



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.11.016
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.11.016
China Journal of General Surgery, 2023, 32(11):1770-1777.

· 基础研究 ·

白藜芦醇对小鼠甲状腺乳头癌细胞移植瘤的抑制作用及机制研究

毛姗¹, 李扬¹, 丁韩梦², 赵永丽¹

(1. 南阳医学高等专科学校 药理学系, 河南 南阳 473000; 2. 南阳张仲景医院 药剂科, 河南 南阳 473000)

摘要

背景与目的: 白藜芦醇具有广泛的抗肿瘤作用, 其可抑制甲状腺乳头状癌细胞增殖和迁移, 但是其发挥作用的相关机制尚不清楚。因此, 本研究探讨白藜芦醇对甲状腺乳头状癌细胞移植瘤的抑制作用及其作用机制。

方法: 将40只裸鼠背部皮下接种甲状腺乳头状癌细胞(TPC-1)悬液建立移植瘤模型后, 随机分为模型对照组和3个不同剂量白藜芦醇(2.5、5、10 mg/kg)治疗组, 每组10只。白藜芦醇各剂量组裸鼠分别腹腔注射相应剂量的白藜芦醇, 模型对照组裸鼠腹腔注射等体积生理盐水, 1次/d, 连续21 d。记录移植瘤的生长情况, 绘制生长曲线。21 d后处死各组小鼠, 称量肿瘤质量, 计算抑瘤率; 行肿瘤组织HE染色和TUNEL染色检测肿瘤细胞形态和凋亡情况; 用qRT-PCR法与Western blot法分别检测肿瘤组织中凋亡相关蛋白(caspase-3、Bax、Bcl-2)与上皮-间质转化(EMT)相关分子(E-cadherin、N-cadherin、vimentin)的mRNA与蛋白表达。

结果: 与模型对照组比较, 3个剂量白藜芦醇治疗组的移植瘤生长速度均被抑制, 21 d后的移植瘤质量均明显减小, 且抑瘤率随白藜芦醇剂量的增加而加大(均 $P<0.05$)。HE染色结果显示, 模型对照组肿瘤组织中癌细胞呈片状, 形态大小不一, 胞浆丰富, 核大, 可见核分裂象, 极性紊乱; 3个剂量白藜芦醇治疗组细胞数量均不同程度减少、细胞排列疏松、细胞核固缩、核分裂较少、不同程度片状坏死。与模型对照组比较, 3个剂量白藜芦醇治疗组的肿瘤组织中肿瘤细胞凋亡增加; E-cadherin和Bax mRNA和蛋白表达量升高, N-cadherin、vimentin和Bcl-2 mRNA和蛋白表达量降低; caspase-3 mRNA水平降低, 切割型caspase-3蛋白表达量升高, 且以上变化在3个剂量白藜芦醇治疗组均呈剂量依赖性(均 $P<0.05$)。

结论: 白藜芦醇可促进甲状腺癌细胞凋亡从而抑制其在小鼠体内的生长, 其作用机制可能与逆转EMT过程有关。

关键词

甲状腺癌, 乳头状; 白藜芦醇; 上皮-间质转化; 细胞凋亡; 异种移植模型抗肿瘤试验

中图分类号: R736.1

基金项目: 河南省医学科技攻关计划基金资助项目(LHGJ20200824)。

收稿日期: 2023-08-25; **修订日期:** 2023-10-22。

作者简介: 毛姗, 南阳医学高等专科学校讲师, 主要从事药物应用与药物质量控制方面的研究。

通信作者: 毛姗, Email: li571709958@163.com

Inhibitory effect of resveratrol on transplanted tumors of papillary thyroid cancer cells in mice and its mechanism

MAO Shan¹, LI Yang¹, DING Hanmeng², ZHAO Yongli¹

(1. Department of Pharmacy, Nanyang Medical College; Nanyang, Henan 473000, China; 2. Pharmacy Department of Nanyang Zhang Zhongjing Hospital, Nanyang, Henan 473000, China)

Abstract

Background and Aims: Resveratrol has a broad spectrum of anti-tumor effects, exhibiting the ability to inhibit proliferation and migration of papillary thyroid cancer cells. However, the underlying mechanisms of its actions remain unclear. This study was conducted to investigate the inhibitory effect of resveratrol on transplanted tumors of papillary thyroid cancer cells and its action mechanism.

Methods: Forty nude mice were subcutaneously inoculated with thyroid cancer cells (TPC-1) to establish the xenograft models. Then, the tumor-bearing mice were randomly divided into a model control group and three resveratrol treatment groups receiving different doses of resveratrol (2.5, 5, 10 mg/kg), with each group containing 10 mice. Respective doses of resveratrol were administered by intraperitoneal injection to the mice in the treatment groups, while the model control group received an equivalent volume of physiological saline, once daily for 21 d. Tumor growth was monitored and growth curves were plotted. After 21 d, mice in each group were euthanized, tumors were weighed, and tumor inhibition rates were calculated. Histological examination with HE staining and TUNEL staining were performed to assess tumor cell morphology and apoptosis. qRT-PCR and Western blot analyses were used to evaluate the mRNA and protein expressions of apoptosis-related proteins (caspase-3, Bax, Bcl-2) and epithelial-mesenchymal transition (EMT) related molecules (E-cadherin, N-cadherin, vimentin) in tumor tissues.

