·论著·

前列腺素D2受体对肺腺癌细胞增殖、迁移及自噬的影响

陈熹铭[1]，吴岑[2]
（中国医科大学附属盛京医院 1.肿瘤多组学研究创新实验室，辽宁 本溪 117004；2.呼吸与危重症医学科，沈阳 110004）

摘要 目的 探讨前列腺素D2受体（PTGDR2）对肺腺癌（LUAD）细胞增殖、迁移及自噬的影响。**方法** 使用siRNA敲低*PTGDR2*并联合PGD2处理肺腺癌A549细胞，采用Transwell实验、流式细胞术、实时PCR等评估PTGDR2对细胞增殖、迁移、自噬及肿瘤干细胞标志物的影响，并通过RAPA干预验证对自噬的调控。**结果** 激活PTGDR2信号可抑制A549细胞增殖和迁移能力，同时诱导自噬标志物上调，并降低肿瘤干细胞标志物表达水平。敲低*PTGDR2*则可阻断A549细胞自噬功能，增强肿瘤干细胞特性。**结论** PTGDR2可通过激活自噬抑制LUAD细胞肿瘤干细胞特性，具有降低LUAD耐药性的靶向治疗潜力。

关键词 前列腺素D2受体；肺腺癌；肿瘤干细胞；自噬
中图分类号 R734.2 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646（2025）07-0638-05
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250704.1630.006
DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.07.011

Effect of PTGDR2 on the proliferation, migration, and autophagy of lung adenocarcinoma cells

CHEN Ximing[1], WU Cen[2]
(1. Tumor Multi-omics Research Innovation Laboratory, Shengjing Hospital of China Medical University, Benxi 117004, China; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract Objective To investigate the role of PTGDR2 in the progression of lung adenocarcinoma (LUAD) and its potential as a therapeutic target in regard to regulating tumor stemness via autophagy. **Methods** In vitro experiments were conducted by silencing *PTGDR2* with siRNA and treating LUAD A549 cells with PGD2 in order to evaluate its effects on cell proliferation, invasion, and stem cell marker expression. Autophagy regulation was further verified by rapamycin treatment. **Results** Activation of PTGDR2 signaling inhibited A549 cell proliferation and invasion, induced the upregulation of autophagy markers, and reduced the expression of stem cell markers. In contrast, silencing *PTGDR2* blocked autophagy and enhanced tumor stemness. **Conclusion** PTGDR2 inhibits tumor stemness through the activation of autophagy, and therefore has potential as a therapeutic target to overcome drug resistance in LUAD.

Keywords PTGDR2; lung adenocarcinoma; cancer stem cell; autophagy

肺腺癌（lung adenocarcinoma，LUAD）是非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）中最为常见的类型，近年来其发病率和死亡率持续上升[1-2]。肿瘤细胞的浸润和转移是导致LUAD治疗失败的主要原因，而肿瘤干细胞的存在则是肿瘤复发和耐药的根源[3-5]。与此同时，肿瘤细胞通过免疫逃逸机制抑制免疫系统的抗肿瘤作用，进一步加剧了治疗的困难[6]。此外，肿瘤微环境的复杂性，包括低氧、免疫抑制和基质改变，也使得LUAD的治疗更加艰难[7-8]。

前列腺素D2（prostaglandin D2，PGD2）能够通过激活其受体（prostaglandin D2 receptor，PTGDR2），抑制肿瘤细胞的增殖和转移，还可能通过减少肿瘤干细胞（cancer stem cells，CSC）相关的免疫逃逸和免疫抑制信号，改善肿瘤免疫微环境，提高机体对肿瘤的免疫应答能力[9-13]。因此，PGD2/PTGDR2通路可能成为抑制CSC及改善肿瘤免疫微环境的潜在治疗靶点。本研究拟探讨PTGDR2在LUAD进展中的作用及其通过自噬调控CSC干性的靶向潜力，以期为PTGDR2在临床治疗中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

