

[文章编号] 1671-587X(2026)01-0143-09

DOI:10.13481/j.1671-587X.20260115

## 沉默 *TRPV2* 基因和大麻二酚对口腔鳞状细胞癌 CAL-27 细胞生物学行为的影响

丁云杉, 代海涛, 陈敏, 郝小慧, 周肖, 仵楠  
(石河子大学第一附属医院口腔科, 新疆 石河子 832000)

**[摘要]** **目的:** 探讨瞬时受体电位香草酸通道 2 (TRPV2) 对口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 细胞增殖、迁移和侵袭的影响以及大麻二酚 (CBD) 通过 TRPV2 通道对 OSCC 细胞生物学行为的影响, 并阐明其相关抗肿瘤机制。**方法:** 利用脂质体法将小干扰 RNA (siRNA) 片段转染至 CAL-27 细胞, 分为 si-NC 组 (转染无相关性的 si-NC) 和 si-TRPV2 组 (转染沉默 *TRPV2* 基因的特异性 siRNA); 不同剂量 CBD 培养 CAL-27 细胞, 分为 0、10、20 和 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组, 采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法和 Western blotting 法检测各组细胞中 *TRPV2* mRNA 和蛋白表达水平, 采用细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法、细胞划痕愈合实验和 Transwell 小室实验分别检测各组 CAL-27 细胞增殖活性、细胞划痕愈合率和侵袭细胞数。**结果:** RT-qPCR 法和 Western blotting 法, si-NC 组 CAL-27 细胞中 *TRPV2* mRNA 和蛋白表达水平均高于 si-TRPV2 组 ( $P < 0.01$ )。CCK-8 法, 与 si-NC 组比较, si-TRPV2 组转染后 48 和 72 h 细胞增殖活性均明显降低 ( $P < 0.01$ )。细胞划痕愈合实验, 与 si-NC 组比较, si-TRPV2 组 24 h CAL-27 细胞划痕愈合率明显降低 ( $P < 0.01$ )。Transwell 小室实验, 与 si-NC 组比较, si-TRPV2 组侵袭细胞数减少 ( $P < 0.01$ ); RT-qPCR 法和 Western blotting 法, 与 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组比较, 10、20 和 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞中 *TRPV2* mRNA 及蛋白表达水平均降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); CCK-8 法, 与 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组比较, 20 和 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组药物培养后 48、72 和 96 h 细胞存活率均明显降低 ( $P < 0.01$ ); 细胞划痕愈合实验, CBD 培养 12 和 24 h, 与 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组比较, 10、20 和 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞划痕愈合率均明显降低 ( $P < 0.01$ ); Transwell 小室实验, 与 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组比较, 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组侵袭细胞数减少 ( $P < 0.01$ )。**结论:** 沉默 *TRPV2* 基因和 CBD 处理均能抑制 CAL-27 细胞增殖、迁移和侵袭能力, CBD 能降低 CAL-27 细胞中 *TRPV2* 基因和蛋白表达。

**[关键词]** 瞬时受体电位香草酸通道 2; 口腔鳞状细胞癌; 大麻二酚; 细胞迁移; 细胞侵袭

**[中图分类号]** R739.8 **[文献标志码]** A

## Effect of silencing *TRPV2* gene and cannabidiol on biological behaviors of oral squamous cell carcinoma CAL-27 cells

DING Yunshan, DAI Haitao, CHEN Min, HAO Xiaohui, ZHOU Xiao, WU Nan

(Department of Stomatology, First Affiliated Hospital, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

**[收稿日期]** 2025-03-10 **[录用日期]** 2025-05-16

**[基金项目]** 新疆生产建设兵团指导性科技计划项目 (2024ZD067); 石河子大学第一附属医院科技计划项目 (ZP2024005)

**[作者简介]** 丁云杉 (1999—), 女, 新疆维吾尔自治区奎屯市人, 在读硕士研究生, 主要从事颌面外科肿瘤基础方面的研究。

**[通信作者]** 仵楠, 副教授, 主任医师, 硕士研究生导师 (E-mail: 195773220@qq.com)

© 《吉林大学学报(医学版)》编辑部, 开放获取遵循 CC BY-NC-ND 协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

