

黄芪甲苷抑制黑色素瘤 B16 细胞的增殖作用

王日明, 宁雪, 任跃英

(吉林农业大学中药材学院, 吉林长春 130118)

摘要: 本文研究了黄芪甲苷抑制黑色素瘤 B16 细胞增殖并诱导细胞凋亡的影响。将细胞培养成功后, 分别分成空白对照组、低浓度组 (10 mg/mL)、中浓度组 (20 mg/mL)、高浓度组 (50 mg/mL), 检测黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞增殖及凋亡的影响, 并测定 Caspase-3、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bax、 β -catenin 等蛋白的表达量。结果表明, 黄芪甲苷具有较好的抗氧化活性, 50 mg/mL 处理时, 其还原能力和 DPPH 自由基清除能力分别为 0.92 和 70.82%; 在此作用浓度下, 处理 72 h 后, 其对 B16 细胞的增殖率和凋亡率分别为 15.55% 和 40.45%, 和其他各组均有显著性差异 ($p < 0.05$)。此外, 在高浓度黄芪甲苷作用下, Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 蛋白的表达量分别为 0.56、0.58、0.27、0.25, 显著区别于其他各实验组 ($p < 0.05$), 说明黄芪甲苷能抑制较好黑色素瘤 B16 细胞的增殖, 并通过调控 Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 蛋白表达, 诱导细胞凋亡。

关键词: 黄芪甲苷; 黑色素瘤; 增殖; 凋亡

文章编号: 1673-9078(2021)03-32-36

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0860

Astragaloside IV Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis of Melanoma B16 Cells

WANG Ri-ming, NING Xue, REN Yue-ying

(Jilin Agricultural University College of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130118, China)

Abstract: The effect of astragaloside IV on the proliferation and apoptosis of melanoma B16 cells was investigated. After the cells were cultured successfully, they were divided into blank control group, low concentration group (10 mg/mL), medium concentration group (20 mg/mL) and high concentration group (50 mg/mL). The effects of astragaloside IV on proliferation and apoptosis of melanoma B16 cells were evaluated, and the expression levels of caspase-3, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), bax and β -catenin were detected. The results showed that astragaloside IV had good antioxidant activity. When treated with 50 mg/mL, the reducing ability and DPPH free radical scavenging capacity were 0.92 and 70.82%, respectively. Under this concentration, the proliferation rate and apoptosis rate of B16 cells after 72 h treatment were 15.55% and 40.45%, respectively, which were significantly different from those of other groups ($p < 0.05$). In addition, the expression levels of caspase-3, Bcl-2, bax and β -catenin were 0.56, 0.58, 0.27 and 0.25, respectively, which were significantly different from those of other groups ($p < 0.05$). Results indicated that astragaloside IV could inhibit the proliferation of melanoma B16 cells and induce apoptosis by regulating the expression of caspase-3, Bcl-2, bax and β -catenin.

Key words: astragaloside IV; melanoma; proliferation; apoptosis

引文格式:

王日明, 宁雪, 任跃英. 黄芪甲苷抑制黑色素瘤 B16 细胞的增殖作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(3): 32-36

WANG Ri-ming, NING Xue, REN Yue-ying. Astragaloside IV inhibits proliferation and induces apoptosis of melanoma B16 cells [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 32-36

黑色素瘤属于临床中一种恶性肿瘤, 主要发生在患者的肢端的皮肤以及皮肤黏膜处。经过流行病学研究结果显示, 全球近年来黑色素瘤患者人数逐年增加, 并且患者死亡率较高, 对人们的生命健康产生严重的

收稿日期: 2020-09-14

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (2018020101)

作者简介: 王日明 (1994-), 男, 硕士, 研究方向: 中药炮制及药理

通讯作者: 任跃英 (1958-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药栽培及育种

威胁^[1]。相关研究显示, 黑色素瘤目前的发病机制尚不明确, 如果患者长时间在日光紫外线中暴露, 会增加患者患黑色素瘤的风险^[2]。黑色素瘤作为一种恶性肿瘤, 其特点是患者发病较为隐匿, 并且转移时间早, 患者容易复发, 部分患者存在放化疗抵抗, 因此患者死亡率较高^[3]。在临床治疗中, 黑色素瘤主要通过手术切除进行治疗, 但是对患者产生的伤口较大, 容易复发; 靶向治疗效果虽然理想, 但是患者容易产生耐

