

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.16.002

白花蛇舌草提取物对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和凋亡影响的实验研究 *

王 宇¹ 宋 舟¹ 康爱文² 赵 蒙³ 田丽媛⁴

(1 解放军总医院普通外科 北京 100853; 2 河北省围场县医院普通外科 河北 承德 068450;

3 山东省菏泽市立医院胃肠外科 山东 菏泽 274031; 4 解放军总医院海南分院临床检验科 海南 三亚 572013)

摘要 目的: 探索不同浓度的白花蛇舌草提取物对人乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖和凋亡的影响。**方法:** 选择体外培养的人乳腺癌 MCF-7 细胞, 将其分为 5 组, 分别给予不同浓度使用乙醇提取法提取的白花蛇舌草有效成分(0、75、150、300 和 600 $\mu\text{g/mL}$)。分别在药物孵育的第 1、2、3、4 天提取细胞样本, 采用 MTT 法检测细胞的增殖情况, 流式细胞技术检测细胞周期和细胞凋亡情况。**结果:** 在第 1、2、3 和 4 天, 不同浓度的白花蛇舌草均能够显著抑制乳腺癌细胞的增殖, 且细胞的增殖抑制率随着药物浓度的升高而升高, 以 300 $\mu\text{g/mL}$ 和 600 $\mu\text{g/mL}$ 两个浓度的作用效果最为显著, 但 300 $\mu\text{g/mL}$ 和 600 $\mu\text{g/mL}$ 两个浓度间无统计学差异 ($P>0.05$)。不同浓度的白花蛇舌草干预后处于 G0~G1 期的细胞百分比显著低于对照组($P<0.05$), 处于 S 期和 G2~M 期的细胞百分比高于对照组($P<0.05$), 且细胞凋亡率显著高于对照组($P<0.05$), 对细胞周期的调控和凋亡的抑制效果以 300 $\mu\text{g/mL}$ 和 600 $\mu\text{g/mL}$ 两个浓度最为显著, 但两个浓度间无统计学差异($P>0.05$)。**结论:** 白花蛇舌草能够显著抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖并促进细胞凋亡, 且这一作用存在显著的“量-效”关系。

关键词: 白花蛇舌草; 乳腺癌; 细胞增殖; MTT 检测; 细胞凋亡

中图分类号: R-33; R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)16-3007-05

An Experimental Study on the Effects of Hedyotis Diffusa Extracts on the Proliferation and Apoptosis of MCF-7 Breast Cancer Cells*

WANG Yu¹, SONG Zhou², KANG Ai-wen², ZHAO Meng³, TIAN Li-yuan⁴

(1 Department of general surgery, PLA General Hospital, Beijing, 100853, China; 2 Department of general surgery, Weichang County Hospital, Chengde, Hebei, 068450, China; 3 Department of Gastrointestinal Surgery, Heze Municipal hospital, Heze, Heze, 274031, China; 4 Department of clinical laboratory, PLA General Hospital Hainan Branch, Sanya, Hainan, 572013, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects of various concentrations of hedyotis diffusa extracts on the proliferation and apoptosis of MCF-7 human breast cancer cells. **Methods:** The MCF-7 human breast cancer cells were cultured in the DMEM medium with 10% fetal bovine serum, 1% penicillin/streptomycin and insulin. The active components of hedyotis diffusa were extracted using the ethanol-extracting method. Overall 5 groups were included in the study, including four hedyotis diffusa administration groups with different concentrations (75, 150, 300 and 600 $\mu\text{g/mL}$) and the blank control group. **Results:** The cell samples were collected at 1, 2, 3, and 4 days post the drug application, and the effects of hedyotis diffusa on cellular proliferation rate were evaluated the MTT and CCK-8 methods, respectively. Then, the efficacy of hedyotis diffusa with different concentrations (75, 150, 300 and 600 $\mu\text{g/mL}$) on the cell cycle and cell apoptosis was investigated based on the flow cytometry technique. **Conclusion:** Hedyotis diffusa could significantly inhibit the proliferation and promote the apoptosis of breast cancer cells in a concentration dependent manner.

