

淫羊藿苷激活抑制鼻咽癌 CNE-2 细胞存活、侵袭、迁移的体内外研究

魏璐璐¹, 吉文伟², 黄维平¹

(1. 河南省南阳市中心医院耳鼻喉一病区, 河南南阳 473000; 2. 河南省南阳市中心医院胆道普外科, 河南南阳 473000)

摘要:【目的】探讨淫羊藿苷对鼻咽癌 CNE-2 细胞存活和侵袭迁移特性的影响。【方法】①体外研究: 用不同浓度淫羊藿苷处理鼻咽癌 CNE-2 细胞, 采用细胞计数试剂盒 8(CCK8)测定细胞增殖能力以选择合适的剂量进行后续实验。采用 Transwell 实验观察细胞侵袭能力; 划痕实验观察细胞迁移能力; 蛋白免疫印迹法检测血管内皮生长因子(VEGF)、上皮钙黏附蛋白(E-cadherin)、神经性钙黏附蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)表达情况及信号通路蛋白 Ca²⁺/钙调蛋白依赖性的蛋白激酶 II(CaMK II)和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)的磷酸化情况。并进一步观察单独或联合 JNK 抑制剂 SP600125 对 JNK 活化程度的影响, 采用蛋白免疫印迹法检测细胞 JNK 磷酸化水平。②体内研究: 建立鼻咽癌 CNE-2 荷瘤裸鼠模型, 测定裸鼠移植瘤质量、细胞凋亡和移植瘤组织 VEGF 表达情况、MVD 值。【结果】选择低细胞毒性 10、20、50 μmol/L 剂量的淫羊藿苷进行后续实验。与空白对照组(淫羊藿苷 0 μmol/L)比较, 淫羊藿苷 10、20、50 μmol/L 组 CNE-2 细胞侵袭细胞数、划痕愈合率降低, 细胞 VEGF、N-cadherin、Vimentin 表达水平明显降低($P < 0.05$), E-cadherin 表达水平与 CaMK II、JNK 的磷酸化水平升高($P < 0.05$), 均呈剂量依赖性。淫羊藿苷(10 μmol/L)可减弱 JNK 抑制剂 SP600125 对 JNK 磷酸化的抑制作用。与模型组比较, 淫羊藿苷组鼻咽癌裸鼠存活率升高, 移植瘤质量减小, 移植瘤组织细胞凋亡率升高, VEGF 表达水平、MVD 值明显下降($P < 0.05$)。【结论】淫羊藿苷可促进 CaMK II/JNK 通路激活来抑制鼻咽癌 CNE-2 细胞的存活、侵袭和迁移能力。

关键词: 淫羊藿苷; 鼻咽癌; Ca²⁺/钙调蛋白依赖性的蛋白激酶 II; c-Jun 氨基末端激酶; CNE-2 细胞; 裸鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)06-1223-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.06.026

Icariin Inhibits Survival, Invasion and Migration of Nasopharyngeal Carcinoma CNE-2 Cells *in Vitro* and *in Vivo*

WEI Lu-Lu¹, JI Wen-Wei², HUANG Wei-Ping¹

(1. Inpatient Ward NO.1 of Otolaryngology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000 Henan, China;

2. Dept. of General Biliary Surgery, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473000 Henan, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of icariin on survival, invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma CNE-2 cells. **Methods** ① *In vitro*: Nasopharyngeal carcinoma CNE-2 cells were treated with different concentrations of icariin, and then cell count kit 8 (CCK8) assay was used to detect cells viability to select appropriate dosages for subsequent experiment. The cell invasion ability was observed by Transwell assay, cell migration ability was observed by scratch-wound assay, expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), E-cadherin, N-cadherin, Vimentin and phosphorylation levels of Ca²⁺/calcium- and calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II) and c-Jun N-terminal kinase (JNK) were detected by Western blotting assay. Furthermore, to observe the effects of JNK inhibitor SP600125 alone or combination on JNK activation degrees, the phosphorylation level of JNK was detected by Western blotting assay. ② *In vivo*: a nasopharyngeal carcinoma CNE-2-bearing nude mouse model was established. The xenograft mass, apoptosis and expression of VEGF, and microvascular density (MVD) in Xenografts from nude mice were measured. **Results** The concentrations (10, 20, 50 μmol/L) with low cytotoxicity of icariin were selected for subsequent experiment. Compared with the blank control group (icariin of 0 μmol/L), the number of migrating cells and scratch-wound

