

# DNER 通过抑制线粒体自噬促进胃癌细胞恶性进展的机制研究

付永生<sup>1a</sup>, 卢静芬<sup>1a</sup>, 赵昕<sup>1b</sup>, 王卫<sup>2</sup>, 朱其聪<sup>1a</sup> (1. 解放军联勤保障部队第九二八医院 a. 血液肿瘤科; b. 普通外科, 海口 570100; 2. 海口市第三人民医院普通外科, 海口 570100)

**摘要:** **目的** 研究 Delta/Notch 样表皮生长因子相关受体 (delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor, DNER) 在胃癌中的作用及其调节机制。**方法** 通过实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 和蛋白免疫印迹 (Western blot) 检测胃癌组织和细胞中 DNER mRNA 和蛋白表达水平。构建沉默 DNER 表达的胃癌细胞系 SGC7901, 用线粒体动力相关蛋白 (dynammin-related protein 1, DRP1) 抑制剂 Mdivi-1 处理细胞。CCK-8 法、Transwell 实验和流式细胞术分别检测细胞活力、侵袭能力和细胞凋亡。Western blot 检测 DNER 蛋白、凋亡相关蛋白 [半胱天冬氨酸蛋白酶 3 (cysteiny aspartate-specific proteinase -3, Caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X, Bax)]、自噬相关蛋白 [微管相关蛋白 1 轻链 3- II / I (microtubule-associated protein 1 light chain 3-II/ I, LC3 II / I)、p62, PTEN 诱导激酶 1 (PTEN induced putative kinase 1, PINK1) 和 Parkin], 以及线粒体裂变和融合蛋白 [DRP1, 线粒体分裂因子 (mitochondrial fission factor, MFF)、线粒体分裂蛋白 1(fission mitochondrial 1, FIS1)、视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1)、线粒体融合蛋白 1(mitofusin 1, MFN1) 和 MFN2] 水平。**结果** 胃癌肿瘤组织和细胞中 DNER mRNA, 蛋白表达水平分别显著高于相邻正常组织 ( $t=-52.485, -46.955$ ) 和人正常胃上皮细胞 ( $F=60.551, 60.652$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.001$ )。沉默 DNER 显著抑制 SGC7901 细胞的增殖和侵袭、诱导细胞凋亡、增加细胞凋亡相关蛋白表达, 差异具有统计学意义 ( $t=8.026\sim 25.903$ , 均  $P<0.05$ )。沉默 DNER 显著升高 LC3 II / I 比率 ( $t=18.086$ ), 降低 p62 蛋白水平 ( $t=6.747$ ), 促进 PINK1 和 Parkin 蛋白在线粒体的聚集 ( $t=15.630, 18.171$ ), 抑制线粒体融合蛋白 OPA1, MFN1 和 MFN2 表达 ( $t=12.835, 8.963, 9.732$ ), 促进线粒体裂变蛋白 DRP1, MFF 和 FIS1 表达 ( $t=16.034, 16.939, 15.971$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。Mdivi-1 处理可抵消沉默 DNER 对胃癌细胞线粒体自噬及细胞增殖、侵袭和凋亡的影响。**结论** DNER 通过抑制线粒体动力学失衡减少线粒体自噬, 促进细胞增殖和侵袭, 抑制细胞凋亡, 从而促进胃癌进展。

**关键词:** 胃癌; 自噬; Delta/Notch 样表皮生长因子相关受体; 线粒体融合; 线粒体裂变

**中图分类号:** R735.2; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 04-050-06

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2024.04.010

## Study on the Mechanism of DNER Promoting Malignant Progression of Gastric Cancer Cells by Inhibiting Mitochondrial Autophagy

FU Yongsheng<sup>1a</sup>, LU Jingfen<sup>1a</sup>, ZHAO Xin<sup>1b</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, ZHU Qicong<sup>1a</sup> (1a. Department of Hematology and Oncology; 1b. Department of General Surgery, 928 Medical Hospital of PLA Joint Logistic Support Force, Haikou 570100, China; 2. Department of General Surgery, the Third People's Hospital of Haikou, Haikou 570100, China)

