

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-02-008

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

青钱柳三萜皂苷类化合物抗结直肠癌作用的定量蛋白质组学研究

袁玺^{1a,2}, 李善斌^{1a}, 覃玲诗^{1a}, 邹健^{1a}, 梁成钦^{1b}, 周先丽^{1a,2}

(1. 桂林医学院 a. 智能医学与生物技术学院; b. 药学院, 桂林 541199;

2. 广西高校生物化学与分子生物学重点实验室, 桂林 541199)

摘要 目的 探索青钱柳三萜皂苷类化合物 Cypaliuruside K 体外抗人结直肠癌细胞活性作用, 并初步分析该化合物抗人结直肠癌细胞的作用机制。方法 以青钱柳中分离得到的化合物 Cypaliuruside K 为试验药物, 对 SW480 肿瘤细胞进行干预。实验分为对照组和药物组, 分别提取各组细胞内总蛋白进行串联质谱标签 (TMT) 蛋白质组学分析。结果 蛋白质组学分析结果表明, 共有 402 个差异表达蛋白质, 结直肠癌中上调蛋白主要富集通路由亚细胞定位分析表明差异蛋白大多定位在线粒体、细胞质和细胞膜上。基因本体论 (GO) 分析结果显示, 差异蛋白主要参与 DNA 复制、蛋白质合成、糖代谢等过程。京都基因与基因组百科全书 (KEEG) 分析结果显示, 差异蛋白主要参与细胞代谢、遗传信息传导、生物系统通路等相关信号通路。结论 基于筛选出的 8 个与抗人结直肠癌肿瘤细胞密切相关蛋白, 通过定量蛋白组学初步揭示 Cypaliuruside K 可能通过增加 MAPK8、SMAD2、PMAIP1、BBC3、JUN、MAPK1、NRAS 及减少 CYCS 蛋白表达, 达到体外抗 SW480 肿瘤细胞作用。

关键词: 青钱柳; 三萜皂苷类化合物; 结直肠癌; 蛋白组学; 生物信息学

中图分类号: R735.35

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)02-0054-07

Quantitative proteomic study on anti-colorectal cancer effects of triterpenoid saponins of *Cyclocarya paliurus*

YUAN Xi^{1a,2}, LI Shanbin^{1a}, QIN Lingshi^{1a}, ZOU Jian^{1a}, LIANG Chengqin^{1b}, ZHOU Xianli^{1a,2}

(1. a. College of Intelligent Medicine and Biotechnology, b. College of Pharmacy, Guilin Medical University,

Guilin 541199, China; 2. Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology,

Guilin Medical University, Guilin 541199, China)

Abstract Objective To investigate the anti-human colorectal cancer cell activity of *Cycas cymas* triterpenoid saponins Cypaliuruside K *in vitro*, and to analyze the mechanism of anti-human colorectal cancer cell activity of Cypaliuruside K. **Methods** Cypaliuruside K, isolated from *Cyclocarya paliurus*, was used as an experimental drug to intervene SW480 tumor cells. The experiment was divided into control group and drug group, and the total protein in each group was extracted for tandem mass spectrometry (TMT) proteomic analysis. **Results** There were 402

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2018GXNSFAA281102)。

第一作者: 袁玺, 硕士研究生, 研究方向为天然产物活性物质。

通信作者: 周先丽, xlzhou2019@glmc.edu.cn。

differentially expressed proteins. Subcellular localization analysis showed that most of the differentially expressed proteins were located in mitochondria, cytoplasm and cell membrane. Gene ontology (GO) analysis showed that differential proteins were mainly involved in DNA replication, protein synthesis and glucose metabolism. The analysis results of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEEG) showed that differential proteins were mainly involved in cell metabolism, genetic information transmission, biological system pathways and other related signaling pathways. **Conclusion** Based on the 8 selected proteins closely related to anti-human colorectal cancer cells, quantitative proteomics preliminarily reveals that Cypaliuruside K may increase the expressions of MAPK8, SMAD2, PMAIP1, BBC3, JUN, MAPK1, NRAS and decrease the expressions of CYCS and achieves anti-SW480 tumor cell effect *in vitro*.

