

TAK-733 对人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞生物学行为影响的研究

郑 朦,魏 枫,邵 国,王晓艳,程 冉,张 苑

摘要 目的 探究一种新型 MEK 1/2 抑制剂 (R)-3-(2,3-二羟丙基)-6-氟-5-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-8-甲基吡啶[2,3-d]嘧啶-4,7(3H,8H)-二酮(TAK-733)对人甲状腺乳头状癌(PTC)人甲状腺乳头状癌(TPC)-1 细胞生物学行为的影响。方法 取生长状态良好,处于对数生长期的 TPC-1 细胞,将其随机分为 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 组和对照组,各组分别作用 24、48、72 h,采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞的增殖能力。各组分别作用 24、48 h,利用流式细胞仪检测细胞的周期和凋亡。划痕愈合实验检测各组 TPC-1 细胞在作用 24 h 后细胞的迁移情况。结果 与对照组相比,TAK-733 处理后的 TPC-1 细胞的增殖抑制率增高,呈时间和剂量依赖性($P < 0.05$);TAK-733 各组 TPC-1 细胞凋亡率和 TPC-1 细胞 G_1/G_0 期所占比例均高于对照组($P < 0.05$),S 期和 G_2/M 期细胞比例降低($P < 0.05$),呈时间和剂量依赖性;划痕愈合程度呈浓度依赖性降低($P < 0.05$)。结论 TAK-733 对人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞的增殖和迁移具有抑制作用,可阻滞细胞周期,诱导细胞凋亡。

关键词 TAK-733;增殖;周期;凋亡;迁移;TPC-1

中图分类号 R 581.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)02-0254-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.02.017

甲状腺癌(thyroid cancer, TC)是内分泌系统最为常见的恶性肿瘤,其中,人甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)占有 TC 的 70% ~ 80%,是最常见的类型^[1]。目前国际上公认的 PTC 常规治疗手段为“手术 + ^{131}I + 促甲状腺激素(TSH)抑制治疗”^[2],大多数患者预后良好,但仍有 1/3 的患者出现复发^[3]。已知 PTC 的发生、发展与某些信号通路的活性改变存在密切联系。其中 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的过度激活是其中最为常见的

遗传学变异,与细胞的增殖、凋亡和迁移等生物学行为密切相关^[4]。近年来随着分子生物学研究的不断深入,特异靶向信号通路关键分子的抑制剂成为新药研发的重点^[5]。(R)-3-(2,3-二羟丙基)-6-氟-5-((2-氟-4-碘苯基)氨基)-8-甲基吡啶[2,3-d]嘧啶-4,7(3H,8H)-二酮(TAK-733)是一种高效选择性的非 ATP 竞争性 MEK 1/2 激酶变构抑制剂,于 2011 年被首次合成。de la Puente et al^[6]研究表明 TAK-733 在多发性骨髓瘤中表现出抗肿瘤活性,其可抑制多发性骨髓瘤 U266 细胞增殖,诱导细胞凋亡,并且促进细胞发生 G_1 期阻滞。该研究以人甲状腺乳头状癌(thyroid papillary carcinoma, TPC)-1 细胞为研究对象,通过体外细胞初步探讨 TAK-733 对 PTC 的影响,为 PTC 的药物治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞株 人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞购自上海复旦细胞库。

1.1.2 药物与试剂 TAK-733 购自美国 MCE 公司;RPMI 1640 培养基、胎牛血清(FBS)、胰蛋白酶(trypsin)、青链霉素混合液购自美国 Gibco 公司;二甲基亚砜(DMSO)和 MTT 粉末购自美国 Sigma 公司;碘化丙啶(PI)和细胞凋亡试剂盒 Annexin V-FITC 购自大连美仑生物技术有限公司;RNA 酶(RNase A)购自北京天根生物科技公司

1.1.3 实验仪器 3111 型 CO_2 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司);ELX-800 全自动酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司);FACSCanto™ II 流式细胞仪(美国 BD 公司);TE2000-U 倒置相差显微镜(日本 Nikon 公司)

