

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.11.001

文章编号: 1005-8982 (2020) 11-0001-06

基础研究 · 论著

毛蕊异黄酮对肺腺癌 SPC-A1 细胞 增殖和凋亡的影响 *

周立霞¹, 关洪全², 马贤德², 王丹³

[1. 遵义医科大学第五附属(珠海)医院, 广东 珠海 519100; 2. 辽宁中医药大学基础医学院, 辽宁 沈阳 110847; 3. 锦州医科大学研究生学院, 辽宁 锦州 121001]

摘要: **目的** 探讨毛蕊异黄酮对肺腺癌 SPC-A1 细胞增殖与凋亡的影响。**方法** 将 25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮分别作用 SPC-A1 细胞 12、24、36 及 48 h 后, 用 MTT 法检测其对 SPC-A1 细胞增殖的抑制作用; Hoechst 33258 染色观察 SPC-A1 细胞核变化, 流式细胞术检测 SPC-A1 细胞凋亡情况; 不同浓度毛蕊异黄酮作用 SPC-A1 细胞 48 h 后, Western blotting 及逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测 SPC-A1 细胞 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白及 mRNA 的表达水平。**结果** 毛蕊异黄酮能有效抑制 SPC-A1 细胞的增殖, 且呈浓度和时间依赖性($P < 0.05$), 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮作用 SPC-A1 细胞 48 h 后, 细胞增殖抑制率可高达 $(81.26 \pm 0.05)\%$; 毛蕊异黄酮能够诱导 SPC-A1 细胞凋亡, 引起核固缩, 形成凋亡小体, 细胞凋亡率从 $(3.12 \pm 1.07)\%$ 升至 $(42.78 \pm 2.16)\%$ ($P < 0.05$); 毛蕊异黄酮可以抑制 SPC-A1 细胞中 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白及 mRNA 的表达, 组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 毛蕊异黄酮可通过降低 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白及 mRNA 的表达抑制 SPC-A1 细胞的增殖, 毛蕊异黄酮对 SPC-A1 细胞具有诱导凋亡作用。

关键词: 肺癌; 毛蕊异黄酮; 增殖; 凋亡

中图分类号: R733

文献标识码: A

Effect of calycosin on proliferation and apoptosis of lung adenocarcinoma cell line SPC-A1*

Li-xia Zhou¹, Hong-quan Guan², Xian-de Ma², Dan Wang³

[1. The Fifth Affiliated Hospital of Zunyi Medical University (Zhuhai), Zhuhai, Guangdong 519100, China; 2. College of Basic Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110847, China; 3. Graduate School, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China]

Abstract: **Objective** To investigate the effect of calycosin on proliferation and apoptosis of lung adenocarcinoma cells line SPC-A1 in vitro. **Methods** After treatment with different concentrations of calycosin (25, 50 and 100 $\mu\text{g/ml}$) for different time (12, 24, 36 and 48 h), the proliferation of lung adenocarcinoma SPC-A1 cells were detected by MMT assay; Hoechst33258 fluorescent staining was employed to observe the nucleus; the cells apoptosis were detected by flow cytometry; Western blot and real-time PCR experiment were used to analyze the expression of calycosin levels of Cyclin D1, CDK4, CDK6 protein and mRNA in SPC-A1 cells with (25, 50 and 100 $\mu\text{g/ml}$) calycosin for 48 h. **Results** MTT experiment showed that the cell proliferation of SPC-A1 cells was inhibited by calycosin, and in a dose-dependent and time-dependent manner ($P < 0.05$), with inhibitory rate of (81.26 ± 0.05)

收稿日期: 2019-12-09

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金 (No: 20170540376)

