

木犀草素调控非小细胞肺癌上皮间质转化的分子机制*

阮君山^{1,2}, 周欢¹, 蒋宗胜³, 王少明^{1,2}

(1.福建医科大学省立临床医学院,福州 350001;2.福建省立医院中医药分子生物学实验室,福州 350001;3.福建医科大学药学院,福州 350001)

摘要 目的 探讨木犀草素调控非小细胞肺癌上皮-间质转化(EMT)的分子机制。方法 首先借助分子对接技术研究木犀草素可能的作用靶点,再通过流式细胞检测技术验证对接的结果。结果 分子对接结果表明木犀草素与整合素家族具有很好的对接作用,其中与整合素 α IIb β 3 在对接过程中能量最低,为-15.11;流式细胞检测结果显示,木犀草素可以下调低氧所诱导的整合素表达。结论 木犀草素可以抑制整合素的表达,据此推测木犀草素可以通过整合素来调控 EMT,为中医药防治肿瘤转移提供新的思路。

关键词 木犀草素;上皮-间质转化;分子对接;整合素

中图分类号 R282.71;R734.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2018)01-0020-07

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.01.005

Molecular Mechanism of Luteolin-regulated Epithelial Mesenchymal Transition in Non-small Cell Lung Cancer

RUAN Junshan^{1,2}, ZHOU Huan¹, JIANG Zongsheng³, WANG Shaoming^{1,2} (1. *Clinical College of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China*; 2. *Molecular Biology Laboratory of Traditional Chinese Medicine, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China*; 3. *School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, China*)

ABSTRACT Objective To investigate the molecular mechanism of luteolin-regulated epithelial-mesenchymal transition (EMT) in non-small cell lung cancer. **Methods** Firstly, the potential target of luteolin was studied by molecular docking. The effect of luteolin on EMT markers was analyzed, and then molecular biology experiments were used to verify the results. **Results**

The result of molecular docking showed that luteolin had a good docking effect on the integrin family, of which the lowest binding energy was -15.11 in docking with Integrin α IIb β 3. The result of flow cytometry showed that luteolin could down-regulate the expression of integrin induced by hypoxia. **Conclusion** Luteolin can regulate integrin expression, which suggested that luteolin can regulate EMT through integrin. This conclusion may provide new methods in prevention of tumor metastasis for traditional Chinese medicine.

KEY WORDS Luteolin; Epithelial-mesenchymal transition; Molecular docking; Integrin

木犀草素(luteolin)属于黄酮类植物化学物,其化学名为:3',4',5,7-四羟黄酮(C₁₅H₁₀O₆, CAS491-70-3),其结构见图1。木犀草素主要存在夏枯草、白花蛇舌草、石见穿、石上柏、鱼腥草、败酱草、半枝莲、金银花、菊花、荆芥等中药。研究表明其具有抗菌、抗炎、保护心血管、解痉、祛痰、抑制酶活性、免疫调节、抗氧化、抗辐射、改善帕金森病、利尿、利胆、抗纤维化等药理作用^[1-5]。近年来,木犀草素在抗肿瘤方面的作用引起关注。研究发现木犀草素能干预细胞生长周期,抑制肿

瘤细胞增殖^[5-6];可抑制 DNA 拓扑异构酶,增敏肿瘤坏死因子(TNF- α)和 Trail 诱导的多种肿瘤细胞凋亡^[7];能增强 Gefitinib 对 EGF 信号通路的调控^[8];抑制血管生成、抑制前列腺癌 PC3 细胞的侵袭转移^[9-10]。

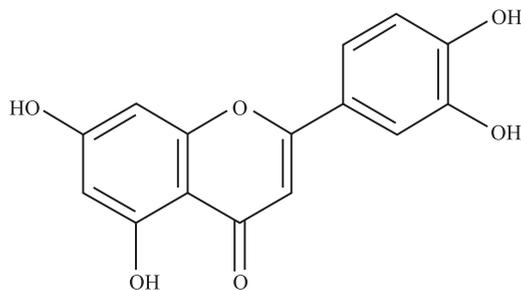


图1 木犀草素的化学结构

Fig.1 Chemical structure of luteolin

收稿日期 2016-11-08 修回日期 2017-06-02

基金项目 *国家自然科学基金面上项目(81273647);福建省自然科学基金项目(2013J01365);福建省卫生系统中青年骨干人才重点项目(2015-ZQN-ZD-2);国家卫计委共建科学研究基金项目(WKJ-FJ-19)

作者简介 阮君山(1976-),男,福建政和人,副主任药师,博士,研究方向:药物干预肿瘤转移的分子机制和医院药学。电话:0591-88216304, E-mail: ruanjunshan@sohu.com。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生是多种细胞因子生长因子共同作用的结

