

双氢青蒿素抑制口腔鳞状细胞癌进展的研究

单天宇¹ 刘伽伽¹ 刘唐君¹ 孙丹丹¹ 王馨伟¹ 柳云霞^{1,2}

1. 山东第二医科大学口腔医学院, 潍坊 261053;

2. 山东第二医科大学附属医院口腔科, 潍坊 261000

[摘要] **目的** 通过研究双氢青蒿素 (DHA) 对口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 细胞系增殖、迁移和侵袭等生物学行为的影响, 为后续研发新型药物治疗 OSCC 提供理论依据。**方法** 通过癌症基因组学数据库进行生物信息学分析, 以肿瘤组织是否存在囊外扩散转移对 OSCC 患者进行分类, 比较不同 OSCC 细胞生存率的差异。CCK-8 细胞毒性实验检测不同 OSCC 细胞系 (CAL27、HN30 和 SCC9) 经不同浓度 DHA 处理后的细胞增殖情况, 进而筛选出最适药物浓度。CCK-8 细胞增殖实验、细胞克隆实验检测 DHA 对 OSCC 细胞增殖能力的影响。划痕实验、Transwell 实验检测 DHA 对肿瘤细胞迁移侵袭能力的影响; 构建裸鼠皮下移植瘤模型, 研究 DHA 对 OSCC 肿瘤组织及主要脏器组织的影响。**结果** 生物信息学分析表明, 肿瘤组织存在囊外扩散转移的患者的生存率低于无囊外扩散转移的患者 ($P<0.05$)。CCK-8 细胞毒性检测显示, DHA 对 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞的最大安全浓度分别为 20、10 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 。CCK-8 细胞增殖实验、细胞克隆实验表明, DHA 可以显著抑制 CAL27、HN30 和 SCC9 的增殖能力 ($P<0.05$); 划痕实验、Transwell 实验表明, DHA 作用下 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞的迁移和侵袭能力显著下降 ($P<0.05$)。体内实验表明, 经 DHA 干预后肿瘤组织生长速率显著降低 ($P<0.001$)。**结论** DHA 对 OSCC 细胞的增殖、迁移、侵袭能力及肿瘤组织的进展具有显著的抑制作用。

[关键词] 口腔鳞状细胞癌; 双氢青蒿素; 细胞增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R739.8 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2026.2025163



本文链接 开放科学标识码

Dihydroartemisinin inhibits the progression of oral squamous cell carcinoma

Shan Tianyu¹, Liu Jiajia¹, Liu Tangjun¹, Sun Dandan¹, Wang Xinwei¹, Liu Yunxia^{1,2}

1. School of Stomatology, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China; 2. Dept. of Stomatology, Affiliated Hospital of Shandong Second Medical University, Weifang 261000, China

Supported by: Shandong Medical and Health Science and Technology Project (202408020545); Weifang City Science and Technology Development Plan Project (2022YX047)

Correspondence: Liu Yunxia, E-mail: yunxialiu@sdsu.edu.cn

[Abstract] **Objective** This study aimed to explore the impact of dihydroartemisinin (DHA) on cell proliferation, migration, and invasion in oral squamous cell carcinoma (OSCC). Our findings offer a theoretical foundation for advancing the research and development of novel therapeutic agents for OSCC. **Methods** Bioinformatics analysis was conducted using the cancer genome database to classify OSCC patients based on the presence or absence of extracapsular spread and metastasis in tumor tissues, and to compare the differences in survival rates among different OSCC cell lines. The cell proliferation of different OSCC cell lines treated with different DHA concentrations was detected by CCK-8 cytotoxicity assay, and the optimal drug concentration was screened. The CCK-8 cytotoxicity assay was used to detect the cell proliferation of different OSCC cell lines (CAL27, HN30, and SCC9) after treatment with different concentrations of DHA, and to screen out the optimal drug concentration. The effects of DHA on the prolifera-

[收稿日期] 2025-04-20

[基金项目] 山东省医药卫生科技项目 (202408020545); 潍坊市科技发展计划项目 (2022YX047)

[第一作者] 单天宇, 硕士, E-mail: 565738172@qq.com

[通信作者] 柳云霞, 副教授, 博士, E-mail: yunxialiu@sdsu.edu.cn

tion on the prolifera-

tion of OSCC cells were detected by CCK-8 cell proliferation assay and cell cloning assay. The effect of DHA on the migration and invasion ability of tumor cells was detected by scratch test and Transwell test. A nude mouse subcutaneous tumor model was constructed to study the effects of DHA on OSCC tumor tissues and major organ. **Results** Bioinformatics analysis showed that the survival rate of patients with extracapsular spread and metastasis in tumor tissues was lower than that of patients without such phenomena ($P<0.05$). According to CCK-8 cytotoxicity results, the maximum safe concentrations for different OSCC cell lines CAL27, HN30, and SCC9 were 20, 10, and 5 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Proliferation and cloning experiments of CCK-8 cells showed that DHA could inhibit the proliferation of three squamous cell lines ($P<0.05$). Scratch test and Transwell test showed that the migration and invasion levels of CAL27, HN30, and SCC9 cells were significantly decreased under DHA treatment ($P<0.05$). *In vivo* experiments showed that the growth rate of tumor tissue significantly decreased after DHA treatment ($P<0.05$). **Conclusion** DHA exhibits significant inhibitory effects on the proliferation, migration, and invasion of various OSCC cells and growth of tumor tissues.

