doi:10.11659/jjssx.11E018029

·基础研究·

花姜酮对人口腔鳞癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移能力的影响

曾宁碧,赵 希,曾 旖,黄文静,熊 宇,叶艳艳 (陆军军医大学第一附属医院口腔科,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 探究花姜酮对人口腔鳞癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移能力的影响。**方法** 将人口腔鳞癌细胞株分为空白组、花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组和花姜酮20 μmol/L组。空白组使用常规细胞培养液培养,其他3组分别使用相对应浓度的花姜酮进行培养,观察4组细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移情况及PI3K、蛋白激酶B(Akt)、B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)表达水平。**结果** 花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组、花姜酮20 μmol/L组细胞增殖率均低于空白组,且花姜酮20 μmol/L组细胞增殖率低于花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组、花姜酮20 μmol/L组细胞凋亡率均高于空白组,且花姜酮20 μmol/L组细胞凋亡率高于花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组、花姜酮20 μmol/L组细胞迁移数及侵袭数均低于空白组,且花姜酮20 μmol/L组细胞迁移数及侵袭数均低于花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。在花姜酮的干预下,PI3K、Akt、Bcl-2表达水平均出现下调,且随着花姜酮浓度的提升,PI3K、Akt、Bcl-2表达水平下调幅度逐渐增大,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 花姜酮能够促进人口腔鳞癌细胞的凋亡,抑制人口腔鳞癌细胞的增殖及迁移、侵袭,且呈浓度依赖性。

[关键词] 口腔鳞癌;细胞增殖;细胞凋亡;侵袭;迁移;花姜酮

[中图分类号] R739.85 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-11-11

Effects of gingerone on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human oral squamous cell carcinoma

ZENG Ning-bi, ZHAO Xi, ZENG Yi, HUANG Wen-jing, XIONG Yu, YE Yan-yan (Department of Stomatology, First Hospital Affiliated to Army Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of Zingiber officinale on proliferation, apoptosis, invasion and migration of human oral squamous cell carcinoma. **Methods** The human oral squamous cell carcinoma cell lines were divided into blank group, 5 μmol/L group, 10 μmol/L group and 20 μmol/L group. The blank group was cultured with conventional cell culture medium, and the other three groups were cultured with the corresponding concentration of Zingiber officinale. The proliferation, apoptosis, invasion and migration of the four groups were observed, and the expression levels of PI3K, protein kinase B (Akt) and B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) were observed. **Results** The cell proliferation rates of 5 μmol/L group, 10 μmol/L group and 20 μmol/L group were lower than that of blank group, and the cell proliferation rate of 20 μmol/L group was lower than those of 5 μmol/L and 10 μmol/L groups, the differences were significant ($P<0.05$). The apoptotic rates of 5 μmol/L group, 10 μmol/L group and 20 μmol/L group were higher than that of blank group, and the apoptotic rate of 20 μmol/L group was higher than those of 5 μmol/L group and 10 μmol/L group, the differences were significant ($P<0.05$). The number of cell migration and invasion in 5 μmol/L group, 10 μmol/L group and 20 μmol/L group were lower than those in blank group, and the number of cell migration and invasion in 20 μmol/L group was lower than those in 5 μmol/L group and 10 μmol/L group, the differences were significant ($P<0.05$). The expression levels of PI3K, Akt and Bcl-2 were all down-regulated under the intervention of Zingiber officinale, and with the increase of Zingiber officinale concentration, the expression levels of PI3K, Akt and Bcl-2 were down-regulated gradually, the differences were significant ($P<0.05$). **Conclusion** Gingerone can promote the apoptosis of human oral squamous cell carcinoma cells, inhibit the proliferation, migration and invasion of human oral squamous cell carcinoma cells, and its ability is concentration-dependent.

