

瘤果黑种草子总黄酮成分对结肠癌细胞株 SW480 增殖、迁移能力的影响及机制

热娜古丽·热依木¹, 盛磊², 方磊¹, 安加提·艾尼瓦尔¹, 伊力亚尔·尼加提²,
艾尼娃尔·艾克木^{1,3*}

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学中心实验室, 乌鲁木齐 830011;
3. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011)

摘要: **目的** 探讨瘤果黑种草子总黄酮成分对人结肠癌细胞株 SW480 增殖、迁移能力的影响及可能的作用机制。**方法** 用不同浓度的瘤果黑种草子总黄酮成分药物干预的结肠癌细胞株 SW480, MTT 法检测 SW480 细胞株的增殖能力, 倒置显微镜观察对结肠癌细胞株 SW480 细胞形态的影响, 划痕实验检测对细胞的迁移能力的影响, 实时荧光定量 PCR 检测瘤果黑种草子总黄酮成分对细胞中 BECN1、MAPILC3B 基因表达的影响。**结果** 瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 体外增殖的抑制作用明显, 并呈浓度依赖性抑制人结肠癌细胞株 SW480 的增殖, 在 25 μg/mL 时达到最大的抑制率, 抑制率为 81.28%。倒置显微镜观察, 用瘤果黑种草子总黄酮成分药物干预后, 人结肠癌细胞株 SW480 形态学发生明显变化, 瘤果黑种草子总黄酮成分可抑制人结肠癌细胞株 SW480 迁移能力, 同时, 可上调自噬相关基因 BECN1、MAPILC3B 的表达量。**结论** 瘤果黑种草子总黄酮成分可抑制人结肠癌细胞株 SW480 的增殖、迁移能力, 机制可能与影响细胞中 BECN1、MAPILC3B 基因表达量有关。

关键词: 瘤果黑种草子; 总黄酮; 人结肠癌细胞株 SW480; 细胞增殖; 细胞迁移; 自噬相关分子

Effects of total flavonoids from tumor fruit black grass on the proliferation and migration of colon cancer cell line SW480 and its mechanism

RENAGULI Re-Yi-Mu¹, SHENG Lei², FANG Lei¹, ANJIATI Ai-Ni-Wa-Er¹, YILIYAER Ni-Jia-Ti²,
AINIWAER Ai-Ke-Mu^{1,3*}

(1. Pharmacy College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Central Laboratory, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 3. Basic Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of total flavonoids from *Nigellaglandulifera preynet* Sint on proliferation and migration of human colon cancer cell line SW480 and its possible mechanism. **Methods** The colon cancer cell line SW480 was treated with different concentrations of total flavonoids from *Nigellaglandulifera preynet* Sint, its proliferation ability was detected by MTT method, its morphological changes were observed by inverted microscope, its migration ability was detected by scratch test, and the effects of total flavonoids on BECN1 and

基金项目: 新疆地产中药民族药研发项目(Q2015-01-06)、天山英才项目(2-14-01)、新疆维吾尔自治区高校科研计划项目(XJEDU2017S023)

Fund: Supported by Xinjiang Real Estate Ethnic Medicine Research and Development Project (Q2015-01-06), Tianshan Elite Project (2-14-01), and Xinjiang Uygur Autonomous Region University Research Project (XJEDU 2017S023)

*通讯作者: 艾尼娃尔·艾克木, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为中药开发及其质量控制研发。E-mail: ainiwa@sina.com

*Corresponding author: AINIWAER Ai-Ke-Mu, Professor, Pharmacy College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China. E-mail: ainiwa@sina.com

MAPILC3B gene expression in cells were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** The total flavonoids of *Nigellaglandulifera preynet* Sint significantly inhibited the proliferation of human colon cancer cell line SW480 *in vitro*, and inhibited the proliferation of human colon cancer cell line SW480 in a concentration-dependent manner. The inhibition rate reached the maximum at 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, with an inhibition rate of 81.28%. The morphological changes of human colon cancer cell line SW480 were observed by inverted microscopy and they were obvious. The total flavonoids of *Nigellaglandulifera preynet* Sint could inhibit the migration of human colon cancer cell line SW480 and increase the expression of autophagy related genes BECN1 and MAPILC3B. **Conclusion** Total flavonoids from *Nigellaglandulifera preynet* Sint can inhibit the proliferation and migration of human colon cancer cell line SW480. The mechanism may be related to the influence of BECN1 and MAPILC3B gene expression in cells.

