

红藤提取物联合 5-氟尿嘧啶抑制肝癌细胞生长作用及机制研究

陈 红, 王 维*

重庆大学附属肿瘤医院 重庆市肿瘤研究所 中医肿瘤科, 重庆 400300

摘要:目的 研究红藤提取物联合 5-氟尿嘧啶对人肝癌 HepG2 细胞生长的抑制作用, 并初步探讨其作用机制。方法 体外培养 HepG2 细胞, 以不同质量浓度的红藤提取物作用于细胞, 采用 MTT 法检测其对细胞生长的影响, 选择后续实验浓度。将 HepG2 细胞分为对照组、红藤提取物 (40 mg/L) 组、5-氟尿嘧啶 (10 μ mol/L) 组及联合用药 (红藤提取物 40 mg/L+5-氟尿嘧啶 10 μ mol/L) 组, 采用 MTT 法检测细胞增殖抑制率, 流式细胞仪检测细胞周期, Western blotting 法检测细胞中增殖细胞核抗原 (PCNA)、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 及细胞周期依赖性蛋白激酶 4 (CDK4) 表达水平。结果 MTT 检测结果显示, 红藤提取物呈质量浓度依赖性地抑制 HepG2 细胞增殖, 选择其质量浓度为 40 mg/L 用于后续实验。与对照组比较, 红藤提取物组和 5-氟尿嘧啶组细胞增殖抑制率显著升高, G₀/G₁ 期细胞比例显著升高, S 期和 G₂/M 期细胞比例显著降低, 细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白的表达显著降低 ($P < 0.05$)。与 5-氟尿嘧啶组比较, 联合用药能显著抑制 HepG2 细胞增殖, 阻滞细胞周期, 抑制细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达 ($P < 0.05$)。结论 红藤提取物联合 5-氟尿嘧啶能够增强对 HepG2 细胞生长的抑制作用, 其作用机制可能与抑制细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平有关。

关键词: 红藤; 提取物; 5-氟尿嘧啶; HepG2 细胞; 生长抑制; 增殖细胞核抗原、细胞周期蛋白 D1; 细胞周期依赖性蛋白激酶 4

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2019)09-2115-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.09.015

Sargentodoxa cuneata combined with chemotherapy drug 5-fluorouracil inhibits growth of liver cancer cells

CHEN Hong, WANG Wei

Department of Chinese Medicine Oncology, Affiliated Tumor Hospital of Chongqing University/Chongqing Cancer Institute, Chongqing 400300, China

Abstract: Objective To investigate the effect of *Sargentodoxa cuneata* extracts combined with 5-fluorouracil on the growth inhibition of human hepatoma HepG2 cells, and explore its mechanism. **Methods** HepG2 cells were cultured *in vitro* and treated with different concentrations of *S. cuneata* extracts. The effect of *S. cuneata* extracts on cell growth inhibition was detected by MTT assay, and the subsequent experimental concentration was selected. HepG2 cells were randomly divided into four groups: control group, *S. cuneata* extracts group (40 mg/L), 5-fluorouracil (10 μ mol/L) group, and combination group (*S. cuneata* extracts 40 mg/L + 5-fluorouracil 10 μ mol/L). Cell proliferation inhibition rate was detected by MTT assay and cell cycle was detected by flow cytometry. The expression levels of nuclear antigen PCNA, Cyclin D1, and cell cycle-dependent protein kinase CDK4 were detected by Western blotting. **Results** The results of MTT assay showed that *S. cuneata* extracts inhibited the proliferation of HepG2 cells in a concentration-dependent manner ($P < 0.05$), and *S. cuneata* extracts with a concentration of 40 mg/L was selected for subsequent experiments. Compared with the control group, the cell proliferation inhibition rate of the *S. cuneata* extracts group and the 5-fluorouracil group was significantly increased, the proportion of G₀/G₁ phase cells was significantly increased, and the proportion of cells in the S phase and G₂/M phase was significantly decreased ($P < 0.05$). The protein expression levels of PCNA, Cyclin D1, and CDK4 in the cells were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the 5-fluorouracil group, the combination group significantly inhibited the proliferation of HepG2 cells, blocked the cell cycle, and inhibited the protein expression of PCNA, Cyclin D1, and CDK4 in the cells ($P < 0.05$). **Conclusion** *S. cuneata* extracts combined with 5-fluorouracil enhances the growth inhibition of hepatocellular carcinoma HepG2 cells, and its mechanism may be related to the inhibition of the protein expression of PCNA, Cyclin

