

DOI:10.13350/j.cjpb.240507

• 论著 •

S100A16 启动子区 DNA 甲基化在小细胞肺癌细胞增殖及化疗耐药中的调控作用*

叶瑞芳¹, 黄彩玲², 林潍轩¹, 方曼霖¹, 甘思远², 李汝佳², 冯娜³, 郭琳琅⁴, 熊英环⁵, 孙艳芹^{2,6**}

(1. 广东医科大学第一临床医学院, 广东湛江 524023; 2. 广东医科大学病理学系; 3. 东莞东华医院病理科; 4. 南方医科大学珠江医院病理科; 5. 广东医科大学附属医院生物样本库; 6. 广东医科大学实验动物中心)

【摘要】 目的 探讨 S100 钙结合蛋白 A16(S100 calcium binding protein A16, S100A16) 对小细胞肺癌细胞增殖、凋亡和化疗耐药性的影响, 并揭示 S100A16 启动子区低甲基化在小细胞肺癌恶性表型中的潜在作用。方法 结合生物信息学分析, 采用 RNA 干扰技术降低 H69AR 细胞中 S100A16 的表达, 使用 RT-qPCR、Western blot、CCK-8 实验、流式细胞术及免疫组化法分析 S100A16 在小细胞肺癌各种恶性表型中的调控作用。结果 生物信息学在线数据分析发现, 小细胞肺癌细胞易对化疗药物顺铂产生抵抗性, 其持久耐药(Drug tolerant persister, DTP)细胞株中 S100A16 启动子区甲基化水平相对较低, 与其 mRNA 表达水平呈负相关($P < 0.05$)。基于上述生信分析结果, 我们进一步经实验验证发现, 与小细胞肺癌化疗敏感细胞相比, S100A16 在小细胞肺癌化疗耐药株中的表达较高($P < 0.05$); 采用 siRNA 技术沉默化疗耐药细胞 H69AR 中 S100A16 的表达后, CCK-8 实验分析发现细胞贴壁生长 60 h 后增殖能力明显下降($P < 0.05$), 流式细胞术分析发现细胞早期凋亡率及晚期凋亡率均呈升高趋势($P < 0.05$)。为了探究 S100A16 表达改变与小细胞肺癌恶性表型间的分子机制, 采用 MassARRAY 平台系统进行基因甲基化位点检测发现, 癌组织中 S100A16 基因启动子区 CpG-8 甲基化水平显著较低($P < 0.01$), 进一步采用去甲基化药物 5-阿扎胞苷(5-aza-2'-deoxycytidine, 5-aza-CdR)处理 H69 细胞后发现, DNA 甲基转移酶 DNMT3A 明显下降($P < 0.05$)而 S100A16 的表达相对显著升高($P < 0.01$)。结论 启动子区 DNA 低甲基化会导致 S100A16 在小细胞肺癌中高表达, 能够进一步促进肿瘤发生发展, 并且在化疗耐药中发挥一定作用。

【关键词】 小细胞肺癌; S100A16; 化疗耐药; DNA 甲基化**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2024)05-0528-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 May; 19(5): 528-533.]

The role of S100A16 promoter DNA methylation in proliferation and chemotherapy resistance of small cell lung cancer cells

YE Ruifang¹, HUANG Cailing², LIN Weixuan¹, FANG Manlin¹, GAN Siyuan², LI Rujia², FENG Na³, GUO Linlang⁴, XIONG Yinghuan⁵, SUN Yanqin^{2,6**} (1. The First Clinical Medical College of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, Guangdong, China; 2. Department of Pathology, Guangdong Medical University; 3. Pathology Department, Dongguan Donghua Hospital; 4. Department of Pathology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University; 5. Biological Sample Bank, The Affiliated Hospital of Guangdong Medical University; 6. Experimental Animal Center, Guangdong Medical University)***

【Abstract】 **Objective** To investigate the role of S100 calcium binding protein A16 (S100A16) in proliferation, apoptosis and chemotherapy resistance of small cell lung cancer (SCLC), and reveal the potential role of S100A16 promoter hypomethylation in the malignant phenotype of SCLC. **Methods** Based on bioinformatics analysis, RNA interference technology was used to reduce the expression of S100A16 in H69AR cells, then RT-qPCR, Western blot, CCK-8 experiment, flow cytometry and immunohistochemistry were used to analyze the roles of S100A16 in various malignant phenotypes of SCLC. **Results** Bioinformatics online data analysis found that SCLC cells are easy to develop resistance to cisplatin, and their DTP cells have relatively low levels of S100A16 promoter methylation, which is negatively correlated with their mRNA expression levels ($r = -0.37, P = 0.0025$). Based on the above bioinformatics analysis results, we further

