

• 论 著 •

干扰 NETO2 通过调控 JAK2/STAT3 信号通路抑制
肺腺癌细胞增殖和转移能力

文 礼¹, 李春姍², 李 娇¹, 赵宁生¹, 姚 菲²

1 广西中医药大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 广西南宁 530022;

2. 广西中医药大学第一附属医院仙葫院区肿瘤二区, 广西南宁 530022

摘 要:目的 研究神经纤毛及唾样蛋白 2(NETO2)在肺腺癌中的表达及临床意义,并探讨 NETO2 对肺腺癌细胞增殖和转移能力的作用及其机制。方法 采用免疫组化检测 NETO2 在肺腺癌组织中的表达水平,并分析 NETO2 的表达与肺腺癌患者临床病理参数及预后的关系。培养肺腺癌细胞 A549,随机分为对照组(si-NC 组)和实验组(si-NETO2-1 组、si-NETO2-2 组),分别转染 NC siRNA 和 NETO2 siRNA-1、NETO2 siRNA-2,Western blot 检测各组细胞中 NETO2 蛋白的表达水平;MTS 实验和平板克隆实验检测各组细胞的增殖能力;Transwell 实验检测各组细胞的转移能力;Western blot 检测各组细胞中 JAK2/STAT3 信号通路蛋白 JAK2、pJAK2、STAT3 和 pSTAT3 蛋白表达。结果 免疫组化结果显示,与癌旁组织相比,NETO2 在肺腺癌组织中的表达增加($P<0.05$),NETO2 高表达与肺腺癌患者肿瘤 T 分期、淋巴结转移和 TNM 分期均相关($P<0.05$),与 NETO2 低表达的肺腺癌患者相比,NETO2 高表达的肺腺癌患者生存预后较差;与 si-NC 组相比,si-NETO2-1、si-NETO2-2 组 A549 细胞中 NETO2 蛋白表达减少($P<0.05$);与 si-NC 组相比,si-NETO2-1、si-NETO2-2 组 A549 细胞的增殖和转移能力降低($P<0.05$),A549 组细胞中 JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白 pJAK2 和 pSTAT3 蛋白表达降低($P<0.05$),JAK2 和 STAT3 蛋白表达无明显变化($P>0.05$)。结论 NETO2 可能通过激活 JAK2/STAT3 信号通路促进肺腺癌的增殖和转移能力。

关键词:肺腺癌; 神经纤毛及唾样蛋白 2; 增殖; 转移; JAK2/STAT3

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.14.020 **中图法分类号:**R446.8

文章编号:1673-4130(2023)14-1762-06 **文献标志码:**A

NETO2 inhibit the proliferation and metastasis ability of lung adenocarcinoma by
regulated JAK2/STAT3 signaling pathways

WEN Li¹, LI Chunshan², LI Jiao¹, ZHAO Ningsheng¹, YAO Fei²

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530022, China; 2. the Second Department of Tumor area, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530022, China

Abstract: Objective To study the expression and clinical significance of neuropilin and tollod-like 2 (NETO2), and discuss the role and mechanism of NETO2 on the proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma cells. **Methods** Immunohistochemical was used to detect NETO2 expression level in lung adenocarcinoma tissue, and analyzed the relationship between NETO2 expression and clinical pathological parameters, prognosis of patients with lung adenocarcinoma. Cultivate lung adenocarcinoma cells A549, randomly divided into control group si-NC and experimental group si-NETO2-1, si-NETO2-2, and transmitted NC siRNA and NETO2 siRNA-1, NETO2 siRNA-2, Western blotting was used to detect the expression level of NETO2 protein in the group cells; MTS experimental and plate cloning experiments was used to detect the proliferation capabilities of each group cells; Transwell experiment was used to detect the metastasis of each group cells; Western blotting was used to detect the expression of JAK2/STAT3 signal pathway JAK2, pJAK2, STAT3 and pSTAT3 protein in each group of cells. **Results** Immunohistochemistry result showed that compared with the tissue of paracancer, the expression of NETO2 in the lung adenocarcinoma tissue was higher ($P<0.05$), the high expression of NETO2 is related to the tumor T, lymph nodes metastasis and TNM staging ($P<0.05$), compared to lung adenocarcinoma patients with NETO2 low-expressed, patients with NETO2 high-expressed have a poor prognosis; compared with the si-NC group, NETO2 protein expression in si-NETO2-1, si-

