

β -榄香烯注射液对人肝癌 HepG2 细胞微管系统的影响

毛雨秋, 高山, 付海雁, 崔晓楠*

(大连医科大学第一附属医院肿瘤科, 辽宁大连 116011)

[摘要] **目的:**探讨 β -榄香烯对人肝癌细胞 HepG2 生长抑制作用及微管系统的影响。**方法:**将实验分为对照组(未加药物)与实验组(不同浓度 β -榄香烯注射液 0.02, 0.04, 0.08 g·L⁻¹组);采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法测定 β -榄香烯对 HepG2 细胞增殖的影响,流式细胞技术分析肿瘤细胞周期时相分布,激光共聚焦显微技术观察 β -榄香烯处理的 HepG2 细胞内微管的表达、分布;逆转录-多聚酶链反应技术(RT-PCR)观察微管蛋白 β mRNA 水平表达;采用蛋白免疫印迹法(Western-blot)分析微管蛋白 β 蛋白水平的表达、聚合和未聚合微管蛋白含量的变化。**结果:**0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02, 0.01 g·L⁻¹的 β -榄香烯注射液对 HepG2 细胞增殖具有抑制作用,抑制效应呈时间和浓度依赖性;将细胞阻滞在 S 期。激光共聚焦分析表明, β -榄香烯不同浓度作用的 HepG2 细胞微管网络异常; β -榄香烯注射液抑制 HepG2 细胞 β 微管蛋白 mRNA 表达,呈浓度依赖性。蛋白免疫印迹显示 β -榄香烯能抑制微管蛋白 β 的表达,同时抑制细胞内微管蛋白的聚合,呈浓度依赖性。**结论:** β -榄香烯注射液能够抑制人肝癌细胞 HepG2 增殖,下调微管蛋白 β 的表达,抑制 HepG2 细胞内微管的聚合可能是造成 HepG2 细胞生长抑制的因素之一。

[关键词] β -榄香烯; 肝癌; 微管; 微管蛋白 β ; 微管聚合

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0211-05

[doi] 10.11653/syfy2013100211

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130308.1042.006.html>

[网络出版时间] 2013-03-08 10:42

Effects of β -elemene on Microtubule System of Human Hepatocarcinoma HepG2 Cells

MAO Yu-qiu, GAO Shan, FU Hai-yan, CUI Xiao-nan*

(Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of β -elmene on the growth of human hepatocarcinoma HepG2 cells and the effect on microtubular. **Method:** Proliferation of HepG2 cells was evaluated by MTT assay. Cell cycle of HepG2 cells was analyzed by flow cytometry. The expression and distribution of microtubule in HepG2 cells were investigated by confocal microscopy. The mRNA expression of β -tubulin was detected by RT-PCR. Immunoblotting analysis was used to determine protein expression of β -tubulin and the proportion of polymerization of tubulin. **Result:** β -elmene inhibited the proliferation of HepG2 cells in a dose-dependent and time-dependent manner, and induce tumor arrested cells at S-phase. Confocal microscopy showed an abnormal microtubular network in HepG2 cell treated with β -elmene. RT-PCR and Western-blot analysis showed that β -elmene down-regulated β -tubulin at both mRNA and protein level. The mRNA expression of β -tubulin in the observed groups were lower than that in the control group and presented a dose-dependent manner. Further analysis by immunoblotting confirmed the down-regulation of β -elmene on the expression for β -tubulin in a dose-dependent manner. Moreover, β -elmene

[收稿日期] 20121029(020)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173615)

[第一作者] 毛雨秋, 硕士研究生, 从事肿瘤淋巴道转移及中药抗肿瘤药效基础研究

[通讯作者] * 崔晓楠, 博士, 教授, 从事肿瘤淋巴道转移及中药抗肿瘤药效基础研究, Tel: 0411-83635963-3209, E-mail: cxn23@sina.com

reduced the proportion of polymerization of microtubule in a dose-dependent manner. **Conclusion:** β -elmene could inhibit the proliferation of HepG2 cells, down-regulation of the expression of β -tubulin and inhibit the microtubular polymerization might be one of mechanism that β -elmene contribute to growth inhibition of HepG2 cell.

