



· 药理 ·

木犀草素诱导非小细胞肺癌细胞株 A549 凋亡和 G₂ 周期阻滞

胡春萍¹, 蔡雪婷¹, 胡婷婷², 卢悟广¹, 曹鹏^{1*}

(1. 江苏省中医药研究院 细胞与分子生物学实验室, 江苏 南京 210028;
2. 南京市江北人民医院, 江苏 南京 210048)

[摘要] 目的:研究木犀草素诱导非小细胞肺癌细胞株 A549 细胞凋亡和抑制其细胞周期(G₂期)的分子机制。方法:MTT 法分析木犀草素对 A549 细胞的生长抑制作用和半数抑制率 IC₅₀。Hoechst 33258 核染色,Annexin V-FITC/PI 双染,流式细胞术检测细胞周期和凋亡,Western blot 分析木犀草素引起的周期相关蛋白和凋亡相关蛋白的变化。Western blot 和免疫细胞化学推测可能存在的分子机制。结果:木犀草素对 A549 细胞有显著的生长抑制作用,48 h 的 IC₅₀ 为 45.2 μmol · L⁻¹,流式细胞术检测细胞周期发现 A549 细胞经木犀草素处理后主要阻滞在 G₂ 期,周期蛋白 cyclin A, p-CDC2 和 p-Rb 都呈低表达。Hoechst 33258 核染色,Annexin V-FITC/PI 双染发现木犀草素处理组细胞凋亡率明显高于未处理组。Western blot 发现木犀草素可上调 JNK 的磷酸化,下调 NF-κB (p65) 的磷酸化水平。免疫细胞化学显示木犀草素可抑制 TNF-α 刺激的 p65 入核,抑制其入核发挥转录因子的作用,促进细胞凋亡。结论:木犀草素能显著诱导人非小细胞肺癌细胞 A549 细胞凋亡和细胞周期阻滞,其可能的分子机制是通过上调 JNK 磷酸化继而激活线粒体凋亡途径,同时抑制 NF-κB 入核使其不能发挥转录活性。

[关键词] 非小细胞肺癌;A549;木犀草素;细胞周期;细胞凋亡

肺癌无论发病率还是死亡率均占恶性肿瘤的首位,严重危害人类健康。非小细胞肺癌病人在肺癌病人中占到 80% ~ 85%, 大约有 80% 非小细胞肺癌病人不适宜动手术^[1]。紫杉烷或其他细胞毒制剂如吉西他滨、长春瑞滨与铂类联合作用是非小细胞肺癌(NSCLC)的一线治疗方案。然而在 NSCLC 晚期病人中只有一部分人对一线治疗有所反应,甚至有些人在接下来的治疗中产生化疗抗性,并且这些药物在病情有所复发和肿瘤发生转移的病人中不起作用。因此需要新方案来提高化疗临床敏感度。近年来中医药疗法在预防和治疗 NSCLC 上取得了很大的成效,提示中药可以作为化疗药的辅助用药,为 NSCLC 的治疗开启新的思路。

体内、外研究和流行病学调查研究都指出了蔬菜和水果在预防和治疗癌症上有着显著的积极作

用,这是由于它们含有高浓度的多酚,尤其是黄酮类化合物^[2]。黄酮类化合物以其抗癌作用为大家所熟知^[3-4]。木犀草素(3',4',5,7-四羟基黄酮)是一种重要的黄酮类化合物,许多植物和食物中存在着大量的木犀草素,如甜菜、白菜、花椰菜、芹菜、青椒、紫苏叶、橄榄油、茶^[5]。细胞实验指出木犀草素具备抗氧化、抗炎/抗过敏、抗肿瘤和清除自由基的作用^[6-8]。近几年关于木犀草素抗肿瘤作用的研究取得了很大的进展,报道显示木犀草素可抑制一系列的实体瘤、腹水瘤和白血病细胞株(HT-29, HCT116, HepG2, SK-Hep-1, PLC/PRF/5, Hep3, Hela, SCC-4), 但木犀草素对人肺癌细胞的作用机制尚未见报道。因此,采用非小细胞肺癌细胞株 A549 作为研究对象,揭示木犀草素的作用机制,为中药治疗非小细胞肺癌提供理论依据。

