

α 5-nAChR 与 MHC-I 在肺腺癌中的表达及相关性

王靖婷,王璟,鲁艺,李静坦,李强,郝雁飞,马晓丽

(山东第一医科大学附属中心医院基础医学研究中心,山东 济南 250013)

摘要:目的 探讨 α 5-烟碱型乙酰胆碱受体(alpha5-nicotinic acetylcholine receptor, α 5-nAChR)与主要组织相容性复合体I类分子(major histocompatibility complex class I molecule, MHC-I)在肺腺癌中的表达及相关性。方法 TCGA 数据库分析 CHRNA5(编码 α 5-nAChR 基因)与 HLA-B(编码 MHC-I 基因)在肺腺癌中的表达、相关性及其临床意义。运用免疫组织化学技术检测人肺腺癌临床样本、裸鼠肺腺癌异种移植瘤组织中 α 5-nAChR 与 MHC-I 的表达及相关性。在人 A549 细胞、小鼠 LLC 细胞中,Western blotting 检测在 α 5-nAChR 不同表达水平下的 FHIT 与 MHC-I 表达及相关性。结果 数据库分析表明,CHRNA5 高表达或 HLA-B 低表达肺腺癌患者的生存率降低,CHRNA5 与 HLA-B 的表达呈负相关($P<0.05$)。 α 5-nAChR 与 MHC-I 在人肺腺癌、裸鼠肺腺癌异种移植瘤中的表达呈负相关($P<0.05$)。在肺腺癌细胞中, α 5-nAChR 的表达分别与 FHIT、MHC-I 的表达呈负相关($P<0.05$),FHIT 和 MHC-I 在肺腺癌细胞中的表达呈正相关($P<0.05$)。结论 α 5-nAChR 与 MHC-I 的表达呈负相关,并参与肺腺癌的发生。

关键词: α 5-烟碱型乙酰胆碱受体;脆性组氨酸三联体;主要组织相容性复合体 I 类分子;肺腺癌;相关性

中图分类号:R574

文献标志码:A

Expression and correlation of α 5-nAChR and MHC-I in lung adenocarcinoma

WANG Jingting, WANG Jing, LU Yi, LI Jingtan, LI Qiang, JIA Yanfei, MA Xiaoli

(Research Center of Basic Medicine, Central Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250013, Shandong, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and correlation between alpha5-nicotinic acetylcholine receptor (α 5-nAChR) and the major histocompatibility complex class I molecule (MHC-I) in lung adenocarcinoma. **Methods** TCGA database were used to study the expression, correlation, and clinical significance of encoding α 5-nAChR gene (CHRNA5) and encoding MHC-I gene (HLA-B) in lung adenocarcinoma. The expressions of α 5-nAChR and MHC-I were tested by immunohistochemistry staining in human lung adenocarcinoma specimens and nude mouse lung adenocarcinoma xenografts tissues. Furthermore, the expression and correlation of FHIT and MHC-I at different expression levels of α 5-nAChR were detected by Western blotting in human A549 cells and mice LLC cells. **Results** Patients with lung adenocarcinoma with high expression of CHRNA5 or low expression of HLA-B had reduced survival, and CHRNA5 was negatively correlated with the expression of HLA-B ($P<0.05$). The expressions of α 5-nAChR and MHC-I were negatively correlated in human lung adenocarcinoma and nude mouse lung adenocarcinoma xenografts tissues ($P<0.05$). In lung adenocarcinoma cells, the expression of α 5-nAChR was negatively correlated with the expressions of FHIT and MHC-I, and the expression of FHIT and MHC-I was positively correlated ($P<0.05$). **Conclusion** The expressions of α 5-nAChR and MHC-I are negatively correlated and involved in lung adenocarcinogenesis.

Key words: Alpha5-nicotinic acetylcholine receptor; Fragile histidine triad; Major histocompatibility complex class I molecule; Lung adenocarcinoma; Correlation

烟草烟雾暴露(包括主动和被动吸烟)是肺癌最主要的危险因素之一^[1]。据报道,约85%~90%的肺癌病例归因于吸烟;与非吸烟者相比,吸烟者罹患肺癌的风险可增加15~30倍。烟草烟雾中含有4000多种化学物质,其中包括多环芳烃、尼古丁的衍生物亚硝胺酮及其他有机和无机化合物在内的40余种致癌物^[2]。尼古丁是香烟中的一种有害成分,进入体会与细胞膜上的尼古丁乙酰胆碱受体(nicotinic acetylcholine receptor, nAChR)结合,激活MAPK、AKT等下游信号通路促肺癌的生长、侵袭转移及血管形成等^[3-5],提示靶向nAChR为肺癌治疗提供了潜在的新思路。

