

## 天然产物 gochnatiolide A 对人前列腺癌 DU145 细胞增殖和凋亡的影响及机制研究

钟祥龙<sup>1</sup>, 吕超<sup>2</sup>, 沈云亨<sup>3</sup>, 张卫东<sup>1,2,3\*</sup>

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 320000

2. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海 201203

3. 第二军医大学药学院, 上海 200433

**摘要:** 目的 研究兔儿风属植物中天然产物 gochnatiolide A 抗前列腺癌 DU145 细胞的作用及机制。方法 采用 CCK-8 法和克隆形成实验检测 gochnatiolide A 对 DU145 细胞增殖的影响; DAPI 染色法观察细胞凋亡形态; 流式细胞仪检测 gochnatiolide A 对 DU145 细胞凋亡和周期的影响; Western blotting 法检测 gochnatiolide A 对 DU145 细胞内活化的多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (cleaved-PARP)、活化的半胱氨酸蛋白酶 9 (cleaved Caspase-9)、p53、Bcl-2、核转录因子  $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65) 和核转录因子  $\kappa$ B 抑制蛋白  $\alpha$ 、 $\beta$  (IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$ ) 表达的影响。结果 与对照组比较, gochnatiolide A 能够显著抑制 DU145 细胞增殖, 其 12、24、48 h 的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 值分别为 4.15、2.80、1.74  $\mu$ mol/L。Gochnatiolide A 可以浓度依赖性地促进细胞凋亡, 阻滞细胞周期于 G<sub>2</sub> 期和 S 期; 可以显著促进凋亡蛋白 cleaved-PARP、cleaved Caspase-9 和 p53 蛋白表达, 抑制 Bcl-2 蛋白表达, 抑制 NF- $\kappa$ B 通路中 NF- $\kappa$ B p65、IKK $\alpha$  和 IKK $\beta$  蛋白的表达。结论 Gochnatiolide A 具有很好的抑制 DU145 细胞增殖及促进凋亡的作用, 其机制可能与抑制 NF- $\kappa$ B 通路有关。

**关键词:** gochnatiolide A; DU145 细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; NF- $\kappa$ B 通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)12-2908-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.12.024

## Effects and mechanism of natural product gochnatiolide A on proliferation and apoptosis of human prostate cancer DU145 cells

ZHONG Xiang-long<sup>1</sup>, LV Chao<sup>2</sup>, SHEN Yun-heng<sup>3</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>1,2,3</sup>

1. Department of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 320000, China

2. Institute of Interdisciplinary Integrative Medicine Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

3. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects and mechanism of gochnatiolide A from *Ainsliaea* in anti-prostate cancer. **Methods** The activities of gochnatiolide A on the proliferation of DU145 cells were tested by CCK-8 and colony formation experiments. Apoptosis morphological changes of cells were observed by DAPI staining. The apoptosis and cell cycle were evaluated by flow cytometry. The expressions of cleaved Poly ADP ribose polymerase (cleaved-PARP), cleaved cystein-containing aspartate specific protease 9 (cleaved Caspase-9), tumor suppressor protein (p53), b cell lymphoma-2 (Bcl-2), transcription factors- $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65) and I $\kappa$ B kinase  $\alpha$ ,  $\beta$  (IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ ) proteins in DU145 cells were investigated by western blotting. **Results** The natural product gochnatiolide A significantly inhibited the proliferation of prostate cancer DU145 cells, with IC<sub>50</sub> values of 4.15, 2.80 and 1.74  $\mu$ mol/L at 12 h, 24 h, and 48 h, respectively. Meanwhile, gochnatiolide A promoted DU145 cells apoptosis and induced cell cycle arrest at G<sub>2</sub> and S phases in a concentration dependent manner. In addition, gochnatiolide A also up-regulated apoptosis proteins cleaved-PARP, cleaved Caspase-9 and p53 proteins, and down-regulated Bcl-2 protein. Comparing the control group, the expression of NF- $\kappa$ B p65, IKK $\alpha$  and IKK $\beta$  proteins in the NF- $\kappa$ B pathway were decreased after treatment with gochnatiolide A. **Conclusion** The natural product gochnatiolide A remarkably inhibited the proliferation and promoted apoptosis in DU145 cells, and the possible mechanism was related

收稿日期: 2019-01-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81573318)

作者简介: 钟祥龙 (1992—), 男, 硕士研究生, 主要从事天然药物抗肿瘤作用研究。E-mail: xlzhong\_ah@163.com

\*通信作者 张卫东, 教授, 博士生导师, 主要从事天然药物抗肿瘤药效、靶标发现及机制等研究。E-mail: wdzhangy@hotmail.com

to the inhibition of NF- $\kappa$ B pathway.

