

文章编号 1006-8147(2022)06-0621-06

论 著

氯丙嗪对膀胱癌 BT-B 细胞迁移功能的影响

陆益¹, 于佳熙², 梁政²

(1.天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2.天津医科大学总医院耳鼻咽喉科, 天津 300052)

摘要 目的:探讨盐酸氯丙嗪对膀胱癌 BT-B 细胞迁移功能的影响及其机制。方法:用不同浓度的氯丙嗪处理膀胱癌 BT-B 细胞,通过 MTT、细胞划痕和 Transwell 迁移实验验证氯丙嗪对细胞生长和迁移功能的影响。蛋白印迹实验和 RT-qPCR 实验验证氯丙嗪对 Yes 相关蛋白 1(YAP1)和 Ras 相关蛋白 1A(RAP1A)蛋白表达水平和 mRNA 表达水平的影响。免疫荧光实验验证氯丙嗪对 YAP1 细胞亚定位的影响。质粒转染实验验证 YAP1 和 RAP1A 与上皮间质转化(EMT)的调控关系。结果:氯丙嗪可抑制膀胱癌 BT-B 细胞的生长($t=11.53, P<0.001$; $t=35.83, P<0.0001$; $t=36.1, P<0.0001$; $t=194.6, P<0.0001$)和迁移($t=5.80, P<0.01$; $t=7.43, P<0.01$; $t=5.13, P<0.01$; $t=6.61, P<0.01$; $t=18.51, P<0.0001$; $t=19.04, P<0.0001$);与对照组相比,氯丙嗪作用于 BT-B 细胞后, YAP1($t=6.12, P<0.05$; $t=7.64, P<0.05$)和 RAP1A($t=4.87, P<0.05$; $t=8.30, P<0.05$)的蛋白表达水平和 mRNA 表达水平($t=21.13, P<0.001$; $t=40.59, P<0.001$)均显著降低;与对照组相比,氯丙嗪给药处理 2 h 后 YAP1 的荧光表达明显变弱;与对照组相比, YAP1 表达增加后 RAP1A 蛋白($t=9.05, P<0.05$)和 EMT 相关分子 N-cadherin 蛋白、Slug+snail 蛋白($t=7.24, P<0.05$; $t=5.57, P<0.05$)表达均显著增加,而 YAP1 敲低后 RAP1A 蛋白($t=4.36, P<0.05$)、N-cadherin 蛋白和 Slug+snail 蛋白($t=4.50, P<0.05$; $t=4.49, P<0.05$)表达均显著降低。结论:氯丙嗪可通过 YAP1 调节 RAP1A 抑制膀胱癌的迁移,可能是治疗膀胱癌的一种新选择。

关键词 氯丙嗪; YAP1; RAP1A; EMT; 膀胱癌

中图分类号 R73-36

文献标志码 A

The effect of chlorpromazine on the migration of BT-B cells in bladder cancer

LU Yi¹, YU Jia-xi², LIANG Zheng²

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Otorhinolaryngology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract Objective: To investigate the effect and mechanism of chlorpromazine (CPZ) on the migration of bladder cancer BT-B cells. **Methods:** The MTT, wound healing and Transwell migration assays were used to determine the growth and migration of BT-B cells with different concentrations of CPZ treatment. Western blotting and RT-qPCR assays were used to determine the protein and mRNA expressions of Yes-associated protein 1 (YAP1) and Ras-associated protein 1A (RAP1A). Immunofluorescence assay was used to verify the effect of CPZ on the sublocalization of YAP1. Plasmid transfection experiment was used to verify the regulatory relationship between YAP1 and RAP1A and epithelial-mesenchymal transition (EMT). **Results:** CPZ inhibited the growth ($t=11.53, P<0.001$; $t=35.83, P<0.0001$; $t=36.1, P<0.0001$; $t=194.6, P<0.0001$) and migration of bladder cancer BT-B cells ($t=5.80, P<0.01$; $t=7.43, P<0.01$; $t=5.13, P<0.01$; $t=6.61, P<0.01$; $t=18.51, P<0.0001$; $t=19.04, P<0.0001$). Compared with the control group, the expression of YAP1 ($t=6.12, P<0.05$; $t=7.64, P<0.05$) and RAP1A ($t=4.87, P<0.05$; $t=8.30, P<0.05$), and the mRNA expression levels ($t=21.13, P<0.001$; $t=40.59, P<0.001$) of them were significantly decreased after treated with CPZ. Compared with the control group, the fluorescent expression of YAP1 was weaker with CPZ treatment at 2 hours. Compared with the control group, overexpression of YAP1 significantly increased the protein expressions of RAP1A ($t=9.05, P<0.05$), EMT-related molecules N-cadherin and Slug+snail ($t=7.24, P<0.05$; $t=5.57, P<0.05$), while the expression of RAP1A protein ($t=4.36, P<0.05$), N-cadherin protein and Slug+snail protein ($t=4.50, P<0.05$; $t=4.49, P<0.05$) were significantly decreased after the knockdown of YAP1. **Conclusion:** CPZ can inhibit the migration of bladder cancer by regulating RAP1A through YAP1. CPZ may be a new option for treating bladder cancer.

