

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230236

• 短篇论著 •

去氧地胆草素通过诱导活性氧促进人非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡

潘莉¹, 张银芳¹, 邱勇玉^{1*}, 柳金梅²

1. 甘肃中医药大学附属医院, 兰州 730000
2. 甘肃省计划生育科学技术服务中心, 兰州 730000

[摘要] **目的** 探讨去氧地胆草素(Deo)对人非小细胞肺癌 A549 细胞中活性氧(ROS)调控细胞凋亡途径的影响。**方法** 用不同浓度的 Deo 分别作用于 A549 细胞, 通过 CCK-8 法检测细胞活力, 2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)染色检测细胞产生的 ROS 含量, Hoechst 33342 染色检测细胞凋亡小体, 流式细胞术检测细胞凋亡情况及线粒体膜电位, qPCR 和蛋白质印迹法检测细胞凋亡相关蛋白表达。用 A549 细胞裸小鼠移植瘤模型评价 Deo 的体内抗肿瘤效果, 通过 H-E 染色和 TUNEL 检测观察肿瘤组织坏死和细胞凋亡的变化。**结果** 随着 Deo 浓度(1、2、4、8、16、32 $\mu\text{mol/L}$)的增加, A549 细胞活力呈现出递减趋势; 10 $\mu\text{mol/L}$ Deo 可提高 A549 细胞内的 ROS 含量, 降低线粒体膜电位, 促进细胞凋亡; 10、20 $\mu\text{mol/L}$ Deo 可促进 A549 细胞中 Bax 和 caspase-3 的 mRNA 及蛋白表达, 而抑制 Bcl-2 的 mRNA 及蛋白表达; 同时细胞质中细胞色素 C 表达明显增加。10、20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Deo 给药 17 d 后, 裸小鼠移植瘤的体积和重量均被抑制, 并且肿瘤组织中坏死面积和细胞凋亡指数增大。**结论** Deo 能够诱导 A549 细胞产生 ROS, 激活线粒体凋亡通路, 促进细胞凋亡。

[关键词] 去氧地胆草素; 肺肿瘤; A549 细胞; 活性氧; 细胞凋亡

[引用本文] 潘莉, 张银芳, 邱勇玉, 等. 去氧地胆草素通过诱导活性氧促进人非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡[J]. 海军军医大学学报, 2025, 46(1): 129-134. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230236.

Deoxyelephantopin promotes apoptosis of human non-small cell lung cancer A549 cells by inducing reactive oxygen species

PAN Li¹, ZHANG Yinfang¹, QIU Yongyu^{1*}, LIU Jinmei²

1. Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu, China
2. Family Planning Science and Technology Service Center of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of deoxyelephantopin (Deo) on regulation of cell apoptosis pathway by reactive oxygen species (ROS) in human non-small cell lung cancer A549 cells. **Methods** A549 cells were treated with different concentrations of Deo. Cell counting kit 8 (CCK-8) assay was used to detect the cell viability, 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) staining was used to measure cellular ROS content, and Hoechst 33342 staining was used to detect apoptotic bodies. Cell apoptosis and mitochondrial membrane potential were examined by flow cytometry. Quantitative polymerase chain reaction and Western blotting were used to detect the expression of apoptosis-related proteins. A549 xenograft tumor model in nude mice was used to evaluate the anti-tumor effect of Deo *in vivo*. Hematoxylin-eosin staining and TUNEL assay were used to observe the necrosis and cell apoptosis in tumor tissues. **Results** With the increase of Deo concentration (1, 2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{mol/L}$), the viability of A549 cells showed a decreasing trend. Deo at 10 $\mu\text{mol/L}$ could increase the ROS content in A549 cells, reduce mitochondrial membrane potential and promote cell apoptosis. Deo at 10 and 20 $\mu\text{mol/L}$ promoted the mRNA and protein expression of Bax and caspase-3 and inhibited the mRNA and protein expression of Bcl-2, accompanied by significantly increased protein expression of cytochrome C in the cytoplasm. The volume and weight of transplanted tumor in nude mice were significantly inhibited after 17 d of administration of Deo of 10 and 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, and the necrotic area and the number of apoptotic cells in the tumor tissue were increased. **Conclusion** Deo can induce intracellular ROS production, and then activate the mitochondrial apoptosis pathway and consequently promote the apoptosis of A549 cells.