[Key words] oral squamous cell carcinoma; dihydroartemisinin; cell proliferation; migration; invasion

口腔癌是最常见的人类恶性肿瘤之一,在全球患病率中排名第六^[1-2],超过95%的病例为口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)^[3-4]。OSCC具有浸润性生长的特点,且易发生淋巴结转移,转移形式多为肿瘤的囊外转移^[5]。

口腔癌总的5年生存率为50%~70%,伴发淋巴结转移的患者生存期不超过1年^[6-7]。目前OSCC的治疗方法主要为以手术为主的三联疗法。治疗失败的主要原因是原发灶的局部复发,可高达失败病例总数的50%~83%,而复发后的患者10年生存率低于20%^[8-9]。随着基因组学和分子生物学的发展,新型药物的研发对于OSCC的治疗具有十分重要的意义。

双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)主要来自菊科植物黄花蒿,具有抗疟、抗内毒素、抗炎等功能^[10]。目前越来越多的研究开始关注DHA的抗肿瘤性能,截至目前DHA已被证实在肺癌、乳腺癌等多种肿瘤中具有抗癌作用^[11],但对于其对OSCC的作用研究甚少。本研究通过细胞体外实验和动物体内实验研究DHA对不同OSCC细胞系生物学行为的影响,为研发新型药物治疗OSCC提供相应的理论支持。

1 材料和方法

1.1 主要材料和实验动物

实验所用CAL27、HN30和SCC9细胞受赠于山东大学口腔医院。DMEM培养基(赛默飞世尔科技公司),胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(武汉普诺赛生命科技有限公司),0.25%胰蛋白酶(北京索莱宝科技有限公司),DHA(上海阿拉丁生化科技股份有限公司),二甲基亚砜(dimethyl

sulfoxide, DMSO)(北京索莱宝科技有限公司)。

SPF级BALB/c裸鼠12只,均4周龄,体重(20±5)g。所有裸鼠均于标准饲养条件下适应性饲养1周后用于实验。动物实验通过了山东第二医科大学动物伦理委员会审查(审查编号:2024SD-L327)。

1.2 生物信息学分析

通过癌症基因组学数据库cBioPortal(<https://www.cbioportal.org>)检索OSCC临床病例并进行对比分析。登录网站后在搜索框输入“oral squamous cell carcinoma”,选择并比较“extracapsular spread”(包膜外侵犯)模块中的患者生存情况以及其他“clinical attribute”(临床属性)。

1.3 实验药品的配制

使用电子天平称取14.2 mg粉剂DHA溶解于1 mL DMSO,配得浓度为 $5\times 10^4 \mu\text{mol/L}$ 的DHA试剂,以0.22 μm 孔径滤菌器滤菌,获得DHA溶液母液,母液保存于 -20°C 。在后续实验中,以含10%FBS的DMEM培养基稀释DHA溶液母液至浓度分别为1、2、5、10、20、30、40和50 $\mu\text{mol/L}$ 。此时各浓度DHA溶液中DMSO体积比均不超过0.1%,以充分排除DMSO对于肿瘤细胞的毒性影响^[12]。

1.4 CCK-8细胞毒性实验

取对数生长期CAL27、HN30和SCC9细胞,0.25%胰蛋白酶溶液消化、离心后重悬。96孔板中每孔接种 3×10^3 个细胞, 37°C 、5% CO_2 恒温培养箱中孵育,细胞贴壁后吸弃原培养基,分别加入含1、2、5、10、20、30、40和50 $\mu\text{mol/L}$ DHA的培养基,并设空白组(DMEM+DMSO)和对照组(DMEM+DMSO+OSCC细胞),作用24 h后于避光条件下每孔加入10 μL CCK-8试剂, 37°C 孵育

1.5 h。酶标仪测量 450 nm 处各组细胞的吸光度，测试药物对不同细胞的最大安全浓度。实验重复 3 次。

1.5 CCK-8 细胞增殖实验

取对数生长期 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞，0.25% 胰蛋白酶溶液消化、离心后重悬。96 孔板中每孔接种 3×10^3 个细胞，37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中孵育，细胞贴壁后吸弃原培养基，按照每种细胞的最大安全浓度设置对照组 (DMEM) 和实验组 (DHA)，分别作用 0、24、48、72 h 后于避光条件下每孔加入 10 μL CCK-8 试剂，37 °C 孵育 1.5 h。酶标仪测量在 450 nm 处各组细胞的吸光度，绘制反映细胞增殖速率的曲线图。实验重复 3 次。

1.6 细胞克隆实验

取对数生长期 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞，0.25% 胰蛋白酶溶液消化、离心后重悬。6 孔板中每孔接种 7×10^3 个细胞后摇匀，37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中孵育，细胞贴壁后吸弃原培养基，设置对照组 (DMEM) 和实验组 (DHA)，每隔 48 h 换液 1 次，持续 2 周期间定期持续观察克隆形成情况，当形成肉眼可见的单克隆 (每个克隆不少于 50 个细胞)，将原有培养基吸弃，PBS 冲洗 3 次。4% 多聚甲醛固定 15 min 结晶紫染色 10 min，清洗结晶紫，镜下拍照记录克隆数目。实验重复 3 次。

