

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2026.06.004

· 基础研究 ·

BRD1通过调控ITGA2-AKT轴促进非小细胞肺癌细胞增殖和迁移

黄志昂^{1,2}, 王会玲¹, 吴梦瑶¹, 郭艺普^{1,2}, 陈燕铭¹, 张丽明¹, 黄乐¹, 赵倩雯^{1,2}, 陈晶滢^{1,3} (1. 河南大学 第一附属医院 抗体药物开发技术国家地方联合工程实验室, 河南 开封 475004; 2. 开封市肺造血功能与肺部疾病实验室, 河南 开封 475004; 3. 河南大学 转化医学研究所, 河南 开封 475004)

[摘要] **目的:**探讨含溴结构域蛋白1(BRD1)通过调控PI3K/AKT信号通路影响非小细胞肺癌(NSCLC)进展的作用机制。**方法:**利用TIMER 3.0数据库评估BRD1作为免疫治疗标志物的预测价值。利用慢病毒体系构建稳定过表达BRD1及N端截短突变体BRD1-ΔN的人肺癌细胞A549和NCI-H1299。采用CCK-8实验、克隆形成实验、划痕愈合实验及Transwell实验检测过表达BRD1/BRD1-ΔN对细胞增殖和迁移能力的影响;流式细胞术和Western blotting检测细胞凋亡水平及凋亡相关蛋白的变化。RNA-seq筛选受BRD1/BRD1-ΔN影响的信号通路,Western blotting及体外激酶实验验证BRD1/BRD1-ΔN过表达对AKT磷酸化的调控作用。采用AKT抑制剂LY294002处理过表达BRD1/BRD1-ΔN的NCI-H1299细胞,结合功能实验(CCK-8实验、划痕愈合实验)明确过表达BRD1/BRD1-ΔN促进细胞的增殖和迁移是否依赖AKT活化。通过RNA-seq联合KEGG/GSEA分析、免疫共沉淀(Co-IP)、RT-qPCR,鉴定整合素α2(ITGA2)是促进AKT活化的关键分子;通过Co-IP、敲低ITGA2、Western blotting及功能实验明确ITGA2在BRD1调控AKT活化中的具体作用。**结果:**数据库分析显示,BRD1可作为NSCLC免疫治疗的中等预测标志物(AUC = 0.625)。过表达BRD1/BRD1-ΔN显著增强了NSCLC细胞的增殖和迁移能力($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$),但不影响细胞凋亡及凋亡相关蛋白的表达(均 $P > 0.05$);RNA-seq分析表明过表达BRD1/BRD1-ΔN主要富集于PI3K/AKT信号通路。Western blotting及体外激酶实验显示,BRD1/BRD1-ΔN过表达不影响AKT上游激酶(PDK1)的磷酸化,也不改变AKT的乙酰化修饰水平(均 $P > 0.05$);AKT抑制剂LY294002处理过表达BRD1/BRD1-ΔN细胞,发现BRD1/BRD1-ΔN促细胞增殖和迁移的作用部分依赖AKT的活化;RT-qPCR及Western blotting证实,BRD1过表达可上调ITGA2的mRNA和蛋白水平,敲低ITGA2则可逆转BRD1诱导的AKT激活及细胞增殖和迁移能力的增强。**结论:**BRD1是NSCLC的一种新型促癌因子,其通过上调ITGA2表达激活AKT信号通路,进而促进肺癌细胞的增殖和迁移。

[关键词] 含溴结构域蛋白1;非小细胞肺癌;PI3K/AKT通路;整合素α2;肿瘤发生

[中图分类号] R734.2;R730.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2026)06-0619-11

BRD1 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and migration by regulating the ITGA2-AKT axis

HUANG Zhiang^{1,2}, WANG Huiling¹, WU Mengyao¹, GUO Yipu^{1,2}, CHEN Yanming¹, ZHANG Liming¹, HUANG Le¹, ZHAO Qianwen^{1,2}, CHEN Jingying^{1,3} (1. Joint National Laboratory for Antibody Drug Engineering, The First Affiliated Hospital, Henan University, Kaifeng 475004, Henan, China; 2. Kaifeng Laboratory of Pulmonary Hematopoiesis and Lung Disease, Kaifeng 475004, Henan, China; 3. Institute of Translational Medicine, Henan University, Kaifeng 475004, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of bromodomain-containing protein 1 (BRD1) in the progression of non-small cell lung cancer (NSCLC) and its underlying mechanism through regulation of the PI3K/AKT signaling pathway. **Methods:** The predictive value of BRD1 as an immunotherapeutic biomarker was assessed using the TIMER 3.0 database. Human NSCLC cell lines A549 and NCI-H1299 stably overexpressing BRD1 or the N-terminal truncated mutant BRD1-ΔN were established using a lentiviral system. CCK-8, colony formation, wound healing, and Transwell assays were used to assess the effects of BRD1/BRD1-ΔN overexpression on cell proliferation and migration. Flow cytometry and Western blotting were used to detect cell apoptosis and the expression of apoptosis-related proteins. RNA-seq was employed to screen the signaling pathways affected by BRD1/BRD1-ΔN overexpression. Western blotting and *in vitro* kinase assays were used to detect the activation of AKT signaling pathways by overexpressing BRD1/BRD1-ΔN. To determine whether BRD1/BRD1-ΔN promotes cell proliferation and migration in an AKT-dependent manner, the AKT inhibitor

[基金项目] 河南省医学科学攻关计划(SBGJ202302092);河南省重点研发与推广项目(262102310333)

[作者简介] 黄志昂,男,硕士生,副主任医师

[通信作者] 陈晶滢(扫码获取作者通信方式)



LY294002 was applied to NCI-H1299 cells overexpressing BRD1/BRD1-ΔN, followed by functional assays (CCK-8 and wound healing). RNA-seq combined with KEGG/GSEA analysis, co-immunoprecipitation (Co-IP), and RT-qPCR were performed to identify and validate integrin alpha-2 (ITGA2) as a key mediator that facilitates AKT activation. Co-IP, lentivirus-mediated ITGA2 knockdown, Western blotting, and functional experiments were then used to clarify the specific role of ITGA2 in BRD1-mediated AKT activation. **Results:** Database analysis showed that BRD1 could serve as a moderate predictive biomarker for immunotherapy in NSCLC (AUC = 0.625). Overexpression of BRD1/BRD1-ΔN significantly enhanced the proliferation and migration of NSCLC cells (all $P < 0.01$) without affecting apoptosis or the expression of apoptosis-related proteins (all $P > 0.05$). RNA-seq analysis indicated that BRD1/BRD1-ΔN overexpression primarily resulted in enrichment of the PI3K/AKT signaling pathway. Western blotting and *in vitro* kinase assays demonstrated that BRD1/BRD1-ΔN overexpression did not affect the phosphorylation of PDK1, an upstream kinase of AKT, nor alter the acetylation level of AKT (all $P > 0.05$). Treatment with the AKT inhibitor LY294002 revealed that BRD1/BRD1-ΔN promoted cell proliferation and migration partially through AKT activation. RT-qPCR and Western blotting confirmed that BRD1 overexpression upregulated ITGA2 at both mRNA and protein levels. Silencing ITGA2 reversed BRD1-induced AKT activation and the enhanced cell proliferation and migration. **Conclusion:** BRD1 is a novel oncogenic driver in NSCLC. It activates the AKT signaling pathway by upregulating ITGA2, thereby promoting the proliferation and migration of lung cancer cells.

