DOI:10.16016/j.2097-0927.202402071

Sufu 突变通过调控 Gli1 促进肺腺癌恶性进展

刘继宏,罗 虎,衣杏林,周向东 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院呼吸与危重症医学科

[摘要] **目的** 观察 Sufu 在肺腺癌中的突变情况以及 Sufu 突变后对 Gli1 转录调控的变化,探讨 Sufu 对肺腺癌进展的作用。**方法** 通过 cBioPortal 网站获取 Sufu 在肺癌中的突变情况;构建 4 个 Sufu 单碱基突变载体;在肺腺癌细胞株(A549 和 H1975)中分别对 Sufu 进行过表达和敲除;通过细胞划痕实验检测 Sufu 对肺腺癌细胞迁移能力的影响;通过 RT-qPCR、细胞免疫荧光和双荧光素酶报告基因实验观测 Sufu 突变后对 Gli1 转录水平的影响。**结果** cBioPortal 网站数据显示:Sufu 在肺腺癌中突变率分别为 11.76%(肺鳞癌:2/17)、0.96%(肺腺癌:6/625)、1.01%(小细胞肺癌:4/396)和 0.69%(非小细胞肺癌:77/11 227);Sufu 发生突变后,肺癌患者中位生存期显著降低[54.34(未突变组)*vs* 38.00(突变组)个月,*HR*=1.943,*P*<0.05];A549 细胞对 Sufu 敲除敏感,能显著上调 Gli1 的转录水平(*P*<0.05);在 A549 和 H1975 中,过表达 Sufu 能抑制细胞迁移(*P*<0.05);Sufu 突变后,Gli1 细胞定位未发生明显改变;Sufu-T411M 突变能上调 Gli1 的转录水平(*P*<0.05)。**结论** Sufu 对肺腺癌转移有抑制作用,Sufu 具有成为肺腺癌转移治疗靶点的潜力。

[关键词] 肺腺癌;Hedgehog 信号通路;Sufu;Gli1

[中图法分类号] R394.3; R730.23; R734.2 [文献标志码] A

Sufu mutation promotes malignant progression of lung adenocarcinoma by regulating Gli1

LIU Jihong, LUO Hu, YI Xinglin, ZHOU Xiangdong Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the effect of Sufu on lung adenocarcinoma by observing its mutation and the changes in Gli1 transcription after its mutation. **Methods** cBioPortal for Cancer Genomics was used to obtain the mutation status of Sufu in lung cancer. Four Sufu single base mutation vectors were constructed and transfected into lung adenocarcinoma cell lines A549 and H1975 to establish cells with Sufu overexpression and knockout. Wounding healing assay was employed to determine the effect of Sufu on cell migration, and RT-qPCR, immunofluorescence assay and dual luciferase reporter gene assay were utilized to explore the changes in Gli1 transcription after Sufu mutation. **Results** cBioPortal data showed that the mutation rate of Sufu in lung cancer was 11.76% in squamous cell carcinoma (2/17), 0.96% in adenocarcinoma (6/625), 1.01% in small cell lung cancer (4/396), and 0.69% in non-small cell lung cancer (77/11 227). The median survival of lung cancer patients was significantly decreased in those with Sufu mutation than those without (38.00 *vs* 54.34 months, *HR*=1.943, *P*<0.05). A549 cells were sensitive to Sufu knockout, and it resulted in significant increase of the transcription level of Gli1 (*P*<0.05). Overexpression of Sufu inhibited cell migration ability in both A549 and H1975 cells (*P*<0.05). Sufu mutation had no significant influence on the location of Gli1 in the cells. The Sufu-T411M mutation

[通信作者] 周向东,E-mail:xiangdongzhou@126.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

up-regulated the the transcription level of Gli1 ($P<0.05$). **Conclusion** Sufu has an inhibitory effect on lung adenocarcinoma metastasis, and can be regarded as a potential target for lung adenocarcinoma metastasis.

[**Key words**] lung adenocarcinoma; Hedgehog signaling pathway; Sufu; Gli1

Corresponding author: ZHOU Xiangdong, E-mail: xiangdongzhou@126.com

2024 年 2 月 2 日,WHO 国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer,IARC)发布了 2022 年全球癌症报告,肺癌新增病例 250 万,死亡 180 万,发病率和病死率均为全球第一。随着环境污染的日益严重,肺癌发病率将在长时间内呈上升趋势。在新确诊的肺癌患者中,肺腺癌已成为占比最大的肺癌亚型,在男女性别中比例分别为 39% 和 57%[1]。尽管近年来不断有新的抗肿瘤药物问世,尤其是靶向药物和免疫联合化疗在临床上的应用使得大量患者受益,但肺癌仍然呈现高病死率。因此,寻找新的肺癌相关靶点,评估其在整个病程中的影响和作用,对肺癌的发病特点和预后提供新的解释,具有重要意义。

