

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.24.004

速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响 *

周金爱^{1,2} 余 军^{1,3} 黄东萍³ 吴 睿⁴ 刘 欣^{1,2} 臧 宁^{1,2,Δ}

(1 广西医科大学生命科学研究院 广西 南宁 530021; 2 广西艾滋病防治研究重点实验室 广西南宁 530021;

3 广西医科大学公共卫生学院 广西 南宁 530021; 4 广西科技经济开发中心 广西南宁 530022)

摘要 目的:探讨速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞的抑制增殖作用及凋亡的影响。**方法:**采用 MTT 法检测速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖抑制作用; 采用流式细胞仪 Annexin V-FITC/PI 检测速生桉叶水溶提取物处理后 HepG2 细胞凋亡的情况。**结果:**MTT 分析显示,当细胞培养 24 h 时,稀释 5、10 倍 HepG2 细胞抑制率分别为 $(47.32 \pm 1.11)\%$ 、 $(15.76 \pm 3.50)\%$;当细胞培养 48 h 时,稀释 5、10 倍 HepG2 细胞抑制率分别为 $(44.13 \pm 10.93)\%$ 、 $(25.93 \pm 8.37)\%$;当细胞培养 72 h 时,稀释 5、10 倍 HepG2 细胞抑制率分别为 $(59.47 \pm 6.90)\%$ 、 $(41.02 \pm 4.27)\%$ 。流式细胞术结果显示,速生桉叶水溶提取物稀释 30 倍时可诱导 31.03% 的 HepG2 细胞进入早期凋亡阶段,随着稀释倍数的减少被诱导进入凋亡阶段的细胞数目逐渐升高。另外,随着水溶提取物作用时间的延长,进入凋亡阶段的细胞数目也逐渐升高。**结论:**速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖与凋亡具有量-效、时-效关系。

关键词:速生桉; HepG2; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号: R-33; R282.71; Q949.95 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2018)24-4623-05

Effects of Leaf Water Extract from Fast-Growing *Eucalyptus Robusta* on Proliferation and Apoptosis of Human Hepatoma HepG2 Cells*

ZHOU Jin-ai^{1,2}, YU Jun^{1,3}, HUANG Dong-ping³, WU Rui⁴, LIU Xin^{1,2}, ZANG Ning^{1,2,Δ}

(1 Life Sciences Institute, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China; 2 The Key Laboratory of AIDS Prevention and Research, Nanning, Guangxi, 530021, China; 3 Public health of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi, 530021, China;

4 The center of Guangxi science and technology economic development, Nanning, Guangxi, 530022, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of the leaf of Fast-growing eucalyptus extract on the proliferation and apoptosis of human hepatoma HepG2 cells. **Methods:** MTT assay was used to measure the leaf of Fast-growing eucalyptus extract on HepG2 cells activity. The cell apoptosis of HepG2 cells were determined by flow cytometry Annexin V-FITC/PI. **Results:** As the results of MTT showed, HepG2 cells were cultured for 24 h, the inhibition rates of HepG2 cells diluted 5 and 10 times were $(47.32 \pm 1.11)\%$ and $(15.76 \pm 3.50)\%$, respectively. When HepG2 cells were cultured for 48 h, the inhibition rates of HepG2 cells diluted 5 and 10 times were respectively $(44.13 \pm 10.93)\%$ and $(25.93 \pm 8.37)\%$. When HepG2 cells were cultured for 72 h, the inhibition rate of HepG2 cells diluted 5 and 10 times was $(59.47 \pm 6.90)\%$ and $(41.02 \pm 4.27)\%$. The flow cytometry showed that after incubated with the leaf of fast-growing eucalyptus extract for diluted 30 times, the early of apoptosis were 30.03%. The ratios of apoptotic increased with concentration diluted times decreased, and it was in a time-dependent manner. Moreover, the ratios of apoptotic increased with the time prolonged of the leaf of fast-growing eucalyptus extract, and it was in a dose-dependent manner. **Conclusion:** The leaf of fast-growing eucalyptus extract can inhibit proliferation and induced apoptosis on HepG2 Cells in a time-and dose-dependent manner.

