

天然产物通过细胞自噬调节抑制癌症的研究进展

张淑芳^{1,2}, 王玉芳¹, 袁红¹, 陈宁^{3,*}

(1.武汉体育学院研究生院, 湖北 武汉 430079; 2.武汉体育学院体育科技学院, 湖北 武汉 430205;

3.武汉体育学院健康科学学院, 运动干预与健康促进湖北省协同创新中心, 湖北 武汉 430079)

摘要: 传统的化疗手段在抑制肿瘤细胞生长的同时也会损伤到正常细胞, 所以其临床治疗效果受到很大限制。新型天然产物抗癌化合物基于其安全性和有效性, 将会成为人工合成化合物的替代物。临床前和临床研究已经证实一些植物天然产物(如白藜芦醇、姜黄素、人参皂苷等)具有抗癌潜力。本文综述具有代表性的天然产物如何通过靶向细胞内自噬通路诱导肿瘤细胞死亡及其涉及到的信号通路, 为其进一步开发应用于原发性和转移性肿瘤的治疗提供新的思路。

关键词: 白藜芦醇; 姜黄素; 人参皂苷; 自噬; 癌症

Natural Compounds: Targeting Pathways of Autophagy as Anticancer Agents

ZHANG Shu-fang^{1,2}, WANG Yu-fang¹, YUAN Hong¹, CHEN Ning^{3,*}

(1. Graduate School, Wuhan Sports University, Wuhan 430079, China; 2. College of Sports Science and Technology, Wuhan Sports University, Wuhan 430205, China; 3. Hubei Provincial Collaborative Innovation Center for Exercise and Health Promotion, College of Health Science, Wuhan Sports University, Wuhan 430079, China)

Abstract: Conventional chemotherapeutic agents are often toxic not only to tumor cells, but also to normal cells, limiting their therapeutic efficiency in clinical application. Novel natural anticancer compounds present an attractive alternative to synthetic compounds, based on their favorable safety and efficacy profiles. Pre-clinical and clinical studies have demonstrated that several representative natural compounds such as resveratrol, curcumin, and ginsenosides have anticancer potential. In this review, we summarize how natural compounds target autophagy to lead to cell death. We also discuss some involved core autophagic pathways. Recent advances in the discovery and evaluation of natural compounds as anticancer agents support future pre-clinical and clinical development of these agents for the treatment of primary and metastatic tumors.

Key words: resveratrol; curcumin; ginsenosides; autophagy; cancer

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)23-0331-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201423064

大量流行病学调查发现, 多种癌症的发生与人们的饮食结构有关, 由于生活方式和饮食习惯的改变, 癌症的发病率逐年提高。目前鉴于许多癌症的化疗效果不甚理想, 因此寻找一种新的高效而毒性低的抗癌药物显得尤为迫切。近50年来, 从植物、动物、微生物中分离并鉴定出一系列具有强大生理活性的天然产物, 其中很大一部分具有很好的抗癌活性。因此, 天然化合物必将成为未来癌症预防和治疗的潜在有效药物。体内和体外研究表明, 饮食中的许多物质具有

抗癌性能, 这些膳食剂通过调节细胞凋亡和自噬的信号通路从而起到癌症预防和预防的作用。细胞自噬是一种利用溶酶体对细胞内受损、变性或者衰老的蛋白质以及细胞器进行降解的分解代谢过程。迄今为止, 有很多天然产物已被报道通过自噬信号途径调节导致癌细胞死亡。本文选择一些具有代表性的天然产物, 综述其在癌症治疗方面的应用, 并总结其针对自噬信号通路的作用机制, 以期临床癌症预防与治疗提供新的研究思路。

收稿日期: 2014-09-01

基金项目: 武汉体育学院湖北省楚天学者启动基金项目

作者简介: 张淑芳(1980—), 女, 博士研究生, 研究方向为运动人体科学。E-mail: 272807322@qq.com

*通信作者: 陈宁(1972—), 男, 教授, 博士, 研究方向为生物化学与分子运动生理学, 运动或营养与健康促进。

E-mail: nchen510@gmail.com

1 自噬的发生过程

自噬是一种利用溶酶体对细胞内受损、变性或者衰老的蛋白质以及细胞器进行降解的分解代谢过程。正常生理情况下,自噬处于基础水平,而当细胞面临营养缺乏、DNA损伤、低氧和其他压力时,自噬的活性被上调。自噬作为一种机体保护机制能清除多余或受损的细胞器,但自噬过度活化会导致细胞死亡。根据细胞内底物运送到溶酶体腔内方式的不同,细胞自噬可分为3种方式:大自噬、小自噬和分子伴侣介导的自噬,通常讲的细胞自噬即大自噬。

