

· 论 著 ·

## 鞣酸通过下调 TMEM16A 的表达抑制人结肠癌细胞 SW620 细胞的增殖\*

李尚坤<sup>1</sup>, 傅仲学<sup>2</sup>, 文坤明<sup>2</sup>, 吴星烨<sup>2</sup>

(重庆医科大学附属第一医院:1. 麻醉科;2. 胃肠外科 400016)

**摘要:**目的 探讨鞣酸对人结肠癌 SW620 细胞增殖及 TMEM16A mRNA 与蛋白水平的影响。方法 将对数生长期的人结肠癌细胞 SW620 分为 3 组,分别是鞣酸低剂量组(50  $\mu\text{mol/L}$ )及高剂量组(100  $\mu\text{mol/L}$ ),以及二甲基亚砜(DMSO)作为空白对照组,培养 48、72 h。MTT 法检测细胞的增殖情况,流式细胞仪测定细胞周期的分布及凋亡情况,RT-PCR 和 Western blot 分别检测 TMEM16A 的 mRNA 水平和蛋白水平。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK 检验。**结果** MTT 结果显示:鞣酸处理能显著抑制 SW620 的增殖。高剂量组对 SW620 细胞的抑制作用比低剂量大。处理 48 h,高剂量组比低剂量组抑制作用明显( $t=15.35, P<0.01$ );处理 72 h,高剂量组同样比低剂量组抑制作用明显( $t=22.32, P<0.01$ )。流式细胞检测结果显示:与对照组相比,各个剂量组都能显著将 SW620 细胞抑制在  $G_0/G_1$  期和 S 期( $F=6782.1, 1509.3, P<0.01$ ), $G_2/M$  期的细胞比例差异无统计学意义( $F=1.37, P>0.05$ )。各个剂量组处理后,凋亡率差异有统计学意义( $F=545.3, P<0.01$ )。与对照组比较,鞣酸高剂量组的 3H-TdR、3H-Leucine 掺入量在 48、72 h 均明显低于对照组( $P<0.05$ )。鞣酸低剂量组药物干预 48、72 h 后 TMEM16A mRNA 相对表达量分别为  $0.63 \pm 0.01$  和  $0.62 \pm 0.01$ ;鞣酸高剂量组药物干预 48、72 h TMEM16A mRNA 相对表达量分别为  $0.58 \pm 0.01$  和  $0.50 \pm 0.01$ ,均低于空白对照组的  $0.85 \pm 0.01$ ( $F=7.645, P<0.05$ )。鞣酸低剂量组药物干预 48、72 h 后 TMEM16A 蛋白相对表达量分别为  $0.68 \pm 0.14$  和  $0.65 \pm 0.12$ ;鞣酸高剂量组药物干预 48、72 h TMEM16 蛋白相对表达量分别为  $0.64 \pm 0.15$  和  $0.63 \pm 0.11$ ,低于空白对照组的  $1.28 \pm 0.06$ ( $F=4.508, P<0.05$ )。**结论** 鞣酸能明显抑制人结肠癌细胞 SW620 细胞的增殖,将其细胞周期阻滞于  $G_1 \sim S$  期,并下调 TMEM16A 的 mRNA 及蛋白水平。

**关键词:**鞣酸;结肠癌细胞;细胞周期

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.01.002

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)01-0005-04

## Tannic acid inhibits the proliferation of SW620 cell lines by downregulating TMEM16A expression\*

Li Shangkun<sup>1</sup>, Fu Zhongxue<sup>2</sup> $\Delta$ , Wen Kunming<sup>2</sup>, Wu Xingye<sup>2</sup>

