

鱼藤素对小细胞肺癌的体外抗肿瘤效果评价及相关机制分析

谢小晨¹,丁文秋¹,徐华娥^{1,2},李晓林³,曾晓宁¹,孔辉¹,解卫平^{1*}

(¹南京医科大学第一附属医院呼吸科,²药学部,³老年消化科,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究鱼藤素对小细胞肺癌体外抗肿瘤效果。方法:0、5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 鱼藤素作用于 NCI-H446 细胞 24 h,细胞计数试剂盒 8(cell counting kit-8,CCK8)分析鱼藤素对细胞活力的影响。据 CCK8 结果,以 0、5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 鱼藤素作用于 NCI-H446 细胞,EdU 掺入法检测细胞增殖,DAPI 染色及流式细胞术测定细胞凋亡。据流式结果,20 $\mu\text{mol/L}$ 鱼藤素作用 NCI-H446 细胞 0、0.5、2.0、4.0 h,蛋白质印迹法检测细胞内凋亡相关蛋白的表达。结果:鱼藤素呈剂量依赖性地抑制小细胞肺癌 NCI-H446 细胞增殖、诱导其凋亡,作用不同时间后可上调促凋亡蛋白 Bax、下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平。结论:鱼藤素体外抗小细胞肺癌效应可能通过上调促凋亡蛋白 Bax、下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,诱导细胞凋亡实现。

[关键词] 小细胞肺癌;鱼藤素;增殖;凋亡

[中图分类号] R734.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)06-721-06

doi:10.7655/NYDXBNS20140606

The antitumor activities and mechanisms of deguelin in small cell lung cancer *in vitro*

Xie Xiaochen¹, Ding Wenqiu¹, Xu Huae^{1,2}, Li Xiaolin³, Zeng Xiaoning¹, Kong Hui¹, Xie Weiping^{1*}

(¹Department of Respiratory Medicine, ²Department of Pharmacy, ³Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antitumor activity of deguelin in small cell lung cancer and the possible underlying mechanisms. **Methods:** NCI-H446 cells were treated with deguelin at 0, 5, 10, 20 and 50 $\mu\text{mol/L}$ for 24 hours. The effect of deguelin on cell activity of NCI-H446 cells was evaluated by CCK8. EdU assay and DAPI staining were performed to assess cellular proliferation and apoptosis, respectively. According to flow cytometry analysis, 20 $\mu\text{mol/L}$ deguelin were given NCI-H446 cells for 0, 0.5, 2.0 and 4.0 hours, respectively. Western blot was applied to detect the levels of proteins involved in apoptosis. **Results:** Deguelin significantly inhibited proliferation and induced apoptosis of NCI-H446 in a dose-dependent manner. After treating with deguelin for different time lengths, pro-apoptotic protein Bax level was increased and anti-apoptotic protein Bcl-2 level was decreased. **Conclusion:** Deguelin suppresses small cell lung cancer *in vitro* via promoting its apoptosis probably by up-regulating pro-apoptotic protein Bax and down-regulating anti-apoptotic protein Bcl-2.

[Key words] small cell lung cancer; deguelin; proliferation; apoptosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(06):721-726]

肺癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁人类健康与生命,其中小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)约占 13%~15%^[1]。SCLC 对放疗和化疗敏感,但较难治愈,生存率低,大部分患者的中位生存期 7~12 个月,获得长期生存者仅占 2%^[2]。SCLC 生长迅速,恶性程度高,绝大多数患者确诊时

已伴有淋巴结或远处转移,已无手术治疗的指征。广泛期 SCLC 的治疗主要以全身放化疗为主。尽管 SCLC 细胞对化疗和放疗非常敏感,但几十年来多方案的临床试验并未找到彻底治愈 SCLC 的有效方法,且全身化疗多伴有严重不良反应。近年来植物来源抗肿瘤药物越来越受到重视,鱼藤素是一种从植物鱼藤中提取的黄酮类化合物,鱼藤素在多种肿瘤细胞和动物模型中均被证实具有较强的预防、治疗肿瘤及放疗增敏作用,且其抗肿瘤作用具有高度专

[基金项目] 国家自然科学基金(81273571)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: wpxie@njmu.edu.cn

