

吉马酮通过HBXIP/p53信号通路诱导A549、CNE-1、HepG2细胞凋亡

刘建军¹, 赵营莉¹, 唐海涛², 代文婷¹, 夏泉³, 方兴^{1*}

1. 合肥市第二人民医院(安徽医科大学附属合肥医院)广德路药学部, 安徽合肥 230000

2. 安徽国际旅行卫生保健中心(合肥海关口岸门诊部), 安徽合肥 230000

3. 安徽医科大学第一附属医院, 安徽合肥 230000

摘要: 目的 研究吉马酮诱导肺癌A549、鼻咽癌CNE-1、肝癌HepG2细胞凋亡的机制。方法 50、150、200、250、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吉马酮处理肝癌HepG2、肺癌A549、鼻咽癌CNE-1、结肠癌Caco-2细胞24、48、72 h后, MTT实验检测细胞的存活率的变化。100、150、200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的吉马酮分别处理A549、HepG2、CNE-1细胞48 h后采用流式细胞术检测细胞凋亡的变化; Western blotting实验检测细胞凋亡标志蛋白cleaved-Caspase-3、Caspase-3的变化, 检测乙型肝炎X相互作用蛋白(HBXIP)、p53蛋白的表达量变化。分别在A549、HepG2、CNE-1细胞中应用siRNA敲低HBXIP, Western blotting实验检测HBXIP的敲低效果及p53蛋白表达变化; MTT实验检测敲低HBXIP对吉马酮诱导的细胞增殖抑制作用的影响。**结果** 吉马酮对鼻咽癌CNE-1、肝癌HepG2细胞增殖抑制作用较强, 与溶剂对照组比较, 200、250、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组细胞存活率显著下降($P<0.05$); 在高浓度时对肺癌A549细胞增殖抑制效果较强, 与溶剂对照组比较, 250、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组细胞存活率显著下降($P<0.05$); 对结肠癌Caco-2细胞作用相对较弱。与对照组比较, 100、150、200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吉马酮处理A549、HepG2、CNE-1细胞48 h后, 凋亡率显著升高($P<0.05$), cleaved-Caspase-3、p53蛋白表达显著上升($P<0.05$); 以150、200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 吉马酮处理A549、HepG2、CNE-1细胞48 h后, HBXIP的蛋白表达显著降低($P<0.05$)。siRNA-HBXIP处理48 h后, 与对照组比较, HBXIP的蛋白表达量显著下降($P<0.05$), p53蛋白表达量显著上升($P<0.05$)。与单独使用的相同浓度的吉马酮相比, 沉默HBXIP后A549、HepG2、CNE-1细胞对吉马酮的敏感度明显提高, 150、200、250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组均差异显著($P<0.05$)。**结论** 吉马酮可以抑制A549、HepG2、CNE-1细胞增殖、诱导细胞凋亡, 作用机制可能与调控HBXIP/p53信号通路相关。

关键词: 吉马酮; 肝癌; 肺癌; 鼻咽癌; 结肠癌; A549细胞; CNE-1细胞; HepG2细胞; 增殖; 凋亡; HBXIP; p53

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2023) 05-1024-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.05.011

Apoptosis of A549, CNE-1, and HepG2 cells induced by gematone through HBXIP/p53 signal pathway

LIU Jianjun¹, ZHAO Yingli¹, TANG Haitao², DAI Wenting¹, XIA Quan³, FANG Xing¹

1. The Second People's Hospital of Hefei, Hefei 230000, China

2. Anhui International Travel Healthcare Center (Hefei Customs Port Clinic), Hefei 230000, China

3. The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230000, China

Abstract: Objective Study the mechanism of gemmazonone induced apoptosis in A549, CNE-1, and HepG2 cells. **Methods** After 50, 150, 200, 250, and 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ germacrone treated in HepG2, A549, CNE-1, and Caco-2 cells for 24, 48 and 72 h, the MTT assay was preformed to detect the changes of cell viability. When 100, 150 and 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ germacrone treated in A549, HepG2 and CNE-1 cells for 48 h, the changes of cell apoptosis were detected by flow cytometry, and the Western blotting was used to detect the changes of cleaved-Caspase 3, Caspase-3, HBXIP, and P53 proteins. The expressions of HBXIP and P53 were detected by Western blotting after HBXIP knocked down in A549, HepG2 and CNE-1 cells. The effect of knockdown of HBXIP on the inhibitory proliferation induced by germacrone was detected by MTT assay. **Results** Gemmazonone had a strong inhibitory effect on the

收稿日期: 2023-01-10

基金项目: 合肥市自然科学基金(2021012);安徽省高等学校科学研究项目(自然科学类)(2022AH050712);合肥市第二人民医院院级课题(2021ygmt35)

第一作者: 刘建军, 副主任药师, 本科, 研究方向为抗肿瘤药理学。Tel: (0551)62965401 E-mail: 13855125897@163.com

