文章编号:1001-6880(2018)1-0027-07

沙棘黄酮制备及体外抑制人前列腺癌 PC-3 细胞作用研究

赵　波[1],向晓玲[1],王　微[1],李春松[2],吴晓琴[1],沈建福[1*]

[1]浙江大学生物系统工程与食品科学学院,杭州 310058;[2] 金华市食品药品检验检测研究院,金华 321000

摘　要:采用 AB-8 大孔树脂纯化沙棘黄酮初提物,用 10%、30%、50% 乙醇溶液梯度洗脱,以总黄酮含量和黄酮苷元含量为指标,筛选纯化样品;采用 MTT 法、实时无标记细胞分析技术检测沙棘黄酮样品体外对人前列腺癌 PC-3 细胞的增殖抑制作用,流式细胞技术检测细胞凋亡和细胞周期情况,Western blot 检测 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达情况。实验结果表明 50% 乙醇梯度洗脱样品(S_{50})中,总黄酮含量达到 25.42%;水解后得到 SH_{50} 样品,其槲皮素、异鼠李素含量分别达到 5.03%、18.64%;25 μg/mL 的 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞即有增殖抑制作用,且呈剂量和时间依赖性;同时 25 μg/mL 的 SH_{50} 样品作用 48 h 即可显著诱导细胞凋亡($P<0.01$),并将细胞周期阻滞在 G2/M 期,此外,样品可提高 Bax 蛋白和降低 Bcl-2 蛋白的表达。说明沙棘黄酮 SH_{50} 样品对体外人前列腺癌 PC-3 细胞具有抑制增殖并诱导细胞凋亡作用,其机制可能与阻滞细胞周期,调节 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达有关。

关键词:沙棘黄酮;人前列腺癌;PC-3 细胞;抑制增殖

中图分类号:R284.1　　**文献标识码**:A　　DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.1.005

Preparation of Flavonoids From Sea buckthorn and Its Inhibitory Effect on Human Prostate Cancer PC-3 cells *in vitro*

ZHAO Bo[1], XIANG Xiao-lin[1], WANG Wei[1], LI Chun-song[2], WU Xiao-qin[1], SHEN Jian-fu[1*]

[1]*Colleage of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*;

[2]*Institute of food and Drug Administration of Jinhua, Jinhua 321000, China*

Abstract: Using AB-8 macroporous resin as carrier and gradiently eluted by 10%, 30%, 50% ethanol, the purified samples were screened with the content of total flavonoids and flavonoid aglycones. The MTT assay and RTCA were used to examine inhibitory effect of flavonoids from Sea buckthorn on PC-3 cells. Flow-cytometry was used to analyze the cell apoptosis and cell cycle of the PC-3 cells. The expressions level of Bax and Bcl-2 were detected by Western blot. The results showed that in the gradient elution of 50% ethanol solution (S_{50}), the content of total flavonoids was 25.42%, hydrolyzing it to get SH_{50} sample, which quercetin and isorhamnetin content reached 5.03% and 18.64% respectively; SH_{50} (25 μg/mL) can inhibit the activity of PC-3 cells and showed the feature of time/dose dependent; 25 μg/mL SH_{50} can also induce the apoptosis of PC-3 cells significantly ($P<0.01$) and block the cell cycle at G2/M stage after treated 48h. Moreover, SH_{50} can increase the activities of Bax but decrease the expression level of Bcl-2. These results demonstrated that SH_{50} can inhibit the proliferation and induce cell apoptosis of PC-3 cells *in vitro*, the mechanism might be related with the blocking of the cell cycle and regulating the expression levels of Bax and Bcl-2.

