

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.11.007

❖ 临床研究 ❖

# 车叶草苷通过内质网应激促进胰腺癌细胞凋亡的机制研究

曹龄之<sup>1</sup>, 付国旭<sup>2</sup>, 陈飞<sup>1</sup>, 李素平<sup>1</sup>, 杨凡慧<sup>1</sup>

(1. 川北医学院附属医院核医学科, 四川 南充 637000; 2. 绵阳市第三人民医院核医学科, 四川 绵阳 621000)

**【摘要】目的:** 探讨车叶草苷(ASP)通过内质网应激(ERS)诱导胰腺癌(PC)细胞凋亡的机制。**方法:** 选取人胰腺癌 PANC-1 细胞作为研究对象。将 PANC-1 细胞按照随机数字表法分为 4 组, 分别为对照组、ASP 组、ERS 抑制剂 4-苯基丁酸(4-Phenylbutyric acid, 4-PBA)组和 ASP + 4-PBA 组。采用 CCK-8 检测细胞增殖情况, 采用流式细胞术检测细胞凋亡情况, Transwell 法检测细胞迁移, 蛋白质印迹法检测细胞中活化转录因子 6(ATF6)、C/EBP 环腺苷酸反应元件结合转录因子同源蛋白(CHOP)、活化的半胱氨酸蛋白酶 3(cleaved-caspase 3)、蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK)及肌醇依赖性激酶 1 $\alpha$  磷酸化蛋白(p-IRE1 $\alpha$ )相对表达水平。**结果:** 随着 ASP 浓度的增加, PANC-1 细胞增殖率呈下降趋势。与对照组相比, ASP 组迁移细胞数量降低, 细胞凋亡率增加, ATF6、CHOP、cleaved-caspase-3、PERK 及 p-IRE1 $\alpha$  蛋白相对表达水平上升, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 ASP 组相比, ASP + 4-PBA 组细胞迁移数量增多、细胞凋亡率下降( $P < 0.05$ ), ATF6、CHOP、cleaved-caspase-3、PERK 及 p-IRE1 $\alpha$  蛋白相对表达水平下降, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:** ASP 能够从细胞增殖、迁移、凋亡三个方面降低胰腺癌细胞活性, 其作用机制可能与激活 ERS 有关。

**【关键词】** 胰腺癌; 车叶草苷; 内质网应激; 细胞凋亡

**【中图分类号】** R735.9 **【文献标志码】** A

## Study on apoptosis of pancreatic cancer cells induced by asperuloside through endoplasmic reticulum stress

CAO Ling-zhi<sup>1</sup>, FU Guo-xu<sup>2</sup>, CHEN Fei<sup>1</sup>, LI Su-ping<sup>1</sup>, YANG Fan-hui<sup>1</sup>

(Department of Nuclear Medicine, 1. Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000; 2. The Third Hospital of Mianyang, Mianyang 621000, Sichuan, China)

**【Abstract】Objective:** To investigate the mechanism of apoptosis in pancreatic cancer (PC) cells induced by Asperuloside (ASP) through endoplasmic reticulum stress (ERS). **Methods:** Human pancreatic cancer PANC-1 cells were selected as the study subjects. PANC-1 cells were divided into four groups: control group (conventional culture), ASP group, ERS inhibitor 4-Phenylbutyric acid group (4-PBA group) and ASP + 4-PBA group according to the random number table methods. Cell proliferation was detected by cell counting kit-8 (CCK-8), apoptosis was detected by flow cytometry, migration was measured by Transwell, and activating transcription factor 6 (ATF6), C/EBP homologous protein (CHOP), cleaved-caspase-3, protein kinase-like ER kinase (PERK) and p-IRE1 $\alpha$  protein relative expression levels were detected by Western blot. **Results:** The proliferation rate of PANC-1 cells decreased with the increase of ASP concentration. Compared with the control group, the number of migrating and invading cells decreased, the apoptosis rate increased, and the relative expression levels of ATF6, CHOP, cleaved-caspase-3, PERK and p-IRE1 $\alpha$  proteins increased in the ASP group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Compared with the ASP group, the ASP + 4-PBA group showed an increase in cell migration and a decrease in cell apoptosis rate ( $P < 0.05$ ). The relative expression level of ATF6, CHOP, cleared caspase-3, PERK, and p-IRE1 $\alpha$  proteins decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** ASP can reduce the activity of PANC-1 cells from the aspects of cell proliferation, migration and apoptosis, and its mechanism may be related to the activation of ERS.

