

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.01.006

## 黏蛋白 13 在肺腺癌组织中的表达及其对 A549 细胞恶性生物学行为的影响与可能的机制

穆培娟<sup>ab</sup>, 赵哲<sup>ab</sup>, 张冬<sup>a</sup> (内蒙古科技大学包头医学院 a. 第一附属医院 呼吸与危重症医学科; b. 研究生院, 内蒙古 包头 014040)

**[摘要]** **目的:** 探讨黏蛋白 13 (MUC13) 在肺腺癌组织中的表达及其对 A549 细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭及 EMT 的影响与可能的机制。**方法:** 通过癌症基因组图谱 (TCGA) 和高通量基因表达 (GEO) 数据库分析 MUC13 在肺腺癌组织与正常肺组织、癌旁组织中的差异表达。qPCR 法和 WB 法检测人肺腺癌细胞 NCI-H1395、NCI-H1975、H1299、A549 和人正常肺上皮细胞 BEAS-2B 中 MUC13 mRNA 和蛋白的表达水平。利用 siRNA 技术敲低 A549 细胞中 MUC13 表达, 实验分为 si-MUC13 组、NC 组和 si-MUC13+IGF-1 组。通过克隆形成实验、流式细胞术和 Transwell 实验分别检测敲低 MUC13 对 A549 细胞增殖、细胞周期、凋亡、迁移和侵袭的影响, WB 法检测敲低 MUC13 对 A549 细胞上皮钙黏素 (E-cadherin)、神经钙黏素 (N-cadherin)、波形蛋白 (vimentin)、EGFR、p-EGFR、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 等蛋白表达的影响。**结果:** MUC13 mRNA 和蛋白在肺腺癌组织和细胞中均呈高表达 (均  $P < 0.01$ ), 选取表达水平较高的 A549 细胞进行后续实验。敲低 MUC13 后, A549 细胞的增殖能力显著降低, G0/G1 期的细胞数量显著增多、G2/M 期及 S 期的细胞数量显著减少, 细胞凋亡率显著升高, 细胞迁移及侵袭能力均显著降低 (均  $P < 0.01$ ); A549 细胞中 E-cadherin 表达显著上调, N-cadherin、vimentin 表达显著下调, p-EGFR/EGFR、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值均显著降低 (均  $P < 0.01$ ); 再加入 IGF-1 处理后, A549 细胞中 p-EGFR/EGFR、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值均显著升高 (均  $P < 0.01$ )。**结论:** MUC13 在肺腺癌组织和细胞中均呈高表达, 其可能通过激活 EGFR/PI3K/AKT 信号通路促进 A549 细胞增殖、迁移、侵袭和 EMT。

**[关键词]** 黏蛋白 13; 肺腺癌; A549 细胞; 增殖; 凋亡; 迁移; 侵袭; 上皮间质转化; EGFR/PI3K/AKT 信号通路

**[中图分类号]** R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)01-0040-07

## Expression of mucin 13 in lung adenocarcinoma tissues and its effect on the malignant biological behaviors of A549 cells and the possible mechanism

MU Peijuan<sup>ab</sup>, ZHAO Zhe<sup>ab</sup>, ZHANG Dong<sup>a</sup> (a. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital; b. Graduate College, Baotou Medical College of Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014040, Inner Mongolia, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of mucin 13 (MUC13) in lung adenocarcinoma tissues and its effects on the proliferation, apoptosis, migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of A549 cells as well as the possible mechanism. **Methods:** The differential expression of MUC13 in lung adenocarcinoma tissues, normal lung tissues, and para-cancerous tissues was analyzed using The Cancer Genome Atlas (TCGA) and high throughput Gene Expression Omnibus (GEO) databases. The mRNA and protein expression levels of MUC13 in human lung adenocarcinoma cells (NCI-H1395, NCI-H1975, H1299 and A549) and normal lung epithelial BEAS-2B cells were detected using qPCR and WB methods. siRNA technology was used to knock down MUC13 expression in A549 cells, and the experimental cells were divided into si-MUC13 group, NC group and si-MUC13+IGF-1 group. The effects of MUC13 knockdown on the proliferation, cell cycle, apoptosis, migration and invasion of A549 cells were detected by clony formation assay, flow cytometry and Transwell assay, respectively. WB assay was used to detect the effect of MUC13 knockdown on the protein expression of E-cadherin, N-cadherin, vimentin, EGFR, p-EGFR, PI3K, p-PI3K, AKT and p-AKT in A549 cells. **Results:** MUC13 was highly expressed in lung adenocarcinoma tissues and cells at both mRNA and protein levels (all  $P < 0.01$ ), and A549 cells with higher MUC13 expression were selected for subsequent experiments. After knocking down MUC13, the proliferation ability of A549 cells was significantly weakened, the number of cells in G0/G1 phase was significantly increased while the