收稿日期: 2019-08-29

作者简介: 魏璐璐(1984-), 女, 主治医师, 硕士研究生; E-mail: nvtig0@sina.com

基金项目: 河南省科技厅科技攻关项目(编号: 112102310173)

healing rate were decreased in the icariin 10, 20, 50 $\mu\text{mol/L}$ groups, expression levels of VEGF, N-cadherin, Vimentin in cells were decreased, and expression level of E-cadherin and phosphorylation levels of CaMK II and JNK in cells were increased (all $P < 0.05$), all the effects being in dose-dependent mode. Icariin had weakened the inhibitory effect of JNK inhibitor SP600125 on JNK phosphorylation level. Compared with the model group, the xenograft mass, rate of cell apoptosis, expression level of VEGF and MVD in Xenografts were up-regulated in the icariin group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Icariin is effective for inhibiting the survival, invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma CNE-2 cells *in vitro* and *in vivo* via promoting activation of CaMK II/JNK pathway.

Keywords: icariin; nasopharyngeal carcinoma; calcium- and calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II); JNK; CNE-2 cells; nude mice

鼻咽癌是耳鼻喉科常见的恶性肿瘤,起源于鼻咽部上皮细胞^[1],受多种因素影响,好发于我国南方地区,目前以手术、放射治疗为主要手段^[1-2]。尽管手术、放射治疗延缓了部分患者的肿瘤发展进程,但仍有30%~60%的患者出现局部复发和/或远处转移^[1,3],因此,寻找增强鼻咽癌敏感性的治疗手段,减少肿瘤转移,改善其预后是亟待解决的问题。中药因其天然、易得、安全被医学界广泛关注。淫羊藿为小檗科植物箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. 或淫羊藿 *E. brevicornum* Maxim. 等的全草,味辛,性温,入肝、肾经,具有补肝肾、强筋骨、助阳易精、祛风除湿的功效^[4],可治疗老年慢性气管炎、风湿痹痛、阳痿、早泄等病症。淫羊藿苷(icariin)是其重要活性成分之一,具有抗骨质疏松、抗炎、抗氧化、抗抑郁等广泛的药理学作用^[4-6]。近年来,有研究^[4-7]表明,淫羊藿苷表现出广谱的抗肿瘤作用,包括食管癌、卵巢癌、肝癌、乳腺癌、成神经管细胞癌等。为进一步观察淫羊藿苷对鼻咽癌的抑制作用,本研究以鼻咽癌CNE-2细胞为研究对象,探讨不同浓度淫羊藿苷对鼻咽癌CNE-2细胞体内外存活及侵袭迁移的影响及机制,以期为淫羊藿苷临床治疗鼻咽癌提供实验数据,现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 药物及配制 淫羊藿苷(批号:P0057;分子式: $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{15}$;分子量:676.66;纯度 $\geq 98\%$)购自上海纯优生物科技有限公司。用二甲基亚砜(DMSO)配制成1 mol/L母液,使用时用细胞培养基对应稀释。

1.2 主要试剂 RPMI 1640培养基、胎牛血清、胰酶(美国Gibco公司);细胞计数试剂盒8(CCK-8)(江苏凯基生物技术股份有限公司);链霉亲和素-过氧化物酶(SP)染色试剂盒(上海翊圣生物有限公司);血管内皮生长因子(VEGF)、上皮钙黏附蛋白(E-cadherin)、神经性钙黏附蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖性的蛋白激酶 II (CaMK II)、磷酸化CaMK II (p-CaMK II)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、磷酸化JNK(p-JNK)等单克隆抗体(美国Abcam公司);辣根过氧化物酶标记的免疫球蛋白(IgG)抗体(美国Santa Cruz公司)。

1.3 主要仪器 电泳仪、半干转膜仪(美国伯乐公司);Gel View 6000化学发光凝胶成像系统(广州云星仪器有限公司);Transwell小室(北京优尼康生物技术有限公司);普通光学显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.4 体外研究

1.4.1 细胞来源及培养 人鼻咽癌CNE-2细胞,购自北京中国科学院肿瘤细胞库。以含有体积分数10%胎牛血清和1%青-链霉素的RPMI 1640培养基于37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数5% CO_2 的恒温培养箱中培养。当细胞融合率达到80%以上时进行消化传代。

1.4.2 CCK8法测定细胞增殖能力 将鼻咽癌CNE-2细胞接种于96孔板, 2×10^5 个/mL。细胞贴壁后,按淫羊藿苷终浓度(0、0.1、0.25、0.5、1、2.5、5、10、20、50、100、200、300、400 $\mu\text{mol/L}$)分组,再分别给予对应处理,每组设5个复孔。24 h后,每孔加入10 μL CCK8溶液,继续孵育4 h,用酶标仪测定450 nm波长处的各孔吸光度(OD),计算CNE-2细胞存活率。细胞存活率 =

