

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202625410

· 鼻咽癌专栏 ·

全氟辛酸促进鼻咽癌细胞 HK1 增殖和迁移的机制研究

王刘倩,赵力,张已,谭国静,季迪,包小敏,张焱,霍宇,邓安春

(中国人民解放军陆军军医大学第二附属医院 耳鼻咽喉科,重庆 400037)

摘要: **目的** 探究全氟辛酸(PFOA)对鼻咽癌细胞 HK1 生物学行为的影响及其相关机制。**方法** 采用 50 μM 浓度 PFOA 连续处理 HK1 细胞 10 d,通过细胞计数试剂盒-8(CCK-8)法检测 0、24、48、72 h 细胞增殖能力,并利用 Transwell 实验评估细胞迁移能力;随后对 PFOA 处理组及对照组细胞进行 RNA 测序(RNA-seq)分析,筛选差异表达基因(DEGs),采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)对关键 DEGs 进行验证;对 DEGs 进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)、基因本体(GO)功能富集分析。**结果** 随培养时间延长,对照组和 PFOA 处理组的细胞活力均呈上升趋势,至 72 h 时,PFOA 处理组的细胞活力显著高于对照组($P<0.05$)。Transwell 实验显示,PFOA 组的迁移细胞数显著多于对照组($P<0.05$)。RNA-seq 共筛选出 891 个 DEGs,其中上调 279 个,下调 612 个;qPCR 验证结果显示,HBEGF、EPHA2、SPRY4、IL1B 等关键上调 DEGs 的 mRNA 及蛋白表达水平与测序结果一致($P<0.05$)。功能富集分析表明,DEGs 主要富集于 Toll 样受体信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、白细胞介素(IL)-17 信号通路及相关自身免疫性疾病通路等。**结论** 在 HK1 细胞模型中,PFOA 可促进鼻咽癌细胞的增殖和迁移,其作用可能与调控 HBEGF、EPHA2 等基因及炎症相关信号通路有关,为后续探索鼻咽癌环境风险因素提供了初步实验线索。

关键词:鼻咽癌;全氟辛酸;转录组;细胞增殖;细胞迁移

中图分类号:R739.63

Study on the role of perfluorooctanoic acid in promoting the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cell line HK1

WANG Liuqian, ZHAO Li, ZHANG Yi, TAN Guojing, JI Di, BAO Xiaomin, ZHANG Yan, HUO Yu, DENG Anchun
(Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University of the People's Liberation Army of China, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of perfluorooctanoic acid (PFOA) on the biological behavior of nasopharyngeal carcinoma (NPC) cell line HK1 and its potential mechanism of action. **Methods** HK1 cells were continuously treated with 50 μM concentration PFOA for 10 days. The cell proliferation ability at 0, 24, 48 and 72 hours was detected by the cell counting Kit-8 (CCK-8) method, and the cell migration ability was evaluated by Transwell assay. Subsequently, RNA sequencing (RNA-seq) analysis was performed on the cells of the PFOA-treated group and the control group to screen for differentially expressed genes (DEGs). The key DEGs were verified by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Functional enrichment analyses of the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) and Gene Ontology (GO) were conducted on DEGs. **Results** With the extension of culture time, the cell viability of both the control group and the PFOA treatment group showed an upward trend. By 72 hours, the cell viability of the PFOA treatment group was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). The Transwell assay showed that the number of migrating cells in the PFOA group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). A total of 891 DEGs were screened out by RNA-seq, among which 279 were upregulated and 612 were downregulated. The results of qPCR and WB verification showed that the expression levels of mRNA and protein of key up-regulating DEGs such as HBEGF, EPHA2, SPRY4, and IL1B were consistent with the sequencing results ($P<0.05$).

基金项目:重庆市科卫联合医学科研项目(2023MSXM135)。

第一作者简介:王刘倩,女,副主任医师。

通信作者简介:邓安春,男,博士,副主任医师。

Functional enrichment analysis indicated that DEGs were mainly enriched in Toll-like receptor signaling pathways, cytokine-cytokine receptor interactions, IL-17 signaling pathways, and related autoimmune diseases pathways. **Conclusions**

In the HK1 cell model, PFOA can promote the proliferation and migration of NPC cells. Its effect may be related to the regulation of DEGs such as HBEGF and EPHA2 and inflammation-related signaling pathways, providing preliminary experimental clues for further exploration of environmental risk factors for NPC.

