

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.02.001

❖ 基础研究 ❖

CHI3L1 通过 KLF6 介导的 Warburg 效应促进结直肠癌细胞增殖和侵袭

彭洪¹, 吴洪¹, 唐军伟², 冯雪雅¹, 张大权³

(南充市中心医院, 1. 肛肠外科; 2. 中西医结合科; 3. 胃肠外科, 四川南充 637000)

【摘要】目的: 探讨几丁质酶 3 样蛋白 1 (Chitinase 3-like-1, CHI3L1) 通过 KLF6 (Kruppel-like factor 6) 介导的 Warburg 效应对结直肠癌细胞增殖和侵袭的。 **方法:** 从 TCGA 数据库中下载 808 例结直肠癌患者的临床信息, 根据 CHI3L1 表达水平的高低分为高表达组 ($n = 306$) 和低表达组 ($n = 502$)。分析 CHI3L1 表达与结直肠癌临床病理学特征的关系, MTT 法检测细胞增殖能力, Transwell 法检测细胞侵袭能力, Western blot 检测蛋白表达水平, RT-qPCR 检测 mRNA 表达水平, 糖酵解分析检测有氧糖酵解的变化。 **结果:** CHI3L1 在结直肠癌组织和细胞中较对照组明显表达高 ($P < 0.001$), CHI3L1 高表达与 T、N 分期相关 ($P < 0.001$)。过表达 CHI3L1 可提高细胞增殖和侵袭能力, 促进葡萄糖消耗和乳酸形成 ($P < 0.05$)。蛋白质互作网络显示 CHI3L1 可与 KLF6 相互作用。上调 CHI3L1 可降低 KLF6 蛋白的表达 ($P < 0.001$)。过表达 KLF6 抑制增殖和侵袭能力, 降低葡萄糖消耗和乳酸形成 ($P < 0.05$)。抑制有氧糖酵解可部分逆转 KLF6 对细胞增殖和侵袭的抑制作用 ($P < 0.05$)。 **结论:** CHI3L1 通过 KLF6 介导的 Warburg 效应促进结直肠癌细胞增殖和侵袭, 可作为结直肠癌诊疗的潜在作用靶点。

【关键词】 结直肠癌; 几丁质酶 3 样蛋白 1; Warburg 效应; 增殖; 侵袭

【中图分类号】 R735.3 **【文献标志码】** A

CHI3L1 promotes cell proliferation and invasion via KLF6-mediated Warburg effect in colorectal cancer

PENG Hong¹, WU Hong¹, TANG Jun-wei², FENG Xue-ya¹, ZHANG Da-quan³

(1. Department of anorectal Surgery; 2. Department of combine traditional Chinese and western medicin; 3. Department of Gastrointestinal surgery, Nanchong City Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the effect of (Chitinase 3-like-1) CHI3L1 on cell proliferation and invasion via KLF6-mediated Warburg effect in colorectal cancer (CRC). **Methods:** The clinical information of 808 patients with colorectal cancer was downloaded from TCGA database. According to the expression level of CHI3L1, they were divided into high expression group ($n = 306$) and low expression group ($n = 502$). The relationship between CHI3L1 expression and clinicopathological features of colorectal cancer was analyzed. The MTT assay was used to detect cell proliferation, Transwell assay was used to detect cell invasion, Western blot was employed to detect the protein-expression level, Real-time qPCR was adopted to determine the mRNA level, glycolysis analysis was used to investigate aerobic glycolysis. **Results:** CHI3L1 was significantly elevated in the colorectal cancer tissues and cell lines ($P < 0.001$). The overexpression of CHI3L1 was associated with T stage and N stage ($P < 0.001$). Overexpression of CHI3L1 enhanced cell proliferation and invasion and promoted glucose consumption and lactate production ($P < 0.05$). Protein-protein interaction network showed CHI3L1 interacted with KLF6. Up-regulation CHI3L1 inhibited KLF6 protein expression ($P < 0.001$). Overexpression of KLF6 inhibited the cell proliferation and invasion, and decreased glucose consumption and lactate production ($P < 0.05$). Inhibition of aerobic glycolysis partially reversed the inhibitory effect of KLF6 overexpression on colorectal cancer cell proliferation and invasion ($P < 0.05$). **Conclusion:** CHI3L1 promotes cell proliferation and invasion via KLF6-mediated Warburg effect in colorectal cancer, and may be a potential molecular target for CRC diagnosis and therapy.

