

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research阿美替尼对非小细胞肺癌细胞增殖、侵袭、
上皮间质转化和干性的作用

Effects of almonertinib on proliferation, invasion, epithelial mesenchymal transformation and stemness of non-small cell lung cancer cells

谢友琴^{1a}, 高 振^{1b}, 张 亮^{1a}

(1. 南通市第一人民医院, a. 肿瘤科; b. 放疗科, 江苏 南通 226000)

XIE You-qin^{1a}, GAO Zhen^{1b},
ZHANG Liang^{1a}(1. a. Department of Oncology;
b. Department of Radiotherapy, Nantong
First People's Hospital, Nantong
226000, Jiangsu Province, China)

基金项目:南通市卫生健康委员会科研基金资助项目(MS2023030)

作者简介:谢友琴(1991-),女,硕士研究生,主治医师,主要从事肺癌方面的研究

通信作者:张亮,副主任医师

MP:13706295558

E-mail:346918235@qq.com

摘要:目的 研究阿美替尼通过调控微小核糖核酸-22(miR-22)靶向泛素结合酶E2O(UBE2O)对非小细胞肺癌(NSCLC)细胞的增殖、侵袭、上皮间质转化和干性的影响。方法 将人肺腺癌细胞系NCI-H1975随机分为对照组(无任何处理正常培养)、中剂量组(4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼处理)、抑制药阴性对照(转染NC inhibitor)组(4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼+miR-22抑制药阴性对照处理)、miR-22抑制药(miR-22 inhibitor)组(4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼+miR-22抑制药处理)、miR-22 inhibitor+短发卡阴性对照(sh-NC)组(4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼+miR-22抑制药+短发卡阴性对照处理)、miR-22 inhibitor+短发卡UBE2O(sh-UBE2O)组(4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼+miR-22抑制药+短发卡UBE2O处理)。用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测miR-22表达,用蛋白质印迹法检测八聚体结合转录因子4(OCT4)、性别决定区域Y盒基因2(SOX2)和Nanog同源框的表达水平,用5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(EdU)实验检测细胞增殖率,用Transwell实验检测细胞侵袭能力。结果 对照组和中剂量组的miR-22相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 和 2.07 ± 0.34 ;对照组、中剂量组、NC inhibitor组和miR-22 inhibitor组的OCT4蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 0.63 ± 0.09 、 0.67 ± 0.08 和 0.94 ± 0.12 ,SOX2蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.48 ± 0.06 、 0.54 ± 0.07 和 0.81 ± 0.11 ,Nanog蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 0.45 ± 0.08 、 0.52 ± 0.11 和 0.89 ± 0.15 。对照组、中剂量组、NC inhibitor组、miR-22 inhibitor组、miR-22 inhibitor+sh-NC组和miR-22 inhibitor+sh-UBE2O组的细胞增殖率分别为 $(87.29 \pm 10.73)\%$ 、 $(41.65 \pm 7.82)\%$ 、 $(48.47 \pm 6.54)\%$ 、 $(79.31 \pm 10.26)\%$ 、 $(84.50 \pm 11.98)\%$ 和 $(36.82 \pm 6.79)\%$,细胞侵袭数目分别为 (156.92 ± 24.81) 、 (72.53 ± 9.06) 、 (64.41 ± 10.75) 、 (143.27 ± 26.19) 、 (137.58 ± 21.46) 和 (75.23 ± 11.94) 个。对照组的上述指标与中剂量组,NC inhibitor组的上述指标与miR-22 inhibitor组,miR-22 inhibitor+sh-NC组的上述指标与miR-22 inhibitor+sh-UBE2O组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 阿美替尼能抑制非小细胞肺癌NCI-H1975细胞的增殖和侵袭,可能是通过调控miR-22靶向UBE2O实现的。

关键词:阿美替尼;微小核糖核酸-22;泛素结合酶E2O;非小细胞肺癌;增殖;侵袭;上皮间质转化;干性标志物

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.05.012

中图分类号:R979.1

文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)05-0660-05

Abstract: Objective To investigate the effects of almonertinib on the proliferation, invasion, epithelial-mesenchymal transition (EMT), and stemness of non-small-cell lung cancer (NSCLC) cells by regulating

