

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.003

甘氨酸对肺腺癌移植瘤小鼠放射治疗敏感性的影响及其机制

郝振博¹, 边超², 云洁², 李智军^{1,2} (1. 内蒙古医科大学 内蒙古临床医学院, 内蒙古 呼和浩特 010000; 2. 内蒙古自治区人民医院 放射治疗科, 内蒙古 呼和浩特 010000)

[摘要] **目的:** 探究甘氨酸(GCA)对肺腺癌A549细胞移植瘤小鼠放射治疗敏感性的影响及其机制。**方法:** 建立A549人肺腺癌细胞裸鼠移植瘤模型, 随机分为移植瘤对照组(对照组)、GCA组、放疗组(RT组)和GCA+放疗组(GCA+RT组)。RT组和GCA+RT组接受单次10 Gy照射, GCA组及GCA+RT组连续7 d每日灌胃GCA 280 mg/kg。间隔2 d测量1次移植瘤体积, 末次给药后处死小鼠并取移植瘤组织, 检测移植瘤组织中超氧化物歧化酶(SOD)与谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性, qPCR法和WB法分别检测放疗关键基因(MCM6、ITGA6、CASP3等)mRNA和蛋白表达水平, H-E染色观察移植瘤组织的形态变化。通过GEO(GSE276500、GSE294906、GSE218171)及TCGA数据库数据验证放疗关键基因。**结果:** GCA单用对瘤体生长有一定抑制作用, 但联合放疗的GCA+RT组相比单纯放疗组表现出放疗抵抗的效应($P < 0.05$)。GCA处理显著提高移植瘤组织SOD活性($P < 0.01$)、降低GSH-Px活性($P < 0.01$), 提示GCA可改变移植瘤抗氧化酶平衡, 减弱放疗诱导的氧化应激。GCA干预上调移植瘤组织中MCM6与ITGA6 mRNA表达、下调CASP3 mRNA表达(均 $P < 0.05$)。GCA+RT组移植瘤组织中的MCM6蛋白表达显著高于对照组($P < 0.05$)。H-E染色显示, GCA组部分瘤组织坏死, 而GCA+RT组坏死组织面积较RT组有所缩小。GEO和TCGA数据库验证支持MCM6、ITGA6高表达与放疗抵抗和预后不良相关。**结论:** GCA通过增强SOD活性、降低GSH-Px活性并上调ITGA6、MCM6的表达改变氧化应激与关键信号网络, 从而削弱A549移植瘤对放疗的敏感性。

[关键词] 甘氨酸; 肺癌; 放射敏感性; 氧化应激; 基因表达

[中图分类号] R734.2; R730.55 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026) 01-0020-08

Effects and mechanisms of glycocholic acid on the radiosensitivity of mice with lung adenocarcinoma transplantation tumors

HAO Zhenbo¹, BIAN Chao², YUN Jie², LI Zhijun^{1,2} (1. Inner Mongolia Clinical Medical College, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China; 2. Department of Radiotherapy, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010000, Inner Mongolia, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects and mechanisms of glycocholic acid (GCA) on the radiosensitivity of mice with lung adenocarcinoma A549 cell transplantation tumors. **Methods:** A lung adenocarcinoma A549 cell xenograft nude mouse model was established and randomized into four groups: the transplanted tumor control group (the control group), the GCA group, the radiotherapy (RT) group, and the GCA + RT group. The RT group and the GCA + RT group received a single 10 Gy irradiation; the GCA group and the GCA + RT group were gavaged with GCA at 280 mg/kg once daily for 7 consecutive days. Tumor volumes were monitored with two days between two measurements. After the last treatment mice were sacrificed and transplanted tumor tissues were collected. Superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activities in transplantation tumor tissues were detected. qPCR and Western blot (WB) were used to detect the mRNA and protein expression levels of key radiation-related genes (MCM6, ITGA6, CASP3, etc.) respectively. Histomorphology was examined by H-E staining. External validation of candidate genes was performed using GEO datasets (GSE276500, GSE294906, and GSE218171) and TCGA. **Results:** GCA alone showed modest inhibition effect on tumor growth, whereas the GCA + RT group with combined radioactive therapy exhibited reduced radiosensitivity compared to the RT group with RT alone ($P < 0.05$). GCA treatment significantly increased SOD activity ($P < 0.01$) and decreased GSH-Px activity ($P < 0.01$) in transplanted tumor tissues, indicating that GCA might change antioxidant enzyme balance and reduce radiation-induced oxidative stress in transplanted tumors. GCA interference upregulated the mRNA expressions of MCM6 and ITGA6 and downregulated the mRNA expression of CASP3 in transplanted tumors (all $P < 0.05$). The expression of MCM6 protein was significantly higher in the transplanted tumor tissues of the GCA + RT group than that of the control group ($P < 0.05$).

[基金项目] 呼和浩特市卫生健康科技计划基金(2024-呼卫科-012); 内蒙古医学科学院公立医院科研联合基金科技项目(2025GLLH0016)

[作者简介] 郝振博, 硕士生, 住院医师

[通信作者] 李智军(扫码获取作者通信方式)



H-E staining showed partial tumor necrosis in the GCA group, while the necrotic area in the GCA + RT group grew smaller than that in the RT group. GEO and TCGA database analyses supported the association of high MCM6/ITGA6 expressions with radioresistance and poorer prognosis. **Conclusion:** GCA reduces the radiosensitivity of A549 xenografts by changing oxidative stress and key signaling network, such as enhancing SOD, lowering GSH-Px, and upregulating ITGA6 or MCM6.

