

## 氨氯地平对肺腺癌 A549 细胞生长及上皮间质转化的影响<sup>①</sup>

高继光<sup>1</sup>, 张莹<sup>2</sup>, 何煜<sup>3</sup>, 丁丁<sup>1,2</sup>

- (1. 皖南医学院医学生物学教研室, 安徽 芜湖 241002 E-mail: 415172786@qq.com;
2. 皖南医学院公共卫生学院, 安徽 芜湖 241002;
3. 皖南医学院医学影像学院, 安徽 芜湖 241002)

**摘要:**目的 观察氨氯地平对肺腺癌 A549 细胞生长及上皮间质转化的影响, 并初探其作用机制。方法 将本实验中培养的肺腺癌 A549 细胞分空白对照组、二甲亚砜(DMSO)、氨氯地平组, 采用 CCK-8 法检测细胞增殖抑制率; 流式细胞仪检测细胞凋亡及周期变化; Western Blot 法检测上皮间质转化相关蛋白表达。结果 与空白对照组比较, 氨氯地平对 A549 细胞具有显著抑制作用 ( $P < 0.05$ ),  $IC_{50}$  值为  $4.93 \mu\text{g/ml}$ ; 氨氯地平对 A549 细胞具有促凋亡作用 ( $P < 0.05$ ), 且处理组  $G_1$  期细胞明显增多 ( $P < 0.05$ ), S 期细胞明显减少 ( $P < 0.05$ ); Western Blot 及 PCR 方法检测发现 Snail 的蛋白和 mRNA 表达显著下调, E-cadherin 的蛋白和 mRNA 表达显著上调 ( $P < 0.05$ )。结论 氨氯地平可通过阻滞  $G_1/S$  期细胞增殖来抑制 A549 细胞的增殖, 促进细胞的凋亡, 同时改变上皮间质转化靶基因 Snail 和 E-cadherin 的表达。

**关键词:** 氨氯地平; A549 细胞; 上皮间质转化

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2018)04-0319-05  
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.04.007

## Effects of amlodipine on the growth and epithelial mesenchymal transition of lung adenocarcinoma A549 cell lines

Gao Jiguang<sup>1</sup>, Zhang Ying<sup>2</sup>, He Yu<sup>3</sup>, Ding Dingyi<sup>2</sup>

- (1. Department of Medical Biology of Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China  
E-mail: 415172786@qq.com;
2. School of Public Health of Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China
3. School of Medical Imaging of Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To observe the effects of amlodipine on the growth and epithelial mesenchymal transition of lung adenocarcinoma A549 cell lines, and to explore its mechanism. **Methods** The cultured lung adenocarcinoma A549 cells in this experiment were divided into a blank control group, a negative DMSO control group, a  $0.625 \mu\text{g/ml}$  amlodipine group, a  $1.25 \mu\text{g/ml}$  amlodipine group, a  $2.50 \mu\text{g/ml}$  amlodipine group, a  $5.00 \mu\text{g/ml}$  amlodipine group and a  $10.00 \mu\text{g/ml}$  amlodipine group. The inhibition rate of cell proliferation was detected by CCK-8 technique. The apoptosis and the cell cycle were detected by flow cytometry. The expression of epithelial mesenchymal transition related protein was detected by Western Blot technique. The measurements were recorded and the statistically comparative analysis was performed. **Results** By comparing with blank control group, Amlodipine had significant inhibitory effects on A549 cells in a dose dependent manner ( $P < 0.05$ ), the  $IC_{50}$  value was  $4.93 \mu\text{g/ml}$ . Amlodipine had the effects of promoting A549 cells apoptosis ( $P < 0.05$ ). The  $G_1$  phase cells of  $1.25 \mu\text{g/ml}$  and  $2.50 \mu\text{g/ml}$  groups were increased significantly ( $P < 0.05$ ), and S phase cells decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The detection by Western Blot and PCR methods found that the expressions of protein and mRNA of Snail were significantly down regulated, and the protein and mRNA expressions of E-cadherin were significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Amlodipine can inhibit the proliferation of A549 cells, promote cell apoptosis and at the same time, change the expressions of epithelial mesenchymal transition target genes Snail and E-cadherin by blocking the proliferation of  $G_1/S$  phase cells.

