

· 基础研究 ·

鸦胆子油乳及联合顺铂对卵巢癌 SKOV3 裸鼠移植瘤生长抑制的影响

赵楠^{1,2} 李玉花¹ 吴效科³ 王桂媛² 蔡冬燕³ 韩凤娟³

摘要 **目的** 研究鸦胆子油乳对人卵巢癌细胞系 SKOV3 细胞及 SKOV3 裸鼠移植瘤的生长抑制作用。**方法** MTT 法测定不同浓度鸦胆子油乳单独及联合顺铂对人卵巢癌细胞 SKOV3 的生长抑制作用。采用人卵巢癌细胞 SKOV3 移植方法构建卵巢癌裸鼠模型,将 32 只卵巢癌裸鼠随机分为 4 组,每组 8 只。空白对照组(简称对照组)、鸦胆子油乳组(简称鸦胆子组)、鸦油顺铂联合组(简称联合组)及顺铂组。A、B 组分别每隔 2 日腹腔注射生理盐水、鸦胆子油乳注射液 0.2 mL/20 g,联合组第 1 天腹腔注射顺铂 0.2 mL(3 mg/kg),第 2 天腹腔注射 0.2 mL/20 g 鸦胆子油乳注射液,D 组每隔 2 日腹腔注射顺铂 0.2 mL(3 mg/kg)。各组均注射 6 次,末次腹腔注射后 48 h 断颈处死裸鼠,观察腹腔肿瘤组织病灶形成情况,取肿瘤病灶标本进行 HE 染色和 Western blot 检测肿瘤组织运动相关蛋白 MRP-1/CD9 和整合素 α -5 表达水平。**结果** 鸦胆子油乳对人卵巢癌 SKOV3 细胞的抑制作用呈剂量—时间依赖关系,鸦胆子油乳与顺铂联合应用对人卵巢癌 SKOV3 细胞的抑制作用显著高于这两种药物的单独应用。Western blot 结果显示鸦胆子组和顺铂组 MRP-1/CD9 和整合素 α -5 的表达均上调,且差异有统计学意义($P < 0.05$),但联合组表达下调,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 鸦胆子油乳注射液腹腔给药治疗卵巢癌具有可行性和一定的疗效性,并且鸦胆子油乳可能以 MRP-1/CD9 和整合素 α -5 为靶点抑制肿瘤细胞侵袭和转移,但具体的抗肿瘤机制尚未明确。

关键词 鸦胆子油乳;卵巢癌;生长抑制作用;MRP-1/CD9;整合素 α -5

Effect of *Brucea javanica* Fruit Oil Emulsion Combined Cisplatin on the Growth Inhibition of Transplanted Tumor in Human Ovarian Cancer SKOV3 Nude Mice: an Experimental Study ZHAO Nan^{1,2}, LI Yu-hua¹, WU Xiao-ke³, WANG Gui-yuan², CAI Dong-yan³, and HAN Feng-juan³ 1 Life Science College of Northeast Forestry University, Harbin (150040), China; 2 Base Project Office, First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin (150040), China; 3 Department of Gynecology, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin (150040), China

ABSTRACT **Objective** To study the growth inhibition effect of *Brucea javanica* Fruit Oil Emulsion (BJFOE) on human ovarian cancer SKOV3 cells and the transplanted tumor of SKOV3 nude mice. **Methods** Growth inhibition effects of different concentrations BJFOE alone or its combination with cisplatin on human ovarian cancer cell SKOV3 were measured using MTT method. The orthotopic transplantation tumor model of human ovarian cancer SKOV3 cell lines was established in nude mice. Totally 32 ovarian cancer nude mice were randomly divided into 4 groups, i.e., the blank control group (Group A), the BJFOE group (Group B), the BJFOE combined Cisplatin group (Group C), and the Cisplatin control group (Group D), 8 in each group. Mice in Group A were intraperitoneally injected with normal saline (0.2 mL/20 g), once per two days. Mice in Group B were intraperitoneally injected with BJFOE (0.2 mL/20 g), once per two days. Mice in Group C were intraperitoneally injected with cisplatin (3 mg/kg) 0.2 mL on the first day, and intraperitoneally injected with BJFOE on the second day. Mice in Group D were intraperito-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No. 81273788); 黑龙江省新世纪优秀人才培养计划(No. 1155-NCET-015)

