

# SLC16A8 通过正调控 FN1 促进结直肠癌细胞增殖、迁移及血管生成\*

贾蓉<sup>1</sup> 彭明沙<sup>2</sup> 田云鸿<sup>1</sup> 彭洪<sup>2</sup>

(南充市中心医院 1. 胃肠外科; 2. 肛肠外科, 四川 南充 637000)

**【摘要】** 目的 探讨溶质载体家族 16 成员 8 (SLC16A8) 通过上调纤维连接蛋白 1 (FN1) 表达促进结直肠癌 (CRC) 细胞增殖和血管生成的作用机制。方法 通过癌症基因组图谱 (TCGA) 的数据分析 SLC16A8 在 CRC 中的表达及与患者预后的关系, 通过 CancerSEA 数据库对 SLC16A8 的功能进行分析。实时定量 PCR 法 (RT-qPCR) 检测 CRC 细胞中 SLC16A8 的表达水平, 将培养 CRC 细胞分为 SLC16A8 过表达组, 空白对照组和阴性对照组; CCK8 法检测细胞增殖; Transwell 法检测细胞迁移能力; 小管形成实验检测血管生成能力。通过生物信息学方法分析 SLC16A8 的下游基因, 蛋白质免疫印迹法 (Western blot) 分析 SLC16A8 对 FN1 蛋白表达的影响。过表达 SLC16A8 并抑制 FN1 表达, 将培养 CRC 细胞分为 SLC16A8 过表达组, SLC16A8 过表达 + FN1 siRNA 组, 空白对照组和阴性对照组, 分析 SLC16A8 是否通过正调控 FN1 促进 CRC 细胞增殖和血管生成。结果 SLC16A8 在 CRC 中高表达, 并且高表达 SLC16A8 的 CRC 患者预后较差。SLC16A8 功能主要与血管生成相关。SLC16A8 在 CRC 细胞中高表达并可促进 CRC 细胞增殖、迁移和血管生成。FN1 可能是 SLC16A8 的下游基因并且两者表达呈正相关。SLC16A8 可促进 FN1 蛋白表达, 并且 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进 CRC 细胞增殖、迁移和血管生成。结论 SLC16A8 在 CRC 中高表达, 并且 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进 CRC 细胞增殖、迁移和血管生成。

**【关键词】** 结直肠癌; 溶质载体家族 16 成员 8; 纤维连接蛋白 1; 血管生成; 作用机制

**【中图分类号】** R735.3 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2024. 07. 008

## SLC16A8 promotes colorectal cancer cell proliferation, migration and angiogenesis through upregulating FN1 expression

JIA Rong<sup>1</sup>, PENG Mingsha<sup>2</sup>, TIAN Yunhong<sup>1</sup>, PENG Hong<sup>2</sup>

(1. Department of Gastrointestinal Surgery, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China;

2. Department of Anorectal Surgery, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the molecular mechanism that SLC16A8 promotes colorectal cancer cell proliferation and angiogenesis through upregulating FN1 expression. **Methods** Data from The Cancer Genome Atlas were utilized to analyse the expression of SLC16A8 in CRC and the association between SLC16A8 on poor prognosis, and the functional analysis of SLC16A8 was performed by CancerSEA database. RT-qPCR was used to detect the expression of SLC16A8 in CRC cells, and CRC cells were divided into SLC16A8 highly expressed group, blank control group and negative control group, then CCK8 was used to analyze cell proliferation and Transwell assay was used to detect capability of cell migration, Tube formation assay was performed to test the angiogenesis ability. Bioinformatics method was used to screen downstream gene of SLC16A8, and expression of SLC16A8 on FN1 protein were analyzed by western blot. Overexpression of SLC16A8 and inhibition of FN1 and CRC cells were divided into SLC16A8 highly expressed group, SLC16A8 highly expressed group + FN1 siRNA group, blank control group and negative control group, then we analyse whether SLC16A8 promotes cell proliferation, migration and angiogenesis through positive regulating FN1. **Results** The results

基金项目: 四川省医学青年创新科研课题计划 (Q22049); 南充市市校合作课题 (22SXQT0069, 22SXQT0070); 南充市市级科技计划项目 (22YYJCYJ0078)

通讯作者: 彭洪, 硕士生导师, E-mail: 1041910523@qq.com

引用本文: 贾蓉, 彭明沙, 田云鸿, 等. SLC16A8 通过正调控 FN1 促进结直肠癌细胞增殖、迁移及血管生成 [J]. 西部医学, 2024, 36(7): 980-986. DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2024. 07. 008

show that the expression of *SLC16A8* is overexpressed in CRC, and high expression of *SLC16A8* had shorter overall survival ( $P=0.022$ ). *SLC16A8* genes was mainly involved in angiogenesis. *SLC16A8* was significantly elevated in the colorectal cancer cell lines, and overexpression of *SLC16A8* enhanced cell proliferation, migration and angiogenesis. *FN1* might be downstream gene of *SLC16A8* and the expression of *SLC16A8* was correlated positively with that of *FN1* in CRC. *SLC16A8* promoted *FN1* protein expression, and *SLC16A8* promotes CRC cell proliferation, migration and angiogenesis through positive regulating *FN1*. **Conclusion** *SLC16A8* is higher expressed in CRC, and *SLC16A8* promotes CRC cell proliferation, migration and angiogenesis through positive regulating *FN1*.