用含10% FBS和10 mg/mL青霉素-链霉素的RPMI 1640培养基（美国Gibco公司），在37 ℃、5%CO_2培养箱中，培养人LUAD细胞系A549（购自中国科学院细胞库）。每72 h换液1次。取对数生长期细胞用

作者简介：陈熹铭（1990-），男，助理实验师，硕士.
通信作者：吴岑，E-mail：cenwu@163.com
收稿日期：2025-05-07
网络出版时间：2025-07-07 09:54:59

于本研究。

1.2　细胞转染及分组

利用siRNA技术沉默*PTGDR2*，靶向*PTGDR2*的siRNA（大连瑞真生物技术有限公司）序列为5’-UCAACACGGUGCCCUAUUUTT-3’。转染前24 h接种A549细胞至24孔板（5×10^4/孔），待细胞生长达到30%~50%融合时，用lipofectamine 3000、Opti-MEM™培养基及50 nmol/L siPTGDR2或siNC进行细胞转染，在37 ℃、5%CO_2培养箱中继续培养18~48 h。将A549细胞随机分为5组：（1）siNC组，仅转染siNC；（2）siNC+PGD2组，用2 μg/mL PGD2处理siNC转染细胞；（3）siPTGDR2组，仅转染siPTGDR2；（4）siPTGDR2+PGD2组，用2 μg/mL PGD2处理siPTGDR2转染细胞；（5）siPTGDR2+PGD2+RAPA组，用2 μg/mL PGD2及20 μmol/L细胞自噬激动剂RAPA处理siPTGDR2转染细胞。

1.3　细胞迁移能力检测

将siNC组、siNC+PGD2组、siPTGDR2组、siPTGDR2+PGD2组细胞按照5×10^4/孔的密度，接种至Transwell上室。在Transwell上室添加无血清RPMI1640培养基，下室添加含1% FBS的培养基，培养24 h。取出小室，结晶紫染色，用PBS清洗。光学显微镜下观察并拍照，用ImageJ软件计算迁移细胞所占面积。

1.4　细胞增殖能力检测

按照1×10^4/孔的密度，将siNC组、siNC+PGD2组、siPTGDR2组、siPTGDR2+PGD2组细胞接种至24孔板中，加入含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基，在37 ℃、5% CO_2培养箱中培养1、3、5 d。在显微镜下计数细胞数，并计算增殖率。细胞增殖率=（实验组细胞数–对照组细胞数）/对照组细胞数×100%。

1.5　CSC标志物分析

siNC组、siNC+PGD2组、siPTGDR2组、siPTGDR2+PGD2组细胞培养3 d后，进行CSC表面抗原CD166染色，通过流式细胞术分析CSC标志物CD166阳性率。

1.6　实时PCR

使用RNeasy Mini Kit（美国Qiagen公司）提取5组细胞总RNA，逆转录cDNA，进行实时PCR。PCR反应体系：2×SYBR® Green Pro Taq HS Premix 20 μL，cDNA 2 μL，Primer F（10 μmol/L）0.4 μL，Primer R（10 μmol/L）0.4 μL，RNase free water 7.2 μL。*GAPDH*作内参照。引物序列如下：*LC3B*，正向5’-AGCAGCATCCAACCAAAATC-3’，反向5’-CTGTGTCCGTTCACCAACAG-3’；*CD166*，正向5’-TGGCTGTGTTTGAGATTGCC-3’，反向5’-TGGCGTAGTGTTGGTTCTGA-3’；*OCT4*，正向5’-GAGGAGTCCCAGGACATGAA-3’，反向5’-GGAGACCCAGCAGCCTCAAA-3’；*GAPDH*，正向5’-TTCCACCTTTGATGCTGGGG-3’，反向5’-CCATGTAGGCCATGAGGTCC-3’。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算自噬及CSC相关基因的相对表达量。

