

美国黑树莓的肿瘤预防生物活性研究进展

毕秀丽^{1*}, 赵余庆², YANG Wan-cai³, STONER Gary D⁴

1. 辽宁大学生命科学院, 辽宁 沈阳 110036
2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016
3. University of Illinois at Chicago, Chicago 60612, USA
4. Medical College of Wisconsin, Milwaukee 53226, USA

摘要: 美国黑树莓 (black raspberry, BRB) 属于蔷薇科悬钩子属浆果, 其果实中含有具有多种生物活性的物质, 其中肿瘤化学预防物质——鞣花酸的量尤为丰富。因其具特殊的营养与保健功能, 在国内外被推崇为第3代小浆果。大量研究证明其提取物具有显著的抗肿瘤作用。综述了 BRB 提取物对食管肿瘤和结直肠癌肿瘤预防功效、作用机制及其临床研究, 为其作为功能食品和肿瘤预防制剂的开发研究提供参考。

关键词: 美国黑树莓; 鞣花酸; 食管肿瘤; 结直肠癌; 肿瘤预防

中图分类号: R282.71 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)11-2295-05

Advances in studies on tumor prevention of black raspberry from America

BI Xiu-li¹, ZHAO Yu-qing², YANG Wan-cai³, STONER Gary D⁴

1. College of Life Science, Liaoning University, Shenyang 110036, China
2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China
3. University of Illinois at Chicago, Chicago 60612, USA
4. Medical College of Wisconsin, Milwaukee 53226, USA

Key Words: black raspberry from America; ellagic acid; esophageal tumor; colorectal tumor; tumor prevention

浆果富含具有抗氧化作用的酚酸类物质。具有商品价值的最主要的浆果包括越橘属蓝莓、越橘、小红莓、山桑子, 悬钩子属黑莓、黑树莓、红树莓、北极树莓(荆棘)、云莓, 草莓属草莓和接骨木属接骨木、红接骨木^[1]。其中蔷薇科悬钩子属黑树莓 *Rubus occidentalis* H. Lévl., 半灌木, 小浆果类, 其成熟果实呈紫黑色, 故称为黑树莓果, 口感香、甜、酸, 可鲜食。近年来, 黑树莓的种植在国内逐步兴起, 各地均有一定种植面积, 但是对其的研究主要集中在食品或饮料加工方面。本文通过查阅整理国外大量研究结果, 对美国黑树莓 (black raspberry, BRB) 的活性成分、抗肿瘤作用及其机制及 BRB 提取物抗肿瘤临床研究的进展进行了概述。为其在国内的进一步开发应用提供有价值的信息和依据。

1 BRB 中具有生物活性的化学物质

BRB 中含有具生物活性的化学物质种类繁多,

其中最主要的是酚酸类成分, 其芳香环上都连有羟基, 是植物次生代谢产生的非营养成分。BRB 中的生物活性物质根据化学结构可分为: 酚酸类、黄酮类、原花青素、鞣质、苯乙烯、木脂素、三萜和甾醇。BRB 中最为普遍的化合物是原花青素和鞣花酸类 (图 1), 它们共同发挥抗癌作用。

鞣花酸是一类广泛存在于植物中的天然多酚组分, 在果肉和种子的汁液中的量丰富^[1]。对 28 种水果测试分析表明, 鞣花酸的质量分数在 630~1 500 μg/g 干重, BRB 中的鞣花酸量居各类可食用植物之首, 其能抵抗多环芳香碳氢化合物、亚硝胺、毒枝菌素和黄曲霉素等许多化学致癌物质, 从而保护人体细胞, 增强机体功能。同时鞣花酸可分解草及大豆的多环芳香烃, 也可预防熏肉与霉变花生中的致癌物质的毒性作用。

同时 BRB 中含有大量的花青素, 花青素是目

收稿日期: 2012-05-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81272333)

*通讯作者 毕秀丽 (1977—) 女, 博士, 副教授, 主要从事肿瘤的生物学研究。Tel: (024) 62202232 E-mail: xiulibi@gmail.com

