

文章编号:1001-6880(2015)1-0143-05

# 板栗总苞总黄酮对三种不同肿瘤细胞的抑制作用

林思文<sup>1,2,3</sup>,殷嫦嫦<sup>1\*</sup>,殷 明<sup>2</sup>,耿书国<sup>1,2,3</sup>,汪建样<sup>1,2,3</sup>,施剑明<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup>九江学院,九江 332000; <sup>2</sup>南昌大学第二附属医院骨一科;<sup>3</sup>南昌大学研究生院医学部,南昌 330006

**摘要:**探讨板栗总苞总黄酮对 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 三种不同肿瘤细胞的抑制作用。分别培养人骨肉瘤 MG-63 细胞、人乳腺癌 MCF-7 细胞、人肝癌 SMMC-7721 细胞,加入不同浓度板栗总苞总黄酮,并分别设置不含药物的对照组。采用倒置相差显微镜观察细胞形态,CCK-8 法测定药物对细胞增殖的影响,荧光显微镜观察细胞凋亡状态,RT-PCR 检测 Bcl-2、Caspase-3、P21 mRNA 表达。结果提示,三种肿瘤细胞在药物作用后,增殖均受明显抑制,并呈现凋亡形态改变;其 24 h 后半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 分别 305.58、739.22、4499.44  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,48 h 的  $IC_{50}$  分别为:147.18、254.42、488.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ;荧光显微镜观察染色后细胞呈现不同程度的凋亡,并以晚期凋亡为主;RT-PCR 结果提示各细胞实验组 Caspase-3 和 P21 mRNA 表达明显上调,Bcl-2 表达明显下调。上述改变中, MG-63 细胞改变最明显,其次为 MCF-7 细胞,改变最弱的为 SMMC-7721。板栗总苞总黄酮能明显抑制 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 细胞增殖并诱导其凋亡,其药效作用为 MG-63 > MCF-7 > SMMC-7721。

**关键词:**板栗总苞总黄酮;肿瘤;增殖;凋亡

中图分类号:R963

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.01.029

## Effect of Total Flavonoids from *Castanea mollissima* Involucrum on 3 Tumor Cells

LIN Si-wen<sup>1,2,3</sup>, YIN Chang-chang<sup>1\*</sup>, YIN Ming<sup>2</sup>, GENG Shu-guo<sup>1,2,3</sup>, WANG Jian-yang<sup>1,2,3</sup>, SHI Jian-ming<sup>1,2,3</sup><sup>1</sup>Analysis and Test Laboratory of Jiujiang University, Key Laboratory of Medical Transformation of Jiujiang,Jiujiang 332000, China; <sup>2</sup>Second Affiliated Hospital of Nanchang University;<sup>3</sup>Graduate School of Medicine College of Nanchang University, Nanchang 330006, China

**Abstract:** The purpose of the present study was to observe the effect of total flavonoids from *Castanea mollissima* on MG-63, MCF-7, SMMC-7721 cells. Human osteosarcoma MG-63 cells, breast cancer MCF-7 cells and hepatocarcinoma SMMC-7721 cells were cultured according to standard procedure, and meanwhile *C. mollissima* total flavonoids with different concentrations were added in three cells. Subsequently, the morphologic characteristic, proliferation and apoptosis of cells were analyzed and compared between the groups of MG-63, MCF-7, SMMC-7721 cells and normal control group using inverted phase contrast microscope, CCK-8 assay and fluorescence microscope. In addition, the expression levels of Bcl-2, Caspase-3 and P21 gene were also detected by RT-PCR. The results indicated that the proliferation of the three cancer cells were significantly depressed by *C. mollissima* total flavonoids. Coincidentally, the overexpression of Caspase-3 and P21 mRNA and the low-expression of Bcl-2 mRNA were found in the three experimental groups. The  $IC_{50}$  values were respectively 305.58  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 739.22  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 4499.44  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in 24 h and were 147.18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 254.42  $\mu\text{g}/\text{mL}$  and 488.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in 48 h of the three groups. *C. mollissima* total flavonoids can obviously inhibit the proliferation of MG-63, MCF-7 and SMMC-7721 cells and induce apoptosis of the three cells. The depressive role of *C. mollissima* total flavonoids on MG-63 cells was the strongest, followed by MCF-7 and SMMC-7721 cells.

