

• 论著-实验研究 •

异阿魏酸抑制人肾癌细胞 A-498 增殖和诱导 凋亡的机制研究*

张启发¹ 刘旺¹ 刘剑新¹ 邱瑾¹ 张勇¹ 田长海¹ 韩孝洲¹ 于澎¹

[摘要] 目的:探究异阿魏酸(isoferulic acid, IFA)抑制人肾癌细胞 A-498 增殖,诱导细胞凋亡的作用机制。方法:本研究通过克隆形成实验和 CCK-8 增殖检测实验考察 IFA 对人肾癌细胞 A-498 增殖能力的影响;用 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测 IFA 对 A-498 细胞凋亡的影响;用免疫印迹法检测 IFA 对 PARP 和 caspase-3 活性的影响,并测定 IFA 对 β -catenin 和 c-Myc 蛋白表达水平的影响。结果:IFA 显著抑制人肾癌细胞 A-498 细胞克隆的增殖活性,促进 A-498 细胞凋亡,并诱导 cleaved PARP 和 cleaved caspase-3 的表达;同时,IFA 可以剂量依赖地下调 β -catenin 和 c-Myc 的表达,诱导细胞凋亡。结论:IFA 下调 β -catenin 和 c-Myc 的表达,诱导 A-498 细胞凋亡,抑制 A-498 细胞增殖,是治疗肾癌的潜在候选化合物。

[关键词] 异阿魏酸;人肾癌细胞;凋亡;c-Myc

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2021.07.009

[中图分类号] R737.11 **[文献标志码]** A

Effect of isoferulic acid on inhibiting cell proliferation and inducing cell apoptosis in human renal carcinoma cell A-498

ZHANG Qifa LIU Wang LIU Jianxin QIU Jin ZHANG Yong TIAN Changhai
HAN Xiaozhou YU Peng

(Department of Urology, Shanghai Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai, 200082, China)

Corresponding author: ZHANG Qifa, E-mail: zqf513@163.com

Abstract Objective: To investigate the effect of isoferulic acid (IFA) on the cell proliferation and apoptosis of human renal carcinoma cell A-498. **Methods:** The effect of IFA on the cell proliferation of A-498 cells was detected by colony formation assay and cell counting kit-8 assay. Annexin V-FITC/PI double staining was used to detect the effect of IFA on the apoptosis of A-498 cells. Western blotting was used to detect PARP and caspase-3 activity as well as the expression of β -catenin and c-Myc. **Results:** IFA dose-dependently inhibited the proliferation of A-498 cells. IFA induced the apoptosis of A-498 cells and the expression of cleaved PARP and cleaved caspase-3 were increased upon treatment of IFA. In addition, IFA downregulated the expression of β -catenin and c-Myc in a dose-dependent manner. **Conclusion:** Our findings suggested that IFA downregulates the expression of β -catenin and c-Myc, promotes the apoptosis of human renal carcinoma cell A-498 and inhibits the proliferation of A-498 cells. IFA could be a potential candidate for the treatment of renal carcinoma.

Key words isoferulic acid; human renal cell carcinoma; apoptosis; c-Myc

肾癌是一种起源于肾实质泌尿小管上皮细胞的恶性肿瘤,在癌症领域中占有很大的比例,发病率与死亡率呈逐年上升趋势^[1]。多数肾癌具有较高的侵袭性,易发生复发性转移等。目前肾癌治疗手段匮乏,主要以综合性治疗为主,并通过辅助治疗降低复发风险。因此,寻找有效的药物作用靶点,开发新型治疗药物具有重要的科学意义。

异阿魏酸(isoferulic acid, IFA)是一种酚酸类

化合物,主要来源于毛茛科植物大三叶升麻、兴安升麻或升麻的干燥根茎,具有广泛的药理作用。IFA 能够降低血糖,抑制糖异生,调节血糖至正常水平;IFA 也具有抗菌消炎的作用,是流感病毒引起的肺炎治疗中的一种新型潜在化合物;亦有研究发现 IFA 具有抑制肿瘤的作用,能够与毛蕊异黄酮配伍组合协同抑制肝癌细胞的增殖等^[2]。而 IFA 是否抑制人肾癌细胞增殖尚未见报道。

细胞凋亡是细胞停止生长和增殖,最终死亡的一种程序性细胞死亡^[3]。肿瘤细胞的增殖与凋亡是抗肿瘤研究的重要方向。肿瘤细胞中凋亡途径的失调不仅能够促进肿瘤发生,而且能够促进肿瘤

