Open Access
DOI:10.3724/zdxbyxb-2025-0795

甲状腺结节

·专题报道·

洛那法尼对甲状腺未分化癌细胞及裸鼠移植瘤具有抑制作用

李嘉欣[1,2,3]，高雨晨[1,2,3]，段艳婷[2,3]，徐加杰[1,2,3]

1. 杭州医学院附属人民医院 浙江省人民医院耳鼻咽喉-头颈外科中心头颈外科，浙江 杭州 310014
2. 浙江省头颈部恶性肿瘤临床医学研究中心，浙江 杭州 310014
3. 全省头颈肿瘤精准医学研究重点实验室，浙江 杭州 310014

［摘　要］ **目的**：探讨法尼基转移酶抑制剂洛那法尼对甲状腺未分化癌（ATC）的抑制作用，并阐明潜在机制。**方法**：采用CCK-8法检测洛那法尼对8505C、CAL62等ATC细胞系增殖能力的影响；Transwell实验分析洛那法尼对ATC细胞迁移和侵袭能力的抑制效果；流式细胞术检测洛那法尼处理后ATC细胞的凋亡水平；蛋白质印迹法检测洛那法尼处理后ATC细胞中Ras蛋白、胞外信号调节激酶（ERK）、磷酸化ERK、聚ADP核糖聚合酶（PARP）、cleaved PARP、胱天蛋白酶3（Caspase-3）、消皮素E（GSDME）和消皮素E氨基端片段（GSDME-N）等蛋白表达水平。取4~6周龄雌性BALB/c裸鼠，于每只裸鼠右侧背部皮下注射1×10^6 8505C细胞。待肿瘤体积达到100~150 mm^{3}时，将裸鼠随机分为三组（每组4只）：空白对照组（隔日灌胃生理盐水）、洛那法尼小剂量组（25 mg/kg，隔日灌胃）和洛那法尼大剂量组（50 mg/kg，隔日灌胃），各组均连续给药15 d。每两天测量一次肿瘤体积和体重。实验结束时，剥离肿瘤并称重。**结果**：洛那法尼能够有效抑制ATC细胞增殖，且抑制作用优于考比替尼和仑伐替尼。经5、10、20 μmol/L洛那法尼处理后8505C、CAL62细胞的迁移数和侵袭数均减少，细胞凋亡率均增加（均P<0.05）。机制研究表明，洛那法尼处理后ATC细胞中Ras蛋白表达水平下调，总ERK和磷酸化ERK和PARP水平降低，Caspase-3和GSDME表达水平总体呈下降趋势，同时cleaved PARP表达呈浓度及时间依赖性增加，GSDME-N和cleaved Caspase-3表达水平总体呈上升趋势。体内实验中，与空白对照组比较，洛那法尼小剂量组和大剂量组肿瘤生长均显著减缓。观察终点时，洛那法尼组的肿瘤质量均低于空白对照组（均P<0.05）。各组均未出现明显体重下降，提示药物耐受性良好。**结论**：洛那法尼在ATC细胞及BALB/c裸鼠移植瘤模型中均能有效抑制甲状腺未分化癌的恶性

收稿日期（Received）：2025-10-18　修改返回日期（Revised）：2026-01-26　接受日期（Accepted）：2026-03-26　网络预发表日期（Online）：2026-06-08

基金项目（Funding）：浙江省“尖兵领雁+X”科技计划（2025C02056）；浙江省自然科学基金（LTGY24H160036）

第一作者（First author）：李嘉欣，硕士研究生，主要从事头颈部肿瘤相关基础研究；E-mail：jia_xin2027@163.com；ORCID：0009-0006-0986-1191

通信作者（Corresponding author）：徐加杰，副主任医师，硕士生导师，主要从事头颈部肿瘤研究；E-mail：xujiajie@hmc.edu.cn；ORCID：0000-0001-5539-3831

进展,机制可能是洛那法尼通过抑制Ras蛋白法尼基化及其下游ERK信号通路,进而激活Caspase-3/PARP介导的细胞凋亡和GSDME介导的细胞焦亡。

[关键词] 甲状腺未分化癌;洛那法尼;Ras蛋白;法尼基化;细胞增殖;细胞凋亡;裸鼠
[中图分类号] R736.1 [文献标志码] A

Inhibitory effect of lonafarnib on anaplastic thyroid carcinoma cells and xenograft tumor growth in nude mice

LI Jiaxin[1,2,3], GAO Yuchen[1,2,3], DUAN Yanting[2,3], XU Jiajie[1,2,3] (*1. Department of Head and Neck Surgery, Otolaryngology & Head and Neck Center, Zhejiang Provincial People's Hospital, Affiliated People's Hospital, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China; 2. Zhejiang Provincial Clinical Research Center for Head & Neck Cancer, Hangzhou 310014, China; 3. Zhejiang Key Laboratory of Precision Medicine Research on Head & Neck Cancer, Hangzhou 310014, China*)
Corresponding author: XU Jiajie, E-mail: xujiajie@hmc.edu.cn, ORCID: 0000-0001-5539-3831

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the inhibitory effect of the farnesyltransferase inhibitor lonafarnib on anaplastic thyroid carcinoma (ATC), and to elucidate the underlying mechanisms. **Methods**: The anti-proliferative effect of lonafarnib on ATC cell lines (8505C, CAL62) was assessed using CCK-8 assay. Cell migration and invasion were evaluated by Transwell assay. Apoptosis was detected by flow cytometry. Western blotting was used to measure protein expression levels of Ras, extracellular signal-regulated kinase (ERK), phosphorylated ERK, poly ADP-ribose polymerase (PARP), cleaved PARP, cysteine aspartic acid specific protease-3 (Caspase-3), cleaved Caspase-3, gasdermin E (GSDME), and GSDME N-terminal fragment (GSDME-N). A subcutaneous xenograft model was established in female BALB/c nude mice (4–6 weeks old). 8505C cells (1×10^6) were injected into the right back of each mouse. When tumor volume reached 100–150 mm^3, the mice were randomly divided into three groups (n=4 per group): blank control (normal saline by gavage every other day), low-dose lonafarnib (25 mg/kg by gavage every other day), and high-dose lonafarnib (50 mg/kg by gavage every other day). Treatment lasted for 15 days. Tumor volume and body weight were measured every two days. At the endpoint, tumors were excised and weighed. **Results**: Lonafarnib significantly inhibited the proliferation of ATC cells in a concentration-dependent manner, with superior efficacy compared to cobimetinib and lenvatinib. After treatment with 5, 10, and 20 μmol/L lonafarnib, the numbers of migrated and invaded 8505C and CAL62 cells were markedly reduced, and the apoptosis rates were increased (all P<0.05). Mechanistically, lonafarnib treatment in ATC cells downregulated Ras protein expression, decreased the levels of total ERK, phosphorylated ERK, and PARP, and led to overall decreasing trends in Caspase-3 and GSDME expression. Concurrently, cleaved PARP increased in a concentration- and time-dependent manner, and both GSDME-N and cleaved Caspase-3 levels showed overall increasing trends. *In vivo*, the low-dose and high-