Hedgehog(Hh)信号通路是在胚胎发育阶段激活的重要信号通路,但在成年体细胞内保持静息状态。Sufu 和 Gli1 蛋白分别是 Hh 信号通路重要的中游抑制蛋白和下游促癌蛋白,Sufu 可在细胞质中与 Gli1 形成聚合体,阻遏 Gli1 入核[2]。一旦 Hh 信号通路激活,Gli1 将与 Sufu 解离,进入细胞核,作为正向转录因子,激活下游靶基因。Hh 信号通路已在基底细胞癌和髓母细胞瘤等多种肿瘤中被广泛研究[3]。LO 等[4]报道,Gli1 促进胶质瘤侵袭和转移。然而,Sufu 作为肿瘤抑制因子,在肺腺癌中能否通过抑制 Gli1 来抑制肿瘤转移,尚不清楚。本实验以 cBioPortal 资源库数据为起点,以肺腺癌细胞 A549 和 H1975 为实验对象,构建 4 个单碱基突变载体,初步探索 Sufu 在肺腺癌细胞中的作用机制,为进一步研究 Sufu 突变对肺腺癌细胞功能的影响打下基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

本研究进行质粒提取纯化使用的无内毒素质粒大提试剂盒(DP117)购自天根生化科技有限公司;构建单碱基突变载体使用的基因定点突变试剂盒(D0206S)购自上海碧云天公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(E1910)购自美国 Promega 公司。

1.2 数据库分析

登录 cBioPortal 网站,检索泛癌组(PanCancer Studies)和肺癌组(Lung Cancer Studies)数据。得出 Sufu 在泛癌中突变情况,Sufu 在肺癌中的突变情况及肺癌患者生存期差异情况。

1.3 Sufu 过表达慢病毒载体构建

EGFP-Puro 空载慢病毒载体和 Sufu-Myc 普通载体从课题组内获得[5]。对前者进行酶切,暴露出酶切位点,对后者进行 PCR,扩增 Sufu 片段,然后通过载体连接,构建过表达 Sufu 的慢病毒载体。

1.4 Sufu-CRISPR 基因敲除慢病毒载体构建

依托 CRISPRDB 网站,预测 *Sufu* 敲除位点为“CCAGATCGTTGGTGTCTGCA”,设计引物:正向 5′-CACCGGTGCAGACACCAACGATCTG-3′,反向 5′-AAACCAGATCGTTGGTGTCTGCACC-3′。引物配制为 10 μmol/L 的溶液,正、反向引物各吸取 5 μL 至 PCR 单管中,移液枪吹打混匀,800 r/min,离心 2 s。100 ℃水浴瞬时加热,缓慢降温至室温,引物进行互补配对。CRISPR-Cas9 质粒载体经 *Bsm*BⅠ酶切后,与互补的引物片段进行连接,获得携带 Sufu 敲除位点的 CRISPR-Cas9 基因敲除载体。

1.5 突变型 Sufu 载体构建

根据 Sufu 单碱基突变位点前后的碱基序列,设计 4 对引物(表 1),按照试剂盒说明书进行载体克隆。

1.6 细胞免疫荧光

将 293T 细胞培养在共聚焦培养皿中,将 Gli1 质粒进行单转染作为对照组,将 Gli1 与野生型 Sufu 质粒以及突变型 Sufu 质粒进行共转染作为实验组。各质粒定量 2 μg。转染后继续培养 24 h 确保 Gli1 充分表达,对细胞进行固定打孔以及免疫染色。

1.7 Sufu 过表达及 Sufu 敲除细胞稳转株的建立

在 15 cm 皿中培养 293T 细胞,待细胞融合度接近 70%时,分别对 1.3 和 1.4 中构建的慢病毒载体进行病毒包装,转染方案为:VSVG 质粒 10 μg,delta8.91 质粒 10 μg,目的载体 20 μg。于 24、48、72 h 收集上清液,经 PEG 8000 浓缩后,在 10 cm 细胞培养皿中感染肺腺癌细胞,分别建立 Sufu 过表达(A549/Sufu 和 H1975/Sufu)和 Sufu 敲除(A549-sgRNA 和 H1975-sgRNA)的稳转株。

Sufu 过表达对照(A549/Ctrl 和 H1975/Ctrl)稳转株通过感染 EGFP-Puro 空载慢病毒建立。Sufu 敲除

表 1 构建突变载体的引物(5′→3′)

突变位点	正向引物	反向引物
R123C	GGTTTTGAGTTGACCTTTTGTCTGAAGAGAGAAACTGG	CCAGTTTCTCTCTTCAGACAAAAGGTCAACTCAAAACC
S352F	CTGGAAAGTGACAGCTTCACGGCCATCATTCCC	GGGAATGATGGCCGTGAAGCTGTCACTTTCCAG
S377F	GAAATTCAACCAGGAGTTCGGAGCCCTCATTCCT	AGGAATGAGGGCTCCGAACTCCTGGTTGAATTTC
T411M	CATCACGTTTGTCTCCATGGGAGTGGAAGGCGC	GCGCCTTCCACTCCCATGGAGACAAACGTGATG

表 2 进行 RT-qPCR 的引物(5′→3′)

基因名	正向引物	反向引物
Sufu	CAGCAAACCTGTCCTTCCACCA	CAGATGTACGCTCTCAAGCTGC
*Gli*1	AGCCTTCAGCAATGCCAGTGAC	GTCAGGACCATGCACTGTCTTG
GAPDH	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

