

荔枝核总黄酮对结肠癌细胞株 HT29 的抑制作用及相关机制

卢青^{1,2*}, 成秋宸³, 范丽雯²

(1. 桂林医学院第一附属医院, 广西 桂林 541001; 2. 桂林医学院, 广西 桂林 541001;
3. 广西医科大学, 广西药用植物园, 南宁 530023)

[摘要] **目的:**探讨不同浓度的荔枝核总黄酮(total flavone of Litchi Semen, TFLS)对人的结直肠癌细胞株 HT29 的体外抑制作用及对该细胞系中核转录因子- κ B(Nuclear factor-kappaB, NF- κ B); Toll 样受体 4(Toll-like receptors, TLR4); 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) mRNA 和蛋白表达的影响。**方法:**体外培养 HT29 细胞株, 给予 TFL(0, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56 g·L⁻¹)干预, 给药后 24, 48, 72 h, 用四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色法分别检测 TFLS 对 HT29 增殖的影响, 采用逆转录 PCR 检测各组 NF- κ B, TLR4, IL-1 β mRNA 表达; 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 NF- κ B, TLR4, IL-1 β 蛋白表达情况。**结果:**MTT 检测结果显示 TFL 对 HT29 增殖呈良好的时间依赖性和剂量依赖性, 以作用 72 h, 质量浓度为 2.56 g·L⁻¹抑制率最高。与空白组比较, TFL 组作用 72 h 后, HT29 细胞系中 NF- κ B, IL-1 β 基因和蛋白表达水平均降低, 尤以 TFL 0.64, 2.56 g·L⁻¹组较明显($P < 0.05$)。TFL 组 TLR4 基因表达较空白组差异明显($P < 0.05$), 蛋白表达差异不明显。**结论:**TFL 在体外对 HT29 细胞系的增殖具有抑制作用, NF- κ B 可能为 TFL 抑制 HT29 细胞系增殖的关键因子。

[关键词] 荔枝核总黄酮; HT29 细胞; 核转录因子- κ B; Toll 样受体 4; 白细胞介素-1 β

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0172-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017170172

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.1044.058.html>

[网络出版时间] 2017-05-26 10:44

Inhibitory Effect of Total Flavone of Litchi Semen on Colorectal Cancer Cell Lines HT29 and Expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β and Its Mechanism

LU Qing^{1,2*}, CHENG Qiu-chen³, FAN Li-wen²

(1. The First Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China;

2. Guilin Medical University, Guilin 541001, China;

3. Guangxi Botanic Garden of Medicinal Plants, Guangxi Medical University, Nanning 530023, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effect of total flavone of Litchi Semen (TFLS) on colorectal cancer cell line HT29 and its effect on mRNA and protein expressions of nuclear factor-kappaB (NF- κ B), toll-like receptors 4 (TLR4) and interleukin-1 β (IL-1 β). **Method:** Colorectal cancer cell line HT29 was cultured *in vitro* and treated with different concentrations of TFL (0, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56 g·L⁻¹). After TFL treated for 24, 48, 72 hours, the inhibition effect on proliferation was detected by [3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT] analysis. Reverse transcription PCR was used to detect the mRNA expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β . The protein expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β were detected by Western blot analysis. **Result:** MTT method showed that TFL could inhibit HT29 cell proliferation in a time and dose dependent manner. The treatment for 72 h and the concentrations of 2.56 g·L⁻¹ showed the highest

[收稿日期] 20170313(002)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(2015GXNSFAA139176)

[通讯作者] * 卢青, 硕士, 副主任医师, 从事早期大肠癌的基础与临床工作, Tel: 13627830318; E-mail: qinglu76@163.com

inhibition rate. After treated with TFL for 72 hours, both of NF- κ B, IL-1 β mRNA and protein expressions decreased in the TFL group, compared with blank group, particularly in 0.64 g·L⁻¹ and 2.56 g·L⁻¹ concentration groups ($P < 0.05$). TFL down-regulated TLR4 gene expression in HT29 cell line ($P < 0.05$), but with insignificant differences in protein expressions. **Conclusion:** TFL can significantly inhibit the proliferation of HT29 cells *in vitro*. NF- κ B may be TFL's key factor in inhibiting HT29 cell line proliferation.

