

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.02.004
文章编号: 1005-8982 (2026) 02-0023-08

实验研究·论著

前列腺素E2通过EP4受体调控甲状腺乳头状癌细胞增殖与侵袭的机制研究*

田颖^{1,3}, 刘文静², 许爱梅³, 王芳⁴, 张方华³

[1. 青岛大学青岛医学院, 山东 青岛 266071; 2. 资阳市人民医院 内分泌科, 四川 资阳 641301; 3. 康复大学青岛中心医院(青岛市中心医院) 内分泌科, 山东 青岛 266000; 4. 青岛大学附属医院 内分泌科, 山东 青岛 266000]

摘要: **目的** 探索前列腺素E2 (PGE2) 在甲状腺乳头状癌发生、发展中的作用及其机制。**方法** 选取甲状腺滤泡细胞 (Nthy-ori 3-1) 及人甲状腺乳头状癌细胞株 TPC-1 细胞进行培养。采用酶联免疫吸附试验检测2种细胞上清液PGE2含量, Western blotting及实时荧光聚合酶链反应检测2种细胞前列腺素E2受体4 (EP4) 表达情况。用0、1、2、5 μmol/L PGE2培养TPC-1细胞, CCK-8法检测细胞存活率, Western blotting检测EP4蛋白表达。0、5 μmol/L PGE2培养TPC-1细胞, CCK-8实验和Transwell实验检测细胞增殖和侵袭能力。0 μmol/L PGE2、5 μmol/L PGE2、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4受体激动剂 (receptor agonist 2)、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4受体抑制剂 (L-161982) 培养TPC-1细胞, CCK-8实验和Transwell实验检测细胞增殖和侵袭能力。**结果** TPC-1细胞上清液PGE2含量高于Nthy-ori 3-1细胞 ($P < 0.05$)。TPC-1细胞EP4受体mRNA表达高于Nthy-ori 3-1细胞 ($P < 0.05$)。TPC-1细胞EP4受体蛋白表达高于Nthy-ori 3-1细胞 ($P < 0.05$)。5 μmol/L PGE2组细胞存活率较0 μmol/L PGE2组升高 ($P < 0.05$)。0 μmol/L PGE2组、5 μmol/L PGE2组24、48、72、96 h的细胞相对增殖率比较, 结果: ①不同时间点细胞相对增殖率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ②两组细胞相对增殖率结果比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ③两组细胞相对增殖率变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。5 μmol/L PGE2组24 h细胞穿膜数高于0 μmol/L PGE2组 ($P < 0.05$)。2 μmol/L PGE2组、5 μmol/L PGE2组EP4蛋白相对表达量较0 μmol/L PGE2组升高 ($P < 0.05$)。0 μmol/L PGE2组、5 μmol/L PGE2组、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 receptor agonist 2组、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 L-161982组24 h、48 h、72 h、96 h的细胞相对增殖率比较, 结果: ①不同时间点细胞相对增殖率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ②各组细胞相对增殖率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ③各组细胞相对增殖率变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。5 μmol/L PGE2+EP4 receptor agonist 2组细胞穿膜数较5 μmol/L PGE2组增加 ($P < 0.05$), 5 μmol/L PGE2+EP4 L-161982组细胞穿膜数较5 μmol/L PGE2组减少 ($P < 0.05$)。**结论** PGE2通过EP4受体促进TPC-1细胞增殖及侵袭。

关键词: 甲状腺乳头状癌; 前列腺素E2; EP4受体

中图分类号: R736.1

文献标识码: A

Mechanism study of prostaglandin E2 regulating proliferation and invasion of papillary thyroid carcinoma cells via the EP4 receptor*

Tian Ying^{1,3}, Liu Wen-jing², Xu Ai-mei³, Wang Fang⁴, Zhang Fang-hua³

[1. Qingdao Medical College of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China; 2. Department of Endocrinology, Ziyang People's Hospital, Ziyang, Sichuan 0641301, China; 3. Department of

收稿日期: 2025-06-29

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No: 82270829)

[通信作者] 张方华, E-mail: fangh0121@163.com

Endocrinology, Qingdao Central Hospital, University of Health and Rehabilitation Sciences (Qingdao Central Hospital), Qingdao, Shandong 266000, China; 4. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China]

