

黄芩茎叶总黄酮对结肠癌 HCT116 细胞凋亡、迁移和侵袭的影响

唐敏¹, 戴仕林^{2*}, 周礼仕¹, 邵思颖¹, 严宝飞²

1. 四川卫生康复职业学院, 四川 自贡 643000

2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 研究黄芩茎叶总黄酮(SBTF)对结肠癌HCT116细胞凋亡、迁移和侵袭的影响。方法 采用CCK8法检测SBTF(5、10、20、50、100、200、400、600 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对HCT116细胞增殖的影响; Annexin V/PI双染法检测SBTF(80、120、160 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)对HCT116细胞凋亡的影响; JC-1染色法检测SBTF对细胞线粒体膜电位的影响; Transwell小室迁移和侵袭实验检测SBTF对细胞迁移和侵袭的影响; Western blotting法检测SBTF对细胞凋亡、迁移和侵袭相关蛋白表达的影响。结果 与对照组比较, SBTF可明显抑制HCT116细胞增殖, 干预24、48 h后的半数抑制浓度(IC_{50})值分别为156.50、98.59 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; SBTF显著提高HCT116细胞凋亡率($P < 0.05$ 、 0.01); SBTF明显促进HCT116细胞线粒体膜电位改变; SBTF显著降低HCT116细胞迁移和侵袭率($P < 0.05$ 、 0.01); SBTF显著上调HCT116细胞的Bax/Bcl-2值和cleaved Caspase-3蛋白表达($P < 0.05$ 、 0.01), 显著下调MMP-2、MMP-9蛋白表达($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 SBTF可通过诱导HCT116细胞凋亡和抑制细胞迁移、侵袭发挥抗结肠癌作用。

关键词: 黄芩茎叶; 总黄酮; 结肠癌HCT116细胞; 凋亡; 迁移; 侵袭

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)05-0902-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.05.012

Effect of total flavonoids in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf on apoptosis, migration and invasion of colon cancer cells

TANG Min¹, DAI Shilin², ZHOU Lishi¹, SHAO Siying¹, YAN Baofei²

1. Sichuan Vocational College of Health and Rehabilitation, Zigong 643000, China

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To investigate the effects of total flavonoids in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf (SBTF) on the apoptosis, migration and invasion process of colon cancer HCT116 cells. **Methods** The effects of SBTF (5, 10, 20, 50, 100, 200, 400 and 600 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) on HCT116 cells proliferation were detected by CCK8 assay. The effects of SBTF (80, 120, 160 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) on cell apoptosis were detected by Annexin V/PI double staining. The effects of SBTF on mitochondrial membrane potential (MMP) were detected by JC-1 staining. The effects of SBTF on cell migration and invasion were detected by Transwell migration and invasion test. The effects of SBTF on the expression of apoptosis, migration and invasion related proteins were detected by Western blotting. **Results** Compared with control group, SBTF could significantly inhibit the proliferation of HCT116 cells, and the IC_{50} values after 24 h and 48 h were 156.50 and 98.59 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. SBTF significantly enhanced apoptosis of HCT116 cells ($P < 0.05$ and 0.01). SBTF could promote the change of MMP in HCT116 cells. SBTF effectively inhibited migration and invasion of HCT116 cells ($P < 0.05$ and 0.01). SBTF significantly up-regulated the expressions of Cleaved Caspase-3 and the ratio of Bax/Bcl-2 in HCT116 cells ($P < 0.05$ and 0.01), and significantly down-regulated the expressions of MMP-2 and MMP-9 in HCT116 cells ($P < 0.05$ and 0.01). **Conclusion** SBTF could play an anti-colon cancer role by regulating the process of apoptosis, migration and invasion of HCT116 cells.

Key words: *Scutellaria baicalensis* stem-leaf; total flavonoids; colon cancer; apoptosis; migration; invasion

收稿日期: 2021-09-04

基金项目: 自贡市人工种植中药资源现状调查研究(CWKY-2018Z-03); 江苏省科技成果转化专项项目(BA2018002)

