



DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.11.005

· 基础研究 ·

COX7A2 敲低及其与顺铂联用对膀胱癌 J82 细胞增殖、凋亡及线粒体功能的影响

王烜¹, 张建敏¹, 李海霞²(1. 邯郸市第一医院 检验科, 河北 邯郸 056002; 2. 北京大学第一医院 检验科, 北京 100034)

[摘要] **目的:**探讨膀胱癌细胞中细胞色素c氧化酶亚基7A2(COX7A2)基因的表达,及其与顺铂联用对膀胱癌J82细胞增殖、凋亡及线粒体功能影响。**方法:**采用生物信息学方法分析COX7A2在膀胱癌患者中的表达,并在J82细胞中进行验证。功能实验分为对照组(仅转染阴性对照siNC)、siRNA组(仅转染COX7A2的siRNA)、对照组+顺铂组(先转染阴性对照后用顺铂处理)和siRNA+顺铂组(先敲低COX7A2后用顺铂处理)。CCK-8、Transwell迁移能力测试和克隆增殖实验检测对照组和siRNA组中J82细胞的增殖、迁移能力。采用相应试剂盒检测各组细胞的ATP水平、活性氧(ROS)水平及线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$),以评估线粒体功能。流式细胞术检测各组细胞凋亡,以反映细胞的线粒体状态与对顺铂治疗的响应性关系。进一步通过癌症治疗响应基因标识数据库(CTR-DB),分析COX7A2与接受顺铂联合治疗的膀胱癌患者预后的关系。**结果:**生物信息学分析与生存曲线显示,COX7A2在膀胱癌患者中高表达并且与患者预后不良有关联。COX7A2在J82细胞中呈高表达($P<0.05$)。在未经顺铂处理时,与对照组相比,siRNA组J82细胞增殖、迁移和克隆形成能力均显著下降(均 $P<0.001$),而线粒体的ATP表达减少($P<0.01$)、ROS表达量增多($P<0.0001$)、MMP发生去极化($P<0.0001$),凋亡水平增加($P<0.05$);顺铂处理后,与对照组+顺铂相比,siRNA+顺铂组ATP表达减少($P<0.01$)、ROS表达量增多($P<0.0001$)、MMP发生去极化($P<0.0001$),线粒体功能受损,凋亡水平增加($P<0.001$)。CTR-DB数据库分析显示,5例接受顺铂+多柔比星+甲氨蝶呤+长春碱联合治疗的膀胱癌患者中,有应答者比无应答者COX7A2中位RNA表达量低(中位表达量:4 501 vs 5 009),12例铂类药物联合治疗的膀胱癌患者中有应答者比无应答者COX7A2中位RNA表达量低(中位表达量:2 947 vs 3 035),由于样本量有限,虽观察到趋势但无统计学意义。**结论:**敲低COX7A2可通过损伤线粒体功能,抑制膀胱癌细胞增殖与迁移,并可能由此增强细胞对顺铂诱导凋亡的敏感性。

[关键词] 细胞色素c氧化酶亚基7A2;膀胱癌;线粒体损伤;顺铂;治疗反应

[中图分类号] R737.14; R730.53; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025)11-1136-07

Effects of COX7A2 knockdown and its combination with cisplatin on the proliferation, apoptosis, and mitochondrial function of bladder cancer J82 cells

WANG Xuan¹, ZHANG Jianmin¹, LI Haixia²(1. Department of Clinical Laboratory, Handan First Hospital, Handan 056002, Hebei, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial (COX7A2) expression in bladder cancer cells, and the effects of its combination with cisplatin on the proliferation, apoptosis, and mitochondrial function of bladder cancer J82 cells. **Methods:** Bioinformatics analysis was used to assess COX7A2 expression in bladder cancer patients, with validation in the J82 cell. Functional experiments included four groups: the Control group (siNC transfection only), the siRNA group (COX7A2 siRNA transfection only), the Control + Cisplatin group (siNC transfection followed by cisplatin), and the siRNA + Cisplatin group (COX7A2 knockdown followed by cisplatin). CCK-8, Transwell migration assay, and colony formation assay detected the proliferation and migration abilities in the Control and siRNA groups. The ATP level, the ROS level, and MMP of cells in each group were detected using corresponding kits to assess mitochondrial function. Flow cytometry detected cell apoptosis in each group to reveal the responsive relationship between mitochondrial status and cisplatin treatment. Furthermore, the Cancer Treatment Response gene signature Database (CTR-DB) was utilized to analyze the correlation between COX7A2 expression and the prognosis of bladder cancer patients receiving cisplatin-based combination therapy. **Results:** Bioinformatics analysis and survival curves showed that COX7A2 was highly expressed in bladder cancer patients and was associated with poor prognosis. COX7A2 was significantly overexpressed in J82 cells

[基金项目] 国家自然科学基金(No. 82472358); 邯郸市科学技术研究与发展计划(No. 21422083072)

[作者简介] 王烜(1995—),女,硕士,主管检验师,主要从事膀胱癌分子生物标志物与线粒体功能的研究

[通信作者] 李海霞;张建敏(扫码获取作者通信方式)



