

黄芪甲苷对结直肠癌HCT116细胞增殖、迁移及侵袭的影响

侯本超¹, 何志坚², 刘海云^{3*}, 林倩霞³, 方永青³, 占诗梦³

(1. 南昌大学第一附属医院, 南昌 330006;

2. 江西省肿瘤医院, 南昌 330029;

3. 江西中医药大学中医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的:探究黄芪甲苷对结直肠癌HCT116细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响,并探讨其相关分子机制。方法:将结直肠癌HCT116细胞分为空白组(DMSO)和黄芪甲苷低、中、高质量浓度组(15.7、31.4、62.8 mg·L⁻¹)。通过倒置显微镜观察给药后结直肠癌HCT116细胞形态的改变;细胞增殖与活性检测-8(CCK-8)法检测黄芪甲苷处理后细胞活性的改变;细胞划痕实验和Transwell实验观察黄芪甲苷处理后结肠癌HCT116细胞迁移及侵袭能力的变化;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结直肠癌HCT116细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(p21)、细胞周期蛋白D₁(CyclinD₁)及B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达水平。结果:与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组细胞生长速度慢,密度明显稀疏,细胞形态不一,细胞核逐渐缩小,细胞质逐渐降解,细胞死亡率高,细胞活力呈浓度依赖性下降,细胞迁移和侵袭能力明显受到抑制($P<0.05$, $P<0.01$),其抑制率与给药浓度呈正相关;与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组促凋亡蛋白Bax表达量逐渐升高,呈浓度依赖性,细胞周期蛋白p21、CyclinD₁及抑制凋亡蛋白Bcl-2表达量逐渐降低($P<0.05$, $P<0.01$),呈浓度依赖性。结论:黄芪甲苷可抑制结直肠癌HCT116细胞的增殖、迁移和侵袭能力,促进细胞凋亡,从而抑制结直肠癌的发生发展。

[关键词] 黄芪甲苷; 结直肠癌; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)05-0144-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221728

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220629.1522.005.html>

[网络出版日期] 2022-06-30 10:59:51

Effect of Astragaloside IV on Proliferation, Migration, and Invasion of Colorectal Cancer HCT116 Cells

HOU Benchao¹, HE Zhijian², LIU Haiyun^{3*}, LIN Qianxia³, FANG Yongqing³, ZHAN Shimeng³

(1. *The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China;*

2. *Jiangxi Cancer Hospital, Nanchang 330029, China;*

3. *School of Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)*

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of astragaloside IV on the proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer HCT116 cells and the underlying molecular mechanism. **Method:** Colorectal cancer HCT116 cells were classified into blank group (DMSO) and low-dose (15.7 mg·L⁻¹), medium-dose (31.4 mg·L⁻¹), and high-dose (62.8 mg·L⁻¹) astragaloside IV groups. After drug treatment, the morphological changes of HCT116 cells were observed under an inverted microscope. Cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay, and the migration and invasion of cells were detected based on scratch assay and Transwell assay. The expression of cyclin-dependent kinase inhibitor (p21), CyclinD₁, B-cell lymphoma-2

[收稿日期] 2022-03-15

[基金项目] 江西省教育厅科学技术研究项目(200143,GJJ201210);江西省大学生创新创业项目(s202010412060,s202010412077);CSCO-恒瑞肿瘤研究基金项目(Y-HR2017-128);江西省卫生厅中医药课题项目(2019B085)

[第一作者] 侯本超, 硕士, 主治医师, 从事肿瘤麻醉学的研究工作, E-mail: 15236976@qq.com

[通信作者] * 刘海云, 硕士, 副教授, 从事中药抗肿瘤的研究工作, E-mail: 547906147@qq.com

(Bcl-2), and Bcl-2-associated X protein (Bax) in the cells was examined by Western blot. **Result:** Compared with the blank group, cells in the three astragaloside IV groups demonstrated slow growth, low density, inconsistent morphology, nuclear shrinkage, degradation of cytoplasm, and high death rate. Moreover, cell viability decreased in a concentration-dependent manner in the astragaloside IV groups. Cell migration and invasion were inhibited ($P<0.05$, $P<0.01$), and the inhibition rate was in positive correlation with the concentration of the astragaloside IV. The expression of pro-apoptotic protein Bax in low-dose, medium-dose and high-dose astragaloside IV groups increased gradually in a concentration-dependent manner, while the expression of p21, CyclinD₁ and anti-apoptotic protein Bcl-2 decreased gradually in a concentration-dependent manner compared with those in the blank group ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Astragaloside IV can suppress the proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer HCT116 cells and promote the apoptosis, thus inhibiting the occurrence and development of colorectal cancer.

