

α -常春藤皂苷对黑色素瘤 B16 细胞增殖和凋亡的影响及机制

张步鑫^{1*}, 赵献敏², 成琼³, 李锡清³

(1. 河南省中医院, 郑州 450000; 2. 河南中医药大学基础医学院, 郑州 450000;
3. 河南省人民医院, 郑州 450000)

[摘要] **目的:**探讨 α -常春藤皂苷(α -HN)对黑色素瘤 B16 细胞增殖和凋亡的影响及潜在机制。**方法:**常规培养 B16 细胞至对数生长期,给予不同浓度 α -HN(50,100,200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理,设未经 α -HN 处理的 B16 细胞为空白组;采用噻唑蓝(MTT)比色法检测 α -HN 处理 24,48,72 h 后各组细胞的增殖情况,采用膜联蛋白 V/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)凋亡试剂盒检测 α -HN 处理 48 h 后的细胞凋亡率,半胱天冬蛋白酶(Caspase)活性检测试剂盒检测 Caspase-3 和 Caspase-9 的活性,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),磷酸化磷脂酰肌醇-3-羟激酶(p-PI3K),磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)及磷酸化雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)的表达情况。**结果:**与空白组相比,经 50,100,200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ α -HN 处理 24,48,72 h 后,B16 细胞增殖抑制率显著增加($P < 0.01$),且随着观察时间的延长,增殖抑制率有逐渐增加趋势,该抑制作用呈时间依赖性和浓度依赖性;与空白组相比, α -HN 处理 48 h 后 B16 细胞的凋亡率升高,Caspase-3 和 Caspase-9 活性增强,且 Bcl-2 水平降低而 Bax 水平升高($P < 0.01$); α -HN 处理 48 h 后的 p-PI3K,p-Akt,p-mTOR 蛋白表达较空白组降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:** α -HN 具有抑制 B16 细胞增殖及诱导凋亡作用,其可能通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来发挥细胞毒及诱导凋亡作用,在黑色素瘤治疗中有较好的应用前景。

[关键词] 黑色素瘤; α -常春藤皂苷(α -HN); 增殖; 凋亡; 磷脂酰肌醇-3-羟激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR) 信号通路

[中图分类号] R22;R242;R273;R2-031;R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2018)12-0081-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181118

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.0956.021.html>

[网络出版时间] 2018-03-15 10:39

Effect of α -Hederin on Cell Proliferation and Apoptosis in Melanoma B16 Cells and Its Mechanism

ZHANG Bu-xin^{1*}, ZHAO Xian-min², CHENG Qiong³, LI Xi-qing³

(1. Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;
2. Basic Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China;
3. Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of α -hederin (α -HN) on the proliferation and apoptosis in melanoma B16 cells and its underlying mechanism. **Method:** The melanoma B16 cells were conventionally cultivated to the logarithmic phase and treated with different concentrations of α -HN (50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$). B16 cells untreated with α -HN were set up as blank group. The cell proliferation was detected by 3-(4, 5-dimethyl thiazole)-2, 5-diphenyl 4 azole nitrogen bromine salt (MTT) method after 24, 48, 72 h of treatment, and the apoptosis rate, activities of Caspase-3 and Caspase-9, expressions of Bcl-2, Bax, phosphorylation phosphatidylinositol-3-hydroxy kinase (p-PI3K), phosphorylation protein kinase B (p-Akt) and phosphorylation

[收稿日期] 20171127(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81673775)

