

• 论著-实验研究 •

熊果酸抑制去势抵抗性前列腺癌 22Rv1 细胞生长的作用机制研究*

周建甫^{1,2} 殷振超³ 陈焯炜¹ 王志超² 陈志强² 王树声² 向松涛²

[摘要] 目的:研究熊果酸(UA)对去势抵抗性前列腺癌 22Rv1 细胞生长的抑制作用并探讨其药理机制。方法:MTT 法检测不同浓度 UA 分别作用 22Rv1 细胞 12、24、48、72 h 后对细胞的增殖抑制作用;倒置相差显微镜观察 UA 对 22Rv1 细胞形态的影响;克隆形成实验检测 UA 对 22Rv1 细胞平板克隆形成的影响;流式细胞术检测 UA 对 22Rv1 细胞凋亡的影响;Western 印迹法检测 UA 对 22Rv1 细胞 p38 MAPK 蛋白和磷酸化、STAT3 蛋白和磷酸化,以及 NF- κ B/p65 蛋白表达的影响。结果:UA 能显著抑制 22Rv1 细胞增殖,且抑制效应呈剂量和时间依赖性($P < 0.05$);以 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 作为 UA 低、中、高浓度干预 24 h,显微镜观察发现随着 UA 浓度增大,22Rv1 细胞数目显著减少,细胞皱缩、质膜起泡;克隆形成实验结果显示,UA 能显著减少 22Rv1 细胞克隆群形成($P < 0.05$);流式细胞术结果显示,UA 能显著诱导 22Rv1 细胞凋亡细胞比例增多($P < 0.05$);Western 印迹结果显示,UA 能增强 p38 MAPK 的磷酸化,并且抑制 STAT3 的磷酸化和 NF- κ B/p65 蛋白的表达。结论:UA 可抑制去势抵抗性前列腺癌 22Rv1 细胞的生长,促进 22Rv1 细胞凋亡,p38 MAPK/STAT3/NF- κ B 信号通路参与调控 UA 对 22Rv1 细胞的生长抑制作用。

[关键词] 熊果酸;去势抵抗性前列腺癌;22Rv1 细胞;增殖;凋亡;p38 MAPK/STAT3/NF- κ B 信号通路

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2022.07.008

[中图分类号] R737.25 **[文献标志码]** A

Growth inhibition and the mechanisms of castration-resistant prostate cancer 22Rv1 cells by ursolic acid

ZHOU Jianfu^{1,2} YIN Zhenchao³ CHEN Chiwei¹ WANG Zhichao²
CHEN Zhiqiang² WANG Shusheng² XIANG Songtao²

(¹Second Clinical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, 510405, China; ²Department of Urology, Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine; ³Department of Urology, Jinshazhou Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine)

Corresponding author: YIN Zhenchao, E-mail: zhenchao_yin@126.com

Abstract Objective: To study the growth inhibition effect of ursolic acid (UA) in the castration-resistant prostate cancer (CRPC) 22Rv1 cells and to explore its pharmacological mechanisms. **Methods:** MTT assay was conducted to detect the proliferation, inverted phase contrast microscope was used to observe the morphology, colony formation assay was performed to examine the colony formation, flow cytometry was carried out to measure the apoptosis, and Western blotting was conducted to examine proteins expression of p-and p38 MAPK, p-and STAT3, as well as NF- κ B/p65. **Results:** UA significantly inhibited the proliferation of 22Rv1 cells, and the inhibitory effect displayed a dose-and time-dependent manner ($P < 0.05$). Regarding the doses of 5, 10, and 20 $\mu\text{mol/L}$ as low, medium, and high concentrations of UA for the treatment of 24 h, the microscopic morphology showed significantly reduced number of 22Rv1 cells with shrunken cells and plasma membrane blebs upon treatment of increasing concentrations of UA; colony formation assay revealed that UA significantly reduced the colony formation of 22Rv1 cells ($P < 0.05$); flow cytometry analysis showed that UA significantly increased the proportion of ap-

*基金项目:广东省中医药局面上项目(No:20202151);广东省医学科学技术研究基金(No:A2020239,A2020577);广东省粤港联合创新项目(No:2017A050506042,YN2018HK02)

