

## 【基于斑马鱼模型的药物活性筛选和安全性评价专栏】

### 白屈菜红碱对腺样囊性癌细胞生长的抑制作用及机制研究

李磊<sup>1</sup>, 杨学亮<sup>1</sup>, 张云<sup>1,2,3</sup>, 刘可春<sup>1,2,3</sup>, 王雪<sup>1,2,3</sup>, 王荣春<sup>1,2,3\*</sup>

1. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 生物研究所, 山东 济南 250014
2. 山东省人类疾病斑马鱼模型与药物筛选工程技术研究中心, 山东 济南 250014
3. 山东省生物检测技术工程实验室, 山东 济南 250014

**摘要:** 目的 探究白屈菜红碱(CHE)对腺样囊性癌细胞(ACC2)生长的抑制作用及机制。方法 利用CCK8法、EdU法、Hoechst33342/PI双染色法、试剂盒法检测CHE对ACC2细胞活力、细胞增殖、细胞凋亡和活性氧(ROS)水平的影响;通过Western blotting技术检测CHE对Cleaved-Caspase 3、PARP、NF- $\kappa$ B、p-JNK、p-p38蛋白表达的影响;利用斑马鱼移植瘤模型检测CHE对斑马鱼体内ACC2细胞生长的抑制作用。结果 CCK-8结果显示:与对照组比较,2、3、4、5、6、7、8、9、10  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE显著降低ACC2细胞的存活率( $P < 0.05, 0.01$ ),且呈浓度相关性;ROS检测结果显示:与对照组比较,5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE导致ACC2细胞内的ROS水平显著上升( $P < 0.05, 0.01$ );EdU增殖检测结果表明:与对照组比较,5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE致使ACC2细胞的增殖能力显著下降( $P < 0.01$ );Hoechst/PI染色结果显示:与对照组比较,CHE 5、8  $\mu\text{mol/L}$ 组ACC2细胞凋亡率显著上升( $P < 0.01$ )。抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸(NAC)显著抑制CHE诱导的ROS水平升高、细胞凋亡增加( $P < 0.01$ );Western blotting结果显示:2、5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE能够显著上调Cleaved-Caspase 3、PARP、NF- $\kappa$ B蛋白的表达( $P < 0.01$ ),且呈现浓度相关性,5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE能够显著上调p-JNK的蛋白表达( $P < 0.01$ ),8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE能够显著上调p-p38的蛋白表达( $P < 0.01$ );NAC显著降低由CHE导致的Cleaved-Caspase 3、PARP、NF- $\kappa$ B、p-JNK、p-p38蛋白表达增加( $P < 0.01$ ),5、8  $\mu\text{mol/L}$  CHE能够有效抑制斑马鱼体内肿瘤的生长( $P < 0.01$ )。结论 体外及斑马鱼移植瘤模型证明,CHE可以有效抑制ACC2细胞生长,其机制与提高细胞ROS水平,上调NF- $\kappa$ B、p-JNK、p-p38表达,从而抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡相关。

**关键词:** 白屈菜红碱;细胞增殖;细胞凋亡;活性氧;腺样囊性癌细胞(ACC2);斑马鱼;NF- $\kappa$ B

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)07-1361-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.07.001

### Inhibitory effect of chelerythrine on growth of adenoid cystic carcinoma and its mechanism

LI Lei<sup>1</sup>, YANG Xueliang<sup>1</sup>, ZHANG Yun<sup>1,2,3</sup>, LIU Kechun<sup>1,2,3</sup>, WANG Xue<sup>1,2,3</sup>, WANG Rongchun<sup>1,2,3</sup>

1. Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250014, China
2. Engineering Research Center of Zebrafish Models for Human Diseases and Drug Screening of Shandong Province, Jinan 250014, China
3. Shandong Provincial Engineering Laboratory for Biological Testing Technology, Jinan 250014, China

**Abstract: Objective** To investigate the inhibitory effect of chelerythrine (CHE) on adenoid cystic carcinoma (ACC2) cells and its molecular mechanism. **Methods** CCK8, EdU, hoechst33342/PI double staining, and test kit method were used to detect the effects of CHE on ACC2 cell viability, cell proliferation, apoptosis and reactive oxygen species (ROS) level. The effects of CHE on the expression levels of Caspase-3, PARP, NF- $\kappa$ B, P-JNK and p-p38 were detected by Western blotting. The inhibitory effect of chelerythrine on the growth of ACC2 cells was detected by zebrafish xenograft tumor model. **Results** CCK-8 assay showed that: CHE can significantly inhibited the proliferation of ACC2 cells in a concentration dependent manner ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ) at the

收稿日期: 2021-05-28

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1707300); 山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY020905); 齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合创新试点工程项目(2020KJC-ZD08)

