

欧前胡素衍生物抑制肺癌 A549 细胞生长*

杨晓琪¹,毛景涛¹,刘娟^{2△},马维娜³(1. 陕西省森林工业职工医院胸外科,西安 710300;2. 兵器工业五二一医院肿瘤科,陕西西安 710065;
3. 西安交通大学医学部药学院,陕西 710061)

[摘要] **目的** 研究欧前胡素衍生物(IMP-1)对肺癌 A549 细胞的增殖抑制作用及其初步机制。**方法** 使用四甲基偶氮唑盐(MTT)法考察 IMP-1 对肺癌 A549 细胞的增殖抑制作用,采用流式细胞术检测 IMP-1 对细胞凋亡及细胞周期的影响,通过蛋白免疫印迹(Western blot)法考察 IMP-1 对周期相关蛋白和凋亡相关蛋白表达的影响。**结果** IMP-1 对肺癌 A549 细胞的增殖具有良好的抑制效果,其半数抑制浓度为 3.62 $\mu\text{mol/L}$; IMP-1 通过下调细胞周期蛋白 D₁、细胞周期蛋白 E、细胞周期蛋白依赖性激酶——细胞分裂周期基因 2 蛋白表达量阻滞细胞周期于 G₁ 期;通过下调抑凋亡蛋白——髓样细胞白血病蛋白-1、B 淋巴细胞瘤-2 表达水平,上调促凋亡蛋白——B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白表达水平,从而诱导 A549 细胞凋亡,进一步抑制细胞生长。**结论** IMP-1 通过阻滞 A549 细胞于 G₁ 期及诱导细胞凋亡,从而抑制肺癌 A549 细胞的增殖。

[关键词] 肺肿瘤;A549;欧前胡素衍生物;细胞周期;细胞凋亡**[中图分类号]** R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)13-2172-05

Imperatorin derivative IMP-1 inhibits lung cancer A549 cells growth*

YANG Xiaoqi¹, MAO Jingtao¹, LIU Juan^{2△}, MA Weina³

(1. Department of Thoracic Surgery, Shaanxi Provincial Forest Industry Worker's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710300, China; 2. Department of Oncology, 521 Hospital of Weaponry Industry, Xi'an, Shaanxi 710065, China; 3. School of Pharmacy, Health Science Center, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

[Abstract] **Objective** To study the inhibitory effect of imperatorin derivative IMP-1 on lung cancer A549 cells growth and its preliminary mechanism. **Methods** The methyl thiazolyl tetrazolium(MTT) salt method was used to investigate the inhibitory effect of IMP-1 on lung cancer A 549 cells growth; the effect of IMP-1 on the cellular apoptosis and cell cycle was detected by flow cytometry; the effect of IMP-1 on the expression of cell cycle-related proteins and apoptosis-related proteins was investigated by Western blot. **Results** IMP-1 had good inhibiting effect on the proliferation of A549 cells, and the IC₅₀ value was 3.62 $\mu\text{mol/L}$. IMP-1 could downregulate the expression amounts of CyclinD1, CyclinE and cell cycle-dependent kinase CDC2, thereby arrested the cell cycle at G₁ phase. Also, IMP-1 downregulated the expression levels of anti-apoptotic proteins Mcl-1 and Bcl-2, and upregulated the expression level of pro-apoptotic proteins Bax, thus induced apoptosis of A549 cells and further inhibited the cell growth. **Conclusion** IMP-1 inhibits the proliferation of lung cancer A549 cells by arresting A549 cells at G₁ phase and inducing the cellular apoptosis.

[Key words] lung neoplasm; A549 cells; IMP-1; cell cycle; cell apoptosis

肺癌是最常见的一种呼吸系统恶性肿瘤,是全球癌症占比最大,死亡率最高的恶性肿瘤,严重危害人类生命健康^[1]。非小细胞肺癌占肺癌比例高达 85%,而患者生存率仅为 15%^[2]。目前,传统手术仍是肺癌的主要治疗方法,放、化疗作为辅助治疗方法。然而,随治疗时间延长、耐药细胞的出现及其他不良反应的发生,疗效并不理想,不能满足临床需求。因此,发掘传统中药资源,研究中药对恶性肿瘤的作用效果及其

