

# 中药复方血栓通可抑制血管生成

罗旭昇, 吴星伟, 顾青, 张红梅, 施宇华, 仇亚婷

基金项目: 中国上海市卫生局中医药重大课题基金资助项目 (No. 2006ZD01)

作者单位: (200080) 中国上海市, 上海交通大学附属第一人民医院眼科

作者简介: 罗旭昇, 男, 在站博士后, 副主任医师, 主要从事新生血管性眼底病的中医临床与研究。

通讯作者: 吴星伟, 男, 出站博士后, 教授, 博士(后)导师, 主任医师, 现任中华中医药学会眼科学会副主任委员, 中华医学会眼科学会上海市眼底病学组组长, 上海市眼底病重点实验室主任, 上海市中医药学会眼科学会主任委员, 上海市中西医结合学会眼科专业委员会主任委员, 曾先后获市部级奖励4项, 主要从事中西医结合防治眼底病临床与研究。wxweye@sina.com

收稿日期: 2009-06-10 修回日期: 2009-07-07

## Experimental study of compound xueshuantong in inhibiting angiogenesis

Xu-Sheng Luo, Xing-Wei Wu, Qing Gu, Hong-Mei Zhang, Yu-Hua Shi, Ya-Ting Qiu

Foundation item: Scientific Research Fund of Shanghai Bureau of Public Health on Traditional Chinese Medicine, China (No. 2006ZD01)

Department of Ophthalmology, the First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China

Correspondence to: Xing-Wei Wu, Department of Ophthalmology, the First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China. wxweye@sina.com

Received: 2009-06-10 Accepted: 2009-07-07

### Abstract

• AIM: To investigate the effect of compound xueshuantong on angiogenesis.

• METHODS: Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) method was used to assess the effect of compound xueshuantong on angiogenesis. MTS method was used to access the effect of compound xueshuantong at different concentrations on the proliferation of ECV-304 cells induced by vascular endothelial growth factor (VEGF). Transwell insert was used to assess the effect of compound xueshuantong at different concentrations on the migration of ECV-304 cells. Matrigel was used to assess the effect of compound xueshuantong at different concentrations on the tube formation of ECV-304 cells.

• RESULTS: Compound xueshuantong at median and low concentrations could inhibit the angiogenesis of chick embryo CAM. The proliferation of ECV-304 cells induced by VEGF was inhibited by compound xueshuantong at concentrations from 1.5625 to 100g/L, while it wasn't inhibited by compound xueshuantong at higher or lower concentrations. When the concentration of compound

xueshuantong was 0, 3.125, 6.25, and 12.5 g/L, cells number that migrated to under the Transwell membrane was  $219 \pm 17$ ,  $183 \pm 14$ ,  $135 \pm 13$ , and  $19 \pm 9$  respectively. When the concentration of compound xueshuantong was 0, 0.390625, 0.78125, and 1.5625 g/L, tubes number formed in Matrigel was  $26.3 \pm 1.2$ ,  $18.7 \pm 1.5$ ,  $14.7 \pm 0.6$ , and  $2.7 \pm 0.6$ , respectively.

• CONCLUSION: Compound xueshuantong seems to play a notable role in inhibiting angiogenesis.

• KEYWORDS: compound xueshuantong; angiogenesis; chorioallantoic membrane; ECV-304; proliferation; migration; tube formation

Luo XS, Wu XW, Gu Q, et al. Experimental study of compound xueshuantong in inhibiting angiogenesis. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2009;9(8):1476-1480

### 摘要

目的: 探讨复方血栓通对血管生成的作用。

方法: 鸡胚绒毛尿囊膜(chorioallantoic membrane, CAM)法检测复方血栓通对血管生成的影响; 采用MTS比色法观察不同浓度的复方血栓通对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)诱导的ECV-304细胞增殖的影响; Transwell小室检测不同浓度的复方血栓通对ECV-304细胞移行的影响; Matrigel实验检测不同浓度的复方血栓通对ECV-304细胞内皮管腔形成的影响。