【Key words】 Colorectal cancer; Chitinase 3-like-1; Warburg effect; Proliferation; invasion

结直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1-2]。随着外科手术、化疗及分子靶向治疗等技术的进步, 大部分结直肠癌患者的生存期得到明显延长, 然而仍有很大一部分患者出现复发或转移, 因

基金项目: 四川省中医药管理局课题(2020JC0078); 川北医学院校级课题(CBY20-QA-Y13); 南充市市校合作课题(20SXQT0229)

作者简介: 彭洪(1983-), 男, 博士, 副主任医师。E-mail: 1041910523@qq.com

通讯作者: 吴洪。Email: 317131768@qq.com

此明确促进结直肠癌进展的潜在作用机制及发现新的生物标志物就显得尤为重要。几丁质酶 3 样蛋白 1 (Chitinase 3 - like-1, CHI3L1) 在人类中也被称为 YKL-40, 是一种分泌型糖蛋白, 属于哺乳动物几丁质酶样蛋白家族。CHI3L1 在生理和病理过程中都发挥着重要作用, 其通过调节氧化损伤、凋亡、细胞焦亡、炎症小体激活、Th1/Th2 平衡、M2 巨噬细胞分化、树突状细胞积聚、ECM 代谢平衡和瘢痕形成等多种生物学过程在抵抗病原体、抗原诱导和氧化剂诱导的损伤、炎症、组织修复和重塑等方面扮演着重要角色^[3]。既往研究^[4-9]发现, CHI3L1 在多种人类肿瘤和动物肿瘤模型中过表达, 如乳腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌、胶质母细胞瘤和恶性黑色素瘤, 也包括结直肠癌, 且血清中 CHI3L1 水平升高与转移性癌患者预后不良及生存期缩短明显相关。然而, CHI3L1 在结直肠癌发生发展中的具体作用机制并不明确。本研究旨在探讨 CHI3L1 通过 KLF6 介导的 Warburg 效应对结直肠癌细胞增殖和侵袭的影响, 分析潜在作用机制及与有氧糖酵解的关系, 为结直肠癌寻找新的生物标志物及药物作用靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

四种人结直肠癌细胞株 (HCT116, HS675. T, LOVO, SW620) 和正常胃肠道上皮细胞株 (HIEC) 购自中科院细胞库。HCT116, HS675. T 和 SW620 细胞在 RPMI-1640 培养基中培养。LOVO 细胞在含有 10% 胎牛血清和 1% 双抗生素 (青霉素和链霉素) 的 DMEM 培养基中培养, 加湿培养箱温度为 37 °C, 并含有 5% CO₂。

1.2 方法

1.2.1 CHI3L1 和 KLF6 的生物信息学分析 从结直肠癌基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库中下载 808 例结直肠癌患者的临床信息, 根据 CHI3L1 表达水平的高低分为高表达组 ($n = 306$) 低表达组 ($n = 502$), 分析两组间临床病理特征。为了评估 CHI3L1 和 KLF6 在结直肠癌和癌旁正常组织中的表达水平, 使用在线工具 UALCAN 分析 (<http://ualcan.path.uab.edu/>) 基于 TCGA 的生物学信息, 其中结直肠癌组织样本 286 例, 癌旁正常组织样本 41 例。

1.2.2 过表达载体构建及转染 构建 CHI3L1 和 KLF6 质粒载体, 根据制造商的说明使用 Lipofectamine 3000 (Thermo Fisher Scientific) 将构建的质粒与包装质粒 psPAX2 和 PMD2. G 共转染到 HEK293T 细胞中。转染后 48 h 取病毒颗粒, 用慢病

毒颗粒转染结直肠癌细胞, 并用 polybrene (2 μg/mL, SigmaAldrich) 预处理。CHI3L1 质粒引物序列: F: 5'-GCA AGG GAA GAG GCC ACA-3'; R: 5'-CAG AAC AGA GGG CTA CGT TG-3'。KLF6 质粒引物序列: F: 5'-GAG CCT GGA GTT TGC ATG AA-3'; R: 5'-AGC CCT CAA AAG ACC TTC CA-3'。

1.2.3 MTT 将细胞 (2×10^3 /mL) 接种于 96 孔板, 培养 24 h 后将细胞与含 10% FBS 的 RPMI 1640 和不含 FBS 的 RPMI 1640 培养基分别培养 24、48 和 72 h。每个时间段到达后, 每孔加入 20 mL MTT 溶液培养 4 h, 除去培养液将沉淀溶解于 200 mL 二甲亚砜中。使用 Anthos 2010 微孔板阅读器 (Anthos Labtec Instruments, Austria) 测量 570 nm 处的吸光度以评估细胞增殖活性。

