

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research吡咯替尼通过 *LncRNA SNHG16* 调控 p53/
SLC7A11 轴诱导胃癌细胞铁死亡的研究Research of pyrotinib inducing ferroptosis in gastric cancer cells through *LncRNA SNHG16* regulation of the p53/SLC7A11 axis

刘承一, 胡潺潺, 李青山,
肇爽, 陈慧, 李智慧,
焦海静, 殷亚兰

(承德医学院附属医院 肿瘤科, 河北 承德
067000)

LIU Cheng-yi, HU Chan-chan,
LI Qing-shan, ZHAO Shuang,
CHEN Hui, LI Zhi-hui,
JIAO Hai-jing, YIN Ya-lan

(Department of Oncology, Affiliated
Hospital of Chengde Medical College,
Chengde 067000, Hebei Province, China)

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划
基金资助项目(20210440)

作者简介: 刘承一(1975-), 男, 主治医师, 主要
从事肺癌、乳腺癌方面的临床诊疗
工作

通信作者: 胡潺潺, 主任医师, 硕士生导师
MP: 18503149617
E-mail: chanchanhu@126.com

摘要:目的 探究吡咯替尼通过长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 16 (*LncRNA SNHG16*) 调控肿瘤蛋白 53 (p53)/溶质载体家族 7 成员 11 (SLC7A11) 轴对胃癌细胞铁死亡的影响。方法 将人胃癌细胞 (NCI-N87) 分为 NCI-N87 组 (细胞正常培养不做处理)、实验组 (0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 吡咯替尼处理 72 h)、oe-NC 组 (基于实验组转染 oe-NC)、*LncRNA SNHG16* 组 (基于实验组转染 oe-*LncRNA SNHG16*)。用实时荧光定量聚合酶链反应和荧光原位杂交技术测定 *LncRNA SNHG16* 的表达水平, 用细胞计数试剂盒-8 实验法检测细胞活力, 用 Transwell 小室实验检测细胞的侵袭能力, 用二氢乙锭 (DHE) 荧光探针染色法检测活性氧 (ROS) 荧光水平, 用试剂盒检测丙二醛 (MDA) 水平和谷胱甘肽 (GSH) 活性, 用蛋白质印迹法检测 p53 和 SLC7A11 蛋白的相对表达水平。**结果** NCI-N87 组、实验组、oe-NC 组和 *LncRNA SNHG16* 组的 *LncRNA SNHG16* 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 0.39 ± 0.06 、 0.41 ± 0.07 和 0.80 ± 0.15 , *LncRNA SNHG16* 相对荧光强度分别为 1.00 ± 0.16 、 0.27 ± 0.05 、 0.23 ± 0.04 和 0.81 ± 0.17 , 细胞侵袭数目分别为 (82.16 ± 14.67) 、 (29.03 ± 4.75) 、 (31.82 ± 5.69) 和 (74.98 ± 11.34) 个, ROS 相对荧光水平分别为 1.00 ± 0.15 、 4.57 ± 0.86 、 3.95 ± 0.61 和 1.54 ± 0.33 , MDA 水平分别为 (5.49 ± 1.08) 、 (11.27 ± 1.93) 、 (10.85 ± 1.64) 和 $(6.73 \pm 0.95) \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$, GSH 相对活性分别为 1.00 ± 0.00 、 0.54 ± 0.09 、 0.56 ± 0.07 和 0.83 ± 0.14 , p53 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 、 2.26 ± 0.38 、 1.98 ± 0.32 和 1.24 ± 0.19 , SLC7A11 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 0.34 ± 0.05 、 0.41 ± 0.09 和 0.79 ± 0.11 。NCI-N87 组的上述指标和实验组比较, oe-NC 组的上述指标和 *LncRNA SNHG16* 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.001$)。**结论** 吡咯替尼可以通过抑制 *LncRNA SNHG16* 的表达调控 p53/SLC7A11 信号通路来诱导胃癌细胞铁死亡, 从而抑制胃癌细胞的增殖和侵袭。