[通信作者] *张步鑫, 硕士, 主治医师, 从事中医药防治免疫性皮肤病及皮肤肿瘤的研究, E-mail:201890885@qq.com

rapamycin target protein (p-mTOR) were evaluated by flow cytometry, Caspase activity detection kits and Western blot, respectively. **Result:** Compared with blank group, the cell proliferation inhibition rate in α -HN groups was increased significantly after being treated with 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ α -HN for 24, 48, 72 h ($P < 0.01$), and B16 cell proliferation inhibition rate increased significantly; compared with blank group, the cell apoptosis rate was increased, the activities of Caspase-3 and Caspase-9 were enhanced, the Bcl-2 level reduced, and Bax level increased in α -HN groups, with statistically significant differences ($P < 0.01$); compared with blank group, expressions of p-PI3K, p-Akt and p-mTOR were reduced in α -HN groups, with statistically significant differences ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** α -HN has the effects in inhibiting cell proliferation and inducing apoptosis in melanoma B16 cells, which may be related with the inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway, with a good application prospect in the treatment of melanoma.

[**Key words**] melanoma; α -hederin (α -HN); proliferation; apoptosis; phosphatidyl inositol-3-hydroxy kinase (PI3K) /protein kinase B (Akt) /rapamycin target protein (mTOR) signaling pathway

肿瘤是人类健康最大的杀手之一,是继心血管疾病之后威胁人类健康的最严重疾病,对人类的健康和生命造成巨大威胁。黑色素瘤是皮肤科常见的恶性肿瘤,放疗和化疗等传统治疗效果不佳^[1]。此外,目前临床上使用的大多数化疗药物均可有效杀伤肿瘤细胞,但对正常细胞也有较高毒性^[2-3]。随着紫杉醇的发现,探索能诱导肿瘤细胞凋亡的高效、低毒的天然药物成为抗肿瘤新药开发的热点^[4]。目前,补充和替代医学已广泛应用于各种肿瘤的治疗,并被认为是化疗药物的主要来源之一^[5-7]。最近,相关研究均集中在分子靶向治疗、免疫治疗及中药单体领域。 α -常春藤皂苷(α -HN)来源于五加科常春藤属植物中华常春藤,属于皂苷类,是齐墩果酸的衍生物,具有抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗抑郁、抗糖尿病等多种药理作用^[8]。研究表明,常春藤皂苷具有抑制人胃癌细胞 MGC803 增殖的作用,同时可以抑制其迁移能力、侵袭能力和黏附能力^[9];此外,常春藤皂苷对肺癌 A549 和乳腺癌 MCF-7 裸鼠移植瘤的生长均有显著的抑制作用^[10]。目前,关于 α -HN 对黑色素瘤生物学行为的影响鲜有报道,本研究采用 α -HN 处理黑色素瘤 B16 细胞来观察对其增殖和凋亡的影响,同时鉴于磷脂酰肌醇-3-羟激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路在恶性肿瘤发生、发展中的重要作用,故本研究进一步探讨了 α -HN 对 B16 细胞 PI3K/Akt /mTOR 信号通路活化的影响。

1 材料

1.1 细胞株 黑色素瘤 B16 细胞购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库(编号 TCM2)。

1.2 药物与试剂 α -HN(中国食品药品检定研究院,批号 20160425,纯度 $\geq 98\%$);噻唑蓝(MTT),碘

化丙啶(PI)(美国 Sigma 公司,批号分别为 M2128, D4540);Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒(美国 Coulter 公司,批号 170205);半胱天冬蛋白酶(Caspase)-3,Caspase-9 活性检测试剂盒(美国 R&D 公司,批号分别为 20220,20009);无血清细胞培养基(RPMI)1640 和胎牛血清(FBS)(美国 Gibco-Brl 公司,批号分别为 SH30809,SH41289);B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),磷酸化磷脂酰肌醇-3-羟激酶(p-PI3K),磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt),磷酸化雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)和 β -肌动蛋白(β -actin)一抗(美国 Santa Cruz 公司,批号分别为 170618, 160821, 161013, 170528, 170124, 160915);辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(武汉博海生物公司,批号 E030125)。

