

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.12.006

· 基础研究 ·

丹参酮 IIA 通过调控上皮间质转化抑制食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞的凋亡、侵袭和迁移

周鹏飞¹, 李娟²(1. 眉山肿瘤医院 胸部肿瘤科, 四川 眉山 620010; 2. 成都医学院 基础医学院 病理学与病理生理学教研室, 四川 成都 610500)

[摘要] **目的:**探讨丹参酮 IIA 对食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞侵袭和迁移的影响及其调控机制。**方法:**食管癌细胞系 EC9706 和 KYSE70 培养完成后分为 4 组: 对照组(加 DMSO)和 2、4、6 μg/ml 丹参酮组。采用 CCK-8 法检测 EC9706 和 KYSE70 细胞增殖活力, 流式细胞术检测细胞凋亡率, Transwell 实验检测细胞侵袭能力, 划痕愈合实验检测细胞迁移能力, qRT-PCR 和 Western blotting 实验检测 EMT 相关蛋白 E-cadherin、Snail-2、Vimentin 和 N-cadherin mRNA 和蛋白表达水平。**结果:**小于 6 μg/ml 的丹参酮 IIA 不影响食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞增殖活力; 4、6 μg/ml 丹参酮 IIA 组细胞凋亡率明显高于对照组(均 $P < 0.01$); 2、4、6 μg/ml 丹参酮组每个视野下的侵袭细胞数及划痕愈合率明显低于对照组(均 $P < 0.01$), 且 EC9706 和 KYSE70 细胞形态由纺锤状的间充质形态转变为上皮形态。与对照组相比, 2、4、6 μg/ml 丹参酮组 E-cadherin 表达明显升高, Snail-2、Vimentin 和 N-cadherin 表达明显下降(均 $P < 0.01$)。**结论:**丹参酮 IIA 通过抑制 EMT 促进食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞凋亡, 并减弱其侵袭和迁移能力。

[关键词] 丹参酮 IIA; 食管癌; EC9706 细胞; KYSE70 细胞; 上皮间质转化; 凋亡; 侵袭; 迁移

[中图分类号] R735.1; R7392.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)12-1244-07

Tanshinone IIA inhibits apoptosis, invasion and migration of esophageal cancer EC9706 and KYSE70 cells by regulating epithelial-mesenchymal transition

ZHOU Pengfei, LI Juan (1. Department of Thoracic Oncology, Cancer Hospital of Meishan, Meishan 620010, Sichuan, China; 2. Department of Pathology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of tanshinone IIA on the invasion and migration of esophageal cancer EC9706 and KYSE70 cells, and to explore the underlying mechanism. **Methods:** Esophageal cancer cells (EC9706 and KYSE70) were divided into 4 groups: control group, tanshinone IIA groups (2, 4, 6 μg/ml). Cell proliferation viability was measured by CCK-8; Apoptosis was detected by flow cytometry; Invasion was tested by Transwell assay; And migration was measured by Scratch assay. The mRNA and protein levels of E-cadherin, Snail-2, Vimentin and N-cadherin were tested by quantitative Real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR) and Western blotting, respectively. **Results:** Tanshinone IIA at concentrations less than 6 μg/ml did not affect the cell viability of esophageal cancer EC9706 and KYSE70 cells. The apoptosis in tanshinone IIA (4, 6 μg/ml) groups was significantly higher than that in control group ($P < 0.01$). The number of invasive cells per field and wound-healing rate in tanshinone IIA (2, 4, 6 μg/ml) groups were significantly lower than those in control group (all $P < 0.01$). Moreover, the cell morphology was transformed from a spindle-shaped mesenchymal form into epithelial morphology after tanshinone IIA treatment. Compared with control group, the expression of E-cadherin in tanshinone IIA groups (2, 4, 6 μg/ml) was significantly up-regulated while the expressions of Snail-2, Vimentin and N-cadherin were significantly down-regulated (all $P < 0.01$). **Conclusion:** Tanshinone IIA promotes apoptosis and attenuates the invasion and migration of esophageal cancer cells by inhibiting the epithelial-mesenchymal transition.