Keywords: Nasopharyngeal carcinoma; Perfluorooctanoic acid; Transcriptome; Cell proliferation; Cell migration

全氟及多氟烷基物质(per-and polyfluoroalkyl substances, PFAS)是一类包含数千种异质性合成化学物的统称,其碳氟共价键具有疏水、疏油、抗降解及热稳定等特性^[1]。PFAS 在饮用水、室内灰尘、清洁产品及涂层材料等环境介质中普遍存在,可在人体中被广泛检出^[2],并与不良健康结局包括癌症的发生相关^[3]。因其在环境中持久存在且可在生物体内蓄积,PFAS 常被称为“永久性化学物质”。全氟辛酸(perfluorooctanoic acid, PFOA)作为 PFAS 的主要同系物之一,已被《斯德哥尔摩公约》认定为持久性有机污染物,并在全球范围内受到限制^[4]。早在 2006 年,美国环境保护署便启动了 PFOA 监管计划,旨在 2015 年前实现饮用水中 PFOA 及其前体物的彻底消除。然而,根据美国环境保护署《未受监管污染物监测条例》的调查数据,美国饮用水中仍能检测到浓度范围在 20~1 200 ng/L 的 PFOA,提示人体暴露持续存在^[5]。研究已证实 PFOA 暴露可引起多种不良健康效应。2023 年 11 月,国际癌症研究机构依据其对肝细胞癌、胰腺腺癌和子宫腺癌的致癌性证据,将 PFOA 归类为人类 1 类致癌物^[6],目前尚未明确 PFOA 是否对鼻咽癌产生影响。

鼻咽癌是中国南方地区发病率最高的头颈部恶性肿瘤,也是全球范围内头颈部癌症死亡的重要原因之一^[7]。其病理类型以非角化型鳞状细胞癌为主,约占全部病例的 90% 以上。目前已确认多种风险因素与鼻咽癌发生发展相关,如 EB 病毒潜伏感染、长期摄入腌制食品、吸烟及职业性污染物暴露等,这些因素可共同诱导鼻咽上皮细胞恶性转化,促进疾病进展^[8]。鼻咽癌治疗失败及患者死亡的重要原因是肿瘤远处转移。即使是接受规范综合治疗的 IV 期患者,其 5 年生存率仅为 10%~30%^[9]。随着鼻咽癌诊疗技术的提升,部分患者可实现带瘤长期生存,因此探索促进鼻咽癌进展与转移的风险因素显得尤为重要。本研究探讨了 PFOA 对鼻咽癌细胞增殖与迁移的影响,并通过转录组学研究分析其潜在机制。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

人鼻咽癌细胞株 HK1 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。鼻咽癌细胞株 HK1 使用含 10% 胎牛血清(美国 Excell Bio 公司,编号 FSP500)及 1% 青霉素-链霉素(中国上海碧云天生物技术有限公司,编号 C0222)的 RPMI-1640 培养基(美国 Gibco 公司,编号 C11875500BT),于 37℃、5% CO₂ 条件下在恒温恒湿培养箱(新加坡 Esco 公司,型号 CCL-240B-8)常规培养。用于细胞计数试剂盒-8(cell counting Kit-8, CCK-8)实验检测细胞活力吸光度(optical density, OD)的酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司,型号 Multiskan FC)、用于观察 Transwell 实验的倒置显微镜(日本 Olympus 公司,型号 IX 73)、用于细胞样本离心处理的高速台式离心机(德国 Eppendorf 公司,型号 5424R)、用于储存细胞样本及 RNA 样本的 -80℃ 超低温冰箱(中国海尔公司,型号 DW-86L626)以及用于精准计数 HK1 细胞数量的细胞计数器(美国 Beckman Coulter 公司,型号 Z I 型);用于细胞清洗及实验过程中样本缓冲的 PBS 缓冲液(北京 Solarbio 公司,编号 P1020)、用于消化 HK1 细胞以实现细胞传代或样本收集的胰蛋白酶(北京 Solarbio 公司,编号 T1300)、通过显色反应检测 HK1 细胞增殖活力的 CCK-8 试剂盒(日本 Dojindo 公司,编号 CK04)、用于检测 HK1 细胞迁移能力的 Transwell 小室(美国 Corning 公司,编号 3422,孔径 8.0 μm)、用于提取 PFOA 处理后 HK1 细胞总 RNA 的 RNA 提取试剂盒(中国天根生化科技公司,编号 DP430),以及作为实验处理试剂且配制成 50 μM 浓度用于 HK1 细胞处理实验的 PFOA(美国 Sigma-Aldrich 公司,编号 438947)。

