

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.09.005

· 基础研究 ·

吉马酮通过 FOXO3-FOXM1 轴调控甲状腺癌 BCPAP 细胞的增殖、迁移和化疗耐药

王洪涛¹, 马正², 单四新³, 朱坤良², 苑留云² (1. 河北以岭医院 西药房, 河北 石家庄 050011; 2. 沧州市中心医院 药学部, 河北 沧州 061000; 3. 沧州市中心医院 急诊科, 河北 沧州 061000)

[摘要] **目的:**探究吉马酮通过叉头盒蛋白 O3 (FOXO3)-FOX 亚类 M1 转录因子 (FOXM1) 信号通路调控人甲状腺癌细胞 BCPAP 和多柔比星 (DOX) 耐药 BCPAP 细胞 (BCPAP/DOX) 的增殖、迁移和化疗耐药。**方法:**常规培养 BCPAP 细胞, 用 BCPAP 细胞构建 BCPAP/DOX 细胞, 用 MTT 法检测不同浓度吉马酮对 BCPAP 和 BCPAP/DOX 细胞增殖的影响。将 BCPAP 和 BCPAP/DOX 细胞分为 Ctrl 组 (空白对照)、sh-NC 组 (转染 sh-NC 质粒)、低浓度吉马酮组 (0.10 mmol/L)、高浓度吉马酮组 (0.15 mmol/L)、高浓度吉马酮 (0.15 mmol/L) + sh-FOXO3 组 (转染 sh-FOXO3 质粒), 用转染试剂将 sh-NC 质粒和 sh-FOXO3 质粒转至相应的 BCPAP 和 BCPAP/DOX 细胞中。用 CCK-8 法、划痕愈合实验和 WB 法分别检测各组细胞的增殖、迁移能力, 以及 FOXO3、FOXM1、BAX、MMP-9 和多药耐药-1 (MDR-1) 蛋白的表达。**结果:**在 BCPAP 和 BCPAP/DOX 细胞中成功地敲减了 FOXO3 的表达, 低浓度和高浓度吉马酮均可显著抑制 BCPAP 和 BCPAP/DOX 细胞的增殖、迁移能力, 降低细胞中 FOXM1、MMP-9 或 MDR-1 (BCPAP/DOX 细胞) 蛋白的表达, 提升 FOXO3 和 BAX 蛋白的表达 (均 $P < 0.05$), 与低浓度比较, 高浓度吉马酮的作用更为显著 (均 $P < 0.05$), 敲减 FOXO3 后可部分逆转吉马酮对这两种细胞的作用 (均 $P < 0.05$)。**结论:**吉马酮可能通过 FOXO3/FOXM1 信号通路调控 BCPAP 和 BCPAP/DOX 细胞的增殖和迁移能力, 降低 BCPAP/DOX 细胞化疗耐药性。

[关键词] 吉马酮; 叉头盒蛋白 O3; 叉头盒亚类 M1 转录因子; 甲状腺癌; 增殖; 迁移; 化疗耐药

[中图分类号] R736.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)09-0871-07

Germacrone regulates proliferation, migration and chemoresistance of thyroid cancer BCPAP cells through FOXO3-FOXM1 axis

WANG Hongtao¹, MA Zheng², SHAN Sixin³, ZHU Kunliang², YUAN Liyun² (1. Western Pharmacy, Hebei Yiling Hospital, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Pharmacy, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061000, Hebei, China; 3. Emergency Department, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore how germacrone regulates the proliferation, migration and chemoresistance of human thyroid cancer BCPAP cells and doxorubicin (DOX) resistant BCPAP cells (BCPAP/DOX) through the forkhead box O3 (FOXO3)-FOX subclass M1 transcription factor (FOXM1) signaling pathway. **Methods:** BCPAP cells were cultured routinely and used to construct BCPAP/DOX cells. MTT method was applied to detect the effects of different concentrations of germacrone on the proliferation of BCPAP and BCPAP/DOX cells. BCPAP and BCPAP/DOX cells were divided into control group (Ctrl), negative control group (NC, transfected with sh-NC plasmid), low concentration germacrone group (0.10 mmol/L), high concentration germacrone group (0.15 mmol/L), high concentration germacrone (0.15 mmol/L) + sh-FOXO3 group (transfected with sh-FOXO3 plasmid). The sh-NC plasmid and sh-FOXO3 plasmid were transfected into the corresponding BCPAP and BCPAP/DOX cells with transfection reagents. The proliferation and migration of the cells were detected using CCK-8 assay and scratching healing assay, and the expression of FOXO3, FOXM1, BAX, MMP-9 and multi-drug resistant-1 (MDR-1) was detected using WB assay. **Results:** The expression of FOXO3 was successfully knocked down in BCPAP and BCPAP/DOX cells. Both low and high concentrations of germacrone could significantly inhibit the proliferation and migration of BCPAP and BCPAP/DOX cells, reduce the protein expression of FOXM1, MMP-9 or MDR-1 (in BCPAP/DOX cells), and increase the protein expression of FOXO3 and BAX (all $P < 0.05$). Notably, the effects were more significant with high concentration germacrone compared to that of low concentration (all $P < 0.05$). Knockdown of FOXO3 partially reversed the

