

# 木香挥发油诱导人白血病细胞 MV4-11 凋亡及其作用机制的探讨

杨雨婷, 何育霖, 何贝轩, 熊亮, 曹治兴\*, 彭成\*

(成都中医药大学药学院, 四川省中药资源系统研究与开发利用  
重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137)

**[摘要]** **目的:**以人急性髓性白血病 MV4-11 细胞为研究对象,探讨木香挥发油对 MV4-11 细胞增殖与凋亡抑制作用及其作用机制。**方法:**以质量浓度分别为 3,6,12,25,50,100 mg·L<sup>-1</sup> 的木香挥发油作用于人急性髓性白血病 MV4-11 细胞不同时间,另设空白组,采用噻唑蓝(MTT)法检测木香挥发油对其增殖抑制作用,Hoechst 33258 染色法观察细胞凋亡的形态学变化,Annexin V-FITC,PI 双染及 PI 单染法应用流式细胞术检测细胞凋亡和周期,蛋白质免疫印迹(Western blot)检测蛋白激酶 B(AKT),半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)凋亡蛋白的表达。**结果:**木香挥发油对 MV4-11 细胞的半抑制浓度(IC<sub>50</sub>)为 13.33 mg·L<sup>-1</sup>;木香挥发油作用于 MV4-11 细胞 24 h 后可使细胞核皱缩,染色质凝聚,形成明显的凋亡小体;与空白组比较,木香挥发油 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期和 G<sub>2</sub>/M 期细胞明显减少,S 期细胞明显增多(P<0.05,P<0.01);与空白组比较,12,25,50,100,150 mg·L<sup>-1</sup> 木香挥发油能诱导 MV4-11 细胞凋亡(P<0.05);与空白组比较,25,50,100,150 mg·L<sup>-1</sup> 木香挥发油可抑制 AKT 的磷酸化,并促进 Caspase-3 蛋白的降解(P<0.05,P<0.01)。**结论:**木香挥发油能抑制人白血病细胞 MV4-11 细胞的增殖,其作用机制可能与抑制 AKT 活性进而诱导细胞凋亡效应有关。

**[关键词]** 木香挥发油; 凋亡; 人白血病 MV4-11 细胞; 增殖; 蛋白激酶 B; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)19-0095-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016190095

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1100.044.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-04 11:00

## Essential Oil from Aucklandiae Radix Induces Apoptosis and Potential Mechanism in MV4-11 Leukemia Cells

YANG Yu-ting, HE Yu-lin, HE Bei-xuan, XIONG Liang, CAO Zhi-xing\*, PENG Cheng\*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of essential oil from Aucklandiae Radix on proliferation and apoptosis inhibition of MV4-11 leukemia cells and discuss its action mechanism. **Method:** Human leukemia cell line MV4-11 was treated with the essential oil from Aucklandiae Radix(3, 6, 12, 25, 50, 100 mg·L<sup>-1</sup>) for different time, and another blank group was set up. Cell viability was estimated by using MTT assay; the apoptosis morphology changes were observed by Hoechst 33258 staining; flow cytometry was used on Annexin V-FITC/propidium iodide staining to detect the cell cycle and the rate of apoptosis; Western blot was used to detect AKT

**[收稿日期]** 20150723(004)

**[基金项目]** 四川省杰出青年项目(2015JQ0030Q)

**[第一作者]** 杨雨婷, 硕士, 从事中药药理与毒理学研究, Tel:15928908660, E-mail:349802920@qq.com

**[通讯作者]** \* 曹治兴, 博士, 讲师, 从事肿瘤分子药效学研究, Tel:15882236641, E-mail:284886361@qq.com;

\* 彭成, 教授, 博士生导师, 从事中药药理与毒理学研究, Tel:13708001778, E-mail:1106736346@qq.com

and Caspase-3 protein expression. **Result:** The essential oil from Aucklandiae Radix had  $IC_{50}$  value of  $13.33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; various nuclear changes such as nuclear shrinkage, chromatin condensation and obvious apoptotic bodies were observed after MV4-11 cell line was treated with essential oil from Aucklandiae Radix for 24 h. As compared with the blank group, the cells in  $G_0/G_1$  phase were significantly reduced and the cells in S phase were significantly increased with the increase from essential oil from Aucklandiae Radix oil dosage ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). 12, 25, 50, 100, 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  essential oil from Aucklandiae Radix induced apoptosis of MV4-11 ( $P < 0.05$ ); 25, 50, 100, 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  essential oil from Aucklandiae Radix inhibited AKT phosphorylation and promoted Caspase-3 protein degradation ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** The essential oil from Aucklandiae Radix can inhibit the proliferation of MV4-11 cells *in vitro*, and the mechanism may be correlated with inducing cell apoptosis by inhibiting AKT activity.

