

· 论著 ·

杨梅酮抑制人肾细胞癌细胞转移的实验研究

谭海颂¹, 叶宸², 吴登爽¹, 鲍一¹, 刘冰¹, 何屹³, 王林辉¹ (1. 第二军医大学长征医院泌尿外科, 上海 200003; 2. 第二军医大学长海医院泌尿外科, 上海 200433; 3. 浙江省嘉兴市第一医院泌尿外科, 浙江 嘉兴 314000)

[摘要] 目的 研究杨梅酮体内外对人肾癌 ACHN 细胞株转移的影响。方法 体外实验应用不同浓度的杨梅酮(25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)刺激 ACHN 细胞后,采用 CCK-8 实验、划痕实验和 Transwell 实验检测杨梅酮对于细胞活力、迁移和侵袭能力的影响。体内实验,首先通过尾静脉注射 ACHN 细胞建立肾癌肺转移模型,然后通过腹腔注射杨梅酮(15 mg/kg),6 周后观察肾癌肺微转移灶评估杨梅酮对肾癌转移的影响。结果 CCK-8 实验显示,与对照组相比,当杨梅酮浓度达到 50 $\mu\text{mol/L}$ 作用 24 h 后,能够显著降低细胞活性($P=0.019$),并且随着药物浓度增加或作用时间延长抑制效应会更加显著。划痕实验和 Transwell 侵袭实验显示杨梅酮能显著抑制 ACHN 细胞的迁移和侵袭能力,并呈药物浓度依赖特性。体内实验也证实,与对照组相比,腹腔注射杨梅酮可显著减少肾癌肺微转移灶的数目。结论 杨梅酮能够有效地抑制肾癌 ACHN 细胞的活力、迁移和侵袭能力,具有潜在的应用于肾癌治疗的价值。

[关键词] 肾细胞癌;杨梅酮;迁移;侵袭

[中图分类号] R96 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)03-0229-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.03.009

Inhibitory effect of myricetin on the metastasis of human renal cell carcinoma

TAN Haisong¹, YE Chen², WU Dengshuang¹, BAO Yi¹, LIU Bing¹, HE Yi³, WANG Linhui¹ (1. Department of Urology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2. Department of Urology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Department of Urology, Jiaying First Hospital, Jiaying 314000, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the role of myricetin in the metastasis of human renal cancer ACHN cells both *in vitro* and *in vivo*. **Methods** With different concentration of myricetin (25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$) acting on ACHN cells, the cell viability, migration and invasion were respectively measured with CCK-8 assay, wound healing migration assay and Transwell invasion assay *in vitro*. A lung metastatic model for human renal cell carcinoma was developed by tail vein injection with ACHN cells. The effect of myricetin on the metastasis of renal cell carcinoma was explored by intraperitoneal injection of myricetin *in vivo*. After 6 weeks, the micro metastases of the lungs in nude mice was examined. **Results** Compared to the control group, CCK-8 assay showed that the cell viability was significantly lower in the myricetin group at the concentration of 50 $\mu\text{mol/L}$ for 24 h ($P=0.019$). The inhibitory effect became more significant with the increase in drug concentration or action time. In addition, myricetin also inhibits the migration and invasion of ACHN cells in a dose dependent manner. Intraperitoneal injection of myricetin significantly reduced the number of the micro metastases of renal cell carcinoma in the lungs of nude mice. **Conclusion**

Myricetin effectively inhibits the cell viability, migration and invasion of human renal cancer ACHN cells. It has the potential therapeutic value in the treatment of renal cell carcinoma.