**Abstract: Objective** To investigate the role of delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor (DNER) in gastric cancer and its regulatory mechanism. **Methods** The mRNA and protein levels of DNER in gastric cancer tissues and cells were detected with quantitative real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot. Gastric cancer cell line SGC7901 with silenced DNER expression was constructed, and cells were treated with mitochondrial dynammin-related protein 1 (DRP1) inhibitor Mdivi-1. CCK-8 assay, Transwell assay, and flow cytometry were used to detect cell viability, invasion ability and apoptosis, respectively. Western blot was used to detect DNER protein levels, apoptosis-associated proteins [Cysteiny aspartate-specific proteinase-3 (Caspase-3), Bcl-2 Associated X (Bax)], autophagy associated proteins [microtubule-associated protein 1 light chain 3-II/ I, LC3 II / I], p62, PTEN induced putative kinase 1 (PINK1) and Parkin], and mitochondrial fission and fusion protein [DRP1, mitochondrial fission factor (MFF), mitochondrial fission protein 1(FIS1), Optic Atrophy 1(OPA1), mitofusin 1 (MFN1) and MFN2] levels. **Results** The expression levels of DNER mRNA and protein in gastric cancer tissues were higher than those in adjacent normal tissues ( $t=-52.485, -46.955$ ), while expression levels of DNER mRNA and protein

**基金项目:** 海南省卫生厅科学研究项目 (编号: 22A200057)。

**作者简介:** 付永生 (1985-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 肿瘤学, E-mail: FYS850606@126.com。

**通讯作者:** 朱其聪 (1973-), 男, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 肿瘤学, E-mail: zhuqico1234@163.com。

in gastric cancer cells were higher than those in normal gastric epithelial cells ( $F=60.551, 60.652$ ), and the differences were significant ( $P<0.001$ ). Silencing DNER inhibited the proliferation and invasion of SGC7901 cells, induced apoptosis, and increased the expression of apoptosis-related proteins, with significant differences ( $t=8.026 \sim 25.903$ , all  $P<0.05$ ). Silenced DNER increased LC3 II / I ratio ( $t=18.086$ ), decreased p62 protein level ( $t=6.747$ ), promoted the aggregation of PINK1 and Parkin proteins in mitochondria ( $t=15.630, 18.171$ ), inhibited the expression of mitochondrial fusion proteins OPA1, MFN1 and MFN2 ( $t=12.835, 8.963, 9.732$ ), and promoted the expression of mitochondrial fission proteins DRP1, MFF and FIS1 ( $t=16.034, 16.939, 15.971$ ), with significant differences (all  $P<0.05$ ). Mdivi-1 treatment could counteract the effects of silencing DNER on mitochondrial autophagy, proliferation, invasion and apoptosis of gastric cancer cells. **Conclusion** DNER can reduce mitochondrial autophagy by inhibiting mitochondrial dynamic imbalance, promote cell proliferation and invasion, and inhibit cell apoptosis, thus promoting the progression of gastric cancer.

**Keywords:** gastric cancer; autophagy; DNER; mitochondrial fusion; mitochondrial fission

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,由于早期胃癌缺乏特异性症状,>70%的患者确诊时已发展为晚期,甚至失去了手术切除的机会<sup>[1-2]</sup>。故而了解胃癌发病机制,开发新的治疗手段至关重要。线粒体自噬是维持肿瘤稳态所需的重要内部过程<sup>[3]</sup>。研究表明,线粒体自噬对于消除基线条件下和应激反应中受损的线粒体非常重要,线粒体自噬激活可以减少线粒体氧化应激损伤,缓解线粒体钙超载,阻止线粒体促凋亡因子渗漏并促进细胞三磷酸腺苷(adenosine-triphosphate, ATP)生成<sup>[4-6]</sup>。现有研究已将受损的线粒体自噬与胰腺癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和胃癌等<sup>[7-11]</sup>多种癌症联系起来。因此,有必要明确线粒体自噬在胃癌生物学功能中的调节作用。Delta/Notch样表皮生长因子相关受体(Delta/Notch-like epidermal growth factor-related receptor, DNER)被认为是一种癌基因,大量研究证实其可以促进人类多种肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,诱导癌症发生<sup>[12-17]</sup>。DNER也被鉴定为胃癌潜在的预后标志物<sup>[18]</sup>,但是DNER发挥作用的机制尚不清楚。因此,本研究分析了DNER在胃癌中的表达及其促进胃癌恶性进展是否与线粒体自噬相关的可能关系,旨在探寻一种新的、有效的治疗胃癌的分子靶点,利于对胃癌发病机制的研究。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 从上海细胞库获得正常人胃上皮细胞GES-1和人胃癌细胞系SNU216, BGC823和SGC7901,所有细胞系均经短串联重复序列鉴定。另收集2021年1月~2023年10月在解放军联勤保障部队第九二八医院接受手术治疗的42例胃癌患者的肿瘤组织和相邻正常组织标本,均为首次诊断为胃癌,术前未接受过化疗、放疗和生物药物(单克隆抗体)等任何治疗。研究经医院伦理委员会批准(928YY伦审2024年第[16]号),并与患者及其家属签订了知情同意书。

