

迷迭香酸通过 MAPK/ERK 信号通路对结肠癌细胞增殖及凋亡的影响

房祥杰, 张彬, 张德重, 孙培胜, 朱绍辉
(新乡医学院第一附属医院, 河南 新乡 453100)

摘要: [目的] 探讨迷迭香酸通过丝裂原激活的蛋白激酶/胞外信号调节的蛋白激酶(MAPK/ERK)信号通路对结肠癌细胞增殖凋亡的影响。[方法] 取对数生长期 LS174T 细胞, 加入迷迭香酸(0, 25, 50 和 100 $\mu\text{mol/L}$)处理 24, 48 和 72h 后, CCK-8 法检测迷迭香酸对细胞增殖活性的影响。以 100 $\mu\text{mol/L}$ 迷迭香酸处理细胞, 24, 48 和 72h 后, 采用流式细胞仪检测迷迭香酸对细胞周期和细胞凋亡率的影响; 采用蛋白质印迹法检测细胞中 Bax、Bcl-2 和 Cleaved Caspase-3 蛋白的表达及 ERK1/2 磷酸化水平。[结果] 迷迭香酸对 LS174T 细胞呈时间浓度依赖性抑制细胞增殖; 100 $\mu\text{mol/L}$ 迷迭香酸处理 LS174T 细胞不同时间后, 与对照组相比, 迷迭香酸组细胞中 S 期和 G₂/M 期细胞所占比例明显降低, G₀/G₁ 期比例显著升高, 但组间时间效应不显著 ($P>0.05$); 而 Bcl-2 蛋白表达、ERK1/2 磷酸化水平明显降低, 细胞凋亡率、Bax 和 Cleaved Caspase-3 蛋白表达量显著增强, 均表现出明显的时效关系 ($P<0.05$)。[结论] 迷迭香酸能够抑制结肠癌 LS174T 细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 其作用机制可能与抑制 MAPK/ERK 信号通路有关。

关键词: 迷迭香酸; 结肠肿瘤; 细胞增殖; 细胞凋亡; MAPK/ERK 信号通路

中图分类号: R735.3⁵ 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2018)04-0306-05
doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2018.04.A011

Effects of Rosmarinic Acid on Proliferation and Apoptosis of Colon Cancer Cells via MAPK/ERK Signaling Pathway

FANG Xiang-jie, ZHANG Bin, ZHANG De-zhong, et al.

(The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453100, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effect of rosmarinic acid on the proliferation and apoptosis of colon cancer cells and its relation to MAPK/ERK signaling pathway. [Methods] The cultured human colorectal cancer LS174T cells in logarithmic growth phase were treated with rosmarinic acid (0, 25, 50 and 100 $\mu\text{mol/L}$) for 24, 48 and 72h, respectively. CCK-8 assay was used to detect the effect of rosmarinic acid on cell proliferation; flow cytometry was used to detect the effects of rosmarinic acid on cell cycle and cell apoptosis rate after LS174T cells were treated with 100 $\mu\text{mol/L}$ rosmarinic acid for 24, 48 and 72h; the expressions of Bax, Bcl-2 and cleaved Caspase-3 proteins and phosphorylation level of ERK1/2 were detected by immunoblotting. [Results] Rosmarinic acid inhibited the proliferation of LS174T cells in a time and dose-dependent manner. Compared with the control group, the proportion of S phase and G₂/M phase cells in rosmarinic acid treatment group decreased and that of G₀/G₁ phase increased significantly, but the time effect between the groups was not significant ($P>0.05$). However, the expression of Bcl-2 protein and the level of ERK1/2 phosphorylation were significantly decreased, and the apoptosis rate, the expression of Bax and cleaved Caspase-3 protein were significantly increased in a time-dependent manner ($P<0.05$). [Conclusion] Rosmarinic acid can inhibit the proliferation of human colorectal cancer LS174T cells and induce apoptosis, which may be related to the inhibition of MAPK/ERK signaling pathway.

