

文章编号 1006-8147(2023)04-0360-07

论著

## NCOR2在结肠癌中的表达及对结肠癌细胞生长的影响

冯圣望,武燕洁,宣成昊,兰蓓

(天津医科大学基础医学院生物化学与分子生物学系,天津 300070)

**摘要** 目的:探讨核受体辅助抑制因子2(NCOR2)在结肠癌中的表达情况及对结肠癌细胞生长的作用。方法:利用TCGA数据库分析NCOR2在结肠癌组织中的表达及与预后的关系;在细胞水平上,利用shRNA敲低结肠癌细胞系RKO和SW480细胞中NCOR2的表达,通过MTT、EdU、克隆形成及细胞凋亡实验探究敲低NCOR2对结肠癌细胞的影响;利用TCGA数据库基因表达数据,根据NCOR2的中位表达量将肿瘤组织分成NCOR2 mRNA高、低表达组,筛选两组差异表达基因,进一步从高表达组下调基因中提取癌症相关的基因并分析其与NCOR2表达相关性。结果:TCGA数据分析显示,NCOR2在结肠癌组织中的表达高于正常组织( $P<0.001$ ),并且其高表达与结肠癌预后不良有关( $P<0.05$ );细胞水平实验证明,干扰NCOR2表达后,RKO和SW480细胞活力下降,细胞增殖能力减弱,且细胞凋亡水平增加。利用TCGA数据库发现,与低表达组相比,NCOR2高表达组共有176个上调基因,67个下调基因,并且基因相关性分析结果显示NCOR2与NRIF3( $r=-0.57, P<0.001$ )和CHAC2( $r=-0.52, P<0.001$ )表达呈负相关。在细胞水平上,RT-qPCR实验同样证明,NCOR2敲低后导致NRIF3和CHAC2的mRNA表达升高( $t_{NRIF3}=-15.99, t_{CHAC2}=-10.349$ ,均 $P<0.05$ )。结论:NCOR2在结肠癌中高表达,促进结肠癌细胞的生长,且与患者不良预后呈正相关,为结肠癌诊疗提供了新的潜在靶点。

**关键词** NCOR2;结肠癌;生长;预后分析

中图分类号 R735.3

文献标志码 A

## NCOR2 expression in colon cancer and its influence on cell growth

FENG Sheng-yun, WU Yan-jie, XUAN Cheng-hao, LAN Bei

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract** **Objective:** To explore the expression of nuclear receptor corepressor 2 (NCOR2) in colon cancer progression and its effect on the growth of colon cancer cells. **Methods:** The expression of NCOR2 in colon cancer tissues and the relationship with prognosis were analyzed using data from TCGA database. At the cellular level, shRNA was applied to knock down the expression of NCOR2 in RKO and SW480 colon cancer cell lines, and the effects of knocking down NCOR2 on colon cancer cells were examined by MTT, colony formation, EdU incorporation and Annexin V/PI staining assays. Tumor tissue was divided into NCOR2 mRNA high and low expression groups based on the median expression level of NCOR2 using gene expression data from the TCGA database. Two sets of differentially expressed genes were screened, and cancer related genes were further extracted from the down regulated genes in the high expression group and analyzed for their correlation with NCOR2 expression. **Results:** TCGA data analysis showed that the expression of NCOR2 was up-regulated in colon cancer tissues compared with normal tissues ( $P<0.001$ ), and the high expression of NCOR2 was related to adverse prognosis of colon cancer patients ( $P<0.05$ ). Knockdown of NCOR2 suppressed cell viability, proliferation and enhanced apoptosis in RKO and SW480 cells. Furthermore, 176 genes were upregulated and 67 genes were down regulated in NCOR2 high expression groups. Gene correlation analysis showed that NCOR2 was negatively correlated with the expression of NRIF3 ( $r=-0.57, P<0.001$ ) and CHAC2 ( $r=-0.52, P<0.001$ ). At the cellular level, RT-qPCR experiments also demonstrated that knocking down NCOR2 resulted in an increase in mRNA expression of NRIF3 and CHAC2 ( $t_{NRIF3}=-15.99, t_{CHAC2}=-10.349$ , both  $P<0.05$ ). **Conclusion:** NCOR2 is highly expressed in colon cancer tissues, which promotes the growth of colon cancer cells and positively correlates with poor prognosis of patients, and provides new potential targets for the diagnosis and treatment of colon cancer.

**Key words** NCOR2; colon cancer; growth; prognosis

结肠癌和直肠癌是全球第三大常见癌症类型<sup>[1]</sup>。随着生活水平的提高,50岁以下的结直肠癌患者人数日益增加,尤其是左结肠癌和直肠癌。结肠癌与直肠癌发病比例为2.5:1,而男性结直肠癌发病率比

女性更高<sup>[2-5]</sup>。尽管在临床上结肠癌的治疗取得了很大进展,但由于术后肿瘤复发和转移率较高,患者的整体预后较差。大多数患者发病起初由息肉引起,最终进展为结肠癌<sup>[6]</sup>。因此,由于在肿瘤演变过程中涉及多种诱因和基因突变<sup>[7]</sup>,研究分析结肠癌中异常表达基因对结肠癌的调节机制将有助于开发新的治疗靶点。

作者简介 冯圣望(1996-),男,硕士在读,研究方向:肿瘤表观遗传学;通信作者:宣成昊,E-mail:chenghaoxuan@tmu.edu.cn;兰蓓,E-mail:lanpei@tmu.edu.cn。