Key words: Fast-growing eucalyptus; HepG2 Cells; Proliferation; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R282.71; Q949.95 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)24-4623-05

前言

速生桉是澳洲湿性硬叶常绿阔叶林(Wet-sclerophyllous forests)的优势树,其适应性强,抗逆性显著,因其具有很好的经济价值^[1],从 1890 年起在广西壮族自治区(以下简称广西)开始进行大面积速生桉人工林种植。肝细胞肝癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是严重危害人类健康的常见病和多发病,在

我国其死亡率在所有肿瘤中居于第 3 位^[2],发病率和死亡率呈现逐年上升的趋势^[3]。据报道,广西肝癌的发病率在肿瘤登记地区居于第二位,中标发病率为 36.93/10 万、中标死亡率为 30.29/10 万高于全国水平(中标发病率为 18.15/10 万、中标死亡率为 15.65/10 万)^[4]。目前,肝癌除了早期手术外,无有效的治疗方法,因此开发新药对肝癌的治疗尤为重要。

据文献报告,速生桉叶含有大量有效的成分,可用于医药

* 基金项目:广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能 1598025-12);广西研究生教育创新计划项目(YCSW2018118)

作者简介:周金爱(1994-),硕士研究生,研究方向:植物毒理学, E-mail: 1004638911@qq.com

Δ 通讯作者:臧宁(1968-),博士,副教授,研究方向:植物分子定量诊断技术, E-mail: 1979616281@qq.com

(收稿日期:2018-06-21 接受日期:2018-07-26)

用途。体外抗菌实验显示,速生桉叶对革兰氏阳性细菌具有抑制作用,对白喉杆菌素、破作风杆菌及真菌具有较强的解毒作用^[6]。速生桉叶具有许多的生理活性,如祛痰、止咳、驱风、发汗、驱虫、镇痛等^[7]。速生桉还具有抗肿瘤的作用^[8-11]。国外研究显示,速生桉水溶提取物对胰腺癌细胞的生长具有抑制的作用,100 $\mu\text{g/mL}$ 两种不同种类速生桉水溶提取物作用于 MIA PaCa-2 细胞后,抑制率分别 $(77.91 \pm 4.93)\%$ 、 $(62.04 \pm 7.47\%)$ ^[12]。然而,速生桉叶水提取物对 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响鲜有报道。

本研究采用 MTT 法检测速生桉水溶提取物对 HepG2 细胞增殖的影响,通过流式细胞术检测其对 HepG2 细胞凋亡的影响。为阐明速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖和凋亡影响的研究机制奠定基础,发现速生桉叶在肝癌治疗上具有一定的药用价值,为药物治疗肝癌在临床上应用提供理论基础和实验依据。

1 材料和方法

1.1 速生桉叶水溶提取物

速生桉叶采集地为广西南宁市郊区的桉树林,选取位于速生桉树中部叶龄为 3 年生树叶,叶片大小控制为叶长 8~17 cm,叶宽 3~7 cm。速生桉叶片经蒸馏水冲洗,风干、剪碎并称量,按照 1:6 的重量加水煎煮 1 h 后,速生桉水溶提取液经滤纸过滤,2000 $\times$ g,30 min 常温离心后取上清,最后用 0.45 μm 滤膜过滤残渣得到完全澄清的速生桉叶水溶提取物。

1.2 细胞

人肝癌细胞系 HepG2 细胞来源于广西艾滋病防治研究重点实验室。

1.3 试剂及耗材

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司;二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma 公司;DMEM 细胞培养基、10%的胎牛血清(FBS)、100 $\mu\text{g/mL}$ 青霉素、100 U/mL 链霉素均购自 Gibco 公司;无菌 PBS 购自 Hy-cHyClone 公司;96 孔细胞培养板购自 Greiner Bio-One 公司,6 孔细胞培养板购自 Costar 公司。AnnexinV-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Affymetrix 公司。

1.4 仪器

多功能酶标仪(BioTek);二氧化碳培养箱(Thermo)、ST40R 高速低温离心机(Thermo)、超低温冰箱(Thermo)、Microfuge 18 低速离心机(Beckman Coulter);流式细胞仪(Beckman Coulter);荧光显微镜(Olympus)、光学显微镜 IX70(Olympus)。

