

西兰花芽提取物体外抗肿瘤活性及作用机制研究

毛佳奇¹, 游海曦², 孙瑜阳¹, 刘军¹, 刘海杰^{1*}

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:西兰花芽是多种生物活性成分的良好来源, 营养价值极高, 近年来被广泛研究。该文对西兰花芽提取物的抗肿瘤活性及其潜在机制进行探讨。通过观察细胞形态学变化, 发现西兰花芽提取物可使结肠癌 Caco-2 细胞和肝癌 HepG2 细胞密度下降, 且细胞出现凋亡状态。细胞增殖抑制率结果表明西兰花芽提取物能够抑制两种肿瘤细胞增殖, 且呈剂量依赖性, CaCl₂ 组对 Caco-2 和 HepG2 细胞半数抑制浓度分别为 (0.030±0.002)、(0.043±0.004) mg/mL。通过流式细胞术检测凋亡率, 发现西兰花芽提取物可使细胞凋亡比例达到 82.95%。活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平和线粒体膜电位检测结果表明, 西兰花芽提取物可能通过诱导细胞产生 ROS, 降低线粒体膜电势, 促进细胞凋亡, 从而抑制 Caco-2 细胞增殖。

关键词: 西兰花芽提取物; Caco-2 细胞; HepG2 细胞; 增殖; 细胞凋亡

Study on Anti-tumor Activity and Mechanism of Broccoli Sprouts Extracts

MAO Jia-qi¹, YOU Hai-xi², SUN Yu-yang¹, LIU Jun¹, LIU Hai-jie^{1*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China; 2. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

Abstract: Broccoli sprouts are a very nutritious source of many beneficial ingredients and have been widely studied in recent years. The anti-tumor activity and potential mechanism of broccoli sprout extract were investigated in this study. Medium and high concentrations of broccoli sprout extract could reduce the cell density of Caco-2 and HepG2 cells. Signs of apoptosis were evident in images. Broccoli sprout extract inhibited the proliferation of the proliferation of Caco-2 and HepG2 tumor cell lines in a dose-dependent manner, with a 50% inhibition concentration in the presence of CaCl₂ (0.030 ± 0.002) mg/mL and (0.043 ± 0.004) mg/mL, respectively. The apoptosis rate detected by flow cytometry reached 82.95% in samples treated with the extract. Measurements of reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential showed that Caco-2 cells were sensitive to broccoli sprout extract, which could induce Caco-2 cell apoptosis by inducing the production of reactive oxygen species and reducing mitochondrial membrane potential.

Key words: broccoli sprouts extracts; Caco-2 cells; HepG2 cells; proliferation; apoptosis

引文格式:

毛佳奇, 游海曦, 孙瑜阳, 等. 西兰花芽提取物体外抗肿瘤活性及作用机制研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(9): 1-7.

MAO Jiaqi, YOU Haixi, SUN Yuyang, et al. Study on Anti-tumor Activity and Mechanism of Broccoli Sprouts Extracts[J]. Food Research and Development, 2022, 43(9): 1-7.

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0400204); 国家自然科学基金(31972091)

作者简介: 毛佳奇(1997—), 女(汉), 硕士研究生, 研究方向: 植物活性物质。

* 通信作者: 刘海杰(1973—), 女(汉), 教授, 研究方向: 食品功能性成分生物转化。

癌症是一种慢性非传染性疾病,病死率高^[1],在全球近100个国家中,癌症被列为过早死亡的最主要原因^[2]。据估计,全世界范围内患癌风险约为40%,这一趋势还在继续增加^[3]。结直肠癌是消化系统常见的癌症,也是世界上第三大常见癌症^[4]。肝癌也是最常见的前六大癌症之一,其中肝细胞癌占原发性肝癌的85%~90%^[5]。因此,结肠癌和肝癌的预防对人体健康十分重要。1981年到2014年,美国批准的175种小分子抗癌药物中,有49%的抗癌药物来源于天然产物^[6]。此外,有研究表明,一些植物性食物,如红枣、蓝莓、十字花科蔬菜、辣木等,对肿瘤的预防和治疗具有有益作用^[7-10]。

