· 基础研究 ·

多肽组学分析揭示内源性多肽对肺腺癌恶性表型的关键作用

孙重期[1],束永前[1],毛文君[2*]

[1]南京医科大学第一附属医院肿瘤科,江苏 南京 210029;[2]南京医科大学附属无锡人民医院胸外科,江苏 无锡 214023

[摘 要] **目的:**通过多肽组学分析研究多肽在肺腺癌发生发展中的作用及潜在分子机制。**方法:**提取3对年龄匹配的男性肺腺癌组织和癌旁组织的内源性多肽,通过液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry,LC-MS/MS)筛选差异表达的多肽,借助生物信息学推测差异多肽的潜在功能,使用CCK-8实验、划痕实验、Transwell实验验证重点多肽对肺腺癌细胞株(A549、H1975)恶性表型的影响。**结果:**鉴定了10 kDa以下的多肽4 538条,共筛选出242条在癌组织和癌旁组织间存在差异表达的多肽(差异倍数≥2.0,FDR<0.05),对应202个前体蛋白。GO分析以及KEGG通路富集分析的结果显示这些蛋白与肿瘤发生发展的一系列重要生物学活动密切相关。聚焦于首次发现的多肽LACRP2,体外实验证实该多肽可以一定程度上抑制肺腺癌细胞株的恶性表型。**结论:**内源性多肽LACRP2可能与肺腺癌部分恶性表型有关。多肽组学可以更全面地帮助了解肺腺癌的发生发展机制。

[关键词] 肺腺癌;多肽组学;恶性表型;分子机制

[中图分类号] R734.2 [文献标志码] A [文章编号] 1007-4368(2022)03-317-08

doi:10.7655/NYDXBNS20220302

Peptidomic analysis reveals the critical roles of endogenous peptides in the malignant phenotype of lung adenocarcinoma

SUN Chongqi[1],SHU Yongqian[1],MAO Wenjun[2*]

[1]Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029; [2]Department of Cardiothoracic Surgery, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China

[**Abstract**] **Objective:** This study aims to explore the role of peptides in lung adenocarcinoma and its potential molecular mechanisms through peptideomics analysis. **Methods:** Endogenous peptides from 3 pairs of age-matched male lung adenocarcinoma and paracancerous tissues were extracted and detected by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Bioinformatics was used to infer the potential functions of differential peptides. CCK-8 assays, wound-healing assays, and Transwell assays were carried out to verify the effect of key peptides on the malignant phenotype of lung adenocarcinoma cell lines (A549, H1975). **Results:** A total of 4 538 peptides were identified, of which 242 were differentially expressed (fold change≥2.0, FDR<0.05), corresponding to 202 precursor proteins. GO analysis and KEGG pathway enrichment analysis showed that these proteins were closely related to a series of important biological activities of tumorigenesis and development. Additionally, the novel peptide LACRP2 was also focused on. It was confirmed that this peptide could inhibit some malignant phenotypes of lung adenocarcinoma cell lines *in vitro*. **Conclusion:** The endogenous peptide LACRP2 may be related to some malignant phenotypes of lung adenocarcinoma. Peptidomics can aid in understanding the pathogenesis of lung cancer more comprehensively.

[**Key words**] lung adenocarcinoma; peptidomics; malignant phenotype; molecular mechanism

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(03): 317-324]

肺癌是全球范围内发病率第2以及死亡率最高的恶性肿瘤,根据2020年全球癌症统计数据,全世界肺癌新发病例数为220万,占全部癌症病例的11.4%,2020年因肺癌死亡人数达到了180万,占总的癌症相关死亡的18.0%[1]。其中,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer,NSCLC)占肺癌总数的

[基金项目] 国家自然科学基金(82003094)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:maowenjun1@126.com

85%左右，其5年生存率仅为23%，远远低于乳腺癌和结直肠癌[2]。手术仍是早期和某些局部晚期肺癌（Ⅰ~ⅢA期）的主要治疗手段。但根据统计，约2/3的肺癌患者确诊时已处于局部进展期或有远处转移[3]，针对这部分患者，单纯的手术治疗已无法满足需求。近年来，除了传统的化学治疗手段，靶向治疗及免疫治疗的问世使得NSCLC治疗进入“个体化治疗”和“精准治疗”的时代。但是，以一代表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂（EGFR-TKI）吉非替尼为例，存在20%~30%的原发性耐药患者[4]，且只有少部分患者具有EGFR的敏感突变（白种人群10%~20%，东亚人群约48%）[5]。而新兴的免疫治疗也只能使15%~25%的NSCLC患者获益，多数患者对免疫检查点抑制剂药物存在原发性耐药[6]。因此，亟待开拓新的治疗手段，为临床上更多的肺癌患者提供持续、稳定的生存获益。

