

## 27-羟基胆固醇激活 LXR 信号通路调节 肺癌细胞的增殖\*

傅由芸<sup>1,2</sup>, 陈婷<sup>2</sup>, 蔺晓菁<sup>1</sup>, 高静<sup>2</sup>, 练雪梅<sup>1,2Δ</sup>

(重庆医科大学<sup>1</sup>脂糖代谢性疾病重庆市重点实验室, 感染性疾病分子生物学教育部重点实验室,<sup>2</sup>公共卫生与管理学院  
营养与食品卫生学教研室, 医学与社会发展研究中心, 健康领域社会风险预测治理协同创新中心, 重庆 400016)

**[摘要]** 目的: 探讨胆固醇代谢产物 27-羟基胆固醇(27-OHC)对肺癌细胞增殖的影响。方法: 采用不同浓度(0、0.3125、0.625、1.25、2.5、5 和 10  $\mu\text{mol/L}$ )的 27-OHC 处理人肺癌 A549 细胞 24~48 h, 随后使用细胞计数试剂盒(CCK-8 法)评估细胞活力, 采用流式细胞术检测细胞周期, EdU 实验检测细胞增殖状况, 采用总胆固醇检测试剂盒检测细胞内胆固醇水平, real-time PCR 及 Western blot 法分别检测胆固醇代谢相关分子的表达。结果: 27-OHC 以剂量和时间依赖性显著降低 A549 肺癌细胞的活力( $P < 0.01$ ), 抑制细胞增殖( $P < 0.05$ )。27-OHC 通过上调肝 X 受体(LXR)信号通路下游靶蛋白 ATP 结合盒转运蛋白 A1(ABCA1)的表达, 促进细胞内胆固醇的外排, 同时下调低密度脂蛋白受体(LDLR)和 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMG-CR)的表达, 减少胆固醇的摄入和从头合成, 导致细胞内胆固醇水平降低, 细胞活力下降( $P < 0.01$ )。此外, LXR 通路被 5  $\mu\text{mol/L}$  GSK2033 部分阻断后, 27-OHC 对 A549 细胞活力的抑制作用显著减弱( $P < 0.05$ )。结论: 27-OHC 通过激活 LXR 通路抑制 A549 细胞增殖。

**[关键词]** 27-羟基胆固醇; LXR 信号通路; 细胞增殖; 肺癌

**[中图分类号]** R734.2; R730.23 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.02.013

## 27-Hydroxycholesterol modulates lung cancer cell proliferation by activation of LXR signaling pathway

FU You-yun<sup>1,2</sup>, CHEN Ting<sup>2</sup>, LIN Xiao-jing<sup>1</sup>, GAO Jing<sup>2</sup>, LIAN Xue-mei<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Center for Lipid Research, Key Laboratory of Molecular Biology for Infectious Diseases, Ministry of Education, <sup>2</sup>School of Public Health and Management, Research Center for Medicine and Social Development, Innovation Center for Social Risk Governance in Health, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China, E-mail: xuemeilian@cqmu.edu.cn)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate the effect of cholesterol metabolite 27-hydroxycholesterol (27-OHC) on the proliferation of lung cancer cells. **METHODS:** Human lung cancer A549 cells were treated with 27-OHC at different concentrations (0, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5 and 10  $\mu\text{mol/L}$ ) for 24~48 h. The cell viability, cell cycle, cell proliferation, the intracellular cholesterol levels and cholesterol metabolism-related molecule expression were subsequently assessed by CCK-8 assay, flow cytometry, EdU staining, tissue total cholesterol detection kit, real-time PCR and Western blot. **RESULTS:** 27-OHC decreased the viability of the A549 cells in a dose- and time-dependent manner ( $P < 0.01$ ) and inhibited the cell proliferation ( $P < 0.05$ ). The expression of typical liver X receptor (LXR) downstream target proteins including ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1), low-density lipoprotein receptor (LDLR), and 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CR) were modulated, which promoted the efflux of intracellular cholesterol, and reduced cholesterol influx and *de novo* synthesis, resulting in decreased intracellular cholesterol levels and cell viability. Furthermore, the inhibitory effect of 27-OHC on A549 cell viability was significantly attenuated after the LXR pathway was partially blocked by 5  $\mu\text{mol/L}$  GSK2033 treatment ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION:** 27-OHC inhibits A549 cell proliferation via activation of LXR signaling pathway.