Keywords: oral squamous cell carcinoma; cell proliferation; apoptosis; invasion; migration; gingerone

口腔鳞癌是临床常见的口腔癌[1-3]。据世界卫生组织权威统计数据显示,近年来,口腔鳞癌发病率呈逐年递增的趋势[4-5]。相比其他头颈部恶性肿瘤,口腔鳞癌的临床诊断和治疗都比较困难,寻找一种安全有效的治疗方式对口腔鳞癌患者具有重要意义[6-7]。花姜酮是从野生姜根茎中提取而来,具有抑制细胞增殖、促进细胞凋亡的作用[8]。有学者研究发现,花姜酮对肝癌、胃癌、胰腺癌等癌细胞的增殖、凋亡均有一定的调控作用,但是关于花姜酮对人口腔鳞癌细胞作用的研究还相对较少[9-12]。本研究使用不同浓度花姜酮对人口腔鳞癌细胞进行干预,对比人口腔鳞癌细胞增殖、凋亡、侵袭、迁移情况,现报告如下。

[基金项目] 国家教育部课题(HG2015-002)

[通信作者] 叶艳艳,E-mail:87408115@qq.com

1 材料与方法

1.1 材料

细胞株为人口腔鳞癌细胞株,购于中国医学科学院肿瘤细胞库。主要试剂包括人口腔鳞癌细胞(Cat. NO:BH-HC087,Invitrogen 公司);花姜酮(上海研生生化试剂有限公司);鼠抗人 PI3K 抗体、兔抗大鼠蛋白激酶 B(protein kinase B,Akt)抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司);兔抗人淋巴细胞瘤-2 基因(B-cell lymphoma-2,Bcl-2)抗体(武汉博士德生物工程有限公司);MTT 试剂盒、Transwell 小室(钟鼎生物技术有限公司)。本研究获得我院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组 将冻存的人口腔鳞癌细胞取出后,快速采用 40 ℃的温度火浴,迅速摇晃均匀至融化,加入 2 mL 的培养基[10% PBS、1% 双抗(青链霉素)],再加入 RPMI-1640 培养基 500 mL,1 000 r/min,离心处理 5 min,弃上清液,使用完全培养液重悬,之后进行传代至培养瓶中,培养基加至 5 mL,在 CO_2 培养箱中培养(湿度饱和 95%、温度 37 ℃、CO_2 浓度 5%),第 2 天换液,当培养瓶中细胞融合率达到 80% ~90% 进行传代。实验分为空白组、花姜酮5 μmol/L组、花姜酮 10 μmol/L 组、花姜酮 20 μmol/L 组,种板后 24 h 换无血清培液时加入花姜酮预处理24 h,细胞饥饿 24 h 后更换无血清培养液,再每天加入花姜酮,48 h 后提取细胞蛋白。4 组细胞中分别加入 1 μL 的 PBS 溶液和无菌生理盐水、5 μmol/L 浓度花姜酮、10 μmol/L 浓度花姜酮、20 μmol/L 浓度花姜酮。

1.2.2 MTT 检测细胞增殖能力 将培养后的细胞制成细胞悬液,接种于 96 孔培养板中,在每个孔内加入细胞悬液 90 μL,每个细胞组分别设置 5 个复孔,将不同浓度花姜酮分别加入;空白组细胞每孔中加入 10 μL的培养液,然后进行细胞培养。将培养细胞的观察时间设定为 0 h、12 h、24 h、36 h、48 h、60 h 及 72 h,待 4 组细胞培养到相应的时间后,在每孔中加入20 μL MTT 继续孵育 4 h,将孔上的上清液仔细吸取,然后在孔中加入 150 μL DMSO,振荡 10 s,采用酶标仪测定波长为 570 mm 的细胞组 OD 值,按照肿瘤细胞增殖率计算公式,增殖率 =(细胞组 OD 值/参照值 -1)×100%,对 HGC-27 的细胞增殖率进行计算。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡 将 4 组细胞传代到 5 孔板中,置于 37 ℃、5% CO_2 的饱和湿度环境下培养,加入 0.25% 的胰蛋白酶进行消化,用离心机以 2 000 r/min的转速离心5 min后收取细胞,然后使用 PBS 缓冲液洗涤 3 min,重复洗涤 2 次,再次用离心机以 2 000 r/min 的转速分离后收集细胞,加入 1 mL PI 染液,在避光的常温环境中放置 1 h,用特异荧光标记,然后在鞘液包裹下高速流动,流动期间会发射出光子,严格按照流式细胞仪检测,利用发光信号测量仪检测光子数值,达到检测细胞凋亡的目的。

