



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2022.08.015

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.08.015

· 临床研究 ·

叉头框转录因子 M1 在小细胞肺癌细胞对顺铂耐药中的作用及机制

孙雨晴 汪晶晶 卢进昌 吴超民 杜春玲 周磊

[摘要] **目的** 探讨叉头框转录因子(FOX)M1 在小细胞肺癌(SCLC)细胞对顺铂耐药中的作用及机制。**方法** 采用浓度梯度法建立对顺铂耐药的人 SCLC H446 细胞系(H446/DDP),采用荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)和蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测其 FOXM1 基因 mRNA 及蛋白表达水平。构建 FOXM1 基因真核过表达载体转染 H446 细胞,检测转染不同载体 H446 细胞 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平及转染不同载体 H446/DDP 的细胞存活率并进行比较。设计靶向 FOXM1 的小干扰 RNA(siRNA),采用 Interferin 和 FOXM1 siRNA(H446-siFOXM1 组、H446/DDP-siFOXM1 组)或阴性对照 RNA(H446-NC 组、H446/DDP-NC 组)转染细胞,比较各组细胞的存活率及 FOXM1 下游基因 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平。**结果** H446/DDP 细胞 FOXM1 基因 mRNA、蛋白表达水平平均高于 H446 细胞($P < 0.01$)。FOXM1 过表达载体转染 H446 细胞 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平平均高于转染空白载体 H446 细胞($P < 0.01$)。FOXM1 过表达载体转染 H446/DDP 细胞存活率低于转染空白载体 H446/DDP 细胞($P < 0.01$)。H446-siFOXM1 组 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平平均低于 H446-NC 组,细胞存活率高于 H446-NC 组($P < 0.01$);H446/DDP-siFOXM1 组 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平平均低于 H446/DDP-NC 组,细胞存活率高于 H446/DDP-NC 组($P < 0.01$)。H446/DDP-NC 组 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平平均高于 H446-NC 组($P < 0.01$);H446/DDP-siFOXM1 组 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平平均高于 H446-siFOXM1 组($P < 0.01$)。**结论** FOXM1 基因的异常表达可能通过调控 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 的表达促进 SCLC 细胞对顺铂耐药。

[关键词] 叉头框转录因子 M1; 小细胞肺癌; 顺铂; 化疗耐药

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] A

Role and mechanism of Forkhead box M1 in cisplatin chemotherapy resistance of small cell lung cancer cell

Sun Yuqing, Wang Jingjing, Lu Jinchang, Wu Chaomin, Du Chunling, Zhou Lei. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, QingPu Branch of Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 201700, China

[Abstract] **Objective** To explore the role and mechanism of Forkhead box(FOX)M1 in cisplatin chemotherapy resistance of small cell lung cancer(SCLC) cell. **Methods** The cisplatin-resistant human SCLC H446 cell line(H446/DDP) was established by the concentration gradient method, and its FOXM1 gene mRNA and protein expression levels were detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction(qRT-PCR) and Western blotting. The eukaryotic overexpression vector of the FOXM1 gene was constructed and transfected into H446 cells. FOXM1 gene mRNA and protein expression levels in H446 cells transfected with different vectors and survival rate of cells transfected with different vectors in H446/DDP were detected and compared. Small interfering RNA(siRNA) targeting FOXM1 was designed, and cells were transfected with Interferin and FOXM1 siRNA(H446-siFOXM1 group, H446/DDP-siFOXM1 group) or negative control RNA(H446-NC group, H446/DDP-NC group). Survival rate and FOXM1 downstream genes CDC25B, survivin and cyclin B1 mRNA expression levels were compared in each group. **Results** FOXM1 gene mRNA and protein expression levels in H446/DDP cells were higher than those in the H446 cells($P < 0.01$). FOXM1 gene mRNA and protein expression levels in H446 cells transfected with FOXM1 overexpression vector were higher than those in H446 cells transfected with blank vector($P < 0.01$). Survival rate of H446/DDP cells transfected with FOXM1 overexpression vector was

