

# 沙利霉素对口腔鳞癌细胞增殖和凋亡的影响

苏雷震<sup>1,2,3</sup>, 陈洁<sup>1,2</sup>, 李显<sup>1,3</sup>, 季平<sup>1,3△</sup>

(1. 重庆医科大学附属口腔医院口腔颌面外科, 重庆 401120; 2. 口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室, 重庆 401120; 3. 重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室, 重庆 401120)

**[摘要]** **目的:**探讨沙利霉素 (salinomycin) 对口腔鳞癌细胞增殖和凋亡的影响, 并初步探讨沙利霉素对信号通路的影响。**方法:**培养口腔鳞状细胞癌细胞系 CAL-27, 将 1、2、4、8、16、32  $\mu\text{mol/L}$  沙利霉素和 1.25、2.5、5、10、20、40、80  $\mu\text{mol/L}$  顺铂与 CAL-27 细胞共同培养, 24 h 和 48 h 后用细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 法检测沙利霉素和顺铂对 CAL-27 细胞增殖的影响; 0.2、4、8  $\mu\text{mol/L}$  沙利霉素和 0.5、10、20  $\mu\text{mol/L}$  顺铂与 CAL-27 细胞共培养 48 h 后, 通过流式细胞术检测沙利霉素和顺铂对 CAL-27 细胞周期的影响, 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 CAL-27 细胞中天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3 (cysteine-containing aspartate-specific proteases-3, Caspase-3)、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-9 (cysteine-containing aspartate-specific proteases-9, Caspase-9)、脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 修复酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 和磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-Akt) 的表达。**结果:**CCK-8 实验表明沙利霉素和顺铂均能显著抑制口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞增殖, 且抑制作用呈时间依赖性和药物浓度依赖性, 但是相对于临床一线化疗药物顺铂而言, 沙利霉素对 CAL-27 细胞增殖的抑制效果更加显著 ( $P < 0.001$ )。细胞周期检测表明, 与加入二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 的对照组相比, 8  $\mu\text{mol/L}$  沙利霉素与 CAL-27 细胞共同培养 48 h 后, 细胞休眠期/DNA 合成前期的 CAL-27 细胞比例明显升高 ( $40.40\% \pm 1.99\%$  vs.  $64.46\% \pm 0.90\%$ ,  $P < 0.05$ ), DNA 合成期和 DNA 合成后期/有丝分裂期的 CAL-27 细胞比例出现降低 ( $24.32\% \pm 2.30\%$  vs.  $18.73\% \pm 0.61\%$ ,  $P < 0.05$ ,  $35.01\% \pm 1.24\%$  vs.  $16.54\% \pm 1.31\%$ ,  $P < 0.05$ ); 顺铂对 CAL-27 细胞周期没有特异性改变。蛋白免疫印迹法结果显示, 沙利霉素在上调 CAL-27 细胞中 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ) 的同时下调 PARP、Akt 和 p-Akt 蛋白的表达 ( $P < 0.05$ )。**结论:**相对于顺铂而言, 沙利霉素对 CAL-27 细胞增殖有更强的抑制作用, 并且能将口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞周期阻滞在细胞休眠期/DNA 合成前期, 同时能够诱导 CAL-27 细胞发生凋亡, 这一机制可能和 Akt/p-Akt 信号通路相关。

**[关键词]** 沙利霉素; 口腔鳞状细胞癌; 细胞周期; 凋亡

**[中图分类号]** R739.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2020)05-0902-05

**doi:** 10.19723/j.issn.1671-167X.2020.05.018

## Effects of salinomycin on proliferation and apoptosis of oral squamous cell carcinoma

SU Lei-zhen<sup>1,2,3</sup>, CHEN Jie<sup>1,2</sup>, LI Xian<sup>1,3</sup>, JI Ping<sup>1,3△</sup>