**【Key words】** Pancreatic cancer; Asperuloside; Endoplasmic reticulum stress; Apoptosis

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是最常见的消化道恶性肿瘤之一, 发病率居全球第 14 位, 5 年生存率 < 10%<sup>[1]</sup>, 是全世界亟待解决的健康难题之一。胰腺癌早期临床症状不明显, 大部分患者在确诊时

已处于癌症晚期, 无法进行手术治疗。目前, 化疗是治疗晚期胰腺癌的主要方法之一, 但长期的化疗药物使用具有耐药性和不良反应, 影响患者预后。因此, 开发新型药物是临床上治疗 PC 的主要趋势。

基金项目: 四川省科技厅健康重大专项(2022ZDZX0023); 四川省科技厅项目(2021YJ0515); 四川省医学会项目(Q22046)

作者简介: 曹龄之(1986-), 女, 硕士, 主治医师。E-mail: clz\_8888@163.com

通讯作者: 杨凡慧。E-mail: yangfanhui2018@gmail.com

白花蛇舌草是传统的中草药,具有广谱抗癌作用,对 PC 具有良好的辅助治疗效果,可显著改善 PC 患者的存活率。同时,可通过激活或抑制炎症信号通路,抑制原癌基因的表达,抑制细胞增殖等机制<sup>[2-5]</sup>,对白血病、肺癌、肝癌、恶性黑色素瘤、卵巢癌、结直肠癌等不同类型的肿瘤细胞具有明显的抑制作用<sup>[6]</sup>。车叶草苷(asperuloside, ASP)是从白花蛇舌草中分离得到的一种环烯醚萜苷,在抗病毒、抗疟疾、抗肿瘤、抗肥胖、抗炎和免疫调节方面具有良好的药理活性<sup>[7-9]</sup>。目前研究<sup>[10-14]</sup>发现,触发 ERS 是化疗药物诱导癌细胞凋亡的常见途径之一。本研究将 ASP 作用于人胰腺癌 PANC-1 细胞,探索 ASP 对人胰腺癌 PANC-1 细胞的作用和可能机制。

## 1 材料与仪器

### 1.1 细胞与试剂

人胰腺癌 PANC-1 细胞株购自普诺赛生物(Procell)。ASP(上海源叶生物,质量分数 98%, Z30S9B71533),二甲基亚砷(DMSO)(Sigma 公司, SHBL0852), PANC-1 专用培养基(Procell 公司, WHO1112104XP),胰酶(含 EDTA)细胞消化液(上海源培生物科技有限公司, H120802),胰酶(EDTA)细胞消化液(安徽博美生物科技有限责任公司, BMB1127),胎牛血清(Gibco 公司, 1027-106),内质网抑制剂 4-苯基丁酸钠盐(4-PBA)(上海麦克林生化科技有限公司, C11876079), CCK-8 (Biosharp, 70091000), 结晶紫(Solarbio, 822S044), 乙醇(成都市科龙化工试剂厂, 20210223), Matrigel 基底胶(CORNING, 97011), Annexin V-APC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(凯基生物科技有限公司, 20210526), PBS 缓冲液干粉(上海远慕生物科技有限公司, 201224A18)。

活化转录因子 6(activating transcription factor 6, ATF6)兔多克隆抗体(24169-1-AP), C/BEP 环腺苷酸反应元件结合转录因子同源蛋白(C/EBP Homologous Protein, CHOP)兔多克隆抗体(15204-1-AP), 蛋白激酶 R 样内质网激酶(protein kinase-like ER kinase, PERK)和磷酸化的 PERK(p-PERK)兔多克隆抗体(A24390-1-AP, 29546-1-AP)均购自 proteintech 公司; cleaved-caspase-3 兔多克隆抗体(AF6311, AF7022)购自 AFFinity 公司; R1 抑制核转录因子- $\kappa$ B 抑制蛋白  $\alpha$ (p-IRE1 $\alpha$ )兔多克隆抗体(PA5-117222)购自赛默飞公司;  $\beta$ -actin 兔单克隆抗体(AC026)购自 abclonal, 生物素化山羊抗兔 IgG(H+L)(ab6721)购自 abcam 公司。

### 1.2 仪器与设备

DM11 倒置生物显微镜购自 LEICA, TDZ4-WS 型号台式低速离心机购自长沙湘仪离心机仪器有限

公司, MCO-15AC 型二氧化碳培养箱购自三洋电机国际贸易有限公司, SW-CJ-2F 洁净工作台购自苏净集团苏州安泰空气技术有限公司, SYQ-DSX-280B 压力蒸汽灭菌器购自上海宜川仪表厂, HH-1 水浴锅购自金坛市荣华仪器制造有限公司, UPH- II -10T 优谱超纯水制造系统购自成都超纯科技有限公司, spectra max PLUS 384 酶标仪购自 Molecular Devices, cytoflex 流式细胞分析仪购自 Beckman, 化学发光仪购自天能公司。

