

## • 实验研究 •

## 槲皮素通过小分子核糖核酸 196b 调节磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白通路从而抑制骨肉瘤细胞增殖研究

李东泽<sup>1</sup> 吴良邦<sup>1△</sup>

**[摘要]** 目的:探讨槲皮素抗骨肉瘤细胞增殖的可能机制。方法:体外培养骨肉瘤细胞系 MG-63、143B 和 U2OS,用 25、50 和 100  $\mu\text{mol/L}$  的槲皮素干预后,通过实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-PCR)检测小分子核糖核酸 196b(miR-196b)的水平。随后利用 miR-196b 抑制剂,联用 100  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素后通过 CCK8 检测细胞的存活率;通过划痕和 Transwell 实验检测细胞的迁移和侵袭;通过蛋白质印迹法(Western Blot)检测细胞中磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白(PI3K/AKT/mTOR)信号通路的表达。结果:槲皮素上调了三种骨肉瘤细胞中 miR-196b 的水平,且呈现剂量依赖性。在应用 miR-196b 抑制剂后,miR-196b 的表达水平被显著抑制。槲皮素能够显著抑制骨肉瘤细胞的生长,但在联用 miR-196b 抑制剂后,槲皮素抑制骨肉瘤细胞增殖的作用被减弱。划痕和 Transwell 实验结果显示,槲皮素能够显著抑制骨肉瘤细胞的迁移和侵袭,但在联用 miR-196b 抑制剂后,槲皮素抑制骨肉瘤细胞迁移和侵袭的作用被减弱。此外,槲皮素显著抑制了骨肉瘤细胞中 p-mTOR、p-AKT 和 p-PI3K 的表达,对 mTOR、AKT 和 PI3K 的表达则无明显影响。联用 miR-196b 抑制剂后,p-mTOR、p-AKT 和 p-PI3K 的表达显著上升,与单用槲皮素组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:槲皮素通过上调 miR-196b 调节 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,从而抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭。

**[关键词]** 槲皮素;骨肉瘤细胞;小分子核糖核酸 196b;磷脂酰肌醇激酶/蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白信号通路

**[中图分类号]** R738.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2023)06-0008-07

**DOI:**10.20085/j.cnki.issn1005-0205.230602

## Quercetin Inhibits the Proliferation of Osteosarcoma Cells by Regulating miR196b-PI3K/AKT/mTOR Pathway

LI Dongze<sup>1</sup> WU Liangbang<sup>1△</sup>

<sup>1</sup> Orthopedics Department of the 903 Hospital of the PLA Joint Service Support Force, Hangzhou 310009, China.

**Abstract Objective:** To evaluate the anti-proliferation effect of quercetin on osteosarcoma cells and the related mechanism.

**Methods:** Osteosarcoma cell lines MG-63, 143B and U2OS were cultured in vitro. After the treatment with 25, 50 and 100  $\mu\text{mol/L}$  quercetin, the level of miR-196b was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). Then, the survival rate of cells was detected by CCK8 after using miR-196b inhibitor combined with 100  $\mu\text{mol/L}$  quercetin. Cell migration and invasion were detected by wound healing and Transwell assay. The expressions of phosphatidylinositol kinase/protein kinase B/rapamycin target protein (PI3K/AKT/mTOR) signal pathway were detected by Western Blot. **Results:** Quercetin upregulated the level of miR-196b in three osteosarcoma cells in a dose-dependent manner. After using miR-196b inhibitor, the expression level of miR-196b was significantly inhibited. Quercetin can significantly inhibit the growth of osteosarcoma cells, but the inhibitory effect was weakened when combined with miR-196b inhibitor. The results of wound healing and Transwell assay showed that quercetin could significantly inhibit the migration and invasion of osteosarcoma cells. However, when combined with miR-196b inhibitor, the effect of quercetin on the migration and invasion of osteosarcoma cells was weakened. In addition, quercetin significantly inhibited the expressions of p-mTOR, p-AKT and p-PI3K in osteosar-

coma cells, but had no significant effect on the expressions of mTOR, AKT and PI3K. The expression of p-mTOR, p-AKT and p-PI3K increased significantly after the combination of miR-196b inhibitor, which was significantly different from that of quercetin

基金项目:浙江省教育厅一般科研项目(Y202249274)

<sup>1</sup> 解放军联勤保障部队第九〇三医院骨科(杭州,310009)

<sup>△</sup>通信作者 E-mail: wuliangbang88@163.com

alone. **Conclusion:** Quercetin regulates PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by upregulating miR-196b, thereby inhibiting the proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells.

