

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2018.06.0640

· 论 著 ·

## 雷公藤红素抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移及上皮间质转化

张雪<sup>1△</sup>, 张登海<sup>1△</sup>, 陈晓平<sup>2</sup>, 滕伟强<sup>3</sup>, 彭彬<sup>1</sup>, 张毅<sup>2</sup>, 王莹<sup>1</sup>, 曹帆帆<sup>1</sup>, 薛晓成<sup>2\*</sup>

1. 海军军医大学(第二军医大学)附属公利医院中心实验室, 上海 200135

2. 海军军医大学(第二军医大学)附属公利医院耳鼻咽喉科, 上海 200135

3. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院耳鼻咽喉头颈外科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 研究雷公藤红素在鼻咽癌细胞增殖、迁移及上皮间质转化中的作用。**方法** 使用终浓度为 1.8 μmol/L 的雷公藤红素处理人鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞, 并设二甲亚砜(DMSO)对照组。用 CCK-8 法检测 HNE1、CNE2 细胞的增殖能力, 细胞划痕实验检测细胞迁移能力, 细胞克隆形成实验检测细胞的克隆形成数, 细胞黏附与分离实验检测细胞的黏附、分离能力, 蛋白质印迹法检测细胞上皮间质转化蛋白(E-钙黏蛋白、β-连环蛋白、N-钙黏蛋白、波形蛋白)的表达。**结果** 与 DMSO 对照组比较, 采用 1.8 μmol/L 雷公藤红素处理 24、48、72 h 后, HNE1 细胞的增殖能力均降低( $P$  均 $<0.05$ ), 处理 48、72 h 后, CNE2 细胞的增殖能力均降低( $P$  均 $<0.05$ ); 处理 48 h 后, HNE1、CNE2 细胞的迁移能力均下降( $P$  均 $<0.05$ ); 处理 2 周后, HNE1、CNE2 细胞的克隆形成数均减少( $P$  均 $<0.05$ ); 处理 1 h 后, HNE1、CNE2 细胞的黏附率降低( $P<0.05$ ); 处理 24 h 后, HNE1、CNE2 细胞的分离率降低( $P<0.05$ ); 处理 6 h 后, HNE1、CNE2 细胞中 E-钙黏蛋白、β-连环蛋白的表达升高( $P<0.05$ ), N-钙黏蛋白、波形蛋白的表达降低( $P$  均 $<0.05$ )。**结论** 雷公藤红素可抑制鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞的增殖、迁移及上皮间质转化。

**[关键词]** 鼻咽肿瘤; 雷公藤红素; 上皮间质转化; 细胞增殖; 细胞迁移**[中图分类号]** R 739.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)06-0640-06

### Celastrol inhibits proliferation, migration and epithelial-mesenchymal transition of nasopharyngeal carcinoma cells

ZHANG Xue<sup>1△</sup>, ZHANG Deng-hai<sup>1△</sup>, CHEN Xiao-ping<sup>2</sup>, TENG Wei-qiang<sup>3</sup>, PENG Bin<sup>1</sup>, ZHANG Yi<sup>2</sup>, WANG Ying<sup>1</sup>, CAO Fan-fan<sup>1</sup>, XUE Xiao-cheng<sup>2\*</sup>

1. Central Laboratory, Gongli Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200135, China

2. Department of Otolaryngology, Gongli Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200135, China

3. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Changhai Hospital, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of celastrol on proliferation, migration and epithelial-mesenchymal transition of nasopharyngeal carcinoma cells. **Methods** Human nasopharyngeal carcinoma cells HNE1 and CNE2 were treated with 1.8 μmol/L celastrol, and the cells treated with equal volume of dimethyl sulfoxide (DMSO) were used as control. The proliferation of HNE1 and CNE2 cells was detected by CCK-8 assay, the migration of cells was detected by cell scratch test, the clone formation was detected by cell colony formation assay, the adhesion and separation abilities of cells were examined by cell adhesion and separation experiments, and the expression of E-cadherin, β-catenin, N-cadherin and vimentin was detected by Western blotting analysis. **Results** Compared with the DMSO group, the proliferation of HNE1 cells was significantly decreased after treated with 1.8 μmol/L celastrol for 24, 48 and 72 h (all  $P<0.05$ ), and the proliferation