$(OD_{加药} - OD_{PBS}) / (OD_{对照} - OD_{PBS}) \times 100\%$ 。根据细胞存活率的结果选择低细胞毒性的剂量进行后续实验。

1.4.3 划痕实验观察细胞迁移能力 在12孔板背面用记号笔画出5条平行直线,高温灭菌后备用。将CNE-2细胞以 1×10^5 个/mL的密度接种于上述12孔板中。细胞贴壁后,用10 μ L枪头垂直于培养板背面的横线划痕,用PBS清洗3次。根据“1.4.2”结果将细胞分为4组,分别为空白对照组(淫羊藿苷0 μ mol/L),淫羊藿苷10、20、50 μ mol/L组,培养24 h。随机选取5个视野,观察CNE-2细胞迁移情况。

1.4.4 Transwell实验观察细胞侵袭能力 分组同“1.4.3”项。将CNE-2细胞传代接种于提前用Matrigel基质胶包被的Transwell小室上层,细胞密度为 1×10^5 个/mL,用不含胎牛血清的培养液培养,Transwell小室下层则加入正常细胞培养液。继续培养24 h后,用无菌棉签拭去Matrigel基质胶和小室上层细胞,洗涤后用40 g/L多聚甲醛固定小室,再用结晶紫将迁移至小室下层的CNE-2细胞染色,流水冲洗去除多余染料并晾干。显微镜下每组随机选取5个视野对染色细胞进行计数统计。实验至少重复3次,每组设6个复孔。

1.4.5 蛋白免疫印迹法检测细胞VEGF、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、CaMK II、p-CaMK II、JNK、p-JNK蛋白表达水平 将CNE-2细胞传代接种于6孔板中,培养24 h后,分组同“1.4.3”项,加入不同浓度的淫羊藿苷,继续培养24 h后收集各组细胞。用添加蛋白抑制剂的放射免疫沉淀分析(RIPA)蛋白裂解液于冰上裂解细胞后,提取总蛋白,于4 $^{\circ}$ C离心收集,取上清,用二喹啉甲酸(BCA)试剂盒进行蛋白定量。每组取等量蛋白质用12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白后,转移蛋白质到聚偏氟乙烯(PVDF)膜。用50 g/L脱脂奶粉室温封闭蛋白质2 h后,加入“一抗”VEGF抗体,于4 $^{\circ}$ C孵育过夜。弃去一抗,加入辣根过氧化物酶标记的对应“二抗”IgG抗体,室温孵育1 h。滴加电化学发光(ECL)液于暗室曝光、显影,最后分析电泳条带的灰度值进行比较,以GAPDH为内参。E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、CaMK II、p-CaMK II、JNK、p-JNK蛋白的检测方法同上。

1.5 体内研究

1.5.1 鼻咽癌CNE-2荷瘤裸鼠模型的构建与给药 5周龄BALB/c裸鼠60只购自北京维通利华实验动物公司(动物质量合格证号:11400700107330),适应性喂养1周后进行实验。于裸鼠右腋皮下接种鼻咽癌CNE-2细胞悬液0.2 mL(2×10^6 个细胞)构建鼻咽癌模型。每天观察裸鼠一般状况及移植瘤生长情况。5 d后观测到成瘤后,将鼻咽癌裸鼠随机分为模型组和淫羊藿苷低、中、高剂量组。淫羊藿苷低、中、高剂量组分别腹腔注射淫羊藿苷10、20、50 mg/kg^[12],模型组给予等量基质液腹腔注射,每天给药1次,连续给药2周。自给药后开始计算,连续饲养裸鼠30 d,每天记录裸鼠的存活情况。给药结束后,每组随机抽取5只裸鼠摘取肿瘤组织并称质量。

1.5.2 末端脱氧核苷酸转移酶介导的d UTP缺口末端标记(TUNEL)法检测肿瘤组织细胞凋亡情况 将移植瘤组织制作成4 μ m厚度的石蜡切片,再进行TUNEL染色。显微镜下随机选取5个不同视野,计算每个视野细胞凋亡率。细胞凋亡率 = 凋亡细胞数/总细胞数 \times 100%,取平均数。

