

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.12.004

· 基础研究 ·

## 山奈酚通过下调 $ERR\alpha$ 抑制非小细胞肺癌 A549 细胞的侵袭和迁移

张敬, 史晓宇, 孟玮, 马峰, 赵丽霞, 赵峻峰(河北北方学院附属第一医院 肿瘤内科, 河北 张家口 075000)

**[摘要]** **目的:**探讨山奈酚(kaempferol)对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)A549细胞侵袭和迁移的影响及其作用机制。**方法:**A549细胞培养完成后, CCK-8法检测不同浓度山奈酚对A549细胞增殖的影响, Transwell和划痕实验检测A549细胞侵袭和迁移能力, Western blotting检测EMT相关蛋白的表达, qRT-PCR和Western blotting检测山奈酚对雌激素相关受体 $\alpha$ (estrogen related receptor alpha,  $ERR\alpha$ ) mRNA和蛋白表达的影响。构建 $ERR\alpha$ 过表达载体pLV- $ERR\alpha$ 转染A549细胞后, Transwell实验、划痕愈合实验和Western blotting检测A549细胞侵袭、迁移和EMT相关蛋白的表达情况。**结果:**山奈酚浓度依赖性抑制A549细胞增殖, 选择5、10和20  $\mu\text{mol/L}$ 山奈酚进行后续实验。经山奈酚处理后, A549细胞侵袭细胞数目显著减少、划痕愈合率显著降低、N-cadherin和Snail-2的表达显著下调, E-cadherin的表达显著上调,  $ERR\alpha$  mRNA和蛋白水平显著降低(均 $P < 0.01$ )。转染pLV- $ERR\alpha$ 后, 过表达 $ERR\alpha$ 的A549细胞的侵袭细胞数、划痕愈合率均显著增加, 细胞中N-cadherin、Snail-2表达上调, 而E-cadherin的表达下调(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ); 该细胞再经山奈酚处理后, 上述各指标均发生逆转变化(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。**结论:**山奈酚通过抑制 $ERR\alpha$ 降低NSCLC A549细胞侵袭和迁移能力, 并抑制其EMT, 为肺癌的临床治疗提供了实验依据。

**[关键词]** 山奈酚; 雌激素相关受体 $\alpha$ ; 非小细胞肺癌; A549细胞; 侵袭; 迁移

**[中图分类号]** R392.11; R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)12-1230-07

## Kaempferol inhibits invasion and migration of non-small cell lung cancer A549 cells by down-regulating $ERR\alpha$ expression

ZHANG Jing, SHI Xiaoyu, MENG Wei, MA Feng, ZHAO Lixia, ZHAO Junfeng (Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of kaempferol on invasion and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells and the related mechanisms. **Methods:** CCK-8 was used to detect the effect of different concentrations of kaempferol on the proliferation of A549 cells. Transwell assay and wound healing assay were used to detect the ability of cell invasion and migration. The expressions of EMT-related proteins (N-cadherin, Snail-2 and E-cadherin) were detected by Western blotting. The effect of kaempferol on the mRNA and protein expressions of estrogen related receptor alpha ( $ERR\alpha$ ) was determined by qRT-PCR.  $ERR\alpha$  over-expression vector (pLV- $ERR\alpha$ ) was transfected into A549 cells, and the cell invasion, migration and the expression of EMT related proteins were detected by Transwell assay, wound healing assay and Western blotting, respectively. **Results:** Kaempferol dose-dependently inhibited the proliferation of A549 cells, and kaempferol at concentrations of 5, 10 and 20  $\mu\text{mol/L}$  was used in the following experiments. After the treatment with different concentrations of kaempferol, the number of invasive cells and wound closure rate, the expression of N-cadherin and Snail-2, and the mRNA and protein levels of  $ERR\alpha$  decreased significantly, while the expression of E-cadherin increased significantly, (all  $P < 0.01$ ). After transfection with pLV- $ERR\alpha$ , the number of invasive cells, scratch closure rate and the expressions of N-cadherin and Snail-2 of A549 cells over-expressing  $ERR\alpha$  significantly increased, while the expression of E-cadherin decreased significantly (all  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ); and all these indices were attenuated after the treatment with kaempferol (all  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Kaempferol inhibits the invasion and migration as well as EMT of non-small cell lung cancer A549 cells by down-regulating  $ERR\alpha$ , which may provide experimental basis for the clinical treatment of lung cancer.

