

口虾蛄总生物碱对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞周期与凋亡的影响*

齐相薇¹ 林荣文² 蔡康荣² 王槐高³

(广东医科大学 1. 临床技能培训中心; 2. 科研中心; 3. 病理生理学教研室, 广东 东莞 523808)

【摘要】 目的 提取口虾蛄总生物碱并观察其对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞增殖、凋亡的影响。方法 酸提碱沉法处理口虾蛄, 沉淀部分以乙酸乙酯萃取; 不同浓度的口虾蛄总生物碱处理 CNE-2Z 细胞, CCK-8 法、平板克隆形成实验检测细胞增殖能力的影响; 流式细胞术检测细胞周期分布的影响; 蛋白免疫印迹实验检测 Caspase8 蛋白表达的变化。结果 口虾蛄总生物碱能明显抑制 CNE-2Z 细胞的增殖, 降低克隆形成能力, 使细胞周期阻滞于 S 期; Caspase8 蛋白表达水平随着口虾蛄总生物碱浓度增高而降低, 有一定的剂量依赖。结论 口虾蛄总生物碱抗 CNE-2Z 细胞的作用可能通过抑制细胞增殖、诱导细胞周期阻滞及细胞凋亡等发生。

【关键词】 口虾蛄; 总生物碱; 酸提碱沉法; 人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞; Caspase-8

【中图分类号】 R739.63 **【文献标志码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.005

The effects of the total alkaloids of *Squilla oratoria* on proliferation and apoptosis of Nasopharyngeal Carcinoma cell line CNE-2Z

QI Xiangwei¹, LIN Rongwen², CAI Kangrong², WANG Huaigao³

(1. Clinical Skills Training Center, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, Guangdong, China;

2. Scientific Research Center, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, Guangdong, China;

3. Department of Pathophysiology, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, Guangdong, China)

【Abstract】 **Objective** To extract the total alkaloid of *Squilla oratoria* and observe its effects on the proliferation and apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma line CNE-2Z. **Methods** Acid extraction and alkaline deposition, and ethyl acetate extraction were used in the extraction and separation of *Squilla oratoria*, CNE-2Z cells were treated with various concentrations of total alkaloid, then the ability of cell proliferation was detected by CCK-8 assay and colony-forming assay, and the changes of cell cycle distributions were analyzed by flow cytometry. The expression of caspase-8 protein was detected by Western blotting. **Results** The total alkaloid of *Squilla oratoria* effectively inhibited the proliferation and colony formation of CNE-2Z cells in certain dose-dependent way, which was related to its induction of cell cycle arrest at S phase. The expression of caspase-8 was decreased after treated with total alkaloid. **Conclusion** The effect of total alkaloids of *Squilla oratoria* on CNE-2Z cells can be induced by inhibiting cell proliferation, inducing cell cycle arrest and inducing apoptosis.

【Key words】 *Squilla oratoria*; Total alkaloid; Extraction and alkaline deposition; Human NPC CNE-2Z cells; Caspase-8

目前我国鼻咽癌在中南部两广地区(广东、广西、

湖南等)高发,随着经济发展及人口老龄化的出现,发病率可能还会上升;同时鼻咽癌的预后较差,死亡率也相对较高^[1]。放射治疗是目前鼻咽癌首选的治疗手段,调强放疗技术可提高肿瘤靶区剂量,同时减少周围正常组织照射剂量^[2],但是电离辐射杀灭肿瘤的同时,也可以诱导许多基因和蛋白质表达水平的变化,导致肿瘤对电离辐射的敏感性降低,并出现辐射

基金项目:国家自然科学基金(81572782);广东建设中医药强省科研资助项目(20141155)

通信作者:王槐高, E-mail: wanghuaigao@gdmu.edu.cn

引用本文:齐相薇,林荣文,蔡康荣,等.口虾蛄总生物碱对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞周期与凋亡的影响[J].西部医学,2022,34(12):1743-1746,1752. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.005

