

木犀草素对甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞侵袭迁移的影响及其机制

钟 烨¹, 王 超², 徐 博¹, 刘春辉¹, 陈建立¹, 王晓涛¹, 田 炜³, 张国志^{1*}

(1. 华北理工大学附属医院, 河北 唐山 063000; 2. 开封市中心医院, 河南 开封 475000;
3. 华北理工大学医学实验研究中心, 河北 唐山 063000)

【摘要】 目的 探讨木犀草素(luteolin, LUT)对甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞侵袭迁移的影响及其可能的机制。**方法** 采用不同浓度的木犀草素(0、20、40 $\mu\text{mol/L}$)与人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞共同培养,实验分为三组:空白对照组(加入等量的二甲亚砜 DMSO)、LUT 20 $\mu\text{mol/L}$ 、LUT 40 $\mu\text{mol/L}$ 。MTT 法检测细胞的生存率,Transwell 小室实验检测细胞侵袭、迁移能力,利用 Western blotting 和 qRT-PCR 分别检测细胞中磷酸化蛋白激酶 B (p-AKT)、基质金属蛋白酶 2、9 (MMP2、MMP9)的蛋白和 MMP2、MMP9 mRNA 表达的变化水平。**结果** 与空白对照组相比,不同浓度的木犀草素对 TPC-1 细胞的增殖活性具有明显的抑制作用(均 $P < 0.05$);LUT 浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 、40 $\mu\text{mol/L}$ 组均明显抑制了 TPC-1 细胞的侵袭、迁移能力(均 $P < 0.05$);与空白对照组相比,LUT 作用于甲状腺乳头状癌细胞 TPC-1 后,p-AKT、MMP2、MMP9 蛋白和 mRNA 的表达水平明显降低(均 $P < 0.05$)。**结论** 木犀草素可能通过 PI3K/AKT 这一信号通路抑制甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞侵袭迁移能力,从而在甲状腺乳头状癌治疗及预后中发挥着重要的作用。

【关键词】 甲状腺乳头状癌;木犀草素;增殖;侵袭;迁移;PI3K/AKT

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018)12-0032-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.12.006

Effect of luteolin on the invasion and migration of papillary thyroid carcinoma TPC-1 cells and its mechanism

ZHONG Ye¹, WANG Chao², XU Bo¹, LIU Chunhui¹, CHEN Jianli¹,
WANG Xiaotao¹, TIAN Wei³, ZHANG Guozhi^{1*}

(1. Affiliated Hospital of North China University of Sciences and Technology, Tangshan 063000, China;
2. Kaifeng Central Hospital, Kaifeng 475000; 3. Medical Research Center of North China University of
Science and Technology, Tangshan 063000)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of luteolin on the invasion and migration of papillary thyroid carcinoma TPC-1 cells and its possible mechanism. **Methods** Various concentrations of luteolin (0, 20, and 40 $\mu\text{mol/L}$) were applied to human papillary thyroid carcinoma TPC-1 cells. The experiment included three groups: blank control group (with the same amount of dimethyl sulfoxide), 20 $\mu\text{mol/L}$ group and 40 $\mu\text{mol/L}$ group. The survival rate of cells was detected by MTT assays, and cell invasion and migration abilities were analyzed by Transwell assays. Western blotting and

【基金项目】 华北理工大学研究生创新项目(2018S35);河北省科技成果推广课题(20150523);河北省政府资助项目(甲状腺外科专科能力建设)。

【作者简介】 钟烨(1988—),男,硕士研究生,研究方向:甲状腺癌基础与临床研究。E-mail: 1145246542@qq.com

【通信作者】 张国志(1964—),男,教授,主任医师,研究方向:肝胆、消化道及甲状腺癌基础与临床研究。E-mail: 279054524@qq.com

qRT-PCR were used to measure the expression levels of phosphorylated protein kinase B (p-AKT), and matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9. **Results** Compared with the blank control group, luteolin at various concentrations had a significant inhibitory effect on the proliferation of TPC-1 cells (all $P < 0.05$). Luteolin concentrations of 20 and 40 $\mu\text{mol/L}$ significantly inhibited the invasion and migration of TPC cells. Compared with the blank control group, the expression levels of p-AKT, MMP-2, and MMP-9 proteins and mRNAs were significantly decreased in TPC-1 cells after luteolin treatments (all $P < 0.05$). **Conclusions** Luteolin inhibits the invasion and migration of papillary thyroid carcinoma TPC-1 cells through the PI3K/AKT signaling pathway, which might play an important role in the treatment and prognosis of papillary thyroid carcinoma.