**[基金项目]** 内蒙古医学科学院公立医院科研联合基金科技项目 (No.2023GLLH0206); 包头市卫生健康科技计划 (No. wsjkkj009); 包头医学院青年科技人才发展计划 (No. BYJJ-DXX 2020025)

**[作者简介]** 穆培娟 (1995—), 女, 硕士生, 主要从事肺癌的基础与临床研究。E-mail: 1873981761@qq.com

**[通信作者]** 张冬, E-mail: zhangdonggh@163.com

number of cells in G2/M phase and S phase was significantly decreased, the apoptosis rate was significantly increased, and the cell migration and invasion abilities were significantly weakened (all  $P < 0.01$ ); Moreover, the protein expression of E-cadherin in A549 cells was upregulated, while the protein expression of N-cadherin and vimentin was downregulated, and the ratios of p-EGFR/EGFR, p-PI3K/PI3K, and p-AKT/AKT were all reduced (all  $P < 0.01$ ). However, after adding pathway activator IGF-1, the p-EGFR/EGFR, p-PI3K/PI3K, and p-AKT/AKT ratios in A549 cells all increased (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** MUC13 is highly expressed in lung adenocarcinoma tissues and cells, and it promotes cell proliferation, migration, invasion and EMT of A549 cells, possibly through the activation of the EGFR/PI3K/AKT signaling pathway.

**[Key words]** mucin13 (MUC13); lung adenocarcinoma; A549 cell; proliferation; apoptosis; migration; invasion; epithelial-mesenchymal transition (EMT); EGFR/PI3K/AKT signal pathway

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(1): 40-46. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.01.006]

肺癌是世界上发病率和病死率最高的恶性肿瘤, 严重危害人类的健康和生命。从病理类型上可分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌。肺腺癌是非小细胞肺癌中的常见亚型, 约占肺癌的 40%~55%<sup>[1]</sup>, 因其早期发病隐匿且缺乏特异性症状, 70%~80% 患者在确诊时已处于疾病中晚期, 5 年生存率低于 20%<sup>[2]</sup>。早期筛查的普及、手术方式的创新及各种辅助治疗的深入研究在一定程度上提高了肺腺癌患者的生存率, 但是对于全身转移和耐药的肺腺癌患者仍然束手无策。EGFR/PI3K/AKT 信号通路在肺癌细胞侵袭和转移中发挥重要作用, 上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是肿瘤转移和耐药形成的重要机制。黏蛋白 13 (mucin13, MUC13) 是膜结合型 MUC 家族的一员, 其与多种类型恶性肿瘤的发生发展密切相关, 可通过激活多种信号通路促进肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭, 并与肿瘤细胞耐药相关<sup>[3-5]</sup>, 但是 MUC13 在肺腺癌中的作用少有报道。本研究基于癌症基因组图谱 (TCGA) 和高通量基因表达 (GEO) 数据库分析发现, MUC13 在肺腺癌组织中高表达, 通过体外细胞实验进一步探讨 MUC13 在肺腺癌细胞中的表达及其对 A549 细胞恶性生物学行为的影响与可能的机制, 为寻找肺腺癌新的早期筛查、预后标志物和治疗靶点提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 MUC13 表达数据来源

从 TCGA 官网 (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) 检索并下载 516 例肺腺癌组织标本及 59 例正常肺组织标本中 MUC13 表达谱数据, 从 GEO 官网 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 检索并下载 173 例肺腺癌及其癌旁组织中 MUC13 表达数据, 分析 MUC13 在肺腺癌组织与正常肺组织、癌旁组织中的表达差异。

### 1.2 细胞及主要试剂

人肺腺癌细胞 Ncl-H1395、Ncl-H1975、H1299、A549 和人正常肺上皮细胞 BEAS-2S 购于中国科学院干细胞库。0.25% 胰酶、RPMI 1640 培养基购于 Hyclone 公司, 胎牛血清 (FBS) 购于 Gibco 公司, TRIzol 试剂购于 Ambion

公司, Lipofectamine 2000 转染试剂购于 Invitrogen 公司, 逆转录试剂盒购于康为世纪有限公司, qPCR 试剂盒 SYBR Premix Ex Taq 购于 BIO-RAD 公司, Transwell 小室、BCA 试剂盒、 $\beta$ -actin 抗体、siRNA MUC13 (si-MUC13)、上皮钙黏素 (E-cadherin) 抗体、神经钙黏素 (N-cadherin) 抗体、波形蛋白 (vimentin) 抗体、EGFR 抗体、p-EGFR 抗体、PI3K 抗体、p-PI3K 抗体、AKT 抗体、p-AKT 抗体、IGF-1 抗体, 以及 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗均购于美国 Abcam 公司。