结果: 复方血栓通中、低浓度组能够抑制鸡胚CAM血管生成; MTS比色法显示, 1.5625~100g/L复方血栓通对VEGF诱导的ECV-304细胞增殖具有抑制作用, 而更低和更高浓度的复方血栓通则无抑制作用; Transwell小室实验显示, 复方血栓通为0, 3.125, 6.25和12.5g/L时ECV-304细胞移行数分别为 $219 \pm 17$ ,  $183 \pm 14$ ,  $135 \pm 13$ 和 $19 \pm 9$ ; Matrigel实验显示, 复方血栓通为0, 0.390625, 0.78125和1.5625g/L时ECV-304细胞内皮管腔形成数分别为 $26.3 \pm 1.2$ ,  $18.7 \pm 1.5$ ,  $14.7 \pm 0.6$ 和 $2.7 \pm 0.6$ 。

结论: 复方血栓通具有明显抑制血管生成的作用。

关键词: 复方血栓通; 血管生成; 绒毛尿囊膜; 人脐静脉内皮细胞株(ECV-304); 增殖; 移行; 管腔形成

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2009.08.015

罗旭昇, 吴星伟, 顾青, 等. 中药复方血栓通可抑制血管生成. 国际眼科杂志 2009;9(8):1476-1480

### 0 引言

血管生成(angiogenesis)是一系列复杂的生物学过程, 首先血管扩张、血管通透性增加、周围基质降解, 接着内皮细胞活化、移行、增殖、出芽生长并形成管腔, 最后新生血管成熟、重塑构成血管网<sup>[1,2]</sup>。几乎所有的眼部组织均可形成新生血管, 如角膜、虹膜、睫状体、视网膜、脉络膜以及视盘等, 由其引发的出血、渗出及瘢痕形成等一系列病理

改变,可以导致眼部结构的破坏,严重损害视功能。眼部新生血管主要包括视网膜新生血管(retinal neovascularization, RNV)和脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV), RNV 主要见于视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)、视网膜静脉周围炎(retinal periphlebitis, RP)等疾病; CNV 主要见于湿性年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)、病理性近视(pathological myopia, PM)黄斑病变、中心性渗出性脉络膜视网膜炎(central exudative chorioretinopathy, CEC)等疾病。上述新生血管性眼病不仅严重影响视功能,而且目前尚缺乏理想的治疗方法,抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物<sup>[3]</sup>只是阻断新生血管发生过程中的单一环节,而且其长期反复玻璃体腔注射的侵袭性治疗,安全性和疗效都有待进一步观察;光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)<sup>[4]</sup>仅针对 CNV 破坏性治疗,不能消除新生血管形成的根本因素,故可能复发及产生多种并发症;而目前备受推崇的联合疗法,其各种疗法毒副作用的叠加效应以及潜在的风险尚有待科学评价<sup>[5]</sup>;此外,上述治疗药物普遍十分昂贵<sup>[6]</sup>,非我国普通患者所能承受。复方血栓通是由三七、黄芪、丹参、玄参组成的纯中药制剂,功能活血化瘀、益气养阴,具有扩张血管、增加血流量、改善血液循环和微循环的药理作用,能有效防治糖尿病大鼠视网膜微血管病变<sup>[7]</sup>,目前临床广泛用于糖尿病视网膜病变和视网膜静脉阻塞等视网膜新生血管性疾病<sup>[8]</sup>,也用于脉络膜新生血管性疾病,李旭等<sup>[9]</sup>报道其临床治疗湿性 AMD 有效,对于干性 AMD 疗效不明显。由此推测复方血栓通对眼部新生血管可能有抑制作用,我们观察了复方血栓通对鸡胚绒毛尿囊膜(chorioallantoic membrane, CAM)血管生成的影响,以及对体外培养的人脐静脉内皮细胞株 ECV-304 细胞增殖、移行以及管腔形成的影响,以探讨复方血栓通对血管生成的干预作用,为其应用于眼部新生血管性疾病提供实验支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

