



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2025.02.06
文章编号: 2095-1264(2025)02-0187-10

抗实体瘤小分子靶向药物 基础研究与临床实践专栏

氯胍联合奥希替尼抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移^{*}

王伟帆, 周晓辰, 谢宜君, 钟 奇, 杨小平^{*}

(湖南师范大学医学部 小分子靶向药物研究与创制湖南省重点实验室, 湖南 长沙, 410013)

摘要: **目的** 探讨氯胍与奥希替尼单药及联合应用对膀胱癌细胞迁移的影响及可能机制。**方法** 采用MTT实验检测氯胍与奥希替尼单药对膀胱癌细胞增殖能力的影响;细胞划痕实验和Transwell实验检测氯胍与奥希替尼单药及联用对膀胱癌细胞迁移的影响;Western blotting检测氯胍联用奥希替尼对表皮生长因子受体(EGFR)与上皮-间质转化(EMT)标志蛋白E-cadherin、N-cadherin表达的影响。**结果** 氯胍和奥希替尼单药处理均可显著抑制膀胱癌细胞增殖及迁移,而联合用药表现出显著的协同抑制作用,其抑制效果显著优于单药处理组。氯胍联合奥希替尼可显著抑制EGFR磷酸化,下调N-cadherin表达,并上调E-cadherin表达。**结论** 氯胍与奥希替尼联用可能通过抑制EGFR磷酸化介导的EMT过程,从而协同抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移。

关键词: 膀胱癌;奥希替尼;氯胍;EGFR;EMT

中图分类号: R737.14;R979.1 **文献标识码:** A

The combination of proguanil and osimertinib inhibits the proliferation and migration of bladder cancer cells^{*}

WANG Weifan, ZHOU Xiaochen, XIE Yijun, ZHONG Qi, YANG Xiaoping^{*}

(Key Laboratory of Small Molecule Targeted Drug Research and Development in Hunan Province, Health Science Center, Hunan Normal University, Changsha, 410013, Hunan, China)

Abstract: Objective To explore the impact of proguanil and osimertinib, both as individual treatments and in combination, on the migratory behavior of bladder cancer cells, as well as to elucidate the potential mechanisms underlying these effects. **Methods** MTT assays were conducted to assess the impact of proguanil and osimertinib as single agents on the proliferation of bladder cancer cells. Cell scratch assays and Transwell assays were employed to evaluate the effects of proguanil and osimertinib, both individually and in combination, on the migration of bladder cancer cells. Western blotting analysis was used to examine the effects of proguanil and osimertinib in combination on the expressions of epidermal growth factor receptor (EGFR) and epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers, specifically E-cadherin and N-cadherin. **Results** Monotherapy with either proguanil or osimertinib significantly suppressed the proliferation and migration of bladder cancer cells. The combination treatment of proguanil and osimertinib demonstrated a marked synergistic inhibiting effect, resulting in enhanced inhibition of both cell proliferation and migration compared to single-agent treatment. The combination treatment significantly inhibited EGFR phosphorylation, downregulated N-cadherin expression, and upregulated E-cadherin expression. **Conclusion** The combination of proguanil and osimertinib effectively suppresses the proliferation and migration of bladder cancer cells via inhibiting EGFR phosphorylation and blocking the EMT process.

Keywords: Bladder cancer; Osimertinib; Proguanil; EGFR; EMT

^{*}基金项目:湖南师范大学生殖健康与转化医学研究团队资助项目(2023JC101)。

作者简介:王伟帆,硕士研究生,研究方向为肿瘤药理及小分子靶向药物创制。

^{*}通信作者:杨小平,教授,研究方向为肿瘤药理及小分子靶向药物创制。

0 前言

膀胱癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一^[1-3],男性发病率较高^[4]。尽管近年来治疗技术取得了显著进步,膀胱癌的高复发率和侵袭性仍然是临床治疗中的难题^[5]。膀胱癌的高迁移性是导致患者预后不佳和病情恶化的主要原因之一^[6]。手术、化疗及免疫治疗等方法虽然有效,但对于迁移性较强的膀胱癌而言,控制其扩散仍具有较大挑战^[7-9]。

肿瘤细胞迁移与侵袭的过程与上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)密切相关^[10]。EMT使肿瘤细胞丧失上皮细胞特征,获得更强的运动和迁移能力,推动肿瘤的扩散和转移^[11]。E-cadherin和N-cadherin是EMT过程中的关键黏附蛋白。E-cadherin通常在上皮细胞中表达,其功能主要是维持细胞之间的粘附和上皮层的完整性^[12-14]。E-cadherin的表达下调可导致细胞间粘附力减弱,促进EMT的发生,从而使细胞获得迁移和侵袭能力^[15-17]。相对而言,N-cadherin通常在间质细胞中表达,其表达上调是EMT的一个重要特征,可以促进细胞的迁移和侵袭能力,这是肿瘤细胞获得恶性特征的一个重要步骤^[18]。N-cadherin表达上调往往与E-cadherin表达下调呈负相关,二者在调控细胞极性、迁移和侵袭中发挥着重要作用。

氯胍是一种在临床上广泛应用的抗疟疾药物,近年来研究显示其在抗肿瘤领域也展现出潜力^[19-20]。本实验室前期研究表明氯胍通过靶向表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)通路可有效抑制肿瘤细胞的增殖^[21]。EGFR不仅与肿瘤细胞增殖密切相关,还能通过调节肿瘤细胞EMT进程来参与肿瘤细胞的迁移过程^[22-25]。奥希替尼是第三代EGFR酪氨酸激酶抑制剂,通过不可逆共价结合EGFR的ATP结合位点,可特异性抑制EGFR激活突变(如Del19、L858R)及与耐药相关的T790M突变,阻断下游信号通路,从而抑制肿瘤细胞增殖和生存。虽然奥希替尼克服了T790M耐药突变,但长期使用后仍可能出现新的耐药机制^[26]。因此,本研究拟探讨氯胍和奥希替尼单药及联合应用对膀胱癌细胞增殖和迁移的影响,并分析其可能机制,以期对膀胱癌的治疗带来新的突破,并为改善患者预后提供更多选择。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究中膀胱癌细胞株T24和J82均购自赛百慷(上海)生物技术股份有限公司;p-EGFR抗体(3777T)、N-cadherin抗体(13116T)、E-cadherin抗体(3195T)、GAPDH抗体(2118T)均购于Cell Signaling Technology公司(CST,美国波士顿);奥希替尼(HY-15772)购于MedChem Express公司(MCE,美国波士顿);氯胍(S5927)购于Selleck Chemicals公司(Selleck,美国休斯敦)。