*通信作者: 方兴, 药师, 硕士, 研究方向为抗肿瘤药理学。Tel: (0551)62965401 E-mail: 1757029857@qq.com

proliferation of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and liver cancer HepG2 cells, compared with the solvent control group, the cell survival rate of the 200, 250, and 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group significantly decreased ($P < 0.05$). At high concentrations, the inhibitory effect on the proliferation of lung cancer A549 cells was better, compared with the solvent control group, the cell survival rate of the 250, 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group significantly decreased ($P < 0.05$). The effect on colon cancer Caco-2 cells was relatively weak. Compared with the control group, after 48 hours of treatment with 100, 150, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ gemmazon, the apoptosis rate of A549, HepG2, and CNE-1 cells significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of cleaved-Caspase-3 and p53 proteins significantly increased ($P < 0.05$). After 48 hours of treatment with 150, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ gemmazon in A549, HepG2, and CNE-1 cells, the protein expression of HBXIP was significantly reduced ($P < 0.05$). After 48 hours of siRNA-HBXIP treatment, compared with the control group, the protein expression of HBXIP significantly decreased ($P < 0.05$) and the expression of p53 protein significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the same concentration of gemmazon used alone, silencing HBXIP significantly increased the sensitivity of A549, HepG2, and CNE-1 cells to gemmazon, with values of 150, 200, and 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group showed significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion** Gematone can inhibit the proliferation of A549, HepG2, and CNE-1 cells and induce cell apoptosis, and the mechanism of action may be related to the regulation of the HBXIP/p53 signaling pathway.

Key words: gemmazon; liver cancer; lung cancer; nasopharyngeal cancer; colon cancer; A549 cells; CNE-1 cells; HepG2 cells; proliferation; apoptosis; HBXIP; p53

癌症是我国及发达国家的主要致死因素,自2000年以来,我国的癌症病例和死亡人数以及癌症的发病率和死亡率正在逐渐增加;在美国,癌症是仅次于心脏病的第2大死因^[1]。根据2020年全球癌症数据报告显示,2020年全球估计有1 930万新发癌症病例和近1 000万癌症死亡病例^[2],其中肺癌的新发病率排名第2(11.4%),结直肠癌新发病率排名第3(10.0%),并且肺癌也是癌症死亡的主要原因,估计有180万人死于肺癌(18%),其次是结直肠癌(9.4%)、肝癌(8.3%)。鼻咽癌是作为头颈部最常见的癌症之一,其2020年新发病例约13万,死亡病例约8万^[3]。治疗实体肿瘤的策略有很多,包括手术、化学疗法、放射疗法、靶向疗法、免疫疗法、联合疗法以及干细胞和细胞外囊泡疗法等,其中手术、放疗和化疗是主要的治疗方法,但治疗的效果个体差异较大^[4]。

从天然产物中寻找治疗癌症的药物是具有潜力的研究方向。吉马酮作为存在于姜黄科、牻牛儿苗科、杜鹃科等植物中的单环倍半萜类化合物,具有广泛的生物功能及生理活性,如抗炎、抗病毒、抗癌、抗氧化及抗菌等^[5-6]。研究表明,吉马酮对多种癌细胞均具有较好的抑制作用,并且本课题组前期研究发现吉马酮可以抑制胃癌细胞增殖并诱导其凋亡,其关键作用蛋白为乙型肝炎X相互作用蛋白(HBXIP)^[7]。p53作为一种细胞凋亡因子,在抑癌方面发挥重要作用,本课题旨在研究吉马酮对肝癌、肺癌、鼻咽癌及结肠癌等癌细胞的广泛抗癌作用,并探讨其作用机制是否与调控HBXIP/p53蛋白相关。

1 材料

1.1 细胞

人鼻咽癌细胞CNE-1细胞,由安徽医科大学生物化学与分子生物学实验室提供;人肺癌细胞A549、人结肠癌细胞Caco-2、人肝癌细胞HepG2细胞均购自中国科学院上海细胞库。

1.2 药物及主要试剂

吉马酮购自成都瑞芬斯生物科技有限公司,货号J-025-1g,质量分数 $\geq 98\%$ 。DMEM、RPMI 1640培养基,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;胎牛血清,浙江天杭生物科技股份有限公司;MTT、二甲基亚砜(DMSO),上海碧云天生物技术有限公司;细胞凋亡检测试剂盒,贝博生物 BestBio; Caspase-3/cleaved-Caspase-3、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、HBXIP抗体,武汉三鹰生物技术有限公司。siRNA-HBXIP序列:正义链:CCAGUAGUUAGGCCAUUCAUUTT;反义链:AAUGAAUGGCCUAACUACUGGTT;siRNA-NC序列:正义链:UUCUCCGAACGUGUCACGUTT反义链:ACGUGACACGUUCGGAGAATT,由汉恒生物科技有限公司合成。

1.3 主要仪器

酶标仪、二氧化碳培养箱购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;培养瓶/板购自无锡耐思生命科技股份有限公司。

2 方法

2.1 细胞培养与传代

将A549、HepG2细胞培养于含有10%胎牛血清的DMEM培养基中,Caco-2、CNE-1细胞培养于含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中。所有细

胞生长于含有5%二氧化碳的37℃培养箱中,待细胞长满时进行传代与铺板。

2.2 MTT实验

分别将A549、Caco-2、HepG2、CNE-1细胞接种于96孔板中,每孔接种细胞约2000个。铺板12h后用50、100、150、200、250、300 μmol·L⁻¹的吉马酮分别处理细胞24、48、72h,不加药的为空白对照组,以0.2% DMSO处理的为溶剂对照组,另设不接种细胞的空白组。处理完成后每孔加入5 mg·mL⁻¹的MTT溶液20 μL,继续放入37℃培养箱中培养4h。避光小心弃去每孔中的上清液,将形成的紫色甲臞晶体溶解在每孔150 μL的DMSO中,避光溶解10 min后,用酶标仪在490 nm的波长下检测吸光度(A)值,计算细胞存活率和半数抑制浓度(IC₅₀)。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{药物}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{空白对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 细胞凋亡检测

