

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202221435

· 论 著 ·

基于网络药理学探讨姜黄素抗人喉癌细胞的分子机制及其实验研究

姜雪莲¹, 卫旭东^{1,2,3}, 马斌娟², 张静月¹

(1. 兰州大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 甘肃 兰州 730000; 3. 甘肃中医药大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000)

摘 要: **目的** 基于网络药理学探讨姜黄素抗喉癌的关键靶点并设计实验加以验证。**方法** 姜黄素靶点通过 Swiss Target Prediction 与 PharmMapper 数据库进行筛选, 喉癌靶点通过 GeneCards、OMIM 数据库进行筛选, 通过 FunRich 软件获得共有靶点, 使用 DAVID 平台对姜黄素-喉癌共有靶点进行基因本体 (GO) 生物进程及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析, 基于 Cytoscape 软件进行关键靶点筛选, 采用分子对接对关键靶点进行验证分析, 细胞划痕实验观察姜黄素对喉癌细胞迁移能力的影响, 使用细胞计数试剂盒 (CCK-8) 法检测姜黄素对细胞增殖能力的影响及对化疗药物多柔比星的化疗增效作用, Western blot 检测姜黄素对喉癌细胞中磷酸化信号转导及转录因子 3 (P-STAT3) 蛋白表达水平的影响。**结果** 共获得 12 个共有靶点, 通路富集分析发现与喉癌相关信号通路为癌症中的蛋白多糖通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号传导通路、癌症中的通路、缺氧诱导因子 1 (HIF-1) 信号传导通路、JAK-STAT 信号传导通路、癌症中的碳代谢通路、血管内皮生长因子信号传导途径, 通过分子对接发现: 姜黄素与 P-STAT3 有较好的结合, 细胞划痕实验观察到姜黄素可抑制喉癌细胞的迁移能力, CCK-8 法发现姜黄素可明显抑制喉癌细胞的体外增殖活性, 且姜黄素对化疗药多柔比星具有化疗增效作用; Western blot 实验发现随着姜黄素浓度的提高不同程度的抑制喉癌细胞 P-STAT3 蛋白的表达。**结论** 姜黄素呈剂量依赖性抑制喉癌细胞的增殖、迁移; 姜黄素对化疗药物多柔比星具有化疗增效作用; 姜黄素通过调节表皮生长因子受体 (EGFR)、E1A 结合蛋白 p300 (EP300) 及 P-STAT3 抗喉癌肿瘤细胞, 已验证的靶点为 P-STAT3。

关 键 词: 喉癌; 姜黄素; 网络药理学; P-STAT3; 化疗增效
中图分类号: R

Molecular mechanism and experimental study of curcumin anti-human laryngeal cancer cells based on network pharmacology

JIANG Xuelian¹, WEI Xudong^{1,2,3}, MA Binjuan², ZHANG Jingyue¹

(1. the First School of Clinical Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China; 3. the First School of Clinical Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the key targets of curcumin against laryngeal cancer based on network pharmacology and to design experiments to verify them. **Methods** Curcumin targets were screened by Swiss Target Prediction, laryngeal cancer targets were screened by GeneCards, OMIM and TTD databases. The common targets of curcumin-laryngeal cancer were obtained by FunRich softwar. Gene ontology biological processes and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway analysis of curcumin-laryngeal cancer common targets were performed using DAVID platform. Cytoscape software was used to screen key targets. The key targets were verified and analyzed by molecular docking. The effect of curcumin on the migration ability of laryngeal cancer cells was observed by cell scratching assay. Cell counting kit

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81860475); 甘肃省人民医院国家科研项目培养计划重点项目 (19SYPYA-13); 甘肃中医药大学科学研究与创新基金项目 (2020KCZD-7); 甘肃省人民医院院内基金项目 (2019-364)。
第一作者简介: 姜雪莲, 女, 硕士, 住院医师。
通信作者: 卫旭东, Email: weixd93@lzu.edu.cn

(CCK-8) was used to detect the effect of curcumin on cell proliferation and the synergistic effect of curcumin on doxorubicin. Western blot was used to detect the effect of curcumin on the expression of phosphorylated signal transduction and transcription factor 3 (P-STAT3) protein in laryngeal carcinoma cells. **Results** Twelve shored targets were obtained. KEGG pathway enrichment analysis revealed that the signaling pathways related to laryngeal cancer were proteoglycan pathway in cancer, tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway, pathway in cancer, hypoxia inducing factor 1 (HIF-1) signaling pathway, Jak-STAT signaling pathway, carbon metabolism pathway in cancer, and vascular endothelial growth factor signaling pathway. By molecular docking, it was found that: curcumin binds well to P-STAT3. It was observed that curcumin could inhibit the migration ability of laryngeal cancer cells by cell scratch assay. CCK-8 method found that curcumin could significantly inhibit the proliferation activity of laryngeal cancer cells in vitro, and curcumin had a synergistic effect on doxorubicin. Western blot assay showed that the increase of curcumin concentration could inhibit the expression of p-STAT3 protein in laryngeal cancer cells. **Conclusions** Curcumin inhibited the proliferation and migration of laryngeal cancer cells in a dose-dependent manner. Curcumin had a synergistic effect on doxorubicin. curcumin inhibited laryngeal cancer tumor cells by regulating EGFR, EP300 and p-STAT3, and the validated target was p-STAT3.