**Key words:**total flavonoids from *Castanea mollissima*; tumor; proliferation; apoptosis

黄酮是指两个带有酚羟基的苯环通过中央三碳原子连接而成的一类化合物,其已被证实能够有效地抑制多种肿瘤细胞生长<sup>[1-3]</sup>,并且,部分黄酮类化合物已开始被应用于临床治疗。板栗(*Castanea mollissima*)为壳斗科(*Fagales*)栗属(*Castanea*)植

物,具有健脾养胃、益气补肾和止血强心的功用。板栗总苞,又称栗蓬,为包裹板栗坚果的带刺毛壳,板栗总苞总黄酮(total flavonoids from *Castanea mollissima*, CF)是利用超声提取技术从板栗总苞中提取的黄酮类物质的混合物<sup>[4]</sup>。MG-63、MCF-7 和 SMMC-7721 分别是骨肉瘤、乳腺癌和肺癌的常见细胞系,本实验采用板栗总苞总黄酮作用于这三种不

同的肿瘤细胞,探讨其抑制作用的强弱及其作用机制。

## 1 材料与试剂

### 1.1 细胞株

人骨肉瘤 MG-63 细胞、人乳腺癌 MCF-7 细胞、人肝癌 SMMC-7721 细胞均为本实验室库存。

### 1.2 药物及试剂

板栗总苞总黄酮为九江学院药学院提供,纯度>95%,用 DMSO 配成 400 mg/mL 的储存液于 4 ℃备用;注射用吡柔比星(Pirarubicin, THP):浙江海正药业股份有限公司;DMSO、DMEM、琼脂糖、TAE、PBS 粉:北京索莱宝科技有限公司;四季青胎牛血清:杭州天杭生物科技有限公司;0.25% 含 EDTA 胨蛋白酶:美国 Gibco 公司;Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒、GREENspin 组织/细胞 RNA 提取试剂盒:北京庄盟国际生物基因科技有限公司;HiFi-MMLV cDNA 第一链合成试剂盒:北京康为世纪生物科技有限公司;2 × Taq Master Mix、DNA Marker:北京近岸科技有限公司;基因引物:南京金斯瑞生物科技有限公司。

### 1.3 主要仪器

超净工作台:苏州净化设备有限公司;三气细胞培养箱:德国 Eppendorf 公司;TS100-F 倒置荧光显微镜:日本 Nikon 公司;酶标仪:美国 BioTek 公司;凝胶成像系统:美国 SIM 公司;冷冻高速离心机:珠海黑马医学仪器有限公司;PCR 仪:杭州博日科技有限公司;电泳仪:北京六一仪器厂。

## 2 实验方法

### 2.1 板栗总苞总黄酮对细胞形态的影响

分别同时培养人骨肉瘤 MG-63 细胞、人乳腺癌 MCF-7 细胞、人肝癌 SMMC-7721 细胞,取对数生长期细胞消化后制成单细胞悬液,以  $5 \times 10^4$  细胞/孔接种于 24 孔板中,每孔加入 1 mL 含 10% 的 DMEM 完全培养基。24 h 后细胞生长良好,更换等量含板栗总苞总黄酮的药物培养基。设置不同浓度梯度:50、100、200、400、800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ (均含 0.2% DMSO),各细胞组另设置一不含药物含 0.2% DMSO 的阴性对照组和含浓度为 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  吡柔比星的阳性对照组。在倒置相差显微镜下观察各细胞在不同药物浓度下不同时间段的形态。

