

芹菜素逆转肺癌 A549/DDP 细胞耐药及机制

赵亚新¹, 刘洁凡², 钱海鑫^{1*}

(¹苏州大学附属第一医院普外科, 江苏 苏州 215006; ²温州医科大学附属第一医院全科医学肿瘤康复科, 浙江 温州 325000)

[摘要] 目的: 研究芹菜素对肺癌 A549/DDP 细胞的作用, 探讨芹菜素逆转肺癌耐药的作用及机制。方法: 体外培养肿瘤细胞, 以不同浓度芹菜素作用为实验组, 用 MTT 法检测 A549/DDP 细胞增殖和分析药物敏感性, 用 Rhodamine-123 滞留实验检测 A549/DDP 细胞内药物外排情况, 用 Western blot 法检测肿瘤细胞内 P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 和肺耐药蛋白 (lung resistance-related protein, LRP) 表达情况, 用 RT-PCR 法检测肿瘤细胞内多药耐药基因 (multidrug resistance gene 1, MDR1) mRNA 和 LRP mRNA 的转录情况。结果: 与 DDP 组相比, 20、40、80 $\mu\text{mol/L}$ 的芹菜素明显抑制了 A549/DDP 细胞生长增殖 ($P < 0.05$)。DDP 对 A549/DDP 细胞的 IC_{50} 为 $(14.33 \pm 0.41) \mu\text{g/mL}$, 在芹菜素作用下其 IC_{50} 降为 $(5.76 \pm 0.36) \mu\text{g/mL}$, 逆转倍数为 2.48, 两者相比有统计学差异 ($P < 0.05$)。芹菜素作用下, A549/DDP 细胞内的 Rhodamine-123 蓄积增加, 细胞内 P-gp 表达减弱, MDR1 mRNA 转录水平下降, 对 LRP 表达及 LRP mRNA 转录无明显改变。结论: 芹菜素对 A549/DDP 细胞生长有抑制作用; 芹菜素还具有逆转 A549/DDP 细胞肿瘤耐药的功能, 其机制与降低 MDR1 mRNA 转录和下调 P-gp 介导的药物外转功能有关。

[关键词] 芹菜素; 肺癌; 多药耐药; 逆转

[中图分类号] R734.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)11-1385-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20171102

The effect and mechanism of apigenin reverse drugs resistance on A549/DDP cells

Zhao Yaxin¹, Liu Jiefan², Qian Haixin^{1*}

(¹Department of Genral Surgery, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, ²Department of Genral Medicine for Tumor Rehabilitation, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of apigenin on A549/DDP cells, and to explore the effect and mechanism of apigenin reverse drugs resistance on A549/DDP cells. **Methods:** The cells were cultured with different concentrations apigenin. A549/DDP cells proliferation and drug sensitivity was detected by MTT assay. The drug extracellular transport was detected by Rhodamine-123 retention experiment, the P-gp and the LRP expression in the tumor cells was detected by Western blot, and the transcription of MDR1 mRNA and LRP mRNA in the tumor cells was detected by RT-PCR. **Results:** The apigenin can inhibit the A549/DDP cells proliferation. There were significant differences between the apigenin groups (20, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$) and the DDP group ($P < 0.05$). The DDP's IC_{50} with the apigenin was $(5.76 \pm 0.36) \mu\text{g/mL}$ in A549/DDP cells. The DDP's IC_{50} without the apigenin was $(14.33 \pm 0.41) \mu\text{g/mL}$ in A549/DDP cells, and the reversal index was 2.48. The apigenin can make high Rhodamine-123 accumulate in A549/DDP cells, down-regulate the P-gp expression in A549/DDP cells, and decrease the transcription of MDR1 mRNA in A549/DDP cells. **Conclusion:** The apigenin may inhibit the A549/DDP cells proliferation and to reverse drug resistance in A549/DDP cells, and the mechanism was related to decrease the MDR1 mRNA transcription and down-regulate the expression of P-gp that mediated drug extracellular transport.

