· 论著 ·

安罗替尼通过下调 SERF1A 逆转肺腺癌中贝伐珠单抗耐药性的实验研究*

杨奇坤[1]　刘永刚[2]　史婉婷[2]　胡萍[2]

(1. 内蒙古科技大学包头医学院，内蒙古 包头 014030；2. 包头市肿瘤医院肿瘤内科，内蒙古 包头 014030)

【摘要】 **目的**　探讨安罗替尼对肺腺癌中贝伐珠单抗耐药性的影响及其机制研究。**方法**　体外培养人肺腺癌细胞系 A549 和 NCI-H1299，构建贝伐珠单抗耐药细胞，分为耐药 A549 细胞组、耐药 A549 细胞＋贝伐珠单抗组、耐药 A549 细胞＋安罗替尼组、耐药 A549 细胞＋联合用药组、耐药 NCI-H1299 细胞组、耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐珠单抗组、耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组、耐药 NCI-H1299 细胞＋联合用药组。EdU 实验、MTT 和 Transwell 小室分别检测细胞增殖率、细胞活力和侵袭能力；qRT-PCR 和 Western blots 检测 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达。**结果**　与 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞组的增殖活性显著升高（$P<0.05$）；与 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞组的增殖活性显著升高（$P<0.05$）。与耐药 A549 细胞比较，耐药 A549 细胞＋安罗替尼组的细胞活力和侵袭能力均显著降低（$P<0.05$）；与耐药 A549 细胞＋贝伐珠单抗组和耐药 A549 细胞＋安罗替尼组比较，耐药 A549 细胞＋联合用药组的细胞活力和侵袭能力显著降低（$P<0.05$）。与耐药 NCI-H1299 细胞比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组的细胞活力和侵袭能力显著降低（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐珠单抗组和耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋联合用药组的细胞活力和侵袭能力显著降低显著降低（$P<0.05$）。与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋贝伐单抗组细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 显著升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋安罗替尼组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达显著降低（$P<0.05$）；与耐药 A549 细胞＋贝伐珠单抗组比较，耐药 A549 细胞＋联合用药组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达显著降低（$P<0.05$）。与耐药 NCI-H1299 细胞比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐单抗组细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达显著升高（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达显著降低（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐珠单抗组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋联合用药组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达显著降低。**结论**　安罗替尼通过下调 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 表达逆转贝伐珠单抗耐药，提高抑瘤效应。

【关键词】 肺腺癌；安罗替尼；贝伐珠单抗；耐药；增殖；侵袭

【中图分类号】 R36　【文献标志码】 A　**DOI**：10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2026. 01. 003

Anlotinib reverses bevacizumab resistance in lung adenocarcinoma by downregulating SERF1A

YANG Qikun[1], LIU Yonggang[2], SHI Wanting[2], HU Ping[2]

(1. *Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou* 014030, *Inner Mongolia, China*; 2. *Baotou Cancer Hospital, Baotou* 014030, *Inner Mongolia, China*)

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the effects and mechanisms of anlotinib in reversing bevacizumab resistance in lung adenocarcinoma. **Methods**　Bevacizumab-resistant cell lines were established using human lung adenocarcinoma A549 and NCI-H1299 cells. Experimental groups included: bevacizumab-resistant A549 cells (Res-A549), Res-A549＋bevaci-

基金项目：内蒙古自治区基金科技项目(2024GLLH0768)

通信作者：刘永刚，主任医师，E-mail：wsssssss0331@163. com

引用本文：杨奇坤，刘永刚，史婉婷，等. 安罗替尼通过下调 SERF1A 逆转肺腺癌中贝伐珠单抗耐药性的实验研究[J]. 西部医学，2026，38(1)：13-19. DOI：10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2026. 01. 003

