

· 综述 ·

天然黄酮类化合物抗肿瘤作用靶点研究进展

孙晓润, 陈苹苹, 林悦, 张建平, 王种奎, 张璇*

(河北中医学院 基础医学院, 石家庄 050200)

[摘要] 天然黄酮类化合物是很多常用抗癌方剂中药物的重要有效成分。随着中草药抗癌作用研究的深入,以及抗肿瘤药物研发目标从细胞毒药物逐渐转向针对肿瘤细胞特异性信号靶点药物,天然黄酮类化合物因其低毒高效的抗肿瘤活性成为研究热点。文章综述了近年来发现的天然黄酮类化合物在肿瘤细胞生长增殖,血管生成与侵袭转移,细胞凋亡,DNA与染色体调节和多药耐药性产生等过程的主要作用靶点,这将有助于从天然黄酮类单体中寻找抗癌先导化合物,为多靶点新型抗肿瘤药物的筛选、结构改造及多聚药理学研究提供参考依据。另外,借鉴当代分子生物学的最新成果和技术手段,揭示中草药抗肿瘤作用的分子机制和组方依据也是推动中医药现代化的创新思路。文章最后对天然黄酮类化合物抗肿瘤研究的未来方向提出一些可行性建议。

[关键词] 黄酮类化合物; 抗肿瘤; 靶点; 研究进展

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0218-011

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060218

Research Progress of Anti-tumor Molecular Target in Natural Flavonoids

SUN Xiao-run, CHEN Ping-ping, LIN Yue, ZHANG Jian-ping, WANG Chong-kui, ZHANG Xuan*

(Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China)

[Abstract] Flavonoids are important ingredients in many anti-tumor prescriptions in traditional Chinese medicine (TCM). With the deeper investigation of Chinese herbs' anti-tumor function, and anti-tumor drug development turning from cytotoxic regents towards cell specific signaling targets, flavonoids have gained more and more attentions in drug developing fields because of their high anti-tumor activity and low-toxicity characteristics. This paper reviewed the molecular targets of natural flavonoids that were studied in recent years in the fields of cell proliferation, angiogenesis, invasion and metastasis, apoptosis, DNA and chromosome regulations, as well as multi-drug resistance production. This will help in searching anti-tumor lead compounds among natural flavonoids, and provide reference for screening and structural modification of multi-targeting anti-tumor drugs as well as the polypharmacology research. In addition, the latest achievements and technologies in modern molecular biology were used to reveal the molecular mechanism of TCM anti-tumor and prescription basis, providing a revolution way for TCM modernization. Some suggestions of anti-tumor research on natural flavonoids in the future were also given in the present review.

[Key words] flavonoids; anti-tumor; molecular target; research progress

近年来,肿瘤防治领域的中医药研究取得了长足发展。很多抗癌方剂如清胰化积方^[1]、肺抑瘤合

[收稿日期] 20160730(fj20160730007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31401003);河北省医学科学研究重点课题项目(20160214);河北中医学院青年科研基金项目(QNZ2016013)

[第一作者] 孙晓润, 硕士, 讲师, 从事分子药理学研究, Tel:0311-89926584, E-mail:sunxiaorun@163.com

[通讯作者] *张璇, 博士, 副教授, 从事分子药理学研究, Tel:0311-89926584, E-mail:xuan_zhangt@hotmail.com

剂^[2]、益气活血清热方^[3]、消瘿方^[4]和消癌解毒方^[5]等能够抑制肿瘤增殖转移,减少化疗药物不良反应,提高患者生活质量。不但治疗效果得到了临床验证,对其作用机制的研究也逐渐深入到分子水平。现代药理学实验研究表明,这些方剂药物可通过调控抑癌基因、原癌基因、肿瘤细胞凋亡及转移相关基因和端粒酶活性等靶点发挥抗癌作用^[6]。

随着中草药抗癌作用研究的深入,加之抗肿瘤药物的研发目标逐渐从细胞毒药物转向针对肿瘤细胞特异性信号靶点的药物,抗癌方剂常用组成药物中的一种重要有效成分黄酮类化合物,因其低毒高效的抗癌活性成为研究热点。天然黄酮类化合物可分为黄酮、黄酮醇、黄烷酮和异黄酮等不同种类^[7]。白花蛇舌草、半枝莲、陈皮、黄芩、夏枯草和菟丝子等中富含山柰酚、槲皮素、芹黄素和木樨草素等天然黄酮类化合物,也是很多抗癌方剂的常用组方药物。国内外学者对源自植物的天然黄酮类化合物开展了大量基础研究,由于种类繁多,不同实验研究中选择的肿瘤细胞和模型又差别很大,对大量基础研究数据进行阶段性回顾分析具有重要意义。把握天然黄酮类化合物抗肿瘤作用靶点,有助于从天然黄酮类单体中寻找抗癌先导化合物,也可为多靶点新型抗肿瘤药物的筛选、结构改造以及多聚药理学研究打下良好基础。另外,引入和借鉴当代分子生物学的最新成果和技术手段已成为促进中医药发展的新举措。揭示中草药抗肿瘤作用的分子机制和组方依据^[8],在中医传统辨证论治的基础上结合作用靶点进行有机组合以提高治疗效果,也是推动中医药现代化的创新思路^[6]。为此,本文综述了近年来发现的天然黄酮类化合物在肿瘤细胞生长增殖,血管生成与侵袭转移,细胞凋亡,DNA 与染色体调节和多药耐药性产生等过程的主要作用靶点,希望为下一步的研究工作提供参考依据。

1 肿瘤生长增殖过程

细胞内外信号转导过程的异常或障碍可能加速蛋白质合成和 DNA 复制,引起肿瘤细胞过度生长增殖。天然黄酮类化合物主要通过作用于磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt),癌蛋白 (Ras)/有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK),两面神激酶 (JAK)/信号传导及转录激活因子 (STAT),分泌型糖蛋白 (Wnt)/ β -链蛋白 (β -catenin) 等通路和细胞周期控制系统的不同靶点,影响肿瘤细胞的生长增殖。由于肿瘤细胞分子调节机制的复杂性,很多影响生长增殖的靶点可能也会影响到细胞凋亡、血管

生成和浸润侵袭等过程。

1.1 PI3K/Akt 通路 PI3K 兼具丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶和磷脂酰肌醇激酶的活性。Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,又被称作蛋白激酶 B。PI3K 可被 G 蛋白偶联受体、受体蛋白酪氨酸激酶或癌蛋白 Ras 激活,进而磷酸化 Akt 的 Ser473 和 Thr308 位点。Akt 激活后可调控大量转录因子,并激活包括雷帕霉素靶体蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 在内的多个底物,进而刺激细胞增殖、转化并抑制凋亡。研究发现,PI3K-Akt-mTOR 在人类肿瘤谱中广泛失调,促进肿瘤细胞生长增殖并介导侵袭转移。