Key words: sea buckthorn flavonoids; human prostate cancer; PC-3 cells; inhibit the proliferation

前列腺癌(Prostate cancer, PCa)是目前全球范围内中老年男性死亡率最高的疾病之一,随着年龄增长,其发病率也逐渐升高[1]。根据《临床肿瘤学杂质》[2]2013 年第 4 期关于中国前列腺癌发病现状和流行趋势分析的文献报道,目前我国前列腺癌的发病率呈明显上升趋势,前列腺癌正严重危害我国中老年男性的身体健康。在前列腺癌早期,一般采用激素剥夺疗法(Androgen deprivation treatment, ADT),然而在实施 ADT 一段时间之后,绝大多数患者会出现耐药性,由激素依赖性前列腺癌(Androgen-dependent prostate cancer, ADPC)转变为激素非依赖性前列腺癌(Androgen-independent prostate cancer, AIPC)[3,4],AIPC 治疗难度大,死亡率高。药物疗法一直是治疗激素非依赖性前列腺癌的主要手段,但药物靶向和全身毒性问题一直较难解决,而很

收稿日期:2017-10-09　　接受日期:2017-11-02

基金项目:国家自然科学基金面上项目(J20120653)

*通信作者 E-mail:shenjf107@zju.edu.cn

天然产物研究与开发

多中药防治肿瘤效果已经被临床证实,如中药单体如石蒜碱、臭椿酮、槚如酸以及小飞蓬总黄酮、朱缨花提取物、大黄酸(中药大黄的主要成分)[5-9]等都具有良好的抑制前列腺癌增殖和诱导细胞凋亡的作用。因此从天然食材中寻找活性成分来治疗前列腺癌不失为一种好的选择。

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)又名醋柳、黑刺[10],属胡颓子科沙棘属植物,广泛分布于我国西北部地区,是我国藏医传统习用药材[11]。目前,沙棘作为药食两用作物被允许使用在食品、药品等行业,具有广泛的应用前景。沙棘黄酮是沙棘果实和沙棘叶中黄酮的总称,主要以槲皮素、异鼠李素、山奈酚等及其苷类为主[12]。沙棘黄酮是沙棘最主要的活性成分之一,在降血脂、降血糖、提高心肌耐缺氧能力、抗氧化、抗肿瘤等方面具有较好的生理功效[13-16],且前人已经证实槲皮素、山奈酚的抗前列腺癌作用[17-19]和异鼠李素的抗肿瘤作用[20,21],但目前没有关于沙棘黄酮提取物对前列腺癌的作用研究报道。因此本文进行了沙棘果渣黄酮的提物纯化并探究其对体外人前列腺癌 PC-3 细胞的作用研究,以期为开发沙棘黄酮的药理保健作用提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

沙棘果渣由杭州沙美国际有限公司提供。雄激素非依赖性前列腺癌 PC-3 细胞(上海中科院细胞库);DME/F-12 细胞培养基(赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司);0.25% 胰蛋白酶(吉诺生物医药技术有限公司);胎牛血清(3 次 0.1 μm 无菌过滤,赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司);噻唑蓝(北京雷根生物技术有限公司);Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒、DNA 含量检测试剂盒(索莱宝生物科技有限公司)。

Bax、Bcl-2 抗体购自 CST 公司;芦丁(CAS 号:153-18-4)、槲皮素(CAS 号:117-39-5)、异鼠李素(CAS 号:480-19-3)、山奈酚(CAS 号:491-54-3) 阿拉丁试剂有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

BIO-RAD 680 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司);Forma 3111 型二氧化碳培养箱(赛默飞世尔科技公司);6HT 流式细胞仪(美国 Guave 公司);25 cm 培养瓶、96 孔板、6 孔板(康宁公司);湘仪 L420 台自动平衡离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);OLYMPUS BX61 显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司];Luna 5u C18(2) 100A 色谱柱(美国 Phenomenex 公司);AB-8 型大孔树脂(沧州宝恩树脂有限公司);LC2010 高效液相色谱仪(日本岛津公司);RTCA S16 实时无标记细胞功能分析仪[艾森生物(杭州)有限公司];Mini-PROTEAN 电泳系统以及 Mini Trans-Blot 转印系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 实验方法

2.1 沙棘果渣黄酮的提取纯化

提取方法:称取 150 g 经干燥的沙棘果渣,加入 10 倍体积石油醚,70 ℃ 脱脂 2 次,挥干后加入 10 倍体积 70% 乙醇溶液,55 ℃超声辅助提取 1 h,重复 3 次。过滤,浓缩,经冷冻干燥后得到沙棘果渣粗提物粉末。

