·论著·

KRT6A介导Wnt/β-catenin信号通路调节上皮–间质转化促进非小细胞肺癌A549细胞抗辐射

尹策[1],刘畅[2],冯革[1]
(中国医科大学 1.附属盛京医院肿瘤中心,沈阳 110004;2.附属第一医院放疗科,沈阳 110001)

摘要 目的 探讨KRT6A对非小细胞肺癌A549细胞抗辐射的促进作用,并阐明其作用机制。**方法** 诱导并建立抗辐射A549(A549-RR)细胞,通过CCK-8法、平板克隆形成实验和流式细胞术验证细胞构建成功。Western blotting检测A549和A549-RR细胞中KRT6A表达情况。将A549-RR细胞分为敲减对照组(sh-NC组)和敲减*KRT6A*组(sh-*KRT6A*组),Western blotting检测KRT6A、上皮–间质转化(EMT)相关蛋白(E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug)以及β-catenin的表达;采用CCK-8法、平板克隆形成实验和流式细胞术检测细胞增殖及凋亡情况。将A549-RR细胞分为sh-NC组、sh-*KRT6A*组、敲减*KRT6A*和过表达对照(sh-KRT6A+ov-NC组)以及敲减*KRT6A*和过表达β-catenin(sh-*KRT6A*+ov-β-catenin组),Western blotting检测β-catenin以及EMT相关蛋白E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug的表达;采用CCK-8法、平板克隆形成实验和流式细胞术检测细胞增殖及凋亡情况。 **结果** 成功建立了A549-RR细胞,A549-RR细胞中KRT6A表达上调。敲减*KRT6A*降低A549-RR细胞增殖活性和克隆形成能力,增加细胞凋亡率,上调E-cadherin蛋白表达并下调N-cadherin、Vimentin、Snail、Slug和β-catenin蛋白表达;过表达β-catenin可逆转此作用。**结论** KRT6A在A549-RR细胞中表达上调,敲减*KRT6A*可降低A549-RR细胞的抗辐射能力,其机制可能与激活Wnt/β-catenin信号通路诱导的EMT有关。

关键词 非小细胞肺癌;角蛋白6A;放疗;上皮–间质转化;Wnt/β-catenin信号通路
中图分类号 R734.2 **文献标志码** A **文章编号** 0258–4646(2024)07–0628–07
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.r.20240625.1101.026
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.07.009

KRT6A mediates the Wnt/β-catenin signal pathway regulating EMT promoting radiation resistance in non-small cell lung cancer A549 cells

YIN Ce[1], LIU Chang[2], FENG Ge[1]
(1. Department of Oncology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China; 2. Department of Radiotherapy, The First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract Objective To explore the effect of KRT6A on radiation resistance in non-small cell lung cancer A549 cells and its mechanism of action. **Methods** The radiation-resistant A549 (A549-RR) cells were induced and established. The successful construction of the cells were performed using the Cell Counting Kit 8 (CCK-8) method, plate clone-formation experiments, and flow cytometry. Western blotting was used to detect the expression of KRT6A in A549 and A549-RR cells. A549-RR cells were divided into the sh-NC, sh-*KRT6A*, sh-*KRT6A*+ov-NC, and sh-*KRT6A*+ov-β-catenin groups. The expression of KRT6A; β-catenin; and epithelial-mesenchymal transition (EMT) -related proteins E-cadherin, N-cadherin, vimentin, Snail, and Slug were detected by Western blotting. The CCK-8 assay, plate clone-formation experiments, and flow cytometry were used to determine the radiation resistance of the cells. **Results** A549-RR cells were successfully cultured. and KRT6A expression was upregulated in A549-RR cells compared to A549 cells. Knocking down KRT6A reduced the proliferative activity and clonogenic ability of A549-RR cells; increased the apoptosis rate; upregulated the expression of E-cadherin protein; and downregulated N-cadherin, vimentin, Snail, Slug, and β-catenin protein expression. Overexpression of β-catenin reversed the inhibitory effect of KRT6A knockdown on EMT and radiation resistance in A549-RR cells. **Conclusion** KRT6A is upregulated in A549-RR cells, and knocking down KRT6A reduces the radiation resistance of A549-RR cells, which may be related to the induction of EMT by activation of the Wnt/β catenin signaling pathway.