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 81702285); 广东省基础与应用基础研究基金(No. 2021B1515140067, 2022A1515012190); 广东省医学科学技术研究基金项目(No. A2022019, A2023338); 湛江市科技发展专项资金竞争性分配项目(No. 2022A01018); 大学生创新创业训练计划项目(No. S202210571082, 202210571036); 广东医科大学松山湖医工融合创新中心专项项目(No. 4SG22312P)。

** **【通讯作者】** 孙艳芹, E-mail: sunyanqin@gdmu.edu.cn

【作者简介】 叶瑞芳(1991-), 女, 广东东莞人, 在读肿瘤学博士。研究方向: 肺癌、白血病等肿瘤的发病机制。E-mail: yrf1991@yeah.net

verified through experiments and found that, S100A16 shown a higher expression in chemotherapy resistant cells compared with its sensitive cells ($P < 0.05$). After using RNAi technology to reduce the expression of S100A16, SCLC cells shown a significant decrease with its proliferation ability by CCK-8 experimental analysis after 60 hours of cell adhesion ($P < 0.05$). Flow cytometry analysis revealed an increasing trend in both early and late cell apoptosis rates ($P < 0.05$). Through in-depth analysis of its molecular mechanism by bioinformatics, it was found that the DNA methylation of the S100A16 promoter region is negatively correlated with its mRNA expression and the multiple drug chemotherapy resistance. Furthermore, in order to investigate the molecular mechanism between changes in S100A16 expression and the malignant phenotype of small cell lung cancer, MassARRAY platform system was used to detect the methylation sites of the S100A16, it was found that the CpG-8 methylation level of the S100A16 gene promoter region is significantly lower in SCLC tissue ($P = 0.0015$). After treatment with 5-aza-CdR, the expression of DNA methyltransferase DNMT3A was significantly decreased in SCLC cells while the expression of S100A16 was relatively significantly increased ($P < 0.01$).

Conclusion Low DNA methylation in S100A16 promoter region is a potential factor leading to its high expression in SCLC, further promoting tumorigenesis and chemotherapy resistance of SCLC.

【Key words】 small cell lung cancer; S100A16; chemotherapy resistance; DNA methylation

小细胞肺癌 (small cell lung cancer, SCLC) 占支气管源性肺癌病例的 15%~20%，是一种侵袭性强、极易发生广泛转移的肿瘤，5 年生存率不足 7%^[1-2]。大多数 SCLC 都会表现出一些神经内分泌特征 (神经内分泌特异性烯醇化酶为其血清学肿瘤标志物)，且肿瘤抑制因子 RB1 和 TP53 表达缺失，由于 90% 以上的 SCLC 患者均有吸烟史，还会表现出较高的肿瘤突变负荷 (Tumor mutation burden, TMB)^[3]。目前临床上局限期 (早期癌，未出现淋巴结和血液转移) SCLC 患者采用同步放化疗为主的标准治疗，而广泛期 (已出现淋巴结和血液转移) 的 SCLC 患者则需要接受免疫联合含铂药物化疗的系统治疗^[4]。虽然在 SCLC 初期对患者进行含铂治疗能产生效果，但绝大多数患者会迅速复发并对进一步的化疗产生抗药性，导致患者五年生存期极低^[5]。因此，探究 SCLC 的发生机制及化疗耐药问题极具临床诊疗价值。

S100 钙结合蛋白 16 (S100 calcium-binding protein 16, S100A16) 是 S100 家族的一种 EF-hand 型酸性可溶性 Ca^{2+} 结合蛋白^[6]。S100A16 在各种人体组织中广泛表达，其作用是促进前脂肪细胞的增殖和脂肪生成，调节癌细胞的 EMT，并减少胰岛素刺激的葡萄糖摄取^[7-8]。DNA 甲基化修饰是肺癌发生发展中的重要表观遗传修饰方式，有研究对肿瘤的表现遗传学修饰状态分析发现，肿瘤内可出现抑癌基因的高甲基化和/或癌基因、异染色质的低甲基化，并已在多种癌症中发现了控制细胞周期、增殖、凋亡、转移、化疗耐药和细胞内信号传导的基因异常甲基化^[9]。本研究结合生物信息学分析方法、分子生物学和细胞生物学技术，寻找 S100A16 基因在 SCLC 发生及化疗耐药中的作用及其分子机制。

材料与amp;方法

1 对象

人源性的小细胞肺癌细胞株 H69、H69AR、H446、H446DDP 细胞，购自美国模式培养物集存库 (American Type Culture Collection, ATCC); 进行免疫组化分析的小细胞肺癌组织芯片 (芯片编号: RLN681) 购自上海芯超生物科技有限公司，内含 62 例 SCLC 组织和 6 例癌旁肺组织。

