



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.01.07

文章编号: 2095-1264(2022)01-0046-07

小分子酪氨酸激酶抑制剂安罗替尼对鼻咽癌细胞的抗肿瘤活性及其机制^{*}

谢婉莹¹, 钟桂华², 魏 威², 周玉玲², 黎村艳¹, 江冠民^{3*}, 刘志刚^{2*}

(¹湖南省人民医院 检验科, 湖南 长沙, 410000; 中山大学附属第五医院 ²肿瘤中心, ³临床检验科, 广东 珠海, 519000)

摘要: **目的** 探索小分子酪氨酸激酶抑制剂安罗替尼对鼻咽癌细胞的抗肿瘤作用及其潜在机制, 为临床应用安罗替尼治疗鼻咽癌提供可靠的实验证据。 **方法** 通过 CCK-8 实验和克隆形成实验检测不同剂量梯度安罗替尼对鼻咽癌细胞 6-10B 和 SUNE-1 的细胞活性、增殖能力的影响; 通过 Transwell 和划痕实验分析安罗替尼对鼻咽癌细胞侵袭及迁移能力的影响; 利用流式细胞术检测安罗替尼对鼻咽癌细胞周期及凋亡的影响; 采用 Western blotting 验证安罗替尼处理后鼻咽癌细胞凋亡相关蛋白的表达变化。 **结果** 在鼻咽癌细胞中加入安罗替尼处理后, 6-10B 实验组和 SUNE-1 实验组细胞存活分数降低, 细胞集落形成数量明显减少, 且呈显著的剂量依赖性, 在药物浓度为 $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可达约 50% 的增殖及克隆抑制率 ($P<0.01$)。 Western blotting 分析发现, 安罗替尼可能是由 Erk 通路介导线粒体通路激活, 促进鼻咽癌细胞凋亡, 且以药物浓度达到 $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时作用最为明显。 凋亡检测结果证实, $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼处理后的实验组较对照组具有更高的细胞凋亡率, 且以早期凋亡为主 ($P<0.001$)。 此外, $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼处理后的鼻咽癌细胞发生明显的周期分布改变, 6-10B 实验组和 SUNE-1 实验组均发生 G₂/M 期阻滞, 且 6-10B 实验组作用较为显著 ($P=0.0004$), 而 SUNE-1 实验组的变化无统计学意义 ($P=0.0723$)。 Transwell 和划痕实验结果表明, 实验组侵袭和迁移能力较对照组相比显著下降 ($P<0.05$)。 **结论** 安罗替尼可能通过 Erk 通路介导鼻咽癌细胞 6-10B 和 SUNE-1 的凋亡, 并抑制其增殖, 有望成为治疗鼻咽癌的新型靶向药物。

关键词: 安罗替尼; 鼻咽癌; 凋亡

中图分类号: R739.63 **文献标识码:** A

Anti-tumor activity and mechanism of the small molecular tyrosine kinase inhibitor anlotinib in nasopharyngeal cancer cells^{*}

XIE Wanying¹, ZHONG Guihua², WEI Wei², ZHOU Yuling², LI Cunyan¹, JIANG Guanmin^{3*}, LIU Zhigang^{2*}

(¹Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan, 410000, China; ²The Cancer Center, ³Department of Clinical Laboratory, the Fifth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Zhuhai, Guangdong, 519000, China)

Abstract: Objective To explore the anti-tumor effects of anlotinib, a small molecular tyrosine kinase inhibitor, on nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells and its potential mechanism, and to provide reliable experimental evidence for the clinical treatment of NPC with anlotinib. **Methods** The responses of serial dose gradients of anlotinib on the cell viability and proliferation of 6-10B and SUNE-1 cell lines were detected by cell proliferation viability assay and colony formation assay. Then, the downstream pathway proteins in cell lines after anlotinib treatment were visualized by Western blotting. The ef-

