

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.002

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.002>

黄连素对多发性骨髓瘤细胞增殖和凋亡的影响

李敬东¹, 韩效林¹, 杨翠¹, 孙玲²

(1. 新乡医学院第一附属医院血液科, 河南 新乡 453100; 2. 郑州大学第一附属医院血液科, 郑州 450052)

[摘要] **目的:** 探讨黄连素对多发性骨髓瘤细胞活性和凋亡的影响。**方法:** 通过CCK-8试验检测不同浓度黄连素作用下多发性骨髓瘤U266细胞的增殖; ELISA试验检测不同浓度黄连素作用下U266分泌IL-6的情况; 细胞凋亡试验检测不同浓度黄连素作用下U266骨髓瘤细胞凋亡行为变化; 透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察U266细胞的超微结构。**结果:** 随着浓度(40~160 μmol/L)的改变, 黄连素以剂量和时间依赖的方式抑制U266细胞细胞增殖和IL-6分泌; 黄连素以剂量依赖的方式诱导U266细胞G₂/M期停滞和凋亡, 80 μmol/L黄连素处理后的U266细胞的超微结构发生凋亡的形态特征。**结论:** 黄连素能抑制人多发性骨髓瘤细胞的活性, 诱导骨髓瘤细胞G₂/M期停滞并诱导细胞凋亡。

[关键词] 黄连素; 多发性骨髓瘤; 凋亡; 细胞增殖

Effects of berberine on proliferation and apoptosis of multiple myeloma cells

LI Jingdong¹, HAN Xiaolin¹, YANG Cui¹, SUN Ling²

(1. Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang Henan 453100;

2. Department of Hematology, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effect of berberine on the activity and apoptosis of multiple myeloma cells. **Methods:** The proliferation of multiple myeloma U266 cells under different concentrations of berberine were detected by CCK-8. ELISA was used to detect the secretion of IL-6 by U266 under different concentrations of berberine. The apoptosis of U266 myeloma cells was detected by flow cytometry under different concentrations of berberine. The ultrastructure was observed by transmission electron microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). **Results:** Treatment of U266 cells with berberine (40–160 μmol/L) suppressed cell proliferation and IL-6 secretion in dose- and time-dependent manners. At the same time, berberine dose-dependently induced G₂/M phase arrest and apoptosis in U266 cells. The ultrastructure of U266 cells treated with 80 μmol/L berberine was morphologically characterized by apoptosis. **Conclusion:** Berberine can inhibit the activity of human multiple myeloma cells, induce G₂/M stagnation and induce apoptosis.

Keywords berberine; multiple myeloma; apoptosis; cell proliferation

收稿日期 (Date of reception): 2017-07-20

通信作者 (Corresponding author): 李敬东, Email: yisheng111yy@163.com

基金项目 (Foundation item): 河南省医学科技公关计划项目 (201203068)。This work was supported by Henan Medical Science and Technology Public Relations Project, China (201203068).

多发性骨髓瘤是一种克隆性B细胞恶性肿瘤,是最常见的血液学肿瘤之一,其特征为浆细胞在骨髓中的恶性增殖^[1]。在中国,其发病率约为1/100 000,而在发达国家,其发病率约为4/100 000^[2]。

目前的治疗仍然以联合化疗为主^[3]。经典的治疗方案是基于瘤细胞生长缓慢的特点,强调持续静脉点滴,以能杀灭更多瘤细胞,但其完全缓解率较低,不能明显延长患者的生存期^[4]。在棚替佐米、来那度胺、沙利度胺等新药被批准临床应用前,多发性骨髓瘤的初始传统一线治疗方案以长春新碱+阿霉素+地塞米松、马法兰+泼尼松、环磷酰胺+依托泊苷+顺铂为主^[5]。此外,对于适用于干细胞移植(stem cell transplant, SCT)的患者,应避免使用含烧化剂(如马法兰)等影响干细胞采集的化疗方案^[6]。