纯化方法:取上述沙棘果渣粗提物粉末,加水复溶,取上清液过 AB-8 大孔树脂。其中,上样速率为每小时 0.2 倍柱体积,吸附一晚。依次用 10%、30%、50% 乙醇梯度洗脱,洗脱流速为 40 mL/min,共洗脱 1.5 倍柱体积,收集各洗脱组分,浓缩,冷冻干燥得到各梯度纯化组分。

2.2 总黄酮含量和黄酮苷元含量测定

比色法测定总黄酮含量:以芦丁为参照样品,按照 $NaNO_2$-$Al(NO)_3$-NaOH[22]法绘制标准曲线,样品经处理后,测定其在 510 nm 处的吸光值,根据标准曲线计算总黄酮含量。

HPLC 法测定黄酮苷元含量:准确称取 0.060 g 左右的样品粉末,加入 30 mL10% 的盐酸-甲醇酸解液,70 ℃ 水解 4 h,冷却,稀释 10 倍;准确称取 5 种标准品(槲皮素、异鼠李素、山奈酚、杨梅苷、槲皮苷)以及各样品粉末,用 80% 甲醇溶液溶解,过膜,以甲醇为流动相 A,以 0.4% 磷酸水溶液为流动相 B,进行梯度洗脱,流速为 1.0 mL/min,检测波长为 370 nm,柱温为 30 ℃。

2.3 细胞培养

新复苏的 PC-3 细胞于 37 ℃,5% CO_2 培养箱中培养,待细胞稳定传代 2 次后,用于后续实验(细胞代数 6-10)。其中,培养液是含有 10% 胎牛血清和 1% 链霉素、青霉素的 DEME/F-12 培养基。

2.4 MTT 法检测细胞增殖实验

取对数生长期的 PC-3 细胞,用 0.25% 胰酶消化后,计数,调整细胞浓度为 2×10^4 个/mL,接种 200 μL 细胞悬浮液于 96 孔培养板,在 37 ℃、5% CO_2

天然产物研究与开发

培养箱培养 24 h 使细胞贴壁。更换培养液,每孔加入含样品的培养液 200 μL(样品用 0.5% DMSO 溶解)。设置空白组和样品组,每组 6 个复孔,浓度分别为 25、50、75、100 μg/mL,分别继续培养 24 h、48 h、72 h。终止反应前 4 h,每孔加入 5 g/L MTT 20 μL 继续培养 4 h。吸弃孔内培养液,每孔加入 DMSO 150 μL,振荡 10 min 使紫色结晶完全溶解后,在 570 nm 测定吸光度。

相对细胞活力 =(加样组 OD 值-本底 OD 值)/(空白对照组 OD 值-本底 OD 值)

其中,空白对照组为 0.5% DMSO 的培养基组;本底组为未加细胞组。

2.5　RTCA 实时无标记细胞分析技术检测细胞生长

实时无标记细胞分析技术(Real time cellular analysis,RTCA)是将微电子细胞传感器芯片整合到表面适于细胞贴附与生长的细胞检测板的底部或细胞浸润迁移板的微孔膜,用以构建实时、动态、定量跟踪细胞形态和增殖分化等改变的细胞阻抗检测传感系统。本实验中的细胞培养板 E-Plate16 的底部整合有微金电子传感器芯片,贴壁生长在微电极表面的细胞状态改变会引起电极阻抗的变化,这种改变与细胞的实时状态改变成相关性,因此可基于电阻抗的测定用细胞指数(Cell Index,CI)来表示细胞状态,实现实时监测。

取对数生长期的 PC-3 细胞,以 5×10^3/孔的密度接种于 RTCA 16 孔板中,培养 24 h,加入不同浓度的样品溶液 50 μL,继续培养 72 h,实时监测电极阻抗变化。