### 1.3 方法

1.3.1 细胞培养与分组 PANC-1 细胞复苏后培养于含 10% 胎牛血清的 PANC-1 专用培养基中,并置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 和 95% O<sub>2</sub> 湿化环境中无菌培养,密度约为 80% ~ 90% 时, PBS 洗涤, 使用孵温的胰酶消化, 传代。处于对数期的 PANC-1 细胞作为对照组, PANC-1 细胞中加入 ASP 记为 ASP 组, PANC-1 细胞中加入 5 mmol/L 4-PBA 记为 4-PBA 组, PANC-1 细胞中加入 4-PBA 和 ASP 记为 ASP + 4-PBA 组。4-PBA 组和 ASP + 4-PBA 组在添加 ASP 前 5 mmol/L 4-PBA 预处理 2 h。

1.3.2 CCK-8 法检测各组细胞活力 取对数生长期的 PANC-1 细胞, PBS 洗涤, 胰蛋白酶消化后收集, 250 G 离心 5 min, 调节细胞密度为 5 × 10<sup>4</sup> 个/mL, 100  $\mu$ L/孔接种于 96 孔板中(边缘孔用无菌 PBS 填充), 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养。待贴壁后按加入含不同终浓度的 ASP(1、2、3、4、5 mmol/L)新鲜培养液培养 24 h。每组设 4 个复孔。同时设空白组(加入等量的培养液)和对照组, 待药物作用后吸去上清液, 每孔加入已稀释的 CCK-8 工作液 110  $\mu$ L, 轻轻晃动培养板数次, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温孵育 2 h。采用酶标仪测定 450 nm 波长处各孔的吸光度, 计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率 = [1 - (实验组 OD - 调零组 OD)/(对照组 OD - 调零组 OD)] × 100%。并选取抑制率为 50% 时对应的 ASP 浓度作为后续处理浓度。

1.3.3 Transwell 实验检测各组细胞迁移能力 将各组 PANC-1 细胞密度调节至 5 × 10<sup>5</sup> 个/mL, 在 24 孔板底部加入 700  $\mu$ L 含 15% FBS 的完全培养基后, 将 Transwell 小室放入板中。在 Transwell 小室中加入 200  $\mu$ L 的细胞悬液, 于孵箱中培养 15 h。用镊子小心取出小室, 吸干上室液体, 移到预先加入约 800  $\mu$ L 预冷乙醇的孔中, 室温固定 30 min 后, 吸干上下室固定液, 加入适量 0.1% 结晶紫染液, 室温染色 30 min。PBS 冲洗浸泡数次, 取出小室, 吸去上室液体, 用湿棉棒小心擦去上室底部膜表面上的细胞和染液, 适当风干后镜下拍照计数。

1.3.4 Annexin V-APC/PI 检测各组细胞凋亡情况 取对数生长期的 PANC-1 细胞, 配制成单细胞悬液,

调节细胞密度为  $2 \times 10^5$  个/孔, 2 mL/孔接种于 6 孔板中,  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  恒温培养过夜。然后加入不同浓度药物处理细胞后培养 48 h。收集细胞, 250 g 离心 5 min, 弃上清, PBS 重悬后获得悬浮细胞。加入 5  $\mu\text{L}$  Annexin V-APC 和 5  $\mu\text{L}$  PI 轻轻混匀, 室温避光培养 15 min。流式细胞仪进行检测分析。

**1.3.5 Western blot 检测各组细胞 ATF6, CHOP, cleaved-caspase-3, PERK 和 p-IRE1 $\alpha$  蛋白相对表达情况** 收集各组细胞, 冰 PBS 洗涤两次后, 在 RIPA 缓冲液中裂解, 匀浆 30 min,  $4^\circ\text{C}$  下 1 500 g 离心 5 min。采用 BCA 法检测上清液中蛋白浓度。在 12% SDS-PAGE 中进行电泳, 上样量为 30  $\mu\text{g}$ 。电泳结束后, 将不同的目的片段转至 PVDF 膜上, 在用 TBST 缓冲液稀释的 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h。在 PVDF 膜中分别加入 ATF6 (1:1 000)、CHOP (1:1 000)、cleaved-caspase-3 (1:1 000)、PERK (1:1 000)、p-IRE1 $\alpha$  (1:3 000) 和  $\beta$ -actin (1:100 000) 一抗,  $4^\circ\text{C}$  下孵育过夜。用 TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min。将 PVDF 膜放入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:5 000) 中, 摇床上轻摇, 室温孵育 2~3 h。TBST 冲洗 3 次, 每次 10 min。ECL 显影液显色, 凝胶成像仪上进行目的蛋白条带光密度值计算。目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白积分光密度值/内参积分光密度值。

#### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行数据分析。采用 Graphpad prism 8.0 进行作图。计量资料均采用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用独立样本  $t$  检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD- $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ASP 对 PANC-1 细胞增殖的影响

随着 ASP 浓度的增加, PANC-1 细胞增殖抑制率增加, ASP 浓度与细胞的增殖抑制率正相关 ( $P < 0.01$ ), 说明 ASP 浓度越高, 对 PANC-1 细胞的增殖抑制作用越强。见图 1。

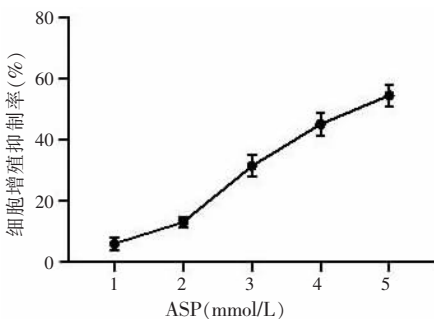


图 1 ASP 对 PANC-1 细胞增殖的影响

### 2.2 ASP 对 PANC-1 细胞迁移能力的影响

与对照组相比, ASP 组的 PANC-1 细胞迁移数

量明显降低 ( $P < 0.05$ ); 4-PBA 组与对照组的细胞迁移数量无统计学差异; 与 ASP 组相比, ASP + 4-PBA 组细胞迁移数量增多 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

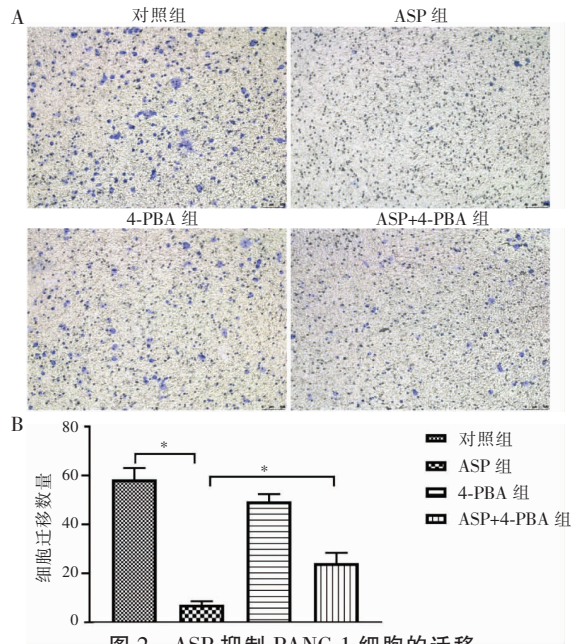


图 2 ASP 抑制 PANC-1 细胞的迁移

A. Transwell 法检测 ASP 对 PANC-1 细胞迁移能力的影响 (结晶紫染色 100 $\times$ ); B. ASP 对 PANC-1 细胞迁移数量的影响。\* $P < 0.05$ 。

### 2.3 ASP 对 PANC-1 细胞凋亡率的影响

与对照组相比, ASP 组的细胞凋亡率明显增加 ( $P < 0.05$ )。4-PBA 组与对照组的细胞凋亡率无明显差异; 与 ASP 组相比, ASP + 4-PBA 组细胞凋亡率下降 ( $P < 0.05$ )。见图 3。

