

放疗专题

• 应用基础研究 •

抑制内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 介导 NF- κ B 抑制口咽癌细胞增殖*

王捷, 张妙, 吕欣桐, 乔俏[△]

110001 沈阳, 中国医科大学附属第一医院 放射治疗科

[摘要] 目的: 探讨内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 参与调控口咽癌细胞增殖具体机制。方法: 采用 MTT 实验分别检测不同浓度(0 μ mmol/L、1 μ mmol/L、10 μ mmol/L、50 μ mmol/L) PERK 通路抑制剂 GSK2606414 和 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082 对口咽癌细胞(Fadu、Detroit 562)增殖的影响;应用 Western Blot 实验检测 PERK-eIF2 α -NF- κ B 通路活化情况;Annexin V、PI 染色、流式细胞仪检测凋亡分数。结果: 首先应用 PERK 抑制剂预处理细胞, MTT 结果示, 随着 GSK2606414 预处理浓度的增加, Fadu 细胞和 Detroit 562 细胞的存活率均逐渐降低($F=56.06, P=0.000; F=71.13, P=0.000$)。其次沉默 PERK 诱导细胞凋亡。我们进一步探讨其机制, 发现沉默 PERK 抑制 NF- κ B 磷酸化, 提示 PERK-eIF2 α 信号通路异常活化诱导 NF- κ B 磷酸化。最后我们抑制 NF- κ B 验证上述结果, MTT 结果示, 随着 Bay11-7082 预处理浓度的增加, Fadu 细胞和 Detroit 562 细胞的存活率均逐渐降低($F=57.48, P=0.001; F=116.76, P=0.001$);同时, Bay11-7082 组 Fadu 细胞、Detroit 562 细胞凋亡比例分别较各自的 control 组明显增加, 差异有统计学意义($t=12.38, 20.88, P=0.007, 0.002$);均显示抑制细胞增殖诱导凋亡。结论: 抑制内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 介导 NF- κ B 抑制口咽癌细胞增殖。

[关键词] 内质网应激; PERK; eIF2 α ; NF- κ B; 口咽癌; 增殖

[中图分类号] R739.85 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2019.01.003

引文格式: Wang J, Zhang M, Lv XT, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress signaling pathway PERK-eIF2 α mediates NF- κ B inhibition of oropharyngeal cancer cell proliferation [J]. J Cancer Control Treat, 2019, 32(1): 17-24. [王捷, 张妙, 吕欣桐等. 抑制内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 介导 NF- κ B 抑制口咽癌细胞增殖[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(1): 17-24.]

Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress Signaling Pathway PERK-eIF2 α Mediates NF- κ B Inhibition of Oropharyngeal Cancer Cell Proliferation

Wang Jie, Zhang Miao, Lv Xintong, Qiao Qiao

Department of Radiotherapy, The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China

Corresponding author: Qiao Qiao, E-mail: qiaojiang120@126.com

This study was supported by National Natural Science Foundation of China (NO. 81402521) and Beijing CSCO Clinical Oncology Research Foundation (NO. YMT016-004).

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism of regulation proliferation in oropharyngeal cancer cells by endoplasmic reticulum stress signaling pathway PERK-eIF2 α . **Methods:** MTT assay was used to detect proliferation in oropharyngeal cancer cells (Fadu, Detroit 562) by different concentrations (0 μ mmol/L, 1 μ mmol/L, 10 μ mmol/L, 50 μ mmol/L) of PERK pathway inhibitor GSK2606414 and NF- κ B inhibitor Bay11-7082. By Western Blot assay, we observed the activation of PERK-eIF2 α -NF- κ B signaling pathway. Cell apoptosis rate was detected by flow. **Results:** The results of MTT assay

showed that with the increase of pretreatment concentration of GSK2606414, the survival rate of Fadu cells and Detroit 562 cells gradually decreased ($F=56.06, P=0.000, F=71.13, P=0.000$). Secondly, silencing PERK induced apoptosis. We further explored its mechanism and found that silencing

[收稿日期] 2018-10-30 **[修回日期]** 2018-12-04

[基金项目] * 国家自然科学基金(编号:81402521);北京市希思科临床肿瘤学研究基金(编号:YMT016-004)

[通讯作者] [△] 乔俏, E-mail: qiaojiang120@126.com

PERK inhibits NF- κ B phosphorylation, suggesting that abnormal activation of PERK-eIF2 α signaling pathway induces NF- κ B phosphorylation. Finally, we inhibited NF- κ B to verify the above results. The results of MTT assay showed that with the increase of pretreatment concentration of Bay11 7082, the survival rate of Fadu cells and Detroit 562 cells decreased gradually ($F=57.48$, $P=0.000$, $F=116.76$, $P=0.000$). The apoptosis rate of Fadu cells and Detroit 562 cells in Bay11-7082 group was significantly higher than that in the control group ($t=12.38$, 20.88 ; $P=0.007$, 0.002). All of them showed inhibition of cell proliferation and induced apoptosis. **Conclusion:** Inhibition of endoplasmic reticulum stress signaling pathway PERK-eIF2 α mediates NF- κ B inhibition of oropharyngeal cancer cell proliferation.