抗性的发展^[3]。鼻咽癌对放射治疗比较敏感,患者的五年生存率可明显提高,但放射治疗同时会损伤患者头颈部的其他组织,引起如头晕头痛、口干、听力下降、颈部纤维化及放射性龋齿等多种毒副作用^[4],放射治疗后复发率不低。临床研究证明辅助化疗联合放疗或联合化疗可改善鼻咽癌晚期患者的预后^[5-6]。前期研究结果表明^[7],口虾蛄乙酸乙酯提取物可能通过影响 P53 蛋白的表达,干扰 COX-2 和 VEGF 的表达而发挥抑制 CNE-2Z 细胞增殖。本研究根据新的提取方法获得口虾蛄总生物碱,观察其对鼻咽癌细胞株 CNE-2Z 增殖、细胞周期及凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株和原料 人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞由广东医科大学分子诊断重点实验室提供。于海鲜市场购买新鲜口虾蛄,经鉴定属节肢动物门,甲壳纲,十足目,虾蛄科品种。

1.1.2 试剂 RPMI 1640 培养基购自 GIBCO 公司, Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 购自日本同仁株式会社化学研究所,细胞周期检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司,兔抗人 Caspase8 多抗购自 Cell Signaling 公司,鼠抗人 β -actin 单抗、羊抗兔、羊抗鼠 II 抗购自 SIGMA 公司,其余均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 口虾蛄总生物碱提取及初步鉴定 以每公斤口虾蛄加水 3 L 绞碎,酸化后,恒温 60℃ 浸泡过夜,离心后取上清液,调至 pH>10。次日离心后取沉淀以乙酸乙酯分 3 次萃取,减压浓缩得到总生物碱,具体操作方法参考前期研究结果^[8-9]。总生物碱以氯仿-环己烷(10:1)溶剂薄层层析展开,采用改良碘化铋钾显色初步定性分析。总生物碱以 DMSO 溶解分装,临用以培养液稀释成所需浓度(DMSO 的终浓度 \leq 0.1%)。

1.2.2 分组 采用不同浓度(0、50、100 mg/L)的口虾蛄总生物碱处理人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞,分别记为对照组、50 mg/L 组、100 mg/L 组。

1.2.3 CCK-8 检测总生物碱细胞体外抗肿瘤作用 人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞培养 24 h 后,制成单细胞悬液后调整细胞密度,滴入总生物碱溶液,使质量终浓度分别为 5、25、125、625 mg/L,培养 48 h 并于终止培养前 1 h,加 CCK-8 溶液混匀,孵育 2 h 后,进行 CCK-8 检测,以试剂盒流程操作,取得细胞增殖抑制率。计算公式:抑制率%=(1-实验组 OD 值/对照组 OD 值) \times 100%。

1.2.4 平板克隆实验法检测总生物碱抑制细胞克隆形成能力 胰蛋白酶消化对数生长期 CNE-2Z 细胞制

成细胞悬液,以每孔 400 个细胞接种于 6 孔细胞培养板,待细胞贴壁后,每孔换以 0.1% 胎牛血清的 1640 培养 24 h,加入总生物碱调整终质量浓度(0、50、100 mg/L),培养 2 周;PBS 清洗细胞后甲醇固定 0.5 h,结晶紫染色 0.5 h,缓流清水冲洗后空置干燥;以网格透明胶片置培于培养板底部,低倍镜计数大于 10 个细胞的克隆数,计算克隆形成率。计算公式:克隆形成率=(克隆形成数/接种总细胞数) \times 100%。

1.2.5 流式细胞仪检测总生物碱对细胞周期分布的影响 胰蛋白酶消化对数生长期 CNE-2Z 细胞并制成细胞悬液,接种于 6 孔细胞培养板,待细胞贴壁后换培养基继续培养 24 h,加入总生物碱调整终质量浓度(0、50、100 mg/L)继续培养 24 h,每组重复 3 个培养孔;预冷的 70% 乙醇固定胰蛋白酶消化后收集细胞,保存于 4℃;次日离心, PBS 洗涤后,以含质量终浓度碘化丙啶(PI)100 mg/L 和 RNase100 mg/L 的染色液 0.5 mL 染色,在常温下避光染色 0.5 h,于流式细胞仪检测细胞周期变化。