关键词: 吡咯替尼; 长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 16; 肿瘤蛋白 p53/溶质载体家族 7 成员 11; 胃癌; 铁死亡; 增殖; 侵袭

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.006

中图分类号: R979.1 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)08-1079-06

Abstract: Objective To investigate the effect of pyrotinib on ferroptosis in gastric cancer cells through the regulation of the tumor protein 53 (p53)/solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11) axis by the long noncoding RNA small nucleolar RNA host gene 16 (*LncRNA SNHG16*). **Methods** Human gastric cancer cells (NCI-N87) were selected and divided into NCI-N87 group (NCI-N87 cells were cultured normally without treatment), experimental group (NCI-N87

cells treated with $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pyrotinib for 72 h), and oe - NC group (based on the transfection of oe - NC in experimental group), LncRNA SNHG16 group (based on experimental group transfected with oe - LncRNA SNHG16). Real - time fluorescence quantitative polymerase chain reaction and fluorescence in situ hybridisation were used to determine the expression level of LncRNA SNHG16, cell viability was detected by cell counting kit - 8; invasive ability was detected by Transwell assay; reactive oxygen species (ROS) fluorescence level was detected by fluorescent probe staining of dihydroethidium (DHE); malondialdehyde (MDA) level and glutathione (GSH) activity were detected by kits; and the expression level of p53 and SLC7A11 protein was detected by Western blot. **Results** The relative expression levels of LncRNA SNHG16 in the NCI - N87 group, the experimental group, the oe - NC group and the LncRNA SNHG16 group were 1.00 ± 0.18 , 0.39 ± 0.06 , 0.41 ± 0.07 and 0.80 ± 0.15 , respectively; the relative fluorescence intensities of LncRNA SNHG16 were 1.00 ± 0.16 , 0.27 ± 0.05 , 0.23 ± 0.04 and 0.81 ± 0.17 , respectively; the number of cell invasion was (82.16 ± 14.67), (29.03 ± 4.75), (31.82 ± 5.69) and (74.98 ± 11.34) pieces, respectively; the relative fluorescence levels of ROS were 1.00 ± 0.15 , 4.57 ± 0.86 , 3.95 ± 0.61 and 1.54 ± 0.33 , respectively; MDA levels were (5.49 ± 1.08), (11.27 ± 1.93), (10.85 ± 1.64) and (6.73 ± 0.95) $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$, respectively; GSH relative activities were 1.00 ± 0.00 , 0.54 ± 0.09 , 0.56 ± 0.07 and 0.83 ± 0.14 , respectively; the relative expression levels of p53 protein were 1.00 ± 0.17 , 2.26 ± 0.38 , 1.98 ± 0.32 and 1.24 ± 0.19 , respectively; the relative expression levels of SLC7A11 protein were 1.00 ± 0.13 , 0.34 ± 0.05 , 0.41 ± 0.09 and 0.79 ± 0.11 , respectively. The differences in the above indicators between the NCI - N87 group and the experimental group, as well as between the oe - NC group and the LncRNA SNHG16 group, were all statistically significant ($P < 0.001$). **Conclusion** Pyrotinib can regulate the p53/SLC7A11 signaling pathway by inhibiting the expression of LncRNA SNHG16 to induce ferroptosis of gastric cancer cells and inhibit the proliferation and invasion of gastric cancer cells.

Key words: pyrotinib; long noncoding RNA small nucleolar RNA host gene 16; tumor protein 53/solute carrier family 7 member 11; gastric cancer; ferroptosis; proliferation; invasion