KEY WORDS: *Nigellaglandulifera Preynet* Sint; total flavonoids; human colon cancer cell line SW480; cell proliferation; cell migration; autophagy associated molecules

1 引言

瘤果黑种草子(*Nigellaglandulifera Preynet* Sint)为毛茛科(Raunnculaceae)黑种草属(*Nigella*)植物的干燥种子,主要产于新疆,西藏、云南也有少量栽培^[1]。作为药食同源的常用药材瘤果黑种草子被收入 1977 年至今各版《中国药典》,具有补肾健脑、调理胃火、助消化、通经、通乳、利尿、止咳平喘等功效^[2,3],因此在民族医药中应用广泛,常用于治疗失眠健忘、消化不良、经闭乳少、尿路结石等疾病^[4,5]

瘤果黑种草子中除了富含脂肪酸和挥发油外,还含有黄酮类、皂苷类、生物碱类等多种有机化合物^[6-8]。研究表明,黄酮类化合物具有非常广泛的生物活性:在抗氧化、预防心血管疾病的发生、提高机体免疫力、雌激素代谢、抗肿瘤及抗菌方面都发挥着很大的作用^[9]。因此,黄酮类成分在医药界有着广泛的应用和开发价值,一直以来都是研究领域的热门话题^[10-13]。目前,瘤果黑种草子在体外抗肿瘤作用方面的研究甚少,其活性成分总黄酮在体外的抗肿瘤作用及其机制的相关研究报道较少。

结肠癌是 2018 年最新的全球肿瘤统计报告上显示新增病例及死亡病例排名前五的癌种之一,严重危害人类健康的恶性肿瘤^[14-17]。因此本研究选用人结肠癌细胞株 SW480,进行药物干预,探讨瘤果黑种草子总黄酮成分对人结肠癌细胞株 SW480 增殖、迁移能力的影响及可能的作用机制,从而揭示瘤果黑种草子总黄酮的药理活性,进一步促进新疆黑种草子资源的深入研究和广泛应用,为肿瘤的辅助治疗提供可能的途径,同时为进一步研究和开发新疆地区的地道药材奠定基础。

2 材料与方方法

2.1 仪器与试剂

SK-18 生物安全柜、Hera Cell-150 细胞 CO₂ 孵育箱(美

国 Thermo 公司); Model 680 酶联免疫检测仪(美国 Bio-Rad 公司); CTR6000 荧光倒置显微镜(德国 Leica 公司); 1-15 高速低温离心机(美国 Sigma 公司); Nanodrop2000 超微量分光光度计(美国 Thermo 公司); MyiQ2 实时荧光定量 PCR 仪(美国 BiO-Rad 公司)。

瘤果黑种草子(和田市新疆麦迪森药业有限公司制品厂,甲醇提取得到的总黄酮粉末用生理盐水溶解配成 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的药物母液); 人结肠癌细胞 SW480 由中国典型培养物保藏中心上海细胞库提供。

DMEM 高糖培养基(美国 HyClone 公司); 胎牛血清(fatal bovine serun, FBS)(以色列 BI 公司); 双抗(GIBCO 公司); MTT 粉剂(Abcam 公司); 中性磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)、胰蛋白酶(美国 HyClone 公司); DMSO(美国 Sigma 公司); Trizol(美国 Invitrogen 公司); cDNA 第一链合成试剂盒(美国 Thermo 公司); RNase-free water(中国北京 Tiangen 公司); TaKaRa SYBR Premix PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 细胞培养及药物干预

细胞复苏后,用 DMEM 高糖完全培养基(含 10%胎牛血清,1%的青/链霉素双抗)放 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中传代培养。将生长状况良好的细胞取弃旧培养基,用 PBS 洗 3 次,胰酶消化,使用血球计数器计数。细胞悬液接种于 96 孔培养板中(每孔 200 μL , 1 \times 10⁵ 个/孔)置于培养箱中培养 24 h 后,吸取弃旧培养液,每孔加入 200 μL 的含药培养液,将母液稀释成 5 个浓度,分别为 14、15、20、25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每个浓度设置 6 个复孔,并设置不含药的空白对照组。