(1. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401120, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences, Chongqing 401120, China; 3. Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401120, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effects of salinomycin on the proliferation and apoptosis of oral squamous carcinoma cells and to further understand the mechanisms of these effects. **Methods:** The human oral squamous carcinoma cell line CAL-27 was cultured in different concentrations of salinomycin and cisplatin. After co-culture with 0, 1, 2, 4, 8, 16 and 32  $\mu\text{mol/L}$  salinomycin or 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80  $\mu\text{mol/L}$  cisplatin for 24 hours and 48 hours, the proliferation of oral squamous carcinoma cells were detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. After being exposed to 0, 2, 4, 8  $\mu\text{mol/L}$  salinomycin and 0, 5, 10, 20  $\mu\text{mol/L}$  cisplatin for 48 hours, the cell cycle of oral squamous carcinoma cells was detected by flow cytometry assay, and Western blot analysis was performed to analyze the expressions of cysteine-containing aspartate-specific proteases-3 (Caspase-3), cysteine-containing aspartate-specific proteases-9 (Caspase-9), poly ADP-ribose polymerase (PARP), protein kinase B (Akt) and

**基金项目:** 2017 重庆市卫生计生委医学科研项目 (2017MSXM075)、重庆市渝中区科技计划项目 (20170407)、重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室资助项目 (CXTDGC201602006) 和 2016 年重庆高校创新团队建设计划资助项目 Supported by the Medical Research Project of Chongqing Health and Family Planning Commission of Chongqing Province (2017MSXM075), Program for Yuzhong District Scientific and Technological Project (20170407), Program for Innovation Team Building at Institutions of Higher Education in Chongqing in 2016 (CXTDGC201602006), and Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education

△ Corresponding author's e-mail, jiping\_62@hotmail.com

网络出版时间: 2019-8-30 14:34:54 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20190829.1717.010.html>

phosphorylated protein kinase B (p-Akt) protein in oral squamous carcinoma cells. **Results:** Both salinomycin and cisplatin significantly inhibited the proliferation of oral squamous cell carcinoma CAL-27 cells in a time- and dose-dependent manner. However, compared with the first-line chemotherapeutic drug cisplatin, salinomycin showed stronger anti-proliferation activity in oral squamous carcinoma cells than cisplatin ( $P < 0.001$ ). After being exposed to  $8 \mu\text{mol/L}$  salinomycin, CAL-27 cells exhibited markedly higher proportion in quiescent/ first gap phases ( $40.40\% \pm 1.99\%$  vs.  $64.46\% \pm 0.90\%$ ,  $P < 0.05$ ), and had a significantly lower proportion in synthesis phases and second gap / mitosis phases ( $24.32\% \pm 2.30\%$  vs.  $18.73\% \pm 0.61\%$ ,  $P < 0.05$ ;  $35.01\% \pm 1.24\%$  vs.  $16.54\% \pm 1.31\%$ ,  $P < 0.05$ ) compared with the dimethyl sulfoxide control group; moreover cisplatin didn't show cell-cycle specific effect on CAL-27. Western blot proved that salinomycin could up-regulate the expressions of Caspase-3 and Caspase-9 protein in oral squamous cell carcinoma CAL-27 cells ( $P < 0.05$ ). At the same time, the levels of PARP, Akt and p-Akt protein were down-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Compared with cisplatin, salinomycin has a better inhibitory effect on the proliferation of oral squamous carcinoma cells and blocks the cell cycle process at the quiescent / first gap phase. At the same time, salinomycin could trigger apoptosis of oral squamous carcinoma cells and the mechanism is associated with the Akt/p-Akt signaling pathway.

