

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.08.0963

盐屋霉素 A 下调叉头框蛋白 M1 表达可抑制喉癌细胞恶性生物学行为

江黎珠, 刘亚男, 文韬宇, 陈鸿雁*

重庆医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科, 重庆 400016

[摘要] **目的** 探讨盐屋霉素 A 下调叉头框蛋白 M1(forkhead box protein M1, FoxM1)对喉癌细胞增殖、凋亡、侵袭能力等恶性生物学行为的影响。**方法** 取处于对数生长期的 Hep-2 细胞,使用不同浓度盐屋霉素 A 进行处理,对照组不加盐屋霉素 A。分别在培养 24、48、72 h 后通过 CCK-8 法检测细胞活力;24、48 h 后通过 CFSE 染色法检测细胞增殖能力;48 h 后 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡情况,Transwell 小室法检测细胞侵袭能力。蛋白质印迹法检测 FoxM1、Ki-67、cleaved caspase-3 蛋白的表达变化,ELISA 法检测细胞上清液中基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 的表达变化。**结果** (1) 盐屋霉素 A 作用后 FoxM1 蛋白的表达量降低($P<0.05$)。CCK-8 检测结果显示不同浓度盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞活力均有抑制作用,并随着盐屋霉素 A 浓度的增加和作用时间的延长,Hep-2 的细胞活力逐渐下降,呈现浓度和时间依赖性。(2) 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 处理后 Hep-2 细胞的增殖能力均降低($P<0.05$),并呈现浓度依赖性;同时 Ki-67 蛋白的表达下调。(3) 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后,Hep-2 细胞的凋亡率(10.60%,27.90%)均高于对照组(4.91%, $P<0.05$),并呈药物浓度依赖性;同时 cleaved caspase-3 蛋白的表达上调。(4) 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后 Hep-2 细胞的侵袭能力较对照组均下降($P<0.05$),并呈药物浓度依赖性;同时 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达下调。**结论** 盐屋霉素 A 下调 FoxM1 可抑制喉癌细胞的增殖、侵袭等生物学行为。

[关键词] 喉肿瘤;盐屋霉素 A;叉头框蛋白 M1;细胞增殖;肿瘤侵袭

[中图分类号] R 739.65 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2016)08-0963-06

Down-regulation of forkhead box protein M1 by siomycin A can inhibit the malignant behaviors of laryngeal carcinoma cells

JIANG Li-zhu, LIU Ya-nan, WEN Tao-yu, CHEN Hong-yan*

Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of siomycin A-induced forkhead box protein M1(FoxM1) down-regulation on the malignant behaviors (proliferation, apoptosis, and invasive ability) of laryngeal carcinoma cells. **Methods** The experiment was performed with Hep-2 cells of the logarithmic growth phase. The experimental groups were treated with different doses of siomycin A, and the control group was treated without siomycin A. CCK-8 test was used to detect the viability of Hep-2 cells after treatment for 24, 48, and 72 h. CFSE staining was used to examine the proliferation ability of Hep-2 cells after treatment for 24 and 48 h. Annexin V-FITC/PI dual staining was used to observe the siomycin A-induced apoptosis and Transwell test was used to examine the invasion ability of Hep-2 cells after treatment for 48 h. The expressions of FoxM1, Ki-67 and cleaved caspase-3 protein in Hep-2 cells were detected by Western blotting analysis. The supernatant levels of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 were examined by ELISA assay. **Results** (1) Treatment with siomycin A significantly decreased the expression of FoxM1 protein compared with the control group ($P<0.05$). CCK-8 test found that siomycin A of different concentrations suppressed the viability of Hep-2 cells in a time- and dose-dependent manner. (2) Siomycin A at 1.3 and 1.5 $\mu\text{mol/L}$ significantly suppressed the proliferation of Hep-2 cells in a dose-dependent manner ($P<0.05$), accompanied by down-regulated expression of Ki-67. (3) Siomycin A at 1.3 and 1.5 $\mu\text{mol/L}$ also induced greater apoptosis of Hep-2 cells (10.60%, 27.90%) in a dose-dependent manner compared with control group (4.91%, $P<0.05$), accompanied by up-regulated cleaved caspase-3 expression. (4) Siomycin A at 1.3 and 1.5 $\mu\text{mol/L}$ suppressed the invasive ability of Hep-2 cells in a dose-

[收稿日期] 2015-12-16 **[接受日期]** 2016-06-12

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81272980),国家临床重点专科建设项目[卫办医政函(2012)649号]. Supported by National Natural Science Foundation of China (81272980) and National Key Clinical Specialties Construction Program of China (2012-649).