西兰花是十字花科芸薹属一年到两年生植物,含有丰富的维生素、花色苷、硫代葡萄糖苷和芥子酸^[11]等生物活性成分。硫代葡萄糖苷,简称硫苷,是一类含硫和氮的阴离子亲水性植物次生代谢产物^[12],目前在西兰花中已经检测到16种硫苷。萝卜硫苷是西兰花中含量最高的硫苷,约占总硫苷的50%^[13]。植物组织受到破坏或在肠道微生物的作用下,萝卜硫苷被黑芥子酶催化发生水解反应,生成萝卜硫素^[14]。萝卜硫素是迄今为止发现的抗癌作用最强的天然植物活性成分,在西兰花种子及芽苗中含量较多^[15]。西兰花芽已被证明具有多种不同的生理活性,在抑菌^[16-17]、抗氧化^[18]、抗肿瘤^[19-20]、预防高血压和动脉粥样硬化等疾病^[21-22]方面发挥重要作用。因此,西兰花芽具有用作功能食品原料的潜力,对其抗肿瘤活性进行深入研究可以为西兰花芽提取物的研究和西兰花功能食品的开发提供参考。

前期已探索出西兰花芽富集生物活性物质的发芽条件,发现电解水处理后西兰花芽中萝卜硫素前体物质和提取率得到明显提高^[23]。结肠癌细胞株Caco-2和肝癌细胞株HepG2是结肠癌和肝癌体外实验研究最常用的细胞模型^[24-26]。因此,本文以CaCl₂电解水处理的西兰花芽为研究对象,选择Caco-2和HepG2两种细胞株,评价西兰花芽提取物对结肠癌和肝癌细胞的增殖抑制作用,并对其促进结肠癌细胞凋亡的机制进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“中青12号”西兰花种子:中蔬种业科技有限公司;结肠癌Caco-2细胞、肝癌HepG2细胞:西北农林科技大学食品营养与健康研究室。

比色试剂:日本KMK原理化学工业株式会社;MEM培养基:美国Gibco公司;DMEM培养基:美国Hyclone公司;噻唑蓝[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT]:美国sigma公司;活

性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒:上海碧云天生物技术有限公司;5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)、线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)检测试剂盒(JC-1):北京索莱宝科技有限公司;Annexin V-FITC/碘化丙啶(propidium iodide, PI)细胞凋亡检测试剂盒:上海翊圣生物科技有限公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

PRX-450C智能人工气候箱:宁波赛福实验仪器有限公司;RC-3F高浓度有效氯素计:日本KMK原理化学工业株式会社;MP523型pH测量仪:上海三信仪器仪表有限公司;CyFlow Cube 6型流式细胞仪:德国PARTEC公司;LS-CO150型二氧化碳细胞培养箱:美国Thermo Scientific公司;SpectraMax M2型多功能微孔板检测仪:Molecular Devices公司;IX71倒置荧光显微镜:日本Olympus公司。

1.3 方法

1.3.1 西兰花芽制备

CaCl₂电解水的配制:称取一定量无水CaCl₂,使用自来水(tap water, TW)溶解并定容。将溶液倒入实验室自制电解槽中,电流恒定为3 A,电解(28.88±1.55)s后,使用比色试剂和高浓度有效氯素计检测电解水的有效氯浓度(available chlorine concentration, ACC),得到含有20 mmol/L CaCl₂的电解水溶液。不同处理液的理化指标如表1所示。

表1 不同处理液的理化指标

Table 1 The parameter of different solutions

处理液	ACC/(mg/L)	pH值
TW	0	7.38±0.03
CaCl ₂ 电解水	10.00±0.76	7.47±0.03

发芽参照Li等^[23]的方法并稍作修改。称取6 g西兰花种子,加入90 mL上述制备好的CaCl₂电解水,25℃黑暗条件下静置3 h。浸种后均匀播种于铺有纱布的长方形盘中,发芽盘下层倒入制备好的上述电解水,以TW组作为阴性对照。发芽温度设为25℃,相对湿度设为80%,光照强度为100%,每天喷淋3次,每隔2 d换一次水。培养6 d后收芽,西兰花芽经过48 h冻干,研磨,过80目筛,储存于-20℃冰箱备用。

1.3.2 西兰花芽提取物的制备

称取1 g西兰花芽冻干粉,加入4 mL蒸馏水,25℃水解8 h,在离心管中加入5 g氯化钠和3.75 g无水硫酸钠。加入4 mL二氯甲烷,混匀,100%功率超声辅助提取30 min,以5 000 r/min在4℃离心15 min,无水硫酸钠过滤,重复上述提取步骤3次。将上清液在30℃旋转

蒸发,加入二甲基亚砷复溶至样品终浓度为200 mg/mL,得到TW和20 mmol/L CaCl_2 电解水处理的西兰花芽提取物(简称为TW组和 CaCl_2 组)。使用前用无血清培养基将提取液稀释至工作浓度。

1.3.3 细胞培养

Caco-2 细胞使用 DMEM 培养基, HepG2 细胞使用 MEM 培养基,培养基中加入1%青霉素-链霉素。完全培养基需加入10%胎牛血清,配制好后密封,储存于4℃冰箱备用。细胞置于37℃培养箱中进行培养,胰蛋白酶收集细胞,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤细胞,每隔2 d换液,每隔2 d~4 d传代。

