



环境致癌物二羟环氧苯并[α]芘诱导支气管上皮细胞恶性转化的机制*

尹张雅^{1,2,3)} 李聪亚^{1,2)} 竹俊兰^{1,2)}**⁽¹⁾ 宁波大学医学部, 宁波 315211; ⁽²⁾ 宁波市北仑区人民医院精准医学研究中心, 宁波 315800;⁽³⁾ 临海市第二人民医院检验科, 台州 317016)

摘要 苯并[α]芘 (benzo[α]pyrene, B[α]P) 是一种常见的环境致癌物, 主要来源于工业生产和生活过程中煤炭、石油和天然气等燃料不完全燃烧产生的烟气等, 其在体内经过一系列代谢反应, 最终生成活性代谢物二羟环氧苯并[α]芘 (B[α]PDE) 从而发挥强致癌作用。B[α]PDE 与 DNA 碱基共价结合形成 B[α]PDE-DNA 加合物, 引起 DNA 碱基突变, 诱导支气管上皮细胞恶性转化, 最终形成肿瘤。B[α]PDE 亦可通过激活相关信号转导通路调控原癌基因、抑癌基因的表达或沉默, 干扰 DNA 修复功能, 导致细胞代谢及细胞周期紊乱从而诱导肺癌的发生发展。B[α]PDE 也可以通过组蛋白修饰、DNA 甲基化、miRNA、多聚 ADP 核糖甘油水解酶、代谢重编程、lncRNA 等表观遗传变异来诱导支气管上皮细胞恶性转化。深入研究 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化的机制, 可以为潜在的抗肿瘤药物研发靶点研究提供理论依据, 有利于指导污染环境及烟雾环境暴露下肺癌的防治措施, 也为禁烟控烟的健康中国措施提供理论支持。

关键词 B[α]PDE, 支气管上皮细胞, 恶性转化, 肺癌, 表观遗传变异

中图分类号 Q26, R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0087

2020 年, 全球有 9 958 133 例癌症患者死亡, 其中肺癌致死人数达到 1 796 144, 占总体癌症死亡的 18%。尽管全球各地区男女肺癌发病率和死亡率差异较大, 但总体上男性发病率和死亡率大约是女性的 2 倍^[1]。根据美国癌症学会期刊 *CA Cancer J Clin* 杂志发布的 2023 年美国癌症统计数据显示, 美国 2023 年预计新增 195.8 万例癌症病例和 61.0 万例癌症死亡病例。在癌症死亡原因分析中, 肺癌的致死人数几乎是第二名结直肠癌致死人数的 2.5 倍, 每天大约有 350 人死于肺癌。预计 2023 年出现的 127 070 例肺癌死亡病例中, 大约有 103 000 例 (81%) 由吸烟直接引起, 另有 3 560 例由二手烟引起^[2]。烟草暴露是肺癌的主要危险因素之一, 而且是肺癌死亡率进行性增加的首要原因。

苯并[α]芘 (benzo[α]pyrene, B[α]P) 是多环芳烃类 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 致癌物中最著名的一种, 国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 已将其归在致癌物的第一组 (已经明确对

人类有致癌作用)^[3]。B[α]P 主要是有机物在高温下不完全燃烧产生的, 日常生活中可见于香烟烟雾、汽车尾气、工业废水、烹调油烟以及炭烤食物等^[4]。苯并[α]芘虽然是高活性致癌剂, 但并非直接致癌物, 其进入人体后一部分随排泄物排出体外, 另一部分会经过肝、肺细胞内的酶转化为数十种代谢产物, 直至代谢为最终致癌物 7,8-二羟基-9, 10-环氧苯并[α]芘 (7, 8-dihydro-7, 8-dihydroxybenzo[α]pyrene 9, 10-oxide, B[α]PDE)^[5]。B[α]PDE 可与 DNA 共价结合, 形成高度诱变的 DNA 加合物, 引起细胞恶性转化^[6]。支气管上皮细胞的恶性转化与 B[α]PDE 的污染密切相关, 明确 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化的机制对于肺癌的防治具有重要意义。本文将从

* 国家自然科学基金 (82103872) 和宁波市自然科学基金 (2023J026) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 15088557216, E-mail: junlanzhu@zju.edu.cn

收稿日期: 2024-03-06, 接受日期: 2024-06-24

DNA 碱基突变、DNA 修复功能、相关信号通路和表观遗传变异等方面对 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化的相关机制作一综述。

1 B[α]PDE-DNA加合物

化学致癌物经生物体代谢活化后，与多种生物大分子物质（包括 DNA、RNA 和蛋白质等）进行共价或非共价结合，其中与 DNA 碱基的共价结合所形成的 DNA 加合物是 DNA 损伤的重要形式^[7-11]。B[α]P 由细胞色素 P450 同工酶 CYP1A1 和 CYP1B1 代谢^[12]，产生 B[α]PDE 的 4 种立体异构体（图 1），这些立体异构体以顺式或反式开环方式与鸟苷发生不可逆反应，产生 16 种不同的 B[α]PDE-DNA 加合物，其中 *N*²-反式-(+)-抗 B[α]PDE-脱氧鸟苷（*N*²-B[α]PDE-dG）最丰富且最具有致突变性^[13]。研究发现，吸烟者的 *N*²-B[α]PDE-dG 水平与 *N*⁶-B[α]PDE-dG 水平均显著高于非吸烟者^[14]。环状 RNA circ0087385 过表达可以通过增强 CYP1A1 的表达从而激活 B[α]P 代谢为 B[α]PDE^[15]，B[α]PDE-DNA 加合物的形成进一步加剧

了 DNA 损伤，最终导致细胞恶性转化。Jiang 等^[16]研究发现，*N*²-B[α]PDE-dG 在暴露的 nDNA 中沿着基因组呈强 GC 依赖性分布，这说明在缺乏染色质结构或修复因子的情况下，GC 含量是 *N*²-B[α]PDE-dG 形成的主要驱动因素^[17]。此外，该研究还发现，B[α]PDE 诱导的 DNA 损伤图谱的单核苷酸分辨率特征与之前在吸烟者肺癌基因组中发现的突变特征高度相似。在人类 *p53* 敲入小鼠胚胎成纤维细胞永生实验（Hupki mouse embryo fibroblast immortalization assay, HIMA）中也发现了 B[α]PDE 诱导的 Xpa-WT 和 Xpa-Null 细胞的碱基突变，主要发生在 G : C 碱基对，大约一半在 CpG 位点，主要突变类型为 G : C>T : A^[18]。在 HIMA 中 B[α]PDE 诱导的 *p53* 突变（密码子 157、158、245、248、273）与吸烟者肺肿瘤中检测到的 *p53* 突变一致^[18-19]。通过以上发现，我们推测，是否可以通过检测 GC 含量以及 B[α]PDE 诱导的 DNA 损伤图谱的单核苷酸分辨率特征来评估吸烟者患肺癌的风险，这有望为预防和早期发现肺癌提供新的思路和方法。

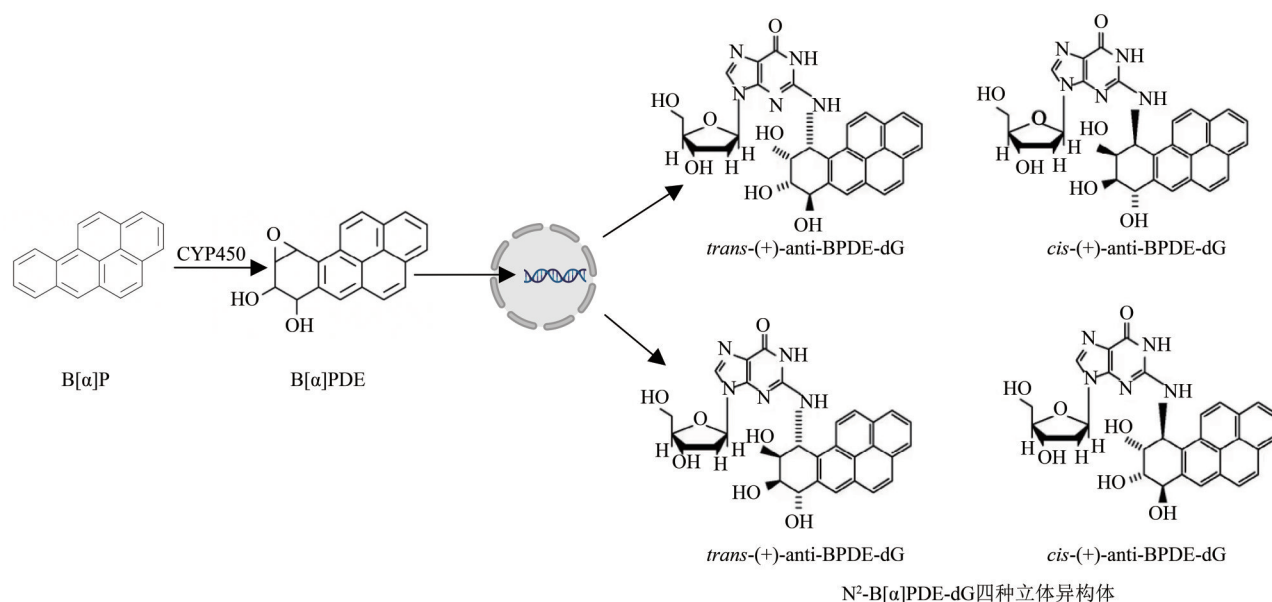


Fig. 1 Formation of B[α]PDE-DNA adducts (created by Medpeer)

图1 B[α]PDE-DNA加合物的形成（使用Medpeer绘制）

2 原癌基因的激活与抑癌基因的失活

正常情况下，原癌基因与抑癌基因保持一种动态的平衡状态，协调细胞的生长增殖及信号传递调

控过程，当在某些外源化学物或内源性因素的作用下，原癌基因或抑癌基因出现异常表达，将打破这种平衡状态，使细胞丧失正常的调控增殖能力，并抑制其分化，逃避细胞凋亡过程，呈现恶性增殖，

最终导致肿瘤形成^[20-25]。

2.1 RAS (rat sarcoma) 基因在B[α]PDE诱导肺癌中的作用

RAS原癌基因可由B[α]PDE诱导发生点突变, 从而被激活转变为异常表达的癌基因, 引起细胞恶性转化, 最终导致肺癌的发生。B[α]PDE可在KRAS (Kirsten rat sarcoma) 第12、13、14位密码子, NRAS (neuroblastoma rat sarcoma) 第12位密码子以及HRAS (Harvey rat sarcoma) 第12、14位密码子的鸟嘌呤处形成加合物^[26]。Menzies等^[27]采用分子建模技术以及多变量分析方法确定了B[α]PDE加合的RAS基因序列之间的差异, 发现肺癌患者肿瘤中KRAS密码子第12位的G:C>T:A突变主要由B[α]PDE引起, KRAS序列中胸腺嘧啶碱基C5位上的甲基与B[α]PDE相互作用, 导致畸变增加。尽管RAS突变在肺癌中很常见, 但由于其复杂的信号转导网络和对传统化疗的抵抗性, RAS一直被认为是难以治疗的靶点^[28]。其中KRAS突变是非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 中最常见的基因突变, 目前中国尚无针对该基因突变获批应用于临床治疗的靶向药物, 以铂类为基础的化疗和免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICI) 治疗仍然是KRAS突变NSCLC患者的标准一线治疗方案^[29-30]。索托拉西布 (Sotorasib) 是一种选择性和不可逆地靶向KRAS (G12C) 的小分子, 在具有KRAS (G12C) 突变的重度预处理晚期实体瘤患者中显示出令人鼓舞的抗癌活性^[31]。关于RAS基因在B[α]PDE诱导的肺癌发生发展中的具体作用机制值得深入研究, 同时, 如何针对RAS基因进行有效的治疗也是未来研究的一个重要方向。