[Keywords] astragaloside IV; colorectal cancer; proliferation; migration; invasion

结直肠癌是世界上第三大最常见的恶性肿瘤,发病率在年轻人中呈上升趋势,在老年人中死亡率偏高^[1-2]。当今社会,饮食习惯不当、吸烟、低水平的体育锻炼、人口老龄化和肥胖等均是结直肠癌的发病因素^[3]。结直肠癌的治疗包括手术、化疗、放疗、药物和靶向治疗。虽然手术和化疗长期以来是结直肠癌患者的首选,但转移性结直肠癌患者的预后却一直不尽人意^[4-6]。中国传统中药黄芪近年来越来越多的被用于肿瘤的防治,从黄芪根中分离出的主要活性成分黄芪甲苷,具有抗氧化、抗炎、抗感染等各种药理作用^[7]。黄芪甲苷作为《中华人民共和国药典》中黄芪的质量控制标志成分,已被广泛用于各类疾病。值得关注的是,黄芪甲苷作为中药有效成分,在肿瘤的预防与治疗方面效果显著。已有研究报道,黄芪甲苷搭配益气养阴解毒方增强了免疫细胞对肺癌细胞的杀伤力,体现了“扶正治癌”的内涵^[8]。有研究发现,经过黄芪甲苷一段时间的治疗,显著抑制原发性肝癌的进展,大大降低了原发性肝癌的发生率和多样性^[9]。有研究发现,黄芪甲苷直接作用于巨噬细胞以减少巨噬细胞极化为M2表型,并通过调节AMP激活的蛋白激酶(AMPK)信号通路抑制肺癌细胞的侵袭、迁移活动和血管新生^[10-12]。但黄芪甲苷是否会影响结直肠癌的发生发展研究较少。课题组前期预实验发现黄芪甲苷对结直肠癌细胞有一定的抑制作用,但其作用机制不清楚。因此,本课题组从肿瘤细胞增殖、迁移及侵袭等方面,探讨黄芪甲苷对结直肠癌细胞的影响及其可能的分子机制。

1 材料

1.1 细胞株和药物 传至第3代的人结直肠癌细胞HCT116,购自中国科学院上海细胞所,批号

ZQ0125;黄芪甲苷(C₄₁H₆₈O₁₄,天津众合生物科技有限公司,批号84687-43-4,纯度≥98%)。

1.2 试剂 RPMI 1640培养基(美国Gibco公司,批号8120343),胎牛血清(FBS,上海比爱生物科技有限公司,批号2033119),BCA试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号20201205),细胞增殖与活性检测-8(CCK-8)试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司,批号为BJ05203090),Hochest33342、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、青霉素-链霉素、0.1%结晶紫染色液(上海碧云天生物有限公司,批号分别为C0222、C0121、P0099、ST448-1L),周期蛋白依赖性激酶抑制剂(p21)、细胞周期蛋白D₁(Cyclin D₁)抗体(美国Cell Signaling Technology公司,批号分别为2947T、55506T),B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体(英国Abcam公司,批号分别为ab139417、ab8245)。

1.3 仪器 CCL-170B-8型二氧化碳培养箱(新加坡ESCO公司);BSG-26型恒温水浴锅(上海博讯公司);FC5706型低速恒温离心机(上海奥豪斯公司);SW-UJ-2F型双人双面洁净工作台(中国苏州净化设备有限公司);Max Plus384型全波长酶标仪(美国Spectra公司);XSP-10C型倒置显微镜(德国徕卡公司);11889110型荧光显微镜(德国IKA公司);Mini-Sub cell GT型蛋白电泳仪及转膜仪、721BR09021化学发光成像系统(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 HCT116细胞培养及分组 将HCT116细胞置于37℃、5%CO₂的恒温恒湿培养箱中培养,RPMI 1640培养基中添加了10%FBS和1%青-链霉素。2~3d进行换液。选取处于对数生长期HCT116细胞传代后分为空白组(DMSO),黄芪甲苷低、中、高