**Key words:** gochnatiolide A; human prostate cancer DU145 cells; cell proliferation; cell apoptosis; NF- $\kappa$ B pathway

前列腺癌是欧美男性发病率最高的恶性肿瘤,也是中国近年来发病率和病死率升高速度最快的恶性肿瘤,已经成为严重影响老年男性健康的问题之一<sup>[1]</sup>。目前还没有明确用于根治前列腺癌的方法,手术和放疗是临床上常用的治疗手段,但都存在一定的局限性,治疗后的存活率不高,并发症较多<sup>[2]</sup>。在癌症化疗药物中约 50%是直接来源于天然产物或其衍生物<sup>[3]</sup>。因此,从天然产物以及中药中寻找可以治疗前列腺癌的药物具有很好的研究前景。

兔儿风属 *Ainsliaea* DC. 植物属于菊科 (Compositae) 帚菊木族,全世界约有 70 种,分布于亚洲东南部。我国有 44 种,4 个变种,除 1 种产于东北外,其余均产于长江流域及其以南各省区<sup>[4]</sup>。兔儿风属药用植物种类较多,其中有 20 余种可入药,广泛用于治疗感冒咳嗽、风湿痹痛、跌打损伤、肠炎痢疾、咽喉炎、泌尿系统及妇科疾病等<sup>[5]</sup>。化合物 gochnatiolide A 是兔儿风属植物中提取出的单体化合物,对黑色素瘤 UACC-62 细胞、胶质瘤 U251 细胞、乳腺癌 MCF-7 细胞及前列腺癌 PC-3 细胞等具有很好的增殖抑制作用<sup>[6]</sup>。但目前 gochnatiolide A 对前列腺癌 DU145 细胞的药理活性及抗肿瘤的作用机制研究尚未见报道。本实验研究 gochnatiolide A 对 DU145 细胞增殖、凋亡及周期的影响,并探讨其作用机制。

## 1 材料

### 1.1 药物及细胞

Gochinatiolide A<sup>[7]</sup>由第二军医大学药学院天然药物化学教研室沈文亨副教授提供并鉴定,结构式见图 1。将 gochnatiolide A 用 DMSO 配制成 10 mmol/L 储存液,−20 °C 保存备用。

DU145 细胞来源于美国模式培养物集存库 (ATCC)。

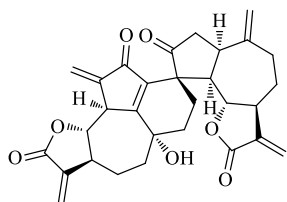


图 1 Gochinatiolide A 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of gochnatiolide A

### 1.2 试剂与仪器

DMEM 高糖培养基、胰酶、二甲基亚砜 (DMSO)、青霉素链霉素双抗 (美国 Gbico 公司);胎牛血清 (美国 Science cell 公司);磷酸盐缓冲液 PBS (美国 Hyclone 公司);蛋白酶抑制剂 Cocktail、磷酸酶抑制剂 (美国 Selleck 公司);蛋白定量试剂盒、DAPI、Triton X-100 (中国碧云天生物技术公司)。p53 抗体购自美国 Proteintech 公司;  $\beta$ -actin、核转录因子  $\kappa$ B 抑制蛋白  $\alpha$  (IKK $\alpha$ )、IKK $\beta$ 、Bcl-2、活化的半胱氨酸蛋白酶 9 (cleaved Caspase-9)、活化的多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (cleaved-PARP) 和核转录因子  $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65) 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;山羊抗兔和驴抗小鼠二抗均购自香港 IRDye 800CW 公司。实验所用试剂规格均为分析纯。

Epoch 全波长酶标仪 (美国 Biotek 公司); PowerPac Basic 电泳仪、PVDF 膜、TC10 细胞计数仪 (美国 Bio-Rad 公司); Allegra 64R Centrifuge 超高速离心机 (美国 Beckman 公司); Milli-Q Reference 超纯水制备系统 (美国 Millipore 公司); HF90 CO<sub>2</sub> 培养箱、超净台 (香港 Heal Force 公司); Leica TCS SP8 X 显微镜 (德国 Leica 公司); BD FACSCalibur 流式细胞仪 (美国 Becton Diskon 公司); Odyssey FC 双色红外激光成像系统 (香港 Gene Company Limited 公司)。

## 2 方法

### 2.1 CCK-8 法检测细胞增殖

DU145 细胞培养于含 10%胎牛血清、1%青霉素、1%链霉素的 DMEM 培养基中,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱培养。取对数生长期的 DU145 细胞进行胰酶消化并收集细胞,按照每孔 100  $\mu$ L ( $1 \times 10^4$  个细胞)接种于 96 孔培养板内,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

培养 12 h 细胞完全贴壁后,进行细胞给药。实验设置空白组、对照组和 gochnatiolide A 不同浓度给药组 (0.25、0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00  $\mu$ mol/L),每组均设 3 个复孔。空白组只加入 DMEM 培养基不接种细胞,对照组加入 DMEM 培养基并接种细胞。分别培养 12、24、48 h 后,每孔依次加入 10  $\mu$ L CCK-8 试剂,避光孵育 2 h。采用酶标仪在

