

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.007

1,25(OH)₂D₃调控ERK通路对食管鳞状细胞癌细胞生物学行为的影响

熊蓉^a, 熊黎^a, 吴佳林^b, 应凤^c, 岳秋菊^a, 胡欣^d, 刘康^a, 冯刚^a (川北医学院 a. 第二临床医学院 组织工程与干细胞研究所; b. 基础医学院; c. 临床医学院; d. 第二临床医学院 肿瘤科, 四川 南充 637000)

[摘要] **目的:** 探讨 1,25-二羟维生素 D₃ [1,25(OH)₂D₃] 对食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 细胞增殖、迁移和细胞周期的影响及其相关机制。 **方法:** 用不同浓度 1,25(OH)₂D₃ 处理 ESCC 细胞 TE-11、KYSE30、TE-1 和 KYSE510 后, 用 CCK-8 法检测细胞的增殖能力。再用浓度分别是 0、0.1、0.15、0.2 μmol/L 的 1,25(OH)₂D₃ 处理 TE-11 和 KYSE30 细胞, 划痕愈合实验、流式细胞术分别检测细胞的迁移能力和细胞周期分布情况, WB 法检测细胞中 cyclin D1、P27、ERK 和 p-ERK 蛋白的表达水平。 **结果:** 1,25(OH)₂D₃ 显著抑制 TE-11 和 KYSE30 细胞的增殖能力, 其抑制程度呈时间依赖性和浓度依赖性。0.1 和 0.2 μmol/L 的 1,25(OH)₂D₃ 处理 48 h 后, 与空白对照组比较, TE-11 和 KYSE30 细胞的迁移能力均显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 处于 G0/G1 期细胞显著增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 细胞中 cyclin D1 和 p-ERK 蛋白水平显著下调、P27 蛋白水平明显上调 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 而 ERK 蛋白的表达无明显变化。 **结论:** 1,25(OH)₂D₃ 显著抑制 ESCC 细胞的增殖和迁移能力并阻滞细胞周期进程, 其可能通过调控 ERK 信号通路而发挥作用。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; 1,25-二羟维生素 D₃; 增殖; 迁移; 细胞周期; ERK 通路

[中图分类号] R 730.2; R735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)07-0696-06

Effects of 1,25(OH)₂D₃ regulating ERK pathway on the biological behaviors of esophageal squamous cell carcinoma cells

XIONG Rong^a, XIONG Li^a, WU Jialin^b, YING Feng^c, YUE Qiuju^a, HU Xin^d, LIU Kang^a, FENG Gang^a (a. Institute of Tissue Engineering and Stem Cells, the Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College; b. School of Basic Medical Science; c. School of Clinical Medicine; d. Department of Oncology, the Second Clinical Medical College, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of 1,25(OH)₂D₃ (1,25-dihydroxy vitamin D₃) on the proliferation, migration and cell cycle of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells and its mechanism. **Methods:** Human ESCC cells (TE-1, KYSE30, TE-11 and KYSE510) were treated with different concentrations of 1,25(OH)₂D₃, and the proliferation was detected by CCK-8. TE-11 and KYSE30 cells were treated with 1,25(OH)₂D₃ at concentrations of 0, 0.1, 0.15, and 0.2 μmol/L, respectively. Scratch healing test was used to detect cell migration ability, Flow cytometry was used to detect cell cycle distribution, and WB was used to detect the protein expressions of cyclin D1, P27, ERK and p-ERK. **Results:** 1,25(OH)₂D₃ significantly inhibited the proliferation of TE-11, KYSE30 cells in a concentration- and time-dependent manner ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). As compared with control group, TE-11 and KYSE30 cells that treated with 0.1 and 0.2 μmol/L 1,25(OH)₂D₃ for 48 h exhibited significantly inhibited migration ability ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), increased cell population at G0/G1 phase ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), decreased protein expressions of cyclin D1 and p-ERK ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and increased expression of P27 protein ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); however, there was no significant difference in total ERK level. **Conclusion:** 1,25(OH)₂D₃ can significantly inhibit the proliferation, migration and block the cell cycle of ESCC cells, which may be through the regulation of ERK signal pathway.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃); proliferation; migration; cell cycle; ERK signal pathway

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(7): 696-701. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.007]

