

紫草素抑制卵巢癌作用机制的研究进展

杲飞莹, 卢 丹*

扬州大学临床医学院 扬州大学转化医学研究中心 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室, 江苏 扬州 225000

摘要: 紫草为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* 或内蒙紫草 *A. guttata* 的干燥根,《中国药典》记载其具有清热凉血、活血解毒、透疹消斑的功效。紫草素是从紫草中提取出来的萘醌类化合物,目前,紫草素及其衍生物在各种癌症的治疗中被广泛研究。主要从机体的免疫系统、肿瘤细胞的侵袭和转移、肿瘤细胞凋亡、肿瘤细胞的有氧糖酵解及肿瘤细胞周期 5 个方面综述紫草素抑制卵巢癌作用机制的研究进展,为紫草素治疗卵巢癌的临床研究提供参考依据。

关键词: 紫草; 紫草素; 卵巢癌; 免疫系统; 细胞凋亡; 有氧糖酵解; 细胞周期

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)23-7358-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.23.031

Research progress on mechanism of shikonin inhibiting ovarian cancer

GAO Fei-ying, LU Dan

Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Senile Diseases, Translational Medicine Research Center of Yangzhou University, College of Clinical Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225000, China

Abstract: *Arnebiae Radix* are the dry roots of *Arnebia euchroma* from Xinjiang or *A. guttata* from Inner Mongolia with the efficacies of clearing heat and blood, activating blood and removing toxin, promoting eruption and dispersing speckle documented in *Chinese Pharmacopoeia*. Shikonin is a naphthoquinone compound extracted from the Chinese herb Comfrey. Currently, shikonin and its derivatives are widely studied in treatment of different types of cancer. Research progress on mechanism of shikonin inhibiting ovarian cancer from five aspects including body immune system, invasion and metastasis of tumor cells, apoptosis of tumor cells, aerobic glycolysis of tumor cells and tumor cell cycle are reviewed in this paper, in order to provide reference for clinical study of shikonin in treatment of ovarian cancer.

Key words: *Arnebiae Radix*; shikonin; ovarian cancer; immune system; cell apoptosis; aerobic glycolysis; cell cycle

卵巢癌是妇科常见的恶性肿瘤之一,具有较强的侵袭性,因卵巢癌初期病症不明显,致其早期确诊困难、预后差^[1-2]。目前,卵巢癌的主要治疗手段为手术治疗和辅助化疗^[3]。尽管目前手术技术、化疗药物及靶向治疗有较大进步,但大多数的卵巢癌患者还是会发展进入晚期或化疗药物耐受的阶段^[4]。因此,寻找新的肿瘤抑制药物或现有化疗药物的增敏剂来改善卵巢癌的治疗效果是非常必要的。

紫草为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston 或内蒙紫草 *A. guttata* Bunge 的干燥根,《中国药典》记载其具有清热凉血、活血解毒、透疹消斑的功效。紫草素是从紫草中提取的萘醌类

化合物,常用于血热毒盛、疮疡、湿疹、水火烫伤等疾病的治疗^[5]。现代研究进一步发现紫草有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化及促进创伤愈合等作用^[6]。大量研究表明从紫草根部分提取的萘醌类天然产物紫草素,对于不同种类的肿瘤细胞均具有明显的抗肿瘤活性,可以抑制其生长,诱导其凋亡^[7-10]。本文总结了近年来紫草素抑制卵巢癌作用机制的研究进展。

1 机体的免疫系统途径

癌症和免疫系统密切相关,由于癌细胞可以逃避体内机体的免疫监管,使得癌细胞在体内继续存活,所以增加机体对肿瘤的免疫能力是抗肿瘤的一种有效途径。树突状细胞是先天性免疫和适应性免

收稿日期: 2021-03-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82072088); 江苏省中医药局科技项目(YB201972); 江苏省研究生科研创新计划项目(KYCX21_3291)

作者简介: 杲飞莹(1994—),女,江苏扬州人,硕士研究生,研究方向为妇产科肿瘤。Tel: 18061158069 E-mail: Feiying_Gao@163.com

