

• 综 述 •

黄酮类化合物调控肿瘤细胞自噬的研究进展

张 洪, 张惟郁, 朱伟嵘*

上海交通大学医学院附属瑞金医院 中医科, 上海 200025

摘 要: 自噬是一种保守的细胞自我降解方式,是将受损细胞器或大分子物质由自噬泡包绕再通过自噬溶酶体降解再利用的过程。自噬在细胞的生物合成、营养和代谢平衡及应激与存活中具有重要作用。调控自噬能够引发多重级联反应,可以应用于肿瘤治疗。黄酮类化合物作用于不同的肿瘤细胞系会诱导作用各异的自噬。黄酮类化合物可以诱导自噬通过非凋亡或非典型凋亡途径较为直接地抑制肿瘤细胞增殖,也可以在诱导自噬后进一步引发凋亡等其他致死方式间接抑制肿瘤细胞增殖,或通过抑制保护性自噬从而强化其他形式的杀伤作用,但有时也会诱导肿瘤细胞发生保护性自噬,弱化细胞杀伤作用。对近10年来黄酮类化合物调控肿瘤细胞自噬的研究进展进行了综述,为中药调控细胞自噬的相关研究提供参考。

关键词: 黄酮类化合物; 肿瘤细胞; 自噬; 细胞凋亡; 细胞杀伤作用

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)24-5252-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.24.030

Advances in studies on flavonoids regulating autophagy in tumor cell lines

ZHANG Hong, ZHANG Wei-yu, ZHU Wei-rong

Department of Traditional Chinese Medicine, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Abstract: Autophagy is an evolutionary conserved method in cell self-degradation and metabolism progress. Generally speaking, autophagy contains the steps of phagophore devouring none-essential or damaged organelles, lysosome-mediated degradation and reusing of contents in autophagosome. Autophagy plays a significant role in cellular biosynthesis, nutritional and metabolic balance, stress responses and cell survival. Regulating autophagy can induce multiple cascade reactions, which could be a kind of promising tumor therapy. Different flavonoids could induce different roles of autophagy, when they act on different tumor cell lines. Flavonoids can induce non-apoptosis or non-typical apoptosis related inhibitory autophagy to suppress tumor cells proliferation directly, and induce apoptosis or other lethal pathways after induction of autophagy to indirectly inhibit tumor cells proliferation. Flavonoids can also suppress protective autophagy to strengthen other lethal pathways, but sometimes induce protective autophagy which would weaken the cytotoxic effect. This paper reviews the advances in studies on flavonoids regulating autophagy in the last 10 years, in order to provide reference for the further study on the regulation of autophagy by traditional Chinese Medicine.

Key words: flavonoids; tumor cell; autophagy; apoptosis; cytotoxic effect

自噬 (autophagy) 是一种保守的细胞自我降解方式,是将受损细胞器或大分子物质由自噬泡包绕再通过自噬溶酶体降解再利用的过程。一般由细胞内外环境改变导致的饥饿状态所诱导,有时也能被不同于饥饿的应激信号所触发。无论自噬由哪种因素引发,其生物学特征保持高度的一致性,如自噬过程必由 ULK1 复合体 (unc-51-like autophagy

activating kinase 1 complex) 的激活而启动,继而引发自噬相关基因 (autophagy related genes, Atg) 高表达等一系列级联反应^[1]。自噬的过程是高度保守的,当自噬与疾病相关联时会产生多样化的结果,而且自噬又与细胞凋亡及细胞周期的调控密切相关,因此,自噬调控疾病发生发展的机制错综复杂,具有很高的研究价值与极大的研究潜力^[2]。

收稿日期: 2017-05-13

基金项目: 上海市进一步加快中医药事业发展3年行动计划 (ZY3-CCX-3-3042)

作者简介: 张 洪 (1991—), 男, 在读硕士, 研究方向为中西医结合防治肿瘤。Tel: (021)64370045-680511 E-mail: Edwardzh@sjtu.edu.cn

*通信作者 朱伟嵘 (1970—), 男, 硕士生导师, 副主任医师, 研究方向为中西医结合防治肿瘤。

Tel: (021)64370045-680511 E-mail: willonzhu@163.com

黄酮类化合物原指母核结构为 2-苯基色原酮 (2-phenyl-chromone) 的多酚类化合物, 现在泛指所有具有通过中央 3 碳链相互连接的色酮环和苯环结构的化合物。根据黄酮类化合物色酮环和苯环中间的 C-3 链的氧化程度、C-3 链是否成环等结构特征, 可将黄酮类化合物分为以木犀草素 (luteolin) 和黄芩苷 (baicalin) 为代表的黄酮、以水飞蓟素 (silymarin) 和橙皮苷 (aurantiamarin) 为代表的二氢黄酮、以槲皮素 (quercetin) 为代表的黄酮醇等。近年来出现了大量关于黄酮类化合物的抗肿瘤作用的研究报道^[3]。很多研究中出现了与实验结果相关的肿瘤细胞自噬现象, 而自噬的性质与作用受黄酮类化合物和细胞系的种类等因素影响而各异。本文就黄酮类化合物调控肿瘤细胞自噬进行综述, 以期中药调控细胞自噬的相关研究提供参考。

1 黄酮类化合物诱导肿瘤细胞发生自噬相关死亡

部分黄酮类化合物如槲皮素、黄芩苷、黄芩素 (baicalein)、染料木素 (genistein), 作用于特定的肿瘤细胞可以诱导自噬相关死亡, 该过程与典型细胞凋亡无关。在作用过程中可以检测到自噬的发生, 且抑制自噬后可以逆转对肿瘤细胞的杀伤作用。

槲皮素对结肠癌 Caco-2 细胞具有抑制作用, 该抑制作用与下调癌基因 Ras 的表达有关。另外, 槲皮素的细胞毒作用不被半胱氨酸蛋白酶 (caspase) 抑制剂 Z-VAD-FMK 所干扰, 而自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-methyladenine, 3-MA) 可以抑制此过程, 显微镜下也观测到 Caco-2 细胞中自噬泡的聚集, 这说明槲皮素是通过自噬而非凋亡途径杀伤 Caco-2 细胞^[4]。

槲皮素衍生物 8-C-(*E*-phenylethenyl) quercetin (8-CEPQ) 可将结肠癌 SW620、HCT-116 细胞阻滞于 G₂/M 期, 并引发非 caspase 依赖性死亡。另外, 自噬相关基因表达上调表明自噬发生。而细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 阻滞剂 U0126 可以显著抑制自噬进程以维持细胞活性。实验证实 8-CEPQ 可通过 ERK 途径诱导 SW620、HCT-116 细胞发生抑制性自噬^[5]。

Lin 等^[6]研究发现黄芩苷可通过非 caspase 依赖方式抑制膀胱癌 T24 细胞增殖, 黄芩苷可上调 T24 细胞中自噬相关基因 Atg5、Atg7、Atg12、Beclin1 (Atg6) 的表达和 LC3B-II/LC3B-I (light chain, LC) 的值, 下调蛋白激酶 B (AKT) 的表达, 诱导自噬。而 3-甲基腺嘌呤 (3-MA) 可成功逆转黄芩苷的自

