

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2009.07.003

槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 增殖及侵袭力的影响

李 昆¹,李世正²,张蕴莉¹,张俊华²,李锦成²,单吉贤³

Effect of Quercetin on Proliferation and Invasion of Human Breast Carcinoma Cell Line MDA-MB-435S

LI Kun¹, LI Shi-zheng², ZHANG Yun-li¹, ZHANG Jun-hua², LI Jin-cheng², SHAN Ji-xian³

1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou 121001, China, 2. Department of General Surgery; 3. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of China Medical University

Abstract: Objective To investigate the effect of quercetin on the proliferation and invasion in human breast cancer cells. **Methods** The proliferate capacity of human breast carcinoma cell line MDA-MB-435 S was measured using tryan blue dye exclusion test, the apoptosis rate was analyzed using flow cytometry and the invasive capacity was measured using Boyden chamber invasive model after the cells were treated with different concentrations of quercetin (12.5, 25, 50, 100 and 200 μM). **Results** Quercetin could inhibit the proliferation and invasion and induce apoptosis of MDA-MB-435S cells at dose dependent relationships. With 200 μM of quercetin the growth and invasion of MDA-MB-435S cells were almost completely inhibited. **Conclusion** Quercetin could inhibit the proliferation and invasion and induce apoptosis of human breast carcinoma cell line MDA-MB-435S at dose dependent patterns, which could provide some bases for the clinical application of quercetin for breast cancer therapy in the near future.

Key words: Quercetin; Breast carcinoma; Proliferation; Invasion

摘要:目的 探讨槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 S 增殖及侵袭能力的影响。**方法** 人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 S 以 12.5、25、50、100、200 μM 终浓度的槲皮素处理后,台盼蓝拒染法检测细胞的增殖状况、流式细胞术法检测细胞的凋亡率、Boyden 小室法检测细胞的侵袭能力。**结果** 人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 S 经槲皮素处理后,其体外增殖及侵袭能力明显下降的同时凋亡率明显上升,且与药物的剂量呈正相关,当槲皮素终浓度达到 200 μM 时,MDA-MB-435 S 细胞的生长及侵袭能力几乎完全受到抑制。**结论** 槲皮素在体外剂量依赖性的抑制人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 S 的增殖及侵袭能力并能诱导其凋亡,为槲皮素用于乳腺癌的预防和治疗提供了部分依据。

关键词: 槲皮素;乳腺癌;增殖;侵袭力

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2009)07-0549-03

0 引言

乳腺癌已经成为全球女性发病率最高的恶性肿瘤,其发生发展与乳腺癌细胞的增殖能力和侵袭能力密切相关,因此寻找特异性的抑制乳腺癌细胞增殖和转移的靶向药物成为抗乳腺癌药物开发的热点。近年来研究发现,槲皮素不仅对多种致癌和促癌物质有抑制作用,而且对多种肿瘤细胞的生长也有抑制作用^[1-5]。本研究观察了槲皮素对体外培养的人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 增殖和侵袭力的

影响,为将槲皮素应用于乳腺癌的预防和治疗提供更充分的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

槲皮素购于 Sigma 公司,用 DMSO(二甲基亚砷)配成贮存液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,实验时用 DMEM 稀释,DMSO 的终浓度 $< 0.9\%$; DMEM、FBS、青、链霉素均购于 Gibco 公司;RNA 酶及 PI(碘化丙锭)购于 Sigma 公司;Matrigel 购于 BD 公司;人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 S 由中国医科大学病理学教研室馈赠。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 0.05 的 CO_2

收稿日期:2008-08-27;修回日期:2008-11-19

作者单位:1. 121001 辽宁锦州,辽宁医学院附属第一医院检验科,2. 普外科,3. 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

作者简介:李昆(1980-),女,硕士,检验师,主要从事干细胞的基础研究和应用

饱和湿度条件下,人乳腺癌细胞 MDA-MB-435 S 培养于 10%DMEM 中(含体积分数 0.1 FBS、100 u/ml 青、链霉素),每 2 天换液 1 次。

1.2.2 槲皮素处理人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S

取对数生长期细胞,调整细胞浓度为 4×10^5 /ml,接种于培养皿内进行试验。将槲皮素分别以 12.5、25、50、100、200 μ M 的终浓度加入培养液中,同时设置含体积分数为 0.008 的 DMSO 培养组及不加药物的培养组为对照组。不同浓度槲皮素处理的细胞分别于 24、48、72 h 进行台盼兰染色,计数生存细胞数;不同浓度槲皮素作用细胞 72 h 后,分别采用瑞士-姬姆萨混合染色液进行染色观察细胞形态学的变化,流式细胞术检测细胞凋亡率。