[作者简介] 江黎珠,博士,住院医师. E-mail: pearl1984@sina.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 023-89012758, E-mail: chenhongyan1963@hotmail.com

dependent manner compared with control group ($P < 0.05$), accompanied by down-regulated expression of MMP-2 and MMP-9. **Conclusion** Down-regulation of FoxM1 by siomycin A can inhibit the proliferation and invasive ability of laryngeal carcinoma cells.

[**Key words**] laryngeal neoplasmas; siomycin A; forkhead box protein M1; cell proliferation; neoplasm invasiveness
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(8): 963-968]

喉癌是常见的头颈部恶性肿瘤,其发病率逐年攀升。尽管近年来喉癌手术技术已有明显提高,放疗以及化疗新药物的不良反应也更小,但是术后复发喉癌的死亡率并未见明显降低^[1]。因此,在现有治疗方式的基础上寻找新的治疗方法及药物尤为重要。

叉头框蛋白 M1 (forkhead box protein M1, FoxM1) 是 Fox 转录因子家族的一员,其在肝癌^[2]、乳腺癌^[3]、肺癌^[4-6]、胃癌^[7]、宫颈癌^[8] 和卵巢癌^[9] 等多种肿瘤中呈现高表达,参与肿瘤的发生和发展。盐屋霉素 A 是一种噻唑类抗生素,可抑制 FoxM1 的转录活性和下调其表达,从而抑制如肝癌细胞、白血病细胞等肿瘤细胞的增殖,促进如骨肉瘤细胞等肿瘤细胞的凋亡^[10]。本课题组前期研究发现 FoxM1 在喉癌组织中高表达,而在正常喉鳞状上皮组织中低表达,表明 FoxM1 在喉癌的发生、发展中可能具有重要作用^[11]。目前对于盐屋霉素 A 下调 FoxM1 对喉癌细胞增殖、凋亡、侵袭的影响尚未见研究报道,本研究将探讨盐屋霉素 A 下调 FoxM1 表达对喉癌细胞恶性生物学行为的影响。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂 人喉癌细胞株 Hep-2 购于中国典型培养物保藏中心。盐屋霉素 A、Matrigel 基质胶购于美国 Sigma 公司。Transwell 小室购于美国 BD 公司。CFSE 试剂盒购于东仁化学科技(上海)有限公司。FoxM1 兔抗人多克隆抗体购于美国 Abgent 公司。Ki-67、cleaved caspase-3 兔抗人多克隆抗体购于美国 Immunoway 公司。GAPDH 兔抗人多克隆抗体购于杭州华安生物技术有限公司。基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 ELISA 试剂盒购于武汉基因美生物科技有限公司。

1.2 CCK-8 法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞活力的影响 Hep-2 细胞置于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中,37℃、5% CO₂ 孵箱内培养至对数生长期,用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,以 5×10⁴/mL 的密度将细胞接种于 96 孔板中,每孔 100 μL。然后每孔分别加入含不同浓度盐屋霉素 A 的 RPMI 1640 培养液 10 μL,使盐屋霉素 A 的终浓度分别为 0.25、0.5、1、1.3、1.5、2 μmol/L,每组设 3 个复孔。

同时设阴性对照组和空白对照组,阴性对照组只加培养液和细胞,空白对照组只加培养液。将培养板置入 37℃、5% CO₂ 培养箱中继续培养。在培养 24、48、72 h 时分别取出培养板,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,37℃ 继续培养 2 h 后终止反应。酶标仪(型号 680,美国 Bio-Rad 公司)测定 450 nm 波长下各孔的光密度(D)值。实验重复 3 次。按公式计算细胞活力:细胞活力(%) = (D_{实验组} - D_{空白组}) / (D_{对照组} - D_{空白组}) × 100%