收稿日期: 2019-01-04

基金项目: 重庆市卫生计生委中医药科技项目: 红藤联合脉通散外敷治疗恶性肿瘤下肢静脉血栓的临床研究 (ZY201702040)

作者简介: 陈 红 (1981—), 女, 硕士研究生, 副主任医师, 主要从事中西医结合肿瘤学方面的研究。

*通信作者 王 维 (1980—), 女, 博士研究生, 副主任医师, 主要从事中西医结合肿瘤学方面的研究。

D1, and CDK4 related to the expression levels of PCNA, Cyclin D1, and CDK4 in the inhibited cells.

Key words: *Sargentodoxa cuneata* (Oliv.) Rehd. et Wils.; extracts; 5-fluorouracil; HepG2 cells; growth inhibition; PCNA; Cyclin D1; CDK4

肝癌是我国发病率和死亡率较高的恶性肿瘤之一,严重危害着人们的健康和生命^[1]。肝癌发病隐匿,转移和侵袭能力强,给临床治疗带来巨大的困难^[2]。因此,寻找和研制以抑制肝癌细胞生长为切入点的新型抗肿瘤药物成为临床治疗肝癌的新思路。5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是治疗胃肠道恶性肿瘤、肝癌、卵巢癌、膀胱癌等常用的化疗药物^[3]。目前临床研究显示,5-FU 对肝癌抑制率的降低严重影响其治疗效果,且随着 5-FU 使用浓度的升高,其对患者的毒副作用越大^[4]。5-FU 联合中药治疗肝癌已得到广泛应用^[5-6],能够在同样剂量下减轻对患者的毒副作用,又能提高治疗效果。红藤 *Sargentodoxa cuneata* (Oliv.) Rehd. et Wils 又名大血藤,是木通科大血藤属落叶藤本植物大血藤的干燥根茎。研究显示红藤具有抗菌、消炎、活血、抗氧化、抗肿瘤等多种药理作用^[7-8]。红藤联合 5-FU 用于治疗肝癌的研究目前尚未报道,因此本研究对红藤提取物(*Sargentodoxa cuneata* extracts, SCE)联合 5-FU 抑制人肝癌 HepG2 细胞生长的作用及其作用机制进行初步探讨,以期为临床上应用红藤联合 5-FU 治疗肝癌提供实验依据。

1 材料

1.1 药材

红藤(批号 111571-201502),购于四川省新绿色药业科技发展有限公司,由重庆市肿瘤研究所中医肿瘤科主任医师李配富鉴定为木通科大血藤属落叶藤本植物大血藤 *Sargentodoxa cuneata* (Oliv.) Rehd. et Wils 的干燥根茎。

1.2 细胞

HepG2 细胞来自中国科学院上海生命科学院细胞库。

1.3 试剂

5-FU(批号 1210241,质量分数>99%,上海旭东海普药业有限公司);DMEM 高糖培养基(美国 Hyclone 公司);胎牛血清、胰蛋白酶、青霉素、链霉素(杭州四季青生物工程材料有限公司);噻唑蓝(美国 Amresco 公司);BCA 蛋白定量试剂盒(大连宝生物工程有限公司);ELC 发光检测试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司);增殖细胞核抗原(PCNA)、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)、细胞周