**【Key words】** Colorectal cancer; Solute Carrier Family 16, Member 8; Fibronectin 1; Angiogenesis

结直肠癌(Colorectal cancer, CRC)是全球第三大最常见癌症,也是癌症第四大死亡原因。事实上相当一部分的 CRC 患者会出现同时性肝转移及异时性肝转移<sup>[1-2]</sup>。尽管目前有多种治疗方法,但是 CRC 肝转移患者的 5 年生存率不到 10%<sup>[3-4]</sup>。因此进一步了解 CRC 增殖和转移的潜在机制对于开发新的治疗策略非常重要。溶质载体家族 16(Solute Carrier Family 16, *SLC16*) 基因家族有 14 个成员,四个基因(*SLC16A1*、*SLC16A3*、*SLC16A7* 和 *SLC16A8*) 分别编码单羧酸盐转运蛋白 MCT1、MCT4、MCT2 和 MCT3<sup>[5]</sup>。*SLC16A8* 的主要功能是调节乳酸盐跨细胞膜转运,研究证明 *SLC16A8* 基因中低形态等位基因的运输功能丧失,其为研究与年龄相关性黄斑变性相关的其他 *SLC16A8* 等位基因提供了方法学框架<sup>[6]</sup>。目前鲜有 *SLC16A8* 在 CRC 发展中的报道。肿瘤血管生成是癌症的标志之一,其与实体肿瘤的发生明显相关<sup>[7]</sup>。越来越多的证据表明血管生成成为肿瘤细胞的生存提供了充足的氧气和营养,这一过程在癌症的发展过程中起着关键作用,尤其是在 CRC 细胞的增殖和转移中<sup>[8-9]</sup>。基于“饿死肿瘤”理论的抗血管生成疗法已成为对抗包括 CRC 在内的各种人类恶性肿瘤的一种有吸引力的策略。越来越多的研究表明肿瘤细胞中多个异常表达的基因通过吸引和激活内皮细胞来驱动血管生长。纤连蛋白 1(Fibronectin 1, *FN1*) 是一种大分子糖蛋白,是细胞外基质的重要组成部分<sup>[10]</sup>。*FN1* 与各种疾病有关,如动脉粥样硬化和关节炎,并参与细胞粘附、细胞迁移、伤口愈合和维持细胞形状<sup>[11]</sup>。此外, *FN1* 在血管发育和细胞外基质重塑中也发挥着重要作用<sup>[12]</sup>。然而 *FN1* 参与 CRC 血管生成调控的分子机制尚未得到很好的阐明。本研究为了验证 *SLC16A8* 通过正调控 *FN1* 基因促进 CRC 细胞增殖、迁移和血管生成,以期为 CRC 的治疗提供新的思路。

## 1 材料与方法

1.1 生物信息学分析 从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库中下载 620 例 CRC 患者的病例资料和测序信息,以及 10 例健康者

的测序信息,分析 *SLC16A8* 基因的表达差异。然后将 620 例 CRC 患者根据 *SLC16A8* 表达水平分为高表达组( $n=309$ , 因 1 例高表达患者随访失联,故删去这 1 例,所以只有 309 例)和低表达组( $n=210$ ),分析 *SLC16A8* 表达水平与预后的关系。通过 CancerSEA 数据库(<http://biocc.hrbmu.edu.cn/CancerSEA/>) 对 *SLC16A8* 的生物学功能进行分析。通过 STRING(<https://cn.string-db.org/cgi/input?sessionId=bg39Tea7hbww>) 数据库筛选出 38 个 *SLC16A8* 结合蛋白,通过 GEPIA2 数据库(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>) 获得与 *SLC16A8* 基因表达相关的前 100 个基因,然后从 CancerSEA 数据库下载与血管生成相关的基因共 73 个,并将 *SLC16A8* 基因表达相关的 138 个基因与血管生成相关的 73 个基因取交集。通过 GEPIA2 数据库分析 CRC 中 *SLC16A8* 与 *FN1* 基因表达的相关性。

1.2 细胞培养 人类 CRC 细胞系 HCT116(MSI, Duke stage C, highly metastatic)、HT29(MSS, Duke stage C, metastatic)、SW480(MSS, Duke stage B, metastatic) 和 DLD1(MSI, Duke stage C, weakly metastatic) 购自美国菌种保藏中心(ATCC, Manassas, VA, USA)。正常结直肠粘膜细胞 FHC 和 HUVEC 细胞购自中国科学院细胞库(中国上海)。FHC、HCT116、HT29 和 SW480 常规在含有 10% FBS 和 1% PS(Invitrogen) 的 Dulbecco 改良 Eagle 培养基(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 中培养。DLD1 常规在含有 10% FBS 和 1% PS(Invitrogen) 的 Roswell Park Memorial Institute 1640 培养基(Invitrogen) 中培养。HUVEC 细胞在含有 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素的 EB2 培养基(Lonza, Walkersville, USA, #CC-3162) 中培养。细胞培养环境为 37 °C 并含有 5% CO<sub>2</sub>。

1.3 细胞转染及分组 根据制造商的说明,使用 Lipofectamine 3000(Invitrogen, USA, California) 进行转染。*SLC16A8* 过表达载体(OE-*SLC16A8*) 和 *FN1* siRNA 购自上海基因化学有限公司(中国上海)。*FN1* siRNA 序列如下: 5'-CCAUUUCACCUUCA-

