

毛兰素通过调节Fas/FasL信号通路对甲状腺癌 TPC-1细胞增殖、凋亡及上皮-间质转化的影响

高丹¹ 赵绍青² 高晓伟^{3*}¹衡水市第四人民医院普外科, 衡水 053000; ²沧州中西医结合医院普通外科, 沧州 061000;³唐山职业技术学院附属医院普外一科, 唐山 063000)

摘要 该文研究毛兰素通过调节Fas/FasL信号通路对甲状腺癌TPC-1细胞增殖、凋亡及上皮-间质转化(EMT)的影响。体外培养人甲状腺癌细胞TPC-1并建立其皮下移植瘤与肺转移模型裸鼠, 再将其随机分为对照组、毛兰素组、毛兰素+si-NC组、毛兰素+si-Fas组。均用毛兰素、Fas siRNA阴性对照以及Fas siRNA分组干预后, 采用CCK-8法与平板克隆形成实验检测各组TPC-1细胞增殖能力; 分别采用流式细胞实验、Transwell实验检测各组TPC-1细胞凋亡与转移能力; 采用免疫组化检测各组TPC-1细胞凋亡与EMT相关蛋白表达情况; 测定各组皮下移植瘤模型裸鼠瘤体体积以及肺转移模型裸鼠肺结节数; 采用免疫组化检测各组TPC-1裸鼠皮下移植瘤组织EMT相关蛋白表达情况; Western blot检测各组TPC-1细胞以及裸鼠皮下移植瘤、肺结节组织Fas/FasL信号通路蛋白表达情况。结果显示, 与对照组相比, 毛兰素组、毛兰素+si-NC组细胞的 D_{450} 、克隆数、迁移数、侵袭数以及瘤体体积与肺结节数、N-cadherin阳性率均减少($P<0.05$), 而凋亡率、E-cadherin表达量、caspase3表达量、Bax阳性率、Fas表达量和FasL表达量均增加($P<0.05$)。与毛兰素组相比, 毛兰素+si-Fas组细胞的 D_{450} 、克隆数、迁移数、侵袭数以及瘤体体积、肺结节数、N-cadherin阳性率均增加($P<0.05$), 而凋亡率、E-cadherin表达量、caspase3表达量、Bax阳性率、Fas表达量和FasL表达量均减少($P<0.05$); 毛兰素+si-NC组各指标无明显变化($P>0.05$)。由此说明, 毛兰素可诱导甲状腺癌细胞凋亡并抑制其增殖及EMT, 可能是通过激活Fas/FasL信号通路实现的。

关键词 毛兰素; Fas/FasL; 甲状腺癌; 增殖; 凋亡; 上皮-间质转化

The Impacts of Erianin on the Proliferation, Apoptosis, and Epithelial-Mesenchymal Transition of Thyroid Cancer TPC-1 Cells by Regulating the Fas/FasL Signaling Pathway

GAO Dan¹, ZHAO Shaoqing², GAO Xiaowei^{3*}¹General Surgery Department of Hengshui Fourth People's Hospital, Hengshui 053000, China;²Cangzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital General Surgery Department, Cangzhou 061000, China;³Tangshan Vocational and Technical College Affiliated Hospital General Surgery Department, Tangshan 063000, China)

Abstract This study aims to research the effect of Erianin on the proliferation, apoptosis, and EMT (epithelial-mesenchymal transition) of thyroid cancer TPC-1 cells by regulating the Fas/FasL signaling pathway. Human thyroid cancer cell line TPC-1 was cultured *in vitro*, and its subcutaneous transplant tumor and lung metastasis

收稿日期: 2025-07-07

接受日期: 2025-08-30

河北省2025年度医学科学研究课题计划(批准号: 20251234)资助的课题

*通信作者。Tel: 18034055521, E-mail: gxw19832000@126.com

Received: July 7, 2025

Accepted: August 30, 2025

This work was supported by the Hebei Province 2025 Medical Science Research Project Plan (Grant No.20251234)

*Corresponding author. Tel: +86-18034055521, E-mail: gxw19832000@126.com

model was established in nude mice. The mice were assigned into a control group, a Erianin group, a Erianin+si-NC group, and a Erianin+si-Fas group randomly. After grouping intervention with Erianin, Fas siRNA negative control and Fas siRNA, the CCK-8 method and plate clone formation experiment were used to detect the proliferation ability of TPC-1 cells. Flow cytometry and Transwell assays were used to detect the apoptosis and metastasis abilities of TPC-1 cells. Immunohistochemistry was used to detect the apoptosis and EMT related proteins of TPC-1 cells in each group. The volume of subcutaneous transplanted tumor models in nude mice and the number of lung nodules in nude mice with lung metastasis models in each group were measured. Immunohistochemistry was used to detect the EMT related proteins in subcutaneous transplanted tumors of TPC-1 nude mice in each group. Western blot was used to detect the Fas/FasL signaling pathway proteins in TPC-1 cells in various groups, subcutaneous transplanted tumors, and lung nodule tissues of nude mice. The results showed that compared with the control group, the Erianin group and Erianin+si-NC group showed a decrease in cell D_{450} , clone number, migration number, invasion number, tumor volume, lung nodule number, and N-cadherin positivity rate ($P<0.05$), and an increase in apoptosis rate, E-cadherin, caspase3, Bax positivity rate, the Fas and FasL ($P<0.05$). Compared with the Erianin group, the Erianin+si-Fas group showed an increase in cell D_{450} , clone number, migration number, invasion number, tumor volume, lung nodule number, and N-cadherin positivity rate ($P<0.05$), and a decrease in apoptosis rate, E-cadherin, caspase3, Bax positivity rate, the Fas and FasL ($P<0.05$); there were no prominent changes in various indicators in the Erianin+si-NC group ($P>0.05$). This indicates that Erianin can induce apoptosis of thyroid cancer cells and inhibit their proliferation and EMT, possibly by activating the Fas/FasL signaling pathway.