2.2.2 瘤果黑种草子总黄酮提取物体外抗肿瘤细胞增殖能力的检测

按 2.2.1 项下药物干预的 96 孔培养板在培养箱孵于 24 h 后,取弃旧液体,每孔加入 200 μL 含 MTT 工作液(5 mg/mL)的无血清培养液,继续放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱培

养。4 h 后加 DMSO 完全溶解每孔中结晶物。在酶联免疫检测仪 490 nm 波长处测量各孔 OD 值, 计算细胞活性抑制率。

计算公式: 细胞活性抑制率=(空白对照组值-实验组值/空白对照组值)×100%

2.2.3 细胞形态学观察

取对数生长长期的人结肠癌细胞株 SW480, 以 1×10^5 个细胞/孔的数目接种于 96 孔板中, 培养 24 h 以后, 吸取弃旧培养液, 加入不同浓度的含药培养液(200 μL /每孔)在培养箱温孵育 24 h 后分别在倒置显微镜 10×镜头下观察各药物干预组和空白组的细胞形态, 并拍照记录。

2.2.4 瘤果黑种草子总黄酮提取物体外抗肿瘤细胞迁移能力的检测

取生长状况良好的细胞株, 用 PBS 洗 3 次, 胰酶消化至单细胞悬液后, 使用细胞计数板计数。先 6 孔培养板底部用 marker 笔画两条横线, 分别贯穿上下两排孔。将 1×10^5 个/mL 的细胞悬液按 2 mL/孔的量接种于孔中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱培养。培养 24 h 后, 去除旧培养基, 用枪头在每孔中做一条垂直于板底横线的划痕。用 PBS 洗细胞 3 次, 去除划下的细胞。每孔加入 2 mL 新鲜的含药培养液, 总黄酮提取物的浓度分别为 0、14 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。加药后, 将 6 孔板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养。按 0、24 h 取样, 观察各组细胞迁移情况并拍照。实验重复 3 次。

2.2.5 自噬相关基因检测

取生长状况良好的细胞株, 接种于 6 孔培养板中, 每孔 200 μL , 1×10^5 个/孔。培养 24 h 后设置空白组和 5、10、15、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的药物干预组给药, 继续培养 24 h 后取弃旧培养基, 用 Trizol 法提取总 RNA, RNase-free wate 溶解, 用超微量分光光度计测浓度。按试剂盒说明书合成 cDNA, 进行实时荧光 PCR。对于 mRNA 从基因组数据库找出基因 mRNA 序列, 然后交给合成引物的公司去合成引物, β -Actin 作为内参。qPCR 反应程序: PCR 起始活化步骤 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min, 两步循环: 变性 10 s 95 $^{\circ}\text{C}$, 组合的退火/延伸 30 s 60 $^{\circ}\text{C}$, 循环数 40 个数, 表演荧光数据收集。实验操作

重复 3 次, 最后数据采用 2- $\Delta\Delta\text{C}_t$ 法计算。

2.2.6 实验数据分析

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析。所有的数据经正态性检验呈正态分布后以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示。2 组间比较采用独立样本 t 检验。绘图采 Graphpad prism 6.0 软件。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 增殖能力的影响

使用 MTT 法检测瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 的生长抑制作用, 结果发现瘤果黑种草子总黄酮在药物浓度为 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时开始起效($P < 0.05$), 之后随着药物浓度的升高瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 的抑制率也不断升高, 呈现良好的量效依赖关系(表 1)。以药物浓度为横坐标, 抑制率为纵坐标绘制瘤果黑种草子总黄酮体外抗人结肠癌细胞株 SW480 活性曲线(图 1), 发现瘤果黑种草子总黄酮抑制人结肠癌细胞株 SW480 增殖的有效浓度范围在 15~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以后进入平台期, 药物对人结肠癌细胞株 SW480 的抑制率不再随着浓度的升高而升高。对 MTT 结果的用药浓度和抑制率进行 Probit 回归分析后得到效应概率为 50%时的用药浓度(IC₅₀), 瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 的 IC₅₀ 为 22.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.2 肿瘤细胞药物干预的形态学观察