一性,对正常细胞并没有杀伤作用,可能是新的有效且不良反应小的治疗肺癌药物。目前公开的数据库中关于鱼藤素对 SCLC 影响的研究未见报道。本研究主要观察鱼藤素对 SCLC 细胞株 NCI-H446 的抗肿瘤药效。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物

鱼藤素购自美国 Sigma 公司,纯度 > 98%,用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解,配制成 50 mmol/L 的储存液,等量分装, -20℃ 保存,使用前用培养基稀释成各种浓度,将 DMSO 浓度控制在 0.1% 以下。

1.1.2 试剂及设备

胰蛋白酶、DMSO 购自美国 Sigma 公司。RPMI-1640 培养基、胎牛血清购自美国 Gibco 公司,蛋白提取试剂盒、CCK8 (cell counting kit-8) 试剂盒、DAPI 染色液 (DAPI Staining Solution) 购自杭州碧云天生物技术有限公司。Annexin V/PI 双染试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷 (EdU) 试剂盒购自广州锐博生物科技有限公司, Bcl-2、Bax、 β -actin 一抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

SCLC 细胞系 NCI-H446 购自北京中国科学院上海细胞所,常规传代培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 37℃、5% CO₂ 及饱和湿度的培养箱中培养,隔天换液,3 d 传代 1 次。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞活力

取对数生长期的 NCI-H446 贴壁细胞经 0.25% 胰蛋白酶消化,低速离心收集制成 5×10^4 个/ml 单细胞悬液,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ l, 24 h 后吸弃原培养基,每组设 4 个平行孔,实验组每孔分别加入 100 μ l (0.5、10、20、50 μ mol/L) 的鱼藤素,对照组加 RPMI-1640 培养基溶液,继续培养 24 h 后终止实验。配置 10% 的 CCK8 溶液,吸弃原培养基,每孔加 100 μ l CCK8 溶液,孵育 2 h 后,用酶标仪在 450 nm 光谱下测吸光度值。重复测 3 次后取平均数,计算相对细胞生存率。生存率 (%) = (实验组吸光度值 / 对照组吸光度值) \times 100%。

1.2.3 EdU 检测细胞增殖

EdU 是一种胸腺嘧啶核苷类似物,在细胞增殖

时,可以取代脱氧胸腺嘧啶核苷插入正在复制的 DNA 分子之中,EdU 技术可以高效快速地检测细胞增殖,并可以有效检测处于 S 期细胞的比例。本实验以浓度分别为 0.5、10、20 μ mol/L 的鱼藤素作用 NCI-H446 细胞 12 h 后,按照 EdU 试剂盒的操作步骤进行染色,并在荧光显微镜下观察及随机取视野拍照,随后计数阳性细胞所占比例。

1.2.4 DAPI 染色观察细胞凋亡

DAPI 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料,和双链 DNA 结合后可以产生比 DAPI 自身强 20 多倍的荧光。DAPI 染色常用于细胞凋亡检测。根据细胞增殖抑制实验结果,选择浓度分别为 0.5、10、20 μ mol/L 的鱼藤素作用于 NCI-H446 细胞 12 h 并染色,后用荧光显微镜观察。计数染色质出现浓缩状态的凋亡细胞所占比例。

1.2.5 流式细胞仪 Annexin V/PI 双染法

用培养液调整细胞浓度为 1×10^6 个/L,接种于 6 孔培养板,每孔 2 ml。细胞贴壁后弃去培养液,实验组加鱼藤素,药物浓度同上,每组设 3 个复孔培养 24 h 后分别收集细胞,用冷的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer solution, PBS) 洗涤 3 次,重悬于 100 μ l 结合缓冲液,加入 5 μ l Annexin V 和 1 μ l PI 染色液并轻轻混匀,室温避光反应 15 min,加入 400 μ l 结合缓冲液,流式细胞仪检测读取细胞凋亡率,该试验重复 3 次。

1.2.6 蛋白印迹法检测蛋白水平

将细胞接种于 6 孔板,以 20 μ mol/L 鱼藤素作用不同时间后收集细胞,按照蛋白提取试剂盒提取细胞总蛋白,按蛋白定量试剂盒定量,与样品缓冲液混合,煮沸 5 min,每个泳道加 10 μ l 样品,在 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,然后将蛋白转至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉 (溶于 20 mmol/L Tris, 500 mmol/L NaCl, 0.1% Tween-20, pH 7.6) 封闭 1 h 后,加入一抗,4℃ 过夜。TBST 洗膜后加入辣根过氧化酶标记的羊抗兔二抗,室温孵育 1 h, TBST 漂洗后曝光。

