

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.31.001

## · 基础研究 ·

## 山萘酚对人非小细胞肺癌细胞系 A549 增殖的影响\*

左一雄<sup>1,2</sup> 蔡湘仪<sup>1,2</sup> 吴彦萍<sup>1,2</sup> 黄来强<sup>1,2Δ</sup>(1 清华大学生命科学学院 北京 100084; 2 深圳市基因与抗体治疗重点实验室和生物医药研究中心  
清华大学深圳研究生院生命与健康学部 广东 深圳 518055)

**摘要 目的:**探究山萘酚(Kaempferol, Kpf)对非小细胞肺癌细胞系 A549 增殖的影响。**方法:**采用不同浓度(0、5、10 和 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )的山萘酚处理体外培养的 A549 细胞后,通过四氮唑蓝(MTT)试验和平板克隆试验探究山萘酚对 A549 增殖的影响,实时定量聚合酶链式反应(Q-PCR)来探究山萘酚作用下 rDNA 的转录情况,免疫印迹试验探究山萘酚对上游结合因子(Upstream binding factor, UBF)磷酸化的影响。**结果:**MTT 和平板克隆试验证明山萘酚对 A549 细胞的增殖有较强的抑制作用,存在剂量依赖关系。Q-PCR 证明了山萘酚能够下调 rDNA 的转录。通过免疫印迹试验能够证明山萘酚可以降低 UBF 磷酸化的水平。**结论:**山萘酚对人非小细胞肺癌细胞系 A549 的生长有抑制作用,可能与下调 UBF 的磷酸化水平影响 rDNA 的转录有关。

**关键词:**山萘酚; A549 细胞; 上游结合因子; 增殖

**中图分类号:**R-33; R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)31-6001-05

## The Effect of Kaempferol on the Proliferation of Human Alveolar Adenocarcinoma Cell Line A549\*

ZUO Yi-xiong<sup>1,2</sup>, CAI Xiang-yi<sup>1,2</sup>, WU Yan-ping<sup>1,2</sup>, HUANG Lai-qiang<sup>1,2Δ</sup>

(1 School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing, 100084, China; 2 The Shenzhen Key Laboratory of Gene and Antibody Therapy, Center for Biotechnology and Biomedicine and Division of Life and Health Sciences, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong, 518055, China)

**ABSTRACT Objective:** To study the effect of Kaempferol on the proliferation of human alveolar adenocarcinoma cell line A549. **Methods:** A549 cells was treated with different concentrations of Kaempferol(0, 5, 10, 20, 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). MTT assay and plate cloning experiments were contributed to study the effect of Kaempferol on the cell proliferation. The nucleolus transcription level was detected by real-time polymerase reaction experiment. Western blot was performed to detect the phosphorylation of upstream binding factor (UBF) protein. **Results:** MTT assay and plate cloning experiments showed that Kaempferol significantly decreased the viability of A549 cells in a dose dependent manner. Moreover, Kaempferol down-regulated the level of nucleolus transcription, declined the phosphorylated UBF protein level. **Conclusions:** Kaempferol could inhibit the proliferation of A549 cells, which might be related to the down-regulation of pre-rRNA and p-UBF protein level.

**Key words:** Kaempferol; A549 Cell; Upstream Binding Factor; Proliferation

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R734.2 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2017)31-6001-05

## 前言

肺癌是发病率和死亡率增长最快、对人群健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一,约 80%的肺癌患者属于非小细胞肺癌类型<sup>[1]</sup>。研发新的低毒、高效的化疗药物仍是目前该领域的重点<sup>[2]</sup>。山萘酚(Kaempferol)又称山奈黄素、山奈黄酮醇,分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$ ,分子量为 286.23,黄色晶体,熔点  $276\sim 278^\circ\text{C}$ ,微溶于水,溶于二甲基亚砷、乙醇及乙醚,为黄酮类化合物<sup>[3]</sup>。因其多酚

