

# 姜黄挥发油对人皮肤鳞癌 SCL-1 细胞增殖、迁移和侵袭作用及其促凋亡机制研究

吕琳娜<sup>1</sup>, 咎雪娟<sup>2</sup>, 荣冬芸<sup>1</sup>, 肖露<sup>1</sup>, 骆衡<sup>3,4,\*</sup>, 曹煜<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>贵州医科大学, 贵阳 550004; <sup>2</sup>贵州省兴义市人民医院皮肤科, 兴义 562400;

<sup>3</sup>药用植物功效与利用国家重点实验室 贵州医科大学; <sup>4</sup>贵州省中国天然产物化学重点实验室, 贵阳 550014

**摘要:** 研究姜黄挥发油(TVO)对人皮肤鳞状细胞癌 SCL-1 细胞体外增殖、迁移与侵袭的影响, 初步探讨其凋亡作用机制。运用 MTT 法检测不同浓度 TVO 在不同时间段(24、48、72h)对 SCL-1 细胞体外增殖的影响; 细胞划痕和细胞侵袭实验检测 TVO 对皮肤鳞癌 SCL-1 细胞体外迁移和侵袭能力的影响; 流式细胞术分析及显微镜观察确定 TVO 诱导 SCL-1 细胞的诱导凋亡率; Western blot 检测 TVO 对皮肤鳞癌 SCL-1 细胞 Survivin 及 Caspase-3 蛋白表达的影响。TVO 对 SCL-1 细胞的体外增殖、迁移和侵袭具有抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 且呈时间-剂量依赖性; 流式细胞仪分析及显微镜观察表明 TVO 可诱导 SCL-1 细胞凋亡 ( $P < 0.05$ ), 且与其浓度呈正相关; Western blot 检测结果表明 TVO 能显著上调凋亡相关蛋白 Caspase-3 的表达 ( $P < 0.05$ ), 下调 Survivin 蛋白的表达 ( $P < 0.05$ )。TVO 能够显著抑制人皮肤鳞癌 SCL-1 细胞的体外增殖、迁移与侵袭能力, 且诱导细胞凋亡, 其可能的机制是通过调节凋亡相关蛋白 survivin、caspase-3 蛋白的表达。

**关键词:** 姜黄挥发油; SCL-1 细胞; 细胞凋亡; 凋亡相关蛋白

中图分类号: R739.5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.3.006

## Regulation Effect and Its Primary Mechanism of Curcuma Volatile Oil on Proliferation, Migration to Human Skin Squamous Carcinoma SCL-1 Cells

LV Lin-na<sup>1</sup>, ZAN Xue-juan<sup>2</sup>, RONG Dong-yun<sup>1</sup>, XIAO Lu<sup>1</sup>, WANG Ye<sup>1</sup>, LUO Heng<sup>3,4,\*</sup>, CAO Yu<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Guizhou Medical University, Guizhou 550004, China;

<sup>2</sup>Department of Dermatology, Xingyi People's Hospital of Guizhou, Xingyi 562400, China;

<sup>3</sup>State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University,

<sup>4</sup>Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China

**Abstract:** To study the effect of turmeric volatile oil (TVO) on the proliferation, migration and invasion of human skin squamous cell carcinoma cell line SCL-1 *in vitro*, and to explore the mechanism of its apoptosis. The effects of different concentrations and time (24, 48, 72 h) on the proliferation of SCL-1 cells were detected by MTT; The effects of TVO on migration and invasion of skin squamous cell carcinoma SCL-1 cells were examined by Wound scratch assay and Transwell; Flow cytometry analysis and microscope to determine the apoptosis rate of SCL-1 cells induced by TVO; Western Blot detects Survivin and Caspase-3 protein expression. TVO has inhibitory on the proliferation, migration and invasion of SCL-1 cells ( $P < 0.05$ ) in a time-dose dependent relationship. Flow cytometry analysis showed that TVO can induce apoptosis of SCL-1 cells ( $P < 0.05$ ); The flower-cell analysis and microscopic observation showed that TVO can induce the apoptosis of SCL-1, which was directly related to its concentration; Western blot test results showed that TVO can significantly increase the expression of apoptosis related Caspase-3 ( $P < 0.05$ ), lower the expression of Survivin protein ( $P < 0.05$ ). TVO can significantly inhibit human skin squamous carcinoma SCL-1 cell apoptosis induced by *in vitro* proliferation, migration, invasion ability and its possible mechanism is by regulating apoptosis related proteins expression of survivin, caspase-3 protein.