*基金项目:上海中医药大学预算内科科研项目(No:2019LK050)

¹上海中医药大学附属上海市中西医结合医院泌尿外科(上海,200082)

通信作者:张启发, E-mail: zqf513@163.com

细胞获得抗药性,对抗药物治疗。细胞凋亡主要由一系列含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)的活化而被激活;其中 caspase-3、caspase-6、caspase-7 被称为执行者(executioner),它们能够直接降解细胞中结构蛋白等,从而引发凋亡,但无法通过自剪切的方式激活;而 caspase-8 和 caspase-9 等被称为启动者(initiator),能够通过自剪切而激活,引起 caspase 级联反应,激活 caspase 执行者,从而促使凋亡的发生^[4]。细胞凋亡受多种信号通路调控,包括 Wnt/ β -catenin 信号通路。 β -catenin 是信号通路中的一个重要的转录调节因子,Wnt 信号通路通过抑制胞质中的 β -catenin 降解,使其进入细胞核内进而激活下游效应分子引发凋亡^[-5-6]。因此,Wnt/ β -catenin 信号通路与肿瘤细胞凋亡密切相关。

本研究以人肾癌细胞 A-498 为研究对象,探究 IFA 对 A-498 细胞凋亡及 β -catenin 和 c-Myc 表达的影响。实验结果表明 IFA 能够抑制人肾癌细胞 A-498 的增殖,下调 β -catenin 和 c-Myc 的表达,诱导人肾癌细胞 A-498 凋亡。

1 材料与方法

1.1 试剂

IFA(CAS:537-73-5)购买于中国上海 Target Molecule 公司;DMEM 培养基、RPMI-1640 培养基、胰蛋白酶和 100 \times 青霉素/链霉素购买于美国 Thermo Fisher 公司;胎牛血清购自杭州天杭生物科技有限公司;抗体 cleaved PARP、cleaved caspase3、 β -catenin、c-Myc、GAPDH 和 Blue loading buffer 购自美国 Cell Signaling Technology 公司;Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒购买于上海贝博生物科技有限公司。人肾癌细胞系 A-498 和人胚胎肾细胞系 HEK293 购于美国模式菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)。

1.2 细胞培养

人肾癌细胞 A-498 和人胚胎肾细胞 HEK293 所用培养基为含有 10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的 DMEM 培养基。细胞置于 37 $^{\circ}$ C,5%二氧化碳培养箱中常规培养。观察细胞状态,在细胞生长至对数生长期时,及时进行传代、接种和冻存。

1.3 细胞凋亡检测

将状态良好的对数生长期的 A-498 细胞以 4×10^5 /孔接种在 12 孔板,过夜培养。次日更换新的完全培养基,加入不同浓度的 IFA(0 μ mol/L、2 μ mol/L、10 μ mol/L、50 μ mol/L),在 37 $^{\circ}$ C,5%二氧化碳恒温箱中培养,24 h 后收集细胞,并用 500 μ L Annexin V 结合缓冲液重悬细胞;然后在每个样品中加入 5 μ L Annexin V-FITC 染色液,混匀后避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,加入 10 μ L PI 染色液后混匀,避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 5 min。立刻用流式细胞仪

分析。

1.4 克隆形成实验

将处于对数生长期的 A-498 细胞收集起来,用培养基重悬,血球计数板计数,将细胞密度梯度稀释至 5×10^3 个/mL,取六孔板,每个孔加入 100 μ L 细胞悬液,再补加 1.9 mL 的培养液,加入不同浓度的 IFA(0 μ mol/L、0.1 μ mol/L、0.5 μ mol/L、2.5 μ mol/L),37 $^{\circ}$ C,5%二氧化碳培养 10 d 取出,弃上清,用 PBS 清洗 1 遍,每孔加入 1 mL 甲醇固定,固定 20 min 左右,吸掉甲醇,用结晶紫染色,20 min 后用清水将染色液洗去,晾干拍照。计数克隆数。

1.5 Cell Counting Kit-8 检测细胞存活率

将处于对数生长期的 A-498 细胞或 HEK293 细胞收集起来,用培养基重悬,计数后,以 2.5×10^5 /孔的密度将细胞接种于 96 孔板中,设置空白孔 Ab(只加培养基,无细胞)和对照孔 Ac(加入含有细胞的培养基,不加 IFA),待细胞贴壁后,加入不同浓度的 IFA(0 μ mol/L、2 μ mol/L、10 μ mol/L、50 μ mol/L),48 h 后每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂,测定 A450 值。细胞存活率(%)=[(As - Ab)/(Ac - Ab)] $\times 100\%$ (As:样品孔,Ab:空白孔,Ac:对照孔)。

