

银杏叶提取物对甲状腺癌细胞增殖和凋亡的影响

郭巍, 张秋雨, 刘明清, 徐智广

(沧州医学高等专科学校健康管理与服务系, 河北沧州, 061001)

摘要: 本文探究了银杏叶提取物对甲状腺癌细胞增殖、凋亡作用的影响。将培养后的细胞分为空白组、低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组, 观察四组细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移和粘附能力, 并对凋亡相关蛋白 p53、B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)、Bax 表达进行检测。研究结果显示, 72 h 时高浓度银杏叶组细胞增殖率为 14.25%, 低于其他三组; 凋亡率为 81.64%, 高于其他三组。高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞迁移数、侵袭数、粘附数分别为 25.66、24.19、13.02, 均低于其他三组 ($p < 0.05$)。高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 p53、Bcl-2 相对表达量分别为 0.36、0.26, 均低于其他三组, Bax 相对表达量为 1.79, 高于其他三组 ($p < 0.05$)。结果表明银杏叶提取物能够抑制甲状腺癌细胞增殖、侵袭、迁移、粘附能力, 还能够通过调控凋亡相关蛋白 p53、Bcl-2、Bax 表达而促进细胞凋亡, 且其能力呈现浓度依赖性。

关键词: 银杏叶提取物; 甲状腺癌细胞; 细胞凋亡

文章编号: 1673-9078(2019)08-21-26

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.8.004

Effects of *Ginkgo biloba* Extract on Proliferation and Apoptosis of Thyroid Cancer Cells

GUO Wei, ZHANG Qiu-yu, LIU Ming-qing, XU Zhi-guang

(Department of Health Management and Services, Cangzhou Medical College, Cangzhou 061001, China)

Abstract: To investigate the effects of *Ginkgo biloba* extract on proliferation and apoptosis of thyroid cancer cells. The cultured cells were divided into blank group, low concentration ginkgo leaf group, medium concentration ginkgo leaf group and high concentration ginkgo leaf group. The proliferation, apoptosis, invasion, migration and adhesion ability of the four groups were analyzed, and the expression of apoptosis-related protein p53, B lymphoma-2 gene (Bcl-2) and Bax were detected. The results showed that the cell proliferation rate and apoptotic rate of high concentration *Ginkgo biloba* leaves group at 72 h were 14.25%, lower than that of the other three groups, and 81.64%, higher than those of the other three groups, respectively. The number of migration, invasion and adhesion of thyroid cancer cells in the high concentration *Ginkgo biloba* group were 25.66, 24.19, 13.02, respectively, lower than that of the other three groups ($p < 0.05$). The relative expression of p53 and Bcl-2 in thyroid cancer cells of high concentration *Ginkgo biloba* leaves group were 0.36 and 0.26, respectively, lower than that of the other three groups. The relative expression of Bax in high concentration *Ginkgo biloba* leaves group was 1.79, higher than that of the other three groups ($p < 0.05$). *Ginkgo biloba* extract can inhibit the proliferation, invasion, migration and adhesion of thyroid cancer cells, and promote cell apoptosis by regulating the expression of apoptosis-related proteins p53, Bcl-2 and Bax in a concentration-dependent manner.

Key words: *Ginkgo biloba* extract; thyroid cancer cells; apoptosis

甲状腺癌是临床最为常见的一种甲状腺恶性肿瘤, 对患者的身体健康的生活质量造成严重的威胁^[1-3]。具世界卫生组织权威统计数据显示, 世界范围内, 甲状腺癌症状的发病率相比其他恶性肿瘤较低, 但是近年来一直呈上升趋势^[4], 而在我国, 每年甲状腺癌症状的新增病例以及死亡病例均占全世界的 15% 左右, 属于甲状腺癌的高发地区, 对我国居民的身体健康和生命安全造成严重的威胁, 所以及时有效的治

收稿日期: 2019-03-26

基金项目: 河北省科技计划项目(16277752D)

