DOI:10.16016/j.1000-5404.202106129

FDFT1 依赖肿瘤免疫微环境促进结肠癌细胞的生长

罗 娜[1,2],张大鹏[2],缪洪明[2],代荣阳[1] 646000 四川 泸州,西南医科大学基础医学院[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)基础医学院生物化学与分子生物学教研室[2]

[摘要] **目的** 研究法呢基二磷酸酯法呢基转移酶 1(farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1,FDFT1)对结肠癌(colorectal cancer,CRC)细胞 MC-38 体内体外生长的影响。**方法** 通过 GEPIA 数据库分析 275 例 CRC 样本和 349 例正常组织样本中 FDFT1 的表达量,通过数据库分析人 CRC 中 FDFT1 的免疫组化表达水平。使用慢病毒介导的短发夹 RNA(short hairpin RNA,shRNA)构建 FDFT1 沉默的 CRC 细胞系 MC-38,得到稳定低表达 FDFT1 的 MC-38 细胞系(sh-FDFT1 组)和空载对照细胞系(sh-NC 组),Western blot、RT-qPCR 验证敲低效果。CCK-8 实验、流式细胞术、Transwell 实验分别观察敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞增殖、凋亡、迁移能力的影响。采用 C57BL/6 小鼠、重度免疫缺陷 NCG 小鼠构建 CRC 腹腔种植转移模型,利用 C57BL/6 小鼠构建皮下移植瘤模型,14 d 后观察沉默 FDFT1 对小鼠肿瘤生长情况的影响。**结果** 数据库分析结果显示 CRC 组织中 FDFT1 的表达较正常组织高($P<0.05$),免疫组化结果显示 CRC 病人 FDFT1 高表达。沉默 FDFT1 对 MC-38 细胞增殖、凋亡及迁移均没有明显影响;在 C57BL/6 小鼠 CRC 腹腔种植转移模型和皮下移植瘤模型中均发现沉默 FDFT1 后显著抑制肿瘤生长($P<0.05$)。NCG 小鼠腹腔种植转移模型显示沉默 FDFT1 后肿瘤生长没有差异($P>0.05$)。**结论** FDFT1 在体内促进 CRC 细胞生长依赖于肿瘤免疫微环境。

[关键词] 法呢基二磷酸酯法呢基转移酶 1;结肠癌;免疫微环境;MC-38
[中图法分类号] R345;R730.23;R735.35 [文献标志码] A

Farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 promotes growth of colorectal cancer cells with dependence on tumor immune microenvironment

LUO Na[1,2], ZHANG Dapeng[2], MIAO Hongming[2], DAI Rongyang[1] [1]College of Basic Medical Sciences, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan Province, 646000; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 (FDFT1) on the growth of colorectal cancer (CRC) cell line MC-38 *in vitro* and in mouse models of colorectal peritoneal metastasis and xenograft tumor. **Methods** The expression of FDFT1 in 275 CRC samples and 349 normal tissue samples, as well as the immunohistochemical expression level of FDFT1 in human CRC tissues were analyzed using online databases Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA) and the Human Protein Atlas, respectively. FDFT1-silenced CRC cell line MC-38 was constructed by lentivirus-mediated short hairpin RNA (shRNA) to obtain stable cells with low expression of FDFT1 (sh-FDFT1), and blank control cells (sh-NC) was also constructed. The knockdown effect was subsequently verified by Western blotting and RT-qPCR. Cell counting kit-8 (CCK-8) assay, flow cytometry and transwell assay were performed to observe the effects of FDFT1 knockdown on the proliferation, apoptosis and migration of MC-38 cells, respectively. In addition, intraperitoneal implantation models of colorectal cancer were established using C57BL/6 mice and

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81872028)
[通信作者] 代荣阳,E-mail:dryrun2502@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议( )

severe immunodeficient NCG mice, and subcutaneous transplantation tumor model was also constructed using C57BL/6 mice. The effects of FDFT1 silencing on tumor growth *in vivo* were observed in 14 d after transplantation. **Results** Database analysis showed that FDFT1 expression was higher in CRC tissues than normal tissues ($P<0.05$), and immunohistochemical results also confirmed that FDFT1 was highly expressed in CRC tissues. There were no significant alterations in the proliferation, apoptosis and migration of MC-38 cells after knockdown of FDFT1. Although FDFT1 silencing obviously inhibited the tumor growth in both intraperitoneal implantation and subcutaneous xenograft models of CRC in C57BL/6 mice ($P<0.05$), the colorectal peritoneal metastasis model of NCG mice presented no difference in tumor growth after silencing FDFT1 ($P>0.05$). **Conclusion** FDFT1 depends on the tumor immune microenvironment in the promotion of the growth of CRC cells *in vivo*.