第一作者: 唐敏, 女, 讲师, 主要从事中药资源学研究。E-mail: james.zeng@qq.com

*通信作者: 戴仕林, 男, 讲师, 主要从事中药资源学研究。E-mail: zyzyxhly@126.com

结肠癌是一种由饮食、遗传、不良生活习惯等因素诱发的结肠上皮来源消化道恶性肿瘤,其发病早期无明显症状,但随着疾病进展,可能引起患者器官功能障碍、黄疸、头晕头痛、呼吸困难等^[1-2]。近年来,我国结肠癌的发病率及致死率呈现上升趋势,对人民群众的生命健康造成极大的影响^[3]。手术、化疗及靶向治疗为当前临床治疗结肠癌的一线治疗手段,但仍存在复发率高、副作用大、成本高等诸多缺点,导致整体预后并不理想。大量证据显示,传统中药及其成分发挥抗肿瘤作用具有疗效确切和安全性高等特点,因而在治疗肿瘤领域已逐渐成为研究与临床实践热点^[4]。

黄芩茎叶是唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的茎和叶,亦是我国民间食用历史悠久的别样茶之一,具有清热燥湿、泻火解毒之功,因而有“黄金茶”之美称^[5]。据报道,黄芩茎叶中化学成分种类与黄芩相似,均以丰富的黄酮类成分为主,仅在含量上有差异^[6]。亦有研究显示,黄芩茎叶具有解热镇痛、抗肿瘤、抗炎、免疫调节等显著药理作用^[7]。当前,在传统大宗药材黄芩的生产与加工过程中,生物量数倍于根的黄芩茎叶往往被废弃,造成了极大的资源浪费、生态污染等重大经济、生态与社会问题^[8]。因此,进一步研究与开发黄芩茎叶的资源迫在眉睫。本研究拟探讨黄芩茎叶抗肿瘤作用,以人结肠癌 HCT116 细胞为对象,从细胞凋亡、迁移和侵袭角度研究黄芩茎叶总黄酮(SBTF)的抗结肠癌作用,以期为黄芩茎叶资源进一步开发与利用提供基础。

1 材料

1.1 细胞株

人结肠癌 HCT116 细胞购自美国典型培养物保藏中心(ATCC 细胞库),应用 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清)进行细胞培养,置于饱和湿度、5% CO₂、37 °C 恒温细胞培养箱。

1.2 药物及试剂

SBTF(批号 DC210503,总黄酮质量分数 ≥ 54%),购自南京秋实生物科技有限公司,制备工艺为:黄芩茎叶以 12 倍量 40% 乙醇热回流提取 3 次,每次 1 h,大孔树脂纯化(柱径高比为 1:3,30% 乙醇洗脱);DMSO(批号 V900090)、DMEM 培养基(批号 D6429)、Annexin V-FITC/PI 双染试剂盒(批号 APOAF),均购自德国默克 Sigma-aldrich 公司;CCK8 试剂盒(批号 ab228554),英国 Abcam 公司;JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒(批号 BL711A),购

自 Biosharp 公司;Transwell 嵌套(批号 01212337)、Transwell 小室(批号 01212004),均购自美国 Costar 公司;Matrigel 基质胶(批号 356234),购自美国 BD 公司;Giemsa 染液(批号 C0133),购自江苏碧云天公司;胎牛血清(批号 10099141C)、PVDF 膜(批号 LC2002)、BCA 蛋白定量试剂盒(批号 23246),均购自美国 Thermo 公司;Bcl-2 抗体(批号 15071T)、Bax 抗体(批号 5023T)、cleaved Caspase-3 抗体(批号 9661T)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)抗体(批号 40994S)、MMP-9 抗体(批号 13667T)、β-actin 抗体(批号 4970S)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG 抗体(批号 32935S),均购自美国 CST 公司。

1.3 主要仪器

CO₂ 培养箱,德国 IRM 公司;PLUS-E2-20TJ 型超纯水系统,南京易普易达有限公司;TS100 型倒置显微镜、TS2R 型浮雕反差倒置荧光显微镜,日本尼康公司;Calibur 型流式细胞仪,美国 BD 公司;MultiskanMK3 型酶联免疫检测仪,美国 Thermo 公司;MINI-4 小型垂直电泳仪,美国伯乐公司。

2 方法

2.1 CCK8 法检测细胞存活率

收集对数生长期的 HCT116 细胞,以每孔 100 μL(细胞数为 5 × 10³)接种于 96 孔板,培养 24 h 后弃去培养基,再分别加入 100 μL 含有 0.1% DMSO(对照组)及含 SBTF 质量浓度为 5、10、20、40、100、200、400、600 μg · mL⁻¹ 的 DMEM 培养,每组 3 个复孔。空白孔不接种细胞,24、48 h 后弃去培养基,加入 20 μL 的 CCK8 溶液,孵育 2 h,最后采用酶标仪测定 450 nm 处 A 值。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.2 Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡率