zumab, Res-A549+anlotinib, Res-A549+combination therapy; bevacizumab-resistant NCI-H1299 cells (Res-H1299), Res-H1299+bevacizumab, Res-H1299+anlotinib, and Res-H1299+combination therapy. Cell proliferation, viability, and invasion were assessed via EdU assay, MTT assay, and Transwell chamber assay, respectively. qRT-PCR and Western blot were performed to evaluate mRNA and protein expression of RGCC, CDH2, MMP2, and SERF1A. **Results** Compared with parental A549 cells, bevacizumab-resistant A549 cells exhibited significantly enhanced proliferative activity ($P<0.05$). Similarly, Res-H1299 cells showed markedly increased proliferation versus parental NCI-H1299 cells ($P<0.05$). Anlotinib treatment significantly reduced viability and invasive capacity in Res-A549 cells compared with Res-A549 controls ($P<0.05$). The combination therapy demonstrated stronger inhibitory effects on these parameters than either bevacizumab or anlotinib monotherapy ($P<0.05$). Consistent with A549 findings, Res-H1299 cells treated with anlotinib exhibited significantly decreased viability and invasion versus Res-H1299 controls ($P<0.05$), while the combination group showed superior efficacy compared to both monotherapy groups ($P<0.05$). In Res-A549 cells, bevacizumab monotherapy upregulated mRNA levels of RGCC, CDH2, MMP2, and SERF1A compared with Res-A549 controls ($P<0.05$). Conversely, anlotinib treatment downregulated both mRNA and protein expression of these markers ($P<0.05$). The combination therapy further reduced their expression relative to bevacizumab monotherapy ($P<0.05$). Parallel results were observed in Res-H1299 cells: Bevacizumab increased mRNA and protein expression of all four targets ($P<0.05$), whereas anlotinib suppressed their expression ($P<0.05$). The combination group showed significantly lower expression levels compared to bevacizumab-treated Res-H1299 cells. **Conclusion** Anlotinib reverses bevacizumab resistance in lung adenocarcinoma by suppressing RGCC, CDH2, MMP2, and SERF1A expression, thereby enhancing antitumor efficacy.

【Key words】 Lung adenocarcinoma; Anlotinib; Bevacizumab; Drug resistance; Proliferation; Invasion

肺腺癌是一类起源于支气管粘液腺和黏膜上皮，具有腺样结构或黏液分泌功能的非小细胞肺癌，也是临床上常见的肺癌类型[1-2]。流行病学资料显示，2022 年我国肺癌新发病例约 106.1 万例，死亡人数高达 51.9 万例，约占因癌死亡病例数的 20%[3]。贝伐珠单抗是一种重组的人类单克隆抗体，通过特异性阻断血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)的活性，抑制血管内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成，达到抑制肿瘤血管生成的目的[4]。目前，贝伐珠单抗已被批准用于晚期或转移性肺腺癌的一线治疗，但耐药性限制了其临床应用[4-5]。安罗替尼是新上市的小分子靶向药物，属于新型多靶点酪氨酸激酶抑制剂，具有阻断信号传导、抑制肿瘤细胞增殖的作用[6-7]。最新的研究表明，安罗替尼联合贝伐珠单抗可以显著抑制结肠癌生长和血管生成，其疗效优于两者单用[8]。然而，尚不清楚安罗替尼对贝伐珠单抗耐药性的影响及其内在机制。因此，本研究旨在探讨安罗替尼对肺腺癌中贝伐珠单抗耐药性的影响，及两者联合应用的疗效，以期为肺腺癌的临床诊治提供实验依据。

1　材料与方法

1.1　细胞与主要试剂　人肺腺癌细胞系 A549 和 NCI-H1299 购自中国科学院上海生科院细胞资源中心；安罗替尼(国药准字 H20180003)购自正大天晴药业集团股份有限公司；贝伐珠单抗(国药准字 S20190040)购自齐鲁制药有限公司。RPMI1640 培养基(货号 12633020)和胎牛血清(货号 10099158)购自美国 Gibco 公司。MTT 试剂盒(货号 C0009S)、EdU 试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒(货号 P0011)和 Trizol 试剂(货号 R0016)购自上海碧云天生物技术有限公司。Transwell 小室(货号 3460)购自美国 Corning 公司。兔抗 SERF1A 一抗(货号 ab314660)和兔抗 GAPDH 一抗(货号 ab9485)和 HRP 标记二抗(货号 ab6721)购自美国 Abcam 公司。由包头市肿瘤医院医学伦理委员会对本次研究进行审核[批号：2025 年伦审第(016)号]。

1.2　构建贝伐珠单抗耐药细胞株　将复苏后的 A549 和 NCI-H1299 细胞接种于 RPMI1640 培养基内，待细胞融合至 75%～85% 时，弃去培养液，加入含 50 μg/mL 贝伐珠单抗的培养液，孵育 24 h 后弃去培养液，加入含 100 μg/mL 贝伐珠单抗的培养液，重复上述操作，以 50 μg/mL 梯度增加贝伐珠单抗浓度，直至细胞在 200 μg/mL 贝伐珠单抗内稳定生长，此时的细胞即为贝伐珠单抗耐药细胞，后续简称耐药细胞。

1.3　细胞培养和分组　将耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞接种于 RPMI1640 培养基内，待细胞融合至 75%～85% 时，胰酶消化，将细胞转移至新培养基内传代。根据研究设计，将细胞分为以下 8 组：耐药 A549 细胞组、耐药 A549 细胞+贝伐珠单抗组、耐药 A549 细胞+安罗替尼组、耐药 A549 细胞+联合用药组、耐药 NCI-H1299 细胞组、耐药 NCI-H1299 细胞+贝伐珠单抗组、耐药 NCI-H1299 细胞+安罗替尼