Keywords Erianin; Fas/FasL; thyroid cancer; proliferation; apoptosis; epithelial-mesenchymal transition

甲状腺癌是最常见的内分泌系统恶性肿瘤之一,主要有乳头状甲状腺癌、滤泡状甲状腺癌、髓样甲状腺癌等分型。其中乳头状甲状腺癌是最常见的类型,恶性程度较低,治疗后总体预后良好,但易发生颈部淋巴结转移,许多患者会出现复发或远处转移,严重损害患者身体健康,因此探索新型的甲状腺癌治疗办法临床意义重大^[1-2]。毛兰素是在石斛提取物中发现的一种天然联苳基化合物,可呈现明显的抗癌特性,能抑制胃癌细胞的体内外生长及上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[3],还可诱导肺癌细胞凋亡、细胞周期停滞以及抑制细胞增殖^[4],但毛兰素对甲状腺癌细胞增殖是否具有抑制作用,尚不清楚。Fas/FasL是一种主要的细胞凋亡调节细胞通路,在恶性肿瘤发生、进展、转移以及治疗中起关键作用,在天然抗癌物质大蒜素诱导癌细胞凋亡过程中发挥重要调控作用^[5-6]。研究显示,激活Fas/FasL信号通路可有效抑制结肠癌细胞增殖并诱导其细胞凋亡^[7],Fas与FasL结合后能通过激活死亡机制来诱导甲状腺癌细胞凋亡^[8],基于此研究背景,可知靶向Fas/FasL信号通路进行药理干预可作为有前景的甲状腺癌治疗措施。此外,KOCOGLU等^[9]的研究显示,毛兰素可显著增强带有

死亡结构域的Fas结合蛋白表达能力,进而抑制神经母细胞瘤细胞的增殖、侵袭和迁移,由此推测,靶向调控Fas/FasL信号通路也可能是毛兰素发挥抗癌功效的药理机制。本研究以毛兰素干预人甲状腺癌细胞TPC-1以及其皮下移植瘤与肺转移裸鼠模型,探究毛兰素对甲状腺癌增殖、凋亡及EMT的作用,并基于Fas/FasL信号通路阐释其药理机制,为毛兰素应用于甲状腺癌的临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞与动物 人甲状腺癌TPC-1细胞(货号C5159)购自浙江百迪生物科技有限公司。

BALB/c裸鼠[周龄5~6周、SPF级、体质量18~20g、雌性、SCXK(川)2020-034]购自江苏药康生物科技股份有限公司,饲养在SPF级环境中,饲养条件:温度23℃~26℃、空气流通顺畅、相对湿度55%~65%、昼夜(12 h/12 h)交替。本研究符合衡水市第四人民医院伦理委员会动物伦理要求,伦理号:伦审[2024]第001号。

1.1.2 试剂与材料 中药对照品毛兰素(纯度≥98%,货号A1021)购自成都曼思特生物科技有限

公司; RPMI-1640基础培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Gibco公司; Fas siRNA阴性对照以及Fas siRNA购自上海典君生物科技有限公司; 龙胆紫溶液, CCK-8试剂盒, HRP-山羊抗兔二抗, Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒, Anti-Fas、E-cadherin、caspase3、Bax、 β -actin、N-cadherin与FasL兔源抗人一抗购自英国Abcam公司; 免疫组化试剂盒购自上海通蔚实业有限公司等。

1.1.3 主要仪器 倒置生物显微镜(型号BM-37XB)购自上海垒固仪器有限公司; 全自动酶标仪(型号F.A.M.E.16/20)购自瑞士Hamilton公司; 流式细胞仪(型号MACSQuant[®] X)购自德国Miltenyi Biotec公司; 石蜡组织切片机(型号RM2016)购自德国Leica公司; 蛋白电泳转印套装(型号PowerEase[™] Touch 350W)购自美国ThermoFisher Scientific公司等。

1.2 方法

1.2.1 毛兰素对TPC-1细胞的最佳作用浓度筛选细胞培养: TPC-1细胞快速解冻、复苏、洗涤后用RPMI-1640+10% FBS培养基培养, 于37 °C、5% CO₂培养箱内培养, 每2天换一次液, 细胞融合度为80%左右时以1:2的比例传代, 后续实验使用传代2次的细胞。

于96孔板接种TPC-1细胞, 接种密度为 1×10^4 /孔, 生长至对数期时用终浓度10、20、40、50、60 nmol/L的毛兰素干预48 h^[10], 用CCK-8工作试剂干预2 h后于酶标仪内测定450 nm波长处吸光度值, 记为 D_{450} , 作为细胞活力强度评断指标。

1.2.2 分组干预TPC-1细胞 于24孔板接种TPC-1细胞, 接种密度为 1×10^5 /孔, 生长至对数期时随机分为4组, 用终浓度40 nmol/L的毛兰素干预的组设为毛兰素组, 用终浓度40 nmol/L的毛兰素干预的同时转染Fas siRNA阴性对照的组设为毛兰素+si-NC组, 用终浓度40 nmol/L的毛兰素干预的同时转染Fas siRNA的组设为毛兰素+si-Fas组, 不做任何干预的组设为对照组, 各组细胞均干预48 h。

1.2.3 以CCK-8法与平板克隆形成实验检测各组TPC-1细胞增殖能力 CCK-8法: 于96孔板接种TPC-1细胞, 接种密度为 1×10^4 /孔, 生长至对数期时按“1.2.2”中方法分组干预, 然后以“1.2.1”中CCK-8实验方法检测各组细胞活力(D_{450})。

平板克隆形成实验: 分组干预后的各组TPC-1细胞用PBS洗涤后制为单细胞悬液, 计数、稀释后接种在24孔板, 接种密度为100/孔, 培养2周后37 °C下用

PBS洗涤5 min、95%乙醇固定25 min、龙胆紫溶液染色5 min, 镜下拍照, 计数各组形成的细胞克隆数。

1.2.4 以流式细胞实验、Transwell实验分别检测各组TPC-1细胞凋亡与转移能力 流式细胞实验: 分组干预后的各组TPC-1细胞用PBS洗涤后制为单细胞悬液, 计数、稀释后每组取 5×10^5 个细胞, 分别孵育以预冷PBS稀释的Annexin V-FITC、PI进行双染, 37 °C下孵育15 min, 以预冷PBS洗涤后使用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

Transwell实验: 分组干预后的各组TPC-1细胞用PBS洗涤后制为单细胞悬液, 计数、稀释后进行细胞迁移与侵袭检测, 用来评定各组细胞转移能力。每组取 5×10^5 个TPC-1细胞接种在Transwell小室上层且培养基内不含血清, 同时将含20%血清的培养基添加到小室下层, 培养24 h后37 °C下用PBS洗涤5 min、95%乙醇固定下层细胞25 min后以龙胆紫溶液染色5 min, 流水冲洗并进行干燥处理后镜下拍照, 计数各组细胞迁移数; 检测细胞侵袭数时Transwell小室用基质胶进行提前包被, 其余操作与迁移数检测时相同。

1.2.5 以免疫组化检测各组TPC-1细胞凋亡与EMT相关蛋白表达情况 分组干预后的各组TPC-1细胞37 °C下用PBS洗涤5 min、95%乙醇固定25 min后以3% H₂O₂清除内源性过氧化氢酶, 用5%山羊血清封闭(37 °C下5 min), 分别孵育(4 °C下过夜)稀释比为1:200的Anti-E-cadherin、caspase3、Bax、N-cadherin兔源抗人一抗, 充分漂洗后孵育(37 °C下2 h)稀释比为1:1 000的相应二抗, 并按免疫组化试剂盒操作指导进行免疫组化染色, 充分漂洗后镜下拍照, 进行细胞计数后分析量化各组E-cadherin、N-cadherin阳性率。