**Keywords:** quercetin; osteosarcoma cells; miR-196b; PI3K/AKT/mTOR signaling pathway

骨肉瘤(Osteosarcoma, OS)是儿童和青少年最常见的原发性恶性骨肿瘤,每年全世界骨肉瘤的发病约为 200 万~400 万例<sup>[1]</sup>。骨肉瘤细胞表现出很高的扩散和转移倾向,这是骨肉瘤患者预后不佳的主要原因<sup>[2-3]</sup>。miRNA 表达谱的独特特征已在骨肉瘤转移中被用作诊断和/或预后的生物标志物进行研究<sup>[4-7]</sup>。槲皮素是一种从多酚家族中提取的植物黄酮醇,具有许多生理活性,可用作抗氧化剂、自由基清除剂、iNOS 合成酶抑制剂、黄嘌呤氧化酶抑制剂等<sup>[8-9]</sup>。有报道称槲皮素可以特异性靶向一些致癌或抑癌的 miRNA 和 lncRNA<sup>[10]</sup>。研究表明槲皮素的抗癌机制涉及多种通路,包括 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路、PI3K/AKT/mTOR 信号通路、Janus 激酶(JAK)/信号转导转录激活子(STAT)信号通路等<sup>[11]</sup>,其中 PI3K/AKT/mTOR 在骨肉瘤细胞增殖及转移中起重要作用。因此,本研究拟探讨槲皮素对骨肉瘤细胞 miR-196b 表达及细胞增殖、侵袭的影响,并分析其对 PI3K/AKT/mTOR 信号通路相关蛋白的调控作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验药物及试剂

槲皮素(纯度>98%,上海源叶生物有限公司, B20527);miR-196b 抑制剂(广州锐博生物科技有限公司, miR20009201-1-5);CCK8 溶液(碧云天, C0037);DMEM 细胞培养基(BI, 01-052-1ACS);胎牛血清(BI, 04-001-1ACS);青霉素-链霉素(Biosharp, BL505A);胰酶细胞消化液(碧云天, C0205);结晶紫染色液(翼飞雪生物科技, YG1061-100);Transwell 细胞培养板(Corning Incorporated, REF3422);p-mTOR 抗体(Abcam, ab109268);mTOR 抗体(Abcam, ab134903);p-AKT 抗体(Abcam, ab81283);AKT 抗体(Abcam, ab108202);p-PI3K 抗体(Abcam, ab182651);PI3K 抗体(Abcam, ab191606); $\beta$ -actin 抗体(翼飞雪生物科技, YFMA0052);蛋白 Marker(雅酶, WJ103);蛋白上样缓冲液(碧云天, P0286-15 mL);Trizol(碧云天, R0016);HiScript II Q RT SuperMix for qPCR 逆转录试剂盒(Vazyme, R222-01);ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 扩增试剂盒(Vazyme, Q711)。人骨肉瘤细胞系 MG-63、143B、U2OS 购自中科院上海细胞库。

### 1.2 实验仪器

细胞培养箱(Thermo, 型号为 HERAcell 150i);

NanoDrop 2000 (NanoDrop technologies);离心机(Eppendorf, 型号为 5417R);水浴锅(CRYSTAL, 型号为 SY-1210);酶标仪(BioTek, 型号为 Synergy2);荧光显微镜(ZEISS, 型号为 SERIES 120);凝胶成像系统(Bio-rad, 型号为 Universal hood II);Q6 荧光定量 PCR 仪(ABI, 型号为 QuantStudio 6)。

### 1.3 方法

**1.3.1 CCK8 检测骨肉瘤细胞的存活率** 取出药物干预后的 96 孔板,将原有培养液吸去,加入 100  $\mu$ L DMEM 溶液和 10  $\mu$ L CCK8 溶液。避光孵育 4 h 后,在酶标仪波长 450 nm 处检测 OD 值。将正常对照组的细胞活性定义为 100%,细胞活性=(试验组 OD 值/对照组 OD 值) $\times$ 100%。

**1.3.2 划痕检测骨肉瘤细胞的迁移** 种板之前先在 6 孔板底部用直尺画线,随后将消化下来的细胞以每孔  $2 \times 10^5$  个的密度种入 6 孔板内。待细胞融合至 80%时,移除上清液,使用 1 mL 无菌枪头沿着孔底部的画线进行划痕。划痕完成后,加入 DMEM 将细胞碎片清洗干净。随后进行分组,给药干预 24 h,干预完成后取出 6 孔板,移除上清液,荧光显微镜明场下拍照。