1.2.4 Western blot 用冰冷 PBS 洗涤细胞两次, 并在含有蛋白酶抑制剂混合物 (0.1 mM PMSF、5 mg/mL 抑肽酶、5 mg/mL 胃蛋白酶 α 和 1 mg/mL 凝乳酶) 的 20 mM Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.4) 中溶解。使用 Bradford 试剂测定蛋白质浓度。用 SDS-PAGE 凝胶分离蛋白, 并转移到 PVDF 膜上, 在室温下用含 0.05% Tween20 (TBST) 和 5% 脱脂乳或 2% BSA 的 TBS 封闭膜 1 h。然后将膜与 KLF6 一抗 (sc-365633) 在 4 °C 下孵育过夜, TBST 洗涤后在室温下与二抗 (山羊抗小鼠二抗, A16078) 孵育 1 h, 再次洗涤后使用化学发光试剂盒 (ECL) 检测结合抗体。

1.2.5 RT-qPCR 使用 TRIzol 试剂 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 提取细胞总 RNA。RNA 样本 (200 ng) 用 ReverTra-Ace-qPCR-RT 试剂盒 (Toyobo, Japan) 进行逆转录。在 Light Cycler 480 实时 PCR 系统 (Roche, Shanghai, China) 中使用 THUNDER-BIRD SYBR qPCR 混合物 (Toyobo, Japan) 进行检测。CHI3L1 引物序列如下: F: 5'-GTG AAG GCG TCT CAA ACA GG-3'; R: 5'GAA GCG GTC AAG GGC ATC T-3', PCR 扩增片段大小 141 bp。KLF6 siRNA: 5'-CAC ACA GGA GAA AAG CCU UAC AGA U-3'。

1.2.6 Transwell 实验 首先将 Transwell 上室加入 100 μL 稀释的 Matrigel 胶, 然后将细胞加入到上室中, 下室添加含有 1% 胎牛血清的培养基 (600 μL), 37 °C 条件下孵育 24 h, 用棉签去除膜表面的细胞, 然后用 0.1% 结晶紫染色 30 min, 光镜下计数侵袭细胞数。

1.2.7 葡萄糖摄取测定及乳酸水平检测 1×10^4 个细胞在含有 10% 胎牛血清和 6 mM 葡萄糖的无糖 DMEM 培养基中培养, 然后将细胞转移至含有 5% CO₂, 温度为 37 °C 的培养箱中培养 48 h。收集培养基, 按照制造商的说明使用葡萄糖比色/荧光分

析试剂盒进行检测;荧光乳酸测定试剂盒检测细胞乳酸产生水平。

1.3 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行分析与处理。计量数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,采用 *t* 检验或单因素方差分析;计数资料以 $[n(\%)]$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CHI3L1 在结直肠癌组织中的表达及与临床病理特征的关系

通过在线数据库 UALCAN 分析 CHI3L1 在结直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达,结果显示,CHI3L1 在结直肠癌组织中的表达水平明显增高 ($P < 0.001$);进一步分析 CHI3L1 高表达和低表达结直肠癌患者的临床病理特征,结果显示,CHI3L1 表达水平与肿瘤浸润程度 ($P < 0.001$) 和淋巴结受累 ($P < 0.001$) 相关,但与年龄、性别、远处转移及 TNM 分期无明显相关 ($P > 0.05$)。见图 1 及表 1。

表 1 CHI3L 表达水平与患者临床病理特征相关性分析 ($\bar{x} \pm s$)

临床病理特征	CHI3L1 高表达组 (<i>n</i> = 306)	CHI3L1 低表达组 (<i>n</i> = 502)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	60.1 ± 11.2	61.1 ± 11.9	0.222
性别(例)			0.359
女	72	134	
男	234	368	
pT(例)			<0.001
T1	9	34	
T2	44	144	
T3	83	133	
T4	23	25	
T4a	140	152	
T4b	3	3	
TX	4	11	
pN(例)			<0.001
N0	97	241	
N1	51	81	
N2	18	19	
N2a	16	18	
N2b	74	76	
N2c	35	41	
N3	7	7	
NX	8	19	
pM(例)			0.687
M0	293	477	
M1	4	5	
MX	9	20	
pTNM			1.000
I	0	25	
II	0	81	
III	0	90	
IV A	290	290	
IV B	13	13	
IV C	3	3	