[Key words] Endoplasmic reticulum stress; PERK; eIF2 α ; NF- κ B; Oropharyngeal cancer; Proliferation

头颈部肿瘤是全球第六大常见恶性肿瘤,也是发展中国家第三大常见肿瘤。其中口咽癌约占 4.2%。放射治疗是其主要的治疗方法之一。尽管近几年来放疗治疗技术取得了很大进步,但近半个世纪来其 5 年生存率始终徘徊在 50%^[1]。因此,寻求有效途径抑制口腔癌细胞增殖,提高其治愈率是目前亟待解决的问题。有文献表明,内质网应激通路 PERK-eIF2 α 可激活细胞中的自我保护机制从而抑制细胞凋亡^[2]。而核因子 κ B (NF- κ B) 可以抑制细胞凋亡,并已在胶质瘤、甲状腺癌等其它恶性肿瘤中得到证实^[3-4]。因此,我们认为通过抑制内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 介导 NF- κ B 或可诱导口咽癌细胞凋亡。本研究以口咽鳞癌细胞系 (Fadu、Detroit 562) 为细胞模型,探讨内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 参与调控口咽癌细胞增殖具体机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

MEM、RPMI 1640 和胎牛血清购自于美国 GIBCO 公司。GSK2606414 购自德国 Calbiochem 公司。Bay11-7082、DMSO、RIPA 裂解液、FITC Annexin V 凋亡检测试剂盒 (APOAF) 购自于美国 Sigma 公司。Negative siRNA、PERK siRNA、eIF2 α siRNA 和转染试剂 DharmaFECT 1 购自于美国 Dharmacon 公司。phospho-eIF2 α 、phospho-p65、p65、兔抗人 β -actin 购自于美国 Cell Signaling 公司。Thapsigargin、PERK 购自于英国 Abcam 公司。MTT 试剂盒、BCA 浓度测定试剂盒、Western Blot 实验相关试剂购买于中国碧云天生物科技公司。

1.2 细胞培养及转染

本研究选用 HPV(-) 的口咽鳞癌 Fadu 细胞株和 Detroit 562 细胞株。Fadu 细胞用含有 10% 胎牛血清的 MEM 培养瓶、Detroit 562 细胞用含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养瓶在 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的恒温培养箱中培养,2~3 d 传代 1 次,观察细胞生长情况,待细胞种植密度为 70%~80% 时,将

Negative siRNA、PERK siRNA、eIF2 α siRNA、转染试剂 DharmaFECT 1 和培养液按实验要求混合后分别加入各组培养皿中,24 h 后更换新鲜培养液,48~60 h 收取细胞。

1.3 MTT 实验

检测不同浓度 PERK 通路抑制剂 GSK2606414 对口咽鳞癌细胞增殖的影响:接种两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 于 96 孔细胞培养板中,每孔 5×10^3 个细胞,培养 24 h 后,给予不同浓度的 GSK2606414 处理两种细胞,浓度从低到高依次为 0 μ mmol/L、1 μ mmol/L、10 μ mmol/L、50 μ mmol/L,同时设计阴性对照组。每组设 3 个复孔,分别于培养 24 h 后加入 20.00 μ L MTT,在 37℃ 下继续培养 4 h,弃上清,每孔加入 150 μ L DMSO,于 37℃ 孵育 30 min,酶标仪上振荡 10 min,以酶标仪检测波长 570 nm 处吸光度 (A) 值,计算细胞存活率:细胞存活率 (%) = (实验组 A 值 - 调零组 A 值) / (对照组 A 值 - 调零组 A 值) $\times 100\%$ 。另给予两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 不同浓度的 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082 处理,浓度从低到高依次为 0 μ mmol/L、1 μ mmol/L、10 μ mmol/L、50 μ mmol/L,同时设计阴性对照组,以同样的方法检测。另给与两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 5 Gy X 射线照射,分别设立 Negative siRNA 组、Negative siRNA + IR 组、PERK siRNA + IR 组和 eIF2 α siRNA + IR 组,以同样的方法检测。

1.4 Western Blot 实验

检测沉默 PERK、eIF2 α 及 Thapsigargin 处理后对口咽癌细胞中 PERK、phospho-eIF2 α 、phospho-p65、p65 蛋白表达的影响:参照参考文献[5]的实验方法,两组细胞分别设立 Negative siRNA 组、PERK siRNA 组、eIF2 α siRNA 组、Thapsigargin (100 nmol/L, 24 h) 组。25 mL 的培养瓶接种细胞,细胞种植密度为 70%~80% 时,将 Negative siRNA、PERK siRNA、eIF2 α siRNA、转染试剂 DharmaFECT 1 和培养液按实验要求混合后分别加入各组培养皿中,24 h