1.2 细胞培养与处理

将细胞置于含5% CO₂、37℃的恒温培养箱内培养。传代时,先弃去旧的培养基,加入磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)轻轻洗涤两次。随后,加入200 μL胰蛋白酶消化液,使其均匀覆盖于培养瓶底部,并置于培养箱内约1 min,待细胞完全消化后,加入1 mL完全培养基中止消化。通过吹打使细胞悬浮,转移至15 mL离心管中,以1 200 r·min⁻¹离心5 min。弃去上清,用完全培养基重悬沉淀的细胞,将其转移至新的培养瓶中,继续培养并补充适量培养基。本实验中使用了奥希替尼和氯胍作为药物处理。

1.3 MTT实验

使用完全培养基将细胞按每孔6 000个的密度接种至96孔板,培养12 h以确保细胞贴壁并呈现正常形态。配制不同浓度梯度的氯胍(0、10、20、40、80 μmol·L⁻¹)和奥希替尼(0、0.75、1.5、3、6 μmol·L⁻¹),根据预设的药物浓度,将相应的药物添加至各孔,继续培养72 h后,每孔加入50 μL MTT溶液(2 mg·mL⁻¹),随后将96孔板置于培养箱内反应5 h。弃去孔内液体,每孔加入150 μL二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO),避光震荡10 min以溶解生成的晶体。最后,使用多功能酶标仪测定490 nm波长下的吸光度值,记录实验结果。将处理组的吸光度值与对照组(未处理组)进行比较,计算细胞活力。采用非线性回归分析拟合不同药物浓度下的细胞活力曲线。

1.4 划痕实验

取状态良好的细胞,按每孔3×10⁵个细胞的密度接种至12孔板,置于培养箱中孵育24 h。细胞贴壁后,用200 μL枪头在培养板底部划线,加入PBS缓冲液轻轻清洗以去除漂浮细胞。配制不同浓度

梯度的氯胍($0, 10, 20, 40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和奥希替尼($0, 2, 4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),根据设定的药物浓度将药物加入无血清培养基后加至 12 孔板中。分别于 0、24、48 h 使用显微镜对划痕区域拍照记录,之后通过图像分析软件对细胞迁移情况进行定量分析和数据处理。使用图像分析软件测量不同时间点剩余划痕区域面积。通过对每个时间点测量的面积取平均值,比较不同时间点之间的划痕面积变化,计算细胞迁移率。

1.5 Transwell 实验

细胞经过胰酶消化后,用无血清培养基重悬并进行计数。按照每孔 4 000 个细胞的密度接种于 Transwell 板的小室中。配制不同浓度梯度的氯胍($0, 10, 20, 40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和奥希替尼($0, 2, 4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),小室的下层加入 600 μL 完全培养基,小室上下两层均加入设定浓度的药物。每个小室的体积控制在 200 μL 。药物处理 24 h 后,分别吸去上下层的培养基,在小室下层加入适量 10% 多聚甲醛以固定穿过小室的细胞。固定完成后,弃去固定液,使用结晶紫对细胞进行染色。在装有蒸馏水的烧杯中轻轻洗涤小室,并用棉签去除小室内未穿过膜的细胞。最后,将小室取出,置于干净的载玻片上,使用显微镜采集图像,直接计数穿过膜的细胞数,并使用图像分析软件(Image J)辅助计数,通过比较不同处理方式下穿过膜的细胞数目计算细胞的迁移率。

1.6 Western blotting 实验

在 J82 和 T24 中分别使用 $20, 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氯胍和 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的奥希替尼单独或联用处理细胞,按照实验设计对细胞进行药物处理后,加入细胞裂解液裂解细胞并提取总蛋白。将蛋白质样品进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离。通过湿转法将蛋白转移至聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜,将 PVDF 膜置于含 5% 脱脂奶粉的封闭液中,室温封闭 60 min,再与稀释于封闭液中的 E-cadherin 和 GAPDH 一抗共同孵育,于 4°C 条件下过夜。次日使用 TBST 缓冲液洗涤膜 30 min 以去除未结合的抗体,加入二抗孵育。最后, TBST 洗涤,显影,通过化学发光法观察蛋白条带,进行印迹分析。

1.7 统计学分析

本实验中的所有数据均采用 IBM SPSS Statis-

tics 20 软件进行统计学分析,使用 GraphPad Prism 6 绘制统计图。两组间数据比较采用独立样本 t 检验。当实验涉及多组数据比较时,使用单因素方差分析(ANOVA),并通过 SNK (Student-Newman-Keuls)法进行两两比较。统计显著性标准设定为: $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 氯胍抑制膀胱癌细胞的增殖与迁移

本研究结果显示,随着氯胍浓度的逐步升高,膀胱癌细胞 J82 和 T24 的活力均显著下降,且呈浓度依赖性。氯胍在膀胱癌细胞 J82 中的 IC_{50} 为 $65.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,在 T24 中的 IC_{50} 为 $35.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外,划痕实验和 Transwell 实验结果均显示氯胍可显著抑制膀胱癌细胞的迁移(图 1),提示氯胍以浓度依赖性方式显著抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移。