[Key words] apigenin; lung cancer; multiple-drug resistance; reverse

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(11): 1385-1388, 1394]

化疗是目前治疗肺癌的主要手段之一, 化疗失

败的主要原因是肺癌细胞出现耐药性, 而肺癌多药耐药细胞的存在是产生耐药的重要原因。芹菜素 (apigenin, AP) 是一种黄酮类化合物, 研究发现 AP 具有抗肿瘤作用, 可抑制肿瘤细胞生长^[1], 影响肿瘤细胞周期进展^[2], 促进肿瘤细胞凋亡^[2-3]等。国外研究

[基金项目] 温州市科技局项目 (Y20160403, Y20100257); 浙江省中医药管理局项目 (2009YB024)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: Qianhaixin1@hotmail.com

报道部分黄酮类化合物还具有逆转肿瘤耐药作用,提高耐药细胞株对化疗药物的敏感性。为探索 AP 是否对肺癌多药耐药细胞有类似的作用,本文选用肺癌 A549/DDP 细胞为主要研究对象,研究 AP 对肺癌 A549/DDP 细胞的作用,探讨 AP 逆转肺癌多药耐药的作用和机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人肺癌 A549/DDP 细胞、A549 细胞(中国科学院上海生命科学研究院),AP(CAS 号,520-36-5)、四甲基偶氮唑盐(MTT, CAS 号,298-93-1)、罗丹明-123(Rh-123, CAS 号,62669-70-9)、ECL 免疫印迹底物试剂盒(CA201-1KT)、RT-PCR 试剂盒(11939823001)、鼠抗人 P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)单抗(SAB2702025-100UL)、鼠抗人肺耐药蛋白(lung resistance-related protein, LRP)单抗(SAB1400154-50UG, Sigma 公司, 美国)、顺铂(DDP, 山东齐鲁制药有限公司)。

肿瘤多药耐药基因 1 (multidrug resistance gene1, MDR1) 的上游引物:5'-CTCGCCATTTCGTAG-TCTGCACCACGA-3', 下游引物:5'-AGGGTGTCTAT-TGCTTCTGCAT-3', 肺耐药蛋白基因的上游引物为 5'-CATCATTGGCACTGCTGTCT-3', 下游引物为 5'-CAGCTCCTATAGTTCCTAGC-3', 内参 GAPDH 的上游引物为 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3', 下游引物为 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。上述引物均由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

A549/DDP 细胞和 A549 细胞在 37 °C、5%CO₂ 条件下,含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 中培养,收集细胞时用 0.25%胰蛋白酶消化,2~3 d 传代 1 次。A549/DDP 细胞传代培养时加入 1 μg/mL 的 DDP 维持其耐药性,实验前置于无 DDP 的培养液中培养 2 周。所有实验均取对数生长期细胞根据实验浓度要求接种。AP 浓度分别为 5、10、20、40、80 μmol/L。

1.2.2 A549/DDP 细胞生长曲线的测定

取 A549/DDP 细胞的单细胞悬液,调整细胞浓度为 5×10⁴ 个/L,每孔 100 μL 接种入 96 孔板,各组设 3 个复孔。实验组:加各浓度 AP;DDP 组:加 5 g/L DDP 处理;对照组:不加任何药物。继续培养并分别于第 1、2、3、4、5、6 天,加入 MTT 溶液 20 μL(5 g/L),选 495 nm 波长,以只加培养液为空白对照调零,在酶联免疫检测仪上测各孔吸光度值。绘制各组细胞

生长曲线图。

1.2.3 A549/DDP 细胞药物敏感性测定

为避免 AP 自身毒性过大,干扰增敏实验,根据前期实验结果,选 AP 浓度为 10 μmol/L 和作用时间为 24 h 的条件进行 A549/DDP 细胞化疗药物敏感性测定。A549/DDP 细胞接种后,各孔加不同浓度的 DDP (1、2、4、8、16 μg/mL),实验组外加 10 μmol/L AP,培养 24 h 后加 MTT 继续培养 4 h,在酶联免疫检测仪上,测每孔吸光度值,并按以下公式计算细胞抑制率。抑制率(%)=(1-实验孔吸光度值/对照孔吸光度值)×100%,由线性回归分析,计算半数抑制浓度(IC₅₀)。逆转指数=对照组 IC₅₀/AP 作用组的 IC₅₀。