($P < 0.05$). Without cisplatin treatment, compared with the Control group, the siRNA group exhibited significantly decreased abilities in the proliferation, migration, and colony formation of J82 cells (all $P < 0.001$). Mitochondrial ATP expression decreased ($P < 0.01$); ROS expression levels increased ($P < 0.0001$); MMP depolarized ($P < 0.0001$), and the apoptosis levels increased ($P < 0.05$). After cisplatin treatment, compared with the Control + Cisplatin group, the siRNA + Cisplatin group showed decreased ATP expression ($P < 0.01$), increased ROS expression levels ($P < 0.0001$), MMP depolarization ($P < 0.0001$), impaired mitochondrial function, and increased apoptosis levels ($P < 0.001$). Bioinformatic analysis of the CTR-DB dataset indicated that among five bladder cancer patients receiving combination therapy of cisplatin, doxorubicin, methotrexate, and vincristine, responders had lower median COX7A2 RNA expression than non-responders (median expression: 4 501 vs 5 009). Similarly, among 12 bladder cancer patients receiving platinum-based combination therapies, responders showed lower median COX7A2 RNA expression than non-responders (median expression: 2 947 vs 3 035). However, due to the limited sample size, although a trend was observed, it did not reach statistical significance.

Conclusion: Knockdown of COX7A2 can inhibit the proliferation and migration of bladder cancer cells by impairing mitochondrial function, and may thereby enhance cellular sensitivity to cisplatin-induced apoptosis.

[Key words] cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial (COX7A2); bladder cancer; mitochondrial dysfunction; cisplatin; therapeutic response

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(11): 1136-1142. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.11.005]

膀胱癌是世界范围内常见的泌尿系统恶性肿瘤之一。2022年全球癌症负担数据(GLOBOCAN)显示,膀胱癌在所有肿瘤疾病中发病率排名第9位,病死率为世界第12位,主要发生于老年男性,是男性中第四大危险肿瘤,严重威胁患者的生命健康^[1-3]。常见的膀胱癌治疗主要是以顺铂为基础的新辅助治疗^[4],这种治疗方法可以显著降低膀胱癌病灶的残留率,但是并非所有患者都适用新辅助治疗,有些患者表现出肿瘤反应较弱且副作用严重的现象^[5]。细胞色素c氧化酶亚基7A2(cytochrome c oxidase subunit 7A2, mitochondrial; COX7A2)是细胞色素c氧化酶(COX)家族中的蛋白亚基,参与线粒体呼吸链末端的限速反应与能量供应。研究表明,COX7A2在食管癌、卵巢癌和胃癌^[6-8]中促进了肿瘤的发展,但在胶质瘤^[9]中,COX7A2过表达的患者表现出良好的预后。本课题组前期研究发现, lncRNA MIR205HG可以通过调节COX家族中的COX1蛋白影响膀胱癌的增殖与迁移,COX1和COX7A2可通过各自编码mRNA上的两段互补序列发生相互作用。但是关于COX7A2在膀胱癌中与肿瘤发生发展的关系尚少见报道。由于COX7A2与肿瘤进展密切相关,以及在不同肿瘤中的作用存在矛盾,本研究拟在膀胱癌细胞及小鼠移植瘤模型中阐明COX7A2功能,观察COX7A2低表达导致的细胞线粒体缺陷对顺铂的反应。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

胎牛血清购自Procell公司,DMEM培养基购自Gibco公司,F12培养基购自Gibco公司,siRNA及引物购自北京擎科生物科技有限公司,Lipofectamine RNAiMAX转染试剂购自Invitrogen公司,Opti-MEM培养基购自Gibco公司,TRIzol试剂购自Thermo Fisher

Scientific公司,PrimeScript逆转录试剂盒购自TaKaRa公司,SYBR Green Mix购自Biosystems公司,细胞裂解缓冲液购自Solarbio公司,PVDF膜购自Millipore公司,COX7A2一抗购自Sangon Biotech公司,山羊抗兔IgG二抗购自Abclonal公司,GAPDH抗体购自CST公司,Tanon ECL化学发光试剂盒购自Tanon公司,CCK-8试剂盒购自LabLead公司,Transwell小室购自Corning公司,顺铂购自BioSharp公司,ATP检测试剂盒购自碧云天公司,MitoSOX Red线粒体超氧化物指示剂购自Invitrogen公司,JC-1检测试剂盒购自碧云天公司,Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自Vazyme公司,ABI 7500实时PCR系统购自Applied Biosystems公司,G:BOX Chemi XT4成像系统购自Syngene公司。

1.2 细胞培养

本研究使用的细胞系是人膀胱永生上皮细胞系SV-HUC-1,人膀胱癌J82细胞系,均来自中国科学院细胞库。J82细胞采用含有10%胎牛血清购自Procell公司和1%青霉素和链霉素的DMEM培养基,SV-HUC-1细胞用含10%胎牛血清(FBS)的F12培养基,于37°C,5%CO₂的培养箱内培养。

