肿瘤精准医学与转化研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003861

ARMCX3 参与调控乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭

黄茜阳[1],马海翔[1],江忠勇[2],王建东[3],张 红[1]
（1.成都医学院检验医学院,成都 610500;2.成都市第七人民医院医学检验科,成都 610213;
3.成都医学院生物科学与技术学院,成都 610500）

【摘 要】**目的:**研究X连锁犰狳重复蛋白3(armadillo repeat containing X-linked 3,ARMCX3)对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及可能分子机制。**方法:**免疫组织化学检测ARMCX3在乳腺癌组织及癌旁组织的表达,蛋白质免疫印迹(western blot,WB)检测ARMCX3在乳腺癌细胞中的表达水平。利用慢病毒感染构建低表达ARMCX3的乳腺癌细胞模型,采用流式细胞仪计数、克隆实验、划痕实验和Transwell实验检测乳腺癌细胞增殖、迁移与侵袭能力。利用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas,TCGA)和基因型-组织表达数据库(Genotype-Tissue Expression,GTEx)分析Y染色体性别决定区-盒转录因子9(SRY-box transcription factor 9,SOX9)在乳腺癌组织中的表达,利用基因表达汇编(Gene Expression Omnibus,GEO)数据分析SOX9与ARMCX3的相关性,WB检测乳腺癌细胞中上皮钙黏蛋白(epithelial cadherin,E-cadherin)、神经钙黏蛋白(neural cadherin,N-cadherin)、波形蛋白(vimentin,VIM)和SOX9表达。**结果:**与癌旁组织和人正常乳腺上皮细胞相比,ARMCX3在乳腺癌组织和多数乳腺癌细胞中表达增高,差异有统计学意义。与对照组相比,低表达ARMCX3抑制了MCF-7和MDA-MB-231细胞的增殖、迁移和侵袭能力,促进E-cadherin表达,抑制N-cadherin和Vimentin表达,差异均有统计学意义。与正常组织相比,SOX9在乳腺癌组织中表达明显增高($P<0.001$),并与ARMCX3存在相关性;低表达ARMCX3抑制SOX9表达,差异有统计学意义。**结论:**ARMCX3在乳腺癌组织和乳腺癌细胞中高表达,可能通过SOX9调控乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

【关键词】X连锁犰狳重复蛋白3;乳腺癌;增殖;迁移侵袭;Y染色体性别决定区-盒转录因子9
【中图分类号】R737.9 【文献标志码】A

Armadillo repeat containing X-linked 3 regulates the proliferation, migration, and invasion of breast cancer cells

Huang Xiyang[1], Ma Haixiang[1], Jiang Zhongyong[2], Wang Jiandong[3], Zhang Hong[1]
(1.School of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College; 2.Department of Medical Laboratory, Chengdu Seventh People's Hospital; 3.School of Bioscience and Technology, Chengdu Medical College)

【**Abstract**】***Objective***: To investigate the effect of armadillo repeat containing X-linked 3(ARMCX3) on the proliferation, migration, and invasion of breast cancer cells and its potential molecular mechanism. ***Methods***: Immunohistochemistry was used to measure the expression of ARMCX3 in breast cancer tissue and adjacent tissue, and Western blot was used to measure the expression of ARMCX3 in breast cancer cells. Breast cancer cells were transfected with lentivirus to establish a model of breast cancer cells with low expression of ARMCX3, and flow cytometry, colony formation assay, scratch assay, and Transwell assay were used to observe the effect of ARMCX3 on the proliferation, migration, and invasion of breast cancer cells. TCGA and GTEx databases were used to analyze the expression of SRY-box transcription factor 9(SOX9) in breast cancer tissue, and GEO database was used to analyze the correlation between SOX9 and ARMCX3. Western blot was used to measure the expression levels of E-cadherin, N-cadherin, vimentin, and SOX9 in breast cancer cells. ***Results***: Compared with adjacent tissue and human normal breast epithelial cells, there was a significant increase in the expression level of ARMCX3 in breast cancer tissue and most breast cancer cell lines($P<0.05$). Compared with the control group, the low expression of ARMCX3 inhibited the proliferation, migration, and invasion of MCF-7 and MDA-MB-231 cells, promoted the expression of E-cadherin, and inhibited the expression of N-cadherin and vimentin($P<0.05$). Compared with the normal tissue, there was a significant increase in the expression level of SOX9 in breast cancer tissue($P<0.001$), which was correlated with ARMCX3, and the low expression of ARMCX3 also significantly inhibited the expression of SOX9. ***Conclusion***: ARMCX3 is highly expressed in breast cancer tissue and breast cancer cells, and it may

作者介绍:黄茜阳,Email:424037635@qq.com,
研究方向:乳腺癌分子机制研究。
通信作者:张 红,Email:1160306@qq.com。
基金项目:四川省自然科学基金资助项目(编号:2022NSFSC0769);成都医学院-成都市第七人民医院联合科研基金资助项目(编号:2021LHJYPJ-01);四川大学出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室开放课题资助项目(编号:2020KF05)。
优先出版:https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250520.0847.006(2025-05-20)

regulate the proliferation, migration, and invasion of breast cancer cells through SOX9.

【Key words】armadillo repeat containing X-linked 3; breast cancer; proliferation; migration and invasion; SRY-box transcription factor 9

乳腺癌是常见的恶性肿瘤之一，其在2022年的发病率和死亡率分别占女性肿瘤的23.8%和15.4%，均位居全球女性肿瘤发病率和死亡率第1位[1]。乳腺癌常规治疗方式包括手术治疗、内分泌治疗、放疗、化疗和免疫治疗[2]。但是对于复发性或转移性乳腺癌患者，化疗是挽救患者生命的主要治疗手段，然而现有化疗药物的耐药性问题往往导致其治疗效果有限、预后较差[3-4]，因此寻找新的治疗靶点对于延长乳腺癌患者生存期显得尤为重要[5]。