鸡蛋为海新种蛋,购自上海市农科院畜牧兽医研究所,每只 50~65g。恒温恒湿箱 spx-250C 型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂。吸收性明胶海绵(6cm×2cm×0.5cm),金陵药业股份有限公司南京金陵制药厂。ECV-304 细胞,人脐静脉内皮细胞系,上海细胞生物研究所。复方血栓通药物由广东众生药业股份有限公司提供实验样品(样品为褐色粉末状,不含辅料的中药提取物。22g 实验样品相当于 237 粒临床用胶囊粉末,胶囊粉末为含有辅料的中药提取物,0.5g/粒,即 1g 实验样品相当于 5.3864g 胶囊粉末)。将实验样品溶解于蒸馏水,配制成 0.5kg/L 的浓度,3 000r/min 离心取上清液,经微孔滤膜(0.22μm)过滤除菌,置-30℃冰箱保存备用。原溶液作为高浓度(0.5kg/L),并以灭菌注射用水稀释成中(0.25kg/L)、低(0.125kg/L)共 3 个浓度用于鸡胚 CAM 实验;细胞实验时则以低糖 DMEM 培养液稀释到所需浓度。VEGF(Product Number: V7259), Human, Recombinant, Sigma 公司,以 PBS 溶解,浓度为 10<sup>-2</sup>g/L,分装后置-30℃冰箱保存备用。硫酸鱼精蛋白(Protamine sulfate salt from salmon, P4020), Sigma 公司,以注射用水溶解为浓度 1g/L,分装置-30℃冰箱保存备用。新型四氮唑类化合物 MTS, Promega 公司,购自上海盛兆生物科技有限公司。

Transwell 小室(型号 3422), Corning-Coastar 公司,购自上海吉泰生物科技有限公司。Matrigel (BD Matrigel™ Basement Membrane Matrix), 购于基因科技有限公司(上海)。

## 1.2 方法

### 1.2.1 鸡胚绒毛尿囊膜法

将新鲜鸡胚种蛋气室端(即大头端)向上,长轴与蛋托大约呈 45°角,置于设定温度为 37.5℃,相对湿度为 65%的孵化箱中孵育。为促进羊膜运动,防止胚胎发生粘连,每天翻蛋 2 次。孵化 6d(0~24h 为 1d, 24~48h 为 2d, 依此顺推),在超净台上将蛋胚用乙醇消毒后用尖镊在蛋胚顶端戳一小口,然后以无齿镊小心地去掉周围的蛋壳和壳膜,使开口约为 1.5cm×1.5cm 大小。此时可以看到气室底部隔着一层气室膜就是绒毛尿囊膜(CAM)了,并且可以清楚地看到 CAM 上血管网的大小和分布位置以及跳动的鸡胚心脏<sup>[10]</sup>。确定加样部位后小心地用注射针头从气室与卵黄分隔处挑破气室膜,注入 1~2 滴无菌注射用水,使气室膜与 CAM 分开,然后用无齿镊轻轻去除上层的气室膜,暴露下层的 CAM。将事先剪成约 0.25cm<sup>3</sup> 大小的无菌明胶海绵,置于 CAM 表面两条主干血管之间相对无血管区,以微量加样器加药于海绵载体上,20μL/鸡胚,然后用无菌透明胶带封窗,放回孵化室继续孵育。每日加药 1 次,连续 3d。孵化 9d,孵育结束后,用镊子去除鸡胚气室端堵塞的透明胶带,小心地用无齿镊轻轻去除残余的气室膜,为避免将 CAM 撕破,可注入注射用水于 CAM 之上,再小心剥除周围的蛋壳和壳膜,最大程度暴露 CAM 便于观察,体视显微镜下运用 Image-ProExpress 程序拍摄鸡胚 CAM 照片。用 Image-Pro-Plus 6.0 图像分析软件对鸡胚 CAM 血管面积与 CAM 面积之比值(VA/CAM)<sup>[11,12]</sup>进行定量分析。

### 1.2.2 ECV-304 细胞增殖的检测

取对数生长期 ECV-304 细胞,计数后以含 100mL/L 小牛血清的低糖 DMEM 培养液稀释为 7×10<sup>7</sup>/L,接种于 96 孔培养板,每孔加入细胞悬液 100μL,37℃,50mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养 24h,吸去上清, PBS 清洗 2 次,换无血清培养液孵育 24h,去上清,各组每孔分别加入不同条件的无血清培养液 100μL。培养 24h 后每孔加入 MTS 20μL,37℃避光培养 3h,选择 490nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔吸光度。每组各设 6 孔,实验重复 3 次。