[Key words] renal cell carcinoma; myricetin; migration; invasion

肾细胞癌是一类常见的、恶性程度较高的泌尿

系统肿瘤,多数患者对放、化疗不敏感,目前临床上仍以手术治疗为主^[1]。但研究发现约 20%~40% 的肾细胞癌患者即使经手术治疗后仍然会发生远处转移或局部复发,这些患者的预后很差^[2,3]。虽然分子靶向药物的出现意味着肾癌药物治疗的巨大进步,但因其耐药或副反应等原因,在临床治疗中仍然存在着一一定的局限性^[4]。

杨梅酮又名杨梅树皮素、杨梅素或杨梅黄酮,是

[基金项目] 上海市“领军人才”计划项目(2013046);上海市青年科技英才扬帆计划(16YF1403600)

[作者简介] 谭海颂,博士研究生。Email: tanhaisong1983@fox-mail.com

[通讯作者] 王林辉,博士生导师。研究方向:泌尿系肿瘤。Email: wanglinhuicz@163.com

一类多羟基黄酮类化合物,主要存在于杨梅树的树皮和树叶中^[5]。近期的研究发现杨梅酮能够抑制多种肿瘤细胞生长和侵袭的能力,具有作为肿瘤治疗药物的应用前景,但在肾癌中的相关研究还很少。因此,本研究对杨梅酮抑制肾癌 ACHN 细胞株的活力、迁移及侵袭能力的作用进行了体内外实验观察,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 细胞系及试剂 人肾癌 ACHN 细胞(ATCC 公司),杨梅酮(Selleck 公司),MEM 培养基(Hyclone 公司),胎牛血清(Gibco 公司),Transwell 侵袭小室(Corning 公司)。酶标仪(Labsystems MK3,上海雷勃)、细胞无菌操作台(青岛海尔)、倒置显微镜(Olympus 公司)等实验仪器及常规试剂由第二军医大学长海医院中心实验室提供。

1.2 细胞培养 人肾癌 ACHN 细胞用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基在 37 °C、5% CO₂ 条件下置于细胞孵箱中培养,每日用倒置显微镜观察细胞生长情况,至生长融合至 80%~90% 时,按 1:3 传代,取对数生长期的细胞用于后续实验。

1.3 细胞活力测定 采用 CCK-8 法进行检测。取对数生长期的 ACHN 细胞,重悬后按 3×10^3 个/孔接种在 96 孔板内,每孔 200 μ l,设 5 个实验复孔。待细胞贴壁后,吸除原培养基,再更换为含或不含不同浓度(0、25、50、100 μ mol/L)杨梅酮的培养基,并分别继续培养 0、12、24、48 h 后加入 90 μ l 的培养液和 10 μ l 的 CCK-8,置于细胞孵箱培养 1 h 后用酶标仪在 450 nm 下检测其光密度值(OD),计算细胞存活率。计算公式:细胞存活率(%)=(OD_{药物} - OD_{空白})/(OD_{溶剂} - OD_{空白}) \times 100%。

1.4 体外划痕实验 在 6 孔板中培养 ACHN 细胞至生长融合达 90% 时,用 200 μ l 无菌移液枪头划痕,用 PBS 漂洗去除划痕脱落细胞后,分别加入含或不含不同浓度(0、25、50、100 μ mol/L)杨梅酮的无血清 MEM 培养基,置于细胞孵箱中 37 °C、5% CO₂ 条件下培养,分别于 0 h 和 48 h 置于倒置显微镜下观察并拍照。每组设 3 个复孔,该实验重复 3 次。计算公式:划痕愈合率(%)=(细胞迁移距离/细胞划痕距离) \times 100%。

1.5 Transwell 侵袭实验 取对数生长期经无血清培养基预处理的 ACHN 细胞,重悬后调整细胞密度为 1.0×10^5 个/ml,在预铺基质胶的 Transwell 小室的上层室分别加入 100 μ l 含或不含不同浓度(0、25、50、100 μ mol/L)杨梅酮的无血清 MEM 培养

基,下层室加入 600 μ l 含 10% FPS 的 MEM 培养基后置于细胞孵箱中 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h。用棉签擦去上层室滤膜上的细胞,4 °C 下甲醇固定 15 min, PBS 漂洗 3 遍,0.1% 结晶紫染色 30 min, PBS 漂洗后置倒置显微镜下观察 5 个视野,细胞计数并拍照,该实验重复 3 次。计算公式:细胞侵袭抑制率(%)=[1-(药物组侵袭细胞数/对照组侵袭细胞数)] \times 100%。