结构,所以具有还原性及抗氧化的能力,可还原氨制硝酸银溶液<sup>[4]</sup>。山萘酚具有抗菌和消炎和抗肿瘤方面的作用<sup>[5,6]</sup>,可增加脂肪动员和加快新陈代谢速率,在糖尿病动物实验中展现了降血糖、促进糖原合成等仿胰岛素的作用<sup>[7]</sup>。目前的研究表明山萘酚的作用可能与一些细胞活性和增殖的信号蛋白有关,如 cAMP、Akt 激酶、Bcl-2、Caspase-3 等<sup>[8-11]</sup>。

上游结合因子(Upstream Binding Factor, UBF)是参与调控真核生物核糖核苷酸聚合酶 I(RNA pol I)转录核糖体脱氧核糖

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(30570960);深圳市科技计划项目(JCYJ20140418112611757, GJHZ20140416153844269)

作者简介:左一雄(1991-),男,硕士研究生,主要研究方向:生物学, E-mail: zyxtu@126.com

Δ 通讯作者:黄来强(1958-),男,教授,主要研究方向:分子细胞生物学, E-mail: huanglq@tsinghua.edu.cn, 电话:0755-26036052

(收稿日期:2017-03-21 接受日期:2017-04-11)

核苷酸(rDNA)形成核糖体核糖核苷酸(rRNA)的重要转录因子,而磷酸化形式的UBF(p-UBF)参与rDNA的转录、18S、5.8S和28S核糖体核糖核苷酸的合成过程,通常作为检测rDNA转录活性的标记物<sup>[2-7]</sup>。本研究拟探讨山萘酚对体外培养人非小细胞肺癌细胞系A549增殖及p-UBF表达的影响,以期阐明山萘酚抗肿瘤作用及其机制提供实验依据。

## 1 材料及方法

### 1.1 主要材料试剂、仪器

人非小细胞肺癌细胞系A549购买于中科院上海细胞生物研究所细胞库;山萘酚购买于上海阿拉丁公司,用DMSO配置成 $100\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 母液,避光保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。细胞培养基(RPMI 1640, Gibco)购买于美国Thermo Fisher Scientific公司,胎牛血清购买于美国Life Technologies公司;兔源单克隆UBF抗体购买于Abcam公司;兔源单克隆p-UBF抗体购买于Santa Cruz公司;反转录试剂盒日本TaKaRa公司等。超速离心机购买于美国Beckmann公司,细胞培养箱购买于美国Thermo公司,实时定量PCR仪购买于美国Life Technologies公司等。

### 1.2 细胞培养

A549细胞体外培养于RPMI 1640培养基中(含有10%无内毒素胎牛血清)并置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 含有5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中。实验过程中,贴壁细胞使用0.05%胰酶(含有0.02%EDTA,溶剂为PBS)消化。

### 1.3 细胞毒性试验

**1.3.1 细胞药物处理** 取对数生长期的A549细胞消化后,700 rpm离心5 min,新鲜培养基重悬,并用血球计数板计数;每孔 $5\times 10^3$ 个细胞铺96孔板,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养,每孔含 $100\text{ }\mu\text{L}$ 的RPMI 1640培养基;待细胞贴壁后,吸去培养基,加入含不同浓度梯度(0、5、10、20、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )山萘酚的RPMI 1640培养基,每孔 $90\text{ }\mu\text{L}$ ,每组四个平行,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养24、48和72 h。山萘酚母液浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,溶剂为DMSO,避光储藏在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

**1.3.2 四氮唑蓝(MTT)检测** A549细胞加药培养24、48、72 h后,吸去培养基,用PBS轻轻吹洗细胞去除残留山萘酚,加入含有MTT(0.5 mg/mL)的RPMI 1640培养基,其中MTT母液浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,溶剂为PBS,避光储藏在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用。加入MTT摇匀后,放置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养4 h,吸去培养基,并用PBS轻轻吹洗细胞,每孔加入DMSO $100\text{ }\mu\text{L}$ ,震荡10 min,放入酶标仪中测490 nm波长处的吸光度(A)值。由如下公式,求出细胞的存活率并构建细胞存活率与药物浓度的关系曲线。

