

- [10] 吕毅斌, 李立, 王志飞, 等. 中药治疗类风湿性关节炎、痛风及骨性关节炎用药规律研究[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2010, 05: 833-836.
- [11] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 882-886.
- [12] 周仲瑛. 中医内科学(新世纪第二版). 北京: 中国中医药出版社, 2007, 467.
- [13] 蒋明, YU DAVID, 林孝义, 等. 中华风湿病学[M]. 北京: 华夏出版社, 2004, 315.
- [14] 陈建双, 于海荣, 张玉玲, 等. 赤菴根总皂苷对类风湿性关节炎大鼠血清细胞因子的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 05: 1097-1098.
- [15] Raza K, Buckley CE, Salmon M, et al. Treating very early rheumatoid arthritis[J]. Best Pract Res, 2006, 20(5): 849.
- [16] Gheita TA, Azkalany GS, Gaber W, et al. Clinical significance of serum TNF- α and -308 G/A promoter polymorphism in rheumatoid arthritis[J]. Egyptian Rheumatologist, 2014, 37(2): 49-54.
- [17] 李玉梅, 陈永强, 樊天佑, 等. 羌活地黄汤对佐剂性类风湿性关节炎大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 02: 12-14.
- [18] 吕小波, 李文, 杨东加, 等. 云南红药对类风湿性关节炎模型大鼠足肿胀的抑制作用及对大鼠血清中致炎因子水平的影响[J]. 药
- 学进展, 2010, 02: 81-84.
- [19] 张磊, 魏伟. 前列腺素 E₂ 与肿瘤坏死因子- α 在类风湿性关节炎中的关系及药物的调控作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 08: 951-955.
- [20] 徐红梅, 魏伟. 前列腺素 E₂ 与类风湿关节炎及其药物研究[J]. 中国药理学通报, 2005, 03: 262-266.
- [21] 刘延庆, 朱健泉, 薛永骥, 等. 中药复方止痛胶囊对大鼠佐剂性关节炎模型 IL-1、TNF 和 PGE₂ 的影响[J]. 江苏临床医学杂志, 2001, 05: 372-374.
- [22] 姚建. 复方苦参注射液对类风湿性关节炎大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 的影响[J]. 中国中医药科技, 2007, 05: 324-325+304.
- [23] 付雪艳, 于良, 康小兰, 等. 伏毛铁棒锤非生物碱部位对佐剂性关节炎大鼠的治疗作用及其机制[J]. 中药材, 2014, 02: 307-310.
- [24] 马红, 王林林, 刘燕, 等. 复方雪莲胶囊对 II 型胶原诱导大鼠关节炎的治疗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 22: 186-190.
- [25] 姜辉, 刘健, 高家荣, 等. 五味温通除痹胶囊对佐剂性关节炎大鼠细胞因子的调控作用[J]. 中药材, 2013, 11: 1834-1836.
- [26] 杨晓军, 苗文丽, 裴林, 等. 天星健骨方对佐剂性关节炎大鼠血清白介素-1 和肿瘤坏死因子- α 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 11: 1284-1285+1294.

(编辑: 修春)

去甲斑蝥素对人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞侵袭转移能力影响的研究

此处重复

陈 杰, 陈百芳, 刘新光, 涂植光(重庆医科大学检验医学院, 重庆 渝中区 400016)

摘要: 目的 探讨去甲斑蝥素(Norcantharidin, NCTD)对人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞侵袭、转移的影响及可能相关的分子机制。方法 MTT 法检测 NCTD 对 A431 细胞生长增殖的影响, Transwell 小室、细胞粘附实验、划痕实验等方法检测药物对 A431 细胞侵袭、粘附和迁移能力的影响, Westernblot 法检测药物作用后, 细胞中 MMP-2, MMP-9, VEGF 蛋白水平的表达变化。结果 MTT 实验显示, NCTD 作用 24 h, A431 细胞的生长增殖能力受到明显抑制, 与对照组比较, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用组的抑制率为 $(45.38 \pm 2.75)\%$, ($P < 0.05$); Transwell 实验、细胞粘附、划痕实验显示, 经 20.0, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCTD 作用细胞 24 h 后, 与对照组相比, 用药组细胞的侵袭、黏附、迁移能力均得到不同程度的下降, 其抑制率呈剂量效应, ($P < 0.05$); Westernblot 实验表明, A431 细胞中 VEGF, MMP-2, MMP-9 蛋白表达水平明显下调。结论 NCTD 能显著地抑制 A431 细胞的生长增殖、侵袭、黏附、迁移能力, 其机制可能与其能下调 VEGF, MMP-2, MMP-9 蛋白表达水平相关。