近年来，小分子多肽类化合物因其分子量小、靶向性强、活性高、毒性低、易于跨膜吸收等优点[7]，成为肿瘤防治领域研究的热点之一。研究人员目前已证实，多种肽类化合物可以作用于肿瘤细胞自身的靶点，诱导细胞凋亡和坏死等进而杀伤肿瘤细胞；此外，它们还可以通过作用于肿瘤组织微环境中的新生血管和免疫细胞发挥抗肿瘤作用[8-12]。例如多肽peptide 1通过减少血管生长因子的表达而抑制卵巢癌细胞的侵袭[9]；多肽MTP-NeuNT能通过抑制ErbB2的活性从而抑制乳腺癌细胞的生长和转移[13]。

随着多肽组学技术的发展，该技术已经成功应用于多种疾病的诊断和治疗。针对人体组织的多肽组学分析，是以机体内源性多肽和低分子量蛋白质为研究对象，研究多肽组的结构、功能、变化规律及其相关关系，来提供蛋白质水解活动以及潜在生物活性肽的重要信息[14]。尽管多肽抗肿瘤的研究受到越来越多的关注，但内源性多肽在肺癌中的作用却鲜有报道。本研究使用液相色谱-串联质谱法（liquid chromatography-tandem mass spectrometry，LC-MS/MS）技术鉴定肺腺癌组织和癌旁组织中分泌的多肽，探讨这些内源性多肽与肺腺癌恶性表型之间的关系，以期为寻找肺癌治疗的新靶点提供一定帮助。

1　材料和方法

1.1　材料

1.1.1　样本收集

收集2020年2月无锡市人民医院初诊的3例肺腺癌患者的肿瘤组织和相邻的癌旁非肿瘤组织，3例患者为年龄相匹配的男性，术前均未进行手术、放化疗及介入等治疗，且术后均得到明确的病理学诊断。本研究已经过医院伦理审查委员会批准，所有患者在收集前均被告知参与研究并签署知情同意书。所有标本均在术后迅速放入液氮中冷冻保存，以备下一步的多肽提取。

1.1.2　主要试剂和材料

RPMI 1640细胞培养基、PBS、EDTA-胰酶、青霉素、链霉素、胎牛血清（Gibco公司，美国）；苯甲基磺酰氟、二硫苏糖醇、碘乙酰胺、乙腈、蛋白酶抑制剂混合物（Sigma-Alrich公司，美国）；Cell Counting Kit 8（CCK-8）细胞增殖检测试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒、考马斯亮蓝染色液、蛋白裂解液（上海碧云天公司）；TMT蛋白标记试剂盒（Thermo Fisher公司，美国）；10 kDa MWCO超滤离心管（Millipore公司，美国）；相关多肽由南京金斯瑞生物公司合成。

1.2　方法

1.2.1　多肽提取和纯化

收集适量的各个样品进行多肽提取。样品液氮研磨后加入蛋白裂解液，吹打混匀后加入蛋白酶抑制剂混合物（终浓度为1 mmol/L PMSF、2 mmol/L EDTA、10 mmol/L DTT），混合，冰上超声10 min。接着样品于4 ℃以12 000 r/min离心30 min，收集上清液。使用10 kDa超滤离心管再次离心以收集过滤液并去除蛋白质和大于10 kDa的多肽，测定蛋白质浓度。上清液通过Speed-vac系统真空干燥并立即在-80 ℃冷冻直至使用。

1.2.2　多肽标记和LC-MS/MS

将样本根据来源分为癌组织组（LC组）以及癌旁组织组（PC组），依照制造商的说明使用5 μL TMT试剂标记样品，将标记的样品混合并同时通过纳升级液相色谱（Easy-nLC，Thermo Fisher Scientific公司，美国）以及轨道阱质谱仪（LTQ-Orbitrap Velos mass spectrometer，Thermo Fisher Scientific公司，美国）对标记的肽进行分析。所有相关实验均在南京医科大学检测中心（http://fxcszx.njmu.edu.cn/）完成。

1.2.3　生物信息学和生物活性肽筛选

通过在线工具Protparam（http://web.expasy.org）计算多肽的分子量（molecular weight，MW）以及等电点（isoelectric point，PI）。癌和癌旁差异表达的多肽相关的前体基因通过在线工具DAVID（（http://david.abcc.ncifcrf.gov/）与GO数据库（Gene Ontology）、

KEGG数据库(https://www.kegg.jp/)进行比对,对其进行功能注释和通路富集;利用在线工具Open Targets Platform(www. targetvalidation.org/)预测这些差异多肽相关前体蛋白与肺癌之间的关系;通过网站(https://string-db.org)对差异前体蛋白进行蛋白互作网络(protein protein interaction network,PPI network)分析。

1.2.4 细胞培养和多肽制备

人肺腺癌细胞株A549和H1975细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库。细胞传代培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中,置于5%CO_2、37 ℃恒温培养箱中进行常规培养。每隔2 d用EDTA-胰酶消化传代。取对数生长的细胞用于后续实验。相关多肽由南京金斯瑞生物公司定制合成,获得后溶解于无菌蒸馏水(疏水性的多肽溶解时使用冰上超声处理3 min),储存于-40 ℃冰箱中。

