

# pEGFP-N1-IL-17 通过调控 Fas/FasL 信号通路影响喉癌 Hep-2 细胞的凋亡

张红健 宋 杨 杨 明 季加标 杨见明

**摘要** 目的 研究重组质粒白介素 17(pEGFP-N1-IL-17)对喉癌细胞(Hep-2 细胞)凋亡的影响,阐述 pEGFP-N1-IL-17 通过 Fas/FasL 信号通路抑制 Hep-2 细胞凋亡的机制。方法

设置未转染的 Hep-2 细胞为空白对照组, pEGFP-N1-NC 转染的喉癌 Hep-2 细胞为阴性对照组, pEGFP-N1-IL-17 转染的喉癌 Hep-2 细胞为实验组。qRT-PCR、Western blot 实验用来检测 IL-17 在 Hep-2 细胞的表达水平,成功构建了 IL-17 过表达载体。用 Western blot 检测空白对照组、阴性对照组、实验组中 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白的表达情况。用流式细胞仪检测空白对照组、阴性对照组、实验组细胞的凋亡率。结果 IL-17 过表达载体转染喉癌 Hep-2 细胞后, qRT-PCR 检测 IL-17 表达水平上调数倍。与阴性对照组相比,空白对照组 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白表达无明显差异。与阴性对照组相比,实验组喉癌 Hep-2 细胞内 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白表达明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。空白对照组、阴性对照组的细胞凋亡率没有明显变化。与空白对照组相比,实验组的喉癌 Hep-2 细胞的凋亡率有明显降低。结论 IL-17 可能通过 Fas/FasL 信号通路来抑制喉癌 Hep-2 细胞凋亡。

**关键词** pEGFP-N1-IL-17; Fas/FasL 信号通路; 喉癌细胞

**中图分类号** R 739.65

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2019)11-1683-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.004

头颈部有一种发病率较高的肿瘤,以鳞状细胞癌为主,就是喉癌<sup>[1]</sup>。喉癌在临床治疗上主要以手术或者手术联合化疗方式,会不同程度地影响患者的喉功能和生活质量都会大大下降。所以必须研究更多的像免疫治疗这类的方法来治疗喉癌<sup>[2]</sup>。白介素-17(IL-17)是 CD4<sup>+</sup> T Th17 等细胞分泌的一种细胞因子<sup>[3]</sup>。IL-17 的相关研究主要集中在肿瘤疾病方面<sup>[4]</sup>。还有研究<sup>[5]</sup>显示 Lewis 肺癌荷瘤小鼠

的 MDSCs 细胞的凋亡也是可以被 IL-17 抑制的。也有研究<sup>[6]</sup>表明 Fas 又称 Apo-1 或 CD95 分子,属于肿瘤坏死因子受体家族类,为 Fas 配体(FasL)的受体, Fas 与 FasL 的结合,促进细胞凋亡<sup>[7]</sup>。有相关研究<sup>[8-9]</sup>显示喉癌组织中 Fas 和 FasL 的表达是下降的,说明存在某些细胞因子阻断 Fas 介导的凋亡途径。研究<sup>[6]</sup>表明, IL-17 可以通过 IL-6/IL-6R/JAK1/STAT3 通路来调控 Hep-2 细胞的侵袭和转移。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞培养** 喉癌细胞(Hep-2 细胞)购自南京凯基生物科技发展有限公司。细胞培养基(DMEM + 青霉素 + 链霉素 + 10% 胎牛血清),用 5% 的 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱在 37 °C 条件下培养。Opti-MEM(×1)和 Lipofectamine 2000 均购于美国 Life Technology 公司。

