

金钗石斛破壁粉对裸鼠人肝癌细胞 HepG2 移植瘤生长的抑制作用

贺凯¹, 张丹², 李小芳², 刘睿涵³, 黄健麟², 刘明华^{2*} (1. 西南医科大学第一附属医院肝胆外科, 四川 泸州 646000; 2. 西南医科大学药学院药理教研室, 四川 泸州 646000; 3. 四川中医药高等专科学校, 四川 绵阳 621000)

摘要:目的 研究金钗石斛破壁粉对人肝癌细胞 HepG2 裸鼠移植瘤生长及肿瘤血管生成的抑制作用。方法 复制裸鼠人肝癌细胞 HepG2 移植瘤模型, 随机分为阴性对照组(生理盐水)、阳性对照组(贝伐单抗注射液, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 腹腔注射给药)和金钗石斛破壁粉低、中、高 3 个剂量组($50, 100$ 和 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灌胃给药), 给药结束后剥取瘤体并称重, 常规石蜡切片, 采用免疫组化法分析瘤体内微血管密度(microvessel density, MVD)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响。结果 金钗石斛破壁粉治疗组给药后肿瘤体积(TV)、相对肿瘤体积(RTV)和相对肿瘤增殖率[T/C(%)]均明显下降, 其中[T/C(%)]分别为 60.56%、48.59% 和 47.15%; 金钗石斛破壁粉治疗组微血管分布较稀疏, MVD 值由对照组的(65.67 ± 12.05)分别减少至(51.53 ± 10.75)、(45.89 ± 9.24)和(40.76 ± 8.93)。金钗石斛破壁粉治疗组阳性表达率由对照组的(82.25 ± 15.59)%下降至(65.27 ± 13.88)%、(48.02 ± 12.14)%和(44.07 ± 10.34)%。结论 金钗石斛破壁粉能明显抑制裸鼠 HepG2 移植瘤的生长, 可能与其下调瘤组织 VEGF 的表达和降低移植瘤微血管密度 MVD 有关。

关键词:金钗石斛; 破壁粉; HepG2; 微血管密度; 血管生成

doi:10.11669/cpj.2019.22.008 中图分类号:R285;R979.1 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)22-1865-06

Inhibitory Effect of *Dendrobium nobile* Lindl Wall-broken Powder on Tumor Growth of Transplanted Human Liver Cancer Cell Line HepG2 in Nude Mice

HE Kai¹, ZHANG Dan², LI Xiao-fang², LIU Rui-han³, HUANG Jian-lin², LIU Ming-hua^{2*} (1. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 3. Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang 621000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the inhibitory effect of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on tumor growth and angiogenesis of transplanted human liver cancer cell line HepG2 in nude mice. **METHODS** The transplant tumor model in nude mice for HepG2 was established. All tumor-bearing nude mice were randomly divided into control group (normal saline), positive group (bevacizumab, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, intraperitoneally), and low-, medium-, high-dose *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder-treated groups ($50, 100$ and $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, intragastrically). The tumor xenografts were harvested and measured for their weights. Immunohistochemistry was used to detect microvessel density (microvessel density, MVD) and vascular endothelial growth factor (vascular endothelial growth factor, VEGF) expression. **RESULTS** After the administration, TV (tumor volume), RTV (relative tumor volume), and T/C(%) in *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder treatment group decreased significantly, T/C(%) was 60.56%, 48.59%, and 47.15%, respectively. SABC assay showed that MVD in *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder treatment group was sparse, MVD value decreased from (65.67 ± 12.05) to (51.53 ± 10.75), (45.89 ± 9.24) and (40.76 ± 8.93), *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder can significantly reduce the positive expression of VEGF. The positive expression rate reduced from (82.25 ± 15.59)% to (65.27 ± 13.88)%, (48.02 ± 12.14)% and (44.07 ± 10.34)%. **CONCLUSION** *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder can inhibit tumor growth of transplanted liver cancer cell line HepG2 in nude mice in varying degrees, which may be related to reducing MVD value and the expression of VEGF in tumor tissue.

