

刘友强,王贵英,胡冀陶,等. 洛铂对结肠癌细胞的抗肿瘤活性及机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(5): 89-94.
Liu YQ, Wang GY, Hu JT, et al. Anti-tumor activity and mechanisms of lobaplatin in colon cancer cells [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(5): 89-94.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021.05.015

洛铂对结肠癌细胞的抗肿瘤活性及机制研究

刘友强¹, 王贵英^{1,2*}, 胡冀陶¹, 韩佳旭¹, 席金川¹, 李保坤¹

(1.河北医科大学第四医院外二科,石家庄 050011; 2.河北医科大学第三医院,石家庄 050000)

【摘要】 目的 探索洛铂在结肠癌细胞中的抗肿瘤活性,阐明潜在分子机制,为临床应用提供理论证据。方法 体外培养结肠癌细胞 SW480,用 MTT 比色法和克隆形成实验检测不同浓度的洛铂分别处理结肠癌 SW480 细胞株 24、48 h 和 72 h 后,对结肠癌细胞增殖活性的抑制作用;用流式细胞仪检测不同浓度梯度的洛铂对结肠癌 SW480 细胞株凋亡率的影响;采用 Western blot 检测洛铂对 SW480 细胞凋亡相关蛋白 CASPASE-3、BAD、BCL-2 的表达;添加 AKT 抑制剂及激动剂,采用 Western blot 检测 CASPASE3、AKT、pAKT、BAD、p-BAD 和 BCL-2 表达量,探讨洛铂促结肠癌细胞凋亡的作用机制。结果 洛铂能显著抑制体外培养的 SW480 细胞的生长,呈现为时间剂量依赖型;洛铂可诱导结肠癌 SW480 细胞凋亡,且随着洛铂浓度的增加,结肠癌 SW480 细胞凋亡率显著提高,结果具有统计学意义。洛铂可下调结肠癌细胞凋亡基因 BCL-2 蛋白表达,上调促凋亡基因 BAD 和 CASPASE-3 蛋白表达量;添加 AKT 抑制剂 MK-2206 后,pAKT、p-BAD 和 BCL-2 蛋白表达显著降低,CASPASE3 蛋白表达显著升高,促进了细胞凋亡,结果具有统计学差异。添加 AKT 激动剂 SC97 处理后,pAKT、p-BAD 和 BCL-2 蛋白表达显著上调,CASPASE3 蛋白表达显著下调,抑制了细胞凋亡,结果具有统计学意义。结论 洛铂能显著抑制人结肠癌 SW480 细胞增殖,诱导癌细胞凋亡,洛铂可能通过 AKT/BCL-2/BAD 信号通路发挥促细胞凋亡作用,是一种有效的抗结肠癌药物。

【关键词】 洛铂;化疗;结肠癌细胞;凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 05-0089-06

Anti-tumor activity and mechanisms of lobaplatin in colon cancer cells

LIU Youqiang¹, WANG Guiying^{1,2*}, HU Jitao¹, HAN Jiaxu¹, Xi Jinchuan¹, Li Baokun¹

(1. Second Department of Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China.
2. the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000)

【Abstract】 **Objective** To explore the anti-tumor activity of lobaplatin in colon cancer cells, to elucidate the underlying molecular mechanisms, and to provide theoretical evidence for clinical application. **Methods** Colon cancer cell line SW480 was cultured in vitro. MTT colorimetric assay and colony formation assay were used to detect the inhibitory effect of different concentrations of lobaplatin on colon cancer SW480 cells at 24, 48 and 72 h. The apoptosis rate of the cells was detected by flow cytometry. Western blot was used to detect the expression of the apoptosis-related proteins caspase-3, BAD and BCL-2 in SW480 cells after lobaplatin treatment. The mechanism of lobaplatin-induced apoptosis was investigated by adding AKT inhibitors and agonists and detecting the expression levels of caspase-3, AKT, pAKT, BAD, p-

