

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.24.008

康莱特注射液联合紫杉醇对人乳腺癌细胞的化疗增效作用*

唐翠萍¹, 吴阳², 周寒静¹, 张涛^{1△}

(重庆医科大学附属第一医院:1.肿瘤科;2.心血管内科 400016)

[摘要] **目的** 探讨康莱特注射液(KLT)对紫杉醇(PTX)抑制人乳腺癌细胞增殖及侵袭能力的增效作用及其相关机制。**方法** 本实验以体外培养的人乳腺癌细胞为研究对象,采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法、Transwell 法检测 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞增殖、侵袭能力,实时荧光定量(qRT)-PCR、Western blot 分别检测 C-myc、CyclinD1 和血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 和蛋白水平变化。**结果** PTX 单药能有效抑制人乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的增殖、侵袭能力,降低 C-myc、CyclinD1 和 VEGF mRNA 及蛋白的表达,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);KLT 呈浓度依赖地增强 PTX 的作用,与 PTX 单独用药比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** KLT 具有增强 PTX 抗乳腺癌细胞增殖、侵袭能力的作用,此作用可能与下调 C-myc、CyclinD1 和 VEGF 的表达相关。

[关键词] 康莱特注射液;紫杉醇;乳腺肿瘤;细胞增殖;肿瘤浸润

[中图分类号] R730.53

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)24-3336-04

The chemosensitization effect of Kanglaite injection combined with Paclitaxel in human breast cancer cells*

Tang Cui ping¹, Wu Yang², Zhou Hanjing¹, Zhang Tao^{1△}

(1. Department of Oncology; 2. Department of Cardiovascular, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To explore the anti-proliferation and anti-invasion effects of Kanglaite injection(KLT) in combination with Paclitaxel(PTX) on human breast cancer cell and to investigate the mechanism of the chemosensitization effect. **Methods** MTT and Transwell assays were used to detect the inhibitory rate of proliferation and invasion of MCF-7 and MDA-MB-231 cells, qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression of C-myc, CyclinD1, VEGF mRNA and their protein levels. **Results** The study showed that treatment with PTX alone could significantly inhibit the proliferation and invasion of MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines, lower the expression of C-myc, CyclinD1 and VEGF in both mRNA and protein levels, compared with the control group ($P < 0.05$); KLT dramatically strengthened the effect of PTX in a concentration-dependent manner, compared with PTX alone ($P < 0.05$). **Conclusion** The result shows that KLT could enhance the anti-proliferation and anti-invasion effects of PTX on human breast cancer cells, which could have relationship with down-regulating the expression of C-myc, CyclinD1 and VEGF.

[Key words] Kanglaite injection; Paclitaxel; breast neoplasms; cell proliferation; neoplasm invasiveness

乳腺癌是常见的女性恶性肿瘤,已成为女性癌症相关死亡的重要原因^[1-2]。紫杉醇(Paclitaxel, PTX)是乳腺癌术后常用的辅助化疗药物,但因毒副作用大,使得部分患者难以耐受,同时有部分患者对其耐药,使其疗效局限,远期生存率未见明显提高。康莱特注射液(Kanglaite injection, KLT)是从传统中药薏苡仁中提取的抗肿瘤细胞活性物质,其注射液主要成分为注射用薏苡仁油,该药同化疗药物联合应用可提高一些肿瘤对化疗药物的敏感性,减少化疗过程中的毒副反应,其联合用药在肺癌的治疗中已取得显著进展^[3-4],但在乳腺癌治疗中的应用,目前国内外尚未见大量报道。本实验拟采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法、Transwell 小室侵袭等方法,研究 KLT 联合 PTX 对人乳腺癌细胞的化疗增效作用,并探讨 KLT 能否增强 PTX 对人乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞增殖及侵袭能力的抑制作用,为进一步寻找增强乳腺癌化疗效果的治疗方案提供基础实验材料。

1 材料与方法

1.1 主要材料及仪器 人乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞株(中科院上海细胞生物研究所)。紫杉醇注射液(四川太极制药),康莱特注射液(浙江康莱特药业),TRIzol 试剂(Invitrogen