KEY WORDS: *Dendrobium nobile* Lindl.; wall-broken powder; HepG2; MVD; angiogenesis

基金项目:四川省教育厅重点项目资助(17ZA0429);泸州市-泸医联合资助项目(2013LZLY-J13)

作者简介:贺凯,男,硕士,副主任医师 研究方向:肝胆胰外科肿瘤 * 通讯作者:刘明华,男,硕士,教授,硕士生导师 研究方向:抗肿瘤药物筛选及分子靶点研究 Tel:(0830)3193872 E-mail: 99053808@qq.com

金钗石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.)俗称万丈须、扁金钗、金钗石、扁黄草,是《中国药典》(2015年版)记载的名贵中药材,为兰科石斛属多年生附生草本植物。金钗石斛具有滋阴清热、生津益胃、清肝明目和润肺止咳等功效,由于其卓越的滋补功效和特殊的生存环境被国际药用植物界称为“药界大熊猫”,名列“中华九大仙草”之首^[1]。金钗石斛中的化学成分主要包括生物碱、萜类、木脂素和酚类等,对心脑血管、消化系统、呼吸系统和眼科等疾病有明显治疗作用。近年来的研究发现^[2-3],生物大分子多糖也是金钗石斛的主要生物活性分子之一,具有免疫促进、抗氧化、抗肿瘤等活性。金钗石斛破壁粉是采用超音速气流粉碎方法对金钗石斛进行超微粉碎,以压缩空气或过热蒸汽通过喷嘴产生的超音速高速气流作为颗粒的载体,颗粒与颗粒之间或颗粒与固定板之间发生冲击性挤压,摩擦和剪切等作用,从而达到粉碎的目的^[4-6]。本实验复制人肝癌细胞 HepG2 的裸鼠移植瘤模型,以贝伐单抗为阳性对照,研究了金钗石斛破壁粉对裸鼠 HepG2 移植瘤生长及微血管密度的影响,旨在为金钗石斛破壁粉临床治疗肿瘤提供科学的实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

金钗石斛破壁粉,颗粒细度为 3~5 μm ,细胞破壁率为 100%(西南医科大学生药教研室税丕先教授提供),临用前用生理盐水稀释。临用时取 1.0 g 金钗石斛破壁粉溶于 50 mL 生理盐水(20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),再倍比稀释为 10、5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,分别按 10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重灌胃给药。贝伐单抗注射液(Avastin, Bevacizumab, 批号: S20170307, Roche 公司)。RPMI1640 培养基(美国 Gibco 公司);兔抗人 VEGF 多克隆抗体(英国 Abcam 公司);PV 法兔二抗试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);CD34 单克隆抗体(英国 Abcam 公司);胎牛血清(杭州四季青公司);Cell counting kit-8 (CCK8, 碧云天生物技术有限公司)。

1.2 实验动物

SPF 级 BALB/c-nu 裸鼠,4~5 周龄,雄性[成都达硕实验动物有限公司,合格证号: SCXK(川)2013-065],饲养于 SPF 级动物室中,动物室内的温度为 20~25 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 40%~70%,换气次数 10~12 次 $\cdot \text{h}^{-1}$,保持 12 h 光照循环,自由摄食饮水。所有实验动物均得到西南医科大学实验动物伦理委

员会审核批准。

1.3 细胞培养

人结肠癌细胞株 HepG2(西南医科大学附属医院分子生物学实验中心陈庄课题组惠赠),采用 RPMI 1640 pH 7.4 的完全培养基,在 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 条件下常规培养。当细胞长至瓶底 80%~90% 时,用胰酶消化后,继续传代扩增培养。收集培养细胞制成细胞悬液,细胞浓度为 $2 \times 10^6 \cdot 0.2 \text{ mL}^{-1}$,活细胞比例 >90%,用于接种裸鼠。