[**Key words**] essential oil from Aucklandiae Radix; apoptosis; MV4-11 leukemia cells; proliferation; protein kinase B; Caspase-3

木香主产于云南等地,木香的主要药效学基础为其挥发油成分,气味芳香浓烈而特异,有行气止痛之功效。被广泛用于治疗脾胃、大肠及肝胆气滞证。木香有调节胃肠道<sup>[1]</sup>、抗炎<sup>[2]</sup>、抗血小板凝聚<sup>[3]</sup>、降血糖<sup>[4]</sup>、抗血管生成<sup>[5]</sup>、抗肿瘤<sup>[6]</sup>等作用,但对白血病的作用研究甚少。白血病是由骨髓中血液细胞数量异常增加从而抑制正常细胞生长所致。白血病在我国恶性肿瘤发病率排列第 17 位,但死亡率位列第八<sup>[7-8]</sup>,由此可见其治疗效果欠佳。如何有效控制人急性淋巴髓单核细胞白血病 MV4-11 细胞的进展是目前实际治疗过程中迫切需要解决的难题,临床上用于治疗白血病的传统化疗药毒副作用较大,易出现抗肿瘤药物耐受的现象<sup>[9]</sup>。中药拥有上千年的临床用药经验,具有毒副作用小等特性,在中药中寻觅安全有效的抗癌药物值得进一步探索<sup>[10-11]</sup>。近期国内外研究表明,木香抗肿瘤作用在多种人类肿瘤细胞中得到证明,可以抑制乳腺癌 MDA-MB-231,结肠癌 HCT15,肺癌细胞 A549 等多种人类肿瘤细胞生长<sup>[12-14]</sup>,但对人急性淋巴髓单核细胞白血病 MV4-11 细胞的抑制作用尚未见文献报道。为进一步探究木香对白血病的作用,本文采用人急性淋巴髓单核细胞白血病 MV4-11 细胞为对象,研究木香挥发油对该肿瘤的凋亡诱导作用,并探讨其初步作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞株** 人急性淋巴髓单核细胞白血病 MV4-11 细胞购于美国模式菌种收集中心(ATCC)。MV4-11 细胞悬浮接种在含 10% 胎牛血清 IMDM 培养液中于 37 °C 5% 二氧化碳培养箱中培养。

**1.2 药物及试剂** 木香挥发油由成都中医药大学药物研究所提供;木香经成都中医药大学药教研

室李敏教授鉴定为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* 干燥根。木香挥发油制备过程:采用 2015 年版《中国药典》附录 XD 挥发油测定法进行提取,减压干燥所得。木香挥发油配制:将木香挥发油溶于二甲基亚砜(DMSO,美国 Sigma 公司,批号 D5879)中配置成  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的母液备用,现用现配。噻唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司,批号 1001822145),Hoechst 33258 试剂盒(上海碧云天公司,批号 20150317), $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔、羊抗鼠二抗(北京中杉金桥公司,批号分别为 14125110,112586,112971),IMDM(美国 Gibco 公司,批号 8115092),胎牛血清(草原绿野公司,批号 150315),Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(凯基生物公司,批号 20150623);抗体蛋白激酶 B(AKT),p-AKT,半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)抗体(美国 CST 公司,批号分别为 9272,4060,8242)

**1.3 仪器** MCV-13161FT 型超净台(日本 Sanyo 公司),DMI300B 型倒置荧光显微镜(德国 Leica 公司),PowerPac™ Basic 型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),AJ37097 型流式细胞仪及 X30R 型高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter 公司)。