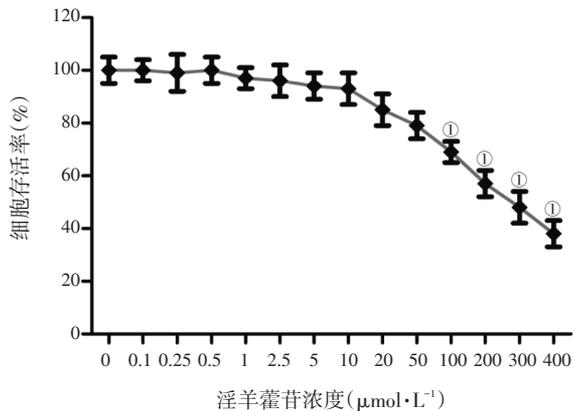
1.5.3 免疫组织化学法检测移植瘤组织中VEGF表达水平和微血管密度(MVD) 取移植瘤组织石蜡切片,严格按照SP染色试剂盒说明书进行免疫组织化学染色,用3,3'-二氨基联苯胺(DAB)试剂盒显色,苏木素复染,盐酸酒精分色,于光学显微镜下观察VEGF的表达情况。免疫组织化学染色阳性的细胞核呈棕色颗粒沉着。显微镜下随机选取5个不同视野,计算每个视野的阳性细胞率,阳性细胞率 = 阳性细胞/总细胞数 \times 100%,取平均数。MVD值:参照Weidner法^[13],随机选取5个不同视野,观察并记录血管数目,计算单位面积微血管数(条),取其平均数。

1.6 统计方法 采用SPSS 17.0统计软件对所有实验数据进行分析,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 淫羊藿苷对体外培养CNE-2细胞增殖能力的影响 图1结果显示:随淫羊藿苷浓度的增加,CNE-2细胞存活率逐渐降低,从10 μ mol/L开始下

降趋势明显, 100 $\mu\text{mol/L}$ 及以上浓度时 CNE-2 细胞存活率与空白对照组比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。表明淫羊藿苷可剂量依赖性地降低人鼻咽癌 CNE-2 细胞的增殖能力, 而当终浓度达到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时出现明显的细胞毒性作用, 故采用低细胞毒性的 10、20 和 50 $\mu\text{mol/L}$ 剂量进行后续实验。

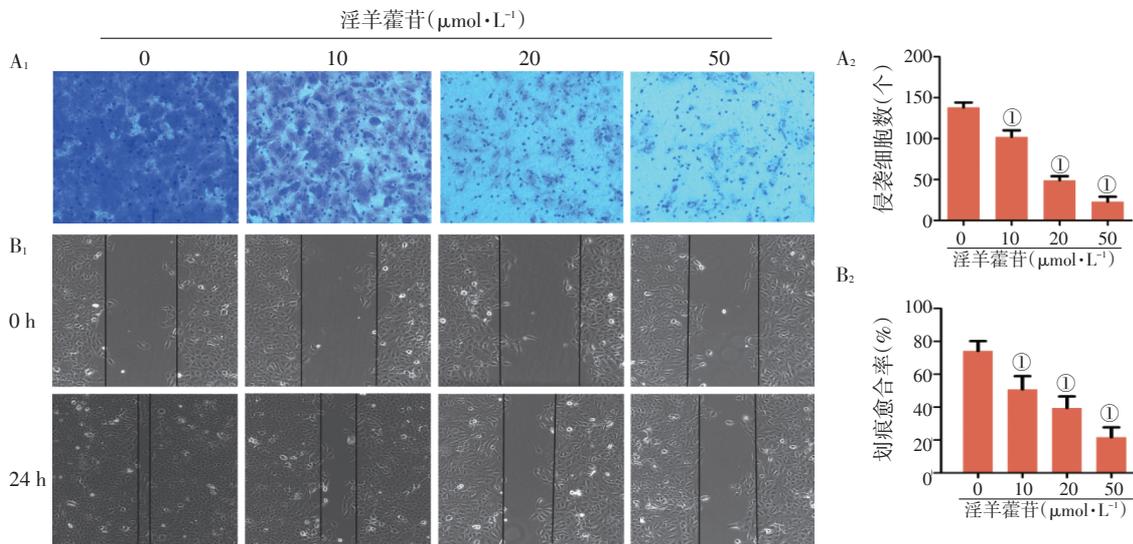


① $P < 0.05$, 与空白对照组(淫羊藿苷 0 $\mu\text{mol/L}$)比较

图1 淫羊藿苷对 CNE-2 细胞增殖能力的影响

Figure 1 Effect of icariin on the survival ability of CNE-2 cells

2.2 淫羊藿苷对体外培养 CNE-2 细胞侵袭、迁移能力的影响 图 2-A₁、A₂ 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷 10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 组的侵袭细胞数均明显减少 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性。