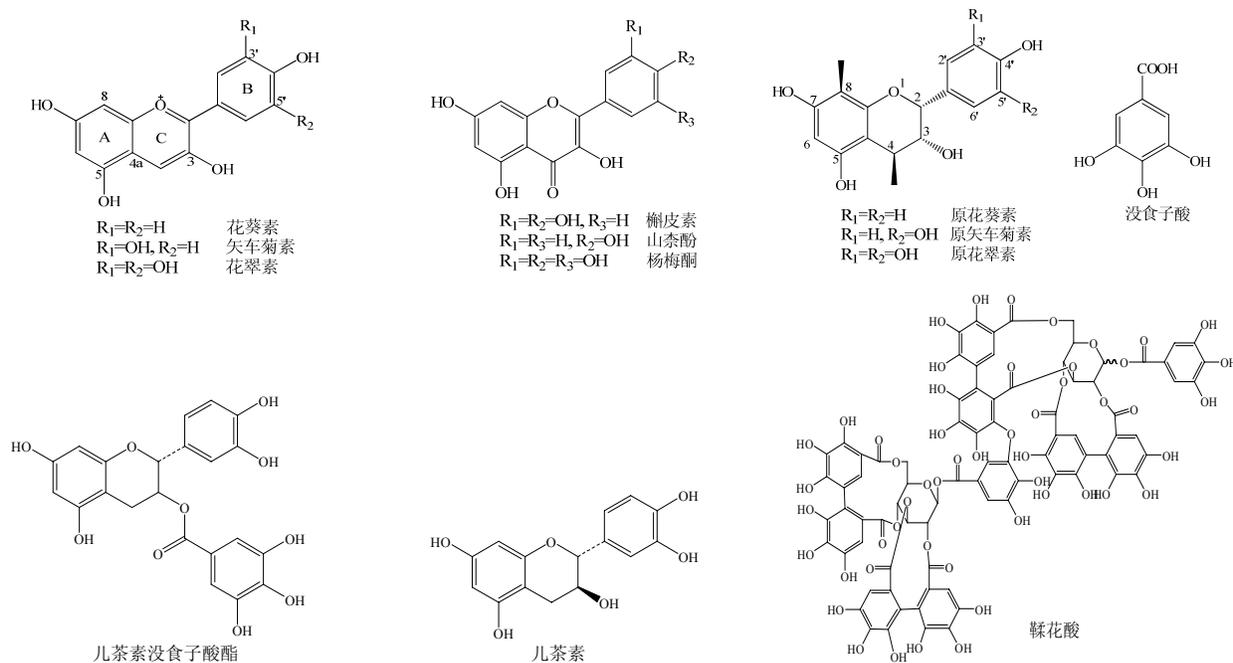


图 1 BRB 中活性成分的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of active constituents from BRB

前所知的最高效的自由基清除剂，其清除能力是维生素 E 的 50 倍，是维生素 C 的 20 倍。因而 BRB 具有强大的抗氧化活性。

此外，BRB 中还含有对人体有益的维生素 A、C、E，叶酸、钙以及微量元素硒和锌等^[2-3]。

2 黑树莓冻干粉的抗肿瘤作用

20 世纪 80 年代中期，Stoner 研究组发现，给予富含多酚、鞣花酸的食物，能够抑制致癌物质诱发的大鼠食管肿瘤的生长^[4]。由于浆果中含 85%~90% 的水，冷冻干燥后，鞣花酸的量是鲜果量的 9~10 倍。除了活性化学预防剂鞣花酸外，黑树莓冻干粉 (BRBs) 还含有多种维生素和胡萝卜素、钙、硒及没食子酸、阿魏酸、对香豆酸、槲皮素、山柰酚、花色苷、β-谷甾醇和豆甾醇^[5]。