Key words: rosmarinic acid; colon cancer; cell proliferation; apoptosis; MAPK/ERK signaling pathway

结肠癌是一种常见的大肠底部、直肠内

或附近的消化道恶性肿瘤^[1,2], 其发生与环境、遗传和生活方式等因素密切相关^[3]。目前, 临床常规的治疗手段多为手术和化疗等, 但手术后多易出现转移

收稿日期: 2017-08-11; 修回日期: 2017-11-01

基金项目: 河南省二〇一四年科技发展计划(142102310047)

通讯作者: 张彬, E-mail: 13938725223@163.com

或复发,化疗又往往伴有较大的毒副作用^[4]。近年来数据研究表明,结肠癌在我国的发病率和死亡率有升高的趋势^[5],严重威胁着人们的健康,寻找安全有效的治疗方法一直是结肠癌研究的热点。由于中药具有来源广泛、价格低廉和毒副作用小等特点,中药及其提取物在抗肿瘤药物的研究中备受关注。迷迭香酸是迷迭香、夏枯草、丹参、紫苏等多种中药材的有效成分,是一种广泛分布的天然多酚羟基化合物。研究表明,迷迭香酸具有抗炎、抗氧化和抗肿瘤等药理作用,是一种前景很好的抗肿瘤药物^[6,7]。迷迭香酸对多种肿瘤的发生发展具有良好的抑制作用^[8,9],然其对结肠癌的研究较少,本研究以结肠癌 LS174T 细胞为研究对象,探讨迷迭香酸对 LS174T 细胞增殖凋亡及对丝裂原激活的蛋白激酶/胞外信号调节的蛋白激酶(MAPK/ERK)信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

DMEM-F12 培养基、胎牛血清、青霉素链霉素双抗(100U/ml 青霉素和 100μg/ml 链霉素)和胰蛋白酶均购于美国 Gibco 公司。Bax、Bcl-2、Cleaved Caspase-3、ERK1/2 和 p-ERK1/2 兔多克隆抗体和碱性磷酸酶标记羊抗兔 IgG 二抗购于南京恩晶生物科技有限公司。膜联蛋白-V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒、CCK-8 检测试剂盒和细胞周期检测试剂盒均购于碧云天生物技术有限公司。酶标仪、流式细胞仪和 CO₂ 培养箱购于美国 Sigma 公司,凝胶成像系统购于美国 Bio-Rad 公司。人结肠癌细胞株 LS174T 购于中国科学院生物研究所,迷迭香酸(纯度≥98%)购于美国 Sigma 公司。

1.2 细胞培养

将 LS174T 细胞培养在含 10%胎牛血清和青霉素链霉素双抗的 DMEMF12 培养基中,在温度为 37℃、CO₂ 体积分数为 5%、饱和湿度为 95%的培养条件下常规培养。

1.3 CCK-8 法检测细胞增殖

取对数生长期 LS174T 细胞种植于 96 孔细胞培养板中,调整细胞浓度为 100 000 个/ml,待细胞贴壁后,加入终浓度为 0、25、50 和 100μmol/L 的迷迭香酸溶液,其中每个浓度设 5 个平行复孔。分别于

培养 24、48 和 72h 各时间点,加入 10μl CCK8 试剂,孵育 2h 后,加入二甲基亚砷溶解,于 570nm 检测吸光值(A)。该实验及以下实验均重复 3 次。

1.4 流式细胞仪检测细胞周期和细胞凋亡

取对数生长期 LS174T 细胞,经 0.25%胰蛋白酶消化后制成单细胞悬液,以 10 000 个/ml 的细胞浓度种植于 6 孔细胞培养板中,待细胞贴壁后,加入 0、100μmol/L 迷迭香酸溶液,分别在培养 24、48 和 72h 后,根据细胞周期检测试剂盒和 Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒操作步骤检测细胞周期和细胞凋亡率。其中以 0μmol/L 迷迭香酸溶液处理细胞为对照组,100μmol/L 迷迭香酸处理细胞为迷迭香酸组。

