

· 基础医学 ·

## HMGCS1 表达对食管鳞癌细胞转移能力及食管鳞癌患者预后的影响

马天云, 罗超, 刘龙飞, 张莉, 刘当云\*, 王其龙\*

南京医科大学附属淮安第一医院中心实验室, 江苏 淮安 223300

**[摘要]** 目的:探讨3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合酶1(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1, HMGCS1)在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)及食管鳞癌肺转移患者中表达的临床意义及其对食管鳞癌细胞转移能力的影响。方法:通过收集南京医科大学附属淮安第一医院6例食管鳞癌手术患者组织样本,根据其随访最终信息分为未转移组和肺转移组,对两组样本进行蛋白质谱测序分析,筛选差异表达的蛋白质HMGCS1,通过GEPIA数据库进行验证。Western blot及qPCR检测食管上皮细胞及ESCC癌细胞中HMGCS1表达水平。免疫组织化学方法对121例随访信息完善的食管鳞癌患者组织芯片进行染色,检测HMGCS1表达。采用Cox生存风险比例模型分析ESCC患者生存的风险因素,同时采用多变量相关性分析HMGCS1与ESCC患者临床病理之间的关系,采用Kaplan-Meier法分析HMGCS1对ESCC患者预后的影响。构建HMGCS1过表达质粒转染食管鳞癌细胞,利用划痕及Transwell检测细胞的迁移及侵袭能力。结果:与未发生转移的食管鳞癌患者癌组织相比,肺转移患者肿瘤组织中有51种蛋白下调,45种蛋白上调,其中HMGCS1在肺转移患者食管鳞癌组织中的表达显著低于未转移患者。GEPIA数据显示HMGCS1在食管鳞癌中表达也是下调的。Western blot及qPCR结果表明食管鳞癌细胞中HMGCS1表达显著低于正常食管上皮细胞。121例食管鳞癌患者组织芯片免疫组织化学染色结果证实,HMGCS1在食管鳞癌中的表达显著低于正常食管组织,且有淋巴结转移的患者其表达显著低于无淋巴结转移患者( $P < 0.05$ )。Cox生存风险分析显示,T分期[HR:2.118(1.020~4.399)]、淋巴结转移[HR:2.127(1.466~5.584)]、HMGCS1低表达[HR:0.413(0.211~0.807)]是食管鳞癌患者的生存风险因素。多变量相关性分析则显示,HMGCS1表达与淋巴结转移显著相关。Kaplan-Meier生存分析显示,HMGCS1低表达患者预后较差。食管鳞癌细胞过表达HMGCS1后,ESCC细胞的迁移及侵袭能力显著降低( $P < 0.05$ )。结论:HMGCS1能够抑制ESCC细胞的转移能力,其表达与ESCC患者预后呈正相关。

**[关键词]** 食管鳞癌;3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合酶1;预后;转移

**[中图分类号]** R735.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2022)10-1357-08

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20221002

## Effect of HMGCS1 expression on metastatic ability of ESCC cells and prognosis of ESCC patients

MA Tianyun, LUO Chao, LIU Longfei, ZHANG Li, LIU Dangyun\*, WANG Qilong\*

Department of Central Laboratory, the Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital, Nanjing Medical University, Huai'an 223300, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the potential association of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1 (HMGCS1) expression with the prognosis of patients with esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and to explore the biological effects of HMGCS1 on the metastatic ability of ESCC cells. **Methods:** Tissue samples from 6 patients who underwent ESCC surgeries in our hospital were collected and divided into non-metastatic and lung metastatic groups. Protein spectrum sequencing analysis together with GEPIA database was performed to screen differentially expressed proteins. Western blot and qPCR were used to determine HMGCS1 expression in esophageal epithelial cells and ESCC cells. Immunohistochemical staining was performed to determine HMGCS1

