

• 论 著 •

MFAP5 在非小细胞肺癌组织中的表达情况及其对癌细胞增殖和转移的影响^{*}

王玉环, 马 进, 巴 图[△]

新疆维吾尔自治区人民医院病理科, 新疆乌鲁木齐 830001

摘 要:目的 探讨 MFAP5 在非小细胞肺癌(NSCLC)疾病进展中的作用。方法 收集 NSCLC 患者的癌组织及其对应的癌旁组织各 87 例,免疫组化检测组织中 MFAP5 表达。体外培养人 NSCLC 细胞 A549 和人正常肺上皮细胞 BEAS-2B,检测两种细胞中 MFAP5 的表达水平。进一步用慢病毒液感染部分 A549 细胞,分为 sh-NC 组和 sh-MFAP5 组,不进行病毒感染操作的 A549 细胞作为空白对照组,检测敲低 MFAP5 后对 NSCLC 细胞的影响。实时荧光定量反转录 PCR(qRT-PCR)检测细胞 MFAP5 mRNA 表达;Western blot 检测细胞 MFAP5、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)和波形蛋白(Vimentin)蛋白表达;CCK-8 检测细胞活力;克隆形成实验检测细胞增殖;细胞划痕实验检测细胞迁移;Transwell 实验检测细胞侵袭。结果 与癌旁组织相比,NSCLC 组织中 MFAP5 IHC 评分和 MFAP5 高表达率明显升高($P<0.05$)。NSCLC 组织中 MFAP5 表达水平与患者淋巴结转移、TNM 分期有关($P<0.05$),而与患者年龄、性别、吸烟史和组织学类型无关($P>0.05$)。与 BEAS-2B 细胞相比,A549 细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达明显升高($P<0.05$)。与空白对照组相比,sh-NC 组细胞中各指标差异无统计学意义($P>0.05$);与 sh-NC 组相比,sh-MFAP5 组细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达以及细胞活力、增殖能力、划痕愈合率和侵袭细胞数明显降低($P<0.05$),N-cadherin 和 Vimentin 表达明显降低($P<0.05$),E-cadherin 表达明显升高($P<0.05$)。结论 MFAP5 在 NSCLC 组织中高表达,与 NSCLC 淋巴结转移、TNM 分期有关,参与调控 NSCLC 细胞增殖和转移。

关键词:非小细胞肺癌; 微纤维相关蛋白 5; 增殖; 转移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.07.001

中图法分类号:R446.8

文章编号:1673-4130(2022)07-0769-07

文献标志码:A

Expression and significance of MFAP5 in non-small cell lung cancer and its effect on cancer cell proliferation and metastasis^{*}

WANG Yuhuan, MA Jin, BA Tu[△]

Department of Pathology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830001, China

Abstract: **Objective** To explore the role of microfibril-associated protein 5(MFAP5) in the progression of non-small cell lung cancer(NSCLC). **Methods** A total of 87 cases of cancerous tissues and corresponding adjacent tissues of NSCLC patients were collected. Immunohistochemistry was used to detect the expression of MFAP5, N-cadherin, E-cadherin, Vimentin in the tissues. The human non-small cell lung cancer cells A549 and human normal lung epithelial cells BEAS-2B were cultured in vitro and the expression level of MFAP5 in the two types of cells were detected. Further, some A549 cells were infected with lentivirus solution and divided into sh-NC group and sh-MFAP5 group to detect the effect of knockdown of MFAP5 on NSCLC cells. qRT-PCR was used to detect the expression of MFAP5 mRNA in cells. Western blot was used to detect the expression of MFAP5 N-cadherin, E-cadherin, Vimentin protein in cells. CCK-8 was used to detect cell viability. The formation test was used to detect cell proliferation, the cell scratch test was used to detect the migration of cells, the Transwell test was used to detect the invasion of cells. **Results** Compared with tissues adjacent to cancer, the MFAP5 IHC score and the high expression rate of MFAP5 in NSCLC tissues were significantly higher($P<0.05$). The expression level of MFAP5 in NSCLC tissue was related to lymph node metastasis and

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81760014);新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2018D01C133)。

作者简介:王玉环,女,主治医师,主要从事呼吸系统疾病病理方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:2844414062@qq.com。

本文引用格式:王玉环,马进,巴图. MFAP5 在非小细胞肺癌组织中的表达情况及其对癌细胞增殖和转移的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(7):769-774.

