学,2022.
[26] Deane R, Singh I, Sagare AP, et al. A multimodal rage-specific inhibitor reduces amyloid β-mediated brain disorder in a mouse model of alzheimer disease[J]. J Clin Invest, 2012, 122(4): 1377-1392.
[27] Dobrucki IT, Miskalis A, Nelappana M, et al. Receptor for advanced glycation end-products: Biological significance and imaging applications[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2024, 16(1): 1935.
[28] 黄冬,苗锐,李阳,等. 海马高级糖基化终末产物受体和β-淀粉样前体蛋白裂解酶表达增加与自发性高血压大鼠认知功能损害相关性研究[J]. 陕西医学杂志,2022,51(1):20-24.
[29] 董一峰,狄婷婷,徐树雷,等. 不同浓度Aβ25-35对小胶质细胞上RAGE/NF-κB信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志,2019,39(14):3501-3505.
[30] Shi H, Koronyo Y, Fuchs DT, et al. Retinal arterial Aβ40 deposition is linked with tight junction loss and cerebral amyloid angiopathy in mci and ad patients[J]. Alzheimers Dement, 2023, 19(11): 5185-5197.
[31] 申杰, 徐桂华. 阿尔茨海默病与血脑屏障的相关性研究进展[J]. 实用医学杂志,2024,40(11):1602-1606.
[32] Deepika, Maurya PK. Health benefits of quercetin in age-related diseases[J]. Molecules, 2022, 27(8): 2498.
[33] 张泽,韩锟,贾宁. 荭草苷对APP/PS1转基因小鼠神经保护作用实验研究[J]. 陕西医学杂志,2020,49(5):534-537.
[34] 李可, 苗果, 柳秋, 等. 灯盏乙素通过细胞转运途径对阿尔茨海默病大鼠β-淀粉样蛋白跨血脑屏障的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2024,22(10):1782-1786.
[35] 高欣, 刘俊君, 荆尚文, 等. 基于网络药理学和细胞实验探讨橙皮素对LPS诱导的小胶质细胞炎症模型的改善作用[J]. 中成药,2024,46(5):1707-1715.

(收稿日期:2024-12-07)

丝胶靶向Akt调控PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导三阴乳腺癌细胞自噬

李警耀,张 睿,金美琪,陈志宏*
(承德医学院基础医学院,河北 承德 067000)

摘要: **目的** 探讨丝胶对PI3K/Akt/mTOR信号通路的调控及其对三阴性乳腺癌(TNBC) MDA-MB-468细胞自噬的诱导作用,并阐明作用靶点。**方法** 将MDA-MB-468细胞随机分为对照组(不含药物)、实验组(8 mg·mL^{-1}丝胶)、Akt激活剂组(8 mg·mL^{-1}丝胶+10 μmol·L^{-1} SC79),分别给予相应药物作用24 h后,采用RT-qPCR法检测各组细胞PI3K、Akt、mTOR、自噬效应蛋白(Beclin1)、自噬相关蛋白5(ATG5)、微管相关轻链蛋白3(LC3)、螯合体1(P62)mRNA表达水平;Western blotting法检测各组细胞PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、Beclin1、ATG5、LC3、P62蛋白表达水平;免疫荧光染色法检测各组细胞LC3、P62蛋白的定位及荧光强度。**结果** 与对照组相比,实验组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、mTOR、P62 mRNA及PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、P62蛋白水平均显著降低($P<0.05$),Beclin1、ATG5、LC3 mRNA水平及Beclin1、ATG5、LC3Ⅱ/LC3Ⅰ蛋白水平均显著升高($P<0.05$);与实验组相比,Akt激活剂组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、mTOR、P62 mRNA及PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、P62蛋白水平均显著升高($P<0.05$),Beclin1、ATG5、LC3 mRNA水平及Beclin1、ATG5、LC3Ⅱ/LC3Ⅰ蛋白水平均显著降低($P<0.05$)。**结论** 丝胶对MDA-MB-468细胞自噬的诱导作用可通过以Akt为靶点调控PI3K/Akt/mTOR信号通路的转导来实现。

关键词: 丝胶;三阴性乳腺癌;PI3K/Akt/mTOR信号通路;自噬;MDA-MB-468细胞
中图分类号: R587.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-6879(2025)06-0456-07