1.7 划痕实验

取对数生长期 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞，0.25% 胰蛋白酶溶液消化、离心后重悬。6 孔板中每孔接种 6×10^5 个细胞，37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中孵育。6 孔板每孔内细胞覆盖率大于 95% 时，将原培养基吸弃，使用 200 μL 移液器枪头于每孔正中央从上至下、从左至右做十字划痕，每孔加入 1 mL PBS 清洗划痕时脱落的细胞。设置对照组 (DMEM) 和实验组 (DHA)，在 0、24 h 时分别观察并拍照 (以十字划痕交叉口作为定点标记，分别拍摄十字划痕交叉口以上、以下的竖直划痕的宽度)，测量划痕宽度，计算各组的划痕愈合率并绘制出柱状图。实验重复 3 次。

1.8 Transwell 实验

取对数生长期 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞，0.25% 胰蛋白酶溶液消化、离心后无血清培养基重悬，细胞计数后调整细胞浓度为 2×10^5 个/mL。侵袭实验需提前配基质胶，每孔 30 μL 平铺于上室底部，37 °C、5%CO₂ 孵育 1 h。配制血清浓度为 15% 的完全培养基，设置对照组 (DMEM) 和实验组 (DHA)，按照下室 600 μL 15%FBS 的含药培养基、

上室 200 μL 无血清细胞悬液分组加样。用镊子夹取上室置于下室中确保上室底浸于下室液面以下，37 °C、5%CO₂ 恒温培养箱中孵育，24 h 后吸弃上、下室培养基，4% 多聚甲醛中固定 15 min 后 PBS 清洗。10% 结晶紫溶液染色 10 min，将上室底 PC 膜清洗至无明显紫色。倒置显微镜下观察并拍照记录，每组选取不少于 5 个视野且视野间无重叠，计算并比较视野中穿过 PC 膜的细胞数目。实验重复 3 次。

1.9 构建裸鼠皮下移植瘤模型

将裸鼠随机分为对照组 (PBS) 和实验组 (DHA)，每组 6 只。收集 CAL27 细胞，调整至所需浓度 (2×10^7 个/mL)，确保细胞处于最佳生长状态。将每组以 0.1 mL 细胞悬液注射于裸鼠左侧下肢背部皮下，裸鼠体内肿瘤可在 7 d 左右形成。瘤体形成后实验组隔天定期分别给药，控制实验组 DHA 给药浓度为 20 μmol/L，记录裸鼠的健康状态和体重。饲养 28 d 后结束观察，将裸鼠安乐死，分离瘤体，比较组间瘤体大小 (体积) 及重量，并进行拍照。

1.10 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色

裸鼠肿瘤及主要脏器 (心、肝、脾、肺、肾) 组织石蜡包埋后切片。将切片于二甲苯中浸泡 2 次 (每次 5 min) 以去除石蜡，梯度乙醇处理切片 5 min 后流水冲洗，水化切片。切片以苏木素染液染细胞核，流水冲洗 3~8 min，以 1% 盐酸乙醇分化数秒，流水冲洗，0.6% 氨水返蓝，流水冲洗。将切片以伊红染液染胞质，1~3 min 后流水冲洗，梯度乙醇脱水后以二甲苯透明 3 次，中性树胶封片后自然晾干，镜下观察并拍照记录。

1.11 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件和 ImageJ 软件对数据进行统计学分析。采用方差分析和 Dunnett's 检验进行组间比较， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

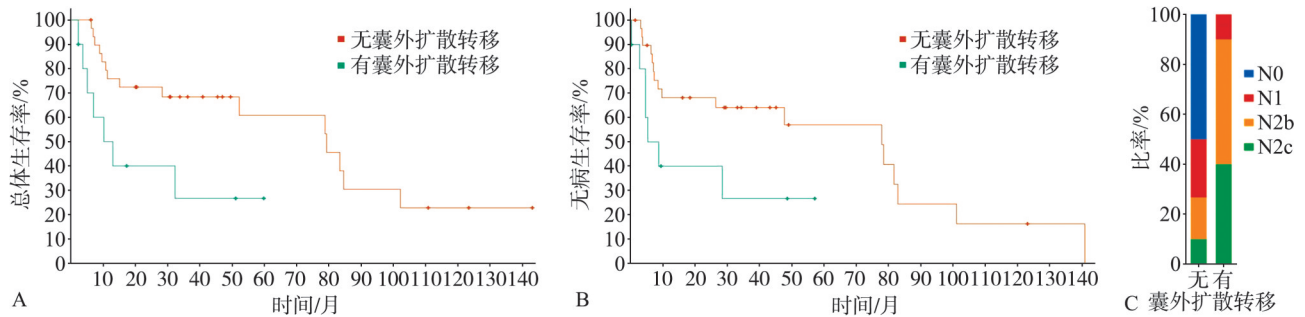
2 结果

2.1 生物信息学分析

数据库收录了 40 例 OSCC 患者，以肿瘤组织是否存在囊外扩散转移进行分类，其中无囊外扩散转移 30 例患者，有囊外扩散转移 10 例患者。2 组患者的 141 个月的总体生存率和无病生存期见图 1。统计分析表明，肿瘤组织无囊外扩散转移的患者的总体生存率和无病生存率均高于有囊外扩散转移的患者，且随时间推移，2 组患者的总体生存

