

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.003

## 虎杖苷通过 Hippo/YAP 通路影响甲状腺癌 8505C 细胞的恶性生物学行为和顺铂敏感性

曹建中, 黄金石, 丁亚亭(南通大学附属医院 药学部, 江苏 南通 226001)

**[摘要]** **目的:** 探究虎杖苷通过 Hippo/Yes 相关蛋白(YAP)通路对人甲状腺癌 8505C 细胞的恶性生物学行为和顺铂(DDP)敏感性的影响。**方法:** 体外培养 8505C 细胞, 构建其 DDP 耐药细胞 8505C/DDP, 用 CCK-8 法检测 0、25、50、75、100 nmol/L 虎杖苷处理 8505C 和 8505C/DDP 细胞的增殖能力, 以筛选虎杖苷的最佳作用浓度。将 8505C 细胞分为对照组、虎杖苷组、空载组、虎杖苷+YAP1 过表达组; 将 8505C/DDP 细胞分为对照组、DDP 组、DDP+虎杖苷组、DDP+空载组、DDP+虎杖苷+YAP1 过表达组。WB 法检测各组 8505C 细胞中 Hippo/YAP 通路[YAP1、转录辅激活因子(TAZ)]和 EMT(E-cadherin、N-cadherin)相关蛋白, 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、耐药相关蛋白[P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白 1(MRP1)]、凋亡相关蛋白(C-caspase-3、BAX、Bcl-2)的表达。Transwell 小室和细胞划痕实验分别检测各组 8505C、8505C/DDP 细胞的侵袭、迁移能力。**结果:** 虎杖苷可显著抑制 8505C 细胞的增殖活性( $P<0.05$ )明显抑制 8505C 细胞中 YAP1、TAZ 蛋白、N-cadherin 的表达(均  $P<0.05$ ), 提升 E-cadherin 蛋白的表达( $P<0.05$ ), 显著抑制 8505C 细胞的迁移和侵袭能力(均  $P<0.05$ ), 而 8505C/DDP 细胞对低浓度的虎杖苷具有耐药性( $P<0.05$ ); 过表达 YAP1 则可逆转虎杖苷对 8505C 细胞的影响。50 nmol/L 虎杖苷明显抑制 DDP 处理的 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、P-gp、MRP1、Bcl-2 的蛋白的表达(均  $P<0.05$ ), 提升 cleaved caspase-3、BAX 蛋白的表达(均  $P<0.05$ )并诱导其细胞凋亡( $P<0.05$ ), 过表达 YAP1 则可逆转虎杖苷对 8505C/DDP 细胞的影响。**结论:** 虎杖苷抑制 Hippo/YAP 信号通路, 从而抑制 8505C 细胞的恶性生物学行为和增强其对 DDP 敏感性。

**[关键词]** 甲状腺癌; 8505C 细胞; 虎杖苷; Hippo/YAP 通路; 迁移; 侵袭; 上皮间质转化; 化疗敏感性

**[中图分类号]** R736.1; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)03-0224-07

## Polydatin affects malignant biological behaviors and DDP chemosensitivity of thyroid cancer 8505C cells through the Hippo/YAP pathway

CAO Jianzhong, HUANG Jinshi, DING Yating (Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of polydatin on malignant biological behaviors and cisplatin(DDP)-sensitivity of human thyroid cancer 8505C cells by regulating the Hippo/Yes-associated protein (YAP) signaling pathway. **Methods:** 8505C cells were cultured *in vitro*, and their DDP-resistant cells (8505C/DDP) were constructed. The proliferation ability of 8505C and 8505C/DDP cells that treated with 0, 25, 50, 75, and 100 nmol/L polydatin was detected by CCK-8 assay, in order to screen the optimal action concentration of polydatin. The 8505C cells were divided into control group, polydatin group, empty vector group, polydatin+YAP1 overexpression group; and the 8505C/DDP cells were divided into control group, DDP group, DDP+polydatin group, DDP+empty vector group, and DDP+polydatin+YAP1 overexpression group. WB assay was used to detect the expression of Hippo/YAP pathway related proteins [YAP1, transcriptional coactivator factor (TAZ)] and EMT-associated proteins (E-cadherin, N-cadherin) in the 8505C cells of each group; Besides, the expression levels of YAP1, TAZ, and drug resistance-associated proteins [P-glycoprotein (P-gp), multidrug resistance-associated protein 1 (MRP1)] as well as apoptosis-associated proteins (cleaved caspase-3, BAX, Bcl-2) in 8505C/DDP cells were also detected by WB. Transwell assay and cell scratching assay were used to detect the invasion and migration abilities of 8505C and 8505C/DDP cells in each group, respectively. **Results:** Polydatin significantly inhibited the proliferation of 8505C cells ( $P<0.05$ ), but 8505C/DDP cells were resistant to low concentrations of polydatin ( $P<0.05$ ). Moreover, polydatin significantly inhibited the protein expression of YAP1, TAZ and N-cadherin, elevated the protein expression of E-cadherin in 8505C cells ( $P<0.05$ ), and significantly suppressed the migration and invasion of 8505C cells (all  $P<0.05$ ); However, overexpression of YAP1 reversed the effects

