

• 实验研究 •

阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞增殖、迁移与侵袭作用机制研究

马雪百合¹, 陈山林¹, 王洪凯^{1,2}, 唐浩¹, 张在平^{1*}

1. 桂林医学院, 广西 桂林 541199

2. 桂林医学院第二附属医院, 广西 桂林 541001

摘要:目的 探讨阿司匹林对人鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞增殖、迁移与侵袭的影响和机制。方法 将人鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞株分为对照组和阿司匹林 (0.00、1.25、2.50、5.00、10.00 mmol/L) 处理组。噻唑蓝 (MTT) 法检测不同浓度阿司匹林作用 24、48、72 h 后对 CNE-1、5-8F 细胞的增殖能力, 以半数抑制浓度 (IC₅₀) 作为后续实验药物处理浓度。集落形成实验检测 CNE-1 和 5-8F 细胞增殖能力, Transwell 实验检测 CNE-1 和 5-8F 细胞迁移及侵袭能力的变化, Western blotting 法检测 CNE-1 和 5-8F 细胞中蛋白激酶 B (Akt)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、波形蛋白 (Vimentin)、E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、Snail 蛋白相对表达水平。**结果** 人鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞分别经 1.25、2.50、5.00、10.00 mmol/L 阿司匹林处理后, 细胞增殖均受到不同程度抑制, 且呈时间及浓度相关性, IC₅₀ 分别为 3.3、2.7 mmol/L。与对照组相比, 经阿司匹林处理后, 鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞的细胞增殖和集落形成能力明显下降 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 经阿司匹林处理后, 划痕愈合率显著降低 ($P < 0.05$)。Transwell 迁移实验结果表明, 与对照组相比, 阿司匹林处理组鼻咽癌细胞 CNE-1 和 5-8F 48 h 穿过小室的数目显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.001)。与对照组相比, 阿司匹林处理组 CNE-1、5-8F 细胞的 E-cadherin 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$), PI3K、Akt、Vimentin、Snail 蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 阿司匹林可通过上调 E-cadherin 蛋白的表达、抑制上皮间质转化进程从而抑制人鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞迁移侵袭, 同时下调 PI3K、Akt、Vimentin、Snail 蛋白的表达进而抑制 CNE-1、5-8F 细胞增殖、迁移和侵袭能力。

关键词: 阿司匹林; 鼻咽癌; CNE-1 细胞; 5-8F 细胞; 增殖; 迁移; 蛋白激酶 B; 磷脂酰肌醇 3-激酶**中图分类号:** R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)12-2673-07**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.12.001

Mechanism of aspirin on the proliferation, migration and invasion of CNE-1 and 5-8F cells in nasopharyngeal carcinoma

MA Xue-baihe¹, CHEN Shan-lin¹, WANG Hong-kai^{1,2}, TANG Hao¹, ZHANG Zai-ping¹

1. Guilin Medical University, Guilin 541199, China

2. The Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541100, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of aspirin on the proliferation, migration and invasion of CNE-1 and 5-8F cells in human nasopharyngeal carcinoma. **Methods** Human nasopharyngeal carcinoma cell lines CNE-1 and 5-8F were divided into control group and aspirin (0.00, 1.25, 2.50, 5.00, and 10.00 mmol/L) treatment group. The proliferation capacity of CNE-1 and 5-8F cells was detected by MTT assay after the treatment of aspirin with different concentrations for 24, 48, and 72 h, IC₅₀ was determined as the concentration for subsequent experimental drug treatment. The proliferation ability of CNE-1 and 5-8F cells was detected by colony formation assay, and the migration and invasion ability of CNE-1 and 5-8F cells were detected by Transwell assay. The relative expression levels of Akt, PI3K, Vimentin, E-cadherin, and Snail in CNE-1 and 5-8F cells were detected by Western blotting. **Results** Human nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells were treated with 1.25, 2.50, 5.00, and 10.00 mmol/L aspirin, respectively,

收稿日期: 2022-07-28**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (81960172); 广西自然科学基金资助项目 (2020GXNSFAA238014); 桂林医学院博士科研启动项目 (20501019035)**作者简介:** 马雪百合, 女, 硕士研究生, 研究方向为药物抗肿瘤作用及机制。E-mail: 852004267@qq.com***通信作者:** 张在平, 男, 研究方向为药物抗肿瘤作用及机制。E-mail: zzpgd_2008@163.com

and the cell proliferation was inhibited in different degrees, which showed time and concentration correlation, and IC_{50} were 3.3 and 2.7 mmol/L, respectively. After treatment with aspirin, the cell proliferation and colony formation ability of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells were significantly decreased compared with the control group ($P < 0.01$). Compared with the control group, the scratch healing rate in the aspirin treatment group was significantly decreased ($P < 0.05$). Transwell migration assay showed that compared with the control group, the number of nasopharyngeal carcinoma cells CNE-1 and 5-8F passing through the compartment at 48 h in aspirin treatment group was significantly reduced ($P < 0.05, 0.001$). Compared with the control group, the expression of E-cadherin in CNE-1 and 5-8F cells in aspirin treatment group was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of PI3K, Akt, Vimentin and Snail was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusions** Aspirin can inhibit the migration and invasion of human nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells by up-regulating the expression of E-cadherin protein and inhibiting the process of epithelial mesenchymal transformation, while down-regulating the expressions of PI3K, Akt, Vimentin and Snail proteins, thus inhibiting the proliferation, migration and invasion of CNE-1 and 5-8F cells.