1.5 方法

1.5.1 细胞培养方法 人肝癌细胞系 HepG2 细胞用 DMEM 培养基(含 10%灭活的胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素)培养于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度培养箱中。

1.5.2 细胞 MTT 实验 取对数生长的细胞,以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 的密度接种于 96 孔板,每孔 100 μL 。试验设阴性对照组(含 PBS)、实验组和空白组。实验组含有细胞培养基、MTT、经稀释后不同浓度(0、5、10、30 倍)速生桉叶水溶提取物;阴性对照组含有细胞的培养基、MTT、不含药物;空白组不含细胞。每组设

5 个复孔,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 饱和湿度孵箱内培养过夜,分别加入含药物或不含药物的培养基 100 μL ,加入药物后分别培养 24 h、48 h、72 h。每孔加入 1XMTT 液(1 mg/mL)50 μL ,培养 4 h 后,吸弃培养液,每孔加入 150 μL 二甲基亚砜(DMSO),轻度振荡 10 min,溶解结晶,置酶标仪 550 nm 波长处测 OD 值。按下列公式计算细胞存活率,细胞存活率($\%$)= [(药物处理组 A550- 空白组 A550)/(阴性对照组 A550- 空白组 A550)] $\times$ 100%。据此,我们以 HepG2 细胞作为模型,以不同速生桉水溶提取物浓度和速生桉水溶提取物的不同作用时间作为梯度进行实验。

1.5.3 流式细胞术(Annexin V/PI 双染色法) 以每孔 100 万细胞种在 6 孔细胞培养板,细胞贴壁后,弃上清。予每孔细胞不同浓度(0、5、10、30 倍稀释)的速生桉叶水溶提取物,每孔速生桉叶水溶提取物与培养液的比例为 1:10 孵育 12 h、24 h、48 h 和 72 h 后用 0.25%胰酶收集所有细胞,用预冷的 PBS 洗 2 次后,用 200 μL $1 \times$ Binding Buffer 重悬,加入 5 μL Annexin V-FITC 到 195 μL 细胞混合液,混匀,室温孵育 10 min。用 200 μL $1 \times$ Binding Buffer 缓冲液洗 2 次。加入 10 μL 碘化丙啶(PI)(20 $\mu\text{g/mL}$)避光孵育 20 min 后立即进行流式细胞仪检测,计算细胞早晚期凋亡率。

1.6 统计学分析方法

采用 IBM SPSS 22.0 软件对数据进行处理和统计学分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行不同组间的比较,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖的抑制作用

MTT 结果显示,当细胞培养 24 h 时,稀释 0、5、10、30 倍细胞抑制率分别为 $(85.20 \pm 2.81)\%$ 、 $(47.32 \pm 1.11)\%$ 、 $(15.76 \pm 3.50)\%$ 、 $(12.11 \pm 4.72)\%$;当细胞培养 48 h 时,稀释 0、5、10、30 倍细胞抑制率分别为 $(81.59 \pm 3.61)\%$ 、 $(44.13 \pm 10.93)\%$ 、 $(25.93 \pm 8.37)\%$ 、 $(17.37 \pm 7.72)\%$;当细胞培养 72 h 时,稀释 0、5、10、30 倍细胞抑制率分别为 $(92.44 \pm 1.53)\%$ 、 $(59.47 \pm 6.90)\%$ 、 $(41.02 \pm 4.27)\%$ 、 $(27.94 \pm 0.38)\%$ 。细胞培养 24 h 时,稀释 5 倍与稀释 10 倍相比,HepG2 细胞抑制率差异具有统计学意义($P < 0.01$)。随着作用时间缩短和浓度的降低,细胞抑制率呈下降趋势。见图 1。