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 TPC-1 细胞用含 10% FBS,1% 青链霉素混合液的 RPMI 1640 完全培养基,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、饱和湿度的无菌培养箱中培养。

1.2.2 实验分组 将人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞分为实验组和对照组,各实验组的药物浓度梯度

2021-08-30 接收

基金项目:内蒙古自治区科技计划项目(编号:201802128)

作者单位:内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院内分泌科,包头 014010

作者简介:郑 朦,女,硕士;

魏 枫,女,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail: 1135172562@qq.com

分别为 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$, 对照组加入普通培养基。

1.2.3 溶液配制 按照产品说明书写明的方法使用 DMSO 将 TAK-733 粉末完全溶解, 配制成终浓度为 20 mmol/L 的储存液。实验过程中用 RPMI 1640 培养基将其稀释成终浓度为 2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 的工作液, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.2.4 MTT 比色分析法检测细胞增殖抑制率 取处于对数生长期的 TPC-1 细胞, 以 3×10^4 个/ml 接种于 96 孔板中, 每孔加入 100 μl 细胞培养液。培养过夜后实验分组同 1.2.2, 每组设 6 个复孔。药物干预 24、48、72 h 后, 向各孔加入 20 μl MTT 溶液 (5 g/L), 继续培养 4 h, 弃去培养基加入 150 μl DMSO, 低速振荡 10 min, 使紫色结晶充分溶解。将酶标仪波长设为 490 nm, 检测各孔吸光度值 (OD 值), 计算细胞的增殖抑制率, 抑制率 = $(\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{实验组}}) / \text{OD}_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。独立重复实验 3 次。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期 将 TPC-1 细胞以 1×10^6 个/皿密度接种于 60 mm 培养皿, 细胞贴壁后实验分组同 1.2.2, 分别于 24、48 h 后用胰蛋白酶消化收集细胞, 1 200 r/min 离心 5 min 后用提前预冷的 PBS 洗 2 次, 收集细胞沉淀于 75% 冷乙醇中固定过夜, 24 h 后 1 200 r/min 离心 5 min, 弃去乙醇, PBS 洗 2 次, PBS 重悬细胞, 加入 RNase A, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min, 加入 PI 染料, 室温下染色 30 min 后应用流式细胞仪分析 488 nm 处激发波长荧光强度。独立重复实验 3 次。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 细胞的接种培养及分组同 1.2.5。药物干预 24、48 h 后收集各组细胞, 1 200 r/min 离心 5 min, 预冷 PBS 洗涤 2 遍, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 加入 $1 \times$ Binding Buffer 500 μl 重悬细胞, 加入 5 μl Annexin V-FITC 和 5 μl PI 混匀, 室温避光孵育 10 ~ 15 min, 然后以流式细胞仪上机检测分析。独立重复实验 3 次。

1.2.7 划痕愈合试验检测细胞迁移能力 取处于对数生长期的 TPC-1 细胞, 消化离心后将细胞按 5×10^5 个/ml 的密度接种至 6 孔板, 每孔 2 ml 细胞悬液。待细胞贴壁后, 用 200 μl 枪头于培养孔正中处垂直划线, PBS 缓冲液清 3 次, 实验分组同 1.2.2 项。荧光倒置显微镜下分别拍照记录 0 h 和 24 h 的划痕区域面积; 迁移率 (%) = $(1 - 24\text{ h 划痕区域面积} / 0\text{ h 划痕区域面积}) \times 100\%$ 。独立重复实验 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计和分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间资料比较采

用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法, 两组资料比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞增殖的影响 MTT 实验显示, 比较 3 个浓度实验组与对照组的细胞增殖抑制率, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。当处理时间一定时, 随着 TAK-733 的浓度增加, TPC-1 细胞的增殖抑制率逐渐增高 ($F = 336.822, 671.322, 1498.396, P < 0.05$); 且相同浓度的 TAK-733 在不同的作用时间点, 随着作用时间的不断延长, TPC-1 细胞的增殖抑制率也逐渐增高 ($F = 86.547, 296.955, 296.222, P < 0.05$), TAK-733 对 TPC-1 细胞生长的抑制作用呈时间和剂量依赖性。见表 1。