高良姜素能够抑制体内头颈鳞癌的生长,并呈剂量依赖性抑制癌细胞增殖,机制是抑制 Akt 磷酸化和 mTOR, S6 激酶的激活^[9]。山柰酚在体内外均对肺癌细胞具有放疗增敏作用,与抑制 PI3K-Akt 信号通路抑制增殖、诱导凋亡密切相关^[10]。山柰酚还被证实小鼠内皮细胞与 ATP 竞争 PI3K 结合位点,抑制 Akt 活性及其下游转录因子,抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平下调,引起细胞凋亡,生长受到抑制^[11]。槲皮素可降低类胰岛素增长因子 (IGF)-I, II, IR mRNA 水平,有效调整前列腺癌生长增殖的信号通路^[12]。因为 PI3K-Akt-mTOR 通路可介导 IGF-1/IGF-1R 的表达,与对照组小鼠比较,槲皮素组小鼠 Akt, IGF-1R 表达呈显著下降^[13]。木樨草素也可抑制前列腺癌 PC-3 和 DU145 细胞中的 Akt 及 IGF-1 对 IGF-1R 的激活。白杨素通过抑制 PI3K/Akt 通路对三阴性乳腺癌细胞呈现剂量依赖性抗增殖转移活性^[14]。

1.2 Ras/MAPK 通路 Ras 癌基因蛋白是 MAPK 通路的分子开关,可被内皮生长因子受体 (EGFR), 表皮生长因子受体 (HER)-2, 血管内皮细胞生长因子受体 (VEGFR) 和血小板衍生生长因子受体 (PDGFR) 等细胞膜上的酪氨酸激酶受体激活,并引发 MAPK 激酶 (Raf), MAPK 激酶和 MAPK 的三级级联激活。MAPK 是真核细胞信号从细胞表面转导进入核内部的重要传递者,可分为 ERK, p38, JNK 和 ERK5 等 4 个亚族^[15]。

研究表明,ERK 异常与肿瘤的发生发展密切相关。活化的 ERK 激酶移位到细胞核,可激活或灭活其他信号转导途径的关键效应分子如核转录因子 (NF)- κ B, Akt 以及重要转录因子成红血球细胞转录因子 (Ets), AFL1 和原癌基因 (c-Myc) 等,并调节细胞周期相关因子 (cyclinD₁, Rb, p21) 和凋亡

分子(Bcl-2, Bcl-XL, FasL)的表达^[16]。山柰酚可通过抑制 ERK 信号通路抑制小细胞肺癌 A549 细胞的生长,提高其放疗死亡率^[10]。JNK 是参与细胞应激反应的关键分子,入核后可提高促转录活性,JNK 还可使 p53 丧失对肿瘤的抑制功能^[17]。芹黄素可通过抑制 MAPKs, JNK 的磷酸化发挥抗肿瘤作用^[18]。高良姜素和山柰酚也可显著抑制 JNK 的磷酸化作用,阻断下游因子 NF- κ B 激活^[19]。槲皮素通过抑制 MAPK-ERK 通路的 MEK1 和 Raf-1 激酶,抑制小鼠表皮癌细胞增殖,诱导凋亡^[20]。

1.3 JAK-STAT 通路 JAK-STAT 通路是一条多种细胞因子共用的信号传导途径,STAT 入核后参与基因转录,调控细胞增殖、分化、免疫调节等过程。在 STAT 家族中,目前发现 STAT1, STAT3 和 STAT5 与肿瘤增殖、血管生成、凋亡和侵袭等密切相关^[21]。

非瑟酮和橙皮素对人慢性粒细胞性白血病 K562 细胞呈现抑制增殖、诱导程序性死亡的作用。微阵列全基因组分析结果显示,非瑟酮和橙皮素治疗后影响到的重要信号通路包括 JAK-STAT, KIT 受体和生长激素受体信号通路等^[22]。槲皮素可明显诱导人胃腺癌 SGC7901 细胞、结肠癌 SW480 细胞凋亡,并呈现良好的时间-剂量依赖性,其机制是通过下调 STAT3 的 mRNA 表达及 STAT3 蛋白磷酸化水平,引起凋亡抑制基因(survivin) mRNA 及 survivin 蛋白表达下调^[23]。芹黄素可减少 JAK1 和 STAT3 的磷酸化,抑制乳腺癌 MCF-7 细胞株 NF- κ B 的信号转导过程,从而抑制癌细胞生长增殖^[24]。

1.4 Wnt- β -catenin 通路 Wnt- β -catenin 通路承载着调控细胞生长、分化、发育的重要机制,在胚胎发育期存在较为普遍,属于进化保守通路。此通路通过控制糖原合成酶激酶 3- β (GSK3- β)蛋白,调节 β -catenin 的磷酸化并使其由细胞质转位到细胞核调控下游基因表达。该通路在多种肿瘤组织中表达异常,促进细胞增殖、侵袭转移和抗凋亡。

木樨草素可通过 Wnt 通路影响下游 cyclinD₁, Bcl-2, Bax 和含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(Caspase)-3 等基因的表达,抑制结肠癌 HCT-15 恶性腺瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡,是很有希望的结肠癌治疗药物^[25]。槲皮素可以抑制胆管癌细胞依赖 Wnt 途径的转录,下调细胞周期刺激因子如 cyclinD₁, 上调增殖抑制因子 p27,从而抑制肿瘤细胞生长。时间依赖性研究发现槲皮素作用早期抑制细胞生长作用最明显^[26]。槲皮素用于 DND-41T 淋巴细胞白血病患者,也能通过抑制 Wnt 通路减少白

血病细胞中 Notch1 蛋白抑制肿瘤细胞增殖^[27]。杨梅酮可抑制肝细胞癌的 Wnt 通路,下调下游抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 survivin,上调促凋亡蛋白 Bax,抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡^[28]。但另一项研究显示,芦丁可通过激活 Wnt- β -catenin 通路促加速角质形成细胞移行,促进伤口愈合^[29],其对肿瘤细胞作用尚需进一步探究。

1.5 细胞周期控制系统 细胞周期控制系统由细胞周期蛋白(cyclin),细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)和周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CDKI)构成。CDKs 是一类重要的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,与特定的 cyclin 结合并在细胞周期特定时相激活,通过磷酸化相应底物,维持细胞周期正常运转。cyclin,CDKI 对 CDKs 分别具有正性、负性调控作用,共同构成细胞周期调控系统。在恶性肿瘤中,由于 cyclin 的超表达,CDKI 表达的丧失,使 CDKs 不当激活和细胞周期检查点缺陷而导致周期调节失控,细胞无限增殖。

芹黄素通过抑制 cyclinD₁, cyclinD₂, cyclinE 以及 CDK2, CDK4, CDK6 的表达,将前列腺癌 LNCap 和 PC-3 细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期^[30]。通过抑制细胞中 CDKI 编码的蛋白激酶活性,芹黄素还可降低 p34 活性、减少 p34 积聚、降低 cyclinB₁ 蛋白水平,使结肠癌细胞 SW480 发生 G₂/M 期阻滞^[31]。芹黄素作用于乳腺癌 SK-BR-3 细胞可诱导 cyclinA, B, D, E 下调和 CDKI 表达减少^[32]。山柰酚可降低人乳腺癌 MDA-MB-453 细胞的 CDKI 水平,通过干扰细胞周期 G₂ 检查点而抑制细胞增殖^[33]。山柰酚可将肺癌 A-549 细胞周期阻滞在 G₂/M 期,增加放疗对癌细胞的杀伤力并抑制克隆细胞存活,但同等浓度下正常肺 HFL1 细胞周期无任何影响^[10]。山柰酚还可显著抑制胃癌 MKN28 和 SGC7901 细胞增殖和小鼠体内移植瘤生长,与显著下调 cyclinB₁, CDKI 和 CDC25C 将细胞阻滞于 G₂/M 期有关^[34]。槲皮素通过下调 cyclinD₁, cyclinA, cyclinB 和 CDKI 的表达,将癌细胞阻滞于 G₂ 期^[35]。高良姜素可减少头颈鳞癌细胞 cyclinD₁, CDK4 和 CDK6 的表达,还可引起视网膜母细胞瘤蛋白的磷酸化,通过抑制细胞周期进程防止细胞过度增殖^[9]。