自噬过程是由自噬相关基因 (autophagy related gene, ATG) 调节的,从酵母到哺乳动物,目前发现的ATG有30多种^[1]。Atg1也称为Unc51样激酶1 (Unc51-like kinase 1, Ulk1), 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,它对自噬的激活起着非常重要。自噬的激活还需要激活III型磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 蛋白复合物,其组件中包括Atg6 (*Beclin1*基因), PI3K的活化是通过*Beclin1*与Vps34结合而实现的,其中Vps34起催化作用。

自噬在诱导过程中形成双层膜囊泡,该膜不断扩张,形成成熟的囊泡,即自噬小体。自噬小体的形成由两个泛素样结合途径介导:Atg5-Atg12途径和微管相关蛋白1轻链3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3) 途径。磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine, PE) 与LC3的泛素样结合会促进LC3从细胞浆易位到自噬小体膜的起始部位;此外,LC3-PE在自噬小体膜上的定位是自噬启动的可靠标志。缺失Atg5的细胞其自噬的激活受到明显抑制,提示Atg5-Atg12通路在自噬中的重要作用。

自噬的最后步骤是自噬小体与溶酶体的融合,自噬体降解的内容物由溶酶体水解和回收重新回到细胞质中。使用溶酶体酸化剂 (如氯喹) 和蛋白酶抑制剂 (如胃蛋白酶抑制剂A) 会使自噬体在体内聚集,从而产生毒性作用^[2]。

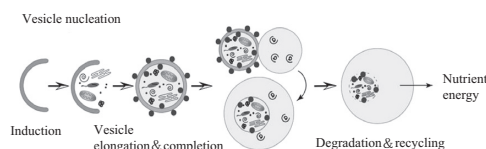


图1 细胞自噬的发生过程^[3]

Fig.1 Development and progression of autophagy^[3]

2 自噬与癌症

细胞自噬在细胞生存与死亡中有着双重作用,从而

参与机体的许多生理和病理过程。研究证实,细胞自噬最主要的调节因子*Beclin1*在多种癌细胞中缺失,如卵巢癌、乳腺癌和前列腺癌等^[4];此外,*Beclin1*基因杂合型小鼠患肿瘤的发生率比正常小鼠高^[4-5]。这些研究表明,当*Beclin1*基因的表达受到抑制时,癌症的发生率增加;研究还发现,Atg5和LC3突变造成的功能丧失会分别促进骨髓瘤和胶质母细胞瘤的生长^[6-7];另外,还有实验证明在正常组织中长期慢性地抑制细胞自噬,会激活肿瘤的生成过程^[8],由此可知,自噬功能异常是肿瘤形成与发展的重要因素。虽然自噬起着一定的肿瘤抑制功能,但肿瘤一旦形成,对营养和能量的需求比正常细胞更高,而肿瘤的微环境往往会出现营养不良或供应中断,此时细胞自噬活性的提高可以为癌细胞提供更丰富的营养,促进肿瘤生长^[9]。临床证据表明,晚期人鼻咽癌标本中,*Beclin1*基因高表达与生存率呈负相关。缺氧诱导的*Beclin1*和自噬激活可能使癌细胞存活并可能导致癌症复发^[10]。90%结直肠癌和胰腺癌病例标本的免疫组织化学结果显示,在癌组织周边区域LC3的高表达与预后不良相关^[10-11]。有研究发现,自噬缺陷会导致肿瘤局部营养缺乏,从而使肿瘤细胞数目减少^[12]。因此,在肿瘤发生发展的过程中,细胞自噬的作用具有两面性。

3 与自噬有关的抑癌天然产物

研究发现众多的天然产物 (图2) 在癌症防治中起到一定的作用。它们可以调节机体的氧化应激反应以及影响肿瘤细胞增殖和细胞自噬。

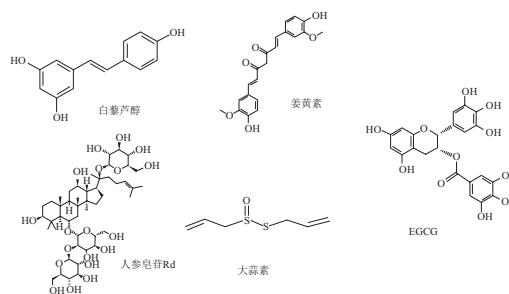


图2 代表性天然产物的化学结构

Fig.2 Chemical structures of representative natural products

3.1 白藜芦醇

白藜芦醇 (resveratrol, RSV) 是一种由植物产生的多酚类物质,主要存在于红葡萄皮、豌豆、坚果、蓝莓、桑葚、蔓越莓、菠菜、百合等植物组织中,化学名称为3,5,4'-三羟基二苯乙烯 (3,5,4'-trihydroxystilbene),分子式为C₁₄H₁₂O₃。RSV的天然存在形式有顺式和反式两种异构体,在植物中主要是反式异构体 (图2),其生理活性要强于顺式。早在1997年,就有研究发现局部应用RSV能使鼠皮肤肿瘤的发生率

