

胃复春胶囊提取物对人胃癌细胞系 MGC-803 细胞凋亡 及 Bcl-2/Bax 表达的影响*

祁大庆¹, 陈琳慧¹, 万林春²

(1. 杭州胡庆余堂药业有限公司, 浙江 杭州 310000; 2. 江西省药品检验检测研究院, 江西 南昌 330029)

摘要: 目的 研究胃复春胶囊提取物对人胃癌细胞系 MGC-803 细胞的凋亡作用及其作用机理。方法 MGC-803 细胞分别用不同浓度的胃复春胶囊提取物处理。CCK-8 法检测细胞活力; Hoechst 33258 染色观察形态学改变; 流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期; Western blot 检测 Bcl-2、Bax、Caspase-3 和 Caspase-9 的表达。结果 胃复春胶囊提取物(浓度为 0~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)可以浓度和时间依赖性地降低 MGC-803 细胞的活力。Hoechst 33258 染色显示胃复春胶囊提取物处理后的 MGC-803 细胞膜通透性增高。流式细胞检测结果显示胃复春胶囊提取物作用于 MGC-803 细胞后可以诱导细胞凋亡, 细胞凋亡率分别为 $(20.4 \pm 2.7)\%$ (25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、 $(41.3 \pm 6.2)\%$ (50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、 $(68.8 \pm 5.8)\%$ (100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 明显高于对照组凋亡率 $(3.8 \pm 1.6)\%$ (0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ($P < 0.05$)。MGC-803 细胞经过不同浓度胃复春胶囊提取物处理 24 h 后, 处于 G0/G1 期细胞比例升高, 而 G2/M 期和 S 期细胞比例下降; 免疫印迹实验结果表明胃复春胶囊提取物(浓度为 25, 50, 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理组 MGC-803 细胞中 cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 和 Bax 表达量升高, 而 Bcl-2 表达量降低, 且呈剂量依赖性。结论 胃复春胶囊提取物能抑制 MGC-803 细胞的增殖并诱导其凋亡, 其作用机制与下调 Bcl-2 基因的表达, 上调 Bax 基因的表达以及增加 Caspases 活性有关。

关键词: 胃复春胶囊提取物; 胃癌; MGC-803 细胞; 凋亡; Bcl-2 家族蛋白

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2021)03-0017-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.03.004

Weifuchun Capsule Extract Induces Apoptosis and Regulates the Expression Levels of Bcl-2/Bax in Human Gastric Cancer MGC-803 Cells

QI Daqing¹, CHEN Linhui¹, WAN Linchun²

(1. Hangzhou Huqingyutang Pharmaceutical Co. Ltd, Hangzhou 310000, China;

2. Jiangxi Institute for Drug Control, Nanchang 330029, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the effect of Weifuchun Capsule extract on cell apoptosis in human gastric cancer MGC-803 cells and the mechanism. **Methods** MGC-803 cells were treated with Weifuchun Capsule extract in different concentration. Relative cell viabilities were determined by the CCK-8 method; Hoechst 33258 staining was used to observe the morphological changes of cells; apoptosis and cell cycle were analyzed by flow cytometry; the protein expression levels of Bcl-2, Bax, Caspase-3, and Caspase-9 were detected by Western blot. **Results** Weifuchun Capsule extract (0~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) significantly inhibited the viabilities of MGC-803 cells in a dose- and time-dependent manner. Hoechst 33258 staining showed that the membrane permeability of Weifuchun Capsule extract treated MGC-803 cells increased. Flow cytometry results showed that Weifuchun Capsule extract could induce apoptosis in MGC-803 cells, the apoptotic ratios are $(20.4 \pm 2.7)\%$ (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), $(41.3 \pm 6.2)\%$ (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), $(68.8 \pm 5.8)\%$ (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), significantly higher than that of control group $(3.8 \pm$

收稿日期: 2021-05-03

* 基金项目: 浙江医学会临床科研基金项目(2020ZYC-A92)

第一作者简介: 祁大庆(1976-),男,工程师,研究方向:药学研究。E-mail: qidaqing@126.com

1.6)% (0 $\mu\text{g/mL}$) ($P<0.05$). After different concentrations of Weifuchun Capsule extract treatment for 24 h, the proportion of MGC-803 cells in G0/G1 phase increased, while the proportion of the G2/M phase and S phase reduced. In 100 $\mu\text{g/mL}$ Weifuchun Capsule extract treatment group, the proportion of cells in G0/G1 phase increased from 46.52% to 73.54% ($P<0.01$). The data of Western blot showed that Weifuchun Capsule extract (25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) up-regulated the expression levels of cleaved Caspase-3, cleaved Caspase-9, and Bax, but down-regulated Bcl-2, in a dose-dependent manner.

