

NEDD4-1 调控 JAK2/STAT3 通路 参与胰腺癌发生、发展的研究

刘 岩 张媛媛 毕亭亭

摘 要 **目的** 探讨神经前体细胞表达发育下调蛋白 4-1 (neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-1, NEDD4-1) 在胰腺癌组织及细胞发生、发展过程中的作用及相关机制。**方法** 采用免疫组织化学法分析 NEDD4-1 在胰腺导管腺癌及癌旁组织中的表达差异; Western blot 法检测 NEDD4-1 在胰腺癌细胞与正常胰腺导管上皮细胞内的表达改变; 利用 siRNA 沉默人胰腺癌 PANC-1 细胞中的 NEDD4-1 表达, 检测细胞的生长增殖活力、凋亡率及迁移活性的改变, 并探讨沉默前后细胞内 NEDD4-1、p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白的表达变化。**结果** 胰腺导管腺癌组织中的 NEDD4-1 表达水平较癌旁组织显著上调 ($P < 0.01$); 胰腺癌细胞株内的 NEDD4-1 蛋白表达水平较正常胰腺导管上皮细胞明显升高 ($P < 0.01$); 转染 36h 后, siNEDD4-1 组 NEDD4-1 蛋白表达水平仅为 siNC 组的 $41.71\% \pm 4.58\%$, 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与 siNC 组比较, siNEDD4-1 组 PANC-1 细胞生长增殖活性下降、凋亡率上升、迁移活力降低, 且细胞内 NEDD4-1、p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白表达水平明显下调 ($P < 0.05$)。**结论** NEDD4-1 在胰腺癌组织中及细胞中表达升高。沉默 NEDD4-1 可能通过调控 JAK2/STAT3 通路抑制胰腺癌细胞的增殖活性及迁移能力并诱导细胞凋亡。NEDD4-1 可能成为治疗胰腺癌的一个新靶点。

关键词 胰腺癌 NEDD4-1 沉默 进展 靶点

中图分类号 R735 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2024.04.029

NEDD4-1 is Involved in the Occurrence and Development of Pancreatic Cancer by Regulating the JAK2/STAT3 Pathway. LIU Yan, ZHANG Manman, BI Tingting. Department of Surgery, Xuzhou Central Hospital, Xuzhou Clinical School of Xuzhou Medical University, Jiangsu 221006, China

Abstract **Objective** To investigate the role and mechanism of neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-1 (NEDD4-1) in the occurrence and development of pancreatic cancer tissue and cell. **Methods** The expression of NEDD4-1 in pancreatic ductal adenocarcinoma and its adjacent tissues was detected by immunohistochemistry. The expression of NEDD4-1 in pancreatic cancer cells and normal pancreatic ductal epithelial cells was detected by Western blot. The expression of NEDD4-1 in human pancreatic carcinoma PANC-1 cells was silenced by siRNA, and the changes of growth, proliferation, apoptosis and migration activity were detected, and the changes of NEDD4-1, p-JAK2 and p-STAT3 protein expression in the cells before and after silencing were investigated. **Results** The expression level of NEDD4-1 in pancreatic ductal adenocarcinoma was significantly higher than that in adjacent tissues ($P < 0.01$). The expression level of NEDD4-1 protein in pancreatic cancer cells was also significantly higher than that in normal pancreatic ductal epithelial cells ($P < 0.01$). The expression level of NEDD4-1 protein in siNEDD4-1 group was only $41.71\% \pm 4.58\%$ of that in siNC group at 36h after transfection, and the difference between two groups was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with siNC group, the growth and proliferation activity of PANC-1 cells in siNEDD4-1 group was decreased, while the apoptosis rate was increased, and the protein expressions of NEDD4-1, p-JAK2 and p-STAT3 were significantly down-regulated ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of NEDD4-1 is increased in pancreatic cancer tissues and cells. Silencing of NEDD4-1 may inhibit the proliferation and migration activity of pancreatic cancer cells and induce cell apoptosis by regulating JAK2/STAT3 pathway. NEDD4-1 may be a new target for the treatment of pancreatic cancer.

