

中药诱导细胞周期阻滞抗肿瘤研究进展

刘亚鑫, 魏雪娇, 黄惠铭, 欧阳里山, 谢锦欣, 王龙燕, 刘东晓, 屠鹏飞, 胡仲冬*
(北京中医药大学中药学院中药现代研究中心, 北京 100029)

[摘要] 癌症患病率和死亡率逐年上升,已成为当今世界上造成死亡的主要原因之一。癌症的诱因多种多样,遗传、辐射、致癌物等都可能诱发癌症,细胞周期调控的异常也是诱因之一。细胞周期是一个复杂的事件序列,细胞通过该事件重复其内容并分裂。细胞周期有高度的组织性和条理性,以确保遗传物质的完整性。该过程依赖于许多基因和蛋白的共同调节,当这些物质发生改变时,细胞周期出现异常,导致细胞增殖失去管控,细胞凋亡被抑制,最终导致肿瘤的发生。目前,肿瘤的治疗手段有传统的手术切除、放射治疗和化学药物治疗及靶向治疗等。中药来源广泛、不良反应小,是中医药文化的瑰宝,值得进一步地研究和开发。越来越多的研究发现,多种中药能够通过诱导细胞周期阻滞发挥抗肿瘤作用,从而提升肿瘤中晚期患者的生存质量,延长患者生存期。该文首先介绍了细胞周期各时期的特点和相关调控因子,列举了细胞周期异常导致肿瘤发生的临床和实验实例,接着综述了国内外靶向细胞周期抗肿瘤热药药物,如周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制剂、细胞分裂周期因子25(CDC25)抑制剂、ATR丝氨酸/苏氨酸激酶(ATR)抑制剂和细胞周期检查点激酶1(CHK1)抑制剂等,最后从细胞周期G₀/G₁期、S期和G₂/M期3个方面切入,总结了近些年来中药通过诱导细胞周期阻滞发挥抗肿瘤作用的相关研究,以期对中药抗肿瘤作用研究提供一定的参考。

[关键词] 中药; 抗肿瘤; 细胞周期; 研究进展

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)02-0222-13

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.202201821

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220720.1519.007.html>

[网络出版日期] 2022-07-21 17:43

Anti-tumor Effect of Chinese Medicine by Inducing Cell Cycle Arrest: A Review

LIU Yaxin, WEI Xuejiao, HUANG Huiming, OUYANG Lishan, XIE Jinxin, WANG Longyan,
LIU Dongxiao, TU Pengfei, HU Zhongdong*

(*Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China*)

[Abstract] The prevalence and mortality of cancer have been on the rise, and it has been the global leading cause of death. The causes of cancer are diverse, such as heredity, radiation, and carcinogens. The abnormality of cell cycle regulation is also one of the causes. Cell cycle is a complex sequence of events through which a cell duplicates its contents and divides. Cell cycle is highly organized to ensure the integrity of genetic material. This process involves many regulatory genes and proteins. Cell cycle will be dysregulated when these proteins and genes change, resulting in the loss of control of cell proliferation, the inhibition of apoptosis, and finally the occurrence of tumor. At the moment, the therapies for cancer include traditional surgical resection, radiotherapy, chemical therapy, and targeted therapy. Chinese medicine has a wide range of sources and little side effect, which is worthy of further research and development. More and more studies have revealed that a

[收稿日期] 2022-04-01

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82074072);北京市科技新星计划项目(Z191100001119083);中华中医药学会青年人才托举工程项目[CACM-2018-(QNRC2-B05)]

[第一作者] 刘亚鑫,在读硕士,从事中药活性成分抗肿瘤作用研究,E-mail: 13292779573@163.com

[通信作者] *胡仲冬,研究员,从事中药活性成分抗肿瘤作用研究,E-mail: huzhongdong@126.com

variety of Chinese medicines play an anti-tumor role by inducing cell cycle arrest, so as to improve the quality of life and prolong the survival time of patients with advanced tumors. This article first introduces the characteristics and related regulatory factors of each phase of cell cycle, and enumerates the clinical and experimental examples of tumorigenesis caused by abnormal cell cycle. Then, we summarize the hot anti-tumor drugs targeting cell cycle in China and abroad, such as Cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors, cell division cycle 25 (CDC25) inhibitors, ataxia-telangiectasia-mutated-and-Rad3-related kinase (ATR) inhibitors, and checkpoint kinase 1 (CHK1) inhibitors. Finally, this article summarizes the recent research on the anti-tumor effect of Chinese medicine by inducing cell cycle arrest from the three aspects of cell cycle G_0/G_1 phase, S phase and G_2/M phase, in order to provide some reference for the research on the anti-tumor effect of Chinese medicine.

[Keywords] Chinese medicine; anti-tumor; cell cycle; research progress

国际癌症研究机构最新数据表明,癌症已成为全球各国人类的主要死因^[1]。恶性肿瘤是通过侵入、破坏和侵蚀正常组织而导致体细胞无限制地扩增,进而引起死亡的一种疾病,其具体病因暂不明确,遗传、辐射、长期或大量接触致癌物、吸烟、酗酒等都可能诱发癌症。细胞增殖过程中对细胞周期调控的异常也是癌症的诱因之一^[2]。研究表明,诱导细胞周期阻滞可有效抑制多种肿瘤的发生发展,其属于抗癌药物研发和临床癌症治疗中的重要方向之一^[2-3]。临床诊疗发现^[4-7],多种中药能够显著提升多种肿瘤中晚期患者的生存质量,延长患者生存期,中医药在治疗严重影响肿瘤患者生存质量的并发症如恶性腹水、疼痛、水肿及减轻放疗、靶向治疗的不良作用等方面具有不可替代的作用。同时,一些中药还能通过诱导细胞周期阻滞直接发挥抗肿瘤作用。因此,本文将对细胞周期异常与肿瘤发生发展的关系进行梳理,总结国内外靶向细胞周期药物的研究及应用情况,并对中药通过诱导细胞周期阻滞发挥抗肿瘤作用进行综述,以期对中医药防治肿瘤及抗肿瘤药物的研发提供一定的参考。

1 细胞周期异常与肿瘤发生

真核细胞通过有丝分裂产生子细胞,以1次有丝分裂结束为起始点,到下一次分裂完成时为1个循环。一般而言,将细胞周期分为分裂间期和分裂期,前者为有丝分裂进行物质准备,后者则被划分为有丝分裂期(M期)。其中,分裂间期可以分为 G_1 期、S期和 G_2 期, G_1 期为细胞生长期,同时为S期DNA的复制做好准备;S期是DNA复制发生的时期,将DNA复制成相同的2份; G_2 期细胞仍处于生长阶段,并在此期间制造分裂期所需的蛋白质等物质。分裂期又被细分为分裂前期、中期、后期和末期几个阶段,在此期间,细胞生长暂时停止,开始启动染色体分离和细胞质分离,最终分裂成2个子细

胞。1个分裂周期完成后,每个子细胞重新开始新的周期。细胞进入 G_1 期后可能出现暂时不继续增殖的状态,此时的 G_1 期细胞称为 G_0 期细胞^[3, 8]。

哺乳动物细胞周期是一个高度有组织和有条理的过程,以确保遗传物质在细胞分裂过程中的完整性。这个过程涉及多种信号的调节,包括生长调节相关信号、监测遗传完整性的蛋白信号等^[9]。其中最核心的调节蛋白是细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK),CDK家族的不同蛋白在细胞周期的特定阶段被激活,如CDK1在 G_2 期和M期被激活,CDK2在 G_1 期和S期被激活,CDK4和CDK6在 G_1 期被激活。CDKs被激活后可以调节下游蛋白的表达,进一步发挥作用。CDKs的活性受到相关蛋白的调节。首先,CDKs需要与细胞周期蛋白(Cyclin)结合形成复合物才能发挥调节作用。在 G_1 期,Cyclin D₁、Cyclin D₂和Cyclin D₃分别与CDK4和CDK6组成复合物,这是进入 G_1 期所必须的, G_1 期还需要Cyclin E-CDK2复合物以调节 G_1 期到S期的转变;Cyclin A-CDK2复合物是S期所必需的调节蛋白; G_2 晚期,Cyclin A-CDK1复合物被合成,以保证细胞正确进入有丝分裂期;进一步,M期受到Cyclin B-CDK1复合蛋白的调节。细胞周期蛋白在细胞周期特定的时间被合成和分解,从而及时调节激酶活性。其次,CDKs的活性被细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CKI)所抑制。CKI主要分为两个家族,INK4家族如p15、p16、p18和p19,可以特异性地与 G_1 期的CDK结合并使其失活; Cip/Kip家族包括p21、p27、p57,可以抑制 G_1 期的Cyclin-CDK复合物的活性。此外,CDK活性还受到酪氨酸和苏氨酸保守残基磷酸化的调节,如WEE1 G_2 检查点激酶(Wee1)和髓鞘转录因子1(Mytl)激酶在CDK1的苏氨酸-14和(或)酪氨酸-15位点磷酸化及细胞分裂周期因子25(CDC25)在这些位点的去磷酸化是CDK1激活所必

