

网络出版时间: 2020-12-2 9:29 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20201201.1526.020.html>

槲皮素调控 GSTP1 甲基化 抑制前列腺癌 LNCap 细胞增殖的机制研究

邢红宇¹ 朱明月² 李 伟² 林 波²

摘要 目的 探讨槲皮素通过调控谷胱甘肽 S 转移酶 P1 (GSTP1) 启动子甲基化抑制前列腺癌细胞(LNCap) 细胞增殖的机制。方法 体外培养人前列腺癌细胞 LNCap, 分别使用不同浓度槲皮素(0、10、40、80 $\mu\text{mol/L}$) 处理, 使用甲基转移酶抑制剂 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷(5'-Aza-dC) (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理作为对照组。48 h 后, 采用 CCK-8 法检测各组细胞增殖抑制率; 流式细胞仪检测细胞凋亡水平; 甲基化特异性 PCR(MSP) 检测 GSTP1 基因甲基化状态; Real-time PCR 和 Western blot 法分别检测各组 LNCap 细胞 GSTP1 mRNA 及蛋白表达情况。结果 在一定浓度范围内随着槲皮素用量增加和时间的增长, LNCap 细胞增殖率下降($P < 0.05$); LNCap 细胞中 GSTP1 启动子区的甲基化程度减弱($P < 0.05$); GSTP1 的表达水平增高($P < 0.05$); 并且 GSTP1 mRNA 降低与 GSTP1 基因甲基化呈负相关($P < 0.05$), 差异有统计学意义。结论 槲皮素通过减弱 LNCap 启动子甲基化抑制 LNCap 细胞的生长增殖。

关键词 前列腺癌; 槲皮素; 谷胱甘肽 S 转移酶; 增殖

中图分类号 Q 291

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2020)12-1921-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.12.020

前列腺癌是多发生在 40 岁以上成人的一种恶性肿瘤, 男性恶性肿瘤前列腺癌发病率明显升高, 在新发现的确诊病例中大多为局部晚期或广泛转移患者, 主要以手术治疗为主, 化疗、放疗等其它疗法为辅, 无法根治性治疗, 预后较差^[1-2]。谷胱甘肽 S 转移酶 P1 (glutathione S-transferases pi-1, GSTP1) 具有保护细胞 DNA 碱基不受伤, 抗肿瘤等功能。GSTP1 表达沉默是正常前列腺上皮转化为前列腺腺癌的标志^[3]。槲皮素广泛分布于植物中, 具有多种生物作用, 如抗氧化、清除自由基、抗感染、抗菌、抗病毒、免

疫调节等作用^[4]。GSTP1 基因启动子区 CpG 岛甲基化是药物治疗前列腺癌的重要有效靶点。针对 GSTP1 的靶向治疗, 探讨槲皮素对前列腺癌细胞 (prostate cancer cells, LNCap) 细胞 GSTP1 启动子甲基化的影响与 LNCap 细胞增殖机制的关系, 为肿瘤靶向治疗提供临床医疗机制支持。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器 酶标仪(型号: DG3022A) 购自南京华东电子集团医疗装备有限责任公司; 细胞培养箱(型号: J-80B-III) 购自上海杰涵实验设备有限公司; 蛋白印迹仪(型号: PROFIBLOT 48) 购自北京博宇腾辉科贸有限公司; 流式细胞仪(货号: BeamCyte, 1026) 购自常州必达生物科技有限公司; CCK-8 试剂盒(货号: D190411) 购自上海钰博生物科技有限公司; RNA 提取试剂盒(批号: D1937)、反转录试剂盒(批号: D1932)、PCR 检测试剂盒(批号: D1946) 购自哈尔滨经纬百科生物技术有限公司; RPMI-1640 培养基(批号: 507739) 购自美国 GIBCO 公司; 胎牛血清(批号: 11019-8634) 购自杭州亿枫生物公司; EZ DNA Methylation-Gold KitTM 甲基化试剂盒(货号: D5005) 购自北京天漠科技开发有限公司; 膜联蛋白 V (异硫氰酸荧光素碘化丙啶 (fluorescein isothiocyanate propidium iodide, FITC / PI) 细胞凋亡检测试剂盒(货号: T2190) 购自上海恒斐生物科技有限公司; 槲皮素 (Solarbio, 批号: IQ0010-4) 购自上海恒斐生物科技有限公司; LNCap 细胞(编号: C0787) 购自上海冠导生物工程有限公司。鼠抗 GSTP1 购自南京碧云天生物科技有限公司; 兔抗 β -肌动蛋白(β -actin) 和辣根过氧化物酶 (HRP) 标记羊抗鼠二抗均购自美国 Abcam 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 分组及处理 体外培养 LNCap 细胞, 分为空白组、低浓度组、中浓度组、高浓度组及对照组。空白、低、中、高浓度组分别使用(0、10、40、80 $\mu\text{mol/L}$) 槲皮素处理, 对照组使用甲基转移酶抑制剂 5'-氮杂-2'-脱氧胞苷(5'-Aza-2'-deoxycytidine, 5'-Aza-

