

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.19.004

文章编号: 1005-8982 (2018) 19-0016-07

没食子酸诱导非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡的机制研究

张庭秀¹, 马李杰², 范贤明¹, 肖贞良¹

(1. 西南医科大学附属医院 呼吸内科, 四川 泸州 646000; 2. 中国人民解放军
成都军区总医院 呼吸内科, 四川 成都 610083)

摘要: **目的** 探讨没食子酸 (GA) 对非小细胞肺癌 A549 细胞凋亡的影响及其机制。**方法** 将 A549 细胞随机分为对照组和不同浓度 GA 组, 分别给予正常培养基及不同浓度 GA 培养 6 ~ 48 h。噻唑蓝比色法 (MTT) 检测细胞活力, 流式细胞仪检测细胞凋亡, 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 测定细胞中酪氨酸激酶 1 (JAK1)、信号转导及转录激活因子 3 (STAT3)、B 淋巴细胞瘤 2 基因 (Bcl-2) 及 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) mRNA 表达; Western blot 检测细胞中 Bcl-2、Bax、JAK1、STAT3、磷酸化酪氨酸激酶 1 (p-JAK1)、磷酸化信号转导及转录激活因子 3 (p-STAT3) 的蛋白表达。**结果** 12 ~ 28 $\mu\text{g/ml}$ GA 作用 A549 细胞不同时间后, 与对照组相比, GA 组细胞生存率降低 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率增加 ($P < 0.05$), 并且随 GA 浓度增加, 干预时间延长, 其对细胞的生长抑制及凋亡诱导作用逐渐增强。同时, 与对照组比较, GA 组细胞中 Bax mRNA 及蛋白表达逐渐增高 ($P < 0.05$), p-JAK1、p-STAT3、Bcl-2 的蛋白表达及 Bcl-2 mRNA 表达逐渐降低 ($P < 0.05$); 并且随 GA 浓度增加, 其对细胞中 Bax、Bcl-2、p-JAK1、p-STAT3 蛋白表达的调节作用逐渐增强, 但对细胞中 JAK1、STAT3 mRNA 及蛋白表达水平无影响 ($P > 0.05$)。**结论** GA 呈浓度、时间依赖性诱导 A549 细胞凋亡, 抑制其生长, 作用机制可能与抑制细胞中 JAK1、STAT3 的磷酸化激活, 进而调节 Bax、Bcl-2 的表达有关。

关键词: 没食子酸; 非小细胞肺癌; A549 细胞

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

Gallic acid induces apoptosis of non-small cell lung cancer A549 cells via JAK/STAT3 pathway

Ting-xiu Zhang¹, Li-jie Ma², Xian-ming Fan¹, Zhen-liang Xiao¹

(1. Department of Respiratory Diseases, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Department of Respiratory Diseases, Chengdu Military General Hospital, Chengdu, Sichuan 610083, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of gallic acid (GA) on proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer A549 cells and the underlying mechanisms. **Methods** A549 cells were randomly divided into a normal control group and three GA groups. The normal control group was regularly cultured while the GA groups were cultured with different concentrations of GA (12, 20 and 28 $\mu\text{g/ml}$) for 6-48 h, respectively. The viability of A549 cells was analyzed by MTT assay. Apoptosis induction was detected by flow cytometry. qRT-PCR was used to examine the mRNA expressions of Bax, Bcl-2, JAK1 and STAT3. The protein expressions of Bcl-2, Bax, JAK1, STAT3, p-JAK1 and p-STAT3 were determined by Western blot. **Results** The viability of the cells in the GA

收稿日期: 2017-12-10

[通信作者] 肖贞良, E-mail: xiaozhenliang2001@aliyun.com

groups was significantly lower than that in the normal control group after 6-48 h culture ($P < 0.05$), additionally, the percentages of the apoptotic cells in the GA groups were significantly higher than that in the control group after 24 h ($P < 0.05$). Furthermore, the growth inhibitory effect and the apoptosis induction effect of GA became more and more dramatic with the prolongation of incubation time and increase of GA concentration. It was also found that GA up-regulated Bax mRNA and protein expressions and down-regulated Bcl-2, p-JAK1 and p-STAT3 protein expressions as well as Bcl-2 mRNA level compared with the control group ($P < 0.05$), however, the mRNA or protein expressions of JAK1 and STAT3 showed no significant differences ($P > 0.05$). **Conclusions** GA inhibits viability and induces apoptosis of A549 cells in a dose- and time-dependent manner via blocking the phosphorylation of JAK1 and STAT3 followed by decreased Bcl-2 and increased Bax expressions.