TNM staging ($P < 0.05$), but not related to the patients' age, gender, smoking history and histological type ($P > 0.05$). Compared with the BEAS-2B cells, the expression of MFAP5 mRNA and protein in the A549 cells was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, there was no statistically significant difference in the indicators in the sh-NC group ($P > 0.05$). Compared with the sh-NC group, the expression of MFAP5 mRNA and protein, cell viability, proliferation capacity, scratch healing rate, and number of invasive cells in the sh-MFAP5 group were significantly reduced ($P < 0.05$), and the expression of N-cadherin and Vimentin proteins significant decreased ($P < 0.05$), the expression of E-cadherin protein was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** MFAP5 is highly expressed in NSCLC tissues, which is related to NSCLC lymph node metastasis and TNM staging, and participates in regulating the proliferation and metastasis of NSCLC cells.

Key words: non-small cell lung cancer; microfibril-associated protein 5; proliferation; metastasis

2018 年流行病学数据显示,肺癌在中国所有恶性肿瘤中发病率最高,每年新发病例约 78.1 万例^[1]。肺癌中非小细胞肺癌(NSCLC)最为常见。NSCLC 的组织学类型包括腺癌、鳞癌和大细胞癌^[2]。近年来,包括靶向治疗在内的新兴治疗方法为 NSCLC 的治疗带来较理想的效果^[3]。因此,开发新的治疗靶点对于改善 NSCLC 疾病现状具有重要意义。微纤维相关蛋白 5(MFAP5)是一种多功能分泌蛋白,在弹性微纤维整合、细胞行为调控和细胞存活中发挥重要作用^[4]。研究表明,MFAP5 可作为肝内胆管细胞癌诊断和预后的生物标志物,MFAP5 表达上调是侵袭性肝内胆管细胞癌患者组织的共同特征^[5]。此外,已有相关研究表明,MFAP5 的过度表达与头颈鳞癌淋巴结转移和预后差有关,MFAP5 促进缺氧诱导的头颈鳞癌迁移、侵袭和上皮-间充质转化(EMT),MFAP5 是一个较为理想的头颈鳞癌治疗靶点^[6]。目前,关于 MFAP5 在 NSCLC 中的作用还尚不明确。因此,本研究旨在探讨 MFAP5 与 NSCLC 疾病进展的关系及其对癌细胞的影响,以期为研究新的 NSCLC 临床治疗靶点提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 4 月至 2019 年 8 月于本院经外科手术切除的 NSCLC 患者的癌组织及其对应的癌旁组织各 87 例。患者年龄 41~84 岁,平均 (62.71±13.00) 岁,中位年龄 62 岁;病理类型:腺癌 44 例,鳞癌 38 例,其他 5 例;TNM 分期:I 期 8 例,II 期 21 例,III 期 26 例,IV 期 32 例。纳入标准:术前未接受过放化疗等辅助治疗;具有完整的临床病理资料;未合并其他肿瘤;无自身免疫系统疾病;无重要器官严重衰竭或功能不全。本研究经本院伦理委员会审核、批准(伦理批号:20170124015),所有患者或其家属均签署知情同意书。

1.2 细胞和试剂 人 NSCLC 细胞 A549 和人正常肺上皮细胞 BEAS-2B(中国科学院细胞库);MFAP5、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)和 GAPDH 抗体(武

汉三鹰生物技术有限公司);sh-NC 和 sh-MFAP5 慢病毒液(上海吉满生物科技有限公司);AceQ qPCR SYBR Green Master Mix (Q111-02/03) 和 CCK-8 (A311-01)购自南京诺唯赞生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化 NSCLC 组织及其对应的癌旁组织用 4%多聚甲醛固定 72 h 后,梯度乙醇脱水,二甲苯透明。石蜡包埋、切片。切片脱蜡至水,经抗原修复、封闭后,添加 MFAP5 抗体(1:100)4℃过夜孵育。二抗(1:500)37℃孵育 1 h。DAB 显色,苏木精复染,1%盐酸乙醇溶液分化。切片常规脱水、透明,中性树胶封片,光学显微镜观察分析。参考文献[7],根据染色细胞数目和染色程度对免疫组化结果进行评分。其中,0~4 分为低表达,5~12 分为高表达。

1.3.2 细胞分组及慢病毒感染 A549 和 BEAS-2B 细胞用含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中静置培养。待细胞密度达到 80%~90%时,胰酶液消化细胞,将部分 A549 细胞接种于 6 孔板(1×10^6 个/孔)培养 24 h 后,用 sh-NC 和 sh-MFAP5 慢病毒液(MOI=20)分别感染 A549 细胞,并在感染 48 h 后,更换含有嘌呤霉素(2 μg/mL)的培养基筛选培养 72 h,分别作为 sh-NC 组及 sh-MFAP5 组;不进行病毒感染操作的 A549 细胞作为空白对照组,BEAS-2B 细胞不进行感染操作。