[收稿日期] 2023-04-26 **[接受日期]** 2023-10-26

[基金项目] 甘肃省卫生行业科研计划项目(GSWSKY-2014-45). Supported by Health Industry Scientific Research Project of Gansu Province (GSWSKY-2014-45).

[作者简介] 潘莉, 主治医师. E-mail: 6315576@qq.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 0931-8635150, E-mail: 2448809519@qq.com

[Key words] deoxyelephantopin; lung neoplasms; A549 cells; reactive oxygen species; apoptosis

[Citation] PAN L, ZHANG Y, QIU Y, et al. Deoxyelephantopin promotes apoptosis of human non-small cell lung cancer A549 cells by inducing reactive oxygen species[J]. Acad J Naval Med Univ, 2025, 46(1): 129-134. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20230236.

癌症是严重威胁人类健康的疾病,目前已成为世界上仅次于心血管疾病的第二大因病致死原因,其中肺癌是最常见的癌症类型和最主要的癌症死亡原因(占总病例的11.6%,占总癌症死亡病例的18.4%)^[1]。化疗是肺癌的传统治疗手段,在肺癌的综合治疗和辅助治疗中占有重要地位,但仍然存在不良反应发生率较高和耐药等问题^[2]。研发药效显著、安全性高、成本较低的肺癌治疗药物至关重要。去氧地胆草素(deoxyelephantopin, Deo)是菊科植物地胆草(*Elephantopus scaber* L.)中重要的倍半萜类化合物,具有显著的抗癌活性,在肿瘤化疗方面存在潜在的价值^[3]。本研究考察了Deo诱导人非小细胞肺癌A549细胞凋亡的体外作用机制,明确了Deo通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)调控线粒体介导的凋亡途径促进A549细胞凋亡,报告如下。

1 材料和方法

1.1 细胞和试剂 A549细胞(目录号:SCSP-503)购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库;BALB/c裸小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司[动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006];Deo(CAS号:29307-03-7)购于四川恒诚致远生物科技有限公司;DMEM培养基、FBS和胰蛋白酶购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司;DMSO、Hoechst 33342和N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)购于美国Sigma公司;CCK-8、2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA)、青霉素-链霉素双抗、TUNEL检测试剂盒(绿色荧光)和ECL Plus超敏化学发光液购于北京索莱宝科技有限公司;牛血清白蛋白(bovine albumin, BSA)、苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)和Na₃VO₄购于上海泰坦科技股份有限公司;所用抗体均购于美国Signalway Antibody公司。

1.2 细胞活力检测 将A549细胞接种于96孔板,每孔100 μL,细胞密度为1×10⁴个/mL,待

细胞贴壁后依次加入终浓度为1、2、4、8、16和32 μmol/L的Deo,空白组使用载体溶液(0.1% DMSO)作为对照,每组平行8孔。在Deo作用12、24和48 h后分别向每孔加入10 μL CCK-8溶液,继续培养2 h后测定450 nm处的光密度值,计算细胞存活率和Deo对A549细胞的IC₅₀。

1.3 细胞产生ROS检测 将A549细胞接种于12孔板,每孔约2×10⁵个细胞,待细胞生长至完全贴壁且部分融合后,更换含Deo(10 μmol/L)或10 μmol/L Deo+5 mmol/L NAC(ROS清除剂)的培养基培养细胞24 h,弃去含药的培养基;以无血清培养基为溶剂配制浓度为10 μmol/L的DCFH-DA溶液,每孔加入500 μL,在培养箱中孵育30 min后观察、拍照。

1.4 细胞凋亡检测 (1)将A549细胞接种于12孔板,每孔约2×10⁵个细胞,待细胞贴壁生长后,分别采用10 μmol/L Deo和10 μmol/L Deo+5 mmol/L NAC处理24 h,弃去含药培养基,加入10 μL浓度为5 mg/L的Hoechst 33342染液,在培养箱中孵育15 min后观察、拍照。(2)将A549细胞接种于6孔板,每孔约4×10⁵个细胞,分别采用10 μmol/L Deo和10 μmol/L Deo+5 mmol/L NAC处理24 h,用胰蛋白酶消化细胞,1 000×g离心10 min后收集细胞,加入Annexin V-FITC和PI染液,在培养箱中孵育20 min后,用流式细胞术对细胞进行检测。

1.5 线粒体膜电位检测 将A549细胞接种于6孔板,每孔约4×10⁵个细胞,用5、10和20 μmol/L Deo处理细胞24 h和48 h,用胰蛋白酶消化细胞,向收集的细胞中加入无酶的罗丹明123试剂,在培养箱中孵育30 min后,上流式细胞仪进行检测。