Keywords: Laryngeal cancer; Curcumin; Network pharmacology; P-STAT3; Chemosensitization

喉癌是呼吸道最常见的肿瘤之一^[1],其中喉癌的治疗包括手术治疗及放疗^[2-4],近年来植物药物由于其天然、疗效确切、且富含维生素及矿物质的优势,可有效防止致癌物的形成和阻滞癌细胞的增殖,目前在喉癌治疗中备受关注^[5-6]。

姜黄素已在多种癌症中证实具有抗肿瘤作用^[7],但其在喉癌中发挥作用的机制尚不明确,为了进一步探讨姜黄素在喉癌中的作用,本研究采用网络药理方法,对化学成分-疾病靶点进行筛选,并设计分子实验进一步明确姜黄素抗喉癌的分子机制及观察姜黄素对化疗药多柔比星的化疗增效作用。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件

SwissTargetPrediction 数据库;STRING 数据库;RCSB PDB 数据库;OMIM 数据库;DAVID 数据库;GeneCards HUMAN GENE DATABASE 数据库;PharmMapper 数据库;RCSB PDB 数据库;ZINC 数据库;Cytoscape 3. 8. 0 软件;OriginPro 2021 软件;iGEMDOCK 2. 1 软件;FunRich 3. 1. 3 软件;AutoDock 软件;PyMOL 软件。

1.2 姜黄素靶标蛋白筛选

通过 Swiss Target Prediction 与 PharmMapper 数据库对姜黄素进行药物靶点筛选,除种属选择“人源”,其他参数选择默认设置,筛选得到蛋白名称、Uniprot ID 等信息。

1.3 喉癌靶点筛选

以“Laryngeal carcinoma”为关键词筛选出 GeneCards、OMIM 数据库中的喉癌靶点。其中 GeneCards

数据库筛选出 Relevance score ≥ 15 靶点作为喉癌的关键靶点,检索上述数据库,去重后获得喉癌基因靶点。

1.4 姜黄素与喉癌交集靶点的基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析

交集靶点的 GO 分析以及 KEGG 通路富集分析是基于 DAVID 数据库进行,得到的结果包括 GO 生物学过程、细胞组成、分子功能及相关 KEGG 通路,并使用易汉博生物信息在线信息作图网站对结果进行可视化分析。

1.5 关键靶点筛选

STRING 网站结合 Cytoscape 软件通过 degree 值筛选关键靶点,STRING 在线网站中选择“Multiple proteins”为输入方式,输入喉癌共有靶点,种属选择“人源”,其他参数选择默认设置。点击“Exports”选项,下载 TSV 格式的文件保存,TSV 文件进一步导入 Cytoscape 软件,选择 CytoHubba 模块,根据 degree 值的大小输出前 3 个靶点作为关键靶点。

1.6 分子对接验证分析

基于 RCSB PDB 数据库中通过设置人源、分辨率 ≤ 2.5 、pH 值、有无配体等条件对蛋白分子结构进行筛选,基于 ZINC 数据库查找姜黄素分子结构,基于 AutoDock 软件进行姜黄素与靶标蛋白的分子对接,可视化分析使用 PyMOL 软件进行。

1.7 材料来源

人喉癌细胞株 Hep-2 (齐氏生物科技);胎牛血清 (ExCell);姜黄素 (Macklin);RPMI1640 培养基 (Hyclone);磷酸化信号转导及转录因子 3 (phosphorylation signal transduction and transcription factor 3,

P-STAT3)兔抗人单克隆抗体(Immunoway);GAPDH (Genetex)、羊抗兔二抗(武汉塞维尔生物科技有限公司)。

1.8 细胞培养

将人喉癌细胞 Hep-2 细胞培养于含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 完全培养基中,于 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱培养,细胞生长至 80% 的密度时进行传代。