表 1 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞增殖抑制率的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	作用时间 (h)	OD ₄₉₀	抑制率 (%)
0	24	0.370 $\pm$ 0.010	0
	48	0.543 $\pm$ 0.031	0
	72	0.903 $\pm$ 0.035	0
2.5	24	0.337 $\pm$ 0.015 *	9.96 $\pm$ 1.26 ***
	48	0.447 $\pm$ 0.032 **	17.96 $\pm$ 2.00 ***
	72	0.647 $\pm$ 0.006 ***	28.18 $\pm$ 1.76 ***
5.0	24	0.297 $\pm$ 0.015 ***	19.85 $\pm$ 1.72 ***
	48	0.390 $\pm$ 0.035 ***	28.00 $\pm$ 1.56 ***
	72	0.470 $\pm$ 0.017 ***	48.31 $\pm$ 1.06 ***
10.0	24	0.237 $\pm$ 0.015 ***	36.25 $\pm$ 1.99 ***
	48	0.267 $\pm$ 0.025 ***	52.10 $\pm$ 1.42 ***
	72	0.253 $\pm$ 0.015 ***	70.61 $\pm$ 1.74 ***

与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.2 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞周期的影响 流式细胞术检测 TAK-733 实验组和对对照组细胞周期, 结果显示相比于对照组, 随着 TAK-733 处理浓度增加, G_1/G_0 期细胞比例逐渐增多 ($F = 58.536, 179.347, P < 0.05$), S 期 ($F = 34.894, 76.293, P < 0.05$) 和 G_2/M 期 ($F = 24.192, 96.688, P < 0.05$) 细胞比例相对减少, 差异有统计学意义。而当处理浓度一定时, 随着时间的延长, G_1/G_0 期细胞比例亦逐渐增多 ($t = -10.447, -12.209, -8.839, P < 0.05$), S 期 ($t = 8.003, 9.682, 10.342, P < 0.05$) 和 G_2/M 期 ($t = 6.112, 10.220, 3.349, P < 0.05$) 细胞比例逐渐减少, 差异有统计学意义。说

表2 不同浓度 TAK-733 作用不同时间对 TPC-1 细胞周期的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	24 h			48 h		
	G_1/G_0	S	G_2/M	G_1/G_0	S	G_2/M
0	26.01 ± 1.49	57.19 ± 2.36	16.80 ± 1.12	26.68 ± 1.36	55.96 ± 2.52	17.36 ± 1.20
2.5	$33.98 \pm 2.47^{**}$	$51.64 \pm 2.25^*$	$14.38 \pm 1.31^*$	$53.86 \pm 2.18^{***}$	$38.03 \pm 1.91^{***}$	$8.11 \pm 1.20^{***}$
5.0	$39.80 \pm 2.29^{***}$	$47.03 \pm 1.80^{***}$	$13.16 \pm 0.61^{**}$	$64.67 \pm 2.69^{***}$	$31.43 \pm 2.13^{***}$	$4.58 \pm 1.32^{***}$
10.0	$48.27 \pm 2.13^{***}$	$44.04 \pm 1.57^{***}$	$7.69 \pm 1.32^{***}$	$67.19 \pm 3.03^{***}$	$28.45 \pm 2.09^{***}$	$4.37 \pm 1.09^{***}$