组、耐药 NCI-H1299 细胞+联合用药组。其中，对照组细胞不加入任何药物；贝伐珠单抗组加入 150 μg/mL 贝伐珠单抗处理；安罗替尼组加入 1 μM 安罗替尼处理；联合组细胞 150 μg/mL 贝伐珠单抗和 1 μM 安罗替尼进行联合处理。

1.4 EdU 实验 将 A549 细胞、NCI-H1299 细胞、耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞接种于不含贝伐珠单抗的 RPMI1640 培养基内，待细胞融合至 75%～85%时，加入含 150 μg/mL 贝伐珠单抗的培养液，孵育 24 h 后弃去培养液。加入 10 μM EdU 工作液，继续孵育细胞 2 h，去除培养液后加入 1 mL 固定液，室温固定 15 min。去除固定液，加入 PBS 液冲洗细胞 3 次，加入 1 mL Triton X-100 通透，室温孵育 10 min 后弃去 Triton X-100，加入 Apollo 染色反应液，避光孵育 30 min。荧光显微镜下观察细胞，每个孔随机选取 5 个视野进行观察，计算 EdU 阳性细胞占比。

1.5 MTT 试验 收集经贝伐珠单抗和安罗替尼处理的耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞，加入 5 mg/mL MTT 溶液，室温温育，2 h 后弃去培养基，加入 0.5 mL DMSO，混匀。将细胞培养板置于酶标仪中，检测各组细胞的吸光度值。

1.6 Transwell 小室实验 将 Transwell 小室水化，然后将 Matrigel 胶铺在 Transwell 小室的上室面，将传代后的耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞，按 5×10^4 个/孔接种于 Transwell 小室。按照 1.3 部分进行细胞分组与干预，培养 24 h 后取出 Transwell 小室，棉签轻轻擦去未穿过小室的肿瘤细胞。将 Transwell 小室置于 4%多聚甲醛中，固定 20 min 后加入 0.1%结晶紫，孵育 45 min，用 PBS 液清洗 Transwell 小室 3 次，然后将其置于显微镜下观察。

1.7 qRT-PCR 检测 收集处理后的细胞，按 0.5mL/孔加入 TRIzol 试剂提取 RNA，按照反转录试剂盒说明书步骤操作，制备 cDNA。分别加入引物模板和 cDNA，利用 SYBR Green 体系，进行 qRT-PCR 扩增，以 GAPDH 为内参，检测补体应答基因 32(Response gene to complement 32，RGcc)，钙粘蛋白 2(Cadherin-2，CDH2)，基质金属蛋白酶 2(Matrix metalloproteinase-2，MMP2)，分泌型卷曲相关蛋白 1A(Secreted trizzled-related protein 1A，SERF1A) SERF1A 的相对表达量。RGCC 上游引物：5′-CGCCACTTCCACTACGAGG-3′，下游引物：5′-CAGCAATGAAGGCTTCTAGCTC-3′；CDH2 上游引物：5′-ATGCACATCCTTCGATAAGACTG-3′，下游引物：5′-TCGGACCAATCAGAGATGTT-3′；MMP2 上游引物：5′-CCCACTGCGGTTTTCTCGAAT-3′，下游引物：5′-CAAAGGGGTATCCATCGCCAT-3′；SERF1A 上游引物：5′-GAGGATAGCTTGACTGCCTCT-3′，下游引物：5′-TGCTTTTCTTGCATGATCTCAGA-3′；GAPDH 上游引物：5′-TCCATGACAACTTTGGTATCG-3′，下游引物：5′-TGTAGCCAAATTCGTTGTCA-3′。

1.8 Western blots 检测目标蛋白的蛋白水平变化 收集处理后的细胞，加入 RIPA 裂解液裂解细胞，然后利用超声破碎仪进一步使细胞裂解，离心后吸取上清，BCA 法测定蛋白浓度后分装样品。按照 8 μL/孔加入蛋白样品，凝胶电泳后干转法将蛋白转移至 PVDF 膜上，加入 1%小牛血清进行封闭，洗膜后加入 SERF1A 一抗(1∶1 000 稀释)和 GAPDH 一抗(1∶5 000稀释)孵育，洗膜后加入二抗(1∶5 000稀释)孵育 45 min，化洗膜后加入显影液，利用化学发光法显影，分析 SERF1A 蛋白表达。

1.9 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析，计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示，两组间比较采用 LSD 法，多组间比较采用单因素方差分析，所有数据均利用 SPSS 20.0 软件进行分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞的耐药性 与 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞组的增殖活性显著升高，差异具有统计学意义($P<0.05$)；与 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞组的增殖活性显著升高，差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞的增殖活性($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Proliferative activity of drug-resistant A549 cells and drug-resistant NCI-H1299 cells

