

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.08.006

· 基础研究 ·

大蓍麻提取物对乳腺癌细胞恶性生物学行为的影响及其可能的机制

季文媛^{1,2}, 魏少荫³, 刘炜⁴ (1. 首都医科大学附属北京世纪坛医院 药剂科, 北京 100038; 2. 临床合理用药北京市重点实验室, 北京 100038; 3. 首都医科大学 化学生物学与药学院, 北京 100069; 4. 首都医科大学附属北京佑安医院 药学部, 北京 100069)

[摘要] **目的:** 探讨大蓍麻提取物对乳腺癌细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响, 并初步探讨其可能的作用机制。 **方法:** 用不同质量浓度的大蓍麻提取物(0、1、2、4、8、16、32、64 mg/ml)处理乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 24 h, MTT 法检测细胞增殖活力, 选择中位抑制浓度附近的浓度(5 和 10 mg/ml)作为给药浓度分别处理 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞 24 h 后, 平板克隆形成实验和流式细胞术分别检测大蓍麻提取物对乳腺癌细胞增殖、周期和凋亡的影响, WB 法检测对细胞周期和凋亡相关蛋白以及 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白表达的影响。在 MCF-7 细胞用 5 mg/ml 大蓍麻提取物处理的同时转染过表达 AKT 质粒(大蓍麻+AKT 组), 转染空载质粒为对照组(大蓍麻+vec 组), WB 法检测过表达效率, 比较过表达 AKT 对细胞增殖、周期和凋亡的影响。 **结果:** 各大蓍麻提取物处理组 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞增殖活力均显著低于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与对照组比较, 5 或 10 mg/ml 大蓍麻处理组乳腺癌细胞的克隆形成数显著减少, G₀/G₁ 期细胞占比和凋亡率显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$), P21、BAX 蛋白表达显著升高而 Cyclin D1、CDK4、Bcl2 蛋白以及 p-PI3K、p-AKT 蛋白表达显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。大蓍麻+AKT 组 p-AKT 和 AKT 蛋白表达显著高于大蓍麻+vec 组, 克隆数、S 期和 G₂/M 期细胞占比均高于大蓍麻+vec 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$), G₀/G₁ 期细胞占比和凋亡率低于大蓍麻+vec 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。 **结论:** 大蓍麻提取物可以抑制乳腺癌细胞增殖、促进凋亡且阻滞细胞在 G₀/G₁ 期, 其作用机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路相关。

[关键词] 大蓍麻提取物; 乳腺癌; MCF-7 细胞; MDA-MB-231 细胞; 增殖; 凋亡; PI3K/AKT 信号通路

[中图分类号] R737.9; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)08-0803-07

Effects of *Urtica dioica* extract on malignant biological behaviors of breast cancer cells and its possible mechanism

Ji Wenyan^{1,2}, Wei Shaoyin³, Liu Wei⁴ (1. Department of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China; 2. Beijing Key Laboratory of Bio-characteristic Profiling for Evaluation of Rational Drug Use, Beijing 100038, China; 3. College of Pharmacy and Chemical Biology, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 4. Department of Pharmacy, Beijing You An Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of *Urtica dioica* extract on the proliferation, apoptosis, and cell cycle of breast cancer cells, and to primarily explore the possible mechanism. **Methods:** Breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells were treated with different concentrations of *Urtica dioica* extract (0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 mg/ml) for 24 h, and the cell viability was detected by MTT. The concentrations around the median inhibitory concentration, which were 5 and 10 mg/ml, were selected to treat MCF-7 and MDA-MB-231 cells for 24 h, respectively. Plate clone formation assay was applied to detect cell proliferation, Flow cytometry was used to detect cell cycle and apoptosis, and WB was used to determine the expression of cell cycle and apoptosis-related proteins as well as PI3K/AKT signaling pathway-related proteins. AKT was simultaneously overexpressed in MCF-7 cells that were treated with 5 mg/ml *Urtica dioica* extract (*Urtica*+AKT group), and the cells transfected with empty vectors was used as control group (*Urtica*+vec group). The overexpression efficiency was detected by WB, and the effects of AKT overexpression on cell proliferation, cell cycle, and apoptosis were explored. **Results:** The viability of MCF-7 and MDA-MB-231 cells in each *Urtica* treated group was significantly lower than that in the control group ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the control group, the number of clone formation of breast cancer cells was significantly reduced, while the proportion of cells in the G₀/G₁ phase and the apoptosis rate were significantly increased in the 5 or

[基金项目] 北京市卫生科技发展专项基金资助项目(No. 2017-1-230)。Project supported by the Beijing Health Science and Technology Development Special Fund (No. 2017-1-230)

