

天然药物生物活性成分诱导乳腺癌细胞凋亡及其机制的研究进展

丁丰衡¹, 郭 勇²

(1.浙江中医药大学第一临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2.浙江省中医院, 浙江 杭州 310006)

摘要:目前乳腺癌在治疗上仍以手术、放化疗、内分泌治疗为主, 鉴于上述治疗有明显的毒副作用及其昂贵的医疗费用, 世界各国近年来将目光投向天然药物。天然药物的生物活性成分逐渐显示出了独特的优势和广阔的应用前景。全文综述了近年来国内外已发现的一部分重要的能诱导乳腺癌细胞凋亡的天然药物及其可能的作用机制。

关键词:乳腺癌; 天然药物; 生物活性成分; 细胞凋亡

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2016)03-0190-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.03.A008

TCM Active Ingredients Research Progress of Induced Apoptosis of Breast Cancer and its Mechanism

DING Yu-heng¹, GUO Yong²

(1.Zhejiang Chinese Medical University, The First Clinical Medical College, Hangzhou 310053, China; 2.Zhejiang Hospital of TCM, Hangzhou 310006, China)

Abstract: At present, breast cancer treatment still takes priority to surgery, radiation and chemotherapy, endocrine therapy and so on. But these treatments have obvious side effects as well as their expensive medical costs, countries around the world have paid attention to natural medicine in recent years. Thus, biological activities of natural medicine composition shows the unique advantages and broad application prospects. In this paper, some of important natural medicines that can induce the apoptosis of breast cancer domestic and overseas, and its possible mechanism are reviewed.

Key words: breast cancer; natural medicine; biological active ingredient; cell apoptosis

近年来乳腺癌发病率不断升高, 在大部分发达国家, 以及我国一些大型工业化城市乳腺癌发病率已经攀升至女性恶性肿瘤第一位^[1], 严重威胁着女性的身心健康。因此, 抗癌药物的研究成为迫切的需求。然而化学合成的抗癌药物毒副作用大, 如何从天然药用植物中寻找毒性低、疗效高的抗癌活性成分成为近年来国内外研究的热点之一。

细胞凋亡又称作程序性死亡, 这一概念由 Kerr 等^[2]提出, 是指在一定的生理和病理条件下由基因控制的细胞自主有序的死亡, 目前公认的参与细胞凋亡的三条信号通路为: 线粒体通路, 死亡受体通路, 内质网通路。癌症的发生与细胞的增殖和凋亡有

着密切的联系。天然药物的有效活性成分可以通过抑制乳腺癌细胞的生长增殖, 促进乳腺癌细胞凋亡, 抑制细胞浸润迁移, 以及改善多药耐药等途径起到控制癌细胞生长达到一定的治疗目的。本文对近 10 年来天然药物诱导乳腺癌细胞凋亡及其机制的研究进展进行综述。

1 线粒体通路

又称内源性凋亡途径, 是细胞凋亡的主要途径之一。各种凋亡刺激信号通过 BH3 (Bcl-2 homology domain 3)-only 蛋白引起 Bax(Bcl-2-associated protein X)蛋白移位到线粒体外膜并多聚化, 形成膜通道, 刺激线粒体释放细胞色素 C(Cyt C)和 Smac(second mi-

收稿日期: 2015-08-05; 修回日期: 2015-11-01

通讯作者: 郭勇, E-mail: guoyong1047@163.com

tochondrial-derived activator of caspase), Cyt C 通过 Apaf-1 因子的多聚化与胱天蛋白酶(caspases)-9 形成凋亡小体,导致下游胱天蛋白酶的级联反应。而凋亡蛋白抑制因子(IAP)和 Smac 通过抑制和促进胱天蛋白酶的级联反应来调控细胞凋亡。

1.1 粉防己碱

粉防己碱(Tetrandrine, Tet)为防己科植物粉防己的主要生物碱,属双苄基异喹啉类。在我国,粉防己根作为药物用于临床并有记载的,可追溯到东汉时期,始载于《神农本草经》,味苦、辛,性寒,具有祛风止痛、利水消肿作用。临床用于风寒湿症、热气诸痛、利大小便及癰疮疮肿等。国内自 20 世纪 80 年代初以来陆续开展了有关该药物的抗肿瘤等多种作用及其机制的研究。裴晓华等^[3]研究提示粉防己碱直接作用于 MDA-MB-435S 乳腺癌细胞可明显抑制细胞在体外的增殖,并且其抑制作用具有浓度和时间依赖性,剂量和时间之间存在交互作用,同时发现粉防己碱可诱导人乳腺癌 MDA-MB-435S 细胞早期凋亡,与药物浓度作用时间呈正相关。裴晓华等^[4]另一项研究通过 Tet 对体外乳腺癌细胞系 Bca-111 生长的影响表明,粉防己碱对乳腺癌细胞的生长有明显的抑制作用。并且这种抑制效应存在剂量和时间的依赖关系。这些结果表明粉防己碱可以抑止乳腺癌细胞的 DNA 合成,阻滞细胞周期进程,诱导细胞的凋亡。叶祖光等^[5]研究发现粉防己碱对乳腺癌 MCF-7 多药耐药细胞亦有明显的促凋亡作用。以上诸多研究均证实粉防己碱对乳腺癌细胞有促凋亡作用,而李桃花等^[6]进一步研究发现粉防己碱抑制乳腺癌 MCF-7 的生长的作用机制与下调 Bcl-2、Survivin,上调 Bax 蛋白表达而诱导凋亡有关,与下调 VEGF 蛋白表达而抗肿瘤新生血管形成有关。

