

白屈菜红碱对人结直肠癌细胞凋亡的影响及其机制研究

刘翀, 蒋晓梅* (丽水市中心医院药学部, 浙江 丽水 323000)

摘要: 目的 研究白屈菜红碱(chelerythrine, CHE)对体外结直肠癌细胞的生长抑制作用, 并探讨其作用机制。方法 MTT测定结肠癌细胞存活率, 应用流式细胞仪检测 CHE 处理后活性氧(reactive oxygen species, ROS)的积累和细胞凋亡情况, JC-1 荧光染料法检测细胞线粒体膜电位改变, 应用荧光显微镜和 Western blotting 验证 ROS 积累诱导的线粒体功能障碍。结果 CHE 对 HCT-116 和 RKO 细胞发挥剂量依赖性细胞毒作用, 该作用与 ROS 介导的凋亡蛋白的表达有关。此外, CHE 能够降低伴随线粒体功能障碍的线粒体膜电位。结论 CHE 通过 ROS 介导的线粒体功能障碍和 JNKs 途径抑制 CRC 细胞生长并诱导细胞凋亡, 提示 CHE 可能成为潜在的治疗 CRC 的候选药物。

关键词: 结直肠癌; 细胞凋亡; 氧化应激; 线粒体功能障碍

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)24-3034-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.24.006

引用本文: 刘翀, 蒋晓梅. 白屈菜红碱对人结直肠癌细胞凋亡的影响及其机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(24): 3034-3039.

Effect of Chelerythrine on Apoptosis of Human Colorectal Cancer Cells and Its Mechanism

LIU Chong, JIANG Xiaomei* (Department of Pharmacy, Lishui Central Hospital, Lishui 323000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the inhibitory effect of chelerythrine(CHE) on the growth of colorectal cancer cells *in vitro* and explore its mechanism. **METHODS** MTT assay was used to determine the survival rate of colon cancer cells, and flow cytometry was applied to detect reactive oxygen species(ROS) accumulation and apoptosis after CHE treatment. JC-1 fluorescent method was adopted to detect cellular mitochondria potentials while using fluorescent microscope and Western blotting method to validate that accumulation of ROS inducing mitochondrial dysfunction. **RESULTS** CHE had a dose-dependent cytotoxic effect on HCT-116 and RKO cells, which was related to the expression of ROS mediated apoptosis proteins. In addition, CHE could reduce the mitochondrial membrane potential associated with mitochondrial dysfunction. **CONCLUSION** CHE inhibits cell growth and induces CRC cell apoptosis through ROS mediated mitochondrial dysfunction and JNKs pathway, suggesting CHE may be a potential candidate drug for CRC therapy.

KEYWORDS: colorectal cancer; apoptosis of cells; oxidative stress; mitochondrial dysfunction

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大常见肿瘤, 其发病率持续上升, 特别在发展中国家, 随着人口的增长和老龄化, CRC 的负担将增加^[1]。根据时间和人口分布预测, 至 2030 年, CRC 新病例预计将达 220 万以上, 约 110 万例死亡^[2]。目前 CRC 的治疗方法主要为手术和化疗, 手术包括直肠全系膜切除术(total mesorectal excision, TME)、全结肠系膜切除术(complete mesocolic excision, CME)和经肛门内镜显微手术(transanal endoscopic microsurgery, TEM)等, 其治疗效果仍需临床验证。对于最初无法切除的 CRC 使用化疗方法, 然而易引起一系列不良反应, 应用范围有限^[3], CRC 的治疗仍有待改进和进一步研究。