期依赖性蛋白激酶 4(CDK4)、GAPDH 抗体及二抗(美国 CST 公司)。

1.4 仪器

FLX800 型酶标免疫测定仪(美国 Bio-TEK 公司);FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司);JM-250 凝胶电泳装置(大连迈捷科贸有限公司);DYCP-40C 半干式转膜仪、WD-9413B 凝胶成像分析仪(北京六一仪器厂);CO₂ 细胞培养箱(美国杜邦公司)。

2 方法

2.1 药液配制及细胞培养

称取 500 g 粉碎后的红藤,并在 25 倍体积的蒸馏水中浸泡 30~60 min,100 ℃加热回流提取 2 次(每次 2 h),将滤液在减压 40 ℃进行合并并滤过、浓缩,制成质量浓度为 0.5 g/mL 的 SCE(主要含有红藤苷、红景天苷、大黄素、大黄素甲醚、类黄酮等成分),使用时以 DMEM 培养基稀释至所需质量浓度。HepG2 细胞采用含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 培养基(含 100 U/mL 青霉素和 0.1 g/L 链霉素)置于 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养。根据细胞生长状态更换新鲜的培养基,待细胞贴壁生长,取处于对数生长期的细胞用于实验。

2.2 MTT 法考察 SCE 对 HepG2 细胞增殖的影响

处于对数生长期的 HepG2 细胞,以 0.25%的胰蛋白酶消化,用 DMEM 培养基重悬细胞制成单细胞悬液,调整细胞密度,以 5×10^3 个/孔接种到 96 孔板,置于 37 ℃细胞培养箱中继续培养。待细胞贴壁后除去培养上清液,加入含不同质量浓度 SCE(0、10、20、40、80、160 mg/mL)的培养基,每个质量浓度设置 3 个复孔,置于 37 ℃培养箱中分别继续培养 24、48、72 h,在每孔细胞中加入质量浓度为 5 g/L 的 MTT 溶液 20 μ L,置培养箱中继续孵育 4 h,吸去培养上清液后每孔细胞中加入 150 μ L 二甲基亚砷,于微振荡仪上震荡反应 10 min,待沉淀完全溶解后在酶标仪 490 nm 处检测吸光度(A)值,实验重复 3 次。计算 SCE 对 HepG2 细胞的增殖抑制率。

$$\text{增殖抑制率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.3 MTT 法考察 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞增殖的影响

将 HepG2 细胞分为对照组、SCE(40 mg/L)组、5-FU(10 μ mol/L)组、联合用药(SCE 40 mg/L+5-FU

10 $\mu\text{mol/L}$ 组。细胞处理同“2.2”项下，在酶标仪 490 nm 处检测 A 值，实验重复 3 次。计算各组细胞增殖抑制率。

2.4 流式细胞仪检测细胞周期

取对数生长期的 HepG2 细胞接种到 96 孔板中，接种密度为 5×10^3 个/孔，置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱进行培养。将细胞分为对照组、SCE (40 mg/L) 组、5-FU (10 $\mu\text{mol/L}$) 组、联合用药 (SCE 40 mg/L + 5-FU 10 $\mu\text{mol/L}$) 组。加入对应药物后，每组细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱培养 24 h。胰蛋白酶消化，离心收集细胞，PBS 洗涤 2 次，预冷的 70% 乙醇于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下固定 24 h。离心后 1 mL PBS 重悬细胞，400 目滤网滤过，收集细胞。PI 染液 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光染色 30 min。采用流式细胞仪分析细胞周期。