^{*}基金项目:北京市卫生健康公益基金(F3040C)。

作者简介:谢婉莹,女,硕士,检验师,研究方向:肿瘤靶向免疫治疗。

^{*}通信作者:刘志刚,男,博士,主任医师,研究方向:肿瘤学;江冠民,男,博士,主任技师,研究方向:肿瘤靶向免疫治疗。

fects of promoting apoptosis and inducing cell cycle arrest by anlotinib were confirmed through flow cytometry. The capacity of anlotinib in inhibiting migration and invasion of 6-10B and SUNE-1 cell lines was verified by transwell assay and wound healing assay. **Results** After treatment of anlotinib, cell viability and proliferation were inhibited in nasopharyngeal carcinoma 6-10B and SUNE-1 cell lines in a dose-dependent way, and the inhibition rate was up to 50% when then concentration of anlotinib was $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($P < 0.01$). Western blotting results showed that anlotinib might induce the cell apoptosis by activating the mitochondrial pathway and potentially the Erk pathway, with the highest apoptosis rate when the anlotinib concentration up to $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. The results of flow cytometry showed that $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ anlotinib induced remarkable cell apoptosis, with early apoptosis predominantly ($P < 0.001$). What's more, the nasopharyngeal carcinoma cells had obvious changes in cycle distribution after treated with $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ anlotinib. Both 6-10B and SUNE-1 cells had a G_2/M arrest, and there was a significant difference in 6-10B group ($P = 0.0004$), but no statistical differences in SUNE-1 group ($P = 0.0723$). By transwell assay and wound healing assay, the significant suppression of invasion and migration in 6-10B and SUNE-1 was definitude ($P < 0.05$). **Conclusion** This study indicated that anlotinib promoted the apoptosis and inhibited the proliferation of nasopharyngeal carcinoma cells 6-10B and SUNE-1 through the Erk pathway. It could be a potential target drug for nasopharyngeal carcinoma.

Keywords: Anlotinib; Nasopharyngeal carcinoma; Apoptosis

前言

鼻咽癌是常见的头颈部恶性肿瘤,其发病与EB病毒感染高度相关^[1-2]。鼻咽癌具有特殊的种族易感性和局部地理聚集现象,在全球范围内,鼻咽癌的发生主要集中在东南亚,尤其是中国华南地区^[1,3]。目前,鼻咽癌的标准治疗方案以放疗为主,患者5年总生存率可达80%以上^[4]。尽管放疗和化疗显著改善了鼻咽癌患者的预后,但小部分初诊晚期或复发转移患者由于其难治性而表现出高度恶性,总生存期(overall survival, OS)较短,极大地影响了患者的预后和生存质量^[5]。目前,初治晚期或复发转移性鼻咽癌的治疗方案仍以化疗为主,但效果欠佳。因此,亟需新的治疗方式来打破晚期鼻咽癌疗效不佳的困境。

安罗替尼是一种新型多靶点酪氨酸激酶受体抑制剂,主要通过抑制血管生成发挥抗肿瘤作用。临床前研究结果显示,安罗替尼作为多靶点抑制剂,主要对血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2),成纤维细胞生长因子受体1(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR-1)和血小板源性生长因子 β (platelet-derived growth factor- β , PDGF- β)呈现高度选择性抑制作用^[6-7]。此外,安罗替尼还可抑制PDGFR- α 、c-Kit、Met等其他靶点,具有显著的抗肿瘤活性^[8]。在不同肿瘤的体内和体外实验中,安罗替尼通过不同的作用机制和下游信号传导通路显示出优越的杀伤肿瘤的能力,也证实了其作用于多靶点的特性^[9-10]。一项临床试验证明,安罗替尼作为三线治疗可使晚

期非小细胞肺癌患者的无进展生存期(progression-free survival, PFS)延长3.6个月,OS延长3个月^[11]。

越来越多的研究表明,安罗替尼作为抗肿瘤药物具有良好的应用前景。然而,安罗替尼应用于晚期鼻咽癌的疗效尚无明确的临床试验研究予以证实。因此,本研究拟通过体外实验研究探索安罗替尼对鼻咽癌细胞的抗肿瘤作用及其潜在机制。

1 材料和方法

1.1 细胞及试剂 人鼻咽癌细胞系 6-10B 和 SUNE-1 保存于本实验室。RPMI 1640 培养基、胎牛血清、含 EDTA 的胰酶、青霉素和链霉素均购于美国 Gibco 公司; CCK-8 试剂盒购于美国 MedChemExpress 公司; Transwell 小室购于美国 Corning 公司; BCA 蛋白定量试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司; 细胞周期检测试剂盒和细胞凋亡检测试剂盒购于美国 BD 公司; β -actin(货号 4967)、PARP(货号 9532)、Cleaved PARP(货号 5625)、Bcl-2(货号 15071)、Erk(货号 4695)、p-Erk(货号 4370)抗体均购于美国 CST 公司。盐酸安罗替尼由中国正大天晴药业集团股份有限公司惠赠。

1.2 细胞培养 6-10B 和 SUNE-1 细胞培养于含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素的 RPMI 1640 培养基中,培养条件为:5% CO_2 、37 $^{\circ}\text{C}$ 。待细胞融合度为 80% ~ 90% 时,用胰酶消化、离心并传代。

1.3 细胞增殖实验 将对数生长期的 6-10B 和 SUNE-1 细胞消化、离心后,按 3000 个/孔的密度均匀接种于 96 孔板,置于孵箱中培养过夜,待细胞贴壁后,分别加入浓度为 0、0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