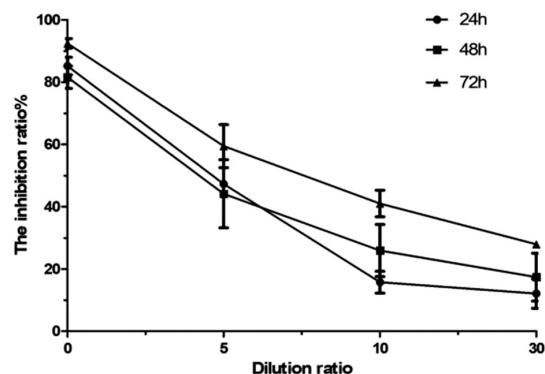


图 1 速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖的影响

Fig.1 Effects of the leaf of fast-growing eucalyptus extract on the proliferation of HepG2 cells

2.2 不同时间水平速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞凋亡的影响

在流式细胞术双参数散点图上,左下象限显示活细胞(LL: Annexin V-/PI-);右下象限为早期凋亡细胞(LR: Annexin V+/PI-);右上象限为晚期凋亡细胞(UR: Annexin V+/PI+);而左上象限是非活细胞,即坏死细胞(UL: Annexin V-/PI+)。速生桉

叶水溶提取物作用于 HepG2 细胞 12 h、24 h、48 h、72 h 时,早期细胞凋亡率分别为 5.61%、7.22%、17.83%、39.39%;晚期细胞凋亡率分别为 0.68%、0.38%、1.67%、3.57%。随着速生桉叶水溶提取物作用时间延长,早期细胞凋亡率与晚期细胞凋亡率均呈上升趋势。见图 2。

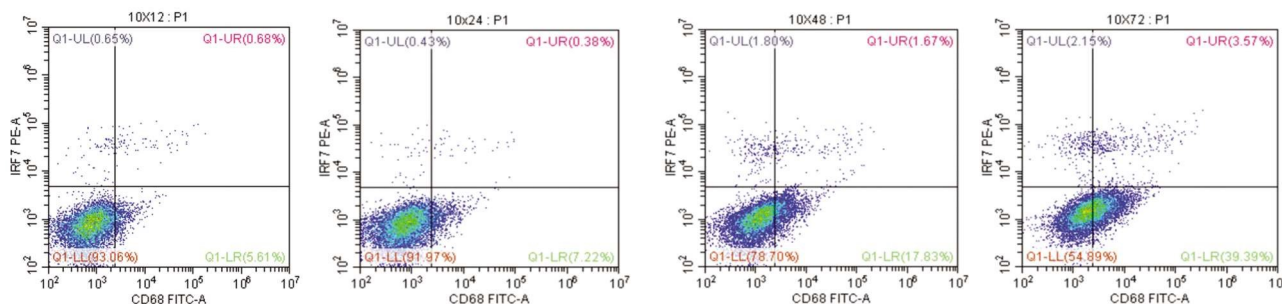


图 2 不同时间水平速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞凋亡的影响

Fig.2 Effects of the leaf of fast-growing eucalyptus extract on the apoptosis with different time

2.3 不同浓度速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞凋亡的影响

速生桉叶水溶提取物作用于 HepG2 细胞 48 h 时,速生桉叶水溶提取物稀释 0、5、10、30 倍时,早期细胞凋亡率分别为 3.75%、48.91%、33.86%、31.03%;晚期细胞凋亡率分别为

94.22%、2.40%、3.62%、2.19%。随着速生桉叶水溶提取物作用浓度降低,早期细胞凋亡率与晚期细胞凋亡率均呈下降趋势。反之,随着速生桉叶水溶提取物作用浓度升高,早期细胞凋亡率与晚期细胞凋亡率均呈上升趋势。见图 3。

