

本文引文格式:陈凤,王腾飞,曹开美,等. D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1):10-15, 22.

【论著与临床报道】

D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的作用研究

陈凤^{1,2}, 王腾飞^{1,2}, 曹开美^{1,2}, 彭铁立², 齐玲², 宋美慧²

(1. 大理大学基础医学院, 云南 大理 671000;
2. 广州医科大学附属清远医院, 清远市人民医院消化内科, 广东 清远 511518)

摘要:目的 探讨 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖和凋亡的影响, 并阐明其机制。方法 将胰腺癌 PANC-1 细胞分为对照组、D-柠檬烯组和 N-乙酰半胱氨酸干预组。通过 CCK-8 法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞增殖能力的影响, 结晶紫染色法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞克隆形成能力的影响, 荧光探针检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞活性氧 (ROS) 水平的影响, EdU 染色法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞增殖能力的影响, Annexin V/PI 双染法检测 D-柠檬烯诱导 PANC-1 细胞的凋亡情况, Western Blot 法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞凋亡蛋白 PARP、Caspase-3 及 Bax 表达的影响。结果 CCK-8 法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的增殖能力呈剂量依赖性降低。结晶紫染色法发现 D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的克隆形成能力减弱。荧光探针检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的 ROS 含量增加, D-柠檬烯组添加 ROS 清除剂 N-乙酰半胱氨酸后, ROS 含量减少。EdU 染色法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的增殖能力降低, 添加 N-乙酰半胱氨酸干预后抑制 D-柠檬烯的作用。Annexin V/PI 双染法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的凋亡率升高, N-乙酰半胱氨酸干预后 D-柠檬烯的促凋亡作用减弱。Western Blot 法检测发现, D-柠檬烯组 PANC-1 细胞的凋亡相关蛋白 (PARP、Caspase-3、Bax) 的表达升高, N-乙酰半胱氨酸干预后凋亡相关蛋白的表达降低。结论 D-柠檬烯对胰腺癌细胞的抑制增殖和诱导凋亡的作用可能通过调控 ROS 发挥作用。

关键词: D-柠檬烯; 胰腺肿瘤; 细胞增殖; 细胞凋亡; 活性氧

中图分类号: R736.7 文献标识码: A 文章编号: 1001-5817(2025)01-0010-07
doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.002

Study on the effects of D-limonene on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer PANC-1 cells

CHEN Feng^{1,2}, WANG Tengfei^{1,2}, CAO Kaimei^{1,2}, PENG Tieli², QI Ling², SONG Meihui²

(1. School of Basic Medical Sciences, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China;
2. Department of Gastroenterology, Qingyuan People's Hospital, Affiliated Qingyuan Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of D-limonene on the proliferation and apoptosis of pancreatic cancer PANC-1 cells and elucidate its mechanisms. **Methods** The pancreatic cancer PANC-1 cells were divided into a control group, a D-limonene group, and an N-acetylcysteine (NAC) intervention group. The CCK-8 assay was used to detect the effect of D-limonene on the proliferation ability of PANC-1 cells. Crystal violet staining was employed to assess the impact of D-limonene on the clonogenic ability of PANC-1 cells. A fluorescent probe was used to detect changes in reactive oxygen species (ROS) levels in PANC-1 cells treated with D-limonene. The EdU staining method was applied to evaluate the effect of D-limonene on the proliferation capacity of PANC-1 cells. Apoptosis in PANC-1 cells induced by D-limonene was detected using the An-

基金项目: 国家自然科学基金项目(82203351); 广东省基础与应用基础研究基金项目(221A1515111095)

第一作者: 陈凤, 在读硕士研究生, 研究方向: 免疫学, E-mail: 13769516431@163.com

通讯作者: 宋美慧, 博士, 研究方向: DNA 损伤修复与肿瘤, E-mail: songmei-hui.gzhmu@foxmail.com

nexin V/PI double staining method. Western Blot analysis was conducted to investigate the influence of D-limonene on the expression of apoptosis-related proteins PARP, Caspase-3, and Bax in PANC-1 cells. **Results** The CCK-8 assay revealed a dose-dependent decrease in the proliferation ability of PANC-1 cells in the D-limonene group. Crystal violet staining showed a weakened clonogenic ability of PANC-1 cells in the D-limonene group. The fluorescent probe detected that the ROS content in PANC-1 cells of the D-limonene group increased. After adding the ROS scavenger NAC to the D-limonene group, the ROS content decreased. EdU staining indicated a decreased proliferation capacity of PANC-1 cells in the D-limonene group, and the inhibitory effect of D-limonene was attenuated by NAC intervention. Annexin V/PI double staining demonstrated an increased apoptosis rate in PANC-1 cells treated with D-limonene, while the pro-apoptotic effect of D-limonene was weakened after NAC intervention. Western Blot analysis showed elevated expression levels of apoptosis-related proteins (PARP, Caspase-3, and Bax) in PANC-1 cells treated with D-limonene, which were decreased upon NAC intervention ($P < 0.05$). **Conclusion** D-limonene may exert its effects on inhibiting proliferation and inducing apoptosis in pancreatic cancer cells through regulating ROS.