2 血管生成与侵袭转移过程

新生血管可为实体瘤提供更多营养有利于肿瘤生长,更为肿瘤侵袭进入循环系统提供机会,而肿瘤细胞侵袭进入其他部位继续生长,又为血管生成创造有利条件。血管生成与侵袭转移相辅相成,是引

起肿瘤生长和扩散的重要过程。作用于血管生成和肿瘤侵袭转移过程不同靶点的药物,是当前肿瘤治疗药物的研发热点之一。

2.1 血管生成 血管生长因子(VEGF)是目前已知最强的促血管生成因子,通过作用于受体酪氨酸激酶 VEGFR 发挥生理活性。VEGF 在许多肿瘤组织中高表达,且与肿瘤预后较差有关。

山柰酚可以抑制乳腺癌 MDA 细胞 VEGF 的释放,降低卵巢癌细胞 VEGF 的 mRNA 浓度^[36],其抑制 VEGF 表达和血管生成作用通过 ERK-NF- κ B-cMyc-p21 通路实现^[37]。芹黄素可以显著下调乳腺癌 T47-D 和 BT-474 细胞的 VEGF 表达^[38]。另外,芹黄素对酪氨酸激酶和蛋白激酶有强干扰作用,减少为应答蛋白 Grb2 提供结合位点,可抑制表皮细胞生长因子受体自磷酸化及其效应因子 MAPK 酪氨酸磷酸化^[39]。对卵巢癌体内外抗血管生成作用的研究表明,高良姜素通过 Akt-p70S6K-HIF-1 α 通路抑制 VEGF 的分泌。杨梅酮则通过 p21-HIF-1 α 通路减少 VEGF 分泌发挥抗血管生成作用^[40]。

2.2 侵袭转移 多种细胞因子、蛋白酶、信号转导通路蛋白和受体等与肿瘤细胞获得破坏细胞间及细胞与基质间黏附和基底膜的能力,提升运动能力有关,是抗侵袭转移的有效靶点。胞内靶点如 PI3K-Akt, Ras-MAPK 通路等已有阐述,细胞外主要作用靶点包括蛋白酶, E-钙粘蛋白和粘着斑激酶等。

2.2.1 蛋白酶 肿瘤侵袭需要借助蛋白酶的水解作用破坏细胞外基质(ECM),脱离原发组织分布到其他部位。参与降解的蛋白水解酶包括基质金属蛋白酶(MMP),尿激酶型纤溶酶原激活剂等。MMP 在肿瘤组织中往往过量表达,预后不良^[41]。

芹黄素可引起尿激酶、纤维酶原激活因子的表达部分下降,降低尿激酶活性,抑制 MMP-9 分泌,显著抑制肿瘤细胞向基底膜的侵袭转移^[42]。芹黄素还可通过下调 MMP-9 抑制 12-肉豆蔻酸-13-乙酸盐诱导的乳腺癌 MCF-7 细胞侵袭迁移^[43]。对极具侵略性的乳腺癌 MDA-MB-231 细胞,山柰酚显示出显著的抗转移特性,机制是以剂量依赖的方式抑制 MMP-3 蛋白活性^[44]。槲皮素、杨梅酮能通过作用于表皮生长因子受体抑制肿瘤细胞 MMP-2 和 MMP-9 的分泌,抑制肿瘤细胞侵袭能力^[45]。酶谱分析法测定显示槲皮素可抑制人结肠癌 SW480 细胞分泌 MMP-2 及 MMP-9^[46]。槲皮素还能够通过降低人纤维肉瘤 ROS 水平,抑制基质 MMP 活化,降低肿瘤细胞运动性,阻止肿瘤细胞恶性扩散^[47]。高良姜素

具有降低对苯二甲酸(TPA)所致的细胞黏附、浸润和迁移的作用,实验显示,其主要机制是降低 TPA 诱导的肝癌 HepG2 细胞 MMP-2 和 MMP-9 的活性并引起相应 mRNA 表达下调^[48]。高良姜素和山柰酚显著降低纤维肉瘤 HT-1080 细胞 MMP-9 的分泌,而漆黄素对此仅有较弱作用。进一步的荧光素酶报告基因检测显示高良姜素和山柰酚可抑制 MMP-9 蛋白 mRNA 的转录过程^[19]。

2.2.2 E-钙粘蛋白 E-钙粘蛋白是属于糖蛋白的一种重要细胞黏附分子,肿瘤的发展和转移与其功能或表达缺失有关。E-钙粘蛋白的下调降低了组织内细胞黏附强度,导致细胞活动性增加,允许癌细胞穿过基底膜入侵周围组织,形成上皮-间充质转化(EMT)。

通过细胞侵袭和伤口愈合分析研究,发现高良姜素在抑制侵袭方面作用显著,其机制是增加 E-钙粘蛋白表达,降低波形蛋白表达,抑制 EMT^[49]。对人类非小细胞肺癌 A549 细胞,山柰酚可通过抑制 Akt1 诱导的 Smd3 蛋白 Thr179 位点的磷酸化,补充流失的 E-钙粘蛋白,阻断转化生长因子(TGF)- β_1 介导的 EMT,弱化细胞迁移能力^[50]。芹黄素也可通过抑制肝癌细胞的 EMT 进程,降低细胞黏附能力,控制肌动蛋白聚合和细胞迁移^[51]。对三阴性乳腺癌细胞,白杨素可以诱导 E-钙粘蛋白表达增加,波形蛋白减少,逆转 EMT^[14]。木樨草素治疗后可逆转 EMT,提示木樨草素可作为化疗增敏剂用于卵巢癌的治疗^[52]。非瑟酮与靶向肿瘤治疗药物 sorafenib 联合应用于大鼠移植黑色素瘤的治疗,通过增加 E-钙粘蛋白,减少波形蛋白和纤连蛋白等,抑制 EMT,减少肿瘤的浸润转移^[53]。

2.2.3 黏着斑激酶(FAK) 癌细胞 FAK 活性的升高与癌侵袭力增强具有一定相关性,在肿瘤向恶性侵袭表型演进的过程中起着关键作用。

高良姜素可抑制黑色素瘤 B16F10 细胞的 FAK 基因转录及 FAK 蛋白磷酸化过程,稳定纤维状肌动蛋白,降低细胞黏附、伸展和运动能力,抑制细胞迁移,同样的抑制效应在 C57BL/6J 小鼠黑色素瘤 B16F10 细胞肺转移模型中也可以观察到,说明高良姜素在体内外均以 FAK 为靶点发挥抑制黑色素瘤 B16F10 细胞侵袭迁移的作用^[54]。槲皮素呈剂量依赖性抑制肝细胞生长因子 HGF 诱导的黑色素瘤迁移和浸润,机制就是抑制 FAK, p21-活化激酶(p21-activated kinases, PAK)的磷酸化^[55]。木樨草素也有减少卵巢癌耐药细胞 FAK 的磷酸化作用^[52]。还有

研究证实杨梅酮对 FAK 活性有抑制作用,通过抑制 FAK 磷酸化,抑制视网膜周皮细胞迁移,对晚期糖尿病患者的视网膜病变有积极预防作用^[56],但其对肿瘤细胞 FAK 活性及迁移的影响未见报道。