[**Key words**] farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1; colorectal cancer; immune microenvironment; MC-38 cells

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81872028). Corresponding author: DAI Rongyang, E-mail: dryrun2502@163.com

在全球癌症统计报告中,结肠癌(colorectal cancer,CRC)是最常见的恶性肿瘤之一,其发病率、病死率均排前3位[1]。手术、化疗和放疗是CRC临床治疗的主要手段,而复发转移是CRC患者预后差的主要原因[2]。因此,探寻CRC进展的基础机制,有望为CRC的临床防治提供理论依据。

与其他实体肿瘤一样,CRC的发生发展依赖其特有的肿瘤微环境。代谢重编程是肿瘤微环境的重要特征[3]。研究表明,脂代谢重编程调控了CRC的发生发展。脂类包括甘油三酯、磷脂和胆固醇。我们前期研究发现,调控甘油三酯和磷脂代谢的酶在CRC微环境中异常表达,如含自水解酶域蛋白5(alpha/beta hydrolase domain-containing protein 5,ABHD5)[4]、单酰甘油脂酶(monoacylglycerol lipase,MGLL)[5]及1-酰基甘油-3-磷酸酰基转移酶4(1-acyl-sn-glycerol-3-phospate-acyltransferaseδ,AGPAT4)[6]的异常表达直接或者间接调控了CRC的发生发展。然而,胆固醇代谢相关的酶在CRC进展中的作用尚不明确。

胆固醇是一种重要的生物分子,涉及人类健康和疾病的各个方面[7]。胆固醇稳态失衡将导致众多疾病,如神经退行性疾病和癌症[8]。法呢基二磷酸酯法呢基转移酶1(farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1,FDFT1)是胆固醇内源性合成途径中的重要酶分子,其通过两步反应催化两分子焦磷酸法尼酯二聚生成角鲨烯[9-10]。报道显示,FDFT1在肝癌、乳腺癌、前列腺癌和食道癌等多种癌症中表达异常,其被认为可能是癌症进程的生物标志和潜在的治疗靶点[11]。然而,FDFT1在CRC进展中的作用尚不清楚。本研究将探析FDFT1在CRC中的表达情况及其对CRC细胞生物学行为的调控作用,为CRC的临床防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 小鼠CRC细胞系MC-38由本实验室保存。

1.1.2 动物 C57BL/6雄性小鼠购自陆军军医大学实验动物中心,重度免疫缺陷NCG小鼠(NOD-Prkdc^{em26Cd52}Il2rg^{em26Cd22}/Nju)购自National Model Animal Resource Information Platform。所有实验动物由陆军军医大学代养。

1.1.3 试剂 DMEM高糖培养基、胎牛血清购自以色列Biological Industries公司;PBS、0.25%胰酶购自美国Hyclon公司;100×青-链霉素双抗、BCA蛋白浓度测定试剂盒、RIPA裂解液、PMSF、DEPC水、结晶紫染色液购自上海碧云天公司;m-FDFT1sh-RNA慢病毒及对照空载病毒购自上海汉恒生物公司;电泳凝胶试剂盒购自上海雅酶生物有限公司;PVDF膜购自美国Millipore公司;FDFT1一抗购自美国Novus Biologicals公司;GAPDH一抗、山羊抗小鼠二抗、山羊抗兔二抗购自中国Proteintech公司;ECL显色试剂盒购自重庆葆光生物公司;三氯甲烷、异丙醇、无水乙醇购自成都科龙公司;反转录试剂盒及荧光定量PCR试剂盒购自日本TaKaRa公司;CCK-8试剂盒、凋亡检测试剂盒购自美国Biolegend公司;Transwell实验板购自美国Corning公司;4%多聚甲醛购自中国Biosharp;无胰岛素注射器、FDFT1(小鼠)和GAPDH(小鼠)引物购自上海生工生物工程股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 MC-38细胞用含10%胎牛血清、1%双抗的DMEM高糖培养基,置于5% CO_2、37 ℃孵箱中培养。每日观察,培养基变黄换液,细胞生长至

90%时传代。

1.2.2 构建 FDFT1 沉默的 MC-38 细胞系 待 MC-38 细胞处于对数生长期,铺 6 孔板。细胞密度生长至 50%左右,弃去旧培养基,加入 1 mL 新鲜培养基,加入带有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)和嘌呤霉素(puromycin)抗性基因的小鼠 shRNA-FDFT1 慢病毒及对照病毒,放回孵箱继续培养。感染 4 h 后每孔补加 1 mL 新鲜培养基至正常体积,继续培养。感染 24 h 后更换新鲜培养基继续培养。感染 72 h 后在荧光显微镜下观察感染效率。之后用含 puromycin 培养基筛选感染细胞,得到稳定低表达 FDFT1 的 MC-38 细胞系(sh-FDFT1 组)和空载对照细胞系(sh-NC 组)。后续实验均按此分组。

1.2.3 数据库分析 FDFT1 与 CRC 关系 通过数据库 GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis)(cancer-pku.cn)及 The Human Protein Atlas 综合分析得到 FDFT1 在 CRC 的表达情况。

1.2.4 RNA 提取与 RT-qPCR 收集稳定转染的 sh-FDFT1 和 sh-NC 细胞,使用 TRIzol 法提取细胞总 RNA。按照 TaKaRa 反转录试剂盒说明,以 1 μg RNA 为上样量,PCR 程序为:37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,4 ℃保存。随后进行 RT-qPCR,将成功反转录的 cDNA 作为模板,引物为 GAPDH、FDFT1,序列如下:FDFT1 上游 5′-AGAGTGGCGGTTCACTGAGA-3′,下游 5′-GAGAAAGGCCAATTCCCACCA-3′;GAPDH 上游 5′- TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3′,下游 5′-CCTGCTTCACCACCTTCTTGAT-3′。根据 TaKaRa 荧光定量 PCR 试剂盒方案进行加样,执行 PCR 程序:95 ℃ 30 s 预变性;95 ℃ 5 s,60 ℃ 34 s,95 ℃ 15 s,重复 40 个循环;4 ℃保存。实验结果按照相对定量法 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行统计。

