

中图分类号: R932; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)01-0035-05

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.01.008



澳洲茄边碱诱导胶质母细胞瘤 U251 细胞凋亡的机制研究*

赵祎博, 张琳, 傅若秋, 曹梓珍, 陈翔, 陈剑鸿[△]

(中国人民解放军陆军特色医学中心, 重庆 400042)

摘要:目的 探讨澳洲茄边碱(SM)对胶质母细胞瘤 U251 细胞凋亡的影响及作用机制。方法 用 SM(0, 2, 4, 6, 8 $\mu\text{mol/L}$)处理细胞 24 h, 即溶剂对照组和 SM 1 组、2 组、3 组、4 组。采用 CCK-8 法和克隆形成实验分别检测细胞活力和增殖能力, 并计算细胞存活率和克隆形成率; 采用 Annexin V-FITC/PI 双染色法及流式细胞术检测细胞凋亡情况, 并计算细胞凋亡率; 采用蛋白免疫印迹(Western blot)法检测凋亡相关蛋白表达水平; 采用 2', 7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)和 JC-1 荧光探针分别检测 U251 细胞中活性氧水平和线粒体膜电位。结果 与溶剂对照组比较, U251 细胞存活率和克隆形成率随 SM 浓度的增加均呈降低趋势($P < 0.05$), 细胞凋亡率呈升高趋势($P < 0.01$); 经 SM 处理后, 细胞剪切多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶、剪切胱天蛋白酶 3 蛋白表达水平及细胞内活性氧水平均呈升高趋势($P < 0.05$), 线粒体膜电位呈降低趋势($P < 0.01$)。结论 SM 可能通过激活线粒体介导的细胞凋亡通路, 从而抑制胶质母细胞瘤 U251 细胞活性。

关键词: 澳洲茄边碱; 胶质母细胞瘤; 线粒体; 活性氧; 细胞凋亡; 作用机制

Mechanism of Solamargine-Induced Apoptosis in Glioblastoma U251 Cells

ZHAO Yibo, ZHANG Lin, FU Ruofu, CAO Zizhen, CHEN Xiang, CHEN Jianhong

(Army Medical Center of the PLA, Chongqing, China 400042)

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of solamargine (SM) in inducing apoptosis of glioblastoma U251 cells. **Methods** U251 cells were treated with SM (0, 2, 4, 6, 8 $\mu\text{mol/L}$) for 24 h, which were taken as the solvent control group and SM 1, 2, 3, and 4 groups respectively. CCK-8 assay and clone formation experiment were used to detect cell viability and proliferation ability respectively, and the cell survival rate and clone formation rate were calculated. Annexin V-FITC/PI dual staining method and flow cytometry were used to detect cell apoptosis, and the apoptosis rate was calculated. The expression level of apoptosis-related proteins was detected by the Western blot. The reactive oxygen species levels and mitochondrial membrane potential levels in U251 cells were observed by 2', 7'-Dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) and JC-1 fluorescent probes respectively. **Results** Compared with those in the solvent control group, the survival rate and clone formation rate of U251 cells showed a decreased trend with the increase of SM concentration ($P < 0.05$), while the apoptosis rate of U251 cells showed a increased trend with the increase of SM concentration ($P < 0.01$). After SM treatment, the expression levels of cell cleaved-poly adenosine diphosphate ribose polymerase (C-PARP), and cleaved-caspase 3 (C-caspase 3) protein, and intracellular reactive oxygen species levels showed a increased trend ($P < 0.05$), and mitochondrial membrane potential showed a decreased trend ($P < 0.01$). **Conclusion** SM may inhibit the activity of glioblastoma U251 cells by activating the mitochondrial-mediated apoptosis pathway.

