

刺槐素通过调控 LZTFL1 表达抑制肺癌 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭

贾二玲, 丁 晓, 蔡 航

河北以岭医院 急诊科, 河北 石家庄 050091

摘要: 目的 探讨刺槐素对肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及分子机制。方法 用浓度分别为4、8、16 $\mu\text{mol/L}$ 的刺槐素处理 A549 细胞, 作为低、中、高浓度组, 不作任何处理的细胞作为对照组; 将 pcDNA、pcDNA-LZTFL1 转染至 A549 细胞中, 记为 pcDNA 组、pcDNA-LZTFL1 组; 将 si-NC、si-LZTFL1 转染至 A549 细胞中再用 16 $\mu\text{mol/L}$ 的刺槐素处理, 记为刺槐素+si-NC 组、刺槐素+si-LZTFL1 组。四甲基偶氮唑盐比色法 (MTT) 检测细胞增殖抑制率; Western blotting 法检测 LZTFL1、CyclinD1、p21、MMP-2、MMP-9 蛋白表达; Transwell 检测细胞迁移和侵袭; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 LZTFL1 mRNA 表达水平。结果 与对照组比较, 刺槐素低、中、高浓度处理的肺癌 A549 细胞中细胞增殖抑制率显著升高, 细胞迁移、侵袭数显著降低, CyclinD1、MMP-2、MMP-9 蛋白表达水平显著降低, p21 蛋白表达水平显著升高, LZTFL1 mRNA 和蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。过表达 LZTFL1 抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。干扰 LZTFL1 表达逆转了刺槐素对肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。结论 刺槐素可能通过上调 LZTFL1 的表达抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

关键词: 刺槐素; LZTFL1; 肺癌; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 04-0767-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.04.014

Acacetin inhibits lung cancer cell proliferation, migration and invasion by regulating LZTFL1 expression

JIA Erling, DING Xiao, QI Hang

Department of Emergency, Hebei Yiling Hospital, Shijiazhuang 050091, China

Abstract: Objective To investigate the effect of acacetin on the proliferation, migration and invasion of lung cancer cells and its molecular mechanism. **Methods** A549 cells were treated with acacetins at concentrations of 4, 8 and 16 $\mu\text{mol/L}$, respectively, as the low, medium, and high concentration groups of acacetin, and cells without any treatment were used as control groups; pcDNA, pcDNA-LZTFL1 was transfected into A549 cells and recorded as pcDNA group and pcDNA-LZTFL1 group; si-NC and si-LZTFL1 were transfected into A549 cells and treated with 16 $\mu\text{mol/L}$ acacetin and recorded as acacetin+si-NC group, acacetin+si-LZTFL1 group. Tetramethylazolum colorimetry (MTT) was used to detect cell proliferation inhibition rate; Western blotting was used to detect LZTFL1, CyclinD1, p21, MMP-2, and MMP-9 protein expression; Transwell was used to detect cell migration and invasion; real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of LZTFL1 mRNA. **Results** Compared with the control group, the cell proliferation inhibition rate of lung cancer A549 cells treated with low, medium, and high concentrations of acacetin was significantly increased, the number of cell migration and invasion was significantly reduced, and the expressions of CyclinD1, MMP-2 and MMP-9 proteins were significantly reduced, the expression of p21 protein was significantly increased, LZTFL1 mRNA and protein expression levels were significantly increased ($P < 0.05$). LZTFL1 overexpression inhibits the proliferation, migration and invasion of lung cancer cells. Interfering with LZTFL1 expression reversed the inhibitory effect of acacetin on the proliferation, migration and invasion of lung cancer A549 cells. **Conclusions** Acacetin may inhibit the proliferation, migration and invasion of lung cancer cells by up-regulating the expression of LZTFL1.

