

苦参碱改构体 X 对人鼻咽癌 CNE1 细胞的凋亡诱导作用

陈俊^{1,2}, 唐安洲^{1,3*}, 谢貌¹, 王立升⁴, 张俊¹, 孙恺¹, 廖婷¹

(1. 广西医科大学, 南宁 530021; 2. 广西中医药大学药学院, 南宁 530001;

3. 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021; 4. 广西大学化学化工学院, 南宁 530004)

[摘要] 目的: 探讨苦参碱改构体 X 体外诱导人鼻咽癌 CNE1 细胞凋亡的作用与机制。方法: 用 0, 29, 58, 116, 232, 464 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 不同剂量改构体 X 处理对数生长期 CNE1 细胞 48 h, 采用 MTT 法检测苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞增殖的抑制作用, 使用流式细胞仪检测改构体 X 对 CNE1 凋亡率和细胞周期的影响, Western blot 法检测改构体 X 对 CNE1 细胞内 Bcl-2、Bax 及 p53 等凋亡过程中相关蛋白表达的影响。结果: 苦参碱改构体 X 作用 CNE1 48 h 后, MTT 结果显示, 改构体 X 对 CNE1 细胞增殖有抑制作用并具有浓度依赖性; 流式细胞仪分析结果显示, 改构体 X 58, 116 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组细胞凋亡率高出苦参碱组 70.02%, 75.73%, 高于阴性对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 细胞周期测定结果显示改构体 X 各剂量组均可不同程度地将 CNE1 细胞周期抑制在 G_1 期, 与阴性对照组相比具差异显著性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Western blot 检测表明, 苦参碱改构体 X 作用 CNE1 48 h 后, 凋亡相关蛋白 Bcl-2 降低, Bax, p53 增加, 与阴性对照组相比有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论: 苦参碱改构体 X 在体外可诱导 CNE1 细胞凋亡, 其促凋亡机制可能与阻滞细胞周期、增加促凋亡蛋白 Bax 和 p53 表达并降低抑制凋亡蛋白 Bcl-2 表达有关。

[关键词] 苦参碱改构体 X; 鼻咽癌; CNE1 细胞; 凋亡; MTT; 流式细胞仪; 免疫印迹

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0266-05

[doi] 10.11653/syfj2013170266

Effect of Matrine Modification X on Apoptosis of Human Nasopharyngeal Carcinoma CNE1 Cells

CHEN Jun^{1,2}, TANG An-zhou^{1,3*}, XIE Mao¹, WANG Li-sheng⁴, ZHANG Jun¹, SUN Kai¹, LIAO Ting¹

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China;

3. First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

4. School of Chemistry and Chemical Engineering of Guangxi University, Nanning 530004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects and mechanism of matrine modification X on inducing apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma CNE1 cells *in vitro*. **Method:** MTT assay was used to measure the anti-proliferative effect of modification X on CNE1. The cell apoptosis rates and cell cycle were analyzed by flow cytometry. The protein expression of Bax, Bcl-2 and p53 was examined by Western blot. **Result:** After incubation of CNE1 cells with modification X for 48 h, the modification X could inhibit the proliferation of CNE1 cells with a dose dependent manner. Flow cytometry analysis revealed the apoptosis rate in 58, 116 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ modification X group was higher than the matrine group by 70.02% and 75.73% respectively, which showed the significant difference compared with the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the control group, Modification X could significantly arrest the cell cycle at G_1 stage ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Western blot showed that the expression of Bax and p53 protein significantly increased by modification X in CNE1 cells, at the same time, the

[收稿日期] 20130415(020)

[第一作者] 陈俊, 博士研究生, 讲师, 从事肿瘤药理学, Tel:0771-3844351, E-mail: JChen321@163.com

[通讯作者] * 唐安洲, 教授, 博士生导师, 从事肿瘤药理学, Tel:0771-5350220, E-mail: anzhou@126.com

expression of Bcl-2 significantly decreased by modification X with a concentration dependent manner ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Modification X could induce apoptosis of CNE1 cells *in vitro*, and the possible mechanism is related to arresting the cell cycle, increasing the Bax and p53 protein expression level and decreasing the Bcl-2 protein expression level.