1.6 免疫印迹分析

将处于对数生长期的 A-498 细胞以 1×10^6 个/孔接种至 6 孔板,过夜培养,待细胞长满约 80%~90%时,在各孔内加入不同浓度的 IFA,刺激后收样检测。将培养有细胞的孔板从培养箱中取出置于冰上,用预冷的 PBS 沿孔板壁轻轻清洗细胞 1 次,将 PBS 吸净弃去,加入 1 \times loading buffer 后,用细胞刮将细胞刮下,并收集在离心管中,放入超声仪中超声(超声功率 100 W,每次超声 3~5 s,间隔 10 s,超声 6 次),从而充分裂解细胞。根据 SDS-聚丙烯酰胺凝胶的配制方法配制分离胶和浓缩胶。

电泳:吸取等量裂解液上清加入胶孔,设置电泳电压为 80 V,电泳时间为 30 min,30 min 后样品压缩至分离胶与浓缩胶交界线,再调节电压至 120 V,电泳至所需条带到达胶板 3/4 处。转膜:停止电泳后,采用“滤纸-凝胶-膜-滤纸”夹心法,以 110 V 电压,80 min 在冰水浴中将凝胶上的蛋白转移到硝酸纤维素膜(NC)膜上。封闭:转膜结束后,将膜放入 5%牛奶的孵育盒中,在摇床上室温封闭 1~2 h。以 NC 膜上的蛋白为抗原,与对应的一抗孵育,4 $^{\circ}$ C 过夜,用 1 \times TNET buffer 以 5 min/次、5 次洗膜,再与二抗室温孵育结合 2 h,用 1 \times TNET buffer 以 7 min/次、3 次洗膜。将膜正面朝上放置在显影仪中,将配好的 ECL 底物均匀滴在对应的蛋白条带上,进行显色并拍照。

1.7 统计学方法

本研究中,实验数据均为至少 3 次独立重复实验结果,并用 $\bar{x} \pm s$ 来表示,用 GraphPad Prim 5 软件进行数据处理和分析,应用 One-way ANOVA 和 Tukey 检验比较组间差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