与对照组(0 $\mu\text{mol/L}$)比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

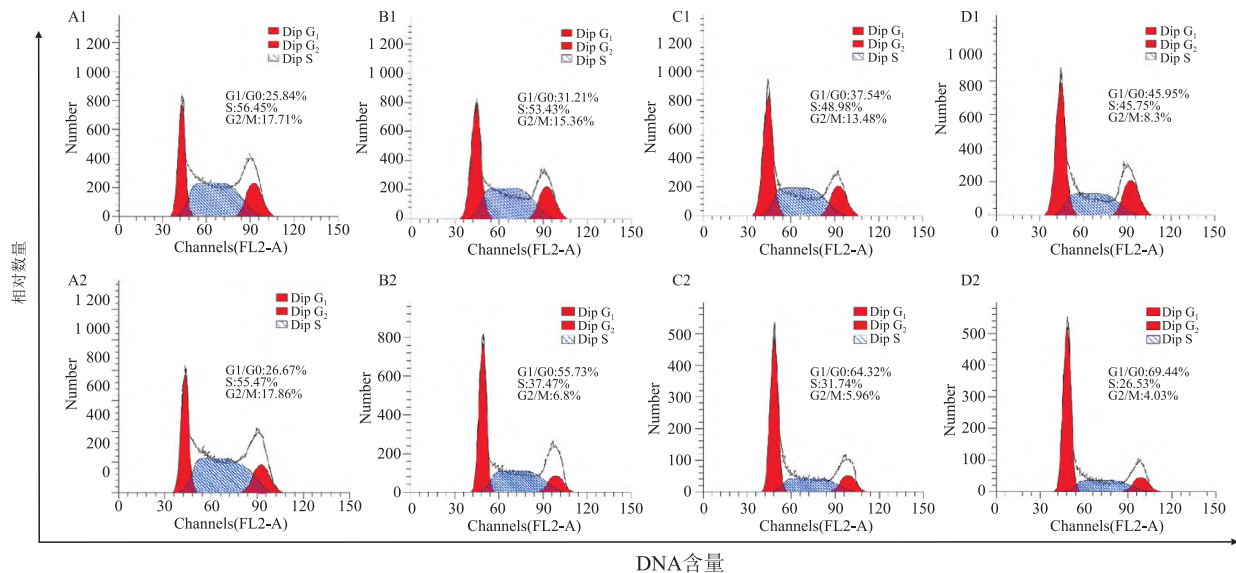


图1 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞作用不同时间细胞周期的分布图

A: 对照组(0 $\mu\text{mol/L}$); B: 2.5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; C: 5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; D: 10 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; 1: 24 h; 2: 48 h

明细胞发生 G_1/G_0 阻滞, 此时 TPC-1 细胞的生长停滞, 且这种抑制作用随着作用浓度的增加和时间的延长而逐渐加强。见表 2 及图 1、2。

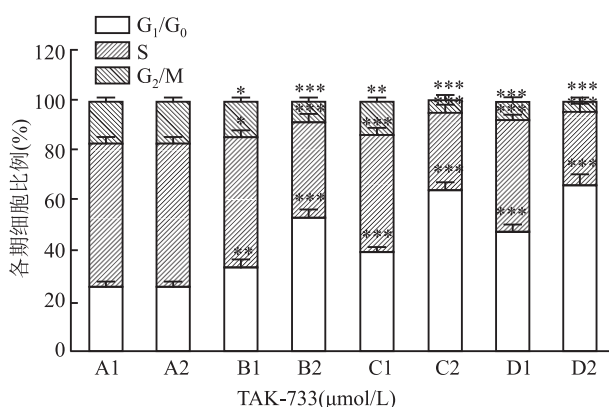


图2 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞作用不同时间细胞周期的百分比

A: 对照组(0 $\mu\text{mol/L}$); B: 2.5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; C: 5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; D: 10 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; 1: 24 h; 2: 48 h; 与对照组(0 $\mu\text{mol/L}$)比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.3 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测结果显示, 与对照组相比, 各实验组凋亡率均增高, 处理时间一定时, 随着 TAK-733 浓度的增加, 凋亡率逐渐增加, 差异有统计学意义 ($F = 59.929, 94.542, P < 0.05$)。并且相同浓度的 TAK-733 作用 48 h 后的凋亡率高于 24 h, 差异有统计学意义 ($t = -4.888, -4.962, -4.275, P < 0.05$)。见图 3、4。

2.4 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞迁移的影响 不同浓度的 TAK-733 作用于 TPC-1 细胞后, TPC-1 细胞的迁移能力不同, 实验组的划痕愈合率均小于对照组, 差异有统计学意义 ($F = 37.086, P < 0.05$), 且随着 TAK-733 浓度的增加, 划痕愈合率亦逐渐降低。见图 5、6。