组别	增殖率
A549 细胞组	41.27±5.63
耐药 A549 细胞组	93.04±11.37①
NCI-H1299 细胞组	38.76±6.26
耐药 NCI-H1299 细胞组	91.46±12.24②
F	51.870
P	<0.001

注：与 A549 细胞组相比，①$P<0.05$；与 NCI-H1299 细胞组相比，②$P<0.05$。

2.2 安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞细胞活力的影响 与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞+安罗替尼组的细胞活力显著降低，差异具有统计学意义($P<0.05$)；与耐药 A549 细胞+安罗替尼组比较，耐药 A549 细胞+联合用药组的细胞活力显著降低，差异具有统计学意义($P<0.05$)。与

耐药 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组的细胞活力显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋联合用药组的细胞活力显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$），见表 2。

2.3　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞侵袭能力的影响　与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋安罗替尼组的侵袭能力显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 A549 细胞＋安罗替尼组比较，耐药 A549 细胞＋联合用药组的侵袭能力显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。与耐药 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组的侵袭能力显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋联合用药组的侵袭能力显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$），见图 1。

表 2　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞活力的影响（$\bar{x}\pm s$）

Table 2　Effects of anlotinib on the cell viability of drug-resistant A549 cells and drug-resistant NCI-H1299 cells

组别	细胞活力
耐药 A549 细胞组	0.86±0.12
耐药 A549 细胞＋贝伐珠单抗组	0.80±0.11
耐药 A549 细胞＋安罗替尼组	0.56±0.07①
耐药 A549 细胞＋联合用药组	0.41±0.06①②
耐药 NCI-H1299 细胞组	0.91±0.13
耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐珠单抗组	0.86±0.12
耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组	0.52±0.08③
耐药 NCI-H1299 细胞＋联合用药组	0.39±0.07③④
F	24.079
P	<0.001

注：与耐药 A549 细胞组相比，①$P<0.05$；与耐药 A549 细胞＋安罗替尼组相比，②$P<0.05$；与耐药 NCI-H1299 细胞组相比，③$P<0.05$；与耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组相比，④$P<0.05$。

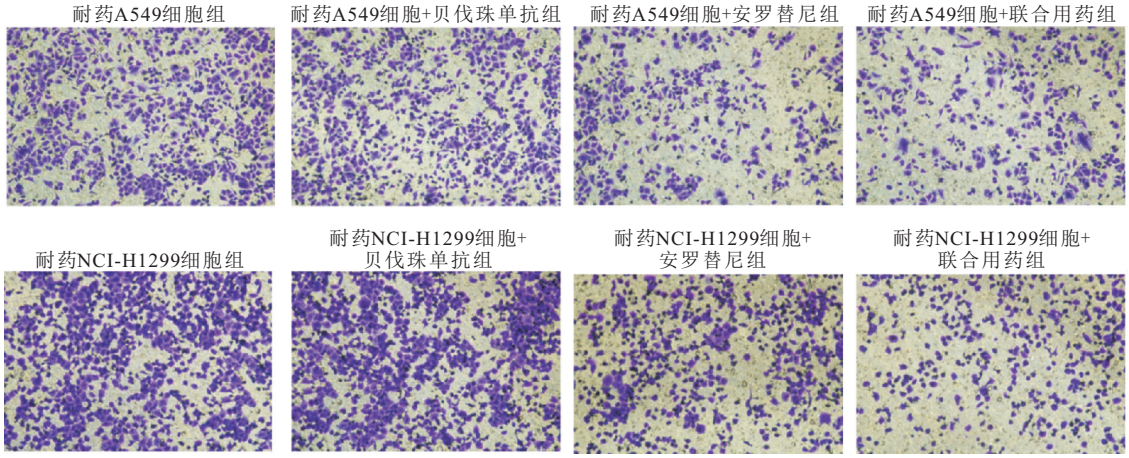

图 1　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞侵袭能力的影响（100×）

Figure 1　Effects of anlotinib on the invasion ability of drug-resistant A549 cells and drug-resistant NCI-H1299 cells

2.4　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 表达的影响　与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋贝伐单抗组细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 显著升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋安罗替尼组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。与耐药 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐单抗组细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 显著升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。见表 3。

2.5　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 蛋白表达的影响　与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋贝伐单抗组细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 蛋白显著升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 A549 细胞组比较，耐药 A549 细胞＋安罗替尼组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 蛋白显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。与耐药 NCI-H1299 细胞组比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐单抗组细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 蛋白显著升高，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与耐药 NCI-H1299 细胞比较，耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 蛋白显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$），见图 2。