率和无病生存率均下降, 但有囊外扩散转移的患者的2种生存率下降速度更快, 2组间总体生存率和无病生存率的差异均有统计学意义 (P 值分别为0.016 0、0.038 6)。2组患者的肿瘤淋巴结分期分布情况见图1, 无囊外扩散转移的患者中50%的淋巴结分期均处于N0期 (无淋巴结转移), 而有囊

外扩散转移的患者中肿瘤处于N2b (有2~3个淋巴结转移) 和N2c (有大于或等于4个淋巴结转移) 的比例高达90%且无处于N0期的患者, 2组间的差异有统计学意义 ($P=0.005 0$)。肿瘤组织存在囊外扩散转移的患者的预后较差, 生存期变短。



A: 有囊外扩散转移和无囊外扩散转移的患者141个月总体生存率的比较; B: 有囊外扩散转移和无囊外扩散转移的患者141个月无病生存率的比较; C: 有囊外扩散转移和无囊外扩散转移的患者肿瘤分布分期情况的比较。

图1 40例OSCC患者生物信息学分析

Fig 1 Database analysis in 40 patients with OSCC

2.2 DHA对OSCC细胞毒性的影响

DHA对OSCC细胞毒性的影响见图2。当DHA浓度达到30 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对CAL27有明显毒性 ($P < 0.05$), 浓度为20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对CAL27无明显毒性 ($P > 0.05$), 因此DHA对CAL27细胞的最大安全浓度为20 $\mu\text{mol/L}$, 选择此浓度作为后续实验对CAL27细胞的给药浓度。当DHA浓度分别为20、

10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对HN30和SCC9细胞有明显毒性 ($P < 0.05$); 浓度分别为10 $\mu\text{mol/L}$ 和5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对HN30和SCC9细胞无明显毒性 ($P > 0.05$)。因此DHA对HN30和SCC9细胞的最大安全浓度分别为10、5 $\mu\text{mol/L}$, 选择此浓度作为后续实验对HN30和SCC9细胞的给药浓度。

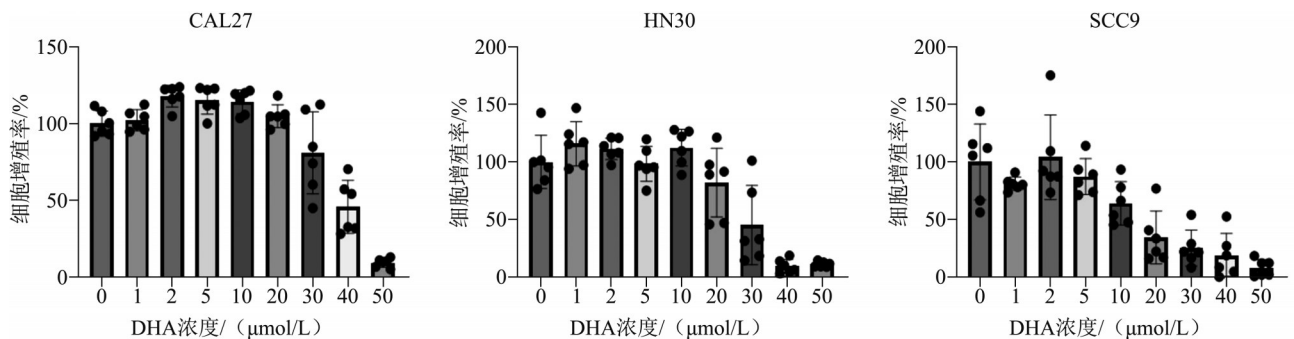


图2 DHA对CAL27、HN30、SCC9细胞毒性的影响

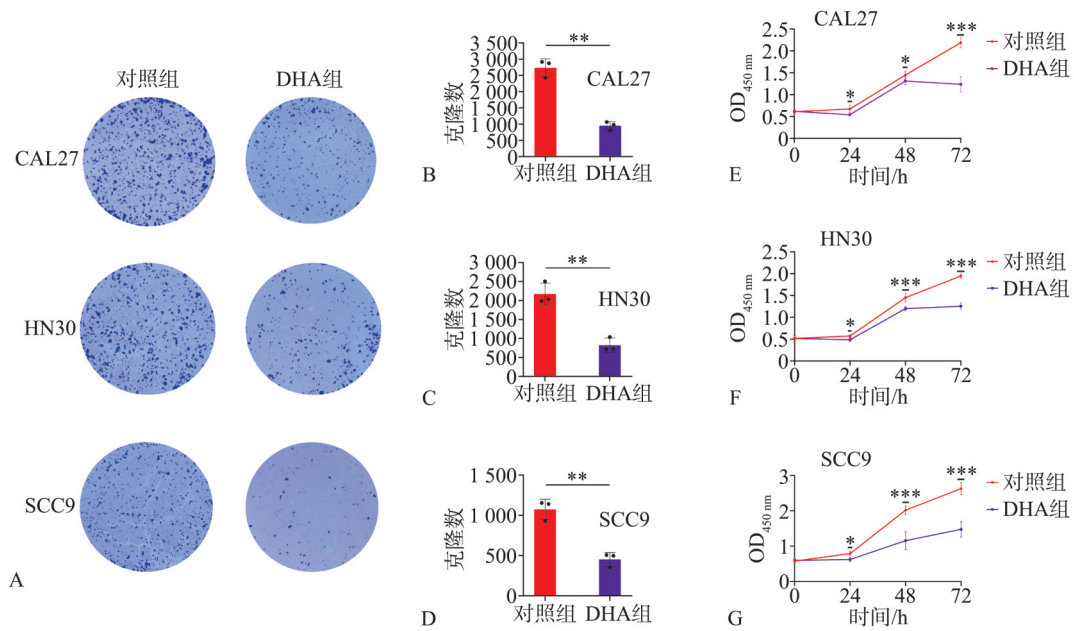
Fig 2 Toxicity assays of DHA on CAL27, HN30 and SCC9 cells