Key words Pancreatic cancer; NEDD4-1; Silencing; Progression; Target

基金项目:江苏省徐州市卫生健康委员会医学科技创新资助项目(XWKYHT20230051);江苏省徐州医科大学附属医院优秀人才基金资助项目(XYFY202201)

作者单位:221006 徐州市中心医院普外科、徐州医科大学徐州临床学院(刘岩);221006 徐州市中心医院消化内科、徐州医科大学徐州临床学院(张媛媛、毕亭亭)

通信作者:毕亭亭,电子邮箱:bitingting0610@163.com

胰腺癌被称为癌中之王是因为其恶性程度及病死率极高。据中国科学院国家癌症研究中心报道,2022 年胰腺癌在我国癌症病死率排名第 6 位^[1]。美国癌症协会报道 2022 年胰腺癌在美国癌症病死率排名中位于第 3 位,且病死率仍会出现逐渐递增的趋势^[2,3]。预估在 2030 年胰腺癌致死率将一跃上升至癌症致死排名的第 2 位^[4]。虽然随着科学的深入发展,治疗的手段层出不穷,5 年生存率仍难以令人满意,仅为 9% 左右^[5]。多数患者发现时由于存在血管的侵犯、远处转移、血栓等症状而没有了手术的机会^[6]。放化疗在晚期患者治疗过程中也发挥着一定的作用,且多种化疗联合方案也在不断更新,但效果不尽如意^[7]。

随着分子检测技术的飞速发展,靶向精准治疗受到越来越多的关注,已有厄洛替尼及拉罗替尼等被批准用于胰腺癌靶向治疗,但效果目前仍难以让人满意,寻找并明确胰腺癌发生、发展过程中新的分子靶点尤为迫切^[8,9]。作为神经前体细胞发育下调蛋白家族重要成员,神经前体细胞表达发育下调蛋白 4-1 (neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4-1, NEDD4-1) 是一种 E3 泛素化连接酶,已证实可作为乳腺癌、肺癌、前列腺癌等患者的独立预后因子^[10,11]。笔者团队既往研究发现,NEDD4-1 在胰腺癌组织中表达显著升高,提示其可能在胰腺癌发生、发展过程中扮演重要角色。

材料与方法

1. 材料:胰腺癌及对应癌旁组织标本由笔者医院手术切除且病理诊断明确为胰腺导管腺癌,临床研究经徐州市中心医院医学伦理学委员会审批同意;胎牛血清及细胞培养液购自美国 Gibco 公司;NEDD4-1 siRNA 靶序列由广州瑞博生物技术公司设计并合成;MTT 试剂购自美国 Sigma 公司;凋亡检测试剂盒购自杭州联科生物科技股份有限公司;蛋白定量试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;NEDD4-1、JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、GAPDH 蛋白一抗及二抗均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

2. 细胞及培养:胰腺癌细胞株 PANC-1、BxPC-3 及正常胰腺导管上皮 HPDE6-C7 细胞均购自中国科学院细胞库(上海),细胞生长条件:10% 优质胎牛血清的 DMEM 培养、温度 37℃、5% CO₂、湿度 70%~80%,当汇合度为 80%~90% 时给予传代 1 次,实验过程中需保证细胞生长状态良好且处于对数增长期。

3. 免疫组化染色实验:胰腺癌及对应癌旁组织病

理切片使用二甲苯脱蜡水化后,进行抗原修复,然后采用 3% 的 H₂O₂ 将内源性过氧化物酶的活力阻断,1:300 的抗 NEDD4-1 一抗反应后使用对应二抗孵育,显色后使用苏木紫复染,最后显微镜下察看染色情况并分析。