Keywords: Cyclocarya paliurus; Cypaliuruside K; colorectal cancer; proteomics; bioinformatics

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是结肠癌和直肠癌的总称,临床上称之为大肠癌,在全球范围内,该疾病的发病率在恶性肿瘤中排第 3 位、死亡率排在第 2 位,是胃肠道中最常见的恶性肿瘤^[1-3]。近年,随着我国人民生活质量的提升和饮食结构的改变,人口老龄化的到来以及男女年龄结构的变化,我国结直肠癌患者数量呈现逐年递增的趋势^[4]。结直肠癌发病隐匿,待出现症状之后多数患者已处于晚期,预后差^[5]。中草药具有分布广、取材易、低成本、高产量、适用性强等特点,常被用于辅助治疗结直肠癌。青钱柳是一种双子叶植物,是我国特有的一种珍稀植物,且青钱柳中的化合物 Cypaliuruside K^[6]具有抗肿瘤活性。蛋白质组学是根据荷质比将液相色谱和质谱结合起来测定目标样本中蛋白质相对含量的一种高通量测序手段^[7]。运用蛋白质组学技术发现癌症组织中的差异蛋白质,研究相关蛋白在癌症中的功能及作用,从而用于癌症的诊断和治疗^[8]。基于蛋白质组学高通量、高精度、短耗时的优点,根据天然活性产物作用肿瘤细胞多通道的特点,结合生物信息学手段,对肿瘤细胞进行更加深入的肿瘤标志物及药物靶点的发现与筛选,进而深入探讨癌细胞的作用机理,这成为当下研究癌细胞发生机制的热点问题。本研究采用定量蛋白质组学方法分析筛查差异蛋白,结合生物信息学分析,阐述 Cypaliuruside K 抗 SW480 癌细胞的机制,为 Cypaliuruside K 治疗结直肠癌提供蛋白质组学依据。

1 材料

①药物。将 50 kg 的青钱柳叶片晒干后,碾成粉

末状,在室温下取 100 L 体积分数为 70%乙醇水溶液进行萃取,每次萃取 3 d,共萃取 3 次。将所得抽提液进行真空浓缩得到残渣,用水和乙酸乙酯进行分馏,随后采用硅胶柱对 8.2 kg 乙酸乙酯提取物进行色谱分析(规格:100~200 目,20 cm×150 cm),用 CHCl₃-MeOH 梯度体系洗脱获得多个组分(A、B、C、D),将已分离的组分 A(1.65 kg)在 MCI 凝胶上脱色,得到组分 A₁和组分 A₂,将得到的组分 A₂(0.80 kg)用硅胶柱(规格:100~200 目,10 cm×100 cm)纯化,随后用石油醚-乙酸乙酯洗脱,在 TLC 分析的基础上得到 5 个馏分(A_{2a},A_{2b},A_{2c},A_{2d},A_{2e}),取已获得的 265.0 g 馏分 A_{2c}在制备型高效液相色谱上脱色,得到 4 个亚组分(A_{2cI},A_{2cII},A_{2cIII},A_{2cVI})。取其中 1.2 g 亚组分 A_{2cV},采用制备高效液相色谱法用 MeOH-H₂O 洗脱,得到 23.0 mg 化合物 Cypaliuruside K,-20 ℃低温保存备用。②细胞。SW480 细胞(购自美国典型培养物保藏中心),由本课题组自行传代培养。③试剂。碘乙酰胺、NH₃·H₂O、NH₄HCO₃、二硫苏糖醇 DTT、HCOONH₄、三氟乙酸 TFA 和 C18 Empore™固相萃取圆盘(均购自美国 Sigma 公司);乙腈(购自德国 Merck KGaA 公司);TMT 6/10plex Isobaric Mass Tag Labeling kit 和甲酸(均购自 Thermo Fisher scientific 公司);C18 Cartridge(购自美国 Waters 公司);30 kD 超滤离心管(购自德国 Sartorius 公司);0.22 μm 超滤离心管(购自上海康宁医疗用品有限公司);Multiple Affinity Removal LC Column-Human 14/Mouse 3(购自美国 Agilent 公司);SDT 裂解液、UA buffer;MCI 填料(MCI-凝胶 CHP-20P,购自日本三菱公司);RP 柱(Zorbax SB-C18,填料颗粒直径为

