

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.05.006

蜂毒素通过下调 F2RL1 表达从而遏制胶质瘤细胞荷瘤小鼠肿瘤增殖的机制*

王健伟^{1,2} 王 俊² 刘 昉² 戴 珂² 王 超^{1,2Δ}

(1 遵义医科大学研究生院 贵州 遵义 563000; 2 贵州省人民医院神经外科 贵州 贵阳 550000)

摘要 目的:探讨蜂毒素通过下调 F2RL1 表达从而遏制胶质瘤细胞荷瘤小鼠肿瘤增殖的机制。**方法:**40 只雄性 NOD/SCID 小鼠(5 周龄, 15-18 g)购自北京维塔河实验动物技术公司。实验前, 让小鼠适应环境一周。NOD/SCID 小鼠在右侧海马体中注射了 2×10^5 U87-MG 细胞建立异种移植模型。当肿瘤体积增长到 100 mm³ 时, 将小鼠随机分为模型组(腹腔注射生理盐水)和蜂毒素组(腹腔注射 5 mg/kg 蜂毒素), 每组 20 只小鼠。在第 5 天(注射的第 5 天)、第 10 天、第 15 天每次处死 5 只小鼠, 通过实时 PCR 分析小鼠肿瘤组织中 F2RL1、Bcl-2、Bax 和 Capase-3 的 mRNA 表达。使用卡尺测量荷瘤小鼠肿瘤体积, 使用电子天平对肿瘤组织进行称重测量。通过蛋白印迹分析肿瘤组织中 p-PI3K、p-AKT 和 p-mTOR 的蛋白表达。通过 TUNEL 染色检测人脑肿瘤中凋亡细胞的百分比。**结果:**蜂毒素组 F2RL1 mRNA 表达较模型组降低($P < 0.05$), 蜂毒素抑制 F2RL1 mRNA 表达。第 5 d、10 d 和 15 d 测得肿瘤体积发现蜂毒素肿瘤体积较模型组减小($P < 0.05$)。第 5 d、10 d 和 15 d 测得肿瘤体积发现蜂毒素肿瘤重量较模型组减轻($P < 0.05$)。蜂毒素组 p-PI3K、p-AKT 和 p-mTOR 的蛋白表达较模型组降低($P < 0.05$)。蜂毒素组 Bax 和 Capase-3 的 mRNA 表达较模型组降低($P < 0.05$), 蜂毒素组 Bcl-2 mRNA 表达较模型组升高($P < 0.05$)。蜂毒素组 TUNEL 阳性细胞的百分比比较模型组升高($P < 0.05$)。**结论:**蜂毒素通过下调肿瘤小鼠体内 F2RL1 表达抑制 PI3K/AKT 信号通路激活, 促进了体内肿瘤细胞凋亡, 从而有效抑制经胶质瘤细胞的生长、增殖。

关键词:蜂毒素; F2RL1; 胶质瘤细胞; 荷瘤小鼠; 细胞凋亡

中图分类号:R-33; R730.264 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)05-830-05

Melittin Inhibits Tumor Proliferation in Glioma-bearing Mice by Downregulating F2RL1 Expression*

WANG Jian-wei^{1,2}, WANG Jun², LIU Fang², DAI Ke², WANG Chao^{1,2Δ}

(1 College of Graduate, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563000, China;