需的^[3,8]。细胞在DNA合成和染色体分离过程中可能存在失误,并导致基因突变和基因组不稳定,此时细胞会触发一种称为DNA损伤反应(DDR)的复杂信号通路。作为对DDR的响应,主要的信号轴有2个:①丝氨酸/苏氨酸激酶(ATM)/细胞周期检查点激酶2(CHK2)信号级联反应;②ATM及与Rad3相关的丝氨酸/苏氨酸激酶(ATR)/细胞周期检查点激酶1(CHK1)信号级联反应。当出现异常情况时,细胞通过调控CDKs的活性激活检查点,诱导细胞周期阻滞,使细胞适当地修复缺陷,从而防止这些失误传递到子细胞^[10]。

大量实验和研究表明了细胞周期异常与肿瘤发生和肿瘤患者的不良预后有关。肿瘤细胞积累突变导致有丝分裂相关信号异常,进一步导致计划外增殖。同时,大部分肿瘤细胞的基因组不稳定,导致额外的突变和染色体的不稳定,从而导致有丝分裂过程中染色体数目的不确定性增加。这些改变累积在一起,对肿瘤的发生起到了关键性作用^[11]。肿瘤相关突变有时会解除对某些Cyclin-CDK复合物的调控,导致持续增殖或重新进入细胞周期。MARONE等^[12]对多例多种类型的卵巢癌患者进行Cyclin E和CDK2基因扩增筛选和RNA表达水平测定发现,在所分析的病例中,Cyclin E的扩增率达到21%,CDK2扩增率达到6.4%,Cyclin E在29.5%的卵巢肿瘤中过度表达,CDK2在6.5%的卵巢肿瘤中过度表达。NAKAYAMA等^[13]观察Cyclin E₁在卵巢癌中的作用发现,Cyclin E₁过表达可促进卵巢癌ES2和TOV-21G细胞增殖,表明Cyclin E₁的异常与卵巢癌发生有关。SUI等^[14]分析了p27、Cyclin D₁、Cyclin E₁和CDK2在79例上皮性卵巢肿瘤上的蛋白表达情况,发现p27和Cyclin D₁在卵巢癌中表达下调,且与组织学肿瘤分级呈负相关,而Cyclin E₁和CDK2的表达情况则相反,初步说明p27和Cyclin D₁的低表达及Cyclin E₁和CDK2的高表达与卵巢癌的发展有关。视网膜母细胞瘤蛋白(RB)最初是在视网膜的遗传性肿瘤中被发现,并由此得名,其可以通过与E2F转录因子1(E2F1)结合而调控E2F1应答基因的转录。研究发现,RB的磷酸化状态决定细胞周期的进展,在G₁后期,持续的有丝分裂刺激促使细胞核内Cyclin D逐渐积累,并与Cyclin E-CDK2协作,使得RB及RB家族成员p107和p130磷酸化,使其与E2F1转录因子分离,逆转RB对E2F1活性的抑制作用,并促进细胞周期向S期转变^[15-16]。同时,在许多类型的肿瘤中都伴随着

RB的缺失,如肝癌^[17]、前列腺癌^[18]、肺癌^[16]等。CDC25是一种双特异性磷酸酶,可以通过去磷酸化激活CDKs,在细胞周期的转变和细胞增殖中起着关键作用,其在人体内有3种亚型: CDC25A、CDC25B和CDC25C^[19]。研究显示,CDC25在多种人类肿瘤中存在过表达的情况。LIU等^[20]研究发现CDC25A和CDC25B在三阴性乳腺癌(TNBC)患者体内有过高的表达,进一步探索发现,肿瘤蛋白p53(TP53)、RB转录核心抑制因子1(RB1)和同源性磷酸酶张力蛋白(PTEN)的缺失,磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和髓细胞瘤癌基因(MYC)表达的增加及RAS信号通路的增强与CDC25的高表达有关。另一项研究发现,CDC25与PI3K抑制剂联合给药有高度的协同作用,可有效地促进TNBC细胞凋亡^[21]。富含AT相互作用域1A(ARID1A)是SWI/SNF染色质重构复合物的一个组成部分,研究发现其在胃癌^[22]、肝癌^[23]、大肠癌^[24]等多种癌症中均有高频率的缺失突变,其为一种抑癌基因。极光激酶A(AURKA)是有丝分裂丝氨酸苏氨酸蛋白激酶家族成员之一,可通过磷酸化包括Polo样激酶1(PLK1)在内的多种底物,磷酸化CDC25C并激活其核定位,进一步磷酸化CDC2,促进细胞在G₂/M期进入有丝分裂^[24]。AURKA的过表达在多种肿瘤中被发现,如白血病^[25]、肺癌^[26]、大肠癌^[24]等。WU等^[24]研究ARID1A和癌基因AURKA在大肠癌中的合成致死性时发现,在ARID1A缺失的大肠癌细胞中,CDC25C的Ser198位点磷酸化水平显著升高,CDC2的Tyr15位点磷酸化水平有所下调,而且CDC25C的小分子抑制剂和PLK1 siRNA可以选择性地抑制ARID1A缺失的大肠癌细胞的生长。结果表明,ARID1A缺失导致AURKA表达增加和CDC25C的持续激活。

综上所述,细胞周期的进展在一定程度上与Cyclins、CDKs、CKI、CDC25等多种调节因子之间的平衡有关。细胞周期调控异常可能是由癌症相关突变、细胞周期调控蛋白如RB、CDC25等的过度表达、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂的表达缺失等因素引起的。细胞周期的调控对于有丝分裂能否顺利进行起着关键作用,因此靶向细胞周期的抗肿瘤药物的研究开发具有重要意义。

2 国内外靶向细胞周期抗肿瘤药物

2.1 CDK抑制剂 CDK在过去几十年一直是研究的热点,现已成功开发和批准多种CDK4/6抑制剂抗肿瘤药物,如Alvociclib、CYC202、Dinaciclib等,

这些药物对于细胞周期和CDK的转录均有不同程度的抑制作用^[27]。鸦胆子油乳是一种临床上广泛应用的用于治疗肺癌、肝癌、胃癌、骨瘤、脑瘤等多种肿瘤的药物^[28-30], QIU等^[31]研究发现其对于食管癌细胞的生长、侵袭和转移有明显的抑制作用,且能够促进食管癌细胞凋亡,并发现鸦胆子油乳可以通过Cyclin D₁-CDK4/6通路发挥放疗增敏作用。近期发现的一种新型CDK4/6抑制剂SHR6360可通过CDK4/6-RB通路,诱导G₁期阻滞,对于乳腺癌、食管鳞状细胞癌和胶质母细胞瘤有较强的抑制作用^[32-34]。CDK2与Cyclin E₁组成复合物,可调控细胞周期G₁、S期进展^[35]。SHI等^[36]从美国食品药品监督管理局批准的小分子药物中筛选出一种潜在的CDK2抑制剂氟司必林(Fluspirilene),体外研究发现其对于人肝癌HepG2和Huh7细胞有明显增殖抑制作用,且可诱导发生G₁期细胞周期阻滞和细胞凋亡,体内实验发现Fluspirilene(15 mg·kg⁻¹)的抗肿瘤活性与5-氟尿嘧啶(5-Fu, 10 mg·kg⁻¹)相当,且二者联合用药具有较好的协同作用,为Fluspirilene作为靶向CDK2的抗肝癌药物研究提供了一定的药理学依据。目前发现一种新型CDK抑制剂Fadraciclib(CYC065),对于CDK2和CDK9有更高的选择性,体内外实验表明其具有明显的抗癌活性,还可以与B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)凋亡调节因子抑制剂联合应用用于治疗血液恶性肿瘤,目前正在与Bcl-2抑制剂联合应用进行晚期实体瘤的一期临床研究^[37]。

CDK抑制剂可能在治疗Cyclin D₁-CDK4过度表达或缺失的肿瘤上有很好的效果,由于某些CDK在转录和神经发育等过程中具有非细胞周期调控的作用,所以不具备高度特异性的CDK抑制剂很可能对正常细胞产生不良反应^[16]。因此,开发具有更高特异性和选择性的靶向CDK4/6的药物,及进行这些药物在体内的目标验证,亟待重视和解决。

2.2 CDC25抑制剂 目前发现的大多数比较有效的CDC25抑制剂如BN82685、NSC663284、IRC-083864等选择性均较差,可同时抑制3种亚型的CDC25,从而限制了其临床应用^[38]。有研究通过筛选发现了一种CDC25C选择性抑制剂M2N12,其选择性比NSC663284高9倍,对KB-VIN细胞的生长抑制作用十分明显^[39]。