资助项目:国家自然科学基金项目(81441133);2025年承德医学院硕士在读研究生创新能力培养资助项目(CYCXZZ202501)
*通信作者

Sericin targets akt to regulate the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway to induce autophagy in triple-negative breast cancer cells

LI Jingyao, ZHANG Rui, JIN Meiqi, CHEN Zhihong*

(School of Basic Medical Sciences, Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China)

Abstract: Objective To investigate the induction of autophagy of MDA-MB-468 cells in triple-negative breast cancer (TNBC) by sericin through regulating the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway, and to clarify the target of action. **Methods** MDA-MB-468 cells were randomly divided into a control group (without drugs), an experimental group (8 mg·mL^{-1} sericin), and an Akt activator group (8 mg·mL^{-1} sericin + 10 μmol·L^{-1} SC79). After 24 hours treatment with corresponding drugs, the mRNA expression levels of PI3K, Akt, mTOR, autophagy effector protein (Beclin1), autophagy associated protein 5 (ATG5), microtubule associated light chain protein3 (LC3) and chelator 1 (P62) in cells of each group were detected by RT qPCR. The protein expression levels of PI3K, Akt, p-Akt, mTOR, p-mTOR, Beclin1, ATG5, LC3 and P62 in cells of each group were detected by Western blotting. The localization and fluorescence intensity of LC3 and P62 proteins in cells of each group were detected by immunofluorescence staining. **Results** Compared with the control group, the mRNA levels of PI3K, Akt, mTOR, and P62 and the protein levels of PI3K, Akt, p-Akt, mTOR, p-mTOR, and P62 in MDA-MB-468 cells of the experimental group were significantly decreased ($P<0.05$), while the mRNA levels of Beclin1, ATG5, LC3 and the protein levels of Beclin1, ATG5, LC3 Ⅱ/LC3 Ⅰ were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the experimental group, the mRNA levels of PI3K, Akt, mTOR, P62 and the protein levels of PI3K, Akt, p-Akt, mTOR, p-mTOR, P62 in MDA-MB-468 cells of the Akt activator group were significantly increased ($P<0.05$), while the mRNA levels of Beclin1, ATG5, LC3 and the protein levels of Beclin1, ATG5, LC3 Ⅱ/LC3 Ⅰ were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** The induction effect of sericin on autophagy of MDA-MB-468 cells can be achieved by targeting Akt to regulate the transduction of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway.

Key word: sericin; triple-negative breast cancer; PI3K/Akt/mTOR signaling pathway; autophagy; MDA-MB-468 cells

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer,TNBC)是一种以雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体2表达均呈阴性为主要特征的特殊类型乳腺癌,约占全球每年乳腺癌确诊人数的15%~20%[1-2],且近年来中青年患者数量呈现明显增长趋势[3]。目前,TNBC的临床治疗方法仍以化疗为主[4],但因TNBC具有分化程度低、侵袭性强、转移率高等特点,且缺乏特定的靶向药物[5-6],使其成为临床治疗中最具挑战性的乳腺癌亚型[7]。因此,探寻一种针对TNBC安全有效的药物,并明确其作用靶点是临床上亟须解决的问题。

自噬是真核生物细胞中维持内环境稳态的重要途径之一,可影响肿瘤的发生发展[8-9]。有研究发现[10-11],在胰腺癌、肺癌等多种癌症中,磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B,Akt)信号通路被异常激活后,可经雷帕霉素靶点蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)参与细胞自噬的调节。丝胶是蚕茧汤方主要成分之一,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等功能[12]。课题组前期研究发现[13],丝胶可通过调控PI3K/Akt信号通路抑制TNBC细胞系MDA-MB-468细胞增殖,促进其凋亡。为深入探讨丝胶的作用机制及靶点,本研究以MDA-MB-468细胞为研究对象并给予丝胶干预,观察细胞PI3K/Akt/mTOR信号通路及自噬相关因子的表达变化,同时给予Akt激活剂作用于丝胶干预下的MDA-MB-468细胞,分析丝胶调控PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导MDA-MB-468细胞自噬的靶点,以期为临床治疗TNBC提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂和仪器

