

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.15.046

· 专论与综述 ·

紫草素在消化系统肿瘤中的抗癌机制研究进展*

梁文全 陈 凇[△] 郝洪庆 蔡爱珍 崔建新 张珂诚 胡 翀

(中国人民解放军总医院普外科 北京 100853)

摘要: 消化系统肿瘤是威胁我国居民生命健康的重要杀手,其发病率和死亡率均占全部肿瘤的 50 % 左右,研发高效安全的抗肿瘤药物是治疗消化系统肿瘤的基础。植物提取物是抗肿瘤药物的重要来源,紫草素(Shikonin)是一种存在于紫草科植物根茎中的药物成分,它对消化系统肿瘤细胞具有显著的杀伤效果。本文通过检索最近 10 年紫草素在消化系统肿瘤中发挥抗癌作用的相关文献,对紫草素及其衍生物在消化系统肿瘤中的抗癌机制进行系统归纳整理,并分析了今后紫草素应用于临床治疗消化系统肿瘤的研究方向,为进一步探索紫草素在消化系统肿瘤中的抗癌机制研究和新药研发提供理论依据。

关键词: 消化系统肿瘤;紫草素;抗癌机制

中图分类号: R273;R735 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)15-2977-04

Anticancer Research Progress of Shikonin in Neoplasms of Digestive System*

LIANG Wen-quan, CHEN Lin[△], XI Hong-qing, CAI Ai-zhen, CUI Jian-xin, ZHANG Ke-cheng, HU Chong

(Department of General Surgery, Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing, 100853, China)

ABSTRACT: Neoplasms of digestive system are great killers that threaten the residents' life and health in our country, of which the morbidity and mortality account for about 50 % of all tumors. Developing effective anti-tumor drugs is the foundation of treating digestive system cancer. Plant extracts are important sources of anticancer drugs. Shikonin is a pharmaceutical component from the root of Boraginaceae Lithospermum. It has significant killing effects on the digestive system tumor cells. We searched the articles of shikonin combined with the tumors of digestive system published in recent 10 years, analyzed the anticancer mechanisms of shikonin and its derivatives in tumors of digestive system, predicted the future research of shikonin used in clinical treatment of the digestive system tumors, and provided a theoretical foundation for further exploration of shikonin in treatment with digestive system cancer and in novel drug development.

Key words: Neoplasms of Digestive System; Shikonin; Anticancer Mechanism

Chinese Library Classification(CLC): R273; R735 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)15-2977-04

前言

肿瘤是威胁人类生命健康的头号杀手,消化系统肿瘤在所有肿瘤类型中占有重要地位。赫捷院士等^[1,2]在 CANCER J CLIN 中发表的 2015 年我国最新肿瘤统计资料显示,胃癌、食管癌、肝癌和结直肠癌分别位列我国肿瘤新发病例数目的第 2 到第 5 位,消化系统肿瘤(胃癌、食管癌、肝癌、结直肠癌和胰腺癌)的发病率和死亡率分别占全部肿瘤的 48.69 % (208.95 万 / 429.16 万) 和 55.63 % (156.55 万 / 281.42 万)。随着人口老龄化、环境污染、食品安全和不健康生活方式等问题的加剧,消化系统肿瘤的发病率和死亡率仍有上升趋势。研发新的抗肿瘤药物是国家科研重点支持的方向和科研工作者的研究热点。植物提取物来源广泛,成分复杂,已经成为临床抗肿瘤药物的重要

来源,如紫杉醇、喜树碱、鬼臼素、长春新碱和苦参碱等。统计资料显示,47% 的抗肿瘤药物来源于植物提取物或其衍生物^[3]。紫草素是一种萘醌类植物紫草的根茎提取物,它具有消炎^[4]、抗菌^[5]、促进伤口愈合^[6]和广泛的抗肿瘤作用^[7-9]。近年来,文献中常见紫草素及其衍生物在消化系统肿瘤发挥抗癌作用的报导,本文就紫草素及其衍生物在消化系统肿瘤中的抗癌机制进行系统归纳整理,为进一步探索紫草素在消化系统肿瘤中的抗癌机制研究和新药研发提供理论依据。