**KEY WORDS** Salinomycin; Oral squamous cell carcinoma; Cell cycle arrest; Apoptosis

口腔癌是人类常见恶性肿瘤之一,每年有超过30万口腔癌新发病例,占全球新发肿瘤病例数的2.1%,口腔癌中超过90%是口腔鳞状细胞癌,占全球恶性肿瘤的1%~2%<sup>[1]</sup>。目前,中国的口腔鳞状细胞癌发病率占恶性肿瘤总发病率的1.5%~5.6%<sup>[2]</sup>。虽然手术治疗结合术后放射治疗、化学治疗作为目前口腔鳞状细胞癌治疗的主要途径取得了较好的疗效,但是由于术后局部复发和远处转移,5年生存率仅为55%<sup>[3]</sup>。口腔鳞状细胞癌已经出现了耐药的现象,顺铂等一线化疗药物并不能全面遏制口腔鳞状细胞癌的发展<sup>[4]</sup>,因此寻找更高效的药物治疗口腔鳞状细胞癌显得十分迫切。2009年发现沙利霉素可以选择性地杀死乳腺癌肿瘤干细胞,其效果比临床常用乳腺癌化疗药物紫杉醇高出100倍以上<sup>[5]</sup>。此后的研究表明,沙利霉素能够有效抑制卵巢癌<sup>[6]</sup>、鼻咽癌<sup>[7]</sup>、乳腺癌<sup>[8]</sup>和肺癌<sup>[9]</sup>等多种肿瘤细胞的增殖并促进其凋亡,但沙利霉素对于口腔鳞状细胞癌的作用尚不清楚。本研究旨在观察沙利霉素对口腔鳞状细胞癌的细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响,并在分子水平初步探讨沙利霉素作用的机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 材料与试剂

沙利霉素[溶于二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)后,配置成所需浓度的溶液]、顺铂和DMSO购于美国Sigma公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)和磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)购自美国Gibco公司;RPMI-1640培养基购于美国Hyclone公司;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)、放射免疫沉淀分析(radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、蛋白浓度测定试剂盒

(bicinchoninic acid, BCA)购自上海碧云天生物技术公司;细胞周期检测试剂盒购于上海七海生物公司;兔抗人多克隆抗体天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine-containing aspartate-specific proteases-3, Caspase-3)、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-9(cysteine-containing aspartate-specific proteases-9, Caspase-9)、脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)修复酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)、蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)和磷酸化蛋白激酶B(phosphorylated protein kinase B, p-Akt)购自英国Abcam公司;二抗抗体购自北京索莱宝科技公司;人口腔鳞癌细胞系CAL-27购自美国模式培养物集存库。

### 1.2 细胞培养

人口腔鳞状细胞癌CAL-27细胞复苏后,使用含10%(体积分数)胎牛血清的RMPI-1640培养基在37℃、5% CO<sub>2</sub>(体积分数)的细胞培养箱中培养,每2天更换1次培养基。当细胞达到80%融合度时,用0.25%(质量分数)胰蛋白酶消化细胞进行传代培养。

### 1.3 CCK-8 检测细胞增殖

取对数生长期CAL-27细胞, PBS洗涤后用0.25%胰蛋白酶消化细胞,调节细胞浓度。以每孔 $5.0 \times 10^3$ 个细胞接种于96孔培养板中,每孔加入100  $\mu\text{L}$ 培养液。24 h后PBS洗涤,沙利霉素实验组中分别加入1、2、4、8、16和32  $\mu\text{mol/L}$ 的沙利霉素;顺铂实验组中分别加入1.25、2.5、5、10、20、40和80  $\mu\text{mol/L}$ 的顺铂,另外设置无药物处理组为阴性对照,孔内不含药物和细胞的培养基为空白调零组,实验组、对照组、空白调零组均设置6个复孔。加药培养24 h和48 h,吸弃培养基后每孔加10  $\mu\text{L}$ 的CCK-8液继续培养;4 h后选择450 nm波长,用酶标

仪(Thermo 公司,美国)测定各孔光密度值,根据光密度值评估沙利霉素和顺铂处理后的细胞存活率。

#### 1.4 流式细胞术检测细胞周期

取对数生长期的 CAL-27 细胞消化、计数,  $1 \times 10^6$ /孔接种于六孔板中培养 24 h 后,沙利霉素实验组分别加入 2、4 和 8  $\mu\text{mol/L}$  的沙利霉素,顺铂实验组分别加入 5、10 和 20  $\mu\text{mol/L}$  的顺铂,对照组加入与实验组等量的培养基,培养 48 h,胰酶消化后收集细胞,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加 PBS 洗涤细胞 2 次,并用预冷的 70% (体积分数)乙醇固定,4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱内过夜。分析前用 PBS 洗涤样本 2 次,加入终浓度为 50 mg/L 的 RNA 酶及碘化丙啶,4  $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min 后上机检测细胞周期的分布。