1.2 CCK-8 法检测细胞增殖

取对数生长期的 HK1 细胞,以每孔 5×10^3 个密度接种于 96 孔细胞培养板,细胞贴壁后分为对照组(不添加 PFOA)和 PFOA 处理组(终浓度为 50 μM PFOA),两组均连续处理 10 d。分别于处理后的 0、

24、48、72 h,每孔添加 10 μ L CCK-8 试剂,继续于 37℃、5%CO₂ 培养箱中孵育 2 h。孵育完成后,使用酶标仪测定各孔在 450 nm 波长下的 OD 值,以该 OD 值反映细胞活力,进而评估细胞增殖能力。各时间点均设 3 个复孔,实验独立重复 3 次,分析两组细胞活力的时间依赖性差异。

1.3 Transwell 实验检测细胞迁移

取经 50 μ M PFOA 连续处理 10 d 的 HK1 细胞及同期培养的对照组 HK1 细胞,PBS 洗涤后以无血清 RPMI-1640 培养基重悬,调整细胞浓度至 5×10^4 个/mL。将 Transwell 小室置于 24 孔板中,上室加入 200 μ L 上述制备的细胞悬液,下室加入 600 μ L 含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基。随后于 37℃、5%CO₂ 培养箱内孵育 24 h。孵育结束后取出 Transwell 小室,用 PBS 轻柔洗涤 2 次,用棉签轻轻擦去上室未迁移细胞。以 4%多聚甲醛固定下室膜表面的迁移细胞 15 min,固定完成后用 0.1%结晶紫染液染色 20 min,再次用 PBS 洗涤以去除残留染液。倒置显微镜下随机选取 5 个视野,统计迁移至下室膜表面的细胞数量,以该细胞数量评估细胞迁移能力。实验独立重复 3 次,统计并比较 PFOA 处理组与对照组的细胞迁移数量差异。

1.4 RNA 测序与生物信息学分析

收集经 50 μ M PFOA 连续处理 10 d 的 HK1 细胞与对照组细胞。提取总 RNA 并检测 RNA 纯度 (A260/A280 比值 1.8~2.0 为合格),并通过 1.5%琼脂糖凝胶电泳验证 RNA 完整性(清晰可见 28S、18S 条带)。检测合格后,使用 Illumina TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit 构建 cDNA 文库,文库经 Agilent 2100 Bioanalyzer 质控合格(片段长度主要为 200~300 bp)后,在 Illumina NovaSeq 6000 平台进行高通量测序。测序结束后,采用 FastQC 软件对原始测序数据进行质量评估,通过 Trimmomatic 软件过滤低质量 reads (Q 值<20)、接头序列及污染序列,得到清洁数据。将清洁数据通过 HISAT2 软件定位到人类参考基因组 (GRCh38) 上,使用 FeatureCounts 软件进行基因表达定量分析。以 $|\log_2(\text{FoldChange})| > 1$ 且 $P < 0.05$ 为筛选标准,确定差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。

1.5 qPCR 验证关键基因表达

选取 *HBEGF*、*EPHA2*、*SPRY4*、*IL1B* 等关键 DEGs 进行 qPCR 验证。按照 RNA 提取试剂盒说明书提取 PFOA 处理组与对照组 HK1 细胞的总 RNA,使用 PrimeScript RT Reagent Kit(日本 TaKaRa 公司,

编号 RR037A)将 RNA 逆转录为 cDNA。以 cDNA 为模板,采用 TB Green Premix Ex Taq II(日本 TaKaRa 公司,编号 RR820A)在 StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher 公司)上进行扩增。以 GAPDH 为内参,引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成(表 1)。反应条件:95℃预变性 30 s;95℃变性 5 s,60℃退火延伸 30 s,共 40 个循环;溶解曲线分析验证引物特异性。采用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算目标基因的相对表达量,实验独立重复 3 次。对筛选得到的 DEGs 进行京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析,进一步对筛选得到的 DEGs 进行基因本体(gene ontology, GO)功能富集分析。

表 1 qPCR 验证所用引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
<i>HBEGF</i>	上游:GCTGCTGCTGCTGTTTGTGT	152
	下游:TGGTGCTGCTGCTGATGTTG	
<i>EPHA2</i>	上游:CAGCAGCAGCAGCAGATGAA	148
	下游:GTCGTCGTCGTCGTTCTT	
<i>SPRY4</i>	上游:GAGAGAGAGAGAGAGAGAGG	136
	下游:CTCTCTCTCTCTCTCTCTCC	
<i>IL1B</i>	上游:GAGAGAGAGAGAGAGAGAGG	129
	下游:CTCTCTCTCTCTCTCTCTCC	
<i>GAPDH</i>	上游:AGAAGGCTGGGGCTCATTTG	121
	下游:AGGGGCCATCCACAGTCTTC	