下降,从而激发了人们对RSV抗癌活性的广泛关注^[13]。RSV可对癌症发生的3个阶段(起始、增殖、发生)进行抑制乃至逆转^[14]。在大多数肿瘤细胞中,诱导细胞发生凋亡是RSV抗肿瘤效应的主要机制,如RSV能诱导人乳腺癌细胞株T47D发生凋亡,而对正常外周血淋巴细胞则没有此作用。利用免疫荧光和聚合酶链式反应技术发现,RSV处理后的人白血病HL-60细胞,其细胞内表现出膜磷脂的不对称性和DNA片段的损失,且表现出一定的浓度依赖性。研究表明RSV诱导的HL-60细胞死亡与CD95信号传导依赖性凋亡有关^[15]。而近期研究发现RSV能通过诱导肿瘤细胞自噬性死亡来抑制其生长^[16-18],蛋白免疫印迹法测定结果表明,RSV通过介导Bcl-2和Bcl-x_L表达来引发卵巢癌A2780细胞自噬。RSV处理后的MCF-7细胞中,自噬的经典蛋白Beclin1的表达并没有发生改变,这提示,与其他天然产物于依赖于Beclin1复合物诱导自噬不同,RSV在乳腺癌细胞中对自噬的诱导是不依赖于Beclin1的^[19]。据报道,PI3K/Akt/mTOR信号转导途径是肿瘤细胞存活及凋亡以及新陈代谢重要的信号通路,Akt可通过p-Akt在能量代谢中的作用来抑制AMPK的活化,实现完全抑制TSC2,被抑制TSC2进一步传递信息激活mTOR,而RSV通过抑制蛋白激酶B(protein kinase B, PKB或Akt)的磷酸化,抑制了哺乳动物雷帕霉素靶点(mammalian target of rapamycin, mTOR)的底物p70S6K(p70 ribosomal protein S6 kinase)的磷酸化,从而抑制了mTOR信号通路^[20],因此,RSV可以通过调节PKB和AMPK的活性诱导自噬^[21]。利用流式细胞仪监测发现,RSV使小鼠肝癌细胞(hepatoma 22, H22)S期生长阻滞,从而增强氟尿嘧啶(fluorouracil, 5-FU)的抗肿瘤效应,同时还能降低5-FU的毒性^[22]。

3.2 姜黄素

姜黄素(curcumin)是从姜科植物姜黄、莪术、郁金等根茎中提取的主要有效成分^[23],这种黄色色素一直作为食品着色剂被人们所利用。研究发现,姜黄素有非常广泛的生物学功能,特别是其抗癌作用备受关注。姜黄素可以抑制肿瘤细胞增殖,诱导多种肿瘤细胞的体外凋亡,包括膀胱癌^[24]、胰腺癌^[25]、前列腺癌^[26]、子宫颈癌^[27]等,细胞实验还证实,它在化疗和 γ 射线治疗中显示出良好的药物性能^[28]。Kim等^[29]研究了姜黄素对大鼠乳腺癌的抑制作用,当以100、200 mg/kg的剂量进行注射时,姜黄素能够显著降低乳腺癌细胞的数量,同时肝脏谷胱甘肽巯基转移酶活性没有受到影响^[30]。研究还发现,姜黄素能够明显降低乳腺癌向肺部的转移,小鼠接种乳腺癌35 d后,非治疗组动物肺部都出现癌变,而口服1%的姜黄素后,21%小鼠肺部未出现癌变。Hong等^[31]研究证实,小鼠皮下注射具有雄性激素依赖性的前列腺癌细胞后,对照组口服安慰剂,实验组口服姜黄素