NETO2-2 group A549 cells is reduced ($P < 0.05$); compared with the si-NC group, the proliferation and metastasis capacity of si-NETO2-1, si-NETO2-2 groups A549 cells is reduced ($P < 0.05$), JAK2/STAT3 signaling pathway related protein pJAK2 and pSTAT3 protein expression of si-NETO2-1, si-NETO2-2 groups A549 cells are decreased ($P < 0.05$), JAK2 and STAT3 protein expression did not change significantly ($P > 0.05$). **Conclusion** NETO2 may promote the proliferation and metastasis of lung adenocarcinoma by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: lung adenocarcinoma; neuropilin and tolloid-like 2; proliferation; metastasis; JAK2/STAT3

肺癌具有高发病率和病死率,非小细胞肺癌(NSCLC)是肺癌常见的亚型,约占肺癌病例的 85%,肺腺癌是 NSCLC 的主要组织学类型^[1]。EGFR 突变是肺腺癌中最常见的分子突变类型,随着表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(TKI)分子靶向药物的发展,患者的临床治疗和预后得到了极大的改善。但是大多数患者在治疗 12~24 个月后对 EGFR-TKI 产生一定的耐药性,因此肺腺癌患者的预后仍然较差^[2]。同时其高病死率的主要原因是该疾病的高转移能力^[3]。因此,研究促进肺腺癌进展和转移的关键蛋白质和信号通路有助于开发抗肿瘤活性的新疗法。神经纤毛及唾样蛋白 2(NETO2)基因位于 16 号染色体上,编码单通道跨膜蛋白,主要分布于大脑,其在神经特异性过程中发挥重要生物学功能^[4]。越来越多的研究显示 NETO2 在恶性肿瘤中发挥促癌作用,食管癌中 NETO2 高表达,并通过上调 ERK 和 PI3K/AKT 信号通路促进食管癌的恶性进展^[5]。在胰腺癌中 NETO2 通过激活 STAT3 信号通路促进肿瘤细胞增殖和转移^[6],以及在鼻咽癌和结直肠癌中 NETO2 均发挥促癌作用,可作为抗肿瘤治疗的潜在分子靶点^[7-8]。ZHANG 等^[9]研究报道在肺腺癌组织中,SNHG17 通过靶向 miR-193a-5p/NETO2 轴来发挥肿瘤促进作用,但是 NETO2 在肺腺癌中的表达及发挥的具体作用未知,因此本文对此进行了研究,以期获得 NETO2 作为抗肺腺癌治疗的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 试剂 甲醛、无水酒精及二甲苯购自山东华昱化工科技有限公司;肺腺癌组织芯片购自西安泰博斯生物科技有限公司;免疫组化检测试剂盒购自丹麦 DAKO 公司;枸橼酸钠抗原修复液和 PARP 蛋白裂解试剂购自北京索莱宝试剂公司;DMEM-F12 培养基、胎牛血清和青霉素/链霉素双抗购自美国 Gibco 试剂公司;肺腺癌细胞系 A549 购自美国 ATCC 细胞库;NETO2 siRNA 购自上海瑞博试剂有限公司;Lip2000 购自美国 Invitrogen 公司;BCA 蛋白水平检测试剂盒购自美国 Thermo 公司;PVDF 膜购自美国 millipore 试剂公司;ECL 化学发光试剂盒购自北京百奥莱博公司;MTS 试剂购自美国 sigma 公司;Transwell 小室购自美国 corning 公司;NETO2、JAK2、STAT3、pJAK2、pSTAT3 和 GAPDH 一抗抗体购自