1.2 熊果酸

熊果酸(Ursolic acid, UA)属三萜类化合物,在自然界中分布广,如在枇杷叶、熊果、女贞子、山楂和白花蛇舌草等植物中以游离形式存在或与糖结合成甙存在,对多种肿瘤细胞有促进凋亡和增殖抑制作用。张维文等^[7]采用活细胞原位光镜和荧光染色技术流式细胞技术(FCM)、荧光免疫组织化学技术等研究药物诱导细胞凋亡引起的形态改变、细胞周期变化、p53 蛋白表达的研究中发现 UA 呈剂量依赖性地抑制 MCF-7 细胞增殖,促进 p53 蛋白表达量增加,出

现典型的凋亡形态学特征,并产生凋亡小体,表明 UA 能够诱导乳腺癌细胞凋亡。张贵平等^[8]研究发现 UA 诱导 MCF-7 细胞凋亡机制涉及到 Bax/Bcl-2 比值升高引起线粒体释放 cytochrome c,与其他因子结合后激活 Caspase-3,诱导 Caspase 级联反应所依赖的凋亡调节信号通路。马于平等^[9]进一步研究发现熊果酸诱导凋亡作用机制可能与上调抑癌基因或者细胞周期负性调控因子 p16、p27 表达阻滞细胞周期并增加细胞 Caspase-3、Caspase-9 激活线粒体凋亡途径有关。

1.3 姜黄素

姜黄素(Curcumin)主要来源为姜科植物姜黄根茎,郁金块根,天南星科植物菖蒲根茎等,是植物界很稀少的具有二酮的色素,为二酮类化合物。近年来姜黄素的抗肿瘤作用逐渐受到人们的重视。姜黄素可诱导乳腺癌等多种肿瘤细胞的凋亡,而一般不引起正常组织来源的细胞凋亡^[10]。韦达等^[11]研究发现姜黄素对 MCF-7 细胞生长有明显抑制作用,并呈剂量时间依赖性,FCM 结果显示姜黄素能使 MCF-7 细胞阻滞在 G₁/S 期,Annexin V/PI 双染法验证了姜黄素可以诱导细胞凋亡,其 RT-PCR 结果显示 Bax mRNA 水平明显上调,而 Bcl-2 mRNA 表达水平降低,从而提示诱导凋亡的机制可能与 Bax mRNA、Bcl-2 mRNA 的表达水平相关。吴晓健等^[12]研究发现姜黄素可通过抑制 Bcl-2、促进 Bax mRNA 表达诱导 MCF-7 细胞凋亡,并有效抑制其增殖。孙黎等^[13]研究中琼脂糖凝胶电泳显示出 DNA 梯形条带,因而证实了姜黄素能诱导乳腺癌细胞的凋亡,并进一步提出姜黄素是否通过免疫分子的表达而诱导肿瘤细胞凋亡的假设。

1.4 白藜芦醇

白藜芦醇(Resveratrol)因首先在白藜芦中提取得到并且化学结构为芳香醇而得名,化学名称为(E)-3,5,4-三羟基-二苯乙烯,现已在多种植物中被发现,在虎杖根茎和红葡萄皮等中含量较高。它是一种生物性很强的天然多酚类物质,抗癌谱广且不良反应小。近年来国内外对白藜芦醇诱导肿瘤细胞凋亡特别引起重视。李岩等^[14]研究发现白藜芦醇与 TRAIL 联合作用后,MDA-MB-231 乳腺癌细胞凋亡率与对照组及单用 TRAIL、白藜芦醇比较均明显增加,Caspase-8、Caspase-3 相对活性增强,提示白藜芦醇增强

TRAIL 诱导细胞凋亡的作用可能是通过促进 Caspase-8 和 Caspase-3 的表达来实现。而在 Caspase-3 缺陷的人乳腺癌细胞系 MCF-7, 白藜芦醇可通过提高 Ca^{2+} 浓度、活化依赖 Ca^{2+} 的蛋白酶 Calpain, 降解细胞膜 Ca^{2+} -ATP 酶同工酶 1 而导致细胞凋亡^[15]。仇凤启等^[16]研究发现白藜芦醇能诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡增加, 其机制可能与白藜芦醇激活 Caspase-3 蛋白同时抑制凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xl 表达有关。时翠林等^[17]研究证实白藜芦醇对乳腺癌骨高转移细胞株 MDA-MB-231BO 亦有诱导其凋亡的作用。张亚宏等^[18]研究发现白藜芦醇可以时间和剂量依赖性地诱导 MCF-7 细胞凋亡及 p38 和 p53 蛋白的活化, 并通过激活 p38、p53 信号通路诱导 MCF-7 细胞发生凋亡。