Key words: Hedyotis diffusa; Breast cancer; Cell proliferation; MTT assay; Cell apoptosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)16-3007-05

前言

乳腺癌是一种发生在乳腺上皮组织的恶性肿瘤, 是影响女性健康最严重的疾病之一。目前, 临床上乳腺癌主要以手术治疗为主, 并结合术后的放疗、化疗以及内分泌治疗。乳腺癌的术后化疗所采用的化疗药物均具有一定的毒副作用, 同时肿瘤细胞的耐药性也是化疗药物的重要瓶颈之一^[1-3]。因此, 探

索其他经济、有效且安全的乳腺癌的药物治疗方法具有重要的临床价值。

白花蛇舌草(Hedyotis diffusa)是一种茜草科(耳草属)草本植物, 广泛分布于我国的广东、广西、福建、云南、浙江等地区, 别名二叶葎、蛇舌草、蛇利草、竹叶菜等, 其主要成分包括黄酮类、萜醌类、苯丙素类、香豆素类等。白花蛇舌草的药物功效包括清热解毒、消痛散结、活血化痰, 尤其对于对抗各种炎症具有

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81201336); 三亚市医疗卫生科技创新项目(2015YW21)

作者简介: 王宇(1979-), 男, 硕士研究生、医师, 从事普通外科肿瘤治疗的科研和临床工作, E-mail: wangyu3001@sina.com

△ 通讯作者: 田丽媛(1981-), 女, 主治医师, 从事肿瘤的检验诊断及科研工作, E-mail: liuyuan.tian@yahoo.com

(收稿日期: 2017-10-31 接受日期: 2017-11-23)

显著功效。同时,白花蛇舌草也具有显著的抑制肿瘤活性的效果,主要集中在肠癌、肝癌和肺癌^[49],但其对于乳腺癌的抗癌效果国内外鲜有报道。因此,本研究通过体外细胞实验探索了白花蛇舌草对于人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和凋亡的影响,以期明确白花蛇舌草对乳腺癌的治疗效果及其未来的临床应用提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 实验试剂和仪器

人乳腺癌细胞株 MCF-7 细胞购于美国 ATCC 模式培养物集存库;DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)购于美国 Gibco 公司;胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)购于美国 Gibco 公司;青霉素/链霉素双抗溶液购于美国 Sigma 公司;胰岛素购于美国 Gibco 公司;无菌磷酸缓冲盐溶液(PBS)购于美国 Gibco 公司;胰蛋白酶购于碧云天生物技术公司;白花蛇舌草购于泸州宝光药业集团有限公司;CCK-8 购于碧云天生物技术公司;MTT 细胞增殖检测试剂盒购于碧云天生物技术公司;细胞周期检测用 PI/Triton X-100 染色液购于美国 Sigma 公司;紫外分光光度计(SmartSpec Plus)购于美国 Bio-Rad 公司;多功能酶标仪(TECAN Infinite M200 Pro)购于瑞典 TECAN 公司;流式细胞仪(AccuriC6)购于美国 BD Biosciences 公司;倒置显微镜(LEICA DM LA)购于德国 Leica 公司;细胞培养箱(Thermo 3110)购于美国 Thermo 公司;电子天平(AEG-120T)购于日本 Shimadzu 公司;低温高速离心机(Sigma 3-18K)购于美国 Sigma 公司;微量振荡器购于江苏常州国华电子有限公司。

1.2 人乳腺癌 MCF-7 细胞系的培养

人乳腺癌的 MCF-7 细胞系培养于 10%的胎牛血清 +1%青霉素/链霉素 + 胰岛素的 DMEM 培养基中,置于 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱环境中进行常规培养,每 3~4 天更换一次细胞培养液。当细胞密度约为 85%左右的时候进行细胞传代。在传代时,在吸干培养液后使用无菌 PBS 反复冲洗瓶底 3 次,随后加入 0.25%的胰酶 2~3 mL,胰酶均匀盖满瓶壁,消化约 5 min,见细胞缩起变圆后,加入培养基 2~3 mL,吹打成单细胞悬液分瓶。

1.3 白花蛇舌草有效药物成分的分离提取

将白花蛇舌草药物粉研碎为粉末状,使用乙醇提取法进行提取,其具体步骤为:将 1 公斤的白花蛇舌草药物中加入 95%的乙醇溶液中进行回流提取 2 次,每次时长为 1 小时。随后进行过滤,合并提取液,浓缩,精制后,获得提取物 1.4 克。使用无菌的无血清的纯 DMEM 培养液配制,使用 0.22 μm 的滤膜过滤除菌后,稀释成所需的终浓度。