**ABSTRACT Objective:** To discuss the effects of transient receptor potential vanilloid channel 2 (TRPV2) on the proliferation, migration, and invasion of oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells and the effect of cannabidiol (CBD) on the biological behaviors of OSCC cells through the TRPV2 channel, and to clarify its related anti-tumor mechanism. **Methods:** The siRNA fragments were transfected into the CAL-27 cells using the liposome method, and the cells were divided into si-NC group (transfected with non-related si-NC) and si-TRPV2 group (transfected with specific siRNA silencing *TRPV2* gene). The CAL-27 cells were cultured with different doses of CBD and divided into 0, 10, 20, and 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD groups. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method and Western blotting method were used to detect the expression levels of TRPV2 mRNA and protein in the cells in various groups; cell counting kit-8 (CCK-8) method, cell scratch healing assay, and Transwell chamber assay were used to detect the proliferation activity, scratch healing rate, and number of invasion CAL-27 cells in various groups, respectively. **Results:** The RT-qPCR method and Western blotting method results showed that the expression levels of *TRPV2* mRNA and protein in the CAL-27 cells in si-NC group were higher than those in si-TRPV2 group ( $P<0.01$ ). The CCK-8 assay results showed that compared with si-NC group, the proliferation activities of the cells in si-TRPV2 group at 48 and 72 h after transfection were significantly decreased ( $P<0.01$ ). The cell scratch healing assay results showed that compared with si-NC group, the scratch healing rate of the CAL-27 cells in si-TRPV2 group at 24 h was significantly decreased ( $P<0.01$ ). The Transwell chamber assay results showed that compared with si-NC group, the number of invasion cells in si-TRPV2 group was significantly decreased ( $P<0.01$ ). The RT-qPCR method and Western blotting method results showed that compared with 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group, the expression levels of *TRPV2* mRNA and protein in the CAL-27 cells in 10, 20, and 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD groups were decreased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The CCK-8 assay results showed that compared with 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group, the cell survival rates of the cells in 20 and 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD groups at 48, 72, and 96 h after drug culture were significantly decreased ( $P<0.01$ ). The cell scratch healing assay results showed that after CBD culture for 12 and 24 h, compared with 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group, the scratch healing rates of the CAL-27 cells in 10, 20, and 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD groups were significantly decreased ( $P<0.01$ ). The Transwell chamber assay results showed that compared with 0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group, the number of invasion cells in 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group was significantly decreased ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** Silencing the *TRPV2* gene and CBD treatment can both inhibit the proliferation, migration, and invasion abilities of CAL-27 cells, and CBD can reduce the expression of *TRPV2* gene and protein in CAL-27 cells.

**KEYWORDS** Transient receptor potential vanilloid channel 2; Oral squamous cell carcinoma; Cannabidiol; Cell migration; Cell invasion

在全球范围内,癌症是一类严重危害患者生命健康的疾病,据2024年国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)统计,2022年约有39万口腔癌新发病例和19万死亡病例<sup>[1]</sup>。口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是最常见的口腔颌面部恶性肿瘤,同时也是最主要的口腔癌组织病理类型,约占头颈部鳞状细胞癌的90%以上<sup>[2]</sup>。OSCC病理发生机制复杂,尽管近年来临床上提出了以手术治疗为主、放射治疗与化学治疗联合应用的综合治疗手段,且免疫治疗、光热疗法和纳米医学等新兴技术也不断取得进展<sup>[3-5]</sup>,但由于OSCC浸润性和

侵袭性强,易发生转移<sup>[6]</sup>,OSCC患者的5年生存率仍较低,预后较差。瞬时受体电位香草酸(transient receptor potential vanilloid, TRPV)通道是一种具有钙渗透性的非选择性阳离子通道,广泛分布于细胞膜、细胞质和黑色素体中,参与疼痛传导、跨膜转运、神经系统结构发育和温度调节等多种生理过程,在基因转录、细胞增殖、分化、迁移、入侵、动能和凋亡等过程中发挥作用<sup>[7]</sup>。国内外研究<sup>[8-13]</sup>表明:TRPV2在肺癌、胶质瘤、食管鳞状细胞癌、胃癌、膀胱癌和尿路上皮癌等多种癌症中发挥重要作用。在前列腺癌中,TRPV2的高表达与肿瘤的侵袭性和转移性存在密切关联;在乳

腺癌中, TRPV2 通过调节细胞内钙离子浓度, 影响癌细胞的迁移和侵袭<sup>[14]</sup>。已有研究<sup>[15]</sup>表明: TRPV2 同家族成员 TRPV4 在 OSCC 中表达异常上调, 且与不良预后有关, 但 TRPV2 在 OSCC 的发生发展中发挥的作用尚不明确。近年来, 大麻二酚 (cannabidiol, CBD) 作为一种非精神活性的大麻素, 因其潜在的抗肿瘤特性而受到广泛关注。研究<sup>[16]</sup>表明: CBD 可通过多种机制抑制肿瘤细胞的生长和转移, 包括诱导凋亡、抑制增殖、抑制迁移和侵袭等。CBD 还可通过调节肿瘤微环境来增强细胞抗肿瘤免疫反应。然而, CBD 在 OSCC 中的研究仍处于初步阶段, 其具体作用机制和临床应用价值尚需进一步验证。

目前研究<sup>[17]</sup>发现: CBD 在子宫内膜癌、神经胶质瘤、膀胱癌和骨髓瘤中的抗肿瘤作用是由 TRPV 介导的, 其中 TRPV1、TRPV2 和 TRPV4 参与激活细胞凋亡, 并在其中发挥关键作用。但关于 TRPV2 与 CBD 在 OSCC 中相互作用的研究较少。本课题组前期研究<sup>[14]</sup>已通过细胞学实验验证 TRPV2 在 OSCC 中高表达且与预后不佳存在关联。本研究通过细胞学实验探讨 TRPV2 和 CBD 对 OSCC 细胞增殖、迁移和侵袭的影响以及 CBD 和 TRPV2 对于 OSCC 细胞生物学行为影响的相关性, 为其临床应用转化提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞、主要试剂和仪器** OSCC 细胞株 (人舌鳞状细胞癌 CAL-27 细胞) 购自于美国典型培养物保藏中心 (American Type Culture Collection, ATCC)。脂质体 (Lipofectamine 2000) 购自美国 Invitrogen 公司, TRPV2 siRNA Oligo 购自苏州吉玛基因股份有限公司, 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自浙江天杭生物科技股份有限公司, CBD 购自美国 Abmole Bioscience 公司, TRPV2 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司,  $\beta$ -actin 单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 逆转录试剂盒购自宝日医生物技术 (北京) 有限公司, 实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR) 试剂盒购自北京兰杰柯科技公司, TRPV2 引物购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司, 细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 试剂购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司, Matrigel 基质胶和 Transwell 细胞小室购自美国康宁公司。细胞培养箱 (型号: BC-J160) 购自