1.3.4 形态学观察

细胞生长面积达到80%~90%时,制备单细胞悬液,使用血球计数板计数,将Caco-2和HepG2细胞浓度分别调整至 5×10^4 个/mL和 1×10^5 个/mL,每孔加入2 mL细胞悬液。贴壁培养12 h后,更换为1.8 mL无血清培养基,加入200 μL 浓度为0.045、0.180 mg/mL的西兰花芽提取物,对照组加入等体积的培养基。加入样品48 h后,放大100倍观察细胞形态。

1.3.5 细胞增殖抑制率测定

采用MTT法检测西兰花芽提取物对Caco-2和HepG2细胞的增殖抑制率^[27]。在96孔板中加入调整浓度后的细胞悬液,使得Caco-2细胞为5 000个/孔, HepG2细胞为 1×10^4 个/孔,边缘孔加入PBS。培养12 h后,更换为90 μL 无血清培养基,每孔加入10 μL 西兰花芽提取物,样品最终浓度分别为0.006、0.011、0.023、0.045、0.090、0.180 mg/mL,每个处理设6个复孔,以无血清培养基和0.01 mg/mL 5-FU为对照。加入提取物培养24 h后移除培养基,避光加入100 μL 0.5 mg/mL的MTT溶液。37℃孵育4 h,将MTT溶液更换为二甲基亚砷溶液,37℃避光振荡15 min,测定490 nm处吸光值。按照下列公式计算西兰花芽提取物对Caco-2细胞和HepG2细胞的抑制率,并采用Graphpad Prism 7.0计算半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。

$$\text{抑制率}/\% = [(OD_{\text{对照}} - OD_{\text{样品}}) / OD_{\text{对照}}] \times 100$$

式中: $OD_{\text{对照}}$ 为对照组吸光值; $OD_{\text{样品}}$ 为样品组吸光值。

1.3.6 细胞凋亡率的测定

细胞培养12 h后,将Caco-2细胞的浓度调整为 1×10^5 个/mL,在6孔板中加入1.8 mL细胞悬液和200 μL 浓度为0.180 mg/mL的西兰花芽提取物,对照组加入等体积的培养基,继续培养24 h。将培养液收集至离心管中,加入1 mL胰酶消化贴壁细胞,摇匀,吸出800 μL 胰酶,待细胞间隙增大时终止消化,收集细胞至之前

的离心管中,1 000 r/min离心5 min。按照试剂盒说明书染色,设置Annexin V-FITC和PI单染组,避光放置15 min,混匀后上机检测。

1.3.7 ROS水平测定

使用2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐作为荧光探针测定细胞ROS水平^[28]。调整Caco-2细胞浓度为 1×10^5 个/mL,接种细胞至6孔板中培养12 h,各孔中分别加入1.8 mL的完全培养基、200 μL 浓度为0.045、0.180 mg/mL的西兰花芽提取物,对照组加入等体积的培养基。培养24 h后,移除培养液,加入1 mL稀释后的2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐,混匀,孵育30 min,无血清培养基洗涤3次,在倒置荧光显微镜下观察绿色荧光。

1.3.8 MMP测定

使用线粒体特异性亲脂阳离子荧光染料JC-1测定MMP^[27]。调整Caco-2细胞浓度为 5×10^4 个/mL,培养12 h后,加入浓度为0.045、0.180 mg/mL的西兰花芽提取物,对照组加入等体积的培养基,继续培养24 h, PBS洗涤细胞,加入完全培养基和稀释后的JC-1染色液,混匀,培养箱中静置30 min。用缓冲液洗涤2次,加入无血清培养基,随后将6孔板置于显微镜下,放大100倍观察红绿荧光。定量检测方法操作步骤同上,在96孔板中培养细胞12 h,加入西兰花芽提取物继续培养24 h,之后加入JC-1染色液,使用荧光酶标仪检测绿色荧光和红色荧光,计算二者比值。