后更换新鲜培养液, 48 ~ 60 h 收取细胞。RIPA 裂解液提取细胞核蛋白及总蛋白, 参照 BCA 蛋白检测试剂盒说明书检测蛋白浓度后, 分别用 6%、10%、12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳和电转移法转至 PVDF 膜上, 用 5% BSA 封闭, 一抗 PERK、phospho-eIF2 α 、phospho-p65、p65、 β -actin 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h, 应用放射自显影技术进行蛋白条带的显影。Image J 图像分析系统分析结果, 获得各条带的吸光度 (A) 值, 以相应蛋白条带的平均吸光度值与 β -actin 吸光度值的比值表示各组蛋白表达水平, 进行统计学分析。另给予两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 5 Gy X 射线照射, 分别设立 Negative siRNA 组、Negative siRNA + IR 组、PERK siRNA + IR 组和 eIF2 α siRNA + IR 组, 以同样的方法检测。

1.5 流式细胞仪检测细胞凋亡

参照参考文献 [6] 的实验方法, 接种 2 种口咽癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 于 6 孔细胞培养板, 细胞种植密度为 70% ~ 80% 时, 将口咽癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 分别设立 Negative siRNA 组、PERK siRNA 组、eIF2 α siRNA 组。将 Negative siRNA、PERK siRNA、eIF2 α siRNA、转染试剂 DharmaFECT 1 和培养液按实验要求混合后分别加入各组培养皿中, 24 h 后更换新鲜培养液。结束培养后, 胰酶消化提取细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS 清洗细胞 2 次; 参照试剂盒的说明书, 用 1X Binding Buffer 重新悬浮细胞, 加入 5 μL PI、5 μL Annexin V, 避光 10 min。1 h 内上机进行检测。流式细胞仪检测细胞时, 至少检测 5 000 个细胞。另将两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 分别设立对照组、Bay11-7082 组, 以同样的方法检测。

1.6 统计学方法

所有实验均重复 3 次, 结果以均数 $\pm$ 标准差表示。应用 SPSS 21.0 软件进行数据分析, 组间比较采用独立样本 t 检验或单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PERK-eIF2 α 信号通路特异性抑制剂 GSK2606414 抑制口咽癌细胞增殖

如图 1 所示, MTT 实验检测 GSK2606414 对两种细胞存活率的影响。实验中我们发现, 随着 GSK2606414 预处理浓度的增加, Fadu 细胞及

Detroit 562 细胞的存活率均逐渐降低 ($F = 56.06$, $P = 0.001$; $F = 71.13$, $P = 0.001$)。这一结果提示, 抑制 PERK 通路抑制口咽癌细胞增殖。



图 1. 不同浓度 GSK2606414 处理后口咽癌细胞活力

Figure 1. Cell Viability after Treatment of Two Oropharyngeal Cancer Cells in MTT

* $P < 0.05$, # $P < 0.01$

2.2 沉默 PERK-eIF2 α 信号通路活化诱导口咽鳞癌细胞凋亡

采用流式细胞仪检测 Negative siRNA 组、PERK siRNA 组及 eIF2 α siRNA 组细胞凋亡情况发现, PERK siRNA 组及 eIF2 α siRNA 组两种口咽癌细胞凋亡比例均较 Negative siRNA 组明显增高, 见图 2A。其中 PERK siRNA 组 Fadu 细胞、Detroit 562 细胞凋亡比例分别为 $(5.61 \pm 1.19)\%$ 和 $(8.69 \pm 1.04)\%$, 分别较各自的 Negative siRNA 组明显增加, 差异有统计学意义 ($t = 8.16, 14.54$, $P < 0.05$)。而 eIF2 α siRNA 组 Fadu 细胞、Detroit 562 细胞凋亡比例分别为 $(9.67 \pm 1.01)\%$ 和 $(11.68 \pm 1.26)\%$, 分别较各自的 Negative siRNA 组明显增加, 差异有统计学意义 ($t = 16.64, 16.08$, $P = 0.004, 0.004$)。实验结果提示沉默 PERK-eIF2 α 信号通路活化诱导口咽鳞癌细胞凋亡, 见图 2B。

2.3 抑制 PERK-eIF2 α 信号通路下调 NF- κ B 磷酸化

首先, 在两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 中, 通过转染分别沉默 PERK 及 eIF2 α 后, 采用 Western Blot 法检测发现, 两种细胞 PERK 及 phospho-eIF2 α 的表达均较对照组减少, 见图 3 A、a、B、b。进一步通过转染同时沉默 PERK 与 eIF2 α 后, 采用 Western Blot 法检测发现, 两种细胞 phospho-p65 的表达均较对照组减少, 见图 3 C、c。提示我们 PERK-eIF2 α 激活 NF- κ B 磷酸化。最后利用 PERK 激活剂 Thapsigargin 处理后, 两种细胞 phospho-p65 的表达均较对照组增加, 见图 3 D、d。进一步证实 PERK-eIF2 α 信号通路异常活化诱导 NF- κ B 磷酸化。

