

白藜芦醇对人甲状腺乳头状癌 IHH4 细胞增殖和凋亡的影响

董成龙¹, 游娜¹, 许向红¹, 郑海宁¹, 吴小梅², 缪珩¹, 鲁一兵^{1*}, 丁大法^{1*}

(¹南京医科大学第二附属医院内分泌科, 江苏 南京 210011; ²南京市第三人民医院内分泌科, 江苏 南京 210008)

[摘要] 目的:观察白藜芦醇对人甲状腺乳头状癌细胞(IHH4)增殖和凋亡的影响,并初步探讨其可能的机制。方法:采用CCK-8法检测白藜芦醇对IHH4细胞增殖的影响;倒置显微镜、透射电镜、DAPI染色观察细胞的形态学变化;细胞免疫荧光和Western blot法检测细胞内cleaved caspase-3蛋白的表达;应用流式细胞技术(flow cytometry, FCM)观察细胞周期和凋亡的改变。结果:①白藜芦醇可以呈时间和浓度依赖性抑制IHH4细胞增殖;②与正常对照相比,加入白藜芦醇后IHH4细胞皱缩、变圆、脱落,细胞质中出现大小不等的空泡,胞质内容物增多;透射电镜下细胞核的染色质高度凝聚、边缘化;DAPI染色后荧光显微镜下观察,细胞核呈致密浓染;③细胞免疫荧光和Western blot显示,随着白藜芦醇作用浓度和时间的增加cleaved caspase-3蛋白的表达明显增加;④流式Annexin V-FITC/PI双染检测显示白藜芦醇呈浓度依赖性诱导IHH4细胞凋亡。白藜芦醇可引起细胞S期阻滞。结论:白藜芦醇可抑制人甲状腺乳头状癌IHH4细胞增殖,诱导IHH4细胞凋亡。白藜芦醇阻滞细胞于S期,可能是抑制IHH4细胞增殖、促使其凋亡的原因之一。

[关键词] 甲状腺乳头状癌;IHH4细胞;白藜芦醇;凋亡;增殖

[中图分类号] R329.25;R736.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)08-1096-08

doi:10.7655/NYDXBNS20150809

Effects of resveratrol on proliferation and apoptosis of human papillary thyroid carcinoma IHH4 cell

Dong Chenglong¹, You Na¹, Xu Xianghong¹, Zheng Haining¹, Wu Xiaomei², Miao Heng¹, Lu Yibing^{1*}, Ding Dafa^{1*}

(¹Department of Endocrinology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210011; ²Department of Endocrinology, the Third People's Hospital of Nanjing, Nanjing 210008, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of resveratrol on proliferation and apoptosis of human papillary thyroid carcinoma IHH4 cells and its possible mechanisms. **Methods:** The inhibition rate of resveratrol on IHH4 cells proliferation was detected by CCK-8 assay. Morphological changes of IHH4 cells were observed by inverted microscope, transmission electron microscope and DAPI staining, respectively. The expression of cleaved caspase-3 was detected by immunofluorescence cytochemistry and Western blot. The change of cell apoptosis and cell cycle distribution were analyzed by flow cytometry. **Results:** Resveratrol inhibited the growth of IHH4 cells in a time- and dose-dependent manner. Compared with normal control, after resveratrol treatment, IHH4 cells shrank, turned round and began to shed off, various sizes of vacuoles appeared in the cytoplasm, intracytoplasmic content increased under optical microscope. The transmission electron microscope examination showed pyknosis and margination of apoptotic cell nucleus chromatin. DAPI staining showed that the normal nucleichromatin was relatively dispersed with regular shape and smooth surface, while cells treated with resveratrol displayed condensed and fragmented nuclei, which were typical features of apoptosis. Immunofluorescence cytochemistry and Western blot revealed that the expression of cleaved caspase-3 increased significantly in a time- and dose-dependent manner. Resveratrol induced apoptosis of IHH4 cells in a dose-dependent manner with S phase cycle arrest. **Conclusion:** Resveratrol could inhibit proliferation and induce apoptosis of human IHH4 cells *in vitro*. One of the possible mechanisms is related to S phase cycle arrest.

[Key words] papillary thyroid carcinoma; IHH4 cells; resveratrol; apoptosis; proliferation

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(08): 1096-1103]

[基金项目] 南京市医学科技发展项目(YKK11202)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: luyibing2004@126.com; dingdafa2004@yahoo.com.cn

甲状腺乳头状癌 (papillary thyroid carcinoma, PTC) 是甲状腺癌最常见的病理类型^[1]。PTC 虽属低度恶性肿瘤,但是发病隐匿,早期症状不明显,PTC 与甲状腺良性结节不易鉴别,易发生颈部淋巴结转移,降低患者的生存时间^[2-3]。白藜芦醇(resveratrol, Res)是多酚类化合物,具有抗炎、抗氧化、调节脂质代谢、改善微循环及抗肿瘤等多种生物学活性^[4-7]。但目前有关白藜芦醇对甲状腺乳头状癌细胞作用报道较少。本研究以人甲状腺乳头状癌 IHH4 细胞为靶细胞,观察白藜芦醇对 IHH4 细胞增殖、凋亡的影响并探讨其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