### 1.3 细胞培养、转染及分组

肺腺癌 Ncl-H1395、Ncl-H1975、H1299、A549 细胞和 BEAS-2B 细胞在含有 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素的 RPMI 1640 培养基中, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养, 24~48 h 更换培养液, 48 h 传代 1 次。取对数生长期且状态良好的细胞进行后续实验。通过 qPCR 和 WB 法检测肺腺癌细胞 (Ncl-H1395、Ncl-H1975、H1299、A549) 和 BEAS-2B 细胞中 MUC13 mRNA 和蛋白的表达水平, 选取表达水平较高的 A549 细胞进行细胞转染实验。采用瞬时转染, 根据 Lipofectamine 2000 说明书, 将 si-MUC13 转染到 A549 细胞中, 培养 48 h 后进行后续实验。实验分组: si-MUC13 组 (转染 si-MUC13)、阴性对照 (NC) 组 (未转染的 A549 细胞) 和 si-MUC13+IGF-1 组 [在 si-MUC13 组基础上加入 EGFR/PI3K/AKT 信号通路激活剂 IGF-1 (100  $\mu$ g/L) 进行干预]。

### 1.4 qPCR 法检测肺腺癌细胞中 MUC13 mRNA 的表达水平

利用 TRIzol 分别提取肺腺癌细胞和 BEAS-2B 细胞中总 RNA, 按照逆转录试剂盒说明书将提取的 RNA 逆转录成 cDNA, 根据 qPCR 试剂盒 SYBR Premix Ex Taq 进行实验。引物序列: MUC13 上游引物为 5'-AGCCCTTTCTGCGTTGCTTCCA-3', 下游引物为 5'-CACTCAGGGGCCACCACC-3'; GAPDH 上游引物为 5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3', 下游引物为 5'-CACCTGTGCTGTAGCCAAA-3'。qPCR 反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 5 s; 60 °C

34 s,共进行40个循环。以GAPDH为内参照,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因mRNA的相对表达量。

### 1.5 WB法检测A549细胞中MUC13、EMT和EGFR/PI3K/AKT信号通路相关蛋白的表达水平

采用RIPA细胞裂解液裂解转染48 h后的A549细胞并提取总蛋白,采用BCA法测定蛋白纯度及浓度。取40  $\mu\text{g}$ 蛋白进行10%SDS-PAGE,将蛋白质转移到PVDF膜上,在5%脱脂奶粉中封闭1 h,加入稀释比例均为1:1 000的抗MUC13、E-cadherin、N-cadherin、vimentin、EGFR、PI3K、AKT、p-EGFR、p-PI3K、p-AKT抗体和稀释比例为1:2 000的抗GAPDH抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 反应过夜。室温中复温30 min,用TBST冲洗3次(5 min/次),加入稀释比例为1:5 000的HRP标记的羊抗兔IgG二抗,在室温下反应2 h,洗膜后,在ECL试剂中显色,利用化学发光成像系统扫描并记录结果,以GAPDH为内参照,以Image J软件分析蛋白质条带的灰度值。

### 1.6 克隆形成实验检测敲低MUC13对A549细胞克隆形成能力的影响

取对数生长期的A549细胞,计数后用含10%FBS的培养基稀释至细胞密度为 $1\times 10^3$ 个/mL,将细胞悬液接种于6孔板(0.5  $\mu\text{L}$ /孔)中,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 的细胞培养箱中培养3周,当肉眼能观察到细胞克隆清晰呈现时停止培养。用4%多聚甲醇固定15 min,并在1%结晶紫溶液中染色10 min,在倒置显微镜下观察细胞的生长状态并拍照记录,利用Image J软件进行细胞计数,依据公式(克隆形成率=形成的集落数/接种细胞数目 $\times 100\%$ )计算克隆形成率。

### 1.7 流式细胞术检测敲低MUC13对A549细胞细胞周期及凋亡的影响

细胞周期检测:取各组对数生长期细胞,用PBS洗涤2次,加入胰酶消化,以1 000 $\times g$ 离心5 min,弃上清液,将细胞重悬于100  $\mu\text{L}$  RNase A中,37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应30 min,再加入400  $\mu\text{L}$  PI,4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光作用30 min,上流式细胞仪检测细胞周期分布情况。

细胞凋亡检测:细胞洗涤、消化等步骤同前,离心后吸净上清液再加入500  $\mu\text{L}$  结合缓冲液,吹打直至离心管内细胞液均匀混合,向离心管中加入5  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC,充分摇晃混合均匀,再加入5  $\mu\text{L}$  PI进行染色,室温下避光反应15 min,上流式细胞仪检测细胞的凋亡情况,依据公式(细胞凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ )计算细胞凋亡率。

### 1.8 Transwell实验检测敲低MUC13对A549细胞侵袭和迁移能力的影响

细胞迁移实验:取生长状态良好的各组A549细胞,用无血清培养基重悬至细胞密度为 $1\times 10^4$ 个/mL。吸取100  $\mu\text{L}$ 细胞悬液接种于Transwell上室,下室中