**[收稿日期]** 2018-01-27 **[接受日期]** 2018-06-01**[基金项目]** 上海市浦东新区卫生系统重点学科群(PWZxq2017-04), 上海市浦东新区公利医院青年基金(2015YQNJJ-01), 上海市浦东新区公利医院青年英才项目(GLRq2017-01, GLRq2017-05). Supported by Key Disciplines of Health Systems in Shanghai Pudong New Area (PWZxq2017-04), Youth Project of Gongli Hospital in Shanghai Pudong New Area (2015YQNJJ-01), and Youth Yingcai Project of Gongli Hospital of Shanghai Pudong New Area (GLRq2017-01, GLRq2017-05).**[作者简介]** 张雪, 硕士, 技师. E-mail: 13524805404@139.com; 张登海, 博士, 研究员. E-mail: shanghai\_zhang@hotmail.com

△共同第一作者(Co-first authors).

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-58858730, E-mail: lugong132910@163.com

of CNE2 cells was significantly decreased for 48 and 72 h (both  $P < 0.05$ ); the migration ability of HNE1 and CNE2 cells was significantly decreased after treated with 1.8  $\mu\text{mol/L}$  celastrol for 48 h (both  $P < 0.05$ ); and the clone formation of HNE1 and CNE2 cells was significantly decreased after treated with 1.8  $\mu\text{mol/L}$  celastrol for two weeks (both  $P < 0.05$ ). The adhesion rate of HNE1 and CNE2 cells 1 h after treatment and separation rate 24 h after treatment in the celastrol groups were significantly lower than those in the corresponding DMSO group (both  $P < 0.05$ ). Western blotting analysis showed that the expressions of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in HNE1 and CNE2 cells in the celastrol groups were significantly increased compared with the DMSO group, while the expressions of N-cadherin and vimentin were significantly decreased 6 h after treatment (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Celastrol can inhibit the proliferation, migration and epithelial-mesenchymal transition of nasopharyngeal carcinoma cells HNE1 and CNE2.

**[Key words]** nasopharyngeal neoplasms; celastrol; epithelial-mesenchymal transition; cell proliferation; cell migration  
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(6): 640-645]

鼻咽癌是我国南方地区高发肿瘤之一, 占头颈部肿瘤发病率的首位, 且其发病率呈不断上升趋势<sup>[1]</sup>。虽然目前针对鼻咽癌的诊断和治疗手段不断发展, 但其5年生存率仍仅为50%~60%, 总体治疗效果达不到患者期望<sup>[2-3]</sup>。由于鼻咽癌位置深在, 手术难以彻底切除, 目前放射治疗是最主要的治疗手段, 但传统放射治疗难以耐受的不良副反应和放射治疗抵抗限制了其应用。目前, 越来越多的研究发现中药来源的天然化合物在肿瘤治疗方面发挥着重要作用<sup>[4-5]</sup>。雷公藤红素是从卫矛科植物雷公藤中提取的一种三萜类化合物, 其在抗炎、抗肿瘤及免疫抑制等方面发挥重要的药理作用<sup>[6-8]</sup>。然而, 关于雷公藤红素对鼻咽癌细胞增殖、迁移及上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 等的作用研究尚未见相关报道。本研究以人鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞为研究对象, 观察雷公藤红素对鼻咽癌细胞增殖、迁移和 EMT 的影响。

## 1 材料和方法

1.1 试剂与材料 人鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞生物研究所细胞库, 均按细胞培养说明使用含 10% 胎牛血清、1% 双抗 (100 U/mL 青霉素和 100  $\mu\text{g/mL}$  链霉素) 的 RPMI 1640 培养液于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 、饱和湿度的细胞培养箱中培养。雷公藤红素 (C0869, 纯度  $\geq 98\%$ )、二甲基亚砜 (DMSO) 购自美国 Sigma 公司; E-钙黏蛋白、 $\beta$ -连环蛋白、N-钙黏蛋白、波形蛋白、内参蛋白甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。细胞划痕实验小皿

购自德国 Ibbidi 公司; CCK-8 试剂盒购自日本同仁化学研究所; 结晶紫染色液购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司, 蛋白质印迹实验试剂盒购自碧云天生物技术研究所。