1.3 siRNA转染与分组

设计了3条靶向COX7A2的小干扰RNA(siRNA1、siRNA2、siRNA3,表1)对J82细胞进行敲低。对照组(仅用siNC处理J82细胞),siRNA组(仅用siRNA-COX7A2敲低处理的J82细胞)。J82细胞以 5×10^5 个/孔的密度接种在6孔板中。当细胞达到70%汇合时进行细胞转染。转染试剂为Lipofectamine RNAiMAX,于Opti-MEM培养基中溶解。24 h后观察细胞培养状态并及时换液。

1.4 RT-qPCR检测基因相对表达量

使用TRIzol试剂提取细胞总RNA。随后,使用PrimeScript逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA。

qPCR 反应采用 SYBR Green Mix, 于 ABI 7500 实时 PCR 系统上进行。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量, 以 GAPDH mRNA 作为内参。

1.5 WB 法检测转染 COX7A2 siRNA 对 COX7A2 蛋白表达的影响

使用细胞裂解缓冲液分别提取对照组和 siRNA 组细胞的总蛋白。通过 4%~15% SDS-PAGE 分离蛋白, 并转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。用 5% 脱脂牛奶封闭后, 与 COX7A2 一抗(1:500)于 4°C 处理过夜。随后, 加入山羊抗兔 IgG(1:4 000)二抗进行反应。使用 Tanon ECL 化学发光试剂盒(180-5001)进行显色, 并通过 G:BOX Chemi XT4 成像系统采集图像。使用 GAPDH 抗体(1:1 000)作为内参。

1.6 CCK-8 法检测敲低 COX7A2 对 J82 细胞活力的影响

使用 CCK-8 试剂盒检测细胞活力。转染后, 将对照组和 siRNA 组细胞以每孔 800 个的密度接种于 96 孔板中, 分别培养 0、1、3、5 d。在每个预定时间点, 向每孔中加入 10 μ L CCK-8 试剂, 于 37 °C 培养箱中继续处理 2 h。最后, 使用酶标仪在 450 nm 波长下测定各孔的光密度(D)值。

1.7 Transwell 法检测敲低 COX7A2 对 J82 细胞迁移的影响

将 200 μ L 经血清饥饿处理的对照组和 siRNA 组细胞悬液接种于 Transwell 小室(Corning, 美国)的上室。下室中加入 650 μ L 含 15% 胎牛血清的培养基作为趋化剂。24 h 后, 取出小室, 用 4% 多聚甲醛固定 15 min, PBS 清洗, 再用 0.5% 结晶紫染色 10 min。用棉签轻轻擦去上室未迁移的细胞后, 在显微镜下随机选取多个视野对迁移至下室的细胞进行拍照并计数。

1.8 克隆形成实验检测敲低 COX7A2 对 J82 细胞增殖的影响

将对照组和 siRNA 组细胞以每孔 1 500 个的密度接种于 6 孔板中, 在含 10% 胎牛血清的培养基中培养 7 d。培养结束后, 弃去培养基, 用 4% 多聚甲醛固定细胞 15 min, PBS 清洗, 再用 0.5% 结晶紫染色 10 min。最后, 使用 ImageJ 软件对直径大于 50 μ m 的细胞克隆团进行计数。

1.9 顺铂处理 J82 细胞建立药物干预模型

为探究顺铂敏感性, 设置以下 4 组进行实验: 对照组(仅用 siNC 转染的 J82 细胞)、siRNA 组(仅用 siRNA-COX7A2 转染的 J82 细胞)、对照+顺铂组(siNC 转染后,

再用 16 μ mol/L 顺铂处理 24 h)、siRNA+顺铂组(siRNA-COX7A2 转染后, 再用 16 μ mol/L 顺铂处理 24 h)。

1.10 ATP 检测试剂盒检测敲低 COX7A2 联合顺铂处理对 J82 细胞内 ATP 水平的影响

采用 ATP 检测试剂盒测定细胞内 ATP 水平。收集并裂解 4 组细胞(对照组、siRNA 组、对照+顺铂组、siRNA+顺铂组), 将裂解液上清加入 96 孔白板中, 随后按照试剂盒说明加入 ATP 工作液。反应 3 min 后, 使用多功能酶标仪检测化学发光信号(RLU)。

1.11 MitoSOX 法检测敲低 COX7A2 联合顺铂处理对 J82 细胞内线粒体超氧化物水平的影响

采用 MitoSOX Red mitochondrial superoxide indicator 测定线粒体超氧化物水平。收集四组细胞(对照组、siRNA 组、对照+顺铂组、siRNA+顺铂组), 用 Hanks 平衡盐溶液(HBSS)重悬细胞, 并调整密度至 1×10^5 个/mL。加入 MitoSOX 试剂工作液后, 于 37 °C 避光反应 30 min, 用 HBSS 洗涤细胞两次, 重悬后立即使用流式细胞仪进行检测, 激发波长为 405 nm, 发射波长为 605 nm。

1.12 JC-1 法检测敲低 COX7A2 联合顺铂处理对 J82 细胞内线粒体膜电位变化的影响

使用 JC-1 检测试剂盒测定线粒体膜电位。收集 4 组细胞, 与按说明书稀释的 JC-1 染色工作液于 37 °C 避光反应 20 min。反应结束后, 用洗涤缓冲液洗涤细胞 3 次, 随后使用流式细胞仪进行荧光检测。JC-1 单体的最大激发/发射波长为 514/529 nm; JC-1 聚合物的最大发射波长为 590 nm。