[基金项目] 四川省科技创新苗子工程培育项目 (No.2020104); 四川省科技计划项目 (No.2018SZ0377, No.2018JY0219); 南充市市校合作科研专项资金 (No.18SXHZ0208, No.18SXHZ0366, No.18SXHZ0381)。Project supported by the Sichuan Science and Technology Innovation Seedling Project (No.2020104), the Science and Technology Program of Sichuan Province (No.2018SZ0377, No.2018JY0219), and the Nanchong City-School Cooperative Scientific Research Special Fund (No.18SXHZ0208, No.18SXHZ0366, No.18SXHZ0381)

[作者简介] 熊蓉 (1993—), 女, 硕士生, 主要从事食管癌的生物治疗研究, E-mail: xiongrong2019214@163.com

[通信作者] 刘康 (LIU Kang, corresponding author), 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事食管癌的基础及生物治疗研究, E-mail: liukang@nsmc.edu.cn

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是最常见的恶性肿瘤之一,其在中国的病死率居第6位、发病率居第7位^[1-2]。目前ESCC的主要治疗方法有手术、放疗和化疗,尽管治疗方法有所改进,然而由于缺乏有效且副作用小的药物,ESCC患者的预后极差、5年生存率仍然很低^[3-4]。维生素D₃是维生素D家族的重要成员,其活性代谢产物是1,25-二羟维生素D₃[1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃]。流行病学研究^[5-7]表明,1,25(OH)₂D₃水平降低会增加多种肿瘤的患病风险,包括乳腺癌、结直肠癌、肺癌等。维生素D及其代谢通路正成为肿瘤防治研究领域中的热点,其中1,25(OH)₂D₃可通过抗肿瘤细胞增殖、促凋亡、抑制血管生成以及免疫调节等途径发挥抗肿瘤作用。本研究通过观察1,25(OH)₂D₃对ESCC细胞增殖、迁移及细胞周期等的影响,并探讨可能的作用机制,旨在为1,25(OH)₂D₃用于临床ESCC的治疗奠定实验基础并提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 细胞系及主要试剂

人ESCC细胞系TE-11、KYSE30、TE-1和KYSE510购自中国武汉细胞研究中心。

1,25(OH)₂D₃购自美国Sigma公司,RPMI 1640培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司,磷酸盐缓冲液(PBS)和0.25%胰酶均购自HyClone公司,BCA蛋白定量试剂盒购自Thermo Fisher公司,CCK-8试剂盒购自凯基生物公司,细胞周期检测试剂盒、RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、SYBR染料均购自南京诺唯赞生物有限公司,兔抗人ERK、兔抗人p-ERK、鼠抗人P27和cyclin D1及GAPDH一抗均购自中国华安生物有限公司,HRP标记的山羊抗兔或山羊抗鼠二抗购自美国Sigma公司。

1.2 细胞培养

TE-11、KYSE30、TE-1和KYSE510细胞在含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的RPMI 1640完全培养液中培养。细胞复苏后用RPMI 1640完全培养基重悬,转至6孔板,置于37℃、5%CO₂恒温培养箱中培养。每日在光学显微镜下观察细胞的生长状态,隔日换培养液1次,每2~3 d传代1次,取对数生长期细胞(细胞汇合度80%左右)进行后续实验。

1.3 CCK-8法检测ESCC细胞的增殖能力

取对数生长期的ESCC细胞,细胞计数后以4×10³个/孔接种于96孔板中,每孔100 μl,24 h后弃去旧的培养液,分别加入终浓度为25、50、100、200、300、400、500 nmol/L的1,25(OH)₂D₃培养液各100 μl,空白组加入

100 μl 0.5% DMSO培养液,每组设置3个复孔。在37℃、5%CO₂条件下继续培养,分别在24、48 h时每孔加入10 μl CCK-8试剂,孵育1 h后应用酶标仪检测各孔在波长450 nm处的光密度(D)值,取3个复孔均数计算细胞增殖活性,并绘制细胞增殖曲线。