近年来,本课题组研究了许多中药化合物的抗癌潜力^[7]。对于具有抗癌潜力的中药化合物,有必要了解其抗癌作用机制,这将引导发展新型的抗癌疗法。黄连素是一种最初从中草药中分离出来的生物碱,目前用作治疗由细菌引起的腹泻^[8]。黄连素表现出多种药理活性,如抗氧化剂,抗炎和抗癌活性。此外,黄连素可以增加人类癌细胞对电离辐射或化疗的敏感性^[9]。近来,研究者^[10-12]通过体内和体外的实验方法研究了黄连素对白血病和淋巴瘤的作用。最近的一项研究^[13]表明黄连素能下调mRNA和IL-6的蛋白水平,这是多发性骨髓瘤增殖的关键因素。除此之外,已有研究^[14]显示在携带人食管癌细胞的小鼠中黄连素具有抗癌病质的效果。

本研究通过检测黄连素对多发性骨髓瘤细胞U266细胞增殖和凋亡的影响,探究黄连素对多发性骨髓瘤的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

多发性骨髓瘤细胞株U266由上海细胞生物研究所提供。细胞在含有10%FBS, 100 mg/mL青霉素和100 mg/mL链霉素的培养基中培养, 37 °C在5%CO₂培养箱中培养,生长至80%左右浓度时进行传代和冻存。

黄连素购自美国Sigma公司。将黄连素溶解于DMSO,浓度分别为40, 80, 120和160 μmol/L。ELISA试剂盒购自台湾ExCell公司。Annexin V-FITC/PI双染法细胞凋亡检测试剂盒购买于上海美季生物技术有限公司。

1.2 ELISA 检测 IL-6 的分泌情况

ELISA试剂于室温(20~25 °C)放置15~30 min。空白微孔中加入50 μL的样品,空白对照加入50 μL的蒸馏水;在样品孔中加入10 μL的生物素;在样品孔中加入酶标记溶液;将酶标板用封口胶密封后,37 °C孵育反应1 h;充分清洗酶标板3~5次,拍干,加入显色剂A, B液各50 μL, 20~25 °C下避光反应15 min各孔加入50 μL终止液,终止反应。

1.3 显微镜观察超微结构

用80 μmol/L黄连素处理24 h的U266细胞以2 000 r/min离心5 min,然后在2%戊二醛中在室温下预处理2 d。洗涤细胞用0.1 mol/L PBS(pH7.2)3次,在1%OsO₄水溶液中固定2 h,然后再次洗涤3次0.1 mol/L PBS(pH7.2)。将所得样品置于乙酸异戊酯20 min,然后用乙醇/水洗涤(25%, 50%, 75%, 2个95%和3个100%乙醇洗涤)。最后将细胞干燥后使用透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)观察。

1.4 细胞增殖试验

细胞增殖实验使用CCK-8试剂盒测定。将U266细胞接种在96孔板中,每孔1×10⁴个细胞。将细胞用不同浓度的黄连素(40, 80, 120, 160 μmol/L)与U266孵育24, 48和72 h。孵育过后,用PBS冲洗细胞两次。向每个孔中加入新鲜培养基(200 μL),然后加入20 μL的CCK-8溶液,并在37 °C下孵育4 h。使用酶标仪板在490 nm波长下测量不同组的OD值。OriginPro7.5软件计算黄连素作用于U266细胞的IC₅₀。

1.5 细胞凋亡试验检测 U266 细胞的凋亡

将U266细胞以2×10⁶的密度接种在6孔板中细胞/孔并生长24 h。黄连素以不同浓度(0, 40, 80, 120和160 μmol/L)加入到细胞中至。收集各处理细胞并分为两个样品。将细胞轻轻涡旋并以浓度重悬于结合缓冲液中3×10⁶ / mL,加入100 μL细胞悬液5 μL Annexin V-FITC和10 μL PI。样品是在室温下避光混合15 min,并加入400 μLPBS溶液。第一个样品在490 nm的激发波长下用于计数细胞。CellQuest软件用于数据收集和处理。第二个样本,细胞在40 °C下在70%乙醇中固定至少24 h,以2 000 r/min离心5 min,用PBS洗涤两次,然后将RNase A(100 μL)加入到细胞中置于37 °C水浴中30 min。PI(400 μL)添加到细胞中,并且细胞避光在4 °C静置30 min。通过流式细胞术评估细胞以识别

