

· 基础研究 ·

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.07.009

DUSP26通过抑制TGF- β 1/SMAD信号通路抑制肺腺癌A549细胞增殖、迁移和侵袭

罗锋珩, 吴敏, 周珊, 肖亚南, 占志强(萍乡市人民医院 肿瘤内科, 江西 萍乡 337000)

[摘要] **目的:**探究双特异性磷酸酶26(DUSP26)在肺腺癌(LUAD)A549细胞增殖、迁移和侵袭中的作用及其分子机制。**方法:**检索肿瘤数据库GEPIA2网站DUSP26表达数据,分析DUSP26在LUAD患者和正常人肺组织中的表达差异。收集2022年10月至2023年10月期间萍乡市人民医院手术切除的12例LUAD组织和癌旁组织标本,通过免疫组织化学(IHC)和WB法检测DUSP26在LUAD组织和癌旁组织之间的表达差异;通过WB法检测DUSP26在4种LUAD细胞(A549、SK-LU-1、Calu-3、H1299)和2种正常支气管上皮细胞(BEAS-2B、HBEC)中的表达差异。利用慢病毒转染细胞的方法构建稳定过表达DUSP26(DUSP26-OE)及阴性对照(DUSP26-OENC)的A549细胞,通过克隆形成、划痕愈合实验、Transwell实验分别检测DUSP26过表达对细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响, WB法检测各组细胞中TGF- β 1/SMAD2/3通路、EMT相关蛋白的表达水平,细胞免疫荧光法检测细胞中Ki-67、cyclin D1表达水平。加入TGF- β 1重组蛋白进行回复实验。构建A549细胞裸鼠荷瘤模型,观察DUSP26过表达对移植瘤体内生长的影响, WB法检测移植瘤组织中TGF- β 1/SMAD2/3通路、EMT相关蛋白表达水平,免疫荧光染色法检测移植瘤组织中Ki-67、cyclin D1表达水平。**结果:**DUSP26在LUAD组织和细胞中均呈低表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。与DUSP26-OENC组相比, DUSP26-OE组A549细胞的增殖、迁移和侵袭能力均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), TGF- β 1、p-SMAD2/3、vimentin、N-cadherin、snail、Ki-67、cyclin D1表达均降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$), E-cadherin表达升高($P < 0.0001$)。加入5 ng/mL TGF- β 1重组蛋白后,可部分逆转在体外实验中由DUSP26过表达导致的结果。成功构建裸鼠A549细胞荷瘤模型, DUSP26-OE组裸鼠移植瘤生长速度缓慢,体积和质量均减小(均 $P < 0.001$),移植瘤组织中TGF- β 1、p-SMAD2/3、vimentin、N-cadherin、snail、Ki-67、cyclin D1表达均降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), E-cadherin表达升高($P < 0.0001$)。**结论:**DUSP26在LUAD组织和细胞中均呈低表达状态,上调DUSP26的表达水平能够通过抑制TGF- β 1/SMAD2/3信号通路抑制A549细胞的增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 双特异性磷酸酶26;肺腺癌;A549细胞;增殖;迁移;侵袭;TGF- β 1/SMAD2/3信号通路

[中图分类号] R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 07-0738-08

DUSP26 inhibits proliferation, migration, and invasion of lung adenocarcinoma A549 cells by suppressing the TGF- β 1/SMAD2/3 signaling pathway

LUO Fengheng, WU Min, ZHOU Shan, XIAO Yanan, ZHAN Zhiqiang (Oncology Department, Pingxiang People's Hospital, Pingxiang 337000, Jiangxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role and molecular mechanism of dual-specificity phosphatase 26 (DUSP26) in the proliferation, migration and invasion of lung adenocarcinoma (LUAD) A549 cells. **Methods:** The expression profile of DUSP26 was retrieved from the GEPIA2 tumor database, and its differential expression in LUAD tissues and normal human lung tissues were analyzed. Twelve pairs of LUAD tissue and paracancerous tissue surgically resected at Pingxiang People's Hospital between October 2022 and October 2023 were collected. The difference in DUSP26 expression between LUAD tissues and paracancerous tissues was analyzed using immunohistochemical (IHC) staining and Western blotting (WB). Additionally, the expression of DUSP26 in four LUAD cells (A549, SK-LU-1, Calu-3, H1299) and two normal bronchial epithelial cells (BEAS-2B, HBEC) was detected using WB method. A549 cells stably overexpressing DUSP26 (DUSP26-OE) or corresponding negative control (DUSP26-OENC) were constructed *via* lentiviral transfection. The effects of DUSP26 overexpression on cell proliferation, migration and invasion were detected using colony formation, scratch assay, and Transwell chamber assay, respectively. The expression levels of TGF- β 1/SMAD2/3 pathway-and epithelial-mesenchymal transition (EMT)-related proteins were detected using WB method, and the expression levels of

[基金项目] 江西省萍乡市科技计划项目(No. 2021PY078)

[作者简介] 罗锋珩(1991—),男。硕士,主治医师,主要从事肺癌的诊治和研究

[通信作者] 占志强(扫码获取作者联系方式)