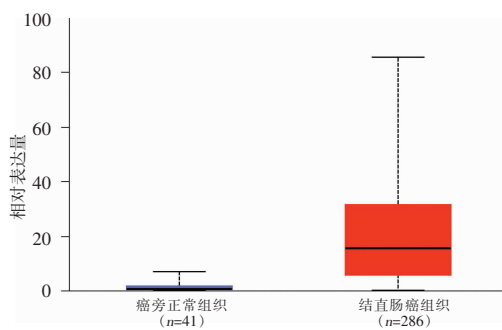


图 1 CHI3L1 在结直肠癌组织中的表达

2.2 CHI3L1 在结直肠癌细胞中的表达

通过 RT-qPCR 法检测结直肠癌细胞株 HCT116、HS675.T、LOVO、SW620 和正常胃肠道上皮细胞株 HIEC 中 CHI3L1 的表达水平,结果显示 CHI3L1 在 SW620 细胞中表达水平最高,在 HIEC 细胞中表达水平最低,并且各结直肠癌细胞株 CHI3L1 表达水平与 HIEC 细胞相比均明显增高 ($P < 0.001$)。查阅相关文献发现 CHI3L1 在 HCT116 细胞中稳定表达^[10],所以选择中等表达水平的 HCT116 细胞进行后续实验。见图 2。

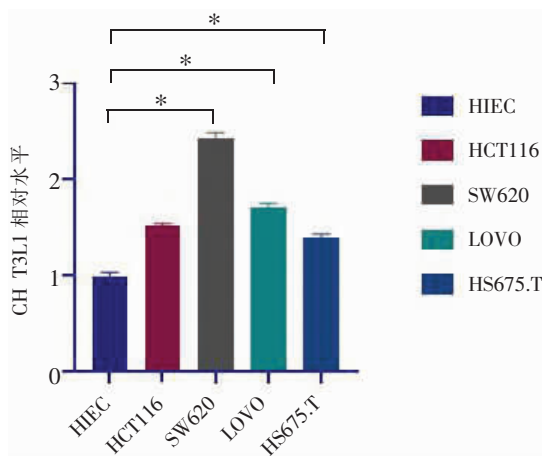


图 2 CHI3L1 在结直肠癌细胞中的表达

* $P < 0.001$ 。

2.3 HCT116 细胞株,CHI3L1 促进结直肠癌细胞增殖、侵袭和有氧糖酵解

选择在结直肠癌中中等水平表达的 HCT116 细胞,通过慢病毒过表达 CHI3L1,结果表明,空白对照组和阴性对照组在细胞增殖,侵袭和有氧糖酵解方面均无明显差异 ($P > 0.05$)。与空白对照组和阴性对照组相比,CHI3L1 过表达组中 HCT116 细胞增殖能力在 24 h 时无明显差异 ($P > 0.05$),48 h (P 值分别为 0.002,0.001) 和 72 h 时 (P 值分别为 0.001,0.003) 细胞增殖能力明显增强。并且 CHI3L1 过表达组细胞侵袭能力较空白对照组 ($P < 0.001$) 和阴性对照组 ($P < 0.001$) 明显增强。CHI3L1 过表达组细胞较空白对照组 ($P < 0.001$) 和阴性对照组 ($P < 0.001$) 葡

葡萄糖摄取水平增高,同时乳酸生成相对水平较空白对照组 ($P < 0.001$) 和阴性对照组 ($P < 0.001$) 也明显增高,以上结果提示 CHI3L1 可促进结直肠癌细胞增殖,侵袭和有氧糖酵解。见图 3、图 4 及图 5。

