

# 丹参酮IIA联合CASC2对甲状腺癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响

黄敏<sup>1</sup> 杨燕<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>武汉大学医学职业技术学院, 武汉 430060; <sup>2</sup>新疆医科大学附属肿瘤医院肿瘤内科二病区, 乌鲁木齐 830000)

**摘要** 为了研究丹参酮IIA联合长链非编码RNA(lncRNA)癌易感性候选基因2(CASC2)对甲状腺癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响, 该研究采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测CASC2在甲状腺癌组织中的表达。将甲状腺癌SW579细胞分为pcDNA3.1组(转染pcDNA3.1质粒), pcDNA3.1-CASC2组(转染pcDNA3.1-CASC2质粒), con组(用与丹参酮IIA等量的二甲基亚砷处理), 药物-1、2、3、4组(分别用1、2、4、8 μg/mL丹参酮IIA处理), 药物-4+pcDNA3.1组(转染pcDNA3.1质粒且用8 μg/mL丹参酮IIA处理), 药物-4+pcDNA3.1-CASC2组(转染pcDNA3.1-CASC2质粒且用8 μg/mL丹参酮IIA处理)。分别用细胞计数试剂盒(CCK-8)和平板克隆检测细胞存活与克隆形成; 流式细胞术检测细胞凋亡; Transwell检测细胞迁移、侵袭; 蛋白质印迹法(Western blot)检测蛋白P21、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase-3)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)和基质金属蛋白酶-2(MMP-2)的表达。结果显示, 与癌旁组织相比, 甲状腺癌组织中的CASC2表达量显著降低( $P<0.05$ )。过表达CASC2明显降低SW579细胞的存活率、克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数和MMP-2蛋白表达量, 显著提高细胞凋亡率、P21、Caspase-3、E-cadherin蛋白表达量( $P<0.05$ )。丹参酮IIA明显降低SW579细胞的存活率、克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白水平, 显著提高细胞凋亡率、P21、Caspase-3、E-cadherin蛋白表达水平, 且均呈浓度依赖性( $P<0.05$ )。丹参酮IIA联合CASC2明显降低SW579细胞的存活率、克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白表达量, 显著提高细胞凋亡率、P21、Caspase-3和E-cadherin蛋白水平( $P<0.05$ )。因此, 丹参酮IIA联合CASC2可以抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 以及诱导细胞凋亡。

**关键词** 甲状腺癌; 丹参酮IIA; CASC2; 增殖; 迁移; 侵袭; 凋亡

## Effects of Tanshinone IIA Combined with CASC2 on Proliferation, Apoptosis, Migration and Invasion of Thyroid Cancer Cells

HUANG Min<sup>1</sup>, YANG Yan<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Medical Technology, Wuhan University, Wuhan 430060, China; <sup>2</sup>the Second Ward of Department of Oncology, Cancer Hospital Affiliated to Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China)

**Abstract** To study the effect of tanshinone IIA combined with lncRNA (long non-coding RNA) CASC2 (cancer susceptibility candidate 2) on the proliferation, apoptosis, migration and invasion of thyroid cancer cells, this study detected the expression of CASC2 in thyroid cancer tissues by qRT-PCR (real-time fluorescent quantitative PCR). Thyroid cancer SW579 cells were divided into pcDNA3.1 group (transfected with pcDNA3.1 plasmid),

收稿日期: 2021-01-27

接受日期: 2021-03-12

\*通讯作者。Tel: 18699072031, E-mail: 649330557@qq.com

Received: January 27, 2021 Accepted: March 12, 2021

\*Corresponding author. Tel: +86-18699072031, E-mail: 649330557@qq.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5528>

pcDNA3.1-CASC2 group (transfected with pcDNA3.1-CASC2 plasmid), con group (treated with dimethyl sulfoxide in the same amount as tanshinone IIA), medicine-1, 2, 3, 4 groups (separately treated with 1, 2, 4, 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA), medicine-4+pcDNA3.1 group (transfected with pcDNA3.1 plasmid and treated with 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA), medicine-4+pcDNA3.1-CASC2 group (transfected with pcDNA3.1-CASC2 plasmid and treated with 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA). CCK-8 (cell counting kit-8) and plate clones separately were used to detect cell survival and colony formation. Cell apoptosis was examined by flow cytometry. Transwell was applied to determine cell migration and invasion, and protein P21, Caspase-3 (CysteinyI aspartate specific proteinase 3), E-cadherin and MMP-2 (matrix metalloproteinase-2) expression were analyzed by Western blot. The results showed that, compared with adjacent tissues, the expression of CASC2 in thyroid cancer tissues was significantly reduced ( $P<0.05$ ). Overexpression of CASC2 obviously decreased the survival rate, colony formation, the number of migrating cells, the number of invading cells, and MMP-2 protein expression in SW579 cells, while markedly increased the apoptosis rate, as well as P21, Caspase-3, and E-cadherin protein expression ( $P<0.05$ ). Tanshinone IIA dramatically reduced the survival rate, the number of colony formation, the number of migrating cells, the number of invading cells, and the level of MMP-2 protein in SW579 cells, while distinctly improved the rate of apoptosis, and the expression levels of P21, Caspase-3, and E-cadherin proteins, which were all concentration-dependent ( $P<0.05$ ). Tanshinone IIA combined with CASC2 remarkably reduced the survival rate, colony formation, the number of migrating cells, the number of invading cells, and MMP-2 protein expression in SW579 cells, while greatly enhanced the apoptosis rate, as well as P21, Caspase-3, and E-cadherin protein levels ( $P<0.05$ ). So it can be concluded that, tanshinone IIA combined with CASC2 can inhibit the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells, and induce cell apoptosis.