X连锁犰狳重复蛋白3（armadillo repeat containing X-linked 3，ARMCX3）属于（armadillo repeat containing proteins，ARMC）亚家族成员，在哺乳动物中高度保守，该家族成员参与多种肿瘤的发生发展[6]。ARMCX3由跨膜结构域、核定位信号和6个臂状结构域组成，其N端序列可将ARMCX3蛋白靶向定位到线粒体。ARMCX3在神经元中高表达，能够与线粒体Rho GTP酶（mitochondrial rho GTPase，Miro）、驱动蛋白接头蛋白2（kinesin-associated protein 2，Trak2）、G蛋白αq亚基（G protein subunit alpha q，Gαq）相互作用并通过G蛋白偶联受体信号通路控制线粒体运输和神经元死亡[7-8]。最新研究表明ARMCX3可调控炎症微环境中牙髓干细胞的神经分化，并控制炎症因子，在牙髓修复中起到至关重要的作用[9]。同时，ARMCX3可参与控制热源性脂肪组织可塑性，抑制白色脂肪组织褐变[10]。有研究显示ARMCX3在非小细胞肺癌中表达降低，过表达ARMCX3抑制非小细胞性肺癌的侵袭和迁移[11]。另一篇研究则报道ARMCX3在肝癌中表达升高，下调ARMCX3能够抑制高脂饮食诱导小鼠肝癌的发生率[12]。但是其在乳腺癌生长中的作用尚不清楚。本研究分析了ARMCX3在乳腺癌组织和乳腺癌细胞中的表达情况，通过构建干扰ARMCX3表达的乳腺癌细胞模型，研究了ARMCX3对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 组织标本和细胞系 本研究采用的人乳腺癌组织标本来源于国家人类遗传资源共享服务平台（平台编号：2005DKA21300）。由上海芯超生物科技有限公司制备组织芯片，包含2组组织微阵列芯片（HBre-Duc060CS-02和HBre-Duc060CS-04），每组含60个组织点位。所有标本采集均获得患者书面知情同意。本研究方案经成都医学院伦理委员会审批通过（批准号：2022NO.54），并严格遵循《赫尔辛基宣言》伦理准则。

细胞系：人乳腺上皮细胞MCF-10A和人乳腺癌细胞MDA-MB-231、MDA-MB-453、MCF-7、BT-474、ZR-75-1、SK-BR-3均购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.1.2 主要试剂 DMEM/F12培养基、RPMI-1640培养基购自美国海克隆公司；ZR-75-1细胞和SK-BR-3细胞专用培养基购自中国普洛塞公司；霍乱毒素购自德国默克医药生物科技公司；氢化可的松、嘌呤霉素和苏木素染色液购自中国索莱宝生物科技有限公司；胎牛血清、胰岛素和胰蛋白酶购自美国赛默飞世尔科技公司；链霉素、青霉素和DAB试剂盒购自中国碧云天公司；Matrigel matrix基质胶、24孔板专用Transwell小室购自美国康宁公司；马血清、结晶紫、4%多聚甲醛、通用蛋白裂解液和BCA蛋白定量试剂盒购自中国兰杰柯科技有限公司；吐温20、甲醇、十二烷基硫酸钠和过硫酸铵购自成都市科隆化学品有限公司；丙烯酰胺、N,N-亚甲双丙烯酰胺和TEMED购自美国西格玛-奥德里奇公司；ARMCX3和β-actin抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司；上皮钙黏蛋白（Epithelial cadherin，E-cadherin）、神经钙黏蛋白（Neural cadherin，N-cadherin）、波形蛋白（Vimentin，VIM）和Y染色体性别决定区-盒转录因子9（SRY-box transcription factor 9，SOX9）抗体购自美国细胞信号技术公司；辣根过氧化物酶标记的羊抗兔lgG（H+L）和羊抗小鼠lgG（H+L）购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；人源ARMCX3干扰慢病毒由上海汉恒生物有限公司构建。

1.2 研究方法

1.2.1 细胞培养 MCF-10A细胞使用含5%马血清、20 ng/mL表皮生长因子（epidermal growth factor，EGF）、10 μg/mL胰岛素、100 ng/mL霍乱毒素、0.5 μg/mL氢化可的松和0.1 mg/mL青链霉素的DMEM/F12培养基培养。MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-453和BT-474细胞采用含20%胎牛血清和0.1 mg/mL青链霉素的RPMI-1640培养基培养。ZR-75-1细胞使用普洛塞ZR-75-1专用培养基培养。SK-BR-3细胞使用普洛塞SK-BR-3专用培养基培养。所有细胞均置于37 ℃、5% CO_2的培养箱饱和湿度条件下培养，每2~3 d用含0.25%乙二胺四乙酸胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 细胞模型构建 取对数生长期的MCF-7和MDA-MB-231细胞，以每孔3×10^5个细胞接种于24孔板中。待细胞生长24 h后加入对照慢病毒（shControl）和ARMCX3干扰

慢病毒（shARMCX3）（正义链：5′-GATCCGTTCTCCGAACGTGTCACGTAATTCAAGAGATTACGTGACACGTTCGGAGAATTTTTTC-3′，反义链：5′-AATTGAAAAAATTCTCCGAACGTGTCACGTAATCTCTTGAATTACGTGACACGTTCGGAGAACG-3′）。感染 24 h 后，换新鲜培养基并加入终浓度为 5 μg/mL 嘌呤霉素进行筛选。3 d 后，将细胞转入 6 孔板中培养，待细胞数量足够多后转入 T25 培养瓶中培养。

1.2.3 免疫组化实验 组织芯片脱蜡至水化，加 3% H_2O_2 孵育 30 min 以阻断内源性过氧化物酶活性，加入乙二胺四乙酸修复液进行抗原修复。加入抗 ARMCX3 抗体（1∶200）4 ℃孵育过夜。复温后加入生物素标记二抗室温孵育 30 min，DAB 显色，苏木素复染，室温下晾干后封片。统计染色强度和染色阳性率：①染色强度评分：阴性为 0 分，弱阳性为 1 分，中阳性为 2 分，强阳性为 3 分；②染色阳性率评分：阴性 0 分、1%~25% 阳性细胞 1 分、26%~50% 阳性细胞 2 分、51%~75% 阳性细胞 3 分、76%~100% 阳性细胞 4 分。以染色强度评分和染色阳性率评分的乘积为总评分判断 ARMCX3 相对表达水平。