Key words chlorpromazine; YAP1; RAP1A; EMT; bladder cancer

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,在西方国家恶性肿瘤发病率中排名第5,在我国具有较高的复发率^[1-2]。约50%接受根治性膀胱切除术的患者

在术后2~3年内出现局部或远处复发,其中10%~15%被诊断为复发转移^[3]。铂类联合化疗和肿瘤靶向药物并未对膀胱癌患者有最佳疗效,反而会引起严重不良反应^[4-5]。然而,一种新药的研发和批准临床应用的过程既昂贵又耗时。因此,药物再利用近年来因在肿瘤治疗中取得了有效成果而受到关注^[6-7]。

基金项目 天津市自然科学基金(17JCYBJC25600)

作者简介 陆益(1994-),女,硕士在读,研究方向:肿瘤发病机制;通信作者:梁政, E-mail: liangzheng01@tmu.edu.cn。

盐酸氯丙嗪是抗精神病药物中具有代表性的吩噻嗪类药物,主要作用于中轴神经系统^[8]。此外,研究发现氯丙嗪可以在肿瘤细胞系中发挥抗肿瘤作用,它可通过抑制丝苏氨酸蛋白激酶/雷帕霉素靶蛋白(Akt/mTOR)通路,诱导脑肿瘤细胞的凋亡和自噬,还可以直接与细胞色素氧化酶亚基4(COX4-1)结合,阻断耐药脑胶质瘤细胞的G1期^[9-10]。氯丙嗪通过抑制组蛋白去乙酰化酶1(sirtuin 1)并激活p53在结直肠癌中发挥促凋亡的作用^[11]。因此,氯丙嗪具有强大的抗肿瘤作用,但对膀胱癌是否具有抑瘤作用尚不清楚。Yes相关蛋白1(YAP1)是蛋白激酶Hippo通路的重要组成部分,与膀胱癌的增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化(EMT)过程密切相关^[12]。Ras相关蛋白1(RAP1)是RAS超家族的成员,属于RAP1的两个亚型之一^[13],可参与肿瘤的形成并诱导EMT的发生^[14],然而RAP1A在膀胱癌中的作用尚不完全清楚。因此,本研究旨在探索氯丙嗪对膀胱癌的抗肿瘤作用及其分子机制,为膀胱癌患者治疗的多向选择提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 人膀胱癌细胞BT-B细胞(天津市环湖医院)经STR鉴定;氯丙嗪(Sigma公司);胎牛血清(Gibco公司);青霉素和链霉素(Sigma-Aldrich公司);RPMI 1640培养基(Gibco公司);MTT细胞增殖测定试剂盒(Solarbio公司);抗体:YAP1(Santa公司,sc-101199),GAPDH(Abcam公司,ab8245),p-YAP1-ser127(CST公司,13008),RAP1A(CST公司,2399s), β -actin(Abcam公司,ab8227),N-cad(CST公司,13116)和Slug+snail(Abcam公司,ab180714);逆转录试剂盒(Takara公司);SYBR Green Master Mix试剂(启衡星);YAP1、RAP1A和GAPDH的引物序列在北京奥科公司合成;pCDH-YAP1和pCDH-RAP1A为过表达质粒,Sh-RAP1A和Sh-YAP1为降表达质粒,均在实验室合成,pCDH-vector和pLsi-vector分别作为过表达和降表达对照质粒由天津市肿瘤医院肿瘤研究所细胞生物学实验室捐赠,以上所有质粒通过测序确认;转染试剂:ViaFect(Promega公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人膀胱癌细胞系BT-B由含有10%胎牛血清和1%的青霉素和链霉素的RPMI 1640培养基在37℃,5%CO₂孵箱中培养。

1.2.2 MTT实验 实验分为对照组(0 μ mol/L)和不同浓度氯丙嗪给药组(10、20、40、80 μ mol/L);将呈对数生长的细胞均匀种入96孔板,按照不同浓

度氯丙嗪处理后,继续培养72 h,加入MTT培养基混合溶液(MTT:培养基=1:9),避光孵育4 h后除去MTT溶液并加入DMSO溶液,室温摇床避光孵育10 min后,分光光度计(Thermo公司)测定OD值。