1 紫草素的研究历史

我国是最早发现并将紫草应用于疾病治疗的国家。《神农本草经》中记载,紫草具有凉血、活血、解毒透疹的功效,可用于血热毒盛、斑疹紫黑、麻疹不透、疮疡、湿疹、水火烫伤^[10]。1922

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81272698, 81672319, 81602507)

作者简介:梁文全(1990-),硕士研究生,主要研究方向:消化系统肿瘤, E-mail: lwq0618@163.com

[△] 通讯作者:陈凇(1962-),博士生导师,教授,主任医师,主要研究方向:消化系统肿瘤, E-mail: chenlinbj@sina.com

(收稿日期:2016-08-11 接受日期:2016-08-30)

年化学家 Marima 首次从紫草中提取出紫草素,但未能证明紫草素的结构;1936 年科学家 Bruckman 第一次鉴定出紫草素的正确结构^[3]。紫草素由萘醌母核(Naphthalene Nuclear)、烷基侧链(Alkyl Side Chain)和支链(Branched Chain)三部分组成,见图 1。科学家鉴定出了紫草素的两种手型异构体:右旋紫草素(紫草素,Shikonin)和左旋紫草素(阿卡宁,Alkannin)。其中,右旋紫草素多见于中国紫草,左旋紫草素多见于欧洲紫草^[1]。紫草素的性质不稳定,在光、热、酸、碱等条件下容易发生消旋化和聚合化等副反应^[12,13]。从生长周期为 5 到 7 年的紫草根茎中只能分离出 1-2%的紫草素,受原材料来源的限制,紫草素一直无法大量生产^[3]。1974 年,植物学家 Tabata 等^[14]用植物细胞培养的技术得到了紫草素及其衍生物,使紫草素萘醌类化合物得以规模化生产。到目前为止,科学家已经人工合成了近百种紫草素萘醌类化合物,使紫草素进入了研究热潮。

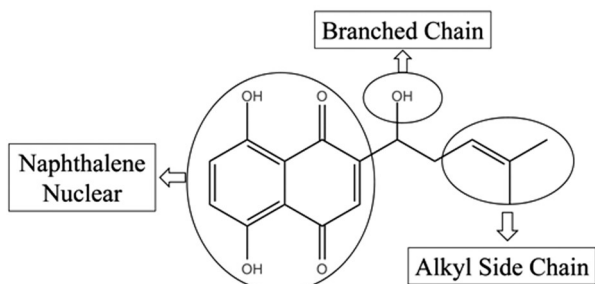


图 1 紫草素结构图

Fig. 1 Structure of Shikonin

2 紫草素在消化系统肿瘤中的抗癌机制

近年来,紫草素及其衍生物作为抗肿瘤药物的基础研究已经十分广泛,我们搜索了 Pubmed、Embase、Web of Science、中国知网、万方、维普和 Sinomed 数据库,共搜索到 92 篇紫草素在消化系统肿瘤中发挥抗肿瘤作用的中英文研究文献。诱导肿瘤细胞凋亡是紫草素发挥抗癌作用的一种重要机制,徐雪兴等^[15]在 2013 年已对紫草素诱导消化系统肿瘤细胞凋亡方面做过相关论述,笔者在此基础上结合最新文献进一步延伸归纳,并整理了紫草素诱导肿瘤细胞凋亡以外的其它抗肿瘤机制。本文总结目前文献报道的紫草素在消化系统肿瘤中的抗癌机制,从以下 7 个方面进行论述。

2.1 抑制肿瘤细胞增殖

紫草素在较低浓度下即可显著抑制胃癌、肝癌、结直肠癌等消化系统肿瘤细胞的生长。在 24 小时紫草素对胃癌、肝癌、结直肠癌和胰腺癌的 50%抑制率浓度(IC_{50})在 $1\mu M$ - $20\mu M$ ^[2,16-19]范围内,不同肿瘤细胞系对紫草素的敏感性不同,Gong 等^[1]研究发现紫草素可以显著抑制 HepG2、BEL7402 和 Huh7 肝癌细胞增殖,但对非肿瘤细胞 L02(正常人肝细胞)和 HEK293T(人胚肾细胞)无明显抑制作用,提示紫草素可以选择性杀伤肿瘤细胞。紫草素抑制肿瘤细胞增殖与其抑制细胞周期作用密切相关。研究发现,紫草素可以使胃癌细胞 AGS 阻滞于 G2/M 期^[20]、使肝癌细胞 HepG2 阻滞于 S 期^[21]、使结肠癌细胞 HCT116 和 SW480 阻滞于 G1 期^[22]。紫草素通过调控 Cyclin A、Cyclin B、Cyclin D、Cyclin E、CDK1、CDK2 等周期相关蛋白的表达而发