1.2.4 蛋白质免疫印迹（Western blot，WB）检测 取对数生长期细胞，胰酶消化离心后使用预冷 PBS 清洗细胞 2 次，加入 RIPA 裂解液冰上裂解 30 min，于 4 ℃ 14 000×*g* 离心 15 min 收集裂解上清液，BCA 法测定蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳，每组上样 40 μg/泳道，PVDF 膜湿转，分别加一抗 ARMCX3（1∶1 000）、E-cadherin（1∶1 000）、N-cadherin（1∶1 000）、Vimentin（1∶1 000）、SOX9（1∶1 000）、β-actin（1∶1 000），4 ℃孵育过夜，TBST 洗膜 3 次，分别加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG（1∶2 000）或山羊抗小鼠 IgG（1∶2 000），37 ℃孵育 1 h，TBST 洗膜 3 次，ECL 化学发光法检测相关蛋白的表达。

1.2.5 流式细胞仪计数 取对数生长期细胞消化离心，按每孔 2×10^4 个细胞接种于 24 孔板中，分别在 24、48、72 h 收集细胞，通过流式细胞仪计算细胞数量。

1.2.6 划痕实验 取对数生长期细胞消化离心，按每孔 3×10^5 个细胞接种于 6 孔板中。待细胞生长至 80%~90% 时，用无菌枪头划痕，每组细胞 9 个孔，每孔随机选取 1 个视野，分别在 0 h 和 24 h 定位拍照记录细胞迁移愈合情况，采用 Image Pro Plus 软件定量分析划痕实验数据，通过测量 0 h 和 24 h 的划痕宽度计算细胞迁移率，具体计算公式为：细胞迁移率（%）=（0 h 划痕宽度-24 h 划痕宽度）/0 h 划痕宽度×100%，以此评估细胞的迁移能力。

1.2.7 Transwell 实验 将 Transwell 小室取出放入 24 孔板中，在小室中加入 100 μL 无血清培养基作为上室，在 24 孔板中加入 700 μL 有血清培养基作为下室，侵袭实验另外在上室添加 Matrigel 基质胶。取对数生长期的细胞按每孔 3×10^5 个细胞加入上室中并混匀，放入 37 ℃二氧化碳恒温箱培养 48 h。棉签擦去未迁移的细胞，4% 多聚甲醛室温固定 20 min，PBS 清洗后 0.1% 结晶紫室温染色 30 min。在正置显微镜下用 200× 物镜观察。每组细胞 3 个孔，每孔选取上下左右 4 个视野进行拍照并统计迁移细胞数量。

1.2.8 差异表达和相关性分析 从 UCSC Xena 功能基因组学浏览器（UCSC Xena Functional Genomics Browser，UCSC Xena）（https://xenabrowser.net/datapages/）下载经 Toil 流程[13]统一处理的癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas，TCGA）和基因型-组织表达数据库（Genotype-Tissue Expression，GTEx）TPM 格式 RNAseq 数据，提取乳腺浸润癌数据和对应的正常组织数据，共包括 1 099 例乳腺癌患者和 292 例正常组织，选取 SOX9 基因表达数据，使用 GraphPad Prism（9.5）进行 *t* 检验并可视化，得到 SOX9 在乳腺癌和正常组织中的表达水平；从基因表达综合数据库（Gene Expression Omnibus，GEO）（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/）下载 GSE15852 数据集，进行归一化处理，使用 R 软件（4.2.1）进行 Spearman 相关性分析，利用 ggplot2（3.4.4）进行可视化。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计分析。图像分析通过 Image Pro Plus 软件完成灰度值测量和划痕宽度计算。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，组间比较采用独立样本 *t* 检验（2 组）或单因素方差分析（多组）。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 ARMCX3 在乳腺癌组织和细胞中高表达

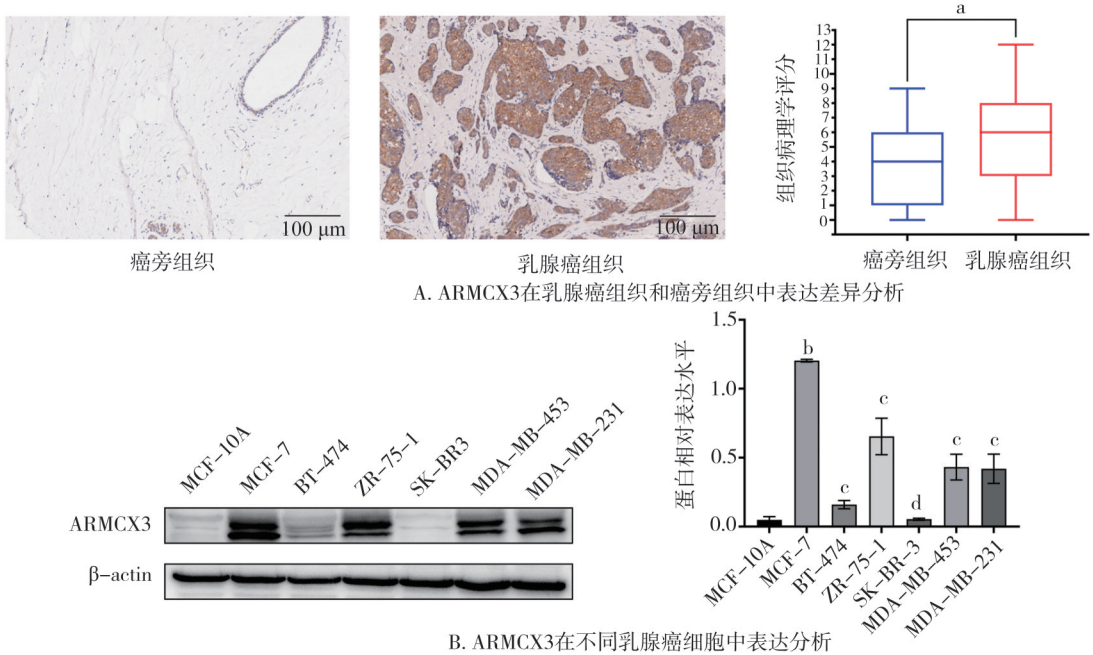
为明确 ARMCX3 在乳腺癌发生发展中的作用，本研究首先分析 ARMCX3 在乳腺癌组织和细胞中的表达情况。免疫组化检测结果显示，与癌旁组织相比，ARMCX3 在乳腺癌组织中表达明显升高（$t=3.742$，$P<0.001$，图 1A）；同时，WB 检测结果显示，与人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 相比，ARMCX3 在 MCF-7、ZR-75-1、MDA-MB-453 和 MDA-MB-231 细胞中表达明显增高（MCF-7：$t=45.270$，$P<0.001$；ZR-75-1：$t=4.497$，$P=0.011$；MDA-MB-453：$t=3.974$，$P=0.017$；MDA-MB-231：$t=3.420$，$P=0.027$，图 1B），在 BT-474 细胞中表达略有增高（$t=2.896$，$P=0.004$，图 1B），而在 SK-BR-3 细胞中表达差异无统计学意义（图 1B）。上述结果证明 ARMCX3 在乳腺癌组织和多数乳腺癌细胞中高表达，提示 ARMCX3 在乳腺癌发生发展中可能发挥重要作用，因此，本课题组选择高表达 ARMCX3 的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞作为细胞模型开展下一步研究。