研究表明在中草药中发现了越来越多的生物

活性化合物, 为其进一步在肿瘤治疗中的应用提供参考^[4]。白屈菜红碱(chelerythrine, CHE)是一种异喹啉类苯并菲啶型生物碱, 是从白屈菜、飞龙掌血、博落回等植物中分离的生物碱成分^[5], 研究报道 CHE 有抗菌、抗炎、抗寄生虫等生物学活性^[6], 已证明其在一系列肿瘤中发挥抗肿瘤作用^[7]。研究发现, CHE 在体外能抑制多种肿瘤细胞的增殖, 其机制可能与诱导细胞凋亡有关, 可能通过线粒体凋亡途径诱导细胞凋亡^[7]。以往的研究表明 CHE 对肺癌细胞 A549 的生长有抑制作用, 且能抑制肝癌细胞 HepG2 的增殖, 对抗肿瘤药物的新药研发具有指导作用^[8]。

凋亡指程序性细胞死亡, 是细胞死亡的主要机制。细胞凋亡主要有 2 种途径: 细胞死亡受体介导和线粒体介导^[9]。活性氧(reactive oxygen

作者简介: 刘翀, 男, 硕士生, 主管药师 Tel: (0578) 2780138
(0578) 2780138 E-mail: hardwo5@yeah.net

E-mail: sasa_666@yeah.net *通信作者: 蒋晓梅, 女, 主管药师 Tel:

species, ROS)在肿瘤细胞进展中起重要作用,研究表明,ROS 可以影响线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)并引发一系列细胞凋亡^[10-11]。此外,研究发现 ROS 诱导的 JNK 细胞凋亡是肿瘤细胞凋亡的主要途径^[12]。然而,CHE 对结直肠癌的抗肿瘤机制尚未完全阐明。在此基础上,本研究旨在通过 ROS 依赖的线粒体功能障碍探索 CHE 诱导结直肠癌细胞凋亡的机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

CHE(上海源叶生物科技有限公司,批号:M25D3S1); Bcl-2(批号:sc-7382)、Bax(批号:sc-7480)、GAPDH(批号:sc-47724)和辣根酶标记羊抗兔 IgG(批号:sc-2004)抗体购自美国 SANTA CRUZ 公司;pJNK(批号:#9255)、JNK(批号:#9252)、cleaved-PARP(批号:#5625)、cleaved-caspase-3(批号:#9661)、cleaved-caspase-9(批号:#9050)抗体购自美国 Cell Signaling 公司;N-乙酰半胱氨酸(NAC,批号:1009005)、二甲基亚砜(DMSO,批号:D2650)和甲基噻唑基四唑(MTT,批号:M2128)购自美国 Sigma 公司;Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(批号:V13241)购自美国 Thermo Fisher 公司;活性氧物种探针 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA,批号:S0033)、线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1,批号:C2006)、caspase-3/9 检测试剂盒(批号:C1115/C1157)购自碧云天公司。

Accuri C6 plus 流式细胞仪(美国 BD Biosciences 公司);荧光显微镜(日本 Nikon 公司)。

1.2 结直肠癌细胞系培养

人结肠癌 HCT-116 细胞和 RKO 细胞购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。HCT-116 细胞系在补充有 10%胎牛血清(FBS),1% L-谷氨酰胺和抗菌药物的 McCoy's 5A 培养基中,置于 5% CO₂, 37 °C 培养箱中培养。RKO 细胞系在补充有 10%胎牛血清(FBS),1% L-谷氨酰胺和抗菌药物的 EMEM 培养基中,置于 5% CO₂, 37 °C 培养箱中培养。

1.3 细胞活力测定

为了测量结肠肿瘤细胞在 CHE 处理后的存活率,细胞以每孔 6×10^3 的密度接种于 96 孔板上,并在含有 10%热灭活的 FBS 的 McCoy's 5A 培养基或 MEM 中附着过夜。将 CHE 溶解在 DMSO 中

并用 McCoy's 5A 培养基或 MEM 稀释至终浓度 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在 MTT 测定之前,将结肠癌细胞与不同浓度 CHE 一起温育 24 h。

1.4 细胞凋亡分析

将 HCT-116 和 RKO 细胞接种在 6 孔板上 24 h,然后在含或不含抗氧化剂 NAC(5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的情况下用 CHE(4, 6 或 8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理 24 h 后收获细胞样,用 PBS 洗涤 3 次,3 μL Annexin V 在黑暗中孵育 10 min,再用 2 μL PI 孵育 5 min,使用 Accuri C6 plus 流式细胞仪评估细胞凋亡情况。