1.3 统计学方法

实验结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS16.0 统计软件包进行分析,采用单因素方差分析进行各组间比较, $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鱼藤素对 NCI-H446 细胞生存率的影响

CCK8 结果显示,鱼藤素可抑制 NCI-H446 细胞增殖。随着鱼藤素浓度的增加,其抑制作用随之增强,提示其抑制作用呈剂量依赖性。以 5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 作用 24 h 后的生存率平均值分别为 $(96.83 \pm 0.21)\%$ 、 $(92.43 \pm 0.51)\%$ 、 $(75.73 \pm 2.41)\%$ 、 $(33.82 \pm 2.27)\%$ 。统计结果显示 5 $\mu\text{mol/L}$ 组和对照相比,相对细胞生存率比较差异无统计学意义 ($P = 0.15$),其余各实验组与对照组相比,相对细胞生存率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$,表 1)。通过公式计算所得 IC_{50} 值为 $(38.67 \pm 1.34)\mu\text{mol/L}$ 。

表 1 鱼藤素抑制小细胞肺癌 NCI-H446 细胞增殖

Table 1 Deguelin inhibited the proliferation of NCI-H446 cells

鱼藤素浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	相对细胞生存率平均值 (%)
0	100.00
5	96.83 ± 0.21
10	$92.43 \pm 0.51^*$
20	$75.73 \pm 2.41^*$
50	$33.82 \pm 2.27^*$

与对照组(0 $\mu\text{mol/L}$)相比, * $P < 0.05$ ($n = 3$)。

2.2 鱼藤素对 NCI-H446 细胞增殖的影响

随机取 5 个 100 倍视野,分别计数 100 个细胞,计算 EdU 染色阳性的细胞占总细胞数的比例 (图 1)。结果显示对照组增殖细胞所占比例为 $(43.87 \pm 0.96)\%$,实验组分别用浓度为 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 鱼藤素溶液作用 12 h 后,增殖细胞所占比例分别为

$(38.09 \pm 1.24)\%$ 、 $(29.63 \pm 0.96)\%$ 、 $(27.27 \pm 1.10)\%$ 。

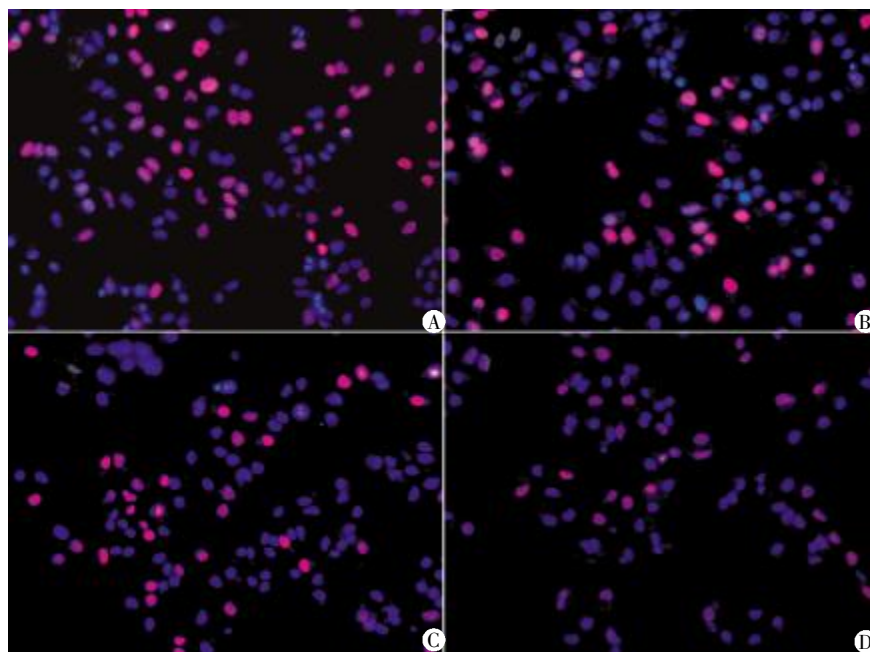
2.3 DAPI 染色观察鱼藤素对细胞凋亡的影响

随机取 5 个 100 倍视野,分别计数 100 个细胞,计算 DAPI 染色阳性的细胞占总细胞数的比例 (图 2)。结果显示对照组凋亡细胞所占比例为 $(2.00 \pm 0.97)\%$,实验组用浓度分别为 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 鱼藤素作用 12 h 后,计数凋亡细胞所占比例分别为 $(4.80 \pm 1.23)\%$ 、 $(10.67 \pm 1.14)\%$ 、 $(27.59 \pm 1.59)\%$ 。