2.2 低表达 ARMCX3 抑制乳腺癌细胞增殖

利用 ARMCX3 干扰慢病毒分别转染 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞，WB 检测结果显示成功构建低表达 ARMCX3 的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞模型（图 2A）。通过流式细胞仪计数和细胞克隆实验，结果表明，与对照组细胞相比，低表达 ARMCX3 的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的增殖速率（MCF-7：$t=4.954$，$P=0.008$；MDA-MB-231：$t=7.166$，$P=0.002$，图 2B）和克隆形成能力（MCF-7：$t=8.316$，$P<0.001$；MDA-MB-231：$t=10.070$，$P<0.001$，图 2C）均受到明显抑制。上述结果表明低表达 ARMCX3 抑制了乳腺癌细胞的增殖能力。

2.3 低表达 ARMCX3 抑制乳腺癌细胞迁移和侵袭

进一步采用划痕实验与 Transwell 实验检测 ARMCX3 对

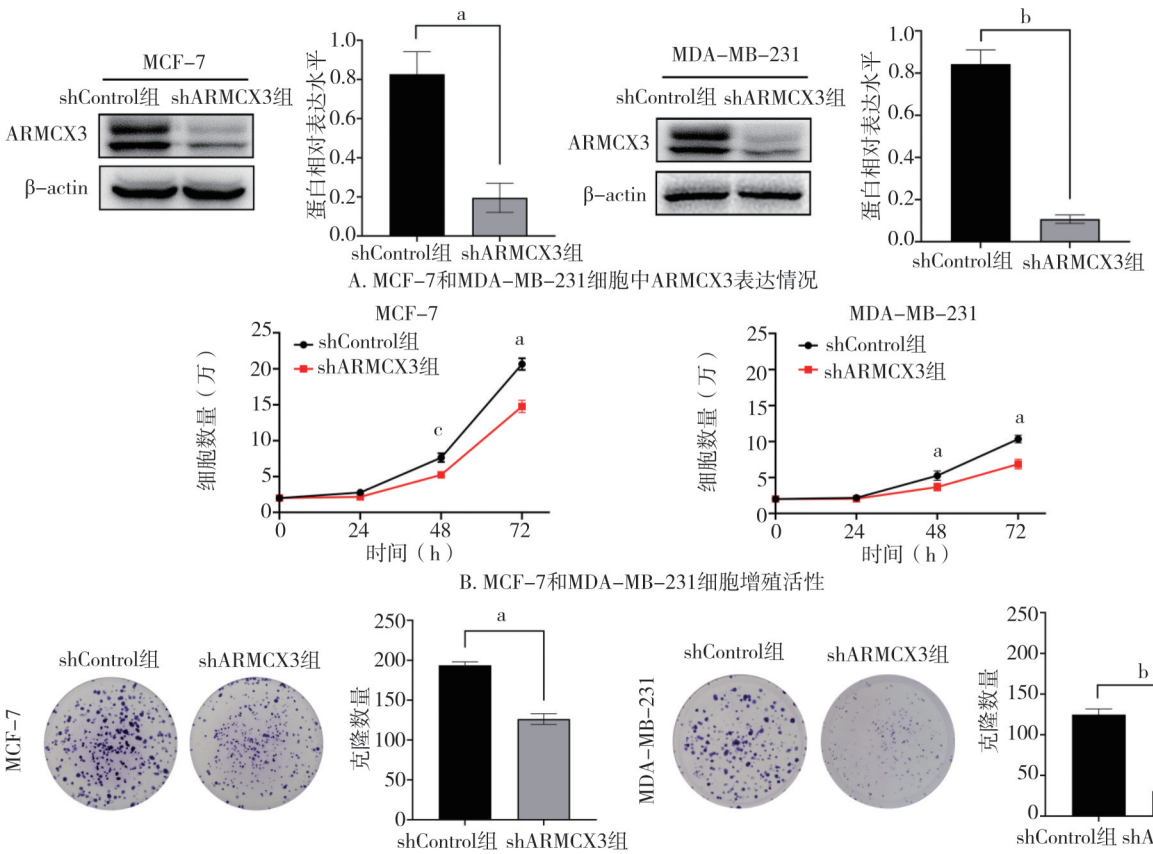


A. ARMCX3在乳腺癌组织和癌旁组织中表达差异分析

B. ARMCX3在不同乳腺癌细胞中表达分析

注：a，与癌旁组织比较，$P<0.001$；b，与MCF-10A比较，$P<0.001$；c，与MCF-10A比较，$P<0.05$；d，与MCF-10A比较，$P>0.05$