**Key words:** turmeric volatile oil; SCL-1 cell; apoptosis; apoptosis related protein

收稿日期: 2017-07-03 接受日期: 2017-09-25

基金项目: 贵州省中药现代化专项项目[2012-5018]; 贵州省中药

民族药创制工程中心[2012-018]

皮肤鳞状细胞癌 (squamous cell carcinoma,

\* 通信作者 E-mail: pfcy123@163.com; gylh0319@sina.com

SCC,简称鳞癌)是一种起源于表皮或附属器角质形成细胞的肿瘤<sup>[1]</sup>,皮肤鳞癌发展迅速,对人体健康具有极大威胁<sup>[2]</sup>。目前皮肤鳞癌治疗常规采以手术治疗为主,还有放疗、化疗;放疗、化疗虽能有效对抗肿瘤细胞,但在治疗过程中导致很多人体正常细胞的死亡,对人体造成极大损害,且发病机制仍不清楚<sup>[3]</sup>。因此,开发新的和更有效的治疗策略,是目前研究的热点及难点。近期有研究表明,中药可以在癌症预防与治疗全过程中发挥着重要作用<sup>[4]</sup>。

姜黄(*Curcuma longa* L.)作为一种抗肿瘤作用的先导中药一直受到极大关注,姜黄挥发油(turmeric volatile oil, TVO)是姜黄主要成分之一<sup>[5,6]</sup>。研究表明,姜黄挥发油可以有效抑制肺癌细胞 A549、人急性早幼粒白细胞 HL-60 和肝癌细胞 HepG2 的增殖<sup>[7]</sup>;姜黄挥发油的抗肿瘤作用机制目前认为有以下 4 种途径<sup>[8]</sup>:(1)直接细胞毒性作用;(2)诱导肿瘤细胞凋亡;(3)抑制肿瘤细胞异常增殖;(4)影响癌细胞的核酸代谢。Survivin 基因是新发现的凋亡抑制蛋白(IAP)基因家族成员,能够参与细胞周期进程,Survivin 在皮肤鳞癌组织中的表达升高,且呈正相关,提示该基因有可能共同参与皮肤鳞癌的发生和发展<sup>[9,10]</sup>。但目前 TVO 对皮肤鳞癌的生物学功能尚不能完全清楚。因此,本实验通过检测 TVO 对皮肤鳞癌 SCL-1 细胞增殖、迁移及凋亡的影响,并进一步探讨 TVO 在调控 Survivin 基因机制中的作用,为其应用于皮肤鳞癌的临床治疗提供更多的实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

人皮肤鳞状细胞癌 SCL-1 细胞(广州吉妮欧生物科技有限公司),RPMI 培养基,四季青胎牛血清、青链霉素双抗、胰酶(凯信生物工程股份有限公司),TVO(贵阳舒美达药厂),MTT(购于上海生物工程股份有限公司),Annexin-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(购于碧云天生物技术研究所),全蛋白提取试剂盒(南京凯基生物工程股份有限公司),RIPA 裂解液、PMSF、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、Western 二抗稀释液、一抗稀释液、封闭液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、一抗二抗去除液、PVDF 膜(Millipore,美国),小鼠抗人 Caspase-3 抗体、小鼠抗人 Survivin 抗体、 $\beta$ -actin(购自 BD,美国),辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG(购自 CST),多功能酶标仪 SYNERGY-H4(美

国 Biotek),奥林巴斯倒置显微镜(OLYMPUS 奥林巴斯 IX51),NAVIOS 流式细胞仪(美国 BECKMAN COULTER 公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细胞培养