2.4 流式细胞术检测鱼藤素对细胞凋亡率的影响

应用 AnnexinV/PI 双染和流式细胞仪计数,观察细胞是否发生凋亡(表 2、图 3),不同浓度鱼藤素作用 24 h,结果显示对照组早期凋亡细胞所占比例为 $(2.26 \pm 0.21)\%$,晚期凋亡所占比例为 $(2.17 \pm 2.80)\%$ 。实验组分别用浓度为 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 鱼藤素溶液作用 24 h 后,计数早期凋亡细胞所占比例分别为 $(9.47 \pm 3.23)\%$ 、 $(10.76 \pm 1.95)\%$ 、 $(23.17 \pm 7.97)\%$;晚期凋亡细胞所占比例分别为 $(2.62 \pm 1.88)\%$ 、 $(2.66 \pm 2.85)\%$ 、 $(6.21 \pm 3.42)\%$ 。实验结果显示随鱼藤素浓度的增高,早期凋亡细胞比例逐渐增高,晚期凋亡细胞比例逐渐升高,而活细胞所占比例逐渐下降。统计结果显示鱼藤素 20 $\mu\text{mol/L}$ 组与 0、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组间有统计学差异 ($P < 0.05$),其余各组间均无统计学差异。

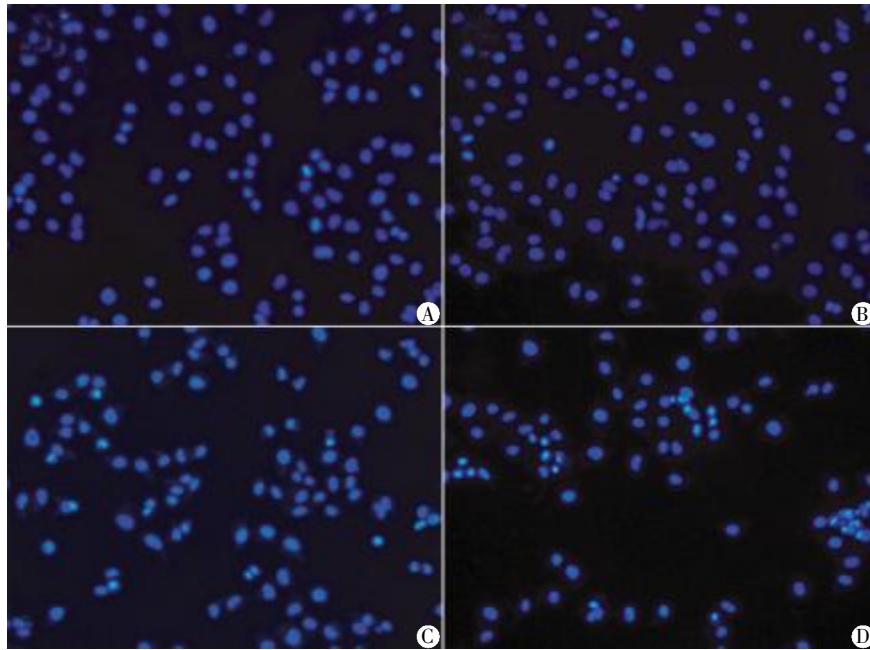
2.5 鱼藤素对凋亡相关蛋白表达的影响



A: 鱼藤素 0 $\mu\text{mol/L}$; B: 鱼藤素 5 $\mu\text{mol/L}$; C: 鱼藤素 10 $\mu\text{mol/L}$; D: 鱼藤素 20 $\mu\text{mol/L}$ 。

图 1 EdU 染色观察鱼藤素对 NCI-H446 细胞增殖效应的影响

Figure 1 Effect of deguelin on the proliferation of NCI-H446 cells by EdU staining