1.3 仪器 2-16K 型高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司),MCO-18AC 型 CO_2 培养箱(日本 Sanyo 公司),BSC-1300 II A2 型生物安全柜(上海博迅医疗生物公司),HBS-1096B 型酶标仪(南京德铁实验设备公司),FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司),Mini-PROTEAN 型电泳及转膜系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 B16 细胞培养在添加 10% FBS, 100 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素和 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 链霉素的 RPMI 1640 培养液中培养,培养条件为 37 $^\circ\text{C}$ 5% CO_2 ;每 2~3 d 传代 1 次,选取对数生长期细胞用于后续实验。

2.2 细胞增殖测定 将对数生长期的 B16 细胞接种于 96 孔板中,经 50,100,200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ α -HN 处理后,分别选取 24,48,72 h 这 3 个时间点,向每孔加入 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ MTT 溶液 20 μL ,在 37 $^\circ\text{C}$ 5% CO_2

条件下继续孵育 4 h, 移除培养基后向每孔加入二甲基亚砜 150 μL 以终止反应, 通过酶标仪检测 570 nm 处的吸光度 A 来计算细胞增殖抑制率。

2.3 细胞凋亡检测 取各组处理后的细胞, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗后, 根据试剂盒说明书采用 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒进行染色, 每组取约 1 万个细胞, 于 FACSCalibur 流式细胞仪上测定细胞凋亡率。

2.4 Caspase 活性检测 根据试剂盒说明书采用比色测定试剂盒测定 Caspase-3, Caspase-9 活性。经 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\alpha\text{-HN}$ 处理 B16 细胞 48 h, 收集细胞进行冰上裂解后离心 (1 万 $\times g$, 4 $^{\circ}\text{C}$, 15 min), 上清即为细胞浆提取物, 加入 Caspase-3 或 Caspase-9 显色底物 5 μL , 在 CO_2 培养箱孵育 4 h, 然后在 405 nm 用酶标仪测量 A 。细胞裂解液中的 Caspase 活性与颜色反应成正比。

2.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 分析相关蛋白表达 将对数生长期的 B16 细胞接种于 6 孔板中, 经 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\alpha\text{-HN}$ 处理 B16 细胞 48 h, 提取各组细胞裂解物, 采用 Lowry 法测量蛋白质浓度; 每个样本取蛋白 20 μg 上样, 经 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳后转移至硝酸纤维素膜分离; 室温下膜用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, PBS 洗涤 3 次后, 向膜滴加 Bax, Bcl-2, p-PI3K, p-Akt, p-mTOR 和 $\beta\text{-actin}$ 抗体 (1:500), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 然后加入辣根过氧化物酶 (HRP) 耦合的二抗 (1:2 000), 室温孵育 30 min, 增强型化学发光 (ECL) 试剂盒显影, 采用 IPP 5.0 软件分析各条带的灰度值。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 18.0 软件进行本研究的数据分析, 实验重复 5 次, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组重复比较采用单因素方差分析, 两组比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞增殖能力的影响 与空白组相比, $\alpha\text{-HN}$ 处理组的增殖抑制率显著增加 ($P < 0.01$); 且随着观察时间的延长, 增殖抑制率有逐渐增加趋势, 该抑制作用呈时间和浓度依赖性。见表 1。

3.2 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞凋亡的影响 与空白组相比, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\alpha\text{-HN}$ 处理 48 h 后的细胞凋亡率均显著升高 ($P < 0.01$); 且随着 $\alpha\text{-HN}$ 浓度的升高, 其凋亡率也逐渐升高, 结果表明 $\alpha\text{-HN}$ 可浓度依赖性地诱导 B16 细胞凋亡。见表 2。

表 1 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞增殖抑制率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 1 Effect of $\alpha\text{-HN}$ on proliferation rate of B16 cells ($\bar{x} \pm s, n=5$) %