Abstract: Objective To investigate the role of prostaglandin E2 (PGE2) in the pathogenesis of papillary thyroid carcinoma and its underlying mechanisms. **Methods** Human thyroid follicular cells (Nthy-ori 3-1) and papillary thyroid carcinoma cells (TPC-1) were cultured. The concentration of PGE2 in the cell culture supernatant was measured by ELISA. The expression of prostaglandin E2 receptor 4 (EP4) in both cell lines was detected by Western Blotting and qRT-PCR. TPC-1 cells were treated with 0 $\mu\text{mol/L}$, 1 $\mu\text{mol/L}$, 2 $\mu\text{mol/L}$, or 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2, cell viability was assessed using the CCK-8 assay, and EP4 protein expression was detected by Western Blotting. TPC-1 cells were treated with 0 $\mu\text{mol/L}$ or 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2, and cell proliferation and invasion capabilities were evaluated using the CCK-8 assay and Transwell assay, respectively. Furthermore, TPC-1 cells were treated with 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2, 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2, 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 combined with 5 $\mu\text{mol/L}$ EP4 receptor agonist (receptor agonist 2), or 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 combined with 5 $\mu\text{mol/L}$ EP4 receptor inhibitor (L-161982), and cell proliferation and invasion capabilities were subsequently measured using the CCK-8 assay and Transwell assay. **Results** The PGE2 content in the culture supernatant of TPC-1 cells was higher than that of Nthy-ori 3-1 cells ($P < 0.05$). The mRNA expression level of the EP4 receptor in TPC-1 cells was higher than that in Nthy-ori 3-1 cells ($P < 0.05$). The protein expression level of the EP4 receptor in TPC-1 cells was higher than that in Nthy-ori 3-1 cells ($P < 0.05$). The cell viability in the 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group was higher than that in the 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group ($P < 0.05$). A repeated-measures ANOVA was conducted to compare the relative proliferation rates of cells in the 0 $\mu\text{mol/L}$ and 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 groups at 24, 48, 72, and 96 h, and the results showed that the differences in relative proliferation rates among different time points were statistically significant ($P < 0.05$) and that the differences in relative proliferation rates between the two groups were statistically significant ($P < 0.05$). The differences in the change trends of relative proliferation rates between the two groups were also statistically significant ($P < 0.05$). The number of cells passing through the membrane in the 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group at 24 h was higher than that in the 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group ($P < 0.05$). The relative expression levels of EP4 protein in the 2 $\mu\text{mol/L}$ and 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 groups were higher than those in the 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group ($P < 0.05$). A repeated-measures ANOVA was performed to compare the relative proliferation rates of cells in the 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group, 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group, 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 + 5 $\mu\text{mol/L}$ EP4 receptor agonist 2 group, and 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 + 5 $\mu\text{mol/L}$ EP4 L-161982 group at 24, 48, 72, and 96 h, and the results showed that the differences in relative proliferation rates among different time points were statistically significant ($P < 0.05$) and that the differences in relative proliferation rates among the groups were statistically significant ($P < 0.05$). The differences in the change trends of relative proliferation rates among the groups were also statistically significant ($P < 0.05$). The number of cells passing through the membrane in the 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 + EP4 receptor agonist 2 group was higher than that in the 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group ($P < 0.05$), while the number of cells passing through the membrane in the 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 + EP4 L-161982 group was lower than that in the 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 group ($P < 0.05$). **Conclusion** PGE2 promotes proliferation and invasion of TPC-1 cells via the EP4 receptor.

Keywords: thyroid cancer; prostaglandin E2; EP4 receptor

甲状腺癌 (thyroid cancer, TC) 是目前世界上最常见的内分泌恶性肿瘤, 约占全球所有癌症的 4.1%, 通常预后良好, 5 年生存率约 98.5%^[1]。尽管如此, TC 仍会显著影响患者的生活质量。TC 的风险随着年龄的增长而增加, 而全球衰老过程可能会加剧这一趋势。TC 的发病机制尚不明确, 目前普遍认为多种基因、通路及代谢异常在 TC 发病中发挥了重要作用。有研究指出, 相比邻近非甲状腺癌组织及结节性甲状腺肿, 甲状腺乳头状癌组

织中的前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 以及前列腺素 E2 受体 4 (prostaglandin E2 receptor 4, EP4) 表达均明显升高^[2]。本研究旨在细胞水平上研究 TC 与正常甲状腺滤泡细胞之间的 PGE2 及 EP4 受体表达是否有差异, 在差异有统计学意义的前提假设下, 通过激动剂和抑制剂的使用进一步探讨 PGE2 是否通过 EP4 受体参与了 TC 的发生、发展。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂

人甲状腺滤泡上皮细胞株 Nthy-ori 3-1 和人甲状腺乳头状癌细胞株 TPC-1 购自上海赛百慷生物技术股份有限公司; PGE2 ELISA 试剂盒 (货号: EK7124)、一抗 GAPDH 兔单克隆抗体 (货号: BM1623) 购自武汉博士德生物工程有限公司; PAGE 凝胶快速制备试剂盒 (10%) (货号: PG112) 购自上海雅酶生物医药科技有限公司; 一抗 EP4 受体兔单克隆抗体 (货号: 24895-1-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; PGE2 (货号: HY-101952)、EP4 受体激动剂 (EP4 receptor agonist 2) (货号: HY-118609) 和 EP4 受体抑制剂 (L-161982) (货号: HY-108559) 均购自美国 MedChemExpress 公司, 并溶于 DMSO 中; 逆转录试剂盒 (货号: DLR102)、实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (货号: TSE501) 均购自北京擎科生物科技股份有限公司; BD 基质胶 (货号: 356234) 购自美国 BD 公司。