1.2.4 A549/DDP 细胞药物外排功能测定

同前 A549/DDP 细胞接种,加入不同浓度的 AP 或 DDP,培养 48 h 后加浓度 5 μg/mL 的 Rh-123 液,上流式细胞仪测荧光强度(激发光 488 nm,发射光 530 nm)。以平均荧光强度值表示细胞内 Rh-123 浓度,计算药物蓄积浓度。

1.2.5 A549 和 A549/DDP 细胞内 P-gp 和 LRP 表达测定

取 A549 细胞和 A549/DDP 细胞,调整细胞浓度为 1×10⁶ 个/L,给予不同实验因素处理后培养 24 h,酶消化法收集细胞,提取细胞总蛋白样本,用 12%的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转到 PVDF 膜,封闭,加一抗过夜,加二抗 1 h 后用 ECL 化学发光试剂盒,进行化学发光法显影,以每条蛋白电泳带的灰度值表示蛋白表达量,以 GAPDH 为参照。相对灰度值=细胞耐药蛋白表达强度/GAPDH 表达强度。

1.2.6 A549 和 A549/DDP 细胞内 MDR1 mRNA 和 LRP mRNA 转录水平测定

同前取 A549 细胞和 A549/DDP 细胞,调整细胞浓度为 1×10⁶ 个/L,给予不同实验因素处理后培养 24 h,酶消化法收集细胞,加 1 mL TRIzol 裂解细胞,提取 RNA 样本。应用反转录反应系统进行扩增。设置反应参数:预变性:94 °C 5 min;变性、退火、延伸:94 °C 30 s,55 °C 60 s,72 °C 70 s,35 个循环;末次延伸:72 °C 7 min。扩增后取 PCR 产物在琼脂糖凝胶上电泳,溴化乙锭染色。将凝胶电泳图像输入凝胶分析系统,以 GAPDH 作为内参照,应用 Image Analysis Software 进行表达分析,按以下公式计算相对表达量。相对表达量=细胞 PCR 产物表达强度/GAPDH 表达强度。

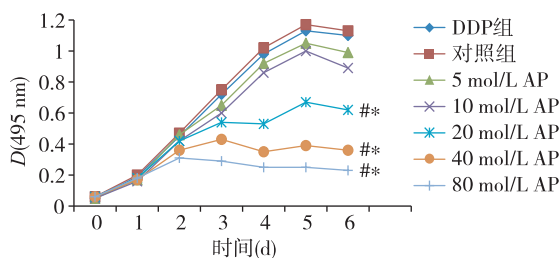
1.3 统计学方法

用 SPSS16.0 软件统计, 计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析; 计数资料以率表示, 采用卡方检验。 *P* ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AP 对 A549/DDP 细胞生长的影响

浓度 5、10 μmol/L AP 组, A549/DDP 细胞生长曲线稍下移, 但与 DDP 组和对照组相比差异无统计学意义 (*P* > 0.05); 在 20、40、80 μmol/L AP 组, 细胞生长曲线下移明显, 与 DDP 组和对照组相比差异均有统计学意义 (*P* < 0.05), 提示 AP 对 A549/DDP 细胞生长有抑制作用, 且抑制效应与其作用浓度相关 (图 1)。