2.5 Western blotting 法检测 HepG2 细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平

将对数生长期的 HepG2 细胞接种到 96 孔板中，接种密度为 5×10^3 个/孔，置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱进行培养，分组及处理同“2.4”项下。收集经药物处理 24 h 后的细胞，预冷的 PBS 洗涤 3 次，加入蛋白裂解液 400 μL ，置冰上裂解 30 min，提取各组细胞中总蛋白。蛋白上样缓冲液与蛋白以体积比为 5:1 混合，煮沸 10 min 使蛋白变性。采用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白，电泳结束后转印至硝酸纤维素膜上。用含 5% 脱脂奶粉的封闭液孵育 3 h，分别加入一抗 PCNA (1:500)、Cyclin D1 (1:1 000)、CDK4 (1:1 000) 进行杂交，4 $^{\circ}\text{C}$ 水平摇床上孵育过夜，TBST 洗涤 3 次，加入相应二抗 (1:3 000) 室温孵育 2 h，TBST 洗涤 3 次，采用 ECL 试剂盒发光显影。以凝胶成像仪拍照并用 Image J 图像分析软件分析各条带灰度值。以 GAPDH 为内参，计算各组细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白相对表达水平。

2.6 统计学分析

以 SPSS 21.0 统计学软件分析所得实验数据，数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，以单因素方差分析比较多组差异，以 SNK-q 检验比较组间差异，每组数据代表 3 个生物学重复。

3 结果

3.1 SCE 对 HepG2 细胞增殖的影响

以不同质量浓度的 SCE 干预 HepG2 细胞，经 MTT 检测细胞的增殖情况。结果见表 1，与对照组比较，不同质量浓度的 SCE 对 HepG2 细胞增殖均

有明显的抑制作用 ($P < 0.05$)。随着 SCE 质量浓度的增加，其对 HepG2 细胞增殖抑制率也逐渐上升，呈质量浓度依赖性。在同样质量浓度下，随着作用时间的延长，SCE 对 HepG2 细胞增殖抑制率亦逐渐升高，质量浓度为 80 mg/L 时，干预 24 h 的增殖抑制率已达 (50.04 ± 5.26)%，结合预试验中测得的 SCE 干预 24 h 时对 HepG2 细胞的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 48.59 mg/mL，为避免对细胞毒性作用，故选用 40 mg/mL 的 SCE 用于后续实验。

3.2 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞增殖的影响

结果见表 2，与对照组比较，SCE 组和 5-FU 组 HepG2 细胞增殖抑制率显著升高 ($P < 0.05$)。与 5-FU 组比较，联合用药组 HepG2 细胞增殖抑制率显著升高 ($P < 0.05$)。提示 SCE 和 5-FU 联合使用具有协同抑制细胞增殖的作用。

表 1 SCE 对 HepG2 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Effect of SCE on proliferation of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	$\rho/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	增殖抑制率/%		
		24 h	48 h	72 h
对照	—	0	0	0
SCE	10	$9.95 \pm 1.24^*$	$13.84 \pm 1.55^*$	$18.93 \pm 2.08^*$
	20	$19.75 \pm 2.28^*$	$25.26 \pm 2.88^*$	$33.21 \pm 2.81^*$
	40	$31.58 \pm 3.51^*$	$39.64 \pm 3.36^*$	$48.66 \pm 4.26^*$
	80	$50.04 \pm 5.26^*$	$58.08 \pm 5.76^*$	$65.07 \pm 5.97^*$
	160	$62.34 \pm 5.77^*$	$68.74 \pm 6.57^*$	$74.84 \pm 7.61^*$

与对照组比较: $^*P < 0.05$

$^*P < 0.05$ vs control group

表 2 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of SCE combined with 5-FU on HepG2 cell proliferation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	ρ 或 C	增殖抑制率/%
对照	—	0
SCE	40 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$31.82 \pm 3.42^*$
5-FU	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$34.03 \pm 2.54^*$
联合用药	40 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ + 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$64.38 \pm 5.86^{* \&}$

与对照组比较: $^*P < 0.05$; 与 5-FU 组比较: $^{\&}P < 0.05$, 下同

$^*P < 0.05$ vs control group; $^{\&}P < 0.05$ vs 5-FU group, same as below

3.3 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞周期的影响

结果见表 3，与对照组比较，SCE 和 5-FU 组 HepG2 细胞 G_0/G_1 期比例显著增多，S 期和 G_2/M 期比例显著减少 ($P < 0.05$)。与 5-FU 组比较，联