胃癌是癌症相关死亡的第4大原因,属于临床常见的高侵袭性消化道恶性肿瘤之一^[1]。吡咯替尼(pyrotinib)已被批准用于人表皮生长因子受体2(epidermal growth factor receptor 2, HER2)阳性乳腺癌的治疗中,并在胃癌临床研究中显示出良好的抗肿瘤活性^[2]。长链非编码RNA小核仁RNA宿主基因16(long noncoding RNA small nucleolar RNA host gene 16, LncRNA SNHG16)是胃癌的致癌基因之一,可能通过调节细胞周期进程来影响胃癌进展^[3]。研究发现,肿瘤蛋白53(tumor protein 53, p53)/溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)信号通路与铁死亡关系密切^[4]。本研究拟用人胃癌细胞系建立体外模型,旨在探讨吡咯替尼通过LncRNA SNHG16调控p53/SLC7A11信号通路对胃癌细胞铁死亡的影响及其调控机制。

材料与方法

1 材料

细胞 正常胃黏膜细胞系(GES-1)、人胃癌细

胞系(NCI-N87、MKN45),均购自武汉尚恩生物技术有限公司;人胃癌细胞系(SGC7901、MGC-803),均购自上海碧云天生物技术有限公司。

药品与试剂 马来酸吡咯替尼片,规格:每片80 mg,批号:230225kk,批准文号:国药准字H20180013,购自江苏恒瑞医药股份有限公司。p53抗体、SLC7A11抗体、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染料,均为美国赛默飞世尔科技公司生产;LncRNA SNHG16的过表达载体(over expression - LncRNA SNHG16, oe - LncRNA SNHG16)、阴性对照载体(over expression - negative control, oe - NC)、绿色荧光标记探针,均为上海生工生物科技股份有限公司生产;实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real - time polymerase chain reaction, qRT - PCR)试剂盒,日本Takara Bio公司生产;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit - 8, CCK - 8)、二氢乙锭(dihydroethidium, DHE)荧光探针、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒、谷胱甘肽(glutathione, GSH)活性检测试剂盒,均为上海碧云天生物技术有限公司生产。引物和LncRNA SNHG16的荧光标记探针,均由上海生工生物

工程股份有限公司设计合成。

仪器 SLAN-96S qRT-PCR 仪、CL750 蛋白质印迹显影仪,均为美国赛默飞世尔科技公司产品;CytoFLEX 流式细胞仪,美国贝克曼库尔特有限公司产品;GFM-200 荧光显微镜,上海光密仪器有限公司产品;CKX53 细胞显微镜,日本 Olympus 公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

所有细胞均用含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液的 1640 培养基,置于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养,每隔 2 d 更换培养液,贴壁细胞密度达到 80% 时进行传代培养,取第 4 代对数生长期细胞用于后续实验,进行分组前在无血清培养液中培养 24 h 使其同步化。

2.2 细胞分组与给药方法

取对数生长期的细胞根据实验要求进行分组。

GES-1、NCI-N87、SGC7901、MGC-803、MKN45 细胞系均给予正常培养,不做任何处理,分别记为 GES-1 组、NCI-N87 组、SGC7901 组、MGC-803 组和 MKN45 组。

将 NCI-N87 细胞用不同浓度(0、0.025、0.050、0.100、0.250、0.500 μmol·L⁻¹)的吡咯替尼处理 72 h,分别记为 0 μmol·L⁻¹ 组、0.025 μmol·L⁻¹ 组、0.050 μmol·L⁻¹ 组、0.100 μmol·L⁻¹ 组、0.250 μmol·L⁻¹ 组和 0.500 μmol·L⁻¹ 组。

将 NCI-N87 细胞用 0.500 μmol·L⁻¹ 吡咯替尼处理 72 h,记为实验组;NCI-N87 细胞基于实验组转染 *oe-NC*,记为 *oe-NC* 组;NCI-N87 细胞基于实验组转染 *oe-LncRNA SNHG16*,记为 *LncRNA SNHG16* 组。细胞转染条件:在 NCI-N87 细胞融合至 65% 左右时用 Lipofectamine™ 2000 细胞转染试剂进行细胞转染。

2.3 qRT-PCR 检测各组细胞中 *LncRNA SNHG16* 的表达水平^[5]

提取各组细胞总 RNA,反转录获得互补脱氧核糖核酸(complementary DNA, cDNA),按试剂盒要求进行 qRT-PCR,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*)为内参,用 2^{-ΔΔCt} 法分析 *LncRNA SNHG16* 的表达水平。