对照(A549-sgRNA-Ctrl 和 H1975-sgRNA-Ctrl)稳转株通过感染 CRISPR-Cas9 空载慢病毒建立。

1.8 实时荧光定量 PCR

设计 RT-qPCR 引物(表 2),分别以 A549/Ctrl 细胞和 A549-sgRNA-Ctrl 细胞为对照,对在 A549 中建立的 Sufu 过表达稳转株和 Sufu 敲除稳转株进行 Sufu 和 Gli1 的转录水平检测。

1.9 双荧光素酶报告基因实验

本研究构建了携带 Gli1 结合域的 Gli1-FLuc 报告基因载体、作为阳性对照的 mGli1-FLuc 报告基因载体和作为内参的空载 Rluc 报告基因载体。吸取 293T 细胞 5×10^5 个于 6 孔板铺匀,培养 10 h 后,进行质粒转染,转染方案如表 3 所示。转染后继续培养 24 h,裂解细胞,荧光检测方法按照试剂盒说明书进行。

表 3 双荧光素酶报告基因实验转染方案

组别	Gli1-FLuc	mGli1-FLuc	RLuc	Gli1	Ctrl	Sufu-WT	T411M
1	✓		✓	✓	✓		
2	✓		✓	✓		✓	
3	✓		✓	✓			✓
4		✓	✓	✓	✓		
5		✓	✓	✓		✓	
6		✓	✓	✓			✓

1.10 细胞划痕实验

吸取 H1975/Sufu 细胞(实验组)、H1975/Ctrl 细胞(对照组)、A549/Sufu 细胞(实验组)、A549/Ctrl 细胞(对照组),以 1×10^6/孔平铺于 6 孔板中,过夜后用无菌 200 μL 枪头沿着无菌直尺在培养皿底部划线。用 PBS 溶液润洗 2 次细胞,彻底清洗悬浮细胞和血清,换液成无血清 DMEM 培养基。于 0、24、48 h 分别在光镜下同一视野进行拍照,使用 Image J 软件计算像素面积,以划痕愈合率反映细胞的迁移能力。

愈合率=(0 h 划痕像素面积−48 h 划痕像素面积)/0 h 划痕像素面积×100%

1.11 统计学分析

使用 IBM SPSS Statistics 26.0 和 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析和图表制作。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 Kaplan-Meier 生存曲线和 log-rank 检验分析 Sufu 的突变、未突变组间生存率差异。$P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Sufu 突变在肺癌组中表现出更高的风险率

cBioPortal 数据显示,在泛癌组 74 978 例患者中,Sufu 总突变率为 0.6%。在肺癌组 12 265 例患者中,Sufu 的突变率为 0.73%,各肺癌亚型的突变率不一致(表 4)。5 745 例肺癌患者的生存曲线表明,Sufu 发生突变后,中位生存期[54.34(未突变组)*vs* 38.00(突变组)个月,$HR=1.943$]显著降低($P<0.05$,图 1)。本研究从泛癌组中挑选出 4 个突变位点,分别为 R123C、S352F、S377F 和 T411M。R123C 指 Sufu 第 123 位氨基酸由 R(精氨酸)突变成为 C(半胱氨酸);S352F 指 Sufu 第 352 位氨基酸由 S(丝氨酸)突变为 F(苯丙氨酸);S377F 指 Sufu 第 377 位氨基酸由 S(丝氨酸)突变为 F(苯丙氨酸);T411M 指 Sufu 第 411 位氨基酸由 T(苏氨酸)突变为 M(甲硫氨酸)。

表 4 肺癌突变比率的亚型分布数据[例(%)]

突变类型	肺鳞癌($n=17$)	小细胞肺癌($n=396$)	肺腺癌($n=625$)	非小细胞肺癌($n=11\ 227$)
碱基突变	2(11.76)	2(0.51)	5(0.80)	42(0.37)
深度缺失	0	0	1(0.16)	23(0.20)
扩增	0	2(0.51)	0	9(0.08)
结构变异	0	0	0	3(0.03)
总计	2(11.76)	4(1.01)	6(0.96)	77(0.69)

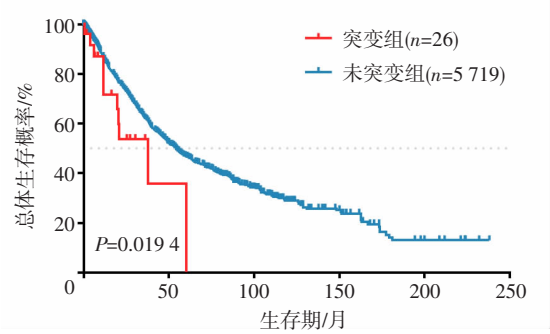


图 1 Sufu 突变与未突变肺癌患者生存率比较

2.2 Sufu 敲除可上调 A549 细胞中 Gli1 转录水平

Sufu 过表达细胞株和基因敲除细胞株的建立是成功的(图 2)。由于外源性 Sufu 为添加了 Myc 和 EGFP 的融合蛋白,所以蛋白分子量与内源性 Sufu 不一致,过表达蛋白通道中 Sufu 呈双带。在 A549 的敲除细胞株中,Gli1 的转录水平出现了上调,而过表达 Sufu 对 Gli1 转录活性无影响(图 3),说明在 A549 细胞中,Sufu 对 Gli1 转录的抑制作用可能趋于饱和状态,Gli1 转录活性很低,对 Sufu 过表达不敏感。

