

# 灵芝孢子油番茄红素复合物的抗肿瘤作用

井子良<sup>1</sup>, 吴纯宇<sup>1</sup>, 张慧敏<sup>2</sup>, 孙建博<sup>1\*</sup>

(1. 中国药科大学中药学院, 江苏南京 210009) (2. 江苏盛世康禾生物技术有限公司, 江苏常州 213032)

**摘要:** 该研究旨在考察灵芝孢子油番茄红素复合物(LZFQ)体内外抗肿瘤活性, 探讨其对肿瘤细胞的作用机制。用MTT法对人非小细胞肺癌细胞(A549)、人胃癌细胞(BGC823)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和人结肠癌细胞(HCT116)细胞活力进行检测, 建立裸鼠移植瘤模型研究LZFQ的体内抑瘤作用, 通过流式细胞术检测细胞凋亡变化及凋亡相关蛋白的表达, 对其抗肿瘤机制进行初步探讨。体外细胞活力实验表明LZFQ对4种肿瘤细胞的生长均具有一定抑制作用, 对A549细胞的抑制最明显( $IC_{50}=0.49$  mg/mL)。流式细胞术实验表明, LZFQ可以浓度依赖性的诱导细胞凋亡。Western blot实验表明, LZFQ浓度依赖性地降低抑凋亡蛋白Bcl-2的水平, 并提高促凋亡蛋白Bax及Caspase-3的水平。裸鼠移植瘤实验中, LZFQ给药剂量为2.00 g/kg(高剂量组)、1.00 g/kg(中剂量组)和0.50 g/kg(低剂量组)时, 对裸鼠移植瘤的抑制率分别为60.58%、51.92%和43.27%, 其中高、中、低剂量组与模型组比较均有显著差异( $p<0.01$ )。机制研究表明, LZFQ可以浓度依赖性诱导细胞凋亡, 并通过影响凋亡相关蛋白的表达诱导细胞凋亡。该研究结果表明LZFQ具有一定的抗肿瘤作用, 可为灵芝孢子油类产品的研发提供实验依据。

**关键词:** 灵芝孢子油番茄红素; 抗肿瘤活性; 细胞凋亡; 凋亡蛋白

文章编号: 1673-9078(2022)09-46-51

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.9.1160

## Antitumor Activity of Ganoderma Spore Oil-lycopene Complex

JING Ziliang<sup>1</sup>, WU Chunyu<sup>1</sup>, ZHANG Huimin<sup>2</sup>, SUN Jianbo<sup>1\*</sup>

(1. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

(2. Jiangsu ShengshiKanghe Biotechnology Co. Ltd., Changzhou 213032, China)

**Abstract:** The *in vitro* and *in vivo* antitumor activities of *Ganoderma lucidum* spore oil-lycopene complex (LZFQ), and its mechanism of action in A549 cells were investigated. The MTT method was used to measure the viability of human non-small cell lung cancer cells (A549), human gastric cancer cells (BGC823), human breast cancer cells (MCF-7) and human colon cancer cells (HCT116). A nude mouse transplanted tumor model was established to study the *in vivo* inhibitory effect of LZFQ on tumor. The changes in apoptosis and the expression of apoptosis-related proteins were examined by flow cytometry, and its anti-tumor mechanism was preliminarily explored. *In vitro* cell viability experiments showed that LZFQ had certain inhibitory effects on the growth of four kinds of tumor cells, with its inhibition on A549 cells being the greatest ( $IC_{50}=0.49$  mg/mL). Flowcytometry experiments showed that LZFQ could induce apoptosis in a concentration-dependent manner. Western blot experiments showed that LZFQ could reduced the level of anti-apoptotic protein Bcl-2 and increased the levels of pro-apoptotic proteins Bax and Caspase-3 in a concentration-dependent manner. The nude mice transplanted tumor experiments showed that when LZFQ was administered at doses of 2.00 g/kg (high dose group), 1.00 g/kg (medium dose group) and 0.50 g/kg (low dose group), the inhibition rates of transplanted tumor in nude mice were 60.58%, 51.92% and 43.27% respectively, with significant differences detected between the high-/medium-/low-dose groups and the model group ( $p<0.01$ ). Mechanism studies showed that LZFQ could induce apoptosis in a concentration-dependent manner, and induce apoptosis by affecting the expressions of apoptosis-related proteins. The research results show that LZFQ has a certain anti-tumor effect, which can provide an experimental basis for the research and development of *Ganoderma lucidum* spore oil products.