microRNA - 22 (*miR* - 22) targeting ubiquitin - conjugating enzyme E2O (UBE2O). **Methods** Human lung adenocarcinoma cell line NCI - H1975 was randomly divided into control group (normal culture with no treatment), medium - dose group ($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib), inhibitor negative control (NC inhibitor) group ($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib + *miR* - 22 inhibition negative control), *miR* - 22 inhibitor group ($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib + *miR* - 22 inhibition), *miR* - 22 inhibitor + short hairpin negative control (sh - NC) group ($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib + *miR* - 22 inhibition + short hairpin negative control), and *miR* - 22 inhibitor + short hairpin UBE2O (sh - UBE2O) group ($4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib + *miR* - 22 inhibition + short hairpin UBE2O). The expression of *miR* - 22 was detected by quantitative real - time polymerase chain reaction (qRT - PCR); Western blot analysis was performed to detect the expression of octamer - binding transcription factor 4 (OCT4), SRY - Box transcription factor 2 (SOX2), and Nanog; the cell proliferation rate was assessed using the 5 - ethynyl - 2 - deoxyuridine (EdU) assay; and Transwell assays were conducted to evaluate cell invasion ability. **Results** The expression levels of *miR* - 22 in the control group, medium - dose group were 1.00 ± 0.16 , 2.07 ± 0.34 . The expression levels of OCT4 in the control group, medium - dose group, NC inhibitor group, and *miR* - 22 inhibitor group were 1.00 ± 0.16 , 0.63 ± 0.09 , 0.67 ± 0.08 and 0.94 ± 0.12 , respectively; SOX2 expression levels were 1.00 ± 0.14 , 0.48 ± 0.06 , 0.54 ± 0.07 and 0.81 ± 0.11 ; and Nanog expression levels were 1.00 ± 0.18 , 0.45 ± 0.08 , 0.52 ± 0.11 and 0.89 ± 0.15 . The cell proliferation rates in the control group, medium - dose group, NC inhibitor group, *miR* - 22 inhibitor group, *miR* - 22 inhibitor + sh - NC group, and *miR* - 22 inhibitor + sh - UBE2O group were $(87.29 \pm 10.73)\%$, $(41.65 \pm 7.82)\%$, $(48.47 \pm 6.54)\%$, $(79.31 \pm 10.26)\%$, $(84.50 \pm 11.98)\%$ and $(36.82 \pm 6.79)\%$, respectively. The numbers of invading cells were (156.92 ± 24.81) , (72.53 ± 9.06) , (64.41 ± 10.75) , (143.27 ± 26.19) , (137.58 ± 21.46) and (75.23 ± 11.94) , respectively. Compared between the control group and medium - dose group, NC inhibitor and *miR* - 22 inhibitor groups, as well as *miR* - 22 inhibitor + sh - NC and *miR* - 22 inhibitor + sh - UBE2O groups showed statistically significant differences (all $P < 0.05$). **Conclusion** Almonertinib can inhibit the proliferation and invasion of NSCLC NCI - H1975 cells, likely by regulating *miR* - 22 to target UBE2O.

Key words: almonertinib; microRNA - 22; ubiquitin conjugating enzyme E2O; non - small cell lung cancer; proliferation; invasion; epithelial - mesenchymal transition; stemness markers

原发性肺癌被认为是我国最常见的恶性肿瘤,其中非小细胞肺癌(non - small - cell lung cancer, NSCLC)占80% ~ 85%,是肺癌中最常见的一类^[1]。阿美替尼(Almonertinib)是我国获批上市的第3代表表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸激酶抑制剂^[2]。微小核糖核酸-22(microRNA - 22, *miR* - 22)位于第17号染色体上,作为肿瘤抑制因子或致癌基因在不同肿瘤中出现表达差异,参与肿瘤增殖、转移等进程^[3]。泛素结合酶E2O(ubiquitin conjugating enzyme E2O, UBE2O)是一种E2泛素偶联酶,可以直接介导许多底物的泛素化,其高表达与胃癌、肺癌、乳腺癌和前列腺癌患者的低生存率有关^[4]。本研究旨在通过*miR* - 22靶向UBE2O探讨阿美替尼对NSCLC细胞的增殖、侵袭、上皮间质转化和干性的影响。

