

小白菊内酯对 U-87 MG 迁移、侵袭的影响及其机制研究

郑捷敏[△], 刘全[△], 陈宏谋, 闫宪磊, 黎耀, 陈家康*

广西医科大学第四附属医院, 广西柳州 545005

摘要:目的 研究小白菊内酯对恶性人脑胶质瘤细胞系 U-87 MG 细胞迁移、侵袭的抑制作用, 并探讨其作用机制。方法 采用 CCK-8 比色检测法筛选小白菊内酯处理细胞的 IC₅₀ 浓度; 采用细胞划痕实验观察小白菊内酯处理 0、12、48 h 后 U-87 MG 细胞的迁移情况, 并且测量 48 h 后迁移的距离; 采用 Transwell 实验观察穿膜细胞数, 判断细胞的侵袭能力; 并采用 qPCR 以及 Western blotting 法研究了小白菊内酯处理后, U-87 MG 细胞的 SNAIL、E-Cadherin 的表达变化, 以及 GSK3β-Ser⁹ 蛋白质磷酸化变化。结果 CCK-8 比色检测法筛选的小白菊内酯 IC₅₀ 浓度为 39 μmol/L。与对照组比较, 在小白菊内酯处理 48 h 后, U-87 MG 细胞迁移的距离和穿膜细胞数都明显减少, 且与浓度呈正相关 ($P < 0.01$); 与对照组比较, 小白菊内酯处理的 U-87 MG 细胞内 SNAIL 基因表达下降, 同时 E-Cadherin 表达上调, 且表达差异明显 ($P < 0.05$); GSK3β-Ser⁹ 残基磷酸化水平下降。结论 小白菊内酯能够抑制 U-87 MG 细胞的迁移、侵袭, 可能是通过下调 GSK3β 磷酸化从而抑制了 SNAIL 蛋白表达入核, 从而促进了 E-Cadherin 蛋白的表达而引起的。

关键词: 小白菊内酯; U-87 MG; 迁移; 侵袭; 基因表达

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)06-0616-06

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2015.06.003

Effect of parthenolide on migration and invasion of human glioblastoma U-87 MG cells and its mechanism

ZHENG Jie-min, LIU Quan, CHEN Hong-mou, YAN Xian-lei, LI Yao, CHEN Jia-kang

Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, China

Abstract: Objective To study the inhibitory effect of parthenolide on migration and invasion of malignant human brain cell lines U87 MG cell, and to explore its mechanism. **Methods** Drug treatment IC₅₀ concentration of cells was screened by CCK8 assay. Then wound healing tests were adopted to observe migration treated by parthenolide for 0, 12, and 48 h. And the migration distance was measured at 48 h. Transwell tests were used for cells penetrating observation to determine the invasive ability of the cells. Expressions of SNAIL and E-Cadherin, and GSK3β-Ser⁹ protein phosphorylation changes were studied by using qPCR and Western blotting methods U-87 MG cells treated by parthenolide. **Results** IC₅₀ concentration of parthenolide was 39 μmol/L by CCK8 assay. Compared with the control group, migration distance and the cell numbers through the membrane of U-87 MG cell were significantly reduced for 48 h after parthenolide treatment, and it was positively correlated with concentrations of the drug ($P < 0.01$). Compared with the control group, SNAIL gene expression in U-87 MG treated by parthenolide decreased, while that of E-Cadherin increased, and there were differences ($P < 0.05$). And the levels of GSK3β-Ser⁹ residue phosphorylation also decreased. **Conclusion** Parthenolide can inhibit the migration and invasion of U-87 MG cells, which possibly caused by down-regulating GSK3β phosphorylation, preventing SNAIL protein into the nucleus, thus promoting the expression of E-Cadherin proteins.

