

• 实验研究 •

吲哚-3-甲醇抑制鼻咽癌细胞体内和体外生长的研究*

毛承刚¹ 万俐佳¹ 周小淳¹ 鲁海涛¹ 姜义道¹ 陶泽璋²

[摘要] 目的:研究吲哚-3-甲醇(I3C)在体内和体外实验中对鼻咽癌细胞的抑制作用及其可能的机制。方法:在体外实验中,以 0、100、200、300 $\mu\text{mol/L}$ 不同浓度的 I3C 分别作用于人鼻咽癌 CNE2 细胞株 0、24、48 和 72 h 后,检测细胞增殖能力。检测各浓度 I3C 处理 CNE2 细胞株 48 h 后细胞凋亡率。检测各浓度 I3C 处理后 PI3K/Akt 通路相关蛋白 PI3K p110 α 、PI3K p85、p-Akt 和 p-GSK3- β 的表达水平。在体内实验中,将 BALB/c 裸鼠分为 I3C 预防组、I3C 治疗组和对照组。通过给裸鼠种植肿瘤细胞成瘤,预防组和治疗组的裸鼠均给予含 0.5% 的 I3C 的饲料喂养,检测各组裸鼠肿瘤生长情况,8 周后检测各组裸鼠肿瘤中 PI3K/Akt 通路相关蛋白的表达水平。结果:随着 I3C 浓度的增加,细胞的增殖能力明显减弱,凋亡率显著增加,PI3K/Akt 通路相关蛋白的表达水平降低。在动物实验中,与对照组相比,8 周后预防组和治疗组肿瘤体积明显缩小,裸鼠肿瘤中 PI3K/Akt 通路相关蛋白的表达水平也降低。同时,苏木精-伊红染色检测各组小鼠心、肝、肾组织未见明显变化。结论:I3C 可以在体内和体外有效地抑制鼻咽癌细胞的生长,且诱导凋亡,其作用机制可能是抑制 PI3K/Akt 信号通路。

[关键词] 鼻咽肿瘤;吲哚-3-甲醇;细胞凋亡;PI3K/Akt 通路

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2016.15.009

[中图分类号] R739.63 **[文献标志码]** A

Study on Indole-3-carbinol inhibits nasopharyngeal carcinoma cells growth in vitro and in vivo

MAO Chenggang¹ WAN Lijia¹ ZHOU Xiaochun¹ LU Haitao¹
JIANG Yidao¹ TAO Zezhang²

(¹Department of Otolaryngology, Jingzhou Central Hospital, the Second Clinical Medical College, Yangtze University, Jingzhou, 434020, China; ²Department of Otolaryngology, Renmin Hospital of Wuhan University)

Corresponding author: WAN Lijia, E-mail: mcg126@126.com

Abstract Objective: The aim of this study is to investigate the inhibition of nasopharyngeal carcinoma cells by indole-3-carbinol in vitro and in vivo. **Method:** The human nasopharyngeal carcinoma cell line CNE2 was treated in different concentrations 0, 100, 200, 300 $\mu\text{mol/L}$ of indole-3-carbinol. Then we detected cell proliferation after 0, 24, 48 and 72 h, apoptosis after 48 h and the levels of PI3K/Akt pathway-related proteins in vitro. The BALB/c nude mice were divided into three groups: prevention group, treatment group and control group. In vivo, the nude mice in every group were inoculated with nasopharyngeal carcinoma cells CNE2, and mice in prevention and treatment groups were given feed containing 0.5% indole-3-carbinol. We investigated the tumoricidal effect of I3C in nude mice, and eight weeks later, the PI3K/Akt pathway-related proteins expressions in tumors from nude mice of each group were detected. **Result:** With the indole-3-carbinol concentration increased, cell proliferation decreased and apoptosis increased significantly. The levels of PI3K/Akt pathway-related proteins were decreased. In animal experiments, the prevention and treatment group developed smaller tumors, and the expression of PI3K/Akt pathway-related proteins in prevention and treatment groups PI3K/Akt pathway also reduced, compared to control group. Meanwhile, nearly no changes of heart, liver and kidney tissues in all groups were seen in HE staining. **Conclusion:** Indole-3-carbinol inhibited the growth of nasopharyngeal carcinoma cells and induced apoptosis effectively in vivo and in vitro. The mechanism might be that indole-3-carbinol could suppress PI3K/Akt pathway.