2 Department of Neurosurgery, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou, 550000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the mechanism of melittin inhibiting tumor proliferation in glioma cell tumor-bearing mice by down-regulating the expression of F2RL1. **Methods:** Forty male NOD/SCID mice (5 weeks old, 15-18 g) were purchased from Beijing Weitahel Laboratory Animal Technology Company. Mice were acclimated to the environment for a week before the experiment. NOD/SCID mice were injected with 2×10^5 U87-MG cells in the right hippocampus to establish a xenograft model. When the tumor volume increased to 100 mm³, the mice were randomly divided into model group (injected with normal saline on an empty stomach) and melittin group (injected with 5 mg/kg melittin intraperitoneally), 20 mice in each group. Five mice were sacrificed each time on day 5 (day 5 of injection), day 10, and day 15. The mRNA expression of F2RL1, Bcl-2, Bax and Capase-3 in mouse tumor tissues was analyzed by real-time PCR. The tumor volume of the tumor-bearing mice was measured using calipers, and the tumor tissue was weighed using an electronic balance. The protein expression of p-PI3K, p-AKT and p-mTOR in tumor tissues was analyzed by Western blotting. The percentage of apoptotic cells in human brain tumors was detected by TUNEL staining. **Results:** The expression of F2RL1 mRNA in the melittin group was lower than that in the model group ($P < 0.05$), and melittin inhibited the expression of F2RL1 mRNA. The tumor volume measured on the 5th, 10th and 15th days showed that the melittin tumor volume was reduced compared with the model group ($P < 0.05$). The tumor volume was measured on the 5th, 10th and 15th days, and the melittin tumor weight was reduced compared with the model group ($P < 0.05$). The protein expressions of p-PI3K, p-AKT and p-mTOR in the melittin group were lower than those in the model group ($P < 0.05$). The mRNA expressions of Bax and Capase-3 in the melittin group were lower than those in the model group ($P < 0.05$), and the mRNA expression of Bcl-2 in the melittin group was higher than that in the model group ($P < 0.05$). The percentage of TUNEL positive cells in the melittin group was higher than that in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Melittin inhibits the activation of PI3K/AKT sig-

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81960454)

作者简介: 王健伟(1992-), 男, 硕士, 住院医师, 研究方向: 脑肿瘤及脑外伤, E-mail: wangjianwei202206@163.com

Δ 通讯作者: 王超(1981-), 男, 博士, 主任医师, 研究方向: 脑肿瘤及脑外伤, E-mail: wang202207111@163.com

(收稿日期: 2022-07-07 接受日期: 2022-07-30)

naling pathway by down-regulating the expression of F2RL1 in tumor mice, and promotes tumor cell apoptosis in vivo, thereby effectively inhibiting the growth and proliferation of glioma cells.

Key words: Mellittin; F2RL1; Glioma cells; Tumor-bearing mice; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R730.264 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)05-830-05

前言

神经胶质瘤是最常见和致命的脑肿瘤,约占恶性脑肿瘤的50%^[1]。胶质瘤患者从确诊到死亡的平均生存时间不到15个月,5年生存率约为4.7%。神经胶质瘤是一种侵袭性脑瘤,尤其是最恶性的多形性胶质母细胞瘤,它起源于星形胶质细胞^[2,3]。尽管手术技术、放疗、化疗、靶向治疗和免疫治疗取得了进展,但恶性胶质瘤患者的反应和预后仍然不理想。具有高干性的恶性细胞具有高致癌潜力、增强的DNA修复能力以及对常规化学疗法和放射线的抗性,可能在治疗后存活并最终导致疾病复发。因此,迫切需要开发用于精确靶向高干性胶质瘤的新型有效疗法。迄今为止,多种治疗性肽,主要是抗菌肽,已广泛用于临床前和临床研究^[4-6]。蜂毒素又称蜂毒素,是一种由26个氨基酸残基组成的小型线性肽,其中氨基末端区域主要是疏水性的,而羧基末端区域是亲水性的。蜂毒素在各种细胞类型中具有多种作用,包括抗病毒、抗菌和抗炎作用^[7-9]。凝血因子ii(凝血酶)受体样1(F2RL1)是与鸟苷核苷酸结合蛋白偶联的跨膜受体大家族的成员,可通过其胞外氨基末端的蛋白水解切割而被激活^[10]。最近的报道表明,F2RL1参与了细胞凋亡的调节,由于细胞凋亡缺陷在癌症的发病机制中起着至关重要的作用^[11]。本研究假设F2RL1可能参与了胶质瘤细胞凋亡的调节。为了验证这一假设,本研究建立了胶质瘤细胞荷瘤小鼠模型,并进一步探讨蜂毒素调节F2RL1表达和遏制肿瘤细胞增殖的机制。

1 动物和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验小鼠 40只雄性NOD/SCID小鼠(5周龄,15-18g)购自北京维塔河实验动物技术公司。实验前,让小鼠适应环境一周。本研究动物实验过程均按照国际动物伦理相关要求展开。