**1.3.3 Transwell 检测骨肉瘤细胞的侵袭** 将消化下来的细胞以每孔  $1 \times 10^5$  个的密度种入 Transwell 专用细胞小室中。待细胞在小室内贴壁后,将小室移至边缘的孔内,孔内加入 DMEM 和药物。药物干预 24 h 后擦去小室内部的细胞。穿过小室底膜的细胞用 1 mL 多聚甲醛固定 10 min。清洗干净后,用 1 mL 结晶紫染色液浸染细胞 5 min。染色完成后,将小室放在干净的载玻片上,于倒置荧光显微镜的明场下拍照。

**1.3.4 Western Blot 检测骨肉瘤细胞 PI3K/AKT/mTOR 通路的表达** 将消化下来的细胞以每孔  $2 \times 10^5$  个的密度种入 6 孔板内。待细胞融合至 70%时,进行分组给药。药物干预后,按比例配制并加入细胞裂解液裂解细胞,收集于离心管中-80  $^{\circ}$ C 过夜。第 2 天将离心管取出,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液经 Nanodrop 检测浓度。根据上清液体积加入 5 倍蛋白上样缓冲液后,在 99  $^{\circ}$ C 水浴锅中加热 5 min。配制分离胶和浓缩胶,在 100 V 条件下进行电泳。转膜条件为 400 mA 90 min。然后用 5%的脱脂牛奶室温封闭 2 h,清洗后 4  $^{\circ}$ C 孵育一抗过夜。室温复温 1 h,回收一抗,室温孵育二抗 90 min。根据 ECL 化学发光试

剂盒说明书配制曝光液,于凝胶成像系统中进行曝光。

**1.3.5 RT-PCR 检测骨肉瘤细胞中 miR-196b 的水平** 将消化下来的细胞以每孔  $2\times 10^5$  个的密度种入 6 孔板内。待细胞融合至 70% 时,进行分组给药。药物干预后,每孔加入 100  $\mu\text{L}$  Trizol 裂解细胞。完全裂解后,加入氯仿和异丙醇去除杂质。用无水乙醇洗涤沉淀进一步去除杂质。最后用 20  $\mu\text{L}$  DEPC 水完全溶解 RNA 沉淀,并用 Nanodrop 检测 RNA 的浓度和纯度。按照逆转录试剂盒说明书,将 RNA 逆转录为 cDNA。将得到的产物进行扩增,PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成,按照扩增试剂盒说明书进行操作,具体引物序列见表 1。

表 1 引物序列		
基因名称	引物序列(5'-3')	
miR-196b	正向	AGGAATGGCCCCGAATTTCGA
	反向	CCCCGGGGACCAATTGGCGGCG
GAPDH	正向	AAGGTCGGAGTCAACGGATTT
	反向	AGATGATGACCCTTTTGGCTC

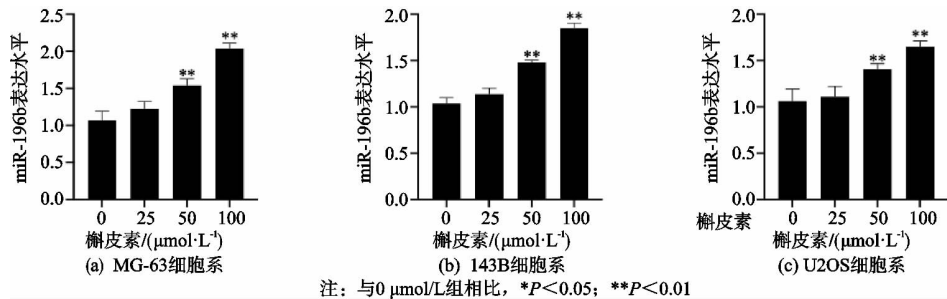


图 1 不同浓度槲皮素对骨肉瘤细胞中 miR-196b 水平的影响 ( $n=5$ )

了 miR-196b 的 mRNA 水平,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),提示 miR-196b 低表达的细胞模型构建成功。与空白组相比,100  $\mu\text{mol/L}$  的槲皮素能够显著抑制骨肉瘤细胞的生长,差异有统计学意义 ( $P<$

1.4 统计学方法

所有作图统计和分析均借助于软件 Graph pad 8.0 进行,实验数据用  $\bar{x}\pm s$  形式表示,采用单因素方差分析(并进行组间多重比较)分析多组间的差异,应用 Tukey's test 进行事后检验,两两比较采用 LSD- $t$  检验,  $P<0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对骨肉瘤细胞系 miR-196b 表达水平的影响

槲皮素上调了三种骨肉瘤细胞 MG-63、143B 和 U2OS 中 miR-196b 的水平,且呈现剂量依赖性。与空白组相比,25  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素虽然能上调 miR-196b 的水平,但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );而 50  $\mu\text{mol/L}$  和 100  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素均可显著地上调 miR-196b 水平,且差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),见图 1。