组别	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	24 h	48 h	72 h
空白	-	0	0	0
$\alpha\text{-HN}$	50	8.52 \pm 1.33 ¹⁾	35.23 \pm 4.36 ¹⁾	44.54 \pm 5.11 ¹⁾
	100	23.29 \pm 3.52 ¹⁾	41.15 \pm 4.55 ¹⁾	52.32 \pm 5.41 ¹⁾
	200	32.42 \pm 4.23 ¹⁾	58.05 \pm 6.12 ¹⁾	68.03 \pm 8.38 ¹⁾

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Effect of $\alpha\text{-HN}$ on apoptosis rate of B16 cells ($\bar{x} \pm s, n=5$) %

组别	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞凋亡率 / %
空白	-	6.22 \pm 0.83
$\alpha\text{-HN}$	50	13.14 \pm 3.10 ¹⁾
	100	24.26 \pm 4.32 ¹⁾
	200	36.81 \pm 5.46 ¹⁾

3.3 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞 Caspase 活性 A 的影响 与空白组相比, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\alpha\text{-HN}$ 处理 48 h 后的 Caspase-3 和 Caspase-9 活性 A 均呈浓度依赖性的增强 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞 Caspase 活性 A 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 3 Effect of $\alpha\text{-HN}$ on Caspase activity A of B16 cells ($\bar{x} \pm s, n=5$)

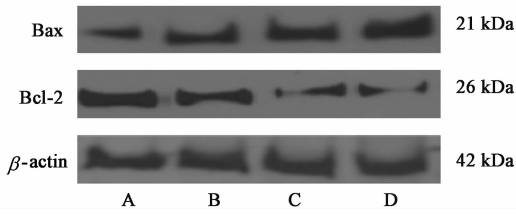
组别	浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Caspase-3	Caspase-9
空白	-	0.18 \pm 0.03	0.19 \pm 0.02
$\alpha\text{-HN}$	50	0.34 \pm 0.04 ¹⁾	0.43 \pm 0.05 ¹⁾
	100	0.52 \pm 0.06 ¹⁾	0.71 \pm 0.08 ¹⁾
	200	0.66 \pm 0.07 ¹⁾	0.85 \pm 0.09 ¹⁾

3.4 $\alpha\text{-HN}$ 对 B16 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 与空白组相比, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\alpha\text{-HN}$ 处理 48 h 后的抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平降低, 而促凋亡蛋白 Bax 水平升高 ($P < 0.01$)。见图 1, 表 4。

3.5 $\alpha\text{-HN}$ 对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关蛋白表达的影响 与空白组相比, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $\alpha\text{-HN}$ 处理 48 h 后的 p-PI3K, p-Akt 及 p-mTOR 水平均降低 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 2, 表 5。

4 讨论

在各类皮肤肿瘤中, 黑色素瘤的恶性程度最高, 且发病率增长迅速, 年均增长率约为 3% ~ 5%, 已



A. 空白组; B. α -HN $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; C. α -HN $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; D. α -HN $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 α -HN 作用 B16 细胞凋亡相关蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of α -HN on apoptosis-related protein expressions of B16 cells

表 4 α -HN 对 B16 细胞凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of α -HN on apoptosis-related protein expressions of B16 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	浓度 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Bax $/\beta\text{-actin}$	Bcl-2 $/\beta\text{-actin}$
空白	-	0.21 ± 0.03	0.85 ± 0.11
α -HN	50	$0.40 \pm 0.05^{1)}$	$0.73 \pm 0.06^{1)}$
	100	$0.53 \pm 0.06^{1)}$	$0.33 \pm 0.04^{1)}$
	200	$0.62 \pm 0.08^{1)}$	$0.28 \pm 0.03^{1)}$

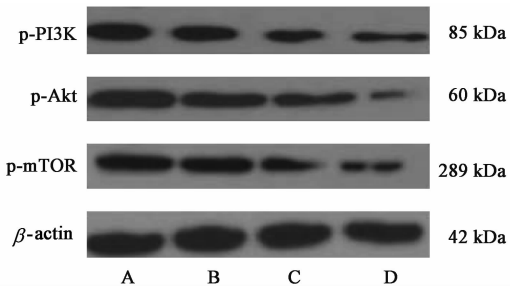


图 2 α -HN 作用 B16 细胞 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of α -HN on PI3K/Akt/mTOR signaling pathway of B16 cells