A₁. Transwell 实验($\times 200$); A₂. 各组细胞侵袭数比较; B₁. 划痕实验($\times 200$); B₂. 各组细胞划痕愈合率比较

① $P < 0.05$, 与空白对照组(淫羊藿苷 0 $\mu\text{mol/L}$)比较

图2 淫羊藿苷对 CNE-2 细胞侵袭迁移的影响

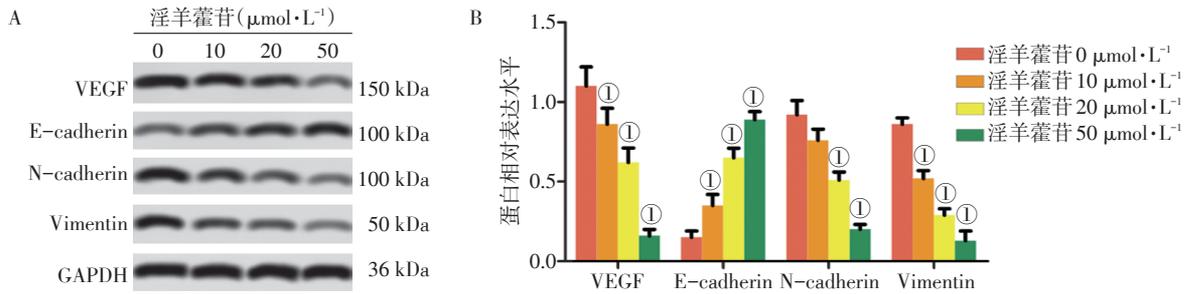
Figure 2 Effects of icariin on the invasion and migration of CNE-2 cells

图 2-B₁、B₂ 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷 10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 组的细胞划痕愈合率均明显下降 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性。表明淫羊藿苷可剂量依赖性地降低 CNE-2 细胞的侵袭迁移能力。

2.3 淫羊藿苷对体外培养 CNE-2 细胞上皮间质转化的影响 图 3 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷 10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 组肿瘤转移相关蛋白 VEGF、间质标记物 N-cadherin 和 Vimentin 的表达水平明显降低 ($P < 0.05$), 而上皮标记物 E-cadherin 的表达水平明显升高 ($P < 0.05$), 均呈剂量依赖性。

2.4 淫羊藿苷对体外培养 CNE-2 细胞 CaMKII、JNK 磷酸化水平的影响 图 4-A₁、A₂、A₃ 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷 10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 组 CaMKII、JNK 的磷酸化水平逐渐升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 且呈浓度依赖性。

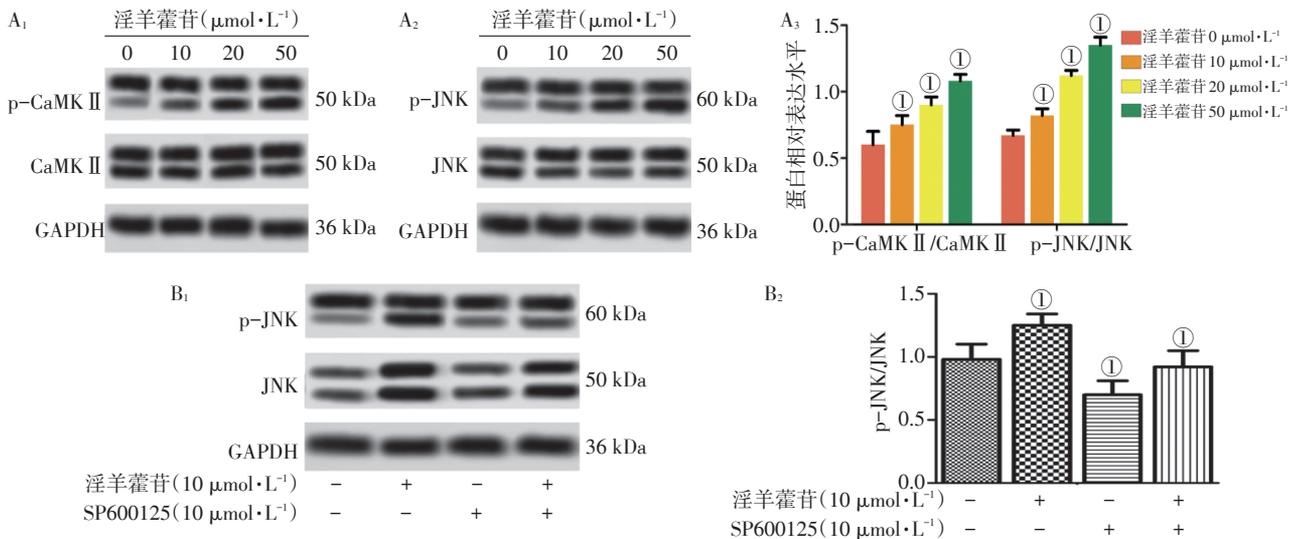
图 4-B₁、B₂ 结果显示: 单独应用 10 $\mu\text{mol/L}$ JNK 抑制剂 SP600125 预处理细胞后, JNK 的磷酸化水平较空白对照组明显降低 ($P < 0.05$); 单独用 10 $\mu\text{mol/L}$ 淫羊藿苷处理细胞时, JNK 磷酸化水平较空白对照组明显上调 ($P < 0.05$); 而 SP600125 与淫羊藿苷联用时, JNK 的磷酸化水平较单独 SP600125 预处理时明显增强 ($P < 0.05$)。表明淫羊藿苷可减弱 JNK 抑制剂 SP600125 对 CNE-2 细胞