1.2 细胞培养与分组

含有 10% 胎牛血清及 1% 青霉素-链霉素溶液的 RPMI 1640 用于培养 Nthy-ori3-1 和 TPC-1 细胞, 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 和 qRT-PCR 实验明确 2 种细胞上清液 PGE2 及 EP4 受体表达是否存在差异。含有血清培养基中加入 1、2、5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 培养 TPC-1 细胞 24 h, 并以 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 (不加 PGE2) 的 TPC-1 细胞作为对照, CCK-8 法及 Western blotting 实验检测用于评估不同浓度 PGE2 对 TPC-1 细胞存活率及 EP4 蛋白表达影响。在含有血清的培养基中加入 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 为实验组干预 TPC-1 细胞, 并以 0 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 为对照, 采用 CCK-8 法及 Transwell 试验评估 PGE2 对 TPC-1 细胞生物学行为的影响。另选择 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 作为有效干预浓度, 分别加入 5 $\mu\text{mol/L}$ EP4 receptor agonist 2 或 5 $\mu\text{mol/L}$ EP4 L-161982, 应用 CCK-8 实验及 Transwell 试验检测细胞的增殖、侵袭能力, 探究 PGE2 是否通过 EP4 受体影响 TPC-1 细胞生物学行为 (实验浓度参照参考文献[3]实验方法)。所有细胞均置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 培养箱中培养。

1.3 ELISA 检测两种细胞上清 PGE2 含量

取处于对数生长期的细胞, 胰酶消化后制成细胞悬液接种于 6 孔板上, 待细胞生长至约 80% 密度时, 每孔更换为 2 mL 无血清 RPMI 1640 培养基, 24 h 后以 2 991 r/min 离心 20 min, 半径 10 cm, 收集细胞上清液, 按试剂盒说明书测定 PGE2 浓度。每组重复 3 次。

1.4 qRT-PCR 检测各组细胞 EP4 受体 mRNA 表达

采用 TRIzol 一步法提取细胞总 RNA, 取 1 μg 总 RNA 逆转录合成 cDNA。按照试剂盒说明书建立总体积为 20 μL 的 PCR 反应体系, 其中 cDNA 4 μL , SYBR Green PCR Master Mix 10 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 的正反向引物各 0.4 μL , 去离子水 5.2 μL 。PCR 反应过程: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 1 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 20 s, 共 40 个循环。GAPDH 作为内参基因, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各基因 mRNA 相对表达量。每组重复 3 次。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列(5'-3')	长度/bp
EP4	正向: GCGAGATCCAGATGGTCAT	20
	反向: GATGGCCTGCAAATCTGGATT	21
GAPDH	正向: CATGTTTCGTCATGGGTGTGAA	21
	反向: GGCATGGACTGTGGTCATGAG	21

1.5 Western blotting 检测各组细胞蛋白表达

用 1% 蛋白酶抑制剂 RIPA 裂解缓冲液提取细胞总蛋白, 采用 BCA 法进行蛋白定量, 各取 20 μg 蛋白上样并进行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白。利用湿电转膜仪将分离的蛋白质转至 PVDF 膜上, 快速封闭液室温摇床封闭 0.5 h, 加入一抗 EP4 受体 (1: 1 000)、一抗 GAPDH (1: 20 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST 洗膜, 加入山羊抗兔二抗 (1: 1 000), 室温摇床孵育 1 h。TBST 洗膜后 ECL 显像。GAPDH 为内参蛋白。每组重复 3 次。用 Image J 软件进行图像分析, 以目的蛋白 / 内参蛋白的灰度比值表示目的蛋白的相对表达量。

1.6 CCK-8 法检测各组细胞增殖能力

96 孔板接种 TPC-1 细胞, 浓度为 2×10^4 个/mL, 每孔接种 100 μL , 每组细胞设置 6 个复孔, 贴壁后加药处理, 分别培养 24、48、72、96 h。吸弃旧培养液, 每孔加入 100 μL 新鲜配制的含 10% CCK-8

的培养液，培养箱孵育 4 h。酶标仪测定波长为 450 nm 处各孔的吸光度值。细胞存活率 = (实验组吸光度值 - 空白对照吸光度值) / (对照组吸光度值 - 空白对照吸光度值) × 100%。细胞在 24 h 的相对增殖率被设定为归一化处理不同时间点吸光度值，相对增殖率 = (不同时间点吸光度值 - 空白对照吸光度值) / (对照时间点 24 h 吸光度值 - 空白对照吸光度值) × 100%。

1.7 Transwell 试验检测各组细胞侵袭能力

基质胶与无血清培养基按 1 : 8 比例冰上稀释混匀，Transwell 上室每室铺胶 100 μ L，37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 3 h 后吸掉多余液体，加入 100 μ L 无血清培养基水化，0.5 h 后吸出。TPC-1 细胞计数接种浓度为 1×10^5 个/mL，上室每室接种 200 μ L 细胞悬液，下室加入 500 μ L 含血清培养基。24 h 后吸尽上、下室中液体，4% 多聚甲醛固定 15 min，1% 结晶紫染色 10 min，倒置显微镜下观察细胞穿膜情况。

