

达托霉素对骨肉瘤 U266 细胞生长的影响

The effect of daptomycin on the growth of osteosarcoma
U266 cells

陈彩云, 陈金成, 许秋霞,
庄奕筠

(福建医科大学 附属第二医院, 药学部, 福建 泉州 362001)

CHEN Cai - yun, CHEN Jin - cheng,
XU Qiu - xia, ZHUANG Yi - yun

(Pharmaceutical Department, Second
Affiliated Hospital of Fujian Medical
University, Quanzhou 362001, Fujian
Province, China)

基金项目: 福建省自然科学基金项目
(2021J01253)

作者简介: 陈彩云 (1982 -), 女, 本科, 主管药师, 主要从事临床药学及医院药学方面的研究

通信作者: 庄奕筠, 副主任药师

MP: 13599933719

E-mail: happezhang1982@fjmu.edu.cn

摘要:目的 探讨达托霉素 (DAP) 对 U266B1 人多发性骨髓瘤细胞 (U266) 增殖、凋亡和周期的影响。方法 将 U266 细胞分为正常对照组 (NC 组), DAP 20 μM 组 (DAP20)、DAP 40 μM 组 (DAP40)、DAP 80 μM 组 (DAP80)、BZ 50 nM 组 (BZ50)、DAP 80 μM + BZ 50 nM 组 (DAP80 + BZ50), 分别用不同浓度的 DAP (0、20、40 和 80 μM)、50 nM 硼替佐米 (BZ) 及 DAP (80 μM) 与 BZ (50 nM) 联合处理 U266 细胞, 采用细胞计数试剂盒 -8 (CCK - 8)、蛋白质印迹 (WB)、流式细胞术、实时荧光定量聚合酶链式反应 (qPCR) 等实验方法检测 DAP 对 U266 细胞的影响。结果 24 h 时, DAP (0、20、40 和 80 μM)、50 nM BZ、DAP (80 μM) 与 BZ (50 nM) 联合作用, U266 细胞存活率分别是 (97.13 \pm 2.51)%、(96.80 \pm 3.44)%、(85.48 \pm 3.28)%、(81.56 \pm 2.09)%、(60.78 \pm 2.80)% 和 (38.09 \pm 2.09)%; 细胞早期凋亡率分别是 (7.50 \pm 0.84)%、(8.20 \pm 1.41)%、(9.07 \pm 1.22)%、(13.14 \pm 2.27)%、(14.51 \pm 2.58)% 和 (15.17 \pm 1.87)%; 处在 G1 期的细胞占比分别是 (33.40 \pm 1.48)%、(33.03 \pm 2.49)%、(31.50 \pm 1.40)%、(38.59 \pm 1.54)%、(36.94 \pm 1.13)% 和 (39.43 \pm 1.40)%; 核糖体蛋白 S19 (RPS19) mRNA 的相对表达水平是 0.99 \pm 0.09、1.00 \pm 0.14、0.66 \pm 0.04、0.61 \pm 0.06、0.55 \pm 0.04 和 0.53 \pm 0.07; RPS19 蛋白的相对表达水平是 1.08 \pm 0.05、0.97 \pm 0.03、0.90 \pm 0.02、0.87 \pm 0.04、0.89 \pm 0.04 和 0.57 \pm 0.03; 和 DAP 0 μM 相比, 50 nM BZ、DAP (80 μM) 及与 BZ (50 nM) 联合作用时, 上述指标在统计学上差异均具有统计学意义 (均 $P < 0.001$)。结论 DAP 可能通过下调 S19 核糖体蛋白 (RPS19) 的表达而发挥抑制 U266 细胞增殖、促进 U266 细胞凋亡的作用。本研究为多发性骨髓瘤治疗提供了一种潜在的治疗药物。