dose lonafarnib groups exhibited significantly slower tumor growth compared with the control group. At the end of the observation period, tumor weights in lonafarnib groups were significantly lower than that in the control group (both $P<0.05$). No significant body weight loss was observed, indicating good tolerability. **Conclusions**: Lonafarnib effectively suppresses the malignant progression of ATC both in ATC cell lines and in a BALB/c nude mouse xenograft model. The mechanism involves inhibition of Ras farnesylation and the downstream ERK signaling pathway, leading to activation of Caspase-3/PARP-mediated apoptosis and GSDME-mediated pyroptosis.

[**Key words**] Anaplastic thyroid carcinoma; Lonafarnib; Ras protein; Farnesylation; Cell proliferation; Apoptosis; Nude mice

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2026, 55(6): 495-504.]

[**缩略语**] 甲状腺未分化癌(anaplastic thyroid carcinoma,ATC);丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK);MAPK激酶(MAPK kinase,MEK);胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK);细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8,CCK-8);苯甲基磺酰氟(phenylmethylsulfonyl fluoride,PMSF);异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate,FITC);二喹啉甲酸(bicinchoninic acid,BCA);聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride,PVDF);消皮素E(gasdermin E,GSDME);GSDME氨基端片段(GSDME N-terminal fragment,GSDME-N);胱天蛋白酶3(cysteine aspartic acid specific protease-3,Caspase-3);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase,GAPDH);多腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly ADP-ribose polymerase,PARP];磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution,PBS);碘化丙啶(propidium iodide,PI);含吐温-20的Tris缓冲液(Tris buffered saline with Tween-20,TBST);增强化学发光(enhanced chemiluminescence,ECL)

ATC是一种罕见的内分泌恶性肿瘤,具有高度侵袭性和较高病死率[1-3]。ATC常规治疗方法包括手术治疗、放射治疗、化学治疗、靶向治疗、免疫治疗等,但手术难度较大,而放射治疗和化学治疗易发生耐药[3-5]。2018年美国食品药品监督管理局批准达拉非尼(dabrafenib)联合曲美替尼(trametinib)用于治疗$BRAF^{V600E}$突变型ATC,但目前针对非*BRAF*突变ATC尚无推荐疗法[6-9]。

Ras蛋白是一类重要的信号转导分子,主要包括HRas、KRas和NRas三个成员,其在调控细胞增殖、分化等基本生命活动中扮演着重要角色[10-11]。*Ras*基因(包括*Hras*、*Kras*和*Nras*)在发生特定点突变后可持续向下游效应分子传递信号,导致细胞增殖失控,最终促进肿瘤发生和发展[11-12]。在ATC中,*Ras*突变是常见基因突变之一[13-14]。Ras蛋白法尼基化对其功能至关重要。在接受上游信号后,Ras蛋白需依赖这一修饰将信号传导至下游效应通路(如Raf/MEK/ERK MAPK通路和PI3K/Akt通路)中,从而调控细胞增殖、分化、存活等生命活动[15]。*Ras*基因突变会导致其编码的Ras蛋白持续处于三磷酸鸟苷结合的活化状态,进而驱动细胞异常增殖和癌变[16-17]。因此,靶向Ras蛋白法尼基化修饰过程,抑制其膜定位和功能,或可成为抗肿瘤药物研发的重要策略之一。洛那法尼(lonafarnib)是法尼基转移酶抑制剂的代表性药物,其通过竞争性抑制法尼基转移酶活性,阻止Ras蛋白法尼基化,从而达到抑制肿瘤生长的目的[18-19]。本研究通过探索洛那法尼对ATC细胞的抑制作用,为洛那法尼在ATC治疗中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物、细胞、试剂和仪器

12只4~6周龄雌性BALB/c裸鼠,体重为(20±

1)g,购自上海药康生物科技有限公司[许可证编号SYXK(浙)2024-0023]。实验前,所有动物在浙江省人民医院动物实验中心进行为期一周的适应性喂养,其间可以自由进食和饮水。ATC细胞(8505C、CAL62、KHM-5M、C643、HTh7)购自中国国家细胞资源中心(上海),于本实验室保存。细胞置于含10%胎牛血清(S-FBS-SA-015,德国SERANA公司)的RPMI-1640培养基(HyClone,美国Cytiva公司)中,在37 ℃、含5%二氧化碳的加湿培养箱中培养。

洛那法尼(Sch66336)、考比替尼(GDC-0973)和仑伐替尼(E7080)为美国MedChemExpress公司产品;CCK-8试剂盒(A311-01)为中国南京诺唯赞生物科技股份有限公司产品;PMSF(ST505)、Western和IP裂解液(P0013)以及Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(C1062S)均为中国上海碧云天生物技术有限公司产品;BCA蛋白测定试剂盒(23235)为美国ThermoFisher Scientific公司产品;Immobilon Western化学发光液(WBKLS0500)为美国Millipore公司产品;PVDF膜(3010040001)为瑞士Roche公司产品;二甲基亚砜(D2650)为德国Sigma公司产品;可穿透性细胞培养室(3422)和基质胶(354234)为美国Corning Costar Corp公司产品;抗KRas+HRas+NRas(A22438)、抗GSDME(A28230)、抗GSDME-N(A25293)、抗Caspase-3(A19654)、抗cleaved Caspase-3(A28349)抗体为法国Abclonal公司产品;抗GAPDH(60004-1-Ig)、抗PARP(13371-1-AP)、抗磷酸化ERK(80031-1-RR)抗体为美国Proteintech公司产品;抗ERK(4695T)抗体为美国CST公司产品。