第一作者: 李磊(1998—), 男, 硕士, 研究方向为药物筛选与分子药理学。E-mail: ll1061602375@163.com

\*通信作者: 王荣春(1983—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为药理学。E-mail: lwangrongchun@163.com

concentration of 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10  $\mu\text{mol/L}$ . The results showed that ROS in ACC2 cells was significantly increased at the concentration of 5 and 8  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$  and 0.01). EdU assay results showed that the proliferation of ACC2 cells was significantly decreased by CHE at the concentration of 5 and 8  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.01$ ). Hoechst/PI staining showed that apoptosis was significantly induced by CHE at the concentration of 5 and 8  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.01$ ), while N-acetylcysteine (NAC) significantly inhibited the increase of ROS and apoptosis induced by CHE ( $P < 0.01$ ). Western blotting results showed that the expression of Cleaved Caspase 3, PARP and NF- $\kappa\text{B}$  were significantly up-regulated by 2, 5, and 8 mol/L CHE ( $P < 0.01$ ), the expression of p-JNK was significantly up-regulated by 5 and 8 mol/L CHE ( $P < 0.01$ ), and the protein expression of p-p38 was significantly up-regulated by 8 mol/L CHE ( $P < 0.01$ ). NAC significantly decreased the expression of Cleaved Caspase 3, PARP, NF- $\kappa\text{B}$ , p-JNK, p-p38 protein induced by CHE ( $P < 0.01$ ). CHE of 5 and 8 mol/L could effectively inhibit the growth of ACC2 cells in zebrafish ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** CHE can effectively inhibit the proliferation of ACC2 cells *in vitro* and zebrafish xenograft tumor model. Elevation of the ROS level induced by CHE, upregulation of NF- $\kappa\text{B}$ , p-JNK and p-p38 and then lead to the inhibition of proliferation and induction of apoptosis were involved in the inhibition of ACC2 cells *in vivo* and *in vitro*.

**Key words:** chelerythrine; cell proliferation, apoptosis; ROS; ACC2; zebrafish; NF- $\kappa\text{B}$

腺样囊性癌(ACC)的发病率比较低,约占头颈部恶性肿瘤的1%,且良性肿瘤居多<sup>[1]</sup>。但是,ACC在各年龄阶段的人群中都有发生,且多见于中年成年人群<sup>[2]</sup>。ACC的发病位置分布广泛,多见于唾液腺,也存在于泪腺、乳房、舌、口等部位<sup>[3-6]</sup>。另外,ACC具有高转移率、高复发性和易于转移的特点<sup>[7]</sup>,一旦发生转移,中位生存期仅两年左右<sup>[8]</sup>。ACC一旦发生,一般无法进行手术切除,并且缺乏有效的化学治疗手段,对放疗也具有一定的抗性<sup>[9]</sup>。因此寻找能有效治疗ACC,并且安全、抗逆转的天然药物成为了预防和治疗ACC的重要途径。白屈菜红碱(chelerythrine, CHE)是一种来源于传统中药白屈菜的提取物<sup>[10]</sup>,目前已被证明具有抗菌、抑菌的效果<sup>[11]</sup>,并且能够抑制多种癌细胞的生长<sup>[12-16]</sup>,但缺乏CHE对ACC抗癌活性的相关报道。本研究以人涎腺样囊性癌细胞ACC-2为研究样本,同时利用斑马鱼移植瘤模型探究CHE对ACC-2细胞生长和凋亡的影响及其作用机制。

## 1 材料

### 1.1 药物与主要试剂

CHE ( $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClNO}_4$ , 货号26018, 质量分数为98.56%, 结构式见图1), 购自美国MCE公司; N-乙酰半胱氨酸(NAC, 货号L2007002, 质量分数 $\geq 99.0\%$ ) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 紫杉醇、二甲基亚砜(DMSO), 购于美国Sigma公司; 活性氧(ROS)检测试剂盒、Hoechst33342和PI双染试剂盒、BCA试剂盒、30%丙烯酰胺、TEMED, 购自上海碧云天生物技术有限公司; 线粒体膜电位检测试剂盒购自北京Solarbio科技有限公司; EdU细胞增殖检测试剂盒购于广州市锐博生物科技有限公司; RPMI 1640培养基、磷酸盐缓冲液(PBS)购

自以色列Biological Industries公司; 胎牛血清购自美国密西西比州牛津市Scitecher公司; 青霉素、链霉素双抗购自美国Genview公司; 硝酸纤维素膜(NC)购自德国默克股份两合公司; ECL显色剂购自苏州美仑生物科技有限公司; 胰蛋白酶(TRYPSIN)购自美国HyClone公司; CCK8试剂盒购自美国Genview公司; 96孔板购自美国麻省Thermo Fisher Scientific公司; 1.5 mol/L Tris-HCl购自博士德生物公司。

### 1.2 实验动物与细胞

野生型斑马鱼AB品系由山东省科学院生物研究所提供,成年雌雄斑马鱼培养在恒温( $28 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 下,在循环过滤自来水的封闭流通系统中保持14 h/10 h的光/暗循环。每天9:00和16:00提供2次卤虫。受精前,将成年雄性和雌性斑马鱼以1:1的比例放在繁殖箱的分隔物的相对两侧;第2天早上,斑马鱼通过自然交配产卵。产卵后30 min内收集胚胎,用养鱼水冲洗3次。将清洁的胚胎移入培养箱中,并在28 $^{\circ}\text{C}$ 下培养,用于后续实验。ACC2细胞和ACC2-RFP红色荧光稳定表达细胞株由山东省科学院生物研究所保存。