**1.2 主要材料和仪器** Mdivi-1(M0199,美国Merck公司);DMEM培养液、胎牛血清(FBS)及Trizol试剂(美国Life Technologies公司);

Lipofectamine 3000<sup>TM</sup>(美国Invitrogen公司);PrimeScript反转录试剂盒(TaKaRa公司);SYBR Green 荧光定量PCR试剂盒(德国QIAGEN公司);RIPA裂解缓冲液、BCA蛋白测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);Western blot检测蛋白抗体(Abcam公司);细胞计数试剂盒-8(CCK-8)和FITC-Annexin V试剂盒(日本Dojindo, Kumamoto公司);sh-DNER和过表达载体(pcDNA-dner)由GenePharma(上海)公司制备;PCR仪(德国Eppendorf公司);Thermo Varioskan<sup>TM</sup> LUX多功能酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);凝胶成像分析系统(Bio-Imaging Systems公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 细胞培养和分组:**人正常胃上皮细胞系和人胃癌细胞系均保存在含有10 g/dl FBS, 100 U/ml青霉素/链霉素的DMEM培养液中,37℃,5ml/dl CO<sub>2</sub>培养箱中培养,待细胞融合度达到70%左右时,按照Lipofectamine 3000说明书进行转染,48 h后采用100 μmol/L的Mdivi-1处理24 h。细胞分组:设置空白对照组(Control组,不做任何处理)、阴性对照组(NC shRNA组,转染DNER的NC shRNA序列)、沉默DNER表达组(sh-DNER组,转染DNER小干扰shRNA序列)和sh-DNER+Mdivi-1组(共转染DNER小干扰shRNA序列+100 μmol/L的Mdivi-1)。

**1.3.2 qRT-PCR检测DNER mRNA水平:**使用Trizol提取组织和细胞的总RNA,使用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,使用SYBR Green进行qPCR,以GAPDH作为内参基因。引物序列如下:DNER上游引物5'-GCCGCCTTTGTGCTTCTGTTC-3',下游引物5'-CCGGTGGTCTGTCTGGTCTGTC-3';GAPDH上游引物:5'-GAAGGTGAAGGTGGAGTC-3',下游引物:5'-GAAGATGGTGATGGATTTC-3'。反应条件:95℃预变性60s,95℃退火45s,75℃延伸30s,共40个循环。采用2<sup>-ΔΔCt</sup>计算基因的相对表达水平。

1.3.3 Western blot 检测 DNER 蛋白、凋亡相关蛋白 (Caspase-3, Bax)、自噬相关蛋白 (LC3 II / I, p62, PINK1, Parkin), 以及线粒体裂变 (DRP1, MFF, FIS1) 和融合蛋白 (OPA1, MFN1, MFN2) 水平: 通过 RIPA 缓冲液提取总蛋白, BCA 试剂盒检测蛋白浓度。通过 SDS-PAGE 分离蛋白样品, 并转移到 PVDF 膜上, 用 5g/dl 脱脂牛奶室温封闭 1h, 加入待测蛋白一抗 (1:1 000), 4℃ 孵育过夜。用 TBST 清洗三次, 加入二抗, 室温孵育 1h。以 GAPDH 为内参, 采用 ECL 试剂盒在凝胶成像系统上进行可视化, 并用 Image J 软件进行蛋白条带灰度值分析。

1.3.4 CCK-8 法检测细胞活力: 将各组待测细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔的密度接种到 96 孔板中, 分别在培养 48h 后, 将 10  $\mu$ l 的 CCK-8 溶液加入每孔中, 37℃ 继续培养 2h, 使用酶标仪测量 450 nm 处的光密度值 (A 值)。

1.3.5 Transwell 测定细胞侵袭能力: 将各组待测细胞接种于含 200  $\mu$ l 无血清培养液的 Transwell 上室中, 在下室加入含 10 g/dl 的 FBS 培养液。孵育 24h 后, 对下室中的细胞进行 4g/dl 多聚甲醛固定, 0.1g/dl 结晶紫染色。随机选取 5 个视野拍照, 在显微镜下进行计数。

1.4 统计学分析 使用 GraphPad Prism 7.0 进行数据可视化, 使用 SPSS 22.0 进行统计学分析, 实验重复三次取平均值。数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验; 胃癌组织及相邻正常组织中差异比较采用配对  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