作用机制具有重要的科学和临床意义^[3]。

细胞凋亡是一个多种基因参与调控、高度有序、细胞内一系列酶级联参与主动的分子调控的过程^[4]。有研究表明,在肿瘤细胞中 50% 在凋亡机制方面存在缺陷^[5]。有研究表明, B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 蛋白家族与细胞凋亡过程密切相关,已成为治疗肿瘤的一个重要靶标^[6-8]。同时,有研究发现,多数肿瘤是一种细胞周期调控异常的疾病^[9-10]。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81603148)。 作者简介:杨晓琪(1982—),主治医生,硕士,主要从事肺癌外科为主的综合治疗研究。

△ 通信作者, E-mail: blogmm202010@163.com。

细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin dependent kinase, CDK)和细胞周期蛋白(Cyclins)是目前研究最为主要的调控周期的相关蛋白^[11],其与细胞的增殖和分化均密切相关^[12-13]。因此,开发调控细胞周期与凋亡的药物对肿瘤的治疗至关重要。

呋喃香豆素是香豆素类化合物的一种,可分为线型呋喃香豆素和角型呋喃香豆素。香豆素因其相对分子质量较小,制备工艺简单,在各个领域应用较为广泛,很多药理作用被逐渐发现,尤其是呋喃香豆素的抗肿瘤活性^[14]。欧前胡素是典型的呋喃香豆素类化合物,被发现于伞形科和芸香科植物中,在天然的药用植物中分布广泛,而且在白芷中含量较高。目前,对欧前胡素的药效学研究已有一定进展,有研究发现,其除有抗炎、抗菌、镇痛,以及对心血管、神经系统等作用外,还能抑制多种肿瘤细胞的繁殖、左右药物代谢酶的活性,是重要的天然活性物质^[15]。欧前胡素衍生物(IMP-1)为联苯型呋喃香豆素类化合物^[16]。本研究通过体外细胞实验对IMP-1抗肺癌作用机制进行初步研究,探索IMP-1对细胞凋亡和周期调控的影响,旨在为开发治疗肺癌的靶向药物奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株与试剂

人肺癌细胞 A549 细胞株购自中科院上海细胞生物研究所, RPMI-1640 培养基购自上海培源生物科技股份有限公司(批号: L240KJ, 含 10% 血清、100 IU/mL 青霉素和链霉素, 37 °C, 饱和湿度, 5% CO₂), 胎牛血清购自美国 Thermo 公司(批号: 16140063), 胰酶购自北京索莱宝科技有限公司(批号: T8151), 四甲基偶氮唑盐(MTT)购自美国 Sigma-Aldrich 公司(批号: M2003), 二甲基亚砜(DMSO)购自天津市科密欧化学试剂有限公司, 青霉素、链霉素购自华北制药集团, 二喹啉甲酸(bicinchoninic acid assay, BCA)蛋白定量试剂盒购自美国 Pierce 公司(批号: 5345-2018), 异丙醇及甲醇购自天津市科密欧化学试剂有限公司(批号: 2892-2010、683-2006), 预染蛋白分子量标准购自 ABclonal 公司(批号: 3452Q), 超敏增强型化学发光试剂(ECL)化学发光底物购自正四柏生物有限公司(批号: 4AW011-500), 脱脂奶粉购自伊利公司(批号: 050DH0310), 碘化丙定(PI)双染法细胞凋亡检测试剂盒及抗体购自美国 Proteintech 公司(批号: PF00005), 细胞分裂周期基因 2(CDC2)抗体(批号: 19532-1-AP)、细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)抗体(批号: 60186-1-Ig)、细胞周期蛋白 E(CyclinE)抗体(批号: 11554-1-AP)、髓样细胞白血病蛋白-1(mcl-1)抗体(批号: 16225-1-AP)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)抗体(批号: 12789-1-AP)、B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白(Bax)抗体(批号: 50599-2-Ig)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(批号: 60004-1-Ig)均购自美国 Proteintech 公司。

1.2 主要仪器

CO₂ 恒温培养箱(SANYO MCO-15AC)、倒置显微镜(日本 Nikon 公司)、超净工作台(SW-CJ-1F, 苏州安泰空气技术有限公司)、酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)、流式细胞分析仪(艾森生物有限公司)、冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)、凝胶成像系统(北京赛智创业科技有限公司)等。

