

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research白花丹醌通过 *FNDC3B* 在舌鳞癌细胞恶性生物学行为与糖酵解中的作用研究Research of the effects of plumbagin in the malignant biological behaviors and glycolysis of tongue squamous cell carcinoma cells through *FNDC3B*闫倩¹, 李琰¹, 陈宏丽¹,
张宇涛¹, 张旭琴²

(1. 山西医科大学汾阳学院临床医学院, 山西汾阳 032200; 2. 吕梁市人民医院口腔科, 山西吕梁 033000)

YAN Qian¹, LI Yan¹,
CHEN Hong-li¹, ZHANG Yu-tao¹,
ZHANG Xu-Qin²

(1. Clinical Medicine department of Fenyang College, Shanxi Medical University, Fenyang 032200, Shanxi Province, China; 2. Department of Stomatology, Liliang People's Hospital, Liliang 033000, Shanxi Province, China)

基金项目: 山西医科大学汾阳学院科研基金资助项目(2023L477)

作者简介: 闫倩(1985-), 女, 实验师, 主要从事口腔医学方面的研究

通信作者: 闫倩

MP: 15535826876

E-mail: 18634757687@163.com

摘要:目的 探讨白花丹醌(plumbagin)通过含纤连蛋白Ⅲ型结构域蛋白3B(*FNDC3B*)对舌鳞癌细胞恶性生物学行为与糖酵解抑制作用的机制。方法 取对数生长期的人舌鳞癌细胞(TCA8113),将TCA8113细胞分为空白组(正常培养)、低、中、高剂量实验组(分别用1、2、4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 白花丹醌处理TCA8113细胞)、oe-NC组(TCA8113细胞转染阴性对照质粒oe-NC)、oe-*FNDC3B*组(TCA8113细胞转染oe-*FNDC3B*)、高剂量实验组+oe-NC组(基于高剂量实验组,转染oe-NC质粒)和高剂量实验组+oe-*FNDC3B*组(基于高剂量实验组,转染oe-*FNDC3B*质粒)。用实时荧光定量聚合酶链反应检测*FNDC3B* mRNA相对表达水平;用噻唑蓝法检测细胞存活率;用Transwell实验法检测细胞侵袭水平;用免疫荧光法检测*FNDC3B*、己糖激酶2(HK2)和乳酸脱氢酶A(LDHA)蛋白相对表达水平;用原位末端转移酶标记技术法检测细胞凋亡水平。结果 空白组、高剂量实验组、高剂量实验+oe-NC组和高剂量实验+oe-*FNDC3B*组细胞侵袭个数为(89.71 ± 13.59)、(69.67 ± 14.78)、(62.33 ± 10.11)和(158.23 ± 20.95)个,细胞凋亡率为(10.07 ± 2.41)%、(23.38 ± 4.75)%、(20.65 ± 5.43)%和(8.44 ± 1.18)%,HK2蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.15、0.58 ± 0.09、0.55 ± 0.07和0.71 ± 0.10,LDHA蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.12、0.63 ± 0.11、0.61 ± 0.09和0.89 ± 0.15,P53蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.15、1.59 ± 0.31、1.64 ± 0.28和1.25 ± 0.22,P21蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.13、1.51 ± 0.26、1.48 ± 0.19和1.19 ± 0.17,CDK6蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.13、0.28 ± 0.04、0.33 ± 0.06和0.79 ± 0.12,高剂量实验组的上述指标与空白组比较,高剂量实验+oe-*FNDC3B*组的上述指标与高剂量实验+oe-NC组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 白花丹醌可能通过*FNDC3B*调控P53/P21/CDK6信号通路来促进舌鳞癌细胞的凋亡,抑制癌细胞的侵袭和糖酵解。

关键词: 白花丹醌;舌鳞癌;含纤连蛋白Ⅲ型结构域蛋白3B;恶性行为;糖酵解

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.07.010

中图分类号:R739.86 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2026)07-0962-06