上海博迅医疗生物仪器股份有限公司, 超净工作台 (型号: AC2-4S1) 购自新加坡 ESCO 科技有限公司,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱 (型号: Forma<sup>TM</sup> 991) 和多功能酶标仪 (型号: Multiskan<sup>TM</sup> FC) 购于美国 Thermo 公司, 电泳仪电源 (型号: PowerPac<sup>TM</sup> HC) 购于美国 BIO-RAD 公司, 电泳仪 (型号: DYCZ-24DN) 和电转仪 (型号: DYCZ-40D) 购于北京六一生物技术有限公司, PCR 热循环仪 (型号: Mastercycler nexus GSX1) 购自德国 Eppendorf 公司, 荧光定量 PCR 仪 (型号: LightCycler<sup>®</sup>96) 购于瑞士 Roche 公司。

**1.2 CAL-27 细胞培养和分组** 采用含 1% 青-链霉素双抗和 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基, 在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱环境下培养 CAL-27 细胞, 每 24 h 换液 1 次, 选取处于对数生长期的细胞均匀铺于 6 孔细胞培养板中。待细胞贴壁后进行药物培养, 以  $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组细胞为对照组, 10、20 和  $40\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组细胞为实验组。

**1.3 细胞转染和分组** 待细胞贴壁后进行转染。利用脂质体法将小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 片段转染至 CAL-27 细胞, 以转染 si-NC 的细胞为对照组 (si-NC 组), 转染 si-TRPV2 为实验组 (si-TRPV2 组), 当 CAL-27 细胞融合度达到约 80% 时, 采用细胞瞬时转染技术, 按照 Lipofectamine 2000 转染试剂盒说明, si-NC 组转染阴性对照 siRNA, si-TRPV2 组转染 TRPV2 siRNA 沉默片段, 4~6 h 后在荧光显微镜下观察转染效率并换成完全培养基继续培养, 用于后续实验。

siRNA 序列: TRPV2 正义链, 5'-CCUAGUG-AUGAUCUCGGACTT-3'; 反义链, 5'-GUCCG-AGAUCACACUAGGTT-3'。阴性对照正义链, 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'; 反义链, 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。

**1.4 RT-qPCR 法检测各组 CAL-27 细胞中 TRPV2 mRNA 表达水平** 分别提取转染/药物处理 24 h 后各组 CAL-27 细胞总 RNA, 利用试剂盒逆转录成为 cDNA 模板。将 cDNA 模板、引物和荧光试剂按照试剂盒体系混合, 采用 RT-qPCR 法扩增。TRPV2 引物序列: 正向引物, 5'-CCAGGCGA-GGACCGGAAAT-3', 反向引物, 5'-TGGATCC-GGCTGACTGGCAC-3';  $\beta$ -actin 引物序列: 正向引物, 5'-GATCGAGCACGGCATCGTCA-3', 反向引物, 5'-TAGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'。使

用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算TRPV2 mRNA表达水平。

**1.5 Western blotting法检测各组CAL-27细胞中TRPV2蛋白表达水平** 分别收集转染/药物处理48 h后各组CAL-27细胞并提取总蛋白,制备十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶,蛋白上样,电泳分离,转至PVDF膜,快速封闭液室温封闭1 h,4℃冰箱静置孵育一抗12 h,TRPV2(1:500), $\beta$ -actin(1:5 000),Tris缓冲液(Tris-buffered saline, TBST)洗膜30 min,摇床上以 $50 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速室温孵育二抗2 h,洗膜30 min,发光液显影并拍照;采用Image J软件分析蛋白条带灰度值,以 $\beta$ -actin为内参,计算蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值。

**1.6 CCK-8法检测各组CAL-27细胞增殖活性和细胞存活率** 转染组收集转染24 h后的CAL-27细胞,药物处理组收集处于对数生长期的CAL-27细胞,离心重悬并计数,稀释,以每孔5 000个细胞的密度均匀铺入96孔细胞培养板中,每组3个复孔,转染组以DMEM高糖培养基继续培养,药物处理组以含有不同浓度CBD的DMEM高糖培养基培养,分别在转染/药物处理后24、48、72和96 h弃去旧培养基,在避光条件下将CCK-8试剂与DMEM高糖培养基按照1:10的比例混合,每孔加入100  $\mu\text{L}$ 避光孵育2 h,酶标仪测定各孔在波长450 nm处的吸光度(A)值,转染实验部分以A值表示细胞增殖活性,药物处理实验部分以细胞存活率表示细胞增殖活性。细胞存活率=(实验孔A值-空白孔A值)/(对照孔A值-空白孔A值) $\times 100\%$ 。

