

- 学版, 2021, 40(5): 653-657.
- [3] 顾田, 连薇薇, 王建科, 等. 白芍品及其炮制品饮片质量标准研究[J]. 贵州中医药大学学报, 2021, 43(2): 50-54.
- [4] 方春雪, 高梓漠, 王法宇, 等. 祛湿健脾颗粒薄层鉴别研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2019, 17(22): 112-114.
- [5] 吴承忠, 王丹锐, 蔡婉怡. 益肾片的薄层色谱鉴别方法研究[J]. 湖南中医杂志, 2020, 36(3): 148-150.
- [6] 陈两绵, 高慧敏, 刘晓谦, 等. 关于《中国药典》2020年版穿心莲药材和饮片质量标准的修订建议[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4221-4229.
- [7] 阮丽君, 姚彩云, 吴云秋, 等. 不同国家(地区)穿心莲药材质量标准现状概述[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(24): 5890-5897.
- [8] 林琪宇, 张娜, 方道硕, 等. 不同品种郁金的薄层鉴别[J]. 四川中医, 2008, 26(5): 34-35.
- [9] 覃小花, 卢秀玉. 化湿利胆片的定性质量控制方法和利胆作用研究[J]. 海峡药学, 2019, 31(4): 67-69.
- [10] 李其凤, 施慧君. 莪术药材质量控制方法的研究[J]. 中药材, 2004, 27(7): 526-527.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 292-293.
- [12] 张春燕, 潘蓉蓉, 张冰冰, 等. 宁神颗粒质量控制研究[J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(3): 157-161.
- [13] 王爱丽, 朱建勇, 张春燕, 等. 烧伤镇痛油膏质量控制研究[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(11): 86-91.
- [14] 陆雪琴, 赵亮, 周洁, 等. 多指标综合加权评分法优选复方夏枯草洗剂提取工艺研究[J]. 天津中医药, 2020, 37(12): 1431-1435.
- [15] 张苏, 任莹. 十四味当归活血合剂的薄层鉴别及含量测定研究[J]. 四川中医, 2021, 39(5): 51-54.
- [16] 王清, 曹雨诞, 陈佩东. 溪黄草中迷迭香酸的含量测定研究[J]. 安徽医药, 2020, 24(6): 1098-1101.
- [17] 张艳娇, 黄宽, 向润清, 等. 反相高效液相色谱法测定不同煎煮时间夏枯草中丹参素、咖啡酸、迷迭香酸含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(2): 64-67.
- [18] 张峻淞, 曾令杰, 崔丹丹, 等. 穿心莲饮片的特征图谱及主要内酯成分的含量测定[J]. 中国药业, 2020, 29(19): 19-22.
- [19] 黄燕, 单丽, 邱水生, 等. 益肾降糖胶囊质量控制方法的研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(4): 673-677, 封3.

(收稿日期: 2022-02-10, 修回日期: 2022-03-21)

引用本文: 宗桃梅, 李其银, 杨登权, 等. 蒲公英萜醇通过上调微小RNA-610表达抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移侵袭[J]. 安徽医药, 2022, 26(12): 2363-2367. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.12.007.

◇ 药学研究 ◇



蒲公英萜醇通过上调微小RNA-610表达抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移侵袭

宗桃梅¹, 李其银¹, 杨登权¹, 杨风波²

作者单位:¹宜宾市第二人民医院耳鼻咽喉科, 四川 宜宾 644000;