2020-07-21 接收

基金项目: 海南省自然科学基金(编号: 20158301)

作者单位: ¹ 海南省中医院检验科, 海口 570203

² 海南医学院海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海口 571199

作者简介: 邢红宇, 女, 本科, 副主任检验师, 责任作者, E-mail: yaya-dejia@163.com

dC) (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理 48 h。

1.2.2 CCK-8 检测各组 LNCap 细胞增殖 从加入药物处理开始,每隔 12 h 收集按实验分组培养后的 LNCap 细胞消化离心,弃上清液,加 MTT,孵育 4 h,加入 DMSO,按分组使用酶标仪检测 LNCap 细胞悬液的吸光度 (absorbance, OD490) 值,计算各组 LNCap 细胞的抑制率 = $(1 - \text{实验孔测定值}) / \text{对照孔测定值} \times 100\%$,实验 3 次,计算平均值。

1.2.3 流式细胞术测定细胞凋亡率 收集按实验分组培养后的 LNCap 细胞消化离心,调整浓度为 $1 \times 10^6 / \text{ml}$ 的单细胞悬液,离心,孵育缓冲液洗涤,离心后用标记溶液重悬细胞,室温下避光孵育 10 ~ 15 min 后离心,孵育缓冲液洗涤,加入荧光溶液 4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光孵育 20 min。取 100 μl 上流式细胞仪,流式细胞仪激发光波长用 488 nm,波长 515 nm 的通带滤器检测 FITC 荧光,波长 > 560 nm 的滤器检测 PI。检测分析各组细胞凋亡情况。

1.2.4 甲基化特异性 PCR (MSP) 检测 GSTP1 启动子区的甲基化状态 通过测序验证:按试剂盒操作步骤,收集 LNCap 细胞,提取各组细胞的 DNA,以重亚硫酸盐处理,将非甲基化的胞嘧啶 (C) 转变为尿嘧啶 (U),甲基化的胞嘧啶 (C) 不变。设计合成 GSTP1 甲基化 (M) 与非甲基化 (U) 引物。MSP 反应结束后,进行琼脂糖凝胶电泳。同时采用 MethyLight 定量 PCR 法定量分析 GSTP1 甲基化水平,并以甲基化百分比参数表示。

1.2.5 Real-time PCR 检测 GSTP1 转录水平 收集各组 LNCap 细胞,裂解细胞后,按 TRIzol 试剂盒操作步骤提取细胞总 RNA,设计各基因引物序列,内参基因 $\beta\text{-actin}$ 逆转录盒合成 cDNA,检测试剂盒检测 GSTP1 mRNA 的基因表达,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算其相对表达量。