1.7　统计学分析

采用 SPSS 25.0软件进行统计学分析。计量资料用$\bar{x}\pm s$表示，组间比较采用两独立样本*t*检验，组内比较采用方差分析。计数资料用率（%）表示，采用χ^2检验进行比较。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　CSC表面抗原CD166染色结果

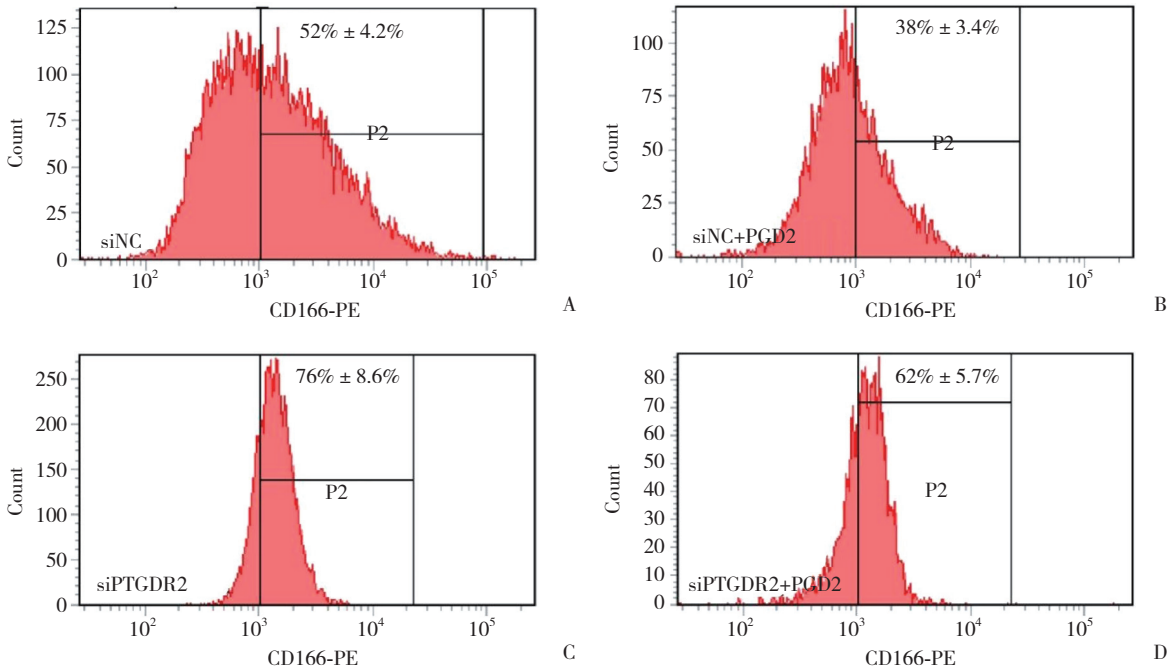
与siNC组细胞（52%±4.2%）相比，siNC+PGD2组细胞（38%±3.4%）CD166表达水平降低，siPTGDR2组细胞（76%±8.6%）和siPTGDR2+PDG2组细胞（62%±5.7%）CD166表达水平升高，差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。siPTGDR2+PDG2组细胞CD166表达水平与siPTGDR2组细胞比较无显著差异。提示PGD2可能通过其受体PTGDR2抑制CD166的表达，调控CSC特性。见图1。

2.2　PDG2/PTDGR2对A549细胞自噬及CSC相关基因表达的影响

实时PCR结果显示，与siNC组相比，siNC+PGD2组自噬相关基因*LC3B* mRNA表达水平升高，siPTGDR2组*LC3B* mRNA表达水平降低，差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。提示PGD2/PTDGR2信号可促进LUAD细胞自噬。见图2A。与siNC组相比，siNC+PGD2组CSC相关基因*CD166*、*OCT4* mRNA表达水平降低；siPTGDR2组、siPTGDR2+PGD2组和siPTGDR2+PGD2+RAPA组*CD166*、*OCT4* mRNA表达水较siNC+PGD2组升高；siPTGDR2+PGD2+RAPA组*CD166*、*OCT4* mRNA表达水平则较siPTGDR2组、siPTGDR2+PGD2组降低，差异均有统计学意义（均$P<0.05$）。说明PGD2诱导的CSC抑制作用由于敲低*PTGDR2*而消失，而自噬激活剂RAPA可增加*CD166*和*OCT4*的表达。提示自噬激动剂RAPA能够部分逆