1.2.3 细胞体外侵袭实验

在 transwell 小室滤膜的上表面铺 100 μ l matrigel,于 37 $^{\circ}$ C 作用 1 h 备用,将含有不同槲皮素浓度的细胞悬液 200 μ l 加入小室的上室中,使细胞总数达到 4×10^4 个,下室加入 10%DMEM,于 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 24 h,用棉签擦净膜上表面细胞,HE 染色后,在倒置显微镜下共计数中央及四周 5 个视野,取平均值。

细胞侵袭抑制率(%) = (1-实验组侵袭细胞数/对照组侵袭细胞数) \times 100%

1.3 统计学方法

应用 SPSS 10.00 统计软件,组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 生长的影响

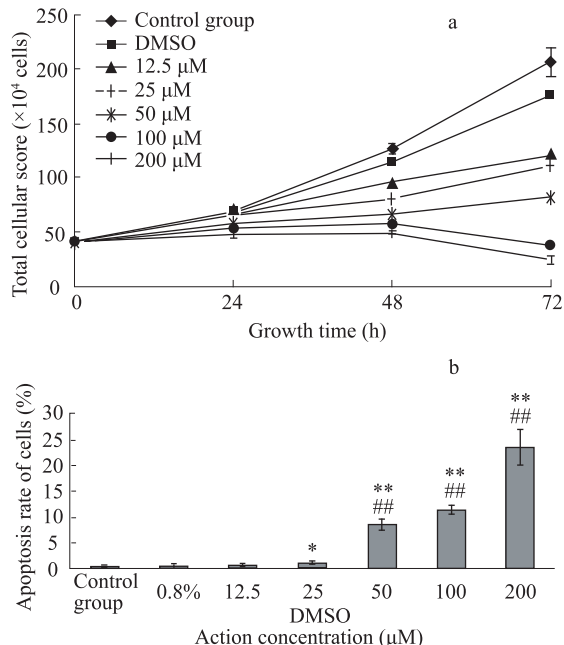
不同浓度槲皮素均能抑制人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 的增殖并诱导其凋亡,且这种增殖抑制和诱导凋亡作用与槲皮素呈剂量依赖关系,见图 1a、1b。当槲皮素浓度达到 200 μ M 时,人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 的生长几乎完全受到抑制,见图 1a。

2.2 槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 形态的影响

显微镜下观察,人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 呈单层生长,多角形或卵圆形,胞浆透亮;经槲皮素处理后,随着槲皮素浓度的增加,生存细胞数量及胞浆透明度均明显下降,胞膜完整但出现发泡现象,见图 2。

2.3 槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 侵袭能力的影响

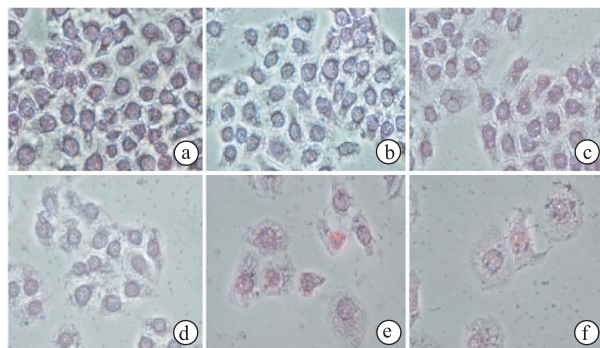
如图 3 所示,不同浓度的槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 的侵袭能力均有抑制作用,且这



1a: the growth curves; 1b: cells' apoptosis rate Compared with 0.8% DMSO group, ##: $P < 0.01$; Compared with control group, *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$

图 1 不同浓度槲皮素作用后人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 生长动力学变化

Figure 1 The growth kinetic changes of of human breast cancer lines MDA_MB_435S cultured with different quercetin concentrations



2a: Control group; 2b: 12.5 μ M; 2c: 25 μ M; 2d: 50 μ M; 2e: 100 μ M; 2f: 200 μ M

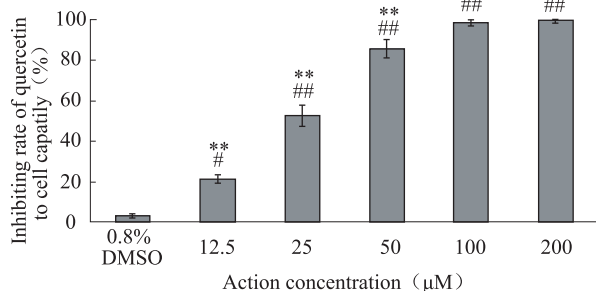
图 2 不同浓度槲皮素作用 MDA-MB-435S 细胞 72 h 后细胞形态学变化 (瑞士姬姆萨染色 $\times 200$)

Figure 2 Morphologic changes of human breast cancer lines MDA-MB-435S cultured with different quercetin concentrations for 72 h (Wright-Giemsa staining $\times 200$)

种侵袭抑制作用与槲皮素呈剂量依赖关系,与体积分数为 0.8% DMSO 培养组相比各浓度组所测细胞侵袭抑制率差异有统计学意义 ($P < 0.05$),与对照组相比各浓度组所测细胞侵袭抑制率差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3 讨论