1.5 免疫印迹法(Western blot)检测

收集经 100μmol/L 迷迭香酸溶液处理 24、48 和 72h 后的 LS174T 细胞,经预冷的磷酸缓冲盐溶液洗涤后,加入细胞裂解液提取细胞蛋白。采用二喹啉甲酸法检测蛋白浓度。取上清蛋白 50μg,用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转聚偏二氟乙烯膜,置封闭液中封闭 1h,加入针对 Bax、Bcl-2、Cleaved Caspase-3、β-actin、p-ERK1/2 和 ERK1/2 的一抗,稀释比例为 1:1000,孵育过夜后,加入碱性磷酸酶标记的二抗,稀释比例为 1:2000。孵育 2h,以化学发光法显色,Bio-Rad 凝胶成像仪拍照,β-actin 为内参,以目的条带灰度值/β-actin 条带的灰度值来计算目的蛋白的相对表达量。

1.6 统计学分析

采用 SPSS21.0 软件对实验中的数据进行统计学分析,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示数据结果,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 *P*<0.05 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 迷迭香酸对结肠癌细胞增殖的影响

迷迭香酸对结肠癌 LS174T 细胞有明显的抑制作用,组间比较差异显著(*P*<0.05)。随着时间的延长及迷迭香酸浓度的增加,对 LS174T 细胞的抑制能力逐渐增强,迷迭香酸对 LS174T 细胞呈时间浓度依赖性抑制细胞增殖(Table 1)。

2.2 迷迭香酸对细胞周期的影响

采用 100 μ mol/L 迷迭香酸处理 LS174T 细胞不同时间后,结果显示, G_0/G_1 期、S期和 G_2/M 期细胞比例组间变化不显著($P>0.05$);但同一作用时间下,与 0 μ mol/L 相比,加入迷迭香酸使细胞中的 G_0/G_1 期细胞明显增加,S期和 G_2/M 期细胞明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。迷迭香酸可将 LS174T 细胞阻滞在 G_0/G_1 期,使细胞分裂增殖受到抑制(Table 2)。

2.3 迷迭香酸对结肠癌细胞凋亡的影响

100 μ mol/L 迷迭香酸分别作用 24、48 和 72h 后细胞凋亡率分别为(12.65 $\pm$ 1.22)%、(18.82 $\pm$ 1.46)%和(25.75 $\pm$ 2.32)%。与对照组(6.55 $\pm$ 1.05)%相比,迷迭香酸组中细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。迷迭香酸诱导 LS174T 细胞凋亡,且呈现良好的时效关系(Figure 1)。

2.4 迷迭香酸对凋亡相关蛋白的影响

迷迭香酸处理 LS174T 细胞 24、48 和 72h 后,Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白的相对表达量均高于对照组;同时,Bcl-2 蛋白的相对表达降低。迷迭香酸可呈时间依赖性上调 LS174T 细胞中 Bax 和 Cleaved Caspase-3 蛋白的表达,下调 Bcl-2 蛋白的表达(Table 3,Figure 2)。

2.5 迷迭香酸对 MAPK/ERK 信号通路的影响

不同作用时间下,与对照组相比,ERK1/2 表达水平变化不显著($P>0.05$),而迷迭香酸组细胞中 p-ERK1/2 表达水平明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。迷迭香酸可抑制 ERK1/2 磷酸化水平,且表现出一定的时间依赖性(Table 4,Figure 3)。

Table 1 Effects of rosmarinic acid on proliferation of LS174T cells ($\bar{x}\pm s$,n=3)

Rosmarinic acid (μ mol/L)	A_{570}		
	24h	48h	72h
0	1.31 $\pm$ 0.08	1.53 $\pm$ 0.12	1.68 $\pm$ 0.11
25	1.02 $\pm$ 0.10*	1.25 $\pm$ 0.12*	1.46 $\pm$ 0.05*
50	0.54 $\pm$ 0.05*	0.68 $\pm$ 0.08*	0.83 $\pm$ 0.05*
100	0.43 $\pm$ 0.02*	0.51 $\pm$ 0.05*	0.65 $\pm$ 0.03*
F	105.803	72.751	162.067
P	0.000	0.000	0.000

Note: *: Compared to 0 μ mol/L, $P<0.05$.

