

染料木素联合多不饱和脂肪酸对 MCF-7 细胞脂代谢基因表达的影响

杜沛 沈红艺 李中平 刘霞 陈高敏 谢燕

(上海中医药大学 公共健康学院, 上海 201203)

摘要: 选用不同浓度的染料木素(GEN)及二十二碳六烯酸(DHA)作用于MCF-7细胞,研究大豆中抗癌成分染料木素与不同比例的多不饱和脂肪酸(PUFAs)联用,对乳腺癌细胞MCF-7增殖及脂代谢基因表达情况的影响。根据DHA的有效浓度设定亚油酸(LA)及LA:DHA(10:1)混合PUFAs作用浓度。将GEN分别与DHA、LA及LA:DHA(10:1)联合作用细胞,检测细胞生存率,并通过qPCR方法检测细胞内过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)、5-脂氧合酶(5-LOX)、环氧合酶-2(COX-2)mRNA表达情况。结果表明:高浓度GEN(300, 200, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)及DHA(400, 300, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可抑制MCF-7细胞的增殖,且随着时间增加抑制作用增强。而低浓度GEN(50, 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)及LA组及10:1组对细胞增殖有轻度促进作用。添加GEN的G+L组和G+10:1组细胞的生存率显著降低,同时GEN可降低G+L组细胞5-LOX mRNA的表达量,且GEN与LA:DHA(10:1)联用,增加了细胞内PPAR γ mRNA的表达水平并抑制了COX-2 mRNA的表达。试验证实GEN可抑制高比例 ω -6 PUFAs对乳腺癌细胞增殖的促进作用,其作用机制主要是通过增加PPAR γ mRNA表达,抑制COX-2 mRNA表达水平实现的。大豆的抗乳腺癌作用可能是由于GEN与PUFAs在抑制乳腺癌细胞增殖方面产生了协同效应。

关键词: MCF-7细胞; 染料木素; 多不饱和脂肪酸

中图分类号: R737.9

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.04.0587

Effects of Genistein Combined Polyunsaturated Fatty Acids on Lipid Metabolic Gene Expression of MCF-7 Cells

DU Pei, SHEN Hong-yi, LI Zhong-ping, LIU Xia, CHEN Gao-min, XIE Yan

(College of Public Health, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: The effect of genistein which is the anticancer component in soy, combined different ratios polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on proliferation and lipid metabolic gene expression of MCF-7 cells was studied. MCF-7 was cultured with different concentration genistein (GEN) and docosahexaenoic acid (DHA). According to the effect concentration of DHA, we set linoleic acid (LA) and mixed PUFAs' concentration, which was 10:1 LA to DHA. Then we combined GEN with DHA, LA and LA:DHA (10:1) respectively, tested the survival rate and detect mRNA expression of peroxisome proliferators-activated receptor γ (PPAR γ), 5-lipoxygenase (5-LOX) and cyclooxygenase-2 (COX-2) with qPCR. The results showed that high concentration of GEN and DHA could inhibit proliferation of MCF-7 cells and the effect enhanced with time. However, low concentration of GEN could promote the cells proliferation mildly. LA and 10:1 PUFAs promote the cells proliferation, but cell's proliferation was inhibited when we added GEN. GEN could reduce 5-LOX mRNA level of MCF-7 cell which was under the effect of LA. Meanwhile it inhibits proliferation of MCF-7 cell through promoting PPAR γ mRNA level and inhibiting COX-2 mRNA level when the cell is cultured with GEN combined 10:1 LA:DHA. GEN can inhibit the promoting effect of high ratio ω -6 PUFAs' proliferation of breast cancer cells. The mechanism is mainly through improving the expression of PPAR γ mRNA and inhibiting COX-2 mRNA. The synergistic effect of GEN and PUFAs on inhibiting the proliferation of breast cancer cells, may be the reason for the anti breast cancer of soy.