[**Key words**] β -elmene; hepatocarcinoma; microtubule; β -tubulin; microtubule polymerization

β -榄香烯(β -elmene)是从姜科植物温莪术干燥根茎中提取的有效单体,为我国自主研发抗肿瘤药物。临床应用证实, β -榄香烯注射液对多种肿瘤细胞具有较强的抑制和杀伤效应,呈现广谱、高效、副作用小的抗肿瘤特点^[1-3],尤为引人注目的是化疗非敏感肿瘤如肝癌疗效突出。微管是细胞骨架的重要组成部分,由 α 和 β 两种微管蛋白异二聚体聚合而成的管状聚合物,在细胞生长、细胞形态维持、细胞信号转导以及有丝分裂过程中都起着重要作用,是目前重要的药效靶位之一^[4-5]。基础研究表明, β -榄香烯具有诱导肿瘤细胞凋亡、阻断细胞周期、抑制信号传导通路等作用。然而有关 β -榄香烯与肿瘤微管系统的关系,罕见报道。作者以人肝癌 HepG2 细胞为研究对象。观察了 β -榄香烯对 HepG2 细胞增殖及微管系统的影响。为阐述 β -榄香烯抗肿瘤抑制及探讨有效抗肿瘤药物奠定基础。

1 材料

1.1 细胞株 人肝癌细胞株 HepG2 从中国科学院上海细胞研究所购买。

1.2 药物与试剂 β -榄香烯(纯度 >99%,大连金港制药有限公司,批号 0508031),四甲基偶氮唑蓝(MTT, Biosharp 公司)、二甲基亚砜(Amersco 产品)、RT-PCR 试剂盒(Takara 公司)、 β -微管蛋白兔抗人多克隆抗体(美国 Santa cruz 公司,批号 SC-9104)、辣根酶标记山羊抗兔 IgG(北京中山金桥生物有限公司,批号 87987)、小鼠抗 β -actin 单抗(北京中山金桥生物有限公司,批号 1120111)。

1.3 仪器 流式细胞仪(Becton Dickinson 公司 FACs),层流超净工作台(Forma Scientific 公司),三蒸水蒸馏器(上海本波仪器有限公司);GD8000-凝胶成像分析系统(UVP 公司),Thermo 高速低温离心机(Sigma 公司),稳压稳流型电泳仪(北京六一仪器厂),SP-2102UV 型紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 将 HepG2 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 IMDM 培养基中,于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 、饱和湿度的孵箱中培养,每 2 d 换 1 次液,用 0.25% 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期细胞用于实验。

2.2 观察细胞增殖状态 取对数生长期的 HepG2 细胞(0.6×10^4 个)接种于 96 孔培养板,24h 后加入不同质量浓度(0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02, 0.01 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)的 β -榄香烯注射液,同时设含 IMDM 全培养基的空白对照组,每个浓度设 4 个复孔,分别培养 1, 2, 3 d。每孔加入 5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MTT 液 20 μL ,避光 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 4 h,弃培养液,每孔加入 150 μL DMSO 震荡溶解后于 570 nm/630 nm 测吸光度(A)。按公式计算不同浓度的药物对肿瘤细胞生长的抑制率(IR),并用抑制率绘制统计图;实验重复 3 次。

