

# 苦荞麦槲皮素对人胃癌细胞SGC-7901增殖及细胞周期的影响

李玉英<sup>1</sup> 赵淑娟<sup>1</sup> 白崇智<sup>2</sup> 崔晓东<sup>1</sup> 王转花<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>山西大学生物技术研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006;

<sup>2</sup>山西省中医药研究院中心实验室, 太原 030012)

**摘要** 从苦荞中提取出槲皮素, 研究其对人胃癌细胞SGC-7901增殖、凋亡、迁移和细胞周期的影响。MTT法检测槲皮素作用于293T、SGC-7901、HepG2和HeLa细胞后, 对其生长的影响; 划痕擦伤迁移实验检测槲皮素对SGC-7901细胞迁移能力的影响; 流式细胞术检测槲皮素对SGC-7901细胞凋亡及细胞周期的影响; RT-PCR技术检测细胞周期调控因子的表达情况。结果显示, 苦荞麦槲皮素对几种肿瘤细胞的生长有明显的抑制作用, 其中对胃癌细胞SGC-7901的作用最为显著, 而对正常细胞293T作用很小; 划痕擦伤实验显示, 槲皮素能抑制SGC-7901细胞的迁移; 流式细胞术检测结果表明, 槲皮素可使G<sub>1</sub>期和S期细胞减少, G<sub>2</sub>/M期细胞增多, 且细胞凋亡率明显增加; RT-PCR结果表明, *p53*转录增加, *CyclinD1*、*CDK2*、*CDK7*转录减少。综上所述, 苦荞麦槲皮素能够诱导SGC-7901细胞发生凋亡, 阻断细胞周期并抑制细胞增殖和迁移。

**关键词** 槲皮素; SGC-7901; 细胞周期; 凋亡; 细胞迁移

## Effects of Quercetin on the Proliferation and Cell Cycle in *Fagopyrum tataricum* to Human Gastric Carcinoma Cell Line SGC-7901

Li Yuying<sup>1</sup>, Zhao Shujuan<sup>1</sup>, Bai Chongzhi<sup>2</sup>, Cui Xiaodong<sup>1</sup>, Wang Zhuanhua<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory for Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; <sup>2</sup>Central Laboratory of Shanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China)

**Abstract** Quercetin was extracted from *F. tataricum* for investigating its effect on cell proliferation, apoptosis, migration and cell cycle in the human gastric carcinoma cell line SGC-7901. The possible effects of quercetin on the proliferation of 293T, SGC-7901, HepG2 and HeLa cell lines were investigated by MTT assays. Effects of quercetin on cell migration were investigated by cell injury healing experiment. Effects of quercetin on cell cycle and cell apoptosis were investigated by flow cytometry. The cell cycle regulation factors were investigated by RT-PCR. As a result, MTT assay showed that quercetin could specifically inhibit the viability of 293T, SGC-7901, HepG2 and HeLa cells, while it had showed less toxicity against 293T cells and more toxicity against SGC-7901 cells. Cell injury healing experiment indicated that quercetin could suppress cells migration. The results of flow cy-

收稿日期: 2012-12-15 接受日期: 2013-02-04

国家自然科学基金(批准号: 31171659)、山西省自然科学基金(批准号: 2011011035-4)和山西省高校科技开发项目(批准号: 2012004)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0351-7019371, E-mail: zhwang@sxu.edu.cn

Received: December 15, 2012 Accepted: February 4, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31171659), the Natural Science Foundation of Shanxi Province (Grant No.2011011035-4) and the University Technology Development Project of Shanxi Province (Grant No.2012004)

\*Corresponding author. Tel: +86-351-7019371, E-mail: zhwang@sxu.edu.cn

网络出版时间: 2013-04-22 11:21

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130422.1121.002.html>

tometry showed that the cells of G<sub>1</sub> phase and S phase decreased, the cells of G<sub>2</sub>/M phase increased and the ratio of apoptosis cells increased. The results of RT-PCR showed that the transcription level of *p53* increased and *CyclinD1*, *CDK2*, *CDK7* decreased. Together all, quercetin in *F. tataricum* can induce apoptosis, arrest cell cycle and inhibit cell proliferation and migration of SGC-7901 cells.