关键词: 去甲斑蝥素; 人皮肤鳞状细胞癌; 基质金属蛋白酶 侵袭; 转移

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2017)01-00038-0

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.008

收稿日期: 2016-09-29

请问能否将通信改为通讯

作者简介: 陈杰, 男, 硕士研究生学历, 讲师, 研究方向: 肿瘤药理学。Email: jackchan818@126.com。通信作者: 涂植光, 博士生导师, 教授, 研究方向: 肿瘤分子病理机制及早期诊断和治疗。Email: tuzhiguang@aliyun.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(NO.81170327); 广东省大学生创新创业训练计划项目(No.105712057); 湛江市科技攻关项目(NO.2012c3102011)。

题目英文名称：

Study on inhibitory effect of norcantharidin on invasion and metastasis of human skin squamous cell carcinoma line A431

中药新药与临床药理 2017 年 1 月第 28 卷第 1 期

· 39 ·

~~Study on inhibitory effect of Norcantharidin on invasion and metastasis of human epidermoid carcinoma cells~~

作者名称：CHEN Jie CHEN Baifang LIU Xinguang TU Zhiguang

~~CHEN Jie Liu Xinguang TU Zhiguang~~

另行补上单位：The College of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

Abstract Objective: To investigate the effect of NCTD on proliferation, invasion and metastasis of ~~human epidermoid~~

~~carcinoma~~ A431 cells in vitro. Methods: A431 cells were treated with NCTD of different concentrations. Thiazolyl Blue

划线处改为：human skin squamous cell carcinoma

Tetrazolium Bromide (MTT) assay was used to detect the inhibitory effect on growth of A431 cells. Transwell assay,

cell adhesion test and scratch assay were used to investigate the effect on invasion, adhesion and migration of A431

cells. Western blot was used to detect the protein expression of VEGF, MMP-2, MMP-9. Results: After treatment for

24h, NCTD could significantly inhibit the proliferation, invasion, adhesion and migration of A431 cells, the

inhibitory rate showed a dose-effect curve ($P < 0.05$). NCTD could down-regulate the protein expression of VEGF,

MMP-2, MMP-9 with treatment for 24h. Conclusion: NCTD can inhibit the invasion, adhesion and migration of

A431 cell and down-regulate the protein expression of VEGF, MMP-2, MMP-9.

invasion ; migration

Keywords: Norcantharidin; ~~human epidermoid carcinoma~~; martix metalloproteinases; ~~Invasion; Migration;~~

皮肤鳞状细胞癌的英文：human skin squamous cell carcinoma

皮肤癌是临床最为常见的恶性肿瘤，近年来，发病率呈上升之势，严重影响着人类的健康。其中皮肤鳞状细胞癌具有恶变程度高，病情发展迅速的特点，中期可发生淋巴结转移，晚期发生内脏转移而导致患者死亡，因而更吸引人们的关注。传统的化疗药物敏感性降低，副作用严重，降低了皮肤鳞状细胞癌患者的生存质量^[1]。因此，寻找新型的抗癌药物已成为如何治疗皮肤癌的重要课题。去甲斑蝥素(Norcantharidin, NCTD)，是我国首先开发治疗癌症的新药，属于斑蝥素的脱甲基化衍生物。它在临床上主要被用来治疗肝癌，胃癌和食管癌。另外，现已发现它对多种肿瘤细胞株如宫颈癌细胞株(hela)，胆囊癌细胞株(GBC-SD)及人早幼白血病细胞株(HL-60)有显著的抑癌效果。与斑蝥素相比，NCTD在治疗癌症方面副作用较小，正成为研究的热门^[2]。目前，关于 NCTD 对皮肤鳞状细胞癌的作用如何，尚未见报道。本研究采用 NCTD 作为受试药物，研究其对皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株的侵袭转移能力影响及相关的可能机制。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 NCTD，美国 Sigma 公司，批号：1001588895；Matrigel，美国 BD 公司，批号：356234，DMEM，血清购自 Gibco 公司，一抗 VEGF (人抗鼠)、一抗 MMP-2(人抗鼠)、一抗 MMP-9(人抗鼠)，Santa 公司。