果。大量的信号通过细胞膜表面受体将信号转入细胞内,因此而造成肿瘤细胞 EMT 相关蛋白的表达发生改变。肿瘤细胞一旦由上皮形态的细胞转化为间质化形态,肿瘤的增殖能力和侵袭转移能力将显著增强^[11-12]。研究表明,木犀草素能有效地干预肿瘤的侵袭转移,抑制肿瘤的恶性进程,与它在 EMT 中的干预作用有关,但其中的分子机制尚不明确。

分子对接(molecular docking)技术是近年来发展迅速的计算机辅助药物设计的一项新兴技术。其通过配体与受体相互作用的“锁-钥匙”原理,模拟小分子配体与受体生物大分子之间的潜在作用^[13]。通过计算模拟,可以有效预测药物与其靶点的结合模式和亲和力,从而进行药物的虚拟筛选^[14]。为了探寻木犀草素对 EMT 的作用靶点,笔者采用分子对接技术,对 EMT 过程中的重要分子蛋白及靶点进行了模拟筛选,并对筛选后的结果进行实验验证。

1 材料与方法

1.1 实验细胞 H1975、A549 人非小细胞肺癌细胞株,购自中国科学院上海细胞库。

1.2 试剂 RPMI1640(加拿大维森特公司,批号:35000006);胎牛血清(加拿大维森特公司,批号:086-110);木犀草素,含量 98%,购自西安和霖生物工程有限公司;兔抗人 Integrin α IIb β 3 抗体和山羊抗兔二抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.3 木犀草素三维结构分子的准备 木犀草素的结构来源于 NCBI 网站(PubChem Compound, CID:5280805),在 PubMed 网站上下载后缀名为 sdf 的木犀草素文件,然后使用 UCSF Chimera 分子图形软件制备分子(Prepping Molecules),将木犀草素的平面结构转化为三维结构,对其结构进行加极性氢(essential hydrogen)、加电子、合并非极性氢原子、计算 Gasteiger-Hückel 电荷等常规处理,最后使用 MM2 算法对木犀草素的三维结构进行能量最小化优化(迭代次数 1 000 次,最小的均方根 RMS 梯度为 0.10 nm)。将能量最优化的即最稳定的木犀草素结构转化生成 PDB 格式文件,以备使用。使用 AutoDockTools(ADT)软件定义木犀草素分子的柔性部分(可旋转键),以 PDBQT 格式存储,已备 Autogrid 使用。

1.4 对接参数的设置 使用 Autodock 软件,应用拉马克(LGA)遗传算法,将局部能量搜索与遗传算法相结合,以半经验势函数作为能量打分函数,搜索小分子构象和位置。对接选用的受体格点盒子大小为 2.25 nm×2.25 nm×2.25 nm(60 点×60 点×60 点),格点间距为 0.375 nm,格点盒子中心位于各个蛋白活性位点的中

心。为了提高底物分子在对接过程中的柔性,使每次计算更为充分,从而得到更精确的结果,采用了较大的运算参数,将该算法中的种群数 ga_pop_size(此命令是设置种群中个体的数目,每个个体都是由基因型和相关的表型组成的复合体)从默认值 100 增大为 150,能量评估的最大值 ga_n μ M_evals(此命令设置在遗传算法计算过程中能量评定的最大次数)由默认值 2 500 000 增大为 10 000 000,运算循环数从默认值 10 增大为 100,其余参数使用默认值。对接计算在 3.75 nm×3.75 nm×3.75 nm 的矩形框中进行。

1.5 对接受体的获取 参照文献[15-16],从专业数据库获取蛋白质结构。蛋白质数据库 RCSB 的 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>)是一个专业收集包括蛋白质和核酸在内的生物大分子三级结构的数据库,于 1971 年由美国的布鲁克海文(Brookhaven)国家实验室创建。这些是构成包括细菌、酵母、植物、苍蝇、其他动物以及人类在内的生命体的基本分子。因参与肿瘤 EMT 过程的几大蛋白的三维晶体结构信息均可在蛋白质数据库 RCSB 的 PDB 数据库中(<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>)上获得。从 BIDD(Bioinformatics and Drug Design group)治疗性靶标数据库(Therapeutic Target Database)中收集对接受体(调控 EMT 的关键蛋白),包括现有常见药物靶标,结合调控 EMT 的几大因子,在 PDB 数据库搜索晶体结构,选出共 20 个靶标,其 PDB 代码见表 1。对接前将配体从蛋白—配体复合物中去除后,得到各个目的蛋白的空间结构及活性口袋空间位点。通过用户图形界面 ADT1.5.4 版本软件中 Select 功能下 Select from string 将各个膜蛋白三维结构文件去掉水分子;同理用 Select 功能下 Select from string 窗口中 Residue 键入 ARG8,判定对这些膜蛋白中是否含有柔性残基白;用 Edit 功能下 Hydrogens 进行加氢、合并非极性的氢,计算 Gasteiger-Hückel 电荷。最后以 PDB 格式存储,进行格式转化成 PDBQT,以备 Autogrid 使用。