1.2.4 Transwell 小室检测细胞侵袭 人口腔鳞癌细胞转染 48 h 之后,使用 Transwell 试剂盒观察细胞侵袭能力。每组选 3 个复孔,先用胰酶消化细胞,之后使用 PBS 缓冲液清洗 1 ~2 次,用 10 g/L 的 BSA 重悬细胞,将细胞密度调整至 1×10^5 个/mL,取 150 μL 细胞悬液加入到 Transwell 小室中,培养 24 h,之后乙醇固定 5 min,使用结晶紫溶液染色,在倒置显微镜下观察计数穿膜细胞。

1.2.5 细胞划痕实验 将人口腔鳞癌细胞接种到 18 孔板中,将细胞增长到 90% 时,使用 100 μL 的枪头,垂直划出 3 条直线。之后经过 PBS 缓冲液清洗 2 ~3 次,分别加入 0.5% 的血清培养基,培养 24 h 后使用倒置显微镜观察各组细胞的迁移变化。

1.2.6 蛋白质印迹(western blot,WB)法检测 PI3K、Akt、Bcl-2 表达 用 SDS-PAGE 凝胶将待测标本进行电泳,加入适量浓缩的 SDS-PAGE 蛋白缓冲液,静置 15 min;在 100 V 的环境中电泳 10 min 后,将电转膜放置在 37 ℃封闭环境中的摇床上,然后加入 10% 的牛奶,静置 1.5 h 后加入 TBST 稀释,按(1∶1 000)稀释,在 5 ℃的环境下,经过孵育后过夜保存;第 2 天使用 TBST 缓冲液清洗,在室温的环境中与二抗结合,孵育 1 h 后再次用 TBST 缓冲液清洗,最后将其浸泡在底物溶液中进行显色,采用 BCA 蛋白定量试剂盒,分析其灰度值,目的蛋白条带灰度值/内参条带灰度值 = 目的蛋白相对表达量,检测 PI3K、Akt、Bcl-2 的表达。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件进行分析处理。计量资料的比较进行重复测量数据的方差分析,多组间比较采用 F 检验,组间两两比较采用独立 t 检验,$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度花姜酮对人口腔鳞癌细胞增殖的影响

在不同时间点,花姜酮 5 μmol/L 组、花姜酮 10 μmol/L组、花姜酮 20 μmol/L 组细胞增殖率均低于空白组,且花姜酮 20 μmol/L 组细胞增殖率低于花姜酮 5 μmol/L 组、花姜酮 10 μmol/L 组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 1。