5 μm ,规格为9.4 mm \times 250 mm,购自美国安捷伦公司);硅胶(规格:100~200目,购自青岛海洋化工有限公司);TEAB溶液;IAA buffer(购自上海吉凯基因化学有限公司);BCA试剂盒(购自上海碧云天生物有限公司);5 mg/mL的MTT溶液、磷酸缓冲液PBS、二甲基亚砷(DMSO)、胰酶。④仪器与设备。Votex振荡器(购自美国GENIE公司);EasynLC色谱系统、Nano Drop酶标仪和Q Exactive plus质谱仪(均购自Thermo Fisher Scientific公司);Agilent 1260 infinity II HPLC系统和低温高速离心机(购自德国Eppendorf);MP Fastprep-24匀浆仪(购自美国Fastprep公司);恒温培养箱(购自上海精宏实业有限公司);电子天平(购自美国OHAUS公司);LC-四极杆质谱仪(型号:LC- ms8030,购自日本岛津仪器有限公司);精巧型恒温混匀仪(购自上海大龙实业有限公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

将SW480细胞接种于培养皿(直径100 mm)中,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 环境下培养,2~3 d换液,培养皿内贴壁程度80%时,胰酶消化,筛选生长状态良好的SW480细胞进行实验。

2.2 MTT法

取生长状态良好的SW480,胰酶消化,加培养基制成 3.0×10^4 个/mL的细胞悬液,以每孔悬液200 μL 接种于96孔板划线区域,12 h后给药,分别设置正常细胞、对照组和给药组(Cypaliuruside K分别梯度稀释为2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 共5组,每组设5个复孔),药物作用24 h后,每孔加入20 μL ,采用5 mg/mL的MTT,孵育4 h,弃上清液,每孔加入150 μL DMSO,于酶标仪490 nm处检测吸光度OD值。

2.3 蛋白质抽提

取生长状态良好的SW480,胰酶消化,加入培养基制成 2.0×10^6 个/mL的细胞悬液,接种于每个培养皿6 mL,24 h后加药,设置正常对照组和药物处理组(100 mg/L),每个浓度设置3个复孔。48 h后,弃上清液,PBS冲洗3次,加入300 μL 裂解液(包括4% SDS、100 mmol Tris-HCl、1 mmol DTT),置于超净工作台,静置5 min后,离心管取尽溶液,以12 000 r/min

的速度离心5 min,取上清液,测定蛋白质浓度,分装样品,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.4 FASP 酶解与 TMT 标记

取各蛋白质样品100 μg ,于样品中加入41 μL 的TMT标记试剂,室温孵育1 h。加入8 μL 5%羟胺,孵育15 min终止反应。

2.5 High PH RP 分离与质谱分析

混合每组已经标记过的肽段,采用Agilent 1260 infinity II HPLC系统进行分级。色谱柱以缓冲A液平衡,样品由手动进样器上样到色谱柱进行分离,流速为1 mL/min,以缓冲B液梯度洗脱。在洗脱过程中,应定期监测214 nm的吸光度值,为保证洗脱效果,每隔1 min收集一次洗脱组分,总共需要收集洗脱样品40份。若将样品冻干后需用0.1% FA复溶备用。