1.5 细胞活性氧的测量

通过流式细胞术测量细胞 ROS 含量,将 5×10^5 个细胞接种在 6 孔板上 24 h,然后在含或不含 NAC(5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)的情况下用 CHE(4, 6 或 8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理 1 h。除去培养基后,加入新鲜无 FBS 培养基中的 ROS 指示剂 DCFH-DA (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),并在 37 °C 下细胞培养箱中继续培养 30 min。收集细胞并使用 Accuri C6 plus 流式细胞仪分析,同时通过荧光显微镜测定细胞内 ROS 水平。

1.6 Western blotting 分析

提取细胞的总蛋白,并通过 Bradford 测定法测量蛋白质水平。使用 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质,转移到聚偏二氟乙烯膜上。室温下用含有 0.05% Tween 20(TBST)和新鲜制备的 5%脱脂奶的 Tris 缓冲盐水封闭 1.5 h 后,与一抗 4 °C 温育过夜,TBST 洗涤,二抗室温下孵育 1 h。使用 ECL 底物显现免疫反应,Image J 进行光密度测量。

1.7 caspase-3/9 活性的测定

根据说明书使用 caspase-3/9 活性试剂盒测量细胞裂解物中的 caspase-3/9 活性。

1.8 线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)的评估

使用 JC-1(5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯并咪唑羧花青碘化物)荧光染料法检测细胞线粒体电位改变,通过荧光显微镜检查 CHE 对细胞线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)的影响。用 CHE 处理 RKO 细胞 12~14 h,然后将细胞用 JC-1 在 5% CO₂ 的细胞培养箱中染色 30 min。使用尼康荧光显微镜获得图像。

1.9 统计分析

所有数据均表示为 $\bar{x} \pm s$ 。使用 Sigmaplot 10.0 的 Student 配对 *t* 检验分析,以 $P < 0.05$ 表示有统计

学差异。

2 结果

2.1 CHE 降低细胞活力并诱导 CRC 细胞中的 ROS 积累

为了评估 CHE 的抗肿瘤作用,在 2 种代表性的结肠直肠癌细胞系中评估总体细胞活力,进行 MTT 测定以初步研究 CHE 对 RKO 和 HCT-116 细胞系的细胞不良反应。MTT 试验结果表明, CHE 处理 24 h 后, HCT-116 和 RKO 细胞系 IC_{50} 分别为 5.129 和 5.303 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 细胞存活率降低。说明 CHE 以剂量依赖性方式抑制 HCT-116 和 RKO 细胞的增殖, 结果见图 1。

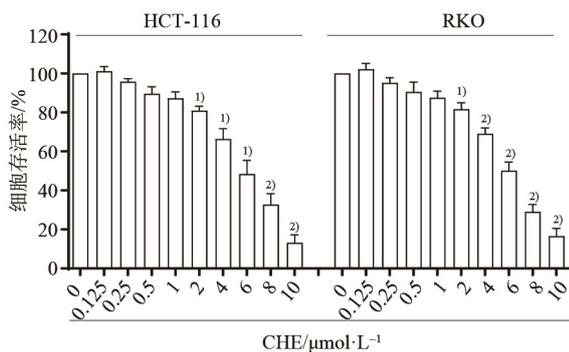


图 1 MTT 检测 CHE 处理的 HCT-116 和 RKO 细胞活力与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CHE 组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 1 MTT detection of CHE-treated HCT-116 and RKO cell viability

Compared with 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CHE group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$.