1 材料

1.1 细胞株 人非小细胞肺癌细胞株 A549 购自中国科学院上海细胞生物研究所。

1.2 药物 木犀草素购于南京艾斯替么中药研究所,室温干燥保存。木犀草素用 DMSO 溶解配制成 20 mmol · L⁻¹ 的贮存液, -20 °C 冰箱保存,稀释后,

[稿件编号] 20110601003

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873410);江苏省中药领军人才项目

[通信作者] * 曹鹏, Tel: (025) 85608666, E-mail: pciao79@ yahoo.com



用于所有的试验中。

1.3 试剂 RPMI-1640 培养基、胎牛血清(FBS)、青霉素和链霉素购于美国 Invitrogen 公司。噻唑蓝(MTT)、碘化丙啶(PI)和 DNase free RNase 为美国 Sigma 公司产品。RIPA 细胞裂解液、Hoechst 33258 染液、X 胶片购自江苏碧云天公司。Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司。核蛋白提取试剂盒为美国 Pierce 公司产品。一抗(caspase-3, p-MEKK1, MEKK1)购自美国 Santa Cruz 公司,一抗(Bcl-X_L, PARP, caspase-8, cyclin A, p-IκBα, IκBα, p-p65 和 p65)为美国 Cell Signaling 公司产品,一抗 Bax 为美国 BD 公司产品,一抗(p-JNK1/2/3, JNK1/2/3, p-CDC2, CDC2, caspase-9 和 Histon H3)为美国 Bioworld 公司产品,一抗(p-Rb 和 Rb)由江苏川博生物公司惠赠,一抗 GAPDH 购于南京康成生物公司。羊抗鼠-HRP、羊抗兔-HRP 二抗和 FITC-羊抗兔二抗购自美国 Santa Cruz 公司。

2 方法

2.1 细胞培养 非小细胞肺癌细胞株 A549 细胞在 37 °C, 5% CO₂ 条件下,用含 10% 胎牛血清、100 U · mL⁻¹ 青霉素和 100 mg · L⁻¹ 链霉素的 RPMI-1640 培养基传代培养。取对数生长期的细胞用于以下试验。

2.2 细胞形态观察 将 0.1% DMSO(作为对照)或不同浓度的木犀草素(20, 40, 60, 80 μmol · L⁻¹)加到处于对数生长期的 A549 细胞中,于第 6, 12, 18, 24, 48 h 观察细胞形态变化,倒置显微镜拍摄(200 倍)。

2.3 细胞毒性分析 MTT 法分析木犀草素对 A549 细胞的细胞毒作用。取对数生长期的 A549 细胞接种于 96 孔板中,接种密度为每孔 5 × 10³ 个细胞,每组设置 3 个复孔。饥饿过夜后,分别加入 0.1% DMSO 或 20, 40, 60, 80 μmol · L⁻¹ 木犀草素,继续培养 12, 18, 24, 48, 72 h。培养结束后,每孔加入 5 g · L⁻¹ 的 MTT 10 μL, 37 °C 继续温育 4 h。吸除上清液,每孔加入 100 μL DMSO, 室温震荡溶解结晶 10 min, 于 570 nm(吸收波长)和 630 nm(参比波长)处测吸光度。计算细胞存活率 = $(A_{\text{实验组}570} - A_{\text{实验组}630}) / (A_{\text{对照组}570} - A_{\text{对照组}630}) \times 100\%$ 。

2.4 细胞周期分析 对照组和实验组细胞经胰酶消化后, PBS 洗 2 遍, 70% 乙醇, 4 °C 固定过夜。PBS 清洗固定细胞, 然后加入 1 mL 含 50 mg · L⁻¹ PI 和 1

g · L⁻¹ RNase 的 PBS, 37 °C 温育 30 min。流式细胞仪测定 DNA 含量和细胞周期分布。CELLQuest 软件分析数据。

2.5 Hoechst 33258 染色 用 Hoechst 33258 对细胞核进行染色, 可显示核的变化和凋亡小体。木犀草素处理结束后, 细胞用 PBS 洗 2 遍, 4% 甲醛 4 °C 固定 30 min。吸除固定液, PBS 洗 2 遍, 然后用 Hoechst 33258 染色。10 min 后, PBS 清洗细胞, Zeiss 倒置荧光显微镜于 340 nm 处观察和拍摄细胞。