表 3　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 表达的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3　Effects of anlotinib on the mRNA expression of RGCC, CDH2, MMP2 and SERF1A in drug-resistant A549 cells and drug-resistant NCI-H1299 Cells

组别	RGCC	CDH2	MMP2	SERF1A
耐药 A549 细胞组	1.00±0.14	1.00±0.12	1.00±0.13	1.00±0.15
耐药 A549 细胞+贝伐珠单抗组	1.80±0.21①	1.62±0.20①	1.56±0.19①	1.74±0.19①
耐药 A549 细胞+安罗替尼组	0.53±0.08①	0.58±0.09①	0.64±0.08①	0.44±0.07①
耐药 A549 细胞+联合用药组	0.59±0.07①	0.63±0.10①	0.69±0.08①	0.49±0.06①
耐药 NCI-H1299 细胞组	1.00±0.13	1.00±0.11	1.00±0.14	1.00±0.10
耐药 NCI-H1299 细胞+贝伐珠单抗组	1.92±0.19②	1.56±0.18②	1.62±0.18②	1.73±0.16②
耐药 NCI-H1299 细胞+安罗替尼组	0.57±0.09②	0.62±0.10②	0.67±0.09②	0.45±0.09②
耐药 NCI-H1299 细胞+联合用药组	0.59±0.08②	0.59±0.09②	0.69±0.06②	0.41±0.09②
F	89.359	55.146	49.711	107.478
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与耐药 A549 细胞组相比，①$P<0.05$；与耐药 NCI-H1299 细胞组相比，②$P<0.05$。