噬杀伤作用。

黄芩素抑制前列腺癌 PC-3 细胞和乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖与 caspase 激活无关。细胞中自噬相关基因 Beclin1、VPS34 (class III phosphatidylinositol-3-kinase, PI3KC3)、ULK1 (Atg1)、Atg5、Atg7 及腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 的表达及 LC3-II/LC3-I 的值均可被黄芩素上调, 这说明黄芩素可以通过 AMPK/ULK1/mTOR/Raptor 途径增强自噬杀伤细胞。另外, 自噬抑制剂 LY294002 可以逆转此过程, 验证了自噬的杀伤作用^[7]。

染料木素作用于乳腺癌 MCF-7 细胞时, 凋亡抑制基因 survivin 的表达和 Bax/Bcl-2 的值被显著下调, 而 caspase 无显著变化。这说明染料木素可以激活非 caspase 依赖的细胞凋亡, 且抗氧化酶 CuZnSOD、MnSOD、TrxR 被显著下调, 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 被显著上调。而 TrxR 过表达及 GSH-Px 低表达与乳腺癌进展显著相关, 这进一步支持了染料木素对乳腺癌 MCF-7 细胞的抑制作用^[8]。

芹菜素 (apigenin) 作用于人乳头状甲状腺癌 BCPAP 细胞, 可以下调细胞分裂周期蛋白 Cdc25C 的表达, 致使 BCPAP 细胞被阻滞于 G₂/M 期, 还可促进活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 产生, 引发自噬, 3-MA 可以逆转这一过程^[9]。

通过非凋亡途径或非典型凋亡途径诱导自噬抑制肿瘤细胞增殖的黄酮类化合物见表 1。

2 黄酮类化合物诱导自噬间接抑制肿瘤细胞

黄酮类化合物还可诱导肿瘤细胞发生自噬, 继而对化疗药物产生增敏、诱导凋亡等作用 (表 2)。

Bi 等^[10]研究发现, 槲皮素可以诱导神经胶质瘤 U87 和 U251 细胞发生自噬和凋亡。使用 3-MA 抑制自噬, U87 和 U251 细胞存活率明显升高。而自噬中后期时自噬抑制剂氯喹 (CQ) 可以增强槲皮素的杀伤力, 且在此过程中 LC3-II/LC3-I 值是始终上调的。当再使用 shRNA 敲减 Beclin-1 基因, 槲皮素联合 CQ 的杀伤作用被抑制。这说明槲皮素对于 U87 和 U251 细胞的杀伤作用起源于自噬的启动和自噬泡的形成继而增强凋亡。在移植瘤模型中, CQ 增强槲皮素的肿瘤抑制作用也被成功验证。槲皮素对神经胶质瘤 MOGGCCM 细胞具有较强的自噬诱导作用, 索拉菲尼对 MOGGCCM 细胞具有较强的凋亡诱导作用, 无自噬诱导作用, 槲皮素与索拉菲尼相比, 对热休克蛋白 (heat shock protein, HSP)

表 1 通过非凋亡途径或非典型凋亡途径诱导自噬抑制肿瘤细胞增殖的黄酮类化合物

Table 1 Flavonoids induce autophagy through non-apoptosis or non-typical apoptosis pathways to suppress tumor cell proliferation

黄酮类化合物	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	癌种	细胞株或模型	检测自噬的相关靶点	作用	文献
槲皮素	10~50	结肠癌	Caco-2 细胞	LC3	诱导自噬相关死亡, 抑制癌基因	4
8-CEPQ	5~25	结肠癌	SW620 细胞、HCT-116 细胞	Beclin-1、LC3-I、LC3-II、p62、ERK、p38、JNK、Atg7	诱导自噬相关死亡	5
黄芩苷	50~200	膀胱癌	T24 细胞	Beclin-1、LC3-I、LC3-II、Atg5、Atg7、Atg12、AKT	诱导自噬相关死亡	6
黄芩素	2.5~10	前列腺癌、乳腺癌	PC-3 细胞、MDA-MB-231 细胞	Beclin1、VPS34、p-ULK、AMPK、Atg5、Atg7、LC3-I、LC3-II	诱导自噬相关死亡, 诱导细胞周期阻滞	7
染料木素	0.01~100	乳腺癌	MCF-7 细胞	LC3	诱导自噬相关死亡、非典型凋亡	8
芹菜素	12.5~100	甲状腺癌	BCPAP 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p62	诱导自噬相关死亡、阻滞细胞周期	9

表 2 诱导自噬间接抑制肿瘤细胞的黄酮类化合物

Table 2 Flavonoids induce autophagy to indirectly suppress tumor cell

黄酮类化合物	剂量/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	癌种	细胞株或模型	检测自噬的相关靶点	激活自噬外的作用	文献
槲皮素	25~100	神经胶质瘤	U87、U251 细胞, C6 胶质瘤细胞	Beclin-1、LC3-I、LC3-II	自噬末期抑制细胞毒作用	10
	100 mg·kg ⁻¹		移植瘤 SD 大鼠模型			
	5~50	神经胶质瘤	MOGGCCM 细胞	HSP27、HSP72、Beclin1、LC3-I、LC3-II	增强索拉菲尼的诱导凋亡及调控癌基因表达的作用	11
	200	神经胶质瘤	胶质瘤干/祖细胞系 SU-2	LC3-I、LC3-II	放疗增敏	12
	20~80	肺癌	A549 细胞	LC3B-I、LC3B-II、p62、AKT	增强 TRAIL 诱导的凋亡	13
黄芩苷	10~200	胰腺癌	Panc-1 细胞, MiaPaCa-2 细胞	HSP70、LC3-II	增强吉西他滨的细胞毒作用	14
	5~80	肝细胞癌	MHCC97L 细胞	Atg5、LC3-I、LC3-II、p62	TAM 复极为 M1 表型、杀伤肿瘤细胞	15
	50 mg·kg ⁻¹		肝原位癌 BALB/c 裸鼠模型			
木犀草素	10~200	骨肉瘤	U2OS 细胞	Beclin-1、LC3-I、LC3-II	增强多柔比星的细胞毒作用	16
染料木素	1	乳腺癌	MCF-7 细胞、T47D 细胞	LC3-I、LC3-II	增强他莫昔芬的细胞毒作用	17
	500 mg·kg ⁻¹	乳腺癌	DMBA 诱导 SD 大鼠乳腺癌模型	Beclin1、LC3-I、LC3-II、Atg7、p62	增强他莫昔芬的细胞毒作用	18
	100	胰腺癌	MIA PaCa-2 细胞	LC3	增强 5-FU 的细胞毒作用	19
	1~3 mg·d ⁻¹		MIA PaCa-2 细胞移植瘤裸鼠模型			
水飞蓟素	100~300	乳腺癌	MCF-7 细胞	LC3-I、LC3-II、p62、ERK、mTOR	引发凋亡	20-21
	10~100	前列腺癌	DU145 细胞、22Rv1 细胞	Beclin1	增强三氧化二砷的细胞毒作用	22
	50~200	成纤维肉瘤	HT1080 细胞	Beclin1、LC3-I、LC3-II、p53、p38、NF- κ B	引发凋亡	23-25