[Key words] total flavone of Litchi Semen (TFLS); HT29; nuclear factor-kappaB (NF- κ B); toll-like receptor 4 (TLR4); interleukin-1 β (IL-1 β)

结直肠癌为最常见的消化道恶性肿瘤之一,全球每年新确诊病例超过 100 万,死亡率超过 30%^[1]。结直肠癌发病率位居我国恶性肿瘤第 4 位,位于城市地区恶性肿瘤发病率第 2 位,病死率为女性恶性肿瘤第 2 位^[2]。所以早发现早治疗是临床主张的防治手段。结直肠癌发病隐匿,表现不典型,确诊时约 25% 已发生转移,且 5 年存活率低于 65%^[3]。目前结直肠癌的治疗仍以手术为主,辅助放、化疗。有研究表明^[4-5],核转录因子- κ B(NF- κ B)通过调控多条信号通路调控结直肠癌的进展,也为抗肿瘤药物开发的关键靶点。目前中药抗凋亡、抗氧化作用日益得到开发,在肿瘤治疗中备受关注。

黄酮类化合物是一类广泛存在于自然界的、具有 2-苯基色原酮结构的化合物^[6]。黄酮类化合物具有多种生物学功能,如清除自由基和抗氧化作用、抑菌、抗病毒、抗癌和抗肿瘤,对细胞凋亡也有双向调节作用^[7]。荔枝核为无患子科植物荔枝的干燥成熟种子,主要产于我国广东、广西、福建、台湾等地,其味干、涩,微苦,性温。荔枝核总黄酮(TFLS)是传统中药荔枝核的提取物,是荔枝核中抗氧化的最主要成分^[8]。研究表明 TFL 在体外实验中能够显著抑制肝癌细胞株 HepG2,肺癌细胞株 A549 和宫颈癌细胞株 HeLa 等细胞系的增殖^[9-10],具有抗肿瘤细胞增殖的作用。本课题组前期研究显示 TFL 在大鼠肝组织中对与肿瘤发生相关密切的肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TRAIL) 有较好抑制作用^[11],但相关结直肠癌细胞系的抗肿瘤作用尚无相关研究。本实验探讨 TFL 在不同剂量和不同作用时间下对结直肠腺癌 HT29 细胞系的增殖抑制作用,以及对该细胞系中 NF- κ B, Toll 样受体 4 (TLR4); 白细胞介素-1 β (IL-1 β) mRNA 和蛋白量表达的影响。

1 材料

1.1 细胞 人结直肠腺癌细胞株 HT29 购自中国科学院昆明细胞库,批号 KCB200508YJ。

1.2 药品与试剂 TFL 购自南京草本源生物科技

有限公司,纯度 83.5%,批号 ZC16081016。用二甲基亚砜 (DMSO, 中国 Solarbio 公司,批号 D8370) 溶解配制成浓缩液,实验前用 RPMI 1640 培养液稀释至所需浓度。胎牛血清 (FBS), RPMI 1640 培养基 (美国 Gibco 公司,批号分别为 42G5550K, 8115293); 胰蛋白酶、青链霉素、四甲基偶氮唑蓝 (MTT) (中国 Solarbio 公司,批号分别为 T1300-100, P1400, 6041053); 逆转录试剂盒, PCR Mix, BCA 蛋白定量试剂盒 (日本 TaKaRa 公司,批号分别为 AK3802, A3001A, A3101A); 总蛋白提取试剂盒, 化学发光试剂盒 (中国康为生物公司,批号分别为 2813K, 00031505); 抗 NF- κ B 单克隆抗体 (美国 CST 公司,批号 D14E12); 抗 TLR4, 抗 IL-1 β 多克隆抗体 (美国 Proteintech 公司,批号分别为 19811-1-AP, 100991-1); 抗 β -肌动蛋白 (β -actin) 单克隆抗体 (北京中杉金桥生物公司,批号 141205)。