基金项目:上海市青浦区卫生健康委员会资助项目(w2020-04)

作者单位:201700 上海,复旦大学附属中山医院青浦分院呼吸与危重症医学科

通讯作者:周磊, E-mail:zl1002@163.com

lower than that of H446/DDP cells transfected with blank vector ($P < 0.01$). FOXM1 gene mRNA and protein expression levels in H446-siFOXM1 group were lower than those in H446-NC group, and survival rate was higher than that in H446-NC group ($P < 0.01$). CDC25B, survivin and cyclin B1 mRNA expression levels in H446/DDP-NC group were higher than those in H446-NC group ($P < 0.01$). CDC25B, survivin and cyclin B1 mRNA expression levels in H446/DDP-siFOXM1 group were higher than those in H446-siFOXM1 group ($P < 0.01$). **Conclusion** The abnormal expression of FOXM1 gene may promote the resistance of SCLC cells to cisplatin by regulating the expression of CDC25B, survivin and cyclin B1.

[Key words] Forkhead box M1; Small cell lung cancer; Cisplatin; Chemoresistance

肺癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一,是男性人群中因恶性肿瘤致死的第一位疾病,而在女性人群中则位列第二^[1]。尽管一些西方国家的肺癌发病率呈下降趋势,但中国肺癌的发病率仍在上升,成为一个重大的公共卫生问题,给社会 and 经济发展带来沉重负担^[2]。小细胞肺癌(SCLC)虽仅占有所有肺癌的15%,但危害极大^[3]。如未接受积极治疗,SCLC患者的5年生存率低于5%,平均总生存期仅为2~4个月^[4]。由于缺乏特定的症状且肿瘤生长快速,确诊时大部分患者已有远处转移,失去手术治疗的机会。目前免疫、靶向治疗等方法在SCLC中取得了较大进展,但化疗仍是SCLC一线和二线治疗的标准方案^[5-7]。SCLC对化疗的敏感性总体较高,多数患者在初始治疗后可获得不同程度的缓解,但复发耐药率极高,一旦复发耐药,患者预后极差。因此,阐明SCLC化疗耐药机制,提高SCLC化疗敏感性是目前亟待解决的重要问题。叉头框转录因子M1(FOXM1)是Fox转录因子家族的重要成员,在多种恶性肿瘤发生、发展和耐药的产生过程中具有重要作用。研究显示,FOXM1在DNA损伤后修复(DDR)过程中发挥关键作用。FOXM1参与DNA碱基切除修复、同源重组、DNA连接等多种DDR过程,从而介导恶性肿瘤细胞对化疗药物耐药^[8]。既往有研究报道FOXM1在SCLC中有过量表达,并在SCLC对染料木黄酮耐药的过程中发挥关键作用^[9]。我们推测FOXM1也有可能是SCLC化疗耐药过程中的关键因子,因此,开展本研究验证这一假设。

材料与方法

1. 材料:人SCLC细胞株H446(中国科学院上海细胞所);噻唑蓝溴化四唑(MTT)试剂(上海碧云天生物技术研究);逆转录试剂盒(美国Invitrogen公司);引物合成(美国Invitrogen公司);放射免疫沉淀测定(RIPA)细胞裂解液(上海碧云天生物技术研究);BCA蛋白质定量试剂盒(上海碧云天生物技术研究);FOXM1一抗(美国Abcam公司);GAPDH一抗(武汉三鹰公司)。

2. 方法

(1)细胞培养:人SCLC细胞株H446培养条件:

37℃、5%CO₂、10%胎牛血清及RPMI1640培养基。采用顺铂(DDP)浓度梯度法建立对顺铂耐药的H446细胞株(H446/DDP)。

(2)构建FOXM1基因真核过表达载体和细胞转染:收集对数期H446/DDP细胞,加入1ml Trizol振荡混匀,裂解细胞,提取总RNA,逆转录合成cDNA,在Genbank中查到FOXM1基因的mRNA序列,采用Primer Premier5.0软件在其阅读框内设计引物。所用引物序列(由上海英俊生物技术有限公司合成):FOXM1-F:5'-AAAGAATTCATGAAACTAGCCCCCGTC-3';FOXMI-R:5'-AAAGGATCCCTACTGTAGCTCAGGAATAAACT-3'。聚合酶链反应(PCR)产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳,回收纯化目的基因条带,并与pMD19-T Vector(购自Takara公司)连接,转化感受态大肠杆菌,扩增后提取质粒,EcoRI、BamHI双酶切正确的质粒送测序以验证目的基因的准确性。将测序正确的质粒和pCDH表达质粒载体经EcoRI和BamHI双酶切处理,分别形成线性载体和目的片段,琼脂糖凝胶电泳后分别切胶回收、纯化;然后进行连接反应,并转化感受态大肠杆菌,提取质粒。再次进行EcoRI和BamHI双酶切鉴定,鉴定正确的质粒进行测序以确认目的基因的完整性和准确性。空白载体未插入DNA片段。FOXM1基因过表达载体和空白载体质粒采用Lipofectamin 2000(ThermoFisher)转染细胞。细胞转染前24h按照每孔约 5×10^5 个细胞的密度接种至6孔板中,用含10%胎牛血清的RPMI1640培养基培养24h,待细胞长至90%~95%汇合,分别将4.0μg质粒DNA和10μl Lipofectamin 2000与250μl不加血清的opti-MEM培养液轻柔混匀,室温孵育20min后滴加到含有2ml无抗生素RPMI1640培养基的6孔板细胞中,混匀后置CO₂培养箱中培养4~6h。然后更换为含有10%胎牛血清的RPMI1640培养基后继续培养24~72h后进行检测。

(3)RNA干扰和细胞转染:设计合成靶向FOXM1的小干扰RNA(siRNA,由上海生工公司合成)和阴性对照RNA,序列分别为FOXM1 siRNA(5'-GCCGGAA-CAUGACCAUCAATT-3';终浓度为100nM)和阴性对照RNA(5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3';终浓

度为 100 nM); siRNA 采用 Interferin 转染细胞, 转染过程按照说明书进行, 简述如下: 在 12 孔培养皿中接种适量 H446 细胞和 H446/DDP 细胞, 培养 12 h 后汇合率达 30% ~ 50%; 在不同 1.5 ml 无菌 Ep 管中分别加入 100 μ l 无血清培养基, 再分别加入 5 μ l Interferin 和 FOXM1 siRNA (H446-siFOXMI 组、H446/DDP-siFOXMI 组) 或阴性对照 RNA (H446-NC 组、H446/DDP-NC 组) 并振荡混匀, 室温放置 15 ~ 20 min; 将 RNA-脂质体复合物滴加至细胞孔板中, 置于 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 孵育箱培养 6 ~ 8 h; 然后更换为新鲜培养基, 继续培养 48 ~ 72 h; 收集细胞。

(4) MTT 比色法测定细胞存活率: 分别收获对数生长中期、生长状态良好的 H446 和 H446/DDP 细胞, 用细胞培养液制成单细胞悬液, 整细胞液浓度为 5×10^4 个/ml。每孔接种 5×10^3 个细胞/100 μ l, 每组设 5 个平行孔; 每孔加入 100 μ l DDP (用无血清培养基溶解) 使其终浓度为 0、2、4、8、16 μ M; 药物处理 48 h 后, 向每孔加入新鲜配制的 MTT 液 (5 mg/ml) 20 μ l, 继续培养 4 h, 小心吸去孔内培养上清液, 每孔加入二甲基亚砜 150 μ l, 振荡 10 min, 结晶物充分溶解后在酶联免疫检测仪上用 490 nm 波长检测光密度值。