1.2.6 裸鼠造模以及分组干预 造模: 取对数生长期的TPC-1细胞用PBS配制为单细胞悬液, 细胞密度为 2×10^7 /mL, 取0.2 mL于裸鼠右后侧腋窝处进行皮下注射, 每天观察注射部位情况, 待皮下长出黄豆大小肿块即表示皮下移植瘤模型裸鼠造模成功, 共成功造模24只^[11]; 取对数生长期的TPC-1细胞用PBS配制细胞密度为 5×10^6 /mL的单细胞悬液, 通过尾静脉注射0.1 mL到裸鼠体内制备肺转移模型裸鼠^[12], 共成功造模24只。

分组干预: 皮下移植瘤与肺转移模型裸鼠均随机分为对照组、毛兰素组、毛兰素+si-NC组、毛兰素+si-Fas组, 毛兰素组用4 mg/kg毛兰素干预^[10]。毛

兰素+si-NC组用4 mg/kg毛兰素和Fas siRNA阴性对照联合干预,毛兰素+si-Fas组用4 mg/kg毛兰素和Fas siRNA联合干预,毛兰素进行腹腔注射且注射体积为5 mL/kg, Fas siRNA阴性对照以及Fas siRNA进行尾静脉注射且剂量参照其说明书设置,三者均溶于生理盐水且每2天干预一次,皮下移植瘤与肺转移模型裸鼠均于接种细胞1周后开始进行干预(记为第1天),均干预3周,即第21天干预结束。

1.2.7 测定各组皮下移植瘤模型裸鼠瘤体体积以及肺转移模型裸鼠肺结节数 各组裸鼠均于分组干预完成后第2天通过吸入过量七氟醚处死,剥离皮下移植瘤模型裸鼠的皮下瘤体,测量其最长径与最短径后计算瘤体体积(最长径 $\times$ 最短径 $^2/2$);开胸取出肺转移模型裸鼠肺脏,拍照并计数肿瘤转移形成的肺结节数,剪取皮下瘤体与肺结节组织约100 mg存在液氮内,以备Western blot检测;再次剪取约0.7 cm³大小的肺结节组织和剩余的移植瘤瘤体一起,均置于4%多聚甲醛内固定(37 °C、24 h),以备免疫组化检测。

1.2.8 以免疫组化检测各组TPC-1裸鼠皮下移植瘤组织EMT相关蛋白表达 取出固定好的皮下瘤体组织,用常规方法梯度酒精脱水后于二甲苯内透明,浸蜡包埋后制备病理切片,脱蜡至水后以3% H₂O₂清除内源性过氧化氢酶,然后按“1.2.5”中免疫组化方法检测裸鼠皮下移植瘤与肺结节组织E-cadherin、N-cadherin阳性率。

1.2.9 以Western blot检测各组TPC-1细胞以及裸鼠

皮下移植瘤、肺结节组织Fas/FasL信号通路蛋白表达情况 用预冷PBS洗涤分组干预后的各组TPC-1细胞,加入预冷RIPA试剂刮取细胞沉淀并于冰水浴内裂解提取总蛋白,在沸水浴内进行蛋白变性,然后每组取20 μ g蛋白上样进行电泳以及湿转,从而将各组蛋白分离后印迹到PVDF膜上,蛋白于室温下封闭2 h后先后孵育一抗与二抗,一抗于4 °C孵育13 h且稀释比为: Anti-Fas(1:2 000)、Anti- β -actin(1:1 000)、Anti-FasL(1:2 000),二抗于37 °C孵育13 h且稀释比为1:1 000,充分漂洗后进行ECL显色,拍照后定量灰度值,以 β -actin作为内参对照蛋白分析量化各组Fas、FasL蛋白相对表达。

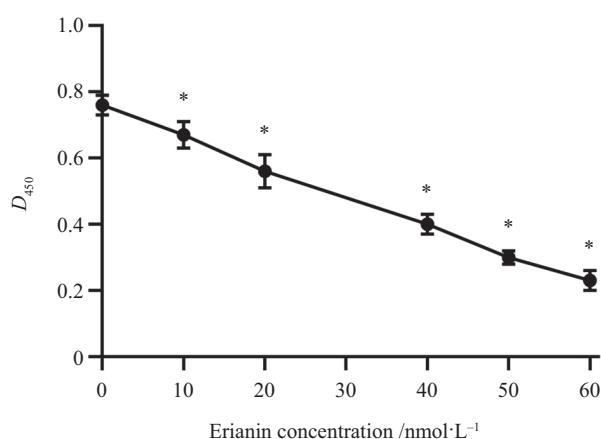
1.3 统计学分析

本研究采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析,实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析,事后两两间进一步比较进行SNK-*q*检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 毛兰素最佳作用浓度筛选

随着毛兰素(10、20、30、40、50、60 nmol/L)浓度的升高,TPC-1细胞的 D_{450} 值逐渐减小($P<0.05$),40 nmol/L毛兰素干预时TPC-1细胞 D_{450} 降低至约未干预时的一半,IC₅₀值为38.47 nmol/L,因此本文选择40 nmol/L毛兰素干预TPC-1细胞进行后续实验。见图1。

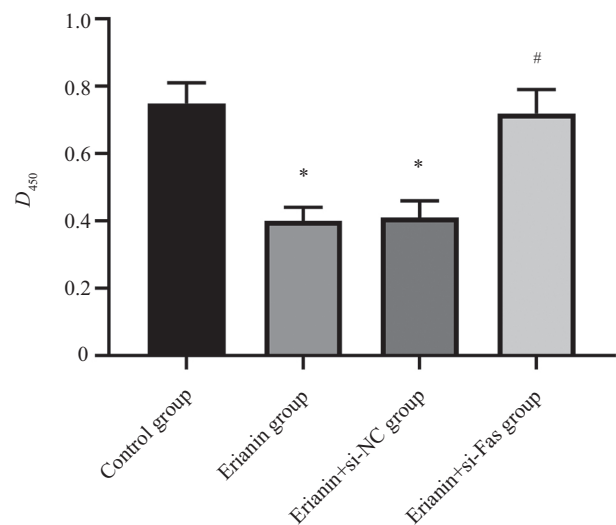


* $P<0.05$, 与0 nmol/L的毛兰素相比。

* $P<0.05$ compared with 0 nmol/L Erianin.