1.3 仪器 Infinite F200 PRO 型酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); TOne 96 G 型 PCR 仪 (德国 Biometra 公司); DYCP 31PN 型琼脂糖水平电泳仪, DY CZ-25D 型垂直电泳仪, DY CZ-40D 型转膜仪 (北京六一仪器厂); ChemiDoc XRS 型凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 HT29 置于含 10% 的胎牛血清, 100 U·mL⁻¹ 青霉素和链霉素的 RPMI 1640 培养基中, 在 5% CO₂ 37 °C, 100% 饱和湿度恒温箱内培养, 待细胞长至 80% ~ 90% 时按 1:2 ~ 1:4 传代, 每 3 ~ 5 d 传代 1 次, 取对数生长期的细胞备用。

2.2 MTT 法检测 TFL 对细胞增殖的影响 将对数生长期的细胞按 5 × 10⁴ 个/mL, 接种于 96 孔细胞培养板, 每孔加入培养基 100 μ L, 置 5% CO₂ 37 °C, 100% 饱和湿度恒温箱培养 24 h, 待细胞贴壁后换液加用细胞培养液溶解的 TFL 浓缩液 (TFL 终质量浓度分别为 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 2.56 g·L⁻¹), 设空白组 (细胞培养液中含 1% DMSO), 每组设 5 个复孔, 置于恒温箱分别再培养 24, 48, 72 h 后倾去上清

液,每孔加入培养基 100 μL 及 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ MTT 10 μL ,置培养箱中培养 4 h,弃去各孔中的液体后,每孔加入 DMSO 100 μL ,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡器上震荡 10 min,在酶标仪单波长为 490 nm 条件下测其吸光度 A ,细胞增殖抑制率 = $[1 - (A_{\text{药物组}} - A_{\text{溶剂组}}) / (A_{\text{空白组}} - A_{\text{溶剂组}})] \times 100\%$,根据抑制率选用 GraphPad Prism 软件计算 TFL 对细胞增殖的半数抑制浓度 (IC_{50})。

2.3 逆转录 PCR 检测 NF- κB , TLR4, IL-1 β mRNA 表达 ①将对数生长期的细胞以 5×10^5 个/mL 接种于细胞培养瓶,贴壁后,加入 TFL (0.16, 0.64, 2.56 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),设立空白组(细胞培养液中含 1% DMSO)继续培养 72 h。②用 Trizol 提取细胞的总 RNA,通过分光光度计检测 RNA 浓度和纯度, A_{260}/A_{280} 均在 1.8 ~ 2.0,通过琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。③各取总 RNA 1 μg ,将其逆转录成 cDNA。④引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,以 β -actin 为内参,NF- κB (149 bp):上游 5'-CATTGTCCTGTGCCTAACAA-3',下游 5-AGACCAAA CCCCTTCTGGAT-3';TLR4(135 bp):上游 5'-CCTG TCCCTGAACCCTATGA-3',下游 5'-TTTTGCTCTG TGCTTCGTCA-3';IL-1 β (123 bp):上游 5'-TGCCAG AAAGGGAACAGAAA-3',下游 5'-CTGGCTGATGG ACAGGAGAT-3'; β -actin (103 bp):上游 5'-CACTCTCCAGCCTTCCTTC-3',下游 5'-TACAGG TCTTTGCCGATGTC-3'。⑤ PCR 扩增,反应条件, β -actin,94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 15 s,35 个循环;NF- κB ,IL-1 β ,94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,53 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,35 个循环;TLR4 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,50 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,35 个循环。⑥产物以 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测,用 Bio-Rad 全自动凝胶成像分析系统进行分析,以待测样品/内参做半定量分析。