1.6 统计学分析

本研究的全部实验数据均使用软件 GraphPad Prism 9.0 进行统计学分析,定量资料符合正态分布采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PFOA 促进 HK1 细胞增殖

CCK-8 实验检测结果显示,随培养时间延长,对照组与 PFOA 处理组的细胞活力 OD 值均呈逐渐上升趋势(0 h:对照组 0.421 $\pm$ 0.035,PFOA 组 0.418 $\pm$ 0.032;24 h:对照组 0.785 $\pm$ 0.056,PFOA 组 0.892 $\pm$ 0.061;48 h:对照组 1.053 $\pm$ 0.072,PFOA 组 1.426 $\pm$ 0.089)。至 72 h 时,PFOA 处理组(1.824 $\pm$ 0.096)显著高于对照组(1.312 $\pm$ 0.078)(图 1A),差异具有统计学意义($t=6.843$, $P < 0.01$)。

2.2 PFOA 促进 HK1 细胞迁移

Transwell 实验检测结果显示,PFOA 处理组迁移至下室膜表面的细胞数量[(186.4 $\pm$ 12.7)个/视

野]显著高于对照组[(89.2±8.5)个/视野],迁移能力增强(图 1B),差异具有统计学意义($t = 10.257, P < 0.001$)。

2.3 DEGs 筛选与验证

研究通过 RNA-seq 比较了 PFOA 处理组与对照组 HK1 细胞的基因表达谱,并对 DEGs 进行了可视化分析与统计。图 2A(MA 图)反映基因表达水平($\log_2$ CPM)与差异倍数($\log_2$ FoldChange)的对应关系,红色点代表显著差异基因;图 2B(火山图)展示了两组之间差异基因的显著性($-\log_{10} P$ 值)和差异倍数[$\log_2$ (FoldChange)]的分布情况,筛选标准为 $|\log_2(\text{FoldChange})| > 1$ 且 $P < 0.05$;图 2C(聚类热图)显示,对 DEGs 进行 Z-score 标准化处理后, PFOA 处理组与对照组样本的基因表达模式呈现明显聚类特征,组内重复性好,组间差异显著;图 2D(柱状图)统计结果显示,共筛选出 891 个 DEGs,其中上调基因 279 个,下调基因 612 个。按 P 值由大到小顺序取前 20 个 DEGs,具体见表 2。

qPCR 验证结果显示, PFOA 处理组 *HBEGF*、*EPHA2*、*SPRY4*、*IL1B* 的 mRNA 相对表达量均显著高于对照组(P 均 < 0.05),表达趋势与 RNA-seq 结果一致,具体见表 3。

2.4 DEGs 的 KEGG 富集分析

DEGs 显著富集于细胞过程(如细胞衰老、程序性细胞坏死)、遗传信息过程(如内质网蛋白加工)、人类疾病(如脂质与动脉粥样硬化、EB 病毒感染、沙门氏菌感染、大肠埃希菌感染、癌症转录失调)、代谢(如脂肪酸代谢)及生物系统[如白细胞介素(interleukin, IL)-17 信号通路]等多个生物学过程;富集气泡图进一步显示, DEGs 显著富集通路包括 IL-17 信号通路、肿瘤坏死因子信号通路及 p53 信号通路等。见图 3。

2.5 DEGs 的 GO 富集分析

GO 富集环形图显示, DEGs 主要富集类别包括:生物过程中的细胞过程、生物调控及代谢过程,细胞组成中的细胞解剖学实体,分子功能中的结合、催化活性及转录调节活性;气泡图进一步显示, DEGs 在“DNA 结合抑制转录活动”、“对温度刺激的反应”、“RNA 聚合酶 II 特异的 DNA 结合转录抑制和促进活性”等 GO 条目中富集明显;GO 富集柱形图通过颜色差异区分生物过程、细胞组分、分子功能三大类,柱高代表富集到该条目的基因数量,直观呈现了不同 GO 类别下各条目富集的基因数量分布情况。见图 4。