细胞周期的变化。细胞增殖指数按照下列公式计算： $PI\%=(S + G_2/M)/(G_0/G_1 + S + G_2/M)$ 。

1.6 统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行统计分析，实验数据以均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，两组比较采用独立样本t检验，多组比较采用方差分析， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄连素对 U266 细胞活性的影响

为研究黄连素对U266细胞增殖的影响，通过使用不同浓度的黄连素(40, 80, 120, 160 $\mu\text{mol/L}$)作用于该细胞(图1)，发现在同一浓度下，黄连素对U266细胞活性的抑制作用随时间延长而增加；在同一时间内，黄连素对U266细胞活性的抑制作用随浓度升高而增加。24 h时，在不同浓度的黄连素作用下，细胞的增殖率分别为 $96.04\%\pm 4.47\%$ ， $79.17\%\pm 2.54\%$ ， $69.28\%\pm 4.36\%$ ， $62.33\%\pm 5.12\%$ 。作用24 h时， IC_{50} 值为 $57.6 \mu\text{mol/L}$ 。

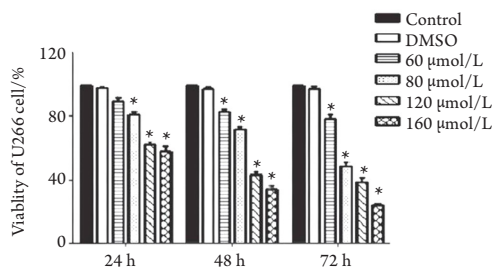


图1 不同浓度的黄连素在不同处理时间(24, 48, 72 h)对骨髓瘤U266细胞增殖的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of berberine on proliferation of myeloma U266 cells at different treatment time (24, 48, 72 h)

与对照组相比，* $P<0.05$ 。

Compared with the control group, * $P<0.05$.

2.2 黄连素对骨髓瘤 U266 细胞分泌 IL-6 的影响

用不同浓度(40, 80, 120和160 $\mu\text{mol/L}$)的黄连素处理U266细胞，在24, 48及72 h时检测IL-6的分泌量。实验结果显示：在24 h时，随着黄连素浓度增高，IL-6的分泌量分别减少9.6%，27.8%，53.7%和75%，组间差异具有统计学意义($P<0.05$ ，图2)。表明随着浓度增加，黄连素对IL-6的分泌水平有一定的抑制效果。

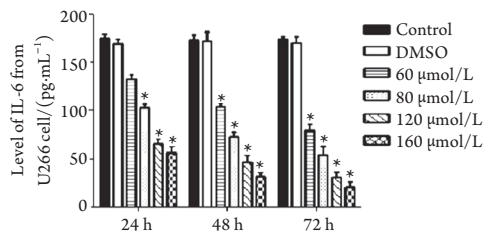


图2 不同浓度的黄连素在不同处理时间(24, 48, 72 h)处理U266细胞，对其分泌IL-6的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of berberine on U266 cells treated at different treatment time (24, 48, 72 h) and their effects on IL-6 secretion

与对照组相比，* $P<0.05$ 。

Compared with the control group, * $P<0.05$.

2.3 不同浓度的黄连素对骨髓瘤 U266 细胞凋亡行为的影响

通过使用不同浓度(40, 80, 120, 160 $\mu\text{mol/L}$)的黄连素，检测其对骨髓瘤U266细胞凋亡行为的影响。结果显示：黄连素在一定程度上可以诱导U266细胞凋亡，随着黄连素浓度水平升高，U266骨髓瘤细胞的凋亡率相应增高($8.82\%\pm 8.43\%$ vs $25.31\%\pm 6.51\%$ vs $16.94\%\pm 7.32\%$ vs $26.87\%\pm 6.86\%$ vs $27.48\%\pm 3.15\%$ ， $P<0.05$ ；图3)。

