DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.09.003

·基础研究·

敲减MET表达对喉癌Hep-2细胞增殖、迁移及5-FU和顺铂敏感性的影响

张翠红[a],肖淑芬[b],张建军[a],贺占国[c],范才[a],马博敬[a](中国人民解放军联勤保障部队第九八〇医院 a. 放疗科;b. 耳鼻喉头颈外科;c. 基础研究实验室,河北 石家庄 050082)

[摘 要] **目的:**探究敲减间质表皮转化因子(MET)表达对人喉鳞状细胞癌(LSCC)Hep-2细胞生长、迁移及5-氟尿嘧啶(5-FU)和顺铂敏感性的影响。**方法:**通过基因表达综合数据库(GEO)及癌症基因组图谱(TCGA)数据库数据分析人LSCC组织中MET mRNA的表达水平;常规培养正常人支气管上皮细胞16HBE与人LSCC细胞Hep-2、KBV200和TU212,采用qPCR法和WB法检测16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞中MET基因和蛋白的表达水平。用Lipofectamine™ 3000将MET敲减质粒(si-Met)和对照质粒(si-NC)转染至Hep-2细胞中,分为空白对照组,si-NC组和si-Met组。采用MTT法、流式细胞术、划痕愈合实验分别检测各组Hep-2细胞的增殖、迁移能力、周期分布以及对5-FU和顺铂的敏感性。**结果:**数据库数据分析显示LSCC组织中MET mRNA呈高表达($P < 0.05$),Hep-2、KBV200和TU212细胞中MET mRNA和蛋白的表达水平也均明显高于16HBE细胞(均$P < 0.01$)。敲减MET表达后,Hep-2细胞中MET mRNA及蛋白表达水平均明显降低($P < 0.01$或$P < 0.001$)、细胞增殖活力显著下降($P < 0.000\ 1$)、G0/G1期细胞数量明显升高($P < 0.000\ 1$)、S期细胞数量明显降低($P < 0.000\ 1$)。敲减MET表达后,不同浓度5-FU或顺铂对细胞增殖的抑制率均显著升高、药物半数抑制浓度(IC_{50})均降低(均$P < 0.000\ 1$),划痕愈合率明显降低、迁移能力下降(均$P < 0.05$)。**结论:**MET在人LSCC组织和细胞中呈高表达,敲减MET可有效抑制Hep-2细胞中MET的表达,抑制细胞增殖、迁移能力,使其周期阻滞于G_1期,增强Hep-2细胞对5-FU和顺铂的敏感性。

[关键词] 喉鳞状细胞癌;间质表皮转化因子;增殖;迁移;5氟尿嘧啶;顺铂;药物敏感性
[中图分类号] R739.65 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385x(2024)09-0857-07

Effects of MET knockdown on proliferation, migration and sensitivity to 5-FU and cisplatin of laryngeal cancer Hep-2 cells

ZHANG Cuihong[a], XIAO Shufen[b], ZHANG Jianjun[a], HE Zhanguo[c], FAN Cai[a], MA Bojing[a] (a. Department of Radiotherapy; b. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery; c. Department of Basic Research Laboratory, the 980th Hospital of PLA Joint Logistics Support Force, Shijiazhuang 050082, Hebei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of mesenchymal to epithelial transition factors (MET) knockdown on the proliferation, migration, and sensitivity to 5-FU and cisplatin in human laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) Hep-2 cells. **Methods:** The expression of MET mRNA in LSCC tissues was analyzed using data from the Gene Expression Omnibus (GEO) and The Cancer and Tumor Gene Atlas (TCGA). Human normal bronchial epithelial cells (16HBE) and human LSCC cells (Hep-2, KBV200 and TU212) were routinely cultured, and the expression levels of MET in these cells were detected by qPCR and WB assay. The MET knockout plasmid (si-Met) and control plasmid (si-NC) were transfected into Hep-2 cells using Lipofectamine™ 3000, and the cells were divided into blank control group, si-NC group and si-Met group. The proliferation, migration, cell cycle distribution, and sensitivity to 5-FU and cisplatin of Hep-2 cells in each group were detected by MTT assay, flow cytometry and scratch assay, respectively. **Results:** Database analysis showed high expression of MET mRNA in LSCC tissue ($P < 0.05$). The mRNA and protein expression levels of MET in Hep-2 cells, KBV200 cells and TU212 cells were significantly higher than those in 16HBE cells (all $P < 0.01$). After MET knockdown, the mRNA and protein levels of MET in Hep-2 cells were significantly reduced ($P < 0.01$ or $P < 0.001$), cell proliferation activity was significantly decreased ($P < 0.000\ 1$), the number of G0/G1 phase cells was significantly increased ($P < 0.000\ 1$), and the number of S phase cells was significantly reduced. Additionally, after MET knockdown, the inhibitory rates of cell proliferation by different concentrations of 5-FU or cisplatin were significantly enhanced, and the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) was reduced (all