表 3 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Effect of SCE combined with 5-FU on HepG2 cell cycle ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	ρ 或 C	细胞比例/%		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照	—	34.18±3.85	28.61±2.04	37.21±2.51
SCE	40 mg·mL ⁻¹	51.67±4.19*	22.40±3.12*	25.93±2.32*
5-FU	10 μmol·L ⁻¹	57.58±3.54*	17.03±1.54*	25.39±2.52*
联合用药	40 mg·mL ⁻¹ +10 μmol·L ⁻¹	88.92±5.86 ^{&*}	8.15±0.86 ^{&*}	2.93±0.86 ^{&*}

合用药组 HepG2 细胞 G₀/G₁ 期比例显著升高, S 期和 G₂/M 期 HepG2 细胞比例显著降低 ($P < 0.05$)。提示 SCE 联合 5-FU 增强了对 HepG2 细胞细胞周期阻滞作用。

3.4 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平的影响

结果如图 1 和表 4 所示, 与对照组比较, SCE 和 5-FU 组细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。与 5-FU 组比较, 联

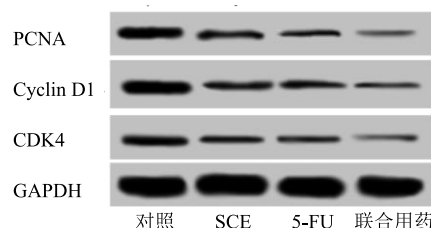


图 1 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平的影响

Fig. 1 Effects of SCE combined with 5-FU on protein expression of PCNA, Cyclin D1 and CDK4 in HepG2 cells

表 4 SCE 联合 5-FU 对 HepG2 细胞 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 4 Effects of SCE combined with 5-FU on protein expression of PCNA, Cyclin D1 and CDK4 in HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	ρ 或 C	蛋白相对表达量		
		PCNA	Cyclin D1	CDK4
对照	—	0.490±0.040	0.520±0.050	0.210±0.020
SCE	40 mg·mL ⁻¹	0.290±0.200*	0.230±0.030*	0.090±0.010*
5-FU	10 μmol·L ⁻¹	0.250±0.020*	0.210±0.020*	0.110±0.010*
联合用药	40 mg·mL ⁻¹ +10 μmol·L ⁻¹	0.020±0.003 ^{&*}	0.050±0.010 ^{&*}	0.020±0.010 ^{&*}

合用药组细胞 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。提示 SCE 联合 5-FU 增强了对 HepG2 细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达的抑制作用。

4 讨论

肝癌在我国属于高发性疾病, 其发病率和死亡率仅次于肺癌^[9]。肝癌的恶性程度高, 发展迅速, 早期症状不明显, 发现时多数已处中晚期, 已错过最佳手术时间。因此临床上针对中晚期肝癌主要以大剂量化疗及介入治疗为主。但肝癌患者本身对化疗不敏感且容易发生耐药性, 造成对化疗药物抵抗引起疗效降低^[10-11]。大剂量化疗药物的使用对肝癌患者造成较大的毒副作用, 因此寻找有效且低毒的治疗方法是肝癌治疗的主要研究方向。中药联合化疗药物是解决临床化疗药物耐药及缓解化疗药物毒

性的有效策略^[12-13]。红藤是一种重要的药用植物, 具有广泛的活血、清热解毒、祛风止痛等药理作用, 随着对其药理学功能的研究, 发现其有明显的抑瘤作用, 能够诱导肿瘤细胞凋亡, 明显抑制肿瘤生长及代谢^[14]。鲁平等^[15]研究发现红藤能够抑制胃腺癌细胞增殖, 调控细胞周期相关蛋白的表达, 调整细胞周期分布, 诱导细胞凋亡, 发挥抗胃腺癌的作用。刘涛等^[16]和王明华^[17]研究发现, 红藤脂酸钠及提取的单体红藤四萜大环内酯酸均能够抑制多种恶性肿瘤细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 抑制细胞生长。本实验通过 MTT 检测 SCE 对 HepG2 细胞增殖的影响, 发现 SCE 能够呈质量浓度依赖性地抑制 HepG2 细胞增殖。此外本实验通过流式细胞仪检测细胞周期, 结果显示 SCE 亦能减少 S 期和 G₂/M 期的 HepG2 细胞, 使细胞阻滞在 G₀/G₁ 期。以上实验结果提示