2.1 BRBs 对啮齿类动物食管癌的预防

反复 sc N-亚硝胺致癌物 (NMBA) 能够引起 F344 大鼠食管癌的发生^[6-10]。癌前病变的量化指标主要包括单纯性增生、白斑、上皮异常增生。大鼠注射 NMBA 之前或期间给予 5% 和 10% BRBs，肿瘤发生率降低了 8%~22%，肿瘤多样性降低了 40%~50%；注射 NMBA 后 50%~60% 大鼠表现为食管上皮的增生和轻度至中度异型增生病灶的出现，立即给予 5%~10% BRBs 1 周后肿瘤发病率降低 40%~47%，肿瘤多样性降低 40%~60%，证明 BRBs 能够预防由

于食管增生导致的食管癌的发生^[10]。

2.2 BRBs 对啮齿类动物结直肠癌的预防

化学致癌物氧化偶氮甲烷 (AOM) 能够诱发 F344 大鼠结直肠癌的发生，该动物模型被广泛用于一些化学预防剂预防结肠癌的作用评价。大鼠 ip AOM 15 mg/kg，每周 1 次，连续 2 周。最后 1 次注射 AOM 24 h 后，给予大鼠 0、2.5%、5% 和 10% BRBs。结果表明，与模型组相比，给药组肿瘤多样性分别降低了 42%、45% 和 71%，肿瘤负荷分别下降了 28%、42% 和 75%^[11]。

最新研究表明，给予小鼠 10% BRBs 能更有效地预防结直肠癌的发生。在研究中选用 APC^{1638/N} 和 MUC2^{-/-} 两种基因突变型人类结肠小鼠模型 (前者可以自发的形成小肠肿瘤，后者则会产生肠炎，从而导致大肠肿瘤的发生) 来评价 BRBs 对肿瘤的预防作用。连续 12 周饲喂高脂饮食和添加 10% BRBs 的高脂饮食，结果表明，与高脂饮食组小鼠相比，添加 BRBs 组小鼠肿瘤发生率分别降至 55% 和 50%，而肿瘤数目则降至 40% 和 50%。作用机制研究表明，BRBs 的肿瘤预防作用与抑制 β-catenin 信号通路异常活化及炎症效应过度激活相关^[12]。

3 BRB 肿瘤预防的分子生物学机制研究

3.1 体内生物学机制研究

研究表明，一些基因在大鼠食管癌前阶段过

度表达^[13-15], 其中包含环氧合酶-2 (COX-2)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、血管内皮生长因子 (VEGF)。COX-2 的表达伴随肿瘤的发展及前列腺素 E₂ (PGE₂) 水平升高而逐渐增加^[13]。提高 PGE₂ 水平可促进细胞增殖和炎症的发生。给予 NMBA 模型大鼠 5% BRBs, 其食管组织中 COX-2 mRNA 表达水平增高, 同时 PGE₂ 水平下降 50%。研究发现, BRBs 对人类食管鳞状细胞癌发展的抑制效应, 部分是通过下调 COX-2 实现的^[16]。

iNOS 通过将 L-精氨酸转化为瓜氨酸而产生一氧化氮 (NO)^[17]。NO 可导致硝化应激或氧化应激。硝化应激会导致 DNA 碱基的脱氨和亚硝胺致癌物的形成; 氧化应激导致过氧化物形成从而破坏 DNA, 并且通过组织过氧化物酶催化产物诱导 COX-2 的表达^[18]。给予 5% BRBs 能够显著下调亚硝酸盐的量, 并降低食管癌组织中 iNOS 的表达, 通过抑制 iNOS 和 NO 的产生, BRBs 可以降低硝化和氧化应激、炎症反应以及 COX-2 的活性^[14]。

新生血管生成在肿瘤生长和发展中至关重要^[19]。包括 VEGF-C、碱性成纤维细胞生长因子和血小板衍生生长因子在内的多种生长因子具有血管新生抑制作用^[20-21]。VEGF-C 在食管鳞状癌细胞表达上调, 能够诱导血管内皮细胞增殖和迁移。给予 5% BRBs 能够抑制 NMBA 模型大鼠 VEGF-C 基因转录水平的升高, 显著降低微血管密度 (MVD) 的表达, 表明 BRBs 对 NMBA 模型大鼠新生血管抑制作用与其下调 VEGF、COX-2 和 iNOS 相关^[16,22-23]。