1.3.3 实时荧光定量反转录 PCR(qRT-PCR)检测 收集 A549 空白对照组、BEAS-2B 组、sh-NC 组及 sh-MFAP5 组细胞,Trizol 试剂提取细胞总 RNA。将 RNA 反转录为 cDNA,并按照 AceQ qPCR SYBR Green Master Mix 说明书所示,进行 qRT-PCR。反应程序:95℃、5 min;95℃、10 s,60℃、30 s,40 个循环;95℃、15 s,60℃、60 s,95℃、15 s。以 GAPDH 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 MFAP5 mRNA 表达。MFAP5 正向引物:5'-GCC AGC CAA AGT AGG AAC AG -3';MFAP5 反向引物:5'-AGC AAG AAA CAG CAG CAC CT -3';GAPDH 正向引物:5'-GGT CAC CAG GGC TGC TTT TA -3';GAPDH 反向引

物:5'-GGA TCT CGC TCC TGG AAG ATG-3'。

1.3.4 Western blot 检测 收集空白对照组、sh-NC 组及 sh-MFAP5 组 A549 细胞和 BEAS-2B 细胞,裂解液裂解细胞,收集上清液并测定其蛋白浓度。各取 30 μg 蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳,分离后的蛋白转至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。5%脱脂奶粉室温条件下封闭 3 h,加入 MFAP5(1 : 2 000)、N-cadherin(1 : 1 000)、E-cadherin(1 : 1 000)、Vimentin(1 : 1 000)和 GAP-DH(1 : 2 000)抗体稀释液,4 ℃条件下孵育过夜。加入二抗(1 : 5 000),室温条件下孵育 1 h。滴加 ECL 发光液,凝胶成像系统检测蛋白条带,Image J 软件分析各蛋白条带的灰度值。

1.3.5 CCK-8 检测 将处于对数生长期的空白对照组、sh-NC 组及 sh-MFAP5 组细胞接种于 96 孔板中(5×10³ 个/孔)。细胞继续培养 24、48 和 72 h 后,参照 CCK-8 说明书,检测各孔在 450 nm 处的吸光度(A₄₅₀)值。

1.3.6 克隆形成试验 将对处于对数生长期的空白对照组、sh-NC 组及 sh-MFAP5 组细胞均匀接种于培养皿中,每皿接种 300 个细胞。细胞置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中连续培养 2 周。4%多聚甲醛室温固定细胞 15 min。吉姆萨染色液染色 10 min 后,流水冲洗,空气干燥。肉眼直接计数克隆数。

1.3.7 细胞划痕试验 将处于对数生长期的空白对照组、sh-NC 组及 sh-MFAP5 组细胞接种于 6 孔板中(5×10⁵ 个/孔)。24 h 后,将枪头垂直于 6 孔板,沿着直尺进行划痕。细胞经 PBS 清洗后,加入无血清培养基。细胞继续培养 24 h 后拍照,Image J 软件分析细胞划痕愈合率。

1.3.8 Transwell 试验 将空白对照组、sh-NC 组及 sh-MFAP5 组细胞接种于提前铺有 Matrigel 的 Transwell 上室(5×10⁴ 个/孔)。将 600 μL 含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基加至下室,细胞继续培养 24 h。24 h 后,取出小室,4%多聚甲醛固定 15 min,加入结晶紫染色液染色 15 min。显微镜观察细胞侵袭情况。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件统计分析数据。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据间的比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,两组间比较采用 *t* 检验。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NSCLC 组织及其癌旁组织中 MFAP5 的表达 与癌旁组织相比,NSCLC 组织中 MFAP5 免疫组化评分明显升高,差异有统计学意义(*t* = 11.238, *P* < 0.001),MFAP5 高表达率差异有统计学意义(χ^2 = 37.286, *P* < 0.001)。见图 1 和表 1。

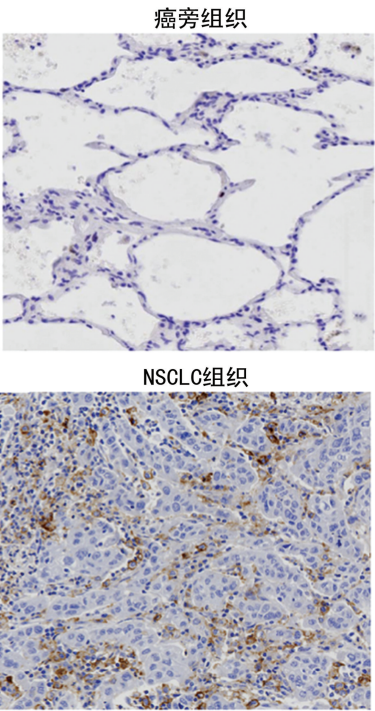


图 1 免疫组化检测 NSCLC 组织及其癌旁组织中 MFAP5 的表达(×100)