材料与方法

1 材料

细胞株 人肺腺癌细胞系 NCI - H1975, 购自上

海联祖生物科技有限公司; 人胚胎肾细胞系 HEK 293T, 购自武汉普诺赛生物科技有限公司。

药品与试剂 阿美替尼片, 规格: 每片 55 mg, 批号: YBH00752020, 批准文号: 国药准字 H20200004, 江苏豪森药业集团有限公司生产。*miR* - 22 模拟物(*miR* - 22 mimic)、模拟物阴性对照(mimic negative control, NC mimic)、*miR* - 22 抑制剂(*miR* - 22 inhibitor)、抑制剂阴性对照(inhibitor negative control, NC inhibitor)核糖核酸干扰序列、5 - 乙炔基 - 2' - 脱氧尿嘧啶核苷(5 - ethynyl - 2' - deoxyuridine, EdU)试剂盒, 均由广州锐博生物科技有限公司提供; 引物, 由上海碧云天生物技术有限公司合成; 八聚体结合转录因子4(octamer - binding transcription factor 4, OCT4)抗体、性别决定区域Y盒基因2(SRY - box transcription factor 2, SOX2)抗体、Nanog同源框抗体、E - 钙黏蛋白(E - cadherin)抗体、波形蛋白(Vimentin)抗体, 均为英国Abcam公司提供; Trizol试剂, 北京索莱宝科技有限公司生产; 细胞计数试剂盒 - 8(cell counting

kit-8, CCK-8), 北京兰杰柯科技公司生产; 二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白测定试剂盒, 北京伊塔生物科技有限公司生产; 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染色试剂盒, 江苏凯基生物技术股份有限公司生产。

仪器 C-1000 荧光定量聚合酶链反应仪、043BR50095 电泳仪、ChemiDoc XRS 凝胶成像系统, 均为美国 Bio-Rad 公司产品; AMR-100 酶标仪, 杭州奥盛仪器有限公司产品; IX53 荧光显微镜, 日本 Nikon 公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养

NCI-H1975 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养; HEK 293T 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养。所有细胞均在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养, 每 1~2 d 换液。

2.2 细胞分组与处置方法

对数生长的 NCI-H1975 细胞随机分为对照组(无任何处理正常培养组)、低剂量组(2 μmol·L⁻¹ 阿美替尼处理)、中剂量组(4 μmol·L⁻¹ 阿美替尼处理)、高剂量组(8 μmol·L⁻¹ 阿美替尼处理)、NC inhibitor 组(4 μmol·L⁻¹ 阿美替尼 + miR-22 抑制药阴性对照处理)、miR-22 inhibitor 组(4 μmol·L⁻¹ 阿美替尼 + miR-22 抑制药处理)、miR-22 inhibitor + 短发卡阴性对照(short hairpin negative control, sh-NC)组(4 μmol·L⁻¹ 阿美替尼 + miR-22 抑制药 + 短发卡阴性对照处理)、miR-22 inhibitor + 短发卡 UBE2O(short hairpin UBE2O, sh-UBE2O)组(4 μmol·L⁻¹ 阿美替尼 + miR-22 抑制药 + 短发卡 UBE2O 处理)。

2.3 CCK-8 实验检测的细胞活力^[5]

NCI-H1975 细胞调整细胞悬液浓度至 2 × 10⁵ cell·mL⁻¹, 每孔 100 μL 接种于 96 孔板, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中。药物处理 24 h 后, 加入 CCK-8 溶液 10 μL 避光孵育 2 h, 测定 450 nm 处光密度值以检测细胞活力。

2.4 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 miR-22、UBE2O mRNA 表达情况^[6]

Trizol 试剂提取总 RNA, 检测 RNA 浓度并用逆转录试剂盒进行逆转录合成 cDNA。以逆转录所得的 cDNA 为模板配制反应体系进行 qRT-PCR 检测。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、U6 为内参, 通过 2^{-ΔΔCt} 方法计算 miR-22、UBE2O mRNA 相对表达

水平。

2.5 免疫荧光检测上皮间质转化相关蛋白的表达情况^[7]

细胞用 4% 多聚甲醛溶液固定 15 min, 用磷酸缓冲盐溶液洗 3 次, 1% 牛血清白蛋白封闭 1 h, 加入一抗在 4 °C 下孵育过夜。次日用磷酸缓冲盐溶液洗 3 次, 滴加 Alexa Fluor 568 标记二抗和 Alexa Fluor 647 标记二抗室温避光孵育 1 h, 磷酸缓冲盐溶液洗 3 次, 用 DAPI 核染 10 min。最后用抗荧光猝灭剂封片, 荧光显微镜下观察、采集图像。

2.6 蛋白质印迹法检测蛋白表达^[8]