(1. Department of Anesthesiology; 2. Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of Tannic acid on the proliferation of human colon cancer SW620 cell line and the mRNA and protein levels of TMEM16A. **Methods** Human colon cancer cell line SW620 were divided into the low dose(50  $\mu\text{mol/L}$ ), high dose(100  $\mu\text{mol/L}$ ), they were cultured for 48 h or 72 h separately. Control groups were cultured in the medium with DMSO. The proliferation of SW620 cell line was detected by the MTT assay at different time points(48 h or 72 h). The cell cycle and apoptosis in the Tannic acid -treated groups were detected by flow cytometry. RT-PCR and Western blotting were used to determine the mRNA and protein levels of TMEM16A separately. All data were analyzed using the one-way analysis of variance (ANOVA), SNK test by the SPSS software. **Results** Compared with the control group, the proliferation of SW620 cell line was significantly inhibited after the treatment by Tannic acid at the concentration of 50  $\mu\text{mol/L}$  and 100  $\mu\text{mol/L}$  for 48 h or 72 h( $t=15.35, P<0.01; t=22.32, P<0.01$ ). Determined by flow cytometry, after treated with Tannic acid, the numbers of SW620 cells were inhibited in the  $G_0/G_1$  phase and the S phase( $F=6782.1, 1509.3, P<0.01$ ), and the numbers of SW620 cells in  $G_2/M$  phase were not varied in each group( $F=1.37, P>0.05$ ), and increased apoptotic rate when compared with control group( $F=545.3, P<0.01$ ). The value of 3H-TdR and 3H-Leucine incorporation of SW620 cells treated with Tannic acid(100  $\mu\text{mol/L}$ ) 48 h and 72 h separately, were obviously decreased as compared with that of control group( $P<0.05$ ). In the low dose treated groups(50  $\mu\text{mol/L}$ ), the mRNA levels in 48 h group and 72 h group were( $0.633 \pm 0.009$ ) and( $0.621 \pm 0.011$ ), and in the high dose treated groups(100  $\mu\text{mol/L}$ ), the mRNA levels in 48 h group( $0.64 \pm 0.15$ ) and 72 h group( $0.63 \pm 0.11$ ), were lower than the control group( $F=7.645, P<0.05$ ). After treating SW620 with Tannic acid for 48 h and 72 h, in the low dose groups, the protein expression of TMEM16A were( $0.68 \pm 0.14$ ) and( $0.65 \pm 0.12$ ), and in the high dose groups, the protein expression of TMEM16A were( $0.64 \pm 0.15$ ) and( $0.63 \pm 0.11$ ) were decreased when compared with the control group( $1.28 \pm 0.06$ )( $F=4.508, P<0.05$ ). **Conclusion** Tannic acid arrested SW620 at  $G_1$ -S phase and decrease the mRNA and protein expression of TMEM16A.

**Key words:** tannic acid; human colon cancer cell; cell cycle

结肠癌是一种常见的高发消化道肿瘤,全球每年新发病例约 800 万人,占有恶性肿瘤的 10%~15%,其病死率仅次于肺癌和肝癌,严重危及人类生命健康。离子通道的异常表达在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用。8 次跨膜蛋白 TMEM16A 属于 TMEM16 膜蛋白家族,是钙激活依赖性的氯离子通道的分子基础,在颈部鳞癌和胃肠间质瘤中异常高表达。TMEM16A 虽然没有直接的致癌作用,但可能参与了细胞增殖和肿瘤的发展。有研究结果发现,植物多元酚类化合物鞣酸具有抗癌、抗氧化、抗诱变等作用。鞣酸能否通过抑制 TMEM16A,影响结肠癌 SW620 细胞的增殖和凋亡,尚未证实。本研究通过观察鞣酸处理对结肠癌 SW620 细胞中 TMEM16A 表达和细胞周期的影响,探讨鞣酸对结肠癌的可能作用机制,为其防治结肠癌提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 人结肠癌细胞 SW620 购自中国科学院上海生物化学和细胞生物学研究所,鞣酸购自美国 Acros Organics 公司, TMEM16A 和  $\beta$ -actin 引物购自大连宝生物工程有限公司, TMEM16A 抗体购自美国 Abcam 公司 (Cat: ab53212), MTT 试剂购自 Sigma-Aldrich 公司, 3H-TdR 和 3H-Leucine (放化纯度 >95%, 放射性浓度  $369 \times 1010$  Bq/L) 购于北京原子能研究所。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养与分组** SW620 细胞置于含 10% 小牛血清,  $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI-1640 培养液中,  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养。取对数生长期的 SW620 细胞, 调整细胞浓度至  $2 \times 10^4$  /mL, 按每孔 0.1 mL 接种于 96 孔细胞培养板中。设立空白对照组采用二甲亚砜 (DMSO) 处理, 以及参照文献<sup>[1-2]</sup> 设立鞣酸低剂量组 (50  $\mu\text{mol/L}$ ) 与高剂量组 (100  $\mu\text{mol/L}$ ), 分别干预 48、72 h, 每组设 3 个复孔。