2.2 KIF11基因在B[α]PDE诱导肺癌中的作用

驱动蛋白家族成员11 (Kinesin family member 11, KIF11) 又称驱动蛋白5 (Eg5), 其编码的蛋白质参与了纺锤体的形成、染色体的分离和细胞膜的形成等过程^[32], 在细胞分裂和有丝分裂中发挥了重要作用^[33]。通过数据挖掘和生物信息学分析, 筛选了106个上调和260个下调的B[α]PDE诱导肺癌发生的差异表达基因, 确定了KIF11作为关键基因, 并通过实验进一步验证了KIF11过度表达与肺癌晚期病例分级、晚期T分期和淋巴结转移相关^[34]。通过对肺癌样本的基因表达分析也发现了KIF11基因与未分类肺癌的生存率相关^[35]。研究发现, 在A549和PC-9细胞中敲低KIF11可以抑制细

胞增殖、迁移和侵袭, 同时诱导G2/M期阻滞并改善细胞凋亡^[36]。KIF11与BCL2L1的双重抑制可以诱导HCC827和H1975亲本细胞以及KRAS突变LUAD细胞系H441的凋亡^[37]。此外, 研究发现, 环维黄杨星D (cyclovirobuxine D, CVB-D) 通过抑制KIF11-CDK1-CDC25C-CyclinB1 G2/M期转换调控网络和NF- κ B/JNK信号通路, 抑制了NSCLC细胞的生长和进展^[38]。将KIF11基因作为B[α]PDE诱导肺癌的关键基因可能为肺癌的治疗提供新的靶点。

2.3 PPP1R13L基因和p53基因在B[α]PDE诱导肺癌中的作用

PPP1R13L (protein phosphatase 1 regulatory subunit 13 like) 基因又称iASPP (inhibitory member of the ASPP family), 是抑癌基因p53的抑制剂, 可抑制p53对凋亡基因启动子的转录活性从而抑制细胞凋亡, 导致细胞异常增殖和恶性转化^[39]。与邻近的正常组织相比, PPP1R13L蛋白在肺癌组织中的表达明显升高^[40]。在野生型p53遗传背景下, p53和PPP1R13L的mRNA和蛋白质在B[α]PDE诱导的恶性转化中呈波浪状波动, 野生型 (wild type, WT) p53可以通过结合PPP1R13L基因第一个内含子的增强子来调节PPP1R13L^[41]。p53基因是人体内最重要的抑癌基因之一, 也是人类肿瘤中最常见的突变基因, p53基因突变会导致其编码的蛋白质失去正常的抑癌功能, 反而获得促进细胞增殖、抑制细胞凋亡等功能。研究发现, 在B[α]PDE暴露下, p53基因的244号密码子在小细胞肺癌中发生突变, 248号密码子在小细胞和NSCLC、头颈部肿瘤、结直肠癌及皮肤癌中均发生突变^[42]。PPP1R13L基因和p53基因在B[α]PDE诱导肺癌的发生发展中均发挥了重要作用, 两者之间的相互作用机制尚不明确, 进一步研究可以更好地理解两者在肺癌中的作用, 并可能为预防和治疗提供新的思路。许多与肿瘤相关的突变型p53 (mutant p53, mutp53) 蛋白会获得新的肿瘤促进活性, 包括增加肿瘤细胞的增殖、转移和化疗抗性, 这被定义为功能增益 (gain-of-functions, GOFs)。之前的研究发现, BCL-2相关永生基因 (Bcl-2-associated athanogene, BAG) 蛋白家族的成员Bag5促进了mutp53在肿瘤中的积累, 进而增强了mutp53的GOFs^[43]。p53突变的肺癌细胞预后不良并对化疗药物和放疗更加抵抗, 许多不同的表型归因于GOFs, 包括增加致癌性、增加肿瘤转移

和侵袭的能力、降低对化疗药物的敏感性、增强运动能力等^[44]。针对 *mutp53* 的 GOFs 有望为 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化研究提供新的线索。

2.4 PHLPP2基因在B[α]PDE诱导肺癌中的作用

PHLPP2 (PH domain and leucine rich repeat protein phosphatase 2) 是 PHLPP 家族的一员, 主要调节细胞生长、凋亡和代谢应激反应等^[45]。在之前的研究中我们发现, B[α]P/B[α]PDE 暴露会下调 PHLPP2 在体外人类肺上皮细胞和体内小鼠肺组织中的表达。PHLPP2 的表达与肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的表达成反比, 与配对的相邻正常肺组织相比, 肺癌组织中 PHLPP2 表达低, 而 TNF- α 表达高。进一步研究发现, B[α]P/B[α]PDE 暴露可导致 miR-205 诱导, 其靶向 PHLPP2 3' 非翻译区 (3'-UTR) 并抑制 PHLPP2 蛋白翻译和表达, 随后导致 c-JUN 激活, 并最终增加 TNF- α 转录和炎症反应, 从而进一步促进肺癌发生^[46]。TRIM46 (tripartite motif-containing 46) 是三联基序家族中的一种蛋白质,

它可以通过改变 PHLPP2 泛素化激活 AKT/HK2 信号, 促进糖酵解和肺癌细胞的化疗耐受性^[47]。此外, 在环境致癌物镍暴露诱导支气管上皮细胞恶性转化的研究中也发现 PHLPP 家族中的 PHLPP1 具有相似的机制。环境致癌物镍暴露导致母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3) 下调, 进而引发 c-JUN 介导的 PHLPP1 转录抑制和缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 蛋白翻译上调, 导致人支气管上皮细胞恶性转化^[48]。炎症被认为是肿瘤发生的一个重要因素, 长期的炎症状态可能导致细胞修复频率增加^[49], 从而增加了突变的几率和癌症的风险。慢性炎症与肿瘤的发生发展密切相关, 也与肿瘤的治疗密不可分, 调控炎症可能是改善癌症治疗效果的一种有效措施^[50]。以上研究有助于理解导致慢性肺部炎症微环境形成和维持的分子机制, 以及慢性炎症在 B[α]P/B[α]PDE 暴露引起的肺癌发展中的作用, 促进控制炎症相关癌症的有效预防和治疗方法的发展。表 1 列出了 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化的相关基因。

Table 1 Genes related to B[α]PDE-induced malignant transformation of bronchial epithelial cells

表1 B[α]PDE诱导支气管上皮细胞恶性转化相关基因

突变基因	突变位点	相关信号通路	表型	参考文献
<i>RAS</i>	<i>NRAS</i> 密码子12; <i>HRAS</i> 密码子12、14; <i>KRAS</i> 密码子12、13、14	RAS/RAF/MEK/ERK信号通路、PI3K/AKT/mTOR通路	增殖、迁移、侵袭、抑制凋亡、化疗耐药	[26, 51]
<i>KIF11</i>		KIF11-CDK1-CDC25C-CyclinB1 G2/M期转换调控网络、NF- κ B/JNK信号通路	增殖、迁移、侵袭、干扰细胞周期、抑制凋亡	[38]
<i>PPP1R13L</i>		PPP1R13L/p53信号通路	增殖、抑制凋亡	[39]
<i>p53</i>	密码子157、158、245、248、273、244	PPP1R13L/p53信号通路、PI3K/AKT/mTOR通路	增殖、转移、化疗耐药	[18-19, 42]
<i>PHLPP2</i>		TRIM46/PHLPP2/AKT/HK2信号通路	炎症、糖酵解、化疗耐药	[47]

3 DNA修复功能

关键DNA修复酶基因 3'-UTR 中的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与 DNA 修复能力的个体差异以及对肺癌等肿瘤的易感性相关^[52]。Yu 等^[53]引入 *ERCC1* (CDS+3'-UTR) 或 *CD3EAP* (CDS) cDNA 克隆转染 HEK293T 和 16HBE 细胞发现, 与 CC 基因型相比, *ERCC1* rs3212986 的 AA 基因型是 NSCLC 的高危因素 ($OR=3.246$; 95% CI: 1.375~7.663)。在 293T *ERCC1* (AA) 和 16HBE *ERCC1* (AA) 中观察到 DNA 损伤的修复效率降低, 但两种基因型的

CD3EAP (*ERCC1* 的 3'-UTR) 过表达细胞则无显著差异, 说明与 *CD3EAP* 重叠的 *ERCC1* 3'-UTR rs3212986 多态性主要通过调节 *ERCC1* 的表达来影响 B[α]PDE 诱导的 DNA 损伤修复, 并可能成为预测吸烟相关肺癌的潜在生物标志物。

EIF4A3 (eukaryotic initiation factor 4A-3) 基因是一种编码真核起始因子 4A3 的基因^[54], 在蛋白质的翻译过程中起着关键的作用。Li 等^[55]在 B[α]PDE 诱导的人支气管上皮细胞 (Beas-2B) 中发现了 16 个与 DNA 损伤修复相关的蛋白质编码基因转录受到了强烈抑制, 其中 *EIF4A3* 表达变化最为显著。彗星实验表明, 在过表达 *EIF4A3* 的

Beas-2B细胞内, B[α]PDE诱导的DNA损伤较低。敲低DNA损伤中编码*EIF4A3*的基因验证了*EIF4A3*的功能, 抑制*EIF4A3*导致G2/M期停滞, 同时细胞凋亡增加, 并伴有明显的中心体纺锤体干扰^[56]。此外, 有研究发现敲低*EIF4A3*可以在体外和体内显著抑制肺腺癌(lung adenocarcinoma, LUAD)细胞的增殖、迁移和侵袭。通过敲低*FLOT1*可以挽救由*EIF4A3*过表达引起的磷酸肌醇3激酶(PI3K)-AKT-ERK1/2-P70S6K信号通路和PI3K III类介导的自噬激活^[57]。*EIF4A3*和circ0067716可以形成可能受B[α]PDE影响的双负反馈回路。在B[α]PDE暴露的初始阶段, circ0067716的表达因应激损伤而增加, 并通过miR-324-5p/DRAM1/BAX轴的参与导致细胞凋亡。随着细胞适应的进展, 由于B[α]PDE暴露引起的长期诱导导致*EIF4A3*升高和circ0067716表达降低, 通过PI3K/AKT途径促进细胞增殖^[58]。*EIF4A3*有望成为一个新的生物标志物, 用作肺癌分子诊断和预后治疗的靶点。

Allmann等^[59]发现B[α]PDE会激活细胞DNA损伤反应, 导致错配修复(mismatch repair,

MMR)基因(*MSH2*、*MSH6*、*EXO1*)和同源重组修复(homologous recombination repair, HRR)核心成分基因(*RAD51*)转录抑制。B[α]PDE-DNA加合物诱导的HRR主要发生在DNA/RNA引物酶PrimPol形成的复制后间隙^[60]。B[α]PDE诱导的修复基因转录抑制由E2F1信号衰减引起, 在G2期停滞的细胞内, E2F1蛋白酶体降解, 而在G1期停滞的细胞内, *E2F1* mRNA表达下调。*E2F1*介导的转录抑制和修复基因沉默进一步由*P21*依赖性E2F4/DREAM复合物介导^[59]。亚砷酸盐(As(III))与B[α]PDE共同诱导DNA损伤的研究表明, As(III)抑制了B[α]PDE引起的DNA加合物损伤的核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)^[61]。DNA修复功能是一把双刃剑, 一方面它可以减少致癌突变, 从而确保基因组的完整性, 另一方面, 它也会使癌细胞免于更多的DNA损伤并持续不可控增长^[62]。目前临床上主要是通过使用针对癌细胞此存活机制的一些特定DNA修复酶抑制剂进行治疗^[63], 阐明DNA修复功能的具体机制有望为肿瘤患者提供更精准的治疗。表2列出了B[α]PDE诱导DNA损伤修复相关基因。