1.6 凋亡相关蛋白的检测 A549细胞培养至完全贴壁后,用5、10和20 μmol/L Deo分别处理48 h,弃培养液后用预冷PBS清洗2次,分别进行qPCR和蛋白质印迹法检测。qPCR引物序列:Bax正、反向引物序列分别为5'-CCTGCTG-ATCTATCAGCACAGAT-3'、5'-AGTGACTCAGATGCCGAAGTG-3', caspase-3正、反向引物序列

分别为5'-ATGGAGAACACTGAAAACCTCAGT-3'、5'-CGTCAAAGGAAAAGGACTCAAAT-3', *Bcl-2*正、反向引物序列分别为5'-AGGGTACGATAACCGGGAG-3'、5'-TCACTTGTGGCCAGATAGG-3', *GAPDH*正、反向引物序列分别为5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTG-3'、5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。目的基因的mRNA相对表达量使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.7 体内实验验证Deo对移植瘤的影响 将4周龄BALB/c裸小鼠分为对照组、 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ Deo组、 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ Deo组, 每组6只。各组裸小鼠饲养7 d后, 皮下注射约 1×10^7 个A549细胞, 当肿瘤体积 $>50\text{ mm}^3$ 时, $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ Deo组、 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ Deo组每天腹腔注射相应剂量的Deo, 对照组每天腹腔注射同等体积的生理盐水。每隔2 d测量移植瘤的长和宽, 通过公式计算肿瘤体积(肿瘤体积=长度 \times 宽度 $^2\times 0.5$)。给药17 d后腹腔注射异戊巴比妥钠 200 mg/kg 处死裸小鼠, 小心剥离实体瘤组织, 精确称重, 随后用PBS清洗2次, 置于10%甲醛溶液中固定, 石蜡包埋、切片, 进行H-E和TUNEL染色。H-E染色切片在显微镜下观察、拍照, 通过Image-Pro Plus 6.0软件分析肿瘤组织中的坏死面积。TUNEL染色切片在荧光显微镜下观察、拍照, 通过Image-Pro Plus 6.0软件分析肿瘤组织中的TUNEL阳性细胞数量和DAPI标记的总细胞数量, 计算细胞凋亡指数。

1.8 统计学处理 采用SPSS 21.0软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用单因素

方差分析和Tukey多重比较。检验水准(α)为0.05。

2 结果

2.1 Deo对A549细胞活力的影响 如图1所示, 在Deo作用时间相同的情况下, A549细胞活力随着Deo浓度的增加而下降, Deo作用A549细胞12、24和48 h的 IC_{50} 分别为 17.64 、 10.56 和 $3.88\text{ }\mu\text{mol/L}$; 在Deo作用浓度相同的情况下, 可以明显观察到A549细胞活力随着Deo的作用时间延长而下降。

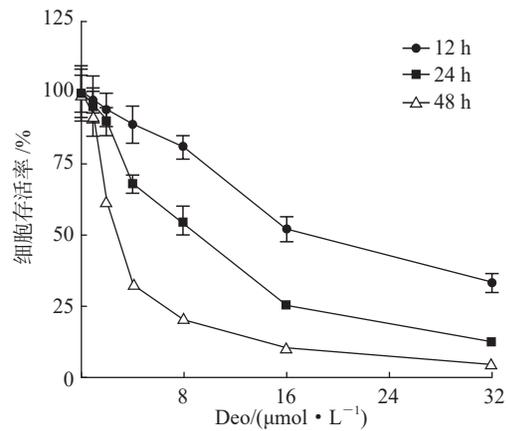


图1 CCK-8法检测Deo对A549细胞活力的影响 $n=8, \bar{x}\pm s$. CCK-8: 细胞计数试剂盒8; Deo: 去氧地胆草素.

