

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.11.013

· 基础研究 ·

## 转录因子 SP1 通过调控 ABCC1 影响小细胞肺癌 H446/DDP 细胞耐药的机制

高月娟,李志平,贺飞飞,王加良(牡丹江医学院附属红旗医院 药学部,黑龙江 牡丹江 157011)

**[摘要]** **目的:**探讨敲减转录因子特异蛋白1(SP1)对小细胞肺癌(SCLC)H466/DDP细胞顺铂(DDP)耐药的影响及其分子机制。**方法:**构建敲减SP1同时过表达ATP结合盒亚家族C成员1(ABCC1)的SCLC H466/DDP细胞,采用IHC法检测SP1、ABCC1在非耐药和耐药SCLC组织中的表达,用Spearman r法分析SP1与ABCC1在SCLC组织中表达的相关性;WB法检测SP1、ABCC1、CD44在转染后H446/DDP细胞中的表达;CCK-8法、FCM术、微球实验检测转染后H446/DDP细胞的增殖、凋亡及自我复制能力的变化;染色质免疫共沉淀(CHIP)实验检测SP1是否是ABCC1的转录因子。**结果:**耐药细胞H446/DDP和耐药SCLC组织中的SP1、ABCC1蛋白水平均高于H446细胞和非耐药SCLC组织(均 $P<0.05$ ),SCLC组织中的SP1、ABCC1蛋白表达呈正相关;敲减SP1抑制H446/DDP细胞的增殖活力,降低CD44、ABCC1蛋白表达水平、减少细胞微球形成数(均 $P<0.05$ ),促进细胞凋亡( $P<0.05$ );SP1是ABCC1的转录因子。**结论:**转录因子SP1通过调控ABCC1的表达影响SCLC H446/DDP细胞的耐药,SP1是SCLC对DDP耐药的潜在治疗靶点。

**[关键词]** 小细胞肺癌;顺铂;H446/DDP细胞;耐药;ATP结合盒亚家族C成员1;特异蛋白1;转录因子

**[中图分类号]** R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)11-1025-07

## Mechanism of transcription factor SP1 affecting drug resistance of small cell lung cancer H446/DDP cells by regulating ABCC1

GAO Yuejuan, LI Zhiping, HE Feifei, WANG Jialiang (Department of Pharmacy, Hongqi Hospital Affiliated to Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, Heilongjiang, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of transcription factor specificity protein 1 (SP1) knockdown on cisplatin (DDP) resistance in small cell lung cancer (SCLC) H466/DDP cells and its molecular mechanism. **Methods:** SCLC H466/DDP cells with knockdown of SP1 and simultaneous overexpression of ATP binding cassette subfamily C member 1 (ABCC1) were constructed, and the expression of SP1 and ABCC1 in non-drug-resistant and drug-resistant SCLC tissues was detected by IHC method. The correlation between SP1 and ABCC1 expression in SCLC tissues was analyzed by the Spearman r method. Western blot was performed to detect the expression of SP1, ABCC1 and CD44 in transfected H446/DDP cells. The proliferation, apoptosis and self-replication ability of H446/DDP cells were detected by CCK-8, flow cytometry and microspheres assay respectively. Chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay was performed to detect whether SP1 is a transcription factor of ABCC1. **Results:** The protein levels of SP1 and ABCC1 in drug-resistant H446/DDP cells and drug-resistant SCLC tissues were higher than those in parental H446 cells and non-drug-resistant SCLC tissues (all  $P<0.05$ ), and the expression of SP1 and ABCC1 protein in SCLC tissues was positively correlated. Knockdown of SP1 inhibited the proliferation ability, reduced CD44 and ABCC1 protein expression levels, decreased the number of cell microspheres formation, and promoted apoptosis (all  $P<0.05$ ) of H446/DDP cells. SP1 was approved to be the transcription factor of ABCC1. **Conclusion:** Transcription factor SP1 is involved in drug resistance in SCLC H446/DDP cells by regulating ABCC1 expression, and SP1 is a potential therapeutic target for DDP-resistant SCLC.

**[Key words]** small-cell lung cancer; cisplatin; H446/DDP cell; drug resistance; ATP binding cassette subfamily C member 1 (ABCC1); specificity protein 1 (SP1); transcription factor

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(11): 1025-1031. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.11.013]