2.6 Annexin V-FITC/PI 双染检测凋亡细胞 A549 细胞用 40 μmol · L⁻¹ 木犀草素处理 12, 24 h。处理结束后收集细胞, 用 PBS 清洗 2 遍。根据 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒说明书操作, 流式细胞仪检测凋亡细胞。

2.7 Western blotting 分析 对数生长期的 A549 细胞饥饿 12 h 后, 用不同浓度的木犀草素(20, 40, 60, 80 μmol · L⁻¹) 处理 24 h, 冰上裂解细胞提取全蛋白。Nanodrop 1000 检测蛋白浓度, 取相同蛋白量跑 SDS-PAGE, 湿转至 PVDF 膜上。1% BSA 封闭 2 h, 一抗孵育 2 h, 二抗孵育 1 h 后, ECL 曝光显影。相机拍摄 X 胶片保存结果。

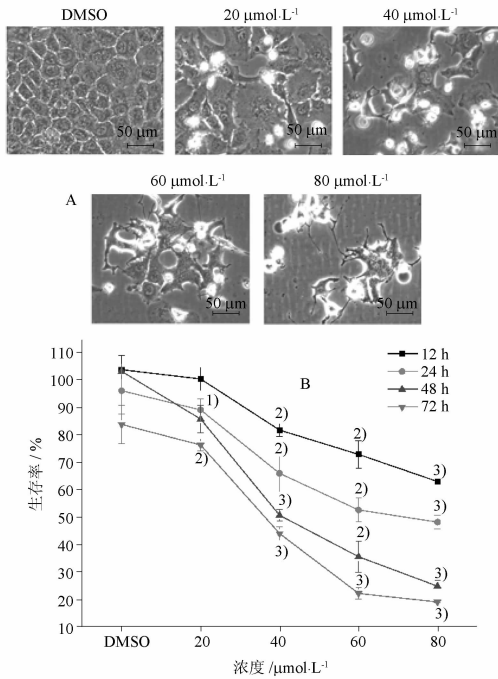
2.8 细胞免疫化学分析 p65 入核运动 研究木犀草素是否阻止 p65 入核发挥转录因子活性, 选用 TNF-α 作为 p65 入核激动剂。A549 细胞接种 24 孔板, 培养过夜后无血清饥饿 12 h。设置对照组(DMSO), TNF-α 组, 木犀草素组, 木犀草素 + TNF-α 组。木犀草素刺激细胞 6 h 后再加 TNF-α 刺激 30 min, 立即除去培养基, PBS 洗细胞 2 次, 4% 甲醛 4 °C 固定细胞 30 min。0.05% NP-40 室温透化细胞 30 min, PBST 洗 3 次。1% BSA 封闭 1 h, 加一抗 4 °C 孵育过夜。PBST 洗 3 次, 荧光二抗室温孵育 30 min。PBST 洗 3 次后加 Hoechst 染核 10 min, 去除染液, PBST 洗 3 次后, Zeiss 倒置显微镜观察拍照(×400)。

2.9 统计分析 采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。单因素方差分析不同浓度木犀草素取得的结果是否存在差异, $P < 0.001$ 为极显著性差异。 t 检验比较两样本均数差异, $P < 0.01$ 为显著性差异, $P < 0.001$ 为极显著性差异。

3 结果

3.1 木犀草素对 A549 的细胞毒作用 光学显微镜下观察到加药组和对照组细胞在细胞形态上有明

显区别。加药组细胞最显著变化是细胞皱缩,细胞与培养基出现分离。这些变化是细胞发生凋亡死亡的特征之一,在木犀草素处理24 h后就可以观察到这些变化。随着木犀草素处理时间增加,细胞皱缩越明显,死亡细胞逐渐增多。观察结果说明用木犀草素可能具有促凋亡作用,有待进一步实验验证(图1)。MTT法分析显示木犀草素呈浓度、时间依赖性抑制A549细胞的增殖,24,48,72 h的 IC_{50} 分别为68.1,45.2,35.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