2.2 Deo对A549细胞中ROS累积的影响 DCFH-DA染色结果(图2)显示, $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ Deo处理24 h后A549细胞内ROS含量比对照组高($P<0.01$), 且Deo组的细胞表现出形态扁圆、皱缩、状态欠佳; 而与 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ Deo组比较, $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ Deo+ 5 mmol/L NAC组细胞内ROS含量减少($P<0.01$), 并且细胞形态没有明显的变化。

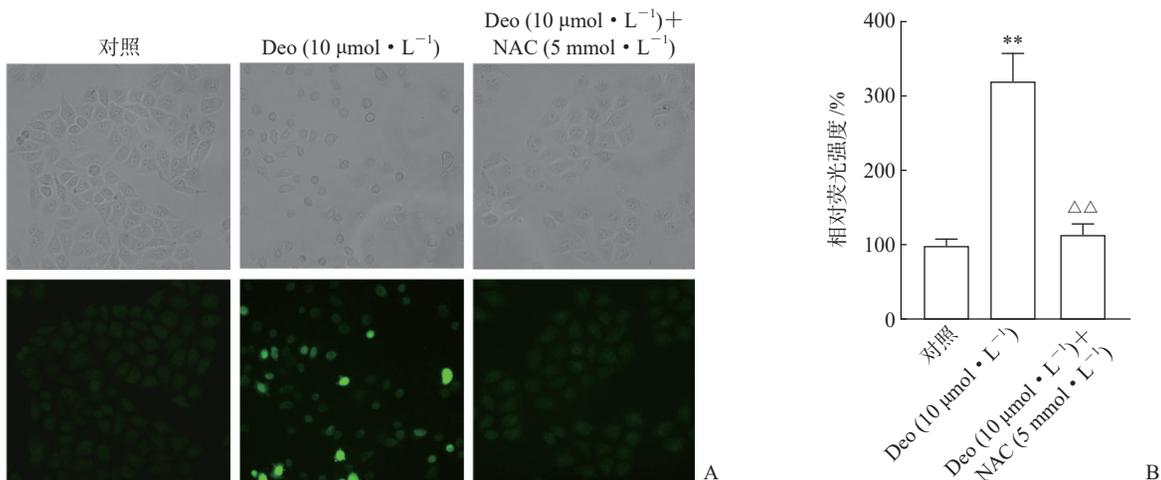


图2 DCFH-DA染色法分析Deo对A549细胞内ROS含量的影响

A: 荧光显微镜获得的明场(上)和荧光(下)图像($400\times$); B: 各组荧光强度的比较. ** $P<0.01$ 与对照组比较, $\Delta\Delta P<0.01$ 与Deo($10\text{ }\mu\text{mol/L}$)组比较. $n=3, \bar{x}\pm s$. DCFH-DA: 2',7'-二氯荧光素二乙酸钠; Deo: 去氧地胆草素; ROS: 活性氧; NAC: N-乙酰半胱氨酸.

2.3 Deo对A549细胞凋亡的影响 Hoechst 33342染色结果(图3A)显示,10 μmol/L Deo组A549细胞核固缩裂解,产生凋亡小体,细胞发生皱缩、形态变得扁圆,并且细胞未发生汇合;10 μmol/L Deo+5 mmol/L NAC组细胞的核固缩和凋亡小体

比Deo组明显减少,细胞核形态规则、核膜完整,细胞形态无明显变化。流式细胞术检测结果(图3B)显示,10 μmol/L Deo组凋亡细胞较对照组明显增多,而10 μmol/L Deo+5 mmol/L NAC组凋亡细胞较10 μmol/L Deo组明显减少(均 $P<0.01$)。