**Key words:** amlodipine; A549 cell line; epithelial mesenchymal transition

① 基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2017A252);安徽省大学生创新创业训练项目(201610368139)

目前,肺癌已成为发病率和死亡率增长最快,对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>,在我国肺癌病人的死亡率居各种肿瘤之首<sup>[2]</sup>。近年来,对肺癌的生物学、预防、诊断和治疗等方面研究取得了飞速发展,但人们仍在为寻求一种相对副作用小、治疗效果好的药物而努力。

氨氯地平(Amlodipine)作为一种二氢吡啶类选择性L型Ca<sup>2+</sup>通道拮抗剂,临床上主要用来治疗高血压等相关疾病<sup>[3-4]</sup>。Yoshida等<sup>[5-6]</sup>首次发现氨氯地平作为Ca<sup>2+</sup>通道阻滞剂可抑制A431细胞EGFR的磷酸化,抑制肿瘤细胞的增殖。近期研究发现,氨氯地平对多种肿瘤细胞的生长、转移具有抑制作用,如:乳腺癌ZR75、小鼠肝癌H22、人乳腺癌MCF-7细胞等<sup>[7-8]</sup>。但氨氯地平对肺腺癌A549细胞生长及上皮间质转化的影响尚不明确。上皮间质转化不仅在个体发育过程中起关键作用,在肿瘤侵袭转移中起重要作用。上皮间质转化的实现主要通过抑制E-cadherin的表达来实现,而转录因子Snail作为E-cadherin的重要抑制因子,通常被认为是上皮间质转化的重要靶蛋白。因此,本研究主要观察氨氯地平对肺腺癌A549细胞增殖及上皮间质转化的影响,并初探其作用机制,为研究氨氯地平治疗肺腺癌提供理论依据。

## 1 材料与方法

1.1 材料与试剂 肺腺癌A549细胞购自上海中科院细胞库,氨氯地平(美国辉瑞医药公司,5 mg/片)配成不同浓度时用DMSO溶解;细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司,50次/盒);DMEM培养基(Hyclone,SH30022.01B,500 ml/瓶);0.25%胰酶(Gibco,25200-056,100 ml/瓶);组织RNA试剂盒(天根生化科技有限公司,DP431,50次/盒);逆转录酶(Promega,M1701);SYRB green PCR试剂盒(Thermo,K0221);Snail抗体(CST,3895S);E-cadherin抗体(CST,144725); $\beta$ -actin抗体(CST,4970T);QPCR仪(ABI,7500);酶标仪(TECAN,M200pro);化学发光检测系统(Protein Simple,FC3)。

## 1.2 实验方法

1.2.1 CCK-8法检测氨氯地平对A549细胞增殖的影响及IC<sub>50</sub>值 实验分空白对照组、DMSO阴性对照组(DMSO组)和5个不同浓度氨氯地平组。取对数期A549细胞经胰酶消化,将细胞浓度调整至1×10<sup>4</sup>个/ml,每孔添加100  $\mu$ l细胞悬液至96孔板,24 h后除空白对照组外,分别加入5组10  $\mu$ l等体积不同浓度的氨氯地平溶液(0.625  $\mu$ g/ml、1.25  $\mu$ g/ml、2.50  $\mu$ g/ml、5.00  $\mu$ g/ml、10.00  $\mu$ g/ml),每个浓度设5个复孔,DMSO组加入10  $\mu$ l DMSO溶液。24 h后每孔加入10  $\mu$ l CCK-8溶液,继续孵育2 h,450 nm处测定

吸光度,实验在相同条件下重复3次。

1.2.2 流式细胞仪检测A549细胞凋亡的影响 取对数期A549细胞按照每孔1×10<sup>6</sup>个细胞铺6孔板。贴壁后加入不同浓度氨氯地平(0  $\mu$ g/ml、1.25  $\mu$ g/ml、2.50  $\mu$ g/ml、5.00  $\mu$ g/ml)各10  $\mu$ l,48 h后,收集所有细胞,离心,弃上清,加195  $\mu$ l Annexin V-FITC结合液轻轻重悬细胞,再加5  $\mu$ l Annexin V-FITC,最后加10  $\mu$ l PI轻轻混匀,室温孵育30 min后流式细胞仪检测凋亡率。相同条件下重复3次。