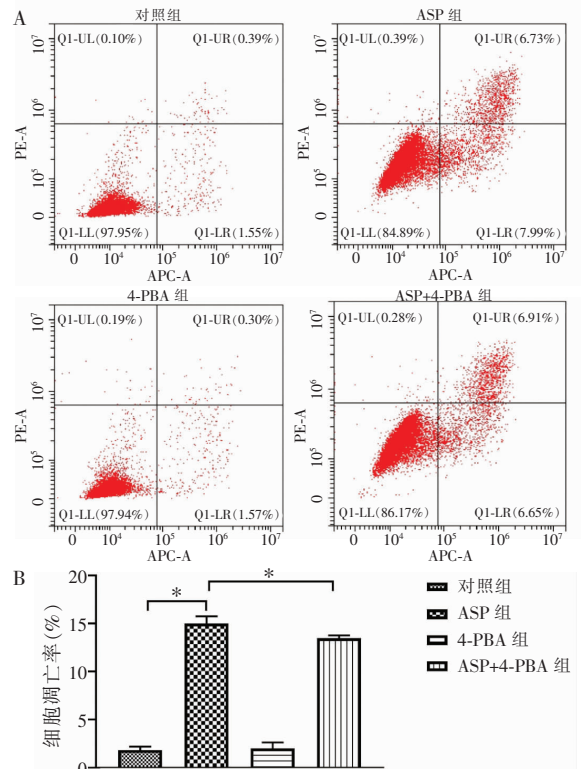


图 3 ASP 对 PANC-1 细胞凋亡情况的影响

A. 流式细胞术测定 PANC-1 细胞凋亡; B. ASP 对 PANC-1 细胞凋亡的影响。\* $P < 0.05$ 。

## 2.4 ASP 对 PANC-1 细胞 ERS 相关蛋白表达情况的影响

检测各组细胞 ATF6, CHOP, cleaved-caspase-3, PERK 和 p-IRE1 $\alpha$  蛋白表达情况。结果发现,与对照组相比,ASP 组 PANC-1 细胞的 ATF6, CHOP,

cleaved-caspase-3, PERK 和 p-IRE1 $\alpha$  蛋白相对表达量增加,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 ASP 组相比,ASP + 4-PBA 组 PANC-1 细胞的 ATF6, CHOP, cleaved-caspase-3, PERK 和 p-IRE1 $\alpha$  蛋白相对表达下降,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

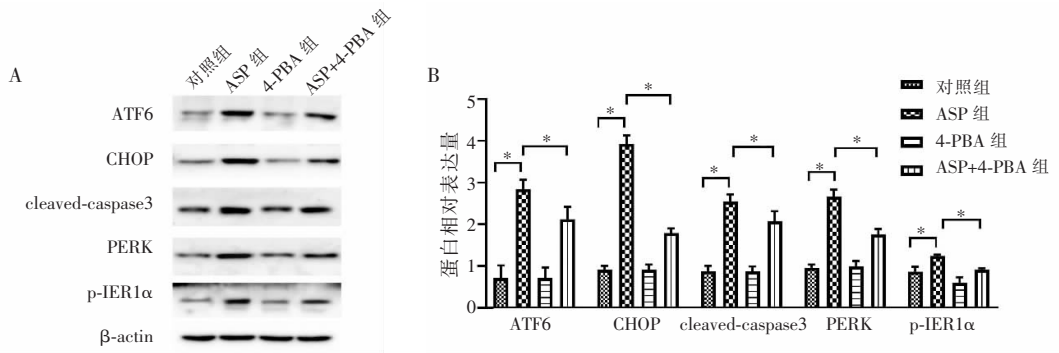


图 4 ASP 对 PANC-1 细胞相关蛋白表达情况的影响  
A. Western blot 检测相关蛋白条带图; B. 各蛋白相对表达量。\* $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

PC 是最具侵袭性的癌症之一,由于其早期症状不明显,确诊时已处于晚期,错过最佳手术时间。同时,由于化疗产生的耐药性,导致所有临床分期患者的 5 年相对生存率仅为 6%,预后极差<sup>[15]</sup>。自 2000 年以来,其发病率和死亡率分别以每年以 1% 和 0.3% 的速度缓慢上升<sup>[1]</sup>。因此,新型药物的开发,是改善 PC 患者预后的重要手段。

与传统化疗药物相比,植物化学物质产生的生物活性化合物常表现出强大的疾病治疗特性,且具有较少的不良反应。研究<sup>[16]</sup>发现,白花蛇舌草是 PC 患者中药补充治疗时最常用的一种单一草药,可有效降低 PC 患者死亡率,其机制可能与抑制 Sonic hedgehog 信号通路从而抑制肿瘤血管生成有关;刘晓卉等<sup>[17]</sup>发现,白花蛇舌草浓缩液可能通过 PKM 靶点显著抑制胰腺癌细胞的糖酵解过程和增殖。而 ASP 是白花蛇舌草的主要成分,并广泛存在于杜仲科、茜草科如拉拉藤属、巴戟天属等植物中<sup>[18]</sup>,因此本研究将 ASP 作用于人胰腺癌 PANC-1 细胞,探讨 ASP 对于 PANC-1 细胞的作用。结果发现,与对照组比较,ASP 能够抑制 PANC-1 细胞增殖,且 ASP 浓度与细胞的增殖抑制率呈正相关,ASP 能够降低细胞迁移能力和促使细胞凋亡,即 ASP 能够从细胞增殖、迁移、凋亡三个方面降低 PANC-1 细胞活性。实验还发现与对照组比较,ASP 组的 ERS 蛋白 ATF6, CHOP, cleaved-caspase-3, PERK 和 p-IRE1 $\alpha$  表达明显增加,说明 ASP 可能通过激活 ERS 发挥降低 PANC-1 细胞活性的作用。为了验证这一结论的科

学性,我们使用了 ERS 抑制剂 4-PBA,设置了 4-PBA 组和 4-PBA + ASP 组,结果发现,ERS 被抑制后,ASP 降低 PANC-1 细胞活性的作用是减弱的,进一步提示 ASP 可能通过激活 ERS 发挥抑制 PANC-1 细胞活性的作用。

