doi:10.11659/jjssx.07E025045

·消化系统疾病·

# DUSP26通过PI3K/AKT/mTOR通路调节果糖代谢和上皮间质转化抑制结直肠癌细胞增殖、侵袭和迁移

徐 婷[1],唐 尧[2],伍 俊[3] (1.西安市第三医院消化内科,陕西 西安 710018;2.西安市第三医院普外科,陕西 西安 710018;3.西安高新医院神经内科,陕西 西安 710075)

[摘 要] **目的** 探究DUSP26对结直肠癌(CRC)细胞的影响及潜在作用机制。**方法** 通过Western blot和qRT-PCR检测DUSP26在CRC细胞系和正常结肠上皮细胞系NCM460中的表达水平。通过慢病毒转染构建稳定过表达DUSP26的SW480细胞株及稳定敲低DUSP26的Caco-2细胞株;采用克隆形成实验、划痕愈合实验及Transwell实验评估DUSP26对细胞增殖、迁移与侵袭能力的影响;通过Western blot检测磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、蛋白激酶B(AKT)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、果糖转运体5(GLUT5)、酮己糖激酶(KHK)、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin及锌指转录因子Snail等蛋白表达。使用果糖培养细胞并检测细胞中果糖浓度;进一步采用PI3K激活剂740 Y-P与抑制剂LY294002进行回复验证。**结果** 与NCM460细胞相比,DUSP26在CRC各细胞系中表达显著下调($P<0.05$)。过表达DUSP26可抑制细胞增殖、迁移和侵袭,降低p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR水平,下调GLUT5、KHK、Vimentin、N-cadherin及Snail蛋白表达,上调E-cadherin蛋白表达,并减少果糖消耗,差异均有统计学意义($P<0.05$);敲低DUSP26则可逆转上述指标变化($P<0.05$)。激活PI3K可逆转DUSP26过表达对CRC细胞果糖代谢及转移的抑制作用,而抑制PI3K则显著增强敲低DUSP26对细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用($P<0.05$)。**结论** DUSP26在CRC中低表达,其可通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路调控果糖代谢和上皮间质转化,从而发挥其抗肿瘤作用。

[关键词] DUSP26;结直肠癌;果糖代谢;转移;PI3K/AKT/mTOR通路;上皮间质转化
[中图分类号] R735.3 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-07-10

## DUSP26 inhibits the proliferation, invasion, and migration of colorectal cancer cells by regulating fructose metabolism and epithelial-mesenchymal transition via PI3K/AKT/mTOR pathway

XU Ting[1], TANG Yao[2], WU Jun[3] (1.Department of Gastroenterology, Xi′an No.3 Hospital, Xi′an Shaanxi 710018, China; 2.Department of General Surgery, Xi′an No.3 Hospital, Xi′an Shaanxi 710018, China; 3. Department of Neurology, Xi′an Gaoxin Hospital, Xi′an Shaanxi 710075, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of DUSP26 on colorectal cancer (CRC) cells and its underlying mechanism. **Methods** The expression levels of DUSP26 in CRC cell lines and the normal colonic epithelial cell line NCM460 were detected by Western blot and

[基金项目] 陕西省重点研发计划项目(2023SF-025)
[通信作者] 唐 尧,E-mail:tangyao89@126.com

[13] Ding L, Yang L, Wang Z, et al. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases[J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(2): 135-144. doi:10.1016/j.apsb.2015.01.004.
[14] Heiss CN, Manneras-Holm L, Lee YS, et al. The gut microbiota regulates hypothalamic inflammation and leptin sensitivity in Western diet-fed mice via a GLP-1R-dependent mechanism[J]. Cell Rep, 2021, 35(8): 109163. doi:10.1016/j.celrep.2021.109163.
[15] Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease[J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19(1): 55-71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
[16] Boland ML, Laker RC, Mather K, et al. Resolution of NASH and hepatic fibrosis by the GLP-1R/GcgR dual-agonist Cotadutide via modulating mitochondrial function and lipogenesis[J]. Nat Metab, 2020, 2(5): 413-431. doi:10.1038/s42255-020-0209-6.
[17] Tahapary DL, Pratisthita LB, Fitri NA, et al. Challenges in the diagnosis of insulin resistance: focusing on the role of HOMA-IR and tryglyceride/glucose index[J]. Diabetes Metab Syndr, 2022, 16(8): 102581. doi: 10.1016/j.dsx.2022.102581.
[18] Tanase DM, Gosav EM, Costea CF, et al. The intricate relationship between type 2 diabetes mellitus (T2DM), insulin resistance (IR), and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)[J]. J Diabetes Res, 2020, 2020: e3920196. doi:10.1155/2020/3920196.
[19] Artis D, Spits H. The biology of innate lymphoid cells[J]. Nature, 2015, 517(7534): 293-301. doi:10.1038/nature14189.
[20] Gronke K, Kofoed-Nielsen M, Diefenbach A. Isolation and flow cytometry analysis of innate lymphoid cells from the intestinal lamina propria[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1559: 255-265. doi: 10.1007/978-1-4939-6786-5_17.
[21] Halim TYF, Takei F. Isolation and characterization of mouse innate lymphoid cells [J]. Curr Protoc Immunol, 2014, 106: 3.25.1-3.25.13. doi:10.1002/0471142735.im0325s106.