Key word: parthenolide; U-87 MG; migration; invasion; gene expression

脑胶质瘤是一类神经系统最常见的颅内肿瘤, 星形细胞瘤、髓母细胞瘤、多形胶母细胞瘤、室管膜瘤、少枝胶母细胞瘤等, 而恶性的胶质母细胞瘤占

收稿日期: 2015-05-13

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题 (Z2013624)

作者简介: 郑捷敏 (1973—), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向为神经外科肿瘤的研究。

刘全, 主治医师。Tel: 13597222786 E-mail: liuq1981@hotmail.com

*通信作者 陈家康, 主任医师。E-mail: neurosurgerylz@163.com

△为并列第一作者

胶质瘤的 50%^[2]。在临床上主要是以手术治疗及放化疗为主^[3]。但即使进行了手术及放化疗,术后 3 年生存率也不足 5%^[4],因此认为高侵袭转移是胶质母细胞瘤致死的主要原因^[5]。所以寻找一种能有效杀死胶质瘤细胞,并且抑制侵袭以改善患者生存质量的药物有极大的临床意义。小白菊内酯是从菊蒿 *Tanacetum vulgare* L. 中纯化出的一种倍半萜稀内酯化合物,是菊蒿中药理活性最强的成分之一^[6]。有研究发现,小白菊内酯在体外试验中可抑制骨肉瘤增殖,并抑制血管内皮生长因子(VEGF)的表达,从而抑制骨肉瘤细胞的迁移侵袭^[7]。在乳腺癌的研究中发现,小白菊内酯与紫杉醇联用能够抑制乳腺癌的肺转移^[8]。本实验以人脑胶质母细胞瘤细胞系 U-87 MG 为研究模型,使用小白菊内酯对其进行药物处理,研究了小白菊内酯对恶性胶质瘤的迁移、侵袭影响及其分子机制,从而探讨小白菊内酯对于恶性胶质瘤辅助治疗的可行性。

1 材料及仪器

人脑恶性胶质瘤细胞系 U-87 MG 购自中国科学院上海细胞生物及生化研究所。

小白菊内酯(质量分数>99.0%)由上海锐谷生物科技有限公司生产。DMEM(High Glycose)培养基、胎牛血清(FBS)、青霉素、链霉素双抗溶液(PS)、0.25%胰蛋白酶均采购自美国 HyClone 公司。Cell Counting Kit 8(CCK 8)试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。二甲基亚砜购自美国 Sigma 公司。Matrigel 胶、Transwell 小室(8 μm 孔径)购自美国 Millipore 公司。结晶紫购自上海碧云天生物科技有限公司。SYBR[®] Green 2×Mix、qPCR 引物均购自宝生物(大连)工程有限公司。抗体(兔抗 P53、Caspase3、Bax、P53-Ser392 磷酸化)、PVDF 膜、ECL 试剂盒均购自美国 Millipore 公司。引物由宝生物(大连)工程有限公司定制合成。依托泊苷注射液(5 mL:100 mg,批号 90140301)购自四川升和药业股份有限公司。

37 °C 5% CO₂ 培养箱由美国赛默飞公司生产,荧光显微镜为日本 Olympus 公司产品。EL-312E 酶联免疫检测仪为美国 Bio-Tek 公司产品。FACScalibur 流式细胞仪为美国 BD 公司生产。SYBR Green 2×Mix、CFX-96 荧光定量 PCR 仪由美国 Bio-Rad 公司生产,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。电泳仪垂直电泳槽购自北京六一厂。

2 方法

2.1 溶液的配制

2.1.1 贮存液的配制 称取 2.48 mg 小白菊内酯粉剂,吸取 1 mL DMSO 与小白菊内酯粉剂混合,使用移液器反复吹打至完全溶解,继而加入无抗生素的 DMEM 配制成 10 mmol/L 的贮存液,0.22 μm 滤器滤过除菌,即得。

2.1.2 工作液的配制 采用无抗生素的 DMEM 培养基将贮存液稀释为 10、20 μmol/L 小白菊内酯工作液,即得。

2.2 人脑恶性胶质瘤细胞系 U-87 MG 的培养

人脑恶性胶质瘤细胞株 U-87 MG 经复后传代培养,使用 DMEM+10% FBS+1% PS 培养基,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养,于倒置显微镜下观察细胞的形态,实验用细胞均处于对数生长期。