内质网是蛋白质合成、折叠和修饰、脂质合成和钙储存的重要细胞器<sup>[19]</sup>。当内源性或外源性刺激导致内质网合成的蛋白质折叠功能障碍时,大量未折叠或错误折叠的蛋白质聚集在内质网腔内,引起一系列后续反应,称为 ERS。如果 ERS 持续,未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 不足以清除积累的未折叠和错误折叠的蛋白时,UPR 信号通路将会驱动细胞凋亡<sup>[20]</sup>。García 等<sup>[21]</sup>发现,从活化的人中性粒细胞或死亡细胞释放的中性粒细胞精氨酸酶-1 可通过 ERS 途径诱导癌细胞凋亡,在 PC、乳腺癌、卵巢癌和肺癌细胞可表现出最高的敏感性。Shen 等<sup>[22]</sup>对胰腺癌细胞的研究发现,其分泌的外泌体可被 T 淋巴细胞吸收后激活 p38 MAPK,诱导 ERS 从而介导 T 淋巴细胞凋亡,最终导致免疫抑制。本研究发现,ASP 能够从细胞增殖、迁移、凋亡三个方面降低 PANC-1 细胞活性,还发现 ASP 组的 ERS 相关蛋白表达明显增加,说明 ASP 可能通过激活 ERS 发挥降低 PANC-1 细胞活性的作用;而 ERS 被抑制后,ASP 降低 PANC-1 细胞活性的作用是减弱的,进一步说明 ASP 降低 PANC-1 细胞活性的作用与 ERS 具有相关性。

UPR 是可传递内质网腔中蛋白折叠状态信息,从而增加蛋白质折叠能力,降低未折叠蛋白负荷的信号途径<sup>[23]</sup>。ATF6 是内质网膜上的关键传感蛋

白,可协调 UPR,帮助细胞适应 ERS<sup>[24]</sup>。研究<sup>[25-26]</sup>发现,ATF6 可介导 UPR 信号通路参与非甾体抗炎药诱导的细胞凋亡,并通过促进炎症参与慢性胰腺炎的进展。同时,ATF6 上调可能是 PC 患者预后不良的有效指标<sup>[27]</sup>。PERK 是 ERS 的主要转导物和中枢调节因子,可通过与自身下游分子相互作用形成通路,参与调节细胞功能<sup>[28]</sup>。IRE1 是一种内质网跨膜蛋白,可通过内质网腔应激敏感结构域监控内质网稳态,并通过细胞质激酶结构域和 RNase 结构域触发 UPR<sup>[24]</sup>。PERK 与 IRE1 均参与胰腺癌细胞的凋亡<sup>[29]</sup>。ERS 可被 ATF6 通路,PERK 通路和 IRE1 通路 3 个信号通路激活<sup>[30]</sup>。正常状态下,ATF6、PERK 和 IRE1 蛋白处于不活跃状态。但当内质网发生应激时,PERK 和 IRE1 通过自身磷酸化被激活,启动 UPR 并调控下游转录因子,从而诱导细胞凋亡<sup>[31-32]</sup>。而 CHOP 是 ERS 下游最重要的促凋亡转录因子。当 ERS 诱导细胞凋亡时,CHOP 的累积增加,从而控制其下游蛋白的表达来调节细胞死亡。本研究发现,ASP 处理后,PANC-1 细胞 ATF6,PERK,p-IRE1 $\alpha$  和 CHOP 蛋白表达上调,提示 ASP 可通过增加 ERS 相关蛋白 ATF6,CHOP,PERK 和 p-IRE1 $\alpha$  的表达,激活 ERS,从而发挥降低 PANC-1 细胞活性的作用。

Caspase 是一组以天冬氨酸为底物的半胱氨酸蛋白酶家族,在细胞凋亡过程中起关键作用,其家族高表达可诱发细胞凋亡的发生,caspase-3 为其核心成员<sup>[33]</sup>。Caspase-3 通常以无活性的 caspase-3 前体存在。研究表明,当细胞受到凋亡信号激活或外界有害物质刺激时,caspase-3 前体可转变为有活性的 caspase-3,即 cleaved-caspase-3,从而参与细胞凋亡的发生<sup>[34]</sup>。本研究发现,ASP 组的 cleaved-caspase-3 表达是明显上调的,说明 ASP 降低 PANC-1 细胞活性的作用可能也与 cleaved-caspase-3 相关,但 cleaved-caspase-3 与 ERS 是否具有关联性目前还不明确,需要进一步的实验研究。