图1　ARMCX3在乳腺癌组织和细胞中的差异表达分析



A. MCF-7和MDA-MB-231细胞中ARMCX3表达情况

B. MCF-7和MDA-MB-231细胞增殖活性

C. MCF-7和MDA-MB-231细胞克隆形成实验及统计分析

注：a，与shControl组比较，$P<0.01$；b，与shControl组比较，$P<0.001$；c，与shControl组比较，$P<0.05$

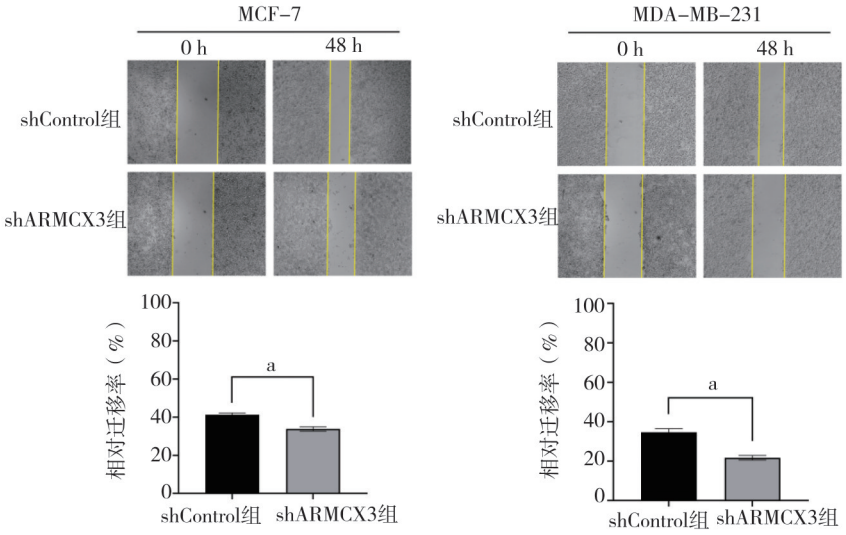
图2　低表达ARMCX3抑制乳腺癌细胞增殖

乳腺癌细胞迁移和侵袭能力的影响，结果显示，与对照组细胞相比，低表达ARMCX3的MCF-7和MDA-MB-231细胞的迁移距离降低（MCF-7：$t=5.062$，$P=0.007$；MDA-MB-231：$t=5.910$，$P=0.004$，图3A），迁移细胞（MCF-7：$t=7.161$，$P<0.001$；

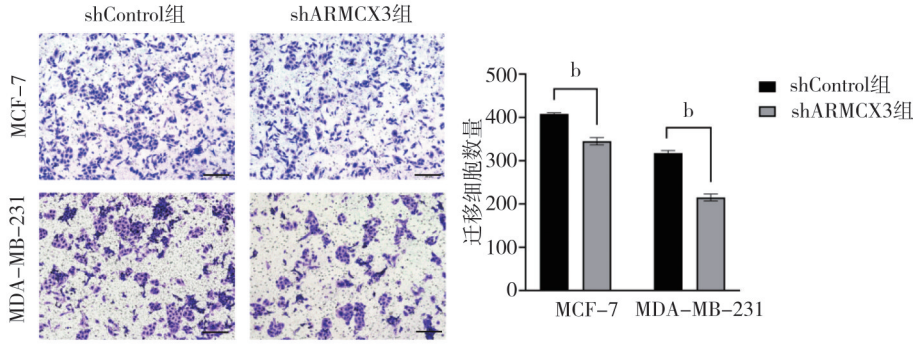
MDA-MB-231：t=13.040，P<0.001，图3B）和侵袭细胞（MCF-7：t=9.404，P<0.001；MDA-MB-231：t=10.110，P<0.001，图3C）数目均减少。上述结果表明低表达ARMCX3抑制了乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力。

2.4　低表达ARMCX3抑制乳腺癌细胞上皮-间充质转化

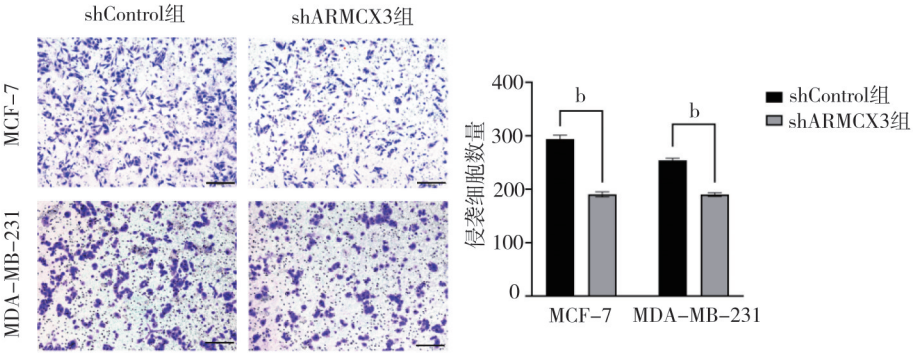
为进一步研究ARMCX3对乳腺癌细胞转移、侵袭能力的影响，本课题组检测了低表达ARMCX3对上皮-间充质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）相关蛋白表达的影响。WB检测结果显示，与对照组细胞相比，低表达ARMCX3的MCF-7和MDA-MB-231细胞的E-cadherin表达明显增高（MCF-7：t=4.536，P=0.003；MDA-MB-231：t=2.952，P=0.042，图4），N-cadherin（MCF-7：t=2.871，P=0.045；MDA-MB-231：t=2.890，P=0.045，图4）和Vimentin（MCF-7：t=9.023，P<0.001；MDA-MB-231：t=3.856，P=0.018，图4）表达均明显降低。这些结果表明低表达ARMCX3抑制了乳腺癌细胞EMT转化和转移侵袭



