

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

CXCL13激活Akt促进肺癌放疗抵抗

耿闪闪, 何翠, 陈春丽, 邓鑫州, 邱力, 柯青, 吴林, 段奇文, 施明亮, 骆志国

引用本文:

耿闪闪, 何翠, 陈春丽, 等. CXCL13激活Akt促进肺癌放疗抵抗[J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(01): 13-19.

GENG Shanshan, HE Cui, CHEN Chunli, et al. CXCL13 Activates Akt to Promote Radioresistance of Lung Cancer[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2020, 47(01): 13-19.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2020.19.0491>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

miR-127在肺癌中的表达及功能

Expression and Function of miR-127 in Lung Cancer

肿瘤防治研究. 2019, 46(4): 301-304 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1559>

NOTCH通路依赖PI3K/AKT通路调控胶质瘤干细胞增殖和自我更新能力

NOTCH Signaling Pathway Regulates Glioma Stem-like Cell Proliferation and Self-renewal Abilities via PI3K/AKT Activity

肿瘤防治研究. 2018, 45(9): 640-646 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.18.0029>

敲低膜联蛋白A5对人胃癌细胞系MKN-45增殖的作用

Annexin A5 Knockdown Prompts Proliferation of Gastric Cancer MKN-45 Cells

肿瘤防治研究. 2018, 45(10): 734-738 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.18.0396>

L-精氨酸抑制人肺腺癌A549细胞增殖及对PI3K/Akt信号通路的影响

L-Arginine Inhibits Proliferation of Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells and Expression of PI3K/Akt Signaling Pathway

肿瘤防治研究. 2017, 44(9): 585-589 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.16.1574>

醌茜素对人肝癌Huh7细胞的凋亡诱导作用及其抗肿瘤机制

Apoptotic Effect of Quinalizarin on Human Hepatoma Huh7 Cells and Its Antitumor Mechanism

肿瘤防治研究. 2017, 44(7): 454-459 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.16.1523>



杂志官网



微信公众号

CXCL13激活Akt促进肺癌放疗抵抗

耿闪闪¹, 何翠^{1*}, 陈春丽¹, 邓鑫州¹, 邱力¹, 柯青¹, 吴林¹, 段奇文¹, 施明亮², 骆志国¹

CXCL13 Activates Akt to Promote Radioresistance of Lung Cancer

GENG Shanshan¹, HE Cui^{1*}, CHEN Chunli¹, DENG Xinzhou¹, QIU Li¹, KE Qing¹, WU Lin¹, DUAN Qiwen¹, SHI Mingliang², LUO Zhiguo¹ (*: Contributed Equally as the First Author)

1. Postgraduate Training Base, Shiyan Taihe Hospital, Jinzhou University of Medical Sciences, Cancer Prevention and Treatment Center, Shiyan Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China; 2. Department of Gastroenterology, Zhushan People's Hospital, Zhushan 442200, China

Corresponding Author: LUO Zhiguo, E-mail: camelwhite@163.com

Abstract: Objective To investigate the role and molecular mechanism of CXCL13 on the radioresistance of lung cancer. **Methods** Public database was used to analyze the expression levels of CXCL13 and CXCR5 in lung cancer patients, and the relation between the expression levels of CXCL13/CXCR5 and the prognosis of lung cancer patients who received radiotherapy only. Western blot was used to detect the effects of different concentrations of CXCL13 and Akt inhibitor LY294002 on Akt expression and activation in human lung cancer H1975 cells. CCK-8 method, flow cytometry and clone formation assay were used to analyze the effect of CXCL13 and LY294002 on the proliferation, apoptosis and cell clone formation ability after X ray radiation treatment, respectively. **Results** The expression levels of CXCL13 and its receptor CXCR5 in lung cancer patients were significantly higher than those in the normal group ($P<0.003$). The high expression level of CXCL13 is closely related to the progression of postnatal survival (PPS) of lung cancer patients. H1975 cells treated with 100ng/ml CXCL13 showed significantly higher proliferation level ($P=0.015$) and clone formation ability ($P=0.014$), but lower apoptosis level ($P=0.001$) than the control group. 100ng/ml CXCL13 significantly activated Akt. After 8Gy X-ray radiation treatment, the cell proliferation level ($P=0.019$) and clone formation ability ($P=0.001$) in the 20μg/ml LY294002 combined with CXCL13 group were significantly lower than those in the CXCL13 group alone, while the apoptosis level in the combination group was significantly higher than that in the CXCL13 group alone ($P=0.003$). **Conclusion** CXCL13 promotes the radioresistance of lung cancer by activating Akt.