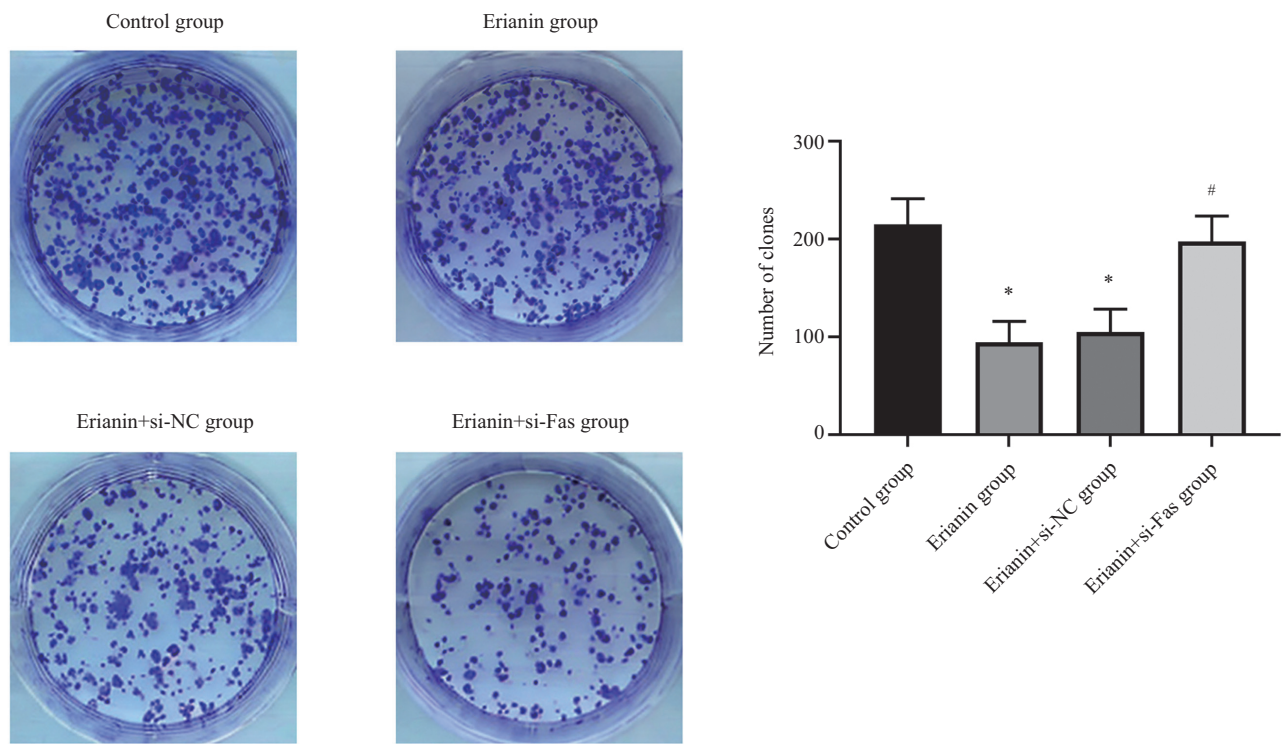
图1 不同浓度毛兰素对TPC-1细胞增殖的影响

Fig.1 The effect of different concentrations of Erianin on the proliferation of TPC-1 cells



* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与毛兰素组相比。
* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the Erianin group.

图2 各组TPC-1细胞 D_{450}
Fig.2 The D_{450} of TPC-1 cells in each group



* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与毛兰素组相比。
* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the Erianin group.

图3 平板克隆形成实验检测各组TPC-1细胞增殖情况
Fig.3 Detection of TPC-1 cell proliferation in each group by plate cloning formation experiment

2.2 各组TPC-1细胞增殖、凋亡与转移能力检测结果

图2~图5显示: 与对照组相比, 毛兰素组、毛兰

素+si-NC组细胞 D_{450} 、克隆数、迁移数、侵袭数增加($P<0.05$), 而凋亡率升高($P<0.05$); 与毛兰素组相比, 毛兰素+si-NC组细胞各生物学指标无明显变化

($P>0.05$)。与毛兰素+si-NC组相比,毛兰素+si-Fas组细胞 D_{450} 、克隆数、迁移数、侵袭数增加($P<0.05$),而凋亡率降低($P<0.05$)。

2.3 各组TPC-1细胞凋亡与EMT相关蛋白表达检测结果

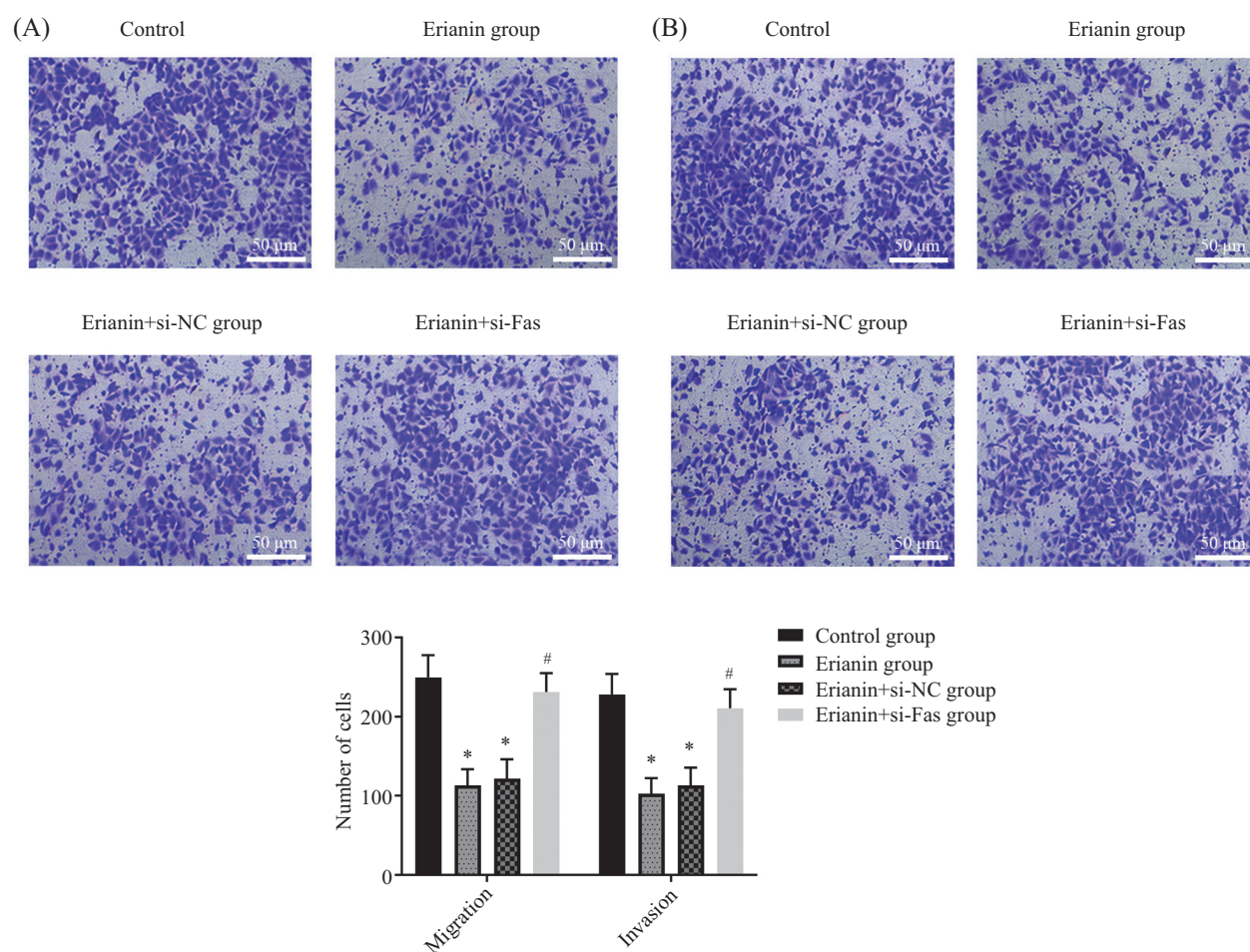
与对照组相比,毛兰素组、毛兰素+si-NC组细胞caspase3、Bax、E-cadherin阳性率升高($P<0.05$),而N-cadherin阳性率降低($P<0.05$)。与毛兰素组相比,毛兰素+si-NC组细胞EMT相关阳性率无明显变化($P>0.05$)。与毛兰素+si-NC组相比,毛兰素+si-Fas组细胞caspase3、Bax、E-cadherin阳性率降低($P<0.05$),而N-cadherin阳性率升高($P<0.05$)。见图6。

