

蜂毒肽对口腔鳞癌细胞的增殖及迁移能力的影响

王崇, 李国林, 郭净洁, 杜超

哈尔滨医科大学附属第一医院口腔颌面外科, 黑龙江 哈尔滨 150001

摘要: **目的** 探讨蜂毒肽对人口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 细胞系 Scc-15、Tca8113、Cal-27 增殖性、迁移性的影响及其作用机制。**方法** 以用四种不同浓度梯度 (2、4、8、16 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的蜂毒肽分别处理的 OSCC 细胞系为蜂毒肽组, 以不含药的培养液处理的细胞系为对照组。采用 MTT 实验检测蜂毒肽对 OSCC 细胞系 Scc-15、Tca8113、Cal-27 增殖的抑制作用; 划痕实验观察蜂毒肽对 Scc-15 细胞迁移能力的抑制效果; Transwell 实验验证蜂毒肽对 Scc-15 细胞侵袭能力的抑制作用; Western blot 检测蜂毒肽作用于 Scc-15 细胞后核因子 (NF) κB 、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 (Caspase)-3、Caspase-9 的表达情况。**结果** MTT 检测结果显示, 相对于对照组, 2、4、8、16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 蜂毒肽组的 Scc-15、Tca8113、Cal-27 细胞增殖存活率均明显降低, 且呈浓度依赖性 (P 均 < 0.01)。划痕实验结果显示, 在细胞划痕培养 6、12 和 24 h 时相对于对照组, 8、16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 蜂毒肽组的 Scc-15 细胞划痕愈合率均明显降低, 且呈浓度依赖性 (P 均 < 0.01)。Transwell 侵袭实验结果显示, 对照组与 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 蜂毒肽组穿过滤过膜的 Scc-15 细胞数分别为 (46.0 ± 2.3) 个/视野和 (21.0 ± 1.7) 个/视野, 蜂毒肽组显著少于对照组 ($P < 0.01$)。Western blot 结果示, 相对于对照组, 加入蜂毒肽后, Scc-15 细胞的 NF- κB 蛋白表达量显著下降 ($P < 0.01$)、Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达量显著升高 (P 均 < 0.01)。**结论** 蜂毒肽可显著抑制 OSCC 细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 还可促进 OSCC 细胞凋亡, 其作用机制可能与 NF- κB 的生成减少相关。

关键词: 口腔鳞状细胞癌; 蜂毒肽; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R739.8 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2021)01-0018-05

Effect of Melittin on proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma cells

WANG Chong, LI Guo-lin, GUO Jing-jie, DU Chao

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China

Corresponding author: LI Guo-lin, E-mail: liguolin@126.com

Abstract: Objective To investigate the effects of Melittin (MEL) on the proliferation and migration of human oral squamous cell carcinoma (OSCC) cell lines Scc-15, Tca8113, and Cal-27 and its mechanism. **Methods** OSCC cell lines respectively treated with four different concentrations of MEL (2, 4, 8, 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$) were served as MEL group. Cells without treatment of MEL were served as control group. MTT assay was used to measure the inhibitory effect of MEL on the proliferation of OSCC cell lines Scc-15, Tca8113 and Cal-27. Scratch test and Transwell test were used to detect the inhibitory effects of MEL on migration and invasion of Scc-15 cells respectively. Western blot was used to detect the expressions of nuclear factor (NF) κB , Caspase-3 and Caspase-9 in Scc-15 cells treated with MEL. **Results** MTT assay results showed that compared with control group, the proliferation and survival rates of Scc-15, Tca8113 and Cal-27 cells in 2-, 4-, 8-, 16- $\mu\text{g}/\text{ml}$ MEL groups significantly decreased in a concentration-dependent manner (all $P < 0.01$). Scratch test showed that scratch healing rates of Scc-15 cells in 8 and 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MEL groups were significantly lower than that in control group in a concentration-dependent manner at 6-, 12- and 24-h of cell scratch (all $P < 0.01$). Transwell invasion assay showed that the number of Scc-15 cells penetrating the membrane-filtered in 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ MEL group was significantly less than that in control group [(21.0 ± 1.7) vs (46.0 ± 2.3) , $P < 0.01$]. Western blot results showed that compared with