表 1 沉默 DNER 对胃癌细胞增殖、侵袭、凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Control 组	NC shRNA 组	Sh-DNER 组	F 值	P 值
DNER mRNA	1.01 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.02	0.39 $\pm$ 0.11	90.071	<0.001
细胞活力 (A 值)	98.64 $\pm$ 2.21	97.52 $\pm$ 2.17	53.42 $\pm$ 2.03	436.518	<0.001
细胞侵袭率 (%)	42.43 $\pm$ 3.15	40.97 $\pm$ 2.86	24.69 $\pm$ 1.97	39.704	<0.001
细胞凋亡率 (%)	5.12 $\pm$ 1.23	5.23 $\pm$ 1.18	26.74 $\pm$ 2.65	140.532	<0.001
Caspase-3 蛋白	1.02 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.02	3.52 $\pm$ 0.34	162.801	<0.001
Bax 蛋白	1.00 $\pm$ 0.01	1.01 $\pm$ 0.01	2.89 $\pm$ 0.25	170.014	<0.001

2.3 沉默 DNER 促进胃癌细胞线粒体自噬 见表 2, 图 2。检测结果显示, 与 Control 组相比, 沉默 DNER 显著升高细胞中 LC3 II / I 比率和 PINK1, Parkin 蛋白水平, 降低 p62 蛋白水平, 差异具有统计学意义 ( $t=18.086, 15.630, 18.171, 6.747$ , 均  $P < 0.05$ ), 沉默 DNER 可显著促进 PINK1 和 Parkin 蛋白在线粒体的聚集。

## 2 结果

2.1 DNER 在胃癌组织和细胞中的表达 与相邻正常组织 ( $1.00 \pm 0.02, 1.01 \pm 0.01$ ) 相比, DNER mRNA ( $3.92 \pm 0.36$ ) 和蛋白 ( $3.04 \pm 0.28$ ) 水平在胃癌组织中显著上调, 差异具有统计学意义 ( $t=-52.485, -46.955$ , 均  $P < 0.001$ )。与人正常胃上皮细胞 GES-1 ( $1.01 \pm 0.01, 1.00 \pm 0.01$ ) 相比, DNER mRNA 和蛋白水平在胃癌细胞 SNU216 ( $2.73 \pm 0.24, 2.46 \pm 0.21$ ), BGC823 ( $3.02 \pm 0.26, 2.84 \pm 0.22$ ) 和 SGC7901 ( $3.51 \pm 0.33, 3.07 \pm 0.28$ ) 中均显著升高, 差异具有统计学意义 ( $F=60.551, 60.652$ , 均  $P < 0.001$ )。研究选用表达上调最为显著的 SGC7901 细胞进行后续研究。

2.2 沉默 DNER 抑制胃癌细胞增殖和侵袭、诱导细胞凋亡 见表 1, 图 1。检测结果显示, 与 Control 组相比, 沉默 DNER 组细胞中 DNER 相对表达水平显著降低, 差异具有统计学意义 ( $t=11.717, P < 0.05$ ), 表明沉默 DNER 的胃癌细胞系构建成功。细胞实验检测显示, 沉默 DNER 显著降低细胞活力和侵袭能力 ( $t=25.903, 8.026$ ), 促进细胞凋亡 ( $t=14.556$ ), 升高凋亡蛋白 caspase-3 和 Bax 表达 ( $t=15.564, 16.012$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。

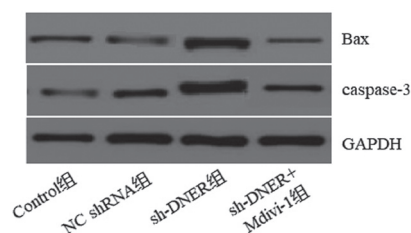


图 1 各组细胞凋亡蛋白 Caspase-3, Bax 表达水平

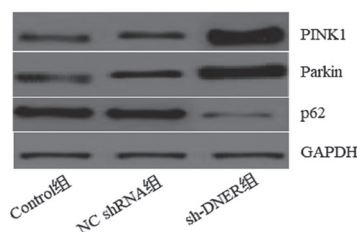


图 2 各组细胞线粒体自噬相关蛋白表达水平



表2 沉默DNER对胃癌细胞线粒体自噬相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	Control组	NC shRNA组	Sh-DNER组	F值	P值
LC3 II / I 比率	1.02 ± 0.01	1.00 ± 0.01	3.24 ± 0.26	220.053	<0.001
p62 蛋白	1.01 ± 0.03	1.02 ± 0.01	0.46 ± 0.17	30.913	<0.001
PINK1 蛋白	1.00 ± 0.01	1.02 ± 0.02	3.29 ± 0.31	161.450	<0.001
Parkin 蛋白	1.00 ± 0.02	1.01 ± 0.01	3.15 ± 0.25	219.100	<0.001