1.3 方法

1.3.1 细胞增殖测定

取对数生长期 A549 细胞考察 IMP-1 对细胞增殖的影响。将细胞接种于 96 孔板(180 μL/孔), 放置 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度孵育箱中培养 24 h。次日加入用无血清无双抗培养基配制的 8 个浓度梯度(0.39、0.78、1.56、3.12、6.25、12.50、25.00、50.00 μmol/L)待测药品——IMP-1, 每个浓度设置 5 个复孔。阴性对照为等量培养基未加药, 空白对照为等量无细胞且无血清无双抗的培养基。加完药后置于 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度孵育箱内培养。48 h 后取出孔板, 在超净工作台中进行操作, 小心吸出每个孔中的培养基, 加入配制好的 MTT 溶液(200 μL/孔)。在 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度孵育箱中继续培养, 4 h 后将 96 孔板中培养基吸干净, 每孔加入 DMSO 150 μL, 在摇床上使其混合均匀(15 min)。使用酶标仪在 490 nm 波长处测定光密度值。

1.3.2 细胞周期测定

待细胞生长至对数期时接种细胞于细胞培养皿中, 分别标注阴性、小浓度(1.56 μmol/L)、中浓度(3.12 μmol/L)、大浓度(6.25 μmol/L), 放置 37 °C 孵育箱中培养 48 h, 次日加药。将细胞消化后收集至 10 mL EP 管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃培养液, 加预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)清洗, 1 000 r/min 离心 5 min。每个 EP 管中加入 1 mL 预冷的 70% 乙醇, 在 -20 °C 中放置 2 h, 1 000 r/min 离心 5 min, 小心吸去乙醇后每管加入 1 mL PBS, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液。室温条件下每管加 1 mL RNA 酶(避光操作), 反应 30 min 后 1 000 r/min 离心 5 min, 吸出上清液。每管加入 PBS 500 μL, 以及 PI 25 μL 染色, 使用流式细胞分析仪避光检测。

1.3.3 细胞凋亡测定

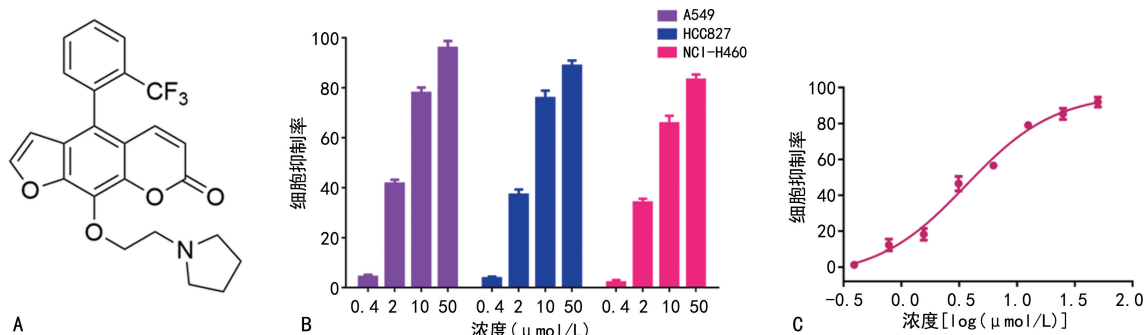
待细胞生长至对数期时接种细胞于细胞培养皿中, 分别标注阴性、小浓度(1.56 μmol/L)、中浓度(3.12 μmol/L)、大浓度(6.25 μmol/L), 放置 37 °C 孵育箱中培养 48 h, 次日加药。将细胞消化后收集至 10 mL EP 管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃培养液, 加预冷的 PBS 清洗, 1 000 r/min 离心 5 min。按凋亡试剂盒说明书操作, 对细胞进行 PI 和异硫氰酸荧光素-膜联蛋白 V(Annexin V-FITC)双染色。在 4 °C 下避光孵育 20 min 后用流式细胞分析仪检测。