1.2 雷公藤红素药物安全剂量筛选 取对数生长期细胞悬液 100  $\mu\text{L}$ , 按 30%~50% 的浓度比例铺于 96 孔板, 培养 24 h 待细胞贴壁后分别加入 10  $\mu\text{L}$  浓度为 0.6、0.9、1.2、1.5、1.8、2.1、2.4  $\mu\text{mol/L}$  的雷公藤红素溶液, 以仅加入 RPMI 1640 培养液为空白对照组, 以加入含等体积 DMSO 的培养液 (不含雷公藤红素) 为对照组, 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 24 h, PBS 清洗 3 次。每孔加入 10  $\mu\text{L}$  浓度为 5 mg/mL 的 CCK-8 溶液, 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴箱中孵育 3 h, 用酶标仪检测 450 nm 波长的光密度 ( $D$ ) 值, 计算各组细胞存活率: 细胞存活率 (%) =  $(D_{\text{实验组}} - D_{\text{空白对照组}}) / (D_{\text{对照组}} - D_{\text{空白对照组}}) \times 100\%$ 。每组实验重复 3 次。发现雷公藤红素浓度为 2.1  $\mu\text{mol/L}$  时, HNE1、CNE2 细胞存活率相比对照组 (0  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素) 均降低, 而雷公藤红素浓度为 0.6~1.8  $\mu\text{mol/L}$  时, 两种细胞存活率与对照组相比无明显差异。因此, 选用浓度为 1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素行后续实验。

1.3 细胞增殖活性检测 取对数生长期细胞悬液 100  $\mu\text{L}$ , 按 30%~50% 的浓度比例铺于 96 孔板, 培养 24 h 待细胞贴壁后加入 1.8  $\mu\text{mol/L}$  的雷公藤红素 10  $\mu\text{L}$ , 以仅加入 RPMI 1640 培养液为空白对照组, 以加入含等体积 DMSO 的培养液为对照<sup>[9]</sup>。37  $^{\circ}\text{C}$  培养 12、24、48、72 h 后, 每孔加入 10  $\mu\text{L}$  浓度为 5 mg/mL 的 CCK-8 溶液, 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴箱中孵育 3 h, 用酶标仪检测 450 nm 波长的  $D$  值, 计算细胞存活率, 绘制细胞相对数量曲线。每组实验重

复3次。

1.4 细胞划痕实验 取对数生长期细胞以每孔  $3 \times 10^4$  个细胞的密度铺于细胞划痕小皿中,培养 24 h 待细胞贴壁后移去小皿,加入 RPMI 1640 完全培养液 3 mL、1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素溶液 30  $\mu\text{L}$ ,以加入含等体积 DMSO 的培养液为对照组,培养 48 h 后拍照记录,与加药前进行比较并计算迁移宽度。计算公式:相对迁移宽度=拍照时迁移宽度/加药前平均划痕宽度。

1.5 细胞克隆形成实验 取对数生长期细胞以每孔 500 个细胞的密度接种于 6 孔板中,加入 RPMI 1640 完全培养液 3 mL、1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素溶液 30  $\mu\text{L}$ ,培养 2 周,每日更换含有药物的培养液,以加入含等体积 DMSO 的培养液为对照。培养结束后用 0.1% 的结晶紫染色液固定染色,染色结束后显微镜下观察克隆细胞数。

1.6 细胞黏附实验 取对数生长期细胞以每孔  $5 \times 10^4$  个细胞的密度接种于 24 孔板中,加入 RPMI 1640 完全培养液 1 mL、1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素溶液 10  $\mu\text{L}$  培养,以加入含等体积 DMSO 的培养液为对照,1 h 后洗去未贴壁细胞。贴壁细胞用胰酶消化后计数,计算细胞黏附率:黏附率(%)=(贴壁细胞数/细胞总数)  $\times 100\%$ 。

1.7 细胞分离实验 取对数生长期细胞以每孔  $5 \times 10^4$  个细胞的密度接种于 24 孔板,加入 RPMI 1640 完全培养液 1 mL、1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素溶液 10  $\mu\text{L}$  处理 24 h,以加入含等体积 DMSO 的培养液为对照。胰酶消化 3 min,加入完全培养液终止消化,收集消化脱落的细胞进行计数。继续加入胰酶消化剩余细胞至完全脱落,收集细胞并计数。计算细胞分离率:分离率(%)=[0.025% 的胰酶