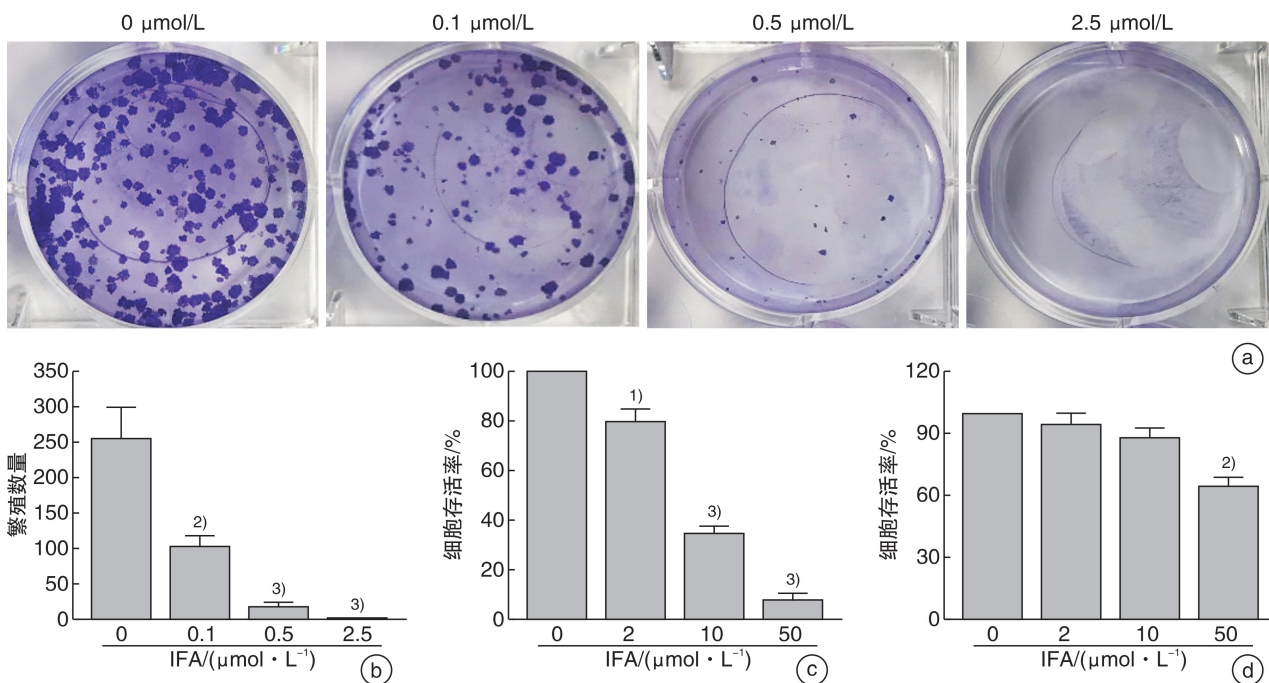
2.1 IFA 能够抑制人肾癌细胞 A-498 的增殖

恶性增殖是肿瘤的重要生物学特点之一,因此抑制肿瘤细胞的增殖是评价药物抗肿瘤活性的重要药效指标。我们前期通过对上海陶素生化科技有限公司单体化合物库抗肿瘤活性筛选,发现一种酚酸类化合物 IFA 对人肾癌细胞的增殖能力具有显著的抑制作用。如图 1a、b 所示,与对照组相比,加入 IFA(0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 、2.5 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 10 d 后能够显著抑制人肾癌细胞 A-498 的增殖活性;且 2.5 $\mu\text{mol/L}$ IFA 能够完全抑制细胞的增殖。为进一步验证 IFA 对人肾癌细胞 A-498 增殖能力的影响,我们使用了 Cell Counting Kit-8 (CCK-8)检测 IFA 对人肾癌细胞 A-498 增殖活性的抑制作用,如图 1c 所示,与不给予 IFA 组相比,给予不同浓度 IFA (2 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$)能够显著抑制 A-498 细胞的增殖活性;

给予 50 $\mu\text{mol/L}$ IFA 后,人肾癌细胞 A-498 的存活率降低至 10%。同时,我们使用了 CCK-8 法检测了 IFA 对人胚胎肾细胞 HEK293 增殖能力的影响(图 1d)。实验结果表明,给予 2 $\mu\text{mol/L}$ 和 10 $\mu\text{mol/L}$ IFA 对 HEK293 细胞的增殖能力不产生影响,只有 50 $\mu\text{mol/L}$ IFA 能够抑制 HEK293 细胞的增殖能力,存活率约为 60%。以上实验结果表明 IFA 对人肾癌细胞 A-498 的增殖具有明显抑制作用,而对于人胚胎肾细胞 HEK293 抑制作用不明显。

2.2 IFA 促进人肾癌细胞 A-498 的凋亡

细胞凋亡与肿瘤的发生、发展和转移密切相关,肿瘤细胞抵抗细胞凋亡是肿瘤恶性生长的重要原因,因此明确 IFA 是否对肿瘤细胞凋亡产生影响十分重要。为了探究 IFA 对 A-498 细胞凋亡的影响,我们使用 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测 IFA 刺激后 A-498 细胞的凋亡。图 2 中,与不给予 IFA 组相比,给予不同浓度 IFA 后,Annexin V-FITC 阳性细胞数量增多;给予 IFA 10 $\mu\text{mol/L}$ 后,凋亡的 A498 细胞百分比上升至 80%;给予 IFA 50 $\mu\text{mol/L}$ 后,凋亡的 A-498 细胞百分比达到 96%。实验结果表明 IFA 能够促进人肾癌细胞 A-498 的凋亡。



a: 不同浓度 IFA(0 $\mu\text{mol/L}$ 、0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、0.5 $\mu\text{mol/L}$ 、2.5 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 10 d 后检测人肾癌细胞 A-498 的克隆形成数量;b: 克隆形成数量的统计学分析;c: 用 CCK-8 检测不同浓度 IFA(0 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 A-498 细胞存活率;d: 用 CCK-8 检测不同浓度 IFA(0 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 HEK 293 细胞存活率。¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ 。