**[Key words]** kaempferol; estrogen related receptor alpha ( $ERR\alpha$ ); non-small cell lung cancer (NSCLC); A549 cell; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(12): 1230-1236. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.12.004]

**[作者简介]** 张敬(1979-),女,硕士,副主任医师,主要从事肿瘤的基础研究和临床内科治疗

**[通信作者]** 张敬(ZHANG Jing, corresponding author), E-mail: zhangjing3490@163.com

原发性肺癌是常见的恶性肿瘤之一,肺癌患者病死率占中国恶性肿瘤病死率的第一位<sup>[1]</sup>。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者占有所有肺癌的80%以上。由于空气污染和吸烟等导致肺癌患者持续增加。对于早期NSCLC手术切除是最佳选择,但绝大部分患者确诊时已处于晚期,目前化疗和靶向治疗是治疗晚期NSCLC的主要方法,临床上常用的化疗药物容易出现肿瘤耐药性,且化疗有严重的毒副作用<sup>[2-3]</sup>。山奈酚(kaempferol)又称山奈素,主要来源于姜科植物山奈根茎的黄酮类化合物,也存在于茶叶、柚子等植物中。研究<sup>[4-6]</sup>发现,山奈酚具有抗氧化、抗病毒、抗菌和抗癌等多种药理作用,临床上用于心血管疾病和免疫系统疾病的治疗。目前山奈酚对NSCLC细胞侵袭和迁移能力的影响尚未见报道。本实验在体外培养NSCLC A549细胞系,研究山奈酚对细胞侵袭和迁移的影响及潜在的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系及主要试剂

肺癌A549细胞系购自上海科学院细胞库。山奈酚购自Sigma公司(货号:60010,纯度>97%),DMEM和胎牛血清购自Hyclone公司,胰酶细胞消化液购自北京全式金生物有限公司,总RNA提取试剂盒为天跟公司产品,N-钙黏蛋白(N-cadherin)、Snail-2、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、雌激素相关受体 $\alpha$ (estrogen-related receptor alpha, ERR $\alpha$ )兔抗人抗体购自CST公司,CCK8检测试剂盒购自南京凯基生物有限公司,Lipofectamine 2000购自Invitrogen公司。pLV-ERR $\alpha$ 质粒由上海吉玛基因公司构建,引物由北京擎科生物有限公司合成。

### 1.2 细胞培养

细胞接种于含10%胎牛血清的DMEM培养基,培养条件为37℃、5%CO<sub>2</sub>。待细胞汇合度为90%以上时进行传代,选取对数生长期的细胞进行实验。

### 1.3 CCK-8法检测不同浓度山奈酚对A549细胞增殖能力的影响

消化离心制备细胞悬液,细胞计数,稀释使细胞密度至 $5 \times 10^5$ 个/ml,向96孔板中加100  $\mu$ l细胞悬液,设置空白组对照组,培养4 h。添加10  $\mu$ l不同浓度的山奈酚溶液,每组设置3个复孔。继续培养24 h,更换新鲜培养基,向每孔中加10  $\mu$ l的CCK-8溶液,培养箱中孵育2 h,酶标仪下检测波长为450 nm处的光密度(D)值。CCK-8法检测不同浓度(0、0.313、0.625、1.25、2.5、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100  $\mu$ mol/L)山奈酚处理后A549细胞增殖活力。

### 1.4 Transwell检测不同浓度山奈酚对A549细胞侵

### 袭能力的影响

人工基底膜用无血清培养基稀释后,包被基底膜上室,4℃风干。消化细胞后离心,去除培养液,用磷酸缓冲液洗2次,加无血清培养基重悬。计数后调整细胞密度至 $2 \times 10^5$ 个/ml。加200  $\mu$ l的细胞悬液至上室,下室加500  $\mu$ l含胎牛血清的培养基。培养箱中培养24 h后,用棉签擦去上层基质和上室的细胞,取出小室,弃下室培养基,用磷酸缓冲液洗2次,4%甲醛固定20 min后染色,随机选择5个视野观察并计数。

### 1.5 划痕实验检测不同浓度山奈酚对A549细胞迁移能力的影响

消化后,稀释细胞密度至 $5 \times 10^5$ 个/ml,取3 ml至6孔板中。待细胞生长至汇合度为90%左右时,用10  $\mu$ l吸头在6孔板内垂直划痕,每孔5条。用磷酸缓冲液洗3次,用10  $\mu$ g/ml丝裂霉素C的培养基处理2 h后,换不同浓度山奈酚的无血清培养基继续培养24 h。倒置光学显微镜下观察并拍照,使用Image J分析划痕愈合率。

### 1.6 Western blotting检测A549细胞EMT相关蛋白的表达水平

收集转染前后的细胞,用磷酸缓冲液洗2次,加含PMSF的裂解液,冰上裂解30 min,4℃离心机中12 000 $\times$ g离心5 min,转移上清。BCA法测定蛋白浓度,加蛋白上样缓冲液,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转移至PVDF膜,5%脱脂牛奶室温封闭1 h,加一抗(N-cadherin、Snail-2、E-cadherin、ERR $\alpha$ ,稀释比率1:3 000)后4℃摇床上孵育过夜,TBST洗3次,每次5 min;加山羊抗兔二抗(1:3 000),室温下孵育1 h,TBST洗后,加显影液,定影并拍照。使用Image-Pro Plus分析蛋白条带灰度。

### 1.7 构建ERR $\alpha$ 过表达载体pLV-ERR $\alpha$ 并转染A549细胞

用Lipofectamine 2000转染试剂将慢病毒载体与包装质粒共转,48 h后低速离心收集上清,后高速离心弃上清,加无血清培养基重悬病毒。以慢病毒pLV-ERR $\alpha$ 液感染A549细胞,加抗生素筛选稳定转染细胞株。检验ERR $\alpha$ 表达水平,以验证转染成功。