质量浓度组(15.7、31.4、62.8 mg·L⁻¹)。其药物浓度参照文献[9, 13]及预实验结果确定。

2.2 CCK-8法检测HCT116细胞活力 取对数生长期HCT116细胞计数后接种于96孔培养板,待细胞贴壁后,丢弃培养液,各孔加入对应浓度的黄芪甲苷溶液100 μL,每组设3个复孔,放入培养箱中继续培养,分别作用48、72 h,加入CCK-8试剂,在37℃、5%CO₂培养箱中继续培养30 min,用酶标仪在450 nm波长处测定每组细胞的吸光度A。细胞活性(%)=(A_{加药组}-A_{溶剂孔})/(A_{空白组}-A_{溶剂孔})×100%。

2.3 单克隆形成实验检测HCT116细胞增殖能力 取对数生长期HCT116细胞,以3×10³个/孔接种在6孔板中,待细胞贴壁后,弃培养液,各孔加入对应浓度的黄芪甲苷溶液2 mL,继续培养,隔3 d对细胞换液,黄芪甲苷干预10 d,弃培养基,每孔加入4%多聚甲醛1 mL和0.1%结晶紫1 mL固定染色1 h,用流水轻轻冲去染色液,室温干燥,于倒置显微镜下计数>50个细胞的克隆数并计算克隆形成率。克隆形成率=克隆数/细胞接种数×100%。

2.4 划痕实验检测HCT116细胞迁移能力 取对数生长期HCT116细胞接种在6孔板,待细胞长至90%,用Tip 1 mL制造同等伤口,并进行分组及给药处理(每孔添加2%FBS)。培养48 h,观察和拍照记录伤口大小,用Image J软件计算细胞相对迁移率。

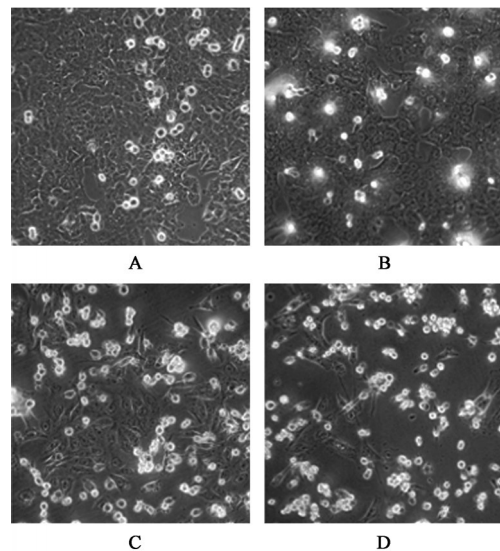
2.5 Transwell法检测HCT116细胞侵袭能力 取对数生长期的HCT116细胞,接种在Transwell上室中,待贴壁后进行给药处理,下室添加20% FBS。培养48 h,取出小室,结晶紫固定及染色1 h,最后在显微镜下拍照和分析。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测p21、CyclinD₁、Bax和Bcl-2蛋白表达水平 取对数生长期HCT116细胞,接种在6孔板中,待细胞贴壁后,丢弃培养液,各孔加入对应浓度黄芪甲苷溶液,放入培养箱中继续培养48 h,根据BCA试剂盒说明测定样品蛋白浓度。将样品放在10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上分离,并转移到0.25 μm PVDF膜上,然后用5%脱脂奶粉封闭,加入一抗p21、CyclinD₁、Bax和Bcl-2(1:1 000),4℃过夜孵育,次日继续孵育二抗(1:2 000)。曝光处理。使用Image Lab软件分析图像。统计条带灰度值,计算相应蛋白表达量。

2.7 统计学分析 采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用t检验进行两两比较。P<0.05为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116形态的影响 与空白组比较,黄芪甲苷低质量浓度组细胞生长速度略慢,代谢旺盛,形态和大小正常;黄芪甲苷中质量浓度组细胞生长速度慢,死亡率偏高,细胞体积明显变小;黄芪甲苷高质量浓度组细胞生长速度慢,细胞死亡率高,密度明显稀疏,细胞形态不一,部分细胞胞质已降解。见图1。



注:A.空白组;B~D.黄芪甲苷低、中、高质量浓度组(图2-图6同)