的安罗替尼,每个浓度设置6个重复孔,置于孵箱中培养24 h后,每孔加入10 μL CCK-8试剂继续孵育2 h,采用酶标仪检测细胞在450 nm波长处的吸光度。

1.4 克隆形成试验 将对数生长期的6-10B和SUNE-1细胞按400个/孔的密度均匀接种于6孔板,待细胞贴壁后,弃上清液,加入含0、0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼的培养基,置于孵箱中培养24 h,再加入不含安罗替尼的培养基培养9天,待形成明显的集落后,弃上清液,用4%多聚甲醛固定,0.05%结晶紫染色。

1.5 Transwell 实验 将6-10B和SUNE-1细胞用含0、2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼的培养基培养24 h,消化,离心,无血清培养基悬浮细胞,按20 000个/孔的浓度接种于小室,下室加入600 μL 含10%胎牛血清的培养基,置于恒温孵箱中培养24 h,4%多聚甲醛室温固定15 min,0.05%结晶紫染色15 min,轻轻拭去小室中未穿膜的细胞,PBS清洗,显微镜下拍照。

1.6 划痕实验 首先在6孔板背面均匀画3条横线,间隔0.5~1.0 cm。每孔加入 5×10^5 个细胞。将细胞培养过夜贴壁,待融合度达90%~100%时,用移液枪头垂直于背面的横线划痕,PBS清洗2次,加入含0、2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼的无血清培养基,置于恒温孵箱培养24 h后,取样、拍照。

1.7 细胞周期检测 将对数生长期的6-10B和SUNE-1细胞贴壁培养后,加入0、2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼继续培养24 h,胰酶消化离心后,PBS清洗2次,加入预冷的75%乙醇固定过夜,弃上清液,PBS清洗1次,加入PI/RNase染色缓冲液室温避光染色15 min,流式细胞仪检测细胞荧光,观察细胞周期的分布。

1.8 细胞凋亡检测 取对数生长期的6-10B和SUNE-1细胞接种至6孔板,将细胞培养过夜贴壁后,加入0、2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼继续培养24 h,消化并收集细胞,PBS清洗2次,加入Annexin V-FITC和PI,室温避光孵育15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.9 Western blotting 检测凋亡关键蛋白及相关蛋白的表达 加入0、1.0、2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼处理24 h后,消化并收集细胞,提取总蛋白,BCA试剂盒测定蛋白浓度,5 $\times$ loading buffer将样品稀释至同一浓度。将等量的细胞蛋白通过SDS-PAGE凝胶分离并湿转至PVDF膜,脱脂牛奶或BSA封闭1 h,加入一抗(1:1000稀释)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBST洗涤,加

入二抗室温孵育1 h,TBST洗涤,最后在PVDF膜上滴加发光液进行发光检测。

1.10 统计学分析 使用Graphpad prism 8.0进行统计学分析。计量资料用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 安罗替尼对鼻咽癌细胞生长和增殖的抑制作用 CCK-8实验结果表明,安罗替尼对鼻咽癌细胞系6-10B和SUNE-1的早期增长具有明显的抑制作用,且呈剂量依赖性,安罗替尼浓度为2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,可达到约50%的细胞增殖抑制率(图1A)。加入安罗替尼后,6-10B和SUNE-1细胞集落形成能力显著下降,且随着浓度的升高,抑制作用越明显,安罗替尼浓度为2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,6-10B实验组($P<0.0001$)和SUNE-1实验组($P=0.0029$)可达到约50%的克隆形成抑制率(图1B、C)。

2.2 安罗替尼促进鼻咽癌细胞的凋亡 Western blotting分析结果显示,经安罗替尼处理后,鼻咽癌细胞中凋亡相关蛋白Bcl-2表达水平降低、Cleaved PARP表达水平升高,并以2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼的作用较为显著,可明显抑制p-Erk蛋白的表达($P<0.05$)(图2A)。流式细胞术分析进一步证实,实验组鼻咽癌细胞凋亡率显著增加[6-10B对照组 vs. 实验组:(5.50 ± 0.68)% vs. (25.71 ± 1.48)% ($P<0.0001$);SUNE-1对照组 vs. 实验组:(5.72 ± 1.48)% vs. (32.97 ± 4.53)% ($P=0.0006$)],并以早期细胞凋亡率升高为主(图2B-E)。

2.3 安罗替尼对鼻咽癌细胞周期分布的影响 使用2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼处理后,鼻咽癌细胞出现显著的细胞周期分布变化,以 G_2/M 期阻滞为主,实验组 G_2/M 期细胞比例显著高于对照组[6-10B对照组 vs. 实验组:(15.84 ± 0.58)% vs. (26.98 ± 1.70)% ($P=0.0004$);SUNE-1对照组 vs. 实验组:(19.93 ± 2.04)% vs. (27.52 ± 5.02)% ($P=0.0723$)](图3)。