2.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 NF- κB , TLR4, IL-1 β 蛋白表达 细胞培养及分组同 2.3 项,每组样品用预冷磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤 3 次,加入细胞裂解液,冰上裂解 30 min 后,4 $^{\circ}\text{C}$,12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min,取上清提取总蛋白,BCA 法进行蛋白定量,SDS-PAGE 凝胶电泳,湿转法转膜,封闭液封闭 1 h, β -actin, NF- κB , TLR4, IL-1 β 一抗 (1: 1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,室温孵育二抗 (1:5 000) 1 h,洗涤,ECL 显影,暗室曝光洗片,以内参为标准,计算出每组蛋白相对表达量。

2.5 统计学处理 使用 SPSS 16.0 统计分析软件,

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验数据进行单因素方差分析,组间多重比较采用 Tamhane's T_2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 TFL 对 HT29 细胞增殖的影响 TFL 作用 24, 48, 72 h,随着药物浓度的增加,对 HT29 细胞的增殖抑制率均逐渐增高,呈现浓度依赖性。TFL 均在 2.56 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时抑制率达到最高;同时,随着药物作用时间的增加,对 HT29 细胞的增殖抑制率均逐渐增高,呈现时间依赖性,均在药物作用 72 h 后抑制率达到最高。与空白组比较,药物作用 24 h, TFL 1.28 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 开始,抑制作用显著增强 ($P < 0.01$);药物作用 48 h, TFL 0.64 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 开始,抑制作用显著增强 ($P < 0.01$);药物作用 72 h, TFL 0.32 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 开始,抑制作用显著增强 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 TFL 对 HT29 细胞增殖的抑制率作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Effect of TFL on proliferation of HT29 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	24 h	48 h	72 h
空白	-	0	0	0
TFL	0.16	-10.45 \pm 2.53	8.53 \pm 4.20	29.70 \pm 7.10
	0.32	1.38 \pm 2.30	25.10 \pm 7.35	46.87 \pm 1.14 ¹⁾
	0.64	13.74 \pm 1.45	46.83 \pm 0.61 ¹⁾	51.00 \pm 9.74 ¹⁾
	1.28	32.24 \pm 1.30 ¹⁾	50.80 \pm 0.77 ¹⁾	70.28 \pm 3.60 ¹⁾
	2.56	49.52 \pm 1.30 ¹⁾	77.30 \pm 0.62 ¹⁾	98.41 \pm 0.13 ¹⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 2, 3 同)。

3.2 TFL 作用 HT29 细胞 72 h 对 NF- κB , TLR4, IL-1 β mRNA 表达的影响 与空白组比较, TFL (0.16, 0.64, 2.56 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 作用 HT29 细胞系 72 h 后, NF- κB , TLR4 mRNA 表达随着 TFL 质量浓度的增加逐渐减少 ($P < 0.01$), 呈剂量依赖性。TFL 2.56 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时表达量最低。IL-1 β mRNA 表达相对较弱, 0.16 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ TFL 组与空白组比较不具有统计学意义, TFL (0.64, 2.56 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 组 IL-1 β mRNA 较空白组显著降低 ($P < 0.01$)。见表 2, 图 1。

3.3 TFL 作用 HT29 细胞 72 h 对 NF- κB , TLR4, IL-1 β 蛋白表达的影响 与空白组比较, TFL 作用 HT29 细胞 72 h 时, 随药物浓度的增大, NF- κB , IL-1 β 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), 呈明显的剂量依赖性。在各药物浓度组中 TLR4 蛋白表达差异不具有统计学意义。见表 3, 图 2。

4 讨论

抗氧化剂在肿瘤治疗中主要以减少 DNA,

表 2 TFL 对 HT29 细胞株 NF- κ B, TLR4, IL-1 β mRNA 表达的影响
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of TFL on mRNA expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β in HT29 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	NF- κ B/ β -actin	TLR4/ β -actin	IL-1 β / β -actin
空白	-	1.53 \pm 0.03	1.45 \pm 0.03	0.47 \pm 0.01
TFL	0.16	1.13 \pm 0.04 ¹⁾	1.16 \pm 0.03 ¹⁾	0.44 \pm 0.05
	0.64	0.68 \pm 0.05 ¹⁾	0.98 \pm 0.03 ¹⁾	0.38 \pm 0.01 ¹⁾
	2.56	0.24 \pm 0.01 ¹⁾	0.39 \pm 0.00 ¹⁾	0.25 \pm 0.01 ¹⁾