*通信作者: 卢 丹,硕士生导师,妇产科主任。E-mail: ludan1968@126.com

疫之间的细胞纽带，它们可以吸收肿瘤抗原，并对其进行处理。树突状细胞还充当癌症先天激活信号的传感器，这些信号是它们激活和有效启动癌症特异性 T 细胞的必要条件^[11]。因此树突状细胞的成熟有利于癌细胞的抗原呈递。

李红英等^[12]发现紫草素处理的人卵巢癌 HO-8910 细胞的凋亡率及钙网织蛋白表达率呈浓度相关性上升。首先，当人外周血液中的树突状细胞和浓度上升的钙网织蛋白一起培养时，可以使树突状细胞的 CD86 表达增加，说明高浓度的钙网织蛋白可以促进树突状细胞的成熟。其次，凋亡过程中钙网织蛋白移动到细胞膜表面，能为树突状细胞以及其他有吞噬能力的细胞提供吞噬信号^[13]。所以紫草素通过促进树突状细胞成熟，以及增加肿瘤细胞表面的树突状细胞识别信号，实现抗肿瘤的可能。

2 抑制肿瘤细胞的侵袭和转移

肿瘤细胞的侵袭和转移能力是恶性肿瘤与良性肿瘤的主要区别，通过减弱或消除其侵袭和转移能力可以降低肿瘤恶性程度。局部黏着斑激酶（focal adhesion kinase, FAK）和原癌基因酪氨酸蛋白激酶（proto-oncogene tyrosine protein kinase, Src）是卵巢癌细胞的调节蛋白，在促进肿瘤的发生和转移中起重要作用。其中 FAK 是调节肿瘤细胞分化、迁移、侵袭和血管生成的关键因素，Src 和 Src 家族则参与肿瘤细胞的生长和代谢功能，Src 和 FAK 的下调有利于肿瘤的恶性发展^[6,14-16]。上皮-间质转化是侵袭性肿瘤的另一个特征，其特征表现为上皮细胞钙黏蛋白表达降低，神经细胞钙黏蛋白表达增加，有助于基质定向细胞黏附与增强癌细胞运动和侵袭^[17]。

Hao 等^[18]发现紫草素对人卵巢癌 SKOV3 细胞的抑制作用呈浓度相关性上升，通过蛋白印迹实验证明卵巢癌细胞中的 Src 和 FAK 活性随着紫草素剂量的增加而下降，因此紫草素可以通过损害原癌基因 Src 和 FAK 的磷酸化，降低 FAK 和 Src 的活性和表达，从而抑制卵巢癌细胞的迁移和诱导细胞凋亡。Shilnikova 等^[19]通过蛋白印迹实验展示了紫草素处理的顺铂耐药组的卵巢癌细胞 A2780 可以通过上调上皮钙黏蛋白和下调神经钙黏蛋白，从而减弱上皮-间充质转变能力、抑制卵巢癌细胞的迁移作用，降低卵巢癌的恶性程度。

3 诱导肿瘤细胞凋亡途径

细胞凋亡是一种由多种信号分子有序调控的程序化死亡过程，是机体维持自身代谢有序进行的重

要过程，但肿瘤细胞在恶变过程中逐渐失去了凋亡能力，并持续恶性增生，因此诱导肿瘤细胞凋亡是抑制肿瘤生长的有效方法之一^[20]。

3.1 活性氧

细胞凋亡的内外途径都依赖于活性氧^[21]。外源性凋亡途径中，活性氧是 Fas 酪氨酸残基磷酸化所必需的，是与死亡域和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶（cysteinyI aspartate specific proteinase, Caspase）-8 相关的 Fas 相关蛋白的募集和诱导凋亡的信号^[22-25]。此外，转换酶抑制蛋白的泛素化和随后的降解需要活性氧来进一步增强 Fas 的激活^[26]。内源性途径中活性氧通过打开线粒体膜上渗透性转换孔道复合体，导致细胞色素 c 释放、凋亡小体形成和 Caspase 激活^[27]。因此活性氧是肿瘤细胞坏死性凋亡的“执行者”^[28]。紫草素可通过增加卵巢癌细胞内的活性氧，导致卵巢癌细胞的裂解及凋亡。