5 mg/kg,10周后,实验组小鼠肿瘤体积明显减少,同时肿瘤扩散率明显下降。据报道,姜黄素通过诱导细胞自噬从而抑制慢性粒细胞白血病、恶性胶质瘤和食道癌的癌细胞增殖^[32-34]。姜黄素能抑制白血病细胞系K562细胞的活力,使K562细胞中LC3-II和Beclin1表达水平升高,这表明姜黄素能够促进自噬体的形成。利用自噬抑制剂巴弗洛霉素A1后,会抑制姜黄素诱导的K562细胞死亡。这些结果表明,姜黄素诱导自噬和K562细胞死亡^[33]。在恶性胶质瘤细胞中,发现姜黄素可以抑制Akt/p70S6K途径以及激活ERK1/2(extracellular signal-regulated kinases),从而诱导自噬^[35]。姜黄素能诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成,上调Beclin 1和p53表达水平,激活自噬并最终导致人结肠癌细胞的死亡^[36]。丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶1(serine/threonine protein phosphatases type-1, PP1)和PP2A是磷酸化作用的重要靶标,姜黄素通过抑制PP1,刺激ERK的磷酸化^[34]。除了激活自噬外,姜黄素在抑制K562细胞生长中,还表现出一定的时间和浓度依赖性。现已发现姜黄素诱导的细胞死亡与凋亡复合物的形成、线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)以及Caspase-3的活化有关,此外,姜黄素的治疗还会引起K562细胞中Bcl-2蛋白表达下调^[33]。Qian Haoran等^[37]研究了姜黄素与阿霉素联合治疗对人肝癌G2(hepatoma G2, HepG2)细胞的杀伤作用,发现两者组合治疗与单一治疗相比,HepG2活细胞的数量显著下降。姜黄素和阿霉素治疗后,Hoechst染色能观察到HepG2细胞凋亡现象,同时检测到Bcl-2/Bax蛋白的比例下调和Caspase-3的活化。此外,姜黄素还能导致HepG2细胞线粒体的裂解、降低线粒体膜电位、以及自噬的激活。这些结果表明姜黄素可能通过激活线粒体介导的细胞自噬,增强阿霉素对HepG2细胞杀伤率。

3.3 人参皂苷

人参作为滋养品在中国已经有几千年的历史,《神农本草经》一书详细介绍了人参有“补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、除邪气、明目开心益智、久服轻身延年”的功效。人参皂苷(ginsenoside)是人参的主要药理学活性成分。大量研究表明,人参皂苷具有抑制肿瘤细胞生长、抗疲劳、抗衰老、增强机体免疫力、调节中枢神经、改善心脑血管供血不足等作用^[38]。国内外学者对人参皂苷预防和抑制肿瘤的作用进行了深入的研究,结果发现,人参皂苷能够促进肿瘤细胞的凋亡,促使肿瘤细胞的分化增强,提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,抑制肿瘤新生血管的形成,抑制肿瘤的生长和转移等方面具有重要作用^[39]。目前确定的人参皂苷化合物接近40种,人参皂苷由于其化学结构差异可能会造成药理学功能的不同,其中最常用的人参皂苷是Rb1、Rg1、

Rg3、F2、Rd和Rh1。已报道Rg3和Rh2对各种癌细胞的生长有明显的抑制作用^[40-41]。人参皂苷Rg3能增强癌症化疗的疗效,多西他赛、紫杉醇、顺铂、多柔比星等和Rg3联合治疗能增强结肠癌细胞对化疗药物的敏感性^[41]。类似的现象还发生在前列腺癌细胞中,Rg3和多西紫杉醇组合应用能更有效地诱导细胞凋亡和细胞周期G1期的阻滞^[42]。低剂量的环磷酰胺与Rg3合用能抑制肿瘤微血管的生成,两药合用还提高了病人的最长存活率^[43]。人参皂苷的抑癌作用可能与其对自噬的调节作用有关,Ko等^[44]研究发现,人参皂苷Rk1在体外使HepG2细胞活力下降,抑制HepG2细胞增生。利用不同浓度的Rk1处理后,处于G1期的HepG2细胞从53.3%上升到91.9%。Rk1能够诱导自噬,共聚焦显微镜观察它使自噬标志物LC3表达增加,特别是LC3-II增加明显,人参皂苷Rk1与自噬抑制剂组合使用,能增强Rk1的抗癌作用。Mai等^[45]研究了人参皂苷F2对乳腺癌干细胞增殖活性的抑制作用。F2通过激活内在凋亡途径和线粒体功能障碍引起人乳腺癌干细胞凋亡。同时,人参皂苷F2可以诱导酸性囊泡的形成,募集GFP-LC3-II到自噬体,并且使Atg7的表达水平升高,这表明人参皂苷F2启动了乳腺癌干细胞中的自噬进程,利用自噬抑制剂可以增强F2诱导的细胞死亡。