综上,ASP 能够从细胞增殖、迁移、凋亡三个方面降低 PANC-1 细胞活性,其机制可能与激活 ERS 有关。

## 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, *et al.* Cancer statistics, 2021 [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] 陈智,林圣云,李建新,等. 白花蛇舌草乙醇提取物体外诱导人 AML-M2 白血病细胞凋亡机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(17): 2067-2072.
- [3] 孙海鹏,马山,庄贺,等. 黄芪-白花蛇舌草抑制肺癌 A549 细胞增殖机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(19): 28-35.
- [4] 汪增秀,吴卫锋. 白花蛇舌草有效成分对人肝癌细胞生长影响及相关机制 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(21): 4838-4841.
- [5] 刘莹,张世超. 基于网络药理学的白花蛇舌草-半枝莲抗肿瘤作用机制研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(8): 27-31.
- [6] Zhao C, Wei M, Zheng Y, *et al.* The analyses of chemical components from *Oldenlandia hedyotide* (DC.) hand.-mazz and anticancer effects in vitro [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 624296.
- [7] Manzione MG, Martorell M, Sharopov F, *et al.* Phytochemical and pharmacological properties of asperuloside, a systematic review [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 883: 173344.
- [8] Chan Y, Ng SW, Tan JZX, *et al.* Emerging therapeutic potential of the iridoid molecule, asperuloside: a snapshot of its underlying molecular mechanisms [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2020, 315: 108911.
- [9] Zhao C, Wei M, Zheng Y, *et al.* The analyses of chemical components from *Oldenlandia hedyotide* (DC.) hand.-mazz and anticancer effects in vitro [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 624296.
- [10] Chao R, Wu W, Tian YH. Asperuloside exhibits a novel anti-leukemic activity by triggering ER stress-regulated apoptosis via targeting GRP78 [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2020, 125: 109819.
- [11] Lin L, Cheng K, Xie Z, *et al.* Purification and characterization a polysaccharide from *Hedyotis diffusa* and its apoptosis inducing activity toward human lung cancer cell line A549 [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 122: 64-71.
- [12] Li YL, Zhang J, Min D, *et al.* Anticancer effects of 1,3-dihydroxy-2-methylanthraquinone and the ethyl acetate fraction of *Hedyotis diffusa* willd against HepG2 carcinoma cells mediated via apoptosis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0151502.
- [13] Ling B, Michel D, Sakharkar MK, *et al.* Evaluating the cytotoxic effects of the water extracts of four anticancer herbs against human malignant melanoma cells [J]. *Drug Design, Development and Therapy*, 2016, 10: 3563-3572.
- [14] Zhang L, Zhang J, Qi B, *et al.* The anti-tumor effect and bioactive phytochemicals of *Hedyotis diffusa* willd on ovarian cancer cells [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 192: 132-139.
- [15] Siegel R, Ma J, Zou Z, *et al.* Cancer statistics, 2014 [J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2014, 64(1): 9-29.
- [16] Kuo YT, Liao HH, Chiang JH, *et al.* Complementary Chinese herbal medicine therapy improves survival of patients with pancreatic cancer in Taiwan: a nationwide population-based cohort study [J]. *Integrative Cancer Therapies*, 2018, 17(2): 411-422.
- [17] 刘晓卉,詹盛,林秀坤,等. 白花蛇舌草、半枝莲及其药对配伍对人胰腺癌 Panc28 细胞及人肝癌 Bel7402 细胞葡萄糖摄取能力及乳酸水平的影响 [J]. 中医杂志, 2020, 61(10): 890-895.
- [18] 翟学佳,吕永宁. HPLC 法同时测定白花蛇舌草中 7 种活性成分的含量 [J]. 中国药师, 2016, 19(1): 70-72, 81.
- [19] Shi P, Zhang Z, Xu J, *et al.* Endoplasmic reticulum stress? induced cell death as a potential mechanism for targeted therapy in glioblastoma (Review) [J]. *International Journal of Oncology*, 2021, 59(2): 60.
- [20] Song M, Cubillos-Ruiz JR. Endoplasmic reticulum stress responses