**[基金项目]** 江苏省自然科学基金(BK20211111);南京医科大学科技发展基金(NMUB20210141)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: haylydy@njmu.edu.cn; qlwang@njmu.edu.cn

expression in tissue sections from 121 patients with ESCC. Cox proportional survival risk model was enrolled to analyze the survival risk factors of ESCC patients, and multivariate correlation analysis was used for the analysis of the association of HMGCS1 with the clinicopathology of ESCC patients. Furthermore, Kaplan - Meier analysis was employed to analyze the effect of HMGCS1 on the prognosis of ESCC patients. The migration and invasion ability of ESCC cells were detected by scratch and Transwell. **Results:** We identified 45 significantly up-regulated and 51 down-regulated(including HMGCS1) proteins in the tumor tissues of patients with lung metastasis, compared with those without metastasis. GEPIA verified that HMGCS1 was down-regulated in esophageal cancer. Western blot and qPCR results further validated that HMGCS1 expression in ESCC cells was significantly lower than that in normal esophageal epithelium. Immunohistochemical staining of 121 patients with ESCC confirmed that the expression of HMGCS1 in ESCC was significantly lower than that in normal esophageal tissues. Additionally, the expression of HMGCS1 in patients with lymph node metastasis was significantly lower than that in patients without lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ). Cox survival risk analysis showed that T stage [HR: 2.118 (1.020~4.399)], lymph node metastasis [HR: 2.127 (1.466~5.584)] and low HMGCS1 expression were risk factors [HR: 0.413 (0.211~0.807)] for survival of ESCC. Multivariate correlation analysis indicated that HMGCS1 expression was significantly correlated with lymph node metastasis. Kaplan - Meier survival analysis demonstrated that patients with low HMGCS1 expression had a poor prognosis. Furthermore, we found that overexpression of HMGCS1 markedly inhibited the migration and invasion ability of ESCC cells ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** HMGCS1 could suppress the metastasis of ESCC cells and its expression was positively correlated with the prognosis of ESCC patients.

[Key words] ESCC; HMGCS1; prognosis; metastasis

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(10): 1357-1363, 1458]

食管癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病率位居我国消化道肿瘤的第3位<sup>[1]</sup>。食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是最常见的食管恶性肿瘤组织学类型,该组织类型在发展中国家发生率较高,其中超过一半的病例发生在中国<sup>[2]</sup>。尽管近年来多种新的药物和治疗方法已经被应用于ESCC的临床治疗,但ESCC患者的总体预后情况并没有得到显著改善<sup>[3]</sup>。转移和复发是食管鳞癌致死的主要原因,转移被认为是由多个基因和多信号通路控制的复杂过程,目前为止其发生的机制仍未完全阐明。因此,阐明食管鳞癌细胞转移的潜在机制将有助于开发新的有效方法来降低ESCC患者的病死率。3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A合酶1(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1, HMGCS1)是一种代谢酶,可将乙酰辅酶A与乙酰乙酰辅酶A缩合形成HMG-CoA, HMG-CoA是甲羟戊酸途径中的重要底物<sup>[4]</sup>。HMGCS1在人类肿瘤中的功能研究较少,尤其在食管鳞癌中的功能仍然未知。本研究通过蛋白质谱和测序,筛选出与食管鳞癌转移相关的基因HMGCS1,然后通过临床样本分析该基因对食管鳞癌患者预后的影响,同时通过体外实验探讨HMGCS1对食管鳞癌细胞侵袭迁移能力的影响,以期为食管鳞癌开发新的潜在治疗靶点提供方向。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人正常食管上皮细胞HEEC购自北京龙跃生物科技有限公司,人食管鳞癌细胞KYSE150、KYSE30购自武汉普诺赛(Procell)生命科技有限公司。DMEM培养基(Gibco公司,美国);胎牛血清(FBS)、氨苄青霉素(Hyclone公司,美国);过表达质粒由安徽通用生物设计并生产。SDS-PAGE试剂(上海生工)。BCA Protein Assay Kit、GAPDH抗体购自上海碧云天公司。Lipofectamine™ 3000试剂(Thermo Fisher Scientific公司,美国);HMGCS1抗体、二抗(Abcam公司,美国)。

本研究所有临床样本均经南京医科大学附属淮安第一医院伦理委员会审批(批号:YX-2021-107-01),纳入研究的组织芯片(tissue microarray, TMA)中121例ESCC患者术后样本均为2012年12月—2013年12月在本院行食管鳞癌手术治疗的患者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 TMA免疫组织化学染色