1.5 白毛藤

白毛藤(Solamum Lyratum Thunb)系茄科植物白英的全草, 具有清热利湿、消肿解毒的功效。白毛藤作为抗癌中药之一, 临床上用于胃癌、肝癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤的治疗。杨旭东等^[19]研究结果显示白毛藤促进乳腺癌细胞凋亡, 其作用强度与浓度呈正比。白毛藤可以明显上调乳腺癌细胞 p53 基因 mRNA 表达, 降低 bcl-x 基因 mRNA 表达。白毛藤诱导乳腺癌细胞凋亡的分子机制可能与调控 Bcl-xl 和 p53 基因表达有关。杨旭东等^[20]的另一项研究显示白毛藤总苷能够诱导 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡, 且上调 Bax 和降低 survivin 表达, 由此提示促凋亡机制可能与激活 Bax 和抑制 survivin 表达有关。

1.6 苦参碱

苦参碱(Matrine)是由豆科植物苦参的干燥根、植株、果实经乙醇等有机溶剂提取制成的, 是生物碱。苦参碱可通过多种途径调控乳腺癌细胞的凋亡。李海军等^[21]的研究提示苦参碱对乳腺癌 MCF-7 细胞有明显的促凋亡作用, 且与药物浓度呈正相关, 并推测其机制可能为通过引起线粒体跨膜电位的下降, 进一步导致 MMP 通道开放。王淑强等^[22]进一步研究证实了苦参碱能够抑制乳腺癌 MCF-7 细胞生长并诱导该细胞凋亡, 发现苦参碱作用于 MCF-7 细胞后 Bax 蛋白阳性表达率均明显高于对照组, 且 Bax 蛋白表达与药物作用浓度呈正相关, 推测苦参碱可能通过激活 Bax 基因并促进 Bax 蛋白合成而启动凋亡程序, Bax 的高表达也可能增强了某种凋亡

信号, 引发 p53 作用增强, 从而诱导细胞凋亡。

1.7 榄香烯

榄香烯(Elmene Injection)是我国首先从姜科植物温莪术的根茎中提取的抗癌有效成分, 是国家二类非细胞毒性抗肿瘤药物。目前的制剂以 β -榄香烯(分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$)为主要成分。研究证实 β -榄香烯对体内外多种肿瘤细胞具有较强的抑制和杀伤效应, 而且该作用具有一定的特异性, 常广泛地应用于乳腺癌、胃癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌等实体瘤、恶性胸腹水及脑转移瘤等的治疗^[23,24]。目前研究显示榄香烯可诱导肿瘤细胞凋亡、下调 Bcl-2、Bax 及上调 p53 基因表达, 改变细胞周期分布等^[25]。蔡东焱等^[26]研究发现榄香烯与紫杉醇联合作用于乳腺癌 MB-468 细胞比单纯紫杉醇作用后乳腺癌细胞的凋亡率和 G₂/M 期细胞比例有所增加, 并可初步推测乳腺癌细胞凋亡可能是通过线粒体通路引起。郑瑾等^[27]研究发现 β -榄香烯对于促凋亡的机制是通过降低 cyclin B1 表达水平, 升高 p27^{kip1} 表达水平来实现。殷玉琨等^[28]研究发现经榄香烯处理后的 MDA-MB-231 细胞的 Caspase-3、Caspase-8 表达水平上调, 而 Caspase-9 与对照组无统计学差异, 提示榄香烯单独或与顺铂联合作用均能抑制 MCF-7 乳腺癌细胞的增殖, 促进其凋亡, 且 β -榄香烯联合顺铂的作用要高于单独用药组, β -榄香烯和顺铂可协同(CDI<1)促进 MCF-7 细胞凋亡, 其机制可能与 G₀/G₁ 期阻滞有关。宋向巍等^[29]的一项研究表明榄香烯联合热疗对 MCF-7 乳腺癌细胞的改变最为明显, 细胞膜破裂, 线粒体肿胀, 空泡形成, 细胞核固缩, 染色质趋边凝集, 可见凋亡小体改变等。

2 死亡受体通路

该途径为胞外信号所诱导的细胞凋亡途径, 因此也称外源性凋亡途径。死亡受体(death receptor)包括多种分子。有关死亡受体及其配体的研究是目前细胞凋亡研究的热点之一。死亡受体均属 TNFR 基因超家族, 它们有相似的富含半胱氨酸的胞外结构域。死亡受体都含有同源的胞浆内序列, 称为死亡结构域(death domain)或死亡区, 其主要功能是介导死亡受体诱发的细胞凋亡。目前已知的死亡受体主要有 Fas、TNFR1、CAR1、NGFR、DR3、DR4、DR5 等。激