1.4 划痕愈合实验检测ESCC细胞的迁移能力

用记号笔在6孔板背后均匀画横线,每孔至少穿过5条线。取对数生长期的TE-11细胞,细胞计数后以2×10⁵个/孔接种于6孔培养板中,每孔2 ml,培养24 h后在细胞生长面用无菌的10 μl移液器枪头垂直于背后横线划痕。PBS洗涤细胞3次,清除枪头划下的细胞,加入无血清培养基,据TE-11 24 h的IC₅₀值,分别加入终浓度为0.1、0.15、0.2 μmol/L的1,25(OH)₂D₃培养液2 ml,空白组加入2 ml 0.5% DMSO的培养液,置入37℃、5%CO₂恒温环境下培养,分别在0、24 h于显微镜下拍照,每组设置3个复孔。应用ImageJ软件测量实验划痕的距离,计算细胞划痕愈合率。细胞划痕愈合率=(0 h划痕宽度-48 h划痕宽度)/0 h划痕宽度×100%。

1.5 流式细胞术检测ESCC细胞的细胞周期

将重悬后的细胞悬液用新鲜培养基进行稀释,使细胞悬液中细胞密度为2×10⁵个/ml,并将其均匀接种于6孔板,每孔2 ml。继续在37℃恒温培养箱中孵育12 h使细胞贴壁,之后换为无血清培养基培养24 h,再用不同浓度的1,25(OH)₂D₃处理。48 h后弃去旧的培养液,每孔用2 ml灭菌PBS清洗细胞,并用胰酶消化。后用2 ml PBS清洗细胞2次,离心弃去上层PBS。用-20℃预冷的70%乙醇重悬细胞,于4℃冰箱中放置使细胞固定。12 h后以300×g离心后,弃去上清,并用4℃预冷的灭菌PBS清洗1次。避光条件下加入PI染液(含0.1% Triton X-100和100 μg/ml RNase)轻轻吹打细胞,使其混合均匀,15 min后利用流式细胞仪检测各组细胞的细胞周期分布。

1.6 WB检测ESCC细胞中蛋白表达

经过处理后的细胞转移至离心管,700×g离心5 min,收集细胞沉淀,加入细胞裂解液提取细胞中总蛋白,BCA蛋白定量试剂盒进行定量。取30 μg等量蛋白样品进行10% SDS-PAGE、转膜,5%脱脂奶粉常温封闭1 h,加入兔抗人ERK(1:2 000)、兔抗人p-ERK(1:500)、鼠抗人P27(1:2 000)和鼠抗人cyclin D1(1:1 000)及GAPDH(1:5 000)一抗4℃孵育过夜。次日洗膜后,加入二抗(1:10 000)室温孵育1 h。加入ECL试剂后曝光、扫描成像。以GAPDH为内参照,用ImageJ软件分析蛋白条带的灰度值。

1.7 统计学处理

1.3~1.6实验均重复3次。采用GraphPad Prism7.0

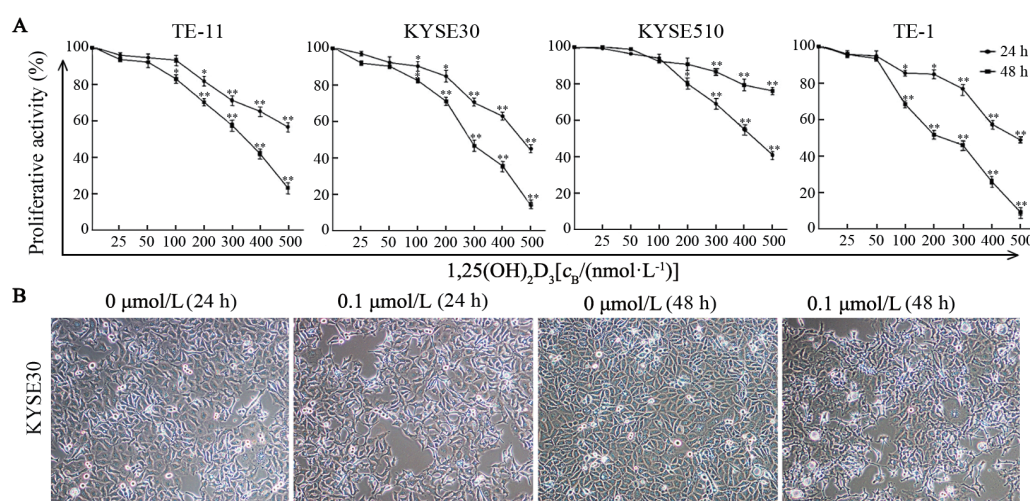
统计学软件对数据进行统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析以及SNK- q 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 1,25(OH)₂D₃显著抑制 ESCC 细胞的增殖能力