1.6 细胞培养 取对数生长期的 A549、H1975 细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,加入 0.25%胰蛋白酶(含 0.02%乙二胺四乙酸)2 mL,37 °C 消化 5 min。倒置显微镜下观察细胞分散情况,防止消化过度。加入小牛血清 0.1 mL 终止消化,吹散细胞并转移至 10 mL 离心管中,1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,用新鲜培养液 2 mL 混悬,取少量进行细胞计数,并调整细胞浓度至 1×10⁶·L⁻¹,接种于培养皿中,待细胞生长至 70%~80%融合,除空白组外,实验组中加入木犀草素(分子

表 1 蛋白 PDB 号、活性口袋等相关参数

Tab.1 Parameters of protein PDB number and their active pockets

目的蛋白质	PDB	X	Y	Z	长度	参考文献(第一作者、杂志名、年份)
TGF-betaR	2X70	16.956	-4.82	2.512	342	ROTH G.J.J Med Chem,2010
EGFR	3IKA	98.27	14.08	23.68	331	ZHOU W.Nature,2009
VEGFR	2XIR	-9.236	68.598	44.359	316	IYER SJ .Biol Chem,2010
HGFR	2UZX	46.876	-34.983	130.84	289	NIEMANN HH.Cell,2007
C-Met	3R70	90.38	100.79	-45.784	307	RICKERT KW.J Biol Chem,2011
PDGFR	1GQ4	-89.256	92.143	5.671	90	KARTHIKEYAN S.J Biol Chem,2002
E-cadherin	2QVF	49.341	-19.34	94.43	213	HAUSSINGER D.EMBO J,2008
N-cadherin	1NCI	24.57	56.784	100.35	110	SHAPIRO L.Nature,1995
beta-catenin	3SLA	56.498	-155.37	24.46	168	EVRRARD-TODESCHI N.J Chem Inf Model,2008
IGFR	2ZM3	159.40	35.76	98.358	308	EPA VC.Protein Eng Des Sel,2006
Integrin α V β 3	1JV2	239.03	1.676	-56.140	1649	XIONG JP.Science,2001
Integrin α 6 β 1	1AOX	98.013	-69.396	-64.13	1078	EMSLEY J.J Biol Chem,1997
Integrin α IIb β 3	3FCS	-43.654	154.93	-15.67	1649	ZHU J.Mol Cell,2008
Integrin α V β 6	3F7Q	90.256	-4.254	-67.356	896	DE PEREDA JM.EMBO J,2009
Integrin α 1 β 1	1CK4	35.574	6.094	-57.835	198	NOLTE M.FEBS Lett,1999
Twist	1AO5	12.673	-45.670	111.56	237	TIMM DE.Protein Sci,1997
Snail	1Y62	-25.268	-178.63	9.352	160	UTSINTONG M.J Biomol Screen,2009
Slug	4MBA	79.36	-67.350	56.394	147	BOLOGNESI M.J Mol Biol,1989
Claudin-1	2QUO	100.43	-3.673	89.64	126	VAN ITALLIE CM.J Biol Chem,2008
Valentine	1PVL	67.386	-90.252	6.327	301	PEDELACQ JD.Structure,1999
Wnt	4FOA	-17.954	11.393	-13.741	316	KAKUGAWA S.Nature,2015

量为 286.23,为浅黄色粉末,稍溶于水,易溶于乙醇、苯、乙醚等有机溶剂)终浓度分别为 0, 5, 10, 15, 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,低氧培养条件为 5% 氧气、5% 二氧化碳、90% 氮气,培养 24 h。将木犀草素溶于二甲亚砜(DMSO)中,配制成 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 木犀草素母液,经孔径 0.2 μm 滤器滤过,按每管 500 μL 分装,-20 $^{\circ}\text{C}$ 存储。

1.7 流式细胞检测 用 10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸收集不同浓度(5, 10, 15, 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)木犀草素处理的人 A549、H1975 细胞和未经处理的正常对照组细胞,用羊血清在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下封闭 10 min。所有细胞经 PBS 漂洗 1 次后,分别使用抗 Integrin α IIb β 3 单克隆抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 处理 30 min,然后用 PBS 漂洗 2 次。细胞用标记了藻红蛋白的二抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 处理 20 min,再用 PBS 漂洗 2 次。用 PBS 重悬液 0.5 mL 上流式细胞仪进行分析,测定处理组和正常对照组细胞表面 Integrin α IIb β 3 的表达情况。

2 结果

2.1 木犀草素的作用靶点 分子对接结果显示木犀草素的作用靶点为 Integrin。在 PudMed 下查询出目的蛋白的标准 Mesh 词汇,在 Protein Data Bank 数据库中搜索目的蛋白的晶体结构,其 PDB 代码、参数信息见表 1。