石蜡切片常规脱蜡水化,加0.01 mol/L枸橼酸缓冲液(pH 6.0),用高压锅进行抗原热修复,加3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>避光室温孵育30 min, PBS洗涤3次。滴加10%的正常非免疫牛血清,37℃孵育1 h, PBS洗涤

3次。滴加一抗工作液(1:100), 4℃孵育过夜, PBS洗涤3次。滴加二抗工作液(稀释比例为1:500), 37℃孵育1h, PBS洗涤3次。用DAB显色、苏木素复染、脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。显微镜下拍照分析。

### 1.2.2 定量逆转录PCR

用TRIzol从培养的食管鳞癌细胞/正常食管上皮细胞中提取RNA, 使用Prime Script RT Master Mix反转录试剂盒将1 μg RNA逆转录成cDNA, 并按照qPCR反应体系配制反应溶液。使用Nanodrop 2000/2000C分光光度计测量RNA的浓度。用荧光定量PCR试剂盒在ABI StepOnePlus™实时PCR系统上进行定量PCR实验。程序包括预变性和循环。收集并处理数据, 结果用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

### 1.2.3 Western blot

贴壁细胞用RIPA裂解液/PMSF蛋白酶抑制剂进行裂解, 离心后取上清。用BCA试剂盒测蛋白浓度。SDS-PAGE电泳用5%的浓缩胶与10%的分离胶进行。电泳后将蛋白转至PVDF膜, 用5%脱脂奶粉封闭。分别加入HMGCS1抗体、GAPDH抗体(1:5000), 4℃孵育过夜。洗涤, 二抗室温孵育, 洗涤, 曝光显色。

### 1.2.4 大肠杆菌质粒的提取

将含pcDNA3.1的菌种和含HMGCS1 CDS区质粒(pcDNA3.1/HMGCS1)的菌种各取60 μL, 分别接种于30 mL LB + 30 μL氨苄青霉素培养液中, 37℃ 200 r/min摇床培养12~16 h。取10~15 mL菌液室温下离心收集细菌, 然后使用E.Z.N.A.® Endo-Free Plasmid Mini Kit II试剂盒, 按照手册洗脱出pcDNA3.1、pcDNA3.1/HMGCS1。使用分光光度计测量DNA的浓度。

### 1.2.5 过表达HMGCS1食管鳞癌细胞系构建及鉴定

培养食管鳞癌细胞系(KYSE150、KYSE30), 转染前1 d按 $4 \times 10^5$ 个/孔接种6孔板, 待细胞贴壁至70%~90%进行转染; Lipofectamine™ 3000转染体系(每孔)如下: 分别以Opti-MEM™培养基125 μL + P3000™ 5 μL + pcDNA3.1/HMGCS1 2.5 μg, Opti-MEM™培养基125 μL + Lipofectamine™ 3000 5 μL两个预混液, 各自充分混匀, 室温孵育5 min; 将两者混合后室温孵育10~15 min, 加入更换了新鲜完全培养基的6孔板中; 转染6 h后换液, 48 h后收集细胞。设置pcDNA3.1阴性对照组。经TRIzol试剂盒裂解细胞提取总RNA, 采用qRT-PCR检测HMGCS1的表达。抽提总蛋白, Western blot检测HMGCS1的

表达水平。

### 1.2.6 细胞划痕实验

先用黑色记号笔在6孔板背面划横线, 每隔约0.7 cm一道, 横穿过孔; 每孔穿过3条线。在每孔中加入 $5 \times 10^5$ 个细胞。第2天用200 μL枪头垂直于背后的横线划痕。用PBS洗细胞3次, 清除划下的细胞, 加入无血清培养基, 放入37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养。按0 h、24 h、48 h时间点取样, 拍照。