#### 1.5 蛋白免疫印迹

将浓度为 2、4 和 8  $\mu\text{mol/L}$  的沙利霉素和 DMSO 与 CAL-27 细胞共同培养 48 h 后,弃培养液,加入 RIPA 裂解液后在冰上收集细胞,在 4  $^{\circ}\text{C}$  下离心 (12 000 r/min, 10 min)。利用 BCA 法测定蛋白浓度,将蛋白质 (50  $\mu\text{g}$ ) 进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE),并用湿转法将蛋白转移到聚偏氟乙烯 [poly (vinylidene fluoride), PVDF] 膜上。5% (质量分数)脱脂奶粉室温封闭 2 h 后,将一抗 Akt、p-Akt、Caspase-3、Caspase-9 和 PARP (1 : 1 000 稀释) 4  $^{\circ}\text{C}$  下孵育过夜。TBTS 缓冲液 (tris buffered saline, with tween-20) 漂洗 3 次后加入二抗 (1 : 3 000 稀释) 室温下孵育 1 h,加入增强荧光发光试剂显影,使用图像成像系统分析各条带。

#### 1.6 统计学分析

数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,实验数据均以均数  $\pm$  标准差表示。组间生长抑制率的差异性比较采用单因素方差分析,细胞周期变化以及蛋白表达差异则通过 Levene 方差齐性检验组间的方差齐性,方差齐采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD-*t* 法检验,  $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 沙利霉素显著抑制口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞增殖

通过 CCK-8 细胞增殖实验检测沙利霉素及顺铂对 CAL-27 细胞增殖的影响,发现顺铂和沙利霉素均对 CAL-27 细胞的增殖有明显的抑制作用 (图 1),且抑制作用呈现药物浓度和时间依赖。沙利霉素处理 24 h 和 48 h 后, CAL-27 的半抑制浓度 (half

maximal inhibitory concentration,  $IC_{50}$ ) 值分别为  $(7.98 \pm 0.42) \mu\text{mol/L}$  和  $(2.98 \pm 0.29) \mu\text{mol/L}$ ,明显低于顺铂处理组 24 h 和 48 h 的  $IC_{50}$  值 [ $(15.75 \pm 1.14) \mu\text{mol/L}$ ,  $(6.57 \pm 0.32) \mu\text{mol/L}$ ],这些结果表明,沙利霉素对 CAL-27 细胞的增殖抑制作用较顺铂更强 ( $P < 0.001$ )。

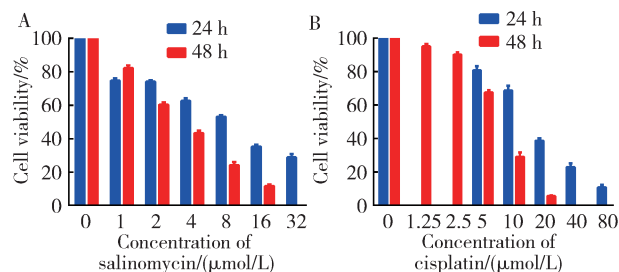


图 1 沙利霉素(A)和顺铂(B)对 CAL-27 细胞增殖的影响

Figure 1 The anti-proliferation effects of salinomycin (A) and cisplatin (B) on CAL-27 cell lines