公司,美国),辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 及羊抗鼠 IgG(中杉金桥公司),胰酶及 DMEM 培养基(Gibco 公司,美国),逆转录试剂盒(Fermentas 公司,中国),紫外分光光度计(GE 公司,美国),电化学发光(ECL)仪(Viagene 公司,美国),PCR 扩增仪(深圳黑马公司),酶标仪(Thermo 公司,美国),Transwell 小室(Millipore 公司,美国),倒置显微镜及正置显微镜(尼康公司,日本)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞接种于培养瓶中,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 5 mL,置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度孵箱中传代培养,每 2~3 天传代 1 次。

1.2.2 MTT 法检测细胞增殖能力 以人乳腺癌 MCF-7 细胞、MDA-MB-231 细胞为研究对象,各设置 A、B、C、D、E、F、G 7 组,其中 A 组为对照组,加入等量磷酸盐缓冲液(PBS),B 组为 KLT(20 μg/mL)单药组,C 组为 PTX(10 μg/mL)单药组,D、E、F、G 各组在 PTX(10 μg/mL)的基础上,分别加入浓度为 5、10、20、40 μL/mL 的 KLT,H 组为 KLT(10 μg/mL),取处于对数生长期的细胞,调整密度为 6×10³ 个/孔,接种于 96 孔板,每孔

* 基金项目:国家临床重点专科建设项目[国卫办医函(2013)544 号];重庆市自然科学基金资助项目(cstc2012jjA10138)。 作者简介:唐翠萍(1991-),在读硕士,主要从事肿瘤综合治疗方面的研究。 △ 通讯作者, Tel:13708311156; E-mail:tumorzzt@163.com。

表 1 引物序列

基因	上游引物	下游引物
C-myc	5'-GTC CTA TCC TGG GAA GTT GC-3'	5'-CTA GCC AGC CAC CCT TAC TC-3'
CyclinD1	5'-TTC CAG GAG CCG TAG AGT TT-3'	5'-TAT TTA TTG GCC ACG CAC AT-3'
VEGF	5'-GGC CCT GAC TTT AGC ACT TC-3'	5'-ACA AGA CCA AGT CCC TGA CC-3'
GAPDH	5'-CCC AGT TGA AGT TGC CGT CA-3'	5'-GGC CTC TCT TGC TCA GTG TC-3'

GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

200 μL, 每组设 5 个复孔, 另设 5 个空白对照孔(即调零孔, 只加培养基而不加细胞), 待细胞贴壁后, 吸去培养基, 每孔加入含有各药物的培养基 200 μL, 继续培养 48 h。吸弃培养基, PBS 清洗 2 次, 加入含 20 μL MTT 培养液 200 μL 培养 4 h, 弃上清液, 加入 150 μL 二甲基亚砷(DMSO)溶解液, 水平摇床震荡 10 min 后用酶标仪测定 570 nm 处吸光度值(A)值, 以空白对照孔调零, 计算生长抑制率(IR), $IR = [(1 - \text{实验组 } A_{570}) / \text{对照组 } A_{570}] \times 100\%$ 。实验重复 3 次。

1.2.3 Transwell 检测细胞侵袭能力 实验分组同 1.2.2, 各组细胞换用无血清 DMEM 培养基饥饿培养 12 h, 调整细胞浓度每毫升为 2×10^5 个, 每个侵袭小室预包被基质胶, 上室加入 200 μL 无血清细胞悬液(24 孔板), 下室加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基 500 μL, 培养 48 h 后, 弃培养基, 4% 多聚甲醛固定, 0.1% 结晶紫染色, 经 PBS 漂洗后, 取出小室, 酶标仪上测 A_{570} 值, 间接反映细胞数量, 并计算各组 IR。实验重复 3 次。 $IR = [(1 - \text{实验组 } A_{570}) / \text{对照组 } A_{570}] \times 100\%$ 。

1.2.4 实时荧光定量(qRT)-PCR 检测细胞 C-myc、CyclinD1、血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 表达 实验分 4 组, 即对照组; 加入等量 PBS; KLT 单药组; 根据 1.2.2 及 1.2.3 实验结果, 选取 KLT 10 μL/mL; PTX 单独给药组: 加入 PTX 10 μg/mL; 联合用药组: 10 μg/mL PTX + 10 μL/mL KLT。取处于对数生长期细胞, 调整细胞浓度为 3×10^5 个/孔并接种于 96 孔板中, 每孔加入培养基 2 mL, 过夜培养, 根据实验分组给药。待细胞生长达 90% 左右时, Trizol 法抽提细胞总 RNA, qRT-PCR 法测定 C-myc、CyclinD1、VEGF mRNA 水平。引物序列见表 1。PCR 反应在 BIO-RAD 仪器内进行。