提取细胞总蛋白, 用 BCA 蛋白测定试剂盒检测蛋白浓度后按照参考文献[8]方法进行蛋白质印迹。用 Image J 软件对各样本灰度值进行分析。

2.7 双荧光素酶活性检测验证 miR-22 和 UBE2O 的靶向关系^[5]

通过 starBase (<https://rnasysu.com/encori/index.php>) 查找 miR-22 与 UBE2O 靶基因结合位点, 根据结合位点分别构建 UBE2O 突变型质粒(UBE2O mutant plasmid, UBE2O-MUT)和 UBE2O 野生型质粒(UBE2O wild-type plasmid, UBE2O-WT)荧光素酶载体。取对数生长的 HEK 293T 细胞随机分为 4 组, 用 Lipofectamine™ 2000 将 UBE2O-MUT 和 UBE2O-WT 载体分别与 NC mimics、miR-22 mimics 共转染至 HEK 293T 细胞。HEK 293T 细胞 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 48 h 后通过双荧光素酶检测试剂盒测定荧光素酶活性。

2.8 EdU 实验检测细胞增殖率^[6]

细胞中加入 EdU 工作液于 37 °C 培养箱孵育 2 h 后弃液, 用磷酸缓冲盐溶液洗涤 3 次, 多聚甲醛固定 30 min 后用 2 mg·mL⁻¹ 甘氨酸溶液脱色 5 min, 0.5% Triton 透膜 10 min, 清洗后加染色液染色 30 min, DAPI 复染后于荧光显微镜下观察并计算阳性比例。

2.9 Transwell 实验评估细胞侵袭能力^[6]

制备细胞悬液并调整密度为 1 × 10⁶ cell·mL⁻¹。取 Transwell 小室, 上室加入细胞悬液 100 μL, 下室加入完全培养基 600 μL。37 °C、5% CO₂ 培养箱培养 24 h 后多聚甲醛固定, 结晶紫染色 30 min, 显微镜下观察。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较用独立样本 *t* 检验, 多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 阿美替尼对非小细胞肺腺癌细胞系 NCI – H1975 细胞活力的影响

对照组细胞正常培养,低、中、高剂量组分别用 2、4、8 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼处理,NC inhibitor 组用 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼 + miR – 22 抑制药阴性对照处理,miR – 22 inhibitor 组用 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼 + miR – 22 抑制药处理,miR – 22 inhibitor + sh – NC 组用 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼 + miR – 22 抑制药 + sh – NC 处理,miR – 22 inhibitor + sh – UBE2O 组用 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿美替尼 + miR – 22 抑制药 + sh – UBE2O 处理。

对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组的细胞活力分别为 $(100.00 \pm 2.84)\%$ 、 $(76.35 \pm 8.27)\%$ 、 $(54.90 \pm 5.83)\%$ 和 $(31.67 \pm 4.95)\%$ 。低剂量组、中剂量组和高剂量组细胞的活力较对照组均显著下降 (均 $P < 0.001$) , IC_{50} 值为 $4.185 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,后续实验选用中剂量组给药浓度进行处理。

2 阿美替尼对 miR – 22 在 NCI – H1975 细胞中表达的影响

对照组和中剂量组的 miR – 22 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 和 2.07 ± 0.34 ,中剂量组与对照组相比较,细胞中 miR – 22 的相对表达水平显著上升 ($P < 0.001$) 。

3 阿美替尼通过 miR – 22 对 NCI – H1975 细胞上皮间质转化和干性的影响

免疫荧光检测结果显示:与对照组 (E – cadherin: 1.00 ± 0.17 ,Vimentin: 1.00 ± 0.15) 相比较,中剂量组细胞 E – cadherin 表达 (3.14 ± 0.59) 显著升高,Vimentin 的表达 (0.18 ± 0.03) 显著降低;与 NC inhibitor 组 (E – cadherin: 3.36 ± 0.61 ;Vimentin: 0.29 ± 0.04) 相比,miR – 22 inhibitor 组细胞中 E – cadherin 表达 (1.17 ± 0.16) 显著降低,Vimentin 的表达 (0.93 ± 0.14) 显著升高 (均 $P < 0.05$) 。

中剂量组与对照组相比较,细胞干性标志物 OCT4、SOX2 和 Nanog 的蛋白相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.001$) ; miR – 22 inhibitor 组与 NC inhibitor 组相比,细胞中干性标志物 OCT4、SOX2 和 Nanog 蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$) ,见表 1。