转PTGDR2缺失带来的CSC特性增强现象，进一步证实了PTGDR2在自噬与CSC特性调控中的重要作用，见图2B。

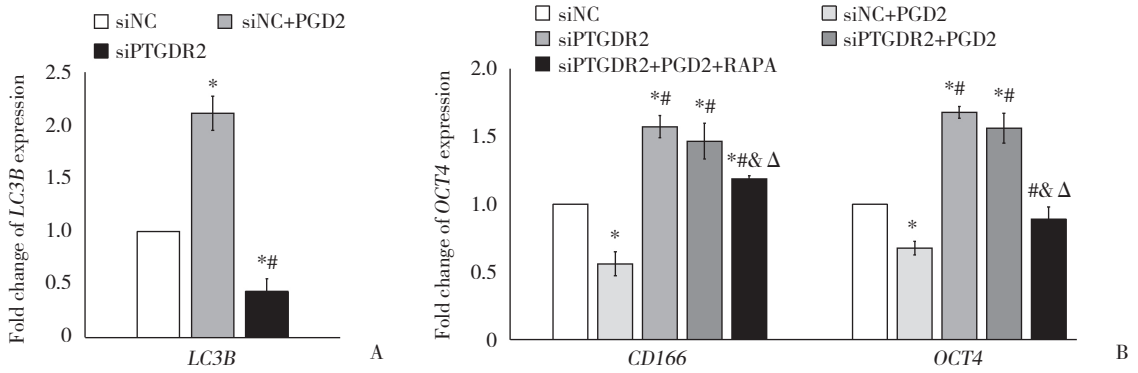
2.3　PDG2/PDGR2对A549细胞迁移及增殖的影响



A，siNC group；B，siNC+PGD2 group；C，siPTGDR2 group；D，siPTGDR2+PDG2 group.