[**Key words**] matrine modification X; nasopharyngeal carcinoma; CNE1 cells; apoptosis; MTT; flow cytometry; Western blot

鼻咽癌是严重影响人类健康的恶性肿瘤之一;目前治疗鼻咽癌的主要手段为放射治疗,但化学治疗在鼻咽癌病人尤其晚期病例仍占有重要的地位,然而由于化疗药物毒副作用大,往往影响疗程的完成,故寻找针对鼻咽癌更有效、毒副反应更少的药物是临床治疗迫切需要解决的问题之一。

苦参碱具有抗肿瘤作用,可抑制肿瘤细胞增殖和转移,促进凋亡,诱导肿瘤分化,对肝癌、肺癌、胃癌、大肠癌、鼻咽癌和乳腺癌等多种癌细胞具有抑制作用^[1-7]。苦参碱在临床上的应用也非常广泛,但其生物利用率不高,并有一定的中枢神经系统毒副作用,比如惊厥甚至呼吸不规则,严重者可导致死亡。为了降低其毒性和提高生物利用率,研究人员^[8]以苦参碱为先导化合物,通过化学合成方法对其结构进行改造,合成了 20 多个结构新颖的苦参碱衍生物,从中初步筛出比苦参碱具有更高抗肿瘤活性的成分苦参碱改构体 X(14-噻吩基次亚甲基苦参碱,图 1)。本实验旨在前期研究的基础上,进一步研究该改构体对人鼻咽癌细胞株 CNE1 体外增殖和诱导凋亡的影响,并探讨其机制,为开发鼻咽癌治疗的药物提供实验依据。

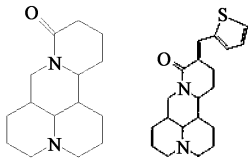


图 1 苦参碱(左)与苦参碱改构体 X(右)

1 材料

1.1 药物与试剂 苦参碱及苦参碱改构体 X 由广西大学王立升教授提供和协助合成,单体纯度 > 98%,用 DMEM 培养液稀释后过滤除菌,4 °C 保存;顺铂注射液(DDP,南京制药厂有限公司),DMEM 培养液和胎牛血清(hyclon 公司),胰蛋白酶(GIBCO 公司),噻唑蓝(MTT)、PBS、二甲基亚砷(DMSO),均购自 Sigma 公司;Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒和细胞周期检测试剂盒(联科试剂公司);细胞裂解液(碧云天公司);抗兔 Bax, Bcl-2 及 p53 一

抗(美国 Proteintech group 公司);HRP 标记山羊抗兔 IgG(美国 Proteintech group 公司);GAPDH(上海康成生物有限公司)。

1.2 细胞株 人鼻咽癌细胞株 CNE1,由中南大学湘雅中心实验室提供,本实验室接种保存。

1.3 仪器 CKX41 型倒置显微镜(Olympus 公司);RT-2100 型酶标仪(美国 Rayto 公司),恒温水浴锅(北京市医疗设备厂);电热鼓风干燥箱(上海市实验仪器总厂);-80 °C 超低温冰箱(美国 Forma 公司);Eppendorff 58108 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorff 公司),2300 型 CO₂ 培养箱(美国 Shellab 公司);EPICS XL 流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 将 CNE1 细胞培养于含 10% 灭活胎牛血清、 $1 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 青霉素和 $1 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ 链霉素的 DMEM 细胞培养液中,置于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱内培养,定期观察,用 $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 胰蛋白酶联合 0.02% EDTA 消化传代。

