

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging ResearchMGMTsiRNA 联合替莫唑胺提高耐药黑色素瘤
细胞抗肿瘤疗效的研究Study on MGMTsiRNA combined with temozolomide enhances antitumor efficacy
in drug-resistant melanoma cells申超南¹, 李娜¹, 蒋韬璇¹,
杨春生²(1. 徐州医科大学 医学系, 江苏 徐州 221004;
2. 徐州医科大学 附属淮安医院 皮肤科, 江苏 淮
安 223002)SHEN Chao-nan¹, LI Na¹,
JIANG Tao-xuan¹,
YANG Chun-sheng²(1. Department of Medicine, Xuzhou
Medical University, Xuzhou 221004,
Jiangsu Province, China; 2. Department
of Dermatology, the Affiliated Huai'an
Hospital of Xuzhou Medical University,
Huai'an 223002, Jiangsu Province,
China)基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(81803151)作者简介: 申超南 (1999-), 女, 硕士研究生,
主要从事皮肤肿瘤方面的相关研究通信作者: 杨春生, 副主任医师, 硕士生导师
MP: 18752409168
E-mail: 8yung@sina.com**摘要:**目的 探究 O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (MGMT) 干扰联合替莫唑胺 (TMZ) 提高替莫唑胺对人耐药黑色素瘤细胞 A375/TMZ 的治疗作用。方法将 A375/TMZ 细胞随机分为对照组 (正常培养)、MGMTsiRNA 组 (200 nmol · L⁻¹ MGMTsiRNA)、实验组 (1 600 μmol · L⁻¹ TMZ) 和联合组 (转染 MGMTsiRNA 后加 1 600 μmol · L⁻¹ TMZ)。培养 24 h 后, 用细胞计数试剂盒-8 法分析细胞的增殖情况, 用蛋白印迹法检测细胞中多聚 ADP 核糖聚合酶 (PARP)、裂解的 PARP (cleaved-PARP)、DNA 依赖性蛋白激酶催化亚基 (DNA-PKcs) 和核因子 κB (NF-κB) 蛋白的表达水平, 用免疫荧光法检测细胞中 NF-κB 蛋白的表达和分布。**结果** 对照组、MGMTsiRNA 组、实验组和联合组的细胞抑制率分别为 0、(3.45 ± 1.53)%、(51.24 ± 2.73)% 和 (70.69 ± 4.48)%, PARP 蛋白相对表达水平分别为 0.45 ± 0.08、0.47 ± 0.06、0.33 ± 0.04 和 0.14 ± 0.03, cleaved-PARP 蛋白相对表达水平分别为 0.01 ± 0.02、0.01 ± 0.01、0.18 ± 0.03 和 0.36 ± 0.04, DNA-PKcs 蛋白相对表达水平分别为 0.09 ± 0.03、0.07 ± 0.02、0.32 ± 0.02 和 0.39 ± 0.04, NF-κB 蛋白相对表达水平分别是 0.35 ± 0.04、0.36 ± 0.05、0.20 ± 0.02 和 0.15 ± 0.02。联合组的上述指标与实验组或对照组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。免疫荧光分析显示, 对照组、MGMTsiRNA 组、实验组和联合组的 NF-κB 平均荧光强度分别为 (5.26 ± 1.05)%、(7.58 ± 1.18)%、(10.56 ± 1.99)% 和 (15.47 ± 2.61)%, 联合组与对照组和 MGMTsiRNA 组的细胞相比, NF-κB 在肿瘤细胞核内明显增多, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$)。**结论** MGMTsiRNA 联合 TMZ 可以进一步促进 TMZ 对耐药黑色素瘤 A375/TMZ 细胞的增殖抑制和凋亡。**关键词:** 替莫唑胺; O6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶; 化疗耐药; 恶性黑色素瘤; 细胞凋亡

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.01.012

中图分类号: R979.1 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)01-0055-05

Abstract: Objective To investigate whether O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) interference combined with temozolomide (TMZ) could enhance the therapeutic effect of temozolomide on human drug-resistant melanoma cells A375/TMZ.**Methods** A375/TMZ cells were randomly divided into 4 groups, control group (normal culture), MGMTsiRNA group (200 nmol · L⁻¹ MGMTsiRNA), experimental group (1 600 μmol · L⁻¹ TMZ) and combined group (transfection of MGMTsiRNA followed by addition of 1 600 μmol · L⁻¹ TMZ). After 24 h of culture, the proliferation of cells in each group was analyzed by cell counting kit-8 method. Western