²川北医学院附属医院耳鼻咽喉科, 四川 南充 637000

摘要: **目的** 探讨蒲公英萜醇对鼻咽癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及分子机制。**方法** 2019年4月至2020年1月, 将鼻咽癌细胞SUNE1分为对照组、蒲公英萜醇低、中、高浓度组、微小RNA(miR)-NC组、miR-610组、蒲公英萜醇+anti-miR-NC组、蒲公英萜醇+anti-miR-610组。MTT法检测SUNE1细胞增殖; 蛋白质印迹法检测细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(p21)、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9蛋白表达; Transwell检测细胞迁移和侵袭; 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测miR-610表达水平。**结果** 不同浓度蒲公英萜醇处理鼻咽癌细胞SUNE1后, 细胞增殖抑制率[(16.72±1.42)%、(31.95±2.95)%、(54.59±5.0)%比(0.00±0.00)%]和p21、miR-610(1.68±0.14、2.37±0.21、3.09±0.29比1.00±0.06)表达水平升高, 迁移(70.02±5.72、56.49±5.35、43.37±4.19比86.71±7.05)、侵袭(50.70±4.41、39.12±3.89、26.28±2.78比69.12±4.80)细胞数和CyclinD1、MMP-2、MMP-9水平降低, 呈浓度依赖性($P<0.05$)。过表达miR-610可提高细胞增殖抑制率[(46.66±4.48)%比(7.11±0.74)%]和p21表达水平, 降低迁移(52.18±5.35比87.40±6.86)、侵袭(33.11±3.29比70.27±5.39)细胞数和CyclinD1、MMP-2、MMP-9表达水平($P<0.05$)。抑制miR-610表达逆转了蒲公英萜醇抗鼻咽癌SUNE1细胞增殖、迁移和侵袭作用。**结论** 蒲公英萜醇可抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 其机制可能与上调miR-610表达相关。

关键词: 鼻咽肿瘤; 五环三萜类; 细胞周期蛋白D1; 细胞周期蛋白依赖性激酶类; 基质金属蛋白酶9; 基质金属蛋白酶2; 蒲公英萜醇; 微小RNA-610; 增殖; 迁移; 侵袭

Taraxacinol inhibits the proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells by up-regulating the expression of miR-610

ZONG Taomei¹, LI Qiyin¹, YANG Dengquan¹, YANG Fengbo²

Author Affiliations:¹Department of Otorhinolaryngology, Yibin Second People's Hospital, Yibin, Sichuan 644000,

China;²Department of Otorhinolaryngology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China

Abstract: Objective To investigate the effect and molecular mechanism of taraxerol on the proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells. **Methods** From April 2019 to January 2020, the nasopharyngeal cancer cell SUNE1 was divided into control group, taraxerol low, medium and high concentration group, microRNA (miR)-NC group, miR-610 group, taraxerol+anti-miR-NC group, taraxerol+anti-miR-610 groups. MTT method was used to detect the proliferation of SUNE1 cells; Western blot method was used to detect cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21), cyclin D1, matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 protein expression; Transwell method was used to determine cell migration and invasion; real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect miR-610 expression. **Results** After treating nasopharyngeal carcinoma cell SUNE1 with different concentrations of taraxerol, the cell proliferation inhibition rate [(16.72±1.42)%, (31.95±2.95)%, (54.59±5.0)% vs. (0.00±0.00)%] and the expression of p21, miR-610 (1.68±0.14, 2.37±0.21, 3.09±0.29 vs. 1.00±0.06) were increased, the number of migrating (70.02±5.72, 56.49±5.35, 43.37±4.19 vs. 86.71±7.05) and invasive (50.70±4.41, 39.12±3.89, 26.28±2.78 vs. 69.12±4.80) cells, and the expression levels of CyclinD1, MMP-2 and MMP-9 were decreased, all in a concentration-dependent manner ($P<0.05$). Overexpression of miR-610 increased the cell proliferation inhibition rate [(46.66±4.48)% vs. (7.11±0.74)%] and the expression level of p21, and reduced the number of migrated (52.18±5.35 vs. 87.40±6.86) and invasive (33.11±3.29 vs. 70.27±5.39) cells, and the expression levels of CyclinD1, MMP-2, and MMP-9 were decreased ($P<0.05$). Inhibition of miR-610 expression reversed the anti-proliferation, migration and invasion effects of taraxerol on nasopharyngeal carcinoma SUNE1 cells. **Conclusion** Taraxerol can inhibit the proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells, and the mechanism may be related to the up-regulating of miR-610 expression.