450 nm 波长下测定其吸光度 ( $A$ ) 值, 计算细胞增殖抑制率, 通过 GraphPad Prism 6.0 软件计算半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ), 重复测试 3 次, 取平均值<sup>[8]</sup>。

$$\text{细胞增殖抑制率} = 1 - (A_{\text{药物}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

## 2.2 平板克隆形成实验

取对数生长期的 DU145 细胞, 胰酶消化并收集细胞, 以  $2 \times 10^3$  个/孔接种于 6 孔培养板中, 设 2 个复孔。培养 12 h 后, 加入不同浓度 gochnatiolide A (0.01、0.05、0.10、0.50、1.00  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞, 对照组加入等体积 DMSO 溶液。培养 24 h 后换液, 后续每 3 天换液 1 次。第 10 天观察细胞形态, 当单个细胞形成集落, 则弃去上层培养液, 加入 500  $\mu\text{L}$  多聚甲醛 (PFA) 固定, 室温孵育 5 min。弃去 PFA 后加入 0.05% 的结晶紫染色, 室温孵育 30 min。超纯水洗涤 3 次至背景清晰, 显微镜下观察并拍照保存<sup>[9-10]</sup>。

## 2.3 显微镜下观察细胞形态

取对数生长期的 DU145 细胞, 胰酶消化并收集细胞, 以  $8 \times 10^5$  个/孔接种在 6 孔培养板中, 继续培养 12 h 后加入不同浓度 gochnatiolide A (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞, 对照组加入等体积 DMSO 溶液, 设 3 个复孔。培养 24 h 后, 显微镜下观察细胞形态, 并在不同倍数下 ( $5 \times 10$ 、 $10 \times 10$ ) 拍照并保存。

## 2.4 DAPI 染色法观察细胞凋亡形态

收集 DU145 细胞, 以  $8 \times 10^5$  个/孔接种在 6 孔培养板中, 继续培养 12 h 后加入不同浓度 gochnatiolide A (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞, 对照组加入等体积 DMSO 溶液, 设 2 个复孔。继续培养 24 h 后, 弃去上清液, 用预冷的 PBS 清洗 3 遍, 4% PFA 固定 10 min。除去 PFA, 加入含 0.1% Triton X100 的 PBS 溶液洗涤 10 min, 除去 Triton X100, 加入 DAPI 0.5  $\mu\text{g/mL}$  避光室温染色 10 min, 细胞脱水、封片, 荧光显微镜 ( $\times 200$ ) 观察细胞凋亡形态<sup>[11]</sup>。

## 2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期

收集 DU145 细胞, 以  $8 \times 10^5$  个/孔接种在 6 孔培养板中, 继续培养 12 h 后加入不同浓度 gochnatiolide A (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞, 对照组加入等体积 DMSO 溶液, 设 3 个复孔。培养 24 h 后, 收集细胞。检测细胞凋亡时, 每组样品各加入 PI 染色液 2  $\mu\text{L}$ 、Annexin V 染色液 2  $\mu\text{L}$  和 PBS 300  $\mu\text{L}$ , 混匀后置于室温避光孵育 30 min, 采用流式细胞仪检测<sup>[12]</sup>。检测细胞周期时, 每组样品加入 Reagent A 液 300  $\mu\text{L}$  和 Reagent B 液 2  $\mu\text{L}$ , 混匀后

避光孵育 30 min, 采用流式细胞仪检测<sup>[13]</sup>。

## 2.6 Western blotting 法检测蛋白表达

取对数生长期的 DU145 细胞, 胰酶消化并收集。以  $5 \times 10^6$  个/皿接种于 10 cm 培养皿中。培养 12 h 后, 加入不同浓度 gochnatiolide A (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理细胞, 对照组加入等体积 DMSO 溶液。培养 24 h 后收集细胞, 加入适量的细胞裂解液, 置于冰上裂解 15 min 后离心取上清, 采用 BCA 法定量总蛋白。SDS-PAGE 电泳分离蛋白样品后, 转膜, 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h, 孵育一抗 cleaved-PARP (1:1 000)、cleaved Caspase-9 (1:1 000)、Bcl-2 (1:1 000)、p53 (1:1 000)、NF- $\kappa\text{B}$  p65 (1:1 000)、IKK $\alpha$  (1:1 000)、IKK $\beta$  (1:1 000) 和  $\beta$ -actin (1:2 000) 过夜, 孵育二抗 2 h, 采用 Odyssey 双色红外激光成像系统进行扫膜<sup>[14]</sup>。

## 2.7 统计学分析

实验结果中数据采用 SPSS 16.0 统计分析软件进行分析, 以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组间比较采用 Student's  $t$  检验, 组间差异采用单因素方差分析。