SCE 能够抑制 HepG2 细胞生长。

5-FU 及其衍生物是临床上广泛应用的抗代谢类药物,是肝癌、胃癌、结直肠癌、乳腺癌等一线化疗药物。5-FU 能够抑制肝癌细胞及肝癌干细胞的增殖、诱导细胞凋亡^[18-20]。本实验结果显示 5-FU 能够显著抑制 HepG2 细胞增殖,阻滞细胞周期。SCE 联合 5-FU 增强了对 HepG2 细胞增殖的抑制作用及细胞周期阻滞作用。后续实验将采用有等效线方法 isobologram 进一步探讨 SCE 和 5-FU 联合用药的增效作用。PCNA 是增殖细胞核抗原,研究发现 PCNA 与细胞 DNA 合成密切相关,可作为反映肿瘤细胞增殖状态的重要指标^[21]。Cyclin D1 是 G₁/S 期特异性周期蛋白,在进化上高度保守,其主要功能是促进细胞增殖,该蛋白受周期蛋白依赖性蛋白激酶(CDKs)的激活,其表达量的减少侧面反映细胞增殖能力减弱^[22-23]。5-FU 能够通过调控细胞周期蛋白 Cyclin D1、CDK2 和 CDK4 抑制细胞生长^[24]。本实验结果显示,单用 SCE 和 5-FU 及联合用药均能抑制 HepG2 细胞中 PCNA、Cyclin D1 及 CDK4 蛋白表达水平,且联合用药组中蛋白水平降低更显著,结合以上实验结果,说明 SCE 通过下调 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达水平增强 5-FU 对 HepG2 细胞生长的抑制作用。

综上,本实验结果显示 SCE 联合 5-FU 增强了对 HepG2 细胞生长的抑制作用,其作用机制可能与抑制细胞中 PCNA、Cyclin D1、CDK4 蛋白表达有关。为红藤用于肝癌的治疗提供一定的实验基础,为临床上联合用药治疗肝癌提供新思路。后续将通过荷瘤动物体内实验对结果加以证实。