对药物干预的人结肠癌细胞株 SW480 进行形态学观察发现: 空白对照组 SW480 细胞株为梭形, 个体饱满、透明度大、折光性强, 呈单层贴壁生长, 细胞密度达 95%以上; 在干预组中, 人结肠癌细胞株 SW480 细胞形态随着药物浓度的升高而逐渐回缩, 变小变圆, 细胞轮廓逐渐清晰、折光性逐渐下降, 细胞密度逐步降低而间空隙增大, 死细胞数目逐步增多(图 2)。

表 1 瘤果黑种草子总黄酮体外抗人结肠癌细胞株 SW480 增殖能力($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Anti-proliferation ability of total flavonoids from *Nigellaglandulifera Preynet Sint* to colon cancer cell line SW480 *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 分组 | 用药浓度/ $\mu\text{g}/\text{mL}$ | OD _{490 nm} 值 | t | P | 抑制率/% |
|---------|-------------------------------|------------------------|--------|-----------|-------|
| 空白对照 | 0 | 1.127±0.015 | | | |
| 药物干预组 1 | 14 | 1.063±0.051 | 2.399 | 0.053 | 5.68 |
| 药物干预组 2 | 15 | 0.948±0.036* | 9.199 | 9.307E-05 | 15.91 |
| 药物干预组 3 | 20 | 0.492±0.068* | 18.297 | 1.717E-06 | 56.37 |
| 药物干预组 4 | 25 | 0.211±0.019* | 76.333 | 3.403E-10 | 81.28 |
| 药物干预组 5 | 50 | 0.250±0.057* | 29.684 | 9.693E-08 | 77.84 |

注: *独立样本 T 检验, 与对照组比较, $P < 0.05$ 视为差异显著, 下同。

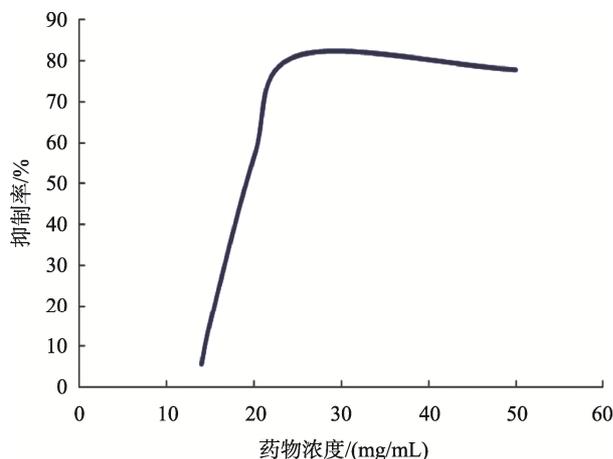
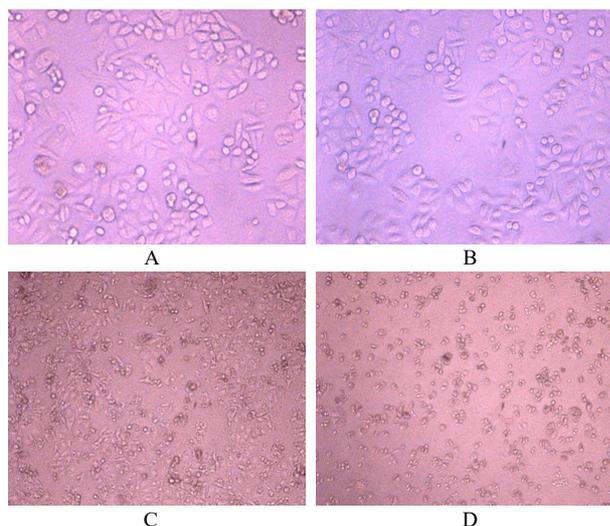


图 1 瘤果黑种草子总黄酮体外抗人结肠癌细胞株 SW480 活性曲线
Fig. 1 Anti-colon cancer cell line SW480 activity curve of total flavonoids from *Nigella glandulifera* Preynet Sint