1.4 MTT 法检测细胞增殖

选取生长状态良好的人乳腺癌的 MCF-7 细胞制成浓度为 1×10^5 个/mL 的细胞悬液,以每孔 100 μL 体积的细胞悬液接种于 96 孔板中,细胞培养液为含有 10%的胎牛血清 +1%青霉素/链霉素 + 胰岛素的 DMEM 培养基,96 孔板置于 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱环境中培养过夜。实验分为 5 组,分别为对照组以及不同浓度的白花蛇舌草药物组(浓度分别为 75、150、300 和 600 μg/mL)。将白花蛇舌草药物组的每孔分别加入 200 μL 的用 DMEM 培养液配制的相应浓度的无菌药物溶液,对照组的细胞加入 200 μL 不含任何药物的 DMEM 培养液。分别在

孵育的第 1、2、3、4 天提取细胞样本,进行 MTT 细胞增殖检测。弃去 96 孔板中的培养液,用 PBS 冲洗 3 次后,在每孔中加入 10 μL 的 MTT 溶液(浓度为 5 mg/mL),于 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱环境中孵育 4 小时。随后,在 96 孔板的各孔中加入 200 μL 的二甲基亚砜(DMSO),在 37℃中振荡孵育 15 分钟,随后使用瑞典 TECAN 公司的 TECAN Infinite M200 Pro 多功能酶标仪测量 490 nm 处的吸光值。通过以下公式计算细胞抑制率,细胞增殖抑制率 = $[1 - \text{药物组吸光度}] / \text{对照组吸光度}$ 。

1.5 细胞周期和细胞凋亡的检测

使用无菌的冰 PBS 溶液重复洗涤收集的不同组的细胞 3 次,离心沉淀细胞,弃上清液。随后,以 0.5 mL 的 PBS 重悬细胞,迅速转入 3.5 mL 以 70%预冷的乙醇溶液中。吹打均匀后,在 4℃储存过夜。对离心乙醇固定过的细胞,弃其上清液,使用无菌的 PBS 反复洗涤细胞 3 次后以去除残留的乙醇。随后,使用含有 0.2 mg RNase A 的 1 mL PI/Triton X-100 染色液(20 μg 的 PI/0.1% Triton X-100)重悬细胞,在 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱环境中孵育染色 15 分钟。随后,转移至美国 BD Biosciences 公司的 AccuriC6 型流式细胞仪,对各组细胞进行细胞周期的测定分析。

1.6 统计学分析

在本实验研究中,所有显示的实验数据均采用平均值 ± 标准偏差(S.D.)进行表示。使用 Windows 版本的 SPSS 20.0 统计学分析软件对实验数据进行统计分析比较。对照组和各浓度药物组细胞的各参数指标的统计学差异均采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行分析;如发现五组间存在统计学差异,使用 Tukey 的多重检验分析法对数据进行两两分析和比较。以 $P < 0.05$ 作为有统计学差异的标准。

2 结果

2.1 不同浓度白花蛇舌草对于乳腺癌细胞的细胞增殖的影响

如图 1 所示,150、300 和 600 μg/mL 白花蛇舌草药物组在第 1、2、3 和 4 天的细胞增殖抑制率均显著高于对应时间点的 75 μg/mL 白花蛇舌草药物组 ($P < 0.01$),300 μg/mL 和 600 μg/mL 白花蛇舌草药物组对于人乳腺癌 MCF-7 细胞的细胞增殖率的抑制效果显著优于 150 μg/mL 白花蛇舌草药物组 ($P < 0.05$),但 300 μg/mL 和 600 μg/mL 白花蛇舌草药物组对于人乳腺癌 MCF-7 细胞的细胞增殖率的抑制效果未见统计学差异 ($P > 0.05$)。对于各浓度白花蛇舌草药物组,第 3 和第 4 天的细胞增殖抑制率显著高于第 1 天 ($P < 0.05$),但各浓度药物组中第 2 天与第 1 天的细胞增殖抑制率相比无统计学差异 ($P > 0.05$)。对于 75 和 150 μg/mL 白花蛇舌草药物组,第 3 天的细胞增殖抑制率显著高于第 2 天 ($P < 0.05$);但对于 300 和 600 μg/mL 白花蛇舌草药物组中第 3 天与第 2 天的细胞增殖抑制率相比无统计学差异 ($P > 0.05$)。对于各浓度白花蛇舌草药物组,第 3 天与第 4 天的细胞增殖抑制率相比无统计学差异 ($P > 0.05$)。