2.2 细胞毒性实验(MTT 法) 取对数生长期 CNE1 细胞,按每孔 5×10^3 个细胞接种于 96 孔板中,培养 24 h,观察细胞贴壁且生长良好后,加入不同浓度(58, 116, 232, 464 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的苦参碱改构体 X 药液处理;以未加药剂的空白组为阴性组,另设苦参碱组(IC₅₀ 7 247 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$);调零孔,其中阴性对照组加细胞、等体积完全培养基,调零孔只加完全培养基。每个浓度均设 3 个复孔,加药后 37 °C, 5% CO₂ 培养箱内继续孵育 48 h。于终止前 4 h,每孔加入 $12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MTT 溶液 20 μL ,继续孵育 4 h 后弃去上清液,加入 150 μL DMSO,轻轻振荡 10 min,使结晶物完全溶解,于 490nm 波长处在荧光酶联分析仪上测光吸收值(A),计算抑制率(IR)。

$$\text{IR} = (\text{对照孔 } A - \text{实验孔 } A) / \text{对照孔 } A \times 100\%$$

2.3 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡率 将对数生长期的 CNE1 接种于 6 孔培养板中,接种密度为 3×10^5 个/孔,生长至 80% 以上融合度时,分别加入 29, 58, 116 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苦参碱改构体

X,另设阴性组,苦参碱组($7\ 247\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。继续培养 48 h,不含 EDTA 的 $2.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 胰酶消化细胞,吹打使其分散成单个细胞,PBS 洗涤细胞 1 次,加缓冲液 $500\ \mu\text{L}$ 重悬细胞,加入 $5\ \mu\text{L}$ Annexin V-FITC 和 $10\ \mu\text{L}$ PI 混匀,室温避光孵育 5 min,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.4 细胞周期时相检测 将对数生长期的 CNE1 接种于 6 孔培养板中,接种密度为 3×10^5 个/孔,生长至 80% 以上融合度时,实验组分别加入浓度为 $29,58,116\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的苦参碱改构体 X 药液;另设阴性组,苦参碱组($7\ 247\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),各组细胞在 CO_2 培养箱中继续培养 48 h 后取样,用不含 EDTA 的 $2.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 胰酶消化细胞,吹打使其分散成单个细胞,用 PBS 离心洗涤一次,调节每个样品细胞数约为 $2\times 10^6/\text{mL}$,加入 1 mL A 液固定, $10\ \mu\text{L}$ B 液染色,避光孵育 30 min,上机检测,每次设 3 个复孔,重复 3 次。

2.5 Western blot 检测 Bcl-2, Bax, p53 蛋白的表达 分别收集苦参碱改构体 X $29,58,116\ \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ 3 个浓度、苦参碱 $7\ 247\ \mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和培养液作用 48 h 后的 CNE1 细胞, $0.01\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 预冷 PBS 洗细胞 3 次,加入含有 $5\ \mu\text{L}$ PSMF 的 RIPA 缓冲液 $500\ \mu\text{L}$ 冰上裂解细胞 30 min;然后 $4\ ^\circ\text{C}$ $12\ 000\times g$ 离心 15 min;取上清,BCA 试剂盒进行蛋白定量测定蛋白浓度,SDS-PAGE 蛋白缓冲液按照比例混合,煮沸 5 min,立即分装,置 $-20\ ^\circ\text{C}$ 备用。取 $15\ \mu\text{g}$ 蛋白上样,SDS-PAGE 凝胶电泳后转膜至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,抗兔 Bax(1:2 000),抗兔 Bcl-2(1:1 000),抗兔 p53(1:1 000) $4\ ^\circ\text{C}$ 过夜,TBST 洗涤 PVDF 膜 $5\ \text{min}\times 4$ 次,二抗(1:7 500)室温孵育 2 h,TBST 洗涤 $5\ \text{min}\times 4$ 次,ECL 系统显影。GAPDH 作为内参。Image J 软件采集条带灰度值,取目的条带吸光度与内参条带比值为相对表达量。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,药物对细胞的 IC_{50} 系根据药物浓度对细胞的抑制率建立的线性回归方程确定; t 检验显著性差异。 $P<0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞的抑制作用 图 2 显示了 CNE1 细胞经苦参碱改构体 X 处理后的受抑制情况;各处理浓度对鼻咽癌细胞的生长均具有明显抑制作用,呈明显的剂量-效应关系,最大抑制率达 93.3%,经计算改构体 X 对细胞株 CNE1 的 IC_{50} (125.88 ± 1.53) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