2.4 安罗替尼抑制鼻咽癌细胞侵袭和迁移 根据克隆形成实验结果,选择克隆形成抑制率约50%的2.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 安罗替尼处理组为实验组,不含安罗替尼的空白处理组为对照组。划痕实验结果显示,实验组细胞的迁移率显著低于对照组[6-10B对照组 vs. 实验组:(38.14 ± 3.11)% vs. (18.80 ± 8.43)% ($P=0.0203$);SUNE-1对照组 vs. 实验组:(38.55 ± 3.26)%

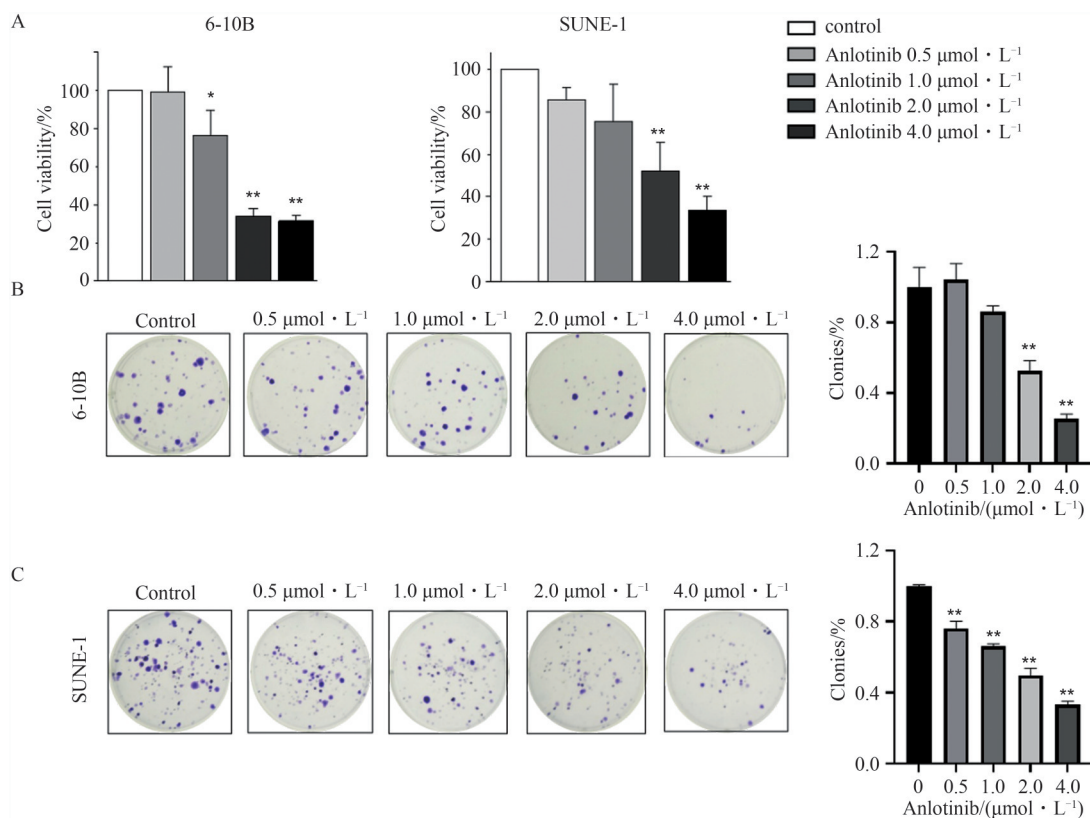


图1 CCK-8实验和克隆形成实验结果示:安罗替尼可抑制鼻咽癌细胞系6-10B和SUNE-1的生长和增殖,且该效应呈剂量依赖性(** $P < 0.01$)

Fig. 1 Cell proliferation viability assay and colony formation assay showed the inhibitory and dose-dependent pattern effects of NPC cell lines 6-10B and SUNE-1 with anlotinib treatment (** $P < 0.01$)