挥其周期阻滞作用^[20]。综上所述,紫草素可以通过调控肿瘤细胞周期相关蛋白表达,阻滞周期进程,进而发挥抑制肿瘤增殖的作用。

2.2 诱导肿瘤细胞凋亡

紫草素诱导消化系统肿瘤细胞凋亡机制是当前的研究热点。研究表明,紫草素可以通过多种机制诱导肿瘤细胞凋亡的发生。自 1972 年 Kerr 等^[19]提出细胞凋亡的概念以来,人们对细胞凋亡进行了广泛研究。其中,Bcl-2 基因(B 细胞淋巴瘤-2 基因)是一种癌基因,其编码的 Bcl-2 蛋白定位于线粒体外膜上,具有抑制凋亡的作用^[23]。后来研究者在线粒体外膜上鉴定出了一系列可以调控凋亡的蛋白,称为 Bcl-2 蛋白家族,该蛋白家族分为两类,一类具有抑制凋亡作用,一类具有促进凋亡作用^[19]。在胃癌、肝癌和结直肠癌细胞中,紫草素通过诱导 Bcl-2 家族中促凋亡蛋白(Bak、Bax、Bad 和 Bik 等)和抑制 Bcl-2 家族中抗凋亡蛋白(Bcl-2、Bcl-xL 和 Bcl-w 等)的表达^[19,24,25],发挥诱导肿瘤细胞凋亡的作用。Bcl-2 家族蛋白位于线粒体外膜,其表达变化,改变了线粒体的通透性,通过线粒体外膜渗透作用,降低线粒体膜电位,使线粒体膜间隙的可溶性蛋白释放到细胞质或转位到细胞核,如细胞色素 C(Cytochrome C)外渗、凋亡诱导因子(Apoptosis Inducing Factor, AIF)和核酸内切酶 G(Endonuclease G)由线粒体向细胞核转位,进而激发含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 Caspase 家族的级联反应(Caspase Cascade),诱导凋亡的发生^[1,26],其诱导凋亡的模式图见图 2。此外,紫草素在肝癌细胞中可以诱导 Nur77 的核质转位,促进内质网分子伴侣 BIP 的泛素化,进而诱发内质网应激所介导的凋亡^[27];紫草素通过调节丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径中的 ERK 和 JNK 通路介导胃癌细胞凋亡^[28];在胃癌和肝癌肿瘤细胞中,紫草素通过下调 NF- κ B 转录活性进而降低抗凋亡相关蛋白的转录,促进凋亡发生^[1,16,29]。