1.3.4 蛋白免疫印迹(Western blot)分析

取对数生长期的 A549 细胞接种于细胞培养皿中,分组给药后加入细胞裂解液进行细胞裂解,抽提蛋白采用 BCA 试剂盒进行定量检测,并与适量上样缓冲液混合,加热煮沸 5 min 使蛋白变性。同时按说明书进行聚丙烯酰胺凝胶电泳凝胶配布,以每孔 20 μg 蛋白量进行电泳,待电泳完毕后将蛋白转移至硝酸纤维素膜上,然后采用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h。弃封闭液,采用三羟甲基氨基甲烷缓冲盐(TBST)漂洗,并孵育一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。采用 TBST 漂洗后加入二抗室温振荡 1 h,进行 ECL 曝光,采用 IPP5.0 图像处理软件进行灰度定量分析。

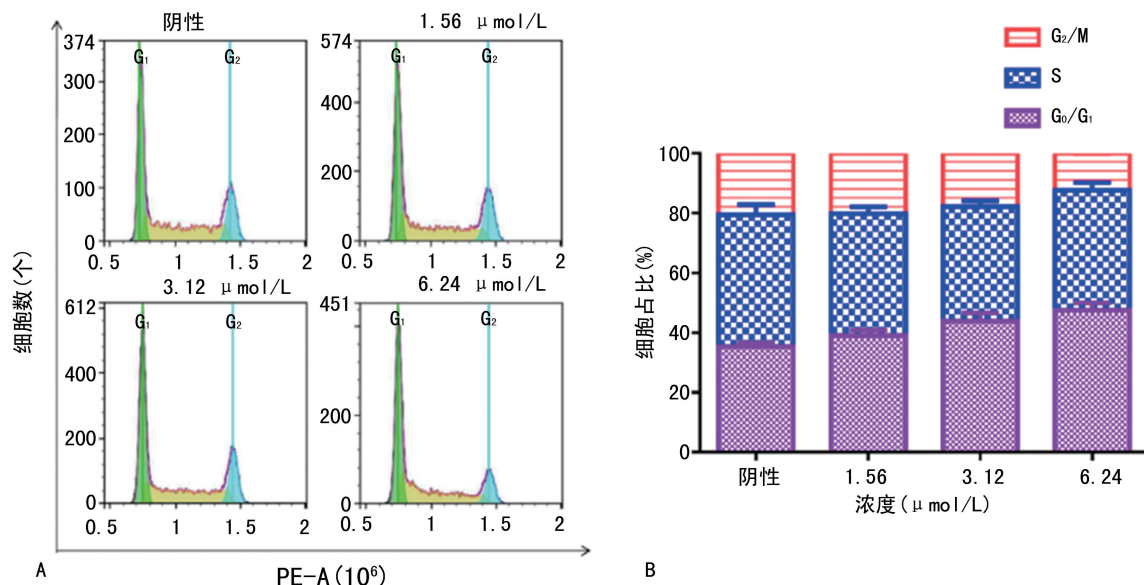
1.4 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料以例数或率表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



A:IMP-1 化学结构式;B:IMP-1 抑制肺癌细胞增殖;C:IMP-1 抑制 A549 细胞增殖。

图 1 IMP-1 抑制肺癌细胞增殖



A:细胞周期流式;B:细胞周期流式定量。

图 2 IMP-1 对 A549 细胞周期的调控作用

2.3 IMP-1 对 A549 细胞周期相关蛋白的影响

IMP-1 作用于 A549 细胞后明显下调 CyclinE、CyclinD1、CDC2 的表达水平。见图 3。

2.4 IMP-1 对 A549 细胞凋亡的影响

IMP-1 对 A549 细胞具有明显诱导凋亡的作用,

2 结果

2.1 IMP-1 对 A549 细胞增殖的影响

IMP-1 化学结构式见图 1A。IMP-1 对肺癌细胞(A549、HCC827 及 NCI-H460)具有明显的增殖抑制作用且呈剂量依赖关系,对 A549 细胞的敏感性最强,因此后续实验采用 A549 细胞作为研究对象。见图 1B。IMP-1 对 A549 细胞生长具有明显抑制作用,且呈良好的剂量依赖关系。其半数抑制浓度为 3.62 $\mu\text{mol/L}$ 。见图 1C。

