

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.11.011

· 临床研究 ·

结直肠癌组织和细胞中 DEAD 盒解旋酶 10 和 Bystin 样蛋白的表达及其临床意义

涂艳娟^a, 郑雪琴^b, 林欣怡^b, 杨静波^b, 邱燕如^b, 许天文^b(福建医科大学附属第二医院 a. 病理科; b. 肿瘤内科, 福建泉州 362000)

[摘要] **目的:** 探讨结直肠癌(CRC)组织及结肠癌细胞 DLD-1 中 DEAD 盒解旋酶 10(DDX10)与 Bystin-like(BYSL)的关系及其临床意义。**方法:** 收集 2017 年 3 月至 2018 年 3 月间福建医科大学附属第二医院手术切除的 78 例 CRC 组织和配对癌旁组织, 采用免疫组织化学 Envision 法检测癌组织和癌旁组织中 DDX10 和 BYSL 的表达水平, 采用卡方检验、Pearson 相关性分析和 Kaplan-Meier 法分别分析 CRC 组织中 DDX10、BYSL 蛋白表达与其患者的临床病例特征的关系, 两者表达的相关性, 以及与患者 PFS 和 OS 的关系。利用瞬时转染技术在 DLD-1 细胞中分别转染 siDDX10 和 siNC, 用 qPCR 法检测 DLD-1 细胞中敲减 DDX10 的表达对 BYSL 表达的影响, 用 CCK-8 及 Transwell 实验验证 DDX10 及 BYSL 表达对结肠癌细胞增殖迁移及侵袭的影响。**结果:** 免疫组织化学 Envision 法检测显示, 与癌旁组织相比, DDX10 和 BYSL 在 CRC 组织中呈高表达(73.08% 和 74.36%)。CRC 组织中 DDX10 与 BYSL 肿瘤分期、是否发生淋巴结转移及复发等临床病例特征均有关联(均 $P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示, DDX10 与 BYSL 的表达呈正相关($r = 0.636, P < 0.001$)。Kaplan-Meier 生存分析结果显示, DDX10 与 BYSL 的高表达与患者更差的预后相关。Logistic 回归分析发现, DDX10 与 BYSL 均是 CRC 复发的独立风险因素。CCK-8 法及 Transwell 实验检测结果显示, 敲降 DDX10 的表达可使 BYSL 表达降低, 且可抑制 DLD-1 细胞的增殖、迁移、侵袭能力(均 $P < 0.05$)。**结论:** DDX10 和 BYSL 在 CRC 组织中呈高表达, 两者表达水平呈正相关, 且与患者更差的预后相关, 是 CRC 复发的独立风险因素。可调控结直肠癌 DLD-1 细胞的增殖、迁移、侵袭能力。

[关键词] 结直肠癌; DEAD 盒解旋酶 10; Bystin-like; 复发; 预后

[中图分类号] R739.41; R730.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)11-1009-07

Expression of DEAD box RNA helicases 10 and Bystin-like proteins in colorectal cancer tissues and cells and their clinical significance

TU Yanjuan^a, ZHENG Xueqin^b, LIN Xinyi^b, YANG Jingbo^b, QIU Yanru^b, XU Tianwen^b (a. Department of Pathology, b. Department of Medical Oncology, the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation between DEAD box RNA helicases 10 (DDX10) and Bystin-like (BYSL) in colorectal cancer (CRC) tissues and colon cancer DLD-1 cells and its clinical significance. **Methods:** A total of 78 pairs of CRC tissues and corresponding paracancerous tissues surgically resected in the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University from March 2017 to March 2018 were collected for this study. The expression levels of DDX10 and BYSL in the cancer and paracancerous tissues were detected by immunohistochemistry EnVision method. siDDX10 and siNC were transfected into DLD-1 cells by transient transfection technology, respectively. The effect of DDX10 expression on BYSL in colorectal cancer cells was detected by PCR. CCK-8 and transwell assays were used to verify the effect of DDX10 and BYSL on proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells. **Results:** The immunohistochemistry EnVision results showed that the expression levels of DDX10 (73.08%) and BYSL (74.36%) were significantly higher in colorectal cancer tissues compared with paracancerous tissues. The results of chi-square test showed that the differences in DDX10 and BYSL expression were statistically significant in CRC patients with different tumor stages and different lymph node metastasis and recurrence status (all $P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that DDX10 expression was positively correlated with BYSL expression ($r = 0.636, P < 0.001$). Kaplan-Meier survival analysis showed that the high expression of DDX10 and BYSL was correlated with a worse prognosis of patients. Logistic regression analysis proved that DDX10 and BYSL were independent risk factors for CRC recurrence. The results of CCK-8 assay and Transwell assay showed that suppressing the expression of DDX10 could decrease the expression of BYSL and inhibit

[基金项目] 吴阶平医学基金(No.320.6750.2021-02-136)

[作者简介] 涂艳娟(1989—),女,学士,住院医师,主要从事实体瘤的病理学及生理学机制研究。E-mail: 1840637927@qq.com

[通信作者] 许天文, E-mail: xutianwen53@126.com

the proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells (all $P < 0.05$). **Conclusion:** DDX10 and BYSL are highly expressed in CRC tissues, and they are positively associated with each other. Higher expression levels of DDX10 and BYSL are associated with poorer patient prognosis and were independent risk factors for CRC recurrence. Suppressing the expression of DDX10 can decrease the expression of BYSL, and inhibit the proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells.