Key words: acacetin; LZTFL1; lung cancer; proliferation; migration; invasion

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,中药复方在治疗肺癌中具有抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、减少肿瘤转移复发、逆转肿瘤细胞多药耐药、减轻肺癌症状、调节机体免疫功能等作用^[1]。研究肺癌的发生发展分子机制进而寻找新的抗癌药物对肺癌的治疗具有重要意义。研究发现,黄酮类化合物具有抗肿瘤作用^[2]。刺槐素是一种天然黄酮类单体化合物,可以从多种植物中提取,具有多种生物活性,具有保护心房、镇痛、抗病毒等作用^[3]。还有研究报道,刺槐素有抗癌作用,可抑制卵巢细胞SKOV3活力,并促进细胞凋亡^[4]。刺槐素还可通过抑制p38αMAPK信号通路抑制人非小细胞肺癌A549细胞的侵袭和迁移^[5]。然而刺槐素对肺癌细胞增殖的影响及其机制尚不清楚。研究报道,亮氨酸拉链转录因子样蛋白1(leucine zipper transcription factor-like1, LZTFL1)位于染色体区域3p21.3中,在胃癌组织和胃癌细胞中LZTFL1低表达,过表达LZTFL1可抑制胃癌细胞的增殖和迁移能力^[6]。miR-21通过靶向LZTFL1促进乳腺癌的增殖和转移^[7]。LZTFL1可能通过维持上皮细胞分化而抑制肺肿瘤发生^[8]。然而LZTFL1对肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭的影响尚未可知。本实验旨在研究刺槐素对肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭的影响及其机制是否与LZTFL1有关。

1 材料

1.1 细胞

肺癌细胞A549,购自广州吉妮欧生物科技有限公司。

1.2 药物及主要试剂

刺槐素(质量分数>98%,批号20191005)购自上海远慕生物科技有限公司;胎牛血清(货号YDM1521,美国Gibco);RPMI-1640培养基(货号YD6603,厂家:美国Gibco)购自上海羽朵生物科技有限公司;四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法试剂盒(货号JK-a-3459,厂家:美国DGR)购自上海晶抗生物工程有限公司;二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒(货号MT0072-XOS)、RIPA蛋白裂解液(货号HR0259-AJL)购自北京百奥莱博科技有限公司;Trizol试剂(货号AS1050)、反转录试剂盒(货号A350)、荧光定量试剂盒(货号A6020)购自美国Progenia公司;Transwell小室(货号353090)、Matrigel胶(货号356234)购于美国BD公司。pcDNA、pcDNA-LZTFL1、si-NC、si-LZTFL1质粒购自上海伯易生物科技有限公司。CyclinD1(PL0502

539)、p21(PL0502562)、MMP-2(PL0401099)、MMP-9(PL0502078)、GAPDH(PL0402049)抗体,购自加拿大PL Laboratories公司;LZTFL1抗体(FNab04916)购自武汉菲恩生物科技有限公司;山羊抗兔IgG-HRP(AAT-16793)购自美国AAT Bioquest公司。

2 方法

2.1 细胞处理与分组

肺癌细胞A549用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液在37℃、5%CO₂条件下培养,隔天换液1次,细胞消化后以2×10⁴/孔的密度接种在96孔板中,培养12 h后用浓度分别为4、8、16 μmol/L的刺槐素处理,作为刺槐素低、中、高浓度组,不作任何处理的细胞作为对照组。

转染前1 d接种细胞,使转染时细胞浓度达到80%左右,用50 μL无血清培养液稀释pcDNA、pcDNA-LZTFL1载体质粒,轻轻混匀;将Lipofectamine TM 2000转染试剂用培养液稀释至50 μL;将上述两种液体混匀,室温静置20 min;然后加入到每孔细胞中,孵育6 h后换培养液继续培养24 h,记为pcDNA组、pcDNA-LZTFL1组;将si-NC、si-LZTFL1按上述方法转染至A549细胞后再用16 μmol/L刺槐素处理,记为刺槐素+si-NC组、刺槐素+si-LZTFL1组。

2.2 MTT法检测细胞增殖

在各组细胞培养至24 h时,每孔分别加入20 μL MTT溶液,于培养箱中继续孵育4 h后每孔加入DMSO 150 μL,振荡反应10 min使沉淀溶解,用酶标仪于波长490 nm处检测吸光度(A)值。实验重复3次。

细胞增殖抑制率=1-实验组A值/对照组A值

2.3 Western blotting法检测蛋白表达

在各组细胞培养至24 h时,提取细胞总蛋白,定量后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转至PVDF膜上,用5%的牛血清蛋白封闭1 h,加入一抗4℃过夜;加入二抗室温培养1 h,加入化学发光试剂显影,成像后用Image J软件分析各蛋白条带的灰度水平,以GAPDH作为内标。每个蛋白样品设3个重复,实验重复3次。

2.4 Transwell检测细胞迁移和侵袭

调整细胞密度为2×10⁵/mL,取200 μL接种于Transwell小室上层,细胞分组及给药同“2.1”项,培养24 h后,吸去培养液后用PBS洗涤,4%多聚甲醛固定30 min,再用0.1%结晶紫染色10 min,显微镜下

