

信号识别颗粒14调控肝细胞癌进程并影响患者预后

田慧敏¹, 唐冬梅², 马美琳³, 傅湘辉^{1,4}

- 四川大学华西医院内分泌代谢科 糖尿病与代谢研究室, 四川 成都 610041
- 四川大学生物治疗协同创新中心, 四川 成都 610041
- 四川大学华西医院代谢疾病与药物治疗研究所, 四川 成都 610041
- 四川大学华西医院生物治疗研究中心, 四川 成都 610041

[摘要] 目的:探究信号识别颗粒14(SRP14)在肝细胞癌(HCC)中的表达及功能。方法:利用生物信息学、定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)、免疫组织化学染色和蛋白质印迹法等明确SRP14在HCC中的表达;应用Kaplan-Meier法分析SRP14 mRNA表达变化与HCC患者的总生存期、无进展生存期及疾病特异性生存期的相关性;通过5-乙基-2'-94脱氧尿苷(EdU)染色、MTS实验、Transwell小室实验及细胞划痕实验等探索SRP14对HCC细胞增殖和迁移的作用;利用京都基因与基因组百科全书(KEGG)和基因本体(GO)富集分析以及qRT-PCR初探SRP14在HCC中的作用机制。结果:在GSE14520数据集、TNMplot数据库和临床标本中,与配对癌旁组织、非配对癌旁组织或正常组织比较,HCC组织的SRP14 mRNA表达均有不同程度的升高(均 $P<0.05$)。在临床标本中,与配对癌旁组织比较,HCC组织的SRP14蛋白表达上调($P<0.05$)。SRP14表达上调的HCC患者具有更长的总生存期、无进展生存期及疾病特异性生存期(均 $P<0.05$)。细胞实验结果显示,SRP14能抑制HCC细胞的体外增殖和迁移。KEGG和GO富集分析结果显示,在HCC中,与SRP14共表达的基因主要调控蛋白质合成、加工和运输等相关细胞活动或功能;在非酒精性脂肪性肝病相关HCC中,与SRP14共表达的基因主要调控MAPK、cAMP、PI3K-Akt、Wnt等多条信号传导通路。SRP14抑制HCC细胞中已知抑癌基因GPRC5A的mRNA表达($P<0.05$)。结论:SRP14可能调控HCC进程并影响患者预后。



[关键词] 肝细胞癌;非酒精性脂肪性肝病;信号识别颗粒14;G蛋白偶联受体C类组5成员A;细胞增殖;细胞迁移;预后

[中图分类号] R363.2;R735.7 [文献标志码] A

收稿日期(Received):2024-02-22 接受日期(Accepted):2024-06-23 网络预发表日期(Online):2024-08-06

基金项目(Funding):四川大学华西医院学科卓越发展1·3·5工程项目(ZYGD23005)

第一作者(First author):田慧敏,硕士研究生,主要从事代谢紊乱及癌症等疾病研究;E-mail:tianhmsky@163.com;https://orcid.org/0009-0003-1653-6168

通信作者(Corresponding author):傅湘辉,教授,博士生导师,主要从事重大疾病的共性机制研究;E-mail:xfu@scu.edu.cn;https://orcid.org/0000-0001-9808-3892

Expression of signal recognition particle 14 in hepatocellular carcinoma and its relationship with disease progression and patient survival

TIAN Huimin¹, TANG Dongmei², MA Meilin³, FU Xianghui^{1,4} (1. Department of Endocrinology and Metabolism, Center for Diabetes and Metabolism Research, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Collaborative Innovation Center of Biotherapy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Institute of Metabolic Diseases and Pharmacotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Department of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Corresponding author: FU Xianghui, E-mail: xfu@scu.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0001-9808-3892>

[**Abstract**] **Objective:** To investigate the expression of signal recognition particle 14 (SRP14) in hepatocellular carcinoma (HCC) and its clinical significance. **Methods:** The data of SRP14 expression in HCC were obtained from bioinformatics study, and from investigation with quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR), immunohistochemical staining and Western blotting in clinical samples. The Kaplan-Meier analysis was used to determine the associations between *SRP14* mRNA expression and the overall survival, progression-free survival, and disease-specific survival of HCC patients. The effect of SRP14 on the proliferation and migration of HCC cells were determined by EdU staining, MTS, Transwell and wound-healing assays. The potential mechanism for SRP14 regulating HCC was explored through Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) and Gene Ontology (GO) enrichment analysis as well as qRT-PCR. **Results:** According to the data from GSE14520, TNMplot database and clinical samples, compared with paired tumor-adjacent tissues, non-paired tumor-adjacent tissues and normal tissues, the mRNA expression of *SRP14* in HCC tissues was upregulated (all $P < 0.05$). In clinical samples, compared with paired tumor-adjacent tissues, the protein expression of SRP14 in HCC tissues was increased ($P < 0.05$). The increased mRNA expression of *SRP14* was associated with good overall survival, progression-free survival, and disease-specific survival in HCC patients. SRP14 inhibited the proliferation and migration of HCC cells *in vitro*. According to the KEGG and GO enrichment analysis, in non-specific HCC, the genes co-expressed with SRP14 may predominantly regulate protein synthesis, processing, and transport, while in nonalcoholic fatty liver disease related HCC, the genes co-expressed with SRP14 could control multiple signaling pathways such as MAPK, cAMP, PI3K-Akt, and Wnt. Mechanistically, SRP14 up-regulated the mRNA expression of tumor suppressor gene *GPRC5A* in HCC cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** SRP14 may regulate HCC progression and influence patient prognosis.

[**Key words**] Hepatocellular carcinoma; Nonalcoholic fatty liver disease; Signal recognition particle 14; G protein-coupled receptor class C group 5 member A; Cell proliferation; Cell migration; Prognosis

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2024, 53(4): 460-471.]

[缩略语] 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC);非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD);信号识别颗粒(signal recognition particle, SRP);聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR);定量PCR(quantitative PCR, qPCR);基因组DNA(genomic DNA, gDNA);5-乙基-2'-94脱氧尿苷(5-ethyl-2'-94 deoxyuridine, EdU);3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, MTS];基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO);信使RNA(messenger RNA, mRNA);RNA测序(RNA sequencing, RNA-seq);京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG);基因本体(Gene Ontology, GO);定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcription PCR, qRT-PCR);互补DNA(complementary DNA, cDNA);十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS);聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF);免疫组织化学染色(immunohistochemical staining, IHC);磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS);G蛋白偶联受体C类组5成员A(G protein-coupled receptor class C group 5 member A, GPRC5A);Rho家族GTP酶(Rho family GTPase, RND);蛋白磷酸酶1调节亚基15A(protein phosphatase 1 regulatory subunit 15A, PPP1R15A);整合器复合物亚单位(integrator complex subunit, INST);风险比(hazard ratio, HR)