2.4 各组TPC-1裸鼠体内肿瘤生长与转移能力检测结果

与对照组相比,毛兰素组、毛兰素+si-NC组瘤体体积与肺结节数减少($P<0.05$)。与毛兰素组相比,毛兰素+si-NC组瘤体体积与肺结节数无明显变化($P>0.05$)。与毛兰素+si-NC组相比,毛兰素+si-Fas组瘤体体积与肺结节数增加($P<0.05$)。见图7~图9。

2.5 各组TPC-1裸鼠皮下移植瘤组织EMT检测结果

与对照组相比,毛兰素组、毛兰素+si-NC组裸鼠皮下移植瘤组织E-cadherin阳性率升高($P<0.05$),而N-cadherin阳性率降低($P<0.05$)。与毛兰素组相比,毛兰素+si-NC组裸鼠皮下移植瘤组织EMT相关阳性率无明显变化($P>0.05$)。与毛兰素+si-NC

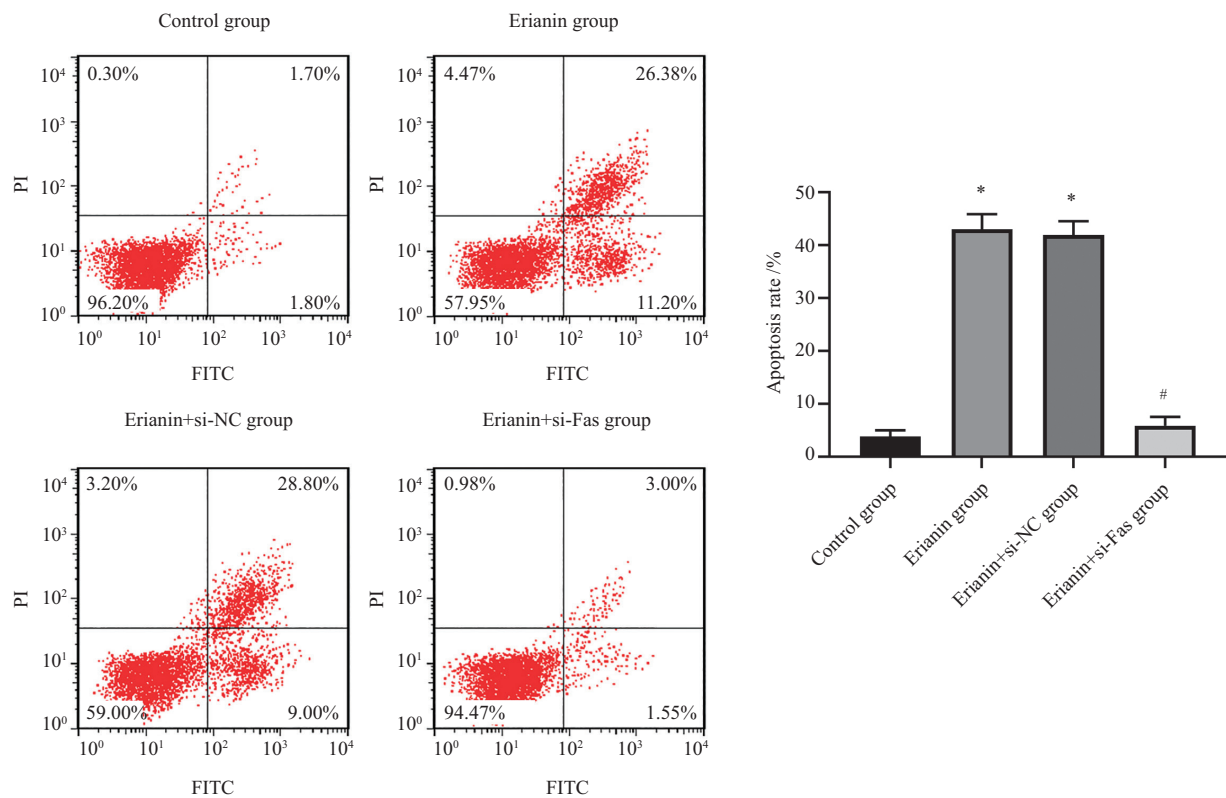


A: TPC-1细胞迁移检测结果图; B: TPC-1细胞侵袭检测结果图。* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与毛兰素组相比。

A: the result chart of TPC-1 cell migration detection; B: the result chart of TPC-1 cell invasion detection. * $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the Erianin group.

图4 Transwell实验检测各组TPC-1细胞转移能力

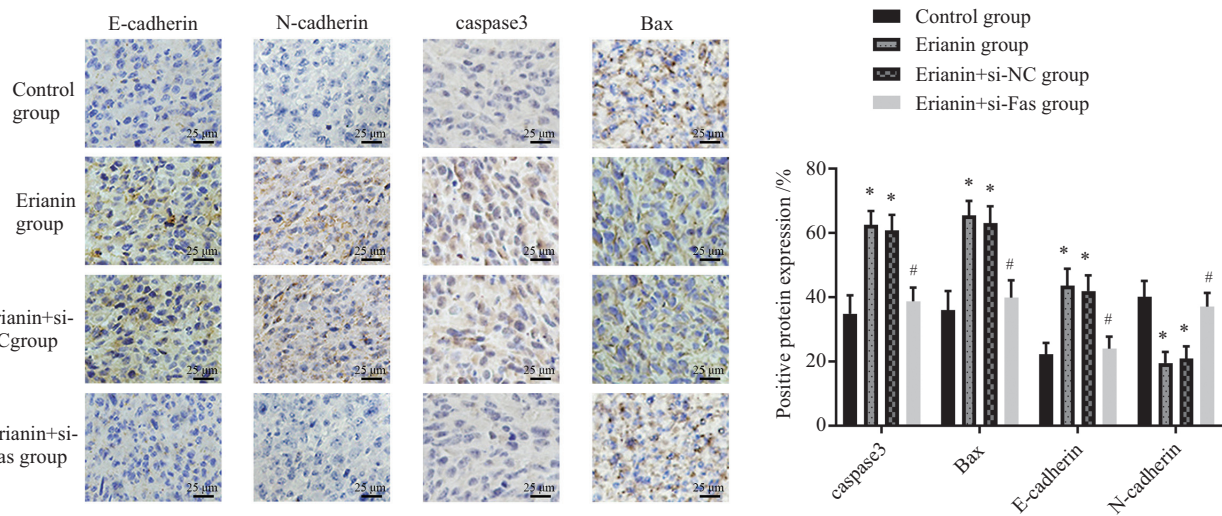
Fig.4 Detecting the metastatic ability of TPC-1 cells in each group by Transwell experiment



* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与毛兰素组相比。
* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the erianin group.