**1.2 试剂** Opti-MEM 培养基、TRIzol Reagent 购于美国 Invitrogen 公司;血清购自美国 Hyclone 公司;总 RNA 提取试剂盒购于德国 Qiagen 公司。pEGFP-N1-IL-17 购于武汉金凯瑞生物工程有限公司;胎牛血清购于浙江天杭生物科技股份有限公司;DMEM 培养液购于美国 HyClone 公司;抗 PI3K 单克隆抗体和抗 p-PI3K 抗体均购于美国 Abcam 公司。抗 FasL 抗体和抗 Fas 抗体均购于美国 CST 公司;Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 抗体均购于美国 Immunoway 公司;抗 β-actin 抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司;山羊抗兔二抗和山羊抗鼠二抗均购于美国 ABelonal 公司;Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购于美国 BD 公司;蛋白 Marker、ECL 荧光剂(显影剂)胰酶、5 × SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液、一抗稀释液、二抗稀释液、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、BCA 法蛋白浓度检测试剂盒均购于上海碧云天生物有限公司;逆转录试剂盒 PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix 购自北京 TaKaRa Clontech 公司;扩增引物购自上海生工生物工程股份有限公司;荧光染料 Maxima SYBR Green/ROX qPCR 购自美国 Thermo 公司。

2019-07-16 接收

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(编号: KJ2015A324)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院耳鼻喉头颈外科,合肥 230601

作者简介:张红健 男 硕士研究生;

杨见明 男 副教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: jmyang88@163.com

**1.3 仪器** 超净工作台(型号: SW-9800) 购于苏州泰安空气技术有限公司。恒温细胞培养箱(型号: NAPCO-8800) 购于美国 SHELLAB 公司; CytoFLEX 流式细胞仪(Tanon) 购自美国 BECKMAN COULTER 公司; Western blot 电泳仪购于上海天能科技有限公司; 逆转录反应仪器购自美国 ABI 公司; Mastercycle eppgradient Eppendorf PCR 扩增仪购自德国 Eppendorf 公司。

**1.4 qRT-PCR 法检测重组质粒 IL-17 (pEGFP-N1-IL-17) 转染喉癌 Hep-2 细胞后 IL-17 的表达** 收集转染的细胞加 1 ml TRIzol 试剂,提取总 RNA。(提取六孔板每个孔中 RNA,加水配到 8  $\mu$ l): 在 37  $^{\circ}$ C 温度条件下进行逆转录反应 15 min。每组有 3 个复孔。反应条件: 95  $^{\circ}$ C、20 s 预变性,循环内 95  $^{\circ}$ C、10 s 变性,60  $^{\circ}$ C 退火 20 s,70  $^{\circ}$ C 延伸 10 s,共设置 40 个循环,然后设置(95  $^{\circ}$ C、15 s,60  $^{\circ}$ C、30 s,95  $^{\circ}$ C、15 s) 反应步骤。扩增完成之后采用  $\Delta$ Ct 法分析定量结果。

**1.5 IL-17 过表达重组质粒的构建与鉴定** 结构序列设计合成 2 对引物: 第 1 对引物位于 IL-17cDNA 的起始密码和终止密码前后端,两侧分别含 AgeI 酶切位点,用于 PCR 钓取扩增目的基因: 正义链 5'-CGCTGATGGGAACGTGGACTAC-3' 和反义链 5'-GGTGGACAATCGGGGTGACA-3'。第 2 对引物根据目的基因及载体本身序列设计,用于鉴定 IL-17 定向连接的阳性克隆菌落以及测序,通过 PCR 扩增获得目的基因 IL-17cDNA 片段,纯化后经 Age I 酶切消化。用 Age I 酶酶切载体质粒、回收线性载体片段。用 T4 噬菌体 DNA 连接酶将 IL-17 线性化载体连接,再转化、涂板、挑取克隆、扩增,试剂盒提取质粒,酶切,最后用 PCR 凝胶电泳鉴定,再测定序列。通过运用 PCR 法,从质粒中将人 IL-17cDNA 扩增,并将其成功插入 pEGFP-N1 载体中,经过测序和验证之后,pEGFP-N1-IL-17 载体成功构建。把质粒 pEGFP-N1 和 PCR 产物进行双酶切(BamH I 和 EcoR I),再用 T4 连接酶连接酶切产物,过夜后转入感受态细胞 *E. coli* DH5a 中进行扩增,挑取克隆提质粒行双酶切鉴定并选择纯化 pEGFP-N1-IL-17 重组质粒,在北京华基因生物工程公司进行测序。