HSP27、HSP72 的抑制作用更强。槲皮素和索拉菲尼联用可以下调 HSP27、HSP72 的表达及 Ras、Raf 基因的表达, 增强 MOGGCCM 细胞的自噬和凋亡^[11]。另外, 槲皮素诱导的自噬能够使胶质瘤干细胞/祖细胞(GSPCs)对放疗更加敏感^[12]。槲皮素还能够强化肿

瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)介导的肺癌 A549 细胞的死亡, 这与槲皮素所诱导的自噬有关。CQ 可以消除槲皮素促进肿瘤细胞死亡的作用^[13]。Hyun 等^[14]研究发现, 槲皮素可以抑制 HSP70 的表达, 诱导胰腺癌 Panc-1、

MiaPaCa-2 细胞发生自噬,槲皮素的自噬诱导作用远强于吉西他滨,而诱导凋亡作用弱于吉西他滨,将槲皮素与吉西他滨联用可以获得更好的肿瘤抑制效果。

黄芩苷作用于肝癌移植瘤裸鼠模型,可以使肿瘤相关巨噬细胞(TAM)复极到 M1 表型, M1 表型的 TAM 对肝癌有抑制作用。这与黄芩苷通过诱导自噬降解肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TRAF2) 途径激活 RelB/p52 通路有关^[15]。

Zhang 等^[16]研究发现,木犀草素作用于人骨肉瘤 U20S 细胞可以诱导产生 ROS,继而引发自噬增强多柔比星对 U20S 细胞的凋亡诱导作用,效力强于单用多柔比星。

Pons 等^[17]研究发现,对于雌激素受体(estrogen receptor, ER) α /ER β 值高的乳腺癌 MCF-7 细胞,染料木素可降低细胞毒药物治疗的效果。而对于 ER α /ER β 值低的乳腺癌 T47D 细胞,染料木素可以增强细胞毒药物的杀伤力,如染料木素能够显著提高他莫昔芬的 T47D 细胞的致死性自噬。另外,乳腺癌大鼠 ig 染料木素可以增强他莫昔芬的治疗敏感性,减少耐药,这可能与染料木素诱导自噬减少肿瘤未折叠蛋白应答有关^[18]。染料木素还可以通过自噬和凋亡途径增强 5-氟脲嘧啶(5-FU)对胰腺癌 MIA PaCa-2 细胞的杀伤力。这一作用在体内模型中也得到了验证^[19]。

Zheng 等^[20-21]发现水飞蓟素对于 ER α 阳性的 MCF-7 细胞具有诱导自噬和凋亡的作用,而对于 ER α 阴性的 MDA-MB-231 细胞则只会诱导凋亡。在 MCF-7 细胞中水飞蓟素可以下调 ER α 的表达,继而下调 ERK 和雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的表达,引发细胞自噬。在水飞蓟素作用的同时,细胞会产生保护性的 ROS/RNS (reactive nitrogen species),自噬可以清除 ROS/RNS,当使用 3-MA 抑制自噬后,ROS/RNS 水平上升,凋亡率也随之下降,说明在此过程中自噬是决定细胞杀伤作用的关键点。水飞蓟素和三氧化二砷联用可以通过诱导细胞周期阻滞、自噬、凋亡和坏死多种途径显著抑制前列腺癌 DU145 和 22Rv1 细胞增殖^[22]。水飞蓟素还可以诱导成纤维肉瘤 HT1080 细胞氧化应激,释放 ROS,进而影响 p38-NF- κ B 通路;另外,还能激活 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)通路,上调 Beclin1、抑癌基因 p53 的表达和 LC3-II/LC3-I 值,也可上调 caspase-3 的表达。这说明水飞蓟素抑制 HT1080 细胞增殖与自噬和凋亡相关。当使用 3-MA 抑制自噬后,凋亡也被抑制,细胞活力增强。说明在这个过程中,凋亡是自噬依赖性的^[23-25]。

3 黄酮类化合物抑制保护性自噬

黄酮类化合物有时也会抑制保护性自噬,增强联合用药的效果(表 3)。

表 3 抑制保护性自噬的黄酮类化合物

Table 3 Flavonoids inhibit protective autophagy

黄酮类化合物	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	癌种	细胞株或模型	检测自噬的相关靶点	抑制自噬后的作用	文献
槲皮素	30	胶质母细胞瘤	U251、U87 细胞	LC3-I、LC3-II、Atg7、Hsp27	强化 t-AUCB 的细胞毒作用	26
染料木素	5~50	神经母细胞瘤	SK-N-BE2 细胞、IMR-32 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p62、mTOR	增强细胞凋亡	27
	10~40	肺癌	A549 细胞	LC3-I、LC3-II、p62	强化 TRAIL 诱导的肺癌 A549 细胞凋亡	28
木犀草素联合水飞蓟素	20、100	胶质母细胞瘤	U87MG 细胞、T98G 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1	强化联合用药诱导的凋亡	29

Li 等^[26]研究发现环氧化物水解酶抑制剂 t-AUCB 对胶质母细胞瘤的细胞毒作用会由于 HSP27 和 Atg7 的上调而被减弱,这与细胞自身的保护性自噬相关,而槲皮素可以抑制 HSP27 和 Atg7 的表达,抑制自噬, t-AUCB 在联合槲皮素后细胞毒作用显著增强。

恶性神经母细胞瘤 SK-N-BE2 和 IMR-32 细胞可以通过自噬抵抗细胞毒药物的杀伤作用,而染料

木素对这 2 个细胞系具有抑制自噬和诱导凋亡的作用,联合 LC3 shRNA 可以进一步增强对自噬的抑制,强化染料木素的细胞毒作用^[27]。TRAIL 诱导肺癌 A549 细胞凋亡会受到保护性自噬的干扰,加入染料木素或者 CQ 后,自噬被抑制,细胞凋亡作用增强^[28]。20 $\mu\text{mol/L}$ 木犀草素和 100 $\mu\text{mol/L}$ 水飞蓟素共同作用于胶质母细胞瘤 U87MG 和 T98G 细胞,可以上调 miR-7-1-3p 的表达,抑制 mTOR 介导的自

噬,最大程度地增强凋亡。且两药联合方案对胶质母细胞瘤的抑制作用在裸鼠移植瘤模型上也得到了验证^[29]。

4 黄酮类化合物诱导保护性自噬

在一些情况下,黄酮类化合物在抑制肿瘤细胞的过程中也会引发肿瘤细胞的反应性的保护性自噬,抑制该自噬可以增强药物对肿瘤细胞的杀伤力(表 4)。

川陈皮素作用于胃癌 SNU-16 细胞,可以诱导内质网应激进而导致自噬和凋亡的发生。当使用 CQ 抑制自噬后,凋亡率显著上升。说明此过程中自噬起到保护 SNU-16 细胞的作用,抑制自噬可以增强川陈皮素的细胞杀伤作用^[30]。