为了验证 CHE 在 CRC 细胞中诱导的 ROS 积累, 利用流式细胞术, 荧光显微镜观察细胞内 ROS。与 DMSO 组相比, 用高浓度 CHE(6 和 8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理的 RKO 细胞中 ROS 产生显著增加 ($P<0.01$)。并且抗氧化剂 NAC 明显抑制了 RKO 细胞中 ROS 水平 ($P<0.05$), 同时逆转 CHE 对 ROS 的作用。这些结果证明 CHE 对 CRC 细胞具有细胞毒性, 且以剂量依赖性地增加 CRC 细胞中的 ROS 水平。结果见图 2。

2.2 CHE 在 CRC 细胞中诱导 ROS 依赖性细胞凋亡

通过 Annexin-V/PI 染色和流式细胞术评估 HCT-116 和 RKO 细胞系的凋亡。图 3A 表明 CHE 加速了 HCT-116 和 RKO 细胞系的凋亡。为了量化 CHE 诱导的细胞凋亡, 转化为直方图。结果显示, 随着 CHE 浓度的增加, CRC 细胞的凋亡以剂量依赖性方式升高, 而抗氧化剂 NAC 预处理 (5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 可以阻止 CHE 诱导的细胞凋亡 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 见图 3B。

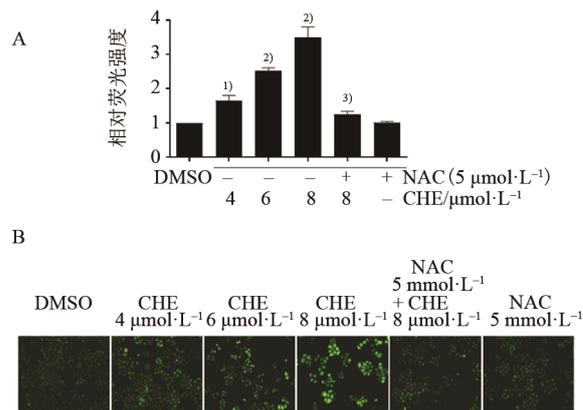


图 2 CHE 诱导的 RKO 细胞中 ROS 水平

A-流式细胞术分析测量 CHE 诱导的 RKO 细胞中 ROS 水平; B-荧光显微镜(200 \times)显示 RKO 细胞中 ROS 水平。与 DMSO 组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与 CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 CHE-induced ROS levels in RKO cells

A-flow cytometry analysis measured ROS levels in CHE-induced RKO cells; B-fluorescence microscopy(200 \times) showed ROS levels in RKO cells. Compared with DMSO group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group, ³⁾ $P<0.05$.

Western blotting 也显示出相同的结果, 即 CHE 剂量依赖性地增加 RKO 细胞中的凋亡相关蛋白。随着 CHE(6 和 8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理, 作为细胞凋亡阳性指标 cleaved-PARP 增加 ($P<0.05$), 而处理后与细胞凋亡呈负相关的 Bcl-2/Bax 比率显著降低 ($P<0.05$)。结果证明了 CHE 在 CRC 细胞中诱导 ROS 依赖性细胞凋亡, 见图 4。

2.3 CHE 在 CRC 细胞中诱导 ROS 依赖性线粒体功能障碍

为了进一步研究 CHE 诱导的细胞凋亡的机制, 使用了 JC-1 试剂盒检测线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)。通过荧光显微镜(200 \times)观察显示 CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)降低了 RKO 细胞中的线粒体膜电位(图 5A)。图 5 B~C 显示 CHE 可以剂量依赖性方式增强 caspase-3 和 caspase-9 的活性, 而 NAC 可以抑制 CHE 诱导的 caspase-3/9 活性增加 ($P<0.05$)。通过 Western blotting 检测线粒体凋亡途径相关蛋白(p-JNK 和 cleaved-caspase-3/9)的表达, 图 5 D~E 显示 CHE 以剂量依赖性方式上调 p-JNK 表达, 且 NAC 显著抑制 p-JNK 表达的上调 ($P<0.01$)。图 5 F~G 显示, RKO 细胞中 cleaved-caspase-3 和 cleaved-caspase-9 的表达通过 CHE 以剂量依赖性方式增加, 而 NAC 显著抑制 cleaved-caspase-3 和 cleaved-caspase-9 的表达增加 ($P<0.01$)。数据表明 CHE 处理诱导 RKO 细胞中 ROS 依赖性线粒体功能障碍。