### 1.3 主要仪器

北京爱生科技公司的斑马鱼养殖饲养系统; 罗氏诊断有限公司的实时荧光定量PCR仪; 基因有限公司的超微量分光光度计; Bio-Rad公司的C1000 Touch梯度PCR仪、Olympus倒置显微镜、Zeiss体视荧光显微镜、Olympus共聚焦显微镜、ImageXpress Micro Confocal高内涵成像系统; Thermo scientific ST16高速离心机; 美国Thermo Fisher Scientific公司注水式恒温 $\text{CO}_2$ 培养箱; 美国World Precision Instruments Inc公司显微注射仪器; 上海智城分析仪

器制造有限公司生化培养箱。

## 2 方法

### 2.1 细胞活力测定

选用在对数生长期的 ACC2 细胞,用胰酶进行消化处理,重悬为单细胞悬液,以 10 000/孔接种于 96 孔培养板中,在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 24 h。小心地吸出原有的培养基,分别加入含 CHE 的培养基 100 μL,浓度梯度为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 μmol/L,对照组加入相同体积且含相同浓度 DMSO 的完全培养基,每组设 4 个复孔。在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 24 h 后,小心地吸出含 CHE 的培养基,用 PBS 清洗 1 遍, Olympus 倒置显微镜白光拍照后,按照 CCK-8 使用说明,每孔加入 100 μL 培养基和 CCK-8 的混合液,于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中孵育 45 min。用酶标仪检测在 450 nm 波长下各孔的吸光度(A)值,计算细胞相对存活率( $A_{CHE}/A_{对照}$ )。

### 2.2 EdU 实验检测细胞增殖能力

用 EdU 细胞增殖检测试剂盒检测 CHE 对 ACC2 细胞增殖的影响。EdU 是一种炔基取代的胸腺嘧啶核苷类似物,能够代替胸腺嘧啶参加细胞增殖的 DNA 复制过程, Hoechst33342 是一种细胞渗透染料,用于标记健康细胞中的 DNA。用 EdU 和 Hoechst33342 对细胞进行双重染色,可以很容易地用荧光显微镜观察细胞增殖。将 ACC2 细胞接种于 96 孔板(1×10<sup>4</sup>/孔)中,在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h,设置 2、5、8 μmol/L CHE 组、150 μmol/L NAC+8 μmol/L CHE 组、对照组,药物处理 24 h 后,对照组加入相同体积且含相同浓度 DMSO 的完全培养基,按照 EdU 试剂盒说明书操作,使用高内涵成像系统采集图像,使用 Image J 软件进行处理,计数 EdU 阳性细胞的比例。

### 2.3 ROS 水平测定

细胞接种、分组、给药操作同“2.2”项。药物处理 24 h 后,根据说明书,用 ROS 测定试剂盒检测细胞内 ROS 水平,使用高内涵成像系统采集图像,使用 Image J 软件对图片中的荧光强度进行统计,计算给药组 ROS 荧光强度升高倍数(给药组荧光强度/对照组荧光强度)。

### 2.4 Hoechst33342 和 PI 双染凋亡分析

细胞接种、分组、给药操作同“2.2”项。药物处理 24 h 后,加入含有 50 μg/mL 的 PI 和 10 μg/mL 的 Hoechst33342 的 DMEM 完全培养基,孵育 20 min 后,使用高内涵成像系统采集图像,使用 Image J 软

件进行处理,统计 PI 阳性细胞的比例。

### 2.5 免疫蛋白印记

取对数生长期的 ACC2 细胞接种于 6 孔板(1×10<sup>4</sup>/孔)中,转移至细胞培养箱中 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养 4 h,待细胞贴壁后,细胞分组及给药操作同“2.2”项,药物处理 24 h 后,用细胞刮收集细胞,并加入 RIPA 裂解液缓冲液,超声处理 30 s 后,冰上放置 30 min,4 °C、10 000 r/min 离心 10 min 取上清。使用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定蛋白浓度,将 50 μg 蛋白提取物在 10% SDS-PAGE 凝胶上分离。使用湿式印迹系统将蛋白质带转移到 NC 膜上。然后在室温下用 5% 脱脂牛奶的 TBST 中封闭 1 h,并在 4 °C 下与 β-actin、caspase-3、PARP、NF-κB、p-JNK、p-p38、p-Erk 抗体一起孵育过夜,PBS 清洗 3 次,每次 10 min,然后与 HRP 标记的二抗孵育 2 h,PBS 清洗 3 次,每次 10 min,使用 ECL 显色剂显色后在 Odyssey Fc 成像系统进行条带显色成像,使用 Image J 软件进行图像处理。

### 2.6 斑马鱼肿瘤移植实验

参照前期研究进行斑马鱼养殖、取卵和移植瘤造模<sup>[17]</sup>,将浓度为 1×10<sup>7</sup>/mL 的带有红色荧光标记的 ACC2 细胞悬液置于无血清的 RPMI 1640 细胞培养基中,37 °C 孵育 20 min 后,以 1 500 r/min 离心 5 min,移除上清液,重新加入无血清的培养基进行重悬。重复离心、移除上清液 2 次,即得所需标记的细胞悬液。采用显微注射的方式将细胞移植到受精后 2 d 的野生型斑马鱼卵黄囊内,建立斑马鱼腺样囊性癌移植瘤模型。注射 ACC2 细胞的斑马鱼置于 12 孔板中,每空 10 条,并使用含有 2、5、8 μmol/L 的 CHE 在 36 °C 条件下培养至受精后 4 d,在共聚焦显微镜下拍照,使用 Image J 软件对图片中的荧光强度进行统计,计算相对荧光强度(给药组荧光强度/对照组荧光强度)。