3 讨论

作为最常见的内分泌癌, TC 约占全身恶性肿瘤的 1% [7]。近年来 TC 的发病率呈现明显的上升趋势

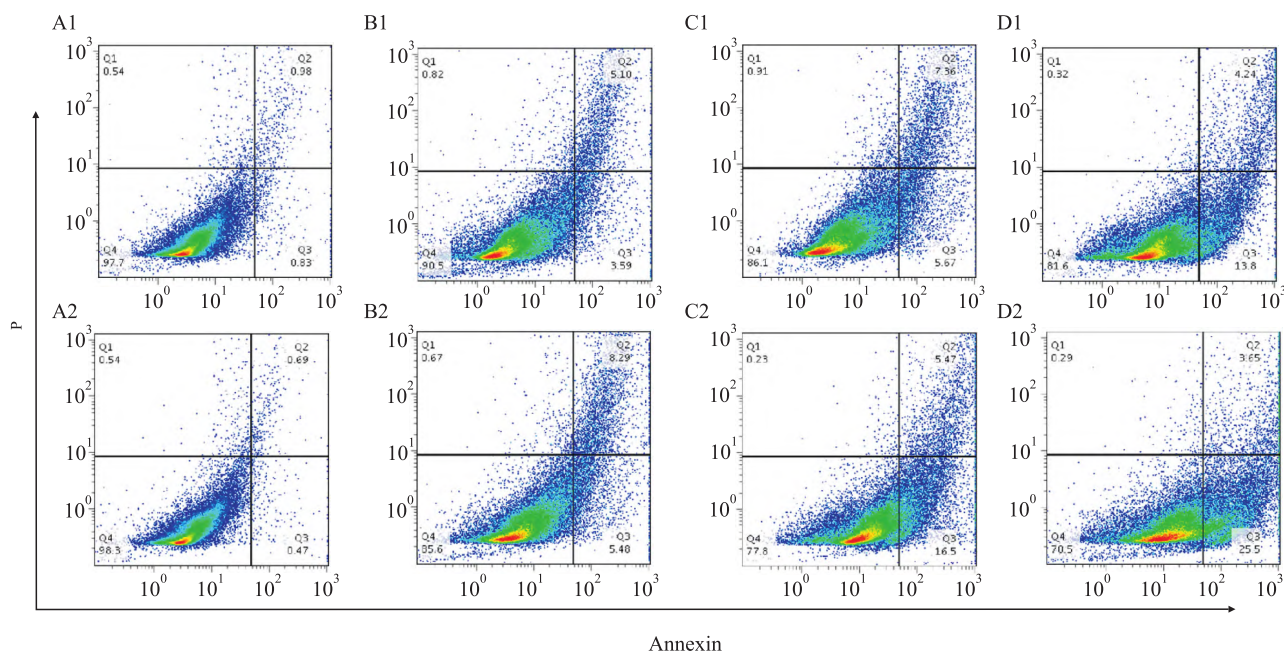
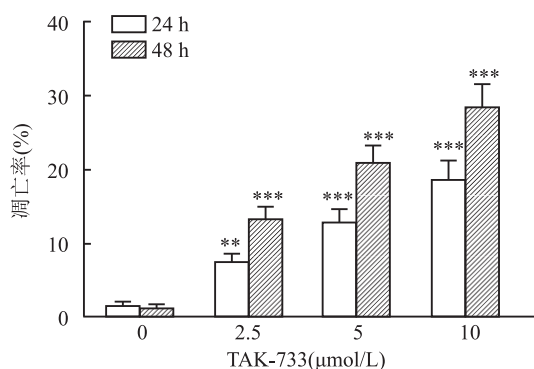


图3 不同浓度 TAK-733 作用不同时间的 TPC-1 细胞凋亡率的分布图

A: 对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$); B: 2.5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; C: 5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; D: 10 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; 1: 24 h; 2: 48 h图4 不同浓度 TAK-733 作用不同时间对 TPC-1 细胞凋亡率的影响
与对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$) 比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