[Key words] colorectal cancer (CRC); DEAD box RNA helicases 10 (DDX10); Bystin-like (BYSL); recurrence; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(11): 1009-1015. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.11.011]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上第三大最常见的癌症,是癌症患者死亡的第二大原因^[1]。最新癌症数据报告^[2]显示,全球每年约有190万CRC新发病例,占总人群癌症发病率的8%,且发病率呈逐年上升趋势。中国CRC发病率占2020年全球新发病例的29%^[3-5]。早期CRC患者经过规范化治疗,有较好的预后,但仍有40%~50%的CRC患者会术后复发^[6]。约20%的患者在就诊时就存在远处转移^[7-8],且其5年生存率仅有15%^[3];目前,对该类患者的治疗方式主要为全身治疗,但是疗效有限,有些患者无法从现有的靶向治疗及免疫治疗中获益,亟需寻找新的治疗手段改善这部分患者的预后。

DEAD盒RNA解旋酶(DEAD box RNA helicase, DDX)是一组具有多个家族成员的蛋白质,是真核生物RNA解旋酶中最大的一类,几乎在mRNA处理和翻译的所有步骤中都发挥着关键作用^[9-10],可在癌症中调节mRNA翻译^[11]。其机制可能是RNA解旋酶可介导具有复杂5'-UTR结构的致癌mRNA的cap依赖性翻译起始。一些DEAD盒蛋白可促进许多具有长5'-UTR mRNA结构的癌基因翻译,起到促癌作用^[12-13]。DDX10是该家族具有代表性的蛋白之一。研究显示,DDX10^[14-18]及Bystin-like (BYSL)^[19-22]在多种肿瘤发生发展中起着至关重要的作用。另有研究^[23]显示,DDX10及BYSL在癌症中的表达密切相关,其机制可能是DDX10通过调节MYC等肿瘤细胞分子的表达,影响下游BYSL的表达,共同参与肿瘤细胞分裂过程中的核糖体合成,从而协同调控癌症的发生发展,但两者在结直肠中的关系尚不明确,探索两者在CRC中的表达及作用对寻找新的治疗靶点具有重要临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2017年3月至2018年3月保存于福建医科大学附属第二医院病理科手术切除的78例CRC组织和配对癌旁组织石蜡标本,经H-E染色后由2位以上病理医师确诊。78例患者中,男27例、女51例;年龄31~82岁,平均(60.40±10.56)岁;术后病理确诊肿瘤发生于结肠的49例、直肠的29例;存在淋巴结转移46例(58.97%);病理分期为I~II期32例(41.03%);共有30例发生复

发。对所有患者进行随访,随访中位数时间为47个月。所有患者均未合并其他系统恶性肿瘤。本研究取得患者知情同意并签署了同意书,本研究方案通过福建医科大学附属第二医院伦理委员会审批(伦理号155)。

1.2 主要试剂

鼠抗人DDX10单克隆抗体(克隆号17857-1-AP)、BYSL单克隆抗体(克隆号28319-1-AP)购自Proteintech公司;抗体稀释液、鼠/兔通用二抗、PBS缓冲液、DAB染色剂均购自福州迈新公司。DLD-1细胞购自Procell公司,胎牛血清及培养基购自Gibco公司,DDX10引物、BYSL引物、GAPDH引物、DDX10 siRNA由上海汉恒生物合成;mRNA提取试剂盒购自上海碧云天公司,cDNA合成试剂盒、TB Green qPCR Premix扩增试剂盒购自日本TaKaRa公司。

1.3 免疫组化Envision法检测CRC组织和癌旁组织中DDX10及BYSL的表达

CRC组织和癌旁组织经常规石蜡包埋、4 μm厚连续切片,经烤片、脱蜡及水化后,在柠檬酸抗原修复液中高压修复抗原,阻断内源性过氧化氢酶活性,滴加均1:200稀释的DDX10和BYSL一抗室温下处理1.5 h,滴加二抗室温下处理30 min, DAB显色1.5 min,于去离子水中终止显色,苏木精复染、盐酸乙醇分化、梯度乙醇脱水、吹干、封片等,在显微镜下观察(放大倍数200×)。用已知阳性组织作为阳性对照,以PBS代替一抗作为阴性对照。阳性结果判定方法:免疫组化评估由2名病理科医生采用双盲法操作,DDX10及BYSL蛋白定位于细胞膜和细胞质,基于免疫阳性染色癌细胞的百分比对DDX10及BYSL表达进行评分,随机选5个视野下观察,结合染色强度和阳性细胞百分比来评定表达水平。染色强度评分如下:0分无着色、1分淡黄色、2分浅褐色、3分深褐色;阳性细胞密度评分为阳性细胞数0%~25%为1分、>25%~50%为2分、>50%~75%为3分、>75%~100%为4分。两项相乘,≥4分为高表达,<4分为低表达。