2.3 DHA对OSCC细胞增殖能力的影响

DHA对OSCC细胞增殖能力的影响见图3。CCK-8细胞增殖实验显示, 作用24、48、72 h, DHA对CAL27、HN30和SCC9细胞的增殖能力均有抑制作用 ($P < 0.05$), 且随着时间的延长, 抑制作用进一步增强。细胞克隆实验显示, 与对照组相比, DHA组CAL27、HN30和SCC9细胞的克隆形成数量均显著降低 ($P < 0.01$)。结果表明DHA可以显著抑制CAL27、HN30和SCC9的增殖能力。

2.4 DHA对OSCC细胞迁移和侵袭能力的影响

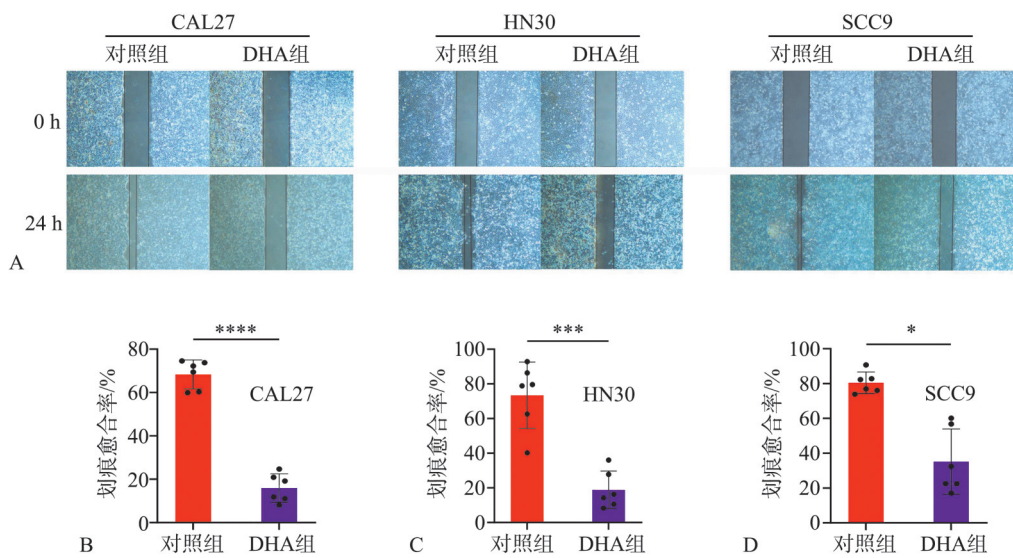
划痕实验显示, 与对照组相比, DHA组CAL27、HN30和SCC9细胞的划痕愈合率均显著降低 ($P < 0.05$) (图4)。Transwell实验显示, 与对照组相比, DHA组24 h CAL27、HN30和SCC9细胞突破Transwell小室底部基质胶的细胞数目均显著降低 ($P < 0.001$) (图5)。这表明DHA对CAL27、HN30和SCC9细胞的迁移和侵袭能力均有明显抑制作用。



A: CAL27、HN30、SCC9细胞克隆实验；B~D: CAL27、HN30、SCC9细胞克隆实验结果分析；E~G: CAL27、HN30、SCC9细胞CCK-8增殖实验。* $P<0.05$ ；** $P<0.01$ ；*** $P<0.001$ 。

图 3 DHA对OSCC细胞增殖能力的影响

Fig 3 Effect of DHA on OSCC cell proliferation



A: CAL27、HN30、SCC9细胞划痕实验结果；B~D: CAL27、HN30、SCC9细胞划痕实验结果分析，* $P<0.05$ ，*** $P<0.001$ ，**** $P<0.0001$ 。

