

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.01.007

· 基础研究 ·

LMAN2 在 HR 阳性乳腺癌组织中的表达与患者预后的关系及其对 MCF-7 细胞增殖和迁移的影响

延常姣, 黄美玲, 肖晶晶, 凌瑞(空军军医大学西京医院 甲乳血管外科, 陕西 西安 710032)

[摘要] **目的:** 探究甘露糖结合凝集素 2 (LMAN2) 在激素受体 (HR) 阳性乳腺癌组织中的表达水平与乳腺癌患者预后的关系及其对 MCF-7 细胞增殖和迁移的影响。**方法:** 通过 TCGA、Bc-GenExMiner、GEPIA 和 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 LMAN2 在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的差异性表达及其与患者预后的关系。采用小 RNA 干扰技术将 si-LMAN2#1、si-LMAN2#2 及 si-NC 转染至 MCF-7 细胞, 将过表达 LMAN 载体 (pc-LMAN) 及空载体 pcDNA3.1 阴性对照 (pc-NC) 转染至 MCF-7 细胞, 实验分为 si-LMAN2#1、si-LMAN2#2、si-NC、pc-LMAN2 和 pc-NC 组。通过 qPCR 和 WB 实验检测各组细胞中 LMAN2 mRNA 和蛋白的表达水平, CCK-8、克隆形成、Transwell 迁移、WB 等实验检测敲低和过表达 LMAN 2 对 MCF-7 细胞增殖、克隆形成、迁移及 AKT 信号通路相关蛋白表达的影响。**结果:** LMAN2 在乳腺癌组织中的表达水平显著高于正常乳腺组织 ($P < 0.001$)。HR 阳性乳腺癌组织中 LMAN2 表达水平显著高于 HR 阴性乳腺癌组织 ($P < 0.001$); LMAN2 高表达与 HR 阳性乳腺癌患者不良预后有关联。敲低 LMAN2 可显著降低 MCF-7 细胞的增殖和迁移能力 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 过表达 LMAN2 可显著提高 MCF-7 细胞的增殖和迁移能力 (均 $P < 0.001$)。敲低 LMAN2 组 MCF-7 细胞中 PTEN 和 P21 蛋白表达水平均显著升高, p-AKT 蛋白表达水平显著降低 (均 $P < 0.01$)。**结论:** LMAN2 在乳腺癌组织和 HR 阳性乳腺癌组织中高表达, 且与不良预后有关联。LMAN2 高表达与 MCF-7 细胞增殖和迁移有关联, 其作用机制可能涉及 AKT 信号通路。

[关键词] 甘露糖结合凝集素 2; 激素受体阳性; 乳腺癌; MCF-7 细胞; 增殖; 迁移; AKT 信号通路

[中图分类号] R739.7; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)01-0047-07

Relationship between LMAN2 expression in HR-positive breast cancer tissues and patient prognosis and its effect on proliferation and migration of MCF-7 cells

YAN Changjiao, HUANG Meiling, XIAO Jingjing, LING Rui (Department of Thyroid, Breast and Vascular Surgery, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the relationship between the expression level of mannose-binding lectin 2 (LMAN2) in hormone receptor (HR)-positive breast cancer tissues and patient prognosis as well as its effects on the proliferation and migration of MCF-7 cells. **Methods:** The differential expression of LMAN2 in breast cancer tissues and normal breast tissues as well as its relationship with patients' prognosis were analyzed by TCGA, Bc-GenExMiner, GEPIA and Kaplan-Meier Plotter databases. si-LMAN2#1, si-LMAN2#2 and si-NC were transfected into MCF-7 cells using small RNA interference technology, and the LMAN overexpression vector (pc-LMAN) and empty vector pcDNA3.1 negative control (pc-NC) were transfected into MCF-7 cells; and accordingly, the experimental groups were named si-LMAN2#1 group, si-LMAN2#2 group, si-NC group, pc-LMAN2 group and pc-NC group. The mRNA and protein expression levels of LMAN2 in MCF-7 cells of each group were detected by qPCR and WB assay, respectively. The effects of knockdown and overexpression of the LMAN2 on the proliferation, colony formation and migration as well as the expression of AKT signaling pathway-related proteins in MCF-7 cells were detected using CCK-8, colony formation, Transwell migration and WB assay, etc. **Results:** The expression level of LMAN2 in breast cancer tissues was significantly higher than that in normal breast tissues ($P < 0.001$), and the expression of LMAN2 in HR-positive breast cancer tissues was significantly higher than that in HR-negative breast cancer tissues ($P < 0.001$). In contrast to low LMAN2 expression, high expression of LMAN2 was associated with poor prognosis in HR-positive breast cancer patients. Knockdown of LMAN2 significantly inhibited the proliferation and migration abilities of MCF-7 cells ($P < 0.01$ or $P < 0.001$), while overexpression of LMAN2 significantly enhanced the proliferation and migration abilities of MCF-7 cells (all $P < 0.001$). The protein expression levels of PTEN and P21 in MCF-7 cells with LMAN2

