

# 紫杉醇联合顺铂对甲状腺癌细胞SW579增殖、迁移和侵袭作用的影响<sup>Δ</sup>

杨久宜<sup>1\*</sup>, 贾思跃<sup>2</sup>, 吴灵桥<sup>3</sup>, 张彩芬<sup>1#</sup>, 巩建萍<sup>1</sup>, 孔丹丹<sup>1</sup>(1.河北大学附属医院健康体检中心,河北保定 071000;2.河北大学基础医学院,河北保定 071000;3.河北望都县医院消化内科,河北望都 072450)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)34-4782-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.34.10

**摘要** 目的:研究紫杉醇联合顺铂对甲状腺癌细胞SW579增殖、迁移和侵袭作用的影响及其作用机制。方法:将细胞分为空白对照组、紫杉醇(3 μmol/L)组、顺铂(30 μmol/L)组和联合用药(紫杉醇3 μmol/L+顺铂30 μmol/L)组,培养48 h。采用MTT法测定相对细胞活力;流式细胞术测定细胞周期;Transwell法检测细胞迁移和侵袭能力;Western blot法检测细胞中人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(PTEN)、蛋白激酶B(AKT)、细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、p27、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9的表达。结果:与空白对照组比较,各给药组细胞的相对细胞活力降低,细胞发生G<sub>1</sub>期阻滞,细胞的迁移和侵袭能力降低,细胞中PTEN、p27表达增强,AKT磷酸化及Cyclin D1、MMP-2和MMP-9表达减弱,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与单用组药比较,联合用药组作用效果增强,以上指标差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:紫杉醇和顺铂联用后对甲状腺癌细胞SW579增殖、迁移和侵袭的抑制作用增强,其机制可能与上调PTEN、p27的表达,下调Cyclin D1、MMP-2、MMP-9的表达及抑制AKT磷酸化有关。

**关键词** 紫杉醇;顺铂;甲状腺癌细胞SW579;增殖;迁移;侵袭

## Effects of Paclitaxel Combined with Cisplatin on the Proliferation, Migration and Invasion of Thyroid Cancer Cells SW579

YANG Jiu-yi<sup>1</sup>, JIA Si-yue<sup>2</sup>, WU Ling-qiao<sup>3</sup>, ZHANG Cai-fen<sup>1</sup>, GONG Jian-ping<sup>1</sup>, KONG Dan-dan<sup>1</sup>(1.Physical Examination Center, the Affiliated Hospital of Hebei University, Hebei Baoding 071000, China; 2.College of Basic Medical Science, Hebei University, Hebei Baoding 071000, China; 3.Dept. of Gastroenterology, Wangdu County Hospital in Hebei Province, Hebei Wangdu 072450, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects of paclitaxel combined with cisplatin on the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells SW579 and its mechanism. METHODS: Cells were divided into blank control group, paclitaxel group (3 μmol/L), cisplatin group (30 μmol/L), drug combination group (paclitaxel 3 μmol/L+cisplatin 30 μmol/L). 48 h after culture, the relative cell activity was measured by MTT assay. Cell cycle was detected by flow cytometry. Migration and invasion of cell was tested by Transwell assay. The expression of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN), protein kinase B (AKT), Cyclin D1, p27, matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 were detected by Western blot. RESULTS: Compared with blank control group, relative cell activity of all treatment groups were decreased; paclitaxel or plus cisplatin also made cell cycle arrest in G<sub>1</sub> phase, and migration and invasion ability of cell were decreased; the expression of PTEN and p27 remarkably increased, while the expression of Cyclin D1, MMP-2, MMP-9 and phosphorylation of AKT were obviously reduced, with statistical significance ( $P<0.05$ ). Compared with single drug group, the effect of drug combination group strengthened, with statistical significance in above indicators ( $P<0.05$ ). CONCLUSIONS: The inhibition effect of paclitaxel combined with cisplatin on the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells SW579 cell will be strengthened, by a mechanism of up-regulating the expression of PTEN and p27, down-regulating the expression of Cyclin D1, MMP-2 and MMP-9, inhibiting phosphorylation of AKT.