1.9 细胞划痕实验观察姜黄素对喉癌细胞迁移能力的影响

将培养的 Hep-2 细胞接种于 6 孔板上,设置对照组、姜黄素浓度分别为(5、10、20 μmol/L)组,每孔 2 mL,每组设置 3 个复孔,待细胞融合至 90% 左右,用 200 μL 枪头轻轻划痕后置于培养箱培养 24 h。24 h 后显微镜下观察并记录各组 Hep-2 细胞迁移情况,使用 Image J 软件进一步处理,并计算划痕愈合率。愈合率 = (0 h 划痕距离 - 24 h 划痕距离)/0 h 划痕距离 × 100%。

1.10 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8,CCK-8) 法检测姜黄素对细胞增殖能力的影响

在 96 孔板中每孔种入 10 000 个细胞,加入不同浓度姜黄素(0、5、10、20 μmol/L)培养,每个药物浓度设 3 个复孔。药物作用 12、24、48 h 后,加入 10 μCCK-8,37 ℃ 孵育 2 h 测吸光度。

1.11 CCK-8 法检测姜黄素对多柔比星的化疗增效作用

采用 CCK-8 法检测姜黄素对多柔比星的化疗增效作用,在 96 孔板中每孔种入 10 000 个细胞,用多柔比星(5 μmol/L)及多柔比星(5 μmol/L)与姜黄素(2.5、5 μmol/L)联合用药培养,每个药物浓度设 3 个复孔,作用 12、24、48 h 后,加入 10 μCCK-8,37 ℃ 孵育 2 h 测吸光度。

1.12 Western blot 检测姜黄素对细胞相关蛋白表达水平的影响

细胞生长至 80% 密度时,采用不同浓度姜黄素培养细胞 24 h 后使用放射免疫沉淀试验 (radio-immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液提取细胞蛋白,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳分离样品,使用湿转法进行转膜,转膜后的膜用兔抗人 P-STAT3 于 4 ℃ 孵育过夜后洗涤,加用二抗(羊抗鼠,1:500 稀释)室温孵育 1h 后,送至暗室中加入增强型化学发光试剂 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂,并用 ImageQuant 350 电泳凝胶成像分体系统中曝光拍照,借助 Image J 软件对图像进行分析。

1.13 统计学分析

SPSS 25.0 (IBM,美国)及 Graph Pad Prism 8.0 (Graph Pad,美国)软件运用于统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间的差异采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 靶点筛选

得到喉癌靶点 Genecards (1982)、OMIM (194) 筛选 Genecards 数据库中相关度 score > 15 的基因 (196),删除重复靶点后最终得到靶点 370 个。通过 SwissTarget Prediction 及 PharmMapper 数据库筛选出姜黄素化学成分靶点 100 个(图 1),采用 Fun-Rich 取交集筛选出 12 个共有靶点。姜黄素-喉癌共有靶点见表 1。

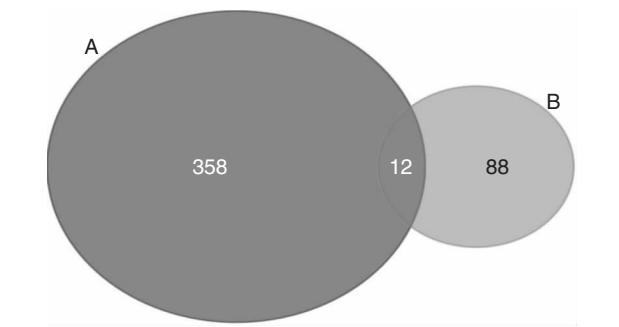


图 1 疾病靶点 - 化学成分 注:A(疾病靶点);B(化学成分靶点)。

表 1 姜黄素 - 喉癌共有靶点

编号	基因名称	基因 ID
1	核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2,NFE2L2)	4780
2	表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor,EGFR)	1956
3	基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase9, MMP9)	4318
4	E1A 结合蛋白 p300 (E1A binding protein p300, EP300)	2033
5	信号转导和转录激活因子 3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3,STAT3)	6774
6	蛋白激酶 B (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1)	207
7	MMP1	4312
8	MMP2	4313
9	间质 - 上皮细胞转化因子 (mesenchymal-epithelial transition factor, MET)	4233
10	过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2,PTGS2)	5743
11	EGFR2	2064
12	雌激素受体 α (estrogen receptor 1,ESR1)	2099