1.3.9 统计与分析

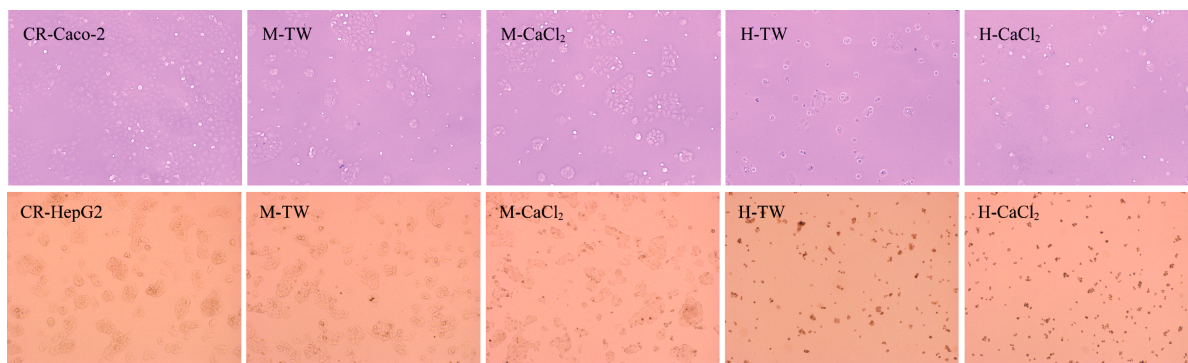
所有试验均进行3次重复试验,数据采用SPSS 26软件进行单因素ANOVA分析,采用Duncan多重比较, $p < 0.05$,表示差异显著,采用Graphpad Prism 7.0绘制图形,结果以平均值 $\pm$ 标准误差表示,Annexin-VITC/PI双染色结果采用FlowJo软件分析。

2 结果与分析

2.1 西兰花芽提取物对Caco-2和HepG2细胞形态的影响

西兰花芽提取物对Caco-2和HepG2细胞形态的影响见图1。

如图1所示,经过不同浓度的西兰花芽提取物处理后的Caco-2和HepG2细胞形态明显不同。对照组Caco-2和HepG2细胞紧贴培养皿,生长良好,Caco-2细胞紧密相连,呈不规则多边形,HepG2细胞呈梭形。0.045 mg/mL西兰花芽提取物作用48 h后,细胞密度下降,部分细胞形态发生改变,细胞内空泡开始增多,表明细胞贴壁性减弱,出现死细胞迹象;与TW组相比, CaCl_2 组Caco-2细胞中空泡细胞增多,HepG2细胞



CR 表示对照组;M 表示加入中浓度 0.045 mg/mL 西兰花芽提取物;H 表示加入高浓度 0.180 mg/mL 西兰花芽提取物。

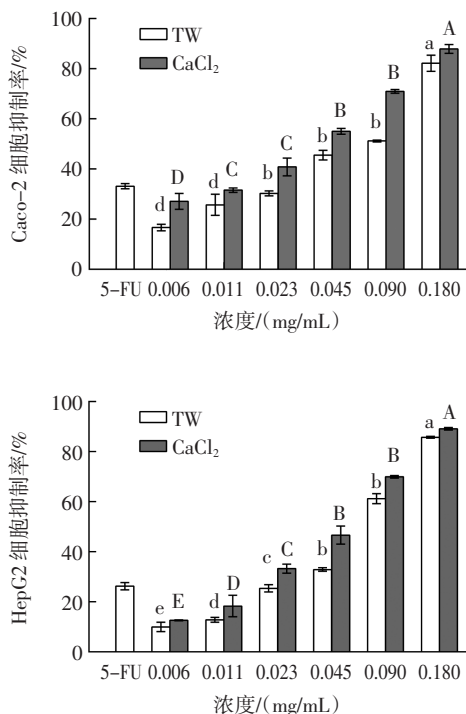
图1 西兰花芽提取物对 Caco-2 和 HepG2 细胞形态的影响(100 x)

Fig.1 Effects of broccoli sprouts extracts on the morphology of Caco-2 and HepG2 cells (100 x)

圆点增多。提取物浓度增加至 0.180 mg/mL 时,细胞数量进一步减少,细胞明显变圆缩小。结果表明,不同浓度的西兰花芽提取物可使 Caco-2 和 HepG2 细胞形态发生明显变化。