加入500  $\mu\text{L}$ 含20%FBS的完全培养基,37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养24 h。取出Transwell小室,擦去上室面未穿膜的残余细胞,4%甲醛溶液中固定、Giemsa染色后,在光学显微镜下随机选取5个视野计数穿膜细胞数。

细胞侵袭实验:除在Transwell上室中加入A549细胞悬液前需预铺基质胶外,其余步骤同迁移实验。

### 1.9 统计学处理

上述主要实验均独立重复3次。采用SPSS 26.0统计学软件对实验数据进行统计分析,以GraphPad Prism 7.0软件绘图。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间数据比较采用 $t$ 检验。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MUC13在肺腺癌组织和细胞中均呈高表达

TCGA数据库分析结果(图1A)显示,肺腺癌组织中MUC13 mRNA的表达水平显著高于正常肺组织( $P<0.01$ );GEO数据库分析结果(图1B)显示,肺腺癌组织中MUC13 mRNA表达水平显著高于癌旁组织( $P<0.01$ )。

qPCR、WB法检测结果(图1C、D)显示,与BESA-2B细胞相比,肺腺癌NCI-H1395、NCI-H1975、H1299和A549细胞中MUC13 mRNA和蛋白表达水平均显著升高(均 $P<0.01$ ),其中A549细胞的表达水平相对较高,因此选择该细胞进行后续实验。

### 2.2 成功构建敲低MUC13的A549细胞

qPCR、WB法检测结果(图2A、B)显示,敲低MUC13后si-MUC13组A549细胞中MUC13 mRNA及蛋白的表达水平均显著低于NC组(均 $P<0.01$ )。结果表明,在A549细胞中成功敲低MUC13基因表达,可以进行后续功能实验。

### 2.3 敲低MUC13可显著降低A549细胞的增殖能力

克隆形成实验结果(图2C)显示,si-MUC13组A549细胞克隆形成率显著低于NC组( $P<0.01$ )。结果表明,敲低MUC13能够显著抑制A549细胞的增殖能力,从而抑制肺腺癌的生长。

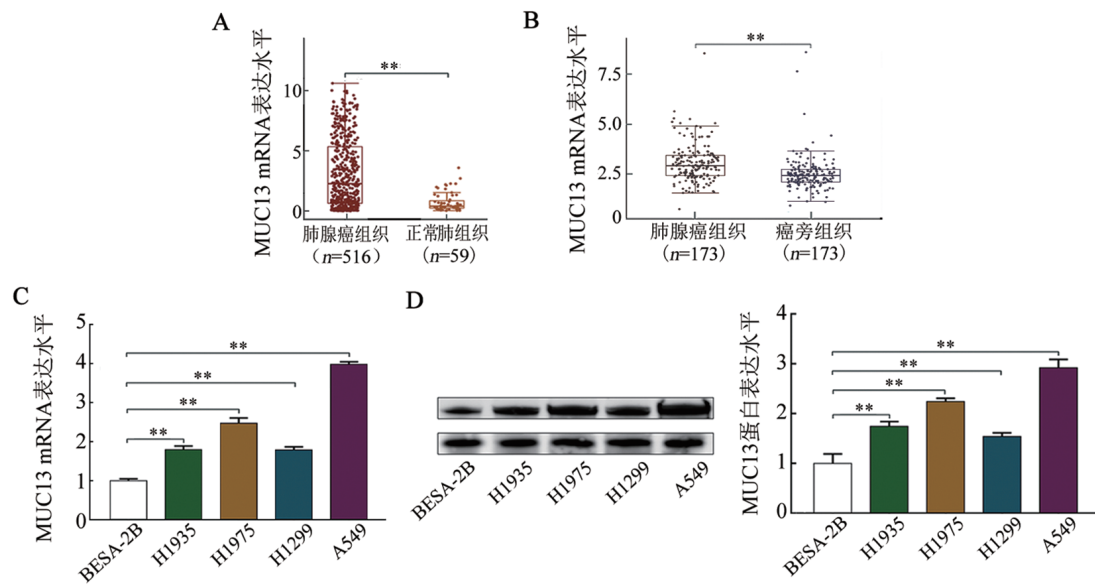
### 2.4 敲低MUC13可阻滞A549细胞周期于G0/G1期

流式细胞术检测结果(图2D)显示,转染48 h后,与NC组比较,si-MUC13组G0/G1期A549细胞数量显著增加、G2/M期及S期的细胞数量显著减少(均 $P<0.01$ )。结果表明,敲低MUC13可将A549细胞阻滞于G0/G1期,从而抑制细胞的增殖能力。

### 2.5 敲低MUC13可促进A549细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图2E)显示,si-MUC13组A549细胞凋亡率显著高于NC组( $P<0.05$ )。结果表明,敲低MUC13可促进A549细胞凋亡。





