

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2024.10.004

PCR 技术与肿瘤

结直肠癌组织 PHGDH、APOL3 表达及临床预后价值

潘艳, 王蕾, 洪佳, 薛建波

基金项目: 北京市医院管理中心“登峰”人才培养计划项目(DFL20220101)

作者单位: 102600 北京, 首都医科大学大兴教学医院消化内科

通信作者: 薛建波, E-mail: 13811610848@126.com



【摘要】 目的 研究结直肠癌(CRC)中3-磷酸甘油酸脱氢酶(PHGDH)、载脂蛋白L3(APOL3)表达,分析两者对CRC患者的预后评估价值。方法 回顾性收集2018年3月—2021年2月首都医科大学大兴教学医院消化内科收治的CRC患者112例临床资料。采用实时荧光定量PCR(qPCR)和免疫组织化学法检测癌组织及癌旁组织中PHGDH、APOL3 mRNA和蛋白表达;Kaplan-Meier法分析PHGDH、APOL3 mRNA表达对CRC患者生存预后的影响;Cox回归分析CRC预后的影响因素;受试者工作特征(ROC)曲线评价PHGDH、APOL3 mRNA表达水平对CRC患者预后的评估价值。结果 CRC患者癌组织中PHGDH mRNA相对表达量高于癌旁组织,APOL3 mRNA相对表达量低于癌旁组织($t/P=52.982/<0.001, 35.679/<0.001$);CRC患者癌组织中PHGDH、APOL3蛋白阳性率分别为78.10%(90/112)、8.57%(10/112),与癌旁组织的7.62%(8/112)、76.19%(88/112)比较,差异有统计学意义($\chi^2/P=123.722/<0.001, 110.367/<0.001$);TNM分期Ⅲ期、有淋巴结转移的CRC癌组织中PHGDH mRNA表达水平高于TNM分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移,而APOL3 mRNA表达水平低于TNM分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移(PHGDH: $t/P=52.268/<0.001, 51.315/<0.001$; APOL3: $t/P=15.873/<0.001, 14.769/<0.001$)。PHGDH mRNA高表达组3年总生存率为50.00%(26/52),低于低表达组的73.33%(44/60)(Log rank $\chi^2=4.169, P=0.041$);APOL3 mRNA低表达组3年总生存率为46.30%(25/54),高于高表达组的77.59%(45/58)(Log rank $\chi^2=10.650, P=0.001$)。TNM分期Ⅲ期、淋巴结转移、PHGDH mRNA高为影响CRC患者预后的独立危险因素[OR(95%CI)=1.465(1.172~1.832), 1.501(1.159~1.944), 1.384(1.088~1.761)], APOL3 mRNA高为独立保护因素[OR(95%CI)=0.775(0.617~0.924)];PHGDH、APOL3 mRNA表达水平及二者联合评估CRC患者预后的曲线下面积(AUC)分别为0.830、0.816、0.922,二者联合的AUC大于PHGDH、APOL3 mRNA表达水平单独评估($Z=4.482, 4.130, P$ 均 <0.001)。结论 CRC中PHGDH表达上调,APOL3表达下调,在CRC中均发挥重要的促癌作用,联合检测PHGDH、APOL3的表达有助于评估CRC的预后。

【关键词】 结直肠癌; 3-磷酸甘油酸脱氢酶; 载脂蛋白L3; 预后**【中图分类号】** R735.34**【文献标识码】** A

The expression and clinical prognostic value of PHGDH and APOL3 in colorectal cancer tissues Pan Yan, Wang Lei, Hong Jia, Xue Jianbo. Department of Gastroenterology, Daxing Teaching Hospital of Capital Medical University, Beijing 102600, China

Funding program: Beijing Hospital Management Center "Ascending the Peak" Talent Training Program Project(DFL20220101)

Corresponding author: Xue Jianbo, E-mail: 13811610848@126.com

【Abstract】 Objective To study the expression of 3-phosphoglycerate dehydrogenase (PHGDH) and apolipoprotein L3 (APOL3) in colorectal cancer (CRC), and to analyze their prognostic value. **Method** A total of 112 patients with CRC admitted to the Department of Gastroenterology, Daxing Teaching Hospital of Capital Medical University from March 2018 to February 2021 were retrospectively collected. The expressions of PHGDH and APOL3 mRNA and protein in cancer tissues and adjacent tissues were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) and immunohistochemistry. Kaplan-Meier method was used to analyze the effect of PHGDH and APOL3 mRNA expression on the survival prognosis of CRC patients. Cox regression analysis was used to analyze the prognostic factors of CRC. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate the prognostic value of PHGDH and APOL3 mRNA expression levels in CRC patients. **Results** The relative expression of PHGDH mRNA in cancer tissues of CRC patients was higher than that in adjacent tissues, and the relative expression of APOL3 mRNA was lower than that in ad-