1.2.5 CCK-8实验

取对数生长期的A549和H1975细胞,以每孔4 000个接种于96孔细胞培养板,每孔加入200 μL培养基,正常培养过夜。按试验要求处理细胞(每组3个平行孔,独立重复3次),加入等体积PBS做为对照,分别置于培养箱培养0~48 h后,移除培养基,每孔加入提前配制的10% CCK-8溶液100 μL,1~2 h后于波长450 nm测各孔吸光度值。

1.2.6 Transwell实验

收集饥饿培养12 h的细胞,制备细胞悬液。取出Transwell小室置于24孔板中,小室上层加入无血清RPMI1640培养基200 μL,下层加入含有BSA或小分子多肽的RPMI1640培养基650 μL;取稀释过的Matrigel 30 μL加到Transwell上室,在37 ℃下孵育2 h,使Matrigel聚合成胶(研磨组织提取上清仅做迁移实验)。将细胞悬液(细胞数约5×10^4个)加入小室内,置于5% CO_2 37 ℃的恒温培养箱静置培养24 h。取出小室,室温下用甲醛固定15 min,去除固定液后予结晶紫染色,用棉签擦去孔膜上层的细胞,在烧杯中反复用清水漂洗小室,用倒置显微镜拍摄膜底层的细胞,每个小室至少取5个视野,统计细胞数目,从而判断细胞侵袭能力。

1.2.7 划痕实验

制备培养单层细胞,用针头在6孔板底部划出"一"字线,可作为后续拍照、观察的位点,将适当密度的细胞(1×10^6个/孔)接种于6孔板中,各样本均设3个复孔,37 ℃静置过夜后,分别接受相应的处理。将处理过的细胞置入5%CO_2、37 ℃恒温培养箱中培养24 h,取出换液后,用10 μL移液器吸头沿板底部作"|"字形划痕,用灭菌的PBS洗涤细胞,更换培养基。按0~48 h的时间点,在倒置显微镜下寻找"十"字交叉处确定划痕边缘并拍照。测量前后两次照片固定点划痕边缘的相对距离,并计算不同时间点相对距离的差值,以此数据判断细胞迁移能力的大小。

1.3 统计学方法

使用SPSS25.0统计软件,部分作图使用Graphpad Prism 8以及R(version 4.0.5)。本研究所有实验数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;通过配对t检验和双因素方差分析进行组间比较分析,$P<0.05$为差异有统计学意义。