## 3 结果与分析

### 3.1 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞增殖的影响

结果如图 2 所示, 与对照组比较, 随着时间的延长及 gochnatiolide A 浓度的升高, 细胞增殖抑制率逐渐升高, 具有明显的时间和浓度依赖性, 12、24、48 h 的  $IC_{50}$  值分别为 4.15、2.80、1.74  $\mu\text{mol/L}$ 。

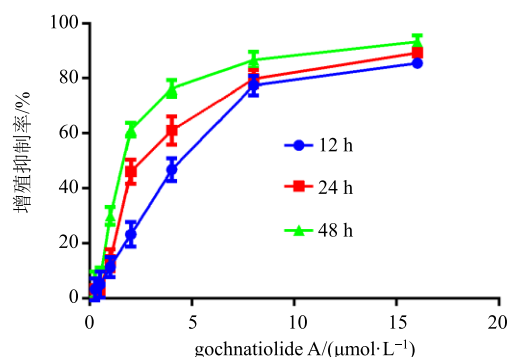


图2 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 2 Effect of gochnatiolide A on proliferation of DU145 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3.2 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞克隆形成的影响

Gochnatiolide A (0.01、0.05、0.10、0.50、1.00  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 DU145 细胞 10 d 后, 观察到克隆细胞形成的集落有明显差异。结果如图 3 所示, 与对照组比较, DU145 细胞克隆形成率随 gochnatiolide A 浓度升高而下降, 呈现出明显的浓度依赖性, 当浓度

达到 1.00  $\mu\text{mol/L}$  时未见细胞克隆形成。

### 3.3 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞形态的影响

结果如图 4 所示,与对照组比较,gochnatiolide A 各浓度组 DU145 细胞生长受到明显的抑制,且随着 gochnatiolide A 浓度的升高,细胞生长抑制程度越显著,细胞数量明显减少。当 gochnatiolide A 浓度达到 8  $\mu\text{mol/L}$  时,细胞明显开始皱缩、体积减小,

呈现凋亡形态。

### 3.4 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞凋亡的影响

DAPI 染色结果如图 5 所示,对照组细胞核染色均匀,呈低荧光强度。Gochnatiolide A 各浓度组细胞出现浓缩的染色体和凋亡小体,细胞密度降低,荧光强度显著增加,表明 gochnatiolide A 能够诱导 DU145 细胞凋亡。

