

# 槲皮素抑制人前列腺癌 PC-3 细胞增殖及与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的机制

张智慧, 白吉祥\*

(牡丹江医学院 红旗医院, 黑龙江 牡丹江 157011)

**[摘要]** **目的:**观察槲皮素对人前列腺癌 PC-3 细胞增殖和 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路的调控作用,探讨其抗前列腺癌的可能机制。**方法:**体外培养 PC-3 细胞,以不同终浓度槲皮素进行处理,设空白组。采用噻唑蓝比色法(MTT)观察槲皮素对 PC-3 细胞增殖抑制作用,计算半数抑制浓度( $IC_{50}$ );采用流式细胞仪检测槲皮素对 PC-3 细胞凋亡的影响;采用免疫印迹法(Western blot)和逆转录-PCR(RT-PCR)分析检测槲皮素对  $\beta$ -catenin 和下游靶基因细胞周期素 D1(Cyclin D<sub>1</sub>),原癌基因(c-Myc)蛋白表达和转录水平;采用免疫荧光分析检测槲皮素对  $\beta$ -catenin 表达的影响;利用荧光酶报告基因分析检测槲皮素对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的影响。**结果:**与空白组比较,槲皮素对 PC-3 细胞增殖具有明显抑制作用( $P < 0.05$ ),并诱导 PC-3 细胞凋亡( $P < 0.05$ )。与空白组比较,槲皮素可显著抑制 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 的蛋白表达和转录活性,从而阻断 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的传导,抑制下游靶基因的表达水平( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论:**槲皮素可显著抑制 PC-3 细胞增殖,其机制可能与抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路有关。

**[关键词]** 前列腺癌; 槲皮素; Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路; 细胞周期素 D1; 原癌基因

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)16-0144-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016160144

## Anti-proliferation Effect of Quereetin on Human Prostate Cancer PC-3 Cells and Wnt/ $\beta$ -catenin Signaling Pathway

ZHGANG Zhi-hui, BAI Ji-xiang\*

(Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical University, Mudanjiang 157011, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the anti-proliferation effect of quereetin on human prostate cancer PC-3 cells and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways, and explore its possible mechanisms of anti-prostate cancer. **Method:** PC-3 cells were cultured *in vitro* and treated with capsaicin at various concentrations. The cells without quereetin treatment were used as blank group. Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to observe anti-proliferation effect of quereetin on PC-3 cells, and 50% inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) was calculated. Apoptosis of PC-3 cells was observed by flow cytometry, the protein expressions and transcriptional levels of  $\beta$ -catenin and its downstream target genes (Cyclin D<sub>1</sub> and c-Myc) were analyzed by Western blot and reverse transcription-PCR (RT-PCR), immunofluorometric assay was used to detect the effect of quereetin on  $\beta$ -catenin expressions, luciferase reporter assay was performed to detect the effect of quereetin on Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways in PC-3 cells. **Result:** As compared with the blank group, quereetin significantly inhibited proliferation of PC-3 cells ( $P < 0.05$ ) and induced their apoptosis ( $P < 0.05$ ). Quereetin also significantly reduced protein expressions and transcriptional levels of  $\beta$ -catenin, suppressed the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and down-regulated the expressions of downstream target genes ( $P < 0.05, P < 0.01$ ). **Conclusion:** Quereetin could significantly inhibit

**[收稿日期]** 20151207(004)

**[基金项目]** 黑龙江省卫生计生委科研课题项目(2014-203)

**[第一作者]** 张智慧, 硕士, 从事泌尿外科相关疾病及勃起功能障碍的机制与治疗研究, E-mail: zhihuizhang1984@sina.com

**[通讯作者]** \* 白吉祥, 硕士, 主治医师, 从事泌尿外科相关疾病的基础与临床研究, Tel: 0453-6586947, E-mail: 412630273@qq.com

the proliferation of PC-3 cells and its mechanism may be related to the inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways.