1.2.5 Western blot 检测细胞 C-myc、CyclinD1、VEGF 蛋白表达 实验分组同 1.2.4, 经分组给药后培养 48 h, 常规提取总蛋白。二喹啉甲酸法(BCA 法)测定蛋白浓度, 加入 5×SDS 上样缓冲液, 100 °C 金属浴加热 5 min, 每孔加入 40 μg 蛋白, 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将电泳产物转移至硝酸纤维膜上。用 5% 脱脂奶粉的封闭液封闭 1 h, 加 C-myc、CyclinD1、VEGF 一抗(1:1 000), 4 °C 下孵育过夜, 辣根过氧化物酶标记的二抗置室温下孵育 2 h。ECL 显影。

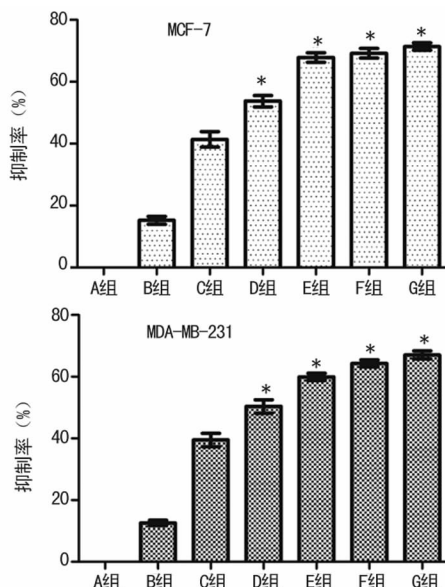
1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据处理用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对乳腺癌细胞增殖的影响 MTT 法结果显示, 在 MCF-7 细胞, D、E、F、G 各组抑制率分别增加 29.83%、63.86%、67.11% 及 72.39%; 在 MDA-MB-231 细胞, 其抑制率分别增加 27.52%、51.82%、62.89%、69.85%。结果表明, KLT 呈浓度依赖性的增强 PTX 对乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞增殖的抑制作用。MCF-7 和 MDA-MB-231 药物作用 48 h 后抑制率见图 1。

2.2 对乳腺癌细胞侵袭能力的影响 与对照组相比, 各处理

组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的侵袭能力均明显抑制, 其 A 值均明显降低($P < 0.05$)。在 MCF-7 细胞, 联合用药组抑制率分别增加 90.76%、176.29%、229.74% 及 256.82%; 在 MDA-MB-231 细胞, 其抑制率分别增加 100.64%、203.32%、242.82% 及 274.39%。各组 A_{570} 值抑制率见表 2。康莱特能增强 PTX 对 MCF-7、MDA-MB-231 细胞侵袭能力的抑制作用, 且增强效应与 KLT 浓度密切相关。根据 2.1 及 2.2 实验结果, D、E、F、G 组间差异无统计学意义($P > 0.05$), 故选取 E 组进行后续研究。



*: $P < 0.05$, 与 C 组比较。

图 1 各组乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的抑制率比较

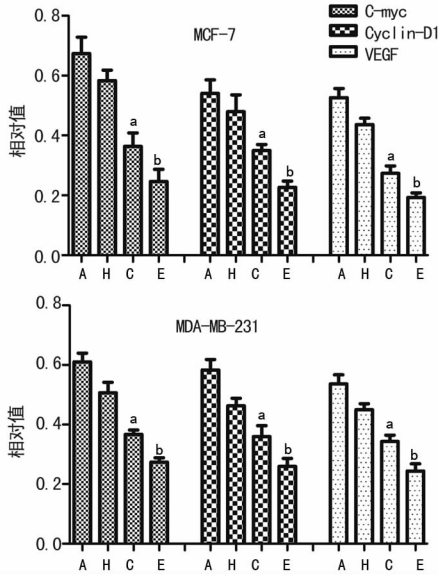
表 2 各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞侵袭能力抑制率($\bar{x} \pm s$)