**Keywords** thyroid cancer; tanshinone IIA; CASC2; proliferation; migration; invasion; apoptosis

甲状腺癌是内分泌腺中最常见的癌症, 其在全世界范围内的发病率不断上升<sup>[1]</sup>。2020年, 美国出现了 52 890例甲状腺癌新增病例和 2 180例死亡病例<sup>[2]</sup>。当前亟需了解转移性甲状腺肿瘤的特征<sup>[3]</sup>, 并开发针对其的新型治疗方法。丹参酮 IIA( $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$ ), 一种菲醌的衍生物, 是药用植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)中的主要亲脂性成分之一<sup>[4]</sup>。在过去的几十年中, 丹参酮 IIA已被证明对心脏纤维化、动脉粥样硬化、心血管和内分泌系统疾病具有潜在的保护作用<sup>[5-7]</sup>。丹参酮 IIA的抗癌作用及其潜在的分子机制已在多种体外癌细胞类型和体内肿瘤类型中进行了广泛研究<sup>[8]</sup>, 例如肝癌<sup>[9]</sup>、结肠癌<sup>[10]</sup>、膀胱癌<sup>[11]</sup>等。然而, 研究人员对丹参酮 IIA在甲状腺癌中的作用仍然知之甚少。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)癌易感性候选基因2(cancer susceptibility candidate 2, CASC2)位于 10q26号染色体, 据报道, CASC2在不同的肿瘤类型(包括甲状腺癌)中低表达, CASC2可作为抑癌基因, 对于癌症的诊断、治疗和预后具有重要意义<sup>[12-13]</sup>。基于此, 本研究评估丹参酮 IIA联合 CASC2对甲状腺癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响, 旨在为甲

状腺癌提供一种新颖的治疗策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞与试剂

甲状腺癌细胞 SW579购自 ATCC(American Type Culture Collection); Roswell Park Memorial Institute(RPMI)-1640培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 Gibco公司; 丹参酮 IIA购自中国食品药品检定研究院; 脂质体 Lipofectamine™ 2000、TRIZol试剂购自美国 Invitrogen公司; 反转录试剂盒购自美国 Thermo Scientific公司; Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物技术股份有限公司; P21、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3(CysteinyI aspartate specific proteinase 3, Caspase-3)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloprotease-2, MMP-2)抗体, HRP偶联的抗兔 IgG二抗和抗小鼠 IgG抗体购自英国 Abcam公司。

### 1.2 临床组织标本

本研究纳入了 2016年 12月至 2017年 11月在新疆医科大学附属肿瘤医院接受根治性手术的经病理检查证实为甲状腺肿瘤的 19例患者。患者入院前未

接受抗肿瘤治疗, 所有患者均在手术切除前提供了知情同意书, 并且该研究已获得医院伦理委员会的批准(批文号 AW33785)。将手术切除的甲状腺癌组织和匹配的癌旁组织(距离癌组织边缘大于 2 cm<sup>[14]</sup>)样本立即放入液氮中冷冻, 然后转移至 -80 °C 的冷冻室, 用于后续的RNA提取。

### 1.3 细胞培养

在37 °C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中, 用含10% FBS、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的RPMI-1640培养基对SW579细胞进行常规培养。每2~3天更换一次新鲜培养基。

### 1.4 脂质体转染与细胞处理

将SW579细胞以1×10<sup>5</sup>个/孔的密度接种到6孔板中, 转染前在无血清培养基中培养24 h。然后使用脂质体Lipofectamine™ 2000用不同的质粒(pcDNA3.1、pcDNA3.1-CASC2)转染细胞48 h。另用二甲基亚砜配制的不同浓度的丹参酮IIA处理细胞48 h: 药物浓度分别为1、2、4、8 μg/mL。将细胞分为: pcDNA3.1组(用pcDNA3.1质粒转染的细胞)、pcDNA3.1-CASC2组(用过表达的pcDNA3.1-CASC2质粒转染的细胞)、con组(用与丹参酮IIA等量的二甲基亚砜处理的细胞)、药物-1组(用1 μg/mL丹参酮IIA处理的细胞)、药物-2组(用2 μg/mL丹参酮IIA处理的细胞)、药物-3组(用4 μg/mL丹参酮IIA处理的细胞)、药物-4组(用8 μg/mL丹参酮IIA处理的细胞)、盐酸多柔比星组(用10 μg/mL盐酸多柔比星处理的细胞)、药物-4+pcDNA3.1组(用8 μg/mL丹参酮IIA处理和pcDNA3.1质粒转染的细胞)、药物-4+pcDNA3.1-CASC2组(用8 μg/mL丹参酮IIA处理和pcDNA3.1-CASC2质粒转染的细胞)。

### 1.5 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测CASC2表达

使用TRIzol提取组织或SW579细胞中的总RNA。使用反转录试剂盒将获得的总RNA反转录为cDNA。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)被用作内参基因。引物序列如下: CASC2正向引物5'-GCA CAT TGG ACG GTG TTT CC-3', 反向引物5'-CCC AGT CCT TCA CAG GTC AC-3'; GAPDH正向引物5'-AGC CAC ATC GCT CAG ACA C-3', 反向引物5'-GCC CAA TAC GAC CAA ATC C-3'。CASC2的表达情况通过2<sup>-ΔΔCt</sup>方法分析获得。

### 1.6 细胞计数试剂盒(CCK-8)检测细胞存活情况

将SW579细胞培养在96孔板上, 并分别进行不

同的处理。处理结束后, 向每孔中加入10 μL CCK-8试剂, 并在5% CO<sub>2</sub>的条件下于37 °C再孵育1 h。通过酶标仪在450 nm下测量吸光度(D)值。计算细胞存活率。存活率为(D实验组/D对照组)×100%。

### 1.7 平板克隆实验检测细胞克隆形成

将SW579细胞以600个/孔的密度接种在12孔板中, 然后进行不同的处理。每3天更换一次新鲜培养基。温育10~14天后, 用结晶紫染色、计数多于50个细胞的克隆数, 以测定细胞的克隆形成能力。