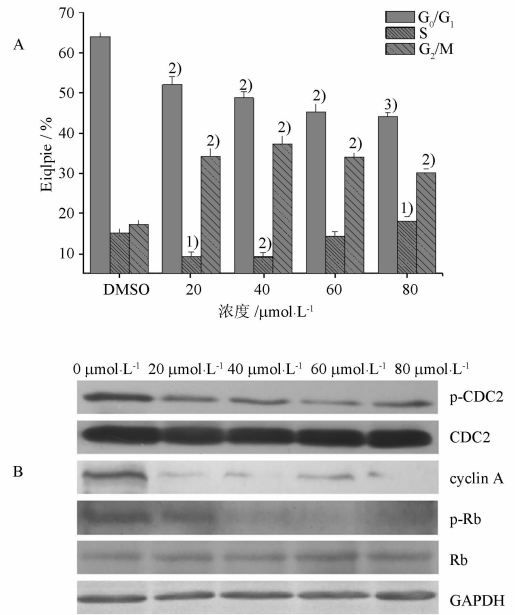
A. 对A549细胞形态的影响($\times 200$); B. 对A549的生长抑制曲线;与对照组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (图2同)。

图1 木犀草素对A549细胞的细胞毒作用

Fig. 1 Cytotoxicity effect of luteolin on A549 cells

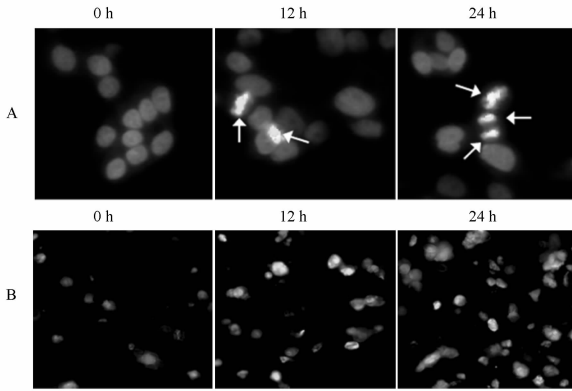
3.2 木犀草素通过抑制 cyclin A, p-CDC2 和 p-Rb 的表达将 A549 阻滞于 G₂ 期 为了检测木犀草素是否影响A549细胞的细胞周期,细胞分别与DMSO或不同浓度木犀草素共培养24 h后,PI染色进行流式细胞术分析。根据周期分布图做各个周期百分比变化柱状图,可清楚的发现木犀草素可将A549细胞阻滞于G₂期。与对照相比,20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度使G₂期细胞增加了1.97倍。进一步的Western blot结果显示,周期蛋白 cyclin A 随木犀草素浓度的递增而表达递减,同时 CDC2 和 Rb 蛋白的磷酸化水平也显著下降,

提示木犀草素可能通过抑制 cyclin A, p-CDC2 和 p-Rb 的表达而将 A549 阻滞于 G₂ 期(图2)。



A. 流式细胞周期分布图; B. 木犀草素对周期相关蛋白表达的影响。
图2 木犀草素将A549细胞阻滞于G₂期
Fig. 2 G₂ phase cell cycle arrest by luteolin

3.3 木犀草素诱导 A549 细胞凋亡 形态学观察发现A549细胞经木犀草素处理后出现类似凋亡小体的结构,猜测木犀草素可能诱导A549发生细胞凋亡。Hoechst 33258核染色证实了这点。Hoechst 33258染色后,对照组细胞核着均匀蓝色,而木犀草素处理组可见亮蓝色小点,有的甚至亮到发白(图3)。另外,Annexin V-FITC/PI双染凋亡分析也证实了凋亡的发生。用Annexin V-FITC和碘化丙啶染色后,正常的活细胞不被Annexin V-FITC和碘化丙啶染色;凋亡早期的细胞仅被Annexin V-FITC染色,碘化丙啶染色呈阴性;坏死细胞和凋亡晚期的细胞可以同时被Annexin V-FITC和碘化丙啶染色。对照组细胞未被碘化丙啶和Annexin V-FITC染色。而木犀草素处理的细胞却显示许多被Annexin V-FITC染色,绝大多数未被碘化丙啶染色,说明这些细胞处于凋亡早期;另有部分细胞被双染色,说明这些细胞处于凋亡后期或坏死状态(图3)。总之,这些结果提供了强有力的证据,说明木犀草素可诱导A549细胞凋亡。