Table 2 Effects of rosmarinic acid on cell cycle of LS174T ($\bar{x}\pm s$,n=3)

Groups	Time(h)	G_0/G_1	S	G_2/M
Control group	—	54.82 $\pm$ 3.28	32.93 $\pm$ 2.68	12.25 $\pm$ 1.15
Rosmarinic acid group	24	62.68 $\pm$ 1.01*	26.15 $\pm$ 1.18*	11.17 $\pm$ 0.48*
	48	63.45 $\pm$ 2.34*	28.72 $\pm$ 1.02*	7.82 $\pm$ 0.12*
	72	64.01 $\pm$ 1.95*	28.45 $\pm$ 1.05*	7.54 $\pm$ 0.26*
F		10.609	5.606	41.258
P		0.004	0.023	0.000

Note: *: Compared to control group, $P<0.05$.

Table 3 The expression levels of Bax, Cleaved caspase-3 and Bcl-2 protein in each group ($\bar{x}\pm s$,n=3)

Proteins	Control group	Rosmarinic acid group		
		24h	48h	72h
Bax	0.28 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.06*	0.85 $\pm$ 0.08*	1.32 $\pm$ 0.12*
Cleaved caspase-3	0.43 $\pm$ 0.03	0.69 $\pm$ 0.05*	0.92 $\pm$ 0.05*	1.25 $\pm$ 0.18*
Bcl-2	1.25 $\pm$ 0.08	0.72 $\pm$ 0.04*	0.43 $\pm$ 0.03*	0.38 $\pm$ 0.05*
F	250.378	55.052	64.500	50.063
P	0.000	0.000	0.000	0.000

Note: *: Compared to control group, $P<0.05$.