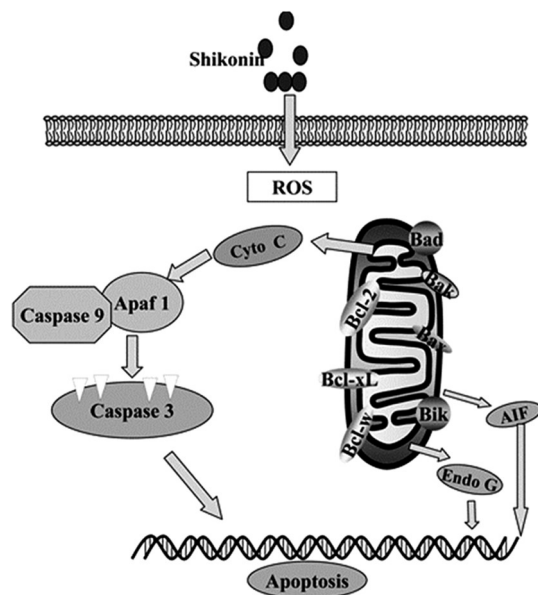


图 2 紫草素诱导的凋亡信号通路模式图

Fig. 2 Pathway of Shikonin induced apoptosis

2.3 诱导肿瘤细胞程序性坏死

细胞程序性坏死(Necroptosis)是近年来新发现的一种可

调控的细胞程序性死亡,由于死亡细胞呈现出典型的坏死特征(细胞器肿胀及细胞膜破裂等),被命名为细胞程序性坏死^[30]。程序性坏死是一种不同于细胞凋亡的死亡方式,二者信号通路不同,但却又紧密相关,在一定条件下可以相互转化^[31]。当肿瘤细胞对凋亡耐受时,诱导细胞通过程序性坏死的方式发生死亡是克服肿瘤耐药的重要途径。研究发现,紫草素可以通过增加细胞内活性氧的方式诱导 AGS、SCM-1 和 AZ521 三种胃癌细胞发生时间依赖性的程序性坏死和凋亡^[32];在结肠癌动物实验中,紫草素通过 RIPK1 调节通路诱导程序性坏死进而促进肿瘤消退^[33]。

2.4 诱导肿瘤细胞自噬

自噬(Autophagy)被称为 II 型程序性细胞死亡,是细胞在内外环境因素作用下对细胞内部蛋白或细胞器降解的过程^[34]。细胞自噬在肿瘤治疗中是一把双刃剑,一方面肿瘤细胞通过自噬降解化疗药物进而逃避杀伤,另一方面一些药物可以通过诱导肿瘤细胞发生自噬降解细胞内重要蛋白和细胞器进而发生自噬性死亡^[34,35]。在肝癌细胞中,Gong 等^[2]的研究发现低浓度的紫草素可以激活自噬相关基因 ATG7 的表达,并发生 LC3 周转和 P62 降解,从动态上证明了紫草素诱导肝癌细胞自噬的产生。在胰腺癌细胞中,SHI 等^[19]也发现紫草素可以通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路诱导胰腺癌细胞发生自噬。

2.5 诱导肿瘤细胞活性氧的生成

在化学性质分析中,萘醌类化合物普遍具有亲电特性,能与生物体内的亲核物质(DNA、蛋白、GSH 等)发生化学反应,改变生物大分子的构型,最终影响其生物功能^[36]。紫草素还能被细胞内的还原性物质还原为半醌(Semiquinone, SQ)和氢醌(Hydroquinone, HQ),SQ 和 HQ 易发生自身氧化还原反应,将电子传递给氧分子,产生活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS),ROS 是紫草素发挥其细胞毒性作用的重要机理^[37]。在紫草素对消化系统肿瘤细胞的杀伤作用机制中几乎都与细胞内活性氧的产生有关。Moon J 等^[27]报导活性氧是诱发肝癌细胞内质网应激的主要因素;Gong 等^[12]报导在紫草素诱导肝癌细胞发生凋亡和自噬的过程中,活性氧发挥了上游调节作用,活性氧清除剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC)可以阻断紫草素诱导的凋亡和自噬的发生;在动物实验中也证实紫草素能够增加代表肿瘤脂质氧化水平的化学物质丙二醛(MDA)的产生^[38]。

2.6 抑制 DNA 拓扑异构酶活性

DNA 拓扑异构酶(Topoisomerase, Top)在肿瘤细胞的增殖分裂中起到重要作用,拓扑异构酶催化了 DNA 链断开和结合的偶联反应,以便在活性染色质上进行转录^[39]。其中,Top-I 不需要 ATP 提供能量即可使 DNA 暂时产生单链切口,Top-II 在 ATP 提供能量下使 DNA 产生双链切口^[40]。临床上已有多种拓扑异构酶的抑制剂应用于抗肿瘤治疗,并取得了良好的治疗效果,如 Top-I 抑制剂喜树生物碱(喜树碱、拓扑替康、伊立替康、鲁比替康和贝洛替康),Top-II 抑制剂鬼臼生物碱(依托泊苷和替尼泊苷)^[40]。Yang F 等^[41]报道在肝癌细胞中紫草素可以入到 DNA-Top 裂解复合体中,抑制拓扑异构酶的活性,最终杀死肿瘤细胞。紫草素对两种拓扑异构酶均有抑制效果,但对 Top-II 的抑制作用更强。