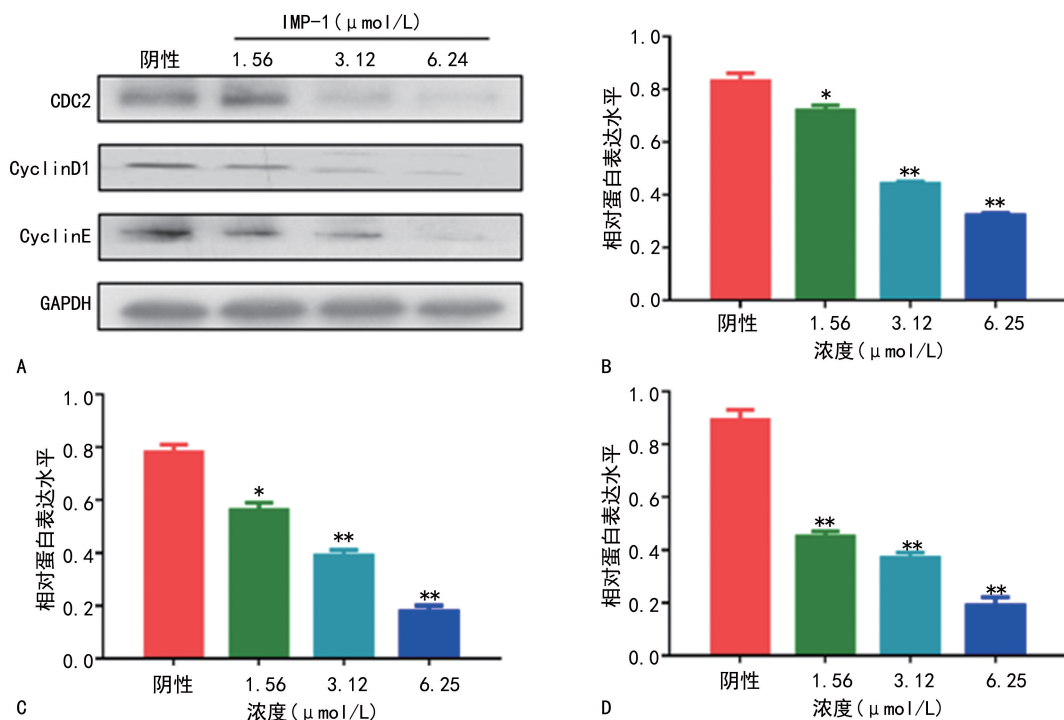
2.2 IMP-1 对 A549 细胞周期的影响

IMP-1 对 A549 周期变化有明显影响,随药物浓度增大 G_1 期细胞逐渐增多,分别为 35.39% (阴性)、39.11% (1.56 $\mu\text{mol/L}$)、43.92% (3.12 $\mu\text{mol/L}$)、47.66% (6.24 $\mu\text{mol/L}$)。见图 2。表明 IMP-1 可阻滞细胞于 G_1 期,从而延长细胞周期,抑制细胞增殖。

且随药物浓度递增细胞凋亡率增多。见图 4。

2.5 IMP-1 对凋亡相关蛋白表达的影响

IMP-1 作用于 A549 细胞后明显下调抗凋亡蛋白——Mcl-1、Bcl-2 的表达水平,上调促凋亡蛋白——Bax 的表达水平。见图 5。



A: 周期相关蛋白 Western blot 条带; B: CDC2 定量; C: CyclinD1 定量; D: CyclinE 定量; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.001$, 与阴性组比较。