1.2 仪器 电泳仪，电泳槽，半干式电转仪，美国 Bio-rad 公司，倒置光学显微镜，日本 Olympus 公司，可见荧光成像系统 C400，美国 Azure 公司。

1.3 细胞株 人皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞，上海细胞库。

1.4 细胞培养 细胞用含 10 %胎牛血清、青霉素链霉素的培养基培养，培养箱条件设定为 5 %二氧化碳，37 ℃，饱和湿度。选对数生长期细胞进行各种实验。

1.5 方法

1.5.1 NCTD 对 A431 细胞生长抑制作用 采用 MTT 法检测药物对细胞的增殖能力的影响。培养细胞到对数生长期，胰酶消化，培养基重悬，调整细胞浓度 1×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ ，取 100 μL 分别接种于 96 孔板中，培养细胞 24 h，实验组加入不同浓度 NCTD，使其终浓度分别为 20.0，40.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；溶剂对照组加入 1 % DMSO，空白对照组仅加入完全培养液。每组设 5 个平行孔，实验单独重复 3 次。培养 24 h 后，置于倒置显微镜下观察，拍照。每孔加入浓度为 5 mg/mL MTT 10 μL ，置孵箱内继续培养 4 h，吸弃上清，加入 150 μL DMSO，于微型振荡器上振荡 20 min，在酶标仪上，采用 490 nm 波长测各孔吸光度(OD 值)。细胞增殖抑制率 $\% = (1 - \text{实验组 OD 值} / \text{空白对照组 OD 值}) \times 100 \%$ 。

请把mL中的m去掉

1.5.2 NCTD 对 A431 细胞侵袭、迁移能力的影响 在超净工作台，构建人工重组基底膜。具体做法：在小室外膜涂上 FN，浓度为 4.5 μg (10 μL)，风干。然后，在小室内膜涂 Matrigel 5 μg (10 μL)，风干，即形成人工重组基底膜。细胞设 20.0，40.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 实验组和对照组，先在 6 孔板中培养 24 h 后，收集，用无血清培养基调节浓度为 8×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ ，往每小室的上室加入 100 μL ，而下室加入含 10 %的血清培

培养基 600 μL , 每组平行设 3 个小室, 孵箱内培养 24 h。取出小室, 用甲醇固定, 结晶紫染色, 水洗, 然后用棉签蘸生理盐水擦去膜内表面的细胞, 于显微镜下取 5 个随机不同视野, 观察穿过滤膜的细胞数。侵袭抑制率 $\%=(1-\text{实验组侵袭细胞数}/\text{对照组侵袭细胞数})\times 100\%$ 。细胞迁移实验与侵袭实验方法步骤大致相同, 区别之处在于, 小室内膜不需铺 Matrigel。迁移抑制率 $\%=(1-\text{实验组迁移细胞数}/\text{对照组迁移细胞数})\times 100\%$

1.5.3 NCTD 对 A431 细胞黏附能力的影响 在无菌条件下, 取 96 孔板, 每孔加入 50 μL Matrigel, 复设 5 个孔, 同时每孔加入 2 % BSA 20 μL 封阻, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1h, 取出, 用无菌 PBS 轻轻冲洗 2 次。取对数期细胞, 调成悬浮液终浓度 8×10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$, 设实验组和对照组。每个孔内加入 100 μL 细胞液, 用药组内同时加入 1 μL 各浓度药物, 对照组和总细胞组内加 1 μL PBS, 同时设培养基调零孔。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱内培养 2 h 后, 吸弃培养液, 用 PBS 液轻轻冲洗 3 次, 目的是除去未黏附细胞。每孔加入 100 μL 培养基及 20 μL MTT, 再置孵箱内培养 4 h, 每孔加入 150 μL DMSO 溶解振荡, 用 490 nm 波长测定 OD 值。

黏附抑制率 $\%=(1-\text{实验组黏附细胞 OD 值}/\text{对照组黏附细胞 OD 值})\times 100\%$

1.5.4 NCTD 对 A431 细胞划痕修复能力的影响 取对数生长期细胞, 接种于 6 孔板内, 生长 24 h 后, 划痕, 显微镜下拍照记录, 设对照组和 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 实验组, 处理 24 h, 观察划痕愈合情况, 再用显微镜拍照记录。