### 1.2.3 ECV-304 细胞移行的检测

预先加低糖 DMEM 培养液到培养孔和 Transwell 小室内,37℃,50mL/L CO<sub>2</sub> 温箱中孵育一整夜,吸掉培养基后加含 100mL/L 小牛血清的低糖 DMEM 培养基 600μL 到培养板培养孔中,置 Transwell 小室于培养孔中,再接种 ECV-304 细胞于上室,每孔细胞数 2×10<sup>5</sup> 个(浓度 2×10<sup>9</sup> 个/L)。每孔上室加入不同条件的无血清培养液 10μL。37℃,50mL/L CO<sub>2</sub> 孵化培养 24h。取出小室,用干棉签将小室内液体吸去,再用蒸馏水浸湿的棉签轻轻擦去小室内聚碳酸酯膜上表面的细胞。40g/L 多聚甲醛固定小室 20min, PBS 洗 3 次。小心将聚碳酸酯膜自上室基底用刀片切割下来,置载玻片上。苏木素染色 1min。然后将其置于盛有自来水的烧杯中,反复漂洗几次,将多余苏木素洗去。二甲苯透明 2~3min,中性树脂封片。附着于聚碳酸酯膜下表面的细胞在显微镜下随机取 5 个视野照相,所得照片应用 Image-ProPlus 6.0 图像分析软件对 Transwell 移行细胞进行计数,取平均值。每组 3 个复孔,重复实验 3 次。