[Key words] tanshinone IIA; esophageal cancer; EC9706 cell; KYSE70 cell; epithelial-mesenchymal transition(EMT); apoptosis; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(12): 1244-1250. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.12.006]

[基金项目] 四川省教育厅科研项目(No.18ZB0176)。Project supported by the Research Program of Education Commission of Sichuan Province (No.18ZB0176)

[作者简介] 周鹏飞(1982-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事胸部肿瘤的治疗与研究, E-mail: kuitian20117284@sina.com

[通信作者] 李娟(LI Juan, corresponding author), 硕士, 副教授, 主要从事肿瘤病理学的研究, E-mail: 1546892100@qq.com

食道癌是全球第8大常见癌症,且食管癌的病死率较高及预后较差,是癌症死亡的第6大常见原因。大部分食道癌病例都发生在欠发达地区^[1]。中国是食管癌高危地区之一,2015年中国食管癌新增病例约47.8万,居第3位;病死病例约37.5万,居第4位^[2]。开发新的有效的食管癌治疗药物对医疗卫生系统的发展具有重要意义。大量数据^[3]表明,中药在食管癌治疗中发挥着积极作用。丹参作为传统中药,广泛用于治疗心、脑血管疾病及炎症疾病。丹参酮IIA是从丹参根中提取的主要亲脂成分,具有抗动脉粥样硬化、抗氧化、抗癌及抗炎等功效^[4-5],但其在食管癌细胞侵袭和迁移中的作用机制尚有待进一步研究。本研究探讨丹参酮IIA通过抑制上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)影响食管癌EC9706和KYSE70细胞的凋亡、侵袭和迁移能力及其机制,为丹参酮IIA应用于临床治疗食管癌提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系与主要试剂

食管癌细胞系EC9706和KYSE70来源于美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)。丹参酮IIA(HPLC \geq 97%)购自Sigma公司,培养基RPMI 1640及胎牛血清购自赛默飞世尔科技公司,CCK-8细胞活力检测试剂盒和Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自Solarbio, Transwell小室及人工基底膜购自美国BD公司,总RNA提取试剂盒TRIzol reagent、逆转录试剂盒Prime-Script[®] RT reagent Kit和qRT-PCR试剂盒SYBR Premix Ex Taq[™]购自大连TaKaRa公司,抗E-cadherin抗体、抗Snail-2抗体、抗Vimentin抗体和抗N-cadherin抗体购自英国Abcam公司。

1.2 细胞培养及药物处理

将食管癌细胞系EC9706和KYSE70置于添加了10%胎牛血清和1%青-链霉素的RPMI 1640培养基中,在37℃、5%CO₂的恒温培养箱中培养。当细胞汇合度约80%时进行传代培养。将细胞分为4组:对照组和2、4、6 μg/ml丹参酮IIA组。2、4、6 μg/ml丹参酮IIA组分别添加2、4、6 μg/ml的丹参酮IIA,对照组用DMSO代替丹参酮IIA。

1.3 CCK-8法检测EC9706和KYSE70细胞增殖活力

将不同浓度的丹参酮IIA处理EC9706和KYSE70细胞48 h后,收集细胞。用稀释到10%的CCK-8溶液将各组待测细胞制成1×10⁶个/ml的细胞悬液,并在37℃培养1~4 h,检测450 nm处光密度(D)值。实验重复3次。

1.4 流式细胞术检测EC9706和KYSE70细胞凋亡率

首先收集各组待测细胞,经冷的PBS洗涤后用Binding buffer将细胞制成1×10⁶个/ml的悬液。然后加入Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC),轻轻地混匀,室温,避光孵育10 min。再加入碘化丙啶(propidium iodide, PI),室温,避光孵育5 min,最后利用流式细胞仪对染色的细胞进行检测。实验重复3次。

1.5 Transwell检测EC9706和KYSE70细胞侵袭能力

用含1%胎牛血清的RPMI 1640培养基将各组待测细胞制成密度为1×10⁶个/ml的细胞悬液,在Transwell下室中加入含20%胎牛血清的RPMI 1640培养基,在Transwell的上室中加入上述细胞悬液,37℃培养24 h后,用苏木精伊红对上室底部细胞进行染色,并用棉签将上室内侧的细胞除去,显微镜下观察计数细胞数量。实验重复3次。

1.6 划痕实验检测EC9706和KYSE70细胞迁移能力

首先将各组待测细胞制成密度为1×10⁶个/ml的细胞悬液加入到6孔板中,过夜培养至形成单层细胞。在单层细胞上用10 μl的枪头划横线,PBS洗3次,洗去因划痕而脱落的细胞。显微镜下拍照测量划痕宽度,记录为初始划痕宽度。继续培养24 h后再取出拍照测量划痕宽度。划痕愈合率(%)=(初始划痕宽度-培养24 h后划痕宽度)/初始划痕宽度×100%。实验重复3次。