[通信作者] 关洪全, E-mail: hongquanguan@sina.com; Tel: 13066516031

% at 100 $\mu\text{g/ml}$ calycosin for 48 h; calycosin could induce apoptosis of SPC-A1 cells, cause the nucleus pycnosis, produce apoptosis bodies, and the apoptosis rate of SPC-A1 cells increased from $(3.12 \pm 1.07) \%$ to $(42.78 \pm 2.16) \%$ ($P < 0.05$) as detected by flow cytometry; Western blotting and RT-PCR experiment demonstrated that the expression of Cyclin D1, CDK4, CDK6 of SPC-A1 cells can be inhibited by calycosin, with significant difference among groups ($P < 0.05$). **【Conclusions】** Calycosin can inhibit the proliferation of SPC-A1 cells by inhibiting expression of Cyclin D1, CDK4, CDK6 protein and their mRNA, and induce apoptosis of SPC-A1 cells.

Keywords: lung neoplasms; calycosin; proliferation; apoptosis

近年来,全世界肺癌的发病率和病死率呈上升趋势,尽管手术、放疗、化疗、靶向和免疫治疗等综合治疗措施能提高患者的治愈率,但是大部分患者生存率仍偏低^[1]。因此,寻找新的肺癌治疗方法显得尤为迫切。我国应用中草药治病历史悠久,中草药具有活血化瘀、清热解毒、扶正固本等功效,且其抗肿瘤毒副作用较小,不易产生耐药性,备受患者青睐。目前研究结果显示,中药在诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、逆转肿瘤细胞多药耐药、抑制肿瘤细胞侵袭转移等方面发挥重要作用。因此,本研究探讨中药对肺癌患者的治疗价值,以期对肺癌患者的多学科综合治疗开拓一种新的途径。

毛蕊异黄酮是中药黄芪有效活性成分之一,具有低毒、作用靶点多等特点^[2-4]。大量流行病学研究表明,毛蕊异黄酮具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤转移等多种活性,在预防和治疗肿瘤上有广泛的应用前景。有研究报道,毛蕊异黄酮在乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、膀胱癌、骨肉瘤等肿瘤中都具有抗肿瘤作用^[5-6]。但对肺癌的抗肿瘤作用机制的研究较少。CHENG 等^[7]在毛蕊异黄酮抑制肺癌 A549 细胞侵袭的体外研究中发现,毛蕊异黄酮可能通过抑制 ERK1/2 通路下调 MMP-2 和 MMP-9 的表达,抑制 A549 细胞的侵袭。同时,在裸鼠的研究中发现,毛蕊异黄酮能明显抑制肿瘤细胞的生长,生存曲线显示毛蕊异黄酮可以明显延长荷瘤小鼠的生存周期。

本研究以肺癌细胞系 SPC-A1 细胞为研究对象,探讨毛蕊异黄酮对 SPC-A1 细胞的增殖和凋亡的影响,并初步探索其简单机制,为临床上毛蕊异黄酮的应用提供更多的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人 SPC-A1 肺癌细胞株(中国医学科学院肿瘤细胞库),DMEM 培养基(美国 Invitrogen 公司),胎牛血清(天津灏洋公司),毛蕊异黄酮(美国 Selleck 公司),四

甲基偶氮唑蓝(MTT)、Cyclin D1、CDK4、CDK6 和 GAPDH(美国 Santa Cruz 公司),逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒(大连宝生生物工程有限公司),引物合成(北京华大基因)。

1.2 仪器与设备

超纯水处理装置(明澈-D 24 UV,美国 Merck Millipore 公司),SANYO MCO-20AIC 型二氧化碳培养箱(日本三洋公司),激光共聚焦显微镜 Leica TCS SP5 II(美国 Leica 公司),FACS Calibur 流式细胞仪(美国 BD 公司),Applied Biosystems Veriti PCR 仪(美国 Bio Rad 公司),Quixell™ 定量 PCR 仪(美国 Bio Rad 公司),实时定量 PCR 仪(美国 MiniOpticon 公司),Nanodrop 2000c 分光光度计(中国 Thermo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组 对照组:人肺腺癌 SPC-A1 细胞培养基中不含毛蕊异黄酮;实验组(分成 25 $\mu\text{g/ml}$ 组、50 $\mu\text{g/ml}$ 组及 100 $\mu\text{g/ml}$ 组):人肺腺癌 SPC-A1 细胞培养基更换成含毛蕊异黄酮培养基,终浓度分别为 25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 。