### 1.2.4 ECV-304 细胞管腔形成的检测

从-30℃冰箱中取出保存的 Matrigel 置 4℃冰箱融解整夜使之成为液态。微

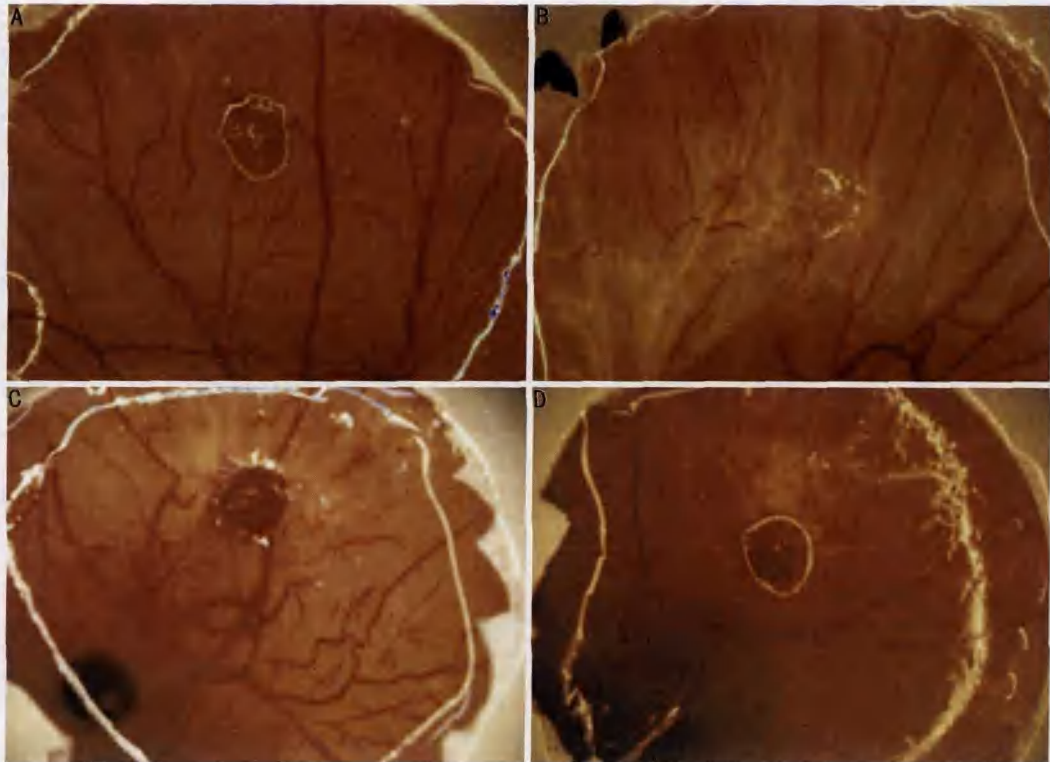


图1 鸡胚 CAM 血管生成 ( $\times 1.7$ ) A:阴性对照组;B:鱼精蛋白组;C:VEGF 组;D:复方血栓通低浓度组

量移液枪头和 96 孔板在冰上预冷。在 96 孔培养板的每个孔内缓慢加入 Matrigel  $100\mu\text{L}$ ,小心摇动使之均匀分布于孔的各个部位并避免气泡。所有操作均在冰上进行。然后将培养板放入含  $50\text{mL/L CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$  细胞孵育箱中  $0.5 \sim 1\text{h}$ 。采集 ECV-304 细胞,用含  $200\text{mL/L}$  小牛血清的低糖 DMEM 培养液稀释细胞至  $1.6 \times 10^9/\text{L}$ ,各孔均加入细胞混悬液  $50\mu\text{L}$ ,即每孔均加入  $8 \times 10^4$  个细胞,每孔再加入不同条件的无血清培养液  $50\mu\text{L}$ 。再将培养板放入  $50\text{mL/L CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$  细胞孵育箱中孵育,3,6,12,24h 相差显微镜下观察,随机取 5 个不同视野照相,对形成的完整管腔计数,取平均值<sup>[13]</sup>。每组设 3 个复孔,重复实验 3 次。

统计学分析:计量资料多组比较,采用单因素方差分析(one-way ANOVA),用 Dunnett 检验将所有的处理组均数分别与指定的对照组均数进行比较。 $P < 0.05$  为有统计学意义。使用 SPSS 14.0 统计软件分析。

## 2 结果

### 2.1 复方血栓通对鸡胚绒毛尿囊膜血管生成的影响

通过观察 CAM 血管的大体形态而进行判定。血管稀疏、颜色浅淡、甚至出现无血管区,定性为抑制血管生长的表现。而常见的促进血管生长的特征有:原正常的树状结构发生改变,血管杂乱,出现小血管的弯曲、螺旋度增加;在被检物周围生长出朝向被检物的放射状血管,谓之血管辐辏;主干血管向载体弯曲和靠近,称之为血管的吸引。正常状态的 CAM 血管呈非特异性的贯穿、包绕、叶脉样、平行生长。实验结果观察:复方血栓通的低浓度组与硫酸鱼精蛋白组新生细小血管减少,已有血管变细,血管色淡,或者血管避开明胶生长,见到无血管区或血管断裂现象,可能具有抑制 CAM 血管生成作用;VEGF 组细小血管增加,血管变粗、杂乱迂曲,或血管趋向于明胶海绵生长,可见血管辐辏或吸引大血管现象,可能具有促进 CAM 血管生成作用(图 1A-D)。而复方血栓通的高、中浓度

组未见明显血管促进与抑制现象。图像分析显示,同阴性对照组( $22.9 \pm 3.1$ )%比较,复方血栓通的中( $19.0 \pm 3.1$ )%、低浓度组( $14.3 \pm 1.9$ )% VA/CAM 减少,具有统计学显著意义(中浓度组  $P < 0.05$ ,低浓度组  $P < 0.01$ ),表明鸡胚 CAM 血管生成被有效抑制。

### 2.2 ECV-304 细胞增殖

MTS 法实验显示,同 VEGF ( $10^{-5}\text{g/L}$ )诱导的 ECV-304 细胞增殖组(A:  $2.39 \pm 0.03$ )比较, $1.5625 \sim 100\text{g/L}$  复方血栓通组值(A:  $1.82 \pm 0.10 \sim 2.10 \pm 0.02$ )显著减少( $P < 0.05$ ),而更低( $0.78125\text{g/L}$ ,  $2.36 \pm 0.04$ )和更高浓度( $200\text{g/L}$ ,  $2.48 \pm 0.04$ )复方血栓通组值则无明显变化( $P > 0.05$ )。结果表明  $1.5625 \sim 100\text{g/L}$  复方血栓通对 VEGF 诱导的 ECV-304 细胞增殖具有抑制作用。

### 2.3 ECV-304 细胞移行

Transwell 小室实验显示,同不加药的对照组( $219 \pm 17$ )比较, $3.125\text{g/L}$  的复方血栓通组 ECV-304 细胞移行数( $183 \pm 14$ )减少( $P < 0.05$ ), $6.25\text{g/L}$  ( $19 \pm 9$ )和  $12.5\text{g/L}$  ( $19 \pm 9$ )浓度的复方血栓通组 ECV-304 细胞移行数减少( $P < 0.01$ )(图 2A-D)。结果表明  $3.125 \sim 12.5\text{g/L}$  复方血栓通对 ECV-304 细胞移行具有抑制作用,且随浓度增大,抑制作用增强。