1.8 统计学方法

数据分析采用 Graphpad Prism 10.0 软件统计。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，比较采用 *t* 检验或单因素方差分析，两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PGE2 在 Nthy-ori 3-1 细胞与 TPC-1 细胞上清中的表达情况

使用 ELISA 检测细胞上清液 PGE2 含量，Nthy-ori 3-1 与 TPC-1 细胞上清液 PGE2 含量分别为 (1.26 ± 0.54)、(4.33 ± 1.78) pg/mL，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($t = 3.295$, $P = 0.017$)，TPC-1 细胞上清液 PGE2 含量高于 Nthy-ori 3-1 细胞。

2.2 EP4 受体在 Nthy-ori 3-1 细胞与 TPC-1 细胞中表达情况

qRT-PCR 结果示，Nthy-ori 3-1 与 TPC-1 细胞 EP4 受体 mRNA 相对表达量分别为 (1.00 ± 0.09)、(2.25 ± 0.05)，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($t = 22.230$, $P = 0.000$)，TPC-1 细胞 EP4 受体 mRNA 表达高于 Nthy-ori 3-1 细胞。

Western blotting 检测结果示，Nthy-ori 3-1 与 TPC-1 细胞 EP4 受体蛋白相对表达量分别为 (1.00 ± 0.18)、(1.57 ± 0.25)，经 *t* 检验，差异有统

计学意义 ($t = 3.161$, $P = 0.034$)，TPC-1 细胞 EP4 受体蛋白表达高于 Nthy-ori 3-1 细胞。见图 1。

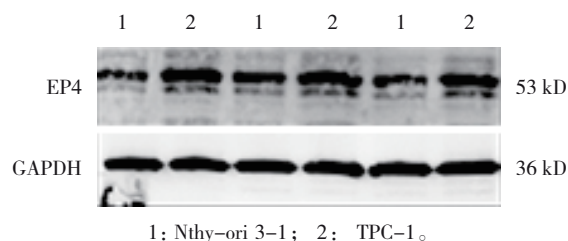


图 1 Nthy-ori 3-1 细胞与 TPC-1 细胞 EP4 受体蛋白条带图

2.3 PGE2 对 TPC-1 细胞增殖、侵袭和 EP4 受体蛋白表达的影响

0 μ mol/L PGE2 组、1 μ mol/L PGE2 组、2 μ mol/L PGE2 组、5 μ mol/L PGE2 组细胞存活率分别为 (100.00 ± 0.32)%、(101.08 ± 1.85)%、(101.64 ± 1.74)%、(112.78 ± 2.05)%，经单因素方差分析，差异有统计学意义 ($F = 39.780$, $P = 0.000$)。5 μ mol/L PGE2 组细胞存活率较 0 μ mol/L PGE2 组升高 ($P < 0.05$)，1 μ mol/L PGE2 组、2 μ mol/L PGE2 组与 0 μ mol/L PGE2 组比较，差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，5 μ mol/L PGE2 明显促进 TPC-1 细胞存活率。

0 μ mol/L PGE2 组、5 μ mol/L PGE2 组 24、48、72、96 h 的细胞相对增殖率比较，经重复测量设计的方差分析，结果：①不同时间点细胞相对增殖率比较，差异有统计学意义 ($F = 1\ 973.000$, $P = 0.000$)，相对增殖率随时间增加而升高；②两组细胞相对增殖率结果比较，差异有统计学意义 ($F = 207.400$, $P = 0.000$)，5 μ mol/L PGE2 组在 48、72、96 h 相对增殖率高于 0 μ mol/L PGE2 组，表明 PGE2 促进 TPC-1 细胞增殖；③两组细胞相对增殖率变化趋势比较，差异有统计学意义 ($F = 62.490$, $P = 0.000$)，表明 PGE2 对 TPC-1 细胞增殖影响的时间依赖性。见表 2 和图 2。

Transwell 侵袭实验结果示，0 μ mol/L PGE2 组、5 μ mol/L PGE2 组 24 h 细胞穿膜数分别为 (185.00 ± 21.21)、(318.50 ± 24.75) 个/HP，经 *t* 检验，差异有统计学意义 ($t = 5.792$, $P = 0.029$)；5 μ mol/L PGE2 组 24 h 细胞穿膜数高于 0 μ mol/L PGE2 组。见图 3。

Western blotting 检测结果示，0 μ mol/L PGE2 组、1 μ mol/L PGE2 组、2 μ mol/L PGE2 组、5 μ mol/L

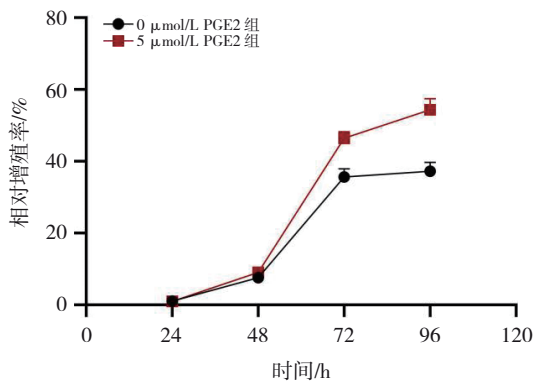


图 2 两组细胞不同时间点相对增殖率比较

表 2 两组细胞不同时间点相对增殖率比较 (n=6, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h	96 h
0 μmol/L PGE2 组	1.00 ± 0.15	7.54 ± 1.00	35.62 ± 2.28	37.26 ± 2.45
5 μmol/L PGE2 组	1.00 ± 0.27	8.914 ± 0.42	46.80 ± 1.72	54.56 ± 3.36