图1 黄芪甲苷对HCT116细胞形态的影响(倒置显微镜,×100)

Fig. 1 Effect of astragaloside IV on HCT116 cell morphology (inverted microscope, ×100)

3.2 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116活力的影响 与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组HCT116细胞活力在48、72 h均受到显著抑制(P<0.01)。见表1。

3.3 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116克隆形成能力影响 与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组HCT116细胞增殖克隆能力受到明显抑制(P<0.05, P<0.01),且随着浓度增加细胞克隆能力逐渐降低。见表2、图2。

3.4 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116的迁移能力的影响 与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组伤口面积趋于增大,细胞迁移能力减弱,抑制了细胞迁移能力(P<0.05, P<0.01),呈浓度依赖性,见表3、图3。

3.5 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116侵袭能力的影响 与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组侵袭细胞数目明显减少(P<0.05, P<0.01),细胞

表1 黄芪甲苷对HCT116细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effect of astragaloside IV on HCT116 cell activity ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	24 h	48 h	72 h
空白组		100.00±5.67	100.00±4.26	100.00±4.26
黄芪甲苷低质量浓度组	15.7	92.28±4.34 ¹⁾	68.12±3.22 ²⁾	47.23±3.19 ²⁾
黄芪甲苷中质量浓度组	31.4	77.34±3.68 ¹⁾	57.12±2.45 ²⁾	43.45±4.43 ²⁾
黄芪甲苷高质量浓度组	62.8	73.51±3.01 ¹⁾	51.26±2.82 ²⁾	37.32±2.68 ²⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ (表2-表6同)

表2 黄芪甲苷对HCT116细胞迁移速率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of astragaloside IV on HCT116 cell clonal formation ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	克隆形成率/%
空白组		82.00±3.16
黄芪甲苷低质量浓度组	15.7	45.89±5.32 ¹⁾
黄芪甲苷中质量浓度组	31.4	21.01±3.59 ²⁾
黄芪甲苷高质量浓度组	62.8	2.39±0.85 ²⁾

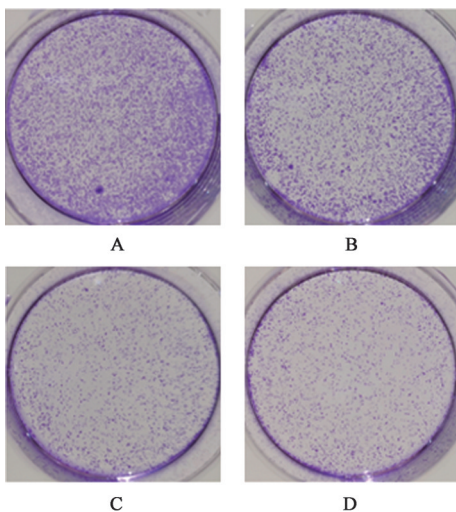


图2 黄芪甲苷对HCT116细胞克隆形成能力的影响(结晶紫,×50)
Fig. 2 Effect of astragaloside IV on clonal formation ability of HCT116 cells (crystal violet, ×50)

表3 黄芪甲苷对HCT116细胞迁移速率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of astragaloside IV on migration rate of HCT116 cells ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	48 h 迁移率/%
空白组		92.52±5.02
黄芪甲苷低质量浓度组	15.7	85.62±4.14 ¹⁾
黄芪甲苷中质量浓度组	31.4	52.76±3.37 ²⁾
黄芪甲苷高质量浓度组	62.8	40.62±3.04 ²⁾

侵袭能力下降明显。见图4、表4。

3.6 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116增殖蛋白表达的影响 与空白组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组细胞增殖相关蛋白p21、CyclinD₁明显下降

($P<0.05, P<0.01$)。见图5、表5。

3.7 黄芪甲苷对结直肠癌细胞HCT116凋亡蛋白表达的影响 与空白组比较,黄芪甲苷处理48 h,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组促凋亡蛋白Bax表达显著增加($P<0.01$),抑凋亡蛋白Bcl-2表达明显减少($P<0.05, P<0.01$),呈浓度依赖性。见图6、表6。