【Keywords】 thyroid papillary carcinoma; luteolin; proliferation; invasion; migration; PI3K/AKT

甲状腺癌病理类型主要分为乳头状癌、滤泡状癌、未分化癌、髓样癌,其中甲状腺乳头状癌(thyroid papillary carcinoma, PTC)约占甲状腺肿瘤的 60%,近年来发病率呈现逐年增加的趋势,多发于女性和儿童^[1-2]。PTC 主要采用放射性 I^{131} 和手术切除两种治疗方法,大部分的 PTC 虽然预后良好,十年生存率达到 90% 以上,但是部分患者复发率高、预后差,早期远处淋巴结的转移增加了手术治疗的风险性及其预后的复发率^[3]。因此研究出一种副作用低、且有效地抑制 PTC 淋巴结转移的药物成为该领域研究的热点。木犀草素(luteolin, LUT)是一种天然存在的多酚黄酮,以糖苷形式存在于各种水果和蔬菜中,近年来在有关 LUT 在肿瘤领域的研究逐渐受到重视^[4]。一些富含 LUT 的植物所衍生的饮食,可能通过一定的药理学活性发挥抗炎、抗癌、抗过敏等作用,从而在减少一些疾病中发挥重要作用^[5]。研究表明,LUT 在肝癌、结肠癌、卵巢癌等多种肿瘤中,具有抑制细胞的增殖、侵袭和转移能力^[6-10]。但是 LUT 在 PTC 中的作用机制尚不清楚,本研究将不同浓度的 LUT 与人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞共同培养后,探讨 LUT 对 TPC-1 细胞侵袭、迁移能力的影响及其可能的机制,从而为甲状腺乳头状癌新药的开发提供新思路。

1 材料和方法

1.1 实验材料

人甲状腺乳头状癌细胞 TPC-1 由天津医科大学基础医学院馈赠,胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基(Gibco 公司),RNA 提取相关试剂盒(日本 TaKaRa 公司),聚合酶链反应试剂盒、qRT-PCR 引物(美国 Invitrogen 公司),逆转录试剂盒(北京 GenStar 公司),兔抗人 MMP2、MMP9 多克隆抗体(英国 Abcam 公司)、兔抗人 AKT、p-AKT 多克隆抗体(美国 CST 公司),HR 标记的山羊抗兔二抗、MTT 细胞增殖及

细胞毒性检测试剂盒及相关 western 试剂盒(上海碧云天公司),Transwell 小室(美国 Corning 公司),Matrigel(北京索莱宝科技有限公司),二甲基亚砜(DMSO)、木犀草素(美国 Sigma 公司),用 DMSO 溶解木犀草素(浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$),实验中其余药物浓度的配制均采用培养基稀释。qRT-PCR 仪器(中国香港 Gene Company limited 公司),高分辨率倒置显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

处于对数生长期的人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞的培养使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于饱和湿度 37℃、5% CO_2 孵箱中常规培养。

1.2.2 MTT 检测细胞的增殖活性

首先将处于对数生长期的 TPC-1 细胞常规传代培养,然后消化制备成密度为每毫升 3×10^4 的单细胞悬液,吹打均匀后取出每孔 100 μL (密度每毫升 3×10^4)细胞均匀接种于 96 孔板中,在每个 96 孔板周边加上等量的磷酸缓冲盐溶液(PBS),放入细胞孵育箱中常规培养,待细胞贴壁后用不含有 FBS 的培养基同步化。12 h 后弃掉培养基,用 PBS 冲洗 3 遍,将细胞分为 3 组,空白对照组中加入 DMSO(终浓度小于 0.1%),其余各组加入不同浓度的木犀草素(终浓度分别 20 $\mu\text{mol/L}$, 40 $\mu\text{mol/L}$),每组设置 9 个复孔,结果取 9 个复孔的平均值。分别培养 24 h、48 h、72 h 后,加入 MTT(浓度为 5 mg/mL)溶液 10 μL ,置于 37℃ 细胞恒温箱中 4 h。弃掉培养基,每孔加入 100 μL 的 DMSO,继续放入 37℃ 恒温培养箱的摇床上震荡反应约 10 min。用酶标仪在波长 490 nm 测量每孔的吸光度(即 OD 值),OD 值越大,各孔细胞的存活数越多。OD 值表示细胞的增殖活性。