### 2.2 板栗总苞总黄酮对细胞增殖的影响

取对数生长期 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 三种肿瘤细胞,按  $5 \times 10^3$  细胞/孔接种于 96 孔板中,每孔加入 200  $\mu\text{L}$  完全培养基。待细胞贴壁良好后更换等量不同浓度(50、100、200、400、800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的含板栗总苞总黄酮的药物培养基,并设置含 0.2% DMSO 的对照组,各浓度均设 5 个复孔和 1 个只含药物不含细胞的药物空白孔。分别在作用 24 h 和 48 h 后,各孔加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 试剂,37 ℃孵育 2 h 后用酶标仪在 450 nm 波长下测药物孔的吸光度  $A_{\text{实验}}$  和药物空白孔吸光度  $A_{\text{药空}}$ 。计算各孔细胞的吸光度  $OD = A_{\text{实验}} - A_{\text{药空}}$ ,并根据公式计算不同细胞在不同浓度下的增殖抑制率 =  $(1 - OD_{\text{实验}} / OD_{\text{对照}}) \times 100\%$ ,并通过软件进行回归分析计算其药物半数抑制浓度  $IC_{50}$ 。

### 2.3 板栗总苞总黄酮对细胞凋亡的影响

取对数生长期三种肿瘤细胞,按  $5 \times 10^5$  细胞/孔接种于 6 孔板中,每孔加入 2 mL 完全培养基。待细胞生长良好处于对数生长期后,分别更换等量含 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮的药物培养基,并设置含 0.2% DMSO 的完全培养基作为对照。作用 48 h 后,消化细胞并计数,按各组  $1 \times 10^5$  细胞用 PBS 漂洗 2 遍后收集细胞,加入 100  $\mu\text{L}$  1 × Binding Buffer,再依次加入 10  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和 10  $\mu\text{L}$  PI 染液,混匀后避光孵育 15 min 后取少量液体滴加于载玻片,盖玻片压片后置于荧光显微镜下观察。

### 2.4 Bcl-2、Caspase-3、P21 mRNA 表达量检测

取对数生长期细胞接种于 6 孔板中( $5 \times 10^5$  细胞/孔),待细胞生长良好,分别更换等量含 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮的药物培养基,并设置含 0.2% DMSO 的完全培养基的对照组。48 h 后按 RNA 提取试剂盒说明提取细胞总 RNA,按逆转录试剂盒说明合成逆转录成 cDNA,加入上下游引物按扩增说明进行目的基因的扩增。将扩增好的产物置于 1% 琼脂糖凝胶上电泳,用 Image J 软件分析电泳后各条带的灰度。

### 2.5 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  方式表示,用 SPSS19.0 软件分析,两组间采用 t 检验及单因素方差分析,  $\alpha < 0.05$ 。

## 3 实验结果

### 3.1 板栗总苞总黄酮对细胞形态的影响

板栗总苞总黄酮分别作用于 MG-63、MCF-7、

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene primer sequence

基因 Gene	引物序列 Primer sequence	片段长度 Fragment length
$\beta$ -actin	上游 5'-CGGGAAATCGTGCCTGAC-3' 下游 5'-TCCAAGGTGGACAGCGAGG-3'	443bp
Bcl-2	上游 5'-ACCTTCATCAGGGGTG-3' 下游 5'-TGCCACTGGTCACACG-3'	122bp
Caspase-3	上游 5'-CATGATTAGCAAGTTACAGTGATGC-3' 下游 5'-CACAGTCTTAAGTGGGGGGA-3'	110bp
P21	上游 5'-ATTCAGCATITGTGGGAGGAG-3' 下游 5'-TGGACTGTTTCTCTCGGCT-3'	131bp

SMMC-7721 细胞,24 h 后部分细胞开始逐渐缩小变圆,内部颗粒增多,细胞边缘折光性增高,呈现细胞凋亡的形态改变;并随着时间的延长凋亡细胞逐渐增多,与各自对照组相比,细胞增殖明显受抑制。细胞凋亡及增殖抑制的变化在 MG-63 细胞表现最明显,MCF-7 次之,SMMC-7721 变化最弱。