A: 鱼藤素 0 μmol/L; B: 鱼藤素 5 μmol/L; C: 鱼藤素 10 μmol/L; D: 鱼藤素 20 μmol/L。

图2 DAPI染色观察鱼藤素对NCI-H446细胞凋亡的影响

Figure 2 Effect of deguelin on the apoptosis of NCI-H446 cells by DAPI staining

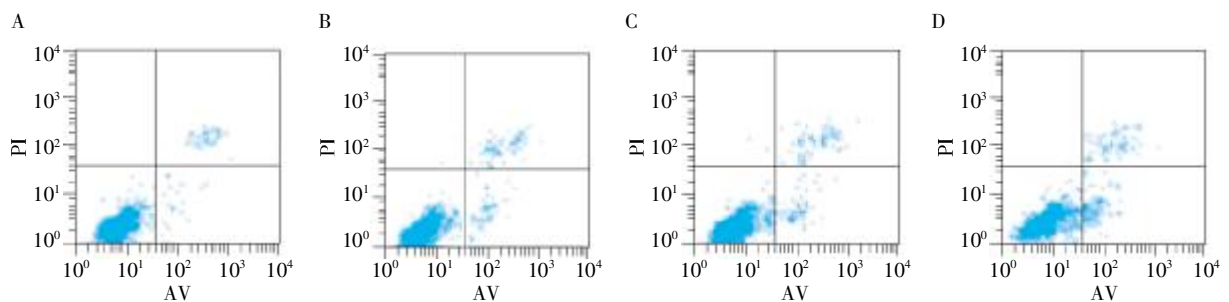
表2 鱼藤素诱导NCI-H446细胞的凋亡

Table 2 Deguelin induced the apoptosis of NCI-H446 cells (x̄ ± s, %)

鱼藤素浓度(μmol/L)	早期凋亡率	晚期凋亡率
0	2.26 ± 0.21*	2.17 ± 2.80*
5	9.47 ± 3.23*	2.62 ± 1.88*
10	10.76 ± 1.95*	2.66 ± 2.85*
20	23.17 ± 7.97	6.21 ± 3.42

与20 μmol/L组比较, *P < 0.05。

将20 μmol/L鱼藤素作用于NCI-H446细胞不同时间后, 蛋白印迹法检测凋亡相关蛋白Bax和Bcl-2的表达情况。鱼藤素作用0.5、2.0、4.0 h后, 与对照组相比, Bcl-2蛋白表达量下降, 分别是对照组的(0.61 ± 0.25)、(0.54 ± 0.25)、(0.49 ± 0.29)倍; Bax的表达量上升, 分别是对照组的(1.09 ± 0.03)、(1.40 ± 0.16)、(1.73 ± 0.05)倍; Bax/Bcl-2灰度比值升高(P < 0.05), 该实验重复3次(表3, 图4)。



A: 鱼藤素 0 μmol/L; B: 鱼藤素 5 μmol/L; C: 鱼藤素 10 μmol/L; D: 鱼藤素 20 μmol/L。

图3 FCAS检测鱼藤素诱导NCI-H446细胞的凋亡效应

Figure 3 Effect of deguelin on the apoptosis of NCI-H446 cells by FCAS

3 讨论

SCLC生长迅速, 多有早期转移, 手术治疗效果欠佳, 生存率低。目前治疗手段以放疗和化疗为主, 尽管积极治疗, 此类患者的长期生存率仍偏低, 且全

身放、化疗多伴有不良反应。中药抗肿瘤已成为近来国内外研究的热点, 有效的抗肿瘤中药给肿瘤治疗开辟了新前景。和化学合成的抗肿瘤药物相比, 抗肿瘤中药具有缓解患者临床症状, 延长生存期, 防止肿瘤复发转移, 提高患者免疫力, 增强放、化疗敏感性

表 3 鱼藤素对 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响
Table 3 The effect of deguelin on the expression of Bcl-2 and Bax in NCI-H446 cells

作用时间	平均灰度值		
	Bcl-2	Bax	Bax/Bcl-2
0 h	14 042.62 ± 7 886.97	7 689.95 ± 2 720.99	0.67 ± 0.47
0.5 h	7 962.73 ± 1 449.01	8 339.57 ± 2 801.67	1.08 ± 0.47*
2.0 h	6 788.66 ± 1 607.52	10 563.00 ± 3 389.61	1.68 ± 0.94*
4.0 h	4 481.99 ± 1 876.18	13 224.53 ± 4 487.07	3.11 ± 1.17*