Abstract: Objective To explore the mechanism of the inhibitory effects of plumbagin on the malignant biological behaviors and glycolysis of tongue squamous cell carcinoma cells through fibronectin type III domain-containing protein 3B (*FNDC3B*). **Methods** Human tongue squamous cell carcinoma cells (TCA8113) in the logarithmic growth phase were obtained. TCA8113 cells were divided into blank group (normal cultured), experimental-L, M, and H group (TCA8113 cells were treated with 1, 2 and 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ plumbagin), oe-NC group

(TCA8113 cells were transfected with the negative control plasmid oe - NC), oe - FNDC3B group (TCA8113 cells were transfected with oe - FNDC3B), experimental - H + oe - NC group (based on experimental - H group, transfected with the oe - NC plasmid) and experimental - H + oe - FNDC3B group (based on experimental - H group, transfected with the oe - FNDC3B plasmid). Real - time quantitative polymerase chain reaction was used to detect *FNDC3B* mRNA relative expression levels. Cell viability was assessed using the methylthiazolyldiphenyl - tetrazolium bromide (MTT) assay. Cell invasion was evaluated using the Transwell assay. Immunofluorescence staining was performed to detect the protein relative expression levels of FNDC3B, hexokinase 2 (HK2) and lactate dehydrogenase A (LDHA). Cell apoptosis was detected using the terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) assay. **Results** The numbers of invasive cells in blank group, experimental - H group, experimental - H + oe - NC group and experimental - H + oe - FNDC3B group were (89.71 ± 13.59), (69.67 ± 14.78), (62.33 ± 10.11) and (158.23 ± 20.95), respectively; the apoptosis rates were (10.07 ± 2.41)%, (23.38 ± 4.75)%, (20.65 ± 5.43)% and (8.44 ± 1.18)%, respectively; the relative expression levels of HK2 were 1.00 ± 0.15 , 0.58 ± 0.09 , 0.55 ± 0.07 and 0.71 ± 0.10 , respectively; the relative expression levels of LDHA were 1.00 ± 0.12 , 0.63 ± 0.11 , 0.61 ± 0.09 and 0.89 ± 0.15 , respectively; the relative expression levels of P53 were 1.00 ± 0.15 , 1.59 ± 0.31 , 1.64 ± 0.28 and 1.25 ± 0.22 , respectively; the relative expression levels of P21 were 1.00 ± 0.13 , 1.51 ± 0.26 , 1.48 ± 0.19 and 1.19 ± 0.17 , respectively; the relative expression levels of CDK6 were 1.00 ± 0.13 , 0.28 ± 0.04 , 0.33 ± 0.06 and 0.79 ± 0.12 , respectively. There were statistically significant differences in the above indicators between experimental - H group and blank group, and between experimental - H + oe - FNDC3B group and experimental - H + oe - NC group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Plumbagin may promote the apoptosis of tongue squamous cell carcinoma cells, and inhibit the invasion and glycolysis of cancer cells by regulating the P53/P21/CDK6 signaling pathway through *FNDC3B*.

Key words: plumbagin; tongue squamous cell carcinoma; fibronectin type III domain - containing protein 3B; malignant behavior; glycolysis

舌鳞状细胞癌是口腔中最常见的恶性肿瘤,具有恶性程度和复发率高、侵袭性强、易淋巴结转移、存活率低等生物学特点,严重威胁患者的生命健康^[1]。舌癌主要的治疗方法是手术切除病灶辅以放化疗的综合序列表疗法,但对患者生存率、口腔功能改善度有限,且化疗药物的耐药性及副作用常会降低治疗效果^[2]。研究发现,中药单体白花丹醌(plumbagin)有抗菌、抗炎、抗氧化及抗肿瘤等作用,可抑制多种肿瘤细胞增殖、血管生成和转移^[3]。纤维连接蛋白III型结构域3B(fibronectin type III domain - containing protein 3B, *FNDC3B*)作为FNDC3家族的一员,*FNDC3B*的缺失抑制细胞的粘附、迁移和增殖,且与舌鳞癌细胞的侵袭和转移密切相关^[4]。白花丹醌与*FNDC3B*之间作用仍需进一步研究,本研究探讨白花丹醌通过调控*FNDC3B*抑制舌鳞癌细胞恶性生物学行为与糖酵解的具体机制,以期为舌鳞癌的治疗提供新的策略与思路。