A. 蛋白电泳条带; B. 各组 VEGF、N-cadherin、Vimentin、E-cadherin 的表达量比较
① $P < 0.05$, 与空白对照组(淫羊藿苷 0 μmol/L)比较

图3 淫羊藿苷对 CNE-2 细胞上皮间质转化的影响

Figure 3 Effects of icariin on epithelial-mesenchymal transition of CNE-2 cells



A₁. p-CaMK II、CaMK II 蛋白电泳条带; A₂. p-JNK、JNK 蛋白电泳条带; A₃. 不同浓度淫羊藿苷对细胞 CaMK II、JNK 磷酸化水平的影响

B₁. p-JNK、JNK 的蛋白免疫印迹电泳条带; B₂. 淫羊藿苷 + SP600125 对细胞 CaMK II、JNK 磷酸化水平的影响
① $P < 0.05$, 与空白对照组(淫羊藿苷 0 μmol/L)比较; ② $P < 0.05$, 与淫羊藿苷组比较

图4 淫羊藿苷对 CNE-2 细胞 CaMK II、JNK 磷酸化水平的影响

Figure 4 Effects of icariin on the phosphorylation levels of CaMK II and JNK in CNE-2 cells

JNK 磷酸化的抑制作用。

2.5 淫羊藿苷对鼻咽癌裸鼠体内成瘤的影响
图 5-A、B、C 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷各剂量组鼻咽癌裸鼠存活率增加, 移植瘤质量降低 ($P < 0.05$), 且呈剂量依赖性。

图 5-D₁、D₂ 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷各剂量组鼻咽癌裸鼠移植瘤组织细胞凋亡水平明显升高 ($P < 0.05$), 且呈剂量依赖性。

图 5-E₁、E₂ 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿苷 20、50 mg 组移植瘤组织 VEGF 阳性细胞数显著减少, 且有剂量依赖性。