**1.2.2 MTT 法检测** 取对数生长期的结肠癌 SW620 细胞制成  $2 \times 10^4$  /mL 细胞悬液, 按照 0.1 mL/孔接种于 96 孔细胞培养板中, 置  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h, 每组细胞分别用高剂量或低剂量鞣酸干预 48、72 h 后, 每孔加 MTT 液 (5 mg/mL) 20  $\mu\text{L}$ ,  $37^\circ\text{C}$  孵育 4 h, 弃去上清液, 加入 200  $\mu\text{L}$  DMSO, 振荡器振荡 5 min 后于酶联免疫检测仪上测量其波长 490 nm 比色吸光度值。取 3 个复孔的平均数, 计算细胞抑制率。细胞抑制率 = (1 - 用药物 OD 值 / 对照组 OD 值)  $\times 100\%$ 。

**1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期及凋亡率** 细胞分组后,  $37^\circ\text{C}$  培养 24 h, 每组细胞用高剂量或低剂量鞣酸干预 48、72 h 后收集细胞制成  $5 \times 10^6$  个/mL 细胞悬液, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤 3 次, 预冷的 70% 乙醇  $4^\circ\text{C}$  固定过夜, 弃去固定液, 加入 50  $\mu\text{g/mL}$  碘化丙啶 (PI) 溶液,  $4^\circ\text{C}$  固定 30 min 后, 上机检测细胞周期, 采用氩离子激发荧光, 激发波长为 488 nm, 发射光波波长大于 630 nm。参照试剂说明书, 应用 Annexin V/PI 双染色法检测细胞凋亡率, 采用 Cell Quest 软件分析实验数据。

**1.2.4 3H-TdR 和 3H-Leucine 掺入试验** 根据 MTT 法检测鞣酸最佳药物处理浓度为 100  $\mu\text{mol/L}$ 。将鞣酸高剂量组和空白对照组细胞, 置于含 5% 胎牛血清 RPMI-1640 培养液中培养 2 h 后换为无血清的 RPMI-1640 培养液培养 12 h, 然后各组加入 3H-TdR 和 3H-Leucine 10  $\mu\text{L}$ 。分别于 48、72 h 用 PBS 漂洗 1 次, 甲醇固定 10 min, 无水乙醇固定 10 min, 最后加 0.1

mol/L 的 NaOH 200  $\mu\text{L}$ , 吹打后过夜, 次日测定 3H 的放射强度。每组设 3 个复孔, 重复上述实验 3 次。

**1.2.5 RNA 提取及 RT-PCR 检测** 按照 Invitrogen 公司 Trizol 试剂说明书提取各组细胞总 RNA。按照试剂说明书, 进行 RT-PCR 检测。参照文献<sup>[3]</sup> 合成 TMEM16A 引物序列: 上游 5'-TCG GCC CGG TGA CTA CGT GTA CAT C-3', 下游 5'-GGC TCT GTC TGC GCA GCT TCA GGT A-3'。 $\beta$ -actin 引物序列: 上游 5'-ACC CCG TGC TGC TGA CCG AG-3', 下游 5'-TCC CGG CCA GCC AGG TCC A-3'。基因扩增条件为:  $94^\circ\text{C}$  45 s,  $60^\circ\text{C}$  45 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 扩增 40 个循环。PCR 产物行 1.5% 琼脂糖 (0.03% 溴化乙锭) 电泳, 而后采用 Bio-Rad Imaging Densitometer Quantity One-4.1.0 系统扫描并分析电泳图像。