2.7 增加肿瘤细胞对放化疗的敏感性

紫草素除了具有单独的杀伤肿瘤细胞作用,还能增加肿瘤细胞对放射治疗和化学治疗的敏感性。Kwak SY 等^[18]报导紫草素通过增加细胞内活性氧提高放射治疗对结肠癌细胞 HCT116 的 DNA 损伤效果;He G 等^[42]报导紫草素通过降低线粒体膜电位和增加周期阻滞作用提高顺铂对结肠癌的化疗效果;Jin YD 等^[43]报导紫草素可以通过 SIRT1-MDR1/P-gp 通路逆转肝癌细胞的多药耐药特性;Calonghi N 等^[44]证明紫草素是一种 EGFR 受体特异性抑制剂,可以诱导结肠癌细胞凋亡的发生;紫草素可以通过抑制 NF- κ B 通路的活性增加吉西他滨对胰腺癌的治疗效果。

3 展望

消化系统肿瘤是人类健康的重大杀手,我国是消化系统肿瘤的高发区。中国传统中药材是筛选抗肿瘤药物的宝库,紫草素便是其中具有巨大开发潜力的一种。紫草素通过多种机制发挥对消化系统肿瘤的抗癌作用,但距其成熟的临床应用还有一定距离。为加快紫草素的临床抗肿瘤应用,今后可围绕以下方向开展相关研究:(1)最优化筛选合适的紫草素类衍生物,科学家已经分离出多种紫草素衍生物,它们具有不同的抗肿瘤效果和理化性质,筛选符合临床药物标准的紫草素类药物是其能进入临床应用的前提;(2)研究性质稳定的药物载体,紫草素性质活泼,易与环境中的物质发生反应,在达到肿瘤靶点之前极易失活,且失活后产物易产生副作用,因此研究稳定的药物载体十分重要,Assimopoulou AN 等^[45]研发了一种可装载紫草素的微胶囊具有一定的应用前景;(3)进行药物临床实验,目前关于紫草素的研究多集中在细胞水平和动物实验水平,虽然都取得了满意的抗肿瘤效果,但人体肿瘤的微环境远比这些研究复杂,并不能完全评估紫草素的抗肿瘤价值,因此全面细致的临床实验是紫草素进入临床应用的必备条件,目前在美国国立卫生研究院(NIH)Clinical Trails 网站注册的关于紫草素的临床实验已有 2 项,分别在泌尿系统肿瘤和乳腺癌中应用,而在消化系统肿瘤中的临床实验仍然空白。

参考文献(References)

- [1] Gong K, Li W. Shikonin, a Chinese plant-derived naphthoquinone, induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells through reactive oxygen species: A potential new treatment for hepatocellular carcinoma [J]. Free Radic Biol Med, 2011, 51(12): 2259-2271
- [2] Gong K, Zhang Z, Chen Y, et al. Extracellular signal-regulated kinase, receptor interacting protein, and reactive oxygen species regulate shikonin-induced autophagy in human hepatocellular carcinoma [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 738: 142-152
- [3] Wang R, Yin R, Zhou W, et al. Shikonin and its derivatives: a patent review[J]. Expert Opin Ther Pat, 2012, 22(9): 977-997
- [4] Shindo S, Hosokawa Y, Hosokawa I, et al. Shikonin Inhibits Inflammatory Cytokine Production in Human Periodontal Ligament Cells[J]. Inflammation, 2016, 39(3): 1124-1129
- [5] Singh LK, Maheshwari DK, Shukla S. Antibacterial effect of butyryl alkannin from *Arnebia euchroma* against vancomycin-resistant pathogens of *Enterococcus faecalis* causing urinary tract infections[J]. Nat Prod Res, 2015, 29(24): 2299-2301

