

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.005

· 基础研究 ·

在肺腺癌组织中低表达的STING可通过抑制内质网应激促进肺腺癌进展

李正, 方钱, 杨明金, 陈涛涌(海军军医大学 免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)

[摘要] **目的:** 分析干扰素基因刺激因子(STING)在肺腺癌中的表达及其与肺腺癌患者临床特征间的关系, 探讨STING与内质网应激的相关性及其在调控肺腺癌进展中的作用机制。 **方法:** 利用TIMER数据库分析STING基因在泛癌水平的表达情况, 利用UALCAN和HPA数据库分析STING在肺腺癌组织中的表达及其与肺腺癌患者临床特征间的关系, 利用Kaplan-Meier生存函数分析STING表达与肺腺癌患者OS率间的关系。利用LinkedOmics数据库对肺腺癌表达谱数据进行STING基因共表达分析, 对STING相关差异表达基因(DEG)进行GO功能与KEGG通路富集分析, 通过GSEA筛选STING调控肺腺癌的潜在通路。使用STING激动剂diABZI及内质网应激抑制剂TUDCA对肺腺癌A549与H460细胞进行处理, 通过qPCR、WB法检测STING及内质网应激相关分子的表达, 通过CCK-8法检测细胞增殖活力。 **结果:** 肺腺癌组织和细胞中STING的表达水平均显著低于正常肺组织(均 $P<0.01$), STING高表达肺腺癌患者5年OS率显著高于低表达患者($P<0.01$), STING的表达与肺腺癌患者的年龄、性别等临床特征密切相关(均 $P<0.01$)。STING高表达在肺腺癌外源性抗原处理及提呈等通路上存在富集(均 $P<0.01$)。使用STING激动剂可显著诱导肺腺癌细胞发生内质网应激($P<0.05$), STING诱导活化后肺腺癌细胞增殖活力显著下降(均 $P<0.01$), 内质网应激抑制剂能部分恢复STING活化诱导后下降的细胞活力($P<0.05$)。 **结论:** STING基因在肺腺癌中低表达, 其表达下调与肺腺癌患者预后不良相关, 其机制可能是STING通过诱导内质网应激而抑制肺腺癌细胞活力。

[关键词] 干扰素基因刺激因子; 肺腺癌; 预后判断; 内质网应激

[中图分类号] R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)04-0309-09

Low STING expression in lung adenocarcinoma promotes tumor progression via inhibiting endoplasmic reticulum stress

LI Zheng, FANG Qian, YANG Mingjin, CHEN Taoyong (National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Objective: To analyze the expression of stimulator of interferon gene (STING) in lung adenocarcinoma and the correlation between clinical features of lung adenocarcinoma patients and the expression of STING, and to investigate the association of STING with endoplasmic reticulum (ER) stress, and the functions and mechanisms of STING in regulating the progression of lung adenocarcinoma. **Methods:** The expression of STING at pan-cancer level was analyzed by using TIMER database. The expression of STING in lung adenocarcinoma tissue and the correlation between STING expression and clinical features of lung adenocarcinoma patients were explored by using UALCAN and HPA database. The correlation between STING expression and overall survival (OS) rates of lung adenocarcinoma patients was analyzed by using Kaplan-Meier survival function. Analysis of the co-expressed genes with STING was performed based on the expression profile data of lung adenocarcinoma from LinkedOmics database. GO function and KEGG pathway analyses were conducted to investigate the differential expressed genes (DEGs) of STING, and GSEA was performed to explore the potential pathways through which STING might regulate lung adenocarcinoma. The STING agonist, diABZI, and the ER stress inhibitor, TUDCA, were used to treat lung adenocarcinoma cell lines, A549 and H460, and the expressions of STING and ER stress-associated molecules were examined by qPCR and Western blotting, and the cell vitality was detected by CCK-8 assays. **Results:** The expressions of STING in lung adenocarcinoma tissues and cells were significantly lower than those in normal lung tissues (all $P<0.01$). The 5-year OS rates of lung adenocarcinoma patients with high STING expression were notably higher than those of low-expression patients ($P<0.01$), and the expression of STING were closely correlated with clinical characteristics of the lung adenocarcinoma patients, such as age and gender (all $P<0.01$). High STING expression was enriched in pathways, such as exogenous antigen processing and presentation in lung adenocarcinoma (all $P<0.01$). The use of STING agonist significantly induced ER stress in lung adenocarcinoma ($P<0.05$). STING activation significantly lowered the vitality of lung adenocarcinoma cells (all $P<0.01$), which

[基金项目] 国家自然科学基金(No. 31970892)

[作者简介] 李正(1996—), 男, 硕士生, 主要从事固有免疫研究, E-mail: lizhengnm@163.com

[通信作者] 陈涛涌, E-mail: chenthelix@126.com

could be partly reversed by using the ER stress inhibitor ($P<0.05$). **Conclusion:** The expression of STING is downregulated in lung adenocarcinoma, which is closely associated with worse clinical prognosis of the lung adenocarcinoma patients. STING could inhibit lung adenocarcinoma cell vitality by inducing ER stress.

[Key words] stimulator of interferon gene (STING); lung adenocarcinoma; prognosis prediction; endoplasmic reticulum stress

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(4): 309-317. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.005]

肺癌是临床上最常见的癌症之一,也是肿瘤相关死亡的主要原因^[1-2]。非小细胞肺癌是肺癌最为常见的类型,其中肺腺癌约占非小细胞肺癌的55%^[3]。尽管肺腺癌的基础与临床研究目前方兴未艾,其筛查与诊治也已取得极大进展^[4],但临床上仍有相当一部分肺腺癌患者表现为治疗后复发或治疗抵抗,进一步揭示肺腺癌的发生发展机制具有重要临床意义。干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon gene, STING)是胞内病原性DNA识别后触发固有免疫反应的关键接头分子^[5-7]。环磷酸鸟苷-磷酸腺苷合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)结合病原性DNA催化cGAMP(cyclic GMP-AMP)的合成,后者活化定位于内质网的STING,促进STING向高尔基复合体转位并诱导I型IFN以及相关炎症细胞因子的表达^[8-9]。研究表明,STING与肿瘤发生发展密切相关。一方面,STING活化后促进I型IFN的合成,进而诱导DC成熟,促进适应性免疫应答,抑制肿瘤生长^[10];另一方面,STING能够在慢性炎症背景下发挥促肿瘤作用,并通过产生免疫抑制微环境促进肿瘤发生或转移^[11-13]。目前,STING在肺腺癌进展中的作用尚无确切结论。本研究主要探讨STING与肺腺癌患者临床特征的相关性,分析STING参与调控肺腺癌进展的潜在通路,重点研究STING与内质网应激间的相关性,阐释内质网应激和STING参与调控肺腺癌进展的分子机制,旨在为肺腺癌的临床诊疗及预后判断提供新的靶点和思路。