Key words: solamargine; glioblastoma; mitochondria; reactive oxygen species; apoptosis; mechanism

胶质母细胞瘤是最常见的且恶性程度最高的一类胶质瘤, 起源于中枢神经系统, 发病率、复发率和病死率均高^[1-3]。目前, 胶质母细胞瘤的标准治疗方法为最大安全区域的手术切除联合辅助放射治疗和以替莫唑胺为主的化学治疗^[4-5], 但患者预后较差, 中位生存期为 14.6 个月, 2 年生存期患者仅占 26.5%, 且替莫唑胺治疗过程中产生的较多不良反应及肿瘤细胞耐药问题

也会导致临床治疗失败^[6-8]。故安全有效、高效低毒的新型药物对提高治疗效果、改善预后非常必要。澳洲茄边碱(SM)是从中药龙葵中提取获得的天然甾体生物碱, 对肺癌、肝癌、鼻咽癌等具有良好的抗肿瘤活性^[9-11], 但其在胶质母细胞瘤防治中的作用尚未见报道。故本研究中初步探讨了 SM 抑制胶质母细胞瘤 U251 细胞(简称 U251 细胞)活性的作用及其作用机制, 发现 SM

*基金项目: 重庆市卫生和计划生育委员会中医药科技项目[ZY201801004]; 重庆市教育委员会研究生教育“课程思政”示范项目[YKCSZ23057]。

第一作者: 赵祎博, 男, 硕士研究生在读, 药师, 研究方向为药理学, (电子信箱)zybxdm@163.com。

[△]通信作者: 陈剑鸿, 女, 博士研究生, 主任药师, 研究方向为抗感染与化疗药物的分子机制及天然植物药作用机制, (电话)023-68746956(电子信箱)chenjh_110@263.net。

可能通过线粒体损伤通路诱导U251细胞凋亡,为进一步开发和应用SM提供了新的理论依据。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器:STNERGYH1型酶标仪(美国Agilent公司);EVOSF1型荧光显微镜、3111型CO₂细胞培养箱(美国Thermo公司);C6型流式细胞仪(美国BD公司);Chem I Doc型超高灵敏度化学发光成像系统、165-8001型蛋白电泳仪及转膜槽(美国Bio-Rad公司)。

试剂:SM(批号为HY-N0069,纯度不低于98%),CCK-8试剂盒(批号为HY-K0301),均购自美国MCE公司;DMEM高糖培养基(批号为SH30022.01),胎牛血清(批号为10091148),均购自美国Gibco公司;二甲基亚砜(DMSO,批号为ST038),胰酶细胞消化液(批号为C0201),Western及IP细胞裂解液(批号为P0013),青霉素-链霉素溶液(批号为C0222),二喹啉甲酸(BCA)法蛋白浓度测定试剂盒(增强型,批号为P0010S),线粒体膜电位检测试剂盒(批号为C2006),活性氧(ROS)检测试剂盒(批号为S0033),均购自上海碧云天生物技术有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,美国CST公司,批号为2118S);多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP,批号为13371-1-AP),剪切胱天蛋白酶3(C-caspase 3,批号为19677-1-AP),均购自美国Proteintech公司;预染蛋白(美国Thermo公司,批号为26619);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG,北京中杉金桥生物技术有限公司,批号为ZB2305);细胞凋亡检测试剂盒(美国BD公司,批号为556547)。

细胞:U251细胞(美国菌种保藏中心,批号为iCell-h219)。

1.2 方法

SM贮备液制备:取SM,用DMSO溶解,制成浓度为10 mmol/L的SM贮备液,-20℃分装保存,备用,临用前用DMEM高糖培养基稀释至工作浓度。

细胞培养:将U251细胞置含有10%胎牛血清及1%双抗的DMEM高糖培养基中,于37℃、5% CO₂培养箱中进行传代培养,取对数生长期细胞进行后续实验。

CCK-8法检测细胞存活率:收集对数生长期的U251细胞,以每孔 5×10^3 个细胞的密度接种至96孔板,37℃、5% CO₂培养箱中常规培养24 h,实验设为溶剂对照组和SM 1组、2组、3组、4组(2,4,6,8 μmol/L)。药物处理24 h后,各孔加入10 μL CCK-8试剂,37℃条件下孵育2 h。利用酶标仪于450 nm波长处测定吸光度值(OD),扣除背景值后计算细胞存活率,细胞存活率(%) = $(OD_{\text{给药组}} - OD_{\text{背景}}) / (OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{背景}}) \times 100\%$ 。

