

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.18.005

甲基莲心碱抗乳腺癌 MCF-7 细胞的研究 *

温海燕 李 娜 侯亚婷 戴 淳 宋金春^Δ

(武汉大学人民医院药学部 湖北 武汉 430060)

摘要 目的:观察甲基莲心碱对乳腺癌细胞系 MCF-7 增殖和凋亡的影响,并探讨其诱导乳腺癌细胞系 MCF-7 凋亡的可能作用机制。**方法:**采用体外培养人乳腺癌细胞系 MCF-7, CCK-8 实验检测不同浓度甲基莲心碱对 MCF-7 细胞增殖抑制作用;乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(微板法)检测细胞上清液 LDH 含量;流式细胞术分析甲基莲心碱对 MCF-7 细胞周期及凋亡的影响;实时定量 PCR(RT-PCR)检测线粒体凋亡相关基因 Bax 和 Bcl-2 的表达水平。**结果:**CCK-8、LDH 结果显示甲基莲心碱以时间、浓度依耐性的方式抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖及促进细胞毒性的增加;流式细胞术结果表明不同甲基莲心碱作用下 MCF-7 的平均凋亡率分别为(15.44±0.52)、(18.81±2.24)、(24.26±2.84)、(36.90±3.15)、(59.27±5.86),且使其周期阻滞于 G₀/G₁ 期;RT-PCR 检测结果证明甲基莲心碱可上调乳腺癌细胞中促凋亡基因 Bax 的表达,而下调抑制凋亡基因 Bcl-2。**结论:**甲基莲心碱以时间和浓度依赖的方式抑制乳腺癌细胞增殖、细胞毒性增加,导致细胞周期于 G₀/G₁ 阻滞并促进癌细胞凋亡。甲基莲心碱抗乳腺癌的可能作用机制是激活线粒体凋亡途径。

关键词:甲基莲心碱;乳腺癌;增殖;凋亡

中图分类号:R-33;R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)18-3425-06

Study on the Effects of Neferine on MCF-7 Cells*

WEN Hai-yan, LI Na, HOU Ya-ting, DAI Zhun, SONG Jin-chun^Δ

(Department of Pharmacy, Renmin Hospital of WuHan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of neferine on the proliferation and apoptosis of breast cancer cell line MCF-7, and to explore its possible mechanism. **Methods:** The human breast cancer cell line MCF-7 were cultured in vitro. CCK-8 assay was used to detect the the anti-proliferation effect of different concentrations of neferine on MCF-7 cells. The supernatant of the cells was assayed for lactate dehydrogenase content by Lactate dehydrogenase (LDH) kit (microplate assay). The effect of neferine on cancer cell cycle distribution and apoptosis was analyzed by flow cytometry. The expression levels of mitochondrial apoptosis-related genes Bax and Bcl-2 were detected by Real-time PCR (RT-PCR). **Results:** CCK-8 and LDH assay showed that neferine inhibited the proliferation and increased the cytotoxicity of breast cancer cells in a time- and concentration-dependent manner. Flow cytometry showed that the average apoptotic rates of MCF-7 under different concentrations of neferine were (15.44±0.52), (18.81±2.24), (24.26±2.84), (36.90±3.15), (59.27±5.86), and its cell cycle arrested at G₀/G₁ phase. PCR detection indicated that the expression of pro-apoptotic protein Bax was increased, and anti-apoptotic protein Bcl-2 was decreased in MCF-7 cells when treated with different concentrations of neferine. **Conclusion:** Neferine inhibited the proliferation and increased the cytotoxicity of breast cancer cells in a time- and concentration-dependent manner, leading to the cell cycle arresting at G₀/G₁ and promoting apoptosis of cancer cells. The activation of the mitochondrial apoptotic pathway may be the anti-cancer mechanism of neferine.

Key words: Neferine; Breast cancer; Proliferation; Apoptosis

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

Article ID: 1673-6273(2018)18-3425-06

前言

甲基莲心碱(Neferin, Nef)是从植物莲(Nelumbo nucifera Gaertn)当中提取出来的一种活性单体,大量存在于莲子心当中,其结构为双苄基异喹啉生物碱^[1]。Nef具有多种药理活性,常见的如降压、抗肝纤维化、抗血小板聚集、抗炎镇静等作用^[2]。近年来,Nef在抗肿瘤方面发挥的作用越来越受到重视,其对

肝癌、肺癌、胃癌等都有较为理想的效果^[3-5]。关于甲基莲心碱抗乳腺癌的研究也有见报道,但主要针对其作为化疗药物的增敏剂联合用药可逆转乳腺癌的多药耐药性,而对其单独在线粒体凋亡方面抗肿瘤的作用机制研究较少^[6-8]。本文以乳腺癌细胞 MCF-7 为研究对象,观察不同浓度的 Nef 体外作用于乳腺癌 MCF-7 细胞对其增殖、凋亡的以及对线粒体凋亡相关基因表达的影响,初步探究 Nef 对乳腺癌细胞的作用机制,旨在为 Nef