2.6　流式细胞技术检测细胞凋亡及细胞周期

取对数生长期的 PC-3 细胞,以 2×10^4/孔的密度接种于 6 孔板中,培养 24 h,弃去原培养基,加入含有不同浓度样品的培养基,继续培养 48 h。按照 Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒和 DNA 含量(细胞周期)检测试剂盒说明书上的操作收集细胞染色后,流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期情况。

2.7　Western blot 检测相关蛋白的表达

分别收集各实验组不同样品处理 48 h 的 PC-3 细胞,采用总蛋白提取试剂盒进行样品总蛋白的提取,然后采用 BCA 定量试剂盒进行总蛋白定量。每个孔 60 ug 总蛋白进行上样,每孔 10 ~ 15 μL,浓缩胶 60 V,分离胶 80 V 进行电泳 2 h 左右。PVDF 膜甲醇中浸泡 20 s,然后转移到 Tris-Glycine 转移缓冲液中平衡至少 5 min;然后转膜、封闭,分别加入 Bax 和 Bcl-2 一抗, 4 ℃孵育过夜;再加入二抗,避光孵育 2 h,然后去除多余 ECL 试剂,保鲜膜密封,暗盒中放上 X-ray film 曝光 5-10 min 后进行显影和定影。

2.8　数据分析

实验数据采用 SPSS 20.0 软件单因素方差(ANOVA)进行分析,实验结果用平均值 ± 标准差(Mean ± SD)表示,以 $P<0.05$ 为具有统计学差异。

3　结果与分析

3.1　黄酮含量测定

经测定,沙棘果渣中主要化学成分为水分(36.74%)、油脂(22.31%)、粗纤维(11.23%)、粗蛋白(7.25%)、总糖(2.76%)、总黄酮(0.98%)。对沙棘果渣脱脂处理,提取纯化沙棘黄酮,其各阶段样品总黄酮含量和主要黄酮苷元含量见表 1、表 2。沙棘果渣粗提物经过大孔树脂梯度纯化后,总黄酮含量显著升高,其中 S_{30} 样品总黄酮含量最高,达到 47.04%,说明沙棘黄酮主要以中等极性分子为主;在 S_{50} 样品中,其总黄酮含量相对较低,为 25.41%,但水解后,经 HPLC 分析,其槲皮素、异鼠李素、山奈素三种黄酮苷元含量之和与总黄酮含量相当,其中异鼠李素和槲皮素含量分别达到 18.64% 和 5.03%,说明 S_{50} 样品主要是以槲皮素、异鼠李素、山奈素为苷元的糖苷形式存在,经水解后可有效富集目标黄酮苷元。因此,将 S_{50} 样品水解液浓缩冷冻干燥得到 SH_{50} 样品,用于后续实验。

表 1　各纯化样品总黄酮含量($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1　Total flavonoids content in purified samples ($\bar{x}\pm s, n=3$)

样品 Sample	S_0	S_{10}	S_{30}	S_{50}
总黄酮含量 Total flavonoids content (%)	4.98 ± 0.16	25.27 ± 0.74	47.04 ± 1.76	25.41 ± 0.84

注:S_0 代表沙棘黄酮粗提物,S_{10} 代表 10% 乙醇洗脱样,S_{30} 代表 30% 乙醇洗脱样,S_{50} 代表 50% 乙醇洗脱样。

Note: S_0: crude flavonoid extracts of Sea buckthorn, S_{10}: sample of 10% ethanol elution, S_{30}: sample of 30% ethanol elution, S_{50}: sample of 50% ethanol elution.

天然产物研究与开发

表 2 各纯化样品黄酮苷元含量($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Flavonoid glycosides contents of purified samples ($\bar{x} \pm s, n=3$)