2.4 CCK-8 实验法检测细胞活力^[5]

将 NCI-N87 细胞接种于 96 孔板中,按照实验分组,加入梯度浓度(0、0.025、0.050、0.100、0.250、0.500 μmol·L⁻¹)的吡咯替尼处理 72 h,每孔加入 CCK-8 溶液 10 μL 并在 37 ℃ 下孵育 2 h,用酶标仪

检测各组细胞在 450 nm 处的光密度值(optical density, OD)并处理分析。细胞活力(%) = $\frac{OD_{\text{测定组}}}{OD_{0 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{组}}} \times 100\%$ 。根据半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)筛选干预细胞活力的最佳药物浓度。

2.5 荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测各组细胞中 *LncRNA SNHG16* 的表达水平^[6]

取预退火的探针(探针序列为 5'-DIG-GGCA-CUCUGCGGAGACAC-DIG-3')10 μL 滴在已变性且脱水的玻片标本上并密封,放置于 37 ℃ 的潮湿暗盒中杂交,15 h 后取出洗脱,对杂交信号放大后封片,在荧光显微镜下观察,并拍照进行分析。

2.6 Transwell 小室实验检测各组细胞的侵袭能力^[5]

在 Transwell 小室的上室中加入细胞悬液 200 μL,在下室中加入含 15% 胎牛血清的培养基 500 μL,常规培养 48 h 后取出小室,弃去孔中培养液,冲洗后用甲醛固定 30 min,0.1% 结晶紫染色 30 min,在显微镜下观察并计数。

2.7 DHE 荧光探针染色法检测各组细胞中活性氧(reactive oxygen species, ROS)荧光水平^[7]

用无血清培养液配制终浓度为 10 μmol·L⁻¹ 的 DHE 工作液。取处理后的各组细胞,吸除培养液,用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤细胞 1 次,加入 DHE 工作液 1 mL,室温避光孵育 30 min,加入适量 DAPI 染色 5 min,在荧光显微镜下观察并进行图像采集。

2.8 试剂盒检测各组细胞的 MDA 水平及 GSH 活性^[7]

吸弃各组干预后细胞的培养基并以 PBS 洗涤 2 次,离心收集细胞,吸尽上清液,加入细胞沉淀体积 3 倍量的蛋白去除试剂 S 溶液,充分涡旋后,在 4 ℃ 下,以 1 × 10⁴ × g 离心 10 min,取上清液用于检测 GSH 活性,按照试剂盒说明书进行操作,用酶标仪测定 412 nm 处的光密度值。向 PBS 洗涤后的各组细胞中加入适量细胞裂解液,待裂解液充分作用于细胞后,用细胞刮刀刮下细胞,收集细胞裂解液,在 4 ℃ 下,以 1 × 10⁴ × g 离心 10 min,收集上清液用于检测 MDA。按照试剂盒说明书的步骤进行操作,用酶标仪测定 532 nm 处的光密度值。

2.9 蛋白质印迹法检测 p53/SLC7A11 轴相关蛋白的表达水平^[7]

提取各组细胞总蛋白,测定浓度后电泳并转至膜上,用含 5% 牛血清白蛋白(bovine albumin, BSA)的三

羟甲基氨基甲烷缓冲液(tris-borate-sodium tween-20, TBST)封闭培养2 h, 加入一抗4 ℃过夜孵育, 次日洗涤后加入二抗, 室温孵育2 h后TBST洗膜。以GAPDH为内参, 用Image J软件分析条带的灰度值。

3 统计学处理

用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 *LncRNA SNHG16* 在各组胃癌细胞中的相对表达情况

正常胃黏膜细胞系GES-1以及胃癌细胞系NCI-N87、SGC7901、MGC-803和MKN45细胞的*LncRNA SNHG16* mRNA相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15 、 1.95 ± 0.37 、 1.58 ± 0.21 、 1.74 ± 0.28 和 1.51 ± 0.23 。NCI-N87、SGC7901、MGC-803和MKN45细胞的*LncRNA SNHG16* mRNA相对表达水平均显著高于GES-1细胞(均 $P < 0.001$)。