**[基金项目]** 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费资助项目(No.2019-KYYWF-0983)

**[作者简介]** 高月娟(1981—),女,硕士,副主任药师,主要从事药理及临床药学的研究,E-mail:vz5451@163.com

**[通信作者]** 王加良,E-mail:105653811@qq.com

小细胞肺癌 (small-cell lung cancer, SCLC) 是一种与吸烟高度相关的神经内分泌肿瘤, 具有高度的侵袭性和异质性<sup>[1-2]</sup>, 多数患者初诊时已出现远处转移, 预后极差, 5年生存率仅为10%<sup>[3]</sup>。肿瘤复发转移和化疗耐药是 SCLC 患者死亡的主要原因<sup>[4]</sup>, 因此揭示化疗耐药的机制, 探索并干预关键基因的功能可能有利于改善 SCLC 患者预后。转录因子特异蛋白 1 (specificity protein 1, SP1) 在绝大多数肿瘤细胞中都高表达, 可与富含 GC 的启动子序列结合, 参与调节肿瘤发生发展相关基因的表达<sup>[5]</sup>。SP1 在肿瘤细胞中过度表达, 抑制 SP1 可降低肿瘤细胞的增殖、转移和侵袭能力及化疗耐药<sup>[6-8]</sup>。ATP 结合盒亚家族 C 成员 1 (ATP binding cassette subfamily C member 1, ABCC1) 属于 ATP 结合盒转运蛋白家族, 可通过促使细胞内化疗药物外流而使化疗无效, 导致化疗耐药<sup>[9]</sup>。研究<sup>[10-11]</sup>发现, ABCC1 与 SCLC 的化疗耐药密切相关。本研究拟探讨 SP1 是否通过调控 ABCC1 的表达参与 SCLC H446 细胞的耐药机制, 为临床治疗耐药性 SCLC 提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与细胞培养

人 SCLC 细胞株 H446 及其耐药株 H446/DDP 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。RPMI 培养基、青-链双抗购自 Hyclone 公司, 顺铂 (DDP) 购自美国 Sigma 公司, qPCR 试剂盒购自天根生物公司, Lipofectamine™3000 试剂购自 Thermo 公司, 染色质免疫共沉淀 (chromatin immunoprecipitation, CHIP) 试剂盒、CHIP 级 SP1、RNA 聚合酶 II 和 IgG 抗体均购自 Millipore 公司, Annexin V-PE 试剂盒、兔抗 GAPDH 抗体、兔抗 CD44 抗体、兔抗 MRP1/ABCC1 抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 均购自 Abcam 公司, CCK-8 法实验试剂盒、RIPA 裂解液购自上海生工生物公司, ECL 试剂购自 CST 公司。

将人 SCLC H446/DDP 细胞和 H446 细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。

### 1.2 稳定敲减 SP1 且过表达 ABCC1 细胞的构建

SP1 shRNA 敲减质粒购自 Sigma 公司, 靶向序列分别为: shSP1-1: 5'-CCACTCCTTCAGCCCTTATTA-3'; shSP1-2: 5'-GCTGGTGGTGGTGAATACAT-3'; shSP1-C: 5'-AGAACATCATGACCCTGCGAA-3'。接种 H446/DDP 细胞 (3×10<sup>5</sup> 个/孔) 于 6 孔板中, 培养过夜, 根据 Lipofectamine™3000 转染操作指南将 SP1 shRNA 及对照质粒转染至 H446/DDP 细胞中。48 h 后更换为含嘌呤霉素的培养基, 以筛选稳定敲减 SP1

的 H446/DDP 细胞, 使用 WB 法评估敲减效率。ABCC1 过表达质粒购自南京金斯瑞公司。按照 Lipofectamine™3000 转染操作指南将 ABCC1 过表达质粒或 pCMV 空质粒转染至稳定敲减 SP1 的 H446/DDP 细胞, 48 h 后加入含嘌呤霉素的培养基以筛选稳定过表达 ABCC1 且敲减 SP1 的 H446/DDP 细胞, 使用 WB 法评估过其表达效率。

### 1.3 WB 法检测 SP1、ABCC1、CD44 在 H446/DDP 或 H446 细胞中的表达

收集转染后 H446/DDP 或 H446 细胞, 加入 RIPA 裂解液后制成匀浆, 提取总蛋白。等量蛋白质 (30 μg) 经 SDS-PAGE、转膜、5% 脱脂奶粉室温封后, 与一抗 SP1 (1: 500)、ABCC1 (1: 1 000)、CD44 (1: 800) 和 GAPDH (1: 2 000) 4 °C 处理过夜, 次日与辣根过氧化物酶标记的二抗 (1: 5 000) 室温处理 1 h, ECL 发光液显影, 凝胶成像系统拍照, 以 GAPDH 用作内参照, 使用 ImageJ 软件分析蛋白条带的灰度值。实验重复 3 次。

### 1.4 IHC 法检测 SP1 和 ABCC1 在 SCLC 组织中的表达

选取 2019 年 5 月至 2021 年 4 月期间在牡丹江医学院附属红旗医院收治的用 DDP 进行治疗产生耐药的 SCLC 患者 9 例, 同时选取非耐药 SCLC 患者 9 例临床资料。本研究获得本院伦理委员会批准 (编号: No.2019036), 所有患者均签署知情同意书。肺活检组织, 常规制备石蜡切片。经脱蜡、水化、抗原修复、血清封闭后, 加入一抗 SP1 (1: 300)、ABCC1 (1: 200) 4 °C 处理过夜, 次日与辣根过氧化物酶标记的二抗 (1: 1 000) 室温处理 45 min; 加入 DAB 显示液显色、苏木精复染, 封片。每例随机拍摄不重复的 5 个高倍镜 (×400) 视野, 采用 ImageJ 软件分析视野中 SP1、ABCC1 阳性表达的吸光度 (D) 值, 计算 SP1 和 ABCC1 的相对表达量。