## 2 方法

**2.1 木香挥发油抑制多种细胞增殖的影响** 取对数生长期 MV4-11 细胞,用含 10% 胎牛血清 IMDM 培养液配成  $2 \times 10^6$  个/mL 细胞悬液,至于 96 孔板,每孔 100  $\mu\text{L}$ ,以二甲基亚砜为助溶剂按  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  为最高终质量浓度,采用二倍梯度稀释法加药,稀释 6 个梯度,将细胞分为 3 组,分别为给药组、阴性组、空白组,每组设 3 个复孔,培养 72 h 后加 MTT( $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )溶液 20  $\mu\text{L}$ ,振荡混匀后,至于培养箱内孵化

4 h, 弃各孔内上清液, 加 DMSO 100  $\mu\text{L}$  终止反应, 振荡 10 min, 待各孔晶体完全溶解后, 用酶标仪在 490 nm 测定吸光度  $A$ 。

$$\text{细胞增殖抑制率} = [(1 - (\text{给药组 } A - \text{空白组 } A) / (\text{阴性组 } A - \text{空白组 } A))] \times 100\%$$

**2.2** Hoechst 33258 荧光染色检测细胞凋亡 取对数生长 MV4-11 细胞, 以  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板, 分别加入不同质量浓度的木香挥发油, 使其终质量浓度分别为 25, 50, 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 并设置空白组, 于 24 h 后, 去悬浮细胞培养液, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 2 遍, 去 PBS, 用 70% 乙醇固定 30 min, 去乙醇后用 PBS 洗 2 次, 加入终质量浓度为 5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Hoechst 33258 避光染色 15 min, 封片。于荧光显微镜 (激发波长 350 nm, 发射波长 460 nm) 下观察拍照。

**2.3** 流式细胞仪测定细胞凋亡率 将对数生长的 MV4-11 细胞接种于 6 孔板,  $2 \times 10^6$  个/孔, 分别加入终质量浓度为 12, 25, 50, 100, 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的木香挥发油, 并设置空白组, 于 24 h 后, 去悬浮细胞培养液, PBS 洗 2 遍, 离心去上清, 加 Binding buffer 250  $\mu\text{L}$ , Annexin V-FITC 和 PI 各 5  $\mu\text{L}$ , 30 min 后上机检测。

**2.4** 流式细胞仪测定细胞周期率 取对数生长 MV4-11 细胞, 以  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板, 分别加入终质量浓度 12, 25, 50, 100, 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的木香挥发油, 并设置空白组, 作用 24 h 后, 收集细胞, PBS 洗 1 次。70% 乙醇固定过夜。次日弃固定液, PBS 洗 2 次, 加入 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (0.1  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  RNase A, PBS 配制) PI 染色液 1.0 mL, 至 4  $^{\circ}\text{C}$  避光染色 1 h, 用流式细胞仪分析测定细胞内 DNA 分布情况。

**2.5** 蛋白质免疫印迹 (Western blot) 分析蛋白表达

取对数生长 MV4-11 细胞, 细胞数  $1 \times 10^6$  个/皿至于培养皿中, 分别加入不同质量浓度的木香挥发油, 使其终质量浓度分别为 25, 50, 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 并设置空白组, 作用 24 h。收集细胞, 用细胞裂解液 200  $\mu\text{L}$  裂解 1 h, 冰冻破碎后, 15 000  $\times g$  离心 15 min, 收集上清。用 BCA 定量后, 以 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白质。并将蛋白转至 PVDF 膜上, 50  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  脱脂奶粉封闭后, 一抗封闭过夜, 加入经辣根过氧化物酶标记的二抗封闭 1 h, 以 ECL 溶液显色, 于 Universal Hood II 下拍照, Image J 软件计算各条带灰度值。

**2.6** 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件中单因素 ANOVA 分析进行组间统计比较, 所有实验结果均独立 3 次, 数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示统计结果, 以  $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1** 木香挥发油对多种细胞增殖的影响 木香挥发油能抑制 MV4-11 的生长, 半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 为 13.33  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 药物的抑制作用呈剂量依赖性 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