1.4 细胞分组与转染

由上海汉恒生物有限公司设计并合成3条DDX10基因的编码区 siRNA (siDDX10-1、siDDX10-2、siDDX10-3)及空载对照 siRNA (NC);选择生长状态良好的细胞进行转染,分别在DLD-1细胞培养皿中共转染3条干扰 siRNA 作为实验组 (siDDX10

组)、转染阴性对照无义 siRNA 作为对照组 (si-NC 组), 仅加入 LipoRNAi 转染试剂作为空白组 (Ctrl 组)。siDDX10-1 为 5'-UACAUUUAUCUUUUCUAU GUUTT-3'; siDDX10-2 为 5'-AUUCUUUCCUACUU UUCGGAGTT-3'; siDDX10-3 为 5'-UAGAAGCGA UCGUAUCUCCAATT-3'; NC siRNA 为 5'-UUCUCC GAACGUGUCACGUTT-3'。

1.5 qPCR 法检测 DLD-1 细胞中 DDX10 和 BYSL 的表达

细胞转染 24 h 后, 采用 mRNA 提取试剂盒提取细胞中的总 RNA, 用反转录试剂盒 (RRO47Q) 将 RNA 反转录为 cDNA, 用 TB Green qPCR Premix 扩增试剂盒 (RR420Q) 以 cDNA 作为模板进行 qPCR。DDX10 上游引物为 5'-AGTAGGCGAGTATCG CGTAT-3', 下游引物为 3'-CCA ACCGTACTGAC-5'; BYSL 上游引物为 5'-GGAATACAGCGGTGCCA ACA-3', 下游引物为 3'-GCCACAGCACACAGGCA GTTCA-5'; GAPDH 上游引物为 5'-TTGGTATCGT GGAAGGACTCA-3', 下游引物为 3'-AGTAGAGGC AGGGATGTT-5'。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s、60 °C 退火 30 s、60 °C 延伸 30 s, 共循环 40 次。用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 DDX10、BYSL 和 GAPDH 基因 mRNA 的相对表达量。验证成功构建 DDX10 低表达细胞, 检测 DDX10 表达水平对 BYSL 的影响。

1.6 CCK-8 及 Transwell 实验检测 DLD-1 细胞的增殖、迁移及侵袭能力

1.6.1 CCK-8 法检测 DLD-1 细胞的增殖能力

细胞转染 24 h 后进行, 用血球计数板计数细胞并以完全培养基稀释细胞至密度为 5×10^3 个/100 μ L, 在 96 孔板中每孔加入 100 μ L 细胞悬液, 设置 5~8 个

复孔, 分别在 0、24、48 和 72 h 加入 10 μ L CCK-8 试剂及 90 μ L 的不含血清的 M5 基础培养基, 2 h 后用酶标仪检测 450 nm 波长处的光密度 (D) 值。

1.6.2 Transwell 实验检测 DLD-1 细胞的迁移及侵袭能力

转染 siRNA 片段 24 h 后, 用血球计数板计数细胞并以不含血清的 M5 基础培养基稀释细胞至密度为 1×10^5 个/mL, 将无 Matrigel 基质胶和有 Matrigel 基质胶的 Transwell 小室放入 24 孔板中, 在小室上室加入 200 μ L 细胞悬液, 下室加入 600 μ L 完全培养基, 置于培养箱中培养; 培养 24~48 h 后, 4% 多聚甲醛固定细胞 5 min, 0.1% 结晶紫染色 5 min, PBS 清洗 2 次, 将 Transwell 小室倒扣于载玻片上, 显微镜下 (放大倍数 200 \times) 随机选取 5 个视野, 计数迁移细胞数。

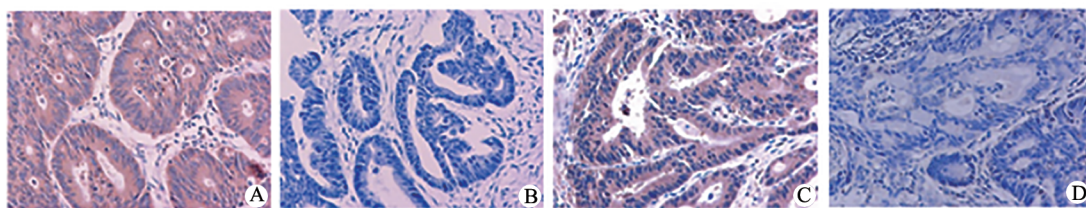
1.7 统计学处理

所有数据采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析及作图。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, DDX10 及 BYSL 表达与 CRC 患者病理特征的关系采用 χ^2 检验或者 Fisher 精确检验分析, DDX10 与 BYSL 表达的关系分析采用 Pearson 相关性分析, 生存分析应用 Kaplan-Meier 生存曲线法, 多因素分析采用 Logistic 回归法, 多组均数间的比较用 t 检验与单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRC 组织中 DDX10 及 BYSL 呈高表达