甲状腺乳头状癌 IHH4 细胞由香港中文大学卢宠猷教授惠赠。RPMI1640 培养基、胰酶、青霉素-链霉素(Gibco 公司,美国);胎牛血清(FBS, BI 公司,以色列);CCK 试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天);DMSO(Amresco 公司,美国);白藜芦醇、DAPI 染色液、多聚甲醛、脱脂奶粉(Sigma 公司,美国);Western blot 所用 cleaved caspase-3 抗体、 β -actin 抗体(SAB 公司,美国),羊抗兔二抗(南京凯基公司);免疫荧光所用 cleaved caspase-3 (Cell Signaling Technology 公司,美国)羊抗兔荧光二抗, Dylight594 (Abbkine 公司, 美国);ECL 发光液(Millipore 公司,美国);Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒(BD 公司,美国);细胞周期分析试剂盒(苏州跃亚公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

细胞培养于含 10% FBS、100 U/ml 青霉素和 100 U/ml 链霉素的 RPMI1640 培养基中,置于 37℃、5%CO₂ 饱和湿度的培养箱内培养,取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 细胞增殖实验

用 CCK-8 试剂盒检测白藜芦醇对 IHH4 细胞增殖的影响,取对数生长期的细胞,以 8×10^3 个/孔接种于 96 孔板中(100 μ L/孔)。培养 24 h,待细胞贴壁后,用 RPMI1640 培养基将白藜芦醇稀释成 20、50、100、200 μ mol/L,实验组加入含不同浓度白藜芦醇的无血清培养基 100 μ L,同时设对照组(含细胞的培养基、无白藜芦醇)、空白对照组(不含细胞和白藜芦醇的培养基)。每组设 6 个复孔。弃周围一圈的孔,改加 PBS。各自培养 6、12、24、48 h 后,每

孔加入 10 μ L CCK-8 溶液继续培养 2 h,酶标仪测定 450 nm 处各孔吸光度值,计算肿瘤细胞抑制率。细胞抑制率=[(对照组吸光度值-实验组吸光度值)/(对照组吸光度值-空白组吸光度值)] \times 100%。

1.2.3 形态学观察

1.2.3.1 倒置显微镜观察

以 0 (对照组)、20、50、100、150、200 μ mol/L 的白藜芦醇作用于细胞,24 h 后倒置显微镜下观察各组 IHH4 细胞的形态变化情况。

1.2.3.2 透射电镜观察

对照组细胞和 100 μ mol/L 的白藜芦醇作用于细胞 24 h 后,0.25%胰酶消化细胞,冰 PBS 洗涤 2 遍,收集细胞后用 2.5%戊二醛固定过夜,再予 1%锇酸固定 3 h,后经脱水、渗透、包埋、超薄切片、醋酸铀和枸橼酸铅双重染色,透射电镜下观察。

1.2.3.3 DAPI 染色观察

取对数生长期的细胞,接种于 24 孔培养板中培养 24 h 后取出,每孔依次加入含 0(对照组)、20、50、100、150、200 μ mol/L 的白藜芦醇,放入培养箱继续培养 24 h。吸弃培养基,PBS 清洗 2 遍,4%多聚甲醛固定 10 min,弃去固定液,PBS 洗 2 遍,滴入 4 滴 DAPI 染色液(覆盖住细胞即可)室温避光孵育 10 min,直接在荧光显微镜下观察细胞核形态。

1.2.4 Western blot 检测细胞内 cleaved caspase-3 蛋白的表达

实验分组:①以 0(对照组)、20、50、100、150、200 μ mol/L 的白藜芦醇干预细胞 24 h;②以 100 μ mol/L 的白藜芦醇干预细胞 0(对照组)、6、12、24、48 h。用细胞刮将细胞刮下,冰 PBS 洗涤 2 次,收集细胞,加入细胞裂解液(已加入蛋白酶抑制剂),置于 4℃冰箱裂解 30 min,14 000 g 离心 15 min,取上清加入 1/3 体积的 4 \times SDS 上样缓冲液,100℃变性 10 min,置于-80℃分装保存。用 BCA 法测定总蛋白浓度。各组取等量的蛋白(40 μ g)行 SDS-PAGE 电泳分离(5%浓缩胶和 12%分离胶),电泳后将蛋白转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,室温下用 5%脱脂奶粉溶液封闭 2 h,加入一抗 4℃孵育过夜, TBST 洗膜 4 次,每次 10 min,加入 HRP 标记二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 4 次,每次 10 min,加 ECL 发光液后显色,用 Tanon(上海)全自动化学发光图像分析系统扫描图像。Western blot 检测条带光密度值,用 Quantity One 软件分析。

1.2.5 细胞免疫荧光

细胞接种于 24 孔板中,长满后每孔依次加入含 0 (对照组)、20、50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$ 的白藜芦醇,继续培养 24 h。弃去培养基,冰 PBS 清洗 2 次;4%多聚甲醛固定 15 min,PBS 洗 2 次;羊血清封闭 2 h;加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;二抗室温避光孵育 2 h,PBS 洗涤 3 次,每次 10 min。DAPI 复染。荧光显微镜下观察荧光分布。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡及周期变化

1.2.6.1 细胞凋亡率测定

以 0 (对照组)、20、50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$ 的白藜芦醇处理细胞 24 h,用不含 EDTA 的胰酶消化后,300 g 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 5 min 收集细胞;用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次,收集 1×10^5 个细胞;加入 100 μL 1 \times Binding Buffer 重悬细胞;加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI,轻轻混匀;避光、室温反应 15 min;加入 400 μL 1 \times Binding Buffer,混匀,1 h 内用流式细胞仪检测。