Key words: CXCL13; Akt; Radioresistance; Lung cancer

摘要: 目的 探讨CXCL13在肺癌放疗抵抗中的作用及分子机制。**方法** 利用公共数据库分析了CXCL13和CXCR5在肺癌组织中的表达水平, 及其表达水平与放疗患者预后的关系。Western blot检测不同浓度CXCL13和Akt抑制剂LY294002对人肺癌H1975细胞Akt表达活化的影响; CCK-8法、流式细胞术和克隆形成实验检测CXCL13和LY294002对辐射处理后H1975细胞增殖、凋亡、克隆形成能力的影响。**结果** 肺癌组织中CXCL13和其受体CXCR5表达水平明显高于正常组 ($P<0.003$), CXCL13高表达与患者不良进展后生存期 (PPS)

密切相关。100 ng/ml CXCL13处理辐射后的H1975细胞, 细胞增殖水平显著高于对照组 ($P=0.015$), 细胞凋亡水平显著低于对照组 ($P=0.001$), 细胞克隆形成能力显著高于对照组 ($P=0.014$); 100 ng/ml CXCL13显著激活Akt; 8 Gy辐射处理后, 20 μg/ml的LY294002联合CXCL13处理组的细胞增殖水平显著低于CLCX13单独处理组 ($P=0.019$), 细胞凋亡水平显著高于CLCX13单独处理组 ($P=0.003$), 20 μg/ml的LY294002联

收稿日期: 2019-04-17; 修回日期: 2019-08-12

基金项目: 国家自然科学基金 (81802997, 81602391); 湖北省自然科学基金 (2017CFB167, 2018CFB405, 2017CFB456); 湖北省教育厅科学基金 (D20172102, Q20162109); 湖北省十堰市科技局基金 (16Y19, 17Y10, 17Y12)

作者单位: 1. 442000 十堰, 锦州医科大学十堰市太和医院研究生培养基地, 十堰市太和医院 (湖北医药学院附属医院) 肿瘤防治中心; 2. 442200 竹山, 湖北省竹山县人民医院消化内科

通信作者: 骆志国 (1973-), 男, 博士, 主任医师, 主要从事肿瘤放疗化疗抵抗的分子机制研究, E-mail: camelwhite@163.com

作者简介: 耿闪闪 (1992-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤放疗化疗抵抗的分子机制研究; 何翠 (1993-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤放疗化疗抵抗的分子机制研究 (*: 并列第一作者)

合CXCL13处理组的细胞克隆形成能力显著低于CLCX13单独处理组 ($P=0.001$)。结论 CXCL13通过激活Akt介导肺癌放疗抵抗。

关键词: CXCL13; Akt; 放疗抵抗; 肺癌

中图分类号: R734.2

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,发病率和死亡率高居恶性肿瘤的首位,5年生存率仍不足20%^[1-2]。放疗是肺癌治疗的主要手段之一^[3],然而放疗抵抗是导致治疗失败的主要原因^[4]。因此探寻肺癌放疗抵抗的新靶标及其潜在分子机制有着重要意义。

趋化因子是一类由炎性细胞和组织细胞产生并分泌、使细胞定向移动的小分子分泌蛋白。CXCL13又称B细胞趋化因子1 (B cell lymphocyte chemoattractant, BLC1),是趋化因子CXC家族的一员,主要分布在胃、肝脏和淋巴结中^[5]。CXCR5又称伯基特淋巴瘤受体1 (Burkitt's lymphoma receptor 1, BLR-1),是CXCL13的受体,参与循环中幼稚B淋巴细胞归巢及淋巴结发育构建等过程^[6]。近年研究显示, CXCL13/CXCR5在肿瘤的发生发展中也发挥着重要作用。研究发现CXCL13/CXCR5通过激活Akt通路促进肾细胞癌进展^[7],还可以通过激活JNK信号通路介导前列腺癌细胞增殖^[8]。研究发现,趋化因子可影响癌细胞对放疗的敏感度^[9-10]。目前,国内外尚未见CXCL13/CXCR5与肺癌放疗敏感度关系研究的报道。

本研究通过生物信息学手段和细胞学实验探讨CXCL13与肺癌放疗敏感度的关系及Akt在CXCL13介导的肺癌放疗抵抗中的作用,以期为临床解决肺癌放射抵抗问题提供新的作用靶标和实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

DMEM培养基、胎牛血清购自美国Gibco公司;重组人CXCL13(货号250-24)购自美国PeproTech公司;Akt抑制剂LY294002(货号154447-36-6)购自美国Selleck公司。蛋白裂解液、蛋白提取试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒购自南通碧云天生物技术研究;鼠抗人GAPDH抗体(货号ab8245)、鼠抗人Akt(货号ab8805)、鼠抗人p-Akt (ser473)(货号ab32370)抗体及山羊抗鼠HRP-标记二抗(货号ab6721)购自Abcam公司;ECL化学发光试剂盒购自美国Thermo

公司;CCK-8试剂盒购自日本同仁公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 人肺腺癌H1975细胞株购自中国科学院上海细胞库,均用含10%胎牛血清的DMEM培养基、置于37℃含5%CO₂的细胞培养箱中培养。