拍照并计数发生迁移的细胞数量。细胞侵袭实验在Transwell小室上层加入50 μL 基质胶Matrigel, 凝固后接种细胞, 之后同细胞迁移操作。倒置显微镜下每孔随机选取5个视野进行拍照和计数, 每组重复3次。

2.5 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测LZTFL1 mRNA表达水平

各组细胞培养24 h后提取细胞总RNA, 反转录成cDNA, LZTFL1以 β -actin为内参进行PCR扩增, 循环条件为94 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 共40个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延长5 min。相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算。LZTFL1上游引物序列: 5'-GGAGCAGCTGCACATGGCTGAA-3', 下游引物序列: 5'-ACATGCCTGAGGTGAGACTGCT-3'; β -actin上游引物序列: 5'-CCTGTGGCATCCACGAAACT-3', 下游引物序列: 5'-GAAGCATTGCGGTGGACGAT-3'。每组样品设3个复孔。

2.6 统计学分析

采用SPSS 20.0软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较行 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD- t 检验。

3 结果

3.1 刺槐素对A549细胞增殖及相关蛋白表达的影响

与对照组比较, 刺槐素低、中、高浓度组A549细胞增殖抑制率显著升高($P < 0.05$); 增殖相关蛋白CyclinD1表达水平显著降低, p21蛋白表达水平显著升高, 且呈浓度相关性($P < 0.05$)。结果见表1和图1。

表1 刺槐素对A549细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Effects of acacetin on A549 cell proliferation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	增殖抑制率/%
对照	—	0.00 $\pm$ 0.02
刺槐素	4	11.25 $\pm$ 1.14*
	8	29.45 $\pm$ 2.81*
	16	54.65 $\pm$ 5.21*

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

3.2 刺槐素对肺癌A549细胞迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响

与对照组比较, 刺槐素低、中、高浓度组A549细胞迁移、侵袭数显著降低($P < 0.05$), MMP-2、

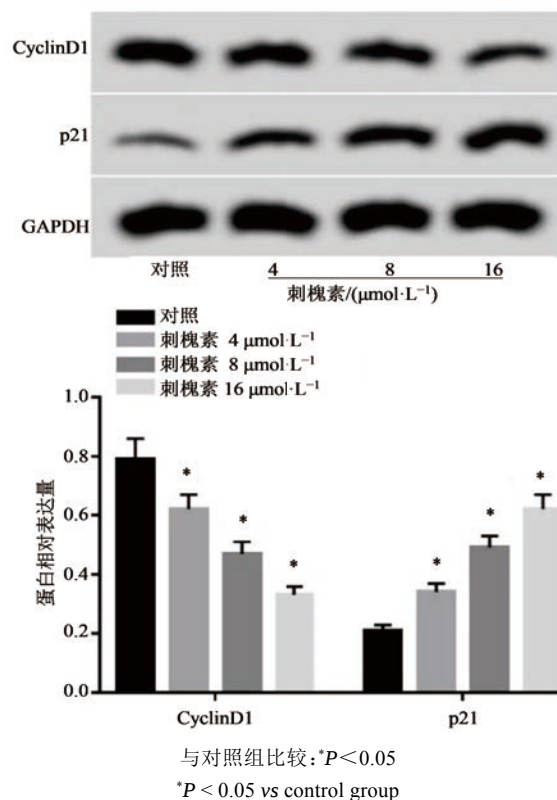


图1 增殖相关蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Expression of proliferation-related proteins ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

MMP-9蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$), 且呈浓度相关性。见图2和表2。

3.3 刺槐素对肺癌A549细胞中LZTFL1表达的影响

与对照组比较, 刺槐素低、中、高浓度组A549细胞中LZTFL1 mRNA和蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$), 且成浓度相关性。见图3和表3。

3.4 LZTFL1过表达对肺癌A549细胞增殖、迁移、侵袭的影响

与pcDNA组比较, pcDNA-LZTFL1组肺癌A549细胞中LZTFL1表达水平显著升高, 细胞增殖抑制率显著升高, 细胞迁移、侵袭数显著降低, CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平显著降低, p21蛋白表达水平显著升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表4和图4。