2.2 奥希替尼抑制膀胱癌细胞的增殖与迁移

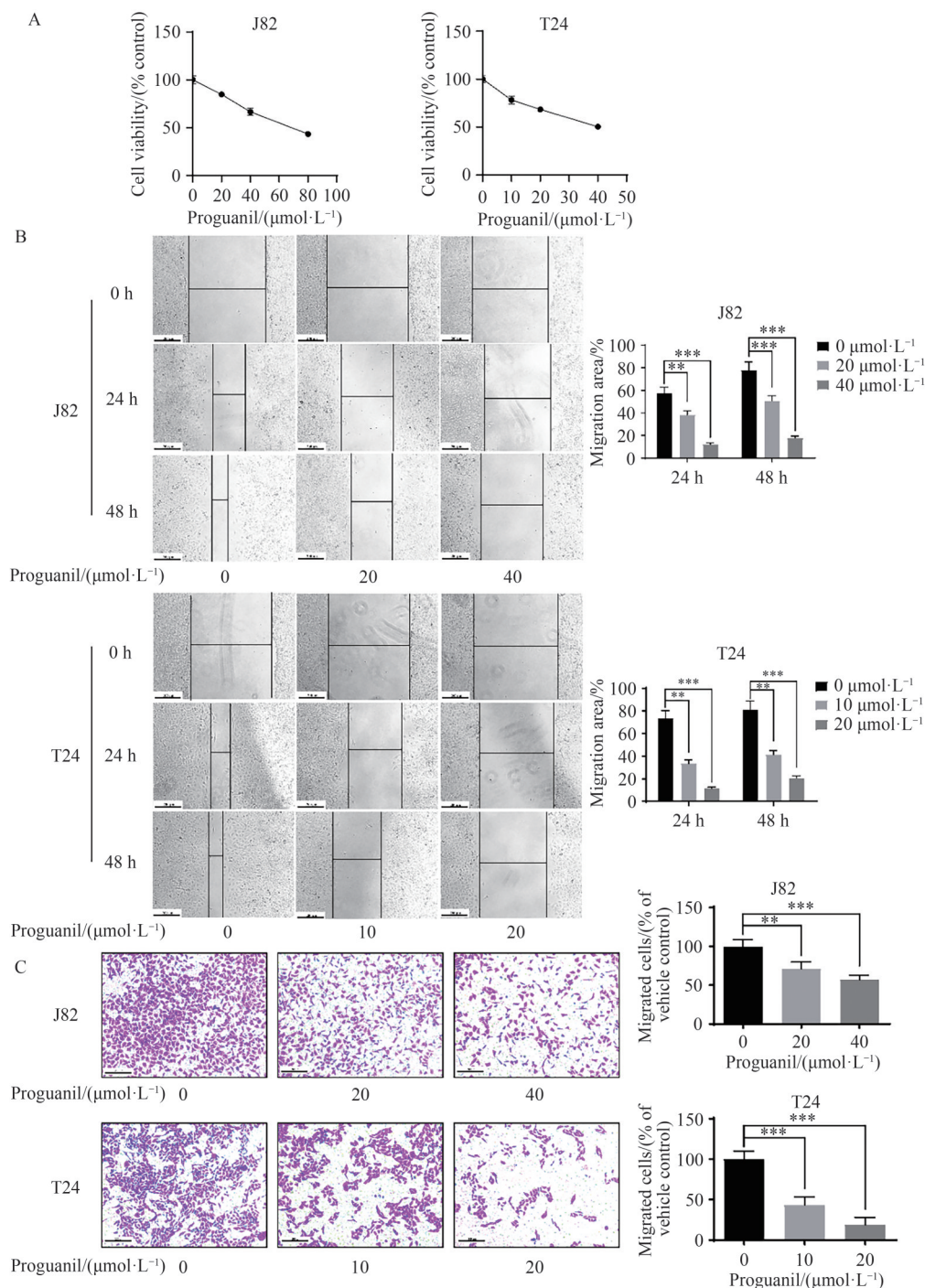
本研究结果显示,随着奥希替尼浓度的逐步升高,膀胱癌细胞 J82 和 T24 的活力均显著降低,且呈现出浓度依赖性(图 2A),奥希替尼在膀胱癌细胞 J82 中的 IC_{50} 为 $3.6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,在 T24 中的 IC_{50} 为 $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外,划痕实验和 Transwell 实验结果显示,奥希替尼处理后,膀胱癌细胞的横向迁移(图 2B)和穿膜迁移(图 2C)能力均明显减弱。以上结果提示奥希替尼能够抑制膀胱癌细胞的增殖与迁移能力。

2.3 氯胍联合奥希替尼抑制膀胱癌细胞的增殖与迁移

本研究结果显示,氯胍与奥希替尼联合用药在梯度浓度条件下对膀胱癌细胞的增殖均表现出显著的协同抑制作用(图 3A),且氯胍联合奥希替尼在抑制膀胱癌细胞的穿膜迁移(图 3B)和横向迁移(图 4)方面均优于单药处理,提示氯胍联合奥希替尼对膀胱癌细胞的增殖与迁移具有协同抑制作用。

2.4 氯胍联合奥希替尼对膀胱癌细胞 EGFR 磷酸化及 EMT 的影响

本研究结果显示,氯胍和奥希替尼单药均能显著下调膀胱癌细胞中 EGFR 磷酸化水平,上调 E-cadherin 表达且下调 N-cadherin 表达,提示 EMT 进程被阻断;两者联合应用对 EGFR 磷酸化、E-cadherin 及 N-cadherin 表达的影响较单药更加显著(图 5)。



注:(A)MTT实验表明氯胍能抑制膀胱癌细胞系J82和T24增殖;(B)划痕实验显示氯胍能抑制膀胱癌细胞系J82和T24的横向迁移能力;(C)Transwell实验显示氯胍能抑制膀胱癌细胞系J82和T24的穿膜迁移能力。* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, $n=3$ 。

Note: (A) MTT assay shows that proguanil inhibits the proliferation of bladder cancer cell lines J82 and T24. (B) Scratch assay demonstrates that proguanil inhibits the lateral migration ability of bladder cancer cell lines J82 and T24. (C) Transwell assay shows that proguanil inhibits the transmembrane migration ability of bladder cancer cell lines J82 and T24. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, $n=3$.