表 1 NSCLC 组织及其癌旁组织中 MFAP5 表达的比较

组别	<i>n</i>	免疫组化评分($\bar{x} \pm s$,分)	MFAP5 高表达[<i>n</i> (%)]
癌旁组织	87	2.90±1.31	6(6.90)
NSCLC 组织	87	7.15±2.94*	45(51.72)*

注:与癌旁组织比较,**P* < 0.05。

2.2 MFAP5 与 NSCLC 临床病理特征的关系 NSCLC 组织中 MFAP5 表达水平与患者淋巴结转移、TNM 分期有关(*P* < 0.05),而与患者年龄、性别、吸烟史和组织学类型无关(*P* > 0.05)。见表 2。

表 2 NSCLC 组织中 MFAP5 表达水平与 NSCLC 临床病理特征的关系(*n*)

临床病理特征	<i>n</i>	低表达	高表达	χ^2	<i>P</i>
年龄				0.018	0.894
≤60 岁	40	19	21		
>60 岁	47	23	24		
性别				0.989	0.320
男	47	25	22		
女	40	17	23		
吸烟史				0.066	0.797
有	53	25	28		
无	34	17	17		
淋巴结转移				7.533	0.006
是	38	12	26		
否	49	30	19		
TNM 分期				13.257	<0.001

续表 2 NSCLC 组织中 MFAP5 表达水平与 NSCLC 临床病理特征的关系(*n*)

临床病理特征	<i>n</i>	低表达	高表达	χ^2	<i>P</i>
I ~ II	29	22	7	0.420	0.517
III ~ IV	58	20	38		
组织学类型					
腺癌	44	21	23		
鳞状细胞癌	38	19	19		
其他	5	2	3		

2.3 A549 和 BEAS-2B 细胞中 MFAP5 的表达 与人正常肺上皮细胞 BEAS-2B 细胞相比, NSCLC 上皮细胞 A549 细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 2、表 3。

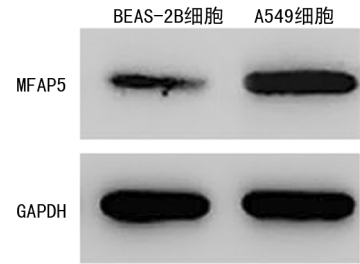


图 2 Western blot 检测细胞中 MFAP5 蛋白表达

2.4 敲低 MFAP5 对 NSCLC 细胞增殖的影响 与空白对照组相比, sh-NC 组细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达、细胞活力和克隆形成数, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 与 sh-NC 组相比, sh-MFAP5 组细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达、细胞活力和增殖能力明显降低, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图

3、4、表 4、5。

表 3 两组细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达的比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

细胞系	MFAP5 mRNA 表达	MFAP5 蛋白表达
BEAS-2B	1.00±0.05	0.37±0.02
A549	3.34±0.31*	1.12±0.10*

注: 与 BEAS-2B 组比较, * $P<0.05$ 。

表 4 各组细胞中 MFAP5 mRNA 和蛋白表达的比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	MFAP5 mRNA 表达	MFAP5 蛋白表达
空白对照组	1.00±0.04	1.34±0.09
sh-NC 组	0.99±0.06	1.35±0.08
sh-MFAP5 组	0.24±0.02*	0.21±0.01*

注: 与 sh-NC 组比较, * $P<0.05$ 。

2.5 敲低 MFAP5 对 NSCLC 细胞迁移和侵袭的影响 与 A549 空白对照组相比, sh-NC 组细胞划痕愈合率和侵袭细胞数差异无统计学意义($P>0.05$); 与 sh-NC 组相比, 敲低 MFAP5 后的 sh-MFAP5 组细胞划痕愈合率和侵袭细胞数明显降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 5、6 和表 6。