blotting was used to detect the expression levels of poly ADP - ribose polymerase (PARP), cleaved PARP (cleaved - PARP), DNA - dependent protein kinase catalytic subunit (DNA - PKcs) and nuclear factor kappa - B (NF - κ B) proteins in the cells. The expression and distribution of NF - κ B proteins in the cells were detected by immunofluorescence. **Results** Cell inhibition rates of control, MGMTsiRNA, experimental and combined groups were 0, (3. 45 $\pm$ 1. 53) % , (51. 24 $\pm$ 2. 73) % and (70. 69 $\pm$ 4. 48) % ; the relative expression levels of PARP protein were 0. 45 $\pm$ 0. 08, 0. 47 $\pm$ 0. 06, 0. 33 $\pm$ 0. 04, 0. 14 $\pm$ 0. 03; the relative expression levels of the cleaved - PARP protein were 0. 01 $\pm$ 0. 02, 0. 01 $\pm$ 0. 01, 0. 18 $\pm$ 0. 03 and 0. 36 $\pm$ 0. 04; the relative expression levels of DNA - PKcs protein were 0. 09 $\pm$ 0. 03, 0. 07 $\pm$ 0. 02, 0. 32 $\pm$ 0. 02 and 0. 39 $\pm$ 0. 04; the relative expression levels of NF - κ B protein were 0. 35 $\pm$ 0. 04, 0. 36 $\pm$ 0. 05, 0. 20 $\pm$ 0. 02 and 0. 15 $\pm$ 0. 02. Compared with experimental group or control group, the differences of above indexes were all statistically significant (all $P < 0. 05$). Immunofluorescence analysis showed that the average fluorescence intensity of NF - κ B in control group, MGMTsiRNA group, experimental group and combined group were (5. 26 $\pm$ 1. 05) % , (7. 58 $\pm$ 1. 18) % , (10. 56 $\pm$ 1. 99) % and (15. 47 $\pm$ 2. 61) % ; and compared with the cells in control group and MGMTsiRNA group, combined group showed NF - κ B was significantly increased in the nucleus of tumor cells, and the difference was statistically significant (all $P < 0. 01$). **Conclusion** MGMTsiRNA combined with TMZ further promotes proliferation inhibition and apoptosis of drug - resistant melanoma A375/TMZ cells by TMZ.

Key words: temozolomide; O6 - methylguanine - DNA methyltransferase; drug - resistant; malignant melanoma; apoptosis

恶性黑色素瘤 (malignant melanoma, MM) 是一种起源于黑色素细胞的高度恶性肿瘤,近年来,其发病率和死亡率均呈快速上升趋势^[1]。目前,化疗仍是MM患者的主要治疗选择。然而,MM的治疗尚未取得重大进展,主要原因是耐药性和化疗的药物不良反应^[2]。替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 是一种新型的烷基化药,由于其能够穿透血脑屏障,生物利用度高,被许多国家推荐用于MM的一线治疗^[3]。TMZ可使DNA链甲基化,从而导致肿瘤细胞死亡。O6 - 甲基鸟嘌呤 - DNA 甲基转移酶 (O6 - methylguanine - DNA methyltransferase, MGMT) 是一种重要的DNA修复蛋白,其通过将O6 - 鸟嘌呤的甲基转移到半胱氨酸残基上 (Cys145) 来修复受损的鸟嘌呤核苷酸,从而消除TMZ产生的致命DNA损伤^[4]。本研究旨在通过RNA干扰技术使MGMT失活,并通过一系列相关检测,来评估MGMT siRNA联合TMZ对人耐药黑色素瘤A375/TMZ细胞的影响。