引文格式:

井子良,吴纯宇,张慧敏,等.灵芝孢子油番茄红素复合物的抗肿瘤作用[J].现代食品科技,2022,38(9):46-51

JING Ziliang, WU Chunyu, ZHANG Huimin, et al. Antitumor activity of ganoderma spore oil-lycopene complex [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 46-51

收稿日期: 2021-10-18

基金项目: 科技部“重大新药创制”重大科技专项(2011ZX09307-002)

作者简介: 井子良(1996-), 男, 硕士生, 研究方向: 中药与天然产物的活性成分, E-mail: 15951085152@163.com

通讯作者: 孙建博(1986-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药与天然产物的活性成分, E-mail: sunjianbo@cpu.edu.cn

**Key words:** *Ganoderma lucidum* spore oil; lycopene; antitumor activity; apoptosis; apoptotic protein

在肿瘤治疗过程中,中草药以及天然植物毒副作用少、临床应用广、提高免疫能力明显,是辅助肿瘤治疗的最佳药物。灵芝是一味历史悠久的中药,最早记载于《神农本草经》,被列为上品药材,是最受推崇的中药之一。灵芝孢子油是从破壁的灵芝孢子粉中提取得到的油状脂质物,含有三萜及甾醇类、核苷类、脂肪酸、维生素等多种成分<sup>[1]</sup>。现代药理和临床研究表明灵芝具有调节血脂、提高免疫力、改善心脑血管和呼吸功能等功效<sup>[1]</sup>。此外,灵芝及其提取物不仅可通过提高免疫力抑制肿瘤,还具有直接抗肿瘤作用,且其抑瘤作用呈浓度依赖性<sup>[1]</sup>。番茄红素结构中存在的大量不饱和双键,能够有效地吸收长波和淬灭单线态氧,是自然界中抗氧化能力极强的疏水性无环类胡萝卜素,抗氧化能力是维生素E的100倍<sup>[2]</sup>。番茄红素具有防治糖尿病血管并发症、增强免疫力、预防前列腺癌和心血管疾病等功能<sup>[3,4]</sup>。已有研究证实,番茄红素还能在一定程度上抑制胃癌、卵巢癌等癌症的进展<sup>[3,4]</sup>。

灵芝孢子油番茄红素复合物(LZFQ)是将灵芝孢子油作为主要成分,加入适量番茄红素作为辅料复合配比组成,复方中总三萜含量占比22.22%,番茄红素含量占比16.67%。该复合物有望通过灵芝孢子油和番茄红素的协同作用发挥有效的抗肿瘤活性。本研究研究了LZFQ对人非小细胞肺癌细胞(A549)、人胃癌细胞(BGC823)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和人结肠癌细胞(HCT116)的生长活性影响,通过裸鼠移植瘤模型研究LZFQ在体内对肿瘤的抑制作用,并对LZFQ的抗肿瘤活性机制进行初步探讨,旨在证实灵芝孢子油和番茄红素复合物具有开发为优良抗肿瘤活性制剂的潜力,以期为灵芝孢子油和番茄红素药理学研究和临床应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品和试剂

灵芝孢子油番茄红素复合物(批号:20210326),购自康道生物(南通)有限公司;RPMI-1640不完全培养基(货号:KGM31800-500)、DMEM不完全培养基(货号:KGM12800NH-500)、胰蛋白酶(货号:KGY0012)、PBS(货号:KGB5001)、Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒(货号:KGA108),江苏凯基生物技术股份有限公司;胎牛血清(货号:04-001-1ACS),Biological Industries;四甲基噻唑蓝(ST316),碧云天;DMSO,国药试剂公司;