3 肿瘤细胞凋亡过程

尽管凋亡机制尚不完全清楚,但凋亡的突出表现是大量功能蛋白因被切割丧失作用。Caspases 是执行切割的重要蛋白酶,可分为两类:激活型和效应型。按照激活半胱天冬酶的信号来源不同,细胞凋亡有线粒体与膜受体两种激活途径。

3.1 线粒体途径 氧气缺乏, DNA 损伤等刺激可通过一系列胞内信号转导引起线粒体膜通透性变大,细胞色素 C 等促凋亡因子释放,触发 Caspases 级联反应,诱导细胞凋亡^[57]。Bcl-2 基因家族在线粒体凋亡途径中起调控作用。Bcl-2 家族根据功能可分为两类: Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1 等抑制凋亡; Bax, Bak, Bad, Bid, Bim 等促进凋亡。

Bcl-2 是一种重要的凋亡抑制因子^[58]。研究表明,槲皮素能够抑制 Bcl-2 基因在胃癌细胞的表达并上调 Bax 基因表达,降低 Bcl-2/Bax,促进细胞凋亡^[59]。槲皮素还能下调人早幼粒白血病 HL-60 细胞中 Bcl-2 家族蛋白,增加 Bax 蛋白的含量,诱导凋亡^[60]。对结肠癌 SW480 细胞,槲皮素能通过下调 Bcl-2 的表达水平而发挥抗癌作用^[61]。RSK2 是细胞凋亡的重要抑制剂,具有下调细胞凋亡促进蛋白 BAD 和上调 Bcl-2 的作用^[11]。山柰酚结合在 RSK2 发挥功能的关键部位 Val⁸² 和 Lys¹⁰⁰,使 RSK2 蛋白失活,降低 Bcl 水平和提高肿瘤抑制蛋白 BAD^[62]。山柰酚治疗后可显著降低胃癌 MKN28 和 SGC7901 细胞的 Bcl-2 表达,增加其 Bax 表达,使 Caspase-3, 9 水平上调^[34]。芹黄素作用于肿瘤细胞后使线粒体跨膜通透性转运孔开放,线粒体跨膜电位改变,导致细胞色素 C 释放,诱导线粒体途径的细胞凋亡。同时线粒体内细胞色素 C 耗竭可导致 ATP 生成受阻和 ROS 产生,进一步诱导肿瘤细胞坏死^[63-64]。研究显示,芹黄素治疗组骨肉瘤的质量降低,细胞凋亡数量增加, Bax, Caspase-3, Caspase-9 和细胞色素 C 表达明显上调, Bcl-2 表达下调^[65]。高良姜素也可通过下调 Bcl-2 和 Bcl-xL,上调 Bax,诱导头颈鳞癌细胞凋亡^[9]。

3.2 膜受体途径 死亡配体与细胞膜上的死亡受体结合,通过死亡结构域激活 Caspase-3 等效应型半胱天冬蛋白酶,诱导细胞凋亡。死亡受体及其配体研究是目前细胞凋亡研究热点之一。死亡受体

目前发现的有 TRAIL-R₁ (DR4, Apo2A, TNFRS10A), TRAIL-R₂ (DR5, KILLER, TRICK2, TNFRSF10B), TRAIL-R₃ (DcR1, TRIDD, LIT), TRAIL-R₄ (DcR2, TRUND) 等。激活死亡受体的配体为肿瘤坏死因子基因超家族,包括 TRAIL, FasL, TNF, Apo3L, Apo2L 等。

芹黄素通过抑制腺苷酸转移酶基因-2 上调肿瘤 DU145 和 LNCaP 细胞的 TRAIL-R₂ 表达,增强 TRAIL 诱导的细胞凋亡^[66]。另有研究发现,高良姜素、槲皮素和山柰酚可调整小鼠 RAW264.7 巨噬细胞表面死亡受体 TRAILR₁ 的表达,增强 TRAIL 诱导的细胞凋亡^[67]。对于肾癌 Caki, ACHN 和 A498 细胞,高良姜素可以增敏 TRAIL 介导的细胞凋亡。特别是对已产生的 TRAIL 抵抗,高良姜素可以发挥显著增敏作用^[68]。很多黄酮醇类化合物被证实可以增强 TRAIL 介导的肿瘤细胞凋亡途径,抑制肿瘤细胞产生 TRAIL 抵抗。研究显示白杨素、芹黄素和金合欢素可抑制 RAW264.7 巨噬细胞膜表面的 TRAIL-R₁ 表达,但芹黄素和金合欢素却能增强 TRAIL 介导的巨噬细胞凋亡,具体机制有待研究^[69]。

4 DNA 与染色体调节过程

内外环境因素诱导细胞中的原癌基因活化、遗传行为异常是肿瘤产生的重要根源。从细胞核内异常机制出发,寻找有效阻断该过程的靶点是肿瘤治疗药物开发的重要策略。

4.1 p53 正常细胞内受到 MDM2 蛋白的抑制,野生型 p53 活性处于较低基础水平。DNA 损伤、缺氧刺激、三磷酸核糖核苷酸损耗和原癌基因激活等多种应激信号都可激活 p53,引起不同程度的应激反应,并启动修复系统进行修复。此外, p53 蛋白还具有非转录因子作用,如与细胞质中 Bcl-2 蛋白发生相互作用直接介导细胞凋亡等。在肿瘤细胞内, p53 受癌蛋白作用发生基因突变,由抑癌基因突变为癌基因,失去了对细胞生长、凋亡和 DNA 修复的调控作用,目前认为突变型 p53 是人类肿瘤的重要致病因素。鉴于对细胞产生的巨大影响, p53 蛋白是近年来分子生物学领域中研究热度最高的蛋白。

槲皮素通过上调宫颈癌细胞内的 ROS 水平,增强 mRNA 的翻译过程而促进 p53 基因的表达,还能增加已合成 p53 蛋白的稳定性,抑制肿瘤细胞增殖^[70]。芹黄素能增加乳腺癌 MCF-7 细胞中野生型 p53 的稳定性和活性,明显提高野生型 p53 蛋白含量。还可增加 p53 下游效应因子 p21/waf1 蛋白水

平,有效抑制 cyclin/CDK 的底物磷酸化作用,使细胞周期阻滞在 G_1 期,抑制肿瘤细胞生长^[24]。另一项研究发现芹黄素、非瑟酮、高良姜素和木樨草素可通过与疏水基结合抑制 MDM2 蛋白活性,而 MDM2 蛋白能够抑制 p53 与 DNA 的结合,阐明了黄酮类化合物对 p53 活性的促进机制^[71]。

4.2 NF- κ B 细胞因子与细胞膜表面的 TNF 受体结合后,受 I κ B 抑制的 NF- κ B 得以暴露其核定位序列,并迅速从细胞质进入细胞核内,启动或增强相关基因转录。NF- κ B 的下游基因包括 cyclinD₁, c-Myc, ICAM-1, VCAM-1, MMP-9 和 VEGF 等,与肿瘤的形成、生长、转移和凋亡等多个过程密切相关。