收集对数生长期的 HCT116 细胞,以每孔 2 mL(细胞数为 4 × 10⁵)接种于 6 孔板中培养 24 h 后,随机分成 4 组:对照组(含 0.1% DMSO 培养基)和 SBTF 80、120、160 μg · mL⁻¹ 组。培养 24 h 后 1000 r · min⁻¹ 离心 10 min 收集各组细胞,PBS 洗涤 2 次,加入 500 μL Binding Buffer 重悬细胞,加入 5 μL Annexin V/FITC 染液,混匀后再加入 PI 染液,充分混合后室温避光孵育 15 min,采用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.3 JC-1 染色法检测线粒体膜电位变化

细胞培养及分组同“2.2”项,培养 24 h 后用 PBS 洗涤细胞 2 次,随后每孔加入 40 μL 无血清培养

基和 40 μL JC-1 工作液,充分混匀后避光孵育 20 min,弃液,用 JC-1 缓冲液洗涤细胞,加入 40 μL 细胞培养液后立即在倒置荧光显微镜下观察、拍照。

2.4 Transwell 细胞迁移实验

收集对数生长期的 HCT116 细胞,以每孔 200 μL (细胞数为 5×10^4) 接种于 24 孔板 Transwell 小室上层,随机分成 4 组,分组及给药同“2.2”项,随后将 600 μL 含 10% 胎牛血清的 DMEM 加入各组 Transwell 小室下层。24 h 后弃去培养基, PBS 洗涤 3 次,用棉签去掉小室上层细胞,4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗涤 3 次,随后加入 Giemsa 染色 30 min, PBS 洗涤 3 次,采用倒置显微镜观察随机选择 3 个视野并拍照,计算穿膜细胞数,按“2.2”项下得到的各浓度平均凋亡率扣除凋亡细胞,计算细胞迁移率。

细胞迁移率 = 穿膜细胞数 / 存活细胞总数

2.5 Transwell 小室侵袭实验

用稀释后的 Matrigel 胶(无血清培养基 1:8 稀释)均匀平铺在 Transwell 小室上室内(每孔 50 μL),培养箱孵育后,按“2.4”项步骤进行细胞侵袭实验。

细胞侵袭率 = 穿膜细胞数 / 存活细胞总数

2.6 Western blotting 法检测 Bax、Bcl-2、cleaved Caspase-3、MMP-9、MMP-2 的蛋白表达

细胞培养及分组同“2.2”项,24 h 后提取总蛋白,随后进行 SDS-PAGE 电泳,每孔 30 μg 蛋白量,最后将蛋白转印到 PVDF 膜上。待 5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h 后,加入相应的一抗(1:1 000)4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育, TBST 洗膜 4 次后与 HRP 标记的二抗(1:10 000)孵育 2 h, TBST 洗膜 4 次, ECL 化学发光法显影和定影, ChemiScope 3300 mini 化学发光成像系统采集图像, ClinXChemi 图像软件进行分度值分析,以 β -actin 为内参对照,计算各个蛋白条带的相对表达水平。

2.7 数据处理与分析

实验结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 21.0 及 Graphpad Prism 8.0.2 软件处理数据及做图,多组间采用 One-Way ANOVA 分析。

3 结果

3.1 SBTf 对 HCT116 细胞增殖的影响

结果如图 1 所示, SBTf 对 HCT116 细胞增殖有明显的抑制作用,其干预 24、48 h 后半数抑制浓度 (IC_{50}) 值分别为 156.50、98.59 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,且作用呈浓度和时间相关性。

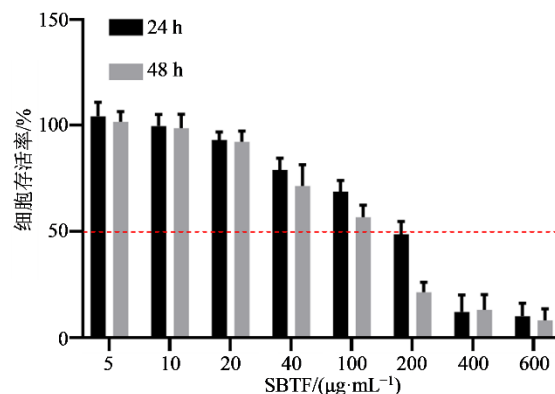


图1 SBTf 对 HCT116 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effects of SBTf on cell viability of HCT116 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.2 SBTf 对 HCT116 细胞形态学的影响