2.2 不同浓度的白花蛇舌草对于乳腺癌细胞的细胞周期的影响

采用流式细胞检测技术对 75、150、300 和 600 μg/mL 白花蛇舌草药物作用 48 h 的 MCF-7 乳腺癌细胞的细胞周期影响的定量分析结果如图 2 所示。75、150、300 和 600 μg/mL 白花蛇舌草药物组处于 G0~G1 期的细胞百分比显著低于 Control 组

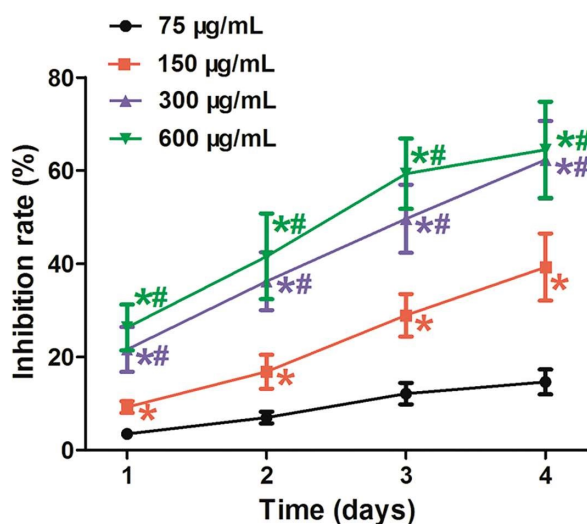


图1 不同浓度白花蛇舌草对于乳腺癌细胞的细胞增殖的影响(n=10)。* $P<0.05$ vs. 75 µg/mL 的白花蛇舌草组; # $P<0.05$ vs. 150 µg/mL 的白花蛇舌草组

Fig.1: Effects of hedyotis diffusa with different concentrations on the proliferation of breast cancer cells based on the MTT assay (n=10).

* $P<0.05$ vs. the 75 µg/mL hedyotis diffusa group;

$P<0.05$ vs. 150 µg/mL hedyotis diffusa group

($P<0.05$),而处于S期和G2~M期的细胞百分比显著高于Control组($P<0.05$)。150、300和600 µg/mL白花蛇舌草药物组中处于G0~G1期的细胞百分比显著低于75 µg/mL白花蛇舌草药物组($P<0.05$),而处于G2~M期的细胞百分比显著高于75 µg/mL组($P<0.05$)。同时,300和600 µg/mL组中处于S期的细

胞百分比显著高于75 µg/mL组($P<0.05$)。而300和600 µg/mL药物组中处于G0~G1期的细胞百分比显著低于150 µg/mL组($P<0.05$)。

2.3 不同浓度的白花蛇舌草对于乳腺癌细胞的细胞凋亡的影响

采用流式细胞检测技术对于75、150、300和600 µg/mL白花蛇舌草药物分别孵育1、2、3、4天后的MCF-7乳腺癌细胞的细胞凋亡影响的定量分析结果如图3所示。总凋亡率的分析结果显示:各时间点的药物组相比于对照组均能够显著提升细胞凋亡率($P<0.01$);而各时间点的150、300和600 µg/mL药物组的细胞凋亡率显著高于75 µg/mL组($P<0.05$),300和600 µg/mL药物组显著高于150 µg/mL组($P<0.05$),但是各时间点的300和600 µg/mL药物组间未见统计学差异($P>0.05$)。对照组以及75、150、300和600 µg/mL白花蛇舌草药物组的MCF-7乳腺癌细胞的凋亡率呈现随时间增加而递增的趋势。其中,对于各浓度白花蛇舌草药物组和Control组,第4天的细胞凋亡率显著高于第1天($P<0.05$)。虽然Control以及各浓度药物组的第2天与第3天的细胞凋亡率略高于第1天,但是这种差异未达到统计学意义($P>0.05$)。同时,虽然第3天与第4天的细胞凋亡率也同样略高于第2天,但是这三个时间点的细胞凋亡率的差异也同样不具有统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