control group, NF- κ B expression level decreased in Scc-15 cells, and expression levels of Caspase-3 and Caspase-9 increased in MEL group (all $P < 0.01$). **Conclusion** MEL can significantly inhibit the proliferation, migration and invasion of OSCC cells and promote the apoptosis of OSCC cells, which may be related to the reduction of NF- κ B production.

Keywords: Oral squamous cell carcinoma; Melittin; Proliferation; Migration; Invasion

Fund program: Natural Science Foundation of Heilongjiang Province(H2018041)

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是常见的头颈癌症之一,传统的治疗方式为手术治疗结合放疗和化疗^[1-4]。经过综合方式治疗之后,患者 5 年存活率为 40% ~ 50%,治愈率仅为 30%,并且可能出现淋巴结转移^[5-7]。口腔为人体相对开放性的器官,在临床上易于检查,但由于患者缺乏警惕意识及相关知识,通常无法在癌前病变及早期癌变阶段发现 OSCC。临床上 OSCC 多采取以根治性手术为主、放疗及化疗为辅的综合治疗方案。但即使经过正规治疗后,患者仍然可能出现转移及复发,5 年生存率极低。为能更好的治疗 OSCC,研究者正在研制并开发更为有效的新型治疗方式。

蜂毒肽(Melittin)是一种由 26 个氨基酸组成的水溶性线性多肽,结构式为 $C_{131}H_{229}N_{39}O_{31}$ ^[8-9]。蜂毒肽生物学效应为抗病毒、抗菌、抗寄生虫、诱导细胞凋亡、坏死和抑制各种类型恶性肿瘤的增殖^[10-13]。蜂毒肽可以扰乱细胞膜表面完整磷脂双分子层,并增强细胞膜通透性,最终导致细胞裂解,从而对癌细胞的增殖产生抑制作用^[9]。

为探讨 OSCC 治疗的新方法,本实验主要观察蜂毒肽对 OSCC 细胞系 Scc-15、Tca8113、Cal-27 细胞增殖与迁移能力的影响,并分析半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)家族中 Caspase-3 和 Caspase-9 的信号转导以及核因子(NF) κ B 的表达情况,进一步探讨蜂毒肽的作用机制,以期对 OSCC 的临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 人 OSCC 细胞系 Scc-15、Tca8113、Cal-27 由哈尔滨医科大学附属第二医院提供;蜂毒肽(南京肽业生物科技);超净工作台由北方转化医学研究合作中心提供;胎牛血清(FBS, Gibco 公司);二甲基亚砷(DMSO, 美国 Sigma 公司);DMEM 培养基(Gibco 公司);酶标仪购自美国 Biotek 公司;倒置显微镜购自日本 Olympus 公司;Caspase-3、Caspase-9、NF- κ B 试剂购自碧云天生物技术有限公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT)溶液(上海研生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 四组不同浓度蜂毒肽的配制 将 2 mg 的蜂毒肽加入 1 ml 的 DMSO 中,配置成 2 000 μ g/ml 的母液。从母液中取出 3、6、12、24 μ l,接着分别加入 3 ml 的纯 DMEM,配制出 2、4、8、16 μ g/ml 浓度梯度,0.22 μ l 孔径过滤器过滤, -20 $^{\circ}$ C 保存,现用现配。

1.2.2 细胞的培养和分组 将冻存的 Scc-15、Tca8113、Cal-27 复苏后放入含 10% FBS 和 1% 双抗(50 u/ml 青霉素和 50 u/ml 链霉素)的 DMEM 培养基中进行培养。再将上述细胞和培养基放入 37 $^{\circ}$ C, 含 5% CO₂ 的恒温培养箱中,所有实验都在细胞生长对数期进行。用不同浓度蜂毒肽(蜂毒肽组)和不含药的培养液(对照组)分别处理 OSCC 细胞系。