2.3 肿瘤细胞周期时相分布分析 取对数生长期的 HepG2 细胞稀释至 2×10^6 个种植于培养瓶,24 h 后分别加入不同质量浓度(0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)的 β -榄香烯注射液培养 24 h,0.25% 的胰蛋白酶消化后 1 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,弃上清,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次,加 70% 的冷乙醇固定,4 $^\circ\text{C}$ 固定过夜。PBS 洗 2 次,离心(1 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min)弃去上清,加入 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 RNA 酶 25 μL ,置 37 $^\circ\text{C}$ 30 min,再加入 1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PI 染料 25 μL ,4 $^\circ\text{C}$ 避光静置 30 min 后在流式细胞仪上对细胞凋亡和细胞周期进行荧光检测及分析(激发波长 562 nm,发射波长 630 nm)。本实验重复 3 次。

2.4 激光共聚焦分析 将无菌的清洁盖玻片置于 24 孔板中,对数生长期细胞以 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 密度接种,24 h 细胞贴壁后,分别加入不同质量浓度(0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)的 β -榄香烯作用 HepG2 细胞 24 h,弃培养液,PBS 清洗 1 次后每孔加入 0.5 mL 4% 的多聚甲醛溶液,室温固定 30 min,加入抗 β -微管蛋白抗体,室温湿盒孵育 1 h,PBS 洗涤 3 次,每次 5 min,加入 FITC 标记的羊抗兔 IgG 室温孵育 1 h,PBS 避光洗涤、封片后激光共聚焦显微镜下观察、照相。本实验重复 3 次。

2.5 微管蛋白 β mRNA 水平的表达检测 不同质量浓度(0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)的 β -榄香烯作用 HepG2 细胞 24 h 收集细胞,分别提取细胞总 RNA,定量后逆转录,逆转录产物进行聚合酶链反应(PCR),GAPDH 为内参照。 β -tubulin 的上游引物 5'-TGCATTGACAACGAGGC-3',下游引物 5'-CTGTCTTGACATTGTTG-3',扩增片段 454 bp。

GAPDH 上游引物 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGT-3', 下游引物 5'-GAAGATGGTGATGGG ATT TC-3', 扩增片段 226 bp。PCR 反应条件变性温度 94 ℃, 30 s, 退火温度 56 ℃, 60 s, 延伸温度 72 ℃, 60 s, 共 35 个循环;PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外透视仪下观察电泳带, 一次性成像仪扫描成像并进行灰度分析。实验重复 3 次。

2.6 微管蛋白 β 蛋白水平表达检测 不同浓度 (0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) β -榄香烯注射液作用 HepG2 细胞 24 h, 收集细胞常规方法提取总蛋白, 蛋白样品采用 Bradford 法测定总蛋白含量, SDS-PAGE 电泳, 分离胶体积分数为 8% ~ 12%, 每孔上样 50 μg , 电泳完毕后经电转移至 PVDF 膜上, 室温封闭 1 h, 以 β -微管蛋白兔抗人多克隆抗体 4 ℃ 过夜, PBS/T 洗涤后, 用辣根酶标记山羊抗兔 IgG (1:3 000) 室温孵育 1 h, 最后进行 ECL 试剂反应, X 射线胶片曝光 1 ~ 5 min 后显影, 胶片晾干、扫描、照相。实验重复 3 次。

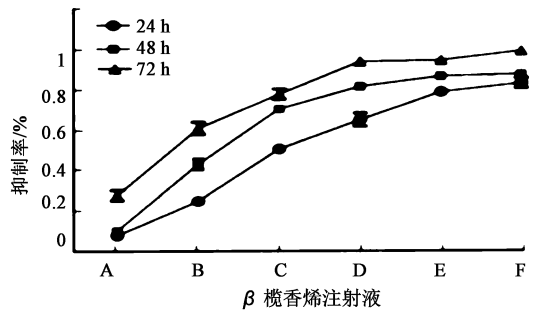
2.7 聚合微管检测 参照文献 [6] 的方法检测聚合微管的比例。0.2% 胰酶消化收集不同质量浓度 (0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) β -榄香烯注射液作用 24 h 的 HepG2 细胞, PBS 清洗 2 次, 在 1.5 mL 离心管中加入 200 μL 低渗裂解液 [1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EGTA, 0.5% NP 40, 2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ phenylmethylsulfonyl fluoride, 10 μL 蛋白酶抑制剂, and 20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, (pH 6.8)], 37 ℃ 避光裂解 10 min, 14 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 室温离心 10 min, 分别收集上清和沉淀。上清中即含有可溶性的微管蛋白, 沉淀用 100 μL 低渗缓冲液重悬, 此部分的上清中含有原来聚合的微管蛋白。蛋白免疫印迹法分析同 2.6。