活这些受体的配体为 *TNF* 基因超家族, 有 *FasL*、*TNF*、*Apo3L*、*Apo2L*(*TNF* 相关凋亡诱导配体)等, 死亡配体与死亡受体结合, 通过死亡结构域激发细胞凋亡。

2.1 冬虫夏草

冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*, CS)是肉座菌目麦角菌科真菌冬虫夏草真菌寄生在鳞翅目蝙蝠蛾科蝙蝠蛾属昆虫幼虫上的子座及幼虫尸体的复合体。汉文文献对冬虫夏草最早的记载出自成书于 1735 年的雍正《四川通志》, 其性温或热, 平, 是一种滋补药材, 具有补精益髓、保肺益肾、止劳嗽、治膈证、腰膝间痛楚、实腠理等药效。国内外各项临床及实验研究表明, CS 具有较好的抗肿瘤作用, 能防治肿瘤患者放化疗的毒副作用及调节人体细胞免疫功能。刘东颖^[30]研究了冬虫夏草对乳腺癌细胞株 MCF-7 的增殖抑制及诱导凋亡的作用。研究观察显示 CS 在较低作用浓度(1.0 μg/ml)就可以有效地抑制 MCF-7 细胞的增殖, 且在 1.0~50 μg/ml 浓度范围内对 MCF-7 细胞的增殖抑制作用呈浓度时间依赖性; 并发现随着药物浓度的增加, *Bcl-2* 表达逐渐减弱, *Bax* 表达逐渐增强, 提示 CS 可能通过调控 *Bcl-2*、*Bax* 基因表达而诱导凋亡。进一步研究发现冬虫夏草的主要成分虫草多糖通过抑制磷酸化信号转导和转录激活因子 3(p-STAT3)的磷酸化^[31], 或作用于细胞膜受体 TLR4, 促进核因子-κB(NF-κB)抑制剂的降解^[32], 以促进细胞凋亡。

2.2 莪术油

莪术是我国传统中药之一, 是姜科草本植物莪术、郁金的根茎, 味辛、苦, 性温, 归肝、脾经, 具有行气破血、消积止痛的功效。莪术油(Zedoary Turmeric oil)是莪术中提取的挥发油, 含有多种抗肿瘤有效成分。对多种实体肿瘤(如乳腺癌、肺癌、肝癌、结肠癌、子宫内膜癌、宫颈癌等)有较强的抑制作用, 而且具有抗血栓、抗病毒、抗菌和增强免疫等功能。张瑾峰等^[33]发现莪术与三棱联合应用具有诱导乳腺癌细胞凋亡的作用。杨丽华等^[34]进一步证实莪术油在体外对 MCF-7 的生长增殖有明显抑制作用, 同时诱导细胞凋亡, 其作用机制可能与莪术油调控 MCF-7 细胞的凋亡相关基因 *Bcl-2*/*Bax* 的表达有关, 而不是单纯的细胞毒性坏死。蒲磊等^[35]研究表明, 莪术油可抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖, 促进细胞凋亡, 其机制

可能与上调 *Fas* 蛋白、下调 *FasL* 蛋白表达有关。李小华等^[36]在另一项研究中发现莪术油通过调节 *Bcl-2*、*Bax* 蛋白的表达诱导细胞株凋亡抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株的增殖。

3 内质网通路

大量事实表明内质网在凋亡信号处理过程中发挥重要作用, 目前已知的内质网参与细胞凋亡的途径主要包括: 内质网蛋白质成熟和折叠的破坏导致内质网损伤从而引发细胞凋亡; *CHOP*/*GADD153* 基因的激活转录; 内质网凋亡蛋白酶 *caspase-12* 的激活; *JNK* 通路的激活; 内质网钙信号的异常。此外, 内质网膜上也存在 *Bak* 等凋亡蛋白, 在凋亡因子的刺激下, *Bax* 也能在内质网上富集, *Bax* 和 *Bak* 的多聚化和 *caspase-12* 的激活可导致细胞凋亡。