1 材料与方法

1.1 STING转录组数据获取及分析

从癌症基因组图谱(TCGA)数据库(<http://tcga-data.nci.nih.gov/taga/>)检索获取STING在不同肿瘤中的转录组数据,利用TIMER数据库分析STING在不同肿瘤中的表达差异。进一步从TCGA数据库中获得肺腺癌STING的表达数据,分析正常肺组织与肺腺癌原位样本它们的表达差异。从TCGA数据库肺腺癌转录组样本中获得STING表达与患者的生存信息,利用Kaplan-Meier生存函数分析STING表达与肺腺癌患者OS率的差异。

1.2 基于UALCAN数据库对TCGA数据分析

在UALCAN数据库(<http://ualcan.path.uab.edu>)

中检索STING在肺腺癌中的转录组数据,比较不同分期肺腺癌与癌旁组织中STING的表达差异,并分析肺腺癌与癌旁组织样本中STING基因启动子甲基化差异。

1.3 HPA(Human Protein Atlas)数据库STING相关数据分析

在HPA数据库(<http://www.proteinatlas.org>)病理和组织模块中检索STING,获取STING在肺腺癌组织及正常肺组织中的免疫组化染色样本,分析STING在肺腺癌和正常肺组织中的表达差异。

1.4 STING基因共表达分析

在LinkedOmics数据库(<http://www.linkedomics.org/admin.php>)中选择LUAD HiSeq RNA数据集,对STING基因进行Pearson相关性分析,获取差异表达基因(differential expressed gene, DEG)与STING的相关性热图,并筛选与STING表达相关的基因。

1.5 GO功能和KEGG信号通路分析

根据STING基因表达中位值,将TCGA数据库中的肺腺癌患者样本分为STING高表达组和STING低表达组,筛选 $P<0.01$ 以及 $\log_2 |FC| > 1$ 的基因,对所筛选到DEG进行GO功能富集分析,并利用KEGG基因集数据库进行通路富集分析。随后,对所有上述基因进行基因富集分析(gene enrichment analysis, GSEA),筛选 $P<0.05$ 以及 $|NES| > 1$ 的结果。

1.6 细胞及主要试剂

人支气管上皮细胞BEAS-2B和人肺腺癌上皮细胞H1299、H460和A549均购于美国模式菌种收集中心(ATCC细胞库)并由本实验室常规培养及冻存。

WB实验抗体包括抗STING、BiP、IRE1 α 、PERK、p-PERK、eIF2 α 、p-eIF2 α 和ATF6 α 均购于Cell Signalling Technology公司,抗p-IRE1 α 购于Abcam公司,抗 β -Actin抗体、毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)购于Sigma-Aldrich公司,HRP偶联的抗兔及抗鼠二抗、WB发光底物试剂和蛋白质Marker均购于Thermo Scientific公司,总RNA极速抽提试剂盒购于飞捷生物公司,反转录cDNA合成试剂盒购于赛维尔生物公司,qPCR试剂盒购于全式金生物公司,STING激动剂diABZI、内质网应激抑制剂牛磺胆去氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid, TUDCA)购于MedChemExpress公司,二甲基亚砜(dimethyl

sulfoxide, DMSO) 购于生工生物公司, CCK-8 实验试剂盒购于美仑生物公司。

1.7 细胞培养及主要处理方法

人支气管上皮细胞 BEAS-2B 及肺腺癌细胞 H1299、H460 与 A549 在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 或 1640 培养基中, 于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养。A549 及 H460 细胞分别使用 TG (1 μmol/L) 处理 0、1、2、4、8、12 h。低氧处理 A549 及 H460 细胞时将细胞置于低氧培养箱内培养 0、6、12、24、48 h。

1.8 WB 法检测 BEAS-2B、A549、H460、H1299 细胞中 STING 及内质网应激相关分子的表达水平

向不同条件处理后的细胞中加入含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的细胞裂解液, 收取裂解液并进行蛋白质制样。制好的蛋白质样品使用 10% SDS-PAGE 进行分离, 将蛋白质转印至硝酸纤维素膜上。使用 5% 的牛奶或 BSA 对含有预期分子量大小的膜进行封闭后, 加入均以 1:1 000 稀释的抗 STING、BiP、IRE1α、p-IRE1α、PERK、p-PERK、eIF2α、p-eIF2α、ATF6α 和 β-Actin 一抗, 4 °C 下过夜。用 TBST (含 0.1% Tween-20 的 TBS 溶液) 洗膜 3 次 (10 min/次), 加入 HRP 偶联的抗兔或抗鼠二抗 (1:2 000) 室温下反应 1 h。TBST 洗膜后, 用化学发光法对蛋白质条带进行曝光、显色, 采用 Image J 软件分析蛋白质条带的灰度值。

1.9 qPCR 法检测 BEAS-2B、A549、H460 及 H1299 细胞中 STING mRNA 的表达水平

用飞捷 RNA 抽提试剂盒提取 BEAS-2B、A549、H460 及 H1299 细胞总 RNA 后, 根据试剂盒操作提示对 RNA 进行反转录以获得 cDNA, 利用全式金 qPCR 试剂盒对反转录得到的 cDNA 进行 qPCR 实验。反应体系按照 10 μL 2×Top Green qPCR Super Mix、定量 PCR 上下游引物 0.8 μL (终浓度为 10 μmol/L)、9.2 μL cDNA 模板配制。引物序列: STING 上游引物为 5'-CCAGAGCACACTCTCCGGTA-3', 下游引物为 5'-CGCATTTGGGAGGGAGTAGTA-3'; β-Actin 上游引物为 5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3', 下游引物为 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'。反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 高温变性 5 s、60 °C 退火 34 s、72 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。按照 2^{-ΔΔCt} 法计算各目的基因 mRNA 的相对表达量。