1.2.6 Western blot 检测 GSTP1 蛋白水平 收集各

分组 LNCap 细胞,裂解细胞后,取上清蛋白液,BCA 盒测定分组细胞的蛋白含量。蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳,结束后转膜,加入 GSTP1 一抗,孵育过夜,清洗后加入二抗,进行孵育。设置内参 $\beta\text{-actin}$ 蛋白,分析 GSTP1 蛋白,蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带积分吸光度值 / $\beta\text{-actin}$ 蛋白条带积分吸光度值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组间均值比较采用 t 检验,多组间均值比较采用单因素方差检验,两两比较行 LSD 检验;采用 Spearman 方法分析 GSTP1 表达水平与 GSTP1 基因启动子甲基化相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对 LNCap 细胞增殖能力的影响 低、中、高浓度组细胞增殖抑制率随槲皮素浓度增加和时间的增长而升高,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。对照组细胞增殖抑制率在 12、24、36、48 h 时间均高于低、中浓度组,在 36、48 h 时间中均低于高浓度组,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见表 1。

2.2 槲皮素对 LNCap 细胞凋亡的影响 低、中、高浓度组细胞凋亡率随槲皮素浓度增加而升高,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。与对照组比较,低、中浓度组细胞凋亡率降低,高浓度组升高,差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。见表 2、图 1。

2.3 槲皮素对 LNCap 细胞中 GSTP1 启动子区甲基化影响 结果显示, GSTP1 基因在 91 bp 处出现甲基化条带, 93 bp 处出现非甲基化条带;在一定浓度范围内随着槲皮素浓度增加, LNCap 细胞中 GSTP1 启动子区的甲基化程度减弱 ($P < 0.05$),差异有统计学意义。见表 3、图 2。

表 1 各组 LNCap 细胞增殖能力的情况 ($\bar{x} \pm s$, % $n=3$)

分组	细胞增殖抑制率					F 值	P 值
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h		
空白	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.000	1.000
低浓度	0.01 \pm 0.01	1.71 \pm 0.31 [*]	3.28 \pm 0.50 [*]	5.81 \pm 1.02 [*]	7.42 \pm 2.96 [*]	6.174	0.039
中浓度	0.01 \pm 0.00	4.11 \pm 0.86 ^{* #}	8.11 \pm 2.62 ^{* #}	14.69 \pm 3.84 ^{* #}	18.52 \pm 2.81 ^{* #}	9.250	0.000
高浓度	0.00 \pm 0.00	8.37 \pm 3.82 ^{* #Δ}	17.58 \pm 4.21 ^{* #Δ}	28.55 \pm 4.09 ^{* #Δ}	38.74 \pm 11.85 ^{* #Δ}	18.474	0.000
对照	0.00 \pm 0.00	8.06 \pm 2.17 ^{* #Δ}	14.30 \pm 4.89 ^{* #Δ}	21.07 \pm 3.58 ^{* #Δ}	32.88 \pm 6.84 ^{* #Δ}	17.576	0.000
F	0.000	7.432	8.719	14.387	19.547	—	—
P	1.000	0.024	0.006	0.000	0.000	—	—

与空白组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与低浓度组比较: [#] $P < 0.05$; 与中浓度组比较: ^{Δ} $P < 0.05$; 与高浓度组比较: ^{\square} $P < 0.05$