首次消化的细胞/(0.025% 胰酶首次消化的细胞+0.025% 胰酶再次消化的细胞)]  $\times 100\%$ 。

1.8 蛋白质印迹实验 取对数生长期细胞,以每孔  $1 \times 10^6$  个细胞的密度接种于 6 孔板中,加入 RPMI 1640 完全培养液 3 mL、1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素溶液 10  $\mu\text{L}$  处理 6 h,以加入含等体积 DMSO 的培养液为对照,提取蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。配制 10% 分离胶进行电泳,转膜后加入一抗(1:1 000 稀释)4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,TBST 清洗 3 次,加入相应二抗(1:2 000 稀释)室温孵育 2 h,用 TBST 清洗 3 次,采用凝胶图像处理系统分析目的条带灰度值。

1.9 统计学处理 使用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析或两样本均数比较的  $t$  检验。检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 雷公藤红素对鼻咽癌细胞增殖的影响 细胞增殖实验结果显示,与 DMSO 对照组比较,采用 1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素处理 24、48、72 h 后,鼻咽癌细胞 HNE1 的增殖能力均降低( $P$  均  $< 0.05$ ); 1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素处理 48、72 h 后,鼻咽癌细胞 CNE2 的增殖能力均降低( $P$  均  $< 0.05$ )。见图 1。

2.2 雷公藤红素对鼻咽癌细胞侵袭、转移能力的影响 细胞划痕实验结果(图 2)显示,1.8  $\mu\text{mol/L}$  雷公藤红素处理 48 h 后,鼻咽癌细胞 HNE1 和 CNE2 的相对迁移宽度均大于相应 DMSO 对照组( $P$  均  $< 0.05$ ),表明雷公藤红素可有效抑制细胞迁移。

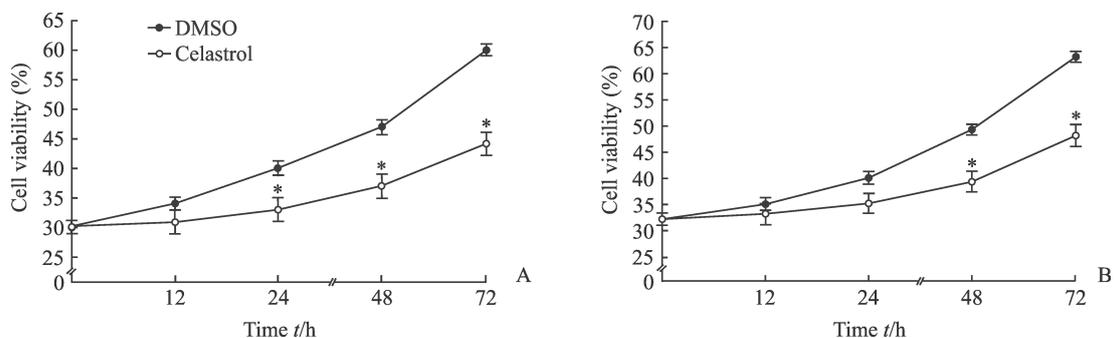


图 1 雷公藤红素 (1.8  $\mu\text{mol/L}$ ) 对鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 增殖的影响

Fig 1 Effect of celastrol (1.8  $\mu\text{mol/L}$ ) on proliferation of nasopharyngeal carcinoma cell lines HNE1 and CNE2

A: HNE1 cells; B: CNE2 cells. DMSO: Dimethyl sulfoxide. \* $P < 0.05$  vs DMSO (control) group.  $n = 3, \bar{x} \pm s$

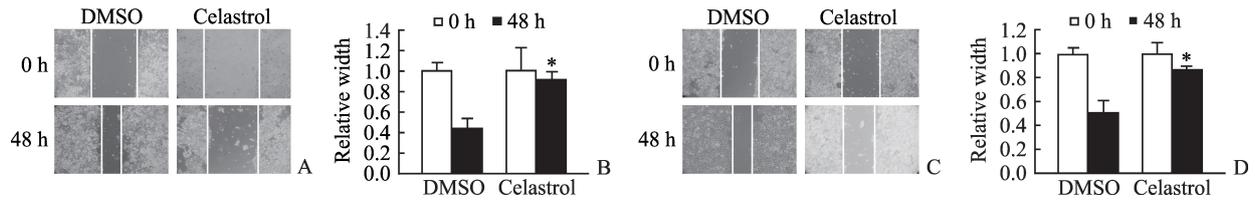


图 2 雷公藤红素 (1.8 μmol/L) 对鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 侵袭、转移能力的影响