用不同浓度的 1,25(OH)₂D₃ 作用于 TE-11、KYSE30、TE-1 和 KYSE510 细胞 24、48 h 后, CCK-8

法检测结果(图 1A)显示, 1,25(OH)₂D₃ 对细胞的增殖活性抑制存在着剂量-效应和时间-效应关系, 并且浓度大于 0.1 $\mu\text{mol/L}$ (100 nmol/L) 时对细胞增殖活性均有明显抑制作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。经 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,25(OH)₂D₃ 处理 KYSE30 细胞后, 光镜下见细胞皱缩变圆, 伸出伪足, 贴壁性差, 部分脱落, 细胞间距增大(图 1B)。所以, 后续实验中选择 0.1、0.15、0.2 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,25(OH)₂D₃ 处理 KYSE30 和 TE-11 细胞。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ 1,25(OH)₂D₃

A: The proliferative activity of ESCC cells was detected by CCK-8 assay;

B: The morphology of KYSE30 cells was observed under light microscope (×100)

图1 不同浓度 1,25(OH)₂D₃ 对 ESCC 细胞增殖和形态的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of 1,25(OH)₂D₃ on proliferation and morphology of ESCC cells

2.2 1,25(OH)₂D₃ 显著抑制 TE-11 和 KYSE30 细胞的迁移能力

划痕愈合实验结果(图 2)显示, 与对照组比较, 0.1 和 0.2 μmol 组 TE-11 和 KYSE30 细胞 48 h 的划痕愈合率均显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果表明, 0.1 和 0.2 μmol 的 1,25(OH)₂D₃ 均显著抑制 ESCC 的细胞迁移能力。

2.3 1,25(OH)₂D₃ 将 ESCC 细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期

流式细胞术检测结果(图 3A)显示, 与对照组相比, 0.1、0.15、0.2 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,25(OH)₂D₃ 作用 48 h 后, 处于 G₀/G₁ 期的 TE-11 和 KYSE30 细胞比例均显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。WB 实验结果(图 3B)显示, 随着 1,25(OH)₂D₃ 浓度的增加, TE-11 和 KYSE30 细胞中 cyclin D1 表达水平显著下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 P27 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果表明, 1,25(OH)₂D₃ 可将 ESCC 细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期。

2.4 1,25(OH)₂D₃ 显著调控 ESCC 细胞中 p-ERK 蛋白

的表达

WB 法检测结果(图 4)显示, 随着 1,25(OH)₂D₃ 浓度的增加, TE-11 和 KYSE30 细胞中 ERK 蛋白无明显变化, 而 p-ERK 蛋白的表达水平显著低于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果表明, 1,25(OH)₂D₃ 可明显抑制 ESCC 细胞中 p-ERK 蛋白的表达。

3 讨论

寻找毒性低、疗效强的抗肿瘤药物对于改善目前 ESCC 的治疗效果至关重要。虽然维生素 D₃ 的传统功能是调节体内的钙稳态, 但越来越多的研究^[8-10]表明, 体内维生素 D₃ 水平与肿瘤的发生发展相关, 其缺乏与结肠癌、前列腺癌、乳腺癌等的高发病率密切相关。

维生素 D₃ 的主要活性代谢产物是 1,25(OH)₂D₃, 通过与维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)特异性结合而发挥生物学功能。通常, 在无配体结合情况下, VDR 通过与共抑制分子相互作用抑制靶基因的转录^[11]。但当 1,25-(OH)₂D₃ 与 VDR 相结合后, 使