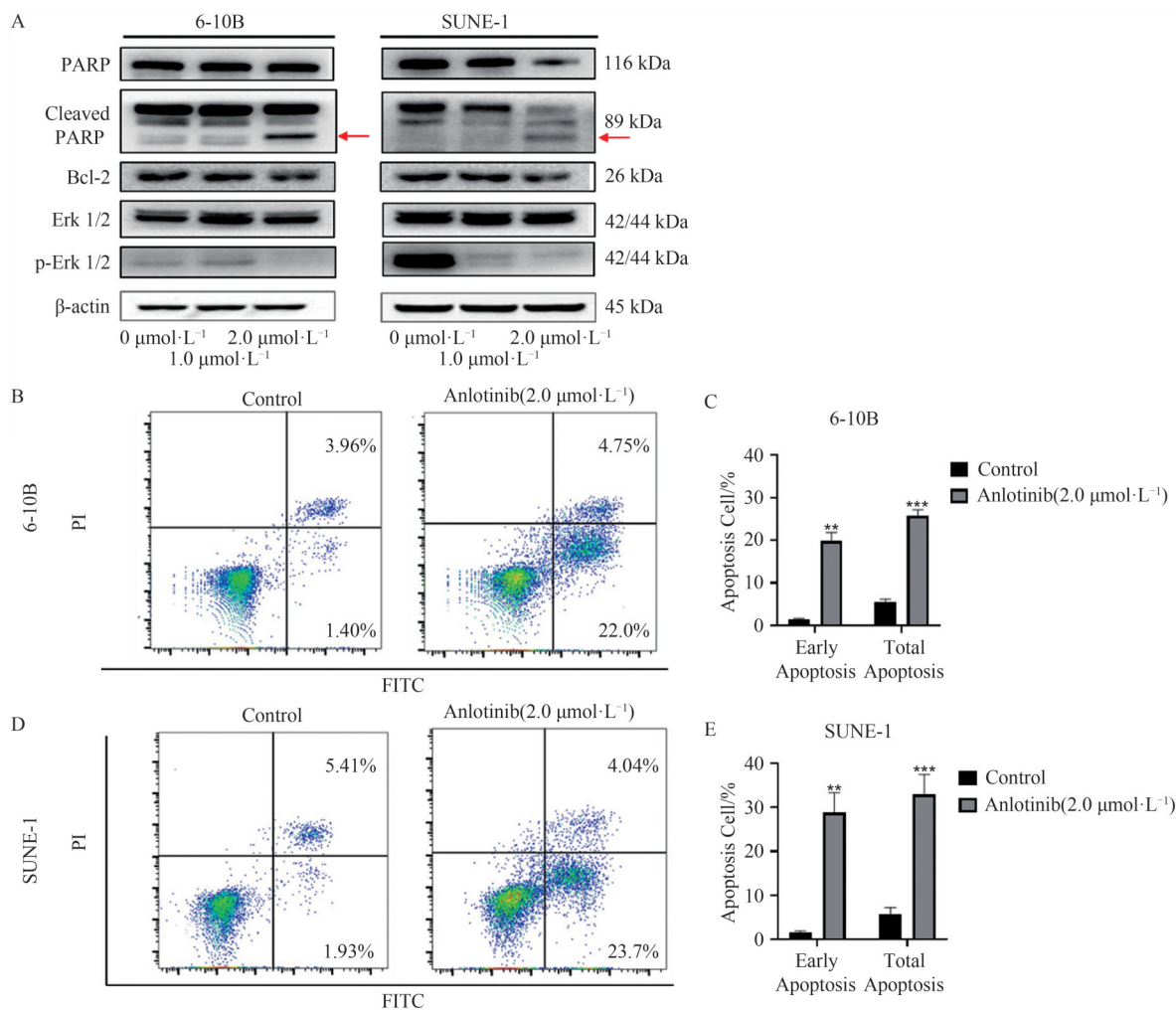
vs. $(25.13 \pm 7.37)\%$ ($P = 0.0408$)] (图4A、B)。经过24 h培养后,实验组发生侵袭的细胞数显著多于对照组,差异有统计学意义[6-10B对照组 vs. 实验组: (760.33 ± 57.12) vs. (220.33 ± 68.13) ($P = 0.0005$); SUNE-1 对照组 vs. 实验组: (423.33 ± 120.43) vs. (96.33 ± 14.64) ($P = 0.0095$)] (图4C、D)。

3 讨论

鼻咽癌是头颈部肿瘤中最常见的癌种,大部分患者初诊时即为局部晚期,经过标准的诱导化疗加同步放化疗后,患者的OS和预后可得到显著改善^[4,12]。然而,仍有部分初治晚期或复发转移的患者预后极差,短时间内病情迅速恶化。目前,针对初治晚期或复发转移性鼻咽癌患者的治疗方案大多以含铂双药化疗为主,但疗效欠佳^[13-14]。因此,迫切需要开发新的治疗策略来打破晚期复发转移性鼻咽癌的治疗僵局。多靶点酪氨酸激酶抑制剂是近年来肿瘤治疗的研究热点。已有临床试验结果表明,阿昔替尼在复发转移性鼻咽癌中具有明确的

疗效^[15],可获得与含铂双药化疗方案相似的疗效,表明多靶点酪氨酸激酶抑制剂在复发转移性鼻咽癌中有着良好的应用前景。而安罗替尼作为一种多靶点酪氨酸激酶抑制剂,在晚期恶性肿瘤包括肺癌、胃癌、胶质母细胞瘤、软组织肉瘤、肾细胞癌和肝癌中显示出巨大的治疗潜力。临床前研究表明,安罗替尼的主要靶点包括多种具有酪氨酸激酶活性的靶蛋白,如VEGFR-2、FGFR-1、PDGF- β 等^[6]。然而,安罗替尼在鼻咽癌中的疗效目前仍缺乏有效的研究予以证实。本研究旨在通过体外实验探索安罗替尼对鼻咽癌的治疗作用及潜在机制。