药性, 治疗有效时间相对较短; 免疫治疗黑色素瘤, 不能延长患者生存期, 并且患者所用药物具有较高的毒性, 低反应率等^[4,5]。因此在临床中寻找积极有效新型的药物治疗黑色素瘤对患者来说具有重要意义。

近年来, 我国中草药在临床应用越来越广, 其特点是种类多样, 对患者带来的副作用较小, 在药物研发方面, 我国存在独特的优势。中医认为, 黄芩性甘, 具有补气益血、益气固表的功效^[6]。研究指出, 黄芪甲苷含量是决定黄芪质量的重要指标, 在黄芪中含量较低, 加上黄芪作为一种中药材其成分较为复杂, 导致提取困难增加^[7]。已经有研究证实, 黄芪甲苷只是黄芪提取物中的有效成分之一, 其主要作用是对脑缺血损伤有一定的保护作用, 在抗炎、抗病毒等方面较为突出, 同时具有一定的降糖、免疫调节、抗氧化应激等作用^[8,9]。

临床中有大量研究认为, 黄芪甲苷在抑制肝癌、肺癌、卵巢癌等多种癌症增殖以及侵袭方面抑制作用显著, 可以作为一种潜在的肿瘤药物^[10,11]。但关于黄芪甲苷对黑色素瘤影响的相关研究较少。本文旨在通过对黄芪甲苷含量进行测定, 研究对黑色素瘤 B16 细胞增殖并诱导细胞凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

黄芪甲苷由中国药品生物制品检定所提供(纯度 95%, 批号: 0624-200709), 由吉林农业科技学院李赫男副教授鉴定; 黑色素瘤 B16 细胞由中国科学院上海细胞库提供。

1.2 试剂与仪器

细胞培养基、磷酸缓冲液(PBS)、胎牛血清, 上海碧云天生物技术有限公司; CCK-8 试剂盒, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; DPPH、Vc、MTT, Sigma 公司; Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 一抗, 美国 Abcam 公司; 胰酶、GAPDH, 美国 Gibco 公司; MEM 培养基, Procell 公司; Annexin V/PI 试剂盒, 珠海健康元生物公司; 流式细胞仪, 北京索莱宝科技有限公司; 倒置荧光显微镜, 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; CO₂ 培养箱, 德国 Heraeus 公司; 蛋白凝胶成像仪, 美国 Bio-Rad 公司; 其他均为分析纯试剂。

1.3 试验方法

1.3.1 黄芪甲苷抗氧化、还原能力实验

1.3.1.1 溶液配制

分为空白对照组、阳性对照组(1 mg/mL)、低浓度组(10 mg/mL)、中浓度组(25 mg/mL)、高浓度组(100 mg/mL)。Vc 溶液为 0.1 g Vc 溶于 100 mL 的蒸馏水中。黄芪甲苷采用蒸馏水配制成 10、20、50 mg/mL 溶液。

1.3.1.2 还原能力测定

采用铁氰化钾还原法检测: 将各组溶液滴加 2.5 mL 的 1% 铁氰化钾, 在 50 °C 环境中孵育 20 min, 再次滴加 1 mL 的 10% 的三氯乙酸, 离心处理 10 min, 分离上层溶液, 加蒸馏水和 0.1% 的 FeCl₂ 混合均匀, 在 700 nm 位置观察各组吸光度值(A)。

1.3.1.3 DPPH 自由基清除能力测定

取各组 0.5 mL 的黄芪甲苷溶液加 0.5 mL 的 DPPH·溶液, A_{样品} 为 0.5 mL 的黄芪甲苷溶液+无水乙醇吸光度; A_{空白} 为 0.5 mL 的样品溶液加 0.5 mL 的蒸馏水吸光度。

$$\text{DPPH 自由基清除率} \% = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}})] \times 100\%$$

1.3.2 细胞培养

将黑色素瘤 B16 细胞采用磷酸盐缓冲溶液(PBS)冲洗 3 次, 在离心试管中加入少量的 MEM 培养液。将其剪成 1 mm×1 mm×0.5 mm, 离心处理后将上清液摒弃, 加 3 mL/L 中的 I 型胶原酶, 在 37 °C、50 mL/L CO₂ 孵育箱中处理 30 min, 加培养液反应终止, 再次离心处理分离后, 将细胞在培养皿中平铺, 使用玻璃盖片将组织覆盖, 在 MEM 培养液中加入 200 mL/L 的胎牛血清, 在孵育箱中继续培养, 每间隔 3 d 更换一次培养液, 在倒置显微镜下观察人黑色素瘤 A375 细胞株生长情况, 等到细胞生长至培养皿底 80%, 加 2.5 g/L 胰蛋白酶给予消化, 1:3 传代, 采集对数生长的第一代细胞。