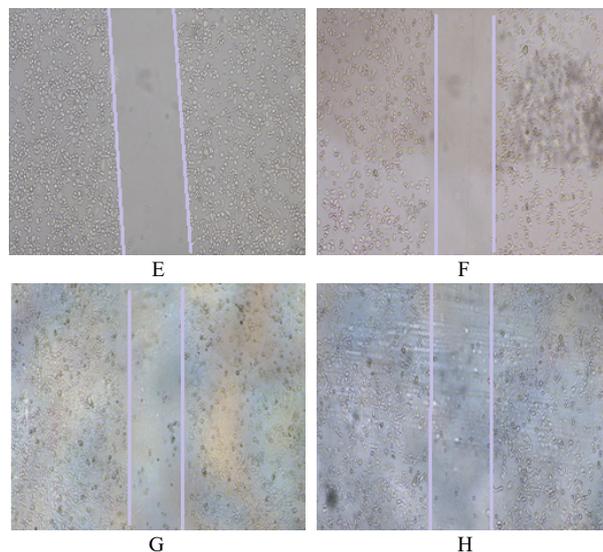


注: A: SW480 细胞空白对照组 10×10, B: SW480 细胞 14 μg/mL 药物干预组 10×10; C: SW480 细胞 20 μg/mL 药物干预组 10×10; D: SW480 细胞 25 μg/mL 药物干预组 10×10。

图 2 各浓度瘤果黑种草子总黄酮对 SW480 细胞株形态的影响(×100)
Fig. 2 Effects of total flavonoids from *Nigella glandulifera* Preynet Sint on the morphology of SW480 cell line (×100)

3.3 瘤果黑种草子总黄酮体外对人结肠癌细胞株 SW480 细胞迁移能力的影响

划痕实验检测瘤果黑种草子总黄酮体外对人结肠癌细胞株 SW480 细胞迁移能力的影响, 结果发现: 药物干预 24 h 后, 空白对照组划痕处 SW480 细胞趋于汇合, 药物干预组划痕处变化不大(图 3)。使用药物干预前后的划痕宽度差表示细胞相对迁移距离, 结果如表 2 所示, 空白对照组和药物干预组的肿瘤细胞相对迁移距离分别为(111.000±13.748)、(64.000±30.199), 药物干预组肿瘤细胞迁移距离比空白对照组小, 且差异有统计学意义($P < 0.05$)。



注: E: SW480 细胞空白对照组 0 h 10×10; F: SW480 细胞药物干预组 0 h 10×10; G: SW480 细胞空白对照组 24 h 10×10; H: SW480 细胞药物干预组 24 h 10×10。

图 3 瘤果黑种草子总黄酮处理后 0、24 h 迁移距离比较(×100)
Fig. 3 Comparison of migration distance between 0 h and 24 h after treatment with total flavonoids of *Nigella glandulifera* Preynet sint (×100)

表 2 瘤果黑种草子总黄酮对 SW480 细胞株的迁移能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effects of total flavonoids of *Nigella glandulifera* Preynet Sint on the migration ability of SW480 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 分组 | 用药浓度 / (μg/mL) | $\bar{x} \pm s$ | t | P |
|-------|----------------|-----------------|-------|-------|
| 空白对照组 | 0 | 111.000±13.748 | | |
| 药物干预组 | 14 | 64.000±30.199* | 2.453 | 0.070 |

3.4 自噬相关基因的 qPCR 检测

分别用 5、10、15、20 μg/mL 瘤果黑种草子总黄酮处理结肠癌细胞株 SW480 后, qPCR 检测各组细胞中自噬相关基因 BECN1、MAP1LC3B mRNA 表达水平。各药物干预组均与空白对照组进行两两相比, 5、10、15、20 μg/mL 各药物干预组结肠癌细胞株 SW480 的 BECN1 mRNA 表达量明显上升, 并随着瘤果黑种草子总黄酮浓度的增加逐步降低, 与空白对照组相比差异显著($P < 0.05$)。各药物干预组结肠癌细胞株 SW480 的 MAP1LC3B mRNA 表达量明显上升, 5、10、15 μg/mL 药物干预组的 MAP1LC3B mRNA 表达量随着瘤果黑种草子总黄酮浓度的增加逐步上升, 与空白对照组相比差异显著($P < 0.05$)(表 3、表 4、图 4)。