[Key words] glycocholic acid (GCA); lung cancer; radiosensitivity; oxidative stress; gene expression

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(1): 20-27. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.003]

肺癌是全球常见且死亡总人数最多的恶性肿瘤。2020年,全球新发肺癌病例约220万,占癌症新发总数的11.4%,其5年生存率仅10%~20%;在病理分类上,非小细胞肺癌约占85%^[1-4]。对局部晚期或不可手术的肺癌患者,同步放化疗是主要的根治手段,但个体间放射敏感性差异显著,疗效仍受限制;这种差异与DNA损伤修复增强、细胞周期异常、抗氧化应激及缺氧微环境、肿瘤干细胞和自噬等多种因素有关^[5-7]。一些天然产物能够通过调控细胞凋亡、自噬及DNA损伤修复等途径增强肿瘤细胞放射敏感性^[8]。甘氨酸(glycocholic acid, GCA)是胆汁酸代谢产物之一,作为内源性小分子可参与细胞代谢和炎症信号的调控^[9]。研究^[10]显示,胆汁酸可通过影响氧化应激及炎症微环境,间接参与肿瘤发生发展。由此推测,GCA可能通过扰乱氧化还原稳态和细胞周期调控,影响肿瘤细胞对放疗的敏感性。本研究采用人肺腺癌A549细胞建立裸鼠移植瘤模型,联合GCA与放疗,观察GCA对肺癌放疗增敏作用及其可能机制。同时,通过多组学分析、基因集富集分析(Gene Set Enrichment Analysis, GSEA),并结合基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)及癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)的肺腺癌数据,探索并验证关键基因与放疗反应和预后的关联。

1 材料与方法

1.1 细胞、实验动物及主要试剂

人肺腺癌细胞A549购自武汉普诺赛生命科技有限公司。4~5周龄、SPF级雌性BALB/c裸鼠由内蒙古大学实验动物中心提供,饲养于SPF级环境。本研究经内蒙古自治区人民医院医学伦理委员会批准通过(伦理批准号:202519807L)。

胎牛血清、0.25%胰蛋白酶、青霉素-链霉素、GCA购自美国赛默飞世尔科技公司,DMEM培养基购自上海富衡生物科技有限公司,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)测定试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,引物、Matrigel基质胶购自上海创赛科技有限公司,qPCR试剂、逆转录试剂购自上海生工生物工程股份有限公司,WB所用一抗和辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔(H+L)二抗购自无锡傲锐东源生物科技有限公司。

1.2 A549细胞移植瘤模型构建

将第7代肺腺癌A549细胞置于10%胎牛血清的DMEM培养基中,于37℃、5%CO₂培养箱中培养。细胞每48h传代一次。取对数生长期细胞,按 5×10^5 个/200 μ L(含基质胶)混匀后接种于BALB/c裸鼠右侧腋窝皮下,构建裸鼠移植瘤模型。

选取40只BALB/c裸鼠,适应性喂养1周后,按照随机数字表法分为移植瘤对照组(对照组)、GCA组、放疗组(RT组)和GCA+照射组(GCA+RT组),每组各10只小鼠。植瘤后2~3周,瘤体直径>0.8cm时表示小鼠成瘤成功。RT组、GCA+RT组小鼠使用直线加速器单次10Gy瘤区照射,照射后给GCA组、GCA+RT组按照280mg/kg GCA灌胃,每日1次,连续7d,灌胃剂量按照10mL/kg小鼠体质量计算;对照组、RT组用等体积的生理盐水灌胃,连续7d。各组小鼠每隔48h测量移植瘤长(L)、宽(W)、高(H)(mm)并计算体积[计算公式: $V = (\pi/6) \times L \times W \times H$]。在此期间进食及饮水饲喂方式不变。治疗14d后的小鼠先经尾静脉采血,随后实施安乐死,完整剥离移植瘤并测量体积,再按常规方法固定、包埋移植瘤组织。

1.3 抗氧化酶活性测定

采用商品化试剂盒测定各组小鼠肿瘤组织匀浆中的SOD与GSH-Px活性。按照试剂盒说明书操作,以比色法在相应波长下测定光密度(D)值,每个样本平行检测3次取均值,计算并折算为U/mg prot.的SOD与GSH-Px活性。

1.4 qPCR法检测移植瘤组织中GCA相关基因mRNA的表达

根据本研究团队前期对相同处理下的细胞进行转录组分析,筛选了与GCA相关性较高的Rho关联卷曲螺旋蛋白激酶2(Rho-associated coiled-coil containing protein kinase 2, ROCK2),B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma 2, BCL2),分化簇6(cluster of Differentiation 6, CD6),整合素亚基 α 6(integrin subunit alpha 6, ITGA6),胱天蛋白酶3(caspase 3, CASP3),微小染色体维持复合体组分6(minichromosome maintenance complex component 6, MCM6)基因进行qPCR检测。TRIzol法提取各组移植瘤组织总RNA,将1 μ g RNA逆转录合成cDNA。

采用 Bio-Rad Chromo4 实时 PCR 仪进行扩增, 每个 25 μ L 反应体系中加入 30 ng cDNA 模板和 0.2 μ mol/L 正反引物。引物序列: ROCK2 正向引物为 5'-AGA TATTATGGCCTTTGCCA-3', 反向引物为 5'-TGCCC GATCATCTCCTAGAA-3'; ITGA6 正向引物为 5'-GCT CCCAGAGCCAATCACAG-3', 反向引物为 5'-AAA TGGTTGCTTTATTTGGT-3'; CASP3 正向引物为 5'-GACTCTGGAATATCCCTGGA-3', 反向引物为 5'-AAACCCAAACTTTTCATTAT-3'; MCM6 正向引物为 5'-GACAACAGGAGAAGGGACCTCT-3', 反向引物为 5'-GGACGCTTTACCACTGGTGTAG-3'; CD6 正向引物为 5'-TCCTGGCGGTTCAACAACCTCCA-3', 反向引物为 5'-GTGACTGTCTGAACACTTGCAGG-3'; BCL2 正向引物为 5'-ATCGCCCTGTGGATGACT GAGT-3', 反向引物为 5'-GCCAGGAGAAATCAA ACAGAGGC-3'。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s、55 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 30 s, 共循环 40 次; 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。以 GAPDH 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因 mRNA 的相对表达量。每组样本设置 3 个生物学重复。