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{\text{实验组平均A值}}{\text{对照组平均A值}} \times 100\%$$

### 1.4 平板克隆试验

取对数生长期的A549细胞消化后,700 rpm离心5 min,新鲜培养基重悬,并用血球计数板计数,每孔 $2\times 10^3$ 个细胞铺6孔板,放置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养。细胞贴壁后,吸去培养基,加入含不同浓度梯度(0、5、10、20、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )山萘酚的RPMI 1640培养基,每孔1 mL,放置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5%

% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养。培养约6天,吸去培养基,用PBS清洗3次,4%多聚甲醛固定15 min,用PBS清洗3次,最后用GIMSA染液染色15 min,双蒸水清洗3次,晾干后观察并倒置拍照。

### 1.5 实时定量RT-PCR

取对数生长期的细胞接种到6孔板,放置恒温培养箱培养。待细胞贴壁后,吸去培养基,加入含不同浓度梯度(0、5、10、50、100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )山萘酚的RPMI 1640培养基。培养24 h,用Trizol法提取细胞总mRNA,逆转录获得cDNA,用 $2\times$  SYBR Green qPCR master mix (High ROX; Biotool)试剂盒进行Q-PCR实验,每个样品3个平行,实验步骤按照试剂盒说明书进行,所用的引物见表1。

表1 定量PCR的引物序列  
Table 1 Primer sequences of Q-PCR

| Primer sequences(5'-3') |                         |
|-------------------------|-------------------------|
| Pre-rRNA-F              | GAACGGTGGTGTGTCGTTTC    |
| Pre-rRNA-R              | GCGTCTCGTCTCGTCTCACT    |
| $\beta$ -actin-F        | ATCGTCCACCGCAATGCTTCTA  |
| $\beta$ -actin-R        | AGCCATGCCAATCTCATCTTGTT |

### 1.6 免疫印迹检测

**1.6.1 细胞蛋白样品的收集** 取对数生长期的A549细胞消化后,700 rpm离心5 min,新鲜培养基重悬,并用血球计数板计数,每孔 $2\times 10^5$ 个细胞铺6孔板,放置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养。细胞贴壁后,移除培养基,加入含不同浓度梯度(0、5、10、20、50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )山萘酚的RPMI 1640培养基,摇匀后,放置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 恒温培养箱中培养24 h后,用PBS清洗三次,去除残留的山萘酚,并加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 裂解液处理细胞,用细胞刮收集样品,5000 rpm离心5 min,取上清至新的离心管中,BCA法定量蛋白后, $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理样品15 min,获得的蛋白样品放 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,备用。

**1.6.2 免疫印迹** 根据待测的蛋白的大小,选取10%的分离胶进行蛋白电泳,蛋白样品上样量 $35\text{ }\mu\text{g}$ ,进行恒压电泳,浓缩胶电压为80 V,分离胶电压为120 V。电泳结束后,选用PVDF膜在冰浴条件下进行转膜,恒流330 mA,时间90 min。转膜结束后,切下目的条带,用5%的脱脂奶粉进行室温封闭2 h, PBST清洗3次,4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下一抗孵育过夜。第二天将孵育好的PVDF膜在室温下脱色摇床上清洗3次,每次10 min,室温孵育二抗1 h, PBST清洗3次,每次10 min,孵育完成后, PBST清洗3次,用ECL处理膜后在暗室中曝光检测,曝光的胶片。

### 1.7 统计学分析

实验数据采用GraphPad Prism 6.0和ImageJ软件进行处理,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度山萘酚处理A549细胞不同时间对其生长的影响

处理24 h时,细胞生长已受到明显影响( $P<0.0001$ );处理48 h时,20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下的细胞生存率低于50% ( $P<0.0001$ );72 h时,10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下的细胞生存率低于50%,高