**Key words** quercetin; SGC-7901; cell cycle; apoptosis; cell migration

槲皮素(quercetin)是最常见的黄酮类化合物,属于黄酮醇类,分子式为C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>,分子量为302.23。它广泛存在于蔬菜、水果及植物药中,如在槐米、洋葱、蜂蜜、葡萄酒中含量丰富,且易于提取、分离和检测<sup>[1-2]</sup>。近年来,槲皮素对肿瘤的化学预防和治疗作用日益受到人们的重视,它能显著地抑制人乳腺癌、胃癌、肺癌、前列腺癌、白血病、宫颈癌等多种癌细胞的生长<sup>[3-5]</sup>,而失控性生长和增殖及细胞凋亡受阻是恶性肿瘤细胞的重要特征<sup>[6]</sup>,其中胃癌是严重危害人类健康的恶性肿瘤之一,在世界范围内其发病率和死亡率较高。因此,抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡将有利于胃癌的预防和治疗,其应用前景广阔。

苦荞麦又名鞑靼荞麦(*Fagopyrum tataricum*),是双子叶蓼科(Polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*)植物,在我国种植广泛,是一种药食两用植物。苦荞中含有丰富的生物活性成分,如生物类黄酮、高活性蛋白、膳食纤维、微量元素等,其中黄酮类物质含有大量的芦丁(rutin, Ru)和槲皮素(quercetin, Qu),具有较高的营养和药用价值<sup>[7]</sup>。大量实验已证实,苦荞生物类黄酮具有极其广泛的生理和药理活性,如抗氧化、清除自由基、抗突变、降血糖、抗炎症、抗病毒、调节免疫等功能<sup>[8-9]</sup>。尤其近年来,其独特的抗癌功能备受关注,其中槲皮素对肿瘤细胞有较强的抑制作用<sup>[10-11]</sup>。因此,本研究将苦荞槲皮素作用于人胃癌SGC-7901细胞,研究其对肿瘤细胞生长及迁移的抑制作用,以及其对细胞周期及凋亡的影响等,为探讨其抗胃癌的分子机制及应用开发提供了理论和实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

苦荞麦(贵州威黑荞,山西省农科院农作物品种资源研究所提供);人胃癌细胞株SGC-7901(山西医科大学惠赠);人正常细胞293T、人肝癌细胞株

HepG2、人宫颈癌细胞株HeLa均购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所细胞库;DMEM培养基购自HyClone公司;无支原体胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司;胰酶和二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自北京索莱宝科技有限公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT)、DAPI、RNase A和PI均购自Sigma公司;AnnexinV-FITC细胞凋亡检测试剂盒购自BioVision公司;cDNA反转录试剂盒和RNAiso Plus购自TaKaRa公司;其它试剂均为国产分析纯。

### 1.2 方法

1.2.1 苦荞麦槲皮素样品制备 苦荞麦槲皮素样品制备按照文献方法<sup>[12]</sup>进行,其纯度达96%以上。

1.2.2 细胞培养 SGC-7901、HepG2、HeLa和293T细胞株在含10%的胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养液中生长,并置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>、相对饱和湿度的孵育箱中培养,细胞呈贴壁生长,取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.3 MTT法检测槲皮素对肿瘤细胞增殖的影响 取对数生长期的SGC-7901、HepG2、HeLa和正常细胞293T,胰酶消化,细胞计数板计数并调整细胞悬液浓度达到1×10<sup>5</sup>/mL,每孔加入100 μL细胞液于96孔培养板中,37 °C、5% CO<sub>2</sub>过夜培养至细胞完全贴壁。加入不同浓度(25~200 μmol/L)槲皮素分别培养24, 48, 72 h后,每孔加20 μL MTT继续培养4 h,弃上清每孔加入150 μL DMSO,室温低速震荡10 min,待结晶物溶解后,于酶标免疫测定仪测定490 nm处的吸光度D值。实验用0.1% DMSO作为对照,每组设6个重复孔。肿瘤细胞的生长抑制率=(1-实验组平均D值/对照组平均D值)×100%。

1.2.4 SGC-7901细胞迁移能力检测 细胞划痕法是测定肿瘤细胞迁移的方法之一。在12孔板背后画直线做标记,取对数生长期的SGC-7901细胞(1×10<sup>6</sup>/mL)接种于12孔板,待细胞贴壁后,弃去培养基,PBS洗细胞2次,用10 μL无菌吸头在培养孔的中央沿纵轴方向划一直线。PBS漂洗细胞2次,以去除漂浮细胞。加入终浓度为100 μmol/L

的槲皮素, 对照组设为相同体积的0.1% DMSO, 培养0~24 h, 于倒置显微镜下观察划痕处细胞的生长情况。每组检测5个视野, 每组3个复孔, 实验重复3次。计算迁移率=实验组/对照组×100%。