分别将A549、HepG2、CNE-1细胞接种于6孔板中,约每孔5×10⁴个,待细胞生长至60%~70%后,用100、150、200 μmol·L⁻¹吉马酮处理48h,对照组用含0.2% DMSO的培养基处理。用不含EDTA的胰酶消化并收集细胞,每组细胞避光加入5 μL的AnnexinV-异硫氰酸荧光素(FITC)染色液,15 min后再加入10 μL的碘化丙啶(PI)染色液,5 min后在流式细胞仪中检测细胞凋亡。

2.4 Western blotting实验

细胞接种及给药方式同“2.3”项,分别提取各组细胞内的总蛋白,加入蛋白上样缓冲液在沸水中变性10 min。将制好的蛋白样品加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)中进行电泳。完成后,通过湿转的方式将凝胶中的蛋白转印至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。在对应的抗体中4℃孵育过夜,而后室温孵育二抗1.0~1.5 h。完成后在显影仪上显影。用ImageJ 1.8.0进行半定量分析。

2.5 细胞转染

分别将A549、HepG2、CNE-1细胞接种于6孔板中,约每孔5×10⁴个,待细胞生长至60%~70%后进行转染。弃去细胞培养基后用Opti-最低必需培养基(MEM)培养基清洗细胞3遍后,每孔加入Opti-MEM培养基2 mL。将Lip-2000与小干扰核糖核酸(siRNA)以1:1的比例混合后加入6孔板中。将6孔板放入37℃培养箱中培养6h后,弃去转染试剂,加入含有10%胎牛血清的完全培养基继续培养48~72h。转染siRNA-HBXIP、siRNA-NC完成后收集细胞,Western blotting实验检测HBXIP、p53蛋

白表达。

转染siRNA-HBXIP完成后收集细胞,MTT实验检测吉马酮(0、50、100、150、200、250、300 μmol·L⁻¹)对A549、HepG2、CNE-1细胞增殖的影响。

2.6 统计学分析

使用SPSS 20.0及GraphPad Prism进行统计分析及图表的绘制,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 显示,符合正态分布的两组数据之间比较用两独立样本t检验;不符合正态分布的两组数据之间比较采用非参数检验。

3 结果

3.1 吉马酮对A549、HepG2、CNE-1细胞增殖的抑制作用

如图1所示,吉马酮对鼻咽癌CNE-1、肝癌HepG2细胞增殖抑制作用较强,与溶剂对照组比较,200、250、300 μmol·L⁻¹组细胞存活率显著下降($P < 0.05$);在高浓度时对肺癌A549细胞增殖抑制效果较好,与溶剂对照组比较,250、300 μmol·L⁻¹组细胞存活率显著下降($P < 0.05$);对结肠癌Caco-2细胞作用相对较弱。吉马酮对HepG2、CNE-1、A549、Caco-2细胞的IC₅₀值见表1。

3.2 吉马酮诱导A549、HepG2、CNE-1细胞凋亡

以100、150、200 μmol·L⁻¹吉马酮处理A549、HepG2、CNE-1细胞48h后,细胞出现了明显的凋亡,凋亡率与对照组比较显著升高($P < 0.05$),并且随着吉马酮浓度的增高,细胞凋亡率逐渐增大。结果见图2。

Caspase-3蛋白为细胞凋亡标志蛋白,当细胞发生凋亡时会剪切成cleaved-Caspase-3。Western blotting实验发现,吉马酮处理后Caspase-3在A549、HepG2、CNE-1细胞内表达量不变,而cleaved-Caspase-3表达随着吉马酮浓度的增加而上调,与对照组比较差异显著($P < 0.05$)。结果见图3。

3.3 吉马酮上调p53、抑制HBXIP的蛋白表达

与对照组比较,以100、150、200 μmol·L⁻¹吉马酮处理A549、HepG2、CNE-1细胞48h后,p53蛋白表达显著上升($P < 0.05$);以150、200 μmol·L⁻¹吉马酮处理A549、HepG2、CNE-1细胞48h后,HBXIP的蛋白表达显著降低($P < 0.05$)。结果见图3。

3.4 沉默HBXIP上调P53的表达

分别在A549、HepG2、CNE-1细胞中敲低HBXIP。siRNA-HBXIP处理48h后,与对照组比较,HBXIP的蛋白表达量显著下降($P < 0.05$),p53蛋白表达量显著上升($P < 0.05$)。结果见图4。