### 1.7 细胞划痕愈合实验检测各组细胞划痕愈合率

细胞划痕愈合实验铺板前在6孔细胞培养板背面用马克笔画线分区;收集处于对数生长期的CAL-27细胞,计数后均匀地铺于6孔细胞培养板中,继续培养24 h,使细胞单层铺满孔底;在药物处理时或转染24 h后用200  $\mu\text{L}$ 吸头在孔板底部制造划痕,磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)润洗,加入无血清DMEM高糖培养基后于培养箱中继续培养;显微镜下观察划痕后0、12和24 h的愈合情况并拍照,根据划痕面积计算划痕愈合率,划痕愈合率=(处理前划痕面积-处理后划痕面积)/处理前划痕面积 $\times 100\%$ 。

**1.8 Transwell小室实验检测各组CAL-27细胞的侵袭细胞数** 按照1:8的比例于低温下混合Matrigel胶,取100  $\mu\text{L}$ 加入细胞小室内,置于培养箱中3 h,待胶完全凝固后弃去上层液体,DMEM水化1 h;再次弃去上层液体,收集转染/药物处理24 h的CAL-27细胞,胰酶消化后离心、重悬,获得细胞悬液,计数后将其均匀地铺入小室内(内含 $8 \times 10^4$ 个细胞),DMEM补足小室内体积至100  $\mu\text{L}$ ,下室加入600  $\mu\text{L}$ 含20% FBS的培养基,置于培养箱中继续培养48 h, PBS缓冲液轻柔润洗,冰甲醇固定30 min,0.1%结晶紫染色15 min, PBS缓冲液洗去染液及上室细胞,干燥,显微镜下观察并随机选取5个区域拍照计数。

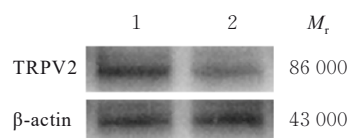
**1.9 统计学分析** 采用GraphPad Prism 9.5软件进行统计学分析。各组细胞中TRPV2 mRNA和蛋白表达水平、细胞增殖活性、细胞存活率、划痕愈合率及侵袭细胞数均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间样本均数比较采用两独立样本 $t$ 检验,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用LSD- $t$ 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 沉默TRPV2基因的CAL-27细胞中TRPV2 mRNA和蛋白表达水平** RT-qPCR法和Western blotting法检测结果显示:与si-NC组( $1.00 \pm 0.01$ )比较,si-TRPV2组TRPV2 mRNA表达水平( $0.38 \pm 0.02$ )降低( $P < 0.01$ );与si-NC组( $1.00 \pm 0.09$ )比较,si-TRPV2组CAL-27细胞中TRPV2蛋白表达水平( $0.75 \pm 0.03$ )降低( $P < 0.05$ ) (图1),表明si-TRPV2组转染成功。

### 2.2 沉默TRPV2基因的CAL-27细胞增殖活性

采用CCK-8法检测转染后24、48和72 h CAL-27细胞的增殖活性,结果显示:与si-NC组比

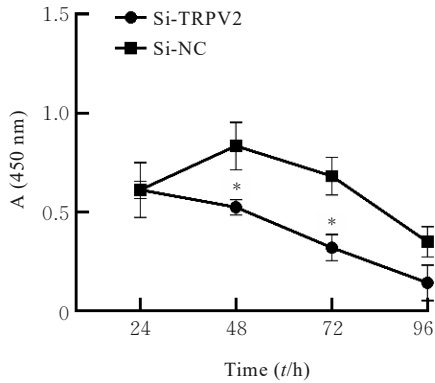


Lane 1: Si-NC group; Lane 2: Si-TRPV2 group.

图1 Western blotting法检测2组CAL-27细胞中TRPV2蛋白表达电泳图

Fig. 1 Electrophoregram of expressions of TRPV2 protein in CAL-27 cells in two groups detected by Western blotting method

较, si-TRPV2 组转染后 48 和 72 h, CAL-27 细胞增殖活性明显降低 ( $P < 0.01$ )。见图 2。



\* $P < 0.01$  compared with si-NC group.

图 2 CCK-8 法检测 2 组 CAL-27 细胞的增殖活性

Fig. 2 Proliferation activities of CAL-27 cells in two groups detected by CCK-8 assay

2.3 沉默 TRPV2 基因的 CAL-27 细胞的划痕愈合率与 si-NC 组 ( $35.60\% \pm 0.04\%$ ) 比较, si-TRPV2 组 CAL-27 细胞的 24 h 细胞划痕愈合率 ( $20.14\% \pm 0.04\%$ ) 明显降低 ( $P < 0.01$ )。见图 3 和 4。

2.4 沉默 TRPV2 基因的 CAL-27 细胞的侵袭细胞数与 si-NC 组 ( $139.80$  个  $\pm 8.26$  个) 比较, si-TRPV2 组 CAL-27 细胞的侵袭细胞数 ( $70.50$  个  $\pm 5.80$  个) 减少 ( $P < 0.01$ )。见图 5。

2.5 CBD 处理的 CAL-27 细胞中 TRPV2 mRNA 和蛋白表达水平 与  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 ( $1.00 \pm 0.15$ ) 比较,  $10$ 、 $20$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞中 TRPV2 mRNA 表达水平 ( $0.53 \pm 0.09$ 、 $0.47 \pm 0.07$  和  $0.73 \pm 0.15$ ) 降低 ( $P < 0.05$  或  $P <$