已有研究^[18]表示自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3 的低表达可能与结肠癌的发生发展和预后不良有关。Liang 等^[19]研究提示在人类多种肿瘤细胞中可见 BECN1 下调, 而过表达可抑制肿瘤。在另外一个研究^[20]中, 通过提高 LC3 的表达, 使大部分 SW480 细胞发生凋亡。本此研究中自噬相

表 3 人结肠癌细胞株 SW480 自噬相关基因 BECN1 的荧光定量 PCR 检测($n=3$)

Table 3 Q-PCR detection of BECN1 gene expression in colon cancer cell line SW480 induced by total flavonoids of *Nigellaglandulifera Preynet Sint* ($n=3$)

| 浓度/ $\mu\text{g/mL}$ | $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ | t | P |
|----------------------|------------------------------|--------|-------|
| 0 | 1.005 \pm 0.118 | | |
| 5 | 2.810 \pm 0.403* | -7.444 | 0.002 |
| 10 | 1.642 \pm 0.097* | -7.232 | 0.002 |
| 15 | 1.520 \pm 0.300* | -2.765 | 0.051 |
| 20 | 1.310 \pm 0.102* | -3.391 | 0.028 |

注: *独立样本 T 检验, 与对照组比较, $P<0.05$ 视为差异显著。

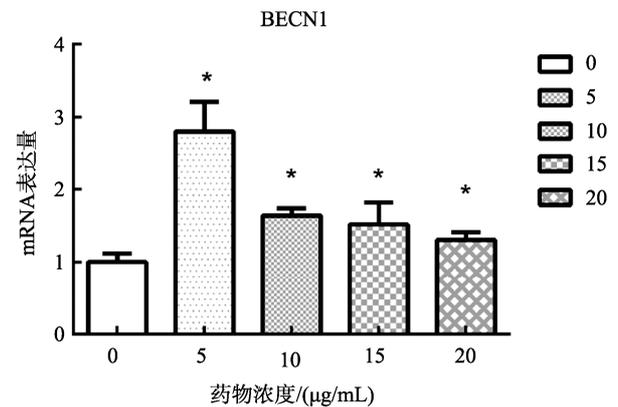
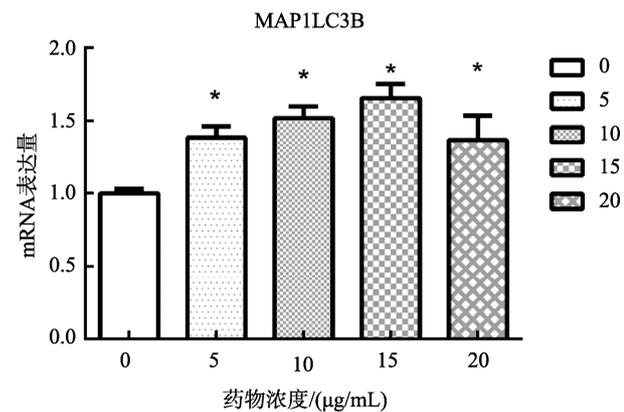


表 4 人结肠癌细胞株 SW480 自噬相关基因 MAPILC3B 的荧光定量 PCR 检测($n=3$)

Table 4 Q-PCR detection of MAPILC3B gene expression in colon cancer cell line SW480($n=3$)

| 浓度/ $\mu\text{g/mL}$ | $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ | t | P |
|----------------------|------------------------------|---------|-----------|
| 0 | 1.000 \pm 0.031 | | |
| 5 | 1.387 \pm 0.077* | -8.107 | 0.001 |
| 10 | 1.521 \pm 0.079* | -10.656 | 4.390E-04 |
| 15 | 1.657 \pm 0.096* | -11.253 | 3.550E-04 |
| 20 | 1.369 \pm 0.167* | -3.765 | 0.002 |

注: *独立样本 T 检验, 与对照组比较, $P<0.05$ 视为差异显著。



注: *为与对照组比较 $P<0.05$, 差异显著。

图 4 不同浓度瘤果黑种草子总黄酮干预 SW480 细胞株后各基因相对表达量($n=3$)

Fig 4 Relative expression of genes in SW480 cell line after intervention with total flavonoids of *Nigellaglandulifera Preynet Sint* at different concentrations($n=3$)