Key words: Nasopharyngeal neoplasms; Pentacyclic triterpenes; Cyclin D1; Cyclin-dependent kinases; Matrix metalloproteinase 9; Matrix metalloproteinase 2; Taraxerol; MiR-610; Proliferation; Migration; Invasion

鼻咽癌是一种来源于鼻咽黏膜的恶性肿瘤,晚期病人生存率较低,主要治疗方式是放射治疗,导致鼻咽癌治疗失败的关键原因之一是复发^[1]。研究显示中医药在鼻咽癌临床治疗中起重要作用^[2]。蒲公英萜醇是从蒲公英中提取的三萜五环类化合物,具有抗炎、抗氧化的作用^[3]。此外,还有抗肿瘤作用,研究报道蒲公英萜醇可抑制人肺癌细胞H1299、A549增殖以及肺癌细胞糖酵解水平^[4]。乙酰蒲公英萜醇可阻碍肝癌HepG2细胞迁移、侵袭^[5]。蒲公英萜醇对胃癌AGS细胞的生长有阻碍作用^[6]。但目前尚不清楚蒲公英萜醇对鼻咽癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及机制。研究报道miRNA与肿瘤发病机制相关,可作为肿瘤诊断、治疗、预后的靶点^[7-8]。研究报道FEZF1-AS1靶向上调微小RNA(miR)-610表达可显著抑制膀胱癌T24细胞增殖、侵袭和迁移、抑制细胞分化、促进细胞凋亡^[9]。过表达miR-610可有效抑制口腔鳞状细胞癌细胞的增殖和转移^[10]。然而miR-610在鼻咽癌中的功能,以及其是否参与蒲公英萜醇调控鼻咽癌生物学进展目前还不清楚。因此,本研究于2019年4月至2020年1月,旨在探讨蒲公英萜醇对鼻咽癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其与miR-610的调控关系。

1 材料与方法

1.1 材料 蒲公英萜醇(纯度95%~99%)购自成都普瑞法科技开发有限公司;NP69细胞,鼻咽癌细胞6-10B、5-8F、SUNE1购自上海北诺生物科技有限公

司;RPMI-1640培养基、胎牛血清购自上海浩然生物技术有限公司(货号12633、10099-141);MTT法试剂盒(货号M2128)购自上海浩洋生物科技有限公司;实时荧光定量PCR试剂盒(货号218073)购自北京麦瑞博生物科技有限公司;RIPA蛋白裂解液(AR0105)、二辛可宁酸(BCA)试剂盒(PT0006)购自上海恒斐生物科技有限公司;Matrigel(货号356234)、Transwell小室(货号354480)购自美国BD公司。细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(p21)(货号PL03-04487)、细胞周期蛋白D1(CyclinD1)(货号PL0502539)、基质金属蛋白酶2(MMP-2)(货号PL0401099)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)(货号600274)多克隆抗体购自加拿大PLLABS公司;山羊抗兔IgG-HRP(货号ANR02-1)购自上海子起生物科技有限公司。miR-610模拟物、miR-610抑制剂(anti-miR-610)购自美国ABI公司。

1.2 细胞处理与分组 NP69细胞,鼻咽癌细胞6-10B、5-8F、SUNE1用RPMI-1640培养液(含10%胎牛血清),在37℃、含5%二氧化碳的培养箱中培养。用不同浓度(50、100、200 μmol/L)的蒲公英萜醇对对数生长期的SUNE1细胞处理,记为蒲公英萜醇低、中、高浓度组,正常培养且未经蒲公英萜醇处理的细胞作为对照组。将模拟物对照miR-NC、miR-610模拟物转染至SUNE1细胞中,记为miR-NC组、miR-610组;将抑制剂对照anti-miR-NC、anti-miR-610转染至SUNE1细胞后再用200 μmol/L的蒲公英

蒽醇处理,记为蒲公英蒽醇+anti-miR-NC组、蒲公英蒽醇+anti-miR-610组。miR-610模拟物序列: TGAGCTAAATGTGTGCTGGGA; anti-miR-610序列: GGCTCAAATGTGTCCCAGC。

1.3 MTT检测SUNE1细胞增殖 SUNE1细胞经1.2中的方法处理,48 h后,加入噻唑蓝(MTT)溶液20 μL反应4 h,再加入DMSO 150 μL,孵育10 min,用酶标仪检测吸光度(OD_{490nm})值。抑制率(%)=(1-OD值_{实验组}/OD值_{空白对照组})×100%。

1.4 蛋白质印迹法检测蛋白CyclinD1、p21、MMP-2、MMP-9表达 提取培养48 h后的各组SUNE1细胞总蛋白,用BCA试剂盒测定浓度。蛋白经电泳、转膜后,室温下用脱脂奶粉(5%)封闭1 h,加入一抗CyclinD1(1:600)、p21(1:1 000)、MMP-2(1:800)、MMP-9(1:800),4℃孵育过夜;加入1:1 600稀释的山羊抗兔IgG-HRP二抗,室温孵育90 min,用ECL发光液显影,并用ChemiDoc XRS+系统成像。用Quantity One软件分析各组蛋白条带的灰度值,蛋白的相对表达水平=灰度值_{目的条带}/灰度值_{GAPDH条带}。