VDR发生相应的构象改变导致其磷酸化,使共抑制分子从VDR上脱离,形成1,25-(OH)₂D₃-VDR-RXR复合物,并与靶基因启动子上的维生素D反应元件

(vitamin D response element, VDRE)特异性结合,调控靶基因转录,从而发挥抑瘤作用^[12-13]。

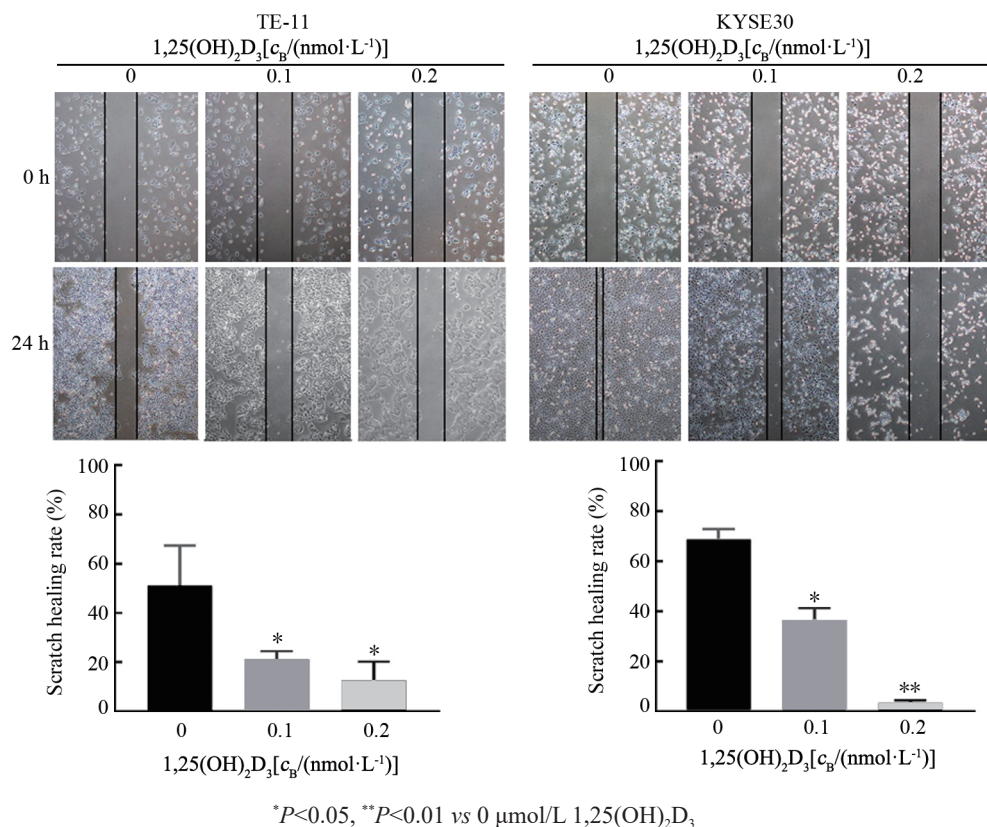


图2 不同浓度1,25(OH)₂D₃对ESCC细胞迁移的影响

Fig.2 Effect of different concentrations of 1,25(OH)₂D₃ on the migration of ESCC cells