**[基金项目]** 南通市市级科技计划(No.JCZ20004)

**[作者简介]** 曹建中(1974—),男,学士,主管药师,主要从事抗肿瘤药物基础与临床的研究。E-mail: obxaaz@163.com

**[通信作者]** 曹建中, E-mail: obxaaz@163.com

of polydatin on 8505C cells (all  $P < 0.05$ ). 50 nmo/L polydatin significantly inhibited the protein expression of YAP1, TAZ, P-gp, MRP1 and Bcl-2, elevated the protein expression of cleaved caspase-3 and BAX in 8505C/DDP cells which treated with DDP (all  $P < 0.05$ ), and induced cell apoptosis (all  $P < 0.05$ ); However, overexpression of YAP1 reversed the effect of polydatin on 8505C/DDP cells (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Polydatin inhibits the malignant biological behaviors and enhances the DDP-sensitivity of 8505C cells via inhibiting the Hippo/YAP signaling pathway.

**[Key words]** thyroid cancer; 8505C cell; polydatin; Hippo/YAP pathway; migration; invasion; epithelial mesenchymal transition (EMT); chemosensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(3): 224-230. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.003]

甲状腺癌是一种极具侵袭性的恶性肿瘤,多数患者预后不良且生存率低下<sup>[1-2]</sup>。化疗作为临床中广泛使用的治疗方法,对于甲状腺癌有一定治疗效果,但化疗耐药性的产生会极大限制化疗效果。因此,积极提高甲状腺癌细胞的化疗敏感性是改善患者预后的关键<sup>[3-4]</sup>。Hippo信号和其主要效应物Yes相关蛋白(yes-associated protein, YAP),以及PDZ结合基序转录共激活因子(transcriptional co-activator with PDZ-binding motif, TAZ)在肝脏发育、再生和肿瘤发生中起关键作用<sup>[5]</sup>,也被发现与癌细胞耐药性密切相关, YAP/TAZ抑制剂可抑制雄激素依赖性前列腺癌细胞的生长和转移,减弱其对雄激素剥夺治疗的耐药性<sup>[6]</sup>,抑制Hippo信号可降低肝细胞癌的乐伐替尼耐药性和自我更新、转移能力<sup>[7]</sup>。因此推测,抑制Hippo/YAP信号激活也可能增强甲状腺癌的化疗敏感性并抑制其侵袭。虎杖苷是具有广泛抗癌活性的一种己烯类天然成分,能有效地抑制卵巢癌、宫颈癌细胞的上皮间质转化(EMT)和增殖,减弱肺癌细胞的恶性程度<sup>[8]</sup>,提高肺癌细胞的放射敏感性并同时减少健康组织的辐射损伤<sup>[9]</sup>,还可增强结肠癌细胞对5-氟尿嘧啶敏感性抑制结肠癌恶性进展<sup>[10]</sup>。本研究以体外培养的人甲状腺癌8505C细胞及其顺铂(cisplatin, DDP)耐药细胞8505C/DDP为研究对象,探究虎杖苷通过Hippo/YAP信号通路对甲状腺癌细胞的EMT进程和化疗敏感性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

人甲状腺癌8505C细胞购自澳睿赛生物技术(上海)有限公司,虎杖苷[纯度87.3%,用100%二甲基亚砜(DMSO)将其配制成1.0 mmol/L的储存液,-80℃保存]、顺铂购自齐鲁制药有限公司,空载质粒和YAP过表达质粒、兔抗人YAP1、TAZ、E-cadherin、N-cadherin、C-caspase-3、P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)、多药耐药相关蛋白1(multidrug resistance associated protein 1, MRP1)、BAX、Bcl-2及 $\beta$ -actin一抗、辣根过氧化物酶标记大鼠抗兔IgG二抗均购自赛默飞世尔科技(中国)有限

公司,CCK-8试剂盒、TUNEL检测试剂盒、结晶紫染色液均购自美国Abcam公司。双目生物显微镜(型号为XSP-2C)购自上海巴拓仪器有限公司,全波长酶标仪(型号为Multiskan SkyHigh)、转印系统(型号为XCell II Blot Module)、电泳系统(型号为XCell SureLock Mini-Cell)均购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

### 1.2 CCK-8法检测虎杖苷对8505C、8505C/DDP细胞增殖活力的影响

用RPMI 1640完全培养基(RPMI基础培养基内含10%胎牛血清和1%青-链霉素)培养8505C细胞,细胞汇合度到达约80%时进行传代,取对数生长期细胞接种于60 mm<sup>2</sup>的培养皿中( $5 \times 10^5$ 个/mL),按文献[11]方法,获得可完全耐受1.0  $\mu$ g/mL DDP的耐药细胞,即8505C/DDP细胞。将对数生长期的8505C和8505C/DDP细胞分别接种( $10^3$ 个/孔)在96孔板,以0、25、50、75、100 nmol/L虎杖苷处理24 h<sup>[12]</sup>,同时设不接种任何细胞的作为空白对照组,以CCK-8试剂处理每组细胞2 h,按CCK-8试剂盒说明书中方法测定各组细胞光密度(D)值,以D值代表细胞活力。细胞存活率=(药物处理组D值-空白对照组D值)/(对照组D值-空白对照组D值) $\times 100\%$ 。