1.1.2 肿瘤移植 NOD/SCID小鼠在右侧海马体中注射了 2×10^5 U87-MG细胞。每只小鼠的注射位置相对一致,注射深度为3 mm。当肿瘤体积增长到100 mm³时,即为移植瘤模型建立成功。将小鼠随机分为模型组和蜂毒素组,每组20只小鼠。模型组空腹注射生理盐水作为对照,蜂毒素组腹腔注射5 mg/kg蜂毒素,注射5次。在第5天(注射的第5天)、第10天、第15天每次处死5只小鼠,解剖肿瘤,拍照,称重。使用电子天平和卡尺测量每只小鼠的体重和肿瘤大小。根据以下公式计算肿瘤体积: $V=0.5 \times L(\text{length}) \times W(\text{width}) \times H(\text{height})$ 。一半的组织被福尔马林固定,切成小块,石蜡包埋。

1.2 实验方法

1.2.1 RNA提取和定量实时PCR 使用Trizol方法(TaKaRa,日本)从肿瘤组织中提取总RNA。根据说明书,通过QuantiTect Reverse Transcription Kit(Qiagen, Germany)将RNA逆转录成cDNA。使用定量实时PCR(qRT-PCR)方法估计

F2RL1、Bcl-2、Bax和Capase-3mRNA的相对表达。使用SYBR Premix Ex TaqTM II试剂盒(Takara, Chiga, Japan)在7300 Real-Time PCR System(美国应用生物系统公司)中进行反应。F2RL1 mRNA的相对表达使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算。每个测试重复3次。**1.2.2 蛋白质印迹** 进行蛋白质印迹分析。使用组织蛋白提取试剂(T-PER, 罗克福德生物试剂, IL, USA)从切除的肿瘤中提取蛋白质。制备的裂解物用于在含有5% 2-巯基乙醇的Laemmli样品缓冲液(Bio-Rad)中进行电泳,并将样品煮沸5 min。来自每个裂解物样品的等量蛋白质,通常为10 lg,在10%上分离Tris-HCl Ready Gel(Bio-Rad),通过电泳转移到Sequi-Blot聚偏二氯乙烯膜(Bio-Rad)上。凝胶电泳在室温下以50 mA进行90 min。转移在室温下以40 V进行120 min。在含有0.1% Tween-20(PBS/Tw)的PBS中简单洗涤膜印迹,在PBS/Tw加2%脱脂奶粉中封闭,在室温下孵育60 min。抗PI3K(ab32089)、抗p-PI3K(ab182651)、抗Akt(ab179463)、抗p-Akt(ab38449)、抗mTOR(ab2732)、抗p-mTOR(ab109268)稀释于PBS/Tw加0.4%脱脂牛奶用作一抗。一抗孵育在室温下进行2小时。洗涤膜并与辣根过氧化物酶缀合的山羊抗小鼠免疫球蛋白G抗体(1:2,000, Santa Cruz Biotechnology)在室温下孵育45 min。使用Hyperfilm ECL(新泽西州皮斯卡塔韦)上的增强化学发光(ECLTM) Western Blotting Detection Reagent and Analysis System(阿默森生物科学英国有限公司)中包含的方案和试剂检测抗体标记的蛋白质。

1.2.3 细胞凋亡测定 在实验结束时杀死小鼠。将肿瘤组织固定在10%福尔马林中,脱蜡并切成4毫米厚的切片。在柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0;用于抗原修复)中进行微波预处理后,将载玻片浸入3%过氧化氢中20 min,在用PBS彻底清洗载玻片后,通过TUNEL测定法测量细胞凋亡。通过荧光显微镜(Nikon)检查核形态。通过IPP(Image-Pro Plus 6.0)软件分析图像。

1.3 统计分析

采用SPSS 18.0用于统计分析,数据表示为平均值 $\pm$ 标准差。通过t检验比较两组之间的差异。 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 蜂毒素抑制F2RL1 mRNA表达

蜂毒素组(1.15 ± 0.06)F2RL1 mRNA表达较模型组(1.98 ± 0.18)降低($P < 0.05$)。

2.2 蜂毒素抑制荷瘤小鼠的肿瘤体积

第5 d、10 d和15 d测得肿瘤体积发现蜂毒素肿瘤体积较模型组减小($P < 0.05$)。(表1)。

2.3 蜂毒素抑制荷瘤小鼠的生长

第5 d、10 d和15 d测得肿瘤体积发现蜂毒素肿瘤重量较模型组减轻($P < 0.05$)。(表2)。

表 1 小鼠肿瘤体积检测(mm^3 , $n=5$)

Table 1 Tumor volume detection of mice(mm^3 , $n=5$)

