

分子伴侣介导的自噬通过降解 KRT6B 蛋白促进结肠癌细胞辐射抗性研究

张钰杰 尹玉施 何翔 林德焕 孙以勒 马淑梅 刘晓冬

温州医科大学公共卫生学院, 温州 325035

通信作者: 刘晓冬, Email: liuxd2014@126.com

【摘要】 **目的** 探讨分子伴侣介导的自噬调控结肠癌辐射敏感性的机制。**方法** 使用结肠癌 SW480 细胞系, 在 8 Gy γ 射线照射 4、8、12、24、48 h 后, 利用免疫印迹法检测细胞中 CMA 活性蛋白 LAMP2、HSPA8 的表达变化; 蛋白质谱分析筛选 CMA 潜在的调控蛋白 KRT6B; 分别转染 LAMP2、HSPA8 及 KRT6B 过表达质粒, 检测过表达对照 Vector 组、过表达 LAMP2、HSPA8 组后 KRT6B 的表达水平; 台盼蓝染色法检测细胞死亡率; 采用克隆形成实验检测细胞辐射敏感性; 免疫共沉淀 (CO-IP) 检测 KRT6B 与 HSPA8、LAMP2 的相互作用及结合位点。**结果** 8 Gy 电离辐射促进 SW480 细胞中 CMA 关键蛋白 LAMP2 表达 ($t=3.15\sim 3.72$, $P<0.05$), HSPA8 表达未见显著变化; 蛋白质组学分析显示, KRT6B 在沉默 LAMP2 后表达上调最显著, 且在 8 Gy 电离辐射后表达降低; 与 NC 组 15.8% 相比, 过表达 KRT6B 显著增加电离辐射诱导的细胞死亡至 32.5% ($t=9.42$, $P<0.05$), 沉默 KRT6B 则减少细胞死亡至 9.86% ($t=3.73$, $P<0.05$), 并被 LAMP2 的沉默部分逆转至 16.39% ($t=6.18$, $P<0.05$)。克隆形成实验进一步证实, 过表达 KRT6B 能够显著提高细胞的辐射敏感性 ($F=179.70$, $P<0.001$); 经 CO-IP 实验证实, KRT6B 可与 LAMP2、HSPA8 发生直接相互作用, 且电离辐射进一步加强这种结合; 血清饥饿处理或过表达 LAMP2、HSPA8 均可显著抑制 KRT6B 的蛋白表达。此外, 构建 KRT6B 与 HSPA8 结合位点的突变体质粒并进行 CO-IP 分析, 表明 HSPA8 与 KRT6B 的结合位点位于 204~208 位氨基酸残基区域。**结论** 电离辐射促进结肠癌细胞中 CMA 的活性增加, 导致 KRT6B 蛋白被降解, 进而降低 SW480 结肠癌细胞的辐射敏感性。

【关键词】 自噬; 辐射抵抗; 结肠癌; KRT6B

基金项目: 国家自然科学基金 (82574034); 浙江省自然科学基金 (LMS25H220002)

Mechanisms of chaperon-mediated autophagy to promote radioresistance of colon cancer cells by degrading protein KRT6B

Zhang Yujie, Yin Yushi, He Xiang, Lin Dehuan, Sun Yile, Ma Shumei, Liu Xiaodong

School of Public Health, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

Corresponding author: Liu Xiaodong, Email: liuxd2014@126.com

【Abstract】 **Objective** To explore the mechanisms by which chaperone-mediated autophagy (CMA) regulates the radiosensitivity of colon cancer cells. **Methods** Colon cancer cell line SW480 was selected and exposed to γ -ray irradiation at a dose of 8 Gy. At 4, 8, 12, 24, and 48 h post-irradiation, changes in the expression of CMA activity proteins, i. e., lysosome-associated membrane protein type 2A (LAMP2) and heat shock 70 kDa protein 8 (HSPA8), were detected using the Western blotting technique. Then, keratin 6B (KRT6B), a potential regulatory protein of CMA, was selected using proteomic mass spectrometry. Following the transfection of the overexpression plasmids of LAMP2,

DOI: 10.3760/cma.j.cn112271-20250925-00344

收稿日期 2025-09-25 本文编辑 李辰

引用本文: 张钰杰, 尹玉施, 何翔, 等. 分子伴侣介导的自噬通过降解 KRT6B 蛋白促进结肠癌细胞辐射抗性研究 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2026, 46(2): 176-182. DOI: 10.3760/cma.j.cn112271-20250925-00344.

Zhang YJ, Yin YS, He X, et al. Mechanisms of chaperon-mediated autophagy to promote radioresistance of colon cancer cells by degrading protein KRT6B [J]. Chin J Radiol Med Prot, 2026, 46(2): 176-182. DOI: 10.3760/cma.j.cn112271-20250925-00344.