环磷酸胺(批号:SLBC0666V),杭州吉诺医药生物科技有限公司。

### 1.2 细胞株

人非小细胞肺癌细胞(A549)、人胃癌细胞(BGC823)、人乳腺癌细胞(MCF-7)和人结肠癌细胞(HCT116)来源于凯基生物技术股份有限公司。

### 1.3 仪器与设备

60L/TOM SX-700高压蒸汽灭菌锅, Tomy Digital Biology; ESCO ISOtherm烘箱,新加坡艺思高科技有限公司; MSC-Advantage生物安全柜, Thermo; HERAcell 150i CO<sub>2</sub>培养箱, Thermo; TDZ4A-WS台式低速离心机,湘仪; Ts100倒置显微镜, Nikon; MX-F漩涡混匀仪,赛洛捷克; POLARstar多功能酶标仪, Omega; Ts2R倒置荧光显微镜, Nikon; Accuri C6小型流式细胞仪, BD Biosciences; FV3000激光共聚焦显微镜, Olympus。

### 1.4 MTT实验

细胞培养在含10%体积分数的胎牛血清(FBS)的DMEM培养液中,并孵育在含体积分数5% CO<sub>2</sub>的恒温(37℃)孵箱内。细胞培养一段时间后,首先用显微镜观察,判断细胞状态是否良好和数量是否达到80%以上,若符合以上条件,即可进行传代,首先将旧培养基除去, PBS清洗;其次加入1 mL胰酶(含EDTA)消化,均匀摇晃培养盘,保证胰酶能与培养盘表面充分接触,根据细胞种类的不同,在培养箱中消化不同时间(本实验所用细胞消化时间为1~3 min),消化结束后可进行镜检;加入完全培养基终止消化,通过吹打可见细胞成流沙状掉落,收集细胞, 1 000 r/min,离心5 min,除上清;最后使用培养基重悬细胞,将适量悬液打入培养盘中,放置在37℃培养箱中。当细胞状态处于指数生长期时准备接种,先倾倒培养液, PBS洗涤1次,加入1 mL 0.25%胰蛋白酶消化液消化约2 min,加入1 mL含10%胎牛血清的完全培养基, 1 000 r/min离心5 min,倾倒上清液,细胞计数并稀释至每毫升 $5 \times 10^3$ 个,并将细胞悬液以每孔200  $\mu$ L接种于96孔板上,置恒温CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h。加入不同浓度(0.125、0.25、0.50 mg/mL)的LZFQ和对照药物灵芝孢子油(LZBZ),每组设3个复孔,培养24 h。将MTT试剂加入96孔板中(每孔20  $\mu$ L),培养箱孵育4 h。用酶标仪在570 nm

波长处测吸光值 (OD 值), 并计算细胞抑制率和受试化合物的 IC<sub>50</sub> 值。

### 1.5 细胞凋亡实验

将处于对数生长期的 A549 细胞消化下来, 接种于 6 孔板中 (每孔  $4 \times 10^5$  个细胞), 置于恒温 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h, 然后吸去旧的培养基, 根据组别设置加入不同浓度 (0.125、0.25、0.50 mg/mL) 的 LZFQ 含药培养基, 同时设立阴性对照组 (DMSO)。在药物作用 48 h 后, 用不含 EDTA 的胰酶消化液消化细胞, 加入 1 mL 的完全培养基终止消化, 根据组别设置, 转移至相应的 5 mL 离心管中, 2 000 r/min 离心 5 min。吸去上清液, 加入 1 mL 的 PBS, 将细胞团块吹打均匀后转移至 1.5 mL 的离心管中, 2 000 r/min 离心 5 min, 吸去上清液, 加入 1 mL 的 PBS, 再次离心沉淀细胞。吸去上清液, 然后将细胞重悬于 500  $\mu$ L 缓冲液中, 依次加入 Annexin V-FITC (5  $\mu$ L) 和碘化丙啶 PI (5  $\mu$ L), 室温避光条件下孵育 15 min 后用流式细胞仪在 488 nm 处检测细胞凋亡情况。

