

Torin2 对人甲状腺乳头状癌细胞株生物学行为影响的研究

孙洪莉 魏 枫 梁书卿 王 晓 艳 郑 朦 李 冉 浩

摘要 目的 探索一种新的二代哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)抑制剂 9-(6-氨基-3-吡啶基)-4-[3-(三氟甲基)苯基]苯并[H]-1 β -萘啶-2(1H)-酮(Torin2)对人甲状腺乳头状癌(PTC)细胞生物学行为的影响,以期为临床靶向治疗 PTC 提供新的理论依据。方法 对人 PCT 的 TPC-1 细胞株和正常甲状腺 Nthy-ori-3 细胞株运用不同浓度 Torin2,分别采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测细胞增殖能力,流式细胞仪分析细胞周期、凋亡情况,划痕愈合实验分析细胞迁移能力。结果 ①与用药前相比,Nthy-ori-3 细胞株均无明显变化;②各浓度(100、200、400 nmol/L) Torin2 作用于 TPC-1 细胞 24、48、72 h 后,细胞增殖抑制率上升,差异有统计学意义($P < 0.001$),且随作用时间延长(24、48、72 h)和浓度增加,对细胞增殖抑制作用增强;③各浓度(100、200、400 nmol/L) Torin2 作用于 TPC-1 细胞 24、48 h 后, G_1 期细胞比例逐渐增加,S 期细胞比例逐渐下降,且具有时间和浓度依赖性,差异有统计学意义($P < 0.001$);④各浓度(100、200、400 nmol/L) Torin2 作用于 TPC-1 细胞 24、48 h 后,细胞的凋亡率亦上升,呈现浓度依赖效应,差异有统计学意义($P < 0.001$);⑤各浓度(100、200、400 nmol/L) Torin2 均可抑制 TPC-1 细胞的迁移,且随浓度的增加抑制能力越强,差异有统计学意义($P < 0.001$)。结论 Torin2 可抑制 TPC-1 细胞的增殖及迁移、阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡,并随着 Torin2 浓度的增加和作用时间延长而增强。

关键词 Torin2; 甲状腺乳头状癌细胞株 TPC-1; 细胞增殖; 细胞周期; 细胞凋亡; 迁移

中图分类号 R 581.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)01-0022-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.01.005

甲状腺癌(thyroid cancer, TC)发病率逐年上升,且以女性多见。2018 年数据显示,全球 TC 发病率为 6.7/100 000,而我国每年新增病例达 19 万(194 232 例)^[1]。人甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)是最常见的类型,约占 TC 的

90% 以上^[2]。手术是其主要治疗方法,但仍有 30% 病人术后出现复发和转移^[3]。近年来,随着生物技术的发展和相关研究的不断深入,分子靶向治疗已逐渐成为一个研究热点^[4]。雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种蛋白激酶,位于 PI3K-Akt-mTOR 细胞信号通路的下游,与细胞的转录、翻译、增殖、代谢和转移等行为密切相关^[5]。研究^[6]表明 TC 中存在 mTOR 信号通路的过度活化,而 9-(6-氨基-3-吡啶基)-4-[3-(三氟甲基)苯基]苯并[H]-1 β -萘啶-2(1H)-酮(Torin2)作为一种新的二代 mTOR 抑制剂^[7],对多种肿瘤细胞的生长和转移均有抑制作用。该研究以人 PCT 的 TPC-1 细胞为研究对象,进一步探究 Torin2 对 PTC 细胞的增殖、周期、凋亡、迁移的影响,以期为今后靶向药物治疗 PTC 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 TPC-1 细胞株、Nthy-ori-3 细胞株购自上海复旦细胞库; Torin2、RPMI 1640 培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、四甲基偶氮唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)粉末购自美国 Sigma 公司;细胞凋亡试剂盒 Annexin V FITC 购自大连美仑生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 Nthy-ori-3 细胞、TPC-1 细胞均用含有 10% FBS、90% 的 RPMI 1640 培养基,于 37℃、5% CO₂、饱和湿度、无菌孵育箱培养。