核受体辅助抑制因子2(nuclear receptor corepressor 2, NCOR2)为核受体共同阻遏物,介导靶基因的转录沉默<sup>[8]</sup>。该蛋白通过与雌激素受体(ER)、雄激素受体(AR)以及其他核受体结合,并作为支架蛋白募集组蛋白去乙酰化酶和染色质重塑因子,进而抑制转录<sup>[9]</sup>。研究表明,NCOR2的异常表达与癌症紧密相关。乳腺癌患者中NCOR2高表达,与肿瘤复发、化疗耐药性及预后不良相关。其机制为NCOR2通过调节组蛋白去乙酰化酶3(HDAC3),抑制干扰素调节因子1依赖性基因表达和干扰素信号转导,进而抵抗肿瘤治疗<sup>[10]</sup>。在前列腺癌中,NCOR2表达的降低与接受雄激素剥夺治疗的前列腺癌患者无病生存期缩短显著相关。在异种移植模型中,NCOR2表达降低能够加速雄激素剥夺治疗后的疾病复发<sup>[11]</sup>。在结肠癌中NCOR2的表达与功能尚未进行研究,因此,本研究将基于TCGA数据库数据分析及细胞实验,阐明NCOR2对结肠癌发生、发展的调控作用,以期对结肠癌的临床诊断治疗提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 生物信息学分析 NCOR2 在结肠癌中的表达及与预后的关系

1.1.1 数据来源及筛选 从TCGA数据库中下载结肠癌(COAD)的RNAFPKM表达数据。下载pan-cancer的临床资料clinical\_PANCAN\_patient\_with\_followup.tsv (<https://gdc.cancer.gov/about-data/publications/pancanatlas>)并从中提取COAD患者信息。数据包含435例结肠癌患者数据,其中39例患者包含正常组织。采用Wilcoxon检验比较结肠癌患者正常组织和肿瘤组织中的NCOR2表达量差异。

1.1.2 生存分析 以肿瘤样本中NCOR2基因表达中位数(MEDIA=15.36)作为临界值,将样本分为高表达组和低表达组。通过“survival”R包绘制Kaplan-Meier生存曲线,分析NCOR2基因表达与结肠癌患者生存期的相关性。

1.1.3 差异表达基因筛选及基因相关性分析 通过R语言“limma”包,以差异倍数大于1.5倍、 $q < 0.05$ 为筛选条件,对NCOR2高、低表达组中的差异表达基因进行筛选。从NCOR2高表达组中表达下调的差异基因中挑选与癌症相关的基因,利用Pearson相关性分析确定其与NCOR2表达的相关性。以 $|R| \geq 0.3$ ,  $P < 0.05$ 为筛选条件。

### 1.2 细胞功能学实验

1.2.1 细胞培养及传代 结肠癌细胞RKO和SW480在含有10%胎牛血清、1%青-链霉素的DMEM完全培养基中培养。细胞置于37℃,5%CO<sub>2</sub>的恒温

培养箱中。每2~3 d更换1次培养基。待细胞融合至90%左右,用0.25%胰蛋白酶消化细胞并传代。

1.2.2 敲低细胞系的构建 通过Sigma网站设计两条靶向敲低NCOR2的shRNA序列及对照序列(表1),并送公司合成。将上下游引物退火形成发卡结构,并插入载体PLKO.1中,构建敲低质粒。将主质粒与包装质粒(PAX2、VSVG)一起转染入293T细胞,进行病毒包装。收集病毒感染RKO和SW480细胞后,加入含有2 μg/mL puromycin培养基对细胞进行筛选,得到敲低细胞系。感染对照质粒的细胞命名为RKO/SW480-Control,感染shRNA质粒的敲低细胞系分别命名为RKO/SW480-shRNA1, RKO/SW480 shRNA2。使用对照组与敲低组细胞进行后续的Western印迹和RT-qPCR检验以及MTT、克隆形成、EdU标记及细胞凋亡实验。

1.2.3 Western印迹 用0.25%胰蛋白酶将细胞消化,PBS洗3次,加入RIPA裂解液在冰上孵育30 min,使细胞充分裂解,提取总蛋白。蛋白经10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后,转移到硝酸纤维素膜上,室温下用5%脱脂牛奶封闭1 h。一抗NCOR2(1:1 000)、β-Tubulin(1:10 000)4℃孵育12~16 h。TBST洗涤3次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000)室温孵育1 h,TBST再洗涤3次后使用Immobilon Western化学发光显影。

1.2.4 RNA的提取和RT-qPCR 收集细胞沉淀后,采用Trizol法提取总RNA。按照TaKaRa D6110A反转录试剂盒说明书进行逆转录。之后按照翌圣11184ES50试剂盒说明书添加反应体系进行qPCR(引物序列见表1)。qPCR扩增程序:(1)预变性:95℃,300 s。(2)45个扩增循环:变性:95℃,20 s;退火:60℃,20 s;延伸:72℃,20 s。(3)熔解:95℃,10 s,65℃,60 s,97℃,1 s。(4)冷却:37℃,30 s。根据荧光曲线的Ct值计算结果。

1.2.5 MTT实验 MTT实验用来检测细胞活力。通过细胞计数法,以每孔2 000个细胞接种到96孔板,分别在培养24、48和72 h后,每孔加入100 μL含有0.5% MTT的新鲜培养基,避光培养4 h。吸去上清,每孔加入110 μL DMSO溶解紫色甲臞晶体,用酶标仪在490 nm波长处进行检测,记录其光吸收值。

1.2.6 克隆形成实验 将1 000个细胞铺在6孔板中,放入细胞培养箱中培养约14 d。在显微镜下观察细胞状态,以细胞集落大于50个为克隆形成的标准,之后加入4%多聚甲醛固定15 min,再用0.05%的结晶紫染色10 min,染色完成后进行拍照计数。