### 3.2 板栗总苞总黄酮对细胞增殖的影响

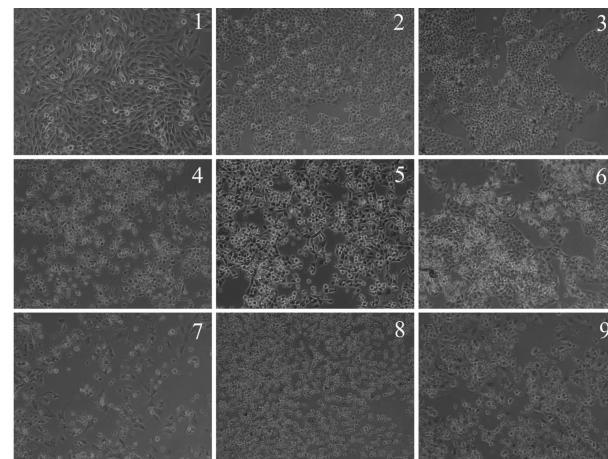
板栗总苞总黄酮分别作用于 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 细胞,细胞增殖明显受抑制,分别与最低浓度组(50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )相比,其抑制率均明显升高( $P < 0.05$ )。这种抑制作用随着时间延长及浓度增加而升高,呈现明显的浓度及时间依赖性。通过 EXCEL 软件计算,24 h 的药物半数抑制浓度为: $\text{IC}_{50}$ (MG-63) = 305.58  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , $\text{IC}_{50}$ (MCF-7) = 739.22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , $\text{IC}_{50}$ (SMMC-7721) = 4499.44  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。48 h 的药物半数抑制浓度为: $\text{IC}_{50}$ (MG-63) = 147.18  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,

表 2 板栗总苞总黄酮对 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 细胞增殖的影响( $n = 5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Effect of CF on proliferation of MG-63, MCF-7, SMMC-7721 cells ( $n = 5$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

药物浓度 Conc. ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	24 h 抑制率 Proliferation rate in 24 h (%)			48 h 抑制率 Proliferation rate in 48 h (%)		
	G-63	MCF-7	SMMC-7721	MG-63	MCF-7	SMMC-7721
0	0	0	0	0	0	0
50	9.89 $\pm$ 3.84	5.46 $\pm$ 2.39	2.13 $\pm$ 0.72	13.57 $\pm$ 5.10	9.05 $\pm$ 3.13	4.75 $\pm$ 2.03
100	22.67 $\pm$ 4.28 <sup>*</sup>	11.39 $\pm$ 6.51 <sup>#</sup>	6.58 $\pm$ 2.84 <sup>△</sup>	39.73 $\pm$ 4.26 <sup>*</sup>	25.33 $\pm$ 9.07 <sup>#</sup>	15.83 $\pm$ 4.27 <sup>△</sup>
200	38.93 $\pm$ 7.39 <sup>*</sup>	25.24 $\pm$ 5.09 <sup>#</sup>	11.68 $\pm$ 4.43 <sup>△</sup>	66.69 $\pm$ 3.47 <sup>*</sup>	46.42 $\pm$ 8.58 <sup>#</sup>	27.93 $\pm$ 4.93 <sup>△</sup>
400	58.02 $\pm$ 8.47 <sup>**</sup>	37.77 $\pm$ 5.83 <sup>##</sup>	23.22 $\pm$ 5.40 <sup>△△</sup>	84.21 $\pm$ 9.04 <sup>**</sup>	66.02 $\pm$ 10.20 <sup>##</sup>	48.44 $\pm$ 7.45 <sup>△△</sup>
800	71.69 $\pm$ 14.52 <sup>**</sup>	53.17 $\pm$ 3.87 <sup>##</sup>	31.49 $\pm$ 8.22 <sup>△△</sup>	92.21 $\pm$ 13.66 <sup>**</sup>	73.24 $\pm$ 12.53 <sup>##</sup>	59.89 $\pm$ 9.25 <sup>△△</sup>

注:与 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  MG-63 相比,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  MCF-7 相比,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  SMMC-7721 相比,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$ 。

Note: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  MG-63; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  MCF-7; △ $P < 0.05$ , △△ $P < 0.01$  vs 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  SMMC-7721.