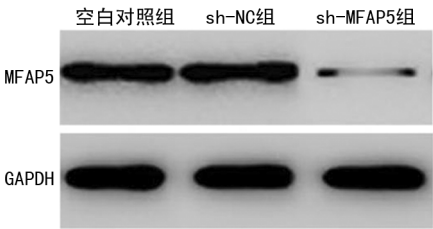


图 3 Western blot 检测细胞中 MFAP5 蛋白表达

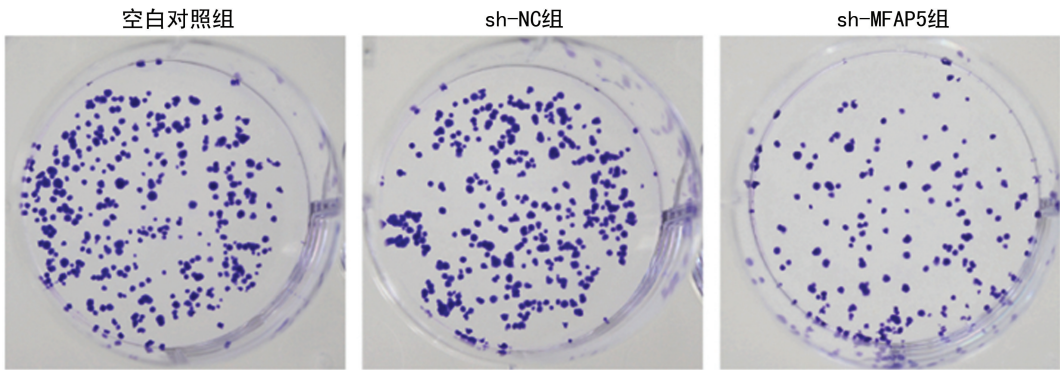


图 4 克隆形成试验检测细胞增殖能力

表 5 各组细胞活力和增殖能力的比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	A_{450}			克隆形成数(个)
	24 h	48 h	72 h	
空白对照组	0.47±0.01	0.79±0.05	1.23±0.09	189.33±13.50
sh-NC 组	0.45±0.03	0.76±0.06	1.21±0.10	197.33±12.66
sh-MFAP5 组	0.36±0.02*	0.52±0.03*	0.77±0.06*	114.67±10.02*

注: 与 sh-NC 组比较, * $P<0.05$ 。

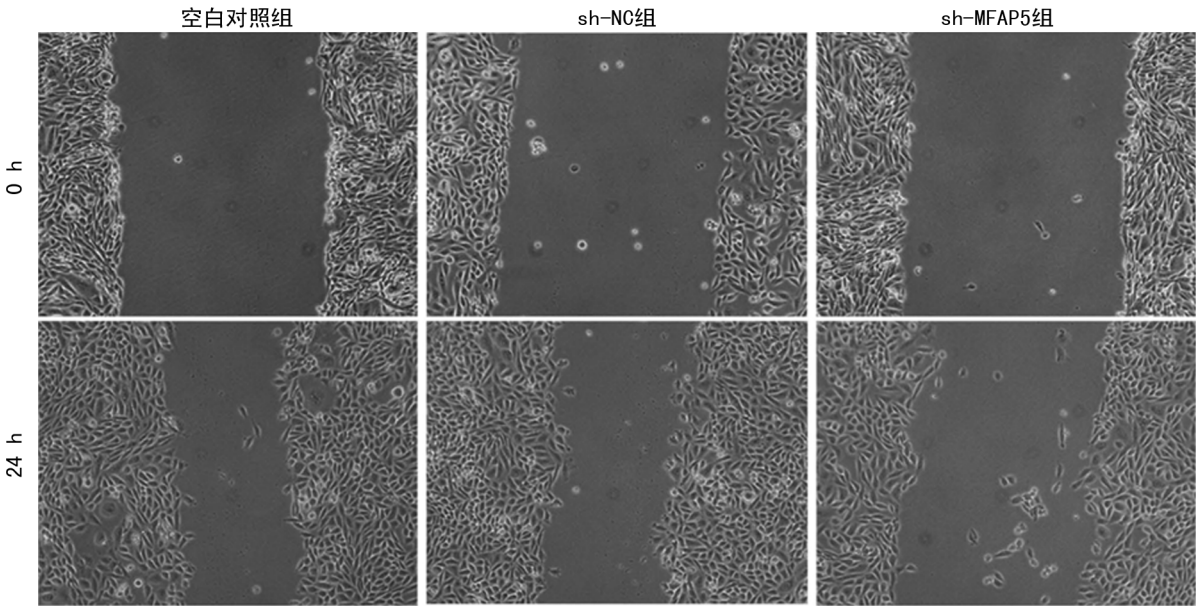


图 5 细胞划痕试验检测细胞迁移能力(×100)