Synergy LX多功能微孔板读数仪(Synergy LX)为美国BioTek Instruments公司产品;Agilent NovoCyte Quanteon激光流式细胞仪(NovoCyte Quanteon)为美国Agilent公司产品;ChemiDoc-MP成像仪(ChemiDoc MP)为美国Bio-Rad公司产品;光学显微镜(EVOS™ M7000)为美国ThermoFisher Scientific公司产品。

1.2 CCK-8法检测细胞活性

按照每孔5000个的密度将处于对数生长期的8505C和CAL62细胞接种于96孔板,过夜培养以确保细胞充分贴壁;24 h后更换为100 μL含不同浓度洛那法尼(0~30 μmol/L)的培养液;药物处理24 h后弃去含药物培养基,每孔加入100 μL与完全培养基按10∶1比例稀释后的CCK-8试剂,继而移入37 ℃培养箱继续反应1~2 h。在450 nm波长下使用多功能酶标仪检测吸光度值,计算细胞存活率,并以细胞存活率为纵坐标、药物浓度为横坐标绘制细胞生存曲线,计算半数抑制浓度。

1.3 Transwell实验检测细胞迁移和侵袭能力

使用无血清培养基分别重悬8505C和CAL62细胞,调整密度至1×10^5个/mL。迁移实验取200 μL细胞悬液直接加入Transwell上室,侵袭实验取等量细胞悬液加入经基质胶包被的上室。下室每孔为含不同浓度洛那法尼(0、5、10、20 μmol/L)的培养液800 μL,置于37 ℃、含5%二氧化碳的加湿培养箱中培养。24 h后取出上室,用PBS清洗三次,随后用4%多聚甲醛固定1 h。固定完成后再次用PBS清洗三次以去除悬浮死细胞。接着使用结晶紫染色液室温染色1 h,之后用PBS清洗三次。将小室置于干净的孔板中,在20倍光学显微镜下观察,对染色细胞进行计数。实验重复三次。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

于六孔板中按5×10^5/孔的密度分别接种8505C和CAL62细胞,过夜处理以确保细胞贴壁;24 h后更换为含不同浓度洛那法尼(0、5、10、20 μmol/L)的培养液2 mL;药物处理24 h后使用PBS清洗三次,然后使用胰蛋白酶消化细胞,300×*g*、3 min离心后将其转移至新的离心管中,弃上清液;将500 μL Annexin V-FITC结合液、5 μL PI染液和5 μL Annexin V-FITC染液混匀,用混合液重悬收集的细胞,室温(20~25 ℃)避光孵育20 min后上机检测,并使用FlowJo软件分析数据。

1.5 蛋白质印迹法检测细胞死亡相关蛋白表达

将2×10^5个8505C和CAL62细胞分别接种于直径为5 cm的培养皿中,过夜处理以确保细胞贴壁。24 h后更换为含不同浓度洛那法尼(0、5、10、20 μmol/L)的培养液。药物处理24 h后弃去上清液,分别用1 mL PBS润洗细胞,取蛋白裂解液80 μL分别加入培养皿中,晃匀后将培养皿置于冰上裂解细胞。30 min后刮取蛋白裂解液以及裂解后的细胞置于1.5 mL离心管中,4 ℃、13 000×*g*离心10 min。另取对数生长期的8505C和CAL62细胞,以相同密度接种于培养皿中,过夜贴壁后更换为含10 μmol/L洛那法尼的培养液,分别处理2、4和8 h,后续操作同上。用BCA试剂盒检测

蛋白浓度。确定相关蛋白上样量后进行SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳结束后使用湿转法将蛋白条带转移至PVDF膜，使用脱脂奶粉浸润PVDF膜封闭2 h。封闭结束后将PVDF膜用TBST溶液清洗三次，每次5 min。将PVDF膜置于一抗4 ℃摇床孵育过夜，12 h后一抗孵育结束，用TBST清洗PVDF膜三次，每次5 min。在室温条件下将PVDF膜置于二抗中摇床孵育1 h，孵育结束后用TBST清洗PVDF膜三次，每次5 min。等体积混合适量ECL A液和B液并使工作液均匀覆盖在膜上，通过化学发光成像仪检测采集图像分析结果，并使用ImageJ软件对蛋白条带进行灰度值分析。

1.6 ATC细胞荷瘤裸鼠模型构建、给药以及监测

取对数生长期8505C细胞，于裸鼠右侧背部皮下注射100 μL细胞悬液（含1×10^{6}个细胞）[20]。待肿瘤体积达100~150 mm^{3}时（接种后7~10 d）[21-22]，将动物随机分为三组，每组四只：空白对照组（隔日灌胃生理盐水）、洛那法尼小剂量组（隔日灌胃25 mg/kg洛那法尼）、洛那法尼大剂量组（隔日灌胃50 mg/kg洛那法尼）[23-26]，连续15 d[27]。每隔一天使用游标卡尺测量肿瘤最大直径和最小直径，计算肿瘤体积：肿瘤体积（mm^3）=最大直径×最小直径^2×0.5。同时记录裸鼠体重变化以评估药物毒性。实验终点麻醉裸鼠后，采用颈椎脱臼法处死，剥离肿瘤组织，称重并拍照。

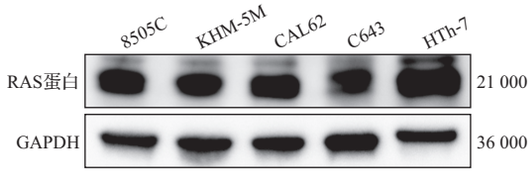
1.7 统计学方法

用GraphPad Prism 10.1.2软件进行统计分析和图表制作。实验结果以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）描述，多组间比较采用单因素方差分析。采用Tukey HSD检验进行组间两两比较，P<0.05表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 洛那法尼抑制ATC细胞生长