1.2.2 MTT 比色分析法检测细胞增殖抑制率 实验分组: 100、200、400 nmol/L Torin2 组、空白对照组。取对数期的 2 种细胞胰蛋白酶消化、收集、计数,按每孔 100 μ l 培养基含 2×10^4 个细胞均匀铺 96 孔板,贴壁后弃上清液加入各浓度 Torin2,每组设 6 个复孔;分别于 24、48、72 h 在各孔加入 20 μ l MTT 溶液(5 g/L),37℃下孵育 4 h;弃培养基,向各孔加入 150 μ l 二甲基亚砜,在振荡器上低速振荡 10 min;用酶标仪检测 490 nm 处各孔吸光度(optical density, OD)值并计算细胞的增殖抑制率 = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / 对照组 OD 值 $\times 100\%$ 。试

2020-07-24 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: 孙洪莉,女,硕士研究生;

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

验重复 3 次。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期 实验分组同上, 取对数期的 2 种细胞消化、收集, 按每孔 2 ml 培养基以 1×10^6 个细胞均匀铺 6 孔板, 贴壁后分别加入各浓度 Torin2, 培养 24、48 h; 消化、收集细胞, 加入预冷 70% 乙醇在 -20°C 固定过夜; 离心、收集细胞, PBS 洗涤, 加终浓度为 1 g/L 的 RNaseA, 置于 37°C 水浴 30 min; 加终浓度为 0.05 mg/L 的 PI 染料溶液, 室温下黑暗反应 30 min; 流式细胞仪分析 488 nm 处激发波长荧光强度。试验重复 3 次。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡 细胞接种、实验分组、培养时间均同周期, 收集细胞, 依次加入 5 μl AnnexinV-FITC、5 μl PI, 轻轻混匀, 室温 ($20 \sim 25^\circ\text{C}$) 下避光孵育 10 ~ 15 min; 随即上机检测。

1.2.5 划痕愈合试验检测细胞迁移能力 取对数期的 TPC-1 细胞, 细胞接种、实验分组均同周期, 细胞贴壁后弃上清液, 用 200 μl 的移液枪头在预定的直线位置划“—”字划痕; 用无血清培养基洗涤各孔; 加入各浓度 Torin2, 培养 24 h; 分别在 0、24 h 拍摄并测量划痕区域面积, 计算细胞划痕愈合率 (%) = $(1 - 24 \text{ h 的划痕区域面积} / 0 \text{ h 的划痕区域面积}) \times 100\%$ 。试验重复 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析, 符合正态分布的计量资料的描述采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间资料比较采用单因素方差分析, 并应用最小显著差数法进行两两比较, 应用 FlowJo 软件进行流式细胞图形分析, Image J 软件分析图像, Graphpad Prism 7.0 软件绘制图表, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 Torin2 对人正常甲状腺 Nthy-ori-3 细胞系增殖的影响 用不同浓度 (100、200、400 nmol/L) 的 Torin2 处理 Nthy-ori-3 细胞 24、48、72 h 后, 与用药前空白对照组 (0 nmol/L Torin2) 相比, 增殖抑制率无变化, 差异无统计学意义。

2.2 不同浓度 Torin2 对人 PTC 的 TPC-1 细胞增殖的影响 与空白对照组相比, 随着 Torin2 浓度的增加, 作用时间的延长, 对 TPC-1 细胞增殖的抑制率增高, 抑制细胞增殖的能力增强; 当处理时间一定时, TPC-1 细胞的增殖抑制率随着 Torin2 浓度的增加而逐渐增高, 各加药组组间比较差异有统计学意义 ($F = 180.019$, $P < 0.001$; $F = 163.924$, $P < 0.001$; $F = 65.882$, $P < 0.001$); 在同一浓度组, 细胞增殖抑

制率随时间延长逐渐增加, 各加药组组间比较差异有统计学意义 ($F = 135.918$, $P < 0.001$; $F = 277.068$, $P < 0.001$; $F = 1013.334$, $P < 0.001$)。实验显示 Torin2 可抑制 TPC-1 细胞的增殖。见表 1、图 1。

表 1 不同浓度 Torin2 对 TPC-1 细胞增殖抑制率影响 (%) $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

Torin2 浓度 (nmol/L)	24 h	48 h	72 h
0	0	0	0
100	29.75 $\pm$ 1.14 ***	40.84 $\pm$ 2.85 ***	50.78 $\pm$ 1.28 ***
200	50.38 $\pm$ 2.24 ***	61.63 $\pm$ 2.02 ***	70.27 $\pm$ 1.35 ***
400	60.64 $\pm$ 5.14 ***	71.54 $\pm$ 1.94 ***	81.99 $\pm$ 0.97 ***