将人皮肤鳞癌细胞 SCL-1 培养于 RPMI 培养基:胎牛血清:双抗以 100:10:1 配置成完全培养基,置 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 细胞孵育箱中培养,待细胞 90% 贴壁汇合时,即可传代,2~3 d 传代 1 次,取对数期生长细胞进行实验。

#### 1.2.2 细胞形态变化

取对数生长期 SCL-1 细胞制备成单细胞悬液,以每孔  $0.5 \times 10^4$  细胞接种于 96 孔板。37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱过夜培养。经 TVO(5、10、20、40、80 mg/L)处理 48 h 后,普通显微镜下观察拍照。

#### 1.2.3 细胞增殖抑制率测定

收集对数生长期的 SCL-1 细胞,用完全 RPMI 1640 培养基制成单个细胞悬液,以每孔  $0.5 \times 10^4$  细胞接种于 96 孔板后,设立 4 个复孔;培养 12 h 后,实验组加入 TVO(细胞及药物,完全培养基 200  $\mu$ L),用等体积法计算药物浓度,使其终浓度分别为 5、10、20、40、80 mg/L;另设空白对照组(无药物、无 DMSO,完全培养基 200  $\mu$ L),继续培养 24、48 及 72 h,培养结束的 4 h 加入 5 g/L 的 MTT,箱内再孵育 4 h 后,倒置显微镜下可见蓝紫色甲瓚颗粒,将 96 孔板置于离心机 2500 rpm 离心 15 min,吸尽上清液,然后每孔加入二甲基亚砜(DMSO)150  $\mu$ L,130 rpm 轻轻振荡 10 min,待甲瓚颗粒完全溶解,用酶联免疫测定仪检测波长为 490 nm 时每孔的吸光度(A)值,并计算细胞生长抑制率,细胞增殖抑制率 = (1-实验组 A490/正常对照 A490)  $\times$  100%。

#### 1.2.4 划痕实验观察细胞迁移能力

在铺满汇合度大于 80% 的单层 SCL-1 细胞的 6 孔板中,用 10  $\mu$ L 移液枪尖端轻轻笔直划痕,PBS 溶液漂洗 3 次;实验组分别加入 10、20 mg/L 的姜黄挥发油,设立空白对照组(DMSO 组),细胞于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养,分别培养 0、24、48、72 h 后在倒置显微镜下观察划痕愈合度,拍照并测量及分析细胞的迁移情况,通过 Image J 软件测量划痕区域宽度,并计算细胞迁移度:迁移度(%) = (划痕时两侧距离-检测时两侧距离)/划痕时两侧距离  $\times$  100%。

#### 1.2.5 Transwell 实验测细胞侵袭能力

用 0.25% 胰蛋白酶消化收集对数生长期细胞,

调整 SCL-1 细胞密度为  $4 \times 10^4$  个/mL, 各组 24 孔板配套 Tranwell 小室上室加 200  $\mu$ L 的细胞悬液, 下室加入无 FBS 的 RPMI 培养基 500  $\mu$ L, 置于 37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养 12 h 后, 根据 MTT 检测结果, 加入 TVO, 选择作用较为明显的药物浓度, 使终浓度为 10、20 mg/L; 同时下室加入含 10% FBS 的 RPMI 培养基 500  $\mu$ L。设空白对照 (DMSO 组), 分别培养 24、48 及 72 h 后, 取下 Transwell 半透膜, PBS 洗涤 2 次, 多聚甲醛固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 20 min, 用棉签轻轻擦拭半透膜上层未穿透膜细胞, PBS 洗涤 3 次, 普通显微镜下随机五个视野观察细胞并计数, 以穿膜的细胞个数计算细胞的侵袭能力。

### 1.2.6 细胞凋亡检测

消化收集对数期细胞种于 6 孔板, 各实验组 (实验组加入 TVO 最终浓度为 5、10、20、40、80 mg/L) 及对照组 (对照组加入完全培养基) 分别培养 48 h 的细胞, 使最终上机前每孔细胞数目大于  $1.0 \times 10^6$  个/孔, 用 4  $^{\circ}$ C 预冷的 PBS 洗细胞 2 次, 加入 500  $\mu$ L  $1 \times$  结合缓冲液悬浮细胞, 加入 5  $\mu$ L FITC 标记的 Annexin-V 和 5  $\mu$ L PI, 混匀, 室温, 避光反应 15 min, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。