¹广州中医药大学第二临床医学院(广州,510405)

²广州中医药大学第二附属医院泌尿外科

³广州中医药大学金沙洲医院泌尿外科

通信作者:殷振超,E-mail:zhenchao_yin@126.com

optotic cells in 22Rv1 cells ($P < 0.05$); Western blotting analysis demonstrated that UA enhanced the phosphorylation of p38 MAPK, and suppressed the phosphorylation of STAT3 and NF- κ B/p65 protein expression. **Conclusion:** UA exerts growth inhibition effect and promotes the apoptosis in CRPC 22Rv1 cells, and the p38 MAPK/STAT3/NF- κ B signaling pathway is involved in regulating the growth inhibition effect of UA in 22Rv1 cells.

Key words ursolic acid; castration-resistant prostate cancer; 22Rv1 cells; proliferation; apoptosis; p38 MAPK/STAT3/NF- κ B signaling pathways

前列腺癌是老年男性常见的恶性肿瘤之一,世界范围内其发病率占有所有男性恶性肿瘤的 13.5%,位居第 2 位^[1]。近年来,随着经济发展、人口老龄化等影响,我国前列腺癌发病率也呈明显上升趋势^[2],并且大多数患者确诊时已处于晚期。内分泌治疗是晚期前列腺癌的主要初始治疗方法,但可引起一系列影响生活质量的不良反应,并且经过 18~24 个月的治疗敏感期后,疾病大都进展为恶性程度更高的去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)^[3-4]。因此,寻找新型、绿色抗癌药物,对于晚期前列腺癌特别是 CRPC 的临床治疗具有重要意义。熊果酸(ursolic acid, UA)是一种广泛存在于中草药中的五环三萜类天然产物,具有抗炎、抗氧化、免疫调节和抗肿瘤等多种生物学功效,被认为是最有希望的癌化学预防和与治疗药物之一^[5]。UA 的抗癌作用已在多种癌症中被报道,包括肺癌、肝癌、宫颈癌、乳腺癌和膀胱癌等^[5]。本研究旨在探讨 UA 对前列腺癌特别是 CRPC 的细胞生长抑制作用,并探讨其抑制细胞增殖及促进细胞凋亡的药理机制,为晚期耐药性前列腺癌的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

22Rv1 细胞(凯基生物 KG434, STR 鉴定为 22Rv1), UA(Selleck), RPMI-1640 培养液、胎牛血清及胰蛋白酶(HyClone), 2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)及二甲基亚砷(DMSO)(广州威佳), 结晶紫染色液、细胞凋亡检测试剂盒(碧云天), BCA 蛋白定量试剂盒、发光液(Thermo), 兔抗人 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-STAT3、STAT3 (Ab-clonal), 兔抗人 NF- κ B/p65、GADPH(CST)。

1.2 方法

MTT 检测细胞增殖:将培养好的 22Rv1 细胞,按每孔 $3 \times 10^3/100 \mu\text{L}$ 的浓度接种于 96 孔板中,待 24 h 细胞完全贴壁后,将细胞随机分为阴性对照组(加入含 0.1% DMSO 的相同体积完全培养基)和不同浓度 UA(5、10、15、20、30 $\mu\text{mol/L}$ UA)处理组,每组设 4 个平行孔。待药物处理细胞 24 h 后,吸去旧培养基,加入 100 μL /孔含 MTT(5 mg/mL)的新鲜培养液,轻轻混匀,置于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 细胞培养箱中孵育 4 h。之后,小心吸去孔内上清液,每孔加 100 μL DMSO 溶解沉淀物,选择 570 nm 在酶标仪上测定光密度值(OD 值)。

倒置相差显微镜观察细胞形态:将培养好的 22Rv1 细胞,按 5×10^5 /孔的浓度接种于 6 孔板中,待细胞完全贴壁并长至 70%~80% 时,将细胞随机分为阴性对照组(加入含 0.1% DMSO 的相同体积完全培养基)和不同浓度 UA(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ UA)处理组,再将细胞放置于 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 细胞培养箱中培养 24 h,用倒置显微镜观察细胞形态并拍照记录。