### 1.6 Western blot 实验

将处于对数生长期的 A549 细胞消化下来, 接种于 6 孔板中 (每孔  $4 \times 10^5$  个细胞), 置恒温 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h, 然后吸去旧的培养基, 根据组别设置加入不同浓度 (0.125、0.25、0.50 mg/mL) 的 LZFQ 含药培养基, 同时设立阴性对照组 (DMSO)。在药物作用 24 h 后, 收集并用细胞裂解液 (RAPI) 裂解细胞, 提取蛋白, 将蛋白浓度稀释至 3 mg/mL (BCA 定量方法), 金属浴 100  $^{\circ}$ C 变性 10 min。在 SDS-PAGE 泳道中每孔上样 10  $\mu$ L, 电泳 1.5 h, 转膜, 用质量分数 1% 的 BSA 溶液封闭。一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, 吸去一抗, 加入二抗孵育 1 h, 天能凝胶成像系统显影并拍照, 用 Image J 软件处理数据。

### 1.7 实验动物与饲养条件

BALB/c Nude 裸小鼠, 购自南京青龙山动物繁殖场, 许可证号: SCXK (沪) 2018-0004。饲养条件: 室温 22~25  $^{\circ}$ C, 相对湿度: 60% $\pm$ 10%, 自然光线, 自由饮水进食, 适应性饲养 7 d。本实验已获得中国药科大学实验动物伦理委员会批准。

### 1.8 动物模型的建立及分组

分别将  $6 \times 10^6$  个 A549 细胞皮下接种于 Balb/c 裸小鼠的小鼠背部右侧皮下。饲养 7 d 后, 取小鼠称体质量, 随机分为 5 组, 每组 6 只。第 1 组为模型对照组,

第 2 组为 LZFQ 低剂量组 (0.50 g/kg), 第 3 组为 LZFQ 中剂量组 (1.00 g/kg), 第 4 组为 LZFQ 高剂量组 (2.00 g/kg), 第 5 组为环磷酰胺组 (0.075 g/kg)。每 2 d 测量一次体质量, 在连续 14 d 的灌胃喂食后, 将所有小鼠处死并称其质量, 解剖剥离瘤块, 并称其质量。根据公式 (1) 计算肿瘤抑制率。

$$S = \frac{C - T}{T} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

S——肿瘤抑制率, %;

C——给药组平均瘤重, g;

T——对照组平均瘤重, g。

### 1.9 数据统计学处理

所有的数据结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 21.0 数据处理软件行组间单因素方差分析, 多组间比较行 *F* 值检验, 组间对比行独立样本 *t* 检验, 若 *p* < 0.05 则表示存在显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 MTT 实验结果

采用 MTT 法对 LZFQ 进行了体外抗肿瘤活性测试, 并以 LZBZ 为阳性对照, 测定了它们对人非小细胞肺癌细胞 (A549)、人胃癌细胞 (BGC823)、人乳腺癌细胞 (MCF-7) 和人结肠癌细胞 (HCT116) 的抑制活性 (表 1)。结果如表 1 所示, 相较于灵芝孢子油, LZFQ 对人非小细胞肺癌细胞 (IC<sub>50</sub>=0.49 mg/mL)、人乳腺癌细胞 (IC<sub>50</sub>=0.53 mg/mL) 和人结肠癌细胞 (IC<sub>50</sub>=0.61 mg/mL) 有不同程度的提高。其中 LZFQ 对 A549 细胞的 IC<sub>50</sub> 值为 0.49 mg/mL, 在四种癌细胞中抗肿瘤活性最好, 因此, 选取 A549 细胞对 LZFQ 进行抗肿瘤机制研究。

表 1 LZFQ 对 4 种肿瘤细胞的抗增殖作用

Table 1 Antiproliferative effects of LZFQ on four tumor cells

组别	(mg/mL, $\bar{x} \pm s, n=3$ )			
	IC <sub>50</sub> /(mg/mL)			
	A549	BGC823	MCF-7	HCT116
LZFQ	0.49 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.04*	0.53 $\pm$ 0.01*	0.61 $\pm$ 0.04**
LZBZ	0.54 $\pm$ 0.03	0.56 $\pm$ 0.04	0.58 $\pm$ 0.05	0.66 $\pm$ 0.03

注: \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01 vs A549 by LZFQ。

### 2.2 LZFQ 诱导 A549 细胞凋亡

为了确定 LZFQ 是否诱导 A549 细胞凋亡, 在 A549 细胞中采用 annexin V-FITC/PI 双染色法来研究。

如图 1 所示, A549 细胞在不同浓度 (0.125、0.25、0.50 mg/mL) 的 LZFQ 作用 48 h 后, 早期 (annexin-V+/PI-) 和晚期 (annexin-V+/PI+) 凋亡细胞