### 1.8 流式细胞术检测细胞凋亡

根据Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒制造商的方案收集细胞, 并用预冷的磷酸盐缓冲液洗涤细胞两次。此后, 在室温黑暗条件下, 将细胞用5 μL Annexin V-FITC和5 μL碘化丙啶(propidium iodide, PI)染色30 min。通过流式细胞术评估SW579细胞凋亡情况。

### 1.9 Transwell检测细胞迁移、侵袭

对于侵袭测定, 将SW579细胞(5×10<sup>4</sup>个)接种在Matrigel胶包被的Transwell上层室中。将不含10% FBS的RPMI-1640培养基添加到上腔室中, 并将含10% FBS的培养基添加到下腔室中以诱导细胞侵袭。24 h后, 用甲醛固定, 0.1%结晶紫将侵入的细胞染色。然后, 使用显微镜计数。对于迁移测定, Transwell上层室不使用Matrigel胶, 其余步骤参照细胞侵袭测定。

### 1.10 蛋白质印迹法(Western blot)检测P21、Caspase-3、E-cadherin、MMP-2蛋白表达

SW579细胞用含有蛋白酶抑制剂混合物的RIPA缓冲液裂解, 以1 2000 r/min离心20 min, 上清液用5×上样缓冲液(4:1)稀释并在95 °C下放置5 min, 然后于-80 °C保存。通过BCA法测定蛋白质浓度。将30 μg总蛋白裂解物进行SDS-PAGE并转膜。在室温下, 将膜用5%脱脂奶粉处理1 h。然后将膜与抗P21(1:1 000)、Caspase-3(1:1 000)、E-cadherin(1:1 000)、MMP-2(1:500)和GAPDH(1:5 000)的一抗孵育过夜。第二天, 清洗膜, 并用与HRP偶联的抗兔IgG二抗(1:10 000)或抗小鼠IgG抗体(1:10 000)在室温下孵育1 h。再次洗涤后, 使用增强的ECL化学发光系统进行印迹检测。

### 1.11 统计学分析

数据采用SPSS 22.0软件进行统计和分析, 结果表示为 $\bar{x} \pm s$ 。两组间数据比较采用t检验, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用SNK-q检验, P<0.05代表差异显著。

## 2 结果

### 2.1 CASC2在甲状腺癌中的表达

利用qRT-PCR检测19对甲状腺癌组织与癌旁组织中CASC2的表达, 数据显示, 与癌旁组织相比, 19例甲状腺癌组织中的CASC2表达量显著减少( $P < 0.05$ , 图1), 提示CASC2可能与甲状腺癌的发生发展有关。

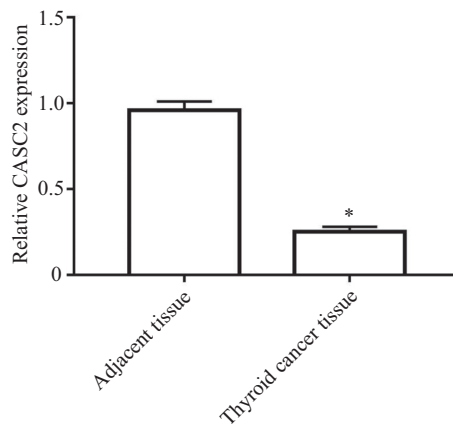
### 2.2 过表达CASC2结果的鉴定及其对SW579细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭的影响

qRT-PCR对过表达CASC2鉴定的结果显示, 在转染pcDNA3.1-CASC2-A和转染pcDNA3.1-CASC2-B的细胞中, CASC2表达量明显高于转染pcDNA3.1的细胞( $P < 0.05$ , 图2)。qRT-PCR检测结果表明, 与pcDNA3.1组相比, 过表达CASC2明显增加了CASC2表达量; CCK-8检测结果表明, 过表达CASC2显著降低了

细胞存活率; 细胞克隆检测结果表明, 过表达CASC2显著减少了克隆形成数; 流式细胞术检测结果表明, 过表达CASC2明显提高了细胞凋亡率; Transwell检测结果表明, 过表达CASC2显著减少了迁移细胞数和侵袭细胞数; Western blot检测结果表明, 过表达CASC2明显提高了P21、Caspase-3、E-cadherin蛋白表达量, 降低了MMP-2蛋白水平( $P < 0.05$ , 图3)。

### 2.3 丹参酮IIA及丹参酮IIA联合CASC2对SW579细胞增殖、凋亡的影响

CCK-8、细胞克隆、流式细胞术、Western blot检测结果表明, 与con组相比, 1、2、4、8  $\mu\text{g/mL}$ 丹参酮IIA和10  $\mu\text{g/mL}$ 盐酸多柔比星处理的SW579细胞存活率、克隆形成数明显降低, 细胞凋亡率及以P21、Caspase-3蛋白表达水平显著提高, 丹参酮IIA的作用

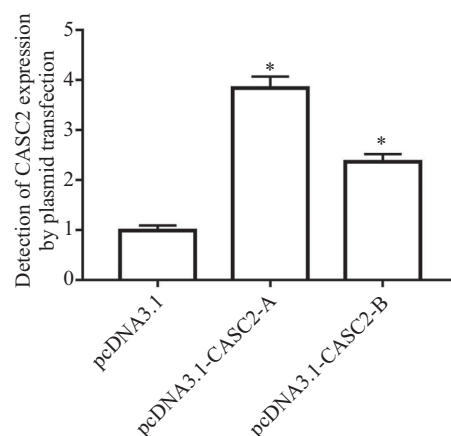


\* $P < 0.05$ , 与癌旁组织相比。

\* $P < 0.05$  compared with the adjacent tissue.