A: 通过 TCGA 数据集分析肺腺癌组织和正常肺组织中 MUC13 mRNA 表达水平; B: 通过 GEO 数据集分析肺腺癌和癌旁组织中 MUC13 mRNA 表达水平; C: qPCR 法检测肺腺癌细胞中 MUC13 mRNA 表达水平; D: WB 法检测肺腺癌细胞中 MUC13 蛋白表达水平。 \*\* $P < 0.01$ 。

图 1 肺腺癌组织和细胞中 MUC13 mRNA 和蛋白的表达

## 2.6 敲低 MUC13 可降低 A549 细胞的迁移和侵袭能力

Transwell 实验结果 (图 2F) 显示, 转染 24 h 后, si-MUC13 组 A549 细胞迁移和侵袭细胞数量均显著少于 NC 组 (均  $P < 0.01$ )。结果表明, 敲低 MUC13 可显著降低 A549 细胞的迁移和侵袭能力。

## 2.7 敲低 MUC13 可延缓 A549 细胞 EMT 进程

WB 法检测结果 (图 3A) 显示, 与 NC 组比较, si-MUC13 组 A549 细胞 E-cadherin 表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), N-cadherin、vimentin 表达水平显著降低 (均  $P < 0.01$ )。结果表明, 敲低 MUC13 可显著延缓 A549 细胞 EMT 进程。

## 2.8 MUC13 对 EGFR/PI3K/AKT 信号通路的影响

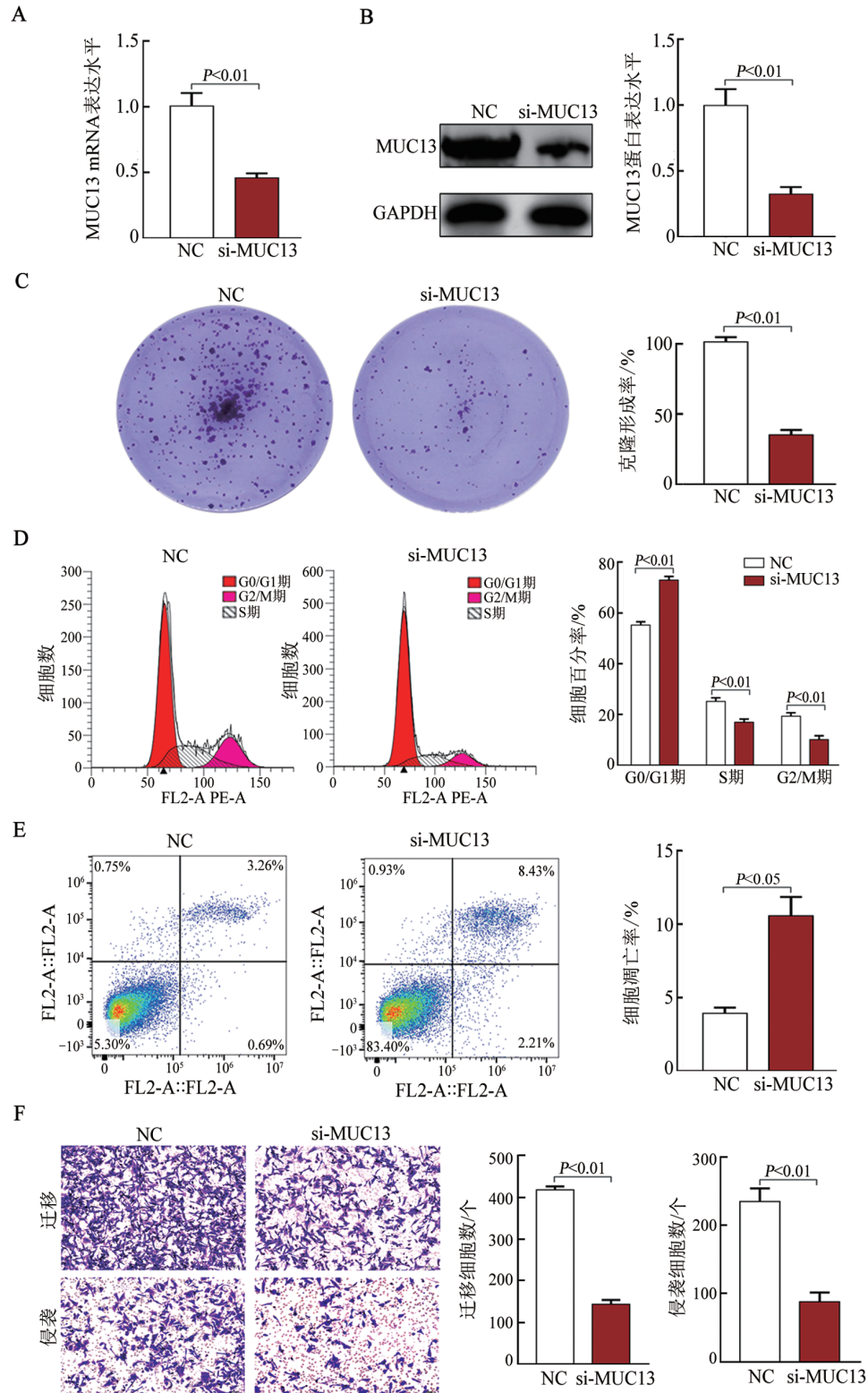
WB 法检测结果 (图 3B) 显示, 与 NC 组比较, si-MUC13 组 A549 细胞中 EGFR、PI3K、AKT 蛋白表达水平无明显变化, 而 p-EGFR、p-PI3K、p-AKT 蛋白表达水平和 p-EGFR/EGFR、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值均呈下降趋势, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.01$ ), 表明敲低 MUC13 基因可抑制 EGFR/PI3K/AKT 信号通路的激活。利用 EGFR/PI3K/AKT 信号通路激活剂 IGF-1 进行干预后发现, 与 si-MUC13 组比较, si-MUC13+IGF-1 组 A549 细胞中 EGFR、PI3K、AKT 蛋白表达水平无明显变化, 而 p-EGFR、p-PI3K、p-AKT 蛋白表达水平和 p-EGFR/EGFR、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 比值均明显上升, 差异具有统计学意义 (均  $P < 0.01$ )。结果表明, IGF-1 可逆转敲低 MUC13 对 EGFR/PI3K/AKT 信号通路激活的抑制作用。