【基金项目】 河北省医学科学研究重点课题计划(20170165)。

【作者简介】 刘友强(1984—),男,主治医师,研究方向:普外科常见病、消化道肿瘤。E-mail:ppr3d7@163.com

【通信作者】 王贵英(1969—),女,主任医师,研究方向:结直肠癌发病机制及诊疗。E-mail:tizq@vip.163.com

BAD and BCL-2. **Results** Lobaplatin significantly inhibited the growth of cultured SW480 cells in a dose- and time-dependent manner. Lobaplatin induced apoptosis of colon cancer SW480 cells. Lobaplatin induced downregulation of anti-apoptotic BCL-2 protein expression and upregulated pro-apoptotic BAD and caspase-3 protein expression in the cells. Addition of AKT inhibitor MK-2206 significantly decreased pAKT, p-BAD, and BCL-2 expression, and significantly increased caspase-3 expression. Addition of AKT agonist SC97 significantly increased pAKT, p-BAD, and BCL-2 protein expression, and significantly decreased caspase-3 protein expression. **Conclusions** Lobaplatin significantly inhibited proliferation and induced apoptosis of human colon cancer SW480 cells. Lobaplatin may play a role in promoting apoptosis through the AKT/BCL-2/BAD signaling pathway, and it is an effective anti-colon cancer drug.

【Keywords】 lobaplatin; chemotherapy; colon cancer cells; apoptosis

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,在世界范围内,结直肠癌的发病率居恶性肿瘤第三位,死亡率居第四位^[1]。在我国,结直肠癌的发病率和死亡率呈逐年升高趋势,最新数据显示,2015 年中国 CRC 发病人数为 37.63 万例,死亡人数为 19.1 万例。在我国男性第五位、女性第四位高发恶性肿瘤,位居我国恶性肿瘤死因的第五位^[2]。结直肠癌治疗方式为以手术为主,放化疗为辅的综合治疗。虽然近年来针对结直肠癌的预防及临床治疗手段均有明显改善,但其发病率和死亡率仍没有显著降低趋势,尤其是 IV 期结直肠癌患者的生存率并未见明显的提升,治疗效果仍然不能令人满意。晚期结直肠癌严重影响患者的生活质量及生存期。

此外,结直肠癌是一种慢性、多基因和非可控性炎症驱使的恶性肿瘤^[3],发生和发展机制非常复杂。因结直肠癌恶性程度较高,肿瘤异质性明显,对放化疗缺乏特异性等特点,导致 CRC 对放化疗易产生耐受^[4]。因此,寻找新的有效治疗靶点,探索新的治疗模式,是结肠癌亟待解决的问题。

洛铂(化学式:C₉H₁₈N₂O₃Pt)是第三代抗肿瘤铂类制剂,其抗肿瘤活性与 DNA 烷基化和干扰 *c-myc* 基因相关^[5],具有更强的抗肿瘤作用,且副作用更少。临床前研究表明,洛铂可打破某些肿瘤细胞对顺铂或卡铂的耐药性^[6-7]。大量临床试验已证明洛铂在多种癌症中具有抗肿瘤作用,洛铂能显著抑制乳腺癌、胃癌、黑色素瘤等癌症^[7-10]的侵袭转移,抑制肿瘤细胞的增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,杀伤对肿瘤细胞。

但洛铂在结肠癌中的作用和分子机制很少被研究,其作用及机制尚不明确。在本研究中,初步探讨洛铂对结肠癌细胞的抑制作用,分析洛铂诱导结肠癌 SW480 细胞死亡的类型,并对其作用机制-凋亡相关基因 BAD 和 BCL-2 表达-进行了探索,为洛铂在结肠癌患者中的应用提供理论依据。因此,

本研究的目的是探索洛铂在结肠癌 SW480 细胞中的抗肿瘤活性,阐明潜在分子机制,为临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验细胞