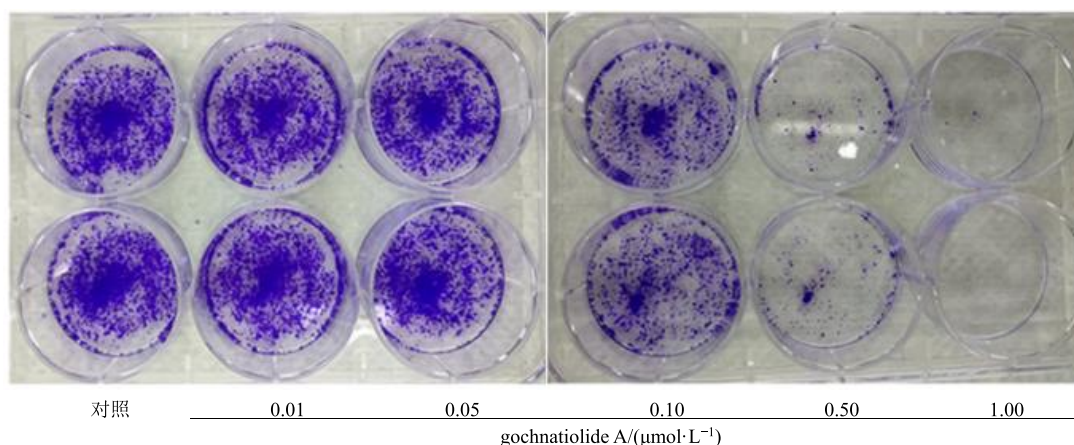


图 3 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞克隆形成的影响

Fig. 3 Effect of gochnatiolide A on colony formation of DU145 cells

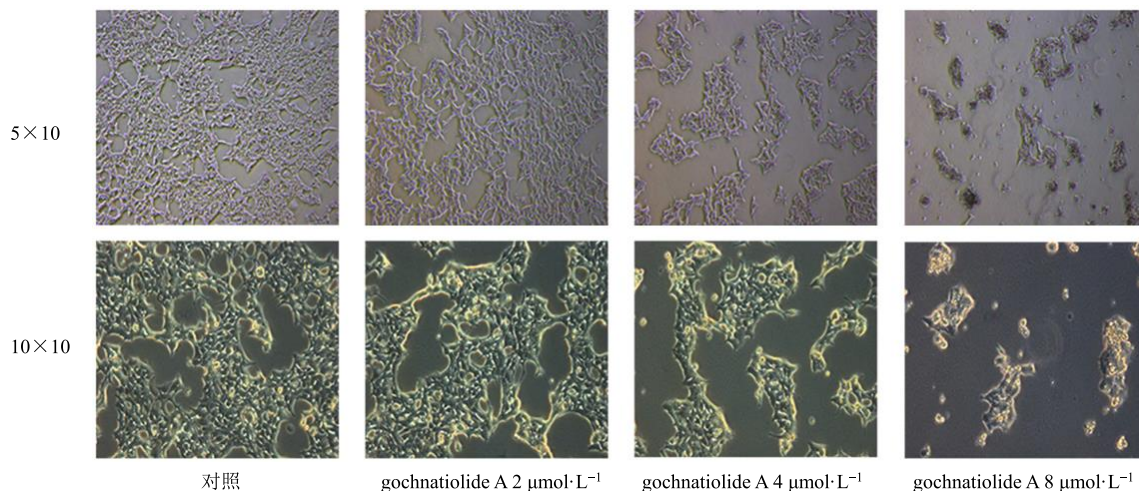


图 4 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞形态的影响

Fig. 4 Effect of gochnatiolide A on morphology of DU145 cells

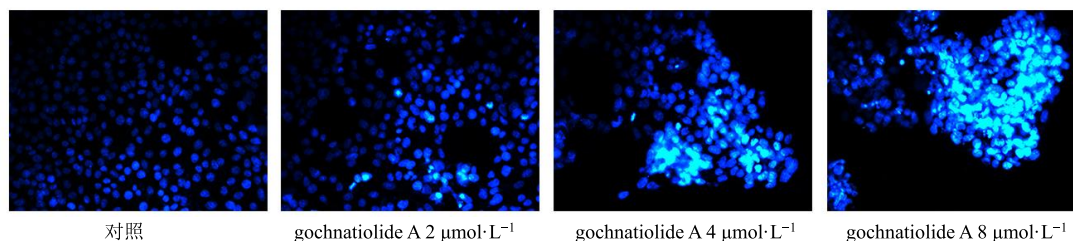


图 5 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞凋亡形态的影响

Fig. 5 Effect of gochnatiolide A on apoptosis morphology of DU145 cells



流式细胞仪检测结果如图 6 所示, 与对照组比较, 不同浓度 gochnatiolide A (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 DU145 细胞 24 h 后, 可以明显诱导细胞凋亡, 凋亡率差异显著 ( $P < 0.05$ 、0.01), 高浓度组凋亡率达到 64.95%, 且具有较明显的浓度依赖性。

### 3.5 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞周期的影响

结果如图 7 所示, 不同浓度 gochnatiolide A (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 DU145 细胞 24 h 后, 与对照组比较, 各组细胞  $G_1$  期、 $G_2$  期与 S 期的比例随给药浓度增加呈现明显的梯度变化 ( $P < 0.05$ 、0.01),  $G_1$  期细胞逐渐减少,  $G_2$  期与 S 期细胞逐渐增多, 表明 gochnatiolide A 可以显著地将细胞周期阻滞于  $G_2$  期和 S 期。

### 3.6 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

结果如图 8 所示, 与对照组比较, gochnatiolide A 可以浓度依赖性的上调促凋亡蛋白 cleaved-PARP、cleaved Caspase-9 和 p53 蛋白的表达量 ( $P < 0.01$ ), 降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白的表达量 ( $P < 0.05$ 、0.01), 显示出明确的促 DU145 细胞凋亡的效果。

### 3.7 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞 NF- $\kappa$ B 通路蛋白表达的影响

结果如图 9 所示, 与对照组比较, gochnatiolide A 能够明显降低 IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$  和 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ 、0.01), 表明 gochnatiolide A 促进 DU145 细胞凋亡, 可能与下调 NF- $\kappa$ B 通路有关。