1.5 Transwell检测SUNE1细胞迁移和侵袭 迁移:将100 μL细胞悬液(1×10⁵细胞/mL)、600 μL RPMI-1640完全培养液分别加入Transwell小室的上、下室,24 h后,用4%多聚甲醛、0.1%结晶紫各固定、染色30 min;显微镜下观察并计数。侵袭:将300 μL无血清的RPMI-1640培养液与60 μL基质胶(Matrigel)混匀,取100 μL加入上室,凝固后按迁移操作进行。

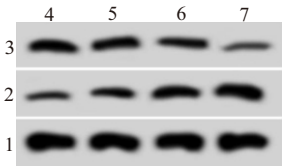
1.6 实时荧光定量PCR检测miR-610表达水平 提取SUNE1细胞总RNA,逆转录成互补DNA(cDNA)后进行PCR扩增。PCR反应体系:cDNA模板2 μL、SYBR Green Mix 10 μL、正反向引物各0.5 μL,水7 μL;循环条件:95℃、5 min,95℃、15 s,62℃、60 s,72℃、10 s,共40个循环。以U6为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算miR-610相对表达量。miR-610正向引物序列5'-TGAGCTAAATGTGTGCTGGGA-3',反向引物序列5'-CCAGCACACATTTAGCTCATT-3';U6

正向引物序列5'-CGCTTCGGCAGCACATA-3',反向引物序列5'-TATGGAACGCTTCACGAATTTGC-3'。

1.7 统计学方法 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较行两独立样本 t 检验,多组间比较行单因素方差分析,多组间的两两比较采用LSD- t 检验。用SPSS 20.0软件分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

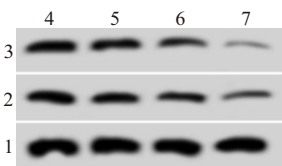
2.1 蒲公英蒽醇影响鼻咽癌SUNE1细胞增殖 蒲公英蒽醇低、中、高浓度组与对照组相比,抑制率和p21表达依次升高,CyclinD1表达依次降低($P<0.05$),见图1,表1。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(p21);3—细胞周期蛋白D1(CyclinD1);4—对照组;5—蒲公英蒽醇-低组;6—蒲公英蒽醇-中组;7—蒲公英蒽醇-高组。

图1 蒲公英蒽醇对鼻咽癌SUNE1细胞增殖相关蛋白表达的影响

2.2 蒲公英蒽醇影响鼻咽癌SUNE1细胞迁移、侵袭 蒲公英蒽醇低、中、高浓度组与对照组相比,迁移、侵袭细胞数、MMP-2、MMP-9表达依次下降($P<0.05$),见表2;图2,3。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—基质金属蛋白酶9(MMP-9);3—基质金属蛋白酶2(MMP-2);4—对照组;5—蒲公英蒽醇-低组;6—蒲公英蒽醇-中组;7—蒲公英蒽醇-高组。

图3 蒲公英蒽醇对鼻咽癌SUNE1细胞迁移、侵袭相关蛋白表达的影响

2.3 miR-610在鼻咽癌细胞中的表达 NP69细胞、鼻咽癌细胞6-10B、5-8F、SUNE1中miR-610表达水平分别为(1.00±0.08、0.63±0.06、0.52±0.05、0.36±

表1 蒲公英蒽醇对鼻咽癌SUNE1细胞增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	抑制率/%	CyclinD1 蛋白	p21 蛋白
对照组	9	0.00±0.00	0.66±0.05	0.32±0.03
蒲公英蒽醇-低组	9	16.72±1.42 ^①	0.54±0.04 ^①	0.47±0.05 ^①
蒲公英蒽醇-中组	9	31.95±2.95 ^{①②}	0.41±0.04 ^{①②}	0.61±0.05 ^{①②}
蒲公英蒽醇-高组	9	54.59±5.06 ^{①②③}	0.25±0.03 ^{①②③}	0.78±0.06 ^{①②③}
F值		533.48	168.91	146.15
P值		<0.001	<0.001	<0.001