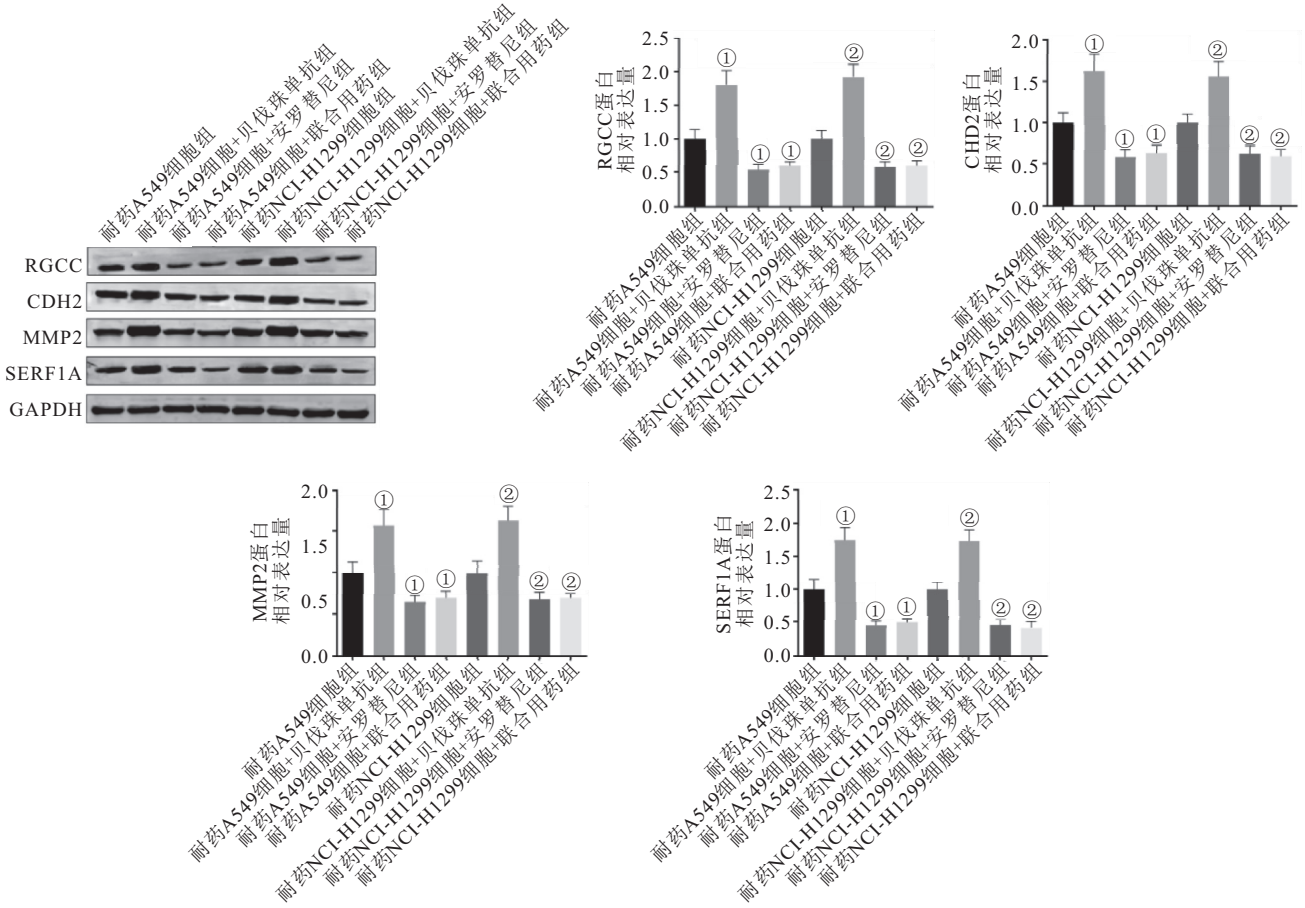

图 2　安罗替尼对耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 蛋白表达的影响

Figure 2　Effects of anlotinib on the protein expression of RGCC, CDH2, MMP2 and SERF1A in drug-resistant A549 cells and drug-resistant NCI-H1299 cells

注：与耐药 A549 细胞组相比，①$P<0.05$；与耐药 NCI-H1299 细胞组相比，②$P<0.05$。

3　讨论

肺腺癌作为常见的非小细胞肺癌，发生于女性和香烟暴露者，患者总数约占肺癌总数的 40%～50%。由于肺腺癌早期阶段的临床特征并不明显，导致大部分患者发现自身出现明显症状时已经处于肺腺癌晚期[9-10]。贝伐珠单抗是一种靶向治疗药物，通过抑制 VEGF 的活性，阻止肿瘤新生血管的形成，从而减缓或阻止肿瘤的生长和扩散[11]。多项临床试验结果显示，贝伐珠单抗联合铂类化疗，可以延长肺腺癌患者的总生存期和无进展生存期[11-12]。但在接受贝伐珠单抗治疗的肺腺癌患者中，有相当部分患者会出现耐药性，极大地削弱了其临床疗效。研究表明，贝伐珠

单抗耐药可能与以下影响有关：①肿瘤组织内出现独立于 VEGF 的血管生成通路[4]。②肿瘤内低氧环境[4]。③肿瘤干细胞的激活[13]。④肿瘤微环境诱导免疫耐受和免疫逃逸[13]。因此，有效逆转贝伐珠单抗耐药性对于晚期肺腺癌的临床治疗具有重要意义。

为了评估肺腺癌中贝伐珠单抗的耐药性，本研究利用不同浓度梯度的贝伐珠单抗，刺激人肺腺癌 A549 细胞和 NCI-H1299 细胞，筛选能在高浓度贝伐珠单抗中稳定传代的细胞。结果表明，在 150μg/mL 贝伐珠单抗刺激的条件下，耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞的增殖活性显著高于 A549 细胞和 NCI-H1299 细胞，表明本研究构建了稳定传代的贝伐珠单抗耐药细胞。

安罗替尼是一种小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂，具有抑制肿瘤细胞增殖、抗血管生成的作用[14]。一项大型多中心、双盲、随机、对照临床试验（ALTERO303）显示，与安慰剂相比，安罗替尼可以显著延长非小细胞肺癌患者的 OS、PFS 和客观缓解率[15]。基于此研究，我国 FDA 于 2019 年 8 月批准安罗替尼用于转移性或复发肺癌的三线治疗。动物研究表明，安罗替尼联合贝伐珠单抗可以显著抑制结肠癌生长和血管生成，增加荷瘤小鼠的中位生存时间，且疗效优于二者单用[8]。Liu 等[16]研究也证实，贝伐珠单抗通过激活 ERK-MAPK 和 PI3K-AKT 信号通路，上调 RGCC、CDH2 和 MMP2 的表达，诱导肺腺癌耐药，而安罗替尼可以逆转贝伐珠单抗耐药，抑制肺腺癌的增殖，提示安罗替尼可能逆转其耐药性的发生。本研究结果表明，与耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞比较，耐药 A549 细胞＋安罗替尼组和耐药 NCI-H1299 细胞＋安罗替尼组的细胞活力和侵袭能力显著降低，且安罗替尼联合贝伐珠单抗可进一步降低耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞的细胞活力和侵袭能力，表明安罗替尼可能逆转贝伐珠单抗耐药，提高贝伐珠单抗的抑瘤效应。