1.3.2 细胞培养 以含 10% 胎牛血清的 DMEM(表达载体)培养基,在 37℃、5% 的二氧化碳培养箱中孵育人肺腺癌 SPC-A1 细胞株,传代时用胰酶消化,以胰酶抑制剂终止消化。将人肺腺癌 SPC-A1 细胞株以 1×10^5 个/ml 浓度接种于 96 孔培养板,细胞贴壁后,分别加入 0、25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮 0.1 ml。

1.3.3 MTT 实验 取各个药物浓度处理后的 SPC-A1 细胞,于 0、12、24、36 及 48 h 时间点,通过 MTT 法检测细胞增殖情况。以二甲基亚砜(DMSO)处理作为对照。于 0、12、24、36 及 48 h 分别加入 5 mg/ml MTT 10 μl ,培养 4 h 后弃上清,每孔中加入 DMSO 200 μl ,溶解后在波长 490 nm 处记录光密度(OD)值,计算细胞增殖抑制率。药物对细胞抑制率计算方法:细胞生长抑制率 = (对照组 OD 值 - 药物组 OD 值) /

对照组 OD 值 $\times 100\%$, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 计算方法: 用细胞存活率做剂量对数图, 并按作图法求出 IC₅₀ 值。

1.3.4 流式细胞术 取处于对数生长期的 SPC-A1 细胞, 常规培养 24 h 后, 一组加入 0、25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 的毛蕊异黄酮培养液, 培养细胞 48 h。另一组加入 100 $\mu\text{g/ml}$ 的毛蕊异黄酮, 培养细胞 12、24 及 48 h。将收集的细胞离心洗涤后加入预冷的 70% 乙醇, 吹打均匀, 4℃ 过夜。磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤重悬细胞后, 加入碘化丙啶染液, 4℃ 染色 30 min, 用流式细胞仪进行检测。

1.3.5 Hoechst 33258 染色 SPC-A1 细胞与 NaCl、25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮孵育 48 h。孵育结束后, 细胞以 4% 多聚甲醛固定, 然后用 PBS 冲洗 2 次, 加入 10 $\mu\text{g/ml}$ Hoechst 33258 室温下染色 5 min, 用 PBS 冲洗 3 次。荧光显微镜下观察。

1.3.6 Western blotting 取不同浓度毛蕊异黄酮处理 48 h 后的 SPC-A1 细胞, 弃去培养液, PBS 洗涤 3 次, 裂解液在冰上裂解细胞 30 min, 用吸管反复吹打细胞使其悬浮, 提取出来的蛋白 4℃、12 000 r/min 离心 20 min。将提取出来的总蛋白电泳, 将不同分子量的蛋白分离开来, 再转至 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶室温孵育 2 h, TBST 缓冲液洗涤 3 次, 接着孵育抗 Cyclin D1、CDK4、CDK6 抗体 (1 : 1 000) 和抗 GAPDH 抗体 (1 : 1 000), 在 4℃ 条件下过夜。二抗 (1 : 5 000) 孵育 1 h, TBST 缓冲液洗涤 3 次, 超敏发光液发光, 用凝胶成像系统照相扫描对其灰度值进行分析, 以 Cyclin D1、CDK4、CDK6 灰度值与内参 GAPDH 的比值表示其蛋白表达水平。

1.3.7 RT-PCR 取不同浓度毛蕊异黄酮处理 48 h 后的 SPC-A1 细胞, 用 Trizol 法提取各组 SPC-A1 细胞总 RNA, 使用逆转录试剂盒, 在 20 μl 总体积中取 1 μg , 逆转录成 cDNA。使用实时荧光定量 PCR 仪及试剂盒进行检测。PCR 反应条件为 60℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 10 s, 共 50 个循环。所有反应至少重复 3 次。