冯伟等^[29]通过活性氧荧光探针检测使用紫草素处理的卵巢癌细胞，发现卵巢癌细胞中的活性氧呈浓度相关性上升，被处理的卵巢癌细胞坏死细胞比例明显上升。卵巢癌细胞的坏死可能是由于细胞中产生的活性氧累积达到一定量使卵巢癌细胞的生长受到抑制，并引起卵巢癌细胞的裂解及死亡^[30]。Wang 等^[31]发现活性氧是紫草素联合紫杉醇使紫杉醇耐药卵巢癌 A2780/PTX 细胞凋亡的关键因素，流式细胞实验表明经紫草素或紫杉醇处理的 A2780、A2780/PTX 细胞中活性氧均略有增加，但无显著性差异。而联合紫草素和紫杉醇治疗后，A2780、A2780/PTX 细胞中活性氧显著增加，进一步的细胞活力、凋亡检测及蛋白印迹实验表明使用 N-乙酰半胱氨酸（一种活性氧清除剂）的预处理不能挽救紫草素与紫杉醇诱导的 A2780 细胞凋亡，然而在预处理的 A2780/PTX 细胞中紫草素与紫杉醇联合使用引起的细胞毒性、细胞凋亡明显减弱，说明紫草素联合紫杉醇处理的 A2780/PTX 细胞的凋亡主要通过活性氧作用，因此紫草素有作为 A2780/PTX 细胞化疗联合用药的可能。

3.2 凋亡相关蛋白

凋亡相关蛋白表达的改变是启动程序性死亡的重要因素。其中兔抗人单克隆蛋白（Bcl-2-associated X, Bax）、B 淋巴细胞瘤-2 基因（B-cell lymphoma-2, Bcl-2）蛋白和受体相互作用蛋白 3（receptor-interacting protein kinase 3, RIP3）是重要的凋亡调节因子。Bax 可以促进凋亡的发生，Bcl-2 可以抑制凋亡的发生，

Bcl-2/Bax 的比值是细胞凋亡的关键启动点^[32-33]。RIP3 的激活是 RIP1 与 RIP3 相结合,产生 RIP1/RIP3 复合物,从而启动经典的坏死凋亡途径^[34-35]。

冯伟等^[29]利用蛋白印迹实验表明紫草素处理的卵巢癌 A2780 和 SKOV3 细胞中 RIP1 和 RIP3 的表达较空白组显著上升,且呈浓度相关性增加。因此紫草素通过上调坏死性凋亡相关蛋白 RIP1 和 RIP3 的表达,增加 RIP1/RIP3 复合物,触发坏死性凋亡程序,从而诱导卵巢癌细胞的凋亡^[35]。此外,许静等^[36]通过蛋白印迹实验发现紫草素联合顺铂处理的细胞中 Bcl-2 的蛋白水平比顺铂组显著下降, Bax 蛋白表达比顺铂组上升。张洁等^[37]发现不同浓度 β -羟基异戊酰紫草素处理 24 h 后的 SKOV3 细胞内 Bax 蛋白的表达水平上升, Bcl-2 的表达受到抑制,紫草素联合顺铂组 Bax 表达上升, Bcl-2 表达降低,与单用顺铂有明显差异。Shilnikova 等^[19]也发现紫草素可以使 Bcl-2 的表达减少, Bax 表达增加,并且激活 Caspase,使 Caspase-9、3 的表达水平上升。王汝兴等^[38]利用流式细胞术表明 SKOV3 细胞的凋亡与紫草素的浓度呈正相关,且凋亡相关蛋白 Bax 的表达与紫草素的浓度也成正相关,而 Bcl-2 表达与紫草素的浓度呈负相关。郑金花等^[39]通过透射电镜观察到予以紫草素处理的 A2780 细胞中出现凋亡小体以及细胞坏死和凋亡的其他特征,并进行免疫组化实验发现 Bcl-2 表达的下降。因此紫草素诱导卵巢癌细胞凋亡是由凋亡相关蛋白启动的。