A. MCF-7和MDA-MB-231细胞划痕实验及统计分析



B. MCF-7和MDA-MB-231细胞Transwell迁移实验及统计分析



C. MCF-7和MDA-MB-231细胞Transwell侵袭实验及统计分析

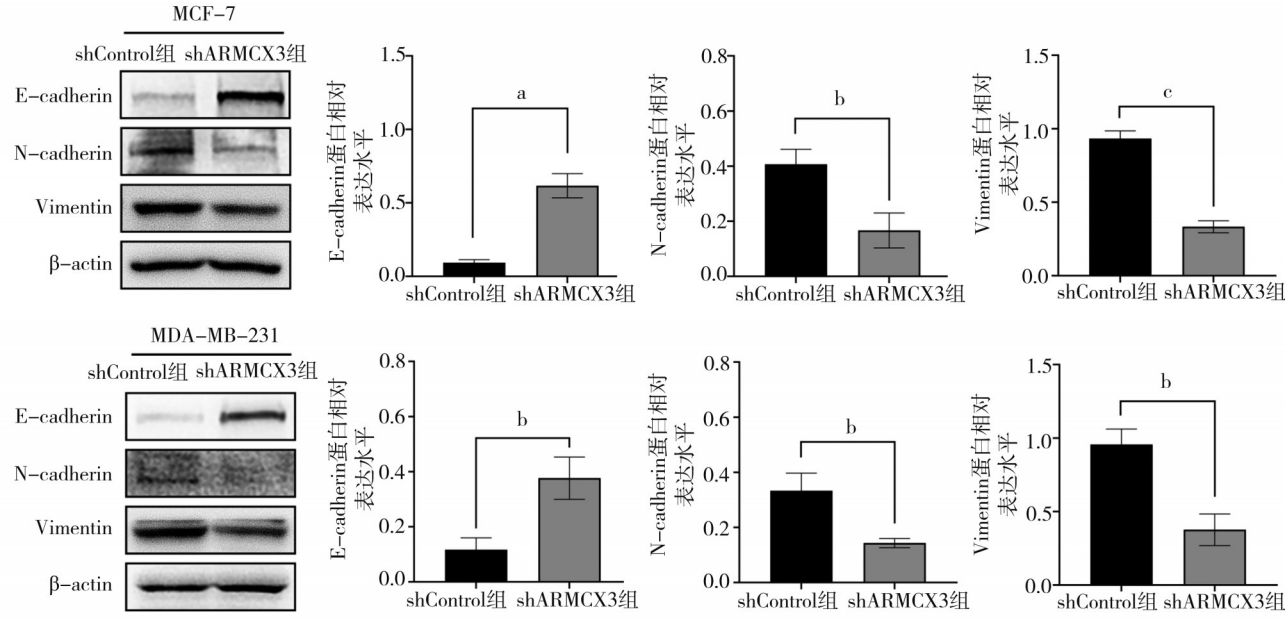
注：a，与shControl组比较，P<0.01；b，与shControl组比较，P<0.001

图3　低表达ARMCX3抑制乳腺癌细胞迁移和侵袭

能力。

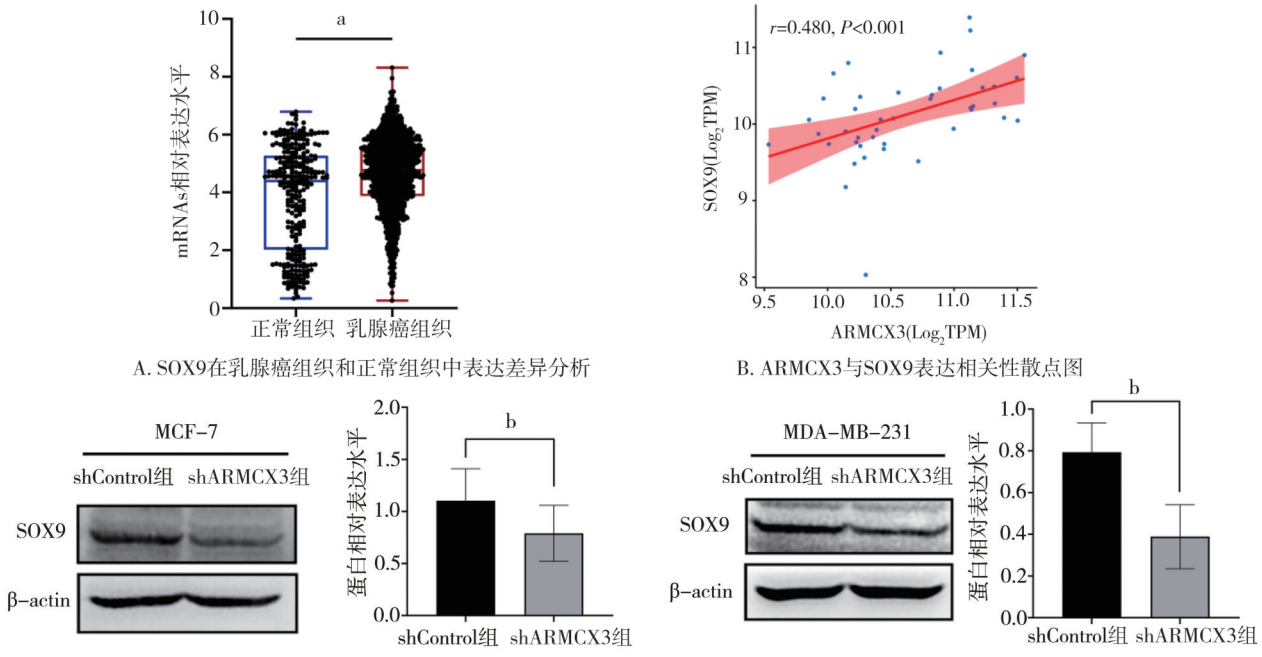
2.5 ARMCX3 调控 SOX9 表达

下载 TCGA 和 GTEx 公共数据库资源并提取乳腺癌数据分析，结果显示，与正常组织相比，SOX9 在乳腺癌组织中表达同样明显增高（t=8.527，P<0.001，图 5A）。基于 GEO 数据库的挖掘分析显示，SOX9 与 ARMCX3 的表达水平呈正相关（r=0.480，P=0.001，图 5B）。进一步 WB 检测结果显示，与对照组细胞相比，低表达 ARMCX3 的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中 SOX9 表达均明显降低（MCF-7：t=9.292，P=0.012；MDA-MB-231：t=4.504，P=0.028，图 5C）。这些结果表明 ARMCX3 可能通过调控 SOX9 表达水平进而影响乳腺癌的发生发展。