关键词: 达托霉素; 骨髓瘤细胞; U266 细胞; 核糖体蛋白 S19

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.16.007

中图分类号: R978.1 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)16-2287-06

Abstract: Objective To investigate the effects of daptomycin (DAP) on the proliferation, apoptosis, and cell cycle of U266 [U266B1] human multiple myeloma cells (U266). **Methods** U266 cells were divided into the following groups: normal control group (NC group), DAP 20 μM group (DAP20), DAP 40 μM group (DAP40), DAP 80 μM group (DAP80), BZ 50 nM group (BZ50), and DAP 80 μM + BZ 50 nM group (DAP80 + BZ50). U266 cells were treated with varying concentrations of DAP (0, 20, 40, and 80 μM), 50 nM bortezomib (BZ), and combination of DAP (80 μM) plus BZ (50 nM). Effects were assessed using cell counting kit - 8 (CCK - 8) assays, Western blotting (WB), flow cytometry, and quantitative real - time polymerase chain reaction (qPCR). **Results** At 24 h post - treatment: Cell

viability rates were recorded as $(97.13 \pm 2.51)\%$, $(96.80 \pm 3.44)\%$, $(85.48 \pm 3.28)\%$, $(81.56 \pm 2.09)\%$, $(60.78 \pm 2.80)\%$, and $(38.09 \pm 2.09)\%$ for DAP alone ($0-80 \mu\text{M}$), BZ monotherapy, and combinatorial treatment, respectively. Early apoptotic cell proportions measured via flow cytometry showed values of $(7.50 \pm 0.84)\%$, $(8.20 \pm 1.41)\%$, $(9.07 \pm 1.22)\%$, $(13.14 \pm 2.27)\%$, $(14.51 \pm 2.58)\%$, and $(15.17 \pm 1.87)\%$ across groups. Proportions of cells in G1 phase were determined to be $(33.40 \pm 1.48)\%$, $(33.03 \pm 2.49)\%$, $(31.50 \pm 1.40)\%$, $(38.59 \pm 1.54)\%$, $(36.94 \pm 1.13)\%$, and $(39.43 \pm 1.40)\%$. Relative expression levels of ribosomal protein S19 (RPS19) mRNA exhibited fold changes of 0.99 ± 0.09 , 1.00 ± 0.14 , 0.66 ± 0.04 , 0.61 ± 0.06 , 0.55 ± 0.04 , and 0.53 ± 0.07 , while corresponding protein levels via WB analysis were 1.08 ± 0.05 , 0.97 ± 0.03 , 0.90 ± 0.02 , 0.87 ± 0.04 , 0.89 ± 0.04 , and 0.57 ± 0.03 . Statistically significant differences (all $P < 0.001$) were observed in BZ50, DAP80, and their combination compared to DAP $0 \mu\text{M}$ group. **Conclusion** DAP may exert its inhibitory effect on U266 cell proliferation and promote apoptosis by downregulating the expression of RPS19. This study provides a potential therapeutic drug for the treatment of multiple myeloma.

Key words: daptomycin; myeloma cells; U266 cells; RPS19

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种常见的浆细胞恶性增生性疾病,占血液系统恶性肿瘤的15%,在欧美国家MM已超过白血病高居血液系统肿瘤第2位^[1]。临床上多引起广泛骨质破坏、贫血、高钙血症和肾功能不全等。近年来硼替佐米(bortezomib, BZ)、沙利度胺及其衍生物等新药的应用以及自体干细胞移植等治疗手段显著改善了MM的疗效和生存期,但该病仍无法治愈,多数患者仍会复发^[2]。BZ作为单一药物使用,在复发或难治性MM的初始治疗中仅显示出35%的总缓解率和7个月的中位进展时间,这说明BZ具有获得性或继发性耐药性^[3]。此外,BZ的药物不良反应也很多,比如胃肠道反应、血细胞减少及周围神经病变等^[4]。研究表明,达托霉素(daptomycin, DAP)可以抑制癌细胞的增殖^[5]。DAP能够与乳腺癌细胞中的核糖体蛋白S19(ribosomal protein S19, RPS19)结合,对人乳腺癌细胞系MCF7(michigan cancer foundation cell line 7, MCF7)细胞表现抗癌活性;敲低RPS19能够增强DAP在MCF7细胞中的疗效^[6]。在临床研究中,DAP对中性粒细胞减少的癌症患者具有特定的治疗效果^[7]。此外,与其他抗生素相比,DAP是治疗由革兰氏阳性细菌引起的癌症感染的安全有效方法^[8]。目前,关于达托霉素对MM的报道较少。因此,本研究评估DAP对U266B1人多发性骨髓瘤细胞(U266 [U266B1] human multiple myeloma cells, U266)的影响,并对其机制进行探讨。