Conclusion Weifuchun Capsule extract could inhibit the proliferation of MGC-803 cells and promote apoptosis, which may be associated with the down regulation of Bcl-2 expression and up regulation of Bax expression, as well as the increase of relative activity of Caspases.

KEY WORDS: Weifuchun Capsule extract; gastric cancer; MGC-803 cells; apoptosis; Bcl-2 family protein.

胃癌(gastric cancer)的临床发病率及死亡率在各类肿瘤中位于前列^[1]。虽然胃癌的发病率在过去 20 年中有所下降,但它仍然是世界上最常见的癌症之一^[2-4]。在胃癌中最常见的类型是腺癌,其它类型的胃癌相对罕见^[5]。胃癌的传统治疗方法为外科手术结合术后局部或全身放疗,具有一定的疗效。但无论是手术技术和方法的改进还是放疗设备和技术的进步,都没有显著改善胃癌患者的 5 年生存率。在临床实践中,胃癌的药物治疗主要用于无法手术或晚期患者的姑息治疗。现有的化疗药物例如 5-氟尿嘧啶、顺铂等治疗胃癌的临床疗效并不理想^[6]。因此,从中成药组成中寻找抗癌活性物质现在研究领域的科研热点^[7-9]。

胃复春胶囊由红参、香茶菜、枳壳(炒)配伍而成,具有健脾益气、活血解毒的功效。可用于治疗胃癌癌前期病变,胃癌手术后辅助治疗、慢性浅表性胃炎属脾胃虚弱证者^[10]。胃复春对抑制肿瘤细胞的生长有很多报道,但胃癌的作用机制尚未阐明。本研究旨在探讨胃复春胶囊提取物对胃癌 MGC-803 细胞活性、凋亡及凋亡相关的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)和 Bcl-2 家族蛋白表达量的影响,为揭示胃复春胶囊的抗癌活性、作用机理及临床应用前景提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 胃复春胶囊提取物(国药准字 Z20090697)购买自杭州胡庆余堂有限公司;人胃癌细胞系 MGC-803 细胞购于中国科学院上海细胞库;青霉素、链霉素、胎牛血清购于美国 Invitrogen 公司;CCK-8 细胞活力检测试剂盒购于赛信通(上海)生物试剂有限公司;Hoechst 33258 核酸染料购自北京雷根生物技术有限公司;Annexin V-FITC/PI 双染色细胞凋亡检测试剂盒,细胞培养液 RPMI1640,细胞浆蛋白抽提试剂盒均购于上海元龙生物技术有限公司;Bcl-2、Bax、

Caspase-3、Caspase-9、 β -actin 等抗体均购于上海哈灵生物科技有限公司;DSMO 及其它分析纯化学试剂购于北京试剂厂。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 MGC-803 细胞培养于湿度饱和,含青霉素(100 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)、链霉素(100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、10% 胎牛血清的 PMI1640 培养液中。细胞培养箱条件:37 $^{\circ}\text{C}$,含 5% CO_2 。实验选取对数生长期细胞。

1.2.2 细胞增殖抑制实验 选取浓度为 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 的 MGC-803 细胞,以 200 μL /孔接种于 96 孔板,待细胞贴壁后,每孔分别加入终浓度为 0、25、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的胃复春胶囊提取物(样品事先溶解于 DMSO)。每一浓度均设置 5 个复孔,以终浓度为 0 作为空白对照,分别继续培养 24 h 后,吸去药液,每孔加入含 10% 的 CCK-8 的培养基 100 μL ,继续孵化 4 h,用分光光度计在 450 nm 下测定各孔吸光度值(A)。

1.2.3 Hoechst 33258 染色细胞凋亡检测实验 取浓度为 $1\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 的 MGC-803 细胞,以 200 μL /孔接种于 96 孔板,待细胞贴壁后,每孔分别加入终浓度为 0、25、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的胃复春胶囊提取物,继续培养细胞 24 h 后,以冷的 PBS 清洗细胞 1 次,加入 4% 多聚甲醛,在室温下固定 15 min,再以冷的 PBS 清洗 2 次,室温下加入 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hoechst 33258,染色 15 min,封片,在 340 nm 激发光下使用荧光显微镜进行观察。