RGCC，又称 RGC32，是一种新型的细胞周期调控因子，在调控细胞周期、修复 DNA 损伤方面发挥重要作用[17]。研究表明，RGCC 过表达抑制通过诱导内皮-间充质转化来促进肺癌细胞的侵袭和迁移，而敲除 RGC32 可以抑制肺癌细胞的生长、迁移和侵袭[18]。CDH2 是一种钙粘着蛋白，肺癌转移和抗肿瘤药物耐药性很重要。研究表明，CDH2 的异常激活可以促进肺癌转移，并且与患者的预后不良有关[19]。MMP2 是蛋白水解酶，能够切割细胞外基质中的多种成分，在促进肺腺癌细胞转移和侵袭中起重要作用[20]。SERF1A 是一种重要的促进淀粉样蛋白 β 聚集因子，也是评估乳腺癌预后的生物标记物[21]。本研究结果表明，与耐药 A549 细胞和耐药 NCI-H1299 细胞比较，耐药 A549 细胞＋贝伐单抗组和耐药 NCI-H1299 细胞＋贝伐单抗组 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 表达显著表达升高，安罗替尼及联合用药均可显著降低 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A mRNA 和蛋白表达，提示安罗替尼通过下调 SERF1A 逆转贝伐珠单抗耐药。

4　结论

本研究构建了贝伐珠单抗耐药肺腺癌细胞，发现安罗替尼能显著降低耐药细胞的活力和侵袭能力。机制研究表明，安罗替尼通过下调 RGCC、CDH2、MMP2 和 SERF1A 表达逆转贝伐珠单抗耐药，提高抑瘤效应。本研究为贝伐珠单抗应用于肺腺癌的临床治疗提供了新的思路。

【参考文献】

[1] CHEN Y, ZHOU Y, REN R, *et al*. Harnessing lipid metabolism modulation for improved immunotherapy outcomes in lung adenocarcinoma[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12(7): e008811.

[2] LIANG J Q, BI G S, HUANG Y W, *et al*. MAFF confers vulnerability to cisplatin-based and ionizing radiation treatments by modulating ferroptosis and cell cycle progression in lung adenocarcinoma[J]. Drug Resist Updat, 2024, 73: 101057.

[3] 郑荣寿，陈茹，韩冰峰，等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志，2024，46(3)：221-231.

[4] ZHENG Y N, ZHOU R, CAI J N, *et al*. Matrix stiffness triggers lipid metabolic cross-talk between tumor and stromal cells to mediate bevacizumab resistance in colorectal cancer liver metastases[J]. Cancer Res, 2023, 83(21): 3577-3592.

[5] WICHELMANN T A, ABDULMUJEEB S, EHRENPREIS E D. Bevacizumab and gastrointestinal perforations: a review from the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) database [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2021, 54(10): 1290-1297.

[6] SU Y D, LUO B Y, LU Y, *et al*. Anlotinib induces a T cell-inflamed tumor microenvironment by facilitating vessel normalization and enhances the efficacy of PD-1 checkpoint blockade in neuroblastoma[J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(4): 793-809.

[7] CHENG Y, CHEN J H, ZHANG W, *et al*. Benmelstobart, anlotinib and chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer: a randomized phase 3 trial[J]. Nat Med, 2024, 30(10): 2967-2976.

[8] YAN M, YANG R H, LI Q, *et al*. Anti-angiogenic and antitumor effects of anlotinib combined with bevacizumab for colorectal cancer[J]. Transl Oncol, 2024, 41: 101887.

[9] WANG N, CHAI M Y, ZHU L Y, *et al*. Development and validation of polyamines metabolism-associated gene signatures to predict prognosis and immunotherapy response in lung adenocarcinoma[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1070953.

[10] ZHAO C T, XIAO R X, JIN H M, *et al*. The immune microen-

vironment of lung adenocarcinoma featured with ground-glass nodules[J]. Thorac Cancer, 2024, 15(19): 1459-1470.

[11] SHIRAISHI Y, KISHIMOTO J, SUGAWARA S, *et al*. Atezolizumab and platinum plus pemetrexed with or without bevacizumab for metastatic nonsquamous non-small cell lung cancer: a phase 3 randomized clinical trial[J]. JAMA Oncol, 2024, 10(3): 315-324.

[12] PARK S, KIM T M, HAN J Y, *et al*. Phase III, randomized study of atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in patients with EGFR- or ALK-mutated non-small-cell lung cancer (ATTLAS, KCSG-LU19-04)[J]. J Clin Oncol, 2024, 42(11): 1241-1251.

[13] CHEN C, WANG Z H, DING Y, *et al*. Tumor microenvironment-mediated immune evasion in hepatocellular carcinoma[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1133308.

[14] LEI T Y, XU T W, ZHANG N, *et al*. Anlotinib combined with osimertinib reverses acquired osimertinib resistance in NSCLC by targeting the c-MET/MYC/AXL axis[J]. Pharmacol Res, 2023, 188: 106668.

[15] HAN B H, LI K, ZHAO Y Z, *et al*. Anlotinib as a third-line therapy in patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: a multicentre, randomised phase II trial (ALTER0302)[J]. Br J Cancer, 2018, 118(5): 654-661.

