组蛋白乳酸化调控 USP7 转录促进肺癌恶性进展及顺铂耐药的作用研究

吴海永[1]，任瑾卓[1]*，宫志鹏[2]，张　雁[1]，张　华[2]
（1. 河北省张家口市第一医院胸外科，河北张家口 075000；2. 河北省张家口市第一医院呼吸内科，河北张家口 075000）

摘要：目的 探讨组蛋白乳酸化修饰在肺癌细胞恶性生物学行为及顺铂耐药中的作用及分子机制。**方法** 采用免疫印迹法检测肺癌组织及细胞中泛赖氨酸乳酸化（Pan-Kla）和组蛋白乳酸化位点修饰水平；利用 2- 脱氧 -D- 葡萄糖（2-deoxy-D-glucose，2-DG）处理 A549 和 A549/DDP 细胞，通过 CCK-8 法、Transwell 实验、流式细胞术及免疫印迹法分析细胞增殖、迁移、凋亡及耐药性相关指标。结合转录组测序筛选 H3K18la 下游靶基因，通过染色质免疫沉淀（chromatin immunoprecipitation，ChIP）验证结合关系，并采用实时荧光定量聚合酶链反应检测泛素特异性蛋白酶（ubiquitin specific protease，USP）7 表达水平；进一步研究 USP7 对肺癌细胞生物学行为及顺铂耐药的影响。**结果** 肺癌组织及细胞中 Pan-Kla 及 H3K18la 乳酸化修饰显著升高；2-DG 处理后，A549 和 A549/DDP 细胞的 Pan-Kla 及 H3K18la 水平呈剂量依赖性降低（$P < 0.01$），同时 2-DG 组细胞增殖、迁移受到抑制，凋亡率升高，A549/DDP 细胞耐药性半抑制浓度降低（$P < 0.05$）。ChIP 证实 H3K18la 富集于 USP7 启动子区并促进其转录；肺癌中 USP7 表达上调，敲低 USP7 可抑制细胞增殖迁移，促进凋亡，并降低耐药相关蛋白表达（$P < 0.01$）。USP7 过表达可部分逆转 2-DG 的抑制作用。**结论** 肺癌中组蛋白乳酸化修饰，特别是 H3K18la，通过上调 USP7 表达，促进恶行生物学行为及顺铂耐药，参与肺癌进展。

关键词：肺癌；组蛋白乳酸化修饰；泛素特异性蛋白酶 7；恶性生物学；顺铂耐药
中图分类号：R734.2；R979.1；R363　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2025）08-0764-009
引用：吴海永, 任瑾卓, 宫志鹏, 等. 组蛋白乳酸化调控 USP7 转录促进肺癌恶性进展及顺铂耐药的作用研究[J]. 世界临床药物, 2025, 46（8）: 764-772. DOI：10.13683/j.wph.2025.08.005

Effect of histone lactation on USP7 transcription in promoting malignant progression of lung cancer and cisplatin resistance

WU Haiyong[1], REN Jinzhuo[1]*, GONG Zhipeng[2], ZHANG Yan[1], ZHANG Hua[2]
(*1. Department of Thoracic Surgery, the First Hospital of Zhangjiakou City, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China;*
2. Department of Respiratory Medicine, the First Hospital of Zhangjiakou City, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China)

Abstract: ***Objective*** To explore the role of histone lactate modification in malignant biological behavior and cisplatin resistance of lung cancer cells and its potential molecular mechanism. ***Methods*** The modification levels of panlysine lactation (Pan-Kla) and histone lactation sites in lung cancer tissues and cells were detected by western blot. A549 and A549/DDP cells were treated with 2-deoxy-D-glucose (2-DG). Cell proliferation, migration, apoptosis and drug-resistant related indicators were analyzed by CCK-8 assay, Transwell assay, flow cytometry and western blot. By using the transcriptome sequencing to screen downstream target genes of *H3K18la*. The binding relationship was verified by chromatin immunoprecipitation (ChIP), and the expression level of USP7 was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. Further study were conducted to investigate the effect of USP7 on the biological behavior of lung cancer cells and cisplatin resistance. ***Results*** The lactation modifications of Pan-Kla and H3K18la in lung cancer tissues and cells were significantly increased. After treatment with 2-DG, the levels of Pan-Kla and H3K18la in A549 and A549/DDP cells

收稿日期：2025-02-21
基金课题：张家口市重点研发计划项目卫生健康和生物医疗专项（2322126D）
作者简介：吴海永，副主任医师，研究方向：肺癌的诊疗。
通信作者：任瑾卓，副主任医师，研究方向：肺癌的诊疗。

decreased in a dose-dependent manner ($P<0.01$). Cell proliferation and migration in the 2-DG group were inhibited, the apoptosis rate increased, and the IC_{50} of drug resistance in A549/DDP cells decreased ($P<0.05$). ChIP confirmed that H3K18la was enriched in the USP7 promoter region and promoted its transcription. The expression of USP7 was upregulated in lung cancer. Knocking down USP7 can inhibit cell proliferation and migration, promote apoptosis, and reduce the expression of drug resistance-related proteins ($P<0.01$). Overexpression of USP7 can partially reverse the inhibitory effect of 2-DG. ***Conclusion*** In lung cancer, histone lactated modification (particularly H3K18la) can promote malignant biological behaviors and cisplatin resistance by upregulating the expression of USP7, and is involved in the progression of lung cancer.