1.2.3 流式细胞仪检测不同组别细胞周期 细胞周期检测设有4组:空白对照组、DMSO组、1.25  $\mu$ g/ml氨氯地平组、2.50  $\mu$ g/ml氨氯地平组,细胞的铺板、收集按照1.2.2方法进行。将收集好的细胞加入预冷75%酒精4  $^{\circ}$ C固定过夜,将细胞离心,PBS清洗2遍,加入RNaseA,使其终浓度为1  $\mu$ g/ml,37  $^{\circ}$ C水浴30 min。加碘化丙啶,避光冰浴30 min,流式细胞仪488 nm激发光下检测细胞周期。相同条件重复3次。

## 1.2.4 Western Blot法检测上皮间质转化相关蛋白

取对数期A549细胞胰酶消化,按照每孔1×10<sup>6</sup>个细胞铺6孔板,待细胞贴壁加入不同浓度氨氯地平(0、2.50、5.00  $\mu$ g/ml)处理3 h,弃培养基,PBS清洗2遍,裂解收集蛋白,煮沸变性10 min,进行SDS-PAGE电泳,将蛋白转至NC膜,一抗孵育过夜,然后添加HRP标记的二抗,ECL显影。

1.2.5 荧光定量PCR检测上皮间质转化相关蛋白mRNA表达量 取不同浓度氨氯地平处理3 h后的A549细胞,按照TIANGEN细胞组织RNA试剂盒提取细胞总RNA,逆转录得cDNA。-20  $^{\circ}$ C冰箱保存逆转录样品。Snail、E-cadherin和 $\beta$ -actin基因的QPCR引物序列如表1所示。QPCR反应条件:95  $^{\circ}$ C预变性5 s,95  $^{\circ}$ C变性5 s,60  $^{\circ}$ C退火延伸30 s,共40个循环。见表1。

表1 Snail和E-cadherin基因荧光定量PCR引物序列

基因	引物序列	扩增长度
Snail	F:CCGGAGATCCTCAACCCAC R:CCTTTCGAGCCTGGAGATCCTT	319
E-cadherin	F:ACCATTTCAGTACAACGACCCAA R:CAGTAAGGGCTCTTTGACCAC	312
$\beta$ -actin	F:TCCTGTGGCATCCACGAAACT R:GAAGCATTGCGGTGGACGAT	314

1.3 统计学方法 计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,Graph-Pad Prism5软件作图,采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析,组间比较采用独立样本t检验, $P < 0.05$ 表示两组之间差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氨氯地平抑制肺腺癌 A549 细胞的增殖 结果表明 A549 细胞的增殖与氨氯地平的处理浓度呈现明显的剂量负相关(见图 1),细胞增殖活力的计算公式:细胞活力(%)=[A(加药)-A(空白)]/[A(0 加药)-A(空白)]×100%。作用 24 h 的药物半数抑制浓度 IC<sub>50</sub>=4.93 μg/ml。

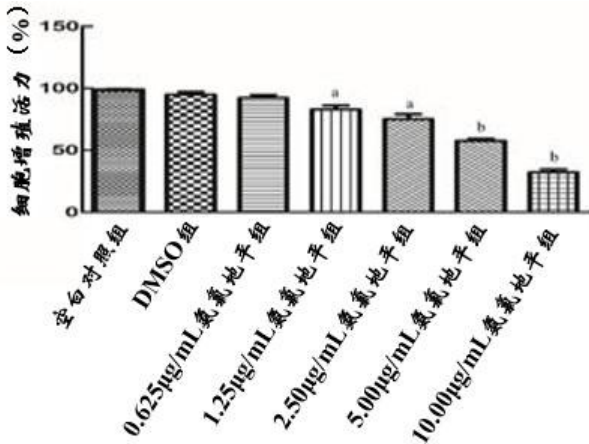


图 1 不同浓度氨氯地平对 A549 细胞增殖能力的影响

注:与空白对照组比较,a: P < 0.05,b: P < 0.01

2.2 氨氯地平促进 A549 细胞凋亡 与空白对照组和 DMSO 组相比较,2.50 μg/ml 和 5.00 μg/ml 组早期凋亡、晚期凋亡比例显著升高(P < 0.01 或 P < 0.05),1.25 μg/ml 处理组细胞凋亡率较对照组升高,但差异无统计学意义(P > 0.05),整体来看促凋亡效应呈现浓度依赖性[依据:与 2.50 μg/ml 组比较,5.00 μg/ml 组早期、晚期细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义(P < 0.001)],见表 2。