adjacent tissues ($t/P = 52.982 / < 0.001, 35.679 / < 0.001$); The positive rates of PHGDH and APOL3 protein in cancer tissues of CRC patients were 78.10 % (90/112) and 8.57% (10/112), respectively, compared with 7.62 % (8/112) and 76.19 % (88/112) in adjacent tissues, the difference was statistically significant ($\chi^2/P = 123.722 / < 0.001, 110.367 / < 0.001$); The expression level of PHGDH mRNA in CRC tissues with TNM stage III and lymph node metastasis was higher than that in TNM stage I-II and no lymph node metastasis, while the expression level of APOL3 mRNA was lower than that in TNM stage I-II and no lymph node metastasis ($t/P = 52.268 / < 0.001, 51.315 / < 0.001; 15.873 / < 0.001, 14.769 / < 0.001$). The 3-year overall survival rate of PHGDH mRNA high expression group was 50.00% (26/52), which was lower than that of low expression group 73.33% (44/60) (Log rank $\chi^2 = 4.169, P = 0.041$). The 3-year overall survival rate of APOL3 mRNA low expression group was 46.30% (25/54), which was lower than that of high expression group 77.59% (45/58) (Log rank $\chi^2 = 10.650, P = 0.001$). TNM stage III, lymph node metastasis, and high PHGDH mRNA were independent risk factors affecting the prognosis of CRC patients [$OR(95\% CI) = 1.465(1.172-1.832), 1.501(1.159-1.944), 1.384(1.088-1.761)$], and high APOL3 mRNA was an independent protective factor [$OR(95\% CI) = 0.775(0.617-0.924)$]. The area under the curve (AUC) of PHGDH, APOL3 mRNA expression levels and the combination of the two in evaluating the prognosis of CRC patients were 0.830, 0.816 and 0.922, respectively. The AUC of the combination of the two was greater than that of PHGDH and APOL3 mRNA expression levels alone ($Z = 4.482, 4.130, P < 0.001$). **Conclusion** The expression of PHGDH is up-regulated and the expression of APOL3 is down-regulated in CRC, which plays an important role in promoting cancer in CRC. The combined detection of PHGDH and APOL3 expression is helpful to evaluate the prognosis of CRC.

【Key words】 Colorectal cancer; 3-phosphoglycerate dehydrogenase; Apolipoprotein L3; Prognosis

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上第三大常见的癌症,也是癌症相关死亡的第二大原因,全球每年新增病例约180万例,死亡约88.1万例^[1]。CRC的治疗包括手术、放化疗等,免疫及靶向治疗的发展改善了CRC的疗效,但中晚期患者的预后仍然较差^[2]。3-磷酸甘油酸脱氢酶(3-phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH)是细胞中L-丝氨酸合成早期的关键酶,可形成具有生物学活性的同源四聚体,参与D-丝氨酸和其他氨基酸合成过程^[3]。研究表明,肿瘤中PHGDH表达升高,其能与糖酵解酶磷酸果糖激酶相互作用,促进整合素 $\alpha v \beta 3$ 的唾液酸化修饰,激活己糖胺唾液酸途径,促进癌细胞迁移和侵袭^[4]。载脂蛋白L3(apolipoprotein L3, APOL3)属于载脂蛋白L基因家族的成员,参与细胞内胆固醇等脂质的转运过程,与动脉粥样硬化、肿瘤等疾病关系密切^[5]。研究表明,膀胱癌中APOL3表达下调,导致肿瘤细胞外基质重构,抑制免疫细胞浸润,促进肿瘤免疫逃逸,导致肿瘤进展^[6]。目前CRC中PHGDH、APOL3的表达及意义尚不清楚。本研究旨在分析CRC中PHGDH、APOL3的基因表达及其预后价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性收集2018年3月—2021年2月首都医科大学大兴教学医院消化内科收治的CRC患者112例临床资料,男74例、女38例;年龄30~79(66.12 ± 7.13)岁;结肠癌65例,直肠癌47例;病理类型:腺癌70例,黏液腺癌及其他42例;低分化40例,中高分化72例;TNM分期:I~II期81例,III期31