1.13 Annexin V-FITC/PI 双染法检测敲低 COX7A2 联合顺铂处理对 J82 细胞凋亡的影响

采用 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡。收集 4 组细胞, 用 500 μ L 结合缓冲液重悬细胞, 并调整细胞密度至 1×10^5 个/mL。向细胞悬液中加入 Annexin V-FITC 与 PI 染液, 于 4 °C 避光反应 15 min, 随后使用流式细胞仪进行检测。FITC 和 PI 的激发波长均为 488 nm, 发射波长分别为 520 nm 和 560 nm。

1.14 统计学处理

使用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 采用 GraphPad Prism 8 软件绘制柱状图。两组间比较采用 Student's *t* 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

表 1 靶向 COX7A2 的 siRNA 序列(5'-3')

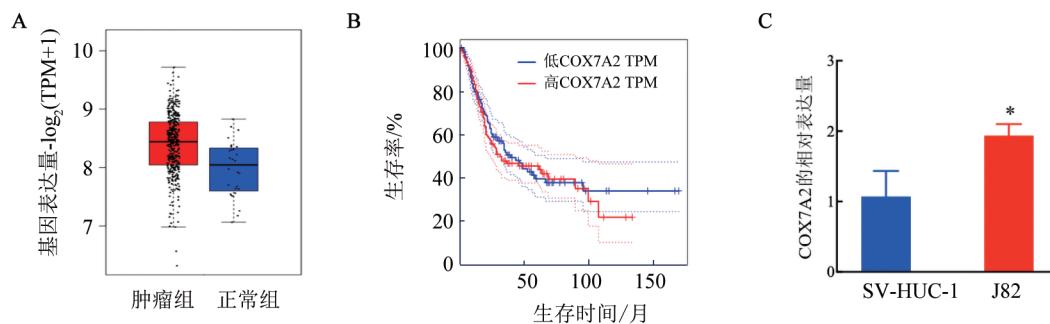
siRNA	正义链	反义链
siRNA1	GCAAUCGCUUGGUUCAGUU	AACUGAACCAAGCGAUUGC
siRNA2	CUAUGGACCAAGUAUCUGA	UCAGAUUACUGGUCCAUAG
siRNA3	GAUUGGGCAGAGGACGAUA	UAUCGUCCUCUGCCCAAUC

2 结 果

2.1 COX7A2 在膀胱癌组织中呈高表达

通过 GEPIA 数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn/>) 对 COX7A2 的表达进行分析。共纳入 432 例样本 (肿瘤组织 404 例, 正常组织 28 例), 结果显示 COX7A2 在膀胱癌组织中表达显著升高 (图 1A)。基于此队列的生存分析显示, COX7A2 低表达患者的总生存期更

长, 预后更好 (图 1B)。进一步通过 SEDB 数据库 (<https://bio.liclab.net/sedb/>) 对膀胱癌细胞系的增强子进行分析, 结果显示 COX7A2 在 J82 膀胱癌细胞系中呈高表达。为验证上述发现, 通过 RT-qPCR 检测了膀胱癌 J82 细胞与正常膀胱永生化上皮 SV-HUC-1 细胞中 COX7A2 的 mRNA 表达水平。实验证实, 与正常对照相比, COX7A2 在 J82 细胞中表达显著上调 (图 1C, $P < 0.05$)。



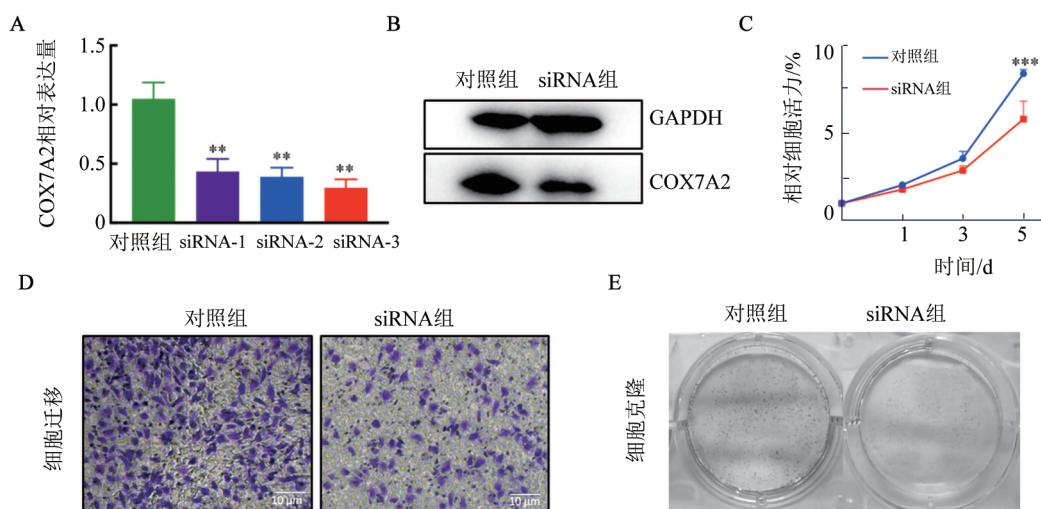
A: GEPIA 数据库中 COX7A2 在膀胱癌组织 ($n=404$) 与正常组织 ($n=28$) 中的表达水平; B: GEPIA 数据库中 COX7A2 表达水平与膀胱癌患者总生存期的关系; C: RT-qPCR 检测 COX7A2 在膀胱癌 J82 细胞与正常膀胱永生化上皮 SV-HUC-1 细胞中的 mRNA 相对表达量, 与 SV-HUC-1 细胞相比, $*P < 0.05$ 。