GACAATT-3'。后续实验分组中空白对照组 CRC 细胞未进行任何处理,阴性对照组 CRC 细胞转染无义序列:5'-GAGCCTCGTGCCTTTC-3', SLC16A8 过表达组指 CRC 细胞转染 SLC16A8 过表达载体, SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组指 CRC 细胞转染 SLC16A8 过表达载体和 FN1 siRNA。根据不同实验内容进行不同分组,分析 SLC16A8 对细胞增殖、迁移、血管生成和 FN1 蛋白表达的影响时设立 SLC16A8 过表达组,空白对照组及阴性对照组。当分析 SLC16A8 是否通过正调控 FN1 发挥作用时设立 SLC16A8 过表达组、SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组、空白对照组和阴性对照组。

1.4 实时定量 PCR 法(Quantitative real-time reverse-transcription, RT-qPCR) 根据制造商的说明,使用 TransZol Up Plus RNA 试剂盒(Transgen Biotech, 中国北京, ER501-01)从细胞中提取总 RNA。使用 PrimeScript RT Master Mix (Takara, Shiga, Japan, RR036A)从 1  $\mu\text{g}$  总 RNA 合成 cDNA, 体积为 20  $\mu\text{L}$ ,  $\beta$ -actin 作为对照。每个样本的所有 PCR 均重复 3 次。用于 RT-qPCR 的 SLC16A8 引物序列如下: 5-AGCCGTGAGCGTCTTCTTC-3 (sense), 5-GT-CAGGTAGAGCTCCAGGAG-3 (antisense)。

1.5 蛋白质免疫印迹法(Western blot) 收获细胞并在含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂(Beyotime, #P1045)的 RIPA 缓冲液(Beyotime, P0013D)中裂解。根据制造商的说明,使用增强型 BCA 蛋白质测定试剂盒(Beyotime, P0010)测量蛋白质浓度。通过 10%SDS-PAGE(Beyotime, #P0012AC)分离总蛋白(30  $\mu\text{g}$ ),并转移到 0.45  $\mu\text{m}$  PVDF 膜上(GE Healthcare Life science, Germany)。将膜用 5% BSA (Fcmacs, Nanjing, China, #FMS-WB021)封闭 1 h, 然后与 FN1 一抗(Abcam, UK)在 4  $^{\circ}\text{C}$  下孵育过夜。第二天,将膜与相应的山羊抗兔 IgG 二抗(Prototech, USA)在室温下孵育 1 h。最后,使用 Chemi-Doc<sup>TM</sup> MP 成像系统(Bio-Rad),用 ECL 试剂(NCM Biotech, 中国苏州, #1010)对膜进行可视化。

1.6 CCK8 检测 将转染的细胞以每孔 5 000 个细胞的密度接种在 96 孔板中。将细胞与含有 10  $\mu\text{L}$  CCK8(HY-K0301, MCE)的 100  $\mu\text{L}$  新鲜培养基在 37  $^{\circ}\text{C}$  下孵育 4 h。每 24 h 检测一次细胞活力,持续 3 d。使用 ELx800 吸光度微孔板读取器(BioTek)在 450 nm 处测量吸光度。

1.7 Transwell 检测 将无血清培养基中处理过的细胞(200  $\mu\text{L}$ ,  $5 \times 10^4$  细胞)添加到 Transwell 培养箱(Costar, Corning, Inc)的上部,并将 600  $\mu\text{L}$  含有 10%

FBS 的培养箱添加到培养箱的下部。在 37  $^{\circ}\text{C}$  下孵育 24 h 后,将细胞固定并用 0.3% 结晶紫染色 10 min。使用显微镜(ZEISS; Oberkochen)观察并计数迁移的细胞。

1.8 小管形成实验 将处理后的 HCT116 细胞与 HUVECs 共同培养。将基质胶提前在冰箱中于 4  $^{\circ}\text{C}$  下解冻过夜,并用不含 FBS 的培养基稀释。在 37  $^{\circ}\text{C}$  下,用  $2 \times 10^5$  个细胞/孔在基质凝胶表面接种细胞 24 h。通过倒置显微镜记录结果。

1.9 统计学分析 所有统计数据均使用 GraphPad Prism 5.0(La Jolla, CA, USA)进行分析。Student's *t* 检验用于发现两组之间的差异。所有实验重复 3 次,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 SLC16A8 在 CRC 组织中的表达、与预后的关系及功能分析 通过 TCGA 数据库分析 CRC 组织和正常结直肠组织中 SLC16A8 的表达水平,结果显示 SLC16A8 在 CRC 组织中明显高表达( $P = 0.004$ ) (图 1A)。基于 TCGA 数据库还分析了 SLC16A8 的表达水平与预后的关系,结果显示高表达 SLC16A8 基因的 CRC 患者预后较差( $P = 0.022$ ) (图 1B)。进一步通过 CancerSEA 数据库分析 SLC16A8 的功能,结果表明 SLC16A8 与血管生成呈正相关( $r = 0.60$ ,  $P < 0.01$ ),见图 1C。