1.6 尾静脉注射肺转移模型实验 本实验所用裸鼠(BALB/c-nu)购自中国科学院上海实验动物中心,雄性,4 周龄,小鼠平均体质量约 20 g;饲养于第二军医大学实验动物中心,饲养环境 SPF 级。裸鼠的饲养及实验操作均严格遵循第二军医大学实验动物伦理委员会的相关规定。实验组及对照组每组均为 6 只裸鼠,首先取对数生长期的 ACHN 细胞,将 1×10^6 个细胞重悬于 200 μ l 的 PBS,再经尾静脉注射建立肺转移动物模型。3 d 后待裸鼠生命体征平稳后,开始腹腔注射杨梅酮。实验组每周 5 次(每周连续给药 5 d,停止给药 2 d),应用杨梅酮粉剂溶解于载体溶剂(4% DMSO+30% PEG300+ddH₂O)配制杨梅酮注射液(药物浓度 3 mg/ml),按 15 mg/kg 杨梅酮腹腔注射(例,20 g 裸鼠注射 100 μ l),对照组注射等体积不含杨梅酮的载体溶剂。6 周后将裸鼠处死,将肺组织取材进行 HE 染色,并在光学显微镜下计数肺微转移灶数目。

1.7 统计学处理 应用统计软件 SPSS 18.0 进行数据分析,应用 *t* 检验分析实验组和对照组之间的差异,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 杨梅酮对细胞活力的影响 如图 1 所示,当杨梅酮作用于肾癌 ACHN 细胞株 24 h 后应用 CCK-8 法检测发现,50 μ mol/L 杨梅酮组细胞活力与空白组相比,差异具有统计学意义($P=0.019$)。并且随着药物浓度的增加以及作用时间的延长,抑制效应也会逐渐增强,表明杨梅酮药物作用呈现浓度依赖性及其作用时间依赖性的特点。

2.2 杨梅酮可抑制肾癌细胞的迁移能力 如图 2 所示,与空白组相比,经 50 μ mol/L 和 100 μ mol/L 的杨梅酮处理的 ACHN 细胞的迁移能力明显减弱($P < 0.01$),其划痕抑制率分别为 13.6% 和 32.8%。并且 50 μ mol/L 和 100 μ mol/L 杨梅酮组间进行比较,差异也有统计学意义($P < 0.01$),划痕实验结果显示杨梅酮对肾癌细胞迁移能力的抑制具有浓度依赖性。

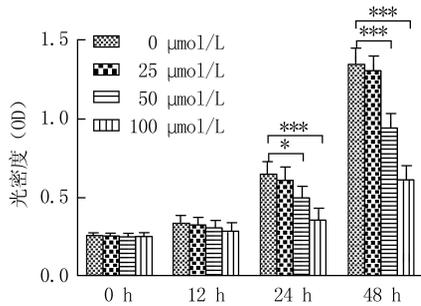


图1 不同浓度的杨梅酮作用于肾癌 ACHN 细胞株不同时间对于细胞活力的影响
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, 与空白组比较

2.3 杨梅酮可抑制肾癌细胞的侵袭能力 如图3所示,与空白组相比,经 50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的杨梅酮处理的 ACHN 细胞,穿过滤膜的肿瘤细胞数目明显减少 ($P < 0.01$),其抑制率分别为 22.9% 和 56.3%。此外,50 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 杨梅酮组之间进行比较,差异也有统计学意义 ($P < 0.01$),表明杨梅酮对于肾癌 ACHN 细胞的侵袭能力的抑制也具有浓度依赖性。