2.2 槲皮素通过上调 miR-196b 抑制骨肉瘤细胞的增殖

PCR 结果表明 miR-196b 抑制剂的应用显著抑制

0.05);在联用 miR-196b 抑制剂后,槲皮素抑制骨肉瘤细胞增殖的作用被减弱,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。该结果表明槲皮素通过上调 miR-196b 抑制骨肉瘤细胞 MG-63、143B 和 U2OS 的增殖,见图 2。

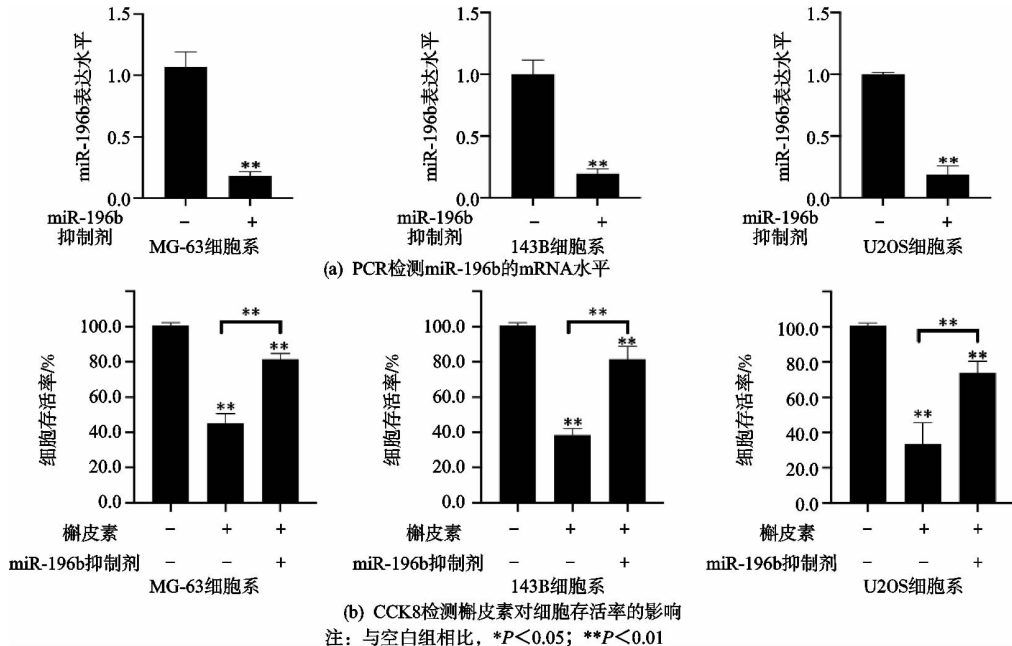


图 2 抑制 miR-196b 后,槲皮素对骨肉瘤细胞 MG-63、143B 和 U2OS 增殖的影响 ( $n=5$ )

2.3 槲皮素通过上调 miR-196b 抑制骨肉瘤细胞的迁移与侵袭

与空白组相比,100  $\mu\text{mol/L}$  的槲皮素明显抑制了细胞的迁移,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而与单用槲皮素组相比,在联用 miR-196b 抑制剂后,细胞迁移显著增加,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。该结果提示槲皮素通过上调 miR-196b 抑制骨肉瘤细胞中的迁移。与空白组相比,100  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素的干预明显减

少穿过小室的细胞数量,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而与单用槲皮素组相比,在联用 miR-196b 抑制剂后,穿过小室的细胞数又明显增多了,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。该结果提示槲皮素通过上调 miR-196b 抑制骨肉瘤细胞中的侵袭,见图 3。