克隆形成实验检测细胞增殖能力:收集对数生长期

的U251细胞,以每孔500个细胞的密度接种至6孔板,实验设为溶剂对照组和SM 1组、2组、3组、4组(2,4,6,8 μmol/L)。于37℃、5% CO₂培养箱中常规培养14 d,弃培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗后用4%多聚甲醛固定15 min,用结晶紫染液染色15 min,PBS漂洗,晾干后拍照,观察集落形成数,并计算克隆形成率,克隆形成率(%) = $(\text{集落形成数} / 500) \times 100\%$ 。

流式细胞术检测细胞凋亡情况:收集对数生长期的U251细胞,以每孔 2.0×10^5 个细胞的密度接种至6孔板,37℃、5% CO₂培养箱中常规培养24 h,实验设为溶剂对照组和SM 1组、2组、3组、4组(2,4,6,8 μmol/L)。药物处理24 h后,收集细胞于离心管中,离心(转速为800 r/min)5 min,加入PBS轻柔洗涤细胞,并再次离心,弃上清液,重悬于凋亡检测染色液(含Annexin V-FITC染液2 μL,PI染液5 μL,Binding buffer 100 μL)中,室温下避光孵育15 min,采用流式细胞仪分析U251细胞凋亡情况,并计算凋亡率。

2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)探针检测ROS水平:DCFH-DA是一种可自由穿过细胞膜的荧光探针,进入细胞内可被酯酶水解而生成DCFH,细胞内的ROS则可氧化N',N',N',N'-四甲基氯代脲六氟磷酸酯(DCFH)而生成带有绿色荧光的2',7'-二氯荧光素(DCF),故检测绿色荧光的强度即可反映细胞内ROS水平。收集对数生长期的U251细胞,以每孔 3×10^5 个细胞的密度接种至6孔板,于37℃、5% CO₂培养箱中常规培养24 h,实验设为溶剂对照组和SM 1组、2组、3组、4组(2,4,6,8 μmol/L)。药物处理24 h后,弃培养基,PBS漂洗后加入DCFH-DA荧光探针(10 μmol/L),37℃避光孵育30 min,PBS漂洗后在荧光显微镜下观察细胞内ROS变化并拍照,采用Image J 1.53C软件测定绿色荧光强度值。

JC-1探针检测线粒体膜电位:JC-1是一种常用于线粒体膜电位检测的荧光探针,当线粒体膜电位处于较高水平时,JC-1以聚合物的形式聚集于线粒体基质中,产生红色荧光;当线粒体膜电位水平较低时,JC-1则以单体的形式存在而发出绿色荧光,故常用红绿荧光的相对比值作为检测指标来衡量线粒体膜电位的变化。取对数生长期的U251细胞,以每孔 3×10^5 个细胞的密度接种至6孔板,于37℃、5% CO₂培养箱中常规培养24 h,实验设为溶剂对照组和SM 1组、2组、3组、4组(2,4,6,8 μmol/L)。药物处理24 h后,弃培养基,PBS漂洗后加入JC-1染色工作液,37℃避光孵育20 min,PBS漂洗后在荧光显微镜下观察线粒体膜电位变化并拍照,采用Image J 1.53C软件测量其红色和绿色荧光强度值,并计算红色与绿色荧光强度比值。

