

汉防己甲素对人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 增殖和凋亡的影响

李维义 亢泽峰 徐 健 曹 静 刘 刚 刘 健 褚文丽 张丛青 陈水岭 亢一卜

摘 要 **目的** 探讨汉防己甲素对神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞株的增殖抑制和诱导凋亡的作用。**方法** 通过 CCK-8 实验检测汉防己甲素对于细胞生长的抑制率,流式细胞术检测 Tet 作用于细胞后,对细胞活性氧、线粒体膜电位、凋亡和周期的影响。**结果** 汉防己甲素能显著抑制 SH-SY5Y 细胞生长,基本呈时间-剂量依赖性。流式细胞术检测显示不同浓度汉防己甲素处理后,活性氧明显升高,线粒体膜电位明显下降,细胞凋亡比例明显升高, G_0/G_1 期细胞占比明显增高。**结论** 汉防己甲素能够抑制 SH-SY5Y 细胞增殖并且诱导其发生凋亡。

关键词 汉防己甲素 SH-SY5Y 细胞 凋亡

中图分类号 R77

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.12.012

Effects of Tetrandrine on the Proliferation and Apoptosis of Human SH-SY5Y Cells. Li Weiyl, Kang Zefeng, Xu Jian, et al. Eye Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100040, China

Abstract Objective To investigate the effects of Tetrandrine on the proliferation and apoptosis of human SH-SY5Y cells. **Methods** CCK-8 assay was used for the cell viability test. Flow cytometry was used to determine the intracellular reactive oxygen species (ROS), mitochondrial membrane potential (JC-1), apoptotic ratio and cell cycle after Tetrandrine treatment. The cells with sham treatment served as the control. **Results** Tetrandrine significantly inhibited the proliferation of SH-SY5Y cells in a time- and dose-dependent manner. The cell apoptosis and the production of intracellular ROS also increased remarkably by Tetrandrine treatment while JC-1 decreased. Cell cycle analysis further revealed that the percentage of cells in G_0/G_1 phase increased, in contrasting a statistical decrease of cell in G_2/M phase. **Conclusion** Tetrandrine could inhibit the proliferation and induce the apoptosis of SH-SY5Y cells by blocking cell cycle in G_0/G_1 phase.

Key words Tetrandrine; SH-SY5Y cell; Apoptosis

汉防己甲素(tetrandrine, Tet)又称粉防己碱,是从中药汉防己的根块中提取的一种双苄基异喹啉类生物碱^[1]。研究证实, Tet 具有广泛的药理学作用,其抗肿瘤作用显著,并已有广泛的报道,其抗肿瘤机制包括直接细胞毒作用、诱导凋亡作用、放化疗减毒增敏、逆转耐药、正常组织的放射保护作用、抗远处转移及抗血管新生等,因此 Tet 是较理想的抗癌药物^[2-16]。

SH-SY5Y 细胞是一种分化程度较低的人类多

巴胺能神经母细胞瘤,在细胞形态、生理生化和功能特征方面与正常人神经细胞有很多的相似,是脑部肿瘤的重要细胞模型。Tet 对 SH-SY5Y 细胞的体外研究尚未见报道,本研究采用 CCK-8 酶免法及流式细胞法,分别检测 Tet 对 SH-SY5Y 细胞的增殖、胞内活性氧、细胞凋亡及周期的影响,初步探讨 Tet 抑制 SH-SY5Y 增殖的细胞生物学机制,探讨 Tet 在脑部肿瘤应用的可能性。

材料与方法

1. 试剂:汉防己甲素(美国 Sigma 公司);高糖 DMEM 培养基(美国 Gibco 公司);胎牛血清(美国 Hyclone 公司);DMSO(美国 Sigma 公司);0.25% 胰酶(上海碧云天公司)。CCK8 细胞毒性-增殖检测试剂盒(日本 Dojindo 公司);线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)(上海碧云天公司);活性氧检测试剂盒(上海碧云天公司);Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(日本 Dojindo 公司)。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81574032);青岛市自主创新计划应用基础研究-青年专项项目(15-9-1-59-jch)