全基因组关联研究以及本课题组前期研究结果表明, $\alpha 5$ -烟碱型乙酰胆碱受体($\alpha 5$ -nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 5$ -nAChR)在肺腺癌的进展中发挥重要作用^[6-7]。本课题组前期研究表明, $\alpha 5$ -nAChR通过PI3K和JAK2/STAT3通路介导尼古丁诱导的肺腺癌发生和进展;乙酰胆碱通过 $\alpha 5$ -nAChR/脆性组氨酸三联体(fragile histidine triad, FHIT)通路促进慢性应激诱导的肺腺癌进展等,引起多种炎症细胞在肿瘤内募集,从而驱动肿瘤的迁移、侵袭和免疫逃逸^[8-9]。FHIT是一种肿瘤抑制因子,位于脆性位点FRA3B,该位点位于人类染色体3p14,其通过调节细胞DNA修复发挥基因组守护者的作用^[10]。

研究表明,人类乳腺肿瘤中,主要组织相容性复合体I类分子(major histocompatibility complex class I molecule, MHC-I)与FHIT表达具有相关性,在MHC-I类阴性肿瘤细胞上恢复FHIT表达可能是一种有效的免疫治疗策略^[11]。MHC-I是一种由一条 α 重链和一条 $\beta 2$ 微球蛋白轻链组成的异源二聚体,MHC-I通过抗原呈递过程调控细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的功能,并且作为自然杀伤细胞的标记物发挥介导免疫的功能^[12-15]。 $\alpha 5$ -nAChR是否通过FHIT影响MHC-I参与肺腺癌进展,其与MHC-I相关性如何?目前尚未检索到相关报道。

本研究旨在通过在线数据库分析、免疫组化技术、免疫印迹实验等方法,初步探讨 $\alpha 5$ -nAChR与MHC-I在临床样本中的表达及相关性,及在肺腺癌细胞中两者与FHIT的相关性,为进一步探究 $\alpha 5$ -nAChR/MHC-I信号轴在肺腺癌中的作用提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 数据来源

使用GEPIA 2(<http://gepia2.cancer-pku.cn>)在

线数据库分析肺腺癌患者组织中CHRNA5、HLA-B的表达、预后和相关性;使用UALCAN(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)在线数据库分析肺腺癌患者组织中CHRNA5、HLA-B的病理分期。

1.1.2 临床标本及来源

肺腺癌组织芯片购买自上海芯超生物科技有限公司(No.: OD-CT-RsLug04-003)。本组织芯片使用样本收集于2010-2013年,包含55个腺癌标本和53个癌旁组织。55份腺癌样本中,男性30份,女性25份,总体年龄45~82岁,平均年龄64.2岁。男性不吸烟腺癌15例,男性吸烟腺癌15例;女性不吸烟腺癌15例,女性吸烟腺癌10例。将一生中连续或累积吸烟6个月或以上者定义为存在吸烟史。

1.1.3 裸鼠组织标本及来源

选取源自本课题组前期工作基础的裸鼠肺癌异种移植组织切片。通过皮下与尾静脉注射A549细胞构建裸鼠荷瘤模型,分为对照组(NC组)、尼古丁处理的肺腺癌组(NC+NIC组)、敲低CHRNA5基因的肺腺癌组(KD组)与尼古丁处理的敲低CHRNA5基因的肺腺癌组(KD+NIC组),6只/组。饲养1个月后处死,收集裸鼠的肺癌组织进行包埋、切片处理。所有动物实验均获得济南市中心医院伦理委员会许可(动物伦理号:JNCHIAUCUC2021-77)。

1.1.4 细胞株及主要试剂

人肺腺癌A549细胞和小鼠肺癌LLC细胞购于中国科学院细胞资源中心;CHRNA5过表达慢病毒转染试剂购自上海吉凯基因科技有限公司;CHRNA5-siRNA干扰转染试剂购自山东硕博芸生物科技有限公司;鼠二步法检测试剂盒(PV9002)、DAB显色试剂盒(ZLI-9018)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;鼠抗人 $\alpha 5$ -nAChR单克隆抗体(Cat No.: 66363-1-Ig)与兔抗人GAPDH多克隆抗体(Cat No.: 10494-1-AP)购自中国Proteintech公司。鼠抗人MHC-I单克隆抗体(Cat No.: 14-9983-82)购自美国Thermo Fisher Scientific公司。鼠抗人FHIT单克隆抗体(Cat No.: sc-390481)购自美国Santa Cruz生物有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

A549和LLC细胞培养于含10%胎牛血清、1%青链霉素混合液的RPMI 1640培养液中,放置于37℃、5%CO₂的细胞培养箱。待细胞融合度达90%时,用胰蛋白酶消化细胞,并进行后续试验。