图 1 COX7A2 在膀胱癌组织与细胞中的表达及其预后意义

2.2 敲低 COX7A2 抑制 J82 细胞的增殖与迁移能力

RT-qPCR 结果显示, 3 条 siRNA 均能有效降低 COX7A2 mRNA 水平, 其中 siRNA3 的敲低效率最高, 达 70.4% (图 2A, $P < 0.01$)。选用效率最高的 siRNA3 进行后续实验, 并通过 WB 在蛋白水平验证了其敲低效果。定量分析表明, siRNA3 转染后,

COX7A2 蛋白表达量降至对照组的 39% (图 2B, $P < 0.01$)。CCK-8 实验结果显示, 其细胞增殖能力被显著抑制 (图 2C, $P < 0.001$)。Transwell 实验结果表明, 细胞的迁移能力降至对照组的 30% (图 2D, $P < 0.001$)。克隆形成实验进一步证实, 其增殖能力降至对照组的 41% (图 2E, $P < 0.001$)。



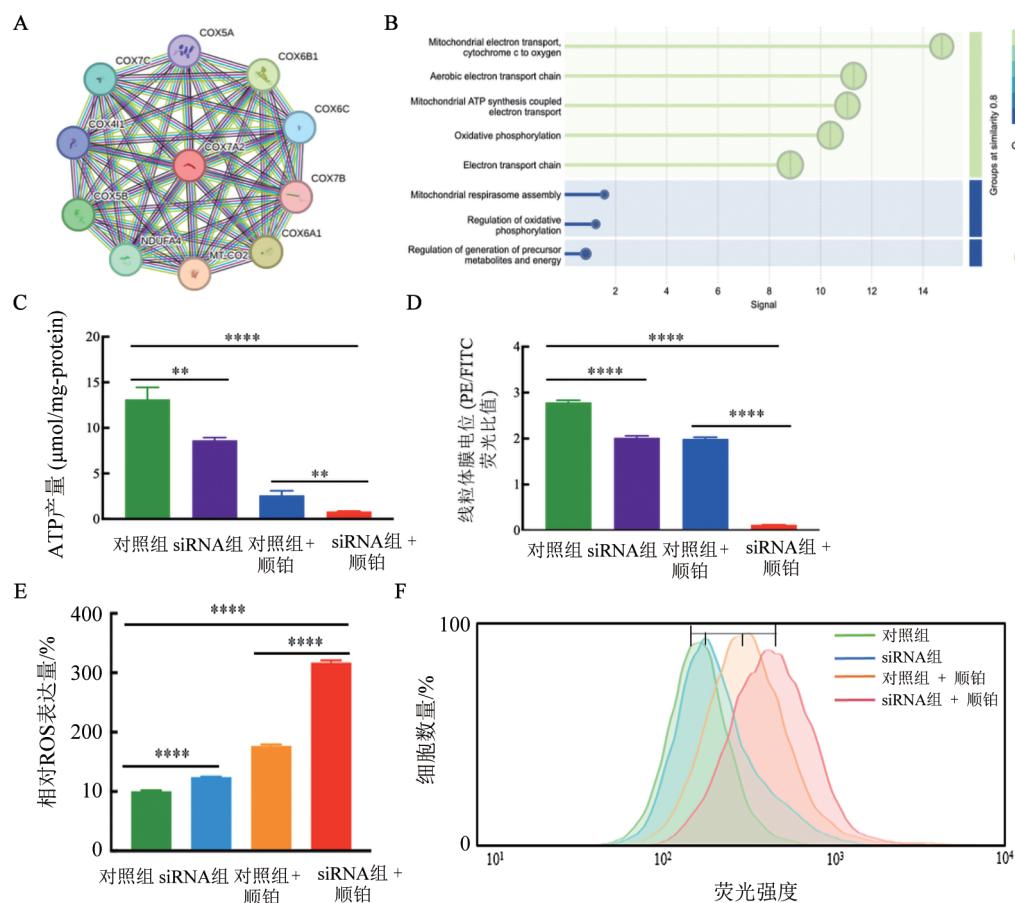
A: RT-qPCR 验证三条 siRNA 对 J82 细胞中 COX7A2 mRNA 的敲低效率; B: WB 法检测 siRNA3 对 COX7A2 蛋白的敲低效果; C: CCK-8 实验检测细胞增殖活力; D: Transwell 实验检测细胞迁移能力; E: 克隆形成实验检测细胞增殖能力。与对照组相比, $**P < 0.01$ 。