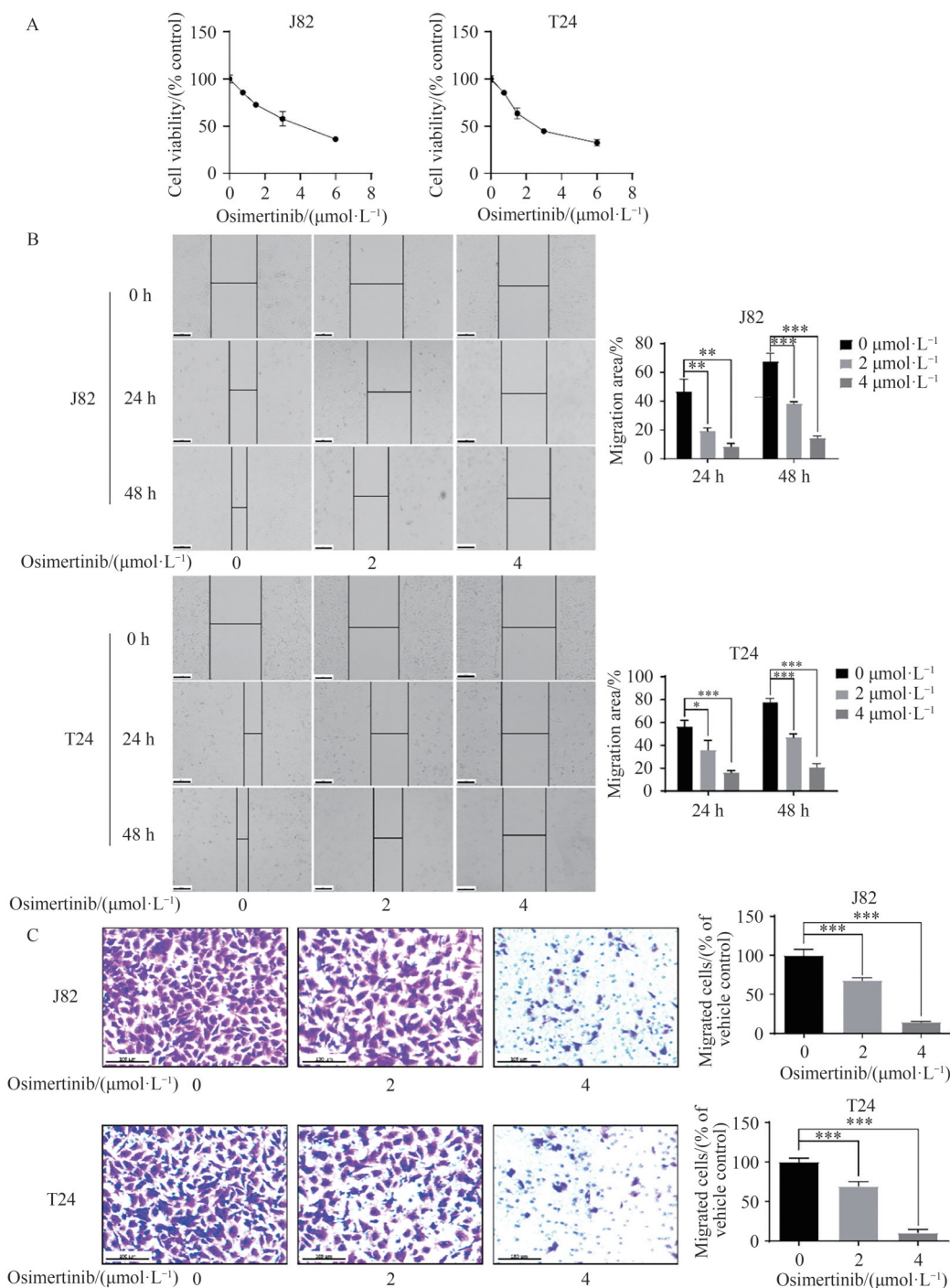
图1 氯胍抑制膀胱癌细胞系增殖与迁移

Fig. 1 Proguanil inhibits the proliferation and migration of bladder cancer cell lines

3 讨论

膀胱癌是一种全球范围内常见的恶性肿瘤,在

男性中发病率较高^[1-4]。尽管近年来诊疗技术取得显著进展,但膀胱癌高复发性和高侵袭性给临床造成了巨大挑战^[5]。抑制膀胱癌细胞增殖和迁移是研



注:(A)MTT实验表明奥希替尼能抑制膀胱癌细胞系J82和T24增殖;(B)划痕实验显示奥希替尼能抑制膀胱癌细胞系J82和T24的横向迁移能力;(C)Transwell实验显示奥希替尼能抑制膀胱癌细胞系J82和T24的穿膜迁移能力。 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$ 。