### 1.5 CCK-8 法检测转染后 H446/DDP 和 H446 细胞的增殖能力

将 H446/DDP 细胞 (1×10<sup>4</sup> 个/孔) 接种于 96 孔板中培养过夜, 分别加入 0.25、0.5、1、2、4、8、16 μg/mL 的 DDP 培养 72 h, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 继续培养 4 h。采用自动酶标仪测定 450 nm 波长处的光密度 (D) 值。计算细胞增殖活性 = [(DDP 组 D - 空白组 D) / (无 DDP 组 D - 空白组 D)] × 100%, 并计算 DDP 对 H446/DDP 细胞的半抑制浓度 (50% inhibiting concentration, IC<sub>50</sub>)。

### 1.6 FCM 术检测 DDP 处理后 H446/DDP 细胞的凋亡

将稳定敲减或其对照组 H446/DDP 细胞 (3×10<sup>5</sup> 个/孔) 接种于 6 孔板中, 培养过夜。不加或加入 4 μg/mL 的 DDP 培养 48 h。收集细胞, 用预冷缓冲液

悬浮,按照试剂盒说明书先后加入 10  $\mu$ L 的 Annexin V-FITC 和 PI,室温下避光作用 10 min,上流式细胞仪(Beckman Coulter 公司)检测各组 H446/DDP 细胞的凋亡率数据。

### 1.7 微球形成实验检测转染后 H446/DDP 细胞的增殖能力

将 H446/DDP 细胞 ( $2 \times 10^3$  个/孔)接种于 6 孔板中,采用微球培养基培养,每 4 d 观察微球形成情况并小心更换培养基,12 d 后拍照、微球计数。

### 1.8 CHIP 法检测 SP1 是否是 ABCC1 的转录因子

收集转染后各组 H446/DDP 细胞 ( $1 \times 10^8$  个),加入 1% 甲醛溶液处理 10 min,加入 2.5 mol/L 甘氨酸处理 5 min,加入 PBS 洗 2 次,加入蛋白酶抑制剂,收集细胞。加入 PBS 重悬,超声破碎,分别加入抗 SP1 抗体、RNA 聚合酶 II 或 IgG 的抗体。根据预测的 SP1-ABCC1 结合位点,在 ABCC1 启动子区设计引物,序列如下:位点 1 (134 bp) 上游引物为 5'-GGGGGAGGTCTCAAATGCAC-3',下游引物为 5'-ACTGTGATAACCAGCGATGCC-3';位点 2 (82 bp) 上游引物为 5'-ATGAGGGCACAGTTAAGGCG-3',下游引物为 5'-GTATCCGTCACCAGGGGAA-3';位点 3 (108 bp) 上游引物为 5'-TTGAAAAGTGGTCGCAGGGT-3',下游引物为 5'-CTCCAAGGCTTAGGCC

CAC-3';位点 4 (148 bp) 上游引物为 5'-CAAGCAACAGCATAACTGGCA-3',下游引物为 5'-TCAAAGGACCTAGCGAGGGA-3'。通过 qPCR 分析 CHIP 沉淀样本,对其 qPCR 产物进行电泳和测序分析。

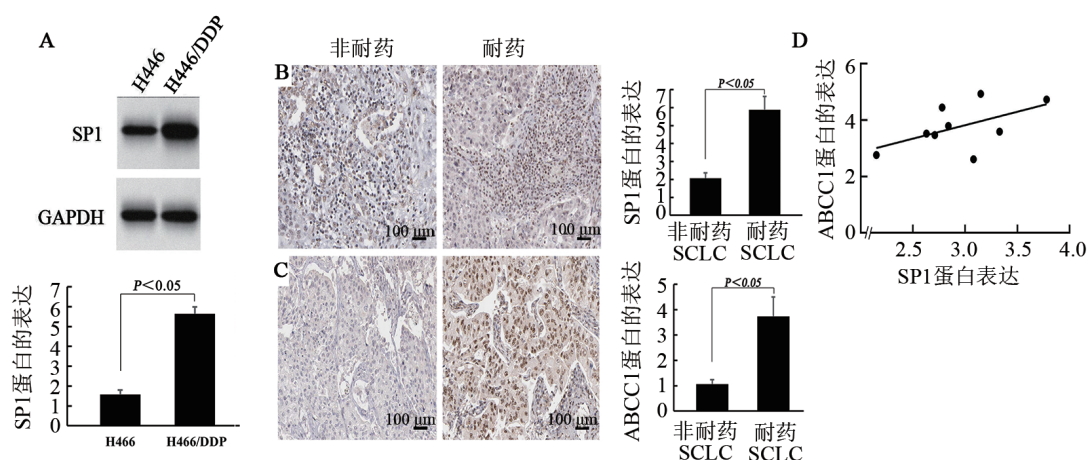
### 1.9 统计学处理

用 GraphPad 8.0 软件进行数据分析和图表绘制。所有实验都独立重复 3 次,符合正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组比较用 *t* 检验,多组间比较用单因素方差分析(ANOVA)分析,再进一步两两比较用 *SNK-q* 检验。以 Spearman R 法检验在 SCLC 组织中 SP1 和 ABCC1 表达的相关性。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SP1 在 H446/DDP 细胞和耐药 SCLC 组织中呈高表达且与 ABCC1 表达呈正相关