4. 转染 siRNA 实验:胰腺癌 PANC-1 细胞以约 2×10^5 个/孔接种于 12 孔板内,生长至孔底面积 60%~80% 时准备转染。共设空白对照组、SiNC 组(转染 siNC)、si-NEDD4-1 组(转染 siRNA-NEDD4-1)。按照 Lipofectamine 3000 试剂盒的说明步骤严格的逐步进行转染。siRNA-NEDD4-1 的序列如下:上游引物:5'-CACCGCAGAACAGGCTGAGGAATTATCAAGAGATAATTCCTCAGCCTGTTCTGCT-TTTG-3';下游引物:5'-GATCCAAAAAGCAGAACAGGCTGAGGAATTATCTCTTGAATAATTCCTCAGCC-TGTTCTGC-3'。转染 36h 后,收集并提取细胞总蛋白,使用 Western blot 法测定转染前后细胞内 NEDD4-1 蛋白表达量的变化以评判实验的转染效率。

5. MTT 实验:取转染 36h 的各组细胞进行计数并铺板至 96 孔培养板内,每孔加入浓度为 5×10^4 个/毫升的细胞悬液 100μl,各设有 3 个复孔,分别在培养 12、24、36 及 48h 时使用 MTT 液处理,然后使用酶标仪在 490nm 波长处测定各孔的吸光度(A)。

6. 细胞凋亡实验:将转染 36h 后的各组细胞给予消化,并将细胞悬液一起收集,离心处理后($300 \times g$,离心 3min)按照流式试剂盒提供的步骤逐步进行重悬、染色和孵育,最后完成凋亡的检测并统计。

7. 细胞迁移实验:准备好无菌的 6 孔板,在其背面用马克笔作横穿孔内的直线。将转染 36h 的各组细胞收集并重悬、计数后,以每孔 5×10^5 个铺板到孔中,每组 3 个复孔。待细胞约占至孔底的 80% 面积时给予垂直于板背面的直线划痕,洗去划掉的细胞后继续培养 36h。对细胞迁移的情况进行观察并处理分析。

8. Western blot 法检测:收集转染 36h 后的各组细胞,将蛋白给予提取并定量,各取 20μl 进行电泳、电转到聚偏氟乙烯膜后封闭,孵育 1:1000 的 NEDD4-1、p-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3 一抗及对应的 1:2000 的二抗,最后 ECL 法进行曝光及显影。

9. 统计学方法:应用 SPSS 17.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较应用单因素方差分析,两组之间相比应用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 胰腺癌组织和细胞株中 NEDD4-1 表达上调: NEDD4-1 在胰腺癌组织中的着色位置主要在细胞质内,阳性表达呈棕黄色,结果显示其在胰腺癌组织

内的表达强度明显高于癌旁组织(图 1A)。Western blot 法检测结果进一步证实,胰腺癌 PANC-1、BxPC-3 细胞株内 NEDD4-1 蛋白的表达较正常胰腺导管上皮细胞明显升高($P < 0.01$,图 1B)。

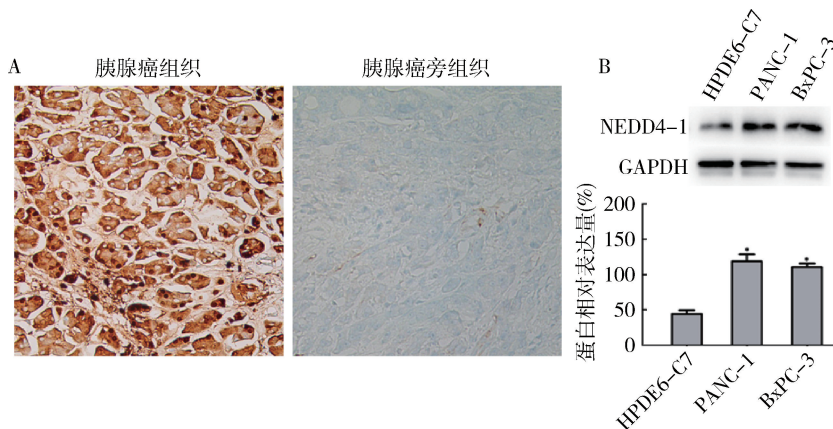


图 1 NEDD4-1 在胰腺癌组织及细胞中的表达(DAB 显色 + 苏木紫染色, $\times 200$)