结晶紫染色检测细胞平板克隆形成:将培养好的 22Rv1 细胞,按 1×10^3 /孔的浓度接种于 6 孔板中,待 24 h 细胞完全贴壁后,将细胞随机分为阴性对照组(加入含 0.1% DMSO 的相同体积完全培养基)和不同浓度 UA(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ UA)处理组,每组设 3 个复孔。把培养板置于培养箱进行连续培养不超过 14 d。每隔 3 d 进行换液,待大多数克隆团中的细胞数目达到 50 个以上,则停止培养进行下一步操作:吸去旧培养基,用 PBS 清洗 2 次,弃去 PBS,每孔加入 750 μL 的 4% 多聚甲醛,将细胞置于室温条件下固定 30 min。之后弃去固定液,每孔加入 500 μL 的 0.5% 结晶紫染色液,将细胞在室温条件下染色 30 min。随后吸去染色液,准备好 1 个盛满水的量杯,将 6 孔板置于水中轻轻摇晃洗涤,之后 6 孔板底面朝上控水晾干,而后于显微镜下观察计数并拍照记录。

流式细胞术检测细胞凋亡:将培养好的 22Rv1 细胞,按 5×10^5 /孔的浓度接种于 6 孔板中,待 24 h 细胞完全贴壁后,将细胞随机分为阴性对照组(加入含 0.1% DMSO 的相同体积完全培养基)和不同浓度 UA(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ UA)处理组,每组设 3 个复孔。处理 24 h 后,将培养基上清与贴壁细胞一并收集到 15 mL 离心管中,1500 r/min 离心 3 min,之后吸去上清,细胞沉淀用 PBS 重悬洗涤并重复离心步骤,使细胞再次沉淀,弃去 PBS。在细胞沉淀中加入 $1 \times \text{Annexin V binding buffer}$ 使细胞密度为 1×10^6 个/mL 左右,取 100 μL 的细胞悬液与 5 μL 的 Annexin V-FITC 和 5 μL PI 充分混匀,避光条件下 37 $^\circ\text{C}$ 温箱中孵育 15 min 后,用流式细胞仪分析细胞的凋亡情况。

Western 印迹检测蛋白的表达:将培养好的 22Rv1 细胞,按 5×10^5 /孔的浓度接种于 6 孔板中,待 24 h 细胞完全贴壁后,将细胞随机分为阴性对照组(加入含 0.1% DMSO 的相同体积完全培养基)和不同浓度 UA(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ UA)处理

组。处理 24 h 后, PBS 清洗细胞 2 次, 将培养板置于冰上, 每孔加入 100 μL 裂解液裂解细胞, 刮下细胞转移至 Ep 管内, 振荡, 使细胞充分裂解, 高速、4 $^{\circ}\text{C}$ 低温离心, 转移上清至新 Ep 管。采用 BCA 试剂盒检测蛋白样品浓度, 用 5 \times loading buffer 混合样品, 煮沸变性, 离心, 置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。取蛋白样品上样, 电泳、转膜、封闭, 加一抗在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加入二抗孵育 1 h 后, TBST 洗膜 3 次。在暗房化学发光成像系统用 Image Lab 显影成像。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对数据进行正态性及方差齐性检验, 当满足正态性和方差齐性时, 采用单因素方差分析, 若不满足则采用非参数检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UA 对 22Rv1 细胞增殖和形态的影响

为了解 UA 对 22Rv1 细胞生长抑制作用, 我们首先采用 MTT 实验定量测定 UA 对 22Rv1 细胞增殖活力的影响。采用递增浓度的 UA (0、5、10、15、20、30 $\mu\text{mol/L}$) 分别作用于 22Rv1 细胞 12、24、48、72 h 后, 细胞生长速度呈下降趋势。MTT 结果显示, 与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, UA 对细胞生长抑制作用与药物浓度及作用时间密切相关, 呈现较明显的剂量和时间依赖性 (表 1)。为进一步直观地显示细胞形态改变, 我们根据 MTT 实验结