1.3 CFSE 法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞增殖的影响 当 Hep-2 细胞呈对数生长时,用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,以 3×10⁵/孔的密度将细胞接种于 6 孔板中。待细胞生长过夜后弃培养液,每孔分别加入含盐屋霉素 A 的 RPMI 1640 培养液,使盐屋霉素 A 的终浓度分别为 1.3、1.5 μmol/L,对照组不加盐屋霉素 A。继续培养细胞,在 24、48 h 时分别取出培养板,收集细胞制备成细胞悬液,PBS 调整细胞密度至约 10⁶/mL。取 1 mL 细胞悬液于试管中,加入适量 CFSE 工作液(CFSE 终浓度为 5 μmol/L),轻轻搅拌均匀。37℃ 培养箱中培养 15~30 min。离心后去上清,加入 2 mL PBS,再离心后去上清,重复操作一次。沉淀加入 1 mL 的 PBS 制成细胞悬液,用流式细胞仪(美国 BD 公司)检测各孔荧光强度。

1.4 Annexin V-FITC/PI 双染法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞凋亡的影响 当 Hep-2 细胞呈对数生长时,用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,以 3×10⁵/孔的密度将细胞接种于 6 孔板中。待细胞生长过夜后弃培养液,每孔分别加入含盐屋霉素 A 的 RPMI 1640 培养液,使盐屋霉素 A 的终浓度分别为 1.3、1.5 μmol/L,对照组不加盐屋霉素 A。继续培养细胞,在 48 h 时取出培养板收集细胞,制备成细胞悬液;离心后去上清,加入 2 mL PBS,再离心后去上清。用预冷 1×PBS (4℃) 重悬细胞一次,2 000×g 离心 5~10 min,洗涤细胞。加入 300 μL 的 1×结合缓冲液悬浮细胞。加入 5 μL 的 Annexin V-FITC 混匀后,避光,室温孵育 15 min。上机前 5 min 再加入 5 μL 的 PI 染色。上机前补加 200 μL 的 1×结合缓冲液,最后用流式细胞仪检测。

1.5 Transwell 小室法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2

细胞侵袭能力的影响 在 24 孔板中放入 Transwell 小室, 小室滤膜上平铺一层 RPMI 1640 基底膜基质胶(1:5 稀释)40 μL , 经紫外线消毒过夜后以无血清 RPMI 1640 培养液湿润上室。上室种入 400 μL 细胞密度为 2×10^4 单细胞悬液, 实验组细胞分别为 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用 48 h 后, 对照组不含盐屋霉素 A; 下室加入 600 μL 含 20% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液。每组设 3 个复孔, 培养 24 h 后取出所有小室。用棉签小心擦除上室未穿膜的细胞与基质胶, 多聚甲醛固定 15 min, 苏木精染色 10 min。自来水洗 10 min, 蒸馏水洗 10 s, 剥离滤膜后正面朝下固定于载玻片上, 显微镜下观察并计数穿过室膜的细胞。

1.6 蛋白质印迹法检测 FoxM1、Ki-67、cleaved caspase-3 蛋白的表达 Hep-2 细胞经 0、1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用 48 h 后提取总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度后按每孔 40 μg 上样, 行 SDS-PAGE。湿法转膜将蛋白转印至 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉(溶于 $1 \times \text{TBST}$) 室温封闭 1 h, 分别加入 FoxM1(1:2 000)、Ki-67(1:2 000)、cleaved caspase-3(1:2 000)、GAPDH(1:4 000) 一抗孵育。4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, TBST 洗 3 次, 每次 5 min。分别加入相应二抗室温孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 每次 5 min。最后加入 ECL 发光液孵育, 暗室发光, 用凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)检测各条带灰度值并定量。

1.7 ELISA 法检测 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达 取 Hep-2 细胞随机分为实验组与对照组, 待细胞融合度为 50% 时实验组加入 1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A, 对照组不加盐屋霉素 A, 孵育 48 h 后收集细胞上清, 按照 MMP-2、MMP-9 ELISA 试剂盒操作说明检测细胞上清中 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件包对数据进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞 FoxM1 表达水平的影响 采用蛋白质印迹法检测不同浓度盐屋霉素 A 作用 Hep-2 细胞 48 h 后对细胞 FoxM1 蛋白表达的影响。结果(图 1)显示, 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后 FoxM1 蛋白的表达量(0.04 ± 0.01 、 0.04 ± 0.02) 低于 0 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后 FoxM1 的表达量(0.46 ± 0.07), 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