A. NEDD4-1 在胰腺癌及癌旁组织中表达变化;B. NEDD4-1 在胰腺癌细胞中表达。与 HPDE6-C7 细胞比较, * $P < 0.01$

2. 评判 siNEDD4-1 的转染效率:转染结束后, siNEDD4-1 转染组 NEDD4-1 的蛋白表达量明显降低,与 siNC 组及空白对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$,图 2),且 siNEDD4-1 组 NEDD4-1 蛋白表达量仅为 siNC 组的 $41.71\% \pm 4.58\%$ 。

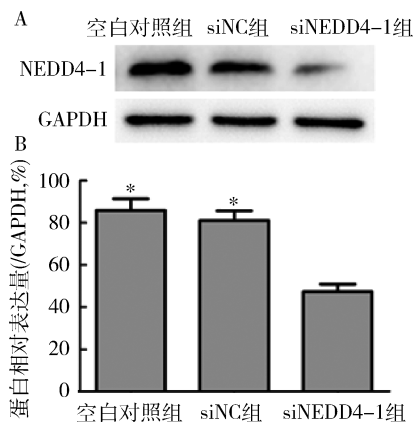


图 2 Western blot 法检测转染前后 NEDD4-1 蛋白的表达变化

A. 沉默 NEDD4-1 后细胞中 NEDD4-1 表达变化;

B. 蛋白相对表达量。与 siNEDD4-1 组比较, * $P < 0.01$

3. siNEDD4-1 后对细胞增殖活力的影响:结果显示,与空白对照组及 siNC 组比较, siNEDD4-1 组的胰腺癌细胞活性出现下降趋势。在转染结束后 36h 及 48h 两组中, siNEDD4-1 组细胞增殖活力显著下

降,与空白对照组及 siNC 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$,图 3)。

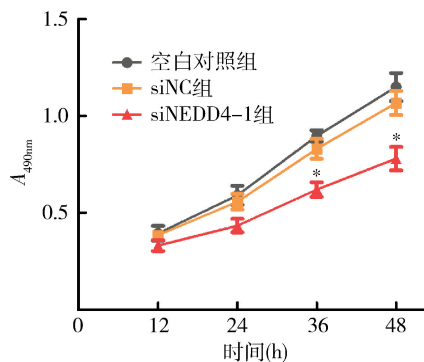


图 3 MTT 测 siNEDD4-1 对胰腺癌细胞增殖活性的影响
与 siNC 组比较, * $P < 0.05$

4. siNEDD4-1 对细胞凋亡率的影响:与空白对照组 $5.17\% \pm 1.66\%$ 及 siNC 组 $6.29\% \pm 1.76\%$ 比较, siNEDD4-1 组 $17.16\% \pm 2.51\%$ 胰腺癌细胞凋亡率显著升高,组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$,图 4)。

5. siNEDD4-1 对细胞迁移活力的影响:划痕结果证实沉默 NEDD4-1 后可明显抑制胰腺癌 PANC-1 细胞的迁移活性,与 siNC 组迁移面积 $61.68\% \pm 7.10\%$ 比较, siNEDD4-1 组迁移面积 $39.49\% \pm 6.30\%$ 显著减小($P < 0.05$,图 5)。