Key words nasopharyngeal neoplasms; indole-3-carbinol; apoptosis; PI3K/Akt pathway

吲哚-3-甲醇(Indole-3-carbinol, I3C)是一种从

十字花科植物中发现的具有重要的具有杀灭肿瘤作用的天然提取物。有研究表明它可以通过诱导凋亡^[1-2]、抑制细胞周期^[3-4]和抗肿瘤转移等^[5]方式发挥抗癌作用。PI3K/Akt 信号通路参与抗凋亡的激活,糖代谢和蛋白合成,影响细胞的生长和增殖。

* 基金项目:荆州市科技局基金资助项目(No:2015028)

¹荆州市中心医院 长江大学第二临床医学院耳鼻咽喉科(湖北荆州,434020)

²武汉大学人民医院耳鼻咽喉科

通信作者:万俐佳, E-mail: mcg126@126.com

在很多恶性肿瘤中已发现 PI3K/Akt 通路被异常激活。本研究观察 I3C 对鼻咽癌细胞周期的体内和体外作用,并研究其发挥抗肿瘤作用的可能机制,同时对其预防鼻咽癌发生和对鼻咽癌的治疗作用进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

人鼻咽癌细胞株 CNE2 购自中山大学实验动物中心细胞库。胎牛血清 (HyClone, USA), RPMI 1640 培养液 (HyClone, USA), 0.25% 胰酶 (Invitrogen, USA), I3C (Sigma, USA), CCK8 试剂盒 (Dongji, Japan), Annexin-V/PI 试剂盒 (eBioscience, USA), p-Akt, Akt, p-GSK3- β , GSK3- β , PI3K p110 α , PI3K p85 和 GAPDH 抗体 (Cell Signaling Technology, USA)。SPF 级 4 周龄, 体重 18~20 g 雌性 BALB/c 裸鼠, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 在本院 SPF 级动物实验室饲养。

1.2 细胞培养和分组

采用含 10% 胎牛血清和 20 μ g/ml 抗生素 (青霉素和链霉素) 的 RPMI 1640 培养液培养人鼻咽癌细胞 CNE2。细胞置于 CO₂ 含量为 5% 的 37℃ 培养箱中培养。细胞在对数生长期时被用来进行相关实验。各组细胞分别用终浓度为 0、100、200、300 μ mol/L 的 I3C 处理后依据不同的实验要求进行相关处理后再进行相关实验。

1.3 细胞增殖实验

将人鼻咽癌细胞 CNE2 种植于 96 孔板中, 每孔培养液 100 μ l, 细胞浓度为 1×10^3 /ml。细胞贴壁后, 加入 I3C, 其终浓度为细胞培养部分所示, 细胞各浓度分别设 3 复孔, 并设置空白对照。分别于 0、24、48、72 h 培养后, 每孔中加入 CCK8 溶液 10 μ mol/L, 37℃ 孵育 1 h 后, 检测 450 nm 时其吸光度 (OD 值)。抑制率 = $1 - (\text{实验组 OD} - \text{空白对照组 OD}) / (\text{对照组 OD} - \text{空白对照组 OD}) \times 100\%$ 。

1.4 细胞凋亡率检测

CNE2 细胞用含不同浓度 I3C 的培养液培养 48 h 后, 所有细胞分别消化, 并用预冷 PBS 洗涤 2 次。用 Annexin-V 结合缓冲液重悬细胞后加入 5 μ l Annexin-V-FITC 溶液和 10 μ l PI 溶液, 室温下避光孵育 15 min 后使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。其中 FITC+/PI- 细胞为早期凋亡细胞, FITC+/PI+ 细胞为晚期凋亡细胞。两者总和占所有细胞的百分比记为细胞的凋亡率。

1.5 Western blot 检测蛋白表达

CNE2 细胞用不同浓度的 I3C 处理 48 h 后, 消化细胞 RIPA 裂解液提取各组细胞总蛋白。蛋白质采用浓度为 10% 的分离胶和 4% 的浓缩胶进行分离上样后, 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法, 印迹转染至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉室温摇床下封闭

1 h。加入一抗 (PI3K p110 α 、PI3K p85、p-Akt, Akt、p-GSK3- β 、GSK3- β 和 GAPDH) 4℃ 孵育过夜。分别加入相应的二抗孵育 1 h。ECL 检测, 暗室曝光 10s~10 min, 立即以 Kodak 显影液和定影液冲洗胶片。