2.4 杨梅酮可抑制肾癌细胞肺转移能力 如图4所示,与对照组相比,实验组腹腔注射杨梅酮显著减少了小鼠肾癌肺微转移灶的数目 ($P < 0.01$)。

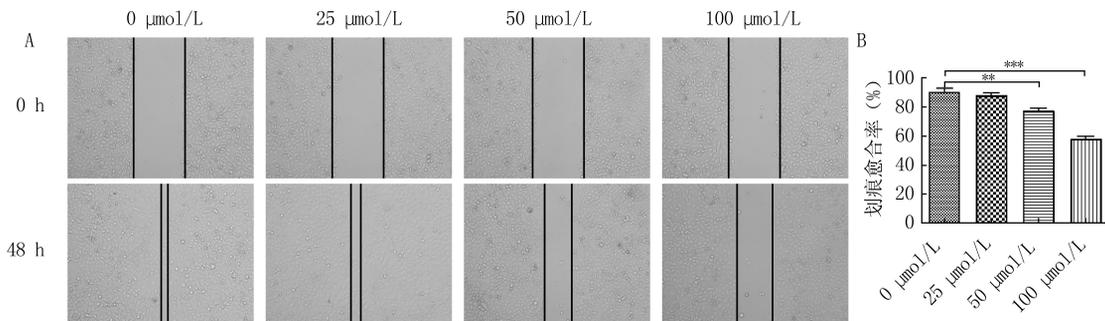


图2 不同浓度的杨梅酮对肾癌 ACHN 细胞株迁移能力的影响 ($\times 100$)

A. 不同浓度的杨梅酮(0, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$)处理 48h 的肾癌 ACHN 细胞株划痕愈合情况;
B. 杨梅酮能够显著地抑制 ACHN 细胞的迁移能力; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与空白组比较

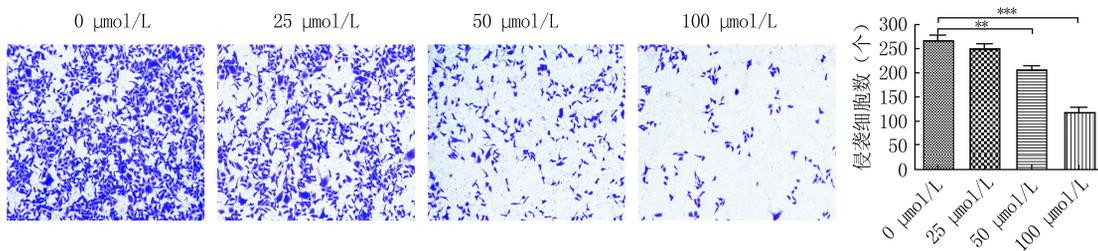


图3 不同浓度的杨梅酮对肾癌 ACHN 细胞株侵袭能力的影响 ($\times 100$)

A. 不同浓度的杨梅酮(0, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$)作用下肾癌 ACHN 细胞株进行 Transwell 侵袭实验;
B. 杨梅酮能够显著地抑制 ACHN 细胞的侵袭能力; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与空白组比较

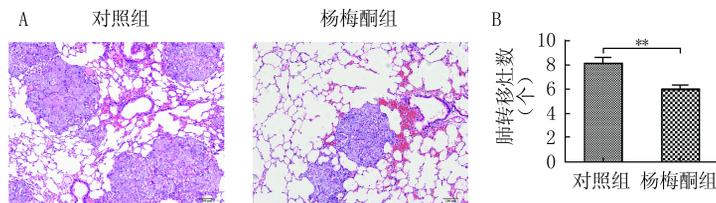


图4 杨梅酮对于肾癌肺转移灶的抑制作用 ($\times 100$)