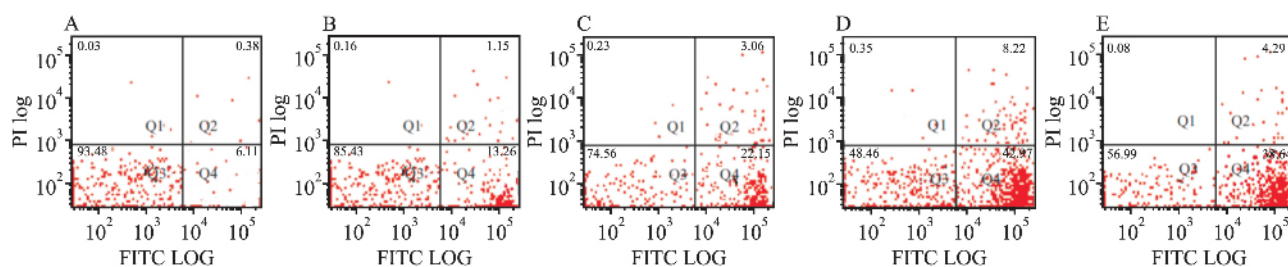


图1 流式细胞术检测结果

A: 空白组; B: 低浓度组; C: 中浓度组; D: 高浓度组; E: 对照组; Q3 象限: 活细胞, 为 (FITC⁻/PI⁻); Q2 象限: 非活细胞, 即坏死细胞, 为 (FITC⁺/PI⁺); Q4 象限: 凋亡细胞, 显现 (FITC⁺/PI⁻)

表2 各组 LNCap 细胞凋亡的情况 ($\bar{x} \pm s$, % $n=3$)

分组	细胞凋亡率
空白	6.3 ± 0.6
低浓度	14.0 ± 3.3 [*]
中浓度	25.4 ± 4.2 ^{* #}
高浓度	48.5 ± 10.9 ^{* #△}
对照	42.7 ± 6.3 ^{* #△□}
F 值	19.293
P 值	0.000

与空白组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与低浓度组比较: [#] $P < 0.05$; 与中浓度组比较: [△] $P < 0.05$; 与高浓度组比较: [□] $P < 0.05$

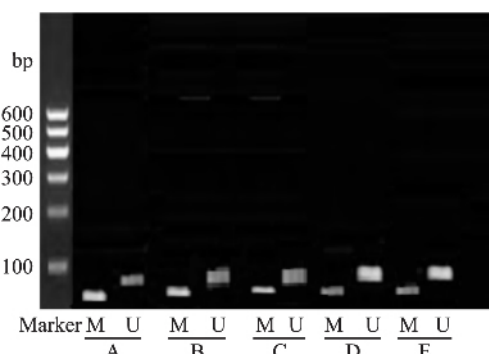


图2 各组 LNCap 细胞中 GSTP1 启动子区甲基化水平

A: 空白组; B: 低浓度组; C: 中浓度组; D: 高浓度组; E: 对照组; M: 甲基化带; U: 非甲基化带

表3 各组 LNCap 细胞中 GSTP1 启动子区甲基化水平 ($\bar{x} \pm s$, % $n=3$)

分组	GSTP1 甲基化水平
空白	0.914 ± 0.150
低浓度	0.797 ± 0.152 [*]
中浓度	0.488 ± 0.104 ^{* #}
高浓度	0.046 ± 0.013 ^{* #△}
对照	0.066 ± 0.012 ^{* #△□}
F 值	15.120
P 值	0.000

与空白组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与低浓度组比较: [#] $P < 0.05$; 与中浓度组比较: [△] $P < 0.05$; 与高浓度组比较: [□] $P < 0.05$

2.4 槲皮素对 LNCap 细胞中 GSTP1 表达的影响

低、中、高浓度组 GSTP1 和 GSTP1mRNA 相对表

达量随槲皮素浓度增加而升高, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。与对照组比较, 低、中、高浓度组 GSTP1 蛋白相对表达量降低, 低、中浓度组 GSTP1mRNA 相对表达量降低, 高浓度组 GSTP1mRNA 相对表达量升高, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结果见表4、图3。GSTP1 甲基化水平与 GSTP1 和 GSTP1mRNA 表达水平呈负相关 ($r = -0.900$ 、 -0.836 , 均 $P < 0.05$)。

表4 各组 LNCap 细胞中 GSTP1 表达情况 ($\bar{x} \pm s$, % $n=3$)