3.1 三氧化二砷

三氧化二砷(Arsenic trioxide)是中药砒霜的主要成分, 其抗肿瘤机制有多途径, 如诱导肿瘤细胞凋亡、细胞毒作用、诱导肿瘤细胞分化、抑制端粒酶活性等。单保恩等^[37]研究显示 As_2O_3 可明显抑制人乳腺癌 MDA-MB-468 细胞的增殖, 经 As_2O_3 作用后 G_0/G_1 期细胞比例降低, $S+G_2/M$ 期细胞比例升高, 使细胞周期阻滞在 $S+G_2/M$ 期。夏俊等^[38]研究发现经低中高三梯度浓度 As_2O_3 作用后, MDAMB-231 细胞凋亡率分别为 $28.89\% \pm 2.47\%$ 、 $46.73\% \pm 3.82\%$ 和 $56.44\% \pm 4.16\%$, 细胞凋亡率在各浓度组间的差异均具有统计学意义(P 均 < 0.01)。免疫染色显示 Survivin 蛋白表达减少, 而 *Caspase-3* 蛋白被激活, Western Blot 条带显示 Survivin 蛋白表达量降低, 而 *Caspase-3* 蛋白则出现被激活的小片段, 上述 3 种作用均存在剂量依赖关系。郝一^[39]研究表明 As_2O_3 可显著性诱导 MCF-7 细胞凋亡并导致细胞周期行进阻滞; 可诱导 *JNK* 持续性高强度表达, 转录因子 AP-1 的转录激活活性上调; 可诱导 *c-Jun* 活化并诱导 *Fra-1* 表达, 转染 *c-Jun* 显性负性突变体 TAM67 或 *Fra-1shRNA* 可有效降低 As_2O_3 诱导的乳腺癌细胞凋亡。因而提示 *JNK*/*AP-1* 途径是介导 As_2O_3 诱导乳腺癌细胞凋亡反应的重要信号通路。王莹等^[40]的研究证实凋亡性容量下降是 As_2O_3 诱导的乳腺癌细胞凋亡的早期事件。

3.2 紫草素

紫草属于紫草科多年生草本植物,是我国常用的一种传统中草药,味甘、咸性寒,归心、肝经,具有凉血、活血、清热、解毒的功效。主治温热斑疹,湿热黄疸,吐、衄、尿血,淋浊,热结便秘等。紫草素(Shikonin)是从紫草根部分提取出来的一种活性化合物,其中脂溶性的萘醌类化合物是主要有效成分。目前多项研究表明紫草素能够诱导乳腺癌细胞凋亡。徐坤山等^[41]研究发现紫草素诱导 MCF-7 等乳腺癌细胞发生典型的细胞凋亡,细胞周期阻滞于 S 期,凋亡过程中产生了 85Ku 大小的 PARP 裂解片段,此效应可被广谱 Caspase 抑制剂抑制,由此表明紫草素可能经 Caspase 途径诱导 MCF-7 细胞发生凋亡。另一项卢薇^[42]的研究表明紫草素不但可以通过上调 Caspase 蛋白的表达激活 Caspase 级联反应,亦可引发内质网应激性等途径诱导肿瘤细胞的凋亡。其研究观察到随紫草素剂量的升高,GRP78 的表达水平逐渐升高,而 GRP78 因子表达的上调被看做内质网应激启动的重要指标。由于紫草素的作用,细胞中 XBP-1 的表达水平明显上调,呈剂量-时间依赖性,而 XBP-1 是内质网应激反应中一个重要的转录调节因子,提示紫草素作用于 MCF-7 细胞激活凋亡的内质网途径。

4 结 语

细胞凋亡的三条凋亡通路最终都激活天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶(cysteiny aspartate-specific protease, Caspase),Caspase 在凋亡信号的作用下首先激活启动型 Caspase 引发 Caspase 级联反应,然后活化执行型 Caspase 裂解特异性底物导致细胞凋亡^[43]。当线粒体功能障碍时,Caspase 抑制剂可以改善疾病的病情。出现这种作用是因为抑制了上游的 Caspase,或是释放了其他的凋亡基因(例如凋亡诱导因子,内切核酸酶 G,他们的易位需要依赖 Caspase),目前其他相关机制尚不明确。因此研究凋亡可能的通路、调控及相互关系对进一步认识和治疗凋亡相关疾病有重要意义。

综上所述,应用天然药物诱导细胞凋亡进行乳腺癌治疗,为乳腺癌的治疗带来了新的思路与方式。但目前的研究多局限于单味中药或某些提取物,且

大多停留于细胞实验层面,局限于体外研究,尚需拓宽思路,增加组方研究,明确具体作用机制,并进行临床优化,开发出更适合临床应用的剂型以及确定适合的治疗剂量。此外,结合超临界流体萃取技术^[44],分子印迹技术^[45]等药物筛选提纯技术,对天然药物有效成分和生物活性的筛选,同时通过对活性成分的结构修饰是新药研发的重要途径,天然药物在乳腺癌的治疗中的应用将会有更加广阔的前景。

参考文献:

- [1] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29.
- [2] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics[J]. Br J Cancer, 1972, 26(4): 239-257.
- [3] Pei XH, Li TH. The antitumor function and mechanism research of Tetrandrine to the human breast cancer cells MDA-MB-435S [C]. The 12th national academic conference proceedings, traditional Chinese and western medicine of traditional Chinese medicine combined with breast disease. Beijing, 2011. 315-319. [裴晓华, 李桃花. 粉防己碱对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 细胞抗肿瘤作用与机制研究[C]. 第十二次全国中医、中西医结合乳房病学术会议论文集. 北京, 2011. 315-319.]
- [4] Pei XH, Li TH. The antitumor mechanism of Tetrandrine to the human breast cancer cells of MCF-7 nude mice. [C]. The 12th national academic conference proceedings, traditional Chinese and western medicine of traditional Chinese medicine combined with breast disease. Beijing 2011. 325-330. [裴晓华, 李桃花. 粉防己碱对人乳腺癌细胞 MCF-7 裸鼠抗肿瘤作用研究[C]. 第十二次全国中医、中西医结合乳房病学术会议论文集. 北京, 2011. 325-330.]
- [5] Ye ZG, Wang JH, Sun AX, et al. Tetrandrine, Neferine and Dauricine enhance vincristine induced human breast cancer MCF-7 multi-resistant cell apoptosis[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2001, 36(2): 96-99. [叶祖光, 王金华, 孙爱续, 等. 粉防己碱、甲基莲心碱和蝙蝠葛碱增强长春新碱诱导人乳腺癌 MCF-7 多药耐药细胞凋亡[J]. 药学报, 2001, 36(2): 96-99.]
- [6] Li TH. The research of Tetrandrine resisting breast cancer and its mechanism[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2010. [李桃花. 粉防己碱抗乳腺癌作用及其机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.]
- [7] Zhang WW, Li YY, Zhang GP, et al. The experimental research of Ursolic acid induced MCF-7 human breast cancer cells apoptosis[J]. Traditional Chinese Medicinal Materials, 2005, 28(4): 297-301. [张维文, 黎银燕, 张贵平, 等. 熊果酸诱导人乳腺癌细胞 MCF-7 凋亡的实验研究[J].

- 中药材,2005,28(4):297-301.]
- [8] Zhang GP,Li YY,Lv JC,et al. Ursolic acid influence the expression of Bax and Bcl-2 to induce MCF-7 human breast cancer cell apoptosis[J]. Journal of the Fourth Military Medical University,2005,26(20):58-61.[张贵平,黎银燕,吕嘉春,等.熊果酸通过影响 Bax 和 Bcl-2 的表达诱导 MCF-7 人乳腺癌细胞凋亡[J]. 第四军医大学学报,2005,26(20):58-61.]
 - [9] Ma YP,Sun SR. Ursolic acid effect on breast cancer cell apoptosis and its mechanism [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,2014,16(8):59-62. [马于平,孙圣荣. 熊果酸对乳腺癌细胞凋亡影响及其机制[J]. 辽宁中医药大学学报,2014,16(8):59-62.]
 - [10] Karunagaran D,Rashmi R,Kumar TR. Induction of apoptosis by curcumin and its implications for cancer therapy [J]. Curr Cancer Drug Targets,2005,5(2):117-129.
 - [11] Wei D,Tang JH,Pan LQ.Curcumin induced MCF-7 cell apoptosis of breast cancer[J]. Jiangsu Medical Journal,2008,34(4):348-350.[韦达,唐金海,潘立群. 姜黄素诱导乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡 [J]. 江苏医药,2008,34(4):348-350.]
 - [12] Wu XJ,Wu KN,Dong PJ.The research of Curcumin inducing MCF-7 cell apoptosis of breast cancer[J].Chongqing Medical Journal,2005,34(12):1768-1769,1773.[吴晓健,吴凯南,董蒲江. 姜黄素诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的研究[J]. 重庆医学,2005,34(12):1768-1769,1773.]
 - [13] Sun L,Liu ZQ,Luo Q,et al.Curcumin induce the human breast cancer MCF-7 cell apoptosis outside[J]. Journal of Hebei North University,2009,26 (4):23-25.[孙黎,刘正泉,罗强,等. 姜黄素体外诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡作用[J]. 河北北方学院学报(医学版),2009,26(4):23-25.]