**1.6 重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 转染喉癌 Hep-2 细胞** 把培养瓶中的喉癌 Hep-2 细胞用不含 EDTA 的胰酶消化,消化后把相同数量的细胞接种到 6 孔板中,铺匀,使其在转染日的细胞密度能达到 90%,6 孔板中的每个孔中加入 2 ml 培养液(DMEM 配的

培养基用于 Hep-2 细胞) 在 37  $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养 6 孔板。细胞长到贴壁状态以后,弃培养液,PBS 洗 2 次。每孔加入 1 500  $\mu$ l Opti-MEM (注意用无酶枪头)。加药时注意用无酶枪头、避光,设置 6 孔板的 3 个孔分别为空白对照组、阴性对照组和实验组。先将空白对照组、阴性对照组和实验组的 3 个孔的药加好: 取 6 个无酶 EP 管,分成 3 组: 空白对照组、阴性对照组和实验组。空白对照组的 2 个无酶 EP 管每管加入 250  $\mu$ l Opti-MEM,再在其中一管中加入 Lipofectamine 2000 5  $\mu$ l,混匀,另一管不加; 阴性对照组的 2 个无酶 EP 管,一管加 Lipofectamine 2000 5  $\mu$ l 混匀,另一管加 10  $\mu$ l pEGFP-N1-NC,混匀; 实验组的 2 管其中一管加 5  $\mu$ l Lipofectamine 2000 充分混匀,另一管加 10  $\mu$ l pEGFP-N1-17,充分混匀,避光静置 5 min 后将每组的两管药混匀,再避光 20 min,然后将这 3 组药分别加入空白对照组、阴性对照组、实验组的板孔中(已经用 PBS 洗 2 次,每孔加入 1 500  $\mu$ l Opti-MEM 的 6 孔板中)。在各组的药加好之后,把 6 孔板置于 37  $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养 6 h,到时间后用 PBS 洗 2 次,再换上细胞培养基(DMEM + 10% 胎牛血清用于 Hep-2 细胞),每孔加 2 ml,培养 24 h。

**1.7 Western blot 法检测重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 转染喉癌 Hep-2 细胞后 IL-17 的表达** 用 Western blot 法分别检测空白对照组、阴性对照组、实验组中 IL-17 的表达情况。制备 Hep-2 细胞悬液,以相同的数量接种到 6 孔板中,培养 6 h,弃去培养基,清洗细胞,空白对照组中加入培养基,阴性对照组加入 pEGFP-N1-NC,实验组加入 pEGFP-N1-IL-17 处理 6 h,弃去培养液,用 PBS 洗 2 次,再换上细胞培养基,每孔加 2 ml,培养 24 h。弃去培养液,4  $^{\circ}$ C 预冷,PBS 清洗细胞,培养板中加入蛋白裂解液(含 PMSF 及磷酸化酶抑制剂)充分裂解细胞,13 000 r/min,4  $^{\circ}$ C 离心 20 min,吸取上清液; BCA 试剂盒检测蛋白浓度后分装保存。加入 5  $\times$  loading buffer(比例为 4 : 1)和相应体积的总蛋白样品,在干浴锅中煮蛋白液使其变性,保存在 -20  $^{\circ}$ C 冰箱中。每个泳道加 20  $\mu$ g 蛋白样本进行 SDS-PAGE 凝胶电泳; 分离凝胶中的蛋白要转移到 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶孵育 PVDF 膜 2 h。TBST 洗涤,洗涤 3 次,每次 10 min。抗 IL-17 抗体孵育过夜。再用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。二抗孵育膜 1 h, TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,用 ECL 化学发光底物显影检测蛋白。最后用 Image-Pro plus 图像处理系统分析并计算 Western