1.7 qRT-PCR实验检测E-cadherin、Snail-2、Vimentin和N-cadherin的mRNA表达水平

运用RNA提取试剂盒提取RNA后进行逆转录。根据SYBR Premix Ex Taq[™]说明书进行qRT-PCR。引物序列E-cadherin F: 5'-AAAGGCCCATTTCTCTAAAACCT-3', R: 5'-TGCGTTCCTATCCAGAGGCT-3'; N-cadherin F: 5'-TCAGGCGTCTGTAGAGGCTT-3', R: 5'-ATGCACATCCTTCGATAAGACTG-3'; Vimentin F: 5'-TCCACACGCACCTACAGTCT-3', R: 5'-CCGAGGACCGGGTCACATA-3'; Snail-2 F: 5'-TGGTTGCTTCAAGGACACAT-3', R: 5'-GTTGCAAGTGGAGGCAAGAA-3'。用公式2^{-ΔΔC_t}计算相对mRNA水平。实验重复3次。

1.8 Western blotting检测E-cadherin、Snail-2、Vimentin和N-cadherin的蛋白表达水平

收集各组待测细胞,用PBS清洗3次,加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液进行裂解提取总蛋白,100℃变性5 min。然后等量的蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳分离并转至PVDF膜。5%的BSA封闭1 h,加入相应的一抗,4℃过夜孵育。第2天加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育1.5 h。加入发光液后于凝胶成像仪进行曝光拍照,统计灰度值计算相

对表达量。实验重复3次。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件和 GraphPad Prism 5.0 作图软件, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同质量浓度丹参酮 IIA 影响 EC9706 和 KYSE70 细胞的增殖活力

CCK-8 法检测结果(图1)显示, 当丹参酮 IIA 浓度 $\leq 6 \mu\text{g/ml}$ 时, 食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞增殖活力维持在 80% 以上, $> 6 \mu\text{g/ml}$ 时其细胞增殖活力则在 80% 以下。表明丹参酮 IIA 浓度 $\leq 6 \mu\text{g/ml}$ 对食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞不会产生明显的细胞毒性。为排除细胞毒性对实验结果的影响, 选择 2、4、6 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 IIA 进行后续实验。

2.2 高质量浓度丹参酮 IIA 诱导 EC9706 和 KYSE70

细胞的凋亡

流式细胞术检测结果(图2)显示, 4、6 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 IIA 组 EC9706 和 KYSE70 细胞凋亡率明显高于对照组 ($P < 0.01$), 表明高质量浓度丹参酮 IIA 可诱导食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞凋亡。

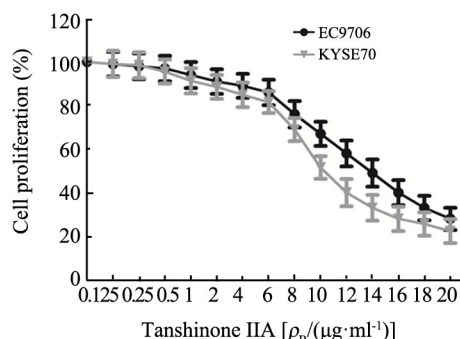


图1 不同质量浓度丹参酮 IIA 对 EC9706 和 KYSE70 细胞增殖活力的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of tanshinone IIA on proliferation viability of EC9706 and KYSE70 cells

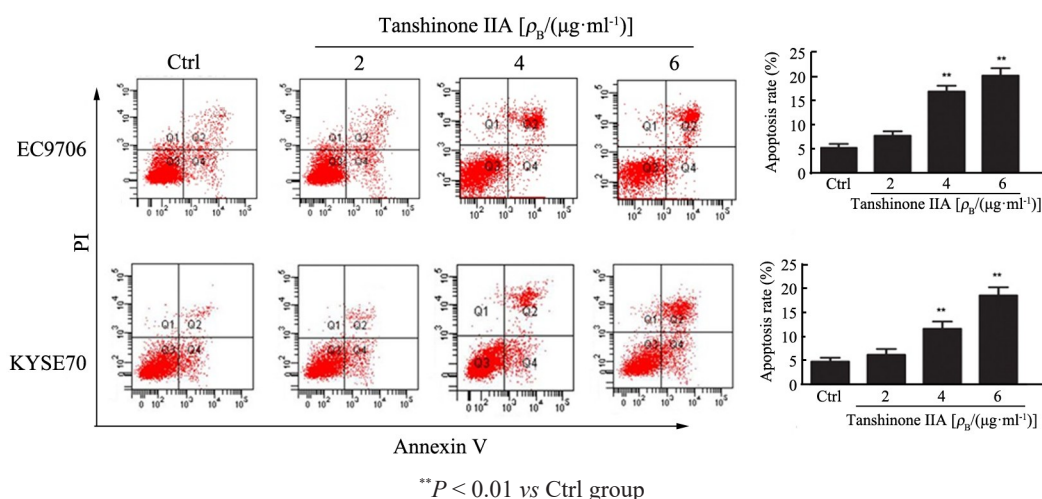


图2 不同质量浓度丹参酮 IIA 对 EC9706 和 KYSE70 细胞凋亡率的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of tanshinone IIA on apoptosis rate of EC9706 and KYSE70 cells