Results: In all three resveratrol treatment groups compared to the model control group, the growth rates of transplanted tumors were significantly inhibited, and after 21 d, tumor mass was noticeably reduced, and tumor inhibition rates increased with higher resveratrol doses (all $P < 0.05$). Results of HE staining showed that in the model control group, cancer cells in the tumor tissue presented a patchy distribution with varied morphologies and sizes, rich cytoplasm, large nuclei, visible mitotic figures, and disrupted polarity. In contrast, in the resveratrol treatment groups with three different doses, there was a varying degree of reduction in cell numbers, loosening of cell arrangement, condensed cell nuclei, fewer mitotic figures, and varying degrees of focal necrosis. Compared to the model control group, the tumor tissues in the resveratrol treatment groups exhibited an increase in apoptosis of tumor cells, and showed increased expression of E-cadherin and Bax mRNA and protein, decreased expression of N-cadherin, vimentin, and Bcl-2 mRNA and protein; caspase-3 mRNA levels decreased, while cleaved caspase-3 protein expression increased. Moreover, these changes exhibited a dose-dependent relationship in all three resveratrol treatment groups (all $P < 0.05$).

Conclusion: Resveratrol promotes apoptosis of papillary thyroid carcinoma cells, thereby inhibiting their growth in mice. The mechanism of action may involve the reversal of the EMT process.

Key words

Thyroid Cancer, Papillary; Resveratrol; Epithelial-Mesenchymal Transition; Apoptosis; Xenograft Model Antitumor Assays

CLC number: R736.1

甲状腺癌是内分泌系统常见恶性肿瘤，其发病具有隐匿性，多数患者因无痛性颈部肿块就诊，部分患者伴有呼吸困难、声音嘶哑等，且极易侵袭颈部淋巴结，发生远处转移^[1-2]。目前全球范围内甲状腺癌的发病率呈逐年上升趋势，但是对其发病的具体机制尚不清楚，临床上根据其病理类型主要分为乳头状癌、滤泡状癌、未分化癌和髓样癌，其中以乳头状癌最为常见^[3-5]。因此，寻找有效治疗甲状腺癌的药物具有重大意义。

上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是上皮表型细胞在一定刺激因素下丧失上皮特性，逐渐获得间质细胞特性的现象，间质细胞处于运动状态，从而具有更强的迁移和侵袭能力，该过程具有一定可逆性，可能成为治疗癌症的重要机制^[6-7]。研究^[8]已证实，在甲状腺癌侵袭和转移的过程中，EMT起到了十分重要的作用。

白藜芦醇是一种广泛存在于植物中的多酚类化合物，具有抗炎、抗氧化以及调节免疫系统等多种药理学作用^[9-11]。研究^[12-15]表明，白藜芦醇在卵巢癌、口腔鳞状细胞、宫颈癌以及乳腺癌等恶性肿瘤中均发挥抗癌作用。此外，白藜芦醇在抑制甲状腺癌细胞增殖、迁移中的作用在近几年偶有报道^[16]。

基于以上背景，本研究探讨白藜芦醇对甲状腺癌移植瘤的抑制作用以及与EMT过程的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

甲状腺乳头状癌细胞系 TPC-1 购自美国 ATCC 公司；SPF 级雌性 BALB/c 裸鼠 40 只，6~7 周龄，体重 15~20 g，购自北京维通利华实验动物科技有限公司（许可证号：SCXK（京）2021-0006）；白藜芦醇（纯度≥98%）购自上海源叶生物科技有限公司；RPMI-1640 培养基购自美国 Gibco 公司；苏木素-伊红染色（HE）染色和末端脱氧核糖核酸转移酶介导的 dUTP 原位切口末端标记（TUNEL）染色试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司；引物序列由广州锐博生物科技有限公司合成；逆转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒以及 TRIzol 试剂购自北京索莱宝生物科技有限公司；Varioskan LUX 多功能酶标仪购自赛默飞世尔科技；Z136115 型游

标卡尺购自西格玛奥德里奇贸易有限公司；QuantStudio™ 5 型荧光定量 PCR 仪购自赛默飞世尔科技。

1.2 实验方法

1.2.1 移植瘤裸鼠模型构建 TPC-1 细胞复苏后培养于含 10% 胎牛血清、1% 青链双抗的 RPMI-1640 培养基中，置于 37 ℃、5%CO₂ 饱和湿度的培养箱中，每天更换 1 次新鲜培养基，细胞融合度达到 80% 时进行传代。取对数期细胞消化，调整细胞浓度为 2 × 10⁷/mL。取 0.2 mL 细胞悬液注射于小鼠背部皮下，注射 5 d 后可见明显肿块视为模型制备成功。