1.3.3 细胞增殖试验

选择对数生长的黑色素瘤 B16 细胞, 根据 5×10⁴ 个/mL 的密度将细胞接种在 96 孔培养板中, 每孔中加 100 μ L。培养 24 h 后观察细胞贴壁情况, 将培养液摒弃后, 对照组中加入 100 μ L 的培养液, 实验组中分别加入 100 μ L 浓度为 25、50、100 μ mol/L 的黄芪甲苷培养液, 每组中有 5 个复孔。加黄芪甲苷用药 72 h 后, 每孔中加 10 μ L 的 CCK-8 溶液, 连续孵育 4 h, 观察各组细胞增殖情况。

1.3.4 细胞凋亡试验

选择对数生长的黑色素瘤 B16 细胞, 采用胰酶消化后, 在 37 °C 5% 的 CO₂ 环境中连续培养 48 h, 将细胞浓度稀释到 2×10⁶ 个/mL, 提取 1 mL 的细胞悬浊液加入在离心试管中, 4 °C, 以 1000 r/min 离心 10 min。

摒弃上清液, 采用 PBS 连续冲洗细胞 2 次, 以 1000 r/min 离心 10 min, 再次摒弃上清液, PBS 连续冲洗细胞 2 次, 加入 200 μ L 的 Binding Buffer 重悬细胞, 加 5 μ L 的 Annexin-V/PI 试剂, 避光保存 20 min, 加 30 μ L PBS, 采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.3.5 增殖、凋亡相关蛋白检测

采用 Western Blot 检测, 将采集到的细胞 10000 \times g 离心处理 10 min, 对上清液进行提取后, BCA 进行蛋白定量检测, 在 2 \times SDS 凝胶缓冲液中加入 50 μ g 蛋白, 在 100 $^{\circ}$ C 环境中加热 5 min 有助于蛋白发生变性。凝胶电泳完、转膜, 取膜, 4 $^{\circ}$ C 环境下在 5% 脱脂牛奶中固定、封闭处理时间为 1 h, 将一抗使用 0.05%~0.10% TBST 给予稀释 (Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 一抗为 1:1000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜保存, 之后使用 0.05%~0.10% TBST 洗膜, 3 次, 每次为 5 min, 二抗被 0.05%~0.10% TBST 稀释 (1:10000), 摇动孵育时间为 1 h, 再次采用 TBST 连续洗膜 3 次, 处理时间为 5 min。DAB 显色, 定量分析蛋白表达情况。以 GAPDH 为内参。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验。 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 黄芪甲苷的还原能力和 DPPH 自由基清除能力

表 1 黄芪甲苷发还原能力和 DPPH 自由基清除能力

Table 1 Reducing ability and DPPH free radical scavenging capacity of astragaloside IV ($\bar{x} \pm s$)

组别	浓度 (mg/mL)	吸光度值	DPPH 自由基 清除率/%
对照组	-	0.16 \pm 0.01 ^a	-
Vc 组	1	0.75 \pm 0.05 ^b	66.50 \pm 0.15 ^a
低浓度组	10	0.42 \pm 0.03 ^c	28.35 \pm 0.29 ^b
中浓度组	20	0.65 \pm 0.02 ^d	45.35 \pm 0.26 ^c
高浓度组	50	0.92 \pm 0.09 ^e	70.82 \pm 0.27 ^a

注: 同列数据字母不同表示差异性显著, $p < 0.05$, 下同。

还原能力在物质抗氧化能力中具有重要作用, 抗氧化剂清除自由基的方式是通过自身的还原作用来给

出电子, 还原能力越强, 代表其抗氧化活性就越强^[12]。DPPH 自由基是一种稳定的含氮自由基, 抗氧化活性成分反应在其混合溶液中呈现深浅不同的紫色, 并在 517 nm 处具有最大的吸收峰。在本文实验中发现, 随着样品浓度的增大, 吸光值越大, 说明黄芪甲苷的还原能力增强。10 mg/mL、20 mg/mL、50 mg/mL 各浓度黄芪甲苷的吸光度值分别为 0.42、0.65、0.92; DPPH 自由基清除率分别为 28.35%、45.35%和 70.82%, 说明黄芪甲苷具有一定的还原能力和 DPPH 自由基清除能力。