图1　CSC表面抗原CD166染色结果

Fig.1　Cancer stem cell surface marker CD166 through staining results



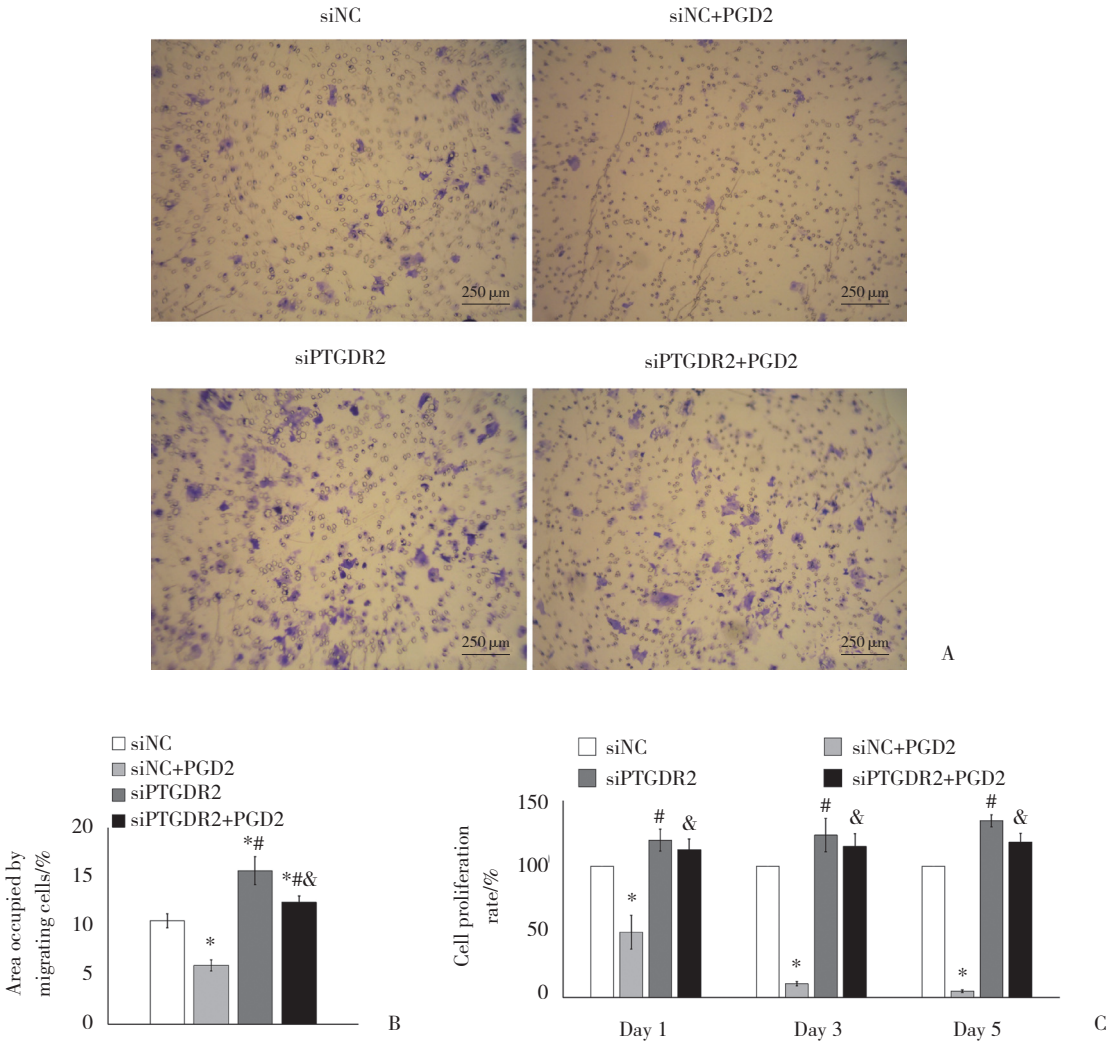
A，*LC3B* mRNA expression；B，*CD166* and *OCT4* mRNA expression. * $P < 0.05$ vs. siNC group；# $P < 0.05$ vs. siNC+PGD2 group；& $P < 0.05$ vs. siPTGDR2 group；Δ $P < 0.05$ vs. siPTGDR2+PGD2 group.

图2　实时PCR结果

Fig.2　Real time PCR results

Transwell实验结果显示，与siNC组细胞比较，siNC+PGD2组细胞迁移能力下降，siPTGDR2组、siPTGDR2+PGD2组细胞迁移能力增加，siPTGDR2+PGD2组细胞迁移能力较siPTGDR2组降低，差异均有统计学意义（均$P < 0.05$）。见图3A、3B。

对培养1、3、5 d的4组细胞进行计数并计算增殖率，结果显示，与siNC组比较，siNC+PGD2组细胞增殖率降低；与siNC+PGD2组比较，siPTGDR2组细胞增殖率升高；与siPTGDR2组比较，siPTGDR2+PGD2组细胞增殖率降低，差异均有统计学意义（均$P < 0.05$）。提示PGD2通过其受体 PTGDR2 抑制了LUAD细胞A549的增殖与迁移，而敲低*PTGDR2*可抵消这种抑制。见图3C。



A and B, the Transwell system was used to assess the migrative ability of A549 cells in each group; C, cell proliferation rate of four groups on day 1, 3, and 5. * $P < 0.05$ vs. siNC group; # $P < 0.05$ vs. siNC+PGD2 group; & $P < 0.05$ vs. siPTGDR2 group.