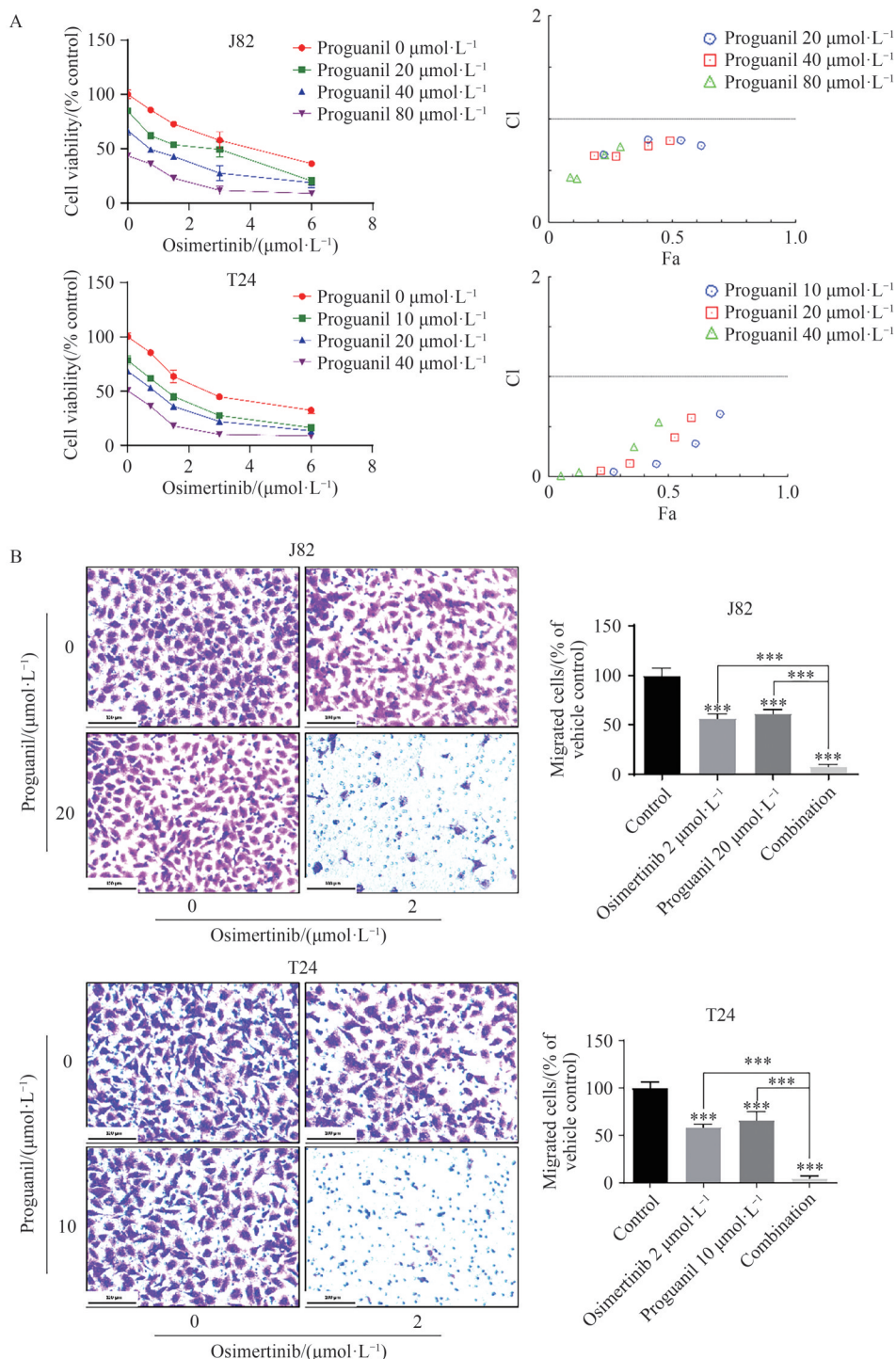
Note: (A) MTT assay shows that osimertinib inhibits the proliferation of bladder cancer cell lines J82 and T24. (B) Scratch assay demonstrates that osimertinib inhibits the lateral migration ability of bladder cancer cell lines J82 and T24. (C) Transwell assay shows that osimertinib inhibits the transmembrane migration ability of bladder cancer cell lines J82 and T24. $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$.

图2 奥希替尼抑制膀胱癌细胞系增殖与迁移

Fig. 2 Osimertinib inhibits the proliferation and migration of bladder cancer cell lines

究重点之一^[6]。本研究探讨了氯胍和奥希替尼在抑制膀胱癌细胞增殖和迁移方面的作用,发现氯胍在一定浓度下能够显著抑制膀胱癌细胞的增殖和迁

移。此外,奥希替尼作为第三代EGFR抑制剂,已经在非小细胞肺癌治疗中展现了显著的抗肿瘤效果^[27]。本研究结果显示,奥希替尼对膀胱癌细胞的



注:(A)MTT实验表明氯胍与奥希替尼联合用药在梯度浓度条件下对膀胱癌细胞系J82和T24的增殖均具有良好的抑制效果;(B)Transwell实验显示氯胍与奥希替尼联合作用在抑制膀胱癌细胞系J82和T24的穿膜迁移能力方面优于单药处理。 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$ 。

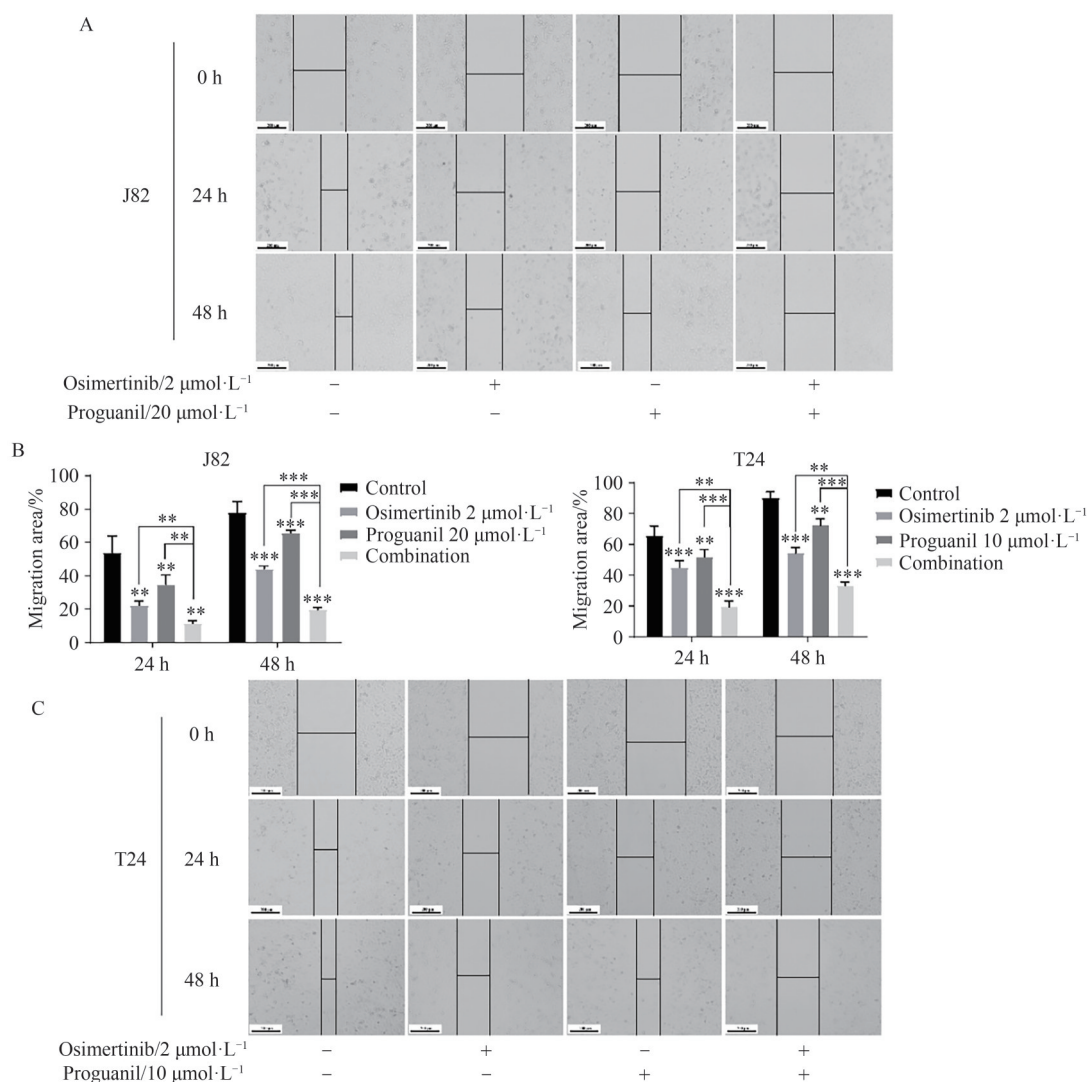
Note: (A) MTT assay shows that proguanil and osimertinib have a good inhibitory effect on the proliferation of bladder cancer cell lines J82 and T24 across various combined concentrations. (B) Transwell assay shows that the combined use of proguanil and osimertinib is superior to monotherapy in inhibiting the transmembrane migration ability of bladder cancer cell lines J82 and T24. $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$.