材料与方法

1 材料

细胞 人舌鳞癌细胞(CAL27)、人正常口腔上皮

细胞(HOEC),均购自湖北武汉普诺赛生命科技有限公司;人舌鳞癌细胞(TCA8113),购自思泰默(上海)生物科技有限公司。

药物与试剂 白花丹醌,规格:每瓶25 mg,纯度:98.0%,四川成都普思生物科技股份有限公司生产;Lipofectamine3000试剂和Trizol试剂,均由美国赛默飞世尔科技公司生产;噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl - tetrazolium bromide, MTT)溶液,由北京索宝来科技有限公司生产;原位末端转移酶标记技术(terminal - deoxynucleotidyl transferase - mediated dUTP - biotin nick end labeling assay, TUNEL)试剂,湖北武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司生产;肿瘤蛋白P53(tumor protein p53, P53)、依赖性激酶抑制剂1(cyclin dependent kinase inhibitor1A, P21)、细胞周期蛋白依赖性激酶6(cyclin - dependent kinase 6, CDK6)、辣根过氧化物酶标记的免疫球蛋白G二抗、己糖激酶2(hexokinase 2, HK2)和乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A, LDHA)荧光二抗,均由英国Abcam公司生产。

仪器 MA - 1640Q实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real - time polymerase chain reaction,

qRT-PCR)仪,江苏苏州雅睿生物技术股份有限公司产品;K6600-A全波长酶标仪,北京凯奥科技发展有限公司产品;DM500光学显微镜,德国徕卡公司产品;AxioObserver7荧光显微镜,德国卡尔蔡司公司产品;DYCZ-MINI4电泳仪,北京六一生物科技有限公司。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

将TCA8113和CAL27细胞培养于10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的杜氏改良伊格尔培养基-哈姆F12培养基中,HOEC细胞培养于10%胎牛血清的杜氏改良伊格尔培养基中,培养基均置于5%CO₂,37℃的培养箱培养。待细胞生长至贴壁程度达80%~90%时,进行细胞传代,选取处于对数生长期的细胞用于后续实验。

2.2 细胞分组与处理方法^[6]

将细胞分为HOEC组(HOEC细胞正常培养)、TCA8113组(TCA8113细胞正常培养)和CAL27组(CAL27细胞正常培养)。FNDC3B mRNA在TCA8113细胞中表达差异最显著,故选择TCA8113细胞系进行后续实验。将TCA8113细胞分为空白组(正常培养)、低剂量实验组(用1 μmol·L⁻¹白花丹醌处理TCA8113细胞)、中剂量实验组(用2 μmol·L⁻¹白花丹醌处理TCA8113细胞)、高剂量实验组(用4 μmol·L⁻¹白花丹醌处理TCA8113细胞)、oe-NC组(TCA8113细胞转染oe-NC质粒)、oe-FNDC3B组(TCA8113细胞转染oe-FNDC3B质粒)、高剂量实验+oe-NC组(基于高剂量实验组,转染oe-NC质粒)和高剂量实验+oe-FNDC3B组(基于高剂量实验组,转染oe-FNDC3B质粒)。

2.3 qRT-PCR法检测FNDC3B mRNA相对表达水平^[7]

用Trizol试剂提取各处理组细胞的总RNA,检测浓度并逆转录为cDNA,置于实时荧光定量PCR仪中扩增,以β-肌动蛋白(beta-actin,β-actin)为内参。反应条件为94℃预变性10 min,94℃变性10 s,50℃退火30 s,72℃延伸40 s,共循环40次。用2^{-ΔΔCt}计算mRNA的相对表达水平。引物序列为FNDC3B上游引物:5'-CCCTCCCTATCTGACTCACCA-3',下游引物:5'-GGTCCGGTAACAGGTGGGTA-3';β-actin上游引物:5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3',下游引物:5'-GCTGTACCTTCACCGTTCC-3'。

2.4 MTT法检测TCA8113细胞存活率^[8]

将不同浓度处理组的细胞进行消化、计数,配置

为细胞悬液为每毫升1×10⁵个细胞,将细胞接种于96孔板中,每组设6个复孔,培养24 h。清洗后,加入MTT溶液,恒温培养4 h,每孔加入二甲基亚砷100 μL并振荡混匀,用酶标仪检测细胞光密度(optical density,OD)值,并计算细胞活力。