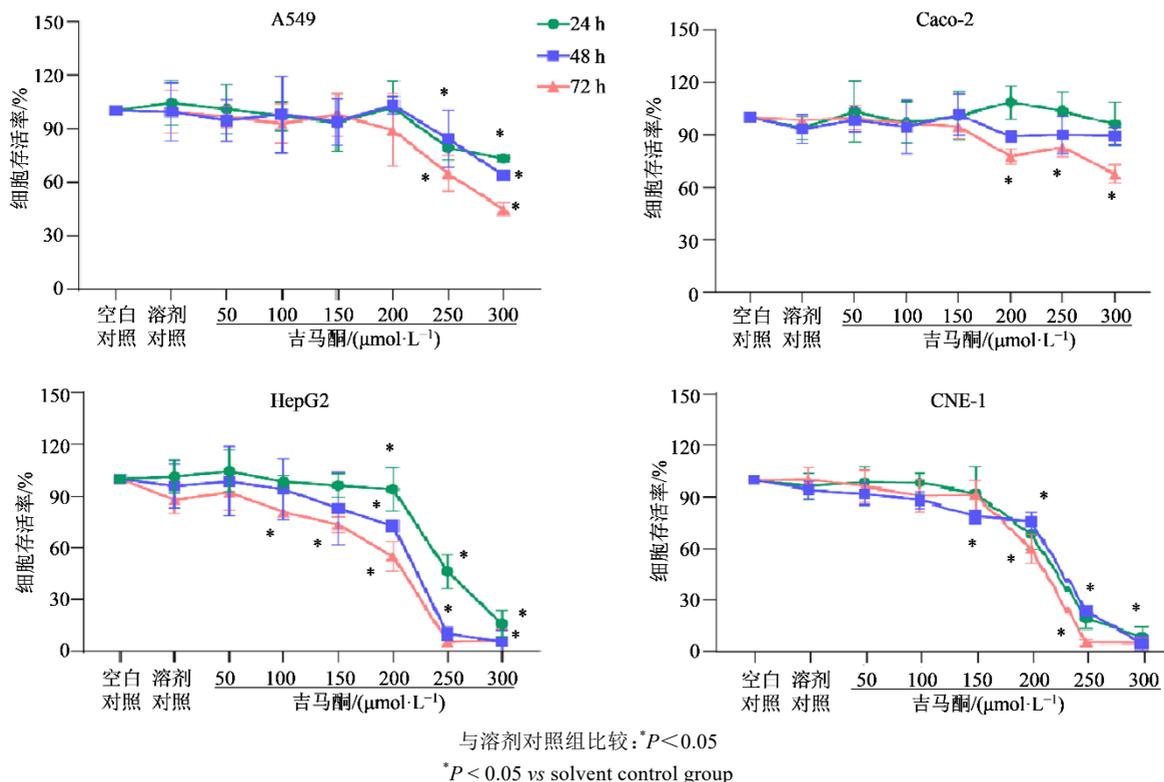


图1 吉马酮对A549、HepG2、CNE-1、Caco-2细胞增殖的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Inhibition of gemmazon on proliferation of A549, HepG2, CNE-1, and Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

表1 吉马酮作用不同时间对癌细胞的IC₅₀值

Table 1 IC₅₀ values of gemmazon on cancer cells at different time points

t/h	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)			
	A549	Caco-2	HepG2	CNE-1
24	420.20	888.95	242.57	209.30
48	417.54	674.64	192.42	204.45
72	288.97	369.18	181.51	191.63

3.5 沉默HBXIP提高A549、HepG2、CNE-1细胞对吉马酮的敏感性

在A549、HepG2、CNE-1细胞中先沉默HBXIP后使用吉马酮处理。与单独使用的相同浓度的吉马酮相比,沉默HBXIP后A549、HepG2、CNE-1细胞对吉马酮的敏感度明显提高,150、200、250 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组均差异显著($P < 0.05$)。结果见图5。

4 讨论

癌症作为威胁人类健康的主要杀手,其发病率和死亡率都逐年增高,手术治疗、化疗、放疗通常是治疗癌症的常见手段^[8]。近年来,从天然产物中寻找治疗癌症的有效成分的研究越来越多,天然产物的活性成分部分具有较好的抑制癌细胞增殖的效果,与具有较差药效学和单靶向性的合成药物相

比,天然产物活性成分的毒副作用较小,因此是研究人员重要研究方向^[9-10]。萜类化合物是植物中常见的次级代谢产物,萜类化合物多样化的化学结构具有针对多种疾病的治疗潜力^[11]。常见的已经应用于临床并广泛使用的萜类化合物有紫杉醇等,其良好的抗癌效果打开了萜类化合物抗癌作用研究的视野^[12]。吉马酮是一种单环倍半萜类化合物,近年来其抗肿瘤作用得到了广泛的研究。体内、体外研究表明,吉马酮对多种癌细胞具有较好的抗癌作用,如食管鳞状细胞癌、胃癌、前列腺癌等^[13-15]。本研究在肝癌、肺癌、结肠癌与鼻咽癌细胞中应用吉马酮,发现其可以以浓度相关性方式抑制肺癌细胞A549、肝癌细胞HepG2及鼻咽癌细胞CNE-1的增殖,表明吉马酮对部分实体瘤具有潜在抗肿瘤作用。

细胞凋亡是细胞程序性死亡的方式,癌细胞通常凋亡能力较弱,进而导致癌细胞的异常增殖。本研究发现,吉马酮可以诱导肝癌、肺癌、鼻咽癌细胞凋亡,上调细胞凋亡蛋白cleaved-Caspase-3的表达。与本研究类似的是,在胃癌细胞中吉马酮可以抑制胃癌细胞增殖,吉马酮主要通过诱导细胞凋亡及细胞周期阻滞而发挥作用^[15]。在肝癌细胞中,Liu