蛋白质印迹法结果显示，ATC细胞系8505C、KHM-5M、CAL62、C643、HTh-7细胞中均有Ras蛋白（KRas、HRas、NRas）表达（图1）。随着洛那法尼浓度增加，8505C、KHM-5M、CAL62、C643、HTh-7细胞增殖能力均呈下降趋势，且作用效果呈现一定的浓度依赖性（图2A），对洛那法尼敏感度差异较明显的8505C和CAL62细胞的半数抑制浓度分别为（17.04±1.17）、（25.04±1.39）μmol/L（图2B）。与ATC治疗代表性药物考比替尼（cobimetinib）和仑伐替尼（lenvatinib）比较，洛那法尼对ATC细胞增殖的抑制作用最强（图3）。结果提示，洛那法尼能够有效抑制ATC细胞增殖，且抑制作用优于考比替尼和仑伐替尼。



GAPDH：甘油醛-3-磷酸脱氢酶.

图1 甲状腺未分化癌细胞Ras蛋白表达电泳图

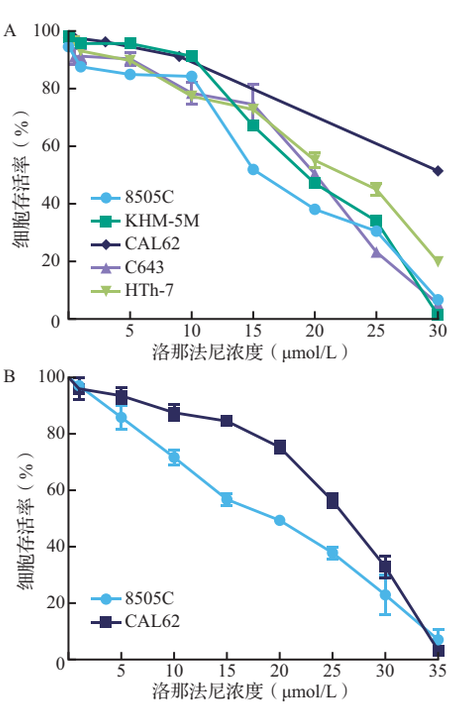
Figure 1 Expression levels of Ras proteins in anaplastic thyroid carcinoma cell

2.2 洛那法尼抑制ATC细胞迁移和侵袭能力

Transwell实验结果显示，不同浓度洛那法尼处理后8505C和CAL62细胞穿过小室膜的数量减少（附图1、表1），提示洛那法尼可有效抑制ATC细胞迁移和侵袭。

2.3 洛那法尼诱导ATC细胞凋亡

不同浓度洛那法尼处理后8505C和CAL62细



A：不同浓度洛那法尼处理后五种甲状腺未分化癌细胞生存曲线；B：不同浓度洛那法尼处理后8505C和CAL62细胞生存曲线.

图2 不同浓度洛那法尼处理后甲状腺未分化癌细胞的生存曲线（n=3）

Figure 2 Cell viability curves of anaplastic thyroid carcinoma cells treated with different concentrations of lonafarnib (n=3)

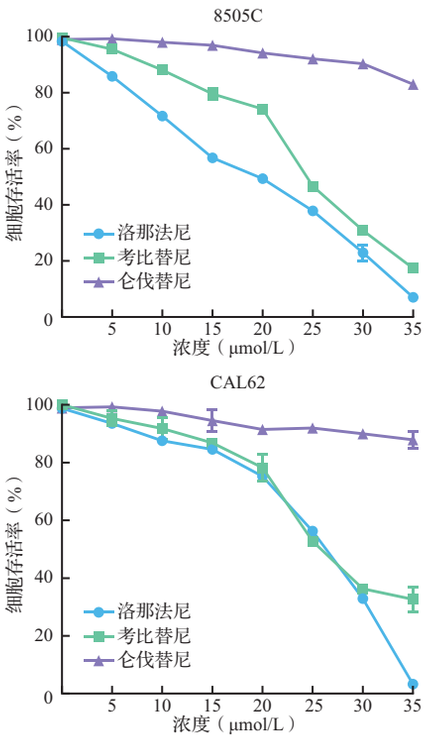


图3　不同浓度洛那法尼、考比替尼、仑伐替尼作用下两种甲状腺未分化癌细胞的生存曲线(n=3)

Figure 3　Cell viability curves of anaplastic thyroid carcinoma cells treated with different concentrations of lonafarnib, cobimetinib, and lenvatinib (n=3)

胞早期凋亡(Annexin V$^+$PI$^-$)和晚期凋亡(Annexin V$^+$PI$^+$)比例均增加(附图2、表2)，提示洛那法尼可诱导ATC细胞凋亡。

2.4　洛那法尼抑制ERK通路并诱导ATC细胞凋亡和焦亡

在8505C和CAL62细胞中，随着洛那法尼浓度增加以及处理时间延长，总Ras蛋白表达明显减少，总ERK和磷酸化ERK表达水平呈浓度依赖性降低。在凋亡相关蛋白中，PARP表达水平总体呈降低趋势，cleaved PARP表达呈浓度及时间依赖性升高；Caspase-3表达水平总体呈下降趋势，cleaved Caspase-3表达水平总体呈上升趋势。焦亡标志物中，随着浓度增加，GSDME表达水平先升高后降低，总体呈降低趋势，而GSDME-N在CAL62细胞中呈浓度及时间依赖性升高，在8505C细胞中随时间和浓度的改变表达水平浮动但总体呈上升趋势。见附图3以及表3~4。结果提示，洛那法尼可抑制ATC细胞中ERK信号通路激活，并诱导8505C和CAL62细胞发生凋亡和焦亡。

表1　不同浓度洛那法尼处理后两种甲状腺未分化癌细胞迁移数和侵袭数比较

Table 1　Comparison of migration and invasion ability in anaplastic thyroid carcinoma cells treated with different concentrations of lonafarnib

($\bar{x}\pm s$, n=3)

组　别		迁移细胞数		侵袭细胞数	
		8505C	CAL62	8505C	CAL62
空白对照组		98.3±10.0	136.7±5.5	93.0±4.6	102.7±6.0
洛那法尼	5 μmol/L	72.3±4.7*	96.3±6.7**	66.3±3.5**	80.3±5.5**
	10 μmol/L	59.7±3.5**	79.7±8.6**	50.0±5.6**	68.3±2.1**
	20 μmol/L	9.3±1.5**	23.3±1.5**	16.0±4.6**	14.7±4.5**

与空白对照组比较，$^*P$<0.05，$^{**}P$<0.01.