1.2.4 细胞凋亡及细胞周期检测 根据制造商的说明,使用 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒检测早期和晚期细胞凋亡。MGC-803 细胞以 $4\times 10^5\text{ mL}^{-1}$ 浓度接种于 12 孔板,待细胞贴壁后,每孔分别加入终浓度分别为 0、25、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的胃复春胶囊提取物培养 24 h,然后用冰冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,用 0.25%胰蛋白酶-EDTA 消化后,收集细胞并用 PBS 洗

涂。将细胞重新悬浮在 400 μL Annexin 结合缓冲液中,然后在室温下与 AnnexinV-FITC(5 μL)和 PI(10 μL)孵育 5 min。用流式细胞仪(BD Biosciences)检测 MGC-803 细胞的凋亡。另取每孔细胞用冷的 PBS 洗涤 2 次,4 $^{\circ}\text{C}$ 下 70%乙醇预冷固定 24 h,PBS 洗涤 2 次,加入 PI 染色液,暗染 30 min,流式细胞仪分析细胞周期。

1.2.5 细胞凋亡相关蛋白表达量检测 取 1×10^6 mL^{-1} 浓度的 MGC-803 细胞,接种于 6 孔培养板内,待细胞贴壁后,每孔分别加入胃复春胶囊提取物,使终浓度达到 0、25、50、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,处理 24 h 后,收集细胞,根据试剂盒说明书的方法,提取细胞质中的总蛋白并测定其浓度。以肌动蛋白(β -actin)为内标做 Western blot 分析,检测 Bcl-2、Bax、Caspase-3 和 Caspase-9 的表达。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS21.0 软件进行统计分析,计量数据用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃复春胶囊提取物对 MGC-803 细胞增殖的抑制作用 胃复春胶囊提取物分不同浓度进行处理 24 h 后,用 CCK-8 法测定细胞活力。如图 1 所示,在浓度 30~100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内胃复春胶囊提取物对

MGC-803 细胞活力都能体现出显著且呈剂量依赖性地抑制效应。

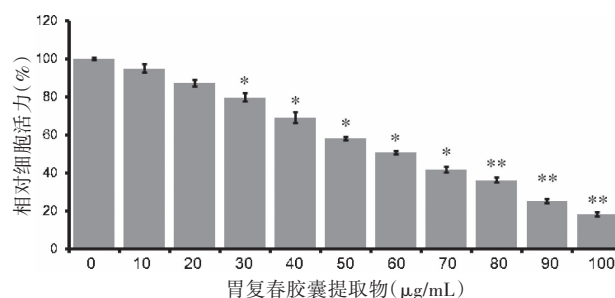


图1 胃复春胶囊提取物处理 24h 后对 MGC-803 细胞活力的影响

2.2 胃复春胶囊提取物可诱导 MGC-803 细胞产生凋亡 作为一种细胞通透性核复染色剂,Hoechst33258 核酸染料与 dsDNA 结合后能被活细胞吸收并激发蓝色荧光。胃复春胶囊提取物处理组 MGC-803 细胞核浓缩、碎裂,有较强的蓝色荧光(如图 2 所示)。

流式细胞仪双染色结果表明,胃复春胶囊提取物能诱导 MGC-803 细胞产生凋亡。如图 3 所示,25、50、100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的胃复春胶囊提取物处理 MGC-803 细胞 24 h 后,细胞凋亡率分别为 $(20.4 \pm 2.7)\%$ 、 $(41.3 \pm 6.2)\%$ 、 $(68.8 \pm 5.8)\%$,明显高于对照组凋亡率 $(3.8 \pm 1.6)\%$ ($P < 0.05$),且其作用具有明显剂量依赖性。