蛋白免疫印迹(Western blot)法检测凋亡相关蛋白表达情况:收集对数生长期的U251细胞,以每孔 2.0×10^6 个细胞的密度接种至100 mm培养皿,于 37°C 、5% CO_2 培养箱中常规培养24 h,实验设为溶剂对照组和SM 1组、2组、3组、4组(2,4,6,8 $\mu\text{mol/L}$)。药物处理24 h后,收集U251细胞,并提取全细胞蛋白,BCA试剂盒测定蛋白浓度。向提取的全细胞蛋白中加入 $5 \times$ loading buffer,混匀, 98°C 加热10 min使蛋白变性,采用聚丙烯酰胺电泳分离变性后的蛋白样品,将其转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,PVDF膜于5%脱脂牛奶中室温封闭1 h,TBST漂洗后加入一抗,于 4°C 孵育过夜;第2天,TBST漂洗后加入二抗,室温孵育1 h,TBST漂洗后加入电致化学发光(ECL)液,使用凝胶成像系统曝光条带。采用Image J 1.53C软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内

参蛋白的灰度比值代表各目的蛋白的表达水平。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,多组间比较行单因素方差分析,两组间比较行 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对U251细胞活力和增殖能力的影响

与溶剂对照组比较,SM 1组、2组、3组、4组的细胞存活率和克隆形成率均随SM浓度的增加均呈降低趋势($P < 0.05$)。详见表1和图1。

2.2 对诱导U251细胞凋亡的影响

与溶剂对照组比较,SM 1组、2组、3组、4组的细胞凋亡率随SM浓度的增加呈升高趋势($P < 0.01$)。详见表1和图2。

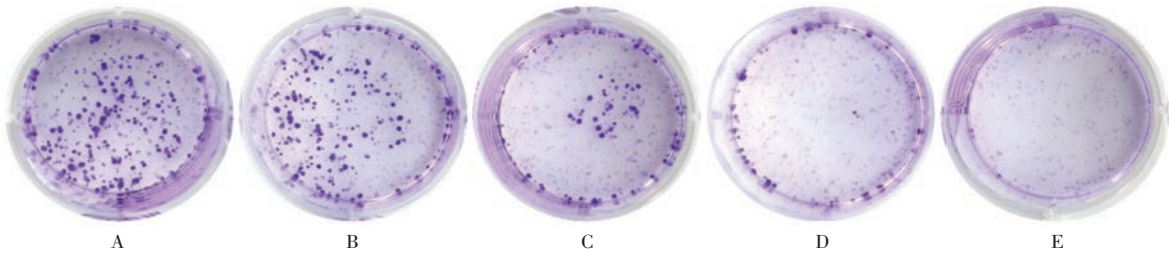
表1 各组U251细胞存活率、克隆形成率、细胞凋亡率、凋亡相关蛋白表达水平、ROS和线粒体膜电位比较($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Tab.1 Comparison of survival rate,clone formation rate,apoptosis rate,expression level of apoptosis-related proteins,ROS and mitochondrial membrane potential of U251 cells in each group ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

组别	浓度	细胞存活率(%)	克隆形成率(%)	细胞凋亡率(%)	PARP/GAPDH	C-PARP/ PARP	C-caspase 3/GAPDH	绿色荧光强度	红色与绿色荧光强度比值
溶剂对照组	0 $\mu\text{mol/L}$	100.00 ± 0.00	53.33 ± 0.06	7.87 ± 0.21	0.76 ± 0.22	0.22 ± 0.02	0.05 ± 0.01	5.18 ± 1.08	2.04 ± 0.15
SM 1组	2 $\mu\text{mol/L}$	97.16 ± 1.26	41.60 ± 0.06	10.81 ± 0.73	0.72 ± 0.22	0.13 ± 0.02	$0.20 \pm 0.02^{**}$	$13.21 \pm 0.25^*$	$1.49 \pm 0.12^{**}$
SM 2组	4 $\mu\text{mol/L}$	$58.95 \pm 0.94^{**}$	$27.80 \pm 0.09^*$	$36.53 \pm 1.12^{**}$	0.97 ± 0.28	0.29 ± 0.04	$0.33 \pm 0.04^{**}$	$22.06 \pm 2.78^{**}$	$1.27 \pm 0.23^{**}$
SM 3组	6 $\mu\text{mol/L}$	$28.76 \pm 7.25^{**}$	$19.87 \pm 0.04^{**}$	$63.42 \pm 2.51^{**}$	0.75 ± 0.21	$0.69 \pm 0.06^{**}$	$0.52 \pm 0.04^{**}$	$54.30 \pm 0.73^{**}$	$0.80 \pm 0.09^{**}$
SM 4组	8 $\mu\text{mol/L}$	$12.00 \pm 1.54^{**}$	$12.47 \pm 0.02^{**}$	$86.55 \pm 1.99^{**}$	0.79 ± 0.23	$0.77 \pm 0.08^{**}$	$0.52 \pm 0.05^{**}$	$56.72 \pm 5.43^{**}$	$0.41 \pm 0.02^{**}$