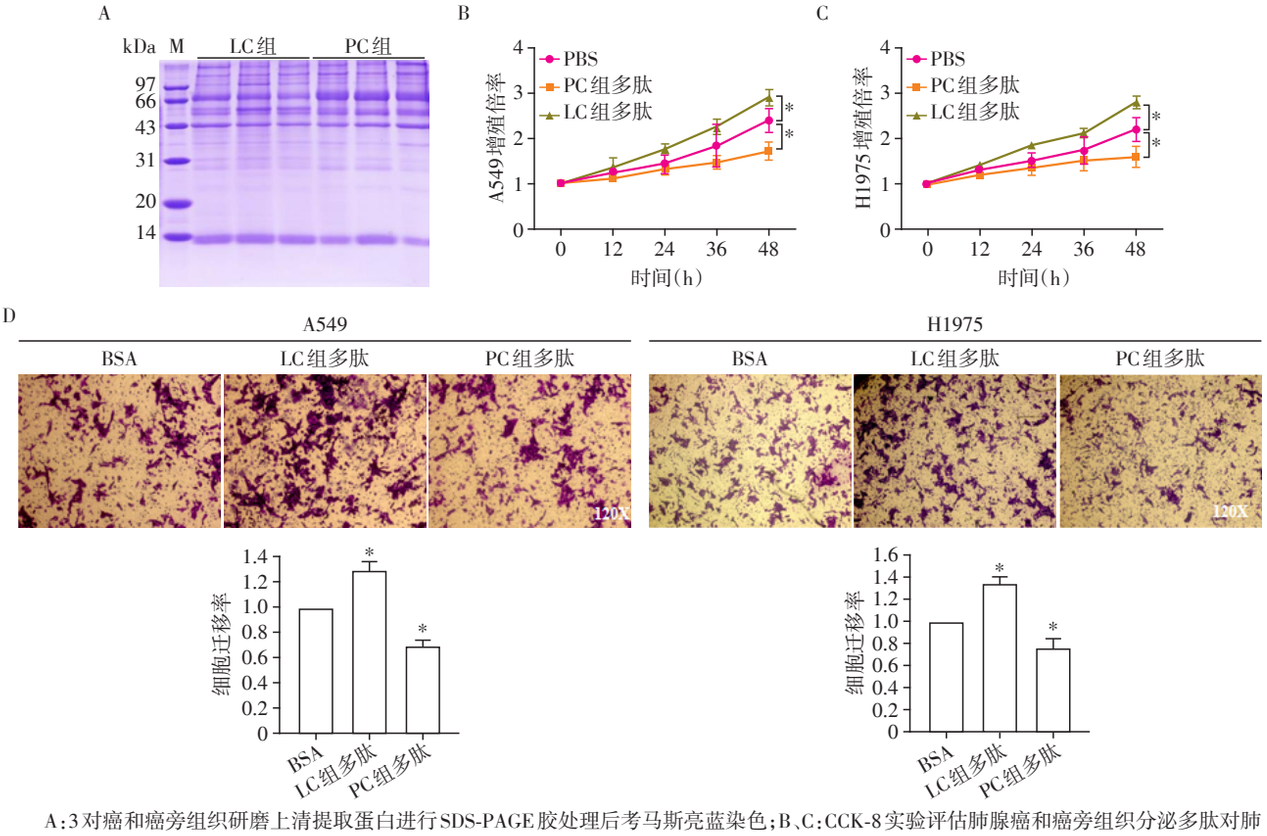
2 结 果

2.1 肺腺癌组织和癌旁组织分泌的内源性多肽对A549和H1975细胞恶性表型的影响

将年龄匹配的3例男性肺腺癌患者的癌组织(LC组)和癌旁组织(PC组)研磨提取上清后,SDS-PAGE胶结果显示研磨组织上清中的确含有许多14 kDa以下的小分子多肽(图1A)。后续通过相关实验提取组织中的小分子多肽,为了验证两组多肽是否有功能,将两组多肽以20 μmol/L的浓度加入到肺腺癌细胞株A549和H1975中。CCK-8结果显示,与PBS对照组相比,LC组多肽显著促进了A549和H1975的增殖,而PC组多肽则抑制了A549和H1975的增殖(图1B、C);Transwell实验显示LC组多肽能促进A549和H1975细胞的迁移能力,PC组多肽则能抑制A549和H1975细胞的迁移能力(图1D)。这些结果提示,肺腺癌组织分泌的多肽可能促进肺腺癌细胞株的恶性表型,而癌旁组织分泌的多肽则具有抑制肺腺癌细胞株恶性表型的能力。

2.2 肺腺癌和癌旁组织分泌多肽的基本特征

以LC-MS/MS技术鉴定了上清中分泌的4 538条多肽,结果发现了242条在两组间有差异表达的多肽,共关联202个前体蛋白(部分前体蛋白关联数个多肽);其中,相对于PC组,LC组中有低表达的多肽95条,差异高表达的多肽147条(差异倍数≥2.0,FDR<0.05)(图2A、B)。通过在线工具计算了这些差异多肽的分子量和等电点,其分子量主要分布在≥2 000、700~<900、500~<700 Da这3个区间;等电点主要分布在10~<11、8~<9、9~<10这3个区间(图2C、D)。先前研究发现,内源性多肽的功能往往与其前体蛋白的功能相关,为了寻找这些差异多肽前体蛋白的潜在功能,进一步进行了GO分析和



A：3对癌和癌旁组织研磨上清提取蛋白进行SDS-PAGE胶处理后考马斯亮蓝染色；B、C：CCK-8实验评估肺腺癌和癌旁组织分泌多肽对肺腺癌细胞A549(B)和H1975(C)增殖的影响，与对照组(PBS)比较，$^{*}P<0.05$(n=3)；C：Transwell实验评估肺腺癌和癌旁组织分泌多肽对肺腺癌细胞迁移的影响，与对照组(BSA)比较，$^{*}P<0.05$(n=3)。

图1　肺腺癌和癌旁组织分泌多肽检测以及功能验证

Figure 1　Detection and functional verification of peptides secreted by lung adenocarcinoma and adjacent tissues