与空白对照组比较: *** $P < 0.001$

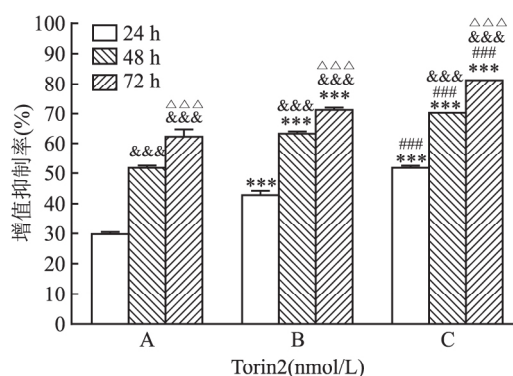


图 1 不同浓度 Torin2 对 TPC-1 细胞株作用不同时间的抑制率的影响

A: 100 nmol/L Torin2 组; B: 200 nmol/L Torin2 组; C: 400 nmol/L Torin2 组; 与 100 nmol/L Torin2 组比较: *** $P < 0.001$; 与 200 nmol/L Torin2 组比较: ### $P < 0.001$; 与 24 h 比较: &&& $P < 0.001$; 与 48 h 比较: $\Delta\Delta\Delta$ $P < 0.001$

2.3 不同浓度的 Torin2 对人正常甲状腺 Nthy-ori-3 细胞系周期的影响 经不同浓度 Torin2 对 Nthy-ori-3 细胞作用不同时间后, 与对照组 (0 nmol/L) 相比, 细胞各个时期 DNA 含量几乎无差异。此结果提示 Torin2 对细胞的周期无显著影响。

2.4 不同浓度 Torin2 对人 PTC 的 TPC-1 细胞周期的影响 经不同浓度 Torin2 处理 TPC-1 细胞作用 24、48 h 后, 与对照组相比, G_1 期细胞比例逐渐增加 ($F = 150.141$, $P < 0.001$; $F = 128.909$, $P < 0.001$), S 期细胞比例逐渐减少 ($F = 140.625$, $P < 0.001$; $F = 92.961$, $P < 0.001$), 差异有统计学意义, 而 G_2 期, Torin2 并未对其有影响 ($F = 1.032$, $P = 0.429$; $F = 2.071$, $P = 0.183$); 同一浓度作用下, 随着作用时间的延长, G_1 期 DNA 含量逐渐增加 ($F = 60.522$, $P = 0.001$), S 期的含量逐渐下降 ($F = 105.991$, $P = 0.001$), 差异有统计学意义; 3 种浓度相比, 400

表2 不同浓度 Torin2 作用不同时间对人 PTC 的 TPC-1 细胞周期影响(% $n=3 \bar{x} \pm s$)

时间(h)	24 h			48 h		
浓度(nmol/L)	G ₁ 期	S 期	G ₂ 期	G ₁ 期	S 期	G ₂ 期
0	31.18 ± 2.01	57.25 ± 2.22	11.57 ± 1.81	42.59 ± 2.44	60.42 ± 0.85	9.51 ± 0.95
100	40.23 ± 1.48 ***	47.69 ± 0.93 ***	12.08 ± 1.70	56.73 ± 2.86 ***	34.42 ± 4.50 ***	11.25 ± 2.65
200	53.71 ± 1.65 ***	36.61 ± 3.24 ***	9.68 ± 1.91	71.00 ± 1.97 ***	18.50 ± 1.69 ***	8.68 ± 0.65
400	63.15 ± 2.67 ***	24.83 ± 0.68 ***	12.02 ± 2.25	80.07 ± 2.66 ***	8.61 ± 1.13 ***	8.63 ± 0.61