**[KEY WORDS]** 27-Hydroxycholesterol; LXR signaling pathway; Cell proliferation; Lung cancer

肺癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤,也位列 肿瘤死因的第一位<sup>[1]</sup>。近年来,诸多研究表明能量

[收稿日期] 2018-11-30 [修回日期] 2019-01-07

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81071907);重庆渝中区自然科学基金资助项目(No. 20170402)

Δ通讯作者 Tel: 023-68802030; E-mail: xuemeilian@cqmu.edu.cn

代谢的改变是肿瘤发病的新标志,其中脂质代谢与肿瘤发展之间的相关性亦得到深入研究<sup>[2]</sup>。胆固醇代谢紊乱与多种癌症发病率和死亡率有关,但胆固醇代谢与肺癌发生发展之间的关联仍不清楚<sup>[3]</sup>。细胞内胆固醇水平在促进肿瘤发展中起重要作用,然而流行病学研究表明血清胆固醇水平与肺癌的发生呈负相关<sup>[4]</sup>,提示肺组织胆固醇代谢存在一定的特殊性。胆固醇氧化中间产物在胆固醇代谢中发挥了重要的作用,经甾醇 27-羟化酶(sterol 27-hydroxylase, CYP27A1)酶促生成的 27-羟基胆固醇(27-hydroxycholesterol, 27-OHC)作为循环中含量丰富的氧化固醇之一。近年来,其在肿瘤发展中的作用已有研究,但结果存在较大争议。27-OHC 被证实是一种选择性雌激素受体调节剂(selective estrogen receptor modulator, SERM)和肝 X 受体(liver X receptor, LXR)配体<sup>[5-6]</sup>。Nelson 等<sup>[7]</sup>检测到 27-OHC 可以促进雌激素受体(estrogen receptor, ER)依赖性小鼠乳腺癌的生长;然而,在前列腺癌中,CYP27A1 表达水平的降低及后续对 27-OHC 的合成影响与患者无病生存期的缩短和更高的肿瘤分级有关;同时,27-OHC 可通过抑制甾醇调节元件结合蛋白 2(sterol-regulatory element binding protein 2, SREBP2)的激活和下调低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein receptor, LDLR)的表达来促进肿瘤细胞的凋亡<sup>[8]</sup>,这表明 27-OHC 对肿瘤发展的影响具有组织特异性。

LXR 是配体激活转录因子之一,它在维持细胞内胆固醇稳态中发挥作用,同时通过调节细胞胆固醇摄取、外排和从头合成途径影响着肿瘤的发展<sup>[9]</sup>,近年来 LXR 的活化对肺癌的保护性作用也得到了证实<sup>[10-12]</sup>。在前期研究中,我们观察到高胆固醇饮食对经乌拉坦诱导的 C57BL/6J 小鼠肺癌发展具有抑制作用;进一步机制研究显示,高胆固醇饮食诱发肺组织 LXR 的激活,继而抑制了肺肿瘤细胞的增殖,以

及小鼠诱发性肺癌的发生发展;同时发现介导 27-OHC 产生的 CYP27A1 在高胆固醇饮食肺癌组肺组织高表达<sup>[13]</sup>。结合文献查阅,我们推测高胆固醇饮食可能促进了小鼠体内 27-OHC 的产生,通过激活 LXR 途径,导致肺癌细胞中的胆固醇水平降低,增殖受到抑制。为了验证这一设想,本项工作拟探讨 27-OHC 对肺癌细胞系 A549 细胞增殖的特异性作用及可能的机制。

## 材 料 和 方 法

### 1 细胞系和试剂

人肺癌细胞株 A549 购自美国菌种保藏库(American Type Culture Collection, ATCC),并得到北京阅微基因技术有限公司成功鉴定。RPMI-1640 培养液及青链霉素双抗溶液购自 HyClone;胎牛血清购自 BI;27-OHC (ENZ-CHM102)购自 Enzo;LXR 抑制剂 GSK2033 (1221277)购自 TOCRIS Bioscience;CCK-8 试剂盒(CK04)购自上海东仁化学科技有限公司;RIPA 裂解缓冲液(P0013B)及 BeyoClick™ EdU-488 细胞增殖检测试剂盒(C0071S)购自上海碧云天公司;BCA 蛋白定量试剂盒(CW0014S)购自北京康为世纪公司;Western blot 所需 I 抗[ $\beta$ -actin (TA-09)]购自北京中杉金桥公司;抗 ATP 结合盒转运蛋白 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)抗体(C58219)购自 Santa Cruz;3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMG-CR)抗体(ab174830)购自 Abcam;LDLR 抗体(ET1606-47)购自杭州华安生物技术公司;化学发光检测试剂购自上海默克化工技术有限公司;TRIzol, SYBR Green 及逆转录试剂盒购自 TaKaRa;组织总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒(E1015)购自北京普利莱公司。所用引物由深圳华大基因技术有限公司根据设计合成,见表 1。