英国 Abcam 公司。

1.2 研究对象 组织芯片包括肺腺癌组织和其配对的癌旁组织标本(距离肿瘤 3 cm 内的非肿瘤)135 例,每例组织最大径 1.5 mm,每张组织均经病理证实诊断为肺腺癌,并由公司提供完整的病理资料,包括年龄、性别、T 分期、淋巴结转移和 TNM 分期,以及术后 5 年的随访资料。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化实验 组织芯片于 30 min 内放入 4% 甲醛中充分固定 6 h,通过乙醇脱水、石蜡浸没,包埋成组织蜡块。并切成 4 μ m 的石蜡切片,放入烤箱 1 h 熔蜡后,将切片放入二甲苯中 30 min 进行脱蜡,并依次放入无水乙醇、90%乙醇、80%、75%和 70%的乙醇中各 5 min,以及双蒸水中 30 min 进行水化,随后放置枸橼酸钠抗原修复液中高温煮沸 30 min。将切片与过氧化氢孵育 30 min 以封闭非特异性抗原后,将切片与 NETO2 一抗稀释液(稀释比例 1:200)孵育,并 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。二抗稀释液(稀释比例 1:8 000)孵育 37 $^{\circ}$ C 30 min,采用试剂盒进行组织染色、苏木素复染,封片并晾干后在显微镜下观察染色强度及面积进行相应的评分。由两名独立的病理学家进行,染色强度评分标准:无着色为 0 分,淡黄色着色为 1 分,黄色着色为 2 分和深黄色着色为 3 分。染色面积:< 5%为 0 分,5%~25%为 1 分,> 25%~50%为 2 分,> 50%~75%为 3 分和> 75%为 4 分。染色强度得分乘以染色百分比评分计算最终得分,高表达或者阳性表达(得分>2 分)和低表达或者阴性表达(得分 $\leq$ 2 分)。

1.3.2 细胞培养 复苏肺腺癌细胞系 A549 后,采用含有 10% 胎牛血清及 100 U/mL 青霉素、链霉素的双抗抗生素的 DMEM-F12 完全培养基培养,并放置在含有 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 加湿培养箱中培养。细胞融合度为 95%时,采用胰酶消化细胞,进行细胞传代,继续培养,用于后续的实验研究。

1.3.3 NETO2 siRNA 转染细胞 肺腺癌细胞 A549 处于对数生长期,细胞状态较好时,采用胰酶消化并计数,并以 2.0×10^5 个细胞铺至 6 孔板中,放置在含有 5% CO₂ 的 37 $^{\circ}$ C 加湿培养箱中培养。培养 8 h,细胞贴壁后更换无血清细胞培养基,并随机分为 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组,依据 Lip2000 说明书进行 NETO2 siRNA 的转染。si-NC 组细胞转

染 5 μg NC siRNA 和 2 μL Lip2000, si-NETO2-1 组细胞转染 NETO2 siRNA-1 和 2 μL Lip2000, si-NETO2-2 组细胞转染 5 μg NETO2 siRNA-2 和 2 μL Lip2000。各组细胞放置在含有 5% CO_2 的 37 $^\circ\text{C}$ 加湿培养箱中培养, 12 h 后更换含有 10% 胎牛血清的 DMEM-F12 完全培养基继续培养。

1.3.4 Western blot 检测蛋白的表达 胰酶消化收集 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组 A549 细胞, PBS 重悬洗涤细胞 2 次, 获得细胞斑块。加入适量的 PARP 蛋白裂解液裂解细胞, 于 4 $^\circ\text{C}$ 离心机中高速离心 30 min, 获得蛋白质上清液。采用 BCA 蛋白质检测试剂盒测得蛋白水平。通过 10% SDS-PAGE 凝胶分离蛋白质, 并将蛋白湿转至 PVDF 膜上。将膜与 5% 的牛血清清蛋白常温孵育 1 h, 然后在 4 $^\circ\text{C}$ 下与一抗稀释液 (NETO2、JAK2、STAT3、pJAK2、pSTAT3 稀释比例均为 1 : 500) 孵育过夜, TBST 洗 3 次后, 与 HRP 偶联的山羊抗小鼠 IgG (稀释 1 : 5 000) 或山羊抗兔 IgG (稀释 1 : 5 000) 室温孵育 1 h。TBST 洗 3 次后, 采用 ECL 试剂盒曝光蛋白条带。

1.3.5 MTS 实验 胰酶消化收集 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组 A549 细胞, 并计数后铺至 96 孔板中, 每组 6 个重复孔, 每孔 2 000 个细胞、150 μL DMEM-F12 完全培养基, 放置在含有 5% CO_2 的 37 $^\circ\text{C}$ 加湿培养箱中培养。分别在接种后的第 1、2、3、4 和 5 天时, 每孔更换 100 μL 新鲜培养基, 并加入 10 μL MTS 试剂, 放置在含有 5% CO_2 的 37 $^\circ\text{C}$ 加湿培养箱中继续培养 1 h。采用酶标仪测量各孔细胞 490 nm 处的吸光度值 (A 值)。取每组的 6 个重复孔的 A 值的平均值, 误差线表示标准偏差。