**1.2.5 流式细胞术检测槲皮素对胃癌细胞SGC-7901凋亡的影响** 将SGC-7901细胞接种于6孔板中, 培养过夜待细胞贴壁后, 加入终浓度为100 μmol/L的槲皮素, 对照组设为相同体积的0.1% DMSO, 37 °C培养24 h后, 胰酶消化收集细胞, PBS洗2次, 400 μL 1×binding buffer重新悬浮细胞后, 分别加入5 μL的Annexin V-FITC和5 μL的PI并使其混匀, 室温、避光的条件下孵育30 min, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。

**1.2.6 细胞周期检测** 将SGC-7901细胞接种于6孔板中, 培养过夜待细胞贴壁后, 加入终浓度为100 μmol/L的槲皮素, 对照组设为相同体积的0.1% DMSO, 37 °C培养24 h后, 用胰酶消化收集细胞, 于70%乙醇中4 °C固定1 h, 1 200 r/min离心5 min, 弃去乙醇, 并用PBS洗2次, 加PI(10 mg/mL)染液悬浮细胞, 然后在避光条件下37 °C孵育30 min, 流式细胞仪检测细胞周期的变化。

**1.2.7 RNA的提取及cDNA的合成** 100 μmol/L槲皮素处理SGC-7901细胞, 对照组设为相同体积的0.1% DMSO, 作用48 h后, 胰酶消化收集细胞, 按照RNAiso Plus说明提取总RNA, 琼脂糖凝胶电泳检测后用cDNA反转录试剂盒合成cDNA第一链, -20 °C保存备用。

**1.2.8 RT-PCR扩增** 以反转录产物cDNA为模板, *GAPDH*为内参, 扩增*CyclinD1*、*p53*、*CDK2*、*CDK7*基因, 用1%琼脂糖凝胶电泳检测其表达情况

(引物序列见表1)。

**1.2.9 统计学分析** 所有数据用3次独立实验的平均值表示, 数据用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 组内采用方差分析, 组间采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 槲皮素抑制肿瘤细胞的MTT检测

利用MTT比色法检测槲皮素对几种肿瘤细胞株和人正常细胞株293T细胞生长的影响, 结果显示: 苦荞麦槲皮素对SGC-7901、HepG2和HeLa细胞的增殖抑制率具有剂量依赖性(图1和图2,  $n=3$ ,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ )。在25~200 μmol/L的浓度范围内, 槲皮素能够显著抑制几种肿瘤细胞株的增殖, 并且随着药物浓度的增加, 抑制作用逐渐增强, 而对正常细胞293T的增殖影响较小。当用200 μmol/L槲皮素作用于细胞48 h后, 对293T细胞的增殖抑制率为(3.432±0.526)%, 而对SGC-7901、HepG2和HeLa细胞的增殖抑制率分别为(51.855±0.917)%、(29.130±1.835)%和(22.248±1.731)%。可见, 在相同作用浓度和作用时间下, 槲皮素对SGC-7901肿瘤细胞的生长抑制效果较强, 并呈现时间和剂量依赖性。各组数据与对照组相比较, 均呈现显著性差异。

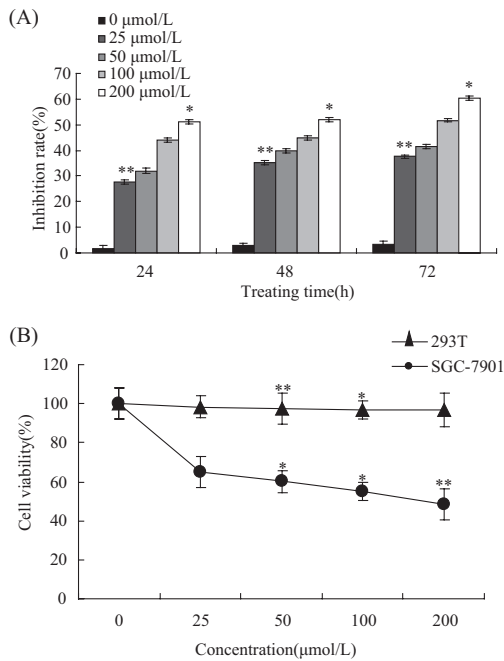
### 2.2 槲皮素对SGC-7901细胞迁移能力的影响

培养SGC-7901细胞12 h和24 h后, SGC-7901细胞分别迁移了4.9 μm和10.5 μm(表2), 而加入100 μmol/L槲皮素作用后, SGC-7901细胞的迁移能力明显减弱。当用100 μmol/L槲皮素作用细胞12 h时, 细胞迁移率仅为42.9%, 槲皮素对SGC-7901细胞迁移的抑