2.3 ATR抑制剂 AZD6738是一种选择性很强的ATR激酶活性抑制剂。VENDETTI等^[40]研究发现AZD67738对非小细胞肺癌的ATR激酶的活性有抑制作用,可使非小细胞肺癌细胞对顺铂敏感性提

高,并与顺铂在ATM缺失的H23细胞中显示出很强的协同作用,两者联合使用能够促使H23细胞在G₁/S期过渡期及H460细胞在S期早期的积累,进一步促进两种细胞的凋亡,体外实验发现25 mg·kg⁻¹的AZD6738与顺铂联合应用29 d, H23异种移植瘤的肿瘤近乎完全消退(84.8%)。KIM等^[41]研究发现AZD6738能够抑制人表皮生长因子受体-2阳性乳腺癌SK-BR-3和BT-474细胞的增殖能力,诱导SK-BR-3细胞发生G₁期和S期阻滞,下调p-CHK1的表达水平,上调γ-H2AX的表达水平,导致同源重组修复机制的抑制。NAM等^[42]研究DNA损伤反应通路对晚期胆管癌的靶向作用时发现,Wee1抑制剂AZD1775能够抑制多种胆管癌细胞如SNU308、HuCCT-1细胞等增殖,上调p-CHK1和γ-H2AX的蛋白水平,下调p-CDC2和p-CDC25C的蛋白水平,诱导SNU308、HuCCT-1等细胞发生S期阻滞和凋亡,在HuCCT-1细胞异种移植小鼠上联合应用ATR抑制剂AZD6738和Wee1抑制剂AZD1775可以很大程度上抑制肿瘤生长,这些研究为DDR靶向联合治疗胆道系统肿瘤提供了潜在的治疗策略。

2.4 CHK1抑制剂 ATR-CHK1-Wee1通路的激活是G₂/M检查点的关键点,该通路被抑制时,G₂/M检查点被破坏,此时细胞迅速退出有丝分裂过程,进而导致癌细胞死亡。SAR-020106是一种高效且具有高度选择性的ATP竞争性CHK1抑制剂,PATTIES等^[43]研究发现SAR-020106可以增强辐射、替莫唑胺和地西他滨对p53野生型和突变型的人胶质母细胞瘤的抗肿瘤敏感性。近年来,一种新型的CHK1抑制剂——LY2606368在非小细胞肺癌和晚期鳞状细胞癌的一期临床已经完成^[44-45]。尽管靶向CHK1激酶的有效抗癌药物取得不错的进展,但是其耐药性的相关问题也正在出现。LI等^[46]研究发现FAM122A基因的敲除使细胞对CHK1抑制剂产生了耐药性,而联合使用CHK1抑制剂和Wee1抑制剂可以克服这一不足,从而增强抗癌活性。

3 中药诱导细胞周期阻滞抗肿瘤研究

近年来,众多研究学者对中药抗肿瘤的机制研究逐渐深入,发现细胞周期阻滞可以检定细胞损伤并为其修复提供时间,以减少突变的发生,保证基因组的稳定性,从而避免肿瘤的发生和发展^[10, 47]。将细胞周期阻滞分为G₀/G₁期、S期及G₂/M期这3种类型,根据周期阻滞的3个主要类型进行研究综述。

3.1 中药诱导G₀/G₁期阻滞抗肿瘤研究

3.1.1 抗消化系统肿瘤 小檗碱是从中药黄连中

分离得到的一种异喹啉生物碱,抗菌作用较强。近年来,研究发现小檗碱有抗肿瘤活性,其可以通过调节蛋白激酶B(Akt)/叉头框蛋白O3a(FoxO3a)/S期激酶相关蛋白2(Skp2)轴,导致p21上调,从而诱导人肝癌HepG2和Huh7细胞发生G₀/G₁期细胞周期阻滞^[48]。中国传统植物臭椿的提取物臭椿酮被报道有多种抗肿瘤活性,研究发现臭椿酮可以诱导人肝癌Huh7细胞发生G₀/G₁期周期阻滞,降低Cyclin和CDK的表达水平,促进p21和p27的表达^[49]。川芎嗪是中药川芎的有效成分之一,有较好的抗肿瘤作用,对逆转肿瘤的多药耐药有良好效果。研究发现,川芎嗪能够诱导人肝癌HepG2细胞的细胞周期阻滞于G₀/G₁期,可能与激活p53和上调Bcl-2/Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白有关^[50]。解毒消癥饮(JXY)在我国已被广泛应用于多种癌症的治疗,对其乙酸乙酯提取物(EE-JXY)的抗癌机制进行研究,发现EE-JXY体内外均可抑制人肝癌HepG2细胞的生长,并发现EE-JXY通过增加G₀/G₁期相关蛋白Cyclin D和Cyclin E的表达,阻断细胞周期于G₀/G₁期进而发挥增殖抑制作用^[51]。甘遂提取物灵芝醇是一种纯化的二萜类化合物,研究其肝损伤机制发现,可以抑制人正常肝细胞LO2细胞的增殖,并诱导细胞周期G₀/G₁期阻滞和凋亡,并指出这可能是灵芝醇对活性氧(ROS)和Bcl-2/Bax的调节的作用^[52]。槐耳是一种药用真菌,在临床中已被证实有较好的抗肿瘤作用,并广泛用于多种癌症的辅助治疗。研究发现,槐耳能抑制人肝癌Bel-7402和SK-Hep1细胞G₁-S期转变,并发现槐耳通过调节微小染色体(MCM)蛋白的表达来抑制细胞周期正常进行,这提示MCM家族成员可能是槐耳治疗肝癌的潜在靶点^[53]。槐耳水提物也能够诱导人乳腺癌MCF-7和MDA-MB-231细胞发生G₀/G₁期阻滞^[54]。大麻二醇(CBD)是大麻的主要成分之一,已被证明有一定的抗肿瘤作用。有研究发现,CBD可以显著上调人胃癌SGC-7901细胞ATM,进而上调p21的蛋白水平,下调p53的蛋白水平,进而抑制CDK2/Cyclin E复合物的形成,从而导致细胞周期阻滞于G₀/G₁期,同时发现细胞ROS增加,提示CBD对细胞周期的阻滞作用与ROS的增加有关^[55]。苦杏仁苷主要存在于苦杏仁中,是一种天然抗癌药物。基因芯片分析研究发现,用一定剂量的苦杏仁苷作用于人结肠癌SNU-C4细胞后,与空白组比较,苦杏仁苷组细胞周期相关基因如核酸外切酶1(EXO1)、ATP结合盒亚家族F成员2(ABCF2)、减数分裂重组11同源物

A(MRE11A)、DNA拓扑异构酶I(TOP1)和FK506结合蛋白12-雷帕霉素相关蛋白1(FRAP1)均下调,实时荧光定量聚合酶链式反应验证了这些基因在mRNA水平上有所降低^[56]。银杏酸(GA)是从银杏种皮中提取的一种植物药,研究发现GA能够抑制人结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭,并通过诱导G₀/G₁期阻滞导致细胞死亡^[57]。小檗碱也可以通过诱导人结肠癌细胞G₀/G₁期阻滞从而抑制细胞增殖^[58]。研究发现,川芎嗪可通过改变人大肠癌SW480细胞和CT26细胞的周期分布从而导致细胞周期阻滞于G₀/G₁期,发现川芎嗪诱导细胞凋亡和周期阻滞可被p53抑制剂(pifithrin- α)逆转,提示川芎嗪诱导细胞凋亡与p53依赖的线粒体途径和细胞周期阻滞在G₀/G₁期有关^[59]。

3.1.2 抗呼吸系统肿瘤 甘草次酸(GA)是从常用中药甘草中提取的一种天然化合物,有研究发现GA能诱导人非小细胞肺癌A549和NCI-H460细胞发生G₀/G₁期周期阻滞,进一步研究发现GA通过上调CKIs和下调Cyclin D₁、Cyclin D₃、Cyclin E和CDK4、CDK6、CDK2进而诱导G₀/G₁期细胞周期阻滞,同时GA可协同内质网(ER)伴侣蛋白,降低蛋白质合成,诱导细胞周期阻滞于G₀/G₁期^[60]。