### 1.3 8505C、8505C/DDP细胞的处理与分组

取对数生长期的8505C、8505C/DDP细胞,以 $1 \times 10^3$ 个/孔的密度接种于24孔板培养中。8505C细胞的处理与分组:对照组、虎杖苷组、空载组、虎杖苷+YAP1过表达组,对照组细胞不处理(含0.1% DMSO),虎杖苷组的细胞以终浓度为50 nmol/L的虎杖苷处理,空载组的细胞以脂质体转染空载质粒,虎杖苷+YAP1过表达组的细胞以浓度为50 nmol/L的虎杖苷处理的同时以脂质体转染YAP1过表达质粒,各组细胞均在处理24 h后进行后续实验检测。8505C/DDP细胞处理与分组:对照组、DDP组、DDP+虎杖苷组、DDP+空载组、DDP+虎杖苷+YAP1过表达组,对照组细胞不处理(含0.1% DMSO),DDP组的细胞以浓度为1  $\mu$ g/mL的DDP处理,DDP+虎杖苷组的细胞以浓度为1  $\mu$ g/mL的DDP和50 nmol/L的虎杖苷联合处理,DDP+空载组的细胞以质量浓度为

1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 DDP 处理的同时采用脂质体转染空载质粒, DDP+虎杖苷+YAP1 过表达组的细胞以质量浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 DDP 和 50  $\text{nmol}/\text{L}$  的虎杖苷联合处理的同时采用脂质体转染 YAP1 过表达质粒。各组 8505C、8505C/DDP 细胞均在处理 24 h 后进行后续实验检测。

#### 1.4 WB 法检测各组 8505C、8505C/DDP 细胞中 Hippo/YAP 通路和 EMT 相关蛋白的表达

收集 1.3 中处理后的各组细胞分别与 RAPI 裂解液混匀, 按其试剂说明书中方法提取其总蛋白, 测定其浓度后置于 100  $^{\circ}\text{C}$  水浴中加热变性, 每组取 20  $\mu\text{g}$  总蛋白样品上样后行 SDS-PAGE, 并电转至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂牛奶室温下处理 1 h, 加一抗 YAP1 (稀释度 1:1 000)、E-cadherin (稀释度 1:1 000)、N-cadherin (稀释度 1:2 000)、TAZ (稀释度 1:1 500)、P-gp (稀释度 1:1 000)、MRP1 (稀释度 1:1 000)、C-caspase 3 (稀释度 1:2 000)、BAX (稀释度 1:2 000)、Bcl-2 (稀释度 1:1 000)、 $\beta$ -actin (稀释度 1:2 000) 抗体后于室温下处理 15 h, 洗膜后加入二抗 (稀释度 1:1 000) 室温下处理 2 h, 最后进行 ECL 显色处理摄取各组蛋白条带图像, 运用 Image J 软件定量图像中各组蛋白灰度值, 计算其与内参蛋白  $\beta$ -actin 的灰度值比值, 最后得出各组蛋白相对表达量。

#### 1.5 细胞划痕实验检测各组 8505C、8505C/DDP 细胞细胞的迁移能力

1.3 中处理后的各组 8505C 细胞经胰酶消化后用无血清 RPMI 基础培养基悬浮, 计数后分别制备为  $5 \times 10^6$  个/mL 的细胞悬液, 每组取 1 mL 接种在 24 孔板中培养 6 h 后, 用无菌吸头在每孔中央划出一条直线, 以 PBS 缓冲液将划痕中细胞洗掉, 在双目生物显微镜下摄取各组细胞图像, 运用 Image J 软件定量图像中各组划痕面积 ( $S_1$ ), 加入无血清 RPMI 基础培养基继续培养 24 h 后再次在双目生物显微镜下摄取各组细胞图像并定量其划痕面积 ( $S_2$ ), 计算各组细胞迁移率。细胞迁移率 =  $(S_1 - S_2) / S_1 \times 100\%$ 。

#### 1.6 Transwell 检测各组 8505C、8505C/DDP 细胞细胞的侵袭和迁移能力

每组取 1 mL 上述制备的各组 8505C 细胞悬液接种在 24 孔 Transwell 培养板上室内, 在其下室同时加入适量含血清的 RPMI 1640 完全培养基, 培养 24 h 后取下室内细胞进行 PBS 漂洗、10% 甲醛固定、结晶紫染色、PBS 漂洗处理, 在双目生物显微镜下摄取各组细胞图像并定量其中穿梭到下室内的细胞数, 即为各组细胞侵袭数。

#### 1.7 TUNEL 染色分别检测各组 8505C、8505C/DDP 细胞的、凋亡情况

1.3 中处理后的各组 8505C 细胞以 PBS 漂洗、10% 甲醛固定后进行 TUNEL 和 DAB 染色, 具体染色步骤按试剂盒说明书进行, PBS 漂洗后在双目生物显微镜下摄取各组细胞图像并定量其中各组细胞总数和凋亡 (被染为棕色或深棕色) 数, 计算各组细胞凋亡率, 细胞凋亡率 = 细胞凋亡数 / 细胞总数  $\times 100\%$ 。