1.2.6 蛋白免疫印迹实验检测 Caspase8 蛋白表达 人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞培养 24 h 后,制成单细胞悬液后调整细胞密度,滴入总生物碱溶液,使质量终浓度分别为 0、50、100 mg/L,培养 24 h,加入裂解液,提取细胞总蛋白;选用 BCA 法测定蛋白浓度,调整蛋白样品浓度均一后以 SDS-PAGE 凝胶电泳将蛋白转移到 PVDF 膜上,封闭 2 h,加入 I 抗 [Caspase8(1:500)],保存于 4℃ 封闭过夜;加入 II 抗(1:10 000),室温下摇动孵育 2 h。以 β -actin 为内参照。Odyssey 扫描成像后继用 Quantity one 软件分析。

1.3 统计学分析 应用 Graph-pad prism 统计学软件处理和实验数据,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 口虾蛄总生物碱薄层层析显色结果 口虾蛄总生物经薄层层析显色,有 4 个颜色相同的色斑,为复合化合物,见图 1。显色反应表明其化学性质为生物碱类物质。



图 1 薄层色谱法测定总生物碱结果

Figure 1 Results of total alkaloid detected by TLC

2.2 口虾蛄总生物碱抑制 CNE-2Z 细胞的增殖 不同质量浓度的总生物碱(5、25、125、625 mg/L)作用 CNE-2Z 细胞 24、48、72 h 后,与对照组相比,细胞的增殖受到明显抑制。随药物浓度增加和作用时间的延长,细胞增殖抑制率逐步增加,具有明显的剂量-时间-效应关系。采用 Bliss 算法软件统计得到,其作用于 CNE-2Z 细胞 24、48 和 72 h 的 IC₅₀ 分别为(578.17 ± 0.65) mg/L、(86.27 ± 0.73) mg/L 和 (63.31 ± 0.35) mg/L,见图 2。

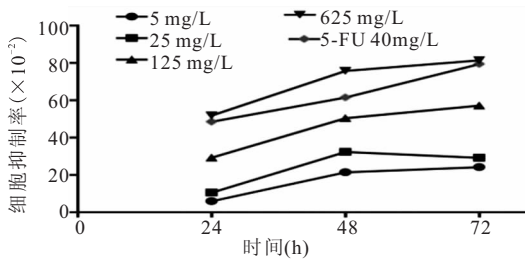


图 2 总生物碱对 CNE-2Z 细胞增殖的抑制作用

Figure 2 Total alkaloid inhibited the proliferation of CNE-2Z cells

2.3 口虾蛄总生物碱抑制 CNE-2Z 细胞的克隆形成能力 不同质量浓度的总生物碱(0、50、100 mg/L)作用 CNE-2Z 细胞,观察细胞克隆形成能力的改变。与对照组相比,CNE-2Z 细胞的克隆形成能力明显降低;随着总生物碱浓度的增加,其克隆形成数目和克隆形成大小均降低,差异有统计学意义(P<0.05),见图 3。

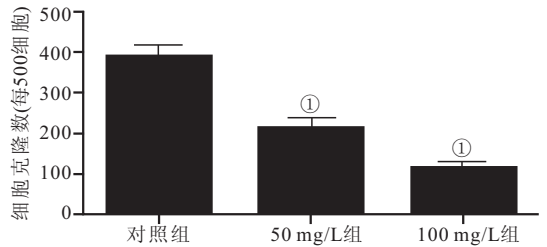
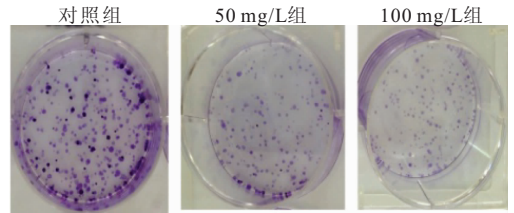