[作者简介] 季文媛(1989—), 女, 主管药师, 主要从事临床药学、药理学和抗肿瘤药物的研究, E-mail: ekf789@163.com

[通信作者] 刘炜(LIU Wei, corresponding author), 硕士, 主任药师, 主要从事药剂学的研究, E-mail: liuwei8090@126.com

10 mg/ml *Urtica* treatment groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$); in addition, the protein expression of P21 and Bax was significantly increased, while the protein expression of Cyclin D1, CDK4, Bcl2, p-PI3K and p-AKT was significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in *Urtica* treatment groups. The protein expression of p-AKT and AKT in the *Urtica*+AKT group was significantly higher than that in the *Urtica*+vec group, and the number of clone formation and proportion of cells in the S phase and G2/M phase were higher than that in the *Urtica*+vec group, and the proportion of cells in the G0/G1 phase and the apoptosis rate were lower than that in the *Urtica*+vec group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** The *Urtica dioica* extract can inhibit the proliferation and promote the apoptosis of breast cancer cells, and block the cells at G0/G1 phase, the mechanism of which may be related to the inhibition of PI3K/AKT signaling pathway.

[Key words] *Urtica dioica* extract; breast cancer; MCF-7 cell; MDA-MB-231 cell; proliferation; apoptosis; PI3K/AKT signaling pathway
[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(8): 803-809. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.08.006]

乳腺癌是发生在乳腺腺上皮组织的恶性肿瘤, 据报道^[1-2], 中国女性恶性肿瘤中, 乳腺癌的发病率、病死率均高居首位。乳腺癌的发病机制尚不清楚, 临床上多选择放疗、化疗等肿瘤通用疗法进行治疗, 虽然可有效延长患者的生存期, 但存在较多不良反应且对于复发及转移患者治疗效果不佳^[3-4]。大荨麻 (*Urtica dioica*) 自古以来一直被用作药用植物, 具有止血、消炎、治疗糖尿病以及提高免疫力等作用^[5]。近年来的报道显示, 大荨麻提取物具有多种生物学作用, 如抑制病毒糖代谢^[6]、抑制NF- κ B的活性^[7]以及治疗某些消化系统疾病^[8], 但是中国关于大荨麻对于肿瘤的作用却鲜有研究和报道。曾有研究^[9]发现, 大荨麻提取物可能通过影响脂质过氧化及某些抗氧化酶的活性而延缓乳腺肿瘤形成, 基于此, 本研究以乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231为研究对象, 通过MTT试验、流式细胞术以及WB等实验技术研究大荨麻提取物对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响并探究其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

大荨麻提取物(粉剂, 货号S17-09), 主要成分包括多糖、酚类、凝集素等, 纯度为98%, 由陕西昂盛生物医药科技有限公司提供, 其用DMSO溶解和稀释。人乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞购自上海泽叶生物科技有限公司, 均用含有10%FBS的DMEM培养基于37℃、5%CO₂的细胞培养箱中常规培养。DMEM培养基、FBS及双抗等细胞培养试剂购自Gibco公司, MTT试剂盒购自奥淇洛谱生物科技有限公司, Annexin V-FITC试剂盒、二甲基亚砜(DMSO)均购自Sigma公司, HRP标记羊抗鼠二抗、RIPA裂解液均购自碧云天生物科技有限公司, 转染试剂盒Lip3000购自TaKaRa公司, 鼠源P21、Bax、Cyclin D1、CDK4、Bcl2、PI3K、p-PI3K、p-AKT、AKT及内参 β -actin一抗购自Abcam公司, AKT蛋白重组质粒及空载质粒由北京擎科生物科技有限公司设计合成。低温台式离心机Centrifuge 5810R购自Eppendorf公

司, Attune NxT流式细胞仪购自美国Thermo Fisher公司, 垂直电泳仪和转膜仪购自美国BIO-RAD公司, Tanon 5200全自动化学发光图像分析系统购自上海天能科技有限公司。

1.2 MTT法检测大荨麻提取物对乳腺癌细胞增殖的影响

收集生长至对数期的MCF-7和MDA-MB-231细胞, 制成密度为 2×10^4 和 2×10^5 /ml的细胞悬液, 将两种细胞悬液均随机分为8组, 接种于96孔板中, 参考FATTAHI等^[10]的实验分别给予0、1、2、4、8、16、32、64 mmol/L的大荨麻提取物处理, 每组均设置3个重复。给药处理后, 置于培养箱中培养24 h, 吸弃培养液, 加入10 μ l MTT工作液后置于37℃培养箱中孵育3 h, 加入150 μ l DMSO, 于震荡摇床上低速震荡15 min, 后在酶标仪上测定各孔在490 nm波长处的光密度(D)值, 根据公式“(1-D_{给药组}/D_{对照组}) \times 100%”计算细胞增殖抑制率。利用Graphpad Prism 5.0软件分析结果和计算大荨麻提取物对MCF-7和MDA-MB-231细胞的中位抑制浓度。