### 1.8 qRT-PCR检测山奈酚对A549细胞ERR $\alpha$ mRNA水平的影响

转染前后的A549细胞经不同浓度山奈酚处理24 h后,按照TRIzol试剂说明书提取总RNA,检测RNA的浓度和纯度。稀释后的RNA合成cDNA,按照最佳条件进行qRT-PCR。以18 s rRNA作为内参。ERR $\alpha$ 上游引物:5'-CATCCAGGGGAGCATCGGT-3',下游引物5'-CGCACTCCCTCCTTGAGCAT-3'。使用2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>法计算相对表达量。

### 1.9 *ERRα* 过表达对 A549 细胞侵袭和迁移的影响

取对数生长期的 A549 细胞和 *ERRα* 过表达的 A549 细胞, 将各组细胞分别加入 Transwell 小室的上室 ( $1.5 \times 10^5$  个/小室), 下室中加入 600  $\mu\text{l}$  含 10% 胎牛血清或含 20% 胎牛血清的培养液, 常规培养 48 h, 用棉签擦净上室细胞, 用 PBS 清洗后姬姆萨染色, 于倒置相差显微镜下 ( $\times 200$ ) 观察并拍照, 随机观察 5 个视野, 计数穿膜细胞数。将各组细胞接种于 6 孔板, 待细胞生长至汇合度 90% 时, 用灭菌 10  $\mu\text{l}$  枪头在 6 孔板划痕, 无菌 PBS 洗涤 6 孔板 3 次, 加入 2 ml 无血清培养基继续培养。在 0、24 h 倒置显微镜下 ( $\times 200$ ) 观察细胞迁移数量, 进行拍照分析。实验重复 3 次。

### 1.10 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件。相关实验重复 3 次。计数资料以百分率 (%) 表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验; 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 相关性比较采用 Spearman 检验。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 山奈酚明显抑制 A549 细胞的增殖能力

CCK-8 法检测结果 (图 1) 显示, 山奈酚浓度低于 2.5  $\mu\text{mol/L}$  时, 对细胞增殖活性没有明显的影响; 当山奈酚的浓度大于 20  $\mu\text{mol/L}$  后, 以剂量依赖方式明显抑制 A549 细胞的增殖活性 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

根据上述结果, 选择浓度为 5、10 和 20  $\mu\text{mol/L}$  浓度山奈酚进行后续的实验。

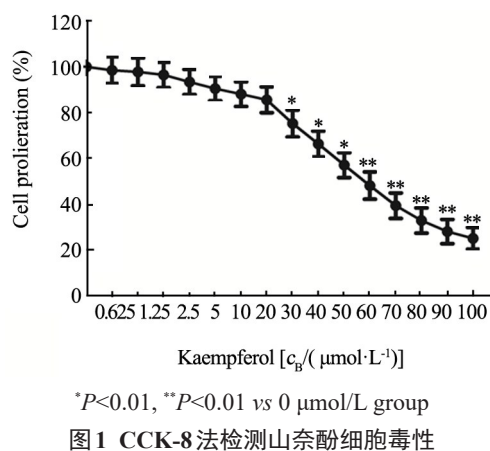


图 1 CCK-8 法检测山奈酚细胞毒性

Fig. 1 Cytotoxicity of kaempferol was detected by CCK-8

### 2.2 山奈酚明显抑制 A549 细胞的侵袭能力

Transwell 实验检测结果 (图 2) 显示, 山奈酚加药处理后, 发生侵袭的 A549 细胞数随着山奈酚的浓度增加而显著减少 (均  $P < 0.01$ ), 表明山奈酚具有抑制 A549 细胞侵袭的作用。

### 2.3 山奈酚明显抑制 A549 细胞的迁移能力

划痕实验检测结果 (图 3) 显示, 山奈酚加药组划痕闭合率显著低于不加药组 (均  $P < 0.01$ ), 且划痕愈合程度随着山奈酚浓度的升高而降低, 表明山奈酚能抑制 A549 细胞的迁移。

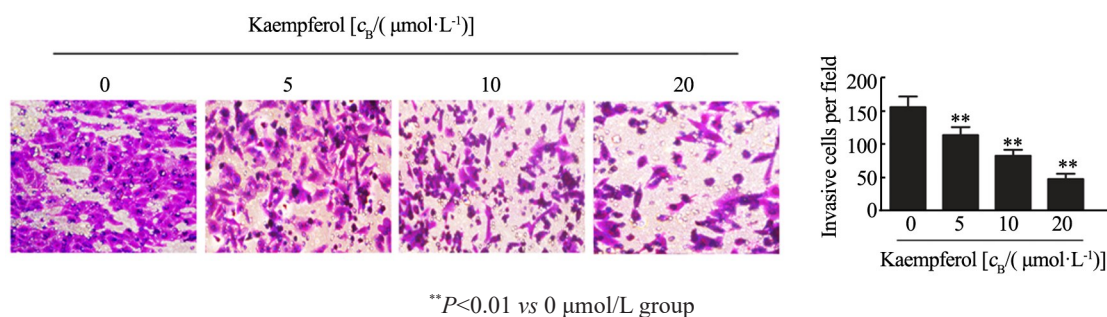


图 2 不同山奈酚浓度对 A549 细胞侵袭能力的影响 ( $\times 200$ )