2.3 高质量浓度丹参酮 IIA 抑制 EC9706 和 KYSE70 细胞的侵袭能力

Tanswell 实验检测结果(图3)显示, 2、4、6 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 IIA 组单个视野下的侵袭细胞数明显少于对照组 ($P < 0.01$)。表明丹参酮 IIA 可抑制食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞的侵袭能力。

2.4 高质量浓度丹参酮 IIA 降低 EC9706 和 KYSE70 细胞的迁移能力

细胞划痕实验检测结果(图4)显示, 2、4、6 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 IIA 组划痕愈合率明显低于对照组 ($P < 0.01$)。结果表明, 丹参酮 IIA 可降低食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞的迁移能力。

2.5 高质量浓度丹参酮 IIA 明显抑制食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞 EMT

光镜下观察细胞形态(图5)显示变化分析丹参酮 IIA 对食管癌细胞 EMT 的影响。如所示, 对照组大部分 EC9706 和 KYSE70 细胞细长, 呈松散的纺锤状间充质形态; 2、4、6 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮 IIA 组纺锤状间充质形态细胞明显变少, 大部分细胞呈紧凑的柱状上皮形态, 表明丹参酮 IIA 可抑制食管癌 EC9706 和 KYSE70 细胞 EMT。

2.6 不同质量浓度丹参酮 IIA 对 EC9706 和 KYSE70 细胞 EMT 相关基因和蛋白表达的影响

qRT-PCR 和 Western blotting 检测结果(图6、7)显

示, 4、6 $\mu\text{g/ml}$ 丹参酮IIA组 E-cadherin mRNA 和蛋白表达水平明显高于对照组 (均 $P < 0.01$), Snail-2、Vimentin 和 N-cadherin 明显低于对照组。表明高质量

浓度丹参酮IIA可增强食管癌EC9706和KYSE70细胞中 EMT 相关蛋白 E-cadherin 表达, 降低 Snail-2、Vimentin 和 N-cadherin 表达。

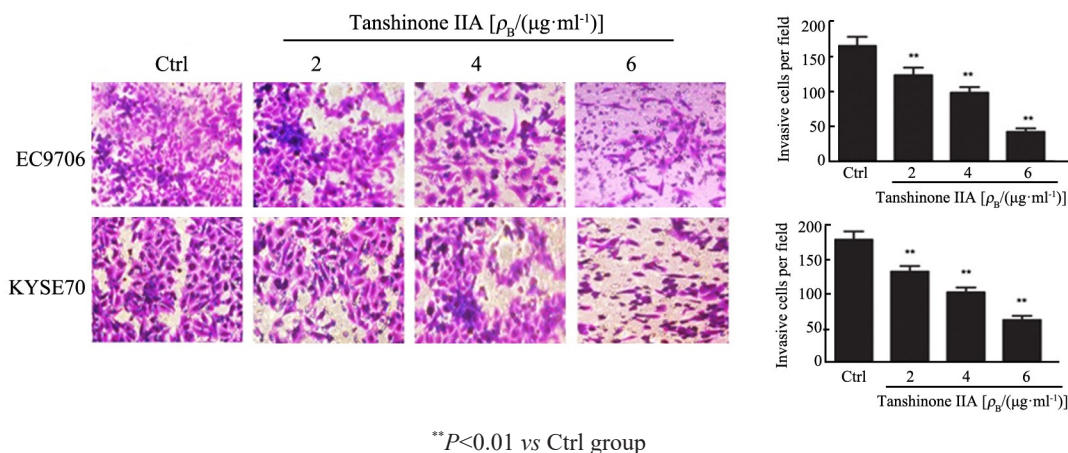


图3 不同质量浓度丹参酮IIA对EC9706和KYSE70细胞侵袭能力的影响(H-E, $\times 100$)

Fig. 3 Effects of different concentrations of tanshinone IIA on invasion of EC9706 and KYSE70 cells(H-E, $\times 100$)