### 1.2.7 细胞迁移实验

将处于对数生长期的各实验组细胞胰酶消化后重悬并计数, 调整细胞密度至 $5 \times 10^4$ 个/mL, 取细胞悬液200 μL加入Transwell小室。24孔板下室加入600 μL含10%胎牛血清的培养基, 放入37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养48 h。然后取出Transwell小室, 弃去孔中培养液, 用棉签轻轻擦掉上层未迁移细胞, PBS洗3遍, 甲醇固定20 min。随后用0.1%结晶紫染色30 min, 用PBS洗3遍。并在100倍相差显微镜下随机取5个视野计数。

### 1.2.8 细胞侵袭实验

将Matrigel基质胶1:20稀释, 包被Transwell小室底部膜的上室面, 置37℃ 6 h, 使Matrigel基质胶聚合成凝胶。使用前进行基底膜水化。将处于对数生长期的各实验组细胞胰酶消化后重悬并计数, 调整细胞密度至 $2 \times 10^5$ 个/mL, 取细胞悬液100 μL加入Transwell小室。24孔板下室加入600 μL含10%胎牛血清的培养基, 放入37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养48 h。然后取出Transwell小室, 弃去孔中培养液, 用棉签轻轻擦掉上层未侵入细胞, PBS洗3遍, 甲醇固定20 min。0.1%结晶紫染色20 min, 用PBS洗3遍。并在100倍相差显微镜下随机选择5个视野计数。

## 1.3 统计学方法

采用GraphPad Prism 8和SPSS22.0软件进行统计。正态分布的计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组间比较使用Student's *t*检验, 多组间比较使用单因素方差分析或Dunnett-*t*检验。计数资料采用百分比表示, 使用卡方检验进行分析。生存风险比例采用Cox多因素回归模型分析, Kaplan-Meier (log-rank)用于分析患者生存预后,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

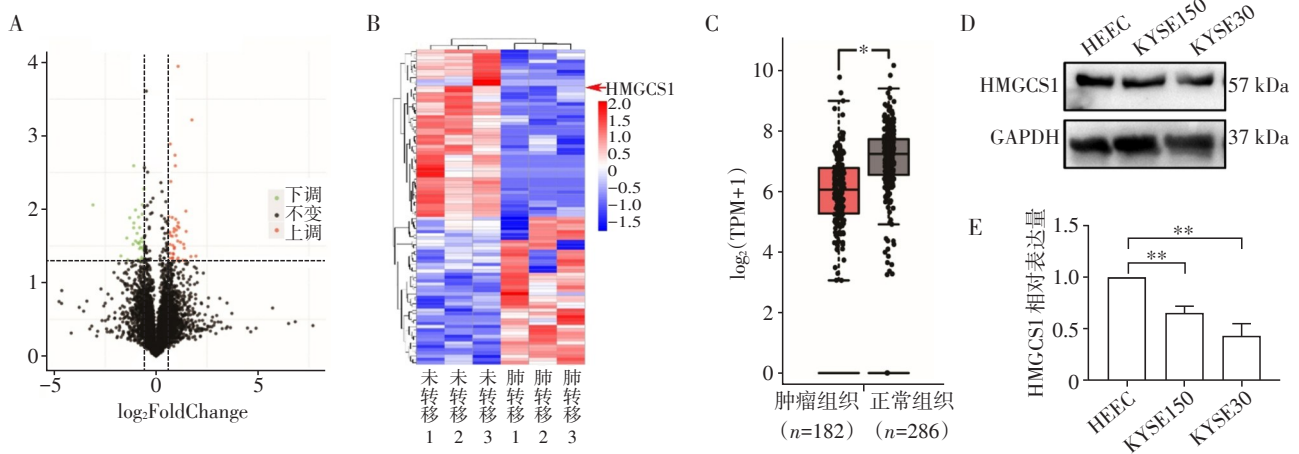
## 2 结果

### 2.1 HMGCS1在ESCC组织及细胞中的表达

蛋白质谱显示, 与未发生转移的食管鳞癌患者癌组织相比, 发生肺转移患者肿瘤组织中有

51种蛋白下调,45种蛋白上调(图1A)。其中HMGCS1在肺转移患者食管鳞癌组织中表达显著低于未转移患者( $\log_2\text{FoldChange}=0.523, P=0.021$ ,图1B)。通过对GEPIA数据库中食管癌组织HMGCS1表达进行分析,结果表明在食管癌中HMGCS1的表达也是下调的(图1C)。为了检测HMGCS1在细胞水平的表达量,我们通过Western