Table 2 Genes involved in B[α]PDE-induced DNA damage repair
表2 B[α]PDE诱导DNA损伤修复相关基因

基因	表型	参考文献
<i>ERCC1</i> 3'-UTR rs3212986	肿瘤易感	[53]
<i>EIF4A3</i>	干扰细胞周期、抑制凋亡、增殖、迁移、侵袭	[55-57]
<i>MSH2</i> 、 <i>MSH6</i> 、 <i>EXO1</i>	干扰细胞周期	[59]
<i>RAD51</i>	干扰细胞周期	[59]
<i>E2F1</i>	干扰细胞周期	[59]

4 相关信号通路

上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞转化为间质细胞的过程, 主要参与胚胎发生、伤口愈合和肿瘤的恶性进展^[64-65]。肿瘤微环境(tumor microenviroment, TME)通过特殊的信号因子, 激活上皮细胞内信号通路, 诱导EMT^[66]。B[α]P可以通过增加NAD(P)H醌脱氢酶1(NAD(P)H quinone dehydrogenase 1, NQO1)的表达促进A549细胞的EMT状态, 从而促使慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)向肺癌的转化^[67]。另有研究发现, 长时间暴露于B[α]P可以诱导A549细胞发生p21依赖性EMT^[68]。

宣威市作为云南省主要的煤产区, 也是中国肺癌死亡率最高的地区之一, 这与煤燃烧过程中产生的大量多环芳烃、纳米级二氧化硅颗粒物等致癌物密切相关。宣威市肺腺癌患者血清中转化生长因子-α(transforming growth factor-α, TGF-α)含量显著高于宣威市肺部良性病变患者以及宣威市外肺腺癌患者, 将人单核细胞(THP-1)和人支气管上皮细胞(Beas-2B)共培养, 发现球形二氧化硅(SiNPs)与B[α]PDE结合可诱导THP-1细胞释放TGF-α可显著促进Beas-2B细胞的增殖和EMT^[69]。另一项研究发现, SiNPs联合B[α]PDE可以通过AKT途径诱导THP-1细胞释放基质细胞衍生因子1α(stromal cell-derived factor-1 α, SDF-1α), 促进Beas-2B细胞的EMT。用针对SDF-1α的中和抗体

处理可抑制 AKT 通路的激活并抑制 Beas-2B 细胞的 EMT^[70]。Wang 等^[71]发现, 砷和 B[α]P 共同暴露不会比单独暴露于 B[α]P 产生更多的 B[α]PDE-DNA 加合物, 但可以通过协同作用激活芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AhR), 上调组蛋白 H3 赖氨酸 9 甲基转移酶 SUV39H1 的表达, 并增加 H3 赖氨酸 9 二甲基化 (H3K9me2) 的抑制性表观遗传修饰, 从而下调肿瘤抑制性 SOCS3 的表达。SOCS3 的下调会增强 AKT 和 ERK1/2 的激活, 从而促进细胞转化、肿瘤干细胞 (cancer stem cell, CSC) 样特性和肿瘤发生。砷和 B[α]P 共同暴露还可以通过上调整合素 $\alpha 4$ (integrin subunit alpha 4, ITGA4) 的表达激活 PI3K/AKT 信号通路。AKT 活性增加会降低 SUFU 蛋白的稳定性和水平, 从而激活 Hedgehog 通路并增强砷和 B[α]P 共同暴露诱导的 CSC 样特性和肿瘤发生^[72]。砷和 B[α]P 共同暴露通过协同激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路增强去泛素酶 USP7 水平, 从而上调抗凋亡蛋白 MCL-1 的水平, 促进转化细胞 CSC 样特性和肿瘤发生^[73]。Bordoloi 等^[74]发现肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子 (tumor necrosis factor- α -induced protein 8 like, TIPE) 通过激活 AKT/mTOR/STAT-3 信号通路对肺癌发挥正向调节作用, 在之前的研究中也发现了敲除 *TIPE2* 可以通过 AKT/mTOR/NF- κ B 信号通路显著降低肺癌细胞的增殖、存活和转移^[75]。由此可见, AKT 相关信号通路与支气管上皮细胞恶性转化的发生密切相关, AKT 的激活促进了细胞生长和增殖, 抑制了肿瘤细胞的凋亡, 从而促进肺癌的发展。目前热门的针对程序性死亡受体 1 (PD-1) /程序性死亡受体配体 1 (PD-L1) 的免疫疗法被认为可以通过调节 PI3K/AKT/mTOR 途径辅助治疗 NSCLC^[76]。

经典理论认为, B[α]P 被摄入细胞后与 AhR 结合, AhR 与芳香烃受体核转位子 (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT) 形成二聚体, 转位至细胞核内与二恶英/异生物反应元件 (DRE/XRE) 结合启动下游基因的表达^[77-78]。长期暴露于环境致癌物 B[α]P 可以通过 AhR/PKA/SOX2 依赖性途径促进小细胞肺癌 CSC 样特性和肿瘤转移^[79]。B[α]P 还可以通过 AhR 依赖性方式上调长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) *linc00673* 的表达来促进 A549 细胞迁移、侵袭和 EMT^[78-80]。研究发现, 在暴露于 B[α]P 的 Beas-2B 细胞中, AhR 及其参与 B[α]P 代

谢的靶基因 (如 *ARNT*、*HSP90* 和 *CYP1A1*) 的 mRNA 和蛋白质表达水平显著增加, 与 AhR 信号通路和 EMT 相关的下游调节因子 (如 NRF2、K-RAS 和 HIF-1 α) 的 mRNA 表达水平也显著增加^[81]。此外, Beas-2B 细胞中的上皮标志物 E 钙黏蛋白 (E-cadherin, E-Cad) 的表达水平显著下调, 而间充质表型标志物 N 钙黏蛋白 (neural-Cadherin, N-Cadherin)、纤连蛋白 (fibronectin, FN) 和波形蛋白 (vimentin, VIM) 的 mRNA 表达显著上调。当加入 AhR 抑制剂白藜芦醇后, 由 B[α]P 诱导的上述变化被白藜芦醇显著减弱甚至停止, 证明 AhR 信号通路在 B[α]P 诱导的 EMT 中具有调节作用^[81]。在 B[α]P 诱导的 Beas-2B 细胞中还发现大多数氨基酸和脂肪酸的水平与 AhR 信号的水平高度相关。进一步研究发现, 过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR) A/G 信号转导减少, 转运蛋白 FATP1 的脂肪酸输入增加, 这说明 AhR 通过 PPAR A/G-FATP1 信号介导了 B[α]P 诱导的 Beas-2B 细胞内代谢重编程^[82]。在 B[α]P 暴露的 C57BL/6 小鼠体内也发现了其通过激活 AhR 降低了与脂肪代谢相关的重组人 CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT/enhancer-binding protein- α , C/EBP α)、PPAR γ 和脂肪酸结合蛋白 4 (fatty acid binding protein 4, FABP4), 同时增加了 NF- κ B、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 和 TNF- α 这些炎症相关因子的表达^[83]。

NF- κ B 作为一种促炎转录因子, 也是将慢性炎症与癌症联系起来的重要分子^[84], 其家族成员包括 c-REL、NF- κ B2 (p100/p52)、RelA (p65)、NF- κ B1 (p105/p50) 和 RelB^[85]。研究发现在 NSCLC 患者中 NF- κ B 的高表达与其较短的总生存期相关^[86]。用不同浓度的 B[α]PDE (0.5、0.75 和 1 μ mol/L) 刺激 Beas-2B 细胞 24 h 后发现, 沉默信息调节因子 (silent information regulator sirtuin 1, SIRT1) 表达下调, 而高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1)、AC-HMGB1、TLR4 和 p-p65 蛋白的表达上调, 进一步研究表明, SIRT1 活化可通过调节 HMGB1/TLR4/NF- κ B 通路保护 Beas-2B 细胞免受 B[α]PDE 诱导的炎症损伤^[87]。 β 受体阻滞剂卡维地洛可通过抑制致癌转录因子 ELK-1、AhR 和 NF- κ B 的交叉作用, 阻断 B[α]PDE 诱导的 Beas-2B 细胞恶性转化^[88]。萝卜硫素 (sulforaphane, SFN) 可以通过上调核苷酸

结合富亮氨酸重复受体 12 (nucleotide-binding leucine-rich repeat-containing receptor 12, NLRP12) 来抑制 B[α]PDE 诱导的 A549 细胞迁移和侵袭, 从而影响经典和非经典 NF-κB 途径^[89]。N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 减弱了 B[α]P 诱导的 A549 细胞和小鼠肺中 NF-κB 的活化, 从而减轻了 B[α]P 诱发的急性肺损伤期间的肺部炎症^[90]。牛磺酸通过抑制 A549 细胞中 NF-κB 介导的内在凋亡途径来减轻 B[α]P 诱导的氧化应激和线粒体功能障碍^[91]。TNF 在 NSCLC 中是 NF-κB 的关键激活因子, 反过来, NF-κB 是 TNF 在炎症诱导的癌症中的关键效应物^[92]。B[α]P 可增强 TNF-α 通路相关蛋白 (TNF-α, p65, Caspase3 和 Caspase8) 的表达, 促进肺癌细胞迁移和侵袭^[93]。在瑞士白化小鼠模型中的研究表明, 苦参素通过其抗氧化活性、

免疫调节和 NF-κB 途径调控的作用, 缓解了 B[α]P 诱导的肺癌^[94]。IL-27 和 IL-28B 可以作为免疫治疗剂通过 ROS/NF-κB/NLRP3 轴改善 B[α]P 诱导的肺癌荷瘤小鼠从血管生成到肺癌发生相关炎症的各种病理表征^[95-96]。体外实验表明, B[α]P 通过激活 NF-κB 可以诱导 Beas-2B 细胞和 A549 细胞恶性转化, 体内实验的小鼠模型也进一步说明了 NF-κB 途径在 B[α]P 诱导肺癌发生发展中的重要性。许多用于肺癌的 NF-κB 抑制剂目前正在临床试验中, 其中最常见的是抑制 IKKβ 活性^[97], 联合抑制 TNF 的药物可以克服治疗耐药性^[92]。深入研究 B[α]P/B[α]PDE 暴露诱导的支气管上皮细胞恶性转化相关信号通路 (图 2) 不仅有助于更好地理解肺癌的发生机制, 也为肺癌的预防和治疗提供了新的策略。