果拟定 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 作为 UA 低、中、高浓度干预 24 h, 显微镜观察发现, 与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, 随着 UA 浓度增大, 22Rv1 细胞数目显著减少, 细胞皱缩、质膜起泡明显 (图 1)。

2.2 UA 对 22Rv1 细胞克隆形成和凋亡的影响

为进一步印证 UA 对 22Rv1 细胞的生长抑制作用, 我们进行了平板克隆细胞存活实验, 以评估 UA 对 22Rv1 细胞克隆形成能力的影响。如图 2 所示, 与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, 随着 UA 处理剂量的增加, 平板细胞克隆数目逐渐减少。鉴于细胞生长抑制常伴随细胞凋亡的变化, 我们也检测了 UA 对 22Rv1 细胞凋亡的影响。如图 3 所示, 与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, 随着 UA 处理剂量的增加, 早期凋亡和晚期凋亡细胞百分比逐渐增加。相关参数详见表 2。

2.3 UA 对 22Rv1 细胞 p38 MAPK、NF- κB /p65 及 STAT3 蛋白表达的影响

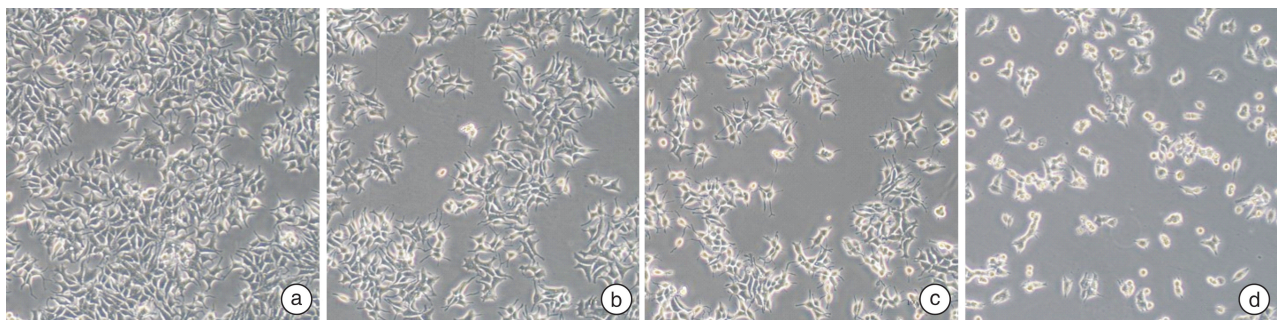
为探讨 UA 抑制 22Rv1 细胞生长的药理机制, 我们检测了 UA 对 22Rv1 细胞相关信号分子蛋白表达的影响。p38 MAPK 信号通路已被证明参与肿瘤的发生和发展^[6], 我们的研究发现, UA 能增加 p38 MAPK 磷酸化, 而对 p38 MAPK 蛋白表达则影响不大。NF- κB 和 STAT3 在肿瘤中发挥重要的信号转导功能, 转录调控星罗棋布的致癌信号^[7-8]。我们的结果显示, UA 显著抑制 STAT3 磷酸化和 NF- κB /p65 蛋白的表达, 而对 STAT3 蛋白表达则影响不大。见图 4。