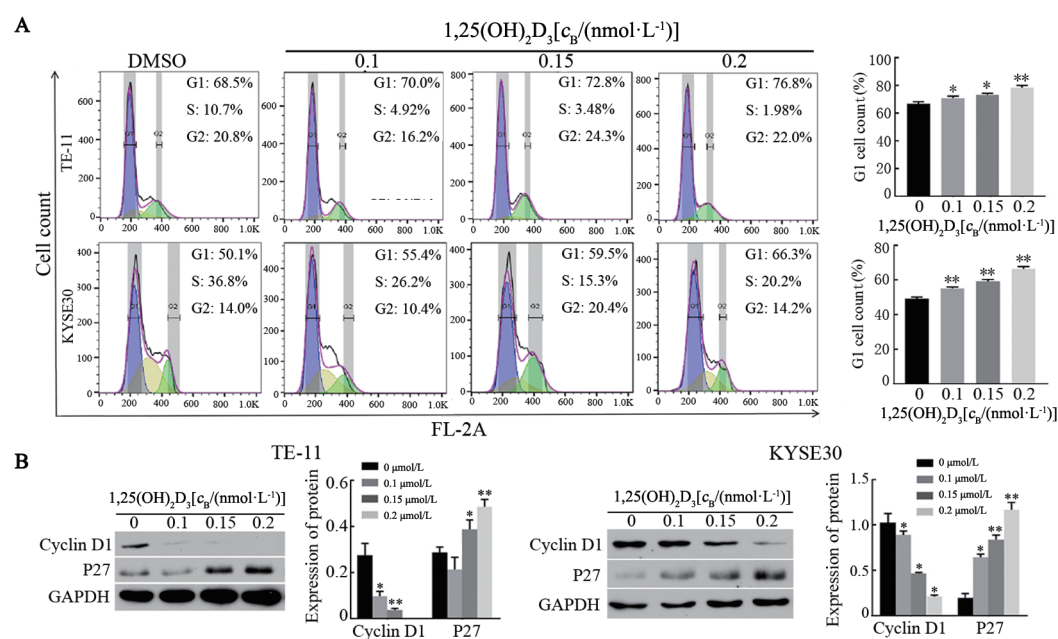


图3 不同浓度1,25(OH)₂D₃对ESCC细胞周期(A)和周期相关蛋白cyclin D1与P27(B)表达的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of 1,25(OH)₂D₃ on the cell cycle (A) and the expressions of cell cycle related proteins cyclin D1 and P27 (B) in ESCC cells

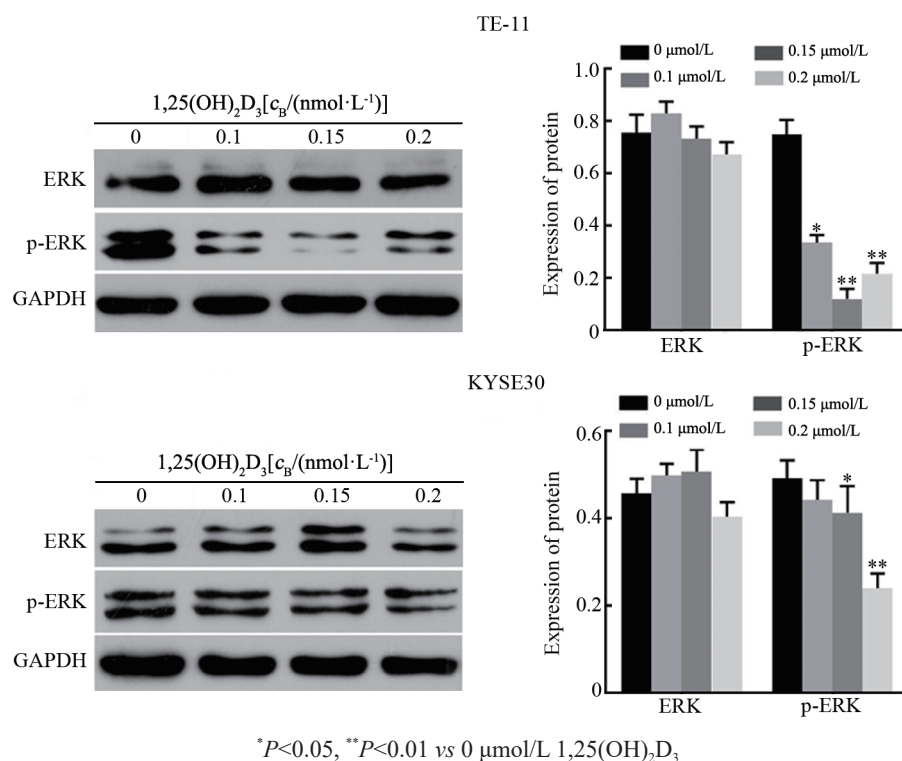


图4 不同浓度1,25(OH)₂D₃对ESCC细胞ERK和p-ERK蛋白表达的影响

Fig.4 Effects of different concentrations of 1,25(OH)₂D₃ on the protein expressions of ERK and p-ERK in ESCC cells