2.4 不同浓度的黄连素对骨髓瘤 U266 细胞周期分布的影响

通过使用不同浓度(40, 80, 120, 160 $\mu\text{mol/L}$)的黄连素，检测其对骨髓瘤U266细胞周期分布的影响。结果显示：当使用不同浓度(40, 80, 120, 160 $\mu\text{mol/L}$)的黄连素处理U266细胞24 h后，S期细胞数量减少， G_2/M 期的细胞数目与未处理对照细胞相比显著升高(16.7 ± 2.4 vs 38.2 ± 3.88 vs 41.6 ± 5.2 vs 54.3 ± 5.4 vs 67.8 ± 5.9)，差异具有统计学意义($P<0.05$ ，图4)。表明随着黄连素的浓度水平升高，可以导致U266细胞S期细胞减少， G_2/M 期细胞增多，一定程度上抑制U266细胞的增殖情况。

2.5 黄连素对 U266 细胞超微结构的影响

正常U266骨髓瘤细胞的形态学特征包括细胞质的均匀分布与完整的细胞膜，以及在表面上形成众多的微绒毛。使用80 $\mu\text{mol/L}$ 黄连素处理U266骨髓瘤细胞后，细胞出现凋亡形态特征：细胞核浓缩，胞质内出现大胞质颗粒、大型空泡、微绒毛消失以及胞浆内形成多处栓塞(图5)。

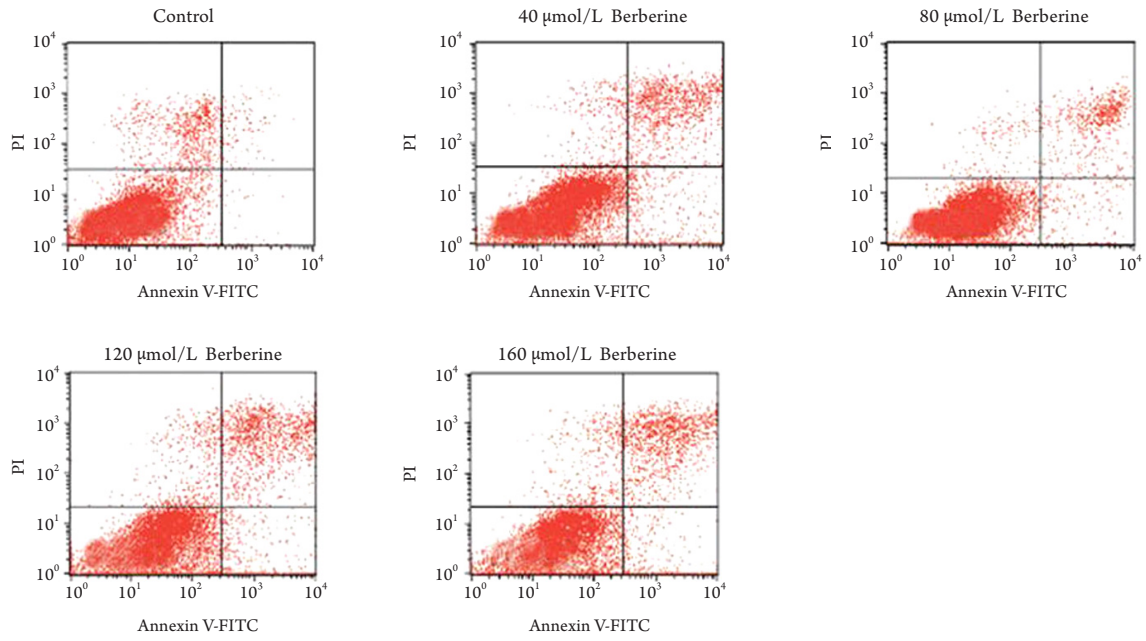


图3 不同浓度的黄连素对U266骨髓瘤细胞凋亡行为的影响

Figure 3 Effect of different concentrations of berberine on apoptosis of U266 myeloma cells