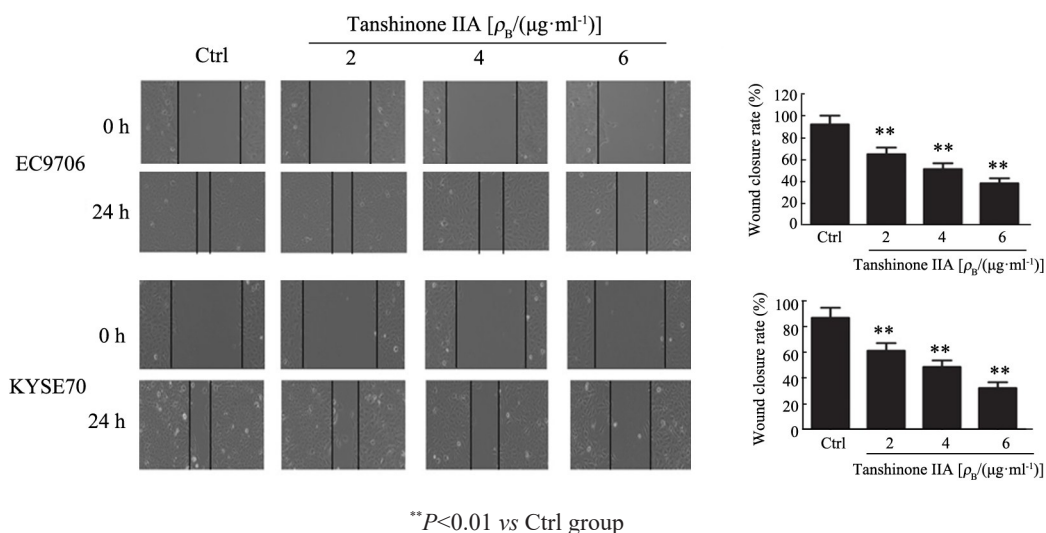


图4 不同质量浓度丹参酮IIA对EC9706和KYSE70细胞迁移能力的影响($\times 10$)

Fig. 4 Effects of different concentrations of tanshinone IIA on migration of EC9706 and KYSE70 cells($\times 10$)

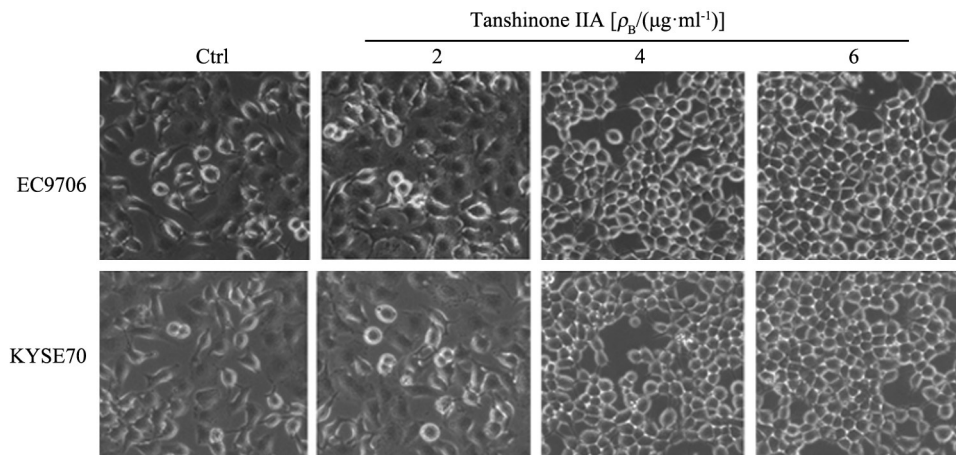


图5 不同质量浓度丹参酮IIA对EC9706和KYSE70细胞EMT的影响($\times 100$)

Fig. 5 Effects of different concentrations of tanshinone IIA on EMT of EC9706 and KYSE70 cells($\times 100$)

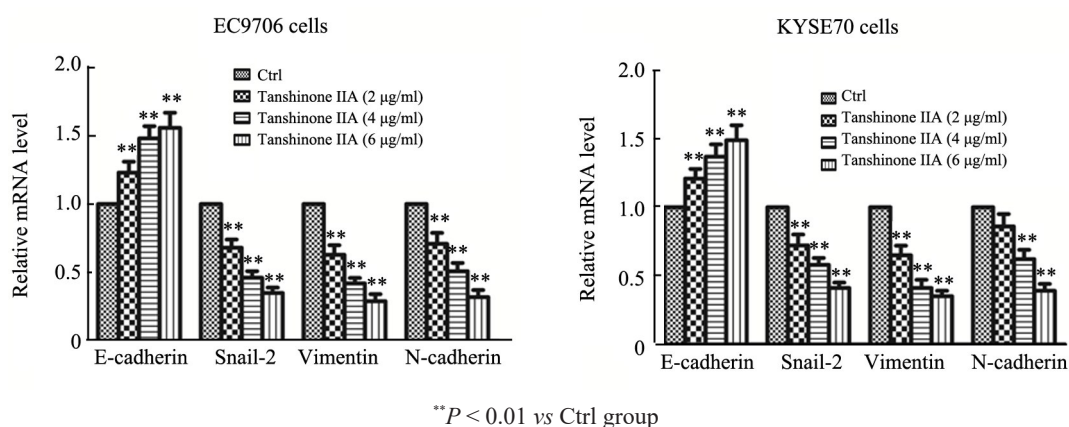


图6 不同质量浓度丹参酮IIA对EC9706和KYSE70细胞E-cadherin、Snail-2、Vimentin和N-cadherin mRNA表达水平的影响
Fig. 6 Effects of tanshinone IIA on mRNA expressions of E-cadherin, Snail-2, Vimentin and N-cadherin in EC9706 and KYSE70 cells