[Key words] bromodomain-containing protein 1 (BRD1); non-small cell lung cancer (NSCLC); PI3K/AKT pathway; integrin alpha-2 (ITGA2); oncogenesis

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(6): 619-629. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2026.06.004]

肺癌是全球发病率、病死率最高的恶性肿瘤之一。2020年全球肺癌统计数据^[1]显示,新发病例约为221万例,占所有癌症病例的11.4%;肺癌相关死亡病例约180万例,占癌症相关死亡总数的18.4%。其中,非小细胞肺癌(non-small cell lung carcinoma, NSCLC)是原发性肺癌中最常见的亚型,约占所有肺癌病例的85%^[2]。由于缺乏早期诊断标志物,大多数NSCLC患者在确诊时已处于晚期,错过最佳手术干预时机。传统化疗手段疗效有限且不良反应严重^[3]。因此,寻找NSCLC诊断与治疗的新型靶点并阐明其分子机制,具有重要的理论和临床意义。肺癌的发生发展是一个多阶段、多步骤的复杂生物学过程,涉及基因突变与表观修饰异常^[4]。组蛋白乙酰化是最常见的表观遗传修饰形式之一,受组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)的动态调控,参与炎症^[5]、胚胎发育^[6]及癌症^[7]等多种病理生理过程^[8]。

含溴结构域蛋白1(bromodomain-containing protein 1, BRD1)作为含溴结构域蛋白家族成员,可以与HAT形成复合物,影响靶基因的转录活性^[5,9]。研究^[6]表明, BRD1基因与精神分裂症和双相情感障碍相关,其编码蛋白可作为支架蛋白与组蛋白乙酰转移酶结合蛋白1(histone acetyltransferase binding to ORC1, HBO1)相互作用,形成乙酰转移酶复合物,调控红细胞生成^[5,9]及T细胞分化与发育^[10]。BRD1的功能具有细胞类型特异性,其异常表达与多种炎症性疾病的发生发展相关^[8]。目前已有多项研究发现BRD1在肿瘤中发挥促癌作用。有研究^[7]指出, BRD1可通过改变整合素 αV 亚基基因启动子的乙酰化水平,上调整合素 αV 亚基表达,进而促进肝癌的发生^[6,7];另一项研究^[11]表明, BRD1作为原癌

基因,在肝细胞癌进展过程中调控脂质代谢。此外,在结直肠癌中, BRD1高表达与低分化及较短的总生存期相关,提示BRD1可能作为分化状态指标及预后生物标志物^[12]。然而, BRD1在NSCLC中的功能仍不明确。

本研究通过数据库分析评估BRD1的表达与免疫治疗之间的关联;继而利用慢病毒系统构建稳定过表达BRD1及其截短突变体BRD1-ΔN的细胞模型,结合CCK-8、克隆形成、划痕愈合、Transwell及流式细胞术等实验,检测BRD1对NSCLC细胞增殖、迁移及凋亡的影响;通过RNA测序(RNA sequencing, RNA-seq)、免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, Co-IP)、Western blotting及功能回复实验,揭示BRD1通过上调整合素 $\alpha 2$ (integrin alpha-2, ITGA2)激活AKT信号通路的具体机制。本研究旨在探究BRD1在NSCLC中的功能及作用机制,以期NSCLC的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂和仪器

HEK293T、A549和NCI-H1299细胞均购自美国典型培养物保藏中心(ATCC),胎牛血清购自德国PAN公司,DMEM培养基、蛋白酶抑制剂、抗 β -actin抗体、兔抗小鼠HRP抗体、山羊抗兔HRP抗体和Transwell小室均购自美国Sigma公司,RPMI 1640培养基购自美国HyClone公司,RNeasy Minikit试剂盒购自德国QIAGEN公司,SuperScript III试剂盒购自美国Invitrogen公司,Power SYBR Green PCR预混液、RNAiso Plus购自日本TaKaRa公司。抗BRD1抗体购自美国Novus Biologicals公司,总p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)抗体、p-p38 MAPK抗体、总AKT抗体、p-

AKT(Thr308)抗体、p-AKT(Ser473)抗体、总p44/42 MAPK(Erk1/2)抗体、p-p44/42 MAPK(Erk1/2)(Thr202/Tyr204)抗体、总Flag-磷酸肌醇依赖性激酶1(phosphoinositide-dependent kinase 1, PDK1)抗体、p-PDK1(Ser241)抗体、Flag标签抗体、Myc标签抗体、HA标签抗体、乙酰化赖氨酸抗体、Kinase Buffer和ATP均购自美国CST公司,抗ITGA2抗体购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。Pierce™抗-Flag标签(DYKDDDDK)磁性琼脂糖珠、Pierce™抗-Myc磁性琼脂糖珠、Pierce™ Protein A/G琼脂糖珠、Pierce™抗-HA磁性琼脂糖珠、Lipofectamine RNAiMAX转染试剂均购自美国Thermo Fisher公司,ITGA2小干扰RNA(siRNA)、siRNA对照(Ctrl)均购自中国上海生工科技有限公司,CCK-8试剂和PI3K/AKT通路抑制剂LY294002购自美国Selleck公司,细胞凋亡试剂盒购自美国BD Biosciences公司。

慢病毒载体pLVTHM质粒、辅助质粒psPAX2、pMD2.G、Flag-AKT质粒、HA-PDK1、Flag-PDK2、Flag-HBO1质粒、HA-ITGA2和GST-AKT纯化蛋白均由河南大学抗体药物开发技术国家地方联合工程实验室构建和保存。化学发光成像仪(型号5200)购自上海天能生命科学有限公司。RNA-seq与KEGG、GSEA分析由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

1.2 细胞培养与转染

A549和HEK293T细胞均在含10%胎牛血清的DMEM培养基中,于37℃、5% CO₂培养箱内培养;NCI-H1299细胞在含10%胎牛血清和1%青-链霉素的RPMI 1640培养基中,于37℃、5% CO₂培养箱内培养。

1.3 慢病毒系统构建稳定过表达和敲低的细胞系

Myc-BRD1基因(全长)以及BRD1-ΔN基因[缺失EPL(extended PHD-like)结构域与两个植物同源结构域(plant homeodomain, PHD)]克隆至慢病毒载体pLenti-pCDH-CMV; ITGA2 shRNA序列插入pLVTHM载体。使用聚乙烯亚胺(polyethyleneimine, PEI)转染试剂将上述载体分别与psPAX2和pMD2.G质粒共转至HEK293T细胞中,48 h后收集慢病毒上清液,过滤并于-80℃保存。

将纯化的pCDH-BRD1或pCDH-BRD1-ΔN慢病毒液(含10 μg/mL聚凝胺)分别感染汇合度为40%的A549和NCI-H1299细胞,24 h后更换为含嘌呤霉素的完全培养基进行筛选,48 h后,去除死细胞,继续培养一周,获得过表达BRD1/BRD1-ΔN的A549和NCI-H1299细胞系,命名为BRD1过表达(BRD1)、BRD1-ΔN过表达(BRD1-ΔN),及空载体对照(Ctrl)细胞。

在过表达BRD1或BRD1-ΔN的NCI-H1299细胞基础上,二次感染ITGA2 shRNA慢病毒,筛选后获得

以下分组:Ctrl + Scramble、BRD1/BRD1-ΔN + Scramble、Ctrl + shITGA2、BRD1/BRD1-ΔN + shITGA2。其中Scramble为不靶向任何序列的对照shRNA慢病毒感染NCI-H1299细胞。

1.4 RT-qPCR检测细胞中ITGA2 mRNA表达

按照RNeasy Minikit试剂盒说明书,从细胞中提取总RNA,取1 μg总RNA逆转录合成cDNA;采用SYBR Green PCR预混液进行qPCR,以GAPDH为内参基因,通过2^{-ΔΔCt}法计算目的基因的相对表达量。GAPDH正向引物:5'-GGTGAAGGTCGGTGTGAACG-3',反向引物:5'-CTCGCTCCTGGAAGATGGTG-3';ITGA2正向引物:5'-CCTACAATGTTGGTCTCCAGA-3',反向引物:5'-AGTAACCAGTTGCCTTTTGGATT-3'。

1.5 Western blotting检测BRD1、AKT及MAPK等通路相关蛋白表达水平

使用RIPA(radio immunoprecipitation assay lysis buffer, RIPA)裂解缓冲液裂解细胞并提取蛋白质,BCA法测定蛋白质含量。取50~80 μg样品进行SDS-PAGE分离蛋白,转膜后将膜放在含5%脱脂牛奶或BSA的TBST溶液中室温封闭2 h,随后加入相应一抗,如BRD1抗体(1:1 000)、p38抗体(1:1 000)、p-p38抗体(1:1 000)、AKT抗体(1:1 000)、p-AKT^{Thr308}抗体(1:1 000)、p-AKT^{Ser473}抗体(1:1 000)、p44/42 MAPK抗体(1:1 000)、p-p44/42 MAPK抗体(1:1 000)、PDK1抗体(1:1 000)、p-PDK1抗体(1:1 000)、Flag抗体(1:1 000)、HA抗体(1:1 000)、Myc抗体(1:1 000)、ITGA2抗体(1:1 000),4℃下处理过夜。次日,TBST洗膜3次,加入二抗(1:5 000)室温反应1 h,加入ECL发光液,化学发光成像仪显影,使用ImageJ软件分析条带灰度值。磷酸化蛋白相对表达水平以磷酸化蛋白与总蛋白灰度比值表示。