表 1 引物序列及产物大小

Tab 1 Primer sequences and length of products

引物名称	上游序列(5'→3')	下游序列(5'→3')	产物大小(bp)
shControl	CGAGGGCGACTTAACCTTAGG	CCTAAGGTTAAGTCGCCCTCG	21
shNCOR2-1	CCTGTCTAAAGCCTTAACCTAA	TTAGTTAAGGCTTTAGACAGG	21
shNCOR2-2	CCAGTGTAAAGACTTCTACTT	AAGTAGAAGTTCTTACACTGG	21
RT-NCOR2	CCACGTCATCTACGAAGGCAAG	CCTCCATCATGTCATAGGTGCG	127
RT-GAPDH	ACAACCTTTGGTATCTGGAAGG	GCCATCACGCCACAGTTTC	101
RT-NRIF3	CCACAAGTTCTGAAGAGCAAAAGC	CTCAACTTTTGATAGCAACATCATG	103
RT-CHAC2	ACATCACCAACTACAGCAGGCG	CTGGCAATCTGTAAGCAACACCC	117

注:Control:对照组;NCOR2:核受体辅助抑制因子 2;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶;NRIF3:核受体相互作用因子 3;CHAC2:谷胱甘肽转氨酶 2

**1.2.7 EdU 实验** EdU 实验使用碧云天 BeyoClick™ EdU-488 细胞增殖检测试剂盒进行。在 96 孔板中,每孔接种 5 000 个细胞后培养过夜。加入与原培养基等体积的 2×EdU 工作液,继续孵育细胞 2 h。按照试剂盒说明,染色完成后即可进行荧光检测。蓝色荧光为 DAPI 染色,红色荧光为 EdU 标记的增殖细胞,计算 EdU 阳性细胞占比。

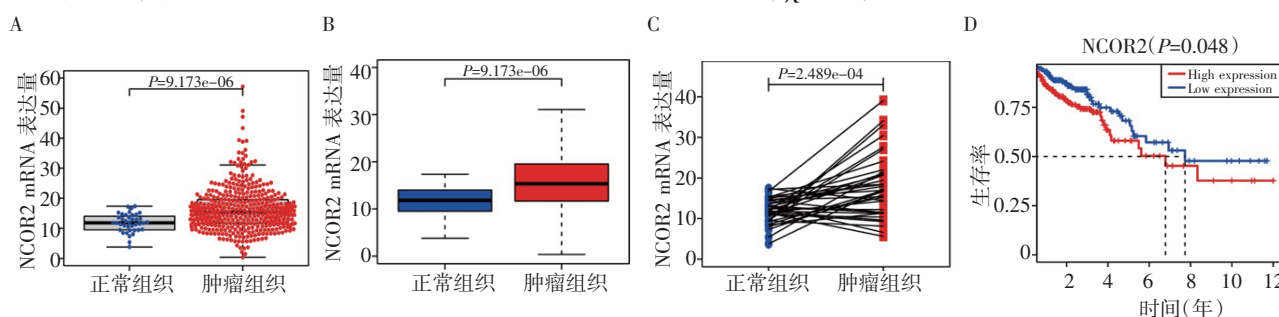
**1.2.8 细胞凋亡实验** 采用三箭公司的细胞凋亡检测试剂盒。收集细胞沉淀后用 200 μL Annexin V 结合溶液(Annexin V binding buffer)重悬,并按照说明书利用 Annexin V 以及 Propidium Iodie 对细胞进行荧光标记。标记完成后利用流式细胞仪进行检测,每个样本计数 10 000 个细胞,数据通过 FlowJo 软件进行分析。

**1.3 统计学处理** 实验数据部分统计学分析使用 GraphPad Prism 8.3.0 进行。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  来表示,采用  $t$  检验进行组间比较。 $P < 0.05$  表示

差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 利用 TCGA 数据库分析 NCOR2 在结肠癌中的表达及与预后的关系** 根据 TCGA 数据库中结肠癌组织和正常组织中 NCOR2 的表达水平,绘制蜜蜂图和箱式图。结果显示,与正常组织相比,肿瘤组织 NCOR2 表达水平显著增加[肿瘤组织:15.359 (11.670,19.540),正常组织:11.830(9.528,14.025), $W=4\ 847$ , $P < 0.001$ ,图 1A、B]。将 50 个正常组织及其对应的肿瘤组织进行配对分析发现,肿瘤组织中 NCOR2 的表达高于正常组织( $W=135$ , $P < 0.001$ ,图 1C)。根据 NCOR2 表达中位数将结肠癌患者分为高、低表达组,KM 生存分析结果显示 NCOR2 低表达组中位生存期为 7.73 年,高表达组为 6.78 年,与低表达组相比 NCOR2 高表达组具有更短的生存期(OS) ( $n=435$ , $\chi^2=3.9$ , $P < 0.05$ )(图 1D)。



注:A:NCOR2 在正常组织和结肠癌组织中表达的蜜蜂图;B:NCOR2 在正常组织和结肠癌组织中表达的箱式图;C:NCOR2 在正常组织和结肠癌组织中的配对表达图;D:Kaplan-Meier 生存曲线分析 NCOR2 高表达组和低表达组的生存率;NCOR2:核受体辅助抑制因子 2

图 1 NCOR2 在结肠癌中的表达及与预后的关系

Fig 1 The expression of NCOR2 in colon cancer and its relationship with prognosis