Keywords non-small cell lung cancer; keratin 6A; radiotherapy; epithelial-mesenchymal transition ; Wnt/β-catenin signaling pathway

肺癌在全球常见癌症中居第3位,癌症死亡原因中居第1位[1]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)是原发性肺癌的主要类型,约占85%,其发病率和死亡率均较高[2-4]。尽管NSCLC外

基金项目:辽宁省自然科学基金(2022–BS–129)
作者简介:尹策(1987–),男,助理工程师,本科.
通信作者:冯革,E-mail:fangliaofg@126.com
收稿日期:2023–10–09
网络出版时间:2024–06–26 15:26:05

科手术和治疗干预方面已经取得了很大的进步，但是患者预后仍然很差；并且由于治疗抵抗或肿瘤转移，受试者的复发率很高[5]。目前，NSCLC治疗方法主要包括手术、放疗、化疗、免疫治疗和分子靶向治疗[6]。放疗是手术无法切除的晚期NSCLC患者的主要治疗手段，约77%NSCLC患者有放疗的循证指征[7]。然而，长期大剂量放疗会导致患者产生抗辐射，最终导致癌症复发[8]。因此，开发有效的方案来克服NSCLC治疗中的放射抗性是重要的挑战。为了减轻抗辐射并提高NSCLC患者的存活率，明确产生抗辐射的分子机制已是刻不容缓。

基于GSE197236数据集分析了NSCLC抗辐射A549（radiation-resistant A549，A549-RR）细胞和A549细胞的差异表达基因，发现角蛋白6A（keratin 6A，KRT6A）在A549-RR细胞中表达上调。*KRT6A*基因位于染色体12q13.13，其编码的KRT6A是Ⅱ型角蛋白家族成员，可导致鳞状上皮表皮化[9]。已有研究[10]表明，肺腺癌中KRT6A高表达与患者较差的预后相关。KRT6A通过诱导上皮–间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）促进肺腺癌的生长和转移[11]。然而，KRT6A在NSCLC抗辐射中发挥的作用及详细机制目前尚无报道。本研究建立A549-RR细胞，并验证KRT6A在A549-RR细胞中表达情况；进一步探究KRT6A表达对A549-RR细胞抗辐射的影响及其作用机制，旨在为KRT6A作为改善NSCLC抗辐射的潜在靶点提供理论基础。

1　材料与方法

1.1　细胞来源、培养和转染

NSCLC A549细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。用含10%胎牛血清和1%青链霉素的Ham's F-12K培养基在37 ℃含5%CO_2的恒温培养箱中长期培养细胞。转染根据实验方案严格按照慢病毒试剂盒说明书进行。

1.2　A549-RR细胞建立及分组

取对数生长期的A549细胞，首次用4 Gy照射，传代培养待细胞贴壁生长后，再次用4 Gy照射，继续上述传代培养及照射至总剂量达60 Gy。进一步培养获得A549-RR细胞并验证。分别按照慢病毒转染试剂盒说明书转染敲减对照（sh-NC）组、敲减*KRT6A*（sh-*KRT6A*）组、敲减*KRT6A*和过表达对照（sh-*KRT6A*+ov-NC）组以及敲减*KRT6A*和过表达β-catenin（sh-KRT6A+ov-β catenin）组慢病毒。

1.3　主要试剂和仪器

胎牛血清、青链霉素和Ham's F-12K培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司，Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物科技公司，CCK-8检测试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、流式细胞仪和酶标仪购自美国Thermo公司，KRT6A、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Snail、Slug和β-catenin抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司，倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司，全自动化学发光分析系统购自上海天能科技有限公司。

1.4　方法

1.4.1　CCK-8法检测细胞增殖活力：将各组细胞以5×10^3/孔分别接种于96孔板中，每组细胞分别接种4块96孔板，分别于0 h（培养过夜后即），24、48、72 h取出一块96孔板，弃培养基，加入CCK-8检测液，37 ℃孵育1 h，酶标仪检测450 nm处吸光度值。

1.4.2　平板克隆形成实验检测细胞克隆形成能力：将各组细胞以1×10^3/孔均匀铺于6孔板中。继续培养14 d后弃培养基，PBS洗去残余培养基。加入4%多聚甲醛室温固定15 min，PBS洗涤3次。加入0.1%结晶紫染色液，室温染色1 h。洗去多余染色液，晾干并拍照。

1.4.3　流式细胞术检测细胞凋亡：各组分别取5×10^4个细胞，1 000 r/min离心5 min，弃上清，加入195 μL Annexin V-FITC结合液轻轻重悬细胞，加入5 μL Annexin V-FITC，轻轻混匀，加入10 μL碘化丙啶染色液，轻轻混匀。室温避光孵育20 min后流式细胞仪检测。