2.3 Sufu 抑制 A549 细胞和 H1975 细胞的迁移能力

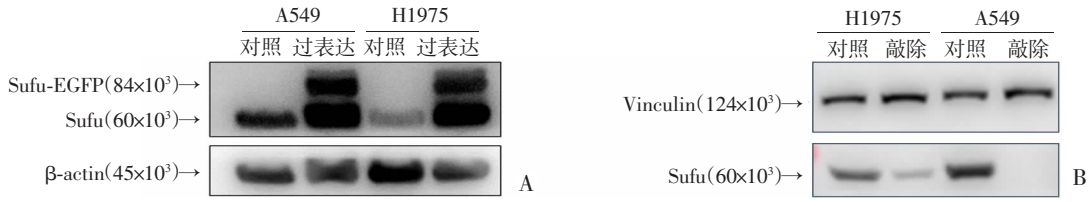
分别于 0、24、48 h 使用 40 倍光镜对划痕同一位置进行拍照(图 4A),统计各组细胞划痕愈合率。实验结果显示:A549/Sufu 和 H1975/Sufu 细胞的迁移能力均显著小于对照细胞($P<0.05$,图 4B)。

2.4 突变型 Sufu 对 Gli1 的细胞定位没有影响

R123C、S352F、S377F 和 T411M 质粒载体经测序,显示克隆成功,序列比对无误(图 5)。免疫荧光染色结果显示:在 Gli1 过表达的情况下,其主要定位在细胞核;在 Gli1 与 Sufu 共表达的情况下,Gli1 主要定位在细胞质,说明 Sufu 对 Gli1 入核的阻遏作用明显(图 6A);在 Gli1 与突变型 Sufu 共表达的情况下,Gli1 的细胞定位无明显改变(图 6B)。

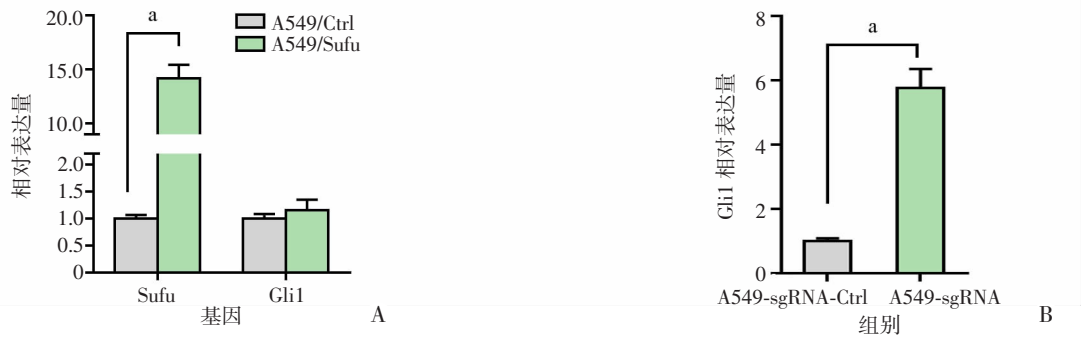
2.5 突变型 Sufu 逆转对 Gli1 转录的抑制作用

双荧光素酶报告基因实验证明了 Sufu 对 Gli1 的转录有抑制作用($P<0.01$),而 T411M 突变可以有效逆转这种抑制($P<0.01$,图 7)。