3.4 儿茶素

儿茶素是绿茶的主要成分,其有效生物学成分为表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)。在一定的生理范围内,EGCG在不影响到正常细胞的情况下,能够诱导多种癌细胞凋亡,并且使癌细胞生长周期停滞^[46]。EGCG和环氧合酶-2抑制剂联合治疗前列腺癌能抑制癌细胞生长、激活Caspases、诱导癌细胞凋亡和抑制NF- κ B的活性。EGCG预处理导致细胞死亡的信号调制级联反应非常复杂,涉及到Fas相关蛋白(Fas-associated protein with death domain, FADD)和FLICE抑制蛋白。EGCG通过依赖于P53的信号通路使同基因系细胞的生长周期收到抑制,同时诱导前列腺癌细胞的凋亡。EGCG发挥作用与两个蛋白的功能密切相关:p21和Bax,其中任何一个蛋白下调都有利于细胞的生长^[47]。

利用前列腺癌细胞研究发现,EGCG能抑制肿瘤干细胞的自我更新能力。EGCG诱导的肿瘤细胞凋亡是通过激活Caspase-3以及抑制Bcl-2的表达实现^[48]。EGCG能显著抑制人乳腺癌MCF-7细胞中依赖于Fas mRNA和Fas蛋白诱导的抑制蛋白(heregulin, HRG)- β 1的表达,此外,还能降低Akt和Erk1/2的磷酸化^[49]。在人类表皮样癌A431细胞中,EGCG能显著增强A431细胞中Caspases的活性,增加Caspases-3、Caspase-8和Caspase-9的表达。Caspase抑制剂会阻断EGCG诱导的细胞凋亡。在多发性骨髓瘤细胞中,EGCG通过诱导死亡相关蛋白激酶2、Fas配体、Fas和Caspase-3的表达,抑制肿瘤细胞的生长及诱导肿

瘤细胞凋亡^[50]。在人类胰腺癌细胞中,EGCG诱发Bax基因低聚、线粒体膜去极化以促进细胞色素c释放到细胞质中、Caspase依赖的细胞凋亡增强^[51]。

3.5 大蒜素

大蒜(garlic)是全球广为使用的日常食物,属百合科葱属,有巨大的药用价值。大蒜素(allicin)是大蒜中最丰富的成分。大蒜中保健作用最高的当属有机硫化化合物,如蒜氨酸、 γ -谷氨酰半胱氨酸以及它们的衍生物。除了这些有机硫化化合物,大蒜中还含有丰富的微量元素(锌、镁、铜、硒、碘)、蛋白质、膳食纤维、维生素、抗坏血酸和多酚。大蒜用于治疗麻风病、腹泻、便秘、感染等疾病已经有非常悠久的历史。然而,直到20世纪50年代后期Weisberger等^[52]研究才发现从大蒜中提取的硫代亚磺酸酯具有抗肿瘤特性。由于大蒜的治疗潜力和现代分析技术的改进,全球出现了很多研究大蒜的研究小组。目前研究已经证实,大蒜能够对抗各种癌细胞,如结肠癌细胞^[53]、胶质瘤细胞^[54]和肝癌细胞^[55]。大部分研究表明,大蒜的抗癌特性与细胞凋亡机制有关,然而,部分研究发现大蒜可能会引发自噬现象。例如,大蒜素可以诱导p53介导的细胞自噬,抑制人肝癌细胞株的生存能力。使用免疫印迹观察到大蒜素能降低HepG2细胞质中p53的表达、抑制PI3K/mTOR信号通路、减弱Bcl-2的表达水平、增加AMPK/TSC2和Beclin1信号转导途径的表达^[56]。

3.6 其他天然产物

还有一些其他天然产物通过调控自噬诱导癌细胞死亡。紫杉醇,最初是从太平洋红豆杉树皮中分离出的一种物质,广泛应用于肺癌、卵巢癌和乳腺癌的治疗^[57]。紫杉醇的抗癌特性与细胞死亡应答反应有一定的联系,它能够上调细胞自噬的水平,同时抑制细胞凋亡因子的表达^[58]。冬凌草甲素,从中草药冬凌草中分离出来的二萜类化合物。已经发现冬凌草甲素能够导致黑色素瘤细胞和宫颈癌细胞死亡,从而抑制肿瘤的生长。冬凌草甲素可以调节细胞凋亡和细胞自噬中一些转录因子,这些转录因子抑制肿瘤细胞的增殖^[59]。染料木黄酮,大豆异常黄酮中的主要活性因子,已报道具有治疗多种类型肿瘤的潜力。染料木黄酮发挥其抗肿瘤作用是通过抑制Akt的活化而实现的^[60]。