Key words: aspirin; nasopharyngeal carcinoma; CNE-1 cell; 5-8F cell; proliferation; migration; Akt; PI3K

鼻咽癌是一种具有高转移潜能的恶性肿瘤,发病率高,占头颈部恶性肿瘤的 78.08%^[1]。发病人群具有特定的区域性,在东南亚、中东、北极及我国广东、广西等地区的发病率较高^[2],我国鼻咽癌发病率占全球发病率 47.7%,居世界之首^[3]。目前,治疗鼻咽癌的主要方法是化疗联合放疗,临床治疗鼻咽癌主要药物包括西妥昔单抗、贝伐单抗、顺铂、长春新碱、卡铂等,但单克隆抗体药物价格昂贵且鼻咽癌对化疗药物会出现不同程度的耐药,其中最易产生耐药的为顺铂,其次为长春新碱、紫杉醇、卡铂,一旦鼻咽癌细胞出现多药耐药性,治疗会变得更加困难。同时,联合疗法也会增加血液不良反应的风险(如白细胞、中性粒细胞减少症)^[4]。尽管在放疗技术和设备方面取得了各种进步,但由于鼻咽癌患者通常在晚期才确诊。许多鼻咽癌患者并没有从当前的放疗中获益,30%~40%的患者在 4 年内发生远处转移,患者预后较差^[5],5 年生存率在 10%~40%,鼻咽癌治疗失败的主要原因是局部复发和远处转移^[6]。由于鼻咽癌的高致死率、高复发性及低生存率,有效防止其向远处转移仍然是一个具有挑战性的临床问题^[7]。因此迫切需要一种有效抑制鼻咽癌细胞迁移、侵袭的药物改善该病预后。

阿司匹林是经典的非甾体抗炎药,临床主要用于解热镇痛抗炎。近年来大量研究表明,阿司匹林对结直肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌、鼻咽癌等多种癌症具有预防和治疗的作用^[8-11]。有研究证实,阿司匹林可通过靶向 EB 病毒潜伏膜蛋白 1 (LMP1)/核因子- κ B (NF- κ B)/exo-LMP1 轴、环氧化酶-2 (COX-2) 途径来影响鼻咽癌侵袭^[11-12]。患者口服阿司匹林可有效降低鼻咽癌转移风险,阿司匹林联合化疗更是一种有效的治疗方法^[13]。目前,虽已证实阿司匹

林对鼻咽癌具有防治效果,并对鼻咽癌细胞增殖、凋亡有一定影响,但其是否通过影响鼻咽癌细胞增殖、迁移、侵袭来增强疗效的分子机制需进一步确认。本研究以鼻咽癌细胞 CNE-1、5-8F 为研究对象,探究阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞增殖、迁移、侵袭能力及相关机制,旨在为临床治疗鼻咽癌向远处转移提供理论支持和实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系

人鼻咽癌细胞 CNE-1、5-8F 购于中南大学湘雅医学院细胞库。

1.2 药物与主要试剂

阿司匹林(质量分数>99%,批号 A8830)、噻唑蓝(MTT)粉末(货号 M8180)、matrigel 基质胶(货号 M8371)均购自北京索莱宝科技有限公司;青-链霉素(货号 BC-CE-003)购自南京生航生物有限公司;RPMI-1640 培养基(货号 8121319)购自美国 Gibco 公司;胎牛血清(货号:110118611);E-钙黏蛋白(E-cadherin)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、波形蛋白(Vimentin)、Snail 单克隆抗体(货号 ab40772、ab92536、ab92547、ab216347)购自 Abcam 公司;磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)单克隆抗体(货号 T40064、T55561)购自 Abmart 公司。

1.3 主要仪器

CKX53 倒置显微镜(Olympus 公司);Galaxy170S 二氧化碳培养箱(New Brunswick 公司);Tecan Infinite F50 酶标仪(TECAN 公司);电泳装置、显影仪(BIO-RAD 公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞培养 用 1640 培养基(含 10%胎牛血

清及1%双链霉素)将人鼻咽癌CNE-1、5-8F细胞在37℃、5%CO₂培养箱中进行培养,用0.25%胰酶消化,2~3d进行传代1次,所有实验均采用对数生长期细胞。