[基金项目] 国家自然科学基金 (No. 81572917); 陕西省重点研发计划 (No. 2022ZDLSF02-07); 陕西省自然科学基金基础研究计划 (No. 2023-JC-QN-0965)

[作者简介] 延常姣 (1992—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事乳腺癌的基础和临床研究。E-mail: ycj617655094@163.com

[通信作者] 凌瑞, E-mail: lingruiaoxue@126.com

knockdown were significantly elevated, while the protein expression of p-AKT was significantly decreased (all $P < 0.01$). **Conclusion:** LMAN2 is highly expressed in breast cancer tissues and HR-positive breast cancer tissues and is associated with poor prognosis. The high expression of LMAN2 is associated with the proliferation and migration of MCF-7 cells, and the mechanism may involve the AKT signaling pathway.

[Key words] mannose-binding lectin 2 (LMAN2); hormone receptor (HR) -positive; breast cancer; MCF-7 cell; proliferation; migration; AKT signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(1): 47-53. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.01.007]

2023年癌症预测统计数据显示,乳腺癌是发病率第一的恶性肿瘤,占女性恶性肿瘤的31%,其中激素受体(hormone receptor, HR)阳性,包括雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progesterone receptor, PR)阳性(ER⁺/PR⁺)乳腺癌约占全部乳腺癌的70%^[1-2]。尽管内分泌治疗、化疗、放疗等多种治疗方法近年来取得了较大进展,然而仍有5%~30% HR阳性乳腺癌患者在5年后复发、转移^[3-4]。因此,寻找新的HR阳性乳腺癌发生发展相关分子靶点对患者的精准治疗具有重要意义。甘露糖结合凝集素2(mannose-binding lectin 2, LMAN2)是一种I型穿膜凝集素,其在囊泡运输中起关键作用,参与蛋白质代谢、高尔基体运输和蛋白质后续修饰等生物学过程^[5]。LMAN2在多种类型肿瘤中高表达,是卵巢癌化疗的生物标志物之一^[6],然而目前LMAN2在乳腺癌中的作用及其机制尚未明了。本研究通过数据库数据分析发现,LMAN2在HR阳性乳腺癌组织中呈高表达且与患者预后相关,进一步通过体外细胞实验观察LMAN2对ER⁺/PR⁺乳腺癌MCF-7细胞增殖和迁移的影响并探讨其可能的分子机制,旨在为HR阳性乳腺癌治疗提供新的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 数据收集

通过TCGA数据库(<http://ualcan.path.uab.edu/analysis.html>)和Bc-GenExMiner数据库(<http://bcgenex.ico.unicancer.fr>)分析LMAN2在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的差异性表达。通过GEPIA数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)和Kaplan-Meier Plotter数据库(<http://kmplot.com/analysis/>)对LMAN2高表达和低表达HR阳性患者的预后进行预测分析。

1.2 细胞及主要试剂

乳腺癌MCF-7细胞(ER⁺/PR⁺/HER⁺)购于上海生命科学研究所,并经过STR分型鉴定。MCF-7细胞在含10%胎牛血清的DMEM培养基中,于37℃、5%CO₂的培养箱中培养,每周传代2~3次。

RPMI 1640培养基、DMEM培养基、胎牛血清购自Gibco公司, RNA分离试剂盒(TRIZol)购自美国

Thermo Fisher Scientific公司,逆转录试剂盒购自Promega公司, SYBR Master Mix购自TaKaRa公司, Lipofectamine RNAi MAX、Lipofectamine 3000转染试剂购自Invitrogen公司, Transwell小室购自美国Corning公司,蛋白酶抑制剂购自Pierce公司,抗LMAN2抗体购自ABclonal公司,抗p-AKT、AKT、PTEN、P21抗体购自CST公司,HRP标记的抗兔二抗购自Abcam公司, ECL发光显色试剂盒购自翌圣公司。

1.3 细胞转染及分组

取对数生长期的MCF-7细胞,接种于24孔板中,待细胞汇合度达80%时,按照转染试剂说明书进行转染。LMAN2 siRNA (si-LMAN2)和阴性对照siRNA (si-NC)序列: si-LMAN2#1为5'-CAUCUCGGUGAUGGU GAACAA-3', si-LMAN2#2为5'-GAACGAGUGGAA GAACUGCAU-3'; si-NC为5'-UUCUCCGAACGU GUCACGU-3'。通过使用Lipofectamine RNAi MAX转染试剂,用LMAN2 siRNA转染细胞以敲低LMAN2;通过使用Lipofectamine 3000,将pcDNA3.1-LMAN2过表达质粒转染细胞以过表达LMAN2,空载体pcDNA3.1为阴性对照。实验分为si-LMAN2#1组、si-LMAN2#2组、si-NC组、pc-LMAN2组和pc-NC组。