计算目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 毛蕊异黄酮抑制 SPC-A1 细胞增殖

0、25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮分别作用于 SPC-A1 细胞 12、24、36 和 48 h 后细胞增殖抑制率的变化采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点比较, SPC-A1 细胞增殖抑制率有差异 ($F = 25.074$, $P = 0.012$); ②各组比较, SPC-A1 细胞增殖抑制率有差异 ($F = 67.536$, $P = 0.003$); ③各组 SPC-A1 细胞增殖抑制率变化趋势有差异 ($F = 18.536$, $P = 0.026$)。实验结果表明, 毛蕊异黄酮可以显著抑制 SPC-A1 细胞的增殖, 且随着毛蕊异黄酮浓度的增加和作用时间的延长, 对细胞的增殖抑制作用明显增加, 说明毛蕊异黄酮对细胞增殖的抑制作用具有浓度和时间依赖性。见表 1 和图 1。毛蕊异黄酮对 SPC-A1 细胞 24、36 及 48 h 的 IC₅₀ 分别为 71.2、30.4 和 22.6 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.2 毛蕊异黄酮提高 SPC-A1 细胞凋亡率

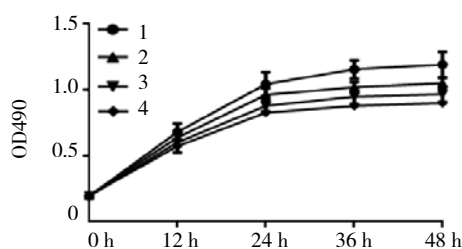
流式细胞仪结果显示: 不同浓度毛蕊异黄酮作用 SPC-A1 细胞 48 h 后, 4 组 SPC-A1 细胞凋亡率比较, 采用方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 2。

毛蕊异黄酮 100 $\mu\text{g/ml}$ 作用于 SPC-A1 细胞 12、24 和 48 h 后对其细胞凋亡率的影响采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点比较, SPC-A1 细胞凋亡率有差异 ($F = 46.148$, $P = 0.004$); ②两组 SPC-A1 细胞凋亡率有差异 ($F = 68.741$, $P = 0.001$); ③两组 SPC-A1 细胞凋亡率变化趋势有差异 ($F = 14.536$, $P = 0.032$)。实验结果表明, 毛蕊异黄酮可

表 1 各组不同时间点 SPC-A1 细胞的增殖抑制率 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	12 h	24 h	36 h	48 h
对照组	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
25 $\mu\text{g/ml}$ 组	8.89 $\pm$ 0.08	34.56 $\pm$ 1.83	47.56 $\pm$ 1.78	56.67 $\pm$ 0.85
50 $\mu\text{g/ml}$ 组	14.36 $\pm$ 0.96 ^{①②}	48.34 $\pm$ 0.43 ^{①②}	60.56 $\pm$ 0.38 ^{①②}	72.56 $\pm$ 1.34 ^{①②}
100 $\mu\text{g/ml}$ 组	17.96 $\pm$ 1.23 ^{①②③}	56.56 $\pm$ 0.04 ^{①②③}	69.56 $\pm$ 1.45 ^{①②③}	81.26 $\pm$ 0.05 ^{①②③}

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 25 $\mu\text{g/ml}$ 组比较, $P < 0.05$; ③与 50 $\mu\text{g/ml}$ 组比较, $P < 0.05$ 。

1: 0 $\mu\text{g/ml}$; 2: 25 $\mu\text{g/ml}$; 3: 50 $\mu\text{g/ml}$; 4: 100 $\mu\text{g/ml}$ 。图 1 不同浓度毛蕊异黄酮作用下 SPC-A1 细胞的增殖情况 ($\bar{x} \pm s$)表 2 不同浓度毛蕊异黄酮作用 48 h 后 SPC-A1 细胞凋亡率的比较 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