4 讨论

结直肠癌是发病率和死亡率非常高的肿瘤之一^[14]。目前,放化疗作为治疗结直肠癌的常用手段,但是治疗效果不佳,且费用高,因此寻找新的治疗方法迫在眉睫。近年来,中国传统中药在抗肿瘤方面发挥了重要作用。例如,红景天苷对抗肺癌细胞、破坏其结构形态、通过抑制MAPK/ERK1/2信号通路促进细胞凋亡^[15]。牛蒡子苷元抑制鼻咽癌5-8F细胞分泌生长因子影响肿瘤的生长^[16]。

本研究中探讨的黄芪甲苷是一种从天然草药黄芪里提取而来的有机化合物,别名黄芪皂苷IV,其药理作用丰富,因此也广泛用于疾病防治当中。有研究指出,黄芪甲苷可作为肿瘤微环境的调节剂抑制胃癌相关成纤维细胞治癌因子的释放^[15]。此外,黄芪甲苷联合顺铂治疗非小细胞肺癌,增强肿瘤细胞对顺铂药物的敏感性从而更好的诱导细胞凋亡^[17-18]。在本课题研究中,黄芪甲苷干预的结直肠癌HCT116细胞在形态上发生了明显的变化,细胞逐渐降解和凋亡。与此同时,细胞活性也受到了黄芪甲苷的抑制,随着浓度增加,HCT116细胞活力抑制率升高。肿瘤细胞强大的迁移和侵袭能力是区别于人体正常细胞的重要特征。临床上肿瘤的恶性程度与迁移和侵袭程度息息相关^[19-20]。

本研究发现,黄芪甲苷可以一定程度上抑制HCT116细胞的迁移能力和侵袭能力,并且抑制率一致地与药物浓度呈正相关。从结果中可以看到,高浓度组细胞迁移能力下降并且还伴随有细胞凋亡。诱导肿瘤细胞凋亡一直被认为是在治疗肿瘤过程中必不可少的途径。Bcl-2和Bax是凋亡相关蛋白中相互对立的一对基因,事实上Bax是Bcl-2家

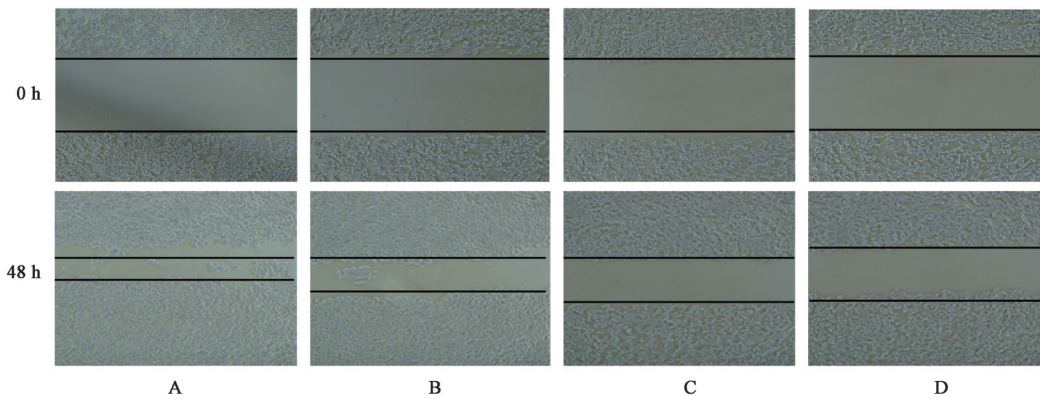


图3 黄芪甲苷对HCT116细胞迁移能力的影响(倒置显微镜,×50)

Fig. 3 Effect of astragaloside IV on migration ability of HCT116 cells(inverted microscope,×50)

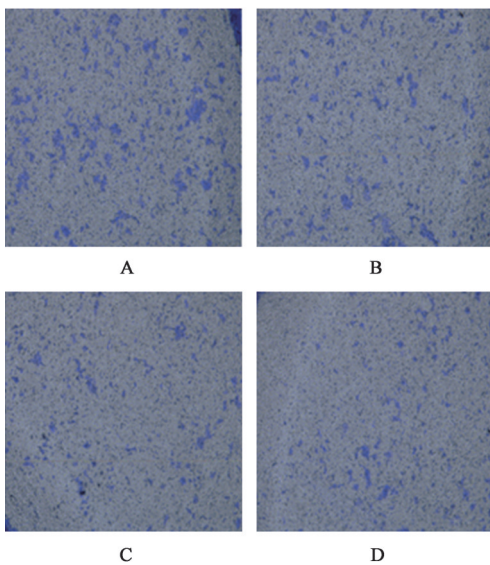


图4 黄芪甲苷对HCT116细胞侵袭能力的影响(结晶紫,×100)