1.2.3 划痕实验 实验分为对照组(0 μ mol/L)和不同浓度氯丙嗪给药组(10、20 μ mol/L),将呈对数生长的细胞均匀种入12孔板,氯丙嗪给药处理24 h,细胞融合度达到90%以上时画垂直迹线,继续培养,分别于24 h和48 h后在荧光显微镜下拍照。

1.2.4 Transwell 迁移实验 实验分为对照组(0 μ mol/L)和不同浓度氯丙嗪给药组(10、20 μ mol/L),将两组细胞饥饿12 h,细胞计数得到所需细胞数。向24孔板中加入400 μ L含血清的培养基,放置Transwell小室,然后将200 μ L无血清细胞悬液种植在小室中并培养24 h。甲醇固定20 min,吉姆萨染液2染色15 min,吉姆萨染液3染色10 min,于显微镜下拍照。

1.2.5 蛋白免疫印迹实验 实验分为对照组(0 h)和不同时间段20 μ mol/L氯丙嗪给药组(1、2 h),将呈对数生长的细胞均匀种入6孔板,配制蛋白裂解液(1.1 \times SDS+100 \times PMSF)于氯丙嗪给药处理1 h和2 h后分别收集蛋白,NanoDrop仪器测定浓度并均一,4%~12%预制胶进行蛋白电泳并使用快速转膜仪转入PVDF膜,5%脱脂牛奶室温封闭1 h,一抗抗体:YAP1(1:500)、GAPDH(1:2 000)、p-YAP1-ser127(1:250)、RAP1A(1:500)、 β -actin(1:2 000)、N-cadherin(1:1 000)和Slug+Snail(1:200)4℃过夜孵育。次日二抗抗体(1:5 000)室温摇床孵育1 h,显影曝光。

1.2.6 免疫荧光实验 实验分为对照组(0 μ mol/L)和氯丙嗪给药组(10 μ mol/L),将呈对数生长的细胞均匀种入带有圆玻片的12孔板,氯丙嗪给药处理后分别于1 h和2 h终止药物作用,4%多聚甲醛(PFA)室温固定10 min,0.1% triton-100X室温渗透10 min,3%BSA封闭1 h,一抗抗体YAP1(1:500)保湿盒4℃过夜孵育。次日加入荧光二抗(绿光488 nm,1:200)避光室温孵育1 h,DAPI染核10~20 min,封片,蔡司共聚焦显微镜拍照。

1.2.7 RT-qPCR实验 实验分为对照组(0 μ mol/L)和氯丙嗪给药组(20 μ mol/L),将呈对数生长的细胞均匀种于6孔板中,氯丙嗪给药处理24 h。Trizol试剂提取RNA,Takara逆转录试剂盒合成cDNA,-20℃保存。设置PCR反应条件,在LC480荧光定量PCR仪上进行扩增和检测。反应条件为预变性:95℃,3 min;变性:95℃,3 s;退火:60℃,30 s;共40个循环。目的基因引物序列见表1。

表1 RT-qPCR 引物合成序列

Tab 1 Primer sequences for RT-qPCR

目的基因	引物碱基序列(5'→3')
GAPDH	F:CATCACCATCTTCCAGGAGCG R:TGACCTTGCCACAGCCTT
YAP1	F:TGCCCCAGATGAACGTCACAGC R:TGGTGGCTGTTCCTGAGCA
RAP1A	F:AGATTGCCAACAGTGTATGCTGGA R:ATTGCCAACCAAAATCATTGGAAC

注:YAP1:Yes 相关蛋白 1;RAP1A:Ras 相关蛋白 1A

1.2.8 质粒转染实验 实验分为对照组(vector 组)和不同表达质粒转染组(pCDH-RAP1A 组、Sh-RAP1A 组、pCDH-YAP1 组、Sh-YAP1 组),将呈对数生长的细胞均匀种入 12 孔板,贴壁继续培养,配制转染体系(质粒:转染试剂=1 mg:3 μ L)静置 20 min,缓慢滴加转染体系,48 h 后收集蛋白,蛋白免疫印迹步骤同上。

1.3 统计学处理 应用 Prism8.0 软件对数据进行分析 and 作图,蛋白免疫印迹结果应用 Image J 软件进行蛋白灰度分析,多组间数据比较采用单因素方差分析,两独立样本比较采用 *t* 检验分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