[16] LIU Z J, QIN T T, YUAN X H, *et al*. Anlotinib downregulates RGC32 which provoked by bevacizumab[J]. Front Oncol, 2022, 12: 875888.

[17] CHENG S J, WAN X Y, YANG L P, *et al*. RGCC-mediated PLK1 activity drives breast cancer lung metastasis by phosphorylating AMPKα2 to activate oxidative phosphorylation and fatty acid oxidation[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 342.

[18] XU R, SHANG C, ZHAO J G, *et al*. Knockdown of response gene to complement 32 (RGC32) induces apoptosis and inhibits cell growth, migration, and invasion in human lung cancer cells[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 394(1-2): 109-118.

[19] LUO Y, YU T, ZHANG Q W, *et al*. Upregulated N-cadherin expression is associated with poor prognosis in epithelial-derived solid tumours: a meta-analysis[J]. Eur J Clin Invest, 2018, 48(4): e12903.

[20] WANG Q, CHEN M Y, TANG X F. Luteolin inhibits lung cancer cell migration by negatively regulating TWIST1 and MMP2 through upregulation of miR-106a-5p[J]. Integr Cancer Ther, 2024, 23: 15347354241247223.

[21] MUSTACCHI G, SORMANI M P, BRUZZI P, *et al*. Identification and validation of a new set of five genes for prediction of risk in early breast cancer[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(5): 9686-9702.

(收稿日期:2025-04-10; 修回日期:2025-10-20; 编辑:张翰林)

(上接第 12 页)

[12] SADAKIERSKA-CHUDY A. microRNAs: diverse mechanisms of action and their potential applications as cancer epi-therapeutics[J]. Biomolecules, 2020, 10(9): 1285.

[13] GAO Y, YIN Z, QI Y L, *et al*. Golgi phosphoprotein 3 promotes angiogenesis and sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma via upregulating exosomal miR-494-3p[J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 35.

[14] ZHAO J H, ZENG H, GUO C, *et al*. Cadmium exposure induces apoptosis and necrosis of thyroid cells via the regulation of miR-494-3p/PTEN axis[J]. Biol Trace Elem Res, 2024, 202(11): 5061-5070.

[15] XU X H, SUN J M, CHEN X F, *et al*. microRNA-494-3p facilitates the progression of bladder cancer by mediating the KLF9/RGS2 axis[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38(11): 1070-1079.

[16] 朱坤. miR-494-3p/G6PC 信号轴通过介导自噬调控乳腺癌恶性进展的机制研究[D]. 延吉: 延边大学, 2022.

[17] ZOU F W, TANG Y F, LI X J, *et al*. circ_SMA4 promotes gastrointestinal stromal tumors malignant progression by sponging miR-494-3p/KIT axis and activating JAK/STAT pathway[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 22004.

[18] TIAN Y M, XU L, LI X, *et al*. SMARCA4: current status and future perspectives in non-small-cell lung cancer[J]. Cancer Lett, 2023, 554: 216022.

[19] QIU G T, TONG W J, JIANG C H, *et al*. Long noncoding RNA WT1-AS inhibit cell malignancy *via* miR-494-3p in glioma[J]. Technol Cancer Res Treat, 2020, 19: 1533033820919759.

[20] LINDNER P, PAUL S, ECKSTEIN M, *et al*. EMT transcription factor ZEB1 alters the epigenetic landscape of colorectal cancer cells[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 147.

[21] WANG Q, LING S Y, LV J, *et al*. Circ-ZEB1 enhances NSCLC metastasis and proliferation by modulating the miR-491-5p/EIF5A axis[J]. Anal Cell Pathol, 2025, 2025: 5595692.

[22] PEREZ-OQUENDO M, MANSHOURI R, TIAN Y H, *et al*. ZEB1 is regulated by K811 acetylation to promote stability, NuRD complex interactions, EMT, and NSCLC metastasis[J]. Mol Cancer Res, 2023, 21(8): 779-794.

[23] SHANG R X, CHEN J K, GAO Y, *et al*. TRIM58 interacts with ZEB1 to suppress NSCLC tumor malignancy by promoting ZEB1 protein degradation *via* UPP[J]. Dis Markers, 2023, 2023: 5899662.

[24] NA T Y, SCHECTERSON L, MENDONSA A M, *et al*. The functional activity of E-cadherin controls tumor cell metastasis at multiple steps[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(11): 5931-5937.

[25] USMAN S, WASEEM N H, NGUYEN T K N, *et al*. Vimentin is at the heart of epithelial mesenchymal transition (EMT) mediated metastasis[J]. Cancers, 2021, 13(19): 4985.

(收稿日期:2024-12-14; 修回日期:2025-11-11; 编辑:张翰林)