**[Key words]** prostate cancer; quereetin; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; Cyclin D<sub>1</sub>; c-Myc

前列腺癌是男性泌尿生殖系统常见的危害男性健康的恶性肿瘤之一。据全球肿瘤流行病学统计数据<sup>[1]</sup>分析显示,全球前列腺癌发病率占所有男性恶性肿瘤发病率的 14.0%<sup>[1]</sup>。中国 70 岁以上男性前列腺癌发病率居男性泌尿生殖系统肿瘤的第 1 位<sup>[2-3]</sup>。槲皮素是一种天然的黄酮类化合物,是中药槲树皮的主要提取物之一,具有明确的抗感染、抗血小板聚集、抗氧化作用,并影响多种酶的活性<sup>[4]</sup>。近年来,关于槲皮素抑制肿瘤细胞增殖,侵袭转移以及诱导凋亡方面研究较多,如抑制卵巢癌 KOV-3 细胞增殖和诱导凋亡,抑制结肠癌 LoVo 细胞增殖侵袭能力等<sup>[5-6]</sup>。国外也有实验证实槲皮素具有抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的凋亡和缓解艾氏肿瘤小鼠疼痛等作用<sup>[7-8]</sup>。槲皮素抗肿瘤效果显著,不良反应少,耐受性好,但槲皮素对前列腺癌的作用鲜见报道。本研究采用体外培养人前列腺癌 PC-3 细胞,评价槲皮素对 PC-3 细胞增殖、凋亡的影响,并检测槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)及下游靶基因细胞周期素 D1(Cyclin D<sub>1</sub>),原癌基因(c-Myc)蛋白表达和转录水平的影响,进一步检测槲皮素对  $\beta$ -catenin/T 细胞因子(TCF)转录活性的影响,探讨槲皮素抗前列腺癌的可能作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞株与试剂** 人前列腺癌 PC-3 细胞由牡丹江医学院医药研究中心惠赠。槲皮素(美国 Sigma 公司,批号 Q1425,纯度 >99%),溶解于二甲基亚砜(DMSO,Amresco 公司,批号 DZ1521)配制成储备液,-20℃保存,临用时以 RPMI-1640 培养液(美国 Gibco 公司,批号 1561017)稀释到所需浓度,DMSO 终体积浓度 <10%。阿霉素(浙江海正药业股份有限公司,批号 150103),牛血清白蛋白(FSA,美国 Gibco 公司,批号 1528601),JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒(Genmed 公司,批号 ENZ-32504),鼠抗人  $\beta$ -catenin,Cyclin D<sub>1</sub> 和 c-Myc 单克隆抗体(广州聚研生物科技有限公司,批号分别为 BA1462,BA1482,BA1546);Lipofectamine 转染试剂(美国 Invitrogen 公司,批号 1312825);Dua-l Luciferase Reporter Assay System 试剂盒(美国 Promega 公司,批号 RP2401);辣根过氧化物酶(HRP)标记抗鼠免疫球蛋白(IgG)二抗(上海碧云天公司,批号 BSE-0502G),逆转录-

PCR(RT-PCR)试剂盒(上海生物科技公司,批号 141243)。其他试剂均为国产或进口分析纯。

**1.2 细胞培养** PC-3 细胞采用含有 10% 热灭活 FSA 的 RPMI-1640 营养培养基(含青霉素 100 U·mL<sup>-1</sup>和链霉素 100 mg·L<sup>-1</sup>),37℃ 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下培养。当细胞达对数生长期(80% 汇合度)时,用 0.05% 胰蛋白酶消化,收集细胞制备成单细胞悬液。

**1.3 细胞给药处理与分组** 取对数生长期 PC-3 细胞,按照细胞密度 1×10<sup>4</sup> 个/孔接种于 6 孔板中,37℃ 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下培养过夜。槲皮素组每孔加入 20,30 mmol·L<sup>-1</sup> 槲皮素,阿霉素组每孔加入 0.4 mg·L<sup>-1</sup> 阿霉素,另设空白组加入等体积 DMSO,培养 24 h,用于相应实验。