A. Hoechst 33258 核染色凋亡细胞; B. Annexin V-FITC/PI 双染色检测凋亡细胞。

图3 木犀草素促 A549 细胞凋亡

Fig. 3 Luteolin-induced apoptosis of A549 cells

3.4 木犀草素通过 NF- κ B 和 JNK 2 条凋亡途径诱导细胞凋亡 Western blot 结果显示木犀草素促进 JNK1/2/3 的磷酸化, JNK 可以促使 Bax 进入线粒体, 激活 caspase-9, 从而引发细胞凋亡。同时, 木犀草素可促进促凋亡蛋白 Bax 的表达, 降低抗凋亡蛋白 Bcl-X_L 的表达, 增加 Bax/Bcl-X_L 的比例, 最终导致 caspase-3 的激活和 PARP 的切割。木犀草素激活了 caspase-9, 却没有激活 caspase-8, 提示木犀草素可能通过线粒体途径诱导凋亡(图 4)。另外, p65 的磷酸化水平也随着木犀草素浓度的递增而下降, 包括 I κ B α 和其上游调控蛋白 MEKK1 的磷酸化水平也显著减少, 猜测木犀草素可能是一种 MEKK1 抑制剂, 有待进一步实验验证。

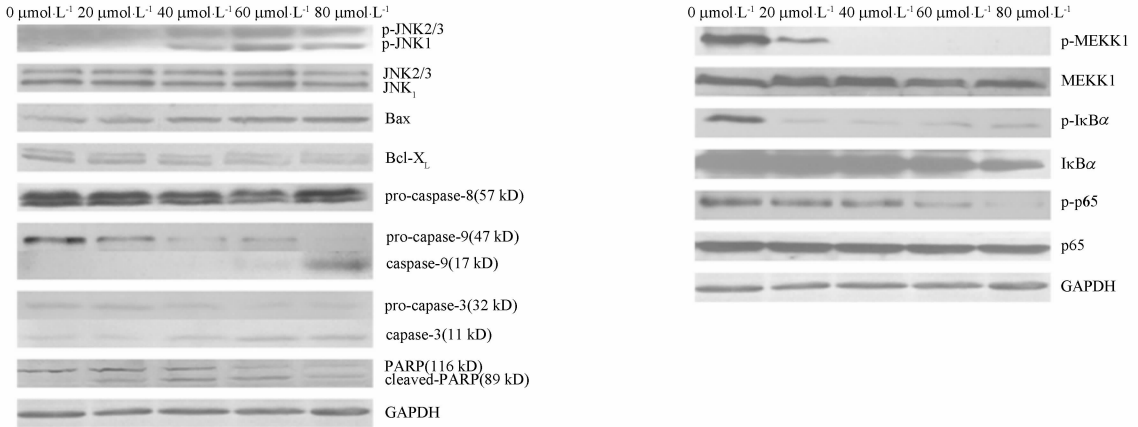


图4 Western blot 检测木犀草素对 I κ B α /NF- κ B 和 JNK 信号通路相关蛋白表达的影响

Fig. 4 Western blotting analysis of I κ B α /NF- κ B and JNK passway related proteins

3.5 木犀草素抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B (p65) 入核 Western blot 显示木犀草素可以调控 I κ B α /NF- κ B 信号通路, 为了研究其可否在 p65 入核这一步起到阻止作用, 使 NF- κ B 不能入核发挥转录因子作用, 用木犀草素作用细胞后再用 TNF- α 刺激, 免疫荧光染色观察 p65 入核情况。与 TNF- α 组相比, 提前用木犀草素处理 A549 细胞 6 h 几乎完全阻止了 TNF- α 诱导的 p65 入核。提取核蛋白, Western blot 分析核内 p65 表达情况得到了和免疫荧光一致的结果(图 5)。