表 5 α -HN 对 B16 细胞 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Effect of α -HN on PI3K/Akt/mTOR signaling pathway of B16 cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	浓度 $/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	p-PI3K $/\beta\text{-actin}$	p-Akt $/\beta\text{-actin}$	p-mTOR $/\beta\text{-actin}$
空白	-	0.64 ± 0.05	0.96 ± 0.12	0.73 ± 0.09
α -HN	50	$0.55 \pm 0.06^{2)}$	$0.81 \pm 0.10^{2)}$	$0.65 \pm 0.07^{1)}$
	100	$0.42 \pm 0.03^{2)}$	$0.48 \pm 0.05^{2)}$	$0.37 \pm 0.04^{2)}$
	200	$0.30 \pm 0.04^{2)}$	$0.17 \pm 0.02^{2)}$	$0.24 \pm 0.04^{2)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

种新型有效的抗肿瘤药物,但目前尚未有 α -HN 关于治疗黑色素瘤的相关研究。赵振霞等^[12] 研究发现, α -HN 对人前列腺癌细胞株 DU145 细胞有抗增殖作用;刘包欣子等^[13] 发现, α -HN 可抑制结肠癌细胞 LoVo 增殖、黏附、侵袭和迁移能力,且此抑制作用呈浓度依赖性。此外, α -HN 具有化疗增敏作用,殷淑媛等^[14] 研究发现, α -HN 可增强 5-氟尿嘧啶或奥沙利铂对人结肠癌 HT-29 细胞的增殖抑制作用。除对常见的消化道肿瘤具有抑制作用外, α -HN 对其他肿瘤亦有显著作用,如张铁等^[15] 发现 α -HN 能显著地抑制人脑胶质母细胞瘤细胞 U251 的增殖,并诱导其凋亡,作用机制可能与线粒体凋亡有关。本研究采用 MTT 比色法检测同样证实了 α -HN 具有抑制 B16 细胞增殖的作用,进一步证实了 α -HN 抑瘤作用的广谱性。

细胞增殖能力受抑制过程中常伴有细胞凋亡过程的影响^[16]。本研究采用细胞凋亡率, Caspase 活性及 Bax/Bcl-2 蛋白表达来综合评价 α -HN 对细胞凋亡的影响。研究发现 α -HN 处理后的 B16 细胞凋亡率升高,且 Bcl-2 家族蛋白调控凋亡的关键因子 Bax 水平升高, Bcl-2 水平降低,执行凋亡 Caspase 家族成员 Caspase-3, Caspase-9 活性增强,以上结果提示 α -HN 可促进 B16 细胞的凋亡。PI3K/Akt/mTOR 信号通路是促进细胞生长、运动、蛋白质合成、生存和新陈代谢的中枢通路,可受激素、生长因子和营养的影响^[17]。PI3K 激活丝氨酸/苏氨酸激酶 Akt,而这种激酶又通过调节器级联而导致丝氨酸/苏氨酸激酶 mTOR 的磷酸化和激活^[18]。PI3K/Akt/mTOR 信号通路在多种恶性肿瘤中均被激活,而靶向抑制参与增殖和凋亡调控的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路已成为黑色素瘤治疗的潜在途径。本研究发现, α -HN 处理后的 B16 细胞 p-PI3K, p-Akt 及 p-mTOR 水平均降低,提示 α -HN 可抑制 B16 细胞 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活。

综上, α -HN 具有抑制 B16 细胞增殖及诱导凋亡作用,其可能通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来发挥细胞毒及诱导凋亡作用,在黑色素瘤治疗中有较好的应用前景。

[参考文献]

[1] Todd S P, Driscoll M S. Prognosis for women diagnosed with melanoma during, before, or after pregnancy: weighing the evidence [J]. Int J Womens Dermatol, 2017, 3(1): 26-29.