乳腺癌是一种严重危害女性健康的恶性肿瘤,由乳腺上皮组织发生恶性改变诱发,其临床表现的主要体征为乳腺肿块、腋窝淋巴结肿大、乳头溢液等。统计数据表明全世界每年有约140万的妇女发生乳腺癌,其致死率高达35%,乳腺癌已经

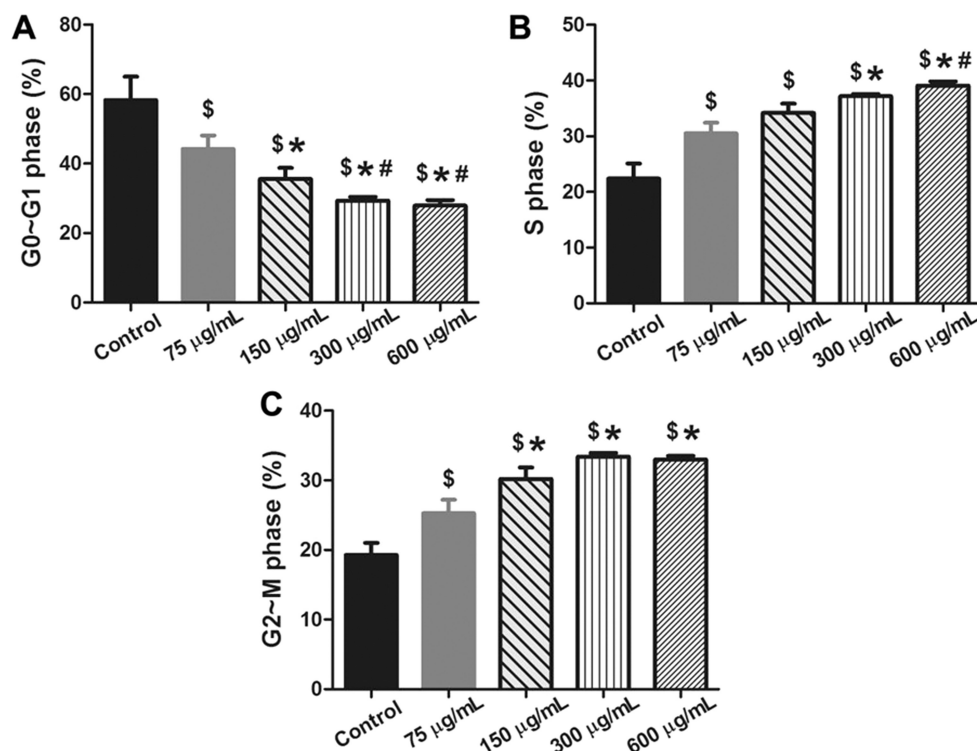


图2 不同浓度的白花蛇舌草对于乳腺癌细胞的细胞周期的影响(n=10)。\$ $P<0.05$ vs. 对照组; * $P<0.05$ vs. 75 µg/mL 的白花蛇舌草组; # $P<0.05$ vs. 150 µg/mL 的白花蛇舌草组

Fig. 2 Effects of hedyotis diffusa with different concentrations on the cellular cycle of breast cancer cells (n=10). \$ $P<0.05$ vs. the Control group;

* $P<0.05$ vs. the 75 µg/mL hedyotis diffusa group; # $P<0.05$ vs. 150 µg/mL hedyotis diffusa group