* 基金项目:武汉市临空港经济开发区“金山英才计划”课题基金项目

作者简介:温海燕(1994-),硕士研究生,主要研究方向:临床药学,E-mail: wenhaiyan2000@126.com

Δ 通讯作者:宋金春(1964-),硕士研究生导师,教授,主要研究方向:临床药学,E-mail: songjc123@126.com,电话:1806418075

(收稿日期:2018-04-13 接受日期:2018-05-10)

的临床应用提供理论和实验基础。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

人乳腺癌 MCF-7 细胞株购于中国典型培养物保藏中心 (China Center for Type Culture Collection, CCTCC, 中国, 武汉)。甲基莲心碱 (批号: MUST-16080508, 购于成都曼斯特生物科技有限公司, 取甲基莲心碱溶解于 DMSO 中制成浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液, 于 -20°C 保存); AnnexinV-FITC/PI 和 PI/RNases 试剂盒 (购于 BD PharmingenTM); DMEM 高糖培养基 (吉诺生物医药技术有限公司), 胎牛血清 FBS (浙江天杭生物科技股份有限公司); 青霉素 - 链霉素双抗 (武汉谷歌生物科技有限公司); 胰蛋白酶 (吉诺生物); DMSO (美国 Sigma 公司); CCK-8 试剂 (日本同仁化学社); 乳酸脱氢酶 (LDH) 测试盒 (南京建成生物工程研究所); RT-PCR 逆转录 (Fermentas); SYBR GREEN PCR master (Roche), RNA 提取试剂 Trizol (武汉谷歌生物科技有限公司); Bax, Bcl-2 及内参 GAPDH 引物由武汉谷歌生物科技有限公司代为合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 乳腺癌 MCF-7 细胞培养于 DMEM 高糖完全培养基 (含 10% FBS, 1% 青霉素和链霉素), 于 37°C 、5% CO_2 饱和湿度孵育箱中常规培养, 待细胞长至 80% 左右时进行传代, 取对数生长期的细胞进行后续实验。

1.2.2 细胞增殖试验 取处于对数生长期的乳腺癌 MCF-7 细胞, 经 0.25% 胰酶消化后, 用细胞计数板计数后调整细胞密度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于 96 孔板中。培养一段时间后洗去培养基, 再加入一定量的新培养基, 加入不同浓度 ($10, 20, 30, 40, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Nef, 每个药物浓度设置 3 个复孔。分别处理细胞 12 h、24 h 和 48 h。处理后的细胞以培养基: CCK-8 为 9:1 的比例加入 CCK-8 试剂, 在培养箱孵育 30 min~1 h 左右, 于酶标仪上在 450 nm 处测定其吸光度 (A 值)。根据 A 值测定药物对细胞增殖抑制率, 并计算 Nef 对 MCF-7 细胞的半数抑制浓度 (IC_{50}) 值。

细胞增殖抑制率 (%) = $[(A_s - A_b) / (A_c - A_b)] \times 100\%$

A s: 试验组吸光度 (含有细胞的培养基, 不同浓度的药物, CCK-8)

A b: 空白组吸光度 (仅含有 CCK-8, 不含药物和细胞)

A c: 对照组吸光度 (含有细胞的培养基, CCK-8, 不含药物)

1.2.3 细胞上清液 LDH 活性测定 取处于对数生长期的乳腺癌 MCF-7 细胞, 按照密度为 $1 \times 10^5/\text{孔}$ 接种于 96 孔板中。培养一段时间后洗去培养基, 再加入一定量的新培养基, 加入不同浓度 ($10, 20, 30, 40, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 Nef, 每个药物浓度设置 3 个复孔, 并设置 3 个阴性孔。分别处理细胞 12 h、24 h 和 48 h。取培养细胞上清液按照试剂盒说明书加入检测相关试剂 (表 1), 于酶标仪上在 450 nm 处测定其吸光度, 根据吸光度计算相对乳酸脱氢酶含量评估细胞毒性。

表 1 LDH 检测试剂盒操作步骤

Table 1 LDH Test Kit Operation Procedure

	Blank	Standard	Sample	Control
Distilled Water (μL)	25	5		5
$2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Standard Liquid (μL)	25			
Sample (μL)		20	20	
Buffer Solution (μL)	25	25	25	25
Coenzyme I (μL)			5	
Water bath for 15 min under 37°C				
2,4-dinitrophenylhydrazine (μL)	25	25	25	25
Water bath for 15 min under 37°C				
$0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH (μL)	250	250	250	250
Mix at room temperature for 5 min and determine its absorbance				