blot 灰度值。

**1.8 Western blot 法检测重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 对喉癌 Hep-2 细胞中 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白表达的影响** 用 Western blot 法分别检测空白对照组、阴性对照组、实验组中的 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白的表达情况。制备 Hep-2 细胞悬液,以相同的数量接种到 6 孔板中,培养 6 h。弃去培养基,清洗细胞,空白对照组加入培养基,阴性对照组加入 pEGFP-N1-NC,实验组加入阳性 pEGFP-N1-IL-17 处理 6 h 后用 PBS 洗 2 次,再换上细胞培养基,每孔加 2 ml 培养 24 h 弃去培养基, PBS 清洗细胞,在培养板中加入蛋白裂解液裂解细胞,13 200 r/min、4 °C 离心 20 min,提取上清液分装保存。加入 5 × loading buffer(比例为 4 : 1)和相应体积的总蛋白样品,在干浴锅中煮蛋白液使其变性,保存在 -20 °C 冰箱中。每个泳道加 20 μg 蛋白电泳;转移蛋白到 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶孵育 PVDF 膜 2 h。TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。用 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8、β-actin 抗体孵育过夜。再用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,再用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min。二抗孵育膜 1 h, TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,显影,分析 Western blot 灰度值。

**1.9 流式细胞仪检测重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 对喉癌 Hep-2 细胞凋亡的影响** 将喉癌 Hep-2 细胞消化,接种到 6 孔板中相同的量(每孔细胞计数为  $1 \times 10^6$ ),等细胞长至贴壁状态以后,倒掉培养液, PBS 洗 2 次,空白对照组加入培养基,阴性对照组加入 pEGFP-N1-IL-NC,实验组加入 pEGFP-N1-IL-17 处理 6 h 后用 PBS 洗 2 次,再换上细胞培养基,每孔加 2 ml 培养 24 h,用不含 EDTA 的胰酶消化细胞,用 15 ml 离心管收集,300 r/min、4 °C 离心 5 min,弃去上清液,400 μl PBS 洗涤 2 次,用 PE-7AAD 染料对 Annexin V-FITC/PI 染色。用流式细胞仪检测,最后分析实验结果。

**1.10 统计学处理** 用 SPSS 16.0 软件分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组均数比较采用 *t* 检验;多组数据之间相互比较用方差分析。所有实验至少重复 3 次。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 qRT-PCR、Western blot 法检测重组质粒 IL-17 表达情况** 将双酶切和测序结果均正确的质粒转染后的 Hep-2 细胞,转染重组质粒 IL-17 的喉癌

Hep-2 细胞作为实验组,转染 pEGFP-N1-NC 空载体的喉癌 Hep-2 细胞作为对照组,48 h 后收集细胞并分为 2 份:1 份提取 RNA,通过 qRT-PCR 在 mRNA 水平检测细胞 IL-17 表达水平;另一份提取蛋白,通过 Western blot 在蛋白水平检测细胞 IL-17 表达水平。结果均表明重组质粒 IL-17 在喉癌 Hep-2 细胞能够成功表达,见图 1。