1.2.5 Western blot 检测 收集 sh-FDFT1 和 sh-NC 细胞,冰上提取细胞总蛋白,BCA 法定量后将蛋白标定为同一浓度后制成 Western blot 样品。取出提前配制好的 SDS-PAGE 凝胶,按 30 μg 标准点样,电泳条件为 80 V 30 min,用 120 V 电压使样品跑至凝胶底部。结束电泳后取出凝胶,将凝胶和 PVDF 膜正确摆放至湿转装置中,200 mA 90 min。取出 PVDF 膜放至 5%脱脂奶粉中封闭 1 h。封闭后将膜转移至一抗稀释液中,4 ℃慢摇过夜。次日,将膜在 PBST 中漂洗,每次 10 min,重复 3 次。完成后加入对应的二抗,室温孵育 1 h,洗膜后在化学发光仪上观察结果。一抗、二抗稀释比例均按照抗体说明书操作。

1.2.6 CCK-8 实验 取对数生长期的 sh-FDFT1 和 sh-NC 细胞,在 96 孔板中接种两种细胞,每孔 100 μL 细胞悬液(3 000 个细胞),混匀后放于 5% CO_2、37 ℃孵箱培养。2 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,混匀,继续培养 1 h 后,在 450 nm 波长下测定吸光度作为基值。按同样方法测定培养 24、48、72、96 h 后吸光度,统计出增殖结果曲线。

1.2.7 流式细胞术检测细胞凋亡 收集生长状态良好的细胞 sh-FDFT1、sh-NC(细胞数>10^6)及上清。4 ℃,500×*g* 离心 5 min,弃上清。加入 90 μL 1×Binding Buffer、5 μL APC-Annein V、5 μL PI,重悬细胞。4 ℃避光孵育 15 min,然后用 200 目滤网过滤,30 min 内上机检测。

1.2.8 Transwell 实验 消化 sh-FDFT1、sh-NC 细胞成细胞悬液,1 000 r/min,离心 5 min,弃上清。加入无血清培养基重悬,计数,制成浓度为 500 个/μL 的细胞悬液,每个 Transwell 小室上室加入 200 μL 无血清细胞悬液,下室加入 500 μL 完全培养基。培养 24 h 后,取出用 4%多聚甲醛固定,结晶紫染色,风干后显微镜 200 倍下观察并记录结果。

1.2.9 小鼠 CRC 动物模型建立 小鼠 CRC 细胞系 MC-38 来源于雌性 C57BL/6 小鼠经化学药物诱导产生的一种结肠腺癌,二者具有相同的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex,MHC)背景,后被用作可移植的 CRC 小鼠模型[12-14]。取生长状态良好的 sh-FDFT1、sh-NC 细胞消化,离心。加入 PBS 重悬,计数,制成 4×10^7/mL 的细胞悬液。小鼠 CRC 腹腔种植转移模型:取 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠或 NCG 小鼠,每只小鼠腹腔注射 4×10^6 个细胞。接种 14 d 后处死荷瘤小鼠,观察模型构建情况。小鼠皮下移植瘤模型:在每只 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠左腿腹股沟处皮下注射 4×10^6 个细胞,余同小鼠 CRC 腹腔种植转移模型。

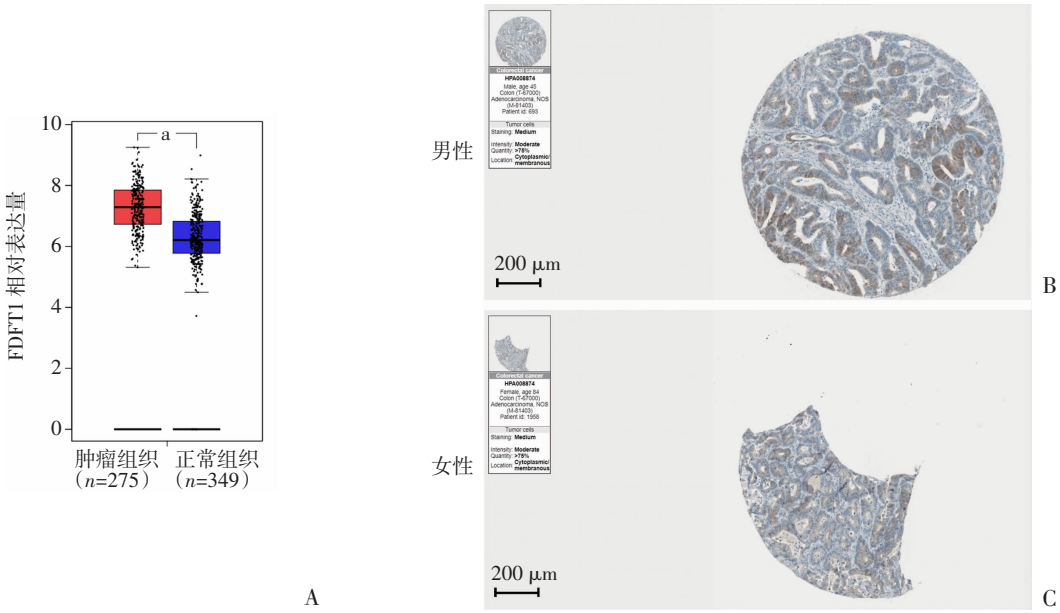
1.3 统计学分析

实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 5.0 统计软件进行分析,组间采用双侧非配对 t 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