Groups	5 d	10 d	15 d
Model group	236.49± 41.78	324.52± 68.31	416.34± 89.66
Hip toxin group	175.34± 21.06	253.78± 54.25	326.36± 61.37
t	13.224	9.681	10.536
P	0.012	0.004	0.025

表 2 小鼠肿瘤重量生长(mg , $n=5$)

Table 2 Tumor Weight Growth of the Mouse (mg , $n=5$)

Groups	5 d	10 d	15 d
Model group	285.27± 42.69	346.31± 58.42	415.26± 61.37
Hip toxin group	224.18± 25.47	267.42± 41.29	325.88± 46.30
t	12.316	9.445	10.357
P	0.013	0.024	0.006

2.4 蜂毒素抑制 PI3K/AKT 信号通路激活

蜂毒素组 p-PI3K、p-AKT 和 p-mTOR 的蛋白表达较模型组降低($P<0.05$)。(图 1,表 3)。

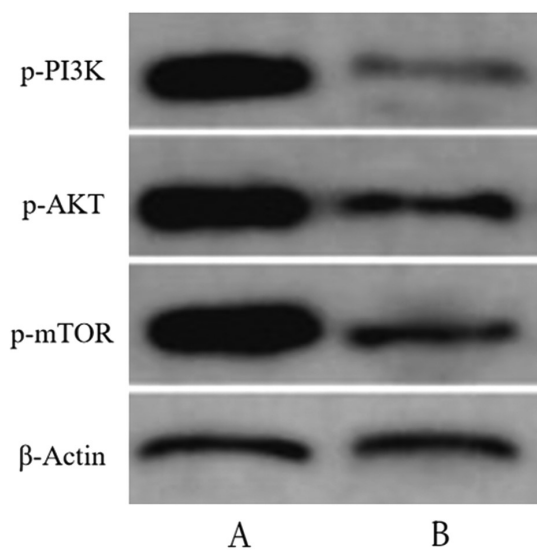


图 1 蛋白印迹分析 PI3K/AKT 通路蛋白的表达结果图
(A:模型组;B:蜂毒素组)

Fig.1 Protein blot analysis of PI3K / AKT pathway proteins
(A: Model group; B: Hip toxin group)

2.5 定量实时 PCR

蜂毒素组 Bax 和 Capase-3 的 mRNA 表达较模型组降低

($P<0.05$),蜂毒素组 Bcl-2 mRNA 表达较模型组升高($P<0.05$)。(表 4)。

2.6 TUNEL 分析细胞凋亡

蜂毒素组($67.41\pm 7.62\%$)TUNEL 阳性细胞的百分比较模型组($14.26\pm 3.47\%$)升高($P<0.05$)。

3 讨论

神经胶质瘤是一种侵袭性脑癌,尤其是最恶性的多形性胶质母细胞瘤,它起源于星形胶质细胞^[12,13]。目前其治疗策略主要依靠手术治疗,但受限于位置特殊性,因此手术治疗无法完全切除肿瘤,而胶质瘤细胞通常对化疗和放疗具有耐受性,因此该肿瘤患者的预后仍然很差,五年生存率较低^[14-16]。

蜂毒素是欧洲蜜蜂 *Apis mellifera* 毒液中的主要成分,它是一种两性亲六肽,其中 N 端和 C 端区域分别主要是疏水和亲水的,其与细胞膜相互作用并在微摩尔浓度下诱导孔形成,从而扰乱细胞膜功能并引发细胞裂解,可抑制前列腺癌、肺癌、卵巢癌和其他癌症中的细胞生长^[17,18]。蜂毒素具有在各种癌细胞中诱导细胞周期停滞、生长抑制、凋亡和坏死的能力,通过体外凋亡细胞死亡对人肝癌和神经胶质瘤细胞系产生显著的生长抑制和细胞毒性^[19,20]。据报道,蜂毒素可以通过增加死亡受体的表达来诱导凋亡细胞死亡来抑制卵巢癌细胞的生长^[21,22]。在本研究中使用胶质瘤细胞系 U87 细胞建立了异种移植肿瘤模型,发现蜂毒素通过下调 F2RL1 的表达抑制体内肿瘤的增殖生长,与上述研究^[19-22]中蜂毒素对各种癌症细胞的影响结果一致。

表 3 PI3K/AKT 通路蛋白的相对表达量($n=5$)