表 1 递增浓度 UA 处理细胞不同时间对 22Rv1 细胞增殖的影响

$\%, \bar{x} \pm s$

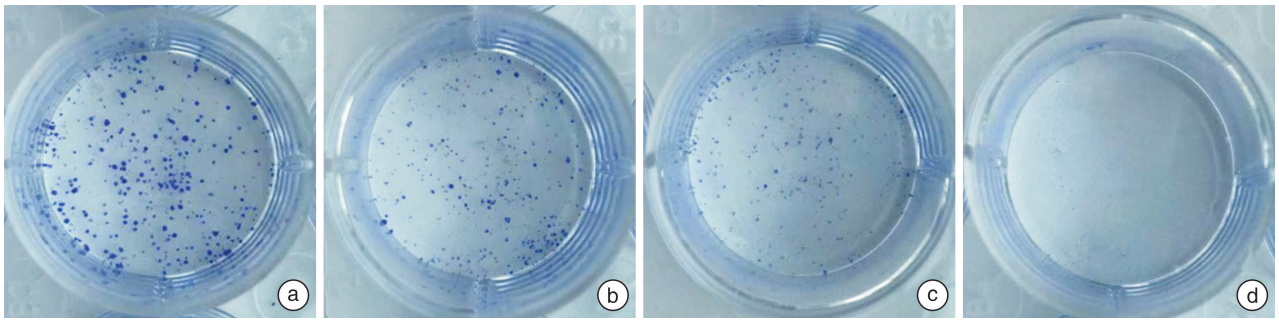
时间	细胞增殖					
	对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$)	5 $\mu\text{mol/L}$ UA	10 $\mu\text{mol/L}$ UA	15 $\mu\text{mol/L}$ UA	20 $\mu\text{mol/L}$ UA	30 $\mu\text{mol/L}$ UA
12 h	100.00 \pm 13.55	120.09 \pm 5.84 ¹⁾	103.51 \pm 5.55	95.04 \pm 2.86 ¹⁾	73.02 \pm 3.51 ¹⁾	51.50 \pm 6.66 ¹⁾
24 h	100.00 \pm 3.23	94.90 \pm 4.25	71.85 \pm 5.97 ¹⁾	57.51 \pm 2.58 ¹⁾	44.27 \pm 2.29 ¹⁾	25.00 \pm 1.81 ¹⁾
48 h	100.00 \pm 6.12	96.77 \pm 8.04	73.90 \pm 2.94 ¹⁾	18.01 \pm 1.08 ¹⁾	10.59 \pm 0.56 ¹⁾	8.66 \pm 0.47 ¹⁾
72 h	100.00 \pm 4.43	85.91 \pm 2.86 ¹⁾	35.98 \pm 4.27 ¹⁾	7.43 \pm 0.33 ¹⁾	6.07 \pm 0.18 ¹⁾	6.28 \pm 0.62 ¹⁾

在相同时间点不同浓度下与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, ¹⁾ $P < 0.05$ 。



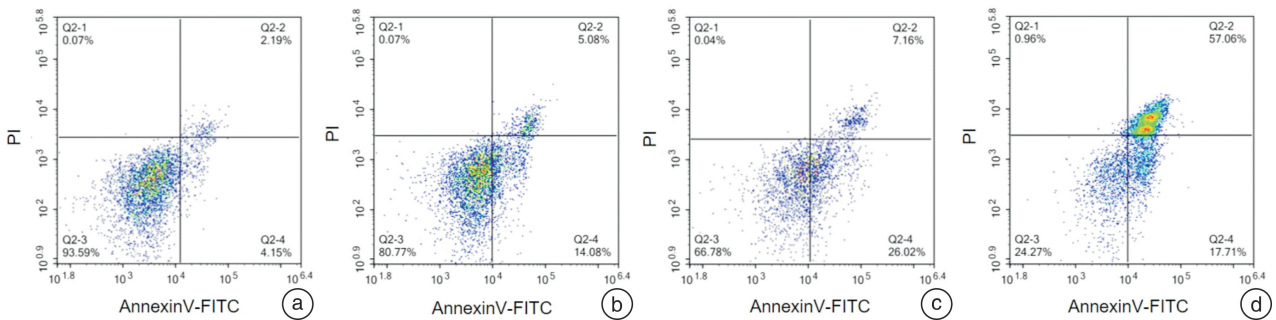
a: 对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$); b: 低剂量组 (5 $\mu\text{mol/L}$); c: 中剂量组 (10 $\mu\text{mol/L}$); d: 高剂量组 (20 $\mu\text{mol/L}$)。