**KEYWORDS** Paclitaxel; Cisplatin; Thyroid cancer cells SW579; Proliferation; Migration; Invasion

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤之一,以甲状腺乳头状癌和滤泡状癌为主,约占甲状腺癌的90%,且近年来发病率呈明显的上升趋势<sup>[1]</sup>。目前对甲状腺癌的治疗仍然是

手术加放疗,在临床上取得了一定疗效。

紫杉醇和顺铂是最常用的肿瘤化疗药物,在甲状腺癌治疗上应用较广,能通过抑制肿瘤细胞的有丝分裂、促进肿瘤细胞坏死而达到化疗效果。蛋白激酶B(AKT)信号通路在包括甲状腺癌在内的多种肿瘤中异常激活,与肿瘤的发生发展密切相关,是多种化疗药物的作用靶点<sup>[2-4]</sup>。有文献报道紫杉醇和顺铂联合化疗能显著的提高宫颈癌、卵巢癌的治疗效果<sup>[5]</sup>,并且紫杉醇和顺铂均能通过使AKT信号通路发挥抗癌作用<sup>[2-3]</sup>。因此笔者推测紫杉醇和顺铂联合也能提高甲状腺癌的治疗效

Δ 基金项目:2014年保定市科学技术研究与发展指导计划项目(No.14ZF098)

\* 主管护师。研究方向:甲状腺疾病的护理。E-mail: zcf0135@163.com

# 通信作者:副主任医师,硕士。研究方向:甲状腺及乳腺疾病。E-mail: zcf0135@163.com

果。本研究将考察紫杉醇、顺铂单独或联合给药对于甲状腺癌细胞SW579增殖和侵袭的抑制作用及具体机制,并与两药单用比较其抑瘤作用,为紫杉醇联合顺铂治疗甲状腺癌提供试验依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Eclipse TS100倒置光学显微镜(日本Nikon公司);Chemidoc™ XRS凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);Forma Class II生物安全柜(美国Thermo Scientific公司);5417R离心机(美国Eppendorf公司)。

### 1.2 药品与试剂

紫杉醇、顺铂(中国食品药品检定研究院,批号:10382-201102、100401-201302,纯度:99.6%、99.8%);MTT(美国Sigma公司);二辛可酸(BCA)蛋白定量试剂盒、ECL超敏发光液,兔抗GADPH单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)、细胞周期检测试剂盒(江苏南通碧云天生物技术研究);兔抗人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(PTEN)、AKT、磷酸化蛋白激酶B(p-AKT)抗体(美国Epitomics公司);兔抗细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、p27、基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9单克隆抗体(美国CST公司);Transwell小室(美国Corning公司,批号:3422);胎牛血清、DMEM培养基、胰蛋白酶(美国Gibco公司)。

### 1.3 细胞

甲状腺癌细胞SW579购自中国科学院上海细胞库。

## 2 方法

### 2.1 分组与给药

将细胞加至含15%胎牛血清的DMEM培养液中,于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养至近80%融合后,将细胞分为空白对照组(只含DMEM培养基)和试验组,试验组包括紫杉醇(3μmol/L)组、顺铂(30μmol/L)组和联合用药(紫杉醇3μmol/L+顺铂30μmol/L)组。

### 2.2 MTT法检测细胞相对活力

2.5%胰酶溶液消化细胞,调整细胞密度为4×10<sup>3</sup> ml<sup>-1</sup>,按200μl/孔接种到96孔板上,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24h。按“2.1”项下方法进行分组与给药,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养48h后,加MTT(5mg/ml)20μl,培养4h后弃上清,加二甲基亚砷150μl,待结晶充分溶解后,在波长为570nm处测定光密度(OD<sub>570</sub>)值,检测细胞的相对活力。相对细胞活力=试验组OD<sub>570</sub>/空白对照组OD<sub>570</sub>×100%。每组试验重复3次。

### 2.3 流式细胞术检测细胞周期

2.5%胰酶溶液消化细胞,调整细胞密度为8×10<sup>3</sup> ml<sup>-1</sup>,按1ml/孔接种于6孔板中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24h。按“2.1”项下方法进行分组及给药,继续培养48h后收集细胞,75%乙醇固定,于4℃条件下放置48h。以离心半径15cm、3000r/min离心10min,弃乙醇,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次,加入5μl 10mg/ml核糖核酸酶(RNase),置于37℃培养箱中培养1h,再加入100μg/ml碘化丙啶(PI)染液,室温下避光染色30min。用流式细胞仪检测DNA含量,进行细胞周期分析及凋亡检测,用FACSort Cell Quest软件作DNA分析。每组试验重复3次。