芹黄素能够抑制 NF- κ B 抑制因子激酶活性,减少 NF- κ B 抑制因子降解,抑制 NF- κ B 蛋白的表达^[72]。对乳腺癌 MCF-7 细胞,芹黄素可通过抑制 I κ B α 的磷酸化,抑制 NF- κ B 信号通路^[24]。高良姜素也可抑制 NF- κ B 的活化,在转录水平引起 Bcl-2 蛋白下调,诱导细胞凋亡^[67]。槲皮素能够下调 NF- κ B 水平,增强经死亡受体途径诱导的肿瘤细胞凋亡^[73]。

4.3 HDAC 核心组蛋白 N 末端的乙酰化与去乙酰化过程处于动态平衡,由组蛋白乙酰化转移酶 (HAT) 和组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 共同调控。HAT 介导的乙酰化修饰有利于转录因子与 DNA 结合位点特异性结合,激活基因转录; HDAC 使组蛋白去乙酰化,与带负电荷的 DNA 紧密结合,染色体致密卷曲,抑制基因转录。在肿瘤细胞中,HDAC 的过度表达导致去乙酰化作用的增强,不利于许多肿瘤抑制基因的转录和表达^[74]。HDAC 抑制剂可调控细胞凋亡及分化相关蛋白的表达和稳定性,诱导细胞凋亡及分化。

槲皮素可呈剂量依赖性诱导白血病 HL60 细胞的凋亡,高浓度槲皮素 ($75 \sim 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 通过组蛋白的高乙酰化导致细胞周期停滞与细胞凋亡^[75]。山柰酚被测定具有 HDAC 抑制作用,通过对肝癌 HepG2, Hep3B 细胞和结肠癌 HCT-116 细胞组蛋白 H3 的高度乙酰化,显著降低细胞活力和增殖速率^[76]。木樨草素作为 HDAC 抑制剂,与顺氯氨铂联合应用于无胸腺小鼠,可显著抑制 LNM35 细胞移植瘤的生长^[77]。染色体免疫沉淀测定显示,芹黄素可增加乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 p21WAF1/CIP1 启动子区域的组蛋白 H3 乙酰化。在芹黄素治疗的乳腺癌移植瘤模型中,可观察到 cyclinA 和 cyclinB 水平下降, p21WAF1/CIP1 和乙酰化组蛋白 H3 水平升

高,肿瘤生长被显著抑制^[78]。

4.4 端粒酶 (Telomerase) 由于 DNA 复制过程的特有性质,端粒会在每次细胞分裂过程中进行性缩短,最终引起 DNA 损伤,触发死亡机制,避免永生。端粒酶是染色体末端负责端粒延长的酶,由端粒酶 RNA (hTR),端粒酶相关蛋白 (TEP) 和端粒酶反转录酶 (hTERT) 组成,可填补 DNA 复制缺陷,增加细胞分裂次数。正常成人细胞的端粒酶活性受到相当严密的调控。端粒酶的异常激活是恶性肿瘤的共同特征,能降低肿瘤细胞对化疗的敏感性,且与抗凋亡和耐药性有关,成为肿瘤治疗的新靶点。

槲皮素可下调 hTERT 基因表达,抑制端粒酶活性,破坏端粒稳定性,促进肺腺癌细胞凋亡^[79]。白杨素是蜂胶的有效成分,可通过诱导凋亡发挥抗癌作用。实验表明, $60 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蜂胶溶液可以显著抑制白血病细胞 hTERT 的 mRNA 表达^[80]。芹黄素也通过抑制原癌基因介导的 hTERT 基因表达降低端粒酶活性,对白血病细胞产生作用^[81]。反转录多聚酶链式反应数据显示,随着杨梅酮浓度的增加,乳腺癌 MCF-7 细胞的 hTERT 基因表达显著受到抑制。利用荧光光谱学等技术测定显示,杨梅酮与端粒 G-四联体形成了稳定复合物,使 G-四联体失去对癌细胞染色体的保护作用^[82]。

5 肿瘤多药耐药性产生过程

肿瘤细胞的多药耐药性 (MDR) 常由细胞膜上过度表达外排抗肿瘤药物的蛋白引起,是导肿瘤化疗失败的主要原因。引起 MDR 的蛋白包括 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp), 乳腺癌耐药蛋白 (breast cancer resistance protein, BCRP) 和多药耐药相关蛋白 (multidrug resistance related protein, MRP) 等。

槲皮素能够增加 EPG85-257RDB 胃癌细胞对于细胞抑制剂的敏感性,其机制是通过减少 P-gp 的表达,减少细胞抑制剂向细胞外的运输以及下调 ABCB₁ 基因表达^[83]。槲皮素和芦丁可以抑制 P-gp 转运功能,显著降低 P-gp 过表达的肿瘤细胞产生的紫杉醇耐药^[84]。槲皮素、山柰酚可显著抑制 BCRP 介导的达沙替尼外排失效^[85]。杨梅酮对转染于 MDCK II 细胞上的 MRP₁ 或 MRP₂ 有抑制作用, $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的杨梅酮可使长春新碱对 MRP₁ 细胞的 IC_{50} 由 $(33.1 \pm 1.9) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 降至 $(7.6 \pm 0.5) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 MRP₂ 细胞的 IC_{50} 由 $(22.2 \pm 1.4) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 降至 $(5.8 \pm 0.5) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 剂量依赖性逆转 MRP 介导的长春新碱耐药^[86]。

6 其他

体内自由基生成、氧化应激反应和炎症反应过程中也发现许多天然黄酮类化合物的作用靶点^[87-89]。天然黄酮类化合物还可作用于肿瘤细胞的能量供应过程,诱导肿瘤细胞生长停滞和凋亡,山柰酚对人类乳腺癌 MCF-7 细胞的抗增殖和细胞毒效应与此类靶点有关^[90]。hERG (human ether- α -go-go-related gene) 所编码的快速激活延迟整流钾离子通道在多种肿瘤细胞中高表达,被认为与肿瘤细胞增殖、组织侵袭和凋亡等有关,其可能机制包括调节 Ca^{2+} 浓度、影响肿瘤细胞膜电位和参与肿瘤信号转导等^[91],其表达水平可能和肿瘤恶性程度相关^[92]。特异性的 hERG 钾通道阻断剂则可以抑制肿瘤细胞增殖,促进肿瘤细胞凋亡。本课题组的前期研究结果显示,茶叶和红酒中的鞣酸和槲皮素对转染于 HEK293 细胞的 hERG 钾通道有明显阻断作用^[93],进而发现与槲皮素结构相近的一系列多羟基天然黄酮类化合物,包括山柰酚、芹黄素、高良姜素、木犀草素等,均对 hERG 钾通道具有阻断作用,认为 hERG 钾通道可能也是天然黄酮类化合物抗肿瘤作用靶点之一,深入的机制和构效

关系研究正在进行。

7 展望

综上,天然黄酮类化合物可通过多种靶点影响肿瘤细胞的生物学过程(图 1),具有值得期待的多靶点抗肿瘤潜力。医学基础研究的重要目的是服务临床实践,为此,除继续开展黄酮类化合物广泛的作用靶点研究以取得更充分证据外,为实现研究成果尽快向肿瘤治疗临床转化,笔者认为,还有以下研究方向值得关注,①构效关系研究,明确其结构中的有效基团,为多靶点抗肿瘤药物遴选和结构改造提供依据;②多聚药理学研究,在构效关系研究基础上,尝试设计合成同时靶向更多靶点的新化合物,提高对肿瘤细胞杀伤力,降低过多联合用药导致的不良反应和药物相互作用;③动物模型研究,以相较于细胞模型更接近人体的方式研究其抗肿瘤作用;④药代动力学研究,改善生物利用度等药动学参数,对体内充分发挥其抗肿瘤作用具有实际意义。另外,借鉴天然黄酮类单体作用靶点研究中现代分子药理学技术和经验,进行抗癌方剂复方药效物质的研究,探索抗癌中药配伍规律,提高临床疗效,也是中医药现代化的可循之径和发展方向。