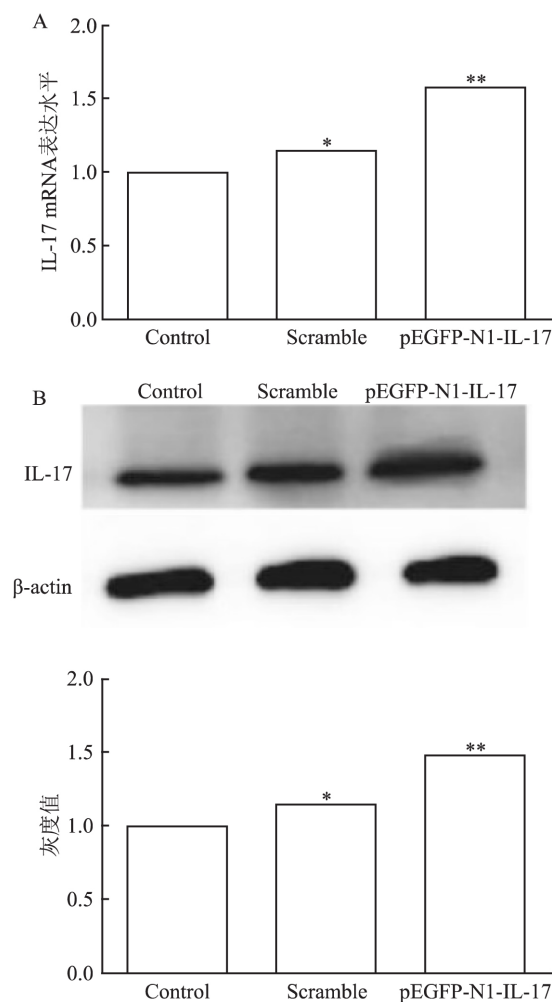


图1 qRT-PCR、Western blot 法检测重组质粒 IL-17 转染喉癌 Hep-2 细胞后 IL-17 的表达情况

A: qRT-PCR 检测结果; B: Western blot 法检测结果; Control: 空白对照组; Scramble: 阴性对照组; pEGFP-N1-IL-17: 实验组; 与空白对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.2 重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 对喉癌 Hep-2 细胞中 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白表达的影响** 与空白对照组相比,阴性对照组细胞内的 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白的表达无明显变化 ( $F = 58.170$ ,  $P = 0.218$ )。与空白对照组比较,实验组 4 种蛋白明显降低,差异有统计学意义 ( $F = 72.15$ ,  $P$

<0.01)。见图2。

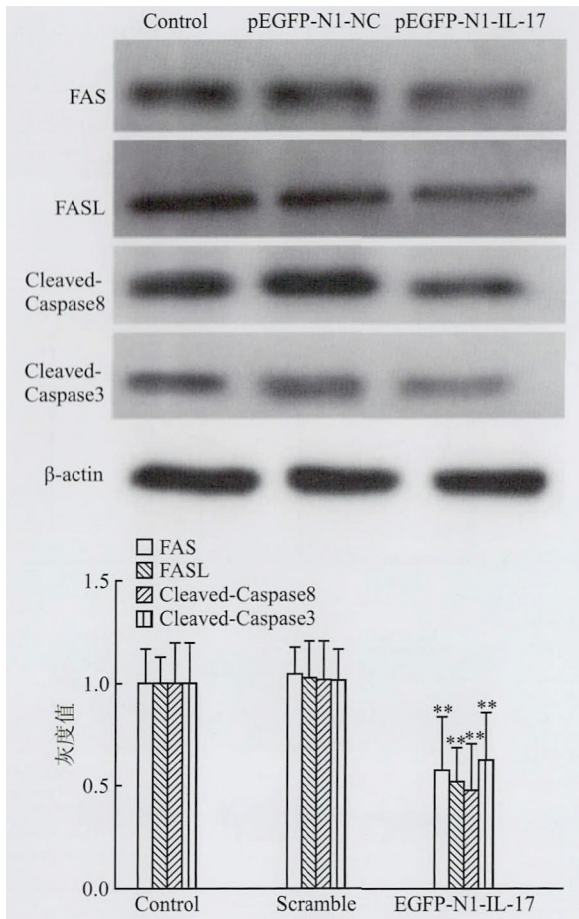


图2 Western blot 法检测重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 转染喉癌 Hep-2 细胞中 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白表达的变化与空白对照组( Control) 比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

**2.3 重组质粒(pEGFP-N1-IL-17)对Hep-2细胞凋亡的影响** 空白组凋亡率为(11.4 ± 1.52)% ,阴性对照组凋亡率为(12.64 ± 7.28)% ,实验组凋亡率为(3.39 ± 5.37)% ,实验组与空白对照组和阴性