1.2.2 实验分组与给药 将模型制备成功裸鼠随机分为模型对照组和低、中、高 3 个不同剂量白藜芦醇（2.5、5、10 mg/kg）治疗组，每组 10 只。3 个白藜芦醇治疗组分别腹腔注射 1 mL 浓度为 2.5、5、10 mg/kg 的白藜芦醇，模型对照组给予等体积生理盐水，1 次/d，连续 21 d。

1.2.3 肿瘤生长情况检测 自接种后 5 d 起，每隔 3 d 使用游标卡尺测量肿瘤长径和短径，计算肿瘤体积 = 长径 × 短径 × 短径/2，并绘制肿瘤生长曲线。给药结束后，颈椎脱臼法处死，切开背部皮肤，将肿瘤组织快速完整剥离下来，称取肿瘤质量，计算抑瘤率 (%) = (模型对照组肿瘤质量 - 各药物组肿瘤质量) / 模型对照组肿瘤质量 × 100%。

1.2.4 肿瘤组织 HE 染色 取一半肿瘤组织置于 4% 多聚甲醛中固定，常规脱水、石蜡包埋、切片，进行 HE 染色，光学显微镜下观察肿瘤组织形态学变化。

1.2.5 肿瘤组织 TUNEL 染色 取石蜡切片，组织上滴加蛋白酶 K 工作液，孵育 30 min，洗涤，滴加 3% 过氧化氢封闭液封闭，滴加 TdT 酶反应物置于湿盒中避光孵育 1 h，HRP 标记的链霉亲和素 50 μL 避光孵育，DAB 显色，苏木素复染，中性树胶封片，光学显微镜下观察并计数凋亡细胞数，凋亡细胞呈棕黄色，计算凋亡指数 (AI) = 凋亡细胞数/细胞总数 × 100%。

1.2.6 RT-PCR 法检测肿瘤组织中 EMT 和细胞凋亡相关蛋白 mRNA 表达水平 取 100 mg 肿瘤组织置于 EP 管中，剪碎，匀浆，TRIzol 试剂提取总 RNA，紫外分光光度计测定 RNA 浓度和纯度。根据逆转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA，以 cDNA 为模板，构建荧光定量 PCR 反应体系，设置反应条件为：

95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 15 s, 进行 35 个循环, 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因 mRNA 水平, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列
E-cadherin	正向:5'-TGC CGC CGA AAG AAC TAC G-3' 反向:5'-TGG GGT ACT CGC TCA TAG GAT-3'
N-cadherin	正向:5'-AGC CAA CCT TAA CTG AGG AGT-3' 反向:5'-GGC AAG TTG ATT GGA GGG ATG-3'
vimentin	正向:5'-GAC GCC ATC AAC ACC GAG TT-3' 反向:5'-CTT TGT CGT TGG TTA GCT GGT-3'
caspase-3	正向:5'-CTG ACT GGA AAG CCG AAA CTC-3' 反向:5'-CGA CCC GTC CTT TGA ATT TCT-3'
Bax	正向:5'-CCC GAG AGG TC TTT TTC CGA G-3' 反向:5'-CCA GCC CAT GAT GGT TCT GAT-3'
Bcl-2	正向:5'-GCT GGG GTC ATG TGT GTG G-3' 反向:5'-CGG TTC AGG TAC TCA GTC ATC C-3'
GAPDH	正向:5'-CTG GGC TAC ACT GAG CAC C-3' 反向:5'-AAG TGG TCG TTG AGG GCA ATG-3'

1.2.7 Western blot 检测肿瘤组织中 EMT 和细胞凋亡相关蛋白表达水平 取 100 mg 肿瘤组织剪碎, 匀浆, 裂解液裂解。4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液提取蛋白, 加入 5 × 上样缓冲液, 裂解液调整蛋白浓度, 煮沸变性。取 50 μg 蛋白样品用 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 将蛋白湿转至聚偏二氟乙烯膜 (PVDF) 膜上, 封闭, 抗体 (1:1 000) 4 °C 孵育过夜, 二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, 滴加发光液, 凝胶成像分析仪显影, Image J 分析条带灰度值, 计算蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/内参条带灰度值。

1.3 统计学处理

用 SPSS27.0 软件进行数据分析, 符合正态分布的定量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多样本间比较采用单因素方差分析, 两样本间比较采用 LSD-t 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 白藜芦醇对肿瘤生长的影响

由移植瘤生长曲线可见, 从接种肿瘤细胞的第 10 天开始, 4 组小鼠体内的移植瘤生长速度有明显差异。与模型对照组比较, 3 个剂量白藜芦醇治疗组的移植瘤生长速度均被抑制, 且呈剂量依

赖趋势 (图 1)。在接种 21 d 后, 模型对照组与低、中、高剂量白藜芦醇治疗组的移植瘤质量分别为 (2.52 ± 0.36) g、(2.03 ± 0.21) g、(1.36 ± 0.23) g、(1.01 ± 0.20) g, 各组间差异均有统计学意义 (均 P<0.05); 3 个剂量白藜芦醇治疗组的抑瘤率随着白藜芦醇剂量的增加而升高 (均 P<0.05) (图 2) (表 2)。