	S_0		S_{10}		S_{30}		S_{50}	
	水解前 Normal	水解后 Hydrolyzed	水解前 Normal	水解后 Hydrolyzed	水解前 Normal	水解后 Hydrolyzed	水解前 Normal	水解后 Hydrolyzed
槲皮素 Quercetin (%)	0.07 ± 0.02	0.37 ± 0.10**	0.07 ± 0.03	1.13 ± 0.06**	0.05 ± 0.01	2.97 ± 0.34**	0.10 ± 0.02	5.03 ± 0.82**
山奈素 Kaempferol (%)	0.10 ± 0.00	0.09 ± 0.02**	0.01 ± 0.01	0.19 ± 0.02**	0.02 ± 0.01	0.26 ± 0.15**	0.05 ± 0.02	0.43 ± 0.03**
异鼠李素 Isorhamnetin (%)	0.11 ± 0.04	0.60 ± 0.07**	0.094 ± 0.02	1.23 ± 0.03**	0.07 ± 0.02	3.90 ± 0.28**	0.08 ± 0.01	18.64 ± 1.11**

注:** 表示同一样品水解后与水解前比较,同一黄酮含量 $P<0.01$。

Note: content of flavonoid in the same sample before and after hydrolysis, ** $P<0.01$.

3.2 沙棘黄酮对 PC-3 细胞抑制作用

3.2.1 MTT 法检测 SH_{50} 样品对细胞相对活力的影响

活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT(噻唑蓝)还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲臜并沉积在细胞中,而死细胞无此功能,因此可以利用此原理来检测 PC-3 细胞的相对活力,以此来反映细胞的增殖情况。图 1 显示了不同浓度和不同作用时间的 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞活力的影响情况。实验结果表明,SH_{50} 样品处理 PC-3 细胞后,其相对细胞活力下降,且作用 48 h 后各浓度样品组下降情况均表现出极显著差异($P<0.01$),并呈剂量和时间依耐性;经计算得到样品作用 PC-3 细胞 48 h 和 72 h 的半抑制浓度(IC_{50})值分别为 43.09 μg/mL 和 33.16 μg/mL,与前人报道的小飞蓬总黄酮、朱樱花提取物等[7,8]对人前列腺癌 PC-3 细胞作用的 IC_{50} 值在同一数量级,说明 SH_{50} 对体外 PC-3 细胞具有较强的增殖抑制作用。

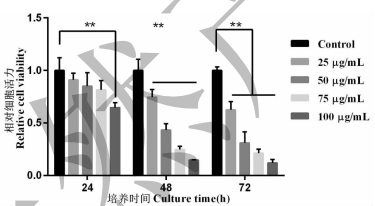

图 1 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞活力的影响($n=4$)

Fig. 1 The effect of SH_{50} on the viability of PC-3 cells ($n=4$)

注:与对照组比较,** $P<0.01$

Note: compared with control group, ** $P<0.01$

3.2.2 RTCA 监测细胞生长曲线

PC-3 细胞是贴壁细胞,在受到外源性药物刺激后,其增殖速率、细胞状态等都会受到一定的影响,从而引起 RTCA 培养板底部电极阻抗的变化。图 2 显示了不同浓度 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞生长状态的影响,其中,Cell Index 代表每孔细胞的状态参数,Cell Index 值越大,表示与电极接触的细胞数越多,说明细胞贴壁性越好,增殖速率越快;实验结果表明,与正常对照组比较,样品组中细胞参数均发生下降,且呈剂量依赖关系,说明 SH_{50} 可造成细胞活力下降,从而影响 PC-3 细胞贴壁性;同时又有效抑制细胞增殖,减少细胞数量,其抑制趋势与 MTT 法检测结果一致。

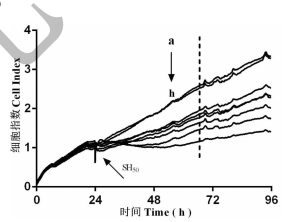

图 2 RTCA 监测 PC-3 细胞生长($n=3$)

Fig. 2 PC-3 cells growth curve detected by RTCA ($n=3$)

注:a-h 依次代表 SH_{50} 样品的浓度为 0、0.78、1.56、3.12、6.25、12.5、25、50 μg/mL,箭头代表在细胞分板培养 24 h 后加入 SH_{50} 样品。

Note: a-h represented the concentration of SH_{50} sample 0, 0.78, 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 μg/mL in turn, arrow means add the SH_{50} after 24 h.