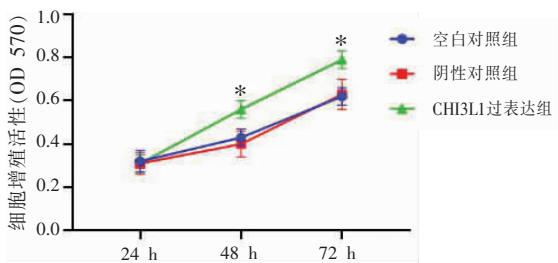


图 3 过表达 CHI3L1 对细胞增殖的影响

* $P < 0.01$,与空白对照组及阴性对照组比较。

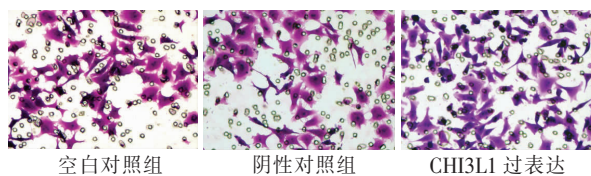


图 4 CHI3L1 促进结直肠癌细胞迁移

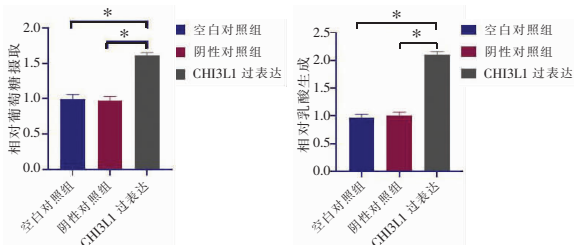


图 5 CHI3L1 促进有氧糖酵解

* $P < 0.001$ 。

2.4 CHI3L1 可与 KLF6 相互作用

通过蛋白质互作数据库 BioGRID (<https://the-biogrid.org/>) 寻找可与 CHI3L1 相互作用的蛋白质,发现 KLF6 可与 CHI3L1 相互作用。见图 6。

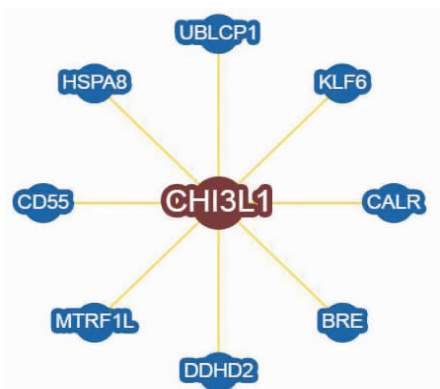


图 6 可与 CHI3L1 相互作用的蛋白质

2.5 CHI3L1 负调控 KLF6 表达

为明确 CHI3L1 与 KLF6 调控关系,通过在 HCT116 细胞中高表达 CHI3L1,结果发现,与空白对照组相比,CHI3L1 高表达组中 KLF6 蛋白水平表达明显降低 ($P < 0.001$),证实 CHI3L1 负调控 KLF6

表达。见图 7。

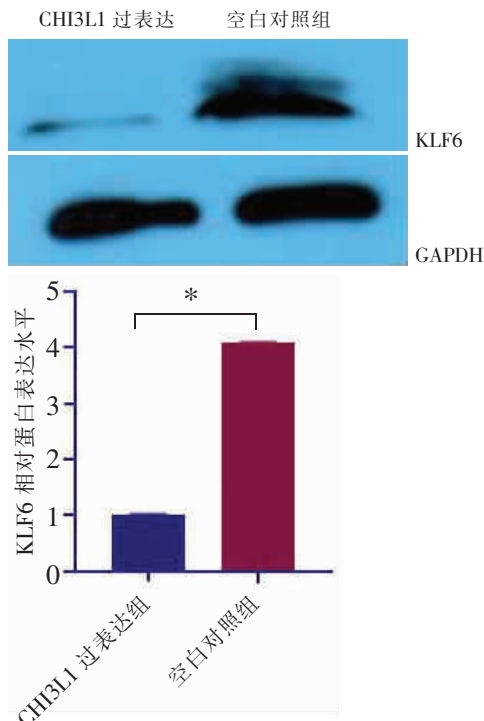


图 7 CHI3L1 负调控 KLF6 表达

* $P < 0.001$ 。

2.6 KLF6 在结直肠癌组织中的表达

通过在线数据库 UALCAN 分析 KLF6 在结直肠癌组织和正常组织中的表达,结果表明,与正常组织相比,结直肠癌组织中 KLF6 的表达水平明显降低 ($P < 0.001$)。见图 8。

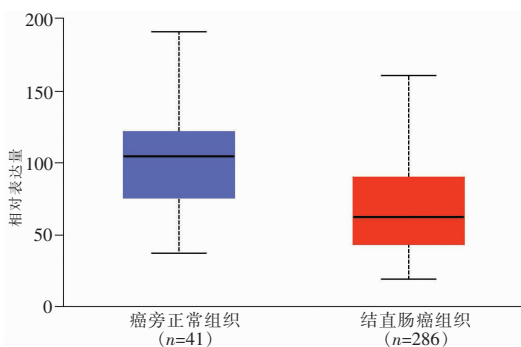


图 8 KLF6 在结直肠癌组织和癌旁组织中的表达

2.7 KLF6 抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭和有氧糖酵解

通过在结直肠癌 HCT116 细胞中过表达 KLF6,结果显示空白对照组和阴性对照组在细胞增殖,侵袭和有氧糖酵解方面均无明显差异 ($P > 0.05$)。与空白对照组和阴性对照组相比,KLF6 过表达组中 HCT116 细胞增殖能力在 24 h 时无明显差异 ($P > 0.05$),48 h (P 值分别为 0.003,0.001) 和 72 h 时 (P 值分别为 0.002,0.001) 细胞增殖能力明显降低。并且 KLF6 过表达组细胞侵袭能力较空白对照组 ($P = 0.001$) 和阴性对照组 ($P = 0.001$) 也明显降低。KLF6