1.2.6.2 细胞周期测定

分组同上,胰酶消化,PBS 清洗,收集细胞至离心管中,控制细胞数在 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个。加 100 μL 试剂 A (胰蛋白酶等),轻轻混匀,不用振荡器,室温

放置 10 min,不丢弃上清;加 100 μL 试剂 B (RNA 酶、胰酶抑制剂等),轻轻混匀,不用振荡器,室温放置 10 min,不丢弃上清;加入 150 μL 试剂 C (碘化丙啶等),轻轻混匀,不用振荡器,室温避光 15 min,不丢弃上清。用 300 目尼龙筛网过滤,3 h 内用流式细胞仪检测。

1.3 统计学方法

采用 SPSS16.0 统计软件进行数据分析,数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两个样本均数的比较采用 t 检验;多个样本均数的比较采用单因素方差分析,多个样本均数间两两比较采用 q 检验; $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。每组实验独立重复 3 次或以上。

2 结果

2.1 白藜芦醇对人甲状腺乳头状癌 IHH4 细胞增殖的抑制作用

CCK-8 法检测显示白藜芦醇各给药组均可显著抑制 IHH4 细胞增殖,且呈浓度和时间依赖性,随着时间的延长和白藜芦醇给药浓度的增高,细胞抑制率明显增加 (表 1,图 1)。

表 1 白藜芦醇对 IHH4 细胞的增殖抑制率

Table 1 The inhibition rate of resveratrol on the growth of IHH4 cell (% , $\bar{x} \pm s, n=6$)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	时间			
	6 h	12 h	24 h	48 h
0	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
20	1.81 \pm 0.58 ^a	4.45 \pm 0.83 ^a	7.43 \pm 0.38 ^{aef}	12.71 \pm 0.56 ^{aefg}
50	10.60 \pm 0.51 ^{ab}	16.79 \pm 1.52 ^{abc}	21.89 \pm 1.41 ^{abc}	27.66 \pm 0.61 ^{abcfg}
100	19.41 \pm 2.37 ^{abc}	27.31 \pm 1.66 ^{abce}	35.88 \pm 2.94 ^{abcef}	51.44 \pm 1.58 ^{abcdefg}
200	38.89 \pm 3.16 ^{abcd}	51.59 \pm 1.18 ^{abcde}	60.29 \pm 2.65 ^{abcdef}	82.20 \pm 4.41 ^{abcdefg}

与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 20 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^b $P < 0.05$;与 50 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^c $P < 0.05$;与 100 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^d $P < 0.05$;与 6 h 组比较,^e $P < 0.05$;与 12 h 组比较,^f $P < 0.05$;与 24 h 组比较,^g $P < 0.05$ 。

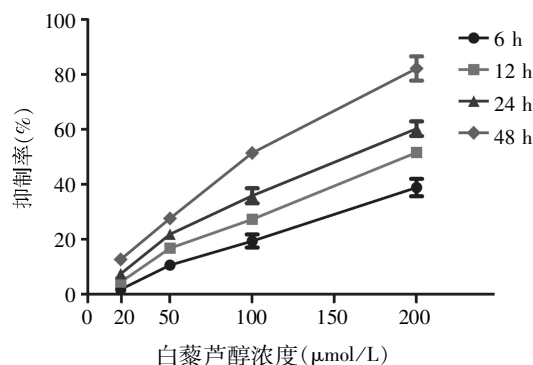


图 1 CCK-8 法检测白藜芦醇对 IHH4 细胞增殖影响

Figure 1 Effect of Res on the proliferation of IHH4 cell was measured by CCK-I assay

2.2 白藜芦醇作用后肿瘤细胞形态的变化

2.2.1 倒置显微镜观察结果

倒置显微镜下可见,对照组细胞折光率高,成梭形或多边形,细胞伪足伸展充分,胞质均匀透明、丰富而饱满,细胞间界线清楚,生长状态良好;实验组细胞逐渐变小、变圆,折光率减弱,细胞轮廓逐渐不清晰,部分细胞开始脱落,生长明显受抑制,白藜芦醇浓度越高,上述表现越明显 (图 2A)。

2.2.2 透射电镜观察结果

透射电镜下对照组细胞表面可见微绒毛凸起,胞浆丰富,可见线粒体、游离核糖体,核大,核膜光滑,染色质均匀。100 $\mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇干预组细胞表面微绒毛消失,染色质增多,边集,浓缩成团块状,线