2 仪器与试剂

RPMI-1640 培养基 (Gibco 公司); 胎牛血清 (Gibco 公司); 抗体: S100A16 (Abcam 公司)、GAPDH (SantaCruz 公司); 5-aza-CdR (Selleck 公司); CCK8 试剂盒 (同仁公司); 通用二步法检测试剂盒 (小鼠/兔增强聚合物法检测系统); RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific); 2×RealStar Green Fast Mixture with ROX (北京康润诚业生物科技有限公司); BCA 蛋白定量试剂盒 (碧云天公司); 实时荧光定量 PCR 仪 StepOnePlus (Thermo Scientific); 电泳仪和电转仪 (北京六一生物科技有限公司); 高速冷冻离心机 (Sigma 公司); 全自动酶标仪 (Thermo Scientific); 光学照相显微镜 (Leica 公司); 凝胶成像分析系统 (中国基因有限公司); 核酸蛋白测量仪 (核酸蛋白测量仪); 核酸蛋白测量仪 (Thermo Scientific)。

3 方法

3.1 SCLC-CellMiner (<https://discover.nci.nih.gov/ScCellMinerCDB/>) 一个基于多组学技术分析 116 个 SCLC 细胞系的基因组特征、甲基化状态和药物敏感性检测的集成平台 (SCLC-Global)^[10]。

3.2 CCLE (Cancer Cell Line Encyclopedia) 数据库 又称癌细胞系百科全书，它提供了癌细胞系的多组学和药物作用相关数据^[11]。

3.3 UCSC Xena 分析 S100A16 基因启动子区甲基化状态及 CpG 岛序列。

3.4 细胞培养和 RNA 干扰技术 采用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养 H69、H69AR(基于 H69 构建的多药耐药细胞株)、H446、H446DDP(基于 H446 构建的顺铂耐药细胞株),取对数生长期的 H69AR 和 H446DDP 细胞分别转染两条验证有效的 siRNA 序列和 NC 载体,得到 NC 组、S100A16-siRNA # 1 组和 S100A16-siRNA # 2 组的细胞,依据“Lipofectamine™2000”产品使用说明进行细胞转染实验操作。

3.5 引物的设计及合成 S100A16 的特异性引物由生工公司设计并合成。以 GAPDH 作为内参。S100A16 引物序列为:上游 5'-AAGTACAGCCTGGTCAAGAACAAGATC-3',下游 5'-GTGTCGACAGCATGTGGTTCAG-3';GAPDH 引物序列为:上游 5'-CAATGACCCCTTCATTGA CC-3',下游 5'-GACAAGCTTGTTCAG-3'。

3.6 RT-qPCR (1)RNA 提取(Trizol 法),保证 $1.80 \leq A_{260}/A_{280} \leq 2.00$,总 RNA 浓度 $\geq 500 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。(2)逆转录反应:根据逆转录试剂盒说明书配制反应体系,反应包括逆转录反应阶段和逆转录酶的失活反应阶段。(3)PCR 反应:根据 qRT-PCR 试剂盒说明书配制反应液:反应条件:95 °C 30 s,95 °C 5 s,64 °C 34 s,合计 40 次循环,72 °C 10 min 延伸。3 次独立实验后得到的数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量方法进行数据分析。

3.7 Western blot 细胞总蛋白提取后利用 BCA 试剂盒进行蛋白定量,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,S100A16(Abcam 稀释比例 1 : 250)和 GAPDH(武汉三鹰 稀释比例 1 : 10000)一抗 4 °C 孵育过夜,二抗(武汉三鹰 稀释比例 1 : 20000)室温孵育,用 ECL 显影液进行显影,并 Image J 软件分析各样本目的蛋白及内参 GAPDH 表达的灰度值并对蛋白质进行定量分析。

3.8 流式细胞术 采用 AnnexinV/7ADD 凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡率,上机流式细胞仪分析,计算细胞的凋亡指数。

3.9 CCK8 实验测细胞增殖 依照 CCK8 试剂盒说明书,于 96 孔板中接种细胞悬液,待细胞呈贴壁生长后每孔分别加入 CCK8 溶液,接下来的 0.5~4 h 内,每隔半个小时进行一次 450 nm 波长处细胞的 A 值测定,最后根据所得到的 A 值绘制细胞生长曲线。