表 2 各组 A549 细胞的凋亡率 (x̄±s,%)

组别	n	生存率	A549 细胞(%)	
			早期凋亡率	晚期凋亡率
空白对照组	3	93.23±0.96	1.30±0.12	5.32±0.31
DMSO 组	3	92.89±0.62	1.43±0.41	5.66±0.49
氨氯地平组(μg/ml)				
1.25	3	91.65±0.25	1.79±0.52	6.56±0.44
2.50	3	75.21±0.76 <sup>a</sup>	8.26±0.36 <sup>a</sup>	16.51±0.53 <sup>a</sup>
5.00	3	50.86±0.16 <sup>bc</sup>	16.23±0.72 <sup>bd</sup>	32.73±0.84 <sup>bd</sup>

注:与空白对照组比较,a: P < 0.05,b: P < 0.01;与 2.50 μg/ml 组比较,c: P < 0.05,d: P < 0.001

2.3 氨氯地平引起 A549 细胞 G<sub>1</sub>/S 期阻滞 与空白对照组和 DMSO 组相比,氨氯地平处理后 G<sub>1</sub> 期 A549 细胞数量比例显著升高,S 期细胞数量明显下降(P < 0.05),阻滞作用呈剂量依赖效应(依据:与 1.25 μg/ml 组比较,G<sub>1</sub> 期 2.50 μg/ml 组细胞数量明显升高,

两组比较差异有统计学意义,S 期 2.50 μg/ml 组细胞数量降低,但差异无统计学意义),见表 3。

表 3 氨氯地平对 A549 细胞周期的影响 (x̄±s,%)

组别	n	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	A549 细胞数量(%)	
			S 期	G <sub>2</sub> /M 期
空白对照组	3	58.21±1.31	21.91±1.12	19.88±2.67
DMSO 组	3	57.83±1.92	22.45±1.57	19.72±2.33
1.25 μg/ml 组	3	70.65±2.11 <sup>a</sup>	15.36±2.29 <sup>a</sup>	13.99±1.91 <sup>a</sup>
2.50 μg/ml 组	3	73.57±1.37 <sup>ab</sup>	12.31±3.08 <sup>a</sup>	14.12±2.09 <sup>a</sup>

注:与空白对照组比较,a: P < 0.05;与 1.25 μg/ml 组比较,b: P < 0.05

2.4 基因 Snail、E-cadherin 的 mRNA 和蛋白表达水平 通过检测不同组别蛋白表达发现,随着氨氯地平浓度的增加,上皮间质转化标志性蛋白 Snail 的表达显著下降(P < 0.01 或 P < 0.05),E-cadherin 的表达显著升高(P < 0.01 或 P < 0.05),且呈剂量依赖效应。见图 2。