图5 流式细胞实验检测各组TPC-1细胞凋亡情况

Fig.5 Detecting apoptosis of TPC-1 cells in each group by flow cytometry experiment



* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与毛兰素组相比。
* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the Erianin group.

图6 免疫组化检测各组TPC-1细胞凋亡与EMT相关蛋白表达

Fig.6 Detection of apoptosis and EMT related protein expression of TPC-1 cells in each group by immunohistochemistry

组相比, 毛兰素+si-Fas组裸鼠皮下移植瘤组织E-cadherin阳性率降低($P<0.05$), 而N-cadherin阳性率升高($P<0.05$)。见图10。

2.6 各组TPC-1细胞以及裸鼠皮下移植瘤、肺结节组织Fas/FasL信号通路蛋白表达检测结果
结果如图11所示: 与对照组相比, 毛兰素组、毛

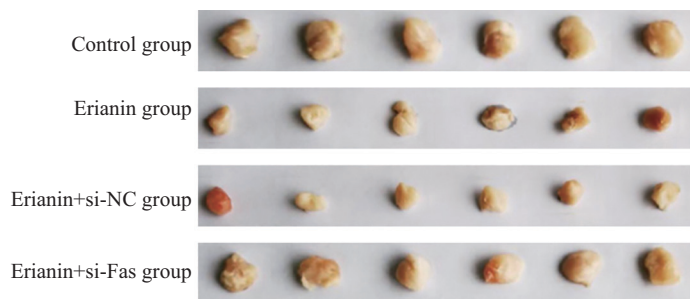


图7 各组TPC-1皮下移植瘤模型裸鼠瘤体图片

Fig.7 Tumor images of TPC-1 subcutaneous transplant tumor model nude mice in each group

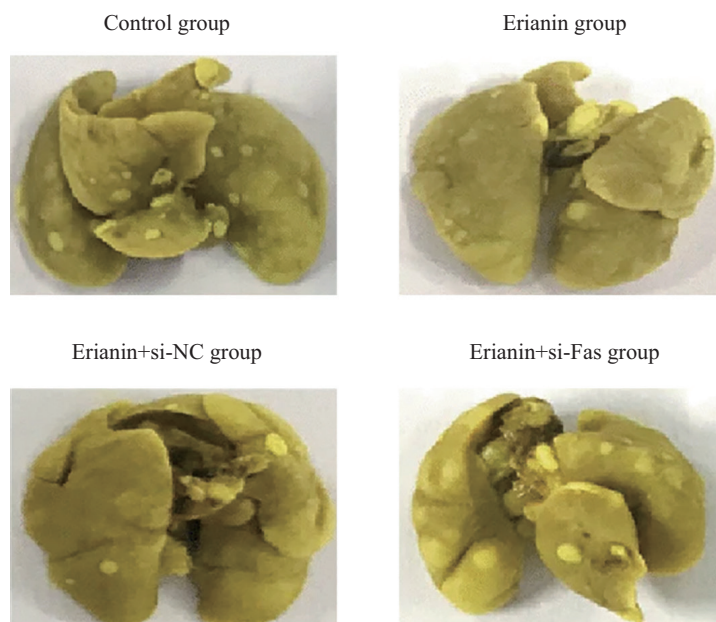
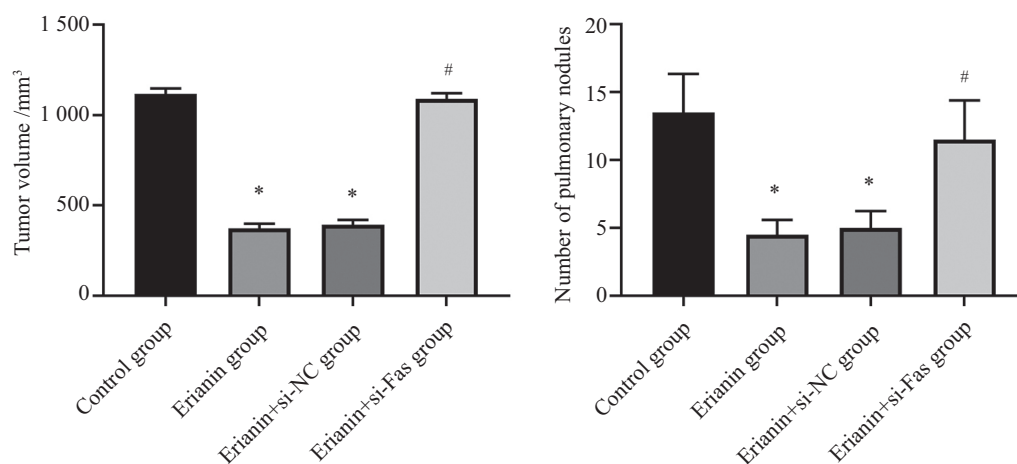


图8 各组TPC-1肺转移模型裸鼠肺组织结节代表性图片

Fig.8 Representative images of lung tissue nodules in nude mice with TPC-1 lung metastasis model in each group



* $P < 0.05$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, 与毛兰素组相比。

* $P < 0.05$ compared with the control group; # $P < 0.05$ compared with the Erianin group.