2.3 胃复春胶囊提取物可阻滞 MGC-803 细胞周期

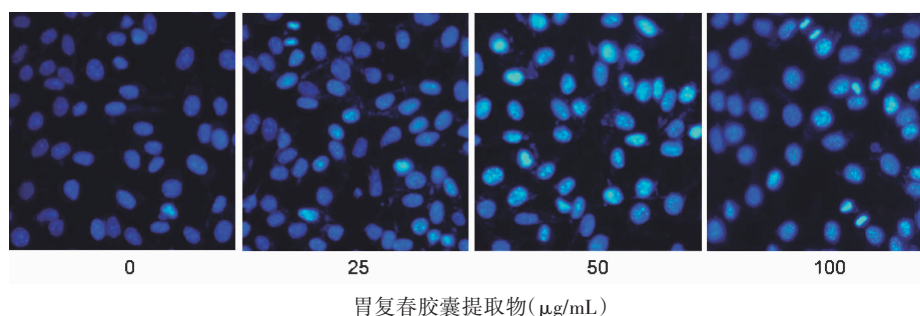


图2 Hoechst33258 染色显示胃复春胶囊提取物引起细胞凋亡(200 $\times$)

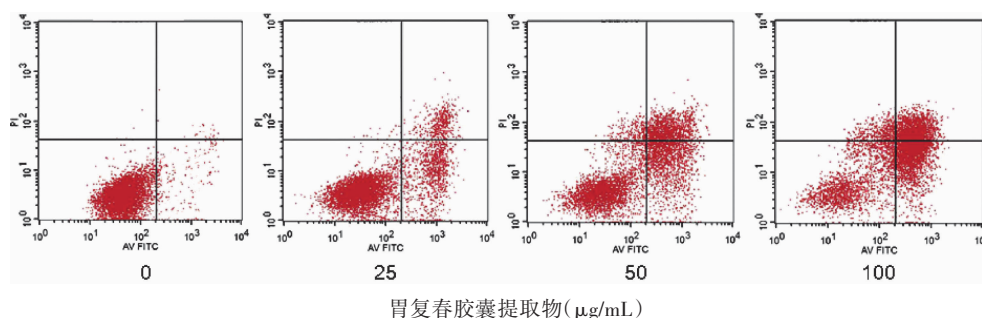


图3 胃复春胶囊提取物可诱导 MGC-803 细胞凋亡(流式细胞术 Annexin V-FITC 和 PI 双染色实验)

不同浓度胃复春胶囊提取物(25、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 MGC-803 细胞 24 h 后,G0/G1 期细胞比例增加,而 G2/M 期与 S 期细胞比例减少。其中,100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 胃复春胶囊提取物处理组中,G0/G1 期细胞比例由 48.51%大幅度增至 77.08%($P<0.01$),而 S 期细胞比例由 37.03%降低至 19.39%($P<0.01$),G2/M 期细胞比例由 14.46%降低至 3.53%($P<0.01$)。结果说明胃复春胶囊提取物使 MGC-803 细胞周期阻滞在 G0/G1 期,正常的细胞增殖周期被抑制。

不同浓度胃复春胶囊提取物(25、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 24 h 后,MGC-803 细胞周期分布如表 1 所示。

表 1 胃复春胶囊提取物处理后 MGC-803 细胞周期的变化

胃复春胶囊 提取物浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	细胞周期/%		
	G0/G1	S	G2/M
0	48.51 $\pm$ 1.59	37.03 $\pm$ 0.85	14.46 $\pm$ 0.44
25	56.33 $\pm$ 3.87	33.05 $\pm$ 1.03	10.52 $\pm$ 0.95*
50	65.28 $\pm$ 3.36*	27.31 $\pm$ 1.73*	7.41 $\pm$ 0.82**
100	77.08 $\pm$ 2.53**	19.39 $\pm$ 1.62**	3.53 $\pm$ 0.13**

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

2.4 胃复春胶囊提取物对 MGC-803 细胞 Bcl-2、cleaved Caspase-9、cleaved Caspase-3、Bax 表达量的影响 如图 4A 所示,未用胃复春胶囊提取物处理的 MGC-803 细胞中 cleaved Caspase-3 和 cleaved Caspase-9 表达量较低。而经过胃复春胶囊提取物(浓度分别为 25、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)处理 24 h 后,MGC-803 细胞中 cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 蛋白表达量显著增加。此外,胃复春胶囊提取物可以浓度依赖地上调促凋亡蛋白 Bax 的表达量,且浓度依赖地下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达量(β -actin 作为内参)。因此胃复春胶囊提取物处理后的细胞中 Bcl-2/Bax 的比例显著降低。利用 Image J 软件对 Western Blot 条带进行灰度分析和柱状图构建,蛋白表达量变化如图 4B 所示,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3 讨论