3 讨论

结肠癌是世界第三大癌症,患者死亡的原因往往为远端转移和复发,远端转移主要集中为肝转移,

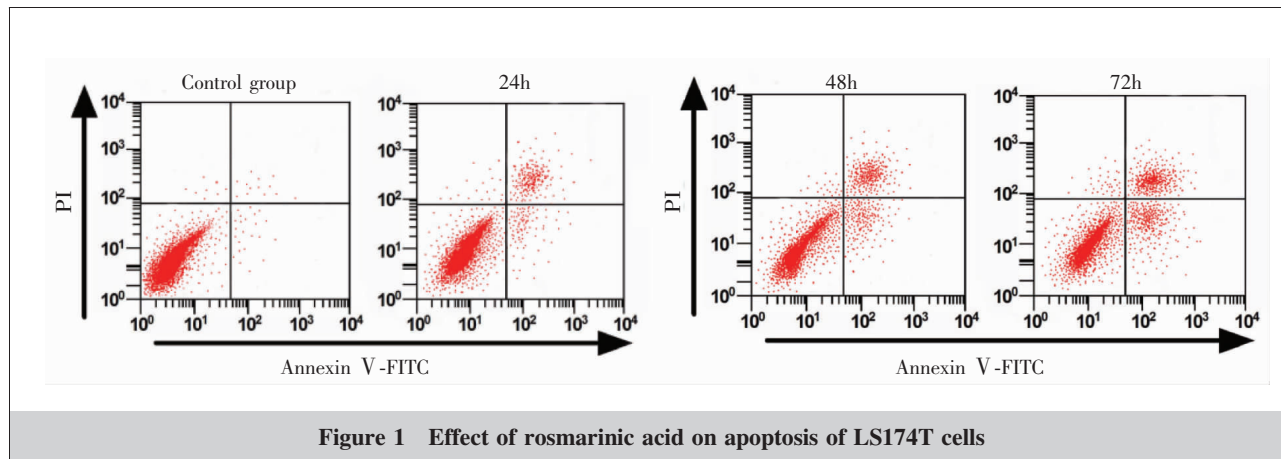


Figure 1 Effect of rosmarinic acid on apoptosis of LS174T cells

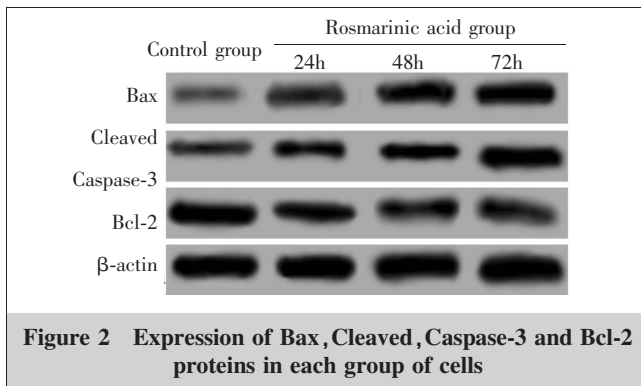
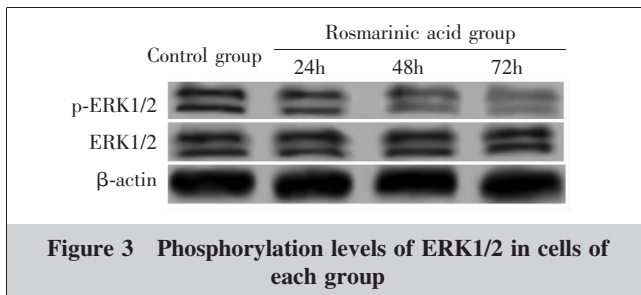


Table 4 Effects of rosmarinic acid on MAPK/ERK signaling pathway ($\bar{x} \pm s$)

Proteins	Control group	Rosmarinic acid group		
		24h	48h	72h
ERK1/2	0.48±0.03	0.42±0.05*	0.45±0.04*	0.41±0.06*
p-ERK1/2	0.43±0.05	0.35±0.03	0.23±0.05	0.15±0.03

Note: *: Compared to control group, $P < 0.05$.



肝转移导致死亡的患者占结肠癌死亡率的一半以上, 因此有效控制癌细胞转移的发生发展是治疗的关键^[10]。中药治疗结肠癌重在温阳益肾和健脾理气, 不良反应小, 不会损伤正常组织, 并且治疗费用较低, 在减毒增效、减少或预防复发转移等方面具有独特优势^[11,12]。迷迭香酸作为从多种中药中提炼出的天然化学物质, 其抗肿瘤作用受到广泛关注。研究发现, 迷迭香酸能够通过调控炎症因子和血管生成因子的分泌, 抑制肝癌细胞的生长, 其作用机制可能与 NF- κ B 信号通路有关^[13]; 迷迭香酸能够呈剂量依赖性抑制白血病 HL-60 细胞增长, 可将细胞周期阻滞于 G₀/G₁ 期, 诱导细胞凋亡^[14]。目前, 关于迷迭香酸对结肠癌细胞增殖凋亡的机制研究较少, 本实验以不同浓度的迷迭香酸处理 LS174T 细胞发现, 迷迭香酸呈时间浓度依赖性抑制 LS174T 细胞增殖。100 μ mol/L 迷迭香酸处理 LS174T 细胞不同时间后, 流式细胞仪检测细胞周期和细胞凋亡情况发现, 与对照组相比, 迷迭香酸组中细胞周期被阻滞在 G₀/G₁