4 讨论

已有多位研究者报道木犀草素的抗肿瘤和抗增殖作用, 包括其化学增敏作用^[9-12]。但是在非小细胞肺癌中研究甚少, 更没有确切的机制报道。以

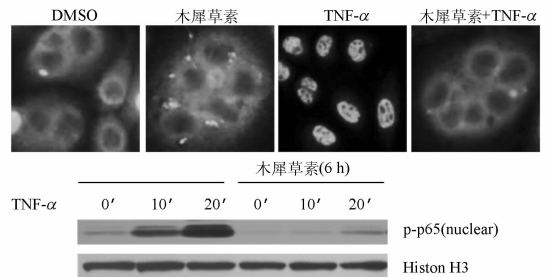


图5 木犀草素抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B (p65) 入核

Fig. 5 Luteolin inhibited TNF- α induced NF- κ B (p65) translocation

A549 作为研究对象, 发现木犀草素可将 A549 细胞阻滞在 G₂ 期, Western blot 显示其可能与抑制周期蛋白 cyclin A 的表达和 CDC2, Rb 的磷酸化有关, 导致



细胞不能正常进入M期。

JNK属于MAPK大家族,另外还包括ERK和p38 2个成员。虽然有大量证据显示ERK的激活与细胞死亡有关,但机制不是很明确^[13],但是JNK和p38增加细胞死亡的原因是明确与诱导细胞发生凋亡有关的^[14]。早期研究显示木犀草素既可激活JNK^[10],亦可抑制JNK的激活^[15-17]。本研究结果显示,在A549细胞中,木犀草素浓度依赖性地促进JNK磷酸化,伴随着凋亡的发生。虽然木犀草素对NF- κ B信号通路的影响早有报道,但是对其入核的影响未见提及,而且作者首次发现MEKK1蛋白磷酸化水平也被明显抑制,猜测木犀草素可能作为一种MEKK抑制剂发挥着作用,有待进一步实验证实。

肿瘤坏死因子TNF- α 是迄今为止所发现直接杀伤肿瘤作用最强的肿瘤坏死因子家族成员。TNF- α 可激活细胞存活和细胞凋亡2个截然不同的结果,这也是肿瘤细胞对其不敏感的主要原因^[18]。用TNF- α 诱导p65入核,以此来研究木犀草素阻止p65入核的作用,得到阳性结果的同时,也给了笔者启示。中药以其低毒的特性是用于临床治疗癌症的绝佳选择,但是中药单体往往势单力薄,且体外作用浓度较高,如果能和细胞因子(如TNF- α)互补长短,能为肿瘤的治疗开辟新的治疗方案。

Chiang等研究发现木犀草素可抑制荷SKOV3移植瘤裸鼠的肿瘤生长,Bagli也在A431移植瘤动物模型上得到了同样的结果^[19-20]。调查显示人每天木犀草素的摄入量是16 mg^[21]。根据以上结果,猜想如果提高木犀草素的日摄入量,是否可以预防肺癌的发生,并用于非小细胞肺癌病人的治疗?总之,作者的研究指出了木犀草素能够抑制非小细胞肺癌细胞株A549的生长,阻滞于G₂细胞周期。另外,通过调控JNK和NF- κ B信号通路诱导A549细胞凋亡。因此,木犀草素可能是非小细胞肺癌化学预防和化学治疗的潜在候选药物。

[参考文献]

[1] Stewart D J. Lung cancer: prevention, management, and emerging therapies[M]. New York: Humana Press, 2010: 227.
[2] Ramos S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention[J]. J Nutr Biochem, 2007, 18(7): 427.
[3] Moon Y J, Wang X, Morris M E. Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism[J]. Toxicol In Vitro,