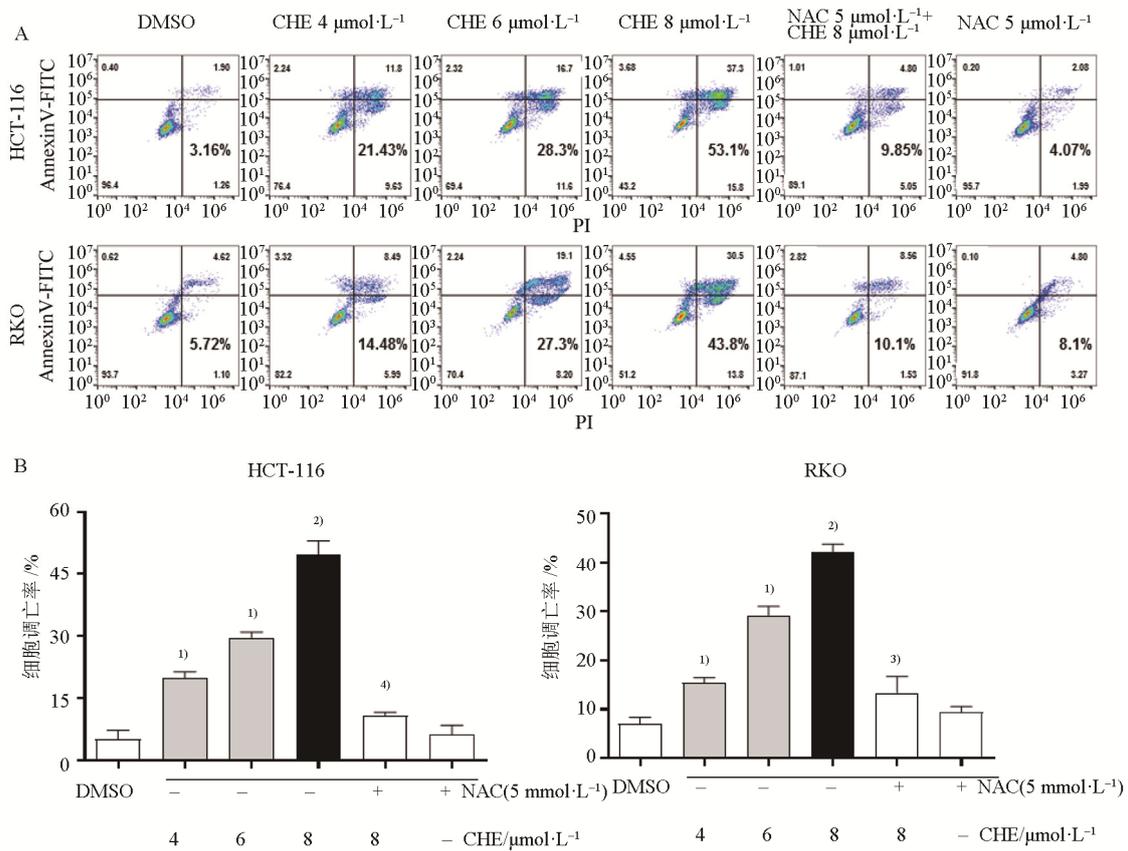


图3 CHE诱导的HCT-116和RKO细胞凋亡

A-FITC-V/PI染色测定细胞凋亡；B-流式细胞术测定细胞凋亡率。与DMSO组相比，¹⁾ $P < 0.05$ ，²⁾ $P < 0.01$ ；与CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组相比，³⁾ $P < 0.05$ ，⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 3 CHE-induced apoptosis of HCT-116 and RKO cells

A-FITC-V/PI staining assay was used for apoptosis determination; B-flow cytometry was used to determine the percentage of apoptosis. Compared with DMSO group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; compared with CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$.