1.6 流式细胞术检测BRD1对细胞凋亡的影响

选取对数生长期的对照组和过表达BRD1/BRD1-ΔN的NCI-H1299细胞,消化后制成单细胞悬液,分别滴加7-AAD和PE染料,室温避光反应15 min,上流式细胞仪检测。检测后用FlowJo软件进行数据分析,以总凋亡率=(早期凋亡细胞数+晚期凋亡细胞数)/总目标细胞数×100%,反映细胞凋亡情况。

1.7 Transwell实验检测过表达BRD1对细胞迁移的影响

Transwell小室置于24孔板中,下室加入600 μL完全培养基,随后取生长状态良好的各组细胞,胰酶消化,无血清培养基重悬细胞后进行计数,将2.5×10⁴个细胞接种在Transwell小室的上室,常规培养30 h后将小室取出,PBS清洗小室,随后加入4%多聚甲醛固定细胞20 min,PBS清洗3次,0.2%结晶紫染液染色,30 min后清洗,用棉签轻柔擦拭上室未穿过的细胞;显微镜拍照,ImageJ软件对迁移细胞进行计数。

1.8 体外激酶实验检测 BRD1 对 AKT 磷酸化的影响

参考文献[13]中的方法,将人BRD1和BRD1-ΔN克隆至pcDNA3.1-Myc-His,获得Myc-BRD1/BRD1-ΔN过表达质粒。取实验室保存的GST-AKT纯化蛋白,经SDS-PAGE分离,考马斯亮蓝染色后脱色并拍照,以确定蛋白量。将Myc-BRD1/BRD1-ΔN过表达质粒和HA-PDK1质粒共转染至HEK293T细胞中,48 h后提取蛋白。取少量蛋白作为Input,另取400 μg蛋白加入抗-Myc及抗-HA磁性琼脂糖珠,4 °C反应4 h,免疫富集Myc-BRD1/BRD1-ΔN和HA-PDK1。洗涤磁珠后,用40 μL的激酶缓冲液重悬,加入1 μL GST-AKT纯化蛋白及1 μL 10 mmol/L的ATP,充分混匀后于30 °C反应90 min。Western blotting检测样本中AKT和磷酸化AKT的含量。

1.9 Co-IP 检测 BRD1 与 HBO1、ITGA2 与 AKT 之间的相互作用

为分析过表达BRD1/BRD1-ΔN对AKT乙酰化的影响,使用免疫沉淀(immunoprecipitation, IP)裂解液裂解提取过表达BRD1/BRD1-ΔN及对照NCI-H1299细胞总蛋白^[2,13],分别加入1 μL IgG(阴性对照)或1 μL AKT抗体,4 °C反应过夜后,加入Protein A/G琼脂糖珠,4 °C结合4 h,12 000 × g离心1 min,保留沉淀,洗涤后使用乙酰化赖氨酸抗体,通过Western blotting检测全细胞裂解液(whole cell lysates, WCL)和IP的样品。

为检测BRD1/BRD1-ΔN与HBO1、ITGA2与AKT之间的相互作用,将Flag-HBO1过表达质粒与Myc-His-BRD1/BRD1-ΔN质粒共转染HEK293T细胞中,48 h后使用IP裂解液裂解提取总蛋白,加入6 μL抗-Myc磁性琼脂糖珠进行反应,Western blotting实验检测WCL和IP的样品中Flag及Myc标签。另将Flag-AKT质粒与HA-ITGA2质粒共转染HEK293T细胞,48 h后裂解,分别用抗-Flag或抗-HA磁珠进行IP,Western blotting检测相应标签。

1.10 在线数据库分析 BRD1 与患者总生存期、ITGA2 表达相关性及其作为免疫治疗标志物的潜力

利用在线数据库TIMER 2.0分析BRD1与ITGA2之间的相关性(<http://timer.cistrome.org/>)^[14-15];并使用TIMER 3.0评估BRD1表达与其作为免疫治疗生物标志物潜力之间的关联(<https://compbio.cn/timer3/>)^[16]。

1.11 CCK-8 法检测过表达 BRD1/BRD1-ΔN 及联合 AKT 抑制剂对细胞增殖的影响

将约800个各组A549/NCI-H1299细胞接种于96孔板中,待细胞贴壁后,每孔加入10 μL CCK-8试剂,于37 °C避光条件下培养2 h,随后测定450 nm波长下的光密度(D)值。每隔24 h检测1次D值,以“(D_{实验}-D_{空白})/(D_{对照}-D_{空白}) × 100%”计算各组细胞的

存活率,其中空白孔仅加入培养基。

将对照组细胞、过表达BRD1或BRD1-ΔN的NCI-H1299细胞,按照每孔800个细胞接种于96孔板中,DMSO组使用1% DMSO处理,LY294002组加入AKT抑制剂LY294002(20 μmol/L)处理,每天同一时间给每个孔加入10 μL CCK-8试剂,于37 °C避光条件下培养2 h,随后测定450 nm波长下的D值。每隔24 h检测1次D值,以“(D_{实验}-D_{空白})/(D_{对照}-D_{空白}) × 100%”计算各组细胞的存活率。

1.12 划痕愈合实验检测过表达 BRD1/BRD1-ΔN 及联合 AKT 抑制剂、shITGA2 对细胞迁移的影响

将各组细胞接种至12孔板中,至细胞汇合度达到100%后,使用10 μL移液器吸头尖端垂直划痕,PBS轻柔洗去细胞,更换完全培养基为仅含1%胎牛血清的DMEM,继续培养,LY294002组加入AKT抑制剂LY294002(20 μmol/L)处理。于显微镜下采集图像,采用ImageJ软件测量划痕面积,按照公式计算对应时间的划痕愈合率。以培养24 h为例,划痕愈合率=(0 h划痕面积-24 h划痕面积)/0 h划痕面积 × 100%。

1.13 克隆形成实验检测过表达 BRD1/BRD1-ΔN 及联合 shITGA2 对细胞增殖能力的影响

将BRD1/BRD1-ΔN组细胞接种到6孔板中,常规培养约10~14 d后取出,显微镜下观察细胞克隆形成情况。当出现单个克隆时停止培养,弃去培养基,用PBS洗涤孔板2次,加入4%多聚甲醛固定20 min;固定后加入0.2%结晶紫染色30 min,弃去结晶紫染色液,用流水轻柔冲洗孔板,自然风干后拍照,采用ImageJ软件对单个克隆进行计数,以“克隆的总面积/孔的总面积”评价克隆形成能力。

1.14 统计学处理

统计分析及绘图采用GraphPad Prism 8.0软件完成。两组间比较采用t检验,多组间比较则采用单因素方差分析。以P<0.05或P<0.01表示差异具有统计学意义。

2 结 果

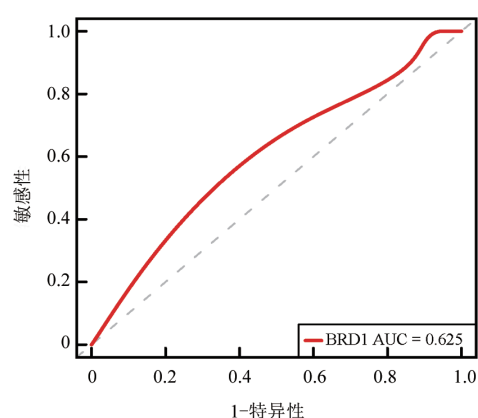
2.1 BRD1 可能参与 NSCLC 的恶性进程

本研究首先采用TIMER 3.0数据库中的ROC曲线分析BRD1表达与免疫治疗预测之间的关系,结果(图1)显示,BRD1可以作为NSCLC免疫治疗的中等预测标志物(AUC=0.625)^[16];这一结果提示BRD1可能在NSCLC中发挥功能。