Ki-67 and cyclin D1 in cells were detected by immunofluorescence staining. Rescue experiments were conducted by adding 5 ng/mL recombinant TGF- β 1. A nude mouse xenograft model was established using A549 cells to observe the effect of DUSP26 overexpression on the *in vivo* growth of transplanted tumors. The expression levels of TGF- β 1/SMAD2/3 pathway-and EMT-related proteins in transplanted tumor tissues were assessed using WB method, and the expression levels of Ki-67 and cyclin D1 in transplanted tumor tissues were detected using immunofluorescence staining. **Results:** DUSP26 expression was downregulated in both LUAD tissues and cells ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ or $P < 0.0001$). Compared with the DUSP26-OENC group, the DUSP26-OE group showed significantly reduced proliferation, migration and invasion of A549 cells ($P < 0.01$ or $P < 0.001$). Furthermore, the protein levels of TGF- β 1, p-SMAD2/3, vimentin, N-cadherin, snail, Ki-67, and cyclin D1 were significantly reduced ($P < 0.01$, $P < 0.001$ or $P < 0.0001$), while E-cadherin level was increased in the DUSP26-OE group ($P < 0.0001$). The addition of 5 ng/mL TGF- β 1 recombinant protein partially reversed the effects of DUSP26 overexpression *in vitro* experiments. The nude mice A549 cell xenograft model was successfully constructed. The growth rate of transplanted tumors was significantly slower in the DUSP26-OE group, with reduced volume and mass (all $P < 0.001$). The protein levels of TGF- β 1, p-SMAD2/3, vimentin, N-cadherin, snail, Ki-67, and cyclin D1 in the transplanted tumor tissues were all reduced ($P < 0.01$ or $P < 0.001$), while E-cadherin level was increased ($P < 0.0001$). **Conclusion:** DUSP26 is downregulated in both LUAD tissues and cells. Upregulation of DUSP26 suppresses the proliferation, migration and invasion of A549 cells by inhibiting the TGF- β 1/SMAD2/3 signaling pathway.

[Key words] dual specificity phosphatase 26 (DUSP26); lung adenocarcinoma (LUAD); A549 cell; proliferation; migration; invasion; TGF- β 1/SMAD2/3 signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(7): 738-745. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.07.009]

肺癌是全球癌症相关死亡的主要原因之一。在肺癌各种亚型中,肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)是最为常见的病理类型,其特点是侵袭性强、对各种治疗的抵抗^[1-2]。尽管临床上诊断和治疗方法取得了较大进展,但LUAD患者的预后仍然不容乐观,其5年总生存(OS)率低于20%^[3]。因此,深入研究LUAD发病的分子机制并确定新的分子标志物对于推进更精准的诊断和治疗策略至关重要。双特异性磷酸酶(dual specificity phosphatase, DUSP)是一类可对底物的苏氨酸/丝氨酸和酪氨酸残基进行去磷酸化的蛋白质^[4]。通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路的激活,人们观察到DUSP26参与多种疾病的发生和进展。例如,过表达DUSP26可以通过抑制p38/MAPK信号通路促进甲状腺未分化癌的进展^[5],抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[6]。然而,DUSP26在LUAD中的作用机制尚不清楚。因此,对DUSP26的功能鉴定不仅有望阐明LUAD的发病机制,还可能为开发其作为潜在的治疗靶点提供重要依据。本研究通过探究DUSP26在LUAD中的表达水平及其对A549细胞增殖、迁移和侵袭的调控作用,分析其是否通过抑制TGF- β 1/SMAD2/3信号通路发挥抗肿瘤效应;通过体内外实验验证DUSP26作为潜在抑癌因子的功能基础,期望为LUAD的分子机制研究和靶向治疗提供新思路与理论依据。

1 材料与方法

1.1 组织标本、细胞、动物及主要试剂

收集2022年10月至2023年10月期间在萍乡市

人民医院手术切除的12例LUAD患者的癌组织及相应的癌旁组织标本。所有患者确诊LUAD前均未接受任何辅助治疗,均签署知情同意书,样本收集和实验方案获得医院医学伦理委员会审批通过(伦理审评号:2022N010-KS01)。

人LUAD细胞A549、SK-LU-1、Calu-3和H1299购自中国医学科学院基础医学研究所,正常人支气管上皮细胞BEAS-2B和HBEC购自合肥万物生物公司。

4周龄的BALB/C雄性裸鼠购自苏州赛业生物公司。动物实验已获得医院实验动物伦理委员会审核批准(伦理审评号:2022N010-KS01)。

RPMI 1640培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司,BCA试剂盒、RIPA裂解液(含磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂)购自北京索莱宝生物公司,包含DUSP26过表达序列及其阴性对照序列的慢病毒载体均购自上海吉玛基因公司,ECL化学发光液购自美国Thermo Fisher公司,TGF- β 1重组蛋白购自美国Abcam公司,Transwell小室购自美国BD公司,抗DUSP26、GAPDH、TGF- β 1、SMAD2、SMAD3、p-SMAD2、p-SMAD3抗体均购自美国Abcam公司,抗vimentin、N-cadherin、E-cadherin、snail、Ki-67、cyclin D1抗体均购自美国CST公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔、羊抗鼠二抗购自Proteintech公司,荧光标记二抗购自武汉赛维尔生物公司,Triton X-100购自上海碧云天生物公司,DAPI试剂购自上海翌圣生物公司,牛血清白蛋白购自美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 DUSP26表达数据的来源及分析

利用肿瘤数据库GEPIA2(<http://gepia2.cancer->

pku.cn/#index), 在搜索栏中输入“DUSP26”基因, 进行表达分析。通过 GEPIA2 分析 DUSP26 基因在 LUAD 患者癌组织和正常人肺组织中的表达差异, 并下载分析结果图。