包括民族医药学在内的中医药是防治癌症的有力武器。对比化学药物,中药往往具有原料方便易得、价格低廉、毒副作用小等优点^[11-12]。在临床实践中,中药对于癌症患者在减轻症状、预防复发或转移、提升生活质量、延长生存时间、降低放化疗不良反应风险

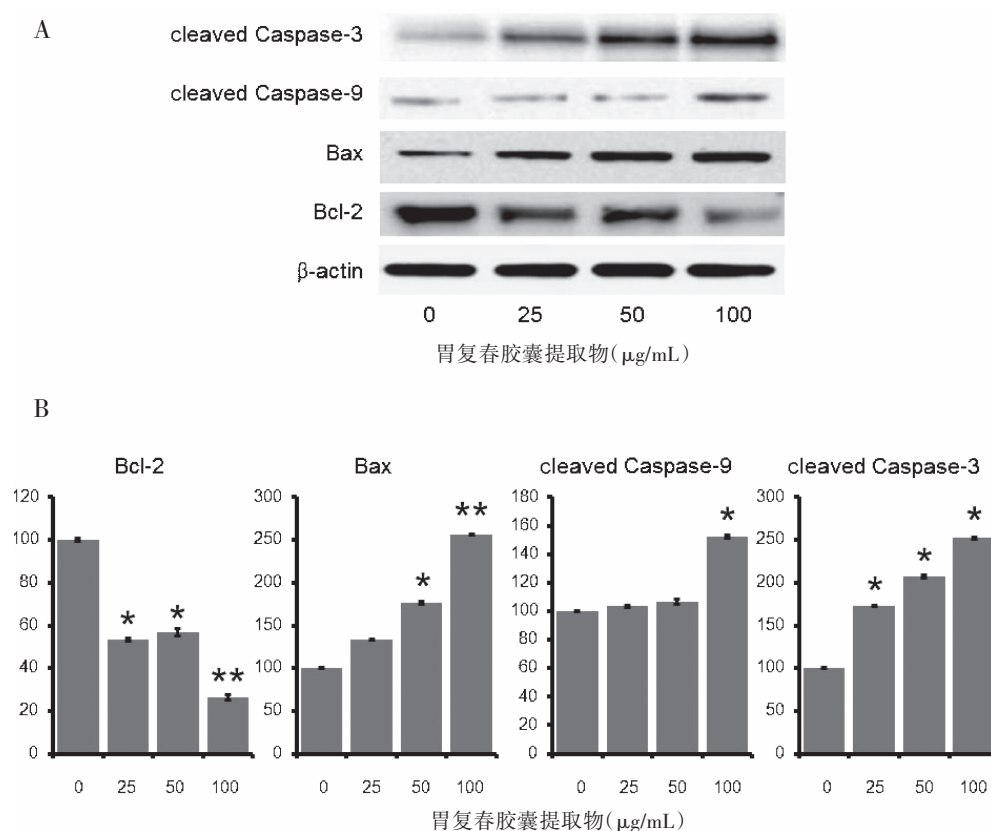


图 4 胃复春胶囊提取物对 MGC-803 细胞中 Bax, Bcl-2, cleaved Caspase-3, cleaved Caspase-9 表达量的影响

等方面具有优势。近年来,学术界对于单味药和复方中成药的抗癌活性研究逐渐成为研究的焦点^[13-15]。胃复春胶囊临床主要适应证为脾胃虚弱、胃癌、慢性浅表性胃炎、胃炎等,具有较为广泛的药理活性。药理学研究表明胃复春具有抗肿瘤、抑制幽门螺旋菌、抗胃黏膜上皮化生(肠化),升高环磷腺苷等作用。然而,胃复春胶囊提取物的体外抗肿瘤活性研究还不够深入,对肿瘤细胞作用的具体机理尚不清楚,本文重点研究了胃复春胶囊提取物对胃癌细胞活力和凋亡的影响。

Hoechst33258 是一种能穿透细胞膜对 DNA 进行染色的核染色试剂,插入双链 DNA 后发出强烈的蓝色荧光。由于 Hoechst 33258 是一种具有膜通透性的荧光染料,正常细胞和早期凋亡细胞均可被 Hoechst 33258 染色,但正常细胞核呈圆形,浅蓝色,或深蓝色颗粒;凋亡细胞核因浓缩而呈亮蓝色,或细胞核分叶状、碎裂、边缘化。结果表明,胃复春胶囊提取物能显著增强 MGC-803 细胞的蓝色荧光,提示胃复春胶囊提取物能增加细胞膜通透性,诱导 MGC-803 细胞产生凋亡^[16-17]。