期, 细胞凋亡率明显升高。

细胞凋亡是一种正常的生物学现象, 在维持细胞内环境稳定中发挥重要作用, 是由多种基因严格控制的过程。与细胞凋亡相关的蛋白有很多, Bcl-2 蛋白家族和胱天蛋白酶 (Caspase) 家族是其中最受关注的两大家族。Bcl-2 基因和 Bax 基因是重要的凋亡调控基因, Caspase-3 是凋亡过程中重要的凋亡执行蛋白酶, 三者分别是细胞凋亡过程中重要的凋亡促进因子、凋亡抑制因子和凋亡效应因子, 在肿瘤细胞凋亡中起着关键作用^[15,16]。研究表明, 迷迭香酸可以影响多种癌细胞中 Bax、Bcl-2 和 Cleaved Caspase-3 蛋白的表达, 促进细胞凋亡^[17-19]。本研究发现, 100 μ mol/L 迷迭香酸处理 LS174T 细胞后, Bax 和 Cleaved Caspase-3 蛋白表达增强, Bcl-2 蛋白表达降低。结果提示, 迷迭香酸可能通过上调 Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白的表达和下调 Bcl-2 蛋白表达的促进结肠癌细胞凋亡。

MAPK/ERK 信号通路是细胞内重要的信号传导通路之一, 在多种肿瘤细胞的增殖、分化和凋亡过程中发挥着重要作用。活化的 ERK 进入细胞核内, 使转录因子磷酸化, 调控相关基因的表达, 影响细胞周期和 Bax、Cleaved Caspase-3 等蛋白的表达, 进而介导细胞增殖凋亡过程^[20,21]。研究发现, 迷迭香酸能够通过抑制 MAPK/ERK 信号通路抑制头颈部鳞状细胞癌细胞的生长和迁移^[22]。为了探讨迷迭香酸对结肠癌细胞中 MAPK/ERK 信号通路的影响, 本研究用 100 μ mol/L 迷迭香酸处理 LS174T 细胞后检测发现 ERK1/2 磷酸化水平明显降低, 结果表明, 迷迭香酸可能通过抑制 MAPK/ERK 信号通路抑制结肠癌 LS174T 细胞增殖, 诱导细胞凋亡。

综上所述, 迷迭香酸可抑制结肠癌 LS174T 细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 其作用机制可能与抑制 ERK1/2 磷酸化有关。研究结果为迷迭香酸成为治疗结肠癌的潜在药物提供参考依据。

参考文献:

- [1] Baratti D, Kusamura S, Pietrantonio F, et al. Progress in treatments for colorectal cancer peritoneal metastases during the years 2010–2015: a systematic review[J]. Crit Rev Oncol, 2016, 100(2): 209–222.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177–193.