1.2.2 细胞转染

取处于对数生长期的人肺腺癌A549细胞,使

用0.25%胰酶进行消化。低倍镜下,采用细胞计数板进行计数。在6孔板中每孔接种 2×10^5 个A549细胞,每孔加入1640完全培养基补齐至2 mL。按照转染试剂说明书进行操作。

1.2.3 免疫组织化学技术

将组织芯片和裸鼠肺腺癌异种移植组织切片置于60℃烤片机2 h。脱蜡液I、脱蜡液II分别浸泡20 min,浸入系列乙醇复水。 $\alpha 5$ -nAChR与MHC-I均于柠檬酸盐抗原修复液中修复抗原。室温冷却后,PBS缓冲液洗3 min,3次。滴加阻断剂室温孵育15 min。清洗方式同上。滴加封闭液室温孵育20 min。滴加一抗稀释液(抗体稀释比例: $\alpha 5$ -nAChR为1:500;MHC-I为1:100)4℃孵育过夜。清洗方式同上。滴加相应二抗室温孵育20 min。清洗方式同上。DAB显色(避光);苏木素行细胞核染色。系列乙醇中浸泡5 min,二甲苯溶液中洗净。中性树胶封片。数字病理切片扫描仪进行扫描,400倍视野下随机选取不少于5个视野拍照。行人工半定量评分以及Image J软件定量评分。

1.2.4 Western blotting 实验

收集人肺腺癌A549细胞和小鼠肺腺癌LLC细胞(CHRNA5慢病毒过表达转染组、CHRNA5-siRNA干扰组),PBS缓冲液洗2次,裂解,提取蛋白。进行SDS-PAGE电泳2.5 h,转膜1.5 h,5%BSA室温封闭2 h,1×TBST液清洗3次,每次8 min。目的蛋白条带于一抗稀释液(抗体稀释比例: $\alpha 5$ -nAChR为1:2 000,MHC-I为1:1 000,FHIT为1:100)4℃孵育过夜。清洗方式同上。结合相应二抗,室温孵育45 min后,清洗方式同上。滴加显色液,凝胶成像仪下成像。本研究需重复显色,抗体去除液清洗5 min,蒸馏水中10 min,重新孵育一抗,重复以上步骤。根据凝胶成像仪的结果图片,使用Image J软件进行定量评分。

1.3 统计学处理

使用GraphPad Prism 9.0、SPSS 27.0和Image J对所有数据进行分析 and 可视化。根据图例,数据采用双尾单样本 t 检验、单因素方差分析。肺腺癌患者 $\alpha 5$ -nAChR与MHC-I蛋白的相关性行人工半定量评分后,绘制散点图。肺腺癌患者 $\alpha 5$ -nAChR和MHC-I的表达与性别、年龄和吸烟史的相关性采用Pearson卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

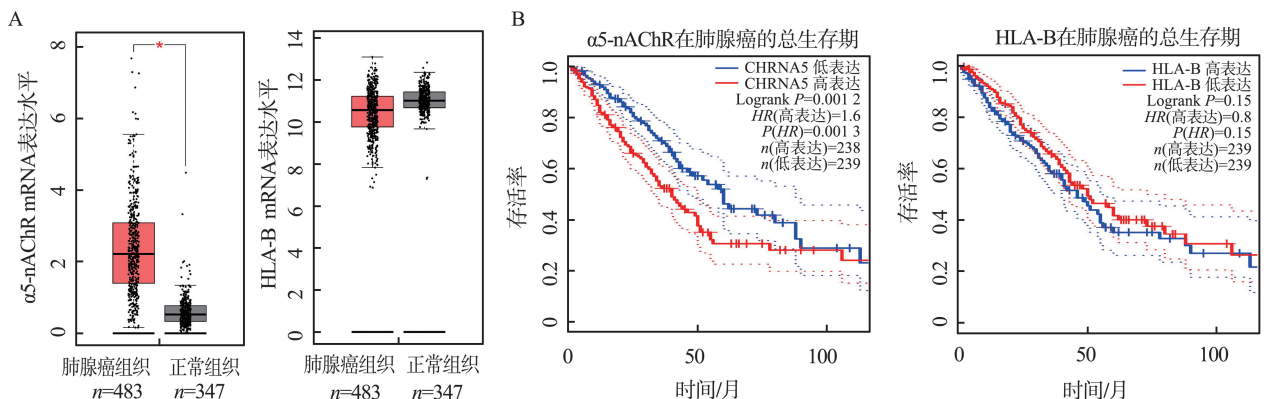
2 结果

2.1 TCGA 在线数据库分析 CHRNA5 和 HLA-B 表达的相关性

TCGA在线数据库分析显示,肺腺癌组织中CHRNA5的表达量高于癌旁组织;CHRNA5高表达较低表达的五年生存期存活率低,预后差;HLA-B高表达较低表达的五年生存期存活率高,预后好;CHRNA5的表达量随肺腺癌的病理分期有上升的趋势;而HLA-B均与之相反。同时,CHRNA5与HLA-B在肺腺癌中的表达呈负相关($P < 0.05$)。见图1。