作者单位: 1. 东北林业大学生命科学学院(哈尔滨 150040); 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院基地项目办公室(哈尔滨 150040) 3. 黑龙江中医药大学附属第一医院妇科(哈尔滨 150040)

通讯作者: 韩凤娟, Tel: 13945067243, E-mail: zhaonanll@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.01.0057

neally injected with cisplatin (3 mg/kg) 0.2 mL, once per two days. All mice were injected for six times, and sacrificed 48 h after the last injection. The lesion formation of the abdominal tumor tissue was observed. Tumor specimens were obtained to perform HE staining. Expression levels of MRP-1/CD9 and integrin α -5 were detected using Western blot. Results The inhibition of BJFOE was time-dose dependently correlated with its inhibition effect of SKOV3 cells. The inhibition effect of BJFOE in combination of cisplatin was significantly superior to that of using any of the two drugs alone. Western blot results showed expression levels of MRP-1/CD9 and integrin α -5 were up-regulated in Group B and Group D with statistical difference ($P < 0.05$). But they were down-regulated in Group C with statistical difference ($P < 0.05$). Conclusions Intraperitoneal injecting BJFOE was feasible and effective for treating ovarian cancer. BJFOE also could inhibit the invasion and migration of tumor cells targeting at MRP-1/CD9 and integrin α -5. But its specific anti-tumor mechanism was not clearly probed.

KEYWORDS *Brucea javanica* Fruit Oil Emulsion; ovarian cancer; growth inhibition effect; MRP-1/CD9; integrin α -5

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,发病率居于妇科恶性肿瘤第 3 位,但病死率却居首位,年病死率大约在 9.5 ~ 10 万^[1]。由于卵巢癌发病隐匿,且缺乏有效的早期诊断措施,大多数患者首次确诊时已到中晚期,加之卵巢癌易出现化疗耐药及复发转移,尽管肿瘤细胞减灭术加综合化疗的治疗方法已经日趋成熟,但是患者预后差,5 年生存率仍徘徊在 15% ~ 30% 左右^[2],严重威胁女性健康及生命。

中药鸦胆子 *Brucea javanica* (L.) Merr. 系苦木科植物,味苦,性寒,有小毒。功效清热解毒、截疟止痢、杀虫、腐蚀赘疣。上世纪 70 年代以来相继从该科 30 多种植物中分离出一系列抗癌活性成分,如苦木素类、生物碱类、三萜类化合物和黄酮类化合物等^[3-6],其核心成分是具有多种生物活性的苦木素类,包括抗癌活性^[5]、抗疟疾活性^[7]、抗巴贝斯虫病^[8]、抗细菌^[9,10]、抗病毒^[11]及高血糖活性^[12]等。鸦胆子油乳由其干燥的成熟果实提取的脂肪油经乳化作用制成,其主要活性成分油酸及亚油酸具有很强的抗癌活性,与肿瘤细胞膜有特异的亲和力。鸦胆子油乳的有效成分具有细胞周期非特异性抗肿瘤作用,能够抑制肿瘤细胞的 DNA 合成,使肿瘤细胞变性、破裂、坏死,同时作用于机体免疫系统,改善细胞免疫状态。这可能是其发挥抗肿瘤作用的机制之一。研究发现鸦胆子的作用主要集中于抗肿瘤和调节免疫功能方面^[13,14],单独应用可以抗癌,具有扶正固本作用;联合放、化疗有增效减毒作用;保护骨髓造血功能,提高外周血象等作用^[15];并且不良反应小,是目前临床上广泛应用的抗肿瘤中药。