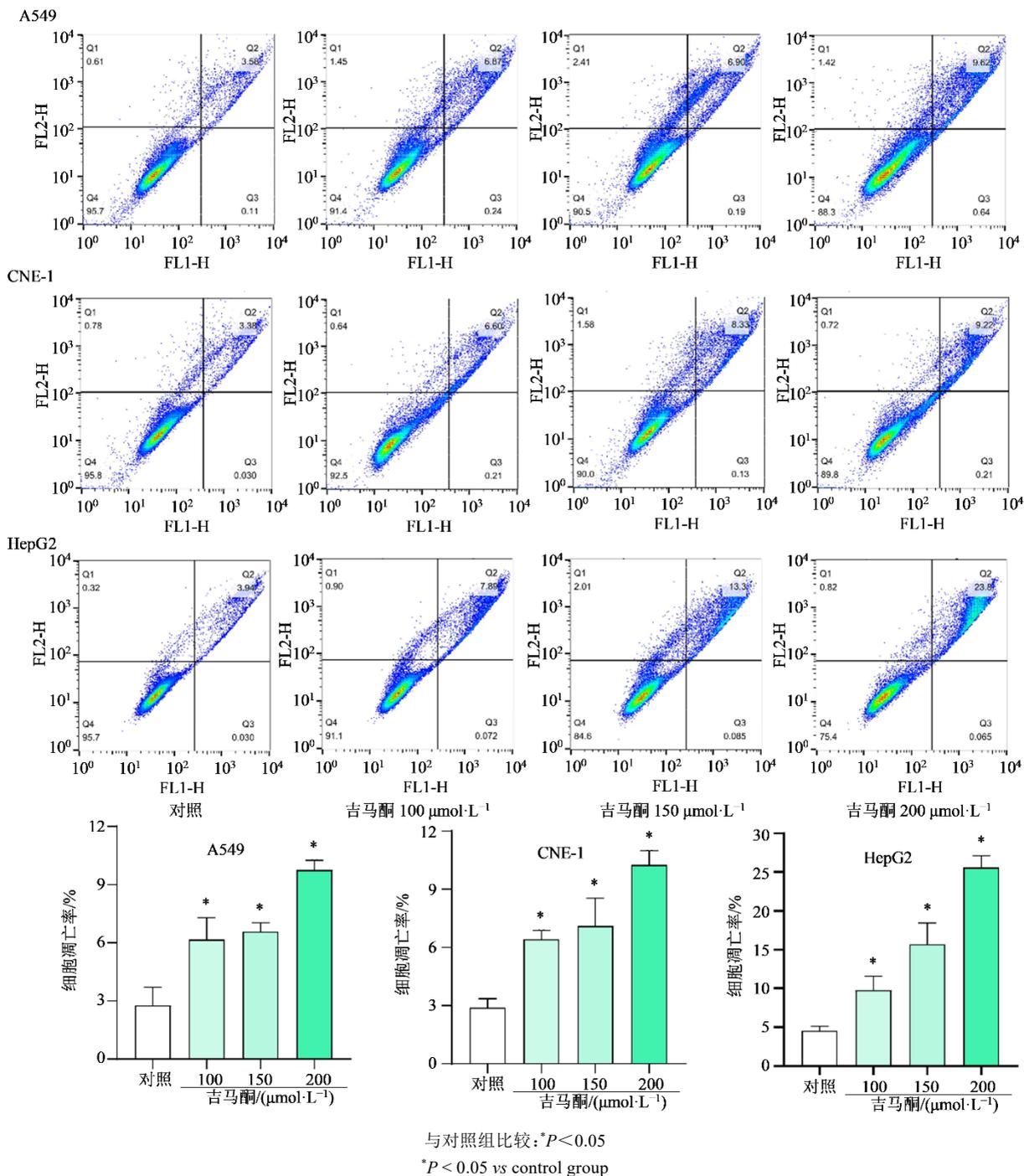


图2 吉马酮诱导A549、HepG2、CNE-1细胞凋亡($\bar{x}\pm s, n=3$)
Fig. 2 Germacrone induced apoptosis in A549, HepG2 and CNE-1 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

等^[16]的研究发现,吉马酮可以通过诱导G₂/M期阻滞和促进细胞凋亡对肝癌细胞产生较好的抑制作用。并且,在宫颈癌、非小细胞肺癌等癌症中,吉马酮均可发挥诱导细胞凋亡的作用^[17-18]。因此,吉马酮可能通过诱导癌细胞凋亡发挥增殖抑制作用。

p53蛋白是位于第17条染色体短臂上的TP53基因编码蛋白,尽管早期研究将p53蛋白描述为癌症因子,但后来通过进一步的研究表明p53是一种

肿瘤抑制因子^[19-20]。p53在维持基因组稳定性、诱导细胞凋亡、代谢、细胞周期停滞、衰老等方面起着至关重要的作用^[21]。p53蛋白与细胞凋亡之间的联系密切,大量研究表明p53蛋白是诱导癌细胞凋亡的关键因子^[22-23],抑制p53蛋白的表达可以抑制细胞的凋亡。Zhao等^[24]研究发现,吉马酮可以通过Akt-p53通路诱导肺癌细胞凋亡和细胞周期阻滞。在A549、CNE-1、HepG2细胞中,吉马酮处理后p53蛋