KEGG通路富集分析(图2E、F)，此外，通过在线工具对这些差异多肽前体蛋白绘制了蛋白互作网络图(图2G)。

2.3　功能性差异多肽的筛选及其基本特征

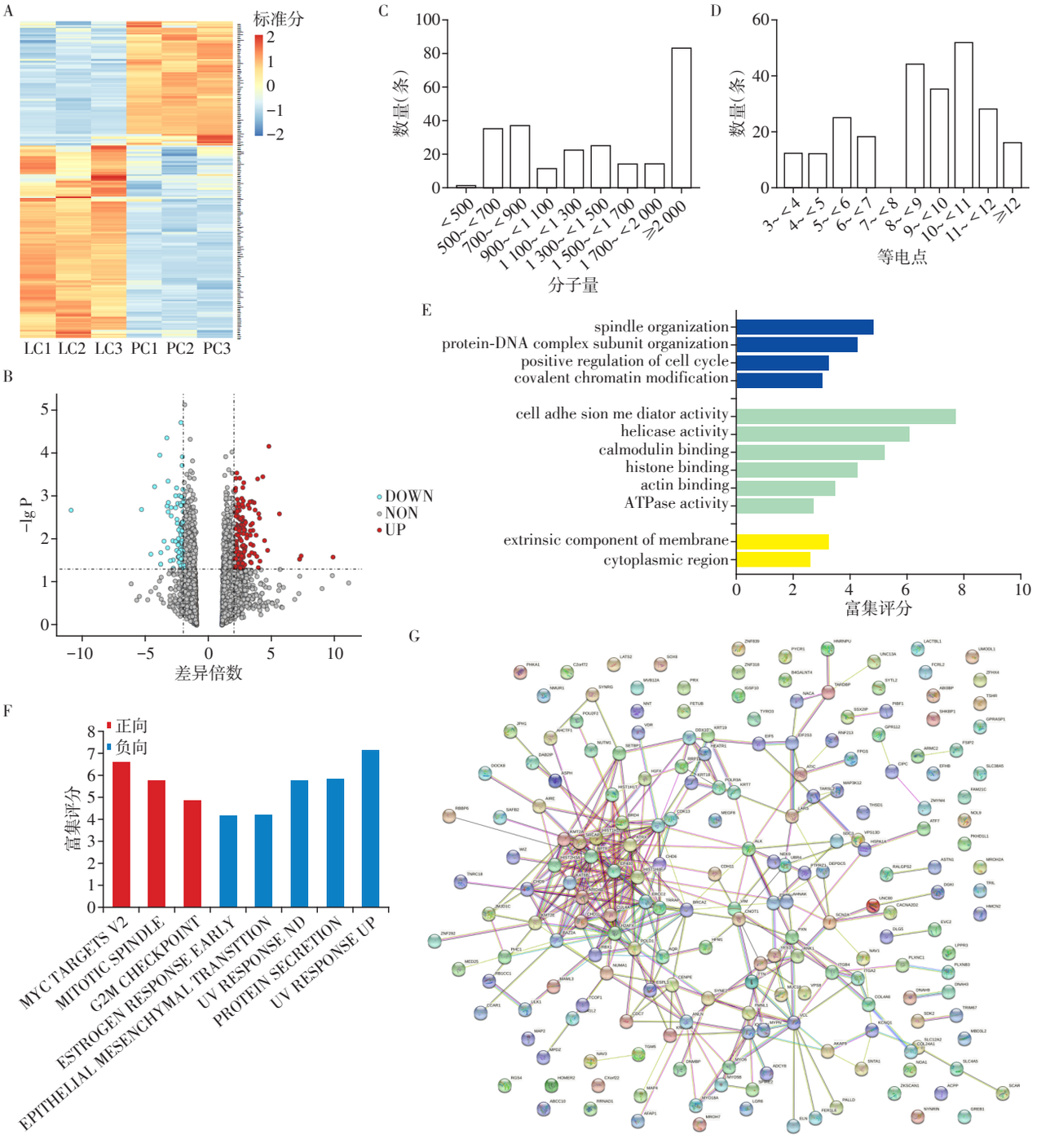
用Open Targets Platform在线工具预测这些差异前体蛋白与肺癌之间的关系，在分析的202个前体蛋白中，有79个蛋白可能与肺癌发生与发展存在关联。与这些前体蛋白对应的共有101条多肽，根据LC-MS/MS分析的结果，选取了其中组间差异较大(差异倍数≥3)、组内差异相对较小、质谱信号较高，同时在PC组高表达的7条多肽进行进一步的功能研究。拟研究的这7条多肽的前体蛋白分别是：KAT6B、IQGAP1、ITGA2、BRD4、HSPA1A、VDR和IGSF10。研究发现，这7种前体蛋白(或对应编码基因)都被明确报道与肺癌相关[15-21]。为了便于研究，将这7条多肽分别命名为LACRP1~7(lung adenocarcinoma related peptide1-7)。在此基础上，利用在线工具ProtParam tool，对这7条多肽进行进一步的分析(表1)，结果发现，LACRP4、LACRP6这两条多肽不稳定系数较高(>40)，故在后续研究中将其剔除。

2.4　多肽LACRP2在A549和H1975细胞中的体外功能实验

将通过化学合成得到的多肽LACRP1、LACRP2、LACRP3、LACRP5、LACRP7，以20、50 μmol/L的浓度加入到人肺腺癌细胞株A549和H1975中进行生物学功能实验。划痕结果显示，在浓度为50 μmol/L时，仅有多肽LACRP2能同时抑制A549和H1975的迁移(图3A)；然而CCK-8试验未能证实LACRP2对A549和H1975增殖能力的抑制(图3B、C)，Transwell实验结果显示LACRP2能抑制A549和H1975的侵袭能力(图3D)。这些结果证实多肽LACRP2具有体外抑制肺腺癌细胞株部分恶性表型的功能。

3　讨　论

近年来，由于存在低分子量、高灵敏度、低耐药性和易于修饰等优点，肽类药物成为众多研究的热点，多种抗肿瘤肽已上市并应用于患者的临床



A:选择 FDR<0.05、差异倍数≥2的多肽进行聚类分析;B:检测的4 538条多肽的火山图分析,其中红色点代表差异上调多肽,蓝色点代表下调多肽;C、D:两组差异多肽分子量(C)及等电点(D)分析;E:差异多肽的前体蛋白GO分析;F:差异多肽的前体蛋白KEGG通路富集分析;G:差异多肽的前体蛋白蛋白互作网络图(version:11.5,https://string-db.org/)。