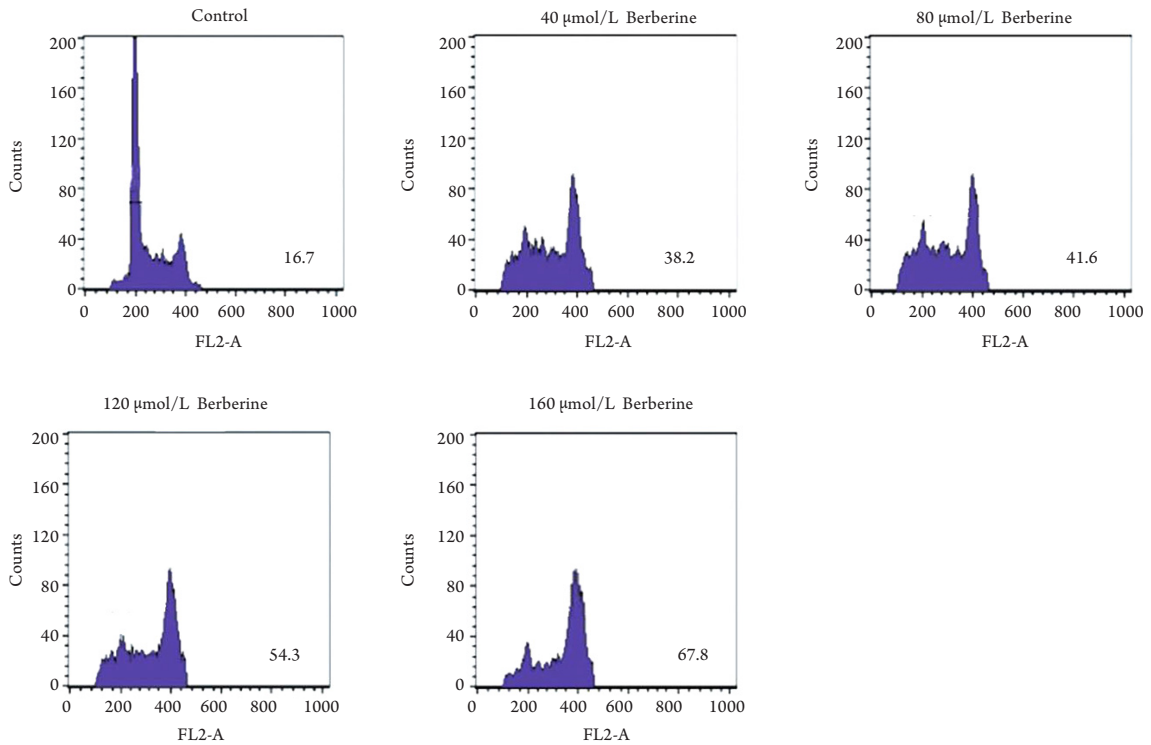


图4 不同浓度黄连素对骨髓瘤细胞周期的分布影响

Figure 4 Effect of different concentrations of berberine on cell cycle distribution of myeloma