槲皮素可以使急性髓系白血病 HL-60 细胞阻滞于 G₀/G₁ 期,并引发自噬和凋亡的发生。使用 3-MA 抑制自噬后,细胞周期阻滞和凋亡被增强。而使用

表 4 诱导保护性自噬的黄酮类化合物

Table 4 Flavonoids induce protective autophagy

黄酮类化合物	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	癌种	细胞株或模型	检测自噬的相关靶点	抑制自噬的途径	抑制自噬后的作用	文献
川陈皮素	12.5~50	胃癌	SNU-16 细胞	LC3-I、LC3-II、p62、AKT、mTOR	抑制剂 CQ	增强凋亡	30
槲皮素	25~100	急性髓系白血病	HL-60 细胞	LC3-I、LC3-II、p62	抑制剂 3-MA	增强细胞周期阻滞和凋亡	31
	40~150	胃癌	AGS、MKN28 细胞	LC3-I、LC3-II、GABARAP1	转染 miR-143	增强细胞周期阻滞和凋亡	32
	12~100	原发性渗出性淋巴瘤	PEL 细胞	LC3-I、LC3-II、AKT、mTOR、GSK-3 α 、GSK-3 β	抑制剂 Baf-A1	增强细胞周期阻滞和凋亡	33
	25~200	胶质母细胞瘤	U373MG 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、JNK、p53	抑制剂 CQ	增强凋亡	34
	10~40	卵巢癌	CaOV3 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、Atg5	抑制剂 3-MA	增强凋亡	35
	50	宫颈癌	HeLa 细胞	LC3-I、LC3-II、P70S6K1	抑制剂 3-MA	增强凋亡	36
	25~400	乳腺癌	MCF-7 细胞	LC3	抑制剂 3-MA、CQ	增强凋亡	37-38
	100~300	肝癌	SMMC-7721 细胞	LC3	抑制剂 3-MA、CQ	增强凋亡	39
黄芩素	12.5~50	肝癌	HepG2 细胞、SMMC-7721 细胞、Bel-7402 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、Atg5	抑制剂 CQ、转染 Atg5、Beclin1 siRNA	增强凋亡	40-41
	12.5~50	卵巢癌	HEY 细胞、A2780 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、ULK1、AKT、ERK	抑制剂 CQ	增强凋亡	42
木犀草素	10~50	皮肤鳞状细胞癌	MET4 细胞	LC3-II、p62、AKT、mTOR、P70S6K	抑制剂 CQ	增强凋亡	43
芹菜素	10~80	乳腺癌	T47D 细胞、MDA-MB-231 细胞	LC3-I、LC3-II	抑制剂 3-MA	增强凋亡	44-45
	6.25~50	结肠癌	HCT116 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1	抑制剂 3-MA	增强凋亡	46
	0.25~1	恶性神经母细胞瘤	SH-SY5Y 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、AKT、mTOR	抑制剂 N-(4-羟基苯基) 维甲酰胺 (4-HPR)	增强凋亡	47
	50~200	红系白血病	TF1 细胞	LC3B-I、LC3B-II、Beclin1、Atg5、Atg7、Atg12、mTOR、P70S6K	—	—	48
	25~150	黑色素瘤	A375-S2 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p53	抑制剂 3-MA	增强凋亡	49
水飞蓟素	300	结肠癌	SW480 细胞、SW620 细胞	—	抑制剂 Baf-A1	增强细胞周期阻滞和凋亡	50
	150	前列腺癌	PC-3 细胞	LC3-I、LC3-II	抑制剂 3-MA	增强凋亡	51
	100~500	皮肤鳞癌	A431 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1	抑制剂 3-MA	增强细胞周期阻滞和凋亡	52

泛半胱天冬酶抑制剂 (Z-VAD-FMK) 抑制凋亡后, 细胞杀伤作用被显著削弱^[31]。槲皮素还能诱导胃癌 AGS 和 MKN28 细胞发生细胞周期阻滞、自噬和凋亡。转染 miR-143 可以抑制 Atg8 从而阻断自噬的发生, 自噬被阻断后, 细胞存活率显著降低^[32]。Granato 等^[33]研究发现, 槲皮素可以抑制原发性渗出性淋巴瘤 PEL 细胞白细胞介素-6 (IL-6) 和 IL-10 的释放, 还可以抑制信号传导与转录激活因子 3 (STAT3)、PI3K/AKT/mTOR 通路、Wnt/ β -catenin 通路, 通过这些途径抑制 PEL 细胞增殖, 且对正常 B 细胞没有杀伤作用。在此过程中也检测到了自噬流, 采用 Baf-A1 抑制自噬或者敲除 BECN1 基因后, 细胞活力显著下降。当槲皮素作用于胶质母细胞瘤 U373MG 细胞, 细胞周期被阻滞于 G₁ 期; 槲皮素还可以诱导细胞凋亡, 另外也可以上调 p53 和 JNK 表达诱导自噬, 使用 CQ 抑制自噬后, 凋亡被增强^[34]。槲皮素作用于卵巢癌 CaOV3 细胞, 可以引发内质网应激继而通过 STAT3/Bcl-2 轴诱导凋亡。但是在引发内质网应激的同时也触发了保护性自噬, 上调了 Beclin1、Atg5 的表达和 LC3-II/LC3-I 的值, 使用 3-MA 抑制自噬后, CaOV3 细胞凋亡显著增强^[35]。还有其他国内的研究者发现, 槲皮素可以诱导宫颈癌 HeLa 细胞、乳腺癌 MCF-7 细胞、肝癌 SMMC-7721 细胞发生凋亡和保护性自噬, 使用 3-MA 或 CQ 抑制自噬后, 槲皮素的杀伤作用被增强^[36-39]。

黄芩素可以抑制肝癌 HepG2、SMMC-7721 和 Bel-7402 细胞的活性, 在 HepG2 细胞中观察到 AKT/mTOR 通路的抑制和自噬的发生, 使用 CQ 抑制自噬后, 黄芩素的杀伤作用被增强^[39]。在 SMMC-7721 和 Bel-7402 细胞中, 黄芩素通过内质网应激诱导细胞自噬和凋亡, 使用 siRNA 干扰自噬后, 凋亡被增强^[40-41]。Wang 等^[42]研究发现, 黄芩素可以诱导卵巢癌 HEY 和 A2780 细胞自噬和凋亡, 联用 CQ 可以上调 DNA 修复酶 PARP (poly ADP-ribose polymerase) 的表达, 增强凋亡。