### 2.4 细胞迁移试验

细胞的培养与收集同“2.3”项下方法。将细胞消化加入Transwell小室的上室,下室用含5%胎牛血清的DMEM培养液,继续培养24h。取出Transwell小室,PBS洗涤,多聚甲醛固定,结晶紫染色。100倍倒置光学显微镜下随机取5个视野进行细胞计数,计算平均每个视野的细胞数(即穿过滤膜进入下室的细胞数),以穿过滤膜进入下室的细胞数来表示细胞的迁移能力。每组试验重复3次。

### 2.5 细胞侵袭试验

将基质胶(Matrigel)均匀平铺于Transwell小室的微膜上,制成凝胶备用,其余步骤同“2.4”项下。计算平均每个视野的细胞数,以穿过滤膜进入下室的细胞数来表示细胞的侵袭能力。每组试验重复3次。

### 2.6 Western blot法检测相关蛋白表达

细胞的接种、培养、给药及收集按“2.3”项下方法进行。加入RIPA裂解液裂解细胞,以离心半径15cm、10000r/min离心10min,收集沉淀,即得到总蛋白。经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳后湿法转硝酸纤维素膜,将膜分别浸入一抗(PTEN、AKT、p-AKT Cyclin D1、p27、MMP-2、MMP-9、GADPH,稀释比例为1:100)中4℃孵育过夜;三羟甲基氨基甲烷盐酸溶液(TBST)漂洗后,浸入二抗(辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L),稀释比例为1:500),室温孵育1~2h。将膜取出用PBS漂洗,在膜上滴加增强化学发光液,在凝胶成像系统中曝光。用Quantity One软件对各蛋白灰度值进行统计。以PTEN、Cyclin D1、p27、MMP-2、MMP-9与内参GADPH灰度值的比值表示相应蛋白的相对表达量,以p-AKT与AKT灰度值的比值表示AKT的磷酸化水平。每组试验重复3次。

### 2.7 数据分析

采用SPSS 17.0统计软件对数据进行分析处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用*t*检验,多组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA)。*P*<0.05表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 紫杉醇与顺铂对细胞活力的影响

与空白对照组比较,各给药组细胞的相对活力降低(*P*<0.01);与单用药组比较,联合用药组细胞相对活力降低(*P*<0.05)。这表明紫杉醇、顺铂单用或联用均能显著抑制细胞活力,且联合用药效果优于单独给药。紫杉醇与顺铂对细胞活力的影响结果见表1。

表1 紫杉醇与顺铂对细胞活力的影响( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 1 Effect of paclitaxel and cisplatin on the activity of cells( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

组别	相对细胞活力
空白对照组	100.05 ± 8.11
紫杉醇组	60.48 ± 5.09*
顺铂组	62.49 ± 6.06*
联合用药组	43.53 ± 3.04** <sup>Δ</sup>

注:与空白对照组比较,\**P*<0.01;与紫杉醇组比较,<sup>#</sup>*P*<0.05;与顺铂组比较,<sup>Δ</sup>*P*<0.05

Note: vs. blank control group,\**P*<0.01; vs. paclitaxel group,<sup>#</sup>*P*<0.05; vs. cisplatin group,<sup>Δ</sup>*P*<0.05

### 3.2 紫杉醇与顺铂对细胞周期的影响

与空白对照组比较,各给药组中G<sub>1</sub>期细胞数量明显增多、S期细胞数量明显减少(*P*<0.01);与单用药组比较,联合用药

组 G<sub>1</sub> 期细胞数量明显增多、S 期细胞数量明显减少 ( $P < 0.05$ )。这表明紫杉醇、顺铂单独或联合用药均能使细胞进入 S 期并能将细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期,且联合用药效果优于单独给药。紫杉醇与顺铂对细胞周期的影响结果见表 2。

表 2 紫杉醇与顺铂对细胞周期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 2 Effect of paclitaxel and cisplatin on cell cycle ( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

组别	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub>
空白对照组	52.35 ± 5.42	35.86 ± 4.02	11.79 ± 0.65
紫杉醇组	65.45 ± 5.10*	25.98 ± 3.36*	8.57 ± 0.82*
顺铂组	64.32 ± 3.62*	26.96 ± 3.08*	8.72 ± 0.45*
联合用药组	78.65 ± 6.55** <sup>Δ</sup>	15.90 ± 2.04** <sup>Δ</sup>	5.45 ± 0.55** <sup>Δ</sup>

注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与紫杉醇组比较,\* $P < 0.05$ ;与顺铂组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,\* $P < 0.01$ ; vs. paclitaxel group,\* $P < 0.05$ ; vs. cisplatin group,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