### 2.7 统计学分析

GraphPad Prism 7.0 软件进行统计学分析,多组间比较行单因素方差分析,两两比较行 *t* 检验,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

### 3.1 CHE 对 ACC2 细胞活力的影响

如图 1 所示,与对照组比较,2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 μmol/L 的 CHE 显著抑制了 ACC2 细胞的增殖( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ),且呈浓度相关性;光镜下观察结果与 CCK-8 结果一致。结果表明,CHE 能够导致 ACC2 细胞活力显著下降。

### 3.2 CHE对ACC2细胞的增殖能力的影响

如图2所示,在CHE作用下,ACC2细胞中EdU活性荧光数量明显减少,且呈现浓度相关性。对照组和CHE 2、5、8 μmol/L组EdU阳性细胞百分比为(35.33 ± 5.33)%、(18.66 ± 3.68)%、(9.21 ± 2.94)%、(5.66 ±

1.69)% ,与对照组比较,CHE 5、8 μmol/L组EdU阳性细胞百分比显著下降( $P < 0.05, 0.01$ )。结果表明,CHE能够降低ACC2细胞的增殖能力。

### 3.3 CHE对ACC2细胞内ROS水平的影响

如图3所示,在不同浓度的CHE(2、5、8 μmol/L)作

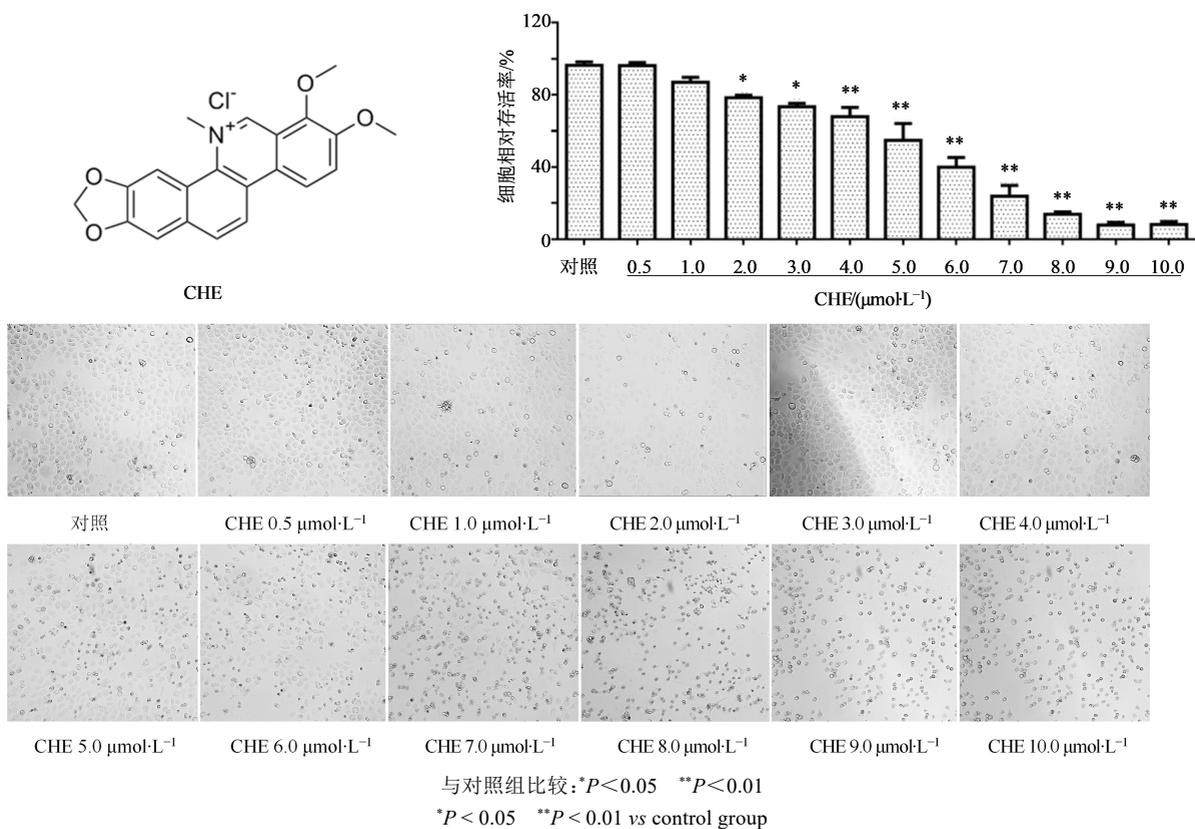


图1 CHE对ACC2细胞活力的影响( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Fig. 1 Effect of CHE on cell viability of ACC2 ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