1.3 平板克隆形成实验检测大荨麻提取物对乳腺癌细胞克隆形成的影响

根据1.2节中的实验结果, 分别选择5和10 mg/ml大荨麻提取物处理MCF-7和MDA-MB-231细胞, 进行平板克隆形成试验。制备细胞悬液方法同1.2。将两种细胞悬液均随机分为两组, MCF-7细胞给予5 mg/ml大荨麻提取物处理, MDA-MB-231细胞给予10 mg/ml大荨麻提取物处理, 对照组均给予等量PBS缓冲液处理。24 h后用胰蛋白酶消化、制成单细胞悬液, 用含有10%FBS的DMEM培养基悬浮细胞, 每组细胞以50个/孔细胞的密度接种于含2 ml培养液的6孔板中, 轻轻转动, 使细胞分散均匀, 置于37℃、5% CO₂的细胞培养箱中培养2~3周, 待6孔板中出现肉眼可见的克隆时, 终止培养。取上清液, PBS小心清洗2次, 加入4%多聚甲醛固定细胞15 min, 弃固定液, 加入吉姆萨染液染色10~30 min, 流水冲洗染液, 空气干燥, 观察并记录克隆形成数量。

1.4 流式细胞术检测大苧麻提取物对乳腺癌细胞周期和凋亡的影响

制备细胞悬液方法同1.3,将两种细胞悬液均随机分为两组,以 $2 \times 10^5/\text{ml}$ 的密度接种于6孔板中,待细胞长满孔底约80%时,MCF-7和MDA-MB-231细胞分别给予5、10 mg/ml大苧麻提取物处理,对照组均给予等量PBS缓冲液处理,置于培养箱内孵育48 h后,分别进行后续实验。

1.4.1 细胞周期检测 收集给药处理48 h后细胞,PBS洗涤2次, $200 \times g$ 离心5 min,收集 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 个细胞,加入1 ml预冷的70%乙醇, 4°C 过夜固定。 $200 \times g$ 离心5 min,加入1 ml预冷的PBS重悬细胞,再次离心,弃上清,轻弹管底使细胞分散。每管样品中加入0.5 ml PI染色液, 37°C 避光孵育30 min,上流式细胞仪检测细胞周期。

1.4.2 细胞凋亡检测 给药处理48 h后细胞经胰蛋白酶消化、PBS洗涤2次、离心之后弃上清,加入500 μl Annexin结合缓冲液重悬细胞,再加入3 μl Annexin V-FITC和3 μl PI染色液,避光孵育10~15 min,经300目滤网滤入流式管中,上流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.5 WB法检测大苧麻提取物对乳腺癌细胞中增殖、周期和凋亡相关蛋白表达的影响

分别收集大苧麻组和对照组MCF-7细胞和MDA-MB-231细胞,加入RIPA裂解液,冰浴30 min,超声破碎后 4°C 下 $128 \times g$ 离心10 min,收集上清,测定蛋白浓度后进行SDS-PAGE。电泳条件为65 V恒压电泳30 min,120 V电泳2 h。电泳结束后250 mA恒流转印2 h,将蛋白转印至PVDF膜上,脱脂乳 4°C 过夜封闭。加入1:1 000稀释的P21、BAX、Cyclin D1、CDK4、Bcl-2、PI3K、p-PI3K、p-AKT、AKT蛋白以及内参 β -actin的一抗,室温孵育2 h,PBST洗膜3次,每次10 min。加入1:5 000稀释的HRP标记的羊抗鼠二抗孵育2 h,PBST洗膜3次,每次10 min。显色液显色,置于蛋白凝胶成像仪下分析目的蛋白含量。

1.6 WB、流式细胞术检测大苧麻提取物对过表达AKT的MCF-7细胞增殖、周期和凋亡的影响

收集生长至对数期的大苧麻组MCF-7细胞,接种于6孔板中,细胞汇合度达70%~80%时进行转染。按照Lip3000转染试剂说明书将重组AKT蛋白质粒及空载质粒分别转染至细胞中,转染6 h后更换为含有10%FBS的正常细胞培养基继续培养,WB检测AKT过表达效率。

