

引用本文:易礼俊,徐其银,黄君.吴茱萸碱对人甲状腺癌细胞增殖和凋亡的影响及其机制[J].安徽医药,2021,25(12):2369-2372.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.12.009.



◇ 药学研究 ◇

吴茱萸碱对人甲状腺癌细胞增殖和凋亡的影响及其机制

易礼俊,徐其银,黄君

作者单位:宜宾市第一人民医院普外科,四川 宜宾 644000

通信作者:黄君,男,主任医师,研究方向为胃肠甲状腺外科,Email: 253262479@qq.com

摘要: 目的 探讨吴茱萸碱对人甲状腺癌 TPC-1 细胞体外增殖和凋亡的影响及其机制。方法 2019 年 5—8 月采用 MTT 法检测不同浓度吴茱萸碱在 24、48 和 72 h 对 TPC-1 细胞生存活性的影响;采用膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)双染流式细胞仪分析检测细胞凋亡率;实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法检测不同浓度的吴茱萸碱诱导 TPC-1 细胞 48 h 后,细胞中存活蛋白、胱天蛋白酶-3(caspase-3)和叉头框蛋白 3(Foxp3)mRNA 和蛋白的表达情况。结果 TPC-1 细胞经吴茱萸碱处理后,细胞增殖能力明显下降($P<0.05$);Annexin V-FITC/PI 双染法检测结果显示,在 1、3、6、8 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱作用下,其凋亡率为(7.93±1.02)%、(12.34±2.52)%、(18.92±3.14)%、(23.12±4.25)%,对照组为(5.61±0.83)%,凋亡率随着吴茱萸碱浓度增加而增加($F=22.551, P<0.001$)。同时,吴茱萸碱可明显下调 TPC-1 细胞内存活蛋白、Foxp3 蛋白的表达($F=107.406, P<0.001; F=51.725, P<0.001$),上调 caspase-3 蛋白的表达($F=79.895, P<0.001$)。结论 吴茱萸碱能够抑制甲状腺癌细胞的增殖并诱导其凋亡,其机制可能与其抑制存活蛋白、Foxp3,上调 caspase-3 的表达有关。

关键词: 甲状腺肿瘤; 吴茱萸属; 细胞增殖; 细胞凋亡; 存活蛋白; 胱天蛋白酶-3; 叉头框蛋白 3

Effects of evodiamine on proliferation and apoptosis of human thyroid cancer cells and its mechanism

YI Lijun, XU Qiyin, HUANG Jun

Author Affiliation: General Surgery Department, Yibin First People's Hospital, Yibin, Sichuan 644000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of evodiamine on the proliferation and apoptosis of human thyroid cancer cell line TPC-1 cell in vitro and its mechanism. **Methods** The effects of different concentrations of evodiamine on the survival activity of TPC-1 cells at 24, 48 and 72 hours were detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay from May to August 2019. The apoptosis rate was detected by Annexin V-FITC/PI double staining flow cytometry. Quantitative reverse transcription PCR and Western blotting were used to detect the mRNA and protein expressions of survivin, caspase-3 and forkhead box protein 3 (Foxp3) in TPC-1 cells induced by different concentrations of evodiamine for 48 h. **Results** After treatment with evodiamine, the proliferation of TPC-1 cells decreased significantly ($P<0.05$). The result of Annexin V-FITC/PI double staining showed that the cell apoptosis rates were (7.93±1.02)%, (12.34±2.52)%, (18.92±3.14)%, and (23.12±4.25)% in evodiamine with 1 $\mu\text{mol/L}$, 3 $\mu\text{mol/L}$, 6 $\mu\text{mol/L}$ and 8 $\mu\text{mol/L}$, and (5.61±0.83)% in the control group. The apoptosis rate increased with the increase of evodiamine concentration ($F=22.551, P<0.001$). Meanwhile, evodiamine could significantly down-regulate the expression of survivin and Foxp3 protein in TPC-1 cells ($F=107.406, P<0.001; F=51.725, P<0.001$), and up-regulate the expression of caspase-3 protein ($F=79.895, P<0.001$). **Conclusions** Evodiamine can inhibit the proliferation and induce apoptosis of thyroid cancer cells. Its mechanism may be related to inhibiting survivin, Foxp3 and up-regulating the expression of caspase-3.