材料与方法

1 动物 BALB/C 裸鼠,雌性,鼠龄 4 ~ 8 周,体重 18 ~ 22 g, SPF 级,购于哈尔滨医科大学实验动物中心

[合格证号:11400700054740]。恒温(25 ± 2) °C,恒湿 45% ~ 50%,饲养于无菌实验室的净化空气层流架中。

2 细胞株 人卵巢癌 SKOV3 细胞株购自哈尔滨医科大学附属第二医院。

3 药物 鸦胆子油乳剂购自浙江九旭药业,10 mL/支;顺铂购自购自山东齐鲁制药厂,50 mL/支。

4 试剂及仪器 新生胎牛血清、DMEM 培养液、胰蛋白酶、四甲基偶氮唑蓝(MTT)均购自美国 Sigma 公司;二甲亚砜(DMSO)购自北京化学试剂厂;DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司;兔抗人整合素 α -5、MRP-1/CD9 免疫组化试剂盒、免疫组化 SP 试剂盒均购自北京博奥森生物有限公司等。

恒冷箱式冰冻切片机(HQP-101,天津航空机电公司);生物组织包埋机(BMJ-1,天津航空机电公司)、低温高速离心机(20PR-52D,日本 HITACHI 公司)、透射电镜(H-7500 型,日本 HITACHI 公司)。

5 方法

5.1 细胞培养 人卵巢癌 SKOV3 细胞株,培养于含 10% 小牛血清的培养液中,在 98% 相对湿度、37 °C、含体积分数为 5% 的 CO₂ 培养箱内传代培养。常规消化收集处于对数生长期细胞,计数活细胞数,读出细胞浓度,将细胞分装入离心管 12 000r/min,离心 5 min 后,去其上清液,并调整细胞浓度为(1 ~ 3) × 10⁷/mL。

5.2 细胞抑制率 常规消化处于对数生长期的 SKOV3 细胞,用培养液稀释浓度为 4.0 × 10⁴/mL,接种于 96 孔板中,每孔 200 μ L,将培养板放入 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱培养 24 h。细胞分别给予不同的药物分组处理。

5.2.1 检测不同浓度鸦胆子油乳对 SKOV3 细胞的生长抑制作用,将细胞分为 5 组:空白对照组及鸦胆子油乳 12.5、25、50、100 μ g/mL 组。

5.2.2 检测鸡胆子联合顺铂对 SKOV3 细胞的生长抑制作用,将细胞分为 4 组:空白对照组(简称对照组),鸡胆子组(鸡胆子油乳 25 μg/mL),顺铂组(顺铂 5 μg/mL),联合组(鸡胆子油乳 25 μg/mL 加顺铂 5 μg/mL)。

每孔加入 200 μL 不同浓度的药物,对照组加入 200 μL 培养液,分别培养 24、48、72 h 后加入浓度为 5 mg/mL 的 MTT 20 μL 及 180 μL 培养液,置培养箱继续培养 4 h,弃上清,每孔加 150 μL DMSO,于培养箱中继续培养 30 min,在摇床上低速震荡 10 min,使结晶物充分溶解,用酶标仪测定 492 nm 波长下各孔的 OD 值。细胞生长抑制率(%)=(1-实验组平均 OD 值/空白对照平均 OD 值)×100%,实验重复 3 次取平均值。

5.3 肿瘤动物模型的建立 采用张桥等^[16]提供的方法建立肿瘤动物模型。常规消毒裸鼠,将浓度为 1×10⁷/mL 的 SKOV3 细胞 0.2 mL 注射于裸鼠后背部皮下。待接种成功的原代接种瘤生长至直径约 1~1.5 cm 左右,颈椎脱臼法处死裸鼠。剥取皮下肿瘤后浸入 4℃ 的生理盐水中漂洗,并切成 1 mm×1 mm×1 mm 大小。

常规麻醉、消毒裸鼠,将准备好的皮下肿瘤组织小块小心放置卵巢破口深处,滴注适量医用生物蛋白胶固定。观察有无出血,逐层关腹。接种过程在肿瘤离体后 40~50 min 内完成。