2.8 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间分析采用单因素方差检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

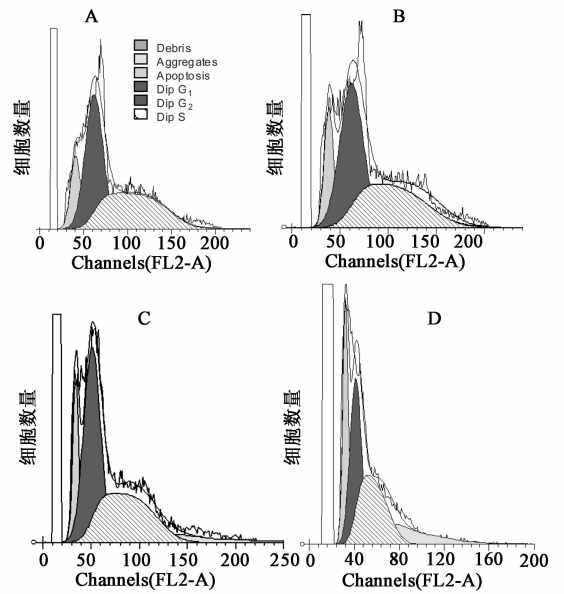
3.1 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用 采用 MTT 方法观察 β -榄香烯注射液对 HepG2 细胞增殖的抑制作用, 结果表明, 随着药物浓度增大、作用时间增加, 药物对 HepG2 细胞增殖抑制率增加, 表现为剂量依赖性和时间依赖性 (图 1)。

3.2 对肿瘤细胞周期时相分布的影响 收集不同浓度 β -榄香烯作用 24 h 的 HepG2 细胞和相应时间点的对照组细胞, 进行 PI 染色, 流式细胞仪分析 β -榄香烯对肿瘤细胞周期时相分布的影响。结果表



β -榄香烯注射液: A. 0.01 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; B. 0.02 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; C. 0.04 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; D. 0.06 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; E. 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; F. 0.1 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