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划项目 (No.20220384)

[作者简介] 王洪涛 (1988—), 男, 学士, 主管药师, 主要从事药物学基础与临床的研究。E-mail: uazwab@163.com

[通信作者] 王洪涛, E-mail: uazwab@163.com

effects of germacrone on these cells (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Germacrone may regulate the proliferation and migration of BCPAP and BCPAP/DOX cells and reduce chemotherapy resistance of BCPAP/DOX cells through the FOXO3/FOXO1 signaling pathway.

[Key words] germacrone; forkhead box O3 (FOXO3); FOX subclass M1 transcription factor (FOXO1); thyroid cancer; proliferation; migration; chemotherapy resistance

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(9): 871-877. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.09.005]

甲状腺癌属于一种内分泌恶性肿瘤,在全世界恶性肿瘤中位于前十^[1]。分化良好的甲状腺癌较为常见,而未分化/间变性甲状腺癌则是最难治疗的一类甲状腺癌,目前临床上的治疗手段很有限^[2-3]。因此,新的有效治疗方法的开发就显得尤为重要。莪术,一种传统中草药,早有研究^[4-5]发现,莪术具有抗肿瘤效果,调控肝癌和胃癌细胞增殖和转移。吉马酮是从莪术中提取的一种有效成分,同样具有抗肿瘤活性^[6-7]。叉头框(forkhead box, FOX)转录因子是一个超家族,参与细胞组织的生长发育过程^[8]。其中FOX亚类M1(FOX subclass M1, FOXO1)在多种恶性肿瘤中高表达,它主要调节细胞周期和细胞增殖,异常表达会导致肿瘤发生发展、转移以及耐药。叉头框蛋白O3(forkhead box O3, FOXO3),可以与FOXO1结合进而调控肿瘤发生发展,参与肿瘤生成并诱导其产生耐药^[9]。FOXO3在癌症中的作用也早有研究^[10],其在肿瘤细胞中表达降低影响癌细胞增殖。吉马酮能否通过调控FOXO3/FOXO1信号通路对人甲状腺癌细胞增殖、迁移和化疗耐药产生影响还鲜有报道。因此,本研究探究吉马酮对人甲状腺癌细胞增殖、迁移、化疗耐药的影响以及FOXO3/FOXO1信号通路的作用,为临床治疗甲状腺癌提供潜在的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

人甲状腺癌细胞BCPAP购自武汉纯度生物科技有限公司。吉马酮购自北京百灵威科技有限公司,多柔比星(doxorubicin, DOX)购自上海麦克林生化科技股份有限公司。胎牛血清购自上海麦克林生化科技股份有限公司,DMEM细胞培养液购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,MTT试剂购自上海易恩化学技术有限公司,CCK-8细胞计数试剂盒购自广州威佳科技有限公司,FOXO3敲减及对照质粒均由上海吉凯基因医学科技股份有限公司制备,转染试剂Lipofectamine 2000购自美国Thermo Fisher Scientific公司,兔抗FOXO3、FOXO1、MMP-9、BAX、GAPDH一抗均购自爱必信(上海)生物科技有限公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购自上海子起生物科技有限公司。

1.2 细胞培养和DOX耐药细胞BCPAP/DOX的构建

将BCPAP细胞置于含10%胎牛血清和1%青-链霉素的DMEM培养基中,在37℃、5% CO₂培养箱中培养。按文献[11]中的方法构建耐药细胞:在对数期生长的BCPAP细胞培养液中加入0.01 μmol/L DOX处理,继续培养48 h后,吸去培养液,PBS洗涤,加入新鲜培养基再培养48 h。细胞恢复生长后,传代,再次用0.01 μmol/L DOX培养。重复上述操作并逐渐采用0.20、0.50、1.00 μmol/L DOX诱导,直到培养得到稳定的耐药细胞。后续用1.00 μmol/L DOX长期培养保持耐药性。