SBTF 对 HCT116 细胞形态学的影响如图 2 所示,对照组 HCT116 细胞呈上皮细胞样贴壁生长,当加入 80 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SBTf 时,开始出现少量凋亡细胞,而随着 SBTf 给药浓度增加,细胞形态出现变化,体积缩小并与周围细胞脱离,出现数量更多的凋亡细胞,表明 SBTf 可诱导 HCT116 细胞凋亡。

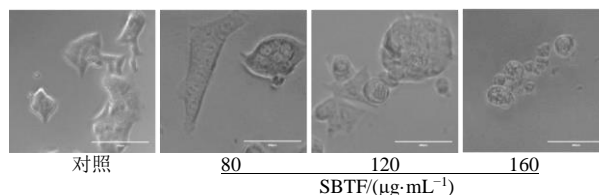


图2 SBTf 对 HCT116 细胞形态的影响

Fig. 2 Effects of SBTf on cell morphology of HCT116 cells

3.3 SBTf 对 HCT116 细胞凋亡的影响

Annexin V/PI 双染结果如图 3 所示,与对照组比较,80、120、160 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SBTf 显著促进 HCT116 细胞的凋亡 ($P < 0.05$ 、 0.01),表明 SBTf 可诱导 HCT116 细胞凋亡,并呈现浓度相关性。

3.4 SBTf 对 HCT116 细胞线粒体膜电位的影响

JC-1 染色法检测 HCT116 细胞线粒体膜电位变化,结果如图 4 所示,对照组以红色荧光为主,说明该组细胞线粒体膜电位处于正常状态,而 80、120、160 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SBTf 组的红色荧光逐渐减弱,绿色荧光逐渐增强, Merge 亦呈现变绿趋势,说明 SBTf 组细胞线粒体膜电位发生了改变。

3.5 SBTf 对 HCT116 细胞迁移与侵袭的影响

结果如图 5 所示,与对照组比较,80、120、160 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SBTf 组 HCT116 细胞穿越 Transwell 小室的细胞数量显著减少,细胞迁移率显著降

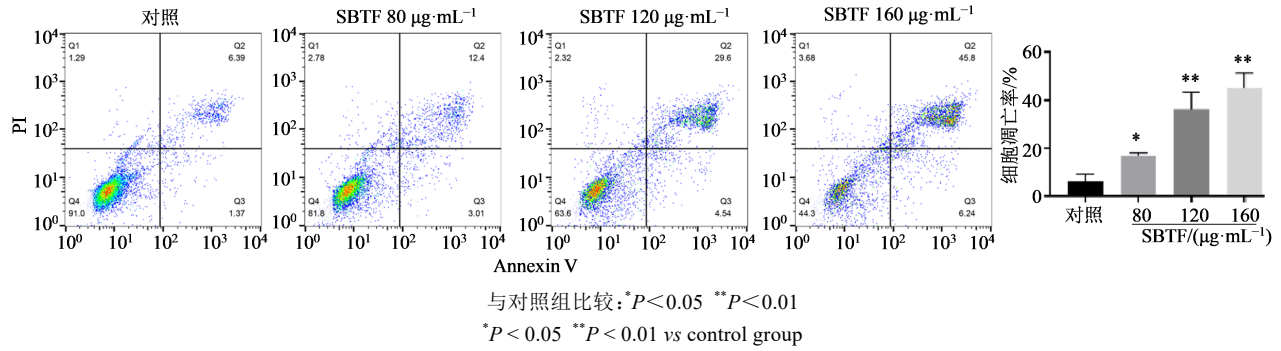


图3 SBTF对HCT116细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Effects of SBTF on apoptosis of HCT116 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