2 方法

2.1 对人肝癌 HepG2 裸鼠移植瘤生长的抑制作用

取 HepG2 瘤组织,在无菌条件下,剪切成约 1.0 mm^3 大小的组织块,接种于裸小鼠右侧腋窝皮下。选择体内已形成瘤块且瘤径约 $\geq 50 \text{ mm}^3$ 的裸鼠,按实验方案随机分为 5 组给药。分别为阴性对照组(生理盐水组)、阳性对照组(贝伐单抗注射液,5.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,腹腔注射)和金钗石斛破壁粉低、中、高 3 个剂量组(50,100 和 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,灌胃给药)。每周连续给药 5 d 后停药 2 d,给药 4 周,每 2~3 d 测量瘤径和体重 1 次,计算肿瘤体积(tumor volume, TV)、相对肿瘤体积(relative tumor volume, RTV)和相对肿瘤增殖率[T/C(%)]。计算公式如下:① $\text{TV} = 1/2 \times a \times b^2$,其中 a, b 分别表示肿瘤的长和宽。② $\text{RTV} = V_t/V_0$,其中 V_0 为分组给药时(即 d_0)所测得的肿瘤体积, V_t 为每一次测量时的肿瘤体积。③ $\text{T/C}(\%) = T_{\text{RTV}}/C_{\text{RTV}} \times 100\%$,其中 $T_{\text{RTV}}, C_{\text{RTV}}$ 为治疗组和阴性对照组的 RTV。疗效评价标准^[7]: T/C(%) >60% 为无效, T/C(%) $\leq 60\%$,并经统计学处理 $P < 0.05$ 为有效。实验结束后处死动物,剥取瘤组织,称瘤重。

2.2 测定肿瘤微血管密度(microvessel density, MVD)

免疫组化两步法标记 CD34,方法如下:将各组已包埋好的肿瘤组织切片,常规脱蜡,柠檬酸高温修复抗原,以 10% 山羊血清封闭。滴加 CD34 兔抗多克隆抗体(1:200 稀释),4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBS 洗,加二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 0.5 h, DAB 显色,光镜下观察并摄影。每张片取 5 个热点区域并计数微血管,取 5 个视野的均值作为 MVD^[8]。

2.3 免疫组化检测肿瘤组织 VEGF 的表达

同“2.2”项下方法进行切片处理,按二步法免疫细胞化步骤先后滴加 1:100 稀释的 VEGF(vascular endothelial growth factor, VEGF)一抗、相应生物

素化二抗和 SABC 液,阴性对照用磷酸盐缓冲液代替一抗。DAB 显色,显微镜下观察并拍照分析,阳性表达位于细胞质中,呈淡黄色、棕黄色或棕褐色。阳性率 = 阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

2.4 统计学方法

计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 SPSS16.0 统计软件进行独立样本单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对 HepG2 裸鼠移植瘤生长的抑制作用

金钆石斛破壁粉 3 个剂量组均能抑制裸鼠移植瘤的生长,各治疗组给药后肿瘤体积 (TV)、相对肿瘤体积 (RTV)、相对肿瘤增殖率 [T/C (%)] 及瘤重明显下降,与阴性对照组比较, $P < 0.05$ 。结果见表 1,图 1 ~ 3。

表 1 金钆石斛破壁粉对 HepG2 裸小鼠移植瘤生长的影响. $\bar{x} \pm s$

Tab. 1 Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on TV, RTV and T/C (%) of transplanted HepG2 in nude mice at the optimal cure time. $\bar{x} \pm s$

Group	Dose /mg \cdot kg ⁻¹	n	TV/mm ³		RTV	T/C (%)
			d ₀	d ₂₁		
Negative control	—	16	117.45 \pm 17.52	1 158.05 \pm 112.36	9.86 \pm 0.79	100
Bevacizumab	5.0	8	121.12 \pm 18.03	551.09 \pm 87.48 ¹⁾	4.55 \pm 0.32 ²⁾	46.193
Wall-broken powder	50	8	126.42 \pm 19.74	754.43 \pm 101.35 ¹⁾	5.97 \pm 0.42 ¹⁾	60.56
	100	8	115.73 \pm 17.11	554.35 \pm 76.25 ²⁾	4.79 \pm 0.38 ²⁾	48.59
	200	8	116.72 \pm 18.25	542.75 \pm 85.78 ²⁾	4.65 \pm 0.41 ²⁾	47.15