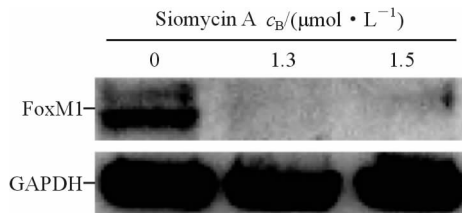


图 1 不同浓度盐屋霉素 A 作用后 Hep-2 细胞 FoxM1 蛋白的表达水平

Fig 1 Protein expression of FoxM1 in Hep-2 cells after treatment with different doses of siomycin A

FoxM1: Forkhead box protein M1

2.2 盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞活力的影响 采用 CCK-8 法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞活力的影响, 结果(图 2)发现, 浓度为 0.25~2 $\mu\text{mol/L}$ 的盐屋霉素 A 作用 72 h 后, 均能抑制 Hep-2 细胞的活力($P < 0.05$), 而浓度为 0.5~2 $\mu\text{mol/L}$ 的盐屋霉素 A 作用 48 h 后即可抑制 Hep-2 细胞的活力($P < 0.05$)。此外, 随着作用时间的延长, 同一浓度盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞活力的抑制作用更强; 而当作用时间相同时, 随着盐屋霉素 A 浓度的增加其对细胞活力的抑制作用也更强, 表明盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞活力的影响呈现浓度和时间依赖性。

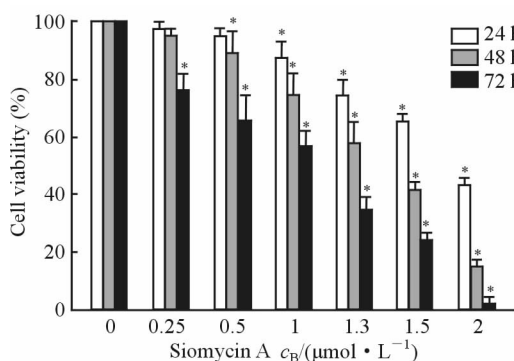


图 2 不同浓度盐屋霉素 A 作用后 Hep-2 细胞的活力
Fig 2 Viability of Hep-2 cells after treatment with different doses of siomycin A

* $P < 0.05$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ siomycin A group at same time. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

2.3 盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞增殖的影响 采用 CFSE 染色检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞增殖的影响, 结果(图 3A)显示, 与对照组相比, 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 处理组 Hep-2 细胞荧光强度的衰减程度均降低($P < 0.05$), 并呈现浓度依赖性。表明盐屋霉素 A 可以抑制 Hep-2 细胞的增殖分裂。进一步检测盐屋霉素 A 作用 Hep-2 细胞后增殖标志性蛋白 Ki-67 的表达变化。结果(图 3B)发现, 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后 Ki-67 蛋白的表达量

($0.06 \pm 0.02, 0.05 \pm 0.04$)显著低于 $0 \mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后的表达量(1.08 ± 0.21),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。提示盐屋霉素 A 可能通过下调 Ki-67抑制 Hep-2 细胞增殖。

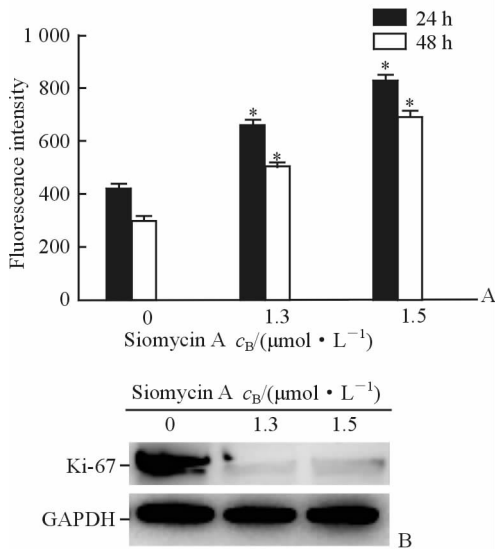


图3 盐屋霉素 A 作用后 Hep-2 细胞的增殖能力和 Ki-67 蛋白的表达变化

Fig 3 Proliferation ability of Hep-2 cells and protein expression of Ki-67 after treatment with siomycin A