对照组比较 ,实验组的凋亡率明显降低(  $F = 58.48$  ,  $P < 0.01$  )。见图3。

### 3 讨论

喉癌是以鳞状细胞癌为主的头颈部常见的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。对喉癌患者来说 ,非手术疗法可以保留喉的正常解剖结构和喉的生理功能 ,这种治疗方法对喉癌患者具有很大的意义<sup>[2]</sup>。IL-17 是 CD4<sup>+</sup> T Th17 等细胞分泌的一种细胞因子<sup>[3]</sup>。IL-17 的相关研究主要集中在肿瘤疾病方面<sup>[4]</sup>。还有研究<sup>[5]</sup>显示 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的 MDSCs 细胞的凋亡也是可以 IL-17 抑制的。细胞凋亡是由多基因调控的 ,主要有两条途径来调控:一是细胞膜上的受体途径 ,二是细胞内的线粒体途径<sup>[10]</sup>。细胞膜上的受体途径中 Fas 与 FasL 结合可触发凋亡 ,细胞凋亡有一条主要途径是由 Fas、FasL 介导的 ,此通路的某些环节缺失可能与肿瘤细胞的无限增殖有关。Fas 作为一种细胞表面受体 ,与其配体 FasL 结合后 ,使细胞表面形成胞内衔接子三聚体 ,导致 caspase1、3、6、7 形成级联反应诱导细胞的凋亡<sup>[11]</sup>。本实验 Western blot 研究结果表明:用 pEGFP-N1-IL-17 转染 24 h 后的喉癌 Hep-2 细胞内 Fas、FasL、Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 蛋白表达显著降低 ,差异有统计学意义(  $P < 0.01$  )。同时 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测的结果表明:与空白对照组比较 ,用 pEGFP-N1-IL-17 转染 24 h 后的喉癌 Hep-2 细胞的凋亡率明显降低 ,差异有统计学意义(  $P < 0.01$  )。

本研究结果表明 ,重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 转染后的喉癌 Hep-2 细胞 Fas 及其配体 FasL 明显下调 ,同时 Cleaved-Caspase3、Cleaved-Caspase8 表达也明显下调 ,提示重组质粒 pEGFP-N1-IL-17 可能通过

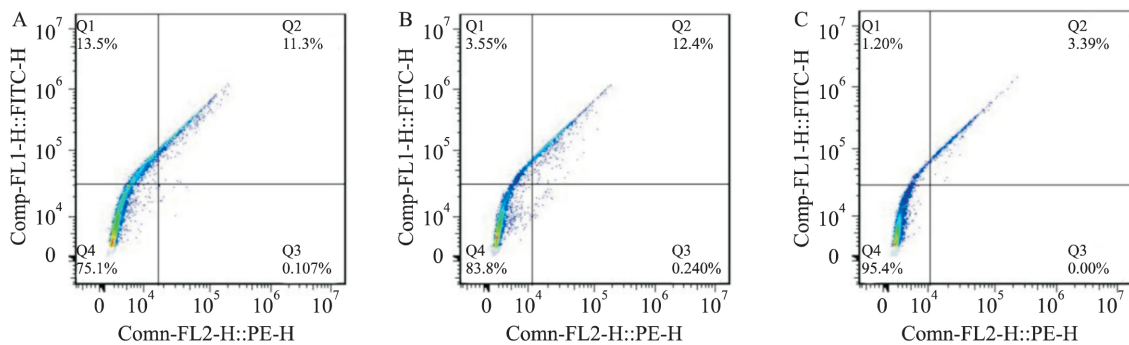


图3 流式细胞术检测重组质粒(pEGFP-N1-IL-17)对Hep-2细胞凋亡的影响  
A: 空白组; B: pEGFP-N1-NC 组; C: pEGFP-N1-IL-17 组

下调 Fas 和 FasL 蛋白表达,抑制 caspase 8 后阻断 caspase3 的活化,从而抑制喉癌细胞 Hep-2 凋亡。所以 IL-17 可能通过 Fas/FasL 信号通路来抑制喉癌 Hep-2 细胞凋亡,为研究喉癌的机制和治疗喉癌提供了依据。除 Fas/FasL 介导的死亡受体途径,IL-17 是否可以通过其他途径抑制喉癌 Hep-2 细胞凋亡仍需探索。