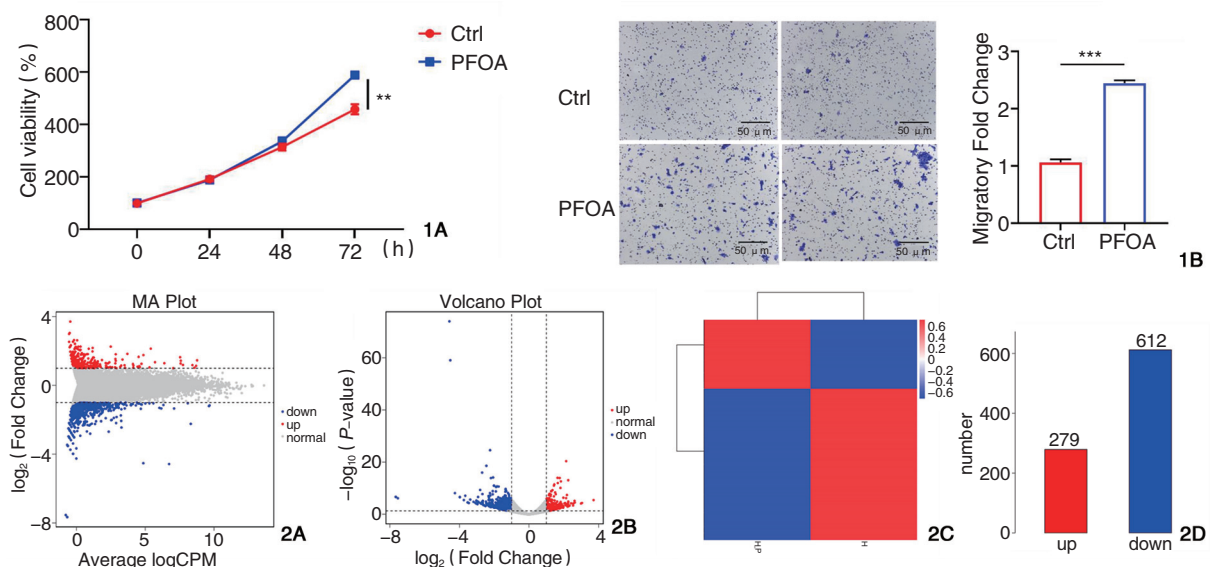


图 1 PFOA 促进 HK1 细胞的增殖与迁移 1A: CCK-8 检测 50 μM PFOA 对 HK1 细胞的增殖能力 (** $P < 0.01$); 1B: Transwell 检测 50 μM PFOA 对 HK1 细胞的迁移能力 (***) $P < 0.001$) 图 2 DEGs 可视化分析与统计 2A: DEGs MA 图; 2B: DEGs 火山图; 2C: DEGs 聚类热图; 2D: DEGs 数量统计柱状图 注: H 代表 HK1 细胞对照组; H_P 代表 PFOA 处理组; PFOA(全氟辛酸); CCK-8(细胞计数试剂盒); DEGs(差异表达基因)。下同。

表 2 前 20 个 DEGs 明细分布表

基因名称	$\log_2(\text{FoldChange})$	P	调节
<i>HBEGF</i>	3.710	1.000	上调
<i>EPHA2</i>	3.047	9.968	上调
<i>SPRY4</i>	2.990	9.827	上调
<i>MIR17HG</i>	2.631	9.827	上调
<i>MIR222HG</i>	2.621	9.764	上调
<i>MIR100HG</i>	2.538	9.732	上调
<i>FOSL1</i>	2.531	9.616	上调
<i>DUSP6</i>	2.418	9.601	上调
<i>SOX7</i>	2.333	9.398	上调
<i>DUSP4</i>	2.277	9.369	上调
<i>IL-1B</i>	2.277	9.339	上调
<i>DUSP5</i>	2.257	9.194	上调
<i>PADI3</i>	2.255	9.194	上调
<i>TINAGLI</i>	2.251	9.131	上调
<i>MAT2A</i>	2.243	8.909	上调
<i>LOC101928034</i>	2.218	8.728	上调
<i>DHRS3</i>	2.200	8.390	上调
<i>ZNF296</i>	2.180	8.316	上调
<i>IL-1A</i>	2.156	8.231	上调
<i>ZNF92</i>	2.137	8.231	上调

表 3 关键 DEGs 的 RNA-seq 与 qPCR 验证结果

基因名称	RNA-seq $\log_2(\text{FoldChange})$	qPCR 相对 表达量	t	P
<i>HBEGF</i>	3.710	2.843±0.215	8.625	0.002
<i>EPHA2</i>	3.047	2.517±0.189	9.017	0.001
<i>SPRY4</i>	2.990	2.306±0.167	8.234	0.002
<i>IL-1B</i>	2.277	2.198±0.154	7.986	0.003