1.6 动物实验

选取 SPF 级 4 周龄, 体重 18~20 g 雌性 BALB/c 裸鼠, 在 SPF 级环境中适应性饲养 1 周后再行相关实验处理。裸鼠随机分为 I3C 预防组、I3C 治疗组和对照组 3 组, 每组 8 只。裸鼠移植肿瘤方法为在裸鼠背部种植 1 ml, 浓度 1×10^8 /ml 的 CNE2 细胞, 即 1×10^8 个 CNE2 细胞。I3C 预防组于种植肿瘤细胞前 2 周换用含 0.5% I3C (I3C 质量/食物总质量 $\times 100\% = 0.5\%$) 的饲料喂养, 种植肿瘤细胞后用普通饲料喂养; I3C 治疗组于种植肿瘤细胞后当天换用含 0.5% I3C 的饲料喂养直到实验结束 (第 8 周); 对照组只用普通饲料喂养。移植肿瘤后 8 周测量肿瘤长径 (a) 和短径 (b), 按公式 $V = 1/2ab^2$ 计算体积。种植肿瘤 8 周后处死小鼠, 取各组小鼠背部肿瘤提取蛋白, 并检测各组小鼠 PI3K/Akt 通路相关蛋白 (PI3K p110 α 、PI3K p85、p-Akt、p-GSK3- β) 表达水平的变化, 取各组小鼠的心脏、肝脏和肾脏进行常规苏木精-伊红染色。

1.7 统计学分析

所有实验数据应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析, 数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 分析均采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 I3C 抑制鼻咽癌细胞增殖

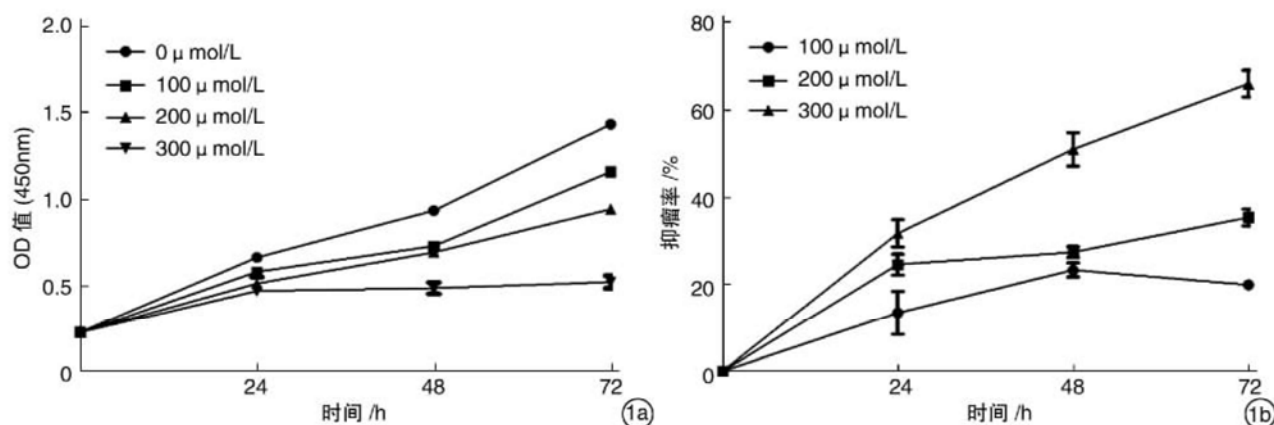
CCK-8 法结果显示随着 I3C 浓度的增高, 人鼻咽癌细胞系 CNE2 增殖受到明显的抑制, 且呈现出时间/剂量依赖关系。当 I3C 浓度达 200 μ mol/L 时, 不同时间点的抑瘤率分别为 22.8%、26.0% 和 34.2%; 而当 I3C 浓度为 300 μ mol/L 时, 不同时间点的抑瘤率分别为 29.4%、48.4% 和 63.9%。在 48 h, 300 μ mol/L 相比对照组和在 72 h, 200 μ mol/L、300 μ mol/L 相比对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 I3C 促进鼻咽癌细胞凋亡