Key words: lung cancer; histone lactate modification; ubiquitin specific protease 7; malignant biology; resistance to cisplatin

目前化疗仍是肺癌临床治疗的主要手段，但多药耐药问题严重制约其疗效[1]。研究肺癌化疗耐药机制、提高化疗敏感性成为临床关注重点。近年研究[2]表明，组蛋白修饰失调会通过改变转录激活/抑制平衡改变参与疾病发生、发展，是重要的功能标记。乳酸化修饰作为最新发现的由乳酸介导的组蛋白翻译后修饰，在胚胎发育、细胞代谢、基因调控及肿瘤发生中具有重要作用[3—5]，且有研究[6—7]证实其参与肿瘤耐药调控。泛素特异性蛋白酶(ubiquitin specific protease，USP)7作为去泛素化关键分子，已被证实参与肺癌发生、发展[8—9]，但其在耐药中的作用及与组蛋白乳酸化的关联尚不明确。本研究拟探讨组蛋白乳酸化修饰及USP7在肺癌进展及耐药中的作用机制，以期为肺癌治疗新靶点开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

从中国科学院上海细胞库购得人正常肺上皮细胞系BEAS-2B(IM-H128)及肺癌细胞系H1975(IM-H119)、PC-9(IM-H125)、NCI-H226(IM-H120)、A549(IM-H113)及其顺铂耐药株A549/DDP(IMD-008)。所有细胞均采用含10%胎牛血清、100 μg/mL青霉素链霉素的杜尔贝科改良eagle培养基(Dulbecco's modified eagle medium，DMEM)培养基，于37 ℃、5%二氧化碳条件下培养，待细胞密度达85%左右时进行后续试验。另收集本院病理科20例肺癌手术标本(含癌组织及邻近癌旁正常组织)，均经病理确诊且术前未接受抗肿瘤治疗。

1.2 主要试剂和仪器

胎牛血清(C0226S，以色列BI)和DMEM培养基(C0891，美国Gibco)用于细胞培养；AnnexinV-荧光素异硫氰酸酯(fluorescein isothiocyanate，FITC)凋亡检测试剂盒(C1062S)、放射免疫沉淀法裂解液(P0013B)，二喹啉甲酸(bicinchoninic acid assay，BCA)蛋白定量试剂盒(P0010)、SDS-PAGE：十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis，SDS-PAGE)凝胶配制试剂盒(P0012AC)购自上海碧云天生物技术有限公司；增强化学发光试剂盒(P0018S，中国Vazyme)；USP7(ab4080)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH)(MA5-35235)、Pan-Kla(PTM-1401RM)、H3K18la(PTM-1406RM)、MRP1(PA5-30594)、P-gp(MA1-26528)抗体均购自英国Abcam；山羊抗兔免疫球蛋白G(immunoglobulin g，IgG)(MA5-42729)购自北京Lablead；细胞计数试剂盒(cell counting kit，CCK)-8试剂盒(C0037)由武汉伊莱瑞特提供。实验仪器包括美国Bio-Rad的蛋白电泳装置(mini-PROTEAN Tetra型)和化学发光成像仪(ChemiDoc XRS)，全波长酶标仪(EPoch型，美国BioTek)，流式细胞仪(FACS Calibur，美国BD)，

超净工作台（SW-CJ-1FD 型，苏州安泰）。

1.3 方法

1.3.1 细胞转染及分组

将待测细胞以 1×10^5 个 / 孔的密度接种于 6 孔培养板中，置于含 10% 胎牛血清的培养基中培养 24 h 至汇合度达 70% ～ 80%。随后，将用于细胞预处理的质粒或试剂加入无血清培养基中，混匀，室温静置 5 min；37 ℃、5% 二氧化碳培养 24 h，收集细胞用于后续试验。A549 及 A549/DDP 细胞分组如下。对照组：不做任何处理；2- 脱氧 -D- 葡萄糖（2-deoxy-D-glucose，2-DG）组：分别以 0、1、5、10、15 以及 20 mmol/L 的 2-DG 处理细胞 [10]；si- 正常对照（narmal control，NC）组：转染 USP7 干扰对照质粒；si-USP7 组：转染 USP7 siRNA 小干扰质粒；OE-USP7 组：转染 USP7 过表达质粒；2-DG ＋ OE-USP7 组：先以 2-DG 处理，再转染 USP7 过表达质粒。