Key words: Thyroid neoplasms; Evodia; Cell proliferation; Apoptosis; Survivin; Caspase-3; Forkhead box protein 3

甲状腺癌已成为我国发病率上升最快的恶性肿瘤之一,属于常见的内分泌系统疾病。依据甲状腺癌的病理组织特征可分为滤泡状甲状腺癌、乳头状甲状腺癌、甲状腺未分化癌、甲状腺髓样癌^[1]。乳头状甲状腺癌占有甲状腺癌病理类型的 90% 左右,且具有较高的复发率,造成不良预后。随着中医药的不断发展,以多种形式出现的中医药为甲状腺癌的临床诊疗提供了新的策略和方法,具有良好

的应用前景^[2]。

吴茱萸碱(Evodiamine),分子式为 $C_{19}H_{17}N_3O$,是从芸香科植物吴茱萸中提取出的一种吲哚喹啉生物碱,呈白色或淡黄色粉末。最近研究结果表明:吴茱萸碱具有抗肿瘤活性,对人乳腺癌细胞系 MCF-7^[3]、卵巢癌细胞系 A2780^[4]、结肠癌细胞系 HCT-116^[5]、人胃癌细胞系 SGC-7901^[6]、人胰腺癌细胞系 SW1990^[7]、人胶质瘤细胞系 U251^[8]等多种肿瘤

细胞系都具有抑制作用。吴茱萸碱对人甲状腺癌是否也具有抑制作用,还值得进一步探究。本研究于2019年5—8月探讨吴茱萸碱对甲状腺癌细胞TPC-1增殖和凋亡的影响,以期为临床治疗甲状腺癌提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

1.1.1 细胞与试剂 人甲状腺癌TPC-1细胞系,购自南京科佰生物科技有限公司;吴茱萸碱购自南京道斯夫生物科技有限公司;DMEM培养基、胎牛血清、胰酶购自美国Gibco公司;GoTaq® qPCR Master Mix购自美国Promega公司;膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)凋亡检测试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司;RNAiso™ plus、PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser均购自宝生物工程(大连)有限公司;噻唑蓝(MTT)细胞增殖检测试剂盒、存活蛋白兔单克隆抗体、胱天蛋白酶-3(caspase-3)兔单克隆抗体、叉头框蛋白3(Foxp3)兔单克隆抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)兔单克隆抗体均购自abcam公司;其他的常规化学试剂均购自上海生工生物公司。

1.1.2 仪器 MCO-5AC型二氧化碳培养箱购自日本三洋;DFM-60倒置荧光显微镜购自上海光学仪器厂;SJ-CJ-1FD超净工作台购自苏洁医疗器械(苏州)有限公司;CytoFLEX流式细胞仪购自美国贝克曼库尔特公司;ABI 7500型定量PCR仪购自美国应用生物系统公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞株及培养 将甲状腺癌TPC-1细胞系,接种于含10%胎牛血清、链霉素(0.1 g/L)和青霉素(100 U/mL)的DMEM培养液中,放置37℃、5%二氧化碳的培养箱中常规培养。

1.2.2 MTT法检测甲状腺癌TPC-1细胞的增殖 取适宜细胞接种96孔板,继续培养,分组处理(实验组分别加入终浓度为1、3、6、8 μmol/L的吴茱萸碱;对照组:不加任何药物),每组设置3个复孔,分别作用24、48、72 h,每孔加入MTT溶液10 μL,继续培养4 h,弃上清,加二甲基亚砜(DMSO),使结晶物充分溶解,酶联免疫检测仪于波长为490 nm处检测各孔吸光度,根据结果计算各组细胞存活率。存活率(%)=(实验组吸光度-本底组吸光度)/(对照组吸光度-本底组吸光度)×100%