转染成功后利用平板克隆形成实验及流式细胞术分别检测大苧麻+AKT质粒组及大苧麻+vec组细胞的克隆数、各组细胞周期细胞占比以及细胞凋亡率,具体实验方法参见1.4和1.5小节。

1.7 统计学处理

本研究中所有实验数据利用SPSS 20.0统计学软件及Graphpad Prism 5.0软件进行统计学分析,所有实验均独立重复3次。呈正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大苧麻提取物抑制乳腺癌细胞的增殖活力

乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞用不同质量浓度梯度的大苧麻提取物(1、2、4、8、16、32、64 mg/ml)处理24 h,MTT检测结果(图1A)显示,各大苧麻提取物处理组MCF-7和MDA-MB-231细胞的增殖活力均显著低于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。取中位抑制浓度附近的浓度作为给药浓度,乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231分别用5和10 mg/ml大苧麻提取物处理24 h,平板克隆形成实验检测结果(图1B)发现,与对照组比较,大苧麻提取物处理组克隆数显著减少[MCF-7细胞:(32 ± 5) vs (98 ± 12)个, $P < 0.01$;MDA-MB-231细胞:(11 ± 3) vs (96 ± 10)个, $P < 0.01$]。

2.2 大苧麻提取物处理对乳腺癌细胞周期和凋亡的影响

流式细胞术检测结果发现,与对照组比较,大苧麻提取物处理组MCF-7和MDA-MB-231细胞周期G0/G1期细胞占比升高,而S期和G2/M期占比降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图2A),同时细胞凋亡率显著高于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图2B)。

2.3 大苧麻提取物对增殖和凋亡相关蛋白表达的影响

WB检测乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231加药和不加药处理的两组细胞增殖和凋亡相关蛋白表达,结果发现,与对照组比较,大苧麻组P21、BAX蛋白表达显著升高,而Cyclin D1、CDK4、Bcl2蛋白表达显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图3)。

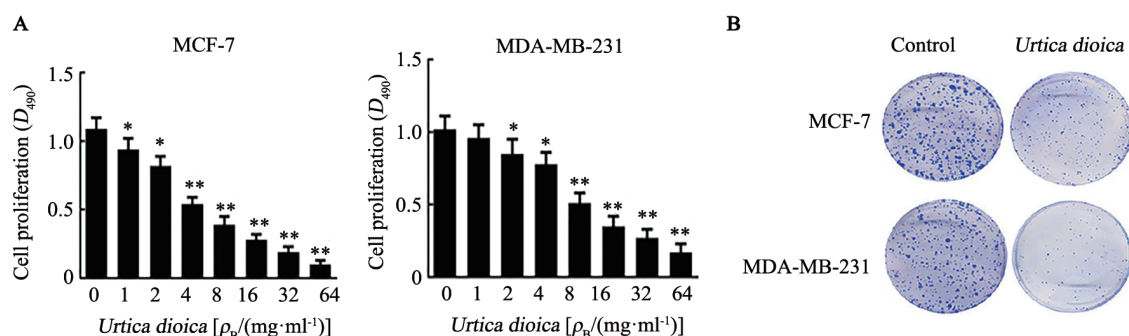
2.4 大苧麻提取物对PI3K/AKT信号通路的影响

WB检测结果(图4)显示,与对照组比较,大苧麻提取物处理组MCF-7和MDA-MB-231细胞中p-PI3K、p-AKT蛋白表达显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.5 过表达AKT联合大苧麻提取物对乳腺癌增殖和凋亡的影响

在乳腺癌细胞MCF-7用5 mg/ml大苧麻提取物处理的同时转染过表达AKT质粒,WB检测过表达效率,结果发现,大苧麻+AKT组p-AKT和AKT蛋白表达显著高于大苧麻+vec组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图5A),大苧麻+AKT组细胞克隆数、S期和G2/M期细胞占

比均高于大荨麻+vec 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图 5B、5C), G0/G1 期细胞占比和凋亡率低于大荨麻+vec 组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图 5C、5D)。