Keywords: MCF-7 cells; Genistein; Polyunsaturated fatty acids

大豆是中医药膳中的传统食材,具有较高的营养价值,含有丰富的大豆蛋白、大豆异黄酮、膳食脂肪酸等营养成分。大豆中富含的多不饱和脂肪酸,主要为 ω -6系多不饱和脂肪酸(PUFA),另有少量的 ω -3系PUFA^[1]。研究证实,高比例的 ω -6系PUFA膳食可促进乳腺癌的发生,而 ω -3系PUFA对乳腺

癌有抑制作用^[2]。近年来大豆异黄酮也是抗肿瘤药物研究的热点,其通过调节乳腺癌细胞脂代谢、细胞信号传导、有害物质降解等途径起到抗癌作用^[3]。

流行病学研究表明,增加大豆的摄入可降低女性乳腺癌的发生率^[4],但如何解释大豆中同时含有

收稿日期: 2016-01-14

基金项目: 上海市研究生创新项目(A2-P3550806); 上海中医药大学冠生园健康营养基金(D463); 上海中医药大学健康营养中医交叉学科研究平台建设基金(Z1301011206)。

第一作者简介: 杜沛(1990-),女,硕士,主要从事大豆异黄酮及脂肪酸的抗乳腺癌研究。E-mail: jirugedp@sina.com。

通讯作者: 沈红艺(1962-),女,博士,研究员,主要从事中医体质与营养干预研究。E-mail: xhhe1503@sina.com。

抗癌的大豆异黄酮及促进乳腺癌的 ω -6 系 PUFA。目前还未有大豆异黄酮联合高比例 ω -6 系 PUFA 对乳腺癌作用影响的相关文献报道。为进一步探索大豆主要营养成分可能的抗乳腺癌协同作用,本试验选择大豆异黄酮中有效活性成分染料木素 (genistein, GEN) 联合 ω -3 PUFA 中主要成分二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA)、 ω -6 PUFA 中主要成分亚油酸 (linoleic acid, LA), 并根据 10:1 的 LA:DHA 模拟大豆中 PUFAs 的比例结构^[5], 作用于 MCF-7 乳腺癌细胞, 研究大豆抗乳腺癌的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 人乳腺癌细胞系 MCF-7 购自中国科学院。

1.1.2 试剂 染料木素 (genistein, GEN, 纯度 99%) 购自百灵威公司, 溶解于 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DMSO 中, -20°C 保存。二十二碳六烯酸 (Cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid, DHA, 纯度 $\geq 98\%$)、亚油酸 (linoleic acid, LA, 纯度 $\geq 99\%$) 由 Sigma 公司提供, 溶解于无水乙醇中 ($0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 分装充氮于 -80°C 保存。高糖 DMEM、胎牛血清、胰酶为 Gibco 公司生产。Cell Counting Kit (CCK) 试剂盒由上海翊圣生物生产。PPAR γ 、COX-2、5-LOX、GAPDH 基因引物及 RNA 提取试剂盒 (TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit)、逆转录试剂盒 (Prime-ScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser)、扩增试剂盒 (SYBR Premix Ex TaqTM) 均为 TaKaRa 公司生产。

1.1.3 仪器 酶标仪 GEN5 (Biotek), StepOnePlus Real-Time System (life), 超微量紫外分光光度计 (Implen)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌 MCF-7 细胞, 在含 10% 胎牛血清和 1% 双抗生素的普通高糖 DMEM 中进行传代培养, 培养条件: 37°C 5% 二氧化碳。

1.2.2 CCK 检测细胞生存率 设置 24, 48, 72 h 三个时间点观察细胞生存率。消化细胞进行细胞计数, 将细胞液稀释至 1×10^5 、 5×10^4 、 3×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 3 个浓度依次接种于 24, 48, 72 h 观测的 96 孔板中, 每孔添加 100 μL 细胞稀释液。细胞适应性培养 24 h 后, 向孔内加入不同浓度的药物, 每孔 200 μL , GEN 的浓度为 300, 200, 100, 50, 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, DHA 的浓度为 400, 300, 200, 100, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对照组加入 DMSO 或无水乙醇。给药培养 24, 48, 72 h 期间 48, 72 h 观测的 96 孔板每 24 h 换入新的含药培养液。培养结束后使用 CCK 试剂盒检测各

给药组吸光度 (OD) 值, 并根据 OD 值计算细胞生存率。

联合给药方法: 选择 GEN 及 DHA 作用细胞生存率在 80% 左右的有效浓度, DHA 的有效浓度即为 LA 的给药作用浓度, 并按 10:1 的 LA:DHA 体积比取该浓度的 DHA 及 LA 配成 10:1 的含药培养液。将 GEN 与 DHA、LA、LA:DHA (10:1) 3 个 PUFAs 混合, 使 3 种药物终浓度达到有效浓度, CCK 检测联合给药作用细胞 24, 48, 72 h 后细胞的生存率, 同时检测 LA 与 LA:DHA (10:1) 单独作用对细胞生存率的影响。