Fig. 4 Effect of astragaloside IV on invasion ability of HCT116 cells(crystal violet,×100)

表4 黄芪甲苷对HCT116细胞侵袭速率的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 Effect of astragaloside IV on invasion rate of HCT116 cells($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	细胞侵袭率/%
空白组		72.23±5.31
黄芪甲苷低质量浓度组	15.7	40.24±3.63 ¹⁾
黄芪甲苷中质量浓度组	31.4	24.61±3.49 ²⁾
黄芪甲苷高质量浓度组	62.8	16.22±3.18 ²⁾

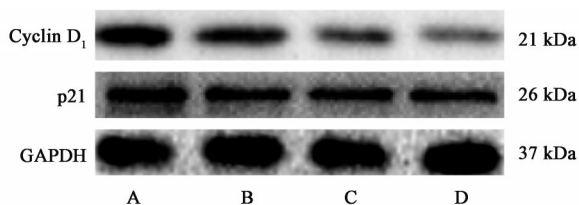


图5 黄芪甲苷作用于HCT116细胞后增殖蛋白电泳

Fig. 5 Electrophoresis of astragaloside IV on proliferation protein of HCT116 cells

表5 黄芪甲苷对HCT116细胞增殖蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 5 Effect of astragaloside IV on proliferation protein expression of HCT116 cells($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	p21 /GAPDH	CyclinD ₁ /GAPDH
空白组		0.84±0.07	0.91±0.06
黄芪甲苷低质量浓度组	15.7	0.67±0.03 ¹⁾	0.79±0.04 ¹⁾
黄芪甲苷中质量浓度组	31.4	0.51±0.05 ²⁾	0.48±0.05 ²⁾
黄芪甲苷高质量浓度组	62.8	0.46±0.03 ²⁾	0.39±0.03 ²⁾

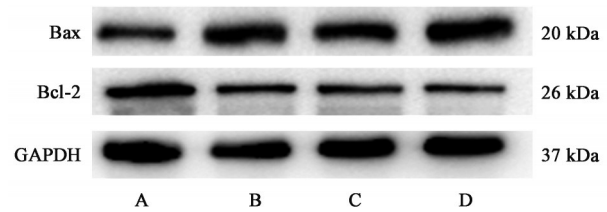


图6 黄芪甲苷作用于HCT116细胞凋亡蛋白表达电泳

Fig. 6 Electrophoresis of astragaloside IV on apoptosis protein expression of HCT116 cells

表6 黄芪甲苷对HCT116细胞凋亡蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 6 Effect of astragaloside IV on apoptosis protein expression of HCT116 cells($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Bax /GAPDH	Bcl-2 /GAPDH
空白组		0.50±0.04	0.89±0.06
黄芪甲苷低质量浓度组	15.7	0.75±0.06 ²⁾	0.71±0.12 ¹⁾
黄芪甲苷中质量浓度组	31.4	0.89±0.02 ²⁾	0.53±0.03 ²⁾
黄芪甲苷高质量浓度组	62.8	0.93±0.03 ²⁾	0.38±0.04 ²⁾

族中重要一员,因此常有将Bax/Bcl-2作为判别细胞凋亡强弱的参考^[19,21-22]。本研究黄芪甲苷诱导Bax蛋白表达,同时抑制Bcl-2蛋白表达,揭示黄芪甲苷具有促进结直肠癌HCT116细胞凋亡的作用。