1.5 WB 法检测移植瘤组织中 MCM6、ITGA6、CASP3 蛋白的表达

从各组移植瘤组织中提取总蛋白并用 BCA 法测定蛋白浓度。将蛋白样品与上样缓冲液混合, 煮沸 5 min 进行变性, 然后进行 10% SDS-PAGE 分离蛋白质, 将蛋白条带转移至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 2 h。加入 MCM6(1:1 000)、ITGA6(1:500)、CASP3(1:500) 一抗, 4 $^{\circ}$ C 下处理过夜。洗涤后, 加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(H+L) 二抗(1:4 000) 室温下处理 1 h。使用 ECL 法显色, 用 Image-Pro Plus 软件分析蛋白质条带的灰度值。实验重复 3 次。

1.6 H-E 染色评估移植瘤的组织学改变

取移植瘤组织, 于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h, 随后进行常规脱水、透明、包埋, 切片厚度为 5 μ m。切片经二甲苯脱蜡后, 梯度乙醇下行水化, 苏木精染色 5~10 min, 1% 盐酸乙醇分化 3 s, 流水返蓝 5 min, 醇溶性曙红染色 20 s, 常规脱水、透明、封片。最后, 在光学显微镜下观察各组移植瘤组织的形态结构变化, 包括细胞排列、异型性、核分裂象及坏死等情况。

1.7 基于 GEO 及 TCGA 数据库验证肺腺癌细胞放疗敏感性基因

在 GEO 数据库中检索“肺腺癌 + 放射治疗”等关键词筛选出符合条件的 3 个基因表达数据集, 最终纳入 3 个数据集: GSE276500 (HCC827 细胞, SPIN1 siRNA 干预)、GSE294906 (A549 细胞, LOC401312 过表达) 与 GSE218171 (H1299 细胞, FOXN3 siRNA 干

预), 均为与放疗敏感性相关的生物学模型。基于多条与放疗敏感性密切相关的信号通路, 对上述候选基因的表达水平进行提取与比较。

在 TCGA 数据库中获取共 198 例肺腺癌患者的临床资料和转录组数据, 剔除生存期数据缺失的 2 例, 共纳入 196 例患者, 其中接受放疗患者 96 例。进一步将接受放疗患者按目标基因表达水平高低 (以中位数为截断) 分为高、低表达亚组。

1.8 统计学处理

本研究所有数据处理与统计分析均在 R4.2.3 环境下完成, 核心包包括 tidyverse、ggplot2、rstatix、survival、survminer、limma 和 edgeR 等。连续变量先行 Shapiro-Wilk 正态性检验; 正态分布且方差齐者以 $\bar{x} \pm s$ 表示并用单因素方差分析 (ANOVA), 正态分布但方差不齐者改用 Welch ANOVA 检验。Kaplan-Meier 法绘制生存曲线并以 Log-rank 检验比较。GEO 数据根据数据源介绍, 部分库需经 limma 背景校正与量化归一化, 差异基因筛选标准为 $|\log_2 FC| > 1$ 且 $FDR < 0.05$, 经 Benjamini-Hochberg 校正; TCGA 转录组用 edgeR 进行 TMM 标准化后差异分析。所有图形均由 ggplot2 生成。双侧检验以 $P < 0.05$ 为显著, 多重比较用校正后的 P 值判定。

2 结果

2.1 GCA 对肺癌移植瘤生长的影响

各组移植瘤模型均建立成功, 随机分组后接受相应处理。处理期间, 对照组瘤体体积持续快速增大; GCA 组瘤体增长速度较对照组略有减缓, 但差异无统计学意义。RT 组在照射后瘤体生长受到抑制; GCA + RT 组瘤体增长也受到抑制; 照射后 1 周内瘤体出现缩小趋势, 但 14 d 时 GCA + RT 组瘤体体积显著大于 RT 组 ($P < 0.05$, 图 1、表 1)。各组处死时取出瘤组织称质量, 结果显示, RT 组瘤质量显著低于对照组、GCA + RT 组及 GCA 组 ($P < 0.05$); GCA + RT 组瘤质量低于 GCA 组 ($P < 0.05$) 和对照组 ($P < 0.01$); GCA 组瘤质量低于对照组, 但无统计学差异。结果提示, GCA 对移植瘤有抑制作用, 但与放疗联用时削弱了放疗疗效, 导致了放疗抵抗。

2.2 移植瘤组织中 SOD 活性升高、GSH-Px 活性降低

裸鼠模型显示, GCA 显著削弱了放疗的抑瘤效应, 呈现放疗抵抗表型。SOD 活性测定结果 (表 1) 显示, 与对照组相比, GCA 组和 GCA + RT 组肿瘤组织中 SOD 活性显著升高 (均 $P < 0.01$); RT 组的 SOD 活性高于对照组, 但差异无统计学意义。GSH-Px 活性测定结果 (表 1) 显示, GCA 组显著低于对照组 ($P < 0.01$); GCA + RT 组肿瘤组织中 GSH-Px 活性显著低于 RT 组 ($P < 0.05$), 而其与对照组相比差异不