注:基因缩写下同。

2.2 GO 富集分析

通过 DAVID 软件对获得的 12 个姜黄素-喉癌共同靶点进行富集分析,姜黄素治疗喉癌的交集靶点主要参与的分子功能主要富集于蛋白磷酸酶结合、一氧化二氮合成酶调节器活性、相同的蛋白质结合、跨膜受体蛋白酪氨酸激酶活性酶结合、蛋白激酶活性、金属内肽酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、锌离子结合、受体信号蛋白酪氨酸激酶活性等;主要参与的生物过程包括对一氧化氮生物合成过程的正向调节、对 RNA 聚合酶 II 启动子的转录进行正向调节、细胞增殖、对蛋白质磷酸化的正向调节、对血管收缩的正向调节、细胞对表皮生长因子刺激的反应、EGFR2 信号传导途径、胚胎植入、信号转导、对平滑肌细胞增殖的正向调节;参与的细胞组成为细胞核、浆

膜、蛋白质细胞外基质、细胞质、细胞外区域、受体复合体。结果用易汉博生物信息在线信息作图网站对结果进行可视化分析见图 2。

2.3 KEGG 通路富集分析

基于 DAVID 数据库对姜黄素-喉癌交集靶点进行 KEGG 富集分析,根据每条通路上靶点数量对通路使用易汉博生物信息在线信息作图网站进行可视化展示,涉及的主要与癌症相关的信号通路包括癌症中的蛋白多糖通路、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) 信号传导通路、癌症中的通路、缺氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 信号传导通路、Jak-STAT 信号传导通路、癌症中的碳代谢通路、血管内皮生长因子信号传导途径见图 3。

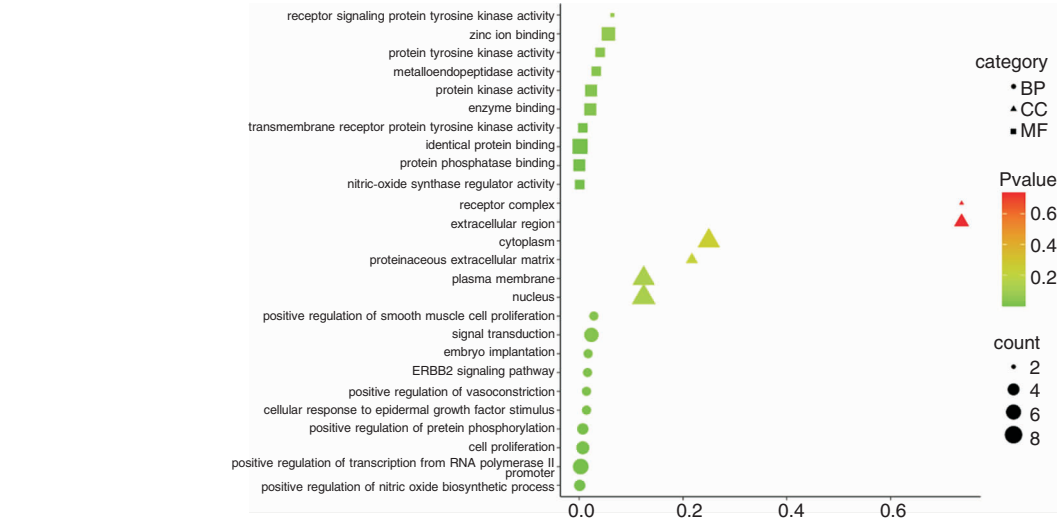


图 2 姜黄素潜在靶点治疗喉癌的气泡图 注:X 轴代表富集因子,Y 轴代表名称,气泡面积大小代表目标基因集中属于这个分支的基因数量,气泡颜色代表富集显著性,即 P 值的大小。