图 1 IFA 抑制人肾癌细胞 A-498 的增殖

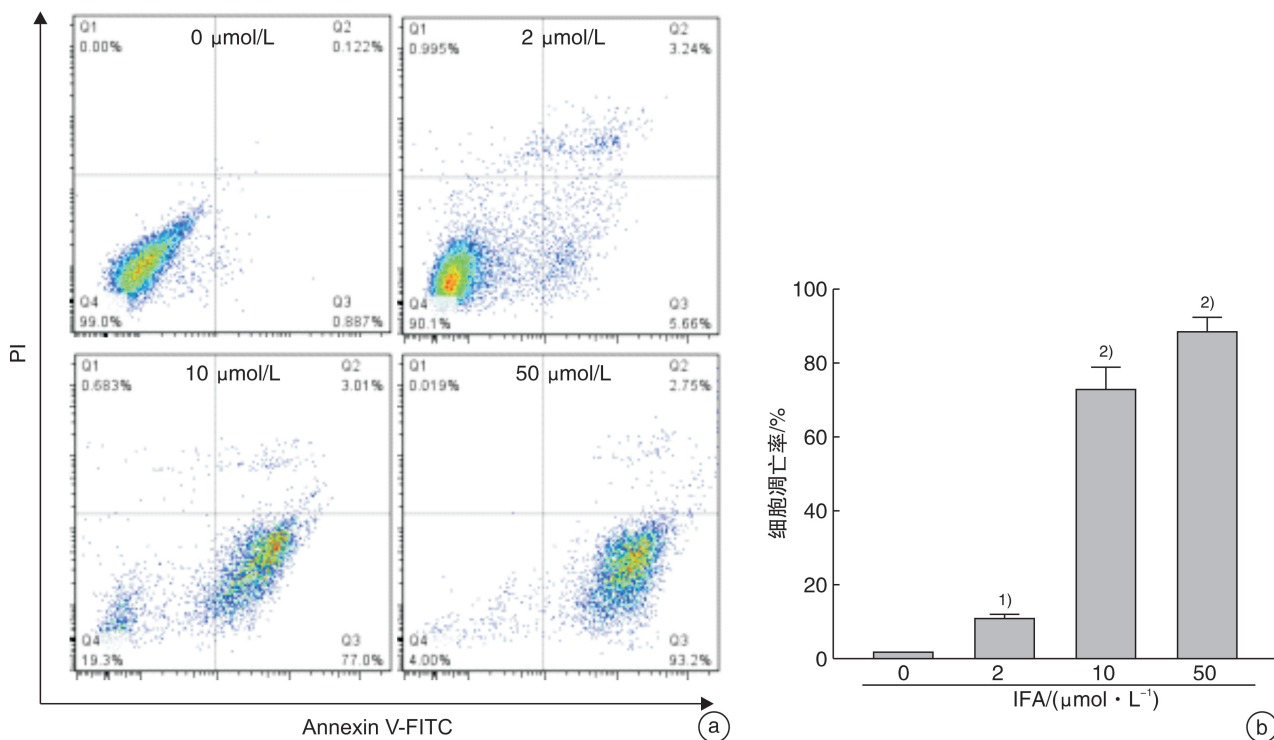
2.3 IFA 能够激活 PARP 和 caspase-3

caspase-3 作为细胞凋亡发生的执行者,能够

直接降解细胞中的结构蛋白,裂解 PARP,引发细胞凋亡。为进一步明确 IFA 促进 A-498 细胞凋亡

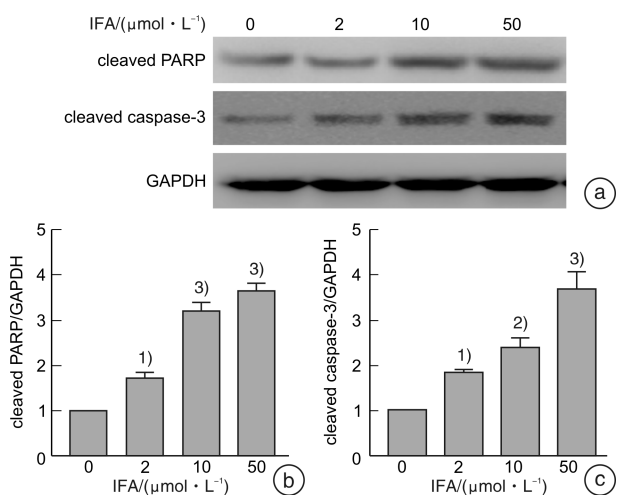
的分子机制,我们进一步检测了 IFA 刺激后 A-498 细胞中 PARP 和 caspase-3 的活性。如图 3 所示, IFA 刺激后,cleaved PARP 和 cleaved caspase-3 的蛋白水平明显升高,且具有浓度依赖性。给予 IFA