1.4 qPCR法检测MCF-7细胞中LMAN2 mRNA的表达水平

使用TRIzol从各组细胞中提取总RNA,并通过逆转录试剂盒逆转录cDNA。采用SYBR Master Mix进行实时荧光定量PCR(qPCR)实验,以测定LMAN2 mRNA表达水平。引物序列: LMAN2正向引物为5'-TTAAGCCCTACCAAGGGGTC-3',反向引物为5'-GTACTGGCTCGTGAGCATAGT-3'; GAPDH正向引物为5'-TGACTTCAACAGCGACACCCA-3',反向引物为5'-CACCTGTTGCTGTAGCCAAA-3'。LMAN mRNA水平根据相同样品中的GAPDH mRNA水平进行标准化。PCR反应条件: 95℃ 3 min; 95℃ 15 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共40个循环。通过2^{-ΔΔCt}法计算LMAN mRNA的相对表达水平。

1.5 WB法检测MCF-7细胞中LMAN2及AKT通路相关蛋白的表达水平

收集各组细胞,添加含蛋白酶抑制剂的RIPA裂

解液后从细胞中提取总蛋白, 然后用Bio-Rad Bradford测定法测定蛋白质含量。将含有20 μg总蛋白质的等分试样进行10%SDS-PAGE, 将蛋白质条带转移至硝酸纤维素膜上, 室温下在含5%脱脂牛奶的TBST中作用60 min。加入抗LMAN2(稀释比例为1:500)、抗p-AKT(稀释比例为1:1 500)、抗AKT(稀释比例1:1 500)、抗PTEN(稀释比例为1:1 500)、抗P21(稀释比例为1:1 500)和β-actin(稀释比例为1:3 000)一抗, 4℃下反应过夜。加入HRP标记抗兔二抗(稀释比例为1:5 000)室温反应2 h。采用ECL进行显色。用Odessey CLx 双色红外激光成像系统分析蛋白质条带的灰度值。

1.6 CCK-8法检测MCF-7细胞的增殖能力

将转染48 h后的各组MCF-7细胞接种至96孔板中(100 μL/孔), 贴壁4 h后每孔加入10 μL CCK-8溶液, 置于37℃、5%CO₂的培养箱中反应1 h, 使用酶标仪测定波长450 nm处的光密度(D)值, 连续记录24、48、72和96 h的数据并绘制细胞生长曲线。

1.7 克隆形成实验检测MCF-7细胞的克隆形成能力

将各组MCF-7细胞接种于6孔板中(1×10³个/孔), 37℃下培养, 每3 d更换一次培养基, 连续培养14 d后, 用磷酸盐缓冲液洗涤细胞3次, 并用4%多聚甲醛溶液固定30 min。每孔中加入500 μL的0.1%结晶紫溶液染色20 min, 在光学显微镜下观察, 当细胞数超过50个时即为1个细胞集落。计数克隆数并拍照。

1.8 Transwell实验检测MCF-7细胞的迁移能力

将胰蛋白酶消化的对数生长期的各组MCF7细胞用

无血清培养基重悬后, 调整细胞密度至8×10⁵个/mL。在Transwell上室中加入200 μL细胞悬液, 下室中加入500 μL含10%FBS的RPMI 1640培养基, 培养24 h后, 取出小室, PBS洗涤后, 在4%多聚甲醛溶液中固定15 min, 在0.5%结晶紫染色液中染色10 min, 于倒置显微镜下计数穿膜细胞数并拍照。

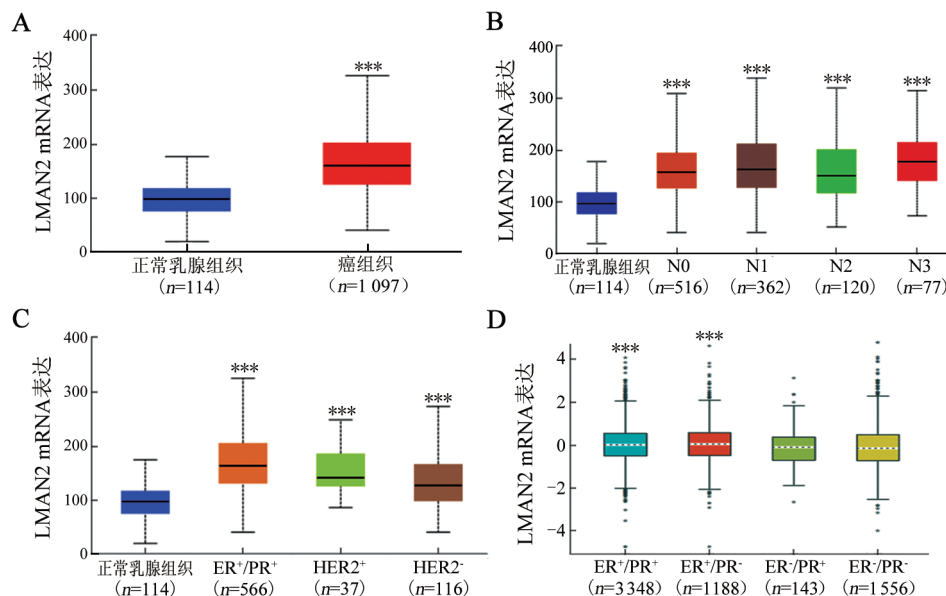
1.9 统计学处理

以上主要实验均独立重复3次。采用SPSS 19.0软件对实验数据进行统计学分析, 以GraphPad Prism 8软件绘制图。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, 多组间数据比较采用单因素方差分析。以P<0.05或P<0.01表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LMAN2 mRNA在乳腺癌组织中呈高表达