3.10 免疫组化技术 采用免疫组化二步法检测小细胞肺癌和癌旁肺组织中 S100A16 蛋白(Abcam 单抗, 1 : 1000)的表达,检测结果的评定由病理科副主任医师阅片,最后采用 IRS 评分法对免疫组化切片中的染色程度(0-3 分)以及阳性率(0-4 分)分别评分,二者得分相乘得到综合评分(0-12 分)。

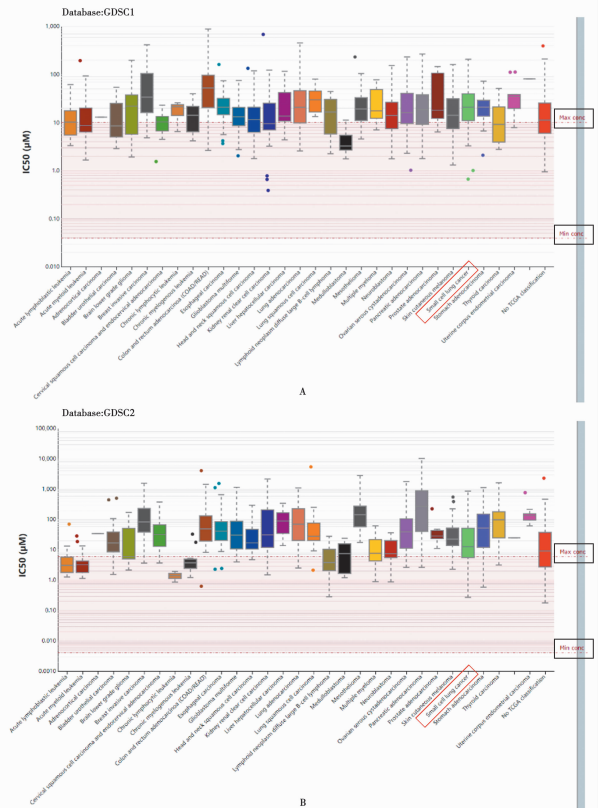
4 统计学分析

应用 SPSS 20.0 软件进行统计学数据分析,两组间比较符合正态分布时采用 *t* 检验,多组间均数比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1 SCLC 细胞系中 S100A16 启动子区甲基化水平及 mRNA 表达情况相关性分析

采用公共数据库(DepMap.org 网站: <https://www.cancerrxgene.org/>)分析常见恶性肿瘤对采用顺铂方案化疗后出现抗药性的数据(GDSC1 和 GDSC2 数据库),结果显示 (https://www.cancerrxgene.org/compound/Cisplatin/1005/by-tissue? tissue = PANCANCER&screening_set = GDSC2),SCLC 细胞株对化疗药物的 IC₅₀ 值超过了常用化疗药物顺铂的最大筛选浓度(10 μmol/L)(图 1),提示 SCLC 细胞易对化疗药物产生抵抗性,与临床目前小细胞肺癌的治疗现状相吻合。



A GDSC1 数据库分析的结果 B GDSC2 数据库分析的结果

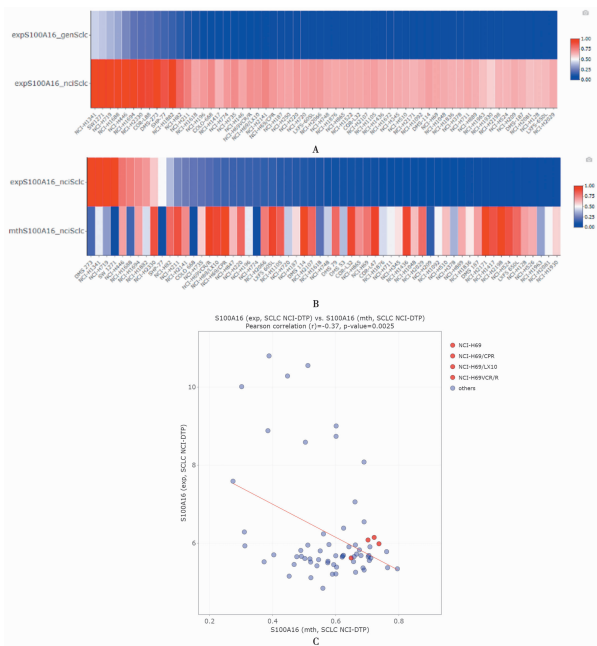
图 1 生物信息学公共数据库 (Depmap) 初步分析泛癌细胞系对顺铂的化疗耐药性

A The results of GDSC1 database analysis from Depmap B The results of GDSC2 database analysis from Depmap

Fig. 1 Preliminary analysis of chemotherapy resistance of pan-cancer cell lines to cisplatin using Depmap

进一步采用 SCLC-CellMiner 在线网站分析发现,与其他 SCLC 细胞株(SCLC Global)相比,S100A16 在持久耐药(Drug tolerant persister, DTP)