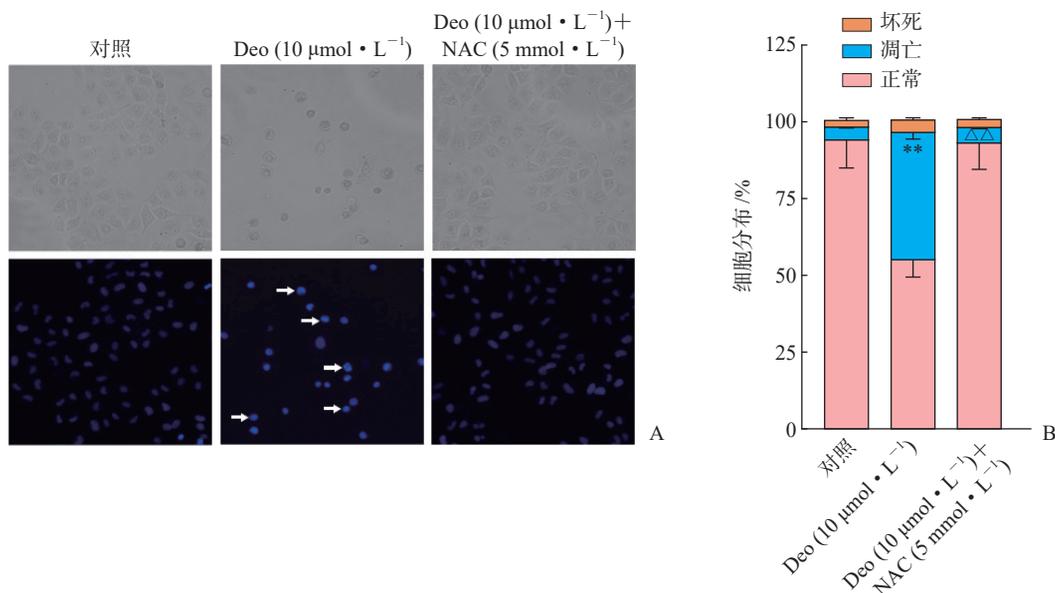


图3 Hoechst 33342染色和流式细胞术分析Deo对A549细胞凋亡的影响

A:Hoechst 33342染色,荧光显微镜获得的明场(上)和荧光(下)图像(400×,箭头所示为细胞内凋亡小体);B:流式细胞术获得的A549细胞凋亡数据。* $P<0.01$ 与对照组比较;△△ $P<0.01$ 与Deo(10 μmol/L)组比较。 $n=3, \bar{x} \pm s$ 。Deo:去氧地胆草素;NAC:*N*-乙酰半胱氨酸。

2.4 Deo对A549细胞线粒体膜电位的影响 流式细胞术分析结果(图4)显示,A549细胞中线粒体膜电位随着Deo浓度的升高和培养时间的延长呈现出下降趋势。

组A549细胞中*Bax*和*caspase-3* mRNA表达高于对照组(均 $P<0.05$),且随着Deo浓度的增高而升高;10、20 μmol/L Deo组*Bcl-2* mRNA表达低于对照组(均 $P<0.01$),且随着Deo浓度的增高而降低。蛋白质印迹法检测结果(图5B)显示,*Bax*、活化*caspase-3*(cleaved *caspase-3*)和细胞质中细胞色素C的表达随着Deo浓度的增高而升高,而*Bcl-2*的表达随着Deo浓度的增高而降低。

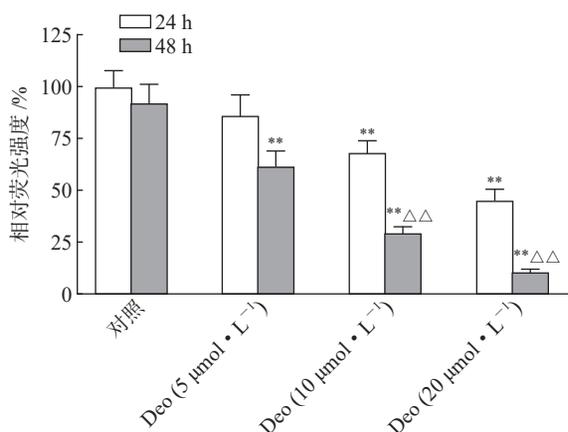


图4 流式细胞术分析Deo对A549细胞线粒体膜电位的影响(罗丹明123染色)

** $P<0.01$ 与相同时间点的对照组比较;△△ $P<0.01$ 与相同浓度Deo组处理24 h时比较。 $n=3, \bar{x} \pm s$ 。Deo:去氧地胆草素。

2.5 Deo对A549细胞凋亡相关蛋白表达的影响 qPCR检测结果(图5A)显示,5、10、20 μmol/L Deo

2.6 Deo对A549细胞异体移植瘤的影响 如图6所示,10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ Deo组、20 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ Deo组裸小鼠A549细胞移植瘤生长较对照组缓慢,给药17 d后移植瘤体积明显小于对照组(均 $P<0.05$)。Deo给药17 d后,10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ Deo组、20 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ Deo组裸小鼠移植瘤重量分别为(710±83)、(423±51) mg,均低于对照组[(982±105) mg](均 $P<0.01$)。通过H-E染色和TUNEL染色分析裸小鼠A549细胞移植瘤组织中坏死面积和凋亡指数,结果(图7)显示,10 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ Deo组、20 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ Deo组肿瘤组织坏死面积和凋亡指数高于对照组(均 $P<0.01$)。