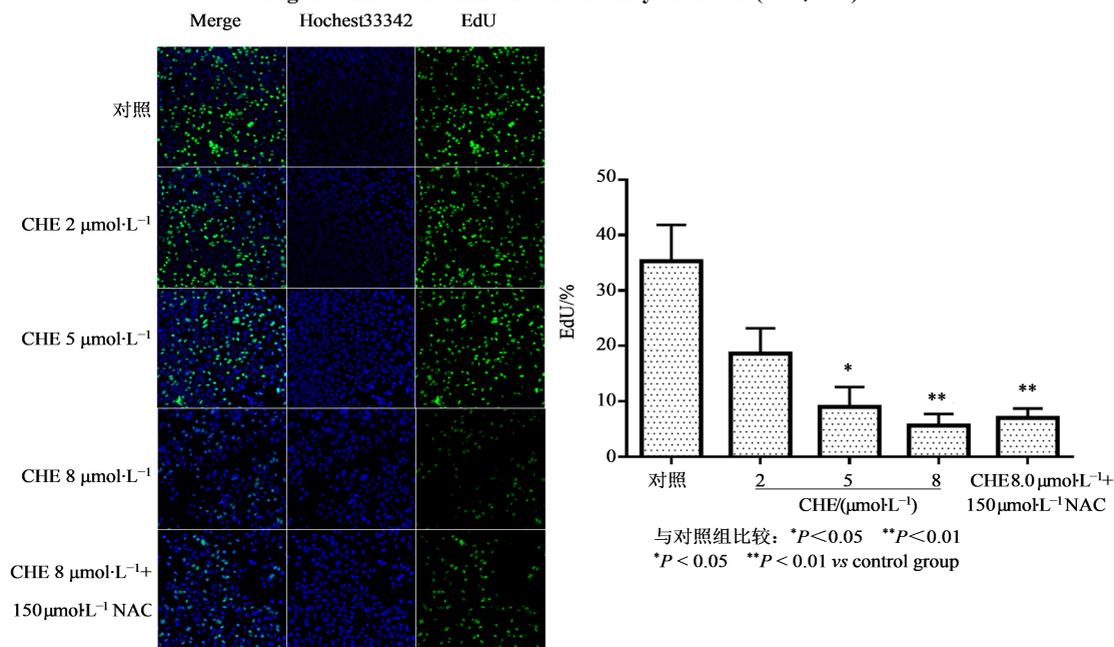


图2 EdU增殖检测( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Fig. 2 EdU proliferation detection ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

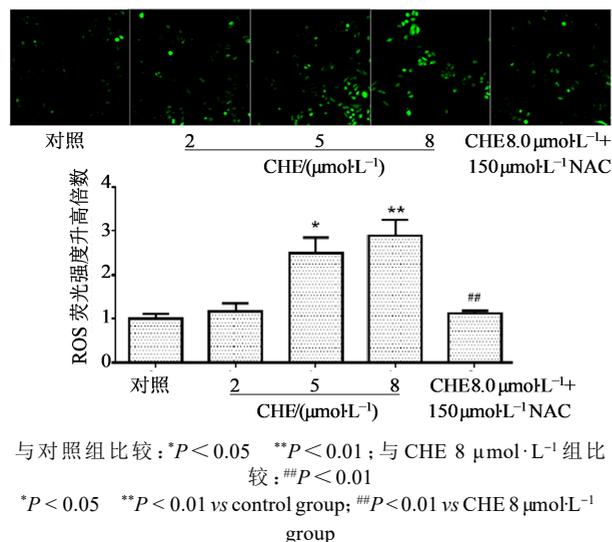


图3 ROS水平检测( $\bar{x} \pm s, n=4$ )  
Fig. 3 ROS level detection ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

用下,绿色荧光增强,且呈现浓度相关性;与对照组比较,2、5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE组的ROS荧光强度升高倍数为 $1.16 \pm 0.26$ 、 $2.50 \pm 0.50$ 、 $2.90 \pm 0.52$ ,5、8  $\mu\text{mol/L}$ 浓度组差异显著( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。加入抗氧化剂NAC后,ROS荧光强度显著下降,与8  $\mu\text{mol/L}$  CHE组比较差异显著( $P < 0.01$ ),说明NAC的加入显著地逆转了由CHE导致的ROS水平上升。结果表明,CHE导致了ACC2细胞内ROS水平的上升,NAC能够在一定程度上逆转这个过程。

### 3.4 CHE通过ROS的累积导致ACC2细胞凋亡

如图4所示,在不同浓度的CHE(2、5、8  $\mu\text{mol/L}$ )作用下,PI染色细胞比例明显增大,且呈现浓度相关性,而加入NAC后,PI染色细胞数量明显减少。

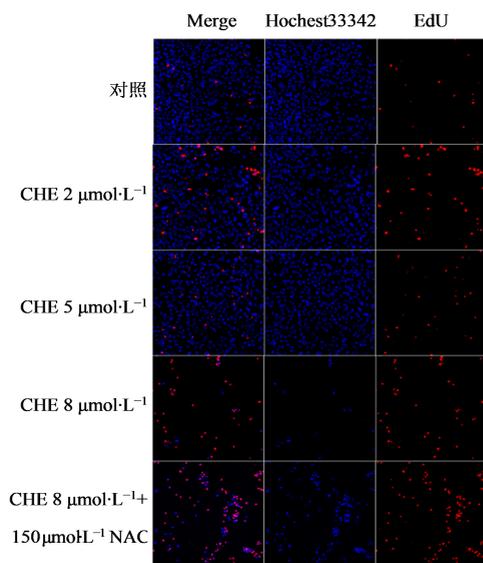


图4 细胞凋亡分析( $\bar{x} \pm s, n=4$ )  
Fig. 4 Cell apoptosis analysis ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