图1 CASC2在甲状腺癌中的表达

Fig.1 Expression of CASC2 in thyroid cancer

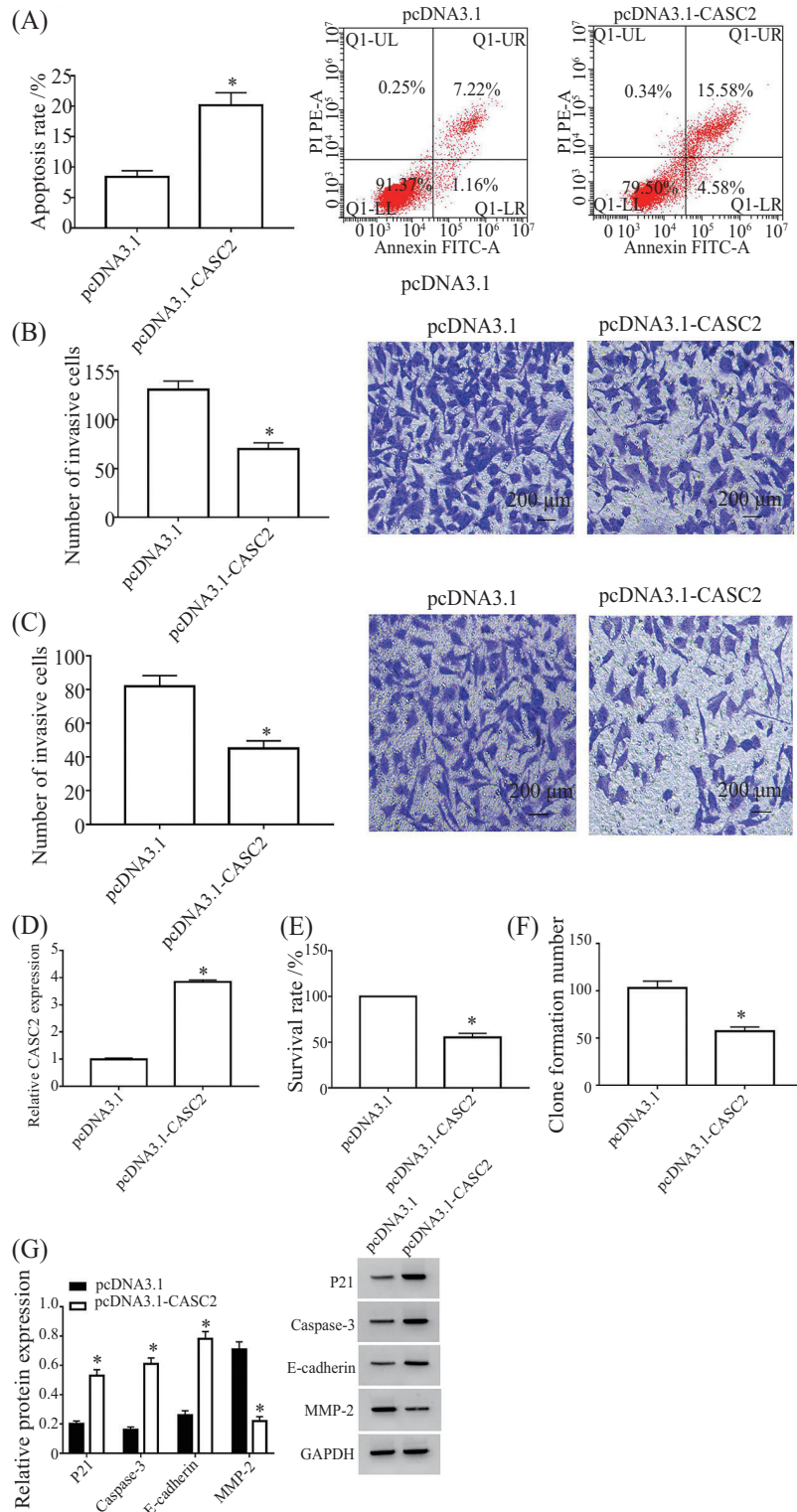


\* $P < 0.05$ , 与pcDNA3.1组相比。

\* $P < 0.05$  compared with the pcDNA3.1 group.

图2 质粒转染对CASC2表达水平的影响

Fig.2 Effect of plasmid transfection on the expression level of CASC2



A: 流式细胞术检测过表达CASC2对SW579细胞凋亡的影响; B、C: Transwell检测过表达CASC2对SW579细胞迁移、侵袭的影响; D: qRT-PCR检测CASC2过表达后的CASC2水平; E: CCK-8法检测CASC2表达对SW579细胞存活率的影响; F: 克隆形成实验检测CASC2过表达对SW579细胞克隆形成数的影响; G: Western blot检测P21、Caspase-3、E-cadherin和MMP-2的表达。\* $P < 0.05$ , 与pcDNA3.1组相比。

A: the effect of CASC2 overexpression on SW579 cell apoptosis was detected by flow cytometry; B,C: Transwell was used to detect the effects of CASC2 overexpression on the migration and invasion of SW579 cells; D: detection of CASC2 level after overexpression of CASC2 by qRT-PCR; E: CCK-8 method was used to detect the effect of CASC2 expression on the survival rate of SW579 cells; F: colony formation assay was used to detect the effect of CASC2 overexpression on the colony formation number of SW579 cells; G: Western blot was used to detect the expression of P21, Caspase-3, E-cadherin and MMP-2. \* $P < 0.05$  compared with the pcDNA3.1 group.