Keywords: gallic acid; non-small cell lung cancer; A549 cell

肺癌是呼吸系统最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率在各系统肿瘤中均居首位,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌病例的 85% 以上,是肺癌中最常见的类型^[1],且 NSCLC 发病机制复杂,尚无根治疗法。目前,NSCLC 的临床治疗手段主要包括手术、放疗、化疗、靶向治疗等,均取得了一定疗效。但 NSCLC 5 年生存率仍低于 15%^[2],且很多患者不能耐受放化疗带来的毒副作用,同时对靶向药物产生耐药现象。中药多取自于各种天然物质,对人体的副作用小,在抗肿瘤方面已展现出独有特色。没食子酸(gallic acid, GA)是广泛存在于绿茶、葡萄等植物中的一种天然植物多酚化合物,在抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等方面具有广泛的生物学效应^[3]。近年来,其抗肿瘤活性已在宫颈癌、口腔鳞癌、胰腺癌及胶质瘤等多种类型的肿瘤细胞中得到证实^[4],但其对 NSCLC 的作用及机制的相关报道较少。本研究目的在于探究 GA 对 NSCLC A549 细胞凋亡的影响及其可能的分子机制,为没食子酸应用于 NSCLC 的治疗提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

A549 细胞(上海拜力生物科技有限公司),无血清细胞冷冻保存培养基(RPMI 1640)及胰蛋白酶(美国 Hyclone 公司),青霉素链霉素溶液及胎牛血清(美国 Gibco 公司),AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒、MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒、增强化学发光试剂盒(北京索莱宝科技有限公司),没食子酸(纯度 >98%)(上海源叶生物科技有限公司),qRT-PCR 引物(成都擎科梓熙生物科技有限公司), β -actin 及磷酸化酪氨酸激酶 1(p-JAK1)抗体(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司),酪氨酸激酶 1(JAK1)、B 淋巴细胞瘤 2 基因(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、

磷酸化信号转导与转录激活因子 3(p-STAT3)抗体及辣根过氧化物酶标记二抗 IgG(武汉博士德生物科技有限公司),信号转导与转录激活因子 3(STAT3)抗体(美国 Omnimabs 公司),超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司),二氧化碳培养箱及酶标仪(美国 Thermo 公司),流式细胞仪(德国 Tecpar 公司),全自动凝胶成像分析系统(美国 UVP 公司)。

1.2 细胞培养

A549 细胞用含 10% 胎牛血清、100 μ /ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素的 RPMI 1640 培养基于 5% 二氧化碳、37℃、饱和湿度条件下培养,每隔 2 ~ 3 d 用含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化,按 1 : 2 传代,取对数生长期细胞进行实验。

1.3 MTT 法检测 GA 对 A549 细胞增殖的影响

采用 RPM 1640 完全培养基调整 A549 细胞密度至 1×10^6 个/ml,每孔 200 μ l 接种于 96 孔板中,当细胞生长至 70% 时去除培养基,随机分为对照组与不同浓度 GA 组,GA 组每孔分别加入 GA 终浓度为 12、20 和 28 μ g/ml 的培养基 200 μ l;对照组每孔加入 200 μ l 完全培养基,每组 3 个复孔。培养 24 h 后,去除培养基,每孔加入 90 μ l 正常培养基及 10 μ l MTT 溶液,继续培养 4 h 后去除培养液,每孔加入二甲亚砜 110 μ l,摇床上低速振荡 10 min,酶标仪检测 492 nm 各孔吸光度(OD)。细胞生存率 = (药物组 OD 值 / 对照组 OD 值) $\times$ 100%,以上实验重复 3 次。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

调整 A549 细胞密度至 2×10^6 个/ml,接种于 6 孔板中,每孔 2 ml,培养至细胞长满底部 70% 时去除培养基,随机分为对照组与不同浓度 GA 组,GA 组分别加入 GA 终浓度为 12 ~ 28 μ g/ml 的培养基 2 ml,对照组加入完全培养基 2 ml。培养 24 h 后收集细胞,4℃预冷磷酸盐缓冲溶液(PBS)洗涤、离心、收集细

胞,重悬于 $1 \times \text{Blinding Buffer}$ 液中,调整细胞密度至 2×10^6 个/ml,取 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液加入 $5 \mu\text{l}$ Annexin V-FITC 混匀,室温避光孵育 10 min,再加入 $5 \mu\text{l}$ PI 溶液,室温避光孵育 5 min,立即用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.5 Western blot 检测细胞中 JAK1、STAT3、p-JAK1、p-STAT3、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达