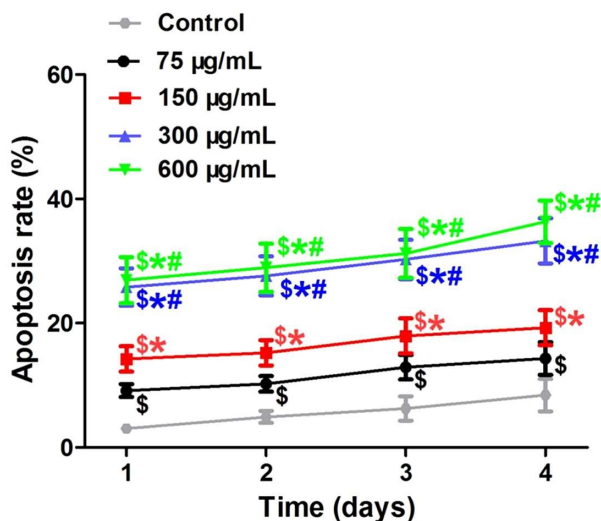


图3 不同时间点、不同浓度的白花蛇舌草对于乳腺癌细胞的细胞凋亡的影响(n=10)。\$P<0.05 vs. 对照组; *P<0.05 vs. 75 µg/mL 的白花蛇舌草组; #P<0.05 vs. 150 µg/mL 的白花蛇舌草组;

Fig. 3 Effects of hedyotis diffusa with different concentrations and different treatment duration on the cellular apoptosis of breast cancer cells (n=10). \$P<0.05 vs. the Control group; *P<0.05 vs. the 75 µg/mL hedyotis diffusa group; #P<0.05 vs. 150 µg/mL hedyotis diffusa group.

成为一种严重的公共卫生健康问题^[10,11]。目前,临床上应对乳腺癌仍以手术根治性治疗为主,辅助以放疗、化疗、内分泌治疗等手段。但是,考虑到这些治疗方法均具有显著的毒副作用,因此探索更多安全且有效的乳腺癌治疗方法具有重要的临床应用价值。

白花蛇舌草是一种广泛分布于我国长江以南地区的一年生草本植物,其最早的人药应用在《广西中药志》一书中记载,在治疗人体的多种疾病的作用中具有积极的效果,包括肺热咳嗽、清热解毒、止痛镇痛、扁桃体炎、咽喉炎、阑尾炎、附件炎、盆腔炎、前列腺炎、尿路感染、蛇毒咬伤等^[12,13]。同时,近年来的研究也揭示白花蛇舌草具有显著的抗肿瘤效应,文献中记载的白花蛇舌草抗肿瘤效应主要集中在腹部肿瘤,包括胃癌、肝癌、肠癌等,但是白花蛇舌草对于乳腺癌的抗肿瘤效应国内外鲜有研究报道。

在本研究中,我们使用乙醇提取法提取的浓度分别为 75、150、300 和 600 µg/mL 的白花蛇舌草提取物处理乳腺癌细胞,结果显示生长的第 1、2、3 和 4 天,75、150、300 和 600 µg/mL 的白花蛇舌草提取物均能够显著的降低乳腺癌细胞的增殖率,进一步研究显示 75~600 µg/mL 的白花蛇舌草的抗 MCF-7 乳腺癌细胞增殖的效应随着浓度的升高而增强,以 600 µg/mL 的抗肿瘤细胞的增殖效应最为显著。研究结果也显示在实验的第 1、2、3、4 天,虽然 300 µg/mL 的白花蛇舌草提取物的乳腺肿瘤增殖抑制率略低于 600 µg/mL 药物组,但是差异并不具有统计学意义,但 300 µg/mL 白花蛇舌草组的抗肿瘤细胞增殖率要远高于 150 µg/mL,提示 300 µg/mL 是最优的对抗体外肿瘤细胞增殖的浓度,这一浓度可以应用于后续的体外细胞信号通路实验。基于流式细胞技术的细胞周期检测结果显示不同浓度的白花蛇舌草提取物作用于人乳腺癌 MCF-7 细胞后,细胞周期显著受到影响,处于 DNA 合成前期和静息期(G0~G1 期)的细胞

百分比显著降低,且随着白花蛇舌草浓度的增加,处于 DNA 合成前期和静息期的细胞百分比显著降低。而不同浓度白花蛇舌草作用下处于 DNA 合成期(S 期)、合成后期及有丝分裂期(G2/M 期)的细胞百分比显著升高。而白花蛇舌草对 MCF-7 细胞周期的调控效果以 300 µg/mL 和 600 µg/mL 两个浓度最为显著,但两个浓度间无统计学上的显著差异。一些文献报道白花蛇舌草提取物能够调控其他肿瘤细胞的细胞周期,包括肠癌细胞、前列腺癌细胞、白血病细胞等^[18,20-22]。我们的结果进一步表明白花蛇舌草对人乳腺癌 MCF-7 细胞的细胞凋亡的促进作用随着药物浓度的增加而增强,在 300 µg/mL 浓度处达到峰值。Lin 等、Hu 等和 Cai 等的实验研究同样揭示了白花蛇舌草提取物对于肠癌细胞和前列腺癌细胞凋亡的促进效应^[15,23-24],与我们细胞增殖的实验结果类似。