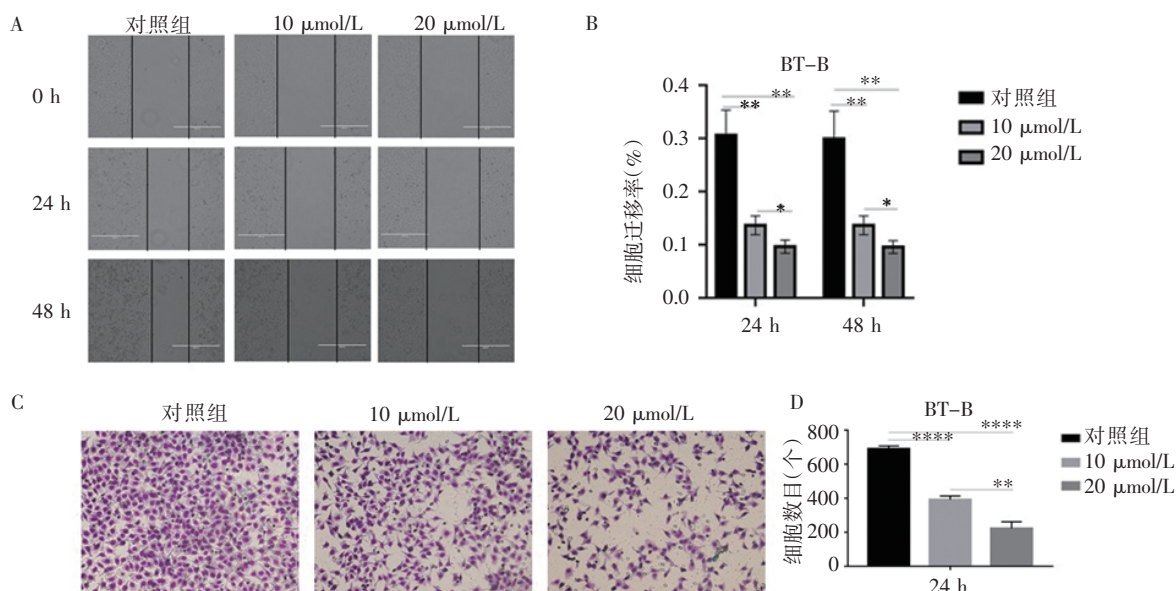
2 结果

2.1 氯丙嗪对 BT-B 细胞增殖能力的作用 与对照组(0 μ mol/L)相比,10 μ mol/L 氯丙嗪给药组(72.47 ± 4.14 , $t=11.53$, $P<0.001$)、20 μ mol/L 氯丙嗪给药组(63.98 ± 1.74 , $t=35.83$, $P<0.000 1$)、40 μ mol/L 氯丙嗪给药组(41.03 ± 2.83 , $t=36.1$, $P<0.000 1$)

和 80 μ mol/L 氯丙嗪给药组(1.16 ± 0.88 , $t=194.6$, $P<0.000 1$)细胞 72 h 存活率均显著降低。氯丙嗪在浓度为 10 μ mol/L 和 20 μ mol/L 时显著抑制细胞生长,而在浓度为 40 μ mol/L 和 80 μ mol/L 时,细胞活力逐渐下降趋近于 0,所以选择药物浓度 10 μ mol/L 和 20 μ mol/L 进行细胞功能实验验证。

2.2 氯丙嗪对 BT-B 细胞迁移能力的作用 划痕实验结果显示,与对照组(0 μ mol/L)相比,10 μ mol/L 和 20 μ mol/L 氯丙嗪给药组划痕 24 h($t=5.80$, $P<0.01$; $t=7.43$, $P<0.01$)和 48 h($t=5.13$, $P<0.01$; $t=6.61$, $P<0.01$)后细胞迁移率随药物浓度增加而降低(图 1A、B);Transwell 迁移实验显示(图 1C、D),与对照组(0 μ mol/L)相比,10 μ mol/L 和 20 μ mol/L 氯丙嗪给药组细胞 24 h 迁移穿过腔室的数目随药物浓度增加而减少($t=18.51$, $P<0.000 1$; $t=19.04$, $P<0.000 1$)。