4 抑制肿瘤细胞的有氧糖酵解途径

肿瘤细胞比正常非增殖细胞表现出更高的有氧糖酵解。从氧化磷酸化到有氧糖酵解的代谢转换是肿瘤细胞的主要特征,也是肿瘤细胞保持快速生长和转移的关键^[40-41]。丙酮酸激酶同工酶 2 (pyruvate kinase isozyme type M2, PKM2) 是调节糖酵解和氧化磷酸化的关键酶,且可以被紫草素抑制表达水平^[42-43]。

Chao 等^[44]通过反转录-聚合酶链反应和蛋白印迹实验证明卵巢癌细胞 IOSE、CP70 和 SKOV3 细胞系中 PKM2 均过表达。紫草素处理的卵巢癌细胞中 PKM2 表达水平下降,且卵巢癌细胞的葡萄糖消耗显著降低,乳酸产量也下降。因此紫草素是 PKM2 的抑制剂,可以干扰有氧糖酵解。利用 Seahorse XF24 细胞能量代谢分析仪检测卵巢癌细胞的细胞外酸化率 (extracellular acidification rate, ECAR) 和耗氧率,卵巢癌细胞经紫草素处理后 ECAR 先出现暂时性代偿性增加而后显著下降,而耗氧率逐渐下

降。说明紫草素可以抑制卵巢癌细胞的糖酵解,从而抑制其增殖、迁移和集落形成能力。Wang 等^[31]在同时予以 A2780/PTX 细胞紫草素 0、1、2 $\mu\text{mol/L}$ 处理 2.5 h 后,利用蛋白印迹法检测 A2780/PTX 细胞中 PKM2 的表达,结果显示不同浓度的紫草素都明显抑制了 PKM2 的表达,而紫杉醇则没有作用。且与单独使用紫草素相比,联合使用紫草素和紫杉醇更大程度上抑制 PKM2。上述研究表明紫草素可能通过抑制卵巢癌细胞的有氧糖酵解,使其代谢受到影响,从而促使其凋亡。

紫草素可以与 PKM2、PKM1 及丙酮酸激酶-L (pyruvate kinase-L, PKL) 相结合,但在紫草素对 PKM2 活性的抑制率超过 50% 时,对 PKM1 及 PKL 没有抑制作用,说明紫草素对 PKM2 具有选择性,但缺乏特异性,通过改造紫草素的化学结构,以增加其对 PKM2 的特异性,可作为未来研究的方向之一^[43,45]。

5 调节肿瘤细胞周期

正常细胞中周期蛋白可与周期蛋白激酶形成复合物,使细胞周期由 G_0/G_1 期进入 S 期进行 DNA 分子的复制,该过程受到周期蛋白依赖性激酶抑制剂的反向调控。大多数肿瘤细胞失去 G_1/S 期检测点的调控,因此细胞周期 G_1/S 转换点是整个细胞周期的调控的关键^[46-48]。卵巢癌化疗药物的作用是使肿瘤细胞的细胞周期停止在 G_1/S 期,从而抑制肿瘤增殖。多数卵巢癌患者最终进入化疗药物耐受的阶段,即化疗药物对肿瘤细胞周期的阻滞作用减弱。

Wang 等^[31]使用 CompuSyn 软件分析紫草素联合紫杉醇处理卵巢癌细胞的结果显示,对紫杉醇敏感的 A2780 细胞,作用效果表现为相加和拮抗,而对于耐药的 A2780 细胞则表现为协同作用,说明紫草素可以增强紫杉醇对于 A2780/PTX 细胞的凋亡作用。许静等^[36]利用无毒剂量的紫草素预处理顺铂耐药细胞之后,顺铂耐药细胞对顺铂的敏感性明显上升。通过蛋白印迹实验发现紫草素联合顺铂处理组细胞的切割型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cleaved cysteine-dependent aspartate-specific proteases, cleaved Caspase-3) 及 P18 的蛋白表达比顺铂组上升, p-Rb/Rb、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1) 及细胞周期蛋白依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2) 的蛋白水平比顺铂组显著下降。说明紫草素可以上调顺铂耐药的卵巢癌细胞的凋亡关键蛋白 cleaved Caspase-3 及 CDK 抑制因子 P18 的表达,使癌细胞中的周期蛋白表达下降,从而抑制癌细胞生