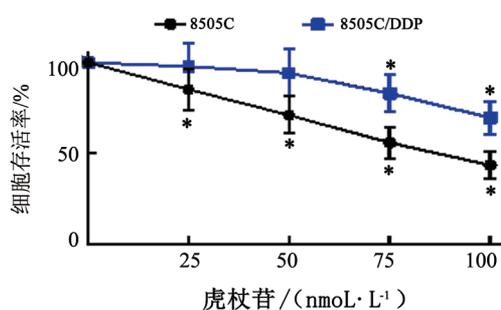
#### 1.10 统计学处理

本研究实验数据运用软件 SPSS 26.0 进行统计学分析。符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析进行多组间差异比较, 两两之间差异进一步比较行 SNK- $q$  检验。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 虎杖苷可显著抑制 8505C 细胞的增殖活性而 8505C/DDP 细胞对低浓度的虎杖苷具有耐药性

CCK-8 法检测结果 (图 1) 显示, 25、50、75、100  $\text{nmol}/\text{L}$  的虎杖苷均可降低 8505C 细胞存活率 ( $P < 0.05$ ), 而当虎杖苷浓度达到 75  $\text{nmol}/\text{L}$  时才开始抑制 8505C/DDP 细胞的增殖能力 ( $P < 0.05$ )。实验结果说明, 虎杖苷能明显抑制 8505C 细胞增殖能力, 8505C/DDP 细胞对低浓度的虎杖苷具有明显的耐药性。因为 50  $\text{nmol}/\text{L}$  的虎杖苷对 8505C/DDP 细胞基本无毒性, 因此本研究选择的虎杖苷浓度为 50  $\text{nmol}/\text{L}$ 。

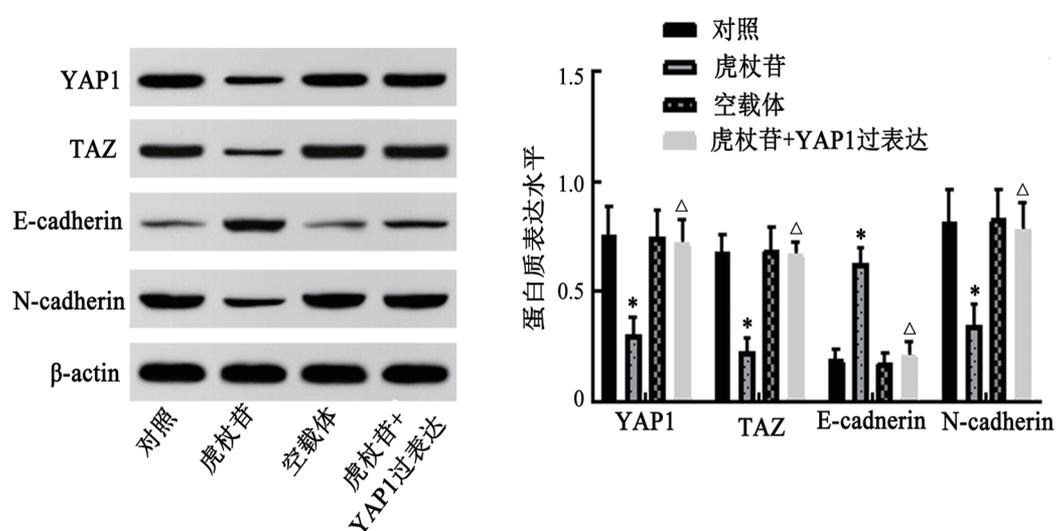


与 0  $\text{nmol}/\text{L}$  的虎杖苷相比, \* $P < 0.05$ 。

图1 不同浓度虎杖苷对8505C和8505C/DDP细胞存活率的影响

### 2.2 虎杖苷可明显抑制 8505C 细胞中 Hippo/YAP 通路和 EMT 进程

WB 法检测结果 (图 2) 显示, 与对照组相比, 虎杖苷组 8505C 细胞中 E-cadherin 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ), N-cadherin、YAP1、TAZ 蛋白表达降低 (均  $P < 0.05$ ); 空载组细胞中 YAP1、TAZ、E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达无明显变化。与虎杖苷组相比, 虎杖苷+YAP1 过表达组 8505C 细胞中 E-cadherin 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ), N-cadherin、YAP1、TAZ 蛋白表达升高 (均  $P < 0.05$ )。实验结果说明, Hippo-YAP 信号通路与 EMT 进程有关联, 虎杖苷可明显抑制 Hippo-YAP 信号通路和 EMT 进程。