与 0 h 比较, * $P < 0.05$ ($n=3$)。

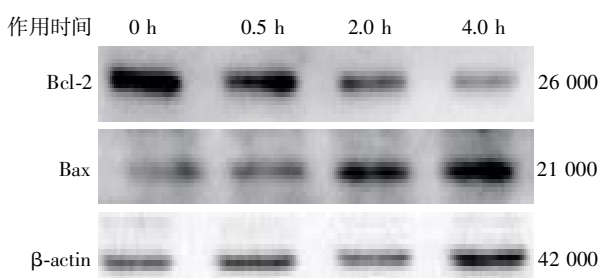


图 4 鱼藤素作用 NCI-H446 细胞不同时间对凋亡相关蛋白的影响

Figure 4 The Effect of deguelin on the expression of Bcl-2 and Bax in NCI-H446 cells

并减轻放、化疗不良反应等多种重要作用,且中药具有取材方便、不良反应小等优点。本实验主要研究中药鱼藤素对 SCLC 细胞的影响,以期寻找针对 SCLC 的安全有效的治疗药物。

研究证实鱼藤素诱导多种肿瘤(结肠癌、骨髓瘤、乳腺癌、胰腺癌、淋巴瘤等)细胞的凋亡^[3-7]。非小细胞肺癌细胞实验证明,鱼藤素通过抑制 PI3K/Akt 信号转导通路活性,抑制非小细胞肺癌细胞的增殖。多项研究证实鱼藤素可以抑制非小细胞肺癌细胞的增殖并诱导其凋亡,与本研究结果一致。本研究初步发现鱼藤素可以诱导 SCLC NCI-H446 细胞的凋亡。鱼藤素可通过调节 Bax/Bcl-2 蛋白的比率及抑制 Akt 的活性从而抑制小鼠骨髓瘤细胞的增殖^[4],本研究亦发现 NCI-H446 细胞系中 Bax/Bcl-2 蛋白比率发生上调。本研究发现鱼藤素可以诱导 SCLC 细胞 NCI-H446 的凋亡,同时流式结果显示鱼藤素诱导 SCLC 细胞的早期及晚期凋亡,其中以早期凋亡为主。目前鱼藤素诱导肺部肿瘤细胞(尤其是非小细胞肺癌)凋亡机制的相关研究日渐增多。有研究表明鱼藤素诱导恶性支气管上皮细胞凋亡与抑制生存素表达有关^[8]。Lee 等^[9]证实鱼藤素可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路,降低环氧合酶-2 的表达量,从而参与支气管上皮细胞癌变过程中的新陈代谢、血管形成、免疫监视及凋亡等。鱼藤素亦可抑制对放

疗不敏感的非小细胞肺癌细胞的低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)与热休克蛋白的相互作用及表达^[10]。Chun 等^[11]在香烟诱导的非小细胞肺癌大鼠体内研究证实鱼藤素抑制 Akt 活性,进而发挥抗癌作用。此外鱼藤素有效抑制肺腺癌细胞 NF- κ B 的活性,进而抑制 NF- κ B 基因相关产物的表达,最终增强细胞凋亡能力^[12]。对于稳定高表达 VEGF-D 的 LL/2 Lewis 肺癌细胞株(VEGF-D-LL/2)的体内外实验证明鱼藤素通过降低内皮细胞生长因子的表达抑制肺癌细胞的淋巴管形成及淋巴转移^[13]。HIF-1 α 在多种人肿瘤中高表达,实验中发现鱼藤素可以下调非小细胞肺癌 H1299 细胞的 HIF-1 α 表达进而发挥抗肿瘤作用^[14]。