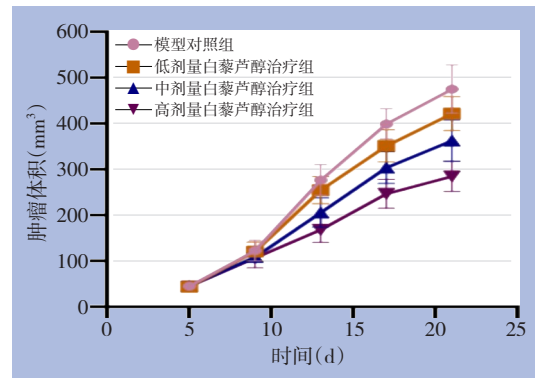


图 1 各组小鼠移植瘤生长曲线

Figure 1 The growth curves of transplanted tumors in each group of mice

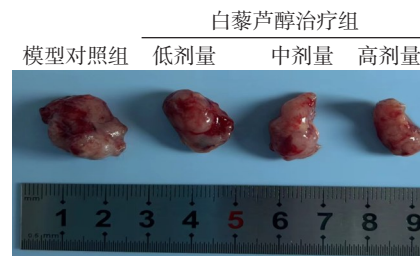


图 2 各组移植瘤大体标本

Figure 2 Gross specimens of transplanted tumors in each group

表 2 各组肿瘤质量和抑瘤率比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of tumor mass and tumor inhibition rates among groups (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	肿瘤质量(g)	抑瘤率(%)
模型对照组	2.52±0.36	—
低剂量白藜芦醇治疗组	2.03±0.21 ¹⁾	31±3.22
中剂量白藜芦醇治疗组	1.36±0.23 ^{1),2)}	41±3.19 ²⁾
高剂量白藜芦醇治疗组	1.01±0.20 ^{1),2),3)}	55±4.44 ^{2),3)}

注: 1) 与模型对照组比较, P<0.05; 2) 与低剂量白藜芦醇治疗组比较, P<0.05; 3) 与中剂量白藜芦醇治疗组比较, P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. model control group; 2) P<0.05 vs. low-dose resveratrol treatment group; 3) P<0.05 vs. medium-dose resveratrol treatment group

2.2 肿瘤组织病理染色结果

模型对照组肿瘤组织中癌细胞呈片状，形态大小不一，胞浆丰富，核大，可见核分裂象，极

性紊乱；白藜芦醇低、中和高剂量组细胞数量不同程度减少，细胞排列疏松，细胞核固缩，核分裂较少，不同程度片状坏死（图3）。

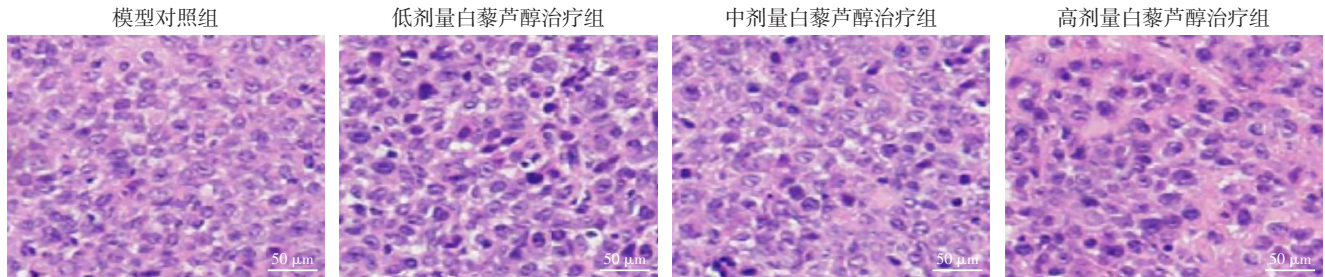


图3 肿瘤组织 HE 染色 ($\times 400$)

Figure 3 HE staining of tumor tissue ($\times 400$)

2.3 肿瘤细胞 AI 检测结果

与模型对照组比较，3个剂量的白藜芦醇治疗

组的 AI 均明显升高，且在3组间呈明显的剂量依赖性（均 $P < 0.05$ ）（图4）（表3）。

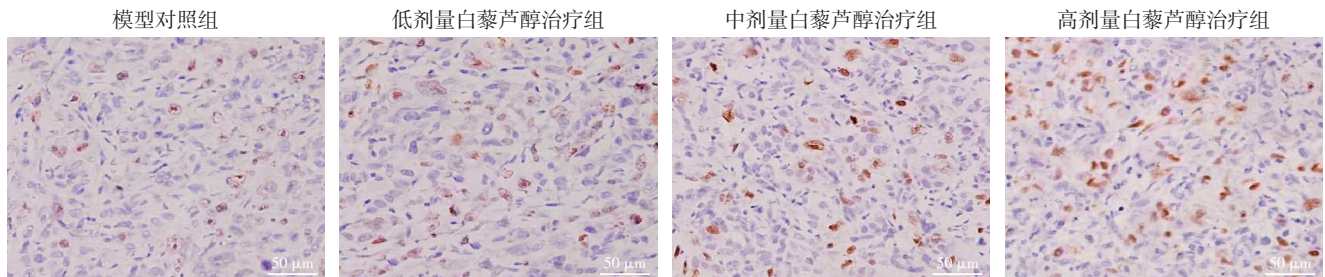


图4 肿瘤组织 TUNEL 染色 ($\times 200$)