Fig. 2 Effects of different concentrations of kaempferol on invasion of A549 cells ( $\times 200$ )

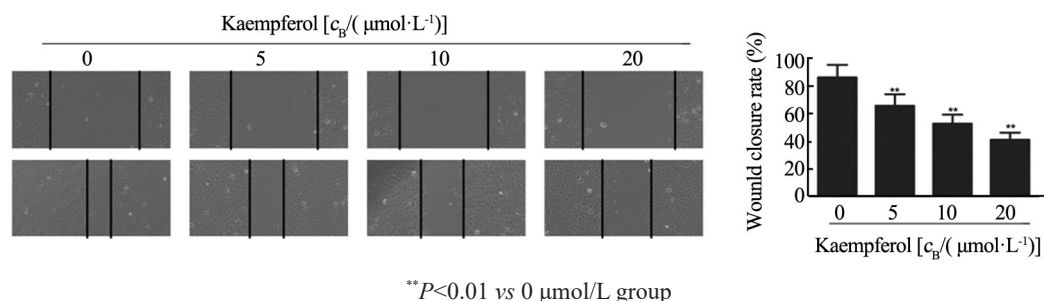


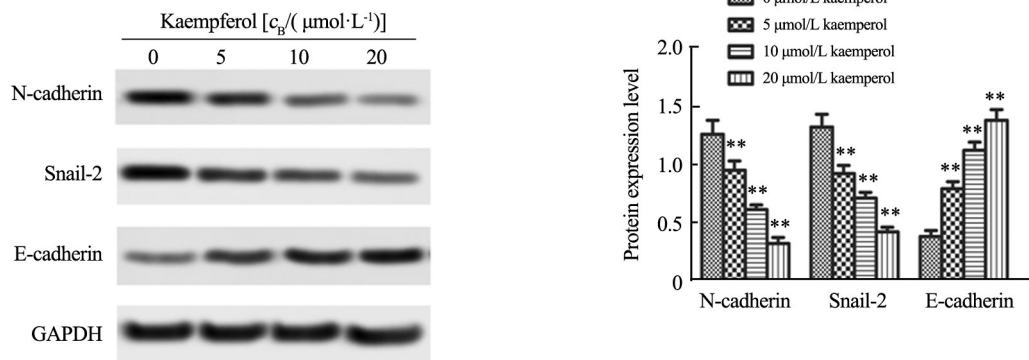
图 3 划痕实验检测山奈酚对 A549 细胞迁移能力的影响 ( $\times 40$ )

Fig. 3 Effect of kaempferol on migration ability of A549 cells was detected by wound healing assay ( $\times 40$ )

2.4 山奈酚对 A549 细胞 EMT 相关蛋白表达的影响

Western blotting 检测结果(图 4)显示,山奈酚加药组与不加药组相比,N-cadherin 和 Snail-2 的表达显

著下调、E-cadherin 的表达显著上调(均  $P < 0.01$ ),且山奈酚对蛋白表达的影响随着浓度的增高而增加,表明山奈酚抑制 A549 细胞 EMT。