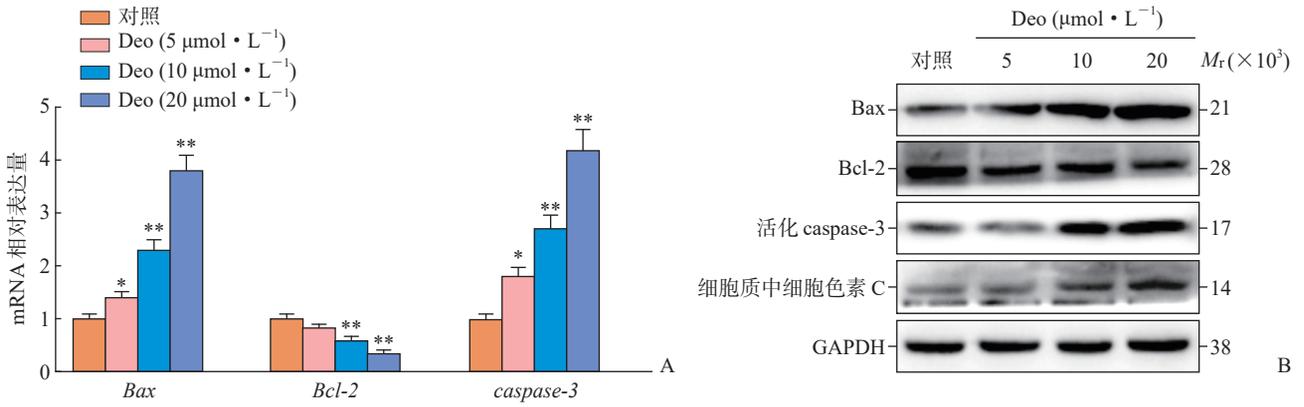


图5 qPCR和蛋白质印迹法检测Deo对A549细胞凋亡相关蛋白表达的影响

A: qPCR; B: 蛋白质印迹法. $^{**}P < 0.01$ 与对照组比较. $n = 3, \bar{x} \pm s$. qPCR: 定量聚合酶链反应; Deo: 去氧地胆草素; Bax: Bcl-2 相关X蛋白; Bcl-2: B淋巴细胞瘤基因; caspase-3: 胱天蛋白酶3; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶.

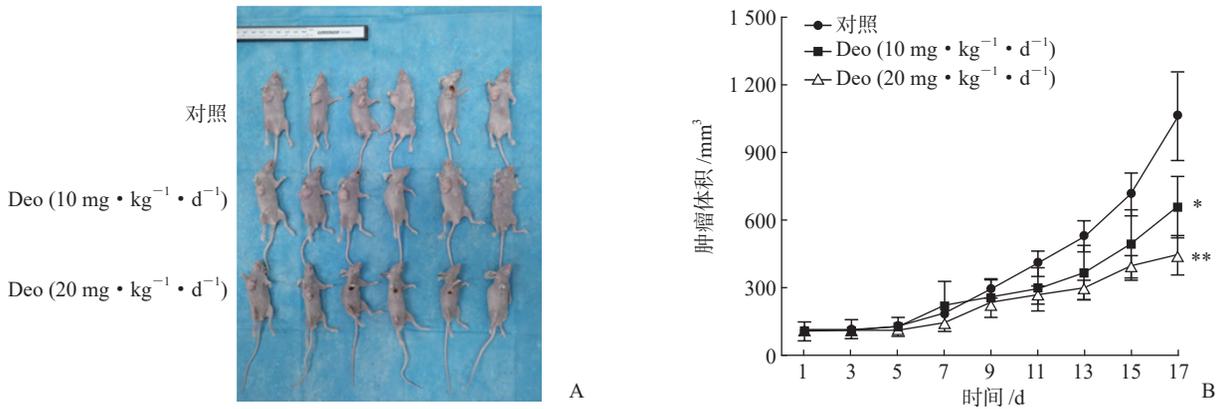


图6 Deo对裸小鼠A549细胞移植瘤生长的影响

A: 给药17 d后裸小鼠外观; B: 移植瘤体积变化. $^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01$ 与相同时间点的对照组比较. $n = 6, \bar{x} \pm s$. Deo: 去氧地胆草素.