注:与溶剂对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note:Compared with those in the solvent control group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$.

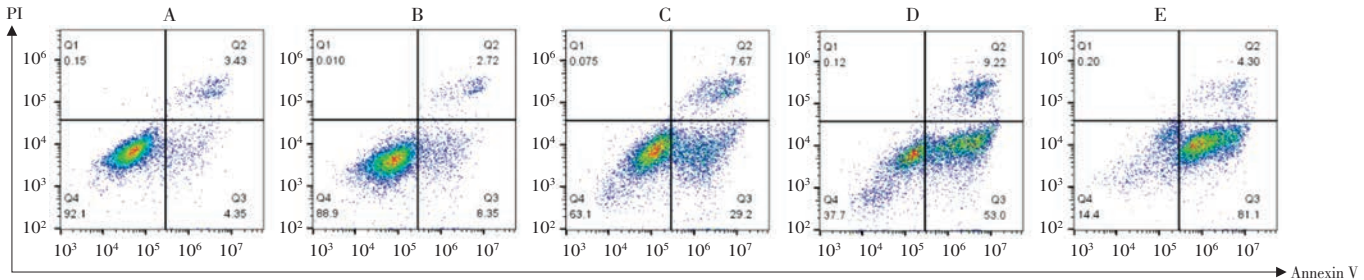


A. 溶剂对照组 B. SM 1组(2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2组(4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3组(6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4组(8 $\mu\text{mol/L}$)

图1 SM对U251细胞克隆形成的影响($n = 3$)

A. Solvent control group B. SM 1 group (2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 group (4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 group (6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 group (8 $\mu\text{mol/L}$)

Fig.1 Effect of SM on clone formation of U251 cells ($n = 3$)



A. 溶剂对照组 B. SM 1组(2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2组(4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3组(6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4组(8 $\mu\text{mol/L}$)

图2 SM对U251细胞凋亡的影响

A. Solvent control group B. SM 1 group (2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 group (4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 group (6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 group (8 $\mu\text{mol/L}$)

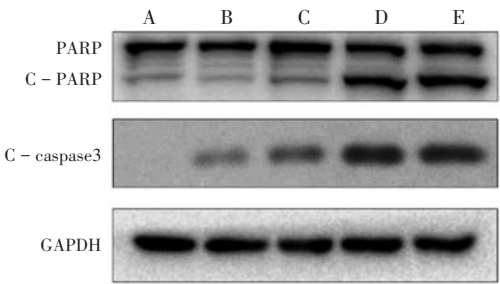
Fig.2 Effect of SM on apoptosis of U251 cells

2.3 对 U251 细胞凋亡相关蛋白表达水平的影响

与溶剂对照组比较,SM 1 组、2 组、3 组、4 组 C - PARP 和 C - caspase 3 蛋白表达水平随 SM 浓度的增加呈升高趋势($P < 0.01$)。详见表 1 和图 3。