4 结 语

天然产物在杀伤癌细胞的同时,对机体未表现出明显的不良影响,因此可以作为未来理想的化疗剂。在过去的几十年中,已经证实植物来源的天然产物(如白藜芦醇、姜黄素、人参皂苷、大蒜素等)在自噬相关的细胞死亡信号通路及其网络调节中起重要作用。总之,这些研究强调一个事实,即利用天然产物预防和治疗癌症会成为未来临床治疗的创新策略。

参考文献:

- [1] NOBORU M, TAMOTSU Y, YOSHINORI O. The role of Atg proteins in autophagosome formation[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2011, 27(7): 107-132.
- [2] YANG Shenghong, WANG Xiaoxu, GIANMARCO C, et al. Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth[J]. Genes & Development, 2011, 25(7): 717-729.
- [3] LIU Bo, CHENG Yan, LIU Qian, et al. Autophagic pathways as new targets for cancer drug development[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2010, 31(9): 1154-1164.
- [4] QU Xueping, YU Jie, GOVIND B, et al. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the *Beclin 1* autophagy gene[J]. Journal of Clinical Investigation, 2003, 112(12): 1809-1820.
- [5] YUE Zhenyu, JIN Shengkan, YANG Chingwen, et al. *Beclin 1*, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(25): 15077-15082.
- [6] HUANG Xin, BAI Hongmin, CHEN Liang, et al. Reduced expression of *LC3B-II* and *Beclin 1* in glioblastoma multiform indicates a down-regulated autophagic capacity that relates to the progression of astrocytic tumors[J]. Journal of Clinical Neuroscience, 2010, 17(12): 1515-1519.
- [7] IQBAL J, KUCUK C, DELEEUW R J, et al. Genomic analyses reveal global functional alterations that promote tumor growth and novel tumor suppressor genes in natural killer-cell malignancies[J]. Leukemia, 2009, 23(6): 1139-1151.
- [8] ANDREAS B, TERJE A, RAGNHILD L A, et al. Autophagy in tumor suppression and promotion[J]. Molecular Oncology, 2009, 3(4): 366-375.
- [9] REBECCA L, JAYANTA D. Extracellular matrix regulation of autophagy[J]. Current Opinion in Cell Biology, 2008, 20(5): 583-588.
- [10] SCHLIE K, HUGHSON L R, SPOWART J E, et al. When cells suffocate: autophagy in cancer and immune cells under low oxygen[J]. International Journal of Cell Biology, 2011. doi: 10.1155/2011/470597.
- [11] KANG Rui, TANG Daolin. Autophagy in pancreatic cancer pathogenesis and treatment[J]. American Journal of Cancer Research, 2012, 2(4): 383-396.
- [12] ROBIN M, CRISTINA K M, BRIAN B, et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62[J]. Cell, 2009, 137(6): 1062-1075.
- [13] JANG M, CAI L, UDEANI G O, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes[J]. Science, 1997, 275(5297): 218-220.
- [14] MOAMMIR A H, RAJ K, NIHAL A. Cancer chemoprevention by resveratrol: *in vitro* and *in vivo* studies and the underlying mechanisms[J]. International Journal of Oncology, 2003, 23(1): 17-28.
- [15] CLÉMENT M V, HIRPARA J L, CHAUDHURY S H, et al. Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers Cd95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells[J]. Blood, 1998, 92(3): 996-1002.
- [16] CHENG Yan, QIU Feng, HUANG Jian, et al. Apoptosis-suppressing and autophagy-promoting effects of calpain on oridonin-induced L929 cell death[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2008, 475(2): 148-155.
- [17] 劳凤学, 商迎辉, 刘端祺. 白藜芦醇诱导Raji细胞死亡的自噬途径[J]. 中国生物制品学杂志, 2009(7): 654-658.
- [18] OPIPARI A W, TAN L, BOITANO A E, et al. Resveratrol-induced autophagocytosis in ovarian cancer cells[J]. Cancer Research, 2004, 64(2): 696-703.