浓度山萘酚处理下细胞生存率只有 10 %左右( $P<0.0001$ )。处理相同时间,随着山萘酚浓度的升高,细胞生存率呈下降趋势( $P<0.05$ ),表明山萘酚对于 A549 细胞的生长和增殖有明显的抑制作用,且呈现一定的剂量效应,如图 1。平板克隆实验法结

果也显示随着山萘酚浓度的升高,细胞存活率受到明显的抑制,呈现一定的剂量效应,以总生长面积来表示克隆的生长情况,也呈现出一定的剂量效应( $P<0.0001$ ),见图 2、3。

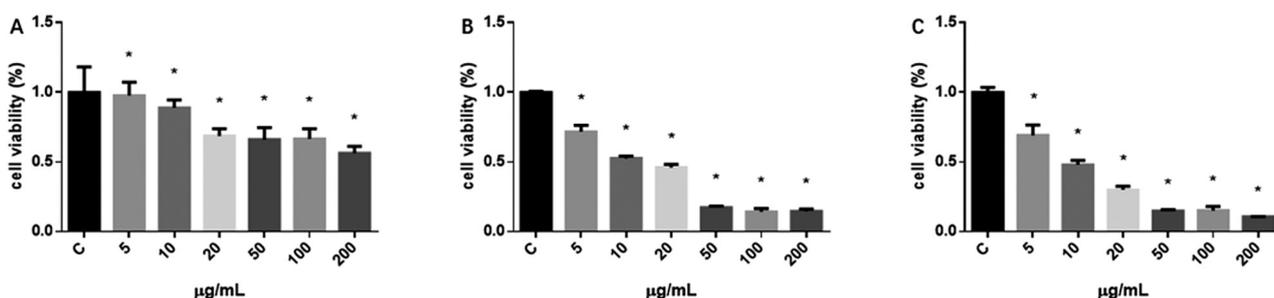


图 1 不同时间药物处理下 MTT 法 A549 细胞生长情况(A:处理 24 h;B:处理 48 h;C:处理 72 h)

Fig.1 MTT results of A549 treated in different times (A: cultured in 24 h; B: cultured in 48 h; C: cultured in 72 h)

\*:  $P<0.05$  compared with the control

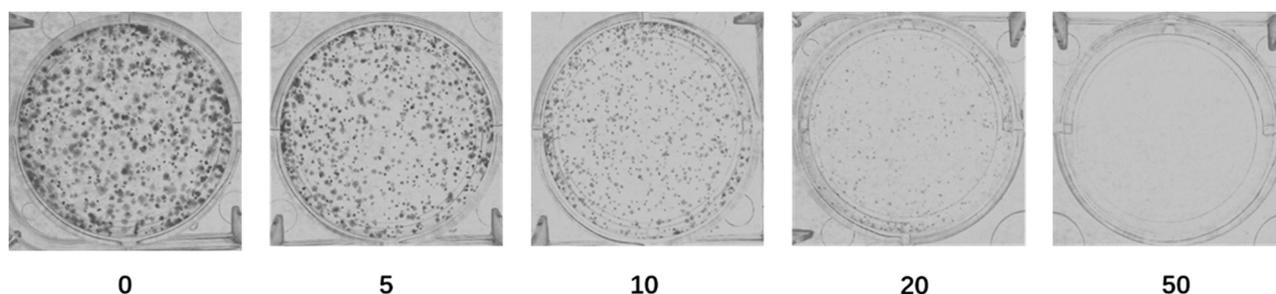


图 2 平板克隆实验法检测 A549 细胞生长情况( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}, 1\times$ )

Fig.2 Results of plate cloning experiments in A549( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}, 1\times$ )