1.2.3 Transwell 小室法检测细胞的迁移能力

将空白对照组(加入等量的 DMSO)及不同浓度

木犀草素(终浓度为 20 μmol/L, 40 μmol/L)培养的 TPC-1 的细胞,消化后制备成单细胞悬液(密度每毫升 4×10^5)。分别取出 200 μL/组细胞悬液均匀接种于 Transwell 小室的上室膜表面,然后取 600 μL 不含双抗的 10% FBS 的 DMEM 培养基加入下室内。置于细胞孵箱中常规培养,24 h 后清除未穿透上室膜表面的细胞,PBS 冲洗 3 遍,将穿过小室膜而黏附于下室面的细胞使用 4% 多聚甲醛固定 30 min 以上,苏木素染色。使用 100 倍的倒置显微镜观察,随机选取每组 5 个视野,计算穿膜细胞数平均值。平行实验重复 3 次。

1.2.4 Transwell 小室法检测细胞的侵袭能力

首先制备人工重组基底膜 Transwell 小室,将不含血清 DMEM 与 Matrigel 稀释按 1:3 的比例稀释,混匀后取稀释液 40 uL 均匀涂抹于小室的上室表面,放置 37℃ 恒温孵育箱过夜,次日紫外线灯下照射 30 min。将空白对照组(加入 DMSO)及不同浓度木犀草素(20 μmol/L, 40 μmol/L)培养的 TPC-1 细胞,消化后制备成密度为每毫升 5×10^5 的单细胞悬液。其余的步骤按照 transwell 小室检测细胞的迁移实验依次进行。平行实验重复 3 次。

1.2.5 Western blotting 法检测蛋白的相对表达水平

LUT 处理各组细胞 48 h 后,将蛋白裂解液与蛋白酶抑制剂按 100:1 混匀后提取 TPC-1 细胞中总蛋白,BCA 法定量蛋白,煮沸 5 min 变性,于 -80℃ 保存备用,每个泳道按照蛋白量 40 μg 上样,12% SDS-PAGE 电泳并进行转膜(90 V,90 min)。转膜后,脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入一抗(1:1000),GAPDH (1:2000)。4℃ 过夜后,0.1% TBST 洗膜 3 次(每次 10 min),加入二抗(1:1000)后室温孵育 1 h,洗膜 3 次后,用 AI600(美国 GE 公司)成像,ECL 荧光显

色。采用 Image J 软件分析条带的灰度值。各组蛋白表达量 = (蛋白灰度值/内参灰度值) × 100%。

1.2.6 qRT-PCR 检测 mRNA 的相对表达水平

按 TRIpure 说明书提取各组细胞总 RNA,逆转录后进行 PCR 扩增。MMP2 的上下游基因分别为:5'-3' CCAGCTGGCCTAGTGATGATG 和 5'-3' CCGCATGGTCTCGATGGTAT。MMP9 的上下游基因分别为:5'-3' CGCAGACATCGTCATCCAGT 和 5'-3' GGATTGGCCTTGGAAGATGA。内参 GAPDH 上下游引物序列分别是:5'-3' CCTGGAAGATGGTGA TGGGATT 和 5'-3' GGTGAAGGTCGGAGTCAACGG。PCR 扩增的条件:预变性 95℃ 20 s,变性 95℃ 5 s,60℃ 30 s,延伸 72℃ 40 s,共 40 个循环。以 GAPDH 为内参,各组的 CT 值均经过 GAPDH 校正后,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分别计算 MMP2、MMP9 mRNA 相对表达量。每组设置 3 个复孔,平行重复实验 3 次。

1.3 统计方法

采用 SPSS 19.0 统计软件,实验数据的计量资料用平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,单因素方差进行多组数据的比较,LSD 法进行两两数据之间的比较,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 不同浓度的 LUT 对细胞增殖活性的影响

用不同浓度的 LUT 分别处理细胞 24 h、48 h、72 h 后,MTT 结果显示 LUT 的浓度越高,作用于细胞的时间越长,细胞的 OD 值越低(即细胞的增殖活性越低),木犀草素对 TPC-1 细胞的抑制作用呈现一定的时间—剂量的依赖性,与空白对照组相比,木犀草素在浓度为 20 μmol/L 和 40 μmol/L 时明显抑制 TPC-1 细胞的增殖活性,差异有显著性 ($P < 0.05$)(如表 1、图 1)。