Key words: D-limonene; pancreatic cancer; cell proliferation; cell apoptosis; reactive oxygen species

胰腺癌是一种常见的恶性肿瘤^[1],近年来发病率不断上升,据预测到 2030 年,胰腺癌将成为导致癌症相关死亡的第二大原因^[2]。胰腺癌以综合治疗为主,早期手术切除仍是一种较为有效的治疗手段,但因大多患者发现就处于晚期,仅有 15%~20% 患者可手术切除治疗^[3-4]。化疗是晚期胰腺癌的主要治疗手段,但胰腺癌对大多数化疗药物耐药且副作用较大。因此需要寻找新型抗胰腺癌药物。近年,天然产物是新药分子的一个重要来源,为新药研发提供了很多结构新颖的活性分子。从天然产物中寻找抗癌有效成分已经成为研究热点^[5],其中萜类化合物是种类最多的一类天然物质。D-柠檬烯是一种天然的功能单萜,广泛存在于柑橘、甜橙、柚等植物中,它具有调节氧化应激、抗炎及抗癌作用^[6-7],对人体安全且耐受^[8]。研究证明 D-柠檬烯抑制癌细胞增殖,促进细胞凋亡^[9],然而 D-柠檬烯对胰腺癌细胞的作用及机制少见报道。本研究旨在探究 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞增殖的影响,并初步探讨其作用机制,为探索胰腺癌治疗新药开发提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 N-乙酰半胱氨酸(N-Acetylcysteine, NAC, 美国 Selleck 生物科技有限公司), D-柠檬烯(D-limonene, 美国 Sigma 公司), DMEM 高糖培养基、链霉素/青霉素和胰蛋白酶(美国 GIBCO 公司), 胎牛血清(澳大利亚 ExCell Bio 公司), 12% SDS-PAGETM 蛋白预制胶(南京艾思易生物科技有限公司), BCA 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), RIPA Lysis Buffer(康为世纪生物科技有限公司), Super ECL Plus 超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司), 2,7-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA, 上海碧云天生物技术股份有限公司), CCK8 试剂盒(亚科因生

物技术有限公司), Cleaved Caspase-3、PARP、Bax、 α -Tubulin 抗体和 HRP 标记二抗(美国 Cell Signaling 公司), Annexin V/PI 凋亡试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司), CO₂ 恒温培养箱(新加坡 ESCD 公司), 倒置荧光显微镜(德国 Zeiss 公司), 电泳系统(美国 BIO-RAD 公司)。

1.2 细胞培养与分组 PANC-1 细胞购自美国 ATCC 细胞库, 细胞分为对照组(0 μ M 组)、D-柠檬烯组(200 μ M、400 μ M、600 μ M 组)、D-柠檬烯+NAC 组(600 μ M+NAC 组)。细胞置于含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素混合液的 DMEM 高糖培养基中, 待融合 80% 时, 制成单细胞悬液用于后续实验。D-柠檬烯溶于二甲基亚砜(DMSO)中, D-柠檬烯与 DMSO 的比例为 1:5 配制成原液浓度为 1028 mM。使用 DMEM 完全培养基稀释终浓度为 0 μ M、200 μ M、400 μ M、600 μ M 处理细胞(所有浓度的 DMSO 含量都 < 1/1000, 为安全剂量)。NAC 原液浓度是 200 mM, 用 DMEM 完全培养基稀释成终浓度为 2 mM。

1.3 CCK-8 法检测 D-柠檬烯对 PANC-1 细胞增殖能力的影响 细胞接种于 96 孔板中, 每孔数量为 8×10^3 个。在 37 $^{\circ}$ C 恒温、5% CO₂ 浓度及饱和湿度环境下培养。细胞贴壁后, 加入 D-柠檬烯, 浓度分别为 0 μ M、200 μ M、400 μ M、600 μ M。每组设 3 个平行复孔, 作用 24 h 后, 换液为含 10 μ L CCK-8 的培养基, 孵育 2 h, 酶标仪 450 nm 处测吸光度值(A)。计算细胞的存活率(V) = (A 加药组 - A 空白组) / (A 未加药组 - A 空白组) $\times 100\%$, D-柠檬烯作用于 PANC-1 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)通过 GraphPad Prism 计算。

1.4 细胞克隆形成法检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的克隆形成能力 将细胞以每孔 500 个数量接种于 6 孔板中, 细胞贴壁后, 加入 D-柠檬烯, 浓度分别为

0 μM 、200 μM 、400 μM 和 600 μM 处理 24 h, 继续于恒温培养箱培养 14 d。4% 多聚甲醛固定, 0.5% 结晶紫染液染色, 显微镜下观察, 扫描拍照, 统计细胞克隆数目, 集落形成率 = (加药组集落数/未加药组集落数) $\times 100\%$ 。