1.2.3 MTT 检测蜂毒肽对 OSCC 细胞增殖的影响 用 MTT 方法评估不同浓度梯度(2、4、8、16 μ g/ml)下的蜂毒肽在体外对细胞 Scc-15、Tca8113、Cal-27 增殖的抑制作用。待培养的 Scc-15、Tca8113、Cal-27 细胞生长状况良好时进行细胞计数,以每孔 1×10^4 个细胞的密度铺到 96 孔板中,每孔加入 100 μ l 培养液,不含药的培养液作为对照组,2、4、8、16 μ g/ml 浓度作为蜂毒肽组。在 5% CO₂ 和 37 $^{\circ}$ C 的孵箱内培养,待贴壁细胞长满瓶底 90% 以上,换含有不同药物浓度的新鲜培养液。培养 48 h 后,在每个孔中加入 20 μ l 的 MTT(5 mg/ml)溶液,4 h 后吸净每个孔中的培养液,每孔加入 150 μ l 的 DMSO,置于摇床摇晃 10 min 使其完全溶解。用酶标仪测其在 490 nm 波长的吸光度值。以对照组细胞的吸光度值为对照,计算各蜂毒肽组的细胞增殖存活率。

1.2.4 划痕实验检测蜂毒肽对 OSCC 细胞迁移能力的影响 生长状况良好的 Scc-15 细胞以每孔约 5×10^5 个细胞的密度铺入 6 孔板中,每孔 3 ml 培养液。在 5% CO₂ 和 37 $^{\circ}$ C 孵箱中培养 24 h,待细胞长满瓶底的 90% 以上时,将孔内培养液吸去,用 10 μ l 枪头垂直于孔板划痕。用 PBS 轻柔冲洗 3 遍,分别加入含有不同浓度蜂毒肽的无血清培养液 3 ml,设置每组给药浓度分别为 8、16 μ g/ml。以不做药物处理的细胞作为对照组。加药完成后将细胞置于 5% CO₂ 和 37 $^{\circ}$ C 的孵箱内培养。分别于 0、6、12、24 h 观察各组

细胞向划痕中迁移的情况。应用倒置显微镜观察记录($\times 100$),将图片应用 Image pro plus 软件进行分析。计算划痕愈合率。

1.2.5 Western blot 检测蜂毒肽作用于 Scc-15 后 Caspase-3、Caspase-9 及 NF- κ B 的表达情况 将离心好的细胞混成细胞悬液,使其浓度为 1×10^6 /ml 接种于直径为 100 mm 的培养皿上。实验分为对照组以及浓度为 16 μ g/ml 药物组,细胞收集后,通过含 $1 \times$ 蛋白酶抑制剂的 RIPA 缓冲液进行蛋白质的提取,蛋白浓度测定试剂盒进行浓度测定。使用 12.5% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,并转移到 PVDF 膜上。将洗干净的 PVDF 膜放置于配好的封闭液(5% 脱脂牛奶)中,摇床设定 60 r/min,室温封闭 1~3 h。然后进行内参蛋白 β -肌动蛋白(β -actin)(1:1 000)以及目的蛋白 NF- κ B(1:1 000)、Caspase-3(1:1 000)、Caspase-9(1:1 000)的孵育,4 $^{\circ}$ C 的冰箱内摇床孵育 18 h,然后放入 Tris-HCL 缓冲液(TBST)清洗 30 min,进行二抗(辣根过氧化物酶山羊抗兔 IgG)的孵育,室温孵育 1~2 h。配置超敏 ECL 工作液,最后通过扫膜仪扫膜,实验重复 3 次。