1.2.2 GEO公共数据库分析CXCL13和CXCR5在肺癌中的表达水平 在PubMed主界面 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 搜索栏中找到GEO datasets选项,进入GEO数据库,在搜索框中输入检索关键词“lung cancer”,筛选条件设置为“Homo sapiens”,找到有临床信息、正常组、肿瘤组及最大样本量的数据集GSE30219,下载series_matrix文件及平台文件GPL570,解析出每条探针对应的基因名。将样本归纳为正常组、肺腺癌组、肺鳞癌组、基底样细胞肺癌组、肺大细胞神经内分泌癌组和小细胞肺癌组,用GraphPad Prism 6.0软件进行统计分析。

1.2.3 Kaplan Meier-plotter公共数据库分析CXCL13和CXCR5表达水平与肺癌患者预后的关系 进入Kaplan Meier-plotter [Lung Cancer] 栏目(网址<http://kmplot.com/analysis/index.php?p=service&cancer=lung>),输入基因名称后,在Survival窗口分别选择总生存期(OS)、无进展生存期(FP)和进展后生存期(PPS),在Radiotherapy窗口选择yes,点击Draw Kaplan Meier-plotter,获取生存曲线。

1.2.4 Western blot检测蛋白表达 用不同浓度的CXCL13或LY294002处理细胞为实验组,以DMSO处理细胞为阴性对照组。收集细胞(约 1×10^6 个),按照试剂盒说明书操作提取蛋白,BCA法进行蛋白定量。取20 μg总蛋白用10% SDS-PAGE胶电泳,转膜后用5%脱脂奶粉室温封闭2 h。一抗4℃孵育过夜, TBST漂洗5次×3 min,二抗室温孵育2 h, TBST漂洗5次×3 min,采用ECL化学发光试剂盒显影。以ImagePro Plus 6.0图像分析软件计算灰度值,将内参蛋白与目的蛋白两者灰度值的比值作为目的蛋白的表达量。

1.2.5 CCK-8实验检测细胞增殖 将细胞用CXCL13或LY294002处理为实验组,以DMSO处理细胞为阴性对照组,用8 Gy X线照射,收集细胞(约 1×10^6 个),以每孔3 000个细胞铺到96孔板中,培养24、48、72、96 h后分别向对应的细胞中加入CCK-8,将96孔培养板置于恒温箱孵育1 h,酶标仪检测450 nm处吸光值。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 将细胞用

CXCL13或LY294002处理,DMSO处理组作为阴性对照组,用8 Gy X线照射,收集细胞(约 1×10^6 个),预冷PBS洗3次。按照细胞凋亡检测试剂盒说明书操作,采用Annexin V/PI双染,流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.2.7 细胞克隆形成实验 细胞经消化计数后,收集细胞铺到6孔板中,每孔500个细胞。每组3孔平行样本。用相应浓度的CXCL13和(或)LY294002预处理,并用0或8 Gy X线照射后,静置于37℃温箱中培养14天。14天后培养板中出现肉眼可见克隆时,终止培养,用PBS轻轻冲洗2~3遍,1%结晶紫染色20 min,除去染色液,纯水轻轻洗涤2~3遍,晾干,相机拍照留底,显微镜下计数克隆个数, ≥ 50 个细胞的细胞团作为一个克隆。

以上所有实验至少重复三次。

1.3 统计学方法

使用GraphPad Prism 6.0软件分析数据。数据结果以($\bar{x} \pm s$)表示,通过双侧Student's *t*检验及配对样本*t*检验进行计算分析,应用 χ^2 检验和单因素方差分析进行组间比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CXCL13和CXCR5在肺癌组织中的表达

以GEO公共数据库临床资料较为全面的数据集GSE30219为分析对象,分析正常组织、肺腺癌组织、肺鳞癌组织、基底样细胞肺癌组

织、肺大细胞神经内分泌癌组织和小细胞肺癌组织的CXCL13和CXCR5的表达(Log值)差异。结果发现CXCL13表达水平与肺癌临床分期密切相关($P = 0.037$),CXCL13和CXCR5表达水平与肺癌病理类型密切相关($P_{CXCL13} = 0.012$, $P_{CXCR5} = 0.001$),二者表达水平与年龄和性别无显著相关性,见表1。肺腺癌组织、肺鳞癌组织、基底样细胞肺癌组织、肺大细胞神经内分泌癌和小细胞肺癌的CXCL13表达水平显著高于正常组织($P < 0.001$),见图1A。肺腺癌组织、肺鳞癌组织和基底样细胞肺癌组织的CXCR5表达水平显著高于正常组织($P < 0.001$),而肺大细胞神经内分泌癌和小细胞肺癌的CXCR5表达水平与正常组织相比差异无统计学意义($P > 0.05$),见图1B。上述结果提示CXCL13和CXCR5可能与肺癌的发生密切相关。