长。袁建华等^[49]用蛋白印迹检测也证明紫草素组细胞中 Cyclin D1 蛋白表达水平明显下降, Bax 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平明显上升。

与化疗不同, 放疗最敏感的细胞周期是 G₂/M 期, 放疗后肿瘤细胞的 DNA 损伤, 使细胞周期阻滞在 G₂/M 期, 明显的 G₂/M 期阻滞不利于放疗^[46,50]。樊涛等^[51]通过流式细胞术实验表明紫草素组 G₂/M 期的细胞所占比例无显著差异; 放射组 G₂/M 期的细胞所占比例显著增加; 紫草素与放射线共同处理

组 G₂/M 期的细胞所占比例在紫草素与放射线组之间, 均有明显差异。说明紫草素可以降低射线对卵巢癌细胞周期的阻滞作用, 从而提高放疗的效果。

低浓度的紫草素对肿瘤细胞没有毒性作用, 其联合放疗或化疗药物后可以使原本耐药的肿瘤细胞的敏感性提升, 使原本耐药的肿瘤细胞再次得到抑制, 因此紫草素是具有很大潜力的放疗或化疗药物增敏剂。

紫草素抑制卵巢癌细胞的信号通路见图 1。

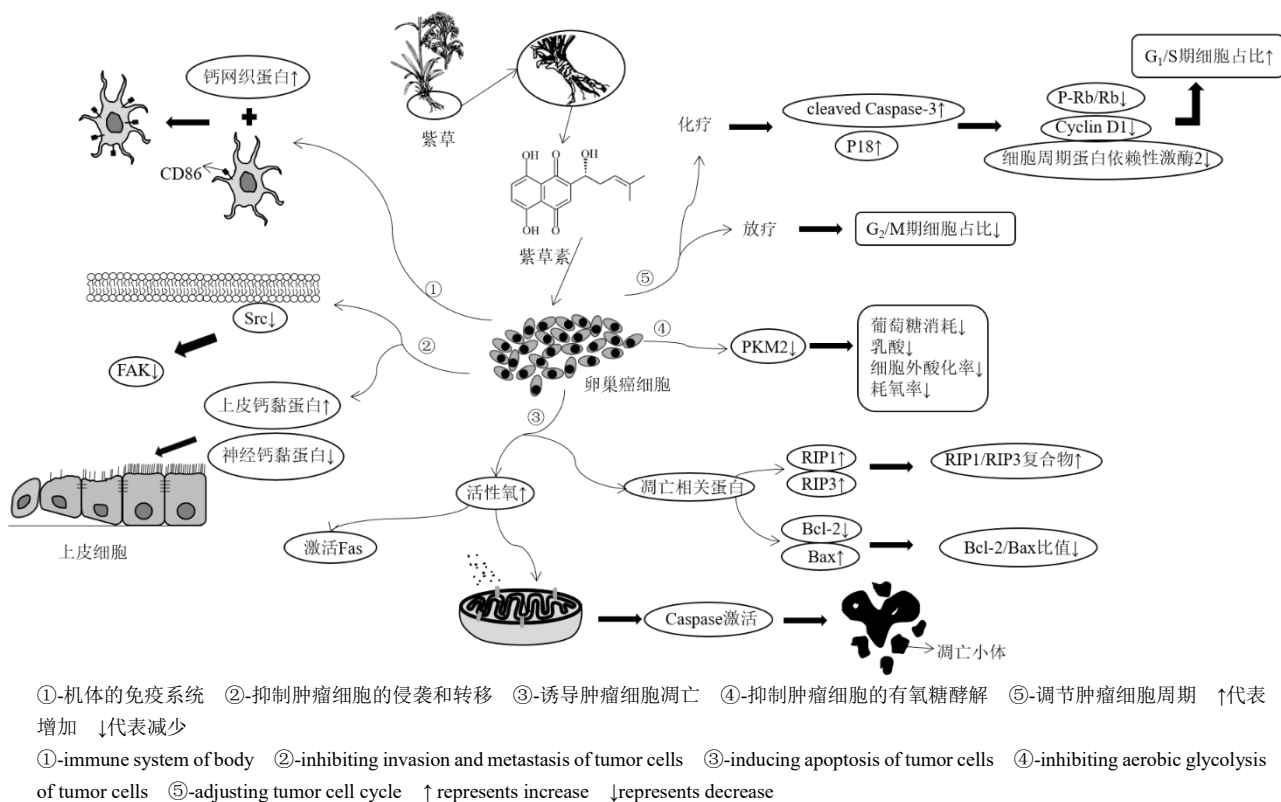


图 1 紫草素抑制卵巢癌细胞的信号通路图