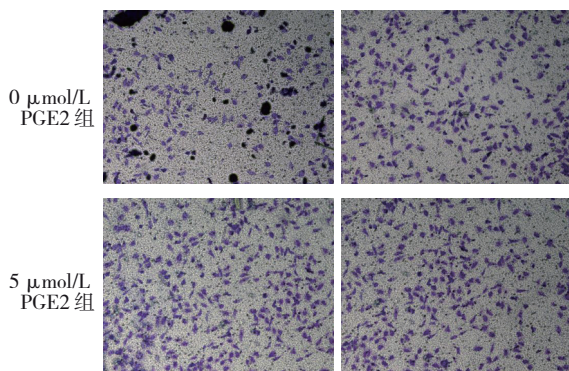


图 3 两组细胞穿膜数比较 (× 10)

PGE2 组 EP4 蛋白相对表达量分别为 (1.00 ± 0.04)、(1.78 ± 0.6)、(3.07 ± 0.51)、(4.05 ± 0.13), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=22.440, P=0.006$); 2 μmol/L PGE2 组、5 μmol/L PGE2 组 EP4 蛋白相对表达量较 0 μmol/L PGE2 组升高 ($P < 0.05$); 1 μmol/L PGE2 组与 0 μmol/L PGE2 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 5 μmol/L PGE2 组明显促进 EP4 受体蛋白表达。见图 4。

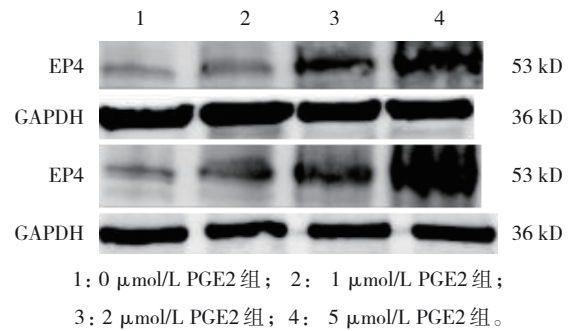


图 4 不同浓度 PGE2 处理 TPC-1 细胞后 EP4 受体蛋白条带图

2.4 EP4 receptor agonist 2 及 L-161982 对 TPC-1 细胞增殖和侵袭能力的影响

CCK-8 法结果示, 0 μmol/L PGE2 组、5 μmol/L PGE2 组、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 receptor agonist 2 组、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 L-161982 组 24、48、72、96 h 的细胞相对增殖率比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点细胞相对增殖率比较, 差异有统计学意义 ($F=1673.000, P=0.000$), 相对增殖率随时间增加而升高; ②各组细胞相对增殖率比较, 差异有统计学意义 ($F=44.010, P=0.000$), 在 72 h、96 h, 5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 receptor agonist 2 组相对增殖率高于 5 μmol/L PGE2 组, 5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 L-161982 组相对增殖率低于 5 μmol/L PGE2 组, 表明 EP4 receptor agonist 2 促进 TPC-1 细胞的增殖能力, 而 L-161982 抑制 TPC-1 细胞的增殖能力; ③各组细胞相对增殖率变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=14.440, P=0.000$), 表明 EP4 receptor agonist 2 及 EP4 L-161982 对 TPC-1 细胞增殖影响的时间依赖性。见表 3 和图 5。

Transwell 侵袭实验结果示, 0 μmol/L PGE2 组、5 μmol/L PGE2 组、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 receptor agonist 2 组、5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 L-161982 组细胞穿膜数分别为 (185.00 ± 21.21)、

表 3 各组细胞不同时间点相对增殖率比较 (n=6, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h	96 h
0 μmol/L PGE2 组	1.00 ± 0.14	8.84 ± 0.81	39.07 ± 0.93	42.78 ± 1.17
5 μmol/L PGE2 组	1.00 ± 0.19	7.79 ± 1.50	45.48 ± 1.34	52.31 ± 3.68
5 μmol/L PGE2+5 μmol/L EP4 receptor agonist 2 组	1.00 ± 0.24	9.90 ± 0.97	50.15 ± 0.47	59.80 ± 1.24
5 μmol/L PGE2+5 μmol/L L-161982 组	1.00 ± 0.16	8.08 ± 1.38	37.95 ± 5.14	39.29 ± 8.97