组别	MCF-7		MDA-MB-231	
	A_{570}	抑制率 (%)	A_{570}	抑制率 (%)
A 组	1.070 ± 0.064	—	1.071 ± 0.045	—
B 组	0.930 ± 0.018 ^a	12.818 ± 6.683	0.913 ± 0.011 ^a	14.611 ± 3.157
C 组	0.848 ± 0.037 ^a	20.433 ± 7.470	0.862 ± 0.016 ^a	19.406 ± 1.889
D 组	0.652 ± 0.033 ^{ab}	38.978 ± 3.556 ^b	0.653 ± 0.013 ^{ab}	38.937 ± 1.667 ^b
E 组	0.466 ± 0.033 ^{ab}	56.455 ± 1.348 ^b	0.441 ± 0.032 ^{ab}	58.862 ± 1.840 ^b
F 组	0.349 ± 0.031 ^{ab}	67.375 ± 3.021 ^b	0.358 ± 0.021 ^{ab}	66.529 ± 2.868 ^b
G 组	0.289 ± 0.013 ^{ab}	72.910 ± 1.689 ^b	0.292 ± 0.026 ^{ab}	72.655 ± 3.160 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 A 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 C 组比较; —: 无数据。

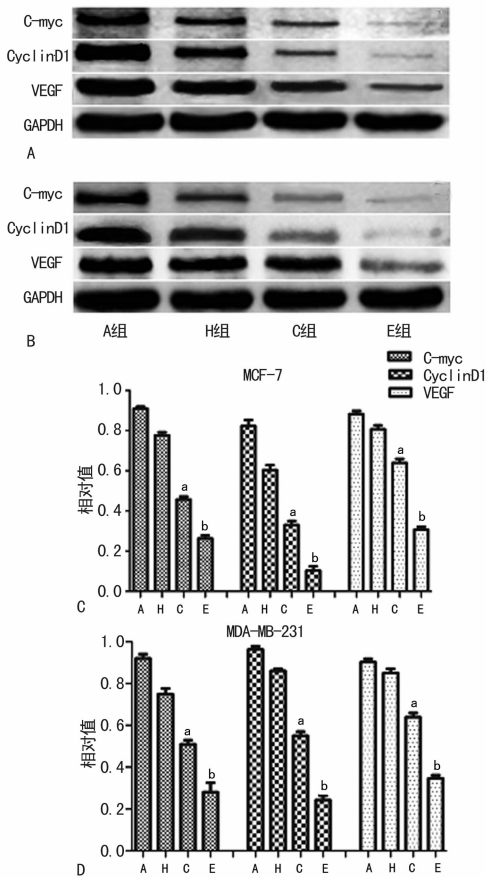
2.3 对乳腺癌细胞 C-myc、CyclinD1、VEGF mRNA 表达的影响 qRT-PCR 结果(图 2)显示: C 组, C-myc、CyclinD1、VEGF mRNA 的表达在 MCF-7 细胞分别下调了 85.32%、54.29% 及 92.68%, 在 MDA-MB-231 细胞, 分别下调了 66.36%、

62.04%及56.31%; E组,各组 mRNA 表达分别下调了47.30%、54.41%、41.38%、34.15%、38.46%、41.10%。KLT和PTX均能抑制乳腺癌细胞 C-myc、CyclinD1、VEGF mRNA 的表达,且 KLT 明显增强 PTX 的此作用。



^a: $P < 0.05$, 与 A 组相比; ^b: $P < 0.05$, 与 C 组相比。

图2 各组对乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 C-myc、CyclinD1、VEGF mRNA 表达的影响



A、C:乳腺癌 MCF-7 细胞,各蛋白水平变化;B、D:MDA-MB-231 细胞,各蛋白水平变化;^a: $P < 0.05$, 与 A 组相比; ^b: $P < 0.05$, 与 C 组相比。

图3 各组对乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 C-myc、CyclinD1、VEGF 蛋白水平表达的影响

2.4 对乳腺癌细胞 C-myc、CyclinD1、VEGF 蛋白表达的影

响 Western blot 结果(图3)显示:PTX 能明显抑制乳腺癌细胞 C-myc、CyclinD1、VEGF 蛋白的表达,在 MCF-7(图3A、C)及 MDA-MB-231(图3B、D)细胞中,各蛋白的表达均下调;E组与C组相比:各蛋白表达均明显下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