Table 3 Relative expression levels of the PI3 K / AKT pathway proteins($n=5$)

Groups	p-PI3K	p-AKT	p-mTOR
Model group	1.95± 0.17	2.03± 2.01	1.97± 0.18
Hip toxin group	1.13± 0.09	1.04± 0.02	1.08± 0.09
t	11.025	9.447	13.215
P	<0.001	0.004	0.026

表 4 RT-PCR 分析凋亡蛋白 mRNA 表达(n=5)
Table 4 RT-PCR analysis of apoptotic protein mRNA expression(n=5)

Groups	Bcl-2	Bax	Capase-3
Model group	1.95± 0.17	2.03± 2.01	1.97± 0.18
Hip toxin group	1.13± 0.09	1.04± 0.02	1.08± 0.09
t	11.025	9.447	13.215
P	<0.001	<0.001	<0.001

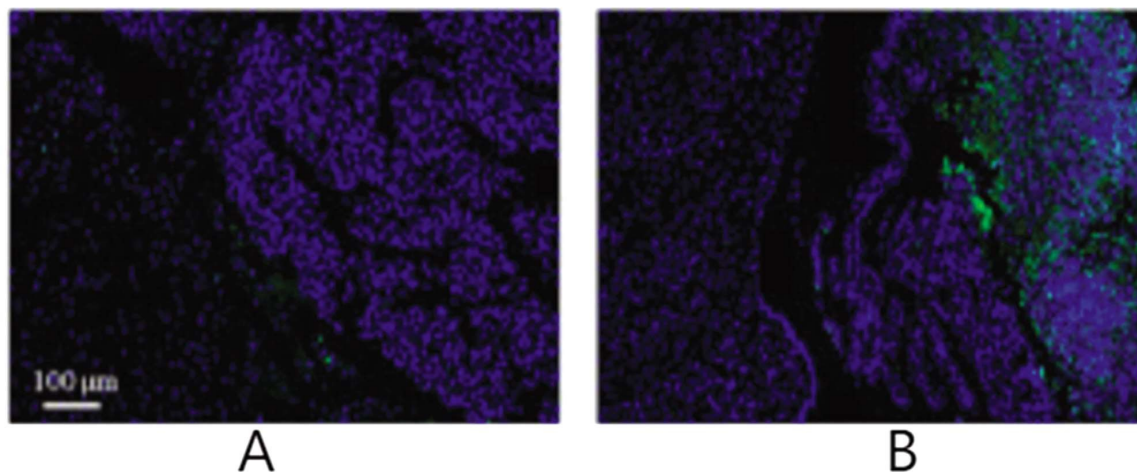


图 2 TUNEL 分析细胞凋亡(A:模型组;B:蜂毒素组)

Fig.2 A T U N E L analysis of cell apoptosis(A: Model group; B: Hip toxin group)

F2RL1 在各种人类癌症中充当癌基因,其过度表达可能导致恶性进展,从而导致不良预后^[23,24]。F2RL1 的上调预示着晚期临床分期和较差的组织学分级,可能是预后不良的生物标志物,其过度激活预示着患者的侵袭性进展,并与肿瘤分化不良和 TNM 分期晚期呈正相关^[25]。研究表明 F2RL1 可能通过抑制 miR-125b 的表达来促进癌细胞迁移。另外 F2RL1 通过增强 MAPK 信号通路中重要的基质金属蛋白酶(MMP)-2 的表达在疾病或癌症中发挥致癌作用^[26]。本研究发现 F2RL1 可能激活 PI3K/AKT 信号通路,从而导致胶质瘤细胞在体内的恶性行为,结合上述相关研究^[23-26]可知:在胶质瘤中可观察到 PI3K/AKT 信号通路的过度激活,因此推测 F2RL1 通过 HOK 中的 PI3K/AKT 途径调节趋化因子的产生。