作者简介: 郭巍(1982-), 男, 讲师, 研究方向: 内科

疗对甲状腺癌患者具有重要意义。

我国传统中医认为, 银杏叶具有活血化瘀的功效, 有学者通过实验研究表示, 银杏叶能够清除氧自由基, 对细胞膜稳定性起到保护作用^[5,6]。银杏叶提取物中富含银杏总黄酮、银杏内酯, 具有抗氧化、降血脂等作用, 能够使血液粘稠度下降, 从而发挥改善机体脑血管循环的作用。有学者在研究中表示, 银杏叶提取物具有一定的抗癌活性, 对肝癌、卵巢癌、胃癌等癌细胞具有一定的杀灭作用, 但关于银杏叶提取物抗肿瘤的作用机制尚未研究透彻, 关于其对甲状腺癌细胞增殖、凋亡能力影响的相关研究还相对较少^[7,8]。

P53 是一种至今发现与肿瘤发生相关性最高的抑癌基因,在维持机体细胞的生产和调控细胞增殖、凋亡中起到了非常重要的作用^[9,10]。Bcl-2 作为最受重视的研究细胞凋亡的癌基因之一,是研究凋亡分子机制的主要靶分子。Bax 属于 Bcl-2 家族,能够抑制 Bcl-2 的表达,从而对机体细胞凋亡造成影响^[11,12]。本文中设计实验,使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预,对甲状腺癌细胞凋亡相关蛋白 P53、Bcl-2、Bax 表达进行检测,从而分析银杏叶提取物对甲状腺癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移、粘附能力的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

所选细胞株为人甲状腺癌细胞株,购于中国医学科学院肿瘤医院;主要试剂包括银杏叶提取物,上海研生生化试剂有限公司;鼠抗人 p53 抗体、兔抗大鼠 Bcl-2 抗体,北京中杉金桥生物技术有限公司;兔抗人 Bax 抗体,武汉博士德生物工程有限公司;MTT 试剂盒、Transwell 小室,钟鼎生物技术有限公司。本研究获得我院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组

将冻存的甲状腺癌细胞取出后,在 40 °C 的温度中进行火浴,并迅速进行摇晃至均匀、融化,并将其置入 2 mL 的培养基(10% PBS、1% 双抗(青链霉素) RPMI-1640 培养基 500 mL)之中,以 1000 r/min 的离心机离心处理 5 min,分离上清液,并用完全培养液进行重悬,然后传代到培养瓶内,将培养基加至 5 mL,并将之放入 CO₂ 培养箱中进行培养,次日换液,待细胞融合率达到 80%~90% 之时进行传代。实验分为空白组、低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组,种板后 24 h 换无血清培养液时加入银杏叶提取物预处理 24 h,细胞饥饿 24 h 后,更换无血清培养液,再每天加入银杏叶提取物,48 h 后提取细胞蛋白。4 组细胞中分别加入 1 μL 的 PBS 溶液和无菌生理盐水、5 μmol/L 浓度银杏叶提取物、10 μmol/L 浓度银杏叶提取物、20 μmol/L 浓度银杏叶提取物。

1.2.2 MTT 检测细胞增殖能力

将培养后的细胞制成细胞悬液,接种于 96 孔的培养板中,在每一个孔内加入细胞悬液 90 μL,每一个细胞组分别设置 5 个复孔,将不同浓度银杏叶提取物分别加入;空白组细胞每孔中加入 10 μL 的培养液,然后进行细胞培养。将培养细胞的观察时间设定为 24

h、48 h、72 h,待 4 组细胞培养到相应的时间后,在每孔中加入 20 μL MTT 继续孵育 4 h,将孔上的上清液仔细吸取,然后在孔中加入 150 μL DMSO,振荡 10 s,采用酶标仪测定波长为 570 nm 的细胞组 OD 值,按照肿瘤细胞增殖率计算公式,增殖率=(细胞组 OD 值/参照值-1)×100%,对细胞增殖率进行计算。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡

将 4 组甲状腺癌细胞传代至 5 孔板之中,并将细胞在 37 °C、5% CO₂ 的环境中进行培养,加入 0.25% 胰蛋白酶消化,使用 2000 r/min 的离心机处理 5 min 后收取细胞,并使用 PBS 缓冲液重复洗涤 2 次,再次用 2000 r/min 的离心机处理 5 min 后收集细胞,加入 1 mL PI 染液,在避光的常温环境中放置 1 h 后,然后用特异荧光标记后,在鞘液包裹下高速流动中,流动期间会发射出光子,严格按照流式细胞仪检测,利用发光信号测量仪检测光子数值,到达检测细胞凋亡的目的。