分组	GSTP1 表达	
	mRNA	蛋白
空白	1.19 ± 0.16	0.32 ± 0.04
低浓度	1.81 ± 0.12 [*]	0.68 ± 0.16 [*]
中浓度	2.48 ± 0.40 ^{* #}	1.12 ± 0.12 ^{* #}
高浓度	3.42 ± 0.53 ^{* #△}	1.48 ± 0.14 ^{* #△}
对照	3.95 ± 0.63 ^{* #△□}	1.28 ± 0.12 ^{* #△□}
F 值	16.406	7.359
P 值	0.000	0.000

与空白组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与低浓度组比较: [#] $P < 0.05$; 与中浓度组比较: [△] $P < 0.05$; 与高浓度组比较: [□] $P < 0.05$

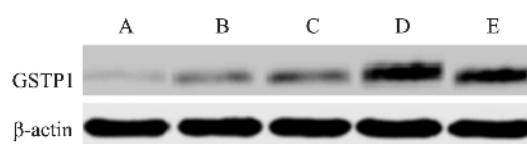


图3 各组 LNCap 细胞中 GSTP1 蛋白表达

A: 空白组; B: 低浓度组; C: 中浓度组; D: 高浓度组; E: 对照组

3 讨论

前列腺癌患者早期排尿困难, 之后逐渐出现局部疼痛压迫症状, 并向周围组织浸润^[5]。在前列腺癌相关成纤维细胞中发现的 DNA 损伤修复基因沉默促进肿瘤进展^[6]。GSTP1 可主动保护细胞免受致癌物质和亲电子化合物的侵害。GSTP1 的沉默会

增加细胞中 DNA 损伤,人前列腺癌 LNCaP 细胞中 GSTP1 被抑制表达,基因沉默^[7-8]。而 GSTP1 DNA 甲基化的基因沉默是前列腺癌发生和正常细胞发展为侵袭性癌的肿瘤进展的机制,可作为前列腺癌的诊断指标^[9]。

对于谷胱甘肽 S-转移酶(Glutathione S-transferase, GSTs) 修饰的控制,活化的转录/翻译控制是保护细胞免受氧化应激和癌症发展伤害的重要机制^[10-11]。笔者前期研究^[12]研究表明,在人 LNCaP 细胞中减少 GSTP1 CpG 岛的 21 个 CpG 位点的甲基化,诱导 GSTP1 的 mRNA 表达和蛋白表达可有效抑制癌细胞的发展。槲皮素是一种存在于水果、蔬菜等天然植物中的黄酮类化合物,具有抗氧化、抗感染、抗纤维化、抗肿瘤等作用^[13]。众多研究表明^[14-15]利用槲皮素联合化疗药物表现出抑制肿瘤生长和侵袭的作用,在肿瘤化学预防方面起着重要作用。

实验结果显示,在一定浓度范围内随着槲皮素用量增加,槲皮素可明显抑制 LNCaP 细胞生长增殖,减弱 GSTP1 启动子区的甲基化程度;促进 GSTP1 mRNA 和蛋白的表达,并对其有浓度依赖性。并且 GSTP1 mRNA 降低与 GSTP1 基因甲基化呈负相关。槲皮素可有效减弱 LNCaP 启动子甲基化程度,抑制 LNCaP 细胞的生长增殖。