2.4 对 U251 细胞中 ROS 水平的影响

与溶剂对照组比较,SM 1 组、2 组、3 组、4 组绿色荧光强度随 SM 浓度的增加呈增强趋势($P < 0.05$)。详见表 1 和图 4。

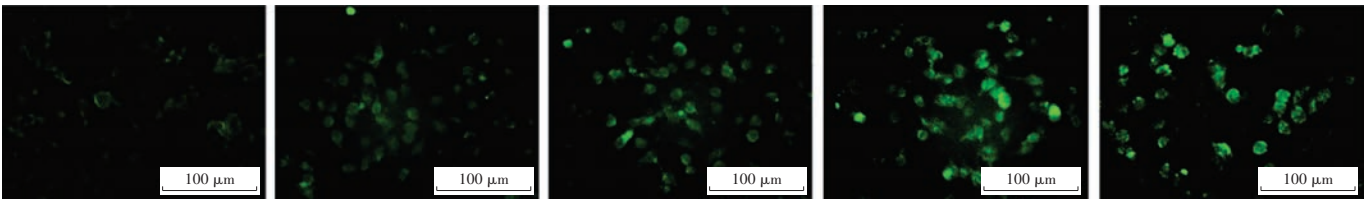


A. 溶剂对照组 B. SM 1 组(2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 组(4 $\mu\text{mol/L}$)
D. SM 3 组(6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 组(8 $\mu\text{mol/L}$)

图 3 SM 对 U251 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

A. Solvent control group B. SM 1 group (2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 group (4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 group (6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 group (8 $\mu\text{mol/L}$)

Fig.3 Effect of SM on the expression of apoptosis - related proteins of U251 cells

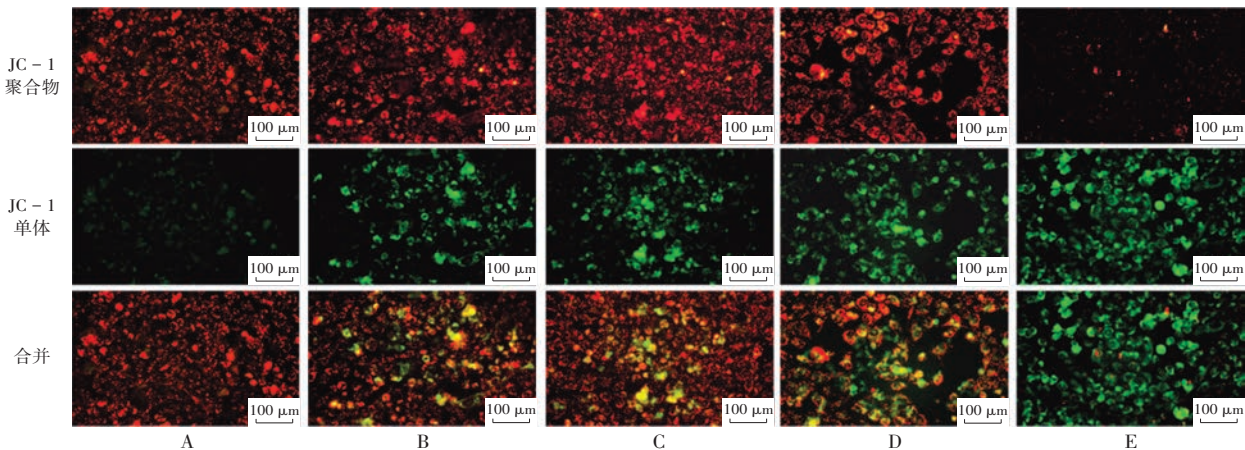


A. 溶剂对照组 B. SM 1 组(2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 组(4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 组(6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 组(8 $\mu\text{mol/L}$)

图 4 SM 对 U251 细胞 ROS 水平的影响

A. Solvent control group B. SM 1 group (2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 group (4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 group (6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 group (8 $\mu\text{mol/L}$)

Fig.4 Effect of SM on ROS level of U251 cells



A. 溶剂对照组 B. SM 1 组(2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 组(4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 组(6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 组(8 $\mu\text{mol/L}$)