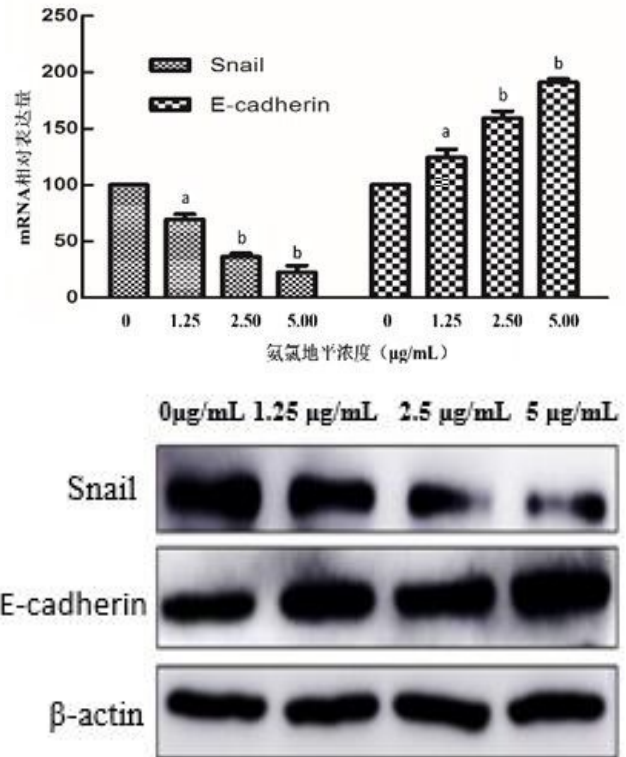


图 2 不同浓度氨氯地平对上皮间质转化标志蛋白表达的影响

注:与空白对照组比较,a: P < 0.05,b: P < 0.01

3 讨论

近几年,氨氯地平的抗肿瘤作用也越来越受到关注,发现氨氯地平可通过下调 MMP-9 的表达来抑制 MDA-MB-231 细胞的转移<sup>[9]</sup>;也可抑制小鼠黑色素细胞瘤 B16 自发的肺转移,且呈剂量依赖性<sup>[10]</sup>。另外,

氨氯地平还可以对多种肿瘤细胞的生长有抑制作用,如:乳腺癌 ZR75、小鼠肝癌 H22、人乳腺癌 MCF-7 细胞等。那么氨氯地平对 A549 细胞是不是也具有这种抑制作用呢?本实验发现氨氯地平浓度达到 1.25  $\mu\text{g/ml}$  时可以显著抑制 A549 细胞的增殖 ( $P < 0.05$ ),但  $\text{IC}_{50}$  值相对于 MDA-MB-231 细胞的耐受量偏小,说明 A549 细胞的增殖过程对氨氯地平更敏感,具体机制还有待进一步研究。另外,凋亡检测时发现,低浓度的氨氯地平对 A549 细胞的凋亡没有促进作用,只有浓度达到 2.5  $\mu\text{g/ml}$  时才具有促凋亡作用。结合相关文献我们发现,氨氯地平引起细胞内贮库释放  $\text{Ca}^{2+}$ ,然后高浓度的  $\text{Ca}^{2+}$  使核酸酶活化,DNA 和染色质水解,导致染色体完整性丧失<sup>[9]</sup>,可能是最终导致细胞凋亡的主要原因。

上皮间质转化作为肿瘤转移的早期事件,是肿瘤侵袭、转移的关键步骤<sup>[10]</sup>,该过程利用特定程序将具有极性的上皮细胞转换成为具有间质表型的细胞,使肿瘤细胞具有侵袭和迁移能力。近期研究表明,转录因子 Snail 在肺癌、乳腺癌、胃癌等多种恶性肿瘤中表达上调<sup>[11-14]</sup>,对肿瘤细胞的侵袭转移具有促进作用,被公认为预后不良的重要靶标<sup>[15-16]</sup>。我们研究发现,随着氨氯地平浓度的升高,Snail 表达下调,E-cadherin 表达上调。表明氨氯地平可抑制 A549 细胞上皮间质转化的发生,从而进一步抑制细胞的侵袭转移。另外,Snail 的表达具有抑制细胞凋亡的作用<sup>[17-18]</sup>,这与我们发现的氨氯地平抑制 Snail 的表达促进细胞凋亡相一致。氨氯地平作为钙通道阻滞剂,引起胞内钙离子浓度降低,使胞内 Snail 表达下降,其抑制 E-cadherin 表达的作用减轻,引起膜上 E-cadherin 蛋白含量增多,E-cadherin 可与胞外的钙离子结合,维持肿瘤细胞上皮细胞形态,可能是氨氯地平抑制上皮间质转化的分子机制,但还有待进一步探究。