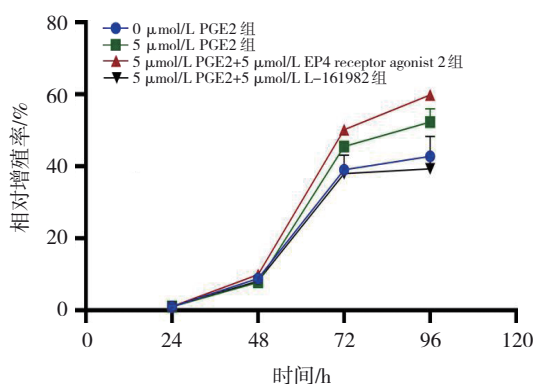


图 5 各组细胞不同时间点相对增殖率比较

(309.00 ± 1.41)、(445.50 ± 30.41)、(125.50 ± 7.78) 个/HP, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 112.000$, $P = 0.000$)。5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2+EP4 receptor agonist 2 组细胞穿膜数较 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 组增加 ($P < 0.05$), 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2+EP4 L-161982 组细胞穿膜数较 5 $\mu\text{mol/L}$ PGE2 组减少 ($P < 0.05$)。提示 EP4 receptor agonist 2 促进 TPC-1 细胞的侵袭能力, L-161982 抑制 TPC-1 细胞的侵袭能力。见图 6。

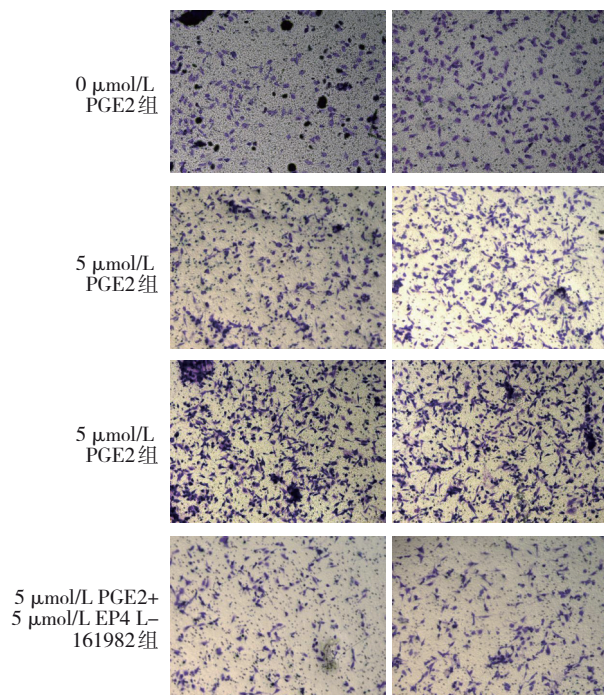


图 6 各组细胞穿膜数比较 ($\times 10$)

3 讨论

TC 是内分泌系统中最常见的恶性肿瘤, 其发病率在逐年增加, 一项基于 GLOBOCAN 2022 年 TC

发病率的流行病学研究指出, 与 GLOBOCAN 2020 年发布的估计结果相比, 女性 TC 的发病比例增加了 3.5/100 000 人, 男性增加了 1.5/100 000 人^[1]。研究表明, 在假设 TC 发病率较 2022 年保持不变的情况下, 预计 2050 年将诊断出 1 100 000 例 TC 患者, 比 2022 年估计的 820 000 例增加 34.15%^[1]。具体而言, 女性的 TC 患者预计将从 610 000 例增加到 820 000 例, 男性将从 210 000 例增加到 280 000 例^[1]。虽然大部分 TC 病理分型为甲状腺乳头状癌, 预后良好, 但颈部淋巴结转移可发生在早期, 同时甲状腺局部肿块可压迫气管、食管、神经等相邻器官导致呼吸困难、吞咽困难、声音嘶哑等症状, 且影响患者的心理状态。目前 TC 的主要治疗方法包括手术切除、放射性 ^{131}I 及激素抑制治疗, 这些治疗方法不可避免地存在一些后遗症, 如继发性甲状腺功能减退、甲状旁腺功能减退及长期甚至终身甲状腺激素替代治疗, 也有少部分患者肿瘤术后复发, 影响生活质量, 因此有关 TC 发病机制及治疗的研究仍然迫切需要。TC 的发病机制众多, 各种基因突变、重排及通路的参与目前达成了有效共识, 如 MAPK 信号通路、NF- κB 通路、IQGAPI 蛋白及基因重排与突变^[4-9]。

前列腺素在正常生理状态中不被细胞储存, 而是在炎症等刺激下, 由花生四烯酸在磷脂酶 A2 的催化下从膜磷脂中释放出来, 然后被环加氧酶 (Cyclooxygenase, COX) 氧化形成前列腺素 H 2 ^[10], 最后通过末端各种前列腺素合成酶转化合成^[11]。作为花生四烯酸通路中主要的代谢物质, PGE2 参与了人体炎症及肿瘤各个环节。PGE2 生理活性主要通过 4 种不同的前列腺 E2 受体 (prostaglandin E2 receptors, EP1~4) 介导^[12], 在肿瘤发生过程中, EP1 受体介导肿瘤细胞迁移、侵袭及对缺氧环境的适应; EP2 受体诱导血管生成, 抑制抗肿瘤免疫反应; EP4 受体介导肿瘤细胞迁移、转移, 促进 DNA 甲基化异常, EP3 受体在癌变中的作用尚不清楚, 在不同的癌细胞中有相互矛盾的作用^[13]。通过 EP 受体选择性激动剂或拮抗剂可用于放大或拮抗 PGE2 信号效应^[14], 从而在广泛的组织及不同细胞类型中激活多种生物效应, 包括细胞增殖、细胞凋亡、血管生成、炎症和免疫监视^[15-19]。PGE2 作为癌症中的重要因素, 控制其上游产生、抑制其