1.3.6 克隆形成实验 胰酶消化收集 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组 A549 细胞, 并计数后铺至 6 孔板中, 每组 3 个重复孔, 每孔 500 个细胞、2 mL DMEM-F12 完全培养基, 放置在含有 5% CO_2 的 37 $^\circ\text{C}$ 加湿培养箱中培养。每隔一天更换一次新鲜培养基。待形成细胞克隆团, 并且肉眼可以观察到时弃掉培养基。将细胞用 PBS 洗涤两次, 无水乙醇室温固定 30 min, 0.5% 结晶紫室温染色 10 min。计数细胞克隆团数目, 取每组细胞的 3 个重复孔的平均值, 误差线表示标准偏差。

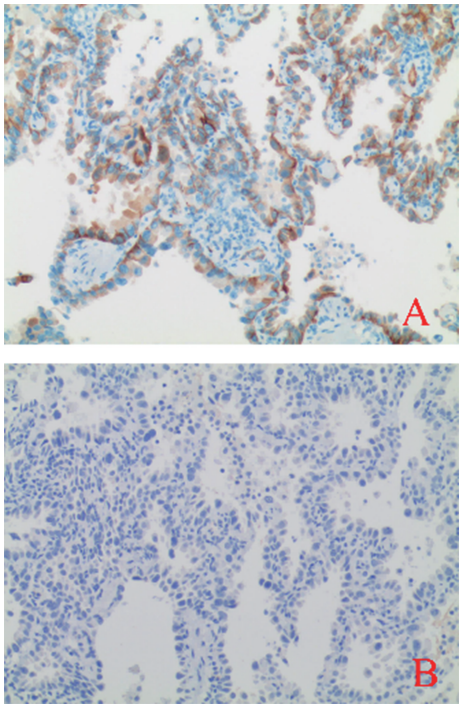
1.3.7 Transwell 实验 胰酶消化收集 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组 A549 细胞, DMEM-F12 无血清培养基洗涤细胞 3 次后, 铺至 Transwell 小室的上室膜中, 每组 3 个重复孔, 每孔 1.0×10^5 个细胞、100 μL DMEM-F12 无血清培养基, 500 μL DMEM-F12 完全培养基加入 Transwell 小室的下室中, 放置在含有 5% CO_2 的 37 $^\circ\text{C}$ 加湿培养箱中培养。培养 12 h 后, 棉签擦掉 Transwell 上室膜上面残留的细胞, 膜的下室面穿过的细胞采用 PBS 洗 3 次后, 无水乙醇室温固定 30 min, 0.5% 结晶紫室温染色 10 min。PBS

洗 3 次后, 取下膜后显微镜下计数穿膜细胞数目, 取每组的 3 个重复孔的平均值, 误差线表示标准偏差。

1.4 统计学处理 用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。计量资料采用百分率表示, 两组率的比较采用 χ^2 检验; 符合正态分布的计数资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验。Kaplan-Meier 法进行生存分析, Log-rank 检验用于分析 NETO2 表达对肺腺癌患者预后的影响。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NETO2 在肺腺癌组织中的表达 免疫组化结果显示 NETO2 在肺腺癌组织中的阳性表达率为 45.93% (62/135), 在癌旁组织中的阳性表达率为 33.33% (45/135), NETO2 在肺腺癌组织中的表达高于在癌旁组织中的表达 ($\chi^2 = 4.474, P = 0.034$), 图 1 为 NETO2 在肺腺癌组织中阳性和阴性表达的代表性图片。



注: A 为 NETO2 在肺腺癌组织中的阳性表达; B 为 NETO2 在癌旁组织中的阴性表达 ($\times 200$)。

图 1 免疫组化检测肺腺癌和癌旁组织中 NETO2 的表达

2.2 NETO2 表达与肺腺癌患者临床病理参数之间的关系 χ^2 检验分析显示 NETO2 在不同年龄和性别患者中的表达无统计学差异 ($P > 0.05$), NETO2 在肿瘤 T 分期较高、有淋巴结转移和 TNM 分期较高的肺腺癌患者肿瘤组织中的表达分别高于在肿瘤 T 分期较低、无淋巴结转移和 TNM 分期较低肿瘤组织中的表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.3 NETO2 表达与肺腺癌患者预后的关系 Log-rank 检验分析显示与低表达 NETO2 的肺腺癌患者相比, 高表达 NETO2 的肺腺癌患者预后较差 ($\chi^2 =$