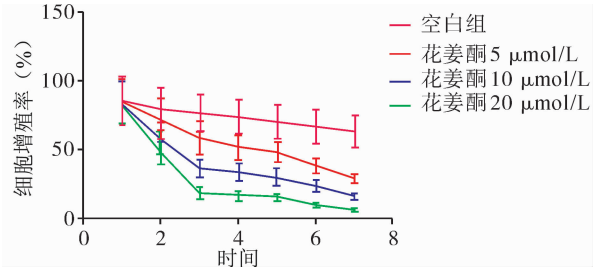


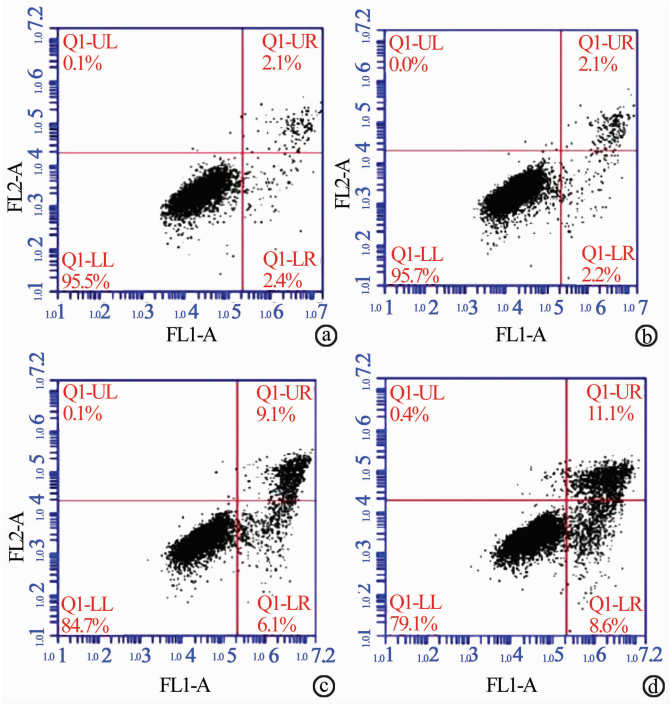
图1 不同浓度花姜酮对人口腔鳞癌细胞增殖率的影响

2.2 不同浓度花姜酮对人口腔鳞癌细胞凋亡的影响

花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组、花姜酮20 μmol/L组细胞凋亡率高于空白组，且花姜酮20 μmol/L组细胞凋亡率高于花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组，差异具有统计学意义（$P<0.05$），见图2。

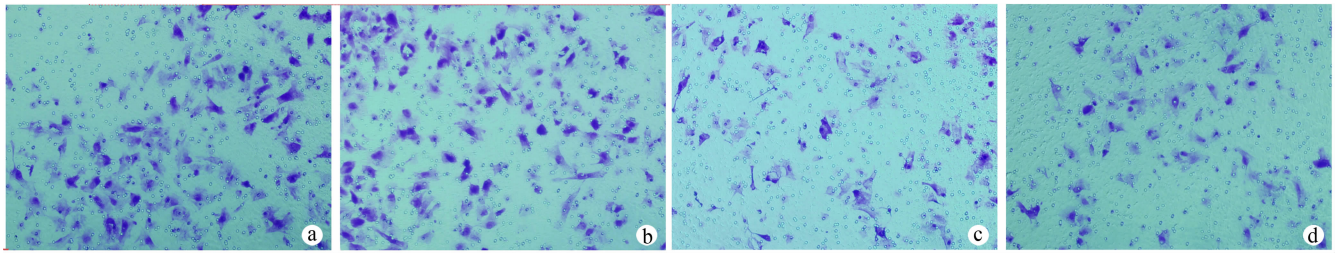
2.3 不同浓度花姜酮对人口腔鳞癌细胞侵袭、迁移能力的影响

花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组、花姜酮20 μmol/L组细胞侵袭数及迁移数均低于空白组，且花姜酮20 μmol/L组细胞侵袭数及迁移数均低于花姜酮5 μmol/L组、花姜酮10 μmol/L组，差异具有统计学意义（$P<0.05$），见图3、4。



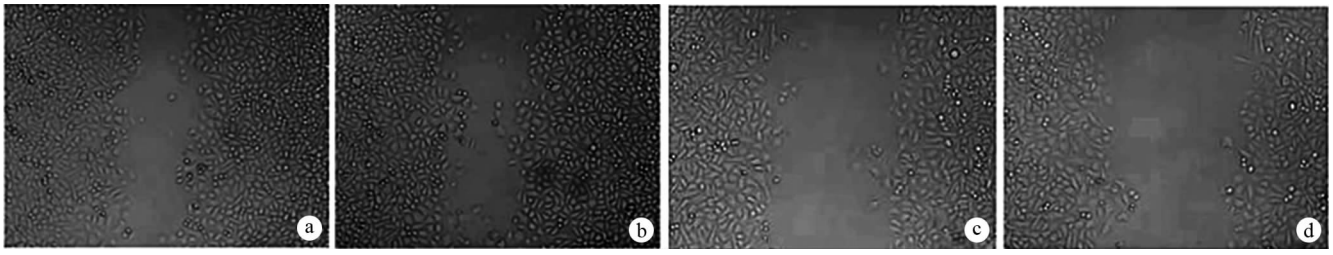
a：空白组；b：花姜酮5 μmol/L组；c：花姜酮10 μmol/L组；d：花姜酮20 μmol/L