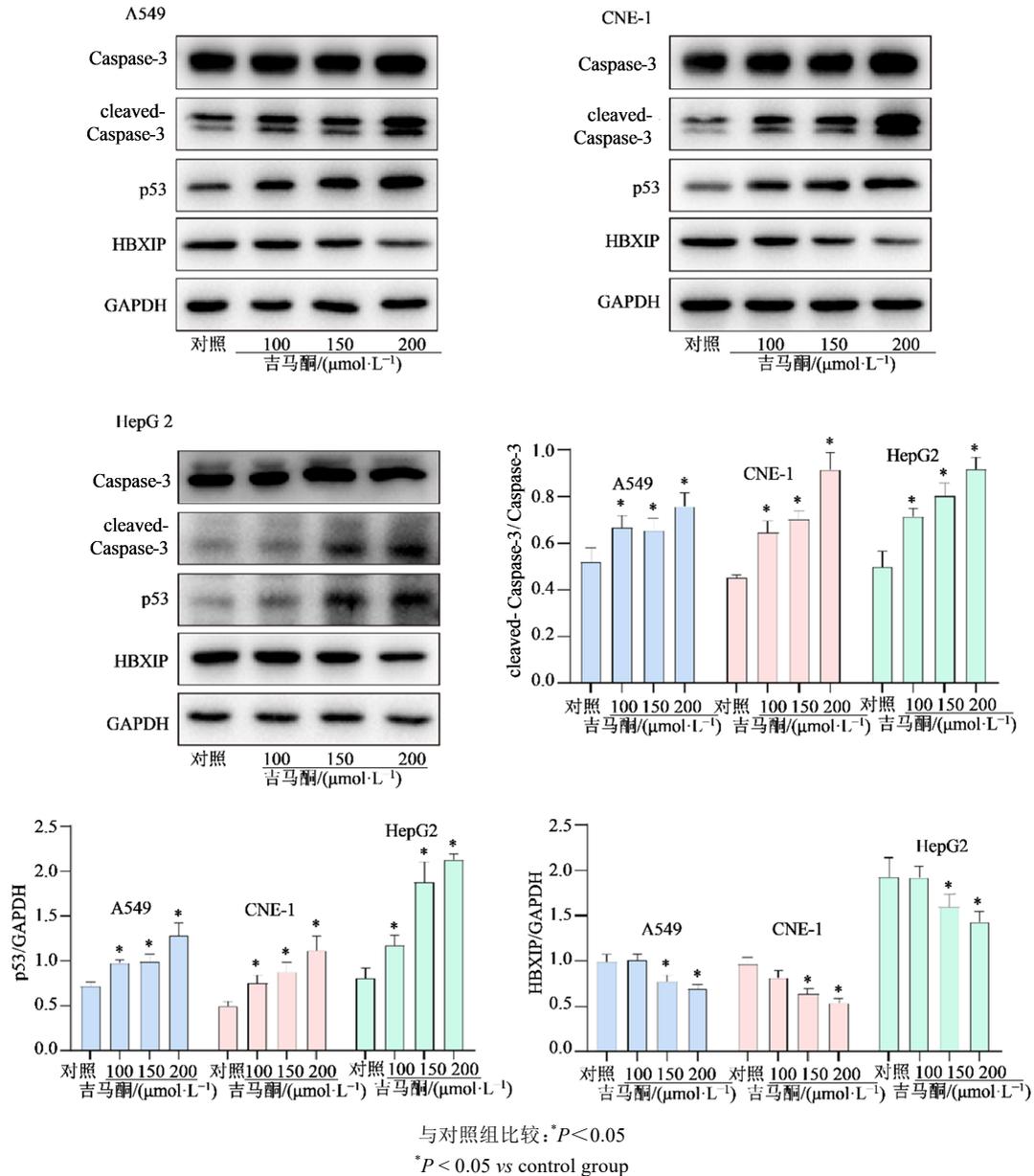


图 3 吉马酮上调 p53、抑制 HBXIP 的蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Germacrone up-regulated p53 and down-regulated HBXIP protein expression ($\bar{x} \pm s, n=3$)

白显著增高, 本研究表明吉马酮可以通过上调 p53 的表达进而诱导癌细胞凋亡。

HBXIP 是一种癌症因子, 多种研究表明, HBXIP 可以在乳腺癌、胃癌中参与调控 p53 通路进而影响癌细胞的增殖及代谢过程, 上调 HBXIP 可以下调 p53 蛋白的表达^[25-26]。在本研究中, 吉马酮可以在 A549、CNE-1、HepG2 细胞中下调 HBXIP 的表达, 发现 p53 蛋白表达上调。因此吉马酮上调 p53 蛋白的表达可能与下调 HBXIP 有关。Fang 等^[7]研究发现吉马酮可以通过下调 HBXIP 的表达发挥诱导胃癌细胞凋亡及增殖抑制的作用。为了进一步

验证吉马酮通过 p53 诱导细胞凋亡进而抑制癌细胞增殖的作用是否与 HBXIP 有关, 本研究通过敲低 HBXIP 的表达后联用吉马酮, 发现 A549、CNE-1、HepG2 细胞对吉马酮的敏感性显著增加。

本研究发现吉马酮可以浓度相关性地抑制肺癌 A549、肝癌 HepG2 及鼻咽癌 CNE-1 细胞的增殖并诱导细胞凋亡, 其机制可能与抑制 HBXIP 表达进而促进抑癌因子 p53 表达相关, HBXIP 蛋白是吉马酮发挥肿瘤抑制作用的潜在作用靶点。尽管本研究从 HBXIP/p53 轴阐释了吉马酮发挥抗肿瘤作用的机制, 但对 HBXIP 调控 p53 的机制尚未进行深入研究, 这也是课题组下一步的研究方向。