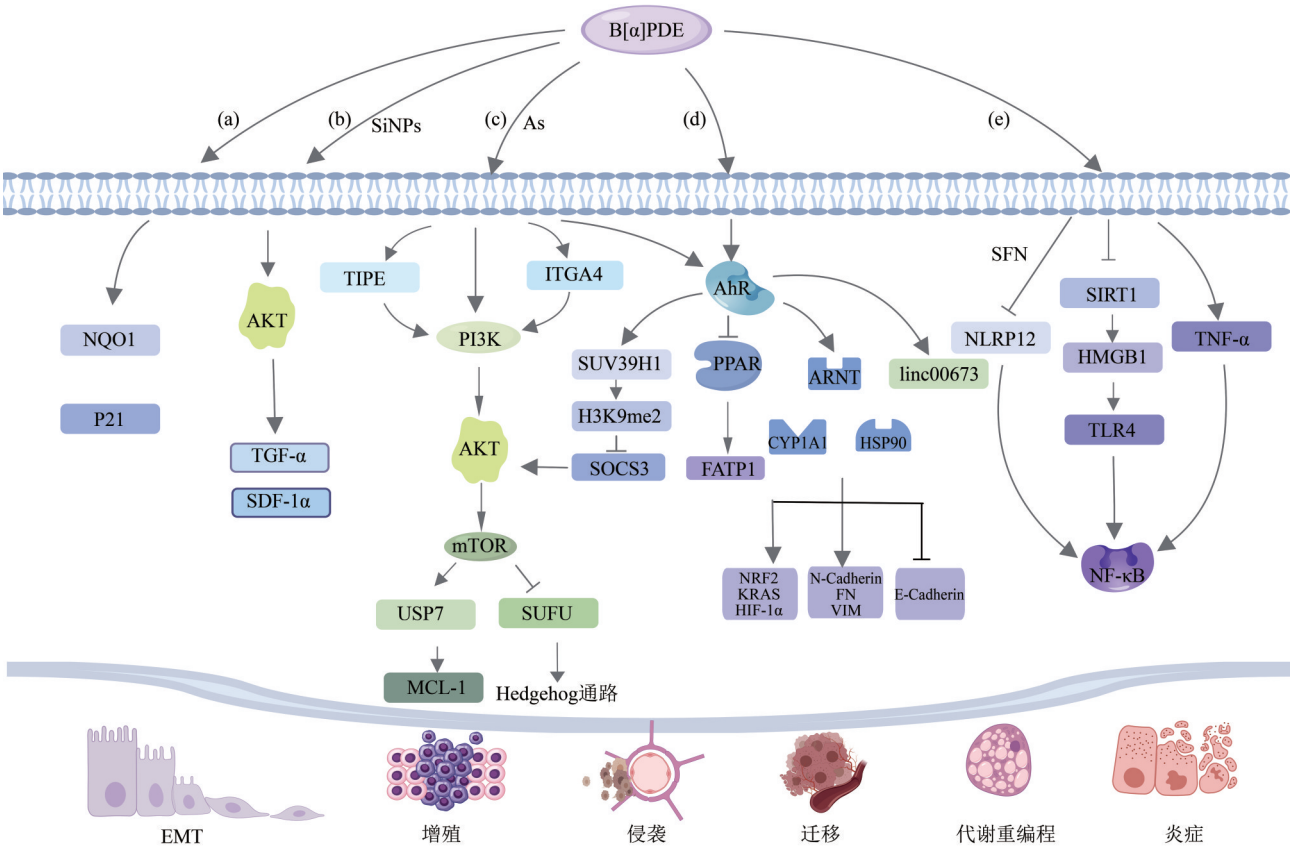


Fig. 2 Signaling pathways associated with malignant transformation of bronchial epithelial cells induced by the environmental carcinogen B[α]PDE (created by Medpeer)

图2 环境致癌物B[α]PDE诱导支气管上皮细胞恶性转化相关信号通路 (使用Medpeer绘制)

(a) B[α]PDE通过NQO1、p21诱导支气管上皮细胞恶性转化; (b) B[α]PDE与SiNPs结合诱导支气管上皮细胞恶性转化; (c) B[α]PDE与砷 (arsenic, As) 结合通过PI3K/AKT/mTOR和AhR信号通路诱导支气管上皮细胞恶性转化; (d) B[α]PDE通过AhR信号通路诱导支气管上皮细胞恶性转化; (e) B[α]PDE通过NF-κB信号通路诱导支气管上皮细胞恶性转化。

5 表观遗传变异机制

表观遗传变异机制是指由化学致癌物引起的无核酸序列改变的DNA基因外改变, 它可破坏基因调节区和改变染色质结构, 以致破坏多种基因的正常转录活性, 进而引发癌症^[98-99]。在真核细胞内, 存在着一个复杂的表观遗传修饰网络, 主要包括组蛋白修饰、染色质重塑、微小RNA (microRNA, miRNA)、DNA甲基化及CpG岛甲基化、lncRNA异常表达等几种形式^[98, 100-101]。

5.1 DNA甲基化在B[α]PDE诱导肺癌中的调控

B[α]PDE可减少全基因组DNA甲基化, 并通过启动子区域的低甲基化激活原癌基因, 高甲基化沉默抑癌基因, 从而诱导癌症的发生和发展^[99]。Meng等^[102]通过两项涉及462名受试者的肺癌病例对照研究, 运用表观基因组范围的荟萃分析探讨了B[α]PDE-Alb加合物和DNA甲基化之间的关联, 并应用中介分析评估了DNA甲基化对B[α]PDE与肺癌关联的影响。结果显示, 15个与B[α]PDE相关的CpG中, 有5个CpG的甲基化水平 (UBE2O中的cg06245338、SAMD4A中的cg24256211、ACBD6中的cg15107887、DGKZ中的cg02211741和SLFN13中的cg04354393) 与肺癌发生风险显著相关, 基于这5种CpG的甲基化风险评估可以介导58.2%的B[α]PDE-肺癌相关性, 并在预测肺癌方面比传统风险因素的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 提高了7.3%。Liu等^[103]在B[α]PDE诱导的A549和PC9细胞系中发现无名指蛋白182 (ring finger protein 182, RNF182) 的表达降低与其启动子区异常高甲基化有关, B[α]PDE抑制RNF182的表达促进了NSCLC的进展。DNA甲基化有望成为B[α]PDE诱导支气管上皮细胞恶性转化的一个潜在标志物。

5.2 miRNA在B[α]PDE诱导肺癌中的调控

miRNA是一类长度约20~24个核苷酸的内源性非编码单链RNA, 通过介导同源mRNA的翻译抑制或降解来调节基因表达^[104]。Li等^[105]在中国济南不同颗粒物 (particulate matter, PM) 水平地区分别招募了160名和113名儿童, 测量其B[α]PDE-Alb加合物以及白细胞中5个参与炎症调节的候选miRNA (let-7a、miR-21-5p、miR-146a-5p、miR-146b-5p和miR-155-5p) 和7个预测为其靶标的促炎基因 (*IL-1*、*IL-6*、*CD40LG*、*CXCL8*、*ICAM1*、*TLR2*和*TLR4*) 的表达。结果显示, 污染

区儿童血清中的miRNAs表达量较高于对照区, 而mRNAs表达量则低于对照区。作为PM暴露的生物标志物, 血清B[α]PDE-Alb加合物与白细胞内的所有5种miRNA总体呈正相关, 与*IL-6*、*CXCL8*和*TLR2* mRNA呈负相关。此外, let-7a、miR-146a-5p和miR-155-5p可以部分介导B[α]PDE-Alb加合物与*IL-6*和/或*TLR2*表达的关联。Ke等^[106]研究发现, B[α]PDE暴露可以显著增强miR-377-3p, 并且通过靶向早期生长反应1 (early growth response 1, *EGR1*) 基因的3'-UTR来抑制*EGR1*基因在人支气管上皮细胞转化和小鼠肺癌中的表达。进一步研究表明, miR-377-3p介导的*EGR1*下调主要是通过Wnt/β-catenin通路促进细胞恶性转化和肿瘤形成。Pan等^[107]对6例云南宣威的NSCLC和4例来自不使用烟煤的对照地区的NSCLC进行了miRNA微阵列分析, 发现宣威NSCLC中有13个miRNA下调, 其中miR-144下调最为明显, 2个miRNA (miR-34和miR-181) 上调。此外, 研究还发现miR-144的减少导致癌基因*Zeb1*表达增加和EMT。B[α]PDE暴露可以通过GSDMD-miR-223-NLRP3轴诱导A549细胞炎症损伤^[108]。我们在之前的研究中证明了B[α]P/B[α]PDE暴露会下调靶向泛素激活酶E1样蛋白ATG7 (autophagy related 7) mRNA 3'-UTR的miR-373的表达, 从而诱导ATG7蛋白翻译。ATG7的上调进一步导致自噬激活和自噬介导的DNMT3B蛋白降解, 同时抑制miR-494启动子甲基化, 增加miR-494转录, 最终与p27 mRNA的3'-UTR结合, 减少p27蛋白翻译, 最终导致支气管上皮细胞恶性转化与肺肿瘤形成^[109]。这些发现不仅明确了ATG7上调导致B[α]PDE暴露的恶性转化和肺癌致癌作用的分子机制, 而且为ATG7和miR-494作为生物标志物或新靶点在肺癌临床管理中的潜在应用提供了证据。miRNAs在正常组织与肺癌组织中的表达差异, 有望成为肺癌早期诊断的生物标志物, 但其针对不同靶基因的上调或下调机制仍需进一步研究。

5.3 多聚ADP核糖甘油水解酶 (PARG) 在B[α]PDE诱导肺癌中的调控

多聚ADP核糖甘油水解酶 (poly (ADP-ribose) glycohydrolase, PARG) 是真核生物聚ADP-核糖基化反应的关键酶, 参与了B[α]PE诱导支气管上皮细胞恶性转化的翻译后修饰过程, 在调节DNA损伤修复和维持基因组稳定性方面发挥了

重要作用^[110]。PARG 沉默可通过下调组蛋白 H2AK9me 和 H2B 多个亚型的表达从而抑制 B[α]PDE 诱导的细胞恶性转化^[111-112], 也可以下调在 B[α]PE 致癌过程中与迁移相关的蛋白质如翻译控制肿瘤蛋白 (translational controlled tumour protein, TCTP) 和丝切蛋白 1 (cofilin-1, CFL-1)^[113], 还可以通过 PARG 沉默保护 B[α]PE 暴露下的 DNA 甲基转移酶 (DNMTs) 活性^[114]。此外, PARG 可能通过上调 ATM/p53 信号通路影响 B[α]P 的代谢活化^[115], 通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路诱导细胞凋亡^[116]。Dai 等^[117]通过动态吸入将野生型和 PARG^{-/-}小鼠暴露于 B[α]P 90 d 和 180 d, 野生型小鼠肺部出现癌变而 PARG^{-/-}小鼠未显示癌变, 表明 PARG 基因沉默可以抑制 B[α]P 诱导的小鼠肺癌。进一步研究发现, Wnt 信号通路的配体 Wnt2b 在 B[α]P 暴露 90 d 和 180 d 时的上调相似, 而 Wnt5b 在 B[α]P 暴露 180 d 时的上调次数比 90 d 时更明显。PARG 基因沉默和 Wnt 配体的稳定表达可能为 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化提供新的思路。目前, 针对 PARG 的小分子抑制剂主要通过破坏复制叉的稳定性和诱导 DNA 损伤来增加癌细胞的脆弱性^[118], 从而达到治疗效果。在肺癌治疗策略中, PARG 抑制剂有望成为一种前景广阔的新型治疗选择。

5.4 代谢重编程在 B[α]PDE 诱导肺癌中的调控

代谢重编程被广泛认为是癌症的重要标志, 它可为癌细胞的生长、增殖和存活提供大分子的生物合成前体、能量底物和抗氧化剂, 其中包括葡萄糖代谢、脂质代谢、谷氨酰胺代谢等^[119-120], 从而促进细胞恶性转化。采用非靶向代谢组学方法发现, 在 B[α]PDE 暴露的 Beas-2B 细胞中有 52 种代谢物发生显著改变, 其中大多数氨基酸水平显著降低, 而大多数脂肪酸水平显著升高, 此外, 白藜芦醇干预消除了这些变化^[82]。研究发现, B[α]PDE 的暴露会改变细胞膜的脂质分布和理化性状, 其中总脂质和磷脂水平增加, 而胆固醇、糖脂和胆固醇与磷脂比率降低, 细胞膜流动性的改变影响了膜结合酶和各种受体的活性, 从而帮助癌细胞转移^[121]。通过抑制脂肪酸合成代谢相关酶如脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN)、三磷酸腺苷柠檬酸裂解酶 (ATP citrate lyase, ACLY)、硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 (stearoyl-CoA desaturase, SCD)、乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACC)、肉碱棕榈酰转移酶 1 (carnitine palmitoyltransferase 1,