50 $\mu\text{mol/L}$ 后,cleaved PARP 和 cleaved caspase-3 的蛋白水平较对照组升高 4 倍。因此,IFA 能够诱导凋亡相关蛋白 PARP 和 caspase-3 的活化促进 A-498 细胞发生凋亡。



a: 不同浓度 IFA(0 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$)刺激 A-498 细胞后,流式细胞仪检测细胞凋亡;b:发生凋亡的 A-498 细胞百分比的统计学分析。¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.001$ 。

图 2 IFA 促进人肾癌细胞 A-498 凋亡



a: 不同浓度 IFA(0 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$)刺激后,Western blot 检测 cleaved PARP 和 cleaved caspase-3 的蛋白水平;b: cleaved PARP/GAPDH 的灰度分析统计图;c: cleaved caspase-3/GAPDH 的灰度分析统计图。¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ 。

图 3 IFA 能够激活 PARP 和 caspase-3

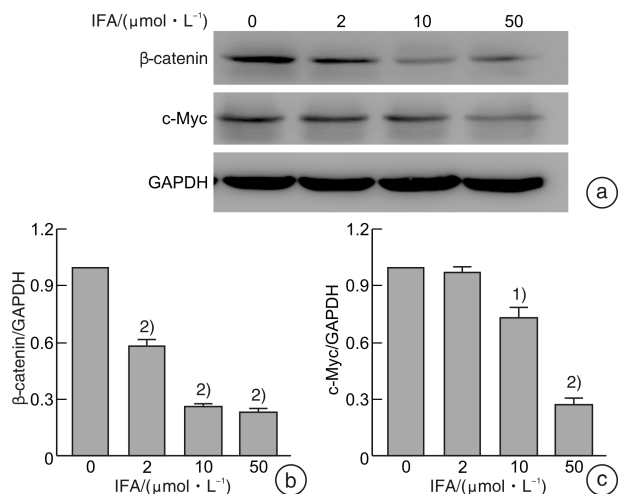
2.4 IFA 下调 β -catenin 和 c-Myc 的表达

β -catenin 信号通路是调节肿瘤细胞增殖生长的重要通路之一,其下游效应分子 c-Myc 表达与癌细胞的生长、增殖和能量代谢密切相关^[7]。因此我们检测了 IFA 刺激后 β -catenin,以及其下游效应因子 c-Myc 的蛋白表达。结果如图 4 所示,随着 IFA 的浓度的升高,A-498 细胞中 β -catenin 和 c-Myc 的蛋白水平不断降低。给予 IFA 50 $\mu\text{mol/L}$ 后, β -catenin 和 c-Myc 的蛋白水平降低至对照组的 1/3。综上所述,IFA 能够下调 A-498 细胞中 β -catenin 和 c-Myc 的表达。

3 讨论

作为中药升麻中的主要活性成分之一,IFA 具有多种药理活性,用于治疗多种炎症性疾病。近年来研究发现,在抗炎方面:IFA 能够抑制 RSV 感染后巨噬细胞中炎症蛋白 MIP-2 的表达^[8-9];在抗感染方面:IFA 对流感病毒感染后 IL-8 的表达具有明显的抑制作用,明显提高流感病毒感染后小鼠的生存率^[10-11];在抗肿瘤方面:IFA 与毛蕊异黄酮对氧化损伤细胞具有协同抗氧化保护作用,并在较高浓度条件下能够抑制肝癌细胞的增殖^[2,12]。已有

研究表明 IFA 的衍生物是一种新型的组蛋白脱乙酰基酶抑制剂,并表现出明显的肿瘤抑制作用。IFA 的药理活性的多样性说明 IFA 可能作用于多种靶点发挥作用。作为一种在多种疾病治疗中具有潜在应用价值的化合物,进一步研究 IFA 的抗肿瘤作用并评估其在癌症治疗中的应用价值具有重要意义。



a: 不同浓度 IFA 刺激 A-498 细胞后,western blot 检测 β -catenin 和 c-Myc 的蛋白水平; b: β -catenin/GAPDH 灰度统计分析; c: c-Myc/GAPDH 灰度统计分析。¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$ 。