人结肠癌 SW480 细胞由河北医科大学第四医院科研中心所提供。

1.2 主要试剂与仪器

10%新生胎牛血清(杭州四季清公司);RPM-1640 干粉培养基(美国 GIBCO 公司)。胰蛋白酶、二甲基亚砜(DMSO)、碘化丙锭均为山东茂军化工科技有限公司;GAPDH、BAD、BCL-2、p-BAD、p-AKT、CASPASE-3 抗体及荧光二抗均购自美国 Abcam 公司;MK-206 和 SC79 购买自美国 Selleckchem 公司;洛铂购自益佰制药有限公司。MTT 检测试剂盒购买自 Abcam 中国;流式细胞仪(美国 Attune NxT 公司);检测细胞凋亡所需的 Annexin-V 和 7-AAD(PI)购买自百奥莱博;Transwell 小室及克隆形成实验耗材购自美国 Corning 科技。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

人结肠癌 SW480 细胞用含 10% 标准胎牛血清的 RPM1640, 100 μg/mL 链霉素和每毫升 100 单位青霉素培养基中培养,细胞培养箱设定为 37℃、5% CO₂,当细胞密度达到 80%~90%时,传代培养,每 3 d 传代 1 次。

1.3.2 MTT(四唑盐)比色法

采用 MTT 实检测洛铂对结肠癌细胞的抗肿瘤活性。将 SW480 细胞接种在 96 孔培养皿中培养过夜,然后用不同浓度梯度的洛铂(0, 8, 16 和 24 μg/mL)与结肠癌 SW480 细胞共培养 24 h、48 h 和 72 h,采用 OD_{490 nm} 测量各孔的吸光值。生成细胞活力

曲线。

1.3.3 细胞克隆形成实验

采用克隆形成实验检测洛铂对结肠癌细胞的抑制作用。将 SW480 细胞在 6 孔培养皿中培养孵化一夜。将结肠癌细胞与不同浓度梯度的洛铂(0, 8, 16 和 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 共培养 48 h, 然后用新鲜的 RPMI 1640 培养基替代含有洛铂的培养基, 细胞培养 2 周之后, 通过固定和染色后, 采用光学显微镜对细胞克隆数(超过 50 个细胞)进行分析。

1.3.4 流式细胞仪检测细胞凋亡率

采用细胞取对数期结肠癌 SW480 细胞, 加入浓度梯度为 0、8、16、24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的洛铂, 培养 48 h 后, 用不含 EDTA 的胰酶消化后, 收集细胞。用预冷 1 \times PBS(4 $^{\circ}\text{C}$) 洗涤细胞, 加入 100 μL 1 \times Binding Buffer 重悬细胞。Annexin V-FITC 标记细胞后, 避光, 室温孵育 15 min, 上机前 5 min 再加入 5 μL 的 PI 染色进行 PI 标记, 检测细胞凋亡率。

1.3.5 Western blot 检测凋亡相关蛋白

将结肠癌细胞与不同浓度梯度的洛铂(0、8、16、24 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 共培养 48 h, 收集细胞, 用 PBS 洗涤, 裂解提取蛋白, 将 50 μg 蛋白加入 SDS 凝胶中, 电泳将蛋白转运至 PVDF 膜上用含有 5% 脱脂牛奶的 TBST 封闭。一抗 CASPASE-3, BAD, BCL-2, GAPDH (1:1000 稀释) 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 二抗(1:10000) 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 2 h, 成像显影。

1.3.6 探索洛铂诱导结直肠癌细胞凋亡的机制

MK-206 是一种 AKT 抑制剂, SC79 一种新型的 AKT 小分子激动剂。将结肠癌细胞分为 4 组, 洛铂 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组, 洛铂 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组, 洛铂 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + MK-206 组, 洛铂 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + SC79 组, 共培养 48 h, 收集细胞, 用 PBS 洗涤, 裂解提取蛋白, 将 50 μg 蛋白加入 SDS 凝胶中, 电泳将蛋白转运至 PVDF 膜上, 用含有 5% 脱脂牛奶的 TBST 封闭。一抗 pAKT、AKT、p-BAD、BAD、BCL-2、CASPASE-3、GAPDH (1:1000 稀释) 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 二抗(1:10000) 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 2 h, 成像并分析各组蛋白的表达情况, 探索洛铂促凋亡机制。