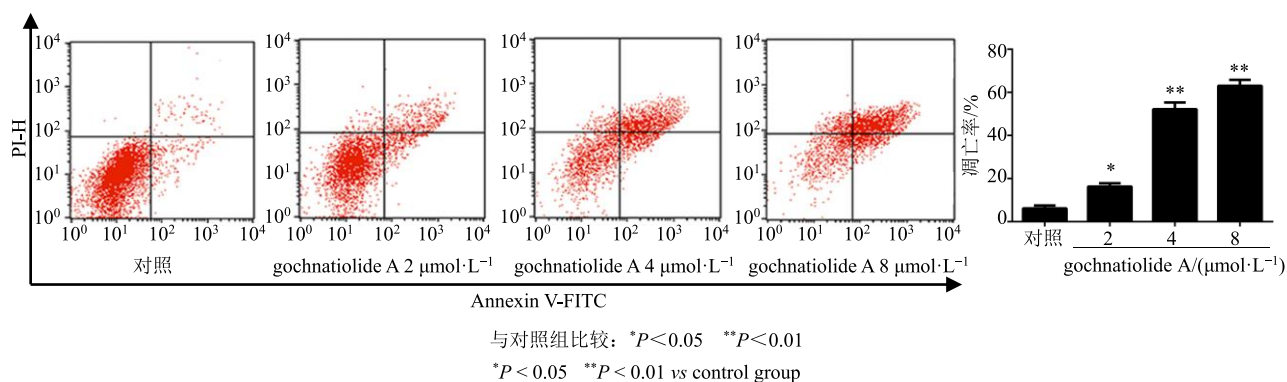


图 6 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 6 Effect of gochnatiolide A on apoptosis of DU145 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

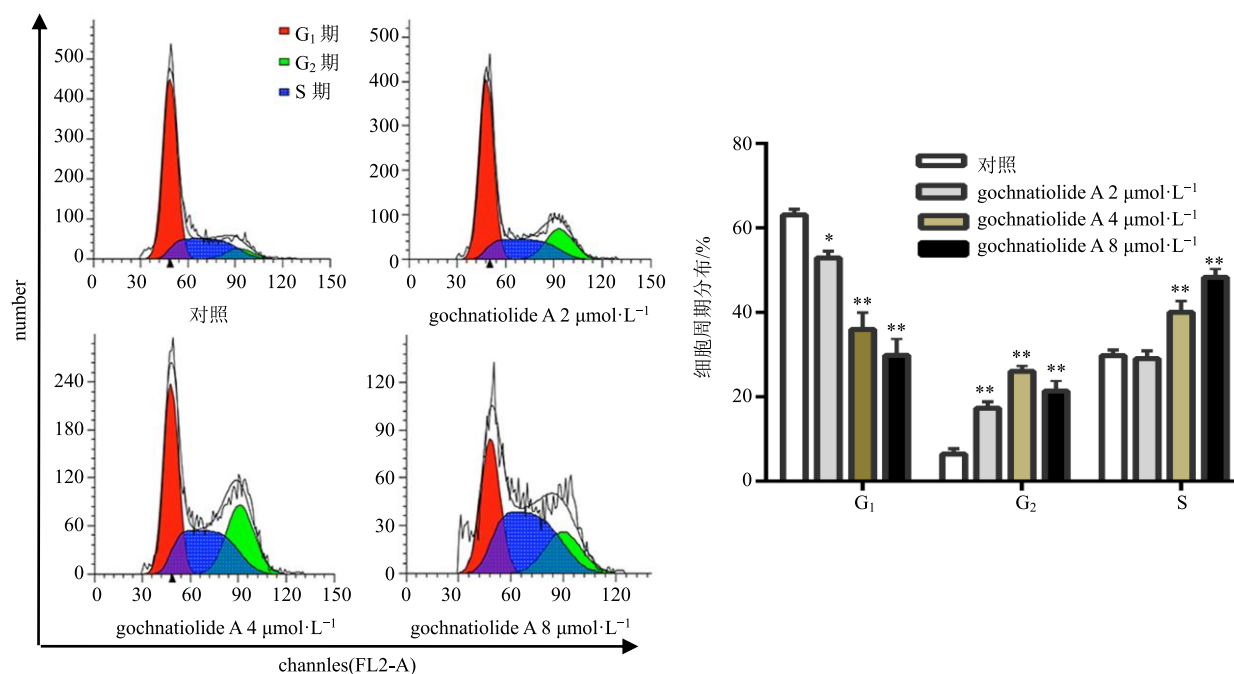


图 7 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞周期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 7 Effect of gochnatiolide A on cell cycle of DU145 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

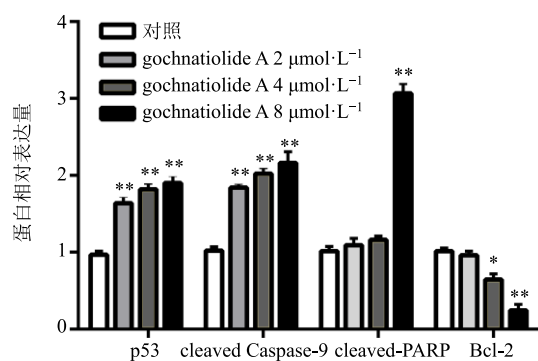
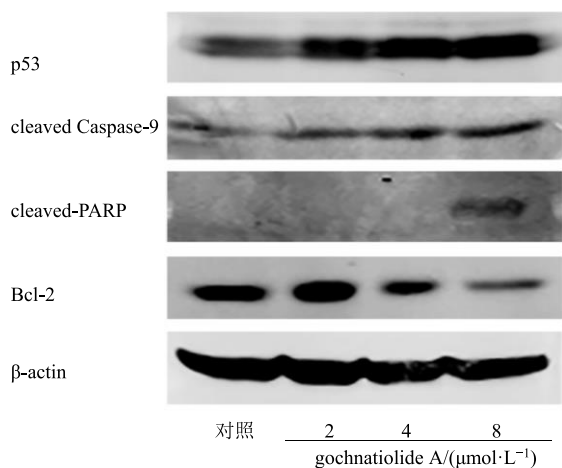