木犀草素对人皮肤鳞状细胞癌 MET4 细胞有诱导凋亡作用, 但是敏感性会下降, 这与丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT) 介导的自噬诱导有关, 使用 CQ 抑制自噬可以增强木犀草素诱导的细胞凋亡^[43]。芹菜素作用于乳腺癌 T47D、MDA-MB-231 细胞, 可以上调 caspase-3、PARP 表达和 Bax/Bcl-2 值, 诱导细胞凋亡, 同时也伴随自噬。使用 3-MA 可以抑制自噬, 增强凋亡^[44-45]。芹菜素可以将结肠癌 HCT116 细胞

阻滞于 G₂/M 期, 上调 p53 和 p21 表达, 同时也伴随自噬的发生。使用 3-MA 抑制自噬后, PARP 表达上调, 凋亡被增强^[46]。芹菜素还可以诱导恶性神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞产生自噬和凋亡, 加用 *N*-(4-羟基苯基) 维甲酰胺 (4-HPR) 后, 自噬被抑制, 凋亡被增强, 提升了总体杀伤力^[47]。由于芹菜素能够显著抑制 TF1 细胞中 mTOR 和 P70S6K 的表达从而诱导保护性自噬, 芹菜素可以降低长春新碱对人红系白血病 TF1 细胞的杀伤作用, 提高 TF1 细胞对长春新碱的耐受力^[48]。

水飞蓟素作用于黑色素瘤 A375-S2 细胞可以抑制 p53 的表达, 激活 NF- κ B, 也能诱导自噬的发生。3-MA 能抑制自噬, 从而增强水飞蓟素的肿瘤细胞杀伤作用^[49]。对于结肠癌 SW480 和 SW620 细胞, 使用巴弗洛霉素 A1 (Baf-A1) 抑制自噬可以增强水飞蓟素对肿瘤细胞的抑制作用, 而使用泛半胱天冬酶-8 抑制剂 (Z-IETD-FMK) 或 Z-VAD-FMK 抑制凋亡则会产生保护细胞的作用^[50]。在水飞蓟素作用于前列腺癌 PC-3 细胞的实验中, 其可以同时诱导细胞自噬和凋亡, ROS 抑制剂二联苯碘 (DPI) 可以减轻水飞蓟素诱导的细胞自噬, 而 3-MA 可以抑制自噬, 二者均能增强水飞蓟素诱导的细胞凋亡^[51]。水飞蓟素还可以破坏人皮肤鳞癌 A431 细胞线粒体膜电势、释放 ROS 和一氧化氮 (NO) 自由基诱导细胞自噬和凋亡同时发生, 但是使用自噬抑制剂 3-MA 后, 增强了其对细胞周期的阻滞和细胞凋亡^[52]。

5 黄酮类化合物诱导机制不明的自噬

目前, 很多研究者在黄酮类化合物抑制肿瘤细胞增殖的研究中都检测到了自噬的发生, 而自噬的具体作用未探明 (表 5)。

Saiprasad 等^[53]用橙皮苷干预氧化偶氮甲烷 (AOM) 诱导的小鼠结肠癌模型, 发现橙皮苷在诱导结肠癌细胞周期阻滞和凋亡的基础上, 也会因为抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路而激活自噬。橙皮苷的抗肿瘤作用还与抑制糖原合成酶激酶-3 (GSK-3 β) 继而抑制癌基因 β -catenin、c-Myc、c-Jun 的表达, 抑制 Aurora-A 激酶继而上调抑癌基因 p53、p21 的表达相关。而在此过程中, 自噬与癌基因表达的相互作用却未能阐明。

槲皮素可以剂量依赖性地抑制卵巢癌 OVCAR3 细胞增殖, 同时诱导 OVCAR3 细胞发生自噬^[54]。罗亚男等^[55]研究发现, 槲皮素可以抑制肝癌 HepG2 细胞增殖, 通过影响胞内 Ca²⁺ 浓度诱导自

表 5 诱导机制不明的自噬的黄酮类化合物

Table 5 Flavonoids induce autophagy which have unclear effect

黄酮类化合物	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	癌种	细胞株或模型	检测自噬的相关靶点	除诱导自噬外的其他作用	文献
橙皮苷	15~25 mg/kg	结肠癌	氧化偶氮甲烷 (AOM) 诱导的小鼠结肠癌模型	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p62、p53、PI3K、AKT、mTOR、GSK-3 β	阻滞细胞周期和诱导凋亡	53
槲皮素	5~100	卵巢癌	OVCAR3 细胞	LC3B-II、Beclin1	影响胞内 Ca^{2+} 浓度	54
	12.5~50	肝癌	HepG2 细胞	LC3B-II、Beclin1		55
	30~90	乳腺癌	MCF7 细胞	P70S6K、mTOR	阻滞细胞周期	56
槲皮素纳米粒子	10~20; 在 100 μL 介质中	宫颈癌	Caski 细胞、HeLa 细胞、Caski 移植瘤裸鼠模型	PI3K、AKT、mTOR、p70S6K、JAK、STAT5	阻滞细胞周期、诱导凋亡	57
	10~50	胶质母细胞瘤	U87 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p62、p53	诱导凋亡	58
	5~40	结肠癌	HCT-116 细胞、HT-29 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p62、AKT、ERK、JNK	诱导凋亡	59
黄芩苷	10~160	肝癌	SMMC-7721 细胞	Beclin1、CD147	诱导凋亡	60
木犀草素	12.5~100	胃癌	MGC803 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、p62	阻滞细胞周期、诱导凋亡	61
	10~500	非小细胞肺癌	H460 细胞	LC3-I、LC3-II	诱导凋亡	62
	25~100	肝癌	SK-HEP-1 细胞	LC3-I、LC3-II、Beclin1、Atg5、Atg7、Atg12、AMPK、AKT、mTOR	阻滞细胞周期	63
水飞蓟素	20~160	肺转移腺样囊性癌	ACC-M 细胞	LC3-I、LC3-II	抑制转移	64
	50~200	肾癌	786-O 细胞、ACHN 细胞	LC3-I、LC3-II、p62、AMPK、Raptor、mTOR、p70S6K	抑制转移	65

噬,但没有通过验证明确自噬作用。槲皮素作用于乳腺癌 MCF7 细胞,可以诱导内质网应激,下调蛋白酶体 4E-BP1、p70S6K 的表达,抑制 mTOR 而增强自噬^[56]。

Luo 等^[57]研究发现,槲皮素纳米粒子可以使宫颈癌 Caski、HeLa 细胞阻滞于 G₀/G₁ 期,并通过 JAK/STAT 通路促进细胞凋亡及 PI3K/AKT/mTOR 途径诱导细胞自噬,但自噬与抑制作用的关系仍未探明。而槲皮素纳米粒子作用于胶质母细胞瘤 U87 细胞,则是通过细胞自噬和凋亡双途径杀伤细胞,槲皮素可以通过 PI3K/AKT/mTOR 途径促进细胞自噬,还能上调促凋亡基因 Apaf1、caspase-3、PARP 的表达,诱导细胞凋亡。槲皮素纳米粒子的抑瘤作用在体内实验中已也得到验证^[58]。Enayat 等^[59]使用槲皮素衍生物 CHNQ (2-chloro-1,4-naphthoquinone) 干预人结肠癌 HCT-116、HT-29 细胞,诱导氧化应激,经 MAPK 途径引发自噬和凋亡。另外,以槲皮素作为对照,槲皮素对 HCT-116 细胞具有剂量依赖性的细胞毒作用,但对 HT-29 细胞无作用。