blot实验发现其在ESCC细胞中较正常上皮细胞表达下调(图1D),进一步通过体外qRT-PCR实验进行验证,结果表明,HMGCS1在KYSE150及KYSE30中的表达较正常食管上皮显著降低(两组细胞中其相对表达量分别为 $1.000 \pm 0.000$  vs.  $0.653 \pm 0.065, P=0.003$ ;  $1.000 \pm 0.000$  vs.  $0.428 \pm 0.124, P=0.003$ ,图1E)。



A:蛋白质谱分析肺转移ESCC组织中蛋白表达变化与未转移的ESCC组织相比;B:HMGCS1在肺转移ESCC组织中表达显著低于未转移ESCC组织;C:通过对GEPIA数据库中食管癌组织中HMGCS1表达进行分析,结果表明在食管癌中HMGCS1的表达下调(两组比较, $P < 0.05$ );D:Western blot实验检测食管正常细胞系及食管鳞癌细胞系中HMGCS1的蛋白表达水平;E:qRT-PCR实验检测食管正常细胞系及食管鳞癌细胞系中HMGCS1的mRNA表达水平;两组比较, $P < 0.01, n=3$ 。

图1 HMGCS1在ESCC及细胞中的表达

Figure 1 Expression of HMGCS1 in ESCC and cells

### 2.2 HMGCS1表达与ESCC患者转移及临床预后的关系

通过对121例随访信息完整的食管鳞癌患者组织芯片进行免疫组织化学染色,结果进一步证实,HMGCS1在食管鳞癌中表达显著低于正常食管组织(图2A、B, $P < 0.05$ ),且有淋巴结转移的患者HMGCS1表达显著低于无淋巴结转移患者(图2C、D, $P < 0.05$ )。Cox多因素生存风险分析显示,T分期、淋巴结转移、HMGCS1低表达是食管鳞癌患者生存风险因素(表1)。进一步的分析则显示,HMGCS1表达与淋巴结转移显著相关(表2)。将食管鳞癌患者HMGCS1表达按照中位数分成高低2组,Kaplan-Meier生存分析显示,HMGCS1低表达患者预后较差(图2E)。