 - [14] Li Y,Zhao D,Chen Y,et al. Resveratrol on TRAIL induced breast cancer MDA-MB-231 cells apoptosis[J]. China Journal of Modern Medicine,2011,21(14):1572-1576. [李岩,赵丹,陈洋,等. 白藜芦醇对 TRAIL 诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响 [J]. 中国现代医学杂志,2011,21(14):1572-1576.]
 - [15] Alkhalaf M,El-Mowafy A,Renno W,et al. Resveratrol-induced apoptosis in human breast cancer cells is mediated primarily through the caspase-3-dependent pathway [J]. Arch Med Res,2008,39(2):162-168.
 - [16] Qiu FQ,Sun DP,Zhao D,et al. Resveratrol in breast cancer MDA-MB-231 cells apoptosis and the influence of the Bcl-2 protein expression[J]. Progress of Anatomical Sciences,2012,18(1):46-49.[仇凤启,孙大鹏,赵丹,等. 白藜芦醇对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡及 Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 解剖科学进展,2012,18(1):46-49.]
 - [17] Shi CL,Sun YN,Shen Z. Resveratrol on bone high metastasis of breast cancer cell lines MDA-MB-231 BO the effect of growth inhibition and apoptosis[J]. Shandong Medical Journal,2009,49(42):18-20.[时翠林,孙永宁,沈赞. 白藜芦醇对人乳腺癌骨高转移细胞株 MDA-MB-231BO 生长抑制和凋亡的影响[J]. 山东医药,2009,49(42):18-20.]
 - [18] Zhang YH,Guo JG,Guo ZH,et al. Resveratrol induce MCF-7 cell apoptosis of breast cancer by activating p38-p53 pathway[J]. Acta Pharmaceutica Sinica,2011,46(11):1332-1337.[张亚宏,郭敬功,郭子华,等. 白藜芦醇通过激活 p38-p53 通路诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡[J]. 药科学报,2011,46(11):1332-1337.]
 - [19] Yang XD,Zhang J,Yang JX. Solamum lyratum Thunb affect people MCF-7 cell apoptosis of breast cancer [J]. Modern Chinese Medicine,2010,12(4):34-36.[杨旭东,张杰,杨晚霞. 白毛藤对人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响 [J]. 中国现代中药,2010,12(4):34-36.]
 - [20] Yang XD,Zhang J,Zhao RJ. Survivin and bax expression in breast cancer MCF-7 cell and TCM intervention effect [J].Experimental Research Journal,2011,20(12):1123-1126.[杨旭东,张杰,赵容杰. Survivin 和 bax 在人乳腺癌 MCF-7 细胞中表达及中药干预作用 [J]. 实验研究,2011,20(12):1123-1126.]
 - [21] Li HJ,Zhao XX,Bai ML,et al. The influence of Matrine to MCF-7 cell apoptosis of breast cancer and the mitochondrial transmembrane potential[J]. Lishizhen Med Mater Med Res,2011,22(8):2042-2043.[李海军,赵晓霞,白美玲,等. 苦参碱对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡及线粒体跨膜电位的影响[J]. 时珍国医国药,2011,22(8):2042-2043.]
 - [22] Wang SQ,Guo Y,Li HJ,et al. Matrine induced MCF-7 cell apoptosis and the expression of Bax of breast cancer [J].Chinese Journal of Gerontology,2012,32 (16):3489-3491.[王淑强,郭颖,李海军,等. 苦参碱诱导乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡及其对 Bax 表达的影响[J]. 中国老年学杂志,2012,32(16):3489-3491.]
 - [23] Li QQ,Wang G,Huang F,et al. Antineoplastic effect of β -elemene on prostate cancer cells and other types of solid tumour cells [J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology,2010,62(8):1018-1027.
 - [24] Liu J,Zhang Y,Qu J,et al. β -elemene-induced autophagy protects human gastric cancer cells from undergoing apoptosis[J]. BMC cancer,2011,11(1):183.
 - [25] Hao J,Sheng M,Jiang GF. In vitro study of radiosensitization by β -elemene in A549 cell line from adenocarcinoma of lung[J]. Chinese-German J Clin Oncol,2009,8(1):12-15.
 - [26] Cai DY,Gao X,Wu XH,et al. β -elemene injection combined paclitaxel injection of MB-468 breast cancer cells in vitro synergy research[J].Chinese Journal of Integrative Medicine,2013,33(7):978-982.[蔡东焱,高翔,吴小红,等. β -榄香烯注射液联合紫杉醇注射液对乳腺癌 MB-468 细胞体外协同作用研究 [J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(7):978-982.]
 - [27] Zheng Q,Ma LT,Ren QY,et al. β -elemene injection com-