2.2 西兰花芽提取物对 Caco-2 和 HepG2 细胞增殖的影响

西兰花芽提取物对 Caco-2 和 HepG2 细胞增殖的影响见图 2。



小写字母为 TW 组间差异,字母不同表示差异显著($p < 0.05$);大写字母为 CaCl₂ 组间差异,字母不同表示差异显著($p < 0.05$)。

图2 西兰花芽提取物对 Caco-2 和 HepG2 细胞增殖的影响

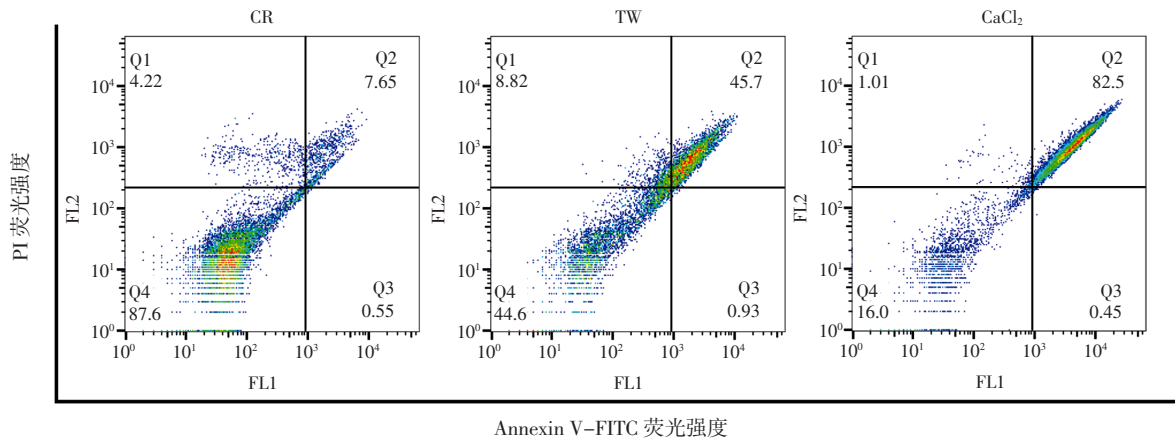
Fig.2 Effects of broccoli sprouts extracts on the proliferation of Caco-2 and HepG2 cells

由图 2 可知,西兰花芽提取物使 Caco-2 和 HepG2 细胞生长受到抑制,且呈浓度依赖效应。与 TW 组相比,CaCl₂ 组西兰花芽提取物对 Caco-2 和 HepG2 细胞的抑制作用增强。TW 组对 Caco-2 和 HepG2 细胞的 IC₅₀ 值分别为(0.053±0.004)、(0.060±0.003) mg/mL,而 CaCl₂ 组的 IC₅₀ 值分别为(0.030±0.002)、(0.043±0.004) mg/mL。对照组 5-FU 对 Caco-2 和 HepG2 细胞的抑制率分别为 33.14%和 26.27%,抗增殖效果优于同浓度西兰花芽提取物。Paško 等^[29]研究冻干西兰花和西兰花芽对肝癌 HepG2 细胞和结直肠癌 SW480 细胞的毒性,结果表明 1 mg/mL~2.5 mg/mL 西兰花芽和西兰花均显著降低了 HepG2 和 SW480 的细胞活力,且对前者的作用更明显。Le 等^[18]研究表明西兰花芽乙醇提取物可以抑制 A549 (肺癌细胞)、HepG2 和 Caco-2 细胞增殖,且 IC₅₀ 值分别为 0.117、0.168、0.189 mg/mL。此外,Xu 等^[30]从西兰花中分离纯化出水溶性多糖,当西兰花水溶性多糖浓度为 2 mg/mL 时,可抑制肝癌 HepG2 细胞、宫颈癌 Siha 细胞和乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖,本研究所用西兰花芽提取物对 Caco-2 和 HepG2 细胞具有更低的 IC₅₀ 值。

2.3 西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞凋亡率的影响

西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞凋亡率的影响见图 3。

采用 Annexin-VITC/PI 双染色法对处于凋亡各阶段的细胞进行定量检测。如图 3 所示,经过西兰花芽提取物处理后,西兰花芽提取物显著诱导 Caco-2 细胞发生凋亡,TW 和 CaCl₂ 组凋亡细胞的比例分别为 46.63%和 82.95%,此外,晚期凋亡细胞数量高于早期凋亡细胞。Paško 等^[29]研究 2.5 mg/mL 西兰花和西兰花芽甲醇提取物对结直肠癌 SW480 细胞和肝癌 HepG2 细胞的影响,发现西兰花芽提取物对 SW480 细胞具有



CR 表示对照组;Q1 表示损伤细胞百分比;Q2 表示晚期凋亡细胞百分比;Q3 表示早期凋亡细胞百分比;Q4 表示活细胞百分比;FL1 表示收集到的绿色荧光信号;FL2 表示收集到的橙色荧光信号。

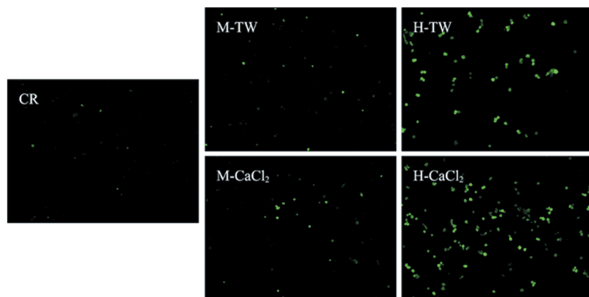
图3 高浓度西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞凋亡的影响