显著;RT组与对照组之间无显著差异。结果提示,放疗可引起肿瘤局部氧化应激水平升高,而GCA干预

会抑制这一效应,使肿瘤组织内SOD活性升高、GSH-Px活性降低,从而可能减弱氧化损伤。

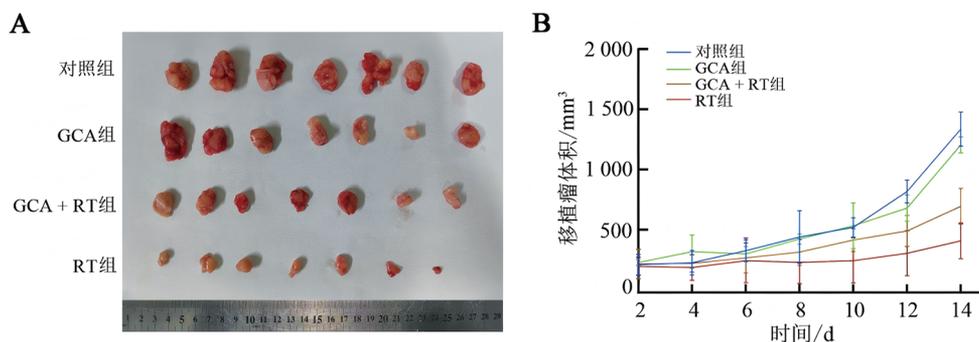


图1 A549细胞移植瘤的外形(A)及瘤体生长曲线(B)

表1 移植瘤质量、体积、SOD和GSH-Px活性比较

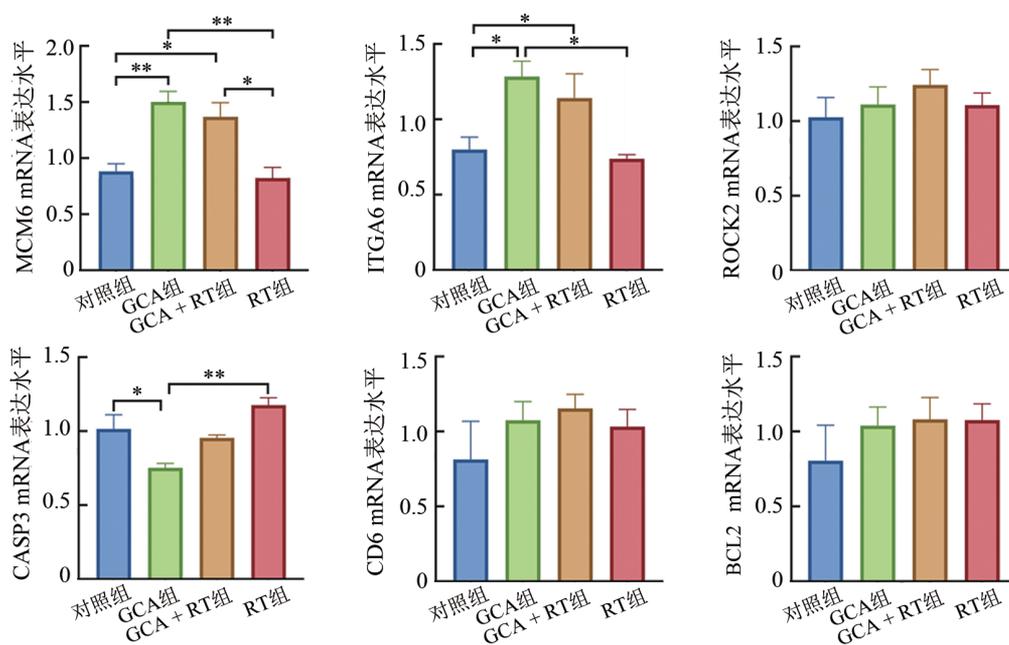
组别	移植瘤质量/g	移植瘤体积/mm ³	SOD活性(U/mg prot.)	GSH-Px活性(U/mg prot.)
对照组	1.76 ± 0.19	1 339.68 ± 142.45	29.25 ± 6.13	89.26 ± 10.39
GCA组	1.53 ± 0.30 ^{▲▽▽}	1 208.13 ± 66.62 ^{▲▲▽▽}	51.25 ± 10.78 ^{**}	61.55 ± 11.82 ^{**▽▽}
GCA + RT组	0.91 ± 0.35 ^{**△▽}	698.00 ± 148.35 ^{**△△▽}	57.08 ± 8.28 ^{**▽▽}	70.04 ± 13.25 [▽]
RT组	0.56 ± 0.27 ^{**▲△△}	411.00 ± 149.01 ^{**△△▲}	35.22 ± 7.63 ^{△△▲▲}	109.52 ± 22.80 ^{△△▲▲}
F	37.41	43.89	24.51	19.37
P	0.001	0.001	0.001	0.001

与对照组比较,*P < 0.05,**P < 0.01;与GCA组比较,△P < 0.05,△△P < 0.01;与GCA + RT组比较,▲P < 0.05,▲▲P < 0.01;与RT组比较,▽P < 0.05,▽▽P < 0.01。

2.3 GCA处理促进移植瘤组织中ITGA6、MCM6表达上调而CASP3下调

qPCR法检测结果(图2)显示,与对照组和RT组相比,GCA组和GCA + RT组移植瘤组织中ITGA6和MCM6 mRNA表达显著上调(P < 0.05或P < 0.01),

ROCK2和CD6 mRNA表达也略有上调,但差异无统计学意义,可能系本裸鼠缺乏成熟T细胞、CD6的来源可能有限所致。GCA组组织中CASP3 mRNA的表达显著低于对照组(P < 0.05)和RT组(P < 0.01)。



*P < 0.05,**P < 0.01。

图2 qPCR法检测GCA及RT对放疗相关基因mRNA表达的影响

2.4 GCA 与 RT 处理后移植瘤组织中 MCM6 蛋白表达升高

WB 法检测结果(图3)显示,与对照组相比,仅有 GCA + RT 组中的 MCM6 蛋白的表达显著升高

($P < 0.05$), ITGA6 和 CASP3 的表达无显著性变化。可能是由于 ITGA6 和 CASP3 的相关蛋白合成受转录后的复杂通路调控,导致其翻译效率下降。