材料与方法

1 材料

细胞株 人黑色素瘤A375细胞系,购自中国科学院上海细胞库;人黑色素瘤替莫唑胺耐药细胞系 (A375/TMZ), 购自江苏凯基生物科技有限公司。

药品与试剂 TMZ,规格:每瓶5 g,纯度: > 98% ,

批号: T2744, 梯希爱 TCI (上海) 化成工业发展有限公司生产。细胞计数试剂盒 - 8 (cell counting kit - 8, CCK - 8), 徐州博立达生物科技有限公司生产; LipofectaminTM 2000 转染试剂, 美国 Invitrogen 公司生产; MGMTsiRNA 质粒及 FAM siRNA (绿色荧光标签空白对照), 均由上海吉玛生物科技有限公司生产; 二喹啉甲酸 (bicinchoninate, BCA) 蛋白定量试剂盒、第一链 cDNA 合成试剂盒、聚合酶链反应 (real - time fluorescence quantitative, PCR) 试剂盒、4', 6 - 二脒基 - 2 - 苯基吲哚 (4', 6 - diamidino - 2 - phenylindole, DAPI) 染色液, 均由上海碧云天生物技术公司生产; 抗核因子 κ B (nuclear factor kappa - B, NF - κ B) 抗体, 南京凯基生物科技有限公司生产; 抗DNA依赖性蛋白激酶催化亚基 (DNA - dependent protein kinase catalytic subunit, DNA - PKcs) 抗体、抗多聚ADP核糖聚合酶 (poly ADP - ribose polymerase, PARP) 抗体和抗裂解的PARP (cleaved - PARP) 抗体, 均由南京百得科技有限公司生产; 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗, 由北京安诺伦生物科技有限公司生产; SuperSignal 增强型化学发光试剂 (enhanced chemiluminescence, ECL) 化学发光试剂盒, 美国 Pierce 生物技术公司生产。

仪器 VARIOSKAN LUX 酶标仪, 美国赛默飞世尔科技公司产品; IX73 倒置荧光显微镜, 日本 Olympus 公司产品; LightCycler 480 实时荧光定量PCR系

统,瑞士 Roche 公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养

A375 和 A375/TMZ 细胞常规培养于含 10% FBS 的 DMEM 培养液中,在 37 °C,5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。

2.2 细胞分组与处置方法

将 A375/TMZ 细胞随机分为 4 组。对照组细胞不做任何处理,MGMTsiRNA 组用 200 nmol · L⁻¹ MGMTsiRNA 处理 24 h,实验组用 1 600 μmol · L⁻¹ TMZ 处理 24 h,联合组用 LipofectamineTM 2000 将 MGMTsiRNA 转染至细胞后与 1 600 μmol · L⁻¹ TMZ 共培养 24 h。

2.3 荧光显微镜检测转染效率^[6]

细胞以 6×10^5 cell · mL⁻¹ 接种到 6 孔板上。用荧光标记的阴性对照 FAM siRNA 转染 A375/TMZ 细胞,24 h 后,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤 1 次,甲醇固定 3 min, PBS 再次洗涤,干燥。用荧光显微镜分析细胞的转染效率,并分别在明场与暗场中捕获图像。

2.4 CCK-8 法检测细胞增殖情况^[7]

取各组细胞制备 A375/TMZ 细胞悬液,将约含有 1×10^4 个细胞的悬液 100 μL 加入 96 孔板内,置于 37 °C,5% CO₂ 培养箱中静置培养 12 h 以上后,加入用 DMEM 配制的 10% CCK-8 混合液,避光孵育 4 h,酶标仪测定 450 nm 下的光密度值(optical density, OD)。细胞增殖率 = (实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值)

2.5 实时荧光定量逆转录 PCR(quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR)检测 A375 和 A375/TMZ 细胞中 MGMT 的表达^[8]

用 Trizol 法从 A375 和 A375/TMZ 细胞中提取总 RNA,通过 cDNA 第一链合成试剂盒对总 RNA 进行逆转录得到 mRNA,然后按照反应数配制 qPCR 混合液,进行 RT-qPCR 反应。结果用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 MGMT mRNA 相对表达水平。

2.6 免疫荧光法检测 A375/TMZ 细胞中 NF-κB 蛋白的表达和分布^[6]

当细胞汇合度达 90% 左右时,取出培养基,然后用 PBS 洗涤细胞 3 次。4% 多聚甲醛固定细胞 20 min,0.1% Triton X-100 渗透 10 min,2% BSA 封闭 45 min,每孔加入稀释后的一抗 100 μL,4 °C 孵育过夜。用稀释后的二抗 100 μL 在 37 °C 下孵育细胞 1 h。最后清洗细胞,室温下每孔加 DAPI 50 μL 孵

育 5 min,在免疫荧光显微镜下观察细胞。

2.7 蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白的表达^[7]

将细胞在冰上裂解,在 4 °C 下以 1.5×10^4 r · min⁻¹ 离心 20 min,收集上清液,用 BCA 蛋白测定法测定蛋白质浓度。样品在 100 °C 下变性 5 min。等量的蛋白质在 12% SDS-PAGE 凝胶上样,然后转移到硝酸纤维素(nitrocellulose membrane, NC)膜上。接着,用 5% 脱脂牛奶在室温下封闭 2 h,然后用抗 NF-κB、抗 DNA-PKcs、抗 PARP 和抗 cleaved-PARP 的一抗。在 4 °C 下孵育过夜。随后,洗涤 NC 膜,并与 HRP 标记的二抗室温孵育 2 h。最后,用 SuperSignal ECL 化学发光液检测免疫反应信号。