2.2 SLC16A8 在 CRC 细胞中的表达及对细胞增殖的影响 通过 qRT-PCR 法分析人类 CRC 细胞系 HCT116、HT29、SW480、DLD1 和正常结直肠粘膜细胞 FHC 中 SLC16A8 的表达水平,结果发现与 FHC 细胞相比,SLC16A8 在 HCT116、HT29、SW480 和 DLD1 细胞中的表达水平均明显增高(均  $P < 0.05$ , 图 2A)。后续实验选择 HCT116 和 SW480 两种细胞进行。进一步通过 CCK8 法分析 SLC16A8 对细胞增殖的影响,结果表明与空白对照组和阴性对照组相比,SLC16A8 过表达组中 HCT116 和 SW480 细胞增殖活性均明显增强,见图 2B~C。

2.3 SLC16A8 对细胞迁移和血管形成的影响 通过 Transwell 法分析 SLC16A8 对细胞迁移能力的影响,结果显示与空白对照组及阴性对照组相比,SLC16A8 过表达组中 HCT116 和 SW480 细胞迁移能力明显增加( $P < 0.05$ ),表明 SLC16A8 可促进细胞迁移(图 3A~B)。为观察 SLC16A8 对血管形成的影响,在 HCT116 和 SW480 细胞中过表达 SLC16A8 并与 HUVEC 细胞共培养,结果显示与空白对照组及阴性对照组相比,SLC16A8 过表达组中小管数量明显增多( $P < 0.05$ ),证实 SLC16A8 可促进血管生成,见图 3C~D。

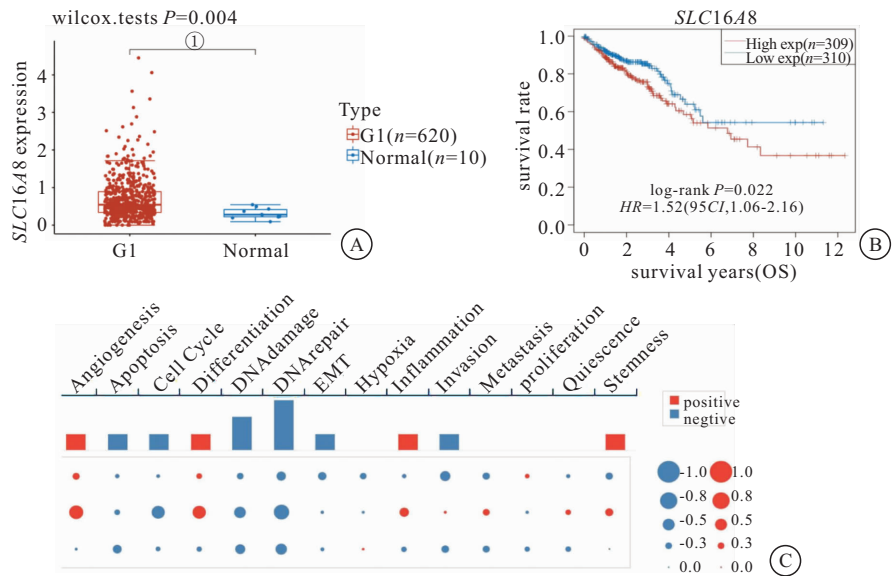


图 1 SLC16A8 在 CRC 中的表达特征

Figure 1 The expression characteristics of SLC16A8 in colorectal cancer

注: A. SLC16A8 在 CRC 组织和癌旁正常组织中的表达。B. SLC16A8 表达水平与预后的关系。C. SLC16A8 功能分析。两组比较, ① $P < 0.01$ 。

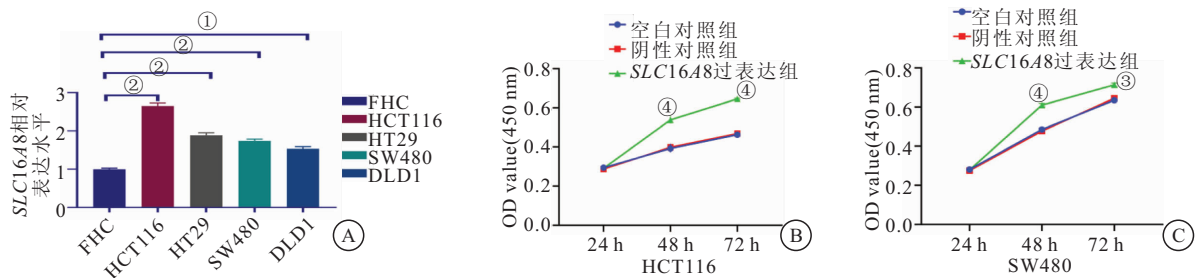


图 2 SLC16A8 在 CRC 细胞中的表达及对细胞增殖的影响

Figure 2 The expression of SLC16A8 in CRC cells and effects of SLC16A8 on cell proliferation

注: A. RT-qPCR 检测 SLC16A8 在 CRC 细胞和正常结肠粘膜细胞中的表达(FHC、HCT116、HT29、SW480 和 DLD1); B~C. CCK-8 法检测过表达 SLC16A8 对 HCT116 和 SW480 细胞增殖活性的影响。两组比较, ① $P < 0.01$ ; ② $P < 0.001$ ; 与空白对照组及阴性对照组比较, ③ $P < 0.01$ ; ④ $P < 0.001$ 。