虽然我们发现了白花蛇舌草提取物能够抑制乳腺癌细胞的增殖并促进其细胞凋亡,但是其具体的信号调节及转导分子机制仍不明确。调控肿瘤的发生、增殖和凋亡的信号通路众多,其中主要的信号通路包括有 Wnt 信号通路、Hedgehog 信号通路、Notch 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、JAK-STAT 信号通路等^[25,26],未来的体外细胞实验以及体内动物实验将对这些信号通路在白花蛇舌草调控乳腺癌细胞增殖及凋亡中所发挥的作用进行系统研究,从而明确白花蛇舌草调控肿瘤产生、增殖及凋亡的相关分子信号机制,为其临床应用提供依据。

综上所述,白花蛇舌草提取物对可抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖并促进其凋亡,这种作用与其作用浓度有关,以 300 µg/mL 和 600 µg/mL 的作用效果最为显著。

参考文献(References)

- [1] Rheinbay E, Parasuraman P, Grimsby J, et al. Recurrent and functional regulatory mutations in breast cancer [J]. Nature, 2017, 547(7661): 55-60
- [2] DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, et al. Breast cancer statistics,2015: Convergence of incidence rates between black and white women[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 31-42
- [3] Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, et al. Breast cancer in China [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7): e279-289
- [4] Lin J, Li Q, Chen H, et al. Extract suppresses proliferation and induces apoptosis via IL-6-inducible STAT3 pathway inactivation in human colorectal cancer cells[J]. Oncol Lett, 2015, 9(4): 1962-1970
- [5] Li Q, Wang X, Shen A, et al. Hedyotis diffusa Willd overcomes 5-fluorouracil resistance in human colorectal cancer HCT-8/5-FU cells by downregulating the expression of P-glycoprotein and ATP-binding cassette subfamily G member 2[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(5): 1845-1850
- [6] Lin J, Wei L, Shen A, et al. Hedyotis diffusa Willd extract suppresses Sonic hedgehog signaling leading to the inhibition of colorectal cancer angiogenesis[J]. Int J Oncol, 2013, 42(2): 651-656
- [7] Lai Z, Yan Z, Chen W, et al. Hedyotis diffusa Willd suppresses metastasis in 5 fluorouracil resistant colorectal cancer cells by regulating the TGF-β signaling pathway [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 7752-7758
- [8] Sun G, Wei L, Feng J, et al. Inhibitory effects of Hedyotis diffusa Willd. on colorectal cancer stem cells [J]. Oncol Lett, 2016,11(6): 2017-2022