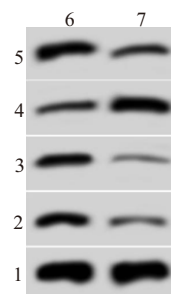
注:CyclinD1为细胞周期蛋白D1,p21为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A。
①与对照组比较, $P<0.05$ 。②与蒲公英蒽醇-低组比较, $P<0.05$ 。③与蒲公英蒽醇-中组比较, $P<0.05$ 。

0.04),四个细胞系间相比差异有统计学意义($F=188.83, P<0.05$)。与NP69细胞比较,鼻咽癌细胞6-10B、5-8F、SUNE1中miR-610表达水平降低,且在SUNE1细胞中表达水平最低($P<0.05$)。故本研究选择SUNE1细胞作为实验细胞。

2.4 蒲公英萜醇影响鼻咽癌SUNE1细胞中miR-610表达 对照组与蒲公英萜醇低、中、高浓度组miR-610表达水平分别为(1.00 ± 0.06 、 1.68 ± 0.14 、 2.37 ± 0.21 、 3.09 ± 0.29),四组比较差异有统计学意义($F=192.01, P<0.05$)。与对照组相比,蒲公英萜醇低、中、高浓度组miR-610表达水平升高,且呈浓度依赖性($P<0.05$)。

2.5 miR-610过表达影响鼻咽癌SUNE1细胞增殖、迁移和侵袭 miR-610组与miR-NC组相比,miR-610表达水平、抑制率增高,迁移、侵袭细胞数和CyclinD1、MMP-2、MMP-9表达下降,p21表达增高($P<0.05$),见图4,5;表3。

2.6 抑制miR-610表达可逆转蒲公英萜醇抗鼻咽癌SUNE1细胞增殖、迁移和侵袭的作用 蒲公英萜醇+anti-miR-610组与蒲公英萜醇+anti-miR-NC组相



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—基质金属蛋白酶9(MMP-9);3—基质金属蛋白酶2(MMP-2);4—细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A(p21);5—细胞周期蛋白D1(CyclinD1);6—miR-NC组;7—miR-610组。

图5 miR-610过表达对鼻咽癌SUNE1细胞增殖、迁移侵袭相关蛋白表达的影响

比,miR-610表达水平及细胞增殖抑制率降低,迁移、侵袭细胞数和CyclinD1、MMP-2、MMP-9表达水平升高,p21表达水平降低($P<0.05$),见图6,表4。

3 讨论

鼻咽癌的主要治疗方式是放疗,但其毒副作用大,而中医药可减少放化疗的不良反应,提高机体免疫力,改善病人生活质量^[11]。研究报道蒲公英萜

表2 蒲公英萜醇对鼻咽癌SUNE1细胞迁移、侵袭的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
对照组	9	86.71±7.05	69.12±4.80	0.53±0.05	0.62±0.04
蒲公英萜醇-低组	9	70.02±5.72 ^①	50.70±4.41 ^①	0.41±0.04 ^①	0.49±0.03 ^①
蒲公英萜醇-中组	9	56.49±5.35 ^{①②}	39.12±3.89 ^{①②}	0.29±0.02 ^{①②}	0.35±0.03 ^{①②}
蒲公英萜醇-高组	9	43.37±4.19 ^{①②③}	26.28±2.78 ^{①②③}	0.18±0.02 ^{①②③}	0.21±0.02 ^{①②③}
F值		96.48	182.25	167.69	296.45
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:MMP-2为基质金属蛋白酶2,MMP-9为基质金属蛋白酶9。

①与对照组比较, $P<0.05$ 。②与蒲公英萜醇-低组比较, $P<0.05$ 。③与蒲公英萜醇-中组比较, $P<0.05$ 。

表3 miR-610过表达对鼻咽癌SUNE1细胞增殖、迁移和侵袭的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-610	抑制率/%	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	CyclinD1	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
miR-NC	9	1.00±0.06	7.11±0.74	87.40±6.86	70.27±5.39	0.68±0.04	0.31±0.03	0.57±0.05	0.61±0.05
miR-610	9	2.95±0.28	46.66±4.48	52.18±5.35	33.11±3.29	0.29±0.03	0.71±0.05	0.25±0.03	0.29±0.02
t值		20.43	26.13	12.15	17.65	23.40	20.58	16.46	17.83
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:miR-NC为模拟物对照,miR-610为miR-610模拟物,CyclinD1为细胞周期蛋白D1,p21为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A,MMP-2为基质金属蛋白酶2,MMP-9为基质金属蛋白酶9。