例;淋巴结转移:有31例,无81例。本研究已获得医院伦理委员会审核批准(20220306008),患者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准:①术后病理确诊为CRC;②均为初次治疗;③临床资料及术后随访资料完善;④身体状况良好,Karnofsky功能状态(KPS)评分>80分。(2) 排除标准:①肿瘤已出现远处转移;②术后1个月内因手术并发症死亡;③合并其他器官的恶性肿瘤;④合并出凝血疾病、心肺功能衰竭及自身免疫性疾病等;⑤接受内镜下黏膜切除术、姑息性切除等治疗。

1.3 检测指标与方法

1.3.1 PHGDH、APOL3 mRNA 检测及分组:于术中留取CRC患者部分癌组织及癌旁组织,提取组织总RNA并反转录合成cDNA,实时荧光定量PCR(qPCR)检测PHGDH、APOL3表达水平。qPCR仪器购自美国赛默飞公司(型号Quant Studio 5)。PHGDH、APOL3 mRNA的上下游引物由上海生工公司设计合成,引物序列见表1。反应体系:cDNA 0.5 μ l, 2 \times SYBR Green 5 μ l, 正反向引物各0.5 μ l, 双蒸水 3.5 μ l。反应程序:94 $^{\circ}$ C 5 min, 1个循环;94 $^{\circ}$ C 35 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 70 $^{\circ}$ C 30 s, 共计40个循环。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示PHGDH、APOL3 mRNA的相对表达量。以PHGDH、APOL3 mRNA的平均值3.15、1.87为界,分为PHGDH mRNA高表达组52例(>3.15)和低表达组60例(≤ 3.15), APOL3 mRNA高表达组58例(>1.87)和低表达组54例(≤ 1.87)。

1.3.2 PHGDH、APOL3 蛋白检测:采用免疫组织化学

表 1 PHGDH 和 APOL3 引物序列

Tab.1 Primer sequences for PHGDH and APOL3

基 因	上游引物	下游引物
PHGDH	5'-CTGCGGAAAGTGCT-CATCACT -3'	5'-TGGCAGAGCGAACAA-TAAGGC -3'
APOL3	5'-GCAGGATTGGGAG-AGAGGTAG -3'	5'-CAGCAAGCCTGTCTGTG-GAG -3'
β -actin	5'-CACCACAGGCTTG-CTGAATGA -3'	5'-CTTCCGTAAACACGTC-CAGTG -3'

检测 CRC 患者癌组织及癌旁组织中 PHGDH、APOL3 表达。将术中获取的癌组织及癌旁组织固定后石蜡包埋切片。PHGDH 兔多克隆抗体购自上海爱必信生物科技公司(货号 abs106252) ,APOL3 兔多克隆抗体购自武汉生物科技公司(货号 A-AF1085a)。抗体稀释比分别为 1:100、1:200。依次经显色及脱水、二甲苯透明化后树脂封片。显微镜下观察染色情况。阳性细胞百分比评分: $\leq 25\%$ 计 1 分; $26\% \sim 50\%$ 计 2 分; $51\% \sim 75\%$ 计 3 分; $76\% \sim 100\%$ 计 4 分。染色深度评分: 无染色 0 分, 浅黄色 1 分, 黄褐色 2 分, 棕褐色 3 分。两项评分乘积 > 2 分为阳性, ≤ 2 分为阴性。

1.3.3 术后随访: 患者术后病理组织确诊后开始进行随访, 通过电话、门诊方式进行随访, 随访 3 年, 随访间隔时间 6~12 个月, 随访截至 2024 年 3 月 1 日。随访终点为 CRC 患者发生死亡或随访终止。总生存时间定义为首次确诊至患者死亡的时间。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件分析数据。计数资料以频数或率(%)表示, 组间比较采用卡方检验; 正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较采用两独立样本 t 检验; 采用 Kaplan-Meier 曲线分析 PHGDH、APOL3 mRNA 表达对 CRC 患者生存预后的影响; Cox 回归模型分析影响 CRC 患者预后的危险因素; 受试者工作特征(ROC)曲线评价 PHGDH、APOL3 mRNA 表达水平对 CRC 患者预后的评估价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CRC 癌组织及癌旁组织中 PHGDH、APOL3 mRNA 表达比较 CRC 患者癌组织中 PHGDH mRNA 相对表达量高于癌旁组织, APOL3 mRNA 相对表达量低于癌旁组织, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 2。

2.2 CRC 癌组织及癌旁组织中 PHGDH、APOL3 蛋白表达比较 CRC 患者癌组织中 PHGDH、APOL3 蛋白阳性率分别为 78.10% ($90/112$)、 8.57% ($10/112$), 与癌旁组织的 7.62% ($8/112$)、 76.19% ($88/112$) 比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 123.722, 110.367, P$ 均 < 0.001), 见图 1。