表 1 Real-time PCR 引物序列

Table 1. Primer sequences for real-time PCR

Name	Forward sequence(5'-3')	Reverse sequence(5'-3')
$\beta$ -actin	CCTGGCACCCAGCACAAAT	GCCGATCCACACGGAGTA
ABCA1	CCCTGTGGAATGTACCTATGTG	GAGGTGTCCCAAAGATGCAA
HMG-CR	GGCCAGTTGTGCGTCTT	TTTCGAGCCAGGCTTTCAC
LDLR	TACCCCTCGAGACAGATGGT	ACTGTCCGAAGCCTGTTCTG

## 2 方法

**2.1 A549 细胞培养** 将 A549 细胞培养于含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素双抗溶液的 RPMI-1640 培养液中,孵育在 37 °C、相对湿度 95%、CO<sub>2</sub> 5% 恒温箱中。细胞呈贴壁生长,3~4 d 传代,取对

数生长期细胞进行实验。

**2.2 细胞活性检测** 用 CCK-8 试剂盒检测细胞活力。将对数生长期细胞以  $5 \times 10^7/L$  (每孔 100  $\mu L$ ) 接种在 96 孔板中,在培养液中培养 24 h,并且用无菌 PBS 填充板的边缘孔。随后用无血清 RPMI-1640

替换培养液,使细胞饥饿 12 h。结合所查文献<sup>[7-8, 14-15]</sup>,以及预实验中对 27-OHC 浓度不断优化,故采用不同浓度(0、0.3125、0.625、1.25、2.5、5 和 10  $\mu\text{mol/L}$ )的 27-OHC 处理 A549 细胞,每组设置 5 个复孔,24/48 h 后,向各孔中加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 溶液,在孵箱中孵育 2 h,用酶标仪(HIMFD, Gene Company Limited)测定各孔在 450 nm 波长下的吸光度(A)。

为测试 GSK2033 对 LXR 通路的抑制效应,将 A549 细胞用不含血清的 RPMI-1640 培养液,含 5  $\mu\text{mol/L}$  GSK2033 的培养液,含 5  $\mu\text{mol/L}$  27-OHC 的培养液,以及含有 5  $\mu\text{mol/L}$  GSK2033 和 5  $\mu\text{mol/L}$  27-OHC 的培养液分别培养在 96 孔板中 36 h,并用酶标仪测定各孔在 450 nm 波长下的 A 值。

**2.3 流式细胞术检测细胞周期** 将 A549 细胞以  $2 \times 10^8/\text{L}$ (每孔 1 mL)接种在 6 孔板中,在孵箱中培养 24 h。采用无血清 RPMI-1640 替换培养液,使细胞饥饿 12 h。将细胞在含有不同浓度(0、2.5 和 5  $\mu\text{mol/L}$ )27-OHC 的培养液中培养 36 h,每组设置 3 个复孔,经胰蛋白酶消化后,预冷却的 PBS 洗涤细胞 1 次。采用 250  $\mu\text{L}$  PBS 吹散细胞,向悬浮液中缓慢滴入 750  $\mu\text{L}$  无水乙醇。4 $^{\circ}\text{C}$  固定过夜后,向每管中加入 5  $\mu\text{L}$  FITC-膜联蛋白 V,并将细胞在室温下避光温育 15 min。流式细胞术检测之前,将 5  $\mu\text{L}$  荧光染料碘化丙啶(propidium iodide, PI)加入管中。

**2.4 BeyoClick™ Edu-488 检测细胞增殖** 细胞爬片在含有不同浓度(0、2.5 和 5  $\mu\text{mol/L}$ )的 27-OHC 的培养液中培养 36 h 后,采用 37  $^{\circ}\text{C}$  预热的 10  $\mu\text{mol/L}$  Edu(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷)工作液继续孵育细胞 2 h,去除培养液,4% 多聚甲醛室温固定 15 min,含 3% BSA 的 PBS 洗涤细胞 3 次,含 0.3% Triton X-100 的 PBS 室温通透 10 ~ 15 min,每孔爬片加入 0.5 mL 点击(Click)反应液,室温避光孵育 30 min,1  $\times$  Hoechst 33342 对细胞核进行染色,染色完毕后采用抗荧光猝灭剂封片并置于倒置荧光显微镜下观察与拍照。