2.5 Transwell实验法检测细胞侵袭情况^[9]

在小室内平铺一层基质胶(50 μL),将细胞接种于Transwell上室,下室中加入含10%胎牛血清的杜氏改良伊格尔培养基-哈姆F12培养基600 μL,培养24 h。去除小室上层的未迁移细胞,清洗3次,4%多聚甲醛固定,结晶紫染色15 min,用显微镜进行观察并拍照,用Image J图像分析软件处理。

2.6 免疫荧光实验法检测FNDC3B、HK2和LDHA蛋白相对表达水平^[10]

将各组细胞以每孔2×10⁴个细胞接种于24孔板中,吸去板中培养基,清洗后,4%多聚甲醛固定细胞10 min,滴加10%山羊血清室温封闭30 min。吸去封闭液,加入FNDC3B、HK2和LDHA一抗孵育过夜,抗体比例分别为1:200、1:1 000和1:100。加入荧光二抗(1:5 000)37℃避光孵育1 h,用含4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole,DAPI)的封片剂封片,用荧光显微镜观察并记录。

2.7 Tunel实验法检测细胞凋亡率^[11]

将分组处理好的细胞接种于96孔板中,依次经固定、透化处理,清洗细胞爬片,加入Tunel试剂,参照试剂盒说明书要求在37℃下湿盒中避光反应1 h。DAPI室温避光染核10 min,用荧光显微镜拍照观察。

2.8 蛋白印迹法检测P53/P21/CDK6信号通路蛋白相对表达水平^[12]

收集各组细胞加入裂解液冰上裂解,收集上清液,使用试剂盒定量后。取蛋白样品进行电泳,随后转膜。室温下用5%脱脂牛奶封闭2 h,依次加入LC3-II/LC3-I、Beclin-1、Atg3、Atg7、P53、P21、CDK6一抗(稀释度分别为1:1 000、1:1 000、1:1.0×10⁴、1:1.0×10⁴、1:1.0×10⁴、1:1 000、1:2 000),于4℃孵育过夜,次日经洗3次后,与二抗(1:2.5×10⁴)室温反应1 h,化学增强发光剂显影,用Image J软件分析蛋白条带灰度值。

3 统计学处理

用SPSS 23.0软件进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析进行多组比较,用独立样本t检验进行两两比较。

结 果

1 舌鳞癌细胞系中 *FNDC3B* mRNA 相对表达水平

HOEC、TCA8113 和 CAL27 细胞均正常培养;空白组为正常培养的 TCA8113 细胞;低、中、高剂量实验组分别用 1、2、4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 白花丹醌处理 TCA8113 细胞;oe - NC 组为 TCA8113 细胞转染 oe - NC 质粒;oe - FNDC3B 组为 TCA8113 细胞转染 oe - FNDC3B 质粒;高剂量实验 + oe - NC 组为基于高剂量实验组,转染 oe - NC 质粒;高剂量实验 + oe - FNDC3B 组为基于高剂量实验组,转染 oe - FNDC3B 质粒。

qRT - PCR 实验显示, HOEC 组、TCA8113 组和 CAL27 组的 *FNDC3B* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 , 3.17 ± 0.44 和 2.65 ± 0.48 , TCA8113 组和 CAL27 组 *FNDC3B* mRNA 相对表达水平均显著高于 HOEC 组(均 $P < 0.05$), 其中 *FNDC3B* mRNA 在 TCA8113 细胞中表达差异最显著,故选择 TCA8113 细胞系进行后续实验。

2 不同浓度白花丹醌影响 TCA8113 细胞的活力及侵袭能力

MTT 实验显示,与空白组比较,低、中、高剂量实验组的细胞存活率均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.001$),见表 1。Transwell 实验显示,与空白组比较,低、中和高剂量实验组的细胞侵袭个数均显著减少($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$),其中高剂量实验组差异最显著,故选择高剂量试验组进行后续实验,见表 1。

3 白花丹醌影响 *FNDC3B* 相对表达水平

qRT - PCR 和免疫荧光显示,高剂量实验组和空白组的 *FNDC3B* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 和 0.54 ± 0.08 , *FNDC3B* 蛋白相对表达水