原发性肝癌是一种常见的高致死性肿瘤,每年约有100万新发病例及90万死亡病例,是造成癌症相关死亡的第三大原因^[1-2]。HCC是最常见的原发性肝癌^[1-2]。HCC的发病背景复杂,危险因素多样,肝炎病毒感染引起的慢性肝病、酒精相关性肝病以及NAFLD均可能导致HCC的发生^[3-5]。HCC发生发展是一个复杂的多步骤过程,已有证据提示基因变异、信号传导异常、细胞微环境改变、免疫失调、代谢紊乱等多种机制参与HCC进程^[6]。目前,调控HCC发生发展的分子机制及靶点仍不完全清楚。

研究表明,许多分泌蛋白和膜蛋白的表达、定位或功能的变化可能参与调控HCC等多种癌症的进程^[7-8]。SRP14作为一种RNA结合蛋白,是哺乳动物细胞内SRP的Alu-结构域组分之一,可与RNA结合并协助核糖体翻译合成的蛋白定位至内质网,从而调控分泌蛋白和膜蛋白在细胞内的表达、定位和功能^[9-11]。目前有研究指出,SRP14在血液系统肿瘤^[12]、子宫内膜异位症^[13]、囊性纤维化^[14]及乳腺癌^[15]等疾病中异常表达,并可能调控疾病进程。本研究旨在探究SRP14在HCC中的表达变化及与患者预后的关系,并初步探索其对HCC进程的可能影响,以期对HCC的

分子靶点确认和机制研究提供线索。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

HCC组织及癌旁组织的临床标本均取自四川大学华西医院进行外科手术的HCC患者。研究开始前已取得所有患者的知情同意。本研究涉及人体组织的操作均遵循赫尔辛基宣言准则并通过四川大学华西医院伦理委员会审查(2022, NO. 1040)。

肝癌细胞系SK-Hep1和SMMC-7721分别来源于北京北纳创联生物技术研究院和中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库/中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心;HEK-293T细胞来源于美国ATCC细胞库。DMEM培养基、胎牛血清及青-链霉素为美国Gibco公司产品;TRIzol试剂为美国Molecular Research Center公司产品;HiScript[®] II RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)和ChamQ SYBR qPCR Master Mix为南京诺唯赞生物科技有限公司产品;RIPA缓冲液、4%多聚甲醛为美国Thermo Fisher公司产品;蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂为美国Selleck公司产品; β -肌动蛋白抗体(β -actin, Cat. No. 20536-1-AP)和SRP14

(Cat. No. 11528-1-AP)抗体为美国Proteintech公司产品;苏木素染色液为上海碧云天生物技术有限公司产品;Triton™ X-100为美国Merck公司产品;pLKO.1-TRC慢病毒质粒为美国Addgene公司产品;pCDH-CMV-MCS质粒为美国System Biosciences公司产品;限制性核酸内切酶BamH1、Xba1为美国New England Biolabs公司产品;EdU Apollo567体外检测试剂盒为广州锐博生物技术有限公司产品;防淬灭封片剂为美国Vector Laboratories公司产品;MTS检测试剂盒(CellTiter 96® AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay)为美国Promega公司产品;Transwell小室为美国Corning公司产品;高保真PCR酶(TransStart® FastPfu Fly DNA Polymerase)为北京全式金生物技术股份有限公司产品;PCR产物回收试剂盒为美国Omega公司产品。荧光定量PCR仪为美国ABI公司产品。克隆引物及其他寡核苷酸序列均由上海生物工程技术有限公司合成。

1.2 生物信息学方法分析HCC组织中SRP14 mRNA的表达及与SRP14共表达的分子

在GEO数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)中下载HCC的基因mRNA表达水平数据集GSE14520并导入R4.2.1软件,获得HCC和配对癌旁组织中SRP14 mRNA相对表达水平。在TNMplot网站(<https://tnmplot.com/analysis>)的RNA-seq数据库中查找并下载HCC组织、配对癌旁组织,以及非配对的正常或癌旁组织中的SRP14 mRNA相对表达水平。

利用TNMplot网站的“关联性分析”(Correlation analysis)功能,获得在HCC(不区分病因)组织中与SRP14共表达的基因(Spearman相关系数 ≥ 0.1 且 $P \leq 0.05$);生物信息学分析NAFLD相关HCC的数据集GSE214432^[16],获得NAFLD相关HCC中与SRP14共表达的基因,并通过文献检索确定基因的功能(促癌、抑癌或未知功能);使用TNMplot网站的“功能分析”(Functional analysis)功能,对上述共表达基因进行KEGG和GO富集分析,筛选出前三十个富集基因数

最多且 $P \leq 0.05$ 的KEGG、GO分子功能和GO生物学过程的数据集,导入GraphPad Prism 10.0软件并作图。

1.3 qRT-PCR检测患者HCC组织中SRP14 mRNA表达

使用TRIzol试剂提取5例患者的HCC及其配对癌旁组织的总RNA,并检测其浓度和纯度。根据说明书使用HiScript® II RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒去除gDNA并将总RNA逆转录为cDNA。稀释cDNA,使用ChamQ SYBR qPCR Master Mix在荧光定量PCR仪器上对cDNA进行qRT-PCR,qPCR引物序列见表1。导出数据,以 β -actin为内参,计算SRP14 mRNA相对表达水平。

1.4 蛋白质印迹法检测患者HCC组织中SRP14蛋白表达

将HCC及其配对癌旁组织从液氮取出,取黄豆粒大小组织块,液氮研磨至粉末后,超声仪充分破碎组织粉末,冰浴条件下,RIPA裂解液充分裂解组织粉末,离心后所得上清液即为组织总蛋白。考马斯亮蓝法测定蛋白浓度并定量,加热法使总蛋白变性,置于 -20°C 保存。配制合适浓度的SDS聚丙烯酰胺凝胶,取适量的总蛋白样品加样至凝胶的胶孔中,80 V电压条件下,电泳变性后的总蛋白样品;将凝胶转移至PVDF膜上,冰浴

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	方法	序列(5'→3')
<i>β-actin</i>	qRT-PCR	正向:CATCCGCAAAGACCTGTACG 反向:CCTGCTTGCTGATCCACATC
<i>SRP14</i>	qRT-PCR	正向:AAGTATGACGGTTCGAACCAAAC 反向:TCGGTAGCTCTTAACAGACACT
<i>SRP14</i> 编码序列-酶切位点	PCR	正向:CGCGGATCCATGGTGTTCGTTGGAGAGCGA 反向:CTAGTCTAGAGAAATGTATGCCCTTTACTGTGC
<i>GPRC5A</i>	qRT-PCR	正向:CTTCCTGACTTTGACCGCAG 反向:ATAGGGGGCATAGAGCGTGT
<i>RND3</i>	qRT-PCR	正向:AAAATGCTCTTGGTCGGCTG 反向:TCCGACTGTAAAGCTGAGCA
<i>PPP1R15A</i>	qRT-PCR	正向:CTGCCCTCCGACTGCAAA 反向:GAGCAAGCTGCTCCAGG
<i>INTS6</i>	qRT-PCR	正向:ACTCAAGCACAGCCAGATCT 反向:AACTGGCTGGAGAAGATGCT

actin:肌动蛋白;PCR:聚合酶链反应;qRT-PCR:定量逆转录PCR;SRP:信号识别颗粒;GPRC5A:G蛋白偶联受体C类组5成员A;RND:Rho家族GTP酶;PPP1R15A:蛋白磷酸酶1调节亚基15A;INST:整合器复合物亚单位。