图 4 IFA 抑制 β -catenin 和 c-Myc 的表达

细胞凋亡是一种程序性细胞死亡方式,在维持稳态和免疫调节中发挥重要作用。已知有多种化学治疗剂,如阿霉素、顺铂和依托泊苷能够促进细胞凋亡^[13-15]。在本研究中我们发现 IFA 能够明显抑制 A-498 细胞的增殖,促进 A-498 细胞凋亡。细胞凋亡主要通过 2 种信号通路激活,即线粒体通路和死亡受体通路。线粒体通路主要由 Bcl-2 家族调控,是主要的凋亡信号转导途径^[16]。随着细胞内 Bcl-2/Bax 的降低以及线粒体外膜渗透性的升高,线粒体膜电位不断降低,并释放细胞色素 C,继而触发 caspase 级联反应,诱导细胞凋亡^[16-17]。caspase-3 是 13 种天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 caspase 家族的成员,是凋亡的重要启动者之一^[18]。caspase-3 在细胞死亡过程中主要负责 PARP 的裂解^[19]。本研究发现 IFA 促进 A-498 细胞的凋亡与 cleaved PARP 和 cleaved caspase-3 的上调相关,这表明 IFA 能够通过线粒体相关凋亡信号转导途径诱导肾癌细胞凋亡。这与已有研究结果一致,IFA 通过线粒体途径介导血液系统恶性肿瘤细胞发生凋亡^[12]。因此,在未来的研究中,探究 IFA 如何调节线粒体相关凋亡途径介导的细胞凋亡、明确作用靶点,对 IFA 抗肿瘤作用的研究具有重要的科学意义。

Wnt/ β -catenin 信号通路是已知的与肿瘤细胞的增殖存活密切相关的信号通路之一;当 GSK-3 β 被磷酸化后活性降低, β -catenin 的表达降低,无法在胞质内的累积,进入细胞核激活下游效应分子的表达^[20]。由于胞质中降解复合物的存在, β -catenin 会在胞质内不断被降解;当 Wnt 信号通路被激活, β -catenin 的表达升高,在胞质内不断积累,从而进入细胞核,与 T 细胞因子/淋巴增强因子(T cell factor/lymphoid enhance factor, TCF/LEF)结合,激活下游信号分子 c-Myc 的表达,诱导凋亡的发生^[21]。c-Myc 作为该通路下游的重要效应分子之一,是原癌基因转录因子家族中的一员^[22]。已有研究发现,c-Myc 在多种癌细胞中过表达与癌细胞的增殖、存活密切相关^[23]。木豆素衍生物等能够通过抑制 c-Myc 转录水平的表达抑制癌细胞的存活^[24];毛花苷 C 通过促进 c-Myc 的降解抑制多种癌细胞的增殖^[5]。FDA 批准的伏立诺他(Vorinostat)能够通过抑制 c-Myc 的乙酰化治疗淋巴瘤^[25]。c-Myc 的表达的调控机制十分复杂,乙酰基转移酶能够通过磷酸化 Ser62 和 Thr58 影响 c-Myc 蛋白的稳定性;同时泛素化降解也在 c-Myc 的调控中起到关键作用,在 c-Myc 的泛素化过程中泛素特异性蛋白酶 28(USP28)能够识别和促进 c-Myc 的去泛素化^[26]。本研究中,我们发现 IFA 能够在蛋白水平抑制 β -catenin 和 c-Myc 的表达,并促进 A-498 细胞凋亡。因此,c-Myc 作为一种新型药物作用靶标是未来抗肿瘤药物开发的一个重要方向,IFA 可能通过作用于 c-Myc 这一靶点发挥抗肿瘤作用。

综上所述,在本研究中,我们发现 IFA 能够抑制人肾癌细胞 A-498 的增殖,诱导 A-498 细胞的凋亡,抑制 β -catenin 和 c-Myc 的表达。该发现表明 IFA 的抗肿瘤活性可能与降低 c-Myc 表达相关,同时本研究也为 IFA 与其他临床药物联合使用、协同治疗发挥作用提供了理论依据和参考。

参考文献

- [1] Turajlic S, Swanton C, Boshoff C. Kidney cancer: The next decade [J]. *J Exp Med*, 2018, 215 (10): 2477-2479.
- [2] Long Z, Feng G, Zhao N, et al. Isoferulic acid inhibits human leukemia cell growth through induction of G2/M-phase arrest and inhibition of Akt/mTOR signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(3): 1035-1042.
- [3] Majtnerová P, Roušar T. An overview of apoptosis assays detecting DNA fragmentation [J]. *Mol Biol Rep*, 2018, 45(5): 1469-1478.
- [4] Prokhorova EA, Kopeina GS, Lavrik IN, et al. Apoptosis regulation by subcellular relocation of caspases [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 12199.
- [5] Hu Y, Yu K, Wang G, et al. Lanatoside C inhibits cell