表 2 CRC 癌组织及癌旁组织中 PHGDH、APOL3 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Comparison of PHGDH and APOL3 mRNA expression in CRC cancer tissues and adjacent tissues

组 别	例数	PHGDH	APOL3
癌旁组织	112	0.77 ± 0.18	3.94 ± 0.53
癌组织	112	3.15 ± 0.44	1.87 ± 0.31
t 值		52.982	35.679
P 值		< 0.001	< 0.001

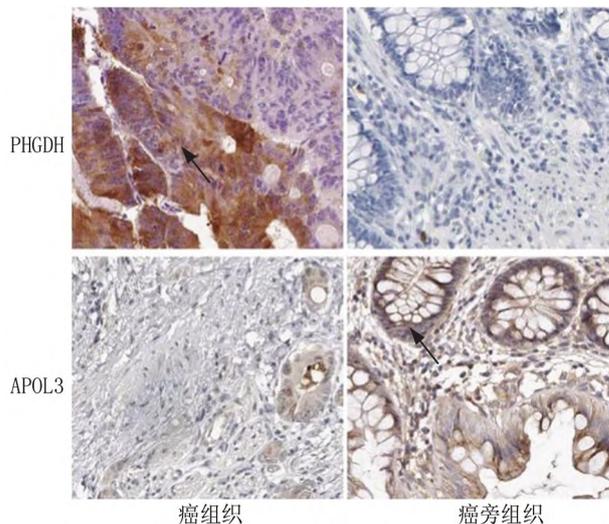


图 1 CRC 癌组织及癌旁组织中 PHGDH、APOL3 蛋白表达(免疫组化染色 $\times 200$)

Fig.1 Expression of PHGDH and APOL3 proteins in CRC cancer tissue and adjacent tissues (immunohistochemistry staining, $\times 200$)

2.3 CRC 癌组织中 PHGDH、APOL3 mRNA 表达在不同临床病理特征中的差异 CRC 癌组织 PHGDH、APOL3 表达水平在不同性别、年龄、病理类型、肿瘤部位、分化程度中比较差异无统计学意义($P > 0.05$); TNM 分期 III 期、有淋巴结转移的 CRC 癌组织中 PHGDH mRNA 表达水平高于 TNM 分期 I~II 期、无淋巴结转移, 而 APOL3 mRNA 表达水平低于 TNM 分期 I~II 期、无淋巴结转移($P < 0.01$), 见表 3。

2.4 癌组织中 PHGDH、APOL3 mRNA 表达不同对 CRC 患者生存预后的影响 CRC 患者 112 例至随访结束时死亡 42 例, 3 年总生存率为 62.50% ($70/112$)。PHGDH mRNA 高表达组 3 年总生存率为 50.00% ($26/52$), 低于低表达组的 73.33% ($44/60$) ($\text{Log-rank } \chi^2 = 4.169, P = 0.041$); APOL3 mRNA 低表达组 3 年总生存率为 46.30% ($25/54$), 低于高表达组的 77.59% ($45/58$) ($\text{Log-rank } \chi^2 = 10.650, P = 0.001$), 见图 2。

表 3 不同临床/病理特征 CRC 癌组织中 PHGDH、APOL3 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of ACLP and COL11A1 mRNA expression in CRC cancer tissues with different clinical/pathological features

项目	例数	PHGDH(<i>n</i> = 112)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	APOL3(<i>n</i> = 112)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别	男	74	3.19±0.46	0.345	1.89±0.30	0.957	0.340
	女	38	3.07±0.42		1.83±0.34		
年龄	<60 岁	45	3.08±0.38	0.427	1.81±0.30	0.630	0.106
	≥60 岁	67	3.20±0.47		1.91±0.33		
病理类型	腺癌	70	3.11±0.41	0.288	1.84±0.29	0.342	0.182
	黏液腺癌及其他	42	3.22±0.48		1.92±0.33		
肿瘤部位	结肠	65	3.13±0.40	0.590	1.91±0.34	0.613	0.110
	直肠	47	3.18±0.46		1.81±0.30		
分化程度	高中分化	72	3.12±0.40	0.071	1.90±0.33	0.295	0.198
	低分化	40	3.21±0.47		1.82±0.28		
TNM 分期	I ~ II 期	81	2.01±0.32	0.268	2.16±0.35	0.873	<0.001
	III 期	31	6.13±0.45		1.12±0.22		
淋巴结转移	有	31	6.05±0.46	0.315	1.20±0.23	0.769	<0.001
	无	81	2.04±0.33		2.13±0.32		