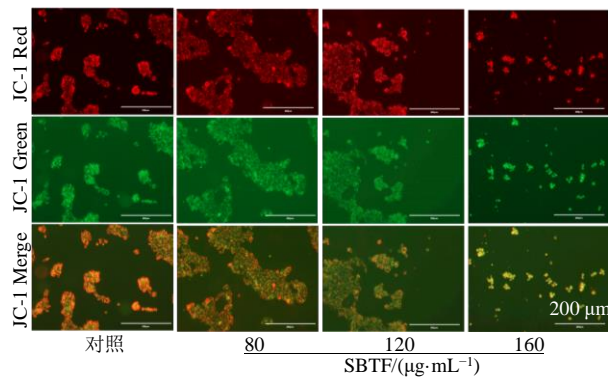


图4 SBTF对HCT116细胞线粒体膜电位的影响

Fig. 4 Effects of SBTF on mitochondrial membrane potential of HCT116 cells

低($P < 0.05, 0.01$),表明SBTF可有效抑制HCT116细胞的迁移,且作用呈现浓度相关性。

Transwell侵袭实验结果如图6所示,与对照组比较,80、120、160 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ SBTF组HCT116细胞穿越Transwell小室的细胞数量明显变少,细胞侵袭率显著降低($P < 0.05, 0.01$),表明SBTF可有效抑制HCT116细胞的侵袭,作用亦呈现浓度相关性。

3.6 SBTF对HCT116细胞凋亡、迁移和侵袭相关蛋白表达的影响

Western blotting结果如图7所示,与对照组比较,80、120、160 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ SBTF组HCT116细胞Bax/

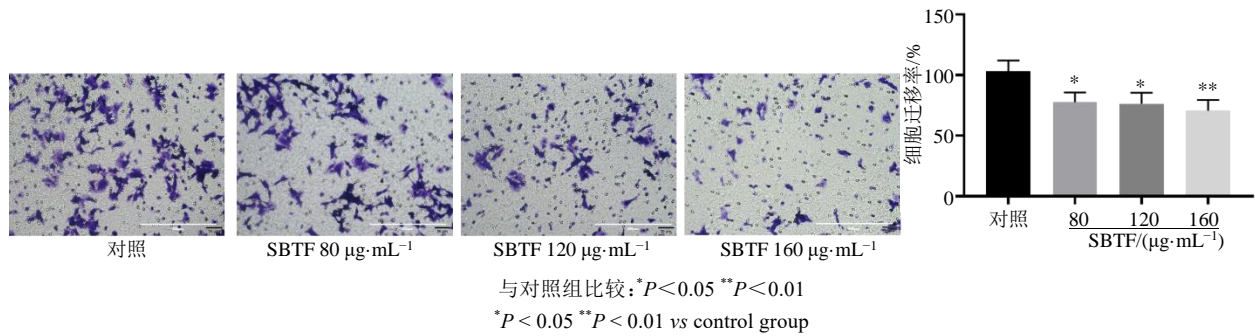


图5 SBTF对HCT116细胞迁移能力的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Effect of SBTF on migration of HCT116 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

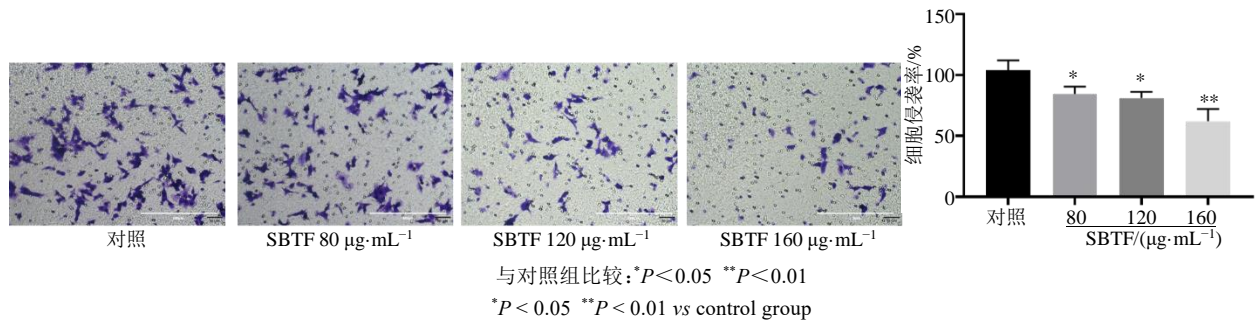


图6 SBTF对HCT116细胞侵袭能力的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Effect of SBTF on invasion of HCT116 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