- in intratumoral immune cells: implications for cancer immunotherapy[J]. Trends in Immunology, 2019, 40(2): 128 - 141.
- [21] Garcia-Navas R, Gajate C, Mollinedo F. Neutrophils drive endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in cancer cells through arginase-1 release[J]. Scientific Reports, 2021, 11: 12574.
- [22] Shen T, Huang Z, Shi C, et al. Pancreatic cancer-derived exosomes induce apoptosis of T lymphocytes through the p38 MAPK-mediated endoplasmic reticulum stress[J]. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 2020, 34(6): 8442 - 8458.
- [23] Hetz C, Martinon F, Rodriguez D, et al. The unfolded protein response: integrating stress signals through the stress sensor IRE1 $\alpha$  [J]. Physiological Reviews, 2011, 91(4): 1219 - 1243.
- [24] Wang M, Kaufman RJ. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease [J]. Nature, 2016, 529(7586): 326 - 335.
- [25] Tsutsumi S, Gotoh T, Tomisato W, et al. Endoplasmic reticulum stress response is involved in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced apoptosis[J]. Cell Death & Differentiation, 2004, 11(9): 1009 - 1016.
- [26] Zhou L, Tan JH, Cao RC, et al. ATF6 regulates the development of chronic pancreatitis by inducing p53-mediated apoptosis[J]. Cell Death & Disease, 2019, 10: 662.
- [27] Xiao W, Cao RC, Yang WJ, et al. Roles and clinical significances of ATF6, EMC6, and APAF1 in prognosis of pancreatic cancer [J]. Frontiers in Genetics, 2022, 12: 730847.
- [28] Koo JH, Lee HJ, Kim W, et al. Endoplasmic reticulum stress in hepatic stellate cells promotes liver fibrosis via PERK-mediated degradation of HNRNP1 and up-regulation of SMAD2[J]. Gastroenterology, 2016, 150(1): 181 - 193. e8.
- [29] Lee S, Hong E, Jo E, et al. Gossypol induces apoptosis of human pancreatic cancer cells via CHOP/endoplasmic reticulum stress signaling pathway[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022, 32(5): 645 - 656.
- [30] Li Y, Li G, Suo L, et al. Recent advances in studies of molecular hydrogen in the treatment of pancreatitis[J]. Life Sciences, 2021, 264: 118641.
- [31] Qi Z, Chen L. Endoplasmic reticulum stress and autophagy [M]// Qin ZH. Autophagy: Biology and Diseases. Singapore: Springer, 2019: 167 - 177.
- [32] Oakes SA. Endoplasmic reticulum stress signaling in cancer cells [J]. The American Journal of Pathology, 2020, 190(5): 934 - 946.
- [33] Fan TJ, Han LH, Cong RS, et al. Caspase family proteases and apoptosis[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2005, 37(11): 719 - 727.
- [34] Brentnall M, Rodriguez-Menocal L, De Guevara RL, et al. Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis[J]. BMC Cell Biology, 2013, 14: 32.
- (收稿日期: 2023 - 06 - 20 修回日期: 2023 - 07 - 16)

(上接第 1454 页)

- [24] Wijlemans JW, de Greef M, Schubert G, et al. Intrapleural fluid infusion for MR-guided high-intensity focused ultrasound ablation in the liver dome[J]. Academic Radiology, 2014, 21(12): 1597 - 1602.
- [25] Zhang L, Zhu H, Jin C, et al. High-intensity focused ultrasound (HIFU): effective and safe therapy for hepatocellular carcinoma adjacent to major hepatic veins[J]. European Radiology, 2009, 19(2): 437 - 445.
- [26] Tsang SH, Ma KW, She WH, et al. High-intensity focused ultrasound ablation of liver tumors in difficult locations[J]. International Journal of Hyperthermia: the Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group, 2021, 38(2): 56 - 64.
- [27] Huppert P, Wenzel T, Wietholtz H. Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) of colorectal cancer liver metastases by irinotecan-eluting microspheres in a salvage patient population[J]. Cardiovascular and Interventional Radiology, 2014, 37(1): 154 - 164.
- [28] Yang T, Ng DM, Du N, et al. HIFU for the treatment of difficult colorectal liver metastases with unsuitable indications for resection and radiofrequency ablation: a phase I clinical trial[J]. Surgical Endoscopy, 2021, 35(5): 2306 - 2315.
- [29] Ji Y, Zhu J, Zhu L, et al. High-intensity focused ultrasound ablation for unresectable primary and metastatic liver cancer: real-world research in a Chinese tertiary center with 275 cases[J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10: 519164.
- [30] Li JJ, Xu GL, Gu MF, et al. Complications of high intensity focused ultrasound in patients with recurrent and metastatic abdominal tumors[J]. World Journal of Gastroenterology, 2007, 13(19): 2747 - 2751.
- [31] 杨武威, 尉承泽. 肝细胞肝癌的微创消融治疗[J]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2012, 1(2): 132 - 137.
- [32] Chen X, Ma Y, Zhang J, et al. Evaluating the long-term survival benefits of high intensity focused ultrasound ablation for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: a single center retrospective study[J]. International Journal of Hyperthermia: the Official Journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group, 2022, 39(1): 1245 - 1253.
- (收稿日期: 2023 - 06 - 13 修回日期: 2023 - 07 - 08)