## 2 方法

**2.1 噻唑蓝(MTT)比色法检测 PC-3 细胞增殖** 取对数生长期 PC-3 细胞,按照细胞密度 1×10<sup>4</sup> 个/孔接种于 96 孔板中,37℃ 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下培养过夜,槲皮素组每孔分别加入 10,20,30,40,50 mmol·L<sup>-1</sup> 槲皮素,同时设空白组(不加药物),每组设 6 个平行孔。置于 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下分别培养 24,48 h 后,每孔加入 5 g·L<sup>-1</sup> MTT 溶液 20  $\mu$ L,继续培养 4 h,小心吸弃上清液,每孔加入 DMSO 150  $\mu$ L,振荡 10 min,使结晶物充分溶解,570 nm 波长处测定吸光度 A,计算细胞活力。细胞活力(%) =  $A_{\text{药物组}} / A_{\text{空白组}} \times 100\%$ 。计算出半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。

**2.2 Annexin V-FITC/碘化丙啶(PI)双染检测细胞凋亡** PC-3 细胞经药物处理 24 h 后,胰酶消化,1 200 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min,收集细胞,洗涤,加入 50 mg·L<sup>-1</sup> AnnexinV-FITC 和 PI 液各 5  $\mu$ L,37℃ 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下培养 60 min,流式细胞仪检测 PC-3 细胞的凋亡情况。每组设 3 个平行孔。

**2.3 免疫印迹法(Western blot)检测相关蛋白表达**

PC-3 细胞经药物处理 24 h 后,收集细胞,加入裂解液,离心,收集上清液,测定总蛋白浓度。蛋白上样后进行凝胶电泳,转膜,5% 脱脂奶粉 4℃ 封闭 2 h。分别加入鼠抗人  $\beta$ -catenin, Cyclin D<sub>1</sub>, c-Myc, GADPH 单克隆抗体(1:1 000)4℃ 孵育过夜,洗涤后,加入 HRP 标记的二抗(1:2 000)室温孵育 2 h。洗涤,ECL 化学发光试剂显色,Bio-Rad 凝胶成像系

统对各组条带进行计值及统计分析。蛋白相对表达 = 目标蛋白表达/GADPH 蛋白表达。实验重复 3 次。

**2.4 RT-PCR 检测相关 mRNA 表达** PC-3 细胞经药物处理 24 h 后,提取细胞总 RNA,检测 RNA 纯度,通过逆转录反应制备 cDNA。利用引物合成软件 Primer Premier 5.0 设计引物,引物序列见表 1。反应条件:预变性 94 °C 10 min,变性 94 °C 30 s,退火 60 °C 20 s,延伸 72 °C 40 s,共 40 个循环,72 °C 终延伸 10 min。用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙啶染色。美国 Gel Doc 1 000 成像系统进行图像扫描和分析。相对 mRNA 表达水平 = 目的基因条带/GADPH 基因条带。实验重复 3 次。

表 1 引物序列

Table 1 RT-PCR sequence

引物	序列	长度/bp
$\beta$ -catenin	上游 5'-GCAGCAACAGTCTTACCT-3'	117
	下游 5'-ACAGGACTTGGGAGGTAT-3'	
Cyclin D <sub>1</sub>	上游 5'-CTGTCGCTGGAGCCCGTAAAAA-3'	405
	下游 5'-GAAGTTGTTGGGGCTCCTCAGGTTTC-3'	
c-Myc	上游 5'-CCTCCACTCGGAAGGACTATC-3'	137
	下游 5'-TGTTTCGCTCTTGACATTCTC-3'	
GADPH	上游 5'-AGCCACATCGCTCAGACA-3'	315
	下游 5'-TGGACTCCACGACGTACT-3'	

**2.5 免疫荧光分析 细胞形态改变** PC-3 细胞经药物处理 24 h 后,进行细胞爬片,待爬满爬片时,3.7% 低聚甲醛固定 30 min,洗涤,封闭,0.2% Triton X-100 处理,然后与鼠抗人  $\beta$ -catenin 单克隆抗体