与对照组比较, **P* < 0.05; 与 DDP 组比较 **P* < 0.05。

图 1 芹菜素对肺癌 A549/DDP 细胞生长的影响

Figure 1 Effects of apigenin on A549/DDP cells proliferation

2.2 AP 对 A549/DDP 化疗药物敏感性的影响

随着 DDP 浓度升高, DDP 对 A549/DDP 细胞的

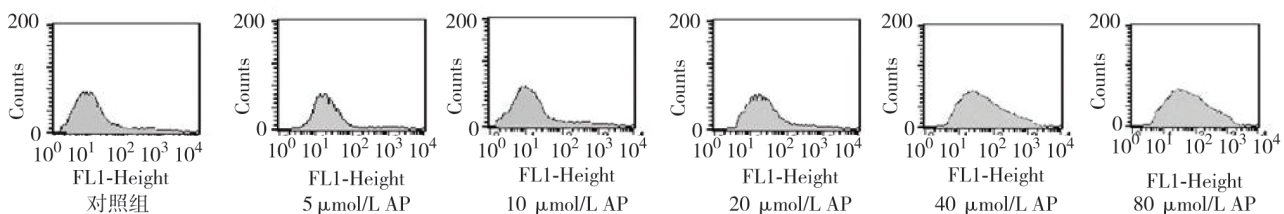


图 2 芹菜素对 A549/DDP 细胞内 Rh-123 荧光强度的影响

Figure 2 Effect of apigenin on Rh-123 fluorescence intensity in A549/DDP cells

2.4 AP 对 A549/DDP 细胞内 P-gp 和 LRP 表达的影响

P-gp 和 LRP 在 A549 细胞内均低表达, 在 A549/DDP 细胞内均高表达, 此结果符合多药耐药 A549/DDP 细胞株特性 (图 3), 在 AP 作用下, A549/DDP 细胞内原先高表达的 P-gp 表达出现减弱, LRP 表达无明显变化。表达灰度定量分析显示, 5、10、20、40、80 μmol/L AP 组 A549/DDP 细胞内 P-gp 表达灰度值分别为 96.1%、86.61%、68.56%、36.43%、25.23%。除 5 μmol/L 组外, 其他各组与对照组相比, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。

抑制率随之上升。两组比较发现, AP 加 DDP 组的细胞抑制率均高于单用 DDP 组, 两组相比差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。AP 加 DDP 组的 IC₅₀ 为 (5.76 ± 0.36) μg/mL, 明显低于单用 DDP 组的 IC₅₀ (14.33 ± 0.41) μg/mL, 逆转指数为 2.48 倍, 两者相比差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 提示 AP 可提高 A549/DDP 细胞对化疗药物的敏感性, 具有逆转 A549/DDP 细胞肿瘤耐药的作用 (表 1)。

表 1 不同浓度 DDP 对 A549/DDP 细胞的抑制率

Table 1 Inhibition rate of A549/DDP cells by different concentrations DDP (%)

| DDP 浓度 (μg/mL) | DDP 组 | DDP +AP 组 |
|----------------|--------------|---------------|
| 1 | 9.23 ± 0.12 | 18.59 ± 0.21* |
| 2 | 12.35 ± 0.24 | 25.45 ± 0.46* |
| 4 | 20.75 ± 0.16 | 38.65 ± 0.53* |
| 8 | 36.39 ± 0.24 | 61.95 ± 0.70* |
| 16 | 60.15 ± 0.21 | 84.68 ± 0.45 |

与 DDP 组比较, **P* < 0.05。

2.3 AP 对 Rh-123 在 A549/DDP 细胞内滞留的影响

在 AP 的作用下, Rh-123 在 A549/DDP 细胞内的滞留情况出现改变, 表现为随着 AP 浓度增加, Rh-123 滞留率增加, 外排率减少。5、10、20、40、80 μmol/L AP 组的 A549/DDP 细胞内 Rh-123 蓄积值分别为 26.93%、33.41%、50.68%、64.47%、73.28%。除 5 μmol/L 组外, 其他各组与对照组相比差异均有统计学意义 (*P* < 0.05), 提示 AP 具有增加 A549/DDP 细胞内 Rh-123 蓄积作用, 作用与 AP 浓度相关 (图 2)。

各 AP 组细胞内的 LRP 表达灰度值分别为 95.3%、93.2%、90.36%、89.38%、85.24%, 与对照组相比差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。提示 AP 可以下调 A549/DDP 细胞内 P-gp 的表达, 对 LRP 的表达无影响 (图 3)。