### 1.2.7 Western Blot 检测 survivin 及 Caspase-3 蛋白的表达

实验分组及细胞处理同前。按照全蛋白提取试剂盒提取蛋白, 参照韦武亭等<sup>[1]</sup>方法, 并测定提取的蛋白浓度。含有等量蛋白的细胞裂解液用  $5 \times$  上

样缓冲液稀释, 置于 SDS-PAGE (12% 分离胶, 5% 积层胶) 电泳、转膜, 室温下用 5% 蛋白封闭液封闭后, 用 TBST 稀释一抗, 4  $^{\circ}$ C 过夜; 辣根过氧化物酶标记的二抗对其进行孵育、检测, 用 Image J 软件分析灰度值。以  $\beta$ -actin 作为内参。

### 1.2.8 统计方法

实验数据采用 SPSS17.0 统计软件分析, 所有数值均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为显著性差异,  $P < 0.01$  为极显著差异。

## 2 实验结果

### 2.1 MTT 法检测 TVO 对 SCL-1 细胞增殖的影响

经不同浓度 TVO (5、10、20、40、80 mg/L) 处理 SCL-1 细胞 24、48、72 h 后, 与对照组相比, 10 mg/L TVO 作用于 SCL-1 细胞于 24、48、72 h 时, 能有效抑制 SCL-1 细胞增殖, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 20 mg/L TVO 作用于 SCL-1 细胞于 24 h 时, 能有效抑制 SCL-1 细胞增殖 ( $P < 0.05$ ), 作用于其 48、72 h 时, 能显著抑制细胞增殖 ( $P < 0.01$ ), 差异均具有统计学意义; TVO (40、80 mg/L) 作用 SCL-1 在 24、48、72 h 能显著抑制细胞增殖, 差异极具统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 而实验组中 5 mg/L TVO 在三个处理时间点无明显统计学意义 ( $P > 0.05$ )。且与对照组相比, TVO (5、10、20、40、80 mg/L) 在 24、48、72 h 的  $\text{IC}_{50}$  值分别是 137.72、87.55、41.55 mg/L, 表明试验浓度 TVO 对 SCL-1 细胞有明显抑制作用, 且呈一定时间-浓度依赖性。见表 1。

表 1 TVO 对 SCL-1 细胞增殖抑制率的影响 ( $n = 4, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 The effect of TVO on the inhibition rate of SCL-1 cell proliferation ( $n = 4, \bar{x} \pm s$ )

TVO (mg/L)	抑制率 Inhibition rate (%)		
	24h	48h	72h
0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
5	9.4 $\pm$ 0.7	13.8 $\pm$ 1.6	19.7 $\pm$ 0.9
10	13.3 $\pm$ 1.3 *	19.4 $\pm$ 1.7 *	27.8 $\pm$ 3.7 *
20	19.7 $\pm$ 2.1 *	27.7 $\pm$ 4.6 **	39.4 $\pm$ 3.9 **
40	30.9 $\pm$ 5.2 **	36.7 $\pm$ 2.5 **	48.3 $\pm$ 4.9 **
80	40.2 $\pm$ 3.5 **	49.2 $\pm$ 5.2 **	60.9 $\pm$ 5.8 **

注: 细胞增殖抑制率 = (1 - 实验组 A490 / 正常对照 A490)  $\times$  100%, 与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: the cell proliferation inhibition rate = (1 - experimental group A490 / normal control A490)  $\times$  100%, compared with the control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