Figure 4 TUNEL staining of tumor tissues ($\times 200$)

表3 各组肿瘤组织中 AI 比较 (% , $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of AI in tumor tissues among groups (% , $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	AI
模型对照组	9.20 \pm 0.75
低剂量白藜芦醇治疗组	18.37 \pm 2.33 ¹⁾
中剂量白藜芦醇治疗组	29.66 \pm 6.08 ^{1),2)}
高剂量白藜芦醇治疗组	41.73 \pm 9.95 ^{1),2),3)}

注:1)与模型对照组比较, $P < 0.05$;2)与低剂量白藜芦醇治疗组比较, $P < 0.05$;3)与中剂量白藜芦醇治疗组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. model control group; 2) $P < 0.05$ vs. low-dose resveratrol treatment group; 3) $P < 0.05$ vs. medium-dose resveratrol treatment group

2.4 qRT-PCR 检测结果

与模型对照组比较，3个剂量白藜芦醇治疗组的 E-cadherin 和 Bax mRNA 表达水平均明显升高，而 N-cadherin、vimentin、caspase-3 和 Bcl-2 mRNA 表达水平均明显降低，且呈明显的剂量依赖性（均 $P < 0.05$ ）（表4）。

2.5 Western blot 检测结果

与模型对照组比较，3个剂量的白藜芦醇治疗组的 E-cadherin、Bax 和切割型 (cleaved) caspase-3 蛋白表达量均明显升高，而 N-cadherin、vimentin 和 Bcl-2 蛋白表达量均明显降低，且呈明显的剂量依赖性（均 $P < 0.05$ ）（图5）。

表 4 各组肿瘤组织中 EMT 和凋亡相关蛋白 mRNA 表达水平比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of mRNA expression levels of EMT and apoptosis-related proteins in tumor tissues among different groups (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	E-cadherin	Bax	caspase-3	N-cadherin	vimentin	Bcl-2
模型对照组	1.03±0.45	1.07±0.56	1.05±0.14	1.08±0.27	1.12±0.56	1.03±0.15
低剂量白藜芦醇治疗组	3.71±0.44 ¹⁾	3.95±0.72 ¹⁾	0.77±0.05 ¹⁾	0.78±0.03 ¹⁾	0.82±0.05 ¹⁾	0.82±0.06 ¹⁾
中剂量白藜芦醇治疗组	5.06±0.62 ^{1),2)}	5.38±0.69 ^{1),2)}	0.60±0.04 ^{1),2)}	0.62±0.04 ^{1),2)}	0.67±0.06 ^{1),2)}	0.70±0.04 ^{1),2)}
高剂量白藜芦醇治疗组	6.78±0.69 ^{1),2),3)}	7.20±0.65 ^{1),2),3)}	0.47±0.06 ^{1),2),3)}	0.51±0.06 ^{1),2),3)}	0.52±0.07 ^{1),2),3)}	0.57±0.05 ^{1),2),3)}

注: 1) 与模型对照组比较, P<0.05; 2) 与低剂量白藜芦醇治疗组比较, P<0.05; 3) 与中剂量白藜芦醇治疗组比较, P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. model control group; 2) P<0.05 vs. low-dose resveratrol treatment group; 3) P<0.05 vs. medium-dose resveratrol treatment group

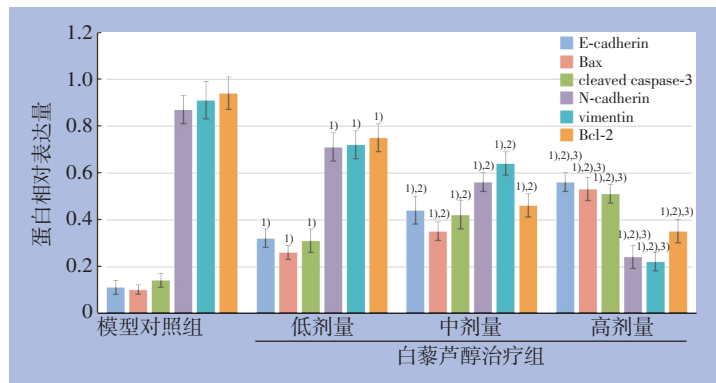
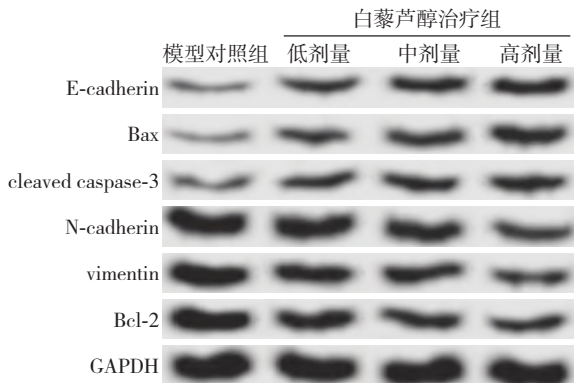