表2　不同浓度洛那法尼处理后两种甲状腺未分化癌细胞凋亡率比较

Table 2　Apoptosis rates of anaplastic thyroid carcinoma cells treated with different concentrations of lonafarnib

(%, $\bar{x}\pm s$, n=3)

组　别		8505C	CAL62
空白对照组		1.14±0.10	0.79±0.11
洛那法尼	5 μmol/L	9.14±1.24**	1.23±0.10*
	10 μmol/L	17.97±1.20**	2.30±0.27**
	20 μmol/L	25.77±1.40**	16.65±1.35**

与空白对照组比较，$^*P$<0.05，$^{**}P$<0.01.

2.5　洛那法尼抑制裸鼠肿瘤生长

空白对照组肿瘤体积随时间快速增长，而洛那法尼小剂量组和大剂量组肿瘤体积增长速率明显放缓(图4)。观察终点时，与空白对照组[(1300.0±203.0)mg]比较，洛那法尼小剂量组和大剂量组肿瘤质量减小[分别为(947.3±131.0)和(457.8±196.4)mg，均P<0.05]。结果提示，洛那法尼能够抑制ATC模型鼠肿瘤生长。

3　讨　论

ATC因高度侵袭性、手术切除率低及对放化疗易耐药，患者预后极差[1-3]。2018年美国食品药品监督管理局批准达拉非尼联合曲美替尼用于*BRAF*^{V600E}突变型ATC，而占比更高的非*BRAF*突变患者目前仍无有效靶向方案[6-9]。*Ras*突变在ATC中的发生率约为34.5%，其编码的Ras蛋白需经法尼基化修饰锚定于细胞膜方可发挥致癌功能，这一翻译后修饰调节为药物干预提供了理想靶点[13-16]。法尼基转移酶抑制剂洛那法尼通过竞争性抑制该修饰过程，已在多种Ras驱动肿瘤中展现出抗肿瘤潜力[28]，

表3 不同浓度洛那法尼处理24 h后甲状腺未分化癌细胞中ERK通路和细胞死亡相关蛋白相对表达量比较

Table 3 Relative protein expression levels of ERK pathway- and cell death-related markers in anaplastic thyroid carcinoma cells treated with different concentrations of lonafarnib for 24 h

（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组　别		Ras蛋白	总ERK	磷酸化ERK	PARP	cleaved PARP
8505C	0 μmol/L	77.96±3.74	74.86±0.05	131.59±0.73	130.190±0.320	8.492±0.016
	5 μmol/L	53.51±2.79**	65.91±0.33**	128.42±0.22*	108.380±0.004**	11.580±0.061**
	10 μmol/L	35.22±0.57$^{**\#}$	61.66±0.28$^{**\#}$	119.42±0.59$^{**\#}$	95.075±0.089$^{**\#}$	17.030±0.090$^{**\#}$
	20 μmol/L	27.50±0.22$^{**\#\triangle}$	60.37±0.27$^{**\#\triangle}$	115.05±0.09$^{**\#\triangle}$	90.170±0.300$^{**\#\triangle}$	59.260±0.240$^{**\#\triangle}$
CAL62	0 μmol/L	101.29±0.44	67.35±0.04	86.24±0.04	100.950±0.050	6.690±0.040
	5 μmol/L	100.52±4.59	74.10±0.06**	82.83±0.34**	119.330±0.010**	8.790±0.070**
	10 μmol/L	103.14±0.54$^{**\#}$	68.50±0.08$^{**\#}$	23.52±0.13$^{**\#}$	91.350±0.080$^{**\#}$	13.520±0.110$^{**\#}$
	20 μmol/L	74.53±0.45$^{**\#\triangle}$	32.97±0.20$^{**\#\triangle}$	31.71±0.26$^{**\#\triangle}$	42.600±0.270$^{**\#\triangle}$	48.710±0.390$^{**\#\triangle}$

组　别		Caspase-3	cleaved Caspase-3	GSDME	GSDME-N
8505C	0 μmol/L	80.080±0.290	95.390±0.040	85.780±0.029	69.640±0.060
	5 μmol/L	78.470±0.310*	79.350±0.046**	88.050±0.037**	70.630±0.260*
	10 μmol/L	82.290±0.062$^{**\#}$	103.450±0.350$^{**\#}$	38.320±0.190$^{**\#}$	67.910±0.270$^{**\#}$
	20 μmol/L	59.940±0.037$^{**\#\triangle}$	142.710±0.570$^{**\#\triangle}$	54.930±0.230$^{**\#\triangle}$	94.430±0.340$^{**\#\triangle}$
CAL62	0 μmol/L	89.240±0.330	44.820±0.060	81.400±0.330	17.380±0.060
	5 μmol/L	108.870±0.420**	71.840±0.270**	136.380±0.130**	21.440±0.130**
	10 μmol/L	106.490±0.060$^{**\#}$	100.200±0.350$^{**\#}$	122.710±0.100$^{**\#}$	37.100±0.050$^{**\#}$
	20 μmol/L	83.780±0.100$^{**\#\triangle}$	177.860±4.890$^{**\#\triangle}$	68.550±0.400$^{**\#\triangle}$	128.960±0.160$^{**\#\triangle}$

与0 μmol/L比较，$^{*}P$<0.05，$^{**}P$<0.01；与5 μmol/L比较，$^{\#}P$<0.05；与10 μmol/L比较，$^{\triangle}P$<0.05. ERK：胞外信号调节激酶；PARP：聚ADP核糖聚合酶；Caspase-3：胱天蛋白酶3；GSDME：消皮素E；GSDME-N：消皮素E氨基端结构域.