图 1 药物作用 48 h 后细胞形态学观察( $\times 100$ )Fig. 1 Morphologies of cell cultured with drugs for 48 h ( $\times 100$ )

注:1. MG-63 对照组;2. MCF-7 对照组;3. SMMC-7721 对照组;4. MG-63 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;5. MCF-7 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;6. SMMC-7721 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;7. MG-63 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  吡柔比星;8. MCF-7 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  吡柔比星;9. SMMC-7721 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  吡柔比星。

Note: 1. MG-63 control; 2. MCF-7 control; 3. smmc-7721 control; 4. MG-63 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 5. MCF-7 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 6. SMMC-7721 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 7. MG-63 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  THP; 8. MCF-7 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  THP; 9. SMMC-7721 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  THP.

mL,  $\text{IC}_{50}$ (MCF-7) = 254.42  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $\text{IC}_{50}$ (SMMC-7721) = 488.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结果表明:板栗总苞总黄酮对细胞增殖抑制的作用在 MG-63 细胞表现最明显、MCF-7 细胞次之,SMMC-7721 细胞最弱(如表 2 所示)。

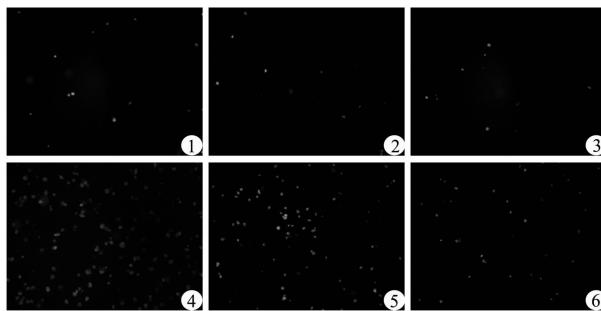


图2 板栗总苞总黄酮对 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 作用 48 h 后细胞凋亡荧光染色

Fig. 2 Apoptosis fluorescence staining of MG-63, MCF-7, SMMC-7721 cells cultured with CF for 48 h

注:1. MG-63 对照组;2. MCF-7 对照组;3. SMMC-7721 对照组;  
4. MG-63 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;5. MCF-7 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;6. SMMC-7721 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮。

Note: 1. MG-63 control; 2. MCF-7 control; 3. SMMC-7721 control;  
4. MG-63 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 5. MCF-7 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 6. SMMC-7721 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF.

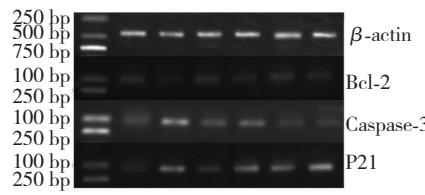


图3 板栗总苞总黄酮对 MG-63、MCF-7、SMMC-7721 作用 48 h 后 Bcl-2、Caspase-3、P21 mRNA 表达

Fig. 3 Expressions of Bcl-2, Caspase-3, P21 mRNA of MG-63, MCF-7, SMMC-7721 cells cultured with CF for 48 h

注:1. MG-63 对照组;2. MG-63 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;3. MCF-7 对照组;4. MCF-7 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮;5. SMMC-7721 对照组;  
6. SMMC-7721 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  板栗总苞总黄酮。与 MG-63 的 Bcl-2 灰度值比值(G2:G1)比较, \*  $P < 0.05$ ; 与 MG-63 Caspase-3 的 G2:G1 比较,  
#  $P < 0.05$ ; 与 MG-63 P21 的 G2:G1 比较, △  $P < 0.05$ 。

Note: 1. MG-63 control; 2. MCF-7 control; 3. SMMC-7721 control; 4. MG-63 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 5. MCF-7 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF; 6. SMMC-7721 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CF. \*  $P < 0.05$  vs G2:G1(Bcl-2) of MG-63; #  $P < 0.05$  vs G2:G1(Caspase-3) of MG-63; △  $P < 0.05$  vs G2:G1(P21) of MG-63