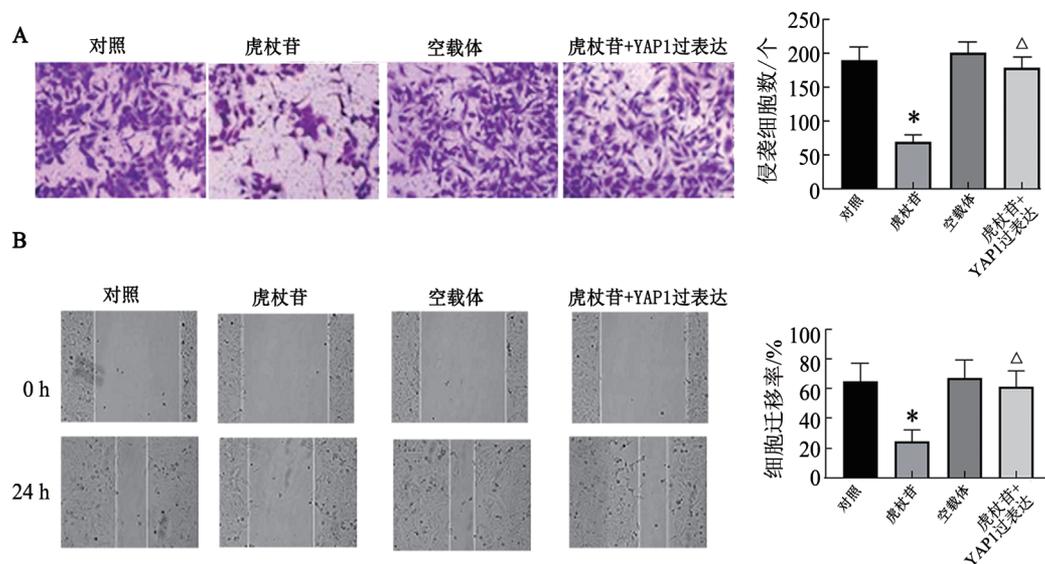
与对照组相比,  $P < 0.05$ ; 与虎杖苷组相比,  $\Delta P < 0.05$ 。

图2 各组 8505C 细胞中 Hippo/YAP 通路和 EMT 相关蛋白表达

### 2.3 虎杖苷可显著抑制 8505C 细胞的迁移和侵袭能力

Transwell 小室实验和细胞划痕实验检测结果(图3)显示,与对照组相比,虎杖苷组 8505C 细胞侵袭数目、迁移率均显著降低(均  $P < 0.05$ ),空载组细胞侵袭数、迁移率均无明显变化;与虎杖苷组相比,虎

杖苷+YAP1 过表达组 8505C 细胞的侵袭数、迁移率均明显升高(均  $P < 0.05$ )。实验结果说明,虎杖苷可明显抑制 8505C 细胞的迁移和侵袭能力,过表达 YAP1 则可以逆转上述作用。



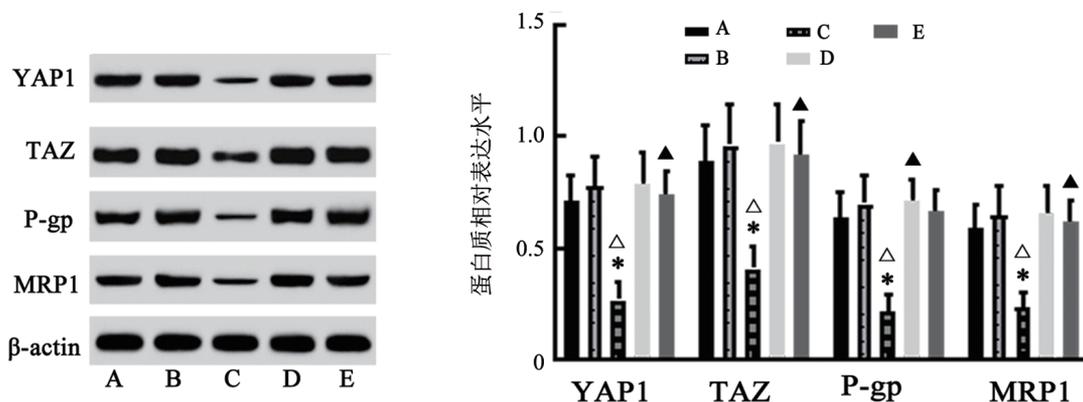
A: Transwell 侵袭实验结果( $\times 200$ ); B: 细胞划痕实验结果( $\times 100$ )。与对照组相比,  $P < 0.05$ ; 与虎杖苷组相比,  $\Delta P < 0.05$ 。

图3 Transwell 实验和细胞划痕实验检测各组 8505C 细胞的侵袭和迁移能力

### 2.4 虎杖苷可明显抑制 8505C/DDP 细胞中 Hippo/YAP 通路和耐药相关蛋白的表达

WB 法检测结果(图4)显示,与对照组相比,DDP 组、DDP+空载组 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、P-gp、MRP1 蛋白表达均无明显变化,DDP+虎杖苷组 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、P-gp、MRP1 蛋白表达均明显降低(均  $P < 0.05$ );与 DDP 组相比,DDP+虎杖苷组 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、P-gp、MRP1

蛋白表达均明显降低(均  $P < 0.05$ ),DDP+空载组 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、P-gp、MRP1 蛋白表达无明显变化;与 DDP+虎杖苷组相比,DDP+虎杖苷+YAP1 过表达组 8505C/DDP 细胞中 YAP1、TAZ、P-gp、MRP1 蛋白表达均明显升高( $P < 0.05$ )。实验结果说明,虎杖苷可明显抑制 8505C/DDP 细胞中 Hippo/YAP 通路和耐药相关蛋白的表达。