表4 10 μmol/L洛那法尼处理后不同时间点甲状腺未分化癌细胞中ERK通路和细胞死亡相关蛋白相对表达量比较

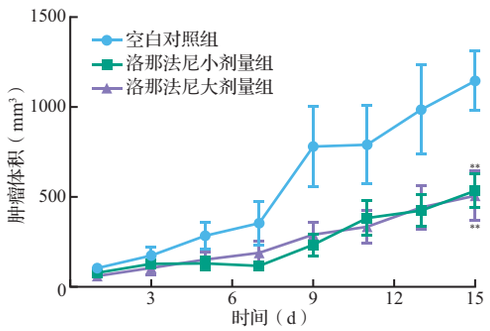
Table 4 Relative protein expression levels of ERK pathway- and cell death-related markers in anaplastic thyroid carcinoma cells treated with 10 μmol/L lonafarnib for different time durations

（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组　别		Ras蛋白	总ERK	磷酸化ERK	PARP	cleaved PARP
8505C	0 h	53.47±0.04	36.13±0.04	73.84±0.05	45.490±0.040	23.770±0.120
	2 h	31.25±0.14**	35.30±0.15**	49.73±0.04**	24.820±0.130**	27.590±0.050**
	4 h	30.95±0.19$^{**\#}$	32.54±0.25$^{**\#}$	25.13±0.35$^{**\#}$	39.730±0.220$^{**\#}$	79.220±0.040$^{**\#}$
	8 h	38.01±0.17$^{**\#\triangle}$	27.54±0.15$^{**\#\triangle}$	23.32±0.13$^{**\#\triangle}$	44.290±0.030$^{**\#\triangle}$	78.630±0.010$^{**\#\triangle}$
CAL62	0 h	105.14±0.34	61.69±0.25	100.32±0.10	65.090±0.310	17.890±0.120
	2 h	66.92±0.26**	69.95±0.03**	58.48±0.26**	59.600±0.000**	17.340±0.130**
	4 h	18.19±0.10$^{**\#}$	63.31±0.09$^{**\#}$	46.76±0.24$^{**\#}$	55.980±0.360$^{**\#}$	51.230±0.230$^{**\#}$
	8 h	12.85±0.11$^{**\#\triangle}$	37.28±0.05$^{**\#\triangle}$	20.87±0.17$^{**\#\triangle}$	39.64±0.220$^{**\#\triangle}$	57.860±0.280$^{**\#\triangle}$

组　别		Caspase-3	cleaved Caspase-3	GSDME	GSDME-N
8505C	0 h	82.580±0.040	54.650±0.030	73.340±0.010	29.240±0.031
	2 h	43.570±0.190**	59.210±0.170**	74.720±0.310**	47.850±0.170**
	4 h	10.520±0.080$^{**\#}$	71.220±0.290$^{**\#}$	61.890±0.240$^{**\#}$	66.200±0.250$^{**\#}$
	8 h	14.100±0.050$^{**\#\triangle}$	69.740±0.030$^{**\#\triangle}$	19.770±0.050$^{**\#\triangle}$	52.850±0.190$^{**\#\triangle}$
CAL62	0 h	50.470±0.240	75.740±0.300	125.080±0.010	57.630±0.240
	2 h	87.060±0.030**	98.330±0.020**	100.580±0.010**	23.830±0.140**
	4 h	108.050±0.010$^{**\#}$	121.640±0.020$^{**\#}$	41.460±0.210$^{**\#}$	23.250±0.170$^{**\#}$
	8 h	44.420±0.040$^{**\#\triangle}$	153.690±0.110$^{**\#\triangle}$	62.570±0.300$^{**\#\triangle}$	132.210±0.050$^{**\#\triangle}$

与0 h比较，$^{**}P$<0.01；与2 h比较，$^{\#}P$<0.05；与4 h比较，$^{\triangle}P$<0.05. ERK：胞外信号调节激酶；PARP：聚ADP核糖聚合酶；Caspase-3：胱天蛋白酶3；GSDME：消皮素E；GSDME-N：消皮素E氨基端结构域.



与空白对照组比较，**P<0.01.

图4 不同剂量洛那法尼处理后甲状腺未分化癌细胞荷瘤裸鼠肿瘤体积变化趋势图(n=4)

Figure 4 Tumor volume growth curves in nude mice bearing tumors derived from anaplastic thyroid carcinoma cells treated with different concentrations of lonafarnib (n=4)

但其在ATC中的作用尚属空白。本文资料显示，五种ATC细胞均表达Ras蛋白，洛那法尼以浓度依赖性的方式抑制ATC细胞增殖，抑制效能优于指南推荐的考比替尼和仑伐替尼，但不同细胞系对药物的敏感性存在差异，8505C细胞较CAL62细胞更为敏感，这种差异可能源于ATC基因组背景的复杂性，如共存的其他遗传变异可能影响对法尼基转移酶抑制的应答[29-30]。这提示临床应用时须考虑患者肿瘤的个体化分子特征。Transwell实验显示洛那法尼可有效削弱ATC细胞的迁移和侵袭能力。体内荷瘤模型进一步验证了上述发现，25 mg/kg和50 mg/kg洛那法尼治疗的ATC模型鼠移植瘤体积和质量均小于空白对照组，证实该药在体内同样具有良好的抗肿瘤活性。

在机制层面，本文资料从信号通路和细胞死亡方式两个维度阐释。Ras蛋白法尼基化是其膜定位及信号转导的前提：法尼基化受阻将导致Ras蛋白稳定性下降并被降解，进而阻断下游致癌信号[12, 17]。本文资料显示，洛那法尼处理后8505C和CAL62细胞中总Ras蛋白水平均下调，磷酸化ERK被显著抑制，而总ERK表达呈下降趋势，表明Ras/ERK信号通路功能被有效阻断。与此同时，凋亡标志物cleaved PARP和cleaved Caspase-3均呈浓度和时间依赖性增加。结果提示，洛那法尼抑制ATC恶性进展的机制可能涉及抑制Ras蛋白法尼基化、阻断Ras/ERK信号通路并诱导死亡，为非*BRAF*突变型ATC提供了潜在靶向策略。