2.2 $\alpha 5$ -nAChR 和 MHC-I 在人肺腺癌临床样本组织中的表达及相关性

通过免疫组化技术检测了组织芯片55例人肺腺癌组织和53例癌旁组织样本中 $\alpha 5$ -nAChR和MHC-I的表达,结果显示, $\alpha 5$ -nAChR蛋白在肺腺癌组织中的阳性表达(63.6%,35/55)高于在癌旁组织中的表达(37.7%,20/53),而MHC-I蛋白在肺腺癌组织中的阳性表达(38.2%,21/55)低于在癌旁组织中的表达(64.2%,34/53),且经人工半定量评分、绘制散点图发现,二者呈负相关($r = -0.2667$, $P = 0.0491$)。另外,经Pearson卡方检验,肺腺癌组织中 $\alpha 5$ -nAChR与MHC-I的表达与性别、年龄无关,而与吸烟相关。见图2、表1~2。



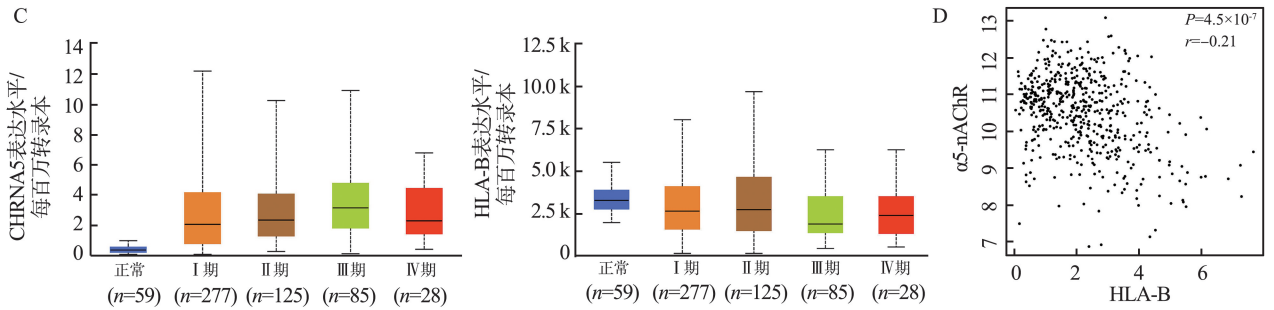


图1 肺腺癌数据库中,CHRNA5 和 HLA-B 的表达及相关性

A:CHRNA5 与 HLA-B 在肺腺癌和正常组织中的表达;B:CHRNA5、HLA-B 表达与肺腺癌生存期的相关性;C:肺腺癌不同病理分期中 CHRNA5、HLA-B 的表达;D:肺腺癌中 CHRNA5 与 HLA-B 表达的相关性。

Figure 1 Expression and correlation of CHRNA5 and HLA-B in lung adenocarcinoma databases

A: Expressions of CHRNA5 and HLA-B in lung adenocarcinoma and normal tissues; B: The correlation between the expressions of CHRNA5 and HLA-B and the survival of lung adenocarcinoma; C: Expressions of CHRNA5 and HLA-B in lung adenocarcinoma of different pathological stages; D: Correlation of CHRNA5 and HLA-B in lung adenocarcinoma.

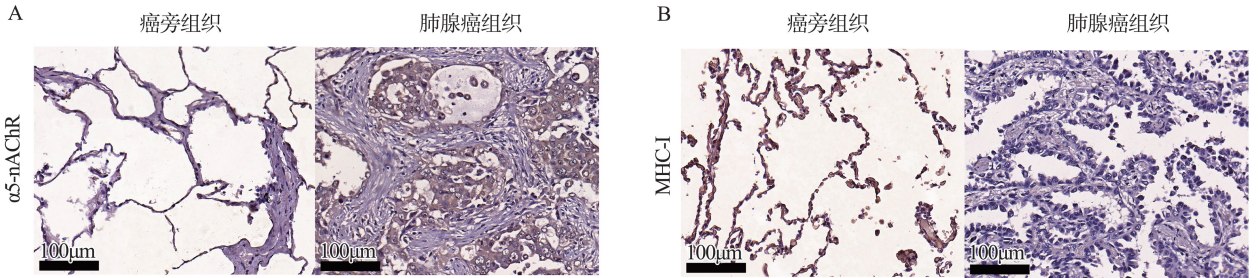


图2 α5-nAChR (A) 和 MHC-I(B) 在人肺腺癌组织中的表达 (免疫组化,×40)