3.1.3 抗泌尿生殖系统肿瘤 有学者将不同浓度的苦杏仁苷分别作用于人前列腺癌去势敏感型LNCaP细胞、去势耐药型DU-145细胞和PC3细胞,发现其凋亡被抑制,G₂/M期和S期细胞减少,G₀/G₁期细胞增多,说明细胞周期发生G₀/G₁期阻滞,且细胞周期蛋白依赖性激酶CDK1、CDK2和CDK4及细胞周期相关蛋白Cyclin A、Cyclin B和Cyclin D在24h和2周后均被苦杏仁苷所调控^[61]。体外实验研究一定剂量的苦杏仁苷对人膀胱癌UMUC-3、RT112和TCCSUP细胞生长的影响,发现苦杏仁苷呈剂量依赖性地抑制3种膀胱癌细胞的生长和增殖,并发现其可能通过下调CDK2和Cyclin A的蛋白水平导致细胞周期明显延迟和G₀/G₁期阻滞^[62]。还有研究发现苦杏仁苷可以抑制人肾细胞癌RCC细胞的生长和周期进程,降低细胞周期相关蛋白CDK1和Cyclin B的表达水平,这与G₀/G₁期或S期细胞周期阻滞有关^[63]。这些结果表明,苦杏仁苷可以防止人前列腺癌、人肾细胞癌和人膀胱癌的恶性增殖,主要方式是通过调节细胞周期相关基因或蛋白,影响细胞周期,进一步抑制细胞增殖。青蒿素衍生物青蒿琥酯(ART)在多种泌尿系统肿瘤中具有抗肿瘤作用^[64]。研究ART对耐药性晚期肾细胞癌

的影响,发现ART能够抑制耐药肾细胞癌Caki-1、786-O和A-498细胞生长,并诱导其发生 G_0/G_1 期阻滞。进一步研究发现,ART处理耐药的Caki-1和786-O细胞后,参与S期和 G_2/M 期的相关周期蛋白Cyclin A、Cyclin B和CDK1表达量明显减少,p-CDK1失活,p27上调,说明生长抑制作用与 G_0/G_1 期阻滞和细胞周期调节蛋白的调控有关^[65]。用不同浓度的川芎嗪处理人乳腺癌MDA-MB-231细胞后观察其周期分布情况,发现川芎嗪能阻断MDA-MB-231细胞于 G_0/G_1 期,从而抑制DNA的合成^[66]。有实验研究槐耳对乳腺癌细胞的放射增敏效果,发现槐耳能够通过下调人乳腺癌MCF-7和MDA-MB-468细胞周期调节蛋白的表达,延长放疗后 γ -H2AX病灶的持续时间,同时通过下调RAD51重组酶(RAD51)而干扰DNA修复的同源重组途径,导致 G_0/G_1 期阻滞^[67]。紫草素是从传统中药紫草中提取得到的一种萘醌类化合物,近年来在抗肿瘤方面得到了广泛研究。紫草素可以诱导人乳腺癌MCF-7、SKBR-3和MDA-MB-231细胞发生 G_0/G_1 期阻滞,从而抑制其增殖^[68]。还有研究发现,紫草素可以引起人胆囊癌细胞发生 G_0/G_1 期细胞周期阻滞^[69]。有研究利用Fucci成像技术发现,一定浓度的中药复方LQ处理HeLa细胞72h,细胞周期几乎全部阻滞在 G_0/G_1 期,证明中药复方LQ可以诱导HeLa细胞发生 G_0/G_1 期周期阻滞^[70]。薯蓣皂苷是具有抗肿瘤活性的一种天然化合物,存在于多种中药中,如穿山龙、薯蓣、山药等^[71]。LI等^[72]研究发现与空白组相比,薯蓣皂苷给药后人子宫内膜癌细胞 G_0/G_1 期数目增加,S期和 G_2/M 期细胞数目减少,并且发现不同浓度的薯蓣皂苷能够显著降低细胞周期相关基因CDK2、CDK4、CDK6、Cyclin A、Cyclin D、Cyclin E的mRNA水平,说明薯蓣皂苷可以通过调控细胞周期相关信号通路来诱导人子宫内膜癌细胞发生 G_0/G_1 期周期阻滞。

3.1.4 抗其他类型肿瘤 研究发现臭椿酮能够引起人早幼粒细胞白血病HL-60细胞 G_0/G_1 期阻滞^[73]。姜黄素是中药姜黄、郁金、莪术的主要活性成分之一,是一种亲脂性多酚^[74-75],药理研究发现姜黄素具有抗肿瘤的作用。ZHOU等^[76]发现姜黄素通过抑制Akt,上调p21的表达水平,下调cycin D₁的表达水平,造成人急性髓细胞白血病(AML)OCI-AML5和ML-2细胞 G_0/G_1 期周期阻滞,发挥抗AML的作用。原儿茶醛(PCA)广泛存在于多种中药如丹参、冬青中,研究发现PCA可以诱导小鼠B16-F10细胞

的细胞周期阻滞于 G_0/G_1 期^[77]。一项关于槐耳提取物对人神经母细胞瘤的研究发现,槐耳提取物能够诱导人神经母细胞瘤IMR32、LAN1和SK-N-SH细胞 G_0/G_1 期阻滞,降低Cyclin D₃的表达,并证明周期阻滞作用与MEK/ERK和雷帕霉素靶体蛋白(mTOR)信号通路有关^[78]。对小檗碱抗人甲状腺癌的作用研究发现,小檗碱可以通过调节人甲状腺癌C643、OCUT1和TPC1细胞的PI3K/Akt和MAPK信号通路,导致线粒体凋亡, G_0/G_1 期细胞周期阻滞和抑制迁移^[79]。

3.2 中药诱导S期阻滞抗肿瘤研究

3.2.1 抗消化系统肿瘤 研究发现,槐耳水提液能够诱导人肝癌HepG2和Bel-7402细胞发生S期阻滞,降低 β -连接蛋白(β -catenin)和Cyclin D₁的表达水平^[80]。从中药花椒中提取得到的活性成分利叶碱铂(II)配合物被报道有抗肿瘤活性,可以诱导人肝癌Bel-7404细胞发生显著的S期和 G_2/M 期细胞周期阻滞,并发现G-四链DNA在稳定细胞核、线粒体和端粒酶方面起到关键作用^[81]。白藜芦醇是一种多酚类化合物,普遍存在于多种天然植物中,也是蓼科植物虎杖的主要活性成分,药理研究发现其对多种肿瘤均有抑制作用。WU等^[82]用小鼠肝癌H22细胞建立了一种可移植小鼠肝癌模型,白藜芦醇单独或与5-Fu联合给药后发现,10、20 mg·kg⁻¹的白藜芦醇单独给药体内肿瘤抑制率分别为43.8%、53.4%,联合5-Fu后抑制率有明显上升,并且白藜芦醇能诱导H22细胞发生S期阻滞,且呈剂量依赖性。还有研究发现,白藜芦醇及其合成的甲氧基衍生物可以诱导人胶质母细胞瘤T98G细胞发生S期周期阻滞,并诱导其凋亡^[83]。SHAO等^[84]发现姜黄素作用于人肝癌SMMC-7721和Huh7细胞后,S期细胞增加,提示姜黄素的增殖抑制作用一定程度上与其周期阻滞作用有关。ZHAO等^[85]研究薯蓣皂苷对人胃癌MGC-803细胞的作用发现,与对照组相比,随着薯蓣皂苷给药浓度的增大, G_0/G_1 期细胞减少,S期细胞增多,这表明薯蓣皂苷可诱导MGC-803细胞发生S期细胞周期阻滞。HUANG等^[86]研究发现用姜黄素、伊利替康或两者联合作用于人结肠癌LoVo和HT-29细胞后,细胞在细胞周期S期积累,说明姜黄素和伊利替康可通过诱导细胞周期S期阻滞发挥抑癌作用,且两者联合可增强药效。

3.2.2 抗呼吸系统肿瘤 华蟾素是中华大蟾蜍的皮肤分泌物,传统功效有清热、解毒、化痰、利尿等。近几年来,在临床上辅助治疗如骨肉瘤^[87]、肝癌^[88]、

结直肠癌^[89]、胃癌^[90]等多种肿瘤,可改善患者生存质量,延长生存期。HAN等^[91]研究华蟾素单独或联合吉非替尼治疗非小细胞肺癌的疗效发现,华蟾素单独或联合吉非替尼给药A549细胞后细胞在S期积累,说明发生了S期阻滞,进一步研究发现,联合给药显著下调Cyclin A、Cyclin E和CDK2的表达水平,上调p21的蛋白水平。

3.2.3 抗泌尿生殖系统肿瘤 雷公藤醇(TPD)是雷公藤内酯类化合物,在我国已用于慢性肾炎的治疗,具有抗炎、抗肿瘤等多种药理作用。研究TPD对人肾透明细胞癌(ccRCC)的治疗作用发现,TPD能够明显抑制ccRCC细胞增殖、迁移,并诱导发生S期细胞周期阻滞^[92]。WU等^[93]将白藜芦醇作用于小鼠乳腺癌4T1细胞后,检测不同时间点细胞周期的变化,发现S期细胞增多,G₀/G₁期细胞减少,细胞阻滞于S期,表明白藜芦醇对小鼠乳腺癌4T1细胞增殖抑制作用与其诱导细胞周期阻滞有一定关系。