WB 法检测结果(图 1A)显示,与 H446 细胞相比,H446/DDP 中的 SP1 蛋白呈高表达。用 IHC 法分析 9 例 DDP 耐药和 9 例 DDP 敏感 SCLC 组织中 SP1、ABCC1 的表达,发现 SP1 和 ABCC1 蛋白在 DDP 耐药 SCLC 组织中的表达均高于非耐药 SCLC 组织(图 1B~C 均  $P < 0.05$ );两者在 DDP 耐药 SCLC 组织中的表达呈正相关( $r = 0.718, P = 0.029$ ,图 1D)。



A: WB 法检测 SP1 在 H446 细胞、H446/DDP 细胞中的表达;B、C: IHC 法检测 SP1(B)、ABCC1(C)在非耐药和耐药 SCLC 组织中的表达;D: SP1、ABCC1 在耐药 SCLC 组织中表达的相关性

图 1 SP1 在 H446/DDP 细胞和耐药 SCLC 组织中呈高表达

### 2.2 敲减 SP1 增强 H446/DDP 细胞对 DDP 的敏感性

WB 法检测结果显示,与对照 shSP-1C 组相比,shSP1-1 和 shSP1-2 组 H446/DDP 细胞中 SP1 蛋白水平均明显降低(图 2A,均  $P < 0.05$ )。通过 CCK-8 法检测结果显示,与对照 shSP1-C 组比较,shSP1-1 组和 shSP1-2 组 H446/DDP 细胞在不同质量浓度 DDP 存在时其增殖力均明显下降(图 2B,均  $P < 0.05$ )。同时 shSP1-1 组、shSP1-2 组

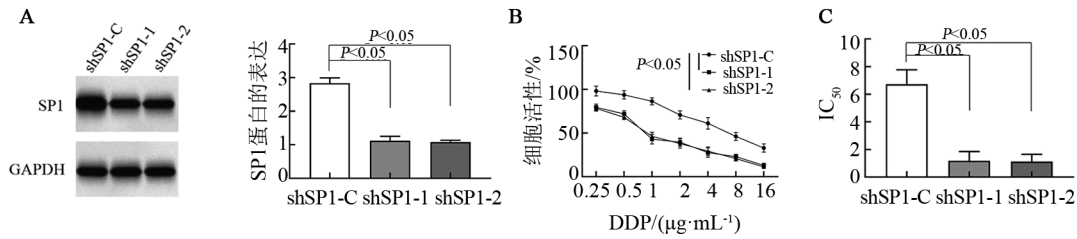
H446/DDP 细胞的  $IC_{50}$  值较 shSP1-C 组显著降低( $P < 0.05$ ,图 1C)。以上实验结果表明,实验成功地敲减了 H446/DDP 细胞 SP1 的表达,敲减 SP1 可增加 H446/DDP 细胞对 DDP 的敏感性。

### 2.3 敲减 SP1 促进 H446/DDP 细胞的凋亡

FCM 术检测结果(图 3)显示,4  $\mu$ g/mL DDP 处理 shSP1-C 组 H446/DDP 细胞后发生明显的细胞凋亡;与

shSP1-C组 H466/DDP 细胞相比, shSP1-2 组细胞凋亡更为显著 ( $P < 0.05$ )。以上实验表明, 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  DDP 存在时,

敲减 SP1 能增加 H446/DDP 细胞的凋亡, 也就是说敲减 SP1 能增加 H446/DDP 对 DDP 的敏感性。



A: WB 法验证 SP1 的敲减效果; B: CCK8 法分析敲减 SP1 对 H446/DDP 细胞增殖活性的影响; C: 敲减 SP1 前后 DDP 对 H446/DDP 细胞的 IC50 的比较