条件下,恒定 200 mA 电流电转约 1.5 h;室温条件下,5%脱脂牛奶摇床封闭 PVDF 膜约 1 h;一抗 4 °C 孵育过夜;次日,二抗室温摇床孵育 2 h;在凝胶成像仪上,使用化学发光法显影条带并采集图像。采用 Image J 软件处理图像,以 β -actin 为参照定量分析 SRP14 蛋白的丰度。

1.5 IHC 法检测患者 HCC 组织中 SRP14 蛋白表达

将新鲜的 HCC 组织和癌旁组织切取约 5 mm×5 mm 大小,再投至中性福尔马林溶液中固定。修剪固定好的组织,置于作好标记的包埋盒中,自来水冲洗过夜,其后依次进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡浸透、石蜡包埋、切片、42 °C 漂片、65 °C 摊片等步骤制作石蜡切片。制作 IHC 切片:将上述石蜡切片脱蜡、水化,进行抗原修复;3%过氧化氢孵育 30 min,5%山羊血清封闭 30 min;SRP14 一抗 4 °C 孵育切片过夜;次日,二抗室温孵育切片 2 h;辣根过氧化物酶标记连接物 37 °C 孵育切片 30 min;DAB 工作液显色;苏木素复染 2~3 min;脱水、透明、封片;分别在 10 倍和 40 倍显微镜物镜下观察组织切片染色结果,SRP14 蛋白呈棕褐色,采集图像。Image J 软件处理组织 IHC 切片图像,利用 IHC Profiler 插件对 SRP14 蛋白的丰度进行定量评价和评分,将低阳性、阳性和高阳性评分相加的结果记为 SRP14 蛋白阳性评分。

1.6 Kaplan-Meier 生存曲线分析 SRP14 表达与 HCC 患者预后的关系

进入 Kaplan-Meier Plotter 网站(<https://kmplot.com/analysis/index.php?p=service>)^[17],选中 mRNA RNA-seq 数据库中的“Liver cancer”选项,基因名输入 SRP14,分析比较 SRP14 高表达和低表达 HCC 患者的总生存期(高表达组 $n=268$,低表达组 $n=96$)、无进展生存期(高表达组 $n=277$,低表达组 $n=93$)和疾病特异性生存期(高表达组 $n=269$,低表达组 $n=93$)。总生存期指从随机化分组开始至出现全因死亡的时间,无进展生存期指从随机化分组开始至出现 HCC 进展或全因死亡的时间,疾病特异性生存期指从随机化分组开始至出现由 HCC 导致死亡的时间。

1.7 构建敲低和过表达 SRP14 的 HCC 细胞稳株

使用高保真 PCR 酶将 SRP14 短发夹 RNA 及其对照序列克隆至 pLKO.1-TRC 慢病毒质粒上,构建表达靶向 SRP14 的短发夹 RNA 的质粒

(sh-SRP14) 和对照质粒。高保真 PCR 酶克隆 SRP14 的编码序列(表 1),回收克隆产物,酶切连接法将 SRP14 的编码序列插入到 pCDH-CMV-MCS 质粒上,构建 SRP14 过表达质粒,以 pCDH-CMV-MCS 空载为对照质粒。利用 Attractene 转染试剂将上述目的质粒或对照质粒与包装质粒共转染到 HEK-293T 细胞中,48 h 后收集细胞上清并离心获得慢病毒颗粒。慢病毒颗粒感染 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞,嘌呤霉素筛选阳性细胞,构建敲低和过表达 SRP14 的 HCC 细胞稳株。蛋白质印迹法检测上述细胞稳株 SRP14 的表达水平,验证 SRP14 敲低和过表达效果。

1.8 EdU 染色检测 HCC 细胞体外增殖情况

敲低或过表达 SRP14 的 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞及各自对照细胞稳株在 24 孔板细胞爬片上培养,待细胞生长状态良好、生长至 50%~60% 时,用含 50 μ mol/L EdU 的培养基孵育细胞 2 h。室温条件下,4%多聚甲醛固定细胞 20 min,甘氨酸孵育 5 min,含 0.5% TritonX-100 的 PBS 渗透剂孵育 10 min。室温避光条件下,Apollo 染色反应液孵育细胞 30 min,含 0.5% Triton™ X-100 的 PBS 渗透剂摇床清洗两三次,每次 10 min;Hoechst 反应液孵育细胞 30 min。防淬灭封片剂封闭爬片,立即在荧光显微镜下观察荧光染色情况,S 期细胞可被 EdU 特异性染色而呈红色,所有细胞的细胞核可被 Hoechst 染色而呈蓝色,采集图片。

1.9 MTS 细胞增殖实验检测 HCC 细胞体外增殖情况

敲低或过表达 SRP14 的 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞及各自对照细胞稳株均匀培养在同一 96 孔板中,待细胞生长状态良好,按照 MTS 检测试剂盒说明书,分别在 0、24、48 和 72 h 时加入适量 MTS 试剂,细胞培养箱中孵育 1 h。使用酶标仪检测 96 孔板中 490 nm 处的吸光度,记录数值。

1.10 Transwell 小室实验检测 HCC 细胞体外迁移能力

敲低或过表达 SRP14 的 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞及各自对照细胞稳株在不含胎牛血清的 Transwell 顶部小室中培养,并控制各组的细胞密度基本一致。待细胞生长状态良好,Transwell 底部小室添加含 10% 胎牛血清的培养

基, 24 h后将穿透至底部小室的细胞固定、结晶紫染色, 在显微镜下观察染色情况和采集图像。使用Image J软件处理图像并对穿透在底部小室的细胞进行定量分析。

1.11 细胞划痕实验检测HCC细胞体外迁移能力

敲低或过表达SRP14的SMMC-7721细胞及对照细胞稳株培养在六孔板中, 保证各组细胞密度基本一致且生长状态良好, 待细胞生长融合为单层细胞时, 用移液管尖端均匀划伤单层细胞造成一致划痕, 显微镜下观察细胞划痕并采集图像; 继续培养细胞48 h后, 显微镜下再观察此时的细胞划痕和迁移区域并采集图像。使用Image J软件处理图像并对划痕愈合面积进行定量分析。

1.12 qRT-PCR检测HCC细胞中GPRC5A、RND3、PPPR15A、INST6 mRNA表达

使用TRIzol试剂提取敲低或过表达SRP14的SK-Hep1细胞及SMMC-7721细胞的总RNA, 并检测其浓度和纯度。根据说明书使用HiScript® II RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)试剂盒去除gDNA并将总RNA逆转录为cDNA。稀释cDNA, 使用ChamQ SYBR qPCR Master Mix在荧光定量PCR仪器上对cDNA进行qRT-PCR, qPCR引物序列见表1。导出数据, 以 β -actin为内参, 计算GPRC5A、RND3、PPPR15A及INST6 mRNA的相对表达量。

1.13 统计学方法

采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析。实验数据来自至少三次独立实验, 其中正态分布数据以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)描述, 非正态分布数据以中位数(上下四分位数) $[M(Q_1, Q_3)]$ 描述, 通过非配对或配对的双尾t检验或单因素方差分析进行检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HCC组织中SRP14的mRNA及蛋白表达增高