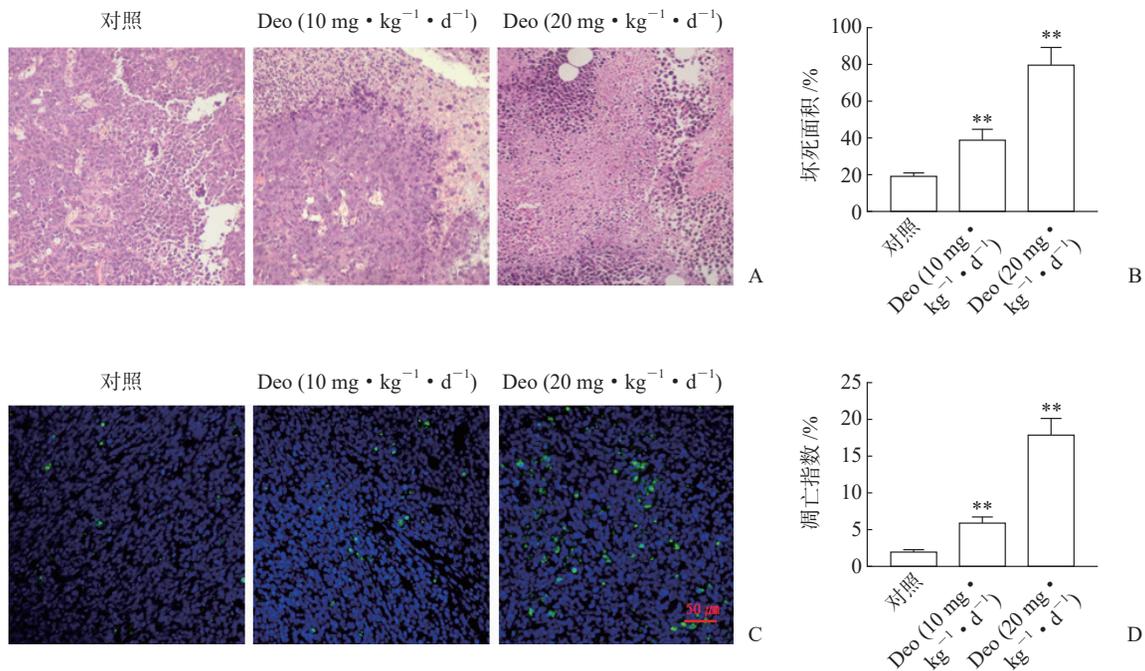


图7 H-E染色和TUNEL检测分析Deo对裸小鼠A549细胞移植瘤组织坏死和细胞凋亡的影响

A: H-E染色图 (200 \times); B: 肿瘤坏死面积定量分析; C: TUNEL检测图 (200 \times); D: 细胞凋亡指数分析. $^{**}P < 0.01$ 与对照组比较. $n = 6, \bar{x} \pm s$. H-E: 苏木精-伊红; TUNEL: 原位末端转移酶标记技术; Deo: 去氧地胆草素.

3 讨论

有研究表明 Deo 能抑制肿瘤细胞增殖和迁移、增强肿瘤细胞对化疗药物敏感性、诱导肿瘤细胞凋亡等,并且可以通过诱导氧化应激、抑制 NF- κ B 表达和导致线粒体功能障碍促进肿瘤细胞凋亡^[4-5],但 Deo 对肺癌细胞的具体调控机制尚不清楚。本研究证实 Deo 可通过诱导细胞内 ROS 含量增加,激活线粒体凋亡通路,促进 A549 细胞凋亡的发生;动物实验发现,10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 和 20 mg·kg⁻¹·d⁻¹ Deo 给药 17 d 后对裸小鼠 A549 细胞移植瘤的体积和重量均有明显的抑制效果,并且对肿瘤组织坏死和细胞凋亡均有明显的促进作用。

ROS 是细胞内正常的代谢产物,是一类短寿命、高活性的含氧分子,细胞中一系列氧化还原反应可维持其动态平衡^[6-7]。ROS 可引起 DNA 损伤,过量的 ROS 会对蛋白质、核酸、脂质、膜和细胞器造成损害,诱发氧化应激反应,激活细胞凋亡信号通路^[8-10]。ROS 与肿瘤的发生、发展、凋亡密切相关,肿瘤细胞中 ROS 的产生增加、氧化还原状态发生改变,靶向线粒体增加 ROS 的含量是抗肿瘤的有效途径之一^[11-12]。本研究通过 DCFH-DA 染色检测细胞内 ROS 含量发现,Deo 干预后 A549 细胞中 ROS 含量提高,而加入 ROS 清除剂 NAC 后细胞中的 ROS 的含量减少,表明 Deo 促进 A549 细胞凋亡与细胞内 ROS 含量的变化密切相关。