图3 过表达CASC2对SW579细胞凋亡、迁移、侵袭的影响

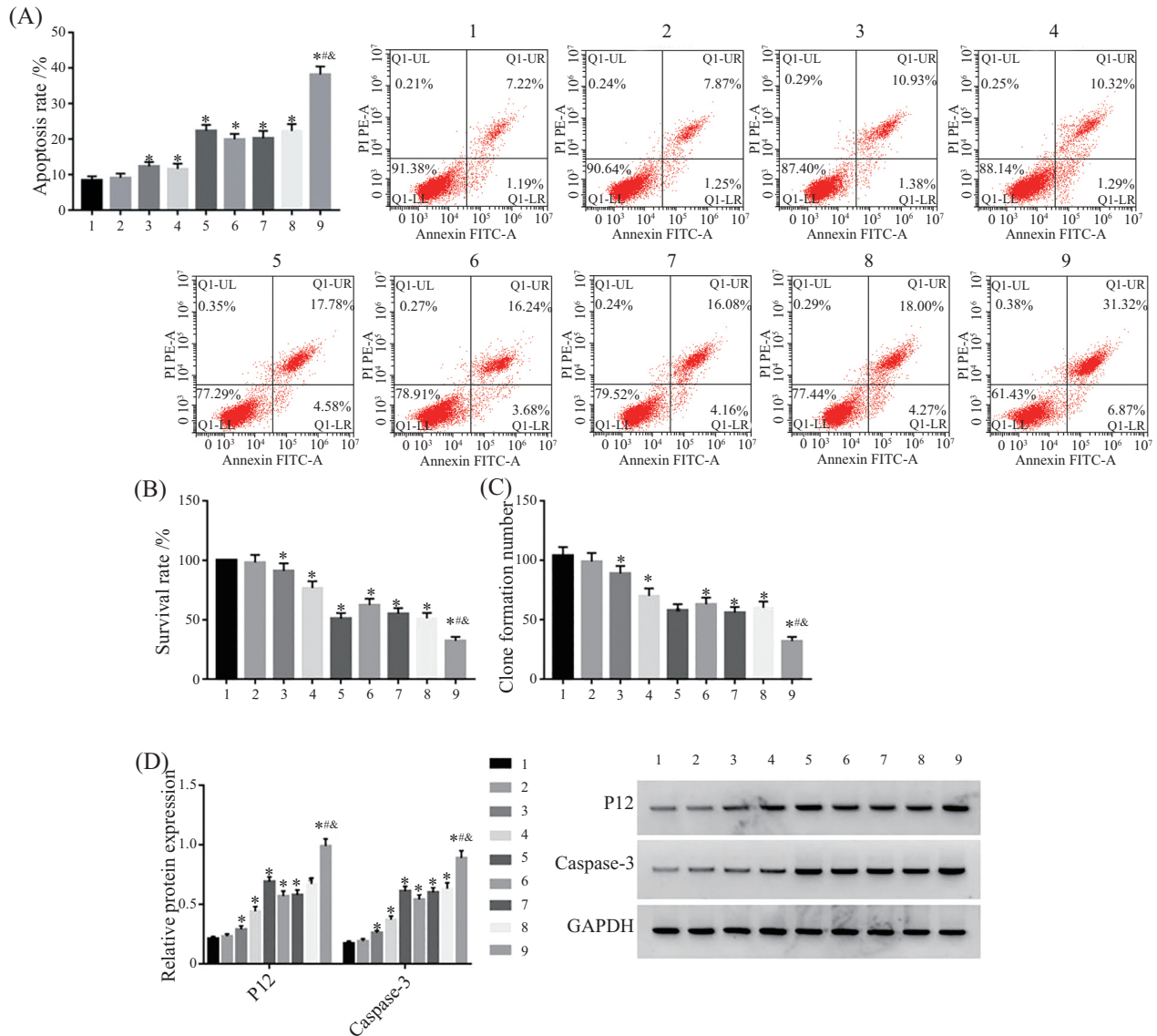
Fig.3 Effects of CASC2 overexpression on the apoptosis, migration and invasion of SW579 cells

均呈浓度依赖性 ( $P < 0.05$ , 图4)。与药物-4 (8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  丹参酮 IIA) 联合 pcDNA3.1 组相比, 丹参酮 IIA 联合 CASC2 明显降低 SW579 细胞的存活率、克隆形成数, 显著增加细胞凋亡率以及 P21、Caspase-3 的蛋白表