组别	凋亡率
对照组	4.56 ± 1.26
25 $\mu\text{g/ml}$ 组	14.78 ± 2.32 ^①
50 $\mu\text{g/ml}$ 组	26.49 ± 4.65 ^{①②}
100 $\mu\text{g/ml}$ 组	42.78 ± 2.16 ^{①②③}
F 值	78.495
P 值	0.001

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 25 $\mu\text{g/ml}$ 组比较, $P < 0.05$; ③与 50 $\mu\text{g/ml}$ 组比较, $P < 0.05$ 。

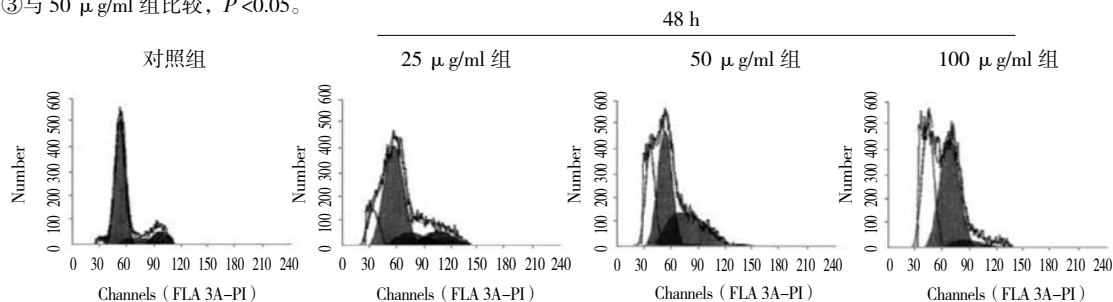
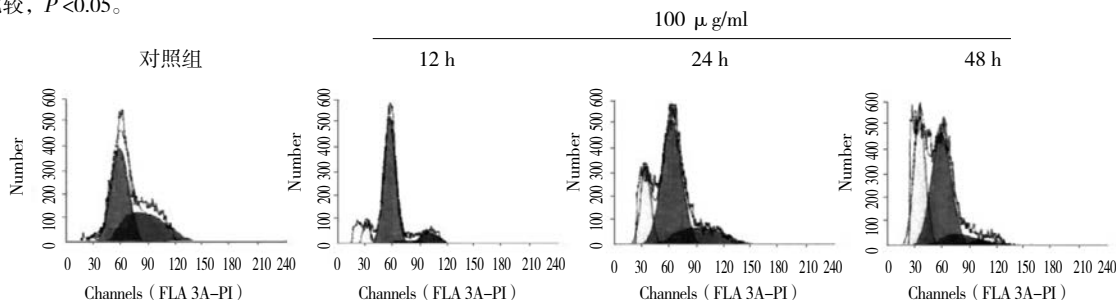


图 2 不同浓度毛蕊异黄酮作用 48 h 后对 SPC-A1 细胞凋亡率的影响

表 3 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮作用不同时间后 SPC-A1 细胞凋亡率的比较 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

组别	12 h	24 h	48 h
对照组	1.01 ± 0.02	1.02 ± 0.01	1.00 ± 0.03
100 $\mu\text{g/ml}$ 组	8.56 ± 4.35 ^①	24.65 ± 3.76 ^{①②}	42.78 ± 2.16 ^{①②③}

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 12 h 比较, $P < 0.05$; ③与 24 h 比较, $P < 0.05$ 。

图 3 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮作用不同时间后对 SPC-A1 细胞凋亡率的影响