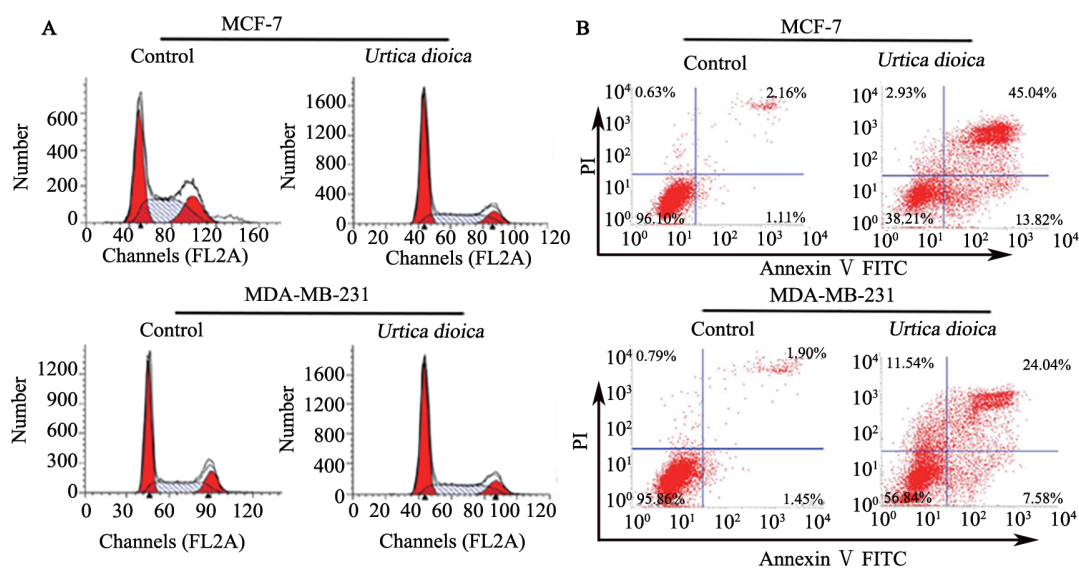


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 mg/ml group

A: MTT was used to detect the cell proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 cells treated with different concentrations of *Urtica dioica* extract for 24 h; B: The clone counts of MCF-7 and MDA-MB-231 cells in *Urtica dioica* extract group and control group was detected by plate clone formation assay

图 1 大荨麻提取物对乳腺癌细胞增殖的抑制作用

Fig.1 Inhibitory effect of *Urtica dioica* extract on proliferation of breast cancer cells

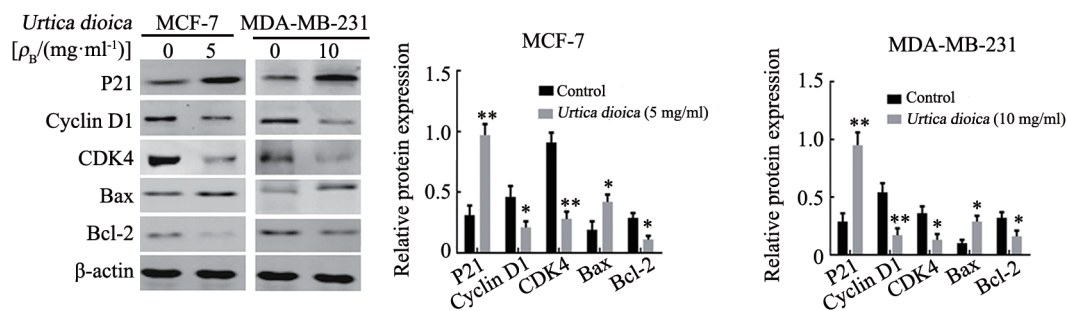


A: The cell cycle of MCF-7 and MDA-MB-231 cells was detected by Flow cytometry, compared with the control group;

B: The apoptosis of MCF-7 and MDA-MB-231 cells was detected by Flow cytometry

图 2 大荨麻提取物对乳腺癌细胞周期和凋亡的影响

Fig.2 Effect of *Urtica dioica* extract on cell cycle and apoptosis of breast cancer cells



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 mg/ml or Control group

图 3 大荨麻提取物对乳腺癌细胞中增殖和凋亡相关蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of *Urtica dioica* extract on expression of proliferation and apoptosis related proteins in breast cancer cells