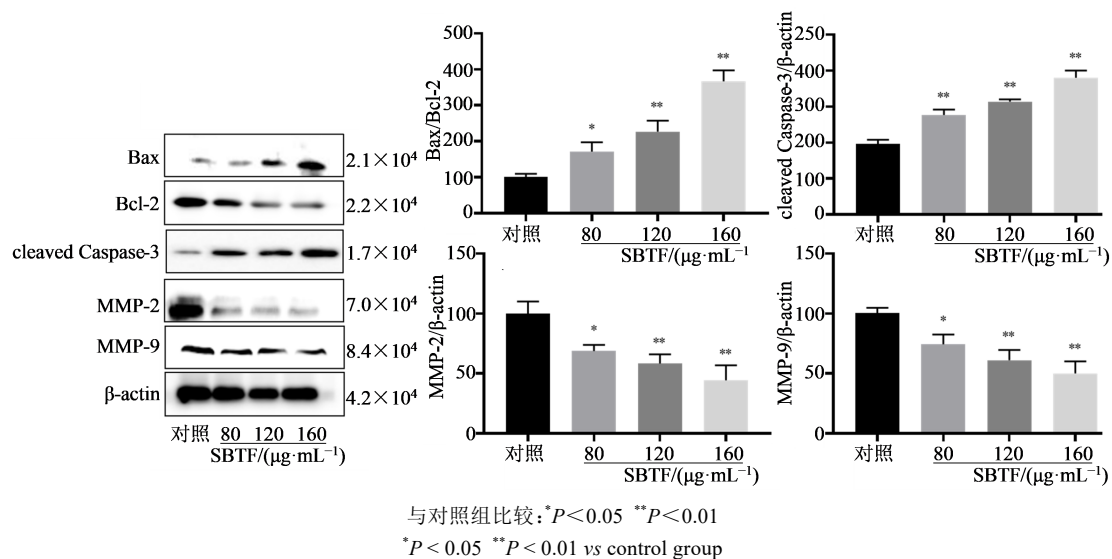


图7 SBTF对HCT116细胞蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig. 7 Effects of SBTF on expression of proteins in HCT116 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Bcl-2 值和 cleaved Caspase-3 蛋白表达显著上调 ($P < 0.05, 0.01$), MMP-2、MMP-9 蛋白表达显著下调 ($P < 0.05, 0.01$)。表明 SBTF 能够浓度相关性

4 讨论

黄酮类成分泛指两个苯环通过 $C_6-C_3-C_6$ 三碳链相连接而成的一系列化学成分,广泛分布于药用植物中,是中医药发挥临床功效的重要物质基础之一^[9]。黄酮类成分药理作用丰富且毒副作用较低,大量证据表明其可通过多种靶点、多种途径发挥抗肿瘤作用^[9]。课题组前期研究发现,黄芩茎叶中主要含有野黄芩苷、黄芩苷、汉黄芩苷、芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷、千层纸素 A 等黄酮类成分^[10]。据报道,野黄芩苷可通过调节 PTEN/PI3K 通路抑制胃癌的生长及上皮间质转化进程^[11]。黄芩苷能够增加肺癌细胞 miR-340-5p 的表达,进而发挥抗肿瘤作用^[12]。汉黄芩苷通过 IRE1 α /TRAF2/ASK1 通路诱导胃癌细胞内质网应激相关细胞死亡,从而表现出抗肿瘤活性^[13]。千层纸素 A 可能通过 PTEN/PI3K/Akt 通路影响胆囊癌增殖、迁移、侵袭和诱导其凋亡^[14]。以上研究表明,SBTF 中多种黄酮类成分具有确切的抗肿瘤作用,但对于 SBTF 及其单体成分对结肠癌的作用鲜有报道。基于此,本研究以结肠癌细胞 HCT116 为对象,从细胞凋亡、迁移和侵袭角度探讨 SBTF 的抗结肠癌作用。

细胞凋亡是细胞在生理或病理条件下,调控一系列基因的激活、表达等,自主有序的结束自身生命的过程^[15]。细胞凋亡因其为一种程序性死亡而被认为是杀伤肿瘤细胞的最佳途径,这亦是大部分

的上调 HCT116 细胞的 Bax、cleaved Caspase-3 表达和下调 Bcl-2、MMP-2、MMP-9 表达,进而诱导细胞凋亡及抑制细胞迁移、侵袭。

化疗药物发挥抗肿瘤作用的主要机制^[16]。线粒体途径是细胞凋亡发生的主要途径之一,Bcl-2 家族促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 是控制线粒体凋亡因子释放的主要调节因子^[17]。Bax 一般存在于细胞质中,而 Bcl-2 主要存在于线粒体膜上,当线粒体凋亡启动时,Bax 重新定位于线粒体膜上,故 Bax/Bcl-2 的变化可证实细胞进入线粒体凋亡进程^[18]。线粒体凋亡启动后,将进一步激活凋亡最终执行蛋白 Caspase-3,最终使凋亡进入不可逆阶段^[19]。本研究发现,SBTF 可改变 HCT116 细胞线粒体膜电位,且浓度相关性地上调 Bax/Bcl-2 值和 Cleaved Caspase-3 表达,提示 SBTF 可通过线粒体途径诱导结肠癌细胞发生凋亡。