虚拟对接过程中, Autodock 软件将木犀草素的 10 个不同空间构象分别于目的受体/蛋白在活性口袋进行计算机拟合,之后软件给予木犀草素与蛋白结合评

分,其对接示意图见图 2,计算机虚拟对接情况见表 2。

对接结果显示,木犀草素与 PDGFR 等调控 EMT 蛋白的对接能量为正值,提示木犀草素与这些蛋白的作用相比较与能量为负值的蛋白可能不是主要因素。对接能量为负值的结果中发现与 Integrin 等膜蛋白比较,木犀草素对 E-cadherin 和 N-cadherin 的对接能量较低,这也提示木犀草素对 EMT 的作用可能不是直接与 E-cadherin 或 N-cadherin 结合而发挥的。

进一步的分析发现,与 Integrin 的对接能量值比较,木犀草素对 EMT 调控的几个转录因子如 Twist、Snail 等对接的能量值亦较低,提示木犀草素对 EMT 调控可能不是通过 binding 这几个转录因子产生的。表 2 显示,木犀草素与 Integrin α IIb β 3 在对接过程中能量最低,因此选取木犀草素 10 个构象中结合自由能最低的构象用来做进一步的分析。Integrin α IIb β 3 与木犀草素的相互作用见图 3。

图 3 中 mu 代表木犀草素(蓝色棍棒模型),红色部分为木犀草素与 Integrin α IIb β 3 结合部分,绿色部分表示木犀草素与 Integrin α IIb β 3 的结合键(氢键)。Binding Site 为 ASP359、THR364、HIS358、PRO327、ILE365、ARG358,两氢键 Distance 分别为 2.206, 2.081, 氢键能量分别为 -0.12, -1.71。从分子模拟的结构图预测了木犀草素与 Integrin α IIb β 3 可能存在的结合位