$0.01$ )；与  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 ( $1.00 \pm 0.02$ ) 比较,  $10$ 、 $20$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞中 TRPV2 蛋白表达水平 ( $0.69 \pm 0.08$ 、 $0.59 \pm 0.06$  和  $0.60 \pm 0.12$ ) 降低 ( $P < 0.01$ )。见图 6。

2.6 各组不同时间点 CAL-27 细胞存活率 CCK-8 法检测 CBD 药物培养 24、48、72 和 96 h 后 CAL-27 细胞存活率, 与  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组比较,  $20$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞存活率明显降低 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

2.7 各组不同时间点 CAL-27 细胞的划痕愈合率

采用细胞划痕愈合实验观察划痕后 0、12 和 24 h 划痕愈合情况。见图 7。与  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组比较,  $10$ 、 $20$  和  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞划痕愈合率均明显降低 ( $P < 0.01$ )。见图 8。

2.8 CBD 处理的 CAL-27 细胞的侵袭细胞数 与  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 ( $98.20$  个  $\pm 5.81$  个) 比较,  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD 组 CAL-27 细胞的侵袭细胞数 ( $53.80$  个  $\pm 7.26$  个) 减少 ( $P < 0.01$ )。见图 9。

### 3 讨论

OSCC 发生过程复杂, 现行治疗方案在提高患者生存预后的同时, 往往伴随严重的并发症<sup>[18]</sup>, 显著损害患者的生存质量, 因此研发更为安全有效的靶向治疗方案尤为重要。

本研究以人舌鳞状细胞癌 CAL-27 细胞为研究对象, 通过沉默细胞中 TRPV2 基因, 观察细胞增殖、迁移和侵袭能力; 通过 CBD 药物处理, 研究 TRPV2 的表达与细胞增殖、迁移和侵袭能力, 并探讨 CBD 与 TRPV2 对于 OSCC 影响的关联性。

TRPV2 作为一种钙离子通道, 其表达水平与

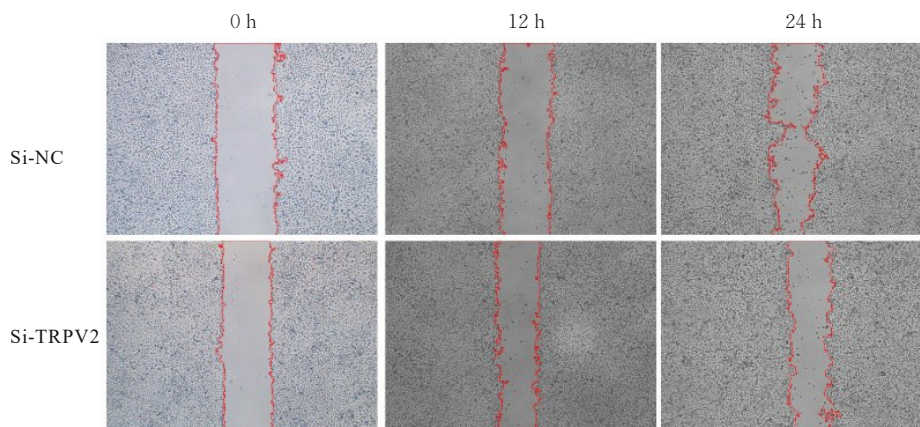
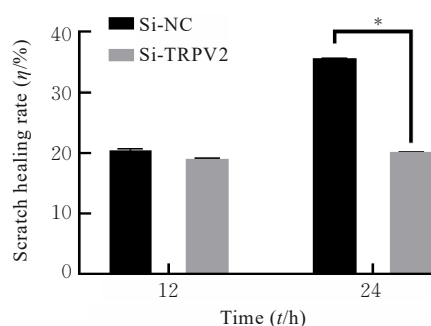


图 3 细胞划痕愈合实验检测 2 组 CAL-27 细胞的划痕愈合情况 ( $\times 40$ )

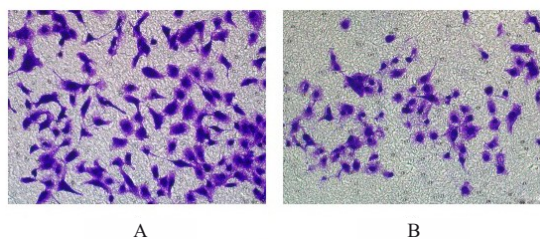
Fig. 3 Scratch healing of CAL-27 cells in two groups detected by cell scratch healing experiment ( $\times 40$ )



\* $P < 0.01$  compared with si-NC group.

图4 细胞划痕愈合实验检测2组CAL-27细胞的划痕愈合率

Fig. 4 Scratch healing rates of CAL-27 cells in two groups detected by scratch healing experiment

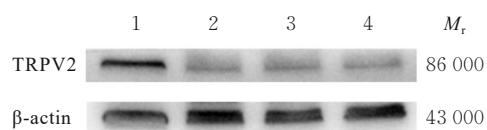


A: Si-NC group; B: Si-TRPV2 group.

图5 Transwell小室实验检测2组CAL-27细胞的侵袭情况(结晶紫,  $\times 200$ )

Fig. 5 Invasion of CAL-27 cells in two groups detected by Transwell chamber assay (Crystal violet,  $\times 200$ )

细胞内钙离子浓度存在关联, 而钙离子信号在细胞增殖、迁移和侵袭中发挥关键作用<sup>[7]</sup>。目前, 已有研究<sup>[14]</sup>证实: TRPV2在OSCC中高表达且与预后不佳有关。LI等<sup>[19]</sup>研究显示: 高水平的TRPV2



Lane 1:  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group; Lane 2:  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group; Lane 3:  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group; Lane 4:  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group.