**2.5 Real-time PCR 检测** 采用 TRIzol 提取细胞总 RNA,并使用逆转录试剂盒获得 cDNA。Real-time PCR 技术检测 ABCA1、LDLR 和 HMG-CR 的表达。用核酸扩增实时定量检测系统检测达到一定荧光值所需要的循环次数(Ct 值)。循环次数的标准值用肌动蛋白基因标准化,用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  方法计算比较实验组和对照组基因变化。

**2.6 Western blot** 采用 RIPA 裂解缓冲液提取细胞全蛋白,BCA 蛋白质测定试剂盒检测蛋白质浓度。

将适量的蛋白质样品(30 ~ 50  $\mu\text{g}$ )行 10% 或 12% SDS-PAGE,以 80V 的恒定电压分离 30 min,然后转移至 120V,持续约 1.5 h;湿转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉在 37 $^{\circ}\text{C}$  摇床中封闭膜 1 h。用相应 I 抗和 II 抗孵育该膜,洗涤后,化学发光检测试剂 A:B 按 1:1 比例配制,立即将其均匀加在膜表面,放入 Fusion Fx5 化学发光检测仪(Vilber)显色得到条带,再以 ImageJ 软件定量分析。

**2.7 细胞总胆固醇检测** 根据组织总胆固醇测定试剂盒的方案检测细胞内总胆固醇水平。简言之,A549 细胞在含有不同浓度的 27-OHC 的培养液中培养 36 h 后,用裂解缓冲液处理细胞,转移到离心管中,于室温下  $2\ 000 \times g$  离心 5 min。吸出上清液酶法测定(550 nm)胆固醇浓度,同时将剩余的沉淀物干燥约 3 min,经 500  $\mu\text{L}$  0.1 mol/L NaOH 溶解以测定蛋白质浓度。以每 mg 蛋白浓度校正胆固醇含量。

### 3 统计学分析

数据以均数  $\pm$  标准差(mean  $\pm$  SD)表示。本研究应用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析,两组间差异采用 Student's *t* 检验,多组间差异采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  被认为具有统计学差异。

## 结 果

### 1 27-OHC 对 A549 细胞增殖的影响

CCK-8 实验结果显示,27-OHC 处理以剂量和时间依赖性方式降低 A549 细胞活力,与对照组相比,不同浓度的 27-OHC 处理肺癌细胞 24/48 h 后细胞存活率显著降低( $P < 0.01$ ),见图 1。流式细胞术检测不同浓度的 27-OHC 对细胞周期停滞的影响,与空白对照组相比, $G_1$  期细胞在 5  $\mu\text{mol/L}$  27-OHC 处理后显著增加( $P < 0.05$ ),S 期细胞减少,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 2。同时,在 27-OHC 处理组中,Hoechst/EdU 合并阳性细胞率显著低于空白对照组( $P < 0.05$ ),见图 3。

### 2 27-OHC 对 A549 细胞 ABCA1、HMG-CR 和 LDLR mRNA 和蛋白表达的影响

与对照组相比,5  $\mu\text{mol/L}$  27-OHC 在处理细胞 36 h 后显著上调 ABCA1 的蛋白表达( $P < 0.05$ ),同时下调 HMG-CR 和 LDLR 的蛋白表达( $P < 0.01$ );2.5  $\mu\text{mol/L}$  27-OHC 略上调 ABCA1 的蛋白表达,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),同时下调 HMG-CR 和 LDLR 的蛋白表达( $P < 0.01$ ),见图 4。与蛋白质表达一致,用 2.5  $\mu\text{mol/L}$  或 5  $\mu\text{mol/L}$  27-OHC 处理细胞 36 h 后,与空白对照组相比,ABCA1 的 mRNA 表达增加( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),HMG-CR 的 mRNA