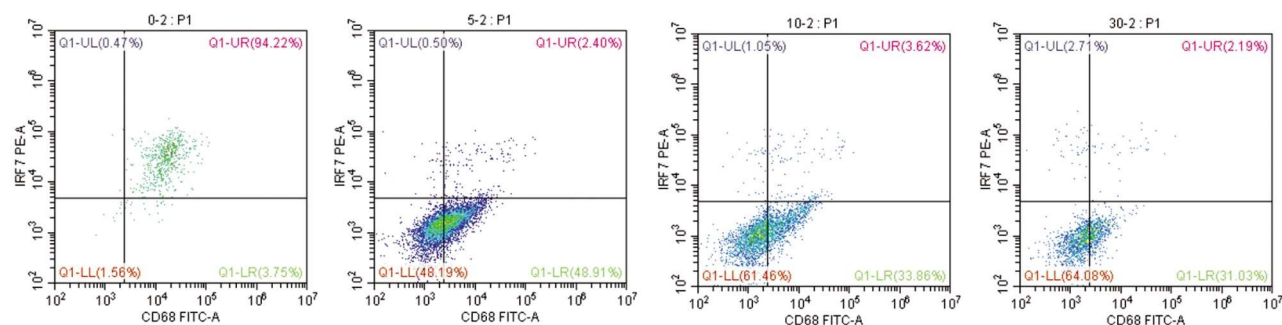


图 3 速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞凋亡诱导作用的剂量相关性

Fig.3 Quantitative correlation of leaf of fast-growing eucalyptus extract on the apoptosis induction of HepG2 cells

3 讨论

近年来,天然植物水提取物,如雷公藤、大黄素、紫杉醇和姜黄素等通过抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞的凋亡,达到治疗肿瘤目的的研究越来越多^[13-16]。研究表明,部分中草药成分可以通过抑制肿瘤细胞的增殖,诱导肿瘤细胞的凋亡,调节机体免疫功能等方面达到治疗肿瘤的目的^[17]。例如,苦参碱可能通过调控氨基酸代谢、能量代谢等途径抑制肝癌细胞的增殖^[18]。姜黄素通过下调 PIK/AKT/mTOR 信号通路的活性,抑制人肝癌细胞系 HL-7702 增殖,诱导细胞凋亡^[19]。因此,挖掘更多的抗肿瘤植物化合物是抗肿瘤药物研发的方向,是提高肿瘤患者生存率的可行之路。速生桉叶具有止痛、止咳、抗炎的作用,也能抑制肿瘤细胞的增殖和促进肿瘤细胞凋亡。根据研究显示,速生桉对皮肤癌、乳腺癌和白血病具有较好的抗癌作用^[20-22]。

广西是我国肝癌的高发区域,其肝癌的发病率、死亡率远高于全国的水平。近年来,由于我国逐渐进入老龄化的社会,使得肝癌的死亡率进一步上升。肝癌已经成为影响广西居民健康

与经济的主要负担之一^[23]。目前,大约 70%的肿瘤患者被发现时已处于晚期,这类患者不适合手术治疗,常需要采用放疗、化疗或生物治疗等^[24]。因此,寻找新的治疗方法以获得更好的治疗效果很重要。细胞凋亡即程序性死亡,在调节机体正常发育和维持稳态中具有重要的作用。肿瘤的发生发展与细胞失控性增殖和肿瘤细胞逃逸凋亡存在密切的关系。因此,诱导肿瘤细胞凋亡是研究治疗肿瘤的热门领域。本文基于此研究速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响,发现速生桉叶水溶提取物也可抑制 HepG2 细胞的增殖并能诱导 HepG2 细胞凋亡,并具有时间和剂量依赖性。

本研究显示,速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞的增殖具有抑制效果,且随着作用时间和浓度的增加,抑制效果越加明显。结果提示,速生桉叶水溶提取物对 HepG2 细胞增殖具有量-效、时-效关系。国外学者^[25]对速生桉提取物进行化学分析,发现速生桉提取物对 SW-620(结肠癌细胞)、HOP-62(人非小细胞肺癌细胞)、PC-3(人前列腺癌细胞)、OVCAR-5(人卵巢癌细胞)、HeLa(人宫颈癌细胞)、IMR-32(人神经母细胞瘤细