图2 人口腔鳞癌细胞凋亡流式细胞图



a：空白组；b：花姜酮5 μmol/L组；c：花姜酮10 μmol/L组；d：花姜酮20 μmol/L

图3 不同浓度花姜酮干预下人口腔鳞癌细胞侵袭图（×200）



a：空白组；b：花姜酮5 μmol/L组；c：花姜酮10 μmol/L组；d：花姜酮20 μmol/L

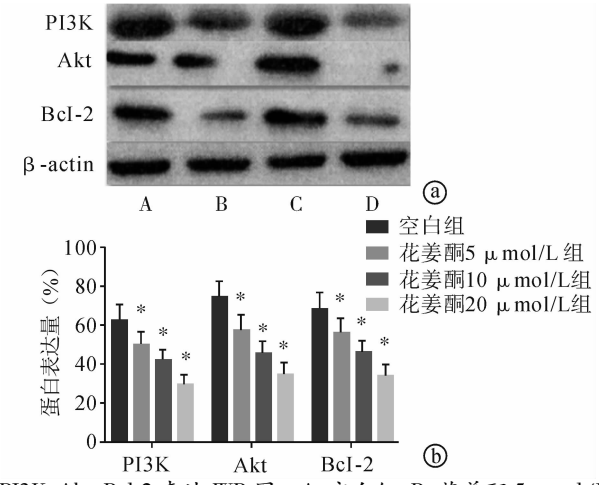
图4 不同浓度花姜酮干预下人口腔鳞癌细胞迁移图（×200）

2.4 不同浓度花姜酮干预下PI3K、Akt、Bcl-2表达水平的变化

在花姜酮的干预下，PI3K、Akt、Bcl-2表达水平均出现下调，且随着花姜酮浓度的提升，PI3K、Akt、Bcl-2表达水平下调幅度逐渐增大，差异均具有统计学意义（$P<0.05$），见图5。

3 讨论

人体口腔部位出现的恶性肿瘤组织统称为口腔癌，其中最为常见的是鳞状上皮细胞癌，又称口腔鳞癌[13-16]。能够诱发口腔鳞癌的因素有很多，包括大量抽烟、长期酗酒、口腔卫生较差、口腔长期受异物刺激等[17-19]。近年来口腔鳞癌发病率呈现逐年递增趋势，



a:PI3K、Akt、Bcl-2 表达 WB 图 A:空白组;B:花姜酮 5 μmol/L;C:花姜酮 10 μmol/L;D:花姜酮 20 μmol/L;b:PI3K、Akt、Bcl-2 表达水平柱状图 *:与空白组比较,$P<0.05$

图 5 不同浓度花姜酮干预下 PI3K、Akt、Bcl-2 表达水平的变化

且发病人群逐渐趋于年轻化[20-22]。相比其他头颈部恶性肿瘤,口腔鳞癌的诊断和治疗都比较困难,对患者的身体健康和生命安全造成严重的威胁。目前临床医学研究尚未对口腔鳞癌的发病机制研究透彻,对其发病机制的影响因素进行研究,有利于口腔鳞癌患者的临床治疗[23-26]。