1.3 细胞培养、转染及分组

所有细胞均使用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱内常规培养。按照制造商的说明, 将 A549 细胞接种于 24 孔板 (1×10^4 个/孔) 中, 细胞分为 DUSP26 过表达组 (DUSP26-OE 组)、DUSP26 过表达阴性对照组 (DUSP26-OENC 组)、DUSP26-OE + TGF- β 1 组。培养 24 h 后, 按分组加入对应的慢病毒-培养基混合液, 连续培养 72 h 后, 使用含 10 μ g/mL 嘌呤霉素的培养基进行筛选, 获得成功转染慢病毒的 A549 细胞。DUSP26-OE + TGF- β 1 组则是在细胞接种 24 h 后给予 5 ng/mL TGF- β 1 重组蛋白处理。

1.4 免疫组织化学 (IHC) 法检测 LUAD 组织中 DUSP26 蛋白的表达

本课题组委托上海奥特多生物技术有限公司对 LUAD 组织和对应癌旁组织微阵列上的 DUSP26 表达进行 IHC 分析。染色结果由两名不知道样本来源和患者结果的病理学家独立判断。每个样本以染色深浅表示抗体染色阳性强度。使用 Image J 软件进行图像定量分析。

1.5 WB 法检测 LUAD 组织和细胞中 DUSP26 蛋白的表达水平

收集各组细胞, 用 RIPA 裂解液裂解细胞 10 min, 获得细胞总蛋白样品, 经 BCA 试剂盒测定浓度后, 将 20 μ g 的蛋白样品加入至 SDS-PAGE 凝胶孔内进行电泳分离, 随后转印到 PVDF 膜上。将膜在 5% 脱脂牛奶中室温下封闭 2 h, 加入稀释比例均为 1:1 000 的 DUSP26、GAPDH、TGF- β 1、SMAD2、SMAD3、p-SMAD2、p-SMAD3、vimentin、N-cadherin、E-cadherin、snail、Ki-67、cyclin D1 一抗, 4 °C 下处理过夜。次日, 洗膜后, 加入稀释比例为 1:6 000 的 HRP 标记羊抗兔或羊抗鼠二抗在室温下处理 1 h, 采用 ECL 化学发光法成像, 用 Image J 软件分析蛋白质条带的灰度值。

1.6 免疫荧光法检测 DUSP26 过表达对 A549 细胞 Ki-67 与 cyclin D1 表达的影响

将细胞在 24 孔板中培养 12 h, 后用 4% 多聚甲醛溶液固定细胞, 用通透液 (1% Triton X-100) 增加膜通透性。然后, 用 5% 牛血清白蛋白封闭 1 h, 在稀释比例均为 1:100 的 Ki-67、cyclin D1 一抗中 4 °C 下处理过夜。次日, 在稀释比例为 1:100 的羊抗兔或羊抗鼠荧光二抗中作用 1 h 后, 在暗室中使用 DAPI 试剂染细胞核 15 min。将染色后的样品置于激光扫描共聚

焦显微镜下进行观察拍照。

1.7 克隆形成实验检测 DUSP26 过表达对 A549 细胞克隆形成的影响

将细胞按 2×10^2 个/孔接种于 6 孔板中, 使用完全培养基连续培养 2 周。细胞用 4% 多聚甲醛溶液固定、0.1% 结晶紫溶液中染色后, 观察并统计各孔克隆形成数。

1.8 划痕愈合实验检测 DUSP26 过表达对 A549 细胞迁移的影响

将各组细胞接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后, 用 200 μ L 无菌移液器吸头在单层细胞上制造划痕伤口, 分别在划痕后第 0、24 h 测量划痕伤口宽度, 使用 Image J 软件分析划痕面积并计算愈合率。

1.9 Transwell 实验检测 DUSP26 过表达对 A549 细胞侵袭的影响

将各组细胞消化并离心后, 使用无血清培养基进行重悬, 然后按 1×10^3 个/孔的细胞密度接种于预铺基质胶的 Transwell 小室上室内, 下室中加入 700 μ L 含 10% 胎牛血清的完全培养基。培养 48 h 后, 轻轻刮掉上室表面的细胞, 用 4% 多聚甲醛溶液固定下室表面的细胞 30 min, 后用 0.1% 结晶紫溶液染色 10 min。小室风干后, 在光学显微镜下观察并统计侵袭细胞数。

1.10 A549 细胞裸鼠移植瘤模型的构建及观察

12 只 BALB/C 雄性裸鼠在洁净动物房内适应性饲喂 1 周后, 按随机数字表法随机分为 DUSP26-OE 组和 DUSP26-OENC 组, 每组 6 只。按照分组向各组裸鼠背部皮下接种 A549 细胞 (2×10^6 个细胞/只)。接种第 5 天开始, 每隔 5 d 测量一次皮下移植瘤的大小, 并按照公式 (体积公式: $V = \text{长} \times \text{宽}^2 / 2 (\text{mm}^3)$) 计算移植瘤体积。接种第 20 天时, 麻醉处死裸鼠, 分离移植瘤, 测量大小并称质量后, 将移植瘤标本进行 IHC 和 WB 法观察, 具体方法同 1.4 与 1.5。

1.11 统计学处理

以上主要实验均独立重复 3 次。使用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计分析, 符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间数据比较采用非配对 t 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