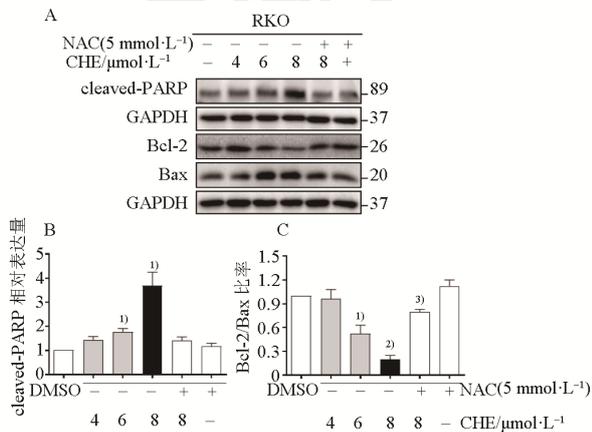


图4 CHE诱导的凋亡相关蛋白表达

与DMSO组相比，¹⁾ $P < 0.05$ ，²⁾ $P < 0.01$ ；与CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组相比，³⁾ $P < 0.05$ 。

Fig. 4 CHE-induced apoptosis-related protein expression

Compared with DMSO group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; compared with CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group, ³⁾ $P < 0.05$.

3 讨论

本研究发现CHE可通过ROS依赖性线粒体功

能障碍诱导人结肠癌细胞凋亡。研究表明，CHE抑制了HCT-116和RKO细胞的增殖，并促进了ROS的积累，可诱导人结肠癌细胞ROS依赖性凋亡。最后，证实了在RKO细胞中由CHE诱导的线粒体功能障碍。

随着新技术的发展，天然产物被开发为高效安全的抗肿瘤药物。研究表明天然产物活性成分在治疗和预防肿瘤中的有效应用^[13]。据报道，CHE可抑制肝癌、肺癌、乳腺癌等细胞的增殖，其机制可能与诱导细胞凋亡有关^[7]，宗永立等^[14]研究了CHE诱导细胞凋亡的机制，发现通过BclXL(Bcl-2家族的抗凋亡成员)和PKC的复杂作用，促进线粒体细胞色素C的释放和ROS的产生。据报道，通过ROS的产生，CHE诱导心肌细胞凋亡^[15]。在本研究中，CHE可通过诱导ROS产生诱导结肠直肠癌细胞的凋亡，表明靶向ROS是治疗结肠直肠癌的重要治疗策略。