3.2.4 抗其他类型肿瘤 雷公藤甲素(TPL)是从中药雷公藤中提取得到的一种二萜三环氧化合物,已被报道在肿瘤化疗治疗上有巨大的潜力。用不同浓度的TPL处理人黑色素瘤A375.S2细胞,观察到TPL能够诱导A375.S2细胞S期阻滞和凋亡,并且呈现浓度和时间依赖性,进一步研究发现TPL是通过促进p21和p27的表达,抑制Cyclin A和CDC25A的表达导致S期阻滞^[94]。有研究报道了白藜芦醇对神经母细胞瘤的作用,白藜芦醇导致细胞周期阻滞的阶段与剂量有关,白藜芦醇给药25~50 μmol·L⁻¹时可以诱导80%以上的NUB-7和LAN-5细胞发生S期细胞周期阻滞,100 μmol·L⁻¹白藜芦醇给药NUB-7细胞48 h和给药LAN-5细胞4 d后可以诱导G₁期阻滞,并指出这可能与p53的活化有关^[95]。

3.3 中药诱导G₂/M期阻滞抗肿瘤研究

3.3.1 抗消化系统肿瘤 臭椿酮可以抑制胃癌SGC-7901细胞增殖,并阻滞其细胞周期于G₂/M期^[96]。还有研究发现,紫草素可以通过早期转录生长因子1(Egr1)-p21信号通路诱导人胃癌AGS细胞发生G₂/M期周期阻滞发挥抗增殖活性^[97]。REN等^[98]研究发现白藜芦醇单独或联合化疗药顺铂(DDP)给药均可以抑制人胃癌AGS细胞增殖,促进其凋亡,诱导G₂/M期周期阻滞,且联合给药作用更强。进一步研究发现,联合给药后p-CDK1、p21Waf1/Cip1、p27Kip1水平上调,而CDC25C和Cyclin B₁蛋白水平显著下调,表明白藜芦醇可以通过诱导G₂/M期阻滞、下调CDK1-Cyclin B₁复合物和

上调p21Waf1/Cip1、p27Kip1的表达水平使人胃癌AGS细胞对DDP敏感。苦杏仁苷可用于肝癌的治疗,研究发现一定浓度的苦杏仁苷作用于人肝癌HepG2细胞,可诱导其发生G₂/M期细胞周期阻滞,并且随着锌含量的增加,苦杏仁苷对人肝癌HepG2细胞的治疗作用显著增强^[99]。有研究发现,紫草素能够诱导人胰腺癌PANC-1细胞在G₂/M期呈时间依赖性地累积,表明紫草素可以诱导PANC-1细胞周期阻滞在G₂/M期,这与p21蛋白的表达上调相一致^[100]。紫草素可以引起缺氧诱导的人结肠癌HCT116细胞周期阻滞,体内外均有抗肿瘤活性^[101]。

3.3.2 抗呼吸系统肿瘤 一项关于紫草素抗癌作用机制的研究发现,紫草素能够诱导人非小细胞肺癌A549细胞在G₂/M期呈时间依赖性地累积,表明紫草素可以诱导A549细胞周期阻滞在G₂/M期,这与p21蛋白的表达上调相一致^[100]。

3.3.3 抗泌尿生殖系统肿瘤 冬凌草甲素是传统中药冬凌草的抗肿瘤活性成分之一,是一种贝壳杉烯二萜。LU等^[102]研究发现冬凌草甲素能呈剂量依赖性地抑制人前列腺癌PC3和DU145细胞的增殖,并且将细胞周期阻滞于G₂/M期,进一步研究发现,冬凌草甲素给药后p21表达上调、CDK1表达下调,这表明,冬凌草甲素诱导的人前列腺癌PC3和DU145细胞G₂/M期阻滞部分程度上是由于p21的激活和CDK1的下调导致的。有研究发现姜黄素能够诱导乳腺癌MCF-7细胞周期阻滞于G₂/M期,并能够下调Cyclin B₁和CDC2的表达水平^[103]。WANG等^[104]发现姜黄素作用于人宫颈癌SIHA细胞后,可以呈剂量依赖性地抑制Cyclin B₁和CDC25蛋白的表达水平,从而诱导G₂/M期周期阻滞而达到抑制肿瘤细胞生长的作用。

3.3.4 抗其他类型肿瘤 紫草素可以通过上调p21和下调Cyclin B₁的表达水平引起人黑色素瘤A375细胞G₂/M期阻滞^[105]。研究小檗碱对皮肤黑色素瘤A375细胞的作用发现,低浓度的小檗碱可引起A375细胞发生S期和G₂/M期阻滞,高浓度小檗碱使细胞周期阻滞在G₂/M期,CDK1、CDK2和Cyclin D₁与Cyclin A的表达降低^[106]。槐耳水提物作用于人纤维肉瘤HT1080细胞一定时间后,与对照组相比,处理组发生G₂期阻滞,因而证明槐耳水提物通过G₂期阻滞抑制HT1080细胞的增殖^[107]。DING等^[108]研究发现薯蓣皂苷处理人骨肉瘤MNNG/HOS、MG63和U2OS细胞后,可通过上调细胞周期相关蛋白p53和p21的表达,促进CDC2和

ATM的磷酸化水平而诱导G₂/M期周期阻滞,进一步抑制细胞增殖。LIU等^[109]也发现薯蓣皂苷给药人骨肉瘤细胞系U2OS和143B细胞后,p21在mRNA和蛋白水平上都有所上调,进一步导致了G₂/M期阻滞。雷公藤甲素对于多发性骨髓瘤U266细胞有增殖抑制作用,可以诱导U266细胞发生G₂/M期阻滞和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶依赖性凋亡,认为可能与组蛋白H3K4、H3K27和H3K26甲基化状态的改变有关^[110]。雷公藤红素是从中药雷公藤中提取得到的一种有抗肿瘤活性的三萜类化合物。雷公藤红素作用于人胶质瘤U251、U87-MG和C6细胞,发现其可以通过激活Ros/JNK信号通路,阻断Akt/mTOR信号通路,引发G₂/M期阻滞,触发细胞凋亡和自噬^[111]。BOSTAN等^[112]也发现白藜芦醇能够增强p21在人头颈部鳞状细胞癌中的表达,对以其为佐剂的顺铂联合化疗中降低顺铂剂量进而减轻化疗不良反应有一定的作用。赫玮等^[113]研究冬凌草甲素对人急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞的作用发现冬凌草甲素能够呈剂量依赖性地抑制Jurkat细胞的增殖,并且诱导其发生G₂/M期周期阻滞,进一步研究发现,冬凌草甲素能够上调Jurkat细胞PLK1的蛋白水平,并通过与PLK1结合位点Cys67和Cys133直接结合来抑制其泛素化降解,以此诱导G₂/M期阻滞,进一步发挥增殖抑制作用。

4 结语与讨论

从分子层面研究发现,肿瘤细胞具有多样性和异质性,同时具有超越正常组织的无限增殖的能力。解除对细胞增殖的管制,抑制细胞凋亡,是所有肿瘤发生的共同平台^[2]。目前,人们已经意识到,细胞周期调控失调会导致细胞生长失控,从而导致各种癌症的发生。细胞周期是一个复杂的事件序列,细胞通过该事件重复其内容并分裂,该过程依赖于许多调节蛋白,包括细胞周期蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶、相关癌基因和抑癌基因及有丝分裂检查点蛋白等。正常的细胞周期由G₁、S、G₂期和M期组成,由一个阶段向下一个阶段转换的这个点称为细胞周期检定点。细胞周期正常进行时,若DNA出现损伤,相应的信号通路被激活,细胞周期也停在相应的检定点,称为G₁/S、G₂/M期阻滞,进一步,Cyclin-CDK复合物的调节活动中止,直至损伤修复完成,细胞为下一阶段做好准备。在肿瘤细胞中,各种累积突变导致有丝分裂相关信号异常和染色体数目不确定性增加,这些累积的改变对肿瘤的

发生起到了关键作用,而细胞周期与有丝分裂顺利与否息息相关。因此,从细胞周期调控方向研究和开发抗肿瘤药物具有非常广阔的前景。

近年来,随着对中药有效成分和药理作用研究的不断深入,越来越多的人意识到从中药中发掘抗肿瘤药物是未来抗肿瘤新药研发的一个重要切入点。目前在临床上,抗肿瘤中药多以辅助放化疗的方式发挥扶正抑癌作用,优势在于降低放化疗药物严重的不良反应,部分可以发挥协同提高疗效的作用,还可以提高肿瘤患者机体免疫功能,延长生存期。随着中药抗肿瘤药理研究工作的不断深入,目前已知中药发挥抗肿瘤作用可部分通过影响细胞周期来实现,其中引起细胞周期阻滞的原因主要有影响细胞周期检查点、影响细胞周期相关蛋白、细胞周期蛋白依赖性激酶或细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子等进而影响细胞周期蛋白复合物及通过诱发DNA损伤、影响有丝分裂正常进行等。