## 3 讨论

根据 GLOBOCAN2020 全球癌症统计数据<sup>[6]</sup>显示, 2020 年中全世界新发的肺癌患者 220 万例左右, 约占所有癌症发病人数的 10%; 死亡患者超过 180 万例, 约占所有癌症死亡人数的 20%。恶性肿瘤是由单个正常细胞发生突变转化引起的, 逃脱宿主免疫防御, 并迅速增殖, 向周围组织扩散<sup>[7-8]</sup>。癌细胞向周围扩散和远处转移是导致肿瘤治疗失败乃至患者复发及死亡的关键原因, 因此限制癌细胞转移和扩散可以控制肿瘤患者的病情进展。EMT 是上皮细胞向间质细胞的转化, 指在特定的病理生理条件下细胞骨架重新排列构建, 使上皮细胞的形态发生了改变, 使细胞的极性受到影响, 主要作用是增强癌细胞向周围扩散和远处转移的能力, 是多种癌细胞发生转移的主要机制。当 EMT 发生时, 间质细胞标志蛋白 (如 N-cadherin、vimentin 等) 表达水平会升高, 而上皮细胞标志蛋白 (如角蛋白、E-cadherin 等) 表达水平则会降低, 导致癌细胞之间的黏附性逐渐丧失, 促使癌细胞进行迁移及侵袭, 患者病情就会发生恶化。本研究结果显示, 在 A549 细胞中敲低 MUC13 可升高 E-cadherin 表达水平, 降低 N-cadherin、vimentin 表达水平, 显著延缓细胞 EMT 进程。在癌症的发病机制中, EGFR/PI3K/AKT 信号通路占据重要地位。EGFR 过表达和突变与肺腺癌的发生关系更为密切, 其突变的两个主要信号网络系统分别是 PI3K/AKT 信号通路和 RAS/RAF/MEK/ERKS 信号通路, 其中前者更为

重要。PI3K/AKT 信号通路介导多种转录因子发生磷酸化,从而抑制癌细胞的凋亡,提高癌细胞的增殖、侵袭及转移能力。本研究结果显示,敲低 MUC13 可抑制 EGFR/PI3K/AKT 信号通路激活,且 IGF-1 逆

转了敲低 MUC13 对 EGFR/PI3K/AKT 信号通路激活的抑制作用,表明 MUC13 对 A549 细胞恶性生物学行为与 EGFR/PI3K/AKT 信号通路的激活相关。



A: qPCR 法检测细胞中 MUC13 mRNA 表达水平; B: WB 法检测细胞中 MUC13 蛋白表达水平; C: 克隆形成实验检测细胞的增殖能力(结晶紫染色, ×20); D: 流式细胞术检测细胞周期分布情况; E: 流式细胞术检测细胞凋亡水平; F: Transwell 实验检测细胞的迁移及侵袭能力(结晶紫染色, ×200)。