2.3 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞影响

在 U-87 MG 细胞达到对数生长期后,消化细胞并进行细胞计数,将细胞浓度稀释至 3×10^5 /mL,并以每孔 100 μL 的量接种在 96 孔板中,12 h 后更换培养基。在孔内加入小白菊内酯工作液,按照不同浓度进行稀释并分别加入各个孔中,每孔加入稀释液 10 μL,使终浓度分别为 1、10、20、50、100 μmol/L,每种浓度各设 3 个复孔。由于溶剂为 DMSO,故对照组细胞加入 10 μL DMSO 处理。依托泊苷组为 50 μmol/L 依托泊苷处理。同样对照组和依托泊苷组各设 5 个复孔。培养 48 h 后,加入 5 mg/mL CCK8 20 μL,继续培养 4 h 后,每孔加入 0.1 mol/L HCl 溶液 10 μL,遮盖培养板,避光保存在室温条件下。24 h 内在酶标仪上选择 450 nm 波长,读出每孔的吸光度(A)值,计算药物抑制率,利用概率单位法计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

$$\text{抑制率} = [A(\text{对照}) - A(\text{加药})] / A(\text{对照})$$

2.4 细胞划痕实验

将对数生长期的 U-87 MG 细胞消化计数, 5×10^5 /孔铺 6 孔板。过夜培养至细胞融合为 90%。10 μL 无菌枪尖在孔中划线,形成无细胞的划痕区,枪尖须与六孔板保持垂直。每孔用 PBS 冲洗细胞 3 次,去除因划线而脱落的细胞,然后加入 IC₅₀ 浓度及 100 μmol/L 小白菊内酯工作液,并以 DMSO 设置对照组。放入 37 °C,5% CO₂ 培养箱中继续培养。分别在 0、12、48 h 后取出培养细胞,倒置显微镜下观察拍照,然后通过 Image J 软件测量细胞划痕的面积比例,并比较。

2.5 Transwell 小室细胞迁移侵袭实验

取对数生长期的细胞，经 0.25%胰酶消化，调整细胞至 1×10^6 /mL，制备细胞悬液。将 60 μ L 稀释至 5×10^3 μ g/L 的 Matrigel 加入 Transwell 上室聚碳酸酯膜上，于 37 $^{\circ}$ C 放置 2 h，使 Matrigel 聚合成凝胶，制备 Transwell 小室，备用。将 Transwell 小室轻轻放入配套的 24 孔板中，下室加入 DMEM+20% FBS+1% PS 培养基 600 μ L，同时分别加入小白菊内酯 IC₅₀ 浓度及 100 μ mol/L 工作液，并用 DMSO 设置对照组。上室加入无血清细胞悬液 200 μ L，在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。取出 24 孔板，弃去孔内培养基，PBS 冲洗小室 2 遍，甲醇固定 30 s。固定结束后，小室适当风干，加入 0.1% 结晶紫 500 μ L，染色 20 min。棉签擦去上室未迁移的细胞，PBS 冲洗 3 遍，随机选取 400 倍显微镜下观察上下左右中 5 个视野进行细胞计数。重复 3 次。

2.6 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞周期相关基因 mRNA 表达的影响

取 IC₅₀ 浓度及 100 μ mol/L 小白菊内酯处理 U-87 MG 细胞 48 h 后的细胞以及对照，裂解细胞提取 RNA 进行反转录，使用 SYBR Green 2 \times Mix 进行 qPCR。扩增条件为：95 $^{\circ}$ C、5 min；95 $^{\circ}$ C、5 s；60 $^{\circ}$ C、10 s，并读取荧光；第 2~3 步循环 45 次。引物见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

Table 1 qPCR primer

名称	引物序列
SNAIL	CCACAAGCACCAAGAG
SNAIL	GGCAGGTATGGAGAGG
E-Cadherin	GTTCAGACTCCAG
E-Cadherin	CGGCTCCAAGG
β -Actin	TCGGCGGCTCCATCCTG
β -Actin	ACTCGTCATACTCCTGCTTGC