势,其中以 PTC 情况最为突出。尽管 PTC 常规治疗后总体预后良好,5 年生存率可达到 98%^[8],但出现复发和转移的部分患者仍然值得关注。为了降低术后复发的风险、改善患者的生存状况,从分子生物学层面深入了解恶性肿瘤的相关致病机制已经成为当前研究的热点。近年来,靶向药物在恶性肿瘤的中晚期治疗中的成功应用被广泛认可,为广大患者带来了福音与希望。因此,靶向药物的开发与利用是当前肿瘤治疗的潮流所向。

Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路的过度激活被认为在多种恶性肿瘤的发生发展中起到重要作用。现有研究^[9-11]已证实,在 PTC 中亦存在 Ras/Raf/

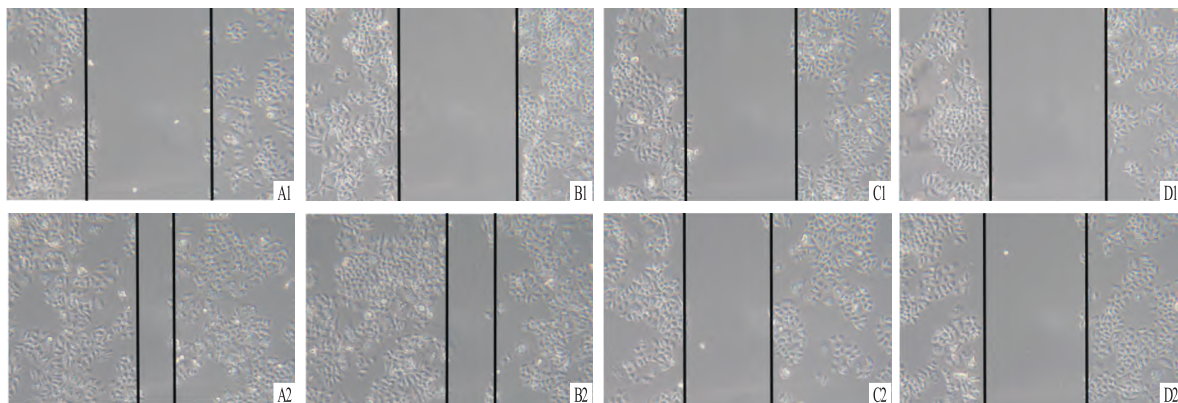


图5 不同浓度 TAK-733 处理 TPC-1 细胞 24 h 的划痕分布

A: 对照组 (0 $\mu\text{mol/L}$); B: 2.5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; C: 5 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; D: 10 $\mu\text{mol/L}$ TAK-733 组; 1: 0 h; 2: 24 h

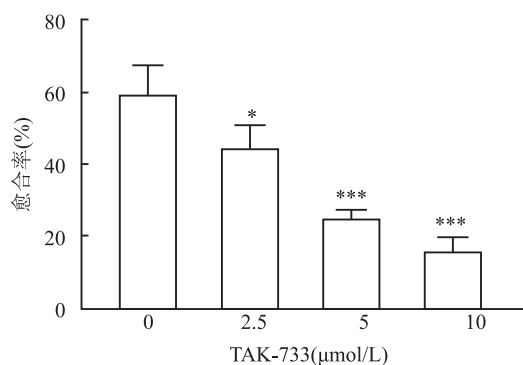


图6 不同浓度 TAK-733 对 TPC-1 细胞迁移的影响
与对照组 (0 μmol/L) 比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