注：a，与 shControl 组比较，P<0.01；b，与 shControl 组比较，P<0.05；c，与 shControl 组比较，P<0.001

图 4 低表达 ARMCX3 抑制乳腺癌细胞 EMT 转化



A. SOX9在乳腺癌组织和正常组织中表达差异分析

B. ARMCX3与SOX9表达相关性散点图

C. MCF-7和MDA-MB-231细胞中SOX9蛋白表达水平

注：a，与 shContro1 组比较，P<0.001；b，与 shControl 组比较，P<0.05

图 5 ARMCX3 调控 SOX9 表达

3 讨 论

乳腺癌是严重影响女性生命健康的恶性肿瘤[14]，其在2022年全球新发病例约230万例，位居女性肿瘤发病率首位[1]。目前，乳腺癌的临床诊治水平已有明显提升，但是由于发病机制复杂，仍有部分患者治疗后出现复发转移，而针对这部分患者尚缺乏有效治疗手段，临床预后较差[15]。因此，深入探究乳腺癌发生的分子机制，寻找新的治疗靶点对于改善乳腺癌预后具有重要意义。

ARMCX3属于ARMC亚家族，该家族成员在多种肿瘤的发生、生长和侵袭中发挥了重要作用[16]。已有研究发现ARMCX3具有调控线粒体运输、神经分化和脂肪组织可塑性等多种功能[8-10]。也有研究揭示ARMCX3可以下调磷酸化蛋白激酶B/蜗家族转录抑制因子2（phosphorylated protein kinase B/snail family transcriptional repressor 2，p-AKT/Slug）信号途径并上调E-cadherin，进而抑制非小细胞性肺癌的侵袭和迁移[11]；ARMCX3缺失下调细胞中磷酸化细胞外信号调节激酶/总细胞外信号调节激酶（phosphorylated extracellular signal-regulated kinase/total extracellular signal-regulated kinase，p-ERK/ERK）的比率，并抑制小鼠高脂饮食诱导肝癌的发生率[12]。但是ARMCX3在乳腺癌发生过程中的作用尚不明确。

为了验证ARMCX3在乳腺癌发生发展中的作用，本研究首先对ARMCX3在乳腺癌组织和乳腺癌细胞中的表达进行了检测，免疫组化检测结果显示ARMCX3在乳腺癌组织中的表达显著高于癌旁组织。而检测的6种不同分型乳腺癌细胞中，有5种乳腺癌细胞的ARMCX3表达高于正常乳腺上皮细胞，仅有1种乳腺癌细胞的ARMCX3表达与正常乳腺上皮细胞差异无统计学意义。上述结果表明ARMCX3在乳腺癌组织和乳腺癌细胞中高表达，其可能参与调控乳腺癌的发生发展。

为进一步研究ARMCX3在乳腺癌中的作用，本课题组利用慢病毒感染构建低表达ARMCX3的MCF-7和MDA-MB-231细胞模型，发现干扰ARMCX3表达明显抑制了细胞的增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力。EMT是肿瘤转移扩散和导致机体死亡的重要原因，E-cadherin、N-cadherin和Vimentin蛋白表达水平都是检测EMT发生的重要标志[17-19]。本研究发现低表达ARMCX3显著升高了E-cadherin蛋白表达水平，同时降低Vimentin和N-cadherin蛋白表达水平，表明ARMCX3在调控乳腺癌侵袭和上皮间充质转化过程中发挥了重要作用。

SOX9属于E-SOX转录因子亚家族，该亚家族包括SOX8、SOX9、SOX10 3个成员，在肿瘤增殖、侵袭、转移、EMT等过程中发挥重要调控作用[20-21]。研究发现ARMCX3与E-SOX成员存在相互作用，其可以与SOX10相互作用从而提高烟碱乙酰胆碱受体亚基α3和β4基因的转录活性[22]；同时，Mirra S等[12]的研究发现ARMCX3还能够调控SOX9的表达，并依赖SOX9调控小鼠肝癌发生。有研究表明SOX9在多种肿瘤中高表达[23-26]。Xiao B等[24]研究发现过表达SOX9通过骨形态发生蛋白2（bone morphogenetic protein 2，BMP2）和雷帕霉素机制靶蛋白（mechanistic target of rapamycin，mTOR）信号通路促进鼻咽癌细胞增殖、迁移和侵袭。另外，Yang JF等[26]研究发现过表达SOX9激活Ras相关蛋白1（Ras-associated protein 1，RAP1）信号通路促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭。此外，SOX9是乳腺癌生存和转移的重要调节因子[27]。SOX9-lncRNAs敲低增加了三阴性乳腺癌细胞系的迁移和侵袭[28]。同时，SOX9还可作为HuR的潜在靶点调控乳腺癌细胞的迁移和侵袭[29]。为了研究SOX9与ARMCX3在乳腺癌中的相关性，首先使用TCGA和GTEx数据库资源，数据分析结果显示SOX9在乳腺癌组织中的表达明显高于正常组织。使用GEO资源数据分析也表明ARMCX3与SOX9具有相关性。WB结果进一步显示低表达ARMCX3抑制了MCF-7和MDA-MB-231细胞中SOX9的表达，提示ARMCX3可能通过调控SOX9表达，进而影响乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。接下来将继续使用干扰ARMCX3表达的MCF-7和MDA-MB-231细胞作为研究模型，对细胞内mTOR、RAP1和Wnt/β-连环蛋白信号通路（wingless/integrated-1/beta-catenin signaling pathway，Wnt/β-catenin）等信号通路进行检测，探究其调控的具体机制。

综上所述，本研究证实ARMCX3在乳腺癌中高表达，其能够调控乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭的能力，其作用可能与SOX9密切相关，但还需要通过进一步实验来加以验证，希望此研究为乳腺癌的临床诊治提供新的靶点。

参 考 文 献

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.

[2] Vuong D, Simpson PT, Green B, et al. Molecular classification of breast cancer[J]. Virchows Arch, 2014, 465(1): 1-14.

[3] 吕 丹, 吴 云, 马 飞. 2021年乳腺癌治疗新进展[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2022, 8(1): 85-93.
Lü D, Wu Y, Ma F. New progress in breast cancer treatment in 2021[J]. J Multidiscip Cancer Manag Electron Version, 2022, 8(1): 85-93.