1.3.2 免疫印迹法检测

提取各组细胞总蛋白，利用 BCA 蛋白定量试剂盒进行浓度测定。随后以 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并转膜；经 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h 后，加入稀释比例（1 ∶ 1 000）的一抗，4 ℃孵育过夜；次日以 TBST 缓冲液洗涤 3 次，加入相应二抗，37 ℃孵育 2 h；最后通过化学发光法显影，采用 Image J 软件定量分析 USP7、GAPDH、Pan-Kla 和 H3K18la、MRP1 及 P-gp 等蛋白条带灰度值。

1.3.3 CCK-8 法测定细胞增殖活性及半数抑制浓度（50% inhibitory concentration，IC_{50}）

细胞增殖测定：将 A549 细胞经胰蛋白酶消化后制成单细胞悬液，以 1×10^3 个 / 孔接种于 96 孔板中，待细胞贴壁完全后，每孔加入 10 μL CCK-8 工作液，于 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中孵育 2 h。采用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度（optical density，OD）值，通过绘制 OD 值 - 时间曲线表征细胞增殖趋势。

IC_{50} 测定：将 A549/DDP 细胞以 1×10^3 个 / 孔接种于 96 孔板，培养 4 h 后分别加入经二甲亚砜梯度稀释的顺铂溶液（0、2、4、8、16、32 μg/mL）[11]，每组设 3 个复孔。继续培养 48 h 后，每孔加入 10 μL CCK-8 工作液，孵育 4 h 后测定 450 nm 处 OD 值。绘制浓度 - 抑制率曲线，计算顺铂对细胞的 IC_{50}。

1.3.4 Transwell 细胞迁移实验

将转染后的 A549 细胞以适当密度接种于 Transwell 小室（上室含 200 μL 无血清培养基），下室加入含 10% 胎牛血清的培养基。培养 24 h 后，弃去上室细胞，用 4% 多聚甲醛固定下室迁移细胞，0.1% 结晶紫染色。随机选取 5 个视野显像成像，Image J 软件定量迁移细胞数。

1.3.5 流式细胞术测定细胞凋亡

收集各组 A549 细胞，预冷磷酸盐缓冲液冲洗 2 次，离心（1 360×*g*）5 min，弃上清。加入 195 μL Annexin V-FITC 结合液重悬细胞，依次加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL 碘化丙啶染色液，轻柔混匀后室温避光孵育 15 min。用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.3.6 信使（messenger，m）RNA 测序（RNA sequencing，RNA-Seq）

取对数生长期细胞接种于 6 个细胞培养皿，另设 3 个培养皿加入 2-DG 处理 24 h 作为实验组。弃去培养上清，用磷酸盐缓冲液冲洗细胞 2 次，加入 Trizol 试剂提取总 RNA。由北京博奥晶典生物技术有限公司完成逆转录、互补 DNA 文库构建及转录组测序。

1.3.7 染色质免疫沉淀（chromatin immunoprecipitation，ChIP）检测

将对数生长期细胞置于含 1% 甲醛的培养基中，37 ℃交联 10 min 后加入甘氨酸终止反应。收集细胞后裂解，采用超声法将染色质碎片化到 200 ～ 1 000 bp 范围。清除上清后加入特异性抗体与目标蛋白结合，4 ℃孵育过夜。使用蛋白 A/G 磁

珠捕获复合物，经洗涤、脱交联及蛋白酶 K 处理后，纯化 DNA 进行定量聚合酶链反应（quantitative polymerase chain reaction，qPCR）分析，验证蛋白质 -DNA 结合位点。

1.3.8 实时（realtime，RT）-qPCR 检测 USP7 mRNA 水平

用 Trizol 法提取各组细胞总 RNA，逆转录为互补 DNA 后配制 PCR 反应体系。PCR 程序设置为：95 ℃ 20 s，60 ℃ 30 s，72 ℃ 15 s，共 40 个循环。引物由上海生工生物工程股份有限公司设计合成，USP7 上游引物：5'-CGGCTTCCGATTGTTACATGT-3'，下游引物：5'-AGGGACTGGAGTAGTCAGTTC-3'。内参基因 GAPDH 上游引物：5'-GCGTGACTAGTCAAGGAT-3'，下游引物：5'-GACCGTACTTACTCGATAA-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS21.0 软件进行数据分析。实验数据以（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间比较采用独立样本 t 检验，肺癌组织及邻近癌旁正常组织差异分析采用配对 t 检验，检验水准 $\alpha = 0.05$，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较应用 Bonferroni 校正法进行多重比较，检验水准 $\alpha = 0.01$，以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