1.2.4 细胞划痕实验

将人甲状腺癌细胞接种到 18 孔板中,将细胞增长到 90% 时,使用 100 μL 的枪头,垂直划出 3 条直线。之后经过 PBS 缓冲液进行清洗 2~3 次,分别加入 0.5% 的血清培养基,观察 24 h 之后,使用倒置显微镜观察各组细胞的迁移变化。

1.2.5 Transwell 小室检测细胞侵袭

人甲状腺癌细胞转染 48 h 之后,使用 Transwell 试剂盒观察细胞侵袭能力。每组选 3 个复孔,先用胰酶消化细胞,之后使用 PBS 缓冲液清洗 1~2 次,用 10 g/L 的 BSA 重悬细胞,将细胞密度调整至 $\times 10^5$ 个/mL,取 150 μL 细胞悬液加入到 Transwell 小室中,培养 24 h,之后乙醇固定 5 min,使用结晶紫溶液染色,在倒置显微镜下观察计数穿膜细胞。

1.2.6 粘附实验

用 96 孔板,每孔加入 30 mg/L 的纤维连接蛋白(FN) 50 μL,置超净台上过夜风干,待用;使用前采用含 3% BSA 的 1×PBS 进行液化,置 37 °C 下封闭 2 h;每孔采用 RPM-1640 清洗 2 次,加入含 10% FBS 的 RPM-1640 的 5×10^5 个/ml 的细胞 200 μL,将细胞置 37 °C、5% CO₂、饱和湿度恒温细胞培养箱中培养 1 h;取出,1×PBS 清洗 2 遍洗去未粘附的细胞;然后每孔加入无血清培养基 100 μL 及 MTS(5 g/L)溶液 20 μL;拍照;37 °C 下继续培养 4 h,然后弃上清,每孔加入 100 μL 的 DMSO,轻微振荡 10 min 使得紫蓝色沉淀充分溶解,用酶标仪在 490 nm 波长测吸光值。采用吸光值代表细胞粘附能力,每组做 6 个复孔。

1.2.7 Western blot 法检测 p53、Bcl-2、Bax 表

达

将采集到的标本,使用 PBS 缓冲液清洗三遍,分离缓冲液,加入 IP 细胞裂解液,进行裂解 35 min,提取总蛋白,BCA 测定蛋白浓度。取 20 μg /孔 pro,通过 10%的 SDS-PAGE 凝胶进行电泳,加入适量浓缩的 SDS-PAGE 蛋白缓冲液 15 min; 100 V,电泳 10 min,结束之后,将电转膜浸泡在 10%的牛奶中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境下的摇床上封闭 1.5 h; 与一抗结合,加入 TBST 稀释按 (1:1000) 稀释一抗 Tubulin (内参照),在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的环境下孵育过夜保存;第二天用 TBST 缓冲液清洗,与二抗结合在室温下孵育 1 h,再次用 TBST 缓冲液清洗反复清洗。最后加入显影剂将其浸在底物溶液中进行显色,使用 BCA 蛋白定量试剂盒对目的蛋白灰度值进行分析,目的蛋白相对表达量=目的蛋白条带灰度值/内参条带灰度值。

1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件进行分析,计量资料采用 ($\bar{x}\pm s$) 进行描述,多组间比较采用 F 值检验,两组间比较采用实施独立样本 t 检验, $p<0.05$ 则说明差异具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 不同浓度银杏叶提取物对甲状腺癌细胞增殖的影响

杨久宜^[13]等在研究中表示,甲状腺癌细胞增殖率较高,对甲状腺癌细胞进行适当的干预后,能够有效抑制甲状腺癌细胞增殖。吴珺^[14]等在研究中表示,使用银杏叶提取物对乳腺癌细胞进行干预,能够抑制乳腺癌细胞增殖。本文研究结果如表 1 所示,24、48、72 h 时,低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞增殖率均低于空白组,高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞增殖率均低于低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组,差异具有统计学意义 ($p<0.05$); 并且随着时间的推移,四组甲状腺癌细胞增殖率均出现下降,空白组细胞增殖率自 (76.58 \pm 10.26) % 下降至 (60.12 \pm 8.11) %,低浓度银杏叶组细胞增殖率自 (69.52 \pm 9.86) % 下降至 (54.23 \pm 8.06) %,中浓度银杏叶组细胞增殖率自 (62.35 \pm 9.27) % 下降至 (32.87 \pm 7.23) %,高浓度银杏叶组细胞增殖率自 (57.03 \pm 8.26) % 下降至 (14.25 \pm 3.21) %。说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预,能够起到抑制甲状腺癌细胞增殖的作用,且具有一定的浓度依赖