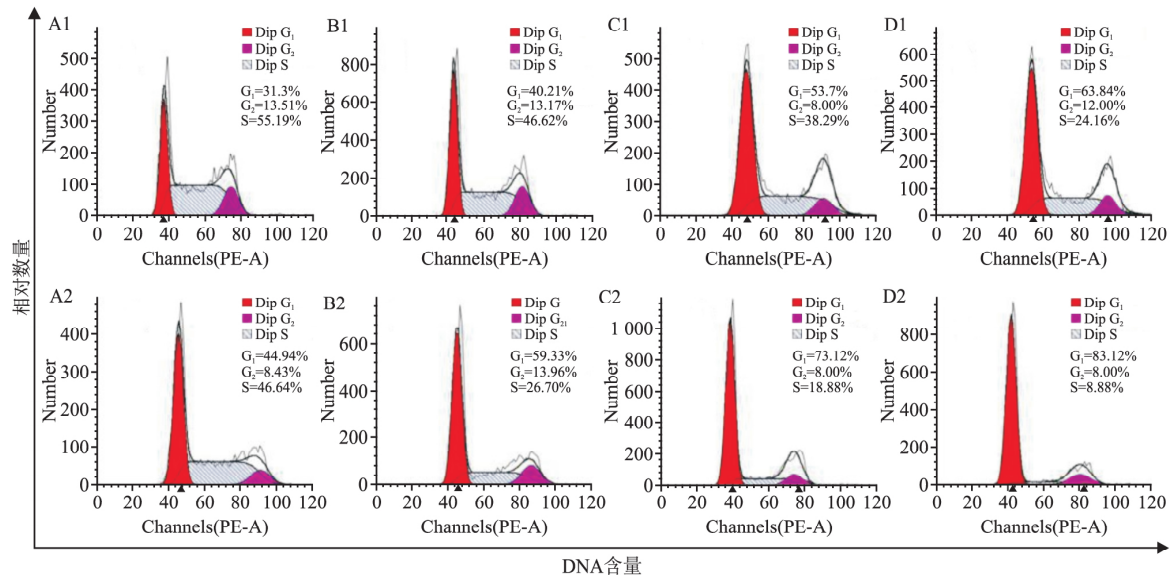
与空白对照组比较: *** $P < 0.001$ 

图2 不同浓度 Torin2 对 PTC 的 TPC-1 细胞作用不同时间细胞周期的分布图

A: 空白对照组(0 nmol/L Torin2); B: 100 nmol/L Torin2 组; C: 200 nmol/L Torin2 组; D: 400 nmol/L Torin2 组; 1: 24 h; 2: 48 h

nmol/L 的 Torin2 G₁ 期细胞比例最高 S 期细胞比例较低, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。以上结果提示用 Torin2 处理后, TPC-1 细胞的细胞分裂周期在 G₁ 期被阻断, 此时 TPC-1 细胞的存活、生长受到抑制, 这种抑制作用随 Torin2 浓度的增加而增强, 400 nmol/L 的 Torin2 对 TPC-1 细胞周期的阻滞作用最强, 呈时间和浓度依赖性。见表 2、图 2、图 3。

2.5 不同浓度的 Torin2 对人正常甲状腺 Nthy-ori-3 细胞系凋亡的影响 经不同浓度的 Torin2 处理 Nthy-ori-3 细胞 24、48 h 后, 与对照组 (0 nmol/L) 相比, 凋亡率无明显不同 ($F = 0.098$, $P = 0.959$; $F = 1.345$, $P = 0.325$)。

2.6 不同浓度 Torin2 对人 PTC 的 TPC-1 细胞凋亡影响 与对照组 (0 nmol/L) 相比, 不同浓度的 Torin2 作用于人乳头状甲状腺癌 TPC-1 细胞 24、48 h, 细胞凋亡率均上升, 且随浓度的增加凋亡率逐渐上升 ($F = 385.736$, $P < 0.001$; $F = 429.731$, $P < 0.001$), 差异有统计学意义, 但随着时间的延长, 凋亡率并无增加 ($P > 0.05$)。见表 3、图 4、图 5。

2.7 不同浓度的 Torin2 对人 PTC 的 TPC-1 细胞

表3 人 PTC 的 TPC-1 细胞在不同浓度 Torin2 作用下的凋亡率 (% $n=3 \bar{x} \pm s$)

Torin2 浓度(nmol/L)	24 h	48 h
0	5.34 ± 0.27	4.58 ± 0.18
100	7.61 ± 0.26 ***	6.73 ± 0.16 ***
200	9.83 ± 0.10 ***	9.45 ± 0.39 ***
400	11.86 ± 0.31 ***	12.67 ± 0.37 ***

与空白对照组(0 nmol/L Torin2) 比较: *** $P < 0.001$

迁移的影响 统计各浓度 Torin2 处理 TPC-1 细胞 24 h 划痕愈合率分别为 (38.48 ± 1.77) %、(26.65 ± 0.59) %、(15.98 ± 1.55) %, 与对照组 (49.82 ± 2.14 %) 相比差异有统计学意义 ($F = 245.272$, $P < 0.001$), 且随着 Torin2 浓度增加, 划痕愈合率逐渐降低, 此结果提示 Torin2 对细胞迁移能力的抑制越来越强。见图 6、7。