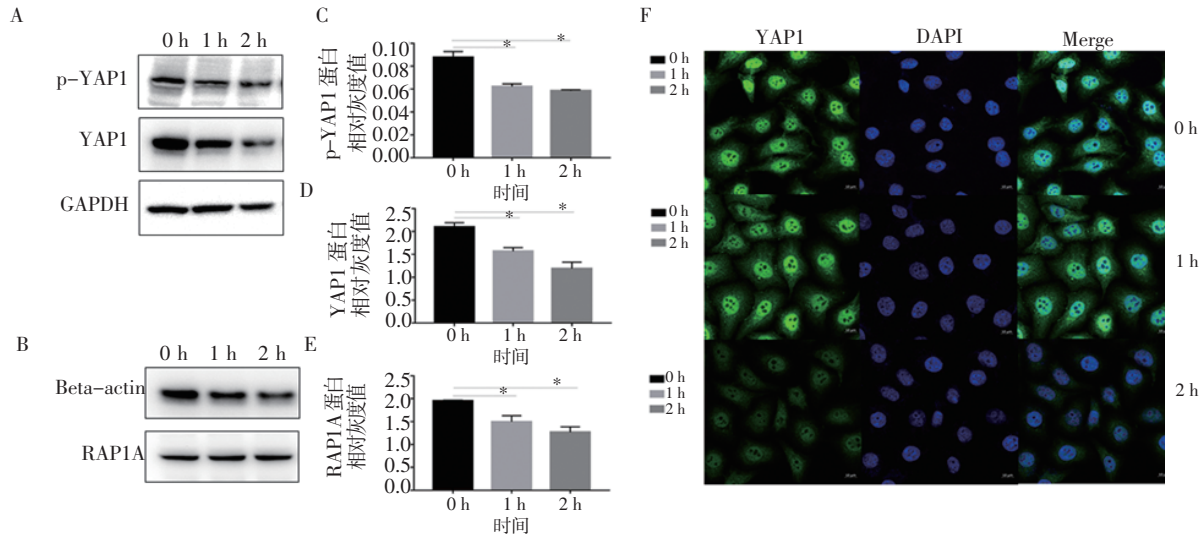
2.3 氯丙嗪对 YAP1 和 RAP1A 表达的影响 结果表明,与对照组(0 h)相比,氯丙嗪处理 1 h 和 2 h 后 YAP1 蛋白($t=6.12$, $P<0.05$; $t=7.64$, $P<0.05$)和磷酸化 YAP1 蛋白($t=6.47$, $P<0.05$; $t=8.04$, $P<0.05$)表达逐渐下降,2 h 时下降明显(图 2A、C、D);与对照组(0 h)相比,RAP1A 蛋白表达水平经氯丙嗪给药处理后也显著降低($t=4.87$, $P<0.05$; $t=8.30$, $P<0.05$; 图 2B、E),与 YAP1 蛋白水平变化结果一致;免疫荧光结果显示,与对照组(0 h)相比,氯丙嗪处理后 2 h,YAP1 在细胞核和细胞质内的荧光表达均明显变弱(图 2F),与 YAP1 蛋白水平变化一致。



注:A:不同浓度氯丙嗪对 BT-B 细胞 24 h 和 48 h 迁移率的影响(10 \times);B:不同浓度氯丙嗪作用后 BT-B 细胞 24 h 的迁移情况(10 \times);C 和 D 为统计柱状分析图;与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,**** $P<0.000 1$

图1 氯丙嗪 BT-B 细胞迁移能力的影响

Fig 1 Effect of chlorpromazine on migration ability of BT-B cells



注:A、C和D:不同时间氯丙嗪处理后 YAP1 和磷酸化 YAP1 蛋白水平变化;p-YAP1:磷酸化 YAP1;GAPDH:内参蛋白;B和E:不同时间氯丙嗪处理后 RAP1A 蛋白水平变化;Beta-actin:内参蛋白;F:不同时间氯丙嗪处理后 YAP1 细胞亚定位的变化(10 μ m);YAP1:绿光;DAPI:蓝光;Merge:合并图;与对照组相比,* $P<0.05$;YAP1:Yes 相关蛋白 1;RAP1A:Ras 相关蛋白 1A

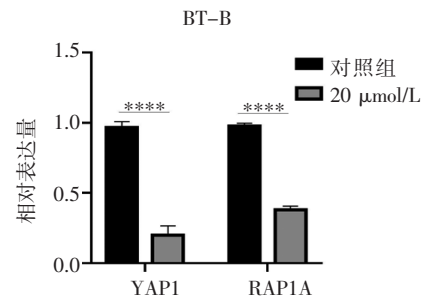
图 2 氯丙嗪在 BT-B 中对 YAP1 和 RAP1A 表达的影响

Fig 2 Effect of chlorpromazine on the expressions of YAP1 and RAP1A in BT-B cells

2.4 氯丙嗪对 YAP1 和 RAP1A mRNA 水平的影响 RT-qPCR 实验结果显示,与对照组(0 μ mol/L)相比,20 μ mol/L 氯丙嗪给药组中 YAP1 和 RAP1A 的 mRNA 表达水平均显著降低($t=21.13$, $P<0.001$; $t=40.59$, $P<0.001$)(图 3)。

2.5 YAP1 和 RAP1A 与 BT-B 细胞 EMT 的调控关系 质粒转染结果显示,与对照组(vector 组)相比, RAP1A 过表达组(pCDH-RAP1A 组)和 RAP1A 敲低组(Sh-RAP1A 组)中 YAP1 的蛋白水平变化无统计学意义($P>0.05$)(图 4A、B)。如图 4C、D 和 E 所示:与对照组相比,YAP1 过表达组(pCDH-YAP1 组)中,RAP1A 蛋白($t=9.05$, $P<0.05$)表达增加,EMT 相关标记分子 N-cadherin 蛋白($t=7.24$, $P<0.05$)表达增加,Slug+snail 蛋白($t=5.57$, $P<0.05$)表达增加;