[基金项目] 河北省卫生厅重点科技研究计划课题(No.20220237)
[作者简介] 张翠红(1982—),女,博士,副主任医师,主要从事头颈部及胸部恶性肿瘤的放射治疗及基础的研究。E-mail: zhangch1982bethune@163.com
[通信作者] 张建军,E-mail: 3590213177@qq.com

P < 0.000 1). The scratch healing rate and migration ability were significantly reduced (all P < 0.05). **Conclusion:** MET is highly expressed in human LSCC tissues and cells. Knocking down MET can effectively inhibit the expression of MET in Hep-2 cells, suppress cell proliferation and migration ability, arrest the cell cycle in G1 phase, and enhance the sensitivity of Hep-2 cells to 5-FU and cisplatin.

[Key words] laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC); mesenchymal to epithelial transition factor (MET); proliferation; migration; 5-fluorouracil (5-FU); cisplatin; drug sensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(9): 857-863. DOI：10.3872/j.issn.1007-385x.2024.09.003]

喉鳞状细胞癌（laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC）是喉癌中最常见的亚型之一，发病率在呼吸道肿瘤中居第二位[1]。值得注意的是，中国人LSCC的发病率大约是美国人的4倍，每年病死人数超过15 000人[2]。对于晚期LSCC患者，化疗是标准的一线治疗方法[3-4]。然而，由于药物的毒性和患者的耐药，化疗对晚期LSCC患者的总生存率并没有改善[5]。因此，如何有效提高肿瘤对化疗药物的敏感性，寻找新的生物标志物用于靶向治疗，成为改善喉癌患者对化疗耐药不良结局的迫切需要。间质表皮转化因子（mesenchymal to epithelial transition factor, MET）是原癌基因MET编码的蛋白，是一类具有自主性磷酸化活性的穿膜受体，是已知的肝细胞生长因子（hepatocyte growth factor, HGF）的单一高亲和力受体。HGF与MET结合后激活受体发生自身磷酸化，进而导致多种含有Src同源区分子的底物蛋白磷酸化（如PI3K，GRB-2-Sos复合体等），从而引起细胞内一系列信号传导，最终发挥促进细胞增殖、运动等生物学作用。研究[6-7]表明，当细胞过度表达MET时，常常导致细胞发生癌变，而且对多种肿瘤细胞的生长、侵袭和转移能力具有重要调节作用，所以抑制MET基因表达可能为肿瘤治疗提供新的治疗策略。鉴于MET在肿瘤细胞生物学行为中的作用，且有关MET在喉癌及其化疗敏感性方面的研究尚鲜见。本研究探讨敲减MET表达对LSCC细胞恶性生物学行为的作用。

1　材料与方法

1.1　细胞与主要试剂

正常人支气管上皮细胞16HBE与人LSCC细胞Hep-2、KBV200和TU212均购自北京协和医学院医学生物学研究所。5-氟尿嘧啶（5-FU）购自天津金耀氨基酸有限公司，顺铂购自上海研谨生物有限公司，兔/鼠抗MET抗体购自北京义翘神州科技有限公司，Met敲减以及阴性对照质粒由西宝生物科技（上海）股份有限公司制备，DMEM培养基及胎牛血清均购自Gibco公司，四甲基偶氮唑蓝（methyl thiazolyl tetrazolium, MTT）检测试剂盒购自上海贝博生物技术有限公司，Lipofectamine™ 3000购自北京吉美生物技术有限公司，TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司，PCR引物购自上海生工生物股份有限公司，cDNA反转录反应试剂盒和SYBY Green PCR试剂盒均购自日本TaKaRa公司，碘化丙啶细胞周期检测试剂盒、细胞裂解及蛋白抽提试剂、蛋白浓度检测试剂、WB配胶试剂盒均购自江苏碧云天生物技术有限公司。PVDF膜、ECL发光液均购自美国Millipore公司。