明, 药物作用后, 肿瘤细胞 S 期分布比例显著增高, 与对照组差异显著 ($P < 0.05$), (图 2)。

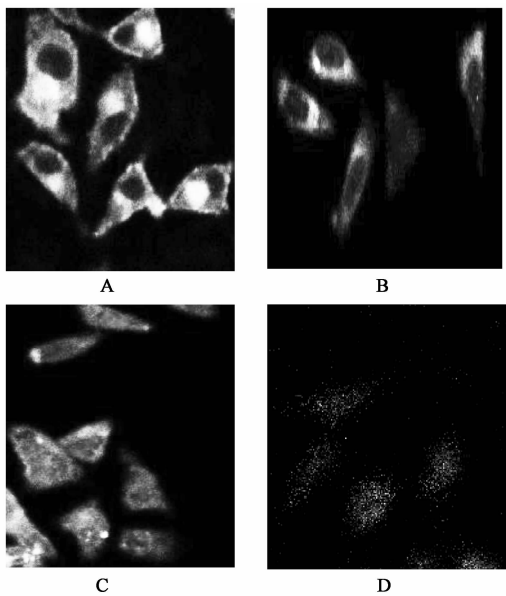


A. 对照组; B-D. 0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; β -榄香烯作用后的肿瘤细胞 (图 3, 5, 6 同)

图 2 流式细胞术检测 β -榄香烯注射液对 HepG2 细胞周期的影响

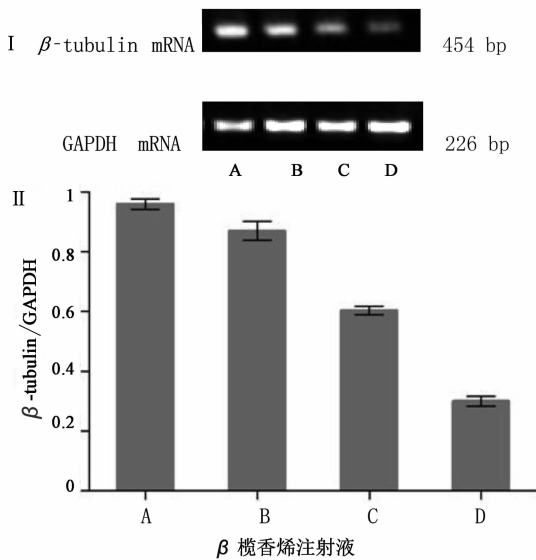
3.3 激光共聚焦检测 图 3 显示未经药物作用的 HepG2 细胞微管呈正常的绿色毛玻璃样分布。不同浓度 (0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 β -榄香烯作用于 HepG2 细胞 24 h, 随着药物浓度增加细胞内绿色荧光网络稀疏, 强度明显减弱 (图 3B, C, D)。

3.4 对 β -微管蛋白 mRNA 水平表达的影响 不同浓度 (0.02, 0.04, 0.08 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 β -榄香烯作用于 HepG2 细胞 24 h, 采用 RT-PCR 分析肿瘤细胞 β -微管蛋白 mRNA 水平表达, 结果表明, 随着药物浓度的加大, β -微管蛋白 mRNA 表达减弱 ($P < 0.05$), 表现出浓度依赖性 (图 4)。



图中标尺为 10 μm × 600

图 3 激光共聚焦检测 β-榄香烯对 HepG2 细胞微管的影响



A 为空白对照组; B-D 分别为 0.02, 0.04, 0.08 g·L⁻¹ β-榄香烯作用后的肿瘤细胞; GAPDH 为内参

图 4 I 为 RT-PCR 法检测 β-榄香烯对 β-微管蛋白 mRNA 水平表达的影响; II 为不同浓度 β-榄香烯注射液作用 HepG2 细胞 24 h 后 β-微管蛋白 mRNA 水平表达半定量分析 (GAPDH 为内参, $\bar{x} \pm s, n=3$)

3.5 对 β-微管蛋白水平表达的影响 β-榄香烯作用后, HepG2 细胞 β-微管蛋白与 GAPDH 蛋白条带吸光度比值, 低、中、高浓度依次为 0.383 ± 0.014 , 0.281 ± 0.019 , 0.174 ± 0.010 , 显著低于对照组的 0.412 ± 0.020 ($P < 0.05$), 作用呈现浓度依赖性 (图 5)。

3.6 聚合微管免疫印迹检测 图 6 显示随着 β-榄香烯浓度的增加, 聚合的微管蛋白比例渐下降 (由

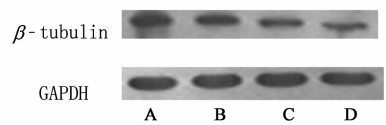
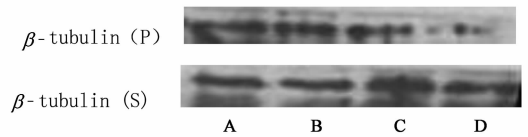


图 5 β-榄香烯对 β-tubulin 蛋白水平表达的影响 (GAPDH 为内参) 于药物作用后微管蛋白含量下降, 药物处理组酌情增加了蛋白上样量) 的比例依次为 39.8%, 37%, 25%, 11.3%。各组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果表明, 不同浓度的 β-榄香烯抑制细胞内微管蛋白的聚合, 并随着作用浓度的增加, 其对细胞内微管蛋白聚合的抑制作用呈增加的趋势。