Fig 2 Effect of celastrol (1.8 μmol/L) on invasion and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cell lines HNE1 and CNE2

A, B: HNE1 cells; C, D: CNE2 cells. DMSO: Dimethyl sulfoxide. Original magnification: ×400 (A, C). \**P*<0.05 vs DMSO (control) group at same time. *n*=3,  $\bar{x} \pm s$

2.3 雷公藤红素对鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 克隆形成能力及黏附、分离能力的影响 细胞克隆实验结果 (图 3) 显示, 与 DMSO 对照组相比, 1.8 μmol/L 雷公藤红素处理细胞 2 周后, 鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 的克隆形成数均减少 (372±36 vs 1 487±47, 201±21 vs 1 583±32; *P* 均<0.05)。

进一步验证雷公藤红素对鼻咽癌细胞黏附、分离能力的影响, 结果显示, 1.8 μmol/L 雷公藤红素处理后, HNE1 细胞的黏附率为 (51.25±1.39)%、分离率为 (41.35±1.66)%, 均低于相应 DMSO 对照组 [(89.32±1.53)%, (77.82±2.73)%; *P* 均<0.05]; CNE2 细胞的黏附率为 (44.12±1.19)%、分离率为 (38.98±2.14)%, 均低于相应 DMSO 对照组 [(83.22±2.21)%, (71.42±2.41)%; *P* 均<0.05]。

2.4 雷公藤红素对鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 EMT 标志蛋白表达的影响 蛋白质印迹结果 (图 4) 显示, 与 DMSO 对照组相比, 1.8 μmol/L 雷公藤

红素处理 6 h 后, HNE1、CNE2 细胞中 E-钙黏蛋白、β-连环蛋白的表达均升高 (*P*<0.05), N-钙黏蛋白、波形蛋白的表达均降低 (*P*<0.05)。

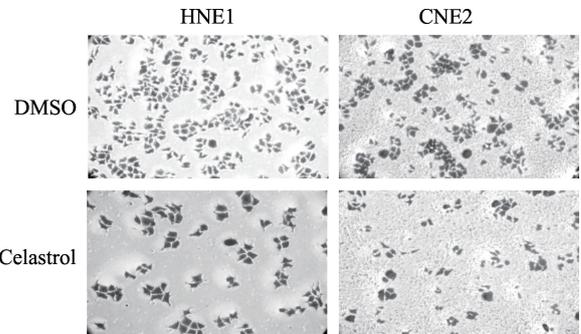


图 3 雷公藤红素 (1.8 μmol/L) 对鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 克隆形成能力的影响

Fig 3 Effect of celastrol (1.8 μmol/L) on clone formation of nasopharyngeal carcinoma cell lines

HNE1 and CNE2

DMSO: Dimethyl sulfoxide. Original magnification: ×400

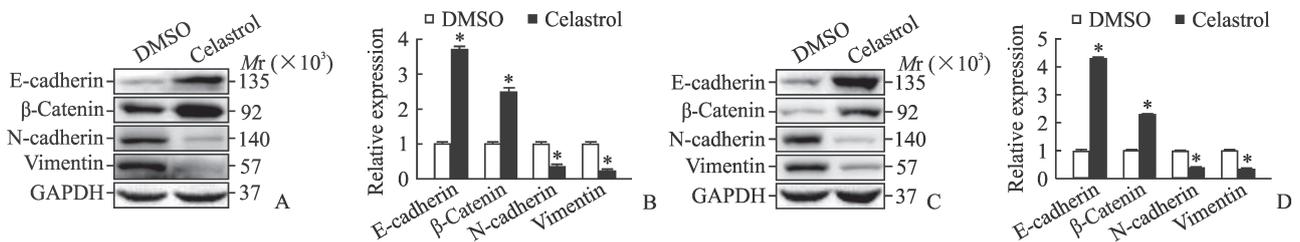


图 4 雷公藤红素 (1.8 μmol/L) 对鼻咽癌细胞 HNE1、CNE2 EMT 相关蛋白表达的影响

Fig 4 Effect of celastrol (1.8 μmol/L) on expression of EMT in nasopharyngeal carcinoma cell lines HNE1 and CNE2