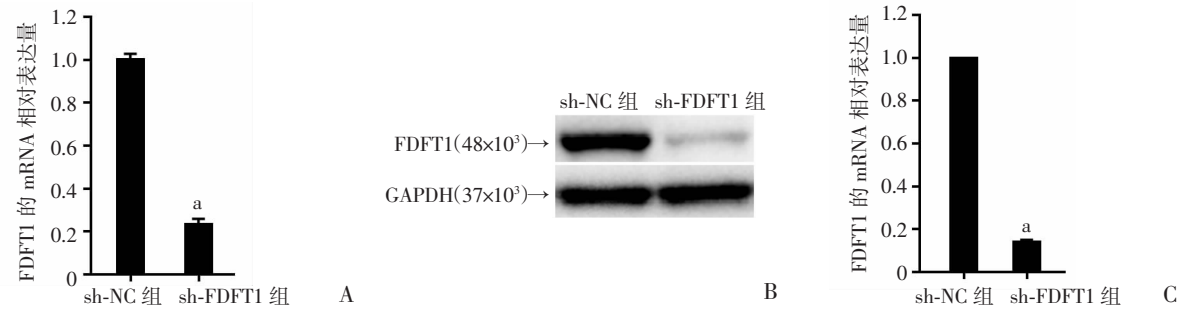
2.1 FDFT1 在 CRC 组织中的表达

为探究 FDFT1 基因与 CRC 恶性进展的关系,通过 GEPIA 数据库(cancer-pku.cn)对 275 例 CRC 样本和 349 例正常组织样本分析,发现 FDFT1 在 CRC 组织中表达异常上调($P<0.05$,图 1A)。通过 The Human Protein Atlas 数据库发现男性或女性患者 CRC 肿瘤组织免疫组化染色中 FDFT1 蛋白均呈现高表达(图 1B、C)。



A:GEPIA 数据库对 CRC FDFT1 相对表达量分析　a:$P<0.05$;B、C 分别为:数据库中免疫组化观察男性与女性 CRC 组织 FDFT1 的表达

图 1　FDFT1 在 CRC 组织中的表达情况



a:$P<0.05$,与 sh-NC 组比较

A:RT-qPCR 检测 MC-38 细胞 FDFT1 敲低后 FDFT1 mRNA 表达;B:Western blot 检测 MC-38 细胞 FDFT1 敲低后 FDFT1 蛋白表达;C:FDFT1 蛋白表达半定量分析

图 2　FDFT1 敲低细胞系的建立与验证($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

2.2　FDFT1 敲低细胞系的建立与验证

通过慢病毒 shRNA 感染系统,在小鼠 CRC 细胞系 MC-38 中敲减 FDFT1,得到低表达 FDFT1 的 MC-38 细胞系(sh-FDFT1 组);转染空载病毒得到对照细胞(sh-NC 组)。为了验证敲减效率,取两种细胞进行 RT-qPCR 及 Western blot 实验,检测 mRNA 及蛋白水平变化,结果显示 sh-FDFT1 组 FDFT1 mRNA 及蛋白表达均显著降低($P<0.05$,图 2),表明敲低 FDFT1 的 MC-38 细胞系构建成功。

2.3　敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞增殖的影响

CCK-8 实验结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-FDFT1 组在 0、24、48、72、96 h 细胞增殖活性的差异均无统计学意义($P>0.05$,图 3)。

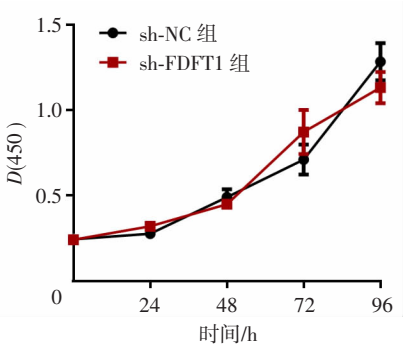
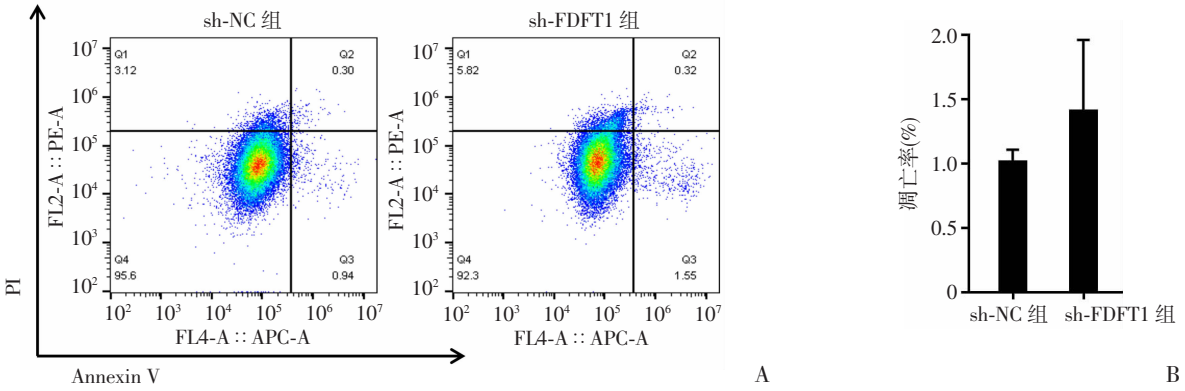
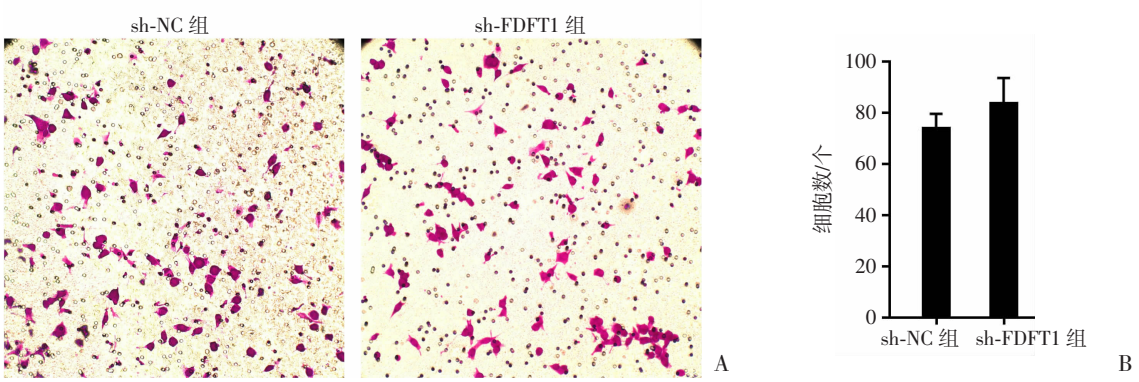