性。

表 1 不同浓度银杏叶提取物对甲状腺癌细胞增殖的影响

Table 1 Effects of *Ginkgo biloba* extract at different concentrations on proliferation of thyroid cancer cells ($\bar{x}\pm s$)

组别	增殖率/%		
	24 h	48 h	72 h
空白组	76.58 \pm 10.26	65.33 \pm 9.52	60.12 \pm 8.11
低浓度银杏叶组	69.52 \pm 9.86*	58.36 \pm 8.23*	54.23 \pm 8.06*
中浓度银杏叶组	62.35 \pm 9.27 [#]	49.23 \pm 7.96 [#]	32.87 \pm 7.23 [#]
高浓度银杏叶组	57.03 \pm 8.26 ^{#Δ}	42.21 \pm 6.75 ^{#Δ}	14.25 \pm 3.21 ^{#Δ}
F	7.04	9.40	11.90
p	<0.05	<0.05	<0.05

注:与空白组相比,* $p<0.05$;与低浓度银杏叶组相比,[#] $p<0.05$;与中浓度银杏叶组相比, ^{Δ} $p<0.05$ 。下表同。

2.2 不同浓度银杏叶提取物对甲状腺癌细胞凋亡的影响

表 2 不同浓度银杏叶提取物对甲状腺癌细胞凋亡的影响

Table 2 Effects of *Ginkgo biloba* extract at different concentrations on apoptosis of thyroid cancer cells ($\bar{x}\pm s$)

组别	凋亡率/%		
	24 h	48 h	72 h
空白组	1.98 \pm 0.49	2.05 \pm 0.52	2.07 \pm 0.54
低浓度银杏叶组	12.54 \pm 2.16*	21.56 \pm 3.55*	30.11 \pm 4.02*
中浓度银杏叶组	31.58 \pm 3.54 [#]	45.87 \pm 4.59 [#]	58.76 \pm 5.11 [#]
高浓度银杏叶组	52.64 \pm 5.06 ^{#Δ}	65.77 \pm 5.16 ^{#Δ}	81.64 \pm 7.16 ^{#Δ}
F	22.39	25.92	32.79
p	<0.05	<0.05	<0.05

姬光瑜等^[15]在研究中提出,使用银杏叶提取物对结肠癌细胞进行干预,能够起到促进结肠癌细胞凋亡的作用。本文研究结果如表 2 所示,24、48、72 h 时,低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞凋亡率均高于空白组,高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞凋亡率均高于低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组,差异具有统计学意义 ($p<0.05$); 并且随着时间的推移,低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞凋亡率均出现上升,低浓度银杏叶组细胞凋亡率自 (12.54 \pm 2.16) % 上升至

(30.11±4.02) %，中浓度银杏叶组细胞凋亡率自(31.58±3.54) %上升至(58.76±5.11) %，高浓度银杏叶组细胞凋亡率自(52.64±5.06) %上升至(81.64±7.16) %。说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预，能够起到促进甲状腺癌细胞凋亡的作用，且具有一定的浓度依赖性。

2.3 不同浓度银杏叶提取物对甲状腺癌细胞迁移、侵袭、粘附的影响

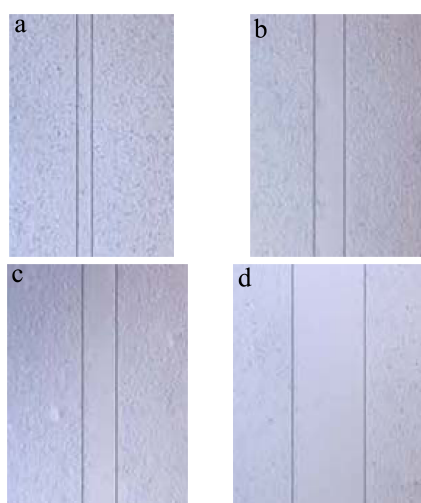


图1 不同浓度银杏叶提取物干预下甲状腺癌细胞迁移图 (×200)

Fig.1 Migration map of thyroid cancer cells intervened with different concentrations of *Ginkgo biloba* extract