**1.2.6 蛋白提取及蛋白免疫印迹法 (Western Blot) 检测** 提取各组细胞总蛋白, 用 BCA 法检测蛋白浓度。蛋白变性后每孔上样 50  $\mu\text{g}$ , 经 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 一抗 (TMEM16A 抗体 1 : 1000)  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜, TBST 洗膜 10 分钟/次, 洗 3 次, 室温下孵育二抗 2 h, TBST 漂洗洗膜 10 分钟/次, 洗 3 次, 采用 ECL 化学发光法显色, 最后采用 Quantity one 软件对条带进行分析。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS17.0 统计软件进行分析, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK 法; 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 鞣酸对人结肠癌细胞 SW620 细胞增殖的抑制作用** MTT 结果显示, 鞣酸处理能显著抑制 SW620 的增殖。高剂量组对 SW620 细胞的抑制作用比低剂量组大。处理 48 h, 高剂量组比低剂量组抑制作用明显 ( $t = 15.35, P < 0.01$ ); 处理 72 h, 高剂量组同样比低剂量组抑制作用明显 ( $t = 22.32, P < 0.01$ ), 见表 1。

表 1 不同浓度鞣酸处理 SW620 细胞不同时间后的增值抑制率 (% ,  $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

鞣酸浓度 ( $\mu\text{mol/L}$ )	48 h	72 h
鞣酸低剂量组	11.47 $\pm$ 1.57	29.52 $\pm$ 1.05
鞣酸高剂量组	28.12 $\pm$ 2.14	53.36 $\pm$ 2.40
<i>t</i>	15.35	22.32
<i>P</i>	< 0.01	< 0.01

**2.2 鞣酸对人结肠癌细胞 SW620 细胞周期和凋亡的影响** 处于细胞周期  $G_0/G_1$  期各组均有差异 ( $P < 0.05$ ), 空白对照组 (DMSO) < 鞣酸低剂量组 (48 h) < 鞣酸低剂量组 (72 h) < 鞣酸高剂量组 (48 h) < 鞣酸高剂量组 (72 h); 处于细胞周期 S 期各组均有差异 ( $P < 0.05$ ), 为空白对照组 (DMSO) < 鞣酸低剂量组 (72 h) < 鞣酸低剂量组 (48 h) < 鞣酸高剂量组 (48 h) < 鞣酸高剂量组 (72 h); 而处于细胞周期  $G_2/M$  期各组比例差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 其凋亡率各组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 空白对照组 (DMSO) < 鞣酸低剂量组 (48 h) < 鞣酸低剂量组 (72 h) < 鞣酸高剂量组 (48 h) < 鞣酸高剂量组 (72 h)。见表 2。

表 2 各组人结肠癌 SW620 细胞处理 48、72 h 后细胞周期分布比较(%,  $\bar{x} \pm s, n=6$ )

鞣酸浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> 期	S 期	G <sub>2</sub> /M 期	凋亡率
空白对照组(DMSO)	48.20±0.16	11.52±0.17	23.77±0.38	1.56±0.08
鞣酸低剂量组(48 h)	60.20±0.20	16.59±0.28	23.86±0.27	3.30±0.21
鞣酸低剂量组(72 h)	62.12±0.13	13.60±0.15	23.99±0.40	3.84±0.19
鞣酸高剂量组(48 h)	65.36±0.42	19.31±0.28	24.07±0.48	5.49±0.22
鞣酸高剂量组(72 h)	71.41±0.23	20.32±0.26	24.21±0.24	8.20±0.46
F	6 782.1	1 509.3	1.37	545.3
P	<0.01	<0.01	0.272	<0.01