A; Hep-2 cells were treated with RPMI 1640 or various concentrations of siomycin A for 24 and 48 h, and stained with CFSE. Siomycin A inhibited the proliferation of Hep-2 cells with higher fluorescence intensity. * $P < 0.05$ vs $0 \mu\text{mol/L}$ siomycin A group at same time. $n = 3, \bar{x} \pm s$. B; Siomycin A inhibited the expression of Ki-67 in Hep-2 cells

2.4 盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞凋亡的影响 采用 Annexin V-FITC/PI 双染法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞凋亡的影响。结果(图 4A)显示(为更直接体现药物对凋亡的影响,在此仅列出其中一次的凋亡结果),经 1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用 48 h 后, Hep-2 细胞的凋亡率分别为 10.60% 和 27.90%,均高于对照组(4.91%);且盐屋霉素 A 作用呈现药物浓度依赖性。进一步检测凋亡相关蛋白 cleaved caspase-3 的表达变化,结果(图 4B)发现,1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 作用后 cleaved caspase-3 蛋白的表达量($0.44 \pm 0.12, 0.48 \pm 0.18$)显著高于对照组(0.12 ± 0.05),差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞侵袭能力的影响 采用 Transwell 小室法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞侵袭能力的影响,显微镜下观察发现,1.3、1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 处理组 Hep-2 细胞的侵袭能力较对照组均下降($P < 0.05$);且随着盐屋霉素 A 浓度的增加,穿膜细胞数逐渐下降(图 5A)。实验

结果提示盐屋霉素 A 可能通过下调 FoxM1 表达抑制喉癌 Hep-2 细胞侵袭能力。进一步检测侵袭相关蛋白 MMP-2、MMP-9 的表达变化,结果(图 5B)显示,1.5 $\mu\text{mol/L}$ 盐屋霉素 A 处理后 MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达水平均低于对照组($P < 0.05$)。

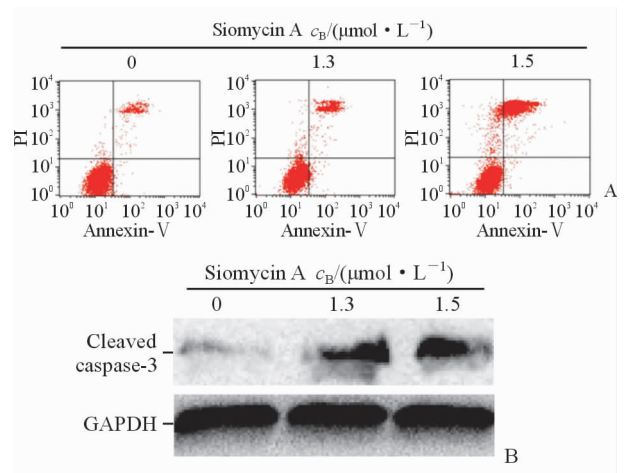


图4 盐屋霉素 A 作用后 Hep-2 细胞的凋亡情况和 cleaved caspase-3 蛋白的表达变化

Fig 4 Apoptosis of Hep-2 cells and the protein expression of cleaved caspase-3 after treatment with siomycin A A: Hep-2 cells were treated with various doses of siomycin A for 48 h and stained with fluorescein-conjugated annexin V and propidium iodide (PI) and analyzed by flow cytometry; B; Siomycin A-induced activation of cleaved caspase-3

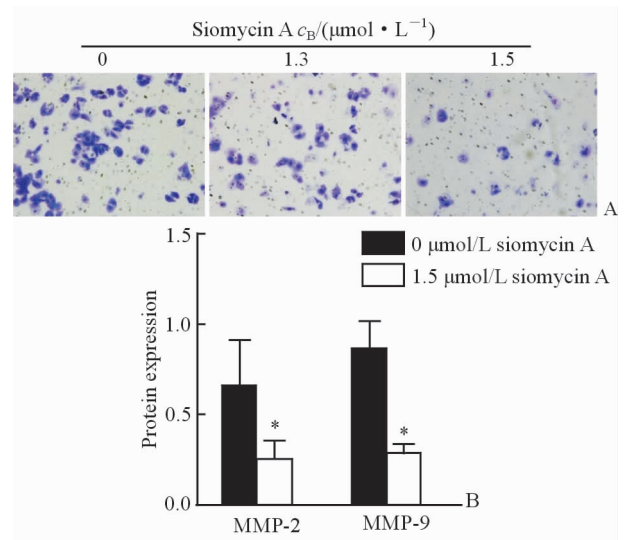


图5 盐屋霉素 A 作用后 Hep-2 细胞的侵袭能力和 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达变化