1.2.6 Transwell 侵袭实验检测蜂毒肽对 OSCC 细胞侵袭能力的影响 在 4 $^{\circ}$ C 条件下用不含血清的 DMEM 培养液将基质胶稀释至 4 g/L。取 40 μ l 基质胶加入到上室中,将经胰蛋白酶消化离心的 Scc-15 细胞加入不含血清的 DMEM 培养液中,并使其重新悬浮,调整细胞密度为 5×10^4 个/ml。将 Transwell 小室放入 24 孔板中,在上室中加入 100 μ l 的细胞悬液,下室中加入 600 μ l 含 10% FBS 的 DMEM 培养液。对照组上室为无血清培养液,蜂毒肽组上室为含 16 μ g/ml 蜂毒肽的无血清培养液。在 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中孵育 24 h 后,取出小室,弃去孔中培养液,PBS 漂洗两次。用 4% 多聚甲醛固定后,再用 PBS 漂洗 2 次,最后用结晶紫染色 20 min,期间棉签擦拭上室内未穿过膜的细胞。倒置显微镜下观察细胞数。随机选取 5 个视野中的细胞进行拍照计数。每组实验均独立重复 3 次,作统计学分析。

1.3 统计学方法 数据应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用成组 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析及两两比较的 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度蜂毒肽对 OSCC 细胞增殖的影响

MTT 法检测结果显示,相对于对照组,2、4、8、16 μ g/ml 蜂毒肽组的 Scc-15、Tca8113、Cal-27 细胞增殖存活率均降低,且呈浓度依赖性(P 均 < 0.01),提示蜂毒肽对 OSCC 细胞的增殖有明显抑制作用,该增殖抑制作用随蜂毒肽浓度的升高而增强。见表 1。

2.2 不同浓度蜂毒肽对人 OSCC 细胞系 Scc-15 迁移的影响 划痕实验结果显示,在细胞划痕培养 6、12 和 24 h,相对于对照组,8、16 μ g/ml 蜂毒肽组的 Scc-15 细胞划痕愈合率均降低,且呈浓度依赖性(P 均 < 0.01),提示无论在哪个时刻,蜂毒肽对 Scc-15 细胞的迁移有明显抑制作用,该迁移抑制作用随蜂毒肽浓度的递升而递增。见表 2、图 1。

2.3 Western blot 检测 Scc-15 细胞凋亡相关蛋白的表达情况 Western-Blot 检测结果显示,相对于对照组,加入蜂毒肽后,Scc-15 细胞的 NF- κ B 蛋白表达量下降($P < 0.01$),而 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白的表达量均升高(P 均 < 0.01)。见表 3、图 2。

2.4 蜂毒肽对 Scc-15 细胞侵袭能力的影响 Transwell 结果发现,对照组与 16 μ g/ml 蜂毒肽组穿过过滤膜的 Scc-15 细胞数,分别为 (46.0 ± 2.3) 个/视野和 (21.0 ± 1.7) 个/视野,蜂毒肽组显著少于对照组($P < 0.01$),提示蜂毒肽有显著减弱 OSCC 细胞侵袭能力的作用。见图 3。

表 1 不同浓度蜂毒肽对三种人 OSCC 细胞系增殖的影响
($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞存活率(%)		
	Scc-15	Tca8113	Cal-27
对照组	101.55 \pm 1.39	101.70 \pm 1.54	100.38 \pm 0.36
2 μ g/ml 蜂毒肽	99.58 \pm 1.41	65.85 \pm 0.96 ^a	62.63 \pm 0.58 ^a
4 μ g/ml 蜂毒肽	83.53 \pm 0.55 ^{ab}	50.54 \pm 0.54 ^{ab}	59.54 \pm 0.56 ^{ab}
8 μ g/ml 蜂毒肽	68.47 \pm 1.38 ^{ab}	42.44 \pm 1.35 ^{abc}	53.42 \pm 1.30 ^{abc}
16 μ g/ml 蜂毒肽	50.71 \pm 0.61 ^{abcd}	44.30 \pm 1.16 ^{abc}	51.60 \pm 0.56 ^{abcd}
F 值	390.588	1341.307	2156.344
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 2 μ g/ml 比较,^b $P < 0.01$;与 4 μ g/ml 比较,^c $P < 0.01$;与 8 μ g/ml 比较,^d $P < 0.01$ 。