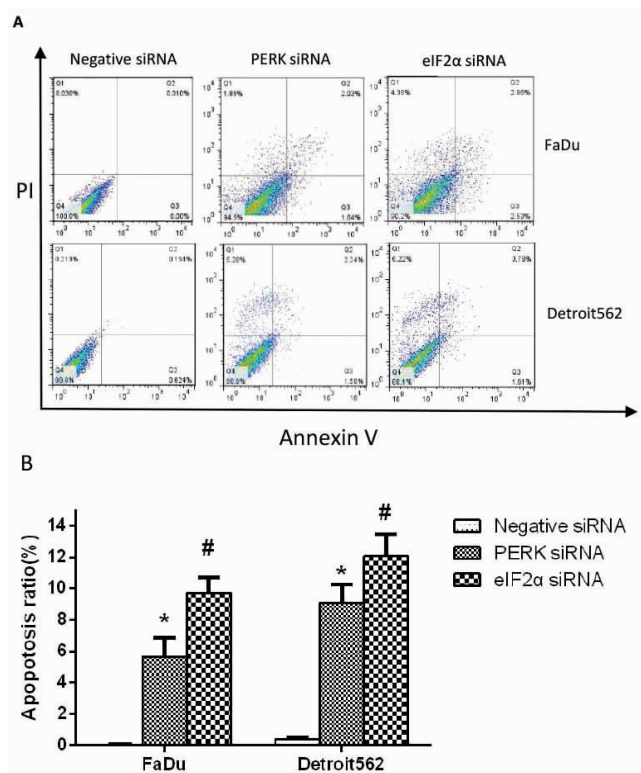


图 2. 流式细胞仪检测不同处理因素对细胞凋亡的影响

Figure 2. Apoptosis after Treatment of Two Oropharyngeal Cancer Cells in Flow Cytometry

* $P < 0.05$, # $P < 0.01$. A. Apoptosis rate of each group of FaDu and Detroit 562 cells; B. Statistical figure

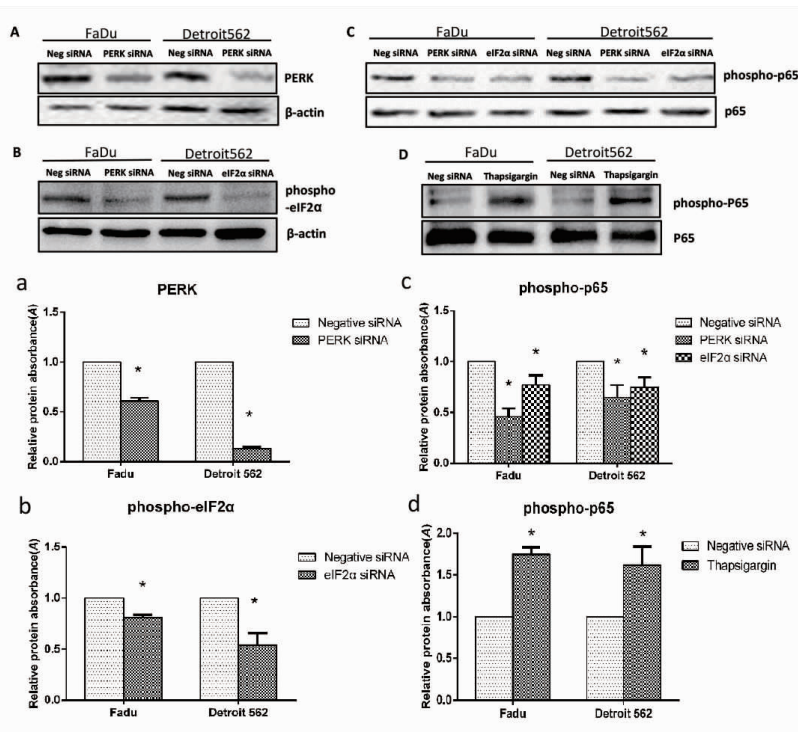


图 3. 蛋白印迹法检测不同处理后两种细胞中蛋白表达情况

Figure 3. Protein Expression in Two Cells after Different Treatments

* $P < 0.05$. A. PERK protein images of Western Blotting assay; B. Phospho-eIF2α protein images of Western Blotting assay; C. Phospho-p65 protein images of Western Blotting assay; D. Phospho-p65 protein images of Western Blotting assay; a. Relative level of PERK; b. Relative level of phospho-eIF2α; c. Relative level of phospho-p65; d. Relative level of phospho-p65;