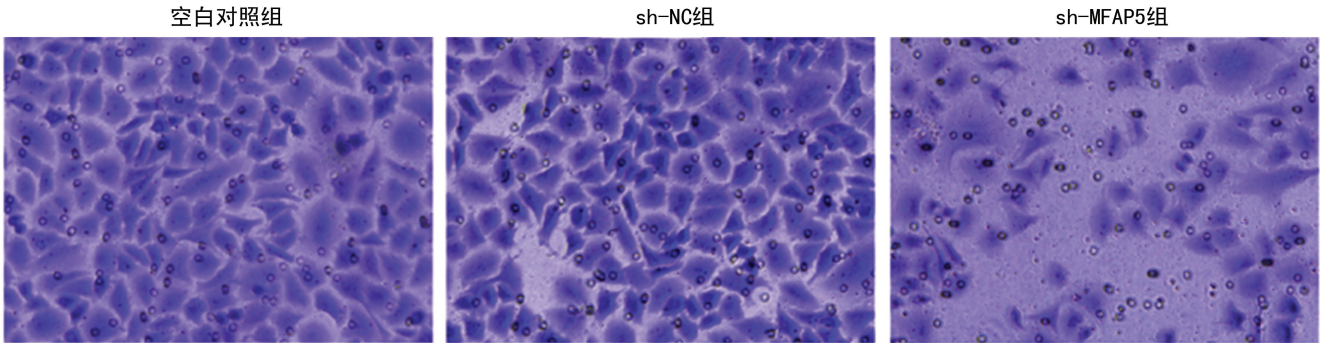


图 6 Transwell 实验检测细胞侵袭能力(×200)

表 6 各组细胞迁移和侵袭能力的比较($\bar{x} \pm s, n=3$)		
组别	划痕愈合率(%)	侵袭细胞数(个)
空白对照组	49.34±2.88	203.33±13.58
sh-NC 组	50.41±3.04	199.67±16.04
sh-MFAP5 组	12.50±1.06*	63.00±5.00*

注:与 sh-NC 组比较, * $P<0.05$ 。

2.6 敲低 MFAP5 对 NSCLC 细胞 EMT 的影响 与空白对照组相比, sh-NC 组细胞 N-cadherin、E-cadherin 和 Vimentin 表达差异无统计学意义($P>0.05$);与 sh-NC 组相比, sh-MFAP5 组细胞 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达明显降低, E-cadherin 蛋白表达明显升高, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 7、表 7。

表 7 各组细胞中 N-cadherin、E-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s, n=3$)			
组别	N-cadherin 蛋白表达	E-cadherin 蛋白表达	Vimentin 蛋白表达
空白对照组	1.24±0.10	0.21±0.01	0.88±0.06
sh-NC 组	1.25±0.08	0.22±0.01	0.87±0.04
sh-MFAP5 组	0.41±0.02*	1.06±0.08*	0.20±0.01*

注:与 sh-NC 组比较, * $P<0.05$ 。

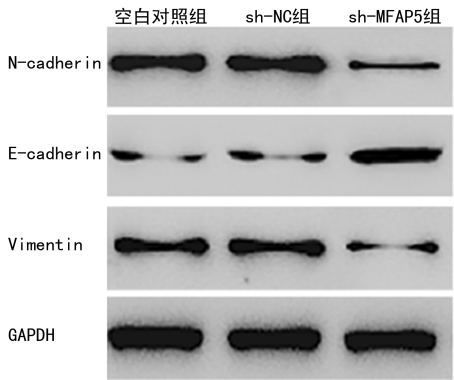


图 7 Western blot 检测细胞中 N-cadherin、E-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达

3 讨 论

虽然近年来诊断技术和治疗方法有了实质性的进步,但是 NSCLC 患者的 5 年相对存活率仍约为 15%^[8]。此外,早期诊断 NSCLC 仍然是一个较大的挑战。大多数 NSCLC 患者被诊断为中晚期^[9]。靶向治疗已成为 NSCLC 患者疾病管理的重要手段。新的分子靶点的发现,如 microRNAs,表皮生长因子受体和 erb-b2 受体酪氨酸激酶 3 等,促使新的治疗方法的发展。靶向治疗可能最终改变肺癌的治疗模式,为治

疗选择有限的患者带来希望^[10]。因此,有必要进一步研究 NSCLC 的病因,确定与其相关的确切发病机制,这可能有助于开发独特的诊断生物标志物和治疗靶点。

MFAP5 基因是在人类癌症中广泛表达的基因之一,参与多种癌症进展。在舌鳞状细胞癌中, MFAP5 的过度表达与颈中央区淋巴结转移、无转移复发生存率和总生存率相关,提示 MFAP5 可能是预测口腔舌癌颈淋巴结转移和预后的潜在指标^[11]。在乳腺癌中, MFAP5 的高表达与肿瘤晚期、高级别肿瘤、淋巴结转移、较低的 3 年无复发生存率和较低的 3 年总生存率相关, MFAP5 是一种新的乳腺癌预后生物标志物,是乳腺癌的潜在治疗靶点^[12]。WEI 等^[13]发现 MFAP5 在结直肠癌样本和细胞中表达上调。MFAP5 的上调与结直肠癌患者的 Dukes 分期、分化状态和局部淋巴结转移等临床病理特征有关。目前,关于 MFAP5 与 NSCLC 疾病进展的关系尚不明确。本研究结果显示,与癌旁组织相比, NSCLC 组织中 MFAP5 免疫组化评分明显升高;与人正常肺上皮细胞 BEAS-2B 相比,上皮细胞 A549 的 MFAP5 表达量明显上升。通过进一步分析发现, MFAP5 的高表达与患者淋巴结转移和 TNM 分期有关,而与患者年龄、性别、吸烟史和组织学类型无关。该结果表明, MFAP5 与 NSCLC 疾病进展密切相关,可能是 NSCLC 的潜在治疗靶点。