图 2 敲低 COX7A2 抑制 J82 细胞的增殖与迁移能力

2.3 敲低COX7A2后J82细胞线粒体功能受损

通过STRING数据库(<https://string-db.org/>)对COX7A2的互作蛋白网络进行分析(图3A),并进行了GO富集分析。结果显示,COX7A2显著富集于线粒体相关的生物过程,如氧化磷酸化和电子传递链(图3B),提示其在线粒体功能中扮演重要角色。为评估线粒体功能检测了ATP水平、线粒体膜电位(MMP)和ROS水平,结果显示,敲低COX7A2导致

J82细胞线粒体功能严重受损,具体表现为ATP生成显著减少(图3C, $P < 0.01$)、MMP表达下降(即去极化)(图3D, $P < 0.0001$)、以及ROS水平急剧升高(图3E、F, $P < 0.0001$)。与对照+顺铂组相比,siRNA+顺铂组的细胞表现出更严重的ATP耗竭(图3C, $P < 0.01$)、MMP崩溃(图3D, $P < 0.0001$)和ROS积聚(图3E、F, $P < 0.0001$)。



A:STRING数据库分析的COX7A2蛋白互作网络;B:COX7A2及其互作蛋白的GO生物过程富集分析;C:各组细胞ATP水平检测;D:各组细胞线粒体膜电位(MMP)相对水平;E:各组细胞活性氧(ROS)相对水平;F:各组细胞ROS水平的代表性流式细胞术检测图。 $**P < 0.01$, $***P < 0.001$, $****P < 0.0001$ 。

图3 COX7A2敲低对J82细胞线粒体功能的影响

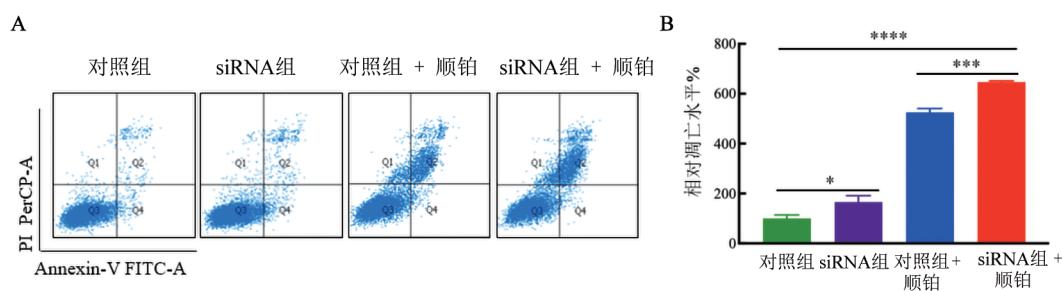
2.4 敲低COX7A2通过诱导线粒体缺陷增强J82细胞对顺铂的化疗敏感性

流式细胞术检测细胞凋亡结果显示,与对照组相比,siRNA组的基础凋亡水平有所升高(图4, $P < 0.05$)。更重要的是,在顺铂处理后,siRNA组+顺铂的J82细胞凋亡率显著高于对照组+顺铂(图4, $P < 0.001$)。这表明,COX7A2敲低所致的线粒体缺陷能够显著增强J82细胞对顺铂诱导凋亡的敏感性。

2.5 COX7A2 RNA表达与膀胱癌患者接受顺铂为

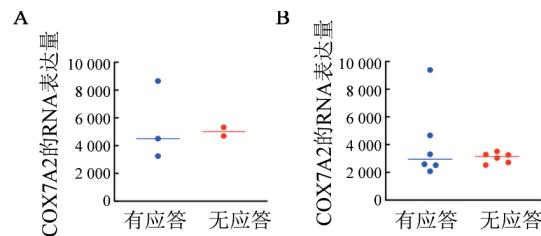
基础的新辅助治疗响应的关系

通过CTR-DB数据库(Cancer Treatment Response gene signature Database, <http://ctrdb.cloudna.cn/home>)分析COX7A2表达与铂类药物疗效的关系。数据来源于两个独立的膀胱癌队列:队列1包含5例接受顺铂、多柔比星、甲氨蝶呤和长春碱联合治疗的患者;队列2包含12例接受卡铂和吉西他滨联合治疗的患者。在2个队列中,治疗有应答者的COX7A2中位表达水平均低于无应答者(队列1:4 501 vs 5 009;队列2:2 947 vs 3 035)。



A:流式细胞术检测细胞凋亡的代表性散点图;B:各组细胞凋亡率的统计分析。 $*P<0.05$, $^{***}P<0.001$, $^{****}P<0.0001$ 。

图4 敲低COX7A2增强J82细胞对顺铂的化疗敏感性



A:5例接受顺铂联合化疗的膀胱癌患者中,有应答与无应答者的COX7A2表达水平;B:12例接受卡铂联合化疗的膀胱癌患者中,有应答与无应答者的COX7A2表达水平。