黄芩苷可以诱导肝癌 SMMC-7721 细胞发生自噬和凋亡,这与其下调自噬和凋亡双抑制因子 CD147 的表达有关^[60]。木犀草素可以诱导胃癌 MGC803 细胞发生细胞周期阻滞、线粒体相关凋亡和自噬^[61],还可以诱导非小细胞肺癌 H460 细胞凋亡和非 Beclin1 依赖性的不典型自噬^[62]。山柰酚可以通过 AMPK/mTOR、AKT/mTOR 途径诱导肝癌 SK-HEP-1 细胞自噬,还可以下调细胞周期蛋白 CDK1 和 Cyclin B 的表达,使细胞周期阻滞于 G₂/M 期^[63]。

Jiang 等^[64]发现水飞蓟素可以抑制肺转移腺样囊性癌 ACC-M 细胞增殖,在此过程中 ACC-M 细胞发生自噬。另外,在肺转移瘤裸鼠模型中,水飞蓟素可以显著抑制动物模型左右两肺转移灶的增长。Li 等^[65]发现水飞蓟素作用于肾癌 786-O 和 ACHN 细胞,均可检测出自噬流,且水飞蓟素是通过 AMPK/mTOR 途径促进细胞自噬。在伤口愈合实验和跨膜侵袭实验中通过将水飞蓟素诱导自噬和使用 AMPK 抑制剂 compound C 抑制自噬进行对比,

发现水飞蓟素诱导的自噬可以抑制 786-O 和 ACHN 细胞转移,但自噬与细胞杀伤作用的关系并不明确。

6 结语与展望

不同的黄酮类化合物作用于不同的细胞系会诱导作用各异的自噬,主要体现在抑制和保护 2 个方面,可以是诱导抑制性自噬较为直接地使肿瘤细胞发生非凋亡相关的死亡,也可以是诱导自噬后进一步引发细胞周期阻滞、凋亡等其他致死效应,或者是在自噬发生的同时癌基因、抑癌基因、细胞周期相关因子受到调控,进而影响细胞生存,该种方式的自噬抑制作用则是间接的;还可能引发保护性的自噬,这种自噬可能是药物直接诱发,也可能是细胞自身内环境平衡被破坏后的负反馈。而黄酮类化合物诱导保护性和抑制性自噬的差异可能与具体黄酮类化合物的种类、给药方式和剂量及所作用的细胞系种类及细胞系所处的状态相关。如木犀草素作用于皮肤鳞状细胞癌 MET4 细胞可以诱导保护性自噬,而作用于骨肉瘤 U20S 细胞则诱导抑制性自噬;槲皮素在 30 $\mu\text{mol/L}$ 的剂量下作用于胶质母细胞瘤 U251、U87 细胞会抑制保护性自噬,剂量增大至 100 $\mu\text{mol/L}$ 则会增强抑制性自噬,而在 25~200 $\mu\text{mol/L}$ 剂量下作用于胶质母细胞瘤 U373MG 细胞会增强保护性自噬^[10,26,34]。总之,自噬在黄酮类化合物抑制肿瘤细胞的过程中具有重要作用,且受多种因素影响。

槲皮素、黄芩苷、染料木素、水飞蓟素等黄酮类化合物对多种肿瘤细胞具有不同程度的抑制作用,且大部分黄酮类化合物在正常剂量下对正常细胞毒性低,相对传统细胞毒药物更加安全,具有较强的临床应用潜力^[3]。目前大量关于黄酮类化合物的药效研究得到广泛开展,黄酮类化合物备受科学界关注,具有很强的研究价值。

大部分黄酮类化合物水溶性差、渗透性差、口服的生物利用度低,这些缺点严重限制了其临床应用转化^[66]。黄酮类化合物纳米粒子或其衍生物相对于原单体来说具有更强的作用效能和生物利用度,副作用更少,还可以增强耐受的肿瘤细胞对药物的敏感度,提高疗效。且纳米粒子透过各类保护性生物膜屏障的能力也较原单体更强^[67-68]。但是结构形态的改变也有可能改变药物的作用性质,如槲皮素作用于胶质母细胞瘤 U87 细胞可以起到抑制保护性自噬的作用,而槲皮素纳米粒子却可以诱导 U87 细胞发生自噬和凋亡^[49,58]。

对于诱导自噬的相关研究而言,自噬的性质判定具有重要意义,可用于指导强化杀伤肿瘤细胞。例如,黄酮类化合物杀伤肿瘤细胞,而肿瘤细胞自身产生的保护性自噬弱化了杀伤作用,此时联用自噬阻滞剂则能增强杀伤效果。因此,准确地判定自噬的作用有利于指导完善自噬相关药物的药效研究及应用策略。

从实验方法和深度上来看,很多研究尚缺乏通过反证法干预自噬及凋亡等途径来证实其作用,而且自噬的检测靶点在很多研究中也仅仅只涵盖自噬泡扩张的相关分子。黄酮类化合物调控肿瘤细胞自噬在很多实验中只是被检测到或者仅了解到部分自噬诱导的上游通路,因此,黄酮类化合物导致迥异自噬性质的机制仍待揭示。另外,黄酮类化合物诱导自噬的动物实验并不多见,研究者在细胞实验成功的基础上可以开展相应的动物实验,进一步为新型抗肿瘤药物的开发奠定基础,促进临床转化。

参考文献

- [1] Hurley J H, Young L N. Mechanisms of autophagy initiation [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 225-244.
- [2] Marino G, Niso-Santano M, Baehrecke E H, et al. Self-consumption: The interplay of autophagy and apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(2): 81-94.
- [3] George V C, Dellaire G, Rupasinghe H P. Plant flavonoids in cancer chemoprevention: Role in genome stability [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 45: 1-14.
- [4] Psahoulia F H, Moumtzi S, Roberts M L, et al. Quercetin mediates preferential degradation of oncogenic Ras and causes autophagy in Ha-RAS-transformed human colon cells [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(5): 1021-1031.
- [5] Zhao Y, Fan D, Zheng Z P, et al. 8-C-(E-phenylethenyl) quercetin from onion/beef soup induces autophagic cell death in colon cancer cells through ERK activation [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, doi: 10.1002/mnfr.201600437.
- [6] Lin C, Tsai S C, Tseng M T, et al. AKT serine/threonine protein kinase modulates baicalin-triggered autophagy in human bladder cancer T24 cells [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(3): 993-1000.
- [7] Aryal P, Kim K, Park P H, et al. Baicalein induces autophagic cell death through AMPK/ULK1 activation and downregulation of mTORC1 complex components in human cancer cells [J]. *FEBS J*, 2014, 281(20): 4644-4658.
- [8] Prietsch R F, Monte L G, Da S F, et al. Genistein induces apoptosis and autophagy in human breast MCF-7 cells by modulating the expression of proapoptotic factors and