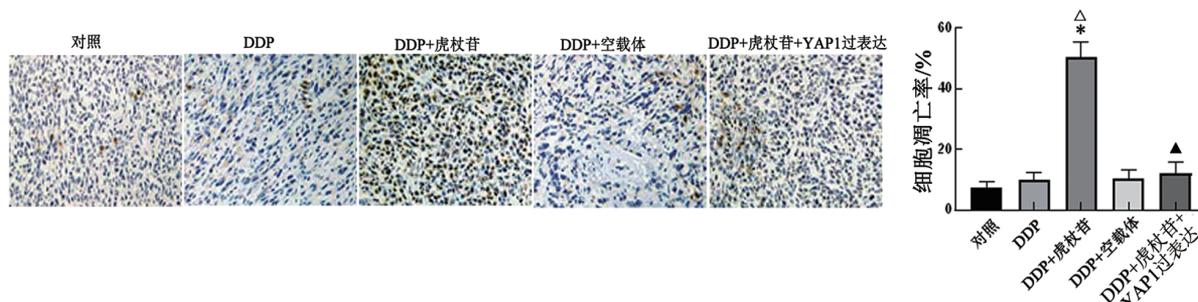
A:对照组、B:DDP组、C:DDP+虎杖苷组、D:DDP+空载体组、E:DDP+虎杖苷+YAP1过表达组。与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与DDP组相比, $\Delta P<0.05$ ;与DDP+虎杖苷组相比, $\Delta^* P<0.05$ 。

图4 各组8505C/DDP细胞中Hippo/YAP通路和耐药相关蛋白的表达

### 2.5 虎杖苷可明显诱导8505C/DDP细胞凋亡

TUNEL法检测结果(图5)显示,与对照组相比,DDP组、DDP+空载体组8505C/DDP细胞凋亡率无明显变化;DDP+虎杖苷组8505C/DDP细胞凋亡率明显升高( $P<0.05$ )。与DDP组相比,DDP+虎杖苷组8505C/DDP细胞的凋亡率升高( $P<0.05$ ),DDP+空载体

8505C/DDP细胞凋亡率无明显变化。与DDP+虎杖苷组相比,DDP+虎杖苷+YAP1过表达组8505C/DDP细胞凋亡率明显降低( $P<0.05$ )。实验结果说明,虎杖苷可明显诱导8505C/DDP细胞凋亡,而过表达YAP1则可逆转虎杖苷对8505C/DDP细胞的影响。



与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与DDP组相比, $\Delta P<0.05$ ;与DDP+虎杖苷组相比, $\Delta^* P<0.05$ 。

图5 TUNEL法检测各组8505C/DDP细胞的凋亡情况( $\times 100$ )

### 2.6 虎杖苷可明显抑制8505C/DDP细胞中的凋亡相关蛋白表达

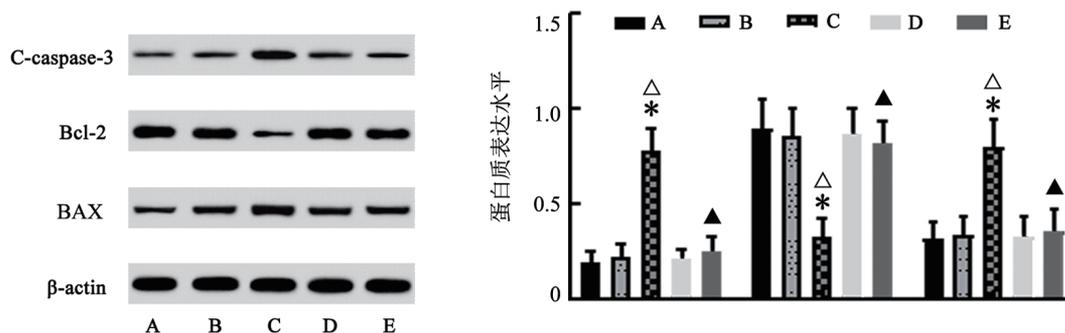
WB法检测结果(图6)显示,与对照组相比,DDP组、DDP+空载体组细胞中C-caspase 3、Bcl-2、BAX蛋白表达无明显变化,DDP+虎杖苷组细胞Bcl-2蛋白表达降低( $P<0.05$ ),C-caspase 3、BAX蛋白表达升高(均 $P<0.05$ )。与DDP组相比,DDP+虎杖苷组细胞Bcl-2蛋白表达降低( $P<0.05$ ),C-caspase 3、BAX蛋白表达升高(均 $P<0.05$ );DDP+空载体组细胞C-caspase 3、Bcl-2、BAX蛋白表达无明显变化,与DDP+虎杖苷组相比,DDP+虎杖苷+YAP1过表达组细胞Bcl-2蛋白表达升高( $P<0.05$ ),C-caspase 3、BAX蛋白表达降低(均 $P<0.05$ )。实验结果说明,虎杖苷可明显抑制8505C/DDP细胞中凋亡相关蛋白的表达。