表 1 蛋白质印迹法检测各组细胞中干性标志物蛋白相对表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Western blot detection of the protein expression levels of stemness markers in cells of different groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	OCT4	SOX2	Nanog
Control	8	1.00 ± 0.16	1.00 ± 0.14	1.00 ± 0.18
Medium – dose	8	$0.63 \pm 0.09^{***}$	$0.48 \pm 0.06^{***}$	$0.45 \pm 0.08^{***}$
NC inhibitor	8	0.67 ± 0.08	0.54 ± 0.07	0.52 ± 0.11
miR – 22 inhibitor	8	$0.94 \pm 0.12^{###}$	$0.81 \pm 0.11^{###}$	$0.89 \pm 0.15^{###}$

OCT4: Octamer – binding transcription factor 4; SOX2: SRY – box transcription factor 2; Control group: Normal culture with no treatment; Medium – dose group: $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib; NC inhibitor group: $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib + miR – 22 inhibition negative control; miR – 22 inhibitor group: $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ almonertinib + miR – 22 inhibition; Compared with control group, $^{***}P < 0.001$;Compared with NC inhibitor group, $^{###}P < 0.001$.

4 miR – 22 和 UBE2O 的靶向关系及敲低效果的验证

通过 starBase 生信数据库对 miR – 22 的靶基因进行预测和分析,发现 UBE2O 是 miR – 22 的潜在靶标 (图 1) 。qRT – PCR 检测 miR – 22 过表达效率结果显示: miR – 22 mimic 组 (3.46 ± 0.68) 与 NC mimic 组 (1.00 ± 0.15) 相比,miR – 22 的表达显著上升 ($P < 0.001$) 。双荧光素酶活性检测结果显示:UBE2O – WT 组中 miR – 22 mimic 的荧光活性 (1.45 ± 0.11) 显著低于 NC mimic (2.92 ± 0.18) ($P < 0.001$) ,UBE2O – MUT 组中 miR – 22 mimic (2.71 ± 0.19) 和 NC mimic (2.83 ± 0.17) 无显著性差异 ($P > 0.05$) 。qRT – PCR 检测 miR – 22 对 UBE2O mRNA 影响结果显示: miR – 22 mimic 组 (0.63 ± 0.15) 与 NC mimic 组 (1.00 ± 0.19) 相比,UBE2O mRNA 相对表达水平显著下降 ($P < 0.001$) 。

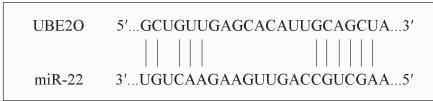


图 1 Starbase 预测 miR – 22 和泛素结合酶 E2O (UBE2O) 的靶向关系及结合位点关系图

Figure 1 Starbase prediction of the targeting relationship and binding sites between miR – 22 and ubiquitin conjugating enzyme E2O (UBE2O)

5 阿美替尼通过 miR – 22 靶向 UBE2O 对 NCI – H1975 细胞增殖、侵袭的影响

EdU 和 Tromswell 实验检测结果显示:中剂量组

表 2 5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(EdU)和 Transwell 实验检测各组细胞增殖率和侵袭数目($\bar{x} \pm s$)

Table 2 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) and Transwell were used to detect the proliferation rate and invasion number in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Cell proliferation rate(%)	Cell migration number
Control	87.29 ± 10.73	156.92 ± 24.81
Medium - dose	41.65 ± 7.82***	72.53 ± 9.06***
NC inhibitor	48.47 ± 6.54	64.41 ± 10.75
miR - 22 inhibitor	79.31 ± 10.26###	143.27 ± 26.19###
miR - 22 inhibitor + sh - NC	84.50 ± 11.98	137.58 ± 21.46
miR - 22 inhibitor + sh - UBE2O	36.82 ± 6.79 $\Delta\Delta\Delta$	75.23 ± 11.94 $\Delta\Delta\Delta$

Dose and *n* refer to table 1; Compared with control group, *** *P* < 0.001; Compared with NC inhibitor group, ### *P* < 0.001; Compared with miR - 22 inhibitor + sh - NC group, $\Delta\Delta\Delta$ *P* < 0.001.