### 2.2 TVO 对 SCL-1 细胞形态学的影响

倒置显微镜下观察经 TVO (5、10、20、40、80 mg/L) 处理 SCL-1 细胞 48 h 后, 与对照组相比较, 随

药物浓度增加增殖速度逐渐减慢, 贴壁性逐渐降低, 随药物浓度越高细胞间隙增大越明显; 可见细胞变稀疏, 胞体变小、变圆、脱落; 细胞膜完整但出现发泡

现象;可见漂浮细胞,与药物浓度呈正相关,见图1。

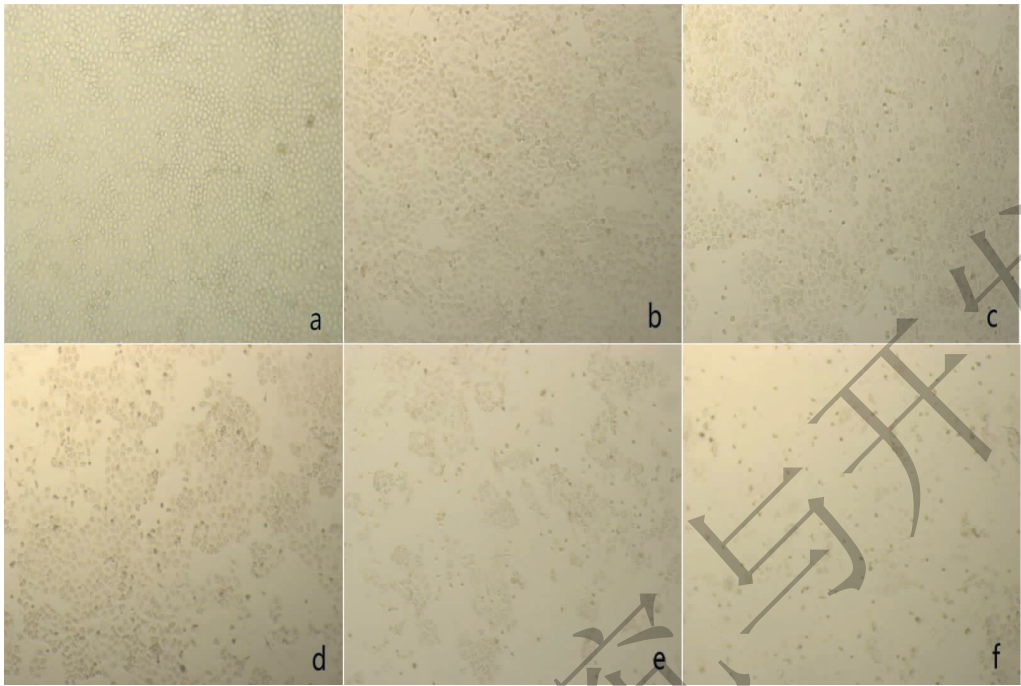


图1 TVO(5、10、20、40、80 mg/L)处理48 h对SCL-1细胞形态变化的影响

Fig. 1 Effects TVO ( 5, 10, 20, 40, 80 mg/L, 48 h) on the morphological changes of SCL-1 cells

注:a:对照组(倒置显微镜下,×10);b~f:5、10、20、40、80 mg/L TVO处理细胞(倒置显微镜下,×10)

Note:a:control group (inverted microscope, ×10);b-f:TVO (5,10,20,40,80 mg/L) treated cells (inverted microscope, ×10)

### 2.3 TVO对皮肤鳞癌SCL-1细胞迁移的影响

经MTT实验结果选择TVO(10、20 mg/L)作用于皮肤鳞癌细胞SCL-1处理后,设立DMSO对照组;经24 h培养后SCL-1的迁移能力与对照组相比显

著降低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );经48、72 h培养后SCL-1的迁移能力与对照组相比显著降低,差异极具统计学意义( $P < 0.01$ )提示TVO随浓度增高、培养时间的增加可显著制SCL-1细胞的迁移。见图2。