2.6 生物信息学分析

①综合性蛋白质数据库,如NCBI nr、UniProt等。②特定物种的蛋白质数据库。③已测序物种是由测序结果翻译而成的蛋白质序列数据,利用基因本体(gene ontology,GO)功能注释、差异蛋白京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)注释等生物信息分析方法对差异蛋白进行分析处理。

3 统计学方法

采用Proteome Discoverer 2.1、MASCOT 2.6、Perseus 1.3和R version 3.0.3进行数据分析。将所得数据的结果筛查标准定为 $\text{FDR}<0.01$ 。利用质谱鉴定和查库手段分析所获得的两组蛋白样品(对照组和给药组),将差异蛋白的标准设置为差异倍数大于1.2倍。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

4 结果

4.1 Cypaliuruside K 对 SW480 肿瘤细胞的增殖抑制作用

采用MTT检测法检测不同浓度的Cypaliuruside K对SW480肿瘤细胞生长抑制率的影响,以顺铂(Cisplatin)和紫杉醇(Taxol)作为阳性对照。观察到随着药物浓度的升高,顺铂和紫杉醇对SW480肿瘤

细胞的抑制效果也在增加,并且与对照组比较,不同浓度 Cypaliuruside K 对 SW480 肿瘤细胞生长均具有良好的抑制作用,其中浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 时差异具有统计学意义($P < 0.05$)。如图 1 所示,Cypaliuruside K 作用 24 h 的条件下对 SW480 肿瘤细胞的抑制作用,即 Cypaliuruside K 对 SW480 细胞表现出了良好的抑制作用。

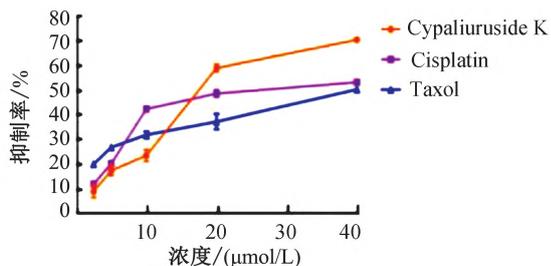
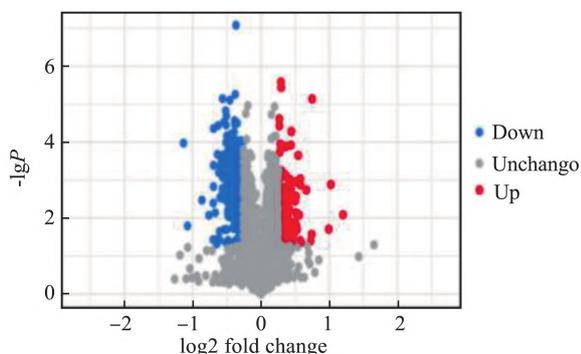


图 1 Cypaliuruside K 对 SW480 细胞的生长抑制作用

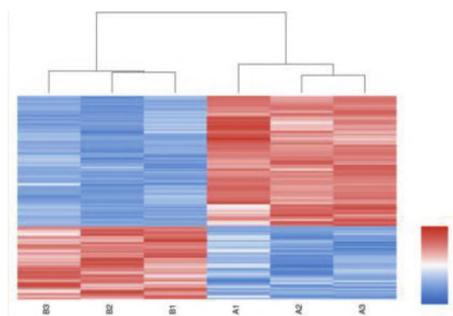
4.2 差异蛋白鉴定结果

将对照组和实验组获得的蛋白样品进行质谱鉴定和数据库查询和分析,以表达差异倍数大于 1.2 倍且 $P < 0.05$ 为筛选标准作图。如图 2 所示,筛选得到 Cypaliuruside K 作用 SW480 细胞后的差异蛋白一共 402 个,其中上调的差异表达蛋白 144 个,下调的差异表达蛋白 258 个。如图 3 所示,通过差异蛋白质的聚类分析对正常对照组 (A_1 、 A_2 和 A_3) 和药物组 (B_1 、 B_2 和 B_3) 两个维度进行分类。结果表明,数据模式在同组内的有较高的相似度,在组间相似度则明显较低,进一步论证了筛选差异蛋白的合理性。