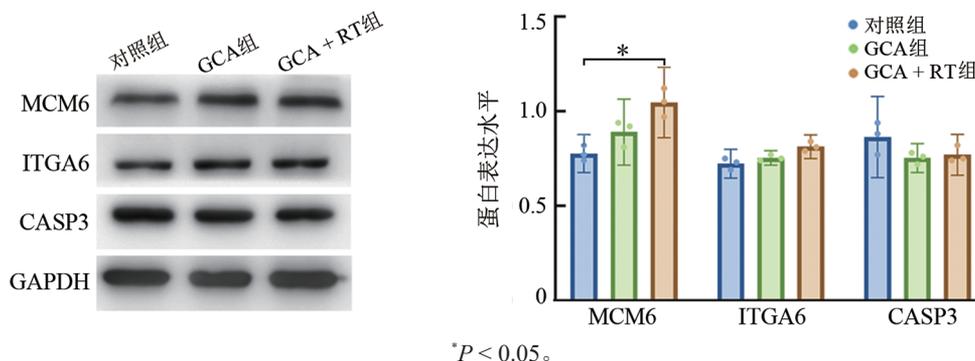


图3 GCA 及 RT 对移植瘤组织中 MCM6、ITGA6 和 CASP3 蛋白表达的影响

2.5 移植瘤组织的病理形态学变化

H-E 染色结果(图4)显示,光镜下见对照组肿瘤细胞排列紊乱,异型性明显,核质比增大,核分裂象多见,肿瘤组织坏死少,肿瘤与周围组织边界不清,呈浸润性生长。相比之下,GCA 组肿瘤细胞密度降低,异型性和核分裂象均减轻,局灶可见少量坏死和

退形性变;RT 组大片坏死,肿瘤细胞核固缩深染,异型性降低,肿瘤边界清晰,浸润范围受限;GCA + RT 组亦出现较广泛坏死与异型性降低,但坏死面积与核固缩细胞比例低于 RT 组,肿瘤周围组织边界欠清。各治疗组较对照组均有不同程度改善,其中以 RT 组变化最为显著。

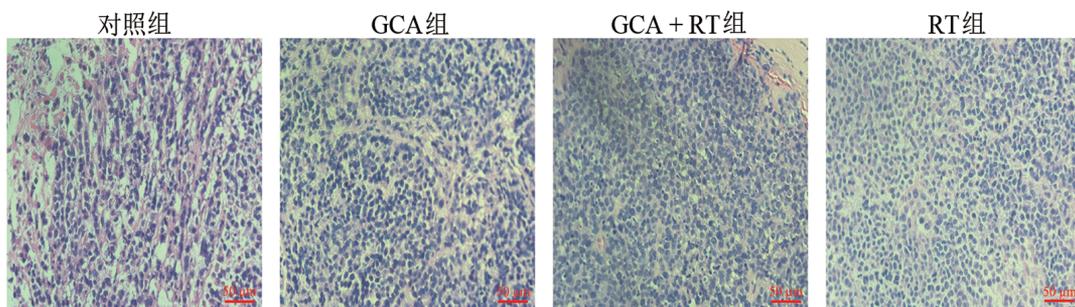


图4 H-E 染色观察 GCA 与 RT 对移植瘤组织的影响

2.6 GEO 数据库验证放疗增敏模型中 MCM6 与 ITGA6 表达下调

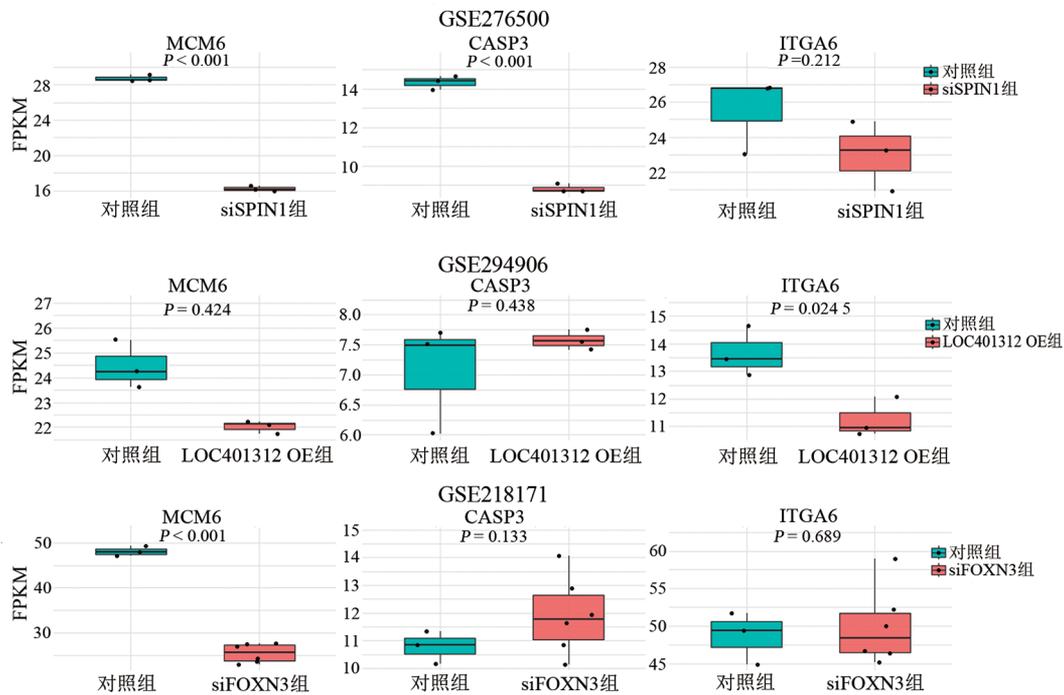
结果(图5)显示,在 HCC827-siSPIN1 (GSE276500) 中, MCM6 与 CASP3 均显著下调(均 $P < 0.01$), 而 ITGA6 变化不显著; 在 A549-LOC401312 过表达 (GSE294906) 中, ITGA6 下调 ($P < 0.05$), MCM6 与 CASP3 无显著差异; 在 H1299-siFOXN3 (GSE218171) 中, MCM6 下调 ($P < 0.001$), CASP3 与 ITGA6 不显著。结果表明, 在 3 个间接放疗增敏模型中, MCM6 均呈下调趋势, 而 ITGA6 仅在 LOC401312 模型中下降、CASP3 改变不一致; 该趋势与本研究体内实验 GCA 致放疗抵抗时 MCM6 与 ITGA6 上调、CASP3 下调的结果相反, 提示 MCM6 与 ITGA6 高表达可能与放疗抵抗相关。