1.5 检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的 ROS 含量 细胞以每孔 1×10^5 个接种于铺有爬片的 6 孔板中, 待细胞完全贴壁后, 加入 D-柠檬烯 0 μM 、400 μM 、600 μM , 以及 D-柠檬烯 600 μM + NAC 处理 PANC-1 细胞 24 h, 分别向各组细胞中加入 1 mL DCFH-DA (10 μM); 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的培养箱中避光孵育 30 min; PBS 洗涤细胞 2 次; 多聚甲醛固定, DAPI 复染, 激光共聚焦显微镜拍照, 随机取 5 个视野进行统计分析。

1.6 EdU 法检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的增殖能力 细胞分组处理同 1.5, 待药物作用细胞 24 h 后, 按 1000 : 1 的比例稀释 EdU 溶液, 制备成 50 μM EdU 培养基在温箱孵育 2 h 后。经固定和透化后, 加入 EdU, 室温孵育 30 min, 复染。荧光显微镜检测 EdU 阳性百分比, 随机取 3 个视野进行统计分析。

1.7 Annexin V-FITC/PI 检测 D-柠檬烯作用后 PANC-1 细胞的凋亡率 取 PANC-1 细胞, 按照每孔 2×10^4 个细胞的密度接种于 8 孔腔室盖玻片中, 每孔添加 200 μL 完全培养基, 待细胞贴壁后, D-柠檬烯 0 μM 、400 μM 、600 μM , 以及 D-柠檬烯 600 μM + NAC 处理 PANC-1 细胞 24 h。每孔加入 2 μL 的 Annexin V-FITC 和 2 μL 的 PI 染液, 避光室温孵育 30 min 后, 荧光显微镜拍摄, 随机取 3 个视野计数阳性细胞和全部细胞, 阳性细胞所占百分比即为细胞凋亡率。

1.8 Western Blot 检测 PANC-1 细胞 PARP、Cleaved Caspase-3、Bax 蛋白表达 使用对数生长期的 PANC-1 细胞, 以每孔 2×10^5 个的细胞密度接种于 6 cm 皿中, 待细胞生长至 70% ~ 80% 的密度, D-柠檬烯 0 μM 、400 μM 、600 μM , 以及 D-柠檬烯 600 μM +

NAC 处理 PANC-1 细胞 24 h。收集细胞并裂解细胞以提取细胞总蛋白, BCA 试剂盒定量, 加入 Loading buffer, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性。上样进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜后。5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h, 加入一抗 (1 : 1000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 二抗 (1 : 2000) 孵育 1.5 h, TBST 洗涤 3 次, 凝胶成像系统拍照, 3 次重复结果使用 ImageJ 软件对目的蛋白和内参的条带灰度值进行统计, 两个条带的灰度值比即为目标蛋白的相对表达水平。

1.9 统计学方法 使用 GraphPad Prism 8 软件作图和统计分析, 胰腺癌细胞增殖能力、克隆形成率、ROS 含量、细胞凋亡率、蛋白表达水平, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

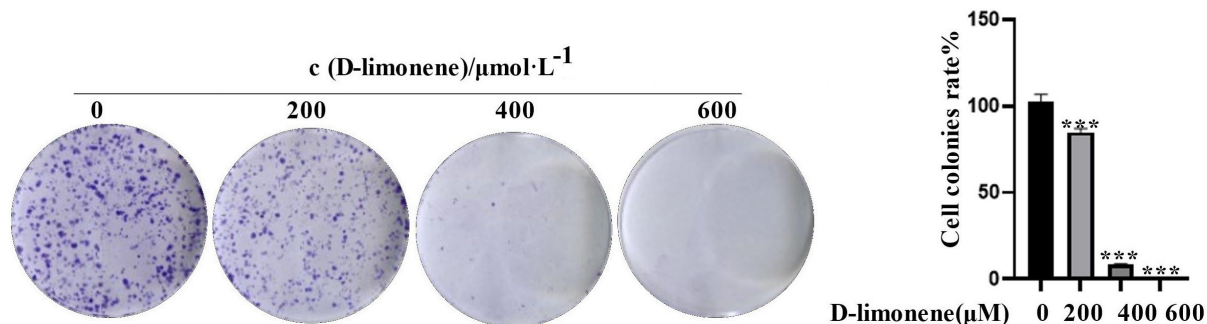
2.1 D-柠檬烯抑制胰腺癌细胞的增殖能力 结果如表 1 所示, CCK8 结果显示, 与 0 μM 相比, 200 μM 、400 μM 、600 μM D-柠檬烯组胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖能力均减弱, 并呈明显的剂量依赖性, 计算 IC_{50} 值为 505.9 μM 。

表 1 D-柠檬烯抑制胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖能力

D-柠檬烯/ μM	<i>n</i>	细胞存活率/%
0	3	100.00 \pm 3.02
200	3	91.66 \pm 8.29
400	3	74.71 \pm 6.00 ^a
600	3	31.71 \pm 5.73 ^b

注: ①表内计量资料数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示; ②与 0 μM 比较, a: $P < 0.01$, b: $P < 0.001$ 。