## 2.2 细胞水平上 NCOR2 促进结肠癌细胞的生长

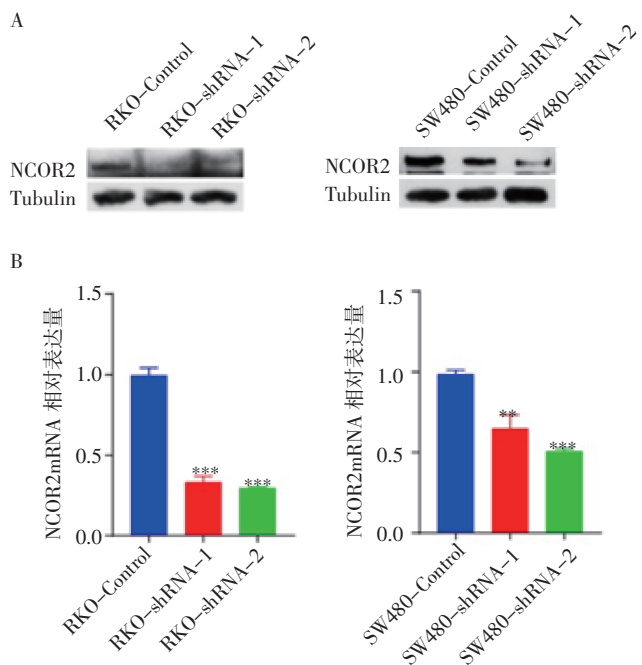
**2.2.1 构建稳定敲低 NCOR2 的结肠癌细胞系** 在结肠癌细胞 RKO 和 SW480 中构建稳定敲低 NCOR2 的细胞系,经 Western 印迹和 RT-qPCR 实验检测,与对照组相比,敲低 NCOR2 细胞系中,NCOR2 在蛋白表达水平(图 2A)和 mRNA 水平( $t_{\text{RKO-sh1}}=27.073$ , $t_{\text{RKO-sh2}}=19.957$ , $t_{\text{SW480-sh1}}=4.527$ , $t_{\text{SW480-sh2}}=31.376$ ,均  $P < 0.05$ )(图 2B)显著降低。

## 2.2.2 敲低 NCOR2 抑制结肠癌细胞的生长

MTT 实验以及克隆形成实验结果显示,在 RKO 和 SW480 两种细胞中,与对照组相比,敲低 NCOR2 后,细胞活力明显下降( $t_{\text{RKO-sh1}}=3.704$ , $t_{\text{RKO-sh2}}=4.046$ , $t_{\text{SW480-sh1}}=13.129$ , $t_{\text{SW480-sh2}}=15.086$ ,均  $P < 0.05$ )(图 3A)且克隆形成能力减弱( $t_{\text{RKO-sh1}}=9.678$ , $t_{\text{RKO-sh2}}=10.064$ , $t_{\text{SW480-sh1}}=7.309$ , $t_{\text{SW480-sh2}}=8.059$ ,均  $P < 0.05$ )(图 3B)。

## 2.2.3 敲低 NCOR2 抑制结肠癌细胞增殖、诱导细





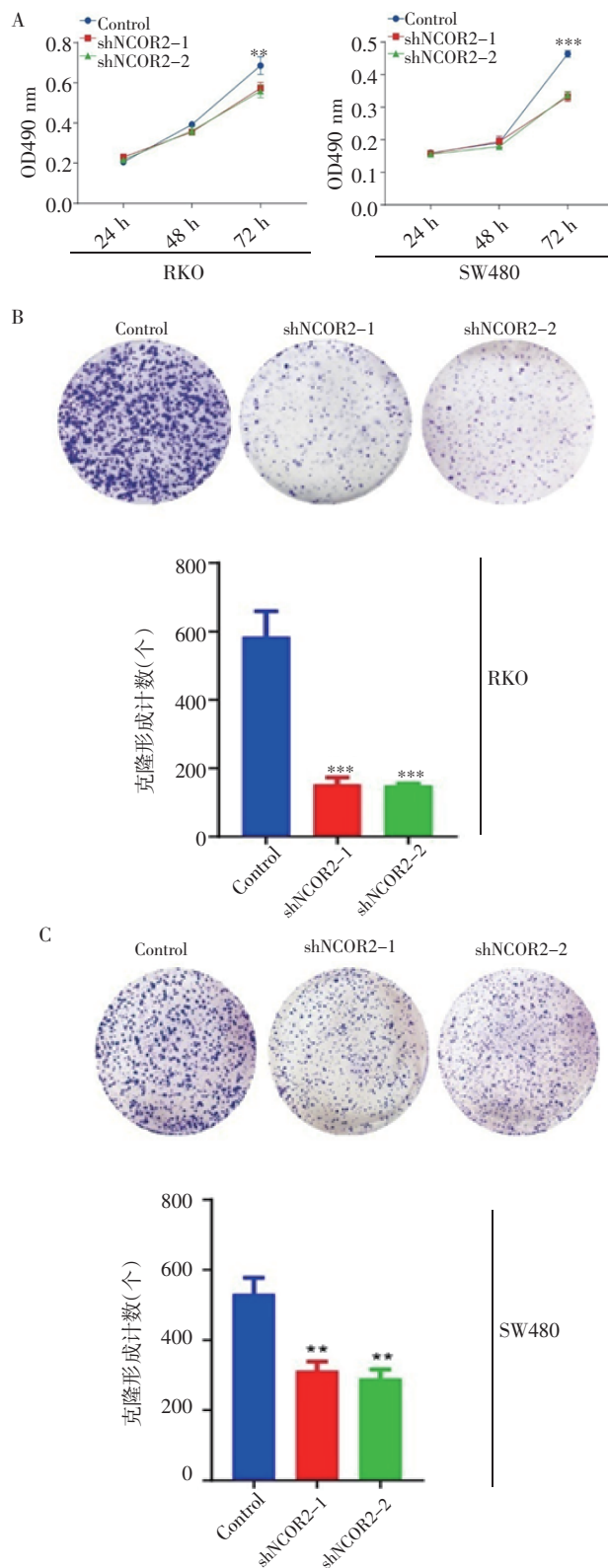
注:A:Western 印迹检测 NCOR2 蛋白表达;B:RT-qPCR 检测 NCOR2 mRNA 表达水平;Control:对照组;shRNA-1/2:NCOR2 敲低组;RKO 和 SW480:人结肠腺癌细胞;NCOR2:核受体辅助抑制因子 2;Tubulin:微管蛋白;\*\* $P<0.01$ ;\*\*\* $P<0.001$