2.5 AP 对 A549/DDP 细胞内的 MDR1 mRNA 和 LRP mRNA 转录的影响

实验结果发现 MDR1 mRNA 和 LRP mRNA 在 A549 细胞内为低水平转录, 在 A549/DDP 细胞内为高水平转录。在 AP 作用下, A549/DDP 细胞内

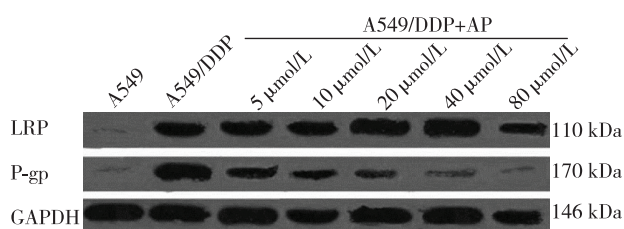
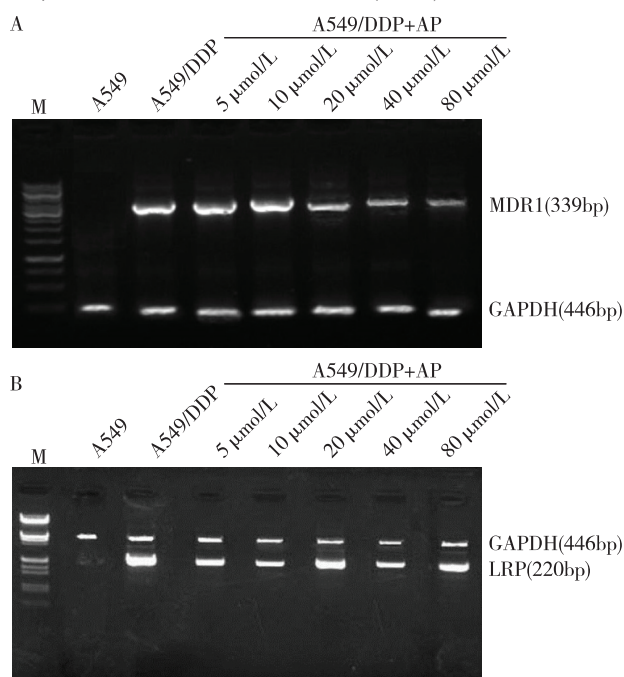


图 3 肺癌 A549 细胞和 A549/DDP 细胞内 P-gp 和 LRP 表达的情况

Figure 3 The expression of P-gp and LRP in A549 cells and A549/DDP

MDR1 mRNA 转录水平随 AP 浓度增加出现下调, LRP mRNA 转录水平无明显变化。进行相对表达量分析, 5 μmol/L AP 组 MDR1 mRNA 转录水平与对照组相比差异无统计学意义 ($P>0.05$), 10、20、40、80 μmol/L AP 组与对照组相比, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 各 AP 组的 LRP mRNA 转录水平与对照组相比差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。提示 AP 可以降低 A549/DDP 细胞内 MDR1 mRNA 转录水平, 对 LRP mRNA 转录无影响(图 4)。



A:肺癌 A549 细胞和 A549/DDP 细胞内 MDR1 mRNA 转录情况;
B:肺癌 A549 细胞和 A549/DDP 细胞内 LRP mRNA 转录情况。

图 4 肺癌 A549 和 A549/DDP 细胞内 MDR1 和 LRP mRNA 转录情况

Figure 4 The transcription of MDR1 and LRP mRNA in A549 cells and A549/DDP cells

3 讨论

肺癌发病率高, 严重危害人类健康^[4], 化疗在肺癌治疗中发挥重要作用, 但是随着治疗时间的推移,

往往出现耐药, 导致治疗失败。肺癌多药耐药细胞是肺癌组织中的一类特殊的肿瘤细胞, 可从肿瘤干细胞分化产生, 也可由一般肺癌细胞转化产生。肺癌多药耐药细胞对所有抗肿瘤药物均产生耐药, 在临床治疗中, 减少肺癌多药耐药细胞的产生或者逆转肺癌多药耐药细胞的耐药性, 可提高肺癌患者的预后。虽 1981 年就发现钙通道拮抗剂具有逆转肿瘤耐药作用, 但目前仍未找到可用于临床的理想的肿瘤耐药逆转剂。