不同浓度处理 CNE2 细胞 48 h 后, I3C 浓度升高时细胞的凋亡率也随之增加。当其浓度达到 300 μ mol/L 时, 其细胞凋亡率达到 50.6%, 比未加入 I3C 的细胞凋亡率显著性提高。见图 2。

2.3 I3C 抑制 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达

经 I3C 处理的 CNE2 细胞中 PI3K/Akt 通路相关蛋白 (PI3K p110 α 、PI3K p85、p-Akt 和 p-GSK3- β) 的表达量随着 I3C 浓度增加而下降。而在阴性对照组, PI3K/Akt 通路相关蛋白 (PI3K



1a:不同浓度 I3C 处理鼻咽癌细胞 CNE2 后,不同时间各组细胞 CCK8 法检测结果;1b:不同浓度 I3C 处理鼻咽癌细胞 CNE2 的抑瘤率。

图 1 I3C 抑制 CNE2 细胞增殖

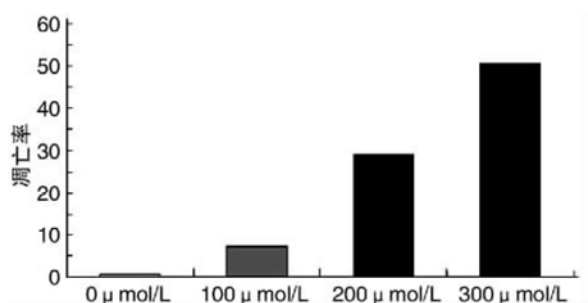


图 2 不同浓度 I3C 处理鼻咽癌细胞 CNE2 后各组细胞的凋亡率

p110 α 、PI3K p85、p-Akt 和 p-GSK3- β) 的表达量均显著增加。I3C 处理组与阴性对照组相比,PI3K p110 α 、PI3K p85、p-Akt 和 p-GSK3- β 的表达量显著下降,且存在剂量依赖关系。见图 3。

在移植瘤 BALB/c 裸鼠实验中也表现出相似的结果。I3C 预防组和治疗组小鼠肿瘤组织中 PI3K/Akt 通路相关蛋白 PI3K p110 α 、PI3K p85、p-Akt 和 p-GSK3- β 的表达量与对照组相比,也出现了明显的下降。见图 4。

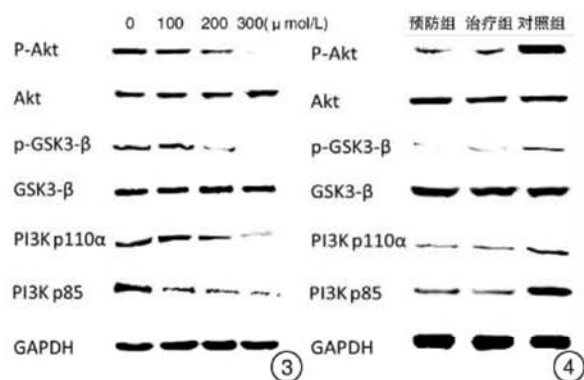


图 3 不同浓度 I3C 处理鼻咽癌细胞 CNE2 后 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达情况; 图 4 各组小鼠肿瘤组织中 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达情况

在经 I3C 处理的 CNE2 细胞实验中,Akt 和 GSK3- β 蛋白的表达随着 I3C 浓度的增加无明显变化,在移植瘤 BALB/c 裸鼠实验中也表现出相似的结果。

2.4 I3C 抑制细胞荷瘤裸鼠移植瘤的生长

对照组只用普通饲料喂养,裸鼠移植瘤生长快,8 周后移植瘤的平均体积为 $(2\ 236.7 \pm 255.2) \text{ mm}^3$ 。相比之下,I3C 预防组 and I3C 治疗组移植瘤的平均体积分别是 $(1\ 135.3 \pm 236.2) \text{ mm}^3$ 和 $(1\ 523.6 \pm 143.6) \text{ mm}^3$ ($P < 0.05$)。这表明 I3C 显著抑制肿瘤生长 ($P < 0.05$),在肿瘤移植前使用 I3C 比肿瘤移植后使用 I3C 更能有效地抑制肿瘤的生长 ($P < 0.05$)。

2.5 I3C 在体内实验中无明显毒副作用

取各组裸鼠的心脏,肝脏和肾脏进行常规苏木精-伊红染色,结果发现心、肝、肾组织均未见明显的降解、坏死及结构改变等。由此可以认为 I3C 对实验动物并未产生明显的毒副作用。见图 5~7。