表1 用于RT-PCR分析的引物

Table 1 Primers used in RT-PCR analysis

基因 Gene	引物序列 Primer sequences	产物大小(bp) Product size(bp)
<i>p53</i>	Sense: 5'-GCG CAC AGA GGA AGA GAA TC-3' Antisense: 5'-GGC CAA CTT GTT CAG TGG AG-3'	501
<i>CyclinD1</i>	Sense: 5'-CTG GAT GCT GGA GGT CTG CGA GGA-3' Antisense: 5'-CTG GCA TTT TGG AGA GGA AGT GTT-3'	323
<i>CDK2</i>	Sense: 5'-ATC CGC CTG GAC ACT GAG-3' Antisense: 5'-TCC GCT TGT TAG GGT CGT-3'	721
<i>CDK7</i>	Sense: 5'-CAC CAT CAC ACA TCA AAG CC-3' Antisense: 5'-GCC ACT GTT CCT CAG TTG GT-3'	384
<i>GAPDH</i>	Sense: 5'-CCC ATG TTT GTT GGT GTC-3' Antisense: 5'-TCG TAC CAT GAC TCA AGC TTG-3'	580



A: 不同浓度的槲皮素分别作用于SGC-7901细胞24, 48, 72 h后, MTT法检测细胞增殖情况; B: 不同浓度的槲皮素分别作用于SGC-7901和293T细胞48 h后, MTT法检测细胞增殖情况。酶标免疫测定仪(Bio-Rad model 550)测定490 nm处吸光度值。所有数据均表示为 $\bar{x}\pm SD$ ,  $n=3$ , \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , 与0.1% DMSO相比。

A: SGC-7901 cells were treated with different concentrations of quercetin for 24, 48, 72 h, respectively. MTT assay was used to examine cell proliferation; B: SGC-7901 and 293T cells were treated with different concentrations of quercetin for 48 h. MTT assay was used to examine cell proliferation. The color intensity was measured using a microtiter plate reader (Bio-Rad model 550) at 490 nm. Data were expressed as  $\bar{x}\pm SD$ ,  $n=3$ , \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs 0.1% DMSO.

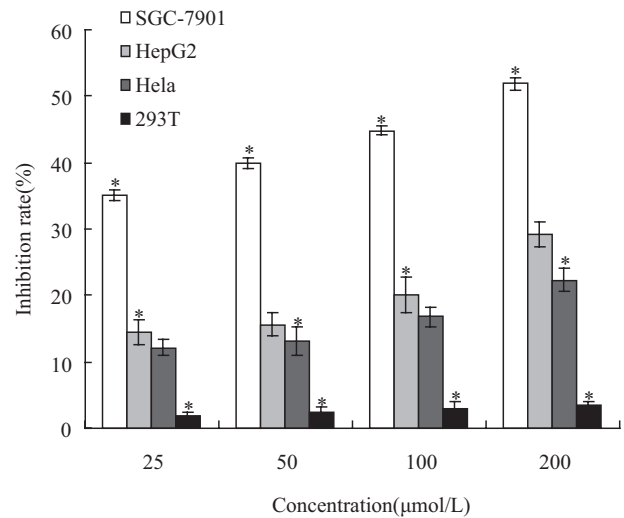
图1 苦荞麦槲皮素对SGC-7901和293T细胞增殖的影响

Fig.1 Inhibition of quercetin in *F. tataricum* on proliferation of SGC-7901 and 293T cells