5.3.1 动物给药及处理 裸鼠接种完毕 2 周后,测得裸鼠的体重平均值在 18~24 g 之间,给予药物干预。用随机数字表将 32 只裸鼠完全随机分为 4 组,每组 8 只。分别为:空白对照组(简称对照组)、鸡胆子油乳组(简称鸡胆子组)、鸡油顺铂联合组(简称联合组)及顺铂组。对照组:给予生理盐水 0.2 mL/只;鸡胆子组:给予鸡胆子油乳 0.2 mL/20 g;顺铂组:顺铂 0.2 mL(3 mg/kg),联合组:给予鸡胆子油乳注射液 0.2 mL/20 g 加顺铂 0.2 mL(3 mg/kg)。每隔 3 天给药 1 次,共计腹腔给药 6 次。

5.3.2 取材及标本制备 在末次腹腔注射后 48 h 断颈脱臼法处死裸鼠,取肿瘤病灶标本,在 PBS 液中漂洗净。10% 中性甲醛溶液固定,石蜡包埋切片,进行 HE 染色,电镜下观察细胞形态。

5.3.3 观察抑瘤率 末次腹腔注射处死裸鼠后,取出肿瘤组织,电子秤称重并计算抑瘤率。抑瘤率(IR)=(1-治疗组肿瘤组织平均重量/对照组肿瘤组织平均重量)×100%。

5.4 采用蛋白印记法测定 MRP-1/CD9 和整合素 α-5 分子蛋白的表达 提取肿瘤组织蛋白,进行蛋白变性、电泳、转膜、免疫反应及曝光显影,并对胶片进行扫描或拍照,用凝胶图像处理系统分析目标带的分子量和吸光度值。

5.5 统计学方法 采用 SPSS 19.0 系统软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较;采用单因素方差分析,并采用 LSD 进行两两比较;计数资料采用中位数表示,多组间采用 Kruskal-Wallis 检验,并采用 Nemenyi 进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 不同浓度的鸡胆子油乳分别作用 SKOV3 细胞 24、48、72 h 后的吸光度值比较(表 1) 除作用时间 24 h,浓度为 12.5 μg/mL 的鸡胆子油乳组与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)外,各浓度组差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2 不同浓度鸡胆子油乳对卵巢癌 SKOV3 细胞的生长抑制率比较(图 1) 随着药物浓度增加,鸡胆子油乳对 SKOV3 细胞的抑制作用增强,抑制率呈升高趋势。并且随着作用时间的延长,鸡胆子油乳对 SKOV3 细胞的抑制率作用增强。

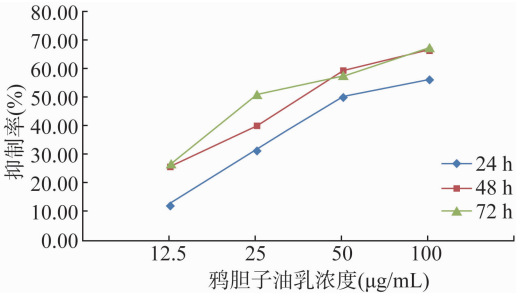


图 1 不同浓度鸡胆子油乳作用于卵巢癌 SKOV3 细胞 24、48、72 h 后的细胞抑制率

表 1 不同浓度的鸡胆子油乳作用 SKOV3 细胞 24、48、72 h 后的吸光度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	吸光度值 (OD 值)		
		24 h	48 h	72 h
空白对照	8	0.125 6 ± 0.012 0	0.110 9 ± 0.010 3	0.087 3 ± 0.010 6
鸡胆子油乳 12.5 μg/mL	8	0.110 3 ± 0.011 3	0.082 4 ± 0.014 0*	0.064 2 ± 0.011 3*
25.0 μg/mL	8	0.086 1 ± 0.010 6**	0.067 0 ± 0.011 6**	0.042 8 ± 0.009 3**
50.0 μg/mL	8	0.062 4 ± 0.011 0**	0.045 3 ± 0.009 7**	0.037 1 ± 0.008 0**
100.0 μg/mL	8	0.055 0 ± 0.013 4**	0.037 5 ± 0.010 9**	0.028 6 ± 0.007 1**