AP 是黄酮类的一种, 其结构式中的 4'、5、7 位置 3 个羟基和 C2、C3 双键决定其独特的药理学效应。目前发现 AP 具有广泛的生物学效应^[5-6], 其抗肿瘤作用研究是目前热点。AP 对人体大部分肿瘤细胞具有抑制作用^[7-10], 但对肿瘤多药耐药细胞的研究较少。肺癌 A549/DDP 细胞是由非耐药人肺癌细胞系 A549 经体外持续的顺铂暴露诱导而成, 除对顺铂耐药外, 同时也对长春新碱、阿霉素等多种化疗药物耐药。本研究选用 A549/DDP 细胞, 研究 AP 对肺癌多药耐药细胞的作用, 探究 AP 逆转肺癌肿瘤耐药的可能性。从 AP 对 A549/DDP 细胞生长增殖影响发现, 低浓度 AP 对 A549/DDP 细胞生长无明显抑制作用, 但高浓度 ($\geq 20 \mu\text{mol/L}$) AP 可明显抑制 A549/DDP 细胞的生长增殖。为排除 AP 的细胞毒作用的影响, 本研究选用 10 μmol/L AP 进行后续的体外 A549/DDP 细胞药物敏感性实验。在 AP 10 μmol/L、作用 24 h 下, DDP 对肺癌 A549/DDP 细胞的 IC₅₀ 值下降明显, 与对照组相比逆转倍数达 2.48, 提示 AP 可以增加 A549/DDP 细胞对化疗药物的敏感性, 具有一定的逆转肺癌 A549/DDP 细胞肿瘤耐药的功能, 这个结果是后期研究的基础。导致肺癌 A549/DDP 细胞具有多药耐药特性的机制很多, 主要是经典的转运蛋白机制, 包括通过 P-gp 介导和 LRP 介导的途径。为初步探究 AP 逆转肺癌的机制, 本文进行了 Rh-123 滞留实验。发现在 AP 作用下 Rh-123 在 A549/DDP 细胞内滞留增加, 外排减少, 且随着 AP 作用浓度的增加, A549/DDP 细胞内 Rh-123 滞留率越高。Rh-123 外排主要由细胞膜上 P-gp 介导, 其编码基因为 MDR1, 位于人染色体 7q21。MDR1 编码产生的 P-gp 是一个 ATP 依赖性药物外排泵, 能利用 ATP 水解释放的能量, 主动地将疏水亲脂性药物转运至细胞外, 导致细胞内药物浓度低于杀伤浓度, 从而使肿瘤细胞对化疗药物产生耐药。Rh-123 滞留实验结果提示 AP 通过增加 A549/DDP 细胞内药物的

(下转第 1394 页)

- CD44 expression in pancreatic cancer cells[J]. *Oncogene*, 2017, 36(19): 2643–2654
- [6] Du WW, Fang L, Yang W, et al. Induction of tumor apoptosis through a circular RNA enhancing Foxo3 activity[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(2): 357–370
- [7] Cui QK, Liu WD, Zhu JX, et al. MicroRNA-184 promotes proliferation ability of glioma cells by regulating FOXO3 [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7(10): 776–779
- [8] Brigladori G, Foca F, Dall'Agata M, et al. Defining the cutoff value of MGMT gene promoter methylation and its predictive capacity in glioblastoma [J]. *J Neurooncol*, 2016, 128(2): 333–339
- [9] Luo H, Chen ZX, Wang S, et al. c-Myc-miR-29c-REV3L signalling pathway drives the acquisition of temozolomide resistance in glioblastoma[J]. *Brain*, 2015, 138(12): 3654–3672
- [10] Christmann M, Diesler K, Majhen D, et al. Integrin $\alpha V\beta 3$ silencing sensitizes malignant glioma cells to temozolomide by suppression of homologous recombination repair [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 27754–27771
- [11] Van Nifterik KA, Van Den Berg J, Van Der Meide WF, et al. Absence of the MGMT protein as well as methylation of the MGMT promoter predict the sensitivity for temozolomide[J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(1): 29–35
- [12] Qiu ZK, Shen D, Cheng YS, et al. Enhanced MGMT expression contributes to temozolomide resistance in glioma stem-like cells[J]. *Chin J Cancer*, 2014, 33(2): 115–122
- [13] Chahal M, Abdulkarim B, Xu Y, et al. O6-Methylguanine-DNA methyltransferase is a novel negative effector of invasion in glioblastoma multiforme [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(11): 2440–2450