图6 不同剂量CBD处理后各组CAL-27细胞中TRPV2蛋白表达电泳图

Fig. 6 Electrophoregram of expressions of TRPV2 protein in CAL-27 cells in various groups after treated with different doses of CBD

促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭, 而敲低TRPV2基因抑制乳腺癌进展, 其表达与晚期恶性肿瘤存在关联, 其作用机制为TRPV2通过介导钙内流调节钙调蛋白激酶 $\beta$  (calmodulin-dependent protein kinase kinase beta, CaMKK $\beta$ ) /腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) /unc-51样自噬激活激酶1 (unc-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1) 自噬轴来促进癌症进展。为进一步探究TRPV2对OSCC细胞增殖、迁移和侵袭的作用, 本研究采用细胞瞬时转染技术, 沉默TRPV2基因, 结果显示: CAL-27细胞增殖、迁移和侵袭能力降低。SHOJI等<sup>[20]</sup>关于黑色素瘤的研究与本研究结果一致, 提示沉默TRPV2基因的表达, 可抑制OSCC细胞的部分恶性生物学行为, 间接表明TRPV2在OSCC的发展进程中可能发挥促癌作用, 对OSCC的诊断、预后以及靶向治疗具有潜在的临床转化价值, 但其具体分子机制仍有待进一步研究。

表1 不同剂量CBD作用24、48、72和96 h后各组CAL-27细胞存活率

Tab. 1 Survival rates of CAL-27 cells in various groups after treated with different doses of CBD for 24, 48, 72, and 96 h ( $n=3, \bar{x}\pm s, \eta/\%$ )

Group	Survival rate				
	(t/h)	24	48	72	96
CBD ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )					
0		100.00 $\pm$ 11.84	100.00 $\pm$ 6.61	100.00 $\pm$ 7.54	100.00 $\pm$ 12.08
10		96.98 $\pm$ 7.41	108.70 $\pm$ 17.11	118.50 $\pm$ 4.76*	100.80 $\pm$ 15.30
20		35.35 $\pm$ 1.91*	17.06 $\pm$ 15.87*	4.36 $\pm$ 0.19*	3.98 $\pm$ 0.64*
40		16.95 $\pm$ 0.94*	10.29 $\pm$ 5.07*	3.99 $\pm$ 1.26*	2.84 $\pm$ 1.65*

\* $P < 0.01$  compared with  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group.

CBD能够通过多重分子通路实现抗肿瘤效应, 其作用机制包括对细胞程序性死亡的诱导、自体吞

噬过程的激活和细胞分裂周期的特异性阻滞以及对肿瘤微环境的调节<sup>[21]</sup>。研究<sup>[22]</sup>表明: CBD可通

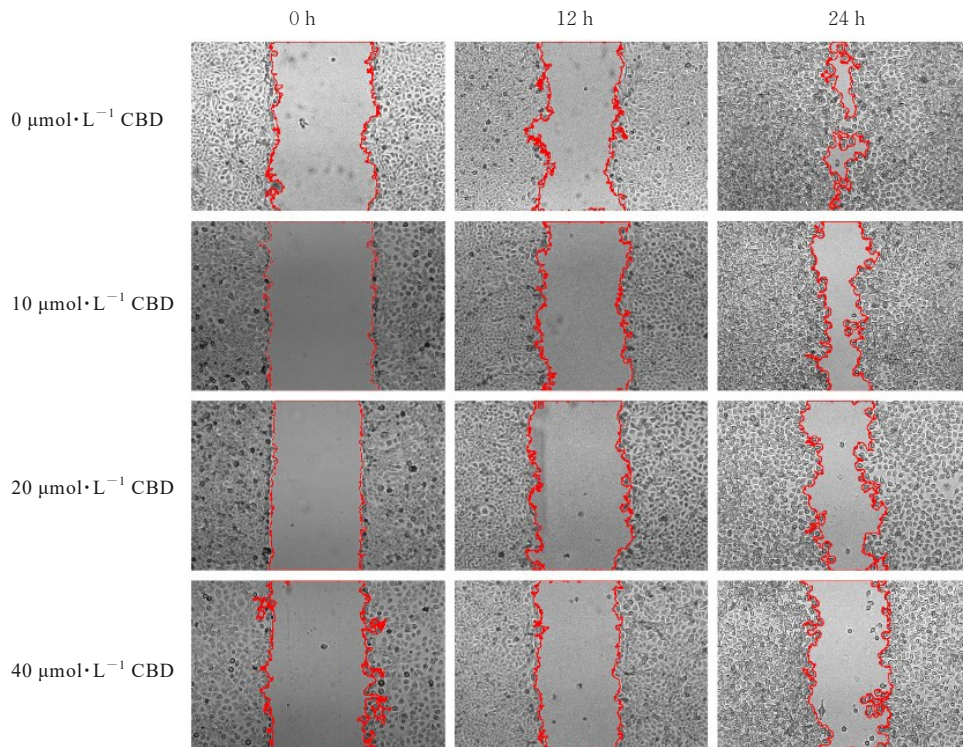
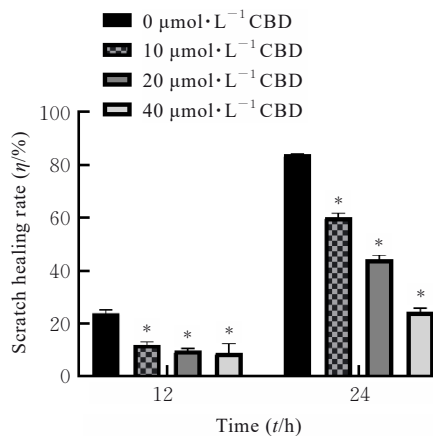