### 2.2 沙利霉素对 CAL-27 细胞周期的影响

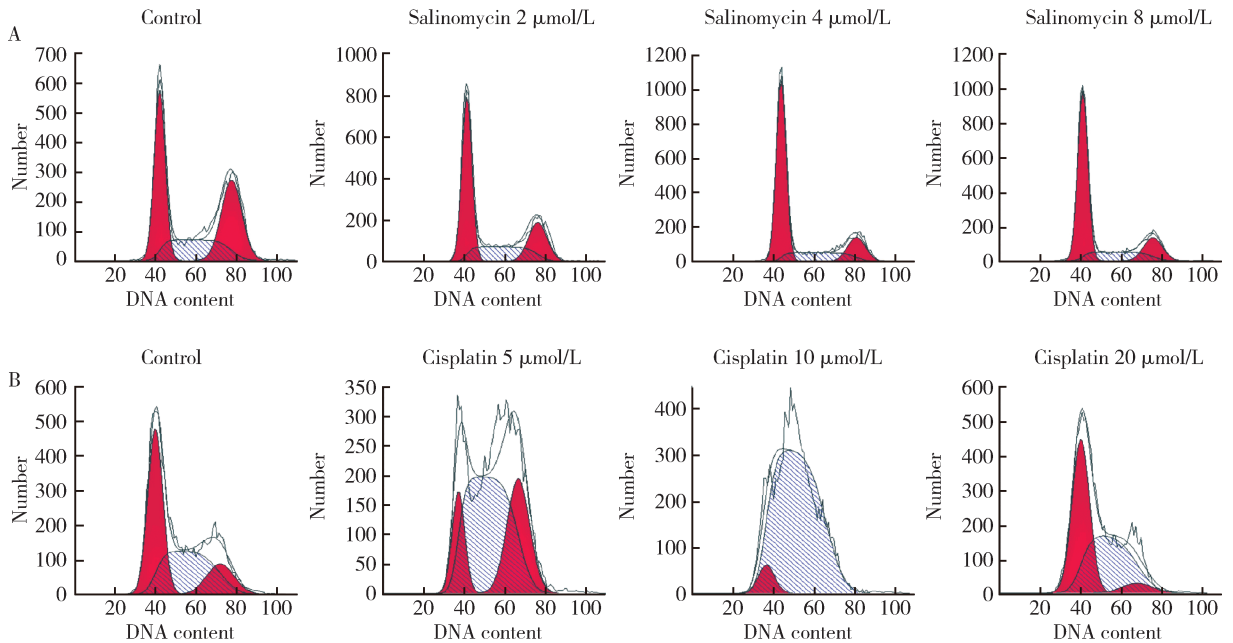
对沙利霉素处理 48 h 的 CAL-27 细胞进行碘化丙啶染色,随后通过流式细胞仪检测细胞周期变化。如图 2A 所示,与对照组相比,沙利霉素处理组 CAL-27 细胞在 DNA 合成期和 DNA 合成后期/有丝分裂期比例明显减少,但在细胞休眠期/DNA 合成前期比例显著增加 ( $40.40\% \pm 1.99\%$ ,  $52.72\% \pm 1.61\%$ ,  $63.15\% \pm 1.63\%$  和  $64.46\% \pm 0.90\%$ ,  $P < 0.05$ ),这说明 CAL-27 细胞以剂量依赖性方式诱导细胞休眠期/DNA 合成前期细胞周期阻滞,但是 4  $\mu\text{mol/L}$  和 8  $\mu\text{mol/L}$  沙利霉素处理后, CAL-27 细胞周期没有显著改变 ( $P > 0.2$ )。如图 2B 所示,与对照组 DNA 合成期 ( $38.85\% \pm 0.99\%$ ) 相比,顺铂处理组在 DNA 合成期比例明显增加 ( $58.64\% \pm 2.59\%$ ,  $93.67\% \pm 1.03\%$ ,  $46.34\% \pm 3.22\%$ ),但是没有药物浓度依赖性。实验结果整体表明顺铂对 CAL-27 各个细胞周期均有影响,不存在细胞周期特异性,并且无药物浓度依赖性。