2.2 CXCL13高表达与肺癌放疗患者不良进展后生存期(post progression survival, PPS)密切相关

CXCL13的表达水平与肺癌的OS($HR = 1.07$, $P = 0.80$)、PFS无显著相关性($HR = 0.67$, $P = 0.15$);CXCL13的高表达与肺癌的不良PPS密切相关($HR = 1.87$, $P = 0.04$),分别见图2A、2C、2E。CXCR5的表达水平与肺癌的OS($HR = 0.04$, $P = 0.89$)、PFS($HR = 1.43$, $P = 0.19$)、PPS均无显著相关性($HR = 1.16$, $P = 0.61$),分别见图2B、2D、2F。上述结果提示CXCL13的表达水平可能与肺癌进展后的放疗敏感度存在相关性。

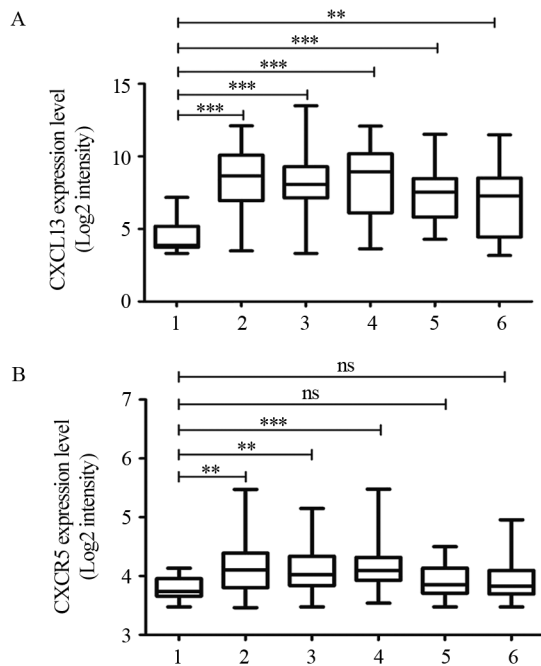
2.3 CXCL13促进H1975细胞辐射抵抗

表1 CXCL13和CXCR5表达和临床病理学参数的关系(例)

Table 1 Relation between CXCL13/CXCR5 expression and clinicopathological characteristics of lung cancer patients (n)

Characteristics	N	CXCL13 expression		χ^2	P	CXCR5 expression		χ^2	P
		High	Low			High	Low		
Age(years)				0.576	0.448			0.576	0.448
≥ 50	193	98	95			95	98		
< 50	17	7	10			10	7		
Gender				0.702	0.402			0.000	1.000
Male	184	94	90			92	92		
Female	26	11	15			13	13		
Tumor stage				8.484	0.037			1.346	0.718
I	126	71	55			67	59		
II	43	21	22			19	24		
III	35	10	25			16	19		
IV	6	3	3			3	3		
Pathological classification				12.779	0.012			18.162	0.001
Lung adenocarcinoma	83	50	33			52	31		
Lung squamous cell carcinoma	58	27	31			29	29		
Lung cancer basaloid	27	16	11			8	19		
Lung cancer large cell Neuroendocrine	21	5	16			8	13		
Small cell lung cancer	21	7	14			8	13		

Notes: the top 50% of samples with the highest CXCL13/CXCR5 expression was considered as the CXCL13/CXCR5 high-expression group; the remaining 50% of the samples was considered as the low-expression group (χ^2 text was used).



: $P < 0.01$, *: $P < 0.001$; ns: no statistical significance; 1: normal; 2: lung adenocarcinoma; 3: lung squamous cell carcinoma; 4: lung cancer basaloid; 5: lung cancer large cell neuroen; 6: small cell lung carcinoma.

图1 利用GEO数据集GSE30219分析CXCL13(A)和CXCR5(B)在肺癌组织中的表达水平

Figure 1 Expression levels of CXCL13(A) and CXCR5(B) in lung cancer tissues analyzed by GEO data set GSE30219

用0、10、50、100 ng/ml的CXCL13处理人非小细胞肺癌H1975细胞，以DMSO处理细胞为阴性对照组，经8 Gy X线照射后，100 ng/ml CXCL13处理组细胞增殖水平显著高于对照组 ($P=0.015$,

$F=0.381$)，见图3A。流式细胞术结果显示：随着CXCL13浓度的提高，H1975细胞的凋亡率呈逐渐下降，其中100 ng/ml CXCL13处理组细胞凋亡率显著低于对照组 ($P=0.001$, $F=0.666$)，见图3B。50和100 ng/ml CXCL13处理组细胞克隆形成能力显著高于对照组 ($P_{50}=0.049$, $F_{50}=1.000$, $P_{100}=0.014$, $F_{100}=0.464$)，见图3C。上述结果提示CXCL13可增强H1975细胞辐射抵抗。