Stoner 研究小组针对 BRBs 对 cDNA 基因芯片中 3×10^4 个基因的影响进行了研究。结果发现, 模型组大鼠中有 3.1×10^3 个基因的表达发生变化, 而给予 5% BRBs 后能够逆转其中 462 个基因达到正常对照组的表达水平^[24]。

3.2 体外生物学机制研究

Xue 等^[25]进行了 BRB 细胞水平的研究, 发现了 BRB 的作用机制并确定了生物活性成分, 其乙醇提取物能够剂量依赖性地抑制苯并[a]芘诱导的叙利亚仓鼠胚胎细胞转化。Han 等^[26]在类似的研究中发现, BRB 二氯甲烷和酒精提取物能够选择性抑制癌前和恶性人类口腔细胞株的生长。进一步的研究还发现它们能够抑制癌前细胞周期蛋白 A 和细胞分裂周期基因 2 (cdc2) 表达水平及恶性细胞周期素 B1、D1 的表达水平; 其乙醇提取物能够升高 p21^{WAF1/CIP1} 的表达水平, 但不影响细胞周期的分

布。Rodrigo 等^[27]研究了 BRB 乙醇提取物对人类口腔癌的预防效果。结果发现, 其对肿瘤细胞株的增殖、VEGF 的产生、iNOS 合酶的活性及终端细胞分化有明显的抑制作用。Zikri 等^[28]研究了 BRB 乙醇提取物对致瘤性和非致瘤性大鼠食管上皮细胞的影响。结果表明, 与非致瘤性大鼠食管上皮细胞相比, BRB 乙醇提取物能够抑制致瘤性细胞增殖、诱导细胞凋亡及抑制 COX-2 和 iNOS 的表达。

肿瘤初期研究中发现, BRB 乙醇提取物能够抑制二氢二醇环氧苯并[a]芘(BPDE)诱导的 JB-6Cl41 小鼠表皮细胞 AP-1 和核转录因子- κ B (NF- κ B) 的激活, 该抑制效应分别与其对有丝分裂原活化蛋白激酶的活化和 κ B 亚基磷酸化的抑制作用相关。其乙醇提取物预处理 JB-6Cl41 细胞, 并未发现其对 AP-1 和 NF- κ B 激活的抑制作用, 提示该作用机制与抑制 BPDE 和 DNA 结合无关。同时研究还发现, BRB 提取物并不影响 p53 的转录活性, 提示其可能是通过影响 AP-1 和 NF- κ B 的上游信号通路而发挥抑瘤作用。进一步的研究发现, BRB 乙醇提取物能够抑制 PI-3K、Akt 和 p70 S6 激酶的活化, 提示 PI-3K/Akt/AP-1/VEGF 信号通路可能参与到 BRBs 的肿瘤预防作用^[29-30]。

4 BRBs 临床试验

4.1 BRBs 毒理学试验

以 11 例受试个体的临床试验探讨了 BRBs 的安全性和耐受性。受试个体每日服用 45 g BRBs (相当于动物实验 5% BRBs), 连续 7 d 后对受试个体血浆和尿中花青素、鞣花酸的量进行测定。第 1、7 和 10 天给药前及给药后 12 h 采集血浆样本, 尿液样品分别第 1、7 天给药前 12 h 收集, 及给药后每间隔 4 h 收集 1 次, 共 3 次。11 例受试样本中 4 例有轻度或中度便秘发生, 血浆中的花青素和鞣花酸的最高浓度出现在 1~2 h, 尿中最高量出现在 0~4 h。同样给药剂量下花青素和鞣花酸的吸收率小于 1%^[31]。