1.4.4　Western blotting检测：收集细胞，使用RIPA裂解液提取组织或细胞总蛋白，BCA法定量蛋白，蛋白样品充分变性后上样于聚丙烯酰胺凝胶中，SDS-PAGE电泳分离蛋白，将蛋白转移到PVDF膜上，5%脱脂奶粉封闭1 h，一抗4 ℃孵育过夜，PBST洗膜，二抗室温孵育1 h，PBST洗膜，ECL化学发光，使用ImageJ软件进行灰度分析。

1.5　统计学分析

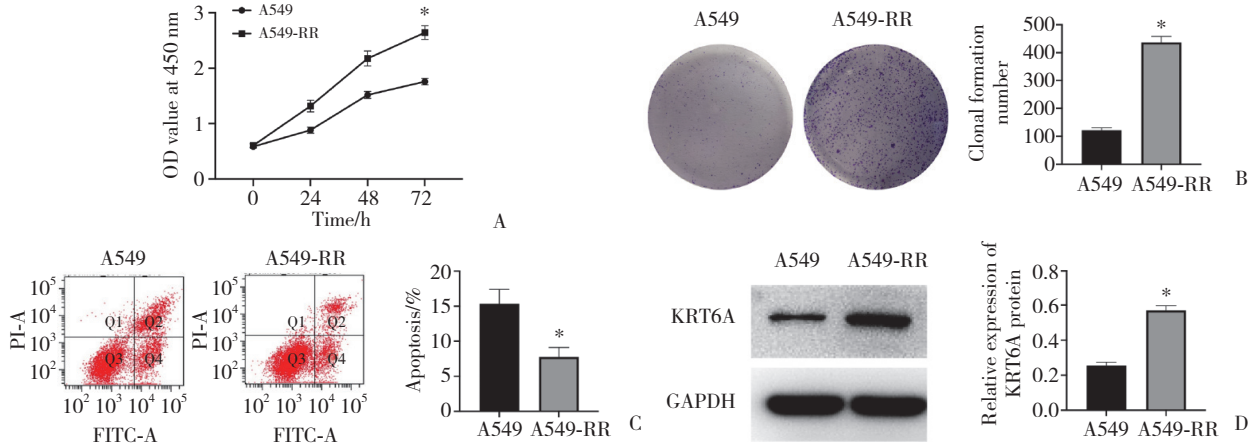
采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料采用$\bar{x}\pm s$表示，2组间比较采用独立样本t检验；多组间比较采用单因素方差分析，并采用Tukey事后检验进行组间两两比较。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　A549-RR细胞验证及KRT6A在A549-RR细胞中表达情况

CCK-8法检测结果（图1A）显示，与A549细胞比较，A549-RR细胞增殖活性显著升高（$P<0.05$）；平板克隆形成实验检测结果（图1B）显示，与A549细胞比较，A549-RR细胞克隆形成能力显著升高（$P<0.05$）；流式细胞术检测结果（图1C）显示，与A549细胞比较，A549-RR细胞凋亡率显著降低（$P<0.05$）；说明成功建立了A54-RR细胞。

Western blotting检测结果（图1D）显示，与A549细胞比较，A549-RR细胞KRT6A蛋白表达显著升高（$P<0.05$）。



A，cell proliferation activity detected by CCK-8 assay；B，cell colony formation ability detected by clone formation assay；C，cell apoptosis rate detected by flow cytometry；D，KRT6A protein expression detected by Western blotting；*$P<0.05$ vs. A549 group.

图1　A549-RR细胞验证实验及KRT6A在A549-RR细胞中的表达

Fig.1　Verification of A549-RR cell construction and expression of KRT6A in A549-RR cells

2.2　KRT6A表达对A549-RR细胞抗辐射能力的影响

Western blotting检测结果（图2A）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组A549-RR细胞KRT6A蛋白表达显著降低（$P<0.05$）。CCK-8法检测结果（图2B）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组A549-RR细胞增殖活性显著降低（$P<0.05$）。平板克隆形成实验检测结果（图2C）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组A549-RR细胞克隆形成能力显著降低（$P<0.05$）。流式细胞术检测结果（图2D）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组A549-RR细胞凋亡率显著升高（$P<0.05$）。

2.3　敲减*KRT6A*对A549-RR细胞EMT相关蛋白表达的影响

Western blotting检测结果（图3）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组A549-RR细胞E-cadherin蛋白表达显著升高，N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug蛋白表达显著降低（均$P<0.05$）。