TCGA和bc-GenExMiner数据库分析结果(图1)显示, 与正常乳腺组织比较, LMAN2 mRNA在乳腺癌组织中的表达水平显著升高(P<0.001, 图1A)。在不同淋巴结转移状态的乳腺癌组织中表达水平差异无统计学意义(P>0.05, 图1B); 在不同分子亚型的乳腺癌中, HR⁺、HER2⁺乳腺癌组织中LMAN2 mRNA表达水平显著高于正常乳腺组织(均P<0.001, 图1C), 而在HR⁺、HER2⁺乳腺癌组织中LMAN2 mRNA表达水平差异无统计学意义(P>0.05, 图1C)。以ER和PR状态对乳腺癌组织进行分类, ER⁺/PR⁺和ER⁺/PR⁻的乳腺癌组织中LMAN2 mRNA表达显著高于ER⁻/PR⁻乳腺癌组织(均P<0.001, 图1D)。



A: LMAN2 mRNA在乳腺癌组织和正常乳腺组织中的表达水平; B: LMAN2 mRNA在正常乳腺组织和淋巴结转移状态不同的乳腺癌组织中的表达水平; C: LMAN2 mRNA在正常乳腺组织和不同分子亚型乳腺癌组织中的表达水平; D: LMAN2 mRNA在不同ER、PR状态乳腺癌组织中的表达水平。与正常乳腺组织或ER/PR组织比较, ***P<0.001。

图1 TCGA和bc-GenExMiner数据库分析LMAN2 mRNA在乳腺癌组织中的表达水平

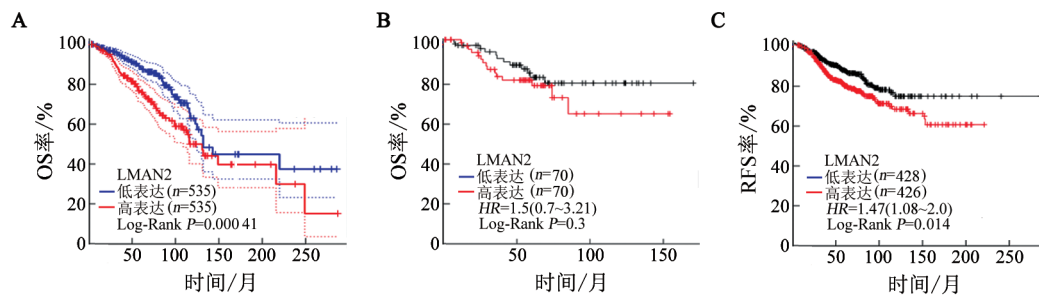
2.2 LMAN2在乳腺癌中的预后作用

基于GEPIA和Kaplan-Meier Plotter数据库进行生存曲线分析发现,与LMAN2低表达组比较,LMAN2高表达组乳腺癌患者的OS率显著降低($P<0.001$,图2A)。高表达LMAN2组ER⁺/PR⁺乳腺癌患者的OS短于低表达组,但差异无统计学意义($P>0.05$,图2B)。LMAN2高表达组ER⁺/PR⁺乳腺癌患者的无复发生存期(recurrence-free survival, RFS)显著短于低表达组患者($P<0.05$,图2C)。

2.3 敲低LMAN2显著抑制MCF-7细胞的增殖能力

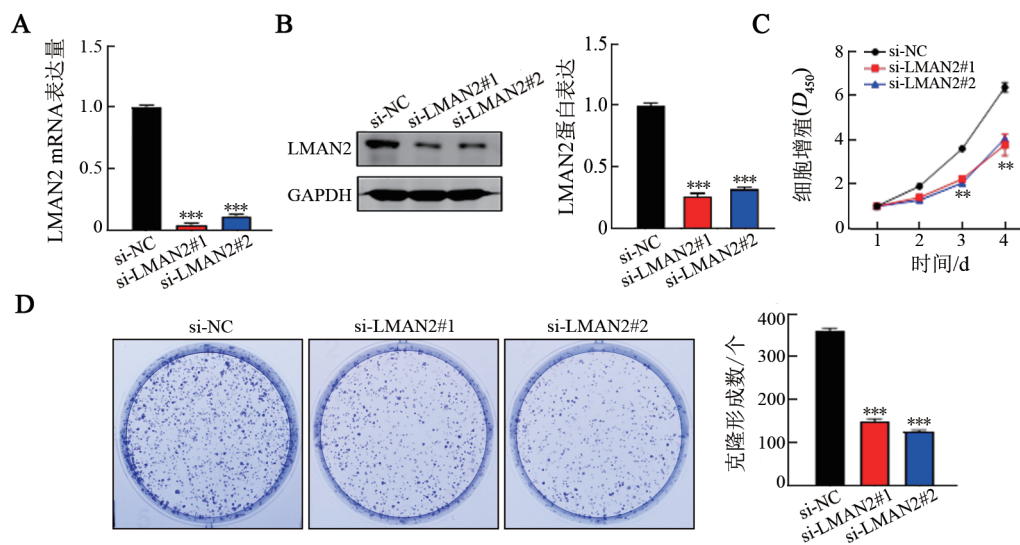
qPCR、WB法检测结果(图3A、3B)显示,与si-NC组比较,si-LMAN2组MCF-7细胞LMAN2 mRNA和蛋白表达水平均显著降低(均 $P<0.001$),表明转染成功,可以进行后续功能试验。