- [19] SCARLATTI F, MAFFEI R, BEAU I, et al. Role of non-canonical Beclin1-independent autophagy in cell death induced by resveratrol in human breast cancer cells[J]. Cell Death & Differentiation, 2008, 15(8): 1318-1329.
- [20] FRANCESCA S, CHANTAL B, VENTRUTI A, et al. Ceramide-mediated macroautophagy involves inhibition of protein kinase B and up-regulation of beclin1[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(18): 18384-18391.
- [21] OHSHIRO K, RAVALA S K, EL-NAGGAR A K, et al. Delivery of cytoplasmic proteins to autophagosomes[J]. Autophagy, 2007, 4(1): 104-106.
- [22] WU Shengli, SUN Zhongjie, YU Liang, et al. Effect of resveratrol and in combination with 5-FU on murine liver cancer[J]. World Journal of Gastroenterology, 2004, 10(20): 3048-3052.
- [23] SRIVASTAVA R M, SINGH S, DUBEY S K, et al. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin[J]. International Immunopharmacology, 2010, 11(3): 331-341.
- [24] GAO Shenmeng, YANG Junjun, CHEN Chiqi, et al. Pure curcumin decreases the expression of WT1 by upregulation of miR-15a and miR-16-1 in leukemic cells[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2012, 31(1): 27-38.
- [25] TULLAYAKOM P, VITHOON V, VEERACHAI E, et al. Anticancer activities against cholangiocarcinoma, toxicity and pharmacological activities of Thai medicinal plants in animal models[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012, 1(27): 12-23.
- [26] 刘立民. 姜黄素对前列腺癌PC-3M细胞作用的实验研究[D]. 长春: 吉林大学, 2007: 1-233.
- [27] ODOT J, ALERT P, CARLIER A, et al. *in vitro* and *in vivo* anti-tumor effect of curcumin against melanoma cells[J]. International Journal of Cancer, 2004, 111(3): 381-387.
- [28] BANSALS, GOEL M, AGIL F, et al. Advanced drug delivery systems of curcumin for cancer chemoprevention[J]. Cancer Prevention Research, 2011, 4(8): 1158-1171.
- [29] KIM H I, HUANG H, CHEEPALA S, et al. Curcumin inhibition of integrin (alpha 6 beta 4)-dependent breast cancer cell motility and invasion[J]. Cancer Prevention Research, 2009, 1(5): 385-391.
- [30] MUKHERJEE S, ROY M, DEY S, et al. A mechanistic approach for modulation of arsenic toxicity in human lymphocytes by curcumin, an active constituent of medicinal herb curcuma longa linn[J]. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 2008, 41(1): 32-42.
- [31] HONG J H, AHN K S, BAE E, et al. The effects of curcumin on the invasiveness of prostate cancer *in vitro* and *in vivo*[J]. Prostate Cancer and Prostatic Diseases, 2006, 9(2): 147-152.
- [32] O'SULLIVAN-COYNE G, O'SULLIVAN G C, O'DONOVAN T R, et al. Curcumin induces apoptosis-independent death in oesophageal cancer cells[J]. British Journal of Cancer, 2009, 101(9): 1585-1595.
- [33] JIA Yanli, LI Jun, QIN Zhenghong, et al. Autophagic and apoptotic mechanisms of curcumin-induced death in K562 cells[J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2010, 11(11): 918-928.
- [34] AOKI H, TAKADA Y, KONDO S, et al. Evidence that curcumin suppresses the growth of malignant gliomas *in vitro* and *in vivo* through induction of autophagy: role of Akt and extracellular signal-regulated kinase signaling pathways[J]. Molecular Pharmacology, 2007, 72(1): 29-39.
- [35] SHINOJIMA N, YOKOYAMA T, KONDO Y, et al. Roles of the Akt/mTOR/p70S6K and ERK1/2 signaling pathways in curcumin-induced autophagy[J]. Autophagy, 2007, 3(6): 635-637.