与对照组相比较,细胞增殖率和侵袭能力均显著降低;miR - 22 inhibitor 组与 NC inhibitor 组相比,细胞增殖率显著升高;miR - 22 inhibitor + sh - UBE2O 组与 miR - 22 inhibitor + sh - NC 组相比较,细胞增殖率和侵袭能力均显著降低(均 *P* < 0.001),见表 2。

讨 论

阿美替尼可能通过抑制肿瘤细胞上皮间质转化及基质金属蛋白酶的表达来抑制 PC - 9 和 H1975 细胞增殖、迁移、侵袭^[9-10]。阿美替尼与第 1 代 EGFR - 酪氨酸激酶抑制剂相比,在一、二线治疗均显示出更好的临床疗效与安全性,已成为 EGFR 突变型晚期 NSCLC 患者一、二线治疗的新选择。miR - 22 不仅在细胞衰老、细胞增殖、血管形成以及上皮间质细胞转化等生物学过程中发挥重要作用,还可以通过其水平变化介导肿瘤发生。马方旭等^[11]研究证实,非小细胞肺癌患者 miR - 22 表达水平异常下降,其用于预测患者放化疗敏感性价值优异,可作为潜在评估患者放化疗疗效的分子标志物。叶广彬等^[12]研究证实,血清 miR - 22 水平与 NSCLC 患者的转移密切相关。本研究中 miR - 22 在 NSCLC 细胞中下调。中剂量组与对照组相比,miR - 22 的表达水平、荧光强度显著升高,说明阿美替尼可上调 miR - 22 水平。贺倩等^[13]研究证实,抑制 UBE2O 的表达可使 A549 细胞的 E - cadherin 蛋白表达水平升高,Vimentin 蛋白表达水平降低。而本研究也显示,阿美替尼可通过上调

miR - 22 进而提高 E - cadherin 表达,降低 Vimentin 和 OCT4、SOX2、Nanog 表达,且 miR - 22 与 UBE2O 具有靶向关系。

本研究提示,阿美替尼对 NSCLC 细胞增殖、侵袭的抑制作用,可能是通过 miR - 22 下调 UBE2O 进而提高 E - cadherin 蛋白表达,降低 Vimentin 蛋白及干性标志物表达从而实现的。

参考文献:

[1] 国家卫生健康委员会. 原发性肺癌诊疗指南(2022 年版)[J]. 协和医学杂志,2022,13(4):549—570.

[2] 周建宇,秦晓红,米立志. 第三代 EGFR - TKI 耐药性机制及联合用药治疗的策略[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2024,40(2):170—179.

[3] 代洛阳,刘玉洁,许可,等. 脑脊液 miR - 139、miR - 22 水平对肺腺癌转移瘤的诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志,2023,44(3):257—262.

[4] ULLAH K,ZUBIA E,NARAYAN M,et al. Diverse roles of the E2/E3 hybrid enzyme UBE2O in the regulation of protein ubiquitination, cellular functions, and disease onset[J]. FEBS J,2019,286(11):2018—2034.

[5] 黄渊智,刘红玲. 芒柄花素通过 miR - 1229/ZDHHC9 分子轴对胶质瘤细胞增殖、活力及凋亡的影响[J]. 世界中医药,2024,19(3):329—335,341.

[6] 阙悦铭,张珊珊. 玄参提取物对糖尿病视网膜病变微血管内皮细胞损伤的影响及其作用机制[J]. 世界中医药,2024,19(12):1757—1765.

[7] 包亚男,韩云峰,都晓辉,等. 胆固醇转运抑制药 U18666A 对星形胶质细胞自噬 - 溶酶体的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(23):3088—3091.

[8] 罗晶,雍敏,陈琦,等. 氧化苦参碱对牙周膜干细胞干性标志物表达和成骨分化的作用[J]. 中国组织工程研究,2025,29(19):3992—3999.

[9] 杜欢,童亚兰,王敏. 2015 年至 2019 年山西地区非小细胞肺癌流行病学特征及预后影响因素分析[J]. 肿瘤研究与临床,2022,34(1):47—50.

[10] 张语涵,张耀帅,牛雯雯,等. 阿美替尼对非小细胞肺癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 中南大学学报(医学版),2021,46(10):1045—1053.

[11] 马方旭,郭立娟,张明洋,等. miR - 22 表达水平与非小细胞肺癌患者放化疗敏感性的关系[J]. 检验医学与临床,2024,21(13):1864—1869.

[12] 叶广彬,罗世官,张忠伟,等. 血清 miR - 22 检测在非小细胞肺癌预后中的临床价值研究[J]. 安徽医科大学学报,2022,57(3):488—492.

[13] 贺倩,李岩,邓为民. 沉默泛素结合酶 E2O 对人非小细胞肺癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. 中国肿瘤临床,2021,48(4):163—168.

(收稿日期 2024 - 10 - 22)