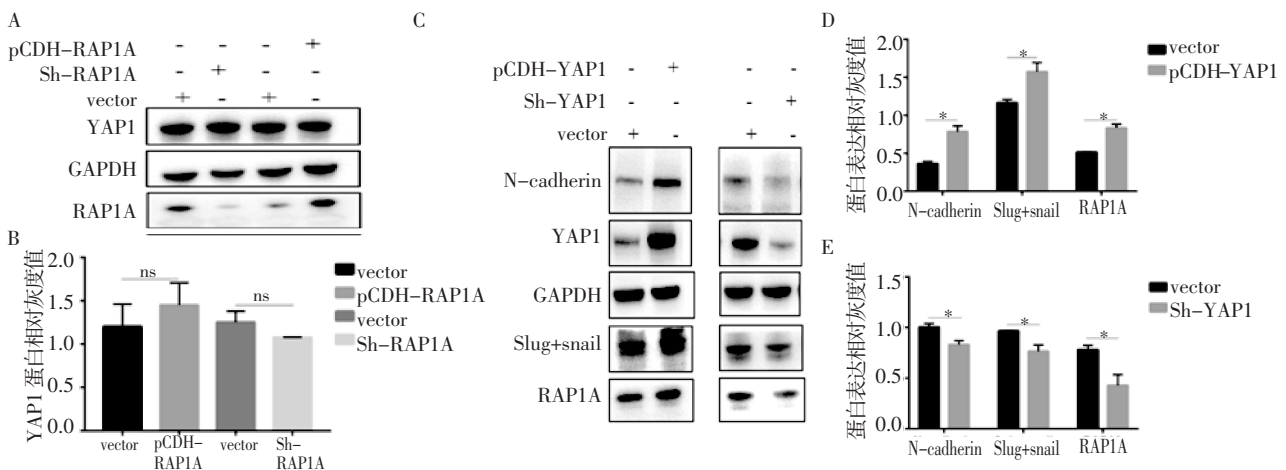
YAP1 敲低组(Sh-YAP1 组)中,RAP1A、N-cadherin 和 Slug+snail 蛋白表达下降($t=4.36$, $P<0.05$; $t=4.50$, $P<0.05$; $t=4.49$, $P<0.05$)。



注:YAP1:Yes 相关蛋白 1;RAP1A:Ras 相关蛋白 1A;**** $P<0.0001$

图 3 氯丙嗪在 BT-B 细胞中对 YAP1 和 RAP1A mRNA 表达水平的影响

Fig 3 Effect of CPZ on the mRNA expressions of YAP1 and RAP1A in BT-B cells



注:A和C:RAP1A 表达水平变化对 YAP1 的影响;B、D和E:YAP1 表达水平的变化对 RAP1A 和 EMT 标志分子的影响;N-cadherin:N-钙黏蛋白,Slug+snail:转录因子 Slug 和 Snail;GAPDH:内参蛋白;YAP1:Yes 相关蛋白 1;RAP1A:Ras 相关蛋白 1A;* $P<0.05$;ns: $P>0.05$

图 4 YAP1 和 RAP1A 与膀胱癌 EMT 的关系

Fig 4 Relationship between YAP1 and RAP1A and EMT in bladder cancer

3 讨论

高复发率和高转移率是膀胱癌患者预后不良的重要因素,尽管已经开发出多种靶向治疗药物,但由于存在严重的不良反应而难以进入临床使用^[4,15-16]。药物再利用给肿瘤治疗提供了新的方向。氯丙嗪是美国食品药品监督管理局(FDA)批准的临床常用精神科药物,多项研究证明了氯丙嗪还具有抗肿瘤作用。早期研究证明,氯丙嗪与他莫昔芬联合用药可有效抑制乳腺癌中他莫昔芬耐药细胞的生长^[17],还可以抑制口腔癌细胞的增殖并诱导G2/M期阻滞和细胞凋亡^[6]。氯丙嗪可能通过靶向脯氨酸-谷氨酸-亮氨酸富集蛋白1(PELP1),抑制胃癌细胞的生长、迁移和侵袭^[18]。氯丙嗪作为一种镇静药,在应用过程中可能会存在诱发膀胱癌的风险,但是其致病机制尚不明确,是否与给药剂量、疗程及方法相关也尚不完全明确^[17]。有研究根据大规模数据库和系统回归建模分析构建了综合遗传和表观遗传网络(IGEN)分析,并预测出包括氯丙嗪、吉非替尼和多种化疗药物联合用药的治疗方案,用于治疗4期膀胱癌且不良反应最小^[19]。因此,氯丙嗪对膀胱癌的作用仍然值得进一步探索。本研究探索了氯丙嗪对膀胱癌的抗肿瘤作用及其机制,为晚期膀胱癌患者的治疗提供了依据。