从本次实验研究结果来看,氨氯地平浓度为 1.25  $\mu\text{g/ml}$  时开始呈现明显抑制肺腺癌 A549 细胞增殖,促进细胞凋亡、上调 Snail 表达及下调 E-cadherin 的作用。但是本次细胞可能存在不足之处:实验采用 5 个浓度测定  $\text{IC}_{50}$  值后,发现氨氯地平的作用范围在 1.25  $\mu\text{g/ml}$ ~5  $\mu\text{g/ml}$ ,不设计细胞凋亡、细胞周期、上皮间质转化相关蛋白 0.625  $\mu\text{g/ml}$  和 10  $\mu\text{g/ml}$  组。

综上所述,氨氯地平可以抑制肺腺癌 A549 细胞的增殖和上皮间质转化过程,同时高浓度处理可促进其凋亡,但氨氯地平调控 A549 细胞上皮间质转化的具体机制还有待进一步研究。

#### 参考文献:

[1] Takenaka T, Yamazaki K, Miura N, et al. The Prognostic

Impact of Tumor Volume in Patients with Clinical Stage IA non-small Cell Lung Cancer[J]. J Thorac Oncol, 2016,11(7):1074-1080.

- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016,66(2):115-132.
- [3] 黄珊珊, 骆许朋. 氨氯地平结合天麻钩藤饮治疗原发性高血压疗效分析[J]. 右江民族医学院学报, 2014, 36(6): 840-845.
- [4] 黄海智, 余远裕. 氨氯地平阿托伐他汀钙片治疗高血压合并冠心病的临床疗效对比观察[J]. 右江民族医学院学报, 2014, 36(4): 540-544.
- [5] Yoshida J, Ishibashi T, Yang M, et al. Amlodipine, a  $\text{Ca}^{2+}$  channel blocker, suppresses phosphorylation of epidermal growth factor receptor in human epidermoid carcinoma A431 cells [J]. Life Sci, 2010, 86(3-4): 124-132.
- [6] Yoshida J, Iwabuchi K, Matsui T, et al. Knockdown of stromal interaction molecule 1 (STIM1) suppresses store-operated calcium entry, cell proliferation and tumorigenicity in human epidermoid carcinoma A431 cells [J]. Biochem Pharmacol, 2012, 84(12): 1592-1603.
- [7] 罗兰, 徐兴华, 黄文静, 等. 氨氯地平及 5-氟尿嘧啶联合用药对小鼠肝癌 H22 细胞的抑制作用[J]. 中国生物制品学杂志, 2014, 27(2): 212-216, 220.
- [8] 付朝霞, 汝童, 王珊珊, 等. 三氧化二砷联合氨氯地平对肝癌 HepG2 细胞体外作用的实验研究[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(4): 614-617.
- [9] 廖一兰, 张旭, 徐鑫, 等. 氨氯地平对小鼠黑色素瘤 B16 MMP-9 和 TIMP-1 表达的调节作用[J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(12): 1477-1481.
- [10] 张旭, 艾志国, 扶玲. 氨氯地平抑制小鼠黑色素瘤高转移细胞株 B16 体内转移的作用及相关机制研究[J]. 中国医院用药评价与分析, 2015, 15(1): 31-34.
- [11] Nicotera P, Zhivotovsky B, Orrenius S. Nuclear calcium transport and the role of calcium in apoptosis [J]. Cell Calcium, 1994, 16(4): 279-288.
- [12] Zhang JP, Zeng C, Xu L, et al. MicroRNA-148a suppresses the epithelial-mesenchymal transition and metastasis of hepatoma cells by targeting Met/Snail signaling[J]. Oncogene, 2014, 33(31): 4069-4076.
- [13] Yasui K, Shimamura M, Mitsutake N, et al. SNAIL induces epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cell-like properties in aldehyde dehydrogenase-negative thyroid cancer cells[J]. Thyroid, 2013, 23(8): 989-996.
- [14] Chen A, Beetham H, Black MA, et al. E-cadherin loss alters cytoskeletal organization and adhesion in non-malignant breast cells but is insufficient to induce an epithelial-mesenchymal transition[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 552.
- [15] Kroepil F, Fluegen G, Vallböhmer D, et al. Snail expression in colorectal cancer and its correlation with clinical and pathological parameters[J]. BMC Cancer, 2013, 13:

145.