制率达57.1%。由此可见, 苦荞麦槲皮素可以显著抑制SGC-7901细胞的迁移。

### 2.3 SGC-7901细胞的凋亡检测

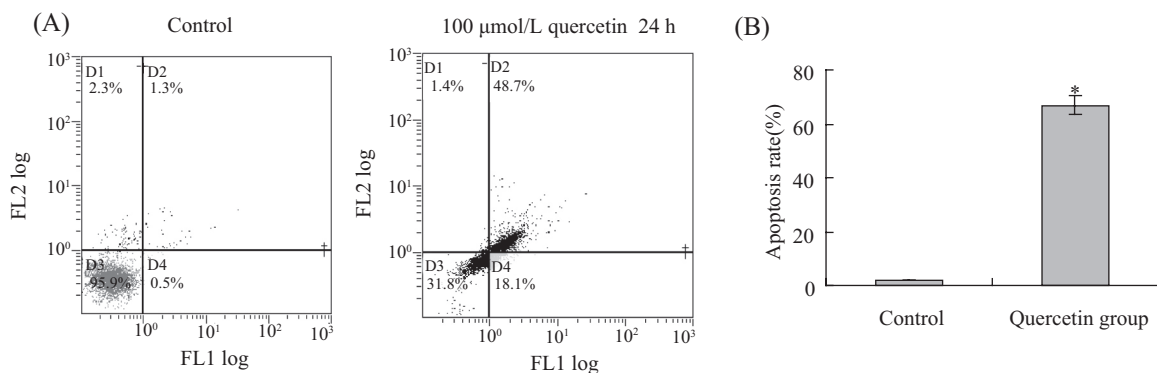
如图3A显示, 对照组早期凋亡率为0.5%, 晚期凋亡率为1.3%, 100 μmol/L槲皮素处理细胞后的早期凋亡率为18.1%, 晚期凋亡率为48.7%, 凋亡率均



不同浓度的槲皮素作用于不同细胞48 h。酶标免疫测定仪(Bio-Rad model 550)测定490 nm吸光度值。所有数据均表示为 $\bar{x}\pm SD$ ,  $n=3$ , \* $P<0.05$ , 与0.1% DMSO相比。

Different cells were incubated with various concentrations of quercetin for 48 h. The color intensity was measured using a microtiter plate reader (Bio-Rad model 550) at 490 nm. Data was expressed as  $\bar{x}\pm SD$ ,  $n=3$ , \* $P<0.05$  vs 0.1% DMSO.

图2 槲皮素对SGC-7901、HepG2、HeLa和293T生长的作用  
Fig.2 Effects of quercetin treatment on the growth of SGC-7901, HepG2, HeLa and 293T cells



100 μmol/L苦荞麦槲皮素作用于SGC-7901细胞24 h, 0.1% DMSO作为对照, AnnexinV/FITC和PI染色后用流式细胞仪检测细胞凋亡。A: 流式细胞仪检测细胞凋亡率; B: 凋亡率定量分析。采用3次独立实验检测细胞凋亡情况, \* $P<0.01$ , 与对照组相比。

SGC-7901 cells were incubated with 100 μmol/L quercetin in *F. tataricum* and 0.1% DMSO for 24 h, respectively. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis by AnnexinV/FITC and PI staining. A: the percentage of cell apoptosis was determined by flow cytometric analysis; B: apoptosis ratio quantitative analysis. The percentage of cells undergoing apoptosis was determined by three independent experiments. \* $P<0.01$  vs control.

图3 流式细胞术检测苦荞麦槲皮素对SGC-7901细胞凋亡的影响

Fig.3 Effect of quercetin in *F. tataricum* on apoptosis of SGC-7901 cells by flow cytometric analysis



较对照组明显升高(图3B), 可见槲皮素能明显诱导SGC-7901细胞凋亡。

### 2.4 槲皮素对SGC-7901细胞周期的影响

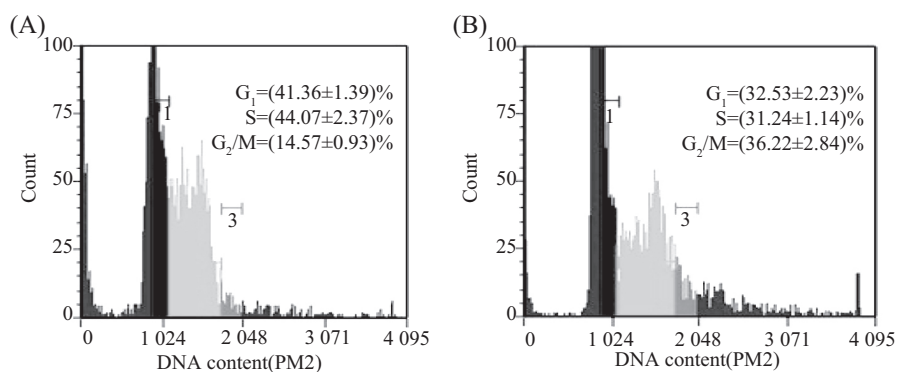
结果显示, 100 μmol/L槲皮素作用于SGC-7901细胞24 h后, 与对照组相比, 三次独立实验均显示细胞在G<sub>2</sub>/M期的比率增加, 而在G<sub>1</sub>期和S期的细胞比率减

表2 苦荞麦槲皮素作用SGC-7901细胞的迁移距离( $\bar{x}\pm SD, n=3$ )

Table 2 The migration distance of SGC-7901 cell in quercetin of *F. tataricum*( $\bar{x}\pm SD, n=3$ )

槲皮素浓度(μmol/L) Concentrations of quercetin(μmol/L)	12 h迁移距离(μm) The migration distance for 12 h(μm)	24 h迁移距离(μm) The migration distance for 24 h(μm)
0	4.9±0.302 23	10.5±0.184 39
100	2.1±0.248 51*	3.7±0.298 53**

\*P<0.05, \*\*P<0.01.