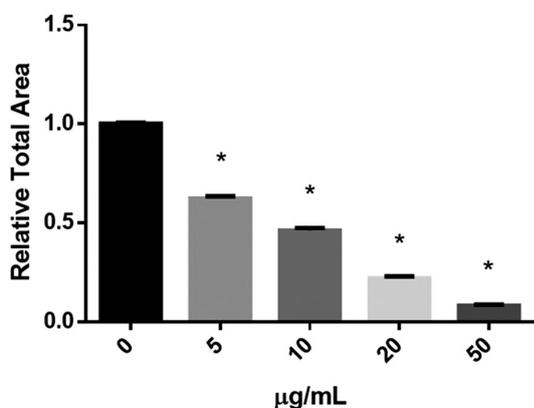


图 3 平板克隆实验法检测 A549 细胞生长情况( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}, 1\times$ )

Fig.3 Results of plate cloning experiments in A549( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}, 1\times$ )

### 2.2 山萘酚对 rDNA 转录的影响

如图 4 所示,山萘酚处理 24 h ( $P<0.0001, F=415.5, R\text{ square}=0.9936$ )和 48 h( $P<0.0001$ )出现类似的作用效果:同一时间处理下,随着药物浓度的增加,pre-DNA 的表达量降低,表明山萘酚可以降低 A549 细胞的核仁转录水平,具有统计学意义。48 h 条件下的 pre-DNA 表达量与 24 h 条件下的表达量相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 2.3 山萘酚对 UBF 蛋白表达的影响

如图 4 所示,山萘酚处理 48 h 的结果与 24 h 相比,并未显示良好的时间差异,故下面只讨论了不同药物浓度对 UBF 蛋白表达的影响。图 5 显示不同浓度的药物处理 24 h,随着山萘

酚浓度的增加,UBF 和 p-UBF 的蛋白水平均有下降的趋势,而且 p-UBF 下降的更加明显。经 ImageJ 进行量化后(图 6)显示,在 24 h 内,p-UBF 蛋白呈现较明显的剂量效应( $P<0.0001$ )。然而当药物浓度高于  $10\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  时,蛋白 UBF 呈现出较一定的剂量效应( $P<0.0001$ )。

### 3 讨论

肺癌是最常见、对健康和生命威胁最严重的恶性肿瘤之一,成因并不明确,但是吸烟、电离辐射、局部感染以及遗传因素会增加患肺癌的风险。目前主要的治疗手段为放射疗法、化学药物疗法和手术疗法等<sup>[18]</sup>。研究表明山萘酚可以通过调节相关的转录因子等影响多种类型的肿瘤细胞包括乳腺癌细胞、胰腺癌细胞、肝癌细胞等的生长<sup>[9,19,20]</sup>,但山萘酚对不同的肿瘤细胞生长的作用及机制还不清楚。

UBF 含有六个高移动性基团(HMG)结构域,碳段含有以丝氨酸为主的酸性氨基酸残基<sup>[21]</sup>。而 UBF 的磷酸化主要发生在 388 和 484 位点的丝氨酸残基上,主要通过磷脂酰肌醇激酶 PI3K 和周期蛋白激酶作用来完成<sup>[13,22,23]</sup>。但 UBF 与 p-UBF 的表达水平之间的关系尚不明确。在本研究中,我们创新性地选用 A549 细胞来探究山萘酚对 rDNA 合成的影响。体外试验表明山萘酚可以抑制非小细胞肺癌细胞的生长和增殖,而且随着药物浓度的增加,呈现出一定的剂量效应,并且山萘酚可以明显下调也能降低 rDNA 的转录水平,同时也抑制 UBF、p-UBF 的胞内蛋白水平<sup>[11,24]</sup>。