然而,由于槲皮素生物利用度低,水溶性低及在体内被快速代谢和酶降解清除,严重阻碍了槲皮素在临床上的使用,因此,需要对槲皮素进行结构修饰,改善其水溶性及抗肿瘤活性。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China 2015 [J]. *Cancer*, 2016, 66(2): 115–32.
- [2] Estebanez J, Teyrouz A, Gutierrez M A, et al. Natural history of prostate cancer [J]. *Archl*. 2014, 67(5): 383–7.
- [3] Mian O Y, Khattab M H, Hedayati M, et al. GSTP1 Loss results in accumulation of oxidative DNA base damage and promotes prostate cancer cell survival following exposure to protracted oxidative stress [J]. *Prostate*, 2016, 76(2): 199–206.
- [4] Massi A, Bortolini O, Ragno D, et al. Research progress in the modification of quercetin leading to anticancer agents [J]. *Molecules*. 2017, 22(8): 33–6.
- [5] 魏世平. 前列腺包膜和周围 NVB 的病理结构分析及临床意义 [D]. 武汉: 武汉大学 2018.
- [6] Banerjee J, Mishra R, Li X, et al. A reciprocal role of prostate cancer on stromal DNA damage [J]. *Oncogene*. 2014, 33(41): 4924–31.
- [7] 吴青树. 蛋白支架多酶组装合成谷胱甘肽的研究 [D]. 杭州: 浙江大学 2016.
- [8] Yang Y, Fuentes F, Shu L, et al. Epigenetic CpG methylation of the promoter and reactivation of the expression of GSTP1 by astaxanthin in human prostate LNCaP cells [J]. *AAPS J*, 2017, 19(2): 421–30.
- [9] 宋旭, 王蓉, 肖锋, 等. 谷胱甘肽 S 转移酶 (GSTP1) 和 MAPK 在前列腺癌中的表达及其临床意义 [J]. *中国医药指南* 2017, 15(32): 16–7.
- [10] 李爱群, 于静, 李晓鲲, 等. RASSF1A 与 GSTP1 基因甲基化检测对前列腺癌诊断价值的研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(17): 1220–2.
- [11] Shishido Y, Tomoike F, Kimura Y, et al. A covalent G-site inhibitor for glutathione S-transferase P1 (GSTP1-1) [J]. *Camb*, 2017, 53(81): 11138–41.
- [12] 邢红宇, 朱明月, 李伟, 等. GSTP1 基因启动子甲基化与前列腺癌的相关性研究 [J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(11): 879–83.
- [13] Prejanò M, Marino T, Russo N. On the Inhibition mechanism of glutathione transferase P1 by piperlongumine. Insight from theory [J]. *Front Chem*, 2018, 6: 606.
- [14] 刘文丛, 刘兴龙, 孟令全, 等. 二氢槲皮素的研究进展 [J]. *吉林农业大学学报* 2018, 40(04): 444–8.
- [15] 尹华珍, 于雪梅, 方可华, 等. 槲皮素纳米制剂及其抗肿瘤研究进展 [J]. *中国新药与临床杂志* 2018, 37(1): 5–10.

Mechanism of quercetin regulating GSTP1 methylation to inhibit proliferation of LNCaP cells in prostate cancer

Xing Hongyu¹, Zhu Mingyue², Li Wei², et al

(¹Laboratory Dept of Hainan Traditional Chinese Medicine Hospital, Haikou 570203;

²Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, Haikou 571199)

Abstract Objective To investigate the mechanism of quercetin inhibiting proliferation of prostate cancer cells (LNCaP) by regulating promoter methylation of glutathione S transferase P1 (GSTP1). **Methods** Human prostate

网络出版时间: 2020 - 12 - 2 9: 33 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20201201.1526.021.html>