免疫组化染色结果 (图 1) 显示, DDX10 及 BYSL 阳性表达定位于细胞膜和细胞质, 78 例 CRC 组织中 DDX10 及 BYSL 高表达率分别为 73.07% (57/78) 及 74.36% (58/78)。



A: CRC 组织中 DDX10 呈高表达; B: CRC 组织中 DDX10 表达阴性; C: CRC 组织中 BYSL 呈高表达; D: CRC 组织中 BYSL 表达阴性。

图 1 CRC 组织中 DDX10 及 BYSL 表达 ($\times 200$)

2.2 CRC 组织中 DDX10 及 BYSL 高表达与肿瘤分期、淋巴转移和复发有关联

χ^2 检验分析结果 (表 1) 显示, 不同肿瘤分期及是否发生淋巴结转移及复发的 CRC 患者, DDX10 及 BYSL 表达差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。不同性别、年龄、肿瘤大小、病理分级、大体类型、神经侵犯和肿瘤位置等的 CRC 患者, DDX10 及 BYSL 表达

均差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

2.3 CRC 组织中 DDX10 与 BYSL 的表达呈正相关

Pearson 相关分析结果显示, DDX10 与 BYSL 的表达呈正相关 ($r = 0.636, P < 0.001$)。DDX10 高表达和低表达患者的 BYSL 高表达率分别为 91.23% 和 28.57%, DDX10 高表达的患者 BYSL 高表达率显著增加 ($P < 0.01$)。同时发现, DDX10⁺/BYSL⁺ 型患者的肿瘤分期更

晚、更易发生脉管侵犯、淋巴结转移和术后复发(均 $P < 0.05$, 表1), 提示该类型肿瘤可能与更高的恶性度相关。

2.4 CRC 组织中 DDX10 及 BYSL 的高表达与 CRC 患者预后不良相关, 均是其复发的独立危险因素

Kaplan-Meier 生存分析结果(图2)显示, DDX10 和 BYSL 表达与 CRC 患者的 PFS 及 OS 均具有相关性(均 $P < 0.05$)。DDX10 高表达或者 BYSL 高表达, 以及 DDX10/BYSL 均高表达的患者有更差的 PFS 及 OS。依据是否发生复发将患者分为复发组和非复发组, 通过 Logistic 回归分析发现, DDX10 和 BYSL 均是 CRC 复发的独立风险因素 ($Wald \chi^2 = 47.165, P = 0.007; Wald \chi^2 = 5.419, P = 0.020$)。

2.5 敲低 DDX10 后 DLD-1 细胞中 BYSL 的表达也

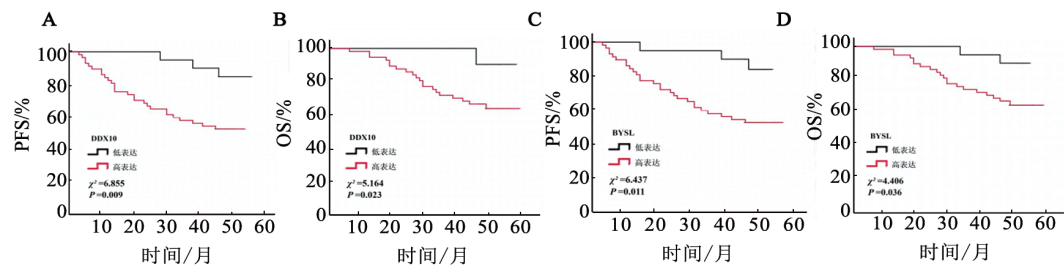
明显降低

qPCR 法对转染效率进行检测, 结果显示, si-NC 组与 Ctrl 组 mRNA 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 siDDX10 组 mRNA 表达水平均低于 si-NC 组与 Ctrl 组(均 $P < 0.05$)。证明 DLD-1 细胞中 DDX10 基因敲低成功。

在敲低 DDX10 后, 对 BYSL mRNA 表达水平进行检测, 结果显示, si-NC 组与 Ctrl 组 BYSL mRNA 表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 siDDX10 组 BYSL mRNA 表达水平均低于 si-NC 组和 Ctrl 组(均 $P < 0.05$) (图3), 结合术后病理组织免疫组化结果显示的两者表达与病理特征及预后的关系, 再次证明 DDX10 与 BYSL 呈正相关。

表1 不同特征的CRC患者 DDX10 和 BYSL 表达(n)