肿瘤细胞具有恶性增殖和侵袭、转移等特点,抑制肿瘤细胞增殖与转移是治疗肿瘤的关键和难点^[14-15]。本研究结果表明,1,25(OH)₂D₃可以显著抑制ESCC细胞的增殖与迁移能力。肿瘤细胞恶性增殖与细胞周期紊乱密切相关。哺乳动物细胞编码3种细胞周期蛋白D(cyclin D1/D2/D3),它们协同作为细胞周期蛋白依赖性激酶4(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)和CDK6的变构调节器,调控细胞周期从G1期向S期转变。在人类肿瘤中,cyclin D1比cyclin D2或D3更容易失调。cyclin D1的过表达导致CDK活性失调,细胞在有丝分裂信号受限的条件下快速生长,绕过关键的细胞检查点,最终导致肿瘤生长^[16]。cyclin依赖性激酶抑制因子P27(又称KIP1)是一种通过特定的分子机制抑制细胞周期进程的因子,对细胞周期的抑制作用是通过抑制CDK介导的^[17-18]。P27与cyclin/CDK复合体的相互作用在调控细胞周期、增殖分化过程中起关键作用。本研究结果表明,1,25(OH)₂D₃使S期细胞数量降低,导致细胞堆积在G0/G1期,同时cyclin D1表达下调、P27蛋白表达逐渐上调,从而抑制癌细胞的增殖。这与1,25(OH)₂D₃对乳腺癌^[19]、胃癌^[20]和结肠癌^[21]细胞的作用一致,表明1,25(OH)₂D₃对细胞增殖的影响与作用浓度和处理时间相关。本研究仅从细胞实验说明了1,25(OH)₂D₃的抗ESCC细胞增殖的作用,未进行体内实验,但也为1,25(OH)₂D₃的体内抗ESCC研究提供

了可参考的给药浓度。

哺乳类动物细胞中,与ERK相关的细胞内信号转导途径被认为是经典丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号转导途径^[22]。研究^[23-24]指出,ERK通路在细胞的增殖、分化以及肿瘤转移等方面有重要调控作用,激活的ERK二聚物可在细胞质中调控靶蛋白,也可转运入细胞核,在核内磷酸化多种调控基因表达的转录因子,促进肿瘤细胞增殖并抑制细胞凋亡,促使肿瘤细胞侵袭与转移等。本研究进一步实验发现,1,25(OH)₂D₃可以降低磷酸化ERK蛋白的表达,但是1,25(OH)₂D₃作用于ESCC细胞是否会影响ERK信号通路上下游蛋白的变化还需进一步的研究。

综上所述,1,25(OH)₂D₃对ESCC细胞具有抑制增殖与迁移、阻滞细胞周期进程的作用,其可能通过调控ERK信号通路而发挥作用。1,25(OH)₂D₃能否作为ESCC的辅助治疗,或者联合化疗药物协同治疗有待深入研究。本研究结果为1,25(OH)₂D₃用于临床ESCC的治疗提供了实验基础和新的思路。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.