人TNBC细胞系MDA-MB-468细胞(武汉普诺赛生命科技有限公司)。丝胶(日本和光纯药公司),DMEM培养

基(美国Thermo Fisher Scientific公司),SC79(美国MCE公司)、FastKing cDNA第一链合成试剂盒、TRNzol Universal总RNA提取试剂(北京天根生化科技有限公司),PCR引物(生工生物工程股份有限公司),BCA蛋白浓度测定试剂盒、RIPA(组织/细胞)裂解液(北京索莱宝科技有限公司),兔抗Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR单克隆抗体(美国CST公司),辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG及兔抗PI3K、自噬效应蛋白(autophagy effector protein,Beclin1)、自噬相关蛋白5(autophagy-related protein5,ATG5)、微管相关轻链蛋白3(microtubule-associated protein Light chain3,LC3)、螯合体1(sequestosome-1,P62)单克隆抗体(美国Abcam公司),兔抗β-actin单克隆抗体(美国ABclonal公司),CO_2细胞培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司),Mx3000P荧光定量PCR仪(上海吉泰生物科技有限公司),垂直电泳仪(北京六一仪器厂),激光共聚焦显微镜(日本奥林巴斯有限公司)。

1.2 细胞培养、分组及处理

37℃、5% CO_2条件下,在DMEM培养基(含10%特级胎牛血清、1%青链霉素)中将MDA-MB-468细胞培养4~5 d后传代、冻存。取对数生长期的MDA-MB-468细胞随机分为以下三组:对照组,使用不含药物的完全培养基培养24 h;实验组,使用含8 mg·mL^{-1}丝胶[13]的完全培养基培养24 h;Akt激活剂组,使用8 mg·mL^{-1}丝胶+10 μmol·L^{-1} SC79[13]的完全培养基培养24 h。

1.3 RT-qPCR法检测PI3K/Akt/mTOR信号通路及自噬相关因子mRNA的表达

取各组细胞,PBS清洗后提取总RNA,测定浓度、纯度后通过逆转录反应将各组细胞RNA转录成cDNA。以cDNA为模板,GAPDH为内参,采用RT-qPCR法扩增各目的基因片段,通过扩增曲线得到Ct值后采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。反应条件如下:95 ℃,30 s;95 ℃,5 s和60 ℃,30 s,共40个循环。引物序列:PI3K,F 5′-CTGCCTGCGACAGATGAGTGATG-3′,R 5′-ACTGCCCTATCCTCCGATTACCAA G-3′;Akt,F 5′-GCAGGATGTGGACCAACGTGAG-3′,R 5′-GCAGGCAGCGGATGATGAAGG-3′;mTOR,F 5′-CAACCAGCCAATCATTCGCATTCAG-3′,R 5′-ATGTCCGTTGCTGCCCATAAGTG-3′;Beclin1,F 5′-ACATCTGGCACAGTGGACAGTTTG-3′,R 5′-AGCATGGAGCAGCAACACAGT C-3′;ATG5,F 5′-GGACAGTTGCACACACTAGGAGATC-3′,R 5′-CTCAGATGTTCACTCAGCCACTGC-3′;LC3,F 5′-GCCTTCTTCCTGGTGAACC-3′,R 5′-TCCTCGTCTTTCTCCTGCTCGTAG-3′;P62,F 5′-TGATTGAGTCCCTCTCCCCAGATGC-3′,R 5′-CCGCTCCGATGTCATAGTTCTTGG-3′;GAPDH,F 5′-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3′,R 5′-TGGTGAAGACGCCAGTGG A-3′。

1.4 Western blotting法检测PI3K/Akt/mTOR信号通路及自噬相关因子蛋白的表达

取各组细胞,PBS清洗后加入RIPA裂解液(RIPA:PMSF=100:1)于-80 ℃条件下充分裂解,4 ℃离心后收集上清即为提取的总蛋白,测定浓度后进行SDS PAGE电泳、转膜、封闭(脱脂奶粉,室温2~3 h)、一抗孵育[PI3K(1:2 000)、Akt(1:1 000)、p-Akt(1:1 000)、mTOR(1:1 000)、p-mTOR(1:1 000)、LC3(1:1 000)、P62(1:1 000)、ATG5(1:1 000)、Beclin1(1:1 000),室温2 h后4 ℃过夜]、TBST洗膜、二抗孵育(1:10 000,室温1 h)、TBST洗膜、显影后获取图像,应用Image J软件分析条带灰度值,目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/β-actin蛋白条带灰度值。