细胞受到药物刺激会产生大量的 ROS,若这些 ROS 未被及时清除就会损伤细胞线粒体膜,导致 Bax/Bcl-2 比值升高,打开线粒体膜通道孔,使线粒体膜的通透性增高^[6,13]。此外,ROS 会使细胞色素 C 与双磷脂酰甘油分离,通过线粒体膜外流到细胞质中,激活与细胞凋亡有关的 caspase 家族蛋白的表达。caspase-3 在细胞凋亡的执行阶段发挥重要作用,上游的凋亡信号切割 caspase-3 使其变成具备酶活性的 cleaved caspase-3,并执行最后的凋亡程序^[6,14-15]。本研究采用流式细胞术检测 A549 细胞中线粒体膜电位的变化,发现随着 Deo 浓度的升高线粒体膜电位呈现出下降的趋势,结合 qPCR 和蛋白质印迹法对凋亡相关蛋白表达的检测结果表明 Deo 促进 A549 细胞的凋亡是通过激活线粒体凋亡途径来实现的。

综上所述,本研究通过体内外实验探讨了 Deo 抑制肺癌 A549 细胞的作用机制,明确了 Deo 通过诱导 ROS 调控线粒体介导的细胞凋亡途径促进了 A549 细胞的凋亡,为 Deo 的临床药物开发及应用

奠定了良好的基础。后续我们将继续探索 Deo 诱导 A549 细胞凋亡的关键作用靶点,深入了解 Deo 的活性和功能,为肺癌的靶向治疗提供新的思路。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] 中华医学会肿瘤学分会,中华医学会杂志社.中华医学会肺癌临床诊疗指南(2023版)[J].*中华医学杂志*, 2023, 103(27): 2037-2074. DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20230510-00767.
- [3] LAGOUTTE R, SERBA C, WINSSINGER N. Synthesis of deoxyelephantopin analogues[J]. *J Antibiot*, 2018, 71(2): 248-256. DOI: 10.1038/ja.2017.132.
- [4] KABEER F A, RAJALEKSHMI D S, NAIR M S, et al. Molecular mechanisms of anticancer activity of deoxyelephantopin in cancer cells[J]. *Integr Med Res*, 2017, 6(2): 190-206. DOI: 10.1016/j.imr.2017.03.004.
- [5] MEHMOOD T, MUANPRASAT C. Deoxyelephantopin and its isomer isodeoxyelephantopin: anti-cancer natural products with multiple modes of action[J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2086. DOI: 10.3390/molecules27072086.
- [6] 周建敏,刘鑫玉,刘远莉,等. ROS 在肿瘤细胞中的调控作用及相关的抗肿瘤策略[J].*生命的化学*, 2022, 42(12): 2214-2221. DOI: 10.13488/j.smhx.20220686.
- [7] SRINIVAS U S, TAN B W Q, VELLAYAPPAN B A, et al. ROS and the DNA damage response in cancer[J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101084. DOI: 10.1016/j.redox.2018.101084.
- [8] REDZA-DUTORDOIR M, AVERILL-BATES D A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(12): 2977-2992. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012.
- [9] 孟路华,冯蕾,刘振.天然产物通过增加活性氧抗肿瘤的研究进展[J].*中国药房*, 2019, 30(8): 1148-1152. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.08.26.
- [10] MOLONEY J N, COTTER T G. ROS signalling in the biology of cancer[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 80: 50-64. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.05.023.
- [11] TRACHOOTHAM D, ALEXANDRE J, HUANG P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach?[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(7): 579-591. DOI: 10.1038/nrd2803.
- [12] 郑坤,嘎鲁,马宇衡,等.活性氧(ROS)依赖性抗肿瘤药物的研究进展[J].*广东药科大学学报*, 2022, 38(1): 130-136. DOI: 10.16809/j.cnki.2096-3653.2021092801.
- [13] WANG X, WEI L, LI Q, et al. HIF-1 α protects osteoblasts from ROS-induced apoptosis[J]. *Free Radic Res*, 2022, 56(2): 143-153. DOI: 10.1080/10715762.2022.2037581.
- [14] CUI L, BU W, SONG J, et al. Apoptosis induction by alantolactone in breast cancer MDA-MB-231 cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrion-dependent pathway[J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(3): 299-313. DOI: 10.1007/s12272-017-0990-2.
- [15] WONG R S Y. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30(1): 87. DOI: 10.1186/1756-9966-30-87.

[本文编辑] 尹 茶