2.2 D-柠檬烯抑制胰腺癌细胞的克隆形成能力 结果如图 1, 克隆形成实验发现, 与对照组相比, D-柠檬烯组的 PANC-1 细胞的克隆形成能力减弱 ($P < 0.001$), 且呈浓度依赖性。

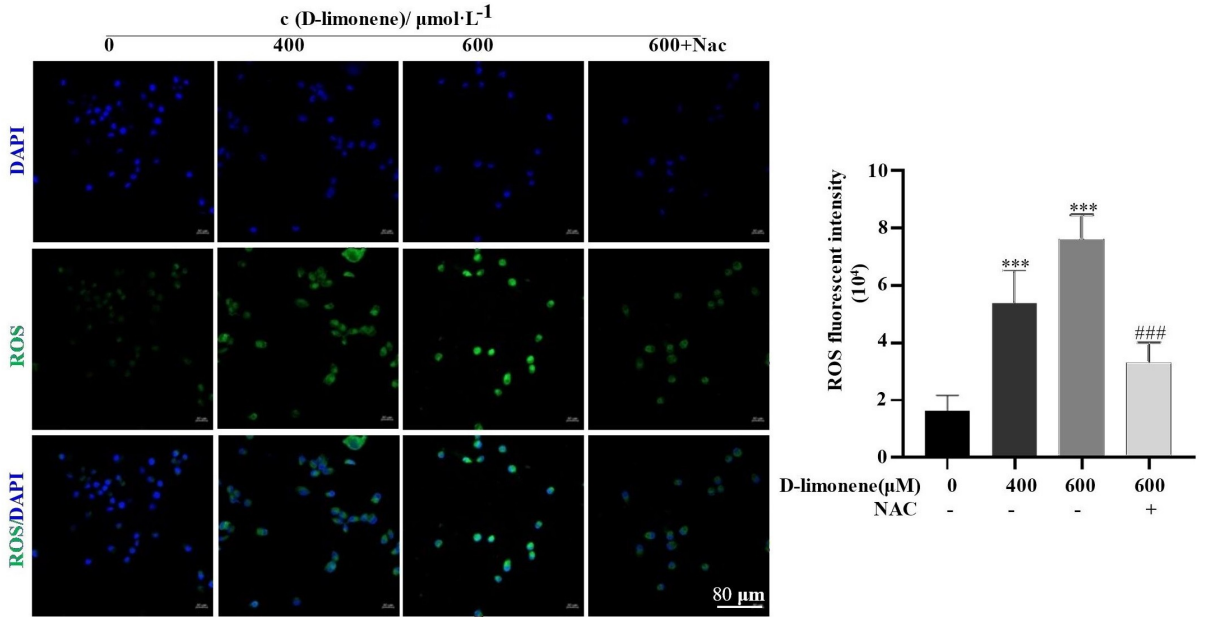


注: 与 0 μM 组相比较, *** $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 1 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞克隆形成的影响

2.3 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞 ROS 的影响
 结果如图 2 所示,DCFH-DA 法检测发现,与对照组相比,D-柠檬烯组胰腺癌 PANC-1 细胞的 ROS 含量升高

($P < 0.001$)。且随着 D-柠檬烯浓度增加,胰腺癌 PANC-1 细胞的 ROS 含量进一步升高。而添加 NAC 后,PANC-1 细胞内 ROS 的含量降低($P < 0.001$)。