2.2 过表达 BRD1 促进 NSCLC 细胞的增殖与迁移

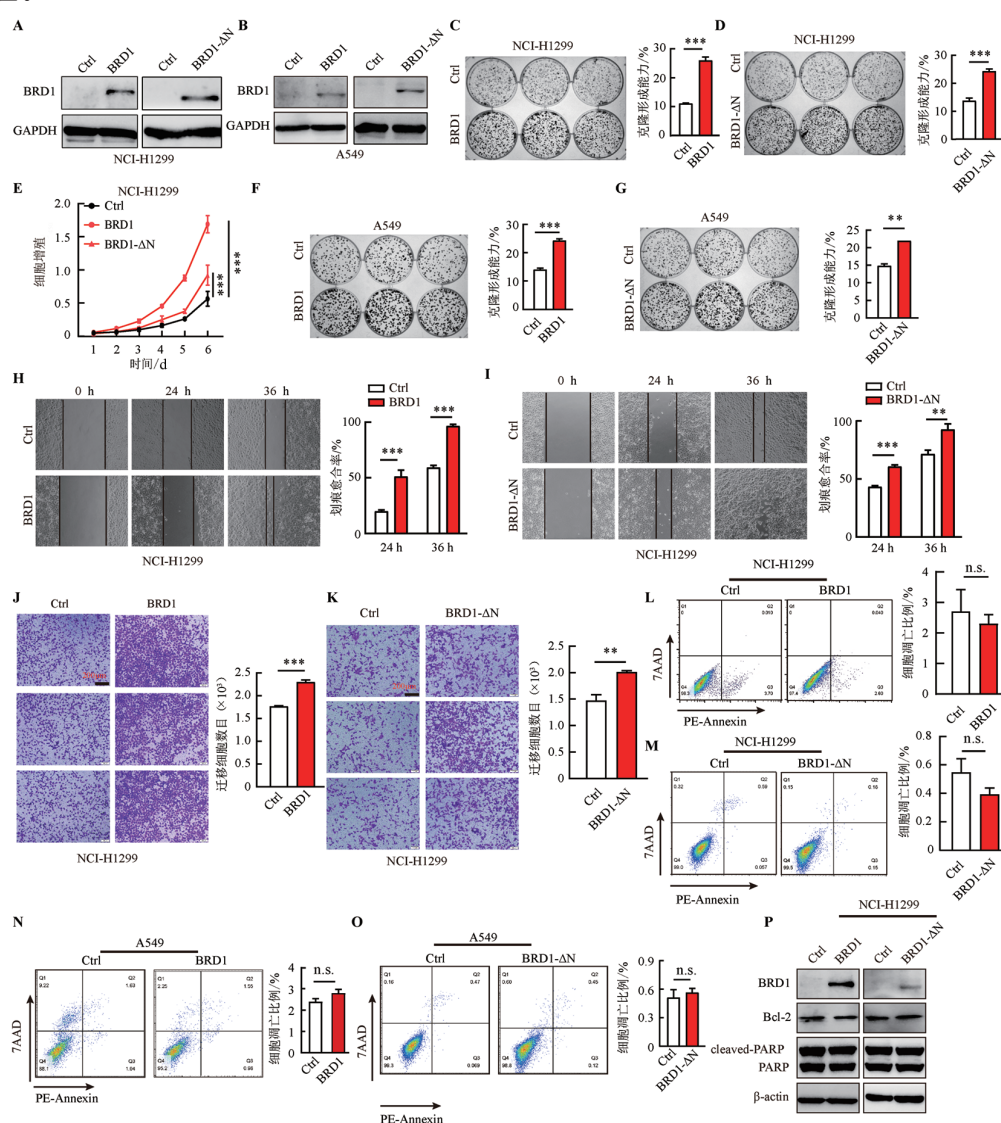
Western blotting结果显示成功构建稳定过表达BRD1/BRD1-ΔN的NCI-H1299(图2A)和A549(图2B)

细胞;克隆形成实验与CCK-8实验结果显示,过表达BRD1或BRD1-ΔN均能促进NCI-H1299细胞(图2C~E,均 $P < 0.001$)和A549细胞(图2F,G, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)的增殖。此外,划痕愈合实验和Transwell实验表明,过表达BRD1或BRD1-ΔN可增强NCI-H1299细胞的迁移能力(图2H~K, $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。流式细胞术分析结果显示,过表达BRD1不影响NCI-H1299细胞(图2L~M,均 $P > 0.05$)和A549细胞的凋亡(图2N~O,均 $P > 0.05$)。Western blotting结果(图2P)显示,过表达BRD1或BRD1-ΔN不影响NCI-H1299细胞中凋亡相关蛋白的表达。上述结果提示,过表达BRD1及其截短突变体BRD1-ΔN均可以促进NSCLC细胞的增殖和迁移,但不影响细胞凋亡。



通过ROC曲线分析BRD1对NSCLC患者免疫治疗的预测价值。

图1 BRD1表达与NSCLC免疫治疗疗效的ROC分析



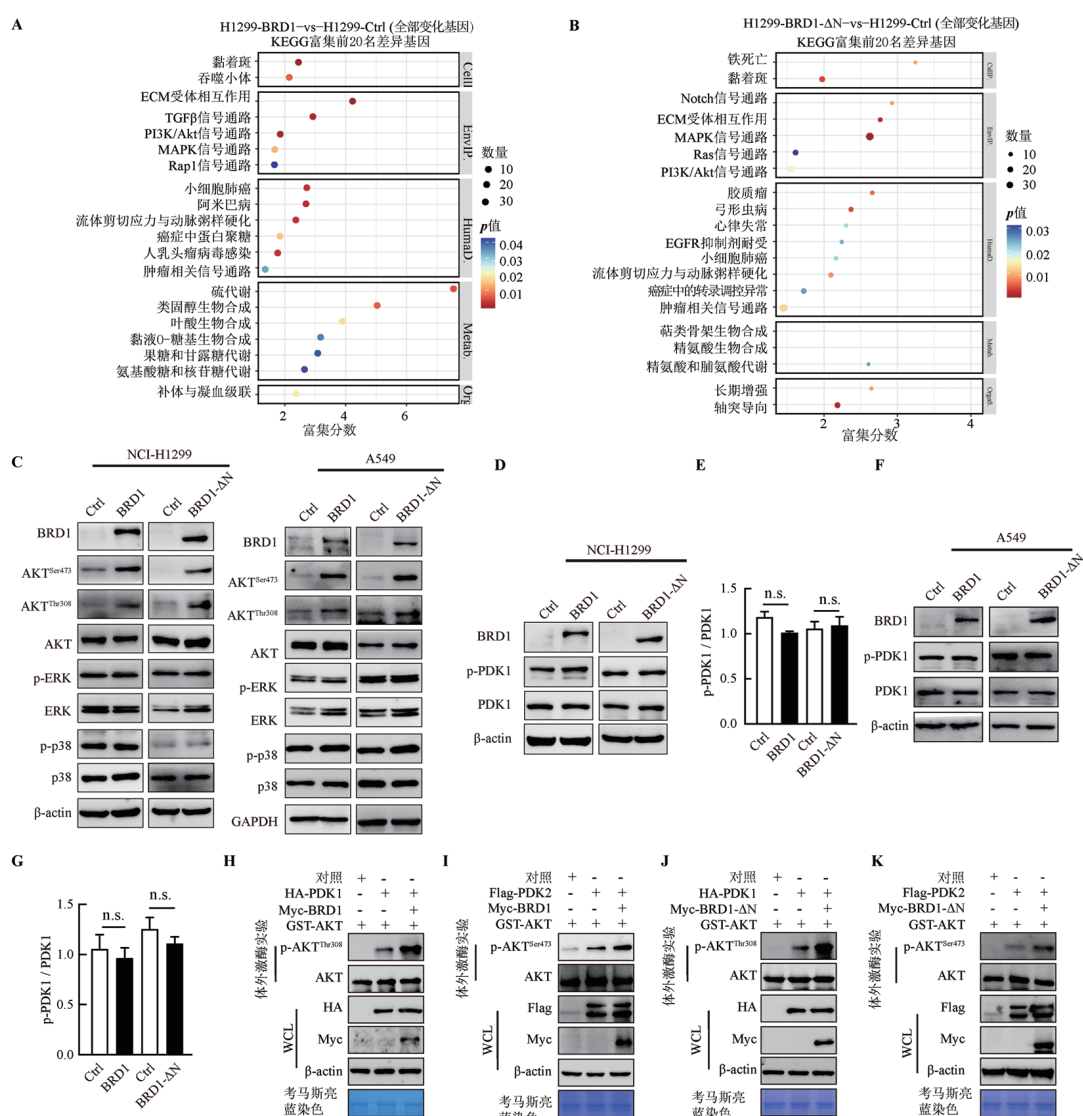
A、B: Western blotting 验证 NCI-H1299 细胞(A)和 A549 细胞(B)中 BRD1/BRD1-ΔN 的过表达;C、D: 克隆形成实验检测 BRD1 组(C)和 BRD1-ΔN 组(D)NCI-H1299 细胞的增殖能力;E: CCK-8 实验检测 BRD1 组和 BRD1-ΔN 组 NCI-H1299 细胞的增殖能力;F、G: 克隆形成实验检测 BRD1 组(F)和 BRD1-ΔN 组(G)A549 细胞的增殖能力;H、I: 划痕愈合实验检测 BRD1 组(H)和 BRD1-ΔN 组(I)NCI-H1299 细胞的横向迁移能力(划痕愈合图片, $\times 100$);J、K: Transwell 实验检测 BRD1 组(J)和 BRD1-ΔN 组(K)NCI-H1299 细胞的纵向迁移能力,标尺 = 200 μm ;L~O: 流式细胞术检测 BRD1 组(L)和 BRD1-ΔN 组(M)NCI-H1299 细胞及 BRD1 组(N)和 BRD1-ΔN 组(O)A549 细胞的凋亡能力;P: Western blotting 检测 BRD1 及凋亡相关蛋白 Bcl-2、PARP 和 cleaved-PARP 的表达, β -actin 作为内参。n.s. 为 $P > 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图2 过表达 BRD1 促进细胞的增殖与迁移