注:蓝色表示下调蛋白,红色表示上调蛋白,灰圈表示无明显差异蛋白。

图 2 Cypaliuruside K 处理 SW480 细胞后差异表达蛋白的火山图



注:一个小方格表示一种蛋白,蛋白的表达量与图中小方格颜色深度呈正相关,蓝色表示蛋白下调,红色表示蛋白上调。

图 3 差异表达蛋白的火山图及聚类热图

5 差异蛋白的生物信息学分析

5.1 差异蛋白基因本体论分析

DAVID 对 GO 富集分析结果显示,402 个差异蛋白富集于 5 288 种生物过程、1 118 种分子功能和 646 种细胞组分中。其中 312 种生物过程、304 种分子功能和 300 种细胞组分具有统计学差异 ($P < 0.05$)。图 4 为选取每个注释类富集分析后 P 值最高的 10 个差异条目,由此可知,细胞组分中差异蛋白主要富集在线粒体、细胞质基质、细胞核等位置。化合物 Cypaliuruside K 具有促进核糖体的合成、调节三羧酸循环代谢等的分子功能,在线粒体的平移伸长、平移终止和细胞增殖等生物过程中发挥重要作用。

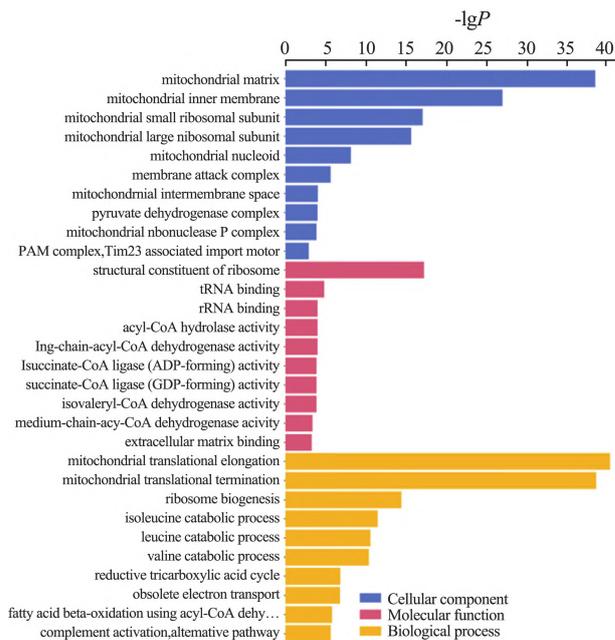


图 4 GO 富集分析结果

5.2 KEGG 通路分析

如图 5、图 6 所示,使用 KEGG 数据库中的数据对 402 个差异表达蛋白富集进行分析,共筛选出 10 个显著富集的途径($P < 0.05$)。

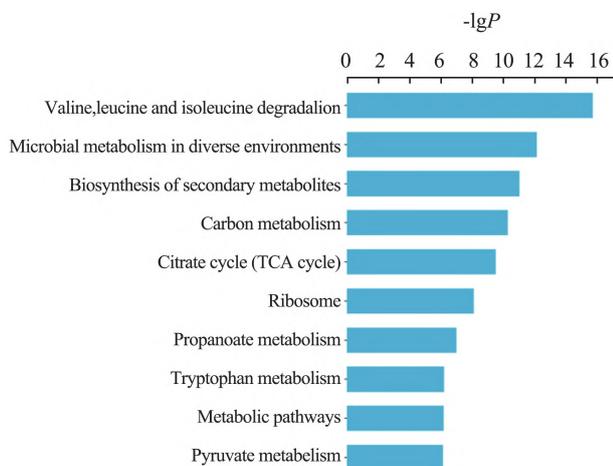


图 5 显著富集的 KEGG 通路统计

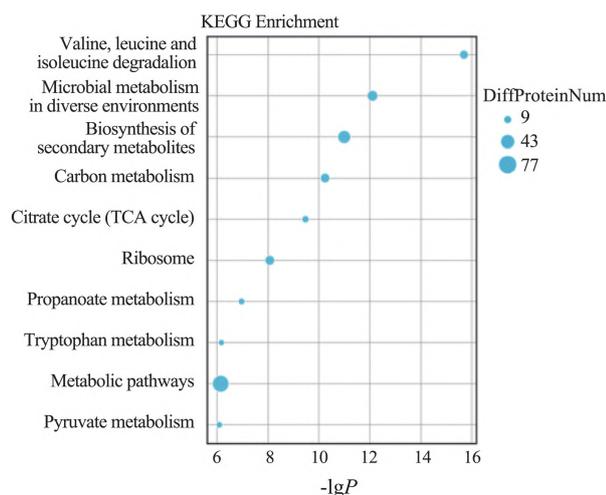


图 6 差异表达蛋白参与不同信号通路的气泡图

5.3 蛋白质亚细胞定位分析

对已经筛选出来的 402 个差异表达蛋白质,利用 Hum-mPLoc 数据库进行亚细胞定位分类分析,并采用软件 WoLF PSORT 对差异蛋白质进行定位预测分析。可以发现,鉴定的差异表达蛋白约有 43.6% 位于线粒体、16.2% 位于细胞质、15.7% 位于细胞核、约 13.5% 位于胞外、约 8.7% 位于质膜、约 1.5% 位于内质网,高尔基体、溶酶体和细胞骨架中均为 0.2%,其他细胞器约占 0.2%。