粒体髓样改变,胞质内出现大量空泡(图 2B)。

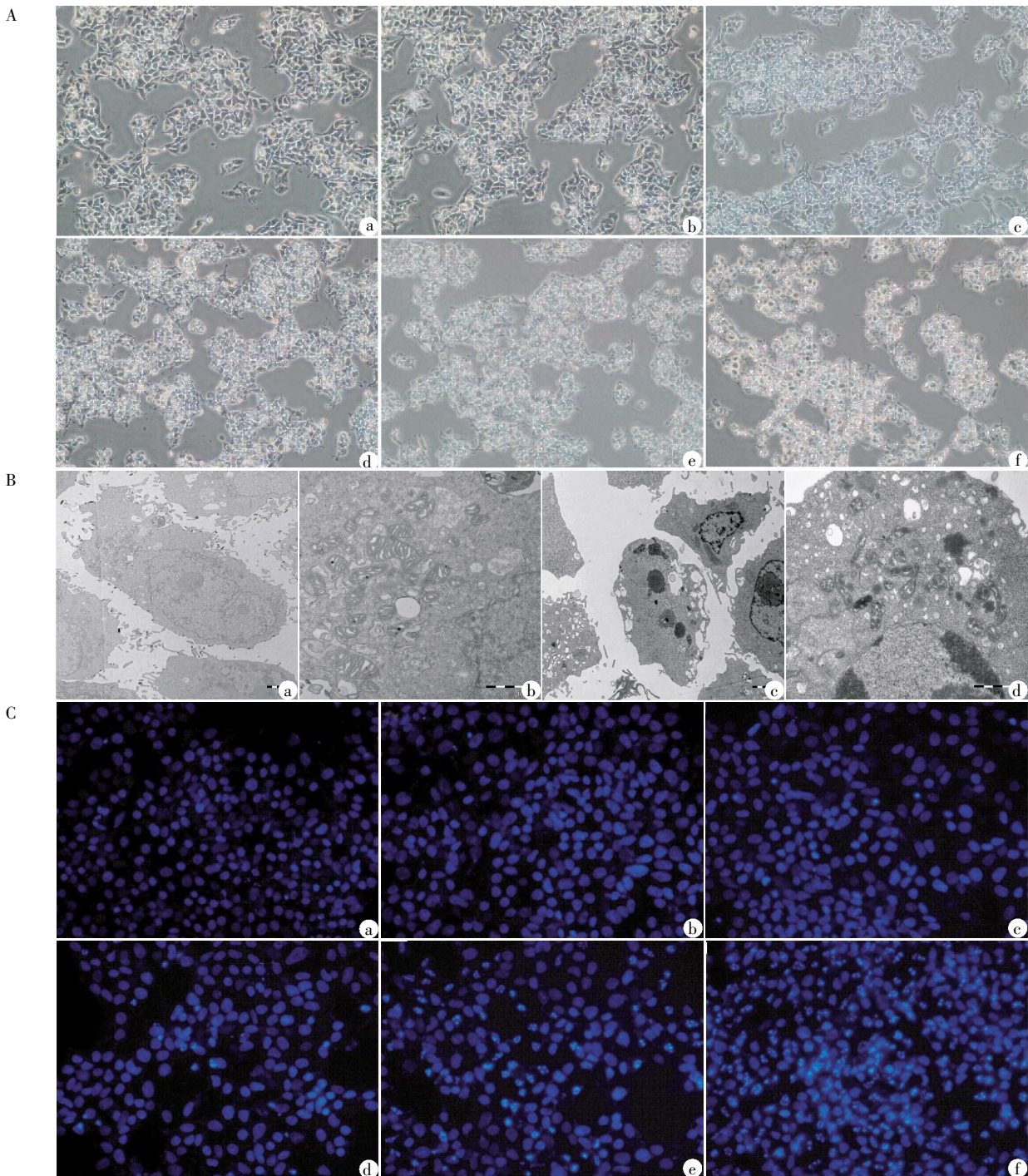
2.2.3 DAPI 染色荧光显微镜观察结果

经 DAPI 染色后荧光显微镜下观察可见,对照组细胞核形态正常,表面光滑,染色质均一,呈弱的蓝色荧光;实验组细胞核染色质高度凝聚、致密浓染,凋亡后期甚至核裂解为碎片,呈强蓝白色颗粒状

荧光,且随着白藜芦醇浓度的增加,细胞凋亡特征越明显(图 2C)。

2.3 Western blot 法检测白藜芦醇干预后细胞内 cleaved caspase-3 的表达

Western blot 结果示:①以 0(对照组)、20、50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$ 的白藜芦醇干预细胞 24 h



A: 倒置显微镜下不同浓度的白藜芦醇(a~f; 0、20、50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$)作用于 IHH4 细胞 24 h 后,细胞形态改变($\times 200$); B: 透射电镜下对照组(a; $\times 8\ 000$, b; $\times 30\ 000$)和 100 $\mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇干预组(c; $\times 8\ 000$; d; $\times 30\ 000$) IHH4 细胞形态; C: 荧光显微镜下不同浓度的白藜芦醇(a~f; 0、20、50、100、150、200 $\mu\text{mol/L}$)作用于 IHH4 细胞 24 h 后,细胞核形态改变(DAPI, $\times 400$)。

图 2 白藜芦醇作用后 IHH4 细胞形态学改变

Figure 2 The morphological changes of IHH4 cell treated with Res

后,cleaved caspase-3 的相对表达量分别为 0.63 ± 0.08 、 1.03 ± 0.05 、 1.41 ± 0.11 、 3.08 ± 0.16 、 3.89 ± 0.31 、 6.11 ± 0.73 ,后5组分别与对照组比较,其表达差异有统计学意义($P < 0.05$,图3A)。

的白藜芦醇干预细胞0(对照组)、6、12、24、48 h后,cleaved caspase-3 的相对表达量分别为 0.96 ± 0.04 、 0.98 ± 0.05 、 1.33 ± 0.15 、 2.65 ± 0.16 、 3.27 ± 0.24 ,后3组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$,图3B)。