图2 多肽的基本特征及其潜在功能分析

Figure 2 Basic characteristics and potential function analysis of peptides

治疗[22]。肽可以通过多种机制诱导细胞死亡,包括破坏细胞膜、细胞凋亡、肿瘤血管生成抑制、免疫调节、细胞信号通路破坏、细胞周期调节、DNA修复通路或其他细胞死亡途径。但抗肿瘤肽的研究主要集中于通过文库制备生物合成肽,内源性肽的研究相对较少。

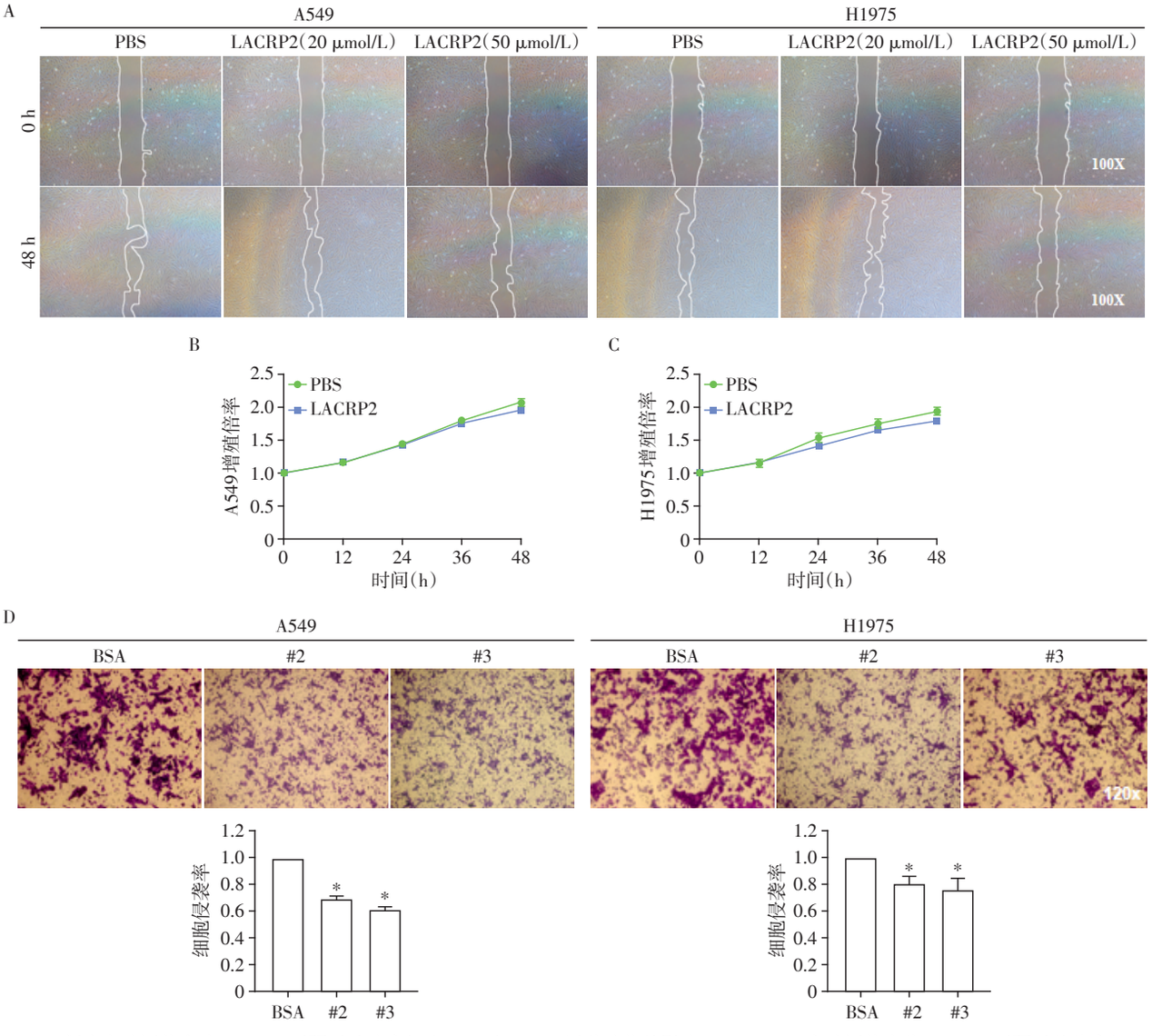
随着研究的深入,内源性多肽被发现在大多数生理过程中发挥着重要作用,例如神经递质、激素、细胞因子调控、免疫调节等[23]。由于质谱技术的进步,多肽组学成为蛋白质组学分化出来的新兴领