达量 ( $P < 0.05$ , 图4)。

## 2.4 丹参酮 IIA 及丹参酮 IIA 联合 CASC2 对 SW579 细胞迁移、侵袭的影响

Transwell、Western blot 检测结果显示, 与对照组

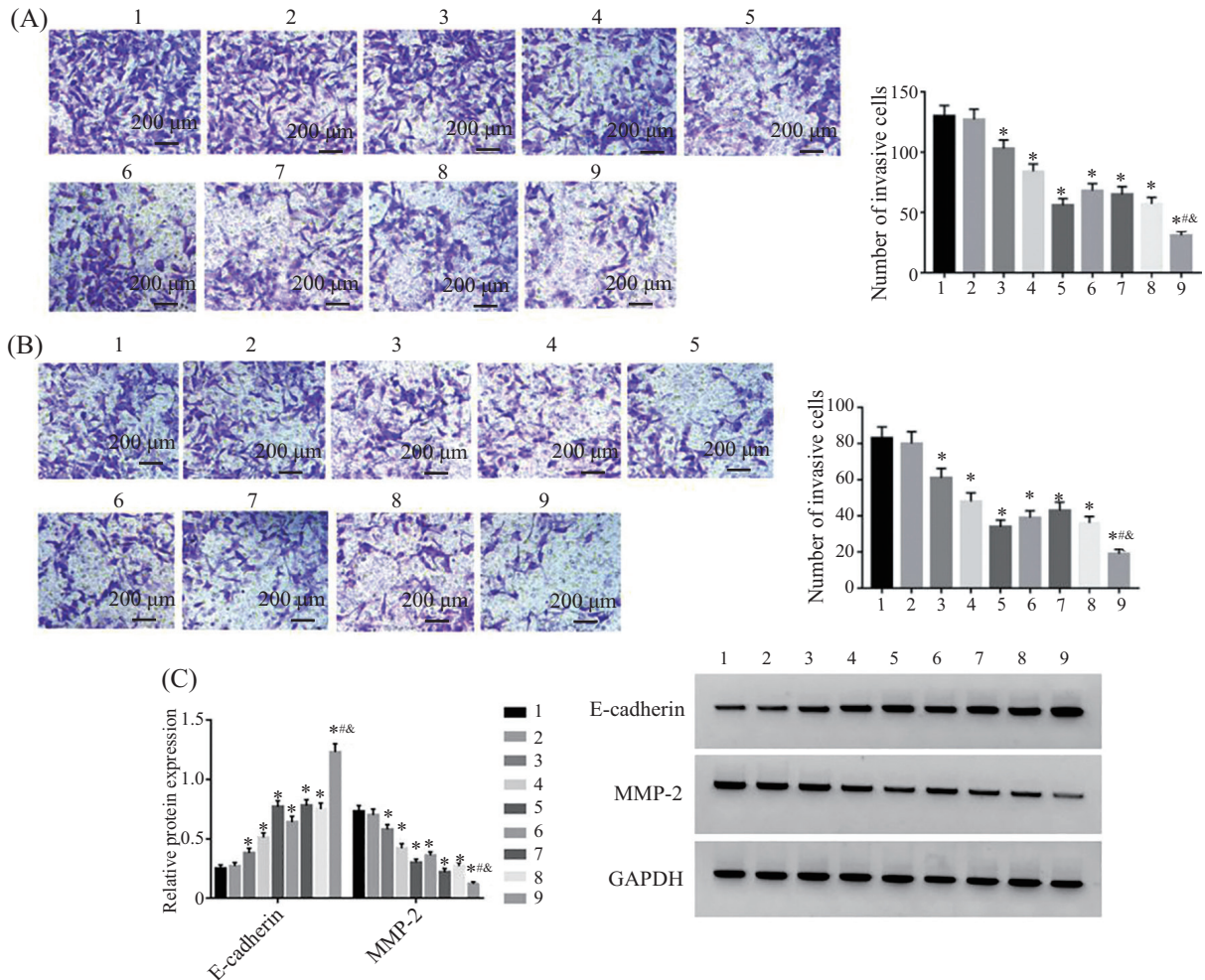


A: 流式细胞术检测丹参酮 IIA 及丹参酮 IIA 联合 CASC2 对 SW579 细胞凋亡的影响; B: CCK-8 法检测丹参酮 IIA 及丹参酮 IIA 联合 CASC2 对 SW579 细胞存活率的影响; C: 克隆形成实验检测丹参酮 IIA 及丹参酮 IIA 联合 CASC2 对 SW579 克隆形成数的影响; D: 蛋白质印迹法检测 P21、Caspase-3 蛋白的表达。\* $P < 0.05$ , 与 con 组相比; # $P < 0.05$ , 与 pcDNA3.1-CASC2 组相比; & $P < 0.05$ , 与药物-4+pcDNA3.1 组相比。1: con; 2: 药物-1; 3: 药物-2; 4: 药物-3; 5: 药物-4; 6: 盐酸多柔比星; 7: pcDNA3.1-CASC2; 8: 药物-4+pcDNA3.1; 9: 药物-4+pcDNA3.1-CASC2。药物-1: 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  丹参酮 IIA; 药物-2: 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  丹参酮 IIA; 药物-3: 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  丹参酮 IIA; 药物-4: 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  丹参酮 IIA。

A: the effects of tanshinone IIA and tanshinone IIA combined with CASC2 on the apoptosis of SW579 cells were detected by flow cytometry; B: CCK-8 method was used to detect the effect of tanshinone IIA and tanshinone IIA combined with CASC2 on the survival rate of SW579 cells; C: colony formation assay was used to detect the effect of tanshinone IIA and tanshinone IIA combined with CASC2 on the clone formation number of SW579 cells; D: the expression of P21 and Caspase-3 was detected by Western blot. \* $P < 0.05$  compared with con group; # $P < 0.05$  compared with pcDNA3.1-CASC2 group; & $P < 0.05$  compared with medicine-4+pcDNA3.1 group. 1: con; 2: medicine-1; 3: medicine-2; 4: medicine-3; 5: medicine-4; 6: doxorubicin hydrochloride; 7: pcDNA3.1-CASC2; 8: medicine-4+pcDNA3.1; 9: medicine-4+pcDNA3.1-CASC2. medicine-1: 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA; medicine-2: 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA; medicine-3: 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA; medicine-4: 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  tanshinone IIA.

图4 丹参酮 IIA 及丹参酮 IIA 联合 CASC2 对 SW579 细胞增殖、凋亡的影响

Fig.4 Effects of tanshinone IIA and tanshinone IIA combined with CASC2 on the proliferation and apoptosis of SW579 cells



A、B: Transwell检测丹参酮IIA及丹参酮IIA联合CASC2对SW579迁移、侵袭的影响; C: 蛋白质印迹法检测E-cadherin、MMP-2蛋白的表达。  
\* $P < 0.05$ , 与con组相比; # $P < 0.05$ , 与pcDNA3.1-CASC2组相比; & $P < 0.05$ , 与药物-4+pcDNA3.1组相比。1: con; 2: 药物-1; 3: 药物-2; 4: 药物-3; 5: 药物-4; 6: 盐酸多柔比星; 7: pcDNA3.1-CASC2; 8: 药物-4+pcDNA3.1; 9: 药物-4+pcDNA3.1-CASC2。

A,B: Transwell was used to detect the effects of tanshinone IIA and tanshinone IIA combined with CASC2 on migration and invasion of SW579 cells; C: the expression of E-cadherin and MMP-2 was detected by Western blot. \* $P < 0.05$  compared with con group; # $P < 0.05$  compared with pcDNA3.1-CASC2 group; & $P < 0.05$  compared with medicine-4+pcDNA3.1 group. 1: con; 2: medicine-1; 3: medicine-2; 4: medicine-3; 5: medicine-4; 6: doxorubicin hydrochloride; 7: pcDNA3.1-CASC2; 8: medicine-4+pcDNA3.1; 9: medicine-4+pcDNA3.1-CASC2.