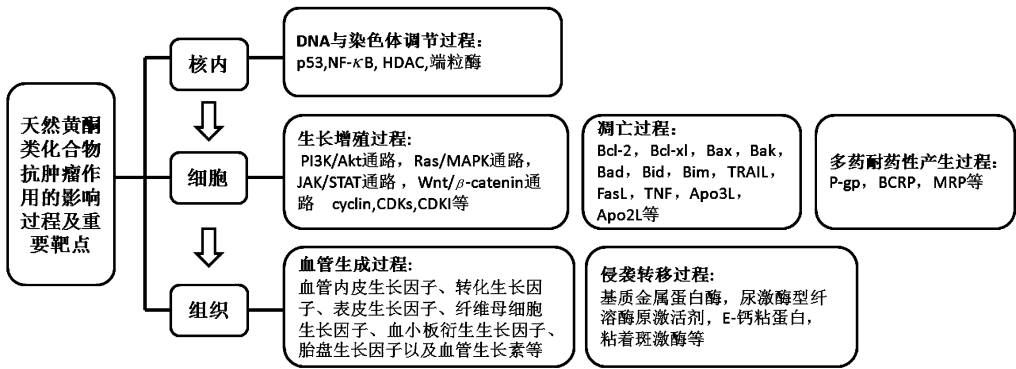


图 1 天然黄酮类化合物抗肿瘤作用的影响过程及重要靶点

Fig. 1 Effect of natural flavonoids on tumor cells and their important targets

[致谢] 河北中医学院药学院制药工程教研室谢爱华老师提供文字修订和指导。

[参考文献]

[1] 张剑军,陈震,石卫东,等. 清胰化积方对移植胰腺癌小鼠免疫抑制因子及脾淋巴细胞功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(6): 49-51.

[2] 郑翠娥,孔雅,闫培琦,等. 肺肿瘤合剂对小鼠 Lewis 肺癌 p16, p53, cyclinD1 表达影响的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(2): 116.

[3] 席蓓莉,蒋凤荣,黄玉芳,等. 益气活血清热方对胃癌细胞株 P53 VEGF 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(3): 594-595.

[4] 欧阳华强,黄雯霞,宋明志,等. 消瘦方抑制人乳腺癌裸鼠移植瘤血管内皮生长因子表达的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(3): 44-47.

[5] 程海波,沈卫星,姚志华,等. 基于癌毒病机理论的消癌解毒方抗肿瘤研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2014, 30(6): 593-595.

[6] 陈惠,渠景连,龚婕宁. 现代医学对恶性肿瘤转移相关机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2823-2828.

[7] 陈永钧,龙晓英,潘素静,等. 黄酮类化合物的药效机制及构效关系研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 337-344.

- [8] 罗金强,刘宏斌.半枝莲、白花蛇舌草抗肿瘤的研究进展[J].现代肿瘤医学,2014,22(2):481-484.
- [9] ZHU L,LUO Q,BI J. Galangin inhibits growth of human head and neck squamous carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*[J]. Chem Biol Interact,2014,224(9):149-156.
- [10] KUO W T, Tsai Y C, WU H C. Radio sensitization of non-small cell lung cancer by kaempferol [J]. Oncol Rep,2015,34(5):2351-2356.
- [11] LUO H, Rankin G O, LI Z, et al. Kaempferol induces apoptosis in ovarian cancer cells through activating p53 in the intrinsic pathway[J]. Food Chem,2011,128(2):513-519.
- [12] Sharmila G, Bhat F A, Arunkumar R, et al. Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in *in vivo* model[J]. Clin Nutr,2013,33(4):718-726.
- [13] MIN Y K, Lee J E, CHUNG K C. Zinc induces cell death in immortalized embryonic hippocampal cells via activation of Akt-GSK-3beta signaling [J]. Exp Cell Res,2007,313(2):312-321.
- [14] YANG B, HUANG J, XIANG T, et al. Chrysin inhibits metastatic potential of human triple-negative breast cancer cells by modulating matrix metalloproteinase-10, epithelial to mesenchymal transition, and PI3K/Akt signaling pathway [J]. J Appl Toxicol, 2014, 34 (1): 105-112.
- [15] 陆涛,卢帅,李慧芳,等.肿瘤信号转导通路及相关药物研究的现状与展望(上)[J].中国药科大学学报,2008,39(3):193-199.
- [16] 王刚,杜士明,杨光义,等.槲皮素抗肿瘤的分子机制研究进展[J].中国医院药学杂志,2011,31(4):322-324.
- [17] Weston C R, Davis R I. The JNK sigrlal transduction pathway [J]. Curt Opin Cell Biol, 2007, 19 (2): 142-149.
- [18] Lee P Ha S K, Park J A, et al. Apigenin inhibits the production of NO and PGE2 in microglia and inhibits neuronal cell death in a middle cerebral artery occlusion-induced focal ischemia mice model[J]. Neurochem Int, 2008,52(4):878-886.
- [19] Choi Y J, Lee Y H, Lee S T. Galangin and kaempferol suppress phorbol-12-myristate-13-acetate-induced matrix metalloproteinase-9 expression in human fibrosarcoma HT-1080 cells[J]. Mol Cells,2015,38(2):151-155.
- [20] Lee K W, KANG N J, Heo Y S. Raf and MEK protein kinases are direct molecular targets for the chemopreventive effect of quercetin, a major flavonol in red wine[J]. Cancer Res,2008,68(3):946-955.
- [21] GAO S P, Mark K G, Leslie K, et al. Mutations in the EGFR kinase domain mediate STAT3 activation via IL-6 production in human lung adenocarcinomas [J]. J Clin Invest,2007,117(12):3846-3856.
- [22] Adan A, Baran Y. Fisetin and hesperetin induced apoptosis and cell cycle arrest in chronic myeloid leukemia cells accompanied by modulation of cellular signaling. [J]. Tumour Biol,2016,37(5):5781-5795.
- [23] SHAN B E, WANG M X, LI R Q. Quercetin inhibit human SW480 colon cancer growth in association with inhibition of cyclin D1 and survivin expression through Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. Cancer Invest, 2009,27(6):604-612.
- [24] Seo H S, Choi H S, Kim S R, et al. Apigenin induces apoptosis via extrinsic pathway, inducing p53 and inhibiting STAT3 and NFkappaB signaling in HER2-over expressing breast cancer cells [J]. Mol Cell Biochem, 2012,366(1/2):319-334.
- [25] Pandurangan A K, Dharmalingam P, Sadagopan S K, et al. Luteolin induces growth arrest in colon cancer cells through involvement of Wnt/beta-catenin/GSK-3beta signaling [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol,2013,32(2):131-139.
- [26] Wachter J, Neureiter D, Alinger B, et al. Influence of five potential anticancer drugs on wnt pathway and cell survival in human biliary tract cancer cells [J]. Int J Biol Sci,2012,8(1):15-29.
- [27] Kawahara T, Kawaguchi-Ihara N, Okuhashi Y, et al. Cyclopamine and quercetin suppress the growth of leukemia and lymphoma cells [J]. Anticancer Res, 2009,29(11):4629-4632.
- [28] Gopal A, Iyer S C, Halagowder D. Myricetin induces apoptosis by inhibiting P21 activated kinase 1 (PAK1) signaling cascade in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Cell Biochem,2015,407(1/2):223-237.
- [29] Seo S H, Lee S H, CHA P H, et al. *Polygonum aviculare* L. and its active compounds, quercitrin hydrate, caffeic acid, and rutin, activate the Wnt/beta-catenin pathway and induce cutaneous wound healing [J]. Phytother Res, 2016,30(5):848-854.
- [30] Khuntawee W, Rungrotmongkol T, Hannongbua S. Molecular dynamic behavior and binding affinity of flavonoid analogues to the cyclin dependent kinase 6/ cyclin D complex [J]. J Chem Inf Model,2012,52(1):76-83.
- [31] Turktekin M, Konac E, Onen H I, et al. Evaluation of the effects of the flavonoid apigenin on apoptotic pathway gene expression on the colon cancer cell line (HT29)