图 3 总生物碱抑制 CNE-2Z 细胞的克隆形成

Figure 3 Total alkaloid suppressed colony formation of CNE-2Z cells

注:与对照组相比,① P<0.05

2.4 口虾蛄总生物碱对 CNE-2Z 细胞周期的影响 不同质量浓度的口虾蛄总生物碱(0、50、100 mg/L)作用 CNE-2Z 细胞 24 h 后,流式细胞术检测细胞周期分布的改变。与对照组相比,口虾蛄总生物碱能诱导 CNE-2Z 细胞周期 S 期比例由 11.7% 上升为 31.5%,而 G₀/G₁ 期比例由 85.5% 下降为 56%,呈一定的剂量依赖性,见图 4。提示口虾蛄总生物碱能将 CNE-2Z 细胞周期阻滞于 S 期。

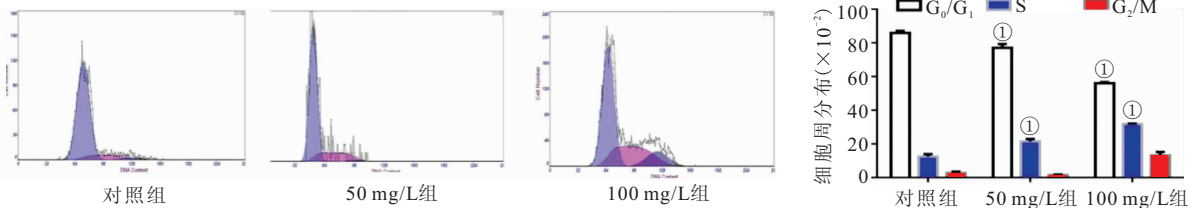


图 4 总生物碱作用后 CNE-2Z 细胞周期分布

Figure 4 The effect of total alkaloid on the cell cycle distributions in CNE-2Z cells

注:与对照组相比,① P<0.05

2.5 口虾蛄总生物碱对 CNE-2Z 细胞 Caspase-8 蛋白表达的影响 以总生物碱 0、50、100 mg/L 处理 CNE-2Z 细胞 24 h 后,与对照组比较,蛋白免疫印迹实验检测结果表明 caspase-8 酶原的蛋白表达随浓度增加而减少,有一定的剂量依赖关系,见图 5。

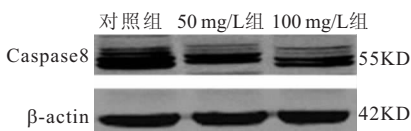


图 5 总生物碱对 CNE-2Z 细胞 Caspase8 蛋白表达的影响

Figure 5 The effect of total alkaloid on the expression of Caspase8 protein levels in the CNE-2Z cells

3 讨论

海洋生态系统的高压、高盐、缺氧、低温和低光照等独特性赋予了海洋生物多样、独特和新颖的结构,是 新药研制开发药物先导化合物的重要来源。海洋生物来源的具有抗肿瘤作用的多种化合物,包括生物碱类、萜烯类、甾体类化合物、大环内酯类和多肽等,已经进入临床不同的试验阶段或有相应产品上市^[10-11]。

近年来从海洋微生物代谢产物中获得众多新的生物碱,其中部分生物碱具有高选择性和高活性而备受 关注^[12-13]。有研究发现从高领类尖柳珊瑚 *Muriceides collaris* 中分离得到的一种愈创木萘倍半萜生物