紫杉醇类药物主要成分为天然植物、微生物等,应用于口腔鳞癌或者其他类型恶性肿瘤患者的治疗。该类药物刺激性较小,患者耐受性相对较好,有利于患者的治疗。但是紫杉醇类药物在临床应用过程中仍存在一定的缺陷,例如水溶性较差以及患者易产生耐药性等。花姜酮主要从野生姜的根茎之中提取而来,与紫杉醇类药物相比,花姜酮水溶性更优,患者应用后过敏反应以及毒副作用较少。陈晓燕等[9]的研究表明,花姜酮作用于人胰腺癌细胞,能够抑制胰腺癌细胞增殖,促进细胞凋亡;欧仁兵等[10]研究发现,将花姜酮作用于人胃癌细胞株,能够起到促进癌细胞凋亡、抑制癌细胞增殖的作用。本研究通过 MTT 法对人口腔鳞癌细胞增殖情况进行检测,结果显示,培养 24 h 时,使用花姜酮进行干预的人口腔鳞癌细胞增殖率明显降低;且随着花姜酮浓度的提升以及时间的推移,人口腔鳞癌细胞的增殖率呈现上升趋势,说明使用花姜酮对人口腔鳞癌细胞进行干预,能够抑制癌细胞的增殖,且具有浓度依赖性。通过流式细胞仪对人口腔鳞癌细胞的凋亡率进行检测发现,在使用花姜酮进行干预后,人口腔鳞癌细胞的凋亡率出现了较为明显的提升;且随着浓度的提升以及干预时间的推移,人口腔鳞癌细胞的凋亡率也随之提升,说明花姜酮能够促进人口腔鳞癌细胞的凋亡,且人口腔鳞癌细胞的凋亡率与花姜酮的浓度以及干预时间相关。

詹甜甜等[27]在研究中提出口腔鳞癌的发展与细胞迁移、侵袭有密切关系。王梅林等[11]的研究表明,花姜酮作用于乳腺癌细胞,能够抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭。刘波等[12]发现,花姜酮作用于人肝癌细胞,能够抑制肝癌细胞的侵袭,从而对肝癌组织的发展产生抑制作用。针对上述学者研究结论,本研究设计细胞划痕实验,研究花姜酮对人口腔鳞癌细胞迁移能力的影响。结果显示,在使用花姜酮对人口腔鳞癌细胞进行干预后,人口腔鳞癌细胞的迁移能力得到明显的抑制;且随着花姜酮浓度的提升,人口腔鳞癌细胞迁移细胞数出现明显的下降,说明使用花姜酮对人口腔鳞癌细胞进行干预能够抑制人口腔鳞癌细胞的迁移能力。本研究还设计 Transwell 小室实验观察花姜酮对人口腔鳞癌细胞侵袭能力的影响,结果显示,在使用花姜酮进行干预后,人口腔鳞癌细胞的侵袭能力受到明显的抑制;且随着花姜酮浓度的提升,人口腔鳞癌细胞侵袭数呈现下降趋势,说明使用花姜酮对人口腔鳞癌细胞进行干预能够抑制人口腔鳞癌细胞的侵袭能力。

PI3K、Akt、Bcl-2 的表达水平与癌细胞凋亡具有密切联系。Sun 等[28]在研究中表示,PI3K 是一种磷脂酰肌醇 3 激酶,能在机体生长因子的作用下集成细胞膜。Jeong 等[29]的研究表示,Akt 是处于 PI3K 下游的靶蛋白,将其激活后,即激活其他靶蛋白,能促使细胞生长,具有抗凋亡的作用。Duan 等[30]的研究表示,Bcl-2 是在线粒体通路中起着调节作用的一种重要基因,也是细胞的抑制与凋亡过程中比较重要的癌基因,当 Bcl-2 的表达水平下降时,与其相关的 Bax 表达水平便会随之升高,能够起到促进癌细胞凋亡的作用,许多抗肿瘤药物就是通过对 Bcl-2 表达进行抑制来达到治疗的目的。本研究显示,在花姜酮的作用下,人口腔鳞癌细胞中 PI3K、Akt、Bcl-2 的表达水平均出现下调,说明花姜酮可能通过抑制 PI3K、Akt、Bcl-2 的表达水平,起到抑制人口腔鳞癌细胞增殖、促进其凋亡的作用。

综上所述,花姜酮能够促进人口腔鳞癌细胞的凋亡,抑制人口腔鳞癌细胞的增殖及迁移、侵袭能力,且呈浓度依赖性,说明花姜酮能够通过干预口腔鳞癌细胞的增殖、凋亡、侵袭、迁移,对口腔鳞癌的发生发展产生一定的影响。但花姜酮具有一定的细胞毒性,如何降低花姜酮的细胞毒性也将是一个研究方向。

[参考文献]

[1] Costa NL, Gonçalves AS, Martins AF, et al. Characterization of dendritic cells in lip and oral cavity squamous cell carcinoma[J]. Oral Pathol Med, 2016, 45(6): 418-424. doi: 10.1111/jop.12380.