图 5 各组肿瘤组织中 EMT 和凋亡相关蛋白表达量比较 1) 与模型对照组比较, P<0.05; 2) 与低剂量白藜芦醇治疗组比较, P<0.05; 3) 与中剂量白藜芦醇治疗组比较, P<0.05

Figure 5 Comparison of protein expression levels of EMT and apoptosis-related proteins in tumor tissues among different groups 1) P<0.05 vs. model control group; 2) P<0.05 vs. low-dose resveratrol treatment group; 3) P<0.05 vs. medium-dose resveratrol treatment group

3 讨论

女性甲状腺癌发病率高于男性, 其发病受辐射、空气质量、碘摄取异常、情绪、遗传等多种因素的影响, 而且年龄、肿瘤直径、多发癌灶、腺外侵犯等多种因素可导致癌细胞发生颈区淋巴结转移^[17-18]。临床上主要采用以手术切除为主的综合治疗手段, 预后良好, 但部分患者因身体条件、耐药性等因素而未能达到令人满意的预后效果^[19-20]。近些年, 中草药因其来源广、成本低、毒副作用小以及多靶点等优势被广泛应用于肿瘤领域的研究。于彬等^[21]报道扁蒴藤素可抑制肝癌细胞增殖和迁移, 降低吉西他滨化疗耐药性。青藤碱可抑制胰腺癌细胞迁移和侵袭, 发挥抗胰腺癌作用^[22]。白藜芦醇抗肿瘤特性被广泛研究。本研究以甲状腺最常见的病理类型乳头状甲状腺癌移植瘤裸鼠为研究对象, 探讨白藜芦醇对肿瘤生长的抑制作用及其具体机制。

移植瘤裸鼠腹腔注射药物 21 d 后, 3 个剂量白

藜芦醇治疗组肿瘤体积均减小, 具有显著抑瘤率。模型对照组肿瘤组织中癌细胞呈片状, 形态大小不一, 胞浆丰富, 核大, 可见核分裂象, 极性紊乱; 3 个剂量白藜芦醇治疗组细胞数量不同程度减少, 排列疏松, 细胞核固缩, 核分裂较少, 不同程度片状坏死。此外, 通过染色发现 3 个剂量白藜芦醇治疗组肿瘤组织中凋亡细胞增多, AI 升高。以上结果提示, 白藜芦醇可抑制甲状腺乳头状癌细胞在裸鼠体内的生长, 诱导癌细胞凋亡。此结果与 Li 等^[23]报道的白藜芦醇可抑制前列腺癌移植瘤生长、诱导癌细胞凋亡具有一致性。恶性肿瘤的进展与细胞凋亡异常失控具有必然联系, 细胞凋亡是多基因共同作用的结果, Bcl-2 家族是调控细胞凋亡的重要途径之一。Bcl-2 可调节线粒体通透性保护细胞免受程序性细胞死亡, 而该家族中的另一成员 Bax 则发挥与 Bcl-2 相反的作用, 表现为促进细胞凋亡^[24-25]。caspase-3 家族是细胞凋亡信号网的重要节点, 在调控细胞凋亡的多途径中扮演凋亡执行者的角色, 通过选择性切割某些蛋白

质造成细胞凋亡^[26]。在本研究中白藜芦醇低、中和高剂量治疗组裸鼠甲状腺乳头状癌移植瘤组织中 Bax 和 caspase-3 mRNA 和蛋白表达水平高于模型对照组, Bcl-2 mRNA 和蛋白表达水平低于模型对照组, 该结果提示白藜芦醇在甲状腺乳头状癌移植瘤中发挥促进促凋亡蛋白表达, 抑制抗凋亡蛋白表达的作用。

EMT 获得的间质细胞是恶性肿瘤发生转移和侵袭的重要原因, 逆转 EMT 过程或是降低恶性肿瘤转移和复发的重要机制之一^[27-28]。研究^[29]发现, 白藜芦醇通过抑制 TGF- β 1 诱导的 EMT 过程发挥抗胃癌作用。Yuan 等^[30]报道称白藜芦醇可逆转 EMT 过程抑制结肠癌细胞的迁移和侵袭。EMT 过程的明显特征是 E-cadherin 丢失, N-cadherin 和 vimentin 的增加。因此在本研究中白藜芦醇低、中和高剂量治疗组裸鼠肿瘤组织中 E-cadherin mRNA 和蛋白表达较模型对照组升高, N-cadherin 和 vimentin mRNA 和蛋白表达水平较模型对照组降低。此结果提示白藜芦醇可逆转 EMT 过程。