1.2.4 流式细胞仪测定细胞周期 采用 PI/RNase 单染法检测细胞周期。取 MCF-7 细胞悬液接种于六孔板内, 置于 37°C 、5% CO_2 的培养箱中孵育培养 24 h 左右, 待细胞完全贴壁后, 加入 Nef 使得药物浓度分别为 $10, 20, 30, 40, 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。给药 24 h 后, 洗涤细胞, 加入 1 mL 0.25% 胰酶消化后, 置于离心管中, 1500 rpm 离心 5 min 后收集细胞。取离心后的细胞弃去上清, 加入 3 mL 4°C 预冷的 PBS 重悬细胞, 1500 rpm 离心 5 min 弃去上清。加入 2 mL -20°C 预冷的 75% 乙醇, 重悬细胞, 置于 -4°C 冰箱过夜。待细胞固定后, 1500 rpm 离心 5 min, 弃上清液, 加入 2 mL PBS 洗涤细胞, 离心后倒掉上清, 重复洗涤 1 次。加入

100 μL PBS 重悬细胞后, 加入 2 μL 浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 RNase A, 于 37°C 孵育 30 min。孵育完成后, 加入 100 μL 的 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PI 染色液, 室温避光染色 30 min。最后混匀, 过 300 目筛网, 置流式管中, 待测。

1.2.5 流式细胞仪测定细胞凋亡 采用 Annexin V-FITC/PI 双染法测定细胞凋亡。取生长良好的 MCF-7 细胞均匀接种于六孔板内, 于培养箱中培养 24 h 左右, 待细胞完全贴壁后, 分别给予不同浓度 Nef。给药 24 h 后, 用不含 EDTA 的胰酶消化, 置离心管 1500 rpm 离心 5 min, 弃上清, 收集细胞。加入 1 mL 4°C 预冷的 $1 \times$ PBS 重悬细胞, 1500 rpm 离心 5 min 洗涤细胞 1 次,

弃上清。再用 300 μL 的 $1\times$ Binding Buffer 重悬细胞,加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 混匀后,避光,室温孵育 15 min。孵育完成后,在上机前 5 min 左右加入 5 μL 的 PI 混匀染色。上机前,补加 200 μL 的 $1\times$ Binding Buffer。

1.2.6 实时定量 PCR(RT-PCR)检测相关基因的表达量 取生

长良好的 MCF-7 细胞均匀接种于六孔板内,待细胞完全贴壁后,分别给予不同浓度 Nef。给药 24 h 后,用 Trizol 提取滑膜细胞总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书将总 RNA 逆转录成 cDNA。引物见表 1,qRT-PCR 反应体系见表 2,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算相对表达量。

表 2 实时定量 PCR 分子引物

Table 2 Real-time PCR primers

Gene	Name	Sequence(5'>3')
Homo Bax	sense	5'-CCCTTTTCTACTTTGCCAGCA-3'
	antisense	5'-GGAGTCTCACCCAACCACCC-3'
Homo Bcl-2	sense	5'-CATGTGTGTGGAGAGCGTCAAC-3'
	antisense	5'-CTTCAGAGACAGCCAGGAGAAATC-3'
GAPDH	sense	5'-TGGTATCGTGAAGGACTCA-3'
	antisense	5'-CCAGTAGAGGCAGGGATGAT-3'

表 3 RT-PCR 反应体系

Table 3 RT-PCR reaction system

Component	Vol (uL)
SYBR Premix Ex Taq II (2 $\times$)	12.5
F primer	1.0
R primer	1.0
cDNA template	2.0
DEPC-Treated Water	8.5
Final Con.	25

1.3 统计学分析

数据分析应用 SPSS20.0 统计软件,计量数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,LSD-t 检验比较两组均数,使用单因素方差分析均数间多重比较, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖影响

CCK-8 检测发现,用不同浓度 Nef 处理后,在 12~48 h 内乳腺癌 MCF-7 细胞增殖受到明显抑制,并且随着 Nef 浓度的增加和作用时间的延长抑制作用不断加强,见图 1。Nef 对 MCF-7 细胞在 12、24、48 h 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 36.30 ± 0.48 、 27.95 ± 1.04 、 $21.17\pm 1.96\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