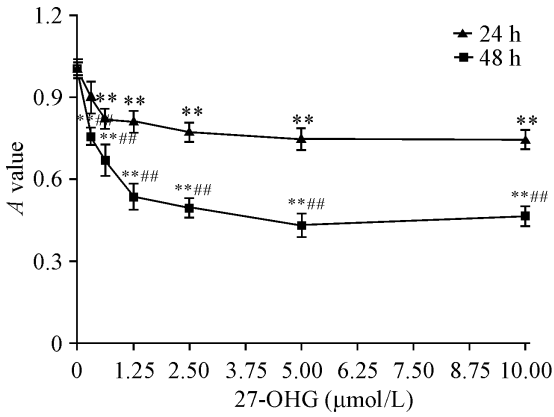


Figure 1. 27-OHG decreased the viability of A549 cells. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*\*  $P < 0.01$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$ ; ##  $P < 0.01$  vs 24 h.

图1 27-OHG降低A549细胞的活力

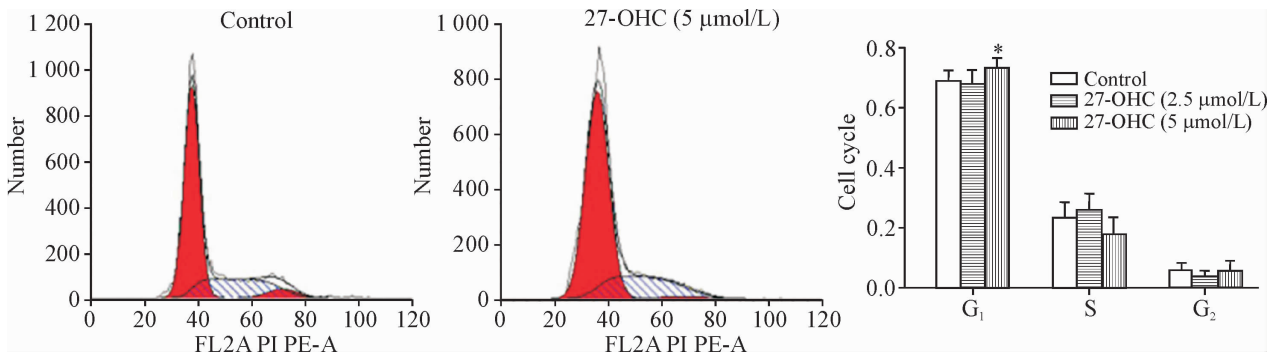


Figure 2. Effect of 27-OHG on cell cycle of A549 cells. Mean  $\pm$  SD.  $n = 6$ . \*  $P < 0.05$  vs control group.

图2 27-OHG对A549细胞周期的影响

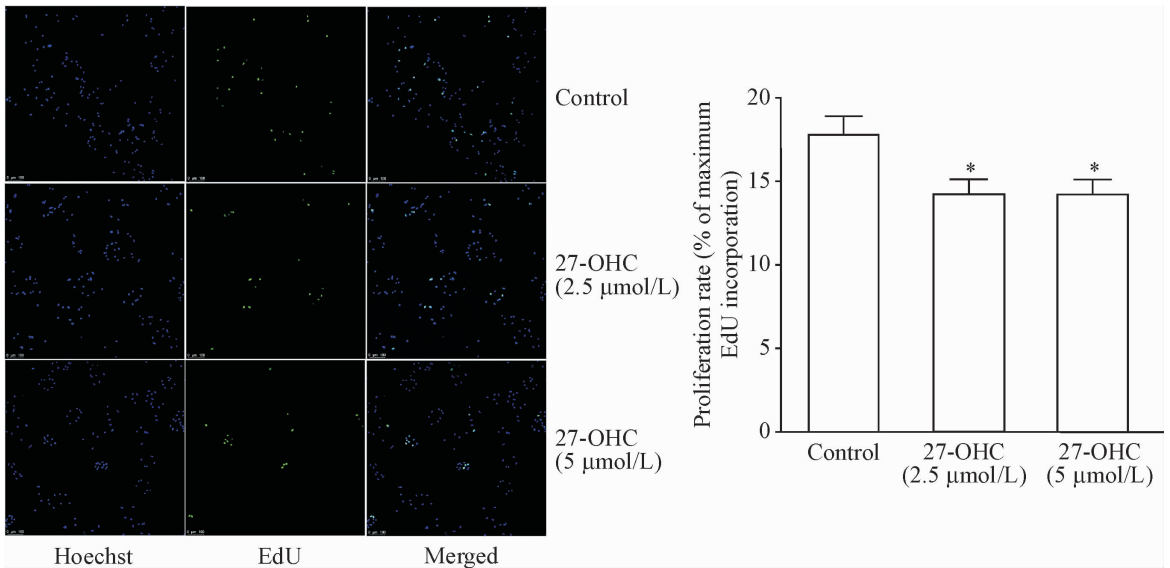


Figure 3. 27-OHG reduced the proliferation rate of A549 cells. Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$  vs control group.