图9 各组裸鼠瘤体体积与肺结节数

Fig.9 Tumor volume and number of pulmonary nodules in nude mice in each group

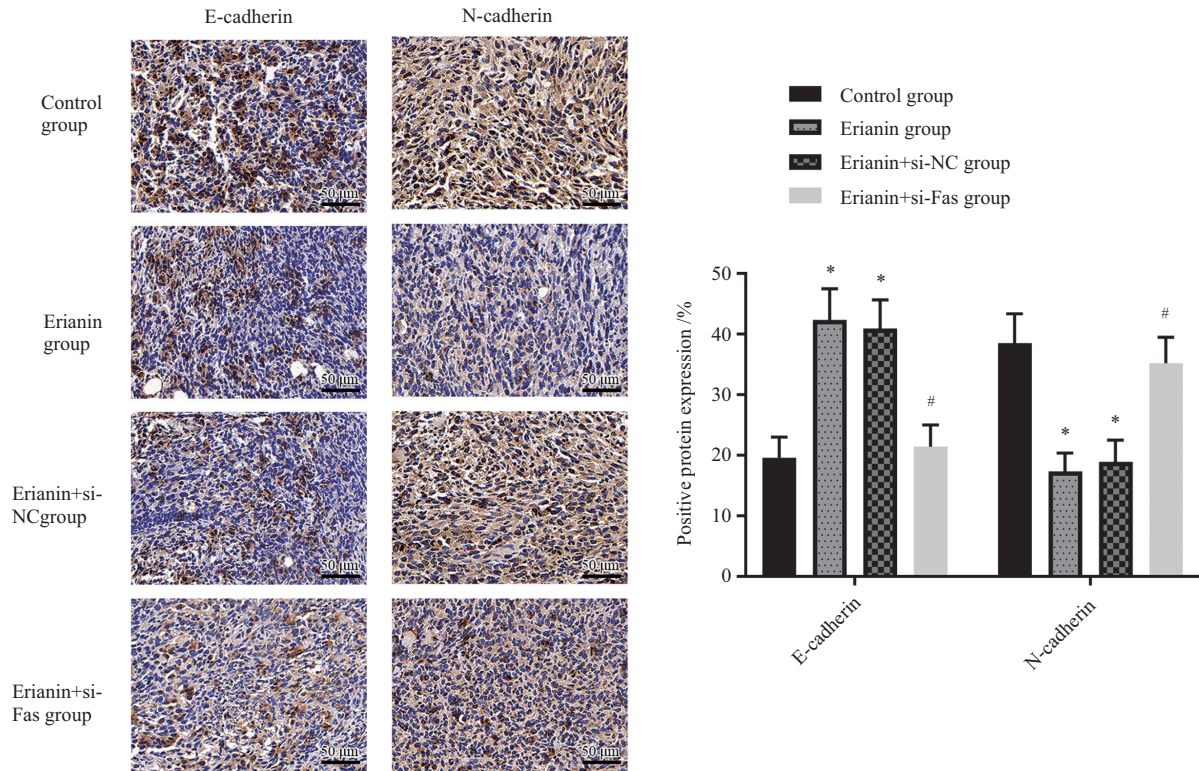


图10 免疫组化检测各组TPC-1裸鼠皮下移植瘤组织EMT相关蛋白表达情况

Fig.10 Detection of EMT related protein expression in subcutaneous transplanted tumors of TPC-1 nude mice in each group by immunohistochemistry

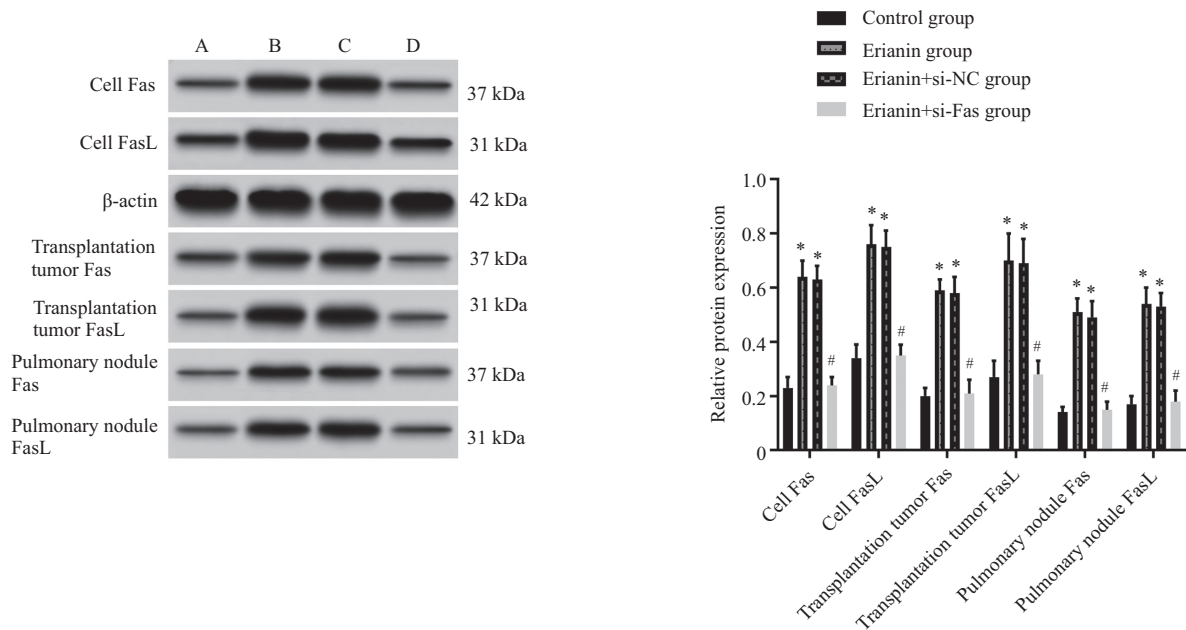


图11 Western blot检测各组TPC-1细胞、裸鼠皮下移植瘤组织与肺结节组织Fas/FasL信号通路蛋白表达情况

Fig.11 Detection of Fas/FasL signaling pathway protein expression in TPC-1 cells, subcutaneous transplanted tumor tissue and lung nodule tissue of nude mice in each group by Western blot

兰素+si-NC组Fas、FasL蛋白表达水平升高($P<0.05$);与毛兰素组相比,毛兰素+si-NC组Fas、FasL蛋白表达水平无明显变化($P>0.05$);与毛兰素+si-NC组相比,毛兰素+si-Fas组Fas、FasL蛋白表达水平降低($P<0.05$)。

3 讨论

甲状腺癌经过手术切除、放射性碘治疗以及内分泌治疗等临床综合治疗后,可以获得良好的治疗效果,但仍然面临疾病复发率高、耐药以及体内转移的挑战,因此,积极探寻甲状腺癌新型治疗方法具有重要临床意义^[13-14]。毛兰素是一种天然抗癌物质,可通过诱导癌细胞凋亡、抑制其侵袭和转移而发挥显著抗肿瘤作用^[15],研究显示,毛兰素能诱导人食管癌细胞凋亡并阻碍其增殖与转移^[16],还可促进胰腺癌细胞活性氧产生及细胞凋亡,并可抑制胰腺癌细胞增殖和迁移^[17]。本研究结果显示,以毛兰素干预人甲状腺癌细胞TPC-1,可降低细胞 D_{450} 、克隆数、迁移数、侵袭数,表明毛兰素可在体外减弱甲状腺癌细胞增殖与转移能力;以毛兰素干预TPC-1裸鼠皮下移植瘤与肺转移模型,可减少皮下移植瘤的瘤体体积以及TPC-1细胞转移形成的肺结节数,表明毛兰素可在体内抑制甲状腺癌细胞的增殖与转移;另外免疫组化结果显示毛兰素可在TPC-1细胞及其裸鼠体内升高caspase3、Bax、E-cadherin蛋白阳性表达水平并降低N-cadherin蛋白阳性表达水平,表明毛兰素可在体内下调凋亡蛋白表达,抑制甲状腺癌细胞EMT,最终提示毛兰素可在体内对甲状腺癌细胞发挥抗癌作用。