- oxidative stress enzymes [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 390(1/2): 235-242.
- [9] Zhang L, Cheng X, Gao Y, *et al.* Apigenin induces autophagic cell death in human papillary thyroid carcinoma BCPAP cells [J]. *Food Funct*, 2015, 6(11): 3464-3472.
- [10] Bi Y, Shen C, Li C, *et al.* Inhibition of autophagy induced by quercetin at a late stage enhances cytotoxic effects on glioma cells [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3549-3560.
- [11] Jakubowicz-Gil J, Langner E, Badziul D, *et al.* Quercetin and sorafenib as a novel and effective couple in programmed cell death induction in human gliomas [J]. *Neurotox Res*, 2014, 26(1): 64-77.
- [12] 陈列松, 季文君, 庄文卓, 等. 槲皮素对胶质瘤干/祖细胞的辐射致敏作用及其机制的初步探讨 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2012, 30(5): 297-302.
- [13] Moon J H, Eo S K, Lee J H, *et al.* Quercetin-induced autophagy flux enhances TRAIL-mediated tumor cell death [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(1): 375-381.
- [14] Hyun J J, Lee H S, Keum B, *et al.* Expression of heat shock protein 70 modulates the chemoresponsiveness of pancreatic cancer [J]. *Gut Liver*, 2013, 7(6): 739-746.
- [15] Tan H Y, Wang N, Man K, *et al.* Autophagy-induced RelB/p52 activation mediates tumour-associated macrophage repolarisation and suppression of hepatocellular carcinoma by natural compound baicalin [J]. *Cell Death Dis*, 2015, doi: 10.1038/cddis.2015.271.
- [16] Zhang B, Yu X, Xia H. The flavonoid luteolin enhances doxorubicin-induced autophagy in human osteosarcoma U2OS cells [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 15190-15197.
- [17] Pons D G, Nadal-Serrano M, Torrens-Mas M, *et al.* The phytoestrogen genistein affects breast cancer cells treatment depending on the ERalpha/ERbeta ratio [J]. *J Cell Biochem*, 2016, 117(1): 218-229.
- [18] Zhang X, Cook K L, Warri A, *et al.* Lifetime genistein intake increases the response of mammary tumors to tamoxifen in rats [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(3): 814-824.
- [19] Suzuki R, Kang Y, Li X, *et al.* Genistein potentiates the antitumor effect of 5-fluorouracil by inducing apoptosis and autophagy in human pancreatic cancer cells [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(9): 4685-4692.
- [20] Zheng N, Zhang P, Huang H, *et al.* ERalpha down-regulation plays a key role in silibinin-induced autophagy and apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 128(3): 97-107.
- [21] Zheng N, Liu L, Liu W W, *et al.* Crosstalk of ROS/RNS and autophagy in silibinin-induced apoptosis of MCF-7 human breast cancer cells *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(2): 277-289.
- [22] Prajapati V, Kale R K, Singh R P. Silibinin combination with arsenic strongly inhibits survival and invasiveness of human prostate carcinoma cells [J]. *Nutr Cancer*, 2015, 67(4): 647-658.
- [23] Duan W, Jin X, Li Q, *et al.* Silibinin induced autophagic and apoptotic cell death in HT1080 cells through a reactive oxygen species pathway [J]. *J Pharmacol Sci*, 2010, 113(1): 48-56.
- [24] Duan W J, Li Q S, Xia M Y, *et al.* Silibinin activated p53 and induced autophagic death in human fibrosarcoma HT1080 cells via reactive oxygen species-p38 and c-Jun N-terminal kinase pathways [J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(1): 47-53.
- [25] Duan W J, Li Q S, Xia M Y, *et al.* Silibinin activated ROS-p38-NF-kappaB positive feedback and induced autophagic death in human fibrosarcoma HT1080 cells [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(1): 27-35.
- [26] Li J, Tang C, Li L, *et al.* Quercetin blocks t-AUCB-induced autophagy by Hsp27 and Atg7 inhibition in glioblastoma cells *in vitro* [J]. *J Neurooncol*, 2016, 129(1): 39-45.
- [27] Mohan N, Chakrabarti M, Banik N L, *et al.* Combination of LC3 shRNA plasmid transfection and genistein treatment inhibited autophagy and increased apoptosis in malignant neuroblastoma in cell culture and animal models [J]. *PLoS One*, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0078958.
- [28] Nazim U M, Park S Y. Genistein enhances TRAIL-induced cancer cell death via inactivation of autophagic flux [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(5): 2692-2698.
- [29] Chakrabarti M, Ray S K. Anti-tumor activities of luteolin and silibinin in glioblastoma cells: Overexpression of miR-7-1-3p augmented luteolin and silibinin to inhibit autophagy and induce apoptosis in glioblastoma *in vivo* [J]. *Apoptosis*, 2016, 21(3): 312-328.
- [30] Moon J Y, Cho S K. Nobiletin induces protective autophagy accompanied by ER-Stress mediated apoptosis in human gastric cancer SNU-16 cells [J]. *Molecules*, 2016, doi: 10.3390/molecules21070914.
- [31] Chang J L, Chow J M, Chang J H, *et al.* Quercetin simultaneously induces G0/G1-phase arrest and caspase-mediated crosstalk between apoptosis and autophagy in human leukemia HL-60 cells [J]. *Environ Toxicol*, 2017, doi: 10.1002/tox.22408.
- [32] Du F, Feng Y, Fang J, *et al.* MicroRNA-143 enhances