3 讨论

PI3K/Akt/mTOR 信号通路已被发现在多种肿瘤细胞中异常激活, 是癌症发生发展中重要的基因信号通路。mTOR 位于该通路的下游, 活化后通过

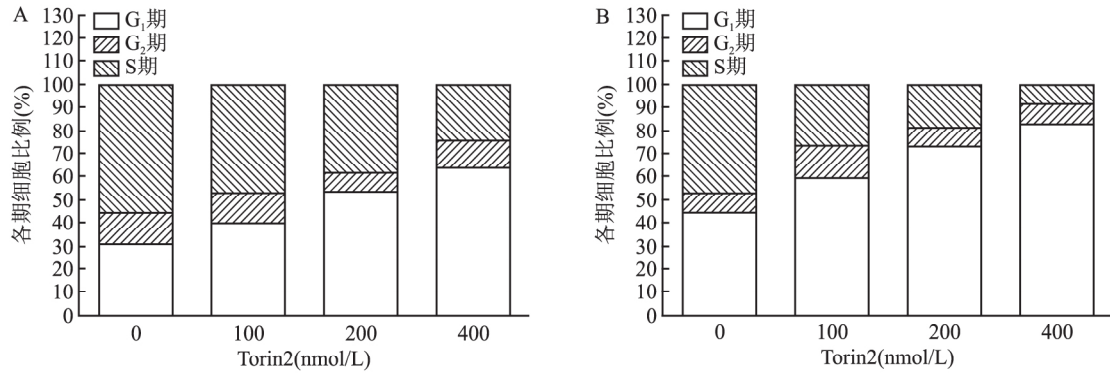


图3 不同浓度 Torin2 对 TPC-1 细胞作用不同时间细胞周期的百分比

A: TPC-1 24 h; B: TPC-1 48 h

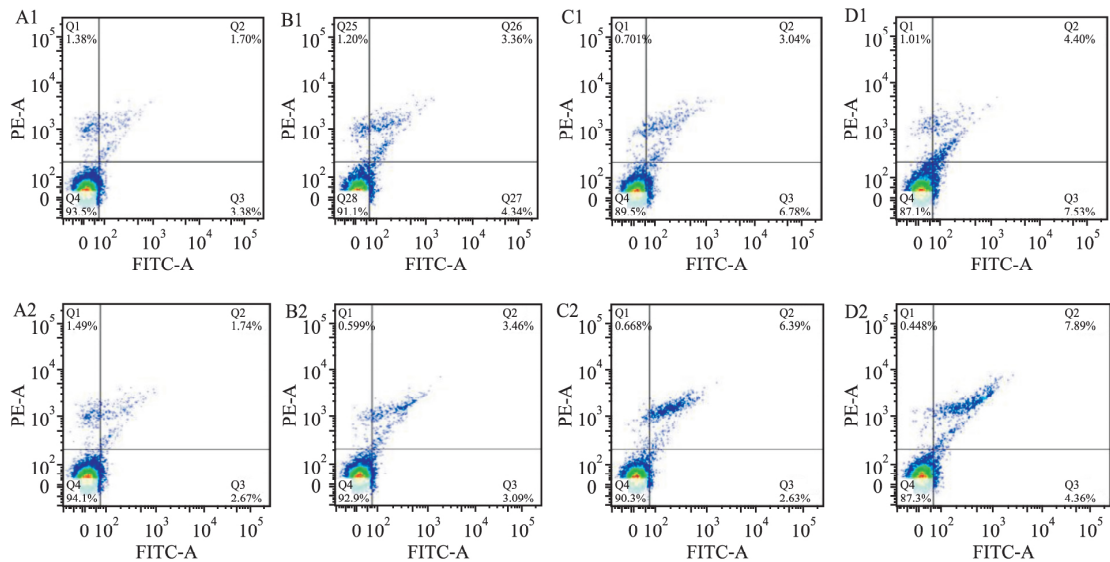


图4 不同浓度 Torin2 作用不同时间的 TPC-1 细胞凋亡率的分布图

A: 空白对照组; B: 100 nmol/L Torin2 组; C: 200 nmol/L Torin2 组; D: 400 nmol/L Torin2 组; 1: 24 h; 2: 48 h; Q1 (Annexin V⁻, PI⁺): 机械损伤、坏死细胞群; Q2 (Annexin V⁺, PI⁺): 晚期凋亡细胞群; Q3 (Annexin V⁺, PI⁻): 正常活细胞群; Q4 (Annexin V⁺, PI⁻): 早期凋亡细胞群; 细胞的总凋亡率 = 早期凋亡率 (Q4) + 晚期凋亡率 (Q2)