2.4 槲皮素通过上调 miR-196b 调节 PI3K/AKT/mTOR 信号通路

与空白组相比,100  $\mu\text{mol/L}$  的槲皮素干预后显著

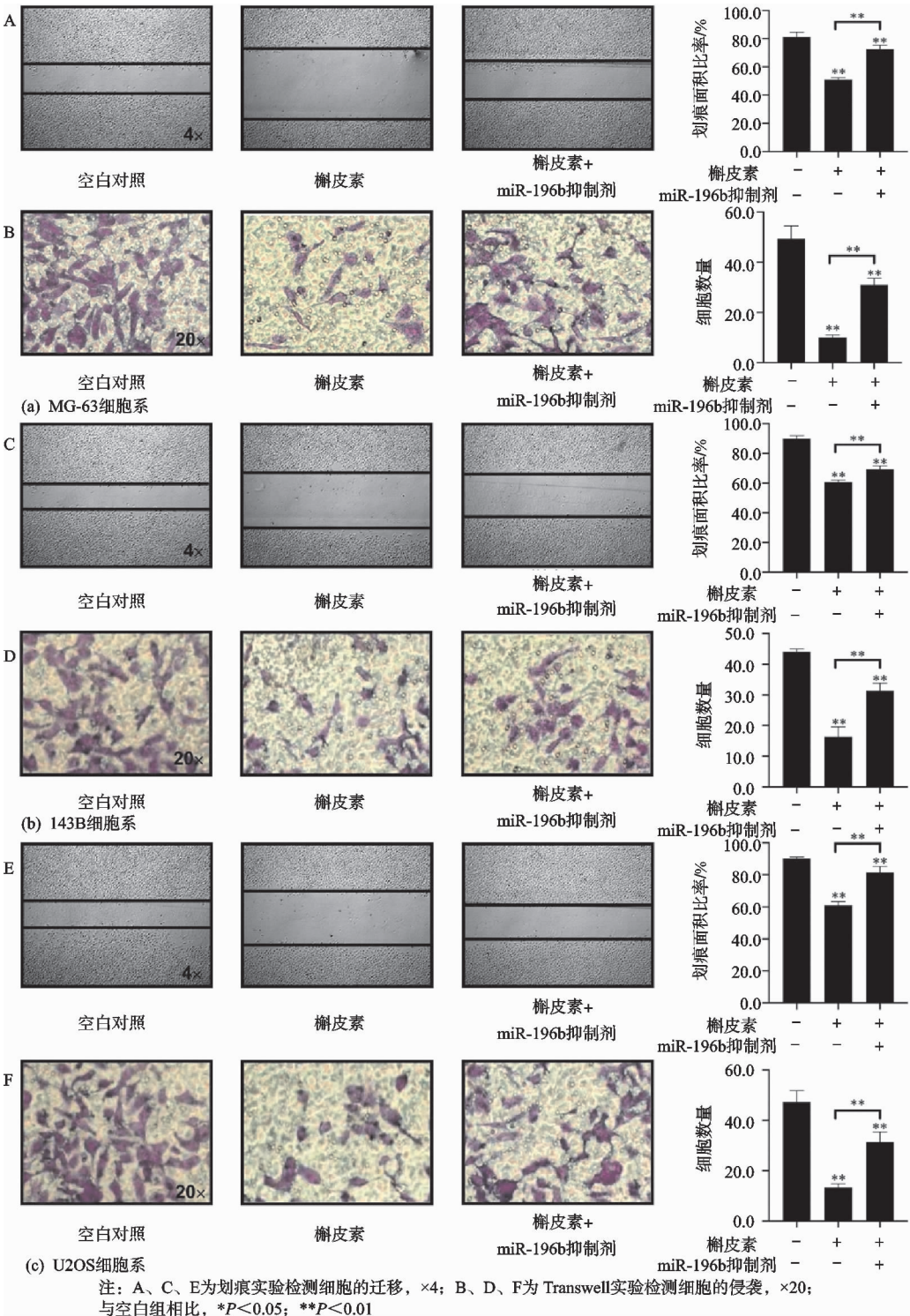


图 3 抑制 miR-196b 后,槲皮素对骨肉瘤细胞 MG-63、143B 和 U2OS 迁移和侵袭的影响 ( $n=3$ )

抑制了 p-mTOR、p-AKT 和 p-PI3K 的表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),mTOR、AKT 和 PI3K 的表达则无明显变化。该结果提示槲皮素调节了骨肉瘤细胞内 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的表达。与单用槲皮素组相比,在联用 miR-196b 抑制剂后, p-mTOR、p-

AKT 和 p-PI3K 的表达均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。该结果提示抑制 miR-196b 会阻断槲皮素对 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的调节,表明槲皮素通过上调 miR-196b 调节骨肉瘤细胞内 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的表达,见图 4。