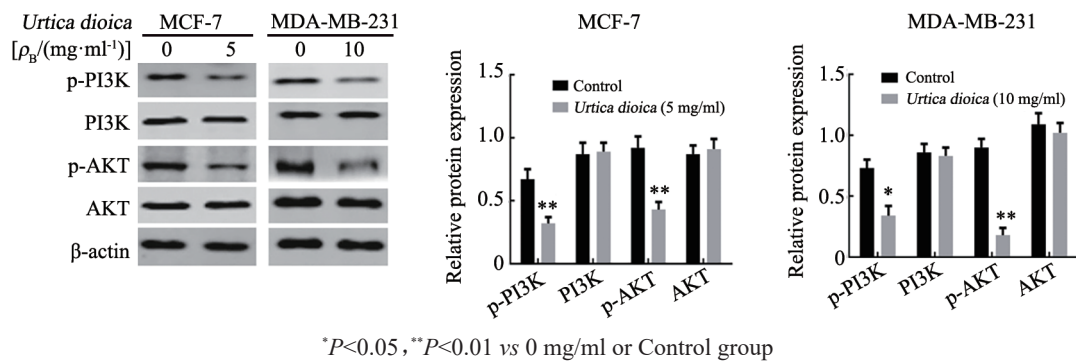
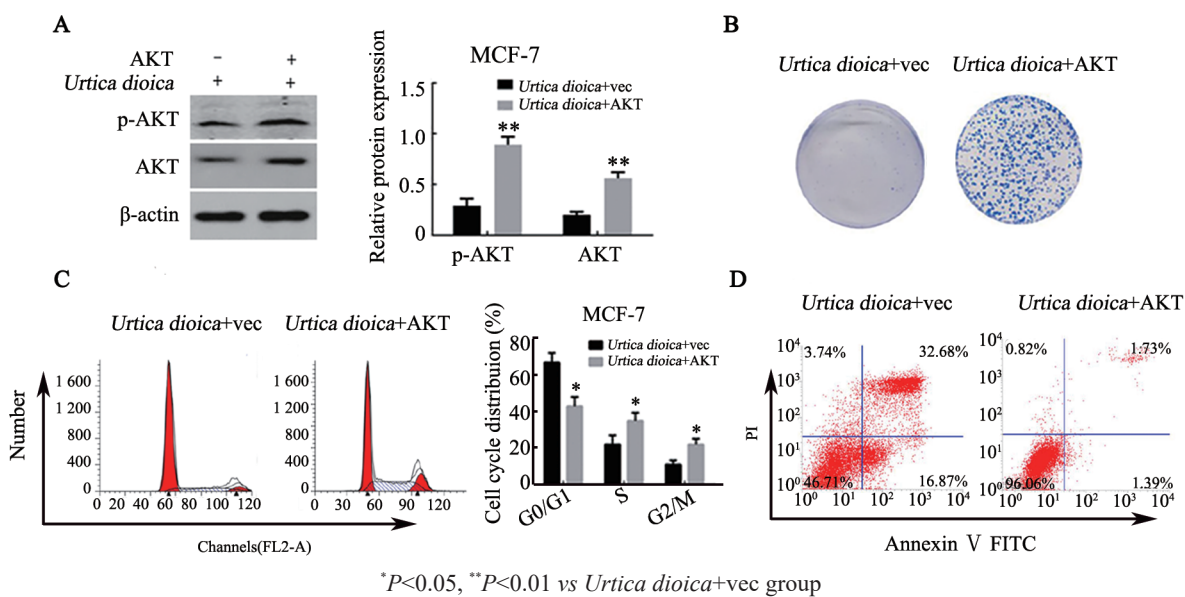


图4 大荨麻提取物对乳腺癌细胞中PI3K/AKT信号通路相关蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of *Urtica dioica* extract on expression of PI3K/AKT signaling pathway related proteins in breast cancer cells

A: WB was used to detect protein expression of p-AKT and AKT; B: Plate clone formation assay was used to detect cell clone number; C: Flow cytometry was used to detect cell cycle; D: Flow cytometry was used to detect cell apoptosis rate

图5 过表达AKT联合大荨麻提取物对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响

Fig.5 Effect of overexpression of AKT combin with *Urtica dioica* extract on proliferation and apoptosis of breast cancer cells

3 讨论

肿瘤的发生是由细胞的正常增殖和凋亡失衡所引起,因此针对肿瘤细胞的增殖与凋亡通路选择相应药物进行治疗,以抑制肿瘤细胞的增殖或诱导其凋亡是治疗肿瘤的有效方法^[11]。研究^[12-13]发现,大荨麻提取物对肝癌、结肠癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤具有一定疗效,提示大荨麻提取物可能是一种具有广阔应用前景的抗肿瘤药物。本研究通过体外实验对其进行研究,发现大荨麻提取物对人乳腺癌细胞MCF-7和MDA-MB-231的增殖具有抑制作用,并能够诱导肿瘤细胞凋亡。

机体细胞增殖依赖于细胞周期严格有序的交替和变更,肿瘤细胞之所以出现恶性增殖是因为其细胞周期调控机制被破坏,细胞周期紊乱导致肿瘤细胞无限增殖^[14-15]。临床上治疗肿瘤的药物大多可阻

止肿瘤细胞进入S期和G2/M期,使其停滞在G0/G1期,从而发挥抑制肿瘤的作用^[16]。本研究发现,当MCF-7和MDA-MB-231细胞分别给予5和10 mg/ml大荨麻提取物处理后,S期和G2/M期细胞占比显著减少,而G0/G1期细胞占比明显增多,即大荨麻提取物可将肿瘤细胞阻滞于G0/G1期而抑制其增殖;与对照组相比,大荨麻组细胞克隆形成数量减少且凋亡率亦显著增加,表明大荨麻提取物能有效抑制乳腺癌细胞增殖并促进其凋亡,将肿瘤细胞阻滞在G0/G1期。