图7 细胞划痕愈合实验检测各组 CAL-27 细胞的划痕愈合情况(×40)

Fig. 7 Scratch healing of CAL-27 cells in various groups detected by cell scratch healing assay (×40)

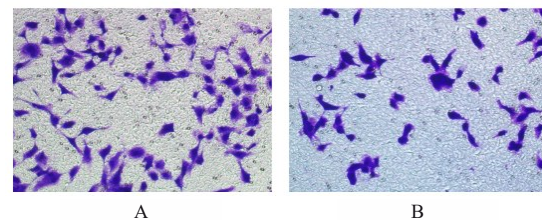


\* $P < 0.05$  compared with  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group.

图8 划痕愈合实验检测各组 CAL-27 细胞的划痕愈合率

Fig. 8 Scratch healing rates of CAL-27 cells in various groups detected by scratch healing experiment

过上调磷酸化组蛋白 H2AX (phosphorylated gamma-H2AX, p-γH2AX) 表达与调节基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP1) /基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)-9 基因表达轴, 抑制非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer,



A:  $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group; B:  $40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  CBD group.

图9 Transwell 小室实验检测 2 组 CAL-27 细胞侵袭情况(结晶紫, ×200)

Fig. 9 Invasion of CAL-27 cells in two groups detected by Transwell chamber assay (Crystal violet, ×200)

NSCLC) 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。VIREECKL 等<sup>[23]</sup> 研究发现: 在胆管癌 CCA 细胞中, CBD 可诱导 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞周期停滞, 有效抑制胆管细胞癌 (cholangiocarcinoma, CCA) 细胞迁移、侵袭和集落形成能力。为进一步探讨 CBD 对 OSCC 中恶性生物学行为的影响, 本研究对 CAL-27 细胞进行不同剂量 CBD 处理, 并观察其对细胞存活率、迁移能力和侵袭能力的影响, 结果显示: CBD 处理后, CAL-27 细胞增殖、迁移和侵袭能力降低, 表明 CBD 能够以剂量或时间依赖性方式抑制 OSCC 细胞增殖、迁移和侵袭能力。这与 FENG 等<sup>[24]</sup>

在结肠癌细胞中的研究一致,提示CBD可作为抗癌药物在OSCC中发挥作用。本研究结果显示: CBD处理后, CAL-27细胞中 *TRPV2* mRNA和蛋白表达水平均明显降低,表明CBD能够下调 *TRPV2* 表达,推测本研究中CBD对于OSCC细胞增殖、迁移和侵袭能力的抑制作用可能与 *TRPV2* 存在关联,但其具体作用机制尚需进一步研究验证。

研究<sup>[25]</sup>显示: CBD通过诱导内质网应激与激活活化转录因子4(activating transcription factor-4, ATF4)/DNA损伤诱导转录因子3(DNA damage inducible transcript 3, DDIT3)-Tribble同源蛋白3(Tribble homolog 3, TRIB3)-蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)轴,即ATF4/DDIT3-TRIB3-AKT-mTOR轴,导致线粒体功能障碍和自噬。PONGKING等<sup>[26]</sup>研究表明: CBD能够通过提高活性氧(reactive oxygen species, ROS)、降低膜电位来破坏线粒体稳态,并通过增加p53和p21的表达诱导细胞衰老上调多种促凋亡蛋白的表达,如p53、DNA修复酶多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)、麻黄碱调节受体相互作用蛋白1(receptor-interacting protein 1, RIP1)/受体相互作用蛋白3(receptor-interacting protein 3, RIP3)、自噬相关蛋白12(autophagy-related protein 12, ATG12)和Beclin-1,协同调控细胞凋亡<sup>[27]</sup>,推测本研究中CBD对OSCC细胞增殖、迁移和侵袭能力的抑制作用可能与诱导细胞自噬和凋亡有关。

综上所述,沉默 *TRPV2* 基因和CBD处理可抑制OSCC细胞增殖、迁移和侵袭能力, CBD能够降低 *TRPV2* 表达,本研究结果证实 *TRPV2* 是一种极具潜力的生物标志物,也为CBD作为OSCC的潜在治疗药物提供了实验依据,但本研究结果尚未进行动物模型验证,具体机制也有待更深入地研究,以期OSCC的治疗提供新的思路和方法。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