综上所述, 白藜芦醇可抑制甲状腺乳头状癌细胞移植瘤裸鼠肿瘤生长, 诱导癌细胞凋亡, 其可能是通过逆转 EMT 过程、调节凋亡相关蛋白表达发挥作用。以上结果为临床治疗甲状腺癌提供理论依据。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 毛姍负责课题设计, 李扬负责实验操作, 丁韩梦负责数据统计与分析, 赵永丽负责撰写文稿。

参考文献

- [1] Lei Y, Feng S, Yu Q, et al. Conventional papillary thyroid carcinoma with intraglandular lymphatic dissemination shows more aggressive features[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2022, 52(11):1311-1320. doi: 10.1093/jjco/hyac119.
- [2] Seyrek NC, Baser H, Topaloglu O, et al. Ultrasonographical, clinical and histopathological features of 1264 nodules with papillary thyroid carcinoma and microcarcinoma based on tumor size[J]. *Arch Endocrinol Metab*, 2021, 64(5): 533-541. doi: 10.20945/2359-3997000000286.
- [3] Jung CK, Bychkov A, Kakudo K. Update from the 2022 World Health Organization classification of thyroid tumors: a standardized diagnostic approach[J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2022, 37(5): 703-718. doi: 10.3803/EnM.2022.1553.
- [4] Nabhan F, Dedhia PH, Ringel MD. Thyroid cancer, recent advances in diagnosis and therapy[J]. *Int J Cancer*, 2021, 149(5):984-992. doi: 10.1002/ijc.33690.
- [5] Hu J, Yuan JJ, Mirshahidi S, et al. Thyroid carcinoma: phenotypic features, underlying biology and potential relevance for targeting therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1950. doi: 10.3390/ijms22041950.
- [6] Wang J, Cai H, Liu Q, et al. Cinobufacini inhibits colon cancer invasion and metastasis via suppressing Wnt/ β -catenin signaling pathway and EMT[J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(3):703-718. doi: 10.1142/S0192415X20500354.
- [7] Wang R, Gao D, Chen C, et al. ADAM12 promotes gemcitabine resistance by activating EGFR signaling pathway and induces EMT in bladder cancer[J]. *Clin Transl Oncol*, 2023, 25(5): 1425-1435. doi: 10.1007/s12094-022-03044-x.
- [8] Baquero P, Jiménez-Mora E, Santos A, et al. TGF β induces epithelial-mesenchymal transition of thyroid cancer cells by both the BRAF/MEK/ERK and Src/FAK pathways[J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(11):1639-1654. doi: 10.1002/mc.22415.
- [9] Wei Z, Chen G, Hu T, et al. Resveratrol ameliorates lipid accumulation and inflammation in human SZ95 sebocytes via the AMPK signaling pathways in vitro[J]. *J Dermatol Sci*, 2021, 103(3):156-166. doi: 10.1016/j.jdermsci.2021.07.010.
- [10] Yuan B, Luo S, Feng L, et al. Resveratrol regulates the inflammation and oxidative stress of granulosa cells in PCOS via targeting TLR2[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2022, 54(4): 191-201. doi: 10.1007/s10863-022-09942-7.
- [11] Cheng J, Wang S, Lv SQ, et al. Resveratrol inhibits AhR/Notch axis and reverses Th17/Treg imbalance in purpura by activating Foxp3[J]. *Toxicol Res (Camb)*, 2023, 12(3):381-391. doi: 10.1093/toxres/tfad021.
- [12] 马智, 胡俊, 邓煜, 等. 白藜芦醇下调 ILK/ β -catenin 信号通路抑制卵巢癌细胞增殖的机制研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2021, 46(2): 212-216. doi:10.13406/j.cnki.cyx.002752.
- [13] 于瑞, 汪佳颖, 陶德韬, 等. 白藜芦醇调控线粒体通路诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡[J]. *皖南医学院学报*, 2022, 41(2):161-165. doi: 10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.016.
- [14] Yu R, Wang JY, Tao DT, et al. Resveratrol regulating mitochondrial pathway to induce apoptosis of oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Acta Academiae Medicinae Wannan*, 2022, 41(2):161-165. doi: 10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.016.
- [15] 南文庆, 范学锋, 宋涛, 等. 白藜芦醇调控金属蛋白酶9抑制宫颈癌细胞增殖和迁移的作用及机制[J]. *广西医科大学学报*, 2021, 38(11):2140-2145. doi: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2021.11.020.