1.5 免疫荧光染色法检测各组MDA-MB-468细胞LC3、P62的荧光强度及蛋白定位

取各组细胞,PBS清洗后进行固定(多聚甲醛,4 ℃,30 min)、封闭(0.4 g BSA + 1 mL山羊血清 + 19 mL PBS缓冲液,37 ℃,1 h)、一抗孵育[LC3(1:1 000),P62(1:1 000),室温30 min后4 ℃过夜]、PBS清洗、二抗孵育(1:10 000,室温1 h)、核染(DAPI溶液,室温5 min)、PBS清洗。在避光条件下采用激光共聚焦显微镜拍照后观察目的蛋白定位情况,并采用Image J软件分析计算目的蛋白的荧光强度。

1.6 统计学分析

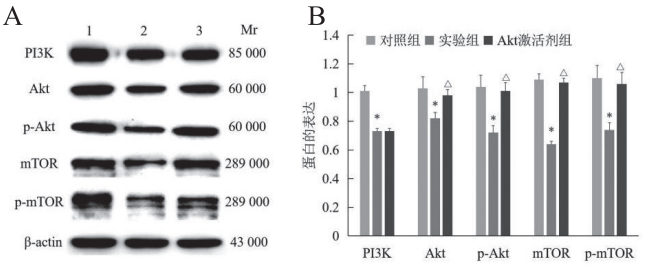
采用SPSS 26.0统计学软件进行数据分析。所有实验均重复3次,各组INS-1细胞存活率、凋亡率、目的mRNA(PI3K、Akt、mTOR、Beclin1、ATG5、LC3、P62)及目的蛋白(PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、Beclin1、ATG5、LC3、P62)表达水平均符合正态分布,以($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-t检验。

$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组MDA-MB-468细胞PI3K/Akt/mTOR信号通路PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR的表达

与对照组相比，实验组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、mTOR mRNA及PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR蛋白水平均显著降低（$P<0.05$）；与实验组相比，Akt激活剂组MDA-MB-468细胞Akt、mTOR mRNA及Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR蛋白水平均显著升高（$P<0.05$），PI3K mRNA及蛋白水平无明显差异（$P>0.05$），见图1、表1。



注：A.电泳图；B.直条图；1.对照组；2.实验组；3.Akt激活剂组；与对照组相比，*$P<0.05$；与实验组相比，△$P<0.05$。

图1 各组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、p-Akt、mTOR和p-mTOR蛋白表达

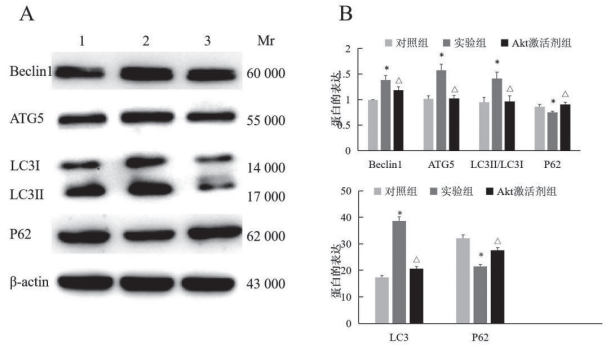
表1 各组PI3K/Akt/mTOR信号通路相关因子的表达（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组别	mRNA			Protein				
	PI3K	Akt	mTOR	PI3K	Akt	p-Akt	mTOR	p-mTOR
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.01±0.04	1.03±0.08	1.04±0.08	1.09±0.04	1.10±0.09
实验组	0.75±0.02*	0.83±0.04*	0.72±0.05*	0.73±0.02*	0.82±0.04*	0.72±0.05*	0.64±0.02*	0.74±0.05*
Akt激活剂组	0.74±0.03	1.09±0.12△	1.08±0.06△	0.73±0.02	0.98±0.04△	1.01±0.06△	1.07±0.03△	1.06±0.08△

注：与对照组相比，*$P<0.05$；与实验组相比，△$P<0.05$。

2.2 各组MDA-MB-468细胞自噬相关因子Beclin1、ATG5、LC3、P62的表达

与对照组相比，实验组MDA-MB-468细胞自噬相关因子Beclin1、ATG5、LC3 mRNA水平及Beclin1、ATG5、LC3Ⅱ/LC3Ⅰ蛋白水平均显著升高（$P<0.05$），P62 mRNA及蛋白水平均显著降低（$P<0.05$）；与实验组相比，Akt激活剂组MDA-MB-468细胞自噬相关因子Beclin1、ATG5、LC3 mRNA水平及Beclin1、ATG5、LC3Ⅱ/LC3Ⅰ蛋白水平均显著降低（$P<0.05$），P62 mRNA及蛋白水平均显著升高（$P<0.05$），见图2、表2。