材料、对象与方法

1 材料

细胞系 人多发性骨髓瘤细胞 U266, 购自武汉

普诺赛生物技术有限公司。

药品和试剂 DAP, 规格: 每瓶 25 mg, 纯度: 95%, 批号: C12949957; 硼替佐米(bortezomib, BZ), 规格: 每瓶 25 mg, 纯度: 98%, 批号: C14486723, 均购自上海麦克林生化科技股份有限公司; RPMI-1640 培养液、胎牛血清(FBS)、双抗(青霉素 $10 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ + 链霉素 $100 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 均购自武汉普诺赛生物技术有限公司。高纯度 RNA 提取试剂盒, 膜联蛋白 V-增强型绿色荧光蛋白/碘化丙啶(Annexin V-enhanced green fluorescent protein / propidium iodide, Annexin V-EGFP/PI) 细胞凋亡检测试剂盒, 第一链 cDNA 合成试剂盒(用于 qPCR), 均购自北京全式金生物技术股份有限公司。BrightCycle 通用型含 UDG 酶的 SYBR Green 实时定量 PCR 预混液和 RPS19 兔多克隆抗体, 均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒, 购自上海碧云天生物技术公司。

仪器 CIB-191C CO_2 恒温培养箱, 美国精骐有限公司产品; MIF-BGU-BP-2 荧光倒置显微镜, 广州市明美光电技术有限公司产品; NovoCyte 1030 流式细胞仪, 艾森生物产品; 6100 ChemiScope Touch 发光成像仪, 上海勤翔科学仪器有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养

U266 细胞系培养于含 1% 双抗、10% FBS 的 RPMI-1640 培养基中, 于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养, 隔 1 d 换液 1 次。

2.2 细胞分组

待细胞密度长至 80% ~ 90% 后进行分组。设置 6 个实验组, 分别为: 正常对照组(normal control group, NC)、BZ 50 nM 组(BZ50)、DAP 20 μM 组

(DAP20)、DAP 40 μM 组 (DAP40)、DAP 80 μM 组 (DAP80)、DAP 80 μM + BZ 50 nM 组 (DAP80 + BZ50)。

2.3 细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit 8, CCK8) 检测细胞的存活率

收集对数生长期的 U266 细胞,调整细胞浓度至 5×10^5 个,每孔 (96 孔板) 加入细胞悬液 90 μL ,用 DAP 及 BZ 处理,并用完全培养基补足 100 μL ,每组设置 8 个平行复孔。96 孔板周围孔加满磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffered solution, PBS),将培养板在培养箱中分别培养 24、48 h (37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2)。向每孔加入 10 μL CCK8 试剂,培养板在培养箱内孵育 2 h,用酶标仪测定在 450 nm 处的光密度,读取各孔的光密度值。根据文献[9]的公式计算细胞活力。

2.4 流式细胞分析法检测细胞凋亡和细胞周期

根据 CCK8 方法确定的 DAP 作用细胞的时间是 24 h。调整细胞浓度至 5×10^5 个,每孔加入 1.5 mL 细胞悬液,接种于六孔板中,给予相对应的 DAP 及 BZ,每孔用完全培养基补足 2 mL。每组设置 8 个平行复孔,将培养板在培养箱中培养 48 h (37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2)。以 1 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,收集细胞。用 PBS 洗涤细胞 2 次,收集细胞。加入 500 μL 的膜联蛋白结合缓冲液重悬细胞,加入 5 μL Annexin V - EGFP 混匀后,加入 5 μL PI 染液,混匀;室温、避光、反应 15 min;加入 400 μL 膜联蛋白结合缓冲液,轻轻混匀。在 1 h 内进行流式细胞仪的检测。