CPT1) 及调整饮食结构通过破坏肺癌细胞内脂肪酸代谢稳态, 可抑制肺癌增殖转移^[122-123], 其中 FASN 是目前研究最广泛的脂肪酸代谢酶。此外, 在体外和体内测试了美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准的抗肥胖药物奥利司他在人和小鼠癌细胞中的抗癌活性, 结果显示奥利司他作为单一药物可针对调节脂质代谢的 FAF2 靶点抑制肺癌细胞的增殖和活力, 并在体外诱导细胞铁死亡^[124]。Xing 等^[125]观察到 B[α]PDE 转化的 THBec1 细胞摄取大量的谷氨酸 (Glu), 同时减少其排放和分解代谢, 从而更多地利用 Glu 进行谷氨酰胺 (Gln) 合成。Gln 衍生氮的代谢从 Gln 分解显著转变为核苷酸生物合成, 从而满足了癌细胞快速增殖的需求^[126]。B[α]PDE 诱导的 THBec1 细胞恶性转化可引起糖代谢的重塑, 它减少了线粒体内乳酸的产生和柠檬酸的含量, 增加了 ATP 的产生, 改变了 ENO2、PCB、ACO2、SDHA 和 PCK2 糖代谢相关酶的表达。B[α]PDE 诱导的恶性转化导致了 THBec1 细胞代谢模式的重塑, *FOXAI* 敲除可以影响 THBec1 细胞的代谢模式, 并在体外抑制转化细胞的增殖和迁移^[127]。肺鳞癌患者的肿瘤组织中 *FOXAI* mRNA 表达增高, 通过皮下和尾静脉注射 *FOXAI* 敲除 THBec1 细胞后, 发现 BALB/c 裸鼠的肿瘤生长和转移受到抑制^[125]。*FOXAI* 敲除通过上调 GLUL 和 SLC1A3 的表达部分逆转了 B[α]PDE 诱导的恶性转化引起的 Glu-Gln 代谢变化, 进一步分析发现可能存在某种机制破坏了 *FOXAI* 和 *FOXAI2* 之间的协同表达模式^[126]。通过代谢重编程引起细胞恶性转化的研究为 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化提供了新方向。

5.5 lncRNA 在 B[α]PDE 诱导肺癌中的调控

lncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA 分子, 其生物学功能与亚细胞定位密切相关^[128-130]。lncRNA 可以调控基因表达, 如作为染色质修饰因子、增强子、转录调节因子和转录后调节因子等参与调节染色质功能, 改变细胞质 mRNA 的稳定性从而影响翻译, 介导信号通路传导等^[128, 130]。在肺癌的发生发展过程中, lncRNA 也发挥了重要的调节作用, 其与 miRNA 相互作用参与了肺部炎症性疾病的各个阶段^[131]。研究发现, B[α]P 通过以 AhR 依赖性方式上调 linc00673 的表达促进了 NSCLC A549 细胞迁移、侵袭和 EMT^[80, 132-134], NSCLC 组织中的 linc00673 表达的

增加与组织学类型、肿瘤大小、淋巴结转移、TNM分期、预后显著相关^[135-137]，此外，研究还发现 linc00673 受到 miR-150-5p 的负调控^[133, 138]。由 linc00673 编码的新型蛋白质 RASON 被认为是致癌基因 *KRAS* 信号传导的关键调节剂^[139]，这有望成为针对 *KRAS* 突变治疗的新靶点。在 NSCLC 组织中，linc00312 表达水平显著降低，且 linc00312 的低表达与 NSCLC 的肿瘤-淋巴结转移阶段有关^[137]。linc02159 通过调节 ALYREF/YAP1 信号通路促进了 NSCLC 细胞增殖、迁移和侵袭^[140]。lncRNA 失调

是 NSCLC 发病机制中的常见事件^[141]，可作为支持和补充 NSCLC 组织学诊断的辅助工具^[142]。RNA 治疗学 (RNA therapeutics, RNATx) 旨在通过靶向或使用 RNA 分子进行治疗包括癌症在内的各种疾病，最有希望的靶标 lncRNA，其以细胞类型限制的方式调节致癌分子网络^[143]，linc00673-V3 靶向反义寡核苷酸被认为是克服 NSCLC 化疗耐药性的有前途的治疗策略^[144]。表 3 列出了 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化的表观遗传变异机制。

Table 3 Mechanisms of epigenetic variation in B[α]PDE-induced malignant transformation of bronchial epithelial cells
表3 B[α]PDE诱导支气管上皮细胞恶性转化的表观遗传变异机制

表观遗传变异机制	表达	参考文献
DNA甲基化	UBE2O 中的 cg06245338、SAMD4A 中的 cg24256211、ACBD6 中的 cg15107887、DGKZ 中的 cg02211741 和 SLFN13 中的 cg04354393 甲基化水平上调	[102]
miRNA	上调: miR-377-3p、miR-34、miR-181、miR-223、miR-320、miR-494、miR-498、miR-129、miR-106a 等; 下调: miR-373、miR-144、miR-10a、miR-493-5p、miR-363*、miR-506、miR-542-3p 等	[106-108, 145-147]
PARG	上调	[111, 117]
代谢重编程	氨基酸降低、脂肪酸升高、Glu-Gln 合成增加、ATP 生成增加	[82, 125, 127]
lncRNA	上调: linc00673、linc02159、lncRNA AF118081、lncRNA H19、LOC728228 等; 下调: linc00312 等	[80, 137, 140, 148-150]

6 总结与展望

B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化的过程是一个多因素、多基因参与、多阶段的过程，机制尚不明确。B[α]PDE 可以通过与 DNA 碱基共价结合形成 B[α]PDE-DNA 加合物，引起 DNA 碱基突变，诱导支气管上皮细胞恶性转化，最终形成肿瘤。B[α]PDE 也可以通过激活相关信号转导通路调控原癌基因、抑癌基因的表达或沉默，干扰 DNA 修复功能，导致细胞代谢及细胞周期紊乱从而诱导肺癌的发生发展。B[α]PDE 还可以通过组蛋白修饰、DNA 甲基化、miRNA、聚 ADP-核糖水解酶、代谢重编程、lncRNA 等表观遗传变异来诱导支气管上皮细胞恶性转化。利用现代分子生物学技术探究环境致癌物 B[α]PDE 诱导支气管上皮细胞恶性转化机制对于深入了解肺癌发生发展机制、发掘肺癌早期特异性分子标志物以及开发有效的肺癌预防和治疗策略具有重要意义。

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. *CA Cancer J Clin*, 2021, **71**(3): 209-249

[2] Siegel R, Miller K, Wagle N S, *et al.* Cancer statistics, 2023. *CA A Cancer J Clin*, 2023, **73**: 17-48

[3] Phillips D. Fifty years of benzo(a)pyrene. *Nature*, 1983, **303**: 468-472

[4] Bukowska B, Mokra K, Michałowicz J. Benzo[a]pyrene-environmental occurrence, human exposure, and mechanisms of toxicity. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(11):6348

[5] Abbass M, Chen Y, Arlt V M, *et al.* Benzo[a]pyrene and *Caenorhabditis elegans*: defining the genotoxic potential in an organism lacking the classical CYP1A1 pathway. *Arch Toxicol*, 2021, **95**(3): 1055-1069

[6] Bodduluru L N, Kasala E R, Barua C C, *et al.* Antiproliferative and antioxidant potential of hesperetin against benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. *Chem Biol Interact*, 2015, **242**: 345-352

[7] Yun B H, Guo J, Bellamri M, *et al.* DNA adducts: formation, biological effects, and new biospecimens for mass spectrometric measurements in humans. *Mass Spectrom Rev*, 2020, **39**(1/2): 55-82

[8] Carrà A, Guidolin V, Dator R P, *et al.* Targeted high resolution LC/MS³ adductomics method for the characterization of endogenous DNA damage. *Front Chem*, 2019, **7**: 658

[9] Herbert C, Ohrnberger C L, Quinlisk E, *et al.* Characterizing benzo[a]pyrene adducts in transfer RNAs using liquid chromatography

- coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Biomedicines*, 2023, **11**(12): 3270
- [10] Xiao Y, Liu C, Fu Y, *et al.* Mediation of association between benzo[a]pyrene exposure and lung cancer risk by plasma microRNAs: a Chinese case-control study. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2024, **271**: 115980
- [11] Fu M, Meng H, Jiang M, *et al.* The interaction effects of zinc and polygenic risk score with benzo[a]pyrene exposure on lung cancer risk: a prospective case-cohort study among Chinese populations. *Environ Res*, 2024, **250**: 118539
- [12] Dračinská H, Indra R, Jelínková S, *et al.* Benzo[a]pyrene-induced genotoxicity in rats is affected by co-exposure to Sudan I by altering the expression of biotransformation enzymes. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(15): 8062
- [13] Villalta P W, Hochalter J B, Hecht S S. Ultrasensitive high-resolution mass spectrometric analysis of a DNA adduct of the carcinogen benzo[a]pyrene in human lung. *Anal Chem*, 2017, **89**(23): 12735-12742
- [14] Chen K M, Sun Y W, Krebs N M, *et al.* Detection of DNA adducts derived from the tobacco carcinogens, benzo[a]pyrene and dibenzo[def, p]chrysene in human oral buccal cells. *Carcinogenesis*, 2022, **43**(8): 746-753
- [15] Zhang N, Qiu M, Yao S, *et al.* Circ0087385 promotes DNA damage in benzo(a)pyrene-induced lung cancer development by upregulating CYP1A1. *Toxicol Sci*, 2024, **198**(2): 221-232
- [16] Jiang Y, Mingard C, Huber S M, *et al.* Quantification and mapping of alkylation in the human genome reveal single nucleotide resolution precursors of mutational signatures. *ACS Cent Sci*, 2023, **9**(3): 362-372
- [17] Merav M, Bitensky E M, Heilbrun E E, *et al.* Gene architecture is a determinant of the transcriptional response to bulky DNA damages. *Life Sci Alliance*, 2024, **7**(3): e202302328
- [18] Kucab J E, van Steeg H, Luijten M, *et al.* TP53 mutations induced by BPDE in Xpa-WT and Xpa-Null human TP53 knock-in (Hupki) mouse embryo fibroblasts. *Mutat Res*, 2015, **773**: 48-62
- [19] Menzies G E, Reed S H, Brancale A, *et al.* Base damage, local sequence context and TP53 mutation hotspots: a molecular dynamics study of benzo[a]pyrene induced DNA distortion and mutability. *Nucleic Acids Res*, 2015, **43**(19): 9133-9146
- [20] Hanahan D, Weinberg R A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, **100**(1): 57-70
- [21] Weinberg R A. Oncogenes and tumor suppressor genes. *CA Cancer J Clin*, 1994, **44**(3): 160-170
- [22] Wynford-Thomas D. Oncogenes and anti-oncogenes; the molecular basis of tumour behaviour. *J Pathol*, 1991, **165**(3): 187-201
- [23] Kobets T, Smith B P C, Williams G M. Food-borne chemical carcinogens and the evidence for human cancer risk. *Foods*, 2022, **11**(18): 2828
- [24] Martin T D, Patel R S, Cook D R, *et al.* The adaptive immune system is a major driver of selection for tumor suppressor gene inactivation. *Science*, 2021, **373**(6561): 1327-1335
- [25] Jassim A, Rahrmann E P, Simons B D, *et al.* Cancers make their own luck: theories of cancer origins. *Nat Rev Cancer*, 2023, **23**(10): 710-724
- [26] Forbes S A, Beare D, Gunasekaran P, *et al.* COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res*, 2015, **43**(Database issue): D805-D811
- [27] Menzies G E, Prior I A, Brancale A, *et al.* Carcinogen-induced DNA structural distortion differences in the *RAS* gene isoforms; the importance of local sequence. *BMC Chem*, 2021, **15**(1): 51
- [28] Papke B, Der C J. Drugging RAS: know the enemy. *Science*, 2017, **355**(6330): 1158-1163
- [29] Jia Y, Jiang T, Li X, *et al.* Characterization of distinct types of *KRAS* mutation and its impact on first-line platinum-based chemotherapy in Chinese patients with advanced non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*, 2017, **14**(6): 6525-6532
- [30] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson A G, *et al.* Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2016, **375**(19): 1823-1833
- [31] Hong D S, Fakih M G, Strickler J H, *et al.* KRAS^{G12C} inhibition with sotorasib in advanced solid tumors. *N Engl J Med*, 2020, **383**(13): 1207-1217
- [32] Gao W, Lu J, Yang Z, *et al.* Mitotic functions and characters of KIF11 in cancers. *Biomolecules*, 2024, **14**(4): 386
- [33] Guo X, Zhou L, Wu Y, *et al.* KIF11 As a potential pan-cancer immunological biomarker encompassing the disease staging, prognoses, tumor microenvironment, and therapeutic responses. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, **2022**: 2764940
- [34] Ling J, Wang Y, Ma L, *et al.* KIF11, a plus end-directed kinesin, as a key gene in benzo(a)pyrene-induced non-small cell lung cancer. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2022, **89**: 103775
- [35] Dong A, Wang Z W, Ni N, *et al.* Similarity and difference of pathogenesis among lung cancer subtypes suggested by expression profile data. *Pathol Res Pract*, 2021, **220**: 153365
- [36] Li Z, Yu B, Qi F, *et al.* KIF11 serves as an independent prognostic factor and therapeutic target for patients with lung adenocarcinoma. *Front Oncol*, 2021, **11**: 670218
- [37] Sakuma Y, Hirai S, Sumi T, *et al.* Dual inhibition of KIF11 and BCL2L1 induces apoptosis in lung adenocarcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, **678**: 84-89
- [38] Xue T, Chen Y, Xu J, *et al.* Cyclovirobuxine D inhibits growth and progression of non-small cell lung cancer cells by suppressing the KIF11-CDC25C-CDK1-CyclinB1 G₂/M phase transition regulatory network and the NF κ B/JNK signaling pathway. *Int J Oncol*, 2023, **62**(5): 57
- [39] Li H, Zhang W, Zhao K, *et al.* A previously identified apoptosis inhibitor iASPP confers resistance to chemotherapeutic drugs by suppressing senescence in cancer cells. *J Biol Chem*, 2020, **295**(12): 4049-4063
- [40] Chen J, Xie F, Zhang L, *et al.* iASPP is over-expressed in human non-small cell lung cancer and regulates the proliferation of lung cancer cells through a p53 associated pathway. *BMC Cancer*, 2010, **10**: 694