比例分别为 11.20%、20.50%和 25.30%。结果表明 LZFQ 可以浓度依赖性的诱导细胞凋亡, 发挥抗肿瘤作用。

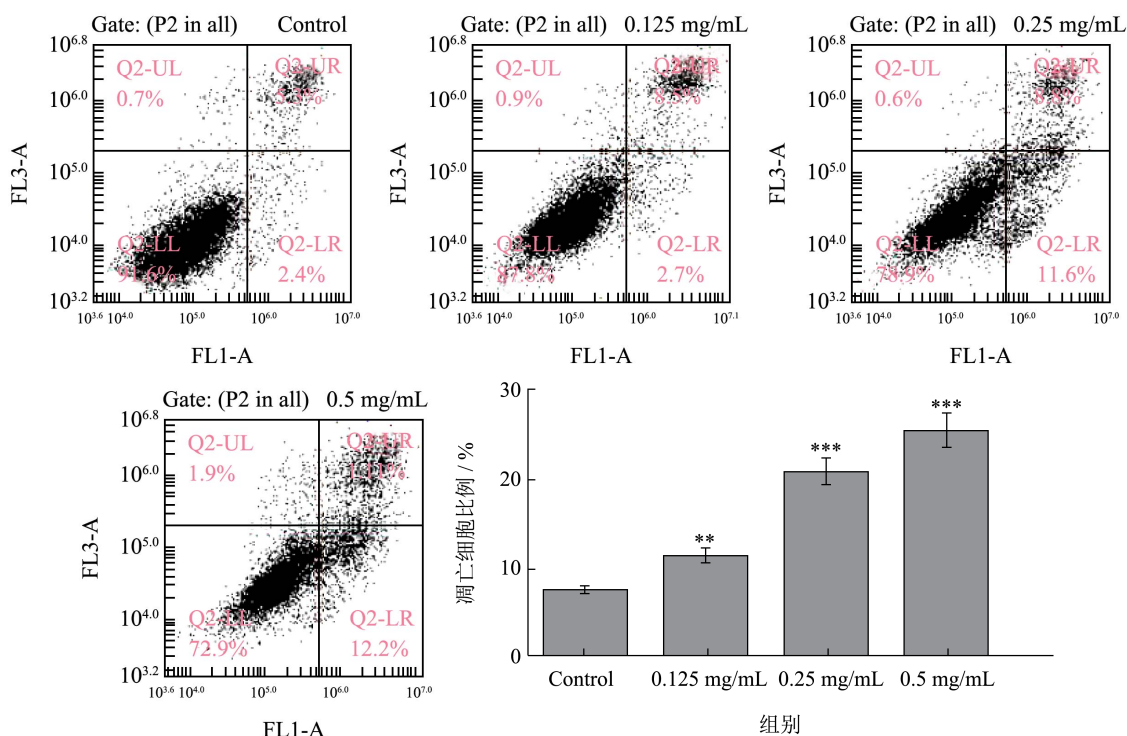


图 1 不同浓度 LZFQ 对 A549 细胞凋亡的影响

Fig.1 Effect of different concentration of LZFQ on apoptotic in A549 cell ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

注: \*\* $p<0.01$ ; \*\*\* $p<0.001$  vs control.

### 2.3 LZFQ 对凋亡相关蛋白的影响

表 2 LZFQ 对凋亡相关蛋白的影响

Table 2 Effects of LZFQ on the apoptosis related proteins. ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

LZFQ(mg/mL)	Ratio of apoptosis related proteins/GAPDH		
	Bcl-2	Bax	Cleaved-caspase-3
0	0.91±0.07	0.18±0.01	0.25±0.03
0.125	0.85±0.08	0.23±0.03	0.37±0.05*
0.25	0.60±0.04*	0.36±0.02*	0.59±0.02**
0.50	0.42±0.05**	0.44±0.04**	0.68±0.04**

注: \* $p<0.05$ ; \*\* $p<0.01$  vs DMSO group.