平分别为 1.00 ± 0.15 和 0.63 ± 0.11 ,高剂量实验组的 *FNDC3B* mRNA 和蛋白相对表达水平与空白组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

4 白花丹醌通过 *FNDC3B* 对各组细胞侵袭、凋亡的影响

oe - FNDC3B 组和 oe - NC 组的 *FNDC3B* mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 和 3.01 ± 0.48 ,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。高剂量实验 + oe - FNDC3B 组,高剂量实验 + oe - NC 组,高剂量实验组和空白组的细胞侵袭个数分别为 (158.23 ± 20.95) , (62.33 ± 10.11) , (69.67 ± 14.78) 和 (89.71 ± 13.59) 个,细胞凋亡率分别为 $(8.44 \pm 1.18)\%$, $(20.65 \pm 5.43)\%$, $(23.38 \pm 4.75)\%$ 和 $(10.07 \pm 2.41)\%$,高剂量实验组的上述指标与空白组比较,高剂量实验 + oe - FNDC3B 组的上述指标与高剂量实验 + oe - NC 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

5 白花丹醌通过 *FNDC3B* 影响各组细胞糖酵解

免疫荧光实验显示,与空白组比较,高剂量实验组细胞的 HK2 和 LDHA 蛋白相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.001$);与高剂量实验组比较,高剂量实验 + oe - NC 组细胞的 HK2 和 LDHA 蛋白相对表达水平在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);与高剂量实验 + oe - NC 组比较,高剂量实验 + oe - FNDC3B 组细胞的 HK2 和 LDHA 蛋白相对表达水平均显著升高($P < 0.01$, $P < 0.001$),见表 2。

6 白花丹醌通过 *FNDC3B* 介导 P53/P21/CDK6 信号通路

蛋白印迹法显示,与空白组比较,高剂量实验组的 P53 和 P21 蛋白相对表达水平均显著升高,CDK6 蛋白相对表达水平显著降低(均 $P < 0.001$);与高剂量实验组比较,高剂量实验 + oe - NC 组中 P53、P21 和 CDK6 蛋白相对表达水在统计学上差异均无统计

表 1 各组细胞存活率和侵袭个数比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of cell survival rates and the number of invaded cells among various groups($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Cell viability (%)	Cell invasion number (cell)
Blank	8	100.00 ± 4.71	142.33 ± 17.34
Experimental - L	8	$94.23 \pm 5.04^*$	$119.95 \pm 18.72^*$
Experimental - M	8	$72.85 \pm 11.57^{***}$	$108.36 \pm 16.61^{**}$
Experimental - H	8	$64.12 \pm 12.82^{***}$	$64.83 \pm 7.47^{***}$

Blank group; Normal cultured; Experimental - L group; TCA8113 cells were treated with 1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ plumbagin; Experimental - M group; TCA8113 cells were treated with 2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ plumbagin; Experimental - H group; TCA8113 cells were treated with 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ plumbagin; Compared with blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

表 2 各组细胞中己糖激酶 2 (HK2) 和乳酸脱氢酶 A (LDHA) 荧光强度的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the fluorescence intensities of hexokinase 2 (HK2) and lactate dehydrogenase A (LDHA) in cells of each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	HK2	LDHA
Blank	8	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.12
Experimental - H	8	$0.58 \pm 0.09^{***}$	$0.63 \pm 0.11^{***}$
Experimental - H + oe - NC	8	0.55 ± 0.07	0.61 ± 0.09
Experimental - H + oe - FNDC3B	8	$0.71 \pm 0.10^{##}$	$0.89 \pm 0.15^{###}$

Compared with blank group, *** $P < 0.001$; Compared with experimental - H + oe - NC group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$.