(5) 荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 FOXM1 及 FOXM1 下游基因 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 的表达水平: 将细胞用磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 清洗后加入 1 ml Trizol 试剂, 摇匀后裂解提取总 RNA, 根据逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录成互补 DNA (cDNA), 进行 qRT-PCR 检测。人 GAPDH 上游 5'-ACAACCTTGGTATCGTGA-3', 下游 3'-GCCATCACGC-CACAGTTTC-5'; 人 FOXM1 上游 5'-AAGAACTC-CATCCGCCACA-3', 下游 3'-GCTTAAACACCTGGTC-CAA-5'; 人 CDC25B 上游 5'-TCAAATATCAGTTAC-CCAC-3', 下游 3'-TCCATCCGCAACAAGACA-5'; 人 survivin 上游 5'-AACCAGACCCTCATGGCTG-3', 下游 3'-TTCCAGACTCCACTCAA-5'; 人 cyclin B1 上游 5'-GTTGGTTTCTGCTGGGTG-3', 下游 3'-ATGTTGATCTTCGCCTT-5'。所有引物均由美国 invitrogin 公司合成。PCR 反应平台采用美国罗氏公司 LightCycler[®] 480 II, 参数: 95 $^{\circ}$ C 30 s $\times$ 1 个循环, 95 $^{\circ}$ C 5 s、60 $^{\circ}$ C 30 s $\times$ 40 个循环。反应结束后确认 qRT-PCR 的扩增曲线和溶解曲线, 并进行数据分析。

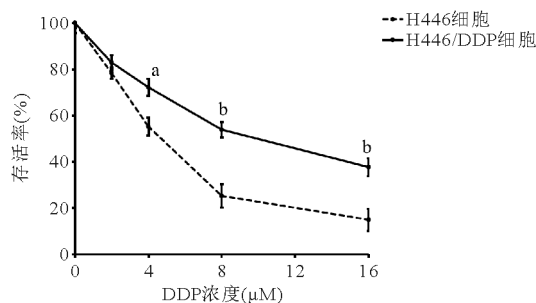
(6) 蛋白质免疫印迹法 (Western blot) 检测 FOXM1 蛋白的表达水平: 细胞离心漂洗后, 加入 RIPA 细胞蛋白裂解液, 离心取上清, 采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒计算各组标本的蛋白质浓度。以 12% SDS-PAGE 凝胶先恒压 60 V 使蛋白质跑至同一条起跑线上, 待跑

至分离胶上时, 改为 90 V, 使溴酚蓝全部跑出时停止。电泳结束后, 开始转膜, 转膜的条件为恒流 220 mA、2 h, 转膜结束后, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; 次日一抗回收并清洗后, 使用 HRP 标记二抗孵育 1 h。经发光剂显影成像, 进行图片扫描。

3. 统计学处理: 应用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. H446 和 H446/DDP 细胞存活率及 FOXM1 基因 mRNA、蛋白表达水平比较: DDP 浓度越高, H446 和 H446/DDP 细胞存活率越低。当 DDP 浓度为 4、8、16 μ M 时, H446/DDP 细胞存活率高于 H446 细胞 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 当 DDP 浓度达到 8 μ M 时, H446/DDP 细胞存活率仍高于 50% [$(53.82 \pm 3.39)\%$], 而 H446 细胞存活率仅为 $(25.17 \pm 5.04)\%$, 见图 1。H446/DDP 细胞 FOXM1 基因 mRNA、蛋白表达水平均高于 H446 细胞 (2.34 ± 0.11 比 1.10 ± 0.03 , $P < 0.01$; 1.49 ± 0.06 比 1.02 ± 0.09 , $P < 0.01$)。