注：a：空白组；b：低浓度银杏叶组；c：中浓度银杏叶组；d：高浓度银杏叶组。图2同。

如表3、图1所示，空白组、低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞迁移细胞数分别为86.22±7.35、65.32±6.21、42.88±5.13、25.66±3.22，空白组甲状腺癌细胞迁移细胞数高于其他三组，且高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞迁移细胞数低于低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组，说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预，能够抑制甲状腺癌细胞迁移能力，且具有一定的浓度依赖性。如表3、图2所示，空白组、低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞侵袭细胞数分别为79.27±7.33、67.34±6.05、43.67±5.77、24.19±3.34，空白组甲状腺癌细胞侵袭细胞数高于其他三组，且高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞侵袭细胞数低于低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组，说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预，能够抑制甲状腺癌细胞侵袭能力，且具一定的浓度依赖性。如表3所示，空白组、低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组、高浓度银杏叶组

甲状腺癌细胞粘附细胞数分别为26.77±3.62、22.73±3.41、17.36±3.15、13.02±2.97，空白组甲状腺癌细胞粘附细胞数高于其他三组，且高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞粘附细胞数低于低浓度银杏叶组、中浓度银杏叶组，说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预，能够抑制甲状腺癌细胞粘附能力，且具有一定的浓度依赖性。

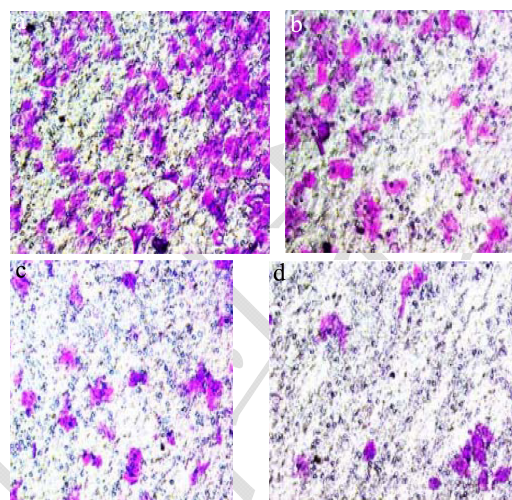


图2 不同浓度银杏叶提取物干预下甲状腺癌细胞侵袭图 (×200)

Fig.2 Invasion map of thyroid cancer cells intervened with different concentrations of *Ginkgo biloba* extract

表3 不同浓度银杏叶提取物对甲状腺癌细胞迁移、侵袭、粘附的影响

Table 3 Effects of different concentrations of *Ginkgo biloba* extract on migration, invasion and adhesion of thyroid cancer cells ($\bar{x} \pm s$)

组别	迁移细胞数	侵袭细胞数	粘附细胞数
空白组	86.22±7.35	79.27±7.33	26.77±3.62
低浓度银杏叶组	65.32±6.21*	67.34±6.05*	22.73±3.41*
中浓度银杏叶组	42.88±5.13*#	43.67±5.77*#	17.36±3.15*#
高浓度银杏叶组	25.66±3.22*#△	24.19±3.34*#△	13.02±2.97*#△
F	10.30	13.43	9.30
p	<0.05	<0.05	<0.05

2.4 不同浓度银杏叶提取物对凋亡相关蛋白p53、Bcl-2、Bax 相对表达量的影响

P53 是一种至今发现与肿瘤发生相关性最高的抑癌基因，P53 有野生型和突变型两种，在维持机体细胞的生产 and 调控细胞增殖、凋亡中起到了非常重要的

作用^[16]。当 P53 基因发生突变时, Bcl-2 基因表达也会增强, Bcl-2 能够延长细胞的生命, 抑制细胞的凋亡。Bcl-2 作为最受重视的研究细胞凋亡的癌基因之一, 其抑制细胞凋亡的作用可能和细胞催抗氧化, 抑制钙离子跨膜流动, 抑制线粒体通透性改变, 构建离子通道等有关, 是研究凋亡分子机制的主要靶分子^[17,18]。Bax 属于 Bcl-2 家族, 是免抗人单克隆抗体, 并且可以和 Bcl-2 结合形成异二聚体, 降低细胞膜通透性, 抑制 Bcl-2 的表达, 从而对机体细胞凋亡造成影响^[19,20]。如表 4 所示, 低、中、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 p53 蛋白相对表达量分别为 0.75±0.03、0.58±0.03、0.36±0.02, 均显著低于空白组, 且高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 p53 蛋白相对表达量低于低、中浓度银杏叶组, 差异具有统计学意义 ($p<0.05$)。低、中、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量分别为 0.71±0.04、0.43±0.03、0.26±0.02, 均低于空白组, 且高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量低于低、中浓度银杏叶组, 差异具有统计学意义 ($p<0.05$)。低、中、高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 Bax 蛋白相对表达量分别为 1.45±0.13、1.61±0.15、1.79±0.17, 均高于空白组, 且高浓度银杏叶组甲状腺癌细胞 Bax 蛋白相对表达量高于低、中浓度银杏叶组, 差异具有统计学意义 ($p<0.05$)。说明银杏叶提取物作用于甲状腺癌细胞, 能够通过调控凋亡相关蛋白 p53、Bcl-2、Bax 的表达而起到抑制癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡的作用。