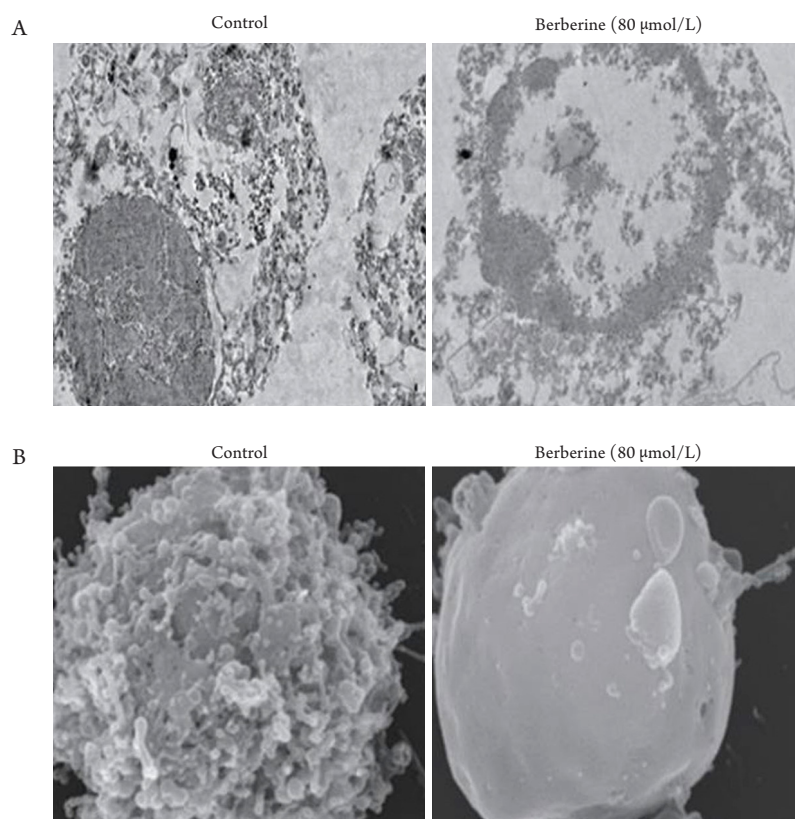


图5 电子荧光显微镜观察黄连素对U266细胞形态的影响

Figure 5 Effect of berberine on morphology of U266 cells by electron microscopy

(A)TEM下U266细胞超微结构及黄连素处理过后的细胞形态($\times 5\ 000$); (B)SEM显示黄连素处理后, 细胞内结构存在的绒毛减少和栓塞增多($\times 5\ 000$)。

(A) TEM showing U266 cell ultrastructure and cell morphology of berberine after treatment ($\times 5\ 000$); (B) SEM showing decreased villi and increased embolization in cells after berberine treatment ($\times 5\ 000$).

3 讨论

多发性骨髓瘤的特征在于浆细胞的恶性克隆扩增导致末端器官损伤, 包括溶骨性骨损伤、贫血、肾衰竭或高钙血症等^[15]。随着诊疗技术的发展以及人口老龄化的进程, 该病现发病率呈逐年增高的趋势, 且多发性骨髓瘤多发于中老年人。我国每年约有1.4万新诊断为多发性骨髓瘤的患者^[2]。因此寻找多发性骨髓瘤的优化治疗方案是目前研究的主要热点。

多发性骨髓瘤因其患者年龄较大、治疗完全缓解率低、易耐药且复发率较高的特点, 临床疗效不佳。大剂量化疗联合自体造血SCT, 虽能提高完全缓解率, 但仍易复发, 不能从根本上治愈多发性骨髓瘤。异基因造血SCT理论上可以治愈多发性骨髓瘤, 但常因患者年龄较大, 重要脏器功能不全及移植相关病死率高等因素限制了其临床应用^[6]。大多数多发性骨髓瘤患者的治疗目的仍是延

长生命, 提高生活质量。化疗是最基本、最常用的治疗方法, 可明显延长生存期^[4]。

对古代中草药的研究可能会发现新的癌症治疗策略。黄连素是一种天然存在的异喹啉生物碱, 对许多类型肿瘤都具有一定抗癌作用。Iizuka等^[16]表明黄连素对携带人食管癌细胞的裸鼠具有抗恶病质的作用, 这种效应是由IL-6相关机制介导的。对于使用黄连素治疗的荷瘤小鼠, 其营养指标(例如血清葡萄糖水平)略有变化, 但其IL-6水平显著降低^[17]。大约70%的多发性骨髓瘤患者超过60周岁, 超过90%的患者年龄至少50岁。几乎所有的晚期患者为恶病质。Karnofsky评分和营养参数有助于判断患者能否耐受化疗^[18]。IL-6是与营养代谢密切相关的炎性细胞因子, 也是多发性骨髓瘤细胞关键的生长因子^[19]。假设黄连素可能是一种治疗多发性骨髓瘤的有效的化学试剂, 本研究发现随着作用时间和处理浓度的改变, 黄连素(80~160 $\mu\text{mol/L}$)对U266细胞有明显的毒性作用,

能降低IL-6的分泌。本研究通过TEM观察U266细胞的超微结构发现核染色质固缩、细胞质空泡以及其他凋亡迹象。此外,使用SEM发现U266细胞表面的微绒毛几乎完全消失。也许进一步的研究将有助于了解黄连素是否会引引起多发性骨髓瘤细胞的差异分化。