Wnt/ β -catenin 相关信号通路在胚胎发育、代谢及干细胞的维持中发挥着重要的生物学作用,在多种肿瘤细胞中异常激活,包括乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌等。研究发现,C-myc、CyclinD1、VEGF 为 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥其调控细胞活力、增殖、迁移、侵袭、血管形成及形态发生的关键下游因子^[5-7],其过表达与 Wnt/ β -catenin 信号通路异常激活有关。C-myc 及 CyclinD1 作为原癌基因,参与了细胞的增殖、分化、凋亡、调控细胞周期,并与多种肿瘤的发生、发展有关;而 VEGF 是一种高特异性的血管内皮分裂素,具有促进血管内皮细胞的增殖、侵袭、迁移、分化及诱导血管发生的作用,其与恶性肿瘤的浸润转移有重要关联。因此,C-myc、CyclinD1 及 VEGF 可能是抗肿瘤细胞增殖、侵袭能力的重要靶点^[8-9]。PTX 为红豆杉属植物中结构复杂的一种次生代谢产物,目前广泛应用于乳腺癌的辅助治疗和挽救治疗^[10],其抗肿瘤作用除与其作用于细胞周期有关外,还与细胞信号的转导通路,如抑制核因子- κ B(NF- κ B)/ κ B-a 及 Wnt/ β -catenin 信号通路有关^[11-12]。本实验以体外培养的人乳腺癌 MCF-7 及 MDA-MB-231 细胞为研究对象,采用 MTT、Transwell 法观察 PTX 对其增殖、侵袭的影响,结果显示 PTX 能显著抑制 MCF-7 及 MDA-MB-231 细胞的增殖、侵袭能力。qRT-PCR 和 Western blot 结果显示,PTX 能明显降低乳腺癌细胞中 C-myc、CyclinD1、VEGF 的表达,提示 PTX 抗乳腺癌细胞增殖、侵袭的能力可能与作用于 Wnt/ β -catenin 相关信号通路有关。但随着用药时间的延长,PTX 耐药现象越来越严重^[13],为此,寻求新的联合用药方案,提高乳腺癌疗效,越来越受到重视。KLT 是中药薏苡仁中提取的活性成分,具有抑制肿瘤细胞生长、诱导肿瘤细胞凋亡、促进机体产生多种细胞因子和提高机体免疫能力等作用^[14],能较强烈地抑制和杀伤多种肿瘤细胞,除作用于细胞周期外,还可活化一些促凋亡因子,促进细胞凋亡。其作为一种高效的辅助药能增强多种化疗药的抗肿瘤作用,包括抑制肿瘤细胞生长,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤血管形成,调控肿瘤耐药基因和信号通路^[15]。本实验从细胞水平研究了 KLT 对 PTX 抗乳腺癌细胞侵袭、迁移能力的增效作用。结果显示,不同浓度的 KLT 联合 PTX 作用 48 h 后,细胞增殖侵袭能力与 PTX 单独给药组相比抑制率明显增加,在 KLT 浓度小于 10 μ L/mL 时,其抑制效果与 KLT 浓度呈正相关,KLT 浓度大于 10 μ L/mL 时,其抑制效率未见明显增加。qRT-PCR 和 Western blot 结果显示,KLT 能明显增强 PTX 对乳腺癌细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路下游靶基因 C-myc、CyclinD1、VEGF mRNA 和蛋白水平的下调作用。

目前乳腺癌治疗仍采用以外科手术为主的包括化疗、放疗、分子靶向治疗及内分泌治疗的综合治疗模式,但效果不甚理想。包括 KLT 在内的多种中药被证实具有增强肿瘤对化疗药物敏感性的功能,从而使化疗药更有效地杀伤肿瘤细胞。本实验结果表明,KLT 与化疗药物 PTX 联合应用可明显增强 PTX 抗乳腺癌细胞增殖、侵袭的能力,其机制可能与抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路中 C-myc、CyclinD1、VEGF 的表达相关。但本研究仅检测了用药前后 C-myc、CyclinD1、VEGF 的

表达,对其信号通路的深入研究可通过阻断剂进一步阻滞 Wnt/ β -catenin 信号通路来观察 KLT 联合 PTX 对乳腺癌细胞增殖、侵袭及 C-myc、CyclinD1、VEGF 表达的变化情况。