1.10 CCK-8 法检测处理后的肺腺癌 H460、A549 细胞存活率

对生长状态良好的 H460、A549 细胞使用胰酶进行消化, 获得细胞悬液后进行 96 孔板铺板, 每孔接种 100 μL 密度为 5×10⁴ 个/mL 的细胞悬液, 每组设置 3 个复孔, 待细胞完全贴壁后进行后续操作。浓度梯度

处理细胞时使用不同浓度 STING 激动剂 diABZI (0、10、20、50、100、200 nmol/L) 处理细胞 12 h; 时间梯度处理细胞时使用 STING 激动剂 diABZI (20 nmol/L) 处理细胞 0、1、2、4、8、12 h; STING 激动剂 diABZI (20 nmol/L) 联合内质网应激抑制剂 TUDCA (0、20 或 40 μmol/L) 处理细胞 0、1、2、4、8、12 h^[14]。随后在各实验点每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 轻拍培养板混匀, 继续在培养箱内培养 30 min。取出培养板, 使用酶标仪在 450 nm 波长处测定光密度 (D) 值, 按照公式“细胞存活率=[(实验孔 D 值-对照孔 D 值)/(对照孔 D 值-空白孔 D 值)]×100%”计算细胞存活率。

1.11 统计学处理

WB、qPCR、CCK-8 法等实验均独立重复 3 次。采用 SPSS 22.0 以及 GraphPad 8.0.2 进行数据分析。基于生物信息学分析所得的数据均采用 R 语言 4.0.3 软件进行统计; 用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 STING 表达与 OS 率之间的关系, 通过 Log-Rank 检验计算 P 值; STING 基因表达与肺腺癌患者临床特征的关系采用卡方检验, 组间计量数据比较采用 t 检验或单因素方差分析。以 P<0.05 或 P<0.01 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 STING 在肺腺癌组织和细胞中均呈低表达

TIMER 数据库数据分析结果发现, 不同类型肿瘤组织中 STING 的表达水平不相同, 其中在浸润性乳腺癌、肾嫌色细胞癌、肾乳头状细胞癌、肺腺癌及肺鳞状细胞癌等肿瘤组织中 STING 的表达均出现下调 (图 1A, 均 P<0.01)。

TCGA 数据库数据分析结果 (图 1B) 发现, 肺腺癌组织中 STING 的表达相较于正常肺组织明显下降 (P<0.01); 配对肺腺癌组织样本中 STING 的表达水平显著低于癌旁组织 (P<0.01)。

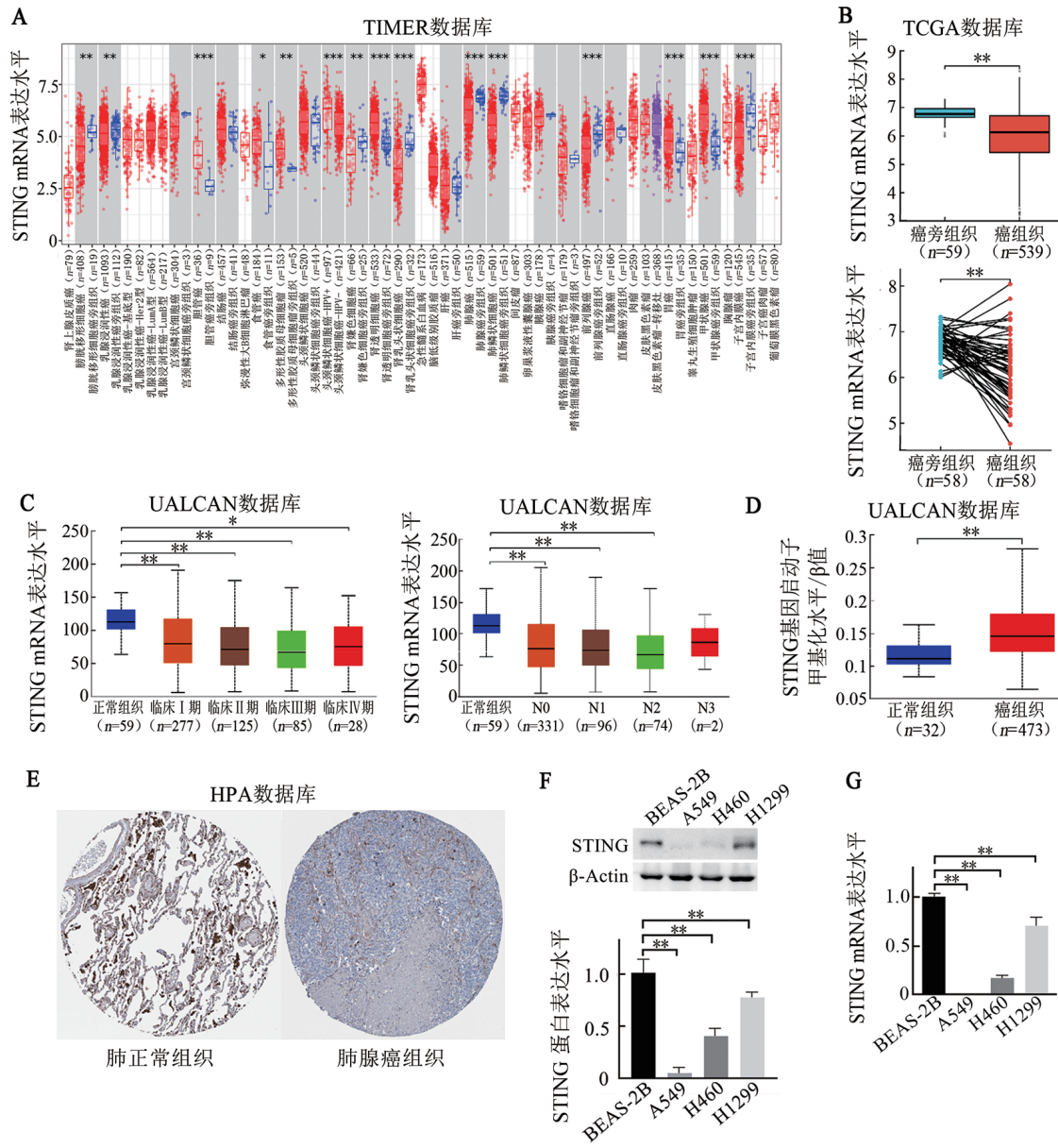
UALCAN 数据库分析结果发现, STING 在肺腺癌不同肿瘤分期、淋巴结转移各组织中表达均下调 (图 1C, 均 P<0.01), 肺腺癌组织中 STING 基因启动子甲基化水平显著高于正常肺组织 (图 1D, P<0.01)。