- [41] Zhang G, Yu T, Zhang Q, *et al.* Malignant transformation of human bronchial epithelial cells induced by benzo[a]pyrene suggests a negative feedback of TP53 to PPP1R13L *via* binding a possible enhancer element. *Chem Biol Interact*, 2021, **349**: 109683
- [42] Malla S, Kadimisetty K, Fu Y J, *et al.* Chemical selectivity of nucleobase adduction relative to *in vivo* mutation sites on exon 7 fragment of p53 tumor suppressor gene. *Chem Sci*, 2015, **6**(10): 5554-5563
- [43] Yue X, Zhao Y, Huang G, *et al.* A novel mutant p53 binding partner BAG5 stabilizes mutant p53 and promotes mutant p53 GOFs in tumorigenesis. *Cell Discov*, 2016, **2**: 16039
- [44] Vaughan C A, Frum R, Pearsall I, *et al.* Allele specific gain-of-function activity of p53 mutants in lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, **428**(1): 6-10
- [45] Mallick A, Sharma M, Dey C S. Emerging roles of PHLPP phosphatases in the nervous system. *Mol Cell Neurosci*, 2022, **123**: 103789
- [46] Huang H, Pan X, Jin H, *et al.* PHLPP2 downregulation contributes to lung carcinogenesis following B[a]P/B[a]PDE exposure. *Clin Cancer Res*, 2015, **21**(16): 3783-3793
- [47] Tantai J, Pan X, Chen Y, *et al.* TRIM46 activates AKT/HK2 signaling by modifying PHLPP2 ubiquitylation to promote glycolysis and chemoresistance of lung cancer cells. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(3): 285
- [48] Zhou C, Huang C, Wang J, *et al.* LncRNA MEG3 downregulation mediated by DNMT3b contributes to nickel malignant transformation of human bronchial epithelial cells *via* modulating PHLPP1 transcription and HIF-1 α translation. *Oncogene*, 2017, **36**(27): 3878-3889
- [49] Pazzaglia S, Pioli C. Multifaceted role of PARP-1 in DNA repair and inflammation: pathological and therapeutic implications in cancer and non-cancer diseases. *Cells*, 2019, **9**(1): 41
- [50] Lee H M, Lee H J, Chang J E. Inflammatory cytokine: an attractive target for cancer treatment. *Biomedicines*, 2022, **10**(9): 2116
- [51] Puneekar S R, Velcheti V, Neel B G, *et al.* The current state of the art and future trends in RAS-targeted cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, **19**(10): 637-655
- [52] Rykova E, Ershov N, Damarov I, *et al.* SNPs in 3'UTR miRNA target sequences associated with individual drug susceptibility. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(22): 13725
- [53] Yu T, Xue P, Cui S, *et al.* Rs3212986 polymorphism, a possible biomarker to predict smoking-related lung cancer, alters DNA repair capacity *via* regulating ERCC1 expression. *Cancer Med*, 2018, **7**(12): 6317-6330
- [54] Ye J, She X, Liu Z, *et al.* Eukaryotic initiation factor 4A-3: a review of its physiological role and involvement in oncogenesis. *Front Oncol*, 2021, **11**: 712045
- [55] Li M, Liu J, Zhou J, *et al.* DNA adduct formation and reduced EIF4A3 expression contributes to benzo[a]pyrene-induced DNA damage in human bronchial epithelial BEAS-2B cells. *Toxicol Lett*, 2021, **351**: 53-64
- [56] Mazloomian A, Araki S, Ohori M, *et al.* Pharmacological systems analysis defines EIF4A3 functions in cell-cycle and RNA stress granule formation. *Commun Biol*, 2019, **2**: 165
- [57] Yu W, Liang J, Fang T, *et al.* EIF4A3 acts on the PI3K-AKT-ERK1/2-P70S6K pathway through FLOT1 to influence the development of lung adenocarcinoma. *Mol Cancer Res*, 2023, **21**(7): 713-725
- [58] Zhao S, Xiao M, Li L, *et al.* A unique circ_0067716/EIF4A3 double-negative feedback loop impacts malignant transformation of human bronchial epithelial cells induced by benzo(a)pyrene. *Sci Total Environ*, 2024, **923**: 171349
- [59] Allmann S, Mayer L, Olma J, *et al.* Benzo[a]pyrene represses DNA repair through altered E2F1/E2F4 function marking an early event in DNA damage-induced cellular senescence. *Nucleic Acids Res*, 2020, **48**(21): 12085-12101
- [60] Piberger A L, Bowry A, Kelly R D W, *et al.* PrimPol-dependent single-stranded gap formation mediates homologous recombination at bulky DNA adducts. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 5863
- [61] Li Y, He M, Chen B, *et al.* Inhibition of arsenite methylation induces synergistic genotoxicity of arsenite and benzo(a)pyrene diol epoxide in SCC-7 cells. *Metallomics*, 2019, **11**(1): 176-182
- [62] Alhegaili A S. Role of DNA repair deficiency in cancer development. *Pak J Biol Sci*, 2023, **26**(1): 15-22
- [63] Volcho K P, Lavrik O I. Inhibition of DNA repair enzymes as a valuable pharmaceutical approach. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(9): 7954
- [64] Yang J, Antin P, Berx G, *et al.* Guidelines and definitions for research on epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, **21**(6): 341-352
- [65] Akhmetkaliyev A, Alibrahim N, Shafiee D, *et al.* EMT/MET plasticity in cancer and Go-or-Grow decisions in quiescence: the two sides of the same coin?. *Mol Cancer*, 2023, **22**(1): 90
- [66] Han L, Wang S, Wei C, *et al.* Tumour microenvironment: a non-negligible driver for epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer. *Expert Rev Mol Med*, 2021, **23**: e16
- [67] Wang L, Chen Q, Liu T, *et al.* Role and mechanism of benzo[a]pyrene in the transformation of chronic obstructive pulmonary disease into lung adenocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, **149**(8): 4741-4760
- [68] Hyžďalová M, Procházková J, Strapáčová S, *et al.* A prolonged exposure of human lung carcinoma epithelial cells to benzo[a]pyrene induces p21-dependent epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) -like phenotype. *Chemosphere*, 2021, **263**: 128126
- [69] Li Y, Li H, Duan Y, *et al.* Blockage of TGF- α induced by spherical silica nanoparticles inhibits epithelial-mesenchymal transition and proliferation of human lung epithelial cells. *Biomed Res Int*, 2019, **2019**: 8231267
- [70] Guo C, You D Y, Li H, *et al.* Spherical silica nanoparticles promote malignant transformation of BEAS-2B cells by stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α). *J Int Med Res*, 2019, **47**(3): 1264-1278
- [71] Wang Z, Yang P, Xie J, *et al.* Arsenic and benzo[a]pyrene co-exposure acts synergistically in inducing cancer stem cell-like