3.5 干扰LZTFL1表达逆转了刺槐素对肺癌A549细胞增殖、迁移、侵袭的作用

与刺槐素+si-NC组比较, 刺槐素+si-LZTFL1组肺癌A549细胞中LZTFL1表达水平显著降低, 细胞增殖抑制率显著降低, 细胞迁移、侵袭数显著升高, CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平显著升高,

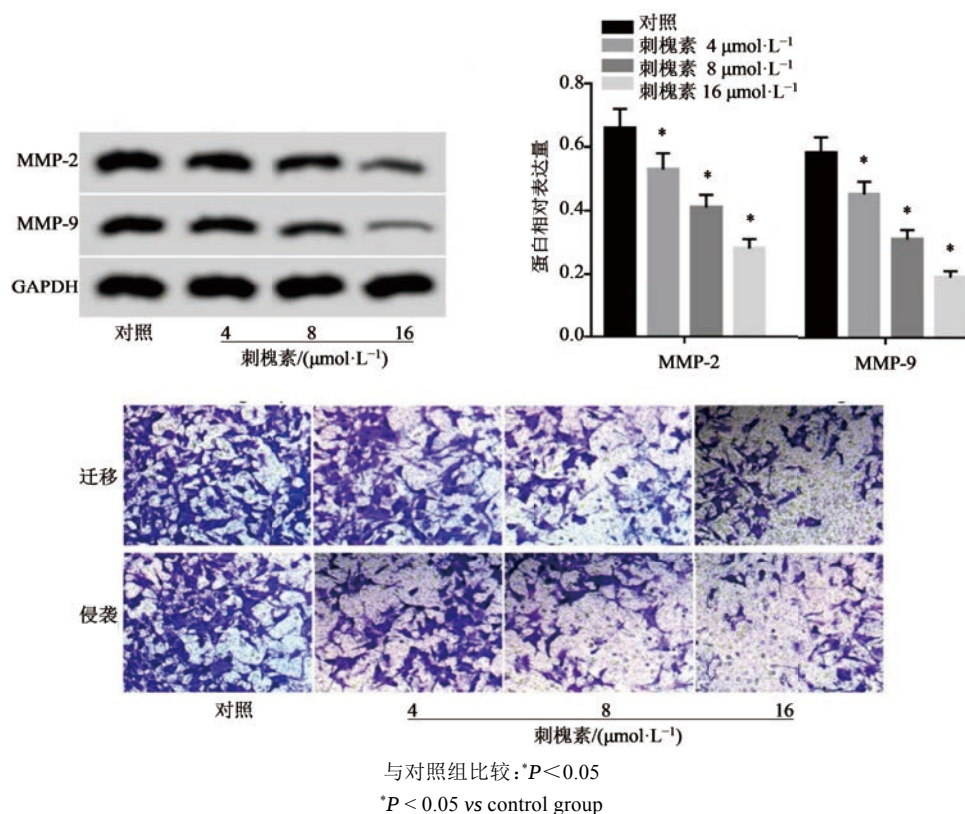


图2 刺槐素对肺癌A549细胞迁移、侵袭及相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effects of acacatin on migration, invasion and expression of related protein of lung cancer A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表2 刺槐素对肺癌A549细胞迁移、侵袭的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effects of acacatin on migration and invasion of lung cancer A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	迁移细胞数	侵袭细胞数
对照	—	115.32±11.41	98.65±9.36
刺槐素	4	82.64±8.13*	76.14±7.32*
	8	68.25±6.23*	59.36±5.48*
	16	51.22±5.13*	43.21±4.11*

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

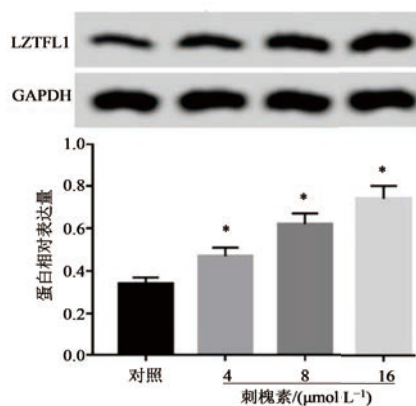
表3 刺槐素对肺癌A549细胞中LZTFL1表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of acacatin on LZTFL1 expression in lung cancer A549 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	C/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	LZTFL1 mRNA
对照	—	1.00±0.08
刺槐素	4	1.42±0.14*
	8	1.98±0.18*
	16	2.71±0.26*