表 2 槲皮素对 PC-3 细胞增殖抑制的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 2 Effect of different concentrations of quercetin on PC-3 cells proliferation ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	浓度/mm $\cdot$ L <sup>-1</sup>	24 h		48 h	
		A	细胞活力/%	A	细胞活力/%
空白	-	0.691 $\pm$ 0.112	100.00 $\pm$ 0.00	0.857 $\pm$ 0.153	100.00 $\pm$ 0.00
槲皮素	10	0.546 $\pm$ 0.090 <sup>1)</sup>	79.92 $\pm$ 16.48 <sup>1)</sup>	0.249 $\pm$ 0.047 <sup>1)</sup>	29.65 $\pm$ 7.16 <sup>1)</sup>
	20	0.422 $\pm$ 0.081 <sup>1)</sup>	61.21 $\pm$ 12.64 <sup>1)</sup>	0.223 $\pm$ 0.041 <sup>1)</sup>	26.13 $\pm$ 6.51 <sup>1)</sup>
	30	0.304 $\pm$ 0.064 <sup>1)</sup>	44.71 $\pm$ 10.50 <sup>1)</sup>	0.271 $\pm$ 0.051 <sup>1)</sup>	31.57 $\pm$ 7.82 <sup>1)</sup>
	40	0.159 $\pm$ 0.034 <sup>1)</sup>	23.94 $\pm$ 6.57 <sup>1)</sup>	0.283 $\pm$ 0.056 <sup>1)</sup>	33.94 $\pm$ 8.41 <sup>1)</sup>
	50	0.131 $\pm$ 0.027 <sup>1)</sup>	19.23 $\pm$ 4.62 <sup>1)</sup>	0.271 $\pm$ 0.050 <sup>1)</sup>	31.62 $\pm$ 7.09 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>P < 0.05。

**3.2 槲皮素对 PC-3 细胞凋亡的影响** 不同浓度槲皮素组凋亡的细胞明显高于空白组,而且凋亡率随槲皮素剂量的增高而增加(P < 0.05, P < 0.01),呈剂量依赖性。见表 3。

**3.3 槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 及下游靶基因表达的影响** 与空白组比较,槲皮素组 PC-3 细胞表达  $\beta$ -catenin 及下游靶基因 Cyclin D<sub>1</sub> 和 c-Myc 蛋白和

1:1 000)37 °C 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下培养 1 h。洗涤,加入抗鼠荧光二抗培养 30 min,荧光染料(DAPI)处理 10 min,LSM510 META 型激光共聚焦显微镜观察荧光信号。每组设 3 个平行孔。

**2.6 荧光酶报告基因分析** 细胞培养同 1.3 项,培养过夜后洗涤,按照试剂盒说明书进行转染,转染结束后,槲皮素组分别加入 20,30 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 槲皮素,阿霉素组加入 0.4 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup> 阿霉素,另设空白组加入等体积 DMSO,37 °C 5% CO<sub>2</sub> 及饱和湿度下培养 24 h,按试剂盒说明书以荧光素酶双报告分析测定荧光素酶活性。荧光素酶相对活性 = 药物组测定值/空白组测定值  $\times$  100%,每组设 3 个平行孔。

**2.7 统计学方法** 数据采用 Graphpad5.0 软件。计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,首先对数据的正态分布和方差齐性进行检验,经检验所有数据符合正态分布,多组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验,P < 0.05 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 槲皮素对 PC-3 细胞增殖的影响** 与空白组比较,槲皮素(10 ~ 50 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>)分别作用于 PC-3 细胞 24,48 h 后,随着槲皮素浓度的增大和作用时间的延长,其对细胞的抑制明显增强(P < 0.05),细胞活力明显下降(P < 0.05),呈浓度和时间依赖性。见表 2。槲皮素处理 24,48 h 的 IC<sub>50</sub> 分别为(32.0  $\pm$  2.4), (3.5  $\pm$  0.2) mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>。因 24 h 的 IC<sub>50</sub> > 30 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup>,故此后续实验采用 20,30 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 作为槲皮素处理浓度。

mRNA 表达水平明显降低(P < 0.05, P < 0.01),且呈剂量依赖性。见图 1,2,表 4。

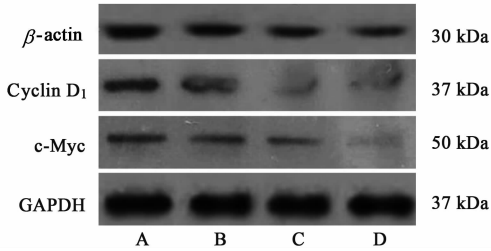
**3.4 槲皮素对  $\beta$ -catenin 表达免疫荧光的影响** 空白组 PC-3 细胞胞浆内  $\beta$ -catenin 出现明显增强的荧光信号,同时伴有明显的人核荧光信号。不同浓度槲皮素组可以显著降低  $\beta$ -catenin 在胞浆以及细胞核中的表达。见图 3。