EMT 是一个动态的、高度调控的过程,发生在胚胎发生和肿瘤进展过程中,赋予上皮细胞运动性、干性和治疗抵抗力。EMT 仍然是癌症治疗的一个有吸引力的靶点^[14]。潜在的抗 EMT 策略可能包括逆转 EMT、直接靶向表达 EMT 的细胞,或者诱导 EMT 细胞转分化为无害的细胞类型^[15]。目前,已有研究表明, MFAP5 在人类宫颈癌组织和细胞系中过度表达。抑制宫颈癌细胞中的 MFAP5 通过调节 EMT 相关信号通路,显著降低细胞的增殖、迁移和侵袭,从而发挥抗肿瘤作用^[16]。N-cadherin、E-cadherin 和 Vimentin 是重要的 EMT 标志物。MFAP5 是膀胱癌发生发展的重要致癌基因,与患者生存率低有关。MFAP5 的下调可抑制膀胱癌细胞增殖和侵袭^[17]。同样的, CHEN 等^[18]的研究结果显示, MFAP5 通过激活 Notch1 信号通路,从而促进乳腺癌细胞的迁移和侵袭。鉴于 MFAP5 可能为 NSCLC 的潜在治疗靶点,本研究敲低 MFAP5 在 NSCLC 上皮细胞 A549 中的表达,结果显示,与 sh-NC 组相比, sh-MFAP5 组细胞 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达明显降低, E-cadherin 蛋白表达明显升高。CCK-8 检测、克隆形成试验、细胞划痕试验及 Transwell 试验进一步验证,敲低 MFAP5 可抑制 NSCLC 细胞增殖、迁移、侵袭和 EMT。该研究结果表明, MFAP5 是 NSCLC 进展中

的重要致癌基因。

综上所述,本研究结果表明, NSCLC 组织中 MFAP5 的高表达与疾病进展密切相关,敲低 MFAP5 可发挥明显的抗肿瘤作用。该研究结果为明确 NSCLC 发病机制及开发新的治疗靶点提供了新的科学资料。MFAP5 在 NSCLC 中的具体作用机制值得进一步研究。

参考文献

- [1] WEI S, TIAN J, SONG X, et al. Causes of death and competing risk analysis of the associated factors for non-small cell lung cancer using the surveillance, epidemiology, and end results database[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2018, 144(1):145-155.
- [2] BARTA J A, POWELL C A, WISNIVESKY J P. Global epidemiology of lung cancer[J]. Ann Glob Health, 2019, 85(1):8-19.
- [3] OSMANI L, ASKIN F, GABRIELSON E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma(NSCLC): moving from targeted therapy to immunotherapy[J]. Semin Cancer Biol, 2018, 52(Pt 1):103-109.
- [4] ZHU S, YE L, BENNETT S, et al. Molecular structure and function of microfibrillar-associated proteins in skeletal and metabolic disorders and cancers[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(1):41-48.
- [5] LI J H, ZHU X X, LI F X, et al. MFAP5 facilitates the aggressiveness of intrahepatic Cholangiocarcinoma by activating the Notch1 signaling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):476-489.
- [6] XU Q, CHANG H, TIAN X, et al. Hypoxia-induced MFAP5 promotes tumor migration and invasion via AKT pathway in head and neck squamous cell carcinoma[J]. J Cancer, 2020, 11(6):1596-1605.
- [7] MARWA M D, DALIA A, ASMAA G A, et al. Immunohistochemical Expression of Microfibrillar-associated Protein 5(MFAP5) in Invasive Breast Carcinoma of No Special Type[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2019, 27(9):649-657.
- [8] SABOUR S. Prediction of post-operative morbidity and mortality in patients with lung cancer: methodological issues[J]. Lung, 2018, 196(5):499-500.
- [9] LATIMER K M. Lung cancer: clinical presentation and diagnosis[J]. FP Essent, 2018, 464(3):23-26.
- [10] YUAN M, HUANG L L, CHEN J H, et al. The emerging treatment landscape of targeted therapy in non-small-cell lung cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2019, 4(4):61-70.
- [11] YANG X, WU K, LI S, et al. MFAP5 (下转第 780 页)

spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* sequence type 131[J]. *Antimicrob Resist Infect Control*, 2020, 9(1):34.