注:与对照组同期比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3 鸦胆子油乳及联合顺铂作用 SKOV3 细胞 24、48、72 h 后的吸光度值(表 2) 与对照组比较,其余 3 组差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 鸦胆子油乳及联合顺铂作用 SKOV3 细胞 24、48、72 h 后的吸光度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	吸光度值(OD 值)		
		24 h	48 h	72 h
对照	8	0.136 8 ± 0.014 4	0.116 6 ± 0.009 4	0.100 0 ± 0.010 9
鸦胆子	8	0.095 4 ± 0.010 1 *	0.078 2 ± 0.010 3 *	0.056 8 ± 0.011 9 *
顺铂	8	0.065 7 ± 0.013 9 *	0.055 2 ± 0.012 8 *	0.035 2 ± 0.008 8 *
联合	8	0.033 4 ± 0.011 8 *	0.024 8 ± 0.010 7 *	0.019 5 ± 0.009 6 *

注:与对照组同期比较, * $P < 0.01$

4 不同药物作用对卵巢癌 SKOV3 细胞 24、48、72 h 的抑制率比较(图 2) 鸦胆子、顺铂及联合组的抑瘤率分别为 49.49%、65.48%、75.18%, 组间比较,差异均有统计学意义($\chi^2 = 29.09, P < 0.01$)。

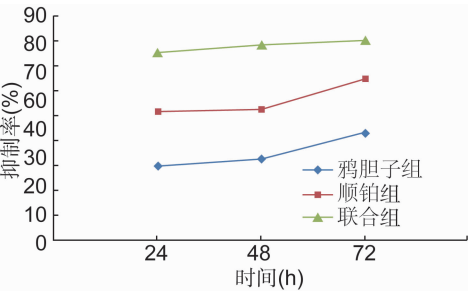
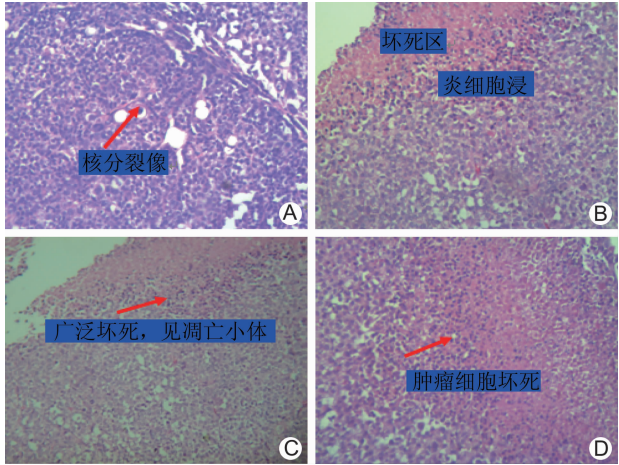


图 2 不同药物作用于卵巢癌 SKOV3 细胞 24、48、72 h 后的细胞抑制率

5 各组电镜下病理学观察结果(图 3) 对照组:卵巢癌细胞呈弥漫性分布,癌细胞圆形或椭圆形,排列成团块状或巢状,可见细胞胞体增大,细胞核大深染,不规则,核浆比例失调并见瘤巨细胞核分裂像。鸦胆子组:卵巢癌细胞核深染质浓缩,部分癌细胞体积缩小,核分裂像减少。癌细胞由片状变性趋近于片状坏死。联合组:可见凋亡小体,少见核分裂像,细胞体积变小,胞质密度增大,染色质致密浓缩,核膜消失,成界线分明的新月状或块状,癌细胞由大面积变性趋近于大面积坏死。顺铂组:卵巢癌细胞体积缩小,核分裂像明显减少。癌细胞由变性至片状坏死。

6 各组模型鼠卵巢癌组织中整合素 α -5 及 MRP-1/CD9 表达比较(表 3,图 4) 与对照组比较,鸦胆子组及顺铂组整合素 α -5、MRP-1/CD9 均呈现高表达,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$);与鸦胆子组比较,顺铂及联合组整合素 α -5、MRP-1/CD9 高表达,差异亦有统计学意义($P < 0.05$);与顺铂组比较,