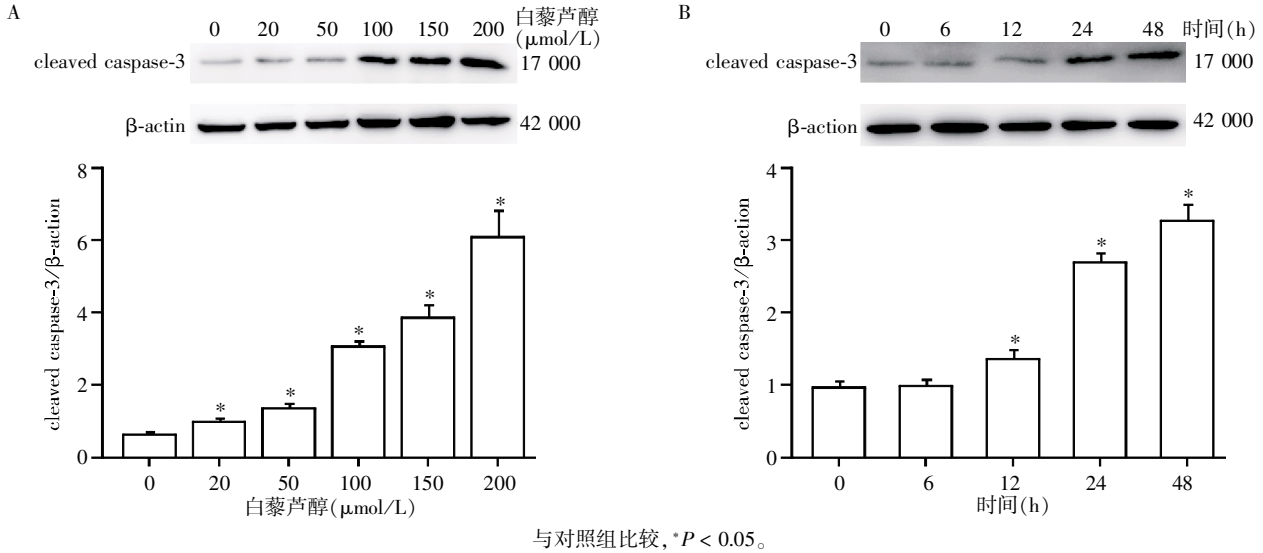


图3 白藜芦醇干预后 IHH4 细胞内 cleaved caspase-3 的表达
Figure 3 The protein expression levels of cleaved caspase-3 in IHH4 cell treated with Res

2.4 细胞免疫荧光技术检测白藜芦醇干预后细胞内 cleaved caspase-3 的表达

结果显示 cleaved caspase-3 蛋白(红色荧光)的阳性表达主要定位于胞浆与胞核(蓝色荧光)中,以胞浆为主,且在 IHH4 中的荧光表达量随着白藜芦醇作用浓度的增加而增多(图4)。

2.5 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞技术检测细胞凋亡率

以0(对照组)、20、50、100、150、200 μmol/L 的白藜芦醇处理细胞24 h后,早期凋亡率逐渐增高,且凋亡效应强于晚期凋亡(表2,图5)。

2.6 白藜芦醇对 IHH4 细胞周期的影响

以0(对照组)、20、50、100、150、200 μmol/L 的白藜芦醇处理细胞24 h后,细胞周期分布发生明显改变,表现为S期细胞增多,阻滞S期细胞进入G2期。结果显示诱导S期细胞由对照组的11.79%增至14.24%、17.58%、25.19%、30.81%、34.93%,呈浓度依赖性(表3,图6)。

3 讨论

研究发现白藜芦醇在致癌的3个主要阶段(起始、促进、发展、侵袭和转移)均具有化学防癌活性,为肿瘤治疗开辟了新途径,是目前认为最有希望的天然化学抗癌药物之一^[8-9]。本研究以白藜芦醇抑制

IHH4 细胞增殖、诱导凋亡等方面的作用来探讨其抗肿瘤机制。通过CCK-8法检测表明白藜芦醇可抑制IHH4细胞增殖,且表现出浓度和时间依赖性。细胞形态学改变是细胞生长抑制和凋亡最直接的指标,普通倒置显微镜下可见随着白藜芦醇作用浓度的增高,细胞生长抑制明显;DAPI染色荧光显微镜观察和透射电镜观察可见典型凋亡细胞形态学特征:细胞核染色质固缩、边集、碎裂。Western blot法和细胞免疫荧光技术显示随着白藜芦醇作用浓度的增加cleaved caspase-3蛋白的表达逐渐增多。Annexin V-FITC/PI双染流式细胞技术检测凋亡率显示白藜芦醇在0~200 μmol/L范围内作用于IHH4细胞24 h后,细胞凋亡率逐渐增高,且早期凋亡率的变化比晚期凋亡率更加明显,说明在此浓度和时间范围内白藜芦醇诱导早期凋亡的效应强于晚期凋亡。

多种抗癌药物可诱导肿瘤细胞周期阻滞,提示细胞周期阻滞在抑制肿瘤细胞生长和诱导肿瘤细胞凋亡中发挥一定的作用。Ragione等^[10]研究结果显示白藜芦醇可阻滞小肠肿瘤细胞于S期,进一步研究发现白藜芦醇增加了cyclin A、cyclin E和CDK2蛋白的表达。Latruffe等^[11]研究发现白藜芦醇可抑制癌细胞从S期进入G2/M期,通过抑制DNA合成而抑制癌细胞生长。本研究中同样发现