Fig. 1 Signaling pathway of shikonin inhibiting ovarian cancer cells

6 结语与展望

现阶段紫草素的研究主要在细胞阶段, 通过检测卵巢癌细胞内的各种蛋白及分子表达水平, 探索紫草素诱导卵巢癌细胞凋亡、抑制迁移及增殖的机制。目前的研究表明紫草素具有单独治疗卵巢癌的可能, 也具有成为现有放疗或化疗药物增敏剂的可能^[29,43,51]。动物实验发现紫草素可以显著减小异体种植的卵巢肿瘤的体积, 且在可以抑制卵巢癌细胞的浓度下紫草素对于正常的卵巢细胞及其他组织、器官无明显细胞毒性^[29,44,52]。除使用紫草素单独或联合药物处理卵巢癌外, 还可以通过改良萘茜环制备新的紫草素衍生物, 使其对肿瘤细胞或组织具有

特异性^[53-55]。紫草素对于卵巢癌细胞的抑制作用十分有意义, 为未来卵巢癌的治疗提供了新的选择。但目前紫草素对于卵巢癌的体内研究较少, 需要更多实验数据, 使紫草素向临床应用发展, 充分发挥中药的力量, 使紫草素在卵巢癌的治疗中发挥实质性的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods [J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(8): 1941-1953.