学意义(均 $P>0.05$);与高剂量实验+oe-NC组比较,高剂量实验+oe-FNDC3B组的P53和P21蛋白对表达水平均显著降低(均 $P<0.01$),CDK6蛋白相对表达显著明显升高($P<0.001$),见图1和表3。

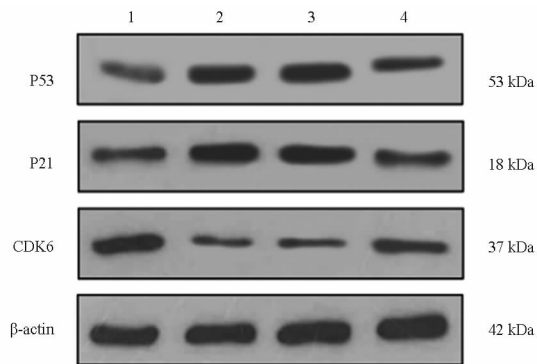


图1 蛋白印迹法检测各组中肿瘤蛋白P53(P53)/依赖性激酶抑制剂1(P21)/细胞周期蛋白依赖性激酶6(CDK6)信号通路相关蛋白相对表达水平

Figure 1 The relative expression levels of proteins related to the tumor protein p53 (P53)/ cyclin dependent kinase inhibitor1A (P21)/ cyclin - dependent kinase 6 (CDK6) signaling pathway in each group detected by Western blotting

1: Blank group; 2: Experimental - H group; 3: Experimental - H + oe - NC group; 4: Experimental - H + oe - FNDC3B group.

表3 各组细胞中P53/P21/CDK6信号通路相关蛋白相对表达水平的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of the relative expression levels of proteins related to the P53/P21/CDK6 signaling pathway in cells of each group ($\bar{x}\pm s$)

Group	n	P53	P21	CDK6
Blank	8	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.13
Experimental - H	8	1.59 ± 0.31 ***	1.51 ± 0.26 ***	0.28 ± 0.04 ***
Experimental - H + oe - NC	8	1.64 ± 0.28	1.48 ± 0.19	0.33 ± 0.06
Experimental - H + oe - FNDC3B	8	1.25 ± 0.22 ##	1.19 ± 0.17 ##	0.79 ± 0.12 ###

Compared with blank group, *** $P<0.001$; Compared with experimental - H + oe - NC group, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

讨论

舌鳞癌的治疗以手术为主,放化疗相结合,再辅以靶向药物、生物治疗等手段,近年来,其诊断治疗方法不断提高,但患者的5年生存率并未见显著改善^[13]。由于淋巴转移和远处转移,舌鳞癌患者的总体预后较差,肿瘤转移是患者死亡的主要原

因^[14]。有研究表明,正常分化的细胞中,细胞能量的产生主要依赖于线粒体氧化磷酸化,而大多数肿瘤细胞的生长与增殖依赖于有氧糖酵解^[15]。因此,抑制癌细胞的恶性行为与糖酵解对于肿瘤的控制具有重要意义。白花丹为一种常见消肿、祛风、解毒的中药,其提取物白花丹醌属于萜烯类化合物,可以有效抗纤维化,还能通过阻碍癌细胞周期达到抗癌的目的^[16-17]。SHU等^[18]研究显示,白花丹醌可以抑制人结肠癌细胞的生长,并诱导细胞凋亡和细胞周期停滞。本研究发现,经白花丹醌处理后,TCA8113细胞存活率和侵袭情况均显著下降,且高浓度白花丹醌更为有效,表明白花丹醌可能具有良好抗舌鳞癌的活性。