图3 氯胍增强奥希替尼对膀胱癌细胞增殖和迁移的抑制作用

Fig. 3 Proguanil enhances the inhibitory effect of osimertinib on the proliferation and migration of bladder cancer cells

增殖和迁移也具有显著的抑制作用。然而,鉴于奥希替尼单药治疗面临获得性耐药等局限性^[26, 28-30],

联合用药策略可能为提高治疗效果提供新的方向。本研究进一步探讨了氯胍与奥希替尼的联合用药



注:(A)划痕实验显示氯胍联合奥希替尼在抑制膀胱癌细胞系 J82 的横向迁移能力方面优于单药处理;(B)氯胍联合奥希替尼在膀胱癌细胞系 J82 和 T24 中的划痕实验直方图;(C)划痕实验显示氯胍联合奥希替尼在抑制膀胱癌细胞系 T24 的横向迁移能力方面优于单药处理。 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$ 。

Note: (A) Scratch assay shows that the combination of proguanil and osimertinib is more effective in inhibiting the lateral migration ability of bladder cancer cell line J82 than monotherapy. B. Histogram of data from the scratch assay of the combined treatment of proguanil and osimertinib in bladder cancer cell lines J82 and T24. (C) Scratch assay shows that the combination of proguanil and osimertinib is more effective in inhibiting the lateral migration ability of bladder cancer cell line T24 than monotherapy. $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$.

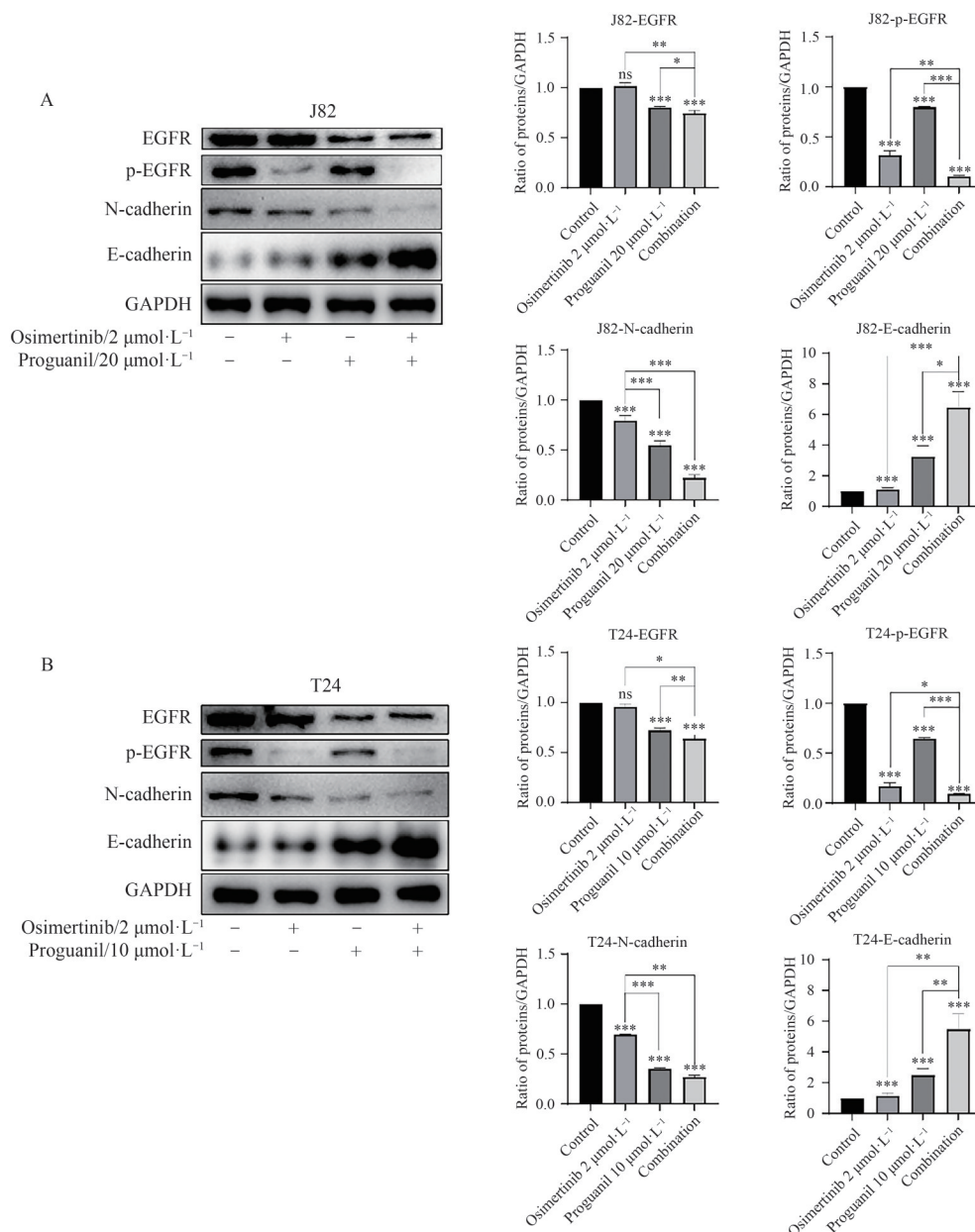
图4 氯胍增强奥希替尼对膀胱癌细胞迁移的抑制作用

Fig. 4 Proguanil enhances the inhibitory effect of osimertinib on bladder cancer cell migration