2.4 抑制 NF- κ B 诱导口咽鳞癌细胞凋亡抑制其增殖

如图 4 A 所示,MTT 实验检测 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082 对两种细胞存活率的影响。实验中我们发现,随着 Bay11-7082 预处理浓度的增加,Fadu 细胞和 Detroit 562 细胞的存活率均逐渐降低($F = 57.48, P = 0.001$; $F = 116.76, P = 0.001$)。这一结果提示,阻断 NF- κ B 通路抑制口咽癌细胞增殖。采用流式细胞仪检测对照组及 Bay11-7082 组细胞凋

亡情况发现,Bay11-7082 组两种口咽癌细胞凋亡比例均较对照组明显增高,见图 4 B。其中 Bay11-7082 组 FaDu 细胞、Detroit 562 细胞凋亡比例分别为 $(12.65 \pm 1.77)\%$ 和 $(11.84 \pm 0.98)\%$,分别较各自的对照组明显增加,差异有统计学意义($t = 12.38, 20.88, P = 0.007, 0.002$)。实验结果提示抑制 NF- κ B 诱导口咽鳞癌细胞凋亡抑制其增殖,见图 4 C。

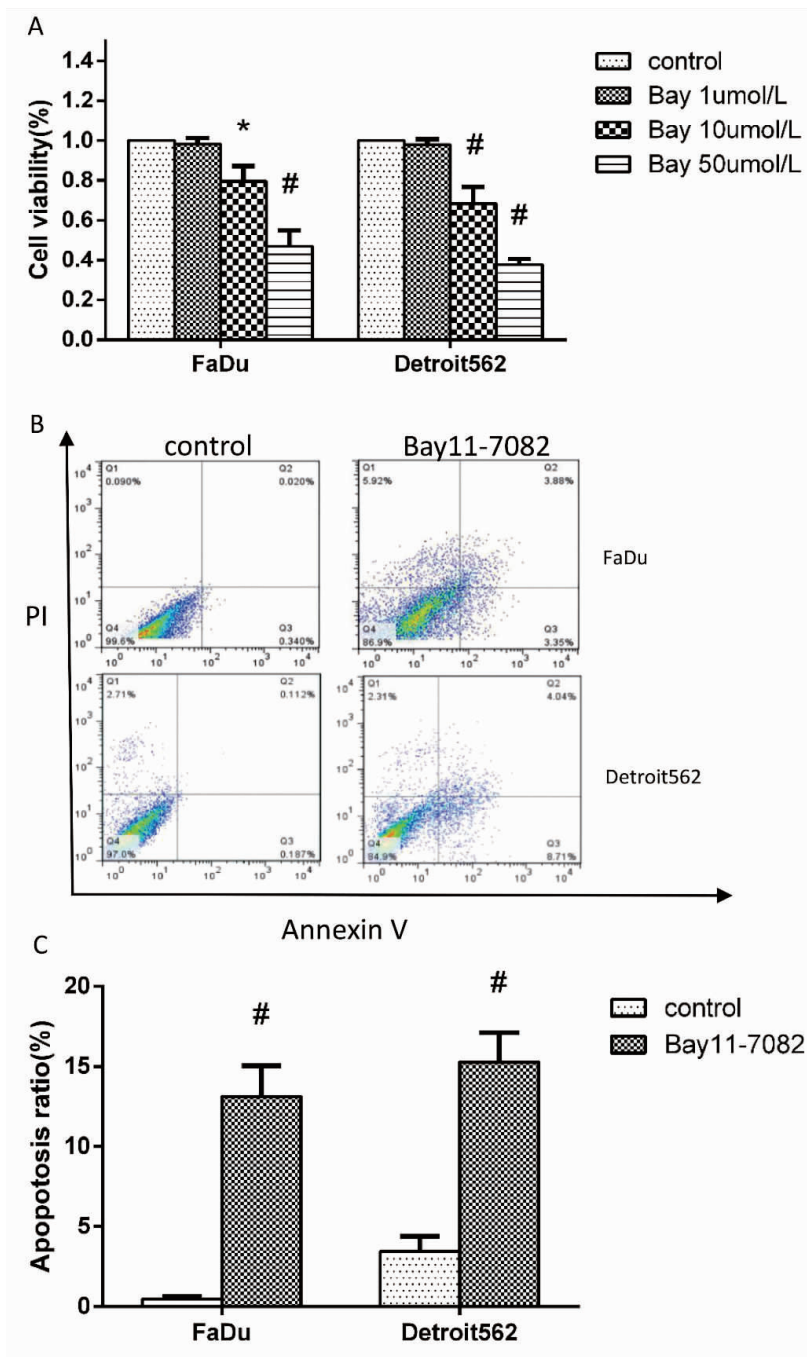


图 4. Bay11-7082 处理后口咽癌细胞的情况

Figure 4. Oropharyngeal Cancer Cell after Treatment with Bay11-7082

* $P < 0.05$, # $P < 0.01$. A. The viability of oropharyngeal cancer cells after treatment with different concentrations of Bay11-7082; B. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate of FaDu and Detroit 562 cells after Bay11-7082 treatment; C. Statistical figure