HPA 数据库数据分析结果发现, 肺腺癌组织中 STING 的表达水平显著低于正常肺组织 (图 1E, P<0.01)。

进一步比较了 STING 在 BEAS-2B 细胞与 3 种肺腺癌细胞 A549、H1299、H460 中的表达水平, WB 实验结果显示, A549、H1299、H460 细胞 STING 的表达均显著低于 BEAS-2B 细胞 (图 1F, 均 P<0.01), qPCR 法检测也得到了类似的结果 (图 1G, 均 P<0.01)。

上述实验结果表明, STING 基因在肺腺癌组织

中呈低表达,STING 表达下调可能与肺腺癌的发生 发展存在关联。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

A: STING 在泛癌组织中的表达水平; B: STING 在肺腺癌及癌旁组织中的表达水平; C: STING 在肺腺癌不同肿瘤分期、淋巴结转移分级组织中的表达水平; D: 肺腺癌及正常组织中 STING 基因启动子甲基化水平; E: STING 蛋白在肺腺癌及正常肺组织中的表达情况 (免疫组化染色, $\times 100$); F: WB 法检测肺癌细胞和 BEAS-2B 细胞 STING 蛋白的表达水平; G: qPCR 法检测肺癌细胞和 BEAS-2B 细胞 STING mRNA 的表达水平

图 1 STING 在肺腺癌及癌旁组织与肺腺癌细胞中的表达情况

2.2 STING 表达水平与肺腺癌患者预后及临床特征的关系

TCGA 肺腺癌患者数据集 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果 (图 2) 显示, STING 高表达患者的 5 年 OS 率显著高于低表达患者 ($P < 0.05$), 提示 STING 低表达与肺腺癌患者预后不良相关。进一步根据 STING 表达中位数将肺腺癌患者分为 STING 高表达 ($n=270$) 和低表达 ($n=269$) 两

组, 分析 STING 表达与肺腺癌患者临床特征之间的关系发现, STING 与肺腺癌患者的年龄、性别以及吸烟情况相关联 (表 1, 均 $P < 0.01$), 而与肿瘤的 T 分期、淋巴结转移、肿瘤远处转移及临床分期无明显关联 (表 1, 均 $P > 0.05$)。结果表明, STING 与肺腺癌患者人口资料特征存在明显关联, 而与肺腺癌的病理特征无明显关联。

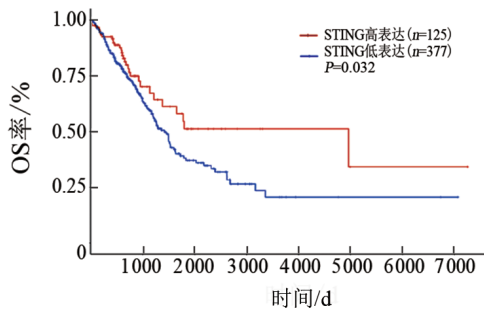


图2 STING基因表达与肺腺癌患者OS率的关系

2.3 STING与肺腺癌组织中DEG相关性分析

利用LinkedOmics对TCGA数据库中肺腺癌患者mRNA测序数据进行STING基因共表达分析, 获得DEG与STING基因的相关性热图(图3)。分析结果表明, STING基因与TLR2、SLC34A2、SLC27A1、CD1C、SHROOM4等基因表达呈正相关(均 $r>0$, $P<0.01$), 与OIP5、AURKA、SNRPA1、C1orf135、TDG等基因的表达呈负相关(均 $r<0$, $P<0.01$)。

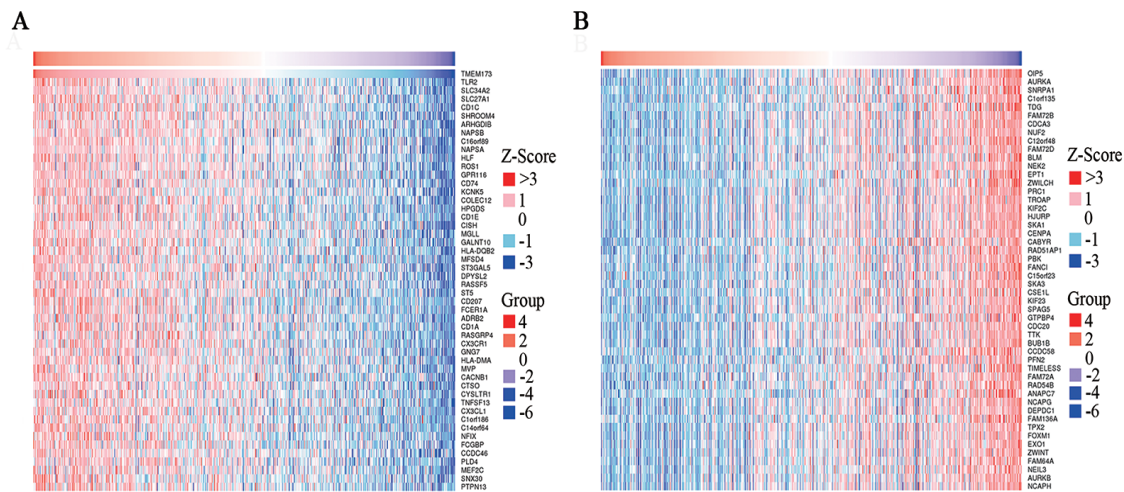
2.4 STING基因GO功能和KEGG通路分析

基于TCGA数据库肺腺癌组织STING表达水平, 将其分为STING高表达和低表达组并进行DEG的筛选。GO功能分析结果(图4A~C)显示, STING基因主要与染色质分离、核分裂、有丝分裂姐妹染色单体分离、ATP水解、MHC复合体结合等有关。KEGG通路分析结果(图4D)表明, STING基因主要参与人类T细胞白血病病毒感染、细胞周期等通路。对上述筛选到的DEG进行GSEA结果(图5)发现, STING高表达主要在外源性抗原的加工提呈、免疫细胞活化、哮喘等通路上存在明显富集, 而STING低表达则主要富集于髓系细胞周期、染色质凝集、系统性红斑狼疮等通路。分析结果表明, STING可能通