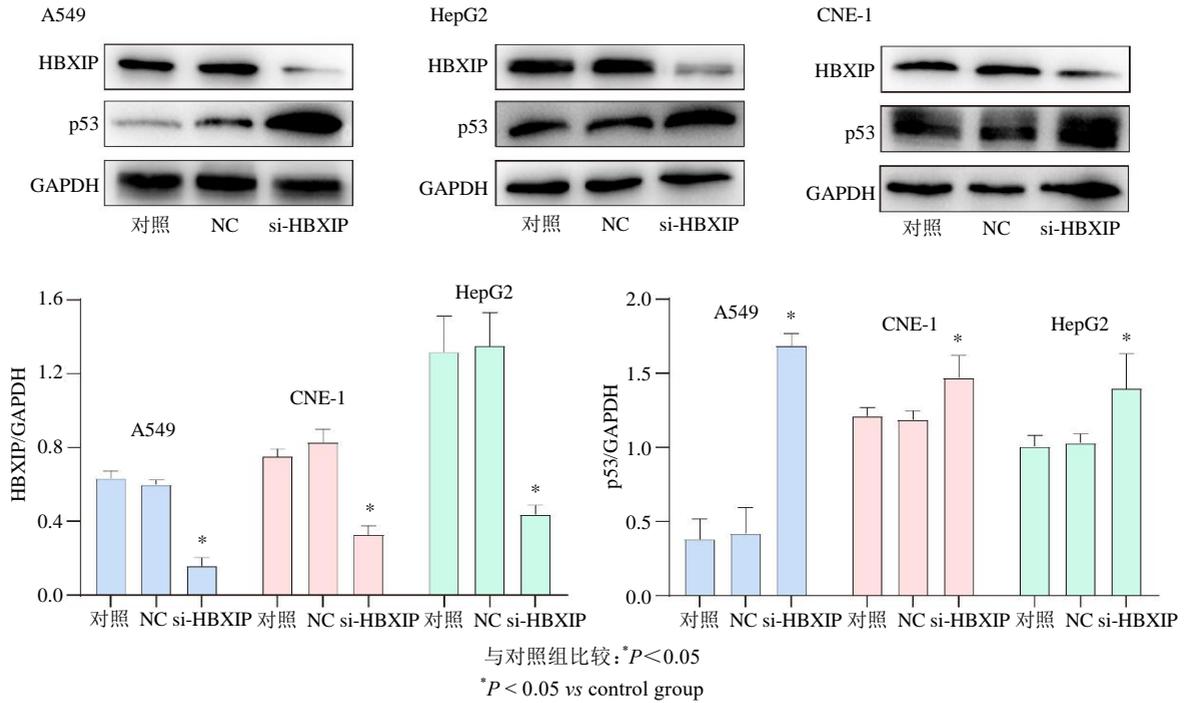


图4 沉默HBXIP上调p53的表达($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 4 Knockdown of HBXIP could up-regulate expression of p53 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

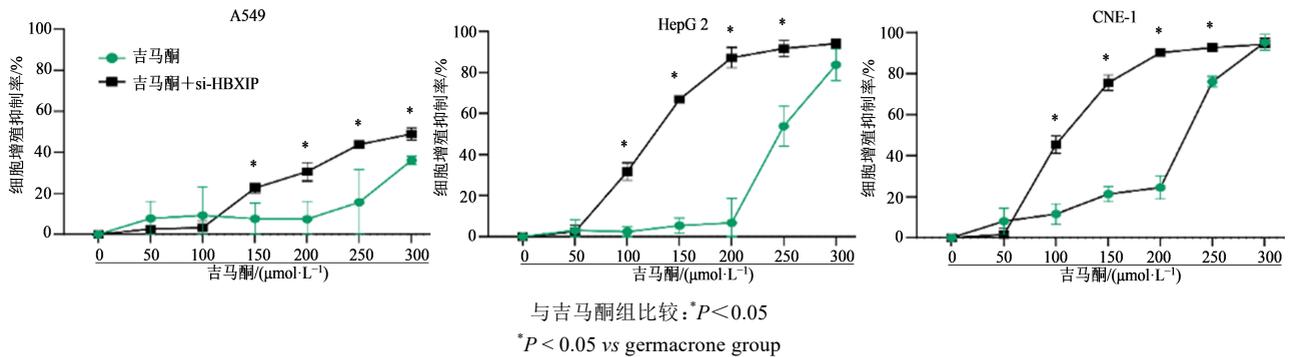


图5 沉默HBXIP提高A549、HepG2、CNE-1细胞对吉马酮的敏感性($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 5 Knockdown of HBXIP increased sensitivity of A549, HepG2 and CNE-1 cells to germacrone ($\bar{x}\pm s, n=3$)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wei W Q, Zeng H M, Zheng R S, et al. Cancer registration in China and its role in cancer prevention and control [J]. Lancet Oncol, 2020, 21(7): e342-e349.
- [2] Kelley K D, Aronowitz P. Cancer [J]. Med Clin North Am, 2022, 106(3): 411-422.
- [3] 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.
- [4] Najafi M, Majidpoor J, Toolee H, et al. The Current knowledge concerning solid cancer and therapy [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(11): e22900.
- [5] 何超月, 任黔川. 吉马酮调控 JAK2/STAT3 信号通路对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖、迁移、侵袭的影响 [J]. 解放军医学院学报, 2021, 42(8): 866-872.
- [6] He C Y, Ren Q C. Effect of JAK2/STAT3 signaling pathway regulated by Germacrone on cell viability of ovarian cancer SKOV₃ [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2021, 42(8): 866-872.
- [7] 朱太平, 孟令源, 张艺恬. 吉马酮通过调控 miR-297 表达对 H₂O₂ 诱导的小鼠海马神经元细胞凋亡和氧化应激的影响 [J]. 中国药师, 2021, 24(6): 1035-1039.
- [8] Zhu T P, Meng L Y, Zhang Y T. Effects of gemmatone on apoptosis and oxidative stress of mouse hippocampal neurons induced by H₂O₂ by regulating the expression of miR-297 [J]. China Pharm, 2021, 24(6): 1035-1039.
- [9] Fang X, Tan T F, Gao B B, et al. Germacrone regulates