A:Sufu 过表达稳转株蛋白表达验证;B:Sufu 敲除稳转株蛋白表达验证

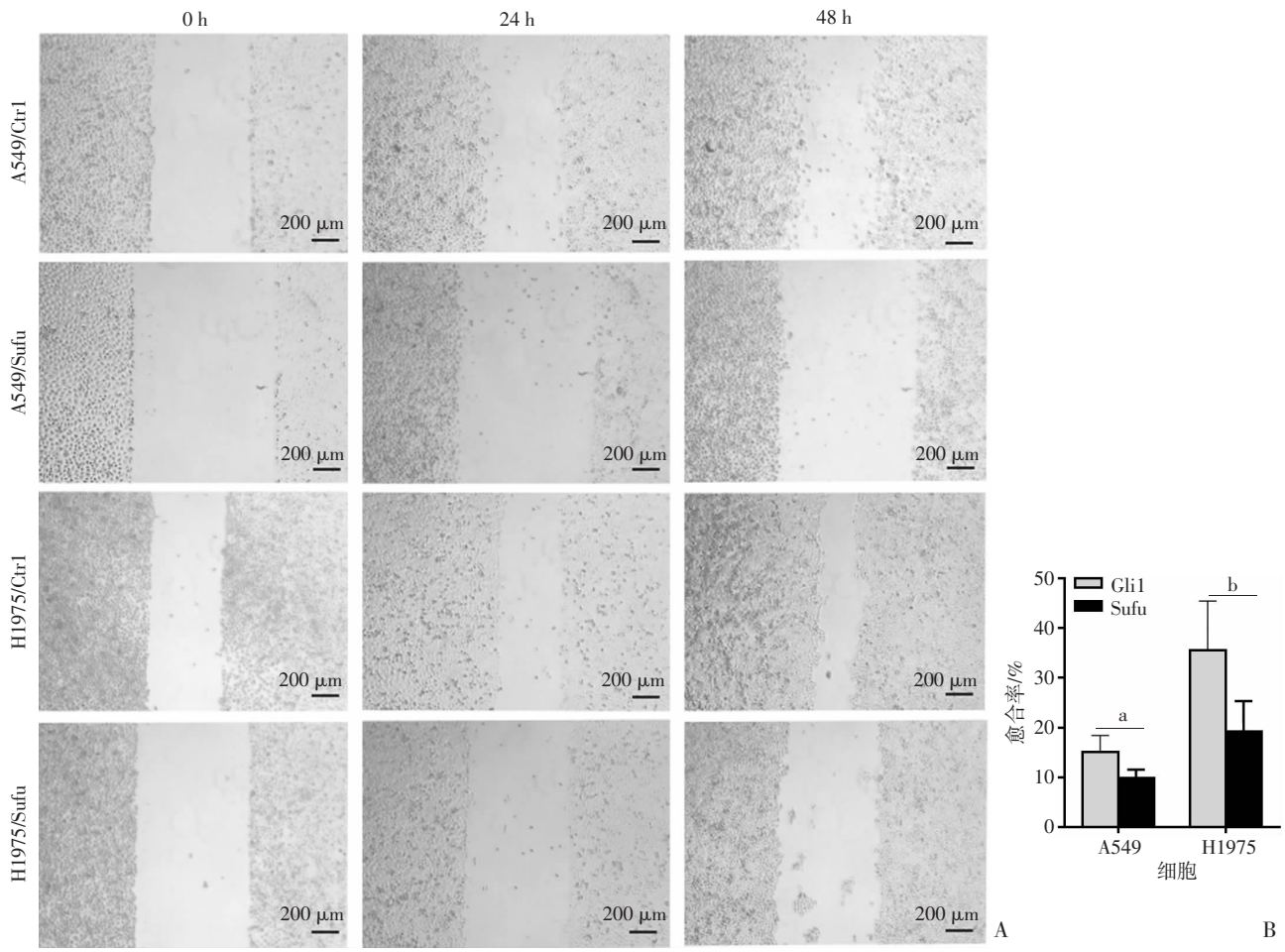
图 2 Sufu 过表达稳转株和 Sufu 敲除稳转株蛋白表达验证



a:$P<0.001$

A:A549 过表达细胞 RT-qPCR 结果;B:A549 敲除细胞 RT-qPCR 结果

图 3 RT-qPCR 检测 A549/Sufu 稳转株和 A549-sgRNA 稳转株中 Sufu 和 Gli1 的表达