本研究结果表明,安罗替尼处理后,鼻咽癌细胞系6-10B和SUNE-1的生长和增殖受到显著抑制,显示了安罗替尼对鼻咽癌的高度抗肿瘤活性和潜在治疗价值。研究表明,抗血管生成药物可导致肿瘤适应并增加肿瘤局部浸润和远处转移的几率^[16]。而本研究结果显示,安罗替尼作为抗血管生成药物,能够降低鼻咽癌细胞的侵袭和迁移能力,或许能够克服抗血管生成药物的弊端。



注:(A) Western blotting 检测凋亡相关蛋白 PARP 和 Erk、p-Erk 的表达;(B-E) 安罗替尼处理 24 h 后,鼻咽癌细胞系 6-10B 和 SUNE-1 发生显著的细胞凋亡,并以早期凋亡为主。 ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

Note: (A) The expressions of apoptosis-related protein PARP, Erk, and p-Erk were visualized by Western blotting. (B-E) After 24 hours treatment of anlotinib, cell apoptosis rate was increased in NPC cell lines 6-10B and SUNE-1 with early apoptosis predominantly. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

图 2 安罗替尼通过 Erk 通路诱导细胞凋亡

Fig. 2 Anlotinib induced cell apoptosis through the Erk pathway

为了阐明安罗替尼杀伤鼻咽癌细胞的明确机制,本研究通过流式细胞术分析安罗替尼对鼻咽癌细胞周期及凋亡的作用,结果显示,安罗替尼能够显著改变鼻咽癌细胞周期分布,以 G_2/M 期阻滞为主,同时可显著诱导细胞凋亡,以早期凋亡为主。细胞周期调控是维持细胞稳定生长和增殖的一种极为复杂的分子和蛋白水平的调控。其中 $cdc2/CyclinB1$ 作为细胞周期检查点调控蛋白,参与细胞从 G_2 期向 M 期转化^[17],同时可影响细胞凋亡^[18]。动物细胞凋亡途径分为三种,分别为死亡受体配体通路、线粒体通路和内质网通路。Bcl-2 蛋白家族是线粒体介导的细胞凋亡的重要参与者,是细胞凋亡的标记蛋白,而 Bcl-2 蛋白位于线粒体外膜,可起到

抑制细胞凋亡的作用^[19]。多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)作为 DNA 损伤的反应蛋白,以 Caspase 家族切割底物的形式参与凋亡的发生^[20-21]。本研究结果显示,安罗替尼能够下调鼻咽癌细胞系 6-10B 和 SUNE-1 中 Bcl-2 的表达,同时上调 Cleaved PARP 的表达,表明其凋亡是通过线粒体途径发生的;同时,安罗替尼可抑制 p-Erk 的表达,表明其凋亡可能是通过抑制 Erk 的磷酸化介导的。

综上所述,多靶点酪氨酸激酶抑制剂可抑制鼻咽癌细胞系 6-10B 和 SUNE-1 的生长、增殖、侵袭和迁移,主要通过 G_2/M 期阻滞抑制细胞分裂周期、诱导细胞凋亡起作用,其促凋亡效应可能与 Bcl-2、