现有研究表明,中药及其单体成分阻滞细胞周期发挥抗肿瘤作用的选择性和特异性并不强,一种中药或其单体成分可能同时抑制细胞周期的多个阶段,或对多个阶段表现为不同的作用,因现有研究内容有限,有些作用还是未知的,这大大限制了其临床应用。因此,对中药进行化学成分分离,寻找对细胞周期阻滞靶向性更强的中药成分并进行深入研究是很有必要的。其次,现有研究多是遵循药物可阻滞细胞周期的某个阶段,再将其作用归因于较为明确的调控机制上的思路,机制研究上形式较为单一,缺乏创新性,而且在一些复杂问题方面的研究还不够深入,如中药在调控细胞周期的同时,是否会通过其他方式来共同发挥抗肿瘤作用,比如影响肿瘤微环境等;中药在影响细胞周期调控因子表达的同时,是否会影响其他原癌基因或抑癌基因的表达,相关信号通路之间是否存在串扰;中药与化疗药物联用或与其他中药组方时,是否会对细胞周期进行调控及其具体机制是什么;单独用药或联合用药时是否会产生耐药性,如何减轻耐药性并保证其细胞周期阻滞作用的稳定性和临床用药的安全性等,这些都是亟待解决的问题,需要科研人员进行更为深入的研究。同时,现有研究大都处于基础药理研究阶段,没能很好地将其与临床应用情况相结合,缺乏现实指导意义。因此在现有研究基础上,将体内外实验结果与临床实例和统计学数据相结合,对中药阻滞细胞周期发挥抗肿瘤作用进行更加全面深入的研究应成为接下来的研究重点。

尽管目前针对中药阻滞细胞周期抗肿瘤作用的研究还不够深入,其临床应用也不够广泛,但随着相关学科的发展和研究技术的革新,对该内容的研究会逐渐深入,一些复杂问题也将得到答案,届时,科研人员能够明确更多中药及其有效成分通过阻滞细胞周期发挥抗肿瘤作用并阐明其作用机制,从而为中药抗肿瘤研究提供扎实的理论依据,并拓宽其临床应用范围,为更多患者带来福音,并将进一步推动中医药现代化和国际化的发展。

[参考文献]

[1] TORRE L A, SIEGEL R L, WARD E M, et al. Global cancer incidence and mortality rates and trends—an update [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2016, 25(1): 16-27.

[2] EVAN G I, VOUSDEN K H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer [J]. *Nature*, 2001, 411(6835): 342-348.

[3] OTTO T, SICINSKI P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(2): 93-115.

[4] 叶海英. 自拟止痛酊治疗肺癌术后慢性疼痛的临床观察[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2020.

[5] 王鑫. 中药用于高分化胰腺神经内分泌肿瘤根治术后辅助治疗的临床研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2020.

[6] 汤伟. 华蟾素注射液腹腔灌注治疗恶性腹水及其VEGF表达的临床研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2017.

[7] 蔡卉, 刘艺, 徐静静. 中药八珍汤辅助术后化疗治疗宫颈癌患者的临床疗效及对血清肿瘤坏死因子和免疫球蛋白水平的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2020, 15(12): 2281-2284.

[8] VERMEULEN K, VAN BOCKSTAELE D R, BERNEMAN Z N. The cell cycle: A review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer [J]. *Cell Prolif*, 2003, 36(3): 131-149.

[9] MANIC G, OBRIST F, SISTIGU A, et al. Trial watch: Targeting ATM-CHEK2 and ATR-CHEK1 pathways for anticancer therapy [J]. *Mol Cell Oncol*, 2015, 2(4): e1012976.

[10] SCHAFER K A. The cell cycle: A review [J]. *Vet Pathol*, 1998, 35(6): 461-478.

[11] MALUMBRES M, BARBACID M. Cell cycle, CDKs and cancer: A changing paradigm [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(3): 153-166.

[12] MARONE M, SCAMBIA G, GIANNITELLI C, et al. Analysis of Cyclin E and CDK2 in ovarian cancer: Gene amplification and RNA overexpression [J]. *Int J*

Cancer, 1998, 75(1): 34-39.

[13] NAKAYAMA N, NAKAYAMA K, SHAMIMA Y, et al. Gene amplification CCNE1 is related to poor survival and potential therapeutic target in ovarian cancer [J]. *Cancer*, 2010, 116(11): 2621-2634.

[14] SUI L, TOKUDA M, OHNO M, et al. The concurrent expression of p27(kip1) and Cyclin D₁ in epithelial ovarian tumors [J]. *Gynecol Oncol*, 1999, 73(2): 202-209.

[15] WIKMAN H, KETTUNEN E. Regulation of the G₁/S phase of the cell cycle and alterations in the RB pathway in human lung cancer [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2006, 6(4): 515-530.

[16] SHERR C J, MCCORMICK F. The RB and p53 pathways in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2002, 2(2): 103-112.

[17] RIVADENEIRA D B, MAYHEW C N, THANGAVEL C, et al. Proliferative suppression by CDK4/6 inhibition: Complex function of the retinoblastoma pathway in liver tissue and hepatoma cells [J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(5): 1920-1930.

[18] BURKHART D L, MOREL K L, SHEAHAN A V, et al. The role of RB in prostate cancer progression [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, doi: 10.1007/978-3-030-32656-2_13.

[19] SUR S, AGRAWAL D K. Phosphatases and kinases regulating CDC25 activity in the cell cycle: Clinical implications of CDC25 overexpression and potential treatment strategies [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 416(1/2): 33-46.

[20] LIU J C, GRANIERI L, SHRESTHA M, et al. Identification of CDC25 as a common therapeutic target for triple-negative breast cancer [J]. *Cell Rep*, 2018, 23(1): 112-126.

[21] ZACKSENHAUS E, LIU J C, GRANIERI L, et al. CDC25 as a common therapeutic target for triple-negative breast cancer - the challenges ahead [J]. *Mol Cell Oncol*, 2018, 5(4): e1481814.

[22] ODNOKOZ O, WAVELET-VERMUSE C, HOPHAN S L, et al. ARID1 proteins: From transcriptional and post-translational regulation to carcinogenesis and potential therapeutics [J]. *Epigenomics*, 2021, 13(10): 809-823.

[23] WANG Z, CHEN K, JIA Y, et al. Dual ARID1A/ARID1B loss leads to rapid carcinogenesis and disruptive redistribution of BAF complexes [J]. *Nat Cancer*, 2020, 1(9): 909-922.