2 吡咯替尼对NCI-N87胃癌细胞活力的影响

0、0.025、0.050、0.100、0.250和0.500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组的细胞活力分别为 $(100.00 \pm 2.16)\%$ 、 $(78.14 \pm 12.51)\%$ 、 $(56.35 \pm 7.29)\%$ 、 $(34.21 \pm 5.97)\%$ 、 $(29.68 \pm 5.34)\%$ 和 $(24.07 \pm 4.28)\%$ 。0.025、0.050、0.100、0.250和0.500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组的细胞活力均较0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组显著降低(均 $P < 0.001$), 其 IC_{50} 值为0.07 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。因此, 选用0.05 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药物浓度进行后续实验。

3 吡咯替尼对*LncRNA SNHG16*在NCI-N87胃癌细胞中表达的影响

NCI-N87组细胞正常培养, 不做任何处理; 实验组细胞用0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 吡咯替尼处理72 h; oe-NC组细胞基于实验组转染oe-NC; *LncRNA SNHG16*组细胞基于实验组转染oe-*LncRNA SNHG16*。

NCI-N87组、实验组、oe-NC组和*LncRNA SNHG16*组细胞中的*LncRNA SNHG16*相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 0.39 ± 0.06 、 0.41 ± 0.07 和 0.80 ± 0.15 , *LncRNA SNHG16*荧光强度分别为 1.00 ± 0.16 、 0.27 ± 0.05 、 0.23 ± 0.04 和 0.81 ± 0.17 。实验组的上述指标与NCI-N87组比较, *LncRNA SNHG16*组的上述指标与oe-NC组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$); oe-NC组的上述指标与实验组比较, 在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果见图1。

4 吡咯替尼对NCI-N87胃癌细胞侵袭的影响

NCI-N87组、实验组、oe-NC组和*LncRNA SNHG16*组的细胞侵袭个数分别为 (82.16 ± 14.67) 、 (29.03 ± 4.75) 、 (31.82 ± 5.69) 和 (74.98 ± 11.34) 个。实验组的细胞侵袭个数与NCI-N87组比较, *LncRNA SNHG16*组的细胞侵袭个数与oe-NC组比较, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$); oe-NC组的细胞侵袭个数与实验组比较, 在统计学上差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果见图2。

5 吡咯替尼通过*LncRNA SNHG16*对NCI-N87胃癌细胞铁死亡的影响

实验组的ROS荧光强度和MDA含量均显著高于NCI-N87组, 而GSH活性显著低于NCI-N87组(均 $P < 0.001$); *LncRNA SNHG16*组的ROS荧光强度和MDA含量均显著低于oe-NC组, 而GSH活性显著高于oe-NC组(均 $P < 0.001$); oe-NC组的ROS荧光强度、MDA含量和GSH活性与实验组比较, 在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), 见表1。

6 吡咯替尼通过*LncRNA SNHG16*对NCI-N87胃癌细胞p53/SLC7A11轴的影响

如图3所示: NCI-N87组、实验组、oe-NC组和*LncRNA SNHG16*组的p53蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 、 2.26 ± 0.38 、 1.98 ± 0.32 和 1.24 ± 0.19 ,

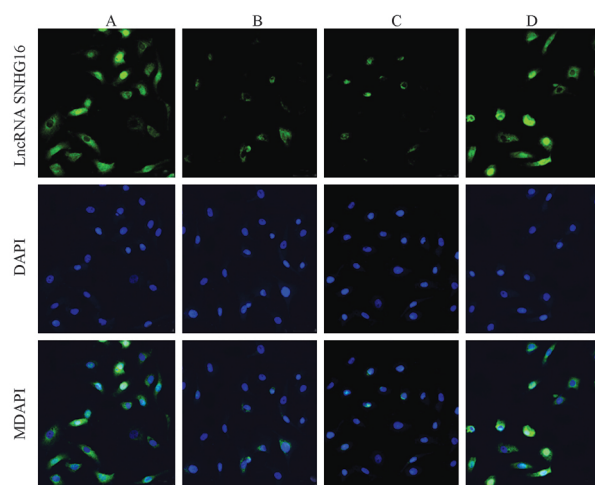


图1 用荧光原位杂交技术检测NCI-N87细胞中*LncRNA SNHG16*的阳性表达($\times 200$)