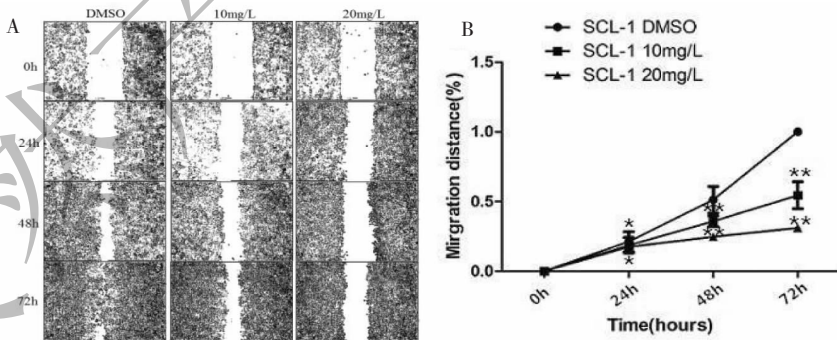


图2 TVO(10、20 mg/L)、DMSO组作用SCL-1细胞(0、24、48、72 h)后横向迁移图

Fig. 2 Lateral migration plots of SCL-1 cells after TVO (10, 20 mg/L) and DMSO treatment (0, 24, 48, 72 h)

注:A:SCL-1细胞横向迁移代表性图像;B:TVO(10、20 mg/L)与DMSO组细胞迁移统计。与对照组相比,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$

Note:A:SCL-1 cells lateral migration representative plot;B:TVO (10, 20 mg/L) group and DMSO group cell migration statistics. Compared with the control group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

### 2.4 TVO对皮肤鳞癌SCL-1细胞侵袭的影响

TVO(10、20mg/L)作用于皮肤鳞癌细胞SCL-1处理后;Transwell检测结果显示,与空白对照组相比,

SCL-1在三个时间点,经两种浓度TVO培养24h后细胞穿膜细胞数明显减少,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),且随着药物作用时间的延长,细胞侵袭能

力显著下降,差异极具统计学意义( $P < 0.01$ );提示细胞的迁移。见图3。  
TVO 随浓度增高、培养时间的增加可显著制 SCL-1

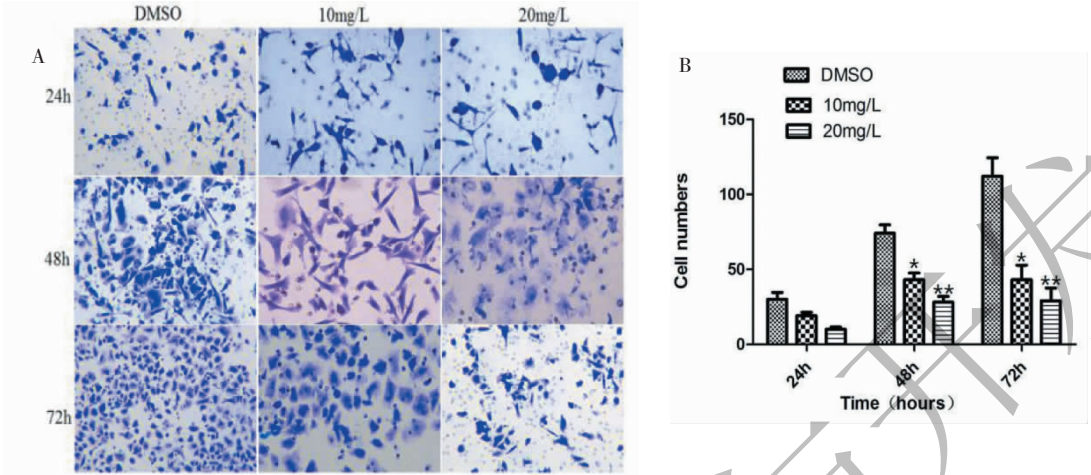


图3 TVO(10、20 mg/L)、DMSO 组作用 SCL-1 细胞(24、48、72 h) 侵袭能力图

Fig. 3 SCL-1 cell invasion capacity affected by TVO (10, 20 mg/L) and DMSO (24, 48, 72 h)

注:A:SCL-1 细胞侵袭能力代表图像;B:TVO(10、20 mg/L)与 DMSO 组细胞侵袭统计。与对照组相比,\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

Note:A:SCL-1 cell invasion capacity represents plots;B:TVO (10, 20 mg/L) and DMSO group cell invasion statistics. Compared with control group, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

### 2.5 细胞凋亡分析

流式细胞仪检测细胞凋亡结果表明,TVO(浓度为5、10、20、40、80 mg/L)作用 SCL-1 细胞 24 h 后,处理组细胞早晚期凋亡细胞凋亡率分别为 17.2%、