图 3 IMP-1 对 A549 细胞周期相关蛋白表达的影响

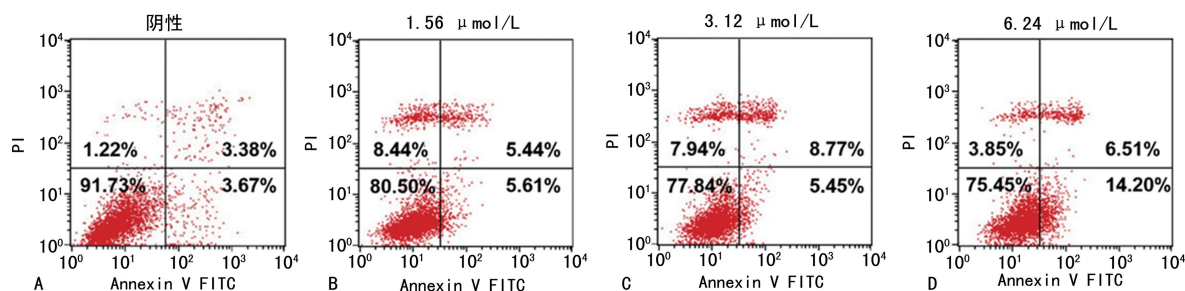
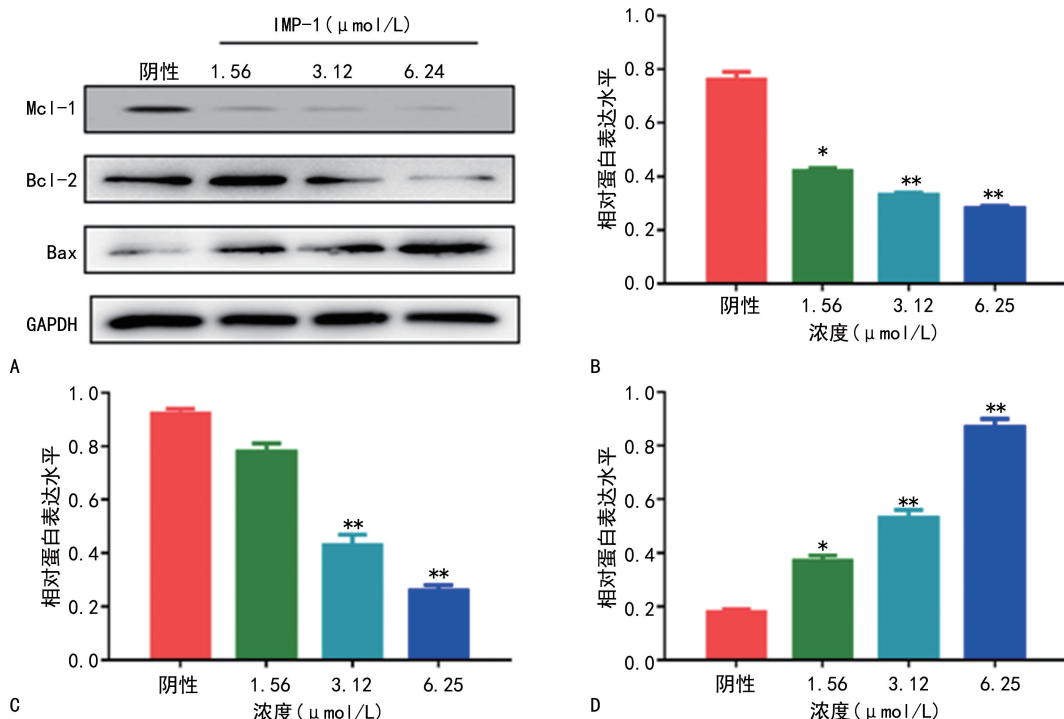


图 4 IMP-1 对 A549 细胞凋亡的调控作用



A: 凋亡蛋白 Western blot 条带; B: Mcl-1 定量; C: Bcl-2 定量; D: Bax 定量; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.001$, 与阴性组比较。

图 5 IMP-1 对 A549 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

3 讨 论

肺癌是一种常见的恶性肿瘤,发病率及死亡率逐年增加,严重威胁人类身体健康^[17]。前期文献报道了欧前胡素具有抗肿瘤作用,为进一步研究其机制,本研究对其结构进行了优化,得到其衍生物——IMP-1,进而进行了 IMP-1 抗肿瘤作用的初步研究。采用 MTT 法进行初筛后结果显示,IMP-1 对 A549 细胞增殖抑制效果明显,且呈浓度依赖性。

细胞周期异常可导致肿瘤细胞无限增殖,调控参与细胞周期的相关蛋白能抑制肿瘤细胞的活性,并阻滞肿瘤细胞的无限增殖,达到治疗肿瘤的目的^[18]。本研究结果显示,IMP-1 对 A549 周期变化具有明显影响,随药物浓度增大 G₁ 期细胞逐渐增多,表明 IMP-1 可阻滞细胞于 G₁ 期,从而延长细胞周期,抑制细胞增殖。CyclinD1 为 G₁ 期进展的限速调节因子,CyclinD1 表达水平下降可阻滞细胞于 G₁ 期;CyclinE 是细胞周期从 G₁ 期转向 S 期的重要蛋白,其表达水平减少可阻滞细胞由 G₁ 期进入 S 期;CDC 可与 CyclinA、CyclinB 结合控制 S 期至 G₂ 期和 G₂ 期至 M 期 2 个控制点,因此,CDC 表达减少,抑制细胞从 S 期至 G₂ 期和 G₂ 期至 M 期。本研究 Western blot 检测结果显示,IMP-1 可下调 CyclinD1、CyclinE、CDC2 的表达水平,从而抑制细胞增殖。