1.2　用GEO及TCGA数据库数据分析MET mRNA在LSCC组织和癌旁组织中的表达

利用（Gene Expression Omnibus，GEO）数据库（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/）和TCGA数据库（https://www.canerge-nome.nih.gov）数据在线分析人LSCC组织及配对癌旁组织中MET mRNA的表达。

1.3　细胞培养、转染与分组

16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞均在含10%胎牛血清、1%青-链霉素的DMEM培养基中，37 ℃、5% CO_2恒温培养箱内培养。

取对数生长期的Hep-2细胞，用Lipofectamine™ 3000将Met敲减质粒（si-Met）及其阴性对照质粒（si-NC）转染至Hep-2细胞中。转染后6 h更换细胞培养基，继续培养48 h。实验分为si-Met组和si-NC组，未做任何处理的细胞为空白对照组。转染48 h后，显微镜下观察细胞荧光表达情况，在荧光表达率大于80%时，收集各组细胞提取RNA和蛋白，用qPCR和WB法检测敲减效率。

1.4　qPCR法检测16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞中MET mRNA的表达

收集对数生长期的16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞，用TRIzol试剂提取各种细胞的总RNA，测定RNA浓度和纯度，用逆转录试剂盒将总RNA逆转录为cDNA。MET上游引物为5'-AGCAATGGGGAGTGTAAAGAGG-3'，下游引物为5'-CCCAGTCTTGTACTCAGCAAC-3'；β-actin上游引物为5'-CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3'，下游引物为5'-CTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'。PCR反应条件：95 ℃ 2 min，95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min，共40个循环。以$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。每个样品设3个复孔。

1.5 WB法检测16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞中MET蛋白的表达

收集对数生长期16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞，用蛋白提取试剂盒提取各细胞的总蛋白质，考马斯亮蓝法测定蛋白质浓度，SDS-PAGE分离蛋白质、转膜、封闭，加入MET一抗（1∶1 000），4 ℃下处理过夜，加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗（1∶2 000），室温下处理1.5 h，用ECL显色液显色，利用Image J图像分析系统测定各条带灰度值，以目的蛋白条带和β-actin条带的比值表示目的蛋白的相对表达水平。

1.6 MTT法检测敲减MET对Hep-2细胞增殖的影响

将对数生长期的各组Hep-2细胞接种（1×10^5个/孔）于96孔板中，每孔接种100 μL，每组设5个复孔，培养至24、48、72 h时，更换新鲜无血清培养基（每孔100 μL），加入20 μL MTT液，继续培养4 h，用酶标仪检测各孔在450 nm波长处的光密度（D）值，使用GraphPad 8.0软件绘制细胞增殖曲线。

1.7 流式细胞术检测敲减MET对Hep-2细胞周期的影响

取转染48 h后的Hep-2细胞，经胰酶消化后，用PBS洗涤并重悬细胞，细胞密度为2×10^5个/mL，取1 mL单细胞悬液，离心去上清液，加入1 mL预冷70%乙醇，4 ℃固定过夜。染色前用PBS洗涤2次，加入100 mg/L的RNase A，于37 ℃水浴内处理30 min。再加入500 μL（50 mg/L）碘化丙啶染色液，混匀，4℃下避光处理30 min后，转移至流式细胞仪进行检测，每组重复3次。

1.8 MTT法检测敲减MET对Hep-2细胞化疗药物、敏感性的影响

将对数生长期的各组Hep-2细胞接种（2×10^3个/孔）于96孔板中，继续培养24 h，分别加入0、12.5、25、50、100、150、200 mg/L的5-FU或0、10、20、30、40、50 mg/L的顺铂，其中0 mg/L为对照组，同时设立空白组（只含培养基不含药物和细胞）进行校正，每组样品5个复孔。继续培养48 h后，每孔加入20 μL MTT液，继续培养4 h，用酶标仪检测各孔在450 nm波长处的D值，细胞存活率 = （$D_{\text{siRNA组}} - D_{\text{空白组}}$）/（$D_{\text{阴性对照组}} - D_{\text{空白组}}$）× 100%，细胞抑制率 = 1 − 细胞存活率。使用GraphPad 8.0软件计算细胞的半数抑制浓度（IC_{50}）及绘制细胞抑制率曲线。