细胞株中相对高表达(图 2A), 而 DTP 细胞中 S100A16 启动子区甲基化水平与其 mRNA 表达水平在大多数细胞株中呈负相关(图 2B); 分析 DTP 细胞中 S100A16 启动子区甲基化水平与 mRNA 表达相关性时发现, 相对于 SCLC 细胞系 NCI-H69, 其化疗耐药株 NCI-H69/CPR(顺铂诱导的耐药株)、NCI-H69/LX10(阿霉素诱导的耐药株)、NCI-H69/VCR(长春新碱诱导的耐药株)中 S100A16 的表达均呈升高趋势, 三株细胞的 expS100A16-nciScIc 值分别为 6.15、6.08 和 5.99, 均高于其母系细胞 H69(5.62), 且甲基化水平与 mRNA 表达呈负相关(图 2C, $r = -0.37, P = 0.0025$)。



A S100A16 在 DTP 细胞中的差异表达情况 B DTP 细胞中 S100A16 启动子区甲基化水平与其 mRNA 表达水平的相关性分析 C DTP 细胞中 S100A16 启动子区甲基化水平与 mRNA 表达相关性分析

图 2 SCLC-CellMiner 在线分析 S100A16 在 DTP 细胞系中的相对表达及甲基化情况

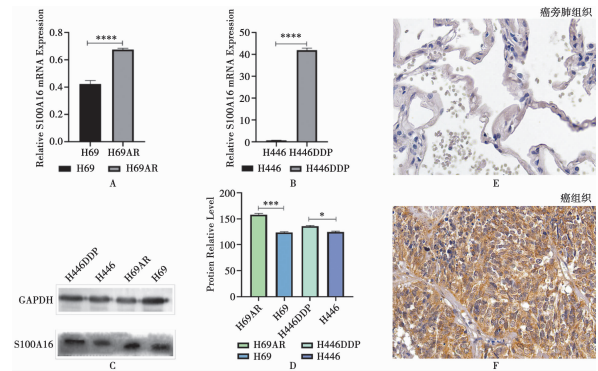
A Differential expression of S100A16 in DTP cells B Correlation analysis between the methylation level of S100A16 promoter region and its mRNA expression level in DTP cells C Correlation analysis between S100A16 promoter region methylation level and mRNA expression in DTP cells

Fig. 2 SCLC-CellMiner online analysis of the relative expression and methylation of S100A16 in DTP cell lines

2 S100A16 在 SCLC 细胞株及临床样本中的表达

为了验证上述在线分析的结果, 采用 RT-qPCR 和 Western blot 技术检测 SCLC 细胞株中 S100A16 的表达情况时发现, 相对于 SCLC 化疗敏感株(H69 和 H446), 化疗耐药株(H69AR 和 H446DDP)中 S100A16 mRNA 和蛋白的表达相对升高(图 3A-D); 进一步采用免疫组化技术分析 SCLC 及癌旁组织中

S100A16 蛋白的表达情况, 结果显示, 相对于癌旁肺组织(图 3E), S100A16 蛋白在癌组织中明显高表达(图 3F)。



A RT-qPCR 检测 H69 和 H69AR 细胞中 S100A16 的差异表达情况 B RT-qPCR 检测 H446 和 H446DDP 细胞中 S100A16 的差异表达情况 C、D Western blot 技术检测 4 株细胞中 S100A16 蛋白的表达情况 E、F 68 例 SCLC 癌旁及癌组织中 S100A16 蛋白表达差异(免疫组化二步法) * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 3 S100A16 在 SCLC 细胞株及组织中的表达

A RT-qPCR detection of differential expression of S100A16 in H69 and H69AR cells B RT-qPCR detection of differential expression of S100A16 in H446 and H446DDP cells C, D The detection of S100A16 expression in 4 cell lines by Western blot E, F The figure of 68 cases of SCLC and paraneoplastic tissues by immunohistochemical two-step method * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Fig. 3 Expression of S100A16 in SCLC cell lines and tissues