图 3　敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞增殖的影响　($n=4$, $\bar{x}\pm s$)



A:敲低 FDFT1 后 MC-38 细胞凋亡流式结果; B:细胞总凋亡结果统计($n=3,\bar{x}\pm s$)

图 4 敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞凋亡的影响



A:敲低 FDFT1 后 MC-38 细胞 Transwell 实验、结晶紫染色观察结果(×200);B:穿过细胞数统计($n=3,\bar{x}\pm s$)

图 5 敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞迁移的影响

2.4 敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞凋亡的影响

流式细胞术结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-FDFT1 组细胞凋亡活性(总凋亡率)没有明显差异($P>0.05$,图 4)。

2.5 敲低 FDFT1 对 MC-38 细胞迁移的影响

Transwell 实验结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-FDFT1 组穿过上室的细胞数无明显差异($P>0.05$,图 5)。

2.6 FDFT1 敲低可抑制肿瘤生长

将 sh-FDFT1 组及 sh-NC 组细胞同时在 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠构建 CRC 腹腔种植转移模型(图 6A、B)及皮下移植瘤模型(图 6C、D),接种 14 d 后处死荷瘤小鼠。两种模型结果均显示敲低 FDFT1 后 MC-38 细胞的致癌能力减弱,肿瘤质量也明显减少($P<0.05$,图 6)。

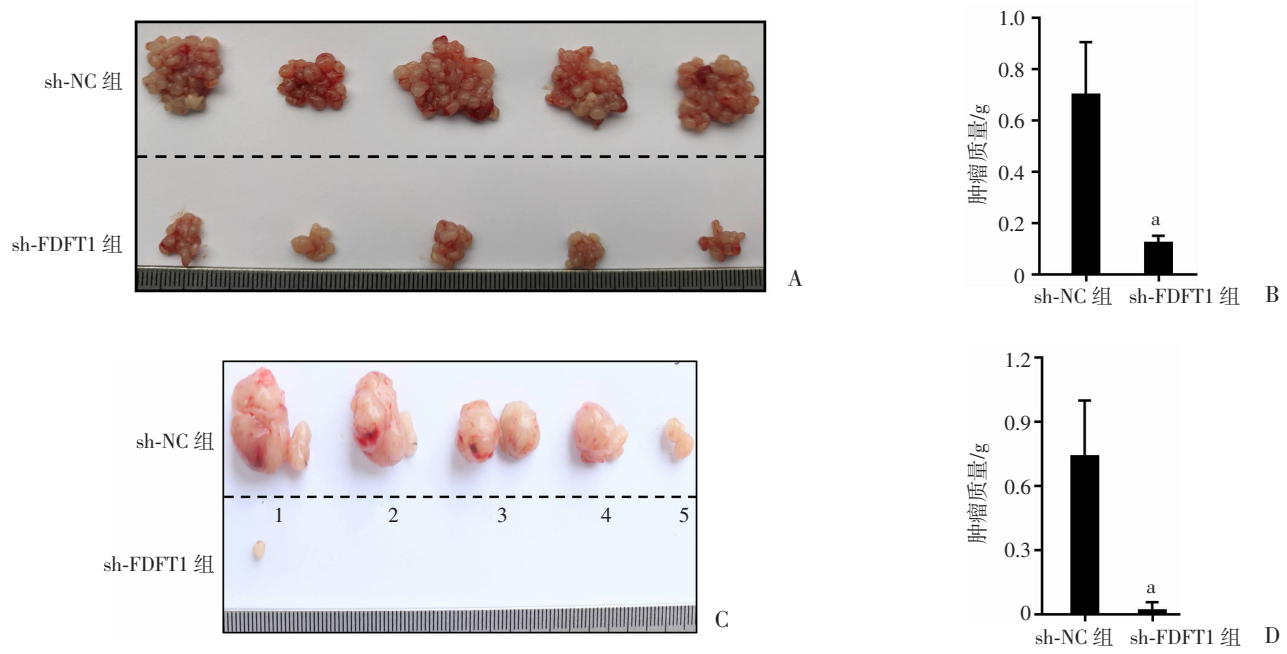
2.7 敲低 FDFT1 后不影响 MC-38 移植瘤在 NCG 小鼠中的进展

在重度免疫缺陷 NCG 小鼠上接种 sh-FDFT1 组及 sh-NC 组细胞构建小鼠 CRC 腹腔种植转移模型。接种 14 d 后处死荷瘤小鼠,结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-FDFT1 组肿瘤生长大小及质量没有显著差异($P>0.05$,图 7)。