1.9 划痕愈合实验检测敲减MET对Hep-2细胞迁移能力的影响

用记号笔在6孔板背后用直尺划1条穿过培养孔中央的横线。常规培养Hep-2细胞，胰酶消化，制成单细胞悬液，按1×10^6个/孔接种于6孔板中。当细胞长至70%~80%汇合时，用10 μL无菌吸头比着直尺，垂直于横线划痕。用1 × PBS洗净划痕处残留的细胞，加入无血清的DMEM培养基。实验设空白对照组、阴性对照组、siRNA组和siRNA + 顺铂组（19.86 mg/L），继续培养24 h，倒置显微镜拍照，记录实验结果。Image J软件计算划痕面积，计算各实验组24 h的划痕愈合率，实验重复3次。划痕愈合率 =（0 h划痕面积 − 24 h划痕面积）/0 h划痕面积 × 100%。

1.10 统计学处理

采用GraphPad Prism 8.0软件对实验数据进行统计学分析。计量资料$\bar{x} \pm s$表示，采用Shapiro-Wilk（S-W）检验进行正态分布检验，$P > 0.05$时，数据服从正态分布。Levene's检验进行方差齐性检验，$P > 0.05$为方差齐性。本研究数据符合正态分布，多组间均数比较采用单因素方差分析，组间两两多重比较采用LSD-t法。敲减MET基因对细胞的生长抑制作用，采用双因素方差分析。以$P < 0.05$或$P < 0.01$表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 MET mRNA在LSCC组织中呈高表达

对GEO数据库中22例人LSCC组织及配对癌旁组织中MET的表达进行分析。结果显示，LSCC组织中MET表达明显高于癌旁组织（$P < 0.000\ 1$，图1A）。使用GEPIA2服务器分析TCGA数据库中MET基因在LSCC组织和正常组织中的表达差异，结果显示，MET在LSCC组织的表达水平显著高于癌旁组织（$P < 0.05$，图1B）。

2.2 MET mRNA在Hep-2、KBV200和TU212细胞中呈高表达

qPCR和WB法检测结果（图2）显示，与16HBE细胞比较，Hep-2、KBV200和TU212细胞中MET mRNA和蛋白均呈高表达（均$P < 0.05$）。其中Hep-2细胞MET mRNA和蛋白表达水平最高，故选择Hep-2细胞用于后续研究。

2.3 在Hep-2细胞中成功地敲减了MET的表达

qPCR检测结果（图3A）显示，与阴性对照或空白对照组比较，siRNA组Hep-2细胞中MET mRNA的表达水平明显下降（均$P < 0.05$）。WB法检测结果（图3B）显示，与阴性对照或空白对照组比较，siRNA组Hep-2细胞中MET蛋白的水平明显下降（均$P < 0.05$）。实验结果说明，在Hep-2细胞中成功地敲减了MET的表达。

2.4 敲减MET表达可明显抑制Hep-2细胞的增殖能力并使其阻滞于G1期

MTT法检测结果（图4A）显示，与空白对照组和阴性对照组比较，si-RNA组Hep-2细胞在48、72 h时

增殖活力均明显降低（均$P < 0.000\ 1$）。实验结果说明，敲减MET表达可使Hep-2细胞的增殖能力降低。流式细胞术检测结果（图4B）显示，与空白对照组比较，siRNA组Hep-2细胞周期G0/G1期的细胞数明显增多（$P < 0.000\ 1$），与si-NC组比较，siRNA组Hep-2细胞的S期细胞数明显减少（$P < 0.000\ 1$）。实验结果表明，敲减MET表达可阻滞Hep-2细胞于G1期，从而抑制细胞的增殖。