- [J]. *J Med Food*, 2011, 14(10): 1107-1117.
- [32] Choi E J, Kim G H. Apigenin causes G(2)/M arrest associated with the modulation of p21 (Cip1) and Cdc2 and activates p53-dependent apoptosis pathway in human breast cancer SK-BR-3 cells[J]. *J Nutr Biochem*, 2009, 20(4): 285-290.
- [33] JUNG P, Mensesen A, Mayr D, et al. AP4 encodes a c-MYC-inducible repressor of p21[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(39): 15046-15051.
- [34] SONG H, BAO J, WEI Y, et al. Kaempferol inhibits gastric cancer tumor growth: an *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(2): 868-874.
- [35] 苑召虎, 胡子有, 张兰兰, 等. 槲皮素对胶质瘤 U87 细胞侵袭、迁移、增殖及其细胞周期的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2013, 33(2): 207-211.
- [36] LUO H, Rankin G O, LIU L, et al. Kaempferol inhibits angiogenesis and VEGF expression through both HIF dependent and independent pathways in human ovarian cancer cells[J]. *Nutr Cancer*, 2009, 61(4): 554-563.
- [37] LUO H, Rankin G O, Juliano N, et al. Kaempferol inhibits VEGF expression and *in vitro* angiogenesis through a novel ERK-NF- κ B-cMyc-p21 pathway[J]. *Food Chem*, 2012, 130(2): 321-328.
- [38] Mafuvadze B, Benakanakere I, Hyder S M. Apigenin blocks induction of vascular endothelial growth factor mRNA and protein in progestin-treated human breast cancer cells[J]. *Menopause*, 2010, 17(5): 1055-1063.
- [39] TONG X, Smith K A, Pelling J C. Apigenin, a chemopreventive bioflavonoid, induces AMP-activated protein kinase activation in human keratinocytes[J]. *Mol Carcinog*, 2012, 51(3): 268-279.
- [40] HUANG H, CHEN A Y, Rojanasakul Y, et al. Dietary compounds galangin and myricetin suppress ovarian cancer cell angiogenesis[J]. *J Funct Foods*, 2015, 15(5): 464-475.
- [41] CHEN A Y, CHEN Y C. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention[J]. *Food Chem*, 2013, 138(4): 2099-2107.
- [42] HE J, XU Q, WANG M, et al. Oral administration of apigenin inhibits metastasis through Akt/P70S6K1/MMP-9 pathway in orthotopic ovarian tumor model[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 7271-7282.
- [43] LIAO Y F, RAO Y K, Tzeng Y M. Aqueous extract of *Anisomeles indica* and its purified compound exerts anti-metastatic activity through inhibition of NF- κ B/AP-1-dependent MMP-9 activation in human breast cancer MCF-7 cells[J]. *Food Chem*, 2012, 50(8): 2930-2936.
- [44] Phromnoi K, Yodkeeree S, Anuchapreeda S, et al. Inhibition of MMP-3 activity and invasion of the MDA-MB-231 human invasive breast carcinoma cell line by bioflavonoids[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(8): 1169-1176.
- [45] 任虹, 张乃元, 田文静, 等. 源于果蔬的黄酮类化合物及其抗肿瘤作用靶点研究进展[J]. *食品科学*, 2013, 3(1): 321-326.
- [46] 孟勇, 李华, 林增海, 等. 槲皮素对人结肠癌细胞 SW480 基质金属蛋白酶及组织蛋白酶-D 的作用[J]. *中国临床医师杂志*, 2011, 5(12): 3427-3431.
- [47] Lee D E, CHUNG M Y, Lim T G, et al. Quercetin suppresses intracellular ROS formation, MMP activation, and cell motility in human fibrosarcoma cells[J]. *J Food Sci*, 2013, 78(9): H1464-1469.
- [48] Chien S T, SHI M D, Lee Y C, et al. Galangin, a novel dietary flavonoid, attenuates metastatic feature via PKC/ERK signaling pathway in TPA-treated liver cancer HepG2 cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2015, doi: 10.1186/s12935-015-0168-2.
- [49] CAO J, WANG H, CHEN F, et al. Galangin inhibits cell invasion by suppressing the epithelial-mesenchymal transition and inducing apoptosis in renal cell carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(5): 4238-4244.
- [50] Jo E, Park S J, Choi Y S, et al. Kaempferol suppresses transforming growth factor-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and migration of A549 lung cancer cells by inhibiting Akt1-mediated phosphorylation of Smad3 at threonine-179[J]. *Neoplasia*, 2015, 17(7): 525-537.
- [51] QIN Y, ZHAO D, ZHOU H G, et al. Apigenin inhibits NF-kappaB and snail signaling, EMT and metastasis in human hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2016, doi: 10.18632/oncotarget.9404.
- [52] DIA V P, Panglioli P. Epithelial-to-mesenchymal transition in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells is downregulated by luteolin[J]. *J Cell Physiol*, 2016, doi: 10.1002/jcp.25436.
- [53] Pal H C, Diamond A C, Strickland L R, et al. Fisetin, a dietary flavonoid, augments the anti-invasive and anti-metastatic potential of sorafenib in melanoma[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(2): 1227-1241.
- [54] ZHANG W, TANG B, HUANG Q, et al. Galangin inhibits tumor growth and metastasis of B16F10 melanoma[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(1): 152-161.
- [55] CAO H H, CHENG C Y, SU T, et al. Quercetin inhibits HGF/c-Met signaling and HGF-stimulated melanoma cell migration and invasion[J]. *Mol Cancer Res*, 2015,