- [6] Nikita G, Vivek P, Chhaya G. Wound-healing activity of an oligomer of alkannin/shikonin, isolated from root bark of *Onosma echioides*[J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(16): 1584-1588
- [7] Wei Y, Li M, Cui S, et al. Shikonin Inhibits the Proliferation of Human Breast Cancer Cells by Reducing Tumor-Derived Exosomes[J]. *Molecules*, 2016, 21(6): 123-130
- [8] Ko H, Kim SJ, Shim SH, et al. Shikonin Induces the Apoptotic Cell Death via Regulation of p53 and Nrf2 in AGS Human Stomach Carcinoma Cells[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2016, 24(5): 501-509
- [9] Liu T, Xia Y, Li J, et al. Shikonin Attenuates Concanavalin A-Induced Acute Liver Injury in Mice via Inhibition of the JNK Pathway[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 248-257
- [10] 唐旭霞, 叶再元. 紫草素诱导肿瘤细胞死亡的研究进展[J]. *浙江医学*, 2015, 4(3): 265-268
Tang Xu-xia, Ye Zai-yuan. Progress of shikonin induced apoptosis in cancer[J]. *Zhejiang Medical Journal*, 2015, 4(3): 265-268
- [11] Andújar I, Ríos JL, Giner RM, et al. Pharmacological properties of shikonin - a review of literature since 2002 [J]. *Planta Med*, 2013, 79(18): 1685-1697
- [12] Fang R, Zou A, Zhao H, et al. Transgenic studies reveal the positive role of LeEIL-1 in regulating shikonin biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon* hairy roots[J]. *BMC Plant Biol*, 2016, 16(1): 121-132
- [13] Fang R, Wu F, Zou A, et al. Transgenic analysis reveals LeACS-1 as a positive regulator of ethylene-induced shikonin biosynthesis in *Lithospermum erythrorhizon* hairy roots [J]. *Plant Mol Biol*, 2016, 90(4-5): 345-358
- [14] Tabata M, Mizukami H, Hiraoka N, et al. Pigment formation in callus cultures of *Lithospermum erythrorhizon*[J]. *Phytochemistry*, 1974, 13(1): 927-932
- [15] 郭雪兴, 陈剑群. 紫草素诱导消化系统肿瘤细胞凋亡的研究进展[J]. *医学综述*, 2013, 19(24): 4450-4452
Guo Xue-xing, Chen Jian-qun. Research Progresses of Shikonin Inducing Apoptosis in Digestive System Neoplasms [J]. *Medical Recapitulate*, 2013, 19(24): 4450-4452
- [16] Liu JP, Liu D, Gu JF, et al. Shikonin inhibits the cell viability, adhesion, invasion and migration of the human gastric cancer cell line MGC-803 via the Toll-like receptor 2/nuclear factor-kappa B pathway [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2015, 67(8): 1143-1155
- [17] Wei PL, Tu CC, Chen CH, et al. Shikonin suppresses the migratory ability of hepatocellular carcinoma cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(34): 8191-8197
- [18] Kwak SY, Jeong YK, Kim BY, et al. β , β -Dimethylacrylshikonin sensitizes human colon cancer cells to ionizing radiation through the upregulation of reactive oxygen species [J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(6): 1812-1818
- [19] Shi S, Cao H. Shikonin promotes autophagy in BXP-3 human pancreatic cancer cells through the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(3): 1087-1089
- [20] Kim SJ, Kim JM, Shim SH, et al. Shikonin induces cell cycle arrest in human gastric cancer (AGS) by early growth response 1 (Egr1)-mediated p21 gene expression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(3): 1064-1071
- [21] Yingkun N, Lvsong Z, Huimin Y. Shikonin inhibits the proliferation and induces the apoptosis of human HepG2 cells [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2010, 88(12): 1138-1146