- [36] LEE Y J, KIM N, SUH Y, et al. Involvement of ROS in curcumin-induced autophagic cell death[J]. Korean Journal of Physiology and Pharmacology, 2011, 15(1): 1-7.
- [37] QIAN Haoran, YANG Yi, WANG Xianfa. Curcumin enhanced adriamycin-induced human liver-derived hepatoma G2 cell death through activation of mitochondria-mediated apoptosis and autophagy[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2011, 43(3): 125-131.
- [38] 张春枝, 安利佳, 金凤燮. 人参皂苷生理活性的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(4): 70-74.
- [39] 李杰, 宋淑霞, 吕占军. 人参皂苷抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2004, 11(1): 61-63.
- [40] KWON H Y, KIM E H, KIM S W, et al. Selective toxicity of ginsenoside Rg3 on multidrug resistant cells by membrane fluidity modulation[J]. Archives of Pharmacology Research, 2008, 31(2): 171-177.
- [41] TODE T, KIKUCHI Y, HIRATA J, et al. Inhibitory effects of oral administration of ginsenoside Rh2 on tumor growth in nude mice bearing serous cyst adenocarcinoma of the human ovary[J]. Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi, 1993, 45(11): 1275-1282.
- [42] KIM S M, LEE S Y, CHO J S, et al. Combination of ginsenoside Rg3 with docetaxel enhances the susceptibility of prostate cancer cells via inhibition of NF- κ B[J]. European Journal of Pharmacology, 2010, 631(1): 1-9.
- [43] ZHANG Q, KANG X, ZHAO W. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg3 on lewis lung carcinoma[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 342(3): 824-828.
- [44] KO H, KIM Y J, PARK J S, et al. Autophagy inhibition enhances apoptosis induced by ginsenoside Rk1 in hepatocellular carcinoma cells[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2009, 73(10): 2183-2189.
- [45] MAI T T, MOON J, SONG Y, et al. Ginsenoside F2 induces apoptosis accompanied by protective autophagy in breast cancer stem cells[J]. Cancer Letters, 2012, 321(2): 144-153.
- [46] AHMAD N, FEYES D K, AGARWAL R, et al. Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells[J]. JNCI Journal of the National Cancer Institute, 1997, 89(24): 1881-1886.
- [47] VIJAY T, KARISHMA G, SANJAY G. Green tea polyphenols increase P53 transcriptional activity and acetylation by suppressing class I histone deacetylases[J]. International Journal of Oncology, 2012, 41(1): 353-361.
- [48] SU-NI T, CHANDAN S, DARA N, et al. The dietary bioflavonoid quercetin synergizes with epigallocatechin gallate (EGCG) to inhibit prostate cancer stem cell characteristics, invasion, migration and epithelial-mesenchymal transition[J]. Journal of Molecular Signaling, 2010, 5(1): 5-14.
- [49] RAJESH L, THANGAPAZHA M, NEENA P, et al. Green tea polyphenol and epigallocatechin gallate induce apoptosis and inhibit invasion in human breast cancer cells[J]. Cancer Biology & Therapy, 2007, 6(12): 1938-1943.
- [50] SHAMMAS MA, NERI P, KOLEY H, et al. Specific Killing of multiple myeloma cells by (-)-epigallocatechin-3-gallate extracted from green tea: biologic activity and therapeutic implications[J]. Blood, 2006, 108(8): 2804-2810.
- [51] QANUNGO S. Epigallocatechin-3-gallate Induces mitochondrial membrane depolarization and caspase-dependent apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. Carcinogenesis, 2004, 26(5): 958-967.
- [52] WEISBERGER A S, PENSKY J. Tumor inhibition by a sulfhydryl-blocking agent related to an active principle of garlic (*Allium sativum*)[J]. Cancer Research, 1958, 18(11): 1301-1308.
- [53] MOHAMMED O, ALTONS Y, SIMON C. Diallyl disulphide, a beneficial component of garlic oil, causes a redistribution of cell-cycle growth phases, induces apoptosis, and enhances butyrate-induced apoptosis in colorectal adenocarcinoma cells (ht-29)[J]. Nutrition and Cancer, 2011, 63(7): 1104-1113.
- [54] DAS A, BANIK N L, RAY S K. Garlic compounds generate reactive oxygen species leading to activation of stress kinases and cysteine proteases for apoptosis in human glioblastoma T98g and U87mg cells[J]. Cancer, 2007, 110(5): 1083-1095.
- [55] KIM H J, HAN M H, KIM G Y, et al. Hexane extracts of garlic cloves induce apoptosis through the generation of reactive oxygen species in Hep3b human hepatocarcinoma cells[J]. Oncology Reports, 2012, 28(5): 1757-1763.
- [56] CHU Y L, HO C T, CHUNG J G. Allicin induces p53-mediated autophagy in HepG2 human liver cancer cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(34): 8363-8371.
- [57] WESSELY R, SCHOMIG A, KASTRATI A. Sirolimus and paclitaxel on polymer-based drug-eluting stents: similar but different[J]. American College of Cardiology Journal, 2006, 47(4): 708-714.
- [58] AIABNOOR G M A, CROOK T, COLEY H M. Paclitaxel resistance is associated with switch from apoptotic to autophagic cell death in MCF-7 breast cancer cells[J]. Cell Death & Disease, 2012, 3: e260. doi: 10.1038/cddis.2011.139.
- [59] CUI Qiao, TASSHIRO S I, ONOFERA S, et al. Augmentation of oridonin-induced apoptosis observed with reduced autophagy[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2006, 101(3): 230-239.
- [60] GOSSNER G, CHOI M, TAN L, et al. Genistein-induced apoptosis and autophagocytosis in ovarian cancer cells[J]. Gynecologic Oncology, 2007, 105(1): 23-30.