1.2.3 Annexin V-FITC/PI双染法检测凋亡率 取对数生长期的TPC-1细胞接种于6孔培养板,培养12 h后,分别加入0、1、3、6、8 μmol/L的吴茱萸碱。继续培养48 h后,制成单细胞悬液并计数。取10万

重悬的细胞,离心弃上清,加入195 μL Annexin V-FITC结合液轻轻重悬细胞,再加入5 μL Annexin V-FITC,轻轻混匀,室温下避光孵育10 min。之后,1 000 r/min离心5 min,弃上清,加入190 μL Annexin V-FITC结合液轻轻重悬细胞,再加入10 μL PI染色液,轻轻混匀,冰浴避光放置。采用流式细胞仪检测,Annexin V-FITC为绿色荧光,PI为红色荧光。

1.2.4 实时荧光定量PCR检测检测存活蛋白、caspase-3和Foxp3的mRNA表达 将对数生长期的TPC-1细胞按5×10⁵个/孔的密度均匀铺在6孔板中,加入不同浓度(0、3、8 μmol/L)吴茱萸碱细胞培养液作用48 h后,用RNAiso™ plus提取总RNA,再参照逆转录试剂盒PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser将提取的总RNA逆转录成互补DNA(cDNA),采用实时荧光定量PCR检测存活蛋白、caspase-3和Foxp3的表达情况,以GAPDH和人内源性微球蛋白(B2M)作为内参。用Beacon Designer 8软件设计特异性的荧光引物(见表1)。设置反应体系,10 μL GoTaq® qPCR Master Mix、0.5 μmol/L正向或反向引物、0.5 μL cDNA、用双蒸水补足20 μL。设置反应程序,95℃预变性5 min,1个循环,95℃变性10 s,59℃退火10 s,72℃延伸15 s,45个循环。每个样品进行3次重复,用无转录反应模板和无模板作阴性对照。2^{-ΔΔCt}的方法^[9]进行相对定量分析。

表1 用于RT-qPCR的引物

引物	引物序列(5' to 3')
存活蛋白 正向	TGGAGTTTCTCTGCAACATGG
存活蛋白 反向	TTCTGCGGGATAACCTTCTC
caspase-3 正向	GGAACCAAAGATCATAACATGG
caspase-3 反向	AGTTTCTGAATGTTTCCCTG
Foxp3 正向	CTTCATCTGTGGCATCATCC
Foxp3 反向	TGTTGTGGAACCTGAAGTAGTC
GAPDH 正向	TCGGAGTCAACGGATTTGGT
GAPDH 反向	TTCCCGTTCTCAGCCTTGAC
B2M 正向	ACAGTGTAAGGGCTCAGTG
B2M 反向	TGTGTCACCCCAACTATGCC

注:caspase-3为胱天蛋白酶-3,Foxp3为叉头框蛋白3,GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶,B2M为人内源性微球蛋白。

1.2.5 蛋白质印迹法检测存活蛋白、caspase-3和Foxp3的蛋白表达 将对数生长期的TPC-1细胞按5×10⁵个/孔的密度均匀铺在6孔板中,加入不同浓度(0、3、8 μmol/L)吴茱萸碱细胞培养液作用48 h后,以RIPA裂解液在冰上裂解细胞10 min,12 000 r/min离心15 min(4℃),收集上清液,BCA试剂盒测定样品总蛋白含量。取30~40 μg样品,进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),

丽春红染色(检测电泳结果),转膜,5%脱脂奶粉封闭,一抗4℃过夜,二抗恒温摇床1h,采用ECL曝光成像,凝胶成像系统分析。

1.3 统计学方法 用SPSS 24.0软件进行统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,重复测量资料采用重复测量方差分析;两组计量资料进行两独立样本 t 检验;多组计量资料进行单因素方差分析和LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 对TPC-1细胞增殖的抑制作用 MTT检测结果表明,吴茱萸碱对TPC-1细胞的生长有明显抑制作用,且随药物浓度和作用时间的增加而增强。见表2。

表2 不同浓度吴茱萸碱处理甲状腺癌TPC-1细胞不同时间的细胞存活率比较/(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	细胞存活率		
		24 h	48 h	72 h
0 $\mu\text{mol/L}$	3	100±0.49	99.58±0.55	99.70±0.51
1 $\mu\text{mol/L}$	3	92.50±0.44 ^①	78.96±0.36 ^①	63.17±0.40 ^①
3 $\mu\text{mol/L}$	3	79.89±0.65 ^{①②}	62.40±0.52 ^{①②}	42.88±0.72 ^{①②}
6 $\mu\text{mol/L}$	3	78.04±0.40 ^{①②③}	58.21±0.35 ^{①②③}	38.05±0.32 ^{①②③}
8 $\mu\text{mol/L}$	3	60.41±0.46 ^{①②③④}	37.03±0.64 ^{①②③④}	8.11±0.22 ^{①②③④}
整体HF系数		50.369		
组间 F, P 值		21 626.806, <0.001		
时间 F, P 值		7 257.531, <0.001		
交互 F, P 值		1 209.035, <0.001		