图2 敲低 MUC13 对 A549 细胞 MUC13 mRNA 和蛋白表达及细胞增殖、细胞周期、凋亡、迁移与侵袭的影响

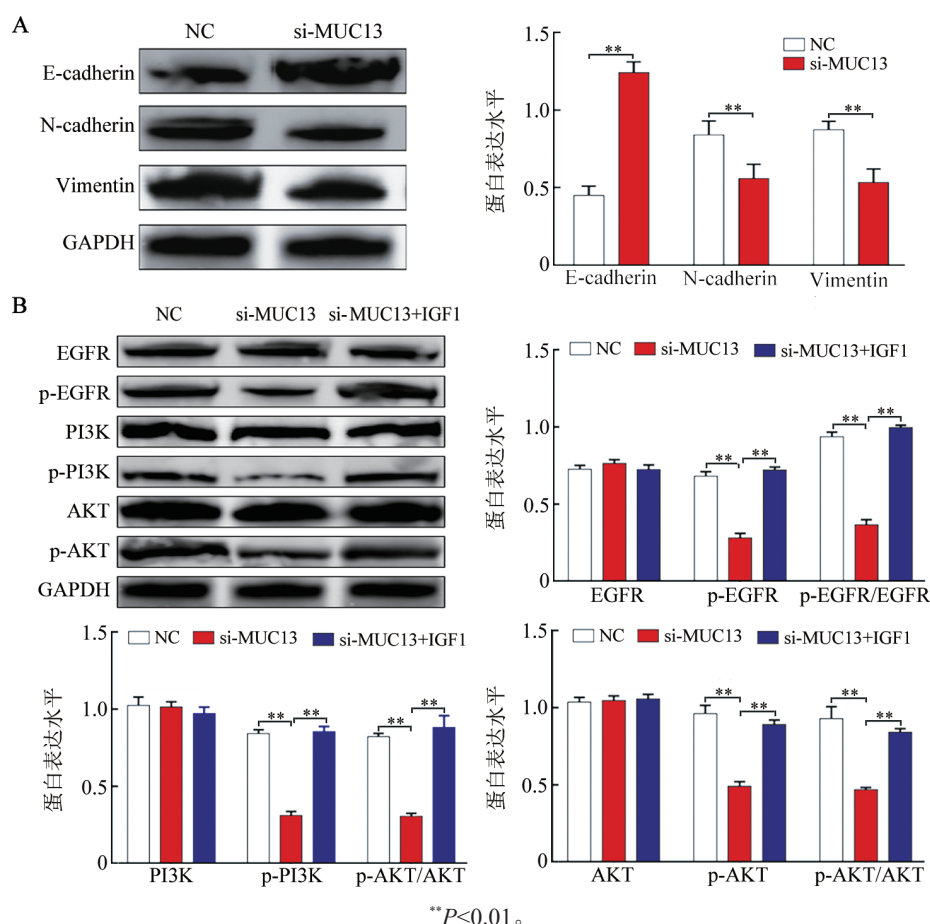


图3 WB法检测敲低MUC13对A549细胞EMT(A)和EGFR/PI3K/AKT信号通路(B)相关蛋白表达的影响

MUC由黏膜上皮组织分泌,主要由黏多糖组成的相对分子量较大的糖蛋白。在正常生理情况下覆盖在黏膜表面,充当人体对抗病原微生物和不溶性微粒的防御屏障。WILLIAMS等<sup>[9]</sup>于2001年利用由美国国家生物技术信息中心建立的DNA序列数据库成功预测MUC13,为穿膜型MUC家族增加了新成员,从此MUC13进入了研究者的视野。MUC13所编码的膜结合型蛋白主要对黏膜上皮起润滑和保护作用,人体遭到袭击时MUC13表达水平升高,促进炎症和肿瘤的形成和恶化。FILIPPOU等<sup>[10]</sup>发现,消化道之所以会发生菌群失调是因为人体黏膜屏障的缺陷,正常的免疫功能被破坏,促使消化道炎症甚至肿瘤的形成。MUC13不仅在消化道炎症性疾病与消化系统恶性肿瘤(如食管鳞癌、胃腺癌、结直肠癌、肝细胞癌、胰腺癌等)组织中的表达水平显著上调<sup>[11-15]</sup>,而且在上皮性卵巢癌、肾细胞癌、肺癌等多种肿瘤组织中的表达水平也明显升高<sup>[16-18]</sup>。LAMONTE等<sup>[19]</sup>对MUC13进行血清学检测发现,肺癌患者血清中存在MUC13。PANG等<sup>[18]</sup>研究发现,MUC13通过ERK/JNK/p38信号通路的异常激活来加速肺癌的进展,其可作为肺腺癌分子靶向治疗的靶点。TIEMIN等<sup>[20]</sup>研究发现,MUC13能通过激活EGFR/PI3K/AKT信号通

路来促进肝内胆管癌细胞的增殖与转移。本研究结果显示,MUC13在肺腺癌组织和细胞中均呈高表达,促进A549细胞的增殖、迁移和侵袭及EMT进程,并抑制细胞凋亡。

综上所述,本研究明确了MUC13在肺腺癌组织和A549细胞中均呈高表达,且促进A549细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT,其机制可能与EGFR/PI3K/AKT信号通路的激活相关。这有利于进一步揭示肺腺癌的发病机制,MUC13有望成为肺腺癌诊断的新型标志物,为今后临床治疗的实际应用奠定实验基础。本实验不足之处在于缺乏动物体内研究、体外过表达研究和临床研究,今后将继续探讨在人肺腺癌组织中MUC13的表达与临床特征、预后的相关性。

#### [参考文献]

- [1] 国家卫生健康委办公厅. 原发性肺癌诊疗指南(2022年版)[J]. 协和医学杂志, 2022, 13(4): 549-570. DOI: 10.12290/xhyxzz.2022-0352.
- [2] HU D D, CHEN H L, LOU L M, et al. SKA3 promotes lung adenocarcinoma metastasis through the EGFR-PI3K-Akt axis[J/OL]. Biosci Rep, 2020, 40(2): BSR20194335[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7048675/>. DOI: 10.1042/BSR20194335.