表1　7条内源性多肽的基本特征

Table 1　Basic characteristics of 7 endogenous peptides

多肽	氨基酸序列	前体蛋白	分子质量	等电点	不稳定系数	脂肪指数	亲水性
LACRP1	GATTKITTTSTYISASTLKVNKKTK	KAT6B	2 644.06	10.30	5.49	66.40	−0.484
LACRP2	KTEVSLTL	IQGAP1	890.04	6.00	32.83	133.75	0.275
LACRP3	RVYLFTIKK	ITGA2	1 167.46	10.29	−8.92	118.89	0.111
LACRP4	KKSKAKEPPPKKT	BRD4	1 466.79	10.30	53.68	7.69	−2.415
LACRP5	KAQIHDLVLVGGSTRIP	HSPA1A	1 804.12	8.75	17.24	131.76	0.253
LACRP6	QDAALIEAIQDRLSNTLQTYIRCRHPP	VDR	3 123.54	6.75	59.51	97.78	−0.559
LACRP7	LLLENKPSVEKTT	IGSF10	1 471.71	6.14	36.46	112.31	−0.500

不稳定系数越高，多肽越不稳定。脂肪指数越高，多肽亲脂性越高。亲水性系数小于0，多肽亲水；系数大于0，多肽疏水。



A：划痕实验评估多肽LACRP2干预对肺腺癌细胞A549和H1975迁移功能的影响；B、C：CCK-8实验评估多肽LACRP2干预对肺腺癌细胞A549(B)和H1975(C)增殖的影响(n=3)；D：Transwell实验评估多肽LACRP2干预对肺腺癌细胞侵袭功能的影响，#2、#3为50 μmol/L LACRP2干预时不同小室的平行结果(×120)，与对照组(BSA)比较，$^{*}P<0.05$(n=3)。

图3　多肽LACRP2在细胞水平功能验证

Figure 3　Functional verification of polypeptide LACRP2 at the cell level

域,以机体内源性多肽为研究对象,研究多肽组的结构、功能、变化规律及其相关关系。这项技术可以更好地帮助了解肿瘤细胞及其复杂而特殊的基质微环境以及寻找特定的新生物标志物和治疗策略。本研究首次报道了人类肺腺癌和癌旁组织的多肽组学研究结果。分别提取了3对年龄匹配的男性肺腺癌组织和癌旁组织的内源性多肽,体外实验证实,这些多肽可以影响A549和H1975细胞株的部分恶性表型。后续使用LC-MS/MS技术,鉴定了10 kDa以下的4 538条多肽,约85%的多肽分子量小于3 kDa(3 843/4 538);经过比较,共筛选出242条存在差异表达的多肽,对应202个前体蛋白。

对这些差异前体蛋白进行生物信息学分析,GO分析的结果显示这些差异多肽的前体蛋白主要涉及细胞周期、染色质修饰、细胞黏附以及细胞骨架等重要生物学功能的调控;KEGG通路富集分析显示这些蛋白主要涉及上调MYC通路、细胞有丝分裂等,以及下调细胞EMT、对紫外线反应、蛋白分泌等。这些功能和通路均与肿瘤发生发展存在密切联系。而蛋白互作网络图表明这些差异前体蛋白之间存在较强的相互作用,位于网络图中蛋白互作最密切的区域,可以看到这些蛋白大多与细胞周期调节、染色质修饰、DNA损伤修复、转录调控等功能有关。以上结果也进一步佐证了上一步体外实验中的发现,这些差异多肽可能与肿瘤细胞的凋亡和迁移等有关。

通过公共数据库以及在线工具的挖掘,筛选出5条多肽进行后续研究。人工合成这5条多肽,验证它们对A549和H1975细胞株恶性表型的影响,最终发现LACRP2具有一定程度上抑制肺腺癌细胞恶性表型的功能。此外,检索了多肽数据库(BIOPEP、PeptideDB、APD2)和文献,未发现有关LACRP2多肽及同源序列的相关研究,说明这是一条全新的与肺腺癌细胞恶性表型相关的内源性多肽。该多肽氨基酸序列为KTEVSLTL,其分子量为890.04 Da,属于小分子多肽,等电点为6.0,不稳定系数32.83,属于稳定结构;其脂肪指数133.75,亲水性0.275,属于亲脂性多肽。这也提示LACRP2易通过扩散或胞吞作用进入细胞内,其前体蛋白为IQGAP1。研究证实,MAP4K3转基因小鼠揭示了该基因可通过形成蛋白复合物、磷酸化来激活IQGAP1,进而促进肺癌细胞的迁移,并诱导肺癌细胞产生远处转移;并且,MAP4K3-IQGAP1蛋白复合体的过表达亦会导致肺癌患者预后不良[24]。然而,LACRP2在肺腺癌发生发展中的分子机制没有阐明,其下游结合蛋白仍然未知,今后将通过进一步实验来研究和证实LACRP2在肺腺癌中的作用。