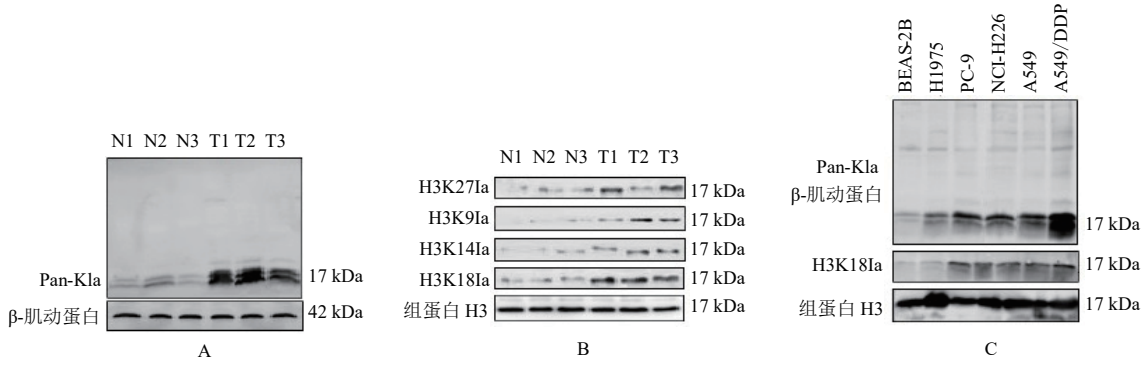
2 结果

2.1 肺癌中组蛋白乳酸化修饰水平检测

采用免疫印迹法检测肺癌组织及邻近癌旁正常组织中的 Pan-Kla 水平，结果显示肺癌组织中 Pan-Kla 表达显著高于癌旁正常组织，优势带相对分子质量约 17 kDa，提示为组蛋白 H3（图 1A）。进一步检测组蛋白 H3 乳酸化位点发现，H3K18la 在肺癌组织中表达最为显著（图 1B）。在细胞水平检测显示，与 BEAS-2B 细胞相比，肺癌细胞系中 Pan-Kla 和 H3K18la 水平均显著升高，且在耐药细胞 A549/DDP 中升高更为明显（图 1C），因此后续研究选择 H3K18la 作为关键指标。

2.2 组蛋白乳酸化对肺癌细胞生物学行为及顺铂耐药的作用

采用糖酵解抑制剂 2-DG 处理 A549 和 A549/DDP 细胞以调控组蛋白乳酸化水平。结果显示，随着 2-DG 处理浓度升高，两种细胞中 Pan-Kla（表 1）

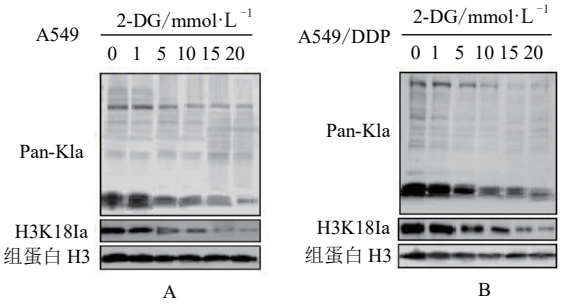


A：肺癌组织（T1 ～ T3）、癌旁正常组织（N1 ～ N3）中 Pan-Kla 水平；B：肺癌组织（T1 ～ T3）、癌旁正常组织（N1 ～ N3）中乳酸化位点水平；C：肺癌细胞中 Pan-Kla 及乳酸化位点 H3K18la 水平。

A: Pan-Kla in lung cancer tissues（T1—T3）and adjacent normal tissues（N1—N3）; B: lactation sites in lung cancer tissues（T1—T3）and adjacent normal tissues（N1—N3）; C: Pan-Kla and lactating site H3K18la in lung cancer cells.

图 1 免疫印迹法检测肺癌组织、癌旁正常组织及肺癌细胞中 Pan-Kla 及乳酸化位点水平

Figure 1 Western blot was used to detect the levels of Pan-Kla and lactation sites in lung cancer tissues, adjacent normal tissues and lung cancer cells



A B

A：A549 细胞中 Pan-Kla 及乳酸化位点 H3K18la 水平；
B：A549/DDP 细胞中 Pan-Kla 及乳酸化位点 H3K18la 水平。
A: The levels of Pan-Kla and H3K18la at the lactation site in A549 cells; B: The levels of Pan-Kla and H3K18la at the lactation site in A549/DDP cells.

图 2 2-DG 处理对肺癌细胞中乳酸水平及组蛋白乳酸化的作用

Figure 2 Effects of 2-DG treatment on lactate level and histone lactation in lung cancer cells

表 2 抑制组蛋白乳酸化对肺癌细胞生物学行为及顺铂敏感性的影响

Table 2 Effects of histone lactylation inhibition on biological behaviors and cisplatin sensitivity in lung cancer cells

项目	对照组	2-DG 组	*t* 值	*P* 值
OD值	1.35±0.19	0.72±0.11	4.970	0.008
细胞迁移率/%	41.23±3.71	26.58±2.15	5.918	0.004
细胞凋亡率/%	4.31±1.25	15.26±2.04	7.927	0.001
顺铂IC_{50}/μg·mL^{-1}	11.84±1.65	7.65±1.92	2.928	0.043

及 H3K18la 水平（图 2）均呈剂量依赖性下降，当浓度达 5 mmol/L 时抑制效果显著（后续实验采用此浓度），证实 2-DG 可有效抑制组蛋白乳酸化修饰。细胞功能试验表明，与对照组相比，2-DG 处理组 A549 细胞的增殖及迁移力显著抑制，凋亡率显著升高（$P < 0.05$，表 2）。进一步探究组蛋白乳酸化在耐药中的作用发现，A549/DDP 细胞对顺铂的 IC_{50} 为 11.84 μg/mL，经 2-DG 处理后降至 7.65 μg/mL（$P < 0.05$，表 2），表明抑制组蛋白乳酸化能逆转肺癌顺铂耐药，增强化疗敏感性。