1.2.3 qPCR 检测细胞基因表达情况 将细胞传代入直径 60 mm 的培养皿中, 根据药物有效浓度设定 8 个组, 分别为对照组 (加入 DMSO 及无水乙醇)、GEN 组、DHA 组、LA 组、10:1 组、G+D 组、G+L 组、G+10 组。适应性培养 2 d, 待细胞铺满培养皿 80% 时加入含药培养液, 培养 48 h 后根据 RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA。超微量紫外分光光度计检测 RNA 浓度。根据浓度稀释 RNA, 逆转录合成 cDNA, 后加入 SYBR Green、引物及 cDNA 模板, 将反应液放入 StepOnePlus Real-Time System 中进行基因的 PCR 扩增。根据各组 CT 值, 计算基因相对表达量 $= 2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 。各基因引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene sequences of primers

基因 Gene	引物序列 Primer sequeme
PPAR γ	5'-TATGGAGTTCATGCTGTGA-3'
	5'-CGGGAAGGACTTTATGTATG-3'
COX-2	5'-AATCATTCACCAGGCAAATTG-3'
	5'-TCTGTACTGCGGCTGGAACA-3'
5-LOX	5'-ACCGTGGTGATCTTACCAGCCT-3'
	5'-GTTGCGCTCAGCAATCAGCCTG-3'
GAPDH	5'-ACCGTGGTGATCTTACCAGCCT-3'
	5'-GCTGTAGCCAAATTCGTTGTC-3'

1.3 数据分析

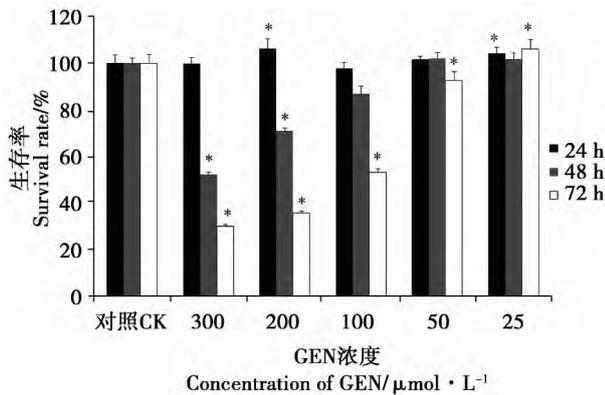
用 SPSS 18.0 统计学软件进行分析。各组间数据进行方差分析或秩和检验, $P < 0.05$ 证明差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 GEN 联合 PUFAs 对 MCF-7 细胞生存率的影响

2.1.1 不同浓度 GEN 及 DHA 对 MCF-7 细胞生存率的影响 CCK 检测结果表明, 与对照组相比, 给予 GEN 干预 24 h 各浓度组均未出现明显的抑制作用, 而 200 和 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度组出现了促进细胞增

殖的现象。给药 48 h 开始 300 200 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 3 个高浓度组开始出现抑制作用,抑制作用强度呈现剂量依赖性。给药 72 h 时 3 个高浓度组抑制作用更加明显 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度也出现了抑制作用,但 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的低浓度组出现了促进细胞增殖的作用效果(图 1)。



*: 与对照组相比差异有统计学意义 $P < 0.05$ 。下同。

*: Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus control. The same below.

图 1 MCF-7 细胞在不同浓度 GEN 作用下的生存率
Fig. 1 Survival rate of MCF-7 cells under the effect of different concentration GEN

相比而言,DHA 出现抑制 MCF-7 细胞增殖的作用更快,在 24 h 时各浓度组均出现抑制作用,且呈现剂量依赖性。且随着时间的增加,48,72 h 给药干预后高剂量组(400 300 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)抑制作用增加,但低剂量组(100 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)在给药后期抑制作用消失(图 2)。