Cyclin D1蛋白的主要功能是促进细胞增殖,在细胞进入S期后Cyclin D1蛋白会迅速分解,但当其被激活且过表达时会缩短G1期并提前进入S期,导致增殖失调而形成肿瘤^[17-18]。CD4K是细胞G1期特有的周期依赖性激酶,Cyclin D1可在G1中后期与CD4K结合并稳定其活性,进而完善细胞周期,促进

增殖^[19]。本研究 WB 实验结果显示, Cyclin D1 和 CD4K 在大荨麻提取物的作用下表达量明显下调, 从而能够抑制细胞周期进入 S 期。P21 蛋白是一种细胞周期依赖性激酶抑制因子, 能够协调细胞周期发挥抑制肿瘤的作用^[20]。Bcl2 家族蛋白在调控细胞凋亡过程中具有关键作用, 而 BAX 蛋白能够和 Bcl2 蛋白结合从而抑制其发挥抗凋亡作用^[21-22]。本研究发现, 在给予大荨麻提取物处理后乳腺癌细胞中 P21、BAX 蛋白表达量明显上调, 而 Bcl2 蛋白表达量降低, 表明大荨麻提取物能够通过促进乳腺癌细胞凋亡、促进促凋亡蛋白的表达、抑制抑凋亡蛋白的表达, 从而发挥抗肿瘤作用。

此外, 本研究进一步检测 PI3K/AKT 信号通路的相关分子。该通路具有促进肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤细胞凋亡的作用^[23-24]。结果发现, 大荨麻组细胞中 p-PI3K 和 p-AKT 表达量明显降低, 结合前述大荨麻组 BAX 蛋白表达量明显上调, 进一步阐明大荨麻对乳腺癌细胞的促凋亡作用。此外, 在 MCF-7 细胞中过表达 AKT 蛋白后再次进行平板克隆实验、流式细胞术及 WB 检测, 表明大荨麻提取物抑制乳腺癌细胞增殖、促进凋亡的作用机制可能与 PI3K/AKT 信号通路相关。