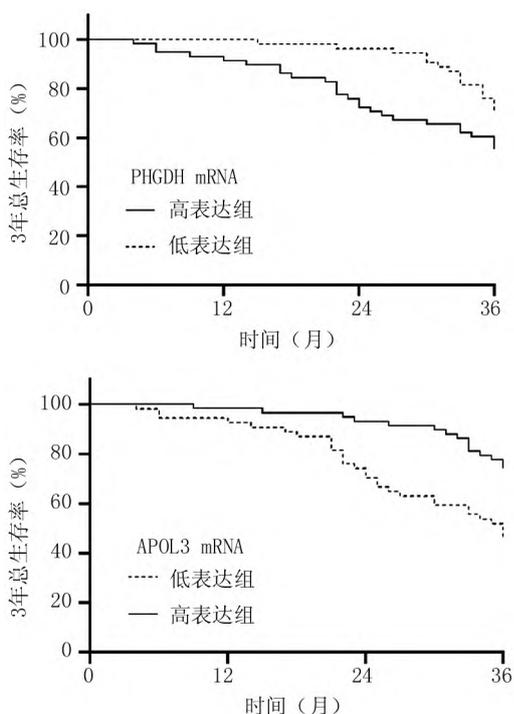


图 2 Kaplan-Meier 曲线分析 PHGDH、APOL3 mRNA 表达对 CRC 患者生存预后的影响

Fig.2 Kaplan Meier curve analysis of the impact of PHGDH and APOL3 mRNA expression on the survival prognosis of CRC patients

2.5 Cox 回归分析 CRC 患者预后的影响因素 以 CRC 患者预后为因变量(死亡=1,生存=0),以表 3 中 $P < 0.05$ 的项目为自变量进行多因素 Cox 分析,结果显示:TNM 分期 III 期、淋巴结转移、PHGDH mRNA 高为影响 CRC 患者预后的独立危险因素,APOL3 mRNA 高为独立保护因素(P 均 < 0.01),见表 4。

2.6 PHGDH、APOL3 mRNA 表达水平对 CRC 患者预后的评估价值 绘制 PHGDH、APOL3 mRNA 表达水

平单独及联合评估 CRC 患者预后的 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:PHGDH、APOL3 mRNA 表达水平及二者联合评估 CRC 患者预后的 AUC 分别为 0.830、0.816、0.922,二者联合的 AUC 大于 PHGDH、APOL3 mRNA 表达水平单独评估($Z = 4.482、4.130$, P 均 < 0.001),见表 5、图 3。

表 4 多因素 Cox 回归分析 CRC 预后影响因素

Tab.4 Multivariate Cox regression analysis of factors influencing CRC prognosis

因素	β 值	SE 值	Wald 值	<i>P</i> 值	OR 值	95%CI
TNM 分期 III 期	0.382	0.114	11.228	<0.001	1.465	1.172~1.832
淋巴结转移	0.406	0.132	9.460	<0.001	1.501	1.159~1.944
PHGDH mRNA 高	0.325	0.123	6.982	<0.001	1.384	1.088~1.761
APOL3 mRNA 高	-0.281	0.103	7.443	<0.001	0.775	0.617~0.924

表 5 PHGDH、APOL3 mRNA 表达水平对 CRC 患者预后的评估价值

Tab.5 The prognostic value of PHGDH and APOL3 mRNA expression levels in CRC patients

指标	截断值	AUC	95%CI	敏感度	特异度	约登指数
PHGDH mRNA	3.43	0.830	0.791~0.868	0.712	0.821	0.533
APOL3 mRNA	1.57	0.816	0.780~0.849	0.654	0.850	0.504
二者联合		0.922	0.878~0.959	0.882	0.805	0.687

3 讨论

CRC 是我国常见的恶性肿瘤,2020 年新发 55.5 万例,死亡 28.6 万例,并且其发病率和病死率呈逐渐上升的趋势^[7]。但由于医疗资源不均衡及肿瘤本身的异质性,不同 CRC 患者预后存在较大差异。TNM 分期是临床评估 CRC 预后的主要指标,但由于肿瘤的高异质性及个体差异性,相同分期患者的病死率也存