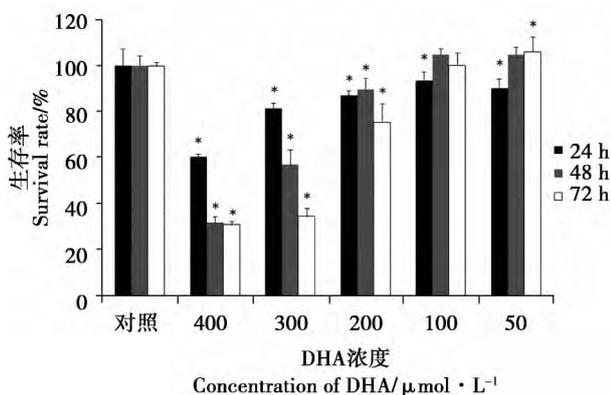
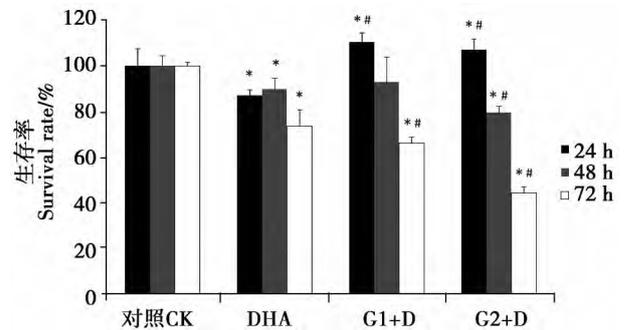


图 2 MCF-7 细胞在不同浓度 DHA 作用下的生存率
Fig. 2 Survival rate of MCF-7 cells under the effect of different concentration DHA

2.1.2 GEN 与 PUFAs 联用对 MCF-7 细胞增殖的影响 根据 GEN 与 DHA 的有效浓度值,将 100 和 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GEN 分别与 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 3 组 PUFAs 联合作用于 MCF-7 细胞,分别在作用 24,48,72 h 后检测细胞生存率。

CCK 结果表明,与对照组及 DHA 相比在作用

24 h 时,G1 + D 组细胞生存率升高($P < 0.05$),但 G2 + D 组没有出现生存率的降低($P > 0.05$)。G1 + D 组给药作用至 72 h,细胞生存率显著降低($P < 0.05$)。细胞生存率为 66.2%。而 G2 + D 组在给药作用 48 h 后细胞生存率已低于对照组及 DHA 组($P < 0.05$),细胞生存率为 79.4%。结果证明,GEN 与 DHA 在抑制细胞增殖方面出现增效作用(图 3)。



*: 与对照组相比 $P < 0.05$; #: 与 PUFAs 单独干预组相比 $P < 0.05$ 。

*: Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus control; #: Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus DHA.

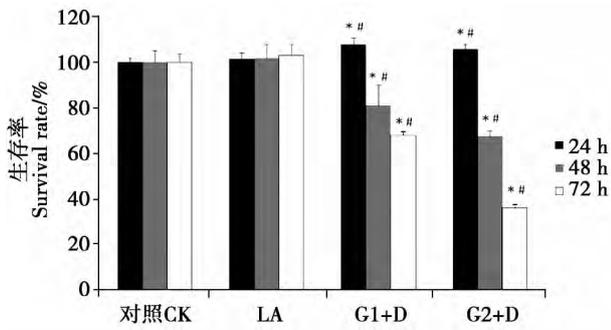
图 3 MCF-7 细胞在 GEN 联合 DHA 作用下的生存率
Fig. 3 Survival rate of MCF-7 cells under the effect of GEN combined DHA

与对照组相比,各时间点 LA 组及 10:1 组细胞均未出现抑制作用,且 10:1 组作用 72 h 后对细胞增殖的促进作用($P < 0.05$)。100,200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 与 LA 及 LA:DHA(10:1)联用后,给药作用 24 h 细胞生存率均大于对照组及 LA 组($P < 0.05$),未出现抑制作用。但作用 48 h 后,G1 + L,G2 + L 两组生存率均显著低于对照组及 LA 组($P < 0.05$),给药作用 48 h,两组细胞生存率分别为 81%、67.4%,同时 G1 + 10,G2 + 10 两组生存率也显著低于对照组及 10:1 组($P < 0.05$)。作用 48 h 时两组生存率分别为 85.9%、74.8%。证明在 LA 及高比例 LA 存在的情况下,增加 GEN 的干预可抑制细胞增殖(图 4、图 5)。

2.2 联合用药对 MCF-7 细胞基因表达的影响

将 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 与 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PUFAs 联合使用作用 MCF-7 细胞 48 h,通过 qPCR 方法检测细胞 PPAR γ 、5-LOX、COX-2 mRNA 表达水平。结果表明,与对照组相比 GEN、G1 + L、G1 + 10 三组 PPAR γ 表达量增加,DHA、LA、G1 + D 三组表达量降低,结果有统计学意义($P < 0.05$)。G1 + L、G1 + 10 两组 PPAR γ 表达量分别较 LA、10:1 组显著升高(图 6A)。