2.3 鞣酸对人结肠癌细胞 SW620 3H-TdR 和 3H-Leucine 掺入量的影响 根据 MTT 的结果,选择高剂量组进行掺入量实验。结果显示,3H-TdR 掺入量各组均有差异( $P<0.05$ ),为鞣酸高剂量组(72 h)<鞣酸高剂量组(48 h)<空白对照组(48 h)<空白对照组(72 h);3H-Leucine 掺入量各组均有差异( $P<0.05$ ),为鞣酸高剂量组(72 h)<鞣酸高剂量组(48 h)<空白对照组(48 h)<空白对照组(72 h)。见表 3。

表 3 各组人结肠癌细胞 SW620 3H-TdR 和 3H-Leucine 掺入量情况(counts · min<sup>-1</sup> · well<sup>-1</sup>,  $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	3H-TdR	3H-Leucine
空白对照组(48 h)	3 953.05±138.95	1 011.04±105.92
空白对照组(72 h)	4 435.55±175.30	1 288.09±133.38
鞣酸高剂量组(48 h)	1 662.29±116.20	474.55±74.52
鞣酸高剂量组(72 h)	254.79±53.57	261.02±50.48
F	1 394.62	144.94
P	<0.01	<0.01

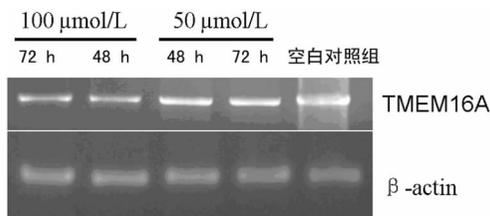
2.4 鞣酸对人结肠癌细胞 SW620 中 TMEM16A mRNA 的影响 鞣酸低剂量组人结肠癌细胞 SW620 鞣酸干预 48、72 h 后, TMEM16A mRNA 相对表达量分别为 0.64±0.01 和 0.61±0.02,与空白对照组的 0.86±0.01 比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。鞣酸高剂量组人结肠癌细胞 SW620 鞣酸干预 48、72 h 后, TMEM16A mRNA 相对表达量分别为 0.59±0.03、0.53±0.02,与空白对照组为 0.86±0.01 比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 4、图 1。

表 4 各组 TMEM16A mRNA 的表达情况( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鞣酸低剂量组	鞣酸高剂量组
空白对照组	0.855 0±0.029 6	0.855 0±0.029 6
48 h 组	0.637 1±0.022 4	0.590 1±0.022 5
72 h 组	0.606 8±0.009 6	0.529 7±0.029 6
F	222.537	163.484
P	<0.01	<0.01

2.5 鞣酸对人结肠癌细胞 SW620 中 TMEM16A 蛋白水平的影响 鞣酸低剂量组人结肠癌细胞 SW620 鞣酸干预 48、72 h 后, TMEM16A 蛋白的相对表达量无明显差异,分别为 0.72±0.05、0.67±0.05,但比空白对照组的 1.29±0.03 明显降低,

差异有统计学意义( $P<0.01$ )。鞣酸高剂量组人结肠癌细胞 SW620 鞣酸干预 48、72 h 后, TMEM16A 蛋白的相对表达量无明显差异,分别为 0.65±0.06、0.58±0.05,但比空白对照组显著降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见表 5、图 2。

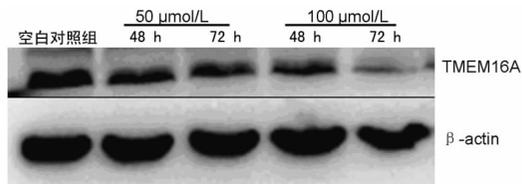


TMEM:196 bp;β-actin:249 bp。

图 1 RT-PCR 检测各组人结肠癌细胞 SW620 中 TMEM16A mRNA 的表达

表 5 各组 TMEM16A 蛋白水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	低剂量	高剂量
空白对照组	1.292 7±0.074 9	1.292 7±0.074 9
48 h 组	0.718 5±0.126 3	0.654 7±0.139 2
72 h 组	0.666 6±0.123 1	0.577 2±0.120 0
F	59.197	70.449
P	<0.01	<0.01