注：A.电泳图；B.直条图；1.对照组；2.实验组；3.Akt激活剂组；与对照组相比，*$P<0.05$；与实验组相比，△$P<0.05$。

图2 各组MDA-MB-468细胞Beclin1、ATG5、LC3和P62蛋白表达

表2 各组MDA-MB-468细胞自噬相关因子Beclin1、ATG5、LC3、P62的表达（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组别	mRNA				Protein				蛋白荧光强度	
	Beclin1	ATG5	LC3	P62	Beclin1	ATG5	LC3 Ⅱ/LC3 Ⅰ	P62	LC3	P62
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.99±0.01	1.01±0.06	0.95±0.09	0.86±0.04	17.36±0.69	32.07±1.27
实验组	1.37±0.17*	1.56±0.19*	2.03±0.24*	0.64±0.06*	1.38±0.09*	1.57±0.12*	1.41±0.13*	0.75±0.02*	38.65±1.53*	21.48±0.74*
Akt激活剂组	1.04±0.06△	1.01±0.05△	1.09±0.22△	0.91±0.08△	1.18±0.07△	1.02±0.06△	0.96±0.11△	0.90±0.05△	20.62±0.84△	27.63±0.91△

注：与对照组相比，*$P<0.05$；与实验组相比，△$P<0.05$。

2.3 各组MDA-MB-468细胞LC3、P62蛋白定位及荧光强度

MDA-MB-468细胞细胞核经DAPI核染后呈浅蓝色。LC3、P62蛋白呈绿色荧光，二者均分布于细胞质。实验组MDA-MB-468细胞LC3平均荧光强度显著高于对照组（$P<0.05$）、P62平均荧光强度显著低于对照组（$P<0.05$）；Akt激活剂组MDA-MB-468细胞LC3平均荧光强度显著低于实验组（$P<0.05$）、P62平均荧光强度显著高于实验组