图 8 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞凋亡蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 8 Effects of gochnatiolide A on protein expression of apoptosis in DU145 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

#### 4 讨论

前列腺癌是我国近年来发病率迅速增加的男性恶性肿瘤之一，其晚期易发生骨转移而产生剧烈骨痛，严重影响了患者的生存质量，中医药作为前列腺癌手术及放化疗的辅助治疗手段，具有很大的优势<sup>[15]</sup>。近年来中药及其有效成分抗癌研究工作取得了一系列的成果，中药的疗效也在逐渐被认可，已成为肿瘤医学的研究热点之一<sup>[16]</sup>。本课题主要研究天然产物 gochnatiolide A 对 DU145 细胞增殖和凋亡的影响，结果显示随着 gochnatiolide A 浓度的增加，DU145 细胞增殖抑制率升高；早期和晚期凋亡细胞比例显著增多；细胞周期 G<sub>2</sub> 和 S 期明显受到阻滞，表明 gochnatiolide A 在体外对 DU145 细胞具有很好的抗肿瘤活性。

多数抗肿瘤药物是通过诱导细胞凋亡杀死肿瘤细胞，一些凋亡基因如 p53、cleaved Caspase-9、Bcl-2、cleaved-PARP 等与肿瘤细胞凋亡密切相关，是研究促肿瘤细胞凋亡机制的重要靶蛋白<sup>[17]</sup>。肿瘤

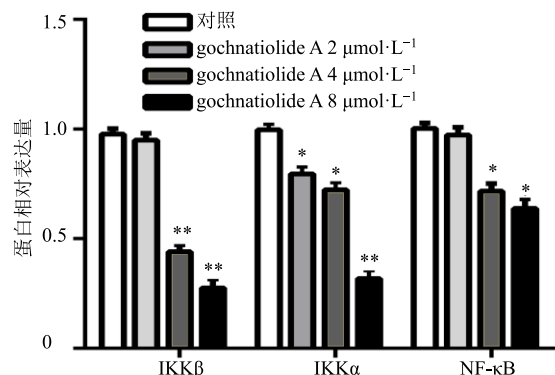
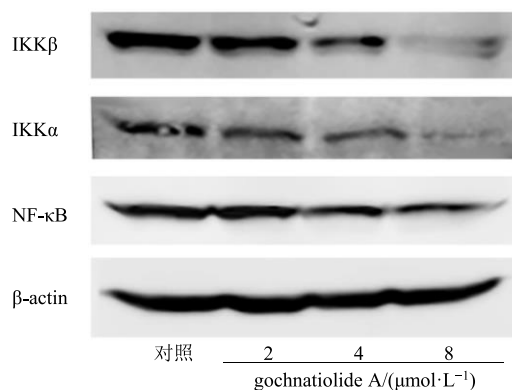


图 9 Gochnatiolide A 对 DU145 细胞 NF-κB 通路蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 9 Effects of gochnatiolide A on protein expression of NF-κB pathway in DU145 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

抑制基因 p53 可以通过激活凋亡通路从而诱导细胞发生凋亡，cleaved Caspase-9、cleaved-PARP 是促进细胞凋亡的蛋白，也可以激活凋亡通路<sup>[18]</sup>。Bcl-2 属于原癌基因，是目前公认的抗凋亡靶点，可阻断多种原因导致的细胞凋亡过程，在很多癌细胞中都有高表达，降低 Bcl-2 表达水平有利于抗肿瘤<sup>[19]</sup>。本研究发现 gochnatiolide A 可以提高促凋亡蛋白 p53、cleaved Caspase-9、cleaved-PARP 的表达水平，降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 蛋白表达水平，具有明确的诱导 DU145 细胞凋亡的作用。

NF-κB 是一类重要的具有多向转录调节作用的核蛋白因子，其激活可以影响体内细胞分化、炎症反应、肿瘤生长等多种生物学功能。NF-κB 家族是由 5 种相关转录因子构成，NF-κB p65 是其中之一，NF-κB p65 可以形成同聚物或异聚物，继而调控基因表达。IκB 激酶是由 3 个亚基 IKKα、IKKβ 和 IKKγ 组成，IKKα、IKKβ 对于 IκB 激酶的磷酸化非常重要，对于激活 NF-κB 通路起到关键作用<sup>[20]</sup>。NF-κB 通路跟很多疾病有关，其过度激活会引起疾病。NF-κB 通路相关蛋白在很多肿瘤细胞中都会高表