表 2 不同浓度蜂毒肽对人 OSCC 细胞系 Scc-15 迁移的影响
($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	划痕愈合率(%)		
	6 h	12 h	24 h
对照组	24.33 \pm 0.40	44.13 \pm 1.57	52.13 \pm 1.62
8 μ g/ml 蜂毒肽	14.10 \pm 0.20 ^a	20.73 \pm 0.25 ^a	39.00 \pm 0.30 ^a
16 μ g/ml 蜂毒肽	9.04 \pm 0.04 ^{ab}	18.87 \pm 0.85 ^a	27.07 \pm 0.60 ^{ab}
F 值	2671.597	548.976	461.361
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与 8 μ g/ml 比较,^b $P < 0.01$ 。

表 3 对照组与蜂毒肽加药组中 Scc-15 细胞凋亡相关蛋白表达比较 (n = 3, $\bar{x} \pm s$)

组别	NF- κ B 蛋白	Caspase-3 蛋白	Caspase-9 蛋白
对照组	10.99 \pm 0.28	1.01 \pm 0.02	0.27 \pm 0.03
加药组	0.80 \pm 0.02	1.44 \pm 0.04	0.71 \pm 0.01
t 值	62.846	18.873	27.574
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

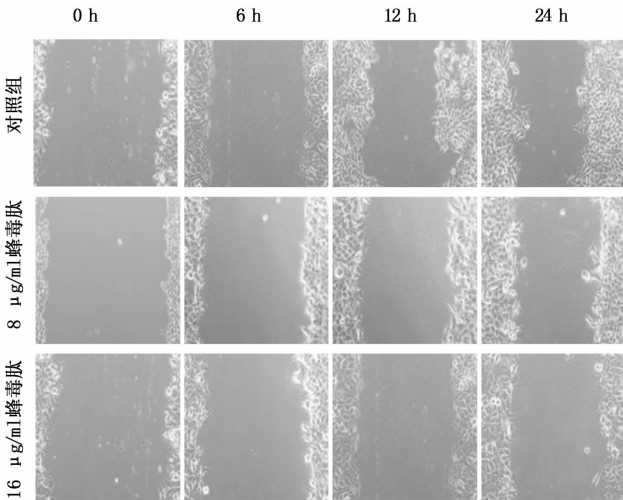


图 1 蜂毒肽抑制 Scc-15 细胞迁移能力的倒置显微镜下观察 (×100)

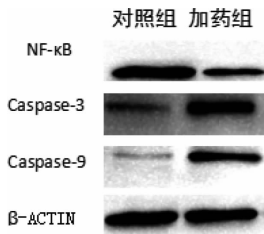
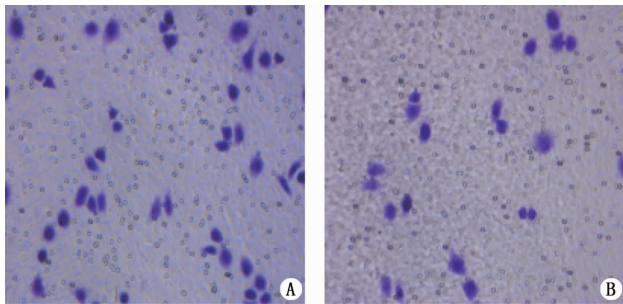


图 2 对照组与蜂毒肽加药组中 Scc-15 细胞凋亡相关蛋白表达情况



注: A 为对照组; B 为 16 μ g/ml 蜂毒肽组。

图 3 Scc-15 细胞 Transwell 侵袭实验结果(结晶紫染色, ×200)

3 讨论

传统的恶性肿瘤治疗方式患者存活率很低。手术治疗主要还是针对早期患者,且年纪较大、身体健康状况不佳者并不主张手术治疗。因此对于肿瘤位置不理想或者其他原因不适合手术治疗的,需要一种更有效的治疗方式。