2.3 过表达BRD1可以激活AKT

RNA-seq 比较 BRD1 过表达组与 Ctrl 组、BRD1-ΔN 过表达组与 Ctrl 组的 NCI-H1299 细胞, 分别鉴定出 666 个和 749 个差异表达基因 ($FC > 1.5, P < 0.05$)。KEGG 通路富集分析结果 (图 3A、B) 表明, 差异基因显著富集于 PI3K/AKT 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 等肿瘤相关经典信号通路。Western blotting 验证结果 (图 3C) 表明, 在 A549 和 NCI-H1299 细胞中过表达 BRD1 或 BRD1-ΔN 均可以上调 AKT 的磷酸化水平, 而 p38 和细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated

kinase, ERK) 的磷酸化水平未受到明显影响。鉴于 AKT^{Thr308} 和 AKT^{Ser473} 的磷酸化主要受上游激酶 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1, PDK1) 和 PDK2 的调控^[17, 18], Western blotting 检测过表达 BRD1 对 AKT 上游激酶活性的影响, 结果 (图 3D~G) 表明, 过表达 BRD1 并不影响 AKT 上游激酶 PDK1 的磷酸化水平。体外激酶实验结果 (图 3H~K) 进一步表明, 过表达 BRD1 及其截短突变体 BRD1-ΔN 显著提高了 AKT^{Thr308} 和 AKT^{Ser473} 的磷酸化水平。总之, BRD1 可以通过不依赖于 AKT 上游激酶的方式激活 AKT。



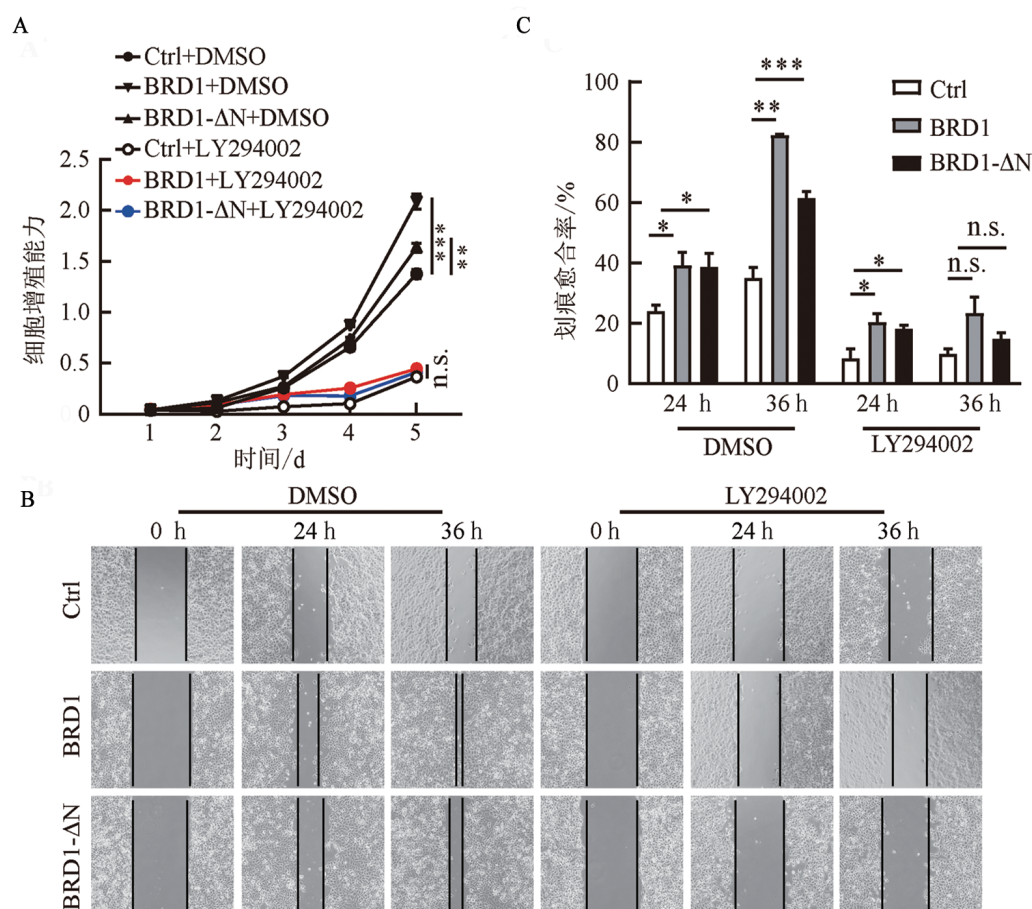
A、B: BRD1 组 (A)、BRD1-ΔN 组 (B) 与 Ctrl 组间差异表达基因的 KEGG 通路富集分析; C: Western blotting 检测 BRD1 组及 BRD1-ΔN 组的 A549 和 NCI-H1299 细胞中 BRD1、AKT、p-AKT、ERK、p-ERK、p38 及 p-p38 的表达, GAPDH 或 β-actin 作为内参; D、E: Western blotting 检测 BRD1 组及 BRD1-ΔN 组 NCI-H1299 细胞中 BRD1、PDK1 及 p-PDK1 的表达 (D) 及 p-PDK1 占总 PDK1 的比例 (E); F、G: Western blotting 检测 BRD1 组及 BRD1-ΔN 组 A549 细胞中 BRD1、PDK1 及 p-PDK1 的表达 (F) 及 p-PDK1 占总 PDK1 的比例 (G); H、I: 体外激酶实验检测过表达 BRD1 对 AKT 磷酸化的影响, 其中 (H) 为 AKT^{Thr308} , (I) 为 AKT^{Ser473} ; J、K: 体外激酶检测过表达 BRD1-ΔN 对 AKT 磷酸化的影响, 其中 (J) 为 AKT^{Thr308} , (K) 为 AKT^{Ser473} 。

图3 过表达BRD1激活AKT

2.4 BRD1促进NSCLC细胞增殖与迁移依赖于AKT的活化

为明确BRD1的促增殖与迁移作用是否依赖于AKT活化,使用AKT的抑制剂LY294002干预对照组(Ctrl)、过表达BRD1/BRD1-ΔN组的NCI-H1299细胞。CCK-8实验结果(图4A)显示,与Ctrl组相比,过表达BRD1/BRD1-ΔN组细胞增殖能力显著增强($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),加入AKT抑制剂LY294002

后,该促增殖作用明显减弱。划痕愈合实验结果(图4B、C)进一步显示,过表达BRD1/BRD1-ΔN组细胞在24和36 h的迁移距离均显著大于Ctrl组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),LY294002处理24 h后过表达组细胞的迁移能力仍高于Ctrl组(均 $P < 0.05$),但处理36 h后,两组间已无统计学差异(均 $P > 0.05$)。综上,BRD1/BRD1-ΔN促进细胞增殖与迁移的作用部分依赖于AKT活化。