注: 与 H446 细胞比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$

图 1 不同浓度 DDP 处理的 H446 和 H446/DDP 细胞存活率比较

2. 转染不同载体 H446 细胞 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平比较及转染不同载体 H446/DDP 细胞存活率比较: FOXM1 过表达载体转染 H446 细胞 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平均高于转染空白载体 H446 细胞 (5.84 ± 1.06 比 1.00 ± 0.10 , $P < 0.01$; 2.98 ± 0.46 比 1.00 ± 0.11 , $P < 0.01$)。FOXM1 过表达载体转染 H446/DDP 细胞存活率低于转染空白载体 H446/DDP 细胞 [$(48.58 \pm 6.47)\%$ 比 $(75.95 \pm 4.62)\%$, $P < 0.01$]。

3. 不同组别细胞 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平、存活率及 FOXM1 下游基因 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平比较: H446-siFOXMI 组 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平低于 H446-NC 组, 细胞存活率高于 H446-NC 组 ($P < 0.01$); H446/DDP-siFOXMI 组

表 1 不同组别细胞 FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平、存活率及 FOXM1 下游基因 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	FOXM1 基因		细胞存活率	CDC25B mRNA	survivin mRNA	cyclin B1 mRNA
	mRNA	蛋白				
H446-NC 组	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.21	0.71 ± 0.03	1.00 ± 0.07	1.01 ± 0.05	1.00 ± 0.03
H446-siFOXM1 组	0.44 ± 0.06 ^a	0.54 ± 0.07 ^a	0.81 ± 0.03 ^a	0.47 ± 0.10	0.60 ± 0.09	0.56 ± 0.09
H446/DDP-NC 组	2.17 ± 0.19	1.60 ± 0.23	0.56 ± 0.04	2.05 ± 0.12 ^a	1.83 ± 0.07 ^a	2.20 ± 0.15 ^a
H446/DDP-siFOXM1 组	0.69 ± 0.11 ^b	0.55 ± 0.06 ^b	0.81 ± 0.03 ^b	0.86 ± 0.17 ^c	1.00 ± 0.12 ^c	1.29 ± 0.12 ^c

注:与 H446-NC 组比较,^a $P < 0.01$;与 H446/DDP-NC 组比较,^b $P < 0.01$;与 H446-siFOXM1 组比较,^c $P < 0.01$

FOXM1 基因 mRNA 和蛋白表达水平低于 H446/DDP-NC 组,细胞存活率高于 H446/DDP-NC 组($P < 0.01$)。H446/DDP-NC 组 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平均高于 H446-NC 组($P < 0.01$);H446/DDP-siFOXM1 组 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 mRNA 表达水平均高于 H446-siFOXM1 组($P < 0.01$)。见表 1。

讨 论

传统上,按照美国退伍军人协会制定的标准,SCLC 可分为局限期和广泛期^[10]。美国癌症联合会(AJCC)的 TNM 系统更适合于筛选出适合手术治疗的 SCLC 患者。但无论根据哪种分期方法,仅无纵隔和锁骨上淋巴结转移的 TNM 分期 I 期的局限期患者有可能可接受手术治疗。而没有手术机会的广泛期患者约占所有新诊断的 SCLC 的 65%,其治疗方案选择非常有限。根据美国国立综合癌症网络(NCCN)临床实践指南:小细胞肺癌(2022. V2)及中国临床肿瘤学会小细胞肺癌诊疗指南 2022,以铂类药物为基础的双药化疗联合免疫治疗方案是广泛期患者的一线治疗方案^[11-12]。二线治疗方面,日本的一项研究显示,由顺铂、依托泊苷、伊立替康 3 种药物组成的联合化疗较伊立替康单药化疗患者的总生存期(OS)有所延长(18.2 个月比 12.5 个月, $P = 0.0079$)^[13]。针对细胞毒性 T 淋巴细胞抗原(CTLA)-4 或程序性死亡受体-配体 1(PD-L1)免疫治疗和靶向 Delta 样经典 Notch 配体 3(DLL3)、血管内皮生长因子(VEGF)等小分子激酶抑制剂也取得了一些进展^[14-16]。程序性死亡受体-1(PD-1)/PD-L1 单克隆抗体的成功临床试验为恶性肿瘤免疫学开辟了新的途径。Paz-Ares 等^[17]的一项随机、对照、开放的 3 期临床研究结果显示,Durvalumab + 顺铂/卡铂 + 依托泊苷显著改善了广泛期 SCLC 患者的 OS。虽然免疫治疗已跻身 SCLC 治疗的一线方案,但以含铂类药物为基础的双药联合化疗方案仍是 SCLC 治疗的重要手段,其位置不可替代。