在 5-LOX 表达量检测的结果中,发现 GEN、

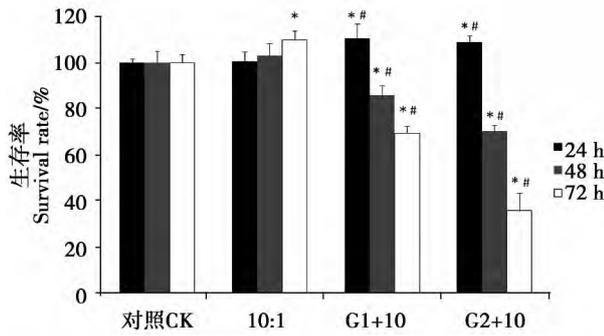


* : 与对照组相比 $P < 0.05$; # : 与 PUFAs 单独干预组相比 $P < 0.05$ 。

* : Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus control; # : Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus LA.

图4 MCF-7 细胞在 GEN 联合 LA 作用下的生存率

Fig. 4 Survival rate of MCF-7 cells under the effect of GEN combined LA



* : 与对照组相比 $P < 0.05$; # : 与 10:1 组相比 $P < 0.05$ 。

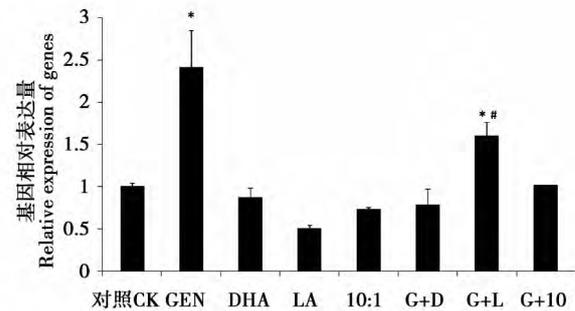
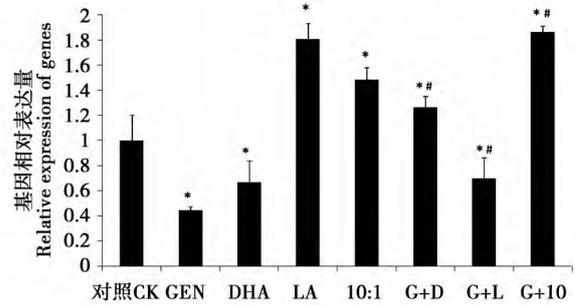
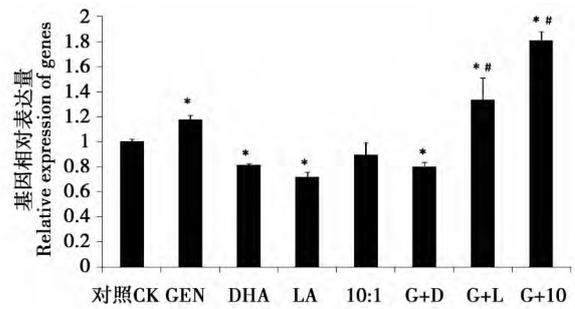
* : Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus control; # : Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus group 10:1.

图5 MCF-7 细胞在 GEN 联合 LA: DHA(10:1) 作用下的生存率

Fig. 5 Survival rate of MCF-7 cells under the effect of GEN combined LA: DHA(10:1)

DHA、G1 + LA 三组相对表达量低于对照组,其余各组表达量均有所增高 ($P < 0.05$)。同时发现 G1 + LA 组显著低于 LA 组 ($P < 0.05$),但 GEN 与 DHA、10:1 PUFAs 联用后 $5\text{-}LOX$ 表达量反而增加 ($P < 0.05$) (图 6B)。

值得注意的是与 $5\text{-}LOX$ 基因表达量趋势不同, $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 可显著促进 $COX\text{-}2$ mRNA 的表达水平,且显著增加了 G1 + L 组 $COX\text{-}2$ 基因的表达水平,结果有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 6C)。为进一步验证不同浓度 GEN 与 PUFAs 联用对 $COX\text{-}2$ mRNA 表达的影响,检测了 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 与 PUFAs 联用后 MCF-7 细胞 $COX\text{-}2$ 基因表达的情况 (图 7),结果表明 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 与 PUFAs 联用, $COX\text{-}2$ 基因相对表达量均显著降低 ($P < 0.05$)。