2.7 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞周期相关基因蛋白表达的影响

取 IC₅₀ 浓度及 100 μ mol/L 小白菊内酯处理 48 h 后的 U-87 MG 细胞及对照，裂解细胞提取蛋白质，利用 Lowry 法测定总蛋白浓度，以每个泳道 20 μ g 浓度的蛋白样品上样，经 30%变性 SDS-PAGE 电泳后，经电转至 PVDF 膜上。封闭后，分别检测 SNAIL、E-Cadherin、GSK3 β -Ser9、GAPDH，按顺序加上一抗（1：1 000），二抗（1：5 000）进行

杂交，ECL 发光试剂盒进行显色，检测杂交信号。

2.8 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用 SPSS 12.0 统计软件进行 ANOVA 单因素方差分析。

3 结果

3.1 不同浓度小白菊内酯对 U-87 MG 细胞增殖的抑制作用

不同浓度药物和细胞共同培养 48 h 之后，发现 1、10、20、50、100 μ mol/L 小白菊内酯以及依托泊苷处理 U-87 MG 细胞 48 h 后的增殖抑制率均远远大于对照组。结果表明，小白菊内酯对于 U-87 MG 细胞的增殖抑制作用呈明显的剂量相关性，见表 2。利用小白菊内酯处理 U-87 MG 细胞 48 h 的 IC₅₀ 为 (39.31 ± 1.9) μ mol/L。

表 2 不同浓度小白菊内酯 48 h 处理后对 U-87 MG 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Effects of parthenolide with various concentrations on growth inhibition after 48 h of U-87 MG ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	抑制率/%
对照	0	3.41 \pm 1.62
小白菊内酯	1	11.45 \pm 3.11*
	10	25.87 \pm 4.83*
	20	35.11 \pm 5.34**
	50	56.32 \pm 3.86**
	100	71.83 \pm 4.31**
依托泊苷	50	82.23 \pm 7.43**

与对照组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3.2 小白菊内酯抑制 U-87 MG 细胞迁移能力

通过对于加药处理细胞进行划痕实验，观察药物处理后 0、12、48 h 后细胞迁移的距离。39 μ mol/L (IC₅₀ 浓度) 及 100 μ mol/L 小白菊内酯处理后 48 h 细胞迁移的距离变小但未融合，而对照组划痕基本融合。见表 3、图 1。

3.3 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞侵袭的影响

小白菊内酯处理细胞后，细胞侵袭 Transwell 实验结果见图 2，显微镜下细胞计数结果见表 4。加药组穿膜细胞数明显比对照组少 ($P < 0.01$)，小白菊内酯 100 μ mol/L 组穿膜细胞数明显比小白菊内酯 39 μ mol/L 组少 ($P < 0.01$)，提示小白菊内酯处理 U-87 MG 细胞后，使得细胞的侵袭能力明显下降，且该抑制作用与药物浓度有关。

表3 不同浓度小白菊内酯对 U-87 MG 的细胞迁移划痕面积变化

Table 3 Different concentrations of parthenolide for U87 MG cells migrate scratch area change

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	划痕面积变化/%		
		0 h	12 h	48 h
对照	0	45.13±3.91	8.31±1.52	2.42±3.46
小白菊内酯	39	43.32±6.54	29.69±4.17*	14.33±3.22**
	100	42.51±5.75	31.52±3.93**	25.27±4.78**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