Figure 1 Fluorescence in situ hybridization was used to detect the positive expression of *LncRNA SNHG16* in NCI-N87 cells ($\times 200$)

A: NCI-N87 group, NCI-N87 cells without any treatment; B: Experimental group, NCI-N87 cells treated with 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Pyrotinib for 72 h; C: oe-NC group, transfected with oe-NC based on experimental group; D: *LncRNA SNHG16* group, transfected with oe-*LncRNA SNHG16* based on experimental group.

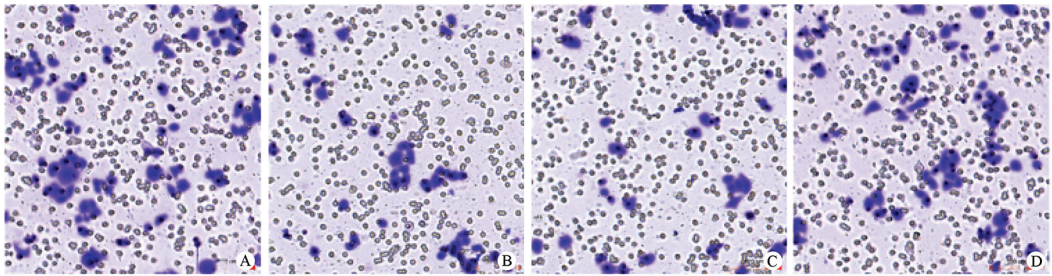


图2 用Transwell实验检测吡咯替尼对NCI-N87胃癌细胞侵袭的影响($\times 100$)

Figure 2 Transwell assay was used to detect the effect of pyrotinib on the invasion of NCI-N87 gastric cancer cells($\times 100$)

A-D refer to figure 1.

表1 各组细胞中铁死亡相关指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of ferroptosis related indexes in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Relative fluorescence intensity of ROS	MDA($\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	Relative activity of GSH
NCI-N87	8	1.00 $\pm$ 0.15	5.49 $\pm$ 1.08	1.00 $\pm$ 0.00
Experimental	8	4.57 $\pm$ 0.86 ***	11.27 $\pm$ 1.93 ***	0.54 $\pm$ 0.09 ***
Oe-NC	8	3.95 $\pm$ 0.61	10.85 $\pm$ 1.64	0.56 $\pm$ 0.07
LncRNA SNHG16	8	1.54 $\pm$ 0.33 $\Delta\Delta\Delta$	6.73 $\pm$ 0.95 $\Delta\Delta\Delta$	0.83 $\pm$ 0.14 $\Delta\Delta\Delta$

ROS;Reactive oxygen species;MDA;Malondialdehyde;GSH;Glutathione;NCI-N87 group;NCI-N87 cells without any treatment;Experimental group;NCI-N87 cells treated with $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pyrotinib for 72 h;oe-NC group;Transfected with oe-NC based on experimental group;LncRNA SNHG16 group;Transfected with oe-LncRNA SNHG16 based on experimental group;Compared with NCI-N87 group,*** $P < 0.001$;Compared with oe-NC group, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$.