综上所述,本研究通过多肽组学手段,从肺腺癌组织和癌旁组织中筛选出具有抑制肺腺癌细胞恶性表型的新型内源性多肽LACRP2,目前该多肽未见其他报道。鉴于多肽类药物具有分子量小、肿瘤靶向性、低免疫原性、低耐药性、易于合成和改造等诸多优势,有望成为肿瘤治疗的新选择。

[参考文献]

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30

[2] MILLER K D, NOGUEIRA L, MARIOTTO A B, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(5): 363-385

[3] ZAPPA C, MOUSA S A. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances[J]. Transl Lung Cancer Res, 2016, 5(3): 288-300

[4] MAEMONDO M, INOUE A, KOBAYASHI K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR[J]. N Engl J Med, 2010, 362(25): 2380-2388

[5] RECK M, RABE K F. Precision diagnosis and treatment for advanced non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 377(9): 849-861

[6] PU X, WU L, SU D, et al. Immunotherapy for non-small cell lung cancers: biomarkers for predicting responses and strategies to overcome resistance[J]. BMC cancer 2018, 18(1): 1082

[7] FOSGERAU K, HOFFMANN T. Peptide therapeutics: current status and future directions[J]. Drug Discov Today, 2015, 20(1): 122-128

[8] VALIYARI S, SALAMI M, MAHDIAN R, et al. sIL-24 peptide, a human interleukin-24 isoform, induces mitochondrial-mediated apoptosis in human cancer cells[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2017, 80(3): 451-459

[9] ZHOU C, KANG J, WANG X, et al. Phage display screening identifies a novel peptide to suppress ovarian cancer cells *in vitro* and *in vivo* in mouse models[J]. BMC cancer, 2015, 15: 889

[10] TENG Y, BAHASSAN A, DONG D, et al. Targeting the WASF3-CYFIP1 complex using stapled peptides suppresses cancer cell invasion[J]. Cancer Res, 2016, 76(4): 965-973

[11] ARPEL A, SAWMA P, SPENLE C, et al. Transmembrane

domain targeting peptide antagonizing ErbB2/Neu inhibits breast tumor growth and metastasis[J]. Cell Rep, 2014,8(6):1714-1721

[12] LI C,ZHANG N,ZHOU J,et al. Peptide blocking of PD-1/PD-L1 interaction for cancer immunotherapy[J]. Cancer Immunol Res,2018,6(2):178-188

[13] ARPEL A,SAWMA P,SPENLE C,et al. Transmembrane domain targeting peptide antagonizing ErbB2/Neu inhibits breast tumor growth and metastasis[J]. Cell Rep, 2014,8(6):1714-1721

[14] GATENHOLM B,GOBOM J,SKILLBÄCK T,et al. Peptidomic analysis of cartilage and subchondral bone in OA patients[J]. Eur J Clin Invest,2019,49(5):e13082

[15] SIMO-RIUDALBAS L,PEREZ-SALVIA M,SETIEN F,et al. KAT6B Is a tumor suppressor histone H3 lysine 23 acetyltransferase undergoing genomic loss in small cell lung cancer[J]. Cancer Res,2015,75(18):3936-3945

[16] WANG Z,HAN Z,ZHANG L,et al. MicroRNA-98-5p regulates the proliferation and apoptosis of A549 cells by targeting MAP4K3[J]. Oncol Lett,2019,18(4):4288-4293

[17] WU X. Up-regulation of YPEL1 and YPEL5 and down-regulation of ITGA2 in erlotinib-treated EGFR-mutant non-small cell lung cancer: a bioinformatic analysis[J]. Gene,2018,643:74-82

[18] ZHENG J,ZHANG Y,CAI S,et al. MicroRNA-4651 targets bromodomain-containing protein 4 to inhibit non-small cell lung cancer cell progression[J]. Cancer Lett, 2020,476:129-139

[19] LIAO Y F,WU Y B,LONG X,et al. High level of BRD4 promotes non-small cell lung cancer progression[J]. Oncotarget,2016,7(8):9491-9500

[20] CHEN C Y,JAN CI,LO J F,et al. Tid1-L inhibits EGFR signaling in lung adenocarcinoma by enhancing EGFR ubiquitinylation and degradation[J]. Cancer Res, 2013, 73(13):4009-4019

[21] LING B,LIAO X,HUANG Y,et al. Identification of prognostic markers of lung cancer through bioinformatics analysis and *in vitro* experiments[J]. Int J Oncol, 2020, 56(1):193-205

[22] LI C M,HARATIPOUR P,LINGEMAN R G,et al. Novel peptide therapeutic approaches for cancer treatment[J]. Cells,2021,10(11):2908

[23] GREENING D W,KAPP E A,SIMPSON R J. The Peptidome comes of age: mass spectrometry-based characterization of the circulating cancer peptidome[J]. Enzymes, 2017,42:27-64

[24] CHUANG H C,CHANG C C,TENG C F,et al. MAP4K3/GLK promotes lung cancer metastasis by phosphorylating and activating IQGAP1[J]. Cancer Res, 2019, 79(19): 4978-4993

［收稿日期］ 2021-11-29

（本文编辑：陈汐敏）