作者单位:100040 北京,中国中医科学院眼科医院(李维义、亢泽峰、刘健、褚文丽、张丛青、陈水岭);266000 青岛,山东大学齐鲁医院(李维义、徐健、刘刚);276300 临沂,山东大学齐鲁医院沂南分院(曹静);037000 大同大学(亢一卜)

通讯作者:亢泽峰,电子信箱:zefeng2531@163.com

2. 实验细胞:人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞来源于 ATCC,购自中科院上海细胞生物研究所。将液氮保存的细胞复苏后,用含有 10% FBS 的高糖 DMEM 完全培养基将细胞悬液密度调整至 $2 \times 10^5/\text{ml}$,将细胞接种于 6 孔板,每孔 2ml,置 5% CO_2 饱和湿度的细胞培养箱中,37℃ 静置培养,待细胞长满(达到 80%~90%)后,胰酶消化并进行传代培养。当培养细胞达到呈现对数生长时待用。

3. 实验方法:(1) CCK-8 法检测 Tet 对 SH-SY5Y 增殖的影响:细胞按 $7 \times 10^3/\text{孔}$ 接种于 96 孔板中,培养箱内过夜,待其贴壁后吸去培养基。加入 100 μl 相应浓度的 Tet, Tet 的浓度分别为 0、10、15、20、25、30、35、40、50、60、80 $\mu\text{mol/L}$ 。设 1 个空白对照组,实验组与对照组均设置 3 个复孔。持续培养 24、48 和 72h 后,各孔分别加入 20 μl CCK-8 检测溶液,培养箱中孵育 1h 后,酶标仪检测 450nm 的吸光值(ΔA 值),计算细胞增殖抑制率。增殖抑制率(%) = (对照组 ΔA 值 - 实验组 ΔA 值)/对照组 ΔA 值 $\times$ 100%。根据增殖抑制率分别计算 24、48 和 72h 的细胞半数抑制浓度(IC_{50})。(2) 流式细胞术检测 Tet 对 SH-SY5Y 细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)的影响:将对数期 SH-SY5Y 细胞胰酶消化后收集、计数,用完全培养基将细胞悬液调整至 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 。将细胞接种于 6 孔板,每孔 2ml,培养箱内过夜贴壁。吸去培养基,加入 2ml Tet 溶液,浓度分别为 20、30、40 $\mu\text{mol/L}$,设立 1 个对照组,每组均设 3 个复孔,处理 24h 后收集细胞。按照说明书加入终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA,培养箱中静置 0.5h,每隔 3~5min 混匀一下,使细胞和探针充分作用。胰酶消化收集细胞,用 PBS 洗涤 3 次,以去除未进入细胞中的 DCFH-DA。收获各组细胞,流式细胞仪检测 ROS。(3) 流式细胞术检测 Tet 对 SH-SY5Y 细胞线粒体膜电位的影响:将对数期 SH-SY5Y 细胞胰酶消化后收集、计数,用完全培养基将细胞悬液调整至 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 。将细胞接种于 6 孔板,每孔 2ml,培养箱内过夜贴壁。吸去培养基,加入 2ml Tet 溶液, Tet 浓度分别为 20、30、40 $\mu\text{mol/L}$,设置 1 个空白对照和 1 个阳性对照,每组均设 3 个复孔。Tet 处理细胞 24h 后加入 0.5ml JC-1 染色工作液,混匀,37℃ 孵育 20min 后,胰酶消化,4℃ 离心 3~4min。弃去上清液,加入 1ml JC-1 染色缓冲液重悬细胞,离心沉淀细胞。染色缓冲液重悬后,流式细胞仪分析。(4) 流式细胞术检测 Tet 对 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响:将对数期 SH-SY5Y 细胞胰酶消化后收集、计数,用完全培养基将细胞悬液调整至 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 。将细胞接种于 6 孔板,每孔 2ml,培养箱内过夜贴壁。吸去培养基,加入 2ml Tet 溶液, Tet 浓度分别为 20、30、40 $\mu\text{mol/L}$,设立 1 个对照组,每组均设 3 个复孔。处理 24、48h 消化收集细胞。经 PBS 洗涤、乙醇固定、离心、PI 染色,上机检测,确定细胞周期的分布。

4. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。各组数据均为计量资料,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验进行分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Tet 对 SH-SY5Y 细胞增殖的抑制作用:不同浓度 Tet 作用于 SH-SY5Y 细胞 24、48 和 72h 后均能显著抑制细胞的增殖,浓度大于 30 $\mu\text{mol/L}$ 时呈浓度和时间依赖性($P < 0.05$)。Tet 浓度 10~60 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞增殖抑制率随着药物浓度的增加而上升($P < 0.05$),当 Tet 浓度 $> 60\mu\text{mol/L}$ 时,细胞增殖抑制率进入平台期(图 1)。24、48、72h 的 IC_{50} 分别为 30、25 和 25 $\mu\text{mol/L}$ 。为使研究更加全面,

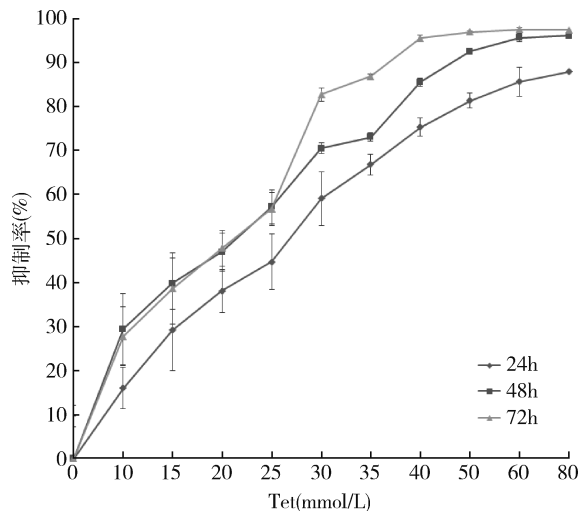


图 1 不同浓度 Tet 作用 SH-SY5Y 细胞不同时间后细胞增殖的抑制率

并尽量减少药物本身对肿瘤细胞的毒作用,选择浓度 20、30 和 40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 进行后续实验。

2. Tet 对 SH-SY5Y 细胞 ROS 的影响:40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 处理 24h 对 SH-SY5Y 细胞 ROS 的影响见图 2。0、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度 Tet 处理 SH-SY5Y 细胞 24h 后,细胞内 ROS 水平分别为 $16.17\% \pm 1.34\%$ 、 $51.09\% \pm 3.15\%$ 、 $43.42\% \pm 4.08\%$ 、 $52.19\% \pm 4.95\%$ 。ROS 是氧的某些代谢产物和一些反应的含氧自由基,在生理状态下,机体产生的自由基与抗氧化防御系统处于相对平衡。在各种病理情况下,机体产生大量自由基,造成细胞结构和功能的破坏。Tet 能够诱导 SH-SY5Y 细胞产生活性氧 ($P < 0.05$),引起细胞凋亡,从而显示其抗肿瘤作用。

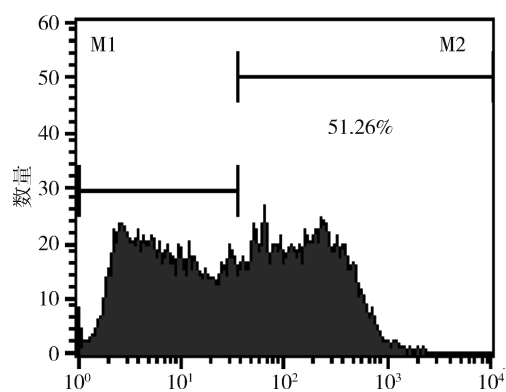


图 2 40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 对 SH-SY5Y 细胞 ROS 的影响

M1. 阴性细胞;M2. 阳性细胞

3. Tet 对 SH-SY5Y 细胞线粒体膜电位的影响:40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 处理 24h 对 SH-SY5Y 细胞线粒体膜电位的影响(图 3),UR/LR 的比值为 42.19,可以看到细胞线粒体膜电位已经降低。线粒体跨膜电位的破坏,是细胞凋亡级联反应中最早发生的事件之一,线粒体跨膜电位和膜通透性的改变导致线粒体内物质转移至胞质中,引发一系列凋亡过程,一旦线粒体跨膜电位崩溃,则细胞凋亡不可逆转。根据流式结果显示,阳性对照细胞中线粒体膜电位比值为 0.34 ± 0.06 ,Tet 处理后的细胞线粒体膜电位随着浓度的增