处理后的细胞用 PBS 洗涤 1 次,收集细胞,离心后,去除上清,在细胞中加入体积分数为 70% 冷乙醇 500 μL 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜固定。3 681 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 3 min 弃去乙醇,PBS 清洗 1~3 遍。加入 RNase A/PI 孵育液 500 μL ,室温避光放置 30~60 min 后用流式细胞仪检测细胞周期。

2.5 定量聚合酶链式反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 检测 RPS19 基因在各实验组中的相对表达量

收集处理后的细胞如“2.4”处理。根据高纯度 RNA 提取试剂盒的说明书提取总核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA)。使用第一链 cDNA 合成试剂盒进行反转录,得到 cDNA。用 5 倍稀释的 cDNA 做为模板,根据 BrightCycle 通用型含 UDG 酶的 SYBR Green 实时定量 PCR 预混液的说明书进行 qPCR。甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 作为内参基因,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算 RPS19 基因的相对表达量。引物序列 RPS19 - F: 5' - CGTCAGAGAAACGGCGTCAT - 3'; RPS19 - R:

5' - TCCCTGAGGTGTCAGTTTGC - 3'; GAPDH - F: 5' - GGTGTGAACCATGAGAAGTATGA - 3'; GAPDH - R: 5' - GAGTCCTTCCACGATACCAAAG - 3'。

2.6 蛋白质印迹 (Western blotting, WB) 法检测 RPS19 蛋白水平

调整细胞浓度至每毫升 5×10^5 个,每孔加入细胞悬液 2 mL,接种于六孔板中,每组设置 8 个平行复孔,将培养板在培养箱中培养 24 h (37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2)。收集细胞。向细胞沉淀中加入含苯甲基磺酰氟 (phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF) 的裂解液,冰上反复吹打,12 753 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清。加入上样缓冲液,95 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min 使蛋白变性,10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS - PAGE) 分离蛋白后,转至聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride membrane, PVDF) 膜上,5% 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 封闭抗原 1 h 后,加入 RPS19 (1:1 000 兔来源)、GAPDH (1:1 000 鼠来源) 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,洗膜后,再加入羊抗鼠二抗 (1:2 500) 或羊抗兔二抗 (1:2 500),室温孵育 1 h,洗膜后加入增强型化学发光液显影曝光。用 Image J 分析各组 RPS19 蛋白相对表达水平。

3 统计学处理

用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,用单因素方差分析比较组间的差异。

结 果

1 PAP 对 U266 细胞存活率的影响

CCK - 8 检测结果显示,24 h、48 h 时,与 NC 组相比较,BZ50、DAP40、DAP80 及 DAP80 + BZ50 组中的 U266 细胞存活率均显著下降 (均 $P < 0.001$),见表 1。

表 1 达托霉素对不同组别 U266 细胞存活率的影响比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of effects of daptomycin treatment on the cell survival rate of U266 cells ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	24 h Cell viability (%)	48 h Cell viability (%)
NC	8	97.13 \pm 2.51	110.19 \pm 8.00
BZ50	8	60.78 \pm 2.80 ***	40.74 \pm 6.56 ***
DAP20	8	96.80 \pm 3.44	88.89 \pm 3.02 ***
DAP40	8	85.48 \pm 3.28 ***	81.46 \pm 1.90 ***
DAP80	8	81.56 \pm 2.09 ***	74.45 \pm 4.66 ***
DAP80 + BZ50	8	38.09 \pm 2.09 ***	25.59 \pm 2.40 ***

NC: Normal control group; BZ50: Bortezomib (BZ) 50 μM group; DAP20: Daptomycin (DAP) 20 μM group; DAP40: DAP 40 μM group; DAP80: DAP 80 μM group; DAP80 + BZ50: DAP 80 μM + BZ 50 μM group. Compared with NC group, *** $P < 0.001$.