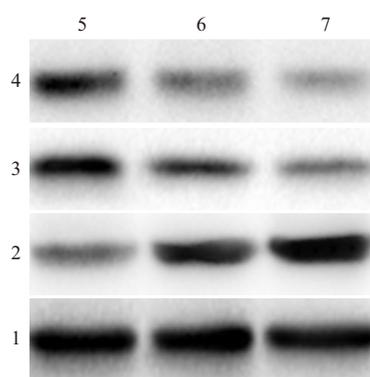
注:①与对照组(0 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组)比较, $P<0.05$ 。②与1 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组比较, $P<0.05$ 。③与3 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组比较, $P<0.05$ 。④与6 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组比较, $P<0.05$ 。

2.2 Annexin V-FITC/PI 双染法检测凋亡率 经过流式细胞仪的检测,0(对照组)、1、3、6、8 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组细胞凋亡率分别为(5.61±0.83)%、(7.93±1.02)%、(12.34±2.52)%、(18.92±3.14)%、(23.12±4.25)%。由此可知,与对照组相比,细胞凋亡率随着吴茱萸碱浓度的升高而增加($F=22.564, P<0.001$; 1、3、6、8 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组分别与对照组相比, $t=1.058、3.073、6.075、7.994, P=0.315、0.012、0.000、0.000$)。

2.3 对TPC-1细胞存活蛋白、caspase-3和Foxp3的mRNA表达的影响 实时荧光定量PCR检测结果显示,吴茱萸碱作用TPC-1细胞48h后,与对照组(1.00±0.05)相比,3 $\mu\text{mol/L}$ 组(0.63±0.04)、8 $\mu\text{mol/L}$ 组(0.20±0.05)存活蛋白mRNA的表达降低,吴茱萸碱可明显下调TPC-1细胞中存活蛋白的表达($F=232.005, P<0.001$)。与对照组(1.00±0.06)相比,3

$\mu\text{mol/L}$ 组(1.68±0.06)、8 $\mu\text{mol/L}$ 组(2.32±0.06) caspase-3 mRNA的表达升高,吴茱萸碱可明显上调TPC-1细胞中caspase-3的表达($F=376.945, P<0.001$)。与对照组(1.00±0.03)相比,3 $\mu\text{mol/L}$ 组(0.56±0.06)、8 $\mu\text{mol/L}$ 组(0.12±0.03) Foxp3 mRNA的表达降低,吴茱萸碱可明显下调TPC-1细胞中Foxp3的表达($F=384.445, P<0.001$)。因此,吴茱萸碱可明显下调TPC-1细胞中MMP-2、Foxp3 mRNA表达,上调TPC-1细胞中caspase-3 mRNA表达。

2.4 蛋白质印迹法检测结果 吴茱萸碱作用TPC-1细胞48h后,与对照组比较,吴茱萸碱组可明显下调TPC-1细胞中存活蛋白和Foxp3蛋白表达,上调caspase-3蛋白表达,见图1,表3。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—胱天蛋白酶-3(caspase-3);3—叉头框蛋白3(Foxp3);4—存活蛋白;5—对照组(0 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组);6—3 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组;7—8 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组。

图1 各组甲状腺癌TPC-1细胞的存活蛋白、caspase-3和Foxp3的蛋白表达

表3 不同浓度吴茱萸碱对甲状腺癌TPC-1细胞存活蛋白、caspase-3和Foxp3蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	存活蛋白	caspase-3蛋白	Foxp3蛋白
0 $\mu\text{mol/L}$	3	0.34±0.03	0.17±0.04	0.54±0.06
3 $\mu\text{mol/L}$	3	0.18±0.04 ^①	0.43±0.04 ^①	0.26±0.04 ^①
8 $\mu\text{mol/L}$	3	0.02±0.01 ^{①②}	0.98±0.17 ^{①②}	0.11±0.02 ^{①②}
F 值		107.406	79.895	51.725
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:caspase-3为胱天蛋白酶-3,Foxp3为叉头框蛋白3。