1.3 MTT法检测不同浓度的吉马酮对BCPAP和BCPAP/DOX细胞增殖活力的影响

将对数生长期的BCPAP和BCPAP/DOX细胞以 6×10^3 个/孔接种至96孔板中,培养12 h后,用不同浓度的吉马酮(0、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mmol/L)处理细胞^[12],培养48 h后,每孔中加入10 μL的MTT试剂,继续培养4 h,用多功能酶标仪检测540 nm处的光密度(D)值,以D值代表细胞活性。细胞存活率计算公式:细胞存活率 = (实验组D值 - 空白组D值) / (对照组D值 - 空白组D值) × 100%。

1.4 细胞分组与转染

常规培养BCPAP和BCPAP/DOX细胞,在BCPAP/DOX细胞培养液中加入1.00 μmol/L DOX。将BCPAP和BCPAP/DOX细胞分别分为:空白对照组(Ctrl)、空载质粒(NC)、低浓度吉马酮(0.10 mmol/L)组、高浓度吉马酮(0.15 mmol/L) + si-FOXO3组。用转染试剂Lipofectamine 2000将空载体和敲减载体转染至sh-NC组和高浓度吉马酮(0.15 mmol/L) + sh-FOXO3组BCPAP和BCPAP/DOX细胞中,细胞培养至实验设计的时间点后进行后续实验。

1.5 CCK-8法检测各组细胞的增殖活力

将BCPAP、BCPAP/DOX细胞(6×10^3 个/孔)接种到96孔板中,按1.4中方法处理细胞。BCPAP细胞培养至24、48、72 h时,BCPAP/DOX细胞培养至48 h时,加入10 μL CCK-8试剂,继续培养2 h后,用酶标仪检测在450 nm处的各孔的D值,计算其细胞存活率。

1.6 划痕愈合实验检测各组BCPAP细胞的迁移能力

将BCPAP细胞以每孔 3×10^5 个的细胞浓度接种到6孔板中,待细胞生长至单层融合后,用移液管尖端刮擦细胞,然后用PBS洗涤3次。按1.4中方法处

理细胞及分组。在0和48 h时用倒置显微镜观察、拍摄各组划痕愈合情况,并根据公式(划痕宽度_{0h} - 划痕宽度_{48h})/划痕宽度_{0h} × 100%计算划痕愈合率。

1.7 WB法检测各组BCPAPB、BCPAP/DOX细胞中FOXO3、FOXM1、MMP-9、BAX蛋白的表达

按1.4中方法处理的BCPAP、BCPAP/DOX细胞,培养48 h后收集各组细胞,用蛋白酶抑制剂的RIPA裂解缓冲液裂解细胞、提取其总蛋白质。蛋白质定量后,用SDS-PAGE分离,转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,用5%脱脂乳室温下处理1 h,滴加抗FOXO3、MMP-9、FOXM1、BAX、GAPDH抗体(所有抗体的稀释比例均为1:1 000)在4℃下处理过夜,HRP标记二抗室温下处理2 h,用ECL显色液显色,用Image Lab™软件分析目标蛋白的灰度值。

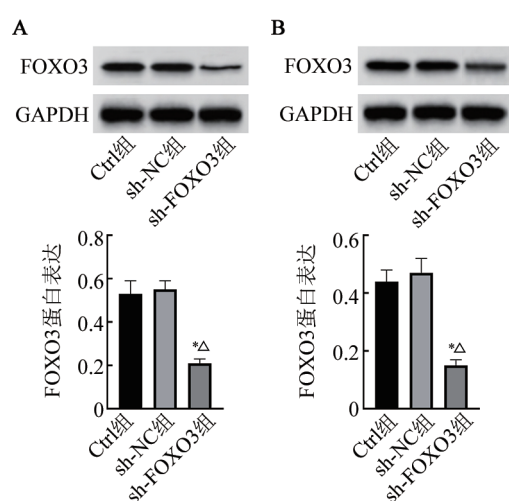
1.8 统计学处理

使用SPASS 25.0软件进行统计分析,所有实验均重复3次以上,计量数据表示为 $\bar{x} \pm s$ 。单因素方差分析用于确定多组之间的差异,进一步两组间比较采用Tukey检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 在BCPAP和BCPAP/DOX细胞中成功地敲减了FOXO3的表达

WB法检测结果(图1)显示,与Ctrl组、sh-NC组比较,sh-FOXO3组BCPAP和BCPAP/DOX细胞中FOXO3蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.05$)。实验结果表明,sh-FOXO3组BCPAP和BCPAP/DOX细胞中成功地敲减了FOXO3的表达。