2.5 抑制 PERK-eIF2 α 信号通路下调 NF- κ B 磷酸化抑制照射后口咽鳞癌细胞增殖

如图 5 A、B 示,在两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 中,通过转染分别沉默 PERK 及 eIF2 α 后照射,采用 Western Blot 法检测发现,两种细胞 phospho-p65 的表达均较对照组减少。进一步 MTT 法显示,在两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 中,PERK siRNA + IR 组和 eIF2 α siRNA + IR 组细胞存活率均较对照组降低,见图 5 C。其中,Fadu 细胞中 PERK siRNA + IR 组和 eIF2 α siRNA + IR 组细胞

存活率分别为 (0.8 ± 0.08) 和 (0.61 ± 0.06) ,较 Negative siRNA + IR 组 (0.95 ± 0.04) 均明显减少,差异有统计学意义 ($P = 0.04, 0.001$)。Detroit 562 细胞中 PERK siRNA + IR 组和 eIF2 α siRNA + IR 组细胞存活率分别为 (0.72 ± 0.04) 和 (0.77 ± 0.06) ,分别较 Negative siRNA + IR 组 (0.89 ± 0.03) 明显减少,差异有统计学意义 ($P = 0.003, 0.025$)。该结果提示抑制 PERK-eIF2 α 信号通路下调 NF- κ B 磷酸化抑制照射后口咽鳞癌细胞增殖。

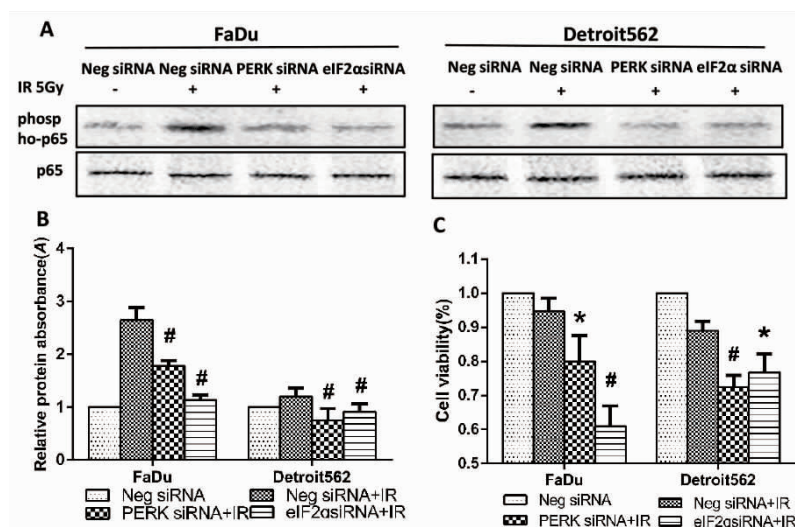


图 5. Phospho-p65 在口咽癌细胞中的表达情况

Figure 5. Expression of Phospho-p65 in Oropharyngeal Cancer Cells

* $P < 0.05$, # $P < 0.01$. A. Phospho-p65 protein images of Western Blotting assay; B. Relative level of phospho-p65; C. The viability of oropharyngeal cancer cells after different treatment

3 讨论

近年来,人类乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 感染已成为口咽癌的重要发病原因之一。HPV(+) 口咽癌患者比 HPV(-) 口咽癌患者的预后更好^[7-8]。但是在亚洲人群中,HPV(-) 口咽癌患者比例更高^[9-10]。因此,提高 HPV(-) 口咽癌放疗敏感性对我国口咽癌患者是更急于解决的问题。有鉴于此,我们选择 HPV(-) 口咽癌细胞系为研究对象。越来越多的证据表明,内质网应激在恶性肿瘤的发生、发展以及对放化疗敏感性的调控中起着重要作用。辐射导致 DNA 损伤和内质网中错误折叠蛋白质的积累以诱导内质网应激。内质网应激常导致内质网未折叠蛋白质或错误折叠蛋白的蓄积,引起未折叠蛋白反应。因此,干扰未折叠蛋白反应可能是治疗肿瘤的机制之一。未折叠蛋白反应通过 3 个定位于内质网的跨膜蛋白作为感受器,即 PERK,IRE1 α 和 ATF6。内质网应激致未折叠蛋白

在内质网积聚后 PERK 自身磷酸化胞质激酶域,活化 eIF2 α ,激活细胞中的自我保护机制并主动调节应激反应蛋白^[2]。另外,在鼻咽癌细胞和乳腺癌细胞中,抑制内质网信号通路可以通过增加其放射敏感性从而增加凋亡抑制其增殖^[11-12]。但在人结直肠癌细胞和食管癌细胞中,激活内质网信号通路可以增加其放射敏感性从而增加凋亡,抑制其增殖^[13-14]。本实验研究结果显示,随着 PERK 通路抑制剂 GSK2606414 预处理浓度的增加,两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 的存活率均逐渐降低。这一结果提示,通过抑制 PERK 通路可以抑制口咽癌细胞增殖。