高明显下降(20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 处理后电位分别为 103.11 ± 5.62 、 74.73 ± 6.19 、 42.10 ± 5.27 , $P < 0.05$),说明 Tet 能够诱导 SH-SY5Y 进入程序性凋亡。

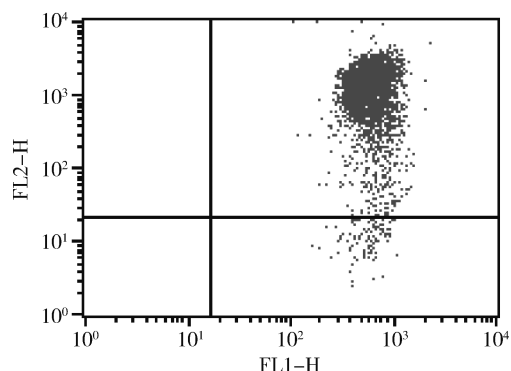


图 3 40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 对 SH-SY5Y 细胞线粒体膜电位的影响

4. Tet 对 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响:40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 处理 24h 对 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响(图 4)。选取浓度为 20、30 和 40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 作用于 SH-SY5Y 细胞 24h 和 48h,使用流式细胞术检测各组细胞凋亡的情况(表 1)。经检测不同浓度的 Tet 处理细胞 24h 和 48h 后,细胞的凋亡率均高于对照组 ($P < 0.05$),并呈浓度依赖性。同一浓度 Tet 处理 24h 和 48h 后,凋亡比例无明显差别。

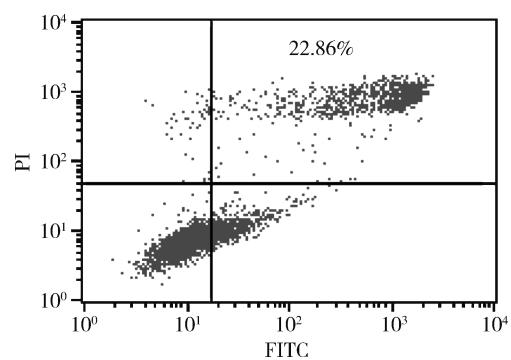


图 4 40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 处理 24h 对 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响

表 1 不同浓度 Tet 对 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响 (%)

项目	24h				48h			
	对照组	20 $\mu\text{mol/L}$	30 $\mu\text{mol/L}$	40 $\mu\text{mol/L}$	对照组	20 $\mu\text{mol/L}$	30 $\mu\text{mol/L}$	40 $\mu\text{mol/L}$
Annexin V - FITC + PI ⁺	12.55 ± 1.76	8.68 ± 1.03	16.54 ± 1.57	23.39 ± 2.34	8.67 ± 1.22	9.08 ± 1.26	18.28 ± 3.27	24.29 ± 2.85

5. Tet 对 SH-SY5Y 细胞周期的影响:40 $\mu\text{mol/L}$ Tet 处理 24h 对 SH-SY5Y 细胞周期的影响(图 5)。随着浓度增加,各处理组 G_0/G_1 期细胞占比明显增高,

G_2/M 期细胞明显减少(表 2),Tet 对 SH-SY5Y 细胞有 G_0/G_1 期阻滞作用,减少增殖期细胞的比例。Tet 对 SH-SY5Y 细胞周期的抑制大体呈浓度和时间依赖性。