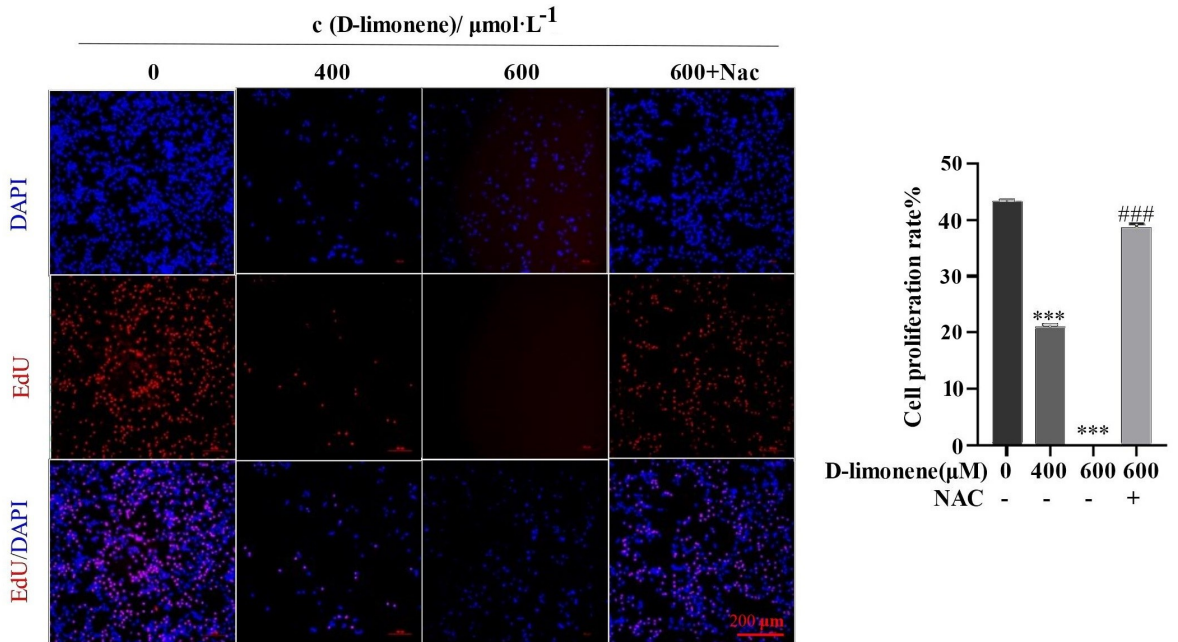


注:与 0 μM 组相比较,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 5$ 。

图 2 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞 ROS 的影响

2.4 NAC 干预后 D-柠檬烯对胰腺癌细胞增殖的影响
 结果如图 3 所示,EdU 染色实验显示,与对照组

相比,D-柠檬烯组的 PANC-1 细胞增殖能力减弱,添加 NAC 干预后细胞增殖能力有所提高($P < 0.001$)。



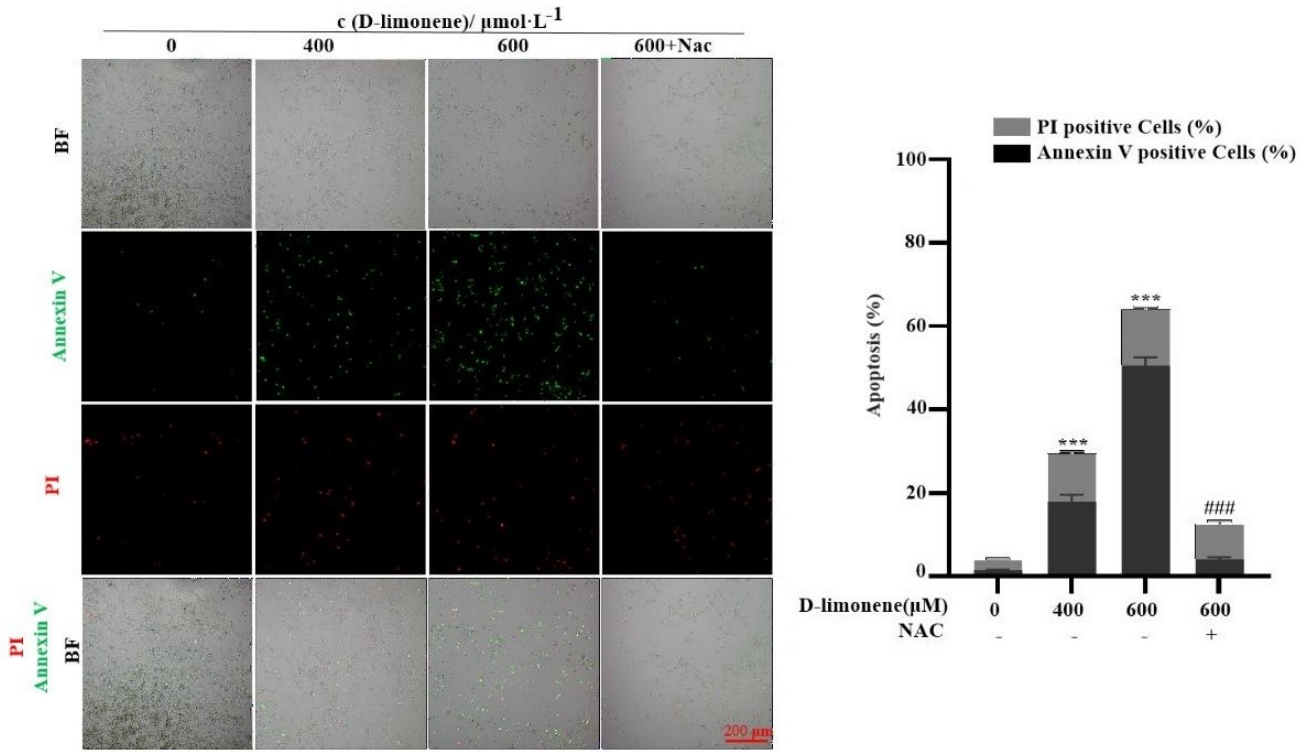
注:与 0 μM 组相比较,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 3 D-柠檬烯对 PANC-1 胞增殖形成的影响(10×)