- [22] Huu TN, Du GJ, Wang CZ, et al. Naphthoquinone components from *Alkanna tinctoria* (L.) Tausch show significant antiproliferative effects on human colorectal cancer cells[J]. *Phytother Res*, 2013, 27(1): 66-70
- [23] Gong JN, Khong T, Segal D, et al. Hierarchy for targeting pro-survival BCL2 family proteins in multiple myeloma: pivotal role of MCL1 [J]. *Blood*, 2016 [Epub ahead of print]
- [24] Xiong W, Luo G, Zhou L, et al. In vitro and in vivo antitumor effects of acetylshikonin isolated from *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston (Ruanzicao) cell suspension cultures[J]. *Chin Med*, 2009, 4(1): 14-21
- [25] Fan Y, Jin S, He J, et al. Effect of β , β -dimethylacrylshikonin on inhibition of human colorectal cancer cell growth in vitro and in vivo [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(7): 9184-9193
- [26] Wu YY, Wan LH, Zheng XW, et al. Inhibitory effects of β , β -dimethylacrylshikonin on hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(5): 764-771
- [27] Moon J, Koh SS, Malilas W, et al. Acetylshikonin induces apoptosis of hepatitis B virus X protein-expressing human hepatocellular carcinoma cells via endoplasmic reticulum stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 735: 132-140
- [28] Shen XJ, Wang HB, Ma XQ, et al. β , β -Dimethylacrylshikonin induces mitochondria dependent apoptosis through ERK pathway in human gastric cancer SGC-7901 cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41773
- [29] Ko H, Kim SJ, Shim SH, et al. Shikonin Induces Apoptotic Cell Death via Regulation of p53 and Nrf2 in AGS Human Stomach Carcinoma Cells[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2016, 24(5): 501-509
- [30] Vandenabeele P, Vanden BT, Festjens N. Caspase inhibitors promote alternative cell death pathways[J]. *Sci STKE*, 2006, 2006(358): pe44
- [31] Dillon CP, Green DR. Molecular Cell Biology of Apoptosis and Necroptosis in Cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 930: 1-23
- [32] Lee MJ, Kao SH, Hunag JE, et al. Shikonin time-dependently induced necrosis or apoptosis in gastric cancer cells via generation of reactive oxygen species[J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 211: 44-53
- [33] Agarwalla P, Banerjee R. N-end rule pathway inhibition assists colon tumor regression via necroptosis [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 16020
- [34] Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition)[J]. *Autophagy*, 2016, 12(1): 1-222
- [35] Yang S, Imamura Y, Jenkins RW, et al. Autophagy Inhibition Dysregulates TBK1 Signaling and Promotes Pancreatic Inflammation[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(6): 520-530
- [36] Moore HW. Bioactivation as a model for drug design bioreductive alkylation[J]. *Science*, 1977, 197(4303): 527-532
- [37] Huang ZS, Wu HQ, Duan ZF, et al. Synthesis and cytotoxicity study of alkannin derivatives[J]. *Eur J Med Chem*, 2004, 39(9): 755-764
- [38] Gan L, Wang ZH, Zhang H, et al. Protective effects of shikonin on brain injury induced by carbon ion beam irradiation in mice [J]. *Biomed Environ Sci*, 2015, 28(2): 148-151
- [39] Bai Y, Li LD, Li J, et al. Targeting of topoisomerases for prognosis and drug resistance in ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9(1): 35