顺铂是 SCLC 最广泛使用的抗肿瘤细胞的化疗药物。含顺铂的化疗方案可显著延长患者的 OS。大部分 SCLC 患者经初始治疗可获得疾病缓解或控制,但

多数患者在 4 ~ 6 个周期后出现疾病进展,意味着肺癌细胞对化疗药物出现耐药,而二线治疗效果很差。因此,研究 SCLC 化疗耐药的机制,探索其中发挥关键作用的靶点,可能有助于开发逆转 SCLC 化疗耐药的治理策略,也有助于制定个体化的治疗方案,从而提高疗效并最大程度减少不良反应。既往研究结果显示,促使 SCLC 化疗耐药的主要机制包括 DNA 损伤修复异常(DDR)、细胞自噬异常等^[18]。FOXM1 是在 DDR 过程中起关键作用的转录因子,其可通过转录活化 DNA 聚合酶、PolE2、复制因子 C4(RFC4),并作为 DNA 连接酶Ⅲ的共作用因子参与 DNA 碱基切除修复、同源重组、DNA 连接等多种 DDR 过程^[19]。FOXM1 通过直接调控 G1/S 和 G2/M 进展所必需的转录信号网络,在细胞增殖中发挥关键作用,特别是对细胞周期基因的积极调控^[20]。下调 FOXM1 基因表达显著改善卵巢癌、非小细胞肺癌(NSCLC)对顺铂的耐药性^[19,21]。除此之外,FOXM1 还参与恶性肿瘤的血管形成、远处转移等多个重要环节,并与多种恶性肿瘤患者的预后明显相关^[22-24]。SCLC 组织中同样出现 FOXM1 表达水平明显升高,并与患者的不良预后相关,包括生存期和化疗耐药性。Liang 等^[20]发现,与低 FOXM1 表达组相比,高 FOXM1 表达组 SCLC 与晚期临床分期、胸外转移及 OS 降低显著相关(7.90 个月比 12.46 个月)。此外,高 FOXM1 表达组在标准化疗后的无进展生存期更短(3.90 个月比 8.69 个月)。Liu 等^[25]的研究证实,FOXM1 过表达可降低 NSCLC 对顺铂的敏感性,而 FOXM1 表达下调可使对顺铂耐药的 NSCLC 细胞对顺铂诱导的细胞凋亡敏感,表明过表达 FOXM1 与 NSCLC 中顺铂耐药性有关。

Tian 等^[9]的研究结果显示,染料木黄酮可通过抑制 FOXM1 通路的过度活化发挥对 SCLC 的抗肿瘤作用,上调 SCLCH446 细胞 FOXM1 表达水平,H446 细胞可出现对 Genistein 耐药,表明 FOXM1 可介导 SCLC 对化疗药物的耐药过程。提示 FOXM1 有可能在 SCLC 顺铂耐药中发挥重要作用。本研究通过对顺铂耐药的 SCLC 细胞系 H446/DDP 的研究发现,与顺铂敏感的 H446 细胞相比,H446/DDP 细胞中 FOXM1 基因 mRNA