表 3 槲皮素对 PC-3 细胞凋亡率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effect of quercetin on PC-3 cells apoptosis rate ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	凋亡率/%
空白	-	9.97 ± 1.91
阿霉素 <sup>3)</sup>	0.4	42.88 ± 5.26 <sup>2)</sup>
槲皮素	20	21.73 ± 3.74 <sup>1)</sup>
	30	28.43 ± 4.23 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; <sup>3)</sup> 阿霉素组单位为“ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ”(表 4, 5 同)。



A. 空白组; B ~ C. 槲皮素 (20, 30  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 组; D. 阿霉素 (0.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 组 (图 2, 3 同)

图 1 槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 及下游靶基因蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of quercetin on protein expressions of  $\beta$ -catenin and downstream target genes

表 4 槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 及下游靶基因蛋白和 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 4 Effect of quercetin on protein and mRNA expressions of  $\beta$ -catenin and downstream target genes in PC-3 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	目的蛋白/GAPDH			mRNA 相对水平/%		
		$\beta$ -catenin	Cyclin D <sub>1</sub>	c-Myc	$\beta$ -catenin	Cyclin D <sub>1</sub>	c-Myc
空白	0	0.75 ± 0.050	0.69 ± 0.050	0.53 ± 0.039	95.33 ± 7.673	63.31 ± 5.398	46.33 ± 4.256
阿霉素 <sup>3)</sup>	0.4	0.47 ± 0.039 <sup>2)</sup>	0.15 ± 0.014 <sup>2)</sup>	0.14 ± 0.017 <sup>2)</sup>	32.50 ± 2.441 <sup>2)</sup>	27.17 ± 3.092 <sup>2)</sup>	22.83 ± 2.056 <sup>2)</sup>
槲皮素	20	0.71 ± 0.046 <sup>1)</sup>	0.52 ± 0.033 <sup>1)</sup>	0.47 ± 0.037 <sup>1)</sup>	56.00 ± 5.624 <sup>1)</sup>	51.95 ± 4.705 <sup>1)</sup>	35.17 ± 2.960 <sup>1)</sup>
	30	0.63 ± 0.044 <sup>2)</sup>	0.22 ± 0.023 <sup>2)</sup>	0.25 ± 0.026 <sup>2)</sup>	47.17 ± 4.590 <sup>2)</sup>	43.50 ± 4.303 <sup>2)</sup>	31.33 ± 2.629 <sup>2)</sup>

表 5 槲皮素对 PC-3 细胞荧光酶相对活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 5 Effect of quercetin on relative activity of fluorescent enzyme in PC-3 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	荧光素酶相对活性/%
空白	-	100.00 ± 0.000
阿霉素 <sup>3)</sup>	0.4	30.57 ± 3.536 <sup>2)</sup>
槲皮素	20	81.37 ± 6.782 <sup>1)</sup>
	30	63.60 ± 5.875 <sup>2)</sup>

经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路是近年来肿瘤分子生物学领域研究的热点<sup>[9]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的异常激活已被证实与多种肿瘤的发生有关,如宫颈癌、大肠癌、膀胱癌等<sup>[10-12]</sup>。 $\beta$ -catenin 是 Wnt 信号通路中最关键的转导因子,参与细胞间黏附,调控细胞生长、分化和凋亡等过程<sup>[13]</sup>,而核内  $\beta$ -catenin 的出现是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路激活的标志。研究证实,当  $\beta$ -catenin 进入细胞核与核内转录因子 TCF 结合形成具有转录功能的  $\beta$ -catenin/TCF 复合体,在核内共