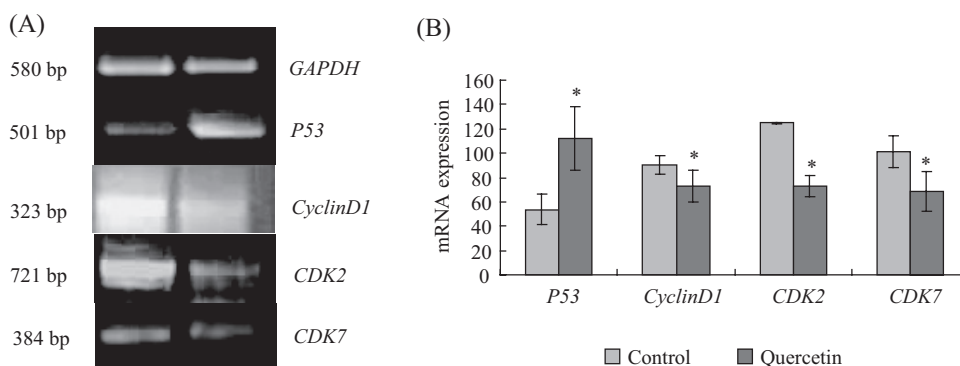


100 μmol/L苦荞麦槲皮素作用于SGC-7901细胞24 h, 0.1% DMSO作为对照, 收集细胞并用冰冷的PBS(pH7.6)洗涤, 100 μL binding buffer悬浮细胞, PI(10 mg/mL)染色, 4 °C孵育30 min, 流式细胞仪分析细胞周期分布情况。A: 对照组细胞; B: 100 μmol/L槲皮素作用于SGC-7901细胞组; 所有数据均表示为 $\bar{x}\pm SD, n=3$ 。

SGC-7901 cells were incubated with 100 μmol/L quercetin in *F. tataricum* and 0.1% DMSO for 24 h, respectively, collected and washed with cold PBS(pH7.6), suspended in 100 μL of binding buffer, stained with PI(10 mg/mL), incubated for 30 min at 4 °C. The cell cycle was analyzed using flow cytometry. A: control; B: SGC-7901 cells were treated with 100 μmol/L quercetin. Data were expressed as  $\bar{x}\pm SD, n=3$ .

图4 流式细胞术检测苦荞麦槲皮素对SGC-7901细胞生长周期的影响

Fig.4 Effect of quercetin in *F. tataricum* on growth cycle in SGC-7901 cells by flow cytometric



A: RT-PCR法检测细胞周期调控因子mRNA表达情况, GAPDH作为内参。1: 对照组(0.1% DMSO); 2: 100 μmol/L苦荞麦槲皮素作用于SGC-7901细胞组; B: A图mRNA相对表达量分析。\*P<0.01, 与对照组相比。

A: the expression level of the cell cycle regulation factor mRNA was observed by RT-PCR analysis. GAPDH was used as an internal control. 1: control(0.1% DMSO); 2: SGC-7901 cells treated with 100 μmol/L quercetin in *F. tataricum*; B: mRNA relatively quantitative analysis in A. \*P<0.01 vs control.

图5 RT-PCR检测SGC-7901细胞周期调控因子mRNA的表达水平

Fig.5 Expression of the cell cycle regulation factor mRNA level in SGC-7901 cells by RT-PCR

少(图4,  $n=3$ )。由此可见, 苦荞麦槲皮素可以通过阻断细胞周期于 $G_2/M$ 期, 从而抑制SGC-7901细胞的增殖。

## 2.5 细胞周期调控因子的检测

RT-PCR检测结果表明, 与对照组相比, 苦荞麦槲皮素处理SGC-7901细胞后, 细胞周期调控因子 $p53$  mRNA表达量显著增加,  $CyclinD1$ 、 $CDK2$ 、 $CDK7$  mRNA表达量减少(图5A和图5B,  $n=3$ ,  $*P<0.01$ )。

## 3 讨论

胃癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率均较高, 严重威胁着人们的健康。尽管以外科手术为主的综合治疗方面有一定的进展, 但肿瘤的耐药性及复发转移是导致临床治疗失败及患者死亡的重要原因。因此, 寻求新的有效辅助防治方法已成为肿瘤研究工作者面临的迫切任务之一。