图5 丹参酮IIA及丹参酮IIA联合CASC2对SW579细胞迁移、侵袭及E-cadherin、MMP-2蛋白表达的影响  
Fig.5 Effects of tanshinone IIA and tanshinone IIA combined with CASC2 on the migration, invasion and protein expression of E-cadherin and MMP-2 of SW579 cells

相比, 1、2、4、8  $\mu\text{g/mL}$ 丹参酮IIA和10  $\mu\text{g/mL}$ 盐酸多柔比星明显降低SW579细胞的迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白表达量, 显著增加E-cadherin蛋白表达量, 且丹参酮IIA的作用均呈浓度依赖性( $P < 0.05$ , 图5)。与药物-4(丹参酮IIA 8  $\mu\text{g/mL}$ )联合pcDNA3.1组相比, 丹参酮IIA联合CASC2明显降低SW579细胞的迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白表达量, 而显著提高E-cadherin蛋白水平( $P < 0.05$ , 图5)。

### 3 讨论

甲状腺癌是一种甲状腺恶性肿瘤, 其发病率在

过去的几十年里迅速升高<sup>[15]</sup>。甲状腺癌在女性中更为普遍, 在大多数地理区域和人口群体中, 男女比例为1:3<sup>[16]</sup>。该肿瘤的主要症状是淋巴结肿大与颈部前部疼痛。现阶段, 用于治疗甲状腺癌的主要方法包括外科手术、放射疗法和化学疗法。然而, 这些治疗策略具有某些副作用。因此, 寻找新型有效治疗药物仍然是甲状腺癌研究的重中之重。本项研究发现, 丹参酮IIA联合CASC2可以有效抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭以及诱导凋亡, 显示出一定的抗肿瘤活性。

越来越多的证据表明, CASC2在各种类型的

癌症中起着关键的调节作用。如CASC2在宫颈癌组织和细胞系中明显下调,CASC2过表达显著抑制宫颈癌细胞增殖、迁移、浸润和血管生成,而抑制CASC2则具有相反的作用<sup>[17]</sup>。在肝癌组织和细胞系中,CASC2被下调,CASC2的过表达抑制了肝癌细胞的细胞活力、集落形成、迁移、侵袭,以及Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路活性<sup>[18]</sup>。本研究检测到CASC2的表达在甲状腺癌组织中明显下调,与前人研究<sup>[13]</sup>一致,提示CASC2在甲状腺癌中具有潜在的抗肿瘤功能。此项研究的功能实验结果与XIONG等<sup>[12]</sup>的报告相符,即过表达CASC2可明显降低甲状腺癌SW579细胞的存活率和克隆形成数。此外,过表达CASC2还可降低甲状腺癌SW579细胞的迁移细胞数、侵袭细胞数和MMP-2蛋白表达量,而提高细胞凋亡率、P21、Caspase-3、E-cadherin蛋白表达量,这与XU等<sup>[19]</sup>报道的CASC2的过表达抑制胰腺癌细胞迁移、侵袭和促进细胞凋亡一致,证实CASC2可以抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡,CASC2可以作为甲状腺癌的潜在预后标志物和治疗靶标。

丹参酮IIA是中药丹参中主要的活性成分之一,由于其潜在的抗肿瘤活性,在癌症治疗中引起了广泛关注。丹参酮IIA的抗肿瘤作用已在多种癌细胞系中得到证实,包括肝癌<sup>[20]</sup>、肺癌<sup>[21]</sup>、结直肠癌<sup>[22]</sup>、鼻咽癌<sup>[23]</sup>、卵巢癌<sup>[24]</sup>等。既往研究表明,丹参酮IIA可以通过调节各种肿瘤细胞生长、细胞凋亡、侵袭和耐药性等发挥抗肿瘤作用<sup>[25]</sup>。因此,丹参酮IIA在癌症治疗中具有治疗潜力。然而,丹参酮IIA对甲状腺癌的功能仍然未知。本研究中,丹参酮IIA明显降低甲状腺癌SW579细胞的存活率、克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白水平,显著提高细胞凋亡率以及P21、Caspase-3、E-cadherin蛋白表达水平,且均呈浓度依赖性,说明丹参酮IIA具有一定的抗甲状腺癌作用。

lncRNA已被报道参与药物的抗癌过程<sup>[26]</sup>。药物治疗是肿瘤治疗的关键方法,其中,化学药物联合靶向药物治疗对局限性肿瘤治愈率具有良好的提升效果<sup>[27]</sup>。资料显示,冬凌草甲素和siAFAP1-AS1的组合可抑制胰腺癌细胞的增殖,诱导凋亡,阻滞细胞周期进程,阻止迁移<sup>[28]</sup>。本实验中,丹参酮IIA联合CASC2明显降低SW579细胞的存活率、克隆形成数、迁移细胞数、侵袭细胞数、MMP-2蛋白表达量,显

著提高细胞凋亡率、P21、Caspase-3和E-cadherin蛋白水平,表明丹参酮IIA联合CASC2可以有效抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,以及诱导细胞凋亡,为甲状腺癌的临床治疗提供了新思路。

综上所述,丹参酮IIA可以抑制甲状腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,并促进细胞凋亡,显示出一定的抗肿瘤活性。另外,丹参酮IIA联合CASC2对甲状腺癌同样具有抑制作用,这表明了丹参酮IIA在预防和治疗甲状腺癌方面的潜力。