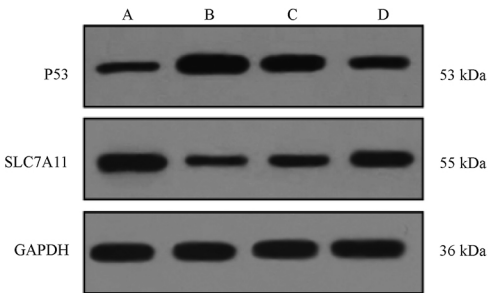


图3 用蛋白质印迹法检测肿瘤蛋白53/溶质载体家族7成员11(p53/SLC7A11)轴相关蛋白的表达水平

Figure 3 Western blot was used to detect the expression level of tumor protein 53/solute carrier family 7 member 11 (p53/SLC7A11) axis-related protein

A-D refer to figure 1.

SLC7A11蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 0.34 ± 0.05 、 0.41 ± 0.09 和 0.79 ± 0.11 。实验组的上述指标与NCI-N87组比较,LncRNA SNHG16组的上述指标与oe-NC组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$);oe-NC组的上述指标与实验组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

讨论

HER2是胃癌的主要药物靶点。HER2是ErbB

家族的成员,属于实体瘤中的关键原癌基因。吡咯替尼作为HER2靶向药物,其可以提高胃癌患者的生存率,降低胃癌细胞的活力^[8],与本研究结果相似。

LncRNA在机体表观遗传调控、细胞周期调控等生理活动中发挥重要作用。多种SNHG家族成员都参与了胃癌细胞的生长与转移,被认为是调控胃癌发生发展的致癌基因。LncRNA SNHG16是位于17q25.1上的促癌LncRNA,在多种人类消化系统恶性肿瘤中异常表达且参与其发展^[9]。TAN等^[10]研究发现,LncRNA SNHG16可以通过调控miR-214-3p/腺苷三磷酸结合盒亚家族B成员1轴来促进结直肠癌细胞的增殖。ZHANG等^[11]研究发现,LncRNA SNHG16可以作为miR-802的海绵来促进修补蛋白的表达并激活刺猬信号通路,进而促进食管癌细胞的增殖和自我更新。ZHOU等^[12]研究表明,敲低LncRNA SNHG16可以直接或间接地通过调节Dickkopf相关蛋白3抑制胃癌细胞的上皮间质转化和侵袭能力。本研究发现,LncRNA SNHG16在胃癌细胞NCI-N87、SGC7901、MGC-803、MKN45中表达水平均较GSE-1细胞升高,这与数据库检索和既往研究结果相同,后续实验发现,吡咯替尼可以显著抑制其表达,同时细胞增殖与侵袭能力均显著下降,说明LncRNA SNHG16的异常表达与胃癌的发展进程密切相关,且发挥促癌作用。

有研究表明,促进乳腺癌细胞内脂质 ROS 和 Fe^{2+} 积累,减少 GSH 水平,能够抑制癌细胞增殖并诱导细胞铁死亡^[13]。郑梓莹等^[14]研究发现,华蟾素可以诱导胃癌细胞中 MDA、ROS、 Fe^{2+} 和总铁水平积累,促进胃癌细胞铁死亡。本研究发现,经吡咯替尼干预后,胃癌细胞中 ROS 和 MDA 水平均显著提升,GSH 的活性显著降低,说明吡咯替尼可以有效促进胃癌细胞的铁死亡。多种 LncRNA 与 p53 相关且在胃癌的免疫调节、RNA 修饰和细胞凋亡等行为中发挥重要作用。李灵等^[15]在胃癌细胞的研究中发现,半夏泻心汤含药血清可以通过降低细胞中磷酸化糖原合成酶激酶 3 β 、核因子 E2 相关因子 2、谷胱甘肽过氧化物酶 4 蛋白和 SLC7A11、溶质载体家族 3 成员 2 及转铁蛋白受体 mRNA 的表达,提高糖原合成酶激酶 3 β 蛋白和 p53 mRNA 的表达来影响细胞内脂质过氧化物、 Fe^{2+} 与超氧化物歧化酶活性,从而破坏铁离子稳态与氧化还原平衡,诱导细胞铁死亡。本研究发现,经吡咯替尼干预后的胃癌细胞中 p53 蛋白相对表达水平显著提升,SLC7A11 蛋白相对表达水平显著降低,而在进一步上调 LncRNA SNHG16 后得到相反的结果,提示胃癌细胞的铁死亡行为受 LncRNA SNHG16 调控,可能与 p53/SLC7A11 轴相关。