下游靶点, 是研究者目前所考虑的抗癌靶向治疗方向, 因此, COX 抑制剂及 EP₄ 受体抑制剂是主要研究目标。研究表明, 二甲双胍通过抑制结肠直肠癌小鼠结肠组织 COX-2 降低 PGE₂ 蛋白表达^[20], 但其胃肠道反应较大, 患者体验感较差。阿司匹林作为一种非选择性 COX 抑制剂, 与不同癌症的生存率增加、转移扩散和血管并发症的减少有关^[21], 其优点在于无心脏副作用; 但弊端在于, 其有不可避免的副作用如胃溃疡、出血和肾功能障碍^[22]。选择性 COX-2 抑制剂, 如塞来昔布也被证明在结肠癌^[23]、乳腺癌、头颈癌等恶性肿瘤中发挥明显的治疗和预防作用^[24], 在晚期非小细胞肺癌合并慢性阻塞性肺疾病患者中可以减轻的全身炎症反应^[25]。然而这些药物虽然避免了胃肠方面的副作用, 但由于具有促血栓形成特性, 可增加心血管风险^[22]。基于此类不可避免的副作用, 促进了无活性 COX-2 抑制剂类似物的研究, 旨在保持 COX-2 抑制剂的抗肿瘤作用而尽量减少或无副作用。其中, 已经开发出两种塞来昔布衍生物, 分别是 2, 5-二甲基-塞来昔布和 OSU-03012, 被证明可有效抑制多种癌症如乳腺癌、结肠癌和肺癌进展^[26], 且 OSU-03012 在 TC 的研究中也显示出可通过抑制 Akt、PAK 从而发挥抗肿瘤作用^[26]。对于 EP₄ 受体的研究, 多项研究证明使用 EP₄ 受体抑制剂可发挥抑癌作用, 如抑制胰腺癌的转移^[27], 抑制前列腺癌骨转移^[28], 本实验也证明了使用 EP₄ 受体抑制剂可有效抑制 TC 的增殖及侵袭, 这些都为 EP₄ 受体抑制剂靶向治疗提供了有力支持。

值得一提的是, 虽然本实验证明了高浓度 PGE₂ 通过 EP₄ 受体影响了 TC 发生、发展的可能, 但显而易见 EP₄ 受体仅作为癌症关系网中一个靶点, 其下游又通过何种代谢通路或其他靶点发挥交互作用, 从而在人体多项生理、病理活动中发挥作用, 这值得后续实验进一步研究。同时, PGE₂ 通过多种受体发挥作用, 本实验仅研究了 EP₄ 受体, 另外的 3 种 EP 受体是否也参与了 TC 的发生、其受体抑制剂是否有可能应用于临床抗癌治疗, 这也是后续实验研究的方向。

虽然 TC 的病死率及术后复发率并不高, 但实验研究仍致力于更有效、更无创的 TC “治愈” 方案。当研究者了解清楚 TC 的发病机制, 便能够通

过抑制各个靶点从而实现更有效的治疗。本实验通过对 PGE₂ 和 EP₄ 受体的研究, 证明了 PGE₂ 通过 EP₄ 受体对甲状腺乳头状癌细胞具有促增殖及侵袭能力, 应用 EP₄ 受体抑制剂靶向治疗甲状腺乳头状癌将减少肿瘤转移可能, 为后续甲状腺乳头状癌的临床治疗提供一定的理论依据。

参 考 文 献 :