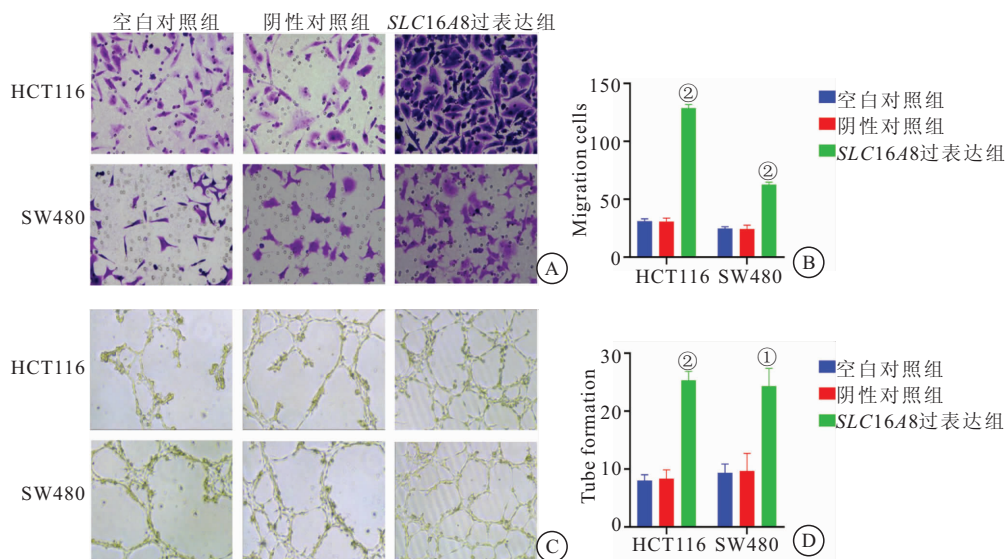


图 3 SLC16A8 对细胞迁移和血管形成的影响

Figure 3 Effects of SLC16A8 on cell migration and angiogenesis

注: A~B. SLC16A8 对细胞迁移的影响; C~D. SLC16A8 对血管形成的影响。与空白对照组及阴性对照组比较, ① $P < 0.01$ ; ② $P < 0.001$ 。

2.4 SLC16A8 正调控 FN1 蛋白表达 利用生物信息学数据库筛选可与 SLC16A8 相互作用的基因及蛋白,结合这两个数据集共 138 个基因与 CancerSEA 数据库下载的与血管生成相关的基因共 73 个取交集,发现 FN1 为唯一的一个基因(图 4A)。并且 GEPIA2

数据库结果显示 CRC 中 SLC16A8 与 FN1 基因表达水平呈正相关(图 4B)。进一步通过 Western blot 法分析 SLC16A8 对 FN1 蛋白表达的影响,结果显示与空白对照组及阴性对照组相比,SLC16A8 过表达组中 FN1 蛋白表达水平明显增强,见图 4C。

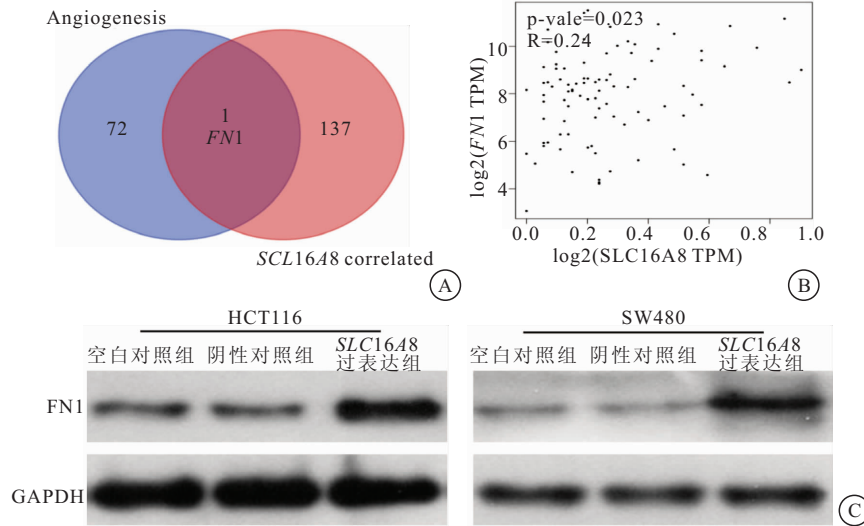


图 4 SLC16A8 促进 FN1 蛋白表达

Figure 4 SLC16A8 positively regulates FN1 protein expression

注:A. FN1 可能是 SLC16A8 下游基因;B. SLC16A8 与 FN1 呈正相关;C. SLC16A8 正调控 FN1 蛋白表达。

2.5 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进细胞增殖 为分析 SLC16A8 是否通过 FN1 促进细胞增殖,设立空白对照组,阴性对照组,SLC16A8 过表达组及 SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组,结果显示,与空白对照组和阴性对照组相比,SLC16A8 过表达组中细胞增殖活性明显增强( $P < 0.001$ ),但是与 SLC16A8 过

表达组相比,SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组中细胞增殖活性则有所降低( $P < 0.001$ ),表明抑制 FN1 可逆转 SLC16A8 多细胞增殖的促进作用,证实 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进细胞增殖,见图 5A~B。