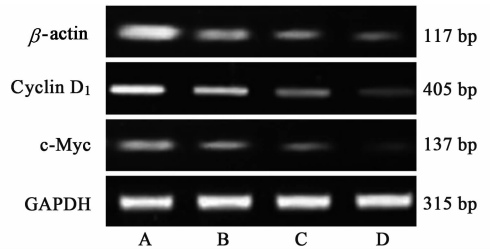


图 2 槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 及下游靶基因 mRNA 表达影响  
Fig. 2 Effect of quercetin on mRNA expressions of  $\beta$ -catenin and downstream target genes

3.5 槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin/TCF 转录因子活性的影响 与空白组比较,不同浓度槲皮素组 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin/TCF 转录因子的活性均明显下降 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),且呈剂量依赖性。见表 5。

#### 4 讨论

槲皮素抗肿瘤作用受到学者的广泛关注,本研究结果证实,槲皮素可抑制 PC-3 细胞增殖,且呈剂量和时间依赖性,同时槲皮素可促进 PC-3 细胞凋亡。以上结果提示,槲皮素具有抗前列腺癌的作用,可作为前列腺癌的潜在治疗药物。

同调控下游基因 Cyclin D<sub>1</sub>, c-Myc 的转录,诱导细胞恶变,从而完成 Wnt 信号的最终效应<sup>[14-16]</sup>。另有研究证实,Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路异常激活与前列腺癌关系密切,决定着肿瘤的转移程度,以及患者的生存期和预后,而  $\beta$ -catenin 核内异常转位及其下游靶基因过度转录被认为是前列腺癌癌变的关键事件之一<sup>[17]</sup>。抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路激活可能会抑制前列腺癌干细胞的自我更新并缓解肿瘤的恶性表型<sup>[18]</sup>。

本研究结果证实,PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 及下游靶基因 Cyclin D<sub>1</sub>, c-Myc 蛋白表达和转录水平显著增高;免疫荧光分析显示,PC-3 细胞胞内  $\beta$ -catenin 出现明显增强的荧光信号,同时伴有明显的人核荧光信号;荧光素酶报告基因分析显示,PC-3 细胞有很高的  $\beta$ -catenin/TCF 转录活性,与以往报道相一致<sup>[17]</sup>。给予槲皮素干预后发现,槲皮素可抑制  $\beta$ -catenin 及下

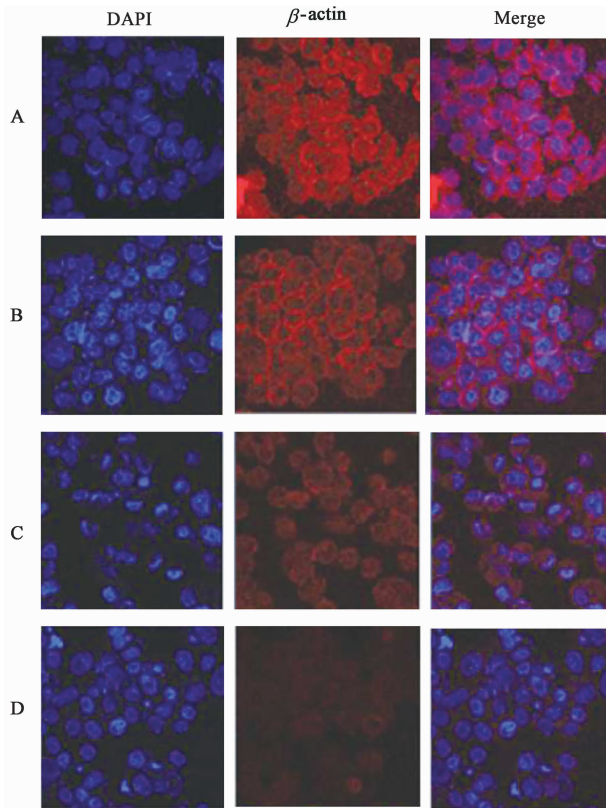


图 3 槲皮素对 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 表达的影响(免疫荧光,  $\times 40$ )  
Fig.3 Effect of quercetin on  $\beta$ -catenin expressions in PC-3 cells by quercetin(IF,  $\times 40$ )

