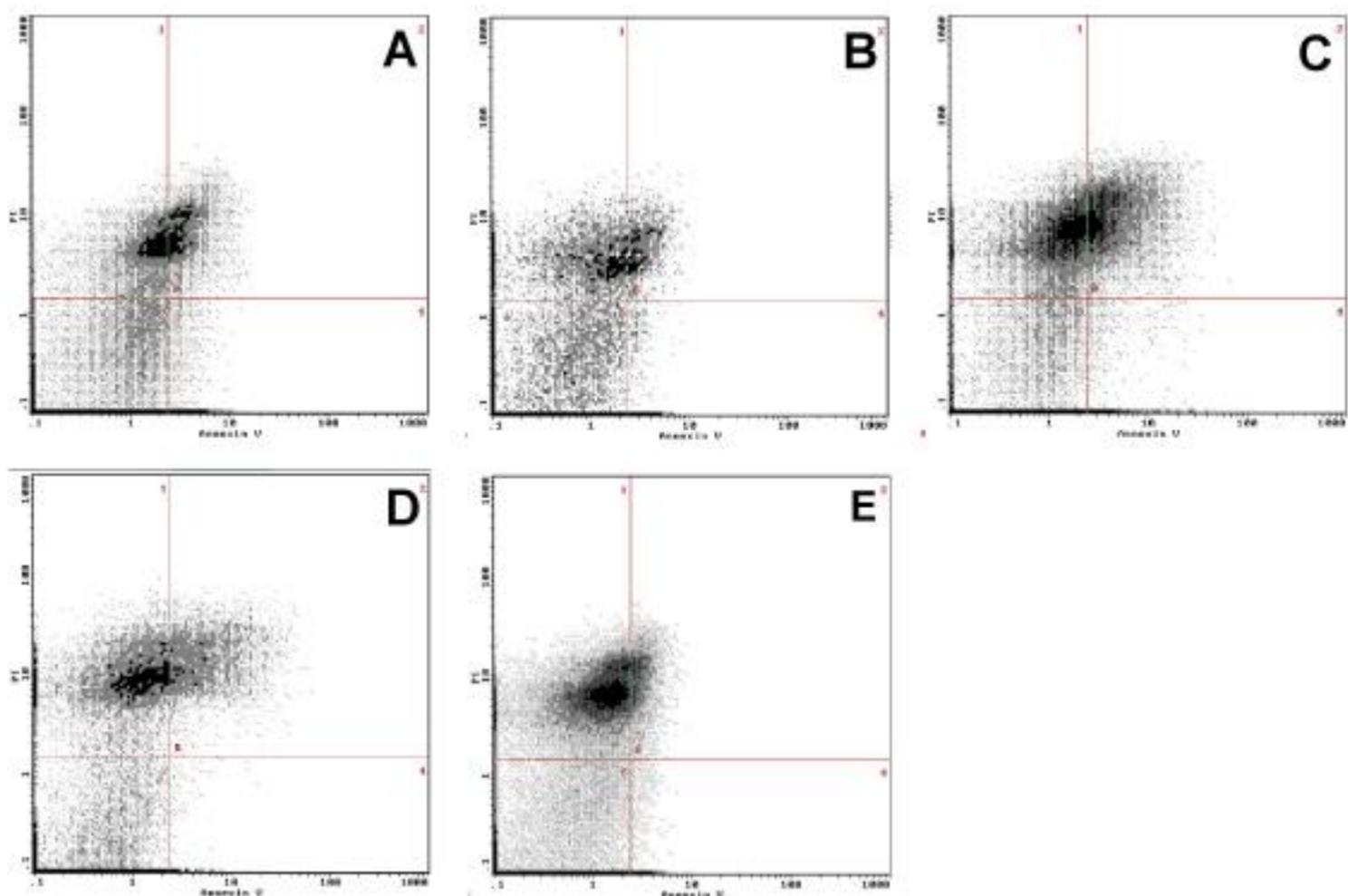


图 2 各组荷瘤裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞 Annexin V-FITC/PI 双标记染色及流式细胞术检测结果

Figure 2 Classification percentage of MKN-45 gastric cancer cells orthotopically transplanted in nude mice in different groups by Annexin V-FITC/PI staining assay and flow cytometry

A: High-dose JLSG-treated group; B: Medium-dose JLSG-treated group; C: Low-dose JLSG-treated group;

D: Untreated group; E: 5-FU-treated group .