GSE14520数据集分析结果显示, 相比配对癌旁组织, HCC组织中的SRP14 mRNA相对表达水平升高($P<0.01$)。同样, TNMplot的RNA-seq数据库结果显示, 相比配对癌旁组织、非配对癌旁组织或正常组织,

HCC组织中的SRP14 mRNA相对表达水平均升高(均 $P<0.01$)。qRT-PCR检测结果显示, 相比配对癌旁组织, 患者HCC组织中的SRP14 mRNA相对表达水平升高($P<0.05$)。见表2。结果提示HCC组织中SRP14 mRNA表达水平升高。

蛋白质印迹法检测结果显示, 相比配对癌旁组织, HCC组织的SRP14蛋白表达增高约0.55倍($P<0.05$), 见图1。IHC结果同样证实, 配对癌旁组织中的SRP14蛋白丰度评分为 11.1 ± 2.4 , 而在HCC组织中的SRP14蛋白丰度评分则为 21.4 ± 5.8 , 显著高于癌旁组织($P<0.01$), 见图2。提示HCC组织中SRP14蛋白表达水平升高。

2.2 SRP14高表达与HCC患者的良好预后呈正相关

Kaplan-Meier生存分析结果显示, HCC组织低表达SRP14的患者中位总生存期和中位无进展生存期分别为36.3和18.3个月, 疾病特异性生存期的上四分位数为19.4个月; 而HCC组织高表达SRP14的患者中位总生存期、中位无进展生存期分别为70.5和25.9个月, 疾病特异性生存期的上四分位数为45.7个月, 见图3。可见SRP14高表达的HCC患者具有更长总生存期、无进展生存期和疾病特异性生存期[$HR=0.49(0.34\sim 0.70)$ 、 $HR=0.70(0.51\sim 0.97)$ 和 $HR=0.42(0.26\sim 0.65)$],

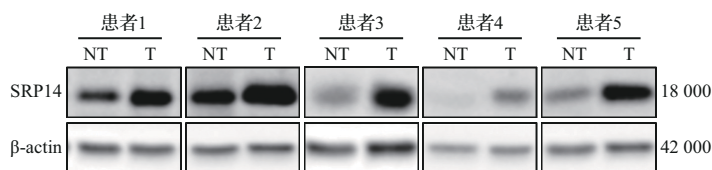
表2 HCC组织及癌旁/正常组织中SRP14 mRNA水平比较

Table 2 The mRNA expression of SRP14 in HCC and non-tumor tissues

数据来源	n	$[M(Q_1, Q_3) \text{ 或 } \bar{x}\pm s]$	
		癌旁/正常组织	HCC组织
GSE14520	241	-0.54(-0.88, -0.22)	0.68(0.24, 1.07)**
TNMplot(配对)	50	1945.00 \pm 741.40	3213.00 \pm 1545.00**
TNMplot(不配对)#	371	1742.00 \pm 750.40	3806.00 \pm 2088.00**
临床HCC组织	5	0.14 \pm 0.08	0.29 \pm 0.11*

与癌旁/正常组织比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。#癌旁/正常组织 $n=175$ 。

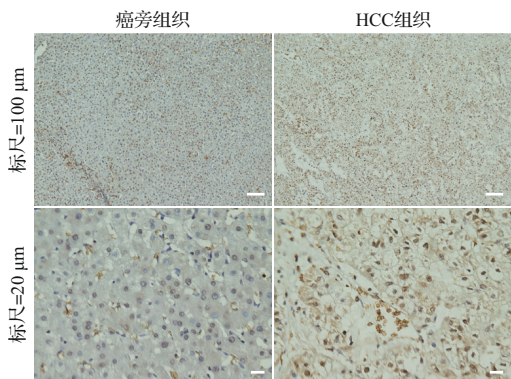
HCC: 肝细胞癌; SRP: 信号识别颗粒; mRNA: 信使RNA。



NT: 癌旁组织; T: 肝细胞癌组织; SRP: 信号识别颗粒; actin: 肌动蛋白。

图1 临床肝细胞癌组织和配对癌旁组织SRP14蛋白质电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of SRP14 protein in hepatocellular carcinoma and paired tumor-adjacent tissues



蓝紫色代表细胞核,棕褐色代表SRP14蛋白.与癌旁组织比较,HCC组织中SRP14蛋白更为丰富.HCC:肝细胞癌;SRP:信号识别颗粒.

图2 临床HCC组织和配对癌旁组织SRP14蛋白免疫组织化学染色结果

Figure 2 SRP14 protein in HCC and paired tumor-adjacent tissues observed by immunohistochemistry

均 $P < 0.05$],即 *SRP14* 在 HCC 组织中的表达升高与 HCC 患者的良好预后呈正相关。

2.3 *SRP14* 抑制 HCC 细胞体外增殖

构建 *SRP14* 敲低和过表达的 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞稳株(图4)。EdU 染色结果显示,相同条件下,敲低 *SRP14* 的 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞的 S 期荧光细胞比例明显多于相应对照,过表达 *SRP14* 则相反(图5)。同样地,MTS 实验结果显示,48、72 h 时敲低 *SRP14* 的 SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞在 490 nm 处的吸光度值均明显大于相应对照,过表达 *SRP14* 则相反(图6)。提示 *SRP14* 可抑制 HCC 细胞的体外增殖。

2.4 *SRP14* 抑制 HCC 细胞的体外迁移

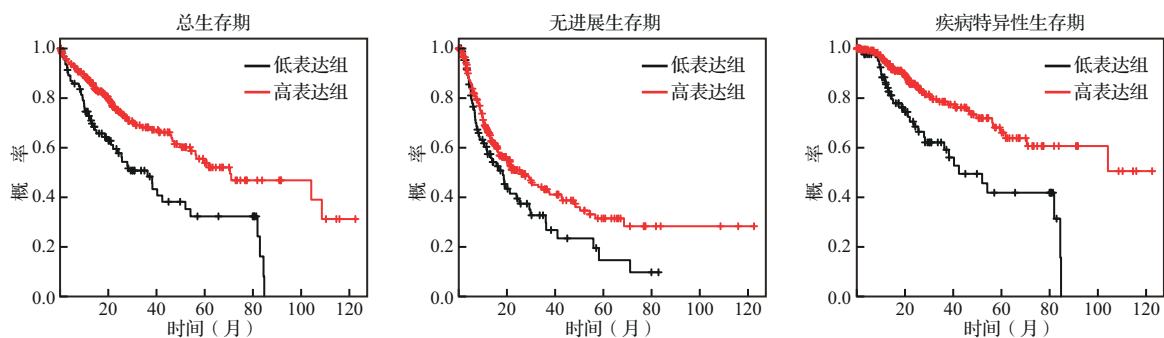
Transwell 小室实验结果显示,敲低 *SRP14* 的

SK-Hep1 细胞和 SMMC-7721 细胞在 24 h 时迁移至底部小室较相应对照多,过表达 *SRP14* 则相反,见图7、表3。细胞划痕实验结果显示,敲低 *SRP14* 的 SMMC-7721 细胞在 48 h 时划痕愈合面积较相应对照大,过表达 *SRP14* 则相反,见图8、表3。提示 *SRP14* 可抑制 HCC 细胞的体外迁移。