[2] Zhang W, Liu Y, Li YF, et al. Targeting of survivin pathways by YM155 Inhibits cell death and invasion in oral squamous cell carcinoma cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(6): 2426-2437. doi: 10.1159/

000445594.

[3] Cetindis M, Biegner T, Munz A, et al. Glutaminolysis and carcinogenesis of oral squamous cell carcinoma[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2016, 273(2):495 - 503. doi:10.1007/s00405 - 015 - 3543 - 7.

[4] Yao LX, Liu J, Xu L. MiR-610 functions as a tumor suppressor in oral squamous cell carcinoma by directly targeting AGK[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(1):187 - 197. doi:10.26355/eurrev_201901_16764.

[5] Matsushima-Otsuka S, Fujiwara-Tani R, Sasaki T, et al. Significance of intranuclear angiotensin-II type 2 receptor in oral squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2018, 9(93):36561 - 36574. doi:10.18632/oncotarget.26337.

[6] Harada K, Ferdous T, Minami H, et al. Prognostic significance of FOXM1 in oral squamous cell carcinoma patients treated by docetaxel-containing regimens[J]. Mol Clin Oncol, 2019, 10(1):29 - 36. doi:10.3892/mco.2018.1770.

[7] Matte BF, Kumar A, Placone JK, et al. Matrix stiffness mechanically conditions EMT and migratory behavior of oral squamous cell carcinoma[J]. J Cell Sci, 2019, 132(1):jcs224360. doi:10.1242/jcs.224360.

[8] Poachanukoon O, Meesuk L, Pattanacharoenchai N, et al. Zingiber cassumunar ROXb. and its active constituent inhibit MMP-9 direct activation by house dust mite allergens and MMP-9 expression in PMA-stimulated human airway epithelial cells[J]. Asian Pac J Allergy Immunol, 2015, 33(1):42 - 51. doi:10.12932/AP0490.33.1.2015.

[9] 陈晓燕,王卫星,丁佑铭,等. 花姜酮对胰腺癌 PANC1 细胞株增殖和凋亡的影响[J]. 中华胰腺病杂志,2010,10(6):421 - 423. doi:10.3760/cma.j.issn.1674 - 1935.2010.06.014.

[10] 欧仁兵,季 敏,马德波,等. 花姜酮对胃癌 7901 细胞株增殖凋亡的影响研究[J]. 中国医院用药评价与分析,2017,17(9):1176 - 1179. doi:10.14009/j.issn.1672 - 2124.2017.09.009.

[11] 王梅林,牛精铃,高 杨,等. 花姜酮对 MCF7 细胞的增殖和迁移与侵袭的影响及其作用机制研究[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(16):1975 - 1977. doi:10.13699/j.cnki.1001 - 6821.2018.16.011.

[12] 刘 波,罗 强,刘 芮,等. 花姜酮对人肝癌 SMMC-7721 细胞侵袭及 CXCR4 表达的影响[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2013,22(7):624 - 627. doi:10.3969/j.issn.1006 - 5709.2013.07.004.

[13] Zhang LL, Hu D, Zou LH. Low expression of lncRNA MEG3 promotes the progression of oral squamous cell carcinoma by targeting miR-21[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(23):8315 - 8323. doi:10.26355/eurrev_201812_16529.

[14] Liu M, Gao X, Liu CL. Increased expression of lncRNA FTH1P3 promotes oral squamous cell carcinoma cells migration and invasion by enhancing PI3K/Akt/GSK3b/Wnt/β-catenin signaling[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(23):8306 - 8314. doi:10.26355/eurrev_201812_16528.

[15] Kang Y, Wang X, Zhang Y, et al. Periostin serves an important role in the pathogenesis of oral squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):1292 - 1298. doi:10.3892/ol.2018.9660.