参考文献

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.
- [2] Si W, Li Y, Han Y, et al. Epidemiological and clinicopathological trends of breast cancer in Chinese patients during 1993 to 2013: a retrospective study [J]. *Medicine*, 2015, 94(26): e820.
- [3] 董庆华, 钟献, 郑树. 康莱特注射液对肺癌 A549 细胞环氧化酶作用的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(20): 61-63, 73.
- [4] Pan P, Wu Y, Guo ZY, et al. Antitumor activity and immunomodulatory effects of the intraperitoneal administration of Kanglaite in vivo in Lewis lung carcinoma [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(2): 680-685.
- [5] Nwabo Kamdje AH, Seke Etet PF, Vecchio L, et al. Signaling pathways in breast cancer: therapeutic targeting of the microenvironment [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(12): 2843-2856.
- [6] 练祖平, 陆运鑫, 侯恩存, 等. 康莱特联合化疗治疗中晚期非小细胞肺癌 [J]. *中国肺癌杂志*, 2006, 9(1): 74-77.
- [7] Lee SH, Kim MH, Han HJ. Arachidonic acid potentiates

hypoxia-induced VEGF expression in mouse embryonic stem cells; involvement of Notch, Wnt, and HIF-1 α [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 297(1): 207-216.

- [8] Miller JR. The Wnts [J]. *Genome Biol*, 2001, 3(1): 3001-3014.
- [9] Howe LR, Brown AM. Wnt signaling and breast cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2004, 3(1): 36-41.
- [10] 徐蕾, 罗荣城. 紫杉醇、吉西他滨分别联合顺铂治疗晚期乳腺癌的临床研究 [J]. *重庆医学*, 2005, 34(3): 440-441.
- [11] 汪进, 何放亭, 曾志雄, 等. 紫杉醇诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞周期阻断及调亡的基因表达谱分析 [J]. *药理学报*, 2005, 20(12): 45-50.
- [12] Dziadyk JM, Sui M, Zhu X, et al. Paclitaxel-induced apoptosis may occur without a prior G₂/M-phase arrest [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(1): 27-36.
- [13] 张小平, 陶永辉, 陈其亮, 等. 人乳腺癌细胞 MCF-7 紫杉醇耐药株的建立及其生物学特性研究 [J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(6): 804-809.
- [14] Lu Y, Li CS, Dong Q. Chinese herb related molecules of cancer-cell-apoptosis: a minireview of progress between Kanglaite injection and related genes [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2008, 27(1): 31.
- [15] 李大鹏. 康莱特注射液抗癌作用机理研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 2001, 12(2): 122-124.

(收稿日期: 2016-02-18 修回日期: 2016-06-27)

(上接第 3335 页)

膜细胞缺乏,基底膜变形,淋巴管道汇流系统缺损,大量血管渗透性调节剂(缓激肽、血管内皮生长因子、一氧化氮、前列腺素和基质金属蛋白酶等)生成。这些生理特征有利于迅速增长的肿瘤组织获取大量营养物质。同时,这也导致了肿瘤血管渗透性的增加^[7]。因此,一般粒径在 10~500 纳米范围内的纳米粒子对肿瘤内皮具有较强的选择渗透性。在支架扩张过程中内皮遭到损伤,由此大大提高了纳米粒子对支架部位内皮的选择渗透能力。本研究中制备的姜黄素纳米粒的平均粒径在 98 nm,正好符合这一机制。在姜黄素纳米粒子渗透进入支架血管壁后,药物随着高分子的降解缓慢释放,持续发挥生物活性。因此,本研究中虽然姜黄素的用药频率仅仅为每周 2 次,但是实验结果依然体现了明显的药效,这很可能和药物的长时间缓释有关。

参考文献

- [1] Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(1): 40-59.
- [2] 任玲, 王进, 唐家驹, 等. 含姜黄素的(丙交酯-乙交酯)共

聚物薄膜对血管平滑肌细胞增殖的影响 [J]. *生物医学工程学报*, 2008, 25(4): 874-878.

- [3] 唐家驹, 王进, 潘长江, 等. 姜黄素/聚乳酸-乙醇酸共聚物复合薄膜的制备及抗凝血研究 [J]. *生物医学工程学报*, 2008, 25(1): 113-116.
- [4] Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA. Bioavailability of curcumin: problems and promises [J]. *Mol Pharm*, 2007, 4(6): 807-818.
- [5] Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice [J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27(5): 486-494.
- [6] Sharma RA, Euden SA, Platton SL, et al. Phase I clinical trial of oral curcumin; biomarkers of systemic activity and compliance [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(30): 6847-6854.
- [7] Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy; mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs [J]. *Cancer Res*, 1986, 46(12 Pt 1): 6387-6392.

(收稿日期: 2016-03-05 修回日期: 2016-05-11)