4.507, $P=0.034$), 见图 2。

表 1 NETO2 在肺腺癌组织中的表达水平与临床病理参数之间的关系[n(%)]				
临床病理参数	n	NETO2	χ^2	P
年龄				
≤60 岁	53	25(47.17)	0.054	0.816
>60 岁	82	37(45.12)		
性别				
男	61	27(44.26)	0.124	0.725
女	74	35(47.30)		
肿瘤 T 分期				
T1~T2 期	67	24(35.82)	5.469	0.019
T3~T4 期	68	38(55.88)		
淋巴结转移				
无	79	30(37.97)	4.848	0.028
有	56	32(57.14)		
TNM 分期				
I 期	48	14(29.17)	8.900	0.012
II 期	50	26(52.00)		
III 期	37	22(59.46)		

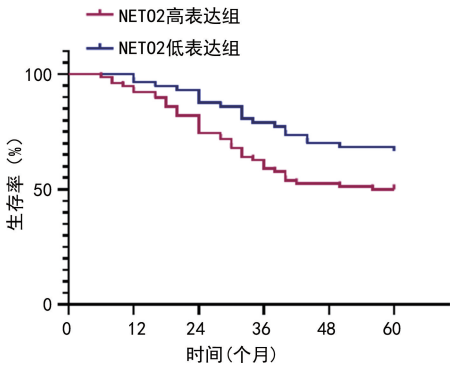
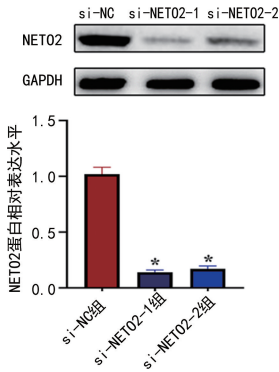


图 2 Log-rank 检验分析 NETO2 表达对肺腺癌患者预后的影响

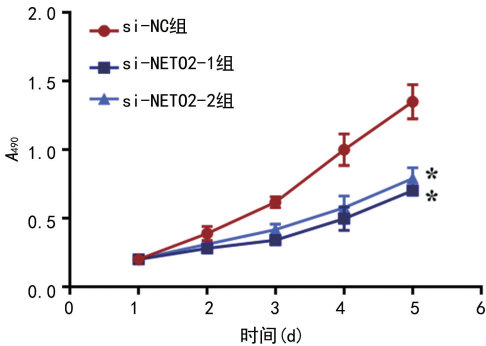
2.4 NETO2 siRNA 对肺腺癌细胞中 NETO2 表达的影响 NETO2 siRNA 转染肺腺癌细胞系 A549, Western blot 检测结果显示 NETO2 在 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞中的表达分别为 1.02 ± 0.06 和 0.14 ± 0.02 、 0.17 ± 0.03 。与 si-NC 组相比, si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞中 NETO2 蛋白的表达显著降低($F=449.30, P<0.001$), 见图 3。

2.5 NETO2 siRNA 对肺腺癌细胞增殖活性的影响 MTS 实验检测结果显示与 si-NC 组相比, si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞增殖活性显著降低($P<0.05$), 见图 4、表 2。

2.6 NETO2 siRNA 对肺腺癌细胞克隆形成能力的影响 平板克隆形成实验检测结果显示 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞的克隆形成数目分别为 (125.33 ± 9.54) 个和 (56.33 ± 3.61) 个、 (69.67 ± 3.51) 个。与 si-NC 组相比, si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞克隆形成能力显著降低($F=103.30, P<0.001$), 见图 5。