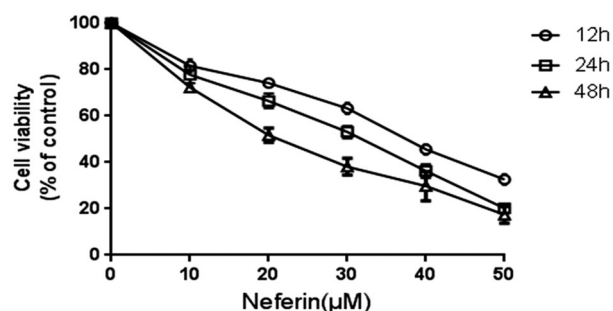


图 1 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞体外增殖活性的影响

Fig.1 Inhibitory effect of neferine on cell proliferation in vitro

2.2 细胞培养液 LDH 活性的检测

细胞上清液 LDH 检测发现随着 Nef 浓度的增加和作用时间的延长,相对与最高组 LDH 浓度百分比不断增加,表明细胞毒性增强,见图 2。这些结果表明 Nef 有效抑制 MCF-7 细胞的生长,对其具有毒性作用。

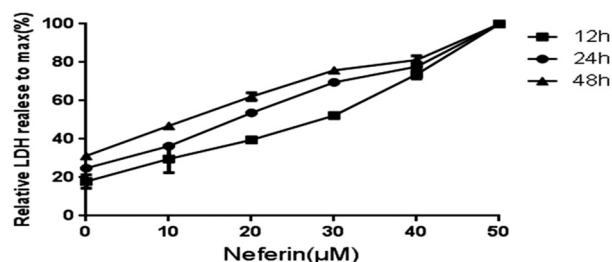


图 2 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞上清液 LDH 的影响

Fig.2 Effect of neferine on LDH in supernatant of breast cancer MCF-7 cells

2.3 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响

Annexin V-FITC 和 PI 双染标记法检测显示:不同浓度的 Nef (10, 20, 30, 40, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理后,各组的平均凋亡率分别为 (15.44 ± 0.52) 、 (18.81 ± 2.24) 、 (24.26 ± 2.84) 、 (36.90 ± 3.15) 、 (59.27 ± 5.86) ,凋亡率随着 Nef 浓度的增加而显著提高,与对照组相比,差别有统计学意义 ($P<0.01$),见图 3。

2.4 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞周期阻滞

流式细胞术检测 Nef 对乳腺癌 MCF-7 周期分布的影响。随着 Nef 浓度的改变,细胞周期也发生相应的变化,见图 4。不同浓度 Nef 处理 24 h 后, G_0/G_1 期的细胞比例显著上升,且呈浓度依赖性。S 期细胞虽然有下降,但是变化不是很明显, G_2/M 期细胞比例变化不是很明显,说明 Nef 阻滞乳腺癌 MCF-7 细胞的 G_0/G_1 期。

2.5 Nef 对 MCF-7 细胞凋亡相关基因表达水平

不同浓度 Nef 处理乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后,RT-PCR 检测了线粒体通路凋亡相关基因 Bax、Bcl-2 的表达水平,结果显示 Bax 的表达水平呈剂量依赖性逐渐上调,Bcl-2 的表达水平逐渐下降,见表 4、图 5。