凋亡过程的紊乱与肿瘤的发生具有直接或间接的关系,由于肿瘤细胞无法对其生长进行正常调控,导致无限增殖^[19]。本研究结果显示,IMP-1 可有效诱导 A549 细胞凋亡,且随给药浓度增加细胞凋亡比例依次上升。Bcl-2 蛋白家族是细胞凋亡相关内源性线粒体通路的关键蛋白,主要包括促凋亡蛋白——Bax、Bcl-2 相关 K 蛋白(Bcl-2 associated K protein,BAK)等和抗凋亡蛋白——Bcl-2、Mcl-1 等^[20]。本研究 Western blot 检测结果显示,IMP-1 可下调抗凋亡蛋白——Mcl-1、Bcl-2 的表达水平,上调促凋亡蛋白——Bax 的表达水平,从而诱导细胞凋亡。

综上所述,IMP-1 通过下调 CyclinD1、CyclinE、CDC2 蛋白的表达水平,阻滞 A549 细胞于 G₁ 期;同时,通过下调抗凋亡蛋白——Mcl-1、Bcl-2 蛋白的表达水平,上调促凋亡蛋白——Bax 蛋白的表达水平诱导细胞凋亡,从而抑制肺癌细胞 A549 的增殖。本研究结果为系统研究 IMP-1 抗肿瘤作用奠定了基础。

参考文献

[1] NSCLC meta-analysis collaborative group. Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data[J]. *Lancet*, 2014, 383

(9928):1561-1571.

[2] CHEN X Q, ZHENG L X, LI Z Y, et al. Clinicopathological significance of oestrogen receptor expression in non-small cell lung cancer[J]. *J Int Med Res*, 2017, 45(1): 51-58.

[3] 赵慧巧,王雅莉,寇亮,等. 湿生扁蕾对结肠癌细胞 SW480 增殖的抑制作用及对 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J]. *甘肃科技*, 2018, 34(23): 97-100.

[4] OBENG E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals—a review[J]. *Braz J Biol*, 2021, 81(4): 1133-1143.

[5] 刘其锋,叶建明,李莎莎. 细胞凋亡与肾脏纤维化[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2018, 19(4): 366-369.

[6] 秦越,庞宗然. 洛罗兰糖苷激活 Bcl-2 通路诱导髓样抑制性细胞凋亡研究[J]. *天津中医药*, 2019, 36(3): 288-291.

[7] CARNEIRO B A, EL-DEIRY W S. Targeting apoptosis in cancer therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(7): 395-417.

[8] 李孝贤,刘仁帅,方浩. Bcl-2: 从靶标到上市药物的研究进展[J]. *药学学报*, 2018, 53(4): 509-517.

[9] LEAL-ESTEBAN L C, FAJAS L. Cell cycle regulators in cancer cell metabolism[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(5): 165715.

[10] 谭慧心,董彦宏,关文辉,等. 细胞周期调控与肿瘤发生和治疗的关系研究[J]. *哈尔滨商业大学学报(自然科学版)*, 2015, 31(6): 667-670.

[11] NIWA M. A cell cycle checkpoint for the endoplasmic reticulum[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(12): 118825.

[12] 郭爱叶,李泮,高岚. 细胞周期检测点激酶与肿瘤的关系研究进展[J]. *肿瘤基础与临床*, 2019, 32(2): 181-184.

[13] ALBRENGUES J, WY SOCKI R W, MAIORINO L, et al. Re-cyclin' cell-cycle components to make NETs[J]. *Dev Cell*, 2020, 43(4): 379-380.

[14] 熊友键,杨玉明,姜松,等. 呋喃香豆素类成分及其药理作用研究进展[J]. *中成药*, 2010, 32(10): 1164-1770.

[15] 伍冠一,陈佳好,徐小丽,等. 欧前胡素的中药源与药理作用研究进展[J]. *中医药导报*, 2017, 23(20): 54-56.