2.8 Transwell 迁移和侵袭试验检测 A375/TMZ 细胞的迁移和侵袭能力^[9]

细胞植入上腔室,在下腔室中填充含有 10% FBS 的培养基。在 37 °C,5% CO₂ 的条件下于培养箱中培养 12 h 后,用棉签去除上腔的细胞。滤网固定在甲醇中,用结晶紫染色。用显微镜观察每个镜头的 5 个视野中对迁移到下表面的细胞进行计数。对于侵袭性检测,除了上室加入基质胶 Matrigel 涂层外其他操作同迁移实验。

3 统计学处理

用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较用 Student's *t* 检验,多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 荧光显微镜检测转染效率

在荧光显微镜下,绿色荧光素标记的 FAM siRNA 转染 A375/TMZ 细胞 24 h 后可见镜下 70% 以上细胞分布有荧光,表明转染方法可行且效率较高。

2 MGMTsiRNA 联合 TMZ 对 A375/TMZ 细胞生长的影响

对照组细胞正常培养,MGMTsiRNA 组细胞用 200 nmol · L⁻¹ MGMTsiRNA 处理,实验组细胞用 1 600 μmol · L⁻¹ TMZ 处理,联合组细胞转染 MGMTsiRNA 后用 1 600 μmol · L⁻¹ TMZ 处理。

不同浓度 TMZ (200、400、800、1 600、3 200 和 6 400 μmol · L⁻¹) 处理 A375/TMZ 细胞,不同时间 (24、48 和 72 h) 的细胞生长均有不同程度的抑制。随着 TMZ 浓度的增加,细胞抑制率增加,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),见表 1。对照组、实验组、MGMTsiRNA 组、联合组的细胞抑制率

表1 细胞计数盒8试剂检测不同时间点与不同浓度替莫唑胺(TMZ)对A375/TMZ细胞生长的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of different time points with different concentrations of temozolomide(TMZ) on the growth of A375/TMZ cells by cell counting kit-8 assay($\bar{x} \pm s$)

Concentration ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	<i>n</i>	24 h(%)	48 h(%)	72 h(%)
0	8	0	0	0
200	8	14.58 ± 2.52**	27.14 ± 2.87**	30.35 ± 2.71**
400	8	25.07 ± 2.05**	36.79 ± 4.21**	43.14 ± 3.12**
800	8	44.45 ± 3.39**	56.22 ± 2.68**	68.24 ± 4.01**
1 600	8	51.94 ± 4.23**	64.83 ± 2.02**	71.66 ± 1.87**
3 200	8	62.79 ± 2.53**	70.48 ± 1.96**	75.27 ± 5.23**
6 400	8	72.50 ± 2.05**	84.14 ± 3.06**	89.49 ± 3.98**

Compared with 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ group, ** $P < 0.01$.

表2 各组细胞中聚ADP核糖聚合酶(PARP)、裂解的PARP(cleaved-PARP)、DNA依赖性蛋白激酶催化亚基(DNA-PKcs)和核因子 κB (NF- κB)蛋白表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Expression of poly ADP-ribose polymerase(PARP), cleaved PARP(cleaved-PARP), DNA-dependent protein kinase catalytic subunit(DNA-PKcs) and nuclear factor kappa-B(NF- κB) protein in A375/TMZ cells of different groups($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	PARP	cleaved-PARP	DNA-PKcs	NF- κB
Control	8	0.45 ± 0.08	0.01 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.35 ± 0.04
MGMTsiRNA	8	0.47 ± 0.06	0.01 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.36 ± 0.05
Experimental	8	0.33 ± 0.04	0.18 ± 0.03	0.32 ± 0.02**	0.20 ± 0.02**
Combined	8	0.14 ± 0.03***	0.36 ± 0.04##	0.39 ± 0.04***	0.15 ± 0.02***

Control group: Normal culture; MGMTsiRNA group: 200 nmol $\cdot \text{L}^{-1}$ MGMTsiRNA; Experimental group: 1 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TMZ; Combined group: MGMTsiRNA + 1 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TMZ; Compared with control group, ** $P < 0.01$; Compared with experimental group, ## $P < 0.01$.