2.7 TCGA 外部验证 ITGA6 与 MCM6 高表达提示预后不良

本研究筛选了 TCGA 数据库中有放疗信息的肺腺癌患者共 196 例, 其中接受放疗的患者 96 例。将接受放疗患者按目标基因表达水平高低(以中位数为截断)分为高、低表达亚组, 结果(图6)显示, ITGA6 基因或 MCM6 基因高表达的患者其总体生存率显著降低; CASP3 基因高表达患者生存期延长, 但差异无统计学意义。

3 讨论

本研究对 GCA 在肺癌放疗敏感性方面的作用及其潜在机制进行了研究。结果显示, (1) 移植瘤生长变化: 单用 GCA 可抑制移植瘤生长, 而 GCA 合并放疗相较单



FPKM: 每百万比对片段的每千碱基转录本片段数 (fragments per kilobase of transcript per million mapped reads)。

图5 GEO数据库分析敲低SPIN1、LOC401312和FOXN3对放疗相关基因表达的影响

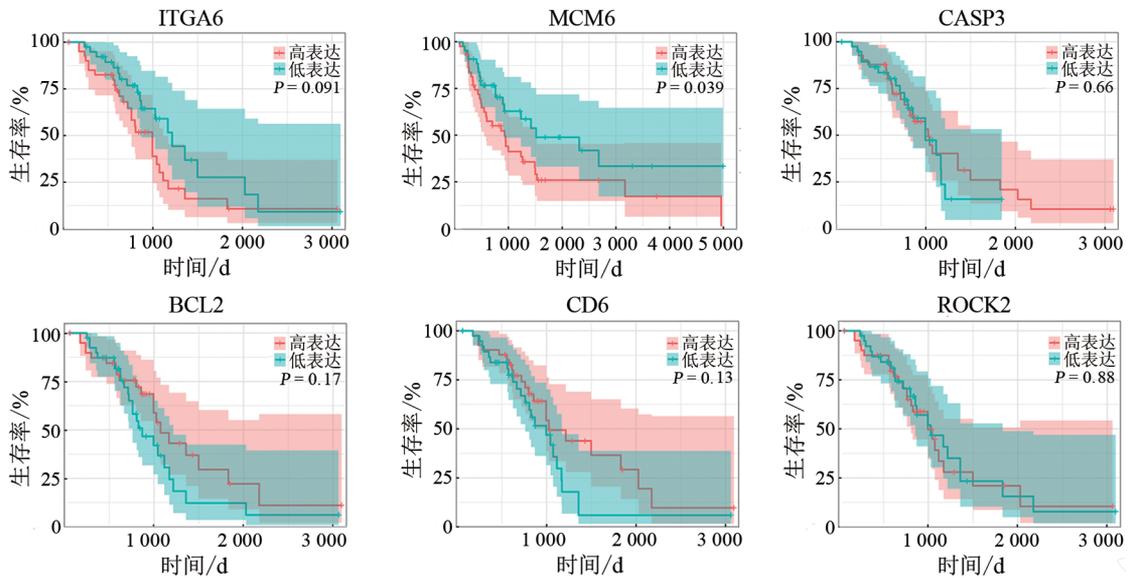


图6 TCGA数据库分析放疗相关基因对患者生存的影响

纯放疗组却表现出对肿瘤缩小的拮抗作用, 有一定程度的放射抵抗趋势; (2)氧化应激指标: GCA 处理显著上调了肿瘤组织中 SOD 活性、下调 GSH-Px 活性, 提示 GCA 改变了肿瘤内抗氧化酶平衡; (3)基因表达: qPCR 法检测发现, 与单纯放疗相比, GCA + RT 组移植瘤组织中促存活/修复相关基因 MCM6、ITGA6 表达上调, 而促凋亡基因 CASP3 显著降低; (4)蛋白测定: WB 法测定移植瘤组织中 MCM6、ITGA6 和 CASP3 蛋白表达, GCA + RT 组中的 MCM6 蛋白的表达显著升高; (5)H-E 染色: GCA 组肿瘤细胞较对照组出现一定程度坏死;

GCA + RT 组与 RT 组相比坏死肿瘤组织面积有所缓解; (6)公共数据库验证: GEO 和 TCGA 数据分析支持上述基因在放射反应中的作用。接受放疗的肺癌患者中, ITGA6、MCM6 高表达往往预示较差的生存预后, 而 CASP3 高表达则与更佳的治疗反应可能相关。GCA 通过调控氧化应激状态及关键分子网络, 从而整体上增强了肿瘤对放疗的抵抗。

GCA 处理导致肿瘤组织中 SOD 升高、GSH-Px 降低, 反映其对氧化应激的调节作用, 这种变化意味着肿瘤细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS)

代谢动态的改变。SOD将超氧阴离子迅速歧化为过氧化氢,后者需经GSH-Px或过氧化氢酶转化为水和氧^[11]。适度的ROS累积可充当细胞信号分子激活生存途径,但过量ROS将对DNA、蛋白质和膜脂造成损伤^[12]。推测GCA通过增强初级抗氧化酶SOD的功能、削弱过氧化物清除酶的功能,使肿瘤细胞对放射产生的骤增ROS更具耐受性。已有研究^[13]表明,癌细胞常通过上调抗氧化系统来适应放射治疗造成的氧化应激,从而产生治疗抗性。一项对头颈部肿瘤的多中心III期研究^[14]中发现,加入放疗增敏剂尼莫拉唑并未获益,这可能与纳入患者年龄较大和身体情况较差有关。