\*\* $P < 0.01$  vs 0 μmol/L group

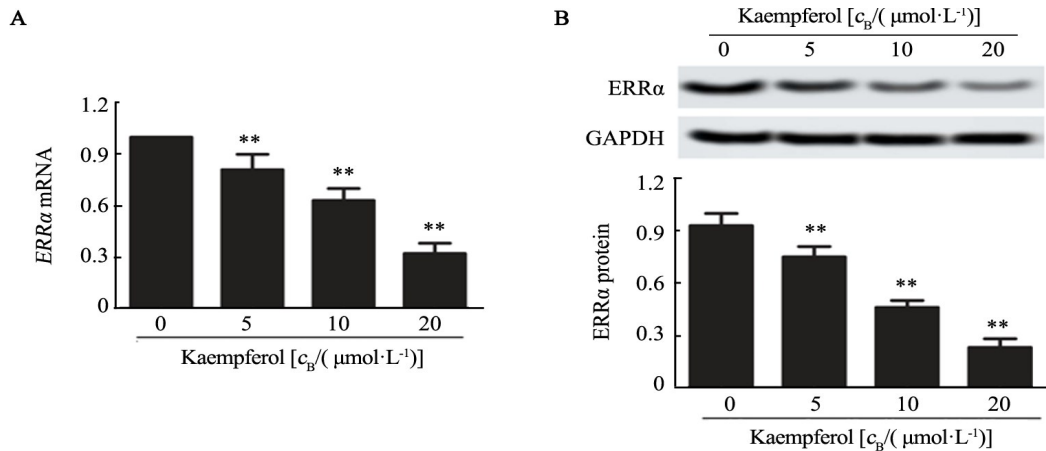
图 4 山奈酚对 EMT 相关蛋白表达的影响

Fig. 4 Effects of kaempferol on expression of EMT-related proteins

2.5 山奈酚明显降低 A549 细胞中  $ERR\alpha$  mRNA 和蛋白的表达水平

qRT-PCR 检测结果(图 5A)显示,山奈酚处理后,A549 细胞中  $ERR\alpha$  mRNA 水平显著降低( $P < 0.01$ )。

Western blotting 检测结果(图 5B)显示,山奈酚处理后,A549 细胞中  $ERR\alpha$  蛋白表达水平显著降低( $P < 0.01$ )。表明山奈酚能从 mRNA 和蛋白水平抑制  $ERR\alpha$  的表达。



\*\* $P < 0.01$  vs 0 μmol/L group

A: qRT-PCR was used to detect the expression level of  $ERR\alpha$  mRNA;

B: Western blotting was used to detect the expression level of  $ERR\alpha$  protein

图 5 山奈酚对 A549 细胞  $ERR\alpha$  mRNA 和蛋白的表达水平的影响

Fig. 5 Effects of kaempferol on the expressions of  $ERR\alpha$  mRNA and protein in A549 cells

2.6 转染 pLV- $ERR\alpha$  后 A549 细胞明显过表达  $ERR\alpha$  蛋白

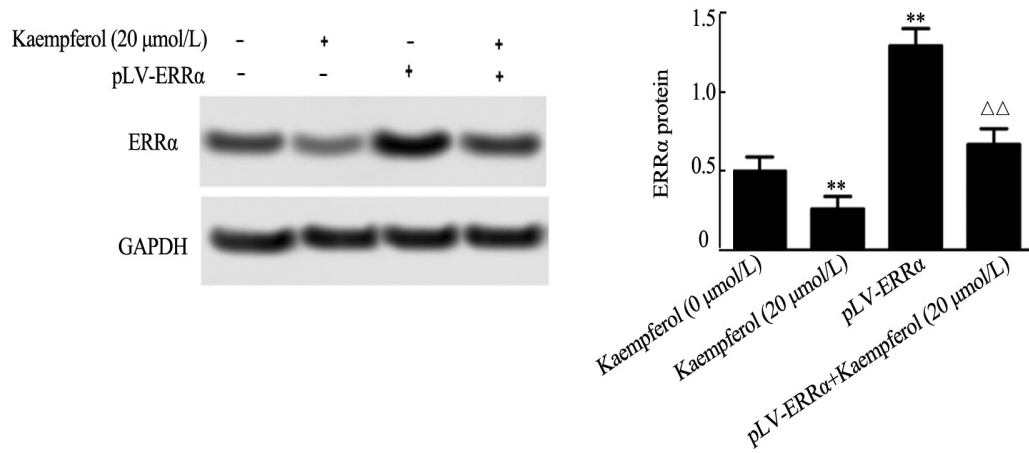
Western blotting 检测结果(图 6)显示,转染 pLV- $ERR\alpha$  后 A549 细胞中  $ERR\alpha$  蛋白的表达水平显著提高( $P < 0.01$ );山奈酚作用于 pLV- $ERR\alpha$  组细胞后, $ERR\alpha$  的表达水平显著降低( $P < 0.01$ )。

2.7 山奈酚抑制过表达  $ERR\alpha$  对 A549 细胞的侵袭和迁移能力

Transwell 实验检测结果(图 7A)显示,A549 细胞转染 pLV- $ERR\alpha$  后,转染组细胞侵袭数较无转染组显著增加,而转染后 A549 细胞经山奈酚加药处理,侵袭数目逆转降低(均  $P < 0.01$ )。划痕愈合实验检测结果

(图 7B)显示,过表达 *ERRα* 的转染组划痕愈合率较无转染组显著升高,而经山奈酚加药处理后其划痕愈合率显著逆转降低(均  $P < 0.01$ ); Western blotting 检测结果(图 7C)显示,过表达 *ERRα* 的转染组 N-cadherin