效果,发现联合用药能够进一步降低膀胱癌细胞的活性,并抑制细胞迁移。此外,本实验室前期研究和实验结果表明奥希替尼对 EGFR 总蛋白并无显著影响^[31]。本研究结果显示,氯胍和奥希替尼联合使用能显著下调 EGFR 磷酸化水平,同时上调 E-cadherin 表达并下调 N-cadherin 表达。有研究证实,抑制 EGFR 磷酸化能够有效阻断 EMT 进程,进而影响细胞的增殖和迁移过程^[22-25]。因此,本研究结果提示,氯胍与奥希替尼联用可能通过下调 EGFR 磷酸

化水平来阻断 EMT 过程,最终抑制膀胱癌细胞的生长。

本研究初步揭示了氯胍与奥希替尼联合用药在抑制膀胱癌细胞增殖和迁移中的潜力,并提供了相关机制的初步数据,但仍存在一些局限性,值得进一步探讨。首先,体外实验未能充分模拟体内复杂的肿瘤微环境,因此尚未评估联合治疗在体内的实际效果,未来的研究应通过体内动物模型验证这一点。其次,本研究虽然发现 EGFR 磷酸化的下调



注:在膀胱癌细胞系 J82 和 T24 中,奥希替尼对 EGFR 总蛋白并无显著影响,氯胍和奥希替尼单用均能显著下调 EGFR 磷酸化水平,上调 E-cadherin 表达且下调 N-cadherin 表达。两者联合应用对 EGFR 磷酸化、E-cadherin 及 N-cadherin 表达的影响较单药更加显著。 $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $n=3$ 。

Note: In bladder cancer cell lines J82 and T24, osimertinib shows no significant effect on the total protein of EGFR. Both proguanil and osimertinib alone significantly downregulates the phosphorylation level of EGFR, upregulates the expression of E-cadherin, and downregulates the expression of N-cadherin. The proguanil and osimertinib combination shows a more significant effect on the phosphorylation of EGFR, and the expression of E-cadherin and N-cadherin than proguanil or osimertinib alone. $^*P<0.05$, $^{**}P<0.01$. $^{***}P<0.001$, $n=3$.

图 5 膀胱癌细胞中相关蛋白的表达水平比较

Fig. 5 Comparison of the expression levels of related proteins in bladder cancer cells

可能是联合治疗抑制 EMT 的关键,但 EMT 的过程涉及多个信号通路的协同作用^[32],因此是否还涉及其他分子机制的调控仍需进一步研究。此外,膀胱癌细胞的异质性可能导致不同细胞系对联合治疗反应的差异^[33],这一点亟需通过多细胞系和类器官模

型进一步验证。联合治疗的最佳剂量和给药方案也需要通过更多实验来优化,以确保其在临床上的有效性和安全性。最后,膀胱癌的分型差异可能影响治疗的效果^[34],因此在不同亚型的膀胱癌中评估联合治疗的疗效,并探索潜在的生物标志物,以实

现个性化治疗,是未来研究的重要方向。通过深入研究这些问题,氯胍与奥希替尼联合用药有望为膀胱癌的靶向治疗提供新的策略。

综上,氯胍与奥希替尼的协同作用可能通过下调 EGFR 磷酸化水平进而抑制 EMT 进程,最终抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移,有望为膀胱癌的靶向治疗开辟新的路径。

参考文献

[1] LENIS A T, LEC P M, CHAMIE K, et al. Bladder cancer: a review [J]. JAMA, 2020, 324(19): 1980–1991. DOI:10.1001/jama.2020.17598.

[2] 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 [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209–249. DOI:10.3322/caac.21660.

[3] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer statistics, 2024 [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(1): 12–49. DOI:10.3322/caac.21820.

[4] COSTA A R, LANÇA DE OLIVEIRA M, CRUZ I, et al. The sex bias of cancer [J]. Trends Endocrinol Metab, 2020, 31(10): 785–799. DOI:10.1016/j.tem.2020.07.002.

[5] ABDOLLAH F, GANDAGLIA G, THURET R, et al. Incidence, survival and mortality rates of stage-specific bladder cancer in United States: a trend analysis [J]. Cancer Epidemiol, 2013, 37(3): 219–225. DOI:10.1016/j.canep.2013.02.002.

[6] YAO Z X, ZHENG Z, KE W, et al. Prognostic nomogram for bladder cancer with brain metastases: a National Cancer Database analysis [J]. J Transl Med, 2019, 17(1): 411. DOI:10.1186/s12967-019-2109-7.

[7] ZHANG X Z, HONG B A, LI H W, et al. Basement membrane-related MMP14 predicts poor prognosis and response to immunotherapy in bladder cancer [J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 746. DOI:10.1186/s12885-024-12489-y.

[8] ROUPRÊT M, SEISEN T, BIRTLE A J, et al. European association of urology guidelines on upper urinary tract urothelial carcinoma: 2023 update [J]. Eur Urol, 2023, 84(1): 49–64. DOI:10.1016/j.eururo.2023.03.013.

[9] PARDO J C, RUIZ DE PORRAS V, PLAJA A, et al. Moving towards personalized medicine in muscle-invasive bladder cancer: where are we now and where are we going? [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17): 6271. DOI:10.3390/ijms21176271.

[10] ZHANG Y L, ZHANG X, HUANG X F, et al. Tumor stemness score to estimate epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells (CSCs) characterization and to predict the prognosis and immunotherapy response in bladder urothelial carcinoma [J]. Stem Cell Res Ther, 2023, 14(1): 15. DOI:10.1186/s13287-023-03239-1.