3 讨论

代谢重编程是癌细胞面对恶劣的生存环境选择的有利于自身增殖或迁移的一种新的代谢程序,可表现在代谢途径改变及代谢酶的异常表达。由许多代谢改变和引起的异常表观调控在很多癌症中是相似的,因此它们被认为是癌症治疗的新靶点[15]。CRC 是危害人类健康的重大疾病,使用传统手术等治疗方式时疾病大多已处于晚期,患者愈后不佳[16]。因此,将注意力放在 CRC 异常代谢分子可提前预知并干预其发生,有可能为 CRC 的临床预防与治疗提供一个新的策略。

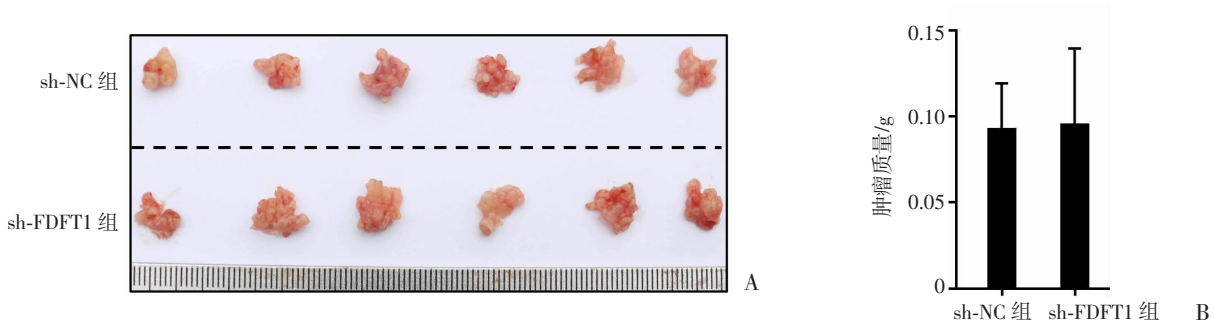
FDFT1 是胆固醇代谢途径的一个重要酶分子,作用于甲羟戊酸途径的一个分支[17]。越来越多证据表明,FDFT1 在癌症中起着关键作用,尤其是代谢重编程、细胞增殖和侵袭[18]。之前的研究表明,FDFT1 在



a:$P<0.05$,与 sh-NC 组比较

A:C57BL/6 小鼠腹腔种植 sh-NC 组或 sh-FDFT1 组细胞构建 CRC 腹腔种植转移模型　B:CRC 腹腔种植转移模型小鼠肿瘤质量统计;C:C57BL/6 小鼠左腿腹股沟处皮下接种 sh-NC 组或 sh-FDFT1 组细胞构建 CRC 皮下移植瘤模型　1~5:分别表示 14 d 后 5 只小鼠移植瘤生长情况;D:CRC 皮下移植瘤模型小鼠肿瘤质量统计

图 6　敲低 FDFT1 抑制 MC-38 移植瘤的生长　($n=5,\bar{x}\pm s$)



A:NCG 小鼠腹腔种植 sh-NC 组或 sh-FDFT1 组细胞构建 CRC 腹腔种植转移模型;B:小鼠肿瘤质量统计

图 7　NCG 小鼠荷瘤的生长情况　($n=6,\bar{x}\pm s$)

高侵袭性前列腺癌中表达水平明显升高,抑制 FDFT1 的表达能抑制前列腺癌细胞的增殖[19]。在耐药研究中也发现FDFT1与卵巢癌存在潜在关联[20]。但FDFT1在 CRC 中的作用尚不完全清楚。因此我们选择 FDFT1 为靶基因,探究其与 CRC 的联系。本研究首先通过在线数据库发现 FDFT1 在 CRC 组织中表达上调,提示 FDFT1 与 CRC 进展相关。

为了探究 FDFT1 与 CRC 进展的进一步机制,构建 FDFT1 低表达 MC-38 细胞系。在小鼠荷瘤实验中,C57BL/6 小鼠腹腔及皮下同时接种对照细胞和 FDFT1 敲低细胞,两处荷瘤模型均显示实验组小鼠肿瘤生长受到明显抑制,表明敲低 MC-38 细胞 FDFT1 可抑制 CRC 进展。然而在体外细胞实验中,MC-38 细胞敲低 FDFT1 后,细胞增殖、凋亡及迁移均没有明显变化。因此,我们猜想敲低 FDFT1 影响 CRC 生长可能是受到肿瘤微环境中除肿瘤细胞本身之外的其他组分的影响。NCG 小鼠是固有免疫系统及适应性免疫系统均受损的重度免疫缺陷小鼠,本研究通过构建 NCG 小鼠 CRC 腹腔转移模型,发现 FDFT1 对 MC-38 细胞成瘤能力没有显著影响,表明敲低 MC-38 细胞 FDFT1 抑制 CRC 进展可能通过调控肿瘤微环境来实现。最近有研究报道小鼠禁食后可通过 FDFT1 介导的 AKT/