A:细胞划痕实验;B:各组细胞划痕愈合率分析 a:$P<0.05$;b:$P<0.01$

图 4 Sufu 抑制肺腺癌细胞的迁移能力

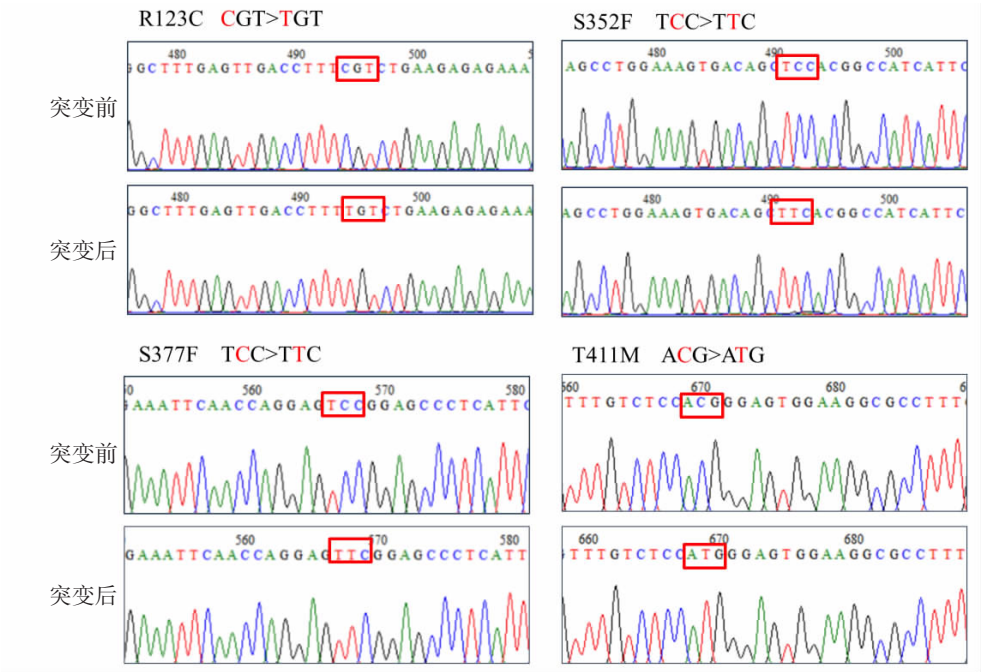
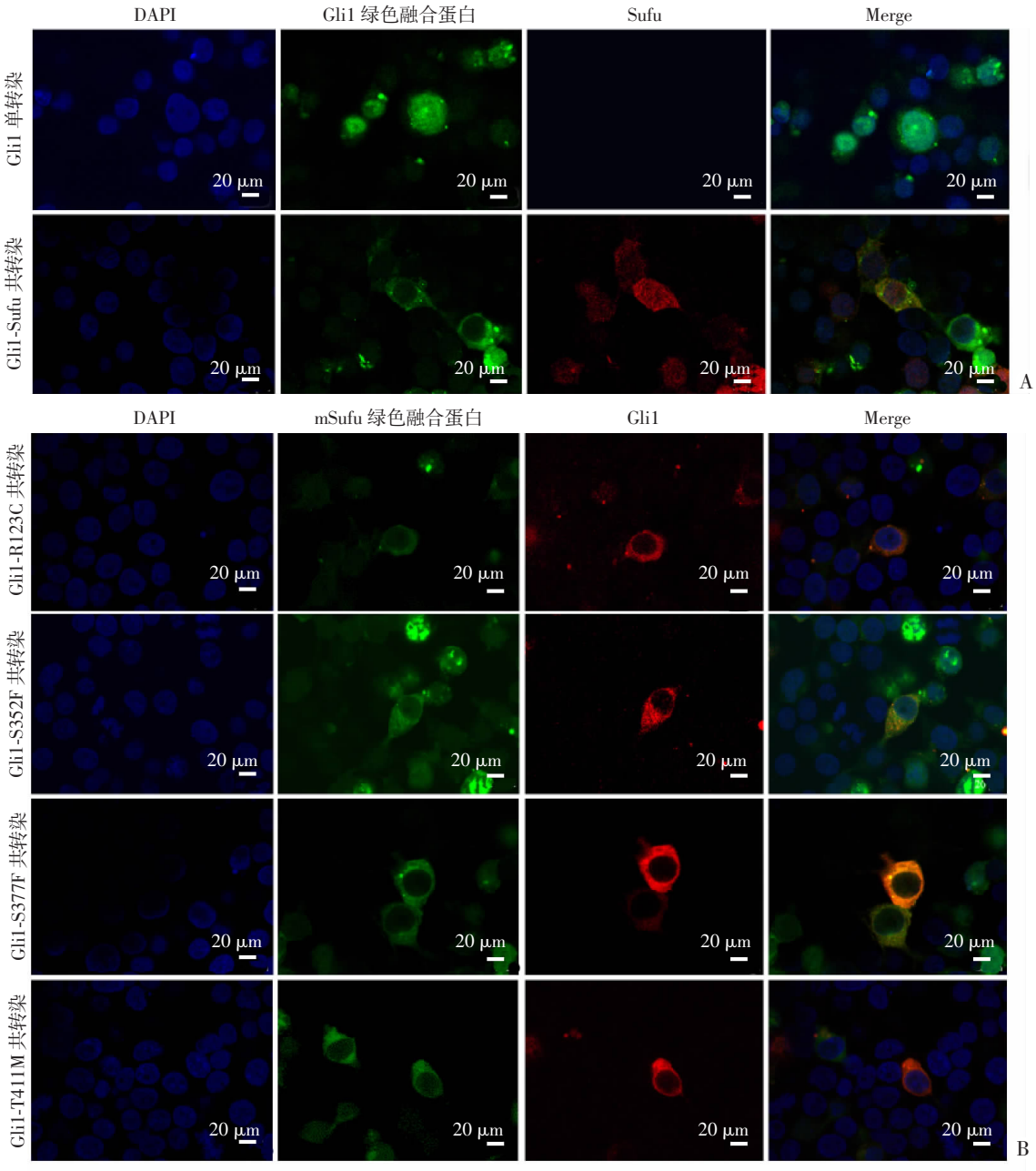
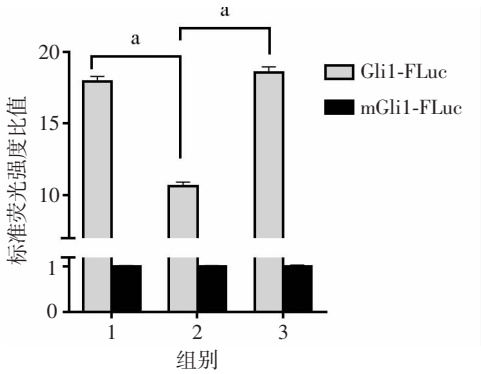