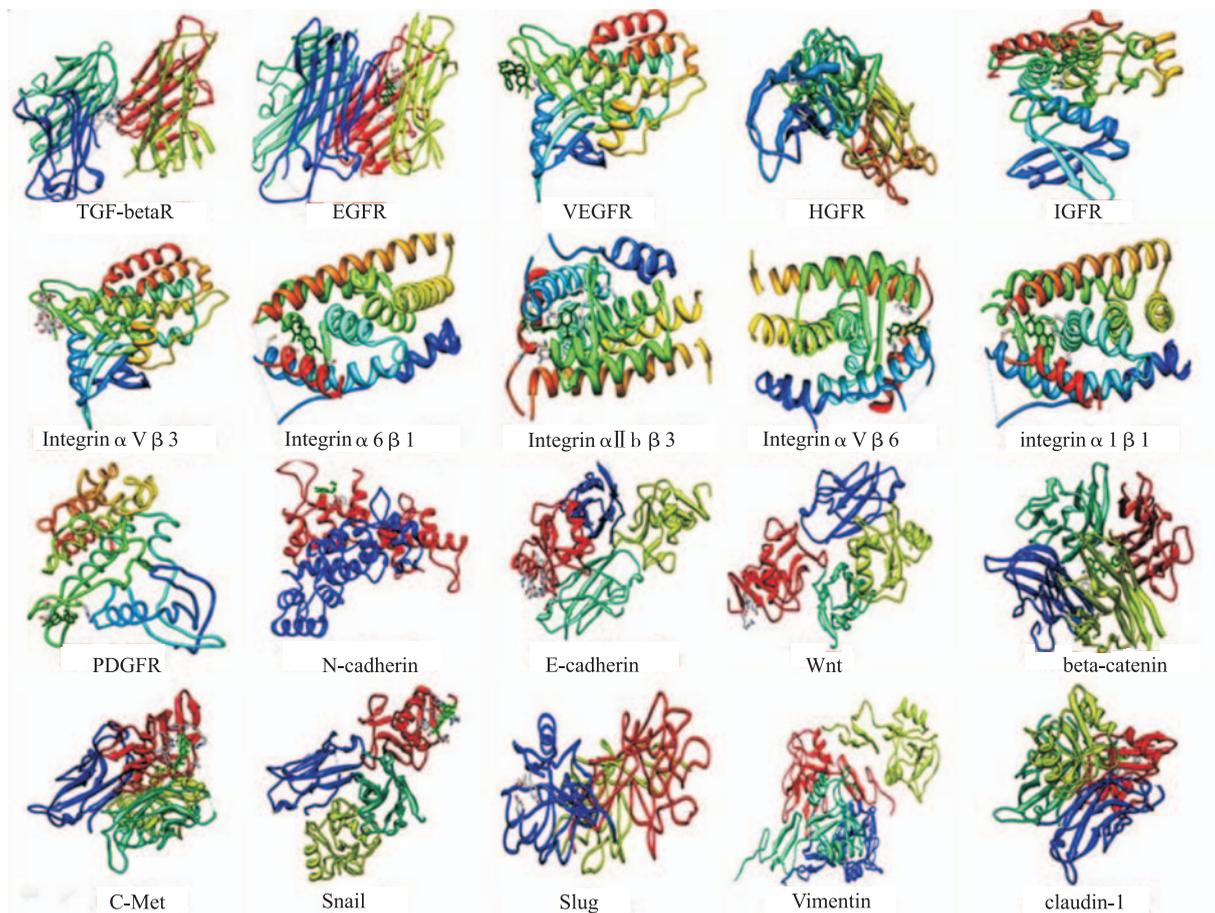


图 2 木犀草素与目的蛋白结合示意图

Fig.2 Docking diagram of luteolin and target protein

表 2 木犀草素与目的蛋白虚拟结合能量及结合参数

Tab.2 Virtually intermolecular energy and binding parameter between luteolin and target protein

目的蛋白质	PDB	对接能量	kl/(nmol · L ⁻¹)	分子间能量	内部能量	扭转能量	未对接扩展能量
Integrin αIIbβ3	3FCS	-15.11	80.48	-7.79	-2.30	2.98	-2.30
Integrin αVβ6	3F7Q	-14.08	106.65	-5.49	-1.50	2.09	-1.50
Integrin αVβ3	1JV2	-13.08	187.67	-3.76	-1.49	2.12	-1.59
Integrin α6β1	1AOX	-12.98	207.56	-2.99	-2.19	3.03	-2.69
Integrin α1β1	1CK4	-11.34	209.89	-2.58	-0.28	1.79	-0.28
Valentine	1PVL	-8.32	199.37	-2.95	-1.32	3.01	-1.39
beta-catenin	3SLA	-7.24	99.87	-1.56	-0.24	-1.45	0.44
IGFR	2ZM3	-5.78	104.83	-3.69	-3.91	-2.48	1.56
TGF-betaR	2X70	-5.63	87.46	-11.12	-0.48	1.49	-0.48
HGFR	2UZX	-3.55	100.79	-9.55	0.00	0.00	0.00
C-Met	3R70	-1.56	100.83	-2.67	-0.89	3.7	-2.93
Claudin-1	2QU0	-1.46	200.43	-0.33	-3.07	1.29	-3.07
N-cadherin	1NCI	-0.98	139.56	-3.7	-1.39	0.00	-2.78
Slug	4MBA	-0.59	134.78	-4.59	-5.10	0.29	-2.50
Twist	1A05	-0.34	194.68	-4.51	-1.87	0.13	-6.18
VEGFR	2XIR	1.14	200.02	-10.33	-0.37	1.19	-0.37
Wnt	4FOA	2.37	183.35	-8.48	-0.92	1.23	-3.62
E-cadherin	2QVF	4.67	110.56	-3.12	-2.59	1.03	-1.93
EGFR	3IKA	8.68	435.15	-8.68	0.00	0.00	0.00
Snail	1Y62	9.56	198.56	-4.76	-1.39	1.22	-5.19
PDGFR	1GQ4	10.79	89.23	-1.45	-1.57	0.00	-1.86