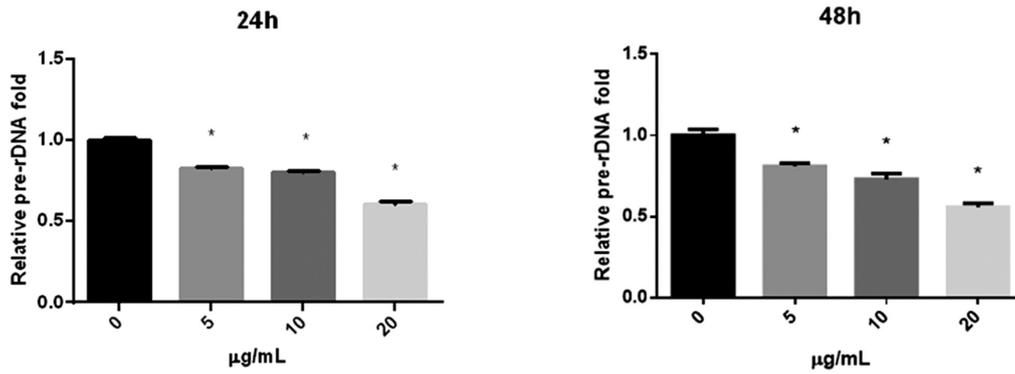


图4 Q-PCR 检测 rDNA 转录水平的结果  
Fig.4 Test of rDNA transcription level by Q-PCR  
\*: P<0.05 compared with the control

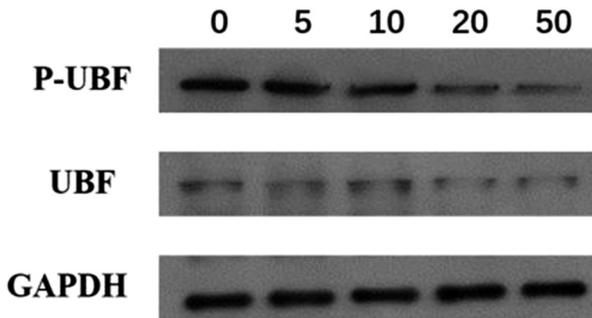


图5 免疫印迹实验检测不同浓度影响蛋白表达的结果  
Fig.5 Results of Western blot in different concentrations

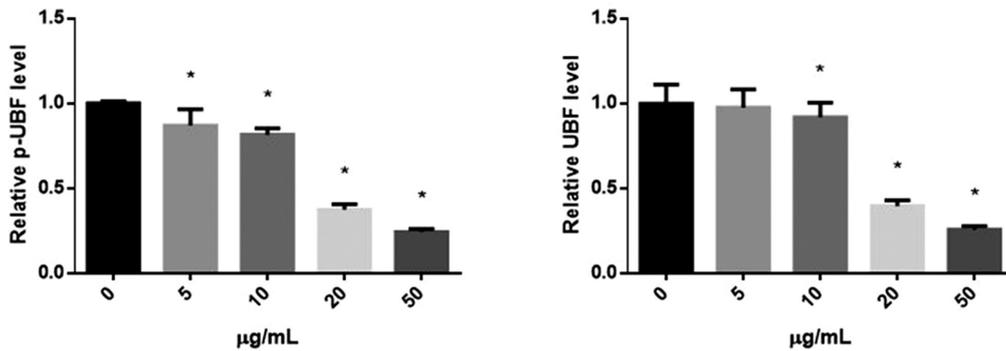


图6 免疫印迹实验检测不同浓度影响蛋白表达的结果  
Fig.6 Results of Western blot in different concentrations  
\*: P<0.05 compared with the 0 µg/mL

在本研究中,利用 ImageJ 软件对平板克隆、免疫印迹实验进行灰度处理并量化。平板克隆实验中,采用总克隆生长面积来反应细胞的生长状况。相较于其他文献中提到的克隆数目和克隆直径大小的量化标准,总生长面积更直观地反应了细胞在药物环境下的生长状况。另外,我们采用 p-UBF/GAPDH 和 UBF/GAPDH 的比值来量化免疫印迹结果,它反应的是 p-UBF 和 UBF 蛋白在细胞内的相对表达情况。经量化后的 Western blot 图,清楚地表明了 p-UBF 的表达对 Kpf 药物呈现出一定的剂量效应。

那么,Kpf 药物对 A549 细胞生长的影响是否有时间效应?针对这一问题,我们也进行了相关实验。MTT 显示 48 h 和 72 h 的抑制率要明显高于 24 h。而在 Q-PCR、Western blot 结果中,并没有得到有利的证据。在其他文献中,也并没有找到相关报