### 参考文献 (References)

- [1] WANG T S, SOSA J A. Thyroid surgery for differentiated thyroid cancer—recent advances and future directions [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(11): 670-83.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [3] POZDEYEV N, GAY L M, SOKOL E S, et al. Genetic analysis of 779 advanced differentiated and anaplastic thyroid cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(13): 3059-68.
- [4] LI Z, XU S, LIU P. *Salvia miltiorrhiza* Burge (Danshen): a golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(5): 802-24.
- [5] HUANG L, ZHU J, ZHENG M, et al. Tanshinone IIA protects against subclinical lipopolysaccharide induced cardiac fibrosis in mice through inhibition of NADPH oxidase [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 60: 59-63.
- [6] LUO H, VONG C T, CHEN H, et al. Naturally occurring anticancer compounds: shining from Chinese herbal medicine [J]. *Chin Me*, 2019, 14(1): 48-105.
- [7] ZHANG L, LIN W, CHEN X, et al. Tanshinone IIA reverses EGF-and TGF- $\beta$ 1-mediated epithelial-mesenchymal transition in HepG2 cells via the PI3K/Akt/ERK signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(6): 6554-62.
- [8] CAO Y, WANG S, LI X, et al. The anticancer mechanism investigation of Tanshinone II A by pharmacological clustering in protein network [J]. *BMC Syst Biol*, 2018, 12(1): 90-101.
- [9] 袁建华, 李伟学, 田宋君. 丹参酮IIA与人肝癌细胞HepG2体外增殖和凋亡的相关性[J]. *中国现代普通外科进展* (YUAN J H, LI W X, TIAN S J. Correlation between Tanshinone IIA and human hepatocarcinoma cell HepG2 proliferation and apoptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Advan Mod General Surg Chin*), 2019, 22(7): 505-9.
- [10] ZHANG Y, GE T, XIANG P, et al. Tanshinone IIA reverses oxaliplatin resistance in human colorectal cancer via inhibition of ERK/Akt signaling pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 9725-34.
- [11] 吴云涛, 唐晨野, 郭晓, 等. 丹参酮IIA对人膀胱癌J82细胞增殖、凋亡、侵袭及迁移的影响[J]. *浙江医学* (WU Y T, TANG C Y, GUO X, et al. Effects of Tanshinone IIA on the proliferation, apoptosis, invasion and migration of human bladder cancer J82 cells [J]. *Zhejiang Med*), 2019, doi: 10.12056/j.isn.1006-2785.2019.41.13.2018-2356.
- [12] XIONG X, ZHU H, CHEN X. Low expression of long noncod-



- ing RNA *CASC2* indicates a poor prognosis and promotes tumorigenesis in thyroid carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 391-7.
- [13] 杨钊. 长链非编码RNA *CASC2*抑制肿瘤发生发展的研究概况 [J]. *实用肿瘤学杂志*(YANG Z. Research overview of long-chain non-coding RNA *CASC2* inhibiting tumorigenesis and development [J]. *J Practic Oncol*), 2018, 32(2): 179-83.
- [14] 翁侠, 洪晓明. LincRNA-PVT1在甲状腺癌组织中的表达及意义 [J]. *实用肿瘤杂志*(WENG X, HONG X M. Expression and significance of LincRNA-PVT1 in thyroid carcinoma tissues [J]. *J Practic Oncol*), 2017, 32(1): 57-61.
- [15] FANG L, XU W, KONG D. Icariin inhibits cell proliferation, migration and invasion by down-regulation of microRNA-625-3p in thyroid cancer cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2456-63.
- [16] SEIB C D, SOSA J A. Evolving understanding of the epidemiology of thyroid cancer [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2019, 48(1): 23-35.
- [17] WANG X W, ZHANG W. Long non-coding RNA cancer susceptibility candidate 2 inhibits the cell proliferation, invasion and angiogenesis of cervical cancer through the MAPK pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(8): 3261-9.
- [18] SUN J, LIU L, ZOU H, et al. The long non-coding RNA *CASC2* suppresses cell viability, migration, and invasion in hepatocellular carcinoma cells by directly downregulating miR-183 [J]. *Yonsei Med J*, 2019, 60(10): 905-13.
- [19] XU D F, WANG L S, ZHOU J H. Long non-coding RNA *CASC2* suppresses pancreatic cancer cell growth and progression by regulating the miR-24/MUC6 axis [J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(2): 494-507.
- [20] MA L, JIANG H, XU X, et al. Tanshinone IIA mediates SMAD7-YAP interaction to inhibit liver cancer growth by inactivating the transforming growth factor beta signaling pathway [J]. *Aging*, 2019, 11(21): 9719-37.
- [21] LIAO X Z, GAO Y, HUANG S, et al. Tanshinone IIA combined with cisplatin synergistically inhibits non-small-cell lung cancer *in vitro* and *in vivo* via down-regulating the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signalling pathway [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(9): 2298-309.
- [22] HE L, GU K. Tanshinone IIA regulates colorectal cancer apoptosis via attenuation of Parkin-mediated mitophagy by suppressing AMPK/Skp2 pathways [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 1692-703.
- [23] ZHOU M, ZHOU G, HU S H, et al. Tanshinone IIA suppress the proliferation of HNE-1 nasopharyngeal carcinoma an *in vitro* study [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2018, 25(2): 267-72.
- [24] LI N, YANG L, ZHANG B, et al. Tanshinone IIA effects on ovarian cancer cell line [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2018, 70(10): 1369-77.
- [25] LIU Z, ZHU W, KONG X, et al. Tanshinone IIA inhibits glucose metabolism leading to apoptosis in cervical cancer [J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(5): 1893-903.
- [26] 贾婷婷, 周菊华, 李延敏, 等. 中药活性成分介导的lncRNA在抗肿瘤方面的研究 [J]. *中西医结合心血管病杂志(电子版)*(JIA T T, ZHOU J H, LI Y M, et al. Research on anti-tumor effects of lncRNA mediated by active ingredients of traditional Chinese medicine [J]. *J Integra Trad Chin Western Med Cardiovascul Dis, Elect Edit*), 2018, 6(10): 14-6.
- [27] 苏晓倩, 徐渴阳, 包剑锋, 等. LncRNA HOTAIR与肿瘤耐药的研究进展 [J]. *中国卫生检验杂志*(SU X Q, XU K Y, BAO J F, et al. Research progress of lncRNA HOTAIR and tumor resistance [J]. *Chin J Health Lab Sci*), 2019, 29(24): 3069-71.
- [28] LOU S, XU J, WANG B, et al. Downregulation of lncRNA AFAP1-AS1 by oridonin inhibits the epithelial-to-mesenchymal transition and proliferation of pancreatic cancer cells [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2019, 51(8): 814-25.