1.5.5 Western blot 法检测 VEGF、MMP-2、MMP-9 蛋白的表达 培养细胞至对数生长期, 收集细胞, 按 2×10^5 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 接种于 6 孔板中培养 24 h, 加入 NCTD, 使之终浓度为 20.0, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并设对照组, 培养 24h, PBS 洗涤两次, 用 RIPA 细胞裂解液冰上裂解细胞, 超声破碎, 提取总蛋白, 用 BCA 试剂盒测定总蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳, 半干法电转, 3 % BSA 封闭 2 h, 加入相应的人抗鼠一抗 (1 : 1000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 用 TBST 洗 3 次, 每次 10min, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1 : 10000) 摇床上孵育 1h, 再用 TBST 洗 3 次, 每次 10 min, 最后 ECL 发光、显影、拍照。相对蛋白含量用各蛋白条带的灰度值/ β -actin 蛋白条带的灰度值表示。

1.6 统计学处理方法 应用 SPSS17.0 统计分析软件进行数据分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 组

间比较用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对 A431 细胞生长抑制作用 见图 1。采用 20.0, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCTD 作用 A431 细胞 24 h, 与对照组相比, 其细胞增殖抑制率为 $(22.15\pm 0.58)\%$, $(45.38\pm 2.75)\%$, ($P<0.05$)。在倒置显微镜下 (100 倍) 观察拍照, 结果发现, 当药物处理细胞 24 h 后, 与对照组相比, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 实验组细胞生长数目明显减少, 且有部分细胞死亡, 提示 NCTD 对 A431 细胞具有明显的杀伤作用。

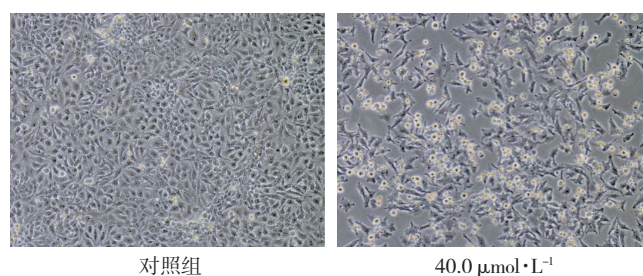


图 1 NCTD 对 A431 细胞的抑制作用

Figure 1 Inhibitory effect of NCTD on A431 cells proliferation

2.2 细胞侵袭迁移实验 见图 2, 3, 表 1。当 NCTD 处理细胞 24 h 后, 通过小室检测药物对细胞侵袭能力的影响, 在显微镜下 (100 倍) 拍照, 结果发现, 与对照组相比, 20.0, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCTD 对 A431 细胞具有显著的抑制作用, 相应的抑制率分别是 $(23.61\pm 0.33)\%$ 、 $(47.92\pm 0.71)\%$ ($P<0.05$)。而在小室迁移实验中, 当 NCTD 作用细胞 24 h, 结果在显微镜下 (100 倍) 拍照, 与对照组比较, 20.0, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCTD 对 A431 细胞具有明显的抑制作用, 相应的迁移抑制率分别是 $(19.53\pm 0.37)\%$ 、 $(41.27\pm 0.59)\%$, $P<0.05$ 。

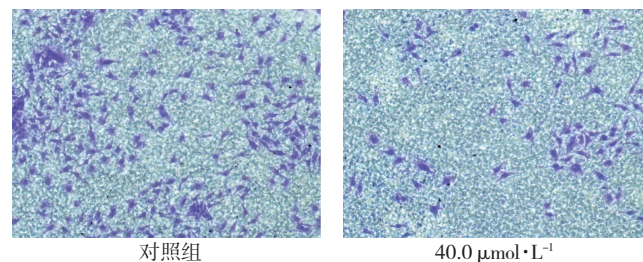


图 2 NCTD 对 A431 细胞侵袭能力影响

Figure 2 effect of treatment NCTD on invasion ability of A431 cells

2.3 细胞黏附实验 培养 2 h, 与对照组比较, 20.0, 40.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCTD 实验组的细胞黏附抑制率分别为