2.3 黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞增殖情况的影响

肿瘤发展受肿瘤细胞不断增殖、异常分化有关, 还与细胞凋亡障碍有关^[13]。相关研究表明, 一旦肿瘤细胞凋亡被抑制, 肿瘤细胞占优势, 促进肿瘤发生^[14]。目前临床中主要通过抑制肿瘤细胞增殖, 促进肿瘤细胞凋亡来进行肿瘤治疗。黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞的抑制增殖见表 2, 表 2 结果表明, 黄芪甲苷作用后, 黑色素瘤 B16 细胞的增殖率均出现不同程度的降低, 特别是在 72 h 处理后, 高浓度组黑色素瘤 B16 细胞增殖率为 15.55%, 显著低于低浓度组的 32.55% 和中浓度组的 20.25%, 并且, 在同一浓度条件下, 随着作用时间的延长, 细胞的增殖率也呈现下降趋势, 表现出一定的浓度依赖, 与安小翠^[15]研究结果保持一致。

2.4 黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞凋亡的影响

细胞凋亡属于一种主动性死亡形式, 其目的是为了适应细胞中的环境而发生改变, 正常生理下的细胞凋亡, 有助于将机体中异常、衰老的细胞清除, 从而维持机体内部环境平衡^[16]。细胞凋亡过程是自由基因对细胞主动自杀进行编码调控的过程, 有助于维持机体自身的稳定, 保证细胞数量动态处于一种动态平衡, 在这一过程应用于临床中能成功诱导肿瘤细胞凋亡, 抑制癌细胞转移^[17]。黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞凋亡的影响见表 3, 结果表明, 黄芪甲苷处理能不同程度的提高细胞的凋亡率, 50 mg/mL 作用 72 h 后, 其对黑色素瘤 B16 细胞凋亡率达到了 40.45%, 且在不同的处理时间段, 呈现出浓度依赖特性, 说明黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞的凋亡有较好的促进作用。

表 2 不同处理时间黑色素瘤 B16 细胞的增殖率 (%)

Table 2 Proliferation rate of melanoma B16 cells at different treatment time

组别	浓度/(mg/mL)	24 h	48 h	72 h
对照组	-	50.52±10.25 ^a	55.50±15.55 ^a	70.56±20.50 ^a
低浓度组	10	45.35±10.20 ^b	38.56±10.55 ^b	32.55±3.65 ^b
中浓度组	20	30.58±3.35 ^c	26.25±2.15 ^c	20.25±5.15 ^c
高浓度组	50	22.15±2.50 ^d	19.50±1.15 ^d	15.55±0.95 ^d

表 3 黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞凋亡的影响 (%)

Table 3 Effect of astragaloside IV on apoptosis of melanoma B16 cells

组别	浓度/(mg/mL)	24 h	48 h	72 h
对照组	-	2.63±0.70 ^a	2.80±0.85 ^a	3.05±0.90 ^a
低浓度组	10	4.25±1.55 ^b	7.15±1.70 ^b	12.26±2.10 ^b
中浓度组	20	6.75±2.10 ^c	10.85±2.25 ^c	20.25±4.45 ^c
高浓度组	50	10.50±3.05 ^d	20.45±3.30 ^d	40.45±10.10 ^d

表 4 各组黑色素瘤 B16 细胞增殖、凋亡相关蛋白的表达

Table 4 Expression of proliferation and apoptosis related proteins of melanoma B16 cells in each group

组别	浓度/(mg/mL)	Caspase-3	Bcl-2	Bax	β -catenin
对照组	-	0.10±0.01 ^a	0.21±0.02 ^a	0.56±0.02 ^a	0.65±0.01 ^a
低浓度组	10	0.26±0.01 ^b	0.32±0.02 ^b	0.51±0.02 ^b	0.51±0.01 ^b
中浓度组	20	0.45±0.02 ^c	0.45±0.01 ^c	0.40±0.01 ^c	0.35±0.02 ^c
高浓度组	50	0.56±0.01 ^d	0.58±0.02 ^d	0.27±0.01 ^d	0.25±0.01 ^d