丁云杉参与研究设计、实验操作和论文撰写,代海涛和陈敏参与数据整理及分析,郝小慧和周肖参与实验操作,仵楠参与论文审校。

#### [参考文献]

- [1] 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.
- [2] MCCORD C, KISS A, MAGALHAES M A, et al. Oral squamous cell carcinoma associated with precursor lesions[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2021, 14(9): 873-884.
- [3] 孙铭泽, 史佳帆, 刘璐璐, 等. 光热联合疗法在OSCC中的研究进展[J]. *临床口腔医学杂志*, 2024, 40(10): 635-637.
- [4] GUPTA S, SINGH A, DEORAH S, et al. Immunotherapy in OSCC: Current trend and challenges [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2025, 209: 104672.
- [5] SHI E Y, SHAN T H, WANG H P, et al. A bacterial nanomedicine combines photodynamic-immunotherapy and chemotherapy for enhanced treatment of oral squamous cell carcinoma[J]. *Small*, 2023, 19(52): e2304014.
- [6] Bharadwaj R, SAHU B P, HALOI J, et al. Combinatorial therapeutic approach for treatment of oral squamous cell carcinoma [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 572-585.
- [7] DADON D, MINKE B. Cellular functions of transient receptor potential channels [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(9): 1430-1445.
- [8] MISRI S, KAUL K, MISHRA S, et al. Cannabidiol inhibits tumorigenesis in cisplatin-resistant non-small cell lung cancer via *TRPV2*[J]. *Cancers*, 2022, 14(5): 1181.
- [9] MORELLI M B, NABISSI M, AMANTINI C, et al. The transient receptor potential vanilloid-2 cation channel impairs glioblastoma stem-like cell proliferation and promotes differentiation[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(7): E1067-E1077.
- [10] MARINELLI O, MORELLI M B, ANNIBALI D, et al. The effects of cannabidiol and prognostic role of *TRPV2* in human endometrial cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5409.
- [11] KATO S, SHIOZAKI A, KUDOU M, et al. *TRPV2* promotes cell migration and invasion in gastric cancer via the transforming growth factor- $\beta$  signaling pathway [J]. *Ann Surg Oncol*, 2022, 29(5): 2944-2956.
- [12] ZHANG W, HE X, YIN H, et al. Allosteric activation of the metabolic enzyme GPD1 inhibits bladder

- cancer growth via the lysoPC-PAFR-TRPV2 axis[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 93.
- [13] SANTONI G, AMANTINI C, MAGGI F, et al. The TRPV2 cation channels: from urothelial cancer invasiveness to glioblastoma multiforme interactome signature[J]. *Lab Investig*, 2020, 100(2): 186-198.
- [14] 王亚, 张林杰, 仵楠, 等. 口腔鳞状细胞癌中 TRPV2 的表达及其临床病理意义[J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(15): 1913-1918.
- [15] 祖木热提古丽·阿不来提, 陈镭雨, 马琰迪, 等. TRPV4 和 TGF- $\beta$ 1 在口腔鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. *实用口腔医学杂志*, 2022, 38(6): 743-747.
- [16] LANDUCCI E, PELLEGRINI-GIAMPIETRO D E, GIANONCELLI A, et al. Cannabidiol preferentially binds TRPV2: a novel mechanism of action[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17(12): 2693-2694.
- [17] MELO E S A, ASEVEDO E A, DUARTE-ALMEIDA J M, et al. Mechanisms of cell death induced by cannabidiol against tumor cells: a review of preclinical studies[J]. *Plants*, 2025, 14(4): 585.
- [18] GHOSH S, SHAH P A, JOHNSON F M. Novel systemic treatment modalities including immunotherapy and molecular targeted therapy for recurrent and metastatic head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7889.
- [19] LI Q, LI H X, ZHU R W, et al. TRPV2 calcium channel promotes breast cancer progression potential by activating autophagy[J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 324.
- [20] SHOJI K F, BAYET E, LEVERRIER-PENNA S, et al. The mechanosensitive TRPV2 calcium channel promotes human melanoma invasiveness and metastatic potential[J]. *EMBO Rep*, 2023, 24(4): e55069.
- [21] HEIDER C G, ITENBERG S A, RAO J J, et al. Mechanisms of cannabidiol (CBD) in cancer treatment: a review [J]. *Biology*, 2022, 11(6): 817.
- [22] LI Y T, SHARMA A, HOFFMANN M J, et al. Discovering single cannabidiol or synergistic antitumor effects of cannabidiol and cytokine-induced killer cells on non-small cell lung cancer cells [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1268652.
- [23] VIERECKL M J, KRUTSINGER K, APAWU A, et al. Cannabidiol and cannabigerol inhibit cholangiocarcinoma growth in vitro via divergent cell death pathways[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(6): 854.
- [24] FENG P, ZHU L X F, JIE J, et al. Cannabidiol inhibits invasion and metastasis in colorectal cancer cells by reversing epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(7): 3587-3598.
- [25] HUANG T F, XU T Q, WANG Y F, et al. Cannabidiol inhibits human glioma by induction of lethal mitophagy through activating TRPV4 [J]. *Autophagy*, 2021, 17(11): 3592-3606.
- [26] PONGKING T, INTUYOD K, THONGPON P, et al. Cannabidiol suppresses proliferation and induces cell death, autophagy and senescence in human cholangiocarcinoma cells via the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *J Tradit Complement Med*, 2024, 14(6): 622-634.
- [27] PARK Y J, NA H H, KWON I S, et al. Cannabidiol regulates PPAR $\gamma$ -dependent vesicle formation as well as cell death in A549 human lung cancer cells [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 15(7): 836.