(编辑:魏 源)

qRT-PCR. SW480 cells with DUSP26 overexpression and Caco-2 cells with DUSP26 knockdown were constructed via lentiviral transduction. The effects of DUSP26 on cell proliferation, migration, and invasion were evaluated by colony formation assay, wound healing assay, and Transwell assay. The protein expression of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (AKT), mammalian target of rapamycin (mTOR), glucose transporter 5 (GLUT5), ketohexokinase (KHK), E-cadherin, N-cadherin, Vimentin, and the zinc finger transcription factor Snail were detected by Western blot. Cells were cultured with fructose, and the fructose consumption in cells were detected. Further rescue experiments were conducted using the PI3K activator 740 Y-P and the inhibitor LY294002. **Results** Compared with NCM460 cells, DUSP26 expression was significantly downregulated in various CRC cell lines ($P$<0.05). Overexpression of DUSP26 inhibited cell proliferation, migration, and invasion, reduced the ratios of p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT and p-mTOR/mTOR, downregulated the protein expression of GLUT5, KHK, Vimentin, N-cadherin, and Snail, and upregulated E-cadherin protein expression, and decreased fructose consumption, with statistically significant differences ($P$<0.05). Knockdown of DUSP26 reversed the changes in the aforementioned indicators ($P$<0.05). Activation of PI3K counteracted the inhibitory effects of DUSP26 overexpression on fructose metabolism and metastasis in CRC cells, whereas inhibition of PI3K significantly enhanced the suppressive effects of DUSP26 knockdown on cell proliferation, migration, and invasion ($P$<0.05). **Conclusion** DUSP26 is lowly expressed in CRC. It exerts anti-tumor effects by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR pathway, thereby regulating fructose metabolism and epithelial-mesenchymal transition.

**Keywords:** DUSP26; colorectal cancer; fructose metabolism; metastasis; PI3K/AKT/mTOR pathway; epithelial-mesenchymal transition

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是消化系统主要的恶性肿瘤之一,每年造成超过900 000人死亡,已经成为全球癌症相关死亡事件的第二大原因[1-2]。CRC发病率的持续上升给社会带来了沉重的负担[3]。目前,手术切除联合化疗、放疗和靶向治疗在CRC患者中广泛应用,但患者预后仍不佳,特别是对于转移性和复发性肿瘤[4],且预后很大程度上取决于肿瘤分期[5]。此外,CRC是一种高度异质性的疾病,肿瘤-淋巴结-转移分期系统对其预测能力有限[6]。癌胚抗原、N-糖基化等现有生物标志物在CRC早期诊断和预后预测方面敏感度和特异度较低[7-8]。因此,迫切需要新的生物标志物来提高CRC患者早期诊断率,从而改善预后。

双特异性磷酸酶(dual-specificity phosphatases, DUSPs)是一类能够同时对磷酸化的丝氨酸/苏氨酸及酪氨酸残基进行去磷酸化修饰的关键调控因子,通过动态调节MAPK等核心信号通路的活性,调节细胞增殖、分化、凋亡及迁移等[9]。DUSP26作为该家族成员之一,因在多种肿瘤中呈现异常表达并参与调控恶性生物学行为而日益受到关注。在神经母细胞瘤和甲状腺癌中,DUSP26可通过调控特定的信号轴(如AMPK信号通路)影响肿瘤细胞的存活与生长[10-11]。然而,DUSP26在CRC中的表达模式、生物学功能及其具体的作用机制目前尚未明确,其与CRC临床病理特征的相关性及治疗潜力还需更多研究证实。基于DUSPs家族在信号转导中的核心地位以及DUSP26在其他癌症中的作用,我们推测:DUSP26在CRC中异常表达,并通过调控关键信号通路影响CRC的进展与预后。本研究通过分析DUSP26与患者临床病理特征及预后的相关性,并通过体内外功能实验探讨DUSP26对CRC细胞增殖、迁移等恶性行为的影响,揭示DUSP26在CRC中的生物学功能,有望为CRC的早期诊断、预后评估及靶向治疗开发提供新的潜在分子靶标。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞来源

人CRC细胞系Caco-2、HCT116、SW480、SW620、LoVo购自中国医学科学院基础医学研究所(北京),正常结肠上皮细胞系NCM460购自合肥万物生物公司。

### 1.2 主要试剂

胎牛血清和RPMI-1640培养基购自美国Gibco公司;PBS、BCA蛋白浓度检测试剂盒、RIPA细胞裂解液均购自北京Solarbio公司;嘌呤霉素购自上海Beyotime Biotechnology公司;磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)激活剂740 Y-P、PI3K抑制剂LY294002购自美国MedChemExpress公司;β-actin、Vimentin、N-cadherin、E-cadherin、锌指转录因子Snail抗体购自美国Abcam公司;抗果糖转运体5(glucose transporter 5, GLUT5)、酮己糖激酶(ketohexokinase, KHK)抗体购自美国Proteintech公司;抗PI3K、蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、p-PI3K、p-AKT、p-mTOR抗体购自美国CST公司;羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗购自武汉普诺赛生物公司;TRIzol试剂、ChamQ SYBR qPCR Master Mix试剂盒购自南京诺唯赞生物公司;ECL化学发光液、SuperScript Ⅱ逆转录酶购自美国Thermo Fisher公司;DAPI试剂购自武汉赛维尔生物公司;Triton X-100购自北京百奥莱博公司。

DUSP26过表达质粒(DUSP26-OE)及其阴性对照质粒(DUSP26-OE-NC)、DUSP26敲低质粒(shDUSP26)及其阴性对照质粒(shDUSP26-NC)均购自上海吉玛基因公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 所有细胞均培养于37 ℃、5% $CO_2$的恒温恒湿培养箱中。Caco-2、SW480和SW620细胞在高糖DMEM培养基中培养,HCT116细胞在McCoy's 5A培养基中培养,LoVo细胞在Ham's F-12K培养基中培养,NCM460细胞在DMEM/F12培养基中培养。所有完全培养基均统一补充10%(v/v)胎牛血清和1%(v/v)青霉素-链霉素双抗溶液。各细胞进行qRT-PCR和Western blot检测,筛选出合适细胞进行后续实验。

1.3.2 细胞分组及处理 将SW480细胞和Caco-2细胞以5×$10^4$个/孔的密度接种于24孔板中,待细胞贴壁生长至汇合度为60%~70%时进行分组:DUSP26-OE组(SW480细胞中转染DUSP26-OE)、DUSP26-OENC组(SW480细胞中转染DUSP26-OE-NC)、shDUSP26组(Caco-2细胞中转染shDUSP26)、shDUSP26-NC组(Caco-2细胞中转染shDUSP26-NC)。24 h后,吸除原培养基,每孔加入500 μL含对应慢病毒及8 μg/mL Polybrene的新鲜完全培养基,使慢病毒以最佳感染复数持续感染细胞。感染6~8 h后,更换为新鲜的完全培养基继续培养72 h,弃去原培养基,更换为含有1.5 μg/mL嘌呤霉素的完全培养基持续筛选,每2~3 d更换1次筛选培养基,持续筛选7~14 d至阴性对照组细胞全部死亡,从而获得稳定转染目的基因的细胞系用于后续实验。