### 2.4 ECV-304 细胞管腔形成

Matrigel 实验显示,细胞孵育 3h 后,不加药的对照组即可见管腔形成,12h 后管腔形成最为明显,此后变化不大,故取 12h 照片观察,同对照组( $26.3 \pm 1.2$ )比较, $0.390625$  ( $18.7 \pm 1.5$ ), $0.78125$  ( $14.7 \pm 0.6$ )和  $1.5625\text{g/L}$  ( $2.7 \pm 0.6$ )浓度的复方血栓通组 ECV-304 细胞管腔形成数减少,具有统计学极显著意义( $P < 0.01$ ,图 3A-D)。结果表明  $0.390625$ ,  $0.78125$  和  $1.5625\text{g/L}$  浓度的复方血栓通对 ECV-304 细胞内皮管腔形成具有抑制作用,且随浓度增大,抑制作用增强。

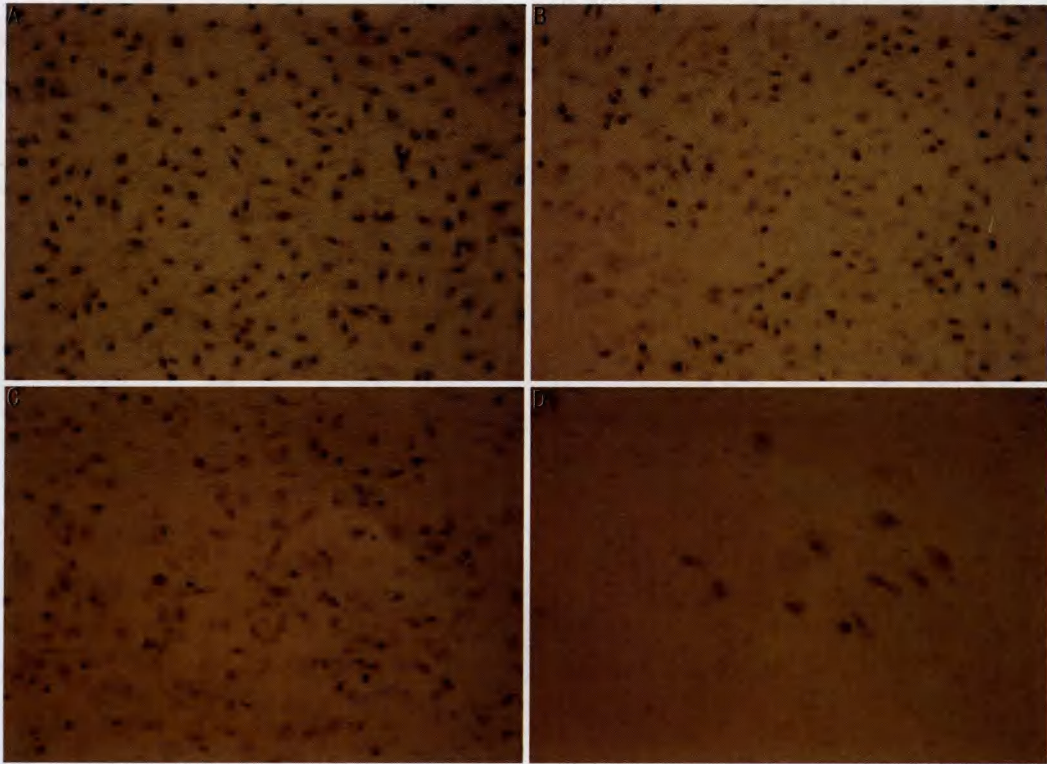


图2 复方血栓通对 ECV-304 细胞移行的影响(×200) A:对照组;B:复方血栓通 3.125g/L;C:复方血栓通 6.25g/L;D:复方血栓通 12.5g/L