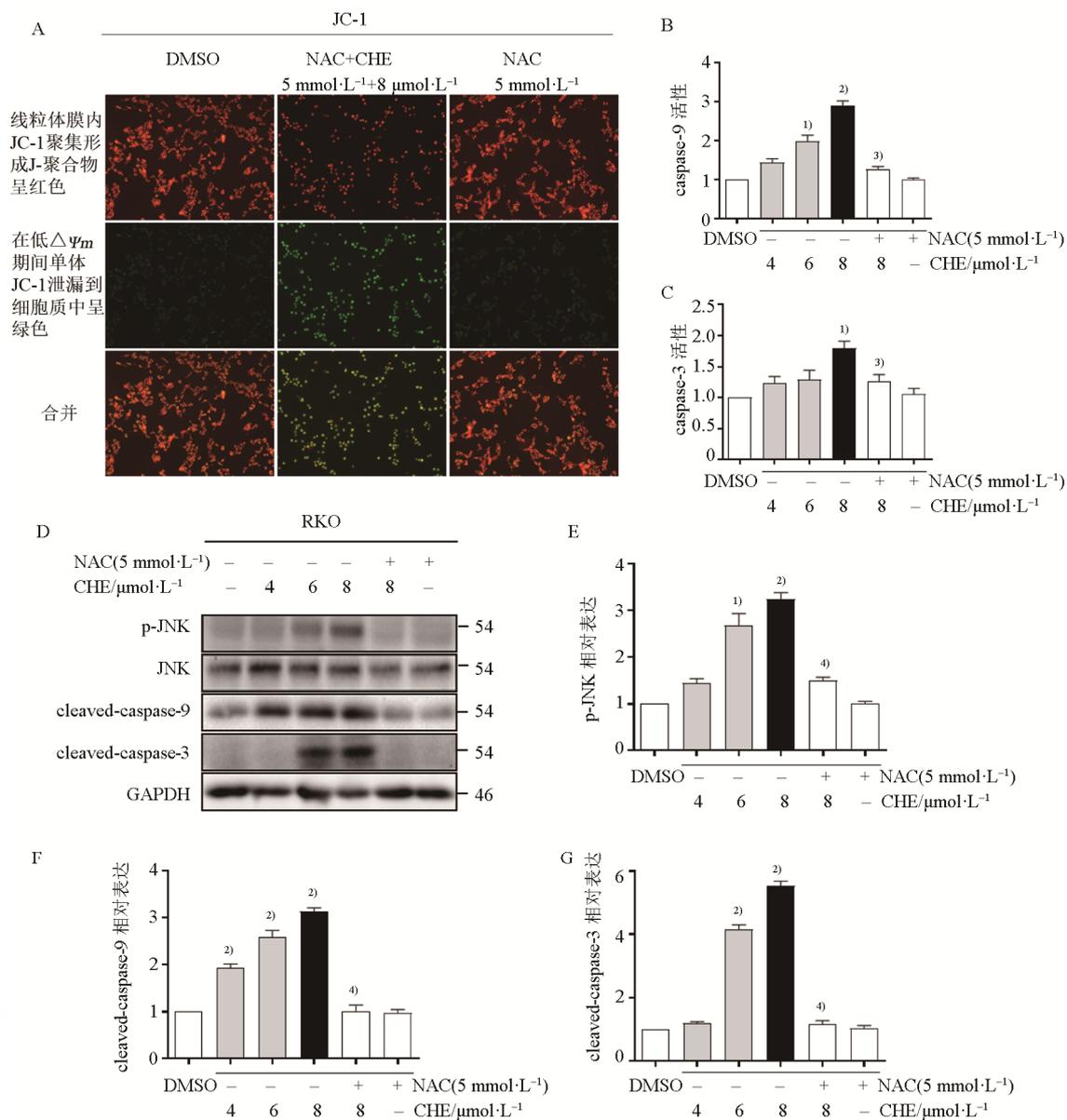


图 5 CHE 在 CRC 细胞中诱导 ROS 依赖性线粒体功能障碍

A-JC-1 试剂盒检测线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)(200 \times); B-caspase-9 活性; C-caspase-3 活性; D-E-Western blotting 分析测定 p-JNK 表达; F-G-Western blotting 分析测定 cleaved-caspase-9/3 表达。与 DMSO 组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与 CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组相比, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 5 CHE-induced ROS-dependent mitochondrial dysfunction in CRC cells

A-JC-1 kit detected mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) (200 \times); B-caspase-9 activity; C-caspase-3 activity; D-E-Western blotting analysis was used to determine p-JNK expression; F-G-Western blotting analysis was used to determine cleaved-caspase-9/3 expression. Compared with DMSO group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with CHE(8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$.

研究报道了细胞凋亡与线粒体功能障碍之间的相关性。作为天然抗肿瘤剂的木香烯内酯在膀胱癌细胞诱导的细胞凋亡过程中诱导线粒体功能障碍, 木香烯内酯处理 T24 膀胱癌细胞后, Bcl-2/Bax 比值降低, 线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)下降, caspase-3 被激活^[16]。在 CHE 诱导的体外人肝癌细胞 Hep3B 细胞凋亡过程中, 检测到线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)下降和 caspase-9/3 蛋白表达的升高^[7,17]。笔

者研究了 CHE 诱导的 ROS 介导的结直肠癌细胞凋亡的机制, 数据显示, CHE 处理后结直肠癌细胞的线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)降低, Bcl-2/Bax 比率降低, cleaved-caspase-3 和 cleaved-caspase-9 蛋白表达呈浓度依赖性增高。结果表明, CHE 在结直肠癌细胞中诱导 ROS 介导的线粒体功能障碍。