1.3.3 Western blot PBS清洗不同细胞系细胞及各组细胞除去培养基和死细胞,使用RIPA细胞裂解液收集蛋白,BCA试剂盒测定蛋白浓度。在10%聚丙烯酰胺凝胶上分离蛋白,再转移到PVDF膜上。5% BSA室温封闭1 h,然后将膜与目的一抗β-actin(1∶5 000)、Vimentin(1∶1 500)、N-cadherin(1∶1 500)、E-cadherin(1∶1 500)、Snail(1∶1 500)、GLUT5(1∶1 500)、KHK(1∶1 500)、PI3K(1∶2 000)、p-AKT(1∶2 000)、p-mTOR(1∶2 000)在4 ℃摇床中轻摇孵育过夜。次日清洗后,将膜与二抗室温孵育1 h;然后通过超敏ECL化学发光液显影,使用Image J软件分析灰度值。向DUSP26-OE组细胞培养体系加入10 μmol/L的PI3K激活剂740 Y-P(DUSP26-OE+740 Y-P组),向shDUSP26组细胞培养体系加入10 μmol/L的PI3K抑制剂LY294002(shDUSP26+LY294002组),重复进行蛋白检测。

1.3.4 qRT-PCR 提取细胞总RNA后,使用Super-Script Ⅱ对RNA进行逆转录获得互补DNA。使用Quantstudio 3实时PCR系统和ChamQ SYBR qPCR Master Mix试剂盒进行qPCR反应。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算mRNA表达水平,并以β-actin为内参。qRT-PCR引物序列见表1。

**表1 qRT-PCR引物序列**

| 基因 | 引物序列 |
|---|---|
| β-actin | 正向:5′-ACAACTTTGGTATCGTGGAAGG-3′<br>反向:5′-GCCATCACGCCACAGTTTC-3′ |
| DUSP26 | 正向:5′-CTGGGCTACACTGAGCACC-3′<br>反向:5′-AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG-3′ |

1.3.5 克隆形成实验 细胞接种在6孔板上,按照分组操作处理后,PBS清洗3次,除去培养基、胎牛血清及死细胞。使用4%多聚甲醛固定细胞,0.1%结晶紫溶液染色,然后进行拍照。

1.3.6 划痕实验 将细胞接种于6孔板,待细胞长满至显微镜视野内约70%时,用10 μL枪头在孔底划痕,造成细胞损伤。24 h后观察划痕愈合情况并拍照,使用Image J软件进行分析。

1.3.7 Transwell实验 将Matrigel(美国BD公司)用培养基按1∶6比例进行稀释,预涂在小室上表面,37 ℃下固化1 h。收集各组细胞并重悬于无血清培养基中,然后加入上室中,下室加入含血清培养基。孵育结束后,多聚甲醛固定20 min,0.1%结晶紫溶液室温染色20 min。倒置显微镜下拍照,并分析侵袭细胞数。

1.3.8 果糖含量检测 以含5 mmol/L果糖的培养基培养细胞。收集细胞上清,使用果糖含量检测试剂盒(北京索莱宝公司)按照说明书进行检测。

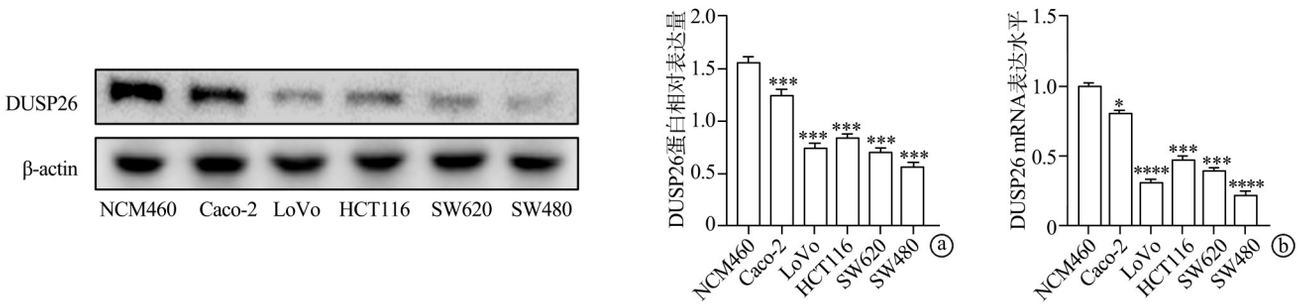
1.4 统计学分析

采用GraphPad Prism 7.0软件进行数据分析,每个实验重复3次,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间差异比较采用$t$检验,多组比较使用单因素方差分析(*One Way ANOVA*)。以$P$<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 DUSP26在CRC细胞中表达下调

DUSP26蛋白在CRC各细胞系中的表达水平均显著低于正常结肠细胞NCM460($P$<0.05);在CRC各细胞系中,DUSP26蛋白水平在Caco-2细胞中最高,在SW480细胞中最低(图1a),故使用这两种细胞进行后续实验。进一步行qRT-PCR分析发现,DUSP26 mRNA在CRC各细胞系中的表达水平同样显著低于NCM460细胞($P$<0.05),见图1b。这说明,DUSP26在CRC细胞中低表达。




a:DUSP26蛋白在不同细胞中的表达;b:DUSP26 mRNA在不同细胞中的表达 *:与NCM460细胞比较,$P<0.05$;***:与NCM460细胞比较,$P<0.001$;****:与NCM460细胞比较,$P<0.000\ 1$