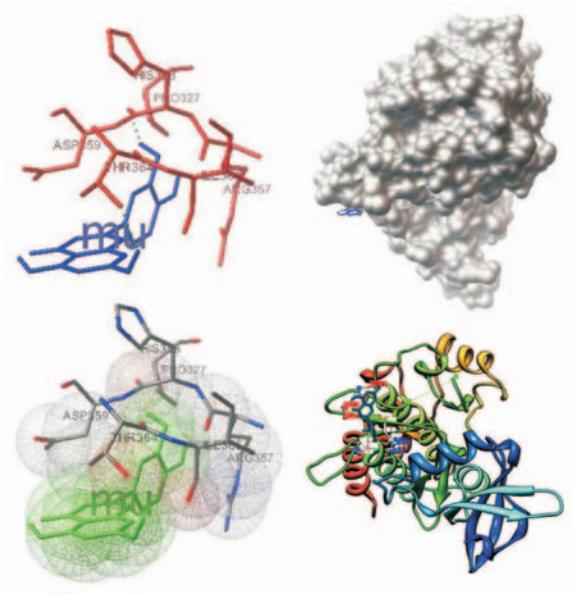


图3 Integrin αIIbβ3和木犀草素的相互作用

Fig.3 Interaction between Integrin αIIbβ3 and luteolin

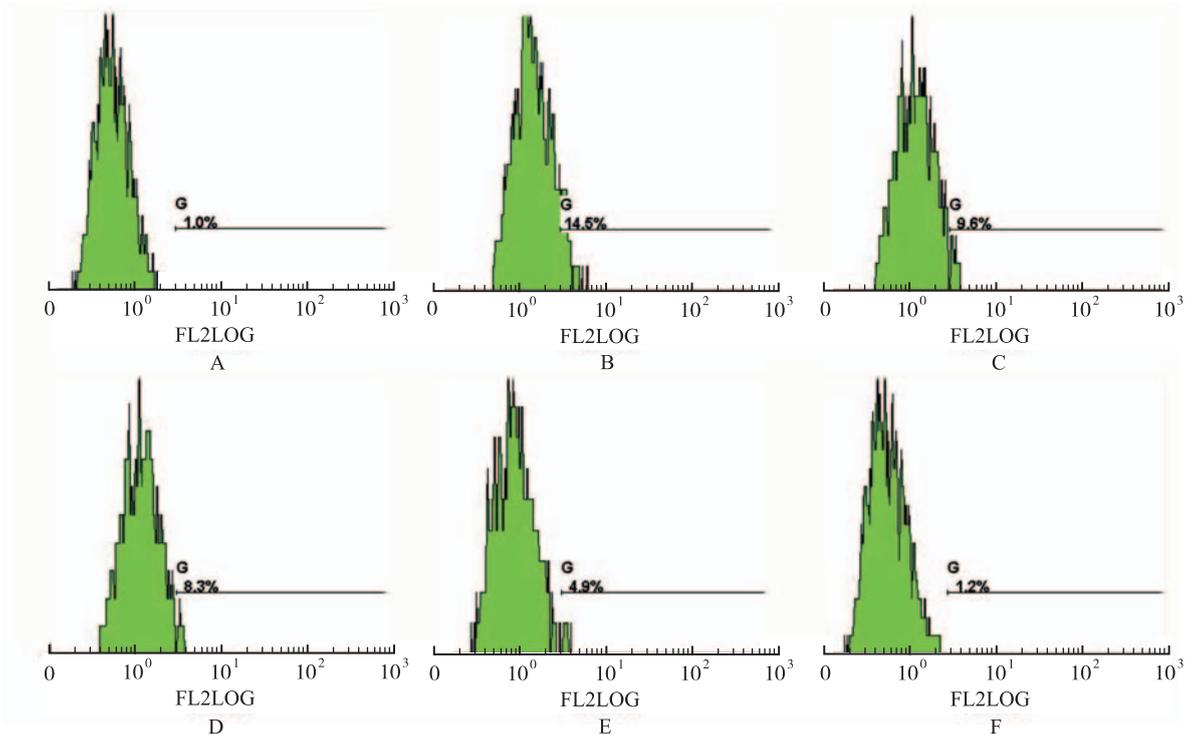
点,因此 Integrin αIIbβ3 可能是其调控 EMT 作用的靶点。

2.2 流式细胞检测木犀草素对 Integrin 表达的影响
 见图4。图4B与图4A比较显示,低氧诱导可以升高A549细胞表面的 Integrin αIIbβ3 表达。图C~F分别为在低氧的条件下,采用木犀草素终浓度为5,10,15,25 μmol · L⁻¹ 孵育后 A549 细胞表面 Integrin αIIbβ3 的表达情况。流式细胞结果图显示,木犀草素对于低氧诱导的 A549 细胞表面 Integrin αIIbβ3 表达的增加具有抑制作用,并且这种对于 Integrin αIIbβ3 表达的下调呈现出剂量依赖性。

图5B与图5A相比的流式细胞结果显示低氧诱导可以升高H1975细胞表面的 Integrin αIIbβ3 表达。图5的C~F分别为在低氧的条件下,采用木犀草素终浓度为5,10,15,25 μmol · L⁻¹ 孵育后 H1975 细胞表面 Integrin αIIbβ3 的表达情况。流式细胞结果图显示,木犀草素对于低氧诱导的 H1975 细胞表面 Integrin αIIbβ3 表达的增加具有抑制作用,并且这种对于 Integrin αIIbβ3 表达的下调呈现出剂量依赖性。