24 h、48 h、72 h MTT 的试验结果表明,24 h 作用下的抑制不明显,但由 Q-PCR、Western Blot 结果看出 24 h 内山萘酚已经影响了分子水平上的变化。首先可以说明 rDNA 的转录水平的降低很有可能是通过调控 UBF 磷酸化的水平最终抑制 A549 细胞的生长和增殖。再次,有可能说明在此条件下山萘酚抑制作用在细胞水平上的体现有滞后性,这就意味着时间上的滞后性和空间上的滞后性。时间上的滞后性可能是由于细胞相对提高应激措施来平衡 rDNA 低水平转录带来的影响。空间的滞后性主要考虑到山萘酚的入胞、入核,以及细胞核与细胞质之间有效信号的传导。

道。所以这一问题需要更多严谨有力的实验证据。

因为山萘酚本身基本无荧光,所以本实验没有对山萘酚进行细胞定位。虽然山萘酚与铝离子和铜离子等配位剂反应可生成荧光络合物,但在细胞层面利用敏化山萘酚进行细胞定位仍需要进一步的优化。另外山萘酚具有弱还原性,在一定浓度下能降低氧自由基对细胞的损伤,这一保护机制是否干扰 MTT 试验结果也是不确定的。

由于细胞生长代谢受到精密而复杂的调控,并且山萘酚有广泛的生物学作用,UBF 可能是山萘酚影响 A549 细胞生长和增殖的作用靶点之一,本实验为研究其具体的调控机制打下了一定的实验基础。进一步探究山萘酚对特定蛋白的相互作用机制,可以利用生物信息学、结构生物学的相关模型来拟合山萘酚的作用靶点进而开展生物学实验。无论怎样,现有的理论和