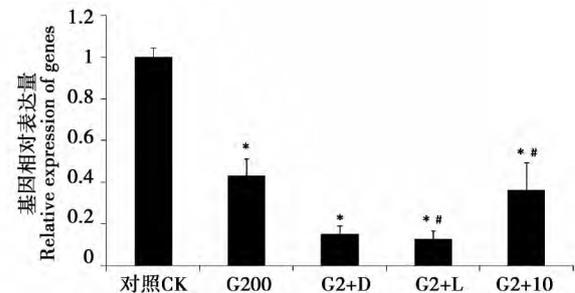


A: $PPAR\gamma$ mRNA; B: $5\text{-}LOX$ mRNA; C: $COX\text{-}2$ mRNA。

* : 与对照组相比 $P < 0.05$; # : 与 PUFAs 单独干预组相比 $P < 0.05$ 。

* : Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus control; # : Differences are statistically significant $P < 0.05$ versus PUFAs groups.

图6 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 与 PUFAs 联用对 MCF-7 细胞 $PPAR\gamma$ mRNA、 $5\text{-}LOX$ mRNA 和 $COX\text{-}2$ mRNA 表达的影响
Fig. 6 The effect of GEN combined PUFAs to $PPAR\gamma$ mRNA, $5\text{-}LOX$ mRNA and $COX\text{-}2$ mRNA expression of MCF-7 cells



* : 与对照组相比 $P < 0.05$; # : 与 PUFAs 单独干预组相比 $P < 0.05$ 。

* : versus control differences are statistically significant $P < 0.05$; # : versus PUFAs groups differences are statistically significant $P < 0.05$ 。

图7 $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 与 PUFAs 联用对 MCF-7 细胞 $COX\text{-}2$ mRNA 表达的影响

Fig. 7 The effect of $200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN combined PUFAs to $COX\text{-}2$ mRNA expression of MCF-7 cells

3 结论与讨论

已有研究表明染料木素可通过改善雌激素受体蛋白表达而抑制 MCF-7 细胞的增殖^[6], 但并不能引起细胞的凋亡^[7]。本试验结果显示, 高浓度的染料木素可抑制 MCF-7 细胞的增殖, 而低浓度对细胞增殖有轻度促进作用。GEN 具有类雌激素性作用, 对人体雌激素水平有双向调节作用^[8]。MCF-7 作为雌激素受体阳性乳腺癌细胞, 雌激素的存在会刺激细胞生长, 当 GEN 浓度较低时, 其抑制肿瘤细胞的作用效果较弱, 故其激素性效应对细胞的作用更明显, 表现出促进细胞生长的作用。

二十二碳六烯酸是 ω -3 系 PUFA 的有效物质, 其在降血脂等方面有显著作用, 近年来的研究发现 DHA 可抑制肿瘤细胞的生长, 对于乳腺癌的防治也发挥着积极作用。而以亚油酸为主要活性成分的 ω -6 系 PUFA 则有着相反结果, 膳食中高比例的 ω -6 PUFA 会促进乳腺肿瘤的发展^[9]。本试验结果也证实了 DHA 对 MCF-7 细胞的抑制作用及高比例 LA 对细胞增殖的轻度促进作用。

膳食营养素中, 大豆异黄酮及 ω -3 PUFA、 ω -6 PUFA 均可调节乳腺癌发展和脂肪代谢。本试验将 GEN 与 LA、DHA 联用, 并以 10:1 的 LA:DHA 模拟大豆中高比例 ω -6PUFA 的食物成分比例, 研究 GEN 与 PUFA 联合作用对 MCF-7 乳腺癌细胞的效应影响。结果表明 GEN 可降低 LA 组及 10:1 组对细胞增殖的促进趋势, 且在高比例 ω -6 PUFA 存在的情况下, 添加 GEN 可有效抑制 MCF-7 细胞的增殖。同时, GEN 与 DHA 联用, 可增加 GEN 对细胞增殖的抑制作用。并随着时间的增加, GEN 及其与 PUFA 联用对细胞增殖的抑制作用逐渐增强。由此推论, 在日常饮食中, 应长时间、足量地摄入大豆及豆制品, 以预防乳腺癌。