过调控肿瘤细胞生物学功能影响肺腺癌进展。

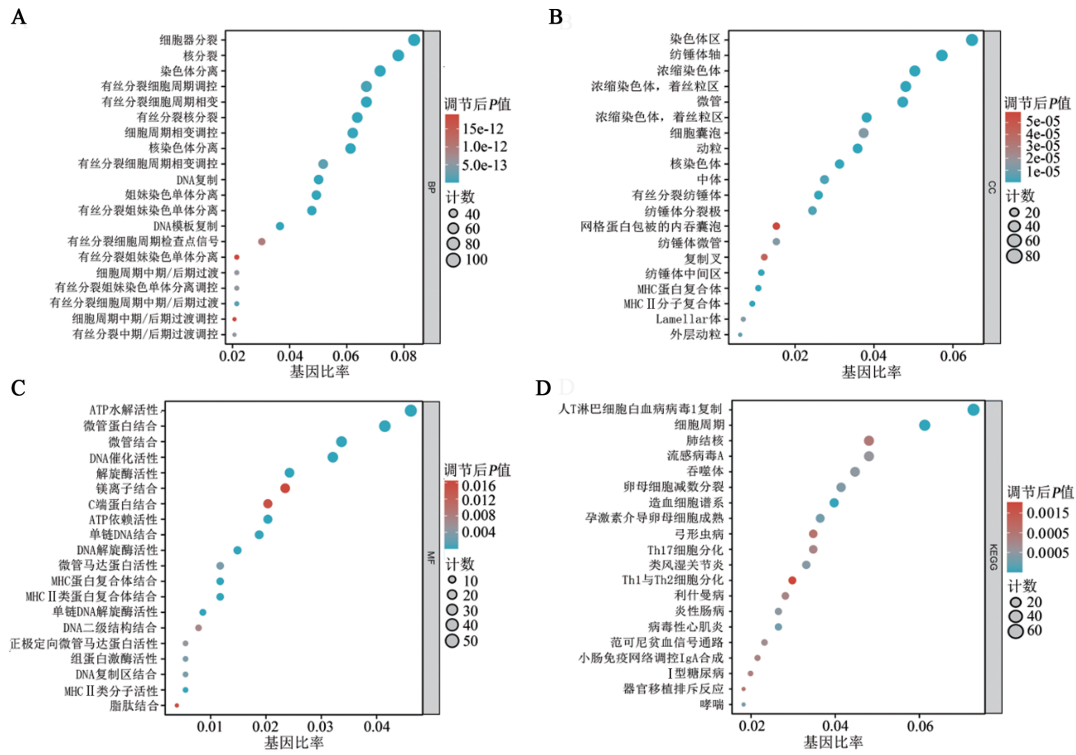
表1 TCGA肿瘤数据库肺腺癌数据集分析STING表达水平与临床特征的关系[n (%)]

临床特征	STING低表达 (n=269)	STING高表达 (n=270)	P
年龄/岁			0.002
≤65	147(28.3)	110(21.2)	
>65	114(21.9)	149(28.7)	
性别			<0.001
男	147(27.3)	103(19.1)	
女	122(22.6)	167(31)	
是否吸烟			<0.001
否	21(4)	56(10.7)	
是	240(45.7)	208(39.6)	
T分期			0.143
T1	76(14.2)	100(18.7)	
T2	155(28.9)	137(25.6)	
T3	28(5.2)	21(3.9)	
T4	9(1.7)	10(1.9)	
N分期			0.996
N0	175(33.5)	175(33.5)	
N1	48(9.2)	49(9.4)	
N2	38(7.3)	36(6.9)	
N3	1(0.2)	1(0.2)	
M分期			0.695
M0	190(48.7)	175(44.9)	
M1	12(3.1)	13(3.3)	
AJCC分期			0.634
I	142(26.7)	154(29)	
II	67(12.6)	58(10.9)	
III	45(8.5)	39(7.3)	
IV	12(2.3)	14(2.6)	



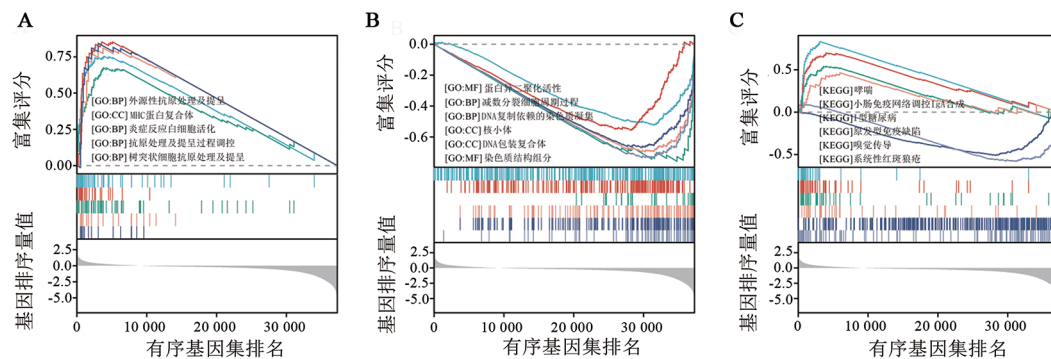
A: 肺腺癌中与STING表达呈正相关的基因热图; B: 肺腺癌中与STING表达呈负相关的基因热图

图3 STING基因共表达分析热图



A:GO分析STING基因参与的生物过程气泡图; B:GO分析STING基因相关细胞组成成分气泡图; C:GO分析STING基因潜在分子功能气泡图; D:KEGG通路分析STING基因调控的信号通路气泡图

图4 STING基因的GO功能及KEGG通路分析



A:GSEA分析STING基因高表达富集的GO通路; B:GSEA分析STING基因低表达富集的GO通路; C:GSEA分析STING基因高表达与低表达富集的KEGG通路