[24] WU C, LYU J, YANG E J, et al. Targeting AURKA-

- CDC25C axis to induce synthetic lethality in ARID1A-deficient colorectal cancer cells [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3212.
- [25] JIANG J, WANG J, YUE M, et al. Direct phosphorylation and stabilization of MYc by aurora B kinase promote T-cell leukemogenesis [J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(2): 200-215 e205.
- [26] SHAH K N, BHATT R, ROTOW J, et al. Aurora kinase A drives the evolution of resistance to third-generation EGFR inhibitors in lung cancer [J]. *Nat Med*, 2019, 25(1): 111-118.
- [27] WHITTAKER S R, MALLINGER A, WORKMAN P, et al. Inhibitors of Cyclin-dependent kinases as cancer therapeutics [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.008.
- [28] LU Y Y, HUANG X E, CAO J, et al. Phase II study on javanica oil emulsion injection (Yadanzi (R)) combined with chemotherapy in treating patients with advanced lung adenocarcinoma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(8): 4791-4794.
- [29] YAN Z, GUO G F, ZHANG B. Research of *Brucea javanica* against cancer [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(2): 153-160.
- [30] LUO D, HOU D, WEN T, et al. Efficacy and safety of *Brucea javanica* oil emulsion for liver cancer: A protocol for systematic review and Meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(47): e23197.
- [31] QIU Z H, ZHANG W W, ZHANG H H, et al. *Brucea javanica* oil emulsion improves the effect of radiotherapy on esophageal cancer cells by inhibiting Cyclin D₁-CDK4/6 axis [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(20): 2463-2472.
- [32] LONG F, HE Y, FU H, et al. Preclinical characterization of SHR6390, a novel CDK 4/6 inhibitor, *in vitro* and in human tumor xenograft models [J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(4): 1420-1430.
- [33] WANG J, LI Q, YUAN J, et al. CDK4/6 inhibitor-SHR6390 exerts potent antitumor activity in esophageal squamous cell carcinoma by inhibiting phosphorylated Rb and inducing G₁ cell cycle arrest [J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1): 127.
- [34] LIAO X, HONG Y, MAO Y, et al. SPH3643: A novel Cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor with good anticancer efficacy and strong blood-brain barrier permeability [J]. *CancerSci*, 2020, 111(5): 1761-1773.
- [35] TADESSE S, ANSHABO A T, PORTMAN N, et al. Targeting CDK2 in cancer: Challenges and opportunities for therapy [J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(2): 406-413.
- [36] SHI X N, LI H J, YAO H, et al. In silico identification and *in vitro* and *in vivo* validation of anti-psychotic drug fluspirilene as a potential CDK2 inhibitor and a candidate anti-cancer drug [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132072.
- [37] FRAME S, SALADINO C, MACKAY C, et al. Fadraciclub (CYC065), a novel CDK inhibitor, targets key pro-survival and oncogenic pathways in cancer [J]. *PLoS One*, 2020, 15(7): e0234103.
- [38] CAPASSO A, CERCHIA C, DI GIOVANNI C, et al. Ligand-based chemoinformatic discovery of a novel small molecule inhibitor targeting CDC25 dual specificity phosphatases and displaying *in vitro* efficacy against melanoma cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(37): 40202-40222.
- [39] JING L, WU G, HAO X, et al. Identification of highly potent and selective CDC25 protein phosphatases inhibitors from miniaturization click-chemistry-based combinatorial libraries [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111696.
- [40] VENDETTI F P, LAU A, SCHAMUS S, et al. The orally active and bioavailable ATR kinase inhibitor AZD6738 potentiates the anti-tumor effects of cisplatin to resolve ATM-deficient non-small cell lung cancer *in vivo* [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(42): 44289-44305.
- [41] KIM H J, MIN A, IM S A, et al. Anti-tumor activity of the ATR inhibitor AZD6738 in HER2 positive breast cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(1): 109-119.
- [42] NAM A R, JIN M H, BANG J H, et al. Inhibition of ATR increases the sensitivity to WEE1 inhibitor in biliary tract cancer [J]. *Cancer Res Treat*, 2020, 52(3): 945-956.
- [43] PATTIES I, KALLENDRUSCH S, BOHME L, et al. The Chk1 inhibitor SAR-020106 sensitizes human glioblastoma cells to irradiation, to temozolomide, and to decitabine treatment [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 420.
- [44] HONG D, INFANTE J, JANKU F, et al. Phase I study of LY2606368, a checkpoint kinase 1 inhibitor, in patients with advanced cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(15): 1764-1771.
- [45] HONG D S, MOORE K, PATEL M, et al. Evaluation of prexasertib, a checkpoint kinase 1 inhibitor, in a phase Ib study of patients with squamous cell carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(14): 3263-3272.

- [46] LI F, KOZONO D, DERASKA P, et al. CHK1 inhibitor blocks phosphorylation of FAM122A and promotes replication stress [J]. *Mol Cell*, 2020, 80(3): 410-422.
- [47] WENZEL E S, SINGH A T K. Cell-cycle checkpoints and aneuploidy on the path to cancer [J]. *In Vivo*, 2018, 32(1): 1-5.
- [48] LI F N, DONG X W, LIN P, et al. Regulation of Akt/FoxO3a/Skp2 axis is critically involved in berberine-induced cell cycle arrest in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 327.
- [49] ZHUO Z, HU J, YANG X, et al. Ailanthone inhibits Huh7 cancer cell growth via cell cycle arrest and apoptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep16185.
- [50] BI L, YAN X, CHEN W, et al. Antihepatocellular carcinoma potential of tetramethylpyrazine induces cell cycle modulation and mitochondrial-dependent apoptosis: Regulation of p53 signaling pathway in HepG2 cells *in vitro* [J]. *Integr Cancer Ther*, 2016, 15(2): 226-236.
- [51] CAO Z, LIN W, HUANG Z, et al. Ethyl acetate extraction from a Chinese herbal formula, Jiedu Xiaozheng Yin, inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma cells via induction of G₀/G₁ phase arrest *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(1): 202-210.
- [52] YAN X J, ZHANG L, CAO Y D, et al. An ingenol derived from *euphorbia kansui* induces hepatocyte cytotoxicity by triggering G₀/G₁ cell cycle arrest and regulating the mitochondrial apoptosis pathway *in vitro* [J]. *Molecules*, 2016, 21(6): 813.
- [53] NIU Y, SHAN L, GAO H, et al. Huaier suppresses the hepatocellular carcinoma cell cycle by regulating minichromosome maintenance proteins [J]. *Oncotargets Ther*, 2020, doi: 10.2147/OTT.S279723.
- [54] ZHANG N, KONG X, YAN S, et al. Huaier aqueous extract inhibits proliferation of breast cancer cells by inducing apoptosis [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(11): 2375-2383.
- [55] ZHANG X, QIN Y, PAN Z, et al. Cannabidiol induces cell cycle arrest and cell apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(8): 302.
- [56] PARK H J, YOON S H, HAN L S, et al. Amygdalin inhibits genes related to cell cycle in SNU-C4 human colon cancer cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(33): 5156-5161.
- [57] LIU Y X, YANG B, ZHANG L R, et al. Ginkgolic acid induces interplay between apoptosis and autophagy regulated by ROS generation in colon cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(1): 246-253.
- [58] LIU Y, HUA W, LI Y, et al. Berberine suppresses colon cancer cell proliferation by inhibiting the SCAP/SREBP-1 signaling pathway-mediated lipogenesis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.bcp.2019.113776.
- [59] BIAN Y Y, YANG L L, SHENG W, et al. Ligustrazine induces the colorectal cancer cells apoptosis via p53-dependent mitochondrial pathway and cell cycle arrest at the G₀/G₁ phase [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(2): 1578-1588.
- [60] ZHU J, CHEN M J, CHEN N, et al. Glycyrrhetic acid induces G₁-phase cell cycle arrest in human non-small cell lung cancer cells through endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(3): 981-988.
- [61] MAKAREVIC J, TSAUR I, JUENGEL E, et al. Amygdalin delays cell cycle progression and blocks growth of prostate cancer cells *in vitro* [J]. *Life Sci*, 2016, 147: 137-142.
- [62] MAKAREVIC J, RUTZ J, JUENGEL E, et al. Amygdalin blocks bladder cancer cell growth *in vitro* by diminishing Cyclin A and CDK2 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105590.
- [63] JUENGEL E, THOMAS A, RUTZ J, et al. Amygdalin inhibits the growth of renal cell carcinoma cells *in vitro* [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(2): 526-532.
- [64] EFFERTH T, DUNSTAN H, SAUERBREY A, et al. The anti-malarial artesunate is also active against cancer [J]. *Int J Oncol*, 2001, 18(4): 767-773.
- [65] MARKOWITSCH S D, SCHUPP P, LAUCKNER J, et al. Artesunate inhibits growth of sunitinib-resistant renal cell carcinoma cells through cell cycle arrest and induction of ferroptosis [J]. *Cancers*, 2020, 12(11): 3150.
- [66] PAN J, SHANG J F, JIANG G Q, et al. Ligustrazine induces apoptosis of breast cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Cancer Res Ther*, 2015, 11(2): 454-458.
- [67] DING X, YANG Q, KONG X, et al. Radiosensitization effect of Huaier on breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5): 2843-2850.
- [68] LIN K H, HUANG M Y, CHENG W C, et al. RNA-seq transcriptome analysis of breast cancer cell lines under shikonin treatment [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2672.