[4] Kawiak A. Molecular research and treatment of breast cancer 2.0 [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(7): 3932.

[5] Okines A, Turner N. Developing therapies for triple-negative breast cancer subtypes[J]. Lancet Oncol, 2024, 25(2): 149-151.

[6] Huang Y, Jiang Z, Gao X, et al. ARMC subfamily: structures, functions, evolutions, interactions, and diseases[J]. Front Mol Biosci, 2021, 8: 791597.

[7] Serrat R, López-Doménech G, Mirra S, et al. The non-canonical Wnt/PKC pathway regulates mitochondrial dynamics through degradation of the arm-like domain-containing protein Alex3[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e67773.

[8] Izquierdo-Villalba I, Mirra S, Manso Y, et al. A mammalian-specific Alex3/Gαq protein complex regulates mitochondrial trafficking, dendritic complexity, and neuronal survival[J]. Sci Signal, 2024, 17 (822): eabq1007.

[9] Zhou QY, Lei Y. ARMCX3 regulates ROS signaling, affects neural differentiation and inflammatory microenvironment in dental pulp stem cells[J]. Heliyon, 2024, 10(17): e37079.

[10] Gavaldà-Navarro A, Mirra S, Manso Y, et al. The *Armadillo*-repeat containing X-linked protein 3, ARMCX3, is a negative regulator of the browning of adipose tissue associated with obesity[J]. Int J Obes (Lond), 2022, 46(9): 1652-1661.

[11] Du J, Zhang X, Zhou H, et al. Alex3 suppresses non-small cell lung cancer invasion *via* AKT/Slug/E-cadherin pathway[J]. Tumour Biol, 2017, 39(7): 1010428317701441.

[12] Mirra S, Gavaldà-Navarro A, Manso Y, et al. ARMCX3 mediates susceptibility to hepatic tumorigenesis promoted by dietary lipotoxicity [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(5): 1110.

[13] Vivian J, Rao AA, Nothaft FA, et al. Toil enables reproducible, open source, big biomedical data analyses[J]. Nat Biotechnol, 2017, 35 (4): 314-316.

[14] 莫一敏, 吴骁凡, 俞星飞, 等. 乳腺癌新辅助内分泌治疗的研究进展[J]. 中华内分泌外科杂志, 2024, 18(2): 313-316.
Mo YM, Wu XF, Yu XF.et al. Research progress of neoadjuvant endocrine therapy for breast cancer[J]. Chinese Journal of Endocrine Surgery, 2024, 18(2): 313-316

[15] Thakur C, Qiu YR, Pawar A, et al. Epigenetic regulation of breast cancer metastasis[J]. Cancer Metastasis Rev, 2024, 43(2): 597-619.

[16] Wang T, Zhong H, Qin Y, et al. ARMCX family gene expression analysis and potential prognostic biomarkers for prediction of clinical outcome in patients with gastric carcinoma[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 3575038.

[17] Bracken CP, Goodall GJ. The many regulators of epithelial-mesenchymal transition[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(2): 89-90.

[18] Zhu G, Wang Y, Wang Y, et al. Myofibroblasts derived type V collagen promoting tissue mechanical stress and facilitating metastasis and therapy resistance of lung adenocarcinoma cells[J]. Cell Death Dis, 2024, 15(7): 493.

[19] Zhang H, Chen N, Ding C, et al. Ferroptosis and EMT resistance in cancer: a comprehensive review of the interplay[J]. Front Oncol, 2024, 14: 1344290.

[20] Jiang J, Wang Y, Sun M, et al. SOX on tumors, a comfort or a constraint?[J]. Cell Death Discov, 2024, 10(1): 67.

[21] Shang TY, Jiang TY, Cui XW, et al. Diverse functions of SOX9 in liver development and homeostasis and hepatobiliary diseases[J]. Genes Dis, 2024, 11(4): 100996.

[22] Mou ZM, Tapper AR, Gardner PD. The *Armadillo* repeat-containing protein, ARMCX3, physically and functionally interacts with the developmental regulatory factor Sox10[J]. J Biol Chem, 2009, 284 (20): 13629-13640.

[23] Wang X, Ju Y, Zhou MI, et al. Upregulation of SOX9 promotes cell proliferation, migration and invasion in lung adenocarcinoma[J]. Oncol Lett, 2015, 10(2): 990-994.

[24] Xiao B, Zhang WY, Kuang ZZ, et al. SOX9 promotes nasopharyngeal carcinoma cell proliferation, migration and invasion through BMP2 and mTOR signaling[J]. Gene, 2019, 715: 144017.

[25] Wang H, Leav I, Ibaragi S, et al. SOX9 is expressed in human fetal prostate epithelium and enhances prostate cancer invasion[J]. Cancer Res, 2008, 68(6): 1625-1630.

[26] Yang JF, Liao Q, Lu CL. SOX9 promotes the invasion and migration of lung adenocarcinoma cells by activating the RAP1 signaling pathway[J]. BMC Pulm Med, 2023, 23(1): 421.

[27] Ma Y, Shepherd J, Zhao D, et al. SOX9 is essential for triple-negative breast cancer cell survival and metastasis[J]. Mol Cancer Res, 2020, 18(12): 1825-1838.

[28] Cisneros-Villanueva M, Fonseca-Montaño MA, Ríos-Romero M, et al. LncRNA SOX9-AS1 triggers a transcriptional program involved in lipid metabolic reprogramming, cell migration and invasion in triple-negative breast cancer[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 1483.

[29] Morillo-Bernal J, Pizarro-García P, Moreno-Bueno G, et al. HuR (ELAVL1) stabilizes *SOX9* mRNA and promotes migration and invasion in breast cancer cells[J]. Cancers (Basel), 2024, 16(2): 384.

（收稿：2025-01-09；修回：2025-03-13；录用：2025-03-27）
（责任编辑：周一青）

本文引用格式：
黄茜阳, 马海翔, 江忠勇, 等. ARMCX3参与调控乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 重庆医科大学学报, 2025, 50(9): 1228-1235.