目前鱼藤素的研究对象主要集中于非小细胞肺癌,尚未见国内外对 SCLC 的研究。本研究主要观察鱼藤素对 SCLC 细胞的影响。研究初步发现,鱼藤素抑制 SCLC NCI-H446 细胞的增殖并诱导其凋亡。CCK8 结果显示,鱼藤素可抑制 NCI-H446 细胞增殖。随着鱼藤素浓度的增加,其抑制作用随之增强,提示其抑制作用呈剂量依赖性。流式结果显示鱼藤素诱导的 SCLC 细胞以早期凋亡为主,随鱼藤素浓度的增高,早期凋亡细胞逐渐增高,凋亡细胞所占比例逐渐增加,活细胞所占比例逐渐下降,提示其诱导凋亡作用亦呈剂量依赖性。DAPI 染色显示随鱼藤素作用浓度的增加,凋亡细胞比例逐渐增加。本研究同时发现鱼藤素可影响 SCLC 细胞 Bcl-2 及 Bax 蛋白的表达,鱼藤素上调凋亡蛋白 Bax 表达,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,Bax/Bcl-2 比值升高。因此推测鱼藤素诱导 SCLC 细胞凋亡的途径可能为线粒体凋亡途径,但尚需更多结果予以证实。

鱼藤素抗肿瘤作用具有高度专一性,作用对象主要为肿瘤细胞及癌前细胞,对正常细胞的毒副作用甚小,高效低毒^[11],并能抑制癌细胞周围血管及淋巴管的形成^[6,13,15],降低肺癌转移的几率。因此鱼藤素可能成为未来新的有效且不良反应小的肺部肿瘤

治疗辅助药物,但目前鱼藤素在抗肿瘤治疗方面的临床研究尚未见诸报道,慢性毒性不良反应亦需要更多研究予以阐明。

[参考文献]

- [1] Wojtalla A, Fischer B, Kotelevets N, et al. Targeting the phosphoinositide 3-kinase p110- α isoform impairs cell proliferation, survival, and tumor growth in small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(1):96-105
- [2] Murray N, Turrisi AT. A review of first-line treatment for small-cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2006, 1(3):270-278
- [3] Murillo G, Kosmeder JW, Pezzuto JM, et al. Deguelin suppresses the formation of carcinogen-induced aberrant crypt foci in the colon of CF - 1 mice[J]. *Int J Cancer*, 2003, 104(1):7-11
- [4] Li Z, Wu J, Wu C, et al. Deguelin, a natural rotenoid, inhibits mouse myeloma cell growth *in vitro* via induction of apoptosis[J]. *Oncol Lett*, 2012, 4(4):677-681
- [5] Peng XH, Karna P, O'Regan RM, et al. Down-regulation of inhibitor of apoptosis proteins by deguelin selectively induces apoptosis in breast cancer cells[J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 71(1):101-111
- [6] Boreddy SR, Srivastava SK. Deguelin suppresses pancreatic tumor growth and metastasis by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition in an orthotopic model [J]. *Oncogene*, 2013, 32(34):3980-3991
- [7] Chen Y. Deguelin inhibits expression of I κ B α protein in Raji and U937 cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(4):485-490
- [8] Lee HY, Suh YA, Kosmeder JW, et al. Deguelin-induced inhibition of cyclooxygenase-2 expression in human bronchial epithelial cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(3):1074-1079
- [9] Kim WY, Oh SH, Woo JK, et al. Targeting heat shock protein 90 overrides the resistance of lung cancer cells by blocking radiation-induced stabilization of hypoxia-inducible factor-1 α [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(4):1624-1632
- [10] Lee HY, Oh SH, Woo JK, et al. Chemopreventive effects of deguelin, a novel Akt inhibitor, on tobacco-induced lung tumorigenesis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97(22):1695-1699
- [11] Chun KH, Kosmeder JW, Sun S, et al. Effects of deguelin on the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway and apoptosis in premalignant human bronchial epithelial cells[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2003, 95(4):291-302
- [12] Nair AS, Shishodia S, Ahn KS, et al. Deguelin, an Akt inhibitor, suppresses I κ B α kinase activation leading to suppression of NF- κ B-regulated gene expression, potentiation of apoptosis, and inhibition of cellular invasion[J]. *J Immunol*, 2006, 177(8):5612-5622
- [13] Hu J, Ye H, Fu A, et al. Deguelin-An inhibitor to tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis by downregulation of vascular endothelial cell growth factor-D in lung tumor model [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(10):2455-2466
- [14] Oh SH, Woo JK, Jin Q, et al. Identification of novel antiangiogenic anticancer activities of deguelin targeting hypoxia-inducible factor-1 alpha [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(1):5-14
- [15] Dell'Eva R, Ambrosini C, Minghelli S, et al. The Akt inhibitor deguelin, is an angiopreventive agent also acting on the NF-kappaB pathway[J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(2):404-413

[收稿日期] 2014-01-10