参考文献

- [1] Qiu W Q, Shi J F, Guo L W, *et al.* Medical expenditure for liver cancer in urban China: A 10-year multicenter retrospective survey (2002—2011) [J]. *J Cancer Res Ther*, 2018, 14(1): 163-170.
- [2] Jiang E, Shangguan A J, Chen S, *et al.* The progress and prospects of routine prophylactic antiviral treatment in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2016, 379(2): 262-267.
- [3] 梁淑影, 王 峰, 王 珺, 等. 5-氟尿嘧啶血药浓度对替吉奥联合紫杉醇治疗晚期胃癌疗效的评估价值 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2017, 52(3): 339-343.
- [4] 程康文, 李 琪, 詹勇强, 等. 5-氟尿嘧啶对肝癌细胞株 PLC/RAF/5 生物学特性及耐药机制的影响 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(9): 1458-1463.
- [5] 武 超, 许杜娟, 杨 翠, 等. 黄芩皂苷 II 增加 5-氟尿嘧啶对人肝癌细胞株 HepG2 增殖抑制作用 [J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(1): 78-82.
- [6] Jimeno A, Machiels J P, Wirth L, *et al.* Phase Ib study of duligotuzumab (MEHD7945A) plus cisplatin/5-fluorouracil or carboplatin/paclitaxel for first-line treatment of recurrent/metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Cancer*, 2016, 122(24): 3803-3811.
- [7] 陈兆榕, 程晓平, 褚剑锋, 等. 红藤水提物活化 Nrf2 细胞信号通路促进抗氧化基因 HO-1 表达的研究 [J]. 康复学报, 2017, 27(4): 27-32.
- [8] Tang J, Qian Y, Li Q Q, *et al.* Cinnamic acid derivatives from the ethyl acetate fraction of *Sargentodoxa cuneata* [J]. *Chem Nat Comp*, 2012, 48(1): 118-119.
- [9] 韩 磊, 韩 涛, 赵 冲, 等. 我国原发性肝癌治疗理念的转变 [J]. 中国临床实用医学, 2017, 8(4): 1-2.
- [10] Li M, Bu W, Ren J, *et al.* Enhanced synergism of thermo-chemotherapy for liver cancer with magnetothermally responsive nanocarriers [J]. *Theranostics*, 2018, 8(3): 693-709.
- [11] Falkson G, Moertel C G, Lavin P, *et al.* Chemotherapy studies in primary liver cancer: A prospective randomized clinical trial [J]. *Cancer*, 2015, 42(5): 2149-2156.
- [12] 李银英, 陈成群, 张振中. 2-甲氧基雌二醇联合冬凌草甲素对胃癌 SGC-7901 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2016, 51(5): 602-606.
- [13] Liao Y H, Lin C C, Li T C, *et al.* Utilization pattern of traditional Chinese medicine for liver cancer patients in Taiwan [J]. *Bmc Complement Altern Med*, 2012, 12(1): 146-146.
- [14] 毕丽华, 武 刚, 田敬荣, 等. 红藤养胃汤对胃癌患者血清 MG7-Ag、TPS 及 OPN 水平的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(5): 943-946.
- [15] 鲁 平, 张小峰, 赵 阳. 红藤诱发胃腺癌细胞 MCGS03 凋亡的研究 [J]. 医学信息旬刊, 2011, 24(7): 219-220.
- [16] 刘 涛, 王执民, 韦建学. 红藤脂酸钠对人肝癌细胞系 SMMC-7721 体外抑瘤作用的实验研究 [J]. 介入放射学杂志, 2005, 14(4): 401-403.
- [17] 王明华. 红藤四萜大环内酯酸钠对肝癌的药效学及作用机制研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2011.
- [18] Peng Y C, Lu S D, Zhong J H, *et al.* Combination of 5-fluorouracil and 2-morpholino-8-phenyl-4H-chromen-4-one may inhibit liver cancer stem cell activity [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(8): 10943-10958.
- [19] Cheng M, Gao X, Wang Y, *et al.* Synthesis of glycyrrhetic acid-modified chitosan 5-fluorouracil

- nanoparticles and its inhibition of liver cancer characteristics *in vitro* and *in vivo* [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(9): 3517-3536.
- [20] 张继新, 庞志刚, 刘超, 等. 阿霉素、5-氟尿嘧啶联合热疗对 SMMC-7721 细胞增殖及凋亡的影响 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2014, 49(3): 365-367.
- [21] Zhao H, Ho P C, Lo Y H, *et al.* Interaction of proliferation cell nuclear antigen (PCNA) with c-Abl in cell proliferation and response to DNA damages in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29416.
- [22] Tao Y, Lin F, Li R, *et al.* Prolyl hydroxylase-2 inhibits liver tumor cell proliferation and cyclin D1 expression in a hydroxylase-dependent manner [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 77(Pt A): 129-140.
- [23] 李莉, 贾慧, 李保平, 等. 上皮性卵巢癌中 Let-7a 及其靶基因 HMGA2、Cyclin D1 的表达 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2017, 52(4): 398-402.
- [24] Liu Y, Wang X, Wang Y, *et al.* Combination of SNX-2112 with 5-FU exhibits antagonistic effect in esophageal cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(1): 299-307.