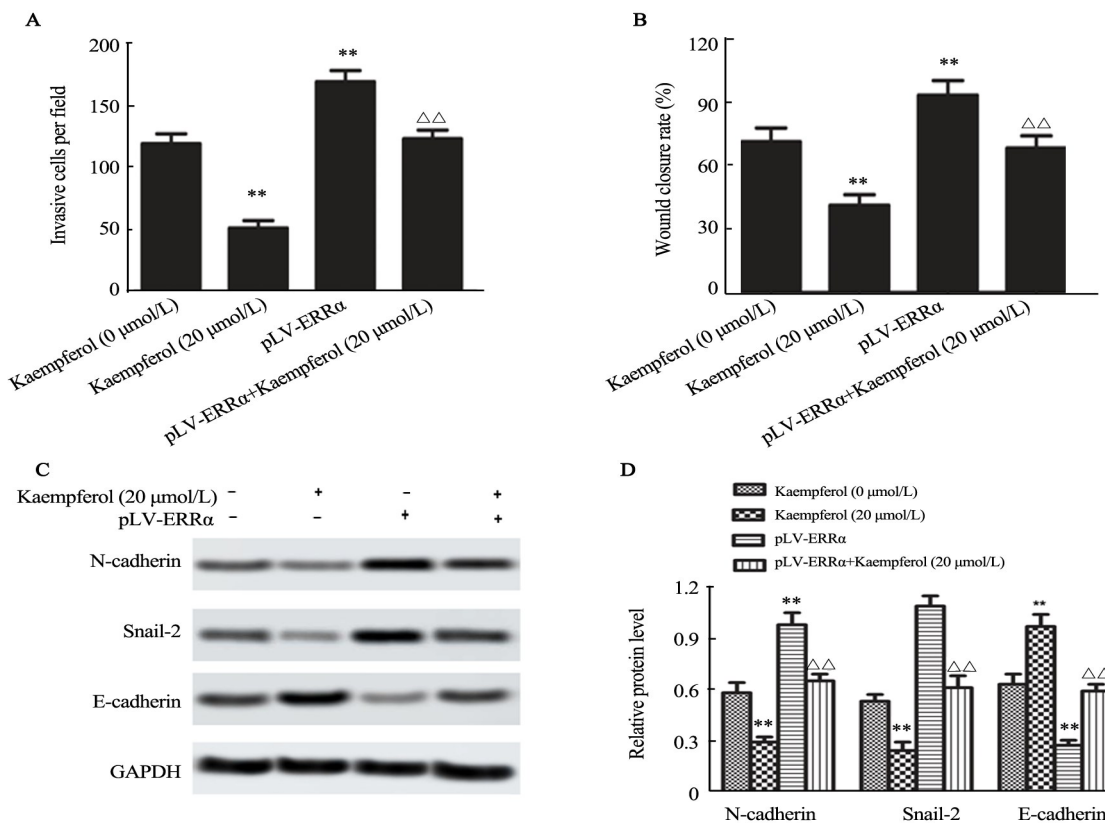
和 Snail-2 表达显著上调, E-cadherin 的表达显著下调; 而经山奈酚加药处理后,细胞中 N-cadherin 和 Snail-2 的表达显著下调, E-cadherin 的表达显著上调(均  $P < 0.01$ )。



\*\* $P < 0.01$  vs Kaempferol 0 μmol/L group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs pLV-ERRα group

图 6 转染 pLV-ERRα 对 A549 细胞中 *ERRα* 表达水平的影响

Fig. 6 Effect of pLV-ERRα transfection on the expression of *ERRα* in A549 cells



\*\* $P < 0.01$  vs Kaempferol 0 μmol/L group;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs pLV-ERRα group

A: The number of A549 cells was detected by Transwell; B: The scratch closure rate of A549 cells was detected by scratch test;

C: Epithelial mesenchymal transition in A549 cells was detected by Western blotting

图 7 山奈酚抑制过表达 *ERRα* 对 A549 细胞侵袭和迁移的诱导作用

Fig. 7 Kaempferol inhibits the invasion and migration of A549 cells induced by over-expression of *ERRα*

### 3 讨论

肺癌是常见的恶性肿瘤,化疗是晚期肺癌的主要治疗手段,但肿瘤化疗药物耐药性和化疗药物的毒副作用使其治疗效果受到限制<sup>[7]</sup>。山奈酚是从多种药用植物中提取出的多酚化合物,具有多种潜在的药用价值。研究<sup>[8-9]</sup>显示,山奈酚能抑制乳腺癌、宫颈癌、肝癌和结直肠癌等肿瘤细胞的增殖。本课题在此基础上,研究不同浓度山奈酚对体外培养的人 NSCLC A549 细胞的侵袭和迁移的影响。根据山奈酚对 A549 细胞毒性实验,最终采用浓度为 5、10 和 20  $\mu\text{mol/L}$  的山奈酚进行后续实验。

肺癌细胞发生转移是其导致肺癌难以治愈的关键因素,因此有效抑制癌细胞转移是研究的重点。CHEN 等<sup>[10]</sup>在体外实验中发现,山奈酚抑制高转移性卵巢癌 HO-8910PM 细胞侵袭和迁移。LIN 等<sup>[11]</sup>研究发现,山奈酚通过抑制基质金属蛋白酶 2 的表达,抑制口腔癌细胞的侵袭。本研究在 Transwell 实验中证实,A549 细胞经山奈酚处理后,发生侵袭的细胞数目显著降低,表明山奈酚抑制 A549 肺癌细胞的侵袭。LI 等<sup>[12]</sup>以低剂量的山奈酚处理三阴乳腺癌细胞,细胞侵袭和迁移受到明显抑制。HUNG 等<sup>[13]</sup>研究发现,山奈酚下调蛋白激酶 B 通路,抑制肾癌细胞迁移。本研究划痕愈合实验结果显示,山奈酚能明显抑制 A549 细胞的划痕闭合率,表明山奈酚抑制 A549 细胞的迁移能力。