4.2 BRBs 对食道癌患者的临床试验

巴雷特食管癌病人 20 例, 每日分别服用 32 g 和 45 g BRBs, 连续 6 个月。服用前后分别进行氧化损伤生物标志物 8-羟基-2'-脱氧鸟苷 (8-OHdG) 和 8-异 PGF₂ 的测定和评价^[32-34]。结果表明, 有 10 例病人巴雷特食管的病变长度未发生变化, 尿中 8-异 PGF₂ 水平明显降低, 而 8-OHdG 没有显著变化^[35]。

4.3 BRBs 对结肠癌临床试验

50 例大肠癌/息肉病人服用 20 g BRBs, 每日 3

次,直到预定的手术日期。手术过程中采集活检样本,将给药前、后的活检样本分别进行细胞增殖、炎症、细胞凋亡及血管新生的生物标志物的分析。另选伴有结肠直肠吻合术的家族遗传性大肠息肉病人作为研究对象,第 1 组病人服用 20 g BRBs,每日 3 次,同时该组病人每日入睡前,盲肠内置含 BRBs 的栓剂;第 2 组病人给予同等剂量的安慰剂,同时该组病人每天入睡前,也在盲肠内置含 BRBs 的栓剂。持续 9 个月,期间分别于给药前\给药第 18 周\36 周 3 个时间点进行内窥镜检查息肉大小和数量评估。初步研究结果发现,病人经 18 周给予 BRBs 后,结肠息肉的发生率降低了 50%。数据显示, BRBs 通过甲基化 Wnt 信号通路上游的一些调节因子 SFRP2、SFRP5 和 WIF1 抑制了 Wnt 信号通路及下游靶基因的异常活化^[36]。

5 结语

经过 15 年的研究证明 BRB 对于消化系统肿瘤的预防具有一定的前景。对 BRB 的有效成分的分离工作正在进行,以期发现单个或几种成分联合应用从而获得更好的效果^[37]。在最近的研究中, BRB 乙醇提取物的残渣部分同样显示出与 5% BRB 具有相同的肿瘤预防作用^[38]。

作用机制研究发现 BRB 对于肿瘤的发生发展均有影响^[39]。BRB 有效成分通过降低 DNA 加合物水平而影响致癌物的代谢。同时它们还能够降低癌前细胞的生长速度,促进细胞凋亡和细胞分化,减少炎症和血管生成。BRB 通过对一些关键调控因子,如 β -catenin、NF- κ B、AP-1、P1-3K/Akt、p38/Erk1/2 以及其下游基因的影响,而调控多种信号转导通路^[40]。虽然氧化自由基可以诱导信号转导通路调控基因的表达,但是 BRB 活性成分对基因表达调控并不完全依赖于抗氧化活性。研究显示, BRB 提取物处理小鼠表皮细胞后,能够下调 AP-1 和 NF- κ B 荧光素酶报告基因,时间可持续 1~2 h,鉴于氧化自由基的半衰期很短,故这种下调并不能完全归结于氧自由基淬灭。对于 BRB 肿瘤预防作用机制有待于进一步的深入研究。

BRB 营养丰富,抗癌、防癌作用明确,中国 BRB 项目已得到国家科技部中国农业科学院等科研部门的肯定和推荐,而且 BRB 的引进、发展已被列入国家“948”计划。随着中国经济的发展,除了 BRB 鲜果、速冻保鲜果及果汁、果酒、果酱的需求外,鉴于 BRB 活性成分在防治肿瘤方面的药