过表达组细胞较空白对照组 ($P < 0.001$) 和阴性对照组 ($P = 0.005$) 葡萄糖摄取水平明显下降,同时乳酸生成相对水平较空白对照组 ($P = 0.008$) 和阴性对照组 ($P = 0.005$) 也明显降低,提示 KLF6 可抑制结直肠癌细胞增殖,侵袭和有氧糖酵解。见图 9-图 11。

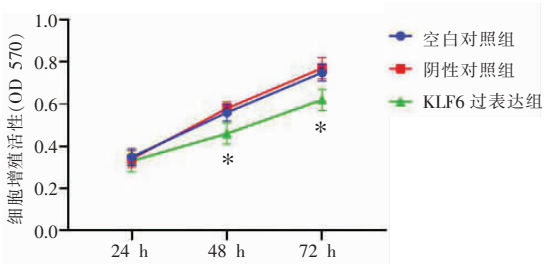


图 9 过表达 KLF6 对细胞增殖的影响

* $P < 0.01$,与空白对照组及阴性对照组比较。

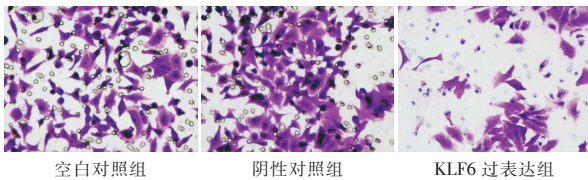


图 10 过表达 KLF6 抑制细胞侵袭

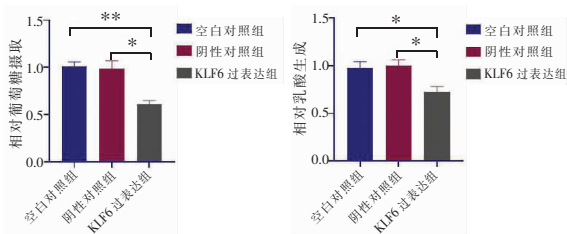


图 11 过表达 KLF6 抑制有氧糖酵解

** $P < 0.001$, * $P < 0.01$ 。

2.8 KLF6 通过调控有氧糖酵解抑制结直肠癌细胞增殖和侵袭

因肿瘤细胞可通过有氧糖酵解促进细胞增殖和侵袭,为明确 KLF6 是否通过调控有氧糖酵解途径抑制结直肠癌细胞增殖和侵袭,本研究设立了空载组, KLF6 siRNA 组和 KLF6 siRNA + 2-DG(有氧糖酵解抑制剂)组。结果表明 24 h 时空载组, KLF6 siRNA 组和 KLF6 siRNA + 2-DG 组细胞增殖能力无明显差异 ($P > 0.05$)。48 h 与 72 h 时与空载组相比, KLF6 siRNA 组中 HCT116 细胞增殖能力明显增强 ($P = 0.001$, $P = 0.005$),但是与 KLF6 siRNA 组相比, KLF6 siRNA + 2-DG 组细胞增殖能力则有所降低 ($P = 0.002$, $P = 0.013$)。KLF6 siRNA 组较空载组细胞侵袭能力明显增强 ($P < 0.001$),但是 KLF6 siRNA + 2-DG 组较 KLF6 siRNA 组细胞侵袭能力有所降低 ($P < 0.001$),表明抑制有氧糖酵解可部分逆转 KLF6 对结直肠癌细胞增殖和侵袭的抑制作用。见图 12 及图 13。