23.9%、29.4%、31.7%、33%,显著高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。因此,实验结果提示 TVO 能够诱导 SCL-1 细胞凋亡。见图4。

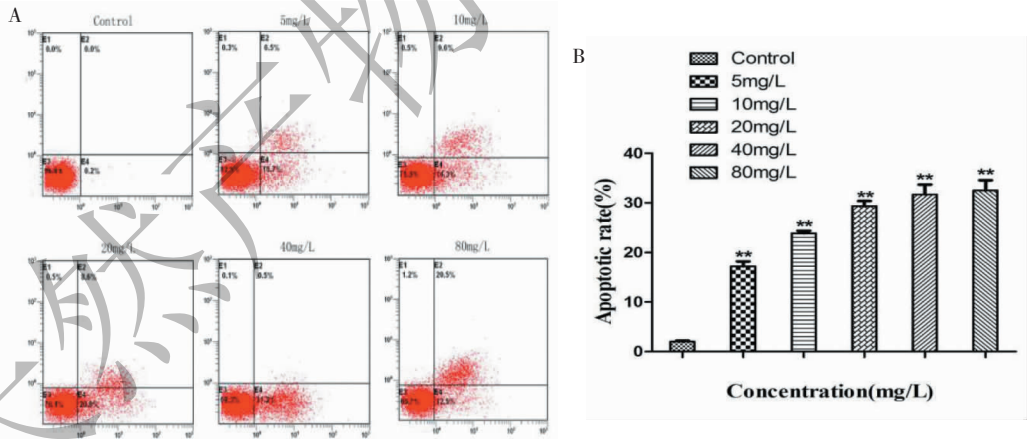


图4 流式细胞术检测 TVO 对 SCL-1 细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effect of TVO on SCL-1 cell apoptosis

注:A:流式细胞仪检测细胞凋亡的代表性图像;B:细胞凋亡的定量分析。与对照组相比,\*\*  $P < 0.01$

Note:A:A representative plot of apoptosis detected by flow cytometry;B:Quantitative analysis of apoptosis. Compared with the control group, \*\*  $P < 0.01$

### 2.6 Western Blot 法检测

TVO 作用 SCL-1 细胞 48 h 后,实验浓度 Caspase-3 蛋白表达量高于对照组,Survivin 蛋白表达量低于对照组,以 20 mg/L TVO 蛋白表达量变化

幅度最大。结果表明 TVO 能促进凋亡相关蛋白 Caspase-3 及 Survivin 蛋白的表达水平变化;caspase-3 蛋白表达量逐渐增高并显著高于对照组,而 survivin 蛋白表达量逐渐下降且明显低于对照组,提示

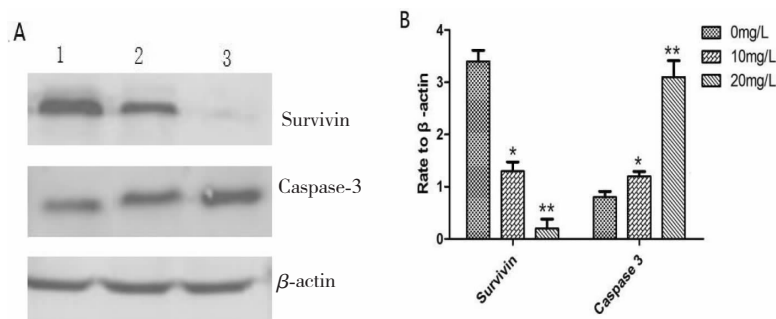


图5 TVO(0、10、20 mg/L)对 survivin 及 Caspase-3 蛋白表达的影响

Fig. 5 Effects of TVO (0, 10, 20 mg/L) on the expression of Survivin and Caspase-3 proteins

注:A:Western Blot 检测 SCL-1 细胞 Survivin 和 caspase-3 的蛋白表达,1-3:分别为 0、10、20 mg/L TVO;B:蛋白表达量的半定量分析,与对照组相比,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$