3.2.3 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞诱导凋亡作用

采用 Annexin V/PI 双染技术可以将样本中正常、早期凋亡、坏死等细胞区分。SH_{50} 样品对 PC-3 细胞诱导凋亡作用及结果见图 3、图 4。SH_{50} 样品作用 PC-3 细胞 48 h 后,与正常对照组比较,各浓度样品组中细胞早期凋亡率虽然没有明显变化,但晚期凋亡(坏死)率和总凋亡率都极显著升高($P<0.01$),且呈一定的剂量依耐性,说明 SH_{50} 样品具有较强的诱导 PC-3 细胞凋亡的作用。

3.2.4 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞周期的影响

SH_{50} 样品对 PC-3 细胞周期的影响及结果见图 5、图 6。SH_{50} 样品作用 PC-3 细胞 48 h 后,与正常对照组比较,各样品组中细胞 G2/M 期比例均极显著

天然产物研究与开发

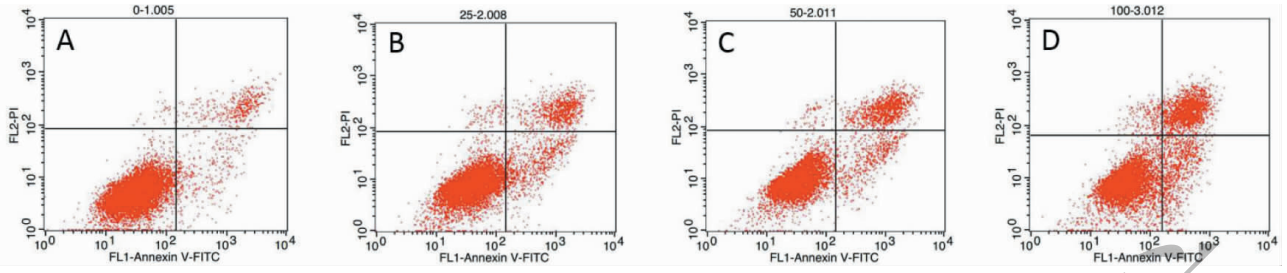

图 3　流式细胞仪检测 SH_{50} 样品诱导 PC-3 细胞凋亡作用

Fig. 3　Effects of SH_{50} on cell apoptosis of PC-3 cells detected by flow cytometry

注:A:对照组,B:25 μg/mL SH_{50},C:50 μg/mL SH_{50},D:100 μg/mL SH_{50}

Note:A:Control group,B:25 μg/mL SH_{50},C:50 μg/mL SH_{50},D:100 μg/mL SH_{50}

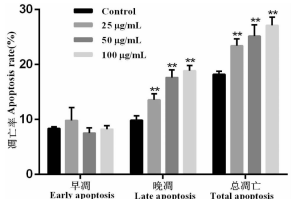

图 4　SH_{50} 样品对 PC-3 细胞诱导凋亡作用($n=3$)

Fig. 4　The effect of SH_{50} on the apoptosis of PC-3 cells ($n=3$)

注:与对照组比较,$^{**}P<0.01$

Note:compared with control group,$^{**}P<0.01$

升高($P<0.01$),造成 G2/M 期阻滞,且呈一定剂量依耐性;在高浓度 100 μg/mL 样品组中,S 期和 G2/M 期比例都显著升高,说明高浓度 SH_{50} 会同时造成 S 期和 G2/M 期阻滞。因此 SH_{50} 样品主要通过将细胞周期阻滞在 G2/M 期,影响 DNA 合成并延缓细胞周期的进行,从而抑制 PC-3 细胞增殖。