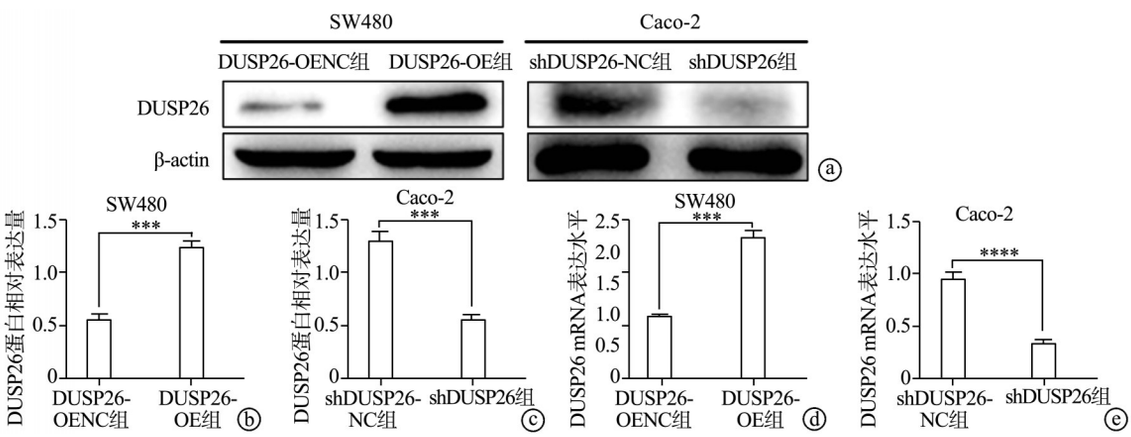
**图1 DUSP26在CRC细胞中表达下调**

## 2.2 DUSP26转染效率

DUSP26-OE组细胞中DUSP26蛋白和mRNA表达水平显著高于DUSP26-OENC组($P<0.05$),表明过表达成功。shDUSP26组细胞中DUSP26蛋白和mRNA表达水平均显著低于shDUSP26-NC组($P<0.05$),表明敲低成功,见图2。

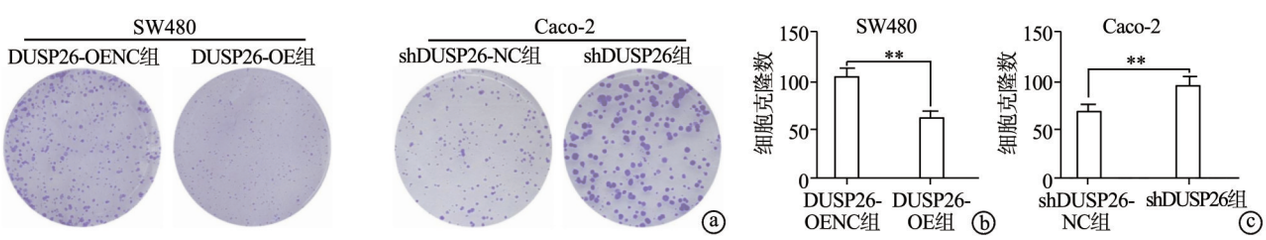
## 2.3 过表达/敲低DUSP26对CRC细胞增殖、迁移及侵袭的影响

DUSP26-OE组细胞增殖活性、细胞迁移能力显著低于DUSP26-OENC组,细胞侵袭数显著少于DUSP26-OENC组($P<0.05$);shDUSP26组细胞增殖活性、细胞迁移能力高于shDUSP26-NC组,细胞侵袭数显著多于shDUSP26-NC组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图3~5。




a:蛋白灰度图;b、c:过表达/敲低蛋白验证;d、e:过表达/敲低mRNA验证 ***:$P<0.001$;****:$P<0.000\ 1$

**图2 DUSP26转染效率检测**



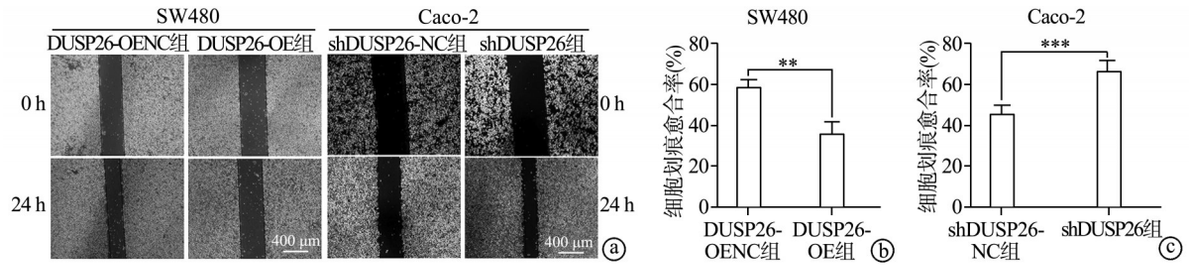

a:过表达/敲低DUSP26后对细胞克隆形成的影响;b:过表达DUSP26细胞克隆形成定量分析;c:敲低DUSP26细胞克隆形成定量分析 **:$P<0.01$

**图3 过表达/敲低DUSP26对细胞增殖的影响**

## 2.4 过表达/敲低DUSP26对CRC细胞果糖代谢和上皮间质转化的影响

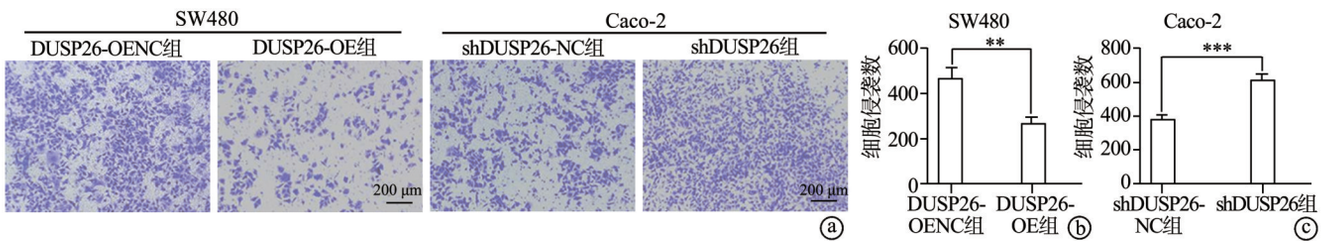
5 mmol/L果糖培养基培养24 h后,DUSP26-OE组细胞果糖浓度显著高于DUSP26-OENC组,shDUSP26组细胞果糖浓度显著低于shDUSP26-NC组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图6。