2.4 CXCL13促进Akt磷酸化

Western blot检测0、10、50、100 ng/ml的CXCL13处理H1975细胞后的Akt表达及磷酸化水平，结果显示：100 ng/ml的CXCL13显著促进H1975细胞Akt的磷酸化 ($F=0.194$, $P=0.005$)，但不促进其表达，见图4。

2.5 CXCL13通过激活Akt介导H1975细胞辐射抵抗

用Akt抑制剂LY294002来阻断Akt的活化，结果显示：与对照组相比，10、20 $\mu\text{g/ml}$ LY294002 (以下简称LY)可显著抑制Akt活化 ($P_{10}=0.042$, $F_{10}=0.400$, $P_{20}=0.009$, $F_{20}=0.362$)，见图5A。细胞增殖结果显示：经8 Gy X射线处理，CXCL13处理组细胞的增殖能力显著高于对照组 ($P=0.022$, $F=0.415$)；而CXCL13+LY处理组与CXCL13单独处理组相比，细胞增殖能力显著下降 ($P=0.019$, $F=0.178$)，见图5B。流式细胞术结果显示：经8 Gy X射线处理，CXCL13处理组细胞的凋亡水平显著低于对照组 ($P=0.004$, $F=1.000$)；而CXCL13+LY处理组与CXCL13单独处理组相比，细胞凋亡水平显著升高 ($P=0.003$, $F=0.918$)，

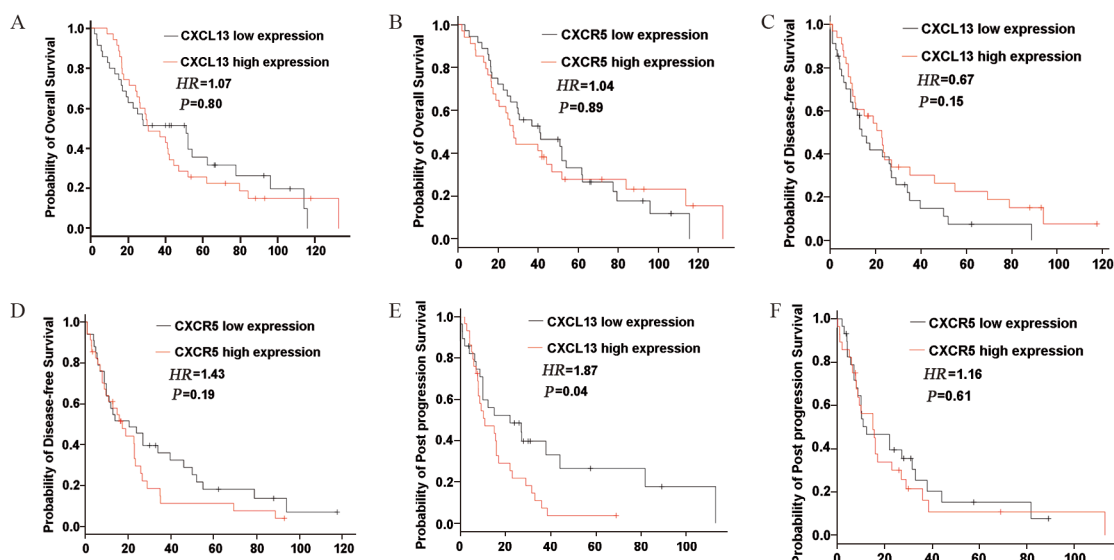


图2 CXCL13和CXCR5表达水平与肺癌放疗患者预后关系

Figure 2 Relation between CXCL13/CXCR5 expression levels and prognosis of lung cancer patients who received radiotherapy