1.4 统计学方法

实验结果数据采用 SPSS 21.0 统计软件处理, 计量资料以平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 洛铂抑制结肠癌 SW480 细胞增殖

采用 MTT 实验及克隆形成实验检测洛铂对结肠癌 SW480 细胞的抑制作用。为探索洛铂对细胞增殖活性的抑制作用。本研究采用不同梯度(0, 8, 16 和 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的洛铂作用 SW480 细胞 24 h、48 h 和 72 h, 之后进行 MTT 分析。结果表明洛铂对 SW480 细胞增殖活性具有明显抑制作用, 且表现出事件和剂量依赖型。随药物浓度的增加, 洛铂的抑制作用逐渐增强, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。随着作用时间的增加, 洛铂的抑制作用也逐渐增强, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。其抑制率呈时间-剂量依赖关系。见表 1。

细胞克隆形成结果显示, 洛铂能抑制结肠癌细胞的克隆形成, 抑制细胞增殖, 且呈现为剂量依赖型, 随着洛铂浓度的增加, 抑制作用越明显, 结果具有统计学意义。当洛铂的药物浓度为 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 显著抑制细胞克隆形成。见图 1。

2.2 洛铂诱导 SW480 细胞凋亡

本实验采用流式细胞仪检测洛铂对结肠癌 SW480 细胞凋亡的影响。洛铂作用人结肠癌 SW480 细胞 48 h 后, 研究发现洛铂可诱导 SW480 细胞凋亡, 且随洛铂浓度的增加, 细胞凋亡率明显增加。组间比较结果具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 2。

2.3 洛铂调节关键凋亡相关蛋白的表达

本研究采用 Western blot 法检测了凋亡相关蛋白 CASPASE-3、BAD 与 BCL-2 在结肠癌细胞 SW480 中的表达情况。结果显示, 洛铂作用于结肠癌 SW480 细胞 24 h 后, 与对照组相比, 随洛铂的浓度增加, CASPASE-3 的表达量逐渐上升。随洛铂的浓度增加, BAD 蛋白表达增加, BCL-2 蛋白表达下降, 各组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$), 结果见图 3A。BAD 与 BCL-2 的比率显著提高, 结果具有统计

表 1 洛铂对 SW480 细胞株的增殖抑制作用($\bar{x} \pm s$)
Table 1 The inhibitory effect of lobaplatin on the proliferation of SW480 cell line

| 浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$) Concentration | 24 h OD _{570 nm} | 48 h OD _{570 nm} | 72 h OD _{570 nm} |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Control | 0.857 \pm 0.034 | 1.310 \pm 0.045 | 1.454 \pm 0.051 |
| 8 | 0.611 \pm 0.054* | 0.561 \pm 0.044* | 0.612 \pm 0.008* |
| 16 | 0.520 \pm 0.34* | 0.524 \pm 0.022* | 0.559 \pm 0.031* |
| 24 | 0.464 \pm 0.009* | 0.479 \pm 0.052* | 0.504 \pm 0.053* |

注: 相同洛铂浓度在不同作用时间及在相同作用时间不同洛铂浓度对细胞增殖的对比。与 24 h 组和 48 h 组相比, $*P < 0.05$ 。下同。

Note. Compared among different time at same lobaplatin concentration and different lobaplatin concentration at the same time on cell proliferation. Compared with 24 h and 48 h group, $*P < 0.05$. The same as below.

学意义。见图 3B、3C。

2.4 洛铂调节结肠癌细胞凋亡的信号通路

本研究采用 AKT 的抑制剂 MK-2206 及激动剂 SC97 探讨洛铂调节结肠癌细胞凋亡的信号通路。研究发现未采用洛铂处理的结肠癌细胞 pAKT 高表达, 抑凋亡基因 *p-BAD*、*BCL-2* 蛋白高表达, *CASPASE3* 蛋白未明显表达, 当加入 AKT 的抑制剂 MK-2206 后, pAKT、p-BAD 和 *BCL-2* 蛋白表达下调, *CASPASE3* 蛋白表达升高, 促进了细胞凋亡。

采用 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 洛铂处理结肠癌细胞后, p-BAD、*BCL-2* 低表达, *CASPASE3* 蛋白高表达, 当联