①与对照组(0 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组)相比, $P<0.05$ 。②与3 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

越来越多的研究发现,吴茱萸碱对众多肿瘤细胞有较强的抗肿瘤活性,其机制涉及抑制肿瘤的侵袭与转移、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡、促进自噬等^[10-11]。但其抗甲状腺癌的活性及机制阐述还缺乏进一步的研究。

苏文洲等^[12]研究表明吴茱萸碱可降低人骨肉

瘤 HOS 细胞的细胞活性,抑制其体外增殖并诱导其凋亡,其机制可能与其上调 caspase-3 蛋白的表达、下调 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白的表达有关。本研究中笔者采用 MTT 法检测细胞活性,发现吴茱萸碱能显著抑制甲状腺癌的增殖能力,且增殖抑制能力呈浓度和时间依赖性,8 $\mu\text{mol/L}$ 吴茱萸碱作用 72 h 后,其抑制率可达 98.15%,这与其它文献^[5,7-8]报道的其作用于其他肿瘤的报道相一致。利用 Annexin V-FITC/PI 双染法检测凋亡率,发现凋亡率随着吴茱萸碱浓度的增加而逐渐增多。吴茱萸碱对甲状腺癌细胞的凋亡诱导作用也与先前其作用与其他肿瘤的报道^[4,6-8]相一致。

存活蛋白是凋亡抑制蛋白家族的新成员,通过抑制 caspase-3 和胱天蛋白酶-7(caspase-7)阻断细胞凋亡,参与促进细胞周期调控、细胞有丝分裂和血管生成等^[13]。caspase-3 是多种凋亡途径最主要的下游效应因子之一,是细胞凋亡的关键酶,在各种因素启动的凋亡程序中起最后枢纽作用,直接参与细胞凋亡的发生。当凋亡刺激时,胞质中的线粒体存活蛋白能迅速释放,从而阻止 caspases 活化,抑制细胞凋亡。有研究发现,存活蛋白表达与 caspase-3 蛋白表达呈负相关^[14]。Shin 等^[15]认为,存活蛋白不是通过抑制起始 caspase-8,而是通过结合并抑制 caspase-3 和 caspase-7 的活性来阻止细胞凋亡。吕琳娜等^[16]研究表明姜黄挥发油通过显著上调 caspase-3 的表达,下调存活蛋白的表达促进人皮肤鳞癌 SCL-1 细胞的体外凋亡。本研究结果表明吴茱萸碱通过下调存活蛋白和上调 caspase-3 促进甲状腺癌细胞凋亡,与上述结论一致。

另外,本研究也发现 Foxp3 的表达水平下调。Foxp3 是叉头/翼状螺旋转录因子家族中的一个成员,在人体免疫系统发展和行使功能过程中发挥重要作用的。Foxp3 不但在 Tregs 细胞表达,而且与 Tregs 细胞的数量呈正相关。推测下调 Foxp3 表达水平的可能是为了降低肿瘤微环境中 Tregs 细胞数量,解除机体免疫抑制,增强抗肿瘤免疫功能。上述推测已在陆恬等^[17]的研究中得到证实。另外,也有研究表明 FOXP3 是一种癌因子,在甲状腺癌组织中的表达也明显高于健康对照组,高 Foxp3 表达组多表现为肿瘤直径较大且多出现转移,复发率较低 Foxp3 表达组高^[18],沉默 FOXP3 表达除了会抑制的肿瘤发生和发展,也会增加肿瘤细胞对顺铂的敏感性。本研究的结果与其一致^[19-20]。