收集正常培养基与不同浓度 GA 干预 24 h 后的 A549 细胞,按全蛋白提取试剂盒提取总蛋白,并依据 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。将上样缓冲液与蛋白样品按 1 : 5 比例混合, 100°C 水煮 10 min 使蛋白充分变性。根据蛋白定量检测结果,按等量上样原则, SDS-PAGE 凝胶电泳,电泳后转膜至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉或牛血清白蛋白封闭 2 h,加入一抗稀释液 4°C 孵育过夜,复温,洗涤,二抗稀释液室温孵育 1 h,洗涤,化学发光试剂盒显色,全自动凝胶成像分析系统测定电泳条带灰度积分。

1.6 qRT-PCR 检测细胞中 JAK1、STAT3、Bax、Bcl-2 mRNA 的表达

给予 A549 细胞不同浓度 GA 干预 24 h 后, Trizol 法提取各组细胞总 RNA,再逆转录为 cDNA,以 GAPDH 为内参,采用 qRT-PCR 法测量 JAK1、STAT3、Bax、Bcl-2 mRNA 表达量。GAPDH 引物序列正向: $5'\text{-ACTTTGCTATCGTGGAAGGACTCAT-}3'$,反向: $5'\text{-GTTTTTCTAGACGGCAGGTCAGG-}3'$ 。STAT3 引物序列正向: $5'\text{-ACCAAGCGAGGACTGAGCATC-}3'$,反向: $5'\text{-CAGCCAGACCCAGAAGGAGAA-}3'$ 。JAK1 引物序列正向: $5'\text{-ACCAGGATGCGGATAAATAATG-}3'$,反向: $5'\text{-GTTTCCAAGGTAGCCAAGTATTT-}3'$ 。Bax 引物序列正向: $5'\text{-TTTTGCTTCAGGGTTTCATCCA-}3'$,反向引物为 $5'\text{-TGCCACTCGGAAAAAGACCTC-}3'$ 。Bcl-2 引物序列正向: $5'\text{-ATCGCCCTGTGGATGACTGA-}3'$,反向: $5'\text{-GAGACAGCCAGGAGAAATCAAAC-}3'$,用基因相对定量法 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) 计算目的基因表达量。

1.7 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,均进行正态性检验,多组间样本均数比较前行方差齐性检验,组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GA 抑制 A549 细胞的增殖

实验中予以正常培养基、不同浓度 GA 干预 A549 细胞 24 h 后, MTT 法检测细胞生存率,结果显示, $12 \sim 28 \mu\text{g/ml}$ GA 作用 24 h 后,相对于对照组, GA 组中 A549 细胞生存率分别降低至 $(80.49 \pm 0.17)\%$ 、 $(66.57 \pm 0.38)\%$ 和 $(51.81 \pm 3.04)\%$,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),提示 GA 能抑制 A549 细胞增殖。进一步两两比较, $12 \mu\text{g/ml}$ 组与 $20 \mu\text{g/ml}$ 组和 $28 \mu\text{g/ml}$ 组比较,经 LSD- t 检验,差异有统计学意义 ($t = 4.164$ 和 6.910 , $P = 0.014$ 和 0.002);说明 GA 能抑制 A549 细胞增殖,且随着 GA 浓度的增加,其对 A549 细胞生长抑制作用逐渐增强(见表 1)。此外,为进一步明确 GA 干预时间对 A549 细胞生长的影响,给予 A549 细胞 $28 \mu\text{g/ml}$ GA 干预 6 ~ 48 h,结果显示,随着干预时间的延长, A549 细胞生存率逐渐降低,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),进一步两两比较, 0 h 组与 6 h 组比较, 6 h 组中细胞生存率降低 ($t = 7.878$, $P = 0.001$); 6 h 组与 24 h 组比较,细胞生存率下降 ($t = 5.329$, $P = 0.006$); 6 h 组与 48 h 组比较, 48 h 组中细胞生存率进一步下降 ($t = 7.630$, $P = 0.002$) (见表 2)。结果表明, GA 呈浓度、时间依赖性抑制 A549 细胞生长。

2.2 GA 浓度依赖性诱导 A549 细胞凋亡

给予 A549 细胞正常培养基、不同浓度 GA 干预 24 h,流式细胞术 Annexin V-FITC 双染法检测细胞凋亡率(见图 1A),结果显示,对照组细胞凋亡率为 $(8.06 \pm 0.48)\%$, $12 \sim 28 \mu\text{g/ml}$ GA 组细胞凋亡率依次为 $(9.77 \pm 0.11)\%$ 、 $(13.89 \pm 0.47)\%$ 和 $(20.56 \pm 0.51)\%$,经方差分析,差异有统计学意义 ($F = 118.689$, $P = 0.000$),进一步两两比较, $12 \mu\text{g/ml}$ GA 组与对照