Fig.3 Effects of high concentration broccoli sprouts extracts on apoptosis of Caco-2 cells

显著的促凋亡(77.4%)作用,对 HepG2 细胞毒性作用较大(坏死 50%,凋亡 20.9%)。与其不同的是,本研究发现西兰花芽提取物浓度在 0.180 mg/mL 时显著促进 Caco-2 细胞凋亡。

2.4 西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞 ROS 水平的影响

西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞 ROS 水平的影响见图 4。



CR 表示对照组;M 表示加入中浓度 0.045 mg/mL 西兰花芽提取物;H 表示加入高浓度 0.180 mg/mL 西兰花芽提取物。

图4 中高浓度西兰花芽提取物诱导 Caco-2 细胞产生 ROS

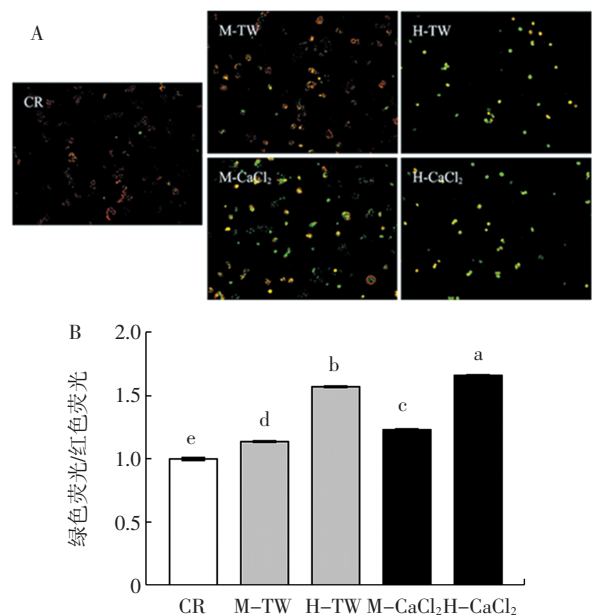
Fig.4 Medium and high concentration broccoli sprouts extracts induce Caco-2 cells to produce ROS

ROS 水平已被证明是影响细胞死亡和存活的因素,ROS 代谢紊乱时可能导致细胞蛋白质、脂质和 DNA 损伤并引发神经退行性疾病^[31]。研究表明,ROS 可以激活肿瘤抑制蛋白 p53,下调促凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-XL、IAPs 和 survivin^[32],上调促凋亡因子,增强线粒体膜的通透性^[33]。通过荧光染色的方法检测西兰花芽提取物作用后胞内 ROS 的水平。如图 4 所示,与对照组相比,加入西兰花芽提取物后,胞内 ROS 生成增多,且呈浓度依赖效应;与 TW 组相比,CaCl₂ 组诱导 Caco-2 细胞

产生的绿色荧光增强,结果表明,西兰花芽提取物可能通过诱导 Caco-2 细胞产生 ROS 来抑制细胞增殖并促进细胞凋亡。

2.5 西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞线粒体膜电位的影响

西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞线粒体膜电位的影响见图 5。



A 为线粒体膜电位定性试验结果;B 为线粒体膜电位定量试验结果;CR 表示对照组;M 表示加入中浓度 0.045 mg/mL 西兰花芽提取物;H 表示加入高浓度 0.180 mg/mL 西兰花芽提取物;不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)。

图5 中高浓度西兰花芽提取物对 Caco-2 细胞线粒体膜电位的影响
Fig.5 Effects of medium and high concentration broccoli sprouts extracts on mitochondrial membrane potential of Caco-2 cells

线粒体膜电位下降是细胞线粒体早期损伤的特征之一,由于呼吸链电子转移,大多数 ROS 产生于线粒体中^[34],ROS 与线粒体调控凋亡通路的激活密切相关。线粒体来源的 ROS 可使线粒体 mtDNA 氧化损伤,mtDNA 损伤会损害电子传递链相关蛋白的 mtRNA 转录,损伤呼吸链功能,进一步增加 ROS 的产生,引起线粒体膜电位改变,造成 ATP 合成受损,从而导致细胞凋亡^[35]。