表 4 不同浓度银杏叶提取物对凋亡相关蛋白 p53、Bcl-2、Bax 相对表达量的影响

Table 4 Effects of different concentrations of *Ginkgo biloba* extract on the relative expression of apoptosis-related proteins p53, Bcl-2 and Bax ($\bar{x}\pm s$)

组别	p53	Bcl-2	Bax
空白组	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.01
低浓度银杏叶组	0.75±0.03*	0.71±0.04*	1.45±0.13*
中浓度银杏叶组	0.58±0.03*#	0.43±0.03*#	1.61±0.15*#
高浓度银杏叶组	0.36±0.02*#△	0.26±0.02*#△	1.79±0.17*#△
<i>F</i>	37.50	33.36	16.37
<i>p</i>	<0.05	<0.05	<0.05

3 结论

3.1 在银杏叶提取物的干预下, 甲状腺癌细胞增殖率明显下降, 并且随着时间的推移以及银杏叶提取物浓

度的提升, 甲状腺癌细胞增殖率下降幅度愈发明显, 说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预, 能够起到抑制甲状腺癌细胞增殖的作用, 且具有一定的浓度依赖性。

3.2 在银杏叶提取物的干预下, 甲状腺癌细胞凋亡率明显提升, 并且随着时间的推移以及银杏叶提取物浓度的提升, 甲状腺癌细胞凋亡率越高, 说明使用银杏叶提取物对甲状腺癌细胞进行干预, 能够起到促进甲状腺癌细胞凋亡的作用, 且具有一定的浓度依赖性。

3.3 本文研究中, 如图 1、图 2 以及表 3 所示, 甲状腺癌细胞迁移、侵袭、粘附能力较强, 使用银杏叶提取物进行干预后, 甲状腺癌细胞迁移、侵袭、粘附细胞数均明显下降, 说明银杏叶提取物能够抑制甲状腺癌细胞迁移、侵袭、粘附能力。

3.4 在银杏叶提取物的干预下, 凋亡相关蛋白 p53、Bcl-2、Bax 表达受到明显的调控, 说明银杏叶提取物能够通过调控细胞凋亡相关蛋白 P53、Bcl-2 和 Bax 的表达而起到抑制甲状腺癌细胞增殖、促进甲状腺癌细胞凋亡的作用。

3.5 综上所述, 银杏叶提取物能够促进甲状腺癌细胞凋亡, 抑制甲状腺癌细胞增殖及侵袭、迁移、粘附能力, 其能力呈现浓度依赖, 并且能够通过调控细胞凋亡相关蛋白 P53、Bcl-2 和 Bax 的表达而起到抑制癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡的作用。

参考文献

- [1] Lam A K, Saremi N. Cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma: a distinctive type of thyroid cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2017, 24(4): 109-121
- [2] Straccia P, Brunelli C, Rossi E D, et al. The immunocytochemical expression of VE-1 (BRAF V600E-related) antibody identifies the aggressive variants of papillary thyroid carcinoma on liquid-based cytology [J]. *Cytopathology*, 2019, 5
- [3] Staniforth J U, Erdirman S, Eslick G D. Thyroid carcinoma in graves' disease: A meta-analysis [J]. *Int J Surg*, 2016. 27: 118-125
- [4] Xie J, Liu Y, Du X, et al. TGF-β1 promotes the invasion and migration of papillary thyroid carcinoma cells by inhibiting the expression of lnc RNA-NEF [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(3): 3125-3132
- [5] Tian J, Liu Y, Chen K. *Ginkgo biloba* extract in vascular protection: Molecular mechanisms and clinical applications [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, 15(6): 532-548
- [6] Kaur S, Sharma N, Nehru B. Anti-inflammatory effects of