下调 Bcl-2 (抗凋亡蛋白) 水平及上调 Bax (促凋亡蛋白) 水平可激活凋亡通路。为进一步阐明 LZFQ 的促凋亡机制, 测试了其凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 及 Cleaved-Caspase-3 的影响作用。实验结果如表 2 所示, 随着给药浓度逐渐升高 (0、0.125、0.25、0.50 mg/mL), LZFQ 浓度依赖性地降低抑制凋亡蛋白 Bcl-2 的水平 (Bcl-2/GAPDH 为 0.91、0.85、0.60、0.42)、并提高促凋亡蛋白 Bax (Bax/GAPDH 为 0.18、0.23、0.36、0.44) 及 Caspase-3 (Cleaved-Caspase-3/GAPDH

为 0.25、0.37、0.59、0.68) 的水平。本实验表明, LZFQ 能够影响癌细胞中凋亡相关蛋白的水平, 从而发挥诱导癌细胞凋亡的作用。

### 2.4 LZFQ 对小鼠体内移植瘤的影响

为了评价 LZFQ 在体内的抗肿瘤活性, 将 A549 细胞接种于小鼠背部右侧皮下, 建立小鼠肺腺癌异种移植瘤模型。结果如表 3 所示, LZFQ 低、中、高剂量组对 A549 荷瘤小鼠抑瘤率分别为 43.27%、51.92%、60.58%, 三种剂量组明显减小了肿瘤质量, 与模型对照组相比有显著性差异 ( $p<0.01$ )。阳性对照组肿瘤显著减小, 与模型对照组相比差异有统计学意义 ( $p<0.01$ )。另外, LZFQ 低、中、高剂量给药荷瘤小鼠与模型组实验前后各组体重基本一致 (分别为 22.52、22.49 和 23.08 g), 而环磷酰胺组体重有所降低 (18.34 g), 表明 LZFQ 对体重没有显著影响。

灵芝孢子油是从破壁的灵芝孢子中提取的脂质活性物, 目前主要的提取方法包括索式提取法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法、超声波提取法以及水酶法。灵芝孢子油富含三萜类、核苷类及部分多糖类化合物, 是灵芝孢子有效成分的集合体<sup>[5,6]</sup>。随着灵芝孢子油提取工艺和

方法的进步,人们对灵芝孢子油的研究日益重视和深入。现代药理研究表明,灵芝孢子油具有抗肿瘤、免疫调节、神经调节、降血脂和保肝护肝等活性<sup>[6,7]</sup>。在抗肿瘤方面,灵芝孢子油能显著诱导多种肿瘤细胞凋亡,这与其上调 Bax 同时下调 Bcl-2 和 VEGF 的 mRNA 表达水平,降低线粒体膜电位和细胞色素 c 的释放等关键因素有关<sup>[8-13]</sup>。番茄红素是一种天然类胡萝卜素,

是由 11 个共轭双键和 2 个非共轭双键组成的直链碳氢化合物,主要存在于成熟的番茄、西瓜、番石榴、玫瑰果、木瓜和葡萄柚等果实中<sup>[14]</sup>。人体自身不能合成番茄红素,其摄入量的 85% 来源于番茄和以番茄为基础的产品<sup>[15]</sup>。药理研究表明,番茄红素在抗氧化、提高机体免疫力等方面具有较好的作用<sup>[16-26]</sup>,因而被广泛应用于保健品、化妆品中。

表 3 LZFQ 对 A549 荷瘤小鼠肿瘤质量的影响

Table 3 Inhibitory effects of LZFQ on tumor growth in A549 tumor-bearing mice ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/(g/kg)	肿瘤质量/g	平均抑瘤率/%	小鼠体质量/g
模型对照组	-	1.04±0.09	-	23.16±0.14
LZFQ 低剂量组	0.50	0.59±0.03**	43.27	22.52±0.19
LZFQ 中剂量组	1.00	0.50±0.03**	51.92	22.49±0.23
LZFQ 高剂量组	2.00	0.41±0.02**	60.58	23.08±0.21
LZBZ 组	2.00	0.45±0.03**	56.73	21.27±0.17
CTX 组	0.075	0.38±0.04**	63.46	18.34±0.16