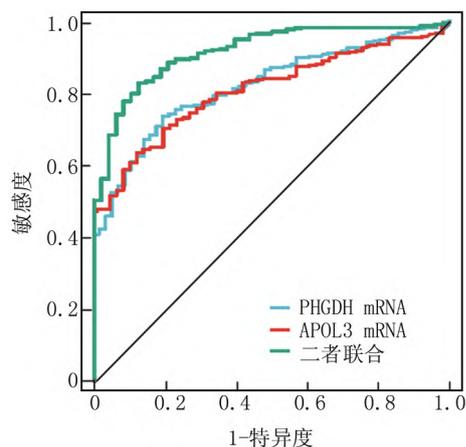


图 3 PHGDH、APOL3 mRNA 表达水平评估 CRC 患者预后的 ROC 曲线

Fig.3 ROC curve for evaluating the prognosis of CRC patients based on the expression levels of PHGDH and APOL3 mRNA

在较大差异^[8]。因此,研究影响 CRC 预后的风险因素,针对不同预后风险的患者进行分层管理,有助于改善患者预后。

PHGDH 是丝氨酸代谢的关键酶,分子量约为 56 kDa,能够催化 3-磷酸甘油酸生成丝氨酸前体物质 3-磷酸脱氢丙酮酸,后者在酶促反应催化下生成丝氨酸。研究表明,膀胱癌、宫颈癌等肿瘤中 PHGDH 高表达,其与聚胞嘧啶结合蛋白 2 相互作用,上调胱氨酸/谷氨酸转运蛋白的表达,抑制铁死亡,促进肿瘤的恶性进展^[9]。本研究中,CRC 中 PHGDH 表达升高,这与既往学者研究结果一致^[10],但该研究仅纳入 59 例 CRC 患者,样本量较小,结果可能存在偏倚。本研究在较大样本量基础上进一步证实 CRC 中 PHGDH 表达升高,其原因可能是缺氧微环境能够激活 CRC 中 PHGDH 的表达。研究表明,肿瘤的快速增殖导致肿瘤处于缺血缺氧的微环境,诱导 AMP 活化蛋白激酶活化,进而增加缺氧诱导因子-1 α 蛋白的稳定性,缺氧诱导因子-1 α 能够在转录水平上调 PHGDH 的表达,促进癌细胞中的丝氨酸合成途径和糖酵解,促进肿瘤过度增殖^[11]。本研究中,PHGDH 表达升高与 TNM 分期 III 期、淋巴结转移有关。分析其机制,PHGDH 的天冬氨酸激酶结构域能够结合细胞核中的 c-Myc,c-Myc 激活趋化因子 CXCL1 和白介素 8 表达,促进肿瘤微环境中中性粒细胞的募集,增强肿瘤相关巨噬细胞的浸润,促进肿瘤免疫逃逸^[12]。另外,有学者报道在食管癌中,PHGDH 的表达升高能够激活 Wnt/ β -连环蛋白信号通路,促进癌细胞的侵袭和转移,同时促进脐静脉血管内皮细胞的增殖,

诱导血管及淋巴管新生,促进癌细胞的血管及淋巴管转移^[13]。本研究中,CRC 中 PHGDH 表达升高增加 CRC 不良预后的风险。分析其原因,一方面 PHGDH 的表达能够促进 CRC 肿瘤细胞侵袭和转移,增加患者术后复发转移的风险。另一方面 PHGDH 的表达能够增强癌细胞对化疗治疗的耐药性,降低辅助治疗的疗效,导致患者不良预后。研究表明,乳腺癌细胞中蛋白质精氨酸甲基转移酶-1 能够促进 PHGDH 的甲基化修饰,导致丝氨酸合成途径中的代谢产物 α -酮戊二酸和柠檬酸盐的水平升高,促进癌细胞中 S 腺苷甲硫氨酸的合成,清除放疗过程中细胞产生的大量氧自由基,增强癌细胞对铂类化疗药物的抵抗性,导致患者不良预后^[14]。另有研究表明,PHGDH 能与 E1A 结合蛋白 p300 和热休克蛋白家族 A 成员 8 结合,导致顺铂化疗耐药性形成,而利用 PHGDH 的特异性抑制剂处理胃癌细胞后,癌细胞中的丝氨酸合成代谢显著受到抑制,增强顺铂化疗诱导的癌细胞凋亡,克服胃癌对顺铂的耐药性^[15]。