图 2 稳定敲低 NCOR2 的结肠癌细胞系的检测

Fig 2 The detection of colon cancer cell lines with stable knockdown of NCOR2 gene

胞凋亡 EdU 实验结果表明,在 RKO 和 SW480 两种细胞中,与对照组相比,敲低 NCOR2 后 EdU 阳性的细胞比例明显降低( $t_{\text{RKO-sh1}}=4.978$ 、 $t_{\text{RKO-sh2}}=7.136$ 、 $t_{\text{SW480-sh1}}=6.387$ 、 $t_{\text{SW480-sh2}}=12.033$ ,均  $P<0.05$ )(图 4A),说明细胞增殖能力减弱。利用流式细胞术检测细胞凋亡水平,结果显示,与对照组相比,NCOR2 敲低组的细胞凋亡水平明显上升( $t_{\text{RKO-sh1}}=-7.718$ 、 $t_{\text{RKO-sh2}}=-3.494$ ,均  $P<0.05$ )(图 4B)。

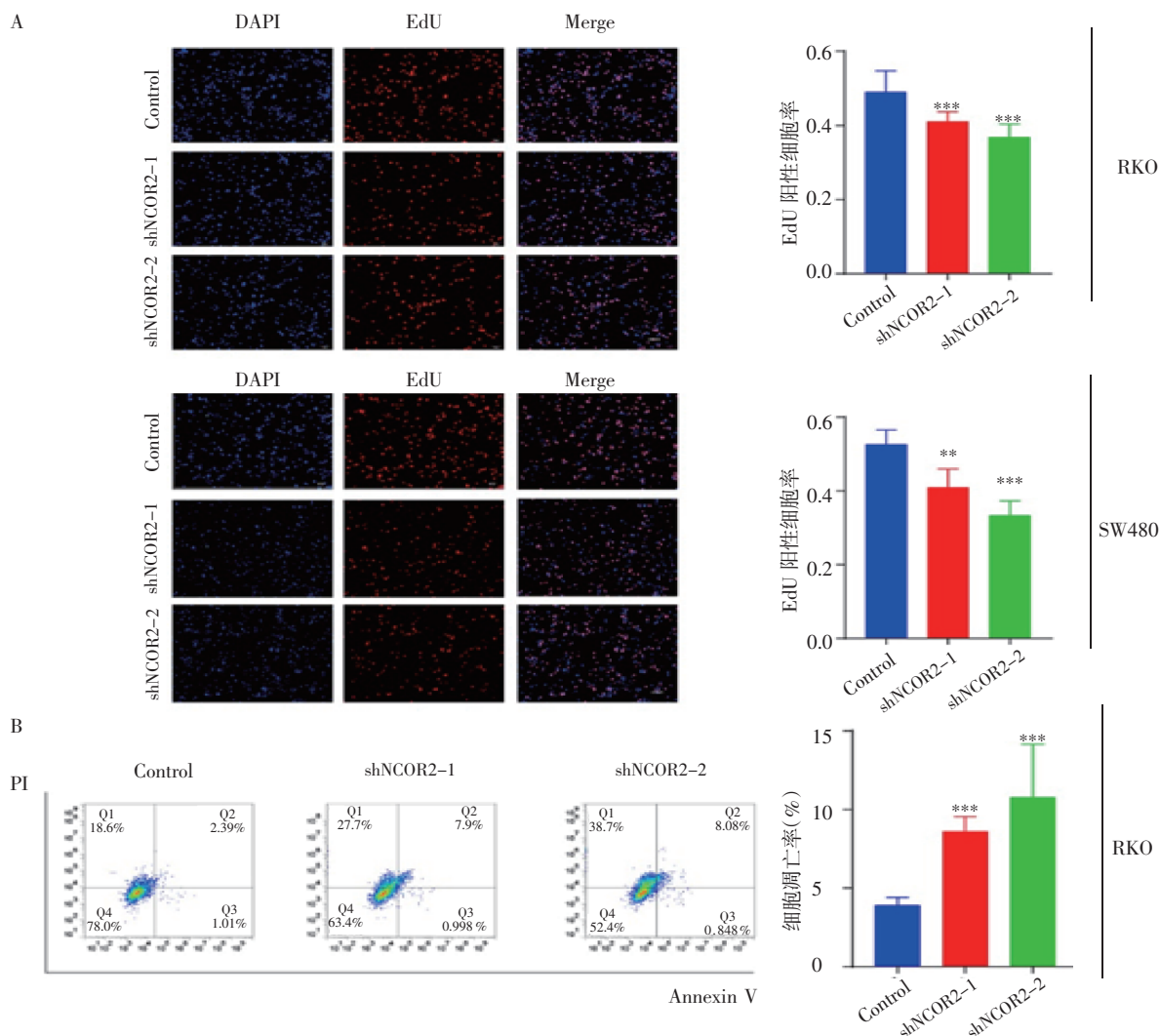
2.3 探析 NCOR2 促癌作用的分子机制 通过生物信息学分析发现,NCOR2 mRNA 高、低表达组的差异表达基因共 243 个,其中 NCOR2 高表达组中上调基因 176 个,下调基因 67 个。由于 NCOR2 是转录抑制因子,因此从 67 个下调基因中挑选与肿瘤相关的基因,进一步分析其与 NCOR2 表达相关性。结果显示 NRIF3( $r=-0.57$ , $P<0.001$ )和 CHAC2( $r=-0.52$ , $P<0.001$ )与 NCOR2 表达呈负相关(图 5A)。为进一步验证生物信息学分析的结果,利用 NCOR2 稳定敲低的 SW480 细胞系进行 RT-qPCR 实验,检验 NRIF3 和 CHAC2 的 mRNA 表达水平。结果显示与对照组相比,敲低 NCOR2 后,NRIF3 和 CHAC2 表达水平显著升高( $t_{\text{NCOR2}}=12.685$ 、 $t_{\text{NRIF3}}=-15.99$ 、 $t_{\text{CHAC2}}=-10.349$ ,均  $P<0.05$ )(图 5B)。