抗氧化环境的改变是双刃剑:尽管其能减少放射直接损伤,却也可能干扰细胞凋亡等程序性死亡信号。因此,GCA通过诱导抗氧化酶活性变化,为肿瘤放射抵抗提供了一种可能机制,即通过降低放疗产生的ROS毒性作用来保护肿瘤细胞。这一推论得到其他研究的支持。例如有研究^[15]表明,在放疗过程中过度使用外源抗氧化剂可能削弱肿瘤的放射敏感性。

GCA属于结合型胆汁酸,除抗氧化外,还具有抗炎和细胞保护作用。研究^[15]发现,GCA和牛磺胆酸在炎症模型中可激活受体法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR),抑制巨噬细胞的炎症因子产生。在放射损伤情况下,胆汁酸的这种抗炎特性可能影响肿瘤微环境中的免疫反应。有报道^[16]指出,放疗可引起肝癌模型中胆汁酸水平升高,其中GCA富集激活了一种tRNA片段(tRF5-GlyGCC),进而抑制NK细胞抗肿瘤活性,削弱放疗的疗效。GCA通过该代谢-免疫轴降低了NK细胞介导的清除作用,使肿瘤更加顽固。这提示GCA不仅直接影响氧化应激,还可能通过免疫抑制等间接途径参与放射抵抗。本研究的模型为裸鼠(T细胞缺失),NK细胞作用有限,但GCA的氧化应激调节作用本身已足以显现对放疗效果的干扰。从机制上看,GCA导致的抗氧化状态提升与可能的免疫逃逸共同构成其放疗抵抗效应的重要基础。

本研究结果显示,GCA+RT组中两个促存活/修复相关基因MCM6和ITGA6表达较RT组上调,而促细胞凋亡基因CASP3下调。MCM6是DNA复制起始的关键蛋白,与肿瘤细胞增殖和DNA损伤修复能力密切相关。研究^[17]表明,MCM6缺失会导致ATR/Chk1介导的DNA损伤反应,从而降低放射损伤并提高肿瘤细胞对放疗和化疗的敏感性。MCM6高表达通常有利于DNA修复和细胞存活,可能降低放疗敏感性。ITGA6是细胞黏附受体蛋白,与基底膜和细胞外基质结合,参与肿瘤细胞的黏附、侵袭和存活信号转导。ITGA6高表达

常见于肿瘤干细胞亚群,有助于维持其自我更新和抗凋亡能力。在放射抵抗方面,ITGA6被视为重要标志物和功能分子^[18]。YOU等^[19]在头颈癌研究中发现,ITGA6在侵袭性和放射耐受性肿瘤中均高表达,且与患者预后不良相关。在鼻咽癌和胶质瘤模型中,ITGA6上调被证明可减少细胞内ROS水平,从而减少辐射诱导的DNA损伤和细胞死亡,且激活PI3K/Akt、MAPK等促存活通路,并抑制放射诱导的ROS累积和凋亡发生^[20]。由此推测,GCA可能通过改变表观遗传或非编码RNA网络来影响ITGA6的表达。本研究观察到GCA上调ITGA6的同时也上调MCM6,这种状态可能触发了细胞进入一种稳态:增殖减缓、侵袭能力下降,同时也提升了放射治疗的抗性。GEO 3个放疗增敏模型均支持MCM6表达下调,而ITGA6在过表达增敏lncRNA LOC401312后也表现出降低水平。在TCGA数据库中也证实,MCM6与ITGA6是放疗患者不良预后因素且两者并无显著相关性,尽管ITGA6未达到显著,可能和个别患者的后续治疗出现偏倚相关。

CASP3是细胞凋亡的执行蛋白酶,其活化标志着经典凋亡过程的进行。GCA组CASP3表达下降,GCA可能引发凋亡基因响应降低。ZHAO等^[20]发现,敲除CASP3后通过破坏ATM/p53/Cox-2/PGE通路来减弱非小细胞肺癌的放疗敏感性。但是本研究中未得到GCA+RT组的显著降低结果,GSE276500中也发现放疗敏感组的CASP3的表达低于对照组,结果也与ZHAO等的研究相悖。可能CASP3在不同背景下会出现不同情况,但这一推论的证实也需要后续对p53和前列腺素E(PGE)水平的测定。

本研究提示,肿瘤微环境中的内源性代谢物如GCA可能是影响放疗反应的因素之一。传统上,肺癌放疗方案主要围绕射线剂量分割、同步化疗增敏等方面优化,但较少考虑患者体内代谢状态的影响。GCA的潜在应用价值:一方面,如果能够阻断GCA在肿瘤中的作用,理论上可能提高放疗敏感性;另一方面,GCA本身具有一定抑瘤活性。后续研究需重点解决“如何保留GCA的抗肿瘤特性,同时规避其放疗减敏作用。目前,尚无针对肺癌放疗患者调控代谢物水平来增敏的标准做法,但本研究提示了这一方向的潜在意义。此外,临床上已经在尝试一些代谢调节剂增强放疗效果,例如调节肿瘤缺氧状态、改变乳酸代谢等^[22-23]。本研究存在一些不足之处:机制验证方面不够直接,本研究通过体内外实验推测了GCA影响放疗敏感性的可能通路,但缺乏对关键节点的直接干预验证。在未来研究中,应针对GCA调控的具体信号途径开展更深入的分子生物学实验,以阐明因果关系。其次,模型局限于裸鼠皮下移植

瘤, 未能反映免疫系统作用。后续可在免疫健全的小鼠肿瘤模型中引入胆汁酸水平调控, 观察其对放疗联合免疫的影响。此外, 可搜集临床肺癌患者放疗前后血清胆汁酸水平的数据, 分析其对疗效和预后的影响。