槲皮素是一种黄酮类化合物,广泛分布于自然



Compared with 0.8% DMSO group, #: $P < 0.05$, ##: $P < 0.01$;
 Compared with control group, **: $P < 0.01$

图 3 槲皮素对人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 侵袭抑制作用

Figure 3 Invasive inhibitory effects of different quercetin concentration on human breast cancer lines MDA-MB-435S

界各种植物的花、叶、果实之中,易于提取、分离及检测。近年来研究发现,槲皮素能够抑制多种肿瘤细胞的增殖^[6-7]、逆转肿瘤细胞的多药耐药性^[8]及增强其他抗肿瘤药物作用的敏感性^[9-11],因此,本实验研究选择槲皮素作为研究对象,观察其对乳腺癌细胞增殖及侵袭力的影响。

乳腺癌的生成是肿瘤细胞增殖及凋亡失衡失调的结果:细胞周期失控导致细胞过度增殖,但更重要的是细胞凋亡受阻,直接导致了衰老、受损及异常细胞的生命延长。其预后与肿瘤转移呈负相关,肿瘤转移包括多个过程,其中肿瘤细胞侵袭是肿瘤转移的前提^[12],因此,有效抑制乳腺癌细胞增殖并诱导其凋亡的同时降低其侵袭能力是防治乳腺癌的关键。人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 具备高侵袭高转移的生物学特性,本研究通过测定其侵袭人工基底膜的能力,间接反映了其在体内的侵袭能力。实验结果显示,槲皮素通过剂量依赖的方式不仅实现了其对乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 明显的增殖抑制及诱导凋亡作用,而且极大的降低了人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 的体外侵袭能力,即随着槲皮素作用浓度的增大,其对乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 的增殖和侵袭抑制及诱导凋亡作用就越明显,当槲皮素浓度达到 200 μM 时,MDA-MB-435S 细

胞的生长和侵袭能力几乎完全受到抑制。

综上所述,槲皮素对体外培养的人乳腺癌细胞 MDA-MB-435S 具有抑制增殖和侵袭及诱导凋亡的作用,但其作用机制和能否应用于人乳腺癌的临床治疗还需要进行进一步的研究。

参考文献:

- [1] IWase Y, Takemura Y, Ju-ichi M, et al. Inhibitory effect of flavonoid derivatives on Epstein-Barr virus activation and two-stage carcinogenesis of skin tumor[J]. Cancer lett, 2001,173(2):105-109.
- [2] Kim WK, Bang MH, Kim IS, et al. Quercetin decreases the expression of ErbB2 and ErbB3 proteins in HT-29 human colon cancer cells [J]. J Nutr Biochem,2005,16(3):155-162.
- [3] Jen-Hung Yang, Te-Chun Hsia, Hsiu-Maan Kuo, et al. Inhibition of lung cancer cell growth by quercetin glucuronides via G2/M arrest and induction of apoptosis[J]. Drug Metabolism and Disposition, 2006, 34(2): 296.
- [4] Shen lixia, Xu Huiyu, Zhao Piwen, et al. Effect of Quercetin on Proliferation of Human Breast Carcinoma Cells[J]. Chinese Journal of Information on TCM, 2008, 3(15):30-32.
- [5] 柯尊金,丁心喜,董文奎,等. 槲皮素对人膀胱癌 BIU287 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 实用癌症杂, 2008,2(23):116-118.
- [6] Marion R, Robert E, Bfigitte M. Quercetin-induced apoptosis in colorectal tumor cells; possible role of EGF receptor signaling [J]. Nutrition and cancer, 1999, 34(1): 88-89.
- [7] Borska S, Gebarowska E, Wysocka T, et al. The effects of quercetin vs cisplatin on proliferation and the apoptotic process in A549 and SW1271 cell lines in vitro conditions[J]. Folia Morphol (Warsz),2004, 63(1): 103-105.
- [8] Kim SH, Yeo GS, Lim YS, et al. Suppression of multidrug resistance via inhibition of heat shock factor by quercetin in MDR cells [J]. Exp Mol Mnd, 1998, 30(2): 87-92.
- [9] Cipak L, Rauko P, Miadokova E, et al. Effects of Flavonoids on Cisplatin-induced Apoptosis of HL-60 and L1210 Leukemia Cells [J]. Leuk Res, 2003, 27(1): 65-72.
- [10] 刘学明,吴凯南,赵晓波. 槲皮素联合奥曲肽对人乳腺癌细胞株 MDA_MB_231 增殖的影响[J]. 中国肿瘤临床,2005,7(32):404-406.
- [11] 张平,贺兼斌,王小华,等. 苏拉明联合槲皮素抑制肺腺癌小鼠移植瘤的转移[J]. 肿瘤防治研究, 2006,5(33):314-316.
- [12] 徐江锋,罗庚. 上皮细胞间质转型与肿瘤转移[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2007,5(27):393-396.

[编辑:周永红;校对:刘红武]