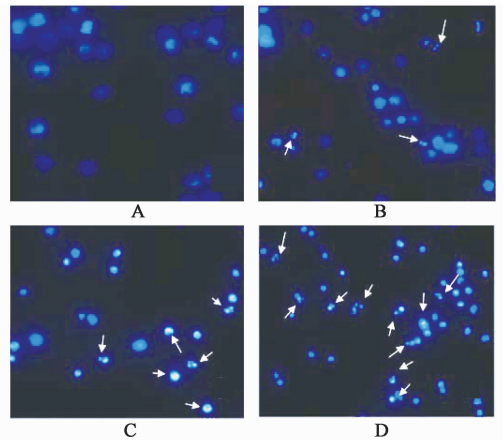
表 1 木香挥发油对多种肿瘤细胞株增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Effects of essential oil of Aucklandiae Radix on cells proliferation ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	质量/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	抑制率/%
空白	-	100.00 $\pm$ 8.73
木香挥发油	3	2.54 $\pm$ 1.66 <sup>2)</sup>
	6	4.73 $\pm$ 4.04 <sup>2)</sup>
	12	30.28 $\pm$ 5.60 <sup>2)</sup>
	25	87.29 $\pm$ 3.00
	50	91.89 $\pm$ 3.34
	100	99.73 $\pm$ 0.91

注: 与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2, 3 同)。

**3.2** 木香挥发油对 MV4-11 细胞形态的影响 Hoechst 33258 荧光染色显示, 未经药物处理的细胞, 其细胞核染色均匀, 体积较大; 而经 25, 50, 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油作用 24 h 后, 细胞核皱缩, 且细胞核染色密集, 核内有多个颗粒, 即染色质发生断裂, 形成的凋亡小体, 见图 1。



A. 空白组; B. 25  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; C. 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; D. 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组

图 1 MV4-11 细胞凋亡形态变化的荧光显微镜观察 ( $\times 20$ )

Fig.1 Fluorescent microscopy of essential oil from Aucklandiae Radix morphological changes on MV4-11 cell ( $\times 20$ )

**3.3** 木香挥发油对 MV4-11 细胞周期的影响 流式细胞术结果显示, 12, 25, 50, 100, 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油作用于 MV4-11 细胞 24 h 后, 与空白组比较, 经木香挥发油处理后,  $G_0/G_1$  期和  $G_2/M$  期细胞明显减少, S 期细胞明显增多 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 见表 2。

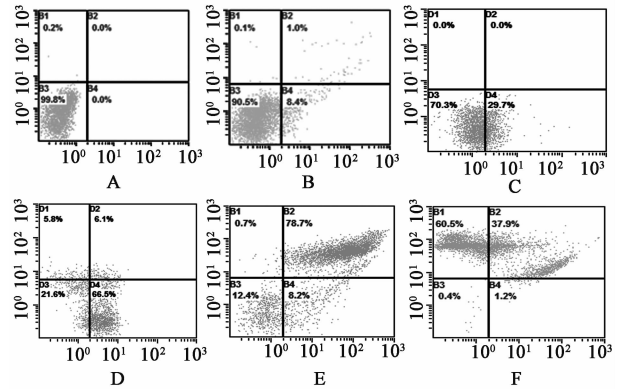
表 2 木香挥发油对 MV4-11 细胞周期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Effect of essential oil from Aucklandiae Radix on cell cycle in MV4-11 cell ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub> /M	S
空白	-	77.3 ± 1.4	10.2 ± 2.5	12.5 ± 1.7
木香挥发油	150	35.8 ± 0.7 <sup>2)</sup>	4.0 ± 2.3 <sup>2)</sup>	60.2 ± 2.9 <sup>2)</sup>
	100	55.7 ± 4.9 <sup>1)</sup>	0.2 ± 0.4 <sup>2)</sup>	44.1 ± 3.2 <sup>2)</sup>
	50	58.7 ± 1.2 <sup>1)</sup>	2.4 ± 5.9 <sup>2)</sup>	38.9 ± 5.6 <sup>2)</sup>
	25	55.7 ± 3.7 <sup>1)</sup>	2.7 ± 4.6 <sup>2)</sup>	41.7 ± 2.7 <sup>2)</sup>
	12	62.1 ± 1.9	6.2 ± 3.1 <sup>1)</sup>	31.7 ± 4.5 <sup>2)</sup>