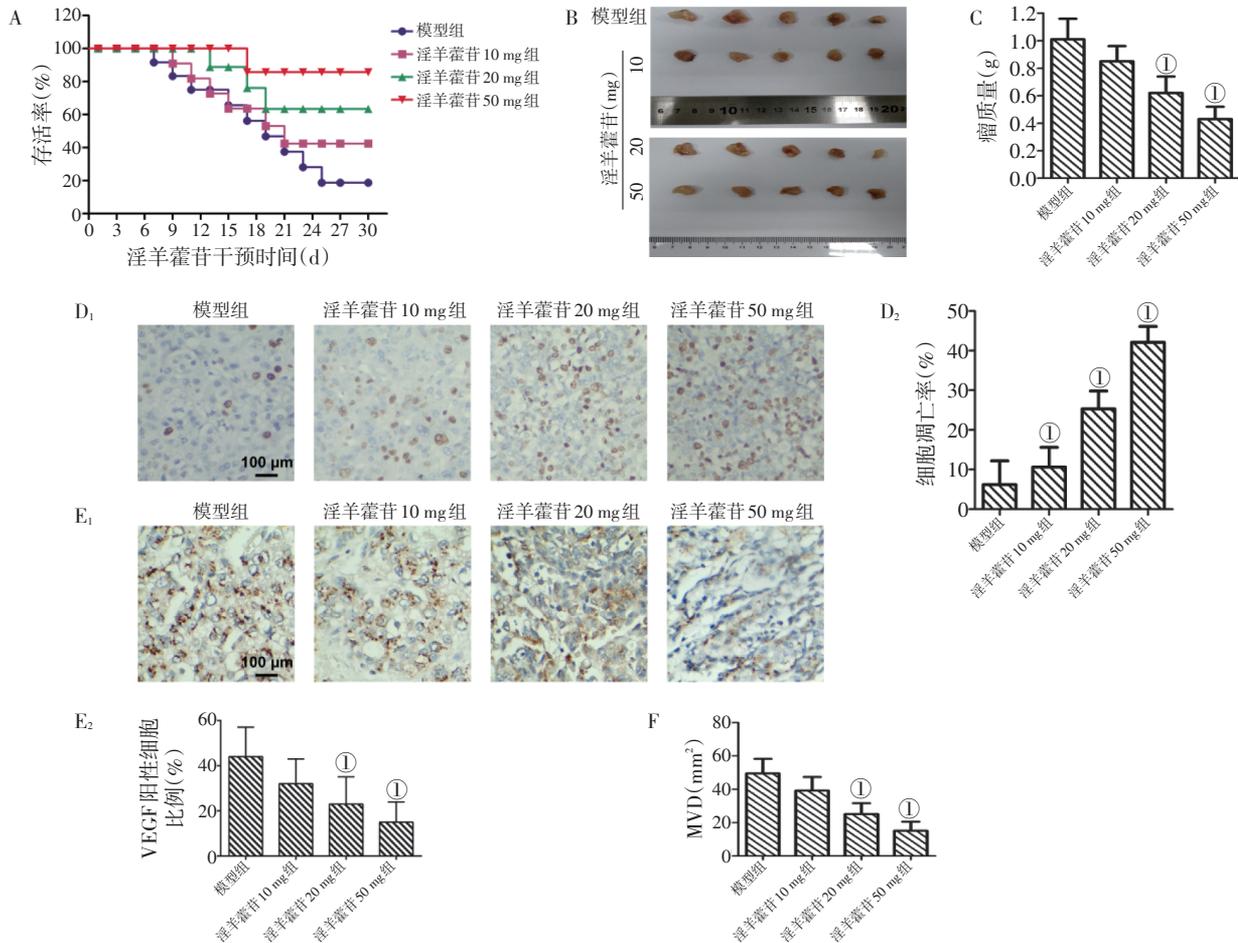
图 5-F 结果显示: 与空白对照组比较, 淫羊藿

苷各剂量组 MVD 值明显降低 ($P < 0.05$), 且呈剂量依赖性。

3 讨论

为探讨淫羊藿苷抑制鼻咽癌的潜力, 本研究从体内外两方面进行了观察。结果显示, 淫羊藿苷可抑制鼻咽癌 CNE-2 细胞、CNE-2 荷瘤裸鼠移植瘤的增殖, 并可改善鼻咽癌裸鼠的生存率, 表明羊藿苷可有效治疗鼻咽癌。

具有局部浸润和远处转移的能力是恶性肿瘤最主要的生物学特性, 并且是导致患者死亡的最主要原因。肿瘤细胞通过上皮间质转化获得耐药



A. 各组鼻咽癌裸鼠存活率比较。B. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤肉眼情况比较。C. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤质量比较。D1. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤组织凋亡细胞分布(TUNEL法, ×200); D2. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤组织细胞凋亡率比较。E1. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤组织 VEGF 阳性表达细胞分布(免疫组织化学法, ×200); E2. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤组织 VEGF 表达水平比较。F. 各组鼻咽癌裸鼠移植瘤 MVD 值比较

①P < 0.05, 与空白对照组(淫羊藿苷 0 μmol/L)比较

图5 淫羊藿苷对鼻咽癌裸鼠体内成瘤的影响

Figure 5 Effects of icariin on tumor growth of nude mice with nasopharyngeal carcinoma

性、干性和侵袭迁移能力, 最终导致肿瘤的复发和转移。上皮间质转化是其中肿瘤细胞获得侵袭迁移能力的诱导性事件, 其分子表现为上皮间质转化相关蛋白中的N-cadherin 和 Vimentin 下调, E-cadherin 上调, 从而促进细胞上皮间质转化和迁移^[8]。诱导肿瘤血管新生的能力是恶性肿瘤生长、浸润与转移的前提之一。VEGF 是最重要的血管生长促进因子, 并与多种肿瘤的恶性度及转移关系密切^[9]。因此, 抑制肿瘤的上皮间质转化以及增殖和侵袭迁移是肿瘤病情控制的关键^[10], 是抗癌药的重要作用靶点。本研究结果显示, 淫羊藿苷能剂量依赖性地抑制体外培养的鼻咽癌 CNE-2 细胞侵袭数目和划痕愈合率, 调节上皮间质转化相关蛋