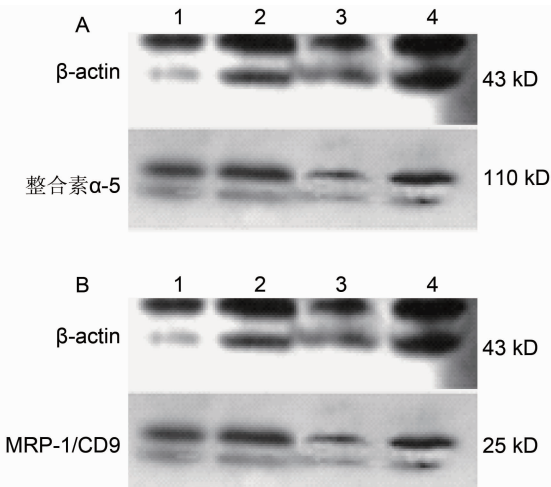
注:A 为对照组;B 为鸦胆子组;C 为联合组;D 为顺铂组
图 3 各组细胞形态结果 (HE, $\times 100$)

联合组整合素 α -5、MRP-1/CD9 呈低表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组模型鼠卵巢癌组织中整合素 α -5 及 MRP-1/CD9 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	整合素 α -5	MRP-1/CD9
对照	8	0.374 5 ± 0.002 8	0.239 1 ± 0.001 2
鸦胆子	8	0.993 2 ± 0.006 5 *	0.987 1 ± 0.012 9 *
顺铂	8	1.527 6 ± 0.010 2 ** Δ	1.647 8 ± 0.010 4 ** Δ
联合	8	0.227 8 ± 0.001 7 Δ $\blacktriangle$	0.202 3 ± 0.001 7 Δ $\blacktriangle$

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与鸦胆子组比较, $\Delta P < 0.05$;与联合组比较, $\blacktriangle P < 0.05$



注:1 为对照组;2 为鸦胆子组;3 为联合组;4 为顺铂组
图 4 各组整合素 α -5 及 MRP-1/CD9 表达电泳图

讨 论

鸦胆子油乳是一种从鸦胆子中提取出的有效抗肿瘤中药,其抗肿瘤的作用可体现于:(1)抗肿瘤分子基础,鸦胆子油的主要成分油酸、亚油酸与肿瘤细胞膜有

特异的亲和力,具有很强的抗癌活性。细小的油乳颗粒能与肿瘤细胞特异性结合,长时间黏附于肿瘤细胞周围,使鸦胆子油的抗肿瘤成分与肿瘤细胞得到充分的接触,增加抗肿瘤成分向细胞内渗入的机会^[11]。由于这种靶向性作用,使鸦胆子油乳与肿瘤细胞紧密结合,破坏细胞膜和线粒体等膜性系统,使肿瘤细胞变性、坏死,抑制细胞的拓扑异构酶活性,从而抑制肿瘤细胞 DNA 合成。油酸、亚油酸亦能强烈抑制癌细胞对氧的摄取,降低体内氧自由基活动水平和脂质过氧化反应,阻止其有毒代谢产物对细胞的损害。同时,脂肪酸具有的表面活性对癌细胞有毒性作用,当脂肪酸含量很高时,可导致细胞膜的破裂^[17]。(2)诱导细胞凋亡,一方面,鸦胆子油乳可以使细胞变圆,胞浆浓缩,细胞内出现大小不等的空泡,泡内容物电子密度与基质相似,细胞核不规则,染色质边集浓缩、呈断裂状,部分线粒体肿胀、空泡化,可见凋亡小体形成,从而诱导细胞凋亡;另一方面,鸦胆子油乳作为细胞周期非特异性抗癌药,对肿瘤细胞 G0、G1、S、G2、M 期均有抑制和杀伤作用,能明显抑制肿瘤细胞 DNA 复制、RNA 转录及蛋白质的合成,干扰肽键的形成,降低肿瘤细胞分裂能力,抑制其增殖,促进细胞的凋亡^[18];(3)耐药逆转,研究发现鸦胆子油乳在浓度为 0.025 g/L 时对人口腔鳞癌耐药细胞株、人乳腺癌耐药细胞株和人白血病耐药细胞株有一定的耐药逆转作用,逆转倍数分别为 3.6、8.2、13.7 倍。其主要的作用机制为:鸦胆子油乳可透过细胞膜到达细胞内,被 P-糖蛋白(P-gp)识别并与其作用,竞争 P-gp 与其他化疗药物的结合位点,抑制药物泵出,从而达到逆转耐药的目的^[19]。