## 3 讨论

目前临床治疗甲状腺癌以姑息性手术、单药化疗或多种药物联合化疗为主<sup>[13-14]</sup>,但耐药的产生往往导致疗效低微,是导致患者病死率高、预后不良的重要因素,因此,积极探寻开发化疗增敏药物是一个紧迫的临床问题,具有重大社会意义和临床价值<sup>[15-16]</sup>。虎杖苷是从虎杖科植物中提取的一种具有抗癌活性的天然化合物,可显著抑制三阴乳腺癌细胞生长,并可通过在相同抗癌功效下减少抗癌药物使用剂量而避免不良反应<sup>[12]</sup>。虎杖苷还可提高化疗药物多柔比星和顺铂对肝癌细胞的杀伤力,并对肝癌细胞增殖表现出显著抑制作用<sup>[17]</sup>。本研究结果显示,以虎杖苷处理8505C细胞可降低其侵袭数、迁移率、N-cadherin

蛋白表达,提高E-cadherin蛋白表达,表明虎杖苷可抑制甲状腺癌细胞EMT进程、侵袭和转移,与以往报道<sup>[8,12]</sup>相似,进一步证实了虎杖苷对癌细胞的抑制作用;本研究以50 nmol/L的DDP处理8505C/DDP细胞,其存活率、凋亡率无明显改变,与单用DDP处理相比,以50 nmol/L虎杖苷和DDP联合处理8505C/DDP

细胞可降低细胞的存活率、Bcl-2蛋白表达,并提升凋亡率、cleaved caspase-3及BAX蛋白表达,表明虎杖苷可增强DDP对8505C/DDP细胞的杀伤力,促进细胞的凋亡并抑制其增殖,与以往报道<sup>[10,12,17]</sup>相似,进一步证实了虎杖苷对癌细胞具有DDP增敏作用。



A:对照组、B:DDP组、C:DDP+虎杖苷组、D:DDP+空载组、E:DDP+虎杖苷+YAP1过表达组。与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与DDP组相比, $^{\Delta}P<0.05$ ;与DDP+虎杖苷组相比, $^{\Delta}P<0.05$ 。

图6 WB法检测各组8505C/DDP细胞C-caspase-3、Bcl-2、BAX蛋白的表达

Hippo是调节组织生长和器官发育的关键信号,其持续激活及其效应因子YAP和TAZ的上调是重要的致癌因素,可促进头颈部鳞状细胞癌启动和进展<sup>[18]</sup>,YAP/TAZ的基因缺失可抑制肝癌生长<sup>[19]</sup>,YAP抑制剂可减弱口腔鳞状细胞癌细胞的增殖和克隆形成<sup>[20]</sup>。另外,WANG等<sup>[7]</sup>发现,阻断Hippo信号传导可明显抑制肝细胞癌细胞的生长、转移和乐伐替尼耐药,因此,推测Hippo/YAP可能是抑制甲状腺癌化疗耐药性和EMT的潜在作用靶点。以往研究结果<sup>[6,18-19]</sup>表明,Hippo/YAP信号参与调控前列腺癌、头颈部鳞状细胞癌、肝癌等癌症的发生发展及耐药性产生过程,其在甲状腺癌转移和化疗耐药性产生过程中的作用还未有明确阐述。本研究结果显示,以虎杖苷处理8505C细胞的同时过表达YAP1,可减弱虎杖苷单独处理对甲状腺癌细胞EMT进程、侵袭和转移的抑制作用,表明Hippo/YAP信号可能影响甲状腺癌侵袭和转移过程,而过表达YAP1可减弱虎杖苷对EMT进程、侵袭和转移的抑制作用;以虎杖苷处理DDP干预下8505C/DDP细胞的同时过表达YAP1,可减弱虎杖苷对8505C/DDP耐药细胞的抗增殖及促凋亡作用,逆转其对细胞的DDP增敏作用,揭示虎杖苷增强甲状腺癌细胞化疗敏感性并抑制其EMT进程的可能机制是下调YAP1。

综上所述,虎杖苷可能通过下调YAP1、TAZ表达,抑制8505C细胞EMT进程、迁移和侵袭,并增强其DDP敏感性,提高DDP对其耐药细胞8505C/DDP的杀伤力,抑制Hippo/YAP信号可能是虎杖苷发挥上