3 讨论

本研究结果显示,经 50 μM PFOA 连续处理 10 d 后, HK1 细胞的增殖与迁移能力均显著增强。CCK-8 实验表明,随培养时间延长, PFOA 处理组的细胞活力持续上升,至 72 h 时 OD 值达 1.824 ± 0.096 ,显著高于对照组; Transwell 实验进一步证实, PFOA 处理组迁移细胞数显著多于对照组。为了验证转录组学结果的可靠性,本研究通过 qPCR 检测关键 DEGs 的 mRNA 表达水平,发现 *HBEGF*、*EPHA2*、*SPRY4*、*IL-1B* 的相对表达量在 PFOA 处理组均显著上调,与 RNA-seq 结果一致,提示测序数据具有较高可信度。以上结果表明,在 HK1 细胞模型中, PFOA 可促进鼻咽癌细胞的增殖与迁移,可能在鼻咽癌恶性进展中发挥作用。

转录组学分析共筛选出 891 个 DEGs,其中上调 279 个,下调 612 个。KEGG 富集分析显示, DEGs 主要集中于 IL-17 信号通路、Toll 样受体信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用等通路; GO 富集分析显示, DEGs 主要参与细胞过程、生物调控及 DNA 结合转录调控等功能。IL-17 信号通路可通过激活核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB)、MAPK

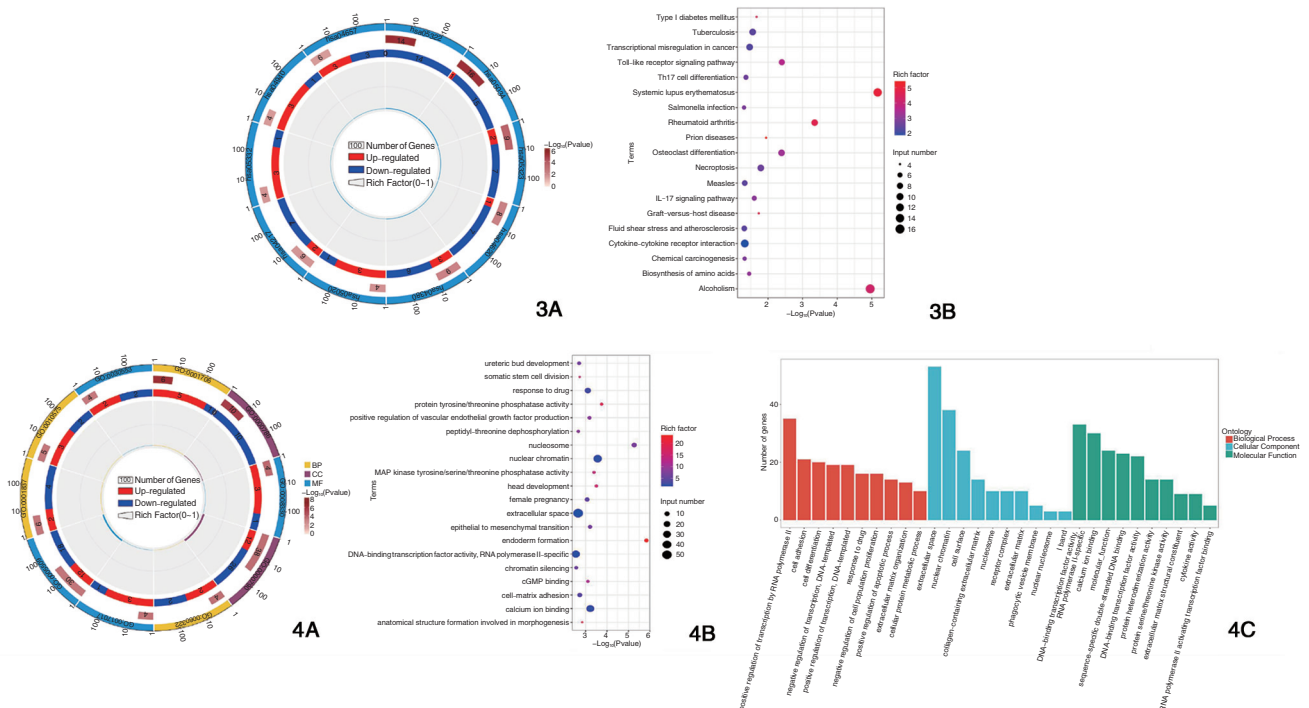


图 3 DEGs 的 KEGG 富集分析 3A:KEGG 通路环形图;3B:KEGG 富集气泡图 图 4 DEGs 的 GO 富集分析 4A:GO 富集环形图;4B:GO 富集气泡图;4C:GO 富集柱形图 注:KEGG(京都基因与基因组百科全书);GO(基因本体)。