目前的结果表明IL-6分泌可能受细胞凋亡的影响。24 h时,对照组与40 $\mu\text{mol/L}$ 处理组比较差异有统计学意义,说明小剂量的黄连素可以抑制IL-6的分泌。本结果表明在用黄连素作用U266细胞48和72 h后,其细胞活性显著降低。这与Xie等^[20]的结果相反。其结果表明黄连素作用24 h后,两种口腔来源(KB和OC2)、两种胃来源(SC-M1和NUGC-3)和两种结肠来源(COLO 205和CT 26)的癌细胞株的多重耐药性转运蛋白(Pgp-170)均上调。有学者^[21]证实:使用32 $\mu\text{mol/L}$ 的黄连素预处理肿瘤细胞24 h后,再使用紫杉醇治疗时,肿瘤细胞活性增强,并可以阻断紫杉醇诱导的G₂/M停滞和形态学变化,因此认为黄连素能在消化道肿瘤细胞中调节Pgp-170的表达和功能,并降低紫杉醇的治疗效果。本研究没有观察到使用黄连素处理多发性骨髓瘤细胞后对化疗药物的敏感性有何种变化,但发现黄连素可以作用于U266细胞G₂/M期,并与剂量成相关性。后续实验拟通过联合部分化疗药物观察黄连素的协同作用,为黄连素在临床肿瘤的治疗方向提供一定的理论支持。

另外,肿瘤细胞凋亡受到促凋亡因子和抗凋亡因子的双重的调节是目前多数学者认同的机制^[22]。在目前的研究中,黄连素还以剂量依赖性的方式参与细胞内凋亡因子的调控。许多天然存在的化合物已经被证实通过诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用。例如,柴胡中的两大药用成分saikosaponin-a(SSa)和saikosaponin-d(SSd),通过在肿瘤细胞(例如肝癌、胰腺癌、乳腺癌和肺癌)中不断的积累,能增加顺铂的细胞毒性作用^[23]。用凋亡因子抑制剂预处理肿瘤细胞,可以有效降低细胞毒性;而黄连素对不同肿瘤细胞内的凋亡因子的调控和诱导水平不同,寻找骨髓瘤细胞中黄连素和化疗药物的联用效果是需要逐步解决的问题,可能会给临床骨髓瘤的治疗提供新的发展方向。

综上所述,本研究通过检测骨髓瘤增殖活力和凋亡行为的变化,表明黄连素可以一定程度上抑制多发性骨髓瘤U266细胞的增殖活性,干扰细胞G₂/M期的进展并诱导细胞凋亡,对临床上多发性骨髓瘤的治疗提供了新的研究思路,也为化疗药物的联用机制提供了参考意见。

参考文献

1. Katanoda K, Saika K. Comparison of time trends in multiple myeloma mortality (1990–2006) between countries based on the WHO mortality database[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2011, 41(3): 444-445.
2. 路瑾. 多发性骨髓瘤诊断标准的变迁及其对治疗的影响[J]. *中国肿瘤临床*, 2014, 41(13): 819-822.
LU Jin. The changes in the multiple myeloma diagnostic criteria and its impact on treatment[J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2014, 41(13): 819-822.
3. Moreau P, Masszi T, Grzasko N, et al. Oral ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(17): 1621-1634.
4. Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group[J]. *Blood*, 2016, 127(24): 2955-2962.
5. Rajkumar SV, Kumar S. Multiple myeloma: diagnosis and treatment[J]. *Mayo Clin Proc*, 2016, 91(1): 101-119.
6. Cook G, Williams C, Brown JM, et al. High-dose chemotherapy plus autologous stem-cell transplantation as consolidation therapy in patients with relapsed multiple myeloma after previous autologous stem-cell transplantation (NCRI Myeloma X Relapse [Intensive trial]): a randomised, open-label, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(8): 874-885.
7. 杜英俊, 徐杰, 李海菲, 等. 中药有效组分在多发性骨髓瘤中的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(4): 1371-1373.
DU Yingjun, XU Jie, LI Haifei, et al. Progress on effective components of Chinese medicine in the treatment of multiple myeloma[J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2016, 31(4): 1371-1373.
8. 左茹, 曹雪滨, 张文生. 黄连素药理作用研究进展[J]. *环球中医药*, 2014, 7(7): 568-572.
ZUO Ru, CAO Xuebin, ZHANG Wensheng. The progress of berberine's pharmacological effects[J]. *Global traditional Chinese Medicine*, 2014, 7(7): 568-572.
9. Jiang SX, Qi B, Yao WJ, et al. Berberine displays antitumor activity in esophageal cancer cells in vitro[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(14): 2511-2518.
10. Jaafarinejad H, Ghanizadeh N, Ghahremanfard F, et al. Effect of Beberine on the survivin gene expression in peripheral blood mononuclear cell of chronic lymphocytic leukemia patients in vitro[J]. *Koomesh*, 2017, 19(1): 227-232.
11. Wang Z, Liu Y, Xue Y, et al. Berberine acts as a putative epigenetic modulator by affecting the histone code[J]. *Toxicol In Vitro*, 2016, 36: 10-17.
12. Park GB, Park SH, Kim D, et al. Berberine induces mitochondrial apoptosis of EBV-transformed B cells through p53-mediated regulation