图3　PGD2/PTGDR2信号通路对A549细胞增殖和迁移的影响

Fig.3　Effect of PGD2/PTGDR2 signaling pathway on the proliferation and migration of A549 cells

3　讨论

PTGDR2作为G蛋白偶联受体家族成员，具有抗肿瘤特性。PTGDR2在LUAD、胃癌等实体肿瘤中普遍呈低表达，且其表达水平与患者的预后呈正相关[9-11]。PGD2能够通过激活其受体PTGDR2抑制CSC，主要机制包括以下2个方面：通过抑制STAT3的磷酸化和核转位，下调CSC相关基因的表达，削弱其自我更新能力；PTGDR2与E3泛素连接酶RNF5竞争结合ATG4B，促进自噬相关蛋白表达，激活自噬通路，从而进一步抑制CSC[10-13]。此外，PTGDR2的低表达还可能影响肿瘤微环境的免疫逃逸机制[14-17]。因此，PGD2/PTGDR2通路可能成为抑制CSC及改善肿瘤免疫微环境的潜在治疗靶点。

研究发现，胃癌组织中L-PTGDS/PTGDR2表达显著下调，且与CSC标志物（Sall4、Lgr5）的表达呈显著负相关。*PTGDR2*沉默可增强CSC自我更新能力，而外源性PGD2刺激或L-PTGDS过表达则能有效抑制CSC。PGD2/PTGDR2信号通路通过特异性阻断STAT3 Thr705位点磷酸化，抑制其核转位及转录激活功能，从而下调CSC相关基因表达[12]。本研究中，敲低*PTGDR2*后，A549细胞的CSC相关基因*CD166*和*OCT4*的表达上调，自噬相关基因*LC3B*表达下调，表明PTGDR2通过自噬调控轴抑制了A549细胞的CSC特性。自噬激动剂RAPA的干预能够部分逆转*PTGDR2*敲除带来的CSC干性增强，从而进一步证实了

PTGDR2在自噬与CSC调控中的重要作用。相比以往在胃癌等肿瘤模型中关于PTGDR2调控STAT3磷酸化或维持CSC特性的研究[11-12]，本研究结果拓展了PTGD2/PTGDR2信号通路在自噬调控方面的作用。

研究发现，PTGDR2的低表达与肿瘤增殖和转移相关，PGD2可通过PTGDR2依赖性方式显著抑制肿瘤生长及转移，且可被*PTGDR2*敲除完全逆转。因此，PTGDR2在PGD2介导的抗肿瘤效应中发挥着关键作用。本研究结果显示，PGD2通过PTGDR2抑制了LUAD细胞A549的增殖和迁移，而这一作用在*PTGDR2*敲除后被显著抵消。

综上所述，PTGDR2在LUAD的进展中发挥重要作用。PTGDR2能够通过激活PGD2/PTGDR2信号通路，抑制肿瘤细胞的增殖、迁移及CSC特性，并通过促进自噬抑制肿瘤进展。本研究结果为PTGDR2作为LUAD的治疗靶点提供了理论依据，并为PTGDR2激动剂在LUAD的临床治疗，尤其是在联合免疫治疗中的应用，提供了新的思路。

参考文献：

[1] DONG HH，TIAN YH，XIN SW，et al. Diagnosis and management of multiple primary lung cancer [J]. Front Oncol，2024，14：1392969. DOI：10.3389/fonc.2024.1392969.

[2] OLTEANU GE，KERN I，KALSON L，et al. From morphology to molecules：advances in the distinction of multiple primary lung cancers from intrapulmonary metastases in non-small cell lung cancer [J]. Adv Anat Pathol，2024，31 (5)：318-323. DOI：10.1097/PAP.0000000000000449.

[3] FAN L，WANG X，CHENG C，et al. Inhibitory effect and mechanism of ursolic acid on cisplatin-induced resistance and stemness in human lung cancer A549 cells [J]. Evid Based Complement Alternat Med，2023，14：1307323. DOI：10.1155/2023/1307323.

[4] ZHANG HF，JIANG H，ZHU LC，et al. Cancer-associated fibroblasts in non-small cell lung cancer：recent advances and future perspectives [J]. Cancer Lett，2021，514：38-47. DOI：10.1016/j.canlet.2021.05.009.