3 讨论

低氧微环境在 EMT 发生过程中发挥着重要作用^[17-18]。研究表明低氧可以诱导细胞分泌多种细胞生

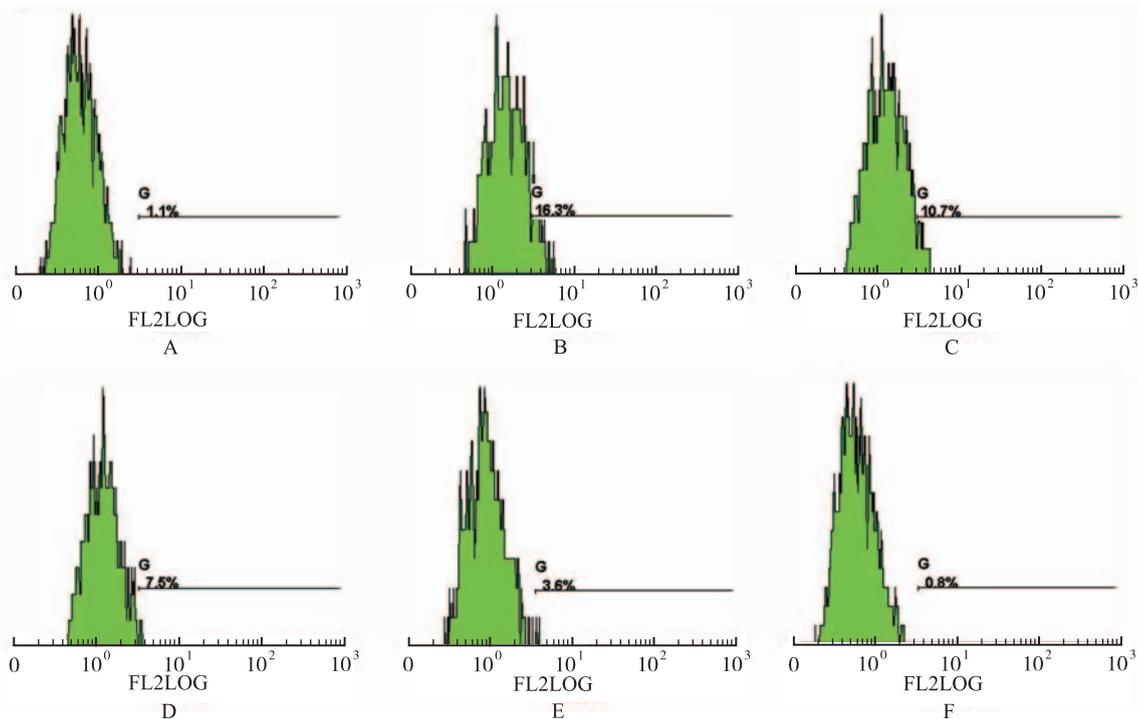


A.正常对照组;B.低氧组;C.5 μmol · L⁻¹木犀草素组;D.10 μmol · L⁻¹木犀草素组;E.15 μmol · L⁻¹木犀草素组;F.25 μmol · L⁻¹木犀草素组

图4 流式细胞术检测木犀草素对 A549 细胞 Integrin αIIbβ3 表达的调控作用

A.normal control group; B.hypoxia group; C.5 μmol · L⁻¹ luteolin group; D.10 μmol · L⁻¹ luteolin group; E.15 μmol · L⁻¹ luteolin group; F.25 μmol · L⁻¹ luteolin group

Fig.4 Effect of luteolin on the expression of Integrin αIIbβ3 in A549 cells detected by flow cytometry



A. 正常对照组; B. 低氧组; C. $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 木犀草素组; D. $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 木犀草素组; E. $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 木犀草素组; F. $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 木犀草素组

图 5 流式细胞术检测木犀草素对 H1975 细胞 Integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ 表达的调控作用

A. normal control group; B. hypoxia group; C. $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ luteolin group; D. $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ luteolin group; E. $15 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ luteolin group; F. $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ luteolin group

Fig.5 Effect of luteolin on the expression of Integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ in H1975 cells detected by flow cytometry

因子如 TGF- β 、FGF、VEGF 来刺激肿瘤的发生发展^[19-21], 调节和改变所处微环境, 微环境被激活, 可使肿瘤细胞进一步发生 EMT。细胞标志蛋白如 E-cadherin 表达下调和 N-cadherin、Vimentin 表达上调是 EMT 发生的标志, 这一变化与生长因子、信号通路、转录因子以及微环境改变如低氧等多种因素有关, 是肿瘤微环境中多种细胞因子和信号通路相互作用的结果。Integrin 是肿瘤细胞表面重要的黏附分子, 同时也介导了胞外信号向胞内转导的过程, 这些细胞因子与 Integrin 结合后触发细胞内信号级联反应, 促使细胞发生 EMT。

本实验用分子对接技术预测了木犀草素和 EMT 相关的一些蛋白的对接情况, 结果显示木犀草素可以很好地与 Integrin 发生对接。流式细胞检测的结果提示, 木犀草素可以和细胞表面的 Integrin 特异性结合, 从而减少了 Integrin 的表达, 实验结果证实了分子对接的假设。

肿瘤的侵袭和转移过程可以由多种信号通路和相关的侵袭转移蛋白所调控, 并且木犀草素作为小分子中药单体, 可能存在着多个靶点。仅利用分子对接的结果, 尚无法说明 Integrin 是木犀草素干预的唯一靶

点。是否在肿瘤细胞内还存在其他的药物靶点尚不明确。但不可否认的是分子对接技术作为计算机辅助模拟药物及靶点设计具有极大的利用价值。通过分子对接找到药物的可能作用靶点进而通过实验进行验证, 为实验提供了正确性和可行性, 可以为中药分子的机制研究提供新的思路。