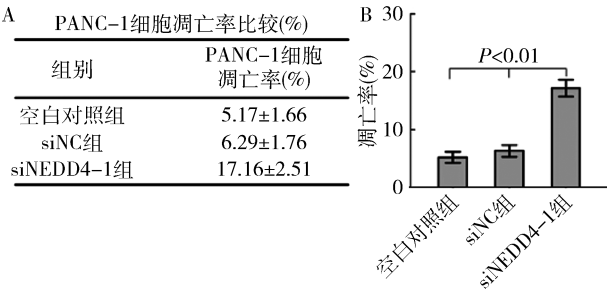


图 4 siNEDD4-1 对胰腺癌细胞凋亡率的影响

A. 沉默 NEDD4-1 后细胞凋亡活力检测;B. 细胞凋亡率

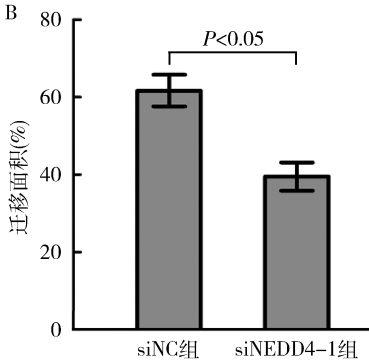
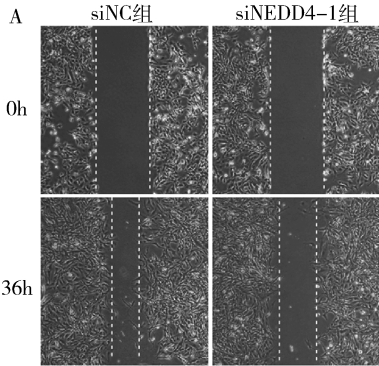


图 5 siNEDD4-1 对胰腺癌细胞迁移活力的影响

A. 沉默 NEDD4-1 后细胞迁移活力检测;B. 细胞迁移的面积

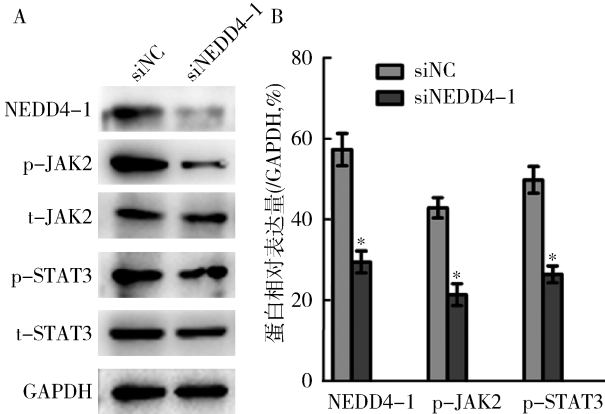


图 6 siNEDD4-1 对 JAK2/STAT3

通道活化水平的影响

A. 沉默 NEDD4-1 后细胞中相关蛋白表达情况;

B. 蛋白相对表达量。与 siNC 组比较, * $P < 0.01$

6. siNEDD4-1 后对细胞中 JAK2/STAT3 通路影响:转染 siNEDD4-1 后,可见细胞中总的 JAK2 及 STAT3 蛋白水平与 SiNC 组比较无明显变化,但其磷酸化的 p-JAK2 及 p-STAT3 蛋白水平与 SiNC 组比较明显下降($P < 0.01$,图 6),证实 NEDD4-1 的下调可抑制 JAK2/STAT3 通路的活化。

讨 论

随着生活环境变化以及人口老龄化的进展,胰腺癌的患病人数必将出现攀升。其恶性程度极高,诊疗

疗联合方案的出现使部分晚期病患得到获益,但总的效果仍不尽如意^[13,14]。放疗同样扮演重要作用,但目前普遍建议放疗应与其他化疗方案同时进行以增强化疗效果,而不宜单独使用^[15,16]。质子治疗其实是一类先进的放疗类手段,据报道其在常规放疗难以治疗的患者中具有独特的作用价值,但是目前研究很少^[17]。分子靶向治疗作为一种新的方案,目前已在肺癌、乳腺癌、宫颈癌等肿瘤治疗中发挥巨大的作用,且目前已有指南肯定了探索胰腺癌治疗靶点的必要性^[18]。

近年来胰腺癌的靶向研究取得了诸多的进展。2018 年 Aguirre 等^[19]研究发现,在 1 例存有鼠类肉瘤滤过性毒菌致癌同源体 B(v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B, BRAF) 基因突变且二线化疗耐药的晚期胰腺癌患者身上,使用曲美替尼靶向治疗可使症状部分缓解;Qin 等^[20]开展的一项Ⅲ期临床试验发现,使用针对 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物基因(kirsten rats arcomaviral oncogene homolog, KRAS)野生型的尼妥珠单抗联合化疗药物治疗晚期胰腺癌患者可显著延长中位生存期并降低死亡风险;Vaziri 等^[21]研究表明,使用艾伏尼布靶向治疗高表达野生型异柠檬酸脱氢酶 1(isocitrate dehydrogenase 1,