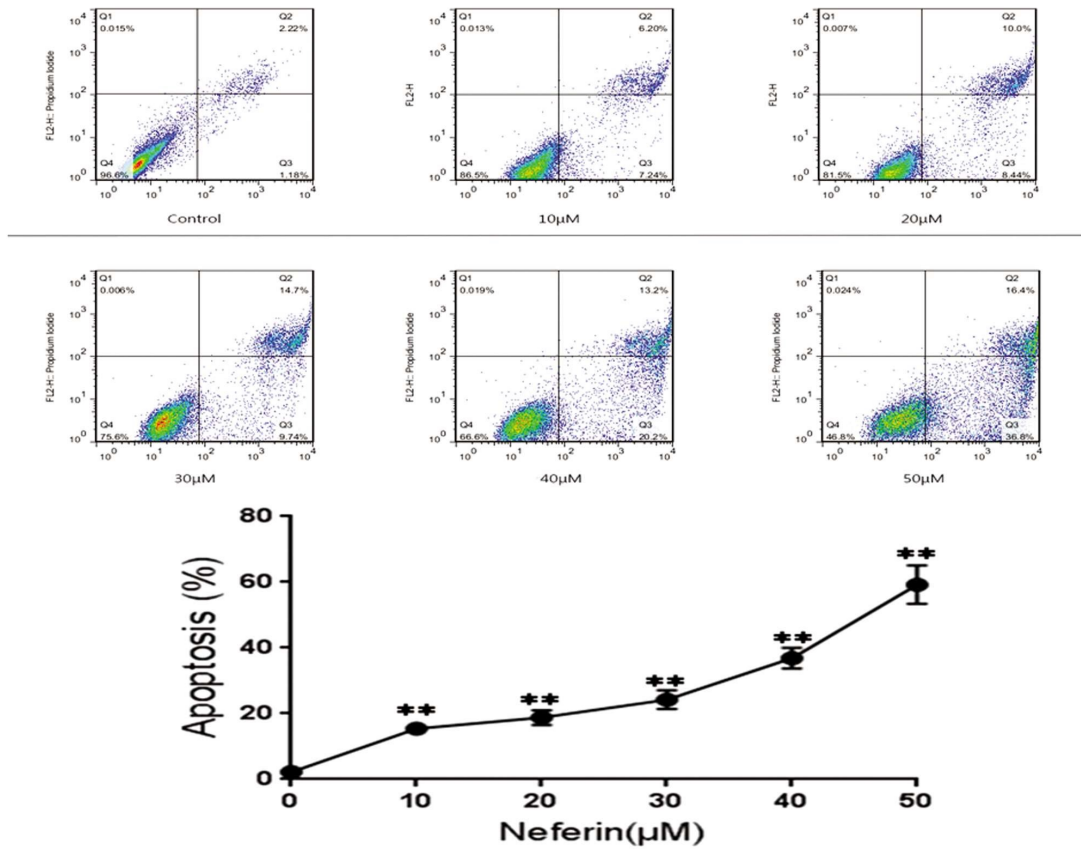


图3 Nef对乳腺癌 MCF-7 凋亡率的影响

Fig.3 Effect of neferine on the apoptotic rate of breast cancer MCF-7

Note: **P<0.01, vs. control.

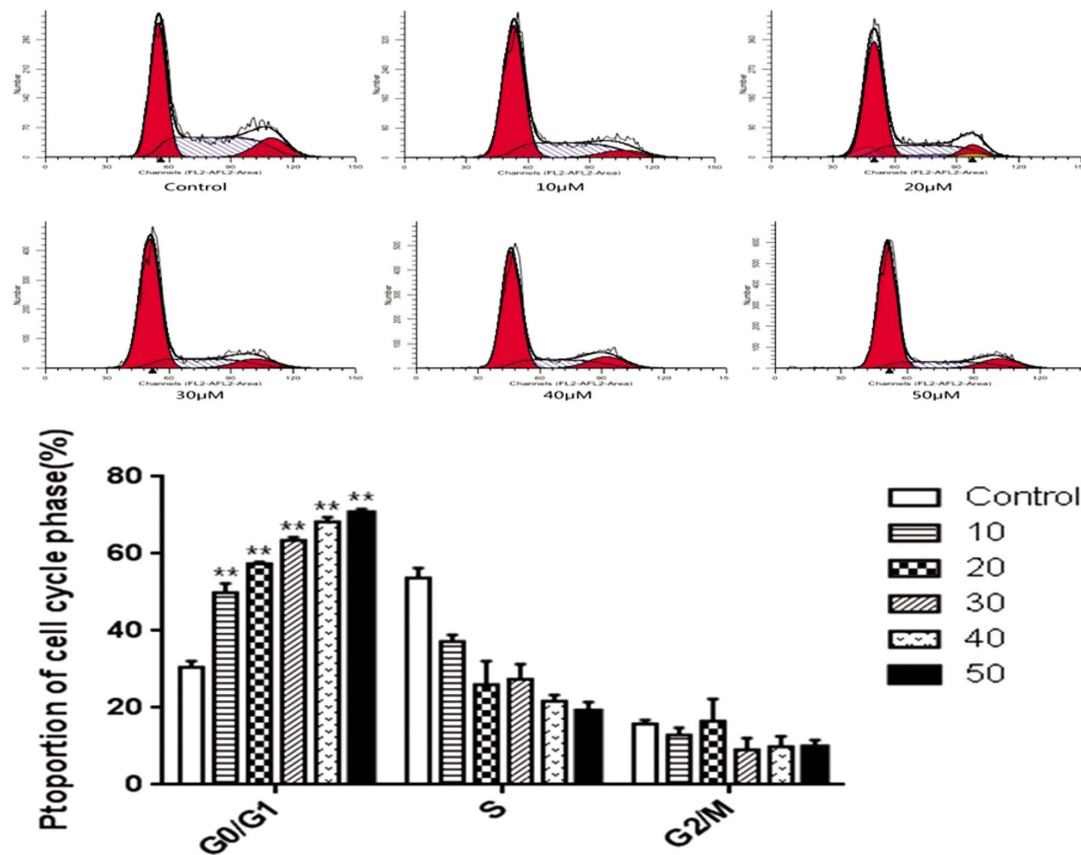


图4 Nef对乳腺癌 MCF-7 细胞周期的影响(*P<0.05, **P<0.01,与对照组比较)

Fig.4 Effect of neferine on breast cancer MCF-7 cell cycle distribution

Note: *P<0.05, **P<0.01, vs. control.