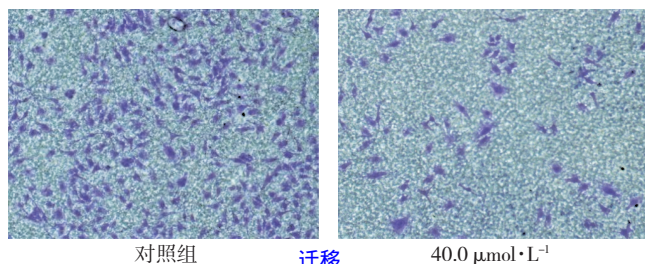


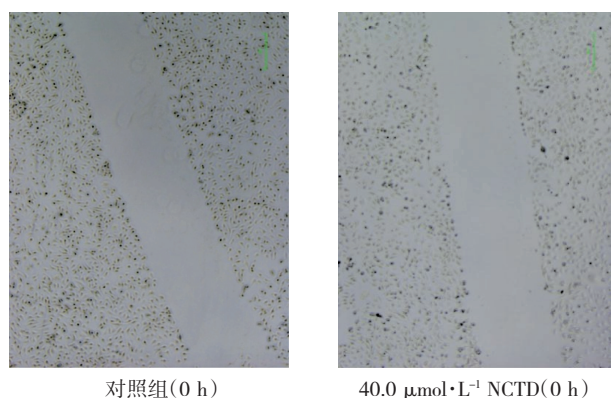
图 3 NCTD 对 A431 细胞运动能力影响

Figure 3 Effect of treatment NCTD on migration ability of A431 cells

(28.26 ± 1.76)%, (52.83 ± 2.18)%, ($P < 0.01$)。结果表明, NCTD 能显著降低 A431 细胞的黏附能力, 见表 1。

2.4 细胞划痕修复能力

划痕结果显示, 划痕后, 加



对照组(0 h) 40.0 μmol·L⁻¹ NCTD(0 h)

图 4 NCTD 对 A431 细胞的划痕修复能力的影响

Figure 4 Effect on NCTD on A431 cells scratch-wound healing

2.5 Western blot 法检测 VEGF、MMP-2、MMP-9 蛋白的表达 NCTD 能抑制 A431 细胞的侵袭转移, VEGF、MMP-2, MMP-9 与肿瘤的侵袭和转移密切相关, Western blot 结果如图 5 显示: 当 0, 20.0, 40.0 μmol·L⁻¹ NCTD 作用 24 h 后, VEGF, MMP-2, MMP-9 蛋白表达水平均有不同程度的下降, 差异具有统计意义。

3 讨论

皮肤癌是人类较为常见的肿瘤, 无论是中晚期, 手术仍然是最为有效的治疗方式, 再配合放疗化疗。皮肤癌具有易复发转移的特点, 这是患者死亡的主要因素。如何抑制肿瘤的转移已成为皮肤癌治疗的重要课题。

一般来说, 肿瘤的转移是一个复杂的动态过程, 包括了侵袭、转移、黏附三个基本步骤^[3-4]。肿瘤细胞首先要克服组织学的屏障, 才能发生转移。该屏障主要由细胞基底膜和细胞外基质构成, 而肿瘤细

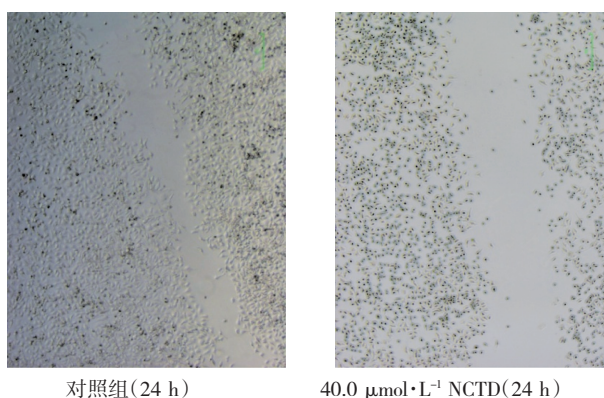
表 1 NCTD 对 A431 细胞侵袭、迁移、粘附能力的抑制作用 (% , $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of treatment NCTD on the inhibition of the abilities of invasion and migration and adhesion in A431 cells