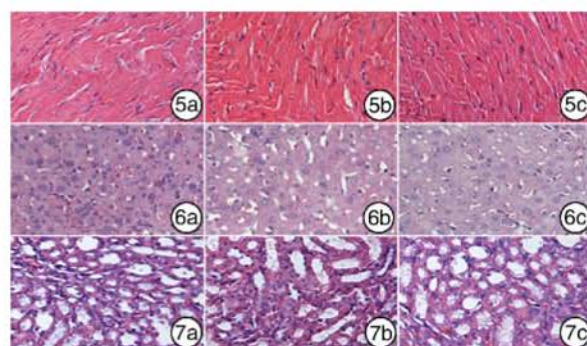


图 5 各组小鼠心脏苏木精-伊红染色 5a:I3C 预防组,5b:I3C 治疗组,5c:对照组; 图 6 各组小鼠肝脏苏木精-伊红染色 6a:I3C 预防组,6b:I3C 治疗组,6c:对照组; 图 7 各组小鼠肾脏苏木精-伊红染色 7a:I3C 预防组,7b:I3C 治疗组,7c:对照组。

3 讨论

鼻咽癌是常见的头颈部恶性肿瘤之一,尽管鼻咽癌对放疗敏感,但由于其较高的复发率和常见的淋巴结及远处转移常常导致预后不佳^[6]。化疗在鼻咽癌的治疗中也具有重要的意义,但化疗药物常常有较大的毒副作用,在缓解疾病的同时给患者带来了巨大的痛苦^[7]。因此,鼻咽癌的治疗需要更安全有效的药物。

十字花科蔬菜如西兰花是一种常见的食物,它味道鲜美,营养价值也很高。I3C是新近从十字花科植物西兰花中提取的一种重要的具有杀灭肿瘤活性的物质,研究证实它可以通过诱导凋亡和抑制细胞周期而强力地抑制一些肿瘤细胞的生长^[8]。但是它在鼻咽癌中的作用尚不清楚。本研究证实,I3C可以明显地抑制鼻咽癌细胞系CNE2增殖。当I3C浓度达200 $\mu\text{mol/L}$ 时,在24、48、72 h的抑瘤率分别为22.8%、26.0%、34.2%,而当I3C浓度为300 $\mu\text{mol/L}$ 时,在24、48、72 h的抑瘤率分别为29.4%、48.4%、63.9%。I3C与CNE2增殖抑制呈现出时间/剂量依赖关系,差异有统计学意义。同时,我们用不同浓度的I3C处理CNE2细胞48 h后,I3C浓度升高时细胞的凋亡率也随之增加。当其浓度达到300 $\mu\text{mol/L}$ 时,其细胞凋亡率达到50.6%,比未加入I3C的细胞的凋亡率显著性提高。这个结果表明CNE2凋亡与I3C的浓度呈现依赖关系。由此我们推测I3C的抑癌机制可能与肿瘤细胞增殖的改变和诱导凋亡有关。

PI3K/Akt信号通路,尤其是Akt磷酸化的异常被认为与舌癌和头颈部鳞状细胞癌的发展密切相关^[9]。研究发现Akt活性增强可以促进肿瘤的形成,并增强细胞对抗凋亡的能力^[10]。

为了进一步研究鼻咽癌中I3C诱导的凋亡和PI3K/Akt信号通路之间可能的关系,我们分析了用I3C处理前和处理后PI3K/Akt通路特异信号蛋白及其同源下游蛋白的表达情况。我们用不同浓度的I3C对人鼻咽癌细胞系进行一定时间的处理,并检测相关指标的变化。与未经处理的CNE2细胞比较,I3C处理后的细胞增殖能力明显减弱,且凋亡显著性增加。通过Western blot分析CNE2细胞中PI3K/Akt通路的相关蛋白在I3C处理前后的变化,得出处理后的CNE2细胞中p-Akt、p-GSK3- β 、PI3K p110 α 和PI3K p85的表达显著降低的结果,表明I3C抑制鼻咽癌细胞增殖和诱导凋亡与其可以抑制PI3K/Akt信号通路是密切相关的,与乳腺癌、前列腺癌的研究结果具有一致性^[1,8]。而在I3C处理的CNE2细胞和裸鼠实验中,Akt和GSK3- β 蛋白的表达随着I3C浓度的增加无明显变化。我们分析Akt蛋白和GSK3- β 可能与其他通路有交叉作用,因而I3C对它们没有抑制作用。