参考文献

- [1] TUORKEY M J. Molecular targets of luteolin in cancer [J]. Eur J Cancer Prev, 2016, 25(1): 65-76.
- [2] SHAIKH M F, TAN K N, BORGES K. Anticonvulsant screening of luteolin in four mouse seizure models [J]. Neurosci Lett, 2013, 550(1): 195-199.
- [3] THEOHARIDES T C, CONTI P, ECONOMU M. Brain inflammation, neuropsychiatric disorders, and immunoen-docrine effects of luteolin [J]. J Clin Psychopharmacol, 2014, 34(2): 187-189.
- [4] AMBASTA R K, JHA S K, KUMAR D, et al. Comparative study of anti-angiogenic activities of luteolin, lectin and lupeol biomolecules [J]. J Translat Med, 2015, 13(2): 307.
- [5] 何国荣, 成银霞, 穆鑫, 等. 木犀草素和芦丁组合物对帕金森病模型小鼠的防治作用 [J]. 医药导报, 2015, 34(5): 578-584.

- [6] CHIAN S, THAPA R, CHI Z, et al. Luteolin inhibits the Nrf2 signaling pathway and tumor growth *in vivo* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 447(4):602-608.
- [7] KAPOOR S. Luteolin and its inhibitory effect on tumor growth in systemic malignancies [J]. *Experimental Cell Res*, 2013, 319(6):777-778.
- [8] RHIM A D, MIREK E T, AIELLO N M, et al. EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation [J]. *Cell*, 2012, 148(1/2):349-361.
- [9] SAKURAI M A, OZAKI Y, OKUZAKI D, et al. Gefitinib and luteolin cause growth arrest of human prostate cancer PC-3 cells via inhibition of cyclin G-associated kinase and induction of miR-630 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e100124.
- [10] YILMAZ M, CHRISTOFORI G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion [J]. *Can Metast Rev*, 2009, 28(1/2):15-33.
- [11] TIWARI N, GHELDOLF A, TATARI M, et al. EMT as the ultimate survival mechanism of cancer cells [J]. *Semi Can Biology*, 2012, 22(3):194-207.
- [12] YE X, WEINBERG R A. Epithelial-mesenchymal plasticity: a central regulator of cancer progression [J]. *Trends Cell Biology*, 2015, 25(11):675-686.
- [13] YANG P, HUO Z, LIAO H, et al. Cancer/testis antigens trigger epithelial-mesenchymal transition and genesis of cancer stem-like cells [J]. *Curr Pharm Design*, 2015, 21(10):1292-1300.
- [14] HILL A D, REILLY P J. Scoring functions for AutoDock [J]. *Meth Mol Biol*, 2015, 1273(3):467-474.
- [15] FORLI S, HUEY R, PIQUE M E, et al. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite [J]. *Nat Protoc*, 2016, 11(5):905-919.
- [16] UTSINTONG M, ROJSANGA P, HO K Y, et al. Virtual screening against acetylcholine binding protein [J]. *J Biomol Screen*, 2012, 17(2):204-215.
- [17] YAN J, ZHANG G, PAN J, et al. α -Glucosidase inhibition by luteolin; kinetics, interaction and molecular docking [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 64(2):213-223.
- [18] MARIE-EGYPTIENNE D T, LOHSE I, HILL R P. Cancer stem cells, the epithelial to mesenchymal transition (EMT) and radioresistance: potential role of hypoxia [J]. *Cancer Lett*, 2013, 341(1):63-72.
- [19] MISRA A, PANDEY C, SZE S K, et al. Hypoxia activated EGFR signaling induces epithelial to mesenchymal transition (EMT) [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11):e49766.
- [20] CHEN Y, ZHANG K, LI Y, et al. Estrogen-related receptor alpha participates transforming growth factor-beta (TGF-beta) induced epithelial-mesenchymal transition of osteosarcoma cells [J]. *Cell Adhesion Migrat*, 2017, 11(4):338-346.
- [21] KURIMOTO R, IWASAWA S, EBATA T, et al. Drug resistance originating from a TGF-beta/FGF-2-driven epithelial-to-mesenchymal transition and its reversion in human lung adenocarcinoma cell lines harboring an EGFR mutation [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(5):1825-1836.

2018年《医药导报》各期药物专栏要目

第1期 抗感染药物专栏

第3期 呼吸系统疾病和结核病用药专栏

第5期 非小细胞肺癌药物治疗专栏

第7期 神经系统疾病用药专栏

第9期 儿科疾病用药专栏

第11期 糖尿病及代谢性疾病用药专栏

第2期 心脑血管疾病用药专栏

第4期 中药与天然药物专栏

第6期 纳米药物专栏

第8期 风湿和免疫系统疾病用药专栏

第10期 精神和心理疾病用药专栏

第12期 皮肤病和性病用药专栏

若投专栏稿件,请至少在该期出版前8个月将稿件通过《医药导报》杂志官方网站(www.yydbzz.com或www.yydb.cn)在线投稿系统投稿,以便及时送审和处理稿件。谢谢!