- [2] Suh D H, Kim M, Kim H J, *et al.* Major clinical research advances in gynecologic cancer in 2015 [J]. *J Gynecol Oncol*, 2016, 27(6): e53.
- [3] Ffrench B, Gasch C, O'Leary J J, *et al.* Developing ovarian cancer stem cell models: Laying the pipeline from discovery to clinical intervention [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 262.
- [4] DeSantis C E, Lin C C, Mariotto A B, *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2014 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(4): 252-271.
- [5] 2020 年版《中国药典》正式发布 [J]. 现代中药研究与实践, 2020, 34(4): 14.
- [6] Pedrosa A R, Bodrug N, Gomez-Escudero J, *et al.* Tumor angiogenesis is differentially regulated by phosphorylation of endothelial cell focal adhesion kinase tyrosines-397 and -861 [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(17): 4371-4386.
- [7] Kim D K, Seo E J, Choi E J, *et al.* Crucial role of HMGA1 in the self-renewal and drug resistance of ovarian cancer stem cells [J]. *Exp Mol Med*, 2016, 48: e255.
- [8] Huang W R, Zhang Y, Tang X. Shikonin inhibits the proliferation of human lens epithelial cells by inducing apoptosis through ROS and caspase-dependent pathway [J]. *Molecules*, 2014, 19(6): 7785-7797.
- [9] Li W, Liu J, Jackson K, *et al.* Sensitizing the therapeutic efficacy of taxol with shikonin in human breast cancer cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94079.
- [10] Jang S Y, Jang E H, Jeong S Y, *et al.* Shikonin inhibits the growth of human prostate cancer cells via modulation of the androgen receptor [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(5): 1455-1460.
- [11] Vatner R E, Janssen E M. STING, DCs and the link between innate and adaptive tumor immunity [J]. *Mol Immunol*, 2019, 110: 13-23.
- [12] 李红英, 陈红霞, 汪蕾. 紫草素诱导卵巢癌细胞表达钙网织蛋白促进 DC 成熟的研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(5): 472-474.
- [13] Sukkurwala A Q, Martins I, Wang Y, *et al.* Immunogenic calreticulin exposure occurs through a phylogenetically conserved stress pathway involving the chemokine CXCL8 [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(1): 59-68.
- [14] Ying H, Lin F, Ding R L, *et al.* Extracellular vesicles carrying miR-193a derived from mesenchymal stem cells impede cell proliferation, migration and invasion of colon cancer by downregulating FAK [J]. *Exp Cell Res*, 2020, 394(2): 112144.
- [15] Kleinschmidt E G, Schlaepfer D D. Focal adhesion kinase signaling in unexpected places [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2017, 45: 24-30.
- [16] Wheeler D L, Iida M, Dunn E F. The role of Src in solid tumors [J]. *Oncologist*, 2009, 14(7): 667-678.
- [17] Christiansen J J, Rajasekaran A K. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(17): 8319-8326.
- [18] Hao Z, Qian J, Yang J. Shikonin induces apoptosis and inhibits migration of ovarian carcinoma cells by inhibiting the phosphorylation of Src and FAK [J]. *Oncol Lett* 2015, 9(2):629-633.
- [19] Shilnikova K, Piao M J, Kang K A, *et al.* Shikonin induces mitochondria-mediated apoptosis and attenuates epithelial-mesenchymal transition in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5417-5424.
- [20] Hanson B. Necroptosis: A new way of dying? [J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(9): 899-910.
- [21] Ozben T. Oxidative stress and apoptosis: Impact on cancer therapy [J]. *J Pharm Sci*, 2007, 96(9): 2181-2196.
- [22] Denning T L, Takaishi H, Crowe S E, *et al.* Oxidative stress induces the expression of Fas and Fas ligand and apoptosis in murine intestinal epithelial cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, 33(12): 1641-1650.
- [23] Medan D, Wang L Y, Toledo D, *et al.* Regulation of Fas (CD95)-induced apoptotic and necrotic cell death by reactive oxygen species in macrophages [J]. *J Cell Physiol*, 2005, 203(1): 78-84.
- [24] Reinehr R, Becker S, Eberle A, *et al.* Involvement of NADPH oxidase isoforms and Src family kinases in CD95-dependent hepatocyte apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(29): 27179-27194.
- [25] Uchikura K, Wada T, Hoshino S, *et al.* Lipopolysaccharides induced increases in Fas ligand expression by Kupffer cells via mechanisms dependent on reactive oxygen species [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 287(3): G620-G626.
- [26] Wang X F, Zhang J S, Xu T W. Cyclophosphamide as a potent inhibitor of tumor thioredoxin reductase *in vivo* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2007, 218(1): 88-95.
- [27] Martindale J L, Holbrook N J. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival [J]. *J Cell Physiol*, 2002, 192(1): 1-15.
- [28] Dasgupta A, Nomura M, Shuck R, *et al.* Cancer's Achilles' heel: Apoptosis and necroptosis to the rescue [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 18(1): E23.
- [29] 冯伟, 马建文, 饶梅冬. 紫草素诱导卵巢癌 SKOV3 和 A2780 细胞坏死性凋亡的作用及其机制研究 [J]. 中国药业, 2019, 28(1): 19-23.