TMEM:114 kd;β-actin:43 kd。

图 2 Western blot 检测各组人结肠癌细胞 SW620 中 TMEM16A 蛋白的表达

### 3 讨论

随着人们生活水平的提高和饮食结构的丰富,结肠癌的发病率呈逐年上升趋势,其发病机制目前尚未完全阐明<sup>[4]</sup>。流行病学资料及基础研究结果表明:结肠癌的发生、发展与多个致癌基因激活和抑癌基因的失活,以及细胞增殖、凋亡和迁移的失衡等多方面因素有关<sup>[5]</sup>。多数学者将肿瘤治疗的靶点指向细胞周期调控因子,早期研究者即指出酵母 CDC28 基因在细胞周期 G<sub>2</sub>/M 转换过程中发挥重要作用,并提出当 DNA 发生

损伤时,DNA 的复制将不能完成<sup>[6]</sup>。离子通道作为细胞膜上的亲水性蛋白质微孔道,受机体多种因子调控。表皮生长因子和胰岛素等均可以通过信号转导通路直接或间接作用于离子通道,从而对肿瘤细胞膜电位、细胞周期、胞内钙离子浓度及细胞体积进行调节,影响肿瘤细胞的增殖、凋亡及迁移。近来发现氯离子通道与肿瘤的周期调控及细胞迁移密切相关。氯离子通道主要调节细胞容积并保持胞内囊泡腔电中性,是正常细胞的生长和增殖不可或缺的元件。跨膜蛋白 TMEM16A 是钙激活活性的氯离子通道的分子基础,有研究结果证实 TMEM16A 参与了各种病理过程氯离子通道中钙离子激活过程。而钙活化的氯离子通道被证实是一种前凋亡蛋白,在结肠癌组织中低表达,在正常结肠组织中高表达,钙通道可能是一类新的肿瘤抑制因子。Xu 等<sup>[7]</sup>在果蝇中发现 TMEM16A 点突变后会导致染色体不分离而影响减数分裂。

鞣酸是一种高度可溶性植物多元酚类化合物,70% 以上的中草药成分中含有鞣质类化合物。鞣酸能显著延缓如癌症等蛋白毒性有关的病理过程,其在肿瘤治疗的药理价值逐渐被重视。Namkung 等<sup>[8]</sup>发现鞣酸能明显抑制 TMEM16A 电流,而不影响钠离子转运体囊性纤维化跨膜传导调节因子与上皮钠离子通道的功能,以及 ATP 和离子霉素诱发的胞内钙离子浓度。Marienfeld 等<sup>[9]</sup>的研究结果也发现鞣酸能诱导肿瘤细胞的凋亡,进而抑制胆管癌细胞的生长。但鞣酸能否抑制结肠癌细胞的生长及其可能的机制目前尚不清楚。

本研究发现,MTT 结果与空白对照组相比较,鞣酸能明显抑制人结肠癌细胞 SW620 的增殖。相同药物干预时间下,鞣酸高剂量组抑制细胞增殖作用比鞣酸低剂量组强;相同药物浓度处理下,干预 72 h 后抑制细胞增殖效率比 48 h 强。流式细胞学检测的结果显示鞣酸能显著抑制人结肠癌细胞 SW620 由 S 期向 G<sub>2</sub> 期转化,将肿瘤细胞停滞在 G<sub>1</sub>~S 期,这表明鞣酸通过抑制肿瘤细胞的有丝分裂从而阻止肿瘤的增殖。3H-TdR 反映细胞 DNA 代谢及细胞增殖的情况,而 3H-Leucine 掺入量可以反映细胞蛋白质合成的速度<sup>[10]</sup>。鞣酸干预后人结肠癌细胞 SW620 中 3H-TdR 和 3H-Leucine 掺入量明显降低,这说明鞣酸可抑制人结肠癌细胞 SW620 的 DNA 复制和蛋白质的合成,使细胞有丝分裂的合成原料减少,并且抑制了肿瘤中生物大分子的合成并抑制肿瘤细胞增殖,最终使人结肠癌细胞 SW620 的生长受到抑制。为进一步探讨鞣酸影响结肠癌细胞增殖的机制,本研究运用 RT-PCR 和 Western blot 分别检测了 TMEM16A mRNA 及蛋白的表达水平,发现鞣酸可以抑制 TMEM16A 的 mRNA 水平及蛋白表达,这说明鞣酸可能是 TMEM16A 的潜在抑制剂。鞣酸可能通过抑制 TMEM16A 的表达,将人结肠癌细胞 SW620 细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub>-S 期;但是鞣酸是否能够直接影响 TMEM16A 的电流,最终影响肿瘤细胞的迁移,有待进一步研究。