◇ 临床医学研究 ◇

基于生物信息学分析子宫内膜异位症的潜在生物标志物和候选治疗药物

赵旭旭^{1,2} 赵卫东^{1,2} 张璟鹤³ 陈峥峥² 任萍萍¹ 张影¹ 葛丽² 于明月² 朱美玲¹

摘要 目的 探究子宫内膜异位症中差异表达基因(DEGs) 及其功能, 筛选潜在的生物标志物和候选治疗药物。方法 磁珠分选异位内膜和正常内膜组织中的基质细胞进行基因表达谱分析; 结合 GEO 数据库中可获取的同平台同类芯片数据, 利用 limma 软件包和经验贝叶斯方法筛选 DEGs, 并进行 GO 和 KEGG 富集分析; 查询 STRING 数据库, 进行 PPI 互作网络分析, 筛选核心致病基因; 再检索 CMAP 数据库, 筛得类药物小分子。结果 869 个基因在异位内膜中表达有显著差异, 其中 17 个上调表达, 852 个下调表达; GO 富集分析显示 DEGs 多调控受体配体活性、通道活性和被动跨膜转运蛋白活性等功能; KEGG 富集分析发现 DEGs 多介导神经活性配体 - 受体相互作用通路、细胞因子 - 细胞因子受体相互作用通路和 IL-17 信号通路等通路; PPI 网络表明 FPR2、SAA1、RLN3、CXCL8、FPR1、PF4、CCR7 和 CXCL5 共 8 个基因是核心致病基因; 经 CMAP 数据库分析认为硫代罗宁和氟

硝利嗪可能具有治疗内异症的潜在价值。结论 FPR2、SAA1、RLN3、CXCL8、FPR1、PF4、CCR7 和 CXCL5 共 8 个基因是子宫内膜异位症潜在的生物标志物, 硫代罗宁和氟硝利嗪是治疗子宫内膜异位症的候选药物。

关键词 子宫内膜异位症; 生物标志物; 候选治疗药物; 生物信息学

中图分类号 R711.71

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2020) 12 - 1925 - 07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2020.12.021

子宫内膜异位症(内异症)是妇科常见的慢性、炎症性、雌激素依赖性疾病,是导致育龄期女性出现盆腔疼痛、月经紊乱、组织粘连和不孕的主要原因^[1]。其在育龄期女性中的发病率为 5% ~ 10%, 困扰着全世界约 1.76 亿女性^[2]。内异症确切的病因和发病机制尚不清楚,缺乏特异性的治疗药物。被广泛接受的“经血逆流学说”认为有活性的子宫内膜组织可随逆流经血进入盆腔,然后种植,形成内异症。但经血逆流可发生在超过 90% 的输卵管未闭的月经来潮女性中,而仅约 10% 的女性发病。鉴于异位内膜与正常内膜组织具有相似的组织结构和细胞组成,因此异位内膜细胞自身特性的改变可能是发病的重要原因。该研究旨在检测正常内膜和卵巢内异症的异位内膜两组基质细胞的转录谱,并结

2020 - 08 - 05 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(编号: 1708085MH184); 安徽省公益性研究联动计划项目(编号: 1604J0804010)

作者单位: ¹ 安徽医科大学附属省立医院妇产科, 合肥 230001

² 中国科学技术大学附属第一医院妇产科, 合肥 230031

³ 中国科学技术大学生命科学与医学部免疫研究所和中国科学院天然免疫与慢性疾病重点实验室, 合肥 230027

作者简介: 赵旭旭, 男, 硕士研究生;

赵卫东, 男, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: vic-torzhao@163.com

cancer LNCap cells were cultured *in vitro*, and treated with quercetin(0, 10, 40, 80 $\mu\text{mol/L}$) and methyltransferase inhibitor 5'-aza-dc(10 mol/L) as the control group. After 48 h, CCK-8 method was used to detect the inhibition rate of cell proliferation in each group. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. Methylation status of GSTP1 gene was determined by methylation specific PCR(MSP). mRNA and protein expression of GSTP1 in LNCap cells were detected by real-time PCR and Western blot. **Results** The proliferation rate of LNCap cells decreased with the increase of quercetin dosage and time in a certain concentration range($P < 0.05$). The methylation of GSTP1 promoter in LNCap cells decreased($P < 0.05$). The expression level of GSTP1 increased($P < 0.05$). Moreover, the decrease of GSTP1 mRNA was negatively correlated with the methylation of GSTP1 gene($P < 0.05$). **Conclusion** Quercetin inhibited the growth and proliferation of LNCap cells by reducing the methylation of LNCap promoters.

Key words prostate cancer; quercetin; glutathione S transferase; proliferation