A. 在肾癌肺转移裸鼠模型体内,腹腔注射杨梅酮(15 mg/kg)及不含杨梅酮的对照载体溶剂的肺组织 HE 染色;
B. 杨梅酮能够显著减少裸鼠肾癌肺微转移灶的数目; ** $P < 0.01$, 与对照组比较

并且经腹腔注射杨梅酮的裸鼠在实验期内全部存活,且未发现毒副反应的症状。肾癌肺转移模型体内实验结果表明,杨梅酮是一种较为安全的、能够有效抑制肾癌肺转移的药物。

3 讨论

转移是肾细胞癌病程进展中最重要的标志性事件,也是导致患者死亡最主要的原因。一些天然来

源的中药成分,因其来源广泛、费用便宜、毒性较低,并具备抗肿瘤生物活性作用等特点,在肿瘤治疗领域中的作用逐渐受到研究者的重视^[6]。但这些天然来源的药物成分比较复杂,生物体内作用靶点多,作用机制还不清楚,并且药物的量效关系较难控制,因此还需做进一步的研究。

近年来杨梅酮与肿瘤治疗的相关研究逐渐成为热点,多项研究发现杨梅酮对胃癌、卵巢癌、膀胱癌、肝癌等肿瘤细胞有显著的抑制作用,能够诱导肿瘤细胞凋亡以及抑制肿瘤细胞的增殖能力^[7-10]。郭海清等^[11]研究发现杨梅酮能够通过细胞凋亡的线粒体途径导致促凋亡因子 BAX 蛋白表达增高、抗凋亡因子 BCL-2 蛋白表达降低,从而显著诱导肝癌 HepG2 细胞的凋亡。杨梅酮通过调节 BCL-2 蛋白家族的表达,从而诱导肝癌细胞的凋亡,抑制肿瘤细胞的增殖,这在动物体内实验中得到证实^[12]。李有富等^[13]和刘师兵等^[14]的研究发现,杨梅酮能够促进 caspase-3 和 caspase-9 的蛋白表达、抑制 survivin 蛋白表达,从而诱导人宫颈癌 HeLa 细胞发生凋亡,且具有浓度和时间依赖性。此外,研究发现杨梅酮能够通过阻断 ERK 信号通路减少 MMP-2 和 u-PA 的活性,从而抑制肺腺癌 A549 细胞的迁移和侵袭能力^[15]。

CCK-8 试剂中含有 2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二磺基苯)-2H-四唑单钠盐(WST-8),而 WST-8 在细胞体内能够被还原为橙黄色的甲瓚产物,而生成的甲瓚物的数量与活细胞的数量是成正比的,因此在研究中 CCK-8 实验常常可以用于细胞活性分析。本实验中应用不同浓度的杨梅酮刺激肾癌 ACHN 细胞,CCK-8 实验的结果显示,与空白组相比,杨梅酮对于肾癌细胞的活力具有显著的抑制作用,并且随着杨梅酮浓度的增加以及药物作用时间的延长,肾癌细胞活力的抑制率随之增加。众所周知肿瘤细胞具有迁移和侵袭的能力是肿瘤能够发生转移的基础,与肿瘤的转移密切相关。因此我们进一步通过体外划痕实验以及 Transwell 侵袭实验分别检测杨梅酮是否具备抑制肾癌 ACHN 细胞迁移和侵袭能力的生物学作用,实验结果表明杨梅酮能够随着药物浓度的增加抑制肾癌 ACHN 细胞株的迁移以及侵袭的能力。在动物体内进行实验研究是具有初步转化医学特点的研究手段,通过尾静脉注射肿瘤细胞是肿瘤相关研究中较为公认的建立肿瘤肺转移模型的方法之一。因此我们在裸鼠体内通过尾静脉注射肾癌 ACHN 细胞建

立肾癌肺转移动物模型并通过腹腔注射给药的方式在动物体内验证杨梅酮的药效,发现杨梅酮确实能够抑制肾癌细胞发生肺转移,进一步证实了杨梅酮对肾癌细胞转移具有抑制效应,预示着杨梅酮具有潜在的用于抑制肾癌转移的应用前景。

综上所述,本实验通过体内和体外实验证实了杨梅酮能抑制肾癌 ACHN 细胞的活力、迁移及侵袭能力,意味着杨梅酮具备作为抑制肾癌转移治疗药物的潜力,进而为今后杨梅酮在肾癌药物治疗领域的临床研究提供了前期实验的依据,可能为肾癌患者的治疗提供了新的选择。