图 2 敲减 SP1 增加 H446/DDP 细胞对 DDP 的敏感性

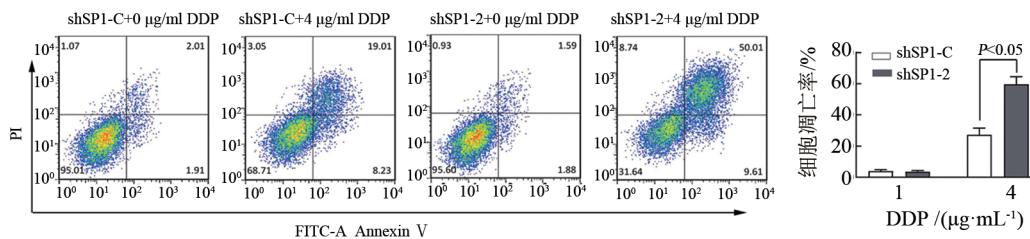
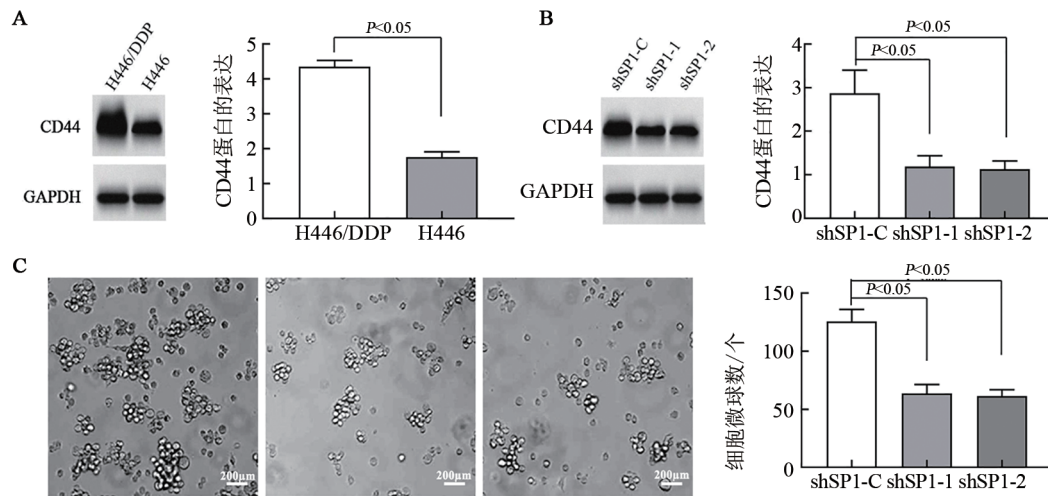


图 3 敲减 SP1 促进 H446/DDP 细胞凋亡

#### 2.4 敲减 SP1 抑制 H446/DDP 细胞的干细胞特性

WB 法检测结果 (图 4) 显示, 肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 标志物 CD44 在 H446/DDP 细胞中表达高于 H446 细胞 ( $P < 0.05$ , 图 4A), 敲减 SP1 能够抑

制 H446/DDP 细胞 CD44 的表达 ( $P < 0.05$ , 图 4B)。微球形成实验分析发现, 敲减 SP1 后, H446/DDP 细胞形成微球体的数量减少 ( $P < 0.05$ , 图 4C)。以上实验说明, 敲减 SP1 可抑制 H446/DDP 细胞干细胞特性。



A: WB 法检测 H446/DDP 细胞 CD44 蛋白水平; B: WB 法检测敲减 SP1 对 CD44 表达的影响; C: 微球实验分析敲减 SP1 对 H446/DDP 细胞自我复制能力的影响