成为危及我国人民健康的重大疾病之一^[11]。 α -HN 目前已广泛用于多种恶性肿瘤的治疗,提示其为一

- [2] HE Q, LIU Z, ZHAO T, et al. Bmi1 drives stem-like properties and is associated with migration, invasion, and poor prognosis in tongue squamous cell carcinoma [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(1): 1-10.
- [3] LI Z, WANG Y, QIU J, et al. The polycomb group protein EZH2 is a novel therapeutic target in tongue cancer [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(12): 2532-2549.
- [4] LI H, ZHANG Y, CAO L, et al. Curcumin could reduce the monomer of TTR with Tyr114Cys mutation via autophagy in cell model of familial amyloid polyneuropathy [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8(1): 2121-2128.
- [5] Metelmann H R, Hyckel P, Podmelle F. Oral cancer treatment and immune targets-a role for dendritic cells? [J]. *J Craniomaxillofac Surg*, 2012, 40(2):103-104.
- [6] 曲中原, 石鑫, 邹翔, 等. 虎眼万年青总皂苷诱导肝癌 HepG-2 细胞凋亡的机制研究[J]. *中药材*, 2016, 39(4): 867-871.
- [7] 李敏, 方明治. 白头翁皂苷 B4、粉防己碱对奥沙利铂耐药的结肠癌细胞的耐药逆转作用及其机制[J]. *中国癌症杂志*, 2015, 25(1): 38-44.
- [8] 邢颖, 南敏伦, 王雪, 等. 常春藤皂苷元的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(22): 226-234.
- [9] 刘包欣子, 王瑞平, 邹玺, 等. 常春藤皂苷元对胃癌细胞 MGC-803 增殖、黏附、侵袭和迁移能力的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(4): 212-215.
- [10] 李欣欣, 杨中林, 杨小林, 等. 常春藤皂苷元抑制人乳腺癌 MCF-7 和肺癌 A549 裸鼠移植瘤生长研究 [J]. *海峡药学*, 2016, 28(5): 16-18.
- [11] 田红, 肖桂芝, 田苗, 等. 黑色素瘤治疗药物的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(7): 890-896.
- [12] 赵振霞, 赵振敏, 赵成广. 常春藤皂苷元对前列腺癌 DU145 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(1): 37-41.
- [13] 刘包欣子, 王瑞平, 邹玺, 等. 常春藤皂苷元对结肠癌细胞 LoVo 增殖、黏附、侵袭和迁移能力的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2013, 29(1): 44-47.
- [14] 殷淑媛, 王瑞平, 邹玺, 等. 常春藤皂苷元与 5-氟尿嘧啶或奥沙利铂联用对人结肠癌 HT-29 细胞增殖的影响 [J]. *中医杂志*, 2015, 56(7): 602-606.
- [15] 张铁, 彭翠平, 王永林, 等. α -常春藤皂苷抗肿瘤作用机制研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2015, 26(2): 175-179.
- [16] Lorent J H, Léonard C, Abouzi M, et al. α -Hederin induces apoptosis, membrane permeabilization and morphologic changes in two cancer cell lines through a cholesterol-dependent mechanism [J]. *Planta Med*, 2016, 82(18): 1532-1539.
- [17] 斯庆图娜拉, 刘磊. 抑制自噬增加 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制剂引起的胃癌细胞死亡 [J]. *中国实验诊断学*, 2015, 19(9): 1457-1460.
- [18] 潘纪红, 王海滨, 杜晓飞, 等. 虎杖苷通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导人宫颈癌细胞凋亡的初步研究 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(12): 2345-2349.

[责任编辑 张丰丰]