- property and tumorigenesis by epigenetically down-regulating SOCS3 expression. *Environ Int*, 2020, **137**: 105560
- [72] Xie J, Yang P, Lin H P, *et al*. Integrin $\alpha 4$ up-regulation activates the hedgehog pathway to promote arsenic and benzo[α]pyrene co-exposure-induced cancer stem cell-like property and tumorigenesis. *Cancer Lett*, 2020, **493**: 143-155
- [73] Yang P, Xie J, Li Y, *et al*. Deubiquitinase USP7-mediated MCL-1 up-regulation enhances Arsenic and Benzo(a)pyrene co-exposure-induced cancer stem cell-like property and tumorigenesis. *Theranostics*, 2020, **10**(20): 9050-9065
- [74] Bordoloi D, Banik K, Vikkurthi R, *et al*. Inflection of Akt/mTOR/STAT-3 cascade in TNF- α induced protein 8 mediated human lung carcinogenesis. *Life Sci*, 2020, **262**: 118475
- [75] Bordoloi D, Banik K, Padmavathi G, *et al*. TIPE2 induced the proliferation, survival, and migration of lung cancer cells through modulation of Akt/mTOR/NF- κ B signaling cascade. *Biomolecules*, 2019, **9**(12): 836
- [76] Quan Z, Yang Y, Zheng H, *et al*. Clinical implications of the interaction between PD-1/PD-L1 and PI3K/AKT/mTOR pathway in progression and treatment of non-small cell lung cancer. *J Cancer*, 2022, **13**(13): 3434-3443
- [77] Larigot L, Juricek L, Dairou J, *et al*. AhR signaling pathways and regulatory functions. *Biochim Open*, 2018, **7**: 1-9
- [78] Alluli A, Fonseca G, Matthews J, *et al*. Regulation of long non-coding RNA expression by aryl hydrocarbon receptor activation. *Toxicol Lett*, 2024, **391**: 13-25
- [79] Ni H, Tang S, Yuan X, *et al*. Prolonged exposure of environmental concentration benzo[α]pyrene promoted cancer stemness through AhR/PKA/SOX2 dependent pathway in small cell lung cancer. *Sci Total Environ*, 2024, **906**: 167824
- [80] Wu Y, Niu Y, Leng J, *et al*. Benzo(a)pyrene regulated A549 cell migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition by up-regulating long non-coding RNA linc00673. *Toxicol Lett*, 2020, **320**: 37-45
- [81] Gao H, Ye G, Lin Y, *et al*. Benzo[α]pyrene at human blood equivalent level induces human lung epithelial cell invasion and migration *via* aryl hydrocarbon receptor signaling. *J Appl Toxicol*, 2020, **40**(8): 1087-1098
- [82] Ye G, Gao H, Zhang X, *et al*. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzo[α]pyrene-induced metabolic reprogramming in human lung epithelial BEAS-2B cells. *Sci Total Environ*, 2021, **756**: 144130
- [83] Lou W, Zhang M D, Chen Q, *et al*. Molecular mechanism of benzo[α]pyrene regulating lipid metabolism *via* aryl hydrocarbon receptor. *Lipids Health Dis*, 2022, **21**(1): 13
- [84] Taniguchi K, Karin M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*, 2018, **18**(5): 309-324
- [85] Alharbi K S, Fuloria N K, Fuloria S, *et al*. Nuclear factor-kappa B and its role in inflammatory lung disease. *Chem Biol Interact*, 2021, **345**: 109568
- [86] Zhang L, Ludden C M, Cullen A J, *et al*. Nuclear factor kappa B expression in non-small cell lung cancer. *Biomedicine Pharmacother*, 2023, **167**: 115459
- [87] Lei Y, Zhu Y, Mallah M A, *et al*. The activation of SIRT1 ameliorates BPDE-induced inflammatory damage in BEAS-2B cells *via* HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway. *Environ Toxicol*, 2023, **38**(10): 2429-2439
- [88] Shahid A, Chen M, Lin C, *et al*. The β -blocker carvedilol prevents benzo(a)pyrene-induced lung toxicity, inflammation and carcinogenesis. *Cancers*, 2023, **15**(3): 583
- [89] Wang W, Chang S, He X, *et al*. Sulforaphane inhibits the migration and invasion of BPDE-induced lung adenocarcinoma cells by regulating NLRP12. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2024, **485**: 116916
- [90] Zhao H, Fu L, Xiang H X, *et al*. N-acetylcysteine alleviates pulmonary inflammatory response during benzo[α]pyrene-evoked acute lung injury. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2022, **29**(3): 3474-3486
- [91] Liu B Y, Chiou J Z, Huang K M, *et al*. Effects of taurine against benzo[α]pyrene-induced cell cycle arrest and reactive oxygen species-mediated nuclear factor-kappa B apoptosis *via* reduction of mitochondrial stress in A549 cells. *Chin J Physiol*, 2022, **65**(4): 199-208
- [92] Gong K, Guo G, Beckley N, *et al*. Tumor necrosis factor in lung cancer: complex roles in biology and resistance to treatment. *Neoplasia*, 2021, **23**(2): 189-196
- [93] Zhao G, Wang Z, Huang Y, *et al*. Effects of benzo(a)pyrene on migration and invasion of lung cancer cells functioning by TNF- α . *J Cell Biochem*, 2018, **119**(8): 6492-6500
- [94] Yang G, Liu H, Xu S, *et al*. Mitigating effect of matricin against Benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis in experimental mice model. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2024, **27**(11): 1602-1610
- [95] Majumder D, Debnath R, Maiti D. IL-27 along with IL-28B ameliorates the pulmonary redox impairment, inflammation and immunosuppression in benzo(a)pyrene induced lung cancer bearing mice. *Life Sci*, 2020, **260**: 118384
- [96] Majumder D, Sarkar C, Debnath R, *et al*. Mechanistic insight into the synergism of IL-27 and IL-28B in regulation of benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis associated ROS/NF- κ B/NLRP3 crosstalk. *Chem Biol Interact*, 2022, **354**: 109807
- [97] Rasmi R R, Sakthivel K M, Guruvayoorappan C. NF- κ B inhibitors in treatment and prevention of lung cancer. *Biomed Pharmacother*, 2020, **130**: 110569
- [98] Davalos V, Esteller M. Cancer epigenetics in clinical practice. *CA Cancer J Clin*, 2023, **73**(4): 376-424
- [99] Wang H, Liu B, Chen H, *et al*. Dynamic changes of DNA methylation induced by benzo(a)pyrene in cancer. *Genes Environ*, 2023, **45**(1): 21
- [100] Khaledi F, Ghasemi S. A review on epigenetic effects of environmental factors causing and inhibiting cancer. *Curr Mol Med*, 2022, **22**(1): 8-24
- [101] Desaulniers D, Vasseur P, Jacobs A, *et al*. Integration of epigenetic mechanisms into non-genotoxic carcinogenicity hazard assessment: focus on DNA methylation and histone modifications. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(20): 10969

- [102] Meng H, Li G, Wei W, *et al.* Epigenome-wide DNA methylation signature of benzo[a]pyrene exposure and their mediation roles in benzo[a]pyrene-associated lung cancer development. *J Hazard Mater*, 2021, **416**: 125839
- [103] Liu Y, Ouyang L, Mao C, *et al.* Inhibition of RNF182 mediated by Bap promotes non-small cell lung cancer progression. *Front Oncol*, 2022, **12**: 1009508
- [104] Saliminejad K, Khorram Khorshid H R, Soleymani Fard S, *et al.* An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*, 2019, **234**(5): 5451-5465
- [105] Li J, Wang T, Wang Y, *et al.* Particulate matter air pollution and the expression of microRNAs and pro-inflammatory genes: association and mediation among children in Jinan, China. *J Hazard Mater*, 2020, **389**: 121843
- [106] Ke X, He L, Wang R, *et al.* MiR-377-3p-mediated EGR1 downregulation promotes B[a]P-induced lung tumorigenesis by Wnt/beta-catenin transduction. *Front Oncol*, 2021, **11**: 699004
- [107] Pan H L, Wen Z S, Huang Y C, *et al.* Down-regulation of microRNA-144 in air pollution-related lung cancer. *Sci Rep*, 2015, **5**: 14331
- [108] Kong X, Gao M, Liu Y, *et al.* GSDMD-miR-223-NLRP3 axis involved in B(a)P-induced inflammatory injury of alveolar epithelial cells. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, **232**: 113286
- [109] Tian Z, Hua X, Zhu J, *et al.* ATG7 upregulation contributes to malignant transformation of human bronchial epithelial cells by B[a]PDE via DNMT3B protein degradation and miR-494 promoter methylation. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, **263**: 115273
- [110] Li X, Li X, Zhu Z, *et al.* Poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) silencing suppresses benzo(a)pyrene induced cell transformation. *PLoS One*, 2016, **11**(3): e0151172
- [111] Zeng Z, Lu J, Wu D, *et al.* Poly(ADP-ribose) glycohydrolase silencing-mediated H2B expression inhibits benzo(a)pyrene-induced carcinogenesis. *Environ Toxicol*, 2021, **36**(3): 291-297
- [112] Zeng Z, Liu H, Yuan J, *et al.* Poly (ADP-ribose) glycohydrolase silencing-mediated maintenance of H2A and downregulation of H2AK9me protect human bronchial epithelial cells from benzo(a)pyrene-induced carcinogenesis. *Toxicol Lett*, 2018, **295**: 270-276
- [113] Huang H, Li X, Hu G, *et al.* Poly(ADP-ribose) glycohydrolase silencing down-regulates TCTP and Cofilin-1 associated with metastasis in benzo(a)pyrene carcinogenesis. *Am J Cancer Res*, 2015, **5**(1): 155-167
- [114] Huang H, Hu G, Cai J, *et al.* Role of poly(ADP-ribose) glycohydrolase silencing in DNA hypomethylation induced by benzo(a)pyrene. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, **452**(3): 708-714
- [115] Huang H Y, Cai J F, Liu Q C, *et al.* Role of poly(ADP-ribose) glycohydrolase in the regulation of cell fate in response to benzo(a)pyrene. *Exp Cell Res*, 2012, **318**(5): 682-690
- [116] Sasaki Y, Fujimori H, Hozumi M, *et al.* Dysfunction of poly (ADP-ribose) glycohydrolase induces a synthetic lethal effect in dual specificity phosphatase 22-deficient lung cancer cells. *Cancer Res*, 2019, **79**(15): 3851-3861
- [117] Dai W, Fu Y, Deng Y, *et al.* Regulation of Wnt signaling pathway by poly (ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) silencing suppresses lung cancer in mice induced by benzo(a)pyrene inhalation exposure. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 338
- [118] Slade D. PARP and PARG inhibitors in cancer treatment. *Genes Dev*, 2020, **34**(5/6): 360-394
- [119] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**(5): 646-674
- [120] D'Souza L C, Shekher A, Challagundla K B, *et al.* Reprogramming of glycolysis by chemical carcinogens during tumor development. *Semin Cancer Biol*, 2022, **87**: 127-136
- [121] Bhardwaj P, Kumar M, Dhatwalia S K, *et al.* Acetyl-11-keto- β -boswellic acid modulates membrane dynamics in benzo(a)pyrene-induced lung carcinogenesis. *Mol Cell Biochem*, 2019, **460**(1/2): 17-27
- [122] 田甜, 杨明夏. 代谢重编程在肺癌中的研究进展. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2024, **44**(3): 410-416
Tian T, Yang M X. *J Nanjing Med Univ Nat Sci*, 2024, **44**(3): 410-416
- [123] 吴晶, 周娟, 苏春霞. 肺癌脂肪酸代谢重编程的研究进展. *中国癌症杂志*, 2023, **33**(5): 517-526
Wu J, Zhou J, Su C X. *China Oncol*, 2023, **33**(5): 517-526
- [124] Zhou W, Zhang J, Yan M, *et al.* Orlistat induces ferroptosis-like cell death of lung cancer cells. *Front Med*, 2021, **15**(6): 922-932
- [125] Xing Y, Liu Z, Ma X, *et al.* Targeted metabolomics analysis identified the role of FOXA1 in the change in glutamate-glutamine metabolic pattern of BaP malignantly transformed 16HBE cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2023, **461**: 116402
- [126] Kodama M, Oshikawa K, Shimizu H, *et al.* A shift in glutamine nitrogen metabolism contributes to the malignant progression of cancer. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1320
- [127] Zhou C, Ma X, Chen J, *et al.* Untargeted metabolomics and lipidomics analysis identified the role of FOXA1 in remodeling the metabolic pattern of BaP-transformed 16HBE cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2021, **426**: 115640
- [128] Mattick J S, Amaral P P, Carninci P, *et al.* Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, **24**(6): 430-447
- [129] Bridges M C, Daulagala A C, Kourtidis A. LNCcation: lncRNA localization and function. *J Cell Biol*, 2021, **220**(2): e202009045
- [130] Statello L, Guo C J, Chen L L, *et al.* Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, **22**(2): 96-118
- [131] Li J, Huang S, Shi L, *et al.* Interaction between long noncoding RNA and microRNA in lung inflammatory diseases. *Immun Inflamm Dis*, 2024, **12**(1): e1129
- [132] Zhu K, Gong Z, Li P, *et al.* A review of linc00673 as a novel lncRNA for tumor regulation. *Int J Med Sci*, 2021, **18**(2): 398-405
- [133] Lu W, Zhang H, Niu Y, *et al.* Long non-coding RNA linc00673 regulated non-small cell lung cancer proliferation, migration, invasion and epithelial mesenchymal transition by sponging miR-150-5p. *Mol Cancer*, 2017, **16**(1): 118