挑战性极大。随着研究对胰腺癌认识的不断深入以及各种技术的不断发展,如何延长患者的生存时长是世界的焦点问题^[12]。目前胰腺癌的治疗主要有手术、化疗、放疗、质子治疗、靶向治疗等。手术只适合于部分早期的患者;对晚期已存在转移及部分复发患者,化疗发挥了一定的作用,且近年来越来越多的化

IDH1)或存在 IDH1 突变的胰腺癌患者可起到一定的作用;对于有神经营养因子受体酪氨酸激酶(neurotrophin receptor kinase, NTRK)基因融合阳性的胰腺癌患者,2022 年的胰腺癌临床诊疗指南直接将恩曲替尼及拉罗替尼两药作为首先推荐治疗药物^[18]。虽针对胰腺癌靶向研究做了大量的工作,目前尚没有能够显著改善患者预后并普遍在临床使用的靶点药物面世,因此亟需更深入探索及新型靶向药物的开发。

NEDD4-1 作为一种 E₃ 泛素化的连接酶,可通过泛素化活性从而发挥多种的生物学功能,近年来有研究证实,其可能在多种肿瘤疾病中作为监测预后的指标及治疗的靶点。Natori 等^[22]研究表明,高表达 NEDD4-1 的乳腺癌患者生存期和生存时间明显短于低表达 NEDD4-1 的患者,下调细胞中 NEDD4-1 的表达可增加患者对激素治疗的敏感度,NEDD4-1 可能成为治疗乳腺癌的靶点。Wang 等^[23]研究证实,NEDD4-1 通过拮抗 PTEN 信号通路的活性,特异性地促进依赖于此信号的胃癌细胞的增殖,靶向 NEDD4-1 可能是驱动胃癌的一种有前景的治疗策略。Li 等^[24]研究发现,NEDD4 的高表达与肝细胞癌侵袭性表型及预后不良呈正相关,且 NEDD4 诱导的消融不足在促进肝癌进展中起着关键作用,其可能成为治疗肝癌的一个新的治疗靶点。

笔者团队既往研究证实,NEDD4-1 的表达和胰腺癌患者预后相关^[25]。本研究发现,NEDD4-1 在胰腺癌标本中表达较癌旁组织升高,在胰腺癌细胞株中表达亦上调,且沉默细胞中 NEDD4-1 表达后可导致细胞活性下降、凋亡率上升,并可致使 JAK2 及 STAT3 蛋白的活化能力降低。

综上所述,本实验表明胰腺癌组织和细胞中 NEDD4-1 的表达显著升高,且 NEDD4-1 可能通过调控 JAK2/STAT3 通路抑制胰腺癌细胞的增殖活性及迁移能力并诱导细胞发生凋亡。因此笔者推测 NEDD4-1 可能成为胰腺癌治疗的一个新的靶点,值得对其进行更深入的研究。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- 1 Xia CF, Dong XS, Li H, *et al.* Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants [J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(5): 584-590
- 2 Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, *et al.* Cancer statistics, 2022 [J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33
- 3 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020;

- Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249
- 4 Hayashi A, Hong J, Iacobuzio-donahue CA. The pancreatic cancer genome revisited [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(7): 469-481
- 5 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30
- 6 Park W, Chawla A, O'Reilly EM. Pancreatic cancer: a review [J]. JAMA, 2021, 326(9): 851-862
- 7 邱江东, 朱瑞哲, 陈浩, 等.《中国胰腺癌新辅助治疗指南(2020版)》解读 [J]. 中华外科杂志, 2021, 59(3): 232-236
- 8 Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, *et al.* Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group [J]. J Clin Oncol, 2007, 25: 1960-1966
- 9 Scott LJ. Larotrectinib: first global approval [J]. Drugs, 2019, 79: 201-206
- 10 Zhang J, XieE JJ, Zhou SJ, *et al.* Diosgenin inhibits the expression of NEDD4 in prostate cancer cells [J]. Am J Transl Res, 2019, 11(6): 3461-3471
- 11 Luhtala S, StaffS, Kalloniemi A *et al.* Clinicopathological and prognostic correlations of HER3 expression and its degradation regulators, NEDD4-1 and NRDP1, in primary breast cancer [J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 1045
- 12 刘丹希, 孙备. 美国国家综合癌症网络临床实践指南: 胰腺癌(2020V1)更新解读 [J]. 临床外科杂志, 2021, 29(1): 20-22
- 13 Perri G, Prakash L, Qiao W, *et al.* Response and survival associated with first-line FOLFIRINOX vs Gemcitabine and nab-paclitaxel chemotherapy for localized pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. JAMA Surg, 2020, 155(9): 832-839
- 14 Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, *et al.* Pancreatic cancer [J]. Lancet, 2020, 395(10242): 2008-2020
- 15 Mokhtech M, Miccio JA, Johung K, *et al.* Multiagent chemotherapy followed by stereotactic body radiotherapy versus conventional radiotherapy for resected pancreas cancer [J]. Am J Clin Oncol, 2022, 45(11): 450-457
- 16 任刚, 王颖杰. 2019 年-2020 年胰腺癌放射治疗新进展 [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(3): 733-736
- 17 Naumann M, Czempel T, Löbner AJ, *et al.* Combined systemic drug treatment with proton therapy: investigations on patient-derived organoids [J]. Cancers, 2022, 14(15): 3781
- 18 陈哲然, 辛磊, 王洛伟.《2023 年欧洲肿瘤内科学会临床实践指南: 胰腺癌的诊断、治疗和随访》意见要点 [J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(12): 2804-2808
- 19 Aguirre AJ, Nowak JA, Camarda ND, *et al.* Real time genomic characterization of advanced pancreatic cancer to enable precision medicine [J]. Cancer Discov, 2018, 8(9): 1096-1111
- 20 Qin S, Li J, Bai Y, *et al.* Nimotuzumab plus gemcitabine for k-ras wild-type locally advanced or metastatic pancreatic cancer [J]. J Clin Oncol, 2023, 41(33): 5163-5173

(下转第 14 页)

2018, 233(3): 2116 – 2132

12 Shi X, Xie WL, Kong WW, *et al.* Expression of the NLRP3 inflammasome in carotid atherosclerosis [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2015, 24(11): 2455 – 2466

13 Lin X, Ouyang S, Zhi C, *et al.* Focus on ferroptosis, pyroptosis, apoptosis and autophagy of vascular endothelial cells to the strategic targets for the treatment of atherosclerosis [J]. Arch Biochem Biophys, 2022, 715: 109098

14 Zhaolin Z, Jiaojiao C, Peng W, *et al.* OxLDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR – 125a – 5p/TET2 pathway [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 7475 – 7491

15 Yin Y, Li X, Sha X, *et al.* Early hyperlipidemia promotes endothelial activation via a caspase – 1 – sirtuin 1 pathway [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015, 35(4): 804 – 816

16 Tang YS, Zhao YH, Zhong Y, *et al.* Neferine inhibits LPS – ATP – induced endothelial cell pyroptosis via regulation of ROS/NLRP3/ Caspase – 1 signaling pathway [J]. Inflamm Res, 2019, 68(9): 727 – 738

17 Yang Z, Shi J, Chen L, *et al.* Role of pyroptosis and ferroptosis in the progression of atherosclerotic plaques [J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 811196

18 Jia C, Chen H, Zhang J, *et al.* Role of pyroptosis in cardiovascular diseases [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 67: 311 – 318

19 van der Heijden T, Kritikou E, Venema W, *et al.* NLRP3 inflammasome inhibition by MCC950 reduces atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E – deficient mice – brief report [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2017, 37(8): 1457 – 1461