Western blot检测结果显示,与DUSP26-OENC相比,DUSP26-OE组细胞中GLUT5、KHK、Vimentin、N-cadherin、Snail蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),E-cadherin表达显著升高($P<0.05$);与shDUSP26-




a:过表达/敲低DUSP26对细胞迁移的影响;b、c:过表达/敲低DUSP26细胞迁移数定量分析　**:$P$<0.01;***:$P$<0.001

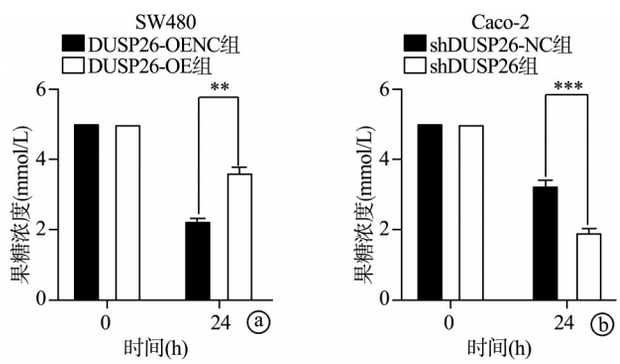
**图4　过表达/敲低DUSP26对细胞迁移的影响**




a:过表达/敲低DUSP26对细胞侵袭的影响;b、c:过表达/敲低DUSP26细胞侵袭数定量分析　**:$P$<0.01;***:$P$<0.001

**图5　过表达/敲低DUSP26对CRC细胞侵袭的影响**

NC组相比,shDUSP26组细胞中GLUT5、KHK、Vimentin、N-cadherin、Snail蛋白表达水平显著上升($P$<0.05),E-cadherin蛋白表达显著降低($P$<0.05),见图7。



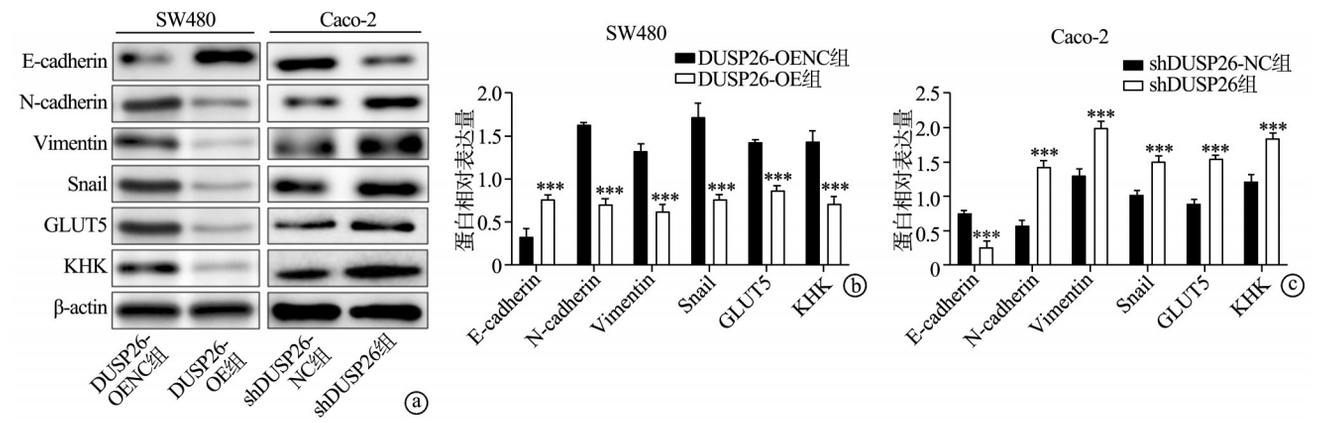

a:过表达DUSP26细胞果糖浓度变化;b:敲低DUSP26细胞果糖浓度变化　**:$P$<0.01;***:$P$<0.001

**图6　过表达/敲低DUSP26表达对CRC细胞果糖代谢的影响**

### 2.5　DUSP26调控PI3K/AKT/mTOR/GLUT5/KHK通路影响上皮间质转化

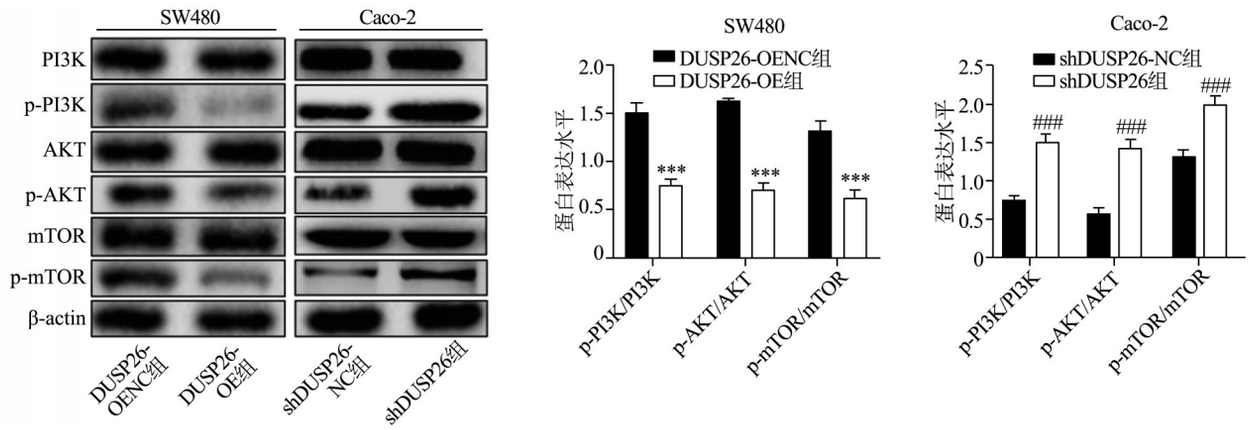
过表达DUSP26导致SW480细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR水平显著降低($P$<0.05),而敲低DUSP26则Caco-2细胞中p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-mTOR/mTOR水平显著升高($P$<0.05),见图8。