P. 聚合的微管蛋白; S. 未聚合的可溶性微管蛋白

图 6 β-榄香烯对聚合微管蛋白和可溶性微管蛋白表达的影响

4 讨论

作为中国原发研制的抗肿瘤药物, 我国学者对 β-榄香烯的研究多于西方学者^[7]。目前对 β-榄香烯抗肿瘤机制的研究多涉及药物对肿瘤细胞凋亡、细胞周期、细胞周期阻滞、细胞信号转导、肿瘤新生血管生成、转移等方面的影响^[8-14]。然而, β-榄香烯对肿瘤微管系统的研究报道较少。

细胞微管系统对细胞形态的维持、细胞信号的传导、细胞生长分化都具有重要意义。微管由 β 和 β 微管蛋白组装成长管状异二聚体结构, 依赖于微管蛋白二聚体不断的聚合与解聚而处于一种装配与去装配的动态平衡中, 是近年抗肿瘤药物的重要靶向目标之一^[15]。临床应用广泛的一线抗肿瘤药物紫杉醇^[2]、多西紫杉醇、长春新碱^[3]等都是通过促进微管聚合或解聚实现肿瘤细胞杀伤机制。临床观察表明 β-榄香烯对肝癌的疗效突出, 并且能够改善患者生存质量与化疗有协同作用^[16-17], 然而机制有待探讨。目前临床缺乏有效的肝癌治疗药物, 肝癌化疗药物有效率均在 20% 以下。靶向药物在肝癌治疗中尚处于试验阶段, 并且并无显著疗效优势^[18], 笔者观察了 β-榄香烯对肝癌增殖及微管系统的影响。本研究结果证实, β-榄香烯能够抑制 HepG2 细胞的增殖, 具有时间依赖性和剂量依赖性, 将肿瘤细胞阻滞于 S 期, 下调微管蛋白 β 蛋白表达, 同时抑制微管的聚合。

传统以微管靶点的抗肿瘤药物, 如紫杉醇, 长春新碱, 秋水仙碱为 G₂/M 期阻滞药物, 通过阻滞肿瘤

细胞有丝分裂,实现凋亡机制^[19],而近年来发现的一些能有效的抑制微管装配的化合物,如环状乙基酯系列衍生物、天然产物 Artelastin、 β -谷甾醇等则是 S 期阻滞药物^[20-23]与笔者的实验结果一致。研究者将这些化合物实现 S 期阻滞的机制解释为药物影响与微管结合的线粒体进而影响 ATP/ADP 的转换和能量供应,因此引起 S 期的延长。 β -榄香烯通过何种机制引起肿瘤细胞 S 期阻滞有待进一步研究深入阐述。

综上所述 β -榄香烯注射液可抑制 HepG2 细胞增殖,将其阻滞于 S 期,影响微管蛋白 β 表达及微管的聚合可能为药效机制之一。

[参考文献]