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group



与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

图3 LZTFL1蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Expression of LZTFL1 protein ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表4 LZTFL1过表达对肺癌A549细胞增殖、迁移、侵袭的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effect of LZTFL1 overexpression on lung cancer A549 cell proliferation, migration and invasion ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	增殖抑制率/%	迁移细胞数	侵袭细胞数
pcDNA	6.35±0.64	118.36±10.21	99.36±8.74
pcDNA-LZTFL1	41.22±4.13*	59.65±5.32*	51.24±5.33*

与pcDNA组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs pcDNA group

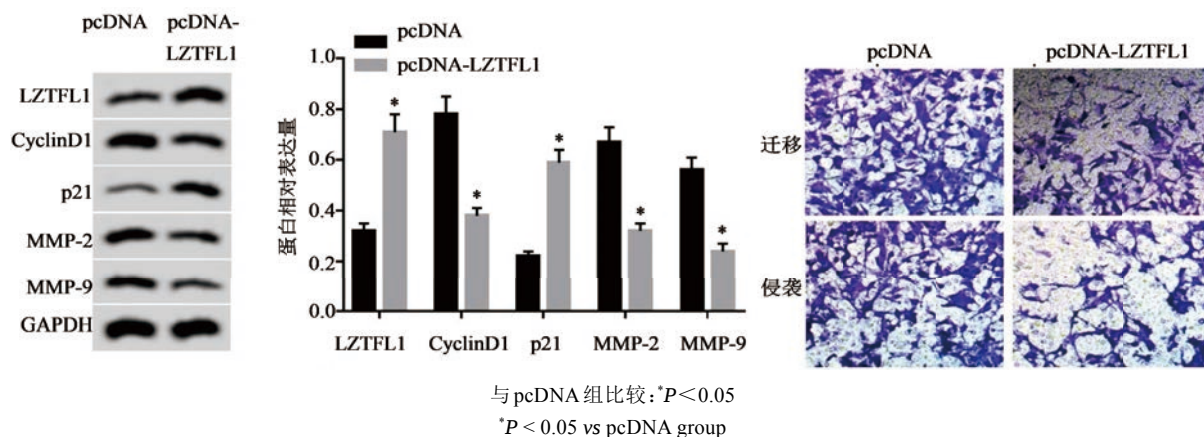


图4 LZTFL1过表达对于肺癌A549细胞增殖、迁移、侵袭的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of LZTFL1 over expression on lung cancer A549 cell proliferation, migration and invasion ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

p21 蛋白表达水平显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图5和表5。

4 讨论

侵袭转移是恶性肿瘤发生发展的重要特征之一,肺癌细胞的迁移和侵袭是其治疗的难点之一^[9]。研究发现中医药在恶性肿瘤治疗领域发挥着越来越重要的作用^[10]。研究报道,刺槐素可通过 β -连环

蛋白(β -catenin)途径诱导细胞生长停止,并通过激活凋亡诱导因子诱导大肠癌细胞而凋亡^[11]。刺槐素可诱导头颈部鳞状细胞癌细胞凋亡^[12]。刺槐素可通过拮抗视黄酸受体- γ (retinoic acid receptor- γ , RAR γ)对蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)和p53的非基因组作用诱导肝癌细胞凋亡^[13]。刺槐素还增强了阿霉素对非小细胞肺癌细胞的治疗作用^[14]。