[16] 王程,周楠,潘晓艳,等. 联苯型(下转第 2183 页)

- ethylase inhibitors for cancer therapy [J]. *Drug Discov Today*, 2021, 26(8):1841-1856.
- [5] KIM D, KIM K I, BAEK S H. Roles of lysine-specific demethylase 1 (LSD1) in homeostasis and diseases[J]. *J Biomed Sci*, 2021, 28(1):41.
- [6] OH S, SHIN S, JANKNECHT R. The small members of the JMJD protein family: Enzymatic jewels or jinxes? [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871(2):406-418.
- [7] SUI Y, GU R, JANKNECHT R. Crucial functions of the JMJD1/KDM3 epigenetic regulators in cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19(1):3-13.
- [8] WU L, CAO J, CAI W L, et al. KDM5 histone demethylases repress immune response via suppression of STING[J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(8):e2006134.
- [9] DENG H, YU B, YU Y, et al. NO66 overexpression rescues ethanol-induced cell apoptosis in human AC16 cardiomyocytes by suppressing PTEN and activating the PI3K/Akt signaling [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(10):1093-1101.
- [10] WANG Q, LIU P Y, LIU T, et al. The histone demethylase NO66 induces glioma cell proliferation[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(11):6007-6014.
- [11] HUA Q, JIN M, MI B, et al. LINC01123, a c-Myc-activated long non-coding RNA, promotes proliferation and aerobic glycolysis of non-small cell lung cancer through miR-199a-5p/c-Myc axis[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):91.
- [12] SCAFURO M, CAPASSO L, CARAFA V, et al. Gene transactivation and transrepression in MYC-Driven cancers[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7):3458.
- [13] BRÄUER K E, BROCKERS K, MONEER J, et al. Phylogenetic and genomic analyses of the ribosomal oxygenases Riox1 (No66) and Riox2 (Mina53) provide new insights into their evolution[J]. *BMC Evol Biol*, 2018, 18(1):96.
- [14] HUANG J, ZHANG J, GUO Z, et al. Easy or Not-the advances of EZH2 in regulating T cell development, differentiation, and activation in antitumor immunity[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:741302.
- [15] NISHIZAWA Y, NISHIDA N, KONNO M, et al. Clinical significance of histone demethylase NO66 in invasive colorectal cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(3):841-849.
- [16] AHMADI S E, RAHIMI S, ZARANDI B, et al. MYC: a multipurpose oncogene with prognostic and therapeutic implications in blood malignancies[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):121.
- [17] HALL Z, WILSON C H, BURKHART D L, et al. Myc linked to dysregulation of cholesterol transport and storage in non-small cell lung cancer[J]. *J Lipid Res*, 2020, 61(11):1390-1399.
- [18] WANG Q, LIU P Y, LIU T, et al. The histone demethylase NO66 induces glioma cell proliferation[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(11):6007-6014.
- [19] LYU L, YAO J, WANG M, et al. Overexpressed pseudogene HLA-DPB2 promotes tumor immune infiltrates by regulating HLA-DPB1 and indicates a better prognosis in breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10:1245.
- [20] TESSIER-CLOUTIER B, TWA D D, MARZBAN M, et al. The presence of tumour-infiltrating neutrophils is an independent adverse prognostic feature in clear cell renal cell carcinoma[J]. *J Pathol Clin Res*, 2021, 7(4):385-396.

(收稿日期:2021-10-18 修回日期:2022-03-08)

(上接第 2176 页)

- 呋喃香豆素类衍生物的设计合成与活性评价[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2014, 44(4):573-577.
- [17] 宋鑫, 张俊, 魏立强, 等. 黄芪多糖抑制结肠癌 HT-29 细胞生长作用研究[J]. *重庆医学*, 2019, 48(17):2899-2902.
- [18] 郑乐. 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 3 在宫颈癌中表达及临床意义[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(3):264-266.
- [19] 曹祥燎, 张路, 钱峰. 五味子酯甲抑制头颈癌 HN4 细胞增殖和诱导凋亡的机制研究[J]. *山西医科大学学报*, 2021, 52(4):429-436.
- [20] 周晓红, 卢晓丽, 杨雪, 等. 熊果酸对喉癌 Hep-2 细胞 bcl-2、Bax 基因表达和凋亡影响[J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(3):434-437.

(收稿日期:2021-12-18 修回日期:2022-02-11)