本研究证明了氯丙嗪对膀胱癌 BT-B 细胞有细胞毒性作用,并且对细胞迁移功能有抑制作用,以上结果说明了氯丙嗪对膀胱癌有抗肿瘤作用。同时本研究对其抑癌机制进行了进一步探索。实验结果显示氯丙嗪可显著降低 YAP1 和 RAP1A 的蛋白水平和 mRNA 表达水平,说明 YAP1 和 RAP1A 可作为氯丙嗪的下游靶点分子,氯丙嗪可能通过 YAP1 和 RAP1A 起到抑癌作用。免疫荧光实验结果显示, YAP1 在细胞核和细胞质的荧光表达均变弱,与蛋白免疫印迹结果相符合,但无细胞亚定位的改变。YAP1 的经典调控通路是上游分子哺乳动物 STE20 样激酶 1/2(MST1/2)和大肿瘤抑制激酶 1/2(LATS1/2)使 YAP1 发生磷酸化而失活, YAP1 停留在胞浆中,不能入核激活下游靶基因^[20]。因此,氯丙嗪下调 YAP1 的表达可能是通过非经典途径调控,具体机制有待探究。YAP1 作为一个癌基因参与了多种肿瘤的发生、发展过程。研究证明 YAP1 和 mTOR 协同作用可促进膀胱癌细胞的增殖并抑制细胞凋亡^[21]。维替泊芬通过靶向 YAP1 抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[22]。YAP1 在膀胱癌的发生中起重要作用,而氯丙嗪可抑制 YAP1 的表达,这与氯丙嗪通过 YAP1 抑制乳腺癌细胞的干性特性和迁移功能研究

结果符合^[7]。进一步说明了氯丙嗪对膀胱癌的抗肿瘤作用。此外, YAP1 与膀胱癌 EMT 的发生密切相关。而 RAP1A 是细胞黏附相关分子, RAP1A 可通过细胞外信号调节激酶/p38 丝裂原活化蛋白激酶/Notch 受体 1(ERK/p38/Notch)通路诱导卵巢癌细胞 EMT 的发生,从而促进细胞迁移^[23]。RAP1A 作为长链非编码 RNA——LINC00460 的下游靶点分子,促进了鼻咽癌细胞的迁移和侵袭^[24]。因此,氯丙嗪对膀胱癌 BT-B 细胞迁移功能的抑制作用可能是通过作用于 YAP1 和 RAP1A 实现的。此外,本研究对膀胱癌中 YAP1 和 RAP1A 与 EMT 的关系进行了探索。结果显示, YAP1 通过 RAP1A 促进膀胱癌 EMT 的发生。磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路与膀胱癌 EMT 的发生相关^[25],而 YAP1 和 RAP1A 通过 PI3K/Akt 信号通路诱导癌细胞 EMT 的发生^[26]。YAP1 正向调控 RAP1A,研究证明,转录因子特异性蛋白 1(Sp1)可与 YAP1 启动子多位点结合,诱导 YAP1 激活^[27],并且 RAP1A 的激活也与 Sp1 密切相关^[26]。研究结果提示, YAP1 调控 RAP1A 可能与 Sp1 相关,需要进一步的实验验证。氯丙嗪是一种已在临床上使用数年的精神类药物,药物安全性高,可规避新药上市应用带来的研究瓶颈。本研究证明了氯丙嗪可通过 YAP1 调控 RAP1A,抑制膀胱癌 BT-B 细胞的迁移,为降低膀胱癌患者的复发率和转移率以及改善患者预后提供了理论依据。

参考文献:

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] WITJES J A, BRUINS H M, CATHOMAS R, et al. European Association of Urology Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer: summary of the 2020 Guidelines[J]. Eur Urol, 2021, 79(1): 82-104.
- [3] ALFRED WITJES J, LEBRET T, COMPERAT E M, et al. Updated 2016 EAU Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer[J]. Eur Urol, 2017, 71(3): 462-475.
- [4] NECCHI A, POND G R, RAGGI D, et al. Efficacy and safety of gemcitabine plus either taxane or carboplatin in the first-line setting of metastatic urothelial carcinoma: a systematic review and meta-analysis[J]. Clin Genitourin Cancer, 2017, 15(1): 23-30.
- [5] PILI R, QIN R, FLYNN P J, et al. A phase II safety and efficacy study of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor pazopanib in patients with metastatic urothelial cancer[J]. Clin Genitourin Cancer, 2013, 11(4): 477-483.
- [6] JHOU A J, CHANG H C, HUNG C C, et al. Chlorpromazine, an antipsychotic agent, induces G2/M phase arrest and apoptosis via regulation of the PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy pathways in human oral cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2021, 184: 114403.