2.3 H3K18la 乳酸化对肺癌细胞中 USP7 转录的调控

通过 RNA-Seq 转录组测序分析发现，2-DG 处理组共有 90 个基因表达发生显著改变（图 3A）。基于基因表达差异倍数排序，筛选前 10 位显著下调基因进行 qRT-PCR 验证，结果显示，USP7 mRNA 水平在 2-DG 处理后下降最为显著（图 3B），提示 USP7 可能是组蛋白乳酸化修饰的关键下游靶基因。进一步通过 ChIP 试验结合 PCR 分析证实，USP7 启动子区 H3K18la 富集水平（3.53±0.32）显著高于 IgG 对照组（1.01±0.02），差异具有统计学意义（$t = 13.613$，$P < 0.01$）。

2.4 敲低 USP7 对肺癌细胞生物学行为及顺铂耐药的作用

通过免疫印迹法检测发现，肺癌组织中 USP7 蛋白表达水平（1.61±0.04）显著高于癌旁正常组织（0.95±0.04，图 4A，$t = 52.178$，$P < 0.05$）。qRT-PCR 结果显示，与 BEAS-2B（1.02±0.03）相比，肺癌细胞 A549（1.86±0.05）和 A549/DDP（2.15±0.07）中 USP7 mRNA 表达显著升高（$t = 24.952/25.700$，$P < 0.05$），提示 USP7 在肺癌中呈高表达特征。为进一步探究其功能，研究采用 siRNA 介导的基因沉默技术下调 USP7 表达，发现 si-USP7 组 A549 和

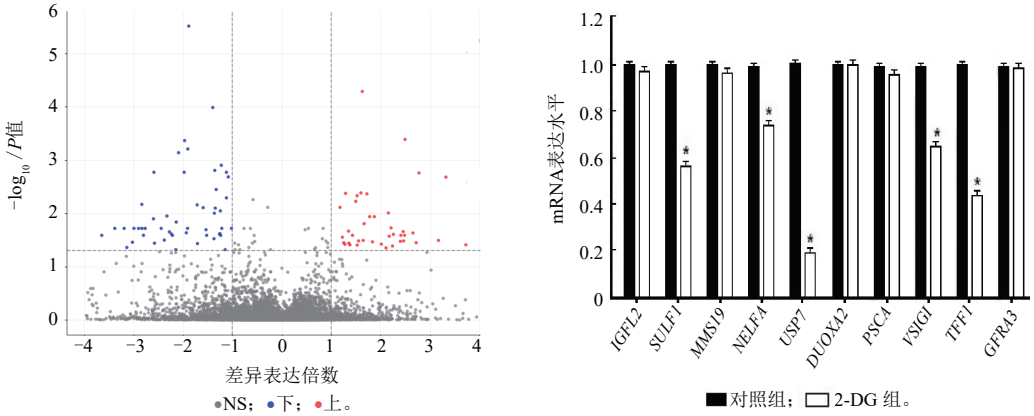
表 1 不同浓度 2-DG 处理对 A549 和 A549/DDP 细胞中 Pan-Kla 含量的影响

Table 1 Effects of 2-DG treatment on Pan-Kla content in A549 and A549/DDP cells

细胞	*c* / mMol·L^{-1}						*F* 值	*P* 值
	0	1	5	10	15	20		
A549	1.00±0.01	0.89±0.09	0.54±0.06*	0.35±0.04*	0.26±0.03*	0.17±0.03*	138.636	<0.001
A549/DDP	1.01±0.02	0.94±0.10	0.63±0.07*	0.41±0.03*	0.30±0.02*	0.22±0.02*	117.265	<0.001

注：与 0 mmol/L 时相比，*$P < 0.01$。

Note: vs. the 0 mmol/L, *$P < 0.01$.



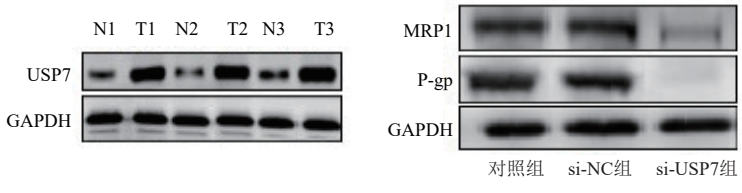
A　　B

A：RNA-Seq 分析 2-DG 处理后 A549 细胞差异基因表达火山图；B：qRT-PCR 检测 2-DG 处理前后前 10 位差异基因 mRNA 相对表达量。

A: volcano map of differential gene expression in A549 cells after 2-DG treatment was analyzed by RNA-Seq; B: qRT-PCR was used to detect the mRNA relative expression levels of the top 10 differential genes before and after 2-DG treatment.