A: CCK-8法检测NCI-H1299细胞的增殖能力;B、C:划痕愈合实验检测LY294002干预前后NCI-H1299细胞的迁移能力变化,其中(B)为代表性图像($\times 100$), (C)为划痕愈合率统计数据。n.s. $P > 0.05$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图4 BRD1促进NSCLC细胞的增殖和迁移部分依赖于AKT的活化

2.5 BRD1不影响AKT的乙酰化

Co-IP实验检测BRD1的乙酰化功能是否参与AKT的激活,结果(图5A、B)显示,BRD1与HBO1存在相互作用,而缺失N端的BRD1-ΔN不能与HBO1结合。通过Co-IP富集内源性AKT,检测过表达BRD1或BRD1-ΔN对AKT乙酰化水平的影响,结果(图5C)显示,过表达BRD1或BRD1-ΔN均不影响AKT的乙酰化水平。

对RNA-seq鉴定到的差异基因进行GSEA分析,结果(图5D~G)显示,过表达BRD1与PI3K/AKT信号通路激活、细胞增殖、AKT活化及伤口愈合等基因

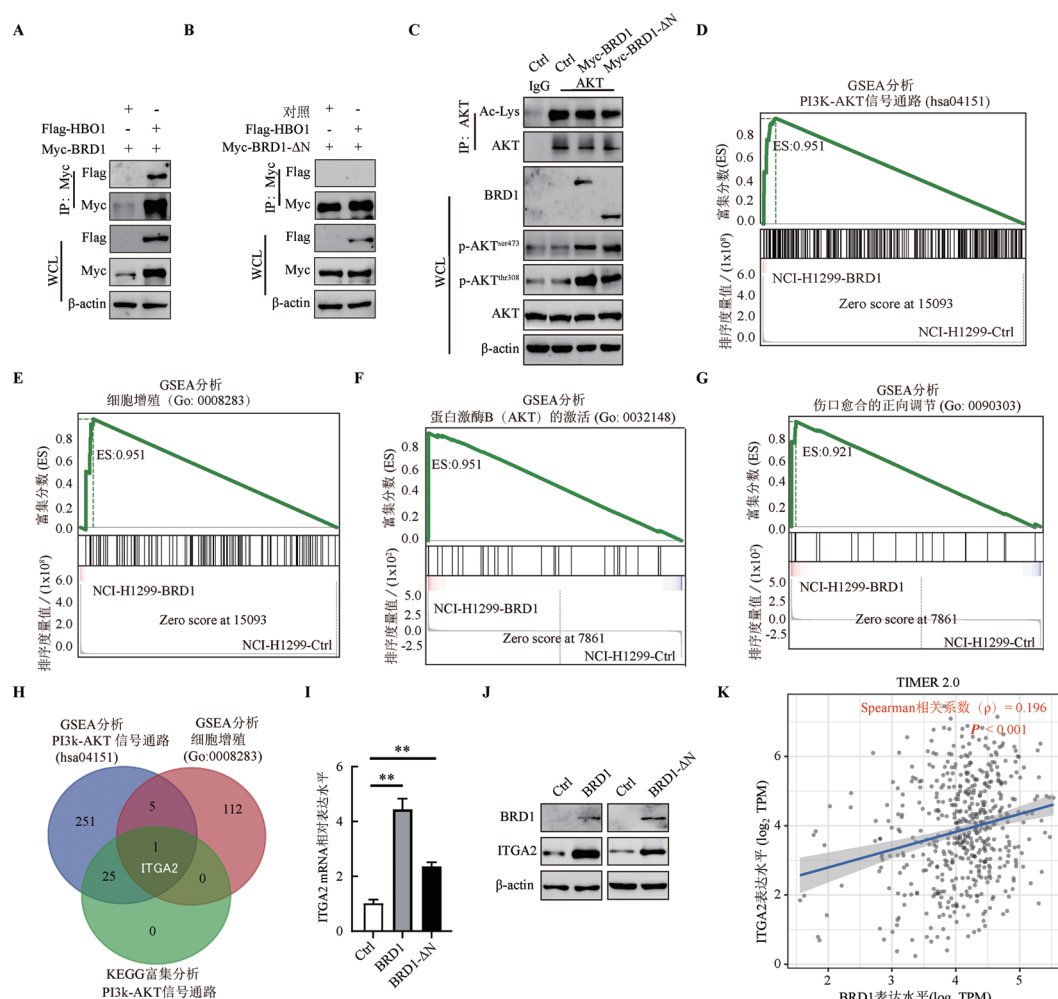
集均呈正相关。进一步将KEGG富集的差异基因和GSEA基因集进行Venn图分析,鉴定出交集基因ITGA2可能在BRD1调控AKT活化中发挥作用(图5H)。RT-qPCR和Western blotting结果(图5I、J)显示,BRD1过表达显著上调ITGA2 mRNA和蛋白水平(均 $P < 0.01$)。另外TIMER 2.0数据分析的结果(图5K)显示,BRD1与ITGA2表达呈正相关。综上结果表明,ITGA2可能是BRD1调控AKT活化的下游靶基因。

2.6 BRD1通过上调ITGA2促进AKT激活

Co-IP分析结果(图6A)表明,ITGA2和AKT并

不存在直接相互作用。RT-qPCR结果(图6B)显示,转染ITGA2 siRNA后,NCI-H1299细胞中ITGA2 mRNA水平显著降低($P < 0.001$)。Western blotting结果(图6C~E)显示,单独过表达BRD1可上调AKT的磷酸化,但转染ITGA2 siRNA后,该促进作用被显著逆转。在NCI-H1299细胞中敲低ITGA2显著下调AKT的磷酸化,且3个靶向ITGA2的shRNA敲低效果相当,后续选取shITGA2-1进行实验。利用慢病毒系统成功构建过表达BRD1/BRD1-ΔN且稳定敲低ITGA2的NCI-H1299细胞系(图6F)。CCK-8实验和克隆形成实验结果(图6G~I)显示,与Scramble +

Ctrl组相比,稳定过表达BRD1/BRD1-ΔN的Scramble + BRD1和Scramble + BRD1-ΔN组细胞增殖能力显著提高($P < 0.001$);在此基础上稳定敲低ITGA2后,该促增殖作用被明显消除($P > 0.05$)。同样,划痕愈合实验结果(图6J、K)显示,单独过表达BRD1可增强细胞迁移能力($P < 0.001$),但这一效应在敲低ITGA2后消失。Western blotting结果(图6L)显示,在稳定过表达BRD1的细胞中敲低ITGA2,能够逆转由BRD1过表达诱导的AKT磷酸化。综上所述,BRD1通过上调ITGA2来促进AKT磷酸化及细胞的增殖和迁移。



A、B:Co-IP检测BRD1(A)、BRD1-ΔN(B)与HBO1的相互作用;C:Co-IP检测过表达BRD1和BRD1-ΔN对AKT的乙酰化水平的影响;D~G:GSEA富集分析显示差异基因显著富集于PI3K/AKT信号通路(D)、细胞增殖(E)、AKT激活(F)和伤口愈合(G);H:KEGG和GSEA交集基因的Venn图;I:RT-qPCR检测ITGA2 mRNA的表达水平;J:Western blotting检测ITGA2的蛋白表达,β-actin作为内参;K:TIMER 2.0数据库分析NSCLC中ITGA2与BRD1的相关性。 $^{**}P < 0.01$ 。