A, B: HNE1 cells; C, D: CNE2 cells. EMT: Epithelial-mesenchymal transition-related protein; DMSO: Dimethyl sulfoxide; GAPDH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. \**P*<0.05 vs DMSO (control) group. *n*=3,  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

鼻咽癌主要以低分化鳞癌为主, 因其病变部位隐匿, 早期不易被发现, 故临床就诊时约 60%

的患者已出现颈部淋巴结转移, 20% 因颅神经受累而就诊, 影响患者预后<sup>[1]</sup>。目前放射治疗是鼻咽癌的主要治疗手段, 尽管近年来临床采用了同步放射化学治疗、调强适形放射治疗等新的治疗措

施,但放射治疗抵抗和并发症的发生仍使鼻咽癌的疗效不尽人意。因此,研究鼻咽癌发生、发展的分子机制,开发新的鼻咽癌治疗手段,对改善鼻咽癌预后具有十分重要的意义。

雷公藤红素是雷公藤单体之一,其抗肿瘤作用已被国内外学者证实。国内有学者报道雷公藤红素可明显抑制肝癌 HepG2 细胞、胆囊癌 NOZ 细胞的增殖并诱导其凋亡,其机制可能与雷公藤红素增强线粒体通透性、促使凋亡诱导因子释放有关<sup>[10-11]</sup>。国外亦有学者研究发现,雷公藤红素对子宫癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌等肿瘤的增殖和转移均有较强的抑制作用<sup>[12-14]</sup>。但有关雷公藤红素对鼻咽癌作用的研究国内外报道较少。

细胞凋亡是一种基因控制的细胞程序性自杀过程。在正常生理条件下,细胞增殖和凋亡处于平衡状态,一旦这种平衡被破坏,细胞凋亡失控,无限增殖的细胞不能分化成熟,即产生了肿瘤细胞;肿瘤细胞克隆性异常增殖就形成了肿瘤。目前临床上主要通过抑制肿瘤细胞的增殖和诱导其凋亡来实现抗肿瘤的目的。湛达河等<sup>[15]</sup>研究提示雷公藤红素对鼻咽高分化鳞癌 CNE1 细胞有明显的增殖抑制及放射增敏作用,其增殖抑制机制可能是通过上调细胞膜表面的 Fas 抗原表达进而激活凋亡相关蛋白 caspase,从而导致鼻咽癌细胞凋亡<sup>[16]</sup>。本研究通过细胞增殖实验筛选雷公藤红素药物的安全有效剂量,结果发现当雷公藤红素浓度大于 1.8  $\mu\text{mol/L}$  时细胞存活率明显下降,因此本研究选用 1.8  $\mu\text{mol/L}$  浓度的雷公藤红素作为后续研究的使用浓度。本研究用 1.8  $\mu\text{mol/L}$  的雷公藤红素处理鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞后,细胞的增殖能力受到较强的抑制,与国内对鼻咽高分化鳞癌 CNE1 细胞的研究结果<sup>[15]</sup>一致。同时雷公藤红素对 HNE1、CNE2 细胞的侵袭、转移、克隆形成、细胞黏附和分离能力均有显著的抑制作用。

EMT 是上皮细胞失去细胞极性并获得间充质表型,从而诱导细胞增殖、迁移的过程,是肿瘤发生增殖转移的关键机制之一<sup>[17]</sup>,其中 E-钙黏蛋白和波形蛋白是肿瘤 EMT 过程中最可靠的标志蛋白<sup>[18-19]</sup>。EMT 受多种因素的调控,经典刺激因素包括转化生长因子  $\beta$  家族 (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )<sup>[20-21]</sup>和低氧微环境<sup>[22]</sup>等,该过程涉及一系列信号通路的交互作用。以经典的