综上,黄芪甲苷在体外不同程度抑制结直肠癌细胞功能,如细胞活性、增殖、迁移和侵袭能力。

同时黄芪甲苷提高结直肠癌细胞凋亡率,这有可能为结直肠癌的新一代抗癌药物提供理论依据和方向。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 贺红柳. 恶性肿瘤家族史与结直肠癌临床病理特征的相关性[J]. 中国药物与临床, 2021, 21(21): 3632-3633.
- [2] DEKKER E, TANIS P J, VIEUGELS J L A, et al. Colorectal cancer [J]. Lancet (London, England), 2019, 394 (10): 1467-1480.
- [3] 乌日嘎, 宋晓彪, 梁永贵, 等. 结直肠腺瘤发病影响因素的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30 (10): 1235-1244.
- [4] 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2020版) [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(3): 543-553.
- [5] WANG D, ZHANG B, LI Y, et al. Dihydroartemisinin increases apoptosis of colon cancer cells through targeting Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling [J]. Oncol Lett, 2018, 15(2): 1949-1954.
- [6] BILLER L H, SCHRAG D. A review of the diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer-reply [J]. JAMA, 2021, 325(7): 66-85.
- [7] 姜怡, 蔡雨晴, 张朋, 等. 益气养阴解毒方及黄芪甲苷体外对CTLA-4介导的肺癌免疫逃逸的影响[J]. 中成药, 2021, 35(9): 43-45.
- [8] SINGH S P, NONGALLEIMA K, SIINGH C B, et al. Zerumbone reduces proliferation of HCT116 colon cancer cells by inhibition of TNF-alpha [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 4090.
- [9] ZHANG C, LI L, HOU S, et al. Astragaloside IV inhibits hepatocellular carcinoma by continually suppressing the development of fibrosis and regulating pSmad3C/3L and Nrf2/HO-1 pathways [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 279(5): 114350.
- [10] CHENG S, ZHANG X, FENG Q, et al. Astragaloside IV exerts angiogenesis and cardioprotection after myocardial infarction via regulating PTEN/PI3K/Akt signaling pathway [J]. Life Sci, 2019, 227(6): 82-93.
- [11] TAN Y Q, CHEN H W, LI J. Astragaloside IV: An effective drug for the treatment of cardiovascular diseases [J]. Drug Design, Develop Therapy, 2020, 14(8): 3731-3746.
- [12] XU F, CUI W Q, WEI Y, et al. Astragaloside IV inhibits lung cancer progression and metastasis by modulating macrophage polarization through AMPK signaling [J]. J Experiment Clin Cancer Res, 2018, 37 (1): 207.
- [13] 李全志, 郑林静, 刘志强. 黄芪甲苷IV联合紫杉醇通过STAT3-NF- κ B途径对胃癌细胞的作用研究[J]. 实用药物与临床, 2022, 25(1): 21-26.
- [14] ZHAO H, HE M, ZHANG M, et al. Colorectal cancer, gut microbiota and traditional Chinese medicine: A systematic review [J]. Amer J Chin Med, 2021, 49(4): 805-828.
- [15] 李倩, 刘颖, 郭君兰. 红景天苷对人肺癌A549细胞裸鼠移植瘤生长的影响及对MAPK/ERK1/2信号通路的调控作用[J]. 中医学报, 2020, 35(7): 1469-1476.
- [16] 黄栋栋, 卢睿, 何双八. 牛蒡子苷元抑制鼻咽癌5-8F细胞裸鼠移植瘤生长及其分子机制研究[J]. 中国耳鼻喉头颈外科, 2020, 27(9): 503-506.
- [17] WANG Z F, GUANG D. Astragaloside IV inhibits pathological functions of gastric cancer-associated fibroblasts [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(48): 8512-8525.
- [18] ZHANG A L. Astragaloside IV inhibits progression of lung cancer by mediating immune function of Tregs and CTLs by interfering with IDO [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(11): 1883-1890.
- [19] LIU L S, HUO C Y, CAO H H, et al. Aloperine induces apoptosis and G₂/M cell cycle arrest in hepatocellular carcinoma cells through the PI3K/Akt signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2019, 61 (3): 152843.
- [20] LING Z, GUAN H, YOU Z, et al. Aloperine executes antitumor effects through the induction of apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. Onco Targets Ther, 2018, 11: 2735-2743.
- [21] 杨静, 蔡梅. 皮肤恶性肿瘤中p53、Survivin、Bcl-2、Bax、Caspase-3的表达情况及相关性研究[J]. 皮肤病与性病, 2021, 43(4): 463-465.
- [22] TIAN D, LI Y, LI X, et al. Aloperine inhibits proliferation, migration and invasion and induces apoptosis by blocking the Ras signaling pathway in human breast cancer cells [J]. Med Rep, 2018, 518(4): 3699-3710.

[责任编辑 张丰丰]