研究发现,前列腺癌的小鼠用含1% I3C喂养超过10周可以观察到肿瘤细胞的凋亡^[11]。在用动物模型研究宫颈癌的报告中显示,I3C抗肿瘤机制的部分原因是增加了肿瘤细胞膜的渗透性,激活了caspase-3,从而诱导肿瘤细胞的凋亡^[12]。我们前期的研究证实^[13],用0.5% I3C喂养负荷喉癌细胞的裸鼠,结果发现抑制了裸鼠肿瘤细胞的生长。本动物实验研究结果显示,I3C有效地抑制鼻咽癌的生长,与对照组相比,鼻咽癌在I3C预防组和治疗组裸鼠中的生长显著下降。移植瘤在I3C预防组比治疗组生长慢,表明I3C能有效地预防实体瘤的发生和发展。这个结果也表明,I3C能够被考虑作为一种可供选择的预防和治疗鼻咽癌的方法。

本研究检测I3C预防组、I3C治疗组和对照组小鼠肿瘤中PI3K/Akt通路的蛋白表达情况时发现,Akt、PI3K p110 α 、PI3K p85和GSK3- β 的表达显著降低,与细胞实验结果一致,这表明PI3K/Akt通路的异常激活可能在鼻咽癌的形成中起关键作用,进一步确定I3C在移植肿瘤中通过下调PI3K/Akt通路相关蛋白表达使PI3K/Akt通路活性改变,从而起到抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡的作用。

本研究也证实,I3C在有效抑制裸鼠移植肿瘤生长的同时,对裸鼠的心脏、肝脏和肾脏并没有产生病理性损害,对正常细胞也没有细胞毒性。

总之,本研究中的体内和体外实验均表明,I3C能显著抑制鼻咽癌细胞增殖,诱导细胞凋亡,推测I3C可能是通过抑制PI3K/AKT通路及其下游蛋白的表达发挥作用。I3C因其有效、无毒和天然的抗癌特性有望作为一种可能的预防和治疗鼻咽癌的药物。尚需进一步研究的是I3C抑制鼻咽癌细胞的潜在机制,为I3C的临床应用提供充分的理论基础。

参考文献

- [1] CHINNI SR, LI Y, UPADHYAY S, et al. Indole-3-carbinol (I3C) induced cell growth inhibition, G1 cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cells[J]. *Oncogene*, 2001, 20: 2927-2936.
- [2] NACHSHON-KEDMI M, YANNAI S, HAJ A, et al. Indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane induce apoptosis in human prostate cancer cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2003, 41: 745-752.
- [3] ARONCHIK I, CHEN T, DURKIN KA, et al. Target protein interactions of indole-3-carbinol and the highly potent derivative 1-benzyl-I3C with the C-terminal domain of human elastase uncouples cell cycle arrest from apoptotic signaling[J]. *Mol Carcinog*, 2012, 51: 881-894.
- [4] TAYLOR-HARDING B, AGADJANIAN H, NAS-SANIAN H, et al. Indole-3-carbinol synergistically

(下转第1223页)