TGF- $\beta$ -Smad 信号通路为例,TGF- $\beta$  作用细胞后,细胞膜表面受体转化生长因子  $\beta$  受体 (transforming growth factor  $\beta$  receptor, T $\beta$ R) I 与 T $\beta$ R II 形成异源性二聚体,随后募集细胞内效应蛋白,引起 Smad2 和 Smad3 磷酸化,后者再与 Smad4 形成异源性三聚体,转位进入细胞核,导致上皮标记物 E-钙黏蛋白的转录抑制因子 Snail、Slug 等表达增加,降低 E-钙黏蛋白的表达水平,同时上调间质蛋白的表达<sup>[23]</sup>。肿瘤侵袭及转移是一个复杂且多步骤的过程:肿瘤细胞从原发灶脱离,首先黏附到细胞外基质表面,随后释放降解酶以降解细胞外基质,侵袭细胞外基质并向周围组织浸润生长;肿瘤细胞穿透细胞外基质后与局部毛细血管、毛细淋巴管接触,进而穿透血管壁,进入循环系统迁移至新的部位,最终形成转移灶<sup>[24]</sup>。

有研究表明,雷公藤红素能上调肿瘤细胞中的 E-钙黏蛋白的表达,且雷公藤红素的抗肿瘤活性与肿瘤细胞内 E-钙黏蛋白的表达密切相关<sup>[25]</sup>。这一调控作用主要依赖于雷公藤红素激活 p38 的作用。在 TGF- $\beta$  诱导的 EMT 模型中,雷公藤红素能抑制 Smad 信号通路,下调 Slug/Snail 的转录及蛋白表达水平,进而上调细胞内的 E-钙黏蛋白并干扰间质标志物的表达,抑制 EMT 的发生。雷公藤红素还能通过靶向  $\beta 1$  整合素通路抑制 Fibronectin (FN) 介导的细胞-细胞外基质黏附,进而抑制肿瘤细胞的运动迁移和侵袭能力,而 p38 的激活参与其中。本研究发现雷公藤红素处理可以导致 HNE1、CNE2 细胞中 E-钙黏蛋白、 $\beta$ -连环蛋白的表达升高,而 N-钙黏蛋白、波形蛋白的表达下降,表明雷公藤红素可抑制鼻咽癌细胞 EMT 的发生,并抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移能力。

综上所述,雷公藤红素可能通过调节人鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞的 EMT,从而抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡。本研究初步证实了雷公藤红素对人鼻咽癌 HNE1、CNE2 细胞具有一定杀伤作用及可能的分子机制,为进一步开展动物实验以及临床试验提供了数据支持。

## [参考文献]

- [1] TANG L L, CHEN W Q, XUE W Q, HE Y Q, ZHENG R S, ZENG Y X, et al. Global trends in incidence and mortality of nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Lett, 2016, 374: 22-30.