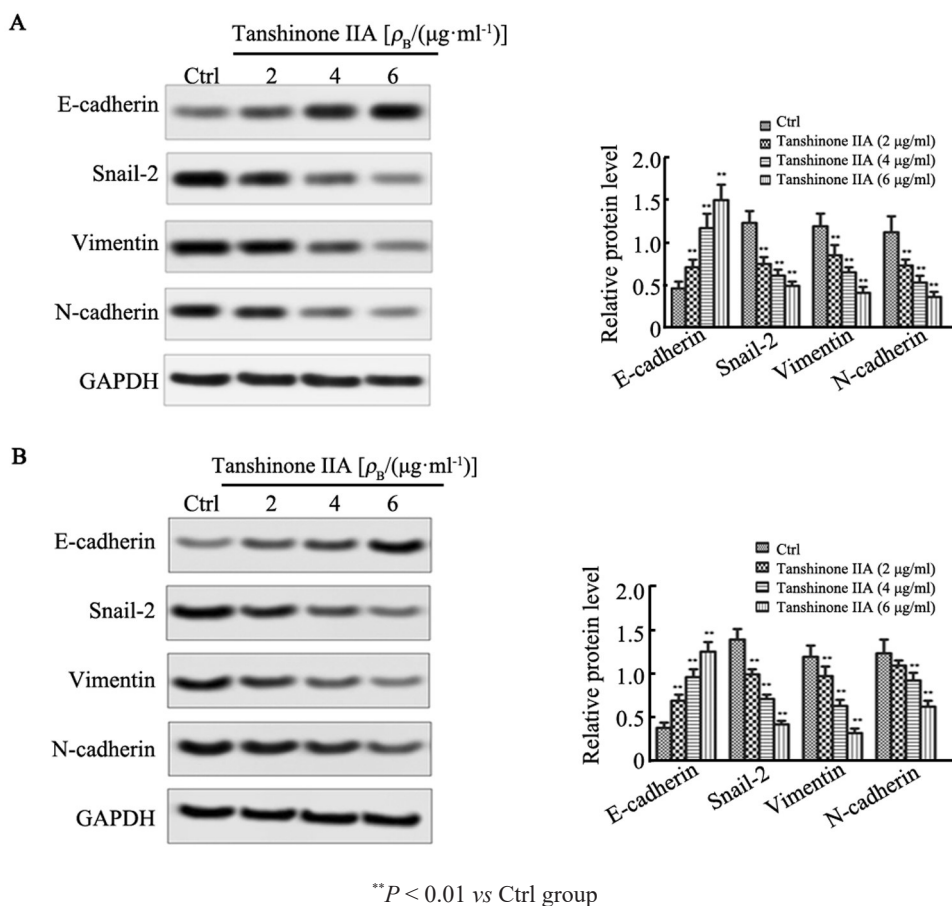


图7 不同质量浓度丹参酮IIA对EC9706(A)和KYSE70(B)细胞E-cadherin、Snail-2、Vimentin和N-cadherin蛋白表达水平的影响
Fig. 7 Effects of tanshinone IIA on the protein expressions of E-cadherin, Snail-2, Vimentin and N-cadherin in EC9706 and KYSE70 cells

3 讨论

目前食管癌的治疗方法主要包括手术、放疗和化疗^[6]。食管癌治疗方案的选择依赖于其病因,对于早期食管癌患者可采用手术切除,而对于晚期食管癌化疗则是十分必要的,且在手术前进行辅助化疗

有利于降低远处转移的风险^[7]。目前用于食管癌化疗的药物主要包括顺铂(cisplatin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、长春瑞滨(navelbine)及多西他赛(docetaxel)等,但这些药物存在治疗效果不理想、副作用大等缺点^[8-9]。有研究^[10]显示,天然药物为抗肿瘤药物的开发提供了更为广阔的资源,各种天然药物具有抗肿瘤

瘤的功效。

细胞凋亡的异常是癌细胞的常见特征,大量文献报道,天然产物可调控癌细胞凋亡。如连翘根提取物可提高食管癌细胞凋亡,丹参酮IIA可诱导前列腺癌细胞凋亡^[11-12]。MUNAGALA等^[13]研究显示,丹参酮IIA可促进宫颈癌细胞凋亡。另外,XIE等^[14]研究结果显示,丹参酮IIA还可增强非小细胞肺癌细胞凋亡。本研究采用流式细胞术检测结果显示,4、6 μg/ml丹参酮IIA组EC9706和KYSE70细胞凋亡率明显高于对照组,表明高质量浓度丹参酮IIA可促进食管癌EC9706和KYSE70细胞的凋亡。