激活PI3K后DUSP26-OE组细胞中p-PI3K、p-AKT、p-mTOR、GLUT5、KHK、Vimentin、N-cadherin、Snail蛋白表达水平显著升高($P$<0.05),E-cadherin蛋白表达水平降低($P$<0.05);而抑制PI3K可逆转上述指标变化($P$<0.05),见图9。此外,激活PI3K显著逆转了DUSP26过表达对细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用;而抑制PI3K则显著增强敲低DUSP26对细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用(图10)。



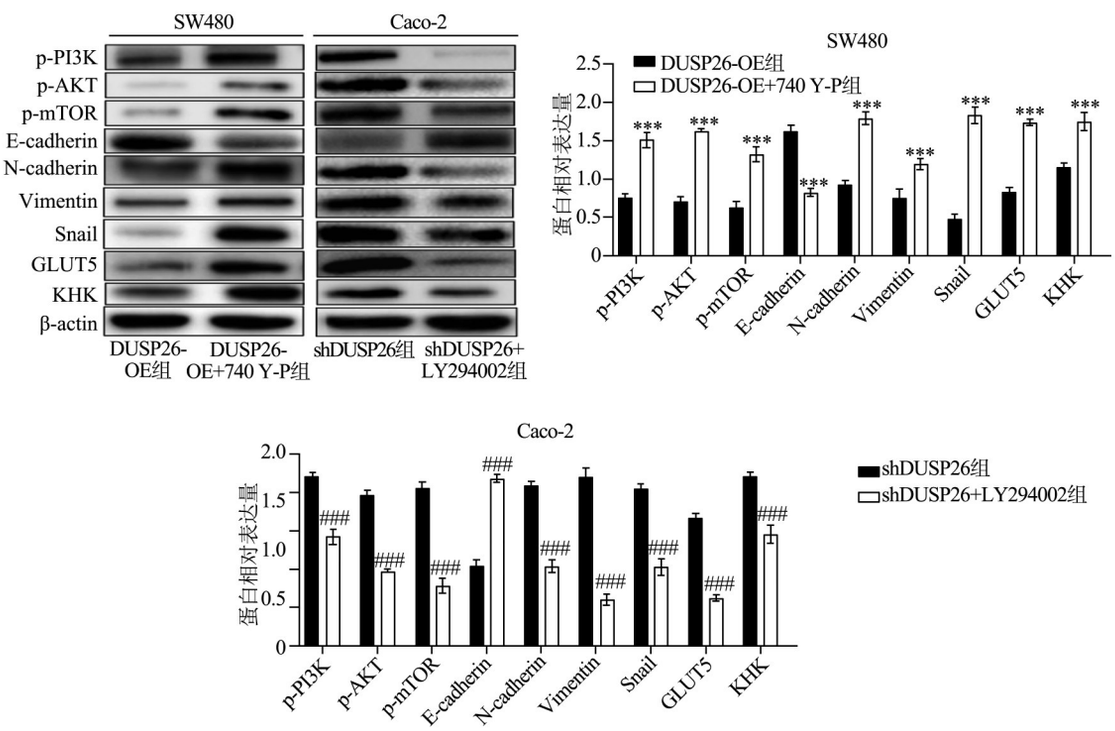

a:蛋白条带图;b:过表达DUSP26对上皮间质转化相关蛋白的影响;c:敲低DUSP26对上皮间质转化相关蛋白的影响　***:$P$<0.001

**图7　过表达/敲低DUSP26表达对CRC细胞上皮间质转化的影响**




***:与DUSP26-OENC组比较,$P<0.001$;###:与shDUSP26-NC组比较,$P<0.001$

**图8 过表达/抑制DUSP26对PI3K/AKT/mTOR通路的影响**




***:与DUSP26-OE组比较,$P<0.001$;###:与shDUSP26组比较,$P<0.001$

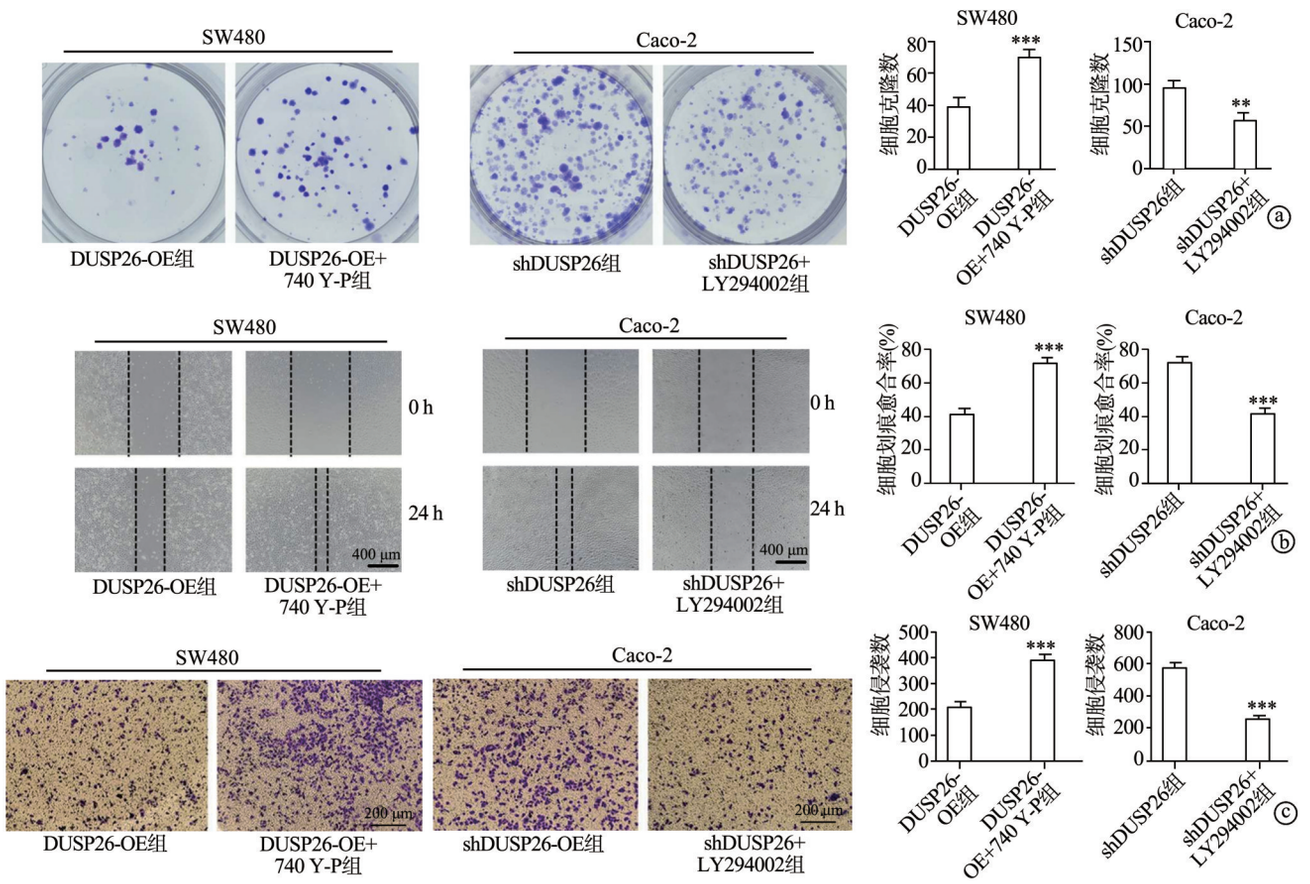
**图9 DUSP26调控PI3K/AKT/mTOR/GLUT5/KHK通路影响细胞上皮间质转化**