达, 下调 NF- $\kappa$ B 通路可以促进肿瘤细胞凋亡。本研究发现 gochnatiolide A 能够浓度依赖性的降低 DU145 细胞中 NF- $\kappa$ B p65、IKK $\alpha$  和 IKK $\beta$  蛋白的表达水平。因此 gochnatiolide A 诱导 DU145 细胞凋亡的作用机制可能与下调 NF- $\kappa$ B 通路有关。

综上所述, 本研究首次报道了 gochnatiolide A 对 DU145 细胞具有抑制增殖和促进凋亡的作用, 具有很好的抗前列腺癌活性, 其可能机制与下调 NF- $\kappa$ B 通路相关, 为抗前列腺癌药物开发提供了实验依据。

#### 参考文献

- [1] 孙颖浩, 高旭. 前列腺癌诊断和治疗的百年演变史 [J]. 上海医学, 2017(7): 391-395.
- [2] Cjd W, Glaser A, Hu J C, *et al.* Survival and complications following surgery and radiation for localized prostate cancer: An international collaborative review [J]. *Eur Urol*, 2017, doi: 10.1016/j.eururo.2017.05.055
- [3] Newman D J, Cragg G M. Newman D J, *et al.* Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(3): 311-335.
- [4] Blunt J W, Copp B R, Munro M H, *et al.* Marine natural products [J]. *Nat Prod Rep*, 2008, 25(1): 35-94.
- [5] Charan R D, Garson M J, Brereton I M, *et al.* Haliclonaacyclamines A and B, cytotoxic alkaloids from the tropical marine sponge *Haliclona* sp [J]. *Tetrahedron*, 1996, 52(27): 9111-9120.
- [6] Strapasson R L B, Cervi A C, Carvalho J E, *et al.* Bioactivity-guided isolation of cytotoxic sesquiterpene lactones of *Gochnatia polymorpha* ssp. *floccosa* [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(7): 1053-1056.
- [7] Xiong H P, Wu Z J, Chen D S, *et al.* A dimeric sesquiterpene, gochnatiolide A [J]. *Acta Crystallogr E*, 2009, doi: 10.1107/S1600536809042743.
- [8] Cheng Z, Yuan X, Qu Y, *et al.* Bruceine D inhibits hepatocellular carcinoma growth by targeting  $\beta$ -catenin/Jagged1 pathways [J]. *Cancer Lett*, 2017, doi: 10.1016/j.canlet.2017.06.014.
- [9] Khan G N, Kim E J, Shin T S, *et al.* Heterogeneous cell types in single-cell-derived clones of MCF7 and MDA-MB-231 cells [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(5): 2343-2354.
- [10] 余展鹏, 宋方茗, 蔡琰, 等. 黄芩素对鼻咽癌 CNE2 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 879-884.
- [11] 葛宇清, 杨波, 程汝滨, 等. 隐丹参酮对 K562 细胞凋亡的影响及其机制 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3188-3194.
- [12] 高美玲, 孙彦君, 付露, 等. 小叶莲中 graphislactone A 的分离制备及其抗肿瘤作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 167-172.
- [13] Lv C, Zeng H W, Wang J X, *et al.* The antitumor natural product tanshinone IIA inhibits protein kinase C and acts synergistically with 17-AAG [J]. *Cell Death Dis*, 2018, doi: 10.1038/s41419-017-0247-5.
- [14] Xie Q, Wu G Z, Yang N, *et al.* Delavatine A, an unusual isoquinoline alkaloid exerts anti-inflammation on LPS-induced proinflammatory cytokines production by suppressing NF- $\kappa$ B activation in BV-2 microglia [J]. *Biochem Bioph Res Commun*, 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.144.
- [15] 李小江, 李洋洋, 牟睿宇, 等. 中医药治疗前列腺癌骨转移的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(4): 965-969.
- [16] Lin Y E, Jia Y, Ke J I, *et al.* Traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of cancer and cancer metastasis [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(3): 1240-1250.
- [17] 张元. 鬼臼毒素衍生物 CIP-36 抗肿瘤多药耐药作用机制研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.
- [18] Dong Y, Cao A, Shi J, *et al.* Tangeretin, a citrus polymethoxyflavonoid, induces apoptosis of human gastric cancer AGS cells through extrinsic and intrinsic signaling pathways [J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(4): 1788-1794.
- [19] Wang Y Y, Yang Y X, Zhao R, *et al.* Bardoxolone methyl induces apoptosis and autophagy and inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and stemness in esophageal squamous cancer cells [J]. *Drug De Dev Ther*, 2015, doi: 10.2147/DDDT.S73493.
- [20] 唐惠玲. NF- $\kappa$ B 信号传导与疾病研究进展 [J]. 黑龙江医药科学, 2012, 35(5): 34-36.