有研究^[15-18]表明,细胞侵袭能力对癌症的发展进程十分重要,部分天然药物具有降低癌细胞侵袭的功能,如莪术的根茎提取物具有抗食管癌细胞侵袭的功效,丹参酮IIA可抑制黑色素瘤细胞、骨肉瘤细胞及鼻咽癌细胞的侵袭。本研究Transwell实验检测结果显示,2、4、6 μg/ml丹参酮IIA组单个视野下的侵袭细胞数明显少于对照组,表明丹参酮IIA可抑制食管癌EC9706和KYSE70细胞的侵袭能力。

有研究^[19-22]显示,细胞迁移能力在癌症的转移过程中发挥着重要作用,部分天然药物可调节癌细胞的迁移能力,如绞股蓝皂苷可抑制食管癌细胞迁移,丹参酮IIA可降低结肠癌细胞、膀胱癌细胞及胃癌细胞迁移能力。本研究细胞划痕愈合实验检测结果显示,2、4、6 μg/ml丹参酮IIA组划痕愈合率明显低于对照组,表明丹参酮IIA可降低食管癌EC9706和KYSE70细胞的迁移能力。

EMT对癌细胞凋亡、侵袭和迁移能力十分重要,丹参酮IIA具有抑制癌细胞EMT的功效^[23-25]。有研究^[26-27]发现,丹参酮IIA可抑制乳腺癌细胞EMT,降低Vimentin表达,增强E-cadherin表达;丹参酮IIA可抑制肝癌细胞EMT,增强E-cadherin表达,降低N-cadherin和Snail表达;丹参酮IIA还可降低膀胱癌细胞EMT,降低N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug表达水平,提高E-cadherin表达水平。本研究结果显示,丹参酮IIA可增强食管癌EC9706和KYSE70细胞E-cadherin表达,降低Snail-2、Vimentin和N-cadherin表达,并从细胞形态变化上观察到其抑制EMT。

综上所述,本研究通过不同质量浓度丹参酮IIA处理可促进食管癌EC9706和KYSE70细胞凋亡,降低细胞侵袭和迁移能力,增强E-cadherin表达水平,降低Snail-2、Vimentin和N-cadherin表达水平,并抑制细胞EMT,为临床使用丹参酮IIA治疗食管癌提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in globocan 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): 359-386. DOI:10.1002/ijc.29210.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132. DOI:10.3322/caac.21338.
- [3] ZHANG Y S, SHEN Q, LI J. Traditional Chinese medicine targeting apoptotic mechanisms for esophageal cancer therapy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(3): 295-302. DOI:10.1038/aps.2015.116.
- [4] CAI Y, ZHANG W, CHEN Z, et al. Recent insights into the biological activities and drug delivery systems of tanshinones[J]. *Int J Nanomed*, 2016, 11(2): 121-130. DOI: 10.2147/IJN.S84035.
- [5] 李军峰, 沈净净, 张冬冬, 等. 丹参酮IIA 磺酸钠通过降低整合素β3的表达抑制宫颈癌HeLa细胞迁移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(11): 1276-1280. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.11.006.
- [6] NAPIER K J, SCHEERER M, MISRA S. Esophageal cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, staging workup and treatment modalities[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2014, 6(5): 112-120. DOI:10.4251/wjgo.v6.i5.112.
- [7] KATO H, NAKAJIMA M. Treatments for esophageal cancer: a review[J]. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2013, 61(6): 330-335. DOI: 10.1007/s11748-013-0246-0.
- [8] LIU S L, YANG H, ZHANG P, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy with cisplatin plus vinorelbine versus cisplatin plus fluorouracil for esophageal squamous cell carcinoma: a matched case-control study[J]. *Radiother Oncol*, 2015, 116(2): 262-268. DOI:10.1016/j.radonc.2015.07.020.
- [9] UI T, FUJII H, HOSOYA Y, et al. Comparison of preoperative chemotherapy using docetaxel, cisplatin and fluorouracil with cisplatin and fluorouracil in patients with advanced carcinoma of the thoracic esophagus[J]. *Dis Esophagus*, 2015, 28(2): 180-187. DOI:10.1111/dote.12187.
- [10] XIA Q, MAO W. Anti-tumor effects of traditional Chinese medicine give a promising perspective[J]. *J Cancer Res Ther*, 2014, 10(Suppl 1): 1-2. DOI:10.4103/0973-1482.139741.
- [11] ZHAO L, YAN X, SHI J, et al. Ethanol extract of forsythia suspensa root induces apoptosis of esophageal carcinoma cells via the mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 871-880. DOI:10.3892/mmr.2014.2874.
- [12] LI C, HAN X, ZHANG H, et al. The interplay between autophagy and apoptosis induced by tanshinone IIA in prostate cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6): 7667-7674. DOI:10.1007/s13277-015-4602-9.
- [13] MUNAGALA R, AQIL F, JEYABALAN J, et al. Tanshinone IIA inhibits viral oncogene expression leading to apoptosis and inhibition of cervical cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2 Pt B): 536-546. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.09.037.
- [14] XIE J, LIU J, LIU H, et al. The antitumor effect of tanshinone IIA on anti-proliferation and decreasing VEGF/VEGFR2 expression on the human non-small cell lung cancer A549 cell line[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(6): 554-563. DOI:10.1016/j.apsb.2015.07.008.