2.4　敲减 KRT6A对A549-RR细胞Wnt/β-catenin信号通路的影响

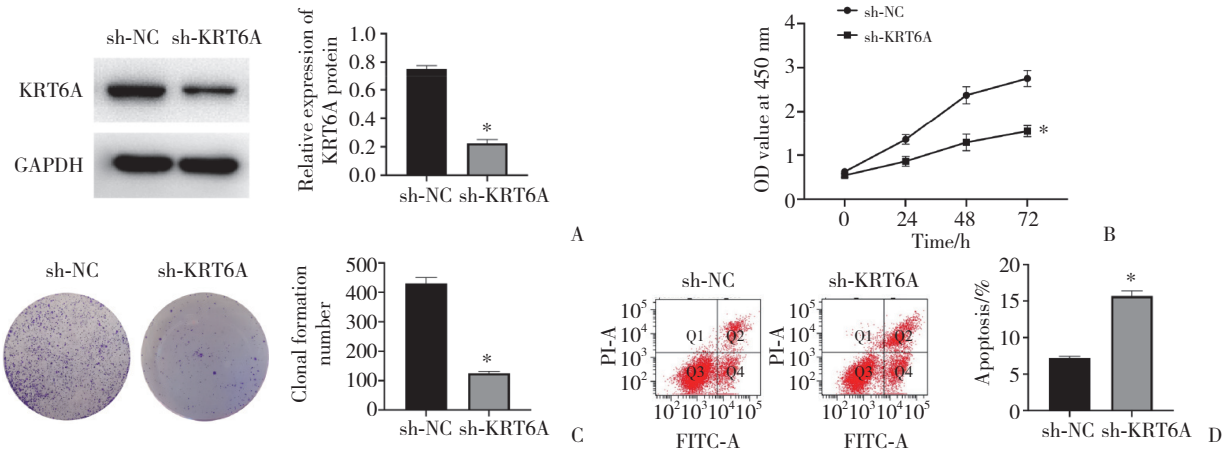
Western blotting检测结果（图4）显示，与sh-NC组（0.92 ± 0.03）比较，sh-*KRT6A*组（0.45 ± 0.03）A549-RR细胞β-catenin蛋白表达显著降低（$P<0.05$）。

2.5　KRT6A通过Wnt/β-catenin信号通路影响A549-RR细胞EMT

Western blotting检测结果（图5）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组A549-RR细胞E-cadherin蛋白表达显著升高，β-catenin、N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug蛋白表达显著降低（均$P<0.05$）。

与sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组比较，sh-*KRT6A*+ov-β catenin组A549-RR细胞E-cadherin蛋白表达显著降低，β-catenin、N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug蛋白表达显著升高（均$P<0.05$），可见过表达β-catenin逆转敲减*KRT6A*对A549-RR细胞EMT的抑制作用。

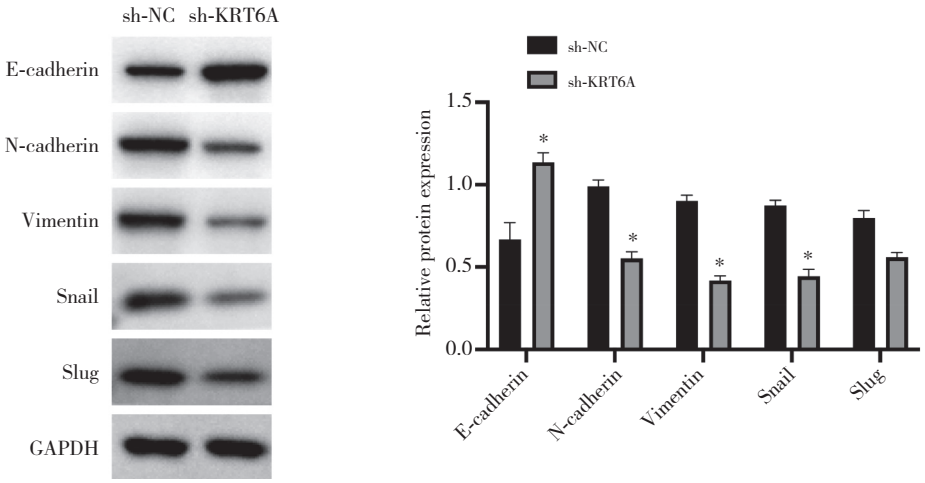
2.6　KRT6A通过Wnt/β-catenin信号通路影响A549-RR细胞抗辐射能力



A, KRT6A protein expression detected by Western blotting; B, cell proliferation activity detected by CCK-8 assay; C, cell colony formation ability detected by clone formation assay; D, cell apoptosis rate detected by flow cytometry. *$P < 0.05$ vs. sh-NC group.