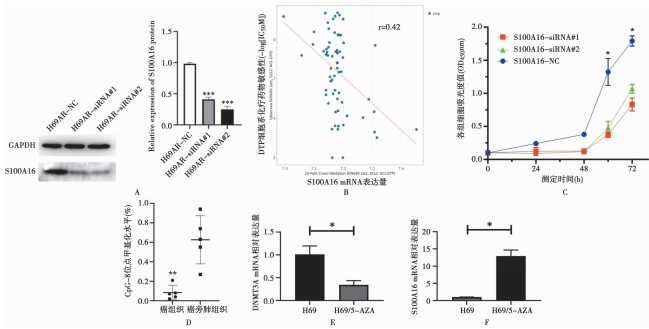
3 S100A16 在 SCLC 细胞增殖中的作用

采用 siRNA 技术下调 H69AR 细胞中 S100A16 的表达, 并用 Western blot 技术进行验证(图 4A, $F = 349.5, P < 0.001$), CCK-8 实验分析发现, 自细胞贴壁生长至 60 h 起, 与 NC 组相比, 下调细胞中 S100A16 的表达可抑制细胞增殖($P < 0.05$)(图 4C)。以上结果提示, S100A16 在 SCLC 中可能发挥促进细胞增殖的作用。

4 临床 SCLC 组织中 S100A16 启动子区 CpG-8 相对低甲基化

根据前人的研究报道, S100A16 的表达水平与其 DNA 甲基化水平存在负相关, CpG 位点 cg06552037 可能以多种模式影响 S100A16 的表达, S100A16 的甲基化会抑制基因表达并与患者良好预后相关, 提示基因 DNA 甲基化可能是影响肺腺癌中 S100A16 表达的重要机制^[12-14]。我们的研究中通过生物信息学分析发现, S100A16 对化疗药物拓扑替康的敏感性与其 mRNA 表达水平呈负相关(图 4B), 而其 mRNA 表达水平与 S100A16 启动子区甲基化水平亦呈负相关(图 2C, $P < 0.01$)。进一步采用 Mass-ARRAY 平台系统进行 S100A16 基因的甲基化位点检测验证上述结果发现, SCLC 组织中 S100A16 基因启动子区 CpG-8 位点的甲基化水平下降(图 4D, $P = 0.0015$)。采用去甲基化药物 5-aza-CdR 处理 SCLC 细胞发现, DNA 甲基

转移酶 DNMT3A 明显下降(图 4E, $P < 0.05$),而细胞内 S100A16 的表达相对显著升高(图 4F, $P < 0.01$)。以上结果提示,S100A16 启动子区甲基化下降可激活并增强 S100A16 在 SCLC 中的表达,而 S100A16 表达水平升高会导致肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性。



A Western blot 验证 RNAi 技术下调 H69AR 细胞中 S100A16 的效果($n=3$) B SCLC-CellMiner 在线分析 S100A16 对化疗药物拓扑替康的敏感性与其 mRNA 表达水平的相关性 C CCK-8 实验分析 S100A16 表达下降对细胞增殖的影响 D Mass-ARRAY 平台进行 S100A16 基因甲基化位点的检测结果 E 去甲基化药物 5-aza-CdR 处理细胞引起 DNMT3A 表达下降 F 去甲基化药物 5-aza-CdR 处理细胞引起 S100A16 mRNA 表达升高 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

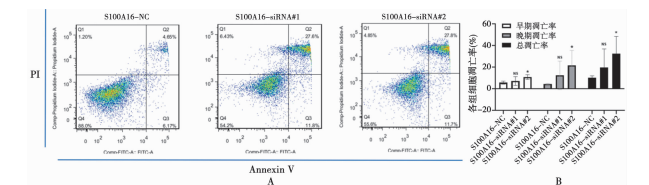
图 4 S100A16 在 SCLC 细胞增殖中的作用及其启动子区甲基化情况

A Western blot was used to verify the down regulation effect of RNAi technology on S100A16 in H69AR cells ($n=3$) B SCLC-CellMiner was used to analyze the correlation between S100A16's sensitivity to topotecan and its mRNA expression level C CCK-8 experiment was used to analyze the impact of S100A16's decreased expression on cell proliferation D The detection of S100A16 gene methylation sites on the Mass-ARRAY platform E An decrease of DNMT3A expression was shown in cells when treated with demethylating drug 5-aza-CdR F An increase in S100A16 mRNA expression in cells was shown when treated with demethylating drug 5-aza-CdR * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Fig. 4 The role of S100A16 in the proliferation of SCLC cells and the methylation status in its promoter region

5 S100A16 在化疗药物诱导的细胞凋亡中的作用

采用 RNAi 技术降低化疗耐药细胞(H69AR)中 S100A16 的表达,通过流式细胞术检测细胞凋亡率(利用化疗药物顺铂诱导细胞出现凋亡)发现,细胞的早期和晚期凋亡率均有增加趋势,其中 H69AR/S100A16-siRNA#2 组细胞与 NC 组间的差异具有统计学意义($P < 0.05$)(图 5)。



A 三组细胞凋亡的流式检测 B 三组细胞的凋亡率比较 * $P < 0.05$

图 5 流式细胞术分析 S100A16 在化疗药物诱导的细胞凋亡中的作用

A Flow cell apoptosis test results in the three groups B Comparison of apoptosis rates in the three groups * $P < 0.05$.