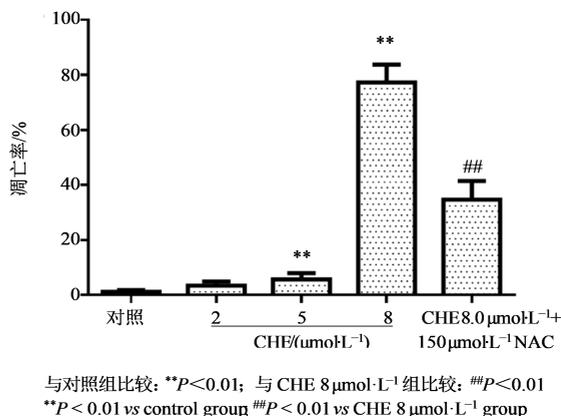
对照组, CHE 2、5、8  $\mu\text{mol/L}$ 组, 150  $\mu\text{mol/L}$  NAC+8  $\mu\text{mol/L}$  CHE组PI染色百分比分别为 $(1.23 \pm 0.49)\%$ 、 $(3.47 \pm 0.25)\%$ 、 $(5.73 \pm 1.83)\%$ 、 $(77.25 \pm 5.35)\%$ 、 $(34.7 \pm 5.48)\%$ ,与对照组比较,CHE 5、8  $\mu\text{mol/L}$ 组ACC2细胞凋亡率显著上升( $P < 0.01$ );而NAC的加入显著逆转了这个过程,与8  $\mu\text{mol/L}$  CHE组比较差异显著( $P < 0.01$ )。结果表明,CHE能够导致ACC2细胞凋亡,ROS参与了这个过程。

### 3.5 CHE和NAC对ACC2细胞凋亡和NF- $\kappa$ B MAPK通路相关蛋白表达的影响

如图5和6所示,与对照组比较,2、5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE能够显著上调Cleaved-Caspase 3、PARP、NF- $\kappa$ B蛋白的表达( $P < 0.01$ ),且呈现浓度相关性,5、8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE能够显著上调p-JNK的蛋白表达( $P < 0.01$ ),8  $\mu\text{mol/L}$ 的CHE能够显著上调p-p38的蛋白表达( $P < 0.01$ )。NAC的加入能够显著降低由CHE处理导致的Cleaved-Caspase 3、PARP、NF- $\kappa$ B、p-JNK、p-p38蛋白表达增加( $P < 0.01$ ),而p-Erk蛋白的表达不受CHE和NAC的影响。结果表明,CHE能够显著激活ACC2细胞凋亡信号通路,并激活NF- $\kappa$ B、JNK、p38等蛋白的表达,而NAC的加入拮抗了蛋白的上调,表明ROS参与了这个过程。

### 3.6 CHE抑制斑马鱼肿瘤移植瘤模型ACC2细胞的增殖

如图7所示,本研究建立了红色荧光标记的ACC2细胞斑马鱼移植瘤模型,不同浓度的CHE(2、5、8  $\mu\text{mol/L}$ )作用,能够导致肿瘤生长速度的明显降



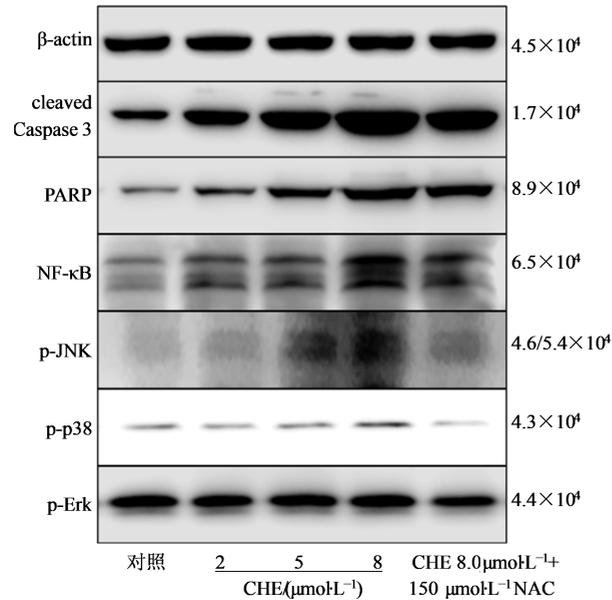


图5 CHE和NAC对ACC2细胞凋亡和NF-κB MAPK通路相关蛋白表达的影响(条带图)

Fig. 5 Effects of CHE and NAC on apoptosis and expression of NF-κB MAPK pathway related proteins in ACC2 cells (stripe figure)

低,且呈现浓度相关性。CHE 2、5、8 μmol/L组相对对照组荧光强度分别为 0.64±0.06、0.58±0.08、0.41±0.08,与对照组比较均差异显著 ( $P < 0.05$ 、0.01)。结果表明,在斑马鱼体内,CHE显著抑制ACC2细胞的增殖。

#### 4 讨论

癌症的发生与多种因素有关,包括细胞增殖、

凋亡、转移、肿瘤微环境和免疫系统。而ACC的发病率虽然比其他癌症类型的发病率低,但是具有高死亡率,低生存期,且手术切除和化疗、放疗效果均不理想。因此筛选能有效治疗ACC,并且安全、抗逆转的天然药物成为了治疗ACC的重要途径。