[11] PING Q R, WANG C H, CHENG X, et al. TGF- β 1 dominates stromal fibroblast-mediated EMT via the FAP/VCAN axis in bladder cancer cells [J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 475. DOI:10.1186/s12967-023-04303-3.

[12] ZEISBERG M, NEILSON E G. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions [J]. J Clin Invest, 2009, 119(6): 1429–1437. DOI:10.1172/JCI36183.

[13] DAULAGALA A C, BRIDGES M C, KOURTIDIS A. E-cadherin beyond structure: a signaling hub in colon homeostasis and disease [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11): 2756. DOI:10.3390/ijms20112756.

[14] LOH C Y, CHAI J Y, TANG T F, et al. The E-cadherin and N-cadherin switch in epithelial-to-mesenchymal transition: signaling, therapeutic implications, and challenges [J]. Cells, 2019, 8(10): 1118. DOI:10.3390/cells8101118.

[15] BRYAN R T, TSELEPIS C. Cadherin switching and bladder cancer [J]. J Urol, 2010, 184(2): 423–431. DOI:10.1016/j.juro.2010.04.016.

[16] JING W T, CAO Y, WANG H, et al. E-cadherin and FGFR3 are risk factors determining prognosis of patients with bladder urothelial carcinoma [J]. Am J Transl Res, 2023, 15(2): 1510–1516.

[17] BRYAN R T. Cell adhesion and urothelial bladder cancer: the role of cadherin switching and related phenomena [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2015, 370(1661): 20140042. DOI:10.1098/rstb.2014.0042.

[18] ZHANG X J, LIU G Z, KANG Y, et al. N-cadherin expression is associated with acquisition of EMT phenotype and with enhanced invasion in erlotinib-resistant lung cancer cell lines [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e57692. DOI:10.1371/journal.pone.0057692.

[19] BARBIERI F, WÜRTH R, PATTAROZZI A, et al. Inhibition of chloride intracellular channel 1 (CLIC1) as biguanide class-effect to impair human glioblastoma stem cell viability [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 899. DOI:10.3389/fphar.2018.00899.

[20] LEA M A, KIM H, DESBORDES C. Effects of biguanides on growth and glycolysis of bladder and colon cancer cells [J]. Anticancer Res, 2018, 38(9): 5003–5011. DOI:10.21873/anticancer.12819.

[21] XIAO D, HU X, PENG M, et al. Inhibitory role of proguanil on the growth of bladder cancer *via* enhancing EGFR degradation and inhibiting its downstream signaling pathway to induce autophagy [J]. Cell Death Dis, 2022, 13(5): 499. DOI:10.1038/s41419-022-04937-z.

[22] ZIEGER-NAUMANN K, KUHL F, ENGELE J. G protein-mediated EGFR transactivation is a common mechanism through which the CXCL12 receptors, CXCR4 and CXCR7, control human cancer cell migration [J]. Oncol Rep, 2024, 51(2): 24. DOI:10.3892/or.2023.8683.

[23] YAN Y R, ZHAO P P, WANG Z H, et al. PRMT5 regulates colorectal cancer cell growth and EMT *via* EGFR/Akt/GSK3 β signaling cascades [J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(3): 4468–4481. DOI:10.18632/aging.202407.

[24] WANG S Z, GUO H J, JIA J, et al. Silencing TAB182 inhibits cell EMT, migration and invasion by downregulating EGFR in A549 NSCLC cells [J]. Mol Biol Rep, 2023, 50(4): 3073–3083. DOI:10.1007/s11033-022-08176-5.

[25] CHIEN M H, YANG Y C, HO K H, et al. Cyclic increase in the ADAMTS1–L1CAM–EGFR axis promotes the EMT and cervical lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma [J]. Cell Death Dis, 2024, 15(1): 82. DOI:10.1038/s41419-024-06452-9.

[26] FU K, XIE F C, WANG F, et al. Therapeutic strategies for EGFR-mutated non-small cell lung cancer patients with osimertinib resistance [J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 173. DOI:10.1186/s13045-022-01391-4.

- [27] REMON J, STEUER C E, RAMALINGAM S S, et al. Osimertinib and other third-generation EGFR TKI in EGFR-mutant NSCLC patients [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(suppl_1): i20-i27. DOI:10.1093/annonc/mdx704.
- [28] LEONETTI A, SHARMA S, MINARI R, et al. Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer [J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(9): 725-737. DOI: 10.1038/s41416-019-0573-8.
- [29] LEI T Y, XU T W, ZHANG N, et al. Anlotinib combined with osimertinib reverses acquired osimertinib resistance in NSCLC by targeting the c-MET/MYC/AXL axis [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 188: 106668. DOI:10.1016/j.phrs.2023.106668.
- [30] BLAQUIER J B, ORTIZ-CUARAN S, RICCIUTI B, et al. Tackling osimertinib resistance in EGFR-mutant non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(18): 3579-3591. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-22-1912.
- [31] XIAO D, XU S M, ZHOU X C, et al. Synergistic augmentation of osimertinib-induced autophagic death by proguanil or rapamycin in bladder cancer [J]. *MedComm (2020)*, 2023, 4(3): e236. DOI:10.1002/mco.2.236.
- [32] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-196. DOI:10.1038/nrm3758.
- [33] LOPEZ-BELTRAN A, COOKSON M S, GUERCIO B J, et al. Advances in diagnosis and treatment of bladder cancer [J]. *BMJ*, 2024, 384: e076743. DOI:10.1136/bmj-2023-076743.
- [34] KAMOUN A, DE REYNIÈS A, ALLORY Y, et al. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer [J]. *Eur Urol*, 2020, 77(4): 420-433. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.09.006.

校稿: 王娟 于静

本文引用格式: 王伟帆, 周晓辰, 谢宜君, 等. 氟脲联合奥希替尼抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移[J]. 肿瘤药学, 2025, 15(2): 187-196. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2025.02.06.

Cite this article as: WANG Weifan, ZHOU Xiaochen, XIE Yijun, et al. The combination of proguanil and osimertinib inhibits the proliferation and migration of bladder cancer cells[J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2025, 15 (2): 187-196. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2025.02.06.