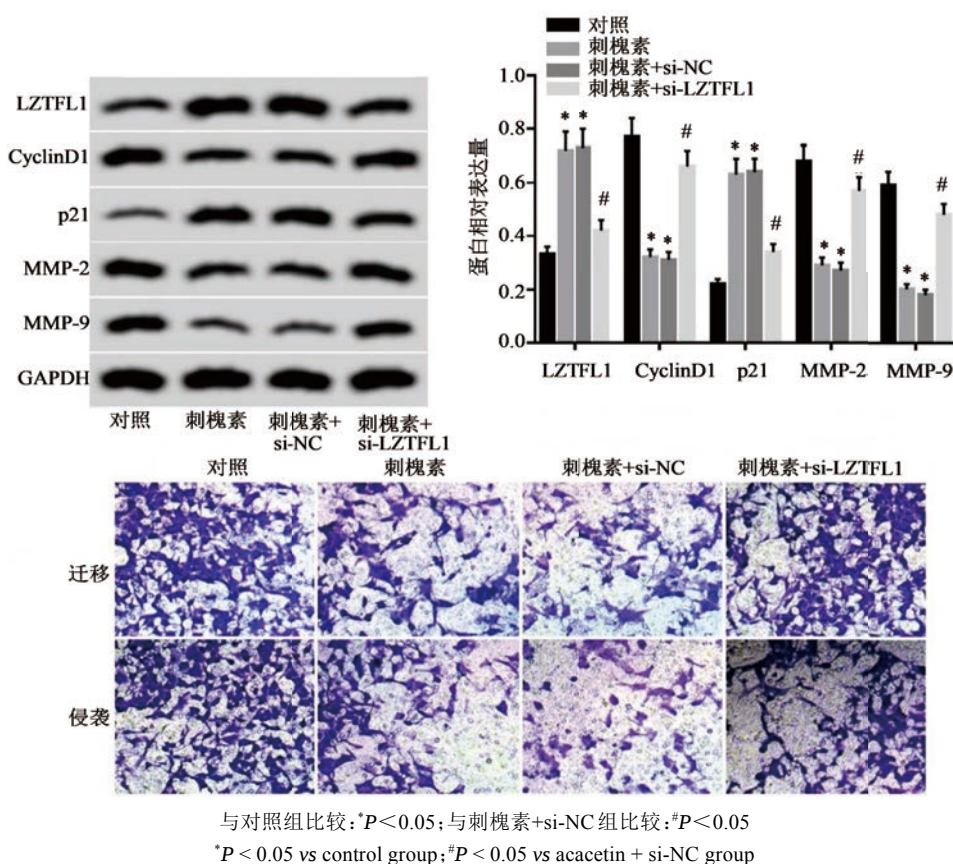


图5 干扰LZTFL1表达逆转了刺槐素对肺癌A549细胞增殖、迁移、侵袭的作用($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Interfering with LZTFL1 expression reversed effect of acacetin on lung cancer A549 cell proliferation and migration ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

表5 干扰LZTFL1表达逆转了刺槐素对肺癌A549细胞增殖、迁移、侵袭的作用($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 5 Interfering with LZTFL1 expression reversed the effect of acacetin pseudocacin on lung cancer A549 cell proliferation and migration ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	增殖抑制率/%	迁移细胞数	侵袭细胞数
对照	—	0.00 $\pm$ 0.02	114.32 $\pm$ 9.65	96.54 $\pm$ 9.33
刺槐素	16	53.64 $\pm$ 5.12*	52.41 $\pm$ 5.33*	45.21 $\pm$ 4.23*
刺槐素+si-NC	16	55.69 $\pm$ 5.52	50.14 $\pm$ 5.11	43.62 $\pm$ 4.33
刺槐素+si-LZTFL1	16	19.74 $\pm$ 1.83 [#]	98.65 $\pm$ 9.41 [#]	79.65 $\pm$ 7.22 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与刺槐素+si-NC组比较: [#] $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs acacetin+si-NC group

本实验用不同浓度的刺槐素处理肺癌细胞,研究其对肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响,结果显示,刺槐素低、中、高浓度处理的肺癌A549细胞中细胞增殖抑制率显著升高,细胞迁移、侵袭数显著降低,CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平显著降低,p21蛋白表达水平显著升高,且呈浓度相关性。说明刺槐素可剂量相关地抑制肺癌细胞增殖、迁移和侵袭。

LZTFL1在人肝细胞癌标本和细胞系中表达下降,其低表达与肿瘤的分期和转移相关;LZTFL1的异位过表达抑制细胞增殖、迁移和侵袭^[15]。LZTFL1通过调节 β -catenin的核转运来抑制胃癌细胞的迁移和侵袭^[16]。LZTFL1还可通过抑制肿瘤细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)及MMPs表达抑制胃癌的侵袭和转移^[17]。以上研究结果表明LZTFL1参与肿瘤的迁移和侵袭。本实验过表达LZTFL1,结果显示细胞增殖抑制率显著升高,细胞迁移、侵袭数显著降低,CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白表达水平显著降低,p21蛋白表达水平显著升高,说明过表达LZTFL1可抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。且本研究还发现刺槐素低、中、高浓度处理的A549细胞中LZTFL1高表达,干扰LZTFL1表达逆转了刺槐素对肺癌A549细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。结果提示,刺槐素可能通过调控LZTFL1的表达影响肺癌细胞增殖、迁移和侵袭。