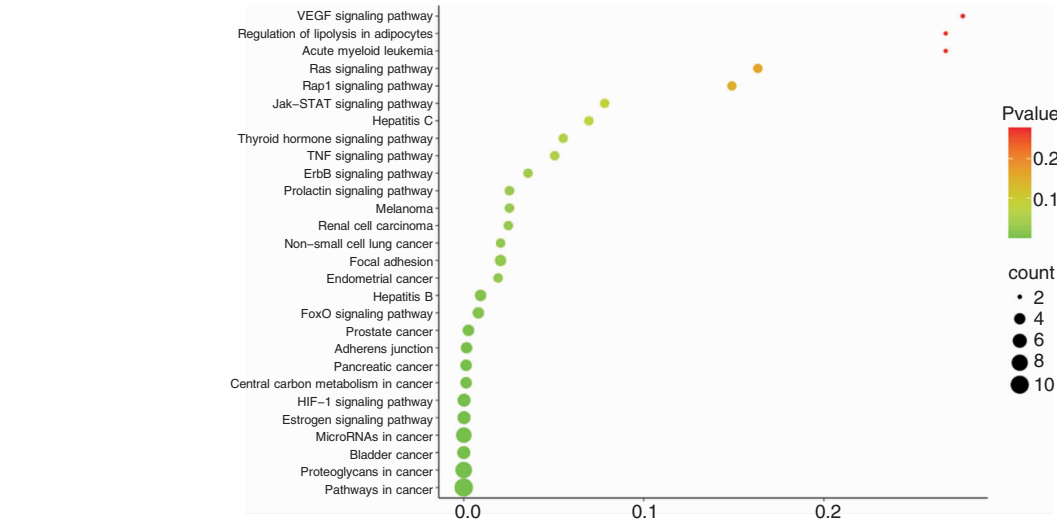


图 3 姜黄素对喉癌作用靶点的 KEGG 分析关系网络 注:X 轴代表富集因子,即 P 值的大小,Y 轴代表通路名称,气泡颜色代表富集显著性,气泡面积大小代表目标基因集中属于这个分支的基因数量。

2.4 关键靶点分析

STRING 网站结合 Cytoscape 软件通过 degree 值筛选关键靶点,选择 degree 大于 3 的为关键靶点,EGFR、STAT3 和 EP300 为关键靶点。见图 4。

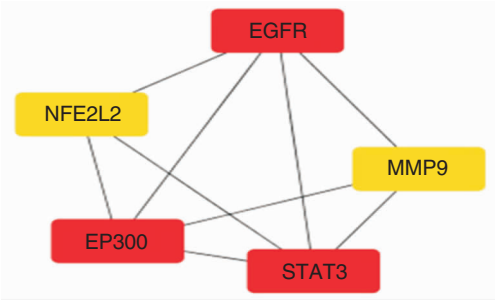


图 4 关键靶点筛选

2.5 AutoDock 分子对接结果

鉴于 KEGG 通路富集分析存在 Jak-STAT 通路,且 Jak-STAT 通路富集显著性高于血管内皮生长因子信号传导通路,故筛选出蛋白质数据库 (protein data bank, PDB) ID 为 6QHD 作为 P-STAT3 蛋白的分子结构,用 AutoDock 软件对 P-STAT3 与姜黄素进行分子对接分析以进一步研究,结果显示姜黄素与 P-STAT3 结合能最大为 -4.98 kcal/mol,结合能越低,分子结构越稳定,且 P-STAT3 与姜黄素结合位点靠近中心部位,结合位置较稳固,并使用 PyMOL 软件对结合能最大处的结合位点结果进行可视化展示,见图 5、表 2。

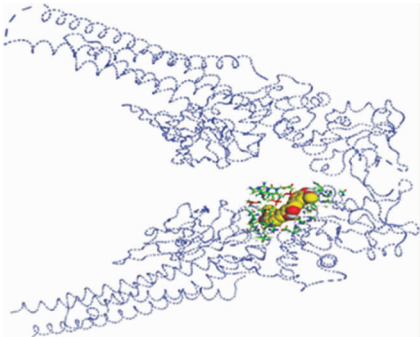


图 5 P-STAT3 与葫芦素 E 分子对接结果 注:P-STAT3(磷酸化信号转导及转录因子)。

2.6 细胞划痕实验观察姜黄素对喉癌细胞迁移能力的影响

实验中用不同浓度的姜黄素与喉癌细胞共培养,24 h 观察愈合面积,与对照组比较各实验组可显著抑制喉癌细胞的迁移能力。见图 6。

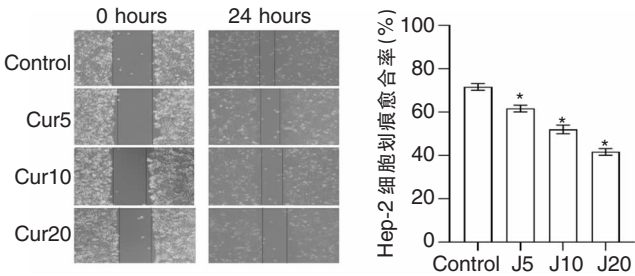


图 6 姜黄素对喉癌细胞迁移能力的影响 注: * $P < 0.05$; J5、J10、J20(姜黄素浓度分别为为 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$); control(姜黄素浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$)。下同。

2.7 CCK-8 法检测姜黄素对细胞增殖能力的影响

CCK-8 法结果表明,相较姜黄素浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$ 其余各实验组可抑制喉癌细胞的体外增殖活性。见图 7。