用价值,其作为功能食品或肿瘤预防剂将会被进一步开发应用,其相关产品将具有良好的发展空间,前景更加广阔。

参考文献

- [1] Daniel E M, Krupnick A S, Heur Y H, *et al.* Extraction, stability, and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts [J]. *J Food Comp Anal*, 1989, 2: 338-249.
- [2] Stoner G D, Wang L S, Casto B. Laboratory and clinical studies of cancer chemoprevention by antioxidants in berries [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(9): 1665-1674.
- [3] Stoner G D, Wang L S, Zikri N, *et al.* Cancer prevention with freeze-dried berries and berry components [J]. *Semin Cancer Biol*, 2007, 17(5): 403-410.
- [4] Mandal S, Stoner G D. Inhibition of *N*-nitrosobenzylmethylamine induced esophageal tumorigenesis in rats by ellagic acid [J]. *Carcinogenesis*, 1990, 11: 338-349.
- [5] Stoner G D, Kresty L A, Carlton P S, *et al.* Isothiocyanates and freeze-dried strawberries as inhibitors of esophageal cancer [J]. *Toxicol Sci*, 1990, 52: 95-100.
- [6] Stoner G D, Gupta A. Etiology and chemoprevention of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22: 1737-1746.
- [7] Siglin J C, Khare L, Stoner G D. Evaluation of dose and treatment duration on the esophageal tumorigenicity of *N*-nitrosomethylbenzylamine in rats [J]. *Carcinogenesis*, 1995, 16: 259-65.
- [8] Stoner G D, Morrissey D T, Heur Y H, *et al.* Inhibitory effects of phenethyl isothiocyanate on *N*-nitrosomethylbenzylamine carcinogenesis in the rat esophagus [J]. *Cancer Res*, 1991, 51: 2063-2070.
- [9] Carlton P S, Kresty L A, Siglin J C, *et al.* Inhibition of *N*-nitrosomethylbenzylamine-induced tumorigenesis in the rat esophagus by dietary freeze-dried strawberries [J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22: 441-46.
- [10] Kresty L A, Morgan C, Carlton P S, *et al.* Chemoprevention of esophageal tumorigenesis by dietary administration of lyophilized black raspberries [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 6112-6119.
- [11] Harris G K, Gupta A, Nines R G, *et al.* Effects of lyophilized black raspberries on azoxymethane-induced colon cancer and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in the Fischer 344 rat [J]. *Nutr Cancer*, 2001, 40: 125-133.
- [12] Bi X, Fang W, Wang L S, *et al.* Black raspberries inhibit intestinal tumorigenesis in *apc*^{1638+/-} and *Muc2*^{-/-} mouse models of colorectal cancer [J]. *Cancer Prev Res*, 2010, 3(11): 1443-1450.
- [13] Carlton P S, Gopalakrishnan R, Gupta A, *et al.* Piroxicam is an ineffective inhibitor of *N*-nitrosomethylbenzylamine-induced tumorigenesis in rat esophagus [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 4376-4382.
- [14] Chen T, Hwang H, Rose M E, *et al.* Chemopreventive