图3 27-OHG降低A549细胞的增殖率

表达水平降低 ( $P < 0.01$ ), LDLR mRNA 表达也降低, 见图 5。

### 3 27-OHG 对 A549 细胞内胆固醇稳态的影响

TC 含量测试的结果显示, 与空白对照组相比, 用 5  $\mu\text{mol/L}$  的 27-OHG 处理后细胞内 TC 的水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), 见图 6A。

### 4 LXR 通路抑制对 A549 细胞活力的影响

当 LXR 通路被广谱 LXR 抑制剂 GSK2033 阻断后, 进一步检测 A549 细胞活力, 结果显示, 5  $\mu\text{mol/L}$  GSK2033 处理显著减弱了 27-OHG 对 A549 细胞活力的抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 见图 6B。

## 讨 论

27-OHG 是胆固醇代谢与疾病之间的主要介质

之一, 以往研究证实了 27-OHG 与乳腺癌、前列腺癌、动脉粥样硬化和神经退行性疾病之间的相关性<sup>[7-8, 14-15]</sup>, 然而很少报道 27-OHG 与肺癌之间的相关性。本研究结果表明, 27-OHG 可以通过激活 LXR

通路, 调节细胞内胆固醇稳态, 从而使 A549 细胞的增殖受到抑制。LXR 在许多疾病发展过程中发挥重要作用, 研究表明 LXR 是机体抗心肌缺血/再灌注损伤的防御因子<sup>[16-17]</sup>; 近来研究发现体内/体外

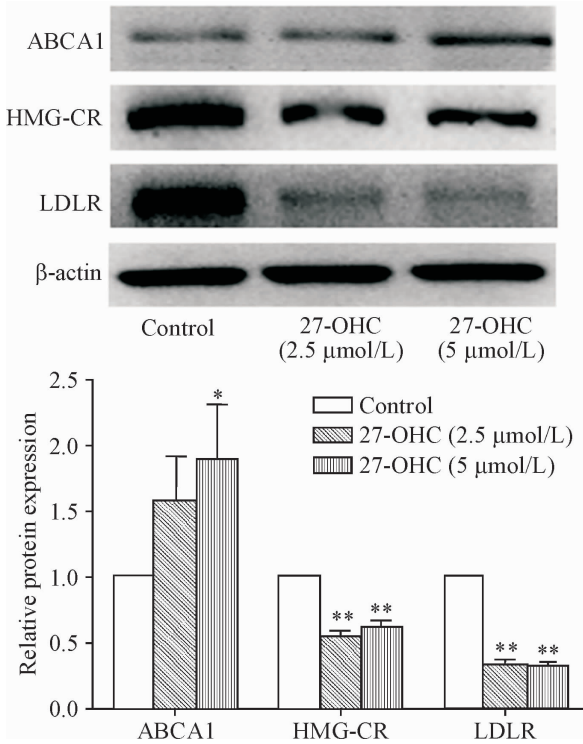


Figure 4. The relative protein expression of ABCA1, HMG-CR and LDLR in A549 cells treated with different doses of 27-OHC for 36 h. Mean ± SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group.