2.4 沉默DNER促进胃癌细胞线粒体动力学失衡 见表3, 图3。检测结果显示, 与Control组相比, 沉默DNER显著降低细胞中线粒体融合蛋白OPA1, MFN1, MFN2水平 ( $t=12.835, 8.963, 9.732$ ), 升高线粒体裂变蛋白DRP1, MFF, FIS1水平 ( $t=16.034, 16.939, 15.971$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

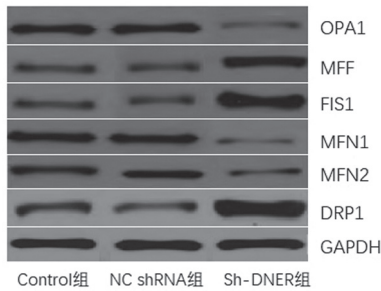


图3 各组细胞线粒体裂变和融合蛋白表达水平

表4 Mdivi-1处理对DNER沉默诱导的胃癌细胞线粒体自噬的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	NC shRNA组	Sh-DNER组	Sh-DNER+Mdivi-1组	F值	P值
LC3 II / I 比率	1.00 ± 0.01	3.24 ± 0.26	1.55 ± 0.31	74.874	<0.001
DRP1 蛋白	1.02 ± 0.01	3.52 ± 0.33	1.43 ± 0.28	86.336	<0.001
p62 蛋白	1.02 ± 0.01	0.46 ± 0.17	0.95 ± 0.24	9.676	<0.05

2.6 Mdivi-1处理逆转了DNER沉默对胃癌细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响 见表5, 图1。与NC shRNA组相比, sh-DNER组细胞中的细胞活力、侵袭率明显降低, 细胞凋亡率及Caspase-3和Bax蛋白表达明显升高, 差异具有统计学意义 ( $t=4.356,$

表5 Mdivi-1处理对DNER沉默诱导的胃癌细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	NC shRNA组	Sh-DNER组	Sh-DNER+Mdivi-1组	F值	P值
细胞活力 (A值)	97.52 ± 2.17	53.42 ± 2.03	89.76 ± 2.33	349.852	<0.001
细胞侵袭率 (%)	40.97 ± 2.86	24.69 ± 1.97	43.12 ± 2.06	56.059	<0.001
细胞凋亡率 (%)	5.23 ± 1.18	26.74 ± 2.65	8.63 ± 1.42	115.357	<0.001
caspase-3 蛋白	1.00 ± 0.02	3.52 ± 0.34	1.61 ± 0.29	77.741	<0.001
Bax 蛋白	1.01 ± 0.01	2.89 ± 0.25	1.49 ± 0.26	65.954	<0.001

### 3 讨论

近年研究发现, 肿瘤的发生发展是一种多步骤、多因素的综合性疾病, 许多分子改变被证实可通过异常基因表达或蛋白质改变影响肿瘤的恶性进展<sup>[1, 19]</sup>。所以深入探究肿瘤发生发展分子机制对临

表3 沉默DNER对胃癌细胞线粒体裂变和融合蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

蛋白	Control组	NC shRNA组	Sh-DNER组	F值	P值
OPA1 蛋白	1.01 ± 0.02	1.00 ± 0.01	0.39 ± 0.10	108.086	<0.001
MFN1 蛋白	1.01 ± 0.02	1.02 ± 0.03	0.44 ± 0.13	54.511	<0.001
MFN2 蛋白	1.02 ± 0.01	1.00 ± 0.02	0.46 ± 0.12	69.966	<0.001
DRP1 蛋白	1.01 ± 0.03	1.02 ± 0.01	3.52 ± 0.33	172.771	<0.001
MFF 蛋白	1.00 ± 0.01	1.02 ± 0.03	3.25 ± 0.28	189.593	<0.001
FIS1 蛋白	1.02 ± 0.01	1.01 ± 0.02	3.36 ± 0.31	170.780	<0.001

2.5 Mdivi-1处理逆转了DNER沉默诱导的胃癌细胞线粒体自噬 见表4, 图4。检测结果显示, 与NC shRNA组相比, sh-DNER组LC3 II / I比率及DRP1蛋白表达明显升高, P62蛋白明显降低, 差异具有统计学意义 ( $t=0.467, 0.499, 0.339$ , 均  $P<0.05$ ), 而与sh-DNER组相比, Mdivi-1处理显著抑制了LC3 II / I比率和DRP1蛋白水平, 升高p62蛋白水平, 差异具有统计学意义 ( $t=8.858, 10.242, 3.532$ , 均  $P<0.05$ ), Mdivi-1可抵消DNER沉默诱导的线粒体自噬。