Note:A:Western Blot detects the protein expression of SCL-1 cell Survivin and caspase-3,1-3:0, 10, 20 mg/L TVO respectively;B:Semiquantitative analysis of protein expression, compared with the control group, \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$

TVO 可促进 Caspase-3 的表达,而抑制 survivin 表达。见图 5。

### 3 讨论与结论

细胞凋亡(apoptosis)是机体正常细胞在受到生理和病理性刺激后出现的一种自发的死亡过程,是一个主动、高度有序、基因控制及一系列酶参与的过程,细胞凋亡发生异常会导致疾病的发生,如肿瘤、自身免疫性疾病、病毒感染和神经退化性疾病等<sup>[12]</sup>。许多研究显示,中药在诱导细胞凋亡、抗肿瘤、细胞侵袭、诱导肿瘤细胞分化等多个环节发挥重要作用<sup>[13]</sup>。姜黄为姜科姜黄属植物的干燥根茎,姜黄中富含姜黄挥发油;有研究表明,姜黄挥发油能够通过诱导细胞周期阻滞,从而抑制皮肤黑色素瘤细胞增殖以及诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用;由于其药理作用广泛,毒性低,耐受性好,且价格低廉已成为开发热点<sup>[14-16]</sup>。因此,其研究具有广阔前景。

倒置显微镜下 SCL-1 细胞贴壁性降低,细胞间隙逐渐增大,出现发泡现象;细胞胞体变小、变圆、脱落;可见大量漂浮细胞;MTT 法检测结果表明 TVO 能够有效抑制皮肤鳞癌 SCL-1 细胞增殖;以上实验结果随 TVO 浓度增加,作用时间加长,TVO 对细胞 SCL-1 抑制增殖作用越明显,呈一定时间-浓度依赖性。流式细胞仪检测结果也显示经 TVO 干预过的 SCL-1 细胞,随着 TVO 浓度不断增加,凋亡率明显增加,80 mg/L TVO 抑制率达 33% 进一步提示 TVO 抑制 SCL-1 细胞增殖可能是通过 TVO 促进 SCL-1 细胞凋亡的结果。根据以上试验结果选择浓度相对较低的 TVO(10、20 mg/L)为终浓度实验组,

通过细胞划痕试验和细胞侵袭试验检测 TVO 对皮肤鳞癌 SCL-1 细胞迁移和侵袭的影响,结果发现,与对照组(DMSO 组)相比 TVO 能显著降低皮肤鳞癌细胞的迁移与侵袭能力。

Survivin 是目前所发现的分子量最小,抑制凋亡作用最强的因子,已被认定肿瘤治疗中一个非常有希望的靶点,先前有研究表明,survivin 在正常细胞中低表达,但是在增殖的肿瘤细胞中和肿瘤血管生成期表达量较高,所以 survivin 可以作为抗肿瘤的一个合适靶点<sup>[17]</sup>。它不仅能够通过直接抑制 caspase-3 活性来达到抑制细胞凋亡的功能,还与细胞周期调控和肿瘤转移所需的血管形成密切相关,survivin 表达异常可导致肿瘤细胞无限制增殖<sup>[18]</sup>;Western Blot 检测发现与阴性对照组相比,实验组能够明显减少 survivin 蛋白表达量,与 TVO 浓度成负相关;能够增加 Caspase-3 的表达量,TVO 浓度与蛋白量呈正相关;增强证明 TVO 诱导细胞凋亡作用。

综上所述,本实验推测 TVO 不仅能够降低皮肤鳞癌 SCL-1 细胞迁移与侵袭能力,还能抑制鳞癌细胞增殖及促进细胞凋亡作用,其促凋亡机制可能是通过上调 Caspase-3 蛋白表达,下调凋亡蛋白抑制因子 survivin 蛋白表达实现的,实验丰富了 TVO 临床应用的理论基础,为皮肤鳞癌的深入研究提供候选机制。

#### 参考文献

- Smoller BR. Squamous cell carcinoma;from precursor lesions to high-risk variants[J]. *Mod Pathol*,2006,19 Suppl2:s88-s92.