表2 达托霉素对 U266 细胞早期凋亡和细胞周期的影响比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison effects of daptomycin on early apoptosis and the cycle of U266 cells ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Early apoptotic cell proportions (%)	G1 (%)	S (%)	G2 (%)
NC	8	7.50 ± 0.84	33.40 ± 1.48	64.19 ± 0.85	2.48 ± 0.48
BZ50	8	14.51 ± 2.58 ***	36.94 ± 1.13 ***	59.31 ± 0.36 ***	4.16 ± 1.05 **
DAP20	8	8.20 ± 1.41	33.03 ± 2.49	65.06 ± 0.55	2.58 ± 0.64
DAP40	8	9.07 ± 1.22	31.50 ± 1.40	64.81 ± 1.52	4.20 ± 1.54 **
DAP80	8	13.14 ± 2.27 ***	38.59 ± 1.54 ***	56.75 ± 1.4 ***	4.24 ± 0.93 **
DAP80 + BZ50	8	15.17 ± 1.87 ***	39.43 ± 1.40 ***	58.41 ± 2.0 ***	2.77 ± 0.97

Compared with NC group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

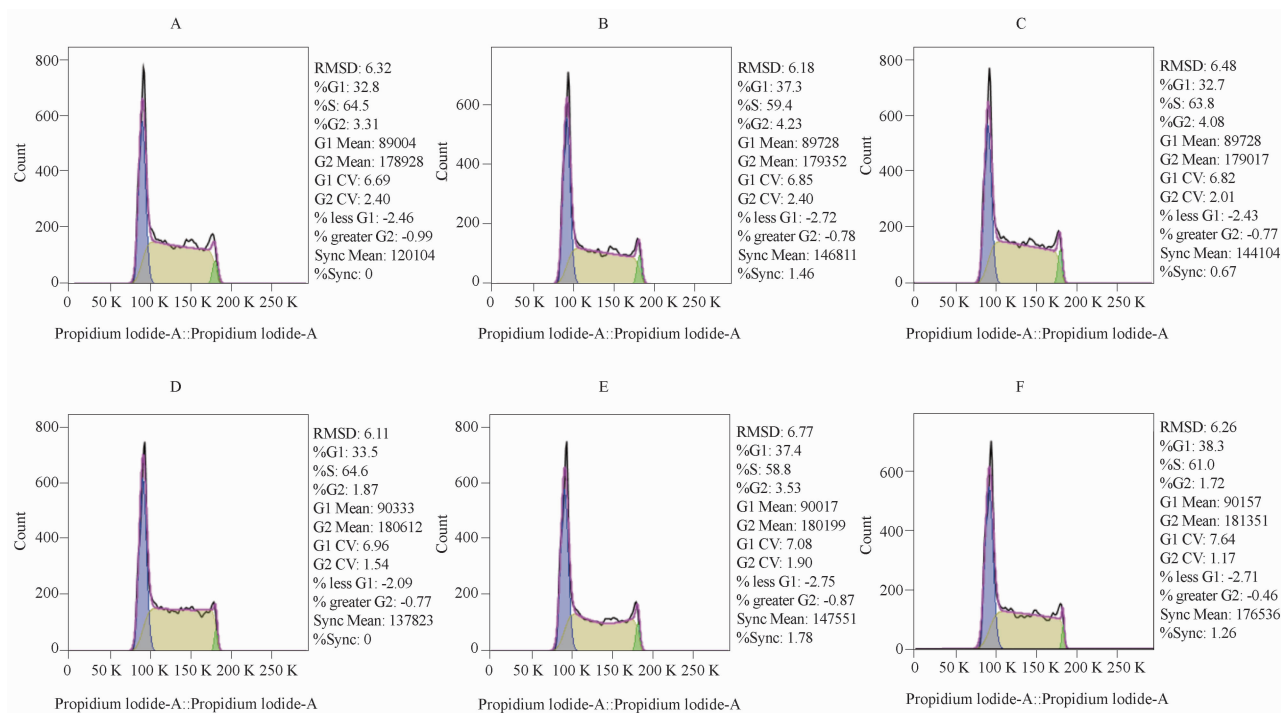


图1 流式细胞术检测达托霉素对细胞周期的影响

Figure 1 Flow cytometry detection of the effect of daptomycin on cell cycle

A: NC group; B: BZ50 group; C: DAP20 group; D: DAP40 group; E: DAP80 group; F: DAP80 + BZ50 group.