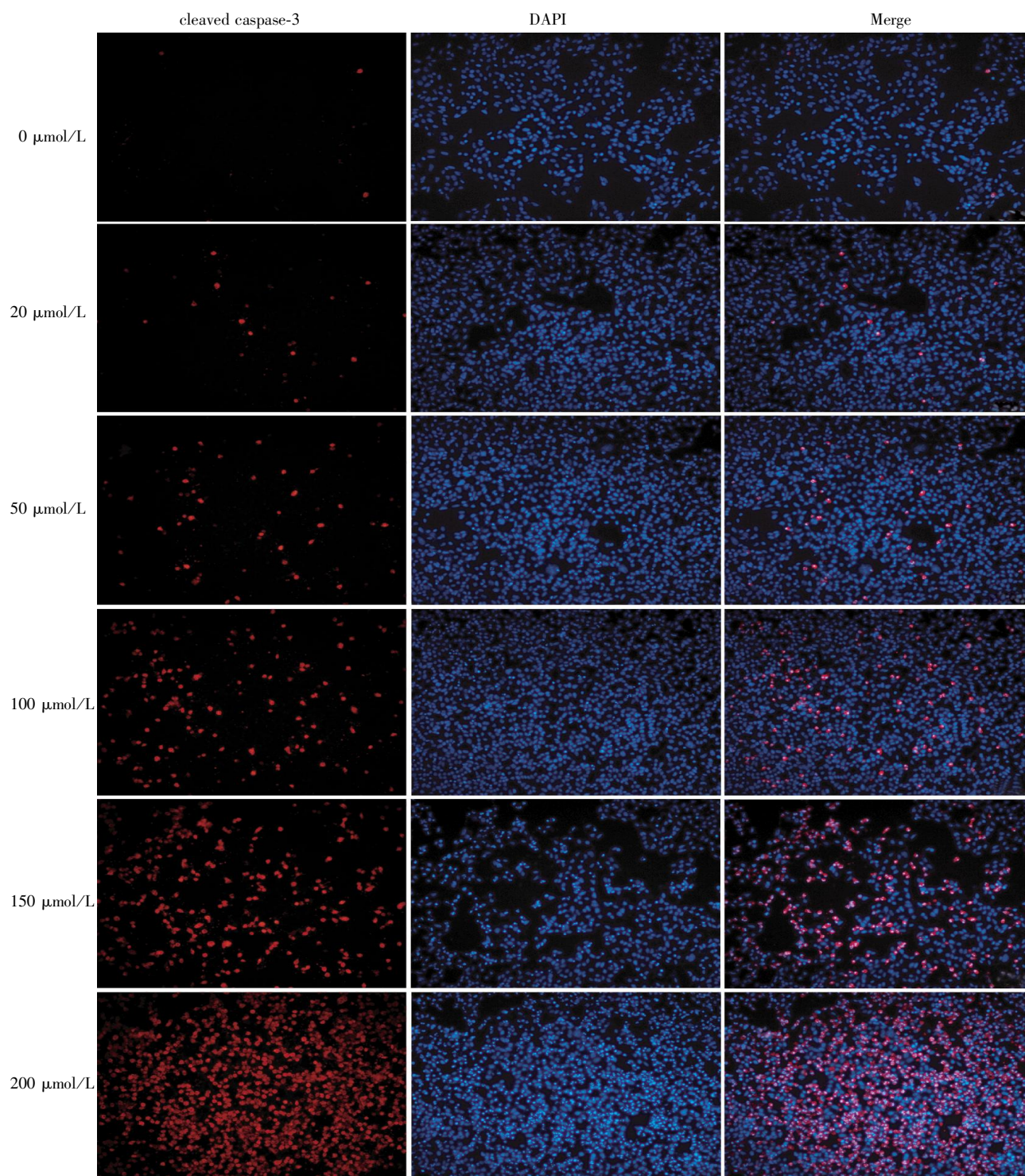


图 4 细胞免疫荧光技术检测不同浓度白藜芦醇干预后 IHH4 细胞内 cleaved caspase-3 的表达($\times 200$)

Figure 4 The protein expression levels of cleaved caspase-3 in IHH4 treated with Res was detected by immunofluorescence cytochemistry ($\times 200$)