表 4 Bax、Bcl-2 的表达水平

Table 4 The expression levels of Bax, Bcl-2

Nef($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Bax	Bcl-2
0	0.298 $\pm$ 0.025	0.813 $\pm$ 0.076
10	0.480 $\pm$ 0.020*	0.618 $\pm$ 0.025**
20	0.618 $\pm$ 0.027**	0.532 $\pm$ 0.054**
30	0.789 $\pm$ 0.078**	0.501 $\pm$ 0.020**
40	0.866 $\pm$ 0.069**	0.307 $\pm$ 0.038**
50	1.047 $\pm$ 0.079**	0.194 $\pm$ 0.024**

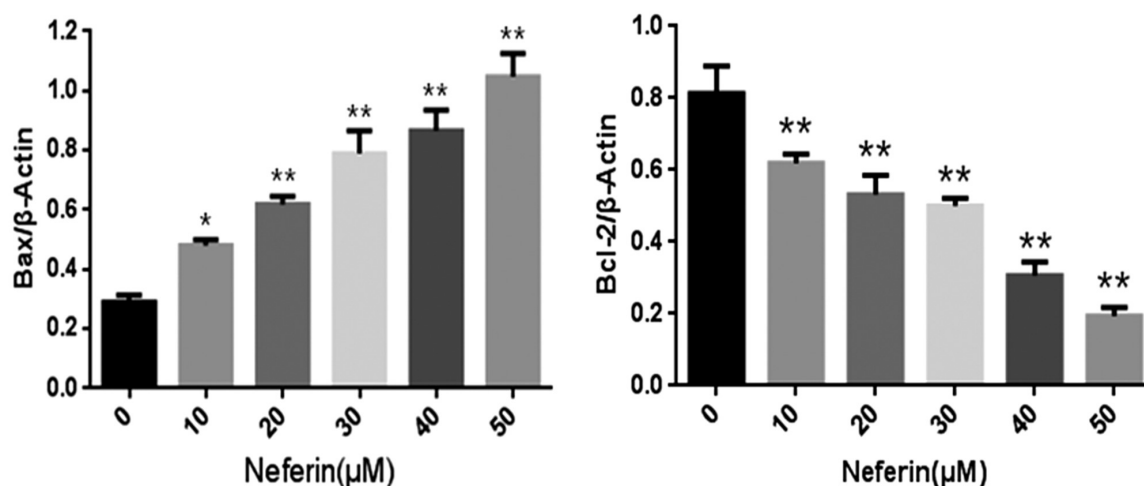
Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. control.

图 5 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞中凋亡相关基因 Bax 和 Bcl-2 表达的影响

Fig.5 Effect of neferine on the expression of apoptosis associated genes Bax, Bcl-2 in breast cancer MCF-7 cell

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. control.

3 讨论

乳腺癌是当今对女性健康造成危害的首要恶性肿瘤之一,随着人口增长和趋于老龄化,美国癌症协会统计预计到 2030 年,全球每年患乳腺癌的新增病例将增至 990 万人,死亡病例增至 550 万人^[9]。由于大多数的肿瘤存在异质性,即同类肿瘤的瘤间与同一肿瘤的瘤内存在形态、功能差异的瘤细胞亚群。乳腺癌也不例外,根据乳腺癌的异质性,WHO(2003)肿瘤分类将其分为 18 种不同的组织类型。正是由于乳腺癌的高度异质性,使其对药物敏感性不同,导致易复发或转移,给治疗带来很大难度^[10,11]。因此,正确认识乳腺癌的不同分子分型,了解不同亚型的特点和发生机制是治疗的关键。乳腺癌发生机制是一个由多因素参与的复杂错综的过程,涉及多条信号通路和相关蛋白,当这些生物活性物质传导或表达异常时,导致细胞异常生长、增殖,最后致使癌变^[12,13]。通过对乳腺癌发生发展的相关信号通路进行调节可有效延缓或阻断癌变的进程。目前,临床上治疗乳腺癌主要采用化疗、放疗和手术方法,但由于这些治疗手段具有选择性差、易对人体产生严重不良反应、易复发和转移等缺点。因此,寻找一种高效低毒且具有高度靶向性的治疗手段是乳腺癌治疗研究的重要目标^[14]。近年来,从天然植物当中提取出的具有抗癌活性的中药复合物或单体日益得到关注,目前已知的如紫杉醇、长春新碱等植物来源的抗肿瘤药物抗癌效果显著,已开始用于临床抗乳腺癌的治疗^[15]。而对抗癌药物的首要筛选标准就是对其诱导细胞凋亡及增殖的抑制能力进