述抗癌和化疗增敏作用的药理机制。本研究为抵抗临床中甲状腺癌化疗耐药性提供了新的候选药物,有利于患者放疗效果的提升和预后的改善。

#### [参考文献]

- [1] NEWBOLD K. Molecular genotyping in medullary thyroid cancer [J]. *Curr Opin Oncol*, 2023, 35(1): 10-14. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000915.
- [2] KYRIACOU A, TZIAFERI V, TOUMBA M. Stress, thyroid dysregulation, and thyroid cancer in children and adolescents: proposed impending mechanisms[J]. *Horm Res Paediatr*, 2023, 96(1): 44-53. DOI: 10.1159/000524477.
- [3] CHEVALIER B, KARLESKIND O, JANNIN A, *et al*. Complete pathological response following chemotherapy and radiotherapy in two cases of advanced anaplastic thyroid carcinoma[J/OL]. *Eur Thyroid J*, 2022, 12(1): e220111[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36377723/>. DOI: 10.1530/ETJ-22-0111.
- [4] OHNO K, SHIBATA T, ITO K I. Epidermal growth factor receptor activation confers resistance to lenvatinib in thyroid cancer cells[J]. *Cancer Sci*, 2022, 113(9): 3193-3210. DOI: 10.1111/cas.15465.
- [5] NISHINA H. Physiological and pathological roles of the Hippo-YAP/TAZ signaling pathway in liver formation, homeostasis, and tumorigenesis[J]. *Cancer Sci*, 2022, 113(6): 1900-1908. DOI: 10.1111/cas.15352.
- [6] LI Q J, WANG M, HU Y Q, *et al*. MYBL2 disrupts the Hippo-YAP pathway and confers castration resistance and metastatic potential in prostate cancer[J]. *Theranostics*, 2021, 11(12): 5794-5812. DOI: 10.7150/thno.56604.
- [7] WANG J H, YU H M, DONG W, *et al*. N<sup>6</sup>-methyladenosine-mediated up-regulation of FZD10 regulates liver cancer stem cells' properties and lenvatinib resistance through WNT/ $\beta$ -catenin and

- hippo signaling pathways[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(6): 990-1005. DOI: 10.1053/j.gastro.2023.01.041.
- [8] SHAH M A, HAMID A, FAHEEM H I, *et al.* Uncovering the anticancer potential of polydatin: a mechanistic insight[J/OL]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7175[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36364001/>. DOI: 10.3390/molecules27217175.
- [9] GUO J M, DING W, CAI S L, *et al.* Polydatin radiosensitizes lung cancer while preventing radiation injuries by modulating tumor-infiltrating B cells[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(12): 9529-9542. DOI: 10.1007/s00432-023-04762-7.
- [10] BAE H, LEE W, SONG J, *et al.* Polydatin counteracts 5-fluorouracil resistance by enhancing apoptosis *via* calcium influx in colon cancer [J/OL]. *Antioxidants*, 2021, 10(9): 1477[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34573109/>. DOI: 10.3390/antiox10091477.
- [11] 李显彬, 王小东, 李春艳, 等. 银杏双黄酮对未分化型甲状腺癌细胞顺铂耐药性的影响与机制研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(14): 2570-2575. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2023.14.002.
- [12] LI J, ZHANG J C, ZHU Y, *et al.* Natural compounds, optimal combination of brusatol and polydatin promote anti-tumor effect in breast cancer by targeting Nrf2 signaling pathway[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 8265[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37175972/>. DOI: 10.3390/ijms24098265.
- [13] CHEN D W, LANG B H H, MCLEOD D S A, *et al.* Thyroid cancer [J]. *Lancet*, 2023, 401(10387): 1531-1544. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)00020-X.
- [14] JUNG C K, BYCHKOV A, KAKUDO K. Update from the 2022 World Health Organization classification of thyroid tumors: a standardized diagnostic approach[J]. *Endocrinol Metab*, 2022, 37(5): 703-718. DOI: 10.3803/EnM.2022.1553.
- [15] LANGDON J, GUPTA A, SHARBIDRE K, *et al.* Thyroid cancer in pregnancy: diagnosis, management, and treatment[J]. *Abdom Radiol (NY)*, 2023, 48(5): 1724-1739. DOI: 10.1007/s00261-023-03808-1.
- [16] MA W K, TIAN M R, HU L F, *et al.* Early combined SHP2 targeting reverses the therapeutic resistance of vemurafenib in thyroid cancer[J]. *J Cancer*, 2023, 14(9): 1592-1604. DOI: 10.7150/jca.83853.
- [17] FAROOQ U, WANG H, HU J R, *et al.* Polydatin inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and sensitizes doxorubicin and cisplatin through targeting cell mitotic machinery[J/OL]. *Cells*, 2023, 12(2): 222[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36672157/>. DOI: 10.3390/cells12020222.
- [18] FARAJI F, RAMIREZ S I, ANGUIANO QUIROZ P Y, *et al.* Genomic hippo pathway alterations and persistent YAP/TAZ activation: new hallmarks in head and neck cancer[J/OL]. *Cells*, 2022, 11(8): 1370[2023-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35456049/>. DOI: 10.3390/cells11081370.
- [19] LIANG B Y, WANG H C, QIAO Y, *et al.* Differential requirement of Hippo cascade during CTNNB1 or AXIN1 mutation-driven hepatocarcinogenesis[J]. *Hepatology*, 2023, 77(6): 1929-1942. DOI: 10.1002/hep.32693.
- [20] ALHOUSAMI T, DINY M, ALI F, *et al.* Inhibition of LSD1 attenuates oral cancer development and promotes therapeutic efficacy of immune checkpoint blockade and YAP/TAZ inhibition [J]. *Mol Cancer Res*, 2022, 20(5): 712-721. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-21-0310.

[收稿日期] 2023-10-22

[修回日期] 2024-02-18

[本文编辑] 向正华