- [2] ZHANG L N, GAO Y H, LAN X W, TANG J, OUYANG P Y, XIE F Y. Effect of taxanes-based induction chemotherapy in locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: a large scale propensity-matched study[J]. *Oral Oncol*, 2015, 51: 950-956.
- [3] CHEN Y P, GUO R, LIU N, LIU X, MAO Y P, TANG L L, et al. Efficacy of the additional neoadjuvant chemotherapy to concurrent chemoradiotherapy for patients with locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: a bayesian network meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *J Cancer*, 2015, 6: 883-892.
- [4] 李文全,曹忠胜,钱伟. 姜黄素对人鼻咽癌 CNE2 细胞增殖及凋亡的影响[J]. *重庆医学*, 2017, 46: 4917-4919, 4922.
- [5] 李云川,徐艳微,黄丹,姜琳琳,李克森,季文樾. 白藜芦醇抑制喉癌 Hep-2 细胞系的生长[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2007, 21: 1129-1131.
- [6] ZHANG Y, GENG C, LIU X, LI M, GAO M, LIU X, et al. Celastrol ameliorates liver metabolic damage caused by a high-fat diet through Sirt1[J]. *Mol Metab*, 2017, 6: 138-147.
- [7] WANG Z, ZHAI Z, DU X. Celastrol inhibits migration and invasion through blocking the NF- $\kappa$ B pathway in ovarian cancer cells[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14: 819-824.
- [8] XU C, WANG X, GU C, ZHANG H, ZHANG R, DONG X, et al. Celastrol ameliorates Cd-induced neuronal apoptosis by targeting NOX2-derived ROS-dependent PP5-JNK signaling pathway[J]. *J Neurochem*, 2017, 141: 48-62.
- [9] 王莹,陈浩杰,曹帆帆,彭彬,张雪,张登海. 雷公藤红素对非小细胞肺癌细胞株 H1975 的增殖抑制及其相关机制研究[J]. *中国现代医生*, 2016, 54: 33-36.
- [10] 张彦,祝晨蓁. 雷公藤红素对体外人肝癌 HepG2 细胞增殖、凋亡的影响及机制研究[J]. *中国药房*, 2017, 28: 1342-1345.
- [11] 池小斌,吕立志,张小进,陈永标,江艺. 雷公藤红素抑制人胆囊癌 NOZ 细胞增殖及诱导凋亡的研究[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2016, 22: 340-343.
- [12] NABEKURA T, HIROI T, KAWASAKI T, UWAI Y. Effects of natural nuclear factor- $\kappa$ B inhibitors on anticancer drug efflux transporter human P-glycoprotein[J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 70: 140-145.
- [13] JI N, LI J, WEI Z, KONG F, JIN H, CHEN X, et al. Effect of celastrol on growth inhibition of prostate cancer cells through the regulation of hERG channel *in vitro*[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 308475. doi: 10.1155/2015/308475.
- [14] YOON M J, LEE A R, JEONG S A, KIM Y S, KIM J Y, KWON Y J, et al. Release of Ca<sup>2+</sup> from the endoplasmic reticulum and its subsequent influx into mitochondria trigger celastrol-induced paraptosis in cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2014, 5: 6816-6831.
- [15] 湛达河,胡建兵,达世俭,翁洁. 雷公藤红素对鼻咽癌 CNE-1 细胞增殖抑制和放射增敏作用的初步研究[J]. *癌症进展*, 2010, 8: 491-499.
- [16] YAO S Q, HE Q C, YUAN J X, CHEN J, CHEN G, LU Y, et al. Role of Fas/FasL pathway-mediated alveolar macrophages releasing inflammatory cytokines in human silicosis[J]. *Biomed Environ Sci*, 2013, 26: 930-933.
- [17] HU Q P, KUANG J Y, YANG Q K, BIAN X W, YU S C. Beyond a tumor suppressor: soluble E-cadherin promotes the progression of cancer[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138: 2804-2812.
- [18] KIM K H, KIM L, CHOI S J, HAN J Y, KIM J M, CHU Y C, et al. The clinicopathological significance of epithelial mesenchymal transition associated protein expression in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Korean J Pathol*, 2014, 48: 263-269.
- [19] HU Z, QIAN G, MÜLLER S, XU J, SABA N F, KIM S, et al. Biomarker quantification by multiplexed quantum dot technology for predicting lymph node metastasis and prognosis in head and neck cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 44676-44685.
- [20] HUANG S, HÖLZEL M, KNIJNENBURG T, SCHLICKER A, ROEPMAN P, MCDERMOTT U, et al. MED12 controls the response to multiple cancer drugs through regulation of TGF- $\beta$  receptor signaling[J]. *Cell*, 2012, 151: 937-950.
- [21] WENDT M K, ALLINGTON T M, SCHIEMANN W P. Mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition by TGF- $\beta$ [J]. *Future Oncol*, 2009, 5: 1145-1168.
- [22] SCHIETKE R, WARNECKE C, WACKER I, SCHÖDEL J, MOLE D R, CAMPEAN V, et al. The lysyl oxidases LOX and LOXL2 are necessary and sufficient to repress E-cadherin in hypoxia: insights into cellular transformation processes mediated by HIF-1[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 6658-6669.
- [23] XU J, LAMOUILLE S, DERYNCK R. TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition[J]. *Cell Res*, 2009, 19: 156-172.
- [24] LIOTTA L A, STEEG P S, STETLER-STEVENSON W G. Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation[J]. *Cell*, 1991, 64: 327-336.
- [25] ZHENG L, FU Y, ZHUANG L, GAI R, MA J, LOU J, et al. Simultaneous NF- $\kappa$ B inhibition and E-cadherin upregulation mediate mutually synergistic anticancer activity of celastrol and SAHA *in vitro* and *in vivo*[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135: 1721-1732.