图 5 SM 对 U251 细胞线粒体膜电位的影响

A. Solvent control group B. SM 1 group (2 $\mu\text{mol/L}$) C. SM 2 group (4 $\mu\text{mol/L}$) D. SM 3 group (6 $\mu\text{mol/L}$) E. SM 4 group (8 $\mu\text{mol/L}$)

Fig.5 Effect of SM on mitochondrial membrane potential of U251 cells

2.5 对 U251 细胞红色与绿色荧光强度比值的影响

与溶剂对照组比较,SM 1 组、2 组、3 组、4 组红色与绿色荧光强度比值(即细胞线粒体膜电位)随 SM 浓度的增加呈降低趋势($P < 0.01$)。详见表 1 和图 5。

3 讨论

近年来,中药及其单体活性成分在抗肿瘤领域受到越来越多的关注,其多途径、多靶点、低毒性等优势在抗肿瘤新药研发中的潜力巨大。SM 的抗肿瘤作用已在几种肿瘤模型中得到验证。在人肝癌 SMMC - 772 细胞和人胰腺癌 BxPC - 3 细胞中,SM 可通过激活胱天蛋白酶 3(caspase - 3)凋亡途径诱导细胞凋亡^[12-13]。本研究通过对 U251 细胞活力和克隆形成能力的检测发现,SM 处理后的 U251 细胞活力和增殖能力均显著降低,进一步探讨了 SM 抑制 U251 细胞活力的潜在作用机制。

细胞凋亡是一种常见的细胞程序性死亡方式,涉及基因的激活、表达、调控等作用,在肿瘤的发生与发展中至关重要。PARP 蛋白可特异性地识别并结合 DNA 断裂末端,在 DNA 修复和细胞程序性死亡中发挥重要作用^[14]。Caspase - 3 是一种重要的终末剪切酶,负责对许多关键蛋白质的蛋白水解裂解,是细胞凋亡的关键执行者^[15]。Caspase - 3 通过自身剪切激活后,进一步催

化PARP发生降解,触发染色体DNA断裂和片段化,导致细胞凋亡。因此,caspase-3的剪切激活及PARP降解的发生通常被认为是凋亡发生的标志^[16]。本研究中对细胞凋亡相关蛋白的检测发现,SM处理后可导致U251细胞caspase-3剪切激活(C-caspase 3蛋白水平升高)和PARP降解(PARP蛋白水平降低),结果表明,SM可能通过诱导U251细胞凋亡来抑制其增殖,并呈浓度依赖趋势。

细胞凋亡通路通常由死亡受体途径、内质网途径和线粒体途径组成。其中,线粒体途径又称内源性凋亡途径,是决定细胞凋亡与死亡的主要作用途径。通过损伤线粒体功能诱发肿瘤细胞凋亡是药物发挥抗肿瘤作用的有效方式^[17]。据报道,ROS在一定程度上可促进细胞增殖分化,但ROS过量增加会损伤脂质和蛋白,破坏正常细胞信号通路,诱发细胞凋亡和自噬。当细胞产生应激时,ROS水平大量升高,使线粒体膜的离子通透性丧失,线粒体膜电位下降,导致线粒体外膜破裂及诱导凋亡的细胞因子释放入胞质,caspase级联反应启动,促使下游caspase-3活化,进而识别切割底物PARP,最终诱发细胞凋亡^[18-20]。表明SM可能通过浓度依赖的方式诱导U251细胞内ROS水平升高,促使线粒体膜电位降低,引起线粒体功能障碍,导致细胞凋亡。

综上所述,SM可抑制U251细胞增殖,并诱导其凋亡,作用机制可能是通过促进U251细胞内ROS水平升高,引起线粒体损伤而激活caspase的凋亡途径,最终导致U251细胞凋亡。