CCK-8实验结果(图3C)显示,与si-NC组比较,si-LMAN2组MCF-7细胞的增殖能力显著降低($P<0.01$)。克隆形成实验检测结果(图3D)显示,与si-NC组比较,si-LMAN2组MCF-7细胞的克隆数量显著减少($P<0.001$)。结果表明,敲低LMAN2可抑制乳腺癌MCF-7细胞的增殖能力。



A: GEPIA 数据库中 LMAN2 低表达和高表达乳腺癌患者 OS 分析; B: Kaplan-Meier Plotter 数据库中 ER⁺/PR⁺ 乳腺癌患者 OS 分析; C: Kaplan-Meier Plotter 数据库中 ER⁺/PR⁺ 乳腺癌患者 RFS 分析。

图2 LMAN2低表达和高表达患者的OS和RFS比较



A: qPCR法检测MCF-7细胞中LMAN2 mRNA敲低效果; B: WB法检测MCF-7细胞中LMAN2蛋白敲低效果; C: CCK-8法检测敲低LMAN2对MCF-7细胞增殖能力的影响; D: 克隆形成实验检测敲低LMAN2对MCF-7细胞克隆形成能力的影响(结晶紫染色, ×40)。与si-NC组比较, ** $P<0.01$ 、*** $P<0.001$ 。

图3 敲低LMAN2对MCF-7细胞增殖能力的影响

2.4 过表达LMAN2增强MCF-7细胞的增殖能力

qPCR、WB法检测结果(图4A、4B)显示,与pc-NC组比较,pc-LMAN2组MCF-7细胞的LMAN2 mRNA和蛋白表达水平均显著升高(均 $P<0.001$),表明转染成功,可以进行后续实验。

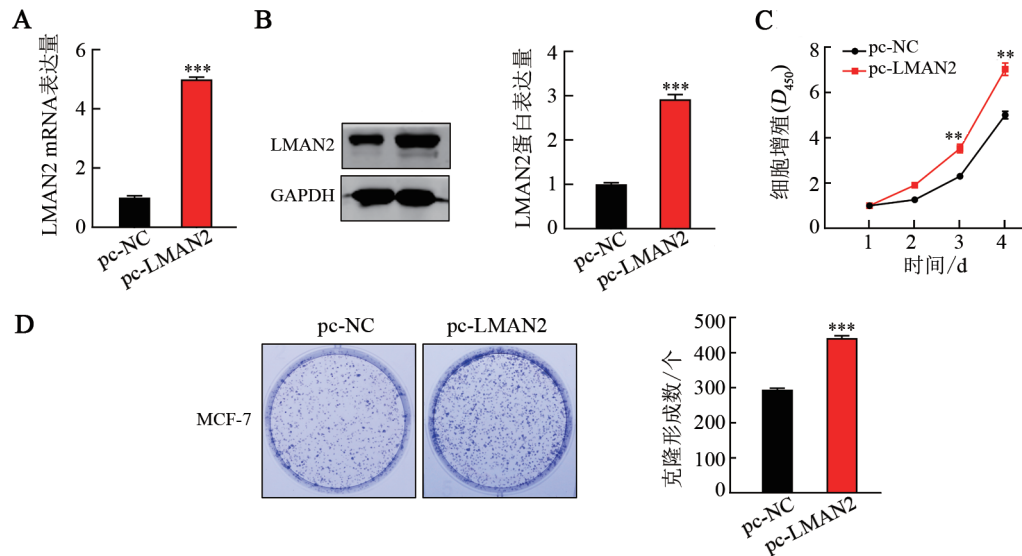
CCK-8实验结果(图4C)显示,过表达LMAN2组

MCF-7细胞的增殖能力显著增强($P<0.01$)。克隆形成实验结果(图4D)显示,过表达LMAN2组细胞克隆形成数量显著增加($P<0.001$)。结果表明,过表达LMAN2可增强MCF-7细胞的增殖能力。