2.5 *SRP14* 调控 HCC 的潜在分子机制

对 HCC(不区分病因)与 *SRP14* 共表达的 2820 个基因进行 KEGG 和 GO 富集分析。结果显示,KEGG 分析富集到细胞周期、肌动骨架调节、紧密连接等细胞增殖和迁移相关的通路;与此一致,GO 分析富集到细胞周期调节、钙黏着蛋白结合及微管蛋白结合等细胞增殖和迁移相关的分子。提示与 *SRP14* 共表达的分子可能调控 HCC 细胞增殖和迁移。此外,KEGG 和 GO 分析还富集到大量参与 RNA 结合、核糖体结合、mRNA 加工、内质网中的蛋白质加工、蛋白质定位及转运等过程的分子,表明与 *SRP14* 共表达分子可能具有 RNA 加工、核糖体翻译、蛋白质加工和运输等功能。见附图 1A~C。这些共表达分子的功能与 SRP 的功能相似,提示 *SRP14* 可能是通过 SRP 途径来调控 HCC 细胞的蛋白合成、加工或运输等,从而实现其在 HCC 中的功能。

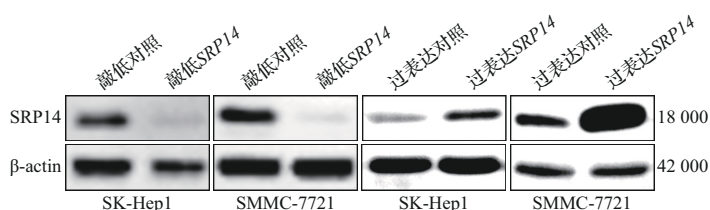
对 NAFLD 相关 HCC(GSE214432 数据集)与 *SRP14* 共表达的 627 个基因进行 KEGG 富集分析。结果显示,与前面的富集分析结果比较,GSE214432 数据集中与 *SRP14* 共表达的基因的功能及参与通路等存在明显差异,其中排名前三十的 KEGG 通路涉及 MAPK 信号通路、cAMP 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、Wnt 信号通路等(附图 1D),而在之前的富集分析中并未涉及上



SRP:信号识别颗粒.

图3 *SRP14* 高表达和低表达肝细胞癌患者的Kaplan-Meier生存曲线

Figure 3 Kaplan-Meier survival curves of hepatocellular carcinoma patients with different *SRP14* mRNA levels



SRP:信号识别颗粒;actin:肌动蛋白.

图4 SK-Hep1细胞和SMMC-7721细胞稳株中敲低或过表达SRP14的蛋白质电泳图

Figure 4 Electrophoretogram of SRP14 protein in the SK-Hep1 and SMMC-7721 with knockdown or overexpression of SRP14

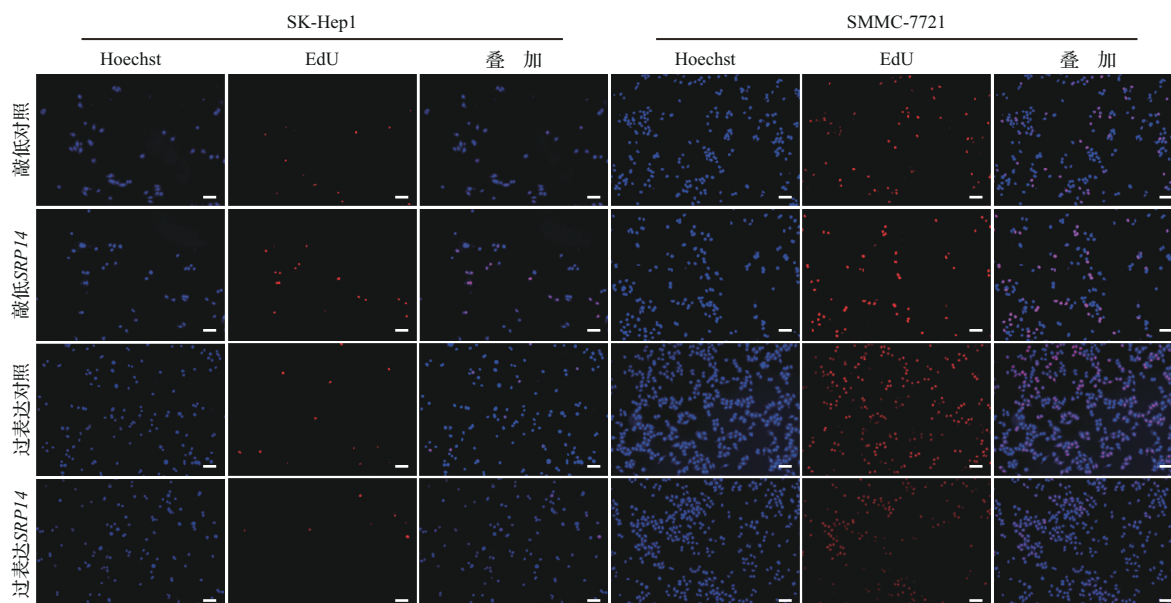
述信号通路,提示在不同病因导致的HCC中,SRP14可能具有不同的作用和机制。为进一步探索SRP14的下游靶点,对GSE214432数据集中与SRP14共表达相关系数最高的前十五个基因(*ZNF799*、*PALM3*、*DGCR9*、*ZNF700*、*GPRC5A*、*RND3*、*KRT27*、*RASL11B*、*PPP1R15A*、*MC1R*、*SLC35D3*、*ZNF493*、*INTS6*、*RANBP2*、*ZNF555*)进行了相关文献查阅,筛选出4个HCC抑癌基因——*GPRC5A*^[18]、*RND3*^[19-21]、*PPP1R15A*^[22]和*INTS6*^[23]。qRT-PCR检测结果显示,在SK-Hep1细胞和SMMC-7721细胞中,敲低SRP14能抑制*GPRC5A*的mRNA表达,过表达SRP14则能促进*GPRC5A*的mRNA表达,与生信分析结果相符;而SRP14表达

变化对*RND3*、*PPP1R15A*和*INTS6*的mRNA表达则无明确影响。见表4。综上提示,*GPRC5A*可能是SRP14的潜在下游作用靶点。

3 讨论

HCC是一种高发病率、高致死率的癌症,严重危害着患者的健康和生命。更为重要的是,由于导致HCC发生发展的分子靶点和机制仍不清楚,目前能有效治疗HCC的药物仍十分匮乏,严重影响着HCC患者特别是进展期HCC患者的治疗效果和预后。