注:与模型对照组相比\* $p<0.05$ ,\*\* $p<0.01$ 。

体外抗肿瘤活性实验表明灵芝孢子油番茄红素复合物具有和灵芝孢子油本身类似或更好的抗肿瘤活性。体内移植瘤实验也证明,灵芝孢子油番茄红素复合物与灵芝孢子油本身一样也能够抑制体内移植瘤的生长。这可能和灵芝孢子油与番茄红素发挥协同作用有关。

### 3 结论

本研究表明灵芝孢子油番茄红素复合物(LZFQ)在体内均表现出一定的抗肿瘤活性,LZFQ对A549细胞抑制活性最佳( $IC_{50}=0.49$  mg/mL),优于环磷酰胺( $IC_{50}=0.51$  mg/mL)。LZFQ可以通过诱导细胞凋亡来抑制肿瘤细胞,并且浓度依赖性地降低抑凋亡蛋白 Bcl-2 的水平并提高促凋亡蛋白 Bax、Caspase-3 的水平。体内移植瘤实验表明,LZFQ能够抑制体内移植瘤的生长。在后续研究中,将从灵芝孢子油和番茄红素的协同作用入手,进一步深入探究二者相互作用。总的来说,本研究成果可为灵芝孢子油类复合物产品的研发提供实验依据。

### 参考文献

- [1] 何伶俐,高倩颖,侯亚义.灵芝孢子油对人胃癌癌细胞 BGC823 的抑制作用[J].肿瘤防治研究,2011,7:36-38  
HE Lingfang, GAO Qianying, HOU Yayi. Inhibition of glossy *Ganoderma* spore oil to human gastric adenocarcinoma BGC823 cell [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2011, 7: 36-38
- [2] Torregrosa-Crespo J, Montero Z, Fuentes J L, et al. Exploring

- the valuable carotenoids for the large-scale production by marine microorganisms [J]. Marine Drugs, 2018, 16(6): 203
- [3] 范现英,董胜利,孟弘婧,等.番茄红素抗胃癌作用及机制的研究[J].中华临床医师杂志(电子版),2016,10(6):858-860  
FAN Xianying, DONG Shengli, MENG Hongjing, et al. Study on the effect and mechanism of lycopene on gastric cancer [J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2016, 10(6): 858-860
- [4] 柴静波,李萍,裴志萍.番茄红素对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖和凋亡的影响[J].医学研究杂志,2016,45(9):102-106  
CHAI Jingbo, LI Ping, PEI Zhiping. Effects of lycopene on the proliferation and apoptosis of ovarian SKOV3 cancer cell [J]. Journal of Medical Research, 2016, 45(9): 102-106
- [5] 彭学翰,谢文敏,李霖,等.灵芝孢子油体外抗肿瘤活性比较研究[J].中国药科大学学报,2019,50(1):81-86  
PENG Xuehan, XIE Wenmin, LI Ji, et al. Comparative investigation of *in vitro* antitumor activity of *Ganoderma lucidum* spore oil [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2019, 50(1): 81-86
- [6] 王健,焦强,王海波,等.灵芝孢子粉质量分析方法研究进展[J].药物分析杂志,2016,36(5):749-755  
WANG Jian, JIAO Qiang, WANG Haibo, et al. Research progress of quality assay for *Ganoderma* spore powder [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 36(5): 749-755
- [7] 赵雅欣,郭豫,胡芳,等.灵芝孢子油对老龄小鼠抗氧化能力的影响[J].农产品加工,2020,3:4-7  
ZHAO Yaxin, GUO Yu, HU Fang, et al. Effect of