胞)和 HEP-2(喉表皮样癌细胞)7 个不同组织的人癌细胞系的增殖有抑制作用,具有剂量依赖性。这一研究结果与本文的研究结果相似。细胞凋亡是机体正常细胞由于受到内外因素影响触发细胞内预存的死亡程序而导致细胞死亡的过程^[26]。细胞凋亡作为细胞死亡的方式之一,与肿瘤的发生、发展与转归有着密切的关系^[27]。研究显示,若能诱导肿瘤细胞的凋亡,可抑制肿瘤的发生、发展^[28,29]。因此,诱导肿瘤细胞的凋亡成为研究抗肿瘤药物的重要方向。本研究流式细胞术结果显示,随着速生桉叶水溶提取物作用时间延长,早期细胞凋亡率与晚期细胞凋亡率均呈上升趋势。同时,随着速生桉叶水溶提取物作用浓度升高,早期细胞凋亡率与晚期细胞凋亡率均呈上升趋势。结果提示,速生桉叶水溶提取物诱导细胞凋亡具有量-效与时-效关系。有研究显示^[30]速生桉树皮具有抗肿瘤和诱导肿瘤细胞凋亡的作用,在显微镜下可见核碎裂,通过电泳检测发现老鼠癌细胞 DNA 断裂条带。杨阳等^[31]采用流式细胞术检测香叶木素作用于 HepG2 细胞后研究细胞凋亡变化发现,香叶木素可诱导 HepG2 细胞凋亡,且随着香叶木素药物浓度的增加,早期凋亡及晚期凋亡的细胞数逐渐增加,且具有一定的浓度依赖性。本研究显示速生桉叶水溶提取物可抑制 HepG2 细胞增殖与诱导 HepG2 细胞凋亡,可认为速生桉叶水溶提取物是治疗肝癌的潜在药物。

综上所述,速生桉叶水溶提取物可抑制 HepG2 细胞增殖与诱导 HepG2 细胞凋亡,并显示出量-效、时-效关系。但还需探讨速生桉水溶提取物诱导 HepG2 细胞凋亡可能的作用机制,同时通过动物实验对此结论进一步验证,为速生桉叶治疗肝癌提供科学依据。

参考文献(References)