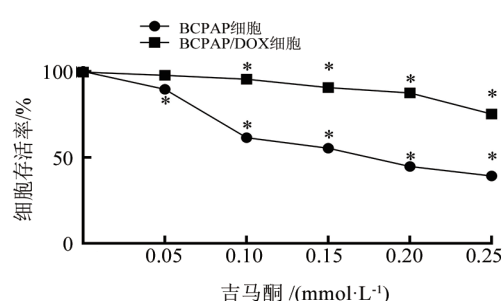
与Ctrl组比较,* $P < 0.05$;与NC组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图1 各组BCPAP细胞(A)和BCPAP/DOX细胞(B)中FOXO3蛋白表达

2.2 吉马酮可显著抑制BCPAP、BCPAP/DOX细胞的增殖活力

的增殖活力

MTT法检测结果(图2)显示,与Ctrl组(0 mmol/L吉马酮)比较,不同浓度的吉马酮处理BCPAP和BCPAP/DOX细胞后,各组细胞的存活率均明显降低(均 $P < 0.05$),除0.05 mmol/L吉马酮处理的BCPAP/DOX细胞其存活率与Ctrl组没有显著差异外,其他各组的细胞存活率与Ctrl组比较均显著下降(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,吉马酮可明显抑制BCPAP和BCPAP/DOX细胞的增殖活力。为了避免吉马酮对细胞产生过强的毒性作用,选择0.10、0.15 mmol/L的吉马酮进行后续实验。



与Ctrl组比较,* $P < 0.05$ 。

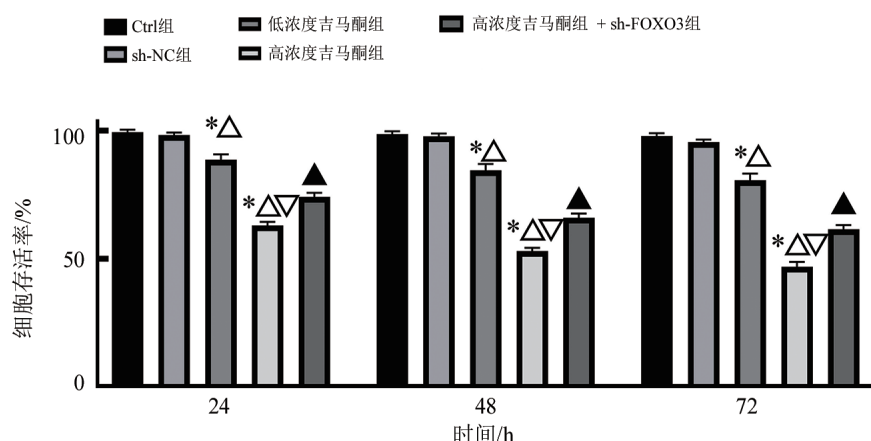
图2 不同浓度吉马酮对BCPAP和BCPAP/DOX细胞存活率比较

2.3 吉马酮可显著抑制BCPAP的增殖活力而敲减FOXO3可部分逆转这种作用

CCK-8法检测结果(图3)显示,与Ctrl组、sh-NC组比较,低浓度吉马酮组、高浓度吉马酮组的BCPAP细胞的存活率均显著下降趋势(均 $P < 0.05$)。与低浓度吉马酮组比较,高浓度吉马酮组BCPAP细胞的存活率也均显著下降(均 $P < 0.05$)。与高浓度吉马酮组比较,高浓度吉马酮 + sh-FOXO3组BCPAP细胞的存活率均明显上升(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,吉马酮可显著抑制BCPAP细胞的增殖活力,而敲减FOXO3则可部分逆转吉马酮的抑制作用。

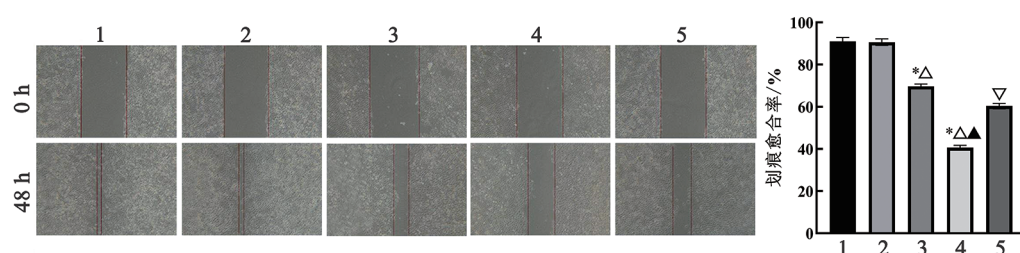
2.4 吉马酮可明显抑制BCPAP细胞的迁移能力而敲减FOXO3则可部分逆转这一作用