EMT 在器官形成和组织损伤修复等过程中发挥着重要的作用<sup>[14]</sup>。在肿瘤细胞发生转移的早期,上皮细胞转化为间质细胞,使癌细胞的极性和黏附性发生改变,促进肿瘤的转移<sup>[15]</sup>。在转移后期,间质上皮转化,使肿瘤细胞形成转移灶<sup>[16]</sup>。研究<sup>[17]</sup>发现,EMT 与肿瘤细胞的凋亡、肿瘤耐药性和肿瘤干细胞的形成相关。E-cadherin 是钙依赖性穿膜糖蛋白,是 EMT 的关键,其表达下调后使细胞黏附性连接减弱,极性下降,细胞由上皮样转化为间质样。EMT 促进肿瘤细胞的侵袭和迁移,进而促进肿瘤发生转移<sup>[18]</sup>。LEE 等<sup>[19]</sup>研究发现,山奈酚能下调 N-cadherin 和 Snail 的表达,抑制外源和内源性雌激素对乳腺癌 MCF-7 细胞 EMT 的诱导作用。N-cadherin 是钙离子依赖性的细胞表面黏附分子,高表达可以激活 MAP 激酶通路,促进肿瘤血管生成,进而促进肿瘤生长和转移<sup>[20]</sup>。Snail 抑制 E-cadherin 的表达,促进 EMT<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,山奈酚加药处理 A549 细胞后,N-cadherin 和 Snail-2 的表达显著下调,E-cadherin 的表达显著上调,表明山奈酚抑制 A549 细胞 EMT。

ERR 与雌激素受体具有高度同源性,缺少天然

的特异性配体,以非配体的形式发挥作用<sup>[22]</sup>。ERR 通过招募辅助调节因子形成复合物,进而作用于下游反应原件,影响癌细胞增殖、侵袭和迁移<sup>[23]</sup>。研究<sup>[21]</sup>显示,ERR $\alpha$  与纤维素连接蛋白核基因相结合,诱导癌细胞发生 EMT,促进肿瘤的转移。本研究从 RNA 和蛋白水平上检测山奈酚对 A549 肺癌细胞中 ERR $\alpha$  的影响,结果显示,山奈酚加药组 ERR $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平均显著下调。为进一步验证山奈酚对 ERR $\alpha$  的抑制作用,慢病毒包装构建 ERR $\alpha$  过表达的 A549 细胞株,结果显示,ERR $\alpha$  过表达后 A549 细胞的侵袭和迁移能力增强,细胞中 E-cadherin 的表达显著下调,提示 ERR $\alpha$  高表达细胞株的构建成功,且 ERR $\alpha$  过表达促进 A549 细胞侵袭和迁移;ERR $\alpha$  过表达的 A549 细胞经 20  $\mu\text{mol/L}$  山奈酚加药处理后,侵袭和迁移能力显著下降,表明山奈酚通过抑制 ERR $\alpha$  发挥降低 NSCLC A549 细胞侵袭和迁移能力。有研究<sup>[24]</sup>显示,ERR $\alpha$  能与  $\beta$ -catenin 相互作用促进 Wnt11 的表达,Wnt 信号通路是 EMT 的经典通路, $\beta$ -catenin 与 TCF/Lef 结合后,调节 E-cadherin 的转录。另有报道<sup>[25-26]</sup>发现,ERR $\alpha$  通过 TGF- $\beta$  通路,促进 EMT。本研究显示,N-cadherin 和 Snail-2 的表达显著下调,E-cadherin 的表达显著上调,表明 ERR $\alpha$  在多种细胞信号通路中发挥作用,但具体影响 A549 细胞 EMT 的机制需要进一步的研究。

综上所述,山奈酚通过抑制 ERR $\alpha$  发挥降低 NSCLC A549 细胞侵袭和迁移能力,表明山奈酚可以作为治疗 NSCLC 的潜在药物进一步开发研究。下一步计划在体外实验中建立 NSCLC 动物移植模型,研究山奈酚的抑癌效果。

### [参考文献]

- [1] WANG Z, WANG Y, HUANG Y, et al. Challenges and research opportunities for lung cancer screening in China[J]. Cancer Commun (Lond), 2018, 38(1): 34-39. DOI:10.1186/s40880-018-0305-0.
- [2] O'BRIEN T D, JIA P, ALDRICH M C, et al. Lung cancer: one disease or many[J]. Hum Hered, 2018, 83(2): 65-70. DOI: 10.1159/000488942.
- [3] BRAND T, HAITHCOCK B. Lung cancer and lung transplantation [J]. Thorac Surg Clin, 2018, 28(1): 15-18. DOI: 10.1016/j.thor-surg.2017.09.003.
- [4] ZHU L, XUE L. Kaempferol suppresses proliferation and induces cell cycle arrest, apoptosis, and DNA damage in breast cancer cells [J]. Oncol Res, 2018, 11(1): 3303-3312.
- [5] BEG T, JYOTI S, NAZ F, et al. Protective effect of kaempferol on the transgenic drosophila model of alzheimer's disease[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2018, 17(6): 421-429. DOI: 10.2174/1871527317666180508123050.
- [6] CHIN H K, HORNG C T, LIU Y S, et al. Kaempferol inhibits angiogenic ability by targeting VEGF receptor-2 and downregulating the