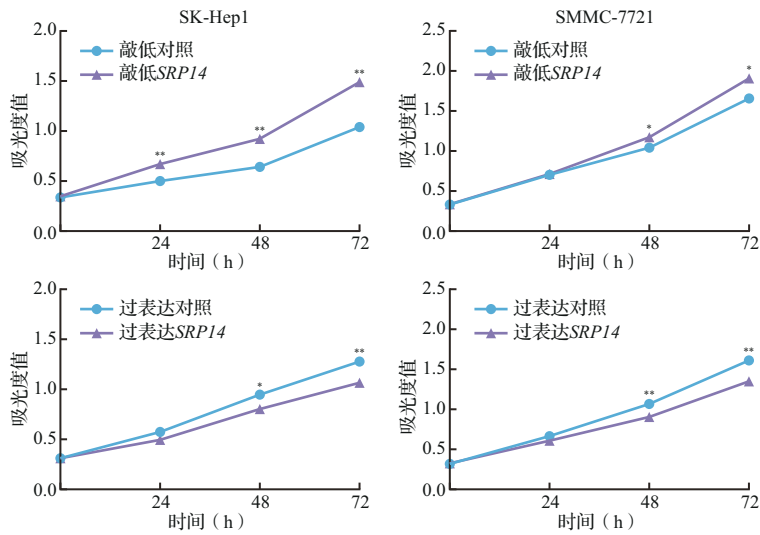
分泌蛋白和膜蛋白的正常表达和定位是生命活动正常进行所必需的^[24],其异常广泛参与代谢性疾病、癌症等多种疾病的进程^[25]。如NAFLD进展至HCC的过程中,许多分泌蛋白或膜蛋白发生变化^[4-5, 26-30],并与代谢紊乱等促癌因素相互作用,促进疾病进程^[4, 31]。SRP14是调控分泌蛋白表达和定位的重要分子^[9-11]。本研究首先利用生物信息学分析、qRT-PCR、IHC及蛋白质印迹法等明确了SRP14在HCC中表达升高;随后,通过Kaplan-Meier生存分析揭示了SRP14高表达与



细胞周期S期的细胞(代表增殖期细胞)被EdU特异性荧光标记呈红色,细胞核被Hoechst特异性染色呈蓝色。敲低SRP14的SK-Hep1细胞和SMMC-7721细胞的红色S期荧光细胞比例较相应对照更高,过表达SRP14细胞则相反。标尺=100 μm。SRP:信号识别颗粒;EdU:5-乙基-2'-94脱氧尿苷。

图5 肝癌细胞敲低或过表达SRP14后EdU染色结果

Figure 5 EdU staining pictures of hepatocellular carcinoma cells with knockdown or overexpression of SRP14



与相应对照比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. SRP: 信号识别颗粒; MTS: 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑.

图6 肝细胞癌细胞敲低或过表达SRP14后体外生长曲线(MTS实验)
Figure 6 *In vitro* growth curves of hepatocellular carcinoma cells with knockdown or overexpression of SRP14 (MTS assay)

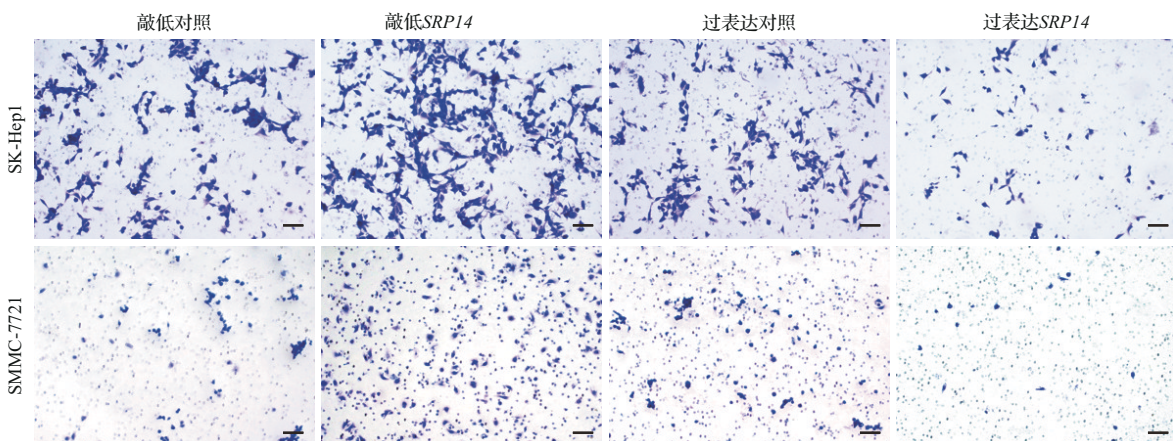
HCC患者良好预后正相关;接着,利用EdU染色、MTS、Transwell小室及细胞划痕实验等初步发现了SRP14可抑制HCC细胞的体外增殖和迁移;最后,基于本研究发现的SRP14抑癌功能,结合NAFLD正日益成为HCC重要来源的流行病学数据^[2, 4-5],应用KEGG和GO分析结合qRT-PCR探究了NAFLD相关HCC中SRP14抑癌的可能分子机制,初步发现SRP14可促进已知HCC抑癌基因GPC5A的mRNA表达。这些结果最终提示

SRP14在HCC中上调并发挥抑癌作用及改善患者预后,为探究HCC发生发展的机制和开发靶向治疗药物提供了新线索。

对于本研究中SRP14在HCC中的表达与功能较矛盾的结果,笔者认为可能是以下两个原因导致的:首先,同一分子在不同病因的HCC中可能具有不同的表达变化和功能^[32],SRP14在不同病因的HCC中的表达、功能以及对预后的影响可能不完全一致。根据本研究的初步结果,后续可深入研究SRP14在NAFLD相关HCC中的表达、功能及对患者预后的影响,从而明确SRP14的表达或功能是否与HCC的病因有关。

其次,既往研究表明,SRP14的促癌功能与肿瘤微环境、免疫细胞的作用或细胞分化等有关^[12, 15, 33],而本研究主要探讨了SRP14对肿瘤细胞本身的作用,并未涉及肿瘤微环境和免疫细胞等方面。考虑到在不同阶段或不同病因的HCC中,肿瘤细胞本身、肿瘤微环境或免疫细胞浸润等常具有明显的异质性,推测SRP14可能在HCC中发挥多样而复杂的功能。

基于本研究的发现,推断SRP14可能参与调



与相应对照比较,敲低SRP14的SK-Hep1细胞和SMMC-7721细胞穿透至小室底部较多,而过表达SRP14的SK-Hep1细胞和SMMC-7721细胞穿透至小室底部较少。标尺=100 μm. SRP: 信号识别颗粒.

图7 各组肝细胞癌细胞敲低或过表达SRP14后的体外迁移能力比较(Transwell小室实验)
Figure 7 *In vitro* migration of hepatocellular carcinoma cells with knockdown or overexpression of SRP14 (Transwell assay)

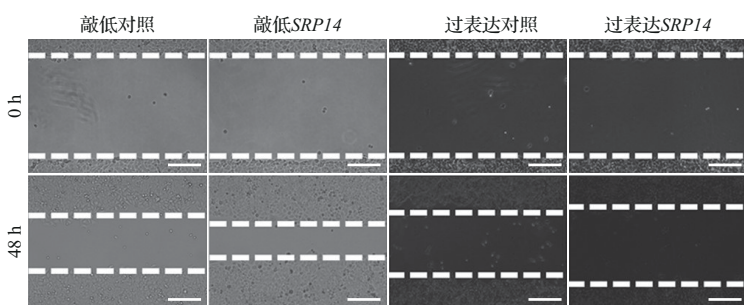
表3 各组肝细胞癌细胞迁移数和划痕愈合面积比较

Table 3 Migration numbers or wound closure proportion of hepatocellular carcinoma cells with knockdown or overexpression of *SRP14*

($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	迁移数		愈合面积 (%)
	SK-Hep1 细胞	SMMC-7721 细胞	
敲低对照	60±6	39±3	35.0±4.9
敲低 <i>SRP14</i>	113±21*	121±18**	55.6±2.6**
过表达对照	59±10	53±4	40.5±2.8
过表达 <i>SRP14</i>	34±3*	14±3**	22.2±0.9**

与相应对照比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$. SRP:信号识别颗粒.