（$P<0.05$），见图3、图4、表2。

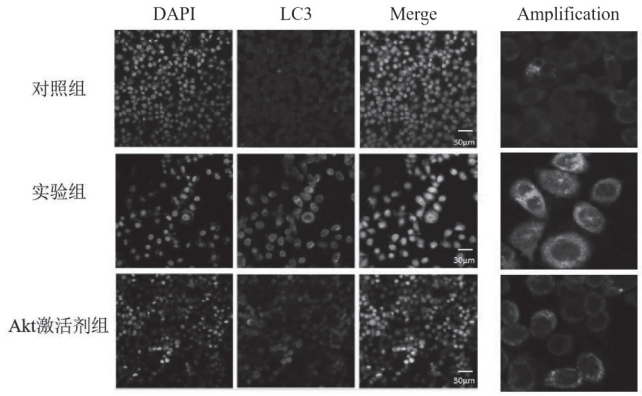


图3 各组MDA-MB-468细胞LC3蛋白定位及荧光强度

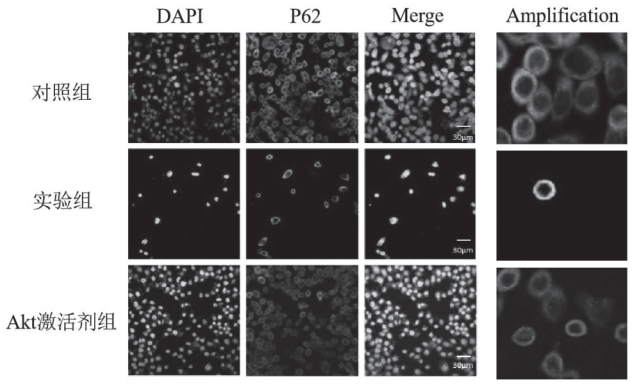


图4 各组MDA-MB-468细胞P62蛋白定位及荧光强度

3 讨论

自噬是一种细胞利用溶酶体降解途径进行自我吞噬的过程，在应对环境应激、营养压力及维持细胞稳态等方面发挥重要作用[14-15]。根据底物被包裹及运输途径的不同，可将自噬分为巨自噬、微自噬、分子伴侣介导的自噬三种类型[16-17]。本研究中所指自噬均为巨自噬（以下简称为自噬），其过程主要包括自噬启动、自噬体形成、自噬体与溶酶体融合、物质降解四个阶段[18]。在营养缺乏、低氧、氧化应激等诱导因素作用下，细胞内腺苷酸活化蛋白激酶被激活，进一步通过UNC-51样激酶1（UNC-51-like kinase 1，ULK1）复合物磷酸化PI3K复合物（包括Beclin-1、Vps34、ATG14等）[19-20]。Beclin-1是PI3K复合物的重要组成部分，可调节自噬体膜的起始形成位点，进而促进自噬体膜形成，被认为是自噬启动标志物[21-22]。ATG5与LC3均为自噬过程中的关键因子，二者分别通过形成复合物（ATG5-ATG12-ATG16）及形式转化（LC3 Ⅰ经泛素途径转化为LC3 Ⅱ）参与自噬体膜结构的延伸与闭合，进而促进自噬体的形成[23-24]。自噬体形成后，借助微管骨架与溶酶体相融合，构建成自噬溶酶体，对所包裹的内容物进行降解，随后将降解产物释放至细胞质中，实现循环再利用[25-26]。本研究中，实验组MDA-MB-468细胞Beclin1、ATG5、LC3 Ⅱ/LC3 Ⅰ表达水平较对照组均明显升高，说明丝胶可通过调控MDA-MB-468细胞自噬的启动及自噬体形成来诱导自噬的发生。P62蛋白作为一种自噬通量蛋白，能够识别并结合泛素化的蛋白或受损的细胞器等底物，并将这些底物靶向到自噬体后共同被包裹至溶酶体进行降解，以维持细胞内的蛋白质稳态，因此常被作为衡量自噬流是否通畅的指标之一，并与自噬活性呈负相关[27-28]。本研究中，实验组MDA-MB-468细胞P62表达水平较对照组明显降低，表明丝胶还可通过调控P62表达来保持MDA-MB-468细胞自噬流的通畅。由此可见，丝胶对MDA-MB-468细胞自噬过程的多个环节均可发挥调控作用。

PI3K/Akt/mTOR信号通路广泛参与细胞代谢、增殖、自噬及凋亡等过程，与肿瘤的发生发展密切相关[11,29]，PI3K是此通路上游关键信号分子，一旦被激活，可使磷脂酰肌醇三磷酸发生磷酸化，进而磷酸化下游Akt，活化的Akt可继续激活mTOR[30]。mTOR在自噬的调控中起着关键作用，其磷酸化后可通过抑制ULK1的活性阻止自噬的启动，进而发挥对自噬的负性调控作用[31]。在本研究中，实验组MDA-MB-468细胞PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR的表达水平均显著低于对照组，结合上述丝胶对MDA-MB-468细胞自噬相关因子表达的调控作用，提示丝胶诱导MDA-MB-468细胞发生自噬可通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路的转导来实现。在此基础上，为进一步验证丝胶的作用靶点，本研究采用Akt激活剂SC79、丝胶共同处理MDA-MB-468细胞，结果显示此细胞PI3K/Akt/mTOR信号通路及自噬相关因子的表达情况均与丝胶单独处理时相反，提示丝胶能够以Akt为作用靶点，通过对PI3K/Akt/mTOR信号通路的转导进行调控，进而诱导MDA-MB-468细胞发生自噬，这可能是丝胶抗TNBC的作用机制之一。但本研究尚未探讨在体内模型中丝胶抗TNBC的作用机制，对于丝胶的临床应用仍具有一定的局限性，后续还需要进行更深入的研究。

参考文献

[1] Nan J, Hu X, Guo B, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress alleviates triple-negative breast cancer cell viability, migration, and invasion by Syntenin/SOX4/Wnt/β-catenin pathway via regulation of heat shock protein A4[J]. Bioengineered, 2022, 13(4): 10564-10577.

[2] 李粤泷，蔡茂坪，卢燕. 铜死亡及其在乳腺癌中的作用研究进展[J]. 中国医药生物技术，2024，19(4)：353-356，369.

[3] 王冠瑛. 分数微积分模型在乳腺疾病诊断中的应用价值[D]. 郑州：河南大学，2023.

[4] Chen Y, Li WX, Wu JH, et al. Does the dose of standard adjuvant chemotherapy affect the triple-negative breast cancer benefit from extended capecitabine metronomic therapy? an exploratory analysis of the SYSUCC-001 trial[J]. Breast Cancer (Dove Med Press), 2024, (16): 223-231.