1.4.2 MTT法检测细胞增殖抑制率 选对数生长期细胞,细胞密度调整为 4×10^3 个/孔,设置对照组培养基、阿司匹林处理组(0、1.25、2.50、5.00、10.00 mmol/L),分别处理CNE-1、5-8F细胞后,分别培养24、48、72 h,将培养液吸出,每孔加入100 μ L MTT溶液(5 mg/mL),放入37℃、5%CO₂培养箱中4 h,弃去原液,每孔加入DMSO 100 μ L,震荡10 min,酶标仪490 nm处检测,根据吸光度(A),计算细胞存活率,实验重复3次,取平均值。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{阿司匹林}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{培养基}} - A_{\text{空白}})$$

1.4.3 集落形成实验检测细胞增殖能力 实验设置培养基对照组、阿司匹林处理组(2.7、3.3 mmol/L),分别处理CNE-1、5-8F细胞24 h后,常规消化,反复吹打制成细胞悬液,单细胞数目>95%,在6孔板每孔中接种200个细胞,晃匀,在37℃、5%CO₂培养2周至出现明显肉眼可见集落,终止培养。弃培养基,用PBS洗3次,甲醇固定15 min,结晶紫染色10 min, PBS洗3次,拍照,实验重复3次,取平均值。

1.4.4 划痕实验检测细胞迁移能力 6孔板每孔加入 5×10^5 个细胞,确保过夜孔内细胞能够铺满,次日,用100 μ L枪头进行划线,用PBS洗3次,实验设置培养基对照组、阿司匹林处理组(2.7、3.3 mmol/L),分别处理CNE-1、5-8F细胞,每孔加入2 mL无血清含阿司匹林培养基,放入37℃、5%CO₂培养箱中培养,0、24 h在显微镜下拍照,实验重复3次,取平均值。

1.4.5 Transwell实验检测细胞迁移能力 实验设置培养基对照组、阿司匹林处理组(2.7、3.3 mmol/L)分别处理CNE-1、5-8F细胞,常规离心消化方法,用无血清的含药培养基进行重悬,以 1×10^5 个/孔接种到上室中(200 μ L),下室添加含血清培养基500 μ L。48 h后,擦净上室细胞,甲醇固定15 min,结晶紫染色20 min后,用PBS洗3次,上室随机取6视野,显微镜下拍照,计算穿膜细胞数目,每个视野下计数3次,求平均值。

1.4.6 Transwell实验检测细胞侵袭能力 实验设置培养基对照组、阿司匹林处理组(2.7、3.3 mmol/L),分别处理CNE-1、5-8F细胞,将基质胶

与无血清培养基按照1:3进行稀释,取40 μ L置于小室当中,37℃培养箱中放40 min后,其他实验步骤同上。

1.4.7 Western Blotting法检测Vimentin、PI3K、Akt、E-Cadherin、Snail蛋白表达水平 实验设置培养基对照组、阿司匹林处理组(2.7、3.3 mmol/L)分别处理CNE-1、5-8F细胞24 h后,使用强裂解液RIPA与蛋白酶抑制剂按照1:100混合,在冰上裂解细胞,样品在10%~15%的凝胶上进行电泳,转膜后,4℃封闭2 h,洗膜,一抗4℃孵育过夜,洗涤印记,二抗4℃孵育2 h,洗膜,加入发光液进行ECL化学显影,使用GAPDH为内参,进行定量分析。

1.4.8 统计学处理 使用Graphpad软件进行绘图。采用SPSS 23.0软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行独立样本t检验。

2 结果

2.1 阿司匹林对鼻咽癌细胞增殖的影响

人鼻咽癌CNE-1、5-8F细胞分别经1.25、2.50、5.00、10.00 mmol/L阿司匹林处理后,细胞增殖均受到不同程度抑制,且各组细胞增殖抑制率呈时间及浓度相关性,见图1。

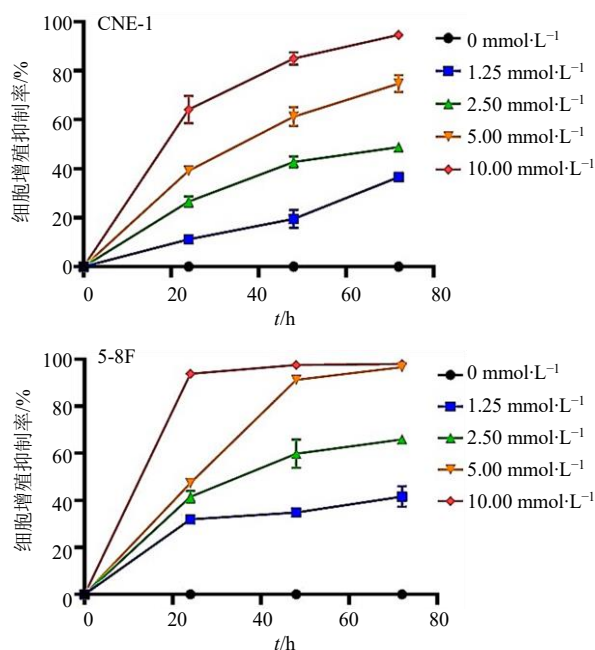


图1 阿司匹林对鼻咽癌CNE-1、5-8F细胞增殖抑制率的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effect of aspirin on the proliferation inhibition rate of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