合 AKT 激动剂 SC97 处理后, pAKT、p-BAD 和 *BCL-2* 蛋白表达上调, *CASPASE3* 蛋白表达下调, 抑制了细胞凋亡(见图 4)。

3 讨论

铂类药物被广泛用于多种恶性肿瘤的治疗中, 然而, 其严重毒副作用限制了其临床应用^[11]。顺铂是第一代铂类药物, 对多种实体肿瘤均能产生抗肿瘤疗效。然而, 顺铂药物常伴有剂量限制性肾毒性、胃肠毒性、耳毒性和神经毒性, 阻碍了顺铂在临床应用。卡铂是第二代铂化合物由于其严重的神经毒性和耳毒性, 骨髓抑制, 特别是血小板减少, 同样影响了卡铂的应用。洛铂(lobaplatin)是第三代铂类衍生物, 该复合物中 1,2-二氨甲基-环丁烷为稳定配基, 乳酸为离去基团。与前两代铂类药物相比具有明显优势, 稳定性好, 抗肿瘤活性强, 肾毒性轻, 胃肠道反应轻, 未表现出顺铂的交叉耐药性^[12]。

BAD 蛋白是 *BCL-2* 基因家族的促凋亡成员,

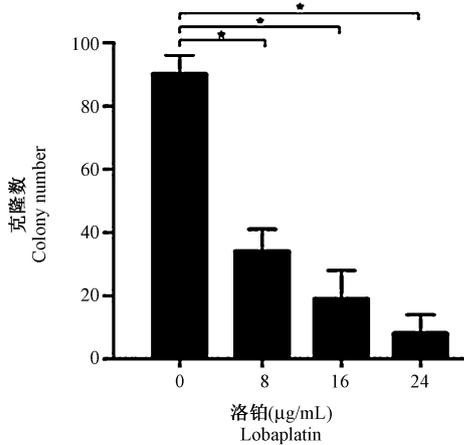


图 1 洛铂抑制结肠癌细胞克隆形成

Figure 1 lobaplatin inhibits colon cancer cell clone formation

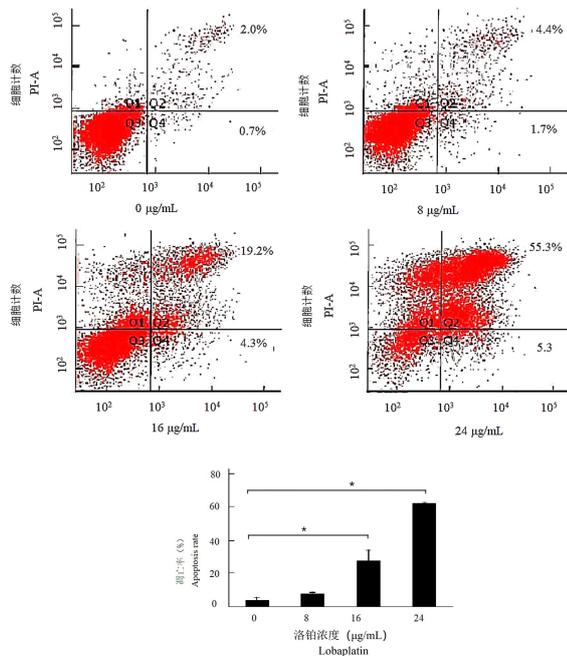


图 2 不同浓度洛铂对 SW480 细胞凋亡影响

Figure 2 Effect of lobaplatin on apoptosis of SW480 cells

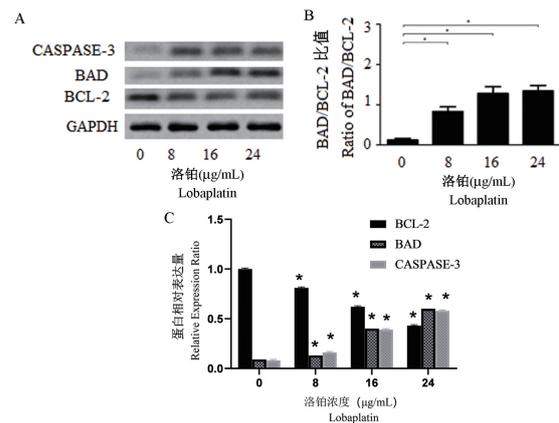


图 3 洛铂调节关键凋亡相关蛋白的表达

Figure 3 Lobaplatin regulates the expression of key apoptosis related proteins

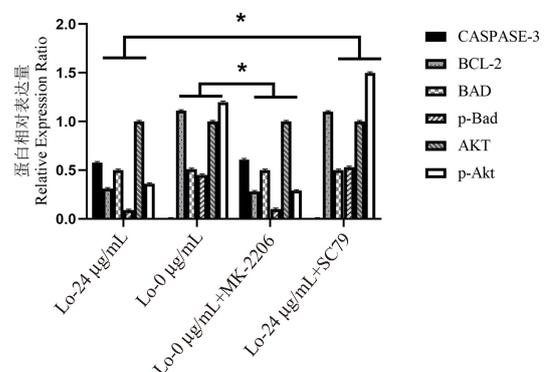


图 4 洛铂调节结肠癌细胞凋亡

Figure 4 Lobaplatin regulating apoptosis of colon cancer cells