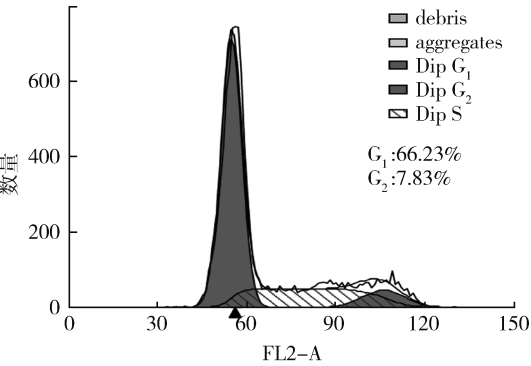


图 5 40 μmol/L Tet 处理 24h 对 SH-SY5Y 细胞周期的影响

表 2 不同浓度 Tet 对 SH-SY5Y 细胞周期的影响 (%)

项目	24h				48h			
	对照组	20 μmol/L	30 μmol/L	40 μmol/L	对照组	20 μmol/L	30 μmol/L	40 μmol/L
G ₀ /G ₁	50.25 ± 5.13	57.07 ± 6.08	60.84 ± 7.15	65.18 ± 5.98	73.52 ± 8.17	76.57 ± 7.21	82.04 ± 9.93	80.19 ± 6.01
G ₂ /M	13.50 ± 1.64	12.22 ± 0.54	10.11 ± 1.73	8.42 ± 0.23	8.09 ± 0.65	4.59 ± 0.60	3.76 ± 0.98	5.95 ± 1.14

细胞凋亡,又称为程序性细胞死亡,在维持机体内稳态,清除受损或突变细胞等方面起着至关重要的作用^[7]。肿瘤的发生和发展与细胞的凋亡密切相关,有目的的诱导肿瘤细胞的凋亡是一种有效的治疗肿瘤的手段。线粒体是能量转换的主要场所,线粒体跨膜电位的维持是其进行氧化磷酸化产生 ATP 的先决条件,能量代谢障碍极易引起细胞的凋亡。本研究结果发现,Tet 处理后会影响 SH-SY5Y 细胞线粒体膜电位稳定性。Sun 等^[8]从分子生物学和细胞形态学水平证实浓度为 40 μmol/L Tet 干预 72h 后可见人鼻咽癌 CNE 细胞株细胞膜结构完整,细胞体积缩小,核碎裂,多个凋亡小体形成,提示 Tet 可诱导肿瘤细胞的凋亡。本研究也通过流式细胞术检测,证实 Tet 能显著增加 SH-SY5Y 细胞的凋亡率。

细胞周期调控的异常,是肿瘤疾病进展的重要影响因素之一。有研究表明,Tet 可抑制 CDK4 及 CDK2/CyclingE,促进 CDK4、CDK6、Cycling D1 的降解,促进 p53 蛋白的表达,因此导致细胞周期阻滞在 G₁ 阶段^[8-11]。本研究结果提示,Tet 可以浓度依赖性的增加 G₀/G₁ 期细胞的比例,减少 SH-SY5Y 细胞的有丝分裂。

综上所述,本研究通过检测 Tet 对 SH-SY5Y 细胞的线粒体膜电位、ROS 水平及细胞周期的影响,阐述了 Tet 抑制 SH-SY5Y 神经母细胞瘤增殖的细胞生物学机制。进一步实验需要探讨 Tet 在活体内的给药方式、剂量,评估体内 Tet 抑制肿瘤增殖的作用。

本研究发现,Tet 对 SH-SY5Y 细胞内的 ROS 含

讨 论

Tet 是一种多靶点的抗肿瘤中药单体,能抑制多种肿瘤的生长^[6]。本研究显示随 Tet 浓度的增加,其对 SH-SY5Y 细胞的增殖抑制率逐渐增加,表明 Tet 具有抑制神经母细胞瘤增殖的作用,有良好的剂量相关性。细胞内 ROS 水平提高会产生过氧化和亲电子环境,较高的 ROS 水平具有破坏体内蛋白质、脂质、遗传物质,线粒体内的呼吸链等危害能力,从而使细胞死亡。笔者的结果还显示随 Tet 浓度增加,细胞内 ROS 水平逐渐升高。ROS 的升高可进一步损伤 DNA,诱发细胞周期阻滞和细胞凋亡。