Figure 2 α5-nAChR (A) and MHC-I (B) expressions in human lung adenocarcinoma tissues (immunohistochemical staining,×40)

表1 55 例肺腺癌组织中 α5-nAChR 与 MHC-I 表达的相关性

Table 1 Correlation between α5-nAChR and MHC-I expressions in 55 lung adenocarcinoma specimens

α5-nAChR	病例数 (n=55)	MHC-I		P
		阳性 (n=21)	阴性 (n=34)	
阳性	35	9	26	0.049 1
阴性	20	12	8	

表2 55 例肺腺癌组织中 α5-nAChR 和 MHC-I 的表达与性别、年龄与吸烟史的相关性

Table 2 Correlation of α5-nAChR and MHC-I expressions with gender, age, and smoking history in 55 lung adenocarcinoma specimens

指标	病例数 (n=55)	α5-nAChR		P	MHC-I		P
		阴性 (n=20)	阳性 (n=35)		阴性 (n=34)	阳性 (n=21)	
性别				0.959			0.800
男	30	11	19		19	11	
女	25	9	16		15	10	
年龄/岁				0.068			0.308
≤60	19	10	9		10	9	
>60	36	10	26		24	12	
吸烟史				0.021			0.002
不吸烟	30	15	15		24	6	
吸烟	25	5	20		10	15	

2.3 α5-nAChR、FHIT 及 MHC-I 在肺腺癌细胞中的表达及相关性

Western blotting 结果显示,人肺腺癌 A549 细胞中及小鼠肺癌 LLC 细胞中,CHRNA5-siRNA 处

理后,细胞 FHIT 和 MHC-I 的蛋白表达水平明显上调;FHIT 和 MHC-I 的蛋白表达水平在 CHRNA5 慢病毒转染过表达处理的细胞中显著下调 (P<0.05)。见图 3。

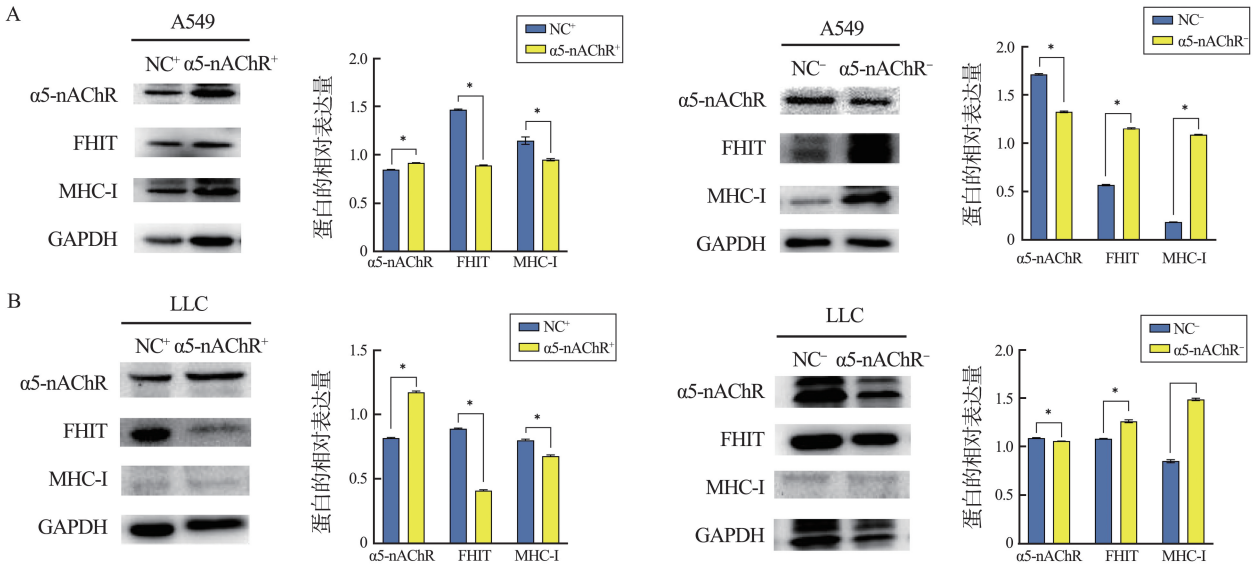


图 3 $\alpha 5$ -nAChR 通过 FHIT 介导肺腺癌细胞中 MHC-I 的表达 (* $P < 0.05$)

A: A549 细胞; B: LLC 细胞。

Figure 3 $\alpha 5$ -nAChR mediates MHC-I expression via FHIT in LUAD cells (* $P < 0.05$)

A: A549 cells; B: LLC cells.