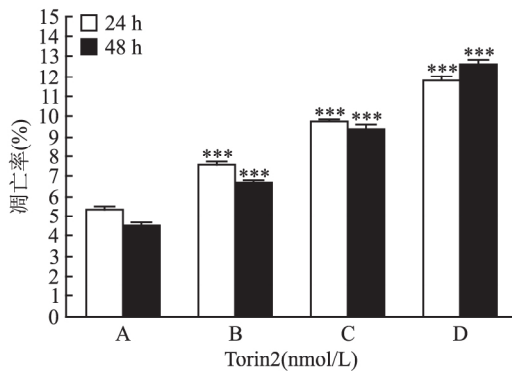


图5 不同浓度 Torin2 作用不同时间对 TPC-1 细胞凋亡率的影响

A: 空白对照组; B: 100 nmol/L Torin2 组; C: 200 nmol/L Torin2 组; D: 400 nmol/L Torin2 组; 与 0 nmol/L Torin2 组比较: *** $P < 0.001$

介导下游重要信号分子而影响细胞增殖、凋亡、代谢等生理活动, mTOR 通路的过度激活是许多肿瘤重要的致瘤机制之一。所以此信号通路将极可能成为治疗 PTC 的一个有效的靶点。mTOR 抑制剂不仅可以抑制癌细胞增殖、生长, 还可以抑制肿瘤转移, 减少肿瘤血管新生^[8-9], 其主要包括雷帕霉素及相关类似物(如西罗莫司、依维莫司等)、ATP 竞争性抑制剂、能同时抑制 PI3K 和 mTORC1/2 的双重抑制剂^[10]。研究^[7, 11-12]表明, Torin2 作为一种新型的第三代 ATP 竞争性抑制剂, 其对 mTOR 具有强效和选择性, 在细胞生长抑制方面表现出比雷帕霉素更大的效力, 其药代动力学特性优于以前的抑制剂, 已成为研究的一个热点方向, 是一种很有前景的肿瘤靶向治疗药物。本研究通过 MTT 实验检测了不同

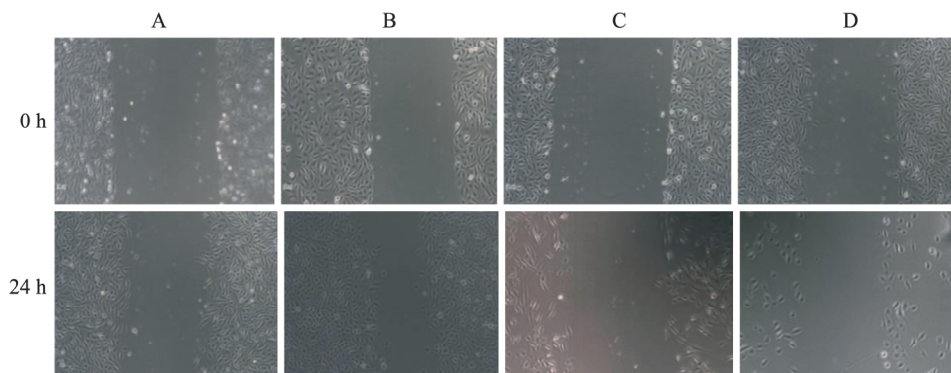


图6 不同浓度 Torin2 处理人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞 24 h 的划痕分布

A: 空白对照组(0 nmol/L Torin2); B: 100 nmol/L Torin2 组; C: 200 nmol/L Torin2 组; D: 400 nmol/L Torin2 组

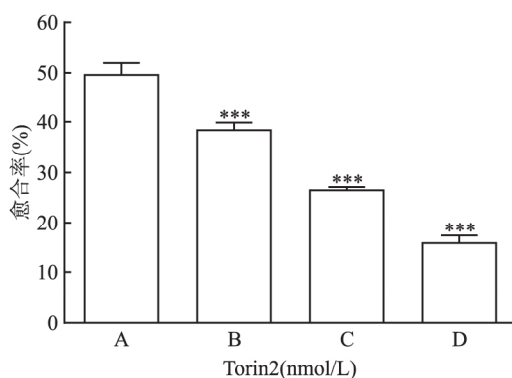


图7 不同浓度 Torin2 对人甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞迁移的影响

A: 空白对照组(0 nmol/L Torin2); B: 100 nmol/L Torin2 组; C: 200 nmol/L Torin2 组; D: 400 nmol/L Torin2 组; 与空白对照组比较: *** $P < 0.001$