病理特征	N	DDX10 表达		χ^2	P	BYSL 表达		χ^2	P	DDX10 ⁺ /BYSL ⁺		χ^2	P
		高	低			高	低			是	否		
性别													
男	51	37	14	0.021	1.000	36	15	1.009	0.415	33	18	0.255	0.404
女	27	20	07			22	5			19	8		
年龄/岁													
<60	53	37	16	0.896	0.420	38	15	0.614	0.581	34	19	0.471	0.337
≥60	25	20	5			20	5			18	7		
肿瘤最长径/cm													
≤5	67	47	20	2.070	0.271	49	18	0.374	0.791	43	24	1.323	0.214
>5	11	10	1			9	2			9	2		
病理分级													
中/高分化	71	20	11	0.624	0.667	52	19	0.520	0.670	47	24	0.078	0.571
低分化	7	6	1			6	1			5	2		
大体类型													
溃疡型	63	45	18	0.922	0.666	46	17	0.794	0.894	41	22	1.110	0.700
隆起型	13	10	3			10	3			9	4		
浸润型	2	2	0			2	0			2	0		
脉管侵犯													
≤35	29	25	4	4.045	0.064	25	4	3.399	0.055	24	5	5.379	0.017
>35	49	32	17			33	16			28	21		
神经侵犯													
是	11	10	1	2.070	0.271	10	0	1.840	0.272	10	1	3.387	0.061
否	67	47	20			48	19			42	25		
肿瘤位置													
结肠	49	35	14	0.182	0.794	36	13	0.026	1.000	32	17	0.110	0.470
直肠	29	22	7			22	7			20	9		
淋巴结转移													
有	46	44	2	29.044	<0.001	41	5	12.832	0.001	39	7	16.559	<0.001
无	32	13	19			17	15			13	19		
TNM分期													
I~II	32	13	19	29.044	<0.001	17	15	12.832	<0.001	13	19	16.559	<0.001
III-IV	46	44	2			41	5			39	7		
复发													
是	30	27	3	7.096	0.009	27	3	6.255	0.010	26	4	8.775	0.003
否	48	30	18			31	17			26	22		



A: DDX10 高表达组与低表达组 PSF 差异; B: DDX10 高表达组与低表达组 OS 差异; C: BYSL 高表达组与低表达组 PSF 差异; D: DDX10 高表达组与低表达组 OS 差异。

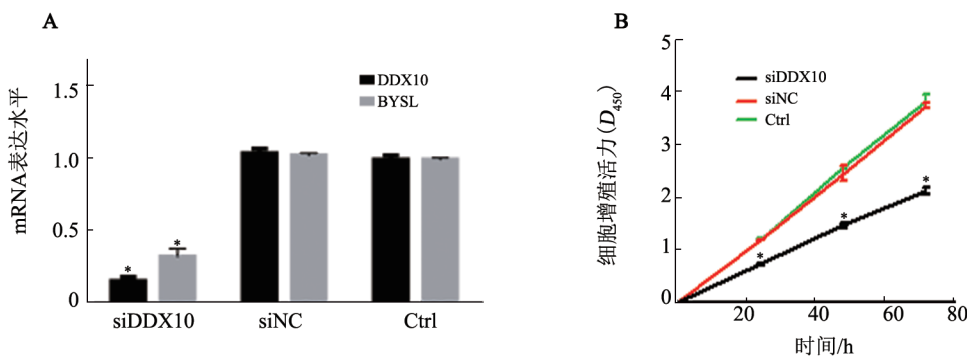
图2 Kaplan-Meier 法分析 DDX10 及 BYSL 表达与患者 PFS 及 OS 的关系

2.6 敲低 DDX10 基因在降低 BYSL 表达的同时可显著抑制 DLD-1 细胞的增殖

通过 CCK8 法检测 DLD-1 细胞的增殖能力, 比较各时间点 3 组细胞增殖水平, 结果显示, 0~72 h si-NC 组与 Ctrl 组 D 值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 从第 24 h 开始, siDDX10 组 D 值低于 si-NC 组与 Ctrl 组 (均 $P < 0.05$), 差异有统计学意义, 说明敲低 DDX10 基因在降低 BYSL 表达的同时可显著抑制 DLD-1 细胞的增殖能力 (图 3)。

2.7 敲低 DDX10 可显著抑制 DLD-1 细胞的迁移及侵袭能力

通过 Transwell 迁移实验检测细胞迁移能力, 结果显示, si-NC 组与 Ctrl 组迁移及侵袭能力差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 而 siDDX10 组迁移及侵袭能力均低于 si-NC 组与 Ctrl 组, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。说明敲低 DDX10 可显著抑制 DLD-1 细胞的迁移及侵袭能力 (图 4)。



与 Ctrl 或 siNC 组比较, $P < 0.05$

图3 敲减 DDX10 后 DLD-1 细胞 DDX10 及 BYSL 的表达水平(A)及增殖能力的改变(B)