2.4 $\alpha 5$ -nAChR 和 MHC-I 在裸鼠肺腺癌异种移植组织中的表达

裸鼠肺腺癌异种植物组织切片的免疫组织化学染色结果显示, $\alpha 5$ -nAChR 在 NC+NIC 组中表达

水平最高, 在 KD 组中表达量最低, 且 KD+NIC 组可上调 $\alpha 5$ -nAChR 的表达水平。而 MHC-I 的免疫组化染色结果与之相反 ($P < 0.05$)。见图 4。

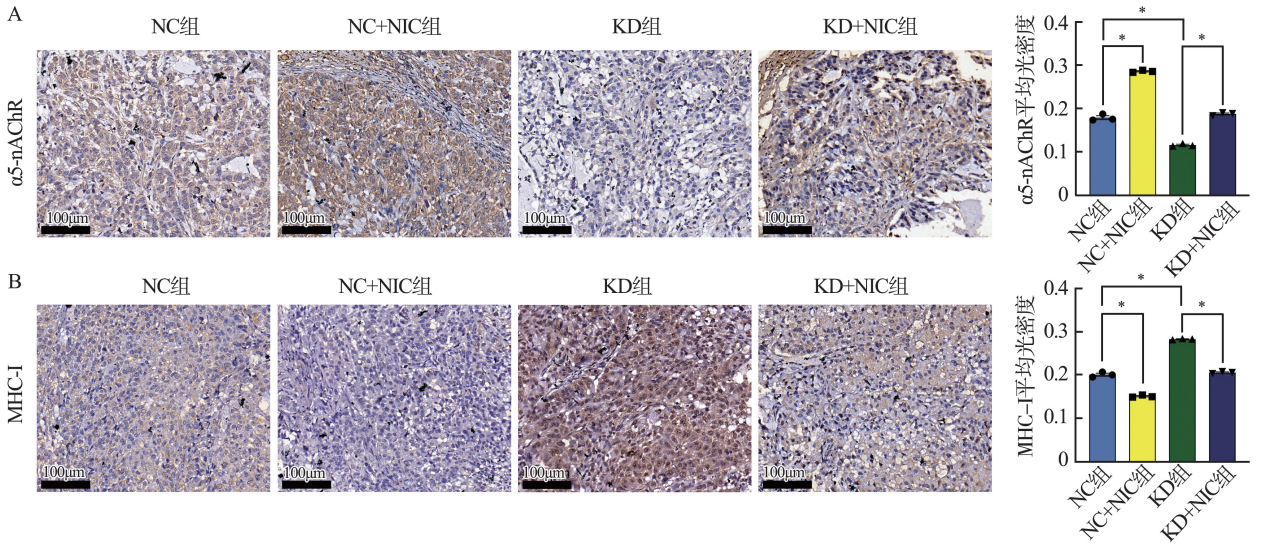


图 4 $\alpha 5$ -nAChR (A) 和 MHC-I (B) 在裸鼠肺腺癌异种移植组织中的表达 (* $P < 0.05$)

Figure 4 $\alpha 5$ -nAChR (A) and MHC-I (B) expressions in lung adenocarcinoma tumour xenograft tissues of nude mice (* $P < 0.05$)

3 讨论

研究已证实烟草暴露对人体健康的危害, 吸烟能驱动肺癌等肿瘤的发生进展, 吸烟产生的气体混合物中含有多种致癌化学物质, 包括尼古丁、一氧化碳、多环芳烃、异戊二烯、丁二烯、N-亚硝胺、芳香

胺、苯、醛及呋喃等^[16-17]。越来越多的证据表明, 尼古丁与 nAChRs 结合并诱导各种下游信号通路参与肺癌的发生、发展, 并导致患者预后不良^[18-19]。本研究发现, $\alpha 5$ -nAChR 与 MHC-I 在临床样本和裸鼠肺腺癌异种移植组织中的表达呈负相关, 且与吸烟有相关性; 且在肺腺癌细胞中, $\alpha 5$ -nAChR 和 MHC-I 与 FHIT 的表达有相关性。我们前期报道 $\alpha 5$ -nAChR/FHIT 途径参与肺腺癌发生^[9]; 其他文献报

道, FHIT 调节 MHC-I 参与纤维肉瘤的发生^[20]。结合以上研究结果,提示 $\alpha 5$ -nAChR/FHIT/MHC-I 轴参与肺腺癌的发生。

nAChR 是跨膜离子通道蛋白,由多种亚单位($\alpha 2$ -10, $\beta 2$ -4)构成同源及异源性五聚体^[21]。五个相同的亚单位可组成同源 nAChR,例如 $\alpha 7$ 、 $\alpha 9$ 等;包含 α 和 β 亚单位的 nAChR 称为异源 nAChR。nAChR 及其不同亚基与多种癌症的发生发展密切相关, $\alpha 7$ -nAChR 介导的 PI3K/AKT 通路在尼古丁诱导肺癌中发挥重要作用^[3], $\alpha 9$ -nAChR 在三阴性乳腺癌中高表达,并在其转移中起重要作用^[22]。