和蛋白的表达水平均显著增加;而抑制 H446/DDP 细胞中 FOXM1 表达,则可显著抑制其对顺铂的耐药性。上调 FOXM1 表达水平则可使化疗敏感的 SCLC 细胞出现耐药,表明 FOXM1 是 SCLC 顺铂耐药过程中的关键环节。

事实上,FOXM1 是调控细胞增殖和凋亡的重要转录因子,在细胞从 G1 期向 S 期进化和维持染色体稳定性方面起关键作用。FOXM1 通过激活其靶基因 CDC25A、CDC25B、cyclinB1、cyclinD1、PLK1 及抑制 p21、p27 等的表达调控细胞周期进展,促进恶性肿瘤的发生^[26]。Nestal de Moraes 等^[27]发现,survivin 是 FOXM1 的直接转录靶标,在乳腺癌耐药细胞系中,FOXM1 和 survivin 的表达明显上调,将 FOXM1 基因敲除后会导致 survivin 的表达下降,表明 FOXM1 可能直接调控 survivin 参与恶性肿瘤的耐药^[27],与本研究结果一致。Kongsema 等^[28]研究发现,硫链丝菌素可显著抑制乳腺癌细胞生长,并可明显降低 FOXM1 及 cyclin B1 的表达水平,这一效应存在明显的药物浓度依赖性,提示靶向 FOXM1/cyclin B1 通路可能发挥抗肿瘤作用。综合以上研究结果,推测 FOXM1 具有成为逆转肿瘤化疗耐药治疗靶点的巨大潜力。同时,本研究也存在一些不足之处,针对 FOXM1 介导 SCLC 顺铂耐药的机制,本研究发现顺铂耐药细胞株中 CDC25B、survivin 和 cyclin B1 表达水平显著升高,提示这些下游信号可能与 FOXM1 介导 SCLC 顺铂耐药有关,与上述研究报道一致,但未能进一步阐明其具体作用及其与 DDR 异常的关系。这些问题将在今后的研究中进一步探讨。

综上所述,FOXM1 基因在 SCLC 顺铂耐药细胞中表达显著上调,且通过正向调控其下游靶向基因介导细胞的耐药,表明 FOXM1 是 SCLC 顺铂耐药过程中的关键环节,可为开发新的 SCLC 治疗方案提供新靶点和方向。

参 考 文 献

- [1] Torre LA, Siegel RL, Jemal A. Lung Cancer Statistics[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 893: 1-19.
- [2] Wu F, Wang L, Zhou C. Lung cancer in China: current and prospect[J]. Curr Opin Oncol, 2021, 33(1): 40-46.
- [3] 杨柳, 李新, 宣奇迹, 等. 小细胞肺癌血清相关肿瘤标志物研究进展[J]. 临床军医杂志, 2020, 48(9): 1113-1115.
- [4] 张新. 《2020 年 CSCO 小细胞肺癌诊疗指南》解读[J]. 临床内科杂志, 2020, 37(11): 820-822.
- [5] Yang S, Zhang Z, Wang Q. Emerging therapies for small cell lung cancer[J]. Hematol Oncol, 2019, 12(1): 47.
- [6] Bernhardt EB, Jalal SI. Small Cell Lung Cancer[J]. Cancer Treat Res, 2016, 170: 301-322.
- [7] 王宁军, 马银杰, 高业博, 等. 盐酸安罗替尼二线治疗老年小细胞肺癌的有效性和安全性观察[J]. 中国医药, 2021, 16(9): 1325-1328.
- [8] Zona S, Bella L, Burton MJ, et al. FOXM1: An emerging master regulator