- 14(1):1-12.
- [56] Kim Y S, Kim J, Kim K M, et al. Myricetin inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced migration of retinal pericytes through phosphorylation of ERK1/2, FAK-1, and paxillin *in vitro* and *in vivo* [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 93(4):496-505.
- [57] Hacker G, Paschen S A. Therapeutic targets in the mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2007, 11(4):515-526.
- [58] Renault T T, Chipuk J E. Getting away with murder; how does the Bcl-2 family of proteins kill with immunity? [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2013, 1285(5):59-79.
- [59] WANG P, ZHANG K, ZHANG Q, et al. Effects of quercetin on the apoptosis of the human gastric carcinoma cells [J]. *Toxicol In Vitro*, 2012, 26(2):221-228.
- [60] NIU G, YIN S, XIE S, et al. Quercetin induces apoptosis by activating caspase-3 and regulating Bcl-2 and cyclooxygenase-2 pathways in human HL-60 cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2011, 43(1):30-37.
- [61] 罗辉燕, 冯冬冬, 于伟娜, 等. 槲皮素对结直肠癌细胞 SW480 增殖与 Bcl-2、C-myc 表达的影响 [J]. *中国药房*, 2014, 25(11):987-989.
- [62] Cho Y Y, YAO K, Pugliese A, et al. A regulatory mechanism for RSK2 NH(2)-terminal kinase activity [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(10):4398-4406.
- [63] LIN C C, CHUANG Y J, YU C C, et al. Apigenin induces apoptosis through mitochondrial dysfunction in U-2 OS human osteosarcoma cells and inhibits osteosarcoma xenograft tumor growth *in vivo* [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(45):11395-11402.
- [64] LU H F, Chie Y J, YANG M S, et al. Apigenin induces apoptosis in human lung cancer H460 cells through caspase- and mitochondria-dependent pathways [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2011, 30(8):1053-1061.
- [65] 程新燕, 符翠莉. 芹菜素对大鼠骨肉瘤细胞凋亡及相关蛋白 Bax, Bcl-2, Caspase-3, Caspase-9, 细胞色素 c 的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(15):139-142.
- [66] Oishi M, Iizumi Y, Taniguchi T, et al. Apigenin sensitizes prostate cancer cells to Apo2L/TRAIL by targeting adenine nucleotide translocase-2 [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2):e55922.
- [67] Warat M, Sadowski T, Szliszka E, et al. The role of selected flavonols in tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor-1 (TRAIL-R1) expression on activated RAW 264.7 macrophages [J]. *Molecules*, 2015, 20(1):900-912.
- [68] HAN M A, Lee D H, Woo S M, et al. Galangin sensitizes TRAIL-induced apoptosis through down-regulation of anti-apoptotic proteins in renal carcinoma Caki cells [J]. *Sci Rep*, 2016, doi:10.1038/srep18642.
- [69] Warat M, Szliszka E, Korzonek-Szlacheta I, et al. Chrysin, apigenin and acacetin inhibit tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor-1 (TRAIL-R1) on activated RAW264.7 macrophages [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(7):11510-11522.
- [70] Bishayee K, Ghosh S, Mukherjee A, et al. Quercetin induces cytochrome-c release and ROS accumulation to promote apoptosis and arrest the cell cycle in G₂/M, in cervical carcinoma; signal cascade and drug-DNA interaction [J]. *Cell Prolif*, 2013, 46(2):153-163.
- [71] Verma S, Grover S, Tyagi C, et al. Hydrophobic interactions are a key to MDM2 inhibition by polyphenols as revealed by molecular dynamics simulations and MM/PBSA free energy calculations [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2):e0149014.
- [72] CHAN L P, CHOU T H, DING H Y, et al. Apigenin induces apoptosis via tumor necrosis factor receptor- and Bcl-2-mediated pathway and enhances susceptibility of head and neck squamous cell carcinoma to 5-fluorouracil and cisplatin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7):1081-1091.
- [73] Youn H, Jeong J C, Jeong Y S, et al. Quercetin potentiates apoptosis by inhibiting nuclear factor-kappaB signaling in H460 lung cancer cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(6):944-951.
- [74] Mottet D, Castronovo V. Histone deacetylases: target enzymes for cancer therapy [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2008, 25(2):183-189.
- [75] JIA J, CHEN J. Histone hyperacetylation is involved in the quercetin-induced human leukemia cell death [J]. *Pharmazie*, 2008, 63(5):379-383.
- [76] Berger A, Venturelli S, Kallnischkies M, et al. Kaempferol, a new nutrition-derived pan-inhibitor of human histone deacetylases [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(6):977-985.
- [77] Attoub S, Hassan A H, Vanhooecke B, et al. Inhibition of cell survival, invasion, tumor growth and histone deacetylase activity by the dietary flavonoid luteolin in human epithelioid cancer cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 651(1-3):18-25.
- [78] Tseng T H, Chien M H, LIN W L, et al. Inhibition of MDA-MB-231 breast cancer cell proliferation and tumor growth by apigenin through induction of G₂/M arrest and histone H3 acetylation-mediated p21/WAF1/CIP1

- expression [J]. *Environ Toxicol*, 2016. doi: 10.1002/tox.22247.
- [79] WANG J, ZHANG P H, TU Z G. Effects of quercetin on proliferation of lung cancer cell line A549 by down-regulating hTERT gene expression [J]. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertia*, 2007, 29(19):1852-1854.
- [80] Cogulu O, Biray C, Gunduz C, et al. Effects of Manisa propolis on telomerase activity in leukemia cells obtained from the bone marrow of leukemia patients [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2009, 60(7):601-605.
- [81] Jayasooriya R G, KANG S H, KANG C H, et al. Apigenin decreases cell viability and telomerase activity in human leukemia cell lines [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(8):2605-2611.
- [82] Mondal S, Jana J, Sengupta P, et al. Myricetin arrests human telomeric G-quadruplex structure: a new mechanistic approach as an anticancer agent [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(8):2506-2518.
- [83] Borska S, Chmielewska M, Wysocka T, et al. *In vitro* effect of quercetin on human gastric carcinoma: targeting cancer cells death and MDR [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(9):3375-3383.
- [84] Mohana S, Ganesan M, Agilan B, et al. Screening dietary flavonoids for the reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in cancer [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(8):2458-2470.
- [85] Fleisher B, Unum J, SHAO J, et al. Ingredients in fruit juices interact with dasatinib through inhibition of BCRP: a new mechanism of beverage-drug interaction [J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(1):266-275.
- [86] van Zanden J J, de Mul A, Wortelboer H M, et al. Reversal of *in vitro* cellular MRP1 and MRP2 mediated vincristine resistance by the flavonoid myricetin [J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 69(11):1657-1665.
- [87] Suh K S, Oh S, Woo J T, et al. Apigenin attenuates 2-deoxy-D-ribose-induced oxidative cell damage in HIT-T15 pancreatic beta-cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(1):121-126.
- [88] Bobe G, Albert P S, Sansbury L B, et al. Interleukin-6 as a potential indicator for prevention of high risk adenoma recurrence by dietary flavonols in the polyp prevention trial [J]. *Cancer Prev Res: Phila*, 2010, 3(6):764-775.
- [89] XIAO X, SHI D, LIU L, et al. Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e22934.
- [90] Azevedo C, Correia-Branco A, Araujo J R, et al. The chemopreventive effect of the dietary compound kaempferol on the MCF-7 human breast cancer cell line is dependent on inhibition of glucose cellular uptake [J]. *Nutr Cancer*, 2015, 67(3):504-513.
- [91] 孙红良, 马芸, 张宝和, 等. hERG 钾通道在肿瘤发生、发展及靶向治疗中的作用研究进展 [J]. *山东医药*, 2013, 53(27):91-94.
- [92] Afrasiabi E, Hietamäki M, Viitanen T, et al. Expression and significance of HERG (KCNH2) potassium channels in the regulation of MDA-MB-435S melanoma cell proliferation and migration. [J]. *Cell Signal*, 2010, 22(1):57-64.
- [93] CHU X, GUO Y, XU B, et al. Effects of tannic acid, green tea and red wine on hERG channels expressed in HEK293 cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12):e0143797.

[责任编辑 张丰丰]