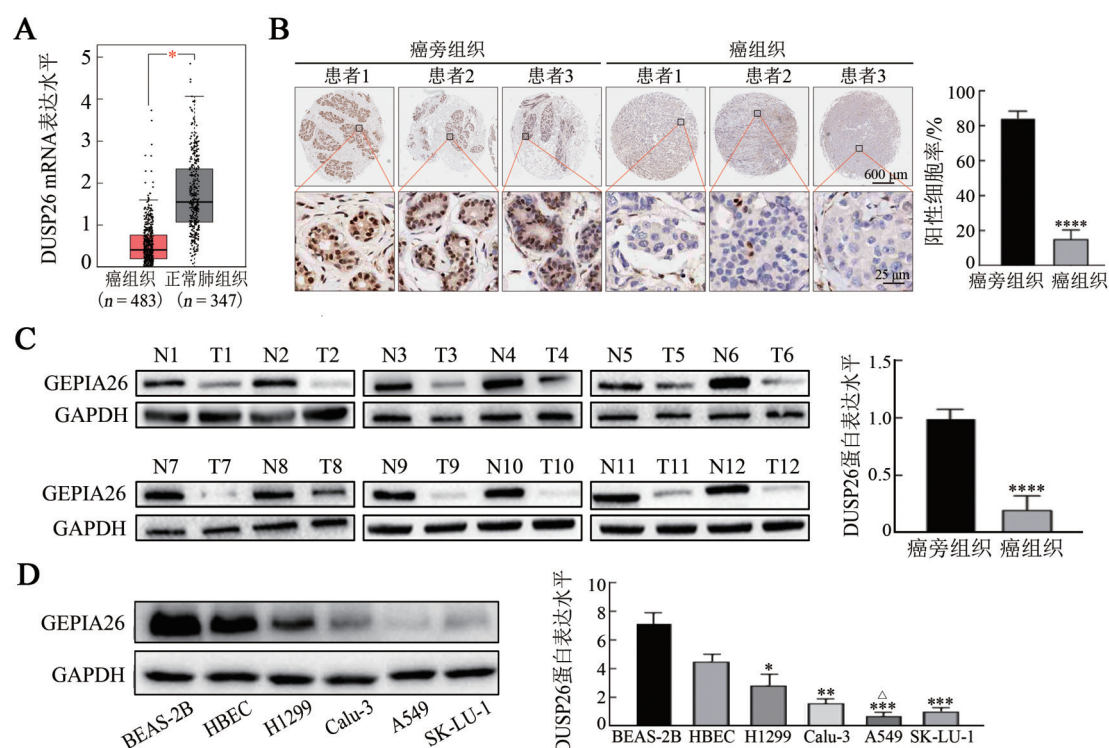
2 结果

2.1 DUSP26 在 LUAD 组织和细胞中呈低表达

通过 GEPIA2 数据库分析结果 (图 1A) 发现, DUSP26 mRNA 在 LUAD 癌组织中表达水平显著低于正常肺组织 ($P < 0.05$)。IHC 和 WB 法检测结果 (图 1B、C) 显示, DUSP26 蛋白在 LUAD 组织中表达显著低于癌旁组织 (均 $P < 0.000 1$)。WB 法检测了 LUAD 细胞和正常支气管上皮细胞中 DUSP26 蛋白

表达,结果(图1D)显示,DUSP26蛋白在LUAD细胞中表达水平均显著低于正常支气管上皮细胞($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),其中以A549细胞表

达水平最低($P < 0.05$)。结果表明,DUSP26 mRNA和蛋白在LUAD癌组织和细胞中均呈低表达状态。



A: GEPIA2数据库分析LUAD组织与正常肺组织中DUSP26 mRNA表达水平,* $P < 0.05$; B: IHC检测LUAD组织与癌旁组织中DUSP26蛋白的表达; C、D: WB法检测LUAD组织与癌旁组织(C)和LUAD细胞(D)中DUSP26蛋白的表达。与癌旁组织或BEAS-2B和HBE细胞相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,**** $P < 0.0001$;与H1299或Calu-3或SK-LU-1细胞相比, $\Delta P < 0.05$ 。

图1 DUSP26在LUAD组织和细胞中的表达

2.2 DUSP26过表达抑制A549细胞增殖、迁移和侵袭

WB法检测结果(图2A)显示,与DUSP26-OENC组比较,DUSP26-OE组A549细胞中DUSP26蛋白显著高表达($P < 0.0001$),表明成功构建DUSP26-OE细胞,可以进行后续实验。

克隆形成、划痕愈合和Transwell实验检测结果(图2B、C、D)表明,与DUSP26-OENC组相比,DUSP26-OE组A549细胞的克隆形成数、迁移和侵袭能力均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。免疫荧光实验检测结果(图2E)显示,DUSP26-OE组A549细胞中Ki-67和cyclin D1蛋白表达水平均显著低于DUSP26-OENC组($P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。结果表明,DUSP26的过表达显著抑制A549细胞的增殖、迁移和侵袭能力,并显著降低了细胞周期相关蛋白Ki-67、cyclin D1的表达水平。

2.3 DUSP26过表达抑制A549细胞TGF- β 1/SMAD2/3通路活化和EMT过程

WB法实验检测结果(图3)显示,与DUSP26-OENC组相比,DUSP26-OE组A549组细胞中TGF- β 1、p-SMAD2、p-SMAD3、snail、N-cadherin和

vimentin等蛋白表达均显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$),E-cadherin表达显著升高($P < 0.0001$),SMAD2/3蛋白水平无明显变化。结果表明,DUSP26可能通过TGF- β 1/SMAD2/3信号通路影响A549细胞的生物学功能。