其参与启动细胞凋亡。其不包含外部线粒体膜和核膜靶向的结构域。当 BAD 被 AKT 磷酸化时,它形成 BAD-14-3 蛋白异二聚体,抑制细胞凋亡。BAD 蛋白可通过在线粒体外膜上打孔,允许细胞色素 c 逃逸到细胞质中并激活促凋亡的 CASPASE 级联,来启动细胞凋亡^[13]。抗凋亡 BCL-2 蛋白可抑制细胞色素 c 通过线粒体孔释放,并且抑制细胞质 CASPASE 级联的活化。既往研究表明活化的 AKT 可以使 BAD 磷酸化,促进细胞存活,否则促进细胞凋亡^[14]。

近期临床前发现了洛铂在大多数恶性肿瘤的潜在抗肿瘤机制。洛铂可阻止细胞周期进程,诱导肿瘤细胞凋亡,改变蛋白质组,抑制肿瘤的迁移和侵袭,下调细胞周期蛋白 D1, CDK4, CDK6, MMP-2, MMP-9 和 BCL-2 的表达,上调 p53, BAX, PARP, CASPASE-3, -8, -9 等基因的表达^[15-17]。但在结肠癌中的作用尚不明确,本研究以人结肠癌 SW480 细胞为模型,探讨其对结肠癌细胞作用。

本实验结果显示洛铂对结肠癌 SW480 细胞生长有明显抑制作用,抑制结肠癌细胞的增殖,表现为时间-剂量依赖型。同时洛铂可诱导结肠癌 SW480 细胞凋亡,随着洛铂浓度的提高,洛铂促细胞凋亡的强度表现为增强的趋势,呈现出剂量依赖型。CASPASE 家族蛋白在细胞凋亡过程中发挥着关键作用^[18]。本研究结果表明,洛铂作用人结肠癌 SW480 细胞后,可提高结肠癌细胞中 CASPASE-3 的表达量,促进细胞的凋亡,表明洛铂可通过 CASPASE 信号通路诱导细胞凋亡。BCL 家族蛋白在调节 CASPASE 信号通路诱导细胞凋亡过程中发挥着重要作用。BAX 和 BCL-2 是调控细胞凋亡的主要分子^[19-20]。BAX 可以激活 BCL-xl 和 BAD,促进细胞凋亡的发生,而 BCL-2 可以抑制 BAX 的表达,抑制细胞凋亡。BAD/BCL-2 比值在细胞凋亡中一个重要的决定因素^[21-22]。本研究结果显示,不同浓度梯度的洛铂作用人结肠癌 SW480 细胞后 BCL-2 蛋白表达下调,而 BAD 蛋白表达上升, BCL-2/BAD 比值下降,表明 BCL 家族蛋白在洛铂诱导结肠癌细胞凋亡中起着重要的调控作用。