### 3.3 紫杉醇与顺铂对细胞迁移和侵袭能力的影响

迁移试验结果显示,与空白对照组比较,各给药组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少 ( $P < 0.01$ );与单用药组比较,联合用药组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少 ( $P < 0.05$ )。侵袭试验结果显示,与空白对照组比较,各给药组穿过滤膜进入下腔的细胞数目减少 ( $P < 0.01$ );与单用药组比较,联合用药组穿过滤膜进入下腔的细胞数目减少 ( $P < 0.05$ )。这说明紫杉醇、顺铂单独或联合用药均能显著抑制细胞迁移和侵袭,且联合用药效果优于单独给药。紫杉醇与顺铂对细胞迁移和侵袭能力的影响结果见表 3。

表 3 紫杉醇与顺铂对细胞迁移和侵袭能力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 3 Effect of paclitaxel and cisplatin on the migration and invasion ability of cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分类	空白对照组	紫杉醇组	顺铂组	联合用药组
迁移	99 ± 9.01	65.23 ± 3.82*	63.65 ± 3.86*	46.00 ± 5.00** <sup>Δ</sup>
侵袭	99 ± 8.02	65.60 ± 3.35*	62.30 ± 2.59*	50.00 ± 5.36** <sup>Δ</sup>

注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与紫杉醇组比较,\* $P < 0.05$ ;与顺铂组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,\* $P < 0.01$ ; vs. paclitaxel group,\* $P < 0.05$ ; vs. cisplatin group,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

### 3.4 紫杉醇与顺铂对细胞 AKT 信号通路相关蛋白表达的影响

与空白对照组比较,各给药组细胞中 PTEN 的表达增加、AKT 磷酸化水平降低 ( $P < 0.01$ );与单用药组比较,联合用药组细胞中 PTEN 表达更高、AKT 磷酸化水平更低 ( $P < 0.05$ )。这表明紫杉醇、顺铂单独或联合给药均能显著上调 PTEN 表达并抑制 AKT 的磷酸化,且联合给药效果优于单独给药。AKT 信号通路相关蛋白的表达图谱见图 1,紫杉醇与顺铂对细胞 AKT 信号通路相关蛋白表达的影响结果见表 4。

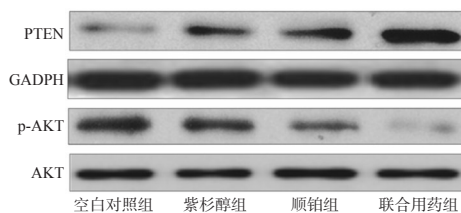


图 1 AKT 信号通路相关蛋白的表达图谱

Fig 1 Chart of AKT signal pathway related protein expression

表 4 紫杉醇与顺铂对细胞 AKT 信号通路相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 4 Effect of paclitaxel and cisplatin on the expression of AKT signal pathway related protein in cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	PTEN/GADPH	p-AKT/AKT
空白对照组	0.18 ± 0.03	0.93 ± 0.11
紫杉醇组	0.31 ± 0.05*	0.49 ± 0.04*
顺铂组	0.36 ± 0.07*	0.36 ± 0.07*
联合用药组	0.52 ± 0.05** <sup>Δ</sup>	0.12 ± 0.02** <sup>Δ</sup>

注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与紫杉醇组比较,\* $P < 0.05$ ;与顺铂组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,\* $P < 0.01$ ; vs. paclitaxel group,\* $P < 0.05$ ; vs. cisplatin group,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

### 3.5 紫杉醇与顺铂对细胞周期相关蛋白表达的影响

与空白对照组比较,顺铂组与联合用药组都能显著提高 p27 表达量并抑制 Cyclin D1 表达 ( $P < 0.01$ );与紫杉醇组或顺铂组比较,联合用药组都能显著提高 p27 表达量并抑制 Cyclin D1 表达 ( $P < 0.05$ )。这表明顺铂单独或联合给药均能显著上调 p27 表达并抑制 Cyclin D1 表达,且联合给药效果优于单独给药。细胞周期相关蛋白表达图谱见图 2,紫杉醇及顺铂对细胞周期相关蛋白表达的影响结果见表 5。