表4 抑制miR-610表达逆转了蒲公英萜醇阻碍鼻咽癌SUNE1细胞增殖、迁移和侵袭的作用/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-610	抑制率/%	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	CyclinD1	p21蛋白	MMP-2蛋白	MMP-9蛋白
蒲公英萜醇+anti-miR-NC	9	1.00±0.08	55.23±5.66	41.60±4.04	23.15±2.84	0.23±0.02	0.79±0.06	0.16±0.02	0.20±0.02
蒲公英萜醇+anti-miR-610	9	0.59±0.05	20.54±2.04	77.82±7.46	57.88±4.45	0.56±0.05	0.39±0.03	0.42±0.04	0.51±0.04
t值		13.04	17.30	12.81	19.74	18.38	17.89	17.44	20.80
P值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:miR-610为miR-610模拟物,CyclinD1为细胞周期蛋白D1,p21为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂1A,MMP-2为基质金属蛋白酶2,MMP-9为基质金属蛋白酶9。

醇可通过 mTOR 信号通路诱导乳腺癌细胞 MCF-7 自噬^[12]。蒲公英萜醇还可诱导 HeLa 细胞和膀胱癌 T24 细胞凋亡^[13-14]。以上研究表明蒲公英萜醇具有促进癌细胞凋亡,抑制癌细胞增殖、迁移的作用。然而蒲公英萜醇是否对鼻咽癌具有抗癌作用还尚不清楚。因此本研究主要目的即研究蒲公英萜醇是否对鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭有影响。首先本研究发现,蒲公英萜醇可剂量依赖地抑制鼻咽癌细胞 SUNE1 的增殖、迁移和侵袭,并下调 CyclinD1、MMP-2、MMP-9 表达,提高 p21 表达。本研究结果证明了蒲公英萜醇对鼻咽癌具有抗癌作用,与上述其他研究关于蒲公英萜醇抗癌的作用相同。

研究发现 miRNA 影响肿瘤的进展过程,miR-610 是众多 miRNA 的一种,研究表明 miR-610 在膀胱癌中低表达,其表达水平与组织分化程度、临床分期相关^[15]。miR-610 对结肠直肠癌、神经胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭有抑制作用^[16-17]。miR-610 靶向间隙连接 α -3 蛋白阻碍人肺癌细胞的侵袭和增殖^[18]。miR-610 通过直接抑制 CCND2 和 AKT3 的表达来介导人胶质母细胞瘤的抑癌作用^[19]。上述研究表明 miR-610 在多种癌症中起抗癌作用,因此,推测 miR-610 或在鼻咽癌中也起抗癌作用。为验证本研究假设,本研究首先检测了鼻咽癌细胞 6-10B、5-8F、SUNE1 中 miR-610 的表达水平降低,结果显示,miR-610 表达水平均显著降低,且在 SUNE1 细胞中表达最低,因此,本研究主要以 SUNE1 为研究对象。本研究进一步过表达 miR-610 后,鼻咽癌细胞 SUNE1 的增殖、迁移和侵袭均被抑制,证实了 miR-610 在鼻咽癌中起抑癌基因的作用。与在其他癌症中的作用类似。此外,为研究蒲公英萜醇影响鼻咽癌的机制是否与 miR-610 有关,本研究检测了不同浓度蒲公英萜醇处理的鼻咽癌细胞 SUNE1 中 miR-610 的表达水平,结果发现 miR-610 表达水平升高,表明蒲公英萜醇可影响鼻咽癌细胞 SUNE1 中 miR-610 的表达。此外,本研究进一步发现了抑制 miR-610 表达可逆转蒲公英萜醇抗鼻咽癌 SUNE1 细胞增殖、迁移和侵袭的作用。以上结果均提示,蒲公英萜醇可通过调控 miR-610 表达影响鼻咽癌 SUNE1 细胞增殖、迁移和侵袭。但蒲公英萜醇是否直接调控 miR-610 表达尚不清楚。