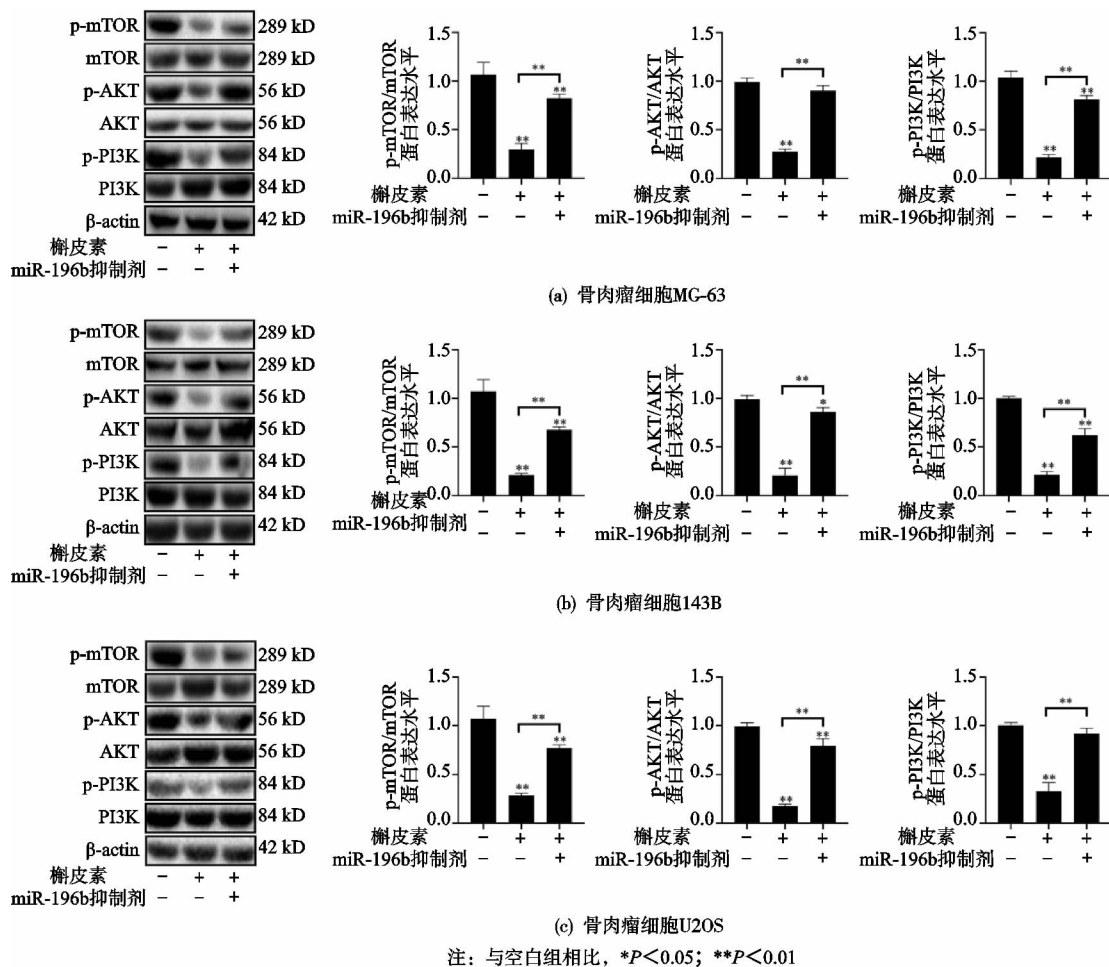


图4 抑制 miR-196b 后,槲皮素对骨肉瘤细胞内 PI3K/AKT/mTOR 信号通路表达的影响 ( $n=3$ )

### 3 讨论

miRNA 经常位于癌症相关基因组的区域,参与了多种恶性肿瘤的发展。人类 miR-196 簇由三个不同的成员组成,包括 miR-196a-1、miR-196a2 和 miR-196b,并且似乎在 HOX(同源框)基因簇的基因间区域表达,这些基因簇被认为是参与胚胎发生、器官发生和肿瘤发生的主要转录因子。miR-196a-1 基因位于第 17 号染色体(17q21.32)上 HOXB9 和 HOXB10 基因之间的位点,miR-196a2 基因位于第 12 号染色体上 HOXC10 和 HOXC9 之间的区域(12q13.13),而 miR-196b 基因位于人类第 7 号染色体(7p15.2)和小鼠第 6 号染色体(6qB3)上 HOXA9 和 HOXA10 基因之间高度进化保守的区域<sup>[12]</sup>。最近,miR-196b 在多种癌症中的异常表达已被报道,研究表明 miR-196b 参与了肺癌的发展,miR-196b 的过度表达通过下调非小细胞肺癌中的 GATA6 从而促进癌细胞侵袭和迁移。此

外,miR-196a 和 miR-196b 的血清水平及其组合血清水平都是骨肉瘤患者的独立预测因素<sup>[13]</sup>。在本研究中,笔者发现槲皮素使三种骨肉瘤细胞中的 miR-196b 表达水平明显降低,且干扰 miR-196b 的表达会影响下游 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的表达。

细胞内许多生理过程都受到 PI3K/AKT 途径的影响,例如细胞周期、分化、细胞存活和细胞增殖等。一些研究探索了槲皮素对 PI3K/AKT 途径的影响。在 HCC1937 PTEN 缺失癌细胞系中观察到 25  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素可降低 AKT/PKB 的磷酸化,并显著限制 PTEN 缺失癌症细胞的细胞增殖<sup>[14]</sup>。在一项关于 HL-60 白血病细胞系的研究中,槲皮素降低了 p-AKT 和 Bcl-2 水平,并通过抑制 PI3K/AKT 信号通路诱导了凋亡,并且 150  $\mu\text{mol/L}$  槲皮素的抑制作用最为明显<sup>[15]</sup>。此外,有报道称槲皮素的部分抗癌作用是通过调节 miRNA 的表达来实现的,槲皮素和 miRNA 之间