FNDC3B是一种癌基因,在细胞增殖、扩散和迁移中发挥作用,已被确定能够加剧肝癌细胞迁移^[19]。研究指出, FNDC3B 基因在不同类型的癌症中升高,包括食管癌、肺癌、卵巢癌和乳腺癌中上调约30%^[20]。LI等^[21]研究发现, FNDC3B 在宫颈癌组织中高表达,过表达对宫颈癌细胞的恶性性质有促进作用。本研究发现, FNDC3B 在舌鳞癌细胞系中表达均显著升高,与钟兆铭等^[7]研究一致,其研究显示,舌鳞癌细胞中 FNDC3B 蛋白相对表达水平显著高于人舌正常上皮细胞,提示 FNDC3B 参与舌鳞癌的发生与发展。CHEN等^[22]发现,双同源盒A假基因8可以通过 FNDC3B 促进鼻腔鼻窦鳞状细胞癌细胞的增殖和迁移。本研究发现,经过高浓度白花丹醌处理后,细胞凋亡率显著升高,细胞侵袭个数和糖酵解相关蛋白相对表达水平均显著降低,而过表达 FNDC3B 后,出现与白花丹醌处理相反的结果,细胞恶性行为和糖酵解增强,结合本研究中白花丹醌可降低 FNDC3B 表达结论,推测白花丹醌可能通过下调 FNDC3B 表达来促进舌鳞癌细胞的凋亡,抑制细胞的侵袭与糖酵解,从而发挥抑癌作用。当DNA受损时, P53 会激活DNA修复蛋白,肿瘤抑制蛋白P21会在P53作用下表达,抑制依赖细胞周期蛋白激酶,停止细胞周期^[23]。转录因子P53通过激活线粒体凋亡途径,诱导裂解的半胱天冬酶-3、半胱天冬酶-9蛋白表达从而诱导细胞凋亡;P21作为细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂,起着负调控的作用^[24]。BASTOS等^[25]研究发现,细胞增殖的减少与P53/P21基因的过度激活导致细胞周期的停滞相关。另有研究发现,阿托伐他汀处理后的舌鳞癌CAL-27细胞中P53和P21蛋白表达上调,CDK6蛋白表达下调^[1]。本研究与上述研究相似,发现高剂量实验组的P53和P21蛋白相对表达水平均

显著升高,CDK6 蛋白相对表达水平显著降低,过表达 *FNDC3B* 后,*P53* 和 *P21* 蛋白相对表达水平均显著降低,CDK6 蛋白相对表达水平显著升高,提示白花丹醌可能通过下调 *FNDC3B* 表达调控 *P53/P21/CDK6* 信号通路抑制癌细胞的增殖。

本研究提示:白花丹醌抑制舌鳞癌细胞的恶性行为与糖酵解,可能通过下调 *FNDC3B* 表达调控 *P53/P21/CDK6* 信号通路来实现,但白花丹醌调控 *P53/P21/CDK6* 信号通路的具体机制还需进一步探究。本研究仅涉及细胞实验,未来可通过动物实验和临床样本研究并发挥中药多靶点、多通路、多途径的优势,从而全面、深入地阐明白花丹醌影响舌鳞癌的机制,为临床提供可靠的科学依据。

参考文献:

- [1] 王开,黄汉. 阿托伐他汀对人舌鳞癌 CAL-27 细胞增殖、凋亡和迁移的影响及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版),2023,49(2):324—331.
- [2] 吕艳利,巴凯,方政. 微小 RNA-3651 过表达通过介导核因子 κ B 信号通路抑制人舌癌细胞 CAL27 的生长与侵袭[J]. 中国临床解剖学杂志,2023,41(2):194—199.
- [3] 刘欢,梁丽英,刘显,等. 白花丹醌对人结肠腺癌 Caco-2 细胞凋亡、自噬及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响[J]. 中国病理生理杂志,2021,37(2):255—262.
- [4] ZHONG Z, ZHANG H, HONG M, et al. *FNDC3B* promotes epithelial - mesenchymal transition in tongue squamous cell carcinoma cells in a hypoxic microenvironment[J]. *Oncol Rep*, 2018,39(4):1853—1859.
- [5] ZHENG X, TIAN X, ZHANG Q, et al. Long non - coding RNA SAMMSON as a novel potential diagnostic and prognostic biomarker for oral squamous cell carcinoma[J]. *J Dent Sci*, 2020,15(3):329—335.
- [6] QIU JX, HE YQ, WANG Y, et al. Plumbagin induces the apoptosis of human tongue carcinoma cells through the mitochondria - mediated pathway[J/OL]. *Med Sci Monit Basic Res*, 2013,19:228—236. 2013 - 08 - 23 [2026 - 02 - 20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23982457/>.
- [7] 钟兆铭,洪敏,孙传政,等. 下调 *FNDC3B* 表达对舌鳞癌细胞增殖和侵袭迁移影响[J]. 中华肿瘤防治杂志,2018,25(16):1136—1141.
- [8] 侯东升,张静,冯丽,等. 熊果酸对甲状腺癌 TPC-1 细胞增殖的抑制作用[J]. 医学研究生学报,2020,33(7):720—725.
- [9] 高立生,侯继申,张乐,等. 过表达 FHIT 对食管鳞癌 KYSE150 细胞增殖和凋亡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版),2020,55(6):746—750.
- [10] 潘睿,韩伟,卢娜. 过表达 *miR-509* 对人舌鳞癌细胞 SCC15 纳武单抗敏感性的影响及机制研究[J]. 实用口腔医学杂志,2023,39(1):93—97.
- [11] 刘玮,宗佩君,许婷婷. *LncRNA PCAT1* 靶向 *miR-329-3p* 调控舌鳞状细胞癌细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的机制研究[J]. 中国比较医学杂志,2021,31(11):102—107.
- [12] 胡梦婷,陈俊霞. 环状 RNA *hsa_circ0000231* 与 HnRNPK 相互作用对乳腺癌增殖、迁移及凋亡的影响[J]. 陆军军医大学学报,2022,44(12):1207—1220.
- [13] 丁文通,刘莹,刘思瑶,等. *miR-21* 靶向 *PDCD4* 对舌鳞癌细胞上皮间质转化及侵袭能力的影响[J]. 现代肿瘤医学,2023,31(24):4496—4503.
- [14] YU H, YU Z, WANG X, et al. Circular RNA *circCLK3* promotes the progression of tongue squamous cell carcinoma via *miR-455-5p/ PARVA* axis[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2022,69(2):431—441.
- [15] 邹睿,罗鸣,陈甜甜,等. 泛素特异性肽酶 13 对食管鳞状细胞癌放疗抵抗的影响及其机制[J]. 中华肿瘤防治杂志,2024,31(23):1421—1428.
- [16] 吴国庆,张婷,宋小峰,等. *FHL2* 与 *LDHA* 相互作用促进胶质瘤细胞的增殖[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2024,31(10):976—983.
- [17] 王声善,赵川,陈永欣,等. 白花丹醌对大鼠肝星状细胞活性氧及 TGF- β 1/Smad 信号通路的影响[J]. 中国药理学通报,2019,35(11):1602—1608.
- [18] SHU J, WANG K, ZHAO D, et al. Plumbagin induces apoptosis, cell cycle arrest, and inhibits protein synthesis in LoVo colon cancer cells: A proteomic analysis[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2023,102(5):1075—1084.
- [19] 班少群,彭子明,苏会吉,等. 瑶医药在肝病防治中的应用概述[J]. 辽宁中医杂志,2022,49(10):213—216.
- [20] HAN B, WANG H, ZHANG J, et al. *FNDC3B* is associated with ER stress and poor prognosis in cervical cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020,19(1):406—414.
- [21] LI Y, MENG F, SUI C, et al. *circRNA hsa_circ_0001627* aggravates cervical cancer progression through upregulation of *FNDC3B* and activating PI3K/mTOR signaling pathway[J/OL]. *J Cell Commun Signal*, 2023,17(3):627—638. 2022 - 11 - 10 [2025 - 04 - 28]. <https://doi.org/10.1007/s12079-022-00696-w>.
- [22] CHEN X, LI G, ZHONG G, et al. Long non - coding RNA *DUXAP8* acts as an oncogene in sinonasal squamous cell carcinoma through *miR-584-5p/FNDC3B* pathway[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2022,36(6):708—718.
- [23] BAEK S Y, HWANG U W, SUK H Y, et al. Hemistepsin a inhibits cell proliferation and induces G0/G1 - phase arrest, cellular senescence and apoptosis via the AMPK and *P53/P21* signals in human hepatocellular carcinoma[J]. *Biomolecules*, 2020,10(5):713.
- [24] 李琴惠,曾瑾,汪澎湃,等. 弓形虫 I 型和 II 型 ROP16 蛋白对人肺腺癌 A549 细胞增殖、周期和凋亡的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(2):180—185.
- [25] BASTOS M S, SAALFELD R M, COSTA B P, et al. Coumaric acid from *M. polymorphum* extracts reverses the activated state of hepatic stellate cells (GRX) and inhibits their proliferation by decreasing the *P53/P21* pathway[J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2023,396(5):925—937.

(本文编辑:马凌云 投稿日期 2026-03-16)