表 1 不同时间段各组细胞的 OD 值
Table 1 OD values of cells in the groups at various time points

组别 Groups	24 h		48 h		72 h	
	OD	抑制率(%) Inhibition rate	OD	抑制率(%) Inhibition rate	OD	抑制率(%) Inhibition rate
空白对照组 Blank control group	0.933 ± 0.023	0	1.039 ± 0.051	0	1.203 ± 0.082	0
LUT 20 μmol/L group	0.788 ± 0.056 *	15.618 ± 2.369	0.796 ± 0.067 *	23.827 ± 2.714 *	0.802 ± 0.018 *	27.421 ± 3.258 *
LUT 40 μmol/L group	0.636 ± 0.047 *	31.832 ± 3.106	0.653 ± 0.028 *	37.512 ± 2.368 *	0.638 ± 0.035 *	46.965 ± 2.316 *

注:与空白对照组相比,* $P < 0.05$ 。
Note. Compared with blank control group, * $P < 0.05$.

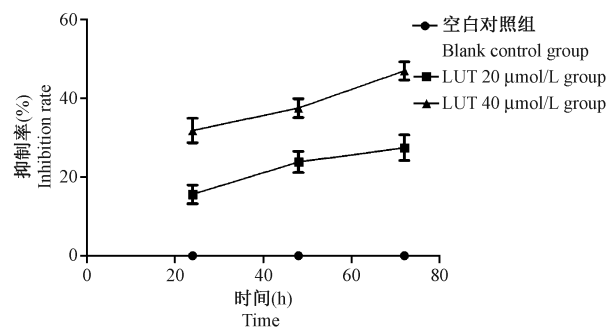
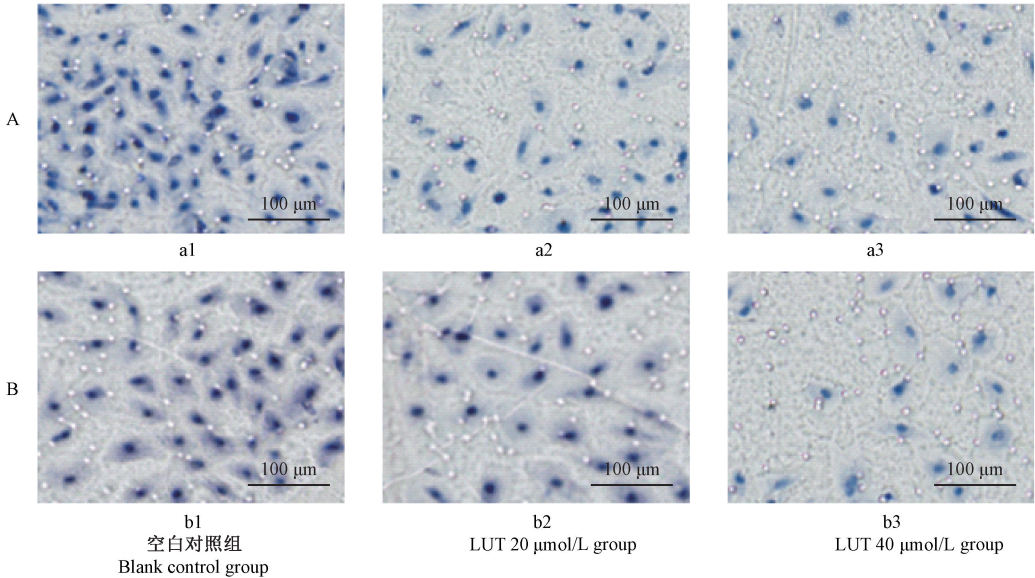


图 1 不同浓度的木犀草素对 TPC-1 细胞的抑制作用(时间—抑制率)

Figure 1 Inhibition of TPC-1 cells by various concentrations of luteolin (time-inhibition rate)

2.2 不同浓度的 LUT 对细胞侵袭、迁移能力的影响

细胞体外迁移实验结果示:与空白对照组穿膜



注:A:细胞迁移能力的变化(×100);B:细胞侵袭能力的变化(×100);a1和b1为空白对照组,a2和b2为LUT 20 μmol/L group,a3和b3为LUT 40 μmol/L group;C图是各组细胞穿透的细胞数;与空白对照组相比,* $P < 0.05$ 。

图 2 transwell 小室检测各组穿透的细胞数

Note. A: Change of cell migration ability(×100); B: Changes of cell invasion ability(×100); a1 and b1 are blank control group, a2 and b2 are LUT 20 μmol/L group, a3 and b3 are LUT 40 μmol/L group; C: the number of cells penetrated of each group; compared with the blank control group, * $P < 0.05$.