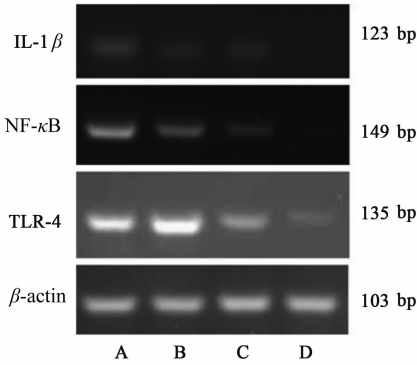


图 1 TFL 作用 HT29 细胞 72 h 时 NF- κ B, TLR4, IL-1 β mRNA 表达电泳
A. 空白组; B. TFL 0.16 g·L⁻¹ 组; C. TFL 0.64 g·L⁻¹ 组; D. TFL 2.56 g·L⁻¹ 组(图 2 同)

图 1 TFL 作用 HT29 细胞 72 h 时 NF- κ B, TLR4, IL-1 β mRNA 表达电泳

Fig.1 Electrophoresis of TFL on mRNA expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β in HT29 cells

表 3 TFL 对 HT29 细胞株的 NF- κ B, TLR4, IL-1 β 蛋白表达的影响
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of TFL on protein expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β in HT29 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	NF- κ B/ β -actin	TLR4/ β -actin	IL-1 β / β -actin
空白	-	0.11 \pm 0.00	2.26 \pm 0.08	0.27 \pm 0.00
TFL	0.16	0.10 \pm 0.00 ¹⁾	2.16 \pm 0.08	0.10 \pm 0.00 ¹⁾
	0.64	0.05 \pm 0.00 ¹⁾	2.26 \pm 0.03	0.01 \pm 0.00 ¹⁾
	2.56	0.02 \pm 0.00 ¹⁾	2.10 \pm 0.05	0.02 \pm 0.00 ¹⁾

蛋白质和脂质过氧化,减少肿瘤细胞增殖和抑制血管生成,促进细胞凋亡来阻碍肿瘤的发生、转移、恶化等阶段。抗氧化剂也可以直接或间接地抑制氧自由基,从而抵御人体在环境中接触的电离辐射、化学致癌物,机体慢性炎症等致癌因素来起到预防肿瘤形成的作用。抗氧化剂如大蒜素^[12],白藜芦醇^[13],青蒿琥酯^[14-15]等成分在特定剂量下可选择性诱导结直肠癌细胞凋亡,能够抑制肿瘤细胞的生长。陈泳晖等^[9]发现荔枝核提取物对 HepG2 细胞有增殖抑制活性,在经不同浓度处理后,细胞凋亡率显著提

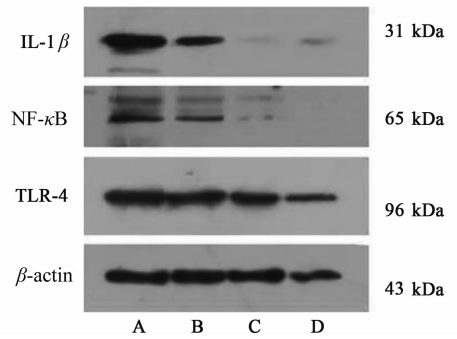


图 2 TFL 作用 HT29 细胞 72 h NF- κ B, TLR4, IL-1 β 蛋白表达电泳
Fig.2 Electrophoresis of TFL on protein expressions of NF- κ B, TLR4, IL-1 β in HT29 cells

高,证明荔枝核提取物可通过诱导细胞凋亡,影响细胞周期分布抑制肝癌细胞增殖。王辉等^[16]通过检测不同浓度的荔枝核提取物对 HepG2 细胞中半胱天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-3, Caspase-8, Caspase-9 等的活性研究及死亡因子(Fas)蛋白表达来说明荔枝核提取物在体外可诱导 HepG2 细胞凋亡。