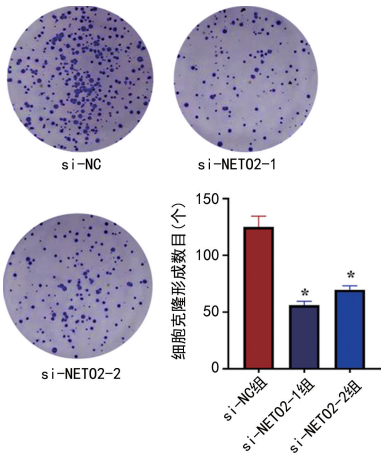


注: * $P<0.05$ 。
图 3 Western blot 显示 NETO2 siRNA 显著抑制肺腺癌细胞中 NETO2 蛋白表达



注: 与 si-NC 组比较, * $P<0.05$ 。
图 4 MTS 实验检测 NETO2 siRNA 抑制肺腺癌细胞增殖的能力。

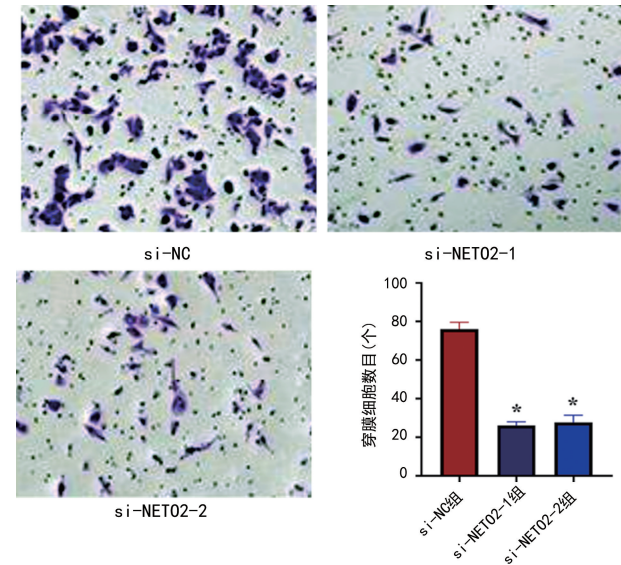
表 2 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组肺腺癌细胞 A ₄₉₀ 值($\bar{x} \pm s$)					
时间	si-NC 组	si-NETO2-1 组	si-NETO2-2 组	F	P
1 d	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.143	0.868
2 d	0.39 ± 0.05	0.28 ± 0.02	0.31 ± 0.04	6.467	0.032
3 d	0.62 ± 0.04	0.34 ± 0.01	0.42 ± 0.04	52.970	<0.001
4 d	1.01 ± 0.12	0.50 ± 0.09	0.58 ± 0.08	23.710	0.001
5 d	1.35 ± 0.13	0.70 ± 0.03	0.79 ± 0.07	49.000	<0.001



注: 与 si-NC 组比较, * $P<0.05$ 。
图 5 平板克隆形成实验检测结果显示 NETO2 siRNA 显著抑制肺腺癌细胞的增殖能力

2.7 NETO2 siRNA 对肺腺癌细胞转移能力的影响

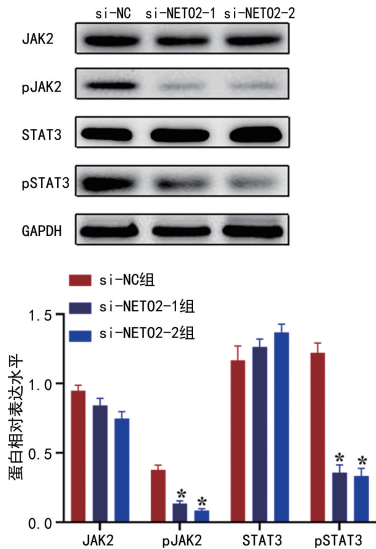
Transwell 实验检测结果显示 si-NC 组和 si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞穿膜数目分别为 (76.33±3.61) 个和 (26.33±2.07) 个、(27.67±3.79) 个。与 si-NC 组相比, si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞转移能力显著降低 ($F=231.60, P<0.001$), 见图 6。



注: 与 si-NC 组比较, * $P<0.05$ 。
图 6 Transwell 实验显示 NETO2 siRNA 显著抑制肺腺癌细胞的转移能力

2.8 NETO2 对肺腺癌细胞中 JAK2/STAT3 信号通路的影响

Western blot 检测结果显示与 si-NC 组相比, si-NETO2-1、si-NETO2-2 组细胞 JAK2/STAT3 信号通路关键蛋白 pJAK2 和 pSTAT3 表达降低 ($P<0.05$), JAK2 和 STAT3 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$), 见图 7。



注: * $P<0.05$ 。
图 7 Western blot 检测显示 NETO2 siRNA 显著抑制肺腺癌细胞中 JAK2/STAT3 关键蛋白 pPI3K 和 pAKT 表达