Fas/FasL信号通路在细胞凋亡过程中起到核心调控作用,参与介导包括甲状腺癌在内的人类恶性肿瘤发病过程^[18],降低Fas/FasL信号通路蛋白表达水平可减弱NK细胞的癌细胞杀伤力,进而导致肝细胞癌患者不良结局^[19],上调Fas表达可刺激细胞凋亡信号激活,进而诱导人甲状腺未分化癌细胞死亡^[20]。本研究Western blot检测结果显示,毛兰素可在TPC-1细胞及其裸鼠体内升高Fas与FasL蛋白表达水平,表明Fas/FasL信号通路参与介导毛兰素对甲状腺癌的抗癌作用;以毛兰素干预TPC-1细胞及其皮下移植瘤、肺转移模型的同时敲低Fas,可减弱毛兰素对甲状腺癌细胞体内增殖与转移的抑制作用,还可拮抗毛兰素对甲状腺癌细胞体内外EMT

的抑制作用,最终逆转毛兰素对甲状腺癌细胞的抗癌功效。

综上所述,毛兰素可诱导甲状腺癌细胞凋亡,抑制细胞增殖、迁移、侵袭及EMT,阻止其体内肿瘤生长与转移,刺激Fas/FasL信号通路激活可能是毛兰素发挥上述抗甲状腺癌作用的药理机制,本文首次验证了毛兰素对甲状腺癌的治疗潜力,并初步阐释了其药理机制,为其在甲状腺癌临床治疗中的应用提供了理论基础。但本研究只使用了一种甲状腺癌细胞系进行了研究,未使用多种细胞系进行验证,且要进行临床转化,还需进行临床人体试验,因此,本研究存在一定局限性,后续还需进行深入研究。

参考文献 (References)

- [1] HAMPTON J, ALAM A, ZDENKOWSKI N, et al. Fear of cancer recurrence in differentiated thyroid cancer survivors: a systematic review [J]. *Thyroid*, 2024, 34(5): 541-58.
- [2] GIOVANELLA L, TUNCEL M, AGHAEE A, et al. Theranostics of thyroid cancer [J]. *Semin Nucl Med*, 2024, 54(4): 470-87.
- [3] WEI X, LIU Q, LIU L, et al. Discovery of the natural bibenzyl compound erianin in dendrobium inhibiting the growth and EMT of gastric cancer through downregulating the LKB1-SIK2/3-PARD3 Pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14): 7973-96.
- [4] YAN L, LIU Y, HUANG Y, et al. Erianin inhibits the proliferation of lung cancer cells by suppressing mTOR activation and disrupting pyrimidine metabolism [J]. *Cancer Biol Med*, 2025, 22(2): 144-65.
- [5] PAPADAKI M A, PAPADAKI E, CHATZIIVRAAM S, et al. Prognostic value of Fas/Fas ligand expression on circulating tumor cells (CTCs) and immune cells in the peripheral blood of patients with metastatic breast cancer [J]. *Cancers*, 2024, 16(17): 2927-42.
- [6] BHUKER S, KAUR A, RAJAURIA K, et al. Allicin: a promising modulator of apoptosis and survival signaling in cancer [J]. *Med Oncol*, 2024, 41(9): 210-26.
- [7] YAO L, GU C, GE R, et al. Acetylated Dendrobium huoshanense polysaccharide: a novel inducer of apoptosis in colon cancer cells via Fas-FasL pathway activation and metabolic reprogramming [J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1529868-81.
- [8] BAI N, LIU C, ZHANG X, et al. NOD1 activation promotes cell apoptosis in papillary thyroid cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2022, 233: 153880-8.
- [9] KOCOGLU S S, SEÇME M, SUNAY F B. Erianin as a promising novel agent in the treatment of neuroblastoma: the anticancer effects and underlying molecular mechanisms [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2023, 23(10): 1204-10.
- [10] LI M, KANG S, DENG X, et al. Erianin inhibits the progression of triple-negative breast cancer by suppressing SRC-mediated cholesterol metabolism [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 166-83.
- [11] 张雪婷, 林慧玥, 王菊勇. 益瘦散结方对TPC-1甲状腺癌裸鼠移植瘤生长及有氧糖酵解的影响[J]. *中成药*(ZHANG X T, LIN H

- Y, WANG J Y. Effect of yiying sanjie formula on the growth and aerobic glycolysis of tpc-1 thyroid cancer transplanted tumors in nude mice [J]. Chin Tradit Patent Med, 2024, 46(11): 3819-25.
- [12] 张博涛. 瘦素拮抗作用对甲状腺癌裸鼠移植瘤模型肿瘤生长和转移的影响[D]. 成都: 西南医科大学, 2023.
- [13] FEBRERO B, RUIZ-MANZANERA J J, ROS-MADRID I, et al. Tumor microenvironment in thyroid cancer: immune cells, patterns, and novel treatments [J]. Head Neck, 2024, 46(6): 1486-99.
- [14] VOLPE F, NAPPI C, ZAMPELLA E, et al. Current advances in radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer [J]. Curr Oncol, 2024, 31(7): 3870-84.
- [15] TANG L, RUAN Y, WANG B, et al. Erianin inhibits the progression of DDP-resistant lung adenocarcinoma by regulating the Wnt/ β -catenin pathway and activating the caspase-3 for apoptosis *in vitro* and *in vivo* [J]. Hereditas, 2024, 161(1): 48-59.
- [16] HU A, LI K. Erianin impedes the proliferation and metastatic migration through suppression of STAT-3 phosphorylation in human esophageal cancer cells [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2024, 196(9): 5859-74.
- [17] LIU R, QIU M, DENG X, et al. Erianin inhibits the progression of pancreatic cancer by directly targeting AKT and ASK1 [J]. Cancer Cell Int, 2024, 24(1): 348-62.
- [18] LAGUNAS-RANGEL F A. Fas (CD95)/FasL (CD178) system during ageing [J]. Cell Biol Int, 2023, 47(8): 1295-313.
- [19] GONG Y, ZHOU M, ZHU Y, et al. PVALB was identified as an independent prognostic factor for HCC closely related to immunity, and its absence accelerates tumor progression by regulating NK cell infiltration [J]. J Hepatocell Carcinoma, 2024, 11: 813-38.
- [20] CRESCENZI E, MELLONE S, GRAGNANO G, et al. NGAL mediates anaplastic thyroid carcinoma cells survival through FAS/CD95 inhibition [J]. Endocrinology, 2023, 65(2): bqad190-201.