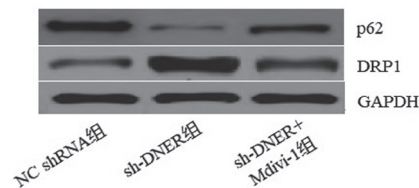


图4 各组细胞线粒体自噬蛋白表达水平

4.658, 3.725, 0.516, 0.416, 均  $P<0.05$ ); 与sh-DNER组相比, Mdivi-1处理显著逆转DNER沉默对胃癌细胞增殖、侵袭和细胞凋亡的影响, 差异具有统计学意义 ( $t=20.415, 9.682, 11.895, 9.058, 8.231$ , 均  $P<0.05$ )。

床研究及靶向药物的研发至关重要。大量研究报道, DNER与人类疾病的发生发展相关, 如报道乳腺癌中DNER高表达与患者预后生存相关, 体内、体外实验发现DNER过表达通过激活Girdin/PI3K/AKT信号, 促进乳腺癌细胞的增殖、转移<sup>[12]</sup>。既

往 WANG 等<sup>[14]</sup>报道, 敲低 DNER 表达能够抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。LIANG 等<sup>[16]</sup>报道, 敲低 DNER 表达后 HepG2 细胞增殖、集落形成、细胞侵袭和迁移显著受到抑制, 是肝癌潜在的生物标志物, 证实在肿瘤发生发展过程中 DNER 扮演重要角色。本研究探究发现沉默 DNER 明显抑制胃癌细胞的增殖和侵袭, 诱导细胞凋亡, 这与早期的报道相一致<sup>[18]</sup>。

线粒体是高度动态的细胞器, 主要由调节线粒体健康、周转和功能的膜融合和裂变事件控制<sup>[20]</sup>。线粒体可以调节细胞凋亡信号, 诱导细胞程序性死亡, 还参与 ROS 产生、细胞生物学行为和自噬等胞内信号转导<sup>[21]</sup>。研究报道, 线粒体自噬作为一种清除受损线粒体的选择性机制, 可减少线粒体 ROS 的产生和过度炎症, 促进细胞存活, 同时线粒体自噬作为激活细胞凋亡和决定坏死细胞死亡程序的核心, 其对维持细胞功能稳定、线粒体数量和质量及机体内稳态意义显著<sup>[22-23]</sup>。癌症、心血管疾病、神经退行性疾病和糖尿病等疾病的病理状况与线粒体动力学失调密切相关<sup>[24-26]</sup>。本研究发现, 沉默 DNER 显著促进胃癌细胞线粒体自噬, 影响线粒体融合蛋白和裂变蛋白异常表达, 导致细胞线粒体动力学失衡。线粒体质量控制是细胞存活的关键调节因子<sup>[20]</sup>, 线粒体裂变/融合动力学和线粒体自噬在线粒体质量控制中发挥重要作用<sup>[27]</sup>。线粒体融合促进线粒体基质以及线粒体外膜和内膜蛋白的混合, 以促进物质交换和 ATP 产生。线粒体裂变有助于从线粒体网络中分离出受损的线粒体片段, 以便通过线粒体自噬将其选择性地从细胞中去除<sup>[27-28]</sup>。线粒体融合和裂变共同修复受损线粒体, 通过裂变分离受损成分, 通过融合在健康线粒体之间交换材料, 以确保线粒体质量。此外研究报道, DRP1 通过寡聚化成环状结构可诱导线粒体裂变, 环状结构包裹并收缩线粒体小管, 可通过促进膜分裂将其裂变<sup>[21-22]</sup>。而本研究发现, DRP1 抑制剂 Mdivi-1 处理显著抑制胃癌细胞的线粒体自噬, 逆转 DNER 沉默对胃癌细胞增殖和侵袭的抑制作用, 以及对细胞凋亡的诱导作用, 这与上述的报道相一致, 表明 DNER 可能通过抑制胃癌细胞线粒体自噬, 促进细胞增殖和侵袭, 抑制细胞凋亡, 参与胃癌恶性进展。本研究加深了对胃癌发病分子机制的理解, 也为胃癌的生物诊断和治疗提供一个潜在的新靶标。但是肿瘤的发生发展机制复杂, 本研究仅基于体外细胞实验进行探究了 DNER 在胃癌发生发展中的作用, 还需通过设计动物体内实验进一步验证 DNER 发挥作用的可能机制, 以期提供更加可靠的指导价值。