APOL3 是载脂蛋白家族成员,位于人类 22q12.3 染色体,作为编码蛋白质存在于细胞质中,调节细胞内脂质的转移及脂质与细胞器的结合过程。研究表明,APOL3 能在髓过氧化物酶及血管内皮生长因子诱导下,激活血管内皮细胞中细胞外细胞激酶 1/2,促进血管生成并增加血管内皮通透性,是参与促进肿瘤转移的重要调控因子^[16]。本研究中,CRC 中 APOL3 表达降低,这与既往学者在 CRC 肿瘤组织中利用二代转录组测序发现 APOL3 mRNA 降低的结果一致^[17],但该研究未能在蛋白水平进行验证。本研究在蛋白水平进一步证实 CRC 中 APOL3 蛋白表达降低。既往有学者报道,APOL3 的表达受 p53 表达调控,CRC 中 P53 基因突变导致 p53 蛋白功能缺失,使癌细胞中 APOL3 的表达下调,引起下游 Wnt/ β -连环蛋白通路的激活,促进癌细胞的侵袭和迁移^[17]。本研究中,APOL3 的表达降低参与 CRC 的恶性进展,表现为 TNM 分期升高及淋巴结转移。分析其机制,APOL3 作为一种载脂蛋白,其表达降低能够调控脂质转运信号抑制机体的抗肿瘤免疫能力,发挥肿瘤促进作用。CRC 中 APOL3 的表达降低能够抑制乳酸脱氢酶 A 的泛素蛋白酶体途径的降解,促进肿瘤微环境中乳酸生成,抑制癌细胞铁死亡的发生,同时降低 γ 干扰素水平,抑制抗肿瘤免疫的 CD8⁺T 细胞的浸润和细胞毒性,促进肿瘤进展^[18]。此外,有学者利用单细胞测序的方法进一步证实 APOL3 的表达下调能够促进肿瘤相关巨噬细胞的浸润,并抑制 CD8⁺T 淋巴细胞的浸润,导致肿瘤免疫逃逸^[19]。本研究中,CRC 中 APOL3 表达下调与患者

不良临床预后相关,表明 APOL3 是新的评估 CRC 患者预后的标志物。分析其原因,APOL3 的表达降低能够抑制癌细胞铁死亡,降低癌细胞对 5-氟尿嘧啶辅助化疗和靶向治疗的有效性,导致患者不良预后。有学者通过 APOL3 信号激活剂上调 APOL3 的表达后,肿瘤免疫微环境中巨噬细胞降低,CD8⁺T 细胞浸润增加,抑制肿瘤增殖,是潜在的 CRC 治疗策略^[20]。本研究通过 ROC 曲线分析发现,PHGDH、APOL3 mRNA 联合对 CRC 患者的预后具有较高的评估价值,表明联合检测 PHGDH、APOL3 mRNA 的表达能够指导临床治疗和早期评估预后。

综上所述,CRC 中 PHGDH 升高、APOL3 降低,与 TNM 分期升高及淋巴结转移相关,联合检测 PHGDH、APOL3 mRNA 的表达有助于评估 CRC 患者的预后。临床医生可根据 CRC 组织中 PHGDH、APOL3 mRNA 的表达情况,对不同预后风险的 CRC 患者进行风险分层,对于高危患者积极辅助放化疗,以改善患者预后。本研究的不足是样本含量较少,未能利用外部数据进一步验证 PHGDH、APOL3 对 CRC 预后评估的价值,未来将设计前瞻性多中心临床试验进一步探索。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

潘艳:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;王蕾:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;洪佳:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;薛建波:实施研究过程,资料搜集整理,进行统计学分析

参考文献

[1] Baidoun F,Elshiwiy K,Elkeraie Y,et al.Colorectal cancer epidemiology: Recent trends and impact on outcomes [J].*Curr Drug Targets* ,2021 ,22 (9) : 998-1009.DOI: 10.2174/1389450121999201117115717.

[2] 周钰杰,杨芳,严晶,等.结直肠癌组织 miR-330-5p、PTBP1 的表达与病理参数和预后的关系 [J].*疑难病杂志* ,2024 ,23 (1) : 68-72.DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.01.012.

[3] 金英花,季宪锋.3-磷酸甘油酸脱氢酶在宫颈鳞状细胞癌中高表达 [J].*现代肿瘤医学* ,2022 ,30 (8) : 1370-1373.DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2022.08.006.

[4] Rossi M,Altea-Manzano P,Demicco M,et al.PHGDH heterogeneity potentiates cancer cell dissemination and metastasis [J].*Nature* ,2022 ,605 (7911) : 747-753.DOI: 10.1038/s41586-022-04758-2.

[5] 刘蓓,高泓浩,程莉,等.干扰素- γ 刺激人巨噬细胞后的转录组变化与细胞内信号调控机制研究 [J].*中国实验血液学杂志* ,2022 ,30 (5) : 1590-1595. DOI: 10.19746/j.cnki.issn1009-2137.2022.05.045.