MEK/ERK 信号通路过度激活。该信号通路的激活在于 Raf、MEK、ERK 依次发生磷酸化^[12]。磷酸化的 ERK 进一步影响其下游重要的信号分子,从而调控细胞的增殖、分化、迁移等重要的生理活动。在整个通路中,ERK 是 MEK 下游的唯一底物,这无疑表明了 MEK 在通路中至关重要的地位。近年来,关于针对 MEK 抑制剂的研发得到了广泛关注。TAK-733 作为一种新型的 MEK 1/2 抑制剂,可选择性结合并抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路上的关键信号分子 MEK 1/2 的活性,从而阻止了依赖 MEK 1/2 的效应蛋白和转录因子的激活,尤其对 MEK 1/2 下游靶点 ERK 1/2 的磷酸化有明显的抑制作用^[13]。多项研究证实,TAK-733 在多种恶性肿瘤中可发挥抗肿瘤作用。von Euw et al^[14] 体外细胞研究提示 TAK-733 干预后黑色素瘤细胞增殖受到抑制,细胞发生 G_1 期阻滞。Baranski et al^[15] 通过实验表明 TAK-733 作用于骨肉瘤细胞后,可引起 MOS 和 U2OS 两种细胞的凋亡蛋白 Caspase 3/7 显著增加。

MTT 实验结果显示,不同浓度 TAK-733 处理 TPC-1 细胞 24、48、72 h 后,实验组细胞增殖抑制率均高于对照组,且低、中、高剂量组细胞增殖抑制率依次增高,均随处理时间的延长而增高,这与 Micel et al^[13] 对黑色素瘤细胞的研究中显示 TAK-733 可抑制细胞的增殖结果类似。因此,可推断 TAK-733 作用于人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞,MAPK/ERK 通路的活化程度被抑制后细胞的增殖能力减弱。

为对 TAK-733 抑制 TPC-1 细胞增殖的相关作用机制进行更深一步的探索,该研究采用了流式细胞术对细胞周期进行检测分析。结果显示,与对照组相比,以不同浓度 TAK-733 分别处理 TPC-1 细胞 24、48 h 后,TPC-1 细胞的 G_1/G_0 期细胞比例均上

升,而 S 期和 G_2/M 期细胞比例则相对降低。随着 TAK-733 浓度的逐渐增加和处理时间的延长, G_1/G_0 期细胞比例逐渐增高,S 期和 G_2/M 期细胞比例逐渐降低。提示 TAK-733 可阻滞细胞周期,使 TPC-1 细胞发生 G_1/G_0 期停滞,细胞分裂不能继续往下进行,从而抑制癌细胞的增殖。

该研究还采用 Annexin V-FITC/PI 双染法对细胞凋亡进行了检测。以不同浓度 TAK-733 分别处理 TPC-1 细胞 24、48 h。与对照组相比,不同浓度的 TAK-733 干预后细胞的凋亡率均增高,且低、中、高剂量组细胞凋亡率依次增高,各组凋亡率均随处理时间的延长而增高。进一步证实 TAK-733 可促进 TPC-1 细胞的凋亡。

此外,该研究还通过划痕愈合实验初步研究肿瘤细胞的迁移能力,通过计算细胞实验组与对照组的划痕愈合率来判断细胞迁移能力的强弱。实验中观察到与对照组相比,低、中、高浓度的 TAK-733 干预 TPC-1 细胞 24 h 后细胞的划痕愈合率均降低,且随着 TAK-733 浓度的逐渐增加,划痕愈合率逐渐降低。提示 TAK-733 在 PTC 的发展中可抑制 TPC-1 细胞的迁移,从而发挥强大的抗肿瘤作用。

综上所述,TAK-733 能通过将 TPC-1 细胞阻滞于 G_1/G_0 期而抑制细胞的增殖和迁移,促进癌细胞凋亡。该研究为 PTC 的靶向治疗提供了新的思路。

参考文献

- [1] Xue L, Yan H, Chen Y, et al. EZH2 upregulation by ER α induces proliferation and migration of papillary thyroid carcinoma [J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 1094.
- [2] 刘伯元,张然,金晓毛,等.¹³¹I 治疗分化型甲状腺癌伴肺转移的疗效及影响因素分析[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(2): 252-5.
- [3] de Castro T P, Penha R C C, Buexm L A, et al. Molecular predictors for advanced papillary thyroid carcinoma recurrence [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 839.
- [4] Cao X, Fang X, Malik W S, et al. TRB3 interacts with ERK and JNK and contributes to the proliferation, apoptosis, and migration of lung adenocarcinoma cells [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(1): 538-47.
- [5] 黄清昕,郭宇妮,李玉华. MEK 抑制剂在白血病治疗中的研究进展[J]. 临床检验杂志(电子版), 2015, 4(3): 929-33.
- [6] de la Puente P, Muz B, Jin A, et al. MEK inhibitor, TAK-733 reduces proliferation, affects cell cycle and apoptosis, and synergizes with other targeted therapies in multiple myeloma [J]. Blood Cancer J, 2016, 6(2): e399.