## 4 讨论

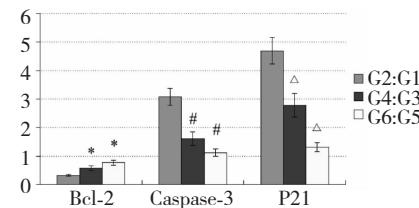
骨肉瘤、乳腺癌、肝癌是人体常见的三种原发性恶性肿瘤,其中骨肉瘤来源于间叶组织,乳腺癌和肝癌来源于上皮组织,其治疗原则大致相同:手术治疗术后辅之以化疗的综合治疗。相比传统化疗药物,中药应用于抗肿瘤,具有副作用小、不易产生耐药等优点。本实验采用板栗总苞总黄酮体外分别作用于人骨肉瘤 MG-63 细胞、人乳腺癌 MCF-7 细胞和人肝癌 SMMC-7721 细胞三种不同组织来源的肿瘤细胞系,观察其对细胞增殖及凋亡的影响,CCK-8 及凋亡荧光染色结果提示:板栗总苞总黄酮具有明显的体

### 3.3 板栗总苞总黄酮对细胞凋亡的影响

利用 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒检测凋亡细胞时,Annexin V-FITC 可染细胞膜,在荧光下呈绿色,PI 可染细胞膜,在荧光下呈红色。不染色者为正常细胞,只染 Annexin V-FITC 者为早期凋亡细胞,只染 PI 者为坏死细胞或细胞碎片,二者均染者为晚期凋亡细胞。如图 2 所示,各细胞对照组凋亡细胞极少,实验组出现明显凋亡细胞,且以晚期凋亡为主。并且凋亡细胞数量呈现 MG-63 > MCF-7 > SMMC-7721 趋势。

### 3.4 Bcl-2、Caspase-3、P21 mRNA 表达量检测

板栗总苞总黄酮能使三种不同肿瘤细胞 Caspase-3、P21 mRNA 明显下调,使 Bcl-2 mRNA 明显上调。比较各细胞实验组与对照组灰度值(grey level, G)的比值,偏离 1 越远,说明上调或下调趋势越明显,如图 3 结果显示:MG-63 细胞上调 Caspase-3、P21 mRNA 及下调 Bcl-2 mRNA 趋势最明显,MCF-7 细胞次之,SMMC-7721 细胞最弱。



外抗肿瘤作用,能够抑制肿瘤细胞增殖并诱导细胞凋亡。RT-PCR 结果提示 Bcl-2、Caspase-3、P21 基因可能参与了调控肿瘤细胞凋亡的过程。研究表明<sup>[5]</sup>,P21 能调节肿瘤细胞对化疗和放疗等外界刺激的反应。例如,构建针对 P21 shRNA 的干扰载体发现,P21 mRNA 的低表达可以减少姜黄素诱导的人肝癌 Huh7 细胞的凋亡,说明这种细胞凋亡可能涉及 P21 凋亡信号途径。此外,有研究已经证实<sup>[6]</sup>,随着肿瘤恶性的增加,P21 mRNA 及其蛋白的表达有减少的趋势。因此,P21 是一个具有多个功能的肿瘤抑制基因,其通过复杂的机制发生效应。Caspase-3 和 Bcl-2 是细胞凋亡的标记性基

因,Caspase-3 的激活能引起某些底物如 PARP 的断裂,继而导致细胞凋亡<sup>[7]</sup>,另有观点<sup>[8]</sup>认为,Caspase-3 作为细胞色素 C 的下游的靶基因,是线粒体-细胞色素 C 凋亡途径的一个关键步骤;bcl-2 蛋白的表达水平与线粒体内稳态的平衡密切相关,可能是通过某些抗氧化剂抑制线粒体内膜氧自由基的产生而达到抑制细胞凋亡的目的<sup>[9,10]</sup>。研究发现<sup>[10]</sup>,P21 的高表达能够激活由顺铂引起的骨肉瘤 O2OS 细胞凋亡所致的 Caspase-3 和 Bax/Bcl-2 级联反应。可见 P21 基因的高表达既能直接诱导细胞凋亡,又能间接地通过调控 Caspase-3 和 Bcl-2 的表达诱导细胞凋亡。