凋亡是调节细胞死亡、维持细胞稳态的重要途径。本实验研究结果显示,在两种口咽鳞癌细胞 (Fadu、Detroit 562) 中,通过转染沉默 PERK 及 eIF2 α 后,细胞凋亡比例明显增高。实验结果提示沉默 PERK-eIF2 α 信号通路活化诱导口咽鳞癌细胞凋亡,这进一步说明 PERK 抑制剂抑制细胞增殖通过诱导

口咽癌细胞凋亡实现。

核因子- κ B (NF- κ B)是具有特异性 DNA 结合序列的核转录调节因子,其中以 NF- κ B p65 最为常见。NF- κ B 在与内质网应激相关的疾病中已被认为是一种可行的治疗靶点,如神经退行性疾病和糖尿病^[15-16]。前期研究发现,内质网应激途径 PERK-eIF2 α 通过激活 NF- κ B 使在口咽癌细胞产生辐射抗拒性^[17]。另外, Jiang^[18] 和 Wek^[19] 以前的研究表明, eIF2 α 磷酸化可以激活人胚肾细胞中的 NF- κ B 以调节细胞凋亡, Deng 等^[20] 进一步阐明了 PERK 的下游信号 eIF2 α 通过降低 I κ B α 水平激活 NF- κ B。有争议的是,虽然 Fan 和 Tyagi^[21] 发现在乳腺癌细胞中,内质网应激通路 PERK 通过激活 NF- κ B 以介导雌激素诱导细胞凋亡,但是与 Cullinan 等^[22] 的研究类似,其认为 PERK 激活 NF- κ B 不需要 eIF2 α 磷酸化。我们在本实验研究结果显示,在两种口咽鳞癌细胞(Fadu、Detroit 562)中,通过转染沉默 PERK 及 eIF2 α 后,PERK、phospho-eIF2 α 、phospho-p65 的表达均较对照组减少。这一结果提示,PERK-eIF2 α 激活 NF- κ B 磷酸化。为了进一步证明上述实验结果,我们利用 PERK 激活剂 Thapsigargin 处理两种细胞后,其 phospho-p65 的表达均较对照组增加。进一步证实 PERK-eIF2 α 信号通路异常活化诱导 NF- κ B 磷酸化。

核因子- κ B (NF- κ B)广泛存在于各种类型的细胞中,参与协调许多生物学功能,包括细胞分化、炎症反应、免疫反应、细胞凋亡及肿瘤生长等^[23-24]。其具有的抑制细胞凋亡的作用在胶质瘤、甲状腺癌等其它恶性肿瘤中得到证实^[34]。进一步实验发现,随着 NF- κ B 抑制剂 Bay11-7082 预处理浓度的增加,两种口咽鳞癌细胞(Fadu、Detroit 562)的存活率均逐渐降低。这一结果提示,阻断 NF- κ B 通路抑制口咽癌细胞增殖。进一步发现 Bay11-7082 处理后两种口咽癌细胞凋亡比例明显增高。实验结果提示抑制 NF- κ B 诱导口咽鳞癌细胞凋亡抑制其增殖。分别沉默 PERK 及 eIF2 α 后照射发现,两种细胞存活率及其 phospho-p65 的表达均较对照组减少,提示我们抑制 PERK-eIF2 α 信号通路下调 NF- κ B 磷酸化抑制照射后口咽鳞癌细胞增殖,故抑制该通路或可增加口咽鳞癌细胞对放射的敏感性。

综上,本研究结果示抑制内质网应激信号通路 PERK-eIF2 α 调控 NF- κ B 诱导口咽癌细胞增殖,为寻求有效途径抑制口咽癌细胞增殖提供了新的靶点和理论依据。

作者声明:本文第一作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;

利益冲突:本文全部作者均认同文章无相关利益冲突;

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统学术不端检测;

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

[参考文献]