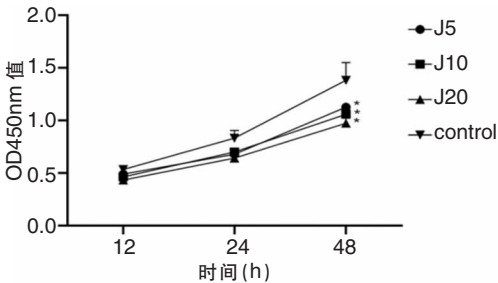


图 7 姜黄素(J)对喉癌细胞增殖能力的影响 注: * $P < 0.05$ 。

2.8 CCK-8 法检测姜黄素对多柔比星的化疗增效作用

多柔比星加不同浓度的姜黄素处理细胞后,采用 CCK-8 法检测多柔比星 (5 $\mu\text{mol/L}$) 及多柔比星 (5 $\mu\text{mol/L}$) 加姜黄素 (2.5、5 $\mu\text{mol/L}$) 对喉癌细胞的增殖抑制作用。结果表明,联合使用多柔比星与姜黄素与单独使用多柔比星抑制喉癌细胞的增殖能力的作用更强。见图 8。

表 2 P-STAT3 与姜黄素各结合位点结合能

P-STAT3	姜黄素结合位点									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
结合能 (kal/mol)	-4.22	-3.68	-3.53	-3.35	-2.97	-2.88	-2.85	-2.67	-2.59	-2.24

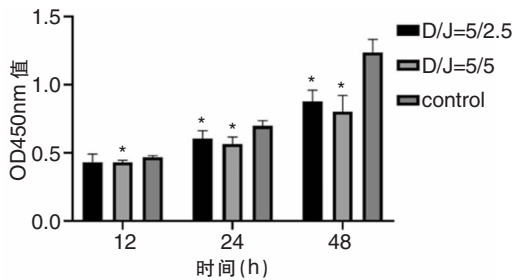


图8 CCK-8 法检测不同时间点姜黄素对多柔比星的化疗增效作用 注:D/J = 5/2.5 为多柔比星 5 $\mu\text{mol/L}$ 与姜黄素 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 共同作用于喉癌细胞;D/J = 5/5 为多柔比星 5 $\mu\text{mol/L}$ 与姜黄素 5 $\mu\text{mol/L}$ 共同作用于喉癌细胞;control 为单独使用多柔比星作用于喉癌细胞;单独使用多柔比星及多柔比星与不同浓度姜黄素联合使用抑制喉癌细胞增殖能力比较,* $P < 0.05$ 。

2.9 Western blot 检测姜黄素对细胞相关蛋白表达水平的影响

Western blot 结果表明,随着姜黄素浓度的提高可不同程度的抑制喉癌细胞 P-STAT3 蛋白的表达,见图 9。

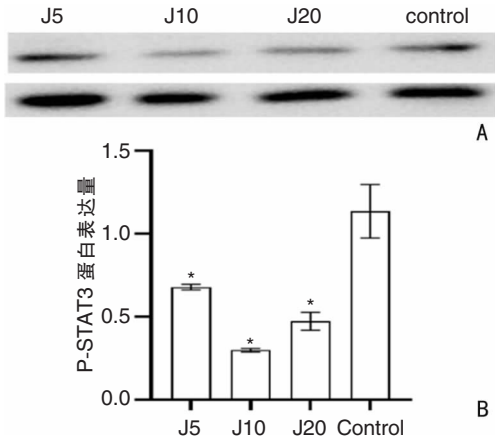


图9 Western blot 检测不同浓度姜黄素对细胞相关蛋白表达水平的影响 A:不同浓度下姜黄素(J)降低 P-STAT3 蛋白的表达;B:各实验组与对照组比较,* $P < 0.05$

3 讨论

随着生物信息学飞速的发展,用于查询单味药/复方药中有效成分以及预测药物与疾病作用靶标的生物数据库也应运而生,基于网络药理学可预测药物、疾病的作用靶标,解析药物作用机制^[8-12]。姜黄素是从姜黄的根茎中分离而来发挥药理作用的主要活性成分,姜黄辛、苦、温,归脾、肝经,有破血行气、

通经止痛的功效^[8],姜黄素作为一种提取而来的酚类化合物,可通过调节许多细胞信号传导途径来有效调节肿瘤细胞生长,并可提高化学治疗剂和辐射对癌症的治疗作用,并可与 FDA 批准的癌症治疗的大多数靶标相互作用^[13-14],同时姜黄素对化疗药物具有增敏作用^[11],目前已有相关文献关于姜黄素作用于喉癌细胞相关机制的报道^[9,15],姜黄素通过上调 miR-15a,抑制细胞增殖,并可加速喉癌细胞的凋亡^[16]。但本研究通过网络药理学成功预测出姜黄素可能通过调节 EGFR、STAT3、EP300 蛋白的表达发挥对喉癌细胞的抗肿瘤作用,在后续分子生物学验证实验中,对 P-STAT3 蛋白表达有明显下调,与已有的研究方法相比,基于网络药理学开展的基础实验研究,其过程更加完整。