mTOR/HIF1α 途径抑制 CRC 细胞有氧糖酵解和增殖[21]。我们和其他团队的结果提示不同的细胞类型可能呈现不同的分子调控机制。这可能与 FDFT1 的多态性有关,FDFT1 基因的遗传多样性在癌症和丙型肝炎等疾病中已有部分研究[22]。例如,研究丙型肝炎患者 FDFT1 基因的 SNPrs2645424 多态性,发现该多态性与患者肝脏进行性纤维化有关,而与脂肪肝无关[23]。在前列腺癌中,FDFT1 基因的 rs2645429 多态性与癌症进展和侵袭性表型相关[19]。另一方面,CRC 具有分子异质性,可分为与患者预后和治疗相关的临床亚型。在 DNA 水平上,MC-38 细胞属于微卫星不稳定型突变(microsatellite-instable,MSI),对超突变/微卫星不稳定 CRC 的建模有效,而 CT-26 细胞属于染色体不稳定型突变(chromosomal instability,CIN)[12-14]。CRC 根据共识分子亚型又分为 4 型,其中多数 MSI 集中在免疫表型,表现为高度的免疫原性[24]。因此,本研究亚型特异可能有助于临床实验设计和术后辅助治疗决策。

肿瘤微环境是由肿瘤细胞和其周围的免疫细胞、炎症细胞、成纤维细胞、附近的间质组织、微血管以及各种细胞因子和趋化因子等构成的复杂综合系统[25-27]。肿瘤微环境中肿瘤细胞本身可以形成一个免疫抑制的微环境,这种恶劣的环境迫使浸润的免疫细胞发生与免疫耐受表型相关的适应性代谢,最终免疫细胞的代谢变化可能会破坏抗肿瘤免疫反应的有效性[28]。本研究提出了胆固醇合成途径分子 FDFT1 可能通过影响肿瘤免疫微环境来调控肿瘤生长。胆固醇合成和代谢中间体在控制细胞增殖、迁移、耐药及干性中发挥作用。当胆固醇稳态被破坏,异常代谢过程可重新塑造免疫反应性,并且胆固醇衍生物可以调节肿瘤免疫或免疫逃逸,在免疫监视中起关键作用[29-31]。有研究报道,乳腺癌中 27-羟基胆固醇依赖肝脏 X 受体通过巨噬细胞等削弱 T 细胞的扩增和细胞毒性功能,并且靶向抑制其合成酶细胞色素 P450 家族成员 27A1(cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1,CYP27A1)可减少肿瘤转移性生长[32-33]。最近,中和髓源性抑制细胞产生的代谢物甲基乙二醛活性可以提高癌症免疫治疗的疗效[34]。越来越多的证据表明,针对肿瘤微环境的疗法可以补充传统治疗方式,改善恶性肿瘤的治疗结果[35]。在后续的研究中,我们将深入研究 CRC 细胞 FDFT1 调控 CRC 微环境免疫的具体机制。本研究有望为探索基于 CRC 代谢微环境的肿瘤防治策略提供新的理论依据。

参考文献:

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.

[2] DEKKER E, REX D K. Advances in CRC prevention: screening and surveillance[J]. Gastroenterology, 2018, 154(7): 1970-1984. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.01.069.

[3] PAVLOVA N N, THOMPSON C B. The emerging hallmarks of cancer metabolism[J]. Cell Metab, 2016, 23(1): 27-47. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.006.

[4] MIAO H M, OU J J, PENG Y, *et al*. Macrophage ABHD5 promotes colorectal cancer growth by suppressing spermidine production by SRM[J]. Nat Commun, 2016, 7: 11716. DOI: 10.1038/ncomms11716.

[5] XIANG W, SHI R, KANG X, *et al*. Monoacylglycerol lipase regulates cannabinoid receptor 2-dependent macrophage activation and cancer progression[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2574. DOI: 10.1038/s41467-018-04999-8.

[6] ZHANG D P, SHI R C, XIANG W, *et al*. The Agpat4/LPA axis in colorectal cancer cells regulates antitumor responses via p38/p65 signaling in macrophages[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 24. DOI: 10.1038/s41392-020-0117-y.

[7] GELISSEN I C, BROWN A J. An overview of cholesterol homeostasis[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1583: 1-6. DOI: 10.1007/978-1-4939-6875-6_1.

[8] LUO J, YANG H, SONG B L. Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(4): 225-245. DOI: 10.1038/s41580-019-0190-7.

[9] HA N T, LEE C H. Roles of farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 in tumour and tumour microenvironments[J]. Cells, 2020, 9(11): E2352. DOI: 10.3390/cells9112352.

[10] DO R, KISS R S, GAUDET D, *et al*. Squalene synthase: a critical enzyme in the cholesterol biosynthesis pathway[J]. Clin Genet, 2009, 75(1): 19-29. DOI: 10.1111/j.1399-0004.2008.01099.x.

[11] TÜZMENŞ, HOSTETTER G, WATANABE A, *et al*. Characterization of farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1 (FDFT1) expression in cancer[J]. Per Med, 2019, 16(1): 51-65. DOI: 10.2217/pme-2016-0058.