NF-κB蛋白是转录因子家族蛋白,在炎症、免疫和凋亡发生中至关重要。NF-κB在其他生理过程中也起着重要作用,包括发育、细胞生长和存活以及增殖,并涉及许多病理状况。作为细胞信号传递事件的一部分,多种细胞过程会产生ROS,而ROS在NF-κB信号传导中具有多种抑制或刺激作用<sup>[18]</sup>。JNK和p38通路是MAPK信号通路的分支通路,在细胞周期、生殖、凋亡和细胞应激等多种生理和病理过程中起重要作用<sup>[19-20]</sup>。本研究表明,CHE处理造成ACC2细胞活力降低、增殖能力下降、凋亡增加,细胞内ROS水平升高。大量的ROS累积降低细胞活力、诱导细胞凋亡。此外,CHE处理激活了NF-κB、JNK、p38信号通路,NAC加入后均呈现显著下调,表明ROS在这个过程中起到了重要的作用。

从天然药物中提取具有抗肿瘤活性的作用单体,一直是抗癌药物发现的重要策略,CHE已被报道能够对多种肿瘤细胞表现出良好的抗癌活性,但是CHE对ACC抗癌活性及其作用机制的研究尚处在空白阶段,且以往对CHE的抗癌活性多集中体外研究,缺乏体内研究的相关数据支持。本实验研究了CHE对于ACC的抗癌活性及其作用机制,并且在实验过程中,使用了斑马鱼移植瘤模型进行了

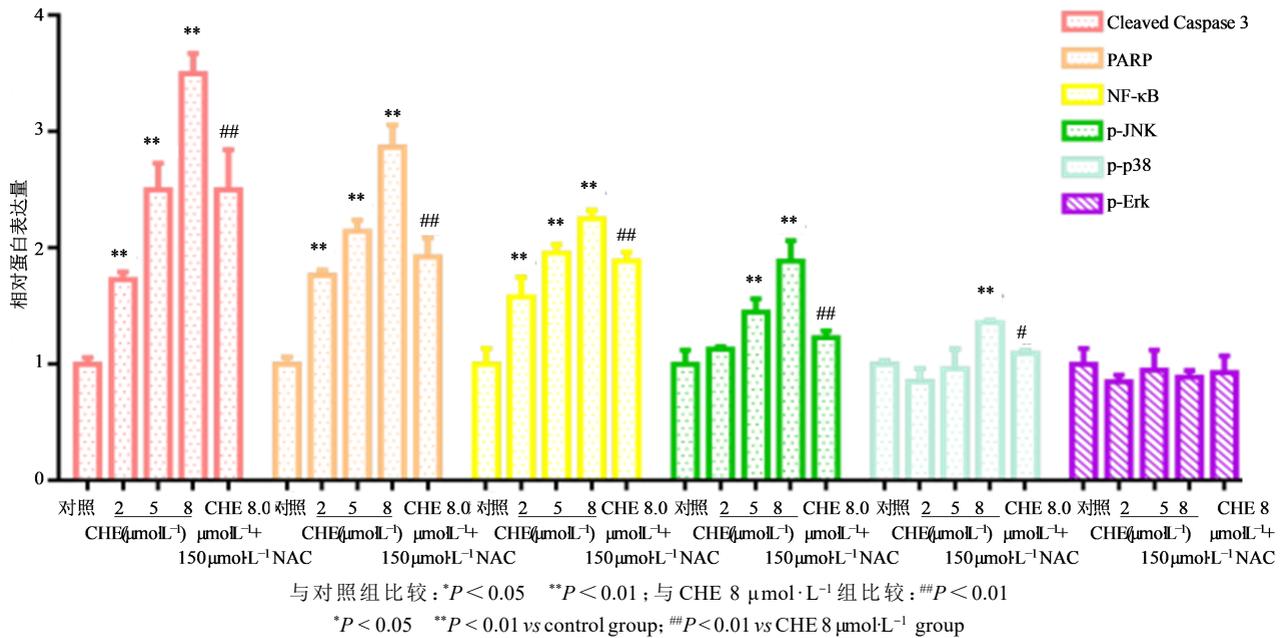


图6 CHE和NAC对ACC2细胞的凋亡和NF-κB MAPK通路相关蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

Fig. 6 Effects of CHE and NAC on apoptosis and expression of NF-κB MAPK pathway related proteins in ACC2 cells ( $\bar{x} \pm s, n=4$ )

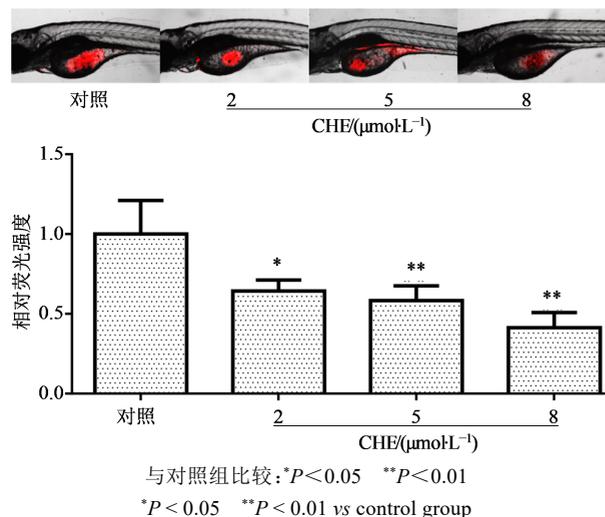


图7 CHE对斑马鱼肿瘤移植模型中ACC2细胞生长的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Fig. 7 Effect of CHE on growth of ACC2 cells in zebrafish tumor xenograft model ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