阿司匹林处理 48 h 后, 经 GraphPad Prism 8.4.3 拟合得出鼻咽癌细胞 CNE-1 和 5-8F 半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 3.3、2.7 mmol/L, 见图 2。经阿司匹林处理 24 h 后, 将鼻咽癌细胞培养 2 周, 与对照组相比, 阿司匹林处理后的细胞增殖和集落形成能力明显下降 ($P < 0.01$), 见图 3、4。

2.2 阿司匹林对鼻咽癌细胞迁移能力的影响

阿司匹林处理 24 h 后, 可抑制鼻咽癌细胞迁移能力。与对照组相比, 阿司匹林处理组划痕愈合率

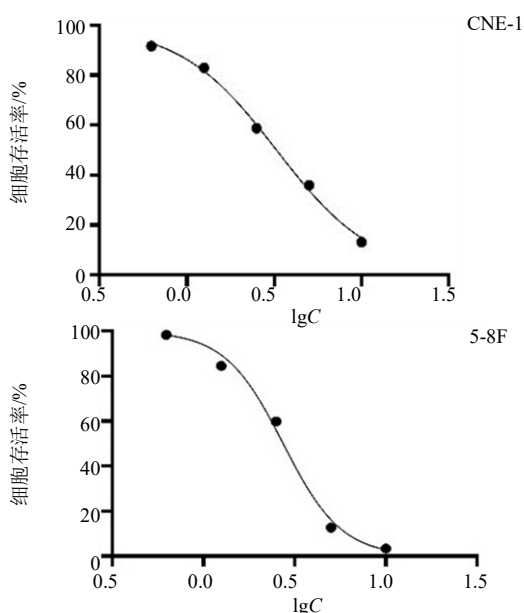


图 2 48 h 时阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞的半数抑制浓度

Fig. 2 Aspirin inhibited half concentration of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells at 48 h

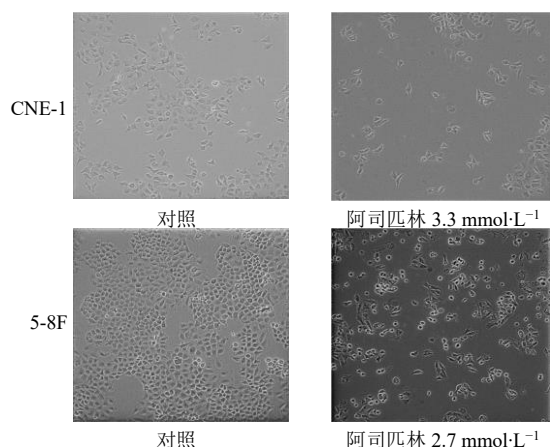


图 3 24 h 时阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞生长的影响 (×100)

Fig. 3 Effects of aspirin on the growth of nasopharyngeal carcinoma cells at 48h (×100)

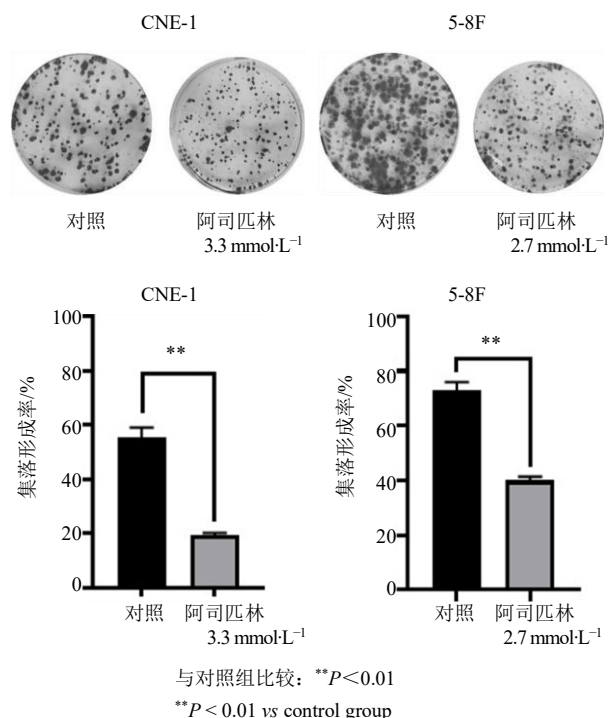


图 4 阿司匹林处理鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞 24 h 培养 2 周后对集落形成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 4 Effects of aspirin on colony formation of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells after 24 h culture for 2 weeks ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