- [1] Yang F Q, Li S P, Chen Y, et al. Identification and quantitation of eleven sesquiterpenes in three species of Curcuma rhizomes by pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2005, 39(3/4): 552.
- [2] Zhou Xin, Li Zhangwan, Liang Guangyi, et al. Analysis of volatile components of Curcuma sichuanensis X. X. Chen by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43(2): 440.
- [3] Zhang H Y, HU C X, Liu C P, et al. Screening and analysis of bioactive compounds in traditional Chinese medicines using cell extract and gas chromatography - mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43(1): 151.
- [4] Magdalena Gorka, Włodzimierz M, Daniewski, et al. Autophagy is the dominant type of programmed cell death in breast cancer MCF-7 cells exposed to AGS 115 and EFDAC, new sesquiterpene analogs of paclitaxel [J]. Anti-Cancer Drugs, 2005, 16(7): 777.
- [5] Benjamin Nicholson, G Kenneth Lloyd. NPI-2358 is a tubulin-depolymerizing agent: in-vitro evidence for activity as a tumor vascular-disrupting agent [J]. Anti-Cancer Drugs, 2006, 17(1): 25.
- [6] Kavallaris Maria, Tait A S, Walsh B J, et al. Multiple microtubule alterations are associated with vinca alkaloid resistance in human leukemia cells [J]. Cancer Res, 2001, 61(15): 5803.
- [7] 袁子民, 赵琳, 王静, 等. HPLC 测定 β 榄香烯冻干制剂中主药的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 64.
- [8] Li X, Wang G, Zhao J, et al. Antiproliferative effect of β -elemene in chemoresistant ovarian carcinoma cells is mediated through arrest of the cell cycle at the G₂-M phase [J]. Cell Mol Life Sci, 2005, 62(7/8): 894.
- [9] G Wang, X Li, F Huang, et al. Antitumor effect of β -elemene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death [J]. Cell Mol Life Sci, 2005, 62(7/8): 881.
- [10] Tao Lei, Zhou Liang, Zheng Luying. Elemene displays anti-cancer ability on laryngeal cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2006, 58(1): 24.
- [11] Chen Zhihang, Song Yanxia, Che Jinjing, et al. Validation of a sensitive gas chromatographic-mass spectrometric method for the simultaneous determination of β -elemene and β -elemenal in human plasma [J]. J Chromatogra B, 2009, 877(4): 408.
- [12] Peng Xiaoxia, Zhao Yali, Liang Xiaoyun, et al. Assessing the quality of RCTs on the effect of β -elemene, one ingredient of a Chinese herb, against malignant tumors [J]. Contemp Clin Trials, 2006, 27(1): 70.
- [13] Sun Yanhong, Liu Guifeng, Zhang Yuangqing, et al. Synthesis and *in vitro* anti-proliferative activity of β -elemene monosubstituted derivatives in HeLa cells mediated through arrest of cell cycle at the G₁ phase [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(3): 1118.
- [14] Xu Liying, Tao Shujuan, Wang Xianming, et al. The synthesis and anti-proliferative effects of β -elemene derivatives with mTOR inhibition activity [J]. Bioorg Med Chem, 2006, 14(15): 5351.
- [15] 刘义, 吴科锋, 李延平. 川陈皮素体外对微管蛋白聚合的影响 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(18): 2113.
- [16] 易成, 吴万垠, 叶剑飞. 榄香烯肝动脉灌注治疗原发性肝癌 [J]. 中药药理与临床, 1998, 14(2): 44.
- [17] 陈乃杰, 金源, 刘燕珠, 等. 榄香烯为主治疗原发性肝癌 43 例临床观察 [J]. 福建医药杂志, 1996, 18(5): 19.
- [18] 陈华, 孙宇, 崔晓楠. 华蟾素注射液对人肝癌 HepG-2 细胞 DNA 拓扑异构酶 I 的影响 [J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(3): 197.
- [19] 刘同祥, 张艳平, 徐羽, 等. 紫杉醇联合三尖杉宁碱诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9): 115.
- [20] 王莉, 杨永杰, 陈松华, 等. β -谷甾醇对子宫颈癌细胞微管系统的影响 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86(39): 2771.
- [21] Davis A, Jiang J D, Middleton K M, et al. Novel suicide ligands of tubulin arrest cancer eHs in S-phase [J]. Neoplasia, 1999, 16(1): 498.
- [22] Jiang J D, Denner L, Ling Y H, et al. Double blockade of cell cycle at G₁-S transition and M phase by 3-iodoacetamido benzoyl ethylester, a new type of tubulin ligand [J]. Cancer Res, 2002, 62(21): 6080.
- [23] Pedro M, Ferreira M M, Cidade H, et al. Artelastin is a cytotoxic prenylated flavone t11at disturbs microtubules and interferes with DNA replication in MCF-7 human breast cancer cells [J]. Life Sci, 2005, 77(3): 293.

[责任编辑 聂淑琴]