总之, 本研究揭示 CHE 通过激活结肠直肠癌细胞中 ROS 介导的线粒体功能障碍诱导细胞凋

亡。NAC 对照试验表明, 靶向 ROS 应激可能是一种重要的肿瘤治疗策略。虽然本研究证明了 CHE 的抗肿瘤作用和相关机制, 但 CHE 和 ROS 靶向治疗的临床应用仍需要进一步研究。

REFERENCES

- [1] FAVORITI P, CARBONE G, GRECO M, et al. Worldwide burden of colorectal cancer: a review [J]. *Updates Surg*, 2016, 68(1): 7-11.
- [2] ARNOLD M, MONICA S S, LAVERSANNE M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality [J]. *Gut*, 2016, 66(4): 683-691.
- [3] SANG Y L, XU Q, HONG D S, et al. Comparative study of targeted drug therapy for colorectal cancer based on real world samples [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2019, 36(6): 718-722.
- [4] SUNILA E S, KUTTAN G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* Linn. and piperine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 90(2/3): 339-346.
- [5] WANG P Q, YIN Z H, KANG W Y. Advance in studies on pharmacological activities of chelerythrine [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2013, 38(17): 2745-2749.
- [6] MIAO F, YANG X J, ZHOU L, et al. Structural modification of sanguinarine and chelerythrine and their antibacterial activity [J]. *Nat Prod Res*, 2011, 25(9): 863-875.
- [7] 韩聪. 基于线粒体凋亡途径探讨白屈菜红碱抗肿瘤作用的机制[D]. 上海: 上海中医药大学, 2016.
- [8] HAN C, ZHU G F. Mechanism of apoptosis induced by chelerythrine in HepG2 cells [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志)*, 2016, 22(11): 127-130.
- [9] ZEESTRATEN E C, BENARD A, REIMERS M S, et al. The prognostic value of the apoptosis pathway in colorectal cancer: a review of the literature on biomarkers identified by immunohistochemistry [J]. *Biomark Cancer*, 2013(5): 13-29.
- [10] LI P, ZHAO Q L, WU L H, et al. Isofraxidin, a potent reactive oxygen species(ROS) scavenger, protects human leukemia cells from radiation-induced apoptosis via ROS/mitochondria pathway in p53-independent manner [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(6): 1043-1053.
- [11] XIANG T, DU L Y, PHAM P, et al. Nelfinavir, an HIV protease inhibitor, induces apoptosis and cell cycle arrest in human cervical cancer cells via the ROS-dependent mitochondrial pathway [J]. *Cancer Lett*, 2015, 364(1): 79-88.
- [12] YANG H, XIE Y, YANG D, et al. Oxidative stress-induced apoptosis in granulosa cells involves JNK, p53 and Puma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 25310-25322.
- [13] BISHAYEE A, SETHI G. Bioactive natural products in cancer prevention and therapy: Progress and promise[J]. *Semin Cancer Biol*, 2016(40/41): 1-3.
- [14] ZONG Y L, LIU Y P. Review on the mechanism of apoptosis induced by chelerythrine [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药)*, 2006, 17(10): 2068-2071.
- [15] YAMAMOTO S, SETA K, MORISCO C, et al. Chelerythrine rapidly induces apoptosis through generation of reactive oxygen species in cardiac myocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(10): 1829-1848.
- [16] RASUL A, BAO R, MALHI M, et al. Induction of apoptosis by costunolide in bladder cancer cells is mediated through ROS generation and mitochondrial dysfunction [J]. *Molecules*, 2013, 18(2): 1418-1433.
- [17] MALIK F, KUMAR A, BHUSHAN S, et al. Reactive oxygen species generation and mitochondrial dysfunction in the apoptotic cell death of human myeloid leukemia HL-60 cells by a dietary compound withaferin A with concomitant protection by N -acetyl cysteine [J]. *Apoptosis*, 2007, 12(11): 2115-2133.

收稿日期: 2019-01-24
(本文责编: 李艳芳)