量具有促进增加的作用,活性氧能够引起线粒体功能失调,并激活凋亡信号通路,导致 SH-SY5Y 细胞功能失调和凋亡。已有大量研究表明,Tet 通过线粒体通路诱导细胞凋亡,笔者前期研究发现 Tet 具有多种药理学作用。它能够抑制小胶质细胞的炎症反应,减轻应激状态下小鼠视网膜神经节细胞的死亡,说明 Tet 对于神经系统具有很强的保护作用^[12,13]。由此可见 Tet 在不同条件下具有多种生理功能,需更进一步研究其机制。

参考文献

1 Qiu W, Su M, Xie F, *et al.* Tetrandrine blocks autophagic flux and induces apoptosis via energetic impairment in cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(3): e1123

2 Bai CH, Jian LG, Bing QZ, *et al.* Tetrandrine inhibits Wnt/β-catenin signaling and suppresses tumor growth of human colorectal cancer [J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 79(2): 211-219

3 Rong Q, Shen HL, Cao Y, *et al.* Tetrandrine induces mitochondria-mediated apoptosis in human gastric cancer BGC-823 cell [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): 1-10

4 Li X, Su B, Liu R, *et al.* Tetrandrine induces apoptosis and triggers caspase cascade in human bladder cancer cells[J]. *J Surg Res*, 2011, 166(1): e45-51

5 Wei X, Bisrat GD, Lara L, *et al.* Tetrandrine, a compound common in Chinese traditional medicine, preferentially kills breast cancer tumor initiating cells (TICs) in vitro[J]. *Cancers: Basel*, 2011, 3(2): 2274-2285

6 Bhagya N, Chandrashekar KR. Tetrandrine and cancer - An overview on the molecular approach [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97(116): 624-632

细胞群,再通过 c-Kit 和 Sca-1 的免疫磁珠抗体筛选 Sca-1⁺ 和 c-Kit⁺ 干细胞在各组织脏器的分布情况。研究结果显示,在小鼠不同脏器中均有以上两种干细胞的分布;骨髓细胞中,c-Kit⁺ 干细胞的数量居多,其他脏器中均以 Sca-1⁺ 干细胞的数量占优势。以上结果提示,Sca-1⁺ 干细胞广泛存在于多种组织内,其有可能作为这些组织损伤修复的良好细胞来源^[8-11]。

Torella 等^[12] 研究发现,心脏干细胞与心脏衰老关系密切;随年龄增长,心脏干细胞功能退化、数量减少,引起心脏再生修复能力减弱,最终导致心脏功能减退;针对以上报道,笔者研究了 c-Kit 和 Sca-1 两种干细胞在小鼠不同脏器中的年龄分布规律,发现不同脏器中,随着年龄的增加,干细胞的数量并未出现显著的下降,有的甚至出现了升高的趋势,说明年老脏器的修复能力下降不是由于 c-Kit 和 Sca-1 干细胞数量减少导致的,干细胞随年龄增加而导致的功能下降可能是衰老组织修复能力下降的主要原因。

综上所述,本研究通过流式细胞术动态检测了小鼠不同月龄和不同组织器官来源的 Sca-1⁺ 和 c-Kit⁺ 干细胞的分布情况,明确了这两类干细胞在不同脏器中均有存在,并且干细胞随着年龄的增长并未出现明显的下降,这表明年老器官修复能力下降可能是干细胞功能的下降引起并不是干细胞数目减少引起。本研究为下一步研究干细胞在各类组织损伤中的作用奠定了基础。