2.4 DUSP26过表达通过抑制TGF- β 1/SMAD2/3通路抑制A549细胞增殖、迁移和侵袭

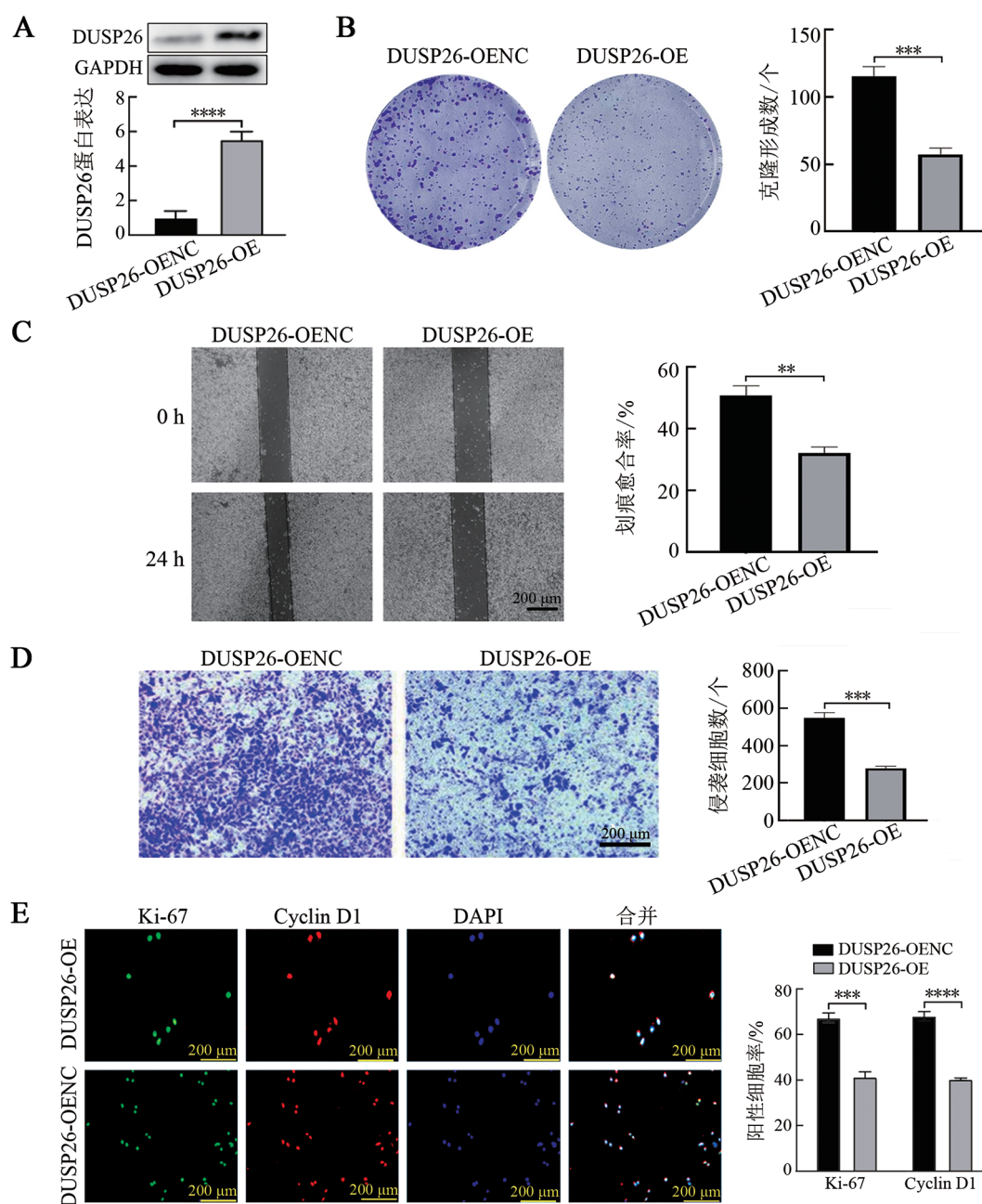
WB法检测结果(图4A)显示,加入TGF- β 1重组蛋白后,DUSP26-OE组A549细胞中p-SMAD2、p-SMAD3、snail、N-cadherin和vimentin等蛋白表达均显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$),E-cadherin表达显著降低($P < 0.001$)。在功能回复实验中,TGF- β 1重组蛋白的加入增加了DUSP26-OE组A549细胞增殖、迁移和侵袭能力(均 $P < 0.001$,图4B、C、D)。结果表明,DUSP26过表达通过抑制TGF- β 1/SMAD2/3通路的活化进而抑制A549细胞增殖、迁移和侵袭。

2.5 DUSP26过表达抑制A549细胞裸鼠移植瘤的生长与转移

成功构建了裸鼠LUAD荷瘤模型(图5A)。与

DUSP26-OENC 组相比, DUSP26-OE 组裸鼠移植瘤体积和质量均显著降低(图 5B、C, 均 $P < 0.001$)。WB 法检测结果(图 5D)显示, 与 DUSP26-OENC 组相比, DUSP26-OE 组移植瘤组织中 TGF- β 1、p-SMAD2、p-SMAD3、snail、N-cadherin 和 vimentin 表达均显著

降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), E-cadherin 显著升高($P < 0.0001$)。IHC 检测结果(图 5E)显示, DUSP26-OE 组移植瘤组织中 Ki-67 和 cyclin D1 表达均显著降低(均 $P < 0.001$)。实验结果进一步验证了体外细胞实验的结果。



A: WB法检测DUSP26过表达效率; B: 克隆形成实验检测DUSP26过表达对细胞克隆形成能力的影响; C: 划痕愈合实验检测DUSP26过表达对细胞迁移的影响; D: Transwell实验检测DUSP26过表达对细胞侵袭能力的影响; E: 免疫荧光实验检测DUSP26过表达对细胞中Ki-67与cyclin D1表达的影响。* $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图2 DUSP26过表达对A549细胞增殖、迁移和侵袭的影响