综上所述, DNER 可能通过抑制线粒体自噬促

进细胞增殖和侵袭, 抑制细胞凋亡, 诱导胃癌恶性进展。DNER 可能作为癌基因在胃癌发生与发展中发挥作用, 具有被开发为胃癌诊断或预后靶点的潜在价值。

#### 参考文献:

- [1] HUANG R J, LASZKOWSKA M, IN H, et al. Controlling gastric cancer in a world of heterogeneous risk[J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(5): 736-751.
- [2] GUAN Wenlong, HE Ye, XU Ruihua. Gastric cancer treatment: recent progress and future perspectives[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2023, 16(1): 57.
- [3] FERRO F, SERVAIS S, BESSON P, et al. Autophagy and mitophagy in cancer metabolic remodelling [J]. *Seminars in Cell Developmental Biology*, 2020, 98: 129-138.
- [4] PICCA A, FAITG J, AUWERX J, et al. Mitophagy in human health, ageing and disease [J]. *Nature Metabolism*, 2023, 5(12): 2047-2061.
- [5] LIU Lei, LI Yanjun, CHEN Guo, et al. Crosstalk between mitochondrial biogenesis and mitophagy to maintain mitochondrial homeostasis[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2023, 30(1): 86.
- [6] 代晶, 张勇, 潘长清, 等. RMP 通过 AMPK 通路调节线粒体稳态和氧化应激诱导卵巢癌细胞增殖与凋亡的机制研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2023, 38(2): 57-62.
- DAI Jing, ZHANG Yong, PAN Changqing, et al. Mechanism of RMP regulating mitochondrial homeostasis and oxidative stress-induced ovarian cancer cell proliferation and apoptosis through the AMPK pathway [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2023, 38(2): 57-62.
- [7] RADEMAKER G, BOUMAHD Y, PEIFFER R, et al. Myoferlin targeting triggers mitophagy and primes ferroptosis in pancreatic cancer cells [J]. *Redox Biology*, 2022, 53: 102324.
- [8] MENG Yang, QIU Lei, ZENG Xinyi, et al. Targeting CRL4 suppresses chemoresistant ovarian cancer growth by inducing mitophagy[J]. *Signal Transduction and Targeted therapy*, 2022, 7(1): 388.
- [9] SUN Yueqin, SHEN Weitao, HU Shulu, et al. METTL3 promotes chemoresistance in small cell lung cancer by inducing mitophagy[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2023, 42(1): 65.
- [10] DENG Rong, ZHANG Hailiang, HUANG Junhao, et al. MAPK1/3 kinase-dependent ULK1 degradation attenuates mitophagy and promotes breast cancer bone metastasis[J]. *Autophagy*, 2021, 17(10): 3011-3029.
- [11] WANG Xiaohong, ZHANG Lianhai, CHAN F K L, et al. Gamma-glutamyltransferase 7 suppresses gastric cancer by cooperating with RAB7 to induce mitophagy[J]. *Oncogene*, 2022, 41(26): 3485-3497.
- [12] WANG Lijun, WU Qi, LI Zhiyu, et al. Delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor promotes stemness to facilitate breast cancer progression [J]. *Cellular Signalling*, 2019, 63: 109389.
- [13] WANG Zhong, LI Zhiyu, WU Qi, et al. DNER