- [3] DEKKER J, ROSSEN J W, BÜLLER H A, *et al.* The MUC family: an obituary[J]. *Trends Biochem Sci*, 2002, 27(3): 126-131. DOI: 10.1016/s0968-0004(01)02052-7.
- [4] FRANKE A, MCGOVERN D P, BARRETT J C, *et al.* Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci[J/OL]. *Nat Genet*, 2010, 42(12): 1118-1125[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3299551/>. DOI: 10.1038/ng.717.
- [5] SUH Y S, LEE H J, JUNG E J, *et al.* The combined expression of metaplasia biomarkers predicts the prognosis of gastric cancer [J/OL]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19(4): 1240-1249[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3884694/>. DOI: 10.1245/s10434-011-2125-1.
- [6] 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.
- [7] WHITESIDE T L. Tumor-derived exosomes and their role in cancer progression[J/OL]. *Adv Clin Chem*, 2016, 74: 103-141[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5382933/>. DOI: 10.1016/bs.acc.2015.12.005.
- [8] QUAIL D F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J/OL]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3954707/>. DOI: 10.1038/nm.3394.
- [9] WILLIAMS S J, WRESCHNER D H, TRAN M, *et al.* Muc13, a novel human cell surface mucin expressed by epithelial and hemopoietic cells[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(21): 18327-18336. DOI: 10.1074/jbc.M008850200.
- [10] FILIPPOU P S, REN A H, KORBAKIS D, *et al.* Exploring the potential of mucin 13 (MUC13) as a biomarker for carcinomas and other diseases[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(11): 1945-1953. DOI: 10.1515/cclm-2018-0139.
- [11] WANG H, SHEN L Y, LIN Y, *et al.* The expression and prognostic significance of Mucin 13 and Mucin 20 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer Res Ther*, 2015, 11(Suppl 1): C74-C79. DOI:10.4103/0973-1482.163846.
- [12] 沙金平, 刁云辉, 薛萌. 内镜活检胃癌组织中 MUC3A, MUC13 表达及与病理参数和预后的关系[J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(1): 28-34. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2020.01.005.
- [13] WALSH M D, YOUNG J P, LEGGETT B A, *et al.* The MUC13 cell surface mucin is highly expressed by human colorectal carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2007, 38(6): 883-892. DOI: 10.1016/j.humpath.2006.11.020.
- [14] DAI Y D, LIU L L, ZENG T T, *et al.* Overexpression of MUC13, a poor prognostic predictor, promotes cell growth by activating Wnt signaling in hepatocellular carcinoma[J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(2): 378-391. DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.10.016.
- [15] 冯成敏, 张西, 邓启成, 等. MUC13 对喉癌细胞生物学行为的影响 [J]. *中国眼耳鼻喉科杂志*, 2023, 23(5): 398-405. DOI: 10.14166/j.issn.1671-2420.2023.05.014
- [16] CHAUHAN S C, VANNATTA K, EBELING M C, *et al.* Expression and functions of transmembrane mucin MUC13 in ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 765-774. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0587.
- [17] SHENG Y H, NG C P, LOURIE R, *et al.* MUC13 overexpression in renal cell carcinoma plays a central role in tumor progression and drug resistance[J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(10): 2351-2363. DOI: 10.1002/ijc.30651.
- [18] PANG Y, ZHANG Y, ZHANG H Y, *et al.* MUC13 promotes lung cancer development and progression by activating ERK signaling[J/OL]. *Oncol Lett*, 2022, 23(1): 37[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8669675/>. DOI: 10.3892/ol.2021.13155.
- [19] LAMONTE G M, ORJUELA-SANCHEZ P, CALLA J, *et al.* Dual RNA-seq identifies human mucosal immunity protein Mucin-13 as a hallmark of *Plasmodium* exoerythrocytic infection[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 488[2023-08-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6353872/>. DOI: 10.1038/s41467-019-08349-0.
- [20] TIEMIN P, FANZHENG M, PENG X, *et al.* MUC13 promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression via EGFR/PI3K/AKT pathways[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(4): 761-773. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.11.021.

[收稿日期] 2023-08-27

[修回日期] 2023-11-05

[本文编辑] 党瑞山