图2　敲减KRT6A降低A549-RR细胞的抗辐射能力

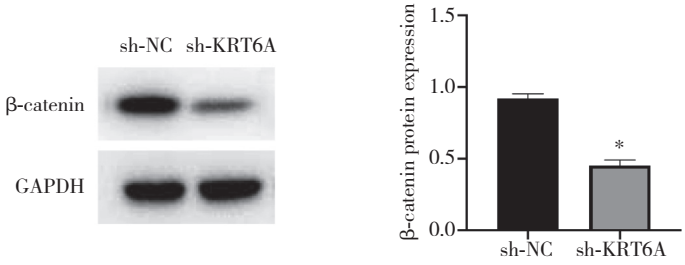
Fig.2　Knockdown of KRT6A reduced the radiation resistance of A549-RR cells



*$P < 0.05$ vs. sh-NC group.

图3　敲减KRT6A的A549-RR细胞E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug蛋白表达

Fig.3　Protein expression levels of E-cadherin，N-cadherin，vimentin，Snail，and Slug in A549-RR cells after KRT6A knockdown



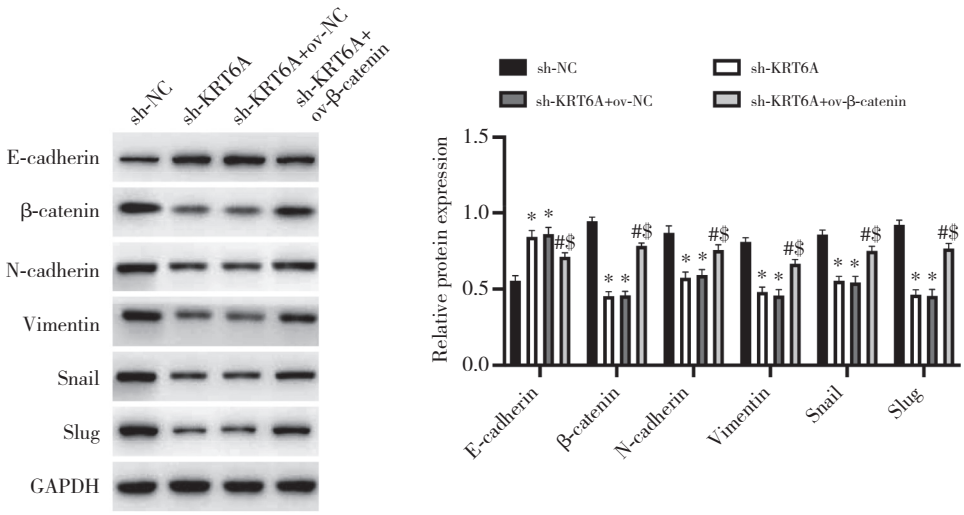
*$P < 0.05$ vs sh-NC group.

图4　敲减KRT6A的A549-RR细胞β-catenin蛋白表达

Fig.4　Expression levels of β-catenin protein in A549-RR cells after knockdown of KRT6A

CCK-8法检测结果(图6A)显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组A549-RR细胞增殖活性显著降低(均$P < 0.05$)；与sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组比较，sh-*KRT6A*+ov-β-catenin组A549-RR细胞增殖活性显著升高(均$P < 0.05$)。平板克隆形成实验检测结果(图6B)显示，与sh-NC组比