- [1] 黄花香. 论大规模种植速生桉的利弊及应对策略 [J]. 种子科技, 2017, 35(7): 48+50
Huang Hua-xiang. Discussion on the advantages and disadvantages of the leaf of fast-growing eucalyptus and coping strategies[J]. Seed Science & Technology, 2017, 35(7): 48+50
- [2] 陈少雄,刘杰锋.科学经营持续改良巴西桉树领先的法宝:巴西桉树人工林高产经营考察报告[J]. 桉树科技, 2012, 29(1): 1
Chen Shao-xiong, Liu Jie-feng. Scientific management and continually improving breeding, the magic key of leading Brazilian eucalypt plantation in the world[J]. Eucalypt Science, 2012, 29(1): 1
- [3] 魏矿荣,彭侠彪,梁智恒.全球肝癌流行概况[J]. 中国肿瘤, 2015, 24(8): 621-630
Wei Kuang-rong, Peng Xia-biao, Liang Zhi-heng. Liver cancer epidemiology worldwide[J]. China Cancer, 2015, 24(8): 621-630
- [4] Chen Wang-qing, Zheng Rong-shou, Zhang Si-wei, et al. Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2017, 29(1): 1-10
- [5] 陈万青,郑荣寿,张思维,等.2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 1-7
Chen Wan-qing, Zheng Rong-shou, Zheng Si-wei, et al. Report of cancer incidence and mortality in china, 2013[J]. China Cancer, 2017, 26(1): 1-7
- [6] 谈满良,周立刚,汪治,等.桃金娘科植物抗菌成分的研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(1): 225-229
Tan Man-liang, Zhou Li-gang, Wang Yi, et al. Research progress on antibacterial components of Myrtaceae [J]. Journal of Northwest A & F University(Natural Science Edition), 2005, 33(1): 225-229
- [7] 陈默,余永莉.桉叶油的化学成分及其生物活性研究进展[J]. 中国现代医药杂志, 2014, 16(4): 97-100
Chen Mo, Yu Yong-li. Advances of eucalyptus oil in chemical constituents and bioactivity [J]. Modern Medicine Journal of China, 2014, 16(4): 97-100
- [8] 罗锦红.溪黄草与桉树叶的体外抑菌试验[J]. 广西畜牧兽医, 2016, 32(2): 62-63+86
Luo Jin-hong. In vitro bacteriostasis test of xanthophyll and eucalyptus leaves [J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry, 2016, 32(2): 62-63+86
- [9] Bhuyan D J, Vuong Q V, Bond D R, et al. Eucalyptus microcorys leaf extract derived HPLC-fraction reduces the viability of MIA PaCa-2 cells by inducing apoptosis and arresting cell cycle [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 105: 449-460 [Epub ahead of print]
- [10] Pham T A, Shair M I, Vu V T, et al. Phloroglucinol derivatives from the fruits of Eucalyptus globulus and their cytotoxic activities [J]. Chem Biodivers, 2018, 15(6): e1800052
- [11] Bhuyan D J, Sakoff J, Bond D R, et al. In vitro anticancer properties of selected Eucalyptus species[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2017, 53(7): 604-615
- [12] Bhuyan D J, Vuong Q V, Bond D R, et al. Exploring the least studied Australian eucalypt genera: corymbia and angophora for phytochemicals with anticancer activity against pancreatic malignancies[J]. Chem Biodivers, 2017, 14(3): 1-8
- [13] Chen Y, Li J, Chen S, et al. Nab-paclitaxel in combination with cisplatin versus docetaxel plus cisplatin as first-line therapy in non-small cell lung cancer[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 10760
- [14] Shahabipour F, Caraglia M, Majeed M, et al. Naturally occurring anticancer agents targeting EZH2 [J]. Cancer Letters, 2017, 400: 325-335
- [15] Zhang J Y, Lin M T, Tung H Y, et al. Bruceine D induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia K562 cells via mitochondrial pathway[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(4): 819-826
- [16] Pan X, Wang H, Tong D, et al. Physcion induces apoptosis in hepatocellular carcinoma by modulating miR-370 [J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(12): 2919-2931
- [17] Qian D, Bao J L, Zhao W W, et al. Natural autophagy regulators in cancer therapy: a review[J]. Phytochem Rev, 2015, 14(1): 137-154
- [18] 王珂欣,高丽,周玉枝,等.苦参碱抗肝癌细胞增殖的 1H-NMR 代谢组学研究[J]. 中草药, 2017, 48(20): 4275-4283
Wang Ke-xin, Gao Li, Zhou Yu-zhi, et al. 1H-NMR-based metabolomics study on antiproliferative effect of matrine in human hepatoma cells [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(20): 4275-4283
- [19] 邓进巍,刘燕,郭辛翔,等.姜黄素下调 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制人肝癌细胞系增殖[J]. 基础医学与临床, 2016, 36(9): 1274-1279
Deng Jin-wei, Liu Yan, Guo Xin-xin, et al. Curcumin inhibits proliferation of human hepatoma cell line via down-regulation of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. Basic & Clinical Medicine, 2016, 36(9): 1274-1279

- [20] Lee J, Ha S J, Park J, et al. 1,8-cineole prevents UVB-induced skin carcinogenesis by targeting the aryl hydrocarbon receptor[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(62): 105995-106008
- [21] Shang Z C, Yang M H, Jian K L, et al. 1H NMR-guided isolation of formyl-phloroglucinol meroterpenoids from the leaves of eucalyptus robusta[J]. *Chemistry*, 2016, 22(33): 11778-11784
- [22] Vuong Q V, Chalmers A C, Jyoti B D, et al. Botanical, phytochemical, and anticancer properties of the Eucalyptus species [J]. *Chem Biodivers*, 2015, 12(6): 907-924
- [23] Jemal A, Center M M, Desantis C, et al. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(8): 1893-1907
- [24] Peckradosavljevic M. Drug therapy for advanced-stage liver cancer [J]. *Liver Cancer*, 2014, 3: 125-131
- [25] Bhagat M, Sharma V, Saxena A K. Anti-proliferative effect of leaf extracts of Eucalyptus citriodora against human cancer cells in vitro and in vivo[J]. *Indian J Biochem Biophys*, 2012, 49(6): 451-457
- [26] 高薇,侯微,李伟,等.细胞凋亡机制研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2014, 41(10): 150-156
- Gao Wei, Hou Wei, Li Wei, et al. Research progression cell apoptosis mechanism [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2014, 41(10): 150-156
- [27] 时贞颂,于大永,彭倩,等.金花茶种子诱导人子宫颈癌 HeLaS3 细胞凋亡及其作用机理的研究[J]. *广西植物*, 2013, 33(1): 112-117
- Shi Zhen-song, Yu Da-yong, Peng qian, et al. Potential mechanism of Camellia chrysantha seeds-induced apoptosis in human cervical cancer HeLaS3 cell[J]. *Guihaia*, 2013, 33(1): 112-117
- [28] Radogna F, Dicato M, Diederich M. Cancer-type-specific crosstalk between autophagy, necroptosis and apoptosis as a pharmacological target[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 94(1): 1-11
- [29] Song M, Bao H, Bau T. FPOA induces the apoptosis of HepG2 cells [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(3): 2649-2654
- [30] Islam F, Khatun H, Khatun M, et al. Growth inhibition and apoptosis of Ehrlich ascites carcinoma cells by the methanol extract of Eucalyptus camaldulensis[J]. *Pharm Biol*, 2014, 52(3): 281-90
- [31] 杨阳,林满洲,黄艺文,等.香叶木素诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡及周期阻滞的机制研究[J]. *海南医学*, 2016, 27(3): 354-357
- Yang Yang, Lin Man-zhou, Huang Yi-wen, et al. Promoting effect of Diosmetin on the cell cycle arrest and cell apoptosis in HepG2 cell and its mechanism[J]. *Hainan Medical Journal*, 2016, 27(3): 354-357