图5 STING基因表达相关通路的GSEA结果

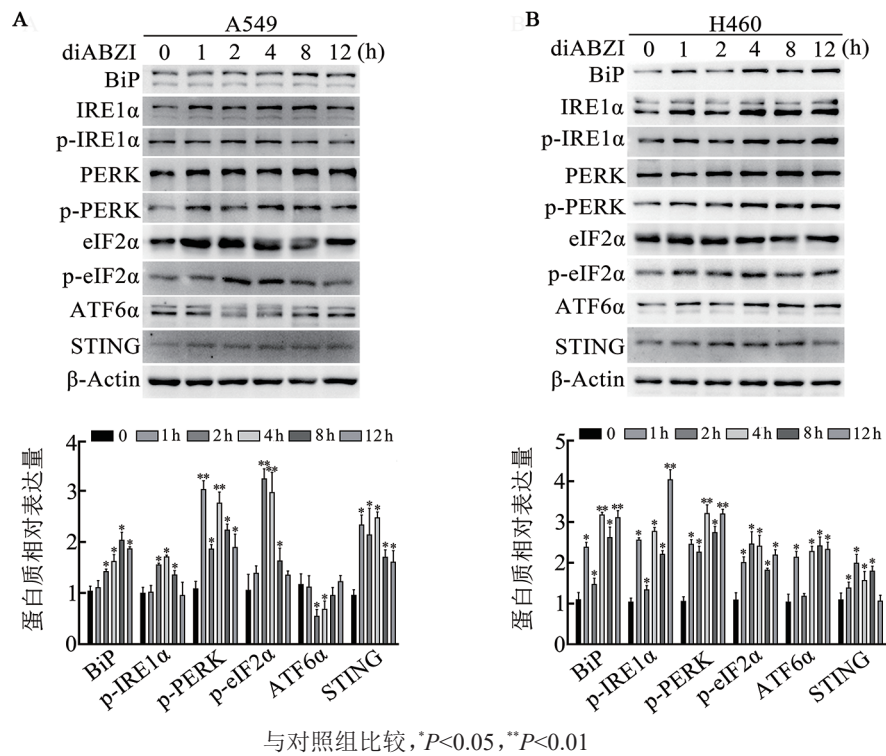
2.5 STING参与调控肺腺癌细胞的内质网应激

使用STING激动剂diABZI处理细胞发现,在使用diABZI诱导STING活化后,随着diABZI刺激时间的延长,肺腺癌A549与H460细胞中STING及内质网应激相关分子的表达与活化水平均明显升高(图6,均 $P < 0.05$)。结果提示,STING活化可能促进肺腺癌细胞发生内质网应激。

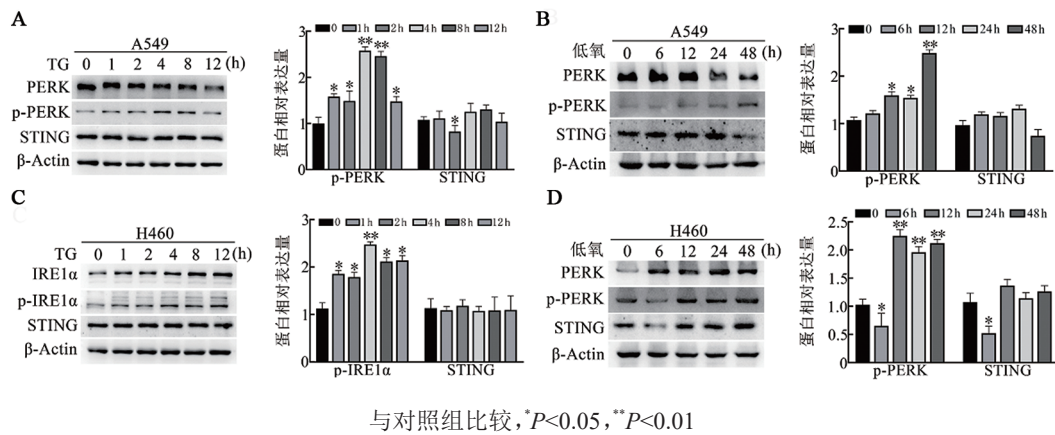
使用TG及低氧处理两种条件诱导细胞发生内质网应激,结果发现,TG与低氧处理均能显著诱导肺腺癌A549与H460细胞内质网应激相关分子活化水平升高(图7, $P < 0.05$),而STING蛋白水平无明显改

变(图7, $P > 0.05$),提示内质网应激不影响STING表达。

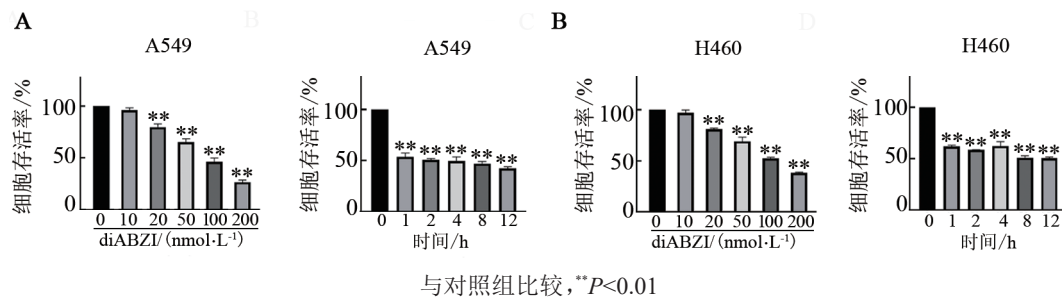
进一步采用diABZI以浓度梯度以及时间梯度处理两种方式诱导STING活化结果发现,随着diABZI浓度的上升以及作用时间的延长,肺腺癌A549与H460细胞活力显著下降(图8,均 $P < 0.01$);而在diABZI诱导STING活化后使用内质网应激抑制剂TUDCA处理细胞发现,相较于活化对照组,使用TUDCA抑制内质网应激能够部分恢复细胞活力(图9, $P < 0.05$),提示STING可能通过诱导内质网应激抑制细胞增殖活力。