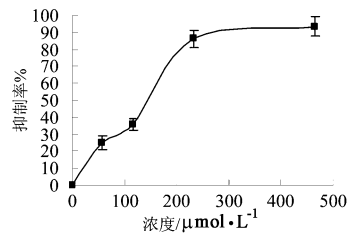


图 2 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞增殖的抑制作用($\bar{x}\pm s, n=3$)

3.2 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞凋亡率的影响 $29,58,116\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 不同浓度苦参碱改构体 X 剂量组作用 CNE1 细胞 48 h 后细胞凋亡率分别为 4.73%, 11.00%, 11.37% (表 1), 各剂量组能有效诱导 CNE1 细胞凋亡,与阴性组 2.83% 相比显著性提高($P<0.05, P<0.01$)。苦参碱组作用 CNE1 细胞 48 h 后细胞凋亡率为 6.47%,与阴性组相比达极显著性差异水平,但仅为改构体 X 中、高剂量组凋亡率的 56% 左右;表明改构体 X 对 CNE1 细胞凋亡的诱导作用强于苦参碱。

表 1 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞凋亡诱导作用($\bar{x}\pm s, n=3$)

分组	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	凋亡率/%
阴性对照	-	2.83 ± 0.42
苦参碱改构体 X	29	$4.73\pm 0.25^{1)}$
	58	$11.00\pm 0.36^{1)}$
	116	$11.37\pm 0.47^{1)}$
苦参碱	7 247	$6.47\pm 0.61^{1)}$

注:与阴性对照组比较¹⁾ $P<0.01$,²⁾ $P<0.05$ (表 2~4 同)。

3.3 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞周期时相的影响 流式细胞仪分析显示(表 2):改构体 X $29,58,116\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组的 G_1 期细胞分别高于对照组 G_1 期细胞 44.39%, 50.87%, 61.75%;相对于阴性对照组,苦参碱改构体 X 各浓度组均可显著性地将 CNE1 细胞阻滞于 G_1 期($P<0.05, P<0.01$),且随改构体 X 浓度的增加,其阻滞作用逐渐增强;同时 S, G_2 期细胞分别显著性低于对照组。苦参碱也可使 CNE1 细胞阻滞于 G_1 期($P<0.05, P<0.01$),但其阻滞作用低于苦参碱改构体 X 各剂量组,同时, G_2 期细胞与对照组无显著性差异。

3.4 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞 Bax, Bcl-2 和 p53 蛋白表达的影响 苦参碱改构体 X 作用 CNE1 细胞 48 h 后,细胞内 Bax, p53 蛋白含量随浓度的增大而升高,3 种浓度处理下与阴性组相比均具统计学意义($P<0.05, P<0.01$),具一定的剂量依赖性;苦参碱处理后 Bax 也表现出高于阴性组($P<0.01$),而 p53 未表现出统计学差异;改构体 X 中、

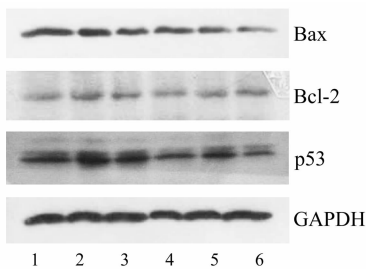
表 2 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞周期时相的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分组	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	G ₁ 期	S 期	G ₂ 期
阴性对照	-	54.90 ± 0.89	23.33 ± 1.64	19.43 ± 1.30
苦参碱改构体 X	29	79.27 ± 1.23 ¹⁾	6.93 ± 1.11 ¹⁾	12.22 ± 0.88 ¹⁾
	58	82.83 ± 0.87 ¹⁾	11.23 ± 0.60 ¹⁾	1.92 ± 0.10 ¹⁾
	116	88.80 ± 1.39 ¹⁾	6.56 ± 0.31 ¹⁾	3.35 ± 0.30 ¹⁾
苦参碱	7 247	65.53 ± 1.50 ¹⁾	15.33 ± 0.78 ¹⁾	18.83 ± 0.91