3.4 木香挥发油对 MV4-11 细胞凋亡的影响 Annexin V-FITC 及 PI 双标记法流式细胞仪检测结果显示,不同浓度木香挥发油作用后能明显诱导 MV4-11 细胞发生凋亡。其中空白组,12,25,50,100,150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  剂量的木香挥发油组作用于 MV4-11 细胞 24 h 后,细胞凋亡率分别为 0, (8.4 ± 1.7)%, (29.7 ± 2.1)%, (69.1 ± 4.3)%, (86.9 ± 2.5)%, (98.6 ± 3.9)%,由此可见,木香挥发油对 MV4-11 细胞的凋亡作用呈剂量依赖,空白组与药物组比较具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ),见图 2。

3.5 木香挥发油对 AKT 和 Caspase-3 蛋白表达的影响 MV4-11 细胞给予不同质量浓度木香挥发油作用 24 h 后,与空白组比较,AKT 总蛋白的表达并未减少,P-AKT 和 Caspase-3 蛋白的表达量下降 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),P-AKT/AKT 磷酸化率逐渐减小 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),提示木香挥发油抑制了



A. 空白组; B. 12  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; C. 25  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; D. 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; E. 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; F. 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组

图 2 木香挥发油对 MV4-11 细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effects of essential oil from Aucklandiae Radix on cell apoptosis of MV4-11

AKT 的磷酸化表达。见表 3 和图 3。

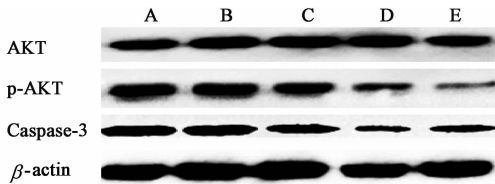
表 3 木香挥发油对 MV4-11 细胞中 AKT, p-AKT, Caspase-3 蛋白相对表达及 AKT 磷酸化率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effects of essential oil from Aucklandiae Radix on AKT, p-AKT, Caspase-3 protein and phosphorylation rate of AKT in MV4-11 induced with PA ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	AKT/ $\beta$ -actin	p-AKT/ $\beta$ -actin	Caspase-3/ $\beta$ -actin	p-AKT/AKT
空白	-	3.23 ± 0.55	5.54 ± 0.39	0.69 ± 0.37	0.85 ± 0.59
木香挥发油	25	2.76 ± 1.26	2.19 ± 0.73 <sup>2)</sup>	0.56 ± 0.93	0.79 ± 0.32
	50	3.00 ± 0.13	2.19 ± 0.46 <sup>2)</sup>	0.44 ± 1.03 <sup>1)</sup>	0.72 ± 0.48 <sup>1)</sup>
	100	3.23 ± 0.72	0.37 ± 1.42 <sup>2)</sup>	0.32 ± 0.32 <sup>2)</sup>	0.11 ± 0.83 <sup>2)</sup>
	150	2.95 ± 0.21	0.17 ± 0.83 <sup>2)</sup>	0.26 ± 0.83 <sup>2)</sup>	0.06 ± 0.92 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

本实验首次探讨了木香挥发油对 MV4-11 的抑制作用及其机制;前期采用 MTT 法对结直肠癌细胞 HCT116,肝癌细胞 HepG-2,肺癌细胞 A549 及 MV4-11 4 种人类肿瘤细胞株进行初筛,其 IC<sub>50</sub> 分别为 41.04, 24.28, 24.98, 13.33  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,由此可知木香挥发油对 MV4-11 细胞的增殖抑制作用最强,故对 MV4-11 细胞展开进一步的机制研究。凋亡是药物抗肿瘤的主要途径之一,采用 Hoechst 染色法观察木香挥发油作用于 MV4-11 细胞后,能明显导致细胞核皱缩,细胞核染色密集,核内出现多个凋亡小



A. 空白组; B. 25  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; C. 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; D. 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组; E. 150  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  木香挥发油组