3 讨论

肺癌是一种全球发病率和病死率均较高的恶性肿瘤, 对人类健康和生存构成了严重威胁。尽管有

关肺癌的发病机制和治療措施研究取得了一定进展, 但LUAD的临床治療和管理仍然面临着诸多挑战^[7-10]。目前, LUAD的主要治療方法是手术切除联合辅助化疗或放疗。然而, 针对分子通路而研发的

新型药物有望在一定程度上减轻疾病负担^[11-12]。目前,基因突变(尤其是KRAS突变)所致LUAD的治疗选择仍然有限^[13-14]。尽管针对KRAS基因的靶向干预取得了一些进展,但有效的临床治疗药物仍然有限。

因此,迫切需要寻找其他标志基因,以开发更有效的药物。本研究结果表明,DUSP26在LUAD中表达下调,与肿瘤进展呈负相关,可能是LUAD治疗的潜在靶点之一。

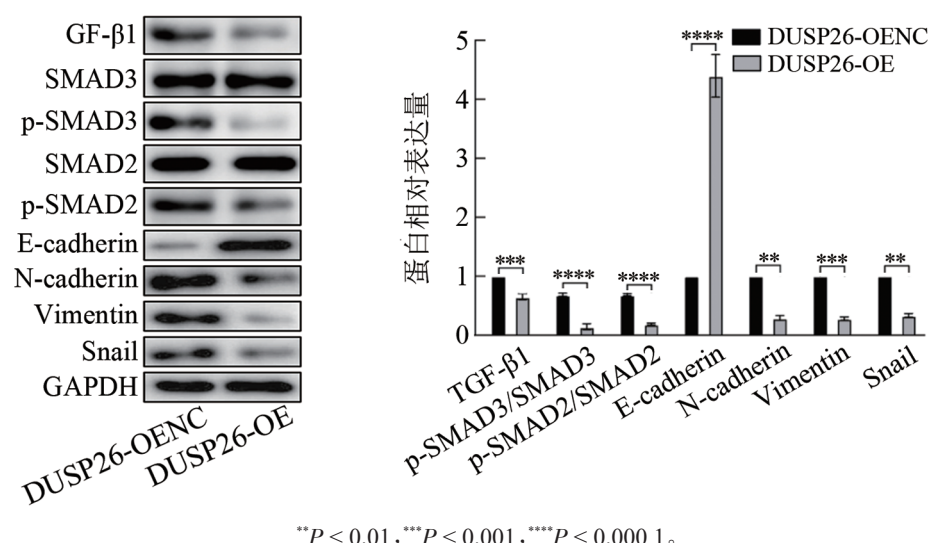


图3 DUSP26过表达对A549细胞TGF- β 1/SMAD2/3通路和EMT相关蛋白表达的影响

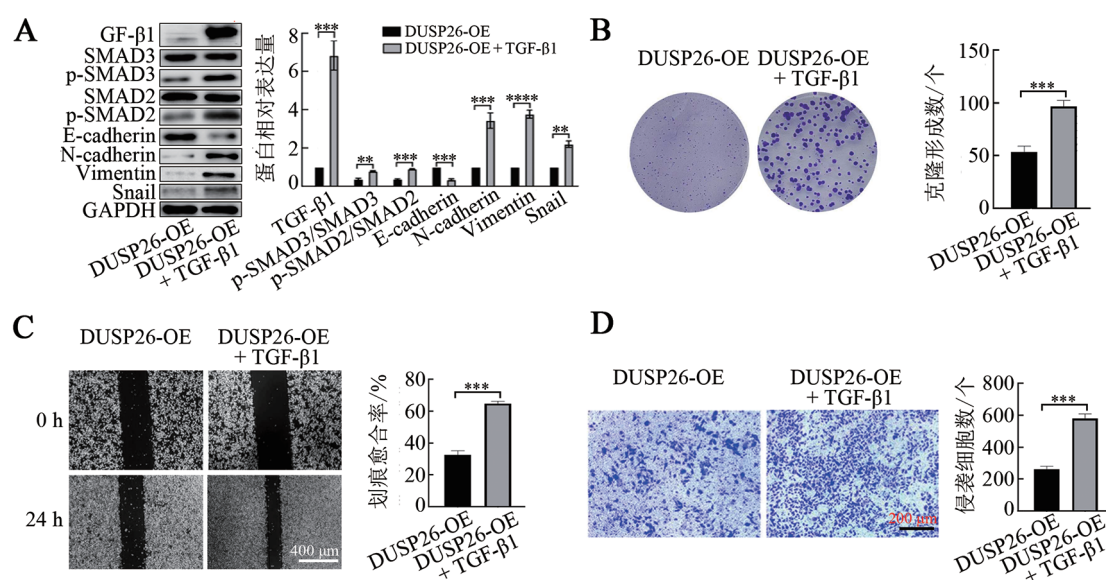


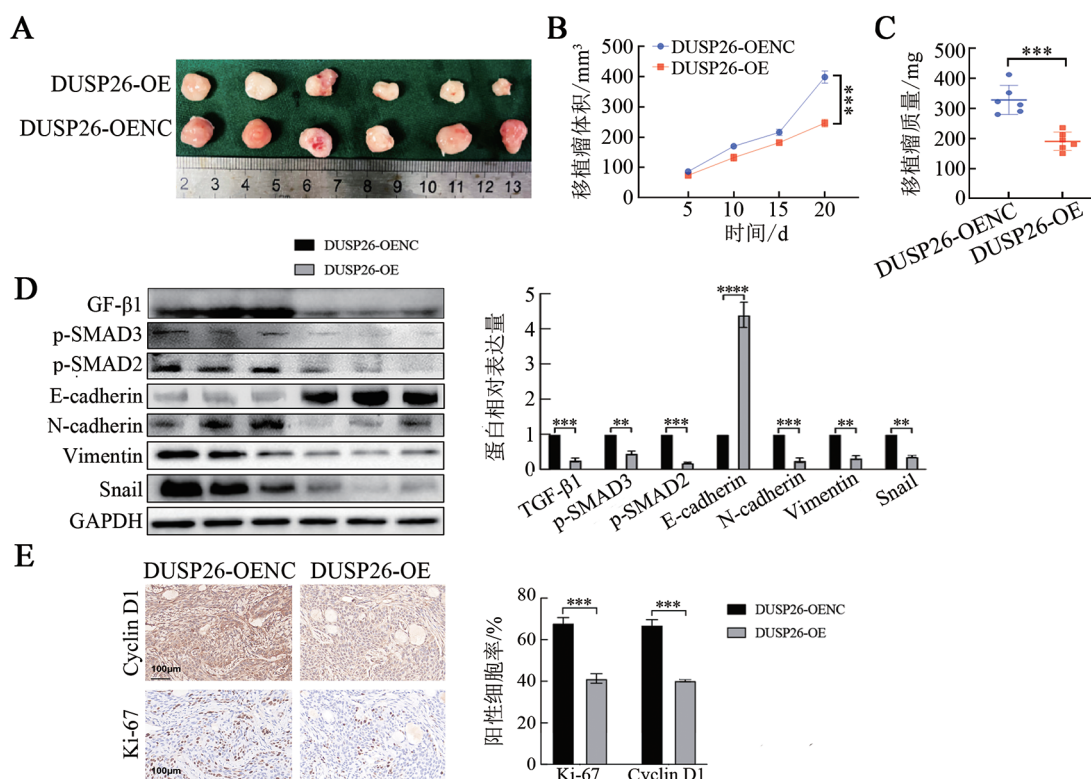
图4 DUSP26过表达通过抑制TGF- β 1/SMAD2/3通路抑制A549细胞增殖、迁移和侵袭

尽管大量证据^[15]证实,MAPK在TGF- β 1信号与肿瘤细胞EMT过程中发挥了关键作用,但在EMT过程中能够抑制MAPK活性的蛋白磷酸酶,即DUSP的潜在作用却未受到应有的充分关注。据报道^[16],由TGF- β 1诱导的肺癌A549细胞和胰腺癌PANC1细胞EMT过程需要DUSP26表达上调。TGF- β 1信号对EMT过程的影响由SMAD依赖性和非依赖性通路介导^[17]。在SMAD依赖性通路中,有一个或多个MAPK

参与EMT过程,具体取决于细胞环境和其他因素^[18]。本研究结果表明,在A549细胞中上调DUSP26表达会抑制TGF- β 1表达水平,并进一步抑制下游SMAD2/3信号磷酸化激活,进而抑制A549细胞EMT过程。尽管之前的研究^[19]已经验证了不同细胞类型中表达的DUSP对MAPK活性的影响,但只有少数DUSP与肿瘤细胞中的EMT有关。本研究证实了DUSP26与LUAD细胞EMT之间的关联性。这可能提示,