2.5 NAC 干预后 D-柠檬烯对胰腺癌细胞凋亡的影响
 结果如图 4 所示,Annexin V/PI 双染法检测发

现,与对照组相比,D-柠檬烯组胰腺癌 PANC-1 细胞的凋亡率升高($P < 0.001$)。D-柠檬烯组添加 NAC 后,

胰腺癌细胞的凋亡率降低 ($P < 0.001$)。

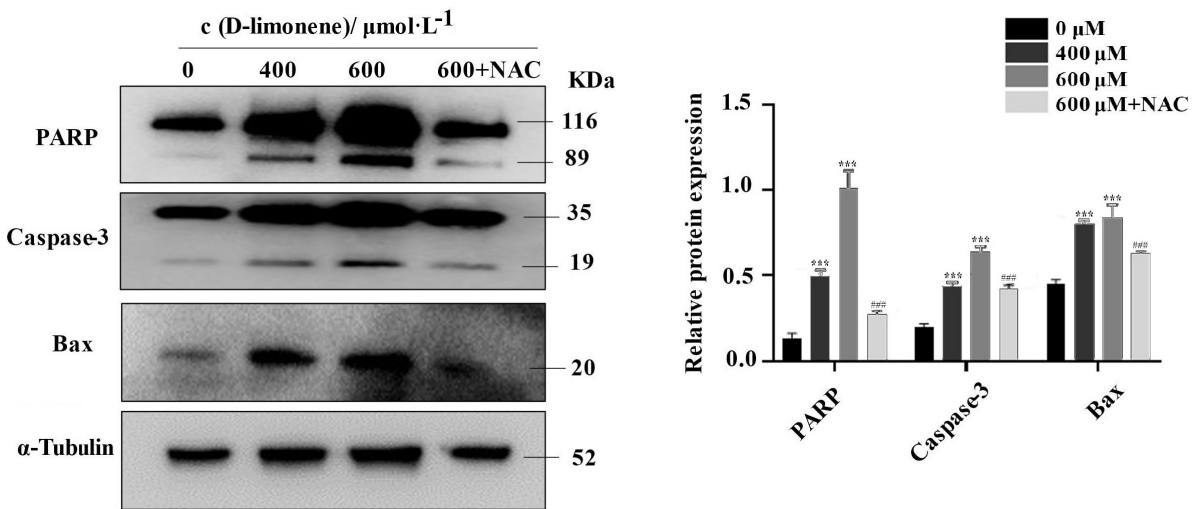


注:与 0 μM 组相比,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 4 D-柠檬烯诱导胰腺癌 PANC-1 细胞的凋亡情况(10×)

2.6 D-柠檬烯通过 ROS 诱导胰腺癌细胞凋亡 结果如图 5 所示,Western Blot 检测发现,与对照组相比,D-柠檬烯组的 PARP、Caspase-3、Bax 蛋白表达均明显升高。随着 D-柠檬烯浓度增加,胰腺癌 PANC-1 细胞

的 PARP、Caspase-3、Bax 蛋白表达进一步升高 ($P < 0.001$)。D-柠檬烯组添加 NAC 后,胰腺癌 PANC-1 细胞 PARP、Caspase-3、Bax 蛋白表达降低 ($P < 0.001$)。