PPAR γ 、5-LOX 和 COX-2 均是调控乳腺癌细胞脂代谢的重要组成部分^[10]。PPAR γ 是 PPAR 基因家族中的重要成员, PPAR γ 主要有 PPAR γ 1、PPAR γ 2 两种亚型, 对于调节糖脂代谢、动脉粥样硬化、肿瘤细胞增殖等均有其重要意义。PPAR γ 与其相应的配基结合后与过氧化物增殖物反应原件 (PPRE) 结合, 从而调节下游基因的表达, 调控肿瘤细胞的增殖与凋亡^[11]。大豆异黄酮是 PPAR γ 的配体, 给予 GEN 可促进 PPAR γ siRNA 从而抑制 ER β 表达, 降低乳腺上皮细胞脂肪型分化程度, 预防乳腺癌^[12]。本试验的结果表明, GEN 可上调 PPAR γ 基因的表达水平, 虽然 LA 及高比例 LA 单独作用时 PPAR γ 表达水平有所降低, 但添加 GEN 后可显著

增加 PPAR γ 表达水平。

5-LOX 和 COX-2 均与 PUFA 的代谢相关, 两种蛋白在肥胖、炎症与肿瘤发生的体系中具有重要意义^[13]。5-LOX 可分别与 ω -6 PUFA 的另一种活性成分花生四烯酸 (AA) 结合, 生成易促进肿瘤细胞代谢与分化的白三烯 B₄^[14]。AA 在体内可由 LA 转化生成, 结果显示 LA 组及 10:1 组 5-LOX 表达显著增加。GEN 可显著降低 LA 组 5-LOX 的表达水平, 但却促进了 10:1 组 5-LOX 的表达, 同时 GEN 及 DHA 单独使用时均可降低 5-LOX 的表达, 但两者联合使用后 5-LOX 表达量显著增加。分析其可能是由于两者在 MCF-7 细胞内产生了拮抗作用, 但具体作用机制有待探究。

MCF-7 细胞的增殖与 COX-2 基因高表达有关, COX-2 也可与 AA 结合产生炎性因子前列腺素 E₂, 促进肿瘤发展^[15]。COX-2 的表达受 PPAR γ 基因的调控同时, 研究表明 GEN 与 DHA 可与 COX-2 竞争性结合, 影响 PGE₂ 的表达, 抑制肿瘤的形成^[16]。本试验结果显示 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GEN 促进了 MCF-7 细胞 COX-2 基因的表达, 但 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度有显著抑制作用, 分析原因可能是由于 GEN 需较高剂量作用才可表现出对 COX-2 基因表达的抑制作用。同时, 结果显示 LA 组 COX-2 基因表达量降低, 可能是由于 LA、AA 与 COX-2 结合反应速率不同所致。对于 MCF-7 细胞, 不同 ω -6 PUFA 成分对 COX-2 表达的作用有待进一步研究。

近年来, 研究人员越来越发现用食物中单一的营养素来评价食物的整体功能的不完善性。因此, 国际营养学界对膳食指南认识方面的一个重要转变是以营养素为基础的膳食指南转向以食物为基础的膳食指南。基于这个理论, 强调食物整体的摄入及总体的膳食平衡, 可以避免单一营养素的摄入不足或过量, 从而发挥同一食物中各营养素间目前已确认或是潜在的协同作用。本研究通过开展染料木素与不同比例 PUFA 联用对乳腺癌发生效应的影响研究, 发现了 GEN 与高比例 ω -6 PUFA 联用提高了乳腺癌细胞中 PPAR γ mRNA 表达, 并抑制了 COX-2 mRNA 表达水平。

大豆异黄酮和多不饱和脂肪酸是大豆中主要的生物活性成分和营养素, 根据本试验的结果推论, 大豆对乳腺肿瘤细胞的抑制作用, 可能与其含有的大豆异黄酮和高比例 ω -6PUFA 的协同作用有关。因此, 在日常膳食指导方面, 针对因脂肪酸摄入过量或脂肪酸比例不均的乳腺癌易感人群, 在改变脂肪酸膳食结构的同时, 可补充大豆异黄酮减低乳腺肿瘤发生的风险。