- [30] Gupta S C, Hevia D, Patchva S, *et al.* Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: The roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 16(11): 1295-1322.
- [31] Wang Z, Yin J H, Li M X, *et al.* Combination of shikonin with paclitaxel overcomes multidrug resistance in human ovarian carcinoma cells in a P-gp-independent manner through enhanced ROS generation [J]. *Chin Med*, 2019, 14: 7.
- [32] Ou L L, Lin S Q, Song B, *et al.* The mechanisms of graphene-based materials-induced programmed cell death: A review of apoptosis, autophagy, and programmed necrosis [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 6633-6646.
- [33] Shirali S, Aghaei M, Shabani M, *et al.* Adenosine induces cell cycle arrest and apoptosis via cyclinD1/Cdk4 and Bcl-2/Bax pathways in human ovarian cancer cell line OVCAR-3 [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(2): 1085-1095.
- [34] Lu B, Wang Z Q, Ding Y, *et al.* RIP1 and RIP3 contribute to shikonin-induced glycolysis suppression in glioma cells via increase of intracellular hydrogen peroxide [J]. *Cancer Lett*, 2018, 425: 31-42.
- [35] Xie T, Peng W, Yan C, *et al.* Structural insights into RIP3-mediated necroptotic signaling [J]. *Cell Rep*, 2013, 5(1): 70-78.
- [36] 许静, 郭哲, 王秋宇, 等. 紫草素对卵巢癌细胞 SKOV3/DDP 顺铂耐药的逆转作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(9): 1616-1621.
- [37] 张洁, 沈敏鹤, 阮善明. β -羟基异戊酰紫草素联合顺铂对 SKOV3 细胞活力的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(8): 987-990.
- [38] 王汝兴, 鲁艳杰, 周健, 等. 紫草素对人卵巢癌细胞 SKOV3 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 76-79.
- [39] 郑金花, 吕艺, 胡欣姝, 等. 紫草素对卵巢癌 A2780 细胞的凋亡诱导作用及机制的研究[J]. 世界最新医学信息文摘: 电子版, 2014(2): 133-134.
- [40] Lunt S Y, Vander Heiden M G. Aerobic glycolysis: Meeting the metabolic requirements of cell proliferation [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2011, 27: 441-464.
- [41] Christofk H R, Vander Heiden M G, Wu N, *et al.* Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein [J]. *Nature*, 2008, 452(7184): 181-186.
- [42] Anastasiou D, Yu Y M, Israelsen W J, *et al.* Pyruvate kinase M2 activators promote tetramer formation and suppress tumorigenesis [J]. *Nat Chem Biol*, 2012, 8(10): 839-847.
- [43] Chen J, Xie J, Jiang Z, *et al.* Shikonin and its analogs inhibit cancer cell glycolysis by targeting tumor pyruvate kinase-M2 [J]. *Oncogene*, 2011, 30(42): 4297-4306.
- [44] Chao T K, Huang T S, Liao Y P, *et al.* Pyruvate kinase M2 is a poor prognostic marker of and a therapeutic target in ovarian cancer [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0182166.
- [45] Li W J, Liu J, Zhao Y F. PKM2 inhibitor shikonin suppresses TPA-induced mitochondrial malfunction and proliferation of skin epidermal JB6 cells [J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53(5): 403-412.
- [46] Luo Y J, Chen X, Luo L M, *et al.* 6-Gingerol enhances the radiosensitivity of gastric cancer via G₂/M phase arrest and apoptosis induction [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(5): 2252-2260.
- [47] Fan Y, Wang L, Han X C, *et al.* Upregulation of Fas in epithelial ovarian cancer reverses the development of resistance to cisplatin [J]. *BMB Rep*, 2015, 48(1): 30-35.
- [48] Wang W, Zhao Y, Yao S J, *et al.* Nigericin inhibits epithelial ovarian cancer metastasis by suppressing the cell cycle and epithelial-mesenchymal transition [J]. *Biochemistry*, 2017, 82(8): 933-941.
- [49] 袁建华, 杨亚运, 王蕊. 紫草素通过调控 PI3K/Akt 信号通路对卵巢癌 HO-8910 细胞周期及凋亡的影响 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2019(02): 189-194.
- [50] Wang L, Xia Y, Chen T, *et al.* Sanyang Xuedai enhances the radiosensitivity of human non-small cell lung cancer cells via increasing iNOS/NO production [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 618-625.
- [51] 樊涛, 郭彦伟, 任金山, 等. 紫草素对卵巢癌细胞株 SKOV3 放疗敏感性的影响及相关机制研究 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(4): 641-645.
- [52] He X, Du S, Lei T, *et al.* PKM2 in carcinogenesis and oncotherapy [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(66): 110656-110670.
- [53] 陈静, 侯尧, 伍春莲. 紫草素及其衍生物抗妇科肿瘤作用研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(14): 3814-3820.
- [54] Zhang S D, Gao Q, Li W, *et al.* Shikonin inhibits cancer cell cycling by targeting Cdc25s [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 20.
- [55] Zhang X, Cui J H, Zhou W, *et al.* Design, synthesis and anticancer activity of shikonin and alkannin derivatives with different substituents on the naphthazarin scaffold [J]. *Chem Res Chin Univ*, 2015, 31(3): 394-400.

[责任编辑 崔艳丽]