关基因的荧光定量 PCR 检测结果表明, 瘤果黑种草子总黄酮药物干预后人结肠癌细胞株 SW480 中自噬相关基因 BECN1、MAPILC3B 的表达变化情况, 结果显示: 与空白对照组相比, 各药物干预组自噬相关基因 BECN1 和 MAPILC3B 的相对表达量均有不同程度的上升, 且差异均具有统计学意义, 此结果与上面所叙述的已有研究结果吻合, 说明瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 的抗肿瘤作用可能与自噬相关基因 BECN1、MAPILC3B 有关, 并可能通过提高自噬相关基因 BECN1、MAPILC3B 表达量而诱导自噬性死亡自噬发挥抗肿瘤作用。

4 结论

本研究采用 MTT 法测定瘤果黑种草子总黄酮干预人结肠癌细胞株 SW480 后的 OD 值, 瘤果黑种草子总黄酮 14~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度组干预人结肠癌细胞株 SW480 的 OD 值显著低于空白对照组, 在 14~25 $\mu\text{g/mL}$ 之间, OD 值有下降趋势, 并呈现良好的量效依赖关系, 25 $\mu\text{g/mL}$ 以后进入平台期, 且瘤果黑种草子总黄酮 15~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度组对人结

肠癌细胞株 SW480 的增殖有明显的抑制作用($P<0.05$)。通过划痕实验检测瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 的迁移能力的影响。使用药物干预前后的划痕宽度差表示细胞相对迁移距离, 结果药物干预 24 h 后, 人结肠癌细胞株 SW480 药物干预组划痕细胞两端距离明显比空白对照组宽, 肿瘤细胞迁移距离明显比空白对照组小, 且差异有统计学意义($P<0.05$)。实验结果表明, 瘤果黑种草子总黄酮对人结肠癌细胞株 SW480 有抑制迁移能力。本此研究中自噬相关基因的荧光定量 PCR 检测结果表明, 人结肠癌细胞株 SW480 用瘤果黑种草子总黄酮药物干预 24 h 后, 与空白对照组相比, 各药物干预组自噬相关基因 BECN1 和 MAPILC3B 的相对表达量均有不同程度的上升, 且差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

综上所述, 新疆瘤果黑种草子总黄酮成分具有体外抗肿瘤活性, 在体外能够抑制人结肠癌细胞株 SW480 的增殖, 且具有良好的量效依赖关系。同时, 新疆瘤果黑种草子总黄酮成分对人结肠癌细胞株 SW480 的迁移也具有明显的抑制作用。此外, 初步揭示了诱导肿瘤细胞发生自

噬性死亡可能是新疆瘤果黑种草子总黄酮体外抗肿瘤作用的机制之一。

参考文献

[1] 《新疆植物志》编辑委员会. 新疆植物志. 第3卷[M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2011.
Editorial Committee of Xinjiang Flora. Xinjiang flora. Volume 3 [M]. Urumchi: Xinjiang Science and Technology Press, 2011.

[2] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
State Administration of Traditional Chinese Medicine. Zhonghua materia medica [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999.

[3] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia[S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010.

[4] 李雅丽, 木胡牙提·乌拉斯汉, 王增尚, 等. 黑种草子化学成分和药理研究进展[J]. 中国药学杂志, 2016, 51(14): 1157-1161.
Li YL, Muhuyati WLSH, Wang ZS, et al. Progress in studies on chemical constituents and pharmacology of the seeds of herba nigra [J]. Chin Pharmacol J, 2016, 51(14): 1157-1161.

[5] 娜仁图雅. 黑种草子的蒙医临床应用以及化学成分研究进展[J]. 中国民族医药杂志, 2015, 21(5): 61-62.
Narentuya. Advances in clinical application and chemical constituents of black grass in Mongolian medicine [J]. J Med Pharm Chin Minorities, 2015, 21(5): 61-62.

[6] 耿东升, 张淑锋. AB-8 大孔树脂并聚酰胺柱层析纯化瘤果黑种草子总黄酮[J]. 中国民族医药杂志, 2011, 17(2): 65-67.
Geng DS, Zhang SF. AB-8 macro porous resin and polyamide column chromatography for purification of total flavonoids from tumor fruit black grass [J]. J Med Pharm Chin Minorities, 2011, 17(2): 65-67.