DUSP26过表达还涉及更多的信号通路调节,并且不同通路的变化程度不一,对LUAD细胞产生交互性

作用,共同影响细胞表型和功能,而最终结果可能取决于肿瘤细胞所处的环境、状态和阶段。



A: A549细胞裸鼠移植瘤的外形; B: A549细胞裸鼠移植瘤体积分析数据图; C: A549细胞裸鼠移植瘤质量分析数据图; D: WB法检测移植瘤组织中TGF-β1/SMAD2/3通路相关蛋白表达; E: IHC法检测移植瘤中Ki-67与cyclin D1蛋白表达。

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图5 DUSP26过表达抑制A549细胞裸鼠移植瘤的生长和转移

本研究发现,补充TGF-β1后,由于DUSP26过表达导致的A549细胞肿瘤活性抑制得到显著逆转。这主要是由于TGF-β1激活了下游SMAD2/3信号。既往研究^[20]表明,一些DUSP成员的过表达与某些癌症的恶性表型有关。本研究通过DUSP26过表达探讨了其与A549细胞恶性表型之间的关系,发现DUSP26表达有利于抑制A549细胞增殖、迁移和侵袭的恶性生物学行为。体内实验进一步验证了体外实验的结论,DUSP26过表达显著降低了LUAD组织中Ki-67和cyclin D1表达水平,这导致肿瘤细胞增殖和周期受到显著抑制。CHEN等^[21]的研究结果可以支持本研究的结论,他们发现DUSP26表达减少导致MAPK信号通路失调,进而促进胶质母细胞瘤细胞的恶性生物学行为。HUANG等^[6]的研究结果表明,DUSP26过表达能够抑制人前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,这与本研究得到的结论一致。

综上所述,本研究结果揭示了DUSP26在LUAD治疗中潜在的价值,其表达水平上调有望延缓转移性LUAD的进展,从而为该病的治疗带来新思路。

然而,本研究存在一定的局限性:一是未对DUSP26过表达在体内LUAD转移中的作用进行深入探究;二是未设置DUSP26敲低组进行对比分析,因此尚未全面评估DUSP26在LUAD发展过程中的双向调控作用。未来的研究将聚焦于阐释DUSP26如何调节TGF-β1/SMAD2/3通路的活性,以期为临床LUAD的诊断和治疗提供有价值的参考依据。