注:A:利用对照组与 NCOR2 敲低组的 RKO 和 SW480 细胞系进行 MTT 检测;B:利用对照组与 NCOR2 敲低组的 RKO 和 SW480 细胞系进行克隆形成实验;Control:对照组;shNCOR2-1/2:NCOR2 敲低组;RKO 和 SW480:人结肠腺癌细胞;NCOR2:核受体辅助抑制因子 2;\*\* $P<0.01$ ;\*\*\* $P<0.001$

图 3 敲低 NCOR2 抑制结肠癌细胞的生长

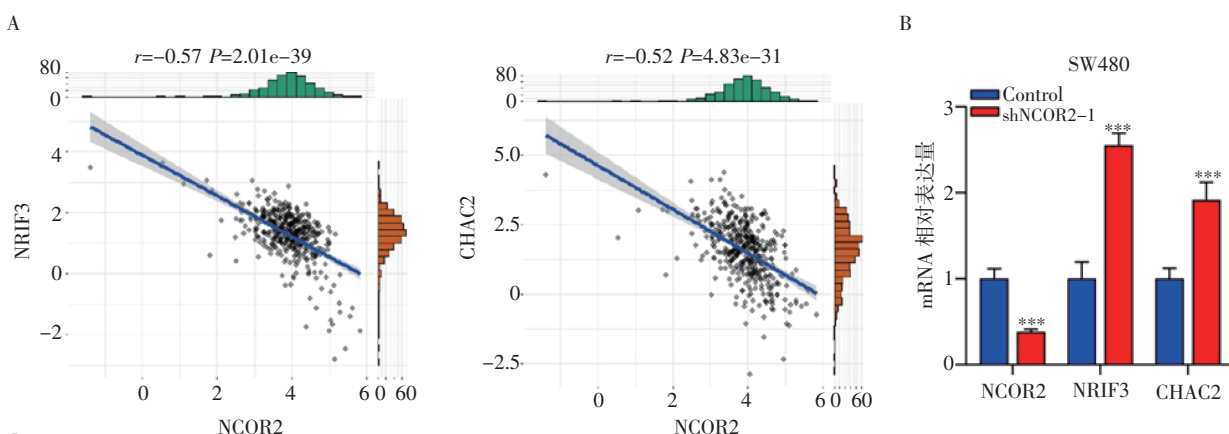
Fig 3 Knocking down NCOR2 inhibits the growth of colon cancer cells



注:A:利用对照组与 NCOR2 敲低组的 RKO 和 SW480 细胞系进行 EdU 实验; B:利用对照组与 NCOR2 敲低的 RKO 细胞系检测细胞凋亡水平;比例尺:100  $\mu\text{m}$ ;Control:对照组;shNCOR2-1/2:NCOR2 敲低组;RKO 和 SW480:人结肠癌细胞;NCOR2:核受体辅助抑制因子 2;\*\*\* $P<0.001$

图 4 敲低 NCOR2 抑制结肠癌细胞增殖、诱导细胞凋亡

Fig 4 Knockdown of NCOR2 inhibits cell proliferation and induces apoptosis of colon cancer cells



注:A:NCOR2 高表达结肠癌组中下调基因表达相关性分析; B:RT-qPCR 检测差异表达基因 mRNA 表达水平;Control:对照组;shNCOR2-1:NCOR2 敲低组;NCOR2:核受体辅助抑制因子 2;NRIF3:核受体相互作用因子 3;CHAC2:谷胱甘肽特异性  $\gamma$ -谷氨酰环转移酶 2;\*\*\* $P<0.001$

图 5 NCOR2 与 NRIF3、CHAC2 表达相关性

Fig 5 Correlation of NRIF3, CHAC2 and NCOR2 expression

### 3 讨论

结肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,多由慢性炎症刺激、家族性肠息肉病和腺瘤病变等引起。手术切除是目前主要的治疗手段,未经手术治疗的晚期结肠癌患者的中位生存时间约为5~6个月。而手术切除后患者的5年生存率为:I期85%~95%,II期60%~80%,III期30%~60%。手术后疾病复发是现阶段治疗所面临的一个主要问题,也是最终导致患者死亡的重要原因<sup>[12-15]</sup>。尽管一些结肠癌的全基因组关联研究已经成功地确定了与结肠癌风险相关的癌症易感基因<sup>[16-17]</sup>,但结肠癌相关分子和基因的作用仍需要进一步深入研究。