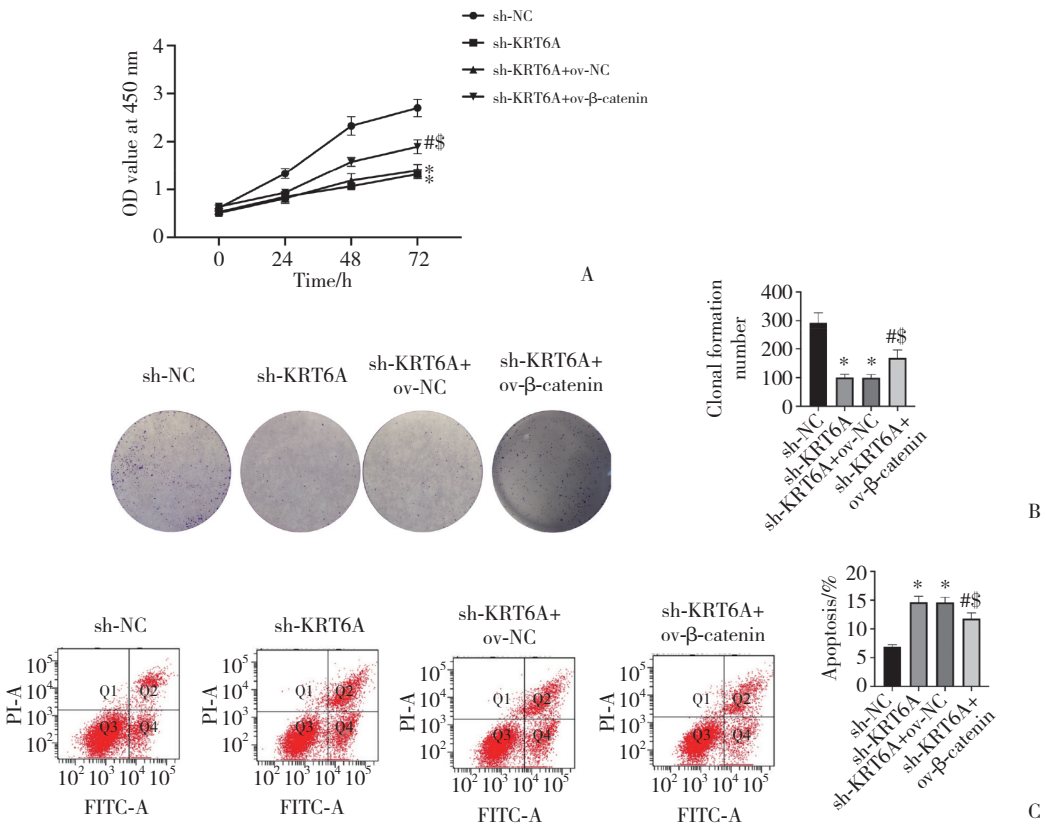
较，sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组A549-RR细胞克隆形成能力显著降低（均$P<0.05$）；与sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组比较，sh-*KRT6A*+ov-β-catenin组A549-RR细胞克隆形成能力显著升高（均$P<0.05$）。流式细胞术检测结果（图6C）显示，与sh-NC组比较，sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组A549-RR细胞凋亡率显著升高（$P<0.05$）；与sh-*KRT6A*组和sh-*KRT6A*+ov-NC组比较，sh-*KRT6A*+ov-β-catenin组A549-RR细胞凋亡率显著降低（均$P<0.05$）。



*$P<0.05$ vs. sh-NC group；#$P<0.05$ vs. sh-KRT6A group；$$P<0.05$ vs. sh-KRT6A+ov-NC group.

图5　过表达β-catenin逆转敲减KRT6A对A549-RR细胞EMT的抑制作用

Fig.5　Overexpression of β-catenin reversed the inhibitory effect of KRT6A knockdown on EMT in A549-RR cells



A，cell proliferation activity detected by CCK-8 assay；B，cell colony formation ability detected by clone formation assay；C，cell apoptosis rate detected by flow cytometry；*$P<0.05$ vs. sh-NC group；#$P<0.05$ vs. sh-KRT6A group；$$P<0.05$ vs. sh-KRT6A+ov-NC group.

图6　过表达β-catenin逆转敲减KRT6A对A549-RR细胞抗辐射的抑制作用

Fig.6　Overexpression of β-catenin reversed the inhibitory effect of KRT6A knockdown on the radiation resistance of A549-RR cells

3　讨论

多项研究表明,KRT6A参与多种癌症进展。CHEN 等[12]发现KRT6A在膀胱癌组织中表达上调,且促进膀胱癌细胞存活、增殖和黏附,减少细胞凋亡。CHEN等[9]发现KRT6A在鼻咽癌细胞中表达上调,其沉默可抑制鼻咽癌细胞活力、转移和侵袭以及Wnt/β-catenin通路激活。CHE等[13]发现KRT6A在NSCLC组织中高表达,其高表达与患者不良预后相关,其过表达促进NSCLC细胞增殖和侵袭,而且通过MYC信号通路上调葡萄糖–6–磷酸脱氢酶水平并增加磷酸戊糖途径的流量。YANG 等[11]发现KRT6A在肺腺癌组织中高表达,其高表达与淋巴结阳性和侵袭性肿瘤T分期呈正相关;敲除KRT6A可抑制肺腺癌细胞增殖、迁移和集落形成能力并促进肿瘤干细胞转化和EMT。本研究成功建立了A549-RR细胞;发现A549-RR细胞增殖活力和克隆形成能力较A549细胞明显升高,细胞凋亡率明显降低,表明A549-RR细胞建立成功。此外,本研究结果显示,A549-RR细胞KRT6A蛋白表达较A549细胞明显上调,且敲减*KRT6A*降低了A549-RR细胞增殖活力和克隆形成能力,增加了细胞凋亡率,提示敲减*KRT6A*增加了A549-RR细胞放疗敏感性。