参考文献

- [1] ALDAPE K, ZADEH G, MANSOURI S, et al. Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers [J]. *Acta Neuropathol*, 2015, 129(6): 829 - 848.
- [2] LEE E, YONG RL, PADDISON P, et al. Comparison of glioblastoma (GBM) molecular classification methods [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 53: 201 - 211.
- [3] ALEXANDER BM, CLOUGHESY TF. Adult Glioblastoma [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(21): 2402 - 2409.
- [4] CHAUHAN PS, KUMARASAMY M, CARCABOSO AM, et al. Multifunctional silica-coated mixed polymeric micelles for integrin-targeted therapy of pediatric patient-derived glioblastoma [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 128: 112261.
- [5] WANG S, YAO F, LU XH, et al. Temozolomide promotes immune escape of GBM cells via upregulating PD-L1 [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(6): 1161 - 1171.
- [6] OSTROM QT, GITTLEMAN H, XU J, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2009 - 2013 [J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(suppl_5): v1 - v75.
- [7] STUPP R, MASON WP, VAN DEN BENT MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(10): 987 - 996.
- [8] KARACHI A, DASTMALCHI F, MITCHELL DA, et al. Temozolomide for immunomodulation in the treatment of glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(12): 1566 - 1572.
- [9] TANG Q, ZHENG F, LIU Z, et al. Novel reciprocal interaction of lncRNA HOTAIR and miR-214-3p contribute to the solamargine-inhibited PDPK1 gene expression in human lung cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(11): 7749 - 7761.
- [10] TANG Q, LI XJ, CHEN Y, et al. Solamargine inhibits the growth of hepatocellular carcinoma and enhances the anticancer effect of sorafenib by regulating HOTTIP-TUG1/miR-4726-5p/MUC1 pathway [J]. *Mol Carcinog*, 2022, 61(4): 417 - 432.
- [11] WU JJ, TANG XJ, MA CJ, et al. The regulation and interaction of colon cancer-associated transcript-1 and miR7-5p contribute to the inhibition of SP1 expression by solamargine in human nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(1): 201 - 213.
- [12] 胡兵, 安红梅, 闫霞, 等. 澳洲茄边碱对大肠癌 RKO 细胞增殖和凋亡作用 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(8): 1839 - 1841.
- [13] XIE X, ZHANG X, CHEN J, et al. Fe₃O₄-solamargine induces apoptosis and inhibits metastasis of pancreatic cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2019, 54(3): 905 - 915.
- [14] VO PHT, NGUYEN TDT, TRAN HT, et al. Cytotoxic components from the leaves of *Erythrophloeum fordii* induce human acute leukemia cell apoptosis through caspase 3 activation and PARP cleavage [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021, 31: 127673.
- [15] A A ALY H, G EID B. Cisplatin induced testicular damage through mitochondria mediated apoptosis, inflammation and oxidative stress in rats: impact of resveratrol [J]. *Endocr J*, 2020, 67(9): 969 - 980.
- [16] MCCOMB S, CHAN PK, GUINOT A, et al. Efficient apoptosis requires feedback amplification of upstream apoptotic signals by effector caspase-3 or -7 [J]. *Sci Adv*, 2019, 5(7): eaau9433.
- [17] CARNEIRO BA, EL-DEIRY WS. Targeting apoptosis in cancer therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(7): 395 - 417.
- [18] LIANG WQ, CUI JX, ZHANG KC, et al. Shikonin induces ROS-based mitochondria-mediated apoptosis in colon cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(65): 109094 - 109106.
- [19] LIN JJ, HUANG CC, SU YL, et al. Proteomics Analysis of Tangeretin-Induced Apoptosis through Mitochondrial Dysfunction in Bladder Cancer Cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1017.
- [20] SOROLLA MA, HIDALGO I, SOROLLA A, et al. Microenvironmental Reactive Oxygen Species in Colorectal Cancer: Involved Processes and Therapeutic Opportunities [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(20): 5037.

(收稿日期: 2023-03-20; 修回日期: 2023-09-24)