表 1 不同浓度 GA 干预 A549 细胞 24 h 后
各组细胞生存率比较 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞生存率
对照组	100.00 ± 0.00
$12 \mu\text{g/ml}$ GA 组	80.49 ± 0.17
$20 \mu\text{g/ml}$ GA 组	66.57 ± 0.38
$28 \mu\text{g/ml}$ GA 组	51.81 ± 3.04
F 值	489.203
P 值	0.000

表 2 28 μg/ml GA 干预不同时间后各组细胞生存率比较
(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞生存率
0 h 组	100.00 ± 0.00
6 h 组	64.45 ± 2.56
24 h 组	51.81 ± 3.04
48 h 组	48.50 ± 1.85
F 值	94.809
P 值	0.000

组比较, 差异无统计学意义 ($t = -1.667$, $P = 0.171$); 20 μg/ml GA 组与对照组比较, 细胞凋亡率增加 (5.83 ± 0.45) % ($t = -7.867$, $P = 0.001$); 28 μg/ml GA 组与 20 μg/ml GA 组比较, 细胞凋亡率增加 (6.67 ± 0.49) % ($t = -9.150$, $P = 0.001$), 结果表明, GA 呈浓度依赖性诱导 A549 细胞凋亡, 见图 1B。

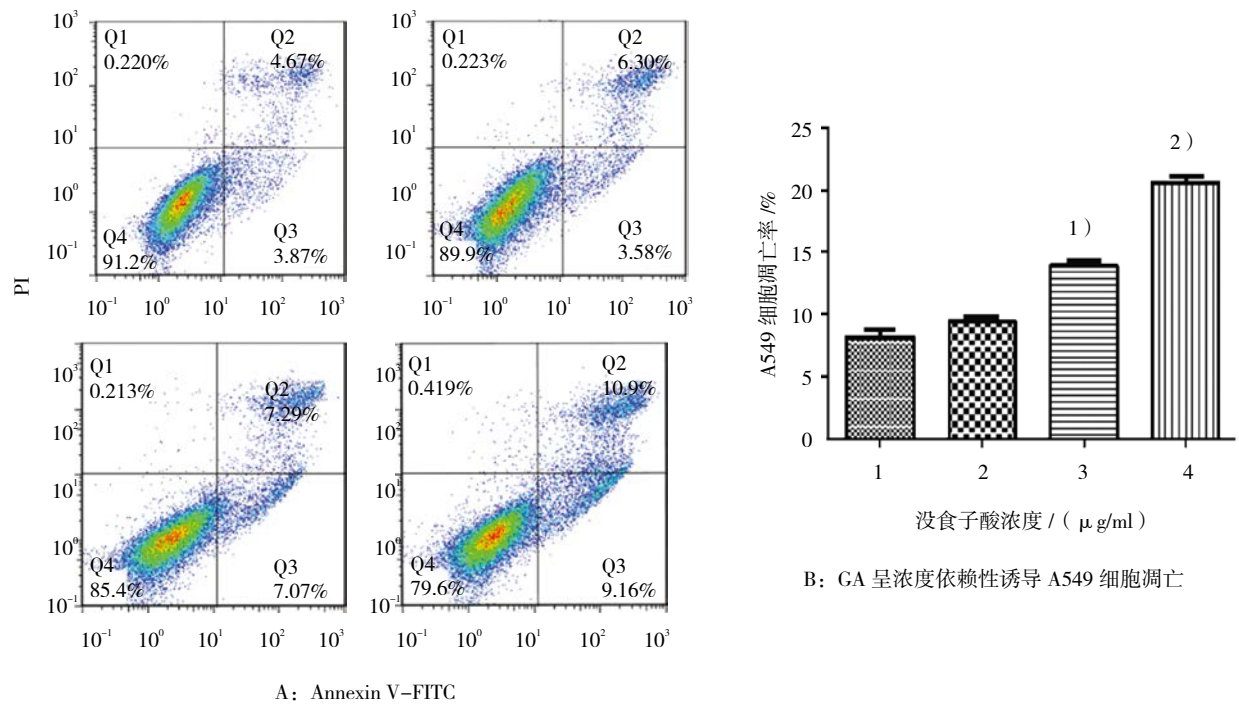
2.3 GA 对各组细胞中 JAK1、STAT3、Bax、Bcl-2 mRNA 表达水平的影响

给予 A549 细胞正常培养基、12 ~ 28 μg/ml GA 干预 24 h 后, qRT-PCR 检测细胞中 JAK1、STAT3、Bax、Bcl-2 mRNA 表达, 结果显示, 12 μg/ml GA 组与