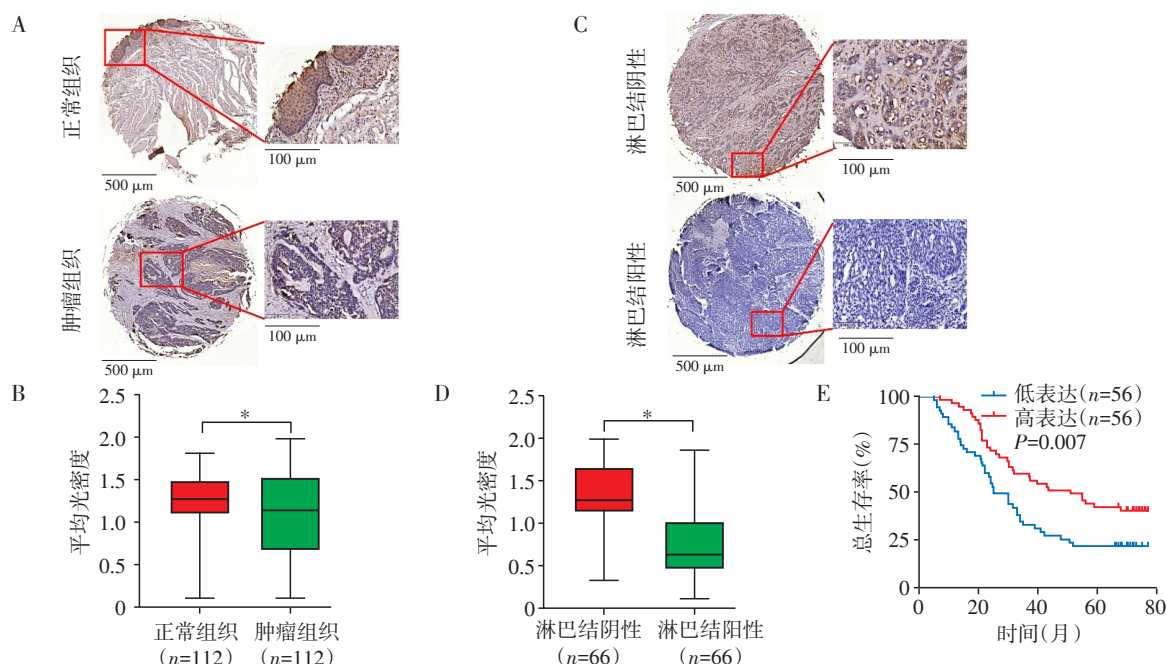
### 2.3 HMGCS1表达对ESCC细胞侵袭及迁移能力的影响

通过pcDNA3.1载体构建HMGCS1过表达质粒,然后转染食管鳞癌细胞KYSE150及KYSE30

(图3A)。体外Transwell侵袭实验结果显示(图3B),过表达HMGCS1后,实验组细胞穿过小室的数量(KYSE150和KYSE30分别为 $66.7 \pm 10.5, 41.3 \pm 1.5$ )较空白对照组( $137.7 \pm 20.6, 113.3 \pm 28.5$ )、阴性对照组( $122.7 \pm 12.5, 99.0 \pm 28.0$ )下降( $P < 0.05$ ),Transwell迁移实验(图3C)也与上述结果一致(KYSE150: $151.3 \pm 12.1$  vs.  $283.3 \pm 28.6$  vs.  $255.0 \pm 20.2$ ; KYSE30: $140.7 \pm 17.6$  vs.  $258.3 \pm 3.2$  vs.  $227.0 \pm 13.1$ ;  $P < 0.05$ ),提示细胞迁移、侵袭能力受到显著抑制。进一步通过划痕实验验证发现(图3D~G),过表达HMGCS1后,KYSE150细胞(实验组、空白组、阴性对照的平均愈合百分比为22.3%、52.7%、46.5%)、KYSE30(实验组、空白组、阴性对照的平均愈合百分比为21.9%、40.2%、32.7%)迁移能力显著下降( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

食管癌是世界第六大癌症死亡原因,在每年新发的50万例食管癌中,约90%以上为ESCC<sup>[5]</sup>。ESCC



A、B:免疫组织化学对ESCC患者组织芯片进行染色, HMGC1在ESCC中表达显著低于正常食管组织; C、D:淋巴结转移阳性的患者与阴性患者相比, HMGC1表达下调; E:生存分析结果提示HMGC1低表达患者预后较差。

图2 HMGC1表达与ESCC患者转移及临床预后的关系

Figure 2 Relationship of HMGC1 expression with ESCC metastasis and clinical outcome

表1 食管鳞癌患者临床病理及HMGC1表达与患者生存风险分析

Table 1 Analysis of clinical pathology, HMGC1 expression and survival risk in ESCC patients

临床特征	死亡(n=77)[n(%)]	存活(n=35)[n(%)]	OS(%)	HR(95%CI) <sup>a</sup>	P值 <sup>a</sup>
性别					0.896
男	51(66.2)	27(77.1)	34.6	1.000	
女	26(33.8)	8(22.9)	23.5	1.035(0.617~1.736)	
年龄					0.919
≤60岁	22(28.6)	10(28.6)	31.3	1.000	
>60岁	55(71.4)	25(71.4)	31.3	0.973(0.576~1.644)	
T分期					0.044
T1~2	18(23.2)	13(37.1)	41.9	1.000	
T3~4	59(76.8)	22(62.9)	27.2	2.118(1.020~4.399)	
淋巴结转移					0.027
N0	36(46.8)	30(85.7)	45.5	1.000	
N+	41(53.2)	5(14.3)	10.9	2.127(1.466~5.584)	
分化程度					
G1	4(5.2)	3(8.6)	42.9	1.000	
G2	48(62.3)	14(40.0)	22.6	1.824(0.612~5.434)	0.280
G3	25(32.5)	18(51.5)	41.9	1.614(0.534~4.875)	0.396
肿瘤部位					
上部	4(5.2)	4(11.4)	50.0	1.000	
中部	55(71.4)	15(42.9)	21.4	1.569(0.556~4.427)	0.395
下部	18(23.4)	16(45.7)	47.1	0.765(0.247~2.366)	0.642
HMGC1(IHC)					0.010
低表达	51(66.2)	5(14.3)	8.9	1.000	
高表达	26(33.8)	30(85.7)	53.6	0.413(0.211~0.807)	