行研究。

Nef 作为从天然植物中提取出来的一种生物碱单体,具有多种生物活性,其在抗癌领域上也表现出了巨大的潜力。Zhang^[16]等人的研究发现甲基莲心碱通过 p38 MAPK 信号通路诱导 p21 蛋白积累,使成骨肉瘤 U2OS 细胞的周期停滞于 G₁ 期,从而抑制细胞增殖促进凋亡。另外,有研究^[17]报道甲基莲心碱可通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路以及产生大量 ROS 诱导 A549 肺癌细胞发生自噬而发挥抗癌作用。此外,甲基莲心碱对卵巢癌细胞也有很好的抑制作用,Olive 等^[18]对 HO8910 和 SKOV3 卵巢癌细胞采用 Nef 处理后,发现细胞生存率显著降低,进一步研究发现 Nef 通过激活 p38 MAPK 和 JNK 通路诱导自噬的发生而发挥抗癌作用。由此可见,Nef 对不同癌症其抗癌机制有所差异。Nef 对乳腺癌的作用也有报道,Zhang 等^[19]研究了莲子心中的三种生物碱对乳腺癌细胞作用进行研究,证明 Nef 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞和 MCF-10 细胞具有抑制作用,但未对其具体机制进一步研究。因此,本研究对 Nef 抗乳腺癌 MCF-7 细胞机制进一步探索。

本实验采用不同浓度的 Nef 干预 MCF-7,通过 CCK8 试验表明 Nef 可有效抑制 MCF-7 细胞的增殖,在 48 h 之内的 IC₅₀ 随着时间的延长而降低,说明 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖抑制作用呈剂量和时间依赖性;LDH 结果表明,随着时间的延长和药物浓度的增加,细胞内 LDH 浓度逐渐增大,Nef 对 MCF-7 细胞毒性作用越来越大;通过流式细胞术分别对 MCF-7 细胞的凋亡和周期分布进行检测,结果表明 Nef 可有效

增加细胞的凋亡率,呈浓度依赖性。作为细胞增殖的必须过程,细胞周期的阻滞是细胞发生凋亡的重要原因之一^[20]。流式周期检测结果表明 Nef 导致 MCF-7 细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期。该期是细胞 DNA 合成的前期,是细胞周期的起始阶段,G₁ 期合成的物质可为后面的 S 期作充分准备^[21]。Nef 对 MCF-7 细胞 G₀/G₁ 期产生了阻滞作用,继而抑制其增殖。但 Nef 是通过何种机制对细胞 G₀/G₁ 期产生阻滞,还待进一步研究。有研究采用甲基莲心碱可通过线粒体途径增加肺癌细胞对顺铂的药物敏感性,两者联合用药激活线粒体凋亡通路,从而诱导细胞发生凋亡^[22]。因此,为了进一步对 Nef 诱导 MCF-7 细胞凋亡的分子机制,本研究采用 RT-PCR 对细胞线粒体凋亡的相关基因进行研究。在线粒体相关的凋亡途径中,Bax 和 Bcl-2 基因可调控位于线粒体膜相关蛋白,这些蛋白可以调控线粒体内细胞色素 C 释放,释放到胞质的细胞色素 C 与相关细胞因子结合后,使细胞发生凋亡^[23]。RT-PCR 的结果表明 Nef 上调乳腺癌细胞中促凋亡基因 Bax 的表达,而下调抑制凋亡基因 Bcl-2,从而激活相关线粒体凋亡通路,导致细胞凋亡。

综上,本研究表明 Nef 对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖具有显著的抑制作用,使细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期,诱导细胞凋亡,并对其相关凋亡基因具有一定的调控作用,呈剂量和时间依赖性,Nef 可能通过线粒体凋亡途径诱导乳腺癌细胞凋亡。但本研究还未对 Nef 凋亡机制进行具体的探讨,在后续的研究中,我们将进一步研究相关线粒体信号通路,以期阐明 Nef 抗乳腺癌作用的完整机制。

参考文献(References)