- [3] Li YL, Feng F, Yan J, et al. Association between cured meat consumption and risk of colorectal cancer in people with different dietary habits and lifestyles[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2016, 37(7): 1006–1011. [李玥伶, 冯斐, 燕锦, 等. 腌腊肉制品摄入及与其他饮食习惯、生活方式的交互作用和结直肠癌发生风险的探讨[J]. 中华流行病学杂志, 2016, 37(7): 1006–1011.]
- [4] Dienstmann R, Salazar R, Tabernero J. Personalizing colon cancer adjuvant therapy: selecting optimal treatments for individual patients[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(16): 1787–1796.
- [5] Chen X, Ma CY, Zhang H. Progress in traditional Chinese medicine compound treatment of colon cancer in recent years[J]. Curr Treat Options Oncol, 2015, 33(1): 67–69.
- [6] Cheng X, Bi LW, Zhao ZD, et al. Research progress on extraction, purification and biological activities of rosmarinic acid[J]. Chemistry & Industry of Forest Products, 2015, 35(4): 151–158. [程贤, 毕良武, 赵振东, 等. 迷迭香酸的提取纯化及生物活性研究进展[J]. 林产化学与工业, 2015, 35(4): 151–158.]
- [7] Kim GD, Park YS, Jin YH, et al. Production and applications of rosmarinic acid and structurally related compounds [J]. Appl Microbiol biotechnol, 2015, 99(5): 2083–2092.
- [8] Xu Y, Han S, Lei K, et al. Anti-Warburg effect of rosmarinic acid via miR-155 in colorectal carcinoma cells[J]. Eur J Cancer Prev, 2016, 25(6): 481–489.
- [9] Hossain MS, Rahman S, Bashir A, et al. Rosmarinic acid: a review of its anticancer action[J]. World J Pharm Pharm Sci, 2014, 3(9): 57–70.
- [10] Huang XD, Lu Q, Fan HY, et al. The inhibitory effect and mechanism of Schisandra chinensis polysaccharide on proliferation of human colon cancer HT29 cells [J]. Chinese Gerontology, 2015, 35(22): 6337–6338. [黄晓东, 路倩, 范红艳, 等. 五味子多糖对人结肠癌 HT29 细胞增殖的抑制作用及其机制[J]. 中国老年学, 2015, 35(22): 6337–6338.]
- [11] Safaga M, Zatorski H, Sobczak M, et al. Chinese herbal medicines in the treatment of IBD and colorectal cancer: a review[J]. Curr Treat Options Oncol, 2014, 15(3): 405–420.
- [12] Xiao XL, Zhao SH, Jia Y. Case report of colon cancer treated with the combined internal and external therapy of TCM [J]. World Journal of Traditional Chinese Medicine and Western Medicine, 2015, 10(11): 1603–1605. [肖晓琳, 赵尚华, 贾颖. 中医内外合治结肠癌验案举隅[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(11): 1603–1605.]
- [13] Cao W, Hu C, Wu L, et al. Rosmarinic acid inhibits inflammation and angiogenesis of hepatocellular carcinoma by suppression of NF- κ B signaling in H22 tumor-bearing mice[J]. J Pharmacol Sci, 2016, 132(2): 131–137.
- [14] Saiko P, Steinmann MT, Schuster H, et al. Epigallocatechin gallate, ellagic acid, and rosmarinic acid perturb dNTP pools and inhibit de novo DNA synthesis and proliferation of human HL-60 promyelocytic leukemia cells; Synergism with arabinofuranosylcytosine[J]. Phytomedicine, 2015, 22(1): 213–222.
- [15] Hajiahmadi S, Panjehpour M, Aghaei M, et al. Activation of A2b adenosine receptor regulates ovarian cancer cell growth: involvement of Bax/Bcl-2 and Caspase-3 [J]. Biochem Cell Biol, 2015, 93(4): 321–329.
- [16] Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, et al. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(1): 49–63.
- [17] Jiayu D, Wei J. GW27-e0561 rosmarinic acid inhibits high glucose-induced apoptosis in H9c2 cells by preventing the mitochondrial injury and activating the phosphorylation of STAT3[J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(16): C60.
- [18] Chen KL, Li HX, Xu XL, et al. The protective effect of rosmarinic acid on hyperthermia-induced C2C12 muscle cells damage[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(8): 5525–5531.
- [19] Chen YY, Tsai CF, Tsai MC, et al. Inhibitory effects of rosmarinic acid on pterygium epithelial cells through redox imbalance and induction of extrinsic and intrinsic apoptosis[J]. Exp Eye Res, 2017, 160(7): 96–105.
- [20] Sun Y, Liu WZ, Liu T, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(6): 600–604.
- [21] VeldmanmichaEW, Janssen L. Involvement of ERK1/2, p38 MAPK, and PI3K/Akt signaling pathways in the regulation of cell cycle progression by PTHrP in colon adenocarcinoma cells[J]. Biochem Cell Biol, 2014, 92(4): 305–315.
- [22] Tumor Z, Guerra C, Yanni P, et al. Rosmarinic acid inhibits cell growth and migration in head and neck squamous cell carcinoma cell lines by attenuating epidermal growth factor receptor signaling[J]. J Cancer Sci Ther, 2015, 7(11): 359–366.