实验基础为研究山萘酚这一潜在的抗肿瘤药物提供了极大便利,山萘酚也将展现其在抗肿瘤领域更广阔的应用前景。

#### 参考文献(References)

- [1] Xu Wan-ping, Len. Neckers. A USEful Biomarker and Molecular Target in Lung Cancer? [J]. Journal of the National Cancer Institute, 2017, 109(3)
- [2] Ohyama, Yoshimi, Haruka, et al. Immune complexome analysis reveals the specific and frequent presence of immune complex antigens in lung cancer patients: A pilot study[J]. International Journal of Cancer, 2017, 140(2): 370-380
- [3] 孟宪生, 沙明, 曹爱民, 等. HPLC 测定莲须中槲皮素和山萘酚的含量[J]. 中成药, 2003, 25(12): 1004-1006  
Meng Xian-sheng, Sha Ming, Cao Ai-min, et al. Determination of Quercetin and Kaempferol in Stamen Neulumbinis by HPLC[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2003, 25(12): 1004-1006
- [4] Liao Wen-zhen, Chen Lu-ying, Ma Xiang, et al. Protective effects of kaempferol against reactive oxygen species-induced hemolysis and its antiproliferative activity on human cancer cells [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 114: 24-32
- [5] Abdelhameed AS, Alanazi AM, Bakheit AH, et al. Fluorescence spectroscopic and molecular docking studies of the binding interaction between the new anaplastic lymphoma kinase inhibitor crizotinib and bovine serum albumin [J]. Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2017, 171: 174-182
- [6] Escandon RA, Campo Miguel, Lopez SR, et al. Antibacterial effect of kaempferol and (-)-epicatechin on Helicobacter pylori [J]. European Food Research and Technology, 2016, 242(9): 1495-1502
- [7] Yang Yong, Ding Chun-guang, Li Xiao-yang. Discovery of a novel inhibitory mechanism of kaempferol on TGF-beta ligand-receptor interaction by single-molecule techniques (Retracted Article)[J]. Biotechnology Letters, 2016, 38(2): 367
- [8] Shao Jing, Zhang Meng-xiang, Wang Tian-ming, et al. The roles of CDR1, CDR2, and MDR1 in kaempferol-induced suppression with fluconazole-resistant Candida albicans [J]. Pharmaceutical Biology, 2016, 54(6): 984-992
- [9] Kim, In-Ryoung, Kim, Seong-Eon, Baek, Hyun-Su, et al. The role of kaempferol-induced autophagy on differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells [J]. Bmc Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16
- [10] Yao Shi-hua, Wang Xiao-wei, Li Chun-guang, et al. Kaempferol inhibits cell proliferation and glycolysis in esophagus squamous cell carcinoma via targeting EGFR signaling pathway [J]. Tumor Biology, 2016, 37(8): 10247-10256
- [11] Lee Chiu-Fang, Yang Jai-Sing, Tsai Fuu-Jen, et al. Kaempferol induces ATM/p53-mediated death receptor and mitochondrial apoptosis in human umbilical vein endothelial cells [J]. International Journal of Oncology, 2016, 48(5): 2007-2014
- [12] Ali SA, Dobson JR, Lian JB, et al. A RUNX2-HDAC1 co-repressor complex regulates rRNA gene expression by modulating UBF acetylation[J]. Journal of Cell Science, 2012, 125(11): 2732-2739
- [13] Sobol M, Yildirim S, Philimonenko VV, et al. UBF complexes with phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate in nucleolar organizer regions regardless of ongoing RNA polymerase I activity [J]. Nucleus-Austin, 2013, 4(6): 478-486
- [14] Sanij E, RD Hannan. The role of UBF in regulating the structure and dynamics of transcriptionally active rDNA chromatin[J]. Epigenetics, 2009, 4(6): 274-281
- [15] Sanij E, Poortinga G, Sharkey K, et al. UBF levels determine the number of active ribosomal RNA genes in mammals [J]. Journal of Cell Biology, 2008, 183(7): 1259-1274
- [16] Lin CI, NH Yeh. Treacle recruits RNA polymerase I complex to the nucleolus that is independent of UBF [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 386(2): 396-401
- [17] Hwang YJ, Han D, Kim KY, et al. ESET methylates UBF at K232/254 and regulates nucleolar heterochromatin plasticity and rDNA transcription[J]. Nucleic Acids Research, 2014, 42(3): 1628-1643
- [18] Eriksen KT, McElroy JA, Harrington JM, et al. Urinary Cadmium and Breast Cancer: A Prospective Danish Cohort Study[J]. Journal of the National Cancer Institute, 2017, 109(2)
- [19] 宋文斌, 曾津, 李磊, 等. 山萘酚抑制前列腺癌生长的研究进展[J]. 现代泌尿外科杂志, 2012, 17(6): 621-624  
Song Wen-bin, Zeng Jin, Li Lei, et al. Research progress of prostate cancer growth inhibition of kaempferol[J]. Journal of Modern Urology, 2012, 17(6): 621-624
- [20] Lee J, Kim JH. Kaempferol Inhibits Pancreatic Cancer Cell Growth and Migration through the Blockade of EGFR-Related Pathway In Vitro[J]. Plos One, 2016, 11(5)
- [21] Hamdane N, Herdman C, Mars JC, et al. Depletion of the cisplatin targeted HMGB-box factor UBF selectively induces p53-independent apoptotic death in transformed cells [J]. Oncotarget, 2015, 6 (29): 27519-27536
- [22] Diesch J, Hannan, E. Sanij. Genome wide mapping of UBF binding-sites in mouse and human cell lines [J]. Genomics data, 2015, 3: 103-105
- [23] Beekmann K, Haan LHJ, Lucas AG, et al. Effect of Glucuronidation on the Potential of Kaempferol To Inhibit Serine/Threonine Protein Kinases[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(6): 1256-1263
- [24] Qin You-you, Cui Wu, Yang Xue-wei, et al. Kaempferol inhibits the growth and metastasis of cholangiocarcinoma in vitro and in vivo[J]. Acta Biochimica Et Biophysica Sinica, 2016, 48(3): 238-245