- [2] 刘董剑, 杨凌. 食管鳞状细胞癌研究模型: 细胞系、动物移植模型和3D培养模型[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(2): 199-210. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.015.
- [3] ZENG H M, CHEN W Q, ZHENG R S, et al. Changing cancer survival in China during 2003-15: a pooled analysis of 17 population-based cancer registries[J/OL]. Lancet Glob Health, 2018, 6(5): e555-e567 [2021-02-06]. [https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(18\)30127-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(18)30127-X/fulltext). DOI:10.1016/S2214-109X(18)30127-X.
- [4] LIU Y P, ZHAO L, XUE L Y, et al. Selected updates in molecular and genomic pathology of esophageal cancer[J]. Ann NY Acad Sci, 2020, 1482(1): 225-235. DOI:10.1111/nyas.14527.
- [5] CARLBERG C, MUÑOZ A. An update on vitamin D signaling and cancer[J/OL]. Semin Cancer Biol, 2020, 2020: S1044-S579X(20)30114-0[2021-02-06]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044579X20301140?via%3DIihub>. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.05.018.
- [6] CARLBERG C. Molecular endocrinology of vitamin D on the epigenome level[J]. Mol Cell Endocrinol, 2017, 453: 14-21. DOI: 10.1016/j.mce.2017.03.016.
- [7] DEEB K K, TRUMP D L, JOHNSON C S. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(9): 684-700. DOI:10.1038/nrc2196.
- [8] MARKOTIC A, LANGER S, KELAVA T, et al. Higher post-operative serum vitamin D level is associated with better survival outcome in colorectal cancer patients[J]. Nutr Cancer, 2019, 71(7): 1078-1085. DOI:10.1080/01635581.2019.1597135.
- [9] MORENO J, KRISHNAN A V, SWAMI S, et al. Regulation of prostaglandin metabolism by calcitriol attenuates growth stimulation in prostate cancer cells[J]. Cancer Res, 2005, 65(17): 7917-7925. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1435.
- [10] ZHANG T, HE L, SUN W, et al. 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ enhances the susceptibility of anaplastic thyroid cancer cells to adriamycin-induced apoptosis by increasing the generation of reactive oxygen species[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(3): 2641-2648. DOI:10.3892/mmr.2019.10530.
- [11] VERONE-BOYLE A R, SHOEMAKER S, ATTWOOD K, et al. Diet-derived 25-hydroxyvitamin D₃, vitamin D receptor target gene expression and suppresses *EGFR* mutant non-small cell lung cancer growth *in vitro* and *in vivo*[J/OL]. Oncotarget, 2016, 7(1): 995-1013 [2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4808047/>. DOI:10.18632/oncotarget.6493.
- [12] ZHANG Q H, KANTEREWICZ B, SHOEMAKER S, et al. Differential response to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (1 α , 25(OH)₂D₃) in non-small cell lung cancer cells with distinct oncogene mutations[J/OL]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2013, 136: 264-270[2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3674199/>. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2012.09.022.
- [13] BIANCHI F, SOMMARIVA M, LE NOCI V, et al. Aerosol 1,25-dihydroxyvitamin D₃ supplementation: a strategy to boost anti-tumor innate immune activity[J/OL]. PLoS One, 2021, 16(3): e0248789[2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8007042/>. DOI:10.1371/journal.pone.0248789.
- [14] QUAIL D F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J/OL]. Nat Med, 2013, 19(11): 1423-1437 [2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3954707/>. DOI:10.1038/nm.3394.
- [15] VOGELSTEIN B, PAPADOPOULOS N, VELCULESCU V E, et al. Cancer genome landscapes[J/OL]. Science, 2013, 339(6127): 1546-1558[2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3749880/>. DOI:10.1126/science.1235122.
- [16] QIE S, DIEHL J A. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment[J/OL]. J Mol Med (Berl), 2016, 94(12): 1313-1326 [2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5145738/>. DOI:10.1007/s00109-016-1475-3.
- [17] ABBASTABAR M, KHEYROLLAH M, AZIZIAN K, et al. Multiple functions of p27 in cell cycle, apoptosis, epigenetic modification and transcriptional regulation for the control of cell growth: a double-edged sword protein[J]. DNA Repair (Amst), 2018, 69: 63-72. DOI:10.1016/j.dnarep.2018.07.008.
- [18] RAZAVIPOUR S F, HARIKUMAR K B, SLINGERLAND J M. p27 as a transcriptional regulator: new roles in development and cancer[J]. Cancer Res, 2020, 80(17): 3451-3458. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-3663.
- [19] ZHENG W, CAO L, OUYANG L N, et al. Anticancer activity of 1,25-(OH)₂D₃ against human breast cancer cell lines by targeting Ras/MEK/ERK pathway[J/OL]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 721-732[2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6348968/>. DOI:10.2147/OTT.S190432.
- [20] LIM X, LIL F, ZHANG L, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses gastric cancer cell growth through VDR- and mutant p53-mediated induction of p21[J]. Life Sci, 2017, 179: 88-97. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.04.021.
- [21] SUN H Y, JIANG C W, CONG L L, et al. CYP24A1 inhibition facilitates the antiproliferative effect of 1, 25(OH)₂D₃ through downregulation of the WNT/ β -catenin pathway and methylation-mediated regulation of CYP24A1 in colorectal cancer cells[J]. DNA Cell Biol, 2018, 37(9): 742-749. DOI:10.1089/dna.2017.4058.
- [22] SUN Y, LIU W Z, LIU T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(6): 600-604. DOI:10.3109/10799893.2015.1030412.
- [23] BARBOSA R, ACEVEDO L A, MARMORSTEIN R. The MEK/ERK network as a therapeutic target in human cancer[J/OL]. Mol Cancer Res, 2021, 19(3): 361-374[2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7925338/>. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-20-0687.
- [24] MAIK-RACHLINE G, HACHOEN-LEV-RAN A, SEGER R. Nuclear ERK: mechanism of translocation, substrates, and role in cancer[J/OL]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5): E1194[2021-02-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6429060/>. DOI:10.3390/ijms20051194.

[收稿日期] 2021-02-08

[修回日期] 2021-05-23

[本文编辑] 党瑞山