碱 Muriceidine A 体外对人宫颈腺癌细胞 HeLa 具有较强的细胞毒作用^[14]。王亚楠等^[15]从泰国红树林底泥中的耐酸真菌 *Aspergillus fumigatus* OUCMDZ-5210 的次生代谢产物中分离得到 6 个吡啶二酮哌嗪类生物碱,其中化合物 3 和 6 对人结肠癌细胞 HCT116 以及人慢性髓性白血病细胞 K562 具有不同程度的抑制活性。本研究前期研究发现^[16],口虾蛄乙酸乙酯提取物能抑制 CNE-2Z 细胞的增殖;进一步研究发现口虾蛄乙酸乙酯提取物能够抑制 CNE-2Z 细胞的迁移和体外血管生成拟态的能力,其机制可能与下调 *fascin1* 和 VEGF 蛋白的表达有关^[17]。口虾蛄乙酸乙酯提取物也可抑制 HepG2 细胞增殖并与顺铂联合用药可产生协同抑制效应^[18]。早期研究通过系统溶剂法相继得到口虾蛄乙醇粗提物、正丁醇提取物,继用乙酸乙酯萃取得到正丁醇提取物的总生物碱并进一步纯化,其生物碱类化合物对鼻咽癌细胞增殖具有明显的抑制作用^[19]。综合近年的研究结果,系统溶剂法有提取工艺繁琐、溶剂及人力成本高及提取效率低下等缺点,有待改进。同时,口虾蛄抗肿瘤物质活性虽强,但是体内肿瘤抑制实验效果不佳,可能是由于系统溶法提取物,其成分、种类过于较复杂且含有抗肿瘤活性物质的量不高等原因引起的。尹田鹏等^[20]采用酸提碱沉法,从贵州地区产乌头中提取总生物碱浸膏并分离纯化,获得 15 个二萜类生物碱类成分。沙棘叶黄酮也可以先通过酸提碱沉法进一步纯化得到^[21]。故本研究采用酸提碱沉法结合乙酸乙酯萃取法,以探索提取更简单、成份抗肿瘤活性更高的方法。本方法避免了乙醇提取法、系统溶剂提取法的繁琐操作、溶剂、人力成本高等缺点,提取效率明显提高,而且还可以直接纯化总生物碱,提取物经薄层板色谱法初步鉴定为生物碱类物质。

口虾蛄总生物碱处理后,CNE-2Z 细胞的增殖受到明显抑制,48 h 的 IC₅₀ 较旧方法的乙酸乙酯提取物更低^[22]。较以往研究,用更低质量终浓度 50 及 100 mg/L 的总生物碱就能明显抑制 CNE-2Z 细胞克隆形成能力,使细胞周期阻滞于 S 期。Caspase-8 是控制细胞凋亡、坏死性凋亡和细胞焦亡的分子开关^[23],是细胞死亡途径的主要因子,活化的 Caspase-8 可以驱动经典的 caspase 依赖性凋亡^[24]。唐旭东^[25]发现用高三尖杉酯碱 0、0.125、0.25、0.5 和 1 mg/L 作用 CNE-2Z 细胞 8 h 后,Caspase-8 酶原的蛋白表达随浓度增加而减少,当浓度为 1 mg/L 时出现活性裂解片段,Caspase-8 激活而诱导 CNE-2Z 细胞凋亡。本研究中总生物碱作用后 CNE-2Z 细胞后,Caspase-8 蛋白的表达水平明显下降,可能与 Caspase-8 激活有关,并可