注: d₀ - 分笼给药时间; d₂₁ - 实际治疗疗效最佳时间; 与阴性组相比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: d₀ - drug delivery time; d₂₁ - the best time for actual treatment; ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs negative control group

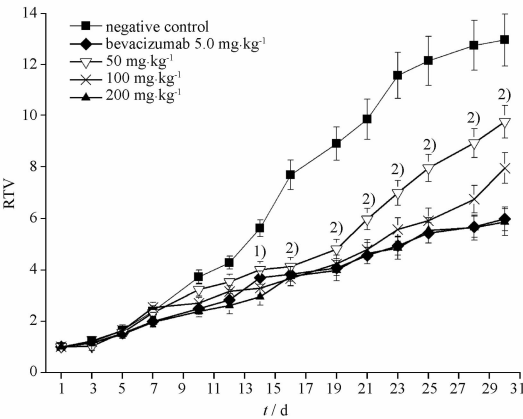


图 1 金钆石斛破壁粉对 HepG2 细胞裸小鼠移植瘤 RTV 的影响. $n = 8, \bar{x} \pm s$

与阴性组相比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Fig. 1 Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on RTV of transplanted HepG2 cell in nude mice. $n = 8, \bar{x} \pm s$

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs negative control group

3.2 金钆石斛破壁粉对瘤组织中 MVD 的影响

免疫组化结果显示,镜下可见 CD34 被染成黄褐色,标记出内皮细胞所在的位置,由内皮细胞形成管腔,且管腔小于 8 个红细胞面积,无较厚平滑肌包裹者即为微血管。金钆石斛破壁粉 3 个剂量组和阳性对照组裸鼠瘤组织呈棕褐色条索状,微血管分布较稀疏,MVD 值不同程度降低,与阴性对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

3.3 金钆石斛破壁粉对瘤组织中 VEGF 表达的影响

肿瘤组织中有大量的 VEGF 分泌,免疫组化染色结果显示,阴性对照组细胞胞浆呈现不同程度的棕黄色颗粒,金钆石斛破壁粉治疗组能明显减少 VEGF 的阳性表达,阳性表达率与阴性对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

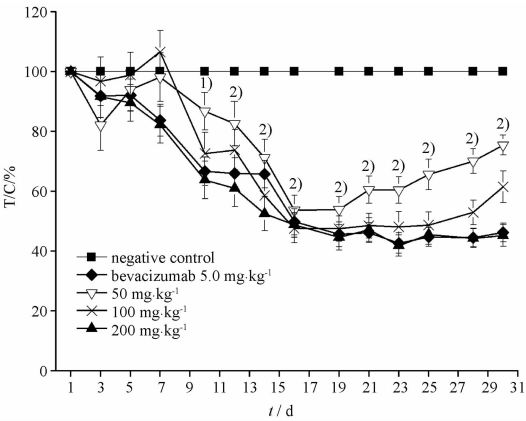


图 2 金钆石斛破壁粉对 HepG2 细胞裸小鼠移植瘤 T/C (%) 的影响. $n = 8, \bar{x} \pm s$

与阴性组相比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Fig. 2 Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on T/C (%) of transplanted HepG2 in nude mice. $n = 8, \bar{x} \pm s$

¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs negative control group

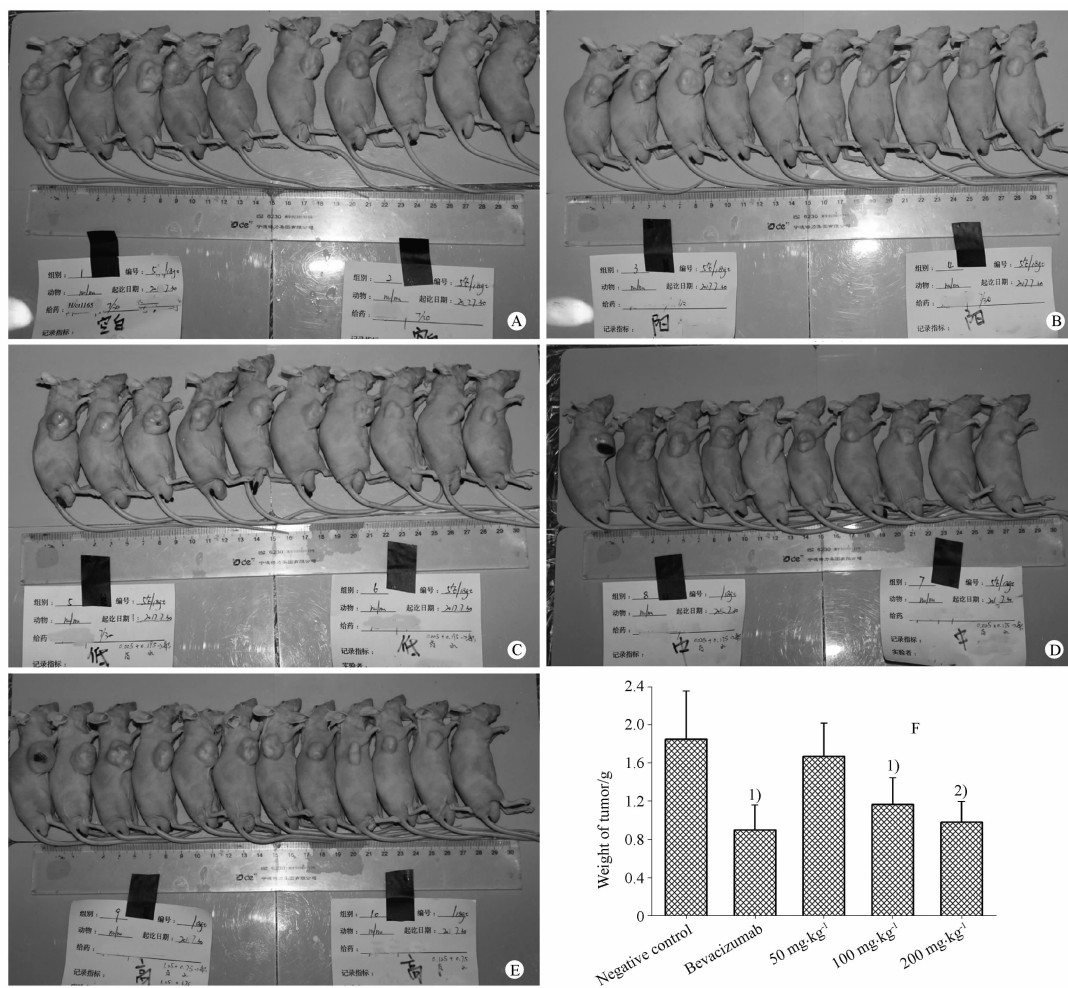


图3 金钗石斛破壁粉对 HepG2 细胞裸小鼠移植瘤重量的影响. $n=8, \bar{x} \pm s$

A - 阴性对照组; B - 阳性对照组; C - 50 mg · kg⁻¹组; D - 100 mg · kg⁻¹组; E - 200 mg · kg⁻¹组; F - 肿瘤质量; 与阴性组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Fig. 3 Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on the weight of transplanted HepG2 cell in nude mice. $n=8, \bar{x} \pm s$

A - negative control group; B - positive control group; C - 50 mg · kg⁻¹; D - 100 mg · kg⁻¹; E - 200 mg · kg⁻¹; F - mass of tumor; ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs negative control group

表2 金钗石斛破壁粉对 HepG2 细胞裸小鼠移植瘤 MVD 的影响. $\bar{x} \pm s$

Tab. 2 Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on MVD of transplanted HepG2 cell in nude mice. $\bar{x} \pm s$