NF- κ B 基因在结直肠癌的发生发展中具有关键性的作用,其机制是通过调控多条信号通路进而调控结直肠癌的进展。GAO 等^[4]证实抑制 NF- κ B 是抑制结肠癌细胞系 HCT8, HCT15, HT29, HCT116, Colo201 和 Colo205 增殖的关键性分子机制,该基因具有调节下游抗凋亡基因表达的作用,从而促进结直肠癌的进展。Wnt /表皮生长因子受体(EGFR)/NF- κ B 信号通路在肿瘤细胞抗凋亡、血管生成、侵袭、转移等方面起重要作用^[17]。使用非瑟酮(fisetin)治疗结肠癌的临床研究表明,该药通过抑制 β -链蛋白(β -catenin), EGFR 和 NF- κ B 基因的表达量,使得 Wnt 信号通路受到抑制,从而使靶基因 G₁/S-特异性周期蛋白-D1(cyclin D1)和基质金属蛋白酶 7(MMP7)的表达量下调,进而诱导结肠癌细胞凋亡^[18-19]。Hsieh 等^[20]最新研究显示, NF- κ B 介导的 Ras/ERK/I κ B α 信号通路在调节结直肠癌细胞生存和患者预后方面起关键作用。此外, NF- κ B 介导的 Notch 和 JNK 信号通路也参与结直肠癌进展^[5, 21-22]。本实验中 TFL 对 HT29 细胞系有抑制其增殖的作用,且在后期检测中发现 TFL 对 NF- κ B 基因和蛋白的表达均呈现时间依赖性和剂量依赖性,提示 TFL 干预了 NF- κ B 因子的转录和翻译过程来抑制其增殖。

TLR4/NF- κ B 信号通路为炎症重要通路, Rashidian 等^[23]通过实验证实阿托伐他汀通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路来缓解大鼠结肠炎模型。在急性、慢性炎症性肠病中 TLR4 mRNA 有所增高,

Chung 等^[24]认为 TLR4 在结肠癌药物抵抗和转移中通过 GSK3 β 和 ERK 的磷酸化来调控肿瘤细胞的生存,所以 TLR4 是结肠癌细胞生存中的关键靶点。本实验中 TFL 可以有效抑制 TLR4 的转录,但没有抑制 TLR4 蛋白表达,表明 TLR4 不是 TFL 抑制 HT29 增殖作用的主要位点。在 TLR4/NF- κ B 信号通路中,当抑制了关键性细胞因子 NF- κ B 时,下游 IL-1 β 表达亦减少,故本实验可提示 NF- κ B 可能为 TFL 抑制 HT29 细胞系增殖的关键因子。但是对于 TFL 是否可以通过 NF- κ B 通路来抑制结直肠肿瘤的发生发展,是否可以在肿瘤的早期阶段抑制其发生,亟需更进一步的动物实验来探索和研究。

[参考文献]

[1] Cunningham D, Atkin W, Lenz H J, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2010, 375(9719):1030-1047.

[2] 陈万青, 郑荣寿, 张思维, 等. 2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1):1-7.

[3] 郝秀轻, 白美玲, 郭博伟, 等. 环氧化酶-2/前列腺素 E₂ 在结直肠癌中的表达及临床意义[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2017, 26(2):142-145.

[4] GAO X, Deeb D, Dulchavsky S A, et al. Synthetic triterpenoids inhibit growth, induce apoptosis and suppress pro-survival Akt, mTOR and NF- κ B signaling proteins in colorectal cancer cells[J]. Anticancer Res, 2010, 30(3):785-792.

[5] LIN G, TANG Z, YE Y B, et al. NF- κ B activity is downregulated by KRas knockdown in SW620 cells via the Ras-ERK-I κ B α pathway [J]. Oncol Rep, 2012, 27(5):1527-1534.

[6] 张丹萍, 丁丁. 黄酮类化合物药理作用的研究[J]. 北方药学, 2015, 12(8):150-151.