表 3 各组荷瘤裸鼠原位移植胃癌 MKN-45 细胞 Annexin V-FITC/ PI 双标记染色及流式细胞术检测结果

Table 3 Classification percentage of MKN-45 gastric cancer cells orthotopically transplanted in nude mice in different groups by Annexin V-FITC/ PI staining assay and flow cytometry

Group	n	Damaged cells (in LUQ)	Late apoptotic cells and necrotic cells (in RUQ)	Living cells (in LLQ)	Early apoptotic cells (in RLQ)
Untreated	10	22.19 ± 7.73	12.58 ± 6.94	63.99 ± 6.36	1.56 ± 1.37
High-dose JLSG-treated	10	26.26 ± 2.29	11.76 ± 2.72	50.12 ± 4.53*	12.21 ± 4.45*
Medium-dose JLSG-treated	10	27.25 ± 5.83*	12.02 ± 8.96	54.23 ± 10.14*	5.90 ± 4.41*
Low-dose JLSG-treated	10	27.63 ± 6.54*	11.51 ± 6.40	55.70 ± 7.60*	4.47 ± 3.20
5-FU-treated	8	27.18 ± 6.99	13.22 ± 7.14	52.77 ± 12.68*	6.76 ± 3.98*

($\bar{x} \pm s, \%$)

* $P < 0.05$, vs untreated group; $P < 0.05$, vs high-dose JLSG-treated group.

3 讨论

肿瘤的发生与细胞增殖和细胞凋亡异常相关^[9]。以诱导肿瘤细胞凋亡为主的治疗方法已成为肿瘤治疗的新途径,也是评估抗肿瘤药物疗效的一项重要指标^[10,11]。

近年来的研究发现,传统中药具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用^[12],但这些研究大多关注单味中药及中药有效成分的抗肿瘤效应^[13-15]。中药复方素有“天然组合化学库”之称,其作用机制具有“多靶点”的特征^[16],而细胞凋亡的发生又是多因素、多基因、多层次级联作用的结果,因此复方中药较单一成分在干预、影响细胞凋亡方面可能更为有效^[17]。

金龙蛇颗粒由半夏、天南星、鸡内金等组成,体现了中医理论关于胃癌“从痰论治”的思想^[18]。前期临床研究表明,金龙蛇口服液可延长胃癌术后患者的生存期及改善晚期胃癌患者的生活质量^[19-21]。实验研究亦证实,消痰散结方对胃癌有较好的抑瘤及抗转移作用^[22-24],但其是否具有促进细胞凋亡的作用却尚不清楚。因此,我们拟从细胞凋亡角度探讨金龙蛇颗粒治疗胃癌的作用机制。

本实验结果表明,金龙蛇颗粒各剂量组均有较好的抑瘤效果,其抑瘤率与 5-FU 干预组比较无明显差异,且呈现剂量依赖效应;电镜下可见典型的细胞凋亡形态学改变;流式细胞仪检测到凋亡峰,细胞凋亡率 22.81% ~ 38.54%,且随着用药剂量的增大,细胞凋亡率亦随之增加;同时 G₀/G₁ 期细胞增多、S 期细胞减少。上述结果均表明,促进裸鼠原位移植人胃癌 MKN-45 细胞凋亡是金龙蛇颗粒抗肿瘤的作用机制之一。

细胞发生凋亡时,细胞膜的改变远早于 DNA 的变化,此时位于细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸转移至外侧,这一改变被认为是特异性的,而 Annexin V 是 Ca²⁺ 依赖的磷脂结合蛋白,对磷脂酰丝氨酸有高度的亲和力。PI 的分子量较大,不能透过细胞膜与