3.2.5　SH_{50} 样品对 PC-3 相关凋亡蛋白表达的影响

PC-3 细胞经 SH_{50} 样品处理 48 h 后,各组细胞的凋亡相关蛋白表达如图 7、图 8 所示。与对照组

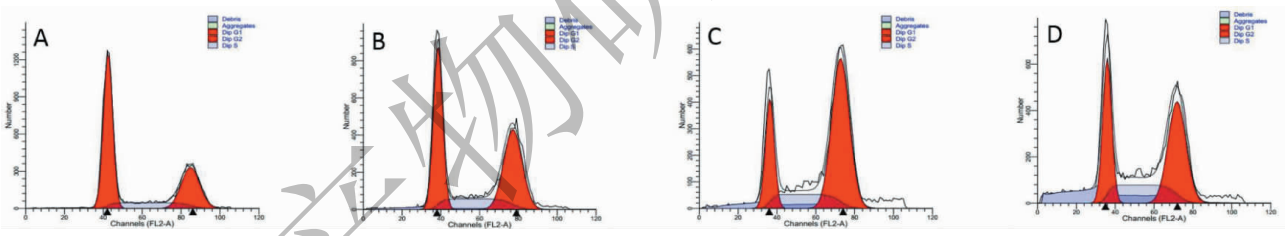

图 5　流式细胞仪检测 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞周期的影响

Fig. 5　Effects of SH_{50} on the cell cycle of PC-3 cells detected by flow cytometry

注:A:对照组,B:25 μg/mL SH_{50},C:50 μg/mL SH_{50},D:100 μg/mL SH_{50}

Note:A:Control group,B:25 μg/mL SH_{50}, C:50 μg/mL SH_{50},D:100 μg/mL SH_{50}

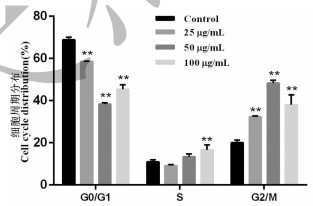

图 6　SH_{50} 样品对 PC-3 细胞周期的影响($n=3$)

Fig. 6　The effect of SH_{50} on the cell cycle of PC-3 cells ($n=3$)

注:与对照组比较,$^{**}P<0.01$

Note:compared with control group,$^{**}P<0.01$

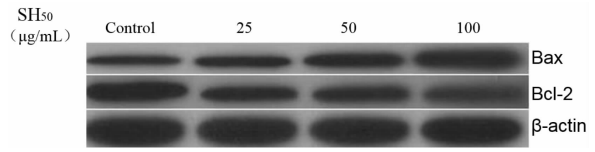

图7　免疫印迹试验检测 PC-3 细胞 Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达

Fig. 7　Activities of Bax and Bcl-2 on PC-3 cells detected by Western blot

比较,各浓度 SH_{50} 样品组 Bax 条带变深,其表达量显著升高($P<0.01$);同时 Bcl-2 条带变浅,其表达量显著降低($P<0.01$),且均成剂量依耐性。

天然产物研究与开发

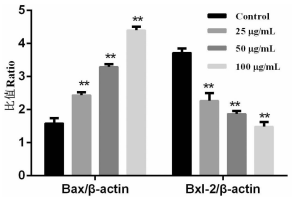

图 8 SH_{50} 样品对 PC-3 细胞 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响($n=3$)

Fig. 8 Effects of SH_{50} on Bax and Bcl-2 activities of PC-3 cells ($n=3$)

注:与对照组比较,$^{**}P<0.01$

Note: compared with control group, $^{**}P<0.01$.

4 讨论与结论

经实验可知,通过 AB-8 大孔树脂梯度纯化沙棘黄酮粗提物,其 50% 乙醇洗脱样中总黄酮含量为 25.42%,水解后可制备得到槲皮素、异鼠李素含量分别为 5.03%、18.64% 的 SH_{50} 样品;25 μg/mL 的 SH_{50} 样品即可抑制 PC-3 细胞体外增殖,且随样品浓度的增加和作用时间的延长,其抑制效果升高,存在剂量和时间依赖性;有研究表明,提高 Bax 的表达以及降低 Bcl-2 的表达可以有效诱导细胞凋亡,在本实验中,SH_{50} 可以上调 Bax 以及下调 Bcl-2 的表达,因此推测沙棘黄酮 SH_{50} 样品体外抑制人前列腺癌 PC-3 细胞增殖并诱导其凋亡,其机制可能通过将细胞周期阻滞在 G2/M 期以及上调 Bax 和下调 Bcl-2 蛋白的表达水平有关。除此之外,其他的作用途径还需要进一步研究,尤其是裸鼠模型的体内研究。

沙棘果渣是沙棘系列产品开发过程中的加工废弃物,本实验从沙棘果渣中提取得到的沙棘黄酮 SH_{50} 样品被证实具有体外抑制人前列腺癌 PC-3 细胞的作用,既变废为宝又为开发抗前列腺癌活性物质提供了科学依据,具有重要意义。

参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, *et al*. Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2011, 61(2): 69-90.