研究显示,EMT过程分为Ⅰ型(EMT参与着床、胚胎发生和胚胎发育器官发育[14])、Ⅱ型(EMT促进组织再生和器官纤维化[15])、Ⅲ型(EMT转移能力逐渐增强以及获得对包括放射治疗在内的抗癌治疗的抗性[16])3种类型。越来越多的证据[17]表明,EMT是参与抗辐射的重要过程,而且可诱导肿瘤细胞抗辐射。已有研究[11]表明,KRT6A促进肺腺癌细胞EMT进程。因此,本研究推测KRT6A介导的A549-RR细胞抗辐射可能与EMT激活有关。本研究检测了敲减*KRT6A*对A549-RR细胞EMT相关蛋白表达的影响,发现敲减*KRT6A*增加了A549-RR细胞上皮细胞标志物E-cadherin蛋白表达并降低间质细胞标志物N-cadherin、Vimentin、Snail和Slug蛋白表达,提示敲减*KRT6A*抑制了A549-RR细胞EMT。

Wnt信号通路对于正常胚胎发育和细胞分化必不可少[18]。β-catenin是Wnt信号通路的转录激活因子,其去磷酸化激活后可导致其在细胞核中的积累[19]。多项研究[20-21]表明,Wnt/β-catenin信号通路激活促进了NSCLC的EMT过程。CHEN 等[9]证明了KRT6A对鼻咽癌细胞Wnt/β-catenin信号通路的激活作用。本研究发现敲减*KRT6A*降低了A549-RR细胞β-catenin蛋白表达,表明敲减*KRT6A*抑制了A549-RR细胞Wnt/β-catenin信号通路激活。此外,本研究还发现过表达β-catenin逆转了敲减*KRT6A*对A549-RR细胞EMT的抑制作用。同样,过表达β-catenin还逆转了敲减*KRT6A*对A549-RR细胞抗辐射的抑制作用。

综上所述,KRT6A在NSCLC A549-RR细胞中表达上调,敲减*KRT6A*降低了A549-RR细胞抗辐射能力,其机制可能与激活Wnt/β-catenin信号通路诱导的EMT有关。因此,KRT6A可能是改善NSCLC抗辐射的潜在靶点。

参考文献:

[1] SIEGEL RL,MILLER KD,WAGLE NS,et al. Cancer statistics,2023 [J]. CA A Cancer J Clinicians,2023,73(1):17-48. DOI:10.3322/caac.21763.

[2] MITHOOWANI H,FEBBRARO M. Non-small-cell lung cancer in 2022:a review for general practitioners in oncology [J]. Curr Oncol,2022,29(3):1828-1839. DOI:10.3390/curroncol29030150.

[3] HUA Q,MI BM,XU F,et al. Hypoxia-induced lncRNA-AC020978 promotes proliferation and glycolytic metabolism of non-small cell lung cancer by regulating PKM2/HIF-1α axis [J]. Theranostics,2020,10(11):4762-4778. DOI:10.7150/thno.43839.

[4] VOELKER R. Targeted therapy and diagnostic test for non-small cell lung cancer [J]. JAMA,2020,323(23):2364. DOI:10.1001/jama.2020.9429.

[5] KIM C,GIACCONE G. Precision oncology in non-small-cell lung cancer:opportunities and challenges [J]. Nat Rev Clin Oncol,2018,15:348-349. DOI:10.1038/s41571-018-0008-0.

[6] ALEXANDER M,KIM SY,CHENG HY. Update 2020:management of non-small cell lung cancer [J]. Lung,2020,198(6):897-907. DOI:10.1007/s00408-020-00407-5.

[7] ZADEH FA,RAJI A,ALI SAJ,et al. Autophagy-related chemoradiotherapy sensitivity in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. Pathol Res Pract,2022,233:153823. DOI:10.1016/j.prp.2022.153823.

[8] STEWART CA,GAY CM,XI YX,et al. Single-cell analyses reveal increased intratumoral heterogeneity after the onset of therapy resistance in small-cell lung cancer [J]. Nat Cancer,2020,1:423-436. DOI:10.1038/s43018-019-0020-z.

[9] CHEN CJ,SHAN HG. Keratin 6A gene silencing suppresses cell invasion and metastasis of nasopharyngeal carcinoma via the β-catenin cascade [J]. Mol Med Rep,2019,19(5):3477-3484. DOI:10.3892/mmr.2019.10055.

[10] XIAO J,LU XX,CHEN X,et al. Eight potential biomarkers for distinguishing between lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma [J]. Oncotarget,2017,8(42):71759-71771. DOI:10.18632/oncotarget.17606.