恶性肿瘤的转移是其疾病的固有特征之一,转移性结肠癌常发生于肝、肺、骨、淋巴结和脑^[20]。据统计,大约 25% 结肠癌患者会发生局部或远处转移,生存率分别为 71% 和 14%^[20-21]。尽管在诊断和治疗方面取得了重大进展,但大约 50% 的结肠癌患者会在 5 年内复发并死于该疾病,中晚期肿瘤转移是治疗失败和疗效不佳的根本原因^[21-22]。肿瘤细胞的迁移和侵袭是肿瘤转移的重要过程,肿瘤细胞黏附和基底膜的降解亦是肿瘤转移的必要条件与前提,而 MMPs 家族几乎能降解细胞外基质中的各种蛋白成分,对肿瘤细胞侵袭的组织学屏障产生破坏,进而干预肿瘤的迁移和侵袭过程^[23]。有证据表

明,IV型胶原蛋白是细胞外基质和基底膜的主要成分,高表达的MMP-9和MMP-2通过降解结肠癌细胞中IV型胶原蛋白,进而降低基底膜的屏障作用,最终加速结肠癌的迁移和侵袭^[24-25]。本研究结果显示,SBTF浓度相关地下调HCT116细胞MMP-2、MMP-9表达,从而抑制细胞的迁移和侵袭。

SBTF可通过诱导细胞凋亡和抑制细胞迁移、侵袭进程发挥抗结肠癌作用,其作用具有多靶点、多途径的特点。本研究结果可为黄芩茎叶的资源循环利用提供一定基础,亦为抗结肠癌药物的研发提供思路。后续将纳入更为全面的上下游分子与信号通路,以期深入揭示SBTF的抗结肠癌作用机制。除此之外,亦将考察黄芩茎叶中黄酮类单体成分或成分群,以期揭示各成分间的协同、加和甚至拮抗作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Otani K, Kawai K, Hata K, et al. Colon cancer with perforation [J]. Surg Today, 2019, 49(1):15-20.
- [2] Jahanafrooz Z, Mosafar J, Akbari M, et al. Colon cancer therapy by focusing on colon cancer stem cells and their tumor microenvironment [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(5): 4153-4166.
- [3] 毛跃伟, 杨松鹏, 高磊, 等. 奥沙利铂联合卡培他滨治疗晚期结肠癌的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(14): 1286-1288, 1292.
Mao Y W, Yang S P, Gao L, et al. Clinical trial of oxaliplatin combined with capecitabine in the treatment of advanced colon cancer [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2016, 32(14): 1286-1288, 1292.
- [4] 李小江, 邬明歆, 孔凡铭, 等. 中药有效成分抗肿瘤活性及作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2587-2592.
Li X J, Wu M X, Kong F M, et al. Review of anti-tumor activity and mechanism of Chinese materia medica active ingredients [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(9): 2587-2592.
- [5] 严宝飞, 刘嘉, 段金廛, 等. 基于UPLC法和网络药理学的黄芩茎叶防治新型冠状病毒肺炎潜在作用机制研究 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(6): 991-1002.
Yan B F, Liu J, Duan J N, et al. Study on potential mechanism of *Scutellaria baicalensis* stem-leaf to COVID-19 based on ultra high performance liquid chromatography and network pharmacology [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(6): 991-1002.
- [6] 严宝飞, 朱邵晴, 宿树兰, 等. 不同产地黄芩茎叶UPLC指纹图谱与化学模式识别研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(6): 633-638.
Yan B F, Zhu S Q, Su S L, et al. UPLC fingerprint and chemical pattern recognition method of *Scutellaria baicalensis* stem-leaf from different regions [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2017, 33(6): 633-638.
- [7] 张雅蓉, 徐犇, 李纳, 等. 响应面法优化黄芩茎叶对照提取物纯化工艺及其特征图谱研究 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(5): 654-661.
Zhang Y R, Xu B, Li N, et al. Response surface methodology for optimizing purification technology and characteristic map of control extracts from stems and leaves of *Scutellaria baicalensis* [J]. Mod Chin Med, 2019, 21(5): 654-661.
- [8] 段金廛, 唐志书, 吴启南, 等. 中药资源产业化过程循环利用适宜技术体系创建及其推广应用 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(1): 20-28.
Duan J N, Tang Z S, Wu Q N, et al. Establishment of technical system for resource recycling utilization during industrialization process of Chinese medicinal materials and its application [J]. Mod Chin Med, 2019, 21(1): 20-28.
- [9] 杨楠, 贾晓斌, 张振海, 等. 黄酮类化合物抗肿瘤活性及机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(3): 373-381.
Yang N, Jia X B, Zhang Z H, et al. Advance in studies on anti-cancer activity and mechanism of flavonoids [J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40(3): 373-381.
- [10] Yan B F, Xu W J, Su S L, et al. Comparative analysis of 15 chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf from different regions in China by ultra-high performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2017, 40(18): 3570-3581.
- [11] Li F, Wang S P, Niu M X. Scutellarin inhibits the growth and EMT of gastric cancer cells through regulating PTEN/PI3K pathway [J]. Biol Pharm Bull, 2021, 44(6): 780-788.
- [12] Zhao F C, Zhao Z X, Han Y R, et al. Baicalin suppresses lung cancer growth phenotypes via miR-340-5p/NET1 axis [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1699-1707.
- [13] Gu Q, Zhu C H, Wu X, et al. Wogonoside promotes apoptosis and ER stress in human gastric cancer cells by regulating the IRE1 α pathway [J]. Exp Ther Med, 2021, 21(4): 411.
- [14] Xuan L Q, Zhang J J, Ji J M, et al. Oroxylin A exerts its antitumor effects in human gallbladder cancer via inhibition of the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway [J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(10): 1511-1518.