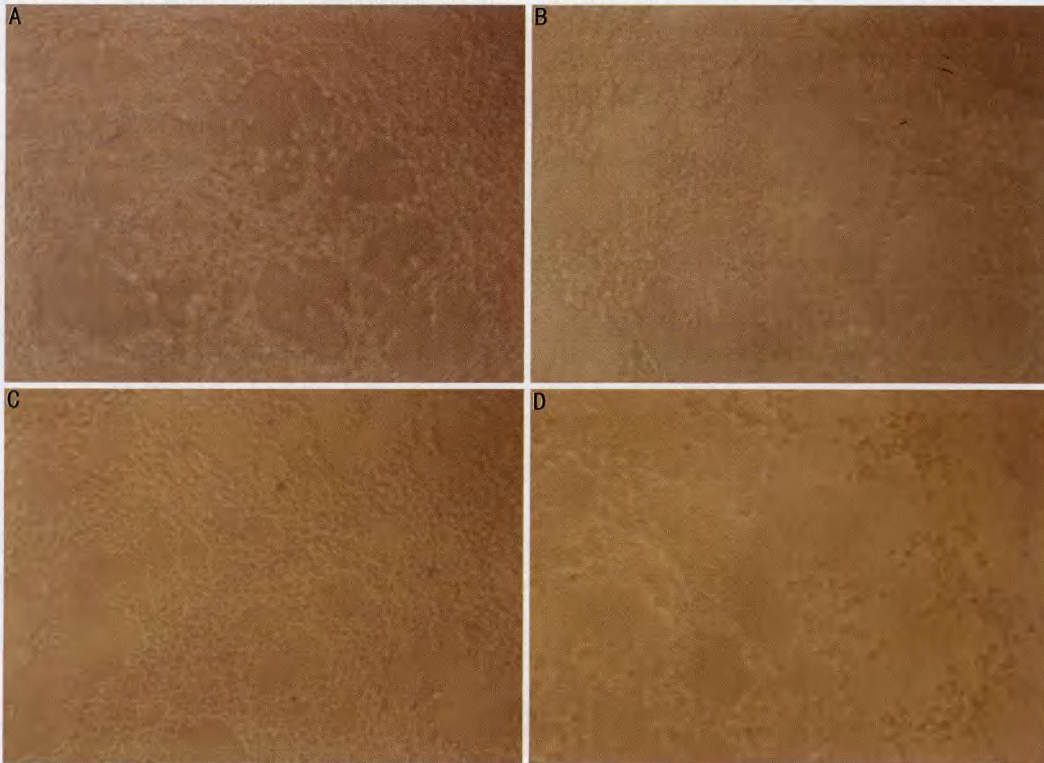


图3 复方血栓通对 ECV-304 细胞内皮管腔形成的影响(相差显微镜×100) A:对照组;B:复方血栓通 0.390625g/L;C:复方血栓通 0.78125g/L;D:复方血栓通 1.5625g/L

### 3 讨论

鸡胚 CAM 法是研究体内血管生成的重要模型之一。由于鸡胚早期免疫系统发育不全,对测试药物不会产生排斥反应,实验结果可在解剖显微镜甚至肉眼下直接观察,而且采用计算机可进一步对新生血管生长情况进行量化。

我们运用这一经典模型,观察到复方血栓通中、低浓度对鸡胚 CAM 血管生成具有明显抑制作用。此外,血管生成涉及内皮细胞增殖、移行、基底膜降解和血管内皮管腔形成等一系列复杂的生物学过程<sup>[1]</sup>。所以,我们观察了不同浓度的复方血栓通对 ECV-304 细胞增殖、移行和管腔形

成的影响,以探讨复方血栓通对体外培养内皮细胞血管生成的抑制作用。从MTS法实验可知,1.5625~100g/L复方血栓通对VEGF诱导的ECV-304细胞增殖具有抑制作用,而更低(0.78125g/L)和更高浓度(200g/L)的复方血栓通则无抑制作用;从Transwell小室实验可知,3.125, 6.25和12.5g/L复方血栓通对ECV-304细胞移行具有抑制作用;从Matrigel实验可知0.390625, 0.78125和1.5625g/L浓度的复方血栓通对ECV-304细胞内皮管腔形成具有抑制作用。其中,抑制细胞移行和管腔形成的作用随浓度增大而增强。因此,复方血栓通可能通过抑制内皮细胞增殖、移行和管腔形成而抑制内皮细胞的血管生成。复方血栓通是由三七、黄芪、丹参、玄参组成的中药复方。已有对方中药物或有效成分干预血管生成的研究相互矛盾,如丹参提取物隐丹参酮对鸡胚CAM血管生成有显著的抑制作用<sup>[14]</sup>,而丹参含药血清又具有较好的促进鸡胚CAM血管生成的作用<sup>[15]</sup>;三七皂苷对于鸡胚CAM新生血管的抑制作用不明显<sup>[16]</sup>,而三七总皂苷对人脐静脉内皮细胞具有促血管新生作用<sup>[17]</sup>;黄芪提取物对人脐静脉内皮细胞具有促血管新生作用<sup>[18]</sup>与本实验中复方血栓通的抑制作用也是完全相反。说明中药复方在配伍后的作用较为复杂,不一定能用方中单一药物或有效成分的作用来解释。