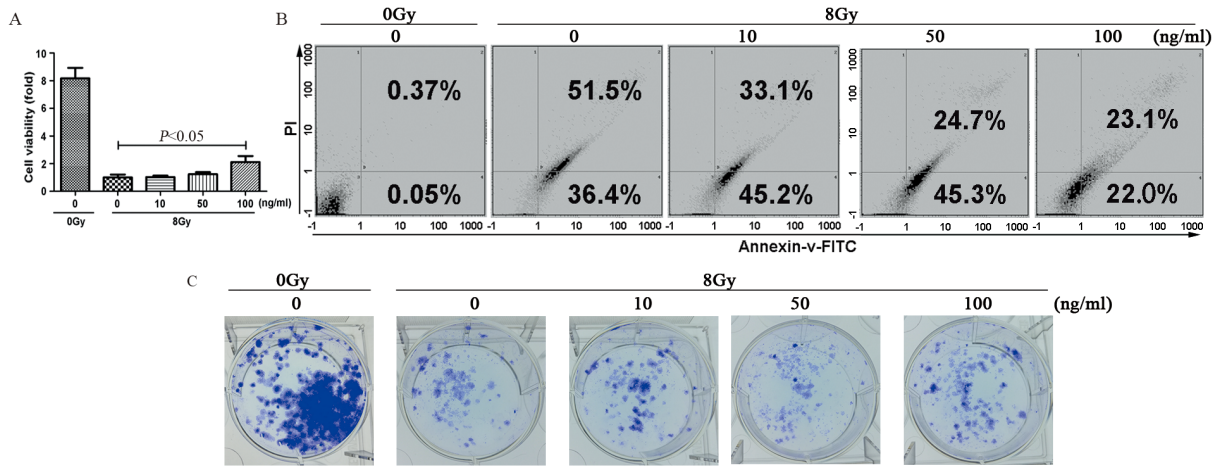


图3 CCK-8、流式细胞术和克隆形成实验检测8Gy X射线和不同浓度的CXCL13对肺癌细胞H1975增殖(A)、凋亡(B)和克隆形成能力(C)的影响

Figure 3 Effects of 8Gy X-ray and different concentrations of CXCL13 on proliferation, apoptosis and clone formation abilities of lung cancer H1975 cells detected by CCK8 method, flow cytometry and clone formation assay

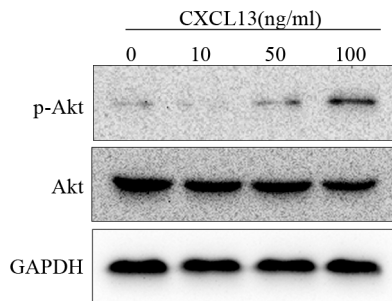


图4 Western blot检测不同浓度CXCL13处理H1975细胞30 min后Akt的表达及活化水平

Figure 4 Expression and activation levels of Akt in H1975 cells after CXCL13 treatment at different concentrations for 30 min detected by Western blot

见图5C。经8 Gy X射线处理，CXCL13处理组细胞克隆形成能力显著高于对照组（ $P=0.005$ ， $F=0.490$ ）；而CXCL13+LY处理组与CXCL13单独处理组相比，克隆形成能力显著降低（ $P=0.001$ ， $F=0.400$ ），见图5D。上述结果提示Akt参与了CXCL13介导的H1975细胞辐射抵抗。

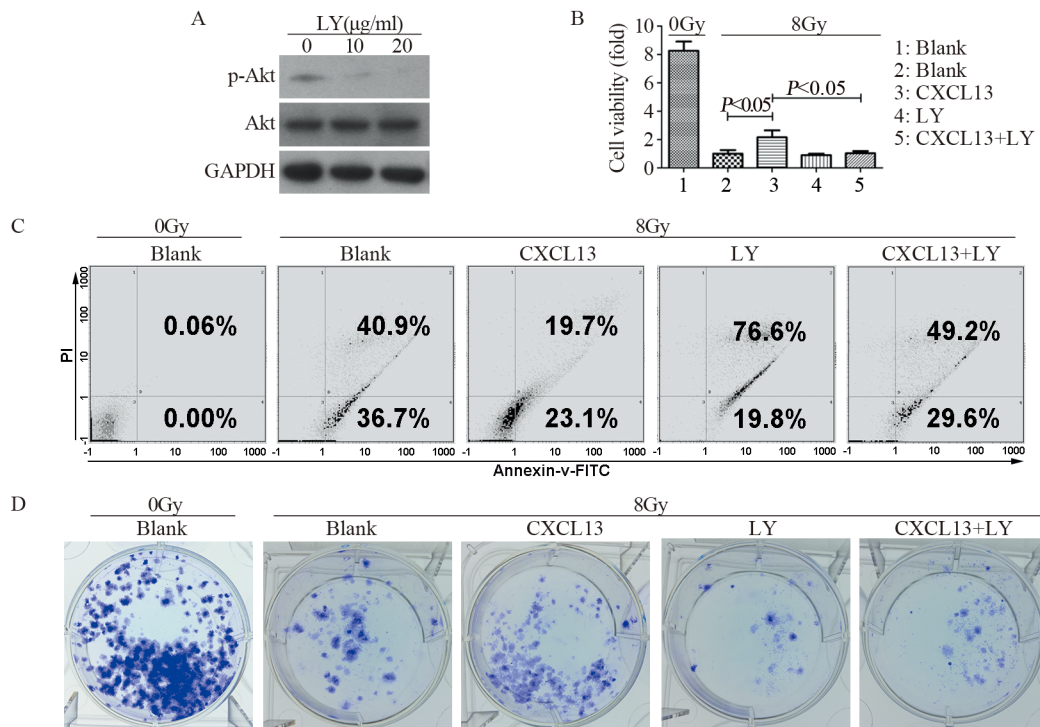
3 讨论

放疗抵抗的机制十分复杂，大量报道证实放疗抵抗的发生与细胞周期阻滞、相关基因改变、肿瘤微环境变化、自噬性调节及肿瘤干细胞的存在等多种因素相关^[11]。研究放疗抵抗机制，寻找放疗抵抗新靶标是提高放疗疗效的关键，同时也将为肿瘤放疗敏感度的预测提供可能。