Fig 5 Invasion ability of Hep-2 cells and protein expression of MMP-2 and MMP-9 after treatment with siomycin A

A; Siomycin A inhibited the invasion activity of Hep-2 cells. Original magnification: $\times 200$. B; Siomycin A down-regulated the protein expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9. * $P < 0.05$ vs $0 \mu\text{mol/L}$ siomycin A group. $n = 3, \bar{x} \pm s$

3 讨论

FoxM1 在细胞周期进程中起着重要调控作用,在增殖和凋亡受抑制的细胞中表达增加,FoxM1 功能的缺失可使细胞分化受到抑制,最终导致分化不良细胞的恶性转变^[12]。FoxM1 在多种肿瘤中高表达,近年来越来越多研究发现 FoxM1 基因是治疗肿瘤的极具潜力的重要靶点,其抑制剂盐屋霉素 A 有望成为新型肿瘤治疗药物^[13]。本课题组前期研究发现 FoxM1 在人喉癌组织中高表达,而在正常喉鳞状上皮组织中低表达,对喉癌的发生和发展中起着重要作用^[11]。本研究进一步探讨了盐屋霉素 A 下调 FoxM1 后对喉癌细胞生物学行为的影响。

Bhat 等^[10]研究发现盐屋霉素 A 可显著抑制白血病细胞和肝癌细胞增殖。本研究通过 CFSE 法检测盐屋霉素 A 对 Hep-2 细胞增殖的影响,结果同样发现盐屋霉素 A 可抑制喉癌 Hep-2 细胞增殖,作用呈浓度依赖性。且增殖标志性蛋白 Ki-67 在经盐屋霉素 A 作用后表达量也下调,表明盐屋霉素 A 下调 FoxM1 表达可抑制喉癌 Hep-2 细胞增殖。

有研究发现,盐屋霉素 A 可促进白血病细胞和肝癌细胞凋亡^[10]。而本研究同样发现盐屋霉素 A 促进了 Hep-2 细胞的凋亡,作用呈现浓度依赖性。此外,经盐屋霉素 A 作用后,凋亡标志蛋白 caspase-3 激活,表明盐屋霉素 A 下调 FoxM1 后可促进喉癌细胞凋亡,其机制可能是通过激活 caspase-3 发挥作用。

Jiang 等^[14]研究显示,下调 FoxM1 表达能抑制鼻咽癌细胞侵袭转移,其机制可能是通过下调 MMP-2、MMP-9 表达。也有研究发现 FoxM1 可上调骨肉瘤细胞中 MMP-2、MMP-9 表达,FoxM1 可直接激活 MMP-2 启动子,通过小干扰 RNA 下调 FoxM1 可抑制 MMP-2 启动子的激活^[15-16]。本研究发现盐屋霉素 A 作用 Hep-2 细胞后穿膜细胞数明显减少,作用并呈现浓度依赖性,提示盐屋霉素 A 可能抑制喉癌 Hep-2 细胞的侵袭能力。本实验也检测了 Hep-2 细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达变化,发现经盐屋霉素 A 作用后 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达水平均下降。表明 FoxM1 可直接或间接作用于 MMP-2 和 MMP-9,推测盐屋霉素 A 下调 FoxM1 可能也直接下调了 MMP-2 和间接下调了

MMP-9,从而抑制了 Hep-2 的侵袭转移能力。

综上所述,本研究发现盐屋霉素 A 下调 FoxM1 可抑制喉癌 Hep-2 细胞增殖,促进其凋亡,抑制其侵袭能力。但值得一提的是,目前国外有文献报道,盐屋霉素 A 不仅通过下调 FoxM1,也部分通过下调母系胚胎亮氨酸拉链蛋白激酶(MELK)蛋白的表达来抑制脑肿瘤干细胞的增殖^[17]。因此,盐屋霉素 A 除主要通过下调 FoxM1 表达,可能也部分通过调控其他蛋白来达到抑制喉癌恶性生物学行为的目的,有待进一步深入探讨。