图 4 划痕实验检测DHA对OSCC细胞迁移的影响

Fig 4 The effect of DHA on OSCC cell migration was detected by scratch test

2.5 DHA对裸鼠皮下移植瘤生长的影响

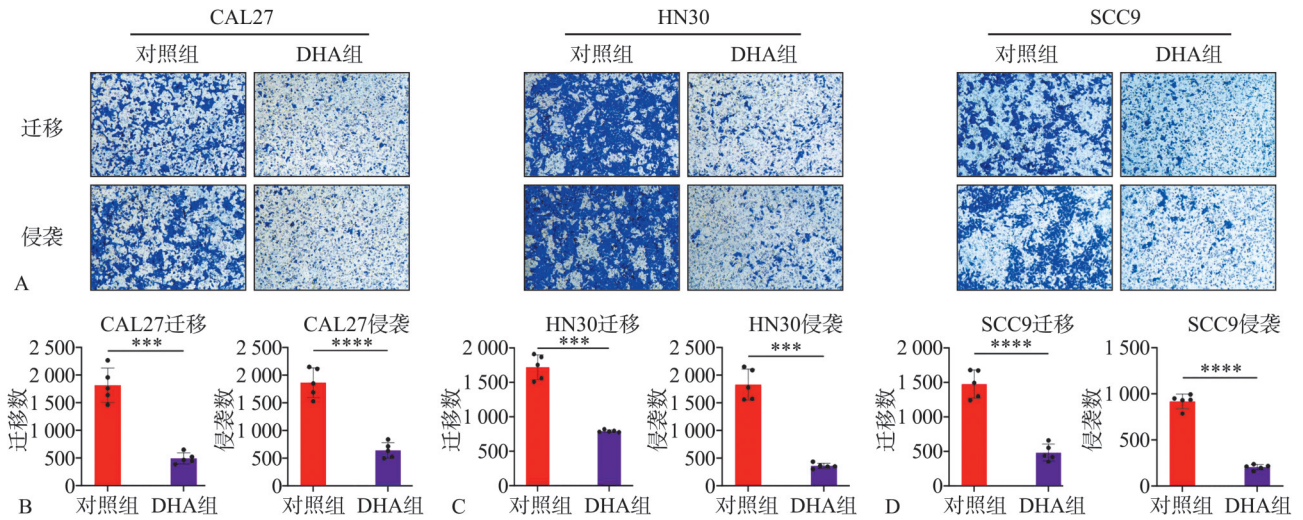
DHA对OSCC肿瘤组织生长的影响见图6A~C。与对照组相比，实验组裸鼠的肿瘤体积和重量显著降低 ($P<0.001$)。裸鼠主要脏器的HE染色见图6D，与对照组相比，实验组裸鼠主要脏器组织细胞形态无明显改变，这表明，DHA在裸鼠体内抑制肿瘤组织进展的同时，对其余脏器组织及细胞无明显毒性。

3 讨论

口腔癌被归类为头颈癌，发病率较高，发病部位主要包括颊黏膜、口底、舌、牙槽嵴、磨牙后三角、硬腭和唇内侧等^[13]。OSCC在口腔癌中占比超过90%，主要通过血液或淋巴系统转移到其他部位^[14-15]。OSCC常见转移于颈部淋巴结，其中

舌癌的淋巴转移率最高, 达到42.82%^[16]。肿瘤细胞通过淋巴管转移到淋巴结后, 进一步突破淋巴结被膜的限制, 侵入周围组织并快速生长形成新的肿瘤, 即为OSCC的囊外扩散^[17]。临床上主要通过组织病理学检查, 观察手术中切除的淋巴结是否存在突破淋巴结被膜的肿瘤细胞, 诊断患者是

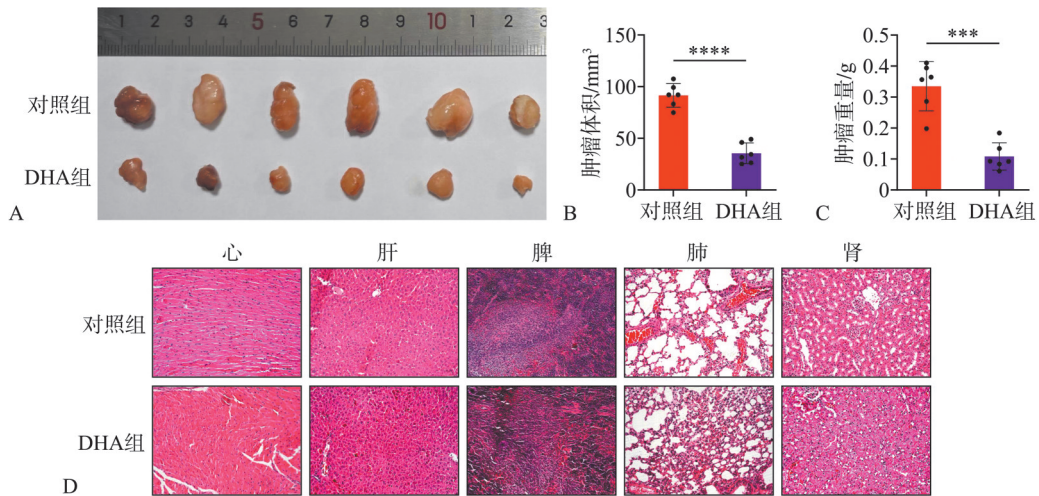
否存在肿瘤组织的囊外扩散^[18]。约50%的OSCC患者容易出现淋巴结转移及囊外扩散, 一旦发生, 生存率会降低50%, 预后较差^[19]。因此, 针对OSCC迁移及侵袭特性, 研发新型药物以抑制OSCC的转移及侵袭刻不容缓。



A: CAL27、HN30、SCC9 Transwell 实验结果; B~D: CAL27、HN30、SCC9 Transwell 实验结果分析, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ 。

图 5 DHA对OSCC细胞迁移、侵袭的影响

Fig 5 Effect of DHA on migration and invasion of OSCC cells



A: 裸鼠体内肿瘤的生长情况; B、C: 肿瘤体积、重量结果分析, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$; D: 裸鼠主要脏器的HE染色。