全基因组关联研究以及本课题组前期研究结果表明, $\alpha 5$ -nAChR 在肺腺癌的进展中发挥重要作用^[8,23]。烟草主要成分尼古丁是 $\alpha 5$ -nAChR 的外源性激动剂,副交感神经递质 ACh 是 $\alpha 5$ -nAChR 的内源性激动剂,而肺腺癌副交感神经纤维分布丰富。本课题组研究发现,慢性应激通过 ACh/ $\alpha 5$ -nAChR/FHIT 通路促进肺腺癌进展^[9]。免疫系统可以识别和破坏肿瘤转化细胞,这一过程被称为免疫监视。FHIT 是一种肿瘤抑制因子,其表达缺陷可促使纤维肉瘤癌细胞 MHC-I 下调,并逃避免疫监视^[20]。但肺腺癌中 $\alpha 5$ -nAChR 与 MHC-I 之间的关系,尚未检索到相关报道。

MHC-I 分子可以结合细胞表达的肽,在细胞表面运输和显示抗原信息,这使得 CD8⁺T 细胞能够识别合成异常蛋白质的病理细胞^[24]。因此,如果 MHC-I 抗原递呈缺失,CD8⁺T 细胞无法识别异常细胞,对肿瘤的控制作用被削弱,使免疫系统对癌症的抵御性降低,免疫监视被破坏^[25]。在多种人类癌症(包括非小细胞肺癌、乳腺癌、前列腺癌、结肠直肠癌、头颈部鳞状细胞癌、肝细胞癌和黑色素瘤)中,都观察到 MHC 低表达^[26-27]。本研究免疫组化结果显示,肺腺癌组织中 MHC-I 的表达量显著低于在正常组织中的表达。

本研究通过数据库分析表明,在肺腺癌中 $\alpha 5$ -nAChR 与 FHIT 表达呈负相关,FHIT 与 MHC-I 表达呈正相关,但两者无统计学意义; $\alpha 5$ -nAChR 与 MHC-I 表达呈显著负相关。结合前期报道, $\alpha 5$ -nAChR/FHIT 轴参与慢性应激促肺腺癌进展;我们进一步体外检测了肺腺癌中 $\alpha 5$ -nAChR、FHIT 及 MHC-I 的表达及相关性,结果显示, $\alpha 5$ -nAChR 分别与 FHIT、MHC-I 呈负相关,FHIT 与 MHC-I 表达呈正相关。以上结果初步表明, $\alpha 5$ -nAChR/FHIT/MHC-I 轴参与肺腺癌发生,为进一步探究 $\alpha 5$ -nAChR 在肺腺癌中的作用机制提供实验依据。

参考文献:

- [1] Mochizuki A, Shiraishi K, Honda T, et al. Passive smoking-induced mutagenesis as a promoter of lung carcinogenesis[J]. *J Thorac Oncol*, 2024; S1556-S0864 (24) 00074-1. doi:10.1016/j.jtho.2024.02.006.
- [2] Liao KM, Shu CC, Liang FW, et al. Risk factors for pulmonary tuberculosis in patients with lung cancer: a retrospective cohort study[J]. *J Cancer*, 2023, 14(4): 657-664.
- [3] He ZH, Xu YQ, Rao ZH, et al. The role of $\alpha 7$ -nAChR-mediated PI3K/AKT pathway in lung cancer induced by nicotine[J]. *Sci Total Environ*, 2024, 912: 169604. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.169604.
- [4] Zhang Q, Jia Y, Pan P, et al. $\alpha 5$ -nAChR associated with Ly6E modulates cell migration via TGF- $\beta 1$ /Smad signaling in non-small cell lung cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2022, 43(4): 393-404.
- [5] Shulepko MA, Bychkov ML, Shlepova OV, et al. Human secreted protein SLURP-1 abolishes nicotine-induced proliferation, PTEN down-regulation and $\alpha 7$ -nAChR expression up-regulation in lung cancer cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 82: 106303. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106303.
- [6] Chen LS, Hung RJ, Baker T, et al. CHRNA5 risk variant predicts delayed smoking cessation and earlier lung cancer diagnosis: a meta-analysis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(5): djv100. doi:10.1093/jnci/djv100.
- [7] 贾颖, 祖珊珊, 郝雁飞, 等. CHRNA5 基因表达下调对肺癌细胞 VEGF 表达的影响[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2014, 52(2): 12-15.
JIA Ying, ZU Shanshan, JIA Yanfei, et al. Effect of down-regulated CHRNA5 gene expression on VEGF expression of lung cancer[J]. *China Industrial Economics*, 2014, 52(2): 12-15.
- [8] Zhu P, Jin ZX, Kang GY, et al. Alpha5 nicotinic acetylcholine receptor mediated immune escape of lung adenocarcinoma via STAT3/Jab1-PD-L1 signalling [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 121. doi: 10.1186/s12964-022-00934-z.
- [9] Jiao Y, Kang GY, Pan P, et al. Acetylcholine promotes chronic stress-induced lung adenocarcinoma progression via $\alpha 5$ -nAChR/FHIT pathway [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80(5): 119. doi:10.1007/s00018-023-04742-7.
- [10] Niu ZY, Jiang DM, Shen JY, et al. Potential role of the fragile histidine triad in cancer evo-dev [J]. *Cancers*, 2023, 15(4): 1144. doi:10.3390/cancers15041144.
- [11] Pulido M, Chamorro V, Romero I, et al. Restoration of MHC-I on tumor cells by fhit transfection promotes im-