[11] YANG B,ZHANG W,ZHANG MM,et al. KRT6A promotes EMT and cancer stem cell transformation in lung adenocarcinoma [J]. Technol Cancer Res Treat,2020,19:1533033820921248. DOI:

10.1177/1533033820921248.
[12] CHEN Y, JI SB, YING JX, et al. KRT6A expedites bladder cancer progression, regulated by miR-31-5p [J]. Cell Cycle, 2022, 21 (14): 1479-1490. DOI: 10.1080/15384101.2022.2054095.
[13] CHE D, WANG MS, SUN J, et al. KRT6A promotes lung cancer cell growth and invasion through MYC-regulated pentose phosphate pathway [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 694071. DOI: 10.3389/fcell.2021.694071.
[14] KIM DH, XING TS, YANG ZB, et al. Epithelial mesenchymal transition in embryonic development, tissue repair and cancer: a comprehensive overview [J]. J Clin Med, 2017, 7 (1): 1. DOI: 10.3390/jcm7010001.
[15] MARCONI GD, FONTICOLI L, RAJAN TS, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): the type-2 EMT in wound healing, tissue regeneration and organ fibrosis [J]. Cells, 2021, 10 (7): 1587. DOI: 10.3390/cells10071587.
[16] LEE SY, JEONG EK, JU MK, et al. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation [J]. Mol Cancer, 2017, 16 (1): 10. DOI: 10.1186/s12943-016-0577-4.
[17] ZHOU SN, ZHANG MX, ZHOU C, et al. The role of epithelial-mesenchymal transition in regulating radioresistance [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2020, 150: 102961. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2020.102961.
[18] WEN XL, WU YL, AWADASSEID A, et al. New advances in canonical Wnt/β-catenin signaling in cancer [J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 6987-6998. DOI: 10.2147/CMAR.S258645.
[19] KOLEGOVA ES, SHASHOVA EE, KOSTROMITSKII DN, et al. Beta-catenin in non-small cells lung cancer and its association with proteasomes [J]. Bull Exp Biol Med, 2020, 168 (5): 677-680. DOI: 10.1007/s10517-020-04779-9.
[20] HUANG JQ, WEI FK, XU XL, et al. SOX9 drives the epithelial-mesenchymal transition in non-small-cell lung cancer through the Wnt/β-catenin pathway [J]. J Transl Med, 2019, 17 (1): 143. DOI: 10.1186/s12967-019-1895-2.
[21] ZHANG ZW, YANG Y, ZHANG XQ. MiR-770 inhibits tumorigenesis and EMT by targeting JMJD6 and regulating WNT/β-catenin pathway in non-small cell lung cancer [J]. Life Sci, 2017, 188: 163-171. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.09.002.

（编辑　武玉欣）

（上接第627页）

my versus trimodality therapy for muscle-invasive bladder cancer: a multi-institutional propensity score matched and weighted analysis [J]. Lancet Oncol, 2023, 24 (6): 669-681. DOI: 10.1016/S1470-2045 (23) 00170-5.
[9] ZHENG Y, SHI D, CHEN L, et al. UCHL1-PKM2 axis dysregulation is associated with promoted proliferation and invasiveness of urothelial bladder cancer cells [J]. Aging, 2023, 15 (19): 10593-10606. DOI: 10.18632/aging.205097.
[10] XIA Y, WANG X, LIU Y, et al. PKM2 is essential for bladder cancer growth and maintenance [J]. Cancer Res, 2022, 82 (4): 571-585. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-21-0403.
[11] 孙丽丽, 车晓霞, 冯炜炜. PKM2促进子宫内膜癌细胞增殖的作用及机制研究[J]. 现代妇产科进展, 2022, 31 (1): 37-40. DOI: 10.13283/j.cnki.xdfckjz.2022.01.005.
[12] ZHANG L, LI Y, ZHOU L, et al. The m6A reader YTHDF2 promotes bladder cancer progression by suppressing RIG-I-mediated immune response [J]. Cancer Res, 2023, 83 (11): 1834-1850. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-22-2485.
[13] 李伟, 刘春, 黄小惠, 等. 丙酮酸激酶M2在膀胱尿路上皮癌中的表达研究及临床意义[J]. 中国医学创新, 2016, 13 (11): 12-15. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4985.2016.11.004.
[14] LIU CW, CHEN PH, YU TJ, et al. WWOX modulates ROS-dependent senescence in bladder cancer [J]. Molecules, 2022, 27 (21): 7388. DOI: 10.3390/molecules27217388.
[15] 刘鸿雁, 孙冲, 李倩, 等. 氟伐他汀钠对皮肤鳞状细胞癌细胞增殖、凋亡及PI3K/AKT/mTOR通路的影响[J]. 中国医科大学学报, 2020, 49 (9): 841-845. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2020.09.014.

（编辑　陈　姜）