图 6 DHA对裸鼠OSCC肿瘤组织生长及主要脏器的影响

Fig 6 The effect of DHA on OSCC tumor tissue growth and major organs

本研究通过细胞体外实验, 分别从肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭3种生物学行为方面探讨DHA对OSCC细胞系生物学行为的影响。实验中使用多种OSCC细胞(CAL27、SCC9和HN30细胞)进行验证, 通过CCK-8细胞毒性实验检测每种细胞所能耐受的最大DHA浓度, 分别选择其相应最大安全剂量进行后续实验, 进而从细胞实验

层面上发现经DHA处理后, CAL27、HN30和SCC9细胞的增殖、迁移和侵袭能力均被显著抑制。动物体内实验研究发现, 经DHA干预后肿瘤组织生长的速度显著降低。因此可认为, DHA对OSCC的进展有一定的抑制作用。

OSCC易发生淋巴结转移和局部微转移。即使经过治疗肿瘤也较易复发, 导致患者预后较差^[20]。

上皮间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是已被证实的调控 OSCC 转移的经典通路, 同时其也与侵袭性密切相关, 此外在协调转移性肿瘤微环境 (如血管、淋巴管生成等) 中也扮演着重要角色^[21]。截至目前为止, DHA 已被证实在肺癌、乳腺癌等多种肿瘤中具有抗癌作用, 其作用机制主要包括抑制增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤转移和血管生成、促进免疫功能、诱导自噬和内质网应激等^[11]。胡维^[22]以转化生长因子 (transforming growth factor, TGF) - β 1 诱导的 A549 细胞 (人类非小细胞肺癌细胞) 构建肺纤维化的体外模型, 在经过一定浓度的 DHA 处理后 A549 细胞的 EMT 活性明显被抑制, 且随 DHA 浓度的增加其抑制疗效更佳, 高浓度 DHA 甚至可以抑制上皮细胞转化为活化成纤维细胞的分泌功能。本实验研究发现, 经 DHA 处理过的 CAL27、HN30 和 SCC9 细胞, 其迁移和侵袭能力同样受到抑制, 提示在 OSCC 中 DHA 是否也通过抑制 EMT 活性进而抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭活性, 这也是本实验后续可以探索研究的主要方向之一。

众所周知, 细胞凋亡有内源性和外源性途径, 内源性途径与线粒体跨膜电位的丧失、细胞色素 C 的释放和半胱天冬酶-3/-9 的活化相关; 外源性途径则依赖于死亡受体 (如 Fas、DR 5、TNFR) 与其相应的配体 (如 FasL、TRAIL、TNF) 的结合, 进而激活半胱天冬酶-8/-10, 触发半胱天冬酶-3 级联反应并最终导致凋亡^[23]。半胱天冬酶-3 作为半胱天冬酶家族中的重要成员, 也是促进 OSCC 细胞凋亡过程的重要靶点。Budi 等^[24]通过从苏木茎中提取到的棕榈酸衍生物作为半胱天冬酶-3 激动剂, 成功抑制了 OSCC 细胞的生长。Xiao 等^[25]使用 DHA 的一种靶向衍生物 Mito-DHA_s, 通过降低基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP) 提高活性氧水平, 进而导致 Bcl-2/Bax 比值下调, 下游半胱天冬酶-3 被激活, 促进膀胱癌细胞的凋亡活性。Gao 等^[26]研究表明, PI3K/AKT 信号通路可以调节细胞的多种关键生物学功能, 包括细胞增殖、分化、迁移、代谢和凋亡等。PI3K/AKT 信号通路可以通过各种机制被异常激活, 这些机制包括不同的基因组改变, 如 PIK3CA、PTEN、AKT、TSC1 和雷帕霉素靶蛋白的突变。因此, PI3K/AKT 信号通路被认为是控制癌症的标志, 并在肿瘤微环境中发挥重要的作用^[27]。同样在 OSCC 中, 通过上调 PI3K/AKT 信号通路中相关因子的磷酸化水平, 进而改变相关凋亡蛋白和增殖因子的表达, 导致 OS-

CC 的铁凋亡活性被抑制, 最终促进 OSCC 细胞的增殖^[28]。而已有研究^[29]证明以 DHA 为载药核心的 DHA 二聚体纳米前药可通过抑制 PI3K/AKT/HIF-1 α 信号通路抑制肿瘤细胞糖酵解进而抑制肿瘤细胞增殖, 并通过线粒体内源性凋亡途径诱导肿瘤细胞凋亡。因此, DHA 是否可以通过抑制 PI3K/AKT 相关通路抑制 OSCC 细胞的增殖或促进凋亡, 是本课题组后期进行深入研究的方向。