刺槐素可能通过上调LZTFL1的表达抑制肺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 朱赛君, 许尤琪. 中药复方治疗肺癌作用机理的实验研究进展 [J]. 中医药导报, 2018, 24(12): 57-61.
Zhu S J, Xu Y Q. Experimental study progress on mechanism of chinese medicinal formula in treating lung cancer [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 24(12): 57-61.
- [2] 李茂, 刘明华, 肖顺汉. 黄酮类化合物抗肿瘤作用研究进展 [J]. 泸州医学院学报, 2011, 34(3): 309-310.
Li M, Liu M H, Xiao S H. Research progress on anti-tumor effects of flavonoids [J]. J Luzhou Med Coll, 2011, 34(3): 309-310.
- [3] 周媛媛, 仲伯华, 史卫国. 刺槐素的生物活性研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2014, 23(9): 1053-1056.
Zhou Y Y, Zhong B H, Shi W G. Progress in research of acacetin biologic properties [J]. Chin J New Drug, 2014, 23(9): 1053-1056.
- [4] 周玉芝, 洛若愚, 邢辉. 槐素通过下调NF- κ B/COX-2表达抑制卵巢癌细胞SKOV3增殖 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(7): 50-53.
Zhou Y Z, Luo R Y, Xing H. Acacetin inhibits cell proliferation by suppressing the NF- κ B/COX-2 expression in SKOV3 ovarian cancer cells [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2016, 18(7): 50-53.
- [5] Chien S T, Lin S S, Wang C K, et al. Acacetin inhibits the invasion and migration of human non-small cell lung cancer A549 cells by suppressing the p38 α MAPK signaling pathway [J]. Mol Cell Biochem, 2011, 350(1/2): 135-148.
- [6] 阮国栋. 亮氨酸拉链转录因子样1(LZTFL1)在胃癌中的表达及其作用机制的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015: 14-20.
Ruan G D. The expression of leucine zipper transcription factor-like 1 (LZTFL1) in gastric cancer and its mechanism of action [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015: 14-20.
- [7] Wang H, Tan Z Q, Hu H, et al. microRNA-21 promotes breast cancer proliferation and metastasis by targeting LZTFL1 [J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 738.
- [8] Wei Q, Chen Z H, Wang L, et al. LZTFL1 suppresses lung tumorigenesis by maintaining differentiation of lung epithelial cells [J]. Oncogene, 2016, 35(20): 2655-2663.
- [9] 阙祖俊, 武晓秋, 罗斌, 等. 肺癌转移基础研究与中国药转化研究展望 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2019, 21(5): 956-962.
Que Z J, Wu X Q, Luo B, et al. Prospects of basic research on lung cancer metastasis and transformation research on traditional Chinese medicine [J]. World Sci Tech Mod Tradit Chin Med, 2019, 21(5): 956-962.

- [10] 袁选举, 邓守恒. 中医药在治疗恶性肿瘤中的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(9): 2232-2234.
- Yuan X J, Deng S H. Research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of malignant tumors [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2019, 30(9): 2232-2234.
- [11] Prasad N, Sharma J R, Yadav U C S. Induction of growth cessation by acacetin via β -catenin pathway and apoptosis by apoptosis inducing factor activation in colorectal carcinoma cells [J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(2): 987-1001.
- [12] Sun F, Li D, Wang C, et al. Acacetin-induced cell apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma cells: Evidence for the role of muscarinic M3 receptor [J]. Phytother Res, 2019, 33(5): 1551-1561.
- [13] Zeng W, Zhang C, Cheng H, et al. Targeting to the non-genomic activity of retinoic acid receptor-gamma by acacetin in hepatocellular carcinoma [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 348.
- [14] Punia R, Raina K, Agarwal R, et al. Acacetin enhances the therapeutic efficacy of doxorubicin in non-small-cell lung carcinoma cells [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e182870.
- [15] Li S, Li J, Yu Z. Tumor suppressive functions of LZTFL1 in hepatocellular carcinoma [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12(1): 5537-5544.
- [16] Wang L, Guo J, Wang Q, et al. LZTFL1 suppresses gastric cancer cell migration and invasion through regulating nuclear translocation of β -catenin [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(12): 1997-2008.
- [17] 郭巨锋. 新抑癌基因 LZTFL1 在胃癌转移中的作用及其机制的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 27-34.
- Guo J F. The role and mechanism of the new tumor suppressor gene LZTFL1 in gastric cancer metastasis [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014: 27-34.

[责任编辑 兰新新]