图4 A549细胞中ABCA1、HMG-CR和LDLR的蛋白表达情况

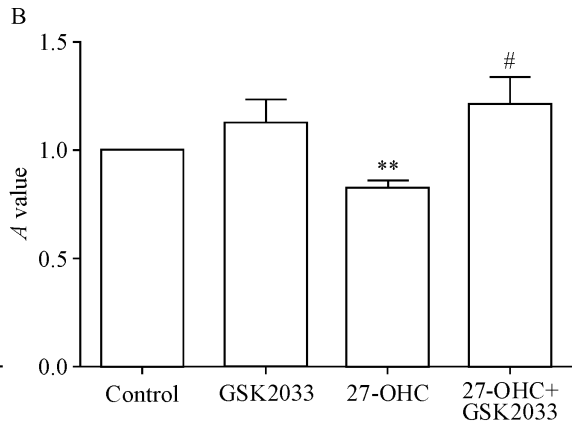
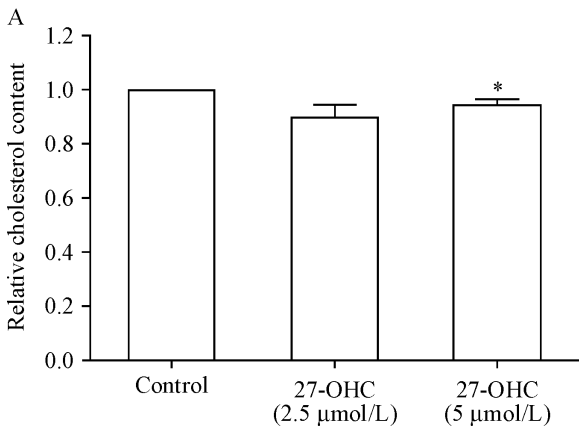


Figure 6. Cellular cholesterol content determination and effect of LXR pathway inhibition on A549 cell viability. A: the relative cholesterol content of A549 cells treated with different doses of 27-OHC for 36 h; B: effect of LXR pathway inhibition on A549 cell viability. Mean ± SD.  $n = 4$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.05$  vs 27-OHC group.

图6 细胞胆固醇含量测定和LXR途径抑制对A549细胞活力的影响

用<sup>[18]</sup>。在本研究中,我们观察到用不同浓度的 27-OHC 处理 24/48 h 后细胞活力显著降低,流式细胞术结果显示,经 5 μmol/L 27-OHC 处理后,细胞多数停滞在 G<sub>1</sub> 期,EdU 实验证实 A549 细胞的增殖受到抑制。进一步机制研究表明,27-OHC 激活 LXR 通路,上调下游靶蛋白 ABCA1 的表达,下调 HMG-CR 和 LDLR 的表达,继而促进细胞内胆固醇的外排,降

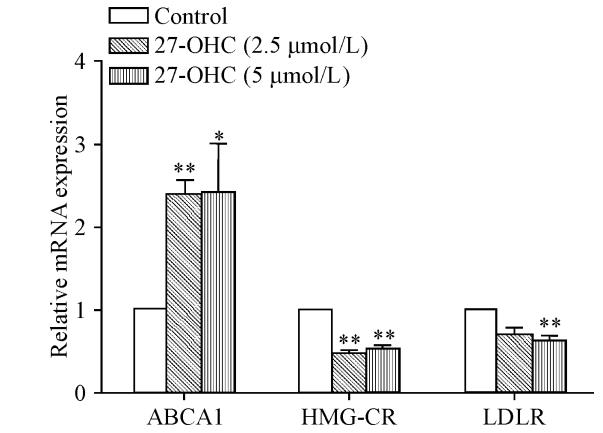


Figure 5. The mRNA expression of ABCA1, HMG-CR and LDLR in A549 cells treated with different doses of 27-OHC for 36 h. Mean ± SD.  $n = 3$ . \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group.

图5 A549细胞中ABCA1、HMG-CR和LDLR的mRNA表达情况

LXR 活化对肺癌发展亦发挥着一定的保护作用。例如,敲除小鼠 *LXR-α* 和 *LXR-β* 基因会导致小鼠自发性外周鳞状细胞肺癌的发生<sup>[10]</sup>。LXR 激动剂 T0901317 或 GW3965 抑制 Akt 活化并使耐吉非替尼的肺癌细胞 HCC827-8-1 对吉非替尼的敏感性增强<sup>[11]</sup>。

LXR在维持细胞胆固醇代谢平衡中发挥着作

用。LXR在维持细胞胆固醇代谢平衡中发挥着作用。低胆固醇的从头合成,减少胆固醇的摄入,使得 A549 细胞内胆固醇水平降低;另一方面,LXR 通路经 5 μmol/L GSK2033 部分阻断后,27-OHC 对 A549 细胞活力的抑制作用显著减弱,进一步表明 LXR 通路的激活参与了 27-OHC 抑制细胞增殖的作用,并在保持细胞内胆固醇稳态中发挥重要作用。

胆固醇代谢平衡与癌细胞增殖密切相关,因为

它是脂筏的关键组成成分;肿瘤细胞可能比正常对照具有更高水平的富含胆固醇的脂筏。脂筏总是作为信号调节的主要平台,在调节细胞增殖以及凋亡的过程中发挥重要作用<sup>[19]</sup>。脂筏中 PI3K/Akt 等信号通路的激活与某些肿瘤的发生和发展密切相关<sup>[20]</sup>。然而,脂筏及其相关信号通路是否参与 27-OHC 调节肺癌细胞的增殖尚需深入研究。