注:与 0 μM 组相比,*** $P < 0.001$;与 600 μM 组比较,### $P < 0.001$, $n = 3$ 。

图 5 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞蛋白表达的影响

3 讨论

胰腺癌作为最致命的癌症之一^[10]。在临床中面临着发病率、复发率、死亡率高,手术切除率低等难题,

因此寻找新的化疗药物对其进行防治是减低胰腺癌患者死亡率的关键。近年来天然化合物展现出显著的抗肿瘤活性和低毒性^[11],在抗肿瘤治疗中发挥举足轻重

的作用,越来越受到关注。D-柠檬烯是一种具有芳香气味的单环萜烯^[12],已被证明在多种肿瘤细胞可以通过自噬、诱导细胞凋亡和周期阻滞发挥抑制增殖作用^[13]。在结直肠癌细胞中,D-柠檬烯通过抑制 Akt 信号通路,激活线粒体凋亡信号通路^[14]。在肝癌细胞中,D-柠檬烯增强 M6P/IGF-2 和 TGF- β 1 的表达,并与细胞凋亡有关^[15]。徐耀庭等^[16]发现 D-柠檬烯对人膀胱癌细胞具有显著的抑制作用,它能使细胞停滞于 S 期,诱导细胞凋亡。也有报道 D-柠檬烯通过诱导肺癌细胞的自噬和凋亡而表现出抗肿瘤活性^[9],也有体内实验表明 D-柠檬烯可以通过抑制氧化应激和炎症反应从而抑制小鼠雄性睾丸损伤^[17]。本研究应用不同浓度的 D-柠檬烯处理后,CCK-8 和克隆形成实验发现,胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖能力呈剂量依赖性下降。这初步说明了 D-柠檬烯抑制胰腺癌细胞的增殖能力,但其机制不明。ROS 是氧化代谢产生的化学活性含氧分子,在细胞信号传导中发挥着重要作用。高浓度的 ROS 可以触发细胞凋亡^[18]。多种天然化合物通过激活 ROS 从而诱导肿瘤细胞凋亡。YANG L P 等^[19]发现雷公藤红素可以通过增加 ROS 水平从而诱导肿瘤细胞凋亡;肖丹等^[20]发现黄芩苷通过诱导 ROS 发生抑制人 T 细胞淋巴瘤的增殖并促进凋亡;王玲等^[21]发现 D-柠檬烯可以通过调控细胞内活性氧和 Caspase-3 蛋白的表达诱导胃癌细胞凋亡。有报道称^[22],基于 ROS 升高产生的氧化应激可诱导细胞凋亡。本研究采用了不同浓度的 D-柠檬烯处理胰腺癌 PANC-1 细胞,观察 D-柠檬烯对胰腺癌 PANC-1 细胞 ROS 的影响,结果显示,随着 D-柠檬烯浓度增加,ROS 含量增加。D-柠檬烯组添加 ROS 清除剂 NAC 干预后,ROS 含量减少。进一步研究发现,随着 D-柠檬烯浓度增加,PANC-1 细胞凋亡率增加,添加 NAC 干预后可抑制 D-柠檬烯的作用。以上表明,在 D-柠檬烯介导 PANC-1 细胞凋亡过程中,ROS 发挥着一定调控作用。细胞凋亡是一种受调节的细胞死亡形式,其特征是半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶的激活、蛋白质和 DNA 的降解以及膜的改变。有两条基本的信号通路:内源性和外源性。细胞凋亡细胞内微环境的紊乱,如 DNA 损伤、ROS 超载和氧化应激,会激活线粒体内在凋亡途径^[23]。线粒体内在凋亡途径的关键事件是 Caspase 的激活,启动 Caspase 级联反应,切割细胞中 α -tubulin、PARP 等底物,最终导致细胞凋亡。细胞内 ROS 的产生已经被证明可以促进细胞周期阻滞、激活多种信号通路、诱导线粒体功能障碍等方式,从而诱导细胞凋亡^[24]。本研究发现,D-柠檬烯处理后胰腺癌细胞 PANC-1 中的 PARP、Caspase-3 以及 Bax 蛋白表达增加。添加 NAC 干预后,胰腺癌细胞 PANC-1 中

PARP、Caspase-3 以及 Bax 蛋白表达水平明显下降。提示 D-柠檬烯诱导胰腺癌 PANC-1 细胞凋亡的作用可能通过调控 ROS 发挥作用。综上,本研究证实了 D-柠檬烯可能是一种有效的抗胰腺癌 PANC-1 细胞的天然化合物,并且,D-柠檬烯可能通过激活 ROS 介导的线粒体凋亡途径促使 PANC-1 细胞发生凋亡。本研究为胰腺癌的治疗提供了一种新的策略,有助于提高胰腺癌患者的生存率。

参考文献:

- [1] ANSARI D, TINGSTEDT B, ANDERSSON B, et al. Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow [J]. *Future Oncol*, 2016, 12(16): 1929-1946.
- [2] WUNGKI P, AKHIL C, EILEEN M O. Pancreatic cancer: a review [J]. *JAMA*, 2021; 326(9): 851-862.
- [3] CAI J, CHEN H D, LU M, et al. Advances in the epidemiology of pancreatic cancer: trends, risk factors, screening, and prognosis [J]. *Cancer Lett*, 2021, 520: 1-11.
- [4] SINGHI A D, KOAY E J, CHARI S T, et al. Early detection of pancreatic cancer: opportunities and challenges [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(7): 2024-2040.
- [5] LUO Z W, YIN F C, WANG X B, et al. Progress in approved drugs from natural product resources [J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22(3): 195-211.
- [6] 黄巧娟, 孙志高, 龙勇, 等. D-柠檬烯抗癌机制的研究进展 [J]. *食品科学*, 2015, 36(7): 240-244.
- [7] ZHANG X Z, WANG L, LIU D W, et al. Synergistic inhibitory effect of berberine and d-limonene on human gastric carcinoma cell line MGC803 [J]. *J Med Food*, 2014, 17(9): 955-962.
- [8] CHEBET J J, EHIRI J E, MCCLELLAND D J, et al. Effect of d-limonene and its derivatives on breast cancer in human trials: a scoping review and narrative synthesis [J]. *BMC Cancer*, 2021; 21(1): 902.
- [9] YU X, LIN H Y, WANG Y, et al. D-limonene exhibits antitumor activity by inducing autophagy and apoptosis in lung cancer [J]. *Oncotargets Ther*, 2018, 11: 1833-1847.
- [10] KLATTE D C F, WALLACE M B, LÖHR M, et al. Hereditary pancreatic cancer [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2022, 58-59: 101783.
- [11] 焦泉慧, 钟凌云, 程子文, 等. 中药及其天然产物通过靶向铁死亡治疗癌症研究进展 [J]. *医药导报*, 2024, 43(3): 408-413.
- [12] 宋琨燕, 李金梦, 鄢烽, 等. 柑橘皮中 d-柠檬烯的提取及在食品保鲜中的应用研究进展 [J]. *食品工业*, 2023, 44(7): 217-221.
- [13] MANDAL D, SAHU B R, PARIJA T. Combination of tamoxifen and D-limonene enhances therapeutic efficacy in breast cancer cells [J]. *Med Oncol*, 2023; 40(8): 216.