[参考文献]

- [1] 崔朝阳. 喉癌及复发癌微卫星杂合性丢失的研究[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- [2] XIA L, HUANG W, TIAN D, ZHU H, ZHANG Y, HU H, et al. Upregulated FoxM1 expression induced by hepatitis B virus X protein promotes tumor metastasis and indicates poor prognosis in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2012, 57: 600-612.
- [3] PARK Y Y, JUNG S Y, JENNINGS N B, RODRIGUEZ-AGUAYO C, PENG G, LEE S R, et al. FOXM1 mediates Dox resistance in breast cancer by enhancing DNA repair[J]. Carcinogenesis, 2012, 33: 1843-1853.
- [4] GUO X, LIU A, HUA H, LU H, ZHANG D, LIN Y, et al. Siomycin A induces apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 cells by suppressing the expression of FoxM1[J]. Nat Prod Commun, 2015, 10: 1603-1606.
- [5] KONG F F, QU Z Q, YUAN H H, WANG J Y, ZHAO M, GUO Y H, et al. Overexpression of FOXM1 is associated with EMT and is a predictor of poor prognosis in non-small cell lung cancer[J]. Oncol Rep, 2014, 31: 2660-2668.
- [6] LIU Y, CHEN X, GU Y, ZHU L, QIAN Y, PEI D, et al. FOXM1 overexpression is associated with cisplatin resistance in non-small cell lung cancer and mediates sensitivity to cisplatin in A549 cells via the JNK/mitochondrial pathway[J]. Neoplasma, 2015, 62: 61-71.
- [7] DIBB M, HAN N, CHOUDHURY J, HAYES S, VALENTINE H, WEST C, et al. FOXM1 and polo-like kinase 1 are co-ordinately overexpressed in patients with gastric adenocarcinomas[J]. BMC Res Notes,

- 2015, 8: 676.
- [8] CHEN H, ZOU Y, YANG H, WANG J, PAN H. Downregulation of FoxM1 inhibits proliferation, invasion and angiogenesis of HeLa cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *Int J Oncol*, 2014, 45: 2355-2364.
- [9] ZHAO F, SIU M K, JIANG L, TAM K F, NGAN H Y, LE X F, et al. Overexpression of forkhead box protein M1 (FOX M1) in ovarian cancer correlates with poor patient survival and contributes to paclitaxel resistance[J]. *PLoS One*, 2014, 9: e113478.
- [10] BHAT U G, HALASI M, GARTEL A L. Thiazole antibiotics target FoxM1 and induce apoptosis in human cancer cells[J]. *PLoS One*, 2009, 4: e5592.
- [11] JIANG L Z, WANG P, DENG B, HUANG C, TANG W X, LU H Y, et al. Overexpression of forkhead box M1 transcription factor and nuclear factor- κ B in laryngeal squamous cell carcinoma: a potential indicator for poor prognosis[J]. *Hum Pathol*, 2011, 42: 1185-1193.
- [12] GARTEL A L. Suppression of the oncogenic transcription factor FOX M1 by proteasome inhibitors [J]. *Scientifica (Cairo)*, 2014, 2014: 596528.
- [13] ADAMI G R, YE H. Future roles for Foxm1 inhibitors in cancer treatments [J]. *Future Oncol*, 2007, 3: 1-3.
- [14] JIANG L, WANG P, CHEN H. Overexpression of FOX M1 is associated with metastases of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Ups J Med Sci*, 2014, 119: 324-332.
- [15] DAI B, KANG S H, GONG W, LIU M, ALDAPE K D, SAWAYA R, et al. Aberrant FoxM1B expression increases matrix metalloproteinase-2 transcription and enhances the invasion of glioma cells[J]. *Oncogene*, 2007, 26: 6212-6219.
- [16] WANG I C, CHEN Y J, HUGHES D E, ACKERSON T, MAJOR M L, KALINICHENKO V V, et al. FoxM1 regulates transcription of JNK1 to promote the G₁/S transition and tumor cell invasiveness[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 20770-20778.
- [17] NAKANO I, JOSHI K, VISNYEI K, HU B, WATANABE M, LAM D, et al. Siomycin A targets brain tumor stem cells partially through a MELK-mediated pathway[J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13: 622-534.

[本文编辑] 曾奇峰