- bined with cisplatin infecting MCF-7 cell proliferation and apoptosis of breast cancer [J]. Modern Oncology, 2014, 22 (5): 1005-1008.[郑瑾, 马力天, 任秦有, 等. β -榄香烯联合顺铂对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 现代肿瘤学, 2014, 22(5): 1005-1008.]
- [28] Yin YK, Song AL, Sun ZY. Elemene injection in breast cancer cell line MDA-MB-231 and the impact of MCF-7 apoptosis[J]. Shandong Medical Journal, 2013, 53(16): 7-9, 13.[殷玉琨, 宋爱莉, 孙子渊. 榄香烯乳对乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 及 MCF-7 凋亡的影响 [J]. 山东医药, 2013, 53(16): 7-9, 13.]
- [29] Song XW, Zhang H, Zheng WM. Elemene injection combined heat induced MCF-7 cell apoptosis of breast cancer and its influence on cell cycle[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2010, 14(10): 1527-1529.[宋向巍, 张辉, 郑维民. 榄香烯联合热诱导乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡及其对细胞周期的影响 [J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(10): 1527-1529.]
- [30] Liu DY, Xie GR, Shi YR, et al. Cordyceps sinensis on breast cancer cell apoptosis induction and related gene expression regulation[J]. Journal of Tianjin Medical University, 2007, 13(2): 206-209.[刘东颖, 谢广茹, 史玉荣, 等. 冬虫夏草对乳腺癌细胞凋亡的诱导及相关基因表达的调控 [J]. 天津医科大学学报, 2007, 13(2): 206-209.]
- [31] Song D, Lin J, Yuan F, et al. Ex vivo stimulation of murine dendritic cells by an exopolysaccharide from one of the anamorph of Cordyceps sinensis [J]. Cell Biochem Funct, 2011, 29(7): 555-561.
- [32] Kim HS, Kim JY, Ryu HS, et al. Phenotypic and functional maturation of dendritic cells induced by polysaccharide isolated from Paecilomyces cicadae [J]. J Med Food, 2011, 14(7/8): 847-856.
- [33] Zhang JF, Wang Z, Liu X, et al. Rhizoma zedoariae, triangular and interleukin-6 induction of human breast cancer cell apoptosis[J]. Journal of Capital Medical University, 2006, 27(4): 492-493.[张瑾峰, 王喆, 刘欣, 等. 莪术、三棱和白介素-6 对人乳腺癌细胞凋亡的诱导作用 [J]. 首都医科大学学报, 2006, 27(4): 492-493.]
- [34] Yang LH, Jiang J. Zedoary Turmeric oil on human breast cancer MCF-7 cell apoptosis and the impact of the Bcl-2, Bax expression [J]. Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2010, 20 (12): 741-743.[杨丽华, 姜杰. 莪术油对人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡及 Bcl-2, Bax 表达的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2010, 20(12): 741-743.]
- [35] Pu L, Zhao SP. Zedoary turmeric oil on human breast cancer MCF-7 cell proliferation and apoptosis[J]. Chinese Journal of New Drugs and Clinical, 2009, 28(5): 376-379.[蒲磊, 赵树鹏. 莪术油对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2009, 28(5): 376-379.]
- [36] Li XH, Sun YY. Apoptosis induced by zedoary turmeric oil through the inhibition of human breast cancer MDA-MB-231 cells proliferation [J]. Medical Journal of West China, 2011, 23(5): 811-813.[李小花, 孙毅毅. 莪术油通过诱导细胞凋亡抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖 [J]. 西部医学, 2011, 23(5): 811-813.]
- [37] San BE, Zhou Y. Arsenic trioxide MDA_MB_468 inhibit breast cancer cell growth and its mechanism[J]. Cancerous. Distortion. Mutations, 2007, 19(6): 444-447.[单保恩, 周艳. 三氧化二砷抑制人乳腺癌 MDA_MB_468 细胞生长及其机制的研究[J]. 癌变. 畸变. 突变, 2007, 19(6): 444-447.]
- [38] Xia J, Hu B, Chen ZW, et al. Arsenic trioxide inducing apoptosis of breast cancer and the influence of the expression of Survivin, Caspase 3 protein[J]. Cancerous. Distortion. Mutations, 2008, 20(2): 81-84.[夏俊, 胡博, 陈治文, 等. 三氧化二砷诱导乳腺癌细胞凋亡以及对 Survivin、Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 癌变. 畸变. 突变, 2008, 20(2): 81-84.]
- [39] Hao Y, Gao M, Dong W, et al. JNK signaling pathway/AP-1 in the role of As₂O₃ induced apoptosis of breast cancer[J]. Military medicine, 2011, 35 (2): 118-121.[郝一, 高明, 董雯, 等. JNK/AP-1 信号通路在 As₂O₃ 诱导乳腺癌细胞凋亡中的作用[J]. 军事医学, 2011, 35(2): 118-121.]
- [40] Wang Y, Wang LQ, He ZP, et al. The early event of Arsenic trioxide inducing the apoptosis of breast cancer—apoptotic volume decrease[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2015, 32(3): 274-277.[王莹, 王乐秋, 何志鹏, 等. 三氧化二砷诱导乳腺癌细胞凋亡的早期事件——凋亡性容量下降[J]. 中国现代应用药理学, 2015, 32(3): 274-277.]
- [41] Xu KS, Wu JF, Bai H, et al. The research of Shikonin inducing the apoptosis of breast cancer [J]. Journal of Yangzhou University, 2008, 29(2): 26-29, 47.[徐坤山, 吴建富, 白海, 等. 紫草素诱导乳腺癌细胞凋亡的研究[J]. 扬州大学学报, 2008, 29(2): 26-29, 47.]
- [42] Lu W. Shikonin induced MCF-7 research of breast cancer cells apoptosis mechanism[D]. Changchun: Jilin University, 2013.[卢薇. 紫草素诱导 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡机制的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.]
- [43] Larsen BD, Rampalli S, Burns LE, et al. Caspase 3/caspase-activated DNase promote cell differentiation by inducing DNA strand breaks [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(9): 4230-4235.
- [44] Zhu ZQ. Supercritical fluid technology-principle and application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.6.[朱自强. 超临界流体技术—原理和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.6.]
- [45] Feng XW, Du P, Zhang L. Molecular imprinting technology in the application of the extraction and separation of natural medicine effective component[J]. Guangdong Chemical Industry, 2011, 38(5): 71-72.[冯喜文, 杜平, 张利. 分子印迹技术在天然药物有效成分提取分离中的应用[J]. 广东化工, 2011, 38(5): 71-72.]