NCOR1与NCOR2都属于经典的核受体辅助抑制因子,具有高度同源的结构域。NCOR2通过C端相互作用结构域与核受体结合,并与多个组蛋白修饰酶相互作用,从而对基因转录发挥抑制功能。例如NCOR2去乙酰化酶活化结构域可以招募并活化组蛋白去乙酰化酶HDAC3,形成稳定的NCOR2-HDAC3复合物调节染色质的结构,抑制靶基因的转录水平<sup>[18]</sup>。纯合敲除小鼠会导致胚胎死亡,提示NCOR2在机体中具有重要的调控作用。NCOR2的缺失能够减弱前B细胞受体信号转导,增强信号转导与转录激活因子5(STAT5)依赖的转录水平,进而抑制B细胞的分化<sup>[19]</sup>。此外,肿瘤细胞中经常出现NCOR2表达的改变,表明NCOR2在肿瘤发生、发展中具有重要作用。研究表明,NCOR2的高表达与乳腺癌的早期复发有关<sup>[20]</sup>。同时,NCOR2在多发性骨髓瘤中表达下调,其低表达与非霍奇金淋巴瘤的发生相关。NCOR2在肿瘤耐药中也发挥作用,例如ER $\alpha$ 拮抗剂他莫昔芬,广泛应用于ER $\alpha$ 阳性乳腺癌患者的治疗中,NCOR2表达升高会抑制癌细胞对他莫昔芬耐药<sup>[21]</sup>。在雄激素耐药性前列腺癌中,NCOR2表达降低导致雄激素剥夺治疗期间前列腺癌复发加速<sup>[11]</sup>。

本研究利用生物信息学分析结合细胞功能实验,证明NCOR2在结肠癌中发挥促癌作用。首先利用TCGA数据库分析发现,NCOR2在结肠癌中高表达并与预后不良相关。其次,在结肠癌细胞RKO和SW480细胞中,通过MTT、克隆形成、EdU及细胞凋亡实验证明,敲低NCOR2表达能够抑制细胞的生长,引起细胞增殖速度下降,凋亡水平上升,即在细胞水平上证明NCOR2发挥促进结肠癌生长的作用。

进一步对NCOR2促进结肠癌生长的潜在分子机制进行探究,基于生物信息学分析TCGA数据发现,与NCOR2低表达组肿瘤样本相比,NCOR2高表达组中共176个基因表达上调,67个基因下调。

鉴于NCOR2为转录抑制因子,从67个表达下调的基因中筛选NCOR2的潜在靶基因。相关性分析发现,肿瘤相关基因NRIF3、CHAC2与NCOR2的表达具有负相关性。此外,细胞水平实验证明,在结肠癌细胞中敲低NCOR2表达后,NRIF3和CHAC2的mRNA表达水平显著升高。NRIF3和CHAC2都具有抑制肿瘤的作用。NRIF3是一种核受体转录共调控因子,研究发现,在乳腺癌细胞中NRIF3通过激活caspase-2引起细胞凋亡,并鉴定出NRIF3 20-50氨基酸为死亡结构域,尤其是Ser28位点对其发挥促凋亡作用至关重要<sup>[22-23]</sup>。CHAC2属于阳离子转运调节样蛋白(CHAC)家族,该家族成员可以特异性降解谷胱甘肽,破坏细胞氧化还原电位。研究表明,CHAC2发挥肿瘤抑制因子作用,在胃癌和结直肠癌组织中低表达,并且与低表达患者相比,CHAC2高表达患者的3年生存率更高。体内和体外实验也证明了CHAC2能够抑制肿瘤细胞生长、增殖和迁移,其机制为CHAC2能够引起GSH降解,诱发未折叠蛋白反应,导致细胞凋亡和自噬的发生<sup>[24]</sup>。综合以上结果,NRIF3和CHAC2为NCOR2的潜在作用靶点,即NCOR2可能通过抑制NRIF3和CHAC2的表达,抑制细胞凋亡,进而促进结肠癌发生、发展。

综上所述,本研究首次明确了NCOR2在结肠癌中的表达变化及对细胞生长的影响,为结肠癌的诊断和预后提供了可能的基因标志物,其潜在的分子机制值得进行深入探索和研究。

#### 参考文献:

- [1] DEKKER E, TANIS P J, VLEUGELS J L A, et al. Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480.
- [2] ARNOLD M, SIERRA M S, LAVERSANNE M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality [J]. *Gut*, 2017, 66(4): 683-691.
- [3] 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.
- [4] HENRIKSON N B, WEBBER E M, GODDARD K A, et al. Family history and the natural history of colorectal cancer: systematic review [J]. *Genet Med*, 2015, 17(9): 702-712.
- [5] SIEGEL R L, MILLER K D, GODING SAUER A, et al. Colorectal cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(3): 145-164.
- [6] NASSAR D, BLANPAIN C. Cancer stem cells: basic concepts and therapeutic implications [J]. *Annu Rev Pathol*, 2016, 11: 47-76.
- [7] BOAKYE D, RILLMANN B, WALTER V, et al. Impact of comorbidity and frailty on prognosis in colorectal cancer patients: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 64: 30-39.
- [8] LI J W, WANG J, WANG J X, et al. Both corepressor proteins SMRT and N-CoR exist in large protein complexes containing HDAC3 [J]. *Embo J*, 2000, 19(16): 4342-4350.