2.5 黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞增殖、凋亡相关蛋白表达的影响

在细胞凋亡增殖过程中有较多的信号通路以及相关分子参与,其中 Caspase 家族在这一过程中发挥着重要作用。Caspase 家族能切断其下游效应因子信号通路,对细胞骨架进行重组,将 DNA 复制和修复途径关闭后,有助于凋亡小体发挥诱导作用,特别是 Caspase-3 发挥着重要作用^[18]。Bcl-2 主要在线粒体中广泛存在,能调节线粒体膜, Bax 与 Bcl-2 之间联系紧密,在细胞凋亡中具有重要作用^[19]。Wnt/ β -catenin 信号通路属于一种保守信号通路,参与细胞增殖、分化等过程。在正常机体中, β -catenin 主要通过泛素蛋白酶体介导,其表达水平较低,研究结果显示,在黑色素瘤中, Wnt/ β -catenin 信号通路处于激活状态,通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路能起到治疗黑色素瘤的效果^[20]。黄芪甲苷对黑色素瘤 B16 细胞相关通路蛋白表达的影响见表 4,结果表明,随着作用浓度的增大,黄芪甲苷能显著提高 Caspase-3 和 Bcl-2 蛋白的表达并显著降低 Bax 和 β -catenin 的表达 ($p<0.05$),高浓度黄芪甲苷作用下, Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 蛋白的表达量分别为 0.56、0.58、0.27、0.25,显著区别与其他各实验组 ($p<0.05$)。说明黄芪甲苷能通过调

控 Wnt/ β -catenin 信号通路,调控 Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 表达,起到抑制黑色素瘤细胞增殖,促进凋亡的作用。

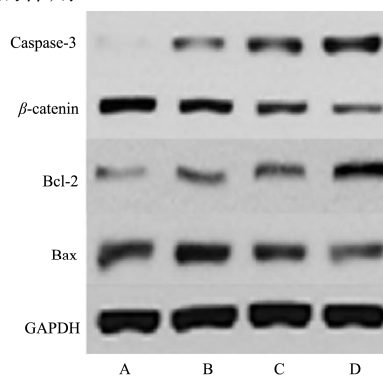


图 2 各组黑色素瘤 B16 细胞增殖、凋亡相关蛋白表达比较(WB)
Fig.2 Comparison of proliferation and apoptosis related protein expression of melanoma B16 cells in each group

注: A: 对照组; B: 低浓度组; C: 中浓度组; D: 高浓度组。

3 结论

研究认为,黄芪甲苷具有增强机体免疫力、抗病毒、抗应激、改善心肺功能等功效,有着“超级黄芪多糖”的美誉,实验结果表明,黄芪甲苷具有较好的体外抗氧化活性,随着浓度的提升,其还原能力和 DPPH 自由基清除能力具有大幅提高;同时,在高浓度(50

mg/mL) 处理下, 黄芪甲苷能显著抑制黑色素瘤 B16 细胞的增殖并促进其凋亡, 相关蛋白的表达也佐证了黄芪甲苷能通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路, 调控 Caspase-3、Bcl-2、Bax、 β -catenin 蛋白的表达, 从而抑制黑色素瘤细胞的增殖。