图 1 不同浓度 UA 对 22Rv1 细胞形态的影响 ($\times 100$)



a: 对照组(0 μmol/L); b: 低剂量组(5 μmol/L); c: 中剂量组(10 μmol/L); d: 高剂量组(20 μmol/L)。

图 2 不同浓度 UA 对 22Rv1 细胞克隆形成的影响



a: 对照组(0 μmol/L); b: 低剂量组(5 μmol/L); c: 中剂量组(10 μmol/L); d: 高剂量组(20 μmol/L)。

图 3 不同浓度 UA 对 22Rv1 细胞凋亡的影响

表 2 不同浓度 UA 对 22Rv1 细胞克隆形成及凋亡的影响

项目	对照组(0 μmol/L)	5 μmol/L UA	10 μmol/L UA	20 μmol/L UA
克隆数目	457.67 ± 25.48	328.00 ± 28.58 ¹⁾	142.67 ± 31.39 ¹⁾	9.00 ± 6.00 ¹⁾
凋亡率/%	7.49 ± 1.00	21.59 ± 2.17 ¹⁾	27.09 ± 6.00 ¹⁾	70.10 ± 5.44 ¹⁾

与对照组(0 μmol/L)比较,¹⁾ P < 0.05。

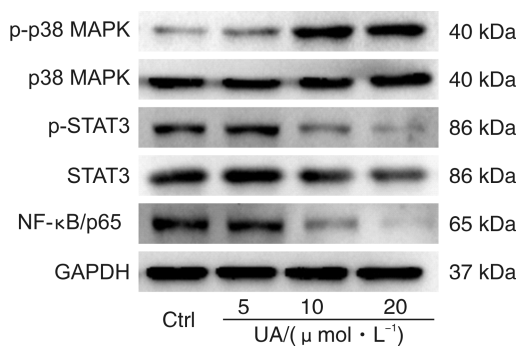


图 4 不同浓度 UA 对 22Rv1 细胞 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-STAT3、STAT3、NF-κB/p65 蛋白表达的影响

3 讨论

前列腺癌是一种雄激素/雄激素受体依赖性肿瘤,以抗雄激素和去势为手段的雄激素剥夺治疗敏感有效期仅 1~2 年^[3-4]。尽管新一代抗雄激素药物(恩杂鲁胺)和雄激素生物合成抑制剂(阿比特龙),提高了 CRPC 患者总生存期^[9-10],这些患者最

终不可避免地对这些药物产生耐药性,使疾病最终失去对雄激素受体的依赖性^[11]。因此,探索新的有效治疗方案,阻断雄激素受体以外的其他途径,对 CRPC 具有重要的科学和临床意义。

中药具有作用平稳、毒副作用小及耐受性高等特点,从中药中开发安全有效的天然药物正成为一种世界性潮流。UA 是滋补中药枸杞主要活性成分,其高效、低毒,具有抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡、诱导肿瘤细胞周期阻滞、抑制血管新生和逆转多药耐药性等抗多重抗癌功效,有望成为新型、绿色抗癌药物的优选方案^[5]。

本研究发现,UA 呈剂量和时间依赖性地抑制 22Rv1 细胞的增殖,给药治疗 24 h 的 IC₅₀ 不超过 20 μmol/L,提示了 UA 本身具有较强的抗癌药效。我们选取 5、10、20 μmol/L 作为 UA 低、中、高浓度干预 24 h,显微镜观察发现随着 UA 浓度增大,22Rv1 细胞数目显著减少,细胞皱缩、质膜起泡;克隆形成实验结果显示,UA 能显著减少 22Rv1 细胞克隆群落形成;流式细胞术结果显示,UA 能显著诱导 22Rv1 细胞凋亡细胞比例增多。细胞凋亡的

激活与癌细胞对化学疗法的反应有关,研究证明 UA 在多种肿瘤细胞中均具有促进凋亡的作用^[12-14],由此我们推测 UA 极有可能也是通过相关信号通路引起 22Rv1 细胞凋亡,抑制癌细胞的生长从而发挥抗肿瘤的作用。