- properties of black raspberries in *N*-nitrosomethylbenzylamine-induced rat esophageal tumorigenesis: down-regulation of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase, and c-Jun [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 2853-2859.
- [15] Chen T, Rose M E, Hwang H, *et al.* Black raspberries inhibit *N*-nitrosomethylbenzylamine (NMBA)-induced angiogenesis in rat esophagus parallel to the suppression of COX-2 and iNOS [J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27: 2301-2307.
- [16] Ratnasinghe D, Tangrea J, Roth M J, *et al.* Expression of cyclooxygenase-2 in human squamous cell carcinoma of the esophagus; an immunohistochemical survey [J]. *Anticancer Res*, 1999, 19 (1A): 171-174.
- [17] Nathan C, Xie Q W. Regulation of biosynthesis of nitric oxide [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269: 13725-13728.
- [18] Tanaka H, Kijima H, Tokunaga T, *et al.* Frequent expression of inducible nitric oxide synthase in esophageal squamous cell carcinomas [J]. *Int J Oncol*, 1999, 14: 1069-1073.
- [19] Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1990, 82: 4-6.
- [20] Folkman J, Cole P, Zimmerman S. Tumor behavior in isolated perfused organs: *in vitro* growth and metastases of biopsy material in rabbit thyroid and canine intestinal segment [J]. *Ann Surg*, 1966, 164: 491-502.
- [21] 王奇巍, 杨国红, 林梦感, 等. 植物来源抑制血管生成的活性成分研究进展 [J]. *中草药*, 2010, 41(5): 附3-附8.
- [22] Veikkola T, Karkkainen M, Claesson-Welsh L, *et al.* Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 203-212.
- [23] Noguchi T, Takeno S, Shibata T, *et al.* VEGF-C expression correlates with histological differentiation and metastasis in squamous cell carcinoma of the esophagus [J]. *Oncol Rep*, 2002, 9: 995-999.
- [24] Stoner G D, Dombkowski A A, Reen R K, *et al.* Carcinogen-altered genes in rat esophagus positively modulated to normal levels of expression by both black raspberries and phenylethyl isothiocyanate [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(15): 6460-6467.
- [25] Xue H, Aziz R M, Sun N, *et al.* Inhibition of cellular transformation by berry extracts [J]. *Carcinogenesis*, 2001, 22: 831-833.
- [26] Han C, Ding H, Casto B, *et al.* Inhibition of the growth of premalignant and malignant human oral cell lines by extracts and components of black raspberries [J]. *Nutr Cancer*, 2005, 51: 207-217.
- [27] Rodrigo K, Rawal Y, Renner R, *et al.* Suppression of the tumorigenic phenotype in human oral squamous cell carcinoma cells by an ethanol extract derived from freeze-dried black raspberries [J]. *Nutr Cancer*, 2006, 54: 58-68.
- [28] Zikri N, Hecht H, Auer H, *et al.* Effect of black raspberry components on growth and gene expression in rat esophageal cells [J]. *Nutr Cancer*, 2009, 61(6): 816-826.
- [29] Huang C, Huang Y, Li J, *et al.* Inhibition of benzo (a) pyrene diol-epoxide-induced transactivation of activated protein 1 and nuclear factor kappaB by black raspberry extracts [J]. *Cancer Res*, 2002, 62: 6857-6863.
- [30] Huang C, Li J, Song L, *et al.* Black raspberry extracts inhibit benzo (a) pyrene diol-epoxide-induced activator protein 1 activation and VEGF transcription by targeting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 581-587.
- [31] Stoner G D, Sardo C, Apseloff G, *et al.* Pharmacokinetics of anthocyanins and ellagic acid in healthy volunteers fed freeze-dried black raspberries for 7 days [J]. *J Clin Pharmacol*, 2005, 45: 1153-1164.
- [32] Yin B, Whyatt R M, Perera F P, *et al.* Determination of 8-hydroxydeoxyguanosine by an immunoaffinity chromatography-monoclonal antibody-based ELISA [J]. *Free Radic Biol Med*, 1995, 18: 1023-1032.
- [33] Loft S, Poulsen H E. Estimation of oxidative DNA damage in man from urinary excretion of repair products [J]. *Acta Biochim Pol*, 1998, 45: 133-144.
- [34] Basu S, Helmersson J. Factors regulating isoprostane formation *in vivo* [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7: 221-235.
- [35] Kresty L A, Frenkel W L, Hammond C D, *et al.* Transitioning from preclinical to clinical chemopreventive assessments of lyophilized black raspberries: Interim results show berries modulate markers of oxidative stress in Barrett's esophagus patients [J]. *Nutr Cancer*, 2006, 54: 148-156.
- [36] Wang L S, Arnold M, Huang Y W, *et al.* Modulation of genetic and epigenetic biomarkers of colorectal cancer in humans by black raspberries: a phase I pilot study [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(3): 598-610.
- [37] Casto B, Kresty L A, Kraly C L, *et al.* Chemoprevention of oral cancer by black raspberries [J]. *Anticancer Res*, 2002, 6C: 4005-4015.
- [38] Wang L S, Hecht S S, Carmella S G, *et al.* Anthocyanins in black raspberries prevent esophageal tumors in rats [J]. *Cancer Prev Res*, 2009, 2(1): 84-93.
- [39] Stoner G D, Chen T, Kresty L A, *et al.* Protection against esophageal cancer in rodents with lyophilized berries: Potential mechanisms [J]. *Nutr Cancer*, 2006, 54: 33-46.
- [40] Lu H, Li H, Zhang D, *et al.* Molecular mechanisms involved in chemoprevention of black raspberry extracts: From transcription factors to their target genes [J]. *Nutr Cancer*, 2006, 54: 69-78.