STAT 家族是潜在的胞质转录因子,具有双重功能:传递胞浆信号及启动核内基因转录,STAT3 的活化与很多器官的恶性病变存在密切联系,如在实体瘤中对 STAT3 蛋白的组成型激活的初步研究。Janus 激酶家族磷酸化激活 STAT3,通过白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 信号传导通路进一步促进 JAK2 磷酸化及 STAT3 磷酸化,磷酸化后的 STAT3 形成二聚体,以二聚体形式进入细胞核,寻找并作用于相关反应元件上,从而使其下游的基因转录增强^[10,17],活化的 P-STAT3 信号通路可以成为喉鳞状细胞癌基因治疗中一个重要的分子靶点^[18]。本研究以 Hep-2 细胞作为研究对象,进一步通过实验验证发现用不同浓度的姜黄素处理喉癌细胞后,与对照组比较姜黄素可抑制喉癌细胞增殖能力,细胞划痕实验发现姜黄素亦可抑制喉癌细胞的水平迁移能力,提取不同浓度姜黄素作用的喉癌细胞蛋白,Western blot 技术检测不同组别相关蛋白的表达差异,发现相较于对照组而言,各不同浓度的姜黄素组可不同程度地抑制 P-STAT3 蛋白的表达且差别具有统计学意义,但姜黄素并未完全呈剂量依赖效应抑制喉癌细胞中 P-STAT3 蛋白的表达量,在本实验中当姜黄素浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时为姜黄素发挥作用的最好浓度,在此浓度下姜黄素可较大程度抑制细胞中 P-STAT3 蛋白的表达,进一步提高姜黄素的浓度发挥下调 P-STAT3 蛋白表达的作用有限,原因其一可能与姜黄素作为一种植物药物,生物利用度和药代动力学谱限制姜黄素的治疗用途有关,其二是姜黄素与细胞中 P-STAT3 的最大结合能为 -4.98 kcal/mol 有关,结合能偏低,其发挥抗癌的作用有限^[19],但仍

可进一步推测姜黄素可能通过下调 P-STAT3 蛋白的表达,抑制细胞增殖,其可能存在的通路为 IL6/JAK/STAT3^[20]通路,当仍需通过改变姜黄素的空间结构等方面以求发挥更大的抗癌作用。

在癌症化疗期间,某些癌症可能会对结构不同的抗肿瘤药物产生交叉耐药性,研究发现三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运蛋白的过度表达可外排输出范围广泛的结构多样的内生物物质和异生物物质,包括抗癌剂。抗癌药物从癌细胞内部转移到外部的过程是以消耗 ATP 为代价的,克服多药耐药的策略之一是通过小分子抑制剂抑制外排转运蛋白功能,因此需寻找新型、高效且无毒的辅助化疗剂以解决 ATP 结合盒转运蛋白介导的多药耐药^[21-22]。在本实验中发现姜黄素对化疗药物多柔比星具有化疗增效作用,联合应用姜黄素(2.5、5 $\mu\text{mol/L}$)与多柔比星(5 $\mu\text{mol/L}$)比单独使用多柔比星(5 $\mu\text{mol/L}$)抑制喉癌细胞增殖的能力作用更强,差别具有统计学意义,在其他肿瘤的研究中发现姜黄素可抑制某些耐药蛋白的表达^[23-24],从而减少喉癌细胞对化疗药物多柔比星的外排作用,我们的研究可为 ATP 结合盒转运蛋白介导的多药耐药领域揭示新化合物,以期逆转喉癌多药耐药,并为化疗药物多柔比星更好地应用于喉癌的治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] Steuer CE, El-Deiry M, Parks JR, et al. An update on larynx cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(1): 31–50.
- [2] 魏矿荣,郑荣寿,梁智恒. 2014 年中国喉癌发病与死亡分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(10): 736–743.
- [3] Obid RM, Redlich C, Tomeh RC. The treatment of laryngeal cancer[J]. Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2019, 31(1): 1–11.
- [4] 宋晓霞,皇甫辉,李莉. 影响喉癌患者预后的多因素分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2020, 26(3): 306–311.
- [5] Borges G, Rêgo DF, Assad DX, et al. In vivo and in vitro effects of curcumin on head and neck carcinoma: a systematic review[J]. J Oral Pathol Med, 2017, 46(1): 3–20.
- [6] Jiang ZB, Huang JM, Xie YJ, et al. Evodiamine suppresses non-small cell lung cancer by elevating CD8⁺ T cells and downregulating the MUC1-C/PD-L1 axis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 249.
- [7] Li Y, Sun W, Han N, et al. Curcumin inhibits proliferation, migration, invasion and promotes apoptosis of retinoblastoma cell lines through modulation of miR-99a and JAK/STAT pathway[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 1230.