对照组,联合组的DNA-PKcs蛋白和cleaved-PARP蛋白相对表达水平均显著高于对照组或实验组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),见表2。

5 免疫荧光法检测A375/TMZ细胞中NF- κB 蛋白的表达和分布

对照组、MGMTsiRNA组、实验组和联合组的

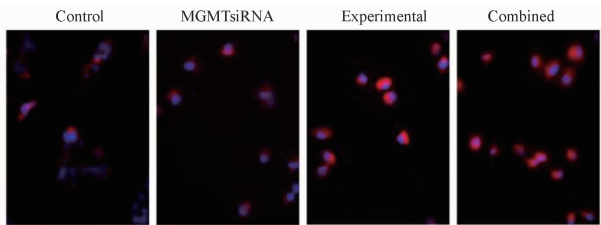


图1 核因子 κB (NF- κB)蛋白在细胞细胞核内的表达和分布($\times 200$)

Figure 1 Expression and distribution of nuclear factor kappa B(NF- κB) protein in the cell nucleus ($\times 200$)

Red fluorescence: NF- κB ; Blue fluorescence: 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI).

分别为0、(51.24 ± 2.73)%、(3.45 ± 1.53)%和(70.69 ± 4.48)%,联合组细胞生长抑制率均显著高于对照组和实验组,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

3 A375/TMZ细胞中MGMT的表达分析

A375/TMZ和A375细胞中MGMT mRNA相对表达水平分别为3.32 ± 0.25和1.04 ± 0.21,细胞间比较,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.01$)。A375/TMZ和A375细胞的MGMT蛋白相对表达水平分别为1.25 ± 0.31和0.82 ± 0.27,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.01$)。

4 A375/TMZ细胞中PARP、cleaved-PARP、DNA-PKcs和NF- κB 蛋白相对表达水平的比较

联合组的NF- κB 蛋白相对表达水平显著低于

NF- κB 平均荧光强度分别为(5.26 ± 1.05)%、(7.58 ± 1.18)%、(10.56 ± 1.99)%和(15.47 ± 2.61)%。联合组的A375/TMZ肿瘤细胞的细胞核中NF- κB 的表达最多,对照组的细胞的细胞核中NF- κB 的表达最少(图1),联合组与实验组相比,细胞核中的NF- κB 表达显著增多,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.01$)。

6 细胞迁移和侵袭试验

MGMTsiRNA组、实验组和联合组的划痕迁移率分别为(80.71 ± 2.94)%、(52.11 ± 3.52)%和(31.45 ± 2.10)%,联合组与实验组相比,细胞迁移能力显著下降,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。MGMTsiRNA组、实验组和联合组的细胞侵袭率分别为(81.53 ± 4.62)%、(50.29 ± 2.18)%和(30.86 ± 1.93)%,联合组与实验组相比,细胞侵袭能力显著下降,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

MGMT 是一种重要的 DNA 修复酶,在多种肿瘤细胞中过表达,包括结肠癌、胶质瘤、黑色素瘤等,从而限制了烷化剂在治疗这些肿瘤中的作用。因此,抑制 MGMT 在黑色素瘤细胞中的表达,将有助于克服肿瘤细胞对 TMZ 的耐药性,增强化疗药物对肿瘤细胞的杀伤作用。

本研究将 MGMTsiRNA 质粒载体转染耐药黑色素瘤细胞后,有效降低 MGMT 蛋白的表达水平。蛋白质印迹结果显示,联合组与对照组相比,PARP 和 NF- κ B 蛋白表达显著下调,而 DNA-PKcs 和 PARP 的小分子裂解形式表达显著上调。免疫荧光结果显示,联合组的肿瘤细胞核中 NF- κ B 的表达高于对照组或 MGMTsiRNA 组。同时,CCK-8 细胞增殖实验表明,联合组对细胞增殖的抑制率显著高于对照组。ERICE 等^[10]研究发现,MGMT 介导的肿瘤细胞对 TMZ 诱导的 DNA 损伤的抗性依赖于 PARP。PARP 是一种 DNA 修复酶,当细胞受到损伤或遭受致命刺激时,PARP 可被 Caspase-3 等酶水解为小分子 cleaved-PARP,从而阻碍修复过程并破坏染色质结构,最终引发细胞凋亡。LAVON 等^[11]研究发现,NF- κ B 可诱导 MGMT 蛋白的表达,参与 DNA 的修复,从而导致细胞系对烷化剂产生耐药性。NF- κ B 是一种重要的核调控因子,可通过多种途径抑制细胞凋亡。静息状态下,NF- κ B 与抑制蛋白 I κ B 结合呈无活性状态分散在细胞质中,当细胞受到外界刺激后,活化的 NF- κ B 通过核孔复合物进入细胞核。通过提取 A375/TMZ 细胞质蛋白进行蛋白质印迹,发现 MGMTsiRNA 联合 TMZ 处理组的 NF- κ B 表达较单独 TMZ 处理的实验组进一步降低,减弱了其抑制凋亡的作用。而免疫荧光结果显示,MGMTsiRNA 联合 TMZ 的处理介导了的 NF- κ B 活化,增加了 NF- κ B 在细胞核的积累。上述结果表明,NF- κ B 在 A375/TMZ 细胞凋亡中可能具有双向的调节作用,具体机制还需进一步探索。以上结果表明,MGMTsiRNA 联合 TMZ 可以进一步增强 TMZ 对黑色素瘤细胞的生长抑制和凋亡,同时使其对 TMZ 的敏感性增强。然而,也有研究表明,抑制 MGMT 表达可能导致正常细胞的修复能力丧失,增加骨髓抑制,却不能延长患者的生存时间^[12-13]。本研究也通过抑制 MGMT 的表达来提高 TMZ 对黑色素瘤的疗效,但