早期凋亡细胞的 DNA 相结合;而晚期凋亡细胞和坏死细胞由于其细胞膜已发生溶解,因此其 DNA 可被 PI 染色。因此,Annexin V-FITC/ PI 双标记染色法可以用来区分早期凋亡细胞、晚期凋亡细胞和坏死细胞,是检测早期凋亡细胞的敏感方法。本实验结果显示,金龙蛇颗粒各剂量组早期凋亡细胞百分比高于模型组,其中金龙蛇颗粒高剂量组早期凋亡细胞百分比又高于 5-FU 干预组和金龙蛇颗粒中、低剂量组;5-FU 干预组的晚期凋亡细胞百分比比较高,这可能是由于 5-FU 的细胞毒作用使 MKN-45 细胞直接发生坏死所致;此外,模型组的晚期凋亡细胞百分比亦较高,这可能与肿瘤细胞生长旺盛、自身存在少量的凋亡细胞和坏死细胞有关,因此模型组出现的亚凋亡峰可能就是由于肿瘤细胞生长旺盛以致出现较多坏死细胞所致。

综上所述,金龙蛇颗粒对裸鼠原位移植人胃癌 MKN-45 细胞有较好的抑瘤作用,其作用机制可能与促进 MKN-45 细胞凋亡相关。由此证明,以“消痰散结”立法的胃癌治疗方法具有较好的抗肿瘤作用,值得进一步推广及深入研究。

(致谢:感谢长征医院实验诊断科张玲珍技师在流式细胞术方面给予的帮助。)

[参考文献]

- Hohenberger P, Gretschel S. Gastric cancer. Lancet, 2003, 362(9380): 305-315.
- Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The decline of gastric cancer: epidemiology of an unplanned triumph. Epidemiol Rev, 1986, 8: 1-27.
- Kelley JR, Duggan JM. Gastric cancer epidemiology and risk factors. J Clin Epidemiol, 2003, 56(1): 1-9.
- Alberts SR, Cervantes A, van de Velde CJ. Gastric cancer: epidemiology, pathology and treatment. Ann Oncol, 2003, 14(Suppl 2): ii31- ii36.
- 许玲,陈亚琳,苏晓妹,等.裸鼠人胃腺癌 SGC-7901 原位移植模型的构建及其生物学特性.肿瘤防治杂志,