5.4 SW480 相关差异表达蛋白相互作用分析

依据相关文献查阅结果结合生物信息学手段,发现差异蛋白质之间直接的蛋白质连接度分列前十位的分别是 HSPD1、MRPL58、AURKAIP1、JUN、MRPL12、MRPL50、MRPL4、SSBP1、MRPS30、MRPL9。

6 讨论

近年,我国结直肠癌病患数量呈现递增趋势,临床认为,这与人们饮食结构的变化、遗传密切相关^[9-10],结直肠癌的晚期存活率不足 8%^[11],晚年发生肝转移成为患者死亡的主要原因之一^[12-14]。目前,已经发现结直肠癌的发生和转移与一些基因密切相关,同时涉及多种因素和程序的复杂级联反应^[15-17],但是由于结肠癌发生的机制复杂以及现有科学技术限制,目前结直肠癌的精准发病机制尚不明确,因此深入探讨结肠癌的发生机制对结肠癌的诊断、治疗及预后评估具有重大意义。

紫杉醇和顺铂是临床上常见的化疗药物,二者均具有比较好的抗癌作用^[18],其中顺铂是通过促进肿瘤细胞中的 G₂ 细胞周期阻滞和凋亡杀伤肿瘤细胞^[19],紫杉醇则是通过阻止肿瘤细胞分裂、激活巨噬细胞介导抗癌^[20]。本实验前期研究表明,青钱柳中提取的化合物 Cypaliuruside K 具有抗 SW480 肿瘤活性功效。本实验采用 TMT 蛋白筛选技术对给药组/对照组蛋白进行检测,其中上调的差异表达蛋白数量是 144 个,下调的差异表达蛋白数量是 258 个。细胞凋亡作为一种最基本的生物学现象同时也作为细胞程序性死亡方式之一,在生物体的生长发育以及组织的新陈代谢,稳定内环境过程中发挥着重要的作用^[21]。细胞凋亡常见途径有内源性凋亡和外源性凋亡两种,内源性凋亡称为线粒体凋亡途径,外源性凋亡称之为死亡受体凋亡途径^[22]。BBC3 基因编码 Bcl-2 蛋白质家族的成员属于 BH3-only 促凋亡亚类。该蛋白与直接激活蛋白协同作用,可诱导线粒体外膜透化和细胞凋亡,且该蛋白也可以与抗凋亡 Bcl-2 家族成员结合,诱导线粒体功能障碍和半胱天冬酶激活。在 Cypaliuruside K 作用 SW480 细胞后,发现线粒体内侧蛋白 Cytochrome C 下调,促凋亡蛋白 Bcl-2、转录因子 JUN、丝裂原活化蛋白激酶 MAPK1