划痕愈合实验检测结果(图4)显示,与Ctrl组、sh-NC组比较,低浓度吉马酮、高浓度吉马酮组BCPAP细胞的迁移能力均明显下降(均 $P < 0.05$)。与低浓度吉马酮组比较,高浓度吉马酮组BCPAP细胞的划痕愈合率进一步降低($P < 0.05$)。与高浓度吉马酮组比较,高浓度吉马酮 + sh-FOXO3组BCPAP细胞的划痕愈合率明显升高($P < 0.05$)。实验结果说明,吉马酮可显著抑制BCPAP细胞的迁移活力,而敲减FOXO3则可部分逆转吉马酮对这种细胞迁移能力的抑制。



与Ctrl组比较, * $P < 0.05$; 与NC组比较, $\Delta P < 0.05$; 与低浓度吉马酮组比较, $\nabla P < 0.05$; 与高浓度吉马酮组比较, $\blacktriangle P < 0.05$ 。

图3 MTT法检测各组BCPAP细胞的存活率



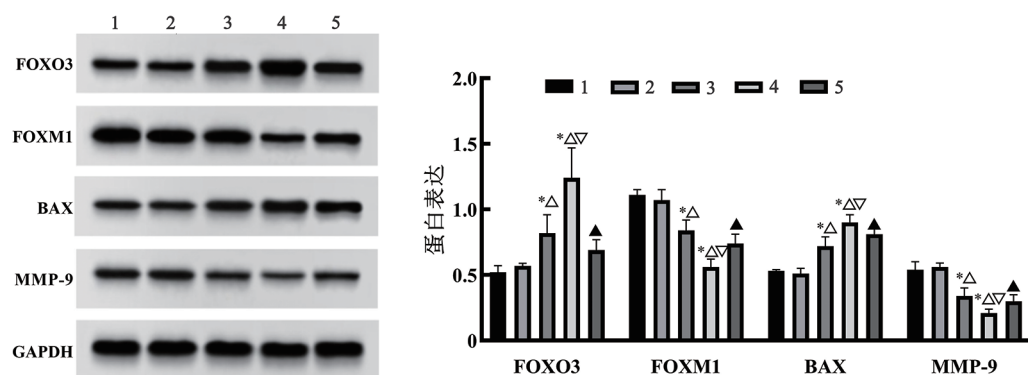
1: Ctrl组; 2: NC组; 3: 低浓度吉马酮组; 4: 高浓度吉马酮组; 5: 高浓度吉马酮组 + sh-FOXO3组。与Ctrl组比较, * $P < 0.05$; 与sh-NC组比较, $\Delta P < 0.05$; 与低浓度吉马酮组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与高浓度吉马酮组比较, $\nabla P < 0.05$ 。

图4 划痕愈合实验检测各组BCPAP细胞迁移($\times 50$)

2.5 吉马酮可使各组BCPAP细胞中FOXO3和BAX蛋白表达明显降低、FOXO3和BAX蛋白表达明显升高而敲减FOXO3则可部分逆转这一作用

WB法检测结果(图5)显示,与Ctrl组、sh-NC组比较,低浓度吉马酮组、高浓度吉马酮组的BCPAP细胞中FOXO3、BAX蛋白的表达均显著降低(均 $P < 0.05$),FOXO3、BAX蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$);与低浓度吉马酮组相比,高浓度吉马酮组BCPAP细胞中FOXO3、BAX蛋白的表达均显著

降低(均 $P < 0.05$),FOXO3、BAX蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$);与高浓度吉马酮组比较,高浓度吉马酮 + sh-FOXO3组BCPAP细胞中FOXO3、BAX蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$),而FOXO3、BAX蛋白的表达均显著降低(均 $P < 0.05$)。实验结果说明,吉马酮可显著抑制各组BCPAP细胞中FOXO3和MMP9的表达、提升FOXO3和BAX蛋白的表达,敲减FOXO3则可部分逆转这一作用。



1: Ctrl组; 2: NC组; 3: 低浓度吉马酮组; 4: 高浓度吉马酮组; 5: 高浓度吉马酮组 + sh-FOXO3组。与Ctrl组比较, * $P < 0.05$; 与sh-NC组比较, $\Delta P < 0.05$; 与低浓度吉马酮组比较, $\nabla P < 0.05$; 与高浓度吉马酮组比较, $\blacktriangle P < 0.05$ 。

图5 WB法检测各组BCPAP细胞中FOXO3、FOXM1、BAX、MMP-9蛋白表达

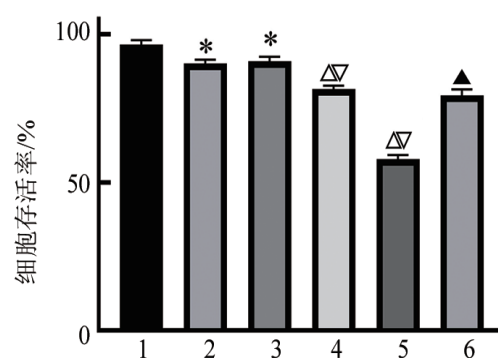
2.6 吉马酮可显著抑制各组BCPAP/DOX细胞的增殖能力而敲减FOXO3则可部分逆转这一作用。