本课题通过体外培养 OSCC 细胞系,研究蜂毒肽对其增殖、迁移、侵袭及凋亡的影响,并进一步探索其机理。在 MTT 实验中,通过比较未加药物的对照组与不同浓度蜂毒肽组的细胞存活率,显示蜂毒肽对 OSCC 细胞系有显著的抗增殖作用,并发现这种抗增殖能力随着蜂毒肽浓度的升高而增强。在划痕实验中观察 6、12、24 h 对照组和蜂毒肽组 Scc-15 细胞的迁移能力,结果显示与对照组相比,不同浓度蜂毒肽均能减慢 Scc-15 向划痕迁移的速度,且呈浓度依赖性,其中 16 μ g/ml 蜂毒肽组的迁移抑制能力更强。Transwell 实验表明,在蜂毒肽作用 24 h 后,穿过小室的 Scc-15 细胞数较对照组显著减少,可见蜂毒肽可显著抑制 OSCC 细胞的侵袭能力。Western Blot 检测 Scc-15 细胞凋亡蛋白表达情况的结果表明,加入蜂毒肽后 Scc-15 的 NF- κ B 蛋白表达量由 10.99 \pm 0.28 降为 0.80 \pm 0.02; Caspase-3 蛋白表达量由 1.01 \pm 0.02 增为 1.44 \pm 0.04; Caspase-9 蛋白表达量由 0.27 \pm 0.03 增为 0.71 \pm 0.01,以上差异均具有统计学意义。据此可以猜测,蜂毒肽可能是通过下调 NF- κ B,从而激活凋亡通路来发挥其抗肿瘤功能。

蜂毒是天然毒素,是一种无味的透明液体,pH 值为 4.5 ~ 5.5,其可刺激肾上腺分泌皮质醇,从而发挥抗炎功能。已有很多学者进行了蜂毒的药理活性及毒理活性的测定,表明蜂毒具有抗炎、抗肿瘤等功效,还可有效治疗多种恶性肿瘤。蜂毒肽是蜂毒主要药理学成分^[14]。它通过增加死亡受体 DR4、DR5 和 P53、P21、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 进而增加 Caspase-3、Caspase-9 表达^[15-16]。更有研究表明蜂毒肽通过激活线粒体和抑制蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导子和转录激活子 (JAK2/STT3) 途径来诱导卵巢癌细胞和胃癌发生凋亡^[17]。Caspase 与真核细胞凋亡密切相关,并参与细胞的生长、分化与凋亡的调节。崔啸晨^[18]在蜂毒肽联合吉西他滨对人胰腺癌细胞 Panc-1 作用的研究中发现,蜂毒肽可以显著激发 Caspase-3 的表达,进而影响癌细胞的凋亡,故笔者猜想 Caspase-3 的上调可能是蜂毒肽对 Scc-15 增殖的抑制机制之一。本实验结果显示,蜂毒肽作用于人 OSCC 细胞 Scc-15 后,Caspase-3 的表达量显著增高。

有研究表明蜂毒肽可以抑制 TLR2 (即 toll 样受体)、TLR4、CD14 (即 Lipopolysaccharide 受体)、NEMO 样激酶抗体和 PDGFRB 即血小板衍生生长因子受体的信号通路,通过抑制这些途径来降低 P38、ERK1/2 (细胞外调节蛋白激酶)、AKT (即 AKT 蛋白激酶 B) 活化以及 NF- κ B 向细胞核的移位,这种抑制进而导

致皮肤、关节、肝脏、神经组织炎症减少。此外炎症细胞产生活性氧和氮两种物质,进一步导致 DNA 的损伤并且激活多种转录因子如:活化 B 细胞核因子、 κ -轻链增强因子、NF- κ B 和干扰素调节因子^[19]。本实验结果显示蜂毒肽组 NF- κ B 表达量明显低于对照组,NF- κ B 通路被抑制。