参考文献

- [1] Chen K I, Erh M H, Su Na W, et al. Soyfoods and soybean products: From traditional use to modern applications [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2012 96: 9-22.
- [2] Kiyabu G Y, Inoue M, Saito E, et al. Fish, n-3 polyunsaturated fatty acids and n-6 polyunsaturated fatty acids intake and breast cancer risk: The Japan public health center-based prospective study [J]. *International Journal of Cancer*, 2015, 137 (12): 2915-2926.
- [3] Satih S, Chalabi N, Rabiau N, et al. Gene expression profiling of breast cancer cell lines in response to soy isoflavones using a pan-genomic microarray approach [J]. *Journal of Integrative Biology*, 2010, 14(3): 231-238.
- [4] Messina M. Soy foods, isoflavones, and the health of postmenopausal women [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2014, 100 (S): 423S-430S.
- [5] 杨月欣, 王光亚, 潘兴昌. 中国食物成分表 [M]. 2 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 263. (Yang Y X, Wang G Y, Pan X C. Chinese food ingredient [M]. 2nd ed. Beijing: Beijing University Medicine Press, 2009: 263.)
- [6] Eun J C, Jae Y J, Gun-Hee K. Genistein inhibits the proliferation and differentiation of MCF-7 and 3T3-L1 cells via the regulation of ER α expression and induction of apoptosis [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2014 8: 454-458.
- [7] Tsuboy M S, Marcarini J C, de Souza A O, et al. Genistein at maximal physiologic serum levels induces G0/G1 arrest in MCF-7 and HB4a cells, but not apoptosis [J]. *Journal of Medicinal Food*, 2014, 17(2): 218-225.
- [8] Mercedes N S, Daniel G P, Jorge S S et al. Genistein modulates oxidative stress in breast cancer cell lines according to ER/ER ratio: Effects on mitochondrial functionality, sirtuins, uncoupling protein 2 and antioxidant enzymes [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2013, 45: 2045-2051.
- [9] Rasha H, Nabarun C, Stacy A M, et al. Differential effects of omega-3 and omega-6 fatty acids on gene expression in breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2007, 101: 7-16.
- [10] 吕静, 王斌, 糜漫天, 等. 脂质代谢相关基因在乳腺浸润性导管癌中的表达及其意义 [J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(12): 1290-1292. (Lyu J, Wang B, Mi M T, et al. Expression and significance of lipid metabolism-related genes in breast invasive ductal carcinoma [J]. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2010, 32(12): 1290-1292.)
- [11] 丁锐, 王莉莉. 过氧化物酶体增殖物激活受体 α 、 γ 激动剂与肿瘤 [J]. *国际药学研究杂志*, 2015, 42(1): 8-19. (Ding R, Wang L L. Peroxisome proliferator-activated receptors α , γ agonists and tumors [J]. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 2015, 42(1): 8-19.)
- [12] Montales M T, Rahal O, Nakatani H, et al. Repression of mammary adipogenesis by genistein limits mammosphere formation of human MCF-7 cells [J]. *Journal of Endocrinology*, 2013, 218(1): 135-149.
- [13] Vona-Davis L, Rose D P. The obesity-inflammation-eicosanoid axis in breast cancer [J]. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2013, 18: 291-307.
- [14] 米达, 尤嘉琮, 丁佩剑, 等. 花生四烯酸代谢相关酶和 ERK 与乳腺癌转移关系 [J]. *中国生物化学与分子生物学报* 2008 24(11): 1040-1046. (Mi D, You J C, Ding P J et al. Relationship between enzymes involved in Arachidonic acid metabolism ERK and metastasis of breast cancer [J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2008 24(11): 1040-1046.)
- [15] Inês C, Miguel A P. Epigenetic deregulation of the COX pathway in cancer [J]. *Progress in Lipid Research*, 2012, 51: 301-313.
- [16] Horia E, Watkins B A. Complementary actions of docosahexaenoic acid and genistein on COX-2, PGE2 and invasiveness in MDA-MB-231 breast cancer cells [J]. *Carcinogenesis*, 2007, 28(4): 809-815.

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

2017 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊。是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

本刊内容丰富, 栏目新颖, 信息全面, 可读性强。月刊, 每月 10 日出版, 国内外公开发行。国内邮发代号 14-61, 每期定价 12.00 元, 全年 144.00 元; 国外发行代号 M8321, 每期定价 12.00 美元, 全年 144.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅, 漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另有合订本珍藏版欢迎订购。2007 年合订本每册定价 80.00 元, 2008~2009 年合订本每册定价 90.00 元, 2010~2015 年合订本每册定价 180.00 元, 邮费各 10.00 元, 售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址: 哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部 邮编: 150086

电话: 0451-86668373 投稿网址: www.haasep.cn