### 2.3 沙利霉素诱导口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞凋亡

对沙利霉素处理 48 h 后的 CAL-27 细胞进行 Western blot 检测,图 3 中结果显示,沙利霉素在上调口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞中 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ) 的同时能够下调 PARP 蛋白的表达 ( $P < 0.05$ ),这一结果表明沙利霉素诱导 CAL-27 细胞凋亡,同时沙利霉素也可诱导 DNA 修复酶 (PARP) 裂解。为了解沙利霉素在 CAL-27 细胞凋亡中的分子基础,通过 Western blot 检测了 Akt 和 p-Akt 蛋白,结果显示 4  $\mu\text{mol/L}$  和 8

### μmol/L 沙利霉素处理后 Akt 和 p-Akt 蛋白的表达

均降低,p-Akt 蛋白更为显著( $P < 0.05$ )。



After exposed to 0, 2, 4, 8 μmol/L salinomycin(A) and 0, 5, 10, 20 μmol/L cisplatin(B) for 48 hours, the cell cycle of CAL-27 was detected by flow cytometry assay.

图2 沙利霉素和顺铂对 CAL-27 细胞周期的影响

Figure 2 Effect of salinomycin and cisplatin on CAL-27 cell cycle

### 3 讨论

本研究显示沙利霉素能够有效抑制口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞的增殖,且抑制作用呈现时间与药物浓度依赖性。与口腔癌临床一线化疗药物顺铂相比,沙利霉素对于口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞的增殖抑制作用更加明显( $P < 0.001$ )。为了进一步研究沙利霉素对于口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞的增殖抑制作用,本次研究对沙利霉素作用后的 CAL-27 细胞周期进行了检测,结果显示与对照组相比,沙利霉素处理组 CAL-27 细胞在 DNA 合成期和 DNA 合成后期/有丝分裂期比例明显减少,但在细胞休眠期/DNA 合成前期比例显著增加,这说明沙利霉素能将 CAL-27 细胞阻滞在细胞休眠期/DNA 合成前期,这与 Parajuli 等<sup>[10]</sup>关于沙利霉素对卵巢癌细胞周期阻滞的结果相符。但我们的研究显示 4 μmol/L 和 8 μmol/L 沙利霉素处理后 CAL-27 细胞周期变化差异没有统计学意义,这表明 4 μmol/L 沙利霉素能够将 CAL-27 细胞阻滞在细胞休眠期/DNA 合成前期,并且沙利霉素还有其他途径能够抑制 CAL-27 细胞增殖。同时本次研究对顺铂作用后的 CAL-27 细胞周期进行了检测,实验结果显示顺铂对 CAL-27 各个细胞周期均有影响,不存在细胞周期特异性,并且无药物浓度依赖性。通过回顾文献,发现我们的结果与亓放等<sup>[11]</sup>在 1999 年提出顺

铂为细胞周期非特异性化疗药物这一观点相符,并且与徐志巧等<sup>[12]</sup>于 2013 年主编的《实用肿瘤临床药物手册》内描述顺铂为细胞周期非特异性药物的结论一致。凋亡是抑制肿瘤生长的一个重要方式,钾离子在细胞凋亡的过程中扮演着十分重要的角色,而沙利霉素作为一种离子载体能够有效降低细胞间的钾离子水平<sup>[13]</sup>。回顾既往文献发现,Nuutinen 等<sup>[14]</sup>在 2006 年提出多种肿瘤内出现 Akt 通路的激活并在抑制凋亡中起到重要作用,另外 Jeong 等<sup>[15]</sup>于 2008 年在研究中提出活化的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-9 和 Caspase-9 均在细胞凋亡中起作用,并且 Caspase-9 在诱导凋亡中作用更加明显,所以本次实验通过 Western blot 检测凋亡蛋白 Caspase-3 和 Caspase-9 的同时,检测与其相关的重要蛋白如 PARP, Akt 和 p-Akt 进一步佐证沙利霉素诱导 CAL-27 细胞凋亡。实验结果发现沙利霉素作用于 CAL-27 细胞后, Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达发生了上调,同时引起了 DNA 修复酶(PARP)的裂解,这提示沙利霉素能够诱导 CAL-27 细胞发生凋亡。另外本次实验发现沙利霉素能够降低 Akt 和 p-Akt 蛋白的表达,且 4 μmol/L 和 8 μmol/L 沙利霉素对降低 p-Akt 蛋白表达更加显著,因此推测沙利霉素诱导 CAL-27 细胞发生凋亡的机制可能与降低 Akt 和 p-Akt 蛋白表达水平相关。