显著降低 ($P < 0.05$), 见图 5。Trasnwel 迁移实验结果表明, 阿司匹林处理鼻咽癌细胞 CNE-1 和 5-8F 48 h 后, 与对照组相比, 阿司匹林处理组穿过小室数目显著减少 ($P < 0.05$ 、0.001), 见图 5、6。

2.3 阿司匹林对鼻咽癌细胞侵袭能力的影响

Trasnwel 侵袭实验结果表明, 与对照组相比, 阿司匹林处理组经 48 h 培养后, 穿过小室数目显著减少 ($P < 0.05$ 、0.01), 见图 7。

2.4 阿司匹林对鼻咽癌细 CNE-1、5-8F 细胞中 PI3K、Akt、Vimentin、E-cadherin、Snail 的影响

与对照组相比, 经阿司匹林 2.7、3.3 mmol/L 分别处理 CNE-1、5-8F 细胞后, E-cadherin 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$), PI3K、Akt、Vimentin、Snail 蛋白表达显著下降 ($P < 0.05$ 、0.01), 见图 8。

3 讨论

鼻咽癌是最常见的头颈部恶性肿瘤之一, 目前临床治疗鼻咽癌的主要方法是化学药物联合放射治疗、分子靶向治疗、免疫疗法及手术治疗^[4], 但由于鼻咽癌早期隐匿性强, 大多数患者确诊时已处于中晚期且会发生转移, 预后较差, 克服肿瘤向远处转移仍是临床所面临的巨大挑战之一。

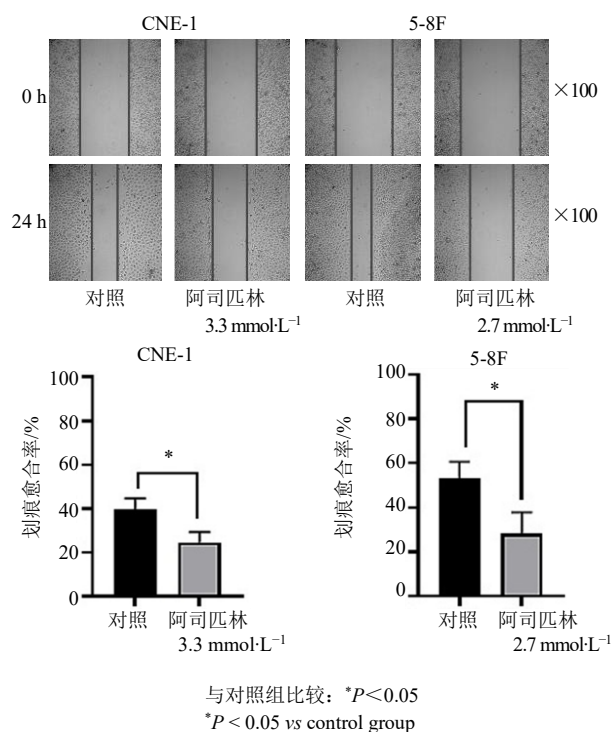


图 5 阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞迁移能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 5 Effect of aspirin on migration ability of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

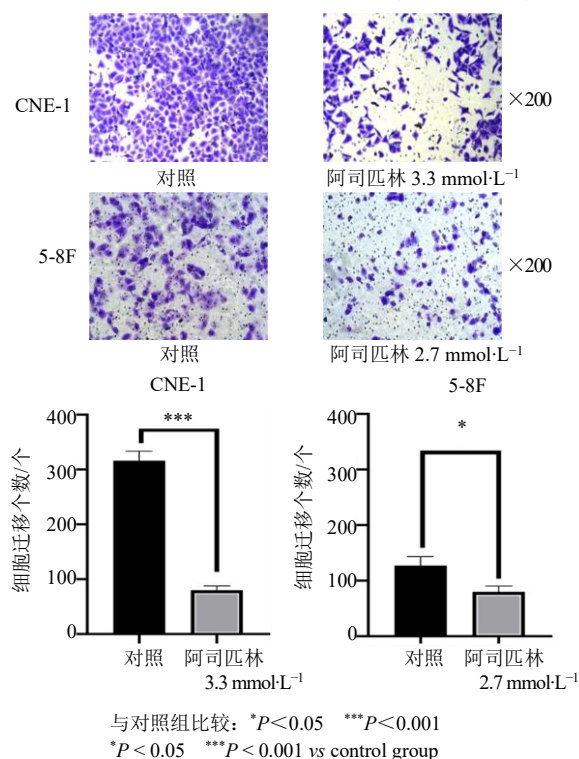


图 6 Transwell 小室实验检测阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞迁移能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 6 Effect of aspirin on migration ability of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells detected by Transwell laboratory assay ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