【参考文献】

- [1] 惠丽娜,范开席,徐忠法.肾细胞癌的治疗方法及应用现状[J].山东医药,2015,55(14):102-103.
- [2] Novara G, Ficarra V, Antonelli A, et al. Validation of the 2009 TNM version in a large multi-institutional cohort of patients treated for renal cell carcinoma: are further improvements needed? [J]. Eur Urol, 2010, 58(4): 588-595.
- [3] Gupta K, Miller JD, Li JZ, et al. Epidemiologic and socioeconomic burden of metastatic renal cell carcinoma (mRCC): a literature review [J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34(3): 193-205.
- [4] 刘磊.转移性肾细胞癌靶向药物治疗的现状[J].国际泌尿系统杂志,2015,35(6):923-926.
- [5] 吴少花,陈君,刘亚萌,等.杨梅素抗肿瘤活性研究进展[J].吉林医药学院学报,2015,36(5):381-383.
- [6] 刘雪丽,周学锋,王君瑜,等.中药抗肿瘤作用机制研究进展[J].中国药师,2016,19(6):1158-1162.
- [7] Feng J, Chen X, Wang Y, et al. Myricetin inhibits proliferation and induces apoptosis and cell cycle arrest in gastric cancer cells [J]. Mol Cell Biochem, 2015, 408(1-2): 163-170.
- [8] Huang H, Chen AY, Ye X, et al. Myricetin inhibits proliferation of cisplatin-resistant cancer cells through a p53-dependent apoptotic pathway [J]. Int J Oncol, 2015, 47(4): 1494-1502.
- [9] Sun F, Zheng XY, Ye J, et al. Potential anticancer activity of myricetin in human T24 bladder cancer cells both *in vitro* and *in vivo* [J]. Nutr Cancer, 2012, 64(4): 599-606.
- [10] Seydi E, Rasekh HR, Salimi A, et al. Myricetin selectively induces apoptosis on cancerous hepatocytes by directly targeting their mitochondria [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2016, 119(3): 249-258.
- [11] 郭海清,任锋,陈亚利,等.杨梅素对 HepG2 细胞凋亡的影响[J].北京医学,2014,36(9):748-751,799.
- [12] 李有富,李魏林.杨梅素对肝癌细胞 Bel-7402 裸鼠移植瘤的抑制作用[J].中国医药导报,2015,12(31):44-47.
- [13] 李有富,李辉,韩涛,等.杨梅素诱导人宫颈癌 HeLa 细胞凋亡及凋亡通路的研究[J].西北药学杂志,2016,31(3):270-274.

3 讨论

目前恶性肿瘤的死亡率已超过心脑血管疾病成为人类的第一杀手。肿瘤的侵袭和转移是造成恶性肿瘤患者难以治疗及康复的关键性因素^[1,2],肿瘤转移的机制主要有肿瘤遗传异质性、EMT、失巢凋亡抗性、血管与淋巴管生成等,其中 EMT 被认为是肿瘤转移和进一步恶化的重要机制之一^[11],其在肿瘤转移中的作用已在实验动物模型中得到证实。肿瘤细胞发生 EMT 后,失去细胞极性,细胞间连接松散杂乱,具有较强的侵袭迁移和抗凋亡的能力,细胞形态也由排列紧密规则的多边形或立方形的“铺路石样”变成似成纤维状的梭形或纺锤体形。在这个过程中,细胞标志物也发生了相应的变化,上皮细胞标志分子(E-cadherin、Desmoplakin 和 Cytokeratin)在蛋白水平上表达上调而间质细胞标志分子(N-cadherin 和 Vimentin)在蛋白水平上表达下调;在一定的条件下,CONPs 也能抑制肿瘤细胞的 EMT 过程,使得肿瘤细胞失去间质细胞特征,获得上皮细胞特点从而发生间质-上皮转化(mesenchymal-epithelial transition, MET)^[12,13]。