- [15] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制 [J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(2): 103-107.
Li M, Lin J. The apoptotic pathways and their mechanisms [J]. J Int Obstet Gynecol, 2014, 41(2): 103-107.
- [16] Jan R, Chaudhry G E. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics [J]. Adv Pharm Bull, 2019, 9(2): 205-218.
- [17] Delbridge A R, Grabow S, Strasser A, et al. Thirty years of BCL-2: Translating cell death discoveries into novel cancer therapies [J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(2): 99-109.
- [18] Zhang C T, Huang C C, Yang P P, et al. Eldecalcitol induces apoptosis and autophagy in human osteosarcoma MG-63 cells by accumulating ROS to suppress the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Cell Signal, 2021, 78: 109841.
- [19] Günther C, Martini E, Wittkopf N, et al. Caspase-8 regulates TNF- α -induced epithelial necroptosis and terminal ileitis [J]. Nature, 2011, 477(7364): 335-339.
- [20] Zhou M, Liu X J, Li Z H, et al. Caspase-3 regulates the migration, invasion and metastasis of colon cancer cells [J]. Int J Cancer, 2018, 143(4): 921-930.
- [21] Yuan L, Zhou M M, Huang D W, et al. Resveratrol inhibits the invasion and metastasis of colon cancer through reversal of epithelial-mesenchymal transition via the AKT/GSK-3 β /Snail signaling pathway [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(3): 2783-2795.
- [22] Vences-Catalán F, Levy S. Immune targeting of tetraspanins involved in cell invasion and metastasis [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1277.
- [23] 王宇, 姜修博, 韩豆, 等. 竹节香附素 A 对人结肠癌细胞 HCT-116 增殖、凋亡、迁移及侵袭活性的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(2): 123-130.
Wang Y, Jiang X B, Han D, et al. Effects of raddeanin A on proliferation, apoptosis, migration and invasion of human carcinoma colon cell line HCT-116 [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2018, 29(2): 123-130.
- [24] 邱承俊, 程帆. MMP-2 基因对前列腺癌细胞恶性表型的影响及其机制研究 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(4): 365-370.
Qiu C J, Cheng F. Effect of MMP-2 gene on malignant phenotype of prostate cancer cells and its mechanism [J]. J Clin Exp Med, 2018, 17(4): 365-370.
- [25] 吴凌梅, 王庆云, 魏雁, 等. 前列腺癌中 CXCL8、MMP9、VEGF 的表达及其在骨转移中的意义 [J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(11): 156-157.
Wu L M, Wang Q Y, Wei Y, et al. Expression of CXCL8, MMP9 and VEGF in prostate cancer and their significance in bone metastasis [J]. J Prev Med Chin Peop Lib Arm, 2019, 37(11): 156-157.

[责任编辑 兰新新]