的相互作用也是许多研究的重要课题。一项关于槲皮素对胰腺癌影响的研究表明,在用槲皮素治疗后,105 个 miRNA 的表达发生了变化,包括 miR-194、miR-103、miR-29、miR-125、miR-106 和 let-7 家族,这些 miRNA 在防止增殖、侵袭和转移以及促进细胞凋亡方面发挥了关键作用<sup>[16]</sup>。在口腔癌中,槲皮素增加了 miR-16 的表达水平,进而靶向 MMP-9、MMP-2 和 HOXA10,因此槲皮素可以防止口腔癌中的细胞增殖、迁移和存活<sup>[17]</sup>。在卵巢癌中,槲皮素通过重组 miR-145 诱导细胞凋亡<sup>[18]</sup>。在结肠癌 HCT-116 细胞系中,miR-338-3p-CRC、miR-320b、miR-320c 和 miR-320d、miR-125b-2-3p、miR873、miR-710、miR-20 和 miR-885 均因槲皮素治疗而显著改变<sup>[19]</sup>。槲皮素还可以调节癌细胞对化疗和放疗的抵抗力。在骨肉瘤细胞 143B 中,槲皮素正向调节了 miR-217 的水平,抑制了 PI3K/AKT 致癌途径,从而降低了对顺铂的抗性<sup>[20]</sup>。在本研究中,笔者发现 100  $\mu$ mol/L 槲皮素显著抑制了三种骨肉瘤细胞中 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的激活,并且该调节作用由 miR-196b 所介导。

植物衍生物是替代抗肿瘤药物的一个很有潜力的来源,但是槲皮素在治疗方面有一个限制性,就是其吸收度较低。因此,研究者一直在寻找提高血浆浓度的解决方案,如并入纳米颗粒或改变化学结构<sup>[21]</sup>。最近报道的一项研究证实了纳米颗粒的抗癌作用,研究结果表明槲皮素纳米颗粒诱导了细胞的凋亡和自噬,部分机制与激活 LC3/ERK/Caspase-3 和抑制 AKT/mTOR 信号通路相关<sup>[22]</sup>。提高槲皮素生物利用度的另一种可行性方法是包封在植物体中,植物体来源于磷脂,后者由相同的细胞膜材料制成。当槲皮素被包裹在植物小体中时,槲皮素能够穿过细胞膜,直接在细胞内释放。通过将这种化合物与独特的磷脂递送系统相结合,使得槲皮素更具生物利用性<sup>[23-24]</sup>。

总而言之,槲皮素具有显著的抗癌活性,但仍需更多的研究分析槲皮素的抗癌机制及治疗安全性。

## 参考文献

- [1] WHELAN J, MCTIERNAN A, COOPER N, et al. Incidence and survival of malignant bone sarcomas in England 1979–2007[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(4): E508–E517.
- [2] 中国临床肿瘤学会肉瘤专家委员会, 中国抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会. 中国蒽环类药物治疗骨肉瘤专家共识[J]. *癌症*, 2022, 41(8): 368–384.
- [3] SHENG G, GAO Y, YANG Y, et al. Osteosarcoma and metastasis[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 780264.
- [4] KIM V N, NAM J W. Genomics of microRNA[J]. *Trends Genet*, 2006, 22(3): 165–173.
- [5] 袁长深, 容伟明, 卢智贤, 等. 基于生物信息学构建骨肉瘤 miRNA-mRNA 的调控网络[J]. *中国组织工程研究*,