对照组、28 μg/ml GA 组比较, 随着 GA 浓度增加, GA 组中 Bax mRNA 表达逐渐升高 ($t = -4.721$ 和 -7.149 , $P = 0.002$ 和 0.000), Bcl-2 mRNA 表达逐渐降低 ($t = 3.641$ 和 7.715 , $P = 0.007$ 和 0.000), 但各组细胞中 JAK1、STAT3 mRNA 表达差异无统计学意义 ($F = 1.012$ 和 0.081 , $P = 0.436$ 和 0.968)。见图 2。

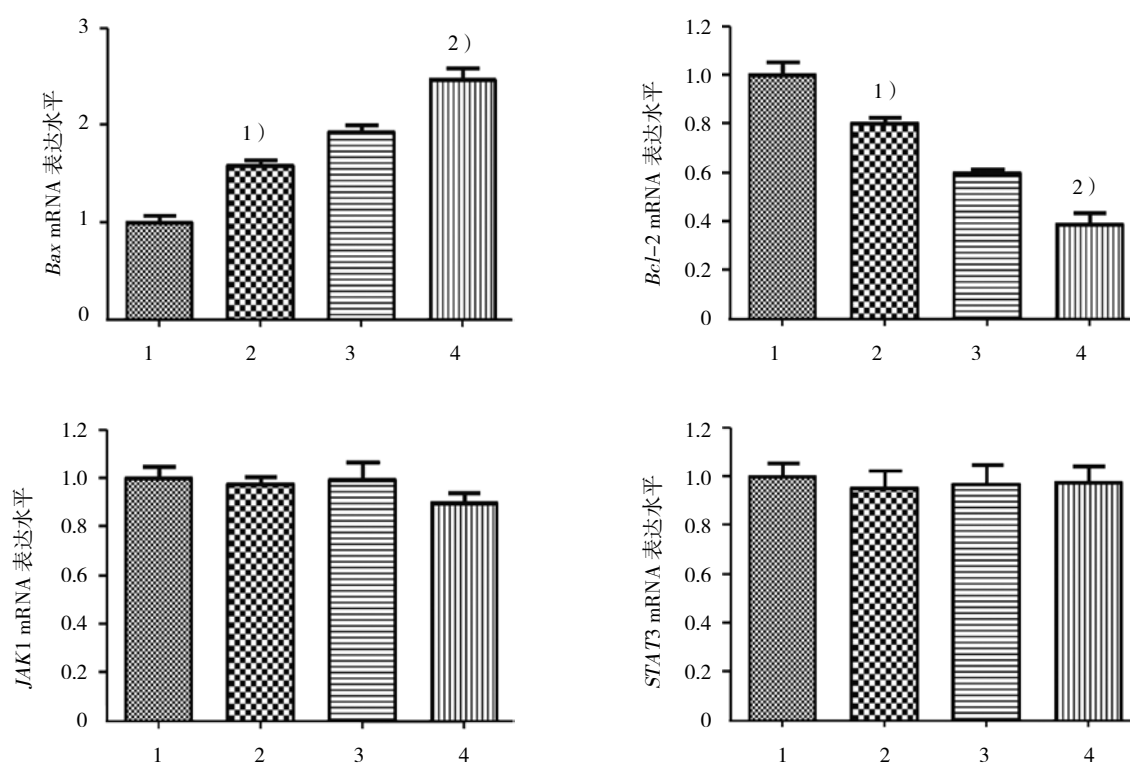
2.4 GA 对 A549 细胞中 JAK1、STAT3、p-JAK1、p-STAT3 及 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

通过 Western blot 检测不同浓度 GA 干预 24 h 对 A549 细胞中 JAK1、STAT3 及其磷酸化活性形式和凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 表达的影响, 探究其凋亡相关机制。结果显示, 随着 GA 浓度的增加, 12 μg/ml GA 组与对照组、28 μg/ml GA 组比较, GA 浓度依赖性降低细胞中 p-JAK1 ($t = 2.978$ 和 8.212 , $P = 0.041$ 和 0.001) 及 Bcl-2 蛋白表达 ($t = 7.520$ 和 2.932 , $P = 0.002$ 和 0.043), 增加 Bax 蛋白表达 ($t = -2.901$ 和 -4.647 , $P = 0.044$ 和 0.010); 此外, 12 μg/ml GA 组与对照组比较, p-STAT3 表达差异无统计学意义 ($t = 0.728$, $P = 0.507$), 但 20 μg/ml GA 组与对照组、28 μg/ml GA 组比较, p-STAT3 的表达逐渐降低 ($t = 6.907$ 和 4.874 , $P = 0.002$ 和 0.008), 见图 3、4。