表 3 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞 Bax, Bcl-2 和 p53 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分组	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Bax	Bcl-2	p53
阴性对照	-	0.516 ± 0.020	0.572 ± 0.017	0.720 ± 0.035
改构体 X	29	0.798 ± 0.034 ¹⁾	0.471 ± 0.066 ²⁾	0.939 ± 0.110 ¹⁾
	58	0.919 ± 0.042 ¹⁾	0.427 ± 0.043 ¹⁾	1.106 ± 0.066 ¹⁾
	116	0.995 ± 0.040 ¹⁾	0.325 ± 0.020 ¹⁾	1.215 ± 0.043 ¹⁾
苦参碱	7 247	0.695 ± 0.029 ¹⁾	0.396 ± 0.008 ¹⁾	0.850 ± 0.045

高浓度组与苦参碱组细胞 Bcl-2 含量均显著低于阴性组 ($P < 0.01$), 改构体 X 低浓度组也表现出显著差异 ($P < 0.05$)。见表 3, 图 3。



1. 苦参碱改构体 X ($29 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组;
2. 苦参碱改构体 X ($58 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组;
3. 苦参碱改构体 X ($116 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组; 4. 顺铂 ($6.67 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组;
5. 苦参碱 ($7 247 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组; 6. 阴性对照组

图 3 苦参碱改构体 X 对 CNE1 细胞 Bax, Bcl-2 和 p53 蛋白表达的影响

4 讨论

苦参碱作为多种中药的有效成分之一, 具有重要的生物学活性, 如抗癌、抗病毒、抗纤维化、免疫调节等多种药理作用。凋亡调控失常可导致细胞增生失衡, 常被认为是肿瘤形成的机制之一, 而促肿瘤细胞凋亡是目前抗肿瘤药物发挥作用的主要方式之一; 有报道苦参碱可促进肿瘤细胞^[4-7] 凋亡, 但苦参碱改构体 X 是否与苦参碱有同样的促凋亡作用未见报道。

李海英等^[5] 研究苦参碱抗鼻咽癌细胞 CNE2 作用时, 其 48 h IC_{50} 为 $710 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 李静雨等^[6] 研究苦参碱改构体 X 对 CNE2 细胞 48 h 的 IC_{50} 为 $106.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 本研究中测出苦参碱及其改构体 X 对

CNE1 细胞 48 h 的 IC_{50} 分别为 $7 247, 125.88 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 可见改构体 X 对抗鼻咽癌细胞的细胞毒性强于苦参碱, 提示苦参碱经结构改造后可使其生物活性得到明显提高。

细胞周期是细胞的基本生命活动, 很多化疗药物就是通过阻滞正常细胞周期的激活靶点, 从而起到抑制肿瘤细胞分裂增殖的目的^[9]。细胞周期作为一个抗肿瘤药物作用的新靶点正在受到越来越多学者的关注和认可^[10-11], 细胞周期作为化疗药物作用的靶点被认为可以最大限度地减少耐药、突变及毒性的发生机会^[12], 本实验通过流式细胞仪检测细胞加药前后细胞周期时相分布结果显示: 苦参碱改构体 X 处理细胞 48 h 后, 各浓度组的细胞周期 G₁ 期细胞含量与对照组相比明显增加, 随浓度递增含量亦随之增加, 表现出细胞被阻滞于 G₁ 期, 从而抑制了细胞分裂, 达到细胞增殖抑制作用。流式细胞仪检测细胞凋亡结果显示: 与对照组相比, 各浓度组具有明显的促进凋亡作用, 其凋亡率表现出了剂量依赖性。

目前普遍认为细胞凋亡与细胞的分裂、分化类似, 受细胞内多种基因的调控; 在众多凋亡基因中, Bcl-2 基因家族对控制细胞的凋亡发挥着重要作用, 其中抗凋亡基因 Bcl-2 和促凋亡基因 Bax 是该家族的代表成员。p53 基因被认为是目前人类肿瘤中最常发生变化的基因, 其翻译的 p53 蛋白是细胞生长的“监控器”, 在细胞发生 DNA 损伤情况下, 诱导下游 p21, Mdm2 和 Bax 等蛋白的表达, 这些下游蛋白可以调节细胞的周期和凋亡, 使细胞停滞在 G₁ 期,