参考文献

- Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, *et al.* Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration[J]. *Cell*, 2003, 114(6):763-776
- Pfister O, Mouquet F, Jain M, *et al.* CD31⁻ but Not CD31⁺ cardiac side population cells exhibit functional cardiomyogenic differentiation[J]. *Circ Res*, 2005,97(1):52-61
- Boyle AJ, Schulman SP and Hare JM. Stem cell therapy for cardiac repair[J]. *Circulation*,2006,114(4):339-352
- Oh H, Chi X, Bradfute SB, *et al.* Cardiac muscle plasticity in adult and embryo by heart-derived progenitor cells[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2004,1015(1):182-189
- Li W, Liu H, Liu P, *et al.* Sphingosylphosphorylcholine promotes the differentiation of resident Sca-1 positive cardiac stem cells to cardiomyocytes through lipid raft/JNK/STAT3 and β -catenin signaling pathways[J]. *Biochim Biophys Acta*,2016,1863(7):1579-1588
- Tanaka T, Obana M, Mohri T, *et al.* Interleukin-27 induces the endothelial differentiation in Sca-1⁺ cardiac resident stem cells[J]. *Cytokine*, 2015,75(2):365-372
- Liu J, Wang Y, Du W, *et al.* Sca-1-positive cardiac stem cell migration in a cardiac infarction model[J]. *Inflammation*, 2013, 36(3):738-749
- Fernandez I, Fridley KM, Arasappan D, *et al.* Gene expression profile and functionality of ESC-derived Lin-ckit⁺ Sca-1⁺ cells are distinct from Lin-ckit⁺ Sca-1⁺ cells isolated from fetal liver or bone marrow[J]. *PLoS One*, 2012,7(12):e51944
- Shinkai T, Shinkai M, Pirker MA, *et al.* Spatial and temporal patterns of c-kit positive cells in embryonic lungs[J]. *Pediatr Surg Int*, 2011,27(2):181-185
- Rangel EB, Gomes SA, Dulce RA, *et al.* C-kit⁺ cells isolated from developing kidneys are a novel population of stem cells with regenerative potential[J]. *Stem Cells*, 2013,31(8):1644-1656
- Kubo H, Berretta RM, Jaleel N, *et al.* c-Kit⁺ bone marrow stem cells differentiate into functional cardiac myocytes[J]. *Clin Transl Sci*, 2009,2(1):26-32
- Torella D, Rota M, Nuszynska D, *et al.* Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression[J]. *Circ Res*, 2004,94(4):514-524
- Zhang Z, Liu T, Yu M, *et al.* The plant alkaloid tetrandrine inhibits metastasis via autophagy-dependent Wnt/ β -catenin and metastatic tumor antigen 1 signaling in human liver cancer cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2018,37(1):7
- Dang Y, Xu Y, Wu W, *et al.* Tetrandrine suppresses lipopolysaccharide-induced microglial activation by inhibiting NF- κ B and ERK signaling pathways in BV2 cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e102522
- Li W, Yang C, Lu J, *et al.* Tetrandrine protects mouse retinal ganglion cells from ischemic injury[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014,21(8):327-339
- Yagi Y, Fushida S, Harada S, *et al.* Effects of valproic acid on the cell cycle and apoptosis through acetylation of histone and tubulin in a scirrhous gastric cancer cell line[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2010,29(1):149
- Sun X, Xu R, Deng Y, *et al.* Effects of tetrandrine on apoptosis and radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*:Shanghai, 2007, 39(11):869-878
- Lee JH, Kang GH, Kim KC, *et al.* Tetrandrine induced cell cycle arrest and apoptosis in A 549 human lung carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2002, 21(6):1239-1244
- Kuo PL, Lin CC. Tetrandrine induced cell cycle arrest and apoptosis in Hep G₂ cells[J]. *Life Sci*, 2003,73(2):243-252

(收稿日期:2018-02-05)

(修回日期:2018-03-17)

(上接第 49 页)

- Yagi Y, Fushida S, Harada S, *et al.* Effects of valproic acid on the cell cycle and apoptosis through acetylation of histone and tubulin in a scirrhous gastric cancer cell line[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2010,29(1):149
- Sun X, Xu R, Deng Y, *et al.* Effects of tetrandrine on apoptosis and radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*:Shanghai, 2007, 39(11):869-878
- Lee JH, Kang GH, Kim KC, *et al.* Tetrandrine induced cell cycle arrest and apoptosis in A 549 human lung carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2002, 21(6):1239-1244
- Kuo PL, Lin CC. Tetrandrine induced cell cycle arrest and apoptosis in Hep G₂ cells[J]. *Life Sci*, 2003,73(2):243-252

(收稿日期:2018-03-19)

(修回日期:2018-03-25)