图 3　RNA-Seq 转录组测序分析 H3K18la 下游靶点

Figure 3　Downstream targets of H3K18la were analyzed by RNA-Seq transcriptome sequencing



A　　B

A：免疫印迹法检测肺癌组织（T1 ～ T3）和癌旁正常组织（N1 ～ N3）中 USP7 蛋白表达；

B：免疫印迹法检测各组细胞中耐药相关蛋白表达。

A: Western blot analysis of USP7 protein expression in lung cancer tissues（T1—T3）and adjacent normal tissues（N1—N3）;

B: Western blot detection of drug-resistance-related protein expression in cells of each group.

图 4　肺癌组织中 USP7 表达及对耐药相关蛋白的影响

Figure 4　Expression of USP7 in lung cancer and its effect on drug-resistance related proteins

表 3　USP7 敲低对肺癌细胞生物学行为及耐药相关蛋白的影响

Table 3　Effects of USP7 knockdown on biological behaviors and drug-resistance related proteins of lung cancer cells

检测指标		对照组	si-NC 组	si-USP7 组	*F* 值	*P* 值
USP7 mRNA	A549	1.01±0.02	1.04±0.03	0.27±0.04*	590.379	＜0.001
	A549/DDP	1.02±0.02	0.98±0.02	0.45±0.05*	276.091	＜0.001
OD值		1.35±0.19	1.32±0.18	0.86±0.12*	8.189	0.001
细胞迁移率/%		41.23±3.71	40.87±3.65	29.45±2.27*	12.530	0.007
细胞凋亡率/%		4.31±1.25	4.36±1.22	13.26±1.86*	36.706	＜0.001
IC_{50}		11.84±1.65	11.27±1.61	6.98±1.55*	8.231	0.019
MRP1 蛋白		0.98±0.03	1.01±0.05	0.35±0.03*	290.721	＜0.001
P-gp 蛋白		1.01±0.02	0.98±0.04	0.14±0.03*	756.931	＜0.001

注：与对照组相比，*P＜0.01。

Note: vs. control group, *P＜0.01.

A549/DDP 细胞中 USP7 mRNA 水平较对照组显著降低（$P < 0.01$），而 si-NC 组与对照组无统计学差异（$P > 0.05$，表 3）。功能试验表明，USP7 敲低可显著抑制 A549 细胞的增殖及迁移能力，并促进细胞凋亡（$P < 0.01$，表 3）。在耐药性研究中，si-USP7 处理使 A549/DDP 细胞对顺铂的 IC_{50} 值显著降低（$P < 0.01$，表 3），同时免疫印迹法检测显示耐药相关蛋白 MRP1 和 P-gp 的表达水平明显受抑（图 4B 和表 3，$P < 0.01$）。

2.5 组蛋白乳酸化调控 USP7 对肺癌进展及顺铂耐药的影响

qRT-PCR 检测结果显示，2-DG 处理显著抑制 A549 和 A549/DDP 细胞中 USP7 mRNA 表达水平（表 4）。通过 OE-USP7 进行功能试验证实，2-DG 诱导的 USP7 表达下调部分逆转。细胞功能试验表明，USP7 过表达显著促进 A549 细胞的增殖和迁移能力，同时抑制细胞凋亡；在 A549/DDP 细胞中，USP7 过表达可上调顺铂耐药 IC_{50}，并显著增强耐药相关蛋白 MRP1 和 P-gp 的表达水平（$P < 0.01$，表 4 和图 5）。

3 讨论

临床实践中，以顺铂为基础的化疗方案虽是不可手术肿瘤患者的重要治疗手段，但晚期肺癌患者因多药耐药导致的远期生存率改善有限，亟需阐明耐药分子机制并探索新的治疗靶点。

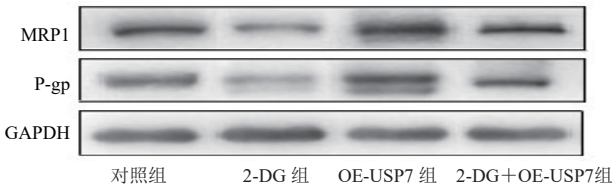


图 5 组蛋白乳酸化调控 USP7 对肺癌细胞耐药相关蛋白的影响

Figure 5 Effect of histone lactation regulating USP7 on drug resistance related proteins in lung cancer cells

研究[12—13]证实，表观遗传学修饰尤其是组蛋白翻译后修饰通过调控基因转录、表达及细胞稳态在肿瘤进展中发挥关键作用。其中，2019 年赵英明团队鉴定的组蛋白乳酸化修饰（由代谢产物乳酸介导的赖氨酸残基修饰[14—15]），因同时关联细胞代谢重编程与基因表达调控而成为肿瘤研究热点[16]。质谱与碳 13 同位素追踪试验[16]证实，内 / 外源性乳酸均可作为前体物质诱导该修饰，而糖酵解衍生的乳酸通过组蛋白乳酸化调控下游基因的转录及表达，进一步提示其在疾病发生及耐药中的潜在作用[6—7,17]。这为解析肺癌顺铂耐药机制提供新的研究切入点。