Figure 2 Transwell chamber to detect the number of cells penetrated of each group

的细胞数(50.66 ± 6.73)相比,LUT 20 μmol/L(35.33 ± 7.05)显著降低, $P < 0.05$;LUT 40 μmol/L(18.35 ± 6.02)显著降低, $P < 0.05$ 。此外细胞侵袭实验结果示:与空白对照组穿透细胞数(32.33 ± 7.50)相比,LUT 20 μmol/L(24.66 ± 7.02)显著降低, $P < 0.05$;LUT 40 μmol/L(12.67 ± 8.03)显著降低, $P < 0.05$,LUT 可以明显抑制 TPC-1 细胞迁移和侵袭能力。(图 2)

2.3 LUT 对各组细胞中 AKT、P-AKT、MMP2、MMP9 蛋白表达的影响

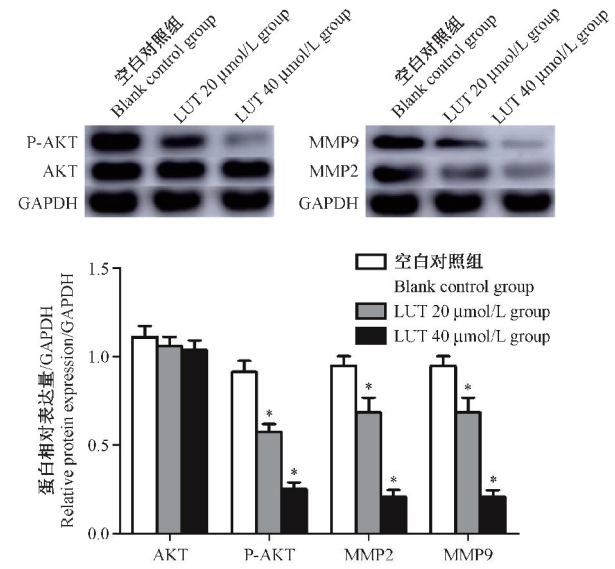
LUT 作用于细胞 48 h 后提取细胞总的蛋白,各组中 AKT 蛋白的相对表达量无明显差异($P > 0.05$);但与空白对照组相比,LUT 浓度为 20 μmol/L 和 40 μmol/L 细胞中 P-AKT、MMP2、MMP9 蛋白的相对表达量均明显降低(均 $P < 0.05$)(图 3)。

2.4 LUT 对各组细胞 MMP2、MMP9 mRNA 表达的影响

不同浓度的木犀草素干预各组细胞后, qRT-PCR 结果显示(如图 4), 木犀草素浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 组的 MMP2、MMP9 mRNA 相对表达量均明显低于空白对照组, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

木犀草素(3',4',5,7-四羟基黄酮)是许多类型

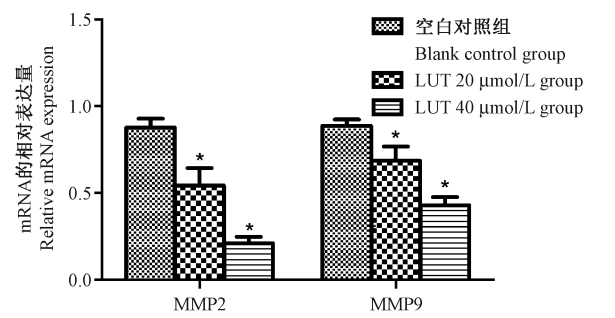


注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 3 LUT 对各组细胞中 AKT、p-AKT、MMP2、MMP9 蛋白水平的影响 ($n = 3$)

Note. Compared with the blank control group, * $P < 0.05$.

Figure 3 Luteolin influences the protein expression of AKT, p-AKT, MMP-2, and MMP-9



注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 4 LUT 对各组细胞中 MMP2、MMP9 mRNA 水平的影响 ($n = 3$)

Note. Compared with the blank control group, * $P < 0.05$.