- proliferation and induces apoptosis through attenuating Wnt/ β -catenin/c-Myc signaling pathway in human gastric cancer cell[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 150:280-292.
- [6] Kim M, Kim SH, Lim JW, et al. Lycopene induces apoptosis by inhibiting nuclear translocation of β -catenin in gastric cancer cells[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2019, 70(4):605-611.
- [7] Xu J, Chen Y, Huo D, et al. β -catenin regulates c-Myc and CDKN1A expression in breast cancer cells[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(5):431-439.
- [8] Sakai S, Kawamata H, Kogure T, et al. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on the production of macrophage inflammatory protein-2 in response to respiratory syncytial virus infection in RAW264.7 cells[J]. *Mediators Inflamm*, 1999, 8(3):173-175.
- [9] Zhang Y, Li M, Gao H, et al. Triacylglycerol, fatty acid, and phytochemical profiles in a new red sorghum variety (Ji Liang No. 1) and its antioxidant and anti-inflammatory properties[J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(3):949-958.
- [10] Hirabayashi T, Ochiai H, Sakai S, et al. Inhibitory effect of ferulic acid and isoferulic acid on murine interleukin-8 production in response to influenza virus infections in vitro and in vivo[J]. *Planta Med*, 1995, 61(3):221-226.
- [11] Sakai S, Ochiai H, Mantani N, et al. Administration of isoferulic acid improved the survival rate of lethal influenza virus pneumonia in mice[J]. *Mediators Inflamm*, 2001, 10(2):93-96.
- [12] 于奇建. 毛蕊异黄酮与异阿魏酸协同抗氧化和抑制 HepG2 细胞增殖作用[D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2016.
- [13] Xie Y, Yan X, Sun L. The Mechanism of Bufalin-Induced Apoptosis of K562/A02[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:2542-2552.
- [14] Li X, Chen W, Jin Y, et al. miR-142-5p enhances cisplatin-induced apoptosis in ovarian cancer cells by targeting multiple anti-apoptotic genes[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 161:98-112.
- [15] Sverchinsky DV, Nikotina AD, Komarova EY, et al. Etoposide-Induced Apoptosis in Cancer Cells Can Be Reinforced by an Uncoupled Link between Hsp70 and Caspase-3[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9).
- [16] Yao C, Cao X, Fu Z, et al. Boschniakia Rossica Polysaccharide Triggers Laryngeal Carcinoma Cell Apoptosis by Regulating Expression of Bcl-2, Caspase-3, and P53[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23:2059-2064.
- [17] Zhang Y, Yang X, Ge X, et al. Puerarin attenuates neurological deficits via Bcl-2/Bax/cleaved caspase-3 and Sirt3/SOD2 apoptotic pathways in subarachnoid hemorrhage mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109:726-733.
- [18] Lossi L, Castagna C, Merighi A. Caspase-3 Mediated Cell Death in the Normal Development of the Mammalian Cerebellum[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12):3999.
- [19] Meng YY, Wu CW, Yu B, et al. PARP-1 Involvement in Autophagy and Their Roles in Apoptosis of Vascular Smooth Muscle Cells under Oxidative Stress[J]. *Folia Biol(Praha)*, 2018, 64(3):103-111.
- [20] Krishnamurthy N, Kurzrock R. Targeting the Wnt/ β -catenin pathway in cancer: Update on effectors and inhibitors[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 62:50-60.
- [21] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities[J]. *Cell*, 2017, 169(6):985-999.
- [22] Wang J, Li M, Chen D, et al. Expression of C-myc and β -catenin and their correlation in triple negative breast cancer[J]. *Minerva Med*, 2017, 108(6):513-517.
- [23] Shang S, Hua F, Hu ZW. The regulation of β -catenin activity and function in cancer; therapeutic opportunities[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(20):33972-33989.
- [24] Kadioglu O, Fu Y, Wiench B, et al. Synthetic cajanin stilbene acid derivatives inhibit c-MYC in breast cancer cells[J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(3):575-588.
- [25] Wang J, Jiang J, Chen H, et al. FDA-approved drug screen identifies proteasome as a synthetic lethal target in MYC-driven neuroblastoma [J]. *Oncogene*, 2019, 38(41):6737-6751.
- [26] Diefenbacher ME, Chakraborty A, Blake SM, et al. Usp28 counteracts Fbw7 in intestinal homeostasis and cancer[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(7):1181-1186.

(收稿日期:2020-08-27)