MTT法检测结果(图6)显示,与Ctrl组相比,DOX组、DOX+sh-NC组的BCPAP/DOX细胞的存活率均下降(均 $P < 0.05$);与DOX组、DOX+sh-NC组相比,DOX+低浓度吉马酮组、DOX+高浓度吉马酮组BCPAP/DOX细胞的存活率均明显下降(均 $P < 0.05$);与DOX+高浓度吉马酮组相比,DOX+高浓度吉马酮+sh-FOXO3组BCPAP/DOX细胞的存活率明显升高($P < 0.05$)。实验结果说明,吉马酮可显著抑制各组BCPAP细胞的增殖能力,敲减FOXO3则可部分逆转这一作用。

2.7 吉马酮可显著抑制各组BCPAP/DOX细胞中FOXM1、MMP-9和MDR-1蛋白的表达,提升FOXO3和BAX蛋白的表达,而敲减FOXO3则可部分逆转这一作用

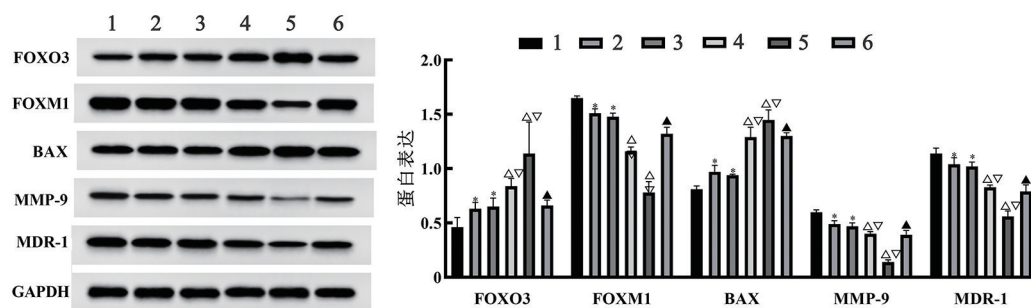
WB法检测结果(图7)显示,与Ctrl组比较,DOX组、DOX+sh-NC组BCPAP/DOX细胞中FOXM1、MMP-9、MDR-1蛋白的表达均显著降低(均 $P < 0.05$),FOXO3、BAX蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$);与DOX组、DOX+sh-NC组比较,DOX+低浓度吉马酮组、DOX+高浓度吉马酮组BCPAP/DOX细胞中FOXM1、MMP-9、MDR-1蛋白的表达均显著降低(均 $P < 0.05$),FOXO3、BAX蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$);与DOX+低浓度吉马酮组相比,DOX+高浓度吉马酮组BCPAP/DOX细胞中

FOXM1、MMP-9、MDR-1蛋白的表达均显著降低(均 $P < 0.05$),FOXO3、BAX蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$);与DOX+高浓度吉马酮组比较,DOX+高浓度吉马酮+sh-FOXO3组BCPAP/DOX细胞中FOXM1、MMP-9、MDR-1蛋白的表达均显著升高(均 $P < 0.05$),而FOXO3、BAX蛋白的表达则均显著降低(均 $P < 0.05$)。吉马酮可显著抑制各组BCPAP/DOX细胞中FOXM1、MMP9和MDR-1的表达,提升FOXO3和BAX蛋白的表达,敲减FOXO3则可部分逆转这一作用。



1: Ctrl组; 2: DOX组; 3: DOX + sh-NC组; 4: DOX + 低浓度吉马酮组; 5: DOX + 高浓度吉马酮组; 6: DOX + 高浓度吉马酮组 + sh-FOXO3组。与Ctrl组比较, * $P < 0.05$; 与DOX组比较, ^Δ $P < 0.05$; 与DOX + sh-NC组比较, [▽] $P < 0.05$; 与DOX + 高浓度吉马酮组比较, [▲] $P < 0.05$ 。

图6 MTT法检测各组BCPAP/DOX细胞的存活率



1: Ctrl组; 2: DOX组; 3: DOX + sh-NC组; 4: DOX + 低浓度吉马酮组; 5: DOX + 高浓度吉马酮组; 6: DOX + 高浓度吉马酮组 + sh-FOXO3组。与Ctrl组比较, * $P < 0.05$; 与DOX组比较, ^Δ $P < 0.05$; 与DOX + sh-NC组比较, [▲] $P < 0.05$; 与DOX + 高浓度吉马酮组比较, [▽] $P < 0.05$ 。