图 4 敲减 SP1 抑制 H446/DDP 细胞的干细胞特性

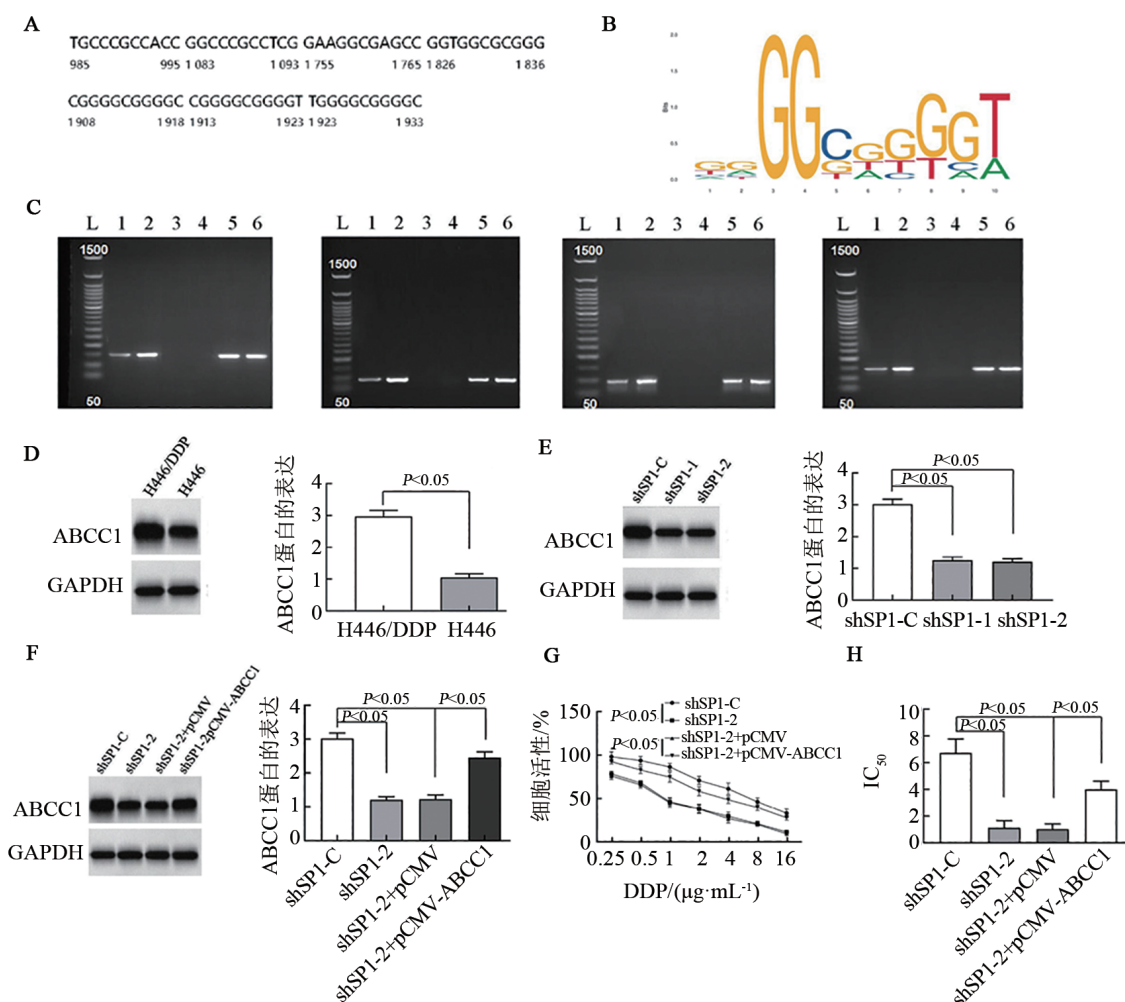
#### 2.5 SP1 是 ABCC1 的转录因子且敲减 SP1 能抑制 ABCC1 的表达

为进一步分析 SP1 对 ABCC1 的调控机制, 应用 NCBI 数据库和 Ensembl 软件找出 ABCC1 启动子区域序列, 用 PROMO 数据库和 JAPAR 数据库预测到

ABCC1 启动子区域存在 7 个可能的结合位点 (图 5A~B)。CHIP 结果 (图 5C) 显示, 只有 4 个位点实验组 DNA 条带清晰, 表明 SP1 和 ABCC1 启动子区域存在 4 个结合位点, SP1 是 ABCC1 的转录因子。WB 法检测结果显示, ABCC1 在 H446/DDP 细胞中的表达

水平高于 H446 细胞 ( $P < 0.05$ , 图 5D), 敲减 SP1 能够抑制 H446/DDP 细胞中 ABCC1 的表达 ( $P < 0.05$ , 图 5E)。在敲减 SP1 同时过表达 ABCC1 的细胞中 ABCC1 的蛋白水平明显增加 ( $P < 0.05$ , 图 5F)。CCK-8 法实验结果显示, 过表达 ABCC1 显著提高敲减了 SP1 的 H446/DDP 细胞增殖能力 ( $P < 0.05$ , 图

5G)。同时 sh-SP1+pCMV-ABCC1 组 H446/DDP 细胞的  $IC_{50}$  值较 sh-SP1-pCMV 组显著增高 ( $P < 0.05$ , 图 5H)。以上实验结果表明, 敲减 SP1 能抑制 ABCC1 的表达, 过表达 ABCC1 能抑制敲减 SP1 对 H446/DDP 细胞 DDP 敏感性的促进作用。



A: SP1 和 ABCC1 启动子区域的结合位点; B: 结合位点的序列示意图; C: CHIP 实验分析 ABCC1 启动子区域与 SP1 的结合情况 [1: 实验组, SP1 抗体, 用特异位点引物进行 PCR 扩增; 2: RT-Input1 组, 以特异位点引物进行 PCR 扩增; 3: 阴性对照组 (IgG 抗体); 4: PCR 阴性对照组 (以水为模板); 5: 阳性对照组 (RNA 聚合酶 II 抗体, 用 GAPDH 引物进行 PCR 扩增); 6: RT-Input2: 用 GAPDH 引物进行 PCR 扩增]; D: WB 法检测 H446/DDP 细胞 ABCC1 蛋白水平; E: WB 法检测敲减 SP1 对 ABCC1 表达的影响; F-H: 敲减 SP1 的 H446/DDP 细胞转染过表达 ABCC1 对其增殖活性的影响; F: WB 法检测 ABCC1 表达; G: CCK-8 法分析 H446/DDP 细胞增殖活性; H:  $IC_{50}$  的比较