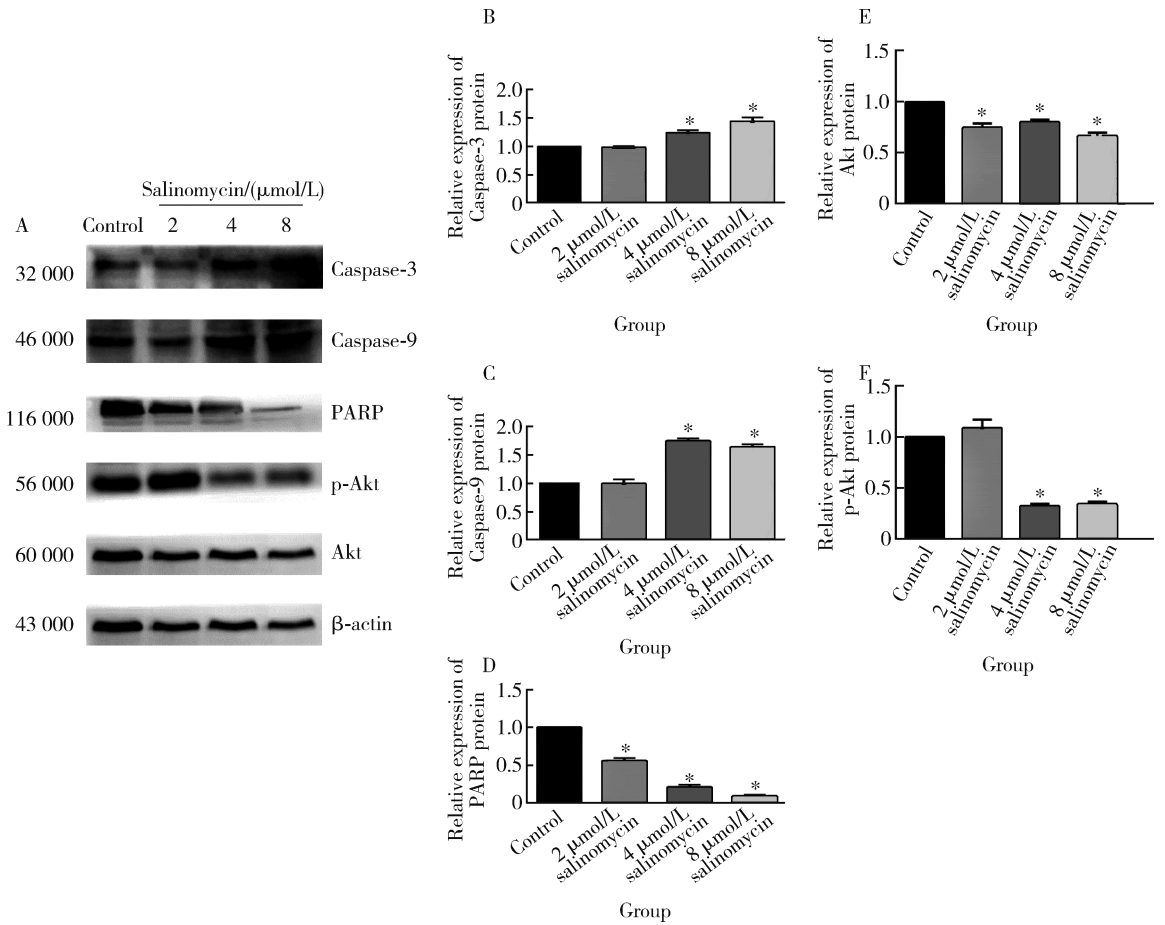


图 3 沙利霉素对 CAL-27 细胞凋亡以及凋亡信号通路的影响

Figure 3 Effect of salinomycin on the apoptosis and the signaling pathway of apoptosis on CAL-27 cell lines