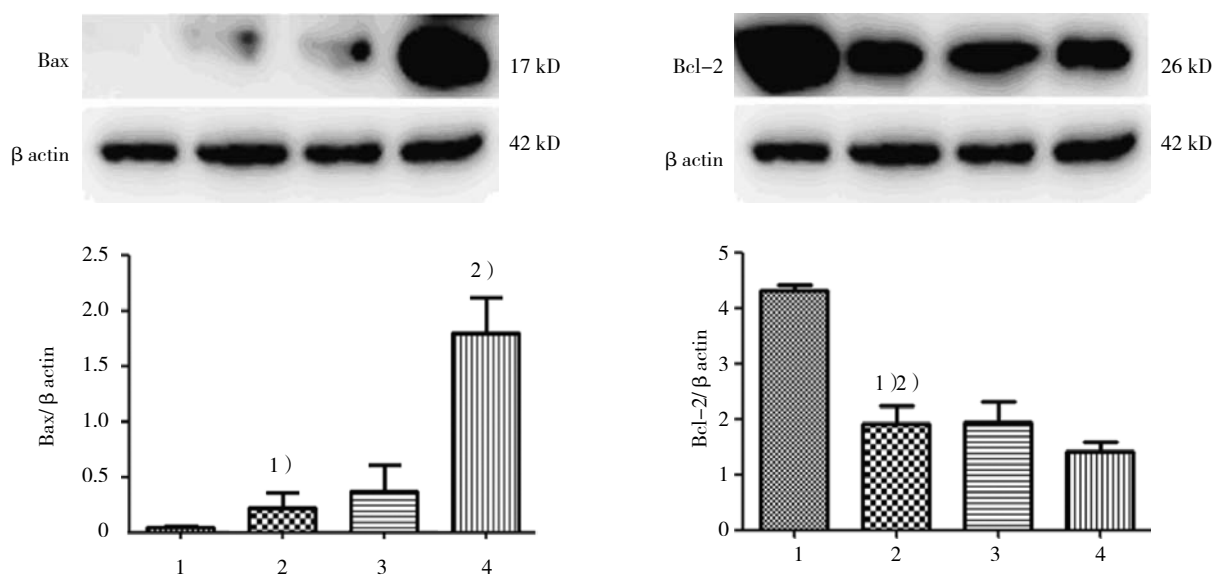
1: 对照组; 2: 12 μg/ml GA 组; 3: 20 μg/ml GA 组; 4: 28 μg/ml GA 组。1) 与对照组比较, $P < 0.05$, 2) 与 20 μg/ml 组比较, $P < 0.05$

图 1 各组细胞凋亡率



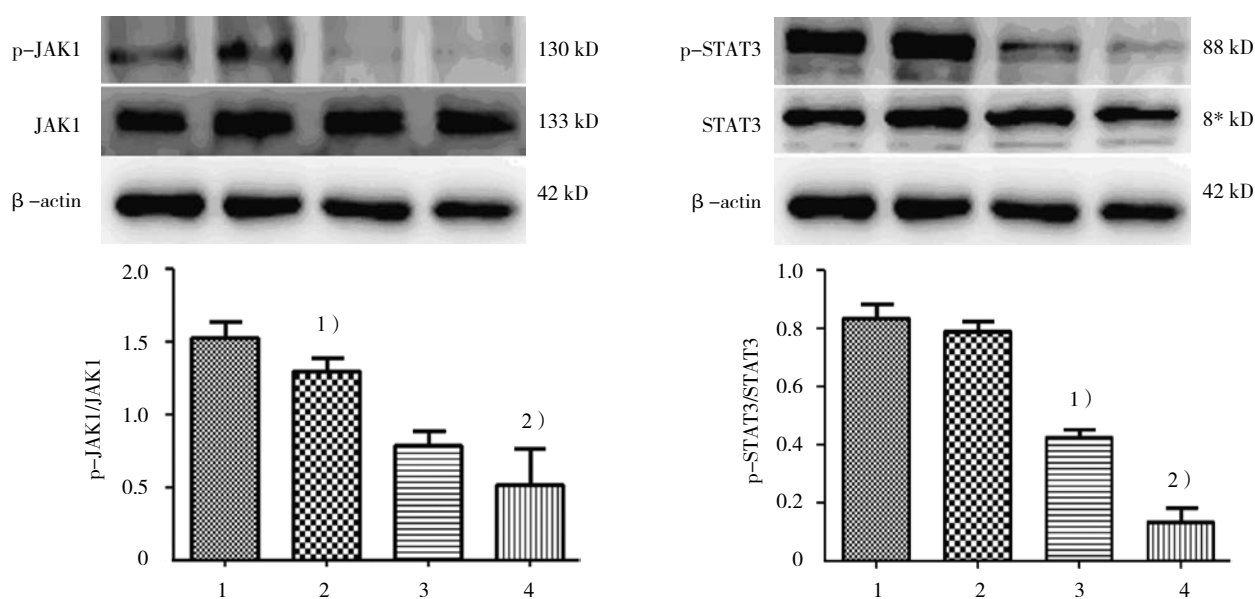
1: 对照组; 2: 12 $\mu\text{g/ml}$ GA 组; 3: 20 $\mu\text{g/ml}$ GA 组; 4: 28 $\mu\text{g/ml}$ GA 组。分别给予 A549 细胞正常培养基及 12 ~ 28 $\mu\text{g/ml}$ GA 培养 24 h 后, qRT-PCR 检测不同组细胞中 *STAT3*、*JAK1*、*Bax*、*Bcl-2* mRNA 表达。1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 12 $\mu\text{g/ml}$ GA 组比较, $P < 0.05$