综上所述,板栗总苞总黄酮体外能明显抑制 MG-63、MCF-7 和 SMMC-7721 细胞增殖,并通过调控 Bcl-2、Caspase-3、P21 基因的表达而诱导肿瘤细胞凋亡,其作用强度为: MG-63 > MCF-7 > SMMC-7721。

## 参考文献

- Wei QQ(魏强强), Yin CC(殷嫦嫦), Zhou HY(周湖燕), et al. effects of total Flavones of *Chrysanthemum indicum* on proliferation and apoptosis of human osteosarcoma Saos-2 Cells. *Chin Med Mat*(中药材), 2013, 36:1823-1827.
- Eun JC, Jae IL, Gun HK, et al. Effects of 4',7-Dimethoxy flavanone on cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer MCF-7 Cells. *Arch Pharm Res*, 2011, 34:2125-2130.
- Zhang L(张琳), Huang GH(黄桂华). Effects of Wogonin on apoptosis of human hepatoma HepG<sub>2</sub> Cells. *Chin Med Mat*(中药材), 2013, 36:1842-1844.
- Liu SP(刘淑萍), Chen LM(陈立棉). Simultaneous determination of three flavone glycosides in *Chestnut Involucrum* by HPLC. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2013, 25:1541-1544.
- Wang WZ(王伟章), Zhang BY(张碧鱼), Mei WJ(梅文杰), et al. Effect of p21-targeted shRNA on curcumin-induced apoptosis of human hepatoma Huh7 cells. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 2009, 44:1102-1106.
- Liao WM, Zhang CL, Li FB, et al. p21WAF1/CIP1 gene DNA sequencing and its expression in human osteosarcoma. *Chin Med J*, 2004, 117:936-940.
- Norbury CJ, Zhivotovsky B. DNA damage-induced apoptosis. *Oncogene*, 2004, 23:2797-808.
- Lin TK, Cheng CH, Chen SD, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress promote apoptotic cell death in the striatum via cytochrome c/caspase-3 signaling cascade following chronic rotenone intoxication in rats. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 8722-8739.
- Gogvadze V, Orrenius S. Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. *Chem-Biol Interact*, 2006, 163 (1-2):4-14.
- Hajnoczky G, Csordas G, Das S, et al. Mitochondrial calcium signaling and cell death: approaches for assessing the role of mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake in apoptosis. *Cell Calcium*, 2006, 40:553-560.
- Ding Y, Wang YC, Chen J, et al. p21 overexpression sensitizes osteosarcoma U2OS cells to cisplatin via evoking caspase-3 and Bax/Bcl-2 cascade. *Tumor Biol*, 2014, 35: 3119-3123.

(上接第 54 页)

- Wang WL, Lu ZY, Tao HW, et al. Isoechinulin-type alkaloids, variecolorins A-L, from halotolerant *Aspergillus variecolor*. *J Nat Prod*, 2007, 70:1558-1564.
- Nagasawa H, Isogai A, Suzuki A, et al. Structures of isoechochinulins A, B and C, new indole metabolites from *Aspergillus ruber*. *Tetrahedron Lett*, 1976, 19:1601-1604.
- Marchelli R, Dossena A, Pochini A, et al. The structures of five new didehydropeptides related to neoechinulin, isolated from *Aspergillus amstelodami*. *J Chem Soc Perkin 1*, 1977, (7):713-717.
- Du FY, Li XM, Li CS, et al. Cristatumins A-D, new indole alkaloids from the marine-derived endophytic fungus *Eurotium cristatum* EN-220. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22: 4650-4653.
- Nagasawa H, Isogai A, Sato S, et al. Isolation and structure elucidation of a new indole metabolite from *Aspergillus ruber*. *Agric Biol Chem*, 1975, 39:1901-1902.
- Kuramochi K, Ohnishi K, Fujieda S, et al. Synthesis and biological activities of neoechinulin A derivatives: new aspects of structure-activity relationships for neoechinulin A. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56:1738-1743.
- Kimoto K, Aoki T, Shibata Y, et al. Structure-activity relationships of neoechinulin A analogues with cytoprotection against peroxynitrite-induced PC12 cell death. *J Antibiot*, 2007, 60: 614-621.