槲皮素是植物界分布最广的黄酮类化合物, 它具有广泛的药理作用, 有抗氧化及清除氧自由基、调节免疫功能及抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗过敏和镇痛等作用<sup>[13]</sup>。近年来研究发现, 槲皮素能够抑制多种肿瘤细胞的增殖<sup>[14]</sup>。因此, 本研究用苦荞麦槲皮素作用于胃癌细胞SGC-7901, 观察其对细胞增殖能力和细胞周期、凋亡等行为的影响。

肿瘤细胞的侵袭、转移是肿瘤恶性生物学行为的主要特征, 是一个复杂的多步骤的生物学过程, 恶性肿瘤的侵袭、转移是引起肿瘤患者治疗失败和死亡的主要原因之一。而迁移是肿瘤细胞转移过程中必不可缺的环节之一, 细胞迁移是多步骤协同作用的结果<sup>[15]</sup>, 它不仅是细胞进行很多重要生理活动的基础, 同时也是炎症反应和肿瘤发生等病理过程中的重要步骤和关键环节。本研究观察到槲皮素处理后, 可以有效地抑制SGC-7901细胞迁移, 其具体机制有待进一步研究。

细胞周期是指细胞从前一次分裂结束到下一次分裂开始的过程, 分为 $G_1$ 期、S期、 $G_2$ 期和M期。细胞在一定的条件下, 可使细胞周期进程阻断, 导致有丝分裂异常或停滞, 使癌细胞无法继续分裂, 致使癌细胞的生长受到抑制。当用一定浓度的苦荞麦槲皮素处理SGC-7901细胞后经流式细胞仪检测, 发现其细胞周期分布存在异常, 处于 $G_1$ 期和S期的细胞数比例明显减少, 而处于 $G_2/M$ 期的细胞比率明显增加, 提示槲皮素可能通过阻滞细胞在 $G_2/M$ 期来抑制细胞增生。

细胞增殖和细胞周期调控是一个非常复杂且精细的调节过程, 它与细胞的分化、生长和死亡都有紧密的关系, 而细胞周期调节失控是恶性肿瘤的分子特征之一。 $CyclinD1$ 是一种原癌基因, 在 $G_1$ 期到S期的转变中起关键的正向调节作用, Morisaki等<sup>[16]</sup>研究发现, 胃癌细胞株中 $CyclinD1$ 的下调, 能抑制胃癌细胞的增殖。 $p53$ 是一种抑癌基因, 它具有抑制增殖和诱导凋亡的生物学功能, 在肿瘤细胞中大量表达的外源性 $p53$ 基因可发挥强大的抑癌功能。 $CDK2$ 是CDK家族中的重要成员, 在多种肿瘤中 $CDK2/CyclinE$ 是促进细胞增殖的主要因素, 因此抑制 $CDK2$ 的活性能够抑制肿瘤细胞的增殖。 $CDK7$ 在细胞内参与了CDKS激酶活性的调控, 研究表明, 在一些肿瘤组织中 $CDK7$ 表达量升高, 化疗后 $CDK7$ 表达水平下降<sup>[17]</sup>。因此, 我们认为 $CDK7$ 可能在肿瘤发病机制中具有关键作用, 抑制其功能可能对肿瘤细胞的周期进展产生抑制作用, 是一个抗肿瘤药物研发的潜在靶点。本研究用槲皮素作用于SGC-7901细胞后, RT-PCR检测结果表明,  $p53$  mRNA表达量增加,  $CyclinD1$ 、 $CDK2$ 、 $CDK7$  mRNA表达量减少, 这可为进一步研究槲皮素的抗肿瘤机制提供一定的理论依据。

总之, 本研究采用MTT法和流式细胞术等手段检测了槲皮素对肿瘤细胞增殖的抑制作用及其对SGC-7901细胞的诱导凋亡作用。MTT法检测结果表明, 槲皮素可以抑制肿瘤细胞的增殖, 其中, 对胃癌细胞SGC-7901的抑制作用最为明显, 并具有时间和剂量依赖性; 流式细胞仪检测发现, 槲皮素作用于SGC-7901细胞24 h后, 可以阻断其细胞周期在 $G_2/M$ 期, 诱导细胞发生凋亡。由此推断, 阻断细胞周期和诱导肿瘤细胞发生凋亡可能是槲皮素抗肿瘤作用的重要机制, 然而涉及到的信号通路机制还需进一步研究。