2 DAP 对 U266 细胞凋亡率的影响

与 NC 组相比, BZ50、DAP80、DAP80 + BZ50 组中早期凋亡的细胞率显著增加(均 $P < 0.001$), 见表 2。

3 DAP 对 U266 细胞周期的影响

和 NC 组相比, BZ50、DAP80 及 DAP80 + BZ50 组细胞 G1 期占比均显著增加(均 $P < 0.001$), DAP80、DAP80 + BZ50 组细胞 S 期占比均显著减少(均 $P < 0.001$)。说明经过药物处理 U266 细胞被停滞在 G1 期。G1 期细胞占比增加, S 期和 G2 期减少, U266 细胞 DNA 合成和 DNA 复制相对减少, 见表 2 和图 1。

4 DAP 对 U266 细胞内 RPS19 表达水平的影响

RT - qPCR 的结果显示: NC 组相比, BZ50、DAP40、DAP80 及 BZ50 + DAP80 均显著降低了 RPS19 mRNA 的表达(均 $P < 0.001$)。Western blot 结果显

示, 随着 DAP 浓度的增加, RSP19 蛋白相对表达水平在下降, DAP40 和 DAP80 组中 RSP19 蛋白相对表达水平与 NC 组相比均显著降低(均 $P < 0.001$), 见表 3 和图 2。

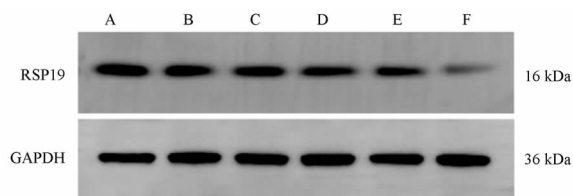


图2 蛋白质印迹法检测达托霉素对 U266 细胞中 RSP19 蛋白表达的影响

Figure 2 Western blotting detection of the effect of daptomycin on RSP19 protein expression in U266 cells

A - F refer to figure 1

表 3 达托霉素对各组 U266 细胞中 RSP19 mRNA 和蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of relative expression levels of RSP19 mRNA and protein in U266 cells treated with daptomycin($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Related expression of RPS19	
		Protein	mRNA
NC	8	1.08 ± 0.05	0.99 ± 0.09
BZ50	8	0.89 ± 0.04 ***	0.55 ± 0.04 ***
DAP20	8	0.97 ± 0.03 ***	1.00 ± 0.14
DAP40	8	0.90 ± 0.02 ***	0.66 ± 0.04 ***
DAP80	8	0.87 ± 0.04 ***	0.61 ± 0.06 ***
DAP80 + BZ50	8	0.57 ± 0.03 ***	0.53 ± 0.07 ***

Compared with NC group, *** $P < 0.001$.

讨 论

DAP 分子是由 13 个氨基酸和一个正癸酸脂肪酸尾组成的环脂肽类新型抗生素,具有水溶性亲水性核心和亲脂性的尾部^[10]。对大多数革兰氏阳性菌均有抑制作用,而且对许多耐药菌,如耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌、耐万古霉素的肠球菌和凝固酶阴性的葡萄球菌具有较强的活性^[11]。YE 等^[5]提到 DAP 有潜在的治疗癌症和其他免疫相关性疾病的作用。对于革兰氏阳性导管相关血流感染的癌症患者和植入式动脉内导管的结肠癌肝转移的患者,DAP 具有很大的潜力^[12-13]。

据报道多肽具有抗癌特性,一些海洋环肽类具有抗癌作用,特别是与 DAP 分子结构相似的环豚鼠酰胺 A-F^[14]。研究表明 RPS19 在乳腺癌细胞系和卵巢癌细胞系的表达高于正常的上皮细胞^[15]。GOTSBACHER 等^[16]利用亲药靶点稳定效应法和免疫组化,证实 DAP 与人类细胞株结合的靶点 RPS19,对某些癌细胞株具有选择性生长抑制作用,特别是人类乳腺癌细胞株(MCF7),推测可能与 RPS19 的表达水平有关,RPS19 可能是 DAP 抗癌活性的药物靶蛋白。RPS19 也可能具有核糖体外功能,如 KONDOH 等报道,RPS19 在某些结肠癌细胞系中的表达水平高于正常结肠组织,并随着肿瘤发展而增加^[17]。本研究用不同浓度的 DAP(40、80 μM)处理 U266 细胞 24 h 后,细胞的活力显著降低,DAP80 组显著增加了细胞早期凋亡的细胞比例,使 U266 细胞显著阻滞在 G1 期,阻碍 DNA 合成和 DNA 复制。说明高浓度的 DAP 更有利于抑制 U266 的增殖,促进 U266 细胞