参考文献

- [1] LEITER A, VELUSWAMY R R, WISNIVESKY J P. The global burden of lung cancer: current status and future trends[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2023, 20(9): 624-639. DOI:10.1038/s41571-023-00798-3.
- [2] NOORELDEEN R, BACH H. Current and future development in lung cancer diagnosis[J/OL]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16): 8661 [2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34445366/>. DOI: 10.3390/ijms22168661.
- [3] DUMA N, SANTANA-DAVILA R, MOLINA J R. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment[J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(8): 1623-1640. DOI: 10.1016/j.mayocp.2019.01.013.
- [4] THOMPSON E M, STOKER A W. A review of DUSP26: structure,

- regulation and relevance in human disease[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 776[2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33466673/>. DOI:10.3390/ijms22020776.
- [5] YU W, IMOTO I, INOUE J, *et al.* A novel amplification target, DUSP26, promotes anaplastic thyroid cancer cell growth by inhibiting p38 MAPK activity[J]. *Oncogene*, 2007, 26(8): 1178-1187. DOI:10.1038/sj.onc.1209899.
- [6] HUANG R H, ZENG Q M, JIANG B, *et al.* Overexpression of DUSP26 gene suppressed the proliferation, migration, and invasion of human prostate cancer cells[J/OL]. *Exp Cell Res*, 2024, 442(2): 114231[2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39222869/>. DOI:10.1016/j.yexcr.2024.114231.
- [7] GRANT M J, HERBST R S, GOLDBERG S B. Selecting the optimal immunotherapy regimen in driver-negative metastatic NSCLC[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(10): 625-644. DOI: 10.1038/s41571-021-00520-1..
- [8] LI Y W, WU X, YANG P, *et al.* Machine learning for lung cancer diagnosis, treatment, and prognosis[J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2022, 20(5): 850-866. DOI:10.1016/j.gpb.2022.11.003.
- [9] DAYLAN A E C, MIAO E, TANG K, *et al.* Lung cancer in never smokers: delving into epidemiology, genomic and immune landscape, prognosis, treatment, and screening[J]. *Lung*, 2023, 201(6): 521-529. DOI:10.1007/s00408-023-00661-3.
- [10] 郑明, 吕双双. 肺腺癌肿瘤免疫微环境及其与疗效和预后的关系[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(8): 733-738. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.08.013.
- [11] LU T, YANG X D, HUANG Y W, *et al.* Trends in the incidence, treatment, and survival of patients with lung cancer in the last four decades[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 943-953. DOI: 10.2147/CMAR.S187317.
- [12] ZHOU F, QIAO M, ZHOU C C. The cutting-edge progress of immune-checkpoint blockade in lung cancer[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(2): 279-293. DOI:10.1038/s41423-020-00577-5.
- [13] GALAN-COBO A, SITTHIDEATPHAIBOON P, QU X, *et al.* LKB1 and KEAP1/NRF2 pathways cooperatively promote metabolic reprogramming with enhanced glutamine dependence in KRAS-mutant lung adenocarcinoma[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(13): 3251-3267. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-3527.
- [14] LEE H M, MUHAMMAD N, LIEU E L, *et al.* Concurrent loss of LKB1 and KEAP1 enhances SHMT-mediated antioxidant defence in KRAS-mutant lung cancer[J]. *Nat Metab*, 2024, 6(7): 1310-1328. DOI:10.1038/s42255-024-01066-z.
- [15] DAVIES M, ROBINSON M, SMITH E, *et al.* Induction of an epithelial to mesenchymal transition in human immortal and malignant keratinocytes by TGF-beta1 involves MAPK, Smad and AP-1 signalling pathways[J]. *J Cell Biochem*, 2005, 95(5): 918-931. DOI:10.1002/jcb.20458.
- [16] GULER S, ZIK B, YALCIN A. Upregulation of dual-specificity phosphatase-26 is required for transforming growth factor β 1(TGF β 1)-induced Epithelial-mesenchymal transition in A549 and PANC1 cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(11): 10195-10204. DOI: 10.1007/s11033-022-07893-1.
- [17] PALLASCH F B, SCHUMACHER U. Angiotensin inhibition, TGF- β and EMT in cancer[J/OL]. *Cancers*, 2020, 12(10): 2785[2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32998363/>. DOI: 10.3390/cancers12102785.
- [18] GUO W H, LIU H W, YAN Y, *et al.* Targeting the TGF- β signaling pathway: an updated patent review (2021-present)[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2024, 34(3): 99-126. DOI:10.1080/13543776.2024.2346325.
- [19] BOULDING T, WU F, MCCUAIG R, *et al.* Differential roles for DUSP family members in epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cell regulation in breast cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0148065[2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26859151/>. DOI:10.1371/journal.pone.0148065.
- [20] GAO Y, LI H, HAN Q, *et al.* Overexpression of DUSP6 enhances chemotherapy-resistance of ovarian epithelial cancer by regulating the ERK signaling pathway[J]. *J Cancer*, 2020, 11(11): 3151-3164. DOI:10.7150/jca.37267.
- [21] CHEN J J, ZENG Y C, WU R, *et al.* Decreased DUSP26 expression promotes malignant behavior in glioblastoma cells *via* deregulation of MAPK and Akt signaling pathway[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 622826[2024-09-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33718185/>. DOI:10.3389/fonc.2021.622826.
- [收稿日期] 2024-09-25 [修回日期] 2025-06-13
[本文编辑] 党瑞山