综上所述,本实验证实沙利霉素能够有效抑制口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞的增殖,并且能将 CAL-27 细胞阻滞于细胞休眠期/ DNA 合成前期,同时沙利霉素能够通过下调 Akt 和 p-Akt 蛋白表达并激活 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白,促进 DNA 修复酶 (PARP) 的裂解来诱导 CAL-27 细胞的凋亡,这为今后口腔鳞状细胞癌的治疗提供了新的思路。

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): E359 - E386.

[ 2 ] 孟宪瑞,刘进忠. 口腔癌的早期诊断 [J]. *国际口腔医学杂志*, 2008, 35(3): 329 - 331.

[ 3 ] Abrahão R, Anantharaman D, Gaborieau V, et al. The influence of smoking, age and stage at diagnosis on the survival after larynx, hypopharynx and oral cavity cancers in Europe: The ARCADE study [J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(1): 32 - 44.

[ 4 ] Cho H, Nishiike S, Yamamoto Y, et al. Docetaxel, cisplatin, and fluorouracil for patients with inoperable recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2015, 42(5): 396 - 400.

[ 5 ] Gupta PB, Onder TT, Jiang G, et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening [J]. *Cell*, 2009, 138(4): 645 - 659.

[ 6 ] Zhang B, Wang X, Cai F, et al. Effects of salinomycin on human

ovarian cancer cell line OV2008 are associated with modulating p38 MAPK [J]. *Tumor Biol*, 2012, 33(6): 1855 - 1862

[ 7 ] Wu D, Zhang Y, Huang J, et al. Salinomycin inhibits proliferation and induces apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma cell *in vitro* and suppresses tumor growth *in vivo* [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2014, 443(2): 712 - 717.

[ 8 ] Dhaheiri AI, Attoub S, Arafat K, et al. Salinomycin induces apoptosis and senescence in breast cancer: Up regulation of p21, down regulation of survivin and histone H3 and H4 hyperacetylation [J]. *BBA-GEN Subjects*, 2013, 1830(4): 3121 - 3135.

[ 9 ] Arafat K, Iratni R, Takahashi T, et al. Inhibitory effects of salinomycin on cell survival, colony growth, migration, and invasion of human non-small cell lung cancer A549 and LNM35: Involvement of NAG-1 [J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66931.

[ 10 ] Parajuli B, Lee HG, Kwon SH, et al. Salinomycin inhibits Akt/ NF-κB and induces apoptosis in cisplatin resistant ovarian cancer cells [J]. *Cancer Epidemiology*, 2013, 37(4): 512 - 517.

[ 11 ] 亓放,张宝泉,徐炎,等. 顺铂诱导的喉癌细胞凋亡及其对细胞周期的影响 [J]. *中华医学杂志*, 1999, 79(4): 298 - 301.

[ 12 ] 徐志巧,庞国明. *实用肿瘤临床药物手册* [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013: 282.

[ 13 ] Fuchs D, Heinold A, Opelz G, et al. Salinomycin induces apoptosis and overcomes apoptosis resistance in human cancer cells [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2009, 390(3): 743 - 749.

[ 14 ] Nuutinen U, Postila V, Matto M, et al. Inhibition of PI3-kinase-Akt pathway enhances dexamethasone-induced apoptosis in a human follicular lymphoma cell line [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(3): 322 - 330.

[ 15 ] Jeong SJ, Dasgupta A, Jung KJ, et al. PI3K/AKT inhibition induces caspase-dependent apoptosis in HTLV-1 transformed cells [J]. *Virology*, 2008, 370(2): 264 - 272.

(2018-09-18 收稿)  
( 本 文 编 辑 : 刘 淑 萍 )