组别	侵袭抑制率	迁移抑制率	粘附抑制率
对照组	0	0	0
20.0 μmol·L⁻¹	23.61 ± 0.33**	19.53 ± 0.37*	28.26 ± 1.76**
40.0 μmol·L⁻¹	47.92 ± 0.71**	41.27 ± 0.59**	52.83 ± 2.18**

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

药处理 24 h, 结果在倒置显微镜(40 倍)下观察并拍照。与对照组相比, 40.0 μmol·L⁻¹ NCTD 实验组的细胞划痕修复能力明显下降, 见图 4。

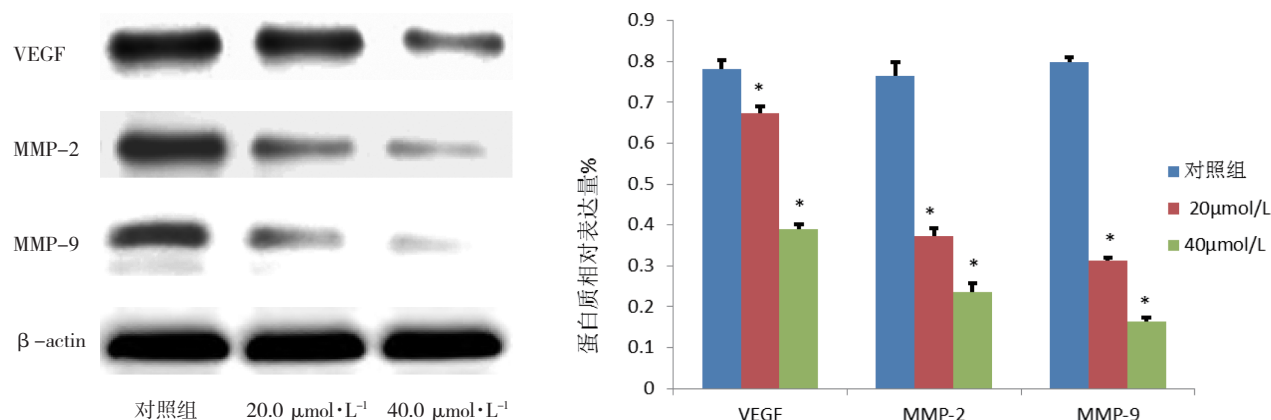


对照组(24 h) 40.0 μmol·L⁻¹ NCTD(24 h)

胞中, MMPs 家族成员 MMP-2, MMP-9 属 IV 型胶原酶的明胶酶类, 而细胞基底膜和细胞外基质主要成分为 IV 型胶原。当 MMP-2, 9 受到激活, 高表达, 能分解 IV 型胶原, 破坏了基底膜和细胞外基质, 从而有效的破坏这个屏障, 促进癌细胞的侵袭转移^[5-6]。MMP-2, MMP-9 在皮肤鳞状细胞癌组织中呈高表达, 在肿瘤的侵袭转移中起到重要作用。根据已有的研究表明, NCTD 对胆管癌的 MMP-2, 肝细胞癌中的 MMP-9 具有显著的下调作用^[7-8]。

本实验表明, 通过小室实验观察发现, 当受到药物 NCTD 作用后, A431 细胞的侵袭和转移能力明显得到了抑制, 细胞中 MMP-2、MMP-9 的蛋白表达水平明显下调, 这表明了 NCTD 抑制 A431 肿瘤细胞侵袭转移可能是通过调控这两种蛋白进行的。

另外, 在肿瘤细胞侵袭转移中, 还伴随着大量的血管生成。血管内皮生长因子 VEGF, 作为促进血管生成的最强因子之一, 在肿瘤侵袭中起非常重要的作用。它可以从以下几方面促进肿瘤侵袭转移。