图5 COX7A2 RNA 表达水平与膀胱癌患者铂类药物疗效的关系

3 讨 论

顺铂是一种广泛用于治疗多种恶性肿瘤的化疗药物,它能有效改善膀胱癌患者的临床预后。因此,以顺铂为基础的新辅助化疗已成为膀胱癌的标准治疗方案之一。其作用机制主要在于顺铂进入细胞后解离出的铂离子,能与DNA链交联,从而干扰DNA的复制与转录,最终诱发DNA损伤反应并导致细胞凋亡^[10]。然而,部分患者在接受治疗过程中会出现顺铂敏感性降低或完全无应答的情况,其背后机制复杂多样。研究表明,癌基因突变可能通过改变靶蛋白表达或在其下游通路产生新突变,从而中和药物效力^[11];此外,癌细胞还能激活多种耐药机制,进而对药物治疗产生抵抗^[12]。目前,对于膀胱癌中影响以顺铂为基础的新辅助化疗应答的关键因素,仍有待深入探索。

近年来研究显示,线粒体损伤与肿瘤的发生,发展,预后和耐药性密切相关。有研究显示一些抗癌化合物可以靶向线粒体中的某些位点,例如二甲基双胍可以靶向电子传递链;顺铂可以靶向线粒体的DNA^[13];白藜芦醇可以影响线粒体内的氧化还原系统^[14-17]。因此线粒体状态能改变化疗药物的作用效果以影响癌细胞对化疗药物的抗性。COX7A2作为线粒体呼吸链上限速酶的亚基在维护线粒体功能中起到了关键性作用。前期研究显示,COX7A2可能作为

一种肿瘤生物标志物,但其功能存在肿瘤类型依赖性:例如在食管癌中,COX7A2高表达促进肿瘤增殖,敲低后则抑制细胞生长^[6];而在胶质瘤中,COX7A2高表达却与患者良好的预后相关^[9]。这种看似矛盾的功能促使本课题组探究COX7A2在膀胱癌中的具体作用。

本研究首先通过生物信息学分析发现,COX7A2在膀胱癌组织中显著高表达,且其高表达与患者不良预后相关。这一发现在膀胱癌J82细胞系中得到了实验验证。为探究其功能,构建了COX7A2敲低的J82细胞模型,并发现敲低COX7A2能显著抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移与克隆形成能力。COX7A2是位于线粒体呼吸链复合体IV(呼吸链的末端限速酶)上的蛋白亚基,与线粒体上的其他蛋白亚基相互作用(图3A),对维持正常线粒体功能十分重要(图3B)。本研究发现,敲低COX7A2后线粒体功能受损,并且敲低COX7A2再用顺铂处理可以累积膀胱癌细胞的线粒体损伤。细胞凋亡检测结果显示,与单独顺铂处理相比,预先敲低COX7A2再联合顺铂处理能诱导更高水平的细胞凋亡。这表明,通过敲低COX7A2预先诱导线粒体损伤,能够与顺铂协同作用,共同加剧细胞的致死性效应,这与线粒体毒性及线粒体主导的内在凋亡通路理论相符^[17-20]。通过CTR-DB数据库分析了COX7A2表达量与顺铂治疗的药物反应性关系,在两组铂类治疗的膀胱癌队列中低表达COX7A2的患者对化疗药物的响应性更好,这也与本研究的结果一致。本研究的局限性在于数据库中的临床样本数量少,因此在后续的相关研究中我们希望进一步在动物模型中进行验证,并希望能纳入临床队列进行研究。

总之,线粒体是抗癌药物的重要作用靶点。已有研究表明,多柔比星、芬维A胺等药物可特异性靶向COX7A2所在的线粒体呼吸链复合体IV,从而诱导细胞死亡^[6,21-23]。因此,深入研究顺铂治疗前对线粒体功能进行干预(即“线粒体预处理”)以增强化疗效果的策略,可能为逆转顺铂耐药或治疗无应答患者

提供新的思路。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在任何利益冲突。

致谢:感谢北京大学第一医院与邯郸市第一医院检验科同事的大力支持。

参 考 文 献

[1] PENG M, CHU X T, PENG Y, *et al*. Targeted therapies in bladder cancer: signaling pathways, applications, and challenges[J/OL]. *MedComm*, 2023, 4(6): e455[2025-05-09]. <http://dx.doi.org/10.1002/mco2.455>. DOI:10.1002/mco2.455.

[2] YANG T T, LUO W R, YU J, *et al*. Bladder cancer immune-related markers: diagnosis, surveillance, and prognosis[J/OL]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1481296[2025-05-09]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1481296>. DOI:10.3389/fimmu.2024.1481296.

[3] HASAN N, YANG D, GIBSON S, *et al*. Advancements in bladder cancer treatment: the synergy of radiation and immunotherapy[J]. *Oncotarget*, 2025, 16(1): 337-346. DOI:10.18632/oncotarget.28723.

[4] DENG M H, ZHOU Z H, CHEN J W, *et al*. Enhanced oxidative phosphorylation driven by TACO1 mitochondrial translocation promotes stemness and cisplatin resistance in bladder cancer[J/OL]. *Adv Sci*, 2025, 12(5): e2408599[2025-05-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39656941/>. DOI:10.1002/advs.202408599.