MRP-1/CD9 是一种转移抑制因子,在各种组织中广泛表达,其表达减弱或消失可导致肿瘤的发生发展,它通过调节细胞间黏附而影响细胞的运动、转移,而细胞间黏附的消失是肿瘤细胞发生发展的特点,运动性是细胞转移的重要功能之一,并且研究结果显示,MRP-1/CD9 与肿瘤的转移、预后和血管生成有关。近年来研究表明,包括子宫内膜癌^[20]、宫颈癌、胰腺癌^[21]、乳腺癌^[22]、胃癌^[23]、膀胱癌^[24]等实体肿瘤中 MRP-1/CD9 的表达都有降低或缺失,国内外报道显示 CD9 在卵巢癌侵袭转移方面的研究甚少。

整合素是一种膜镶嵌糖蛋白,作为整合素家族中的一员,整合素 α -5 是一种纤维结合受体,其功能为参与细胞信号传导,介导卵巢癌细胞黏附于腹膜^[25]。整合素 α -5 亚基在肿瘤组织表达水平减弱、缺失或在细胞表面的重新分布与癌细胞黏附细胞外基质能力的改变密切相关^[26]。整合素 α -5 及其与配体的相互识别

与肿瘤的发生发展十分密切,整合素 α -5 的表达在不同分化的肿瘤之间无明显差异,但随着癌症的进展,期别升级,整合素 α -5 表达逐渐降低^[27]。

鸦胆子油乳诱导肿瘤组织中 MRP-1/CD9 和整合素 α -5 分子的表达增强,可能是鸦胆子油乳通过抑制肿瘤细胞的增殖,促进肿瘤细胞凋亡而达到抗肿瘤的作用。鸦胆子油乳对人卵巢癌的作用机制,一方面可能是 MRP-1/CD9 和整合素 α -5 与参与磷脂酰肌醇的合成的酶特异性结合,产生 4、5-二磷脂酰肌醇。后者是一种细胞骨架结构调节物,与细胞的伸展和运动有关。通过此途径,MRP-1/CD9 介导了细胞与外界环境之间的信号传递,从而抑制了肿瘤的转移;另一方面鸦胆子油乳可使肿瘤组织周围的血管生成受阻,从而抑制肿瘤生长、降低血管密度、促进肿瘤血管内皮细胞凋亡,以达到抗肿瘤的作用。

参 考 文 献

- [1] Bernstein BJ. Docetaxel as an alternative to paclitaxel after acute hypersensitivity reactions[J]. Ann Pharmacother, 2000, 34(11): 1332-1335.
- [2] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300.
- [3] Pan L, Chin YW, Chai HB, et al. Bioactivity-guided isolation of cytotoxic constituents of *Brucea javanica* collected in Vietnam[J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(6): 2219-2224.
- [4] Chen H, Bai J, Fang ZF, et al. Indole alkaloids and quassinoids from the stems of *Brucea mollis* [J]. J Nat Prod, 2011, 74(11): 2438-2445.
- [5] Fiaschetti G, Grotzer MA, Shalaby T, et al. Quassinoids: From traditional drugs to new cancer therapeutics[J]. Curr Med Chem, 2011, 18(3): 316-328.
- [6] Su ZW, Huang HJ, Li JL, et al. Chemical composition and cytotoxic activities of petroleum ether fruit extract of fruits of *Brucea javanica* (Simaroubaceae) [J]. Trop J Pharm Res, 2013, 12(5): 735-742.
- [7] Nakao R, Mizukami C, Subeki YK, et al. Evaluation of efficacy of bruceine A, a natural quassinoid compound extracted from a medicinal plant, *Brucea javanica*, for canine Babesiosis[J]. J Vet Med Sci, 2009, 71(1): 33-41.
- [8] Anderson MM, O'Neill MJ, Phillipson JD, et al. In vitro cytotoxicity of a series of quassinoids from *Brucea javanica* fruits against KB cells[J]. Planta Med, 1991, 57(1): 62-64.