AKT 信号传导途径涉及广泛的细胞功能,包括细胞存活、增殖、血管生成、细胞代谢和细胞迁移。AKT 的激活导致 BCL 家族 BCL-2 的抗凋亡蛋白的增加。BCL-2 是一种抗凋亡蛋白,为位于线粒体外膜,通过阻止线粒体释放细胞色素 c,抑制细胞凋

亡。细胞色素 c 从线粒体向细胞质的转移是 CASPASE-3 活化和细胞凋亡诱导的关键步骤^[23]。本研究中发现,AKT 抑制剂能显著抑制 BCL-2 蛋白表达,促进 BAD 和 CASPASE-3 蛋白表达,促进细胞凋亡。AKT 激动剂能显著抑制 BAD 和 CASPASE-3 蛋白表达,促进 BCL-2 蛋白表达,抑制细胞凋亡。本文研究显示,洛铂可能通过 AKT/BCL-2/BAD 信号通路发挥促细胞凋亡作用。洛铂可显著抑制结肠癌的 SW480 细胞的增殖,具有剂量和时间依赖性。洛铂可能通过 AKT/BCL-2/BAD 信号通路发挥促细胞凋亡作用。因此,洛铂可能是一种有效的抗结肠癌药物,但尚需要进一步的研究和临床评价。

参考文献:

- [1] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer [J]. Lancet, 2014, 383(9927): 1490-1502.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics, 2017 [J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177-193.
- [4] Dulal S, Keku TO. Gut microbiome and colorectal adenomas [J]. Cancer J, 2014, 20(3): 225-231.
- [5] McKeage MJ. Lobaplatin: a new antitumour platinum drug [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2001, 10(1): 119-128.
- [6] Kavanagh JJ, Edwards CL, Freedman RS, et al. A trial of lobaplatin (D-19466) in platinum-resistant ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 1995, 58(1): 106-109.
- [7] 律慧敏, 张梦玮, 牛李敏, 等. 晚期乳腺癌含洛铂联合化疗方案疗效及安全性 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25(11): 803-806.
- [8] Wu X, Tang P, Li S, et al. A randomized and open-label phase II trial reports the efficacy of neoadjuvant lobaplatin in breast cancer [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 832.
- [9] Li Y, Liu B, Yang F, et al. Lobaplatin induces BGC-823 human gastric carcinoma cell apoptosis via ROS- mitochondrial apoptotic pathway and impairs cell migration and invasion [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83: 1239-1246.
- [10] Yang F, Yu Y, Lei Q, et al. Lobaplatin arrests cell cycle progression, induces apoptosis and impairs migration and invasion in B16-F10 melanoma cell line *in vitro* [J]. Biomed Pharmacother, 2015, 69: 402-408.
- [11] Dilruba S, Kalayda GV. Platinum-based drugs: past, present and future [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2016, 77(6): 1103-1124.
- [12] 于敬坤, 李明志, 随振阳, 等. 二甲双胍与顺铂联合诱导人结肠癌 HCT-8 细胞凋亡的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 43-50.
- [13] Hou WC, Miao XH, Ma LJ, et al. Withaferin an induces