以诱导 SPC-A1 细胞发生凋亡, 且随着毛蕊异黄酮浓度的增加和作用时间的延长, 细胞的凋亡率升高。见表 3 和图 3。

2.3 毛蕊异黄酮诱导 SPC-A1 细胞凋亡

Hoechst 33258 染色后荧光显微镜下观察, 发现对照组几乎所有细胞核形态完整, 呈圆形, 淡蓝色, 染色质在核内均匀分布; 毛蕊异黄酮作用 48 h 后, 细胞核呈亮蓝色, 固缩状或团块状结构, 核内染色质浓缩, 边集凝聚成大小不同的块, 形成凋亡小体。随着毛蕊异黄酮浓度的增加, 细胞核碎裂程度也明显增加, 具有凋亡形态的细胞数目也增加。见图 4。

2.4 毛蕊异黄酮抑制 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白及 mRNA 表达

0、25、50 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 毛蕊异黄酮分别加入 SPC-A1 细胞中, 作用 24 h 后, 结果显示, 毛蕊异黄酮可以抑制细胞在 G_1 期进行 G_1/S 期的转换, 随着浓度的增加, G_0/G_1 期细胞比例升高, S 期及 G_2/M 期细胞比例降低, 4 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

不同浓度毛蕊异黄酮对 Cyclin D1、CDK4、CDK6

蛋白表达的影响见图 4。不同浓度毛蕊异黄酮对 Cyclin D1、CDK4、CDK6 mRNA 表达的影响见表 5, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 实验组与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同浓度毛蕊异黄酮对 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白及 mRNA 表达均有一定程度抑制作用, 随着药物浓度的升高作用增强。

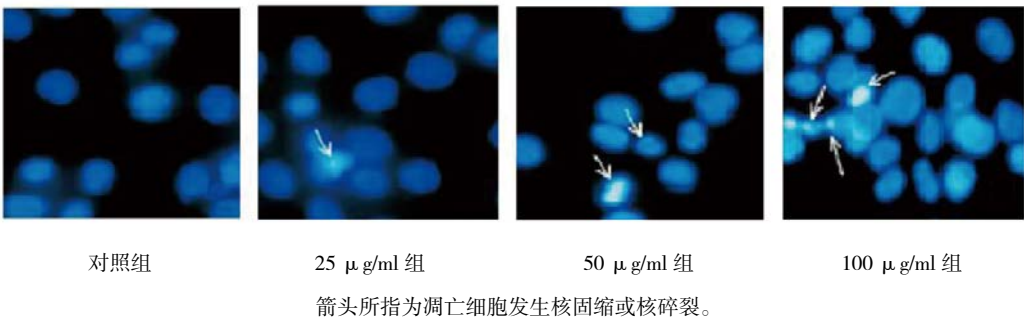
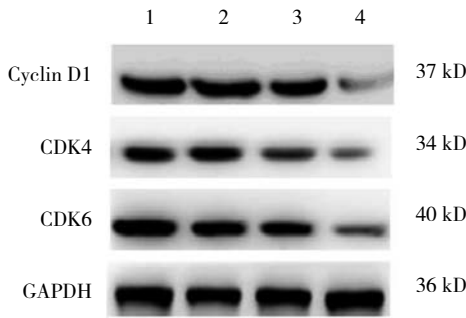


图 4 不同浓度毛蕊异黄酮作用 48 h 后 SPC-A1 细胞凋亡情况 (Hoechst33258 染色 × 200)

表 4 不同浓度毛蕊异黄酮作用 24 h 后 SPC-A1 细胞周期分布 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	G ₀ /G ₁ 期	S 期	G ₂ /M 期
对照组	10.63 ± 1.04	53.60 ± 1.49	37.16 ± 2.08
25 μg/ml 组	16.58 ± 1.27	50.07 ± 2.02	34.04 ± 1.67 [†]
50 μg/ml 组	28.13 ± 1.96 [†]	44.89 ± 1.46 [†]	30.69 ± 2.24 [†]
100 μg/ml 组	41.58 ± 3.34 [†]	33.07 ± 2.02 [†]	25.04 ± 1.96 [†]
F 值	52.178	39.482	18.015
P 值	0.001	0.006	0.021