- leukocyte antigens and epstein-barrvirus-associated nasopharyngeal carcinoma: old associations offer new clues into the role of immunity in infection-associated cancers[J]. *Front Oncol*, 2013, 3:299–299.
- [5] HILDESHEIM A, WANG C P. Genetic predisposition factors and nasopharyngeal carcinoma risk: a review of epidemiological association studies, 2000–2011; Rosetta Stone for NPC: genetics, viral infection, and other environmental factors [J]. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22:107–116.
- [6] INAMURA K, ISHIKAWA Y. MicroRNA In Lung Cancer: Novel Biomarkers and Potential Tools for Treatment[J]. *J Clin Med*, 2016, 9: 5–5.
- [7] PILECZKI V, COJOCNEANU-PETRIC R, MARALANI M, et al. MicroRNAs as regulators of apoptosis mechanisms in cancer[J]. *Clujul Med*, 2016, 89:50–55.
- [8] GURTNER A, FALCONE E, GARIBALDI F, et al. Dysregulation of microRNA biogenesis in cancer: the impact of mutant p53 on Drosha complex activity[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35:45–45.
- [9] GIUDICE A, D'ARENA G, CRISPO A, et al. Role of Viral miRNAs and Epigenetic Modifications in Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Carcinogenesis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016:6021934.
- [10] DOLDI V, PENNATI M, FORTE B, et al. Dissecting the role of microRNAs in prostate cancer metastasis: implications for the design of novel therapeutic approaches[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73:2531–2542.
- [11] CHI Y, ZHOU D. MicroRNAs in colorectal carcinoma-from pathogenesis to therapy [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35:43–43.
- [12] FU S W, LEE W, COFFEY C, et al. miRNAs as potential biomarkers in early breast cancer detection following mammography[J]. *Cell Biosci*, 2016, 6:6–6.
- [13] SAKAMOTO N, NAITO Y, OUE N, et al. MicroRNA-148a is downregulated in gastric cancer, targets MMP7, and indicates tumor invasiveness and poor prognosis[J]. *Cancer Sci*, 2014, 105:236–243.
- [14] KUWANO M, SONODA K, MURAKAMI Y, et al. Overcoming drug resistance to receptor tyrosine kinase inhibitors: learning from lung cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 161:97–110.
- [15] STULHOFERBUZINA D, MARTINAC I, LEDIC-DRVAR D, et al. The Most Common Cutaneous Side Effects of Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors and Their Management[J]. *Acta Dermatovenerol Croat*, 2015, 23:282–288.
- [16] LEE H H, WANG Y N, HUNG M C. Non-canonical signaling mode of the epidermal growth factor receptor family[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5:2944–2958.
- [17] ROSATI G, APRILE G, CARDELLINO G G, et al. A review and assessment of currently available data of the EGFR antibodies in elderly patients with metastatic colorectal cancer [J]. *J Geriatr Oncol*, 2016, 7: 134–141.
- [18] LIU J, HU J, CHENG L, et al. Biomarkers predicting resistance to epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer with wild-type KRAS[J]. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 557–565.

(收稿日期:2016-03-26)

(上接第 1218 页)

- sensitises ovarian cancer cells to bortezomib treatment [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106:333–343.
- [5] AGGARWA B B, ICHIKAWA H. Molecular targets and anticancer potential of indole-3-carbinol and its derivatives[J]. *Cell Cycle*, 2005, 4:1201–1215.
- [6] CHAN Y W, LEE V H, CHOW V L, et al. Extracapsular lymph node spread in recurrent nasopharyngeal carcinoma[J]. *Laryngoscope*, 2011, 121:2576–2580.
- [7] MA B B, CHAN A T. Recent perspectives in the role of chemotherapy in the management of advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer*, 2005, 103:22–31.
- [8] RAHMAN KM, LI Y, SARKAR F H. Inactivation of akt and NF-kappaB play important roles during indole-3-carbinol-induced apoptosis in breast cancer cells [J]. *Nutrition and cancer*, 2004, 48:84–94.
- [9] WATANABE S, SATO K, OKAZAKI Y, et al. Activation of PI3K-AKT pathway in oral epithelial dysplasia and early cancer of tongue[J]. *Bull Tokyo Dent Coll*, 2009, 50:125–133.
- [10] JONES R G, PARSONS M, BONNARD M, et al. Protein kinase B regulates T lymphocyte survival, nuclear factor kappaB activation, and Bcl-X(L) levels in vivo[J]. *J Exp Med*, 2000, 191:1721–1734.
- [11] WU T Y, SAW C L, KHOR T O, et al. In vivo pharmacodynamics of indole-3-carbinol in the inhibition of prostate cancer in transgenic adenocarcinoma of mouse prostate (TRAMP) mice: involvement of Nrf2 and cell cycle/apoptosis signaling pathways[J]. *Molecular carcinogenesis*, 2012, 51:761–770.
- [12] CHEN D Z, QI M, AUBORN K J, et al. Indole-3-carbinol and diindolylmethane induce apoptosis of human cervical cancer cells and in murine HPV16-transgenic preneoplastic cervical epithelium [J]. *J Nutr*, 2001, 131:3294–3302.
- [13] WANG Y Q, CHEN C, CHEN Z, et al. Indole-3-carbinol inhibits cell proliferation and induces apoptosis in Hep-2 laryngeal cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 30:227–233.

(收稿日期:2016-04-06)