27-OHC 作为 SERM 和 LXR 通路的激活剂,其在肿瘤发生发展中的作用近来引起了重视。27-OHC 促进 ER 阳性乳腺癌的进展以及对前列腺癌的保护性作用,提示 27-OHC 在肿瘤发展中的作用具有明显的组织特异性。最近报道了 27-OHC 以 ER- $\beta$  依赖性方式促进了肺癌细胞增殖,但 ER- $\alpha$  阳性或 ER 阴性细胞的增殖未受影响<sup>[21]</sup>。我们的研究观察到 27-OHC 对 ER 阴性的 A549 细胞增殖具有抑制性的作用。因此,肺癌组织中 LXR 和 ER 表达的差异,可能在胆固醇代谢影响肺癌发展中发挥了作用,值得深入地研究。

#### [参 考 文 献]

[1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2):87-108.

[2] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.

[3] Kuzu OF, Noory MA, Robertson GP. The role of cholesterol in cancer[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8):2063-2070.

[4] Lin X, Lu L, Liu L, et al. Blood lipids profile and lung cancer risk in a meta-analysis of prospective cohort studies[J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 11(4):1073-1081.

[5] Umetani M, Shaul PW. 27-Hydroxycholesterol: the first identified endogenous SERM [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2011, 22(4):130-135.

[6] Song C, Liao S. Cholestenic acid is a naturally occurring ligand for liver X receptor alpha [J]. *Endocrinology*, 2000, 141(11):4180-4184.

[7] Nelson ER, Wardell SE, Jasper JS, et al. 27-Hydroxycholesterol links hypercholesterolemia and breast cancer pathophysiology[J]. *Science*, 2013, 342(6162):1094-1098.

[8] Alfaqih MA, Nelson ER, Liu W, et al. CYP27A1 loss dysregulates cholesterol homeostasis in prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(7):1-12.

[9] Edwards PA, Kennedy MA, Mak PA. LXRs; oxysterol-activated nuclear receptors that regulate gene controlling lipid homeostasis[J]. *Vascul Pharmacol*, 2002, 38(4):249-256.

[10] Dai YB, Miao YF, Wu WF, et al. Ablation of liver X receptors  $\alpha$  and  $\beta$  leads to spontaneous peripheral squamous cell lung cancer in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(27):7614-7619.

[11] Cao HX, Yu SR, Chen D, et al. Liver X receptor agonist T0901317 reverses resistance of A549 human lung cancer cells to EGFR-TKI treatment[J]. *FEBS Open Bio*, 2016, 7(1):35-43.

[12] Melloni G, Muriana P, Bandiera A, et al. Prognostic role of liver X receptor-alpha in resected stage II and III non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Respir J*, 2018, 12(1):241-246.

[13] Chen T, Lu L, Xu C, et al. Inhibition role of atherogenic diet on ethyl carbamate induced lung tumorigenesis in C57BL/6J mice[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4723.

[14] Umetani M, Ghosh P, Ishikawa T, et al. The cholesterol metabolite 27-hydroxycholesterol promotes atherosclerosis via proinflammatory processes mediated by estrogen receptor alpha[J]. *Cell Metab*, 2014, 20(1):172-182.

[15] An Y, Zhang DD, Yu HL, et al. 27-Hydroxycholesterol regulates cholesterol synthesis and transport in C6 glioma cells[J]. *Neurotoxicology*, 2017, 59:88-97.

[16] 殷 然, 王梦洪, 郑泽琪, 等. 肝 X 受体抑制乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(9):1671-1675.

[17] 郑耀富, 殷 然, 王梦洪, 等. 肝 X 受体通过调控 GLUT-4 减轻心肌缺血/再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(1):18-24.

[18] 代小艳, 唐朝克. 肝 X 受体在体内胆固醇平衡中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(9):1854-1857.

[19] Simons K, Toomre D. Lipid rafts and signal transduction [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(1):31-39.

[20] Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(6):1075-1083.

[21] Hiramitsu S, Ishikawa T, Lee WR, et al. Estrogen receptor beta-mediated modulation of lung cancer cell proliferation by 27-hydroxycholesterol[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9:470.

(责任编辑:林白霜,罗 森)