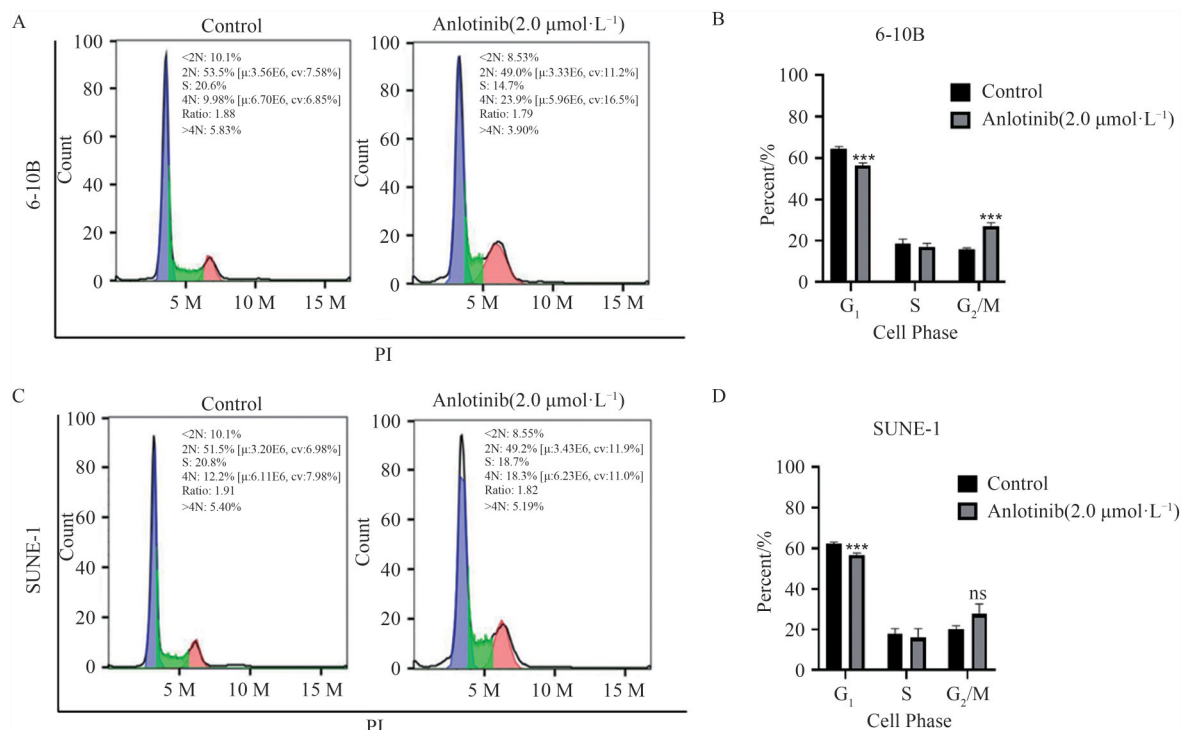


图3 安罗替尼处理 24 h 后,鼻咽癌细胞系 6-10B 和 SUNE-1 发生显著的细胞周期阻滞 (** $P < 0.001$)

Fig. 3 Cell cycle arrest detected by flow cytometry in NPC cell lines 6-10B and SUNE-1 after treatment of anlotinib for 24 h (** $P < 0.001$)

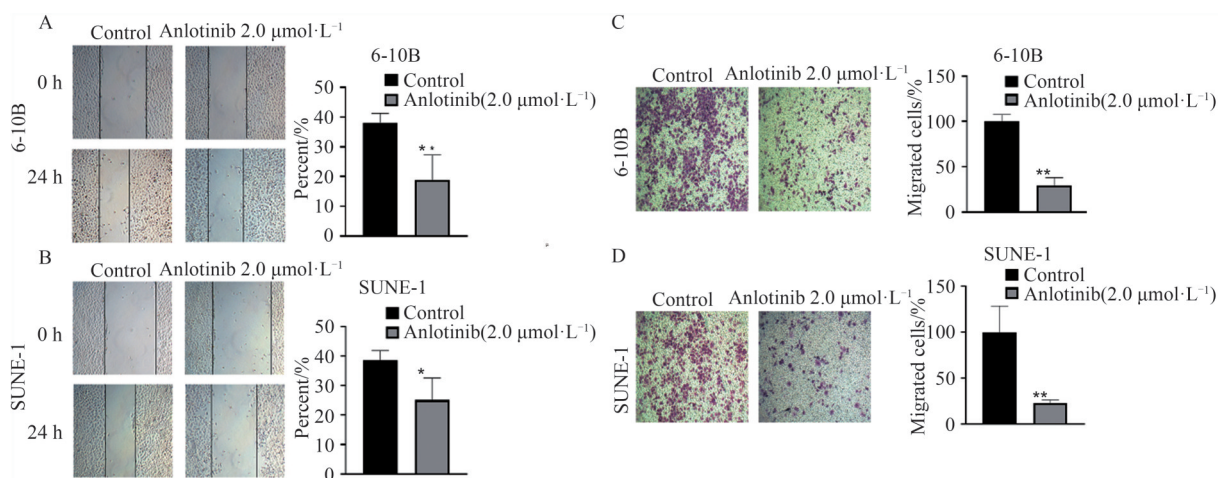


图4 安罗替尼降低鼻咽癌细胞系 6-10B 和 SUNE-1 的侵袭和迁移能力 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig. 4 Anlotinib suppressed the capability of invasion and pro-migration in NPC cell lines 6-10B and SUNE-1 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

PARP 及下游 Erk 通路相关,为安罗替尼体外作用于鼻咽癌细胞的初步探索以及临床应用安罗替尼治疗鼻咽癌提供了基础研究证据支持。

参考文献

- [1] CHEN Y P, CHAN A T C, LE Q T, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Lancet, 2019, 394(10192): 64-80. DOI: 10.1016/s0140-6736(19)30956-0.
- [2] FARRELL P J. Epstein-Barr virus and cancer [J]. Annu Rev Pathol, 2019, 14: 29-53. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-013023.
- [3] 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 A Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [4] LEE A W M, NG W T, CHAN L L K, et al. Evolution of treatment for nasopharyngeal cancer – success and setback in the intensity-modulated radiotherapy era [J]. Radiother Oncol, 2014, 110(3): 377-384. DOI: 10.1016/j.radonc.2014.02.003.
- [5] TSENG M, HO F, LEONG Y H, et al. Emerging radiotherapy technologies and trends in nasopharyngeal cancer [J]. Cancer Commun (Lond), 2020, 40(9): 395-405. DOI: 10.1002/cac2.12082.