本研究提示:吡咯替尼可以通过抑制 LncRNA SNHG16 的表达诱导胃癌细胞铁死亡,抑制胃癌细胞的增殖和侵袭,这可能是通过调控 p53/SLC7A11 信号通路实现的。

参考文献:

- [1] 曾凯环,于勇刚,李婷婷,等. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨中医药治疗胃癌前病变研究现状[J]. 世界中医药,2023,18(14):2076—2080.
- [2] LIU D, KOU F, GONG J, et al. Pyrotinib alone or in combination with docetaxel in refractory HER2-positive gastric cancer: A dose-escalation phase I study [J]. *Cancer Med*, 2023, 12(9): 10704—10714.
- [3] ZHAO J J, LIU J J, ZHANG Y Y, et al. SNHG16 lncRNAs are overexpressed and may be oncogenic in human gastric cancer by regulating cell cycle progression [J]. *Neoplasma*, 2022, 69(1): 49—58.
- [4] LI Y, XU H, SHI J, et al. Regulation of the p53/SLC7A11/GPX4 pathway by gentamicin induces ferroptosis in HEI-OC1 cells [J]. *Otol Neurotol*, 2024, 45(8): 947—953.
- [5] 侯英利,冯晓娜,李春晖,等. LncRNA SNHG16 调节 miR-212-3p/FAM3C 轴对食管癌细胞增殖迁移和侵袭的影响[J]. 河北医学,2024,30(8):1238—1244.
- [6] 张红莉,徐晓玮,阿迪娜·乌提库尔,等. LncRNA-MIAT 通过靶向调控 miR-584/EZH2 轴促进 DLBCL 细胞的自噬[J]. 西部医学,2024,36(10):1412—1418,1426.
- [7] 吴乙偲,谭菲,易露露,等. 黄芪提取物调控 Nrf2/ARE 信号通路对糖尿病肾病大鼠氧化应激的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(15):2217—2221.
- [8] NIU Q, LIU J, HUANG T, et al. Pan-HER tyrosine kinase inhibitor pyrotinib enhances radiosensitivity via ERK1/2 pathway in HER2-positive gastric cancer [J]. *Oncol Res Treat*, 2023, 46(1—2):11—25.
- [9] ZHAO L, KAN Y, WANG L, et al. Roles of long non-coding RNA SNHG16 in human digestive system cancer (review) [J]. *Oncol Rep*, 2024, 52(2):106.
- [10] TAN P, XU M, NIE J, et al. LncRNA SNHG16 promotes colorectal cancer proliferation by regulating ABCB1 expression through sponging miR-214-3p [J]. *J Biomed Res*, 2022, 36(4): 231—241.
- [11] ZHANG L, LIANG H, ZHANG J, et al. Long non-coding RNA SNHG16 facilitates esophageal cancer cell proliferation and self-renewal through the microRNA-802/PTCH1 Axis [J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29(39):6084—6099.
- [12] ZHOU C, ZHAO J, LIU J, et al. LncRNA SNHG16 promotes epithelial-mesenchymal transition via down-regulation of DKK3 in gastric cancer [J]. *Cancer Biomark*, 2019, 26(4):393—401.
- [13] YANG J, ZHOU Y, XIE S, et al. Metformin induces ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer [J]. *J Exp Clin Canc Res*, 2021, 40(1):206.
- [14] 郑梓莹,张燕,陈文,等. 华蟾素通过调控 HIF1 α 的 SUMO 修饰促进胃癌细胞铁死亡[J]. 中国药理学通报,2024,40(7):1342—1349.
- [15] 李灵,李亚星,王雪,等. 基于 Nrf2/GPX4 信号通路探讨半夏泻心汤诱导胃癌细胞铁死亡的机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2024,30(6):10—19.

(收稿日期 2024-11-21)