图 2 各组细胞中 *STAT3*、*JAK1*、*Bax*、*Bcl-2* mRNA 表达



1: 对照组; 2: 12 $\mu\text{g/ml}$ GA 组; 3: 20 $\mu\text{g/ml}$ GA 组; 4: 28 $\mu\text{g/ml}$ GA 组。1) 与对照组比较, $P < 0.05$, 2) 与 12 $\mu\text{g/ml}$ GA 组比较, $P < 0.05$

图 3 不同浓度 GA 对 A549 细胞中 *Bax*、*Bcl-2* 蛋白表达的影响



1: 对照组; 2: 12 $\mu\text{g/ml}$ GA 组; 3: 20 $\mu\text{g/ml}$ GA 组; 4: 28 $\mu\text{g/ml}$ GA 组。1) 与对照组比较, $P < 0.05$, 2) 分别与 12、20 $\mu\text{g/ml}$ GA 组比较, $P < 0.05$

图 4 不同浓度 GA 对 A549 细胞中 JAK1、p-JAK1、STAT3、p-STAT3 蛋白表达的影响

3 讨论

细胞死亡有 2 种途径, ①病理性死亡, 即坏死; ②生理性死亡, 即凋亡。细胞凋亡是细胞在一定条件下遵循自身遗传基因决定的调控程序, 自动结束生命周期的过程。但细胞凋亡并非全都是自发的程序性死亡, 当外界环境影响细胞后, 也会诱导细胞凋亡。而肿瘤的发生不仅与细胞的增殖和分化异常有关, 也与细胞的异常凋亡有关, 因此, 诱导肿瘤细胞凋亡也是许多抗肿瘤药物主要作用机制^[5-7]。本研究采用 MTT 法及流式细胞术观察不同浓度 GA 干预 A549 细胞不同时间对 A549 细胞增殖、凋亡的影响。结果显示, 随着 GA 浓度的增加, 干预时间的延长, A549 细胞存活率逐渐降低, 而凋亡率逐渐增加, 且 GA 与 A549 细胞存活率及凋亡率之间存在浓度、时间依赖关系, 与郝艳丽等^[8]研究结果一致。以上结果表明, GA 通过抑制 A549 细胞增殖、诱导其凋亡实现抗肿瘤作用, 但具体机制有待进一步研究。

肿瘤的发生是多因素、多机制参与的结果, 涉及到一系列信号通路的改变, 如 MAPK、PI3K/AKT/mTOR、JAK/STAT3 等信号通路^[9-10]。在 GA 抗肿瘤作用的相关研究中, LIANG^[11]、HE^[14]等已证实, GA 通过干预 PI3K、MAPK 等信号通路发挥其抗肿瘤作用; 但尚未见 GA 在肿瘤细胞 JAK/STAT3 信号通路中作用的相关性研究报道。