- [1] 赵芹,吴修,李效尊,等.莲(Nelumbo nucifera)不同部位活性物质及其药理作用研究进展[J].分子植物育种,2016,14(7): 1864-1874
Zhao Qin, Wu Xiu, Li Xiao-zun et al. Research Advances on Pharmacological Effects and Bioactive Compounds of Different Organs of Nelumbo nucifera [J]. Molecular Plant Breeding, 2016, 14 (7): 1864-1874
- [2] Sharma B R,Gautam L N, Adhikari D, et al. A Comprehensive Review on Chemical Profiling of Nelumbo Nucifera: Potential for Drug Development[J]. Phytotherapy Research, 2017, 31(1): 3-26
- [3] Poornima P, Quency R S, Padma V V. Neferine induces reactive oxygen species mediated intrinsic pathway of apoptosis in HepG2 cells [J]. Food Chemistry, 2013, 136(2): 659-667
- [4] Kalai S S, Vinoth A, Varadharajan T, et al. Neferine augments therapeutic efficacy of cisplatin through ROS- mediated non-canonical autophagy in human lung adenocarcinoma (A549 cells) [J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2017, 103: 28
- [5] Cao J G, Tang X Q, Shi S H. Multidrug resistance reversal in human gastric carcinoma cells by neferine [J]. World Journal of Gastroenterology, 2004, 10(20): 3062-3064
- [6] Kadioglu O, Byk L, Swf M, et al. Mode of Action Analyses of Neferine, a Bisbenzylisoquinoline Alkaloid of Lotus (Nelumbo nucifera) against Multidrug-Resistant Tumor Cells [J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8: 238
- [7] Xiao X B, Xie Z X, Chen J, et al. Effect of neferine on the chemotherapeutic sensitivity of STI 571 to K562/A02 cells [J]. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2005, 30(5): 558-561
- [8] Tian Y, Qian S, Jiang Y, et al. The interaction between human breast cancer resistance protein (BCRP) and five bisbenzylisoquinoline alkaloids [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2013, 453 (2): 371-379
- [9] Ferlay J, Héry C, Autier P, et al. Global Burden of Breast Cancer[M]// Breast Cancer Epidemiology. Springer New York, 2010: 1-19
- [10] Aktipis C A, Nesse R M. Evolutionary foundations for cancer biology [J]. Evolutionary Applications, 2013, 6(1): 144-159
- [11] Anderson W F, Rosenberg P S, Prat A, et al. How many etiological subtypes of breast cancer: two, three, four, or more?[J]. J Natl Cancer Inst, 2014, 106(8): 296-297
- [12] 李洁静, 庄志刚. 乳腺癌相关的信号转导机制研究进展[J].现代肿瘤医学, 2015, (5): 703-705
Li Jie-jing, Zhuang Zhi-gang. Research progress on relevant signal transduction mechanism in breast cancer[J]. Modern Oncology, 2015, (5): 703-705
- [13] Kwan ML, Bernard PS, Kroenke CH, et al. Breastfeeding, PAM50 tumor subtype, and breast cancer prognosis and survival[J]. J Natl Cancer Inst, 2015, 107(7): 1-8
- [14] 仲维兰,鲁美钰,司春枫,等.乳腺癌靶向治疗研究进展[J].现代肿瘤医学, 2018, (4): 622-626
Zhong Wei-lan, Lu Mei-yu, Si Chun-feng, et al. Progress of research on targeted therapy for breast cancer[J]. Modern Oncology, 2018, (4): 622-626
- [15] 曹丽荣,王鸿梅,李军.植物来源抗肿瘤药物药理机制、不良反应与临床应用[J].药学研究, 2013, 32(9): 539-542
Cao Li-rong, Wang Hong-mei, Li Jun. Study on mechanism and adverse reaction in clinical application about the anticancer drugs from plant resource [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2013, 32(9): 539-542
- [16] Zhang X, Liu Z, Xu B, et al. Neferine, an alkaloid ingredient in lotus seed embryo, inhibits proliferation of human osteosarcoma cells by promoting p38 MAPK-mediated p21 stabilization[J]. European Journal of Pharmacology, 2012, 677(3): 47
- [17] Poornima P, Weng C F, Padma V V. Neferine from Nelumbo nucifera, induces autophagy through the inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway and ROS hyper generation in A549 cells [J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3598-3605
- [18] Olive P G. Neferine induces autophagy of human ovarian cancer cells via p38 MAPK/ JNK activation.[J]. Tumour Biology the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology & Medicine, 2016, 37(7): 8721-8729
- [19] Zhang X, Wang X, Wu T, et al. Isolinsinine induces apoptosis in triple-negative human breast cancer cells through ROS generation and p38 MAPK/JNK activation[J]. Scientific Reports, 2015, 5(5): 12579
- [20] Gulappa T, Reddy R S, Suman S, et al. Molecular interplay between cdk4 and p21 dictates G0/G1 cell cycle arrest in prostate cancer cells [J]. Cancer Letters, 2013, 337(2): 177-183
- [21] Velez A M A, Howard M S. Tumor-suppressor Genes, Cell Cycle Regulatory Checkpoints, and the Skin [J]. North American Journal of Medical Sciences, 2015, 7(5): 176-188
- [22] Sivalingam K S, Paramasivan P, Weng C F, et al. Neferine Potentiates the Antitumor Effect of Cisplatin in Human Lung Adenocarcinoma Cells Via a Mitochondria-Mediated Apoptosis Pathway[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2017, 118
- [23] Ya mur Kiraz A A M K. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis[J]. Tumor Biology, 2016, 37(7): 8471-8486