人体自我调节机制之一是体内多细胞生物维持内部环境稳定,细胞凋亡是肿瘤治疗的热点,也是评价抗癌药物疗效的重要指标之一^[18-20]。此次研究发现,胃复春胶囊提取物在 0~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内对人胃癌 MGC-803 细胞增殖有抑制作用,24 h 后胃复春胶囊提取物可剂量依赖地诱导 MGC-803 细胞凋亡。

Caspase 家族蛋白是一类存在于细胞质中的结构相关的半胱氨酸蛋白酶。它们的一个重要相似之处是活性位点含有半胱氨酸,可断开天冬氨酸残基肽键^[21]。Caspase 家族蛋白与细胞凋亡形态学特征变化(如细胞膜空泡形成、核膜破裂、染色质聚集和边聚及 DNA 断裂等)以及一些生化改变关系密切,这类蛋白的激活被认为是细胞凋亡的直接效应器。在本次研究中,发现胃复春胶囊提取物可以浓度依赖性的方式增加 MGC-803 细胞中 cleaved Caspase-3 和 cleaved Caspase-9 的表达。cleaved Caspase-9 主要参与细胞凋亡的起始,cleaved Caspase-3 可参与细胞凋亡的执行,它们可通过降解 PARP,导致 DNA 修复的抑制并启动 DNA 的降解^[22]。因此本实验结果提示胃复春胶

囊提取物可能是通过增强细胞内 Caspase 活性抑制细胞增殖,并进而达到促进了细胞凋亡的目的。

Bcl-2 是一种特殊的蛋白组群,Bcl-2 组群中 bad、bid、Bax 等可以促进细胞凋亡,Bcl-2 组群中 Bcl-2、Bcl-w 可以阻止细胞凋亡。Bcl-2 是一种内膜蛋白主要存在于线粒体、内质网和核膜中,在多种肿瘤细胞中均有高表达,它可以阻止细胞色素 C 从线粒体释放到细胞质,提高线粒体膜电位,进而抑制钙释放,阻止核酸内切酶激活,从而起到抗凋亡作用;与 Bcl-2 不同,Bax 能直接激活 Caspase 或改变细胞膜通透性,使细胞色素 C 通过细胞膜释放一些离子和小分子,从而促进细胞凋亡。Bcl-2 与 Bax 的比值大小能够影响细胞凋亡。当 Bcl-2 占多数时,细胞具有抗凋亡作用;相反,当 Bax 过度表达时,细胞往往容易发生凋亡^[23-25]。本研究发现胃复春胶囊提取物作用 24 h 后,Bcl-2 表达下调,Bax 表达上调,Bcl-2/Bax 比值升高,与胃复春胶囊提取物的凋亡作用呈正相关。提示胃复春胶囊提取物通过调节促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白的表达,促进肿瘤细胞凋亡。由于胃复春胶囊提取物不是单一靶点起作用,具有多靶点性。因此,进一步研究胃复春胶囊提取物诱导 MGC-803 细胞凋亡的机制、阻断细胞传导通路和信使的相关研究对其临床应用具备很好的指导意义。

综上所述,胃复春胶囊提取物能抑制 MGC-803 细胞增殖,并呈剂量依赖性诱导细胞凋亡。其作用机制可能是通过上调 Bax 蛋白的表达,下调 Bcl-2 蛋白的表达,增加 Caspase-9 的活性、增加 Caspase-3 的活性,从而促使胃癌细胞的凋亡。本研究为中医药治疗胃癌提供了新的思路。

参考文献:

- [1] ZHAO Q Y,ZHAO R L,SONG C H,et al. Increased IGF-BP7 expression correlates with poor prognosis and immune infiltration in gastric cancer[J]. J Cancer,2021,12 (5):1343-1355.
- [2] SUN K K,WU Y Y. Current status of laparoscopic proximal gastrectomy in proximal gastric cancer:Technical details and oncologic outcomes[J]. Asian J Surg, 2021, 44 (1):54-58.
- [3] KULIG P,NOWAKOWSKI P,SIERŻĘGA M,et al. Analysis of prognostic factors affecting short-term and long-