通路,调控肿瘤微环境炎症反应,促进肿瘤细胞增殖^[10];Toll 样受体信号通路的激活可诱发慢性炎症,PFOA 可能借此加剧鼻咽部局部炎症,为肿瘤生长提供有利微环境^[11];细胞因子-细胞因子受体相互作用通路的富集与 IL-1A、IL-1B 等促炎细胞因子上调相关,其机制涉及炎症反应失控,通过损伤细胞、重塑微环境最终推动癌变^[12-13]。上述通路的协同激活,可能是 PFOA 促进 HK1 细胞恶性进展的重要分子基础。

进一步对 DEGs 的分析发现,按 *P* 值筛选的前 20 个 DEGs 均与肿瘤恶性表型密切相关。例如, *HBEGF* 作为表皮生长因子家族成员之一,其高表达可增强乳腺癌细胞的侵袭能力^[14]; *EPHA2* 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路诱导上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 促进乙型肝炎病毒相关肝细胞癌的细胞转移潜能^[15]; *SPRY4* 可协同激活 MAPK 通路增强肿瘤细胞增殖活性^[16], *FOSL1* 作为 AP-1 转录因子可结合癌基因启动子促进肿瘤侵袭^[17]。

PFOA 作为一种典型的持久性有机污染物,其致癌性已受到广泛关注。然而,其对不同肿瘤的作用存在明显异质性。在睾丸癌中,相关流行病学证据仍较为有限^[18];在肺癌中,PFOA 可通过独特的“机械调控”机制,即降低细胞刚度、减少粘附并增强免疫逃逸来促进转移^[19];在肾透明细胞癌中,则主要涉及代谢紊乱、氧化应激等通路^[20]。与上述肿瘤相比,本研究提示 PFOA 对鼻咽癌的作用呈现“炎症通路主导”的特征,这与鼻咽癌作为一种与慢性炎症微环境密切相关的头颈部鳞状细胞癌的病理特点相符^[21]。鼻咽癌的已知风险因素包括 EB 病毒感染、腌制食品、吸烟及职业污染物暴露等,其进展常伴随炎症通路激活、EMT 增强及细胞因子网络紊乱^[22]。例如,鼻咽癌组织中 IL-17 可经外泌体途径诱导产生,进而增强放疗抵抗^[23];Toll 样受体家族多个成员在肿瘤组织中高表达,且与临床病理特征相关^[24]。

本研究仍存在一定局限性:第一,仅使用 HK1 一种细胞系,未在 CNE1、CNE2 等其他常见鼻咽癌细胞系中验证,结论的普适性有待确认;第二,实验体系局限于体外细胞水平,缺乏裸鼠移植瘤等体内动物模型证据,无法反映肿瘤微环境的复杂性;第三,机制研究深度不足,虽通过转录组学筛选出相关基因与通路,并经 qPCR 验证表达趋势,但未对关键基因进行功能验证,也未明确 PFOA 作用的上游靶

点;第四,未开展 PFOA 浓度梯度实验,无法明确其促进 HK1 细胞恶性表型的剂量-效应关系。

综上,本研究通过体外实验结合转录组学分析与 qPCR 验证,初步证实 PFOA 可促进 HK1 鼻咽癌细胞的增殖和迁移,其作用可能与调控 *HBEGF*、*EPHA2* 等基因及炎症相关信号通路有关。该发现拓展了对 PFOA 致癌潜力及作用机制的认识,为后续探索鼻咽癌环境风险因素提供了初步实验线索,后续需通过多细胞系验证、体内动物实验、功能回复实验及人群流行病学研究进一步深化证据链,以明确 PFOA 在鼻咽癌发生发展中的实际作用及临床意义。

参考文献:

- [1] Fujii Y, Harada KH. Per- and polyfluoroalkyl substances: toxicokinetics, exposure and health risks [J]. J Toxicol Sci, 2025, 50 (3): 97-104.
- [2] Cuffney M, Wilkie AA, Kotlarz N, et al. Factors associated with per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS) serum concentrations in residents of New Hanover County, North Carolina: The GenX exposure study [J]. Environ Res, 2023, 237(Pt 2): 117020.
- [3] Steenland K, Winquist A. PFAS and cancer, a scoping review of the epidemiologic evidence [J]. Environ Res, 2021, 194: 110690.
- [4] Cousins IT, Johansson JH, Salter ME, et al. Outside the safe operating space of a new planetary boundary for per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS) [J]. Environ Sci Technol, 2022, 56 (16): 11172-11179.
- [5] Pelch KE, McKnight T, Reade A. 70 analyte PFAS test method highlights need for expanded testing of PFAS in drinking water [J]. Sci Total Environ, 2023, 876: 162978.
- [6] Zahm S, Bonde JP, Chiu WA, et al. Carcinogenicity of perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonic acid [J]. Lancet Oncol, 2024, 25(1): 16-17.
- [7] 何容, 陈川, 李梦侠, 等. 鼻咽癌放疗临床靶区人工智能勾画模型的训练及验证研究 [J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44 (9): 906-912.
- [8] Guan S, Wei J, Huang L, et al. Chemotherapy and chemo-resistance in nasopharyngeal carcinoma [J]. Eur J Med Chem, 2020, 207: 112758.
- [9] 杨秀, 杨峤, 陈光朋, 等. 局部晚期鼻咽癌辅助化疗的临床疗效分析 [J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(22): 2307-2316.
- [10] Huangfu L, Li R, Huang Y, et al. The IL-17 family in diseases: from bench to bedside [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8 (1): 402.
- [11] Jiang B, Wang D, Hu Y, et al. Serum amyloid A1 exacerbates hepatic steatosis via TLR4-mediated NF- κ B signaling pathway [J]. Mol Metab, 2022, 59: 101462.
- [12] Park MD, Le Berichel J, Hamon P, et al. Hematopoietic aging promotes cancer by fueling IL-1 α -driven emergency myelopoiesis

- [J]. Science, 2024,386(6720):eadn0327.
- [13] Kim H, Lee H J, Kwon Y J, et al. Peripheral blood transcriptomic biomarkers of inflammatory persistence in early-stage lung cancer [J]. Cancers, 2023, 15(4): 1250.
- [14] Wang Y, Zhang Z, Wang J, et al. Exosomal miR-130a from cancer-associated fibroblasts induces PTEN suppression to promote colorectal cancer metastasis via activating the PI3K/Akt pathway [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 104.
- [15] Wang Y, Zhang Z, Zhu Z, et al. The significance of EphA2-regulated Wnt/ β -catenin signal pathway in promoting the metastasis of HBV-related hepatocellular carcinoma [J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(1):565-575.
- [16] Pan H, Xu R, Zhang Y. Role of SPRY4 in health and disease [J]. Front Oncol, 2024, 14:1376873.
- [17] Nayakanti SR, Friedrich A, Sarode P, et al. Targeting Wnt- β -Catenin-FOSL Signaling Ameliorates Right Ventricular Remodeling [J]. Circ Res, 2023, 132(11):1468-1485.
- [18] Bartell SM, Vieira VM. Critical review on PFOA, kidney cancer, and testicular cancer [J]. J Air Waste Manag Assoc, 2021, 71(6):663-679.
- [19] Mei J, Jiang J, Li Z, et al. Increased perfluorooctanoic acid accumulation facilitates the migration and invasion of lung cancer cells via remodeling cell mechanics [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2024, 121(51):e2408575121.
- [20] Wang L, Zong L, Cao D, et al. Unraveling the molecular mechanisms of PFOA in clear cell renal cell carcinoma through network toxicology and molecular docking strategies [J]. Int J Surg, 2025, 111(7):4842-4853.
- [21] Singh N, Baby D, Rajguru JP, et al. Inflammation and cancer [J]. Ann Afr Med, 2019, 18(3):121-126.
- [22] Chen YP, Chan ATC, Le QT, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Lancet, 2019, 394(10192):64-80.
- [23] Wang X, Xiang Z, Zhang Y, et al. CD25 downregulation by tumor exosomal microRNA-15a promotes interleukin-17-producing $\gamma\delta$ -T-cells-mediated radioresistance in nasopharyngeal carcinoma [J]. MedComm (2020), 2025, 6(2):e70078.
- [24] Ruuskanen M, Leivo I, Minn H, et al. Expression of toll-like receptors in non-endemic nasopharyngeal carcinoma [J]. BMC Cancer, 2019, 19(1):624.

(收稿日期:2025-10-29)

本文引用格式:王刘倩,赵力,张已,等. 全氟辛酸促进鼻咽癌细胞 HK1 增殖和迁移的机制研究 [J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2026, 32(2):33-39. DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 202625410

Cite this article as: WANG Liuqian, ZHAO Li, ZHANG Yi, et al. Study on the role of perfluorooctanoic acid in promoting the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cell line HK1 [J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2026, 32(2):33-39. DOI: 10. 11798/j. issn. 1007-1520. 202625410