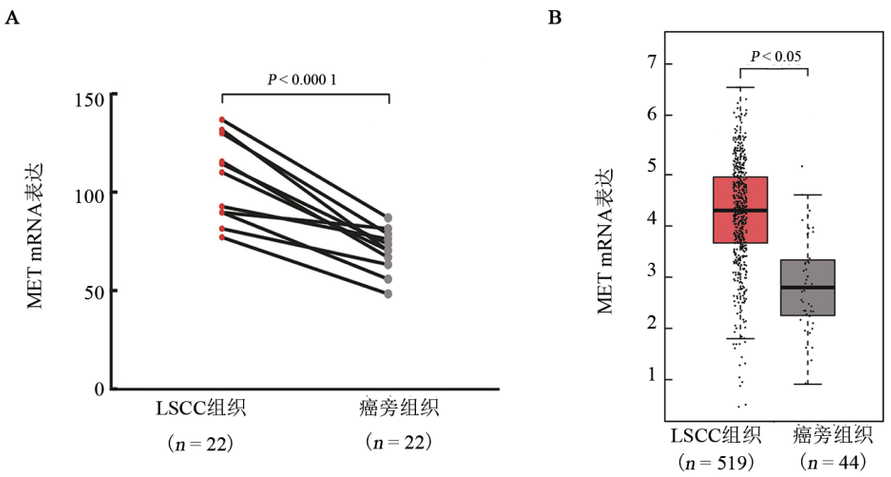
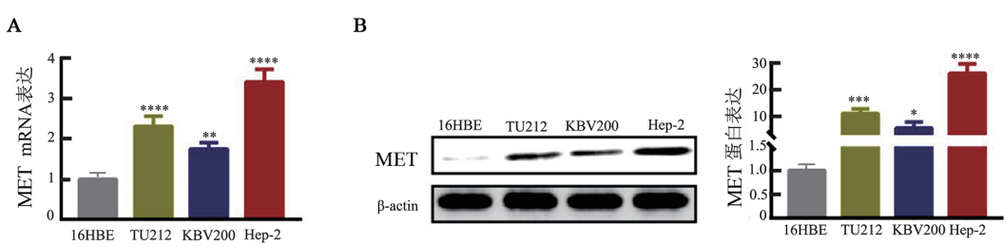
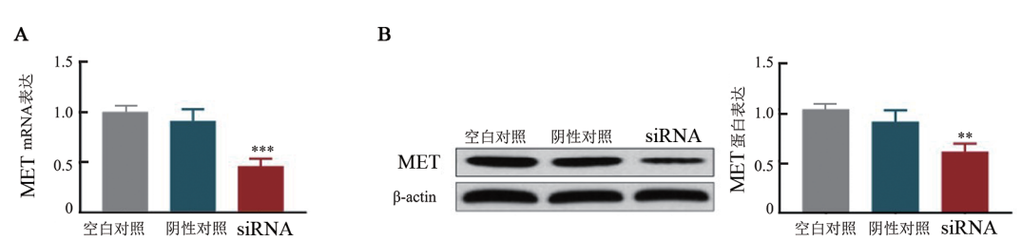


图1　GEO（A）及TCGA数据库（B）分析MET基因在人LSCC组织和癌旁组织中的表达



qPCR（A）和WB（B）法检测16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞中MET mRNA（A）和蛋白（B）的表达。与16HBE细胞比较，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$，$^{****}P < 0.000\ 1$。

图2　MET在16HBE、Hep-2、KBV200和TU212细胞中的表达



qPCR（A）和WB（B）法分别检测Hep-2细胞中MET mRNA（A）和蛋白质（B）的表达。与阴性对照或空白对照组比较，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$。

图3　敲减MET表达后Hep-2细胞中MET mRNA和蛋白的表达水平

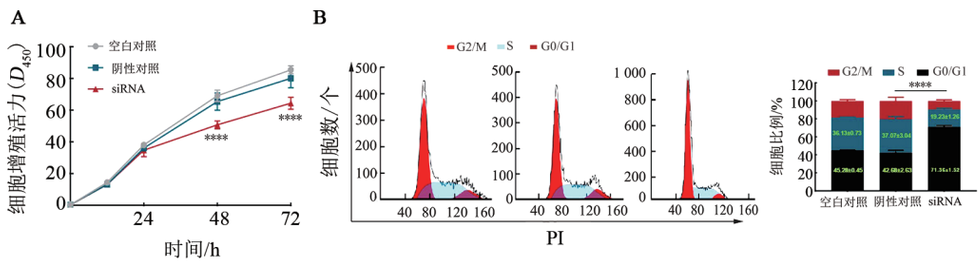
2.5　敲减MET表达后Hep-2细胞对5-FU和顺铂更加敏感

MTT法检测结果（图5）显示，与空白对照组和si-NC组比较，不同质量浓度的5-FU和顺铂对si-Met组Hep-2细胞的细胞增殖抑制率均明显升高（$P < 0.000\ 1$）。5-FU杀伤si-NC组Hep-2细胞的半数抑制浓度（IC_{50}）为33.33 mg/L，si-Met组IC_{50}为17.67 mg/L；顺铂杀伤si-NC组Hep-2细胞Hep-2细胞的IC_{50}为28.35 mg/L，si-Met组IC_{50}为19.86 mg/L。实验结果表明，敲减MET表达后Hep-2细胞对5-FU和顺铂更加敏感。