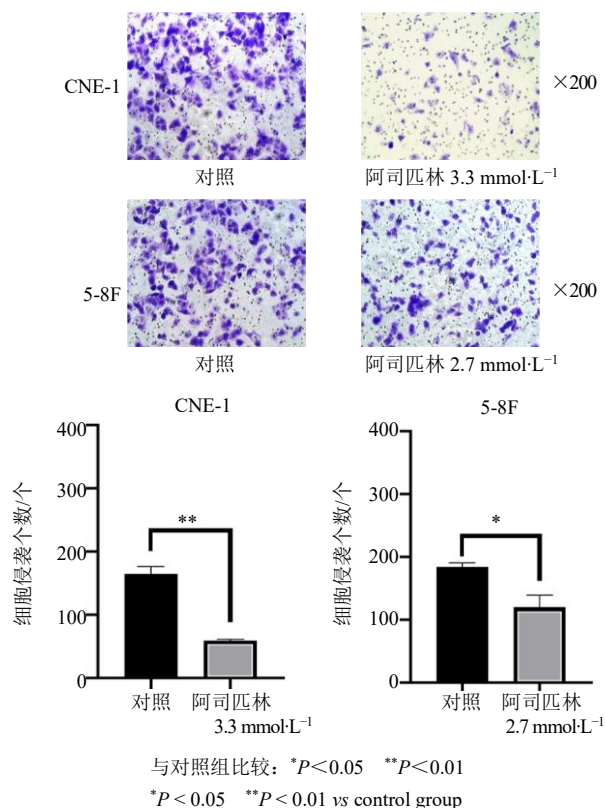


图 7 阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞侵袭能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 7 Effect of aspirin on invasion ability of nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

上皮-间充质转化 (EMT) 进程的形态表现为上皮表型消失和间充质表型的获得, 该过程增加细胞移动性, 也是引发细胞迁移的关键步骤, 而细胞迁移与癌症侵袭和转移过程都有关^[15]。抑制 EMT 进程也越来越被认为是预防癌症进展的重要因素。PI3K/Akt 信号通路在 EMT 过程中扮演着重要角色, 其在细胞增殖、迁移、侵袭和耐药等进程中发挥重要作用^[14-16]。在 EMT 过程中, E-cadherin 的缺失被认为是癌症进展的主要原因^[17]; Vimentin 的异常表达也被认为是 EMT 过程中的另一个重要标志, 其作为间充质细胞类型的标记物, 能使上皮细胞向间充质表型转变, 形态发生变化从而表现出更强的迁移能力^[15]; Snail 表达升高通常伴随着肿瘤转移, PI3K 通路在各种癌症中失调, 而异常激活的 PI3K、AKT 也被证明与实体肿瘤和疾病进展相关。

本研究以鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞作为研究对象, 阿司匹林处理后, 研究结果表明阿司匹林对 CNE-1、5-8F 细胞具有显著抑制增殖、迁移及作用, 与对照组相比, 阿司匹林处理组所产生的集落数量减少、划痕愈合率降低、Transwell 迁移及侵袭透过