Fig. 5 Flow cytometry analysis of the role of S100A16 in chemotherapy-induced cell apoptosis

讨论

SCLC 是一种高级别神经内分泌肿瘤,大多数 SCLC 患者发现时已出现转移,预后较差。目前,联合应用铂类药物与依托泊苷仍是小细胞肺癌患者的一线化疗方案,然而大多数的 SCLC 患者在初始治疗后很快出现复发转移及化疗抵抗,中位生存时间只有 4 到 5 个月,因此克服化疗耐药性仍然是一个主要的临床挑战^[15]。越来越多的证据表明 DNA 甲基化与多种疾病的发生发展密切相关,包括癌症、心血管疾病和神经系统疾病等^[16]。有研究报道,铂类等一些化疗药物的使用可引起全基因组 DNA 甲基化异常,包括启动子区甲基化异常所导致的基因表达失调,而基因启动子区甲基化异常已在多种肿瘤中被证实与化疗耐药性密切相关^[17-20]。

作为 S100 蛋白家族的成员之一,S100A16 在大多数人类癌症中表达异常,通过调节各种信号通路蛋白参与肿瘤细胞的增殖、分化、迁移、侵袭和上皮-间充质转化(EMT)等恶性表型的发生发展^[21]。本研究前期经 SCLC-CellMiner 在线网站分析发现,S100A16 启动子区存在明显的 DNA 低甲基化修饰,且甲基化水平与其 mRNA 表达水平在大多数细胞中呈负相关;化疗药物诱导的耐药株中 S100A16 的表达均较高。但 S100A16 参与 SCLC 发生发展及耐药的机制尚不清楚。本文的研究结果显示,S100A16 启动子区低甲基化可能是造成 S100A16 在 SCLC 化疗耐药组织和细胞株中表达异常并抑制化疗药物诱导的细胞凋亡的原因之一。后续将开展延续性实验,进一步分析 S100A16 在动物实验中的致癌作用及耐药表型,从不同层次深入研究 S100A16 发挥作用的分子机制。

【参考文献】

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] Gazdar AF, Bunn PA, Minna JD, et al. Small-cell lung cancer: what we know, what we need to know and the path forward[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(12): 725-737.
- [3] George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer[J]. Nature, 2015, 524(7563): 47-53.
- [4] Hirsch FR, Hansen HH, Hansen M, et al. The superiority of combination chemotherapy including etoposide based on in vivo cell cycle analysis in the treatment of extensive small-cell lung cancer: a randomized trial of 288 consecutive patients[J]. J Clin Oncol, 1987, 5(4): 585-591.
- [5] Rudin CM, Poirier JT. Small-cell lung cancer in 2016: shining light on novel targets and therapies[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(2): 75-76.
- [6] Sun H, Zhao A, Li M, et al. Interaction of calcium binding protein S100A16 with myosin-9 promotes cytoskeleton reorganization in renal tubulointerstitial fibrosis[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2):

- 146.
- [7] Liu Y, Zhang R, Xin J, et al. Identification of S100A16 as a novel adipogenesis promoting factor in 3T3-L1 cells[J]. *Endocrinology*, 2011, 152(3):903-911.
- [8] Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G, et al. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 322(4):1111-1122.
- [9] Cheung HH, Lee TL, Rennert OM, et al. DNA methylation of cancer genome[J]. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 2009, 87(4):335-350.
- [10] Tlemsani C, Pongor L, Elloumi F, et al. SCLC-CellMiner: A Resource for Small Cell Lung Cancer Cell Line Genomics and Pharmacology Based on Genomic Signatures [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(3):108296.
- [11] Megyesfalvi Z, Gay CM, Popper H, et al. Clinical insights into small cell lung cancer: Tumor heterogeneity, diagnosis, therapy, and future directions[J]. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73(6):620-652.
- [12] Zhu J, Wang M, Hu D. Identification of Prognostic Immune-Related Genes by Integrating mRNA Expression and Methylation in Lung Adenocarcinoma[J]. *International journal of genomics*, 2020, 2020:9548632.
- [13] Saito K, Kobayashi M, Nagashio R, et al. S100A16 is a prognostic marker for lung adenocarcinomas[J]. *Asian Pacific journal of cancer prevention*, 2015, 16(16):7039-7044.
- [14] Katono K, Sato Y, Kobayashi M, et al. S100A16, a promising candidate as a prognostic marker for platinum-based adjuvant chemotherapy in resected lung adenocarcinoma [J]. *OncoTargets and therapy*, 2017, 10:5273-5279.
- [15] Krushkal J, Silvers T, Reinhold WC, et al. Epigenome-wide DNA methylation analysis of small cell lung cancer cell lines suggests potential chemotherapy targets[J]. *Clin Epigenetics*, 2020, 12(1):93.
- [16] Moore LD, Le T, Fan G, et al. DNA methylation and its basic function[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(1):23-38.
- [17] Chen CC, Lee KD, Pai MY, et al. Changes in DNA methylation are associated with the development of drug resistance in cervical cancer cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2015, 15:98.
- [18] Baker EK, El-Osta A. The rise of DNA methylation and the importance of chromatin on multidrug resistance in cancer[J]. *Exp. Cell Res*, 2003, 290(2):177-194.
- [19] Balko JM, Cook RS, Vaught DB, et al. Profiling of residual breast cancers after neoadjuvant chemotherapy identifies DUSP4 deficiency as a mechanism of drug resistance[J]. *Nat. Med*, 2012, 18(7):1052-1059.
- [20] Watanabe Y, Ueda H, Etoh T, et al. A change in promoter methylation of hMLH1 is a cause of acquired resistance to platinum-based chemotherapy in epithelial ovarian cancer[J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(3B):1449-1452.
- [21] Basnet S, Vallenari EM, Maharjan U, et al. An Update on S100A16 in Human Cancer [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(7):1070.