与相应对照比较,敲低 *SRP14* 的 SMMC-7721 细胞 48 h 时划痕愈合面积增大,而过表达 *SRP14* 的 SMMC-7721 细胞的划痕愈合面积则减小. 标尺=200 μm . SRP:信号识别颗粒.

图8 各组肝细胞癌细胞敲低或过表达 *SRP14* 后体外迁移能力比较(细胞划痕实验)

Figure 8 *In vitro* migration of hepatocellular carcinoma cells with knockdown or overexpression of *SRP14* (Wound-healing assay)

表4 敲低和过表达 *SRP14* 后肝细胞癌细胞中 *GPRC5A*、*RND3*、*PPP1R15A*、*INTS6* mRNA 表达

Table 4 The mRNA expression of *GPRC5A*, *RND3*, *PPP1R15A* and *INTS6* in hepatocellular carcinoma cells with knockdown or overexpression of *SRP14*

($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	<i>GPRC5A</i>	<i>RND3</i>	<i>PPP1R15A</i>	<i>INTS6</i>
SK-Hep1 细胞				
敲低对照	1.000±0.092	1.000±0.096	1.000±0.149	1.000±0.207
敲低 <i>SRP14</i>	0.688±0.107*	0.835±0.190	0.731±0.090	0.859±0.177
过表达对照	1.000±0.131	1.000±0.145	1.000±0.134	1.000±0.135
过表达 <i>SRP14</i>	2.162±0.263**	1.858±0.677	4.295±0.618**	0.632±0.116*
SMMC-7721 细胞				
敲低对照	1.000±0.179	1.000±0.200	1.000±0.257	1.000±0.135
敲低 <i>SRP14</i>	0.458±0.026**	0.959±0.220	0.566±0.115	0.955±0.147
过表达对照	1.000±0.100	1.000±0.033	1.000±0.275	1.000±0.175
过表达 <i>SRP14</i>	1.397±0.092**	1.084±0.271	1.311±0.111	0.819±0.171

与相应对照比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$. SRP:信号识别颗粒;*GPRC5A*:G蛋白偶联受体C类组5成员A;*RND*:Rho家族GTP酶;*PPP1R15A*:蛋白磷酸酶1调节亚基15A;*INTS*:整合器复合物亚单位.

控 HCC 的进程,其中 *GPRC5A* 可能作为 *SRP14* 下游作用靶点参与 NAFLD 相关 HCC 的调控.但是,本研究的结果还有很多方面值得深入探究.首先,*SRP14* 在 HCC 中的表达调控机制并不清楚;其次,*SRP14* 抑制 HCC 的作用尚需在动物模型中验证;再者,*GPRC5A* 是否真正介导了 *SRP14* 抑制 HCC 的功能,以及 *SRP14* 调控 HCC 生长和转移的具体分子机制尚不明晰.后续研究可从以下方面深入:①构建 *SRP14* 基因敲除或过表达的

HCC 小鼠模型,并检测 *SRP14* 表达变化对小鼠 HCC 进程和预后的影响;②通过 RNA-seq 或蛋白质组学等技术,检测敲低 *SRP14* 对 HCC 细胞或 HCC 组织中 RNA 和蛋白表达的影响,并结合分子实验、细胞实验及动物实验等手段进一步筛选和明确 *SRP14* 在 HCC 中的作用靶点和机制;③继续明确 *SRP14* 发挥抑制 HCC 的功能是否依赖于 *GPRC5A* 及相关通路等;④有研究表明 *GPRC5A* 可通过在内质网抑制具有促癌作用的分泌蛋白和膜蛋白表达等方式发挥抑癌作用^[34],基于此以及

考虑到 *SRP14* 在分泌蛋白和膜蛋白的表达和定位中的功能,后续还可通过解析 HCC 进程中分泌蛋白或膜蛋白的时空特异性图谱,以帮助确定 *SRP14* 调控 HCC 进程的具体机制.

本文附图见电子版。



志谢 研究得到四川大学华西医院学科卓越发展1·3·5工程项目(ZYGD23005)的支持.感谢所有临床标本的捐赠者

Acknowledgements This work was supported by the 1·3·5 Project for Disciplines of Excellence, West China Hospital, Sichuan University (ZYGD23005). We thank all the donors for donating clinical samples

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2024. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(References)