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, et al. PERK is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response [J]. Mol Cell, 2000, 5(5): 897-904.
- [3] Yen TH, Hsieh CL, Liu TT, et al. Amentoflavone induces apoptosis and inhibits NF- κ B-modulated anti-apoptotic signaling in glioblastoma cells [J]. In Vivo, 2018, 32(2): 279-285.
- [4] Zhao S, Wang Q, Li Z, et al. LDOC1 inhibits proliferation and promotes apoptosis by repressing NF-kappaB activation in papillary thyroid carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34(6): 146-157.
- [5] Qiao Q, Nozaki Y, Sakoe K, et al. NF- κ B mediates aberrant activation of HIF-1 in malignant lymphoma [J]. Exp Hematol, 2010, 38(12): 1199-1208.
- [6] Qiao Q, Jiang Y, Li G. Curcumin improves the antitumor effect of X-ray irradiation by blocking the NF-kappaB pathway: an in-vitro study of lymphoma [J]. Anticancer Drugs, 2012, 23(6): 597-605.
- [7] Lassen P. The role of Human papillomavirus in head and neck cancer and the impact on radiotherapy outcome [J]. Radiother Oncol, 2010, 95(3): 371-380.
- [8] 李俏丽,李超,王薇,等. 口腔、口咽鳞状细胞癌中 HPV 感染与 EGFR 之间的相关性研究[J]. 肿瘤预防与治疗, 2018, 31(2): 78-83.
- [9] Huang H, Zhang B, Chen W, et al. Relationship between HPV-DNA status and p16 protein expression in oropharyngeal squamous cell carcinoma and their clinical significance [J]. Zhonghua Zhong Liu Za Zhi, 2013, 35(9): 684-688.
- [10] Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States [J]. J Clin Oncol, 2011, 29(32): 4294-4301.
- [11] Qi L, Wu P, Zhang X, et al. Inhibiting ERp29 expression enhances radiosensitivity in human nasopharyngeal carcinoma cell lines [J]. Med Oncol, 2012, 29(2): 721-728.
- [12] Nagelkerke A, Bussink J, van der Kogel AJ, et al. The PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response affects radioresistance by interfering with the DNA damage response [J]. Radiother Oncol, 2013, 108(3): 415-421.

- [13] Drake TM, Ritchie JE, Kanthou C, et al. Targeting the endoplasmic reticulum mediates radiation sensitivity in colorectal cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(3):532-539.
- [14] Pang XL, He G, Liu YB, et al. Endoplasmic reticulum stress sensitizes human esophageal cancer cell to radiation [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(11):1736-1748.
- [15] Srinivasan M, Lahiri DK. Significance of NF- κ B as a pivotal therapeutic target in the neurodegenerative pathologies of Alzheimer's disease and multiple sclerosis [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(4):471-487.
- [16] Lazaro I, Oguiza A, Recioet C, et al. Targeting HSP90 ameliorates nephropathy and atherosclerosis through suppression of NF- κ B and STAT signaling pathways in diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2015, 64(10):3600-3613.
- [17] Qiao Q, Sun CN, Han CY, et al. Endoplasmic reticulum stress pathway PERK-eIF2 α confers radioresistance in oropharyngeal carcinoma by activating NF- κ B [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(7):1421-1431.
- [18] Jiang HY, Wek RC. GCN2 phosphorylation of eIF2 α activates NF- κ B in response to UV irradiation [J]. *Biochem J*, 2005, 385(pt2):371-380.
- [19] Jiang HY, Wek SA, McGrath BC, et al. Phosphorylation of the alpha subunit of eukaryotic initiation factor 2 is required for activation of NF- κ B in response to diverse cellular stresses [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(16):5651-5663.
- [20] Deng J, Lu PD, Zhang YH, et al. Translational repression mediates activation of nuclear factor kappa B by phosphorylated translation initiation factor 2 [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(23):10161-10168.
- [21] Fan P, Tyagi AK, Agboke FA, et al. Modulation of nuclear factor-kappa B activation by the endoplasmic reticulum stress sensor PERK to mediate estrogen-induced apoptosis in breast cancer cells [J]. *Cell Death Discov*, 2018, 4:15-28.
- [22] Cullinan SB, Zhang D, Hannink M, et al. Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(20):7198-7209.
- [23] Park MH, Hong JT. Roles of NF- κ B in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches [J]. *Cell*, 2016, 5(2):E15-27.
- [24] Xing Y, Wang X, Jameson SC, et al. Late stages of T cell maturation in the thymus involve NF- κ B and tonic type I interferon signaling [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(5):565-573.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《肿瘤预防与治疗》文章荐读:放射肿瘤学的进展与未来

恶性肿瘤已成为严重危害世界和我国人民身体健康和生命安全的重大疾病。据 2018 年中国癌症统计数据显示,2014 年我国有 380.4 万例恶性肿瘤新发病例和 229.6 万例死亡病例。放疗是恶性肿瘤最重要的治疗手段之一。70% 的恶性肿瘤患者在治疗的不同阶段需要接受放疗,其中 70% 为根治性放疗,而在接受根治性放疗的患者中,有 70% 的患者最后能够被根治。在可以治愈的恶性肿瘤中,放疗的贡献为 40%。对于晚期或复发恶性肿瘤,放疗也是缓解患者症状,延长生存时间,提高生活质量最有效的治疗手段之一。随着放疗技术的不断进步,放疗理念的不断更新,放射肿瘤学学科已经取得长足进步。《放射肿瘤学的进展与未来》一文从放疗临床、放射物理和放射生物三个方面,评述了放射肿瘤学的新进展与发展前景,以期放射肿瘤学专业的从业人员提供指导。

阅读该文请登录本刊网站 www.zlyfzl.cn 或点击推荐文章链接:http://125.71.214.100:801/Jwk_zlyf/CN/article/showHotArticle.do 查看。

本刊编辑部