[收稿日期] 2016–12–27

(上接第 1388 页)

蓄积而达到杀死肿瘤细胞的作用。为了进一步了解 AP 对 A549/DDP 细胞内耐药基因和相关蛋白的影响,通过蛋白印迹和 RT-PCR 技术,检测肿瘤细胞内 P-gp 和 LRP 表达情况以及 MDR1 和 LRP mRNA 的转录情况。发现在 AP 作用下, A549/DDP 细胞内原先高水平转录的 MDR1 mRNA 出现下调,原先高表达的 P-gp 出现表达减少,而 LRP mRNA 和其产物蛋白 LRP 均无明显变化。AP 通过减少 A549/DDP 细胞内 P-gp 的表达,可以减少或降低细胞膜上 P-gp 转运蛋白的药物外排,增加细胞内化疗药物的蓄积,逆转了 A549/DDP 细胞的耐药。

综上所述, AP 对肺癌多药耐药细胞(A549/DDP)具有细胞毒作用,其细胞毒作用与 AP 的作用浓度有一定相关性;同时 AP 具有逆转 A549/DDP 细胞耐药功能, 逆转机制与降低 MDR1 mRNA 转录水平和下调 P-gp 介导的药物外转运功能有关。

[参考文献]

- [1] 李占飞, 杨宏新, 张 晶, 等. 芹菜素抑制乳腺癌细胞增殖及其机制研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2016, 33(1): 258
- [2] 韩 露, 陈 子, 柏芳芳, 等. 芹菜素逆转白介素 6 诱导的中性粒细胞凋亡延迟[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37 (4): 399–402, 408
- [3] Seo HS, Choi HS, Kim SR, et al. Apigenin induces apoptosis via extrinsic pathway, inducing p53 and inhibiting STAT3 and NFkappaB signaling in HER2-overexpressing breast cancer cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 366(1–2): 319–334
- [4] Didkowska J, Wojciechowska U, Manczuk M, et al. Lung cancer epidemiology: contemporary and future challenges worldwide[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(8): 150
- [5] Zhang X, Wang G, Gurley EC, et al. Flavonoid apigenin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through multiple mechanisms in macrophages[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107072
- [6] 药红梅, 贾永平, 薛 铮, 等. 芹菜素可抑制脂多糖诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖[J]. *中华心血管病杂志*, 2017, 45(4): 323–328
- [7] Cao HH, Chu JH, Kwan HY, et al. Inhibition of the STAT3 signaling pathway contributes to apigenin-mediated anti-metastatic effect in melanoma[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21731
- [8] Shukla S, Shqankar E, Fu P, et al. Suppression of NF-kappaB and NF-kappaB-regulated gene expression by apigenin through IkappaBalpha and IKK pathway in TRAMP mice[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0138710
- [9] Shukla S, Kanwal R, Shankar E, et al. Apigenin blocks IKKalpha activation and suppresses prostate cancer progression[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31): 31216–31232
- [10] Meng S, Zhu Y, Li JF, et al. Apigenin inhibits renal cell carcinoma cell proliferation[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19834–19842

[收稿日期] 2017–06–07