- [1] LLOVET J M, KELLEY R K, VILLANUEVA A, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 6
- [2] SINGAL A G, KANWAL F, LLOVET J M. Global trends in hepatocellular carcinoma epidemiology: implications for screening, prevention and therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(12): 864-884.
- [3] ANSTEE Q M, REEVES H L, KOTSILITI E, et al. From NASH to HCC: current concepts and future challenges[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(7): 411-428.
- [4] HUANG D Q, EL-SERAG H B, LOOMBA R. Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(4): 223-238.
- [5] NORERO B, DUFOUR J F. Should we undertake surveillance for HCC in patients with MAFLD?[J]. *Theor Adv Endocrinol Metab*, 2023, 14: 20420188231160389.
- [6] LLOVET J M, PINYOL R, KELLEY R K, et al. Molecular pathogenesis and systemic therapies for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(4): 386-401.
- [7] WANG T, ZHOU Y, ZHOU Z, et al. Secreted protease PRSS35 suppresses hepatocellular carcinoma by disabling CXCL2-mediated neutrophil extracellular traps [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1513.
- [8] HSIAO Y C, CHU L J, CHEN J T, et al. Proteomic profiling of the cancer cell secretome: informing clinical research[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2017, 14(9): 737-756.
- [9] WEICHENRIEDER O, WILD K, STRUB K, et al. Structure and assembly of the Alu domain of the mammalian signal recognition particle[J]. *Nature*, 2000, 408(6809): 167-173.
- [10] BERGER A, IVANOVA E, GAREAU C, et al. Direct binding of the Alu binding protein dimer SRP9/14 to 40S ribosomal subunits promotes stress granule formation and is regulated by Alu RNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(17): 11203-11217.
- [11] LIN S, KUANG M. RNA modification-mediated mRNA translation regulation in liver cancer: mechanisms and clinical perspectives[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2024, 21(4): 267-281.
- [12] SHI L, HUANG R, LAI Y. Identification and validation of signal recognition particle 14 as a prognostic biomarker predicting overall survival in patients with acute myeloid leukemia[J]. *BMC Med Genomics*, 2021, 14(1): 127.
- [13] RAHMIOGLU N, MORTLOCK S, GHIASI M, et al. The genetic basis of endometriosis and comorbidity with other pain and inflammatory conditions[J]. *Nat Genet*, 2023, 55(3): 423-436.
- [14] NOWAK J K, SZYMAŃSKA C J, WALKOWIAK J. Differential correlation network analysis of rectal transcriptomes reveals cystic fibrosis-related disturbance [J]. *Pharmacogenomics*, 2022, 23(6): 339-344.
- [15] NABET B Y, QIU Y, SHABASON J E, et al. Exosome RNA unshielding couples stromal activation to pattern recognition receptor signaling in cancer[J]. *Cell*, 2017, 170(2): 352-366.e13.
- [16] FUJIWARA N, KUBOTA N, ZHU S, et al. Disseminative recurrence signature for hepatocellular carcinoma from nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Gastro Hep Adv*, 2023, 2(5): 681-683.
- [17] MENYHÁRT O, NAGY Á, GYÓRFFY B. Determining consistent prognostic biomarkers of overall survival and vascular invasion in hepatocellular carcinoma[J]. *R Soc Open Sci*, 2018, 5(12): 181006.
- [18] ZHANG L, YANG W, YANG J, et al. GPRC5A regulates proliferation and oxidative stress by inhibiting the STAT3/Socs3/c-MYC pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2023, 73(1): 43-51.
- [19] MA W, WONG C C, TUNG E K, et al. RhoE is frequently down-regulated in hepatocellular carcinoma (HCC) and suppresses HCC invasion through antagonizing the Rho/Rho-kinase/myosin phosphatase target pathway[J]. *Hepatology*, 2013, 57(1): 152-161.
- [20] GRISE F, SENA S, BIDAUD-MEYNARD A, et al. Rnd3/RhoE is down-regulated in hepatocellular carcinoma and controls cellular invasion[J]. *Hepatology*, 2012, 55(6): 1766-1775.
- [21] PAYSAN L, PIQUET L, SALTEL F, et al. Rnd3 in cancer: a review of the evidence for tumor promoter or suppressor[J]. *Mol Cancer Res*, 2016, 14(11): 1033-1044.
- [22] GAN G, SHI Z, SHANGGUAN C, et al. The kynurenine derivative 3-HAA sensitizes hepatocellular carcinoma to sorafenib by upregulating phosphatases[J]. *Theranostics*, 2021, 11(12): 6006-6018.
- [23] LUI K Y, ZHAO H, QIU C, et al. Integrator complex subunit 6 (INTS6) inhibits hepatocellular carcinoma growth by Wnt pathway and serve as a prognostic marker [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 644.
- [24] WATT M J, MIOTTO P M, DE NARDO W, et al. The liver as an endocrine organ-linking NAFLD and insulin resistance[J]. *Endocr Rev*, 2019, 40(5): 1367-1393.
- [25] XIONG X, KUANG H, ANSARI S, et al. Landscape of intercellular crosstalk in healthy and NASH liver revealed by single-cell secretome gene analysis[J]. *Mol Cell*, 2019, 75(3): 644-660.e5.
- [26] LLOVET J M, WILLOUGHBY C E, SINGAL A G, et al.

- Nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma: pathogenesis and treatment[J]. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, 2023, 20(8): 487-503.
- [27] YOSHIMOTO S, LOO T M, ATARASHI K, et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome[J]. **Nature**, 2013, 499(7456): 97-101.
- [28] FUJIWARA N, KUBOTA N, CROUCHET E, et al. Molecular signatures of long-term hepatocellular carcinoma risk in nonalcoholic fatty liver disease[J]. **Sci Transl Med**, 2022, 14(650): eabo4474.
- [29] YAMAGISHI R, KAMACHI F, NAKAMURA M, et al. Gasdermin D-mediated release of IL-33 from senescent hepatic stellate cells promotes obesity-associated hepatocellular carcinoma[J]. **Sci Immunol**, 2022, 7(72): eab17209.
- [30] SEN B, AGGARWAL S, NATH R, et al. Secretome of senescent hepatoma cells modulate immune cell fate by macrophage polarization and neutrophil extracellular traps formation[J]. **Med Oncol**, 2022, 39(9): 134.
- [31] XU K, WU T, XIA P, et al. Alternative splicing: a bridge connecting NAFLD and HCC[J]. **Trends Mol Med**, 2023, 29(10): 859-872.
- [32] LI L, WANG H. Heterogeneity of liver cancer and personalized therapy[J]. **Cancer Lett**, 2016, 379(2): 191-197.
- [33] LI M, LIU Z, WANG J, et al. Systematic analysis identifies a specific RNA-binding protein-related gene model for prognostication and risk-adjustment in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. **Front Genet**, 2021, 12: 707305.
- [34] WANG J, FARRIS A B, XU K, et al. GPRC5A suppresses protein synthesis at the endoplasmic reticulum to prevent radiation-induced lung tumorigenesis[J]. **Nat Commun**, 2016, 7: 11795.

[本文编辑 余方沈敏]

· 学术动态 ·

钱鹏旭研究员/高建青教授团队报道造血干/祖细胞膜包被脂质体用于靶向骨髓进行白血病药物递送

2024年7月7日,浙江大学基础医学院/良渚实验室钱鹏旭课题组联合浙江大学药学院/金华研究院高建青团队在《自然·通讯》(*Nature Communications*)在线发表了题为“Hematopoietic stem and progenitor cell membrane-coated vesicles for bone marrow-targeted leukaemia drug delivery”的研究论文(DOI:10.1038/s41467-024-50021-9),报道了将造血干/祖细胞(HSPC)细胞膜与脂质体结合制备载药纳米粒,利用HSPC归巢到骨髓的特性,实现靶向骨髓递送白血病药物。

研究人员开发了一种来源于HSPC的细胞膜仿生脂质体HSPC-Lipo,用于靶向递送药物到骨髓并消除白血病细胞。通过融合HSPC细胞膜和脂质体制备细胞膜包被的HSPC-Lipo。HSPC-Lipo通过表面的CD44与骨髓中透明质酸相互作用靶向骨髓微环境,并在白血病小鼠骨髓中大量聚集。蛋白质谱测序结果表明,该仿生脂质体通过细胞间黏附分子-1(ICAM-1)/整合素 $\beta 2$ (ITGB2)相互作用对白血病细胞表现出特异性的亲和力。携带药物阿糖胞苷(Ara-C)的仿生脂质体Ara-C@HSPC-Lipo能显著抑制白血病细胞增殖,诱导凋亡和分化,清除白血病干细胞。转录组测序RNA测序结果显示Ara-C@HSPC-Lipo可诱导细胞凋亡和分化,并减少细胞周期和致癌相关通路信号。Ara-C@HSPC-Lipo处理后白血病小鼠生存期显著延长。Ara-C@HSPC-Lipo具有良好的生物安全性。该研究为治疗骨髓来源的疾病药物及纳米药物的靶向设计提供了参考。

李金鑫博士研究生、吴宏辉博士、俞泽斌博士研究生、王琪炜博士和曾欣博士研究生为论文第一作者。研究得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、浙江省自然科学基金等支持。