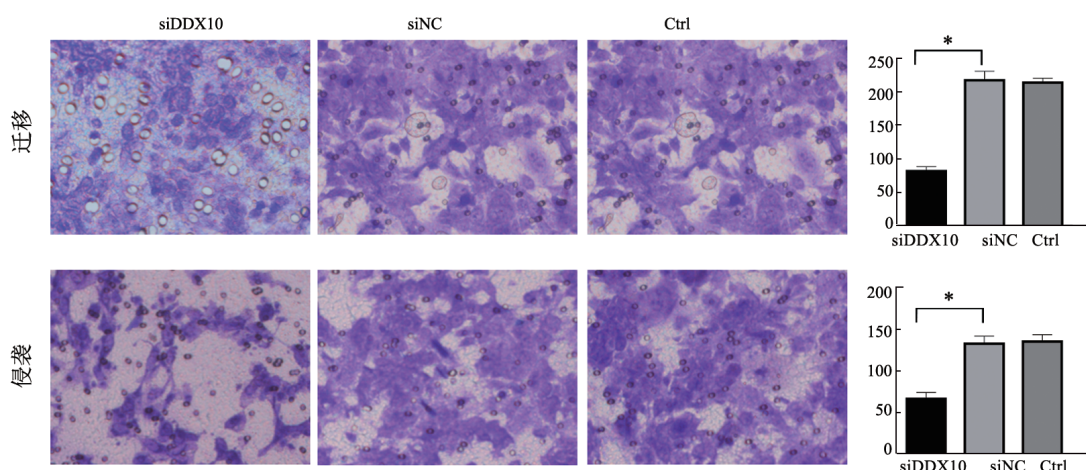
3 讨论

DDX10 可参与多种癌症的发生发展, 与患者的不良预后有关。该基因可在肺癌^[14]、骨肉瘤^[15, 24]、结直肠癌^[17]、膀胱癌^[18]等多个癌种中的表达升高。LIU 等^[14]研究显示, DDX10 在肺癌中高表达, 且与患者不良预后相关。DDX10 过表达可显著增强肺癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 抑制其凋亡水平, 使得肿瘤细胞的恶性度增加。SHI 等^[19]研究结果亦显示, 在体内实验中, DDX10 在骨肉瘤中高表达, 且与患者更差的预后相关; 体外实验中, 敲低 DDX10 表达可降低骨肉瘤细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 且可能是通过抑制 MAPK 途径来调节的, 从而使 DDX10 成为骨肉瘤治疗的新靶点。ZHOU 等^[17]的研究结果显示, DDX10

在结直肠癌中高表达, 可在体外促进结直肠癌细胞增殖和转移, 并且推测其机制可能是通过调节免疫细胞浸润从而影响肿瘤的发生和发展, 具体机制有待进一步探索发现。本研究显示, 78 例 CRC 组织中 DDX10 高表达的比例为 73.07% (57/78)。不同肿瘤分期以及是否发生淋巴结转移及复发的 CRC 患者, DDX10 表达差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。DDX10 高表达的患者有更差的 PFS 及 OS。DDX10 高表达是 CRC 患者复发的独立风险因素。这提示 DDX10 可能作为促癌基因发挥作用, 在结直肠癌中高表达促进肿瘤发生发展, 同时可能促进某些药物的耐药性, 使得患者在经过规范化诊疗后容易发生复发及进展, 导致 PFS 及 OS 缩短的不良预后, 但具体的机制有待进一步研究, 因此 DDX10 高表达可包

括结肠癌在内的某些类型的肿瘤恶性度增加。靶向 DDX10 治疗有望成为结直肠癌治疗的补充手段,改

善患者预后,但其可能的作用机制尚不明确,有待进一步研究。



与 siNC 或 Ctrl 组比较, * $P < 0.05$ 。

图4 沉默 DDX10 的表达对 DLD-1 细胞的迁移侵袭能力的影响

BYSL 是编码 bystin 的蛋白,是一种高度保守的基因,参与早期胚胎着床的细胞辅助蛋白^[25-27]。它是 MYC 原癌基因的直接下游靶点,而 MYC 的表达与细胞的增殖潜能密切相关,是人类癌症病因学中的关键转化因子。因此,BYSL 的表达可能与癌症的发生发展具有重要关联。目前研究显示,BYSL 在肺癌^[14]、前列腺癌^[28]、肝癌^[29]和卵巢癌^[30]中的表达升高,且与不良预后相关。GAO 等^[20]研究显示,BYSL 在神经胶质瘤中高表达。体外细胞实验证明沉默 BYSL 可抑制胶质瘤细胞增殖,阻碍细胞周期进展、诱导凋亡;而过表达 BYSL 蛋白导致相反的效果,其机制可能是通过与神经胶质瘤中的 mTORC2 复合物协同作用促进肿瘤生长。但目前尚无关于 BYSL 在结直肠癌中的研究进展。本研究显示,78 例 CRC 组织中 BYSL 高表达的比例为 74.36% (58/78)。不同肿瘤分期以及是否发生淋巴结转移及复发的 CRC 患者, BYSL 表达差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。BYSL 高表达的患者有更差的 PFS 及 OS,是 CRC 患者复发的独立风险因素。该结果提示, BYSL 可能的结直肠癌的另一促癌基因,在 CRC 中促进肿瘤的进展以及复发转移,是不良预后指标。但 DDX10 与 BYSL 在 CRC 组织中是否存在关联有待进一步研究。