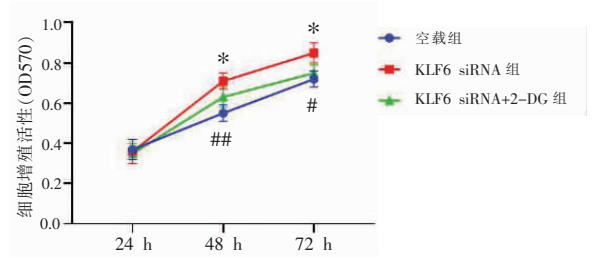


图 12 KLF6 通过抑制有氧糖酵解调控细胞增殖

* $P < 0.01$,与空载组相比;## $P < 0.01$,# $P < 0.05$,与 KLF6 siRNA 组相比。

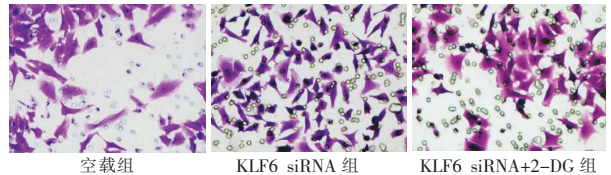


图 13 KLF6 通过抑制有氧糖酵解调控细胞侵袭能力

3 讨论

既往研究^[10-11]发现,CHI3L1 在多种人类恶性肿瘤中过表达,过表达 CHI3L1 可促进肿瘤细胞增殖、侵袭和远处转移,CHI3L1 还可通过刺激基质金属蛋白酶的分泌,激活 MAPK/ErK 信号通路、NK-kB 信号通路及 TGF β 信号通路,与其受体 IL-13 α 2 和膜蛋白 TMEM219 结合诱导血管生成等多种方式促进结直肠癌的发生发展。本研究发现,CHI3L1 在结直肠癌组织和细胞中高表达 ($P < 0.001$),CHI3L1 的高表达与肿瘤浸润程度和淋巴结受累明显相关 ($P < 0.001$),进一步的研究表明过表达 CHI3L1 可促进 HCT116 细胞增殖和侵袭 ($P < 0.05$),与既往研究结果相符。此外过表达 CHI3L1 可促进 HCT116 细胞葡萄糖摄取和乳酸生成 ($P < 0.05$),提示 CHI3L1 可能参与调控结直肠癌细胞有氧糖酵解作用。

所有恶性肿瘤都有一个共同表型即不受控制的增殖分化,这就要求必须产生足够的能量和大分子来满足细胞生长所需,因此恶性肿瘤的能量代谢特点主要表现为代谢增强^[12]。通常正常细胞在无氧条件下进行糖酵解产生乳酸,但是肿瘤细胞在有氧条件下也通过糖酵解途径进行代谢,即 Warburg 效应^[13]。相比于正常的氧化磷酸化虽然糖酵解途径产生的 ATP 较少,但癌细胞可迅速得到 ATP 以满足代谢所需,并且糖酵解的中间产物还可用于体内的生物合成。由于每个葡萄糖分子产生的 ATP 较少,因此肿瘤细胞需要摄取大量的葡萄糖以产生能量。并且有氧糖酵解需要大量的中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD $^+$) 以维持高糖酵解率,肿瘤细胞可通过调控 LDHA 和 LDHB 的表达将丙酮酸高速率地转化为乳酸以再生 NAD $^+$,因此肿瘤细胞的有氧糖酵解会产生大量乳酸。能量代谢的重编程是恶性肿瘤的重

要标志,然而 Warburg 效应的激活和结直肠癌发生发展的机制仍不清楚。

虽然 CHI3L1 可促进有氧糖酵解,但作用机制并不明确。通过蛋白质互作数据库发现,KLF6 可与 CHI3L1 相互作用,CHI3L1 可负调控 KLF6 蛋白的表达($P < 0.001$),且与癌旁正常组织相比 KLF6 在结直肠癌组织中低表达($P < 0.001$),提示 KLF6 可能具有抑癌作用。KLF6 蛋白属于含锌指结构的 DNA 结合蛋白,由位于 10 号染色体(10p15)短臂上的 KLF6 基因编码。既往^[14-15]研究证实,KLF6 在结直肠癌、非小细胞肺癌、卵巢癌、胶质瘤和肝癌中表达下调,其可以通过调控细胞周期、凋亡和衰老相关基因的表达发挥抑制肿瘤细胞增殖的作用。通过 UALCAN 数据库发现,KLF6 在结直肠癌组织中低表达($P < 0.001$)。并且过表达 KLF6 可抑制结直肠癌细胞增殖和侵袭($P < 0.05$)。且过表达 KLF6 还可以降低葡萄糖摄取和乳酸生成的相对水平($P < 0.05$),说明 KLF6 可以抑制结直肠癌细胞的有氧糖酵解。研究^[16-17]表明,有氧糖酵解可促进肿瘤细胞增殖并增强其迁移和侵袭能力,比如有氧糖酵解可导致大量乳酸产生,而乳酸可通过激活基质金属蛋白酶,上调血管内皮生长因子的表达促进肿瘤转移。为进一步探讨 KLF6 是否通过调控有氧糖酵解抑制结直肠癌细胞增殖和侵袭,本研究设立了空载组,KLF6 siRNA 组和 KLF6 siRNA + 2-DG(有氧糖酵解抑制剂)组,结果表明,与空载组相比,KLF6 siRNA 组中 HCT116 细胞增殖和侵袭能力有所增强($P < 0.05$),但是与 KLF6 siRNA 组相比,KLF6 siRNA + 2-DG 组细胞增殖和侵袭能力则有所降低,表明抑制有氧糖酵解可部分逆转 KLF6 对结直肠癌细胞增殖和侵袭的抑制作用,证实 KLF6 通过抑制有氧糖酵解调控细胞增殖和侵袭。