的凋亡,DAP 与 BZ 联合作用时效果更明显。qPCR 和 WB 结果也表明,DAP 和 BZ 联合作用时 RSP19 的表达水平比对照组显著降低,说明 DAP 和 BZ 联合作用可以促进细胞凋亡,使细胞周期阻滞在 G1 期,可能是通过降低 RSP19 的表达水平实现的。因此,我们推测 DAP 与 BZ 联合作用,可能通过抑制 RPS19 而抑制 U266 骨肉瘤细胞生长,这可能会为治疗骨肉瘤提供新的思路。

本研究提示,BZ 和 DAP 联合处理能更有效地抑制人骨肉瘤 U266 细胞的增殖并促进其凋亡,2 者联合使用可能为临床上治疗多发性骨肉瘤提供新的思路,而这些观察结果需要在临床前试验中进一步的验证。

参考文献:

- [1] KAZANDJIAN D. Multiple myeloma epidemiology and survival, a unique malignancy [J]. *Seminars in Oncology*, 2016, 43(6): 676—681.
- [2] DIMOPOULOS M A, NIESVIZKY R, PALUMBO A. Clinical characteristics of patients with relapsed multiple myeloma [J]. *Cancer Treat Rev*, 2015, 41(10):827—835.
- [3] 古流芳,崔晓光,曹星梅,等. 骨髓瘤耐药相关机制及联合 HDACi 治疗多发性骨髓瘤[J]. *中国实验血液学杂志*, 2017, 25(2):608—612.
- [4] 汤文,张飞彦. 两种途径使用硼替佐米治疗多发性骨髓瘤的观察和护理[J]. *医学信息*, 2015, 28(z3):184—185.
- [5] YE Y, XIA Z, ZHANG D, et al. Multifunctional pharmaceutical effects of the antibiotic daptomycin [J/OL]. *Biomed Res Int*, 2019, 8609218:1—9. 2019 - 05 - 27. [2025 - 03 - 04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31263709/>.
- [6] CHO S M, LEE H J, KARUSO P, et al. Daptomycin suppresses tumor migration and angiogenesis via binding to ribosomal protein S19 in humans [J]. *J Antibiot (Tokyo)*, 2021, 74(10): 726—733.
- [7] ROLSTON K V, MCCONNELL S A, BROWN J, et al. Daptomycin use in patients with cancer and neutropenia: Data from a retrospective registry [J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2010, 8(4): 249—256.
- [8] PATEL K, KABIR R, AHMAD S, et al. Assessing outcomes of adult oncology patients treated with linezolid versus daptomycin for bacteremia due to vancomycin - resistant *Enterococcus* [J]. *J Oncol Pharm Pract*, 2016, 22(2):212—218.
- [9] 蒋良君,李卫. 去泛素化酶 OTUB2 通过诱导 DDX54 活性增加中性粒细胞外诱捕网的形成以及促进结肠癌细胞活力和侵袭能力 [J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(3):463—472.
- [10] COSTA L D, TCHERNIA G, GASCARD P, et al. Nucleolar localization of RPS19 protein in normal cells and mislocalization due to mutations in the nucleolar localization signals in 2 Diamond - Blackfan anemia patients; potential insights into pathophysiology [J]. *Blood*, 2003, 101(12):5039—5045.