(下转第 22 页)

- et al. DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(11):1806-1813.
- [23] PIPAS J M, ZAKI B I, MCGOWAN M M, et al. Neoadjuvant cetuximab, twice-weekly gemcitabine, and intensity-modulated radiotherapy (IMRT) in patients with pancreatic adenocarcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(11):2820-2827.
- [24] HUANG X, TANG T Y, WANG X, et al. Calreticulin couples with immune checkpoints in pancreatic cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2020, 10(1):36-44.
- [25] JI Y L, LI F X, ZHANG H, et al. Targeting TRIM40 signaling reduces esophagus cancer development: a mechanism involving in protection of oroxylin A [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 137:112362.
- [26] HU F Y, ZHAO L L, WANG J Y, et al. TRIM40 interacts with ROCK1 directly and inhibits colorectal cancer cell proliferation through the c-Myc/p21 axis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2024, 1871(8):119855.
- [27] SHEN J J, WU Q, LIANG T Y, et al. TRIM40 inhibits IgA1-induced proliferation of glomerular mesangial cells by inactivating NLRP3 inflammasome through ubiquitination [J]. *Mol Immunol*, 2021, 140:225-232.
- [28] SHEN Y, TANG K J, CHEN D D, et al. Riok3 inhibits the antiviral immune response by facilitating TRIM40-mediated RIG-I and MDA5 degradation [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(12):109272.
- [29] JIA X Z, ZHAO C Y, ZHAO W. Emerging roles of MHC class I region-encoded E3 ubiquitin ligases in innate immunity [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:687102.
- [30] PAN Q, XIE Y, ZHANG Y, et al. EGFR core fucosylation, induced by hepatitis C virus, promotes TRIM40-mediated-RIG-I ubiquitination and suppresses interferon-I antiviral defenses [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):652.
- [31] ZHAO C Y, JIA M T, SONG H, et al. The E3 ubiquitin ligase TRIM40 attenuates antiviral immune responses by targeting MDA5 and RIG-I [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(6):1613-1623.
- [32] YANG H G, MENG L, AI D B, et al. Acetic acid alleviates the inflammatory response and liver injury in septic mice by increasing the expression of TRIM40 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4):2789-2798.
- [33] XU X Z, LAN X M, FU S H, et al. TRIM40 ameliorates diabetic retinopathy through suppressing inflammation via Reelin/DAB1 signaling disruption; a mechanism by proteasomal degradation of DAB1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 664:117-127.

收稿日期:2024-11-26;修回日期:2024-12-28

(本文编辑 钟琳)

(上接第 15 页)

- [14] JIA S S, XI G P, ZHANG M, et al. Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(1):349-354.
- [15] GIRI R K, PARIJA T, DAS B R. D-limonene chemoprevention of hepatocarcinogenesis in AKR mice; inhibition of c-jun and c-myc [J]. *Oncol Rep*, 1999, 6(5):1123-1127.
- [16] 徐耀庭, 李劲松, 顾炜, 等. D-柠檬烯诱导人膀胱癌细胞周期阻滞及凋亡的研究 [J]. *中国医学工程*, 2010, 18(3):6-9.
- [17] YANG Y P, HONG Y, HAN J, et al. D-limonene alleviates oxidative stress injury of the testis induced by arsenic in rat [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2024, 202(6):2776-2785.
- [18] SHAN M H, QIN J F, JIN F F, et al. Autophagy suppresses isoprenaline-induced M2 macrophage polarization via the ROS/ERK and mTOR signaling pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 110:432-443.
- [19] YANG L P, HAO J, CHEN D. Role of oxidative stress in anti-cancer activity of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Tradit Med Res*, 2021, 6(6):50.
- [20] 肖丹, 钟华, 徐岚, 等. 黄芩苷通过诱导 ROS 发生抑制人 T 细胞淋巴瘤的增殖并促进凋亡 [J]. *肿瘤*, 2020, 40(8):541-548.
- [21] 王玲, 张秀珍. D-柠檬烯对人胃癌 MGC803 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *生命科学仪器*, 2009, 7(1):26-28.
- [22] CHEN X, ZHAO Y, LUO W, et al. Celastrol induces ROS-mediated apoptosis via directly targeting peroxiredoxin-2 in gastric cancer cells [J]. *Theranostics*, 2020, 10(22):10290-10308.
- [23] LING Z P, PAN J P, ZHANG Z F, et al. Small-molecule Molephantin induces apoptosis and mitophagy flux blockage through ROS production in glioblastoma [J]. *Cancer Lett*, 2024, 592:216927.
- [24] CHANG T M, CHI M C, CHIANG Y C, et al. Promotion of ROS-mediated apoptosis, G2/M arrest, and autophagy by naringenin in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(3):1093-1109.

收稿日期:2024-09-25;修回日期:2024-10-21

(本文编辑 钟琳)