综上,本研究结果证实,CHI3L1 在结直肠癌组织和细胞中高表达,可增强 HCT116 细胞的增殖和侵袭能力并促进有氧糖酵解,机制可能是 CHI3L1 下调了 KLF6 的表达,再通过 KLF6 负调控有氧糖酵解最终促进结直肠癌细胞的增殖和侵袭。CHI3L1 可作为结直肠癌诊疗的潜在作用靶点,但是 CHI3L1 在动物实验中的作用和其与糖酵解基因的相互关系还需要进一步的研究。

参考文献

[1] Kimberly DM, Leticia N, Angela BM, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(5): 363-385.

[2] Benjamin AW, John LM, Mohamed ES. The growing challenge of young adults with colorectal cancer [J]. Oncology (Williston Park), 2017, 31(5): 381-389.

[3] Xu N, Bo QY, Shao R, et al. Chitinase-3-Like-1 promotes M2 macrophage differentiation and induces choroidal neovascularization in neovascular age-related macular degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(14): 4596-4605.

[4] Nipaporn NY, Shao R, Komsun S, et al. Chitinase 3 like 1 (CHI3L1) promotes vasculogenic mimicry formation in cervical cancer [J]. Pathology, 2018, 50(3): 293-297.

[5] Kim DH, Park HJ, Lim S, et al. Regulation of chitinase-3-like-1 in T cell elicits Th1 and cytotoxic responses to inhibit lung metastasis [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 503.

[6] Xing S, Zheng X, Zeng T, et al. Chitinase 3-like 1 secreted by peritumoral macrophages in esophageal squamous cell carcinoma is a favorable prognostic factor for survival [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(4): 7693-7704.

[7] Kayhan E, Faruk T, Murat S, et al. Clinical significance of serum Ykl-40 (Chitinase-3-Like-1 protein) as a biomarker in melanoma: an analysis of 112 Turkish patients [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(5): 1383-1387.

[8] Cohen N, Shani O, Raz Y, et al. Fibroblasts drive an immunosuppressive and growth-promoting microenvironment in breast cancer via secretion of Chitinase 3-like 1 [J]. Oncogene, 2017, 36(31): 4457-4468.

[9] Wayne SW, Lin HY, Yeh CB, et al. Correlation of Chitinase 3-like 1 single nucleotide polymorphisms with hepatocellular carcinoma in Taiwan [J]. Int J Med Sci, 2017, 14(2): 136-142.

[10] Zhao T, Su ZP, Li YC, et al. Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 201.

[11] Peltonen R, Gramkow MH, Dehlendorff C, et al. Elevated serum YKL-40, IL-6, CRP, CEA, and CA19-9 combined as a prognostic biomarker panel after resection of colorectal liver metastases [J]. PLoS One, 2020, 15(8): e0236569.

[12] Dai WX, Meng XK, Mo SB, et al. FOXE1 represses cell proliferation and Warburg effect by inhibiting HK2 in colorectal cancer [J]. Cell Commun Signal, 2020, 18(1): 7.

[13] Lebelo MT, Joubert AM, Visagie MH. Warburg effect and its role in tumorigenesis [J]. Arch Pharm Res, 2019, 42(10): 833-847.

[14] Syafruddin SE, Mohtar MA, Nazarie WF, et al. Two Sides of the Same Coin: The Roles of KLF6 in Physiology and Pathophysiology [J]. Biomolecules, 2020, 10(10): 1378.

[15] Zhao YY, Yu ZJ, Ma R, et al. lncRNA-Xist/miR-101-3p/KLF6/C/EBP α axis promotes TAM polarization to regulate cancer cell proliferation and migration [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 23: 536-551.

[16] Yan g JS, Ren B, Yang G, et al. The enhancement of glycolysis regulates pancreatic cancer metastasis [J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(2): 305-321.

[17] De La Cruz-López KG, Josué Castro-Muñoz L, Reyes-Hernández Diego O, et al. Lactate in the regulation of tumor microenvironment and therapeutic approaches [J]. Front Oncol, 2019, 9: 1143.

(收稿日期: 2021-04-27

修回日期: 2021-07-12)