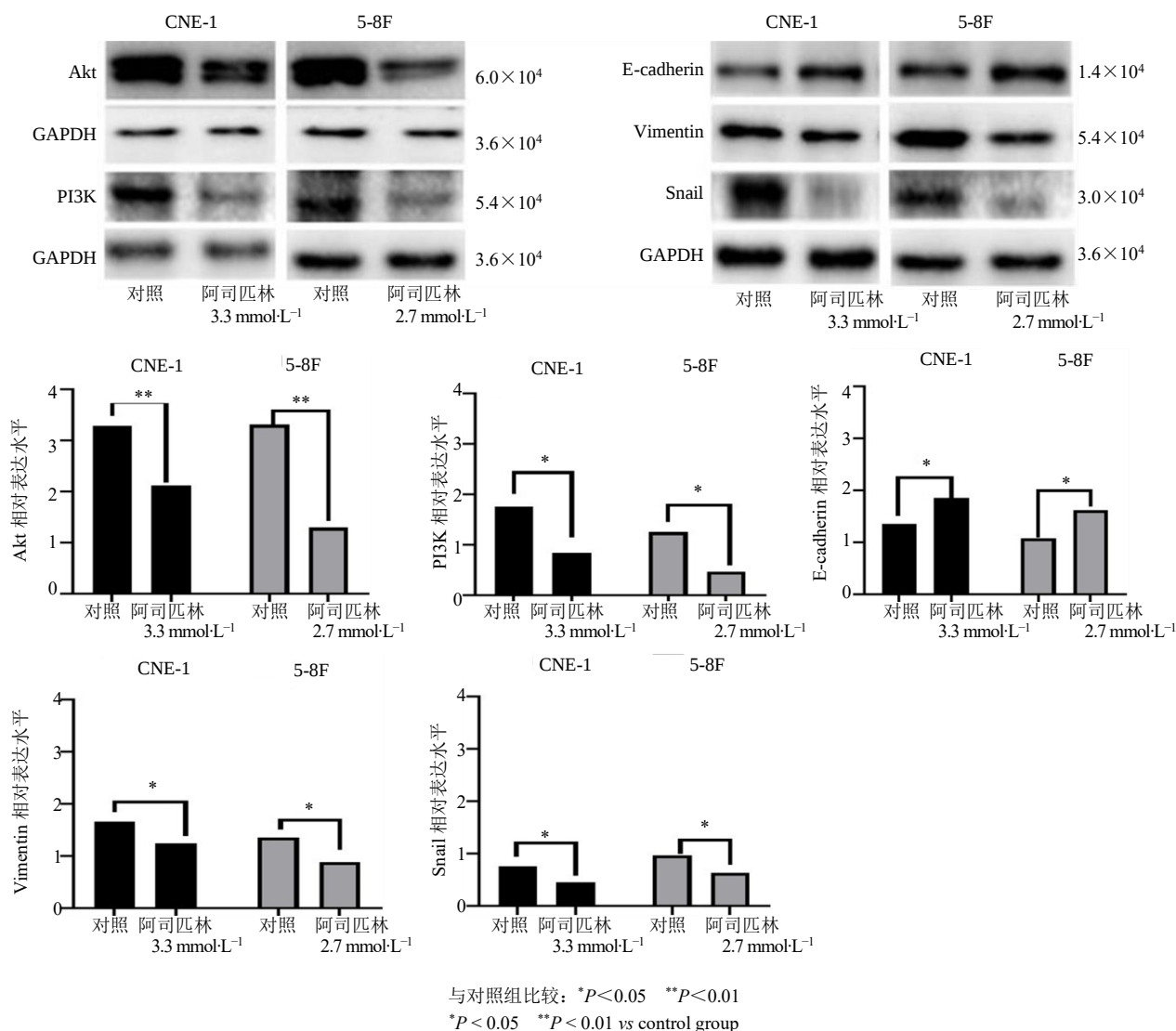


图 8 阿司匹林对鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞 Akt、Vimentin、E-cadherin、Snail 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)
Fig. 8 Effects of aspirin on Akt, Vimentin, E-cadherin, and Snail in nasopharyngeal carcinoma CNE-1 and 5-8F cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

小室的细胞数目显著减少, 同时 E-cadherin 蛋白表达升高, PI3K、AKT、Vimentin、Snail 蛋白表达均下降, 提示阿司匹林对鼻咽癌细胞增殖、迁移、侵袭具有显著的抑制作用。

阿司匹林已有几百年用药历史, 临床上用于解热镇痛抗炎, 近年来, 老药新用, 其治疗和预防癌症成为了研究热点^[8-11]。已有研究证实, 阿司匹林通过抑制 Wnt 和 EMT 来抑制结直肠癌细胞的迁移和侵袭^[18]; 阿司匹林联合长春瑞滨可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路达到抑制乳腺癌细胞增殖、促进癌细胞凋亡的效果^[19]。本实验研究结果表明, 阿司匹林可上调鼻咽癌 CNE-1、5-8F 细胞 E-cadherin 蛋白的表达, 维持上皮细胞表型来抑制人鼻咽癌细胞

迁移侵袭, 同时也可下调 PI3K、AKT、Vimentin、Snail 蛋白的表达来抑制鼻咽癌细胞 CNE-1、5-8F 的增殖迁移及侵袭, 与翁敬锦^[12]检测研究结果一致 (阿司匹林处理组上调人鼻咽癌 HK1 细胞 E-cadherin 且下调 Vimentin 蛋白表达水平), 阿司匹林通过抑制 PI3K/Akt 信号通路, 调控 EMT 相关蛋白表达从而抑制鼻咽癌细胞增殖、迁移、侵袭能力, 推测阿司匹林有望成为临床一线有效的辅助抗癌药物。已有研究证实阿司匹林可通过 COX-2 减轻炎症来发挥抗癌作用^[12]; 还可通过直接抑制 NF- κ B 等通路来抑制癌症发生, 鼻咽癌晚期患者口服阿司匹林可提高生存期^[11]。阿司匹林口服后易吸收, 在全身组织分布广泛, 可通过血-脑屏障发挥作用;