- HBXIP-mediated cell cycle, apoptosis and promotes the formation of autophagosomes to inhibit the proliferation of gastric cancer cells [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 537322.
- [8] Yahya E B, Alqadhi A M. Recent trends in cancer therapy: A review on the current state of gene delivery [J]. *Life Sci*, 2021, 269: 119087.
- [9] 蒲缓缓, 屈赵, 林金榕, 等. 天然小分子化合物抗鼻咽癌活性及机制的研究进展 [J]. *中南药学*, 2022, 20(5): 1102-1112.
- Pu H H, Qu Z, Lin J R, et al. Advance in anticancer activity and mechanism of natural small molecule compounds for nasopharyngeal carcinoma [J]. *Central South Pharm*, 2022, 20(5): 1102-1112.
- [10] Agarwal G, Carcache P J B, Addo E M, et al. Current status and contemporary approaches to the discovery of antitumor agents from higher plants [J]. *Biotechnol Adv*, 2020, 38: 107337.
- [11] 乔巍, 汪小莞, 李晓春, 等. 四种倍半萜类化合物广谱抗肿瘤效应的研究进展 [J]. *中国生化药物杂志*, 2016, 36(3): 5-8.
- Qiao W, Wang X W, Li X C, et al. Advances in broad-spectrum antitumor effect of four sesquiterpenoids [J]. *Chin J Biochem Pharm*, 2016, 36(3): 5-8.
- [12] 李雨澎, 林睿, 母润红. 紫杉醇及其联合用药抗肿瘤的研究进展 [J]. *吉林医药学院学报*, 2021, 42(6): 440-442.
- Li Y P, Lin R, Mu R H. Research progress of paclitaxel and its combination in anti-tumor [J]. *J Jilin Med Univ*, 2021, 42(6): 440-442.
- [13] Yu Z Q, Xu J P, Shao M F, et al. Germacrone induces apoptosis as well as protective autophagy in human prostate cancer cells [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 4009-4016.
- [14] Zhang R, Hao J, Guo K W, et al. Germacrone inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 7643248.
- [15] Wu L, Wang L F, Tian X G, et al. Germacrone exerts anti-cancer effects on gastric cancer through induction of cell cycle arrest and promotion of apoptosis [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 21.
- [16] Liu Y Y, Wang W, Fang B, et al. Anti-tumor effect of germacrone on human hepatoma cell lines through inducing G2/M cell cycle arrest and promoting apoptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 698(1/2/3): 95-102.
- [17] 李冰, 周平, 靳义. 吉马酮对人非小细胞肺癌 NCI-H1770 细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的调节作用 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(7): 819-823.
- Li B, Zhou P, Jin Y. Effects of germacrone on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human non-small cell lung cancer NCI-H1770 cells [J]. *Chin J Immunol*, 2019, 35(7): 819-823.
- [18] 李艳, 周露秋, 任黔川. 吉马酮对宫颈癌Hela细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡作用的研究 [J]. *实用药物与临床*, 2020, 23(9): 796-800.
- Li Y, Zhou L Q, Ren Q C. Effect of germacrone on proliferation, migration, invasion and apoptosis of cervical cancer Hela cells [J]. *Pract Pharm Clin Remedies*, 2020, 23(9): 796-800.
- [19] Levine A J, Oren M. The first 30 years of p53: Growing ever more complex [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(10): 749-758.
- [20] 王琪, 廖振蓉, 罗德平, 等. TRIM19通过调控p53信号促进卵巢癌进展的作用及机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(1): 51-55.
- Wang Q, Liao Z R, Luo D P, et al. Research of function of TRIM19 in ovarian cancer and molecular mechanism through p53 signaling pathway [J]. *Chin J Immunol*, 2022, 38(1): 51-55.
- [21] Lane D P. Cancer. p53, guardian of the genome [J]. *Nature*, 1992, 358(6381): 15-16.
- [22] Hong B, van den Heuvel A P, Prabhu V V, et al. Targeting tumor suppressor p53 for cancer therapy: Strategies, challenges and opportunities [J]. *Curr Drug Targets*, 2014, 15(1): 80-89.
- [23] 裴静娴, 王月刚, 程诚, 等. p53RFP对SW480细胞增殖、细胞周期及凋亡的影响 [J]. *广州医科大学学报*, 2022, 50(3): 17-20.
- Pei J X, Wang Y G, Cheng C, et al. Effects of p53RFP on proliferation, cell cycle and apoptosis of SW480 cells [J]. *Acad J Guangzhou Med Univ*, 2022, 50(3): 17-20.
- [24] Zhao Y, Cai J, Shi K H, et al. Germacrone induces lung cancer cell apoptosis and cell cycle arrest via the Akt/MDM2/p53 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 452.
- [25] Li H, Wang Z, Jiang M, et al. The oncoprotein HBXIP promotes human breast cancer growth through down-regulating p53 via miR-18b/MDM2 and pAKT/MDM2 pathways [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(11): 1787-1796.
- [26] Qiu L, Lu F, Zhang L L, et al. HBXIP regulates gastric cancer glucose metabolism and malignancy through PI3K/AKT and p53 signaling [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 3359-3374.