- mune rejection and acts as an individualized immunotherapeutic vaccine[J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1563. doi: 10.3390/cancers12061563.
- [12] Liu YE, Wang YJ, Yang YR, et al. Emerging phagocytosis checkpoints in cancer immunotherapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 104. doi:10.1038/s41392-023-01365-z.
- [13] Kobayashi KS, van den Elsen PJ. NLRC5: a key regulator of MHC class I-dependent immune responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(12): 813-820.
- [14] Yang S, Tang DF, Zhao YC, et al. Potentially functional variants of ERAP1, PSMF1 and NCF2 in the MHC-I-related pathway predict non-small cell lung cancer survival[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(10): 2819-2833.
- [15] Ouspenskaia T, Law T, Clauser KR, et al. Unannotated proteins expand the MHC-I-restricted immunopeptidome in cancer[J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(2): 209-217.
- [16] Alsharairi NA. Quercetin derivatives as potential therapeutic agents: an updated perspective on the treatment of nicotine-induced non-small cell lung cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(20): 15208. doi: 10.3390/ijms242015208.
- [17] 段依霜. 吸烟人群相关基因与肺癌发生发展的综述[J]. *实用预防医学*, 2024, 31(3): 380-385.
DUAN Yishuang. Review on genes related to smoking population and occurrence and development of lung cancer[J]. *Practical Preventive Medicine*, 2024, 31(3): 380-385.
- [18] Alsharairi NA. Insights into the mechanisms of action of proanthocyanidins and anthocyanins in the treatment of nicotine-induced non-small cell lung cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(14): 7905. doi:10.3390/ijms23147905.
- [19] Kyte SL, Gewirtz DA. The influence of nicotine on lung tumor growth, cancer chemotherapy, and chemotherapy-induced peripheral neuropathy[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 366(2): 303-313.
- [20] Romero I, Martinez M, Garrido C, et al. The tumour suppressor Fhit positively regulates MHC class I expression on cancer cells[J]. *J Pathol*, 2012, 227(3): 367-379.
- [21] Mineur YS, Soares AR, Etherington IM, et al. Pathophysiology of nAChRs: limbic circuits and related disorders[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 191: 106745. doi:10.1016/j.phrs.2023.106745.
- [22] Liao YC, Cheng TC, Tu SH, et al. Tumor targeting and therapeutic assessments of RNA nanoparticles carrying $\alpha 9$ -nAChR aptamer and anti-miR-21 in triple-negative breast cancers[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2023, 33: 351-366. doi:10.1016/j.omtn.2023.07.013.
- [23] Li Q, Li JT, Wang JT, et al. PLEK2 mediates metastasis and invasion via $\alpha 5$ -nAChR activation in nicotine-induced lung adenocarcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2024, 63(2): 253-265.
- [24] Sari G, Rock KL. Tumor immune evasion through loss of MHC class-I antigen presentation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2023, 83: 102329. doi: 10.1016/j.coi.2023.102329.
- [25] 李慧萍, 徐秀. 免疫分子 MHC-I 在小鼠不同脑区的分布[J]. *复旦学报(医学版)*, 2021, 48(1): 41-46.
LI Huiping, XU Xiu. Expression pattern of MHC-I in different brain regions of mouse[J]. *Fudan University Journal of Medical Sciences*, 2021, 48(1): 41-46.
- [26] da Silva IL, Montero-Montero L, Ferreira E, et al. New insights into the role of Qa-2 and HLA-G non-classical MHC-I complexes in malignancy[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2894. doi:10.3389/fimmu.2018.02894.
- [27] Dhatchinamoorthy K, Colbert JD, Rock KL. Cancer immune evasion through loss of MHC class I antigen presentation[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 636568. doi:10.3389/fimmu.2021.636568.

(编辑:相峰)