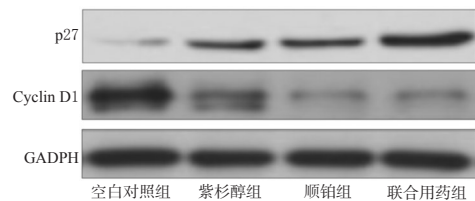


图 2 细胞周期相关蛋白表达图谱

Fig 2 Chart of cell cycle related protein expression

表 5 紫杉醇与顺铂对细胞周期相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 5 Effect of paclitaxel and cisplatin on the expression of cell cycle related protein in cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	p27/GADPH	CyclinD1/GADPH
空白对照组	0.18 ± 0.00	0.95 ± 0.10
紫杉醇组	0.32 ± 0.05*	0.33 ± 0.04*
顺铂组	0.32 ± 0.07*	0.26 ± 0.07*
联合用药组	0.79 ± 0.12** <sup>Δ</sup>	0.25 ± 0.02** <sup>Δ</sup>

注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与紫杉醇组比较,\* $P < 0.05$ ;与顺铂组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: vs. blank control group,\* $P < 0.01$ ; vs. paclitaxel group,\* $P < 0.05$ ; vs. cisplatin group,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

### 3.6 紫杉醇与顺铂对细胞 MMP 含量的影响

与空白对照组比较,各给药组细胞中 MMP-2、MMP-9 表达减少 ( $P < 0.01$ );与单用药组比较,联合用药组细胞中 MMP-2、MMP-9 表达减少 ( $P < 0.05$ )。这表明紫杉醇、顺铂单独或联合给药均能显著抑制 MMP-2、MMP-9 表达,且联合用药效果优于单独给药。细胞 MMP 蛋白表达图谱见图 3,紫杉醇与顺铂对细胞 MMP 表达的影响见表 6。

## 4 讨论

本研究结果表明,紫杉醇、顺铂单独或联合给药都能显著降低甲状腺癌 SW579 细胞活力,并且联合给药优于单独给药,

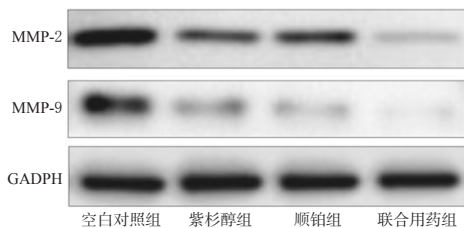


图3 细胞MMP蛋白表达图谱

Fig 3 Chart of MMPs protein expression in cells

表6 紫杉醇与顺铂对细胞MMP表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 6 Effect of paclitaxel and cisplatin on the expression of MMPs protein in cell( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	MMP-2/GADPH	MMP-9/GADPH
空白对照组	1.18 ± 0.15	0.98 ± 0.10
紫杉醇组	0.42 ± 0.06*	0.33 ± 0.02*
顺铂组	0.42 ± 0.07*	0.32 ± 0.05*
联合用药组	0.29 ± 0.00** <sup>Δ</sup>	0.15 ± 0.02** <sup>Δ</sup>

注:与空白对照组比较,\* $P < 0.01$ ;与紫杉醇组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与顺铂组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: vs. blank control group, \* $P < 0.01$ ; vs. paclitaxel group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; vs. cisplatin group, <sup>Δ</sup> $P < 0.05$

为临床上紫杉醇联合顺铂化疗甲状腺癌提供了试验依据。笔者进一步探讨其可能的作用机制,发现紫杉醇、顺铂单独或联合给药都能使细胞周期停滞于G<sub>1</sub>期,并上调p27表达、下调Cyclin D1表达。这说明紫杉醇与顺铂如大多数抗肿瘤药物一样都以使细胞周期停滞于G<sub>1</sub>期或G<sub>2</sub>/M期为靶点,从而抑制肿瘤细胞的增殖。p27具有转译后修饰的作用,可干预细胞从G<sub>1</sub>期到S期的过程,对细胞周期有负性调控作用。p27蛋白在正常甲状腺组织中高表达,在甲状腺癌组织中呈低表达<sup>[6]</sup>。Cyclin D1基因是1991年Motokura等在甲状腺癌腺瘤研究中发现的。研究表明,Cyclin D1过表达可缩短细胞周期G<sub>1</sub>期、促进细胞进入S期,最终导致细胞过度增殖而发生肿瘤<sup>[7]</sup>。Cyclin D1在甲状腺乳头状癌中显著过表达,并且与肿瘤的转移及预后有关<sup>[8]</sup>。以上研究提示上调甲状腺癌细胞中p27表达、下调Cyclin D1表达,能起到阻滞癌细胞增殖的作用。本研究结果也证实,紫杉醇与顺铂通过此机制阻滞了SW579细胞的增殖,且联合给药的作用优于单独给药。