注: 与对照组(NCTD 0 μmol·L⁻¹)比较, *P<0.05。

图5 NCTD 对人 A431 细胞内 VEGF, MMP-2, MMP-9 蛋白表达的影响

Figure 5 Effect of NCTD on the expression of VEGF, MMP-2, MMP-9 in A431 cells

首先, VEGF 可以增加血管的通透性, 利于肿瘤细胞进入血管, 随血管流动到达身体各处; 血管通透性增加, 还会造成血管里的蛋白外渗, 从而改变了外基质。其次, VEGF 与特定的受体结合, 刺激内皮细胞增殖, 促进血管生成。如果没有血管提供养分, 肿瘤组织会大大减小^[9]。有研究表明, VEGF 在皮肤鳞状细胞中高表达而且与肿瘤的浸润深度和淋巴转移密切相关, 但它和肿瘤的大小和组织学分级却无关。这提示了 VEGF 在该肿瘤的侵袭转移中发挥重要作用^[10]。因此, 抑制 VEGF 的表达, 可抑制皮肤鳞状细胞癌的侵袭转移。已有的研究证实, NCTD 能作用于 VEGF 来调控肿瘤的血管生成^[11]。在本实验中, NCTD 可明显下调 A431 细胞中的 VEGF 的表达, 抑制了细胞的侵袭和转移。

综上所述, 本研究从皮肤癌细胞转移入手, 探讨 NCTD 对 A431 细胞侵袭转移能力的影响及机制, 结果表明 NCTD 在体外可明显地抑制 A431 细胞的增殖、侵袭、迁移能力, 其机制可能是通过抑制 MMP-2、MMP-9、VEGF 表达。本研究提示, NCTD 可成为治疗人皮肤鳞状细胞癌的潜在药物, 更详细的机制有待进一步验证。

参考文献:

- [1] Tian R, Li Y, Gao M. Shikonin causes cell-cycle arrest and induces apoptosis by regulating the EGFR NF-κB signalling pathway in human epidermoid carcinoma A431 cells. *Bioscience Reports*. 2015, 35(2): e00189.
- [2] Li X-P, Jing W, Sun J-J, et al. A potential small-molecule synthetic antilymphangiogenic agent norcantharidin inhibits tumor growth and lymphangiogenesis of human colonic adenocarcinomas through blocking

- VEGF-A, -C, -D/VEGFR-2, -3 "multi-points priming" mechanisms in vitro and in vivo. *BMC Cancer*. 2015, 15: 527.
- [3] Kilgore J, Jackson AL, Clark LH, et al. Buformin exhibits anti-proliferative and anti-invasive effects in endometrial cancer cells. *American Journal of Translational Research*. 2016, 8(6): 2705-2715.
- [4] Niu P-G, Zhang Y-X, Shi D-H, et al. Cardamonin Inhibits Metastasis of Lewis Lung Carcinoma Cells by Decreasing mTOR Activity. *PLoS ONE*. 2015, 10(5): e0127778.
- [5] Pei H, Yang Y, Cui L, et al. Bisdemethoxycurcumin inhibits ovarian cancer via reducing oxidative stress mediated MMPs expressions. *Scientific Reports*. 2016; 6: 28773.
- [6] Liu Y, Su C, Shan Y, et al. Targeting Notch1 inhibits invasion and angiogenesis of human breast cancer cells via inhibition Nuclear Factor-κB signaling. *American Journal of Translational Research*. 2016, 8(6): 2681-2692.
- [7] Yeh C-B, Hsieh M-J, Hsieh Y-H, et al. Antimetastatic Effects of Norcantharidin on Hepatocellular Carcinoma by Transcriptional Inhibition of MMP-9 through Modulation of NF-κB Activity. *PLoS ONE*. 2012, 7(2): e31055.
- [8] Zhang J-T, Sun W, Zhang W-Z, et al. Norcantharidin inhibits tumor growth and vasculogenic mimicry of human gallbladder carcinomas by suppression of the PI3-K/MMPs/Ln-52 signaling pathway. *BMC Cancer*. 2014, 14: 193.
- [9] Jamison S, Lin Y, Lin W. Pancreatic Endoplasmic Reticulum Kinase Activation Promotes Medulloblastoma Cell Migration and Invasion through Induction of Vascular Endothelial Growth Factor A. *PLoS ONE*. 2015, 10(3): e0120252.
- [10] 黄琨, 黄闯, 单葵, 陈瑾, 赵恒光, 李惠. PCDGF 和 VEGF 蛋白在皮肤鳞状细胞癌、基底细胞癌中的表达及临床意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2011, 03: 306-309.
- [11] 袁昌劲, 余涛, 侯风刚, 李丹, 刘礼, 吕秀玮, 任丽. 去甲斑蝥素对裸鼠结肠癌移植瘤血管生成的影响及其机制[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2013, 03: 278-281.

(编辑: 修春)