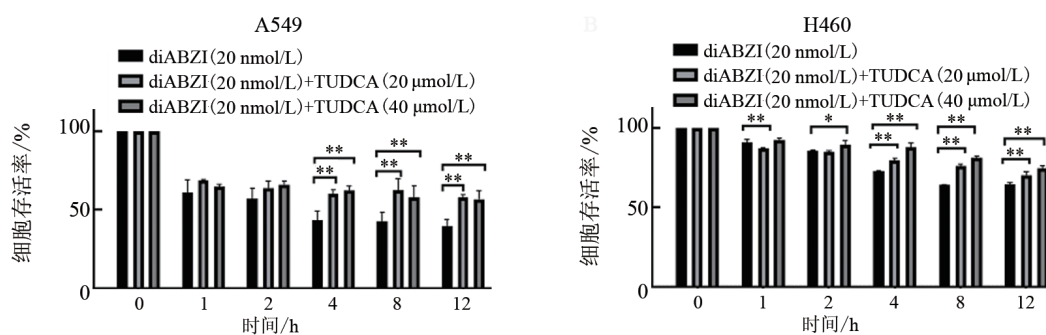
与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
 A: WB法检测A549细胞STING及内质网应激相关分子表达与磷酸化情况;
 B: WB法检测H460细胞STING及内质网应激相关分子表达与磷酸化情况
 图6 STING激动剂diABZI诱导下肺腺癌细胞中内质网应激相关分子的变化



与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
 A、B: WB法检测A549细胞STING表达与PERK磷酸化情况; C、D: WB法检测H460细胞STING表达与IRE1α或PERK磷酸化情况
 图7 在TG和低氧分别处理下肺腺癌细胞中内质网应激相关分子活化与STING表达的变化



与对照组比较, ** $P<0.01$
 A: diABZI以浓度梯度(左图)和时间梯度(右图)处理后的A549细胞存活率;
 B: diABZI以浓度梯度(左图)和时间梯度(右图)处理后的H460细胞存活率
 图8 CCK-8法检测STING激动剂diABZI对肺腺癌细胞存活率的影响



与 diABZI (20 nmol/L) 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图9 CCK-8法检测 diABZI/TUDCA 对肺腺癌 A549、H460 细胞存活率的影响

3 讨论

肺癌是最常见的恶性肿瘤。据统计,全球范围内每年新增 200 万肺癌患者,约有 176 万肺癌相关死亡病例^[15]。随着肿瘤基础及临床研究的不断进展,目前肺癌的筛查、诊断和治疗已取得极大突破^[4],特别是近年来兴起的靶向治疗和肿瘤免疫检查点抑制剂治疗等,诸多肺癌患者的预后已得到显著改善^[16]。然而,仍有相当一部分患者表现为治疗后复发或对治疗抵抗。STING 作为病原性 DNA 诱导的天然免疫反应的重要接头分子,在机体抵御病原体入侵、维持自身功能稳态中发挥了重要作用。越来越多的研究^[17]表明,STING 能够通过诱导自噬、促进细胞死亡、影响细胞代谢重编程以及诱导内质网应激等方式参与肿瘤的发生发展。但 STING 在肺腺癌中的作用机制目前尚不清楚。

本研究通过分析 TCGA 数据库及 HPA 等数据库中 STING 的表达数据,发现 STING 在肺腺癌组织与细胞中的表达显著下调。同时,生存分析显示 STING 高表达的肺腺癌患者其 OS 率显著高于低表达患者,提示 STING 可作为肺腺癌预后判断的生物标志物。进一步分析 STING 表达与肺腺癌患者临床特征的相关性,发现 STING 与肺腺癌患者的年龄、性别等因素高度相关。而通过对肺腺癌患者肿瘤表达谱的生物信息学分析,发现 STING 在肺腺癌中参与调控肿瘤细胞周期、细胞增殖等过程,说明 STING 可能通过影响肺腺癌细胞的生物学功能调控肿瘤进展。

有研究^[18]指出,STING 突变后能够通过诱导内质网应激调控 T 细胞的功能状态,从而缓解肺部疾病。此外,内质网应激与 STING 的相互作用还能够影响心脏炎症及纤维化^[19]、I 型 IFN 反应、内质网自噬^[20]以及髓系抑制性细胞介导的肿瘤免疫^[21]等。肺腺癌作为临床上最为常见的肿瘤之一,在治疗前后均可伴随内质网应激的发生^[22]。但 STING 是否通过内质网应激参与调控肺腺癌发生发展目前仍然未知。因

此,本研究重点探索了 STING 与内质网应激的相关性。内质网应激是在内质网错误折叠或未折叠蛋白大量堆积时造成的细胞应激状态^[23]。研究^[22]表明,内质网应激与肿瘤的发生发展密切相关。内质网应激一方面能够通过影响肿瘤细胞的生物学功能,赋予肿瘤更强大的致瘤性、转移能力及耐药性,同时,肿瘤细胞通过未折叠蛋白反应增强其适应能力,并通过调控与免疫细胞的相互作用,促进肿瘤进展^[24]。另一方面,内质网应激通过影响肿瘤微环境中免疫细胞的功能,增强或削弱抗肿瘤免疫效果^[25-26],促进肿瘤转移及治疗抵抗^[27]。

本研究发现,STING 激动剂可以显著诱导肺腺癌细胞发生内质网应激。同时,STING 活化后肺腺癌细胞活力显著下降,而在抑制内质网应激之后,细胞活力得以部分恢复,提示 STING 可能通过调控内质网应激发生促进肿瘤源性细胞死亡。因此,以 STING 为靶点干预内质网应激的反应活性可能成为肺腺癌临床治疗的新策略。然而,如前所述,诱导内质网应激在一定程度上能够增强肿瘤细胞的适应能力,从而使肿瘤细胞获得更强的侵袭及转移能力。STING 活化诱导的内质网应激如何在促进肺腺癌细胞死亡与协助肺腺癌细胞获得更强的生存能力之间平衡,需要后续更为深入的研究加以解释。

综上所述,本研究发现 STING 的表达与多种肿瘤的发生发展密切相关。在肺腺癌中,STING 与肺腺癌患者的部分临床特征显著关联。生物信息学分析结果提示,STING 参与调控肺腺癌细胞的生物学过程。此外,本研究证明了 STING 可通过内质网应激调控肺腺癌细胞的增殖活力,预示以 STING 为靶点干预肺腺癌可能为肺腺癌治疗提供新的思路。

[参考文献]

- [1] JAMAL-HANJANI M, WILSON G A, MCGRANAHAN N, *et al.* Tracking the evolution of non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(22): 2109-2121. DOI: 10.1056/NEJMoa1616288.