CHE抗癌活性体内实验验证,为今后CHE作为抗癌药物治疗ACC或更加广泛的癌症类型,提供了数据和理论支持,具有重要的实际意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突  
参考文献

[1] Garg M, Tudor-Green B, Bisase B. Current thinking in the management of adenoid cystic carcinoma of the head and neck [J]. Br J Oral Maxillofac Surg, 2019, 57(8): 716-721.

[2] Nassar A, Sawczyn K K. Salivary adenoid cystic carcinoma with contralateral cavernous sinus metastasis: a rare adult tumor in an adolescent patient [J]. J Adolesc Young Adult Oncol, 2013, 2(4): 179-182.

[3] Triantafyllou A, Papadaku-Sara A, Angelopoulos A P. Adenoid cystic carcinoma of the minor salivary glands of mouth: a clinicopathologic and histochemical study [J]. Odontostomatol Proodos, 1982, 36(4): 177-190.

[4] Kirke D N, Chitguppi C, Rubin S J, et al. Adenoid cystic carcinoma of the base of tongue: a population-based study [J]. Am J Otolaryngol, 2017, 38(3): 279-284.

[5] Fernández de los Reyes I, Córdoba Iturriagagoitia A, Chouza Sanin M, et al. Carcinoma adenoide quístico de mama, 22 años de experiencia [J]. Revista Española de Patología, 2020. doi:10.1016/j.patol.2020.06.003

[6] Gündüz A K, Yeşiltaş Y S, Shields C L. Overview of benign and malignant lacrimal gland tumors [J]. Curr Opin Ophthalmol, 2018, 29(5): 458-468.

[7] Liu L, Zhao L Q, Zhang J, et al. Aberrantly expressed

GFR $\alpha$ -1/RET in patients with lacrimal adenoid cystic carcinoma is associated with high recurrence risk: a retrospective study of 51 LACC cases [J]. Cancer Biol Med, 2021, 18(1): 199-205.

[8] Tchekmedyian V, Sherman E J, Dunn L, et al. Phase II study of lenvatinib in patients with progressive, recurrent or metastatic adenoid cystic carcinoma [J]. J Clin Oncol, 2019, 37(18): 1529-1537.

[9] Orlandi E, Iacovelli N A, Bonora M, et al. Salivary Gland. Photon beam and particle radiotherapy: Present and future [J]. Oral Oncol, 2016, 60: 146-156..

[10] Kaminsky V, Lin K W, Filyak Y, et al. Differential effect of sanguinarine, chelerythrine and chelidonine on DNA damage and cell viability in primary mouse spleen cells and mouse leukemic cells [J]. Cell Biol Int, 2008, 32(2): 271-277.

[11] Miao F, Yang X J, Zhou L, et al. Structural modification of sanguinarine and chelerythrine and their antibacterial activity [J]. Nat Prod Res, 2011, 25(9): 863-875.

[12] Zdarilová A, Vrzal R, Rypka M, et al. Investigation of sanguinarine and chelerythrine effects on CYP1A1 expression and activity in human hepatoma cells [J]. Food Chem Toxicol, 2006, 44(2): 242-249.

[13] Chen X M, Zhang M, Fan P L, et al. Chelerythrine chloride induces apoptosis in renal cancer HEK-293 and SW-839 cell lines [J]. Oncol Lett, 2016, 11(6): 3917-3924.

[14] Li Y F, Gao Y, Liang B W, et al. Patient-derived organoids of non-small cells lung cancer and their application for drug screening [J]. Neoplasma, 2020, 67(2): 430-437.

[15] Yang T F, Xu R, Su Q, et al. Chelerythrine hydrochloride inhibits proliferation and induces mitochondrial apoptosis in cervical cancer cells via PI3K/BAD signaling pathway [J]. Toxicol In Vitro, 2020, 68: 104965.

[16] Yang B B, Zhang D X, Qian J H, et al. Chelerythrine suppresses proliferation and metastasis of human prostate cancer cells via modulating MMP/TIMP/NF- $\kappa$ B system [J]. Mol Cell Biochem, 2020, 474(1/2): 199-208.

[17] Nicoli S, Presta M. The zebrafish/tumor xenograft angiogenesis assay [J]. Nat Protoc, 2007, 2(11): 2918-2923.

[18] Morgan M J, Liu Z G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling [J]. Cell Res, 2011, 21(1): 103-115.

[19] Yong H Y, Koh M S, Moon A. The p38 MAPK inhibitors for the treatment of inflammatory diseases and cancer [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2009, 18(12): 1893-1905.

[20] Wu Q, Wu W, Fu B, et al. JNK signaling in cancer cell survival [J]. Med Res Rev, 2019, 39(6): 2082-2104.

[责任编辑 兰新新]