- of DNA damage response and genotoxic agent resistance[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1839(11): 1316-1322.
- [9] Tian T, Li J, Li B, et al. Genistein exhibits anti-cancer effects via down-regulating FOXM1 in H446 small-cell lung cancer cells[J]. Tumour Biol, 2014, 35(5): 4137-4145.
- [10] Kalemkerian GP, Gadgil SM. Modern staging of small cell lung cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2013, 11(1): 99-104.
- [11] Ganti AKP, Loo BW, Bassetti M, et al. Small Cell Lung Cancer, Version 2. 2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2021, 19(12): 1441-1464.
- [12] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)小细胞肺癌诊疗指南 2022[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 1-201.
- [13] Goto K, Ohe Y, Shibata T, et al. Combined chemotherapy with cisplatin, etoposide, and irinotecan versus topotecan alone as second-line treatment for patients with sensitive relapsed small-cell lung cancer (JCOG0605): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(8): 1147-1157.
- [14] Arriola E, Wheaton M, Galea I, et al. Outcome and biomarker analysis from a multicenter phase 2 study of ipilimumab in combination with carboplatin and etoposide as first-line therapy for extensive-stage SCLC[J]. Thorac Oncol, 2016, 11(9): 1511-1521.
- [15] Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, et al. First-line atezolizumab plus chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2018, 379(23): 2220-2229.
- [16] Tsiouprou I, Zaharias A, Spyrtos D. The Role of Immunotherapy in Extensive Stage Small-Cell Lung Cancer: A Review of the Literature[J]. Can Respir J, 2019, 2019: 6860432.
- [17] Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, et al. Durvalumab plus platinum-etoposide versus platinum-etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial[J]. Lancet, 2019, 394(10212): 1929-1939.
- [18] Pan B, Chen Y, Song H, et al. Mir-24-3p downregulation contributes to VP16-DDP resistance in small-cell lung cancer by targeting ATG4A[J]. Oncotarget, 2015, 6(1): 317-331.
- [19] Zhou J, Wang Y, Wang Y, et al. FOXM1 modulates cisplatin sensitivity by regulating Exol in ovarian cancer[J]. PLoS One, 2014, 9(5): e96989.
- [20] Liang SK, Hsu CC, Song HL, et al. FOXM1 is required for small cell lung cancer tumorigenesis and associated with poor clinical prognosis[J]. Oncogene, 2021, 40(30): 4847-4858.
- [21] Wang Y, Wen L, Zhao SH, et al. FOXM1 expression is significantly associated with cisplatin-based chemotherapy resistance and poor prognosis in advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Lung Cancer, 2013, 79(2): 173-179.
- [22] Kim H, Park KJ, Ryu BK, et al. Forkhead box M1 (FOXM1) transcription factor is a key oncogenic driver of aggressive human meningioma progression[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2020, 46(2): 125-141.
- [23] Wei P, Zhang N, Wang Y, et al. FOXM1 Promotes Lung Adenocarcinoma Invasion and Metastasis by Upregulating SNAIL[J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(2): 186-198.
- [24] Dai J, Yang L, Wang J, et al. Prognostic Value of FOXM1 in Patients with Malignant Solid Tumor: A Meta-Analysis and System Review[J]. Dis Markers, 2015, 2015: 352478.
- [25] Liu Y, Chen X, Gu Y, et al. FOXM1 overexpression is associated with cisplatin resistance in non-small cell lung cancer and mediates sensitivity to cisplatin in A549 cells via the JNK/mitochondrial pathway[J]. Neoplasia, 2015, 62(1): 61-71.
- [26] Li R, Wang X, Zhao X, et al. Centromere protein F and Forkhead box M1 correlation with prognosis of non-small cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2020, 19(2): 1368-1374.
- [27] Nestal de Moraes G, Delbue D, Silva KL, et al. FOXM1 targets XIAP and Survivin to modulate breast cancer survival and chemoresistance[J]. Cell Signal, 2015, 27(12): 2496-2505.
- [28] Kongsema M, Wongkhiao S, Khongkow M, et al. Molecular mechanism of Forkhead box M1 inhibition by thiothrepton in breast cancer cells[J]. Oncol Rep, 2019, 42(3): 953-962.

(收稿日期: 2022-04-26)

(本文编辑: 周三凤)