2006, 20(2): 187.
[4] Zhang Q, Zhao X H, Wang Z J. Cytotoxicity of flavones and flavonols to a human esophageal squamous cell carcinoma cell line (KYSE-510) by induction of G₂/M arrest and apoptosis[J]. Toxicol In Vitro, 2009, 23(5): 797.
[5] Sasaki N. Protective effects of flavonoids on the cytotoxicity of linoleic acid hydroperoxide toward rat pheochromocytoma PC12 cells[J]. Chem Biol Interact, 2003, 145(1): 101.
[6] Brown J E. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties[J]. Biochem J, 1998, 330(3): 1173.
[7] Galati G. Peroxidative metabolism of apigenin and naringenin versus luteolin and quercetin: glutathione oxidation and conjugation[J]. Free Radic Biol Med, 2001, 30(4): 370.
[8] Ashokkumar P, Sudhandiran G. Protective role of luteolin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against azoxymethane-induced experimental colon carcinogenesis[J]. Biomed Pharmacother, 2008, 62(9): 590.
[9] Shi R. Luteolin sensitizes the anticancer effect of cisplatin via c-Jun NH₂-terminal kinase-mediated p53 phosphorylation and stabilization[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(4): 1338.
[10] Shi R X, Ong C N, Shen H M. Luteolin sensitizes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human tumor cells[J]. Oncogene, 2004, 23(46): 7712.
[11] Shi R X, Ong C N, Shen H M. Protein kinase C inhibition and x-linked inhibitor of apoptosis protein degradation contribute to the sensitization effect of luteolin on tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in cancer cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(17): 7815.
[12] Li X. Chrysin promotes tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) induced apoptosis in human cancer cell lines[J]. Toxicol In Vitro, 2011, 25(3): 630.
[13] Ishikawa Y, Kitamura M. Dual potential of extracellular signal-regulated kinase for the control of cell survival[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 264(3): 696.
[14] Ichijo H. Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAP-kinase that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways[J]. Science, 1997, 275(5296): 90.
[15] Jang S, Kelley K W, Johnson R W. Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(21): 7534.
[16] Kimata M. Effects of luteolin, quercetin and baicalein on immunoglobulin E-mediated mediator release from human cultured mast cells[J]. Clin Exp Allergy, 2000, 30(4): 501.
[17] Ando C. Luteolin, a food-derived flavonoid, suppresses adipocyte-dependent activation of macrophages by inhibiting JNK activation[J]. FEBS Lett, 2009, 583(22): 3649.
[18] Nagata S. Apoptosis by death factor[J]. Cell, 1997, 88(3): 355.



- [19] Chiang C T, Way T D, Lin J K. Sensitizing HER2-overexpressing cancer cells to luteolin-induced apoptosis through suppressing p21 (WAF1/CIP1) expression with rapamycin[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(7): 2127.
- [20] Bagli E. Luteolin inhibits vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis; inhibition of endothelial cell survival and proliferation by targeting phosphatidylinositol 3'-kinase activity [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7936.
- [21] Hertog M G. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands [J]. *Nutr Cancer*, 1993, 20(1): 21.

Mechanism of growth inhibition effect of 3',4', 5, 7-tetrahydroxyflavone on A549 cells

HU Chunping¹, CAI Xueting¹, HU Tingting², LU Wuguang¹, CAO Peng^{1*}

(1. *Laboratory of Cellular and Molecular Biology, Jiangsu Province Institute of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;*

2. *People's Hospital of Nanjing Jiangbei District Medicine, Nanjing 210048, China)*

[**Abstract**] **Objective:** To study luteolin-induced non-small cell lung cancer cell line A549 apoptosis and the molecular mechanism for inhibiting its cycle arrest (G_2 stage). **Method:** MTT assay showed that luteolin had obvious inhibitory effect on A549 and indicated the half inhibition ratio (IC_{50}). Cell cycle and apoptosis were detected by Hoechst 33258 nuclear staining assay, Annexin V-FITC/PI double staining and flow cytometry. Western blotting assay revealed changes in cycle and apoptosis-related proteins induced by luteolin. Possible molecular mechanism was suggested by Western blotting and immunocytochemistry. **Result:** Luteolin had an obvious growth inhibitory effect on A549 cells, with IC_{50} of $45.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ at 48 h. Flow cytometry showed A549 cells mainly arrested in G_2 stage after being treated by luteolin, with low expressions in cyclin A, p-CDC2 and p-Rb. Hoechst 33258 nuclear staining and Annexin V-FITC/PI double staining showed that the luteolin treatment group showed a significant apoptosis rate than the non-treatment group. Western blotting found luteolin can increase phosphorylation of JNK and decrease that of NF- κ B (p65). Immunocytochemistry results revealed luteolin can inhibit TNF- α -stimulated p65 from nuclear translocation as a transcription factor and thus promoting cell apoptosis. **Conclusion:** luteolin can obviously induce apoptosis of human non-small cell lung cancer cell A549 possibly by increasing phosphorylation of JNK to activate mitochondria apoptosis pathway, while inhibiting NF- κ B from nuclear translocation as a transcription factor.

[**Key words**] non-small-cell lung carcinoma; A549; luteolin; cell cycle; apoptosis

doi:10.4268/cjcm20120919

[责任编辑 张宁宁]