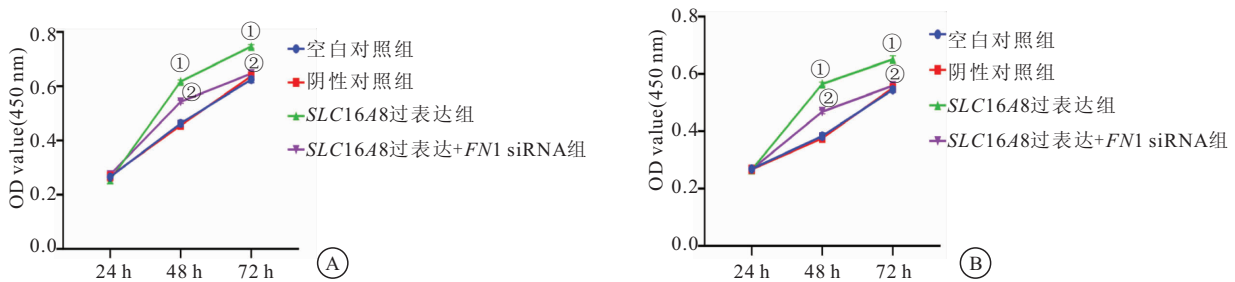


图 5 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进细胞增殖

Figure 5 SLC16A8 promotes CRC cell proliferation through positive regulating FN1

注:A. HCT116 细胞株;B. SW480 细胞株。与空白对照组及阴性对照组相比,① $P < 0.001$ ;与 SLC16A8 过表达组相比,② $P < 0.001$ 。

2.6 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进细胞迁移和血管生成 为分析 SLC16A8 是否通过 FN1 促进细胞迁移,设立空白对照组,阴性对照组,SLC16A8 过表达组及 SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组,结果显示,与空白对照组和阴性对照组相比,SLC16A8 过表达组中细胞迁移能力明显增强( $P < 0.05$ )。但与 SLC16A8 过表达组相比,SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组中

细胞迁移能力有所降低( $P < 0.05$ ),证实 SLC16A8 可通过正调控 FN1 促进细胞迁移(图 6A~B)。进一步分析 SLC16A8 是否通过正调控 FN1 促进 CRC 细胞血管形成,在 HCT116 和 SW480 细胞中设置空白对照组,阴性对照组,SLC16A8 过表达组及 SLC16A8 过表达+FN1 siRNA 组并和 HUVEC 细胞共培养,并观察小管生成情况。结果显示,与空白对照组和阴

性对照组相比, *SLC16A8* 过表达组中血管数量明显增多 ( $P < 0.05$ )。但是与 *SLC16A8* 过表达组相比, *SLC16A8* 过表达+*FN1* siRNA 组中血管数量有所降

低 ( $P < 0.05$ ), 说明下调 *FN1* 表达可逆转 *SLC16A8* 对 CRC 血管生成的促进作用, 证实 *SLC16A8* 通过正调控 *FN1* 促进 CRC 血管形成, 见图 6C~D。

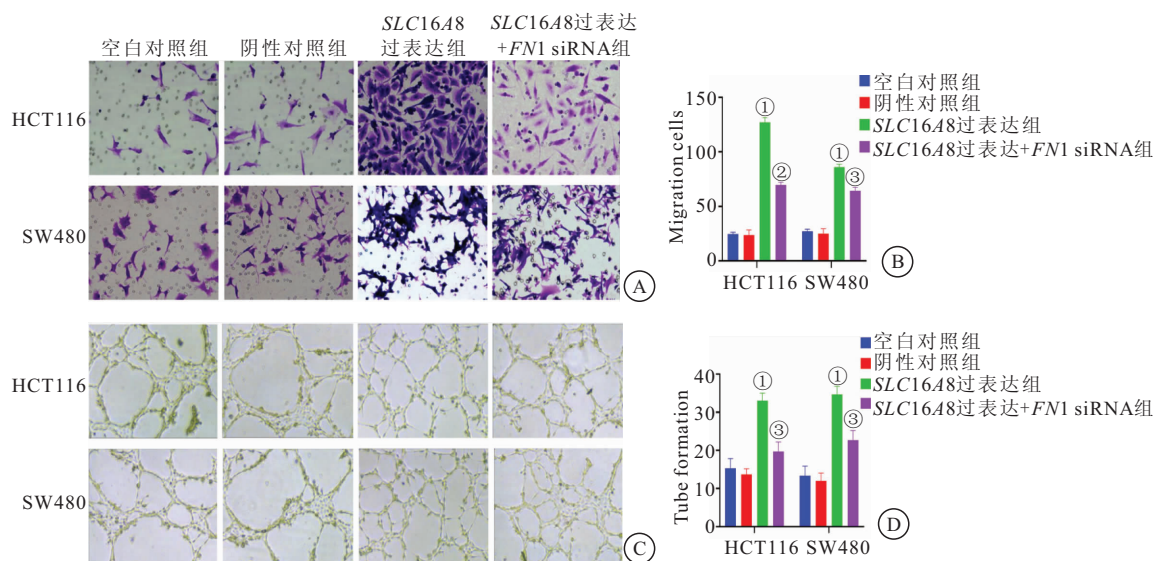


图 6 *SLC16A8* 通过正调控 *FN1* 促进细胞迁移和血管生成

Figure 6 *SLC16A8* promotes CRC cell migration and angiogenesis through positive regulating *FN1*

注: A~B. Transwell 实验分析细胞迁移能力改变; C~D. 小管形成实验分析血管生成能力。与空白对照组及阴性对照组相比, ①  $P < 0.001$ ; 与 *SLC16A8* 过表达组相比, ②  $P < 0.001$ , ③  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