注: † 与对照组比较, $P < 0.05$ 。



1: 0 μg/ml; 2: 25 μg/ml; 3: 50 μg/ml; 4: 100 μg/ml。

图 4 不同浓度毛蕊异黄酮 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白表达的影响

表 5 不同浓度毛蕊异黄酮对 Cyclin D1、CDK4、CDK6 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CyclinD1 mRNA	CDK4 mRNA	CDK6 mRNA
对照组	1.03 ± 0.01	1.00 ± 0.02	1.01 ± 0.03
CA 25 μg/ml	0.82 ± 0.17 [†]	0.78 ± 0.26 [†]	0.80 ± 0.09 [†]
CA 50 μg/ml	0.65 ± 0.11 [†]	0.63 ± 0.06 [†]	0.61 ± 0.14 [†]
CA 100 μg/ml	0.43 ± 0.09 [†]	0.41 ± 0.12 [†]	0.45 ± 0.13 [†]
F 值	45.607	47.924	42.815
P 值	0.003	0.002	0.004

注: † 与对照组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

肺癌是恶性肿瘤中最常见的一种,其发病率和病死率仍在逐年升高。中医中药治疗在改善肿瘤患者症状、提高生存质量、延长生存期、减轻放化疗毒副作用等方面独具特色。从肺癌的病因病机、辨证论治和中西医结合治疗方面总结近几年中非小细胞肺癌治疗的经验,提出中药及中西医结合治疗在放化疗阶段及晚期患者的治疗中起着不可忽视的作用^[8]。毛蕊异黄酮是黄芪的主要有效成分,临床前研究结果表明其活性化合物具有延缓多种肿瘤发展的作用^[9]。毛蕊异黄酮可以影响肿瘤发生、发展的多个环节,进而达到抑制肿瘤的效果。毛蕊异黄酮对肿瘤的抑制作用主要表现在其抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞转移和侵袭。目前研究指出,毛蕊异黄酮可以通过调节细胞周期蛋白 Cyclin D1 表达来调控细胞的增殖^[10]。Cyclin D1 是一类在细胞周期中含量呈周期性变化的细胞周期调节蛋白,与 CDK4/CDK6 结合而形成复合物,加速细胞周期调控点 G₁/S 的转变,从而促进细胞增殖。研究表明,毛蕊异黄酮通过抑制 Cyclin D1 蛋白及 mRNA 的表达,使细胞生长周期阻滞在 G₀/G₁ 期来抑制细胞的增殖^[11]。毛蕊异黄酮也可以通过调节 Bax/Bcl-2 蛋白表达水平,增加细胞 Caspase-3、Caspase-9 活性来诱导肿瘤细胞的凋亡^[12]。也有研究指出,毛蕊异黄酮可以通过调节 PI3K/Akt 信号通路、Ras-Raf-p38 MAPK 信号通路、调控 ER β/miR-17 信号通路诱导细胞凋亡或者启动线粒体凋亡途径等来影响肿瘤细胞的生长^[13-14]。有学者证明,毛蕊异黄酮也可以通过影响 MMPs 或影响钙黏素来抑制肿瘤细胞的侵袭和转移^[15-16]。

本实验证实,毛蕊异黄酮可以显著抑制人肺癌细胞株 SPC-A1 的增殖,并且其抑制作用随着药物浓度增加而增强。毛蕊异黄酮能够引起核固缩,形成凋亡小体,诱导 SPC-A1 细胞凋亡。毛蕊异黄酮可以在蛋

白与 mRNA 水平上抑制 Cyclin D1、CDK4、CDK6 蛋白及 mRNA 的表达,即毛蕊异黄酮可以通过影响这些蛋白来起到对 SPC-A1 细胞增殖的抑制作用。

综上所述,毛蕊异黄酮可以明显抑制肺腺癌细胞的增殖、诱导其凋亡,这为毛蕊异黄酮的临床应用提供更多的理论基础,但其作用机制有待于进一步深入探讨研究。

参 考 文 献:

- [1] HAEUSLER G M, MECHINAUD F, DALEY A J, et al. Antibiotic resistant gramnegative bacteremia in pediatric oncology patients-risk factors and outcomes[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2013, 2(7): 723-726.
- [2] MATSUDA H, YOSHIDA K, MIYAGAWA K, et al. Rote-noids and flavonoids with anti-invasion of HT1080, an-ti-proliferation of U937 and differentiation-inducingactivity in HL-60 from *erycibe expansa*[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, 15(3): 1539-1546.
- [3] OHKAWARA S, OKUMA Y, UEHARA T, et al. Astraptero-carpan isolated from *astragalus membranaceus* inhibitsproliferation of vascular smooth muscle cells[J]. *Euro-pean Journal of Pharmacology*, 2005, 525(1): 41-47.
- [4] UMEHARA K, NEMOTO K, MATSUSHITA A, et al. Fla-vonoids from the heartwood of the Thai medicinal plant *dalbergia parviflora* and their effects on estrogenic-re-sponsive human breast cancer cell[J]. *Journal of Natural Products*, 2009, 72(12): 2163-2168.
- [5] CHEN J, HOU R L, ZHANG X, et al. Calycosin suppresses breastcancer cell growth via ER β -dependent regulation of IGF-1R, p38 MAPK and PI3K/Akt pathways[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e91245.
- [6] TIAN J, DUAN Y X, BEI C Y, et al. Calycosin induces apoptosis by upregulation of RASD1 in human breast cancer cells MCF-7[J]. *Horm Metab Res*, 2013, 45(8): 593-598.
- [7] CHENG X D, GU J F, YUAN J R, et al. Suppression of A549 cell proliferation and metastasis by calycosin via inhibition of the PKC- α /ERK1/2 pathway: an in vitro investigation[J]. *Molecular Medicine Reports*, 12: 7992-8002.
- [8] 刘俊波. 中医药治疗晚期非小细胞肺癌对生活质量影响的研究进展 [J]. *中医临床研究*, 2014(9): 111-114.
- [9] ZHANG D Q, ZHUANG Y, PAN J H, et al. Investigation of effects and mechanisms of total flavonoids of *Astragalus* and calycosin on human erythroleukemia cells[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2012, 2012: 209843.
- [10] 张冬青,王海宝,汪德清,等. 黄芩总黄酮和毛蕊异黄酮对 K562 细胞的抑制作用及其机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(24): 3502-3505.
- [11] DOMINGUEZ-BRAUER C, THU K L, MASON J M. Targeting mitosis in cancer: emerging strategies[J]. *Mol Cell*, 2015, 60(4): 524-536.
- [12] JENKINS BRENDA W C, ADDISON C, WILSON G, et al. Association of the joint effect of menopause and hormone replacement therapy and cancer in African american women: the jackson heart study[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2011, 8(6): 2401-2404.
- [13] 辛敏,陈建,郭艳红,等. 毛蕊异黄酮对膀胱癌细胞凋亡和 PI3K/Akt 信号通路的影响 [J]. *广东医学*, 2015, 36(5): 690-693.
- [14] CHEN J, ZHAO X G, LI X, et al. Calycosin induces apoptosis by the regulation of ER β /miR-17 signaling pathway in human colorectal cancer cells[J]. *Food Funct*, 2015(6): 3091-3097.
- [15] 李双希,冯禅,王亚飞,等. 毛蕊异黄酮对人乳腺癌细胞 MCF-7 增殖、迁移的体外研究 [J]. *华夏医学*, 2016, 29(3): 22-25.
- [16] TORRE L A, SIEGEL R L, WARD E M, et al. International variation in lung cancer mortality rates and trends among women[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(6): 1025-1036.

(张西倩 编辑)

本文引用格式:周立霞,关洪全,马贤德,等. 毛蕊异黄酮对肺腺癌 SPC-A1 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(11): 1-6.