图 5 Sufu 突变载体碱基测序峰图



A:野生型 Sufu 能明显抑制 Gli1 核聚集; B:突变型 Sufu 不能恢复 Gli1 核聚集

图 6 突变型 Sufu 对 Gli1 细胞定位的影响



1:Ctrl-Glil 共转染组;2:Sufu-Gli1 共转染组;3:T411M-Glil 共转染组;a:$P<0.01$

图 7 T411M 可以逆转 Sufu 对 Gli1 转录活性的抑制

3 讨论

Hh 通路的异常激活被广泛认为是肿瘤发生与进展的风险因素,Sufu 作为该通路的重要抑制因子,已被报道为“肿瘤保护蛋白”,其丢失或者突变会导致髓母细胞瘤和基底细胞癌等多种肿瘤发病率上升[6-7]。然而,Sufu 却在其他肿瘤中表现出促癌作用。FANG 等[8]报道了 Sufu 在乳腺癌细胞中通过下调 Acsl4 的表达进而抑制 RSL3 诱导的铁死亡,从而提出 Sufu 的靶向疗法可能成为乳腺癌治疗的新策略。Sufu 对肺腺癌的调控机制尚不清楚。许多肺腺癌患者,在确诊初期就已发生肿瘤的转移,导致了患者的高病死率[9]。在肺腺癌侵袭转移方面寻找新的靶点,具有重要意义。本研究证明在 Sufu 过表达的情况下,肺腺癌细胞迁移受到了显著性抑制。从 cBiOPortal 数据来看,Sufu 发生突变以后,肺癌患者生存期发生显著性降低,说明 Sufu 突变是肺腺癌恶性进展的风险因素。本研究结果显示,Sufu 可以通过抑制肿瘤转移来抑制肺腺癌恶性进展,但具体机制还需要进一步研究。

Gli1 是 Hh 通路下游的促癌蛋白,在肿瘤细胞中可以促进多种抗凋亡基因或促癌基因的转录,如 BCL2、MYCN 和 CCND1 等[10]。LEI 等[11]认为 Gli1 在肺腺癌细胞中可作为肿瘤转移的靶点。既然 Gli1 在肺腺癌中的促癌效应是明确的,而 Gli1 又受到 Sufu 的抑制,那么 Sufu 突变是否通过上调 Gli1 转录活性来促进肺腺癌恶性进展,还需要进一步验证。为探究上述问题,本研究建立了 Sufu 过表达的肺腺癌细胞系。RT-qPCR 结果显示:在 Sufu 过表达的情况下,Gli1 转录活性无明显变化,这说明 Gli1 在肺腺癌细胞的转录活性本来就很低,Sufu 的抑制作用已趋于饱和;Sufu 可通过非 Hh 通路途径来抑制肺腺癌细胞迁移,这种可能性在其他肿瘤细胞中已得到证明。DENG 等[12]报道,Sufu 在肝癌细胞 HCC 中通过抑制 ZNF281 来抑制肿瘤迁移和 DNA 修复。为了进一步探究 Sufu 突变促进肺腺癌恶性进展的机制,本研究对肺腺癌细胞进行了 Sufu 敲除,RT-qPCR 结果显示在 Sufu 敲除细胞株中,Gli1 的转录活性得到显著性上调,说明肺腺癌细胞对 Sufu 的敲除是敏感的。同样,Sufu 发生突变,也有可能激活 Gli1 的转录活性。双荧光素酶报告基因实验的结果显示,在 293T 细胞中,Sufu 对 Gli1 的转录活性有抑制作用,而 T411M 能逆转这种抑制。T411M 是在非小细胞肺癌患者基因组二代测序(next-generation sequencing)中被报道的突变位点[13]。T411M 能否在肺腺癌细胞中上调 Gli1 转录活性,还需进一步研究。

通过查阅文献,发现在不同的疾病中,Sufu 对 Gli1 转录调控效应不一致,甚至相反。赖舒等[14]报道,在小鼠胃溃疡模型中,Sufu 和 Gli1 的转录都出现了显著性上调,并没有体现 Sufu 对 Gli1 的拮抗作用。在胰腺导管癌细胞中,Sufu 也可通过促进 Gli1 转录发挥促癌作用[15]。SMITH 等[16]报道,Sufu 突变将会导致经典的 Gorlin 综合征,该疾病将导致患者对多种肿瘤易感。Sufu 突变的功能研究很有意义。

Gli1 的核聚集现象,被普遍认为是 Hh 通路激活响应的“金标准”[17]。为了进一步探究 Sufu 突变对 Gli1 细胞定位的影响,本研究进行了细胞免疫荧光实验,观察突变型 Sufu 能否恢复 Gli1 的核聚集现象。结果显示:在 Gli1-Sufu 共转染的情况下,Gli1 定位在胞质,说明 Sufu 对 Gli1 入核的阻遏作用很明显;然而,4 种突变型 Sufu 均没有明显促进 Gli1 的核聚集现象恢复。

本研究存在一定局限性:一是不能提供 Gli1 的 Western blot 蛋白印迹图片,可能是由于肺腺癌细胞中 Gli1 内源性表达较低所致;二是缺乏细胞增殖实验,无法描述 Sufu 对肺腺癌细胞增殖能力的影响;三是需要补充 R123C、S352F 和 S377F 与 Gli1 的双荧光素酶报告基因实验,探究是否都能引起 Gli1 的转录水平上调。下一步,需要通过 Co-IP 的方法,富集结合 Sufu 特异性的蛋白质进行质谱检测,进一步研究 Sufu 下游是否存在除 Hh 通路以外的其他靶点。通过建立 4 种突变型 Sufu 的肺腺癌稳转株,探究 Sufu 发生突变后对肺腺癌细胞增殖能力和迁移能力的影响。

综上所述,本研究证明了 Sufu 对肺腺癌细胞迁移有抑制作用,Sufu 突变通过上调 Gli1 转录活性促进肺腺癌恶性进展,Sufu 有望成为肺腺癌转移的潜在靶点。本研究为进一步探索肺腺癌细胞中 Sufu 对 Gli1 的调控机制提供依据。

参考文献:

[1] ZHANG Y T, VACCARELLA S, MORGAN E, *et al*. Global variations in lung cancer incidence by histological subtype in 2020: a population-based study[J]. Lancet Oncol, 2023, 24(11): 1206-1218. DOI: 10.1016/S1470-2045(23)00444-8.