血管生成是肿瘤生长过程中的一个重要环节, 因为血管生成可以将氧气和营养物质输送到细胞中, 因此对于恶性肿瘤的发展至关重要<sup>[13]</sup>。抗血管生成是治疗无法手术切除的恶性肿瘤的一种有前途的策略。然而在晚期 CRC 患者中, 血管内皮生长因子受体 (Vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR) 靶向治疗的临床疗效和益处有限<sup>[14]</sup>。因此进一步探索 CRC 增殖、转移和血管生成的机制具有重要意义, 这可能为 CRC 的靶向治疗提供新的思路。

*SLC16A8* 基因位于 17 号染色体的长臂上, 其编码的 MCT3 蛋白参与酮、丙酮酸盐和乳酸盐的转运, 并在大多数组织中表达。乳酸以前被认为是糖酵解的废物, 现在已成为癌症发展、维持和转移的关键代谢产物<sup>[15]</sup>。目前研究已经证实肿瘤乳酸水平与转移增加、肿瘤复发和预后不良明显相关, 而 *SLC16A8* 可通过其编码的 MCT3 蛋白特异性的将乳酸转移到细胞外从而参与恶性肿瘤的发生发展<sup>[16]</sup>。既往研究表明 *SLC16A8* 在乳腺癌和非小细胞肺癌中表达下调<sup>[17]</sup>, 但是在透明细胞肾细胞癌患者中 *SLC16A8* 的表达水平明显增高并与患者预后较差明显相关<sup>[18]</sup>。 $\beta$ -榄香烯是一种新兴的抗肿瘤中药, Deng 等<sup>[19]</sup>研究表明  $\beta$ -榄香烯可通过下调 *SLC16A8* 的表达发挥抑癌作用, 表明 *SLC16A8* 在 CRC 中扮演着癌基因的角色,

但是其具体作用机制并不明确。本研究分析了 TCGA 数据库中 CRC 组织和正常结直肠组织中 *SLC16A8* 的表达水平, 结果发现 *SLC16A8* 在 CRC 组织中明显高表达, 并且高表达 *SLC16A8* 的 CRC 患者预后较差 ( $P = 0.022$ ), 进一步研究发现 *SLC16A8* 在 CRC 细胞中高表达可促进 CRC 细胞增殖和迁移, 证实 *SLC16A8* 在 CRC 患者中扮演着癌基因的角色。接下来本研究对 *SLC16A8* 的生物学功能进行分析, 发现 *SLC16A8* 与血管生成明显相关, 并且在 HCT116 和 SW480 细胞中过表达 *SLC16A8* 并与 HUVEC 细胞共培养后发现与空白对照组和阴性对照组相比, *SLC16A8* 高表达组中小管数量明显增多, 表明 *SLC16A8* 可促进 CRC 血管生成。

为了明确 *SLC16A8* 促进 CRC 细胞增殖、迁移和血管生成的作用机制, 本研究将可与 *SLC16A8* 相互作用的 138 个基因与 CancerSEA 数据库下载的 73 个血管生成相关基因取交集, 发现 *FN1* 为唯一的一个基因, 并且 CRC 中 *SLC16A8* 与 *FN1* 基因表达水平呈正相关 ( $r = 0.24$ ,  $P = 0.023$ )。 *FN1* 是 FN 家族成员之一, 在多种组织中表达并参与多种病理过程, 包括肿瘤、感染和类风湿关节炎。 *FN1* 在多种人类恶性肿瘤中表达上调, 包括乳腺癌、卵巢癌、甲状腺癌以及胃癌, 并与患者不良预后明显相关<sup>[20]</sup>。 *FN1* 是具有几种选择性剪接变异体的重要细胞外基质糖蛋白, 其可

通过整合素跨膜受体参与生理和病理过程中发生的细胞外基质改变,且 FN1 信号传导的激活可导致上皮-间充质转化增加,从而促进细胞增殖、迁移和侵袭<sup>[21]</sup>。既往研究发现 FN1 在 CRC 组织中高表达,敲除 FN1 可显著抑制 CRC 细胞增殖、迁移和侵袭,并诱导细胞凋亡<sup>[22]</sup>,但 FN1 与 CRC 血管生成的研究鲜有报道。本研究发现 SLC16A8 与 FN1 表达呈正相关,过表达 SLC16A8 可促进 FN1 蛋白表达。并且功能回复实验表明下调 FN1 表达可逆转 SLC16A8 对 CRC 细胞增殖、迁移和血管生成的促进作用,证实 SLC16A8 通过正调控 FN1 促进 CRC 细胞增殖、迁移和血管形成,表明 FN1 可上调 CRC 细胞增殖和迁移能力及促进血管生成。有研究发现外泌体中 miR-144-3p 可负调控 FN1 的表达从而抑制克罗恩病患者的血管生成<sup>[10]</sup>,也有研究证实了在宫颈癌中 FN1 过表达可促进 ITGA5 介导的血管生成<sup>[23]</sup>,进一步证实和明确了 FN1 的促血管生成作用。上述结果表明 FN1 可能是 CRC 治疗的潜在作用靶点。本研究为理解 CRC 血管生成提供了新的见解,并提供了新的治疗策略,但还需更深入的体内和体外实验对其进行验证。