由图 5A 可知,随着西兰花芽提取物浓度升高,绿色荧光细胞增多,红色荧光细胞减少;高浓度样品组分布着发绿光的细胞,与对照组相比,几乎不出现红色荧光,且细胞数量减少,与形态学观察结果一致。如图 5B 所示,与对照组相比,中高浓度 TW 组绿色荧光/红色荧光比值显著提高 1.14 倍和 1.57 倍($p<0.05$),即线粒体膜电位降低,线粒体出现功能损伤。CaCl₂ 组西兰花芽提取物可进一步显著降低线粒体膜电位,绿色荧光/红色荧光比值分别提高 1.23 倍和 1.66 倍。该结果表明,西兰花芽提取物可通过诱导 Caco-2 细胞线粒体出现功能损伤来抑制细胞增殖,诱导细胞发生凋亡。

3 结论

本试验研究了西兰花芽提取物对结肠癌 Caco-2 细胞和肝癌 HepG2 细胞的影响,观察细胞形态发现,0.180 mg/mL 西兰花芽提取物可使 Caco-2 和 HepG2 细胞贴壁性减弱,细胞密度下降,并呈现死细胞迹象。西兰花芽提取物作用 24 h 后,可显著抑制 Caco-2 和 HepG2 细胞增殖,TW 组对 Caco-2 和 HepG2 细胞的 IC₅₀ 值分别为 (0.053±0.004)、(0.060±0.003)mg/mL,而 CaCl₂ 组为 (0.030±0.002)、(0.043±0.004)mg/mL。细胞凋亡结果显示,CaCl₂ 组细胞发生凋亡的比例为 82.95%。此外,结肠癌 Caco-2 细胞对西兰花芽提取物敏感,西兰花芽提取物通过诱导细胞产生 ROS,降低线粒体膜电位,可造成细胞线粒体功能损伤,激活线粒体凋亡途径,最终导致 Caco-2 细胞凋亡。综上所述,西兰花芽提取物具有显著抑制结肠癌 Caco-2 细胞和肝癌 HepG2 细胞增殖及促进 Caco-2 细胞凋亡的作用,西兰花芽可以作为具有抗癌作用的植物性食品,用于功能食品的开发。

参考文献:

[1] RADÜNZ M, HACKBART H C D S, BONA N P, et al. Glucosinolates and phenolic compounds rich broccoli extract: Encapsulation by electrospraying and antitumor activity against glial tumor cells[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2020, 192: 111020.

[2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(6): 394–424.

[3] JEMAL A, CENTER M M, DESANTIS C, et al. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends[J]. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2010, 19(8): 1893–1907.

[4] HEMERYCK L Y, ROMBOUTS C, HECKE T V, et al. *In vitro* DNA adduct profiling to mechanistically link red meat consumption to colon cancer promotion[J]. Toxicology Research, 2016, 5(5): 1346–1358.

[5] RAWAT D, SHRIVASTAVA S, NAIK R A, et al. An overview of natural plant products in the treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Anti Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2018, 18(13): 1838–1859.

[6] NEWMAN D J, CRAGG G M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010[J]. Journal of Natural Products, 2012, 75(3): 311–335.

[7] LIANG Q, WANG X Y, YANG S, et al. Characterization of the antioxidant polysaccharides from *Ziziphus jujube* cv. Goutouzao and its tumor-inhibitory effects on human colorectal carcinoma LoVo cells via immunocyte activation[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(11): e13462.

[8] 林杨, 杨平, 张琦, 等. 蓝莓花色苷对脂多糖诱导 RAW 264.7 细胞炎症及结肠癌细胞增殖、凋亡的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(13): 133–140.

LIN Yang, YANG Ping, ZHANG Qi, et al. Effects of blueberry anthocyanins on lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 cells and HCT-116 cells proliferation and apoptosis[J]. Food Science, 2020, 41(13): 133–140.

[9] TAO J, LI Y, LI S, et al. Plant foods for the prevention and management of colon cancer[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 42: 95–110.

[10] WANG F, LONG S, ZHANG J, et al. Antioxidant activities and anti-proliferative effects of *Moringa oleifera* L. extracts with head and neck cancer[J]. Food Bioscience, 2020, 37: 100691.

[11] OLSZEWSKA M A, GRANICA S, KOŁODZIEJCZYK-CZEPAS J, et al. Variability of sinapic acid derivatives during germination and their contribution to antioxidant and anti-inflammatory effects of broccoli sprouts on human plasma and human peripheral blood mononuclear cells[J]. Food & Function, 2020, 11(8): 7231–7244.

[12] FAHEY J W, ZALCMANN A T, TALALAY P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants[J]. Phytochemistry, 2001, 56(1): 5–51.

[13] DOSZ E B, KU K M, JUVIK J A, et al. Total myrosinase activity estimates in *Brassica* vegetable produce[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(32): 8094–8100.

[14] MAHN A, SAAVEDRA A, PAZ RUBIO M. Kinetic study of sulforaphane stability in blanched and un-blanched broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) florets during storage at low temperatures[J].

- Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(11): 4687–4693.
- [15] ARES A M, NOZAL M J, BERNAL J. Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1313: 78–95.
- [16] BAENAS N, PIEGHOLDT S, SCHLOESSER A, et al. Metabolic activity of radish sprouts derived isothiocyanates in *Drosophila melanogaster*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(2): 251.
- [17] VALE A P, SANTOS J, MELIA N, et al. Phytochemical composition and antimicrobial properties of four varieties of *Brassica oleracea* sprouts[J]. Food Control, 2015, 55: 248–256.
- [18] LE T N, LUONG H Q, LI H P, et al. Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) sprouts as the potential food source for bioactive properties: A comprehensive study on *in vitro* disease models[J]. Foods, 2019, 8(11): 532.
- [19] ZHOU J W, WANG M, SUN N X, et al. Sulforaphane-induced epigenetic regulation of Nrf2 expression by DNA methyltransferase in human Caco-2 cells[J]. Oncology Letters, 2019, 18(3): 2639–2647.
- [20] LIU P, WANG W, TANG J, et al. Antioxidant effects of sulforaphane in human HepG2 cells and immortalised hepatocytes[J]. Food and Chemical Toxicology, 2019, 128: 129–136.
- [21] ARMAH C N, DERDEMEZIS C, TRAKA M H, et al. Diet rich in high glucoraphanin broccoli reduces plasma LDL cholesterol: Evidence from randomised controlled trials[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2015, 59(5): 918–926.
- [22] DUCHNOWICZ P, BORS M, PODSEDEK A, et al. Effect of polyphenols extracts from *Brassica* vegetables on erythrocyte membranes (*in vitro* study)[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2012, 34(3): 783–790.
- [23] LI L Z, SONG S H, NIRASAWA S, et al. Slightly acidic electrolyzed water treatment enhances the main bioactive phytochemicals content in broccoli sprouts via changing metabolism[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(2): 606–614.
- [24] 丁亚男, 高观祯, 汪惠勤, 等. 婴幼儿配方奶粉对人结肠腺癌系 caco-2 细胞和 SD 大鼠腹腔巨噬细胞自由基水平的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 9–17.
- DING Yanan, GAO Guanzhen, WANG Huiqin, et al. Effects of infant formula milk powder on free radical levels in human colon adenocarcinoma line caco-2 cells and SD rat peritoneal macrophages[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(2): 9–17.
- [25] 孙凯峰, 包怡红. 黑木耳发酵产物对 HepG2 细胞脂质代谢及糖代谢的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(1): 30–37.
- SUN Kaifeng, BAO Yihong. Fermentation products of *Auricularia auricular* on lipid metabolism and glucose metabolism in HepG2 cells[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(1): 30–37.
- [26] LIU Z G, REN B, WANG Y H, et al. Sesamol induces human hepatocellular carcinoma cells apoptosis by impairing mitochondrial function and suppressing autophagy[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 45728.
- [27] LIU Z G, SONG G, ZOU C, et al. Acrylamide induces mitochondrial dysfunction and apoptosis in BV-2 microglial cells[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2015, 84: 42–53.
- [28] QI G Y, LIU Z G, FAN R, et al. *Athyrium multidentatum* (Doll.) Ching extract induce apoptosis via mitochondrial dysfunction and oxidative stress in HepG2 cells[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 1–14.
- [29] PAŠKO P, TYSZKA-CZOCHARA M, GALANTY A, et al. Comparative study of predominant phytochemical compounds and proapoptotic potential of broccoli sprouts and florets[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2018, 73(2): 95–100.
- [30] XU L S, CAO J J, CHEN W R. Structural characterization of a broccoli polysaccharide and evaluation of anti-cancer cell proliferation effects[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 126: 179–184.
- [31] BUONOCORE G, PERRONE S, TATARANNO M L. Oxygen toxicity: Chemistry and biology of reactive oxygen species[J]. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine, 2010, 15(4): 186–190.
- [32] YOSHIDA K, MIKI Y. The cell death machinery governed by the p53 tumor suppressor in response to DNA damage[J]. Cancer Science, 2010, 101(4): 831–835.
- [33] REDZA-DUTORDOIR M, AVERILL-BATES D A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Molecular Cell Research, 2016, 1863(12): 2977–2992.
- [34] DICKINSON B C, CHANG C J. Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses[J]. Nature Chemical Biology, 2011, 7(8): 504–511.
- [35] ORRENIUS S, GOGVADZE V, ZHIVOTOVSKY B. Calcium and mitochondria in the regulation of cell death[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2015, 460(1): 72–81.

加工编辑:姚骏

收稿日期:2021-05-14