综上所述,吴茱萸碱能够抑制甲状腺癌细胞增殖并诱导其凋亡,其机制可能与其抑制存活蛋白、Foxp3,上调 caspase-3 的表达有关。

参考文献

- [1] 叶丽姿,乐岭.分化型甲状腺癌的药物化疗进展[J].医学研究生学报,2018,31(5):544-549.
- [2] 邵灿灿,吕久省,余丹丹,等.中医药治疗甲状腺癌术后之临床体会[J].中国中医基础医学杂志,2017,23(7):978-979,1002.
- [3] WANG SP, WANG L, SHI Z, et al. Evodiamine synergizes with doxorubicin in the treatment of chemoresistant human breast cancer without inhibiting P-glycoprotein [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(5):e97512.DOI:10.1371/journal.pone.0097512.
- [4] CHEN TC, CHIEN CC, WU MS, et al. Evodiamine from *Evodia rutaecarpa* induces apoptosis via activation of JNK and PERK in human ovarian cancer cells[J]. Phytomedicine, 2016, 23(1):68-78.
- [5] 李海星,李晓朋,刘泽洪,等.吴茱萸碱抑制人结肠癌 HCT-116 细胞体外增殖和迁移[J].基因组学与应用生物学,2017,36(9):3538-3544.
- [6] SHEN HM, ZHAO S, XU ZP, et al. Evodiamine inhibits proliferation and induces apoptosis in gastric cancer cells[J]. Oncol Lett, 2015, 10(1):367-371.
- [7] WEI WT, CHEN H, WANG ZH, et al. Enhanced antitumor efficacy of gemcitabine by evodiamine on pancreatic cancer via regulating PI3K/Akt pathway[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(1):1-14.
- [8] 曹志,杨伊林,王穗暖,等.吴茱萸碱对人胶质瘤 U251 细胞增殖及凋亡影响的研究[J].临床神经外科杂志,2014,11(3):161-164.
- [9] SCHMITTGEN TD, LIVAK KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method[J]. Nat Protoc, 2008, 3(6):1101-1108.
- [10] 郭星娴,李晓朋,吕晓婷,等.吴茱萸碱抑制 NOD1 通路诱导肝癌 HepG2 和 SMMC-7721 细胞凋亡[J].中国药理学通报,2018,34(11):1588-1593.
- [11] 吕艳伟,郭星娴,周鹏,等.吴茱萸碱激活结肠癌细胞自噬抑制其增殖的研究[J].中草药,2018,49(20):4851-4856.
- [12] 苏文洲,朱建伟,徐绘华,等.吴茱萸碱抑制人骨肉瘤 HOS 细胞的增殖并促进其凋亡[J].解剖学研究,2019,41(2):135-139.
- [13] 任守雷,郭晓晓,陈翠翠,等.半枝莲总黄酮对非小细胞肺癌细胞增殖及迁移的影响[J].安徽医药,2019,23(10):1939-1942.
- [14] SAM MR, GHOREISHI S. Prodigiosin produced by *Serratia marcescens* inhibits expression of MMP-9 and survivin and promotes caspase-3 activation with induction of apoptosis in acute lymphoblastic leukaemia cells[J]. J Appl Microbiol, 2018, 125(4):1017-1029.
- [15] SHIN S, SUNG BJ, CHO YS, et al. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7[J]. Biochemistry, 2001, 40(4):1117-1123.
- [16] 吕琳娜,答雪娟,荣冬芸,等.姜黄挥发油对人皮肤鳞癌 SCL-1 细胞增殖、迁移和侵袭作用及其促凋亡机制研究[J].天然产物研究与开发,2018,30(3):379-384,361.
- [17] 陆恬,蒋林华,张弛,等.CD137 信号下调乳腺癌患者外周血 Treg 细胞的免疫抑制功能[J].苏州大学学报(医学版),2009,29(6):1107-1110.
- [18] 杨晓燕,郭永,贾睿博,等.FoxP3 在甲状腺乳头状癌中的表达及与预后的相关性[J].安徽医学,2017,38(4):456-459.
- [19] WANG SS, WU JK, REN JW, et al. MicroRNA-125b interacts with Foxp3 to induce autophagy in thyroid cancer[J]. Mol Ther, 2018, 26(9):2295-2303.
- [20] 房惠,杨红宇,马绪哲,等.叉头蛋白 3 对肺腺癌细胞增殖和化疗药物顺铂敏感性的影响[J].吉林大学学报(医学版),2019,45(6):1261-1266,1481.

(收稿日期:2019-12-19,修回日期:2020-03-03)