[6] Wang Z,Li X,Wang X,et al.Classification of muscle invasive bladder cancer to predict prognosis of patients treated with immunotherapy [J].*J Immunol Res* ,2022 ,20 (2) : 6737-6741.DOI: 10.1155/2022/6737241.

[7] 国家卫生健康委员会医政司,中华医学会肿瘤学分会.中国结直

肠癌诊疗规范(2023 版) [J].*协和医学杂志* ,2023 ,14 (4) : 706-733.DOI: 10.12290/xhyxzz.2023-0315.

[8] 李雯雯,骆子荣,余卫锋,等.结直肠癌预后相关铁死亡基因筛选及预后预测模型构建 [J].*临床肿瘤学杂志* ,2024 ,29 (2) : 160-167.DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2024.02.012.

[9] Shen L,Zhang J,Zheng Z,et al.PHGDH inhibits ferroptosis and promotes malignant progression by upregulating SLC7A11 in bladder cancer [J].*Int J Biol Sci* ,2022 ,18 (14) : 5459-5474.DOI: 10.7150/ijbs.74546.

[10] Zhang Y,Yu H,Zhang J,et al.Cul4A-DDB1-mediated monoubiquitination of phosphoglycerate dehydrogenase promotes colorectal cancer metastasis via increased S-adenosylmethionine [J].*J Clin Invest* ,2021 ,131 (21) : 1461-1487.DOI: 10.1172/JCI146187.

[11] Yun HJ,Li M,Guo D,et al.AMPK-HIF-1 α signaling enhances glucose-derived de novo serine biosynthesis to promote glioblastoma growth [J].*J Exp Clin Cancer Res* ,2023 ,42 (1) : 340-352.DOI: 10.1186/s13046-023-02927-3.

[12] Zhu H,Yu H,Zhou H,et al.Elevated nuclear PHGDH synergistically functions with cMyc to reshape the immune microenvironment of liver cancer [J].*Adv Sci (Weinh)* ,2023 ,10 (17) : 2205-2213. DOI: 10.1002/advs.202205818.

[13] Duan X,Chen Y,Zhang K,et al.PHGDH promotes esophageal squamous cell carcinoma progression via Wnt/ β -catenin pathway [J].*Cell Signal* ,2023 ,109 (8) : 1107-1116. DOI: 10.1016/j.celsig.2023.110736.

[14] Yamamoto T,Hayashida T,Masugi Y,et al.PRMT1 sustains de novo fatty acid synthesis by methylating PHGDH to drive chemoresistance in triple-negative breast cancer [J].*Cancer Res* ,2024 ,84 (7) : 1065-1083.DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-2266.

[15] Pan K,Zhao X,Xu W.The global mRNA expression profiles of inhibiting PHGDH induced cisplatin resistance in gastric cancer [J].*Cell J* ,2022 ,24 (9) : 531-539.DOI: 10.22074/cellj.2022.8046.

[16] Khalil A,Polvoorde P,Fayyad-Kazan M,et al.Apolipoprotein L3 interferes with endothelial tube formation via regulation of ERK1/2, FAK and Akt signaling pathway [J].*Atherosclerosis* ,2018 ,279 (9) : 73-87.DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.10.023.

[17] Lasut-Szyszk B,Gdowicz-Klosok A,Malachowska B,et al.Transcriptomic and proteomic study of cancer cell lines exposed to actinomycin D and nutlin-3a reveals numerous novel candidates for p53-regulated genes [J].*Chem Biol Interact* ,2024 ,392 (6) : 1109-1116. DOI: 10.1016/j.cbi.2024.110946.

[18] Lv Y,Tang W,Xu Y,et al.Apolipoprotein L3 enhances CD8⁺ T cell antitumor immunity of colorectal cancer by promoting LDHA-mediated ferroptosis [J].*Int J Biol Sci* ,2023 ,19 (4) : 1284-1298. DOI: 10.7150/ijbs.74985.

[19] Lv Y,Zheng P,Mao Y,et al.Intratumor APOL3 delineates a distinctive immunogenic ferroptosis subset with prognosis prediction in colorectal cancer [J].*Cancer Sci* ,2024 ,115 (1) : 257-269. DOI: 10.1111/cas.16009.

[20] Feng Y,Dai Y.APOL3-LDHA axis related immunity activation and cancer ferroptosis induction [J].*Int J Biol Sci* ,2023 ,19 (5) : 1401-1402. DOI: 10.7150/ijbs.83342.

(收稿日期:2024-06-25)