- 2003, 10(5): 476-478 .
- 6 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法. 上海: 上海科学技术出版社, 2001. 737 .
- 7 van Engeland M, Nieland LJ, Ramaekers FC, *et al*. Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure. *Cytometry*, 1998, 31(1): 1-9 .
- 8 雷 晓, 余佩武. 双标记流式细胞术定量分析 5-FU 诱导胃癌细胞早期凋亡. 第三军医大学学报, 2002, 24(7): 855-857 .
- 9 Kamesaki H. Mechanisms involved in chemotherapy-induced apoptosis and their implications in cancer chemotherapy. *Int J Hematol*, 1998, 68(1): 29-43 .
- 10 Reed JC. Apoptosis-targeted therapies for cancer. *Cancer Cell*, 2003, 3(1): 17-22 .
- 11 Alison MR, Sarraf CE. Apoptosis: regulation and relevance to toxicology. *Hum Exp Toxicol*, 1995, 14(3): 234-247 .
- 12 赵爱光, 杨金坤, 赵海磊, 等. 四君子汤诱导裸小鼠移植性人胃癌细胞凋亡的初步研究. *癌症*, 2001, 20(2): 164-167 .
- 13 Liu W, Guo QL, You QD, *et al*. Anticancer effect and apoptosis induction of gambogic acid in human gastric cancer line BGC-823. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(24): 3655-3659 .
- 14 Yin X, Zhou J, Jie C, *et al*. Anticancer activity and mechanism of *Scutellaria barbata* extract on human lung cancer cell line A549. *Life Sci*, 2004, 75(18): 2233-2244 .
- 15 Shao QS, Ye ZY, Ling ZQ, *et al*. Cell cycle arrest and apoptotic cell death in cultured human gastric carcinoma cells mediated by arsenic trioxide. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(22): 3451-3456 .
- 16 周 俊. 中药复方——天然组合化学库与多靶作用机理. *中国中西医结合杂志*, 1998, 18(2): 67 .
- 17 赵健雄, 程卫东, 徐瑞峰, 等. 扶正抑瘤颗粒药物血清诱导小鼠肝癌细胞凋亡及其机制的研究. *中西医结合学报*, 2005, 3(4): 278-281 .
- 18 魏品康, 许 玲, 秦志丰, 等. 胃癌从痰论治的机制与临床研究. *中国中医基础医学杂志*, 2002, 13(3): 18-20 .
- 19 李相勇, 魏品康. 金龙蛇口服液治疗晚期胃癌的疗效观察. *湖北中医杂志*, 2001, 23(11): 3-5 .
- 20 秦志丰, 魏品康, 李相勇. 金龙蛇口服液合参麦注射液对中晚期胃癌患者肿瘤标志物和免疫功能的影响. *中医杂志*, 2001, 42(10): 605-606 .
- 21 许 玲, 陈亚琳, 刘咏英, 等. 金龙蛇口服液合华蟾素注射液、黄芪注射液治疗 期胃癌的临床观察. *成都中医药大学学报*, 2005, 28(1): 7-9 .
- 22 许 玲, 魏品康, 陈亚琳, 等. 中药消痰散结方抑制裸鼠原位移植人胃癌 SGC-7901 的生长转移. *世界华人消化杂志*, 2004, 12(5): 1015-1020 .
- 23 肖 艳, 魏品康, 许 玲, 等. 消痰散结方对裸鼠 MKN-45 人胃癌组织中 MMP2 表达的影响. *成都中医药大学学报*, 2002, 25(4): 32-33 .
- 24 许 玲, 苏晓妹, 陈亚琳, 等. 中药消痰散结方对人胃癌裸鼠原位移植瘤 VEGF, KDR mRNA 表达的影响. *世界华人消化杂志*, 2004, 1(4): 988-990 .

[收稿日期] 2005-12-02

中国康复医学会颈椎病专业委员会第九次学术年会征文通知

为了加深对颈椎病的认识,提高诊治康复水平,展现现代康复技术,由中国康复医学会主办,中国康复医学会颈椎病专业委员会、第二军医大学附属长海医院、上海中医药大学脊柱病研究所、上海中医药大学附属龙华医院承办的“中国康复医学会颈椎病专业委员会第九次学术年会”拟定于 2006 年 10 月在上海召开。会议现在征文,现将具体征文事宜通知如下。

1 征文内容 (1)颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症康复研究进展;(2)关于颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症的“围手术期”治疗;(3)颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症基础与应用研究进展;(4)颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症手术治疗进展;(5)颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症的非手术(中药、针灸、推拿、导引等)治疗进展;(6)脊柱相关疾病研究进展(椎体骨质疏松、椎体不稳、骨质疏松性骨折、脊柱肿瘤等)。

2 来稿要求 (1)来稿请寄全文或 1 200 字左右中、英文摘要(或中文摘要)一份,建议使用电子版,请自留底稿,恕不退稿。来稿提供工作单位、详细地址、邮政编码及电话(有条件的请提供 E-mail 地址)。(2)来稿地址:上海市宛平南路 725 号 77 信箱脊柱病研究所王拥军、李晨光收;邮政编码:200032;电话及传真:021-54232267;E-mail: yjwang88@hotmail.com, light7711@yahoo.com.cn。(3)被录用论文将编入学术交流会论文集,优秀论文将在大会报告,并授予优秀论文奖。提交论文的参会代表可获论文证书及国家级继续教育学分 12 分。(4)截稿日期:2006 年 7 月 31 日。

中国康复医学会颈椎病专业委员会
上海中医药大学脊柱病研究所