2.6　敲减MET表达可明显增强顺铂对Hep-2细胞迁移能力的抑制作用

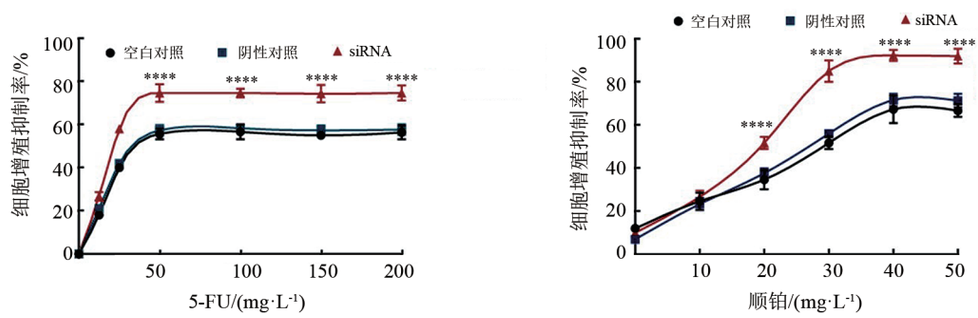
划痕愈合实验检测结果（图6）显示，与空白

对照组和si-NC组比较，si-Met组和si-Met+顺铂组Hep-2细胞的划痕愈合率均明显降低（$P < 0.001$或$P < 0.000\ 1$），与si-Met组比较，si-Met + 顺铂组Hep-2细胞的划痕愈合率进一步降低（$P < 0.05$）。实验结果说明，敲减MET表达可明显增强顺铂抑制Hep-2细胞的迁移能力。



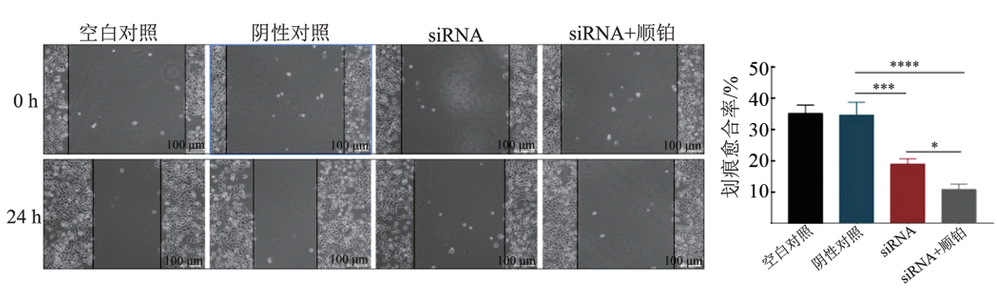
A：MTT法检测各组Hep-2细胞的增殖活力；B：流式细胞术检测各组Hep-2细胞的周期。与空白对照组或si-NC组比较，$^{****}P < 0.000\ 1$。

图4 敲减MET表达对Hep-2细胞的增殖活力和细胞周期的影响



MTT法检测Hep-2细胞对5-FU（A）和顺铂（B）的敏感性。与空白对照和si-NC组比较，$^{****}P < 0.000\ 1$。

图5 敲减MET表达后Hep-2细胞对5-FU和顺铂敏感性的变化



$^{*}P < 0.05$，$^{***}P < 0.001$，$^{****}P < 0.000\ 1$。

图6 划痕愈合实验检测敲减MET表达联合顺铂对Hep-2细胞迁移能力的影响

3 讨 论

LSCC是常见的头颈部恶性肿瘤。化疗通常用于晚期LSCC患者的新辅助、辅助或初期治疗[8]。常用的化疗药物包括5-Fu和顺铂[9-10]，尽管这些化疗药物对部分患者疗效显著，但肿瘤的化疗耐药和骨髓抑制是治疗过程中的主要障碍[11-12]。因此，提高肿瘤对化疗药物的敏感性、减轻患者不良反应已成为治疗肿瘤的一个重要目标。

研究[13-15]表明，在多数癌组织中都有MET的表达，但是不同的肿瘤其表达量有很大差别。在肾细胞癌、肺腺癌和结直肠癌中存在MET高表达；在一些头颈部肿瘤、胃癌、黑色素瘤和卵巢肿瘤中MET亦呈高表达。本课题组既往研究[16-18]表明，MET抑制剂AMG-102对高表达MET的LSCC细胞的增殖有明显的抑制作用，增加了LSCC细胞对放射线的敏感性；MET抑制剂AMG-102通过调节MET/PI3K/Akt通路抑制Hep-2细胞的增殖并诱导其凋亡。而到目前为止，尚少见MET与喉癌化疗药物敏感性方面的探讨。所以，综合以上研究，本研究首先利用GEO和TCGA