细胞凋亡是程序性细胞死亡的过程,与坏死不同,细胞凋亡会产生称为凋亡小体的细胞碎片,吞噬细胞能够在细胞内容物溢出到周围细胞并造成损害之前迅速将其吞噬并去除^[27,28]。在生理条件下,细胞凋亡受到多种因素的严格调控,细胞凋亡过多会导致萎缩,破坏功能细胞,例如破坏胰岛诱发糖尿病,而细胞凋亡量不足会导致细胞生长失控,例如癌症。细胞凋亡受死亡受体和死亡因子的调节,以控制细胞增殖和对细胞损伤的反应^[29]。肿瘤发生包括细胞增殖和凋亡细胞死亡之间发生不平衡,导致细胞凋亡逃逸和过度增殖。DNA 损伤可导致基因组不稳定,细胞凋亡、细胞周期检查点改变或有丝分裂后死亡。已知通过 MAPK、Akt、STAT3 的信号传导在神经胶质瘤的各种细胞功能中发挥重要作用,例如细胞增殖、血管生成、细胞凋亡、炎症、肿瘤发生和分化。本研究数据表明,蜂毒素通过下调 F2RL1 可以诱导人神经胶质瘤细胞的凋亡。多种信号通路,包

括 PI3K/AKT、JAK2/STAT3、STAT3、NF- κ b 和 Bcl-2,与蜂毒素的药理活性高度相关。本研究观察到蜂毒素能促进肿瘤细胞中的 Bax 和 Capase-3 活性,并抑制了抗凋亡 Bcl-2 蛋白质活性,并且 Bcl-2-Bax 异源二聚体的形成促进了细胞的存活信号,从而诱导细胞周期停滞和细胞凋亡以响应 DNA 损伤。本研究发现,暴露于蜂毒素后,Bax 和 Bcl-2 水平升高,而 Bcl-2 水平下降,因此,蜂毒素介导的抗肿瘤作用可能部分是由于 Bcl-2 蛋白的调节,与 Nguyen CD^[30]等研究结果一致。

综上所述,本研究表明蜂毒素通过下调肿瘤小鼠体内 F2RL1 表达抑制 PI3K/AKT 信号通路激活,促进了体内肿瘤细胞凋亡,从而有效抑制经胶质瘤细胞的生长、增殖。在人胶质瘤原位异种移植模型中,蜂毒素给药表现出明显的抗癌活性,具有生物活性的蜂毒素可能成为预防人类胶质瘤肿瘤发生的有前途的化合物。

参考文献(References)

- [1] Liu Z, Chen Y, Wang L, et al. ALKBH5 Promotes the Proliferation of Glioma Cells via Enhancing the mRNA Stability of G6PD [J]. Neurochem Res, 2021, 46: 3003-3011
- [2] Zhang Q, Guan G, Cheng P, et al. Characterization of an endoplasmic reticulum stress-related signature to evaluate immune features and predict prognosis in glioma[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25: 3870-3884
- [3] Wang B, Duan R, Li ZB, et al. Circ-RPL15/miR-146b-3p/VEGFA feedback loop is responsible for triggering proliferation and migration in glioma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24: 6204-6210
- [4] Xu Z, Chen X, Hegazy AM, et al. Depletion of CIP2A inhibits the proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition of glioma cells[J]. Brain Res Bull, 2021, 173: 14-21