本文资料仍存在一定的局限性：使用的细胞系和裸鼠皮下移植瘤模型无法完全模拟人体肿瘤微环境及免疫交互作用；Ras信号通路存在复杂的代偿与反馈机制，长期用药是否诱导耐药尚不明确；GSDME是焦亡的关键执行蛋白，虽然实验初步揭示焦亡通路，但其上游激活机制及在抗ATC效应中的贡献权重值得深入研究。

综上所述，本文资料证实法尼基转移酶抑制剂洛那法尼在体内外可有效抑制ATC恶性进展，机制涉及抑制Ras蛋白法尼基化、阻断Ras/ERK信号通路并诱导Caspase-3/PARP以及GSDME介导的细胞死亡。这为洛那法尼治疗ATC的临床转化提供了理论依据和实验基础。未来应进一步开展药代动力学评估、联合用药策略探索及早期临床研究，以推动其向临床应用迈进。

本文附加文件见电子版。

志谢 本研究得浙江省“尖兵领雁+X”科技计划(2025C02056)和浙江省自然科学基金(LTGY24H160036)支持. 浙江省人民医院刘云业实验员以及王远华硕士研究生参与资料获取并分析

Acknowledgements This study was supported by “Pioneer” and “Leading Goose” R&D Program of Zhejiang (2025C02056) and Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (LTGY24H160036). Laboratory Technician LIU Yunye and Master’s student WANG Yuanhua from Zhejiang Provincial People’s Hospital participated in the data acquisition and analysis

作者贡献 李嘉欣、高雨晨、段艳婷和徐加杰参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释，起草研究论文或修改重要智力性内容. 所有作者均已阅读并认可最终稿件，并对数据的完整性和安全性负责. 具体见电子版

Author Contributions LI Jiaxin, GAO Yuchen, DUAN Yanting and XU Jiajie participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信

作者(E-mail:xujiajie@hmc.edu.cn)处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at xujiajie@hmc.edu.cn

医学伦理 本研究遵循国家和浙江省人民医院有关实验动物管理和使用的规定,通过浙江省人民医院实验动物福利伦理委员会审查(20250814465837)

Ethical Approval All applicable national guidelines and Zhejiang Provincial People's Hospital regulations for the care and use of animals were followed, and the research protocol of animal experiments was approved by the Ethics Committee of Zhejiang Provincial People's Hospital (20250814465837)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献(References)

[1] ABE I, LAM A K. Anaplastic thyroid carcinoma: updates on WHO classification, clinicopathological features and staging[J]. **Histol Histopathol**, 2021, 36(3): 239-248.

[2] 张 求, 李丽丽, 李 荔. 甲状腺未分化癌的超声表现分析[J]. **中国超声医学杂志**, 2020, 36(8): 752-754.
ZHANG Qiu, LI Lili, LI Li. Ultrasonographic manifestation of anaplastic thyroid carcinoma[J]. **Chinese Journal of Ultrasound in Medicine**, 2020, 36(8): 752-754. (in Chinese)

[3] 李红强, 高天龙, 陈 宇, 等. 甲状腺未分化癌临床诊治及预后因素研究[J]. **中国实用外科杂志**, 2025, 45(9): 1021-1026.
LI Hongqiang, GAO Tianlong, CHEN Yu, et al. Clinical diagnosis, treatment, and prognostic factors of anaplastic thyroid carcinoma[J]. **Chinese Journal of Practical Surgery**, 2025, 45(9): 1021-1026. (in Chinese)

[4] RANGANATH R, SHAH M A, SHAH A R. Anaplastic thyroid cancer[J]. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes**, 2015, 22(5): 387-391.

[5] SMALLRIDGE R C, COPLAND J A. Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies[J]. **Clin Oncol (R Coll Radiol)**, 2010, 22(6): 486-497.

[6] WANG J R, MONTIERTH M, XU L, et al. Impact of somatic mutations on survival outcomes in patients with anaplastic thyroid carcinoma[J/OL]. **JCO Precis Oncol**, 2022(6): e2100504.

[7] LANDA I, IBRAHIMPASIC T, BOUCAI L, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers[J]. **J Clin Investig**, 2016, 126(3): 1052-1066.

[8] 殷德涛, 刘维豪. 甲状腺未分化癌的靶向治疗进展[J]. **肿瘤防治研究**, 2024, 51(8): 617-624.
YIN Detao, LIU Weihao. Progress of targeted therapy for anaplastic thyroid cancer[J]. **Cancer Research on Prevention and Treatment**, 2024, 51(8): 617-624. (in Chinese)

[9] GUO H, WANG Z, YIN K, et al. Sciellin promotes the development and progression of thyroid cancer through the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. **Mol Carcinog**, 2024, 63(4): 701-713.

[10] SIMANSHU D K, NISSLEY D V, MCCORMICK F. RAS proteins and their regulators in human disease[J]. **Cell**, 2017, 170(1): 17-33.

[11] COX A D, FESIK S W, KIMMELMAN A C, et al. Drugging the undruggable RAS: mission possible[J]. **Nat Rev Drug Discov**, 2014, 13(11): 828-851.

[12] CANON J, REX K, SAIKI A Y, et al. The clinical KRAS ($G^{12}C$) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity [J]. **Nature**, 2019, 575(7781): 217-223.

[13] BIKAS A, AHMADI S, PAPPA T, et al. Additional oncogenic alterations in RAS-driven differentiated thyroid cancers associate with worse clinicopathologic outcomes [J]. **Clin Cancer Res**, 2023, 29(14): 2678-2685.

[14] ZOU Z, ZHONG L. Anaplastic thyroid cancer: genetic roles, targeted therapy, and immunotherapy[J]. **Genes Dis**, 2024, 12(4): 101403.

[15] ABANKWA D, GORFE A A. Mechanisms of Ras membrane organization and signaling: Ras rocks again[J]. **Biomolecules**, 2020, 10(11): 1522.

[16] WANG J, YAO X, HUANG J. New tricks for human farnesyltransferase inhibitor: cancer and beyond[J]. **Med Chem Commun**, 2017, 8(5): 841-854.

[17] DAI X, SUN Y, ZHANG T, et al. An overview on natural farnesyltransferase inhibitors for efficient cancer therapy [J]. **J Enzyme Inhib Med Chem**, 2020, 35(1): 1027-1044.