- term outcomes of gastric cancer resection [J]. *Anticancer Res*, 2021, 41(7): 3523–3534.
- [4] RYU H R, LEE D W, CHOI H J, et al. Scalp metastasis of advanced gastric cancer[J]. *Arch Craniofac Surg*, 2021, 22(3): 157–160.
- [5] HOSHI H. Management of gastric adenocarcinoma for general surgeons[J]. *Surg Clin North Am*, 2020, 100(3): 523–534.
- [6] PAPANASTASOPOULOS P, STEBBING J. Molecular basis of 5-fluorouracil-related toxicity: lessons from clinical practice[J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(4): 1531–1535.
- [7] LIU M, WANG Y P, LIU Y H, et al. Bioactive peptides derived from traditional Chinese medicine and traditional Chinese food: A review[J]. *Food Res Int*, 2016, 89(Pt 1): 63–73.
- [8] HOULT J R, PAYÁM. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential[J]. *Gen Pharmacol*, 1996, 27(4): 713–722.
- [9] YU Y, YAO C L, GUO D A. Insight into chemical basis of traditional Chinese medicine based on the state-of-the-art techniques of liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(6): 1469–1492.
- [10] DENG X, LIU Z W, WU F S, et al. A clinical study of weining granules in the treatment of gastric precancerous lesions[J]. *J Tradit Chin Med*, 2012, 32(2): 164–172.
- [11] LIAO X, BU Y, JIA Q G. Traditional Chinese medicine as supportive care for the management of liver cancer: Past, present, and future[J]. *Genes Dis*, 2019, 7(3): 370–379.
- [12] HE J, YIN P H, XU K. Effect and molecular mechanisms of traditional Chinese medicine on tumor targeting tumor-associated macrophages[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 907–919.
- [13] NEWMAN D J. Modern traditional Chinese medicine: Identifying, defining and usage of TCM components [J]. *Adv Pharmacol*, 2020, 87: 113–158.
- [14] TANG K Y, DU S L, WANG Q L, et al. Traditional Chinese medicine targeting cancer stem cells as an alternative treatment for hepatocellular carcinoma[J]. *J Integr Med*, 2020, 18(3): 196–202.
- [15] DE FELIPE ÍO. The universality of science and traditional Chinese medicine: a philosophical survey [J]. *Sci Educ (Dordr)*, 2021, 2021: 1–18.
- [16] VERMA S, RAVICHANDIRAN V, RANJAN N, et al. Recent advances in therapeutic applications of bisbenzimidazoles[J]. *Med Chem*, 2020, 16(4): 454–486.
- [17] BHADURI S, RANJAN N, ARYA D P. An overview of recent advances in duplex DNA recognition by small molecules [J]. *Beilstein J Org Chem*, 2018, 14: 1051–1086.
- [18] TILJA PUN N, JANG W J, JEONG C H. Role of autophagy in regulation of cancer cell death/apoptosis during anti-cancer therapy: focus on autophagy flux blockade[J]. *Arch Pharm Res*, 2020, 43(5): 475–488.
- [19] CARNEIRO B A, EL-DEIRY W S. Targeting apoptosis in cancer therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(7): 395–417.
- [20] ZHU C L, ZHANG C L, CUI X M, et al. Trichosanthin inhibits cervical cancer by regulating oxidative stress-induced apoptosis[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 2779–2790.
- [21] TANG X R, CAO F, MA W Y, et al. Cancer cells resist hyperthermia due to its obstructed activation of caspase 3[J]. *Rep Pract Oncol Radiother*, 2020, 25(3): 323–326.
- [22] YU Z J, LI Q, AN Y, et al. Role of apoptosis repressor with caspase recruitment domain (ARC) in cancer[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(6): 5691–5698.
- [23] LIU Z Q, DING Y, YE N, et al. Direct activation of bax protein for cancer therapy [J]. *Med Res Rev*, 2016, 36(2): 313–341.
- [24] CORY S, ADAMS J M. Killing cancer cells by flipping the Bcl-2/Bax switch[J]. *Cancer Cell*, 2005, 8(1): 5–6.
- [25] SUN J F, RUSSELL C C, SCARLETT C J, et al. Small molecule inhibitors in pancreatic cancer[J]. *RSC Med Chem*, 2020, 11(2): 164–183.