白表达, 抑制其体内肿瘤生长和 VEGF 在肿瘤组织中的表达, 表明淫羊藿苷可抑制鼻咽癌 CNE-2 细胞的侵袭迁移能力。

CaMK II 是一种多功能丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, JNK 是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路的一个重要分支, 它们在细胞周期、凋亡和应激等生理和病理过程中起着重要作用。当细胞内 Ca²⁺ 稳态被破坏时, 蓄积的 Ca²⁺ 与钙调素相结合形成复合物启动 CaMK II 的磷酸化, 而激活后的 CaMK II 能进一步导致 JNK 的活化, 随后启动线粒体依赖的细胞凋亡^[11-12]。活化的 JNK 进而激活上皮间质转化相关基因的转录因子, 促进上皮间质转化和后续侵袭迁移过程^[13]。Ca²⁺ 稳态的失调是包括鼻咽癌

在内肿瘤中上皮间质转化发生的关键促进因素^[14]。而与 Ca^{2+} 稳态相关的 JNK 是鼻咽癌进展和侵袭的重要促进因素^[15]。本研究结果表明, 淫羊藿苷能激活 CaMK II/JNK 信号通路, 并部分抵消 JNK 抑制剂 SP600125 对该通路激活的抑制作用, 从而实现对鼻咽癌 CNE-2 细胞存活和转移的抑制作用。

综上所述, 本研究以人鼻咽癌 CNE-2 细胞为研究对象, 初步探讨了淫羊藿苷在体内外实验中对 CNE-2 细胞存活和转移的影响及其机制。结果表明, 淫羊藿苷可抑制鼻咽癌 CNE-2 细胞的存活和转移特性, 其机制可能与激活 CaMK II/JNK 信号通路有关。本研究初步阐明了淫羊藿苷抗鼻咽癌 CNE-2 细胞的机制, 为淫羊藿苷在临床治疗上的应用提供了一定参考。

参考文献:

- [1] GUO R, MAO Y P, TANG L L, et al. The evolution of nasopharyngeal carcinoma staging [J]. *Br J Radiol*, 2019, 92 (1102): 20190244.
- [2] PERRI F, DELLA VITTORIA SCARPATI G, CAPONIGRO F, et al. Management of recurrent nasopharyngeal carcinoma: current perspectives [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 1583-1591.
- [3] GUO D, XU B L, ZHANG X H, et al. Cancer stem-like side population cells in the human nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-2 possess epithelial mesenchymal transition properties in association with metastasis [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(1): 241-247.
- [4] 张豪, 王佰灵, 田苗, 等. 淫羊藿苷药理作用研究进展 [J]. *国际中医中药杂志*, 2018, 40(9): 893-897.
- [5] 路宇仁, 陈映冰, 崔元璐, 等. 淫羊藿苷药理作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(17): 209-220.
- [6] XUE L, JIANG Y, HAN T, et al. Comparative proteomic and metabolomic analysis reveal the antiosteoporotic molecular mechanism of icariin from *Epimedium brevicornu maxim* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 192: 370-381.
- [7] CHEN M, WU J, LUO Q, et al. The anticancer properties of herba *Epimedium* and its main bioactive components icariin and icariside II [J]. *Nutrients*, 2016, 8(9): 563.
- [8] LU W, KANG Y. Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis [J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3): 361-374.
- [9] WANG M H, SUN R, ZHOU X M, et al. Epithelial cell adhesion molecule overexpression regulates epithelial-mesenchymal transition, stemness and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cells via the PTEN/AKT/mTOR pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(1): 2.
- [10] 郭翔, 曹素梅, 洪明, 等. VEGF 蛋白检测对预测鼻咽癌远处转移风险的价值 [J]. *癌症*, 2004, 23(10): 1171-1175.
- [11] GRIFFITH L C. Regulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activation by intramolecular and intermolecular interactions [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(39): 8394-8398.
- [12] TIMMINS J M, OZCAN L, SEIMON T A, et al. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II links ER stress with Fas and mitochondrial apoptosis pathways [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(10): 2925-2941.
- [13] SAHU S K, GARDING A, TIWARI N, et al. JNK-dependent gene regulatory circuitry governs mesenchymal fate [J]. *EMBO J*, 2015, 34(16): 2162-2181.
- [14] ADIGA D, RADHAKRISHNAN R, CHAKRABARTY S, et al. The role of calcium signaling in regulation of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Cells Tissues Organs*, 2020: 1-23.
- [15] ZHOU H Y, WAN K F, IP C K, et al. Hepatocyte growth factor enhances proteolysis and invasiveness of human nasopharyngeal cancer cells through activation of PI3K and JNK [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(23-24): 3415-3422.

【责任编辑: 侯丽颖】