2.5 敲低或过表达LMAN2对MCF-7细胞迁移的影响
Transwell实验结果(图5)显示,与si-NC或

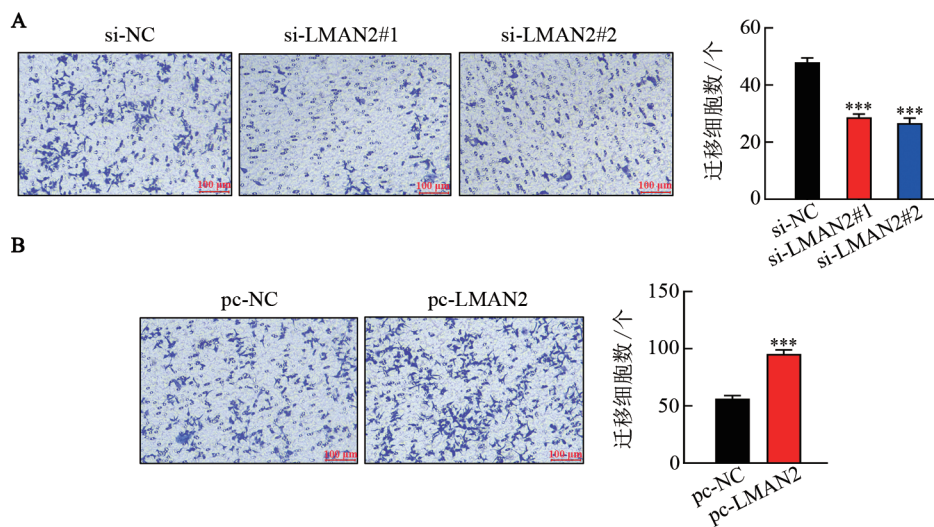
pc-NC 比较, 敲低 LMAN2 组细胞的迁移能力显著减弱 ($P < 0.001$, 图 5A), 过表达 LMAN2 组细胞的迁移能力显著增强 ($P < 0.001$, 图 5B)。结果表明, 敲低

LMAN2 可显著减弱 MCF-7 细胞的迁移能力, 过表达 LMAN2 可显著增强 MCF-7 细胞的迁移能力。



A: qPCR 法检测 MCF-7 细胞中 LMAN2 mRNA 过表达效果; B: WB 法检测 MCF-7 细胞中 LMAN2 蛋白过表达效果; C: CCK-8 法检测过表达 LMAN2 对 MCF-7 细胞增殖能力的影响; D: 克隆形成实验检测过表达 LMAN2 对 MCF-7 细胞克隆形成能力的影响(结晶紫染色, $\times 40$)。与 pc-NC 组比较, $^{*}P < 0.01$ 、 $^{***}P < 0.001$ 。

图 4 过表达 LMAN2 对 MCF-7 细胞增殖能力的影响



与 si-NC 组或 pc-NC 比较, $^{***}P < 0.001$ 。

图 5 Transwell 实验检测敲低(A)或过表达(B)LMAN2 对 MCF-7 细胞迁移的影响(结晶紫染色, $\times 100$)

2.6 敲低 LMAN2 对 MCF-7 细胞中 AKT 通路相关蛋白表达的影响

AKT 信号通路是调节肿瘤发生发展的重要途径之一。WB 实验结果(图 6)显示, 与 pc-NC 比较, 敲低 LMAN2 组 MCF-7 细胞的 PTEN 和 P21 蛋白表达明显增强(均 $P < 0.01$); 而 p-AKT 蛋白水平显著下降 ($P < 0.01$)。结果表明, 敲低 LMAN2 能促进 PTEN 和 P21 的表达, 抑制 AKT 通路。

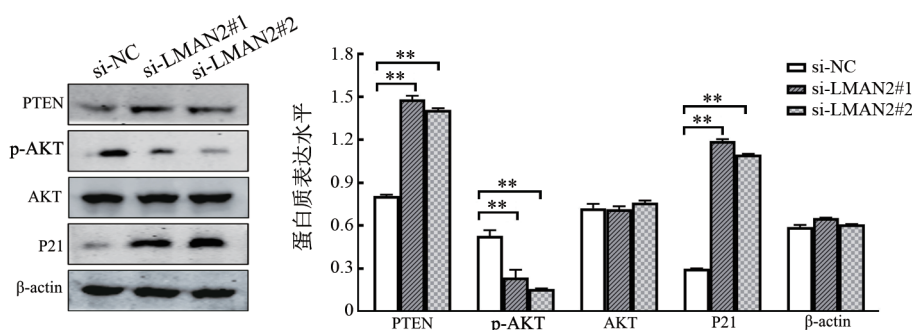
3 讨论

HR 阳性乳腺癌是最常见的乳腺癌亚组分型, 内分泌治疗是该亚型乳腺癌重要的治疗手段之一^[7]。尽管内分泌治疗的不良反应较小, 但很多患者会出现耐药和复发情况, 成为 HR 阳性乳腺癌的治疗瓶颈^[8-9]。因此, 寻求新的治疗靶点至关重要。尽管近年来对 LMAN2 在肿瘤中表达及功能的研究不断深