【收稿日期】 2023-12-25 【修回日期】 2024-03-16

(上接 527 页)

【参考文献】

- [1] 李金凤. CDFI 在乳腺导管扩张症与乳腺癌中的鉴别诊断价值 [J]. *中国超声医学杂志*, 2020, 36(1):21-24.
- [2] 高泽俊, 樊凤英, 汪冬艳, 等. 抗生素联合双氯芬酸钠对乳腺导管扩张症肿块期的疗效 [J]. *江苏医药*, 2020(3):232-234.
- [3] 孙萍, 史晓光, 周柯鑫, 等. 乳宁颗粒在肿块期肝郁痰凝型乳腺导管扩张症中的应用 [J]. *中国医师杂志*, 2021, 23(12):1876-1878.
- [4] 姚响芸, 黄九平, 杨若琳, 等. 乳腺导管内乳头状瘤合并非典型病变的声像图特征 [J]. *中国超声医学杂志*, 2022, 38(4):394-397.
- [5] 王玉敏, 王芳, 红华, 等. 超声造影在乳腺导管扩张性病变中应用价值 [J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2021, 35(2):189-193.
- [6] 邢孔丽, 薛文丹, 曾晶, 等. 乳腺导管扩张积乳合并感染的病原学和药敏试验及超声图像特征分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018(6):900-903.
- [7] 闫星, 王芳. 超声弹性成像对浆细胞性乳腺炎的研究进展 [J]. *内蒙古医学杂志*, 2023, 55(3):318-320.
- [8] Sinno DD, Faytrouni F, Berjawi G, et al. Recurring mammary ductal ectasia in children: Case report [J]. *JPediatric Surgery Case Rep*, 2017, 16:12-14.
- [9] 李海燕, 陈慧, 刘颖. 乳腺癌患者术后切口感染的病原菌特征及其危险因素分析 [J]. *华南预防医学*, 2023, 49(4):521-524.
- [10] 李鸥鹏, 杜新峰, 刘平贤, 等. 乳腺癌术后切口感染病原菌及其影响因素 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(20):3128-3131.
- [11] 杨依洁, 田艳红, 蔡兴娟, 等. 超声诊疗浆细胞性乳腺炎研究进展 [J]. *中国医学影像技术*, 2023, 39(4):610-613.
- [12] 张慧, 王砾聪, 周凤英. 超声弹性应变率对浆细胞性乳腺炎与乳腺癌鉴别诊断价值 [J]. *中国超声医学杂志*, 2016, 32(10):874-876.
- [13] Ulum A, Ivanac G, Divjak E, et al. Elastic Modulus and elasticity ratio of malignant breast lesions with shear wave ultrasound elastography: variations with different region of interest and lesion size [J]. *Diagnostics*, 2021, 11(6):10-15.
- [14] 唐岩, 徐甜甜, 宋樟伟. 超声联合实时组织弹性成像在浆细胞性乳腺炎诊断中的应用价值 [J]. *医学影像学杂志*, 2022, 32(1):51-5380.
- [15] 魏均羽, 李建华, 徐哲婷. 超声弹性成像及彩色多普勒血流成像在乳腺非肿块型病变诊断中的应用价值 [J]. *微创医学*, 2022, 17(6):754-758.

【收稿日期】 2023-12-20 【修回日期】 2024-03-10