QUAN 等^[23]研究显示, DDX10 与 BYSL 的表达密切相关, DDX10 和 BYSL 在软骨肉瘤及胶质瘤中高表达,且与患者总生存时间降低有关。本研究显示,在结肠癌组织中 DDX10 与 BYSL 的表达呈正相关 ($r=0.636, P < 0.001$),且 DDX10/BYSL 均高表达型患者的肿瘤分期更晚、更易发生脉管侵犯、淋巴结转移和术后复发(均 $P < 0.05$),该类型肿瘤可能与更高的

恶性度相关,提示 DDX10 及 BYSL 可能均作为 CRC 的促癌基因发挥协同作用,共同促进 CRC 的发生发展以及复发转移,双重靶向可能取得更好的疗效。本研究进一步在细胞学水平验证结肠癌细胞系 DLD-1 中 DDX10 的表达与 BYSL 的表达呈正相关,敲低 DDX10 的表达可显著降低 BYSL 的表达,同时抑制结肠癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力等生物学特性,但两者的调控关系以及调控结肠癌细胞的恶性生物学的机制有待进一步研究。以上研究结果提示, DDX10 和 BYSL 或可能成为结直肠癌靶向治疗的新靶点,且两者结合可能起协同作用进一步增加疗效,但具体机制有待进一步探索发现,靶向治疗的可能性及疗效须在更多的大宗临床试验中验证。

[参考文献]

- [1] BAIDOUN F, ELSHIWY 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] JOHDI N A, SUKOR N F. Colorectal cancer immunotherapy: options and strategies[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1624[2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01624/full>. DOI:10.3389/fimmu.2020.01624.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.
- [4] LU B, LI N, LUO C Y, *et al.* Colorectal cancer incidence and mortality: the current status, temporal trends and their attributable risk factors in 60 countries in 2000-2019[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(16):1941-1951. DOI:10.1097/CM9.0000000000001619.
- [5] FAN A, WANG B, WANG X, *et al.* Immunotherapy in colorectal