[12] 胡紫媛,夏婧. 昆虫肠道菌群组学研究及功能和应用进展[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(1):102-112.

[13] 牛尚博,蔡嘉裕,韦金涛,等. 人体肠道细菌的培养组学研究进展[J]. *生态科学*, 2020, 39(2):227-232.

[14] GAZZONI ARAUJO GONCALVES G, FEITOSA A P S, PORTELA-JUNIOR N C, et al. Use of MALDI-TOF MS to identify the culturable midgut microbiota of laboratory and wild mosquitoes[J]. *Acta Trop*, 2019, 200: 105174.

[15] LUO Y, SIU G K H, YEUNG A S F, et al. Performance of the VITEK MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for rapid bacterial identification in two diagnostic centres in China[J]. *J Med Microbiol*, 2015, 64(Pt 1):18-24.

[16] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; M100 [S]. 31st Ed. Wayne, PA: CLSI, 2021.

[17] TSUCHIDA S, UMEMURA H, NAKAYAMA T. Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology[J]. *Molecules*, 2020, 25(20):4775.

[18] MARKO D C, SAFFERT R T, CUNNINGHAM S A, et al. Evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of nonfermenting Gram-negative bacilli isolated from cultures from cystic fibrosis patients[J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(6):2034-2039.

[19] LEE H S, SHIN J H, CHOI M J, et al. Comparison of the Bruker Biotyper and VITEK MS matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry systems using a formic acid extraction method to identify common and uncommon yeast isolates[J]. *Ann Lab Med*, 2017, 37(3):223-230.

[20] GEIDER K, AULING G, DU Z, et al. *Erwinia tasmanien-sis* sp. nov., a non-phytopathogenic bacterium from apple and pear trees[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006, 56(Pt 12):2937-2943.

[21] GAO C, HAN J, LIU Z, et al. *Paenibacillus bovis* sp. nov., isolated from raw yak (*Bos grunniens*) milk[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2016, 66(3):1413-1418.

[22] SIMON L, SKRABAN J, KYRPIDES N C, et al. *Paenibacillus aquistagni* sp. nov., isolated from an artificial lake accumulating industrial wastewater [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2017, 110(9):1189-1197.

[23] NASIRIAN H. Contamination of cockroaches (Insecta: Blattaria) by medically important bacteria: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Med Entomol*. 2019, 28; 56(6):1534-1554.

[24] DO NASCIMENTO L E, AMARAL R R, FERREIRA R M D A, et al. Ants (Hymenoptera: Formicidae) as potential mechanical vectors of pathogenic bacteria in a public hospital in the eastern Amazon, Brazil[J]. *J Med Entomol*, 2020, 57(5):1619-1626.

(收稿日期:2021-09-28 修回日期:2022-01-21)

(上接第 774 页)

and TNNC1: potential markers for predicting occult cervical lymphatic metastasis and prognosis in early stage tongue cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2):2525-2535.

[12] ABUDERMAN A A, HARB O A, GERTALLAH L M. Prognostic and clinicopathological values of tissue expression of MFAP5 and ITM2A in triple-negative breast cancer: an immunohistochemical study[J]. *Contemp Oncol(Pozn)*, 2020, 24(2):87-95.

[13] WEI F, GUO H, ZHAO R, et al. MAGP2, a component of extracellular matrix, is upregulated in colorectal cancer and negatively modulated by miR-200b-3p[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18(6):1533-1545.

[14] AIELLO N M, KANG Y. Context-dependent EMT programs in cancer metastasis[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(5): 1016-1026.

[15] ISHAY-RONEN D, DIEPENBRUCK M, KALATHUR R K R, et al. Gain fat-lose metastasis: converting invasive breast cancer cells into adipocytes inhibits cancer metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(1):17-32.

[16] LI Q, ZHANG Y, JIANG Q. MFAP5 suppression inhibits migration/invasion, regulates cell cycle and induces apoptosis via promoting ROS production in cervical cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 507(1):51-58.

[17] ZHOU Z, CUI D, SUN M H, et al. CAFs-derived MFAP5 promotes bladder cancer malignant behavior through NOTCH2/HEY1 signaling[J]. *FASEB J*, 2020, 34(6): 7970-7988.

[18] CHEN Z, YAN X, LI K, et al. Stromal fibroblast-derived MFAP5 promotes the invasion and migration of breast cancer cells via Notch1/slug signaling [J]. *Clin Transl Oncol*, 2020, 22(4):522-531.

(收稿日期:2021-09-12 修回日期:2021-12-31)