## 参考文献 (References)

- 1 Chien SY, Wu YC, Chung JG, Yang JS, Lu HF, Tsou MF, et al. Quercetin-induced apoptosis acts through mitochondrial- and caspase-3-dependent pathways in human breast cancer MDA-MB-231 cells. *Hum Exp Toxicol* 2009; 28(8): 493-503.
- 2 van Zanden JJ, Wortelboer HM, Bijlsma S, Punt A, UstaM, Bladeren PJ, et al. Quantitative structure activity relationship studies on the flavonoid mediated inhibition of multidrug resistance proteins 1 and 2. *Biochem Pharm* 2005; 69(4): 699-708.
- 3 Skupien K, Kostrzewa-Nowak D, Oszmianski J, Tarasiuk J. *In*

- in vitro* antileukaemic activity of extracts from chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx] Elliott) and mulberry (*Morus alba* L.) leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells. *Phytotherapy Res* 2008; 22(5): 689-94.
- 4 Fujii T, Saito M. Inhibitory effect of quercetin isolated from rose hip (*Rosa canina* L.) against melanogenesis by mouse melanoma cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73(9): 1989-93.
- 5 Baskin-Bey ES, Gores GJ. Caspase-8, death-receptor signaling, and hepatocarcinogenesis: the fas and the furious. *Gastroenterol* 2005; 129(5): 1790-2.
- 6 李玉英, 郭慧, 崔晓东, 王转花. 荞麦rBTI-2的表达及其对肿瘤细胞的生长抑制作用. *中国细胞生物学学报*(Li Yuying, Guo Hui, Cui Xiaodong, Wang Zhuanhua. Expression of rBTI-2 of buckwheat and its inhibit proliferation activity on tumor cells. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2011; 33(7): 759-65.
- 7 Taur JS, Rodriguez-Proteau R. Effects of dietary flavonoids on the transport of cimetidine via P-glycoprotein and cationic transporters in Caco-2 and LLC-PK1 cell models. *Xenobiotica* 2008; 38(12): 1536-50.
- 8 闫斐艳, 崔晓东, 李玉英, 王转花. 苦荞麦黄酮对人食管癌细胞EC9706增殖的影响. *中草药*(Yan Feiyan, Cui Xiaodong, Li Yuying, Wang Zhuanhua. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*) 2010; 41(7): 1142-5.
- 9 Ramos AM, Aller P. Quercetin decreases intracellular GSH content and potentiates the apoptotic action of the antileukemic drug arsenic trioxide in human leukemia cell lines. *Biochem Pharmacol* 2008; 75(10): 1912-23.
- 10 Zhang S, Yang X, Morris ME. Flavonoids are inhibitors of breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated transport. *Mol Pharmacol* 2004; 65(5): 1208-16.
- 11 Cui XD, Wang ZH. Preparation and properties of rutinhydrolyzing enzyme from tartary buckwheat seeds. *Food Chem* 2012; 13(2): 60-6.
- 12 Kim GN, Jang HD. Protective mechanism of quercetin and rutin using glutathione metabolism on HO-induced oxidative stress in HepG2 cells. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171(8): 530-7.
- 13 Sakao K, Fujii M, Hou DX. Clarification of the role of quercetin hydroxyl groups in superoxide generation and cell apoptosis by chemical modification. *Biosci Biotechnol Biochem* 2009; 73(9): 2048-53.
- 14 Zhang Q, Zhao XH, Wang ZJ. Cytotoxicity of flavones and flavonols to a human esophageal squamous cell carcinoma cell line (KYSE-510) by induction of G<sub>2</sub>/M arrest and apoptosis. *Toxicol In Vitro* 2009; 23(5): 797-807.
- 15 Chen W, Wang X, Zhuang J, Zhang L, Lin Y. Induction of death receptor 5 and suppression of survivin contribute to sensitization of TRAIL-induced cytotoxicity by quercetin in non-small cell lung cancer cells. *Carcinogenesis* 2007; 28(10): 2114-21.
- 16 Morisaki H, Ando A, Nagata Y, Pereira-Smith O, Smith JR, Ikeda K, *et al.* Complex mechanisms underlying impaired activation of Cdk4 and Cdk2 in replicative senescence: Roles of p16, p21 and cyclinD1. *Exp Cell Res* 1999; 253(2): 503-10.
- 17 Gao F, Yi J, Yuan JQ, Shi GY, Tang XM. The cell cycle related apoptotic susceptibility to arsenic trioxide is associated with the level of reactive oxygen species. *Cell Res* 2004; 14(1): 81-5.