[7] 文开新, 王成章, 严学兵, 等. 黄酮类化合物生物学活性研究进展[J]. 草业科学, 2010, 27(6):115-122.

[8] 熊何健, 庞杰, 林琳. 荔枝核中活性成分的提取及抗氧化活力研究[J]. 西南大学学报:自然科学版, 2010, 32(3):134-139.

[9] 陈泳晖, 肖柳英, 潘竞锵, 等. 荔枝核及其含药血清的抗肿瘤作用研究[J]. 中药材, 2010, 33(12):1925-1929.

[10] Hsu C P, LIN C C, HUANG C C, et al. Induction of apoptosis and cell cycle arrest in human colorectal carcinoma by Litchi seed extract [J]. J Biomed Biotechnol, 2012, doi:10.1155/2012/341479.

[11] 赵永忠, 韦铮武, 漆志平, 等. 荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体表达的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2010, 18(4):223-226.

[12] Bat-Chen W, Golan T, Peri I, et al. Allicin purified from fresh garlic cloves induces apoptosis in colon cancer cells via Nrf2[J]. Nutr Cancer, 2010, 62(7):947-957.

[13] Fouad M A, Agha A M, Merzabani M M, et al. Resveratrol inhibits proliferation, angiogenesis and induces apoptosis in colon cancer cells: calorie restriction is the force to the cytotoxicity[J]. Hum Exp Toxicol, 2013, 32(10):1067-1080.

[14] Ericsson T, Blank A, Von Hagens C, et al. Population pharmacokinetics of artesunate and dihydroartemisinin during long-term oral administration of artesunate to patients with metastatic breast cancer[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2014, 70(12):1453-1463.

[15] 黄伟炜, 牛红军, 刘宁. 青蒿琥酯对人结直肠癌 HCT-8 细胞侵袭能力影响及机制研究[J]. 中成药, 2011, 33(8):2062-2064.

[16] 王辉, 沈伟哉, 黄雪松, 等. 荔枝核提取物对 HepG2 细胞生长抑制及凋亡诱导机制的探讨[J]. 暨南大学学报:医学版, 2010, 31(4):364-368.

[17] 盛文文, 陆娜娜, 尹玉, 等. Survivin 基因对大肠癌细胞 HT29 生物学行为的影响[J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29(4):378-381.

[18] CHEN Y, WU Q, SONG L, et al. Polymeric micelles encapsulating fisetin improve the therapeutic effect in colon cancer[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2015, 7(1):534-542.

[19] Suh Y, Afaq F, Johnson J J, et al. A plant flavonoid fisetin induces apoptosis in colon cancer cells by inhibition of COX2 and Wnt/EGFR/NF- κ B-signaling pathways[J]. Carcinogenesis, 2009, 30(2):300-307.

[20] Hsieh S C, Hsieh W J, Chiang A N, et al. The methanol-ethyl acetate partitioned fraction from chinese olive fruits inhibits cancer cell proliferation and tumor growth by promoting apoptosis through the suppression of the NF- κ B signaling pathway[J]. Food Funct, 2016, 7(12):4797-4803.

[21] Fernandez-Majada V, Aguilera C, Villanueva A, et al. Nuclear IKK activity leads to dysregulated Notch-dependent gene expression in colorectal cancer [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(1):276-281.

[22] Avvisato C L, YANG X, Shah S, et al. Mechanical force modulates global gene expression and beta-catenin signaling in colon cancer cells[J]. J Cell Sci, 2007, 120(15):2672-2682.

[23] Rashidian A, Muhammadnejad A, Dehpour A R. Atorvastatin attenuates TNBS-induced rat colitis: the involvement of the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. Inflammopharmacology, 2016, 24(2/3):109-118.

[24] Chung Y H, Kim D. Enhanced TLR4 expression on colon cancer cells after chemotherapy promotes cell survival and epithelial-mesenchymal transition through phosphorylation of GSK3 β [J]. Anticancer Res, 2016, 36(7):3383-3394.

[责任编辑 张丰丰]