浓度的 Torin2 对 TPC-1 细胞系和 Nthy-ori-3 细胞系的作用。结果显示, Torin2 对 Nthy-ori-3 细胞的增殖无明显抑制作用; 但用不同浓度 Torin2 处理 TPC-1 细胞 24、48、72 h 后, 对其生长具有明显的抑制效应, 且具有浓度和时间依赖性, 与 Wang et al^[13] 对肝癌细胞的研究中发现 Torin2 可抑制细胞增殖并诱导凋亡结果相类似。因此推断 Torin2 作用于 TPC-1 细胞株可以抑制 mTOR 信号通路, 可以使肿瘤细胞的生长受到抑制, 癌细胞生存率降低。

该研究为进一步探索 Torin2 抑制 TPC-1 细胞生长的作用机制, 进行了流式细胞分析, 细胞周期结果显示: 应用 Torin2 后对 Nthy-ori-3 细胞周期无影响; 相反, 在 TPC-1 细胞中, 随着 Torin2 浓度的增加和作用时间(24、48 h)的延长, G_1 期的细胞比例逐渐增加, S 期的比例逐渐下降。结果表明, Torin2 可将 TPC-1 细胞周期阻滞于 G_1 期(即 DNA 合成的前期), 无法继续进行细胞分裂, 从而影响癌细胞增殖。

该研究还进行了凋亡的检测, 用不同浓度的 Torin2 处理甲状腺细胞株, 结果显示 Nthy-ori-3 细胞的凋亡率无明显变化; 在 TPC-1 细胞中, 随着 Torin2 作用浓度的增加, TPC-1 细胞的凋亡率亦明显上升, 呈现浓度依赖效应。然而, 随着作用时间(24、48 h)的延长, 凋亡率没有明显增加, 进一步证实, Torin2 可促进 TPC-1 细胞的凋亡。此外, 该研究结果还显示, Torin2 可抑制 TPC-1 细胞的迁移, 且随着浓度的增加, 抑制能力越强, 说明 Torin2 可通过抑制癌细胞的转移而起到抗肿瘤的作用。

以上结果均与皮国成^[14]的研究结果一致。而且 Sadowski et al^[15]曾在未分化甲状腺癌的小鼠模型中使用 Torin2 后显示其抑制肿瘤生长和转移并显著延长总体存活率, 此结果提示 Torin2 对 mTOR 具有强效和选择性, 具有强大的抗肿瘤作用。

参考文献

- [1] Ferlay J, Colombier M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods[J]. Int J Cancer. 2019, 144(8): 1941–53.
- [2] Harari A, Singh R K. Increased rates of advanced thyroid cancer in California[J]. J Surg Res. 2016, 201(1): 244–52.
- [3] 田文, 郝洪庆, 王冰. 重视甲状腺癌术后规范化长期随访[J]. 中国实用外科杂志. 2017, 37(9): 937–40.
- [4] Sheng M, Zhao Y, Wang F, et al. Targeted drugs for unselected patients with advanced non-small-cell lung cancer: a network meta-analysis[J]. J Thorac Dis. 2016, 8(1): 98–115.
- [5] Deng L, Chen J, Zhong X R, et al. Correlation between activation of PI3K/AKT/mTOR pathway and prognosis of breast cancer in Chinese women[J]. PLoS One. 2015, 10(3): e0120511.
- [6] Tavares C, Eloy C, Melo M, et al. mTOR pathway in papillary thyroid carcinoma: different contributions of mTORC1 and mTORC2 complexes for tumor behavior and SLC5A5 mRNA expression[J]. Int J Mol Sci. 2018, 19(5): 1448.