(上接第 4646 页)

- [13] 戴伟钢,董文广.microRNAs与肿瘤代谢研究进展[J]. *消化肿瘤杂志:电子版*, 2013, 5(4): 270-274
- Dai Wei-gang, Dong Wen-guang. Advances in the research of microRNAs and tumor metabolism [J]. *Journal of Digestive Oncology (Electronic Version)*, 2013, 5(4): 270-274
- [14] 李伟,刘敏,郑军华.作为新型肿瘤标志物的分泌性 miRNAs[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2013, 33(6): 808-814
- Li Wei, Liu Min, Zheng Jun-hua. Secretory miRNAs as a new tumor marker[J]. *International Journal of Urology and Nephrology*, 2013, 33(6): 808-814
- [15] Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival [J]. *Cancer Research*, 2004, 64(11): 3753-3756
- [16] Shell S, Park S M, Radjabi A R, et al. Let-7 expression defines two differentiation stages of cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(27): 11400-11405
- [17] Kumar M S, Erkeland S J, Pester R E, et al. Suppression of non-small cell lung tumor development by the let-7 microRNA family [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(10): 3903-3908
- [18] 张绪鑫,邹海波,刘进衡,等.Lin28B/let-7 信号通路参与胰腺癌化疗药物耐药性机制的实验研究[J]. *四川医学*, 2017, 38(2): 124-130
- Zhang Xu-xin, Zou Hai-bo, Liu Jin-heng, et al. Lin28b/Let-7 Pathway Involves in The Induction of Gemcitabine Drug Resistance of Pancreatic Cancer[J]. *Sichuan Medical Journal*, 2017, 38(2): 124-130
- [19] 王晔,刘敏,顾禾.miR-124a 靶向 TGFBR1 基因对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. *解剖科学进展*, 2016, (5): 516-519
- Wang Ye, Liu Min, Gu He. Effect of miR-124a targeting TGFBR1 gene on proliferation and invasion of breast cancer cells [J]. *Progress of Anatomical Sciences*, 2016, (5): 516-519
- [20] 李文晶,冯同保,戚春建.miR -124 参与紫杉醇诱导的乳腺癌细胞株 MCF -7 生长抑制[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2014, 28(4): 289-293
- Li Wen-jing, Feng Tong-bao, Qi Chun-jian. MiR -124 participates in the growth inhibition of paclitaxel induced breast cancer cell line MCF -7[J]. *Practical Oncology Journal*, 2014, 28(4): 289-293
- [21] Tian N, Han Z, Li Z, et al. Lin28 /let-7/Bcl-xL pathway: the underlying mechanism of drug resistance in Hep3B cells [J]. *Oncology Reports*, 2014, 32(3): 1050-1056