JAK/STAT3 信号通路主要由 JAK 蛋白酪氨酸激酶 (JAK) 及信号转导与转录激活因子 3 (STAT3) 组成, 当细胞表面受体与配体如白细胞介素 6 (IL-6) 或表皮生长因子 (EGFR) 等结合时, 可使受体酪氨酸激酶 JAK 磷酸化, 进而激活胞浆中的 STAT3 单体, 该 STAT3 单体被 p-JAK 激活后发生二聚化, 形成 p-STAT3, 然后穿过核膜进入核内调节相关基因的表达, 进而调控细胞增殖、分化、凋亡等^[12-13]。在正常细胞中, STAT3 蛋白呈短暂性激活, 而肿瘤细胞中的 STAT3 蛋白则被持续性激活, 以促进肿瘤细胞的生长、增殖并抑制细胞凋亡^[14]。此外, 有研究发现, NSCLC 细胞系中普遍存在 STAT3 的激活, 且免疫组织化学技术检测也发现 55% 的 NSCLC 组织中存在 STAT3 的激活^[15], 表明 STAT3 的激活与 NSCLC 的发生有关, 而抑制 STAT3 的激活可阻断肿瘤细胞中 STAT3 信号通路, 为许多癌症患者提供一种新的治疗方法。

本研究采用 qRT-PCR 及 Western blot 检测细胞中 STAT3 信号通路相关基因和蛋白的表达。结果显示, 随 GA 浓度的增加, A549 细胞中 JAK1、STAT3 基因转录及蛋白表达水平无显著变化, 但 GA 呈剂量依赖性抑制 STAT3 信号通路中 JAK1、STAT3 蛋白的磷酸化, 进而抑制 STAT3 信号通路的激活, 下调抗凋亡蛋白 Bcl-2、上调促凋亡蛋白 Bax 的基因转录及蛋白表达, 最终启动肿瘤细胞凋亡程序, 诱发细胞凋亡。

综上所述,GA 对 A549 细胞具有生长抑制及凋亡诱导作用,该作用是通过抑制 STAT3 的磷酸化激活,进而抑制 STAT3 信号通路而实现,这进一步完善了 GA 抗肿瘤作用机制的研究,为 GA 应用于 NSCLC 的临床治疗奠定了理论基础,但应用于临床仍需进一步药物毒性实验及体内实验研究的支持。

参 考 文 献:

- [1] ZHU J, LI Q, HE J T, et al. Expression of TAK1/TAB1 expression in non-small cell lung carcinoma and adjacent normal tissues and their clinical significance[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(12): 15801-15807.
- [2] 成娅婷,田成旺,任涛,等. 中药治疗非小细胞肺癌的临床应用及作用机制研究进展[J]. *药物评价研究*, 2016, 39(2): 293-299.
- [3] WANG R, MA L, WENG D, et al. Gallic acid induces apoptosis and enhances the anticancer effects of cisplatin in human small cell lung cancer H446 cell line via the ROS-dependent mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(5): 3075-3083.
- [4] HE Z, CHEN A Y, ROJANASAKUL Y, et al. Gallic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenic effects via the PTEN/AKT/HIF-1 α /VEGF signaling pathway in ovarian cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1): 291-297.
- [5] 李娜,高俊岩,刘敏. 细胞凋亡和肿瘤的关系研究进展[J]. *当代医学*, 2009, 15(16): 13-14.
- [6] 林俊,李敏. 细胞凋亡途径及其机制[J]. *国际妇产科学杂志*, 2014, 41(2): 103-107.
- [7] 郭燕子,符健. 肿瘤细胞凋亡及常用检测方法[J]. *中国热带医学*, 2017, 4(17): 413-417.
- [8] 郝艳丽,许娜,李澍,等. 没食子酸对人非小细胞肺癌 A549 细胞增殖的抑制作用[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2016, 42(6): 1092-1098.
- [9] 刘卫,李国庆. PI3K/Akt 信号通路与肿瘤多药耐药性研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2017, 2(33): 225-227.
- [10] 崔婷婷,席淑华. MAPK 信号传导通路与肿瘤的发生[J]. *实用肿瘤杂志*, 2013, 28(5): 550-552.
- [11] LIANG C Z, ZHANG X, LI H, et al. Gallic acid induces the apoptosis of human osteosarcoma cells in vitro and in vivo via the regulation of mitogen-activated protein kinase pathways[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2012, 27(10): 701-710.
- [12] LI S, PRICEMAN S J, XIN H, et al. Icaritin inhibits JAK/STAT3 signaling and growth of renal cell carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e81657.
- [13] LEE J H, KIM C, BAEK S H, et al. Capsazepine inhibits JAK/STAT3 signaling, tumor growth, and cell survival in prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(11): 17700-17711.
- [14] WEN W, LIANG W, WU J, et al. Targeting JAK1/STAT3 signaling suppresses tumor progression and metastasis in a peritoneal model of human ovarian cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12): 3037-3048.
- [15] YANG C L, LIU Y Y, MA Y G, et al. Curcumin blocks small cell lung cancer cells migration, invasion, angiogenesis, cell cycle and neoplasia through Janus kinase-STAT3 signalling pathway[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e37960.

(张西倩 编辑)