- [134] Guan H, Zhu T, Wu S, *et al.* Long noncoding RNA LINC00673-v4 promotes aggressiveness of lung adenocarcinoma *via* activating WNT/ β -catenin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(28): 14019-14028
- [135] Ma C, Wu G, Zhu Q, *et al.* Long intergenic noncoding RNA 00673 promotes non-small-cell lung cancer metastasis by binding with EZH2 and causing epigenetic silencing of HOXA5. *Oncotarget*, 2017, **8**(20): 32696-32705
- [136] Zhu Y, Zhang Z, Peng H, *et al.* Clinicopathological and prognostic significance of LINC00673 in human malignancy: a review and meta-analysis. *Biosci Rep*, 2021, **41**(7): BSR20211175
- [137] Tan Q, Yu Y, Li N, *et al.* Identification of long non-coding RNA 00312 and 00673 in human NSCLC tissues. *Mol Med Rep*, 2017, **16**(4): 4721-4729
- [138] Baran K, Kordiak J, Jabłoński S, *et al.* Panel of miR-150 and linc00673, regulators of CCR6/CCL20 may serve as non-invasive diagnostic marker of non-small cell lung cancer. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 9642
- [139] Cheng R, Li F, Zhang M, *et al.* A novel protein RASON encoded by a lncRNA controls oncogenic RAS signaling in KRAS mutant cancers. *Cell Res*, 2023, **33**(1): 30-45
- [140] Yang Q, Wang M, Xu J, *et al.* LINC02159 promotes non-small cell lung cancer progression *via* ALYREF/YAP1 signaling. *Mol Cancer*, 2023, **22**(1): 122
- [141] Acha-Sagredo A, Uko B, Pantazi P, *et al.* Long non-coding RNA dysregulation is a frequent event in non-small cell lung carcinoma pathogenesis. *Br J Cancer*, 2020, **122**(7): 1050-1058
- [142] Sulewska A, Niklinski J, Charkiewicz R, *et al.* A signature of 14 long non-coding RNAs (lncRNAs) as a step towards precision diagnosis for NSCLC. *Cancers*, 2022, **14**(2): 439
- [143] Coan M, Haefliger S, Ounzain S, *et al.* Targeting and engineering long non-coding RNAs for cancer therapy. *Nat Rev Genet*, 2024, **25**(8): 578-595
- [144] Ni H, Tang S, Lu G, *et al.* Linc00673-V3 positively regulates autophagy by promoting Smad3-mediated *LC3B* transcription in NSCLC. *Life Sci Alliance*, 2024, **7**(6): e202302408
- [145] Shen Y L, Jiang Y G, Greenlee A R, *et al.* MicroRNA expression profiles and miR-10a target in anti-benzo[a]pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide-transformed human 16HBE cells. *Biomed Environ Sci*, 2009, **22**(1): 14-21
- [146] Zhao Y, Liu H, Li Y, *et al.* The role of miR-506 in transformed 16HBE cells induced by anti-benzo[a]pyrene-trans-7, 8-dihydrodiol-9, 10-epoxide. *Toxicol Lett*, 2011, **205**(3): 320-326
- [147] Zhao Y, Liu H Y, Li Y Q, *et al.* Effect of miR-542-3p on carcinogenesis induced by anti-benzo(a) pyrene-7, 8-diol-9, 10-epoxide. *Chin J Prev Med*, 2011, **45**(5): 416-421
- [148] Yang Q, Zhang S, Liu H, *et al.* Oncogenic role of long noncoding RNA AF118081 in anti-benzo[a]pyrene-trans-7, 8-dihydrodiol-9, 10-epoxide-transformed 16HBE cells. *Toxicol Lett*, 2014, **229**(3): 430-439
- [149] Fu Y, Wang W, Li X, *et al.* LncRNA H19 interacts with S-adenosylhomocysteine hydrolase to regulate LINE-1 methylation in human lung-derived cells exposed to Benzo[a]pyrene. *Chemosphere*, 2018, **207**: 84-90
- [150] Hu G, Yang T, Zheng J, *et al.* Functional role and mechanism of lncRNA LOC728228 in malignant 16HBE cells transformed by anti-benzopyrene-trans-7, 8-dihydrodiol-9, 10-epoxide. *Mol Carcinog*, 2015, **54**(Suppl 1): E192-E204

Mechanism of Malignant Transformation in Bronchial Epithelial Cells Induced by The Environmental Carcinogen B[α]PDE*

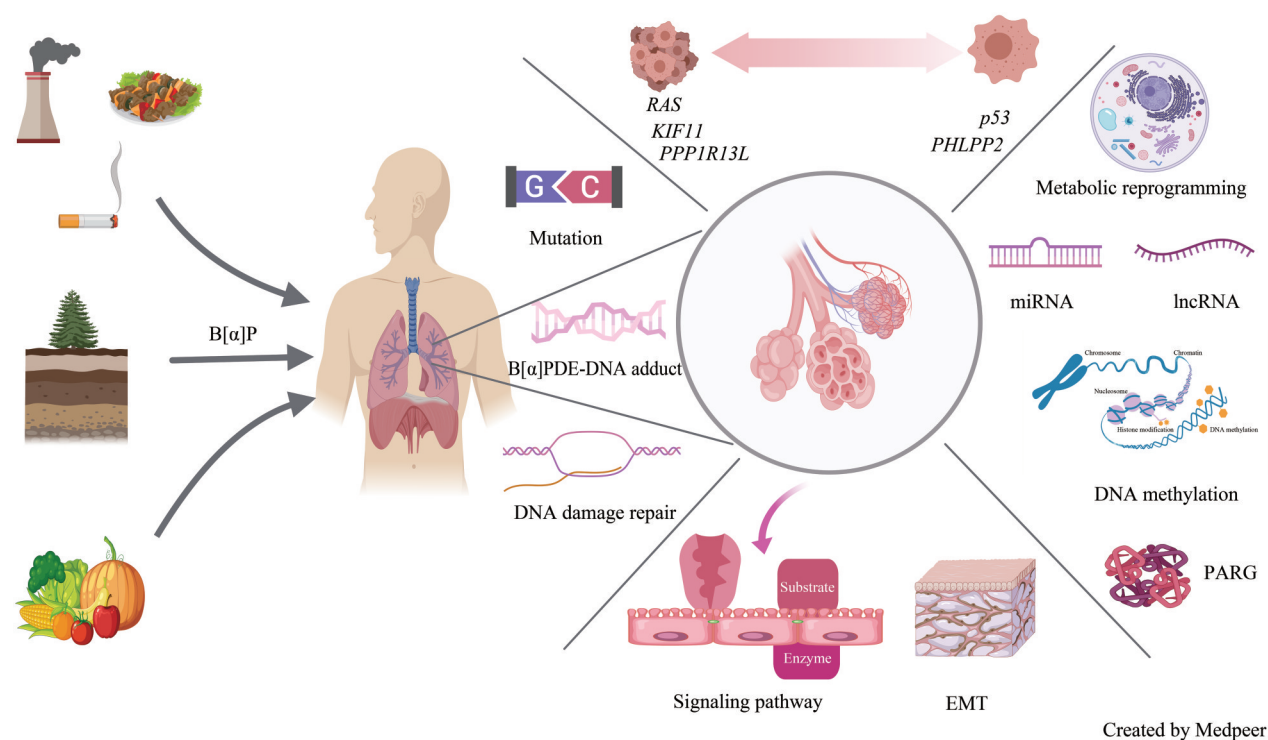
YIN Zhang-Ya^{1,2,3)}, LI Cong-Ya^{1,2)}, ZHU Jun-Lan^{1,2)}**

⁽¹⁾Health Science Center, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

⁽²⁾The Precision Medicine Laboratory, Ningbo Beilun District People's Hospital, Ningbo 315800, China;

⁽³⁾Department of Laboratory Medicine, Linhai Second People's Hospital, Taizhou 317016, China)

Graphical abstract



Abstract Benzo[a]pyrene (B[α]P) is a common environmental carcinogen, mainly from the smoke generated by the incomplete combustion of coal, oil and natural gas in the industrial production and living process, which undergoes a series of metabolic reactions *in vivo*, and ultimately generates the active metabolite, benzopyrene dihydroxy epoxide (B[α]PDE) to exert a strong carcinogenic effect. In this paper, we provide an overview of the mechanisms involved in the malignant transformation of bronchial epithelial cells induced by B[α]PDE in terms

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82103872) and Ningbo Natural Science Foundation (2023J026).

** Corresponding author.

Tel: 86-15088557216, E-mail: junlanzhu@zju.edu.cn

Received: March 6, 2024 Accepted: June 24, 2024

of DNA base mutations, DNA repair function, related signaling pathways and epigenetic variations. B[α]PDE covalently binds to DNA bases to form B[α]PDE-DNA adducts, which cause DNA base mutations, inducing malignant transformation of bronchial epithelial cells and ultimate tumor formation. Interestingly, it was found that B[α]PDE-DNA adducts showed a high GC-dependent distribution and the single-nucleotide resolution profile of DNA damage profile was highly similar to that of mutations previously identified in the lung cancer genomes of smokers. B[α]PDE can also regulate the expression or silencing of proto-oncogenes and oncogenes by activating the classical AhR signaling pathway, as well as the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B signaling pathways, inducing epithelial-mesenchymal transition (EMT) in bronchial epithelial cells, and interfering with cellular metabolism and the cell cycle, thereby inducing the development of lung cancer. The genes mutated in B[α]PDE-induced malignant transformation of bronchial epithelial cells include the proto-oncogenes *RAS*, *KIF11*, and *PPP1R13L* as well as the oncogenes *PHLPP2* and *p53*. B[α]PDE exposure leads to single nucleotide polymorphisms in the 3'-UTR of DNA repair enzyme gene, which inhibits the transcription of genes encoding proteins related to DNA damage repair, and subsequently affects the cell cycle, proliferation, and apoptosis of tumor cells. B[α]PDE exposure can induce lung carcinogenesis and progression by inducing hypomethylation of specific gene promoter regions to activate proto-oncogenes and hypermethylation to silence oncogenes. The aberrantly expressed miRNAs or lncRNAs may regulate the expression and signaling of lung cancer-related genes, thereby affecting lung cancer-related biological functions, including cell proliferation, apoptosis, migration and invasion. Poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) regulates DNA damage repair and maintains genomic stability, whereas silencing PARG inhibits B[α]PDE-induced deterioration of bronchial epithelial cells. B[α]PDE exposure induces metabolic reprogramming in cancer cells, which provides energy to cancer cells rapidly proliferation by increasing glucose uptake and glycolysis, and also regulates cancer cell growth and survival by affecting lipid and nucleic acid metabolism. In conclusion, in B[α]PDE-induced lung cancer, epigenetic changes such as DNA methylation, miRNAs, lncRNAs, metabolic reprogramming, and PARG work together to form a complex regulatory network that affects gene expression, cellular metabolism, and genomic stability. An in-depth study of the mechanism of B[α]PDE-induced malignant transformation of bronchial epithelial cells can provide a theoretical basis for the study of potential targets for the development of anti-tumor drugs, which will help to guide the prevention and treatment of lung cancer in polluted environments and exposure to smoky environments, and also provide theoretical support for the Healthy China measures of tobacco control and smoking ban.

Key words B[α]PDE, bronchial epithelial cell, malignant transformation, lung cancer, epigenetic mutations

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0087