- [1] LYU Z Y, ZHANG Y, SHENG C, et al. Global burden of thyroid cancer in 2022: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2024, 137(21): 2567-2576.
- [2] SUN L, WEI X H, LIU X T, et al. Expression of prostaglandin E₂ and EP receptors in human papillary thyroid carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(4): 4689-4697.
- [3] BRYSON T D, ROSS J, PETERSON E, et al. Prostaglandin E₂ and an EP₄ receptor agonist inhibit LPS-induced monocyte chemotactic protein 5 production and secretion in mouse cardiac fibroblasts via Akt and NF- κ B signaling[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2019, 144: 106349.
- [4] SCHUBERT L, MARIKO M L, CLERC J, et al. MAPK pathway inhibitors in thyroid cancer: preclinical and clinical data[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(3): 710.
- [5] CORMIER F, HOUSNI S, DUMONT F, et al. NF- κ B signaling activation and roles in thyroid cancers: implication of MAP3K14/NIK[J]. *Oncogenesis*, 2023, 12(1): 55.
- [6] XIE R, CHEN W Z, LV Y X, et al. Overexpressed *ZC3H13* suppresses papillary thyroid carcinoma growth through m6A modification-mediated *IQGAPI* degradation[J]. *J Formos Med Assoc*, 2023, 122(8): 738-746.
- [7] SALVATORE D, SANTORO M, SCHLUMBERGER M. The importance of the *RET* gene in thyroid cancer and therapeutic implications[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(5): 296-306.
- [8] SCHEFFEL R S, DORA J M, MAIA A L. *BRAF* mutations in thyroid cancer[J]. *Curr Opin Oncol*, 2022, 34(1): 9-18.
- [9] CARRILLO J F, CARRILLO L C, SERRANO-ARÉVALO M L, et al. Prognostic role of the *BRAF V600E* variant in the preoperative biopsy in differentiated thyroid cancer[J/OL]. *J Endocrinol Invest*. (2025-08-23) [访问日期]. <https://doi.org/10.1007/s40618-025-02694-2>.
- [10] CHENG H, HUANG H Y, GUO Z K, et al. Role of prostaglandin E₂ in tissue repair and regeneration[J]. *Theranostics*, 2021, 11(18): 8836-8854.
- [11] LENG X, JIANG H. Effects of arachidonic acid and its major prostaglandin derivatives on bovine myoblast proliferation, differentiation, and fusion[J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2019, 67: 28-36.
- [12] BRYSON T D, HARDING P. Prostaglandin E₂ EP receptors in cardiovascular disease: an update[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 195: 114858.

- [13] O'CALLAGHAN G, HOUSTON A. Prostaglandin E₂ and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets? [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(22): 5239-5250.
- [14] OSAKA T. The EP₃ and EP₄ receptor subtypes both mediate the fever-producing effects of prostaglandin E₂ in the rostral ventromedial preoptic area of the hypothalamus in rats[J]. *Neuroscience*, 2022, 494: 25-37.
- [15] CHEN C, GUAN J, GU X Y, et al. Prostaglandin E₂ and receptors: insight into tumorigenesis, tumor progression, and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 834859.
- [16] ZHANG W J, YIN J W, DENG Y C, et al. Prostaglandin E₂ promotes Th17 differentiation induces corneal epithelial cell apoptosis and participates in the progression of dry eye[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2024, 751: 109823.
- [17] HOU R D, YU Y, JIANG J X. Prostaglandin E₂ in neuroblastoma: targeting synthesis or signaling? [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156: 113966.
- [18] ALHALLAK K, NAGAI J, ZALESKI K, et al. Mast cells control lung type 2 inflammation via prostaglandin E₂-driven soluble ST2[J]. *Immunity*, 2024, 57(6): 1274-1288.e6.
- [19] PARK A, LEE Y, KIM M S, et al. Prostaglandin E₂ secreted by thyroid cancer cells contributes to immune escape through the suppression of natural killer (NK) cell cytotoxicity and NK cell differentiation[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1859.
- [20] 穆刘凡, 黄煌, 郑鹏远, 等. 二甲双胍通过 COX-2/PGE2/STAT3 途径抑制结直肠癌的机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(20): 44-54.
- [21] ELWOOD P, PROTTY M, MORGAN G, et al. Aspirin and cancer: biological mechanisms and clinical outcomes[J]. *Open Biol*, 2022, 12(9): 220124.
- [22] CALDER P C. Eicosanoids[J]. *Essays Biochem*, 2020, 64(3): 423-441.
- [23] 胡金焕, 刘经选, 王兰, 等. 基于 PGE2/COX-2 信号通路探究扶正祛瘀解毒方对结肠癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44(2): 392-396.
- [24] TOŁOCZKO-IWANIUK N, DZIEMIAŃCZYK-PAKIEŁA D, NOWASZEWSKA B K, et al. Celecoxib in cancer therapy and prevention - review[J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(3): 302-315.
- [25] 唐君媛, 张桂新, 陈琳, 等. 塞来昔布联合化疗对晚期非小细胞肺癌合并慢性阻塞性肺疾病患者的抗炎作用及其机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(17): 23-29.
- [26] SOBOLEWSKI C, LEGRAND N. Celecoxib analogues for cancer treatment: an update on OSU-03012 and 2, 5-dimethyl-celecoxib[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 1049.
- [27] HE J C, LIN X H, MENG F H, et al. A novel small molecular prostaglandin receptor EP4 antagonist, L001, suppresses pancreatic cancer metastasis[J]. *Molecules*, 2022, 27(4): 1209.
- [28] 许松, 周文泉, 葛京平, 等. EP4受体拮抗剂对前列腺癌骨转移的抑制作用[J]. *医学研究生学报*, 2016, 29(7): 708-712.

(李科 编辑)

本文引用格式: 田颖, 刘文静, 许爱梅, 等. 前列腺素 E2 通过 EP4 受体调控甲状腺乳头状癌细胞增殖与侵袭的机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2026, 36(2): 23-30.

Cite this article as: TIAN Y, LIU W J, XU A M, et al. Mechanism study of prostaglandin E2 regulating proliferation and invasion of papillary thyroid carcinoma cells via the EP4 receptor[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2026, 36(2): 23-30.