3875-3881

- [9] Gao X, Li C, Tang YL, et al. Effect of Hedyotis diffusa water extract on protecting human hepatocyte cells (LO2) from H₂O₂-induced cytotoxicity[J]. Pharm Biol, 2016, 54(7): 1148-1155
- [10] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108
- [11] Torre LA, Siegel RL, Ward EM, et al. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2016, 25(1): 16-27
- [12] Chen Y, Lin Y, Li Y, et al. Total flavonoids of Hedyotis diffusa Willd inhibit inflammatory responses in LPS-activated macrophages via suppression of the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. Exp Ther Med, 2016, 11(3): 1116-1122
- [13] Kang MJ, Kim JI, Yim JE. Anti-inflammatory effects of Hedyotis diffusain ob/ob mice (688.2) [J]. The FASEB Journal, 2014, 28(1 Supplement): 688
- [14] Li P, Wang SS, Liu H, et al. Elevated serum alpha fetoprotein levels promote pathological progression of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(41): 4563-4571
- [15] Hu E, Wang D, Chen J, et al. Novel cyclotides from Hedyotis diffusa induce apoptosis and inhibit proliferation and migration of prostate cancer cells[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(3): 4059-4065
- [16] Zhang P, Zhang B, Gu J, et al. The Study of the Effect of Hedyotis diffusa on the Proliferation and the Apoptosis of the Cervical Tumor in Nude Mouse Model[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(3): 783-789
- [17] Chen R, He J, Tong X, et al. The Hedyotis diffusa Willd. (Rubiaceae): A Review on Phytochemistry, Pharmacology, Quality Control and Pharmacokinetics[J]. Molecules, 2016, 21(6): pii: E710
- [18] Lin M, Lin J, Wei L, et al. Hedyotis diffusa Willd extract inhibits HT-29 cell proliferation via cell cycle arrest[J]. Exp Ther Med, 2012, 4(2): 307-310
- [19] Lin J, Wei L, Xu W, et al. Effect of Hedyotis Diffusa Willd extract on tumor angiogenesis[J]. Mol Med Rep, 2011, 4(6): 1283-1288
- [20] Kuo YJ, Yang JS, Lu CC, et al. Ethanol extract of Hedyotis diffusa willd upregulates G0/G1 phase arrest and induces apoptosis in human leukemia cells by modulating caspase cascade signaling and altering associated genes expression was assayed by cDNA microarray [J]. Environ Toxicol, 2015, 30(10): 1162-1177
- [21] Willimott S, Barker J, Jones LA, et al. Apoptotic effect of Oldenlandia diffusa on the leukaemic cell line HL60 and human lymphocytes[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 114(3): 290-299
- [22] Wang N, Li DY, Niu HY, et al. 2-hydroxy-3-methylantraquinone from Hedyotis diffusa Willd induces apoptosis in human leukemic U937 cells through modulation of MAPK pathways [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(6): 752-758
- [23] Lin J, Chen Y, Wei L, et al. Hedyotis Diffusa Willd extract induces apoptosis via activation of the mitochondrion-dependent pathway in human colon carcinoma cells[J]. Int J Oncol, 2010, 37(5): 1331-1338
- [24] Cai Q, Lin J, Wei L, et al. Hedyotis diffusa Willd inhibits colorectal cancer growth in vivo via inhibition of STAT3 signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(5): 6117-6128
- [25] Zardawi SJ, O'Toole SA, Sutherland RL, et al. Dysregulation of Hedgehog, Wnt and Notch signalling pathways in breast cancer [J]. Histol Histopathol, 2009, 24(3): 385-398
- [26] Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer[J]. Nature, 2001, 411(6835): 349-354

(上接第 3006 页)

- [33] Frescas D, Guardavaccaro D, Kuchay SM, et al. KDM2A represses transcription of centromeric satellite repeats and maintains the heterochromatic state[J]. Cell Cycle, 2008, 7(22): 3539-3547
- [34] Liu H, Liu L, Holowatyj A, et al. Integrated genomic and functional analyses of histone demethylases identify oncogenic KDM2A isoform in breast cancer[J]. Molecular Carcinogenesis, 2016, 55(5): 977-99
- [35] Dhar SS, Alam H, Li N. Transcriptional repression of histone deacetylase 3 by the histone demethylase KDM2A is coupled to tumorigenicity of lung cancer cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(11): 7483
- [36] Huang Y, Liu Y, Yu L, et al. Histone demethylase KDM2A promotes tumor cell growth and migration in gastric cancer[J]. Tumor Biology, 2015, 36(1): 271-278
- [37] Frescas D, Guardavaccaro D, Kuchay S M. KDM2A represses transcription of centromeric satellite repeats and maintains the heterochromatic state[J]. Cell Cycle, 2008, 7(22): 3539-3547
- [38] Honda H, Pazin MJ, Ji H, et al. Crucial roles of Sp1 and epigenetic modifications in the regulation of the CLDN4 promoter in ovarian cancer cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(30): 21433-21444
- [39] Lee PS, Teaberry VS, Bland AE, et al. Elevated MAL expression is accompanied by promoter hypomethylation and platinum resistance in epithelial ovarian cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 126(6): 1378-1389
- [40] Woloszynska-Read A, James SR, Link PA, et al. DNA methylation-dependent regulation of BORIS/CTCF expression in ovarian cancer [J]. Cancer Immun, 2007, 7: 21