- [7] Watanabe T ,Sato A ,Kobayashi-Watanabe N ,et al. Torin2 potentiates anticancer effects on adult T-cell leukemia/lymphoma by inhibiting mammalian target of rapamycin [J]. *Anticancer Res* , 2016 ,36(1) : 95 – 102.
- [8] Efeyan A ,Sabatini D M. mTOR and cancer: many loops in one pathway [J]. *Curr Opin Cell Biol* 2010 22(2) : 169176.
- [9] 朱小长 ,陶连元 ,杜瀛瀛 ,等. mTOR 抑制剂通过 mTOR 通路介导胰腺癌顺铂耐药的机制研究 [J]. *安徽医科大学学报* , 2019 , 54(8) : 1205 – 10.
- [10] 陈晓伟. mTOR 抑制剂 rapamycin 联合 MEK 抑制剂 PD98059 对胃癌细胞的协同作用与机制研究 [D]. 南京: 东南大学 , 2017.
- [11] Liu Q ,Wang j ,Kang S A , et al. 9-(6-amino-3-pyridyl)-4-[3-(trifluoromethyl) phenyl] benzo [H]-4,6-naphthyridine-2(1H)-one (Torin2) as a potent ,selective ,and orally available mammalian target of rapamycin(mTOR) inhibitor for treatment of cancer [J]. *J Med Chem* 2011 ,54(5) : 1473 – 80.
- [12] Liu Q ,Xu C ,Kirubakaran S ,et al. Characterization of Torin2 ,an ATP-competitive inhibitor of mTOR ,ATM ,and ATR [J]. *Cancer Res* 2013 ,73(8) : 2574 – 86.
- [13] Wang C ,Wang X ,Su Z ,et al. The novel mTOR inhibitor Torin-2 induces autophagy and downregulates the expression of UHRF1 to suppress hepatocarcinoma cell growth [J]. *Oncol Rep* ,2015 ,34(4) : 1708 – 16.
- [14] 皮国成. mTOR 抑制剂 Torin2 对 A549 细胞增殖和迁移的影响及相关机制研究 [D]. 重庆: 第三军医大学 ,2017.
- [15] Sadowski S M ,Boufragech M ,Zhang L ,et al. Torin2 targets dysregulated pathways in anaplastic thyroid cancer and inhibits tumor growth and metastasis [J]. *Oncotarget* ,2015 6(20) : 18038 – 49.

Effect of Torin2 on biological behavior of human papillary thyroid carcinoma cell line

Sun Hongli ,Wei Feng ,Liang Shuqing , et al

(*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 second-generation mammalian target of rapamycin(mTOR) inhibitor 9-(6-amino-3-pyridyl)-4-[3-(trifluoromethyl) phenyl] benzo [H]-4,6-naphthyridine-2(1H)-one (Torin2) on the biological behavior of human papillary thyroid carcinoma(PTC) cells ,so as to provide a new theoretical basis for clinical targeted treatment of PTC. **Methods** Human PTC cell line TPC-1 and human normal thyroid cell line Nthy-ori-3 were treated with different concentrations of Torin2. MTT colorimetry was used to detect cell proliferation ,cell cycle and apoptosis were analyzed by flow cytometry ,and cell migration was analyzed by scratching healing experiment. **Results** ① Compared with that before administration ,no significant change was observed in the human normal thyroid Nthy-ori-3 cell line; ② different concentrations Torin2 (100 ,200 ,400 nmol/L) after acting on TPC-1 cells 24 ,48 and 72 h ,cell proliferation inhibition rate gradually increased ,and there was significant difference ($P < 0.001$). And with the extension of action time (24 ,48 ,72 h) and the increase of concentration ,the inhibition effect on cell proliferation was enhanced; ③ different concentrations Torin2 (100 ,200 ,400 nmol/L) after acting on TPC-1 cells 24 and 48 h ,the proportion of G₁ phase cells gradually increased ,while the proportion of S-phase cells gradually decreased ,and there was significant difference ($P < 0.001$) ,indicating significant time and concentration dependence; ④ different concentrations Torin2 (100 ,200 ,400 nmol/L) after acting on TPC-1 cells 24 and 48 h ,the apoptosis rate increased significantly and showed a concentration-dependent effect ,and there was significant difference ($P < 0.001$); ⑤ different concentrations Torin2 (100 ,200 ,400 nmol/L) at each concentration could inhibit the migration of TPC-1 cells ,and with the increase of the concentration ,the inhibition ability was stronger ,and there was significant difference ($P < 0.001$). **Conclusion** Torin2 can significantly inhibit the proliferation and migration of human PTC TPC-1 cells ,block cell cycle ,induce apoptosis ,and enhance its anti-tumor effect with the increase of Torin2 concentration and the prolongation of action time.

Key words Torin2; papillary thyroid carcinoma cell line TPC-1; cell proliferation; cell cycle; apoptosis; migration