- [12] ZHOU Z, HE H, WANG K, et al. Granzyme A from cytotoxic lymphocytes cleaves GSDMB to trigger pyroptosis in target cells [J]. *Science*, 2020, 368(6494): eaaz7548.
- [13] WANG Q, WANG Y, DING J, et al. A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis [J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 421–426.
- [14] BEN-SASSON S Z, HOGG A, HU-LI J, et al. IL-1 enhances expansion, effector function, tissue localization, and memory response of antigen-specific CD8 T cells [J]. *J Exp Med*, 2013, 210(3): 491–502.
- [15] JAIN A, SONG R, WAKELAND E K, et al. T cell-intrinsic IL-1R signaling licenses effector cytokine production by memory CD4 T cells [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3185.
- [16] MAN S M, KANNEGANTI T D. Regulation of inflammasome activation [J]. *Immunol Rev*, 2015, 265(1): 6–21.
- [17] TANG R, XU J, ZHANG B, et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 110.
- [18] BETTERS E, LIU Y, KJAELDGAARD A, et al. Analysis of early human neural crest development [J]. *Dev Biol*, 2010, 344(2): 578–592.
- [19] ZAFAR A, WANG W, LIU G, et al. Molecular targeting therapies for neuroblastoma: progress and challenges [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(2): 961–1021.
- [20] MORANDI F, SABATINI F, PODESTÙ M, et al. Immunotherapeutic strategies for neuroblastoma: present, past and future [J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(1): 43.
- [21] PELIZZO G, VESCHI V, MANTELLI M, et al. Microenvironment in neuroblastoma: isolation and characterization of tumor-derived mesenchymal stromal cells [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1176.
- [22] VANICHAPOL T, CHUTIPONGTANATE S, ANURATHAPAN U, et al. Immune escape mechanisms and future prospects for immunotherapy in neuroblastoma [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 1812535.
- [23] SUZUKI M, CHEUNG N K. Disialoganglioside GD2 as a therapeutic target for human diseases [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(3): 349–362.
- [24] COOKSON B T, BRENNAN M A. Pro-inflammatory programmed cell death [J]. *Trends Microbiol*, 2001, 9(3): 113–114.
- [25] MAN S M, KARKI R, KANNEGANTI T D. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases [J]. *Immunol Rev*, 2017, 277(1): 61–75.
- [26] ROSENBAUM S R, WILSKI N A, APLIN A E. Fueling the fire: inflammatory forms of cell death and implications for cancer immunotherapy [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(2): 266–281.
- [27] FANG Y, TIAN S, PAN Y, et al. Pyroptosis: a new frontier in cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109595.
- [28] LUO B, WANG L, GAO W, et al. Using a gene network of pyroptosis to quantify the responses to immunotherapy and prognosis for neuroblastoma patients [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 845757.
- [29] CRISTESCU R, LEE J, NEBOZHYN M, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes [J]. *Nat Med*, 2015, 21(5): 449–456.
- [30] GALLUZZI L, BUQUÉ A, KEPP O, et al. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(2): 97–111.

(2023-01-17 收稿)

(上接第 365 页)

- [9] GUENTHER M G, BARAK O, LAZAR M A. The SMRT and N-CoR corepressors are activating cofactors for histone deacetylase 3 [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(18): 6091–6101.
- [10] TSAI K K, HUANG S S, NORTHEY J J, et al. Screening of organoids derived from patients with breast cancer implicates the repressor NCOR2 in cytotoxic stress response and antitumor immunity [J]. *Nature Cancer*, 2022, 3(6): 734–752.
- [11] LONG M D, JACOBI J J, SINGH P K, et al. Reduced NCOR2 expression accelerates androgen deprivation therapy failure in prostate cancer [J]. *Cell Rep*, 2021, 37(11): 110109.
- [12] CLEARY R K, MORRIS A M, CHANG G J, et al. Controversies in surgical oncology: does the minimally invasive approach for rectal cancer provide equivalent oncologic outcomes compared with the open approach? [J]. *Ann Surg Oncol*, 2018, 25(12): 3587–3595.
- [13] DU D, SU Z, WANG D, et al. Optimal interval to surgery after neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2018, 17(1): 13–24.
- [14] LEVIN T R, JAMIESON L, BURLEY D A, et al. Organized colorectal cancer screening in integrated health care systems [J]. *Epidemiol Rev*, 2011, 33(1): 101–110.
- [15] DE WIT M, FIJNEMAN R J, VERHEUL H M, et al. Proteomics in colorectal cancer translational research: biomarker discovery for clinical applications [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(6): 466–479.
- [16] MACDERMID E, HOOTON G, MACDONALD M, et al. Improving patient survival with the colorectal cancer multi-disciplinary team [J]. *Colorectal Dis*, 2009, 11(3): 291–295.
- [17] ZIELINSKA A, WLODARCZYK M, MAKARO A, et al. Management of pain in colorectal cancer patients [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021, 157: 103122.
- [18] WONG M M, GUO C, ZHANG J. Nuclear receptor corepressor complexes in cancer: mechanism, function and regulation [J]. *Amer J Clin Exper Urol*, 2014, 2(3): 169–187.
- [19] LEE R D, KNUTSON T P, MUNRO S A, et al. Nuclear corepressors NCOR1/NCOR2 regulate B cell development, maintain genomic integrity and prevent transformation [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(12): 1763–1776.
- [20] TENG L, FENG Y C, GUO S T, et al. The pan-cancer lncRNA PLANE regulates an alternative splicing program to promote cancer pathogenesis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3734.
- [21] DOBRZYCKA K M, TOWNSON S M, JIANG S, et al. Estrogen receptor corepressors—a role in human breast cancer? [J]. *Endocrine-related Cancer*, 2003, 10(4): 517–536.
- [22] TALUKDER A H, LI D Q, MANAVATHI B, et al. Serine 28 phosphorylation of NRIF3 confers its co-activator function for estrogen receptor- $\alpha$  transactivation [J]. *Oncogene*, 2008, 27(39): 5233–5242.
- [23] TINNIKOV A A, YEUNG K T, DAS S, et al. Identification of a novel pathway that selectively modulates apoptosis of breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(4): 1375–1382.
- [24] LIU S, FEI W, SHI Q, et al. CHAC2, downregulated in gastric and colorectal cancers, acted as a tumor suppressor inducing apoptosis and autophagy through unfolded protein response [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e3009.

(2022-12-04 收稿)