- [7] 林琳,刘建华,吴丽娜. 甲状腺癌 RNA 分子研究进展[J]. 肿瘤防治研究,2019,46(11):1031-5.
- [8] Luzón-Toro B, Fernández R M, Villalba-Benito L, et al. Influencers on thyroid cancer onset; molecular genetic basis[J]. *Genes (Basel)*,2019,10(11):913.
- [9] Guo Y J, Pan W W, Liu S B, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis[J]. *Exp Ther Med*,2020,19(3):1997-2007.
- [10] Cao Z, Liao Q, Su M, et al. AKT and ERK dual inhibitors; the way forward? [J]. *Cancer Lett*,2019,459:30-40.
- [11] Liu F, Yang X, Geng M, et al. Targeting ERK, an Achilles' Heel of the MAPK pathway, in cancer therapy[J]. *Acta Pharm Sin B*,2018,8(4):552-62.
- [12] 刘盟盟. Ras/Raf/MEK/ERK 信号通路在肿瘤中的研究进展[J]. 东方食疗与保健,2017,(5):220.
- [13] Micel L N, Tentler J J, Tan A C, et al. Antitumor activity of the MEK inhibitor TAK-733 against melanoma cell lines and patient-derived tumor explants[J]. *Mol Cancer Ther*,2015,14(2):317-25.
- [14] von Euv E, Atefi M, Attar N, et al. Antitumor effects of the investigational selective MEK inhibitor TAK733 against cutaneous and uveal melanoma cell lines[J]. *Mol Cancer*,2012,11:22.
- [15] Baranski Z, Booi T H, Kuijjer M L, et al. MEK inhibition induces apoptosis in osteosarcoma cells with constitutive ERK 1/2 phosphorylation[J]. *Genes Cancer*,2015,6(11-12):503-12.

Effect of TAK-733 on biological behavior of human thyroid papillary carcinoma TPC-1 cells

Zheng Meng, Wei Feng, Shao Guo, Wang Xiaoyan, Cheng Ran, Zhang Yuan

(Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010)

Abstract *Objective* To explore a new MEK 1/2 inhibitor 3-(2,3-dihydroxypropyl)-6-fluor-5-(2-fluor-4-iodophenyl) amido-8-methylpyridine[2,3-d] pyrimidine-4,7(3H,8H)-dione (TAK-733) affects the biological behavior of human papillary thyroid carcinoma (PTC) TPC-1 cells. *Methods* TPC-1 cells with good growth and logarithmic growth were randomly divided into 2.5, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$ groups and control group, the proliferation ability of each group was detected by MTT assay after 24, 48, 72 h, respectively. The cell cycle and apoptosis of each group were detected by flow cytometry at 24, 48 h, respectively. The migration of TPC-1 cells in each group after 24 h of action was detected by scratch healing test. *Results* Compared with the control group, TPC-1 cells treated with TAK-733 showed higher inhibition rate of proliferation in a time and dose dependent manner ($P < 0.05$); the apoptosis rate of TPC-1 cells and the proportion of TPC-1 cell G_1/G_0 in each group were higher than those in the control group ($P < 0.05$) and the proportion of S and G_2/M cells decreased ($P < 0.05$), which showed an increase in time and dose dependence; the degree of scratch healing decreased in a concentration dependent manner ($P < 0.05$). *Conclusion* TAK-733 can inhibit the proliferation and migration of human papillary thyroid carcinoma TPC-1 cells, block cell cycle and induce cell apoptosis.

Key words TAK-733; proliferation; cycle; apoptosis; migration; TPC-1