20 Zeng W, Wu D, Sun Y, *et al.* The selective NLRP3 inhibitor MCC950 hinders atherosclerosis development by attenuating inflammation and pyroptosis in macrophages [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 19305

21 Miano JM, Fisher EA, Majesky MW. Fate and state of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis [J]. Circulation, 2021, 143(21): 2110 – 2116

22 Basatemur GL, Jørgensen HF, Clarke MC, *et al.* Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis [J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(12):

727 – 744

23 Burger F, Baptista D, Roth A, *et al.* NLRP3 Inflammasome activation controls vascular smooth muscle cells phenotypic switch in atherosclerosis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 340

24 Liu YF, Wang W, Liu T, *et al.* Glyburide prevents pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration via inhibiting NLRP3 activation [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2017, 40(6): 440 – 444

25 Shi X, Gao J, Lv Q, *et al.* Calcification in atherosclerotic plaque vulnerability: friend or foe? [J]. Front Physiol, 2020, 11: 56

26 Durham AL, Speer MY, Scatena M, *et al.* Role of smooth muscle cells in vascular calcification; implications in atherosclerosis and arterial stiffness [J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(4): 590 – 600

27 Zeng C, Wang R, Tan H. Role of pyroptosis in cardiovascular diseases and its therapeutic implications [J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(7): 1345 – 1357

28 Peng S, Xu LW, Che XY, *et al.* Atorvastatin inhibits inflammatory response, attenuates lipid deposition, and improves the stability of vulnerable atherosclerotic plaques by modulating autophagy [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 438

29 Wu LM, Wu SG, Chen F, *et al.* Atorvastatin inhibits pyroptosis through the lncRNA NEXN – AS1/NEXN pathway in human vascular endothelial cells [J]. Atherosclerosis, 2020, 293: 26 – 34

30 Sharma A, Choi J SY, Stefanovic N, *et al.* Specific NLRP3 inhibition protects against diabetes – associated atherosclerosis [J]. Diabetes, 2021, 70(3): 772 – 787

31 Chen S, Wang Y, Pan Y, *et al.* Novel role for tranilast in regulating NLRP3 ubiquitination, vascular inflammation, and atherosclerosis [J]. J Am Heart Assoc, 2020, 9(12): e015513

32 Yang M, Lv H, Liu Q, *et al.* Colchicine alleviates cholesterol crystal – induced endothelial cell pyroptosis through activating AMPK/ SIRT1 pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 9173530

33 Li Y, Niu X, Xu H, *et al.* VX – 765 attenuates atherosclerosis in ApoE deficient mice by modulating VSMCs pyroptosis [J]. Exp Cell Res, 2020, 389(1): 111847

(收稿日期: 2022 – 12 – 22)

(修回日期: 2023 – 01 – 12)

(接第 158 页)

21 Vaziri – Gohar A, Cassel J, Mohammed FS, *et al.* Limited nutrient availability in the tumor microenvironment renders pancreatic tumors sensitive to allosteric IDH1 inhibitors [J]. Nat Cancer, 2022, 3(7): 852 – 865

22 Natori Y, Suga J, Tokuda E, *et al.* E3 ubiquitin ligase NEDD4 Affects estrogen receptor α expression and the prognosis of patients with hormone receptor – positive breast cancer [J]. Cancers (Basel), 2023, 15(2): 539

23 Wang K, Yu Y, Wang W, *et al.* Targeting the E3 ligase NEDD4 as a

novel therapeutic strategy for IGF1 signal pathway – driven gastric cancer [J]. Oncogene, 2023, 42(14): 1072 – 1087

24 Li K, Niu Y, Yuan Y, *et al.* Insufficient ablation induces E3 – ligase Nedd4 to promote hepatocellular carcinoma progression by tuning TGF – β signaling [J]. Oncogene, 2022, 41(23): 3197 – 3209

25 毕亭亭, 侯思慧, 刘岩. 神经前体细胞表达发育下调蛋白 4 – 1 在胰腺癌组织中的表达和临床意义 [J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(3): 617 – 621

(收稿日期: 2023 – 03 – 04)

(修回日期: 2023 – 05 – 05)