#### 4 结论

SLC16A8 通过正调控 FN1 促进 CRC 细胞的增殖、迁移及血管生成,并与患者预后不良相关,SLC16A8/FN1 轴可能是开发血管生成方法的潜在靶点。

#### 【参考文献】

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer Statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.
- [2] 杨立胜,刘梦鸾,任维聘,等.基于血清肿瘤标志物预测结肠癌肝转移模型价值分析[J].中华普通外科学文献(电子版),2024,18(1):39-43.
- [3] SANTUCCI C, CARIOLI G, BERTUCCIO P, *et al.* Progress in cancer mortality, incidence, and survival: a global overview [J]. Eur J Cancer Prev, 2020, 29(5): 367-381.
- [4] 陈晨,罗冬梅,葛磊,等.结肠癌肝转移患者预后列线图模型实证研究[J].中华肿瘤防治杂志,2023,30(22):1362-1368.
- [5] 岳竞,康静,李国印.SLC16A 家族与肺腺癌和肺鳞癌临床特征及生物学行为的关系[J].肿瘤防治研究,2022,49(1):24-31.
- [6] 吴德俊,徐安军,余波.CST6 在结肠癌中的表达及与肿瘤血管生成的关系[J].复旦学报(医学版),2022,49(5):642-648,664.
- [7] KLIPFEL L, CORDONNIER M, THIÉBAULT L, *et al.* A Splice Variant in SLC16A8 Gene Leads to Lactate Transport Deficit in Human iPS Cell-Derived Retinal Pigment Epithelial Cells[J]. Cells, 2021, 10(1): 179.
- [8] UNTERLEUTHNER D, NEUHOLD P, SCHWARZ K, *et al.* Cancer-associated fibroblast-derived WNT2 increases tumor angiogenesis in colon cancer[J]. Angiogenesis, 2020, 23(2): 159-177.
- [9] NG L, WONG S K, HUANG Z, *et al.* CD26 Induces Colorectal Cancer Angiogenesis and Metastasis through CAV1/MMP1 Signaling[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1181.
- [10] QU P, XIE X, CHI J, *et al.* Circulating Exosomal miR-144-3p from Crohn's Disease Patients Inhibits Human Umbilical Vein Endothelial Cell Function by Targeting FN1[J]. Dis Markers, 2022, 2022: 8219557.
- [11] WANG A, CAO S, STOWE J C, *et al.* Substrate Stiffness and Stretch Regulate Profibrotic Mechanosignaling in Pulmonary Arterial Adventitial Fibroblasts[J]. Cells, 2021, 10(5): 1000.
- [12] ZHAO Q, XIE J, XIE J, *et al.* Weighted correlation network analysis identifies FN1, COL1A1 and SERPINE1 associated with the progression and prognosis of gastric cancer[J]. Cancer Biomark, 2021, 31(1): 59-75.
- [13] SALVO G, ODETTO D, SAEZ PERROTTA M C, *et al.* Measurement of tumor size in early cervical cancer: an ever-evolving paradigm [J]. Int J Gynecol Cancer, 2020, 30(8): 1215-1223.
- [14] WANG R, MA Y, ZHAN S, *et al.* B7-H3 promotes colorectal cancer angiogenesis through activating the NF- $\kappa$ B pathway to induce VEGFA expression[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(1): 55.
- [15] 叶静静,徐文琴,奚邦生,等.乳酸诱导 PLEKHA4 的上调参与胶质瘤细胞增殖和凋亡的生物学进程[J].南方医科大学学报,2023,43(7):1071-1080.
- [16] SHARMA K, BATTU P, SINGH R, *et al.* Modulated anti-VEGF therapy under the influence of lipid metabolizing proteins in Age related macular degeneration: a pilot study[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 714.
- [17] SOHRABI E, MOSLEMI M, REZAI E, *et al.* The tissue expression of MCT3, MCT8, and MCT9 genes in women with breast cancer[J]. Genes Genomics, 2021, 43(9): 1065-1077.
- [18] GUO T, ZHANG J, WANG T, *et al.* Lactic Acid Metabolism and Transporter Related Three Genes Predict the Prognosis of Patients with Clear Cell Renal Cell Carcinoma[J]. Genes (Basel), 2022, 13(4): 620.
- [19] DENG H, CHEN S, YUAN X, *et al.* Transcriptome Sequencing Analysis of the Effect of  $\beta$ -Elemene on Colorectal Cancer from the lncRNA-miRNA-mRNA Perspective[J]. Genet Res (Camb), 2022, 2022: 5896296.
- [20] WANG H, ZHANG J, LI H, *et al.* FN1 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric cancers [J]. Front Oncol, 2022, 12: 918719.
- [21] BOUVIER C, NIHOUS H, MACAGNO N. Soft tissue tumours with FN1 (Fibronectin 1) fusion gene[J]. Ann Pathol, 2022, 42(3): 242-248.
- [22] CAI X, LIU C, ZHANG TN, *et al.* Down-regulation of FN1 inhibits colorectal carcinogenesis by suppressing proliferation, migration, and invasion[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(6): 4717-4728.
- [23] XU X, SHEN L, LI W, *et al.* ITGA5 promotes tumor angiogenesis in cervical cancer [J]. Cancer Med, 2023, 12(10): 11983-11999.

(收稿日期:2023-06-08;修回日期:2024-04-29;编辑:刘灵敏)