利益冲突声明: 所有作者声明无利益冲突。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] ZHOU T, ZHANG L Y, HE J Z, et al. Review: Mechanisms and perspective treatment of radioresistance in non-small cell lung cancer [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1133899. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1133899.
- [3] 陈焕, 徐裕金. 免疫检查点抑制剂与放疗联合治疗局部晚期不可切除非小细胞肺癌的介入时机的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(12): 1110-1115. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.12.011.
- [4] NOWAK P, BIL-LULA I, ŚLIWIŃSKA-MOSSOŃ M. A cross-talk about radioresistance in lung cancer-how to improve radiosensitivity according to Chinese medicine and medicaments that commonly occur in pharmacies[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 11206. DOI: 10.3390/ijms241311206.
- [5] WEN J M, ZHENG W, ZENG L, et al. LTF induces radioresistance by promoting autophagy and forms an AMPK/SP2/NEAT1/miR-214-5p feedback loop in lung squamous cell carcinoma[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(5): 1509-1527. DOI: 10.7150/ijbs.78669.
- [6] RITTER V, KRAUTTER F, KLEIN D, et al. Bcl-2/Bcl-xL inhibitor ABT-263 overcomes hypoxia-driven radioresistance and improves radiotherapy[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(7): 694. DOI: 10.1038/s41419-021-03971-7.
- [7] LIU H M, WU Q, CAO J Q, et al. A phenanthroline derivative enhances radiosensitivity of hepatocellular carcinoma cells by inducing mitochondria-dependent apoptosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 843: 285-291. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.031.
- [8] NISAR S, MASOODI T, PRABHU K S, et al. Natural products as chemo-radiation therapy sensitizers in cancers[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 154: 113610. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113610.
- [9] LI W J, ZOU L, HUANG S, et al. The anticancer activity of bile acids in drug discovery and development[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1362382. DOI: 10.3389/fphar.2024.1362382.
- [10] ZENG H W, UMAR S, RUST B, et al. Secondary bile acids and short chain fatty acids in the colon: a focus on colonic microbiome, cell proliferation, inflammation, and cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1214. DOI: 10.3390/ijms20051214.
- [11] SZNARKOWSKA A, KOSTECKA A, MELLER K, et al. Inhibition of cancer antioxidant defense by natural compounds[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 15996-16016. DOI: 10.18632/oncotarget.13723.
- [12] GU X H, MU C Y, ZHENG R J, et al. The cancer antioxidant regulation system in therapeutic resistance[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(7): 778. DOI: 10.3390/antiox13070778.
- [13] LIU S L, LI B, XU J Y, et al. SOD1 promotes cell proliferation and metastasis in non-small cell lung cancer *via* an miR-409-3p/SOD1/SETDB1 epigenetic regulatory feedforward loop[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 213. DOI: 10.3389/fcell.2020.00213.
- [14] HALFORD S, VEAL G J, WEDGE S R, et al. A phase I dose-escalation study of AZD3965, an oral monocarboxylate transporter 1 inhibitor, in patients with advanced cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(8): 1429-1439. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-2263.
- [15] GE X T, HUANG S Z, REN C, et al. Taurocholic acid and glycocholic acid inhibit inflammation and activate farnesoid X receptor expression in LPS-stimulated zebrafish and macrophages[J]. *Molecules*, 2023, 28(5): 2005. DOI: 10.3390/molecules28052005.
- [16] GONG Y H, ZENG F X, ZHANG F, et al. Radiotherapy plus a self-gelation powder encapsulating tRF5-GlyGCC inhibitor potentiates natural kill cell immunity to prevent hepatocellular carcinoma recurrence[J]. *J Nanobiotechnology*, 2025, 23(1): 100. DOI: 10.1186/s12951-025-03133-3.
- [17] WANG Y F, CHEN H R, LIU W X, et al. MCM6 is a critical transcriptional target of YAP to promote gastric tumorigenesis and serves as a therapeutic target[J]. *Theranostics*, 2022, 12(15): 6509-6526. DOI: 10.7150/thno.75431.
- [18] KOWALSKI-CHAUVEL A, MODESTO A, GOUAZE-ANDERSSON V, et al. Alpha-6 integrin promotes radioresistance of glioblastoma by modulating DNA damage response and the transcription factor Zeb1[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(9): 87. DOI: 10.1038/s41419-018-0853-x.
- [19] YOU G R, CHANG J T, LI Y L, et al. Molecular interplays between cell invasion and radioresistance that lead to poor prognosis in head-neck cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 681717. DOI: 10.3389/fonc.2021.681717.
- [20] ZHAO M H, WANG Y W, ZHAO Y C, et al. Caspase-3 knockout attenuates radiation-induced tumor repopulation *via* impairing the ATM/p53/Cox-2/PGE2 pathway in non-small cell lung cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(21): 21758-21776. DOI: 10.18632/aging.103984.
- [21] THOMSON D J, SLEVIN N J, BAINES H, et al. Randomized phase 3 trial of the hypoxia modifier nimorazole added to radiation therapy with benefit assessed in hypoxic head and neck cancers determined using a gene signature (NIMRAD)[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2024, 119(3): 771-782. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2023.11.055.
- [22] LARUE R T H M, VAN DE VOORDE L, BERBÉE M, et al. A phase I 'window-of-opportunity' trial testing evofosfamide (TH-302), a tumour-selective hypoxia-activated cytotoxic prodrug, with preoperative chemoradiotherapy in oesophageal adenocarcinoma patients[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 644. DOI: 10.1186/s12885-016-2709-z.
- [23] HAN K, FYLES A, SHEK T, et al. A phase II randomized trial of chemoradiation with or without metformin in locally advanced cervical cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(24): 5263-5271. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-1665.

[收稿日期] 2025-07-15

[修回日期] 2025-12-01

[本文编辑] 党瑞山