总之,本实验表明复方血栓通具有明显的抑制血管生成的作用,为其临床广泛用于眼部新生血管性疾病提供了初步的实验依据。该药有可能成为眼部有效的血管生成抑制剂,但是复方血栓通干预血管生成的具体作用机制,以及其抑制内皮细胞增殖作用与浓度相关的复杂性,抑制内皮细胞移行和管腔形成作用浓度的不一致性,都有待进一步研究探讨。

致谢:鸡胚实验方法、细胞移行和管腔形成实验方法承蒙赵卉博士帮助。

#### 参考文献

- 1 Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438(7070):932-936
- 2 Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ, et al. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res* 2003;

22(1):1-29

- 3 van Wijngaarden P, Qureshi SH. Inhibitors of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the management of neovascular age-related macular degeneration; a review of current practice. *Clin Exp Optom* 2008; 91(5):427-437
- 4 Fenton C, Perry CM. Verteporfin; a review of its use in the management of subfoveal choroidal neovascularisation. *Drugs Aging* 2006; 23(5):421-445
- 5 Augustin AJ, Offermann I. Combination therapy for choroidal neovascularisation. *Drugs Aging* 2007; 24(12):979-990
- 6 Schmidt-Erfurth UM, Richard G, Augustin A, et al. Guidance for the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85(5):486-494
- 7 黄创新,于强,陈潇,等.复方血栓通胶囊对糖尿病大鼠视网膜微血管改变的防治研究. *中华眼底病杂志* 2008; 24(4):272-275
- 8 钟毅敏,于强,胡兆科.复方血栓通胶囊在眼科临床中的应用. *广东医学* 2004; 25(5):487-488
- 9 李旭,李贵生,李桂森.复方血栓通软胶囊治疗老年性黄斑变性. *广东医学* 2006; 27(5):753-754
- 10 贺国安,罗进贤,张添元,等.改进的鸡胚绒毛尿囊膜技术——无气室孵育法. *中山大学学报自然科学版* 2003; 42(2):126-128
- 11 杨丽华,王凯峰,周轶平,等.鸡胚尿囊膜模型血管生成定量指标的研究. *昆明医学院学报* 2004; 25(2):21-24
- 12 许扬,赵英凯,毕明刚,等. Image-ProPlus 图像分析软件定量鸡胚尿囊膜血管新生面积的方法. *中国比较医学杂志* 2007; 17(12):745-747
- 13 Chen Y, Li XX, Xing NZ, et al. Quercetin inhibits choroidal and retinal angiogenesis *in vitro*. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008; 246(3):373-378
- 14 卞维鹏,徐莹,王嘉,等.隐丹参酮对鸡胚尿囊膜血管生成的抑制作用. *中国微循环* 2007; 11(1):23-26
- 15 高冬,宋军,胡娟,等.活血化瘀中药对鸡胚绒毛尿囊膜血管生成的影响. *中国中西医结合杂志* 2005; 25(10):912-915
- 16 王世军,简隆磊,张栋,等.川芎嗪、葛根素、银杏黄酮及三七皂苷对鸡胚尿囊膜血管生长的影响. *中国微循环* 2005; 9(1):36-37,50
- 17 洪思佳,万建波,张庆文,等.三七总皂苷对人脐静脉内皮细胞的促血管新生作用. *中药药理与临床* 2007; 23(2):28-30
- 18 张焱,胡光,洪思佳,等.黄芪提取物对人脐静脉内皮细胞的促血管新生作用. *中药药理与临床* 2007; 23(2):34-37