- apoptosis in rat c6 glioma cells through regulating NF- κ B nuclear translocation and activation of CASPASE cascade, Afr. J. Tradit. Complement [J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2017, 14(2): 319-324.
- [14] Balogov \acute{a} L, Maslaňukov \acute{a} M, Dzurov \acute{a} L, et al. BCL-2 proapoptotic proteins distribution in U-87 MG glioma cells before and after hypericin photodynamic action [J]. Gen Physiol Biophys, 2013, 32(2): 179-187.
- [15] Hojabrpour P, Waissbluth I, Ghaffari M, et al. CaMKII - γ mediates phosphorylation of Bad at Ser170 to regulate cytokine-dependent survival and proliferation [J]. Biochem J, 2012, 442(1): 139-149.
- [16] Li X, Ran L, Fang W, et al. Lobaplatin arrests cell cycle progression, induces apoptosis and alters the proteome in human cervical cancer cell Line CaSki [J]. Biomed Pharmacother, 2014, 68(3): 291-297.
- [17] Yang F, Yu Y, Lei Q, et al. Lobaplatin arrests cell cycle progression, induces apoptosis and impairs migration and invasion in B16-F10 melanoma cell line *in vitro* [J]. Biomed Pharmacother, 2015, 69: 402-408.
- [18] 孟玮, 宗治国, 史晓宇, 等. miR-126 对结肠癌 SW480 细胞增殖、凋亡、周期及 SOX2 表达的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(4): 93-97. [收稿日期]2020-07-24
- [19] Kumar S. Mechanisms mediating caspase activation in cell death [J]. Cell Death Differ, 1999, 6(11): 1060-1066.
- [20] Zhao PJ, Song SC, Du LW, et al. Paris Saponins enhance radiosensitivity in a gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cell line by inducing apoptosis and G2/M cell cycle phase arrest [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(3): 2878-2884.
- [21] Jiang H, Zhao PJ, Su D, et al. Paris saponin I induces apoptosis via increasing the BAX/Bcl-2 ratio and caspase-3 expression in gefitinib-resistant non-small cell lung cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. Mol Med Rep, 2014, 9(6): 2265-2272.
- [22] Vucicevic K, Jakovljevic V, Colovic N, et al. Association of BAX expression and Bcl2/BAX ratio with clinical and molecular prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia [J]. J Med Biochem, 2016, 35(2): 150-157.
- [23] Qin B, Xiao B, Liang D, et al. microRNAs expression in ox-LDL treated HUVECs; MiR-365 modulates apoptosis and bcl-2 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 410(1): 127-133.

(上接第 71 页)

- [14] 黄伟宽, 刘瑞菊, 贾宁, 等. 沙冬青种子总黄酮对免疫抑制小鼠免疫功能及胸腺和脾超微结构的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(8): 1752-1760.
- [15] 田嘉军, 黄聘和, 岳茜岚, 等. 免疫力低下小鼠动物模型建立及快速检测研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(3): 77-82.
- [16] 孙翠翠, 朱子凤, 顾员印, 等. 绿萝花及其多糖对 S180 荷瘤小鼠肿瘤免疫相关因子的影响 [J]. 中成药, 2018, 40(3): 684-691.
- [17] 张芮琪, 陈正礼, 罗启慧. 黄芪多糖干预环磷酰胺所致免疫抑制小鼠的免疫功能 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(4): 389-394.
- [18] 高笑笑, 王刚, 杨歆睿, 等. 雪灵芝粗多糖对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响 [J]. 免疫学杂志, 2017, 33(3): 191-196.
- [19] 金莉莉, 马俊, 李婷, 等. 不同来源北冬虫夏草活性成分差异及其对小鼠免疫功能的影响 [J]. 营养卫生, 2015, 36(13): 243-246.
- [20] 帅学宏, 胡庭俊, 陈灵然, 等. 鬼臼多糖对小鼠免疫功能和抗氧化能力的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(7): 1000-1004.
- [21] 姜涛, 邹正耀, 张红英, 等. 载板蓝根多糖 MPEG-PLA 聚合物微球对小鼠免疫力的影响 [J]. 中国农学通报, 2013, (20): 32-35.
- [22] 柯野, 朱曼菁, 曾松荣, 等. 香菇酸乳对小鼠免疫力的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(4): 573-576.
- [23] 黄凯, 杨新波, 黄正明. 金丝桃苷对正常小鼠免疫功能的影响 [J]. 解放军药学报, 2009, 25(2): 133-135.
- [24] 伍杨, 刘锦红, 聂青. 长叶胡颓子叶对小鼠免疫功能的影响 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(8): 1403-1404.
- [25] 刘安军, 车伟, 张旭, 等. 软骨多糖对荷瘤小鼠免疫功能影响的初步研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(2): 48-51.
- [26] 郭静, 许建宁, 王全凯, 等. 大豆提取物(CKBN)对免疫低下小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(12): 45-49. [收稿日期]2020-07-26