[2] HANNA A, SHEVDE L A. Hedgehog signaling: modulation of cancer properies and tumor mircroenvironment[J]. Mol Cancer, 2016, 15: 24. DOI: 10.1186/s12943-016-0509-3.

[3] AMAKYE D, JAGANI Z, DORSCH M. Unraveling the therapeutic potential of the Hedgehog pathway in cancer[J]. Nat Med, 2013, 19(11): 1410-1422. DOI: 10.1038/nm.3389.

[4] LO H W, ZHU H, CAO X Y, *et al*. A novel splice variant of

GLI1 that promotes glioblastoma cell migration and invasion [J]. Cancer Res, 2009, 69(17): 6790-6798. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0886.

[5] WANG Y, HSU J M, KANG Y A, *et al*. Oncogenic functions of Gli1 in pancreatic adenocarcinoma are supported by its PRMT1-mediated methylation [J]. Cancer Res, 2016, 76(23): 7049-7058. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0715.

[6] GUERRINI-ROUSSEAU L, DUFOUR C, VARLET P, *et al*. Germline SUFU mutation carriers and medulloblastoma: clinical characteristics, cancer risk, and prognosis [J]. Neuro-oncology, 2018, 20(8): 1122-1132. DOI: 10.1093/neuonc/nox228.

[7] YANG H, FU H L, WANG B, *et al*. Exosomal miR-423-5p targets SUFU to promote cancer growth and metastasis and serves as a novel marker for gastric cancer [J]. Mol Carcinog, 2018, 57(9): 1223-1236. DOI: 10.1002/mc.22838.

[8] FANG K, DU S, SHEN D C, *et al*. SUFU suppresses ferroptosis sensitivity in breast cancer cells via Hippo/YAP pathway[J]. iScience, 2022, 25(7): 104618. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104618.

[9] HERBST R S, MORGENSZTERN D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer[J]. Nature, 2018, 553(7689): 446-454. DOI: 10.1038/nature25183.

[10] TOLOSA E J, FERNANDEZ-BARRENA M G, IGUCHI E, *et al*. GLI1/GLI2 functional interplay is required to control Hedgehog/GLI targets gene expression [J]. Biochem J, 2020, 477(17): 3131-3145. DOI: 10.1042/BCJ20200335.

[11] LEI X P, LI Z, ZHONG Y H, *et al*. Gli1 promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis of non-small cell lung carcinoma by regulating snail transcriptional activity and stability [J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(10): 3877-3890. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.05.024.

[12] DENG Y R, PENG D Z, XIAO J, *et al*. Inhibition of the transcription factor ZNF281 by SUFU to suppress tumor cell migration[J]. Cell Death Differ, 2023, 30(3): 702-715. DOI: 10.1038/s41418-022-01073-1.

[13] GHANDI M, HUANG F W, JANÉ-VALBUENA J, *et al*. Next-generation characterization of the Cancer Cell Line Encyclopedia[J]. Nature, 2019, 569(7757): 503-508. DOI: 10.1038/s41586-019-1186-3.

[14] 赖舒, 张玉方. 石榴皮多酚对大鼠应激性胃溃疡的保护作用及与 Gli1-Gli2-Sufu 信号通路和细胞因子水平改变的关系[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(19): 1913-1918. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201704083.
LAI S, ZHANG Y F. Protective effects of pomegranate peel polyphenols against stress gastric ulcer in rats and their effect on cytokine levels and Gli1-Gli2-Sufu signaling pathway[J]. J Third Mil Med Univ, 2017, 39(19): 1913-1918. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201704083.

[15] PARADISE B D, GAINULLIN V G, ALMADA L L, *et al*. SUFU promotes GLI activity in a Hedgehog-independent manner in pancreatic cancer[J]. Biochem J, 2023, 480(15): 1199-1216. DOI: 10.1042/BCJ20220439.

[16] SMITH M J, BEETZ C, WILLIAMS S G, *et al*. Germline mutations in SUFU cause Gorlin syndrome-associated childhood medulloblastoma and redefine the risk associated with PTCH1 mutations[J]. J Clin Oncol, 2014, 32(36): 4155-4161. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.2569.

[17] QUATANNENS D, VERHOEVEN Y, VAN DAM P, *et al*. Targeting hedgehog signaling in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Pharmacol Ther, 2022, 236: 108107. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108107.

(**收稿**:2024-02-25;**修回**:2024-03-02)

(编辑 李 玥)