综上所述,蒲公英萜醇可能通过上调 miR-610 表达抑制鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭;将可为鼻咽癌的中药治疗提供理论及参考依据;但本研究仅在体外细胞进行研究,是否在体内发挥影响尚不清楚,且本研究蒲公英萜醇抗鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭的机制是否与直接调控 miR-610 表达以及其是

否与调控一些信号通路有关也尚不清楚,这是本研究的局限之处,均有待于进一步的实验研究。

(本文图 2,4,6 见插图 12-3)

参考文献

- [1] 陈锐聪,白小欣,陈锦华,等.鼻咽癌放射治疗后复发患者颈内动脉闭塞试验结果分析[J].实用医学杂志,2018,34(7):1216-1217.
- [2] 张蓓,黄圆圆.中医治疗鼻咽癌临床经验及研究进展[J].中医肿瘤学杂志,2019,1(1):54-58.
- [3] KHANRA R, DEWANJEE S, DUA TK, et al. Taraxerol, a pentacyclic triterpene from *Abroma augusta* leaf, attenuates acute inflammation via inhibition of NF- κ B signaling[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 88:918-923.
- [4] 刘冬,赵鹏,王磊,等.蒲公英萜醇对肺癌细胞的增殖及糖酵解的影响[J].临床与病理杂志,2018,38(3):465-471.
- [5] 蒙旭.乙酰蒲公英萜醇影响 HepG2 细胞增殖、凋亡及迁移的实验研究[D].昆明:昆明医科大学,2016.
- [6] 谭宝,石海莲,季光,等.蒲公英萜醇和乙酰蒲公英萜醇对胃癌细胞株 AGS 细胞周期和凋亡的影响[J].中西医结合学报,2011,9(6):638-642.
- [7] 罗和生,万一圆,黄晓东.微小 RNA 在恶性肿瘤诊断与治疗中的研究进展[J].新乡医学院学报,2018,35(12):1134-1138.
- [8] HARRANDAH AM, MORA RA, CHAN EKL. Emerging microRNAs in cancer diagnosis, progression, and immune surveillance[J]. Cancer Lett, 2018, 438:126-132.
- [9] 刘双宁,翟晓强,李颖毅,等. FEZF1-AS1 靶向 miR-610 对膀胱癌细胞生长、迁移和侵袭的调节作用[J].临床泌尿外科杂志,2019,34(8):602-608.
- [10] YAO LX, LIU J, XU L. MiR-610 functions as a tumor suppressor in oral squamous cell carcinoma by directly targeting AGK[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(1):187-197.
- [11] 柳吉玲,劳国平,王杰.鼻咽癌放疗后中医药治疗研究现状[J].中医临床杂志,2018,30(3):575-577.
- [12] 朱坤,丁米娜,李月,等.蒲公英萜醇通过 mTOR 信号通路诱导乳腺癌细胞自噬[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(21):32-37.
- [13] YAOI X, LU B, LÜ C, et al. Taraxerol induces cell apoptosis through a mitochondria-mediated pathway in HeLa cells[J]. Cell J, 2017, 19(3):512-519.
- [14] 张智慧,邱彦橙,闫本纯,等.蒲公英萜醇对膀胱癌 T24 细胞增殖和凋亡的影响[J].中国临床药理学杂志,2020,36(17):2682-2685.
- [15] 杨丰硕,李黎明,杨青松,等.膀胱癌组织 LncRNA FEZF1-AS1、miR-610 表达变化及临床意义[J].山东医药,2020,60(4):22-25.
- [16] SUN B, GU XD, CHEN ZY, et al. MiR-610 inhibits cell proliferation and invasion in colorectal cancer by repressing hepatoma-derived growth factor[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(12):3635-3644.
- [17] YAN Y, PENG Y, OU Y, et al. MicroRNA-610 is downregulated in glioma cells, and inhibits proliferation and motility by directly targeting MDM2[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(3):2657-2664.
- [18] 金景鹏. miR-517a-3p 和 miR-610 对肺癌细胞增殖和侵袭能力的影响及其机制[D].长春:吉林大学,2016.
- [19] MO XM, CAO Q, LIANG H, et al. MicroRNA-610 suppresses the proliferation of human glioblastoma cells by repressing CCND2 and AKT3[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(3):1961-1966.

(收稿日期:2020-06-01,修回日期:2020-09-12)