恶性肿瘤的侵袭和转移是影响甲状腺癌患者预后的重要因素,细胞外基质的降解是肿瘤侵袭和转移的必要步骤,MMPs是降解细胞外基质的最重要的一组蛋白酶,在细胞肿瘤侵袭和转移中发挥着重要作用,是涉及这些过程的关键酶。MMP-2、MMP-9与甲状腺癌恶性进展或转移密切相关,且在恶性甲状腺癌组织中过表达<sup>[9]</sup>,因此通过干扰MMPs的表达,一定程度上能抑制甲状腺癌细胞的侵袭、转移。所以本研究进一步探讨了紫杉醇、顺铂单独或联合给药对于MMP-2、MMP-9表达的影响,结果发现紫杉醇、顺铂单独或联合给药都能下调MMP-2、MMP-9的表达,且联合给药效果优于单独给药。

肿瘤的发生发展涉及到多条信号通路的调节,PI3K/AKT异常激活在甲状腺癌发生过程中担当着重要的作用,通过此信号通路的调节,能显著影响甲状腺癌的发生发展。PTEN基因能使细胞停止分裂并进入细胞凋亡,从而阻止不受控制的细胞增殖,进而抑制肿瘤的形成。PTEN的过度表达能下调

AKT活性,从而上调p27表达、下调Cyclin D1的表达,进而导致细胞周期的停滞<sup>[10]</sup>。PTEN缺失的组织可演变为肿瘤<sup>[11]</sup>,因此,上调PTEN表达并下调AKT活性,能显著地抑制肿瘤细胞的增殖。所以本研究通过Western blot法检测PTEN表达及AKT磷酸化水平,结果发现紫杉醇、顺铂单独或联合给药均能显著上调甲状腺癌细胞SW579中PTEN表达并抑制AKT磷酸化,且联合给药效果优于单独给药,从而提示紫杉醇、顺铂单独或联合给药可能通过PTEN/AKT信号通路影响甲状腺癌细胞的增殖。

综上所述,紫杉醇、顺铂单独或联合给药能显著抑制甲状腺癌细胞SW579的增殖、迁移与侵袭,其机制可能与上调PTEN、p27的表达,下调Cyclin D1、MMP-2、MMP-9的表达及抑制AKT磷酸化有关。

### 参考文献

- [1] Nagayama Y. Thyroid cancer[J]. *Nihon Rinsho*, 2012, 70(3):436.
- [2] Lee HH, Ye S, Li XJ, et al. Combination treatment with paclitaxel and doxorubicin inhibits growth of human esophageal squamous cancer cells by inactivation of Akt[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(1):183.
- [3] Lesan V, Ghaffari SH, Salaramoli J, et al. Evaluation of antagonistic effects of metformin with cisplatin in gastric cancer cells[J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2014, 8(3):12.
- [4] 王士娜,马静,滕猛,等. Twist及Akt2在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2011, 20(1):56.
- [5] 卢建军,张林燕. 紫杉醇与顺铂联合化疗治疗宫颈癌的疗效及与组织微血管和微淋巴管密度的关系[J]. *中国生化药物杂志*, 2014, 34(5):92.
- [6] Sekiya T, Bronstein MD, Benfani K, et al. p27 variant and corticotropinoma susceptibility: a genetic and in vitro study[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2014, 21(3):395.
- [7] 刘焕龙,康宁,李军霞,等. 戊地昔布联合阿霉素对人乳腺癌细胞增殖的抑制作用及其机制研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(29):2705.
- [8] 张贵军. Cyclin D1和β-catenin在甲状腺癌组织中的蛋白表达[J]. *中国地方病防治杂志*, 2014, 29(3):174.
- [9] Marecko I, Cvejic D, Selemetjev S, et al. Enhanced activation of matrix metalloproteinase-9 correlates with the degree of papillary thyroid carcinoma infiltration[J]. *Croat Med J*, 2014, 55(2):128.
- [10] Rajput S, Kumar BN, Dey KK, et al. Molecular targeting of Akt by thymoquinone promotes G<sub>1</sub> arrest through translation inhibition of cyclin D1 and induces apoptosis in breast cancer cells[J]. *Life Sci*, 2013, 93(21):783.
- [11] Kim TH, Yoo JY, Kim HI, et al. Mig-6 suppresses endometrial cancer associated with Pten deficiency and ERK activation[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(24):7371.

(收稿日期:2015-07-10 修回日期:2015-09-22)

(编辑:林静)