Group	Dose/mg · kg ⁻¹	n	MVD
Negative control	-	16	65.67 ± 12.05
Bevacizumab	5.0	8	32.37 ± 8.72 ²⁾
Wall-broken powder	50	8	51.53 ± 10.75
	100	8	45.89 ± 9.24 ¹⁾
	200	8	40.76 ± 8.93 ²⁾

注: 与阴性组相比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs negative control group

表3 金钗石斛破壁粉对 HepG2 细胞裸小鼠移植瘤 VEGF 表达的影响. $\bar{x} \pm s$

Tab. 3 Effects of *Dendrobium nobile* Lindl wall-broken powder on expression of VEGF of HepG2 in nude mice. $\bar{x} \pm s$

Group	Dose/mg · kg ⁻¹	n	Positive rate of VEGF/%
Negative control	-	16	82.25 ± 15.59
Bevacizumab	5.0	8	41.24 ± 11.07 ²⁾
Wall-broken powder	50	8	65.27 ± 13.88 ¹⁾
	100	8	48.02 ± 12.14 ²⁾
	200	8	44.07 ± 10.34 ²⁾

注: 与阴性组相比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

Note: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs negative control group

4 讨论

金钗石斛为亚热带附生植物,在我国主要分布于乌蒙山片区的泸州、赤水、云南等地。金钗石斛对生长环境要求苛刻,栽培困难,野生产量少。随着

石斛产业的发展 and 栽培,繁育、栽培等关键技术不断被攻克,多地纷纷建立起金钗石斛种植基地,其中就包括贵州赤水和四川泸州等地^[9]。细胞破壁技术是一种超微粉碎加工技术,是中药临床应用的一场

革命,中药材细胞破壁超微粉碎后的药效释出,药性变化,治疗效果发生质的飞跃^[10]。药材(植物及动物)的细胞直径通常为10~100 μm左右,超微粉碎的颗粒细度为3~5 μm^[11]。中药材的有效成分主要分布于细胞内,中药若采用常规方式粉碎,其单个粒子常由数个或数十个细胞所组成,细胞的破壁率极低,其有效成分不易透过细胞壁而释放出来。中药材细胞破壁后,有效成分充分释放出来,可以增加药物的吸收率,提高其生物利用度,便于服用,有利于环保、绿化和植被保护;细胞破壁技术可节约药材40%~60%,个别药材可提高4倍的药效,对中药产业的长期和可持续发展起到巨大作用。该方法可直接破坏植物类药材的细胞壁,动物类药材细胞膜,使有效成分充分释放,使药效提高1~3倍,节约资源,现广泛用于贵重药材,如虫草、灵芝孢子、灵芝、人参、三七、天麻、水蛭、地龙等的粉碎^[12]。本课题组采用超音速气流粉碎方法对泸州道地药材金钗石斛进行超微粉碎,以压缩空气或过热蒸汽通过喷嘴产生的超音速高速气流作为颗粒的载体,颗粒与颗粒之间或颗粒与固定板之间发生冲击性挤压,摩擦和剪切等作用,从而达到粉碎的目的。

裸鼠移植瘤抗肿瘤活性实验结果显示,金钗石斛破壁粉灌胃给药后 HepG2 裸鼠移植瘤 TV, RTV 和 T/C(%) 明显下降, T/C(%) 分别为 60.56%、48.59% 和 47.15%, 与阴性对照组比较, $P < 0.01$ 。抗肿瘤药效学指导原则中疗效评价标准: T/C(%) $> 60\%$ 为无效, T/C(%) $\leq 60\%$, 并经统计学处理 $P < 0.05$ 为有效。金钗石斛破壁粉中、高剂量组的 T/C(%) 均小于 60%, 且呈现出较好的量效关系, 揭示金钗石斛破壁粉体内抗肿瘤活性较强, 具有较好的开发前景, 可用于恶性肿瘤, 特别是肝癌的治疗。