图7 WB法检测各组BCPAP/DOX细胞中FOXO3、FOXM1、BAX、MMP-9、MDR-1蛋白表达

3 讨论

甲状腺癌来源于滤泡性甲状腺细胞和滤泡旁细胞。对于甲状腺癌的不同分化类型,分化程度越低,肿瘤发展越迅速^[13-14]。随着诊断技术的快速发展以及人们生活习惯的改变,甲状腺癌的发病率仍然在

不断增加,在甲状腺癌的治疗中通常采用多种方法结合,未转移时采用手术结合化疗进行治疗,但是当甲状腺癌出现转移时,这些治疗方法就受到了限制^[15]。所以研究针对甲状腺癌BCPAP细胞以及BCPAP/DOX耐药细胞进行更有效的化疗药物探究,期望提高甲状腺癌的治疗水平。

吉马酮属于单环倍半萜类天然产物,有研究^[16-17]发现,吉马酮对乳腺癌、肝癌、结直肠癌等多种癌细胞的增殖都有抑制作用。而吉马酮对甲状腺癌影响的研究鲜有报道,本研究观察吉马酮对甲状腺癌BCPAP细胞的增殖、迁移和化疗耐药的作用。结果显示,低、高浓度吉马酮处理均会抑制BCPAP细胞的增殖以及迁移,降低BCPAP/DOX细胞的化疗耐药。其中迁移相关蛋白MMP-9表达降低,凋亡相关BAX蛋白表达增加,细胞划痕愈合率也明显降低,且吉马酮浓度越高,抑制效果越明显。表明吉马酮可促进BCPAP细胞凋亡,抑制癌细胞的增殖、迁移,逆转BCPAP/DOX细胞的化疗耐药。根据上述结果分析,DOX耐药细胞确实对吉马酮敏感性显著降低,可能是因为凋亡抵抗,也可能是其他相关的作用机制,后续还需要深入研究。

FOXO3是40种FOX转录因子中的一种,早期研究^[18]发现,其参与胰岛素调节,陆续发现其可以调控磷酸化、泛素化以及一些信号通路,进而发现其可以参与肿瘤细胞的发展过程;FOXO3同样是FOX家族中的一员,与细胞增殖相关,在多种肿瘤如肝癌、乳腺癌、肺癌中高表达,抑制FOXO3可以降低癌细胞增殖、迁移及耐药^[19]。而FOXO3与FOXO1之间可以相互结合、相互作用,从而发挥调控细胞的作用。有研究^[8, 12]发现,调节FOXO3-FOXO1信号通路可以抑制耐5-FU的结肠癌细胞的增殖。因此,本研究探索FOXO3/FOXO1在甲状腺癌中的作用,得到的结果与已有研究结果相似,低、高浓度吉马酮处理均可降低BCPAP和BCPAP/DOX细胞中FOXO1蛋白表达,增加FOXO3蛋白表达;且吉马酮浓度越高,对FOXO3、FOXO1蛋白表达的调控越明显,推测吉马酮可能通过调节FOXO3/FOXO1信号通路进而影响BCPAP细胞的增殖、迁移和BCPAP/DOX细胞的化疗耐药。为了验证该猜想,本研究中采用敲低FOXO3的表达来影响高浓度吉马酮处理的BCPAP和BCPAP/DOX细胞,结果显示,高浓度吉马酮+sh-FOXO3组和DOX+高浓度吉马酮+sh-FOXO3组的FOXO3蛋白表达显著降低,说明FOXO3敲低成功;进一步研究发现,敲低FOXO3减弱了高浓度吉马酮对BCPAP细胞的增殖、迁移的抑制作用,且会影响BCPAP/DOX细胞的耐药。证实了吉马酮可能通过调控FOXO3/FOXO1通路影响BCPAP细胞的增殖、迁移和化疗耐药。

综上所述,吉马酮可通过FOXO3/FOXO1通路调控BCPAP细胞的增殖、迁移和DOX化疗耐药。该研究为临床上治疗甲状腺癌提供了一种新型思路,扩展了对于甲状腺癌的治疗方法研究。但是本研究

尚未在体内进行研究,且未对比BCPAP与BCPAP/DOX两种细胞之间FOXO3/FOXO1的差异,有待进一步实验探究,从而更加充分地验证吉马酮的抗癌作用。

[参考文献]