### 参考文献

- [1] Shetty A V. Systemic treatment for squamous cell Carcinoma of the Head and Neck [J]. *Otolaryngol Clin North Am* ,2017 ,50( 4) : 775 - 82.
- [2] Marur S. Head and neck squamous cell carcinoma: Update on epidemiology , diagnosis , and treatment [J]. *Mayo Clinic proceedings* 2016 91( 3) : 386 - 96.
- [3] Amatya N , Garg A V. IL-17 signaling: The Yin and the Yang [J]. *Trends Immunol* ,2017 ,38( 5) : 310 - 22.
- [4] Li F J , Cai Z J , Yang F , et al. Th17 expression and IL-17 levels in laryngeal squamous cell carcinoma patients [J]. *Acta Otolaryngol* ,2016 ,136( 5) : 484 - 90.
- [5] Wang J , Zhang Y , Yin K , et al. IL-17A weakens the antitumor immunity by inhibiting apoptosis of MDSCs in Lewis lung carcinoma bearing mice [J]. *Oncotarget* 2017 8( 3) : 4814 - 25.
- [6] 季加标,宋 杨,杨 明,等. IL-17 调控 IL-6/IL-6R/JAK1/STAT3 信号通路影响喉癌细胞的侵袭和转移 [J]. *安徽医科大学学报* 2017 52( 11) : 1637 - 41.
- [7] Nagata S. Fas ligand-induced apoptosis [J]. *Annu Rev Genet* , 1999 ,33: 29 - 55.
- [8] Sun H , Liu Y , Bu D , et al. Efficient growth suppression and apoptosis in human laryngeal carcinoma cell line HEP-2 induced by an adeno-associated virus expressing human FAS ligand [J]. *Head Neck* 2012 ,34( 11) : 1628 - 33.
- [9] Zhang H , Li X , Zhang Y. Luteolin induces apoptosis by activating Fas signaling pathway at the receptor level in laryngeal squamous cell line Hep-2 cells [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol* ,2014 ,271( 6) : 1653 - 9.
- [10] Rudner J , Elsaesser S J , Jendrosseck V , et al. Anti apoptotic Bcl-2 fails to form efficient complexes with pro-apoptotic Bak to protect from celecoxib-induced apoptosis [J]. *Biochem Pharmacol* ,2011 , 81( 1) : 32 - 42.
- [11] Falchetti M , Saieva C , Lupi R , et al. Gastric cancer with high level microsatellite instability: target gene mutations clinicopathologic features and long term survival [J]. *Hum Pathol* ,2008 ,39( 6) : 925 - 32.

## pEGFP - N1 - IL - 17 regulates Fas/FasL pathway and affects apoptosis of laryngeal carcinoma cells

Zhang Hongjian , Song Yang , Yang Ming , et al

( Dept of Otorhinolaryngology , The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230601)

**Abstract Objective** To investigate the effect of pEGFP-N1-IL-17 on the apoptosis cells and to explain the mechanism by which pEGFP-N1-IL-17 inhibits the apoptosis of Hep-2 cells through the Fas/FasL signaling pathway.

**Methods** The recombinant plasmid vector pEGFP-N1-IL-17 carrying IL-17 gene was constructed and transfected into Hep-2 cells , normal Hep-2 cells were used as the control group , and pEGFP-N1-NC was used as negative control group. pEGFP-N1-IL-17 was used as the experimental group. qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression level of IL-17 in Hep-2 cells , and IL-17 overexpression vector was successfully constructed. The effect of pEGFP-N1-IL-17 on the apoptosis rate of Hep-2 cells was detected by flow cytometry. Western blot was used to detect the expression of Fas and FasL in Hep-2 cells transfected by pEGFP-N1-IL-17. **Results** After IL-17 overexpression vector was transfected into laryngeal carcinoma Hep-2 cells , the expression level of IL-17 was up-regulated by qRT-PCR. Annexin V-FITC /PI cell apoptosis assay results showed that the apoptosis rate of Hep-2 cells in experimental groups decreased obviously. The results of Western blot showed that the expressions of Fas , FasL , Cleaved-Caspase8 and Cleaved-Caspase3 in experimental group of Hep-2 cells were significantly decreased(  $P < 0.01$  ). **Conclusion** IL-17 may inhibit the apoptosis of Hep-2 cells through Fas/FasL signaling pathway.

**Key words** pEGFP-N1-IL-17; Fas/FasL signaling pathway; Hep-2 cell