2 Han SJ (韩苏军), Zhang SW (张思维), Chen WQ (陈万青), *et al*. Current status and trend of prostate cancer in China. *J Clin Oncol* (临床肿瘤杂质), 2013, 18: 330-334.

3 Eisenberger MA, Blumenstein BA, Crawford ED, *et al*. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *New England J Med*, 1998, 339: 1036-1042.

4 Miyamoto H, Messing EM, Chang C. Androgen deprivation therapy for prostate cancer: Current status and future prospects. *Prostate*, 2004, 61: 332-353.

5 Mora LB, Buettner R, Seigne J, *et al*. Constitutive activation of Stat3 in human prostate tumors and cell lines. *Cancer Res*, 2002, 62: 6659-6666.

6 Tan J (谭靖). Studies of prostrate cancer chemotherapy: dissecting molecular mechanisms of anacardic acid-induced cell apoptosis and identifying similar drugs modifying p53 level in prostate cancer cells. Changsha: Zhongnan University (中南大学), PhD. 2013.

7 Guo J (郭珺), Wu SS (吴珊珊), Zhang LH (张丽红), *et al*. The effect of *Erigeron canadensis* L on prostate cancer cell. *Chin J Labor Diagnosis* (中国实验诊断学), 2011, 15: 1449-1452.

8 Adaramoye O, Erguen B, Oyebode O, *et al*. Antioxidant, anti-angiogenic and antiproliferative activities of root methanol extract of *Calliandra portoricensis* in human prostate cancer cells. *J Integr Med*, 2015, 13: 185-193.

9 Liu Y (刘玥). Mechanism of rhein on the inhibition of cell proliferation in prostate cancer cells. Haerbin: Harbin University of Technology (哈尔滨工业大学), MSc. 2012.

10 Jin Y (金怡), Yao M (姚敏). Survey of Seabuckthorn research. *Tradit Chin Med Inf* (中医药信息), 2003, 20(3): 21-22.

11 Liu Y (刘勇), Lian YS (廉永善), Wang YL (王颖莉), *et al*. Review and significance of seabuckthorn research and development. *Chin J Tradit Chin Med* (中国中药杂志), 2014, 39: 1547-1552.

12 Wang JX (王军宪), Wang QX (王启祥), Li XH (李星海), *et al*. Sea buckthorn leaf flavone glycoside components metaclass preliminary study. *Hippophae Rhamnoides* (沙棘), 1997, 3: 33-34.

13 Upadhyay NK, Kumar R, Siddiqui MS, *et al*. Mechanism of wound-healing activity of *Hippophae rhamnoides* L. leaf extract in experimental burns. *Evidence-based Comple Alternative Med*, 2011, 2011: 659705.

14 Yang XY (杨现艳), Zhai WJ (瞿伟菁), Xu ZL (徐自良), *et al*. Effects of flavone extracted from seabuckthorn seed residue on blood lipid and antioxidant system in climacteric rats. *Chin J Tradit Chin Med* (中国中药杂志), 2006, 31: 1109-1112.

15 Grey C, Widén C, Adlercreutz P, *et al*. Antiproliferative effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*, L.) extracts on human colon and liver cancer cell lines. *Food Chem*, 2010, 120: 1004-1010.

16 Song CM (宋春梅), Du J (杜鹃), Ge HJ (葛红娟), *et al*. Protective effects of seabuckthorn fruit on liver in rats fed with high fat diet. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2015, 36(7): 26-28.

(下转第 160 页)

天然产物研究与开发