数据库进行分析，结果表明，MET mRNA在人LSCC组织中呈高表达。细胞实验结果也显示，与16HBE细胞相比，MET在Hep-2、KBV200和TU212细胞中呈高表达，结果提示，MET在LSCC细胞中表达失调，可能在LSCC的发生发展中发挥一定作用。细胞生长失去控制是导致恶性肿瘤发生的重要原因。研究[19-21]表明，MET/HGF信号通路以及后续的生物效应，在调节细胞增殖、血管形成、管样结构形成中（如肾小管、腺体形成等）起着重要作用。为了进一步阐明MET在LSCC发生发展中的潜在生物学功能，本研究证实敲减MET表达可明显抑制Hep-2细胞的增殖能力，进一步通过流式细胞术分析细胞周期改变发现，敲减MET表达后，G0/G1期细胞所占比例明显升高，S期细胞所占比例降低，说明敲减MET表达可诱导Hep-2细胞出现G1期阻滞，从而抑制细胞的增殖。

最后，为了观察敲减MET表达后Hep-2细胞对化疗药物的敏感性变化，本研究在Hep-2细胞中敲减MET表达后用5-FU或顺铂处理细胞，结果发现，敲减MET表达联合化疗药物可使细胞的生长受到明显抑制、药物IC_{50}明显降低，提示靶向敲减MET表达联合顺铂或5-FU具有明显的协同效应，能够改善Hep-2细胞对化疗药物的敏感性，并且敲减MET表达联合化疗药物顺铂使Hep-2细胞的划痕修复率明显降低，迁移能力下降，提示敲减MET表达，可明显增强顺铂抑制Hep-2细胞的迁移能力，提高药物敏感性。

综上所述，本研究结果表明，MET在LSCC组织和细胞中呈高表达，si-Met可有效敲减Hep-2细胞MET的表达，进而抑制Hep-2细胞的增殖，降低其侵袭能力，增强其对化疗药物5-FU和顺铂的敏感性。虽然其调节机制还不是很明确，但该结果为MET在喉癌发生发展中的作用研究奠定了基础，为探索MET在喉癌化疗增敏及靶向治疗方面提供新思路。

[参 考 文 献]

[1] GALE N N, POLJAK M, ZIDAR N. Update from the 4th edition of the World Health Organization classification of head and neck tumours: what is new in the 2017 WHO blue book for tumours of the hypopharynx, larynx, Trachea and parapharyngeal space[J]. Head Neck Pathol, 2017, 11(1): 23-32. DOI: 10.1007/s12105-017-0788-z.

[2] GIRALT J, TAO Y G, KORTMANN R D, *et al*. Randomized phase 2 trial of a novel clonidine mucoadhesive buccal tablet for the amelioration of oral mucositis in patients treated with concomitant chemoradiation therapy for head and neck cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2020, 106(2): 320-328. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2019.10.023.

[3] ZHU X K, HENG Y, ZHOU L, *et al*. Survival prediction and treatment strategies for patients with advanced laryngeal carcinoma: a population-based study[J]. Int J Clin Oncol, 2020, 25(8): 1483-1491. DOI: 10.1007/s10147-020-01688-9.

[4] ARAIN A A, RAJPUT M S A, AKHTAR S, *et al*. Organ preservation for advanced laryngeal cancer: experience with concurrent chemoradiation therapy[J/OL]. Cureus, 2020, 12(4): e7553[2024-05-10]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC7202587/. DOI: 10.7759/cureus.7553.

[5] LI D P, YAO C Y, DING Z, *et al*. Pescadillo ribosomal biogenesis factor 1 reduction suppresses tumour growth and renders chemosensitivity of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Med, 2023, 12(5): 5703-5717. DOI: 10.1002/cam4.5315.

[6] LEI T Y, XU T W, ZHANG N, *et al*. Anlotinib combined with osimertinib reverses acquired osimertinib resistance in NSCLC by targeting the c-MET/MYC/AXL axis[J/OL]. Pharmacol Res, 2023, 188: 106668[2024-05-10]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/36681369/. DOI: 10.1016/j.phrs.2023.106668.

[7] 徐慧媛, 周韶璋, 宋向群, 等. HGF、MET、p-Met在NSCLC中的表达及与EGFR表达的相关性[J]. 肿瘤学杂志, 2016, 22(11): 917-922. DOI: 10.11735/j.issn.1671-170X.2016.11.B010.