图 5 SP1 是 ABCC1 的转录因子且敲减 SP1 能抑制 ABCC1 的表达并促进 H446/DDP 细胞的增殖

### 3 讨论

虽然 SCLC 对放化疗敏感度高, 但易产生化疗耐药性, 从而限制了疗效<sup>[3]</sup>。SP1 是 Sp/KLF 家族重要成员, 已证实在多种肿瘤中高表达, 充当癌基因的角色<sup>[6-7,12]</sup>。SCHWEER 等<sup>[13]</sup>指出, 抑制 SP1 的活性为光神霉素类似物克服卵巢癌铂耐药性的机制。本研究结果显示, SP1 在 DPP 耐药 SCLC 细胞中的表达明显

升高。CCK-8 法分析结果显示, 在 DDP 的作用下, 敲减 SP1 能明显降低 H446/DDP 细胞的增殖活力和  $IC_{50}$  值, 表明敲减 SP1 可逆转 H446/DDP 细胞对化疗药物 DDP 的耐药性。提示 SP1 过表达可能是 SCLC 患者对 DDP 产生耐药的原因之一。

研究认为, 肿瘤中存在少数自我复制和成瘤能力强、分化程度低的 CSC, 与肿瘤发生和发展、治疗抵抗和复发转移关系密切<sup>[14]</sup>。在非 SCLC 化疗耐药

细胞中存在 CSC 相关基因的高表达,表明具有 CSC 特征<sup>[15]</sup>,推测 SCLC 的耐药性也可能归因于 SCLC 中存在 CSC。CD44 为人 SCLC 干细胞的主要标志物<sup>[16]</sup>。本研究发现,与 SP1 一致,CD44 在 DPP 耐药 SCLC 细胞中的表达亦明显升高;敲减 SP1 可降低 H446/DDP 细胞 CD44 的表达,且能抑制 H446/DDP 细胞的自我更新能力。表明 SP1 过表达还可能通过诱导或维持 CD44 的高表达,赋予 H446/DDP 细胞 CSC 特征,进而诱导 DDP 耐药。

肺癌中的转录失调与 EMT、快速有丝分裂、免疫反应减弱等有关,对应癌症转移、快速增殖、免疫逃逸等恶性进展<sup>[17]</sup>。作为一种普遍表达的转录因子,SP1 在乳腺癌细胞和多发骨髓瘤细胞中高表达,参与调节 c-Myc 的表达,促进肿瘤生长或转移<sup>[18-19]</sup>。本研究应用 NCBI 数据库和 Ensembl 软件找出 ABCC1 启动子区域序列,用 PROMO 数据库和 JAPAR 数据库找转录因子和结合位点,发现在 ABCC1 启动子区域存在 7 个 SP1 结合位点,包括经典的 SP1 结合核苷酸序列 GGGCGG。推断 SP1 可能是 ABCC1 的转录因子,因此聚焦到 SP1 和 ABCC1 展开研究。CHIP 实验结果显示,SP1 与 ABCC1 启动子区域有 4 个结合位点,证实 SP1 是 ABCC1 的转录因子。本研究还发现,ABCC1 在 SCLC 耐药细胞及组织中高表达,且 SCLC 组织中 ABCC1 与 SP1 的表达呈正相关。而敲减 SP1 可显著降低 H446/DDP 细胞 ABCC1 的表达,表明 SP1 可直接调控 ABCC1 的转录。YANG 等<sup>[20]</sup>研究发现,SP1 直接启动 ABCG2 基因转录参与肺癌 A549 细胞的 DDP 耐药。而 ABCC1 作为细胞的外排泵之一,可依赖 ATP 提供的能量,将化疗药物等有毒物质排出细胞外,减少这些毒性物质在细胞内的蓄积,是肿瘤细胞对化疗药物产生耐受的重要原因<sup>[9,21]</sup>。因此推断 SP1 过表达可能通过激活 ABCC1 等耐药蛋白表达,促进 H446/DDP 细胞的对 DDP 外排作用,赋予 H446/DDP 细胞耐药性。

总之,本研究发现,SP1 在 H446/DDP 细胞中高表达,作为转录因子调控 ABCC1 蛋白表达,参与 SCLC 细胞耐药,是逆转 SCLC 细胞耐药的可能靶标。本课题组将继续对 SP1 调控的其他靶点进行分析,以进一步揭示其作为治疗靶点的可行性。