等细胞外基质组分上调。这提示, Cypaliuruside K 可能通过提高 BBC3 基因的表达, 进而经线粒体途径诱导 SW480 细胞的凋亡。

转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 是一种维持调节性 T 细胞免疫抑制活性的重要介质, 具有促进调节性 T 细胞分化, 维持调节性 T 细胞免疫抑制活性的作用。由于调节性 T 细胞能够通过释放颗粒酶 B 和穿孔素诱导细胞溶解, 耗尽肿瘤组织中的效应 T 细胞, 因此 TGF- β 可直接或间接影响肿瘤浸润淋巴细胞的组成及功能。在肿瘤发生的初期, 癌细胞的停滞和凋亡程序被 TGF- β 触发, 肿瘤的生长被抑制; 当肿瘤达到中期, 肿瘤生长受到 TGF- β 的抑制, 此时大量的 TGF- β 将会被释放^[23]。SMAD2 家族是转化生长因子 TGF- β 信号转导途径中一个重要的新基因家族, 本研究中 SMAD2 呈上调趋势, 推测 Cypaliuruside K 可促进 SW480 细胞 SMAD2 基因持续表达从而抑制肿瘤细胞的生长。

目前, 人体中主要有 3 组 MAPK 通路, 其中 MAPK 通路的激活会导致细胞过度生长, 这种现象也普遍存在于多种人类恶性肿瘤细胞中, 即 MAPK 可推进细胞恶化的病理过程。本研究中 MAPK8 通路出现了明显的上调, 推测 SW480 细胞的凋亡加速可能受此影响。致癌基因 NRAS 编码和表达的 N-Ras 蛋白作为 RAS/MAPK 信号通路途径的组分之一, 参与 RAS-RAF-MEK-ERK 途径, 与基因的转录、细胞周期和增殖有关。若编码基因发生了恶性突变, 其编码的蛋白将不会受到抑制并陷入长久的激活状态, 将会导致细胞无序生长, 最终导致肿瘤的发生。本研究中 NRAS 上调, 或许可以把对 NRAS 的检测作为靶向治疗的指标。由此我们推测, Cypaliuruside K 可能通过激活 MAPK 信号传导通路的相关基因, 起到抑制结直肠癌细胞增殖的作用。

7 结论

本研究对青钱柳三萜皂苷类化合物 Cypaliuruside K 作用的结直肠癌细胞所产生的差异蛋白进行分析, 采用 TMT 蛋白质组学技术与生物信息学结合的方法, 在蛋白层面上揭露 Cypaliuruside K 抗结直肠癌机制的可能性, 为 Cypaliuruside K 治疗结直肠癌提供蛋