游靶基因 Cyclin D<sub>1</sub>, c-Myc 蛋白表达和转录水平,降低 PC-3 细胞  $\beta$ -catenin 在胞浆以及细胞核中的表达,下调  $\beta$ -catenin/TCF 转录活性。

综上所述,槲皮素可抑制 PC-3 细胞增殖,促进其凋亡,其抗前列腺癌的机制可能与抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中  $\beta$ -catenin 的表达,下调  $\beta$ -catenin/TCF 转录活性以及抑制  $\beta$ -catenin 下游靶基因 Cyclin D1, c-Myc 蛋白表达和转录水平有关。

【参考文献】

[ 1 ] Jemal A, Bray F, Center M M, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2) : 69-90.  
[ 2 ] 韩苏军,张思维,陈万青,等. 中国前列腺癌发病现状和流行趋势分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(4) : 330-334.  
[ 3 ] 韩仁强,武鸣,陈万青,等. 2003 ~ 2007 年中国前列腺癌发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(11) : 805-811.  
[ 4 ] 张犁,朱清毅,魏云飞,等. 槲皮素对前列腺癌 PC3 细胞 VEGF 及 COX-2 表达水平的影响[J]. 新中医, 2012, 44(1) : 125-127.

[ 5 ] 邓晓慧,宋海岩,孙春莉,等. 槲皮素对人卵巢癌 SKOV-3 细胞增殖的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(1) : 99-102.  
[ 6 ] 安昌勇,谢刚,汤为学,等. 槲皮素对结肠癌 LoVo 细胞增殖侵袭能力及癌胚抗原 CEA 表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, 18(1) : 24-29.  
[ 7 ] Ranganathan S, Halagowder D, Sivasithambaram N D. Quercetin suppresses twist to induce apoptosis in MCF-7 breast cancer cells [ J ]. PLoS One, 2015, 10(10) : e0141370.  
[ 8 ] Calixto-Campos C, Corrêa M P, Carvalho T T, et al. Quercetin reduces ehrlich tumor-induced cancer pain in mice[J]. Anal Cell Pathol; Amst, 2015, 2015 : 285708.  
[ 9 ] 贺松其,姚飞龙,吕志平,等. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在肝癌转移侵袭中的调控机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7) : 251-254.  
[ 10 ] 吴和刚,袁森辅,周开梅,等.  $\beta$ -catenin 和 Galectin-3 在宫颈癌组织中的表达及其临床病理学意义[J]. 华西医学, 2015, 30(18) : 1452-1456.  
[ 11 ] 戴文斌,任占平,陈蔚麟,等. APC、 $\beta$ -catenin、C-myc 和 Cyclin D1 在大肠癌组织中的表达及其意义[J]. 癌症, 2007, 26(9) : 963-966.  
[ 12 ] 万雪莲,马菲菲,马红莹,等. Hepa CAM 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制膀胱癌细胞 T24 的增殖[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(5) : 683-668.  
[ 13 ] 文彬,孙海涛,贺松其,等. 鳖甲煎丸对 Wnt 信号通路中  $\beta$ -catenin/TCF4 复合物活性及信号分子 cyclin D1、MMP-2 的影响[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(12) : 1758-1762.  
[ 14 ] 李毅,张帅,殷钢,等. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在成人睾丸支持细胞增殖中的作用及其机制[J]. 山东大学学报:医学版, 2012, 50(3) : 55-61.  
[ 15 ] 李润青,单保恩. 槲皮素抗肿瘤作用与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导关系的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(21) : 1632-1635.  
[ 16 ] 张保静,陈远能,黄斌,等. 健脾清热活血方介导  $\beta$ -catenin, TCF-4 表达防治溃疡性结肠炎相关癌变研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20) : 144-149.  
[ 17 ] 马强,刘谦,宋娜玲. 经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在前列腺癌治疗中的新靶点[J]. 肿瘤学杂志, 2014, 20(7) : 582-586.  
[ 18 ] Wen S, Niu Y, Lee S O, et al. Androgen receptor ( AR ) positivevs negative roles in prostate cancer cell deaths including apoptosis, anoikis, entosis, necrosis and autophagic cell death [ J ]. Cancer Treat Rev, 2014, 40(1) : 31-40.

[责任编辑 张丰丰]