[8] ZHANG L, LI J F, JIA C L. The efficacy and safety of radiotherapy combined chemotherapy for laryngeal preservation in advanced laryngeal cancer: a protocol for systematic review and meta-analysis[J/OL]. Medicine, 2022, 101(46): e31899[2024-05-10]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/36401448/. DOI: 10.1097/MD.0000000000031899.

[9] JANORAY G, POINTREAU Y, ALFONSI M, *et al*. Induction chemotherapy followed by cisplatin or cetuximab concomitant to radiotherapy for laryngeal/hypopharyngeal cancer: long-term results of the TREMPLIN randomised GORTEC trial[J]. Eur J Cancer, 2020, 133: 86-93. DOI: 10.1016/j.ejca.2020.04.009.

[10] DHAKA S, JAKHAR S L, SHARMA N, *et al*. Comparative study of induction chemotherapy followed by chemoradiotherapy versus chemoradiotherapy alone in locally advanced head and neck cancer [J]. J Cancer Res Ther, 2022, 18(Supplement): S146-S150. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_936_20.

[11] PEÑA-FLORES J A, BERMÚDEZ M, RAMOS-PAYÁN R, *et al*. Emerging role of lncRNAs in drug resistance mechanisms in head and neck squamous cell carcinoma[J/OL]. Front Oncol, 2022, 12: 965628[2024-05-10]. https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC9376329/. DOI: 10.3389/fonc.2022.965628.

[12] PAUW I D, WOUTERS A, VAN DEN BOSSCHE J, *et al*. Dual targeting of epidermal growth factor receptor and HER3 by MEHD7945A as monotherapy or in combination with cisplatin partially overcomes cetuximab resistance in head and neck squamous cell carcinoma cell lines[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2017, 32(7): 229-238.

[13] WANG Y Q, ZHANG Y, CHEN R Y, *et al*. Autocrine EGF and TGF-α promote primary and acquired resistance to ALK/MET kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer[J/OL]. Pharmacol Res Perspect, 2023, 11(1): e01047[2024-05-10]. https://pubmed. ncbi. nlm.nih.gov/36583451/. DOI: 10.1002/prp2.1047.

[14] GAO S, LI N, ZHANG X Z, *et al*. An autophagy-inducing stapled

peptide promotes c-MET degradation and overrides adaptive resistance to sorafenib in c-MET^{+} hepatocellular carcinoma[J/OL]. Biochem Biophys Rep, 2023, 33: 101412[2024-05-10]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9791588/. DOI: 10.1016/j.bbrep.2022.101412.

[15] FUJITA R, BLOT V, WONG E, *et al*. A novel non-agonist MET antibody drug conjugate with superior potency over a MET tyrosine kinase inhibitor in MET amplified and non-amplified cancers[J]. Cancer Biol Ther, 2020, 21(6): 549-559. DOI: 10.1080/15384047.2020.1737490.

[16] 曹峰, 吕欣, 董凯峰, 等. MET抑制剂AMG-102增强喉鳞癌细胞放射敏感性的机制[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(12): 909-917. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253? 3766.2019.12.006.

[17] 曹峰, 吕欣, 董凯峰, 等. AMG-102通过调控MET/PI3K/Akt通路抑制喉鳞癌细胞增殖和诱导凋亡[J]. 中华肿瘤杂志, 2020, 42(2): 99-104. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2020.02.003.

[18] 曹峰, 曹磊, 张建军, 等. RNA干扰沉默MET对喉鳞癌细胞生物学行为影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27(13): 1034-1039. DOI: 10.16073/j.cnki.cjcpt.2020.13.03.

[19] CAMIDGE D R, BARLESI F, GOLDMAN J W, *et al.* Phase ib study of telisotuzumab vedotin in combination with erlotinib in patients with c-met protein-expressing non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2023, 41(5): 1105-1115. DOI: 10.1200/JCO.22.00739.

[20] PARK K C, RICHARDSON D R. The c-MET oncoprotein: function, mechanisms of degradation and its targeting by novel anti-cancer agents[J/OL]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2020, 1864 (10): 129650[2024-05-10]. https://pubmed. ncbi. nlm. nih. gov/32522525/. DOI: 10.1016/j.bbagen.2020.129650.

[21] ASAOKA Y, TATEISHI R, HAYASHI A, *et al*. Expression of c-met in primary and recurrent hepatocellular carcinoma[J]. Oncology, 2020, 98(3): 186-194. DOI: 10.1159/000504806.

［收稿日期］ 2024-05-11 ［修回日期］2024-07-26
［本文编辑］ 向正华