图5 BRD1不影响AKT的乙酰化

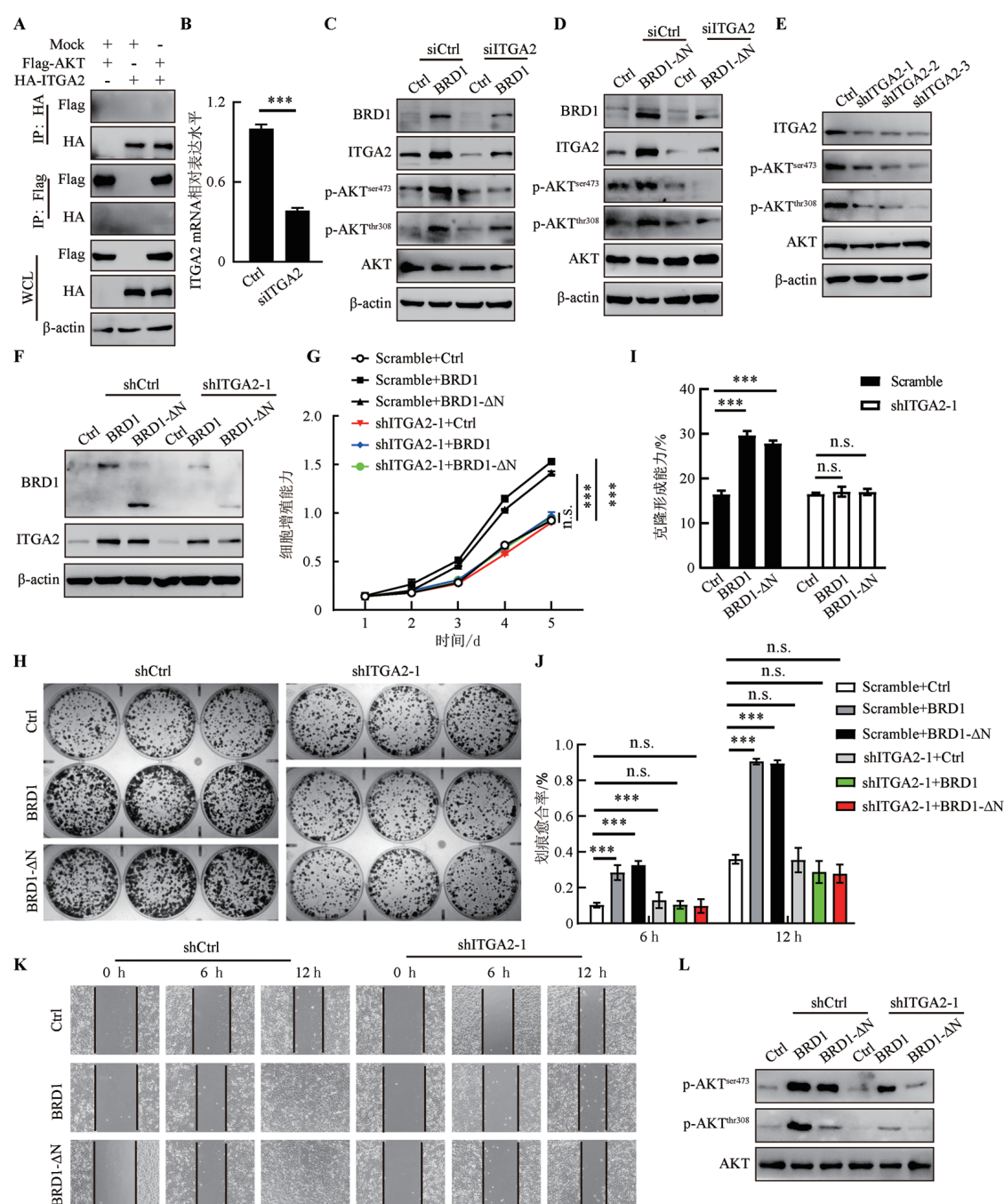
3 讨论

肺癌是全球最常见且致死率最高的恶性肿瘤之一,其中NSCLC占绝大多数。尽管治疗手段不断进步,但患者预后仍不理想,因此亟须寻找新的关键致

癌分子,以期为临床提供有效治疗靶点。BRD1作为组蛋白乙酰化的“阅读器”,可优先与HBO1等形成乙酰转移酶复合物,影响基因转录活性,在基因调控与细胞稳态中起着至关重要的作用^[19]。近年来,BRD1在结肠癌和肝癌中的促癌功能已有报道,但其在

NSCLC 中的作用及机制尚不明确。本研究发现, BRD1 是 NSCLC 的一个重要的致癌因子。突破其传统“乙酰化依赖”的作用模式, BRD1 可以通过促进中间分子 ITGA2 的表达, 间接促进 PI3K/AKT 信号通路

的活化, 最终驱动 NSCLC 细胞增殖与迁移。同时, 本研究明确了 BRD1-ITGA2-AKT 轴在 NSCLC 中的核心调控作用, 为揭示驱动肺癌进展的分子通路提供了新的见解。



A: Co-IP 检测 ITGA2 和 AKT 的相互作用; B: RT-qPCR 检测转染 ITGA2 siRNA 后, NCI-H1299 细胞中 ITGA2 mRNA 的水平; C、D: Western blotting 检测转染 ITGA2 siRNA 后, BRD1 组(C)和 BRD1-ΔN 组(D) NCI-H1299 细胞中 AKT、p-AKT 的表达, 其中 β-actin 作为内参; E: Western blotting 检测利用 3 种不同 ITGA2 shRNA 慢病毒构建的稳定 NCI-H1299 细胞中 AKT、p-AKT 的表达; F: Western blotting 检测稳定过表达 BRD1/BRD1-ΔN 且敲低 ITGA2 的 NCI-H1299 细胞中 BRD1、ITGA2 的表达; G: CCK-8 实验检测稳定过表达 BRD1/BRD1-ΔN 且敲低 ITGA2 的 NCI-H1299 细胞的增殖能力; H、I: 克隆形成实验检测稳定过表达 BRD1/BRD1-ΔN 且敲低 ITGA2 的 NCI-H1299 细胞的增殖能力, 其中 H 为代表性图像, I 为定量分析结果; J、K: 划痕愈合实验检测稳定过表达 BRD1/BRD1-ΔN 且敲低 ITGA2 的 NCI-H1299 细胞的迁移能力, 其中 J 为定量分析结果, K 为代表性图像($\times 100$); L: Western blotting 检测稳定过表达 BRD1/BRD1-ΔN 且敲低 ITGA2 的 NCI-H1299 细胞中 AKT、p-AKT 的表达。

图 6 敲低 ITGA2 逆转 BRD1 诱导的 AKT 磷酸化及细胞增殖与迁移

基于生物信息学和体外功能实验, 本研究发现 BRD1 可作为 NSCLC 的预后和免疫治疗的标志物; 且 BRD1 过表达可以促进 NSCLC 细胞的增殖和迁移, 但不影响细胞凋亡, 进而促进肺癌进展, 说明 BRD1 所引起的促癌功能主要依赖其促增殖功能。既往研究^[12]支持 BRD1 与临床不良结局相关, BRD1 在结肠癌患者肿瘤组织中表达高于正常组织, 且可以作为独立的预测标志物, 既可以补充 BRD1 在肺癌中的功能研究缺失, 也可以进一步强化其作为肺癌潜在治疗靶点的重要意义。

机制分析层面, 本研究通过 RNA-seq 联合 KEGG 富集分析, 将 BRD1 与 PI3K/AKT 信号通路关联起来。既往研究报道^[20]显示, PI3K/AKT 信号通路在多方面起着至关重要的作用, 如细胞存活、增殖、血管生成、转录、翻译和代谢。为进一步证明 BRD1 通过 PI3K/AKT 信号通路发挥作用, 本研究借助 PI3K/AKT 信号通路抑制剂干预^[21]信号通路中关键蛋白的活性, 进一步证实 BRD1 通过激活 AKT 促进细胞的增殖。既往研究^[22]表明 AKT 的活化可以受上游激酶级联反应的影响。然而本研究发现, BRD1 上调 AKT 的磷酸化但不依赖其上游激酶的活化, 暗示 BRD1 在 NSCLC 中促进 AKT 活化的关键作用不依赖其上游信号的活化, 这种独特的 AKT 激活机制绕过了传统的上游信号通路级联反应, 凸显了 BRD1 在调控 AKT 活化中的独特功能。

BRD1 作为支架蛋白充当 MYST (MOZ, Ybf2/Sas3, Sas2, Tip60) 乙酰转移酶家族的辅助亚基, 优先与 HBO1 结合催化调节乙酰转移酶活性, 并在转录过程中促进组蛋白赖氨酸的乙酰化。本研究发现, 与经典的表观修饰调控激酶磷酸化的机制不同^[23], BRD1 促进 AKT 活化不依赖其与 HBO1 结合的乙酰化功能。测序分析鉴定发现, ITGA2 可能是 BRD1 调控 AKT 活化的中间分子, 并通过体外实验发现, BRD1 可以上调 ITGA2 的表达, ITGA2 的表达上调对 BRD1 介导的 AKT 激活至关重要, 与先前研究^[24]表明 ITGA2 可促进 AKT 激活的结论一致。