[12] ZHANG L, WANG I M, SOLBAN N, *et al*. Comprehensive investigation of T and B cell receptor repertoires in an MC38 tumor model following murine anti-PD-1 administration[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(2): 975-985. DOI: 10.3892/mmr.2020.11169.

[13] EFREMOVA M, RIEDER D, KLEPSCH V, *et al*. Targeting immune checkpoints potentiates immunoediting and changes the dynamics of tumor evolution[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 32. DOI: 10.1038/s41467-017-02424-0.

[14] CORBETT T H, GRISWOLD D P Jr, ROBERTS B J, *et al*. Tumor induction relationships in development of transplantable cancers of the colon in mice for chemotherapy assays, with a note on carcinogen structure[J]. Cancer Res, 1975, 35(9): 2434-2439.

[15] THAKUR C, CHEN F. Connections between metabolism and epigenetics in cancers[J]. Semin Cancer Biol, 2019, 57: 52-58. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.06.006.

[16] AL BANDAR M H, KIM N K. Current status and future perspectives on treatment of liver metastasis in colorectal cancer (Review)[J]. Oncol Rep, 2017, 37(5): 2553-2564. DOI: 10.3892/or.2017.5531.

[17] BRUSSELMANS K, TIMMERMANS L, VAN DE SANDE T, *et al*. Squalene synthase, a determinant of raft-associated cholesterol and modulator of cancer cell proliferation[J]. J Biol Chem, 2007, 282(26): 18777-18785. DOI: 10.1074/jbc.M611763200.

[18] KUZU O F, NOORY M A, ROBERTSON G P. The role of cholesterol in cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(8): 2063-2070. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2613.

[19] FUKUMA Y, MATSUI H, KOIKE H, *et al*. Role of squalene synthase in prostate cancer risk and the biological aggressiveness of human prostate cancer[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2012, 15(4): 339-345. DOI: 10.1038/pcan.2012.14.

[20] ZHENG L, LI L, LU Y, *et al*. SREBP2 contributes to cisplatin resistance in ovarian cancer cells[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243(7): 655-662. DOI: 10.1177/1535370218760283.

[21] WENG M L, CHEN W K, CHEN X Y, *et al*. Fasting inhibits aerobic glycolysis and proliferation in colorectal cancer via the Fdft1-mediated AKT/mTOR/HIF1α pathway suppression[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1869. DOI: 10.1038/s41467-020-15795-8.

[22] DEHGHANI M, SAMANI Z, ABIDI H, *et al*. Relationship of SNP rs2645429 in farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 gene promoter with susceptibility to lung cancer[J]. Int J Genomics, 2018, 2018: 4863757. DOI: 10.1155/2018/4863757.

[23] STÄTTERMAYER A F, RUTTER K, BEINHARDT S, *et al*. Role of FDFT1 polymorphism for fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C[J]. Liver Int, 2014, 34(3): 388-395. DOI: 10.1111/liv.12269.

[24] MÜLLER M F, IBRAHIM A E, ARENDS M J. Molecular pathological classification of colorectal cancer[J]. Virchows Arch, 2016, 469(2): 125-134. DOI: 10.1007/s00428-016-1956-3.

[25] GALON J, BRUNI D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies[J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(3): 197-218. DOI: 10.1038/s41573-018-0007-y.

[26] WU T, DAI Y. Tumor microenvironment and therapeutic response[J]. Cancer Lett, 2017, 387: 61-68. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.01.043.

[27] BOLOURI H. Network dynamics in the tumor microenvironment[J]. Semin Cancer Biol, 2015, 30: 52-59. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.02.007.

[28] BADER J E, VOSS K, RATHMELL J C. Targeting metabolism to improve the tumor microenvironment for cancer immunotherapy[J]. Mol Cell, 2020, 78(6): 1019-1033. DOI: 10.1016/j.molcel.2020.05.034.

[29] CARDOSO D, PERUCHA E. Cholesterol metabolism: a new molecular switch to control inflammation[J]. Clin Sci (Lond), 2021, 135(11): 1389-1408. DOI: 10.1042/CS20201394.

[30] CHOI C, FINLAY D K. Diverse immunoregulatory roles of oxysterols-the oxidized cholesterol metabolites[J]. Metabolites, 2020, 10(10): E384. DOI: 10.3390/metabo10100384.

[31] KOPECKA J, GODEL M, RIGANTI C. Cholesterol metabolism: At the cross road between cancer cells and immune environment[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2020, 129: 105876. DOI: 10.1016/j.biocel.2020.105876.

[32] MA L Q, WANG L, NELSON A T, *et al*. 27-Hydroxycholesterol acts on myeloid immune cells to induce T cell dysfunction, promoting breast cancer progression[J]. Cancer Lett, 2020, 493: 266-283. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.08.020.

[33] BAEK A E, YU Y A, HE S S, *et al*. The cholesterol metabolite 27 hydroxycholesterol facilitates breast cancer metastasis through its actions on immune cells[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 864. DOI: 10.1038/s41467-017-00910-z.

[34] BAUMANN T, DUNKEL A, SCHMID C, *et al*. Regulatory myeloid cells paralyze T cells through cell-cell transfer of the metabolite methylglyoxal[J]. Nat Immunol, 2020, 21(5): 555-566. DOI: 10.1038/s41590-020-0666-9.

[35] HUI L, CHEN Y. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil[J]. Cancer Lett, 2015, 368(1): 7-13. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.039.

(收稿:2021-06-17;修回:2021-09-22)

(编辑 汪勤俭)