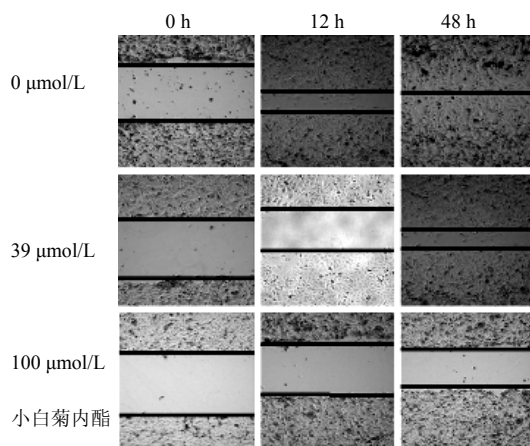


图1 小白菊内酯对 U-87 M 细胞迁移的影响

Fig. 1 Effect of parthenolide on the wound healing of U-87 MG cells

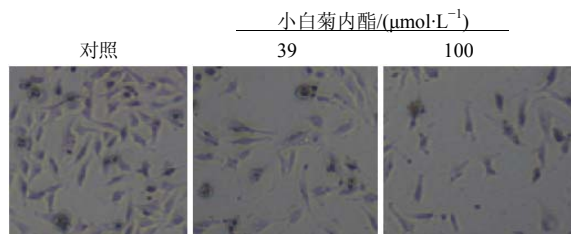


图2 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞侵袭的影响

Fig. 2 Effect of parthenolide on the invasion of U-87 MG cells

表4 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞侵袭 Transwell 细胞计数 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of parthenolide on the invasion of U-87 MG cells transwell cell count ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞计数
对照	0	81.9±9.8
小白菊内酯	39	43.2±7.0**
	100	23.1±11.8**

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

3.4 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞迁移侵袭相关基因的影响

荧光定量 PCR 检测不同浓度的小白菊内酯处理后的 U-87 MG 细胞的凋亡相关基因 SNAIL、E-Cadherin 基因的 mRNA 水平表达。结果显示, U-87 MG 细胞经小白菊内酯处理 48 h 后, 可明显下调 SNAIL 基因的 mRNA 表达水平, 同时 E-Cadherin 基因的 mRNA 表达水平明显上升。见表 5。

表5 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞迁移侵袭相关基因 mRNA 表达变化 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Invasion gene mRNA expression of U-87 MG cells after being treated by parthenolide ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	SNAIL	E-Cadherin
对照	0	1.03±0.25	1.07±0.17
小白菊内酯	39	2.65±0.19**	0.71±0.13*
	100	3.12±0.06**	0.45±0.07*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

用 Western blotting 法检测细胞凋亡相关蛋白, 结果与 qPCR 结果相互印证, 即 U-87 MG 细胞经小白菊内酯处理 48 h 后, 可明显下调 SNAIL 基因的蛋白表达水平, 同时 E-Cadherin 基因的蛋白表达水平明显上升, 有一定的剂量效应 (图 3)。

U-87 MG 细胞经小白菊内酯处理 48 h 后, 用 Western blotting 法检测 GSK3 β 、GSK3 β -Ser⁹ 残基的磷酸化, 结果表明小白菊内酯处理后可 GSK3 β -Ser⁹ 的蛋白质磷酸化受到了抑制 (图 4)。

4 讨论

恶性胶质瘤是最常见的颅内肿瘤之一, 国内 16 个单位统计资料表明神经胶质瘤占颅内肿瘤的 44.6%, 欧洲报道的发生率占颅内肿瘤的 36.0%~50.1%^[9]。人脑胶质瘤是颅内最常见的原发性肿瘤, 是人类最恶性、最具侵袭性的肿瘤之一, 其中恶性胶

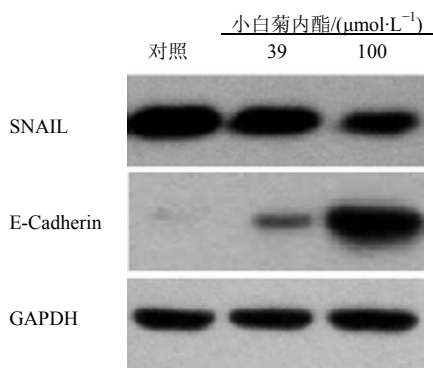


图3 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞迁移侵袭相关基因蛋白表达变化

Fig. 3 Migration and invasion gene protein expression of U-87 MG cells after being treated by parthenolide