[16] Gao P, Fan R, Ge T. SNHG20 serves as a predictor for prognosis and promotes cell growth in oral squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):951 - 957. doi:10.3892/ol.2018.9709.

[17] Yao Y, Zhou WY, He RX. Down-regulation of JMJD5 suppresses metastasis and induces apoptosis in oral squamous cell carcinoma by regulating p53/NF-κB pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109:1994 - 2004. doi:10.1016/j.biopha.2018.07.144.

[18] Alam M, Kashyap T, Mishra P, et al. Role and regulation of proapoptotic Bax in oral squamous cell carcinoma and drug resistance[J]. Head Neck, 2019, 41(1):185 - 197. doi:10.1002/hed.25471.

[19] Singh S, Gupta V, Vij R, et al. Evaluation of mast cells in oral premalignant and malignant lesions:a histochemical study[J]. Natl J Maxillofac Surg, 2018, 9(2):184 - 190. doi:10.4103/njms.NJMS_49_17.

[20] Suárez-Canto J, Suárez-Sánchez FJ, Domínguez-Iglesias F, et al. Distinct expression and clinical significance of zinc finger AN-1-Type containing 4 in oral squamous cell carcinomas[J]. Clin Med, 2018, 7(12):E534. doi:10.3390/jcm7120534.

[21] Xiao M, Liu L, Zhang S, et al. Cancer stem cell biomarkers for head and neck squamous cell carcinoma:a bioinformatic analysis[J]. Oncol Rep, 2018, 40(6):3843 - 3851. doi:10.3892/or.2018.6771.

[22] Li Y, Xu Z, Li J, et al. Interleukin-18 expression in oral squamous cell carcinoma:its role in tumor cell migration and invasion, and growth of tumor cell xenografts[J]. FEBS Open Bio, 2018, 8(12):1953 - 1963. doi:10.1002/2211 - 5463.12532.

[23] Song X, Jin Y, Yan M, et al. MicroRNA-342-3p functions as a tumor suppressor by targeting LIM and SH3 protein 1 in oral squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):688 - 696. doi:10.3892/ol.2018.9637.

[24] Qiu J, Zhao J, Zuo A, et al. Lentiviral RNA interference-mediated down-regulation of Forkhead box M1 expression suppresses growth of oral squamous cell carcinoma in vitro[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):525 - 531. doi:10.3892/ol.2018.9536.

[25] Boxberg M, Leising L, Steiger K, et al. Composition and clinical impact of the immunologic tumor microenvironment in oral squamous cell carcinoma[J]. J Immunol, 2019, 202(1):278 - 291. doi:10.4049/jimmunol.1800242.

[26] Eckert AW, Horter S, Bethmann D, et al. Investigation of the prognostic role of carbonic anhydrase 9 (CAIX) of the cellular mRNA/protein level or soluble CAIX protein in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(2):E375. doi:10.3390/ijms20020375.

[27] 詹甜甜,高 洁,葛 昕,等. SATB2 在口腔鳞癌中的表达及其与迁移、侵袭的临床意义研究[J]. 口腔生物医学,2017,8(2):60 - 64. doi:10.3969/j.issn.1674 - 8603.2017.02.002.

[28] Sun YZ, Cai N, Liu NN. Celecoxib down-regulates the hypoxia-induced expression of HIF-1α and VEGF through the PI3K/AKT pathway in retinal pigment epithelial cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(4):1640 - 1650. doi:10.1159/000485764.

[29] Jeong HC, Park SJ, Choi JJ, et al. PRMT8 controls the pluripotency and mesodermal fate of human embryonic stem cells by enhancing the PI3K/AKT/SOX2 axis[J]. Stem Cells, 2017, 35(9):2037 - 2049. doi:10.1002/stem.2642.

[30] Duan Y, He Q, Yue K, et al. Hypoxia induced Bcl-2/Twist1 complex promotes tumor cell invasion in oral squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(5):7729 - 7739. doi:10.18632/oncotarget.13890.

(编辑:陈庆利)