趋化因子及其受体在调节血管生成、细胞迁移及机体发育过程发挥重要作用。近些年研究发现

趋化因子及其受体在肿瘤治疗抵抗中也发挥重要作用^[12]。研究显示CXCL12/CXCR4高表达与头颈肿瘤放疗抵抗密切相关^[13]。肿瘤相关成纤维细胞分泌的CXCL1显著增强食管鳞状细胞癌放射抵抗能力^[14]。靶向CXCL12/CXCR4通路可显著增强进展后宫颈癌的放疗效果^[15]。研究显示，CCR6的表达水平与肾癌放疗敏感度呈负相关^[16]。Zhou等研究证实用CXCR4拮抗剂AMD3100可显著增强三阴性乳腺癌细胞株MDA-MB-231的放射敏感度^[17]。目前，CXCL13和CXCR5与肿瘤治疗抵抗的研究比较少见。仅有Jiao等^[18]研究发现CXCR5高表达与乳腺癌的放疗抵抗密切相关。本研究通过公共数据库分析发现CXCL13和CXCR5在肺癌组织中高表达，且CXCL13高表达与肺癌进展后生存期密切相关，进一步研究发现CXCL13可显著增强肺癌细胞株H1975放射处理后细胞增殖能力和克隆形成能力，降低凋亡水平，提示CXCL13可增强肺癌放疗抵抗。Singh等^[19]研究结果也表明CXCL13和CXCR5在非小细胞肺癌中高表达，但其只检测了肺癌和肺鳞癌标本，而本研究分析了肺腺癌、肺鳞癌、基底样细胞肺癌、肺大细胞神经内分泌癌和小细胞肺癌的CXCL13/CXCR5表达水平，发现其在肺腺癌、肺鳞癌和基底样细胞肺癌组织的表达水平显著高于正常组织，提示CXCL13和CXCR5可能与肺癌的发生密切相关。

研究显示，Akt促进肿瘤的增殖、迁移及抗凋亡，其可被多种趋化因子激活，随着研究的深入，Akt在肿瘤放疗抵抗中的重要作用也被不断证实^[20-21]。Che等^[22]研究证实，PI3K/Akt参与



A: after Akt inhibitor LY(LY294002) treatment at different concentrations, the expression and activation levels of Akt were detected by Western blot; B, C, D: the effect of 100ng/ml CXCL13 and 20μg/ml LY294002 on the proliferation, apoptosis and clone formation abilities of H1975 cells were detected by CCK-8, flow cytometry and clone formation assay after 8Gy X-ray irradiation, respectively.

图5 Akt对CXCL13介导的肺癌细胞辐射抵抗的影响

Figure 5 Effect of Akt on CXCL13-mediated radioresistance of lung cancer cells

TRIP4介导的宫颈癌放疗抵抗。另有研究显示,抑制PI3K/Akt和MAPK信号通路可显著增强肾癌的放射敏感度^[7]。关于CXCL13/CXCR5与Akt的关系也有相关研究报道,研究发现CXCL13/CXCR5可激活Akt促进结肠癌细胞增殖和侵袭^[23]。此外有研究发现, CXCR5在乳腺癌细胞中调控PI3K/Akt通路^[18]。目前, CXCL13/CXCR5-Akt通路与肿瘤放射敏感度的研究尚未见报道。鉴于Akt在放射抵抗中的作用,我们推测Akt可能参与了CXCL13介导的肺癌细胞放射抵抗,本研究结果显示, CXCL13可促进肺癌细胞H1975 Akt活化,抑制Akt显著降低CXCL13介导的H1975细胞放射抵抗。然而本研究也存在一些不足之处,未阐明CXCL13到底是通过激活Akt下游哪些分子参与肺癌放疗抵抗,而CXCL13促进肺癌细胞放射抵抗的信号通路也很可能不止Akt一条,这些机制都值得后续进一步探讨。

综上所述,本研究探讨了CXCL13在肺癌的表达水平,初步证实CXCL13促进肺癌细胞放射抵抗,其可能的机制是CXCL13通过活化Akt来实现的。本研究有望为解决临床肺癌放疗抵抗问题提供一个新的治疗靶标。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [2] DeSantis CE, Miller KD, Goding Sauer A, *et al.* Cancer statistics for African Americans, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 9(3): 211-233.
- [3] Ma L, Men Y, Feng L, *et al.* A current review of dose-escalated radiotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer[J]. Radiol Oncol, 2019, 53(1): 6-14.
- [4] Verma V, Hasan S, Wegner RE, *et al.* Stereotactic ablative radiation therapy versus conventionally fractionated radiation therapy for stage I small cell lung cancer[J]. Radiother Oncol, 2019, 131: 145-149.
- [5] Nagarsheth N, Wicha MS, Zou W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(9): 559-572.
- [6] Ansel KM, Harris RB, Cyster JG. CXCL13 is required for B1 cell homing, natural antibody production, and body cavity immunity[J]. Immunity, 2002, 16(1): 67-76.
- [7] Zheng Z, Cai Y, Chen H, *et al.* CXCL13/CXCR5 Axis Predicts Poor Prognosis and Promotes Progression Through PI3K/AKT/mTOR Pathway in Clear Cell Renal Cell Carcinoma[J]. Front Oncol, 2018, 8: 682.
- [8] El-Haibi CP, Singh R, Gupta P, *et al.* Antibody Microarray Analysis of Signaling Networks Regulated by Cxcl13 and Cxcr5