- [69] ZHAI T, HEI Z, MA Q, et al. Shikonin induces apoptosis and G₀/G₁ phase arrest of gallbladder cancer cells via the JNK signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(6): 3473-3480.
- [70] ZHANG L, WU C, BOUVET M, et al. Traditional Chinese medicine herbal mixture LQ arrests FUCCI-expressing HeLa cells in G₀/G₁ phase in 2D plastic, 2.5D Matrigel, and 3D Gelfoam culture visualized with FUCCI imaging [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7): 5292-5298.
- [71] 房城, 徐晓敏, 刘树民. 薯蓣皂苷药理学与毒理学研究进展[J]. *中国药物警戒*, 2022, 19(4): 456-459.
- [72] LI X L, MA R H, NI Z J, et al. Dioscin inhibits human endometrial carcinoma proliferation via G₀/G₁ cell cycle arrest and mitochondrial-dependent signaling pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, doi: 10.1016/j.fct.2020.111941.
- [73] PAN Z, QU C, CHEN Y, et al. Bufotalin induces cell cycle arrest and cell apoptosis in human malignant melanoma A375 cells [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(4): 2409-2417.
- [74] 刘伟, 顾秀竹, 吴筱霓, 等. 姜黄素药理作用的研究进展[J]. *华西药学杂志*, 2021, 36(3): 336-340.
- [75] 李皓玥, 王晨林, 王玉欣, 等. 姜黄素药代动力学及其抗乳腺癌作用的研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(5): 744-750.
- [76] ZHOU H, NING Y C, ZENG G R, et al. Curcumin promotes cell cycle arrest and apoptosis of acute myeloid leukemia cells by inactivating Akt [J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(4): 11.
- [77] ZHONG S, JIN Q, YU T, et al. Phellinus gilvus-derived protocatechualdehyde induces G₀/G₁ phase arrest and apoptosis in murine B16F10 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(3): 1107-1114.
- [78] XU D Q, YUAN X J, TOYODA H, et al. Anti-tumor effect of Huaier extract against neuroblastoma cells *in vitro* [J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(4): 1015-1023.
- [79] LI L, WANG X C, SHARVAN R, et al. Berberine could inhibit thyroid carcinoma cells by inducing mitochondrial apoptosis, G₀/G₁ cell cycle arrest and suppressing migration via PI3K-Akt and MAPK signaling pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, doi: 10.1016/j.biopha.2017.09.010.
- [80] ZHANG C, ZHANG J, LI X, et al. Huaier aqueous extract induces hepatocellular carcinoma cells arrest in S phase via JNK signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, doi: 10.1155/2015/171356.
- [81] LI Y L, QIN Q P, LIU Y C, et al. A platinum(II) complex of lirioidenine from traditional Chinese medicine (TCM): Cell cycle arrest, cell apoptosis induction and telomerase inhibition activity via G-quadruplex DNA stabilization [J]. *J Inorg Biochem*, 2014, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2014.04.001.
- [82] WU S L, SUN Z J, YU L, et al. Effect of resveratrol and in combination with 5-FU on murine liver cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(20): 3048-3052.
- [83] MAJCHRZAK-CELINSKA A, ZIELINSKA-PRZYJEMSKA M, WIERZCHOWSKI M, et al. Methoxy-stilbenes downregulate the transcription of Wnt/beta-catenin-dependent genes and lead to cell cycle arrest and apoptosis in human T98G glioblastoma cells [J]. *Adv Med Sci*, 2021, 66(1): 6-20.
- [84] SHAO J, SHI C J, LI Y, et al. LincROR mediates the suppressive effects of curcumin on hepatocellular carcinoma through inactivating Wnt/beta-catenin signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2020, doi: 10.3389/fphar.2020.00847.
- [85] ZHAO X, XU L, ZHENG L, et al. Potent effects of dioscin against gastric cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(3): 274-282.
- [86] HUANG Y F, ZHU D J, CHEN X W, et al. Curcumin enhances the effects of irinotecan on colorectal cancer cells through the generation of reactive oxygen species and activation of the endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25): 40264-40275.
- [87] 王芳, 高音, 薛鹏, 等. 骨瓜提取物联合华蟾素注射液治疗溶骨性骨转移瘤的临床观察[J]. *吉林中医药*, 2021, 41(4): 488-492.
- [88] 彭卫卫, 郭小青, 王侠, 等. 华蟾素胶囊联合肝动脉灌注化疗栓塞治疗肝癌患者的临床观察[J]. *光明中医*, 2018, 33(19): 2888-2890.
- [89] 钟俐强, 何杰, 徐艳, 等. 华蟾素胶囊联合CapeOX方案治疗老年晚期结直肠癌临床观察[J]. *实用老年医学*, 2019, 33(11): 1123-1125.
- [90] 肖湘农, 林朝晖, 李泉, 等. 华蟾素联合DC化疗方案治疗晚期胃癌临床观察[J]. *中国基层医药*, 2018, 25(3): 322-324.
- [91] HAN Y, MA R, CAO G, et al. Combined treatment of cinobufotalin and gefitinib exhibits potent efficacy against lung cancer [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, doi: 10.1155/2021/6612365.
- [92] JIN J, ZHOU M, WANG X, et al. Triptolidenol, isolated from *Tripterygium wilfordii*, disrupted NF-

- kappaB/COX-2 pathway by targeting ATP-binding sites of IKKbeta in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Fitoterapia*, 2021, doi: 10.1016/j.fitote.2020.104779.
- [93] WU H, CHEN L, ZHU F, et al. The cytotoxicity effect of resveratrol: Cell cycle arrest and induced apoptosis of breast cancer 4T1 cells [J]. *Toxins (Basel)*, 2019, 11(12): 731.
- [94] HUNG F M, CHEN Y L, HUANG A C, et al. Triptolide induces S phase arrest via the inhibition of Cyclin E and CDC25A and triggers apoptosis via caspase- and mitochondrial-dependent signaling pathways in A375. S2 human melanoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(3): 1053-1060.
- [95] LIONTAS A, YEGER H. Curcumin and resveratrol induce apoptosis and nuclear translocation and activation of p53 in human neuroblastoma [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(2B): 987-998.
- [96] CHEN Y, ZHU L, YANG X, et al. Ailanthone induces G₂/M cell cycle arrest and apoptosis of SGC7901 human gastric cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 6821-6827.
- [97] KIM S J, KIM J M, SHIM S H, et al. Shikonin induces cell cycle arrest in human gastric cancer (AGS) by early growth response 1 (Egr1)-mediated p21 gene expression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(3): 1064-1071.
- [98] REN M, ZHOU X, GU M, et al. Resveratrol synergizes with cisplatin in antineoplastic effects against AGS gastric cancer cells by inducing endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis and G₂/M phase arrest [J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(4): 1605-1615.
- [99] EL-DESOUKY M A, FAHMI A A, ABDELKADER I Y, et al. Anticancer effect of amygdalin (Vitamin B-17) on hepatocellular carcinoma cell line (HepG2) in the presence and absence of Zinc [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2020, 20(4): 486-494.
- [100] WANG F F, POZO F M, TIAN D M, et al. Shikonin inhibits cancer through p21 upregulation and apoptosis induction [J]. *Front Pharmacol*, 2020, doi: 10.3389/fphar.2020.00861.
- [101] LI M Y, MI C, WANG K S, et al. Shikonin suppresses proliferation and induces cell cycle arrest through the inhibition of hypoxia-inducible factor-1 α signaling [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, doi: 10.1016/j.cbi.2017.06.029.
- [102] LU J, CHEN X, QU S, et al. Oridonin induces G₂/M cell cycle arrest and apoptosis via the PI3K/Akt signaling pathway in hormone-independent prostate cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(4): 2838-2846.
- [103] BERRAK O, AKKOC Y, ARISAN E D, et al. The inhibition of PI3K and Nf κ B promoted curcumin-induced cell cycle arrest at G₂/M via altering polyamine metabolism in Bcl-2 overexpressing MCF-7 breast cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, doi: 10.1016/j.biopha.2015.12.007.
- [104] WANG T, WU X, AL RUDAISAT M, et al. Curcumin induces G₂/M arrest and triggers autophagy, ROS generation and cell senescence in cervical cancer cells [J]. *J Cancer*, 2020, 11(22): 6704-6715.
- [105] LIU Y, KANG X, NIU G, et al. Shikonin induces apoptosis and pro-survival autophagy in human melanoma A375 cells via ROS-mediated ER stress and p38 pathways [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 626-635.
- [106] REN M, YANG L, LI D, et al. Cell cycle regulation by berberine in human melanoma A375 cells [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2020, 169(4): 491-496.
- [107] CUI Y, MENG H M, LIU W D, et al. Huaier aqueous extract induces apoptosis of human fibrosarcoma HT1080 cells through the mitochondrial pathway [J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(4): 1590-1596.
- [108] DING Q, ZHANG W, CHENG C, et al. Dioscin inhibits the growth of human osteosarcoma by inducing G₂/M-phase arrest, apoptosis, and GSDME-dependent cell death *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3): 2911-2924.
- [109] LIU W, ZHAO Z, WANG Y, et al. Dioscin inhibits stem-cell-like properties and tumor growth of osteosarcoma through Akt/GSK3 β /catenin signaling pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 343.
- [110] ZHAO F, CHEN Y, ZENG L, et al. Role of triptolide in cell proliferation, cell cycle arrest, apoptosis and histone methylation in multiple myeloma U266 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 646(1/3): 1-11.
- [111] LIU X, ZHAO P, WANG X, et al. Celastrol mediates autophagy and apoptosis via the ROS/JNK and Akt/mTOR signaling pathways in glioma cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 184.
- [112] BOSTAN M, PETRICA-MATEI G G, RADU N, et al. The effect of resveratrol or curcumin on head and neck cancer cells sensitivity to the cytotoxic effects of cisplatin [J]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2596.
- [113] 赫玮, 左勇. 冬凌草甲素上调PLK1对Jurkat细胞细胞周期的影响 [J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2021, 41(5): 603-611.

[责任编辑 张丰丰]