- [5] Jia Y, Tian Y, An S, et al. Effects of microRNA-195 on the Prognosis of Glioma Patients and the Proliferation and Apoptosis of Human Glioma Cells[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26: 753-763
- [6] Liu J, Zhang Y, Chen T, et al. Environmentally Self-Adaptative Nanocarriers Suppress Glioma Proliferation and Stemness via Codelivery of shCD163 and Doxorubicin [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 52354-52369
- [7] Chai Y, Wu HT, Liang CD, et al. Exosomal lncRNA ROR1-AS1 Derived from Tumor Cells Promotes Glioma Progression via Regulating miR-4686[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 8863-8872
- [8] Gai Q, Guo W, Liu J. EZH2-mediated long-chain non-coding RNA LINC00963 promotes proliferation and invasion of glioma cells through inhibiting p21 expression[J]. *J buon*, 2021, 26: 380-387
- [9] Joyal JS, Nim S, Zhu T, et al. Subcellular localization of coagulation factor II receptor-like 1 in neurons governs angiogenesis[J]. *Nat Med*, 2014, 20(10): 1165-1173
- [10] 温中庆, 张强, 孙雨颀, 等. 基于加权基因共表达网络分析识别 F2RL1 为结直肠癌的核心致病基因[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2022, 51(02): 158-166
- [11] Xiao L, Li X, Mu Z, et al. FTO Inhibition Enhances the Antitumor Effect of Temozolomide by Targeting MYC-miR-155/23a Cluster-MX11 Feedback Circuit in Glioma [J]. *Cancer Res*, 2020, 80: 3945-3958
- [12] Huang CW, Chang YH, Lee HH, et al. Irisin, an exercise myokine, potently suppresses tumor proliferation, invasion, and growth in glioma[J]. *Faseb j*, 2020, 34: 9678-9693
- [13] Wefers AK, Stichel D, Schrimpf D, et al. Isomorphic diffuse glioma is a morphologically and molecularly distinct tumour entity with recurrent gene fusions of MYBL1 or MYB and a benign disease course[J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 139: 193-209
- [14] Cao C, Zhang J, Zhang Z, et al. Knockdown circular RNA circGFRA1 inhibits glioma cell proliferation and migration by upregulating microRNA-99a[J]. *Neuroreport*, 2021, 32: 748-756
- [15] Shen XM, Han S, Liu N, et al. LINC00887 aggravates the malignant progression of glioma via upregulating CCND1 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25: 1928-1935
- [16] Tian YH, Jia LW, Liu ZF, et al. LINC01087 inhibits glioma cell proliferation and migration, and increases cell apoptosis via miR-384/Bcl-2 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13: 20808-20819
- [17] 李玲霞, 张英民. 蜂毒素靶向 PTEN/PI3K/Akt 信号通路调控非小细胞肺癌细胞的增殖、凋亡[J]. *吉林中医药*, 2020, 40: 514-517
- [18] 王崇, 李国林, 郭净洁, 等. 蜂毒肽对口腔鳞癌细胞的增殖及迁移能力的影响[J]. *中国临床研究*, 2021, 34: 18-22
- [19] Yu X, Dai Y, Zhao Y, et al. Melittin-lipid nanoparticles target to lymph nodes and elicit a systemic anti-tumor immune response [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1110
- [20] Lv S, Sylvestre M, Song K, et al. Development of D-melittin polymeric nanoparticles for anti-cancer treatment [J]. *Biomaterials*, 2021, 277: 121076
- [21] Badr-Eldin SM, Alhakamy NA, Fahmy UA, et al. Cytotoxic and Pro-Apoptotic Effects of a Sub-Toxic Concentration of Fluvastatin on OVCAR3 Ovarian Cancer Cells After its Optimized Formulation to Melittin Nano-Conjugates[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 642171
- [22] Alonezi S, Tusiimire J, Wallace J, et al. Metabolomic Profiling of the Synergistic Effects of Melittin in Combination with Cisplatin on Ovarian Cancer Cells[J]. *Metabolites*, 2017, 7(2): 14
- [23] Li R, Yang YE, Yin YH, et al. Methylation and transcriptome analysis reveal lung adenocarcinoma-specific diagnostic biomarkers [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 324
- [24] Soeda M, Ohka S, Nishizawa D, et al. Cold pain sensitivity is associated with single-nucleotide polymorphisms of PAR2/F2RL1 and TRPM8[J]. *Mol Pain*, 2021, 17: 17448069211002009
- [25] 萧文泽, 赵力. 生物信息学方法分析炎症性肠病诱导结直肠癌发生过程的基因调控机制[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2019, 48(05): 537-543
- [26] Shetty PB, Tang H, Tayo BO, et al. Variants in CXADR and F2RL1 are associated with blood pressure and obesity in African-Americans in regions identified through admixture mapping [J]. *J Hypertens*, 2012, 30(10): 1970-1976
- [27] Sun Y, Wang X, Bu X. LINC02381 contributes to cell proliferation and hinders cell apoptosis in glioma by transcriptionally enhancing CBX5[J]. *Brain Res Bull*, 2021, 176: 121-129
- [28] Zhou XY, Liu H, Ding ZB, et al. lncRNA SNHG16 Exerts Oncogenic Functions in Promoting Proliferation of Glioma Through Suppressing p21[J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26: 1021-1028
- [29] Zhang B, Chen J, Cui M, et al. lncRNA ZFAS1/miR-1271-5p/HK2 Promotes Glioma Development Through Regulating Proliferation, Migration, Invasion and Apoptosis [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45: 2828-2839
- [30] Nguyen CD, Lee G. Neuroprotective Activity of Melittin-The Main Component of Bee Venom-Against Oxidative Stress Induced by A β 25-35 in In Vitro and In Vivo Models [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(11): 1654