## 3 讨论

转移是导致CRC患者预后不良和治疗失败的核心问题[12]。全球疾病负担研究显示,CRC发病率与病死率居高不下,而转移性CRC患者的5年生存率显著降低,给临床带来巨大挑战[1,3]。目前的治疗策略(如化疗和靶向治疗),虽有一定成效,但普遍存在毒性、耐药等问题,使得探索新的低毒性、高特异性治疗靶点成为当务之急[4,6]。

DUSPs家族作为细胞内信号的关键负调控因子,其成员在多种癌症中扮演重要角色。如DUSP2在CRC中可因缺氧从而驱动肿瘤干性[13],DUSP6在肺癌中被mTOR通路调控[14],而DUSP28通过调控p38 MAPK影响肝细胞癌进展[15]。本研究亦发现,DUSP26在CRC细胞系中显著低表达,且其过表达能有效降低细胞的增殖、迁移和侵袭能力。这与既往研究观察到DUSP26在多种肿瘤组织中低表达或不表达的现象相符[16],进一步说明DUSP26可能为CRC的潜在抑癌基因。此外,DUSP26的抗肿瘤活性在宫颈癌和胶质母细胞瘤中亦有报道[17-18],提示其功能可能具有跨癌种的普遍性。

为阐明DUSP26的作用机制,本研究进一步分析发现,DUSP26过表达能抑制上皮间质转化。上皮间




a:激活/抑制PI3K对细胞克隆形成的影响;b:激活/抑制PI3K对细胞划痕愈合能力的影响;c:激活/抑制PI3K对细胞侵袭能力的影响 **:$P$<0.01;***:$P$<0.001

**图10 DUSP26调控PI3K/AKT/mTOR/GLUT5/KHK通路影响CRC细胞生物学过程**

质转化是癌细胞获得侵袭和转移能力的核心生物学过程,且受PI3K/AKT等多条通路的精密调控[19-21]。本研究首次将DUSP26与肿瘤代谢重编程联系起来,发现其能抑制GLUT5/KHK轴介导的果糖代谢。近年来的研究表明,果糖代谢并非良性替代途径,而是直接驱动CRC增殖和化疗耐药的关键代谢开关[22-23]。本研究结果显示,DUSP26可能通过同时遏制上皮间质转化和异常果糖代谢,从功能和能量两个层面协同抑制CRC转移。

本研究首次证实了DUSP26是通过负向调控PI3K/AKT/mTOR通路,协同抑制CRC细胞的上皮间质转化和果糖代谢,从而发挥其抗CRC转移作用的核心上游机制。本研究发现,过表达DUSP26能显著降低PI3K、AKT和mTOR的磷酸化水平,而敲低DUSP26则产生相反效应,这证明了DUSP26是该经典促癌通路的上游负调控因子,与DUSPs家族作为信号通路关键"刹车"的角色一致[9-10]。更为重要的是,本研究通过功能回复实验确立了PI3K/AKT/mTOR通路是DUSP26发挥功能的重要枢纽:激活PI3K/AKT/mTOR通路能够逆转由DUSP26过表达所引发的PI3K/AKT/mTOR通路抑制、GLUT5/KHK蛋白下调、上皮间质转化标志物(Vimentin、N-cadherin和Snail)表达降低及细胞增殖、迁移和侵袭能力减弱等一系列过程;反之,抑制该通路则能增强DUSP26过表达的效果,抵消因敲低DUSP26引起的促转移效应。这一正反双向验证强有力地证明了DUSP26的抑癌功能依赖于对PI3K/AKT/mTOR通路的抑制。这一发现将DUSP26精准定位到调控CRC转移的核心信号网络中。PI3K/AKT/mTOR通路是公认的调控细胞生存、增殖、代谢和上皮间质转化的关键角色[20,24]。因此,DUSP26很可能通过其磷酸酶活性去磷酸化并抑制该通路中的关键节点(如PI3K、AKT),一方面阻断其下游促上皮间质转化的转录程序(如Snail的上调)[20],另一方面通过下调HIF-1α等因子间接抑制GLUT5等果糖代谢关键基因的转录[23,25],从"细胞形态与功能"和"细胞能量与代谢"两个层面协同瓦解CRC细胞的转移基础,为靶向治疗CRC提供了明确的分子靶点。

综上所述,本研究系统揭示了DUSP26在CRC中的抑癌功能,并创新性发现其通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路,协同下调上皮间质转化和果糖代谢,从而

发挥抗转移作用的机制。这一发现不仅丰富了我们对DUSPs家族在肿瘤中作用的认识,也为抑制CRC转移和耐药提供了新的理论依据和潜在的联合治疗靶点。未来的研究可进一步探索DUSP26表达调控的上游机制,并验证其与现有疗法联用的协同效果,以期改善转移性CRC患者的临床预后。

## [参考文献]


[1] Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, et al. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2019, 394(10207): 1467-1480. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.