- PI3K/AKT, MEK and ERK pathways in VEGF-stimulated human umbilical vein endothelial cells[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(5): 2351-2357. DOI:10.3892/or.2018.6312.
- [7] TOSCHI L, ROSSI S, FINOCCHIARO G, et al. Non-small cell lung cancer treatment (r)evolution: ten years of advances and more to come[J/OL]. *Ecancermedalscience*, 2017, 11: 787[2018-09-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5718252/>. DOI: 10.3332/ecancer.2017.787.
- [8] KEATING E, MARTEL F. Antimetabolic effects of polyphenols in breast cancer cells: focus on glucose uptake and metabolism[J]. *Front Nutr*, 2018, 5(1): 25-31. DOI:10.3389/fnut.2018.00025.
- [9] HAN B, YU Y Q, YANG Q L, et al. Kaempferol induces autophagic cell death of hepatocellular carcinoma cells via activating AMPK signaling[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86227-86239. DOI:10.18632/oncotarget.21043.
- [10] CHEN W Z, YANG M. Effect of kaempferol on invasion and metastasis of highly metastatic ovarian carcinoma ho-8910pm cells[J]. *Pract J Cancer*, 2007,52(9):2380-2386.
- [11] LIN C, YANG J, YANG S. Metallic few-layered VS2 ultrathin nanosheets: high two-dimensional conductivity for in-plane supercapacitors[J]. *J Am Chem Soc*, 2013,91(1): 221-264. DOI: 10.1021/ja207176c.
- [12] LI S, YAN T, DENG R, et al. Low dose of kaempferol suppresses the migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by downregulating the activities of RhoA and Rac1[J]. *Oncol Targets Ther*, 2017, 10(36): 4809-4819. DOI:10.2147/OTT.S140886.
- [13] HUNG T W, CHEN P N, WU H C, et al. Kaempferol inhibits the invasion and migration of renal cancer cells through the downregulation of AKT and FAK pathways[J]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(10): 984-993. DOI:10.7150/ijms.20336.
- [14] KALLURI R, WEINBERG R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1420-1428. DOI: 10.1172/JCI39104.
- [15] CHA Y H, YOOK J I, KIM H S, et al. Catabolic metabolism during cancer EMT[J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(3): 313-320. DOI: 10.1007/s12272-015-0567-x.
- [16] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-196. DOI:10.1038/nrm3758.
- [17] THIERY J P, ACLOQUE H, HUANG R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. *Cell*, 2009, 139(5): 871-890. DOI:10.1016/j.cell.2009.11.007.
- [18] CANO A, PÉREZ-MORENO M A, RODRIGO I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression[J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(2): 76-83. DOI:10.1038/35000025.
- [19] LEE G A, CHOI K C, HWANG K A. Kaempferol, a phytoestrogen, suppressed triclosan-induced epithelial-mesenchymal transition and metastatic-related behaviors of MCF-7 breast cancer cells[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2017, 49(1): 48-57. DOI: 10.1016/j.etap.2016.11.016.
- [20] GANZ A, LAMBERT M, SAEZ A, et al. Traction forces exerted through N-cadherin contacts[J]. *Biol Cell*, 2006, 98(12): 721-730. DOI:10.1042/BC20060039.
- [21] BATLLE E, SANCHO E, FRANCÍ C, et al. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(2): 84-89. DOI: 10.1038/35000034.
- [22] RANHOTRA H S. Estrogen-related receptor alpha and cancer: axis of evil[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2015, 35(6): 505-508. DOI:10.3109/10799893.2015.1049362.
- [23] HUSS JM, GARBACZ WG, XIE W. Constitutive activities of estrogen-related receptors: transcriptional regulation of metabolism by the ERR pathways in health and disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(9): 1912-1927. DOI:10.1016/j.bbdis.2015.06.016.
- [24] DWYER M A, JOSEPH J D, WADE H E, et al. WNT11 expression is induced by estrogen-related receptor alpha and beta-catenin and acts in an autocrine manner to increase cancer cell migration[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(22): 9298-9308. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0226.
- [25] 仇波. 上皮-间质转化和多形性成胶质细胞瘤的侵袭性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(4): 329-333. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.04.002.
- [26] CHEN Y, ZHANG K, LI Y, et al. Estrogen-related receptor  $\alpha$  participates transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) induced epithelial-mesenchymal transition of osteosarcoma cells[J]. *Cell Adh Migr*, 2017, 11(4): 338-346. DOI:10.1080/19336918.2016.1221567.

[收稿日期] 2018-07-09

[修回日期] 2018-11-02

[本文编辑] 王映红