图 3 各组 MV4-11 细胞中 AKT, p-AKT, Caspase-3 蛋白的表达情况

Fig. 3 MV4-11 cells AKT, p-AKT, Caspase-3 protein expression of each groups

体,由此证明木香挥发油能诱导 MV4-11 细胞发生凋亡。此外,采用 PI 单染和 Annexin V-FITC/PI 双染标记法流式细胞仪检测,结果显示,随着木香挥发油浓度的升高,细胞的凋亡率增加,与空白组比较,结果具有统计学差异; $G_0/G_1$  期和  $G_2/M$  期细胞明显减少,S 期细胞明显增多,进一步证明木香挥发油能使 MV4-11 细胞发生凋亡,并阻滞于 S 期。AKT 在细胞的增殖、分化和凋亡过程中具有重要的调节作用,是抗肿瘤药物研发领域中研究最热门的激酶和靶点之一。研究表明 AKT 能抑制 Caspase-3 的表达<sup>[15]</sup>,值得注意的是,在 Western blot 实验中显示,木香挥发油在诱导能 MV4-11 细胞发生凋亡的过程中伴有 P-AKT 和 Caspase-3 2 种蛋白表达的改变,说明木香诱导肿瘤细胞凋亡的作用与 AKT 凋亡途径的激活密切相关。

综上所述,能抑制 MV4-11 细胞的增值,阻滞细胞周期于 S 期,并通过抑制 AKT 活性,进而活化 Caspase-3 诱导其凋亡发生,这表明木香挥发油内含有的调控细胞内 AKT 活性的药效物质群,具有较高的相关开发价值。但其抑制增殖和诱导凋亡的机制并不十分完善,还有待进一步的研究。

[参考文献]

[ 1 ] 张猛,郭建生,王小娟,等. 云木香不同提取物对小鼠胃排空和小肠推进功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):136-139.

[ 2 ] 张明发,沈雅琴,朱自平,等. 木香的抗腹泻和抗炎作用[J]. 中国药业,1999,9(6):16-17.

[ 3 ] 侯鹏飞,陈文星,赵新慧,等. 木香挥发性成分气质联用分析及其抑制血小板聚集作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(7):26-30.

[ 4 ] 金清,白晓华,邓亚飞,等. 木香降血糖有效部位及有效成分研究[J]. 中草药,2012,43(7):1371-1375.

[ 5 ] 郝立杰,赵烽,高治廷,等. 木香倍半萜对血管内皮细胞生长因子的抑制作用[J]. 天然产物研究与开发,

2010,22(4):687-691.

[ 6 ] 唐于平,侯鹏飞,段金庵,等. 木香中倍半萜类化合物体外抗癌活性评价研究[J]. 中华中医药杂志,2010,25(12):2180-2182.

[ 7 ] He J,Zhao P,Chen W Q. Chinese cancer registry annual report 2011 [ M ]. Beijing: Military Medical Science Press,2012:216.

[ 8 ] 刘玉琴,赵凤菊,陈万青,等. 中国 2009 年白血病发病和死亡资料分析 [ J ]. 中国肿瘤,2013,22(7):528-534.

[ 9 ] 王羽,张天栋. 白血病患者化疗期间感染病原菌分布及耐药性分析 [ J ]. 中华医院感染学杂志,2013,23(14):3537-3539.

[ 10 ] 王春光,刘北忠,曾丽,等. 大黄素诱导裸鼠体内白血病 K562 细胞凋亡过程中 PI3K/AKT 通路相关分子表达的变化 [ J ]. 肿瘤,2011,31(7):573-579.

[ 11 ] 王金良,孔佩艳,徐葳,等. 人参皂苷 Rg3 抑制急性白血病骨髓基质细胞 HIF-1 $\alpha$  及 VEGF 的表达及其机制探讨 [ J ]. 第三军医大学学报,2010,32(7):621-624.

[ 12 ] Choi Y K, Cho S G, Woo S M, et al. Saussurealappaclarke-derived costunolide prevents TNF- $\alpha$ -induced breast cancer cell migration and invasion by inhibiting NF- $\kappa$ B activity [ J ]. Evid Based Complement Alternat Med,2013,doi: 10.1155/2013/936257.

[ 13 ] Jung J H, Kim Y, Lee C O, et al. Cytotoxic constituents of *Saussurealappa* [ J ]. Arch Pharm Res,1998,21(2):153-156.

[ 14 ] Kumar A, Kumar S, Kumar D, et al. UPLC/MS/MS method for quantification and cytotoxic activity of sesquiterpene lactones isolated from *Saussurealappa* [ J ]. J Ethnopharmacol,2014,155(2):1393-1397.

[ 15 ] 樊勇军,冯一中,李海,等. Survivin、Caspase-3 及 AKT1 在大肠癌中的表达及意义 [ J ]. 实用癌症杂志,2010,25(1):26-30.

[责任编辑 周冰冰]