能继而诱导凋亡,关于凋亡的全面观察及具体机制有待进一步研究。

4 结论

口虾蛄总生物碱抗 CNE-2Z 细胞的作用可能通过抑制细胞增殖、诱导细胞周期阻滞及细胞凋亡等发生。

【参考文献】

- [1] 梁铨,杨剑,高婷,等.中国鼻咽癌流行概况[J].中国肿瘤,2016,25(11):835-840.
- [2] 邓娟,赵雷,范习刚,等.CMS X10 子野权重优化对鼻咽癌调强放疗计划的影响[J].西部医学,2020,32(5):753-757.
- [3] LEE A W, MA B B, NG W T, *et al.* Management of nasopharyngeal carcinoma: current practice and future perspective[J]. J Clin Oncol,2015,33(29) : 3356-3364.
- [4] 廖婷婷,杨丽,邱丽燕,等.鼻咽癌出院患者放疗毒副反应变化趋势研究[J].中国全科医学,2020,23(26):3330-3336.
- [5] 王伟锋,袁峰,林志仁.新辅助化疗后再分期联合放疗治疗局部晚期鼻咽癌的疗效观察[J].中华肿瘤防治杂志,2021,28(7):508-512.
- [6] 元建华,李建旺,张曙波,等.吉西他滨联合替吉奥治疗铂类方案化疗失败晚期鼻咽癌患者临床观察 [J]. 中华肿瘤防治杂志,2019,26(3):170-174.
- [7] 孔霞,顾帝水,陈锦,等.口虾蛄提取物对人鼻咽癌细胞 P53、COX-2 和 VEGF 表达的影响[J].中国病理生理杂志,2011,27(2):390-393.
- [8] 王槐高,孔霞,顾帝水,等.口虾蛄总生物碱提取及其对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞增殖影响[J].中国热带医学,2017,17(1):1-3.
- [9] 齐相薇,蔡康荣,林荣文,等.口虾蛄总生物碱对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖的抑制作用[J].广东医科大学学报,2021,39(4):381-384.
- [10] 张善文,黄洪波,桂春.海洋药物及其研发进展[J].中国海洋药物,2018,37(3):77-92.
- [11] 王成,张国建,刘文典,等.海洋药物研究开发进展[J].中国海洋药物,2019,38(6):35-69.
- [12] 郭娜燕,吕国荣,邱丹纓.海洋来源放线菌中新生物碱成分研究进展[J].天然产物研究与开发,2017,29:159-171.
- [13] 倪敏,林燕喃,邓昌良.海洋来源真菌 *Trichoderma citrinoviride* 中的 1 个新生物碱类化合物(英文)[J].中国海洋药物,2020,39(2):71-79.
- [14] 买小圆,刘在亮,唐薇.柳珊瑚来源的愈创木萹倍半萜生物碱化合物 Muriceidine A 体外抗肿瘤活性的研究[J].中国海洋药物,2019,38(3):26-32.
- [15] 王亚楠,高海,丁健.红树林来源耐酸真菌 *Aspergillus fumigatus* OUCMDZ-5210 次生代谢产物的研究[J].中国海洋药物,2019,38(5):47-53.
- [16] 李明勇,黄培春,孔霞.口虾蛄乙酸乙酯提取物对鼻咽癌 CNE-2Z 细胞增殖和周期的影响[J].中华肿瘤防治杂志,2010,17(2):98-100.
- [17] 孔霞,尚九龙,李丽.口虾蛄提取物对人鼻咽癌细胞迁移和体外血管生成拟态的抑制作用[J].中国病理生理杂志,2013,29(6):1025-1028.

1305-1316.

[3] MEIJERS B K, EVENEPOEL P. The gut-kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(3):759-761.

[4] 魏伟. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.

[5] VAZIRI N D, YUAN J, NORRIS K. Role of urea in intestinal barrier dysfunction and disruption of epithelial tight junction in chronic kidney disease[J]. *Am J Nephrol*, 2013, 37(1):1-6.

[6] FEROZE U, KALANTAR-ZADEH K, STERLING K A, *et al.* Examining associations of circulating endotoxin with nutritional status, inflammation, and mortality in hemodialysis patients[J]. *J Ren Nutr*, 2012, 22(3):317-326.

[7] VAZIRI N D, GOSHTASBI N, YUAN J, *et al.* Uremic plasma impairs barrier function and depletes the tight junction protein constituents of intestinal epithelium[J]. *Am J Nephrol*, 2012, 36(5):438-443.

[8] CHAN W, BOSCH J A, PHILLIPS A C, *et al.* The Associations of Endotoxemia With Systemic Inflammation, Endothelial Activation, and Cardiovascular Outcome in Kidney Transplantation[J]. *J Ren Nutr*, 2018, 28(1):13-27.

[9] CAMILLERI M, MADSEN K, SPILLER R, *et al.* Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2012, 24(6):503-512.