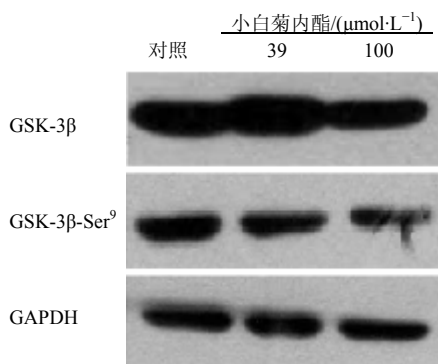


图4 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞迁移侵袭相关基因 GSK-3β-Ser⁹ 蛋白磷酸化变化

Fig. 4 Migration and invasion gene protean expression and GSK3β-Ser⁹ phosphorylation of U-87 MG cells after being treated by parthenolide

质瘤约高达占 60%^[10]。胶质瘤最重要的生物学特性就是肿瘤细胞会侵袭到脑组织的重要功能区，形成“卫星型的肿瘤灶”，术后经常会在原发灶周围 2 cm 以内复发^[11]，使治疗难度加大，导致 5 年生存率不超过 3%^[12-13]。

肿瘤细胞的浸润就是肿瘤细胞从原发灶向周围组织聚集，获得一定的移动能力^[14]。上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transitions, EMT) 是一种基本的病理现象，在肿瘤的侵袭转移过程中，以上皮表型缺失和间质表型获得为主要特征^[15]。EMT 的过程中，E-Cadherin 蛋白表达会降低，导致了细胞间粘附力降低，同时增强了细胞的运动性，从而使得细胞能够侵入到周围的组织之中。在 EMT 的过程中，E-Cadherin 受到了 SNAIL 的转录抑制，而

GSK3β 的磷酸化失活，可以上调 SNAIL，并阻碍 E-Cadherin 表达，诱发 EMT^[16]。

本研究通过划痕实验、小室 Transwell 实验表明，小白菊内酯处理后的 U-87 MG 细胞迁移侵袭能力明显降低。在同一时间内，有着明显的抑制药浓度和处理时间相关性，即小白菊内酯的浓度越高，或更长的处理时间，其对肿瘤生长抑制更明显。此外，为了探究小白菊内酯对胶质母细胞瘤 U-87 MG 细胞迁移侵袭的抑制，实验首先检测了小白菊内酯处理后的 U-87 MG 细胞的基因表达变化。发现经过小白菊内酯处理后，U-87 MG 细胞内的 E-Cadherin 基因的表达量明显增高，同时 SNAIL 基因表达明显下降。这说明了小白菊内酯对于 U-87 MG 细胞的细胞凋亡影响可能是通过下调 SNAIL 基因，从而导致下游的 E-Cadherin 基因上调，而起到对肿瘤细胞迁移侵袭的抑制作用的。而对 GSK3β 基因 Ser⁹ 残基的磷酸化研究发现，加入小白菊内酯后，GSK3β 基因的 Ser⁹ 残基位点磷酸化被明显抑制，而 GSK3β 基因的磷酸化受到了抑制，作为 SNAIL、E-Cadherin 基因的上游，其磷酸化抑制减弱可能就是促进这些基因表达的关键原因。

研究表明，小白菊内酯在肺部能有效地抑制 NF-κB 信号通路^[17]，小白菊内酯可以有效地阻遏 MGO-BSA 诱导的 NF-κB 的活性^[18]。NF-κB 与肿瘤的发展转移密切相关^[19]，作为多项功能调节的转录因子，NF-κB 参与了多种基因的转录调控^[20]，有研究表明 GSK3β 的磷酸化与 NF-κB 密切相关^[21]。小白菊内酯还可通过调节 P53 基因的 Ser³⁹² 残基磷酸化抑制其下游的细胞凋亡、细胞周期途径上 Caspase 3、Bax、Cyclin D1 的基因表达，影响细胞周期及凋亡，从而抑制肿瘤细胞的增殖^[22]。另外小白菊内酯可抑制 BEL-7402 增殖，并诱导其凋亡^[23]。

综上所述，小白菊内酯可能是通过抑制 NF-κB 信号通路，降低了 GSK3β 基因的 Ser⁹ 残基的磷酸化抑制，从而抑制了 SNAIL 的异位入核对 E-Cadherin 的转录抑制，使得 EMT 受到阻碍，最终导致了胶质母细胞瘤细胞系 U-87 MG 的迁移和侵袭的终止。