参考文献

- [1] Lee Y J, Kim W I, Kim S Y, et al. Flavonoid morin inhibits proliferation and induces apoptosis of melanoma cells by regulating reactive oxygen species, Sp1 and Mcl-1 [J]. Arch Pharm Res, 2019, 42(6): 531-542
- [2] Shi X, Yang L, Xie J, et al. UNBS5162 inhibits proliferation of human melanoma cells by inducing apoptosis via the PI3K/Akt pathway [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(3): 3382-3388
- [3] Xu Y, Sun W, Zheng B, et al. DEPDC1B knockdown inhibits the development of malignant melanoma through suppressing cell proliferation and inducing cell apoptosis [J]. Exp Cell Res, 2019, 379(1): 48-54
- [4] Sun Y, Li J, Zhang Y, et al. The polysaccharide extracted from *Umbilicaria esculenta* inhibits proliferation of melanoma cells through ROS-activated mitochondrial apoptosis pathway [J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(1): 57-64
- [5] Pavri S N, Clune J, Ariyan S, et al. Malignant melanoma: beyond the basics [J]. Plast Reconstr Surg, 2016, 138(2): 330e-40e
- [6] 张秋艳, 黄松丽, 张琳婧, 等. 黄芪和天花粉对小鼠恶性黑色素瘤 B16 细胞增殖和迁移及 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(5): 28-34
ZHANG Qiu-yan, HUANG Song-li, ZHANG Lin-jing, et al. Effects of *Astragalus membranaceus* and trichosanthin on proliferation, migration and protein expression of E-cadherin and N-cadherin in mouse melanoma B16 cells [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine Information, 2020, 27(5): 28-34
- [7] 田文仓, 冯紫薇, 石福娟, 等. 不同栽培方式产地蒙古黄芪中黄芪甲苷和总黄酮含量差异分析[J]. 中国现代中药, 2020, 22(4): 585-590, 602
TIAN Wen-cang, FENG Zi-wei, SHI Fu-juan, et al. Analysis of astragaloside IV and total flavonoids content in *Astragalus membranaceus* from different cultivated areas [J]. Modern Chinese Medicine, 2020, 22(4): 585-590, 602
- [8] 戴宇青, 蒋月, 张燕, 等. 黄芪对双歧杆菌生长的影响及其抗黑色素瘤作用研究[J]. 药物生物技术, 2017, 24(3): 200-205
DAI Yu-qing, JIANG Yue, ZHANG Yan, et al. Effects of *Astragalus membranaceus* on the growth of *Bifidobacterium* and its anti melanoma effect [J]. Pharmaceutical Biotechnology, 2017, 24(3): 200-205
- [9] 王俭, 胡溪恬, 刘巧, 等. 黄芪注射液影响人恶性黑色素瘤细胞凋亡的实验研究[J]. 吉林中医药, 2015, 35(4): 407-409, 414
WANG Jian, HU Xi-tian, LIU Qiao, et al. Experimental study of *Astragalus* injection on apoptosis of human malignant melanoma cells [J]. Jilin Traditional Chinese Medicine, 2015, 35(4): 407-409, 414
- [10] 张琳婧, 梁羽茜, 王媛媛, 等. 黄芪和天花粉配伍治疗黑色素瘤的文献挖掘[J]. 中医药学报, 2019, 47(1): 43-47
ZHANG Lin-jing, LIANG Yu-xi, WANG Yuan-yuan, et al. Literature mining of compatibility of *Astragalus membranaceus* and trichosanthin in the treatment of melanoma [J]. Acta Sinica Sinica, 2019, 47(1): 43-47
- [11] 唐淑贞, 张日文, 梁俊文. 黄芪甲苷对人卵巢癌细胞系 SKOV-3 细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响[J]. 医学分子生物学杂志, 2019, 16(4): 339-344
TANG Shu-zhen, ZHANG Ri-wen, LIANG Jun-wen. Effects of astragaloside IV on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human ovarian cancer cell line SKOV-3 [J]. Journal of Medical Molecular Biology, 2019, 16(4): 339-344
- [12] Siddhuraju P, Mohan P S, Becker K. Studies on the antioxidant activity of Indian laburnum (*Cassia fistula* L): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp [J]. Food Chemistry, 2002, 79(1): 61-67
- [13] Lv N, Hao S, Luo C, et al. MiR-137 inhibits melanoma cell proliferation through downregulation of GLO1 [J]. Sci China Life Sci, 2018, 61(5): 541-549
- [14] Mu Z, Sun Q. Cantharidin inhibits melanoma cell proliferation via the miR-21-mediated PTEN pathway [J]. Mol Med Rep, 2018, 18(5): 4603-4610
- [15] 安小翠, 朱瑞雪, 蔺淑梅, 等. 黄芪甲苷抑制 ROS NF- κ B 信号通路促进肝癌细胞增殖、凋亡的作用机制[J]. 现代消化及介入诊疗, 2019, 24(12): 1399-1403
AN Xiao-cui, ZHU Rui-xue, LIN Shu-mei, et al. Mechanism of astragaloside IV inhibiting ROS NF- κ B signaling pathway and promoting proliferation and apoptosis of hepatoma cells [J]. Modern Digestion and Interventional Diagnosis and Treatment, 2019, 24(12): 1399-1403
- [16] Cheng Q, Du J, Xie L, et al. Inhibition of SOX4 induces melanoma cell apoptosis via downregulation of NF- κ B p65 signaling [J]. Oncol Rep, 2018, 40(1): 369-376

(下转第 131 页)