3 讨论

2020 年癌症统计数据表明肺癌是全球癌症相关死亡的最常见原因, 严重威胁患者生命健康^[1]。目前肺癌的治疗包括手术、放疗、化疗和分子靶向治疗, 随着医疗技术的发展, 尤其是分子靶向药物的应用, 肺癌患者的预后有所改善, 但是患者生存率仍然不理想^[2]。因此, 需要发现并探索肺癌发生发展的特定分子机制, 以发现新型的生物标志物, 并可用于干预、预防和治疗至关重要的新分子靶标。NETO2 是幼体结构域和含 LDLA 蛋白的亚家族的成员, 被鉴定为神经元海藻受体 (KARS) 的辅助蛋白, 并在调节 KARS 功能中发挥关键作用, 及 NETO2 与 K^+-Cl^- 共转运蛋白 (KCC2) 以低聚形式结合, 以增强其在海马神经元中的回收利用^[10]。近年来研究显示 NETO2 不仅在神经系统中发挥功能, 其在多种肿瘤组织中表达异常, 并参与肿瘤的恶性进展, 可作为抗肿瘤活性的药物分子靶点^[5-9]。

NETO2 在食管癌、胰腺癌和肾透明细胞癌等肿瘤中报道为促癌基因, 促进肿瘤的恶性进展^[5-6, 11], 但是 FEDOROVA 等^[12]报道 NETO2 在乳腺癌和前列腺癌中表达下降, 并下调 Wnt、TGF- β 、JAK/STAT、MAPK 和 PI3K/AKT 等一些细胞信号途径。提示 NETO2 具有促癌和抑癌双重作用, 在不同的肿瘤中可能发挥不同的作用。在肺腺癌中 NETO2 作为 miR-193a-5p 的靶基因, 参与 SNHG17 促进肺腺癌细胞增殖、侵袭、转移和 EMT 过程^[9]。那么 NETO2 在肺腺癌中是否具有重要的生物功能, 并发挥关键作用。在本研究首先采用免疫组化检测, 发现与癌旁组织相比, 肺腺癌组织中 NETO2 的蛋白表达水平上调, 并且统计分析显示 NETO2 与肺腺癌患者 T 分期、淋巴结转移和 TNM 分期均相关。且高表达 NETO2 的肺腺癌患者预后较差, 表明 NETO2 促进肺腺癌的发生发展, 是肺腺癌患者预后不良的分子标志物。与 NETO2 在食管癌^[5]中表达升高, 并与患者临床病理分期、淋巴结转移相关及在胰腺癌^[6]中 NETO2 表达增加, 并与患者肿瘤分期、预后较差的临床意义一致。恶性增殖和转移是肿瘤进展的重要表型, 且在 ZHANG 等^[9]的研究中提示 NETO2 与肺腺癌的增殖和转移相关, 本研究干扰 NETO2 的表达后功能实验显示肺腺癌细胞的增殖和转移能力降低。表明 NETO2 在肺腺癌中高表达, 并促进肿瘤细胞的增殖和转移恶性生物学行为。

NETO2 促进肺腺癌恶性进展的作用机制仍需进一步探讨。研究显示 NETO2 通过调控肿瘤相关信号途径在各个肿瘤中发挥作用, 在食管癌中 NETO2 通过上调 PI3K/AKT 和 ERK 信号通路促进肿瘤细胞增殖和转移能力^[5]。NETO2 通过调控 PI3K/AKT/NF- κ B/Snail 信号通路促进胃癌侵袭和转移能力^[13]。但是研究报道 NETO2 在乳腺癌和前列腺癌

中可以下调 PI3K/ AKT 信号通路,这表明在不同的肿瘤中 NETO2 发挥的作用机制可以完全相反^[10]。JAK2/STAT3 信号通路是调控肿瘤恶性生物学行为的重要途径之一,在肺腺癌中处于激活状态,促进肺腺癌的增殖和转移能力,并抑制细胞凋亡,抑制其活性,可以抑制肿瘤的恶性进展^[14]。JAK2/STAT3 信号通路激活的关键是 JAK2 及 STAT3 蛋白的磷酸化水平增加,并促进下游靶蛋白的激活,发挥相应的生物学功能^[15]。本文发现干扰 NETO2 的表达后,肺腺癌细胞中 pJAK2 和 pSTAT3 蛋白的表达降低,表明 NETO2 通过上调 JAK2/STAT3 信号通路促进肺腺癌增殖和转移能力。与 NETO2 在胰腺癌中增加 pSTAT3 蛋白的表达促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移能力的研究具有一致性。但是本文的局限在于未对 NETO2 直接作用的分子机制进行深入研究,在后续的研究中后续仍需进一步探索。