- promotes epithelial-mesenchymal transition and prevents chemosensitivity through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in breast cancer [J]. *Cell Death Disease*, 2020, 11(8): 642.
- [14] WANG Lijun, WU Qi, ZHU Shan, et al. Delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor (DNER) orchestrates stemness and cancer progression in prostate cancer [J]. *American Journal of Translational Research*, 2017, 9(11): 5031-5039.
- [15] HE Rui, ZHANG Wunai, CHEN Shuo, et al. Transcriptional profiling reveals the regulatory role of DNER in promoting pancreatic neuroendocrine neoplasms [J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11: 587402.
- [16] LIANG Yan, LUO Hesheng, ZHANG Haidong, et al. Oncogene delta/Notch-like EGF-related receptor promotes cell proliferation, invasion, and migration in hepatocellular carcinoma and predicts a poor prognosis[J]. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 2018, 33(9): 380-386.
- [17] WANG Qun, LI Yaqiong, LI Jiamei, et al. Delta and notch-like epidermal growth factor-related receptor suppresses human glioma growth by inhibiting oncogene TOR4A[J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2022, 18(5): 1372-1379.
- [18] TO H T N, PARK J H, KIM J W, et al. Delta/notch-like epidermal growth factor-related receptor (DNER), a potential prognostic marker of gastric cancer regulates cell survival and cell cycle progression[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(12): 10077.
- [19] YANG Wenjuan, ZHAO Heping, YU Yan, et al. Updates on global epidemiology, risk and prognostic factors of gastric cancer[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2023, 29(16): 2452-2468.
- [20] NG M Y W, WAI T, SIMONSEN A. Quality control of the mitochondrion[J]. *Developmental Cell*, 2021, 56(7): 881-905.
- [21] 骆慧, 于月, 廖照辉, 等. 线粒体自噬的信号通路及其在肿瘤中的研究进展 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2022, 27(7): 661-668.
- LUO Hui, YU Yue, LIAO Zhaohui, et al. Progress on the signal pathway of mitochondrial autophagy and its application in tumor [J]. *Chinese Clinical Oncology*, 2022, 27(7): 661-668.
- [22] ADEBAYO M, SINGH S, SINGH A P, et al. Mitochondrial fusion and fission: the fine-tune balance for cellular homeostasis[J]. *FASEB Journal*, 2021, 35(6): e21620.
- [23] ZHANG Baoyi, PAN Cunyao, FENG Chong, et al. Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation[J]. *Redox Report*, 2022, 27(1): 45-52.
- [24] ROTH K G, MAMBETSARIEV I, KULKARNI P, et al. The mitochondrion as an emerging therapeutic target in cancer[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2020, 26(1): 119-134.
- [25] SREEDHAR A, AGUILERA-AGUIRRE L, SINGH K K. Mitochondria in skin health, aging, and disease [J]. *Cell death Disease*, 2020, 11(6): 444.
- [26] 陈元菁, 艾红军, 王湘云, 等. COPD 患者线粒体功能及代谢水平变化检测与骨骼肌功能障碍的相关性研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(6): 25-27, 32.
- CHEN Yuanjing, AI Hongjun, WANG Xiangyun, et al. Study on the correlation between changes detection in mitochondrial function, metabolic level and skeletal muscle dysfunction in patients with COPD [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(6): 25-27, 32.
- [27] JIAO Haifeng, JIANG Dong, HU Xiaoyu, et al. Mitocytosis, a migrasome-mediated mitochondrial quality-control process[J]. *Cell*, 2021, 184(11): 2896-2910, e13.
- [28] POPOV L D. Mitochondrial biogenesis: an update[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(9): 4892-4899.
- 收稿日期: 2024-02-22  
修回日期: 2024-04-26

(上接第9页)

- [15] LIU Fei, DENG Wenwen, WAN Zhenda, et al. LncRNA MAGI2-AS3 overexpression had antitumor effect on hepatic cancer via miRNA-23a-3p/PTEN axis[J]. *Food Science & Nutrition*, 2021, 9(5): 2517-2530.
- [16] 戴润芝, 徐莲, 彭先兵. LncRNA MAGI2-AS3 导致鼻咽癌细胞放疗抵抗的作用机制研究 [J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(18): 2232-2237.
- DAI Runzhi, XU Lian, PENG Xianbing. Effect and mechanism of LncRNA MAGI2-AS3 for causing radiotherapeutic resistance of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2022, 43(18): 2232-2237.
- [17] 王冰, 苏崇玉, 刘志东. LncRNA MAGI2-AS3 在非小细胞肺癌组织中的表达及生物学作用 [J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(19): 3385-3389.
- WANG Bing, SU Chongyu, LIU Zhidong. Expression and biological role of LncRNA MAGI2-AS3 in non-small cell lung cancer tissues[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2021, 29(19): 3385-3389.
- [18] SHEN Daqing, XU Jing, CAO Xiande, et al. Long noncoding RNA MAGI2-AS3 inhibits bladder cancer progression through MAGI2/PTEN/epithelial-mesenchymal transition (EMT) axis[J]. *Cancer Biomarkers*, 2021, 30(2): 155-165.
- [19] TANG Congyi, CAI Yi, JIANG Huichuan, et al. LncRNA MAGI2-AS3 inhibits bladder cancer progression by targeting the miR-31-5p/TNS1 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(24): 25547-25563.
- [20] DAI Ranran, JIANG Qingping, ZHOU You, et al. Lnc-STYK1-2 regulates bladder cancer cell proliferation, migration, and invasion by targeting miR-146b-5p expression and AKT/STAT3/NF- $\kappa$ B signaling[J]. *Cancer Cell International*, 2021, 21(1): 408.
- 收稿日期: 2023-11-22  
修回日期: 2024-01-15