肝癌是世界范围内发病较为广泛的恶性肿瘤之一, 肿瘤的转移和复发严重威胁肝癌病人的生命, 肿瘤的生长以及转移需依赖肿瘤组织中的血管生成(angiogenesis)^[13]。大量研究证明^[14-15], 肿瘤血管生成是一个受到多重因素调节、极其复杂的过程。其中较为明确的有血管内皮生长因子(VEGF)、成纤维细胞生长因子(FGFs)、血管生成素(angiotensin)、血小板来源的内皮细胞生长因子(PD-ECGF)和转化生长因子- α/β (TGF- α/β)等。其中 VEGF 是鉴别出来的最强效、最特异的促肿瘤血管生成因子。它作为一种内皮细胞的促血管生成因子、有丝分裂原, 能直接或间接参与血管生

成, 在原位肿瘤的形成和生长以及转移瘤的形成过程中起着十分重要的作用^[16]。梁启廉等^[17]研究发现, VEGF 表达水平与大肠癌组织学分化程度、浸润深度、TNM 分期、淋巴结转移有关, 有研究者利用同源重组将肝癌细胞系中 VEGF-A 敲除后发现, 当细胞缺失了 VEGF 信号后, 细胞的生长受到了明显的抑制, 且细胞对化疗药物 5-氟尿嘧啶的敏感性增强。目前认为肿瘤组织 MVD 作为间接测量肿瘤血管生成的一项指标, 与多种肿瘤临床分期、病理分级、淋巴结转移以及患者预后有关^[18]。免疫组化实验证实, 金钗石斛破壁粉治疗组微血管分布较稀疏, MVD 值明显减少, VEGF 阳性表达率显著降低。结合体内抗肿瘤活性实验结果, 揭示金钗石斛破壁粉抑制 HepG2 裸鼠移植瘤生长与下调 VEGF 表达, 减少肿瘤血管生成密切相关, 具有很好应用前景, 值得进一步深入研究。

REFERENCES

- [1] XU L, WANG J R, GUO L, et al. Chemical constituents from *Dendrobium nobile* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2018, 40(5):1110-1112.
- [2] ZHOU W, ZENG Q F, XIA J, et al. Antitumor phenanthrene constituents of *Dendrobium nobile* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2018, 53(20):1722-1725.
- [3] YAN S, ZHAO T M, ZHANG X Q, et al. Comparison of polysaccharide and dendrobine content in Hejiang *Dendrobium nobile* at different harvesting time [J]. *J China Pharm* (中国药房), 2018, 29(1):73-77.
- [4] WANG Y P, LIU Y N, YANG L X, et al. Influence of particle sizes and content of effective compositions of *Panax notoginseng* powders crashing by superfine somminution technique [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, 39(8):1430-1434.
- [5] WANG H F, YING C, XIANG H X, et al. Effect of ultrafine process on the acute toxicity and major pharmacodynamics of Yin-qiao San [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2018, 38(7):714-718.
- [6] CHEN X. Influence of particle sizes and content of effective compositions of *Cistanche deserticola* Ma powders crashing by superfine somminution technique [J]. *Chin J Clin Rat Drug Use* (临床合理用药杂志), 2017, 10(2):86-87.
- [7] LI H Y, LI Q, LIU M H, et al. Inhibitory effect of Ke-ai-xin pill on tumor growth of transplanted colon cancer cell line HCT116 in nude mice [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2017, 52(18):1609-1613.
- [8] LIAG G, ZHANG D, ZHANG H, et al. Inhibitory effect of *Periplaneta americana* polypeptide on tumor growth of transplanted hepatocellular carcinoma cell line Bel-7402 in nude mice [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2016, 25(6):687-691.
- [9] ZHANG X M, SUN Z R, CHEN L, et al. Advances of studies on chemical constituents and pharmacological effect of *Dendrobium nobile* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2014, 31(7):895-899.
- [10] LIANG Z C, ZHU H B, XIAO L, et al. Physicochemical properties, and in vitro dissolution behavior of active ingredients in ul-