[5] CERSOSIMO R J. Targeted and immunotherapy for the management of advanced urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2024, 81(22): 1109-1123. DOI:10.1093/ajhp/zxae090.

[6] AICHLER M, ELSNER M, LUDYGA N, *et al*. Clinical response to chemotherapy in oesophageal adenocarcinoma patients is linked to defects in mitochondria[J]. *J Pathol*, 2013, 230(4): 410-419. DOI:10.1002/path.4199.

[7] MA X H, LIGAN C, HUANG S J, *et al*. Mitochondrial activity related genes of mast cells identify poor prognosis and metastasis of ovarian cancer[J/OL]. *Immunobiology*, 2024, 229(5): 152831[2025-05-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38944891/>. DOI:10.1016/j.imbio.2024.152831.

[8] MOTTAGHI-DASTJERDI N, GHORBANI A, MONTAZERI H, *et al*. A systems biology approach to pathogenesis of gastric cancer: gene network modeling and pathway analysis[J/OL]. *BMC Gastroenterol*, 2023, 23(1): 248 [2025-05-09]. <http://dx.doi.org/10.1186/s12876-023-02891-4>. DOI:10.1186/s12876-023-02891-4.

[9] DENG S Z, LI Y M, YI G Z, *et al*. Overexpression of COX7A2 is associated with a good prognosis in patients with glioma[J]. *J Neurooncol*, 2018, 136(1): 41-50. DOI:10.1007/s11060-017-2637-z.

[10] ROMANI A M P. Cisplatin in cancer treatment[J/OL]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 206: 115323[2025-05-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36368406/>. DOI:10.1016/j.bcp.2022.115323.

[11] ELMORSY E A, SABER S, HAMAD R S, *et al*. Advances in understanding cisplatin-induced toxicity: molecular mechanisms and protective strategies[J/OL]. *Eur J Pharm Sci*, 2024, 203: 106939 [2025-05-09]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2024.106939>. DOI:10.1016/j.ejps.2024.106939.

[12] DASARI S, TCHOUNWOU P B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 364-378. DOI:10.1016/j.ejphar.2014.07.025.

[13] HUANG G C, ZHANG Q, XU C M, *et al*. Mechanism of kidney injury induced by cisplatin[J]. *Toxicol Res*, 2022, 11(3): 385-390. DOI:10.1093/toxres/tfac019.

[14] KAMBLE O S, CHATTERJEE R, ABISHEK K G, *et al*. Small molecules targeting mitochondria as an innovative approach to cancer therapy[J/OL]. *Cell Signal*, 2024, 124: 111396[2025-05-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39251050/>. DOI: 10.1016/j.cellsig.2024.111396.

[15] DONG L F, GOPALAN V, HOLLAND O, *et al*. Mitocans revisited: mitochondrial targeting as efficient anti-cancer therapy[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 7941[2025-05-09]. <https://doi.org/10.3390/ijms21217941>. DOI:10.3390/ijms21217941.

[16] FENG J, WANG X H, YE X C, *et al*. Mitochondria as an important target of metformin: the mechanism of action, toxic and side effects, and new therapeutic applications[J/OL]. *Pharmacol Res*, 2022, 177: 106114[2025-05-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35124206/>. DOI:10.1016/j.phrs.2022.106114.

[17] KALYANARAMAN B, CHENG G, HARDY M, *et al*. OXPHOS-targeting drugs in oncology: new perspectives[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2023, 27(10): 939-952. DOI:10.1080/14728222.2023.2261631.

[18] 郭家彬, 彭辉, 王以美, 等. 线粒体毒性评价及其在创新药物安全性评价中的意义[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(16): 1867-1871. DOI:CNKI:SUN:ZXYZ.0.2012-16-012.

[19] MEYER J N, CHAN S S L. Sources, mechanisms, and consequences of chemical-induced mitochondrial toxicity[J]. *Toxicology*, 2017, 391: 2-4. DOI:10.1016/j.tox.2017.06.002.

[20] DONG L F, JAMESON V J A, TILLY D, *et al*. Mitochondrial targeting of vitamin E succinate enhances its pro-apoptotic and anti-cancer activity *via* mitochondrial complex II [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(5): 3717-3728. DOI:10.1074/jbc.M110.186643.

[21] KELSO G F, PORTEOUS C M, COULTER C V, *et al*. Selective targeting of a redox-active ubiquinone to mitochondria within cells: antioxidant and antiapoptotic properties[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(7): 4588-4596. DOI:10.1074/jbc.M009093200.

[22] WU Z H, XIAO C, LONG J, *et al*. Mitochondrial dynamics and colorectal cancer biology: mechanisms and potential targets[J/OL]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 91 [2025-05-09]. <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-024-01490-4>. DOI:10.1186/s12964-024-01490-4.

[23] FIALOVA J L, RAUDENSKA M, JAKUBEK M, *et al*. Novel mitochondria-targeted drugs for cancer therapy[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2021, 21(7): 816-832. DOI: 10.2174/1389557520666201118153242.

[收稿日期] 2025-05-10

[修回日期] 2025-10-08

[本文编辑] 黄静怡