其价格低廉,可减少治疗费用,为患者家庭减轻经济负担;其具有镇痛作用,可减轻患者疼痛其与广谱抗癌药联用能够降低治疗强度且具有增敏效果,并可作为化学预防用药降低癌症发生风险,提高生存率,减轻对患者的伤害及不良反应。但阿司匹林作为抗癌辅助药物,仍未在临床上广泛应用,若使用阿司匹林临床治疗鼻咽癌,其给药剂量、时间、给药方式有待进一步明确及优化,避免出现各种药物交叉不良反应,需要考虑个体化给药方案及潜在获益人群。百年老药价格低廉、用途广泛,相信随着医学的发展与进步,阿司匹林能为人类防治癌症在临床上做出新贡献。

综上所述,本研究证实阿司匹林具有显著抑制鼻咽癌细胞 CNE-1、5-8F 的增殖、迁移、侵袭作用,其作用机制可能与调控 PI3K/Akt 信号通路及 EMT 过程有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ho S, Ip W, Chu S, *et al.* Treatment regret in long-term survivors of nasopharyngeal carcinoma treated with radical radiotherapy [J]. *Clin Oncol*, 2017, 29(1): e47.
- [2] Chen Y P, Chan A T C, Le Q T, *et al.* Nasopharyngeal carcinoma [J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 64-80.
- [3] Trakunram K, Champoochana N, Chaniad P, *et al.* MicroRNA isolation by trizol-based method and its stability in stored serum and cDNA derivatives [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(6): 1641-1647.
- [4] Zhou R, Zhu J, Chen X, *et al.* The efficacy and safety of docetaxel, cisplatin and fluorouracil (TPF)-based induction chemotherapy followed by concurrent chemoradiotherapy for locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: A meta-analysis [J]. *Clin Transl Oncol*, 2020, 22(3): 429-439.
- [5] Liu G, Zeng X, Wu B, *et al.* RNA-Seq analysis of peripheral blood mononuclear cells reveals unique transcriptional signatures associated with radiotherapy response of nasopharyngeal carcinoma and prognosis of head and neck cancer [J]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(2): 139-146.
- [6] Renaud S, Lefebvre A, Mordon S, *et al.* Novel therapies boosting T cell immunity in Epstein Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4292.
- [7] Xu T, Tang J, Gu M, *et al.* Recurrent nasopharyngeal carcinoma: A clinical dilemma and challenge [J]. *Curr Oncol*, 2013, 20(5): e406-e419.
- [8] Wang T, Fu X, Jin T, *et al.* Aspirin targets P4HA2 through inhibiting NF- κ B and LMCD1-AS1/let-7g to inhibit tumour growth and collagen deposition in hepatocellular carcinoma [J]. *EBioMedicine*, 2019, 45: 168-180.
- [9] Bertrand K A, Bethea T N, Gerlovin H, *et al.* Aspirin use and risk of breast cancer in African American women [J]. *Breast Cancer Res*, 2020, 22(1): 96.
- [10] Zhang Y, Lü C, Dong Y, *et al.* Aspirin-targeted PD-L1 in lung cancer growth inhibition [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(6): 1587-1593.
- [11] Jin H, Morohashi S, Sato F, *et al.* Vimentin expression of esophageal squamous cell carcinoma and its aggressive potential for lymph node metastasis [J]. *Biomed Res*, 2010, 31(2): 105-112.
- [12] 翁敬锦. 阿司匹林对鼻咽癌预后的影响及其机制研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.
- [13] Chang H, Tao Y L, Ye W J, *et al.* Regular aspirin intake and prognosis of T_xN₂₋₃M₀ nasopharyngeal carcinoma: A cohort study based on propensity score matching [J]. *Oral Oncol*, 2020, 103: 104589.
- [14] 丁锴, 陈仁杰. 鼻咽癌的治疗进展 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2021, 41(6): 921-926.
- [15] Fernandez H R, Lindén S K. The aspirin metabolite salicylate inhibits lysine acetyltransferases and MUC1 induced epithelial to mesenchymal transition [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5626.
- [16] 周芳亮, 胡梅, 胡晶, 等. 山楂酸通过 PI3K/Akt/mTOR 通路诱导鼻咽癌 CNE2 细胞自噬研究 [J]. 中草药, 2020, 51(9): 2481-2485.
- [17] Khan P, Manna A, Saha S, *et al.* Aspirin inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and migration of oncogenic K-ras-expressing non-small cell lung carcinoma cells by down-regulating E-cadherin repressor Slug [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 39.
- [18] Ma B, Duan X, Zhou Q, *et al.* Use of aspirin in the prevention of colorectal cancer through TIGIT-CD155 pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(7): 4514-4522.
- [19] 边静, 张彭辉, 李佳佳. 阿司匹林联合长春瑞滨对人乳腺癌细胞 MCF-7 的作用机制研究 [J]. 西北药学杂志, 2021, 36(1): 52-56.

[责任编辑 高源]