我们的实验结果显示,CONPs 能明显地抑制小鼠黑色素瘤 B16 细胞的增殖,并抑制 B16 细胞的 EMT 过程的发生。CONPs 作用后使得 B16 细胞由似成纤维状、部分细胞呈典型的梭形、纺锤体形等间质细胞形态特点转变为排列紧密、呈多边形的细胞形态,具有典型的上皮细胞特点,从形态学上说明了 CONPs 处理后小鼠黑色素瘤 B16 细胞发生了倾向 MET 样的转化。细胞免疫荧光和蛋白免疫印迹实验结果也进一步验证了 CONPs 抑制了 B16 细胞的 EMT 过程。

综上所述,CONPs 作为潜在的新型无机纳米药物,能明显地抑制小鼠黑色素瘤 B16 细胞的 EMT 过程和抑制肿瘤的侵袭转移。然而肿瘤转移是一个多阶段、多因素参与的复杂过程,其相关机制的阐明还需要进一步的试验研究。

【参考文献】

- [1] Wan L, Pantel K, Kang Y. Tumor metastasis: moving new biological insights into the clinic [J]. *Nat Med*, 2013, 19(11):1450-1464.
- [2] Torzilli PA, Bourne JW, Cigler T, et al. A new paradigm for mechanobiological mechanisms in tumor metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(5-6):385-395.
- [3] Rhim AD, Aiello NM, Mirek ET, et al. Abstract IA5: EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. [J]. *Cancer Res*, 2014, 72(14 Supplement):IA5-IA5.
- [4] Thomas N, Seyfried, Huysentruyt LC. On the origin of cancer metastasis [J]. *Crit Rev Oncog*, 2013, 18(1-2):43-73.
- [5] Foroni C, Broggin M, Generali D, et al. Epithelial-mesenchymal transition and breast cancer: role, molecular mechanisms and clinical impact [J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(6):689-697.
- [6] Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells [J]. *J Cell Biol*, 1982, 95:333-339.
- [7] Wang Y, Yang F, Zhang HX, et al. Cuprous oxide nanoparticles inhibit the growth and metastasis of melanoma by targeting mitochondria [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 4(8):3133-3145.
- [8] Wang Y, Zi XY, Su J, et al. Cuprous oxide nanoparticles selectively induce apoptosis of tumor cells [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7:2641-2652.
- [9] Song H, Wang W, Zhao P, et al. Cuprous oxide nanoparticles inhibit angiogenesis via down regulation of VEGFR2 expression [J]. *Nanoscale*, 2014, 6:3206-3216.
- [10] Wen JQ, Cheng ZH, Li QC. Cuprous oxide nanospheres as probes for light scattering imaging analysis of live cells and for conformation identification of proteins [J]. *Talanta*, 2010, 80(3):1400-1405.
- [11] 王杰军, 应明真. 恶性肿瘤的转移机制与治疗策略 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15(4):305-310.
- [12] 李爱明, 赵惠民, 揭俊卿. 芒柄花黄素对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖及上皮间质转化的抑制作用 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2015, 6(6):481-486.
- [13] 解 昆, 王剑松, 肖民辉, 等. MicroRNA-143 通过抑制 EMT 机制延缓膀胱癌演进 [J]. *求医问药(学术版)*, 2012, 2(2):8-10.

【收稿日期】 2015-12-21 【修回日期】 2016-07-29
【本文编辑】 顾文华

(上接第 232 页)

- [14] 刘师兵, 陈 君, 吴少花, 等. 杨梅素诱导 HeLa 细胞凋亡的形态学研究 [J]. *吉林医药学院学报*, 2015, 36(6):418-421.
- [15] Shih YW, Wu PF, Lee YC, et al. Myricetin suppresses invasion and migration of human lung adenocarcinoma A549 cells;

possible mediation by blocking the ERK signaling pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(9):3490-3499.

【收稿日期】 2017-02-03 【修回日期】 2017-03-28
【本文编辑】 顾文华