不同的是,本研究通过 siRNA 质粒瞬时表达载体抑制黑色素瘤细胞中 MGMT 基因的表达,在干扰质粒作用消失后,MGMT 基因的表达可以恢复。因此,这种表现可以减轻长期抑制 MGMT 基因表达所引起的骨髓抑制。然而,减少或缓解对骨髓抑制作用的程度仍有待于动物实验的验证。

本研究提示,MGMTsiRNA 联合 TMZ 的治疗策略具有良好的耐药黑色素瘤治疗潜力。

参考文献:

- [1] TÍMÁR J, LADÁNYI A. Molecular pathology of skin melanoma [J]. *Magy Onkol*, 2022, 66(2): 101—108.
- [2] 高翔, 赵雪宁, 韩昭. 自噬与恶性黑色素瘤侵袭转移相关性研究进展 [J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2024, 31(2): 118—122.
- [3] BIASCO G, PANTALEO M A, CASADEI S. Treatment of brain metastases of malignant melanoma with temozolomide [J]. *N Engl J Med*, 2001, 345(8): 621—622.
- [4] 姜琳, 刘绮颖, 贾利晴, 等. 胶质瘤中 MGMT 甲基化状态及其临床意义的回顾性研究 [J]. *中国癌症杂志*, 2023, 33(8): 740—750.
- [5] 陈丽莉, 代晶, 郑彦文, 等. FHL2 通过 MGMT 影响胶质母细胞瘤 U87 细胞对替莫唑胺的耐药性 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(1): 20—27.
- [6] 曹修冕, 赵军毅, 霍泽鹏, 等. 基于棱镜型消逝场耦合增强拉曼/荧光原位光谱检测系统 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2023, 43(1): 189—190.
- [7] 叶礼翠, 王静依, 向睿, 等. 甘露糖抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖和诱导凋亡的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(6): 834—838.
- [8] 成君俐, 黄丽芳, 陈建斌, 等. 妊娠合并 HBV 感染患者 TRFIA 与 qPCR 检测结果相关性研究 [J]. *中国医药指南*, 2023, 21(30): 123—125.
- [9] 彭肃, 阳乐彬, 单汉国. ABCA8 通过调控 Wnt/ β -catenin 通路抑制结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭 [J]. *现代肿瘤医学*, 2024, 32(10): 1781—1786.
- [10] ERICE O, SMITH M P, WHITE R, et al. MGMT expression predicts PARP-mediated resistance to temozolomide [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(5): 1236—1246.
- [11] LAVON I, FUCHS D, ZRIHAN D, et al. Novel mechanism whereby nuclear factor kappa B mediates DNA damage repair through regulation of O(6)-methylguanine-DNA-methyltransferase [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(18): 8952—8959.
- [12] 康庄, 陈峰, 王策, 等. 顺铂联合替莫唑胺治疗 MGMT 启动子非甲基化的复发高级别胶质瘤 [J]. *神经疾病与精神卫生*, 2019, 19(7): 668—671.
- [13] 倪春霞, 张玺炜, 汪洋, 等. 顺铂联合替莫唑胺放疗治疗 MGMT 启动子非甲基化胶质母细胞瘤的初步研究 [J]. *临床神经外科杂志*, 2019, 16(1): 6—10.

(收稿日期 2024-07-01; 本文编辑 吴焕贤)