- trafine powder of *Eucommia ulmoides* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46(11):1609-1614.
- [11] LI J Z. Cell-level micropowdering technique of Chinese medicine applied in Chinese medicine preparation [J]. *Henan Tradit Chin Med* (河南中医), 2016, 36(5):906-909.
- [12] LI J, MA X X, LI S X, *et al.* Optimization of ultrafine grinding technology for cell wall disruption of *Dendrobii officinalis* Caulis [J]. *Chin J Exper Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2014, 20(7):31-33.
- [13] JANG J H, KIM S K, CHOI J E, *et al.* Endothelial progenitor cell differentiation using cryopreserved, umbilical cord blood-derived mononuclear cells [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2007, 28(3):367-374.
- [14] YE Y B, CHEN T. Advances of study on angiogenesis and angiogenic therapy in hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Bases Clin General Surg* (中国普外基础与临床杂志), 2009, 16(10):861-865.
- [15] MIAO Z H, FENG J M, DING J. Newly discovered angiogenesis inhibitors and their mechanisms of action [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2012, 33(9):1103-1111.
- [16] KIM G H, WON J E, BYEON Y, *et al.* Selective delivery of PLXDC1 small interfering RNA to endothelial cells for anti-angiogenesis tumor therapy using CD44-targeted chitosan nanoparticles for epithelial ovarian cancer [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1):1394-1402.
- [17] LIANG Q L, CHEN X D, WANG S M, *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor and metastin in colorectal carcinoma [J]. *J South Med Univ* (南方医科大学学报), 2007(10):1584-1587.
- [18] DAI G L, GONG T, LI Y, *et al.* Effect of schisandrin B on proliferation and migration of human SW620 colon cancer cell via VEGF/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2018, 53(14):1186-1191.
- (收稿日期:2018-11-13)

关于举办 ICH M3(R2)及相关药物非临床安全性评价指导原则培训的通知(第二轮)

为落实原食品药品监管总局《关于使用国际人用药品注册技术协调会二级指导原则的公告》(2018年第10号)有关要求,进一步推动 ICH 相关技术指导原则的实施工作,我会定于 2019 年 12 月 6~7 日在北京举办“ICH M3(R2)及相关药物非临床安全性评价指导原则”培训。

培训将邀请具有国际化视野和丰富实践经验的监管部门和业界资深专家,介绍 ICH 支持药物进行临床试验和上市的非临床安全性研究国际标准,研讨常规药物开发过程中的安全药理学试验、重复给药毒性试验、毒代动力学和非临床药代动力学试验、生殖毒性试验、遗传毒性试验、致癌性试验的研究策略及时间安排等,并讨论其与临床试验的关系。有关培训事项如下。

1 培训时间与地点

时间:2019 年 12 月 6 日至 7 日,5 日报到。

地点:北京河南大厦(北京市朝阳区潘家园华威里 28 号,联系电话:010-67751188)。

2 主办单位

中国药学会

3 参会对象

监管机构、制药企业、高等院校、科研院所、医疗机构等从事相关工作的人员,特别是从事注册、非临床研究、质量、研发等相关部门人员。

4 主要内容

①ICH M3 概述及在我国的实施情况;②药物非临床安全性评价研究要求及案例分享;③药物非临床安全性评价到临床研究的过渡。

5 注册及收费

会务费 2 500 元;中国药学会会员参加培训代表缴纳注册费 2 000 元;学生参会代表缴纳注册费 1 500 元;新疆、西藏及贫困地区参会代表将酌情减免注册费;监管机构人员免注册费。注册费包含资料费及培训期间工作午餐费。交通、住宿及其他费用自理。

6 会议学分

授予参会代表中国药学会继续教育学分 4 分。

7 联系方式

地址:北京市东城区天坛西里 2 号中国药学会,联系人:朱凤昌、王筱婧,电话:010-67095594、010-67095943, E-mail: int-dept@cpa.org.cn

详情可登录中国药学会网站:www.cpa.org.cn。

doi:10.11669/cpj.2019.22.009

[本刊讯]