[5] 陈安莉，沈浩元，舒王. 三阴性乳腺癌新辅助治疗的临床研究进展[J]. 现代肿瘤医学，2023，31(3)：566-571.

[6] 张芳. 三阴性乳腺癌新辅助化疗的研究进展[J]. 中国冶金工业医学杂志，2024，41(2)：137-138.

[7] Leon-Ferre RA, Goetz MP. Advances in systemic therapies for triple negative breast cancer[J]. BMJ, 2023, 381: e071674.

[8] Devis-Jauregui L, Eritja N, Davis ML, et al. Autophagy in the physiological endometrium and cancer[J]. Autophagy, 2021, 17(5): 1077-1095.

[9] 蒋琦炜，张德宇，石烟祝，等. 细胞自噬与肿瘤发生发展[J]. 军事医学，2021，45(3)：234-241.

[10] Zhou J, Jiang Y, Chen H, et al. Tanshinone I attenuates the malignant biological properties of ovarian cancer by inducing apoptosis and autophagy via the inactivation of PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Cell Prolif, 2020, 53(2): e12739.

[11] Xu Z, Han X, Ou D, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy for tumor therapy[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(2): 575-587.

[12] 张亚亨，李慧，刘雪乐，等. 中药蚕茧壳的药理及临床研究进展[J]. 上海中医药杂志，2020，54(4)：102-105.

[13] Niu L, Yang S, Zhao XY, et al. Sericin inhibits MDAMB468 cell proliferation via the PI3K/Akt pathway in triplenegative breast cancer[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(2): 140.

[14] Deretic V. Autophagy in inflammation, infection, and immunometabolism[J]. Immunity, 2021, 54(3): 437-453.

[15] Orhon I, Rocchi C, Villarejo-Zori B, et al. Autophagy induction during stem cell activation plays a key role in salivary gland self-renewal[J]. Autophagy, 2022, 18(2): 293-308.

[16] Fleming A, Bourdenx M, Fujimaki M, et al. The different autophagy degradation pathways and neurodegeneration[J]. Neuron, 2022, 110(6): 935-966.

[17] Kocak M, Ezazi Erdi S, Jorba G, et al. Targeting autophagy in disease: established and new strategies[J]. Autophagy, 2022, 18(3): 473-495.

[18] Liu S,Yao S,Yang H, et al. Autophagy: regulator of cell death[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(10): 648.

[19] Wang B, Mao J, Wang B, et al. Exosomal miR-1910-3p promotes proliferation,metastasis,and autophagy of breast cancer cells by targeting MTMR3 and activating the NF-κB signaling pathway[J]. Cancer Lett, 2020, 489: 87-99.

[20] Li PP, LI RG, Huang YQ, et al. LncRNA OTUD6B-AS1 promotes paclitaxel resistance in triple negative breast cancer by regulation of miR-26a-5p/MTDH pathway-mediated autophagy and genomic instability[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(21): 24171-24191.

[21] Pareek G, Kundu M. Physiological functions of ULK1/2[J]. J Mol Biol, 2024, 436(15): 168472.

[22] 朱可芯，吴敏，卞芝琳，等. 基于自噬调控探讨平衡阴阳治疗慢性肾脏病理论创新和临床实践[J]. 环球中医药，2024，17(8)：1573-1579.

[23] Popelka H, Lahiri V, Hawkins WD, et al. The intrinsically disordered N terminus in Atg12 from yeast is necessary for the functional structure of the protein[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(20): 15036.

[24] 田华，郭连军，刘富，等. 葛根素下调Atg5、LC3Ⅰ/Ⅱ蛋白对缺血再灌注脑损伤小鼠的神经保护作用[J]. 中国临床药理学杂志，2023，39(4)：508-512.

[25] Lee Y, Kim J, Kim MS, et al. Coordinate regulation of the senescent state by selective autophagy[J]. Dev Cell, 2021, 56(10): 1512-1525.

[26] 周岚. 益气活血法调控自噬延缓失神经肌萎缩的理论[J]. 光明中医，2024，39(16)：3344-3346.

[27] Kageyama S, Gudmundsson SR, Sou YS, et al. p62/SQSTM1-droplet serves as a platform for autophagosome formation and anti-oxidative stress response[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 16.