- [8] Tsuda T. Curcumin as a functional food-derived factor: degradation products, metabolites, bioactivity, and future perspectives[J]. Food Funct, 2018, 9(2): 705–714.
- [9] Kunnumakkara AB, Bordoloi D, Harsha C, et al. Curcumin mediates anticancer effects by modulating multiple cell signaling pathways[J]. Clin Sci (Lond), 2017, 131(15): 1781–1799.
- [10] Lin L, Hutzen B, Ball S, et al. New curcumin analogues exhibit enhanced growth-suppressive activity and inhibit AKT and signal transducer and activator of transcription 3 phosphorylation in breast and prostate cancer cells[J]. Cancer Sci, 2009, 100(9): 1719–1727.
- [11] Ma W, Guo Q, Li Y, et al. Co-assembly of doxorubicin and curcumin targeted micelles for synergistic delivery and improving anti-tumor efficacy[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2017, 112: 209–223.
- [12] Wu Y, Yang X, Li G, et al. Molecular mechanism of Huaihuasan in treatment of ulcerative colitis based on network pharmacology and molecular docking[J]. Phytomedicine Plus, 2021, 1(3).
- [13] Chiablaem K, Lirdprapamongkol K, Keeratchamroen S, et al. Curcumin suppresses vasculogenic mimicry capacity of hepatocellular carcinoma cells through STAT3 and PI3K/AKT inhibition[J]. Anticancer Res, 2014, 34(4): 1857–1864.
- [14] Hu A, Huang JJ, Jin XJ, et al. Curcumin suppresses invasiveness and vasculogenic mimicry of squamous cell carcinoma of the larynx through the inhibition of JAK-2/STAT-3 signaling pathway[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(1): 278–288.
- [15] Dai LB, Yu Q, Zhou SH, et al. Effect of combination of curcumin and GLUT-1 AS-ODN on radiosensitivity of laryngeal carcinoma through regulating autophagy[J]. Head Neck, 2020, 42(9): 2287–2297.
- [16] Mou S, Zhou Z, He Y, et al. Curcumin inhibits cell proliferation and promotes apoptosis of laryngeal cancer cells through Bcl-2 and PI3K/Akt, and by upregulating miR-15a[J]. Oncol Lett, 2017, 14(4): 4937–4942.
- [17] Zhang Y, Wang D, Xu J, et al. Stat3 activation is critical for pluripotency maintenance[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(2): 1044–1051.
- [18] Huang H, Hao J, Pang K, et al. A biflavonoid-rich extract from Selaginella moellendorffii Hieron. induces apoptosis via STAT3 and Akt/NF- κ B signalling pathways in laryngeal carcinoma[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(20): 11922–11935.
- [19] Kotha RR, Luthria DL. Curcumin: biological, pharmaceutical, nutraceutical, and analytical aspects[J]. Molecules, 2019, 24(16): 2930.
- [20] Johnson DE, O'Keefe RA, Grandis JR. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 15(4): 234–248.
- [21] Silbermann Katja, Shah Chetan P, Sahu Niteshkumar U, et al. Novel chalcone and flavone derivatives as selective and dual inhibitors of the transport proteins ABCB1 and ABCG2[J]. Eur J Med Chem, 2019, 164: 193–213.
- [22] Silbermann K, Li J, Namasivayam V, et al. Rational drug design

of 6-substituted 4-anilino-2-phenylpyrimidines for exploration of novel ABCG2 binding site[J]. Eur J Med Chem, 2021,212: 113045.

[23] Nayak D, Tripathi N, Kathuria D, et al. Quinacrine and curcumin synergistically increased the breast cancer stem cells death by inhibiting ABCG2 and modulating DNA damage repair pathway[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2020,119:105682.

[24] Biswas S, Mahapatra E, Ghosh A, et al. Curcumin Rescues Doxorubicin Responsiveness via Regulating Aurora a Signaling Network in Breast Cancer Cells[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2021, 22 (3):957 –970.

(收稿日期:2021 – 11 – 11)

本文引用格式:姜雪莲,卫旭东,马斌娟,等. 基于网络药理学探讨姜黄素抗人喉癌细胞的分子机制及其实验研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2022,28(6):92 – 99. DOI:10. 11798/j. issn. 1007 – 1520. 202221435

Cite this article as:JIANG Xuelian, WEI Xudong, MA Binjuan, et al. Molecular mechanism and experimental study of curcumin anti-human laryngeal cancer cells based on network pharmacology[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2022,28(6):92 – 99. DOI:10. 11798/j. issn. 1007 – 1520. 202221435