入,然而,LMAN2在HR阳性乳腺癌中的表达水平、预后及其功能尚未明确。

LMAN2可通过高尔基复合体调节外泌体蛋白的装载和运输,并对蛋白质的后续修饰起重要作用^[10]。具体而言,LMAN2基因可编码囊泡膜蛋白VIP36。VIP36是一种在内质网和高尔基体之间循环的细胞内凝集素,被认为是糖蛋白运输和分选受体。该受体参与从内质网输出折叠蛋白的过程,也参与从高尔基体向内质网回收错误折叠蛋白的过程^[11]。肿瘤的发生发展与错误折叠蛋白的积累密切相关。研究^[6]表明,LMAN2可作为卵巢癌腹腔化疗的生物标志物之一,与静脉化疗比较,接受腹腔化疗的卵巢癌患者LMAN2的高表达与其无进展生存期(progression free survival, PFS)有关。DAVALIEVA等^[12]通过检测80余种尿蛋白,筛选出包括LMAN2在

内的20种具有足够灵敏性和特异性的蛋白,作为无创检测早期前列腺癌的方法。ZHOU等^[13]研究表明,LMAN2在顺铂耐药胃癌患者组织中表达上调,影响胃癌耐药的关键标志物miR-604的表达。口腔鳞状细胞癌的高病死率与其难以早期诊断有关。CHU等^[14]通过鉴定唾液抗体,发现了由LMAN2、PTGR1等组成的抗体组合,可用于口腔鳞状细胞癌的早期诊断。ZHANG等^[15]通过生物信息学分析发现,LMAN2在乳腺癌组织中高表达,且与不良预后有关。亚组分析表明,LMAN2的表达与HER2⁺乳腺癌细胞的增殖和转移相关。然而,此项研究仅通过生物信息学分析探索了LMAN2的表达与HER2⁺乳腺癌的关系,未通过细胞学实验进行验证,对于其他亚型乳腺癌的分析也较少。



与si-NC组比较,** $P < 0.01$ 。

图6 敲低LMAN2对MCF-7细胞PTEN、p-AKT和P21蛋白表达的影响

本研究结果表明,LMAN2在乳腺癌组织中的表达水平显著高于正常乳腺组织;以ER和PR状态对乳腺癌组织进行分类,HR阳性乳腺癌组织中LMAN2表达水平显著高于HR阴性乳腺癌组织。与低表达LMAN2组比较,高表达LMAN2组乳腺癌患者的OS显著降低($P < 0.001$),与ZHANG等^[15]的研究结果一致。对于HR阳性亚组,高表达LMAN2组乳腺癌患者的OS低于低表达组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。高表达LMAN2组HR阳性乳腺癌患者的RFS显著低于低表达组患者。细胞实验结果表明,敲低LMAN2可显著减弱MCF-7细胞的增殖能力,而过表达LMAN2可增强MCF-7细胞的增殖能力。Transwell实验结果表明,敲低LMAN2可抑制MCF-7细胞的迁移能力,而过表达LMAN2可增强MCF-7细胞的迁移能力。WB实验结果显示,敲低LMAN2组MCF-7细胞的PTEN和P21蛋白表达明显增强,而p-AKT蛋白表达明显被抑制,说明LMAN2会影响经典的AKT信号通路。在乳腺癌细胞中,AKT信号通路经常处于异

常激活状态,从而维持细胞活跃的增殖能力^[16],以此通路为靶点的药物是乳腺癌治疗的研究热点^[17-18]。本研究中敲低LMAN2会抑制p-AKT蛋白的表达,从而抑制MCF-7细胞的增殖能力。PTEN是一种具有磷酸酶活性的抑癌基因,可通过PIP3脱磷酸途径干扰PI3K/AKT通路^[19],PTEN的缺失与乳腺癌的发生、分化和转移相关^[20]。本研究中敲低LMAN2会增强PTEN的表达,进一步证实了LMAN2与AKT信号通路的相关性。