- [15] HADISAPUTRI Y E, MIYAZAKI T, SUZUKI S, et al. Molecular characterization of antitumor effects of the rhizome extract from curcuma zedoaria on human esophageal carcinoma cells[J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(6): 2255-2263. DOI:10.3892/ijo.2015.3199.
- [16] LI X, LI Z, LI X, et al. Mechanisms of Tanshinone IIA inhibits malignant melanoma development through blocking autophagy signal transduction in A375 cell[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 357. DOI: 10.1186/s12885-017-3329-y.
- [17] HUANG S T, HUANG C C, HUANG W L, et al. Tanshinone IIA induces intrinsic apoptosis in osteosarcoma cells both in vivo and in vitro associated with mitochondrial dysfunction[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(55): 40382-40389. DOI:10.1038/srep40382.
- [18] ZHOU M, ZHOU G, HU S, et al. Tanshinone IIA suppress the proliferation of HNE-1 nasopharyngeal carcinoma an in vitro study[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2018, 25(2): 267-272. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.11.004.
- [19] YAN H, WANG X, WANG Y, et al. Antiproliferation and anti-migration induced by gypenosides in human colon cancer SW620 and esophageal cancer Eca-109 cells[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2014, 33(5): 522-533. DOI:10.1177/0960327113497771.
- [20] ZHANG R W, LIU Z G, XIE Y, et al. In vitro inhibition of invasion and metastasis in colon cancer cells by tanshinone IIA[J]. *Genetics Mol Res*, 2016, 15(3): 336-340. DOI: 10.4238/gmr.15039008.
- [21] CHIU S C, HUANG S Y, CHANG S F, et al. Potential therapeutic roles of tanshinone IIA in human bladder cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(9): 15622-15637. DOI:10.3390/ijms150915622.
- [22] YU J, WANG X, LI Y, et al. Tanshinone IIA suppresses gastric cancer cell proliferation and migration by downregulation of FOXM1[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(3): 1394-1400. DOI:10.3892/or.2017.5408.
- [23] 刘飞, 孟令娇, 刘世娜, 等. miR-92b 通过调控 EZH2 基因的表达抑制食管癌细胞 Eca109 的增殖和侵袭[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(2): 118-124. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.02.002.
- [24] WANG Q, LI H, SUN Z, et al. Kukoamine A inhibits human glioblastoma cell growth and migration through apoptosis induction and epithelial-mesenchymal transition attenuation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(63): 36543-36549. DOI:10.1038/srep36543.
- [25] KIM C W, GO R E, LEE H M, et al. Cigarette smoke extracts induced the colon cancer migration via regulating epithelial mesenchymal transition and metastatic genes in human colon cancer cells[J]. *Environ Toxicol*, 2017, 32(2): 690-704. DOI:10.1002/tox.22271.
- [26] FU P, DU F, CHEN W, et al. Tanshinone IIA blocks epithelial-mesenchymal transition through hif-1 α downregulation, reversing hypoxia-induced chemotherapy resistance in breast cancer cell lines[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(6): 2561-2568. DOI: 10.3892/or.2014.3140.
- [27] ZHONG C, ZHANG Y F, HUANG J H, et al. The Chinese medicine, Jianpi Huayu Decoction, inhibits the epithelial mesenchymal transition via the regulation of the Smad3/Smad7 cascade[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(6): 2694-2711.
- [28] HUANG S Y, CHANG S F, LIAO K F, et al. Tanshinone IIA inhibits epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer cells via modulation of stat3-ccl2 signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): 1616-1620. DOI: 10.3390/ijms18081616.

[收稿日期] 2018-07-15

[修回日期] 2018-11-05

[本文编辑] 王映红