- [9] Rahman S, Fukamiya N, Okano M, et al. Anti-tuberculosis activity of quassinoids [J]. Chem Pharm Bull, 1997, 45(9): 1527-1529.
- [10] Sawangjaroen N, Sawangjaroen K. The effects of extracts from anti-diarrheic Thai medicinal plants on the *in vitro* growth of the intestinal protozoa parasite; *Blastocystis hominis* [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 98(1-2): 67-72.
- [11] Chen QJ, Ouyang MA, Tan QW, et al. Constituents from the seeds of *Brucea javanica* with inhibitory activity of tobacco mosaic virus [J]. J Asian Nat Prod Res, 2009, 11(6): 539-547.
- [12] NoorShahida A, Wong TW, Choo CY. Hypoglycemic effect of quassinoids from *Brucea javanica* (L.) Merr (Simaroubaceae) seeds [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 124(3): 586-591.
- [13] Wang He, Zhang Bo, Wu GJ, et al. Effects of *Brucea javanica* oil emulsion intravesical instillation for the treatment of bladder carcinoma in mice [J]. J Fourth Milit Med Univ, 2001, 22(20): 1886-1889.
- [14] 王芳,曹玉,刘红岩,等. 鸦胆子油乳诱导 HL-60 细胞凋亡的研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 8(28): 759-762.
- [15] 杨利辉,石文建,赵喜庆. 鸦胆子抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 牡丹江医学院学报, 2010, 5(31): 65-67.
- [16] 张骄,于廷和. 人卵巢癌高转移细胞株裸鼠原位移植瘤模型 [J]. 科技导报, 2010, 28(12): 32-35.
- [17] 孙忠慧. 几种中药材及制剂抗卵巢癌研究探要 [J]. 中医药学刊, 2002, 20(2): 199-200.
- [18] 肖培根主编. 新编中药志 [M]. 第 2 版. 北京: 化学工业出版社, 2002: 506.
- [19] 汤涛,蒙凌华,陈凌际,等. 鸦胆子油乳具有多耐药逆转和拓扑异构酶 II 抑制作用 [J]. 药理学通报, 2011 (10): 534-539.
- [20] Miyamoto S, Maruyama A. Loss of motility related protein 1 (MRP1/CD9) and integrin 3 expression in endometrial cancers [J]. Cancer, 2001, 92(3): 542-548.
- [21] Masayuki S, Masashi A, Toshihiko T, et al. Transmembrane 4 superfamily as a prognostic factor in pancreatic cancer [J]. Int J Cancer (Pred Oncol), 1998, 79(5): 509-516.
- [22] Chenglong H, Kohno N, Ogawa E, et al. Correlation of reduction in MRP1/CD9 and KAI1/CD82 expression with recurrences in breast cancer patients [J]. Am J Pathol, 1998, 153(3): 973-983.
- [23] 季润元,赵玉芳,束晓明,等. 胃癌组织 KAI-1/CD9 和 MRP-1/CD9 的表达及临床意义 [J]. 江苏医药, 2012, 38(12): 1640-1642.
- [24] 张一兵,牛海涛,隋志芳,等. MRP1/CD9 在膀胱癌组织中的表达及意义 [J]. 山东医药, 2006, 46(30): 17-18.
- [25] Shigemasa K, Gu L, Tanimoto H, et al. Human kallikrein gene 11 (KLK11) mRNA overexpression is associated with poor prognosis in patients with epithelial ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(8): 2766-2770.
- [26] 袁建达,邵志敏,韩企夏,等. 整合素 α -5 亚基蛋白的表达与乳腺癌病理和临床的关系 [J]. 中华医学杂志, 1999, 79(3): 205-206.
- [27] 夏志军,胡清,王岩,等. 老年卵巢癌组织中转移抑制基因 MRP-1/CD9 与 integrin α -5 的表达特性 [J]. 中国老年学杂志, 2007, 11(27): 2108-2111.
- (收稿: 2014-04-14 修回: 2014-09-18)