白质组学证据, 也为结直肠癌的发现和治理提供新靶点和新思路。

参考文献

- [1] BAIDOUN F, ELSHIWY K, ELKERAIE Y, et al. Colorectal cancer epidemiology: recent trends and impact on outcomes[J]. *Curr Drug Targets*, 2021, 22(9): 998-1009.
- [2] ARAGHI M, SOERJOMATARAM I, JENKINS M, et al. Global trends in colorectal cancer mortality: projections to the year 2035[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(12): 2992-3000.
- [3] DEKKER E, TANIS P J, VLEUGELS J L A, et al. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480.
- [4] 犹忆, 李德俊, 裴一霖, 等. 1990—2019 年中国结直肠癌死亡趋势及年龄-时期-队列模型分析[J]. *现代预防医学*, 2023, 50(18): 3281-3287.
- [5] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [6] ZHOU X L, LI S B, YAN M Q, et al. Bioactive dammarane triterpenoid saponins from the leaves of *Cyclocarya paliurus* [J]. *Phytochemistry*, 2021, 183: 112618.
- [7] DING Z Y, WANG N, JI N, et al. Proteomics technologies for cancer liquid biopsies[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 53.
- [8] HONDA K, ONO M, SHITASHIGE M, et al. Proteomic approaches to the discovery of cancer biomarkers for early detection and personalized medicine[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2013, 43(2): 103-109.
- [9] 朱宏伟, 陈林, 王子, 等. 动态增强 CT 扫描在结直肠癌肝转移临床诊断中的价值分析[J]. *航空航天医学杂志*, 2023, 34(9): 1056-1058.
- [10] 潘莹, 刘婉蓉, 崔广超. 结直肠癌肝转移患者心理痛苦现状及护理措施[J]. *心理月刊*, 2023, 18(19): 23-25.
- [11] AUCLIN E, ZAAANAN A, VERNEREY D, et al. Subgroups and prognostication in stage III colon cancer: future perspectives for adjuvant therapy[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(5): 958-968.
- [12] 胡赢, 韦成江, 龚晗, 等. 结直肠癌肝转移灶的影像学特征与病理微形态学特点的关系[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2022, 38(9): 1109-1112.
- [13] HSU S, HUANG F, FRIEDMAN E. Platelet-derived

- growth factor-B increases colon cancer cell growth in vivo by a paracrine effect [J]. *J Cell Physiol*, 1995, 165 (2) : 239-245.
- [14] ZHANG Y Y, CEDERVALL J, HAMIDI A, et al. Platelet-specific PDGFB ablation impairs tumor vessel integrity and promotes metastasis [J]. *Cancer Res*, 2020, 80 (16) : 3345-3358.
- [15] YUAN R F, WANG K, HU J W, et al. Ubiquitin-like protein FAT10 promotes the invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma by modifying β -catenin degradation [J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (18) : 5287-5300.
- [16] ZHANG Z Y, HE G D, LV Y, et al. HERC3 regulates epithelial-mesenchymal transition by directly ubiquitination degradation EIF₅ A2 and inhibits metastasis of colorectal cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13 (1) : 74.
- [17] YU S Y, ZANG W C, QIU Y C, et al. Deubiquitinase OTUB2 exacerbates the progression of colorectal cancer by promoting PKM2 activity and glycolysis [J]. *Oncogene*, 2022, 41 (1) : 46-56.
- [18] KIM M J, KIM S M, JUNG H A, et al. Efficacy and safety of cisplatin and weekly docetaxel in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Korean J Intern Med*, 2019, 34 (5) : 1107-1115.
- [19] 郭晔, 郭慕依. 顺铂的细胞和分子药理学研究进展 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2006, 33 (1) : 134.
- [20] 刘福和, 倪文娟. 紫杉醇的药理与临床研究进展 [J]. *临床医学* [J]. 2011, 24 (6) : 3812-3813.
- [21] DIAMANTIS A, MAGIORKINIS E, SAKORAFAS G H, et al. A brief history of apoptosis: from ancient to modern times [J]. *Onkologie*, 2008, 31 (12) : 702-706.
- [22] PFEFFER C, SINGH A. Apoptosis: a target for anticancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (2) : 448.
- [23] DRABSCH Y, TEN DIJKE P. TGF- β signalling and its role in cancer progression and metastasis [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2012, 31 (3/4) : 553-568.
- [收稿日期: 2023-11-01]
- [责任编辑: 郭海婷 英文编辑: 李佳睿]