尽管本研究探讨了 BRD1 在 NSCLC 中的功能及其机制, 但仍有若干局限性。首先, 本研究主要采用体外模型; 虽然这些模型具有参考价值, 但可能无法完全模拟体内复杂的肿瘤环境, 未来研究应纳入动物模型, 以验证 BRD1 在 NSCLC 进展中的作用, 并在更符合生理学背景的条件下评估靶向 BRD1 治疗 NSCLC 的疗效, 如使用异种移植模型或基因工程小鼠, 为深入理解 BRD1 在 NSCLC 发生和转移中的作用提供重要见解。此外, 必须通过体内实验验证靶向 BRD1 治疗 NSCLC 的潜在疗效, 阐明 BRD1 与其

他组蛋白乙酰转移酶之间的相互作用, 以及其在不同癌症类型中的功能, 将有助于进一步优化治疗策略。其次, 尽管明确了 BRD1 与 ITGA2 表达之间的关联, 但 BRD1 调控 ITGA2 转录的具体机制仍知之甚少。本研究仅证实了 BRD1 在调控 ITGA2 中的功能, 仍需进一步研究以阐明 BRD1 调控 ITGA2 的作用机制, 以及该过程中是否存在其他潜在的辅助因子和调控元件。深入理解这些分子间的相互作用将有助于更全面地揭示 ITGA2 的调控机制, 并发现新的治疗靶点, 例如, 鉴定在 ITGA2 启动子区域与 BRD1 相互作用的转录因子, 或鉴定与 H3K14 乙酰化协同作用的其他组蛋白修饰酶, 将有助于阐明 BRD1 调控 ITGA2 的完整分子机制网络。

综上所述, 本研究揭示了 BRD1 通过激活 AKT 通路在 NSCLC 进展中发挥关键作用, BRD1 可以通过上调 ITGA2 促进 NSCLC 细胞的增殖和迁移, 这些发现为 BRD1 作为 NSCLC 的预后标志物和治疗靶点提供了有力依据。克服上述研究局限并深化对 BRD1 分子机制的理解, 对于开发有效的 BRD1 靶向疗法至关重要, 有望改善 NSCLC 患者的预后, 尤其是 BRD1 高表达且预后不良的患者, 该领域的持续研究有望催生新型治疗策略, 为 NSCLC 的治疗带来新的希望。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[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] CHEN J Y, WANG T, ZHANG D, et al. KDM5D histone demethylase mediates p38 α inactivation via its enzymatic activity to inhibit cancer progression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2024, 121(50): e2402022121. DOI:10.1073/pnas.2402022121.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022[J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.
- [4] BAJBOUJ K, AL-ALI A, RAMAKRISHNAN R K, et al. Histone modification in NSCLC: molecular mechanisms and therapeutic targets[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 11701. DOI: 10.3390/ijms222111701.
- [5] BJARKAM C R, CORYDON T J, OLSEN I M L, et al. Further immunohistochemical characterization of BRD1 a new susceptibility gene for schizophrenia and bipolar affective disorder [J]. Brain Struct Funct, 2009, 214(1): 37-47. DOI:10.1007/s00429-009-0219-3.
- [6] FENG Y, VLASSIS A, ROQUES C, et al. BRPF3-HBO1 regulates replication origin activation and histone H3K14 acetylation[J]. EMBO J, 2016, 35(2): 176-192. DOI: 10.15252/embj.201591293.

- [7] KLEIN K, KATO M, FRANK-BERTONCELJ M, et al. Evaluating the bromodomain protein BRD1 as a therapeutic target in rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 11125. DOI: 10.1038/s41598-018-29127-w.
- [8] PARK J W, HAN J W. Targeting epigenetics for cancer therapy[J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(2): 159-170. DOI: 10.1007/s12272-019-01126-z.
- [9] MISHIMA Y, MIYAGI S, SARAYA A, et al. The Hbo1-Brd1/Brpf2 complex is responsible for global acetylation of H3K14 and required for fetal liver erythropoiesis[J]. *Blood*, 2011, 118(9): 2443-2453. DOI:10.1182/blood-2011-01-331892.
- [10] MISHIMA Y, WANG C S, MIYAGI S, et al. Histone acetylation mediated by Brd1 is crucial for CD8 gene activation during early thymocyte development[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5872. DOI: 10.1038/ncomms6872.
- [11] ZHANG M Y, BAI J, YUAN H Y, et al. BRD1 deficiency affects SREBF1-related lipid metabolism through regulating H3K9ac/H3K9me3 transition to inhibit HCC progression[J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16: 104. DOI:10.1038/s41419-025-07404-7.
- [12] LI Z, WANG J J, JI Y Z, et al. Expression characteristics and clinical correlations of BRD1 in colorectal cancer samples[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2021, 20: 15330338211039678. DOI: 10.1177/15330338211039678.
- [13] CHEN J Y, LI J Z, SUN H, et al. PPM1G promotes the progression of lung adenocarcinoma by inhibiting p38 activation *via* dephosphorylation of MEK6[J]. *Carcinogenesis*, 2023, 44(1): 93-104. DOI:10.1093/carcin/bgac090.
- [14] GYÖRFFY B. Transcriptome-level discovery of survival-associated biomarkers and therapy targets in non-small-cell lung cancer[J]. *British J Pharmacology*, 2024, 181(3): 362-374. DOI: 10.1111/bph.16257.
- [15] LI T W, FU J X, ZENG Z X, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(W1): W509-W514. DOI:10.1093/nar/gkaa407.
- [16] LI T, FAN J, WANG B, et al. TIMER: a web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21): e108-e110. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0307.
- [17] CUI H, ZHAO G L, LU Y W, et al. TIMER3: an enhanced resource for tumor immune analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2025, 53(W1): W534-W541. DOI:10.1093/nar/gkaf388.
- [18] MERCADO-PIMENTEL ME, IGARASHI S, DUNN AM, et al. The novel small molecule inhibitor, OSU-T315, suppresses vestibular schwannoma and meningioma growth by inhibiting PDK2 function in the AKT pathway activation[J]. *Austin J Med Oncol*, 2016, 3(1): 1025. PMID: 27642646.
- [19] BARMAN S, ROY A, PADHAN J, et al. Molecular Insights into the recognition of acetylated histone modifications by the BRPF2 bromodomain [J]. *Biochemistry*, 2022, 61(17): 1774-89. DOI: 10.1021/acs.biochem.2c00297
- [20] MULLIGHAN C G, GOORHA S, RADTKE I, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Nature*, 2007, 446(7137): 758-764. DOI:10.1038/nature05690.
- [21] KAMATH A J, SYAM S, RAJESH G, et al. Nobiletin reprograms cancer cell fate signaling: PI3K/Akt/mTOR-MAPK crosstalk, NF- κ B/STAT3 inhibition and chemosensitization[J]. *Cell Signal*, 2026, 144: 112549. DOI:10.1016/j.cellsig.2026.112549.
- [22] KANG J H, WANG Y D, GUO X D, et al. N-acetylserotonin protects PC12 cells from hydrogen peroxide induced damage through ROS mediated PI3K/AKT pathway[J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(21): 2268-2282. DOI:10.1080/15384101.2022.2092817.
- [23] ALGHERIBE S, ZAGZOOG A, BOUDJELAL M, et al. Phosphoinositide-dependent kinase 1 (PDK1) in cancer: molecular insights and therapeutic strategies[J]. *Front Chem*, 2026, 14: 1767926. DOI:10.3389/fchem.2026.1767926.
- [24] WANG G H, LONG J, GAO Y, et al. SETDB1-mediated methylation of Akt promotes its K63-linked ubiquitination and activation leading totumorigenesis[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(2): 214-225. DOI:10.1038/s41556-018-0266-1.
- [25] LUO H X, CHANG J J, REN Y T, et al. Inhibition of ITGA2 suppresses cervical tumorigenesis and metastasis by targeting the AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Genes Dis*, 2025, 12(2): 101328. DOI:10.1016/j.gendis.2024.101328.
- [收稿日期] 2026-01-05 [修回日期] 2026-05-02
[本文编辑] 邢一凡