[10] SHIGETOMI K, IKENOUCI J. Regulation of the epithelial barrier by post-translational modifications of tight junction membrane proteins[J]. *J Biochem*, 2018, 163(4):265-272.

[11] MARCHIANDO A M, SHEN L, GRAHAM W V, *et al.* Caveolin-1-dependent occludin endocytosis is required for TNF-induced tight junction regulation in vivo[J]. *J Cell Biol*, 2010, 189(1):111-126.

[12] VAN ITALLIE C M, FANNING A S, HOLMES J, *et al.* Oc-

cludin is required for cytokine-induced regulation of tight junction barriers[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 16):2844-2852.

[13] FINDLEY M K, KOVAL M. Regulation and roles for claudin-family tight junction proteins[J]. *IUBMB Life*, 2009, 61(4):431-437.

[14] VAZIRI N D, YUAN J, NAZERTEHRANI S, *et al.* Chronic kidney disease causes disruption of gastric and small intestinal epithelial tight junction [J]. *Am J Nephrol*, 2013, 38(2):99-103.

[15] JI C, DENG Y, YANG A, *et al.* Rhubarb Enema Improved Colon Mucosal Barrier Injury in 5/6 Nephrectomy Rats May Associate With Gut Microbiota Modification[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:1092.

[16] 钟丹, 黄宇清, 萧建华, 等. 通腑泄浊法对 CKD 模型大鼠肾功能及肠道屏障功能的影响[J]. 井冈山大学学报(自然科学版), 2018, 39(6):92-95.

[17] KOVÁCS T, KUN L, SCHMELCZER M, *et al.* Do intestinal hyperpermeability and the related food antigens play a role in the progression of IgA nephropathy? I. Study of intestinal permeability[J]. *Am J Nephrol*, 1996, 16(6):500-505.

[18] AVANSINO J R, CHEN D C, WOOLMAN J D, *et al.* Engraftment of mucosal stem cells into murine jejunum is dependent on optimal dose of cells[J]. *J Surg Res*, 2006, 132(1):74-79.

[19] KIECKHAEFER J, LUKOVAC S, YE D Z, *et al.* The RNA polymerase III subunit Polr3b is required for the maintenance of small intestinal crypts in mice[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2016, 2(6):783-795.

[20] ODENWALD M A, TURNER J R. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(1):9-21.

(收稿日期:2022-02-21;修回日期:2022-03-30;编辑:黎仕娟)

(上接第 1746 页)

[18] 邵松军, 张湘宁, 史梦婕. ESO 联合 DDP 对肝癌 HepG2 细胞增殖的抑制效应及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2014, 21(5):548-553.

[19] 叶才果, 潘海燕, 何志巍. 海洋来源的口蛄虾生物碱的分离纯化和抗鼻咽癌作用研究 [J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(12):2965-2966.

[20] 尹田鹏, 罗智慧, 王敏. 黔产乌头的二萜生物碱类成分研究[J]. *中国药房*, 2019, 30(22):3096-3100.

[21] 赵鹤鹏, 王洪彪, 程寅伟. 沙棘叶黄酮纯化及含量测定研究进展 [J]. *南方农业*, 2019, 13(30):129-131.

[22] 王槐高, 黄培春. 口蛄抗鼻咽癌细胞生长活性成分的初步分析

[J]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16(11):1861-1864.

[23] FRITSCH M, GUNTHER S D, SCHWARZER R, *et al.* Caspase-8 is the molecular switch for apoptosis, necroptosis and pyroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784):683-687.

[24] MONIE T P, BRYANT C E. Caspase-8 functions as a key mediator of inflammation and pro-IL-1 β processing via both canonical and non-canonical pathways[J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1):181-93.

[25] 唐旭东, 赵南, 周克元. HHT 对鼻咽癌细胞 caspase-8 蛋白和 mRNA 表达的影响[J]. *基础医学与临床*, 2004, 24(5):528-531.

(收稿日期:2022-01-06;修回日期:2022-04-09;编辑:黎仕娟)