- Ganoderma lucidum* spore oil on antioxidative capacity of aged mice [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2020, 3: 4-7
- [8] 宋玉仙, 窦环, 刘贤钦, 等. 灵芝孢子油对 MCF-7 细胞凋亡及迁移的影响[J]. 中医药信息, 2011, 28(2): 91-94  
SONG Yuxian, DOU Huan, LIU Xianqin, et al. The Effects of *Ganoderma lucidum* spore oil on MCF-7 Cell apoptosis and migration [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2011, 28(2): 91-94
- [9] Tang W, Liu J W, Zhao W M, et al. Ganoderic acid T from *Ganoderma lucidum* mycelia induces mitochondria mediated apoptosis in lung cancer cells [J]. Life Sciences, 2006, 80(3): 205-211
- [10] Smina T P, Mathew J, Janardhanan K K. *Ganoderma lucidum* total triterpenes attenuate DLA induced ascites and EAC induced solid tumours in Swiss albino mice [J]. Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France), 2016, 62(5): 55-59
- [11] Wang T, Xie Z, Huang Z, et al. Total triterpenoids from *Ganoderma lucidum* suppresses prostate cancer cell growth by inducing growth arrest and apoptosis [J]. Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences], 2015, 35(5): 736-741
- [12] Satria D, Amen Y, Niwa Y, et al. Lucidumol D, a new lanostane-type triterpene from fruiting bodies of reishi (*Ganoderma lingzhi*) [J]. Natural Product Research, 2018, 33(2): 189-195
- [13] 余梦瑶, 许晓燕, 魏巍, 等. 38 株灵芝子实体抗肿瘤质量的生物评价[J]. 中国食用菌, 2015, 34(2): 47-51  
YU Mengyao, XU Xiaoyan, WEI Wei, et al. The bio-assay on anti-tumor quality evaluation of the fruit bodies of 38 *Ganoderma lucidum* strains [J]. Edible Fungi of China, 2015, 34(2): 47-51
- [14] Saini R K, A Bekhit A E, Roohinejad S, et al. Chemical stability of lycopene in processed products: a review of the effects of processing methods and modern preservation strategies [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(3): 712-726
- [15] Bramley P M. Is lycopene beneficial to human health? [J]. Phytochemistry, 2000, 54(3): 233-236
- [16] Stahl W, Junghans A, de Boer B, et al. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein [J]. FEBS Letters, 1998, 427: 305-308
- [17] Zeng Z H, He W, Jia Z, et al. Lycopene improves insulin sensitivity through inhibition of STAT3/Srebp-1c-mediated lipid accumulation and inflammation in mice fed a high-fat diet [J]. Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes, 2017, 125(9): 610-617
- [18] Kawata A, Murakami Y, Suzuki S, et al. Anti-inflammatory activity of  $\beta$ -carotene, lycopene and tri-n-butyl borane, a scavenger of reactive oxygen species [J]. In Vivo, 2018, 32(2): 255-264
- [19] Jhou B Y, Song T Y, Lee I, et al. Lycopene inhibits metastasis of human liver adenocarcinoma SK Hep 1 cells by down regulation of NADPH oxidase 4 protein expression [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65: 6893-6903
- [20] Rowles J L, Erdman J W. Carotenoids and their role in cancer prevention [J]. Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids, 2020, 1865(11): 158613
- [21] 李莉. 基于 PPAR $\gamma$  研究番茄红素干预对食管癌发生发展的效果及机制[D]. 郑州: 郑州大学, 2019  
LI Li. Study on the effect and mechanisms of lycopene intervention on the occurrence and progression of esophageal cancer based on PPAR $\gamma$  [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2019
- [22] Aizawa K, Liu C, Tang S, et al. Tobacco carcinogen induces both lung cancer and non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinomas in ferrets which can be attenuated by lycopene supplementation [J]. International Journal of Cancer, 2016, 139(5): 1171-1181
- [23] Cui L L, Xu F, Wu K, et al. Anticancer effects and possible mechanisms of lycopene intervention on N-methyl benzyl nitrosamine induced esophageal cancer in F344 rats based on PPAR $\gamma$  [J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 881: 173230
- [24] Wang S L, Wu Y Y, Wang X, et al. Lycopene prevents carcinogen-induced cutaneous tumor by enhancing activation of the Nrf2 pathway through p62-triggered autophagic Keap1 degradation [J]. Aging, 2020, 12(9): 8167-8190
- [25] Tao A Q, Wang X, Li C Y. Effect of lycopene on oral squamous cell carcinoma cell growth by inhibiting IGF1 pathway [J]. Cancer Management and Research, 2021, 13: 723-732
- [26] Bi S Y, Li L, Gu H, et al. Lycopene upregulates ZO-1 and down regulates claudin-1 through autophagy inhibition in the human cutaneous squamous cell carcinoma cell line COLO-16 [J]. Journal of Cancer, 2019, 10(2): 510-521