为探讨 UA 抑制 22Rv1 细胞生长的药理机制,我们选取了癌细胞生长、凋亡密切相关的关键信号分子进一步研究。丝裂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 是细胞信号转导的主要通路之一, p38 MAPK 是 MAPK 家族中的重要蛋白激酶成员,通过磷酸化作用影响下游信号活性和细胞生长^[6]。核转录因子- κ B (NF- κ B) 是研究得最为深入的转录因子家族中的一员,主要由 p65 和 p50 两个同源二聚体亚基组成,通过募集激活或抑制因子进而调节转录进程,在肿瘤细胞的发生发展中发挥重要调控作用^[7]。信号传导及转录激活因子 3 (STAT3) 是炎症和肿瘤进程中的关键信号通路分子,通过磷酸化激活的 STAT3,可协同转录因子转位到细胞核中,调控下游基因的表达和癌细胞存活^[8]。本研究发现,UA 能导致 p-p38 MAPK 表达上调,并且抑制 p-STAT3 和 NF- κ B/p65 的表达。研究证实,天然产物激活 p38 MAPK 信号通路与凋亡诱导有关;此外,STAT3 和 NF- κ B 信号传导通路级联调节凋亡相关 Bcl-2 家族成员 (Bcl-2 和 Bax) 的反应^[15]。因此, p38 MAPK 的激活和 STAT3/NF- κ B 信号通路的抑制可能参与了调控 UA 对 22Rv1 细胞的凋亡诱导作用。进一步研究可采用 p38 MAPK 抑制剂进行干预,观察 STAT3/NF- κ B 表达和凋亡变化情况,从而为 p38 MAPK/STAT3/NF- κ B 信号通路介导 UA 诱导的凋亡提供清晰的证据。

综上所述,本研究首次将 UA 作用于 CRPC 细胞,探讨其抑制 22Rv1 细胞增殖、促进细胞凋亡的作用,并阐释其具体的药理机制。实验结果表明,UA 可抑制 CRPC 细胞 22Rv1 的生长,促进 22Rv1 细胞凋亡, p38 MAPK/STAT3/NF- κ B 信号通路参与调控 UA 对 22Rv1 细胞的生长抑制和凋亡诱导作用,其更具体的作用机制有待进一步深入探讨。本研究也为下一步荷瘤小鼠实验体内验证 UA 的抗癌活性奠定了基础,为开发 UA 用于治疗晚期前列腺癌特别是 CRPC 提供了初步依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.

- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Karantanos T, Evans CP, Tombal B, et al. Understanding the mechanisms of androgen deprivation resistance in prostate cancer at the molecular level[J]. *Eur Urol*, 2015, 67(3): 470-479.
- [4] 贾泽鹏, 陈泽宇, 高旭. 去势抵抗性前列腺癌的治疗进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2020, 35(4): 312-316, 320.
- [5] Shanmugam MK, Dai X, Kumar AP, et al. Ursolic acid in cancer prevention and treatment: molecular targets, pharmacokinetics and clinical studies [J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(11): 1579-1587.
- [6] Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(8): 537-549.
- [7] Eluard B, Thieblemont C, Baud V. NF- κ B in the New Era of Cancer Therapy [J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(8): 677-687.
- [8] Mohassab AM, Hassan HA, Abdelhamid D, et al. STAT3 transcription factor as target for anti-cancer therapy[J]. *Pharmacol Rep*, 2020, 72(5): 1101-1124.
- [9] Scher HI, Fizazi K, Saad F, et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(13): 1187-1197.
- [10] de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, et al. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(21): 1995-2005.
- [11] Zhou J, Wang Y, Xiang S, et al. Towards understanding androgen receptor-independent prostate cancer: an evolving paradigm[J]. *Transl Cancer Res*, 2020, 9(2): 415-417.
- [12] Kim K, Shin EA, Jung JH, et al. Ursolic acid induces apoptosis in colorectal cancer cells partially via upregulation of MicroRNA-4500 and inhibition of JAK2/STAT3 phosphorylation[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 1-13.
- [13] Guo JL, Han T, Bao L, et al. Ursolic acid promotes the apoptosis of cervical cancer cells by regulating endoplasmic reticulum stress [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2019, 45(4): 877-881.
- [14] Lin JH, Chen SY, Lu CC, et al. Ursolic acid promotes apoptosis, autophagy, and chemosensitivity in gemcitabine-resistant human pancreatic cancer cells[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(8): 2053-2066.
- [15] Zang YQ, Feng YY, Luo YH, et al. Glycitein induces reactive oxygen species-dependent apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest through the MAPK/STAT3/NF- κ B pathway in human gastric cancer cells[J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(5): 573-584.

(收稿日期: 2021-02-01)