综上所述, 本研究发现大荨麻提取物能够抑制乳腺癌细胞增殖并促进其凋亡, 将细胞周期阻滞在 G0/G1 期, 并调节相关蛋白的表达, 其作用机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关, 但具体的调控机制仍有待进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] GUO R, SI J, XUE J Y, et al. Changing patterns and survival improvements of young breast cancer in China and SEER database, 1999-2017[J/OL]. *Chin J Cancer Res*, 2019, 31(4): 653-662[2020-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6736653/>. DOI:10.21147/j.issn.1000-9604.2019.04.09
- [2] 马强, 熊书, 苗加伟, 等. 木香羟内酯对人乳腺癌 SK-BR-3 细胞增殖、迁移和凋亡的影响及机制研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(11): 1342-1347. DOI:10.6039/j.issn.1001-0408.2020.11.10.
- [3] 谭丕强, 仲益梅, 郑源飞, 等. 贵金属和助剂负载量对柴油公交车 CDPF 颗粒净化性能的影响[J]. *环境科学*, 2017, 38(9): 3628-3634. DOI:10.13227/j.hjxx.201701055.
- [4] BIZJAK M, MALAVAŠIČ P, DOLINAR K, et al. Combined treatment with Metformin and 2-deoxy glucose induces detachment of viable MDA-MB-231 breast cancer cells in vitro[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1761[2020-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5431940/>. DOI:10.1038/s41598-017-01801-5.
- [5] 徐兵, 柳园. 荨麻提取物诱导骨髓细胞增殖分化: 构建组织工程骨及超微结构的变化[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(12): 1805-1810. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0196.
- [6] WANG M Y, ZHANG Y, ZHANG H, et al. The active glycosides from *Urtica fissa* rhizome decoction[J]. *J Nat Med*, 2018, 72(2): 557-562. DOI:10.1007/s11418-018-1172-3.
- [7] ABU-DARWISH M S, EFFERTH T. Medicinal plants from near east for cancer therapy[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 56[2020-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5797783/>. DOI:10.3389/fphar.2018.00056.
- [8] ZOUARI BOUASSIDA K, BARDA A S, KHIMIRI M, et al. Exploring the *Urtica dioica* leaves hemostatic and wound-healing potential[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1047523[2020-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29201895/>. DOI: 10.1155/2017/1047523.
- [9] TELO S, HALIFEOGLU I, OZERCAN I H. Effects of stinging nettle (*Urtica dioica* L.) on antioxidant enzyme activities in rat model of mammary gland cancer[J/OL]. *Iran J Pharm Res*, 2017, 16 (Suppl): 164-170[2020-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5963657/>.
- [10] FATTAHI S, GHADAMI E, ASOURI M, et al. *Urtica dioica* inhibits cell growth and induces apoptosis by targeting ornithine decarboxylase and adenosine deaminase as key regulatory enzymes in adenosine and polyamines homeostasis in human breast cancer cell lines[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2018, 64(3): 97-102. DOI:10.14715/cmb/2018.64.3.16.
- [11] DÍAZ-GEREVINI G T, DAÍN A, PASQUALINI M E, et al. Diabetic encephalopathy: beneficial effects of supplementation with fatty acids ω3 and nordihydroguaiaretic acid in a spontaneous diabetes rat model[J/OL]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 43[2020-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6368734/>. DOI:10.1186/s12944-018-0938-7.
- [12] KARDAN M, RAFIEI A, GOLPOUR M, et al. *Urtica dioica* extract inhibits cell proliferation and induces apoptosis in HepG2 and HTC116 as gastrointestinal cancer cell lines[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2020, 20(8): 963-969. DOI:10.2174/1871520620666200311095836.
- [13] MOHAMMADI A, MANSOORI B, BARADARAN P C, et al. *Urtica dioica* extract inhibits proliferation and induces apoptosis and related gene expression of breast cancer cells in vitro and in vivo[J]. *Clin Breast Cancer*, 2017, 17(6): 463-470. DOI:10.1016/j.clbc.2017.04.008.
- [14] 任章霞, 李凡, 杨蕙嘉, 等. 阿帕替尼对人乳腺癌细胞株 MCF-7 细胞生物学行为的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(11): 1179-1183. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2020.11.018.
- [15] 翁熊, 祝顺琴, 崔红娟. 青蒿琥酯通过阻滞细胞周期抑制胶质母细胞瘤细胞增殖[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(4): 772-778. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20171121.002.
- [16] 李春艳, 苏薇, 张晟, 等. 细胞周期调控基因对局部晚期乳腺癌新辅助化疗疗效的影响[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(34): 2682-2686. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.34.009.
- [17] 徐文敏, 张海燕, 何苗, 等. 幽门螺旋杆菌感染性胃癌组织中 Cyclin D1、MMP-9 的表达及意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2019, 35(2): 213-215. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2019.02.022.
- [18] 张海云, 蔡晓波, 郭宝明, 等. 胃癌患者 Hp 感染与 Cyclin D1、NF-κB、Beclin1 表达及临床病理特征的关系分析[J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(5): 773-776.
- [19] 郭晨旭, 刘静波, 谢强, 等. 白术内酯 I 通过调低 Cyclin D1/CDK4 抑制胃癌细胞 SGC-7901 的增殖及机制[J]. *蚌埠医学院学报*, 2020, 45 (4): 456-460. DOI:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.04.009.

- [20] LIANG J J, WANG J Y, ZHANG T J, et al. MiR-509-3-5p-NONHSAT112228.2 axis regulates p21 and suppresses proliferation and migration of lung cancer cells[J]. *Curr Top Med Chem*, 2020, 20(10): 835-846. DOI:10.2174/1568026620666200306102713.
- [21] REN L, LI Z P, DAI C M, et al. Chrysophanol inhibits proliferation and induces apoptosis through NF- κ B/cyclin D1 and NF- κ B/Bcl-2 signaling cascade in breast cancer cell lines[J/OL]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(3): 4376-4382[2020-06-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5802211/>. DOI:10.3892/mmr.2018.8443.
- [22] ASHKENAZI A, FAIRBROTHER W J, LEVERSON J D, et al. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(4): 273-284. DOI:10.1038/nrd.2016.253.
- [23] 杨庆辉, 路平, 姬颖华. 大蒜素对前列腺癌患者细胞免疫功能的影响[J]. *世界中医药*, 2018, 13(3): 605-608. DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2018.03.014.
- [24] 张阳, 高玲芸, 王文君. 中药更年春方通过ER β 及PI3K/AKT信号通路对A β 25-35致大鼠海马神经元损伤的保护作用[J]. *复旦学报(医学版)*, 2020, 47(1): 66-75. DOI:10.3969/j.issn.1672-8467.2020.01.012.

[收稿日期] 2021-06-19

[修回日期] 2021-08-02

[本文编辑] 黄静怡