- Nan WQ, Fan XF, Song T, et al. The effect and mechanism of resveratrol on the inhibition of proliferation and migration of cervical cancer cells by regulation of ADAM9[J]. Journal of Guangxi Medical University, 2021, 38(11): 2140-2145. doi: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2021.11.020.
- [15] Kowsari H, Davoodvandi A, Dashti F, et al. Resveratrol in cancer treatment with a focus on breast cancer[J]. Curr Mol Pharmacol, 2023, 16(3):346-361. doi: 10.2174/1874467215666220616145216.
- [16] 黄丽群, 谢龙, 张冠杰, 等. 白藜芦醇下调E盒结合锌指蛋白1表达对甲状腺癌细胞侵袭、迁移的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(15): 2035-2038. doi: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2021.15.022.
- Huang LQ, Xie L, Zhang GJ, et al. Effects of resveratrol on the invasion and migration of thyroid cancer cells by down regulating the expression of E-box binding zinc finger protein 1[J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2021, 37(15): 2035-2038. doi: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2021.15.022.
- [17] 马鑫雨, 柴芳, 肖智远, 等. 甲状腺乳头状癌患者侧颈区淋巴结转移影响因素分析[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(5):682-689. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.05.007.
- Ma XY, Chai F, Xiao ZY, et al. Analysis of influencing factors for lateral neck lymph node metastasis in patients with papillary thyroid carcinoma[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(5):682-689. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.05.007.
- [18] Karzai S, Zhang Z, Sutton W, et al. Ambient particulate matter air pollution is associated with increased risk of papillary thyroid cancer[J]. Surgery, 2022, 171(1): 212-219. doi: 10.1016/j.surg.2021.05.002.
- [19] Del Rio P, Loderer T, Giuffrida M, et al. Multifocality in patients treated for papillary Thyroid Carcinoma: a preliminary analysis of related risk factors[J]. Acta Biomed, 2021, 92(5): e2021017. doi: 10.23750/abm.v92i5.11897.
- [20] Kim M, Han M, Jeon MJ, et al. Impact of delayed radioiodine therapy in intermediate-/ high-risk papillary thyroid carcinoma[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2019, 91(3): 449-455. doi: 10.1111/cen.14039.
- [21] 于彬, 于勇, 时磊, 等. 扁蒴藤素对肝细胞癌细胞生物学行为及吉西他滨化疗敏感性的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(2): 221-230. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.02.007.
- Yu B, Yu Y, Shi L, et al. Effects of pristimerin on biological behavior and the sensitivity to gemcitabine chemotherapy in hepatocellular carcinoma cells[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(2): 221-230. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.02.007.
- [22] 陈伟毅, 洪炼哲, 彭靖, 等. 青藤碱抑制胰腺癌细胞迁移和侵袭及其与NF- κ B信号通路的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(3): 359-368. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.03.009.
- Chen WY, Hong LZ, Peng J, et al. Sinomenine inhibiting migration and invasion of pancreatic cancer cells and its association with NF- κ B signaling pathway[J]. China Journal of General Surgery, 2022, 31(3):359-368. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.03.009.
- [23] Li J, Wang Z, Li H, et al. Resveratrol inhibits TRAF6/PTCH/SMO signal and regulates prostate cancer progression[J]. Cytotechnology, 2022, 74(5): 549-558. doi: 10.1007/s10616-022-00544-0.
- [24] Lopez A, Reyna DE, Gitego N, et al. Co-targeting of BAX and BCL-XL proteins broadly overcomes resistance to apoptosis in cancer[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1199. doi: 10.1038/s41467-022-28741-7.
- [25] Wahyuni FS, Syafri S, Permatasari D, et al. Cowanin induces apoptosis in breast cancer cells via Bcl-2 signaling pathway[J]. J Complement Integr Med, 2023, 20(3):631-636. doi: 10.1515/jcim-2023-0058.
- [26] Moradipour A, Dariushnejad H, Ahmadzadeh C, et al. Dietary flavonoid carvacrol triggers the apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells via the p53/Bax/Bcl-2 axis[J]. Med Oncol, 2022, 40(1):46. doi: 10.1007/s12032-022-01918-2.
- [27] Koyama Y, Fujihara S, Chiyo T, et al. Role of mir-452-5p overexpression in epithelial-mesenchymal transition (EMT) in early-stage colorectal cancer[J]. In Vivo, 2023, 37(5): 1980-1990. doi: 10.21873/invivo.13295.
- [28] Litovka NI, Zhitnyak IY, Gloushankova NA. Epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells induced by activation of the transcription factor Snail1[J]. Biochemistry (Mosc), 2023, 88(1):22-34. doi: 10.1134/S0006297923010030.
- [29] Deng L, Zou J, Su Y, et al. Resveratrol inhibits TGF- β 1-induced EMT in gastric cancer cells through Hippo-YAP signaling pathway[J]. Clin Transl Oncol, 2022, 24(11): 2210-2221. doi: 10.1007/s12094-022-02882-z.
- [30] Yuan L, Zhou M, Huang D, et al. Resveratrol inhibits the invasion and metastasis of colon cancer through reversal of epithelial-mesenchymal transition via the AKT/GSK-3 β /Snail signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(3):2783-2795. doi: 10.3892/mmr.2019.10528.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:毛姍,李扬,丁韩梦,等.白藜芦醇对小鼠甲状腺乳头癌细胞移植瘤的抑制作用及机制研究[J].中国普通外科杂志,2023,32(11):1770-1777. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.11.016

Cite this article as: Mao S, Li Y, Ding HM, et al. Inhibitory effect of resveratrol on transplanted tumors of papillary thyroid cancer cells in mice and its mechanism[J]. Chin J Gen Surg, 2023, 32(11): 1770-1777. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.11.016