[7] 赵军, 徐芳, 李晨阳, 等. 维药瘤果黑种草子化学成分研究[J]. 中药材, 2012, 35(12): 1956-1958.
Zhao J, Xu F, Li CY, et al. Chemical constituents of Uygur medicine tumor fruit black seed grass [J]. Chin Med Mat, 2012, 35(12): 1956-1958.

[8] Cao YC, Liu X, Sun PD. Optimization of extraction process of total flavonoids from *Nigella sativa* seed [J]. Appl Chem Ind, 2017, (1): 141-145.

[9] 周宗宝, 王红, 叶晓川, 等. 黄酮类化合物的结构修饰及生物活性研究进展[J]. 医药导报, 2017, (2): 181-185.
Zhou ZB, Wang H, Ye XC, et al. Progress in structural modification and biological activity of flavonoids [J]. Herald Med, 2017, (2): 181-185.

[10] 闫高颖, 张必荣, 张敏, 等. 水浸法提取银杏叶总黄酮工艺的研究[J]. 西北药学杂志, 2016, 31(6): 560-562.
Yan GY, Zhang BR, Zhang M, et al. Study on Extraction Technology of total flavonoids from *Ginkgo biloba* leaves by water immersion [J]. Northwest Pharm J, 2016, 31(6): 560-562.

[11] Martinez-Perez C, Ward C, Cook G, et al. Novel flavonoids as anti-cancer

agents: mechanisms of action and promise for their potential application in breast cancer [J]. Biochem Soc Trans, 2014, (42): 1017-1023.

[12] Tungmunthum D, Thongboonyou A, Pholboon A, et al. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview [J]. Medicines, 2018, (5): 26-30.

[13] afari S, Saeidnia S, Abdollahi M. Role of natural phenolic compounds in cancer chemoprevention via regulation of the cell cycle [J]. Cur Pharm Biotechnol, 2014, (15): 409-421.

[14] Siegel RL, Miller KD, Dvm AJ. Cancer statistics, 2018 [J]. Ca-Cancer J Clin, 2018, 68(1): 11.

[15] 马丹丹, 刘坤. 2018 年全球癌症统计: 乳腺癌发病和死亡人数统计[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2018, 12(6): 375.
Ma DD, Liu K. Global cancer statistics 2018: Breast cancer morbidity and death statistics [J]. Chin J Breast Disease (Electr Ed), 2018, 12(6): 375.

[16] Cowan AJ, Allen C, Barac A, et al. Global burden of multiple myeloma: A systematic analysis for the global burden of disease study 2016 [J]. Jama Oncol, 2018, 4(9): 1221-1227.

[17] Yu XQ, Baade P. RE: Cancer incidence and mortality in China, 2013 by Chen et al [J]. Cancer Lett, 2017, 401: 72.

[18] 郭亚焕, 陆建荣, 廖子君, 等. 自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3 在结肠癌组织中的表达及临床意义[J]. 疑难病杂志, 2015, (10): 1050-1052.
Guo YH, Lu JR, Liao ZJ, et al. Expression and clinical significance of autophagy-related proteins Beclin1 and LC3 in colon cancer tissues [J]. Chin J Difficult Complica, 2015, (10): 1050-1052.

[19] Liang C, Lee JS, Inn KS, et al. Beclin1-binding UVRAG targets the class C Vps complex to coordinate autophagosome maturation and endocytic trafficking [J]. Nature Cell Biol, 2008, 10(7): 776-787.

[20] 刘雅婷, 李鑫, 王娜, 等. 低氧对人结肠癌细胞自噬相关分子表达的影响[J]. 基础医学与临床, 2018, 38(4): 522-526.
Liu Y, Li X, Wang N, et al. Effects of hypoxia on the expression of autophagy-related molecules in human colon cancer cells [J]. Basic Med Clinic, 2018, 38(4): 522-526.

(责任编辑: 武英华)

作者简介

热娜古丽·热依木, 主要研究方向为中药开发及其质量控制。
E-mail: 1448238662@qq.com

艾尼瓦尔·艾克木, 博士生导师, 主要研究方向为中药开发及其质量控制研发。
E-mail: ainiwa@sina.com