- cancer: current achievements and future perspective[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(14): 3837-3849. DOI:10.7150/ijbs.64077.
- [6] BHATTI I, PATEL M, DENNISON A R, *et al.* Utility of postoperative CEA for surveillance of recurrence after resection of primary colorectal cancer[J]. *Int J Surg*, 2015, 16(PtA): 123-128. DOI:10.1016/j.ijssu.2015.03.002.
- [7] BILLER L H, SCHRAG D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. *JAMA*, 2021, 325(7): 669-685. DOI: 10.1001/jama.2021.0106.
- [8] ZYGULSKA A L, PIERZCHALSKI P. Novel diagnostic biomarkers in colorectal cancer[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 852[2023-05-01]. <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/2/852>. DOI: 10.3390/ijms23020852.
- [9] MARINTCHEV A. Roles of helicases in translation initiation: a mechanistic view[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(8): 799-809. DOI: 10.1016/j.bbagr.2013.01.005.
- [10] ZHANG L, LI X. DEAD-Box RNA helicases in cell cycle control and clinical therapy[J/OL]. *Cells-Basel*, 2021, 10(6): 1540[2023-05-01]. <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/6/1540>. DOI: 10.3390/cells10061540.
- [11] VAN VOSS M R H, VAN DIEST P J, RAMAN V. Targeting RNA helicases in cancer: the translation trap[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868(2): 510-520. DOI: 10.1016/j.bbcan.2017.09.006.
- [12] PICKERING B M, WILLIS A E. The implications of structured 5' untranslated regions on translation and disease[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2005, 16(1): 39-47. DOI: 10.1016/j.semcdb.2004.11.006.
- [13] SECCHI M, LODOLA C, GARBELLI A, *et al.* DEAD-Box RNA helicases DDX3X and DDX5 as oncogenes or oncosuppressors: a network perspective[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(15): 3820 [2023-02-05]. <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/15/3820>. DOI: 10.3390/cancers14153820
- [14] LIU C, TANG J, DUAN X, *et al.* DDX10 promotes human lung carcinoma proliferation by U3 small nucleolar ribonucleoprotein IMP4[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(12): 1873-1880. DOI: 10.1111/1759-7714.13976.
- [15] SHI J H, HAO Y J. DDX10 overexpression predicts worse prognosis in osteosarcoma and its deletion prohibits cell activities modulated by MAPK pathway[J]. *Biochem Bioph Res Commun*, 2019, 510(4): 525-529. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.01.114.
- [16] GAI M, BO Q, QI L. Epigenetic down-regulated DDX10 promotes cell proliferation through Akt/NF- κ B pathway in ovarian cancer[J]. *Biochem Bioph Res Commun*, 2016, 469(4): 1000-1005. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.12.069.
- [17] ZHOU X, LIU Z, HE T, *et al.* DDX10 promotes the proliferation and metastasis of colorectal cancer cells *via* splicing RPL35[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 58[2023-05-01]. <https://cancer-ci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12935-022-02478-1>. DOI: 10.1186/s12935-022-02478-1.
- [18] JIAO X, HOOPER S D, DJUREINOVIC T, *et al.* Gene rearrangements in hormone receptor negative breast cancers revealed by mate pair sequencing[J/OL]. *Bmc Genomics*, 2013, 14: 165[2023-05-20]. <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-14-165>. DOI: 10.1186/1471-2164-14-165.
- [19] SHA Z, ZHOU J, WU Y, *et al.* BYSL promotes glioblastoma cell migration, invasion, and mesenchymal transition through the GSK-3 β / β -Catenin signaling pathway[J/OL]. *Front Oncol*, 2020, 10: 565225[2023-02-26]. <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2020.565225/full>. DOI: 10.3389/fonc.2020.565225.
- [20] GAO S, SHA Z, ZHOU J, *et al.* BYSL contributes to tumor growth by cooperating with the mTORC2 complex in gliomas[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(1): 88-104. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0096.
- [21] WANG H, XIAO W, ZHOU Q, *et al.* Bystin-like protein is upregulated in hepatocellular carcinoma and required for nucleogenesis in cancer cell proliferation[J]. *Cell Res*, 2009, 19(10): 1150-1164. DOI: 10.1038/cr.2009.99.
- [22] ZHANG J, TANG H, JIANG X, *et al.* Hypoxia-induced miR-378a-3p inhibits osteosarcoma invasion and epithelial-to-mesenchymal transition *via* BYSL regulation[J/OL]. *Front Genet*, 2021, 12: 804952[2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2021.804952/full>. DOI: 10.3389/fgene.2021.804952.
- [23] QUAN X, ZHAO C, GAO Z, *et al.* DDX10 and BYSL as the potential targets of chondrosarcoma and glioma[J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(46): e27669[2023-05-20]. https://journals.lww.com/md-journal/fulltext/2021/11190/ddx10_and_bysl_as_the_potential_targets_of.20.aspx. DOI: 10.1097/MD.00000000000027669.
- [24] JIANG S, ZHOU F, ZHANG Y, *et al.* Identification of tumorigenicity-associated genes in osteosarcoma cell lines based on bioinformatic analysis and experimental validation[J]. *J Cancer*, 2020, 11(12): 3623-3633. DOI: 10.7150/jca.37393.
- [25] ISHIKAWA H, YOSHIKAWA H, IZUMIKAWA K, *et al.* Poly(A)-specific ribonuclease regulates the processing of small-subunit rRNAs in human cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(6): 3437-3447. DOI: 10.1093/nar/gkw1047.
- [26] ADACHI K, SOETA-SANEYOSHI C, SAGARA H, *et al.* Crucial role of Bysl in mammalian preimplantation development as an integral factor for 40S ribosome biogenesis[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(6): 2202-2214. DOI: 10.1128/MCB.01908-06.
- [27] OLCZAK M, CHUTORAŃSKI D, KWIATKOWSKA M, *et al.* Bystin (BYSL) as a possible marker of severe hypoxic-ischemic changes in neuropathological examination of forensic cases[J]. *Forensic Sci Med Pat*, 2018, 14(1): 26-30. DOI: 10.1007/s12024-017-9942-x.
- [28] AYALA G E, DAI H, LI R, *et al.* Bystin in perineural invasion of prostate cancer[J]. *Prostate*, 2006, 66(3): 266-272. DOI: 10.1002/pros.20323.
- [29] WU Y, CHEN X, ZHAO Y, *et al.* Genome-wide DNA methylation and hydroxymethylation analysis reveal human menstrual blood-derived stem cells inhibit hepatocellular carcinoma growth through oncogenic pathway suppression *via* regulating 5-hmC in enhancer elements[J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 151[2023-02-05]. <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-019-1243-8>. DOI: 10.1186/s13287-019-1243-8.
- [30] GODOY H, MHAWECH-FAUCEGLIA P, BECK A, *et al.* Developmentally restricted differentiation antigens are targets for immunotherapy in epithelial ovarian carcinoma[J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2013, 32(6): 536-540. DOI: 10.1097/PGP.0b013e318275a550.

[收稿日期] 2023-07-29

[修回日期] 2023-11-14

[本文编辑] 郁晓路