表 4 组蛋白乳酸化调控 USP7 对肺癌细胞生物学行为及耐药相关蛋白的影响

Table 4 Effects of histone lactation regulating USP7 on biological behaviors and drug-resistance related proteins of lung cancer cells

项目		对照组	2-DG 组	OE-USP7 组	2-DG+OE-USP7 组	*F* 值	*P* 值
USP7 mRNA	A549	1.01±0.02	0.48±0.05*	1.71±0.20*	1.13±0.12#	53.353	<0.001
	A549/DDP	1.02±0.02	0.52±0.05*	1.85±0.22*	1.21±0.14#	51.193	<0.001
OD值		1.35±0.19	0.72±0.11*	2.44±0.25*	1.26±0.15#	46.813	<0.001
细胞迁移率/%		41.23±3.71	26.58±2.14*	55.06±4.13*	38.57±2.51#	39.322	<0.001
细胞凋亡率/%		4.31±1.25	15.26±2.04*	1.14±0.10*	10.39±1.67#	55.799	<0.001
IC_{50}		11.84±1.65	7.16±1.92*	15.24±1.87*	10.51±1.53#	10.951	0.003
MRP1蛋白		0.98±0.03	0.39±0.03*	1.55±0.16*	1.08±0.09#	76.777	<0.001
P-gp蛋白		1.01±0.02	0.45±0.04*	1.64±0.15*	1.17±0.12#	74.332	<0.001

注：与对照组相比，*$P < 0.01$；与 2-DG 组相比，#$P < 0.01$。

Note: vs. control group, *$P < 0.01$; vs. 2-DG group, #$P < 0.01$.

乳酸介导的组蛋白赖氨酸修饰可诱导巨噬细胞向 M2 型极化，从而抑制抗肿瘤免疫反应[18]。在不同恶性肿瘤中开展的研究[19—21]显示，黑色素瘤中 H3K18Ia 修饰通过上调 YTHDF2 表达促进肿瘤增殖迁移，肝癌组织中 H3K9Ia 和 H3K56Ia 水平降低与预后良好相关，并能抑制肿瘤进展，而结肠癌中 H3K18Ia 修饰通过激活 Janus 激酶 1/ 信号转导及转录激活蛋白 3 通路促进肿瘤转移和免疫逃逸。这些发现在乳腺癌[22]、头颈肿瘤[23]中同样得到印证，证实组蛋白乳酸化通过调控关键基因或蛋白的表达广泛参与肿瘤的发生、发展。本研究结果显示，肺癌组织及耐药细胞中 H3K18la 修饰水平显著升高，经糖酵解抑制剂 2-DG 处理后，组蛋白乳酸化水平降低伴随细胞增殖、迁移能力下降（A549/DDP 细胞 IC_{50} 降低）、凋亡率上升，提示组蛋白乳酸化修饰与肺癌恶性生物行为及顺铂耐药存在直接关联，或能为提高化疗敏感性提供新的干预靶点。

为阐明组蛋白乳酸化在肺癌中的调控机制，本研究通过 RNA-Seq 和 ChIP-qPCR 证实，H3K18Ia 可直接结合并激活 USP7 转录。在已知的 5 类去泛素化酶中，USP 亚型因其独特的双保守片段结构在泛素识别和催化活性中展现出多样性，并通过调控 DNA 修复、染色质重塑和细胞周期参与肿瘤发生[24]。如 USP2 通过稳定 ARID2 抑制肺癌发生[25—26]；USP33 通过 DUSP1 磷酸化抵抗前列腺癌细胞凋亡[27]；USP39 则通过 p53/p21/CDC2/cyclin B1 轴促进结肠癌增殖[28]。本研究也证实，USP7 作为该家族关键成员在非小细胞肺癌中显著高表达[8]，其敲低可抑制肿瘤细胞增殖、迁移，促进细胞凋亡并下调耐药蛋白 MRP1、P-gp 表达，而 2-DG 处理降低 USP7 表达后，过表达 USP7 可部分逆转 2-DG 对细胞恶行表型及顺铂耐药的抑制作用。结果证实 USP7 的促肿瘤功能，也揭示组蛋白乳酸化通过 USP7 转录调控促进肺癌进展及顺铂耐药的机制。目前对乳酸化修饰的研究仍有限，后续需深入探索该修饰网络的分子机制以推动临床转化。

参考文献：

[1] WU F, WANG L, ZHOU C. Lung cancer in China: current and prospect[J]. Curr Opin Oncol, 2021, 33(1): 40-46.

[2] ZAIB S, RANA N, KHAN I. Histone modifications and their role in epigenetics of cancer[J]. Curr Med Chem, 2022, 29(14): 2399-2411.

[3] ZHANG Y, SUN Z, JIA J, *et al*. Overview of histone modification[J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1283: 1-16.

[4] LÜ X, LÜ Y, DAI X. Lactate, histone lactylation and cancer hallmarks[J]. Expert Rev Mol Med, 2023, 25: e7.