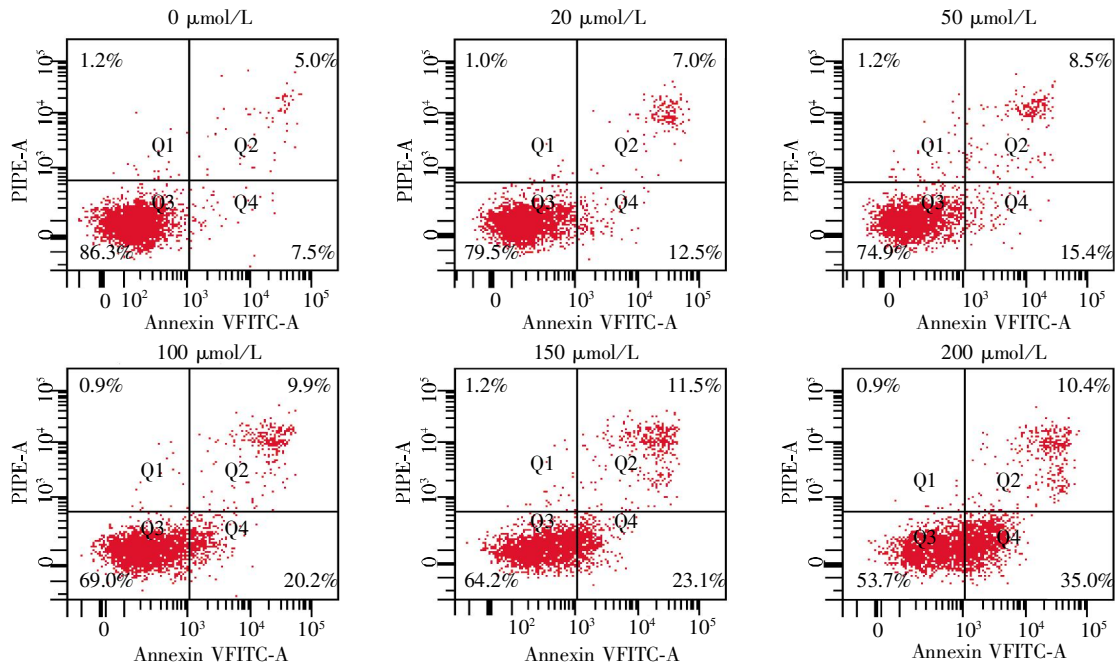
表 2 不同浓度白藜芦醇对 IHH4 细胞凋亡率的影响

Table 2 The effect of resveratrol on apoptotic rate of IHH4 cell

(%, $\bar{x} \pm s, n=3$)

实验分组	0 $\mu\text{mol/L}$	20 $\mu\text{mol/L}$	50 $\mu\text{mol/L}$	100 $\mu\text{mol/L}$	150 $\mu\text{mol/L}$	200 $\mu\text{mol/L}$
早期凋亡率	7.5 \pm 1.1	12.5 \pm 1.5 ^a	15.4 \pm 2.2 ^a	20.2 \pm 1.8 ^{abc}	23.1 \pm 1.1 ^{abc}	35.0 \pm 2.3 ^{abcde}
晚期凋亡率	5.0 \pm 0.8	7.0 \pm 0.7 ^a	8.5 \pm 1.1 ^a	9.9 \pm 1.3 ^{ab}	11.5 \pm 1.6 ^{ab}	10.4 \pm 2.0 ^{ab}

与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 20 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^b $P < 0.05$;与 50 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^c $P < 0.05$;与 100 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^d $P < 0.05$;与 150 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,^e $P < 0.05$ 。



Q2: 晚期凋亡; Q4: 早期凋亡。

图 5 流式细胞技术检测白藜芦醇干预后细胞凋亡率

Figure 5 Cell apoptosis of IHH4 treated with Res was detected by FCM

表 3 白藜芦醇对 IHH4 细胞周期的影响

Table 3 The effect of resveratrol on cell cycle distribution of IHH4 cell (% , $\bar{x} \pm s, n=3$)

实验分组	0 μmol/L	20 μmol/L	50 μmol/L	100 μmol/L	150 μmol/L	200 μmol/L
G1 期	88.21 ± 4.78	85.76 ± 2.33	82.42 ± 2.17 ^a	74.81 ± 1.86 ^{abc}	69.19 ± 1.86 ^{abc}	65.07 ± 1.53 ^{abcde}
S 期	11.79 ± 0.82	14.24 ± 1.20 ^a	17.58 ± 2.13 ^a	25.19 ± 1.79 ^{abc}	30.81 ± 2.46 ^{abcd}	34.93 ± 3.01 ^{abcd}
G2 期	0	0	0	0	0	0

与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 20 μmol/L 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 50 μmol/L 组比较, ^c $P < 0.05$; 与 100 μmol/L 组比较, ^d $P < 0.05$; 与 150 μmol/L 组比较, ^e $P < 0.05$ 。