## [参考文献]

- [1] RUDIN C M, BRAMBILLA E, FAIVRE-FINN C, *et al.* Small-cell lung cancer[J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 3[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33446664/>. DOI: 10.1038/s41572-020-00235-0.
- [2] RASO M G, BOTA-RABASEDAS N, WISTUBA I I. Pathology and classification of SCLC[J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(4): 820[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33669241/>. DOI: 10.3390/cancers13040820.
- [3] CHAN J M, QUINTANAL-VILLALONGA A, GAO V R, *et al.* Signatures of plasticity, metastasis, and immunosuppression in an atlas of human small cell lung cancer[J/OL]. *Cancer Cell*, 2021, 39(11):1479-1496.e18[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34653364/>. DOI: 10.1016/j.ccell.2021.09.008.
- [4] ZHU M R, HUANG Y, BENDER M E, *et al.* Evasion of innate immunity contributes to small cell lung cancer progression and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(7): 1813-1826. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-2808.
- [5] WANG S, LI Y, SUN S, *et al.* Sp1 promotes ovarian cancer cell migration through repressing miR-335 expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(1): 211-216. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.01.063.
- [6] MURAMOTO K, TANGE R, ISHII T, *et al.* Downregulation of transcription factor Sp1 suppresses malignant properties of A549 human lung cancer cell line with decreased  $\beta$ 4-galactosylation of highly branched N-glycans[J]. *Biol Pharm Bull*, 2017, 40(8): 1282-1288. DOI:10.1248/bpb.b17-00212.
- [7] CHEN Y T, TSAI H P, WU C C, *et al.* High-level Sp1 is associated with proliferation, invasion, and poor prognosis in astrocytoma[J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(3): 1003-1013. DOI: 10.1007/s12253-018-0422-8.
- [8] KIM W Y, JANG J Y, JEON Y K, *et al.* Syntenin increases the invasiveness of small cell lung cancer cells by activating p38, AKT, focal adhesion kinase and SP1[J/OL]. *Exp Mol Med*, 2014, 46(4): e90[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24722482/>. DOI:10.1038/emmm.2014.1.
- [9] ROBEY R W, PLUCHINO K M, HALL M D, *et al.* Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(7): 452-464. DOI:10.1038/s41568-018-0005-8.
- [10] GUO L L, LIU Y G, BAI Y F, *et al.* Gene expression profiling of drug-resistant small cell lung cancer cells by combining microRNA and cDNA expression analysis[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(9): 1692-1702. DOI:10.1016/j.ejca.2010.02.043.
- [11] LIU H X, WU X X, HUANG J, *et al.* miR-7 modulates chemoresistance of small cell lung cancer by repressing MRP1/ABCC1[J]. *Int J Exp Pathol*, 2015, 96(4): 240-247. DOI: 10.1111/iep.12131.
- [12] ZHANG X, YANG H W, JIA Y D, *et al.* circRNA\_0005529 facilitates growth and metastasis of gastric cancer via regulating miR-527/Sp1 axis[J/OL]. *BMC Mol Cell Biol*, 2021, 22(1): 6[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33472586/>. DOI: 10.1186/s12860-020-00340-8.
- [13] SCHWEER D, MCCORKLE J R, ROHR J, *et al.* Mithramycin and analogs for overcoming cisplatin resistance in ovarian cancer[J/OL]. *Biomedicines*, 2021, 9(1): 70[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33445667/>. DOI: 10.3390/biomedicines9010070.
- [14] ARAMINI B, MASCIALE V, GRISENDI G, *et al.* Dissecting tumor growth: the role of cancer stem cells in drug resistance and recurrence[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(4): 976[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35205721/>. DOI:10.3390/cancers14040976.
- [15] SHAO Y, LV H, ZHONG D S, *et al.* EGFR-TKI resistance and

- MAP17 are associated with cancer stem cell like properties[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 6655-6665. DOI:10.3892/ol.2018.8129.
- [16] HENG W S, PORE M, MEIJER C, *et al*. A unique small cell lung carcinoma disease progression model shows progressive accumulation of cancer stem cell properties and CD44 as a potential diagnostic marker[J/OL]. *Lung Cancer*, 2021, 154: 13-22[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33607458/>. DOI: 10.1016/j.lungcan.2021.02.002.
- [17] ZHANG S, LI M F, JI H B, *et al*. Landscape of transcriptional deregulation in lung cancer[J/OL]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 435[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29866045/>. DOI: 10.1186/s12864-018-4828-1.
- [18] FULCINITI M, AMODIO N, BANDI R L, *et al*. miR-23b/SP1/c-myc forms a feed-forward loop supporting multiple myeloma cell growth[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2016, 6(1): e380[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26771806/>. DOI:10.1038/bcj.2015.106.
- [19] KONG L M, LIAO C G, ZHANG Y, *et al*. A regulatory loop involving miR-22, Sp1, and c-Myc modulates CD147 expression in breast cancer invasion and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(14): 3764-3778. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-13-3555.
- [20] YANG W J, SONG M J, PARK E Y, *et al*. Transcription factors Sp1 and Sp3 regulate expression of human *ABCG2* gene and chemoresistance phenotype[J]. *Mol Cells*, 2013, 36(4): 368-375. DOI:10.1007/s10059-013-0191-x.
- [21] SHAIKH N, SHARMA M, GARG P. Selective fusion of heterogeneous classifiers for predicting substrates of membrane transporters[J]. *J Chem Inf Model*, 2017, 57(3): 594-607. DOI: 10.1021/acs.jcim.6b00508.

[收稿日期] 2022-07-03

[修回日期] 2022-10-14

[本文编辑] 向正华, 沈志超