- [11] ENOCH D A, BYGOTT J M, DALY M L, *et al.* Daptomycin [J]. *J Infect*, 2007, 55(3):205—213.
- [12] CHAFTARI A M, HACHEM R, MULANOVICH V, *et al.* Efficacy and safety of daptomycin in the treatment of gram-positive catheter-related bloodstream infections in cancer patients [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2010, 36(2):182—186.
- [13] VANDENHENDE M A, BURET J, CAMOU F, *et al.* Successful daptomycin lock therapy for implantable intra-arterial catheter infection in a patient with liver metastases of colon cancer [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014, 78(4):497—498.
- [14] LEE Y, PHAT C, HONG S C. Structural diversity of marine cyclic peptides and their molecular mechanisms for anticancer, antibacterial, antifungal, and other clinical applications [J/OL]. *Peptides*, 2017, 95:94—105. 2017-06-10 [2025-03-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28610952/>.
- [15] MARKIEWSKI M M, VADREUV S K, SHARMA S K, *et al.* The ribosomal protein S19 suppresses antitumor immune responses via the complement C5a receptor 1 [J]. *J Immunol*, 2017, 198(7):2989—2999.
- [16] GOTSBACHER M P, CHO S, KWON H J, *et al.* Daptomycin, a last-resort antibiotic, binds ribosomal protein S19 in humans [J/OL]. *Proteome Sci*, 2017, 15(16):1—9. 2017-06-01 [2025-03-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28680364/>.
- [17] KONDOH N, SCHWEINFEST C W, HENDERSON K W, *et al.* Differential expression of S19 ribosomal protein, laminin-binding protein, and human lymphocyte antigen class I messenger RNAs associated with colon carcinoma progression and differentiation [J]. *Cancer Res*, 1992, 52(4):791—796.

(收稿日期 2025-04-10)

· 科学文摘 ·

吸入用莫拉司亭治疗自身免疫性肺泡蛋白沉积症的Ⅲ期临床试验

引自: TRAPNELL B C, *et al.* Phase 3 trial of inhaled molgramostim in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis [J]. *N Engl J Med*, 2025, 393(8):764—773.

自身免疫性肺泡蛋白沉积症(autoimmune pulmonary alveolar proteinosis, aPAP)是一种罕见疾病,以进行性表面活性物质积聚和低氧血症为特征,由抗粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)自身抗体引起,而肺泡巨噬细胞清除表面活性物质需要 GM-CSF。莫拉司亭是一种吸入用重组人 GM-CSF 制剂,但其对 aPAP 患者的疗效和安全性尚未得到充分研究。

在这项Ⅲ期双盲安慰剂对照试验中,将 aPAP 患者随机分配接受每日 1 次 300 μg 莫拉司亭或安慰剂治疗,持续 48 周。主要终点是从基线至第 24 周时经血红蛋白浓度校正的肺一氧化碳弥散量(diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide, DLCO)变化(以占预测值的百分比表示)。针对多重性校正的次要终点包括:第 48 周时 DLCO 较基线的变化、圣乔治呼吸问卷总分(SGRQ-T)和活动分量表(SGRQ-A)评分(评分范围 0-100 分,分数越低表明生活质量越好)以及运动耐量在 24 周和 48 周时的变化。

共有 164 例患者接受随机分组:81 例分配至莫拉司亭组,83 例至安慰剂组。从基线至第 24 周,莫拉司亭组 DLCO 的最小二乘平均变化为 9.8 个百分点(95% CI, 7.3~12.3),安慰剂组为 3.8 个百分点(95% CI, 1.4~6.3)(估计治疗差异 6.0 个百分点;95% CI, 2.5~9.4; $P < 0.001$)。从基线至第 48 周,莫拉司亭组 DLCO 的最小二乘平均变化为 11.6 个百分点(95% CI, 8.7~14.5),安慰剂组为 4.7 个百分点(95% CI, 1.8~7.6) ($P < 0.001$);第 24 周时 SGRQ-T 评分的最小二乘平均变化分别为 -11.5 分(95% CI, -15.0~-8.0)和 -4.9 分(95% CI, -8.3~-1.5) ($P = 0.007$)。第 24 周时 SGRQ-A 评分变化未观察到显著的组间差异,因此未对后续次要终点进行统计推断。两组出现至少一次不良事件的患者百分比及出现至少一次严重不良事件的患者百分比相似。

综上,在 aPAP 患者中,每日 1 次吸入莫拉司亭相较于安慰剂能更显著改善肺气体转移功能。