综上所述,NETO2 在肺腺癌组织中高表达,与肺腺癌患者不良病理参数和预后相关。并且 NETO2 促进肺腺癌细胞增殖和转移能力,其作用机制可能是通过激活 JAK2/STAT3 信号通路。NETO2 是抗肺腺癌治疗的潜在分子靶点。

参考文献

- [1] ZHANG C,ZHANG Z,ZHANG G,et al. Clinical significance and inflammatory landscapes of a novel recurrence-associated immune signature in early-stage lung adenocarcinoma[J]. Cancer Lett,2020,479:31-41.
- [2] CHIU T H,LIN C Y,HSIEH M H,et al. Prognostic factors in lung adenocarcinoma with bone metastasis treated with EGFR-TKIs[J]. Medicina (Kaunas), 2021, 57 (9): 967.
- [3] MIN T R,PARK H J,PARK M N,et al. Suppressed the migration of human non-small-cell lung cancer cells through inhibition of epithelial-mesenchymal transition mediated by STAT3 and Src[J]. Int J Mol Sci,2019,20 (9):2244.
- [4] VERNON C G,SWANSON G T. NETO2 assembles with kainate receptors in DRG neurons during development and modulates neurite outgrowth in adult sensory neurons [J]. J Neurosci,2017,37(12):3352-3363.
- [5] XU J C,CHEN T Y,LIAO L T,et al. NETO2 promotes esophageal cancer progression by inducing proliferation

- and metastasis via PI3K/AKT and ERK pathway[J]. Int J Biol Sci,2021,17(1):259-270.
- [6] LI Y,ZHANG Y,LIU J. NETO2 promotes pancreatic cancer cell proliferation, invasion and migration via activation of the STAT3 signaling pathway[J]. Cancer Manag Res,2019,11:5147-5156.
- [7] HE A R,ZHU Q,GAO S. Reducing NETO2 expression prevents human nasopharyngeal carcinoma (NPC) progression by suppressing metastasis and inducing apoptosis [J]. Biochem Biophys Res Commun,2019,513(2):494-501.
- [8] FEDOROVA M S,SNEZHKINA A V,PUDOVA E A,et al. Upregulation of NETO2 gene in colorectal cancer[J]. BMC Genet,2017,18(Suppl 1):S117.
- [9] ZHANG Z,YAN Y,ZHANG B,et al. Long non-coding RNA SNHG17 promotes lung adenocarcinoma progression by targeting the microRNA-193a-5p/NETO2 axis [J]. Oncol Lett,2021,22(6):818.
- [10] PRESSEY J C,MAHADEVAN V,KHADEMULLAH C S,et al. A kainate receptor subunit promotes the recycling of the neuron-specific K⁺-Cl⁻ co-transporter KCC2 in hippocampal neurons[J]. J Biol Chem,2017,292(15):6190-6201.
- [11] SNEZHKINA A V,NYUSHKO K M,ZARETSKY A R,et al. Transcription factor SAP30 is involved in the activation of NETO2 gene expression in clear cell renal cell carcinoma[J]. Mol Biol(Mosk),2018,52(3):451-459.
- [12] FEDOROVA M S,SNEZHKINA A V,LIPATOVA A V,et al. NETO2 is deregulated in breast, prostate, and colorectal cancer and participates in cellular signaling[J]. Front Genet,2020,11:594933.
- [13] 刘军言. NETO2 调控胃癌侵袭转移的作用及分子机制研究[D]. 重庆:中国人民解放军陆军军医大学,2019.
- [14] 李雅菲,张燕,董清科,等. miRNA-337 调控 JAK2/STAT3 通路对人肺腺癌细胞 PG49 增殖和迁移的影响 [J]. 广西医科大学学报,2021,38(7):1374-1379.
- [15] MENGIE AYELE T,TILAHUN MUCHE Z,BEHAILE TEKLEMARIAM A,et al. Role of JAK2/STAT3 signaling pathway in the tumorigenesis, chemotherapy resistance, and treatment of solid tumors; a systemic review [J]. J Inflamm Res,2022,15:1349-1364.

(收稿日期:2022-12-26 修回日期:2023-03-12)