[5] MILLÁN-ZAMBRANO G, BURTON A, BANNISTER AJ, *et al*. Histone post-translational modifications - cause and consequence of genome function[J]. Nat Rev Genet, 2022, 23(9): 563-580.

[6] 张其程, 曹丽敏, 徐克. 乳酸化修饰在癌症中的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2024, 27(6): 471-479.

[7] LI W, ZHOU C, YU L, *et al*. Tumor-derived lactate promotes resistance to bevacizumab treatment by facilitating autophagy enhancer protein RUBCNL expression through histone H3 lysine 18 lactylation (H3K18la) in colorectal cancer[J]. Autophagy, 2024, 20(1): 114-130.

[8] DAI X, LU L, DENG S, *et al*. USP7 targeting modulates anti-tumor immune response by reprogramming tumor-associated macrophages in Lung Cancer[J]. Theranostics, 2020, 10(20): 9332-9347.

[9] SAHA G, ROY S, BASU M, *et al*. USP7 - a crucial regulator of cancer hallmarks[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2023, 1878(3): 188903.

[10] HOGG SJ, BEAVIS PA, DAWSON MA, *et al*. Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity[J]. Nat Rev Drug Discov, 2020, 19(11): 776-800.

[11] WEI S, ZHANG J, ZHAO R, *et al*. Histone lactylation promotes malignant progression by facilitating USP39 expression to target PI3K/AKT/HIF-1α signal pathway in endometrial carcinoma[J]. Cell Death Discov, 2024, 10(1): 121.

[12] 戴冠群. miR-133a-3p 通过靶向 RFC3 增强顺铂对非小细胞肺癌的化学敏感性[D]. 南京: 南京医科大学, 2021.

[13] ORSOLIC I, CARRIER A, ESTELLER M. Genetic and

epigenetic defects of the RNA modification machinery in cancer[J]. Trends Genet, 2023, 39(1): 74-88.

[14] FAN H, YANG F, XIAO Z, *et al*. Lactylation: novel epigenetic regulatory and therapeutic opportunities[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2023, 324(4): E330-E338.

[15] 章婷婷, 赵调红, 陈圆圆, 等. 组蛋白乳酸化修饰在恶性肿瘤中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2024, (6): 32.

[16] ZHANG D, TANG Z, HUANG H, *et al*. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation[J]. Nature, 2019 , 574(7779): 575-580.

[17] 匡贤栋, 蔡馨, 汤冬玲, 等. 组蛋白乳酸化与疾病关系研究进展[J]. 检验医学, 2024, 39(7): 704-708.

[18] CHEN L, HUANG L, GU Y, *et al*. Lactate-lactylation hands between metabolic reprogramming and immunosuppression[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 11943.

[19] YU J, CHAI P, XIE M, *et al*. Histone lactylation drives oncogenesis by facilitating m^6A reader protein YTHDF2 expression in ocular melanoma[J]. Genome Biol, 2021, 22(1): 85.

[20] PAN L, FENG F, WU J, *et al*. Demethylzeylasteral targets lac-tate by inhibiting histone lactylation to suppress the tumorige-nicity of liver cancer stem cells[J]. Pharmacol Res, 2022, 181: 106270.

[21] XIONG J, HE J, ZHU J, *et al*. Lactylation-driven METTL3-mediated RNA m^6A modification promotes immunosuppression of tumor-infiltrating myeloid cells[J]. Mol Cell, 2022, 82(9): 1660-1677.

[22] 姚宁宁, 蒋丽, 张小霞, 等. 组蛋白乳酸化修饰及其在乳腺癌中的研究进展[J]. 中华乳腺病杂志电子版, 2024, 18(4): 231-234.

[23] 王睿捷, 马海龙, 张志愿. 组蛋白乳酸化修饰在头颈肿瘤中的表达及意义[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2024, 22(3): 228-232.

[24] GAO H, YIN J, JI C, *et al*. Targeting ubiquitin specific proteases (USPs) in cancer immunotherapy: from basic research to preclinical application[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 225.

[25] ZHU L, CHEN Z, GUO T, *et al*. USP2 inhibits lung cancer pathogenesis by reducing ARID2 protein degradation via ubiquitination[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 1525216.

[26] KUANG Z, LIU X, ZHANG N, *et al*. USP2 promotes tumor immune evasion via deubiquitination and stabilization of PD-L1[J]. Cell Death Differ, 2023, 30(10): 2249-2264.

[27] GUO F, ZHANG C, WANG F, *et al*. Deubiquitinating enzyme USP33 restrains docetaxel-induced apoptosis via stabilising the phosphatase DUSP1 in prostate cancer[J]. Cell Death Differ, 2020, 27(6): 1938-1951.

[28] YUAN J, LI X, ZHANG G, *et al*. USP39 mediates p21-dependent proliferation and neoplasia of colon cancer cells by regulating the p53/p21/CDC2/cyclin B1 axis[J]. Mol Carcinog, 2021, 60(4): 265-278.

（编辑：沈佳婕）