若损伤不能修复,便可启动细胞的程序性死亡过程引起细胞凋亡^[13-15]。关于 Bax, Bcl-2 和 p53 蛋白表达间的相互关系,以往研究证实, p53 具有促进细胞凋亡作用,这一作用是通过抑制 Bcl-2 蛋白表达和功能来实现的; p53 蛋白能特异的抑制 Bcl-2 的表达,相反对 Bax 的表达则有明显的促进作用。本实验检测凋亡相关基因蛋白的表达,结果提示其促凋亡机制可能是通过下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 和上调促凋亡蛋白 Bax, p53 的表达来促进 CNE1 细胞的凋亡来实现的。

本研究结果提示,苦参碱改构物 X 与苦参碱同样具有促进人鼻咽癌细胞株 CNE1 凋亡的作用,但前者用量更低,作用更强,这可能与改构衍生物的脂溶性提高,更易透过细胞膜有关,苦参碱改构物 X 促进 CNE1 细胞凋亡的作用机制可能与上调 p53 蛋白表达,继而使得抑制凋亡基因 Bcl-2 下调、促凋亡基因 Bax 上调,细胞生长周期停滞在 G₁ 期,从而促进 CNE1 细胞凋亡的作用有关。

[参考文献]

[1] 王晓燕,梁磊,邓虹珠,等. 苦参碱体外诱导人结肠腺癌 SW620 细胞凋亡的实验研究[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28 (3):432.

[2] 刘丽敏,刘华钢,毛俐,等. 苦参碱和氧化苦参碱体外对肿瘤细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(11):35.

[3] 肖硕. 苦参碱多种抗癌功效研究进展[J]. 实用医学杂志, 2010, 26 (24):4605.

[4] 王铁军,李绍平,简家荣,等. 苦参碱抗肿瘤作用研究作用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10 (4):52.

[5] 李海英,张力,吴式琇,等. 苦参碱抗人鼻咽癌细胞株 CNE2 细胞的作用及其机制研究[J]. 浙江中医杂

志, 2009, 44(1):27.

[6] 李静雨,唐安洲,王立升,等. 苦参碱改构体 X 抑制鼻咽癌细胞 CNE2 增殖作用的实验研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(17):13.

[7] 申志华,揭伟,陈锦,等. 苦参碱对鼻咽癌细胞 CNE1-GL 增殖及转移相关能力的影响[J]. 实用癌症杂志, 2008, 23(2):126.

[8] 王立升,尤叶君,王松青,等. 苦参碱衍生物的合成、表征和体外抗肿瘤活性[A]. 中国化学会. 中国化学会第 28 届学术年会第 6 分会场摘要集[C]. 中国化学会, 2012:1.

[9] Chovolou Y, Watjen W, Kampkotter A, et al. Downregulation of NF-kappaB activation in a H4IIE transfectant insensitive to doxorubicin -induced apoptosis [J]. Toxicology, 2007, 232(1/2):88.

[10] Schwartz G K, Shah M A. Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy [J]. J Clin Oncol, 2005(23):9408.

[11] Vermeulen K, Van Bockstaele D R, Berneman Z N. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer [J]. Cell Prolif, 2003, (16):131.

[12] Mc Donald E R, Deiry W S. Cell cycle control as a basis for cancer drug development [J]. Int J Oncol, 2000, (16):871.

[13] Ko L J, Prives C. P53: puzzle and paradigm [J]. Genes Dev, 1996, 10(9):1054.

[14] el-Deiry W S, Tokino T, Velculescu V E, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression [J]. Cell, 1993, 75(4):817.

[15] Zhang H, Hannon G J, Beach D, et al. p21-containing cyclin kinases exist in both active and inactive states [J]. Genes Dev, 1994, 8 (15):1750.

[责任编辑 聂淑琴]