综上所述,蜂毒肽很大可能是通过抑制 NF- κ B 途径进而引起 Caspase-3、Caspase-9 的上调影响癌细胞的凋亡。本体外实验发现蜂毒肽可以有效抑制人 OSCC 细胞的迁移性,但肿瘤的增殖转移是很复杂的过程,蜂毒肽对 OSCC 的抑制作用有待进行体内实验来进一步研究。

参考文献

- [1] Massano J, Regateiro FS, Januário G, et al. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2006, 102(1): 67-76.
- [2] 李伟琴. 口腔鳞状细胞癌患者血清 Cyfra 21-1 和癌胚抗原含量检测的临床意义[J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2019, 12(2): 126-127.
- [3] Tahir A, Nagi AH, Ullah E, et al. The role of mast cells and angiogenesis in well-differentiated oral squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer Res Ther*, 2013, 9(3): 387-391.
- [4] 张胜, 马壮, 朱郁文. 舌鳞状细胞癌患者发生颈部淋巴结 Level IV 转移的因素[J]. *热带医学杂志*, 2017, 17(9): 73-75, 131.
- [5] 周燕平, 雷荣昌. 口腔鳞癌患者唾液中生物学标记物研究进展[J]. *口腔颌面外科杂志*, 2014, 24(3): 237-240.
- [6] Liao L, Wang J, Ouyang S, et al. Expression and clinical significance of microRNA-1246 in human oral squamous cell carcinoma[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 776-781.
- [7] Leemans CR, Braakhuis BJM, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(1): 9-22.
- [8] 胡赞, 李万瑶. 蜂毒肽通过阻止 NF- κ B 和 AP-1 依赖 MMP-9 的表达抑制 PMA 诱导肿瘤细胞浸润[J]. *中国蜂业中旬刊(学术)*, 2011, 62(4): 58-62.
- [9] 孙丽萍, 董捷, 闫继红, 等. 蜂毒肽的结构、功能及分子生物学研究进展[J]. *蜜蜂杂志*, 2002(8): 7-9.
- [10] Oršolić N. Bee venom in cancer therapy[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2012, 31(1/2): 173-194.
- [11] Heinen TE, da Veiga AB. Arthropod venoms and cancer[J]. *Toxicol*, 2011, 57(4): 497-511.
- [12] Mao J, Liu SJ, Ai M, et al. A novel melittin nano-liposome exerted excellent anti-hepatocellular carcinoma efficacy with better biological safety[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 71.
- [13] 叶雨辰, 张长春, 朱坤, 等. 蜂毒肽对 IL-1 β 诱导的大鼠腰椎终板软骨细胞 II 型胶原表达的影响研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2017, 31(3): 345-350.
- [14] Pandidan S, Mechler A. Nano - viscosimetry analysis of the membrane disrupting action of the bee venom peptide melittin[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 10841.
- [15] 姚家喜, 秦玉洁, 杨长军, 等. 转移性肾癌中程序性死亡受体 - 配体 1 表达及预后研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(2): 336-339.
- [16] Choi KE, Hwang CJ, Gu SM, et al. Cancer cell growth inhibitory effect of bee venom via increase of death receptor 3 expression and inactivation of NF-kappa B in NSCLC cells[J]. *Toxins (Basel)*, 2014, 6(8): 2210-2228.
- [17] Jo M, Park MH, Kollipara PS, et al. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 258(1): 72-81.
- [18] 崔啸晨. 蜂毒肽联合吉西他滨对人胰腺癌细胞 Panc-1 作用的研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [19] Son DJ, Kang J, Kim TJ, et al. Melittin, a major bioactive component of bee venom toxin, inhibits PDGF receptor beta-tyrosine phosphorylation and downstream intracellular signal transduction in rat aortic vascular smooth muscle cells[J]. *J Toxicol Environ Health A*, 2007, 70(15/16): 1350-1355.

收稿日期: 2020-04-03 修回日期: 2020-05-28 编辑: 王海琴