- chemosensitivity of quercetin through autophagy inhibition via target GABARAPL1 in gastric cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 74: 169-177.
- [33] Granato M, Rizzello C, Gilardini M M, *et al*. Quercetin induces apoptosis and autophagy in primary effusion lymphoma cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and STAT3 signaling pathways [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 41: 124-136.
- [34] Kim H, Moon J Y, Ahn K S, *et al*. Quercetin induces mitochondrial mediated apoptosis and protective autophagy in human glioblastoma U373MG cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, doi: 10.1155/2013/596496.
- [35] Liu Y, Gong W, Yang Z Y, *et al*. Quercetin induces protective autophagy and apoptosis through ER stress via the p-STAT3/Bcl-2 axis in ovarian cancer [J]. *Apoptosis*, 2017, 22(4): 544-557.
- [36] Wang Y, Zhang W, Lv Q, *et al*. The critical role of quercetin in autophagy and apoptosis in HeLa cells [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1): 925-929.
- [37] 高薇, 朱茉莉, 李君, 等. 自噬在槲皮素诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞死亡中的作用 [J]. 苏州大学学报: 医学版, 2009, 29(5): 878-881.
- [38] 朱茉莉, 华文敏, 梁中琴, 等. 槲皮素诱导 MCF-7 细胞死亡机制中自噬与凋亡的相关性 [J]. 中国药理学杂志, 2010, 45(6): 434-439.
- [39] 朱茉莉, 梁金英, 李鹏, 等. 自噬对槲皮素诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞死亡的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(13): 1052-1056.
- [40] Wang Y F, Li T, Tang Z H, *et al*. Baicalein triggers autophagy and inhibits the protein kinase B/mammalian target of rapamycin pathway in hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(5): 674-679.
- [41] Wang Z, Jiang C, Chen W, *et al*. Baicalein induces apoptosis and autophagy via endoplasmic reticulum stress in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biomed Res Int*, 2014, doi:10.1155/2014/732516.
- [42] Wang Y F, Xu Y L, Tang Z H, *et al*. Baicalein induces Beclin 1-and extracellular signal-regulated kinase-dependent autophagy in ovarian cancer cells [J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(1): 123-136.
- [43] Verschooten L, Barrette K, Van Kelst S, *et al*. Autophagy inhibitor chloroquine enhanced the cell death inducing effect of the flavonoid luteolin in metastatic squamous cell carcinoma cells [J]. *PLoS One*, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0048264.
- [44] Cao X, Liu B, Cao W, *et al*. Autophagy inhibition enhances apigenin-induced apoptosis in human breast cancer cells [J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25(2): 212-222.
- [45] 刘博文, 张斌, 张伟然, 等. 3-甲基腺苷对芹菜素诱导乳腺癌 T47D 细胞系自噬和凋亡的影响 [J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(21): 1318-1321.
- [46] Lee Y, Sung B, Kang Y J, *et al*. Apigenin-induced apoptosis is enhanced by inhibition of autophagy formation in HCT116 human colon cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(5): 1599-1606.
- [47] Mohan N, Banik N L, Ray S K. Combination of *N*-(4-hydroxyphenyl) retinamide and apigenin suppressed starvation-induced autophagy and promoted apoptosis in malignant neuroblastoma cells [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 502(1): 24-29.
- [48] Ruela-de-Sousa R R, Fuhler G M, Blom N, *et al*. Cytotoxicity of apigenin on leukemia cell lines: implications for prevention and therapy [J]. *Cell Death Dis*, 2010, doi: 10.1038/cddis.2009.18.
- [49] Jiang Y Y, Yang R, Wang H J, *et al*. Mechanism of autophagy induction and role of autophagy in antagonizing mitomycin C-induced cell apoptosis in silibinin treated human melanoma A375-S2 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 659(1): 7-14.
- [50] Kauntz H, Bousserouel S, Gosse F, *et al*. Silibinin triggers apoptotic signaling pathways and autophagic survival response in human colon adenocarcinoma cells and their derived metastatic cells [J]. *Apoptosis*, 2011, 16(10): 1042-1053.
- [51] Kim S H, Kim K Y, Yu S N, *et al*. Autophagy inhibition enhances silibinin-induced apoptosis by regulating reactive oxygen species production in human prostate cancer PC-3 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(1/2): 151-156.
- [52] Yu Y, Fan S M, Yuan S J, *et al*. Nitric oxide (*NO) generation but not ROS plays a major role in silibinin-induced autophagic and apoptotic death in human epidermoid carcinoma A431 cells [J]. *Free Radic Res*, 2012, 46(11): 1346-1360.
- [53] Saiprasad G, Chitra P, Manikandan R, *et al*. Hesperidin induces apoptosis and triggers autophagic markers through inhibition of aurora-A mediated phosphoinositide-3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin and glycogen synthase kinase-3 beta signalling cascades in experimental colon carcinogenesis [J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(14): 2489-2507.
- [54] De A, Papasian C, Hentges S, *et al*. *Embllica officinalis* extract induces autophagy and inhibits human ovarian cancer cell proliferation, angiogenesis, growth of mouse xenograft tumors [J]. *PLoS One*, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0072748.

- [55] 罗亚男, 崔晓东, 白崇智, 等. 槲皮素诱导 Hep G2 自噬与胞内游离 Ca^{2+} 浓度的变化相关 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2013, 29(3): 264-269.
- [56] Klappan A K, Hones S, Mylonas I, *et al.* Proteasome inhibition by quercetin triggers macroautophagy and blocks mTOR activity [J]. *Histochem Cell Biol*, 2012, 137(1): 25-36.
- [57] Luo C L, Liu Y Q, Wang P, *et al.* The effect of quercetin nanoparticle on cervical cancer progression by inducing apoptosis, autophagy and anti-proliferation via JAK2 suppression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 82: 595-605.
- [58] Lou M, Zhang L N, Ji P G, *et al.* Quercetin nanoparticles induced autophagy and apoptosis through AKT/ERK/Caspase-3 signaling pathway in human neuroglioma cells: *In vitro* and *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 1-9.
- [59] Enayat S, Seyma C M, Taskoparan B, *et al.* CHNQ, a novel 2-chloro-1,4-naphthoquinone derivative of quercetin, induces oxidative stress and autophagy both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 596: 84-98.
- [60] Zhang X, Tang X, Liu H, *et al.* Autophagy induced by baicalin involves downregulation of CD147 in SMMC-7721 cells *in vitro* [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(4): 1128-1134.
- [61] 张相强, 张 鹏, 黄茂葵, 等. 木犀草素对胃癌细胞 MGC803 增殖的抑制作用及其机制 [J]. 第二军医大学学报, 2016, 37(3): 302-308.
- [62] Park S H, Park H S, Lee J H, *et al.* Induction of endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis and non-canonical autophagy by luteolin in NCI-H460 lung carcinoma cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 56: 100-109.
- [63] Huang W W, Tsai S C, Peng S F, *et al.* Kaempferol induces autophagy through AMPK and AKT signaling molecules and causes G2/M arrest via downregulation of CDK1/cyclin B in SK-HEP-1 human hepatic cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(6): 2069-2077.
- [64] Jiang C, Jin S, Jiang Z, *et al.* Inhibitory effects of silibinin on proliferation and lung metastasis of human high metastasis cell line of salivary gland adenoid cystic carcinoma via autophagy induction [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 6609-6618.
- [65] Li F, Ma Z, Guan Z, *et al.* Autophagy induction by silibinin positively contributes to its anti-metastatic capacity via AMPK/mTOR pathway in renal cell carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(4): 8415-8429.
- [66] Cai X, Fang Z, Dou J, *et al.* Bioavailability of quercetin: problems and promises [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(20): 2572-2582.
- [67] Koynova R, Tenchov B. Recent progress in liposome production, relevance to drug delivery and nanomedicine [J]. *Recent Pat Nanotechnol*, 2015, 9(2): 86-93.
- [68] Pinzon-Daza M L, Campia I, Kopecka J, *et al.* Nanoparticle-and liposome-carried drugs: New strategies for active targeting and drug delivery across blood-brain barrier [J]. *Curr Drug Metab*, 2013, 14(6): 625-640.