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.
- [2] SAINI S, TULLA K, MAKER A V, *et al.* Therapeutic advances in anaplastic thyroid cancer: a current perspective[J/OL]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 154[2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30352606/>. DOI: 10.1186/s12943-018-0903-0.
- [3] SASANAKIETKUL T, MURTHA T D, JAVID M, *et al.* Epigenetic modifications in poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer [J]. Mol Cell Endocrinol, 2018, 469: 23-37. DOI: 10.1016/j.mce.2017.05.022.
- [4] JUNG E B, TRINH T A, LEE T K, *et al.* Curcuzedoalide contributes to the cytotoxicity of *Curcuma zedoaria* rhizomes against human gastric cancer AGS cells through induction of apoptosis[J]. J Ethnopharmacol, 2018, 213: 48-55. DOI: 10.1016/j.jep.2017.10.025.
- [5] TAN X Y, XU M T, LIU F Y, *et al.* Antimetastasis effect of *Astragalus membranaceus*- *Curcuma zedoaria* via β -catenin mediated CXCR4 and EMT signaling pathway in HCT116[J/OL]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 9692350[2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31275425/>. DOI: 10.1155/2019/9692350.
- [6] DOSOKY N S, SATYAL P, SETZER W N. Variations in the volatile compositions of *Curcuma* species[J/OL]. Foods, 2019, 8(2): 53 [2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30717336/>. DOI: 10.3390/foods8020053.
- [7] CHEN C Q, LONG L, ZHANG F S, *et al.* Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*[J/OL]. PLoS One, 2018, 13(3): e0194284[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5854386/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0194284.
- [8] CALISSI G, LAM E W F, LINK W. Therapeutic strategies targeting FOXO transcription factors[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(1): 21-38. DOI: 10.1038/s41573-020-0088-2.
- [9] SACHINI N, ARAMPATZI P, KLONIZAKIS A, *et al.* Promyelocytic leukemia protein (PML) controls breast cancer cell proliferation by modulating Forkhead transcription factors[J]. Mol Oncol, 2019, 13(6): 1369-1387. DOI: 10.1002/1878-0261.12486.
- [10] CHEN W B, JIANG J J, GONG L, *et al.* Hepatitis B virus P protein initiates glycolytic bypass in HBV-related hepatocellular carcinoma via a FOXO3/miRNA-30b-5p/MINPP1 axis[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 1[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7779247/>. DOI: 10.1186/s13046-020-01803-8.
- [11] 许远. MiR-27b-3p 靶向 PPAR- γ 调节人甲状腺未分化癌细胞阿霉素耐药性的机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2021.
- [12] 刘建军, 赵营莉, 唐海涛, 等. 吉马酮通过 HBXIP/p53 信号通路诱导 A549、CNE-1、HepG2 细胞凋亡[J]. 药物评价研究, 2023, 46(5): 1024-1031. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.05.011.

- [13] CRISPO F, NOTARANGELO T, PIETRAFESA M, *et al.* BRAF inhibitors in thyroid cancer: clinical impact, mechanisms of resistance and future perspectives[J/OL]. *Cancers*, 2019, 11(9): 1388 [2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6770736/>. DOI: 10.3390/cancers11091388.
- [14] LIAO Y N, HUA Y J, LI Y Z, *et al.* CRSP8 promotes thyroid cancer progression by antagonizing IKK α -induced cell differentiation[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(4): 1347-1363. DOI: 10.1038/s41418-020-00656-0.
- [15] PORTER A, WONG D J. Perspectives on the treatment of advanced thyroid cancer: approved therapies, resistance mechanisms, and future directions[J/OL]. *Front Oncol*, 2020, 10: 592202[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7868523/>. DOI: 10.3389/fonc.2020.592202.
- [16] ZHANG R, HAO J, GUO K W, *et al.* Germacrone inhibits cell proliferation and induces apoptosis in human esophageal squamous cell carcinoma cells[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 7643248 [2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7011320/>. DOI: 10.1155/2020/7643248.
- [17] FANG X, TAN T F, GAO B B, *et al.* Germacrone regulates HBXIP-mediated cell cycle, apoptosis and promotes the formation of autophagosomes to inhibit the proliferation of gastric cancer cells[J/OL]. *Front Oncol*, 2020, 10: 537322[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7683780/>. DOI: 10.3389/fonc.2020.537322.
- [18] STEFANETTI R J, VOISIN S, RUSSELL A, *et al.* Recent advances in understanding the role of FOXO3[J/OL]. *F1000Res*, 2018, 7: F1000FacultyRev-F1000Faculty1372[2024-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6124385/>. DOI: 10.12688/f1000research.15258.1.
- [19] LIAO G B, LI X Z, ZENG S, *et al.* Regulation of the master regulator FOXM1 in cancer[J/OL]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16 (1): 57[2024-05-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30208972/>. DOI: 10.1186/s12964-018-0266-6.

[收稿日期] 2024-05-11

[修回日期] 2024-07-26

[本文编辑] 向正华