[18] WITZIG T, SOKOL L, KIM W S, et al. Phase 2 trial of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib for relapsed/refractory peripheral T-cell lymphoma[J]. **Blood Adv**, 2024, 8(17): 4581-4592.

[19] ANGAMUTHU V, SHANMUGAVADIVU M, NAGAJAN G, et al. Pharmacological activities of antroquinonol—mini review[J]. **Chem Biol Interact**, 2019, 297: 8-15.

[20] LIU Y, GUO Y, ZENG Q, et al. Prosapogenin A induces GSDME-dependent pyroptosis of anaplastic thyroid cancer through vacuolar ATPase activation-mediated lysosomal over-acidification[J]. **Cell Death Dis**, 2024, 15(8): 586.

[21] LU Y L, HUANG Y T, WU M H, et al. Efficacy of adavosertib therapy against anaplastic thyroid cancer[J]. **Endocr Relat Cancer**, 2021, 28(5): 311-324.

[22] ABDULGHANI J, GOKARE P, GALLANT J N, et al.

Sorafenib and quinacrine target anti-apoptotic protein MCL1: a poor prognostic marker in anaplastic thyroid cancer (ATC)[J]. **Clin Cancer Res**, 2016, 22(24): 6192-6203.

[23] CHAPONIS D, BARNES J W, DELLAGATTA J L, et al. Lonafarnib (SCH66336) improves the activity of temozolomide and radiation for orthotopic malignant gliomas [J]. **J Neuro Oncol**, 2011, 104(1): 179-189.

[24] PUCCI P, LEE L C, HAN M, et al. Targeting NRAS via miR-1304-5p or farnesyltransferase inhibition confers sensitivity to ALK inhibitors in ALK-mutant neuroblastoma[J]. **Nat Commun**, 2024, 15(1): 3422.

[25] LIU M, BRYANT M S, CHEN J, et al. Antitumor activity of SCH 66336, an orally bioavailable tricyclic inhibitor of farnesyl protein transferase, in human tumor xenograft models and Wap-Ras transgenic mice[J]. **Cancer Res**, 1998, 58(21): 4947-4956.

[26] FELDKAMP M M, LAU N, RONCARI L, et al. Isotype-specific Ras·GTP-levels predict the efficacy of farnesyl transferase inhibitors against human astrocytomas regardless of Ras mutational status[J]. **Cancer Res**, 2001, 61(11): 4425-4431.

[27] CASTANEDA C, MEADOWS K L, TRUAX R, et al. Phase Ⅰ and pharmacokinetic study of lonafarnib, SCH 66336, using a 2-week on, 2-week off schedule in patients with advanced solid tumors[J]. **Cancer Chemother Pharmacol**, 2011, 67(2): 455-463.

[28] WHYTE D B, KIRSCHMEIER P, HOCKENBERRY T N, et al. K- and N-Ras are geranylgeranylated in cells treated with farnesyl protein transferase inhibitors[J]. **J Biol Chem**, 1997, 272(22): 14459-14464.

[29] ARLOT-BONNEMAINS Y, BALDINI E, MARTIN B, et al. Effects of the aurora kinase inhibitor VX-680 on anaplastic thyroid cancer-derived cell lines[J]. **Endocr Relat Cancer**, 2008, 15(2): 559-568.

[30] XIA Q, WANG W, XU J, et al. Evidence from an updated meta-analysis of the prognostic impacts of postoperative radiotherapy and chemotherapy in patients with anaplastic thyroid carcinoma[J]. **Onco Targets Ther**, 2018, 11: 2251-2257.

[本文编辑 余 方 刘丽娜]

· 学术动态 ·

黄荷凤教授牵头组织系统描绘人类胚胎器官发生时空图谱

2026年5月27日,黄荷凤教授牵头组织复旦大学、浙江大学、华大生命科学研究院基因组多维解析技术全国重点实验室等团队在《自然》(*Nature*)杂志发表题为“Spatiotemporal transcriptome atlas of human embryos after gastrulation”的研究论文(DOI:10.1038/s41586-026-10545-0)。该研究首次系统绘制了覆盖原肠胚运动后、器官形成关键期的人类全胚胎时空转录组图谱,为解析人类早期器官发生规律、先天性疾病起源及遗传变异功能提供了重要资源。

受精后第4周至第8周是人体主要器官形成的关键阶段。但长期以来,由于样本稀缺和技术瓶颈,这一时期的人类胚胎发育过程缺乏系统、连续的空间分子图谱。研究人员整合高分辨率空间转录组技术Stereo-seq与单核RNA测序技术系统分析了13枚覆盖卡内基12至23阶段的人类胚胎的77张矢状切面,解析出50个器官/解剖区域和198个分子定义的亚结构,构建了人类早期器官发生阶段的全景式分子地图。研究人员在统一时空坐标体系下描绘了心、脑、眼、肾、肝、肺、骨骼肌、脊髓等多个器官的发育过程,精细解析了心脏“天然起搏器”窦房结的分子特征,发现*RORA*和*KIAA1324L*等关键基因在窦房结发育和心率维持中发挥重要作用,并通过模式生物进行功能验证。在脑发育方面,研究人员系统描绘了人脑早期精细分区,更新了对抑制性和兴奋性神经元分化时间的认识,并发现以高速泳动族蛋白A2为核心的神经前体细胞分化调控网络与智力障碍等神经发育疾病存在关联。

该图谱还为疾病机制研究提供了新的分析框架。研究人员发现,多种发育疾病相关基因在其临床受累器官中呈现特异性富集,并且部分疾病基因在人类与小鼠胚胎中的表达有时程差异,提示模式动物研究结果向人类外推时需要重视物种差异。多种病原体入侵受体在全胚胎中的时空分布研究为理解孕期感染易感性的窗口期效应提供了分子依据。

该研究成果数据已对外开放,用以发挥该成果作为基础性资源的价值,有望推动人类发育研究从零散观察迈向整体、动态和分子化解析的新阶段。

潘洁雪副教授、李月娇博士、林忠亮博士、兰青博士、张颖博士、陈慧汐博士、隋盛威博士研究生、翟曼硕士和张杲琛博士研究生为论文第一作者。研究得到国家自然科学基金等支持。