[5] DEL RE M，ARRIGONI E，RESTANTE G，et al. Concise review：resistance to tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer：the role of cancer stem cells [J]. Stem Cells，2018，36 (5)：633-640. DOI：10.1002/stem.2787.

[6] CASCONE T，FRADETTE J，PRADHAN M，et al. Tumor immunology and immunotherapy of non-small-cell lung cancer [J]. Cold Spring Harb Perspect Med，2022，12 (5)：a037895. DOI：10.1101/cshperspect.a037895.

[7] KACHLER K，BAILER M，HEIM L，et al. Enhanced acid sphingomyelinase activity drives immune evasion and tumor growth in non-small cell lung carcinoma [J]. Cancer Res，2017，77 (21)：5963-5976. DOI：10.1158/0008-5472.CAN-16-3313.

[8] PENG HX，WU XR，LIU SP，et al. Multiplex immunofluorescence and single-cell transcriptomic profiling reveal the spatial cell interaction networks in the non-small cell lung cancer microenvironment [J]. Clin Transl Med，2023，13 (1)：e1155. DOI：10.1002/ctm2.1155.

[9] DELGIORNO KE，CHUNG CY，VAVINSKAYA V，et al. Tuft cells inhibit pancreatic tumorigenesis in mice by producing prostaglandin D_2 [J]. Gastroenterology，2020，159 (5)：1866-1881.e8. DOI：10.1053/j.gastro.2020.07.037.

[10] SLANOVC J，MIKULČIĆ M，JAHN N，et al. Prostaglandin 15d-PGJ2 inhibits proliferation of lung adenocarcinoma cells by inducing ROS production and activation of apoptosis via sirtuin-1 [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis，2024，1870 (1)：166924. DOI：10.1016/j.bbadis.2023.166924.

[11] ZHANG Q，TIAN HJ，GE KP，et al. PGD2/PTGDR2 signaling pathway affects the self-renewal capacity of gastric cancer stem cells by regulating ATG4B ubiquitination [J]. Front Oncol，2024，14：1496050. DOI：10.3389/fonc.2024.1496050.

[12] ZHANG B，BIE QL，WU PP，et al. PGD2/PTGDR2 signaling restricts the self-renewal and tumorigenesis of gastric cancer [J]. Stem Cells，2018，36 (7)：990-1003. DOI：10.1002/stem.2821.

[13] WANG FF，TIAN HJ，GAO PY，et al. PGD2/PTGDR2 signaling affects the stemness of gastric cancer stem cells by regulating autophagy [J]. Comb Chem High Throughput Screen，2025. DOI：10.2174/0113862073372570250123091700.

[14] OOKI A，MALEKI Z，TSAY JJ，et al. A panel of novel detection and prognostic methylated DNA markers in primary non-small cell lung cancer and serum DNA [J]. Clin Cancer Res，2017，23 (22)：7141-7152. DOI：10.1158/1078-0432.CCR-17-1222.

[15] MARCOS-VADILLO E，GARCÍA-SÁNCHEZ A，SANZ C，et al. *PTGDR* gene expression and response to dexamethasone treatment in an in vitro model [J]. PLoS One，2017，12 (10)：e0186957. DOI：10.1371/journal.pone.0186957.

[16] TIAN HJ，GE KP，WANG LL，et al. Advances in PGD2/PTGDR2 signaling pathway in tumors：a review [J]. Biomol Biomed，2024，24 (5)：1055-1067. DOI：10.17305/bb.2024.10485.

[17] ZHANG Q，WANG FF，HUANG Y，et al. PGD2/PTGDR2 signal affects the viability，invasion，apoptosis，and stemness of gastric cancer stem cells and prevents the progression of gastric cancer [J]. Comb Chem High Throughput Screen，2024，27 (6)：933-946. DOI：10.2174/1386207326666230731103112.

（编辑　王又冬）