- Ginkgo biloba* extract against trimethyltin-induced hippocampal neuronal injury [J]. *Inflammopharmacology*, 2018, 26(1): 87-104
- [7] Chang L, Liu T, Chai Z, et al. lincRNA-p21 mediates the anti-cancer effect of *Ginkgo biloba* extract EGb 761 by stabilizing E-cadherin protein in colon cancer [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 30(24): 9488-9496.
- [8] Bai Y, Zhao F, Li Y, et al. *Ginkgo biloba* extract induce cell apoptosis and G0/G1 cycle arrest in gastric cancer cells [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(11):20977-20982
- [9] Yu S, Dai J, Ma M, et al. RBCK1 promotes p53 degradation via ubiquitination in renal cell carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(4): 254
- [10] Plos one editors. Retraction: Interferon- β induces cellular senescence in cutaneous human papilloma virus-transformed human keratinocytes by affecting p53 transactivating activity [J]. *Plos One*, 2019, 14(3): e0214341
- [11] Wang L, Zhang L, Chow BKC. Secretin prevents apoptosis in the developing cerebellum through Bcl-2 and Bcl-xL [J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 68(3): 494-503
- [12] O'Neill K L, Huang K, Zhang J, et al. Inactivation of prosurvival Bcl-2 proteins activates Bax/Bak through the outer mitochondrial membrane [J]. *Genes Dev*, 2016, 30(8): 973-988
- [13] 杨久宜,贾思跃,吴灵桥,等.紫杉醇联合顺铂对甲状腺癌细胞 SW579 增殖、迁移和侵袭作用的影响[J].*中国药房*,2015,26(34):4782-4785
YANG Jiu-yi, JIA Si-yue, WU Ling-qiao, et al. Effects of paclitaxel combined with cisplatin on proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cell SW579 [J]. *Chinese Pharmacy*, 2015, 26 (34): 4782-4785
- [14] 吴琚,刘培培,刘新辉,等.银杏叶提取物(EGb-761)对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、侵袭及迁移能力的影响[J].*江西中医药*,2017,48(8):66-68
WU Jun, LIU Pei-pei, LIU Xin-hui, et al. Effects of *Ginkgo biloba* extract (EGb-761) on proliferation, invasion and migration of human breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. *Jiangxi Traditional Chinese Medicine*, 2017, 48(8): 66-68
- [15] 姬光瑜,承尧,马其钊,等.银杏叶提取物 EGb761 诱导 K-ras 突变型人结肠癌 DLD1 细胞凋亡及其机制[J].*肿瘤研究与临床*,2017,29(9):584-588,597
JI Guang-yu, CHENG Yao, MA Qi-zhao, et al. Apoptosis of K-ras mutant human colon cancer DLD1 cells induced by *Ginkgo biloba* extract EGb761 and its mechanism [J]. *Tumor research and clinical*, 2017, 29(9): 584-588, 597
- [16] Jiang D, Rusling J F. Oxidation chemistry of DNA and p53 tumor suppressor gene [J]. *Chemistry Open*, 2019, 8(3): 252-265
- [17] Fan J, Yu S, Cui Y, et al. Bcl-2/Bax protein and mRNA expression in yak (*Bos grunniens*) placentomes [J]. *Theriogenology*, 2017, 104: 23-29
- [18] Singh L, Pushker N, Saini N, et al. Expression of pro-apoptotic Bax and anti-apoptotic Bcl-2 proteins in human retinoblastoma [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 43(3): 259-267
- [19] Wang Z, Fang J, Xiao J. Correlation of the expression of inflammatory factors with expression of apoptosis-related genes Bax and Bcl-2, in burned rats [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 1790-1796
- [20] Liu Q, Xiao Y, Cai P, et al. Long noncoding RNA DINO (damage induced noncoding) represses the development of gastric cancer by modulating p21 and Bcl-2 Associated X protein (Bax) expression [J]. *J Cell Biochem*, 2019,18

(上接第 34 页)

- [19] Oki K, Dugersuren J, Demberel S, et al. Pyrosequencing analysis of the microbial diversity of airag, khoormog and tarag, traditional fermented dairy products of Mongolia [J]. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 2014, 33(2): 53-64
- [20] Dobson A, O'Sullivan O, Cotter P D, et al. High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2011, 320(1):56-62