[28] Nowosad A, Jeannot P, Callot C, et al. p27 controls Ragulator and mTOR activity in amino acid-deprived cells to regulate the autophagy-lysosomal pathway and coordinate cell cycle and cell growth[J]. Nat Cell Biol, 2020, 22(9): 1076-1090.

[29] 刘蒙，黄晓东，韩峥，等. 钙黏蛋白17对结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响及其PI3K/AKT/mTOR信号通路调节机制[J]. 吉林大学学报(医学版)，2023，49(4)：1008-1017.

[30] Barra F, Evangelisti G, Ferro Desideri L, et al. Investigational PI3K/AKT/mTOR inhibitors in development for endometrial cancer[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2019, 28(2): 131-142.

[31] 武强，赵冉，葛中宽，等. 细胞自噬治疗肿瘤的研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志，2024，31(16)：1029-1036.

（收稿日期：2025-07-29）

EID2B在结肠癌中的表达及与细胞迁移的相关性分析

赵 巍[1]，吴豫丹[2]，王意霄[1]，刘秋艳[2]，侯志平[1*]

（1.承德医学院基础医学院，河北 承德 067000；2.承德医学院附属医院消化内科，河北 承德 067000）

摘要：目的 探究EID2B在结肠癌（COAD）免疫微环境中对肿瘤细胞迁移的影响。**方法** 通过TCGA数据库分析EID2B在COAD中的表达水平，及其与临床分期及生存曲线的关系；HPA数据库分析EID2B的蛋白表达水平；TIMER数据库分析EID2B与免疫细胞浸润的相关性；TCGA数据库进行EID2B生物学过程富集分析；利用体外实验设计siRNA转染THP-1诱导的巨噬细胞以敲减EID2B表达，RT-qPCR检测EID2B敲减效率。划痕实验、Transwell实验评估对HCT116细胞迁移能力的影响。**结果** EID2B在COAD中呈低表达（$P<0.05$），与淋巴结转移和M2巨噬细胞的浸润水平呈负相关（$P<0.05$）；敲减EID2B的巨噬细胞培养上清可促进HCT116的迁移（$P<0.05$）。**结论** EID2B低表达与COAD淋巴结转移相关，敲减EID2B可促进肿瘤迁移。

关键词： EID2B；结肠癌；预后；免疫细胞浸润；巨噬细胞

中图分类号： R735.35 **文献标志码：** A **文章编号：** 1004-6879(2025)06-0462-06

Correlation between EID2B expression and cell migration in colon cancer

ZHAO Wei[1], WU Yudan[2], WANG Yixiao[1], LIU Qiuyan[2], HOU Zhiping[1*]

(1.School of Basic Medical Sciences, Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China;

(2.Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China)

Abstract: Objective To investigate whether EID2B affects tumor cell migration within the colon adenocarcinoma (COAD) immune microenvironment, and to provide a reference for subsequent research in this field. **Methods** The expression levels of EID2B in COAD were analyzed using the TCGA database, along with its relationship to clinical staging and survival curves; the HPA database was interrogated for analyze the protein expression levels of EID2B; the TIMER database was utilized to analyze the correlation between EID2B and immune cell infiltration; the TCGA database was applied to enrichment analysis of EID2B biological processes; in vitro experiments involved the design of siRNA transfection in THP-1 induced macrophages to knock down EID2B expression, with RT-qPCR detecting the efficiency of EID2B knockdown. Scratch assays and Transwell assays were conducted to evaluate the impact on the migration ability of HCT116 cells. **Results** EID2B is underexpressed in COAD ($P<0.05$), correlated with lymph node metastasis ($P<0.05$), and significantly correlated with macrophage infiltration ($P<0.05$). The culture supernatant from EID2B knockdown macrophages promoted the migration of HCT116 cells ($P<0.05$). **Conclusion** EID2B underexpression is associated with lymph node metastasis in COAD, and knocking down EID2B promotes tumor migration.

Key words: EID2B; colon adenocarcinoma; prognosis; immune cell infiltration; macrophage

资助项目：承德医学院重点学科资助—病理学与病理生理学；河北省科学技术厅重点研发项目：卫生健康创新专项(21377791D)；河北省高等学校科学技术研究项目(ZD2022124)；河北省硕士在读研究生创新能力培养资助项目(CXZZSS2024117)

*通信作者