肿瘤的发生、发展并非单一离子通道的作用,可能是多个离子通道协同作用,以及离子通道与其他病理途径相互影响的综合作用过程。TMEM16A 在肿瘤发生发展的具体作用机制、TMEM16A 的特异性的抑制剂,以及鞣酸对结肠癌的细胞的抑制作用是否依赖于 TMEM16A,将是未来研究的方

向<sup>[11-12]</sup>。本研究结果为进一步研究鞣酸对 TMEM16 家族在结肠癌发生、发展中的作用机制,以及以离子通道作为结肠癌治疗靶点的药物研发提供了新的思路及理论基础。

#### 参考文献:

- [1] Cass CA, Burg KJ. Tannic acid cross-linked collagen scaffolds and their anti-cancer potential in a tissue engineered breast implant[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2012, 23(1/4):281-298.
- [2] 童强, 陈滋华, 吴清明, 等. 鞣酸对人食管癌细胞系 EC9706 的抑制作用[J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2006, 35(2):274-276.
- [3] O'Driscoll KE, Pipe RA, Britton FC. Increased complexity of Tmem16a/Anoctamin 1 transcript alternative splicing[J]. *BMC Mol Biol*, 2011, 12:35.
- [4] 顾晋, 杜长征. 结肠癌术后复发的研究进展[J]. *中华消化外科杂志*, 2008, 7(3):167-169.
- [5] Meropol NJ, Berger NA. Colon cancer recurrence: insights from the interface between epidemiology, laboratory science, and clinical medicine[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2012, 104(22):1697-1698.
- [6] Chymkowitch P, Enserink J M. The cell cycle rallies the transcription cycle: Cdc28/Cdk1 is a cell cycle-regulated transcriptional CDK[J]. *Transcription*, 2013, 4(1):3-6.
- [7] Xu Z, Du P, Meiser P, et al. Proanthocyanidins: oligomeric structures with unique biochemical properties and great therapeutic promise[J]. *Nat Prod Commun*, 2012, 7(3):381-388.
- [8] Namkung W, Thiagarajah JR, Phuan PW, et al. Inhibition of Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> channels by gallotannins as a possible molecular basis for health benefits of red wine and green tea[J]. *FASEB J*, 2010, 24(11):4178-4186.
- [9] Marienfeld C, Tadlock L, Yamagiwa Y, et al. Inhibition of cholangiocarcinoma growth by tannic acid[J]. *Hepatology*, 2003, 37(5):1097-1104.
- [10] Wang HX, Zhang QF, Zeng XJ, et al. Effects of angiotensin III on protein, DNA, and collagen synthesis of neonatal cardiomyocytes and cardiac fibroblasts in vitro[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2010, 15(4):393-402.
- [11] Duvvuri U, Shiwarski D J, Xiao D, et al. TMEM16A induces MAPK and contributes directly to tumorigenesis and cancer progression[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(13):3270-3281.
- [12] Tien J, Lee HY, Minor DL, et al. Identification of a dimerization domain in the TMEM16A calcium-activated chloride channel(CaCC)[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(16):6352-6357.