- 2021, 25(17): 2740–2746.
- [6] CAI H, ZHAO H, TANG J, et al. Serum miR-195 is a diagnostic and prognostic marker for osteosarcoma[J]. *J Surg Res*, 2015, 194(2): 505–510.
- [7] 刘念, 张红, 薛中柱. miRNA-199a-5p 对骨肉瘤细胞增殖及自噬的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2017, 44(3): 197–201.
- [8] ISLAM M S, QUISPE C, HOSSAIN R, et al. Neuropharmacological effects of quercetin: a literature-based review[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 665031.
- [9] ASGHARIAN P, TAZEKAND A P, HOSSEINI K, et al. Potential mechanisms of quercetin in cancer prevention: focus on cellular and molecular targets[J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 257.
- [10] 申昌梅, 廖振蓉, 余瑛. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨槲皮素增强顺铂对人宫颈癌顺铂耐药细胞 HeLa/DDP 的作用[J]. *中成药*, 2022, 44(11): 3667–3671.
- [11] KHAN F, NIAZ K, MAQBOOL F, et al. Molecular targets underlying the anticancer effects of quercetin: an update[J]. *Nutrients*, 2016, 8(9): 529.
- [12] KARSY M, ARSLAN E, MOY F. Current progress on understanding microRNAs in glioblastoma multiforme[J]. *Genes Cancer*, 2012, 3(1): 3–15.
- [13] ZHANG C, YAO C, LI H, et al. Combined elevation of microRNA-196a and microRNA-196b in sera predicts unfavorable prognosis in patients with osteosarcomas[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4): 6544–6555.
- [14] 李欣, 林明哲, 赵久达. 槲皮素对胃癌相关 p53/AMPK/mTOR 信号通路的影响[J]. *天津医药*, 2021, 49(11): 1143–1147.
- [15] SHEN X, SI Y, WANG Z, et al. Quercetin inhibits the growth of human gastric cancer stem cells by inducing mitochondrial-dependent apoptosis through the inhibition of PI3K/Akt signaling[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(2): 619–626.
- [16] NWAEBURU C C, BAUER N, ZHAO Z, et al. Up-regulation of microRNA let-7c by quercetin inhibits pancreatic cancer progression by activation of Numbl[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(36): 58367–58380.
- [17] ZHAO J, FANGZ, ZHA Z, et al. Quercetin inhibits cell viability, migration and invasion by regulating miR-16/HOXA10 axis in oral cancer[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 847: 11–18.
- [18] ZHOU J, GONG J, DING C, et al. Quercetin induces the apoptosis of human ovarian carcinoma cells by upregulating the expression of microRNA-145[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 3127–3131.
- [19] ZHANG Z, LI B, XU P, et al. Integrated whole transcriptome profiling and bioinformatics analysis for revealing regulatory pathways associated with quercetin-induced apoptosis in HCT-116 cells[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 798.

- [20] ZHANG X, GUO Q, CHEN J, et al. Quercetin enhances cisplatin sensitivity of human osteosarcoma cells by modulating microRNA-217-KRAS axis[J]. *Mol Cells*, 2015, 38(7):638-642.
- [21] ZANG X, CHENG M, ZHANG X, et al. Quercetin nano-formulations: a promising strategy for tumor therapy[J]. *Food Funct*, 2021, 12(15):6664-6681.
- [22] LOU M, ZHANG L N, JI P G, et al. Quercetin nanoparticles induced autophagy and apoptosis through AKT/ERK/Caspase-3 signaling pathway in human neuroglioma

cells; in vitro and in vivo[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84:1-9.

- [23] RIVA A, RONCHI M, PETRANGOLINI G, et al. Improved oral absorption of quercetin from quercetin phytosome: a new delivery system based on food grade lecithin[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(2):169-177.
- [24] 胡菲, 车智慧, 王哲, 等. 不同稳定剂修饰的槲皮素纳米晶在大鼠体内注射药动学及组织分布研究[J]. *中草药*, 2022, 53(9):2697-2705.

(收稿日期:2022-12-05)

(上接第7页)

- [12] AMARASEKARA D S, KIM S, RHO J. Regulation of osteoblast differentiation by cytokine networks[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6):2851.
- [13] KOVÁCS B, VAJDA E, NAGY E E. Regulatory effects and interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK signaling at the bone-cartilage interface in osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18):4653.
- [14] GAO X, WU Q, ZHANG X, et al. Salvianolate ameliorates osteopenia and improves bone quality in prednisone-treated rheumatoid arthritis rats by regulating RANKL/RANK/OPG signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:710169.
- [15] HOUSCHYAR K S, TAPKING C, BORRELLI M R, et al. Wnt pathway in bone repair and regeneration-what do we know so far[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 6:170.

- [16] SANG C, ZHANG Y, CHEN F, et al. Tumor necrosis factor alpha suppresses osteogenic differentiation of MSCs by inhibiting semaphorin 3B via Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in estrogen-deficiency induced osteoporosis[J]. *Bone*, 2016, 84:78-87.

- [17] LI Y, YUAN L, JIANG S, et al. Interleukin-35 stimulates tumor necrosis factor- $\alpha$  activated osteoblasts differentiation through Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in rheumatoid arthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75:105810.

- [18] SHEN W, GUAN Y Y, WU R M, et al. Protective effects of Wang-Bi tablet on bone destruction in collagen-induced arthritis by regulating osteoclast-osteoblast functions[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238:111861.

(收稿日期:2022-11-18)