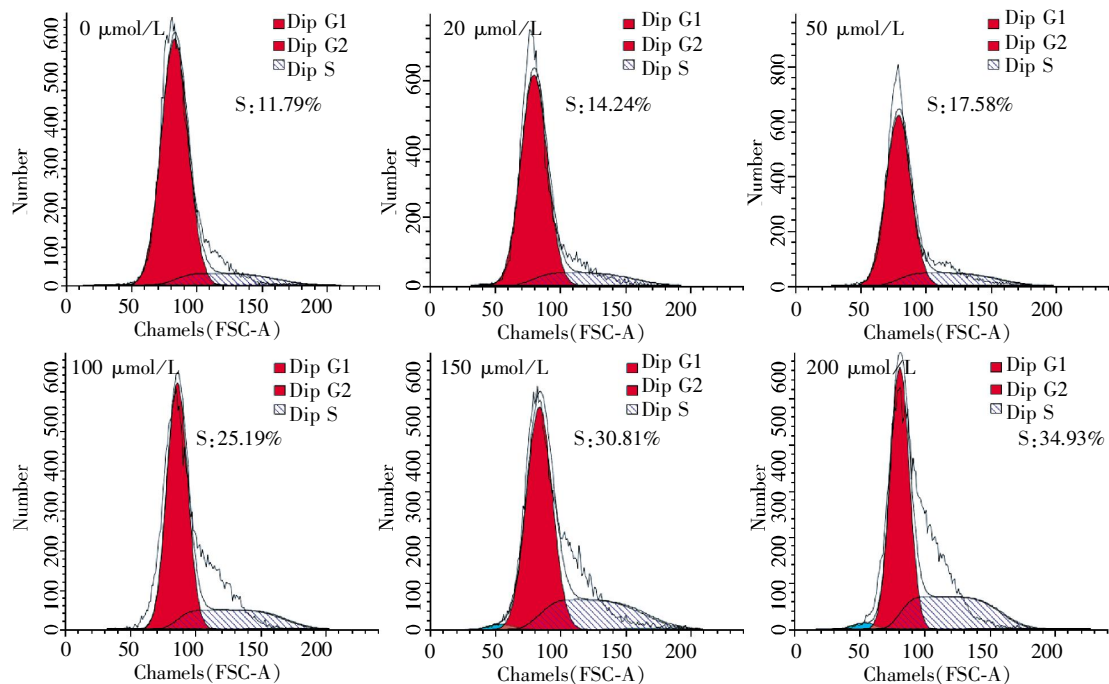


图 6 流式细胞技术检测白藜芦醇干预后细胞周期的分布

Figure 6 Cell cycle distribution of IHH4 treated with Res was detected by FCM

白藜芦醇可使 IHH4 细胞停顿于 S 期,呈浓度依赖性,提示白藜芦醇抑制 IHH4 细胞增殖、诱导凋亡的机制可能与其通过阻断细胞于 S 期有关。白藜芦醇致肿瘤凋亡机制尚未完全清楚,其机制可能有:死亡因子及受体途径介导凋亡、线粒体介导凋亡、通过 p53 触发凋亡、作用于细胞周期蛋白及细胞周期蛋白依赖性激酶而致凋亡等^[12-15],白藜芦醇可能通过上述机制中的一个或几个方面来诱导肿瘤细胞凋亡。

甲状腺乳头状癌目前主要以手术切除、口服¹³¹I、左旋甲状腺素片治疗为主,这几种治疗方法均有其自身缺陷,因此寻找新的药物治疗甲状腺乳头状癌成为近年来的研究热点。本研究可以为甲状腺乳头状癌的药物治理提供新思路。

[参考文献]

- [1] Elisei R, Molinaro E, Agate L, et al. Are the clinical and pathological features of differentiated thyroid carcinoma really changed over the last 35 years? Study on 4 187 patients from a single Italian institution to answer this question[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(4): 1516-1527
- [2] Aschebrook-Kilfoy B, Ward MH, Sabra MM, et al. Thyroid cancer incidence patterns in the United States by histologic type, 1992-2006 [J]. *Thyroid*, 2011, 21(2): 125-134
- [3] Rajeev P, Ahmed S, Ezzat TM, et al. The number of positive lymph nodes in the central compartment has prognostic impact in papillary thyroid cancer[J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2013, 398(3): 377-382
- [4] De Maria S, Scognamiglio I, Lombardi A, et al. Polydatin, a natural precursor of resveratrol, induces cell cycle arrest and differentiation of human colorectal Caco-2 cell[J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 264
- [5] Delmas D, Solary E, Latruffe N. Resveratrol, a phytochemical inducer of multiple cell death pathways: apoptosis, autophagy and mitotic catastrophe[J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18(8): 1100-1121
- [6] Huang X, Zhu HL. Resveratrol and its analogues: promising antitumor agents [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2011, 11(5): 479-490
- [7] Wang CY, Wang HC, Li JM, et al. Invasive infections of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2010, 43(6): 491-497
- [8] Duntas LH. Resveratrol and its impact on aging and thyroid function[J]. *J Endocrinol Invest*, 2011, 34(10): 788-792
- [9] Jang M, Cai L, Udeani GO, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes[J]. *Science*, 1997, 275(5297): 218-220
- [10] Ragine FD, Cucciolla V, Borriello A, et al. Resveratrol arrests the cell division cycle at S/G2 phase transition [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 250(1): 53-58
- [11] Latruffe N, Delmas D, Jannin B, et al. Molecular analysis on the chemopreventive properties of resveratrol, a plant polyphenol microcomponent[J]. *Int J Mol Med*, 2002, 10(6): 755-760
- [12] Banaganapalli B, Mulakayala C, Pulaganti M, et al. Experimental and computational studies on newly synthesized resveratrol derivative: a new method for cancer chemoprevention and therapeutics?[J]. *OMICS*, 2013, 17(11): 568-583
- [13] Chen FP, Chien MH. Phytoestrogens induce apoptosis through a mitochondria/caspase pathway in human breast cancer cells[J]. *Climacteric*, 2014, 17(4): 385-392
- [14] Kim JA, Kim DH, Hossain MA, et al. HS-1793, a resveratrol analogue, induces cell cycle arrest and apoptotic cell death in human breast cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(2): 473-480
- [15] Mulakayala C, Babajan B, Madhusudana P, et al. Synthesis and evaluation of resveratrol derivatives as new chemical entities for cancer [J]. *J Mol Graph Model*, 2013, 41(1): 43-54

[收稿日期] 2014-12-27