- in Prostate Cancer[J]. J Proteomics Bioinform, 2012, 5(8): 177-184.
- [9] Kiang JG, Smith JT, Hegge SR, *et al.* Circulating Cytokine/Chemokine Concentrations Respond to Ionizing Radiation Doses but not Radiation Dose Rates: Granulocyte-Colony Stimulating Factor and Interleukin-18[J]. Radiat Res, 2018, 189(6): 634-643.
- [10] D'Alterio C, Avallone A, Tatangelo F, *et al.* A prognostic model comprising pT stage, N status, and the chemokine receptors CXCR4 and CXCR7 powerfully predicts outcome in neoadjuvant resistant rectal cancer patients[J]. Int J Cancer, 2014, 135(2): 379-390.
- [11] Yang Y, Zhou H, Zhang G, *et al.* Targeting the canonical Wnt/beta-catenin pathway in cancer radioresistance: Updates on the molecular mechanisms[J]. J Cancer Res Ther, 2019, 15(2): 272-277.
- [12] Wu MT, Hwang ST. CXCR5-transduced bone marrow-derived dendritic cells traffic to B cell zones of lymph nodes and modify antigen-specific immune responses[J]. J Immunol, 2002, 168(10): 5096-5102.
- [13] De-Colle C, Monnich D, Welz S, *et al.* SDF-1/CXCR4 expression in head and neck cancer and outcome after postoperative radiochemotherapy[J]. Clin Transl Radiat Oncol, 2017, 5: 28-36.
- [14] Zhang H, Yue J, Jiang Z, *et al.* CAF-secreted CXCL1 conferred radioresistance by regulating DNA damage response in a ROS-dependent manner in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(5): e2790.
- [15] Lecavalier-Barsoum M, Chaudary N, Han K, *et al.* Targeting the CXCL12/CXCR4 pathway and myeloid cells to improve radiation treatment of locally advanced cervical cancer[J]. Int J Cancer, 2018, 143(5): 1017-1028.
- [16] Chang H, Wei JW, Tao YL, *et al.* CCR6 Is a Predicting Biomarker of Radiosensitivity and Potential Target of Radiosensitization in Rectal Cancer[J]. Cancer Res Treat, 2018, 50(4): 1203-1213.
- [17] Zhou KX, Xie LH, Peng X, *et al.* CXCR4 antagonist AMD3100 enhances the response of MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells to ionizing radiation[J]. Cancer Lett, 2018, 418: 196-203.
- [18] Jiao X, Velasco-Velazquez MA, Wang M, *et al.* CCR5 Governs DNA Damage Repair and Breast Cancer Stem Cell Expansion[J]. Cancer Res, 2018, 78(7): 1657-1671.
- [19] Singh R, Gupta P, Kloecker GH, *et al.* Expression and clinical significance of CXCR5/CXCL13 in human nonsmall cell lung carcinoma[J]. Int J Oncol, 2014, 45(6): 2232-2240.
- [20] Wei C, Dong X, Lu H, *et al.* LPCAT1 promotes brain metastasis of lung adenocarcinoma by up-regulating PI3K/AKT/MYC pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 95.
- [21] Dou C, Zhou Z, Xu Q, *et al.* Hypoxia-induced TUFT1 promotes the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by activating the Ca²⁺/PI3K/AKT pathway[J]. Oncogene, 2019, 38(8): 1239-1255.
- [22] Che Y, Li Y, Zheng F, *et al.* TRIP4 promotes tumor growth and metastasis and regulates radiosensitivity of cervical cancer by activating MAPK, PI3K/AKT, and hTERT signaling[J]. Cancer Lett, 2019, 452: 1-13.
- [23] Zhu Z, Zhang X, Guo H, *et al.* CXCL13-CXCR5 axis promotes the growth and invasion of colon cancer cells via PI3K/AKT pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2015, 400(1-2): 287-295.

[编辑：安凤；校对：邱颖慧]

作者贡献：

耿闪闪、何翠：主要实验的实施及论文写作

陈春丽：生物信息学分析及论文语言修改

吴林：细胞培养

邱力：数据处理

施明亮：生存曲线分析及克隆形成实验

邓鑫州、段奇文、柯青：提供实验技术、写作指导及资金支持

骆志国：课题理论及论文写作指导、提供实验平台