- [7] YANG C E, LEE W Y, CHENG H W, et al. The antipsychotic chlorpromazine suppresses YAP signaling, stemness properties, and drug resistance in breast cancer cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 302: 28–35.
- [8] BOYD-KIMBALL D, GONCZY K, LEWIS B, et al. Classics in chemical neuroscience: chlorpromazine[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(1): 79–88.
- [9] SHIN S Y, LEE K S, CHOI Y K, et al. The antipsychotic agent chlorpromazine induces autophagic cell death by inhibiting the Akt/mTOR pathway in human U-87MG glioma cells[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(9): 2080–2089.
- [10] OLIVA C R, ZHANG W, LANGFORD C, et al. Repositioning chlorpromazine for treating chemoresistant glioma through the inhibition of cytochrome c oxidase bearing the COX4-1 regulatory subunit[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(23): 37568–37583.
- [11] LEE W Y, LEE W T, CHENG C H, et al. Repositioning antipsychotic chlorpromazine for treating colorectal cancer by inhibiting sirtuin 1[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 27580–27595.
- [12] LI S, ZHU H, CHEN H, et al. Glucose promotes epithelial-mesenchymal transitions in bladder cancer by regulating the functions of YAP1 and TAZ[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(18): 10391–10401.
- [13] CHEN W B, PAN H Q, HE Y, et al. Rap1b but not Rap1a in the forebrain is required for learned fear[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10: 107.
- [14] CAO X M. Role of miR-337-3p and its target Rap1A in modulating proliferation, invasion, migration and apoptosis of cervical cancer cells[J]. *Cancer Biomark*, 2019, 24(3): 257–267.
- [15] DEL BENE G, STERNBERG C N. Systemic chemotherapy in muscle invasive and metastatic bladder cancer: present and future[J]. *Urologia*, 2017, 84(3): 130–141.
- [16] GALSKEY M D, HAHN N M, ROSENBERG J, et al. A consensus definition of patients with metastatic urothelial carcinoma who are unfit for cisplatin-based chemotherapy[J]. *Lancet Onco*, 2011, 12(3): 211–214.
- [17] YDE C W, CLAUSEN M P, BENNETZEN M V, et al. The antipsychotic drug chlorpromazine enhances the cytotoxic effect of tamoxifen in tamoxifen-sensitive and tamoxifen-resistant human breast cancer cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2009, 20(8): 723–735.
- [18] YAN H, SUN Y, WU Q, et al. PELP1 Suppression inhibits gastric cancer through downregulation of c-Src-PI3K-ERK pathway[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 1423.
- [19] LI C W, CHEN B S. Network biomarkers of bladder cancer based on a genome-wide genetic and epigenetic network derived from next-generation sequencing data[J]. *Dis Markers*, 2016, 2016: 4149608.
- [20] YU F X, GUAN K L. The Hippo pathway: regulators and regulations[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(4): 355–371.
- [21] XU M, GU M, ZHOU J, et al. Interaction of YAP1 and mTOR promotes bladder cancer progression[J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(1): 232–242.
- [22] DONG L, LIN F, WU W, et al. Verteporfin inhibits YAP-induced bladder cancer cell growth and invasion via Hippo signaling pathway[J]. *Int J Med Sci*, 2018, 15(6): 645–652.
- [23] LU L, WANG J, WU Y, et al. Rap1A promotes ovarian cancer metastasis via activation of ERK/p38 and notch signaling[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(12): 3544–3554.
- [24] HU X, LIU W, JIANG X, et al. Long noncoding RNA LINC00460 aggravates invasion and metastasis by targeting miR-30a-3p/Rap1A in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Hum Cell*, 2019, 32(4): 465–476.
- [25] ZHANG R, WANG Z, YOU W, et al. Suppressive effects of plumbagin on the growth of human bladder cancer cells via PI3K/AKT/mTOR signaling pathways and EMT[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 520.
- [26] LI Q, XU A, CHU Y, et al. Rap1A promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis through the AKT signaling pathway[J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(5): 1815–1824.
- [27] YANG J, WANG J, ZHANG H, et al. Transcription factor Sp1 is up-regulated by PKC α to drive the expression of YAP1 during pancreatic carcinogenesis[J]. *Carcinogenesis*, 2021, 42(3): 344–356.

(2022-03-20 收稿)

欢迎各届校友踊跃投稿