- [2] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, *et al.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386. DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [3] WANG M N, HERBST R S, BOSHOFF C. Toward personalized treatment approaches for non-small-cell lung cancer[J]. *Nat Med*, 2021, 27(8): 1345-1356. DOI: 10.1038/s41591-021-01450-2.
- [4] HOWLADER N, FORJAZ G, MOORADIAN M J, *et al.* The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality [J/OL]. *N Engl J Med*, 2020, 383(7): 640-649[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8577315/>. DOI: 10.1056/NEJMoa1916623.
- [5] ISHIKAWA H, BARBER G N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling[J]. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678. DOI: 10.1038/nature07317.
- [6] 曹晓倩, 苑瑾慧, 杜美志, 等. 维生素E琥珀酸酯诱导内质网应激激活 JNK 的表达对人胃癌SGC-7901细胞自噬的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(2): 109-114. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.02.002.
- [7] ISHIKAWA H, MA Z, BARBER G N. STING regulates intracellular DNA-mediated, type I interferon-dependent innate immunity[J]. *Nature*, 2009, 461(7265): 788-792. DOI: 10.1038/nature08476.
- [8] CHEN Q, SUN L J, CHEN Z J. Regulation and function of the cGAS-STING pathway of cytosolic DNA sensing[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(10): 1142-1149. DOI: 10.1038/ni.3558.
- [9] BARBER G N. STING: infection, inflammation and cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(12): 760-770. DOI: 10.1038/nri3921.
- [10] RANO A D R E, WIDAU R C, MALLON S, *et al.* STING promotes homeostasis via regulation of cell proliferation and chromosomal stability[J/OL]. *Cancer Res*, 2019, 79(7): 1465-1479[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6445702/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1972.
- [11] KWON J, BAKHOUM S F. The cytosolic DNA-sensing cGAS-STING pathway in cancer[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(1): 26-39. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0761.
- [12] BAKHOUM S F, NGO B, LAUGHNEY A M, *et al.* Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response[J/OL]. *Nature*, 2018, 553(7689): 467-472[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5785464/>. DOI: 10.1038/nature25432.
- [13] CHEN Q, BOIRE A, JIN X, *et al.* Carcinoma-astrocyte gap junctions promote brain metastasis by cGAMP transfer[J/OL]. *Nature*, 2016, 533(7604): 493-498[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5021195/>. DOI: 10.1038/nature18268.
- [14] VANG S, LONGLEY K, STEER C J, *et al.* The unexpected uses of urso- and tauroursodeoxycholic acid in the treatment of non-liver diseases[J/OL]. *Glob Adv Health Med*, 2014, 3(3): 58-69[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4030606/>. DOI: 10.7453/gahmj.2014.017.
- [15] SINGH D, VIGNAT J, LORENZONI V, *et al.* Global estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2020: a baseline analysis of the WHO Global Cervical Cancer Elimination Initiative [J/OL]. *Lancet Glob Health*, 2023, 11(2): e197-e206[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9848409/>. DOI: 10.1016/S2214-109X(22)00501-0.
- [16] THAI A A, SOLOMON B J, SEQUIST L V, *et al.* Lung cancer[J]. *Lancet*, 2021, 398(10299): 535-554. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00312-3.
- [17] ZHANG Z L, ZHOU H F, OUYANG X H, *et al.* Multifaceted functions of STING in human health and disease: from molecular mechanism to targeted strategy[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 394[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9780328/>. DOI: 10.1038/s41392-022-01252-z.
- [18] WU J J, CHEN Y J, DOBBS N, *et al.* STING-mediated disruption of calcium homeostasis chronically activates ER stress and primes T cell death[J/OL]. *J Exp Med*, 2019, 216(4): 867-883[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6446864/>. DOI: 10.1084/jem.20182192.
- [19] ZHANG Y, CHEN W, WANG Y. STING is an essential regulator of heart inflammation and fibrosis in mice with pathological cardiac hypertrophy *via* endoplasmic reticulum (ER) stress[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 110022[2023-02-22]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110022>. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110022.
- [20] MORETTI J, ROY S, BOZEC D, *et al.* STING senses microbial viability to orchestrate stress-mediated autophagy of the endoplasmic reticulum[J/OL]. *Cell*, 2017, 171(4): 809-823.e13[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5811766/>. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.034.
- [21] MOHAMED E, SIERRA R A, TRILLO-TINOCO J, *et al.* The unfolded protein response mediator PERK governs myeloid cell-driven immunosuppression in tumors through inhibition of STING signaling[J/OL]. *Immunity*, 2020, 52(4): 668-682.e7[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7207019/>. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.03.004.
- [22] CHEN X, CUBILLOS-RUIZ J R. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment[J/OL]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(2): 71-88[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7927882/>. DOI: 10.1038/s41568-020-00312-2.
- [23] 笪艳艳, 张彩, 陆楠. cGAS-STING 信号通路调控抗肿瘤免疫应答的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(9): 1036-1042. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.09.012.
- [24] TAMEIRE F, VERGINADIS I I, LELI N M, *et al.* ATF4 couples MYC-dependent translational activity to bioenergetic demands during tumour progression[J/OL]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(7): 889-899[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6608727/>. DOI: 10.1038/s41556-019-0347-9.
- [25] YU M P, CHEN F P, WANG H P, *et al.* Endoplasmic reticulum stress mediates nickel chloride-induced epithelial-mesenchymal transition and migration of human lung cancer A549 cells through Smad2/3 and p38 MAPK activation[J/OL]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 249: 114398[2023-02-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36508813/>. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114398.
- [26] CHEN P, LI Y Q, ZHOU Z, *et al.* Lathyrol promotes ER stress-induced apoptosis and proliferation inhibition in lung cancer cells by targeting SERCA2[J/OL]. *Biomedicine Pharmacother*, 2023, 158: 114123[2023-02-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36521248/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.114123.
- [27] ROUSCHOP K M, DUBOIS L J, KEULERS T G, *et al.* PERK/eIF2 α signaling protects therapy resistant hypoxic cells through induction of glutathione synthesis and protection against ROS[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(12): 4622-4627[2023-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3607059/>. DOI: 10.1073/pnas.1210633110.

[收稿日期] 2023-02-23

[修回日期] 2023-03-28

[本文编辑] 党瑞山, 沈志超