- [16] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial - mesenchymal transition [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-196
- [17] Han ML, Zhao YF, Tan CH, et al. Cathepsin L upregulation-induced EMT phenotype is associated with the acquisition of cisplatin or paclitaxel resistance in A549

cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(12): 1606-1622.

- [18] Yang HW, Lee SA, Shin JM, et al. Glucocorticoids ameliorate TGF- $\beta$ 1-mediated epithelial-to-mesenchymal transition of airway epithelium through MAPK and Snail/Slug signaling pathways[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3486.

收稿日期: 2018-04-24; 修回日期: 2018-07-21

(上接第 314 页)

和 SVZ 区 IV 型胶原数量减少, 而放射后 1 d、7 d 组的小鼠 IV 型胶原数量并没有显著差异, 这提示放射线可能通过引起脑血管基膜 IV 型胶原的降解, 降低血管密度, 引起小鼠记忆能力下降, 但并没有随着时间的延长而加重, 也可能是我们所观察的时间短。Warrington JP 等<sup>[13]</sup>报道 WBRT 后引起的海马区的学习记忆下降与放射后血管密度降低以及血管再生受到损害有密切的关系。因而, 若能使用药物减轻放疗后血管基膜 IV 型胶原的降解, 促进血管新生, 这对于放射性脑损伤的治疗及预后可能有重要临床意义, 但放射后血管基膜 IV 型胶原降解的具体机制仍不明确, 尚待进一步探讨。

## 参考文献:

- [1] Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions[J]. *Neuron*, 2011, 70(4): 687-702.
- [2] Naseri S, Moghahi SMHN, Mokhtari T, et al. Radio-Protective Effects of Melatonin on Subventricular Zone in Irradiated Rat: Decrease in Apoptosis and Upregulation of Nestin[J]. *J Mol Neurosci*, 2017, 63(2): 198-205.
- [3] 甘浪舸, 李祥攀, 阮林, 等. 循环内皮细胞和放射性脑损伤的关系[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2007, 14(5): 352-354, 372.
- [4] Moore ED, Kooshki M, Wheeler KT, et al. Differential expression of Homer1a in the hippocampus and cortex likely plays a role in radiation-induced brain injury[J]. *Radiation Research*, 2014, 181(1): 21-32.
- [5] 符植琳, 张思琴, 徐杨, 等. 放射性脑损伤模型小鼠纤维蛋白原的变化[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(12): 1889-1894.

- [6] 陈晨, 张思琴, 韦力, 等. 海带多糖调节小鼠小胶质细胞活化保护放射损伤后的海马记忆功能[J]. *神经解剖学杂志*, 2018, 34(3): 327-333.
- [7] Castellino SM, Ullrich NJ, Whelen MJ, et al. Developing interventions for cancer-related cognitive dysfunction in childhood cancer survivors[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106(8): 2-10.
- [8] Greene-schloesser D, Moore E, Robbins ME. Molecular pathways: radiation-induced cognitive impairment [J]. *Clinical Cancer Research*, 2013, 19(9): 2294-2300.
- [9] 杨蕙, 杜青, 赵洪庆, 等. 左归降糖解郁方对糖尿病并发抑郁大鼠海马血脑屏障紧密连接蛋白、IV 型胶原蛋白和  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达的影响[J]. *中草药*, 2015, 46(21): 3214-3218.
- [10] Giannoni P, Arango-lievano M, Neves ID, et al. Cerebrovascular pathology during the progression of experimental Alzheimer's disease[J]. *Neurobiology of Disease*, 2016, 88: 107-117.
- [11] 罗娟, 唐涛, 吴季, 等. 益气活血法对脑出血大鼠脑组织 IV 型胶原表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(15): 2882-84.
- [12] Rubio-Araiz A, Perez-Hernandez M, Urrutia A, et al. 3, 4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA, ecstasy) disrupts blood-brain barrier integrity through a mechanism involving P2X7 receptors[J]. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2014, 17(8): 1243-1255.
- [13] Warrington J P, Ashpole N, Csiszar A, et al. Whole brain radiation-induced vascular cognitive impairment: mechanisms and implications[J]. *Journal of Vascular Research*, 2013, 50(6): 445-457.

收稿日期: 2018-07-17; 修回日期: 2018-08-06