Figure 4 Luteolin influences the mRNA expression of MMP-2 and MMP-9

植物中常见的类黄酮,以不同形式广泛地阻止肿瘤细胞的增殖和迁移,在胃癌、肝癌、宫颈癌等肿瘤中可通过阻滞细胞周期和诱导细胞凋亡等多种方式发挥着抑制肿瘤生长的作用,是一种有效的抗癌剂^[11-14]。本研究通过 MTT 法观察 LUT 对 TPC-1 细胞增殖活性的影响,结果表明与空白对照组相比,木犀草素浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 时均可以有效地抑制 TPC-1 细胞的增殖活性($P < 0.05$),这与不同浓度的木犀草素抑制人胃癌细胞增殖活性作用的结果相一致^[12]。

研究表明,侵袭及转移在 PTC 中的发病机制中占有重要的作用^[15]。在肿瘤细胞中,基质金属蛋白酶(MMPs)分泌的 MMP 包括明胶酶 A(MMP2)和明胶酶 B(MMP9),通过降解细胞外基质屏障(ECM)不仅参与肿瘤细胞的侵袭转移,而且涉及血管生长、炎症、癌症的进展等^[16]。研究发现,在 PTC 中基质金属蛋白酶 2、9(MMP2、MMP9)呈现高表达,参与调控肿瘤细胞的浸润及侵袭转移^[17-18]。研究证实在甲状腺乳头状癌中磷脂酰肌醇-3 激酶 PI3K/AKT 信号通路可调节 MMPs 活性,从而参与肿瘤细胞侵袭和转移等作用^[19-20]。

在胶质母细胞瘤中,LUT 通过影响 PI3K/AKT 信号通路的活性达到抑制肿瘤细胞的侵袭迁移能力^[21]。在乳腺癌中,木犀草素具有较强的抑制血管生成的作用,通过下调 AEG-1 和 MMP-2 的表达抑制乳腺癌细胞的侵袭活性^[22]。在卵巢癌中,木犀草素可以有效地抑制卵巢癌细胞的侵袭迁移能力,其机制可能与 MMP2 和 MMP9 的表达水平的降低有关^[23]。在前期研究表明不同浓度的木犀草素可以抑制 TPC-1 细胞的增殖活性,在此基础上本研究通过采用木犀草素与人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞共培养,体外侵袭迁移实验结果显示与空白对照组相比,木犀草素在浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞的侵袭及迁移能力明显受到抑制,差异有显著性($P < 0.05$)。进一步探讨 LUT 对抑制人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞侵袭迁移相关机制,Western blotting 结果显示与空白对照组相比,木犀草素浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 和 40 $\mu\text{mol/L}$ 组中的肿瘤相关蛋白 MMP2、MMP9 及 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白 P-AKT 的表达水平明显降低, qRT-PCR 结果进一步表明 MMP2、MMP9 的 mRNA 也明显减少,差异有显著性(均 $P < 0.05$)。该结果与不同浓度的木犀草素有效地抑制肝癌、乳腺癌、前列腺

癌、胶质母细胞瘤等肿瘤细胞侵袭迁移能力的研究结果相一致^[8, 21, 24-25]。

总之,本研究表明 LUT 可以有效地抑制甲状腺乳头癌 TPC-1 细胞的侵袭迁移能力,这一作用可能与 PI3K/AKT 信号通路的活性改变有关,这为 LUT 在 PTC 的治疗中提供了一定的理论依据,有望作为一种新型抗甲状腺乳头状癌的药物在临床中应用。

参考文献:

- [1] Vigneri R, Malandrino P, Vigneri P. The changing epidemiology of thyroid cancer: why is incidence increasing? [J]. *Curr Opin Oncol*, 2015, 27 (1): 1-7.
- [2] Lang BH, Wong CK, Yu HW, et al. Postoperative nomogram for predicting disease-specific death and recurrence in papillary thyroid carcinoma [J]. *Head Neck*, 2016, 38 Suppl 1: E1256-E1263.
- [3] Grant CS. Recurrence of papillary thyroid cancer after optimized surgery [J]. *Gland Surg*, 2015, 4 (1): 52-62.
- [4] Zhang Q, Yang J, Wang J. Modulatory effect of luteolin on redox homeostasis and inflammatory cytokines in a mouse model of liver cancer [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12 (6): 4767-4772.
- [5] López-Lázaro M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2009, 9 (1): 31-59.
- [6] Xavier CP, Lima CF, Preto A, et al. Luteolin, quercetin and ursolic acid are potent inhibitors of proliferation and inducers of apoptosis in both KRAS and BRAF mutated human colorectal cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 281 (2): 162-170.
- [7] 王月华, 李爱峰, 付崇罗, 等. 木犀草素抗肿瘤活性研究 [J]. *时珍国医国药*, 2016, 27 (07): 1587-1590.
- [8] 李春雨, 王琪, 申坤, 等. 木犀草素对人肝癌 HepG2 细胞株侵袭、迁移和黏附能力的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33 (09): 1606-1610.
- [9] 孟欣, 仲维清, 张欣荣. 木犀草素抑制结肠癌 HT-29 细胞增殖、迁移及上皮间质转化的实验研究 [J]. *海南医学院学报*, 2017, 23 (21): 2903-2905, 2909.
- [10] 肖大凯, 覃燕梅, 莫丽儿, 等. 木犀草素对卵巢癌细胞株转移能力的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22 (6): 1199-1202.
- [11] Tuorkey MJ. Molecular targets of luteolin in cancer [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2016, 25 (1): 65-76.
- [12] Wu B, Zhang Q, Shen W, et al. Anti-proliferative and chemosensitizing effects of luteolin on human gastric cancer AGS cell line [J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 313 (1-2): 125-132.
- [13] Ren K, Jin H, Bian C, et al. MR-1 modulates proliferation and migration of human hepatoma HepG2 cells through myosin light

chains-2 (MLC2)/focal adhesion kinase (FAK)/Akt signaling pathway [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (51): 35598-35605.

- [14] Horinaka M, Yoshida T, Shiraishi T, et al. The combination of TRAIL and luteolin enhances apoptosis in human cervical cancer HeLa cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333 (3): 833-838.
- [15] Nix P, Nicolaides A, Coatesworth AP. Thyroid cancer review 1: presentation and investigation of thyroid cancer [J]. *Int J Clin Pract*, 2005, 59 (11): 1340-1344.
- [16] Pepper MS. Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator-plasmin systems in angiogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21 (7): 1104-1117.
- [17] Chang JW, Kang SU, Shin YS, et al. Non-thermal atmospheric pressure plasma inhibits thyroid papillary cancer cell invasion via cytoskeletal modulation, altered MMP-2/-9/uPA activity [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (3): e92198.
- [18] Degl'Innocenti D, Alberti C, Castellano G, et al. Integrated ligand-receptor bioinformatic and in vitro functional analysis identifies active TGFA/EGFR signaling loop in papillary thyroid carcinomas [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (9): e12701.
- [19] Xing M. Genetic alterations in the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway in thyroid cancer [J]. *Thyroid*, 2010, 20 (7): 697-706.
- [20] Liu JY, Wu XY, Wu GN, et al. FOXQ1 promotes cancer metastasis by PI3K/AKT signaling regulation in colorectal carcinoma [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9 (5): 2207-2218.
- [21] Cheng WY, Chiao MT, Liang YJ, et al. Luteolin inhibits migration of human glioblastoma U-87 MG and T98G cells through downregulation of Cdc42 expression and PI3K/AKT activity [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40 (9): 5315-5326.
- [22] 姜英, 谢鲲鹏, 霍洪楠, 等. 木犀草素下调 AEG-1 和 MMP-2 的表达对血管生成和乳腺癌细胞侵袭性的抑制作用 [J]. *生理学报*, 2013, 65 (05): 513-518.
- [23] Liu H, Zeng Z, Wang S, et al. Main components of pomegranate, ellagic acid and luteolin, inhibit metastasis of ovarian cancer by down-regulating MMP2 and MMP9 [J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18 (12): 990-999.
- [24] Park SH, Kim JH, Lee DH, et al. Luteolin 8-C- β -fucopyranoside inhibits invasion and suppresses TPA-induced MMP-9 and IL-8 via ERK/AP-1 and ERK/NF- κ B signaling in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Biochimie*, 2013, 95 (11): 2082-90.
- [25] Zhou Q, Yan B, Hu X, et al. Luteolin inhibits invasion of prostate cancer PC3 cells through E-cadherin [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8 (6): 1684-1691.

[收稿日期]2018-05-11