- of XAF1 and GADD45a[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(1): 411-421.
13. Gu C, Li T, Yin Z, et al. Integrative analysis of signaling pathways and diseases associated with the miR-106b/25 cluster and their function study in berberine-induced multiple myeloma cells[J]. *Funct Integr Genomics*, 2017, 17(2/3): 253-262.
 14. Ren K, Zhang W, Wu G, et al. Synergistic anti-cancer effects of galangin and berberine through apoptosis induction and proliferation inhibition in oesophageal carcinoma cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 1748-1759.
 15. 孙颖, 王慧涵, 杨威. 多发性骨髓瘤2015年NCCN指南更新及解读[J]. *实用药物与临床*, 2015, 18(8): 881-885.
SUN Ying, WANG Huihan, YANG Wei. The 2015 NCCN guide update and interpretation of multiple myeloma[J]. *Practical Pharmacy and Clinical Remedies*, 2015, 18(8): 881-885.
 16. Iizuka N, Miyamoto K, Hazama S, et al. Anticachectic effects of coptidisrhizoma, an anti-inflammatory herb, on esophageal cancer cells that produce interleukin 6[J]. *Cancer Lett*, 2000, 158(1): 35-41.
 17. 余春燕, 张学梅, 马海英. 黄连素改善小鼠结肠腺癌恶病质实验研究[J]. *实用肿瘤杂志*, 2014, 29(6): 547-551.
YU Chunyan, ZHANG Xuemei, MA Haiying. Berberine improves cachexia in mice with colon adenocarcinoma[J]. *Journal of Practical Oncology*, 2014, 29(6): 547-551.
 18. Rades D, Bolm L, Kaesmann L, et al. Karnofsky performance score is predictive of survival after palliative irradiation of metastatic bile duct cancer[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(2): 949-951.
 19. Berenstein R, Nogai A, Waechter M, et al. Multiple myeloma cells modify VEGF/IL-6 levels and osteogenic potential of bone marrow stromal cells via Notch/miR-223[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(12): 1927-1939.
 20. Xie JY, Li MX, Xiang DB, et al. Elevated expression of APE1/Ref-1 and its regulation on IL-6 and IL-8 in bone marrow stromal cells of multiple myeloma[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2010, 10(5): 385-393.
 21. Lin SS, Chung JG, Lin JP, et al. Berberine inhibits arylamine N-acetyltransferase activity and gene expression in mouse leukemia L 1210 cells[J]. *Phytomedicine*, 2005, 12(5): 351-358.
 22. 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. *国际妇产科学杂志*, 2014, 41(2): 103-107.
LI Min, LIN Jun. The apoptotic pathways and their mechanisms[J]. *Journal of International Obstetrics and Gynecology*, 2014, 41 (2): 103-107.
 23. Ye RP, Chen ZD. Saikosaponin A, an active glycoside from *Radix bupleuri*, reverses P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in MCF-7/ADR cells and HepG2/ADM cells[J]. *Xenobiotica*, 2017, 47(2): 176-184.

本文引用: 李敬东, 韩效林, 杨翠, 孙玲. 黄连素对多发性骨髓瘤细胞增殖和凋亡的影响[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(10): 2031-2037. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.002

Cite this article as: LI Jingdong, HAN Xiaolin, YANG Cui, SUN Ling. Effects of berberine on proliferation and apoptosis of multiple myeloma cells[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(10): 2031-2037. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.10.002