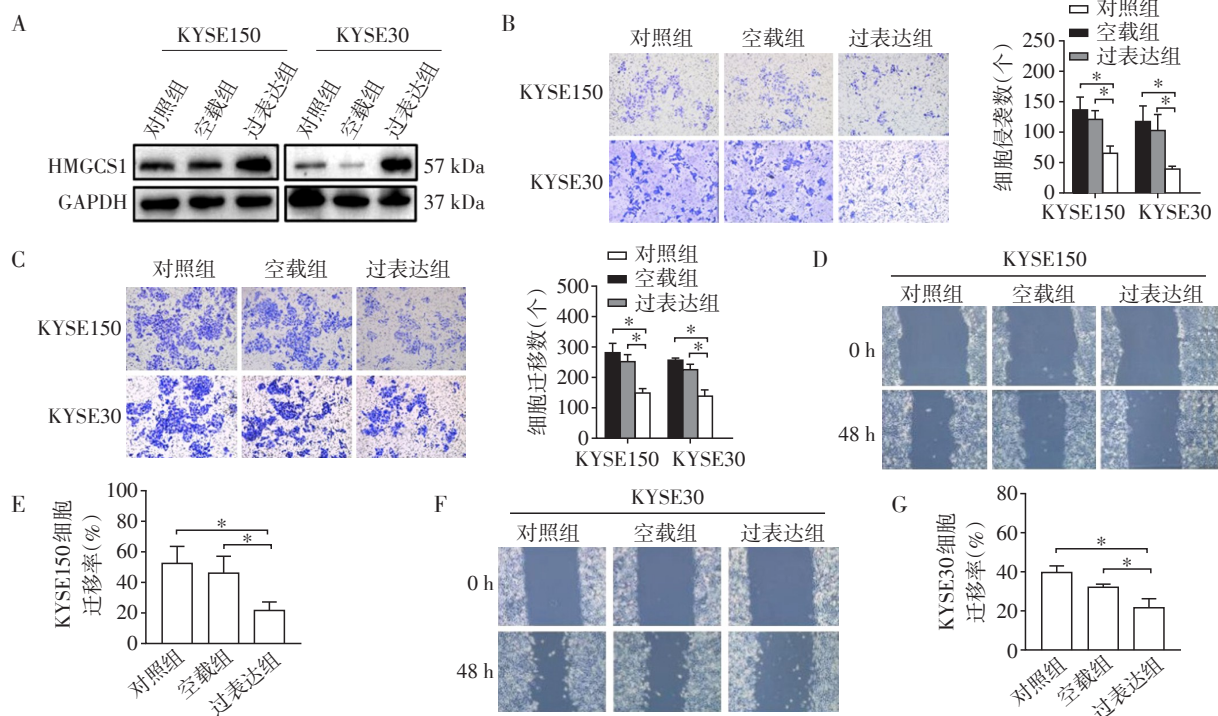
a: 基于Cox多因素比例风险回归分析, 适当调整性别、年龄、TNM分期、肿瘤分化程度和肿瘤部位。

表2 HMGCS1蛋白表达与临床病理因素之间的关联

Table 2 Association between HMGCS1 protein expression and clinicopathological factors