- [6] LIN B, SONG X, YANG D, et al. Anlotinib inhibits angiogenesis via suppressing the activation of VEGFR2, PDGFR β and FGFR1 [J]. *Gene*, 2018, 654: 77–86. DOI: 10.1016/j.gene.2018.02.026.
- [7] XIE C, WAN X, QUAN H, et al. Preclinical characterization of anlotinib, a highly potent and selective vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibitor [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(4): 1207–1219. DOI: 10.1111/cas.13536.
- [8] SUN Y K, NIU W, DU F, et al. Safety, pharmacokinetics, and antitumor properties of anlotinib, an oral multi-target tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced refractory solid tumors [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 105. DOI: 10.1186/s13045-016-0332-8.
- [9] WANG G, SUN M, JIANG Y, et al. Anlotinib, a novel small molecular tyrosine kinase inhibitor, suppresses growth and metastasis via dual blockade of VEGFR2 and MET in osteosarcoma [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(4): 979–993. DOI: 10.1002/ijc.32180.
- [10] DENG Z M, LIAO W, WEI W, et al. Anlotinib as a promising inhibitor on tumor growth of oral squamous cell carcinoma through cell apoptosis and mitotic catastrophe [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 37. DOI: 10.1186/s12935-020-01721-x.
- [11] HAN B H, LI K, ZHAO Y Z, et al. Anlotinib as a third-line therapy in patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: a multicentre, randomised phase II trial (AL-TERR0302) [J]. *Br J Cancer*, 2018, 118(5): 654–661. DOI: 10.1038/bjc.2017.478.
- [12] ZHANG Y, CHEN L, HU G Q, et al. Gemcitabine and cisplatin induction chemotherapy in nasopharyngeal carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(12): 1124–1135. DOI: 10.1056/nejmoa1905287.
- [13] ZHANG L, HUANG Y, HONG S, et al. Gemcitabine plus cisplatin versus fluorouracil plus cisplatin in recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma: a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2016, 388(10054): 1883–1892. DOI: 10.1016/s0140-6736(16)31388-5.
- [14] CHEN X, LIANG W, WAN N, et al. Cost-effectiveness analysis of gemcitabine plus cisplatin versus fluorouracil plus cisplatin for first-line treatment of recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oral Oncol*, 2019, 94: 80–85. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2019.04.022.
- [15] HUI E P, MA B B Y, LOONG H H F, et al. Efficacy, safety, and pharmacokinetics of axitinib in nasopharyngeal carcinoma: a preclinical and phase II correlative study [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(5): 1030–1037. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1667.
- [16] PÀEZ-RIBES M, ALLEN E, HUDOCK J, et al. Antiangiogenic therapy elicits malignant progression of tumors to increased local invasion and distant metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(3): 220–231. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.01.027.
- [17] GAVET O, PINES J. Progressive activation of CyclinB1-Cdk1 coordinates entry to mitosis [J]. *Dev Cell*, 2010, 18(4): 533–543. DOI: 10.1016/j.devcel.2010.02.013.
- [18] HARLEY M E, ALLAN L A, SANDERSON H S, et al. Phosphorylation of Mcl-1 by CDK1 - cyclin B1 initiates its Cdc20-dependent destruction during mitotic arrest [J]. *EMBO J*, 2010, 29(14): 2407–2420. DOI: 10.1038/emboj.2010.112.
- [19] OLA M S, NAWAZ M, AHSAN H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351(1/2): 41–58. DOI: 10.1007/s11010-010-0709-x.
- [20] DECKER P, MULLER S. Modulating poly (ADP-ribose) polymerase activity: potential for the prevention and therapy of pathogenic situations involving DNA damage and oxidative stress [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2002, 3(3): 275–283. DOI: 10.2174/1389201023378265.
- [21] AREDIA F, SCOVASSI A I. Poly(ADP-ribose): a signaling molecule in different paradigms of cell death [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 92(1): 157–163. DOI: 10.1016/j.bcp.2014.06.021.

收稿日期: 2021-06-10 校稿: 王娟 李征

本文引用格式: 谢婉莹, 钟桂华, 魏威, 等. 小分子酪氨酸激酶抑制剂安罗替尼对鼻咽癌细胞的抗肿瘤活性及其机制[J]. *肿瘤药学*, 2022, 12(1): 46–52. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.01.07.

Cite this article as: XIE Wanying, ZHONG Guihua, WEI Wei, et al. Anti-tumor activity and mechanism of the small molecular tyrosine kinase inhibitor anlotinib in nasopharyngeal cancer cells[J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2022, 12(1): 46–52. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.01.07.