- Ann Allergy Clin Immunol, 2016, 48(6): 237-241
- [4] 黄叶妮,刘丽.幽门螺杆菌感染的治疗进展[J].现代生物医学进展, 2012, 12(17): 3397-3400
Huang Ye-ni, Liu Li. Research Advances of Treatment on *Helicobacter Pylori* Infectious Disease [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(17): 3397-3400
- [5] Mandelcawaj A, Moulin F, Menager C, et al. Underestimation of influenza viral infection in childhood asthma exacerbations[J]. J Pediatr, 2010, 157(3): 505-506
- [6] 杨敏,陈艳萍.幽门螺杆菌感染与儿童支气管哮喘发病的相关性研究[J].胃肠病学和肝病学杂志, 2014, 23(6): 712-714
Yang Min, Chen Yan-ping. Association between *Helicobacter pylori* infection and bronchial asthma in children[J]. Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2014, 23(6): 712-714
- [7] 童鹏,王林中.哮喘患儿幽门螺杆菌感染情况筛查及其与病情的相关性研究[J].海南医学院学报, 2016, 22(3): 276-279, 283
Tong Peng, Wang Lin-zhong. Correlation of *Helicobacter pylori* infection with disease severity in children with asthma [J]. Journal of Hainan Medical University, 2016, 22(3): 276-279, 283
- [8] Jones CC, Becker EA, Catrambone CD, et al. A guideline-based approach to asthma management [J]. Nurs Clin North Am, 2013, 48(1): 35-45
- [9] Hamzavi Abedi Y, Perkins AM, Morales MB. Childhood obesity in pediatric patients with difficult-to-control asthma in a tertiary pediatric subspecialty clinic[J]. Allergy Asthma Proc, 2017, 38(1): 63-69
- [10] Newhouse N, Martin A, Jawad S, et al. Randomised feasibility study of a novel experience-based internet intervention to support self-management in chronic asthma[J]. BMJ Open, 2016, 6(12): e013401
- [11] Karimi A, Fakhimi-Derakhshan K, Imanzadeh F, et al. *Helicobacter pylori* infection and pediatric asthma[J]. Iran J Microbiol, 2013, 5(2): 132-135
- [12] Pedullà M, Perrone L, Fierro V, et al. Could be a link between non atopic asthma and HP infection?[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2012, 26(1 Suppl): S49-S52
- [13] Zevit N, Balicer RD, Cohen HA, et al. Inverse association between *Helicobacter pylori* and pediatric asthma in a high-prevalence population[J]. Helicobacter, 2012, 17(1): 30-35
- [14] Khamechian T, Movahedian AH, Ebrahimi Eskandari G, et al. Evaluation of the Correlation Between Childhood Asthma and *Helicobacter pylori* in Kashan[J]. Jundishapur J Microbiol, 2015, 8(6): e17842
- [15] 薛华,李满祥,谢新明,等.CRP、TNF- α 、PCT 及 T 淋巴细胞亚群在急性哮喘发作期中的价值[J].中国实验诊断学,2015,19(9):1508-1509
Xue Hua, Li Man-xiang, Xie Xin-ming, et al. The value of CRP, TNF- α , PCT and T lymphocyte subsets in acute asthmatic attack[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2015, 19(9): 1508-1509
- [16] 徐畅,饶花平,金世杰,等.哮喘患儿过敏原及 T 淋巴细胞亚群分析[J].中国医师杂志, 2015, 17(7): 1078-1079
Xu Chang, Rao Hua-ping, Jin Shi-jie, et al. Analysis of allergen and T lymphocyte subsets in children with asthma [J]. Journal of Chinese Physician, 2015, 17(7): 1078-1079
- [17] Chang SS, Hu HY. No inverse relationship between *Helicobacter pylori* infection and adult asthma with peptic ulcer disease [J]. Hepato-gastroenterology, 2014, 61(130): 529-534
- [18] 高志刚,袁永红,詹建华,等.沙丁胺醇气雾剂联合硫酸镁对小儿哮喘 IL-2、IL-4、IL-5、IFN- γ 及 T 淋巴细胞亚群的影响[J].中国生化药物杂志, 2015, 35(8): 110-112, 115
Gao Zhi-gang, Yuan Yong-hong, Zhan Jian-hua, et al. Effect of salbutamol aerosol combined with magnesium sulfate on IL-2, IL-4, IL-5, IFN- γ and T lymphocyte subsets in pediatric asthma patients [J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2015, 35(8): 110-112, 115
- [19] Casciano J, Krishnan JA, Small MB, et al. Value of peripheral blood eosinophil markers to predict severity of asthma[J]. BMC Pulm Med, 2016, 16(1): 109
- [20] Zhou X, Wu J, Zhang G. Association between *Helicobacter pylori* and asthma: a meta-analysis[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2013, 25(4): 460-468
- [21] 李建木,李琼林.支气管哮喘患儿血清免疫球蛋白 E 及 T 淋巴细胞亚群的动态变化[J].海南医学院学报, 2015, 21(3): 313-315
Li Jian-mu, Li Qiong-lin. Dynamic changes i serum immunoglobulin E and T lymphocytes in children with bronchial asthma[J]. Journal of Hainan Medical University, 2015, 21(3): 313-315

(上接第 2980 页)

- [40] Harkin LF, Gerrelli D, Gold DDC, et al. Distinct expression patterns for type II topoisomerases IIA and IIB in the early foetal human telencephalon[J]. J Anat, 2016, 228(3): 452-463
- [41] Yang F, Chen Y, Duan W, et al. SH-7, a new synthesized shikonin derivative, exerting its potent antitumor activities as a topoisomerase inhibitor[J]. Int J Cancer, 2006, 119(5): 1184-1193
- [42] He G, He G, Zhou R, et al. Enhancement of cisplatin-induced colon cancer cells apoptosis by shikonin, a natural inducer of ROS in vitro and in vivo [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(4): 1075-1082
- [43] Jin YD, Ren Y, Wu MW, et al. Effect of shikonin on multidrug resistance in HepG2: The role of SIRT1 [J]. Pharm Biol, 2015, 53(7): 1016-1021
- [44] Calonghi N, Pagnotta E, Parolin C, et al. A new EGFR inhibitor induces apoptosis in colon cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 354(2): 409-413
- [45] Assimopoulou AN, Papageorgiou VP. Preparation and release studies of alkannin-containing microcapsules [J]. J Microencapsul, 2004, 21(2): 161-173