综上所述, 对于 OSCC 患者来说肿瘤细胞的快速增殖及远处转移严重影响着患者的生存及预后。本实验证实了 DHA 对 OSCC 细胞的增殖、迁移和侵袭能力及肿瘤组织的进展均存在显著的抑制作用, 这一发现将为后续研究 DHA 对 OSCC 的治疗并开发相关药物提供参考, 后续尚需进一步深入研究其相关作用机制。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Paré A, Joly A. Cancers de la cavité buccale: facteurs de risque et prise en charge[J]. La Press Médicale, 2017, 46(3): 320-330.
- [2] Oral cancer—the fight must go on against all odds[J]. Ev- id Based Dent, 2022, 23(1): 4-5.
- [3] Johnson DE, Burtneess B, Leemans CR, et al. Head and neck squamous cell carcinoma[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 92.
- [4] Bugshan A, Farooq I. Oral squamous cell carcinoma: metastasis, potentially associated malignant disorders, etiology and recent advancements in diagnosis[J]. F1000- Res, 2020, 9: 229.
- [5] Zhou JY, Hu ZX, Wang L, et al. Tumor-colonized *Streptococcus mutans* metabolically reprograms tumor micro-environment and promotes oral squamous cell carcinoma [J]. Microbiome, 2024, 12: 193.
- [6] SHahinas J, Hysi D. Methods and risk of bias in molecular marker prognosis studies in oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Dis, 2018, 24(1/2): 115-119.
- [7] Chai AWY, Lim KP, Cheong SC. Translational genomics and recent advances in oral squamous cell carcinoma[J]. Semin Cancer Biol, 2020, 61: 71-83.
- [8] Ghantous Y, Bahouth Z, Abu El-naaj I. Clinical and genetic signatures of local recurrence in oral squamous cell carcinoma[J]. Arch Oral Biol, 2018, 95: 141-148.
- [9] Weckx A, Riekert M, Grandoch A, et al. Time to recur-

- rence and patient survival in recurrent oral squamous cell carcinoma[J]. *Oral Oncol*, 2019, 94: 8-13.
- [10] Li LG, Yang XX, Xu HZ, et al. A dihydroartemisinin-loaded nanoreactor motivates anti-cancer immunotherapy by synergy-induced ferroptosis to activate cgas/STING for reprogramming of macrophage[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(28): 2301561.
- [11] Dai XS, Zhang XY, Chen W, et al. Dihydroartemisinin: a potential natural anticancer drug[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(2): 603-622.
- [12] Galvao J, Davis B, Tilley M, et al. Unexpected low-dose toxicity of the universal solvent DMSO[J]. *FASEB J*, 2014, 28(3): 1317-1330.
- [13] Fan T, Wang X, Zhang S, et al. NUPR1 promotes the proliferation and metastasis of oral squamous cell carcinoma cells by activating TFE3-dependent autophagy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 130.
- [14] Ran JC, Liu T, Song CH, et al. Rhythm mild-temperature photothermal therapy enhancing immunogenic cell death response in oral squamous cell carcinoma[J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(6): 2202360.
- [15] Joseph JP, Harishankar MK, Pillai AA, et al. Hypoxia induced EMT: a review on the mechanism of tumor progression and metastasis in OSCC[J]. *Oral Oncol*, 2018, 80: 23-32.
- [16] Zainal FR, Abdul Rahman ZA, Daniel Lim KH, et al. Prevalence of occult cervical lymph nodes metastasis in CN0 in oral squamous cell carcinoma (OSCC)[J]. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*, 2025, 126(2): 102070.
- [17] Michikawa C, Izumo T, Sumino J, et al. Small size of metastatic lymph nodes with extracapsular spread greatly impacts treatment outcomes in oral squamous cell carcinoma patients[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2018, 47(7): 830-835.
- [18] Liao CT, Lee LY, Huang SF, et al. Outcome analysis of patients with oral cavity cancer and extracapsular spread in neck lymph nodes[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 81(4): 930-937.
- [19] Greenberg JS, Fowler R, Gomez J, et al. Extent of extracapsular spread[J]. *Cancer*, 2003, 97(6): 1464-1470.
- [20] Lu N, Jiang QM, Xu TS, et al. LncOCMRL1 promotes oral squamous cell carcinoma growth and metastasis via the RRM2/EMT pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43: 267.
- [21] Li X, Wang CX, Zhang H, et al. CircFNDC3B accelerates vasculature formation and metastasis in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2023, 83(9): 1459-1475.
- [22] 胡维. 基于PI3K/AKT信号通路调控EMT探讨双氢青蒿素抑制肺纤维化的作用及机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2025.
- Hu W. Study on the inhibitory effect and mechanism of dihydroartemisinin on pulmonary fibrosis based on PI3K/AKT signaling pathway regulating EMT[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2025.
- [23] Wong KH, Yang DL, Chen SS, et al. Development of nanoscale drug delivery systems of dihydroartemisinin for cancer therapy: a review[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2022, 17(4): 475-490.
- [24] Budi HS, Anitasari S, Ulfa NM, et al. Palmitic acid of *Musa Paradisiaca* induces apoptosis through caspase-3 in human oral squamous cell carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2022, 26(19): 7099-7114.
- [25] Xiao L, Xu C, Lin P, et al. Novel dihydroartemisinin derivative Mito-DHA₅ induces apoptosis associated with mitochondrial pathway in bladder cancer cells[J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2022, 23(1): 10.
- [26] Gao YT, Cui MM, Zhong SJ, et al. Dihydroartemisinin ameliorates LPS-induced neuroinflammation by inhibiting the PI3K/AKT pathway[J]. *Metab Brain Dis*, 2020, 35(4): 661-672.
- [27] He Y, Sun MM, Zhang GG, et al. Targeting PI3K/Akt signal transduction for cancer therapy[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6: 425.
- [28] Zhang X, Xu YJ, Shi LJ, et al. FGF6 inhibits oral squamous cell carcinoma progression by regulating PI3K/AKT and MAPK pathways[J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 30375.
- [29] Li Y, Pei Q, Cui B, et al. A redox-responsive dihydroartemisinin dimeric nanoprodug for enhanced antitumor activity[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 441.

(本文编辑 李彩)