[2] Patel SG, Dominitz JA. Screening for colorectal cancer[J]. Ann Intern Med, 2024, 177(4): ITC49-ITC64. doi:10.7326/AITC202404160.

[3] GBD 2019 Colorectal Cancer Collaborators. Global, regional, and national burden of colorectal cancer and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(7): 627-647. doi: 10.1016/S2468-1253(22)00044-9.

[4] Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 325(7): 669-685. doi: 10.1001/jama.2021.0106.

[5] Lundberg FE, Birgisson H, Johannesen TB, et al. Survival trends in patients diagnosed with colon and rectal cancer in the Nordic countries 1990-2016: the NORDCAN survival studies[J]. Eur J Cancer, 2022, 172: 76-84. doi: 10.1016/j.ejca.2022.05.032.

[6] Grasso CS, Giannakis M, Wells DK, et al. Genetic mechanisms of immune evasion in colorectal cancer[J]. Cancer Discov, 2018, 8(6): 730-749. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1327.

[7] Luo XJ, Zhao Q, Liu J, et al. Novel genetic and epigenetic biomarkers of prognostic and predictive significance in stage Ⅱ/Ⅲ colorectal cancer[J]. Mol Ther, 2021, 29(2): 587-596. doi: 10.1016/j.ymthe.2020.12.017.

[8] 杨清清,曾 宇,田 音. N-糖基化调控NANOG在结直肠癌干细胞特性和凋亡中的影响[J]. 局解手术学杂志, 2025, 34(12): 1063-1068. doi:10.11659/jjssx.11E024083.

[9] Thompson EM, Stoker AW. A review of DUSP26: structure, regulation and relevance in human disease[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): 776. doi: 10.3390/ijms22020776.

[10] Chen HF, Chuang HC, Tan TH. Regulation of dual-specificity phosphatase (DUSP) ubiquitination and protein stability[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(11): 2668. doi: 10.3390/ijms20112668.

[11] Yu W, Imoto I, Inoue J, et al. A novel amplification target, DUSP26, promotes anaplastic thyroid cancer cell growth by inhibiting p38 MAPK activity[J]. Oncogene, 2007, 26(8): 1178-1187. doi: 10.1038/sj.onc.1209899.

[12] 王桂华,朱正宇. 转移性结直肠癌精准诊疗的现状与进展[J]. 中华消化外科杂志, 2025, 24(6): 712-718. doi: 10.3760/cma.j.cn115610-20250331-00125.

[13] Hou PC, Li YH, Lin SC, et al. Hypoxia-induced downregulation of DUSP-2 phosphatase drives colon cancer stemness[J]. Cancer Res, 2017, 77(16): 4305-4316. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2990.

[14] Bermudez O, Marchetti S, Pagès G, et al. Post-translational regulation of the ERK phosphatase DUSP6/MKP3 by the mTOR pathway[J]. Oncogene, 2008, 27(26): 3685-3691. doi: 10.1038/sj.onc.1211040.

[15] Wang D, Han S, Peng R, et al. DUSP28 contributes to human hepatocellular carcinoma via regulation of the p38 MAPK signaling[J]. Int J Oncol, 2014, 45(6): 2596-2604. doi: 10.3892/ijo.2014.2653.

[16] Bourgonje AM, Verrijp K, Schepens JT, et al. Comprehensive protein tyrosine phosphatase mRNA profiling identifies new regulators in the progression of glioma[J]. Acta Neuropathol Commun, 2016, 4(1): 96. doi: 10.1186/s40478-016-0372-x.

[17] Tanuma N, Nomura M, Ikeda M, et al. Protein phosphatase Dusp26 associates with KIF3 motor and promotes N-cadherin-mediated cell-cell adhesion[J]. Oncogene, 2009, 28(5): 752-761. doi: 10.1038/onc.2008.431.

[18] Prabhakar S, Asuthkar S, Lee W, et al. Targeting DUSPs in glioblastomas - wielding a double-edged sword?[J]. Cell Biol Int, 2014, 38(2): 145-153. doi: 10.1002/cbin.10201.

[19] Chen J, Zeng Y, Wu R, et al. Decreased DUSP26 expression promotes malignant behavior in glioblastoma cells via deregulation of MAPK and Akt signaling pathway[J]. Front Oncol, 2021, 11: 622826. doi: 10.3389/fonc.2021.676647.

[20] Chi M, Liu J, Mei C, et al. TEAD4 functions as a prognostic biomarker and triggers EMT via PI3K/AKT pathway in bladder cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 175. doi:10.1186/s13046-022-02377-3.

[21] Ganesh K, Massagué J. Targeting metastatic cancer[J]. Nat Med, 2021, 27(1): 34-44. doi: 10.1038/s41591-020-01195-4.

[22] Cañellas-Socias A, Sancho E, Batlle E. Mechanisms of metastatic colorectal cancer[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2024, 21(9): 609-625. doi: 10.1038/s41575-024-00934-z.

[23] Jiang H, Lin Q, Ma L, et al. Fructose and fructose kinase in cancer and other pathologies[J]. J Genet Genomics, 2021, 48(7): 531-539. doi: 10.1016/j.jgg.2021.06.006.

[24] Das D, Afzal NU, Wann SB, et al. A ~24 kDa protein isolated from protein isolates of Hawaijar, popular fermented soy food of North-East India exhibited promising antidiabetic potential via stimulating PI3K/AKT/GLUT4 signaling pathway of muscle glucose metabolism[J]. Int J Biol Macromol, 2023, 224: 1025-1039. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.10.187.

[25] Shen Z, Li Z, Liu Y, et al. GLUT5-KHK axis-mediated fructose metabolism drives proliferation and chemotherapy resistance of colorectal cancer[J]. Cancer Lett, 2022, 534: 215617. doi: 10.1016/j.canlet.2022.215617.


(编辑:龙小芬)