综上所述,本研究发现LMAN2在乳腺癌组织,特别是HR阳性乳腺癌组织中高表达,且与不良预后有关。LMAN2在MCF-7细胞中的高表达与其恶性生物学行为有关,敲低LMAN2可抑制MCF-7细胞的增殖、迁移能力,其作用机制可能与AKT信号通路有关。这些结果表明,LMAN2在HR阳性乳腺癌的发生发展中发挥重要作用,为HR阳性乳腺癌的治疗提供了新的靶点。然而,由于时间和实验条件的限制,本研究没有进行高表达和敲低LMAN2在动物体内的相关实验,后续将会进一步完善。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R, MILLER K, WAGLE N S, *et al.* Cancer statistics, 2023 [J]. *CA A Cancer J Clin*, 2023, 73: 17-48. DOI: 10.3322/caac.21763.
- [2] TRABERT B, SHERMAN M E, KANNAN N, *et al.* Progesterone and breast cancer[J]. *Endocr Rev*, 2020, 41(2): 320-344. DOI: 10.1210/endrev/bnz001.
- [3] ANDRÉ C, HOLSTI C, SVENNER A, *et al.* Recurrence and survival after standard versus oncoplastic breast-conserving surgery for breast cancer[J/OL]. *BJS Open*, 2021, 5(1): zraa013[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7893471/>. DOI: 10.1093/bjsopen/zraa013.
- [4] 姜楠. 乳腺癌过继性细胞免疫治疗的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(6): 571-579. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.009.
- [5] KWON S H, OH S, NACKE M, *et al.* Adaptor protein CD2AP and L-type lectin LMAN2 regulate exosome cargo protein trafficking through the Golgi complex[J/OL]. *J Biol Chem*, 2017, 292(40): 16523[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5633114/>. DOI: 10.1074/jbc.A116.729202.
- [6] SEAGLE B L, ENG K H, YEH J Y, *et al.* Discovery of candidate tumor biomarkers for treatment with intraperitoneal chemotherapy for ovarian cancer[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21591[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4756718/>. DOI: 10.1038/srep21591.
- [7] BURSTEIN H J, LACCHETTI C, ANDERSON H, *et al.* Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: ASCO clinical practice guideline focused update[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(5): 423-438. DOI: 10.1200/JCO.18.01160.
- [8] PAPANIMITRIOU M C, PAZAITI A, ILIAKOPOULOS K, *et al.* Resistance to CDK4/6 inhibition: mechanisms and strategies to overcome a therapeutic problem in the treatment of hormone receptor-positive metastatic breast cancer[J/OL]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2022, 1869(12): 119346[2023-08-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36030016/>. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2022.119346.
- [9] HANKER A B, SUDHAN D R, ARTEAGA C L. Overcoming endocrine resistance in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(4): 496-513. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.009.
- [10] LEE B R, SANSTRUM B J, LIU Y T, *et al.* Distinct role of Sirtuin 1 (SIRT1) and Sirtuin 2 (SIRT2) in inhibiting cargo-loading and release of extracellular vesicles[J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 20049[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6934595/>. DOI: 10.1038/s41598-019-56635-0.
- [11] BETTENCOURT C, FOTI S C, MIKI Y, *et al.* White matter DNA methylation profiling reveals deregulation of HIP1, LMAN2, MOBP, and other loci in multiple system atrophy[J/OL]. *Acta Neuropathol*, 2020, 139(1): 135-156[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6942018/>. DOI: 10.1007/s00401-019-02074-0.
- [12] DAVALIEVA K, KIPRIJANOVSKA S, MALEVA KOSTOVSKA I, *et al.* Comparative proteomics analysis of urine reveals down-regulation of acute phase response signaling and LXR/RXR activation pathways in prostate cancer[J/OL]. *Proteomes*, 2017, 6(1): 1[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5874760/>. DOI: 10.3390/proteomes6010001.
- [13] ZHOU D Y, LI X, ZHAO H Y, *et al.* Combining multi-dimensional data to identify a key signature (gene and miRNA) of cisplatin-resistant gastric cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(8): 6997-7008. DOI: 10.1002/jcb.26908.
- [14] CHU H W, CHANG K P, YEN W C, *et al.* Identification of salivary autoantibodies as biomarkers of oral cancer with immunoglobulin A enrichment combined with affinity mass spectrometry[J/OL]. *Proteomics*, 2023, 23(9): e2200321[2023-08-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36625099/>. DOI: 10.1002/pmic.202200321.
- [15] ZHANG D, YE L P, HU S, *et al.* Comprehensive analysis of the expression and prognostic value of LMAN2 in HER2⁺ breast cancer [J/OL]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 7623654[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9192310/>. DOI: 10.1155/2022/7623654.
- [16] MIRICESCU D, TOTAN A, STANESCU-SPINU I I, *et al.* PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in breast cancer: from molecular landscape to clinical aspects[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 22(1): 173. DOI: 10.3390/ijms22010173.
- [17] TEWARI D, PATNI P, BISHAYEE A, *et al.* Natural products targeting the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway in cancer: a novel therapeutic strategy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 80: 1-17. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.12.008.
- [18] 廖明娟, 陈红凤. PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制剂在乳腺癌中的研究进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2012, 19(3): 230-234. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0632.
- [19] ZHANG Y Q, LIANG Y K, WU Y, *et al.* Notch3 inhibits cell proliferation and tumorigenesis and predicts better prognosis in breast cancer through transactivating PTEN[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(6): 502[2023-08-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8131382/>. DOI: 10.1038/s41419-021-03735-3.
- [20] 郭卫东, 张惠洁, 牛德森, 等. β -catenin、LEF-1 和 PTEN 在乳腺癌中的表达及意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2013, 18(12): 1091-1095.

[收稿日期] 2023-08-07

[修回日期] 2023-11-08

[本文编辑] 党瑞山