参考文献

[1] Fisher J L, Schwartzbaum J A, Wrensch M, et al. Epidemiology of brain tumors [J]. *Neurol Clin*, 2007, 25(4): 867-890.
 [2] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007

- [J]. *CA Cancer J Clin*, 2007, 57(1): 43-66.
- [3] Zalutsky M R. Current status of therapy of solid tumors: Brain tumor therapy [J]. *J Nucl Med*, 2005, 46(Suppl 1): 151S-156S.
- [4] Sanai N, Berger M S. Operative techniques for gliomas and the value of extent of resection [J]. *Neurotherapeutics*, 2009, 6(3): 478-486.
- [5] Demuth T, Rennert J L, Hoelzinger D B, et al. Glioma cells on the run—the migratory transcriptome of 10 human glioma cell lines [J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 54.
- [6] Heptinstall S, Awang D V, Dawson B A, et al. Parthenolide content and bioactivity of feverfew (*Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip.). Estimation of commercial and authenticated feverfew products [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1992, 44(5): 391-395.
- [7] Kishida Y, Yoshikawa H, Myoui A. Parthenolide, a natural inhibitor of Nuclear Factor-kappaB, inhibits lung colonization of murine osteosarcoma cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(1): 59-67.
- [8] Sweeney C J, Mehrotra S, Sadaria M R, et al. The sesquiterpene lactone parthenolide in combination with docetaxel reduces metastasis and improves survival in a xenograft model of breast cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(6): 1004-1012.
- [9] 赵继宗. 颅脑肿瘤外科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 208-234.
- [10] Deorah S, Lynch C F, Sibenaller Z A, et al. Trends in brain cancer incidence and survival in the United States: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1973 to 2001 [J]. *Neurosurg Focus*, 2006, 20(4): E1.
- [11] Gliese A, Westphal M. Glioma invasion in the central nervous system [J]. *Neurosurgery*, 1996, 39(2): 235-250.
- [12] Meyer M A. Malignant gliomas in adults [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(17): 1850.
- [13] 郭珊珊, 阎昭. 替莫唑胺治疗脑胶质瘤耐药机制的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2014, 37(6): 561-565.
- [14] Christofori G. New signals from the invasive front [J]. *Nature*, 2006, 441(7092): 444-450.
- [15] Thiery J P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(6): 442-454.
- [16] Nagarajan D, Melo T, Deng Z, et al. ERK/GSK3 β /Snail signaling mediates radiation-induced alveolar epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(6): 983-992.
- [17] Kwok B H, Koh B, Ndubuisi M I, et al. The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb Feverfew directly binds to and inhibits IkappaB kinase [J]. *Chem Biol*, 2001, 8(8): 759-766.
- [18] Witek-Zawada, Koj A. Regulation of expression of stromelysin-1 by proinflammatory cytokines in mouse brain astrocytes [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2003, 54(4): 489-496.
- [19] Sakamoto K, Hikiba Y, Nakagawa H, et al. Inhibitor of kappaB kinase beta regulates gastric carcinogenesis via interleukin-1alpha expression [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(1): 226-238.
- [20] Baldwin A S Jr. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights [J]. *Annu Rev Immunol*, 1996, 14: 649-83.
- [21] Hoefflich K P, Luo J, Rubie E A, et al. Requirement for glycogen synthase kinase-3beta in cell survival and NF-kappaB activation [J]. *Nature*, 2000, 406(6791): 86-90.
- [22] 郑捷敏, 刘全, 陈宏谋, 等. 小白菊内酯对 U-87 MG 细胞增殖和凋亡的影响及其机制研究 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(5): 497-502.
- [23] 张雯, 宋晓凯. 小白菊内酯对人肝癌 BEL-7402 细胞 p53 蛋白和增殖细胞核抗原表达的影响 [J]. *中草药*, 2005, 36(12): 1850-1852.