因素	HMGCS1 表达			P值
	总例数(n = 112)	阴性(n = 56)[n(%)]	阳性(n = 56)[n(%)]	
性别				0.538
男	78	37(66.1)	41(73.2)	
女	34	19(33.9)	15(26.8)	
年龄				0.835
≤60岁	32	17(30.4)	15(26.8)	
>60岁	80	39(69.6)	41(73.2)	
T分期				0.205
T1~2	31	12(21.4)	19(33.9)	
T3~4	81	44(78.6)	37(66.1)	
淋巴结转移				<0.001
N0	66	17(30.4)	49(87.5)	
N+	46	39(69.6)	7(12.5)	
分化程度				0.033 <sup>a</sup>
G1	7	5(8.9)	2(3.6)	
G2	62	36(64.3)	26(46.6)	
G3	43	15(26.8)	28(50.0)	
肿瘤部位				0.112 <sup>a</sup>
上部	8	4(7.1)	4(7.1)	
中部	70	40(71.4)	30(53.6)	
下部	34	12(21.5)	22(39.3)	

a :P值由 Fisher 确切概率法计算。



A: 构建 HMGCS1 过表达质粒, Western blot 检测过表达效率; B: 过表达 HMGCS1, Transwell 实验检测 ESCC 细胞侵袭能力的变化(加入基质胶, ×100); C: 过表达 HMGCS1, Transwell 实验检测 ESCC 细胞迁移能力的变化(×100); D~G: 过表达 HMGCS1, 划痕实验检测 ESCC 细胞迁移能力(×100)。两组比较, \*P < 0.05, n=3。

图3 HMGCS1对ESCC细胞迁移、侵袭能力的影响

Figure 3 The effect of HMGCS1 on migration and invasion of ESCC cells

和食管腺癌具有几乎完全不同的地理模式、时间趋势和主要危险因素。ESCC是一种复杂的疾病,病因众多,由于多数患者在诊断时已经处于晚期或发生转移,因此多数患者的预后较差<sup>[6]</sup>。尽管近年来针对食管癌的分子靶向药物及免疫治疗已经取得了一定进展,但患者5年生存率在近十几年中仍然没有显著提高<sup>[7-9]</sup>。因此,寻找新的食管癌治疗靶点和治疗手段仍然是目前亟待解决的关键问题<sup>[10]</sup>。

蛋白组学以蛋白质为研究对象,从细胞及组织水平上研究蛋白质的组成及其变化规律,利用蛋白质组学研究ESCC的发生及转移已经成为ESCC研究的重要手段之一<sup>[11]</sup>。本研究通过蛋白质组学测序发现,在发生肺转移的ESCC患者肿瘤组织中,其HMGCS1的表达下调。尽管有研究表明HMGCS1在多种肿瘤中发挥着重要作用,但HMGCS1在食管鳞癌中的功能尚不清楚。

本研究发现,HMGCS1在ESCC中的表达显著低于正常组织,且在有淋巴结转移的患者中表达更低,这提示HMGCS1可能与食管鳞癌的转移密切相关。HMGCS1将乙酰辅酶A与乙酰乙酰辅酶A缩合形成HMG-CoA,它是HMGCR的底物<sup>[12]</sup>。HMGCR是胆固醇合成的限速酶,也是他汀类药物的作用靶点<sup>[13]</sup>。研究表明,在胃癌中,HMGCS1通过与pERK相互作用并通过ISR信号通路促进胃癌的进展<sup>[14]</sup>;在结肠癌中,HMGCS1能够正向调节结肠癌细胞的细胞增殖、迁移和侵袭,此外,HMGCS1可以增强pERK的活性,增强EGF诱导的结肠癌细胞增殖<sup>[15]</sup>;而在宫颈癌中,HMGCS1则通过负向调节Wnt/ $\beta$ -catenin和正向调节p27和CHK2的磷酸化抑制宫颈癌的进展<sup>[16]</sup>。这提示HMGCS1在不同的肿瘤中可能通过不同的方式促进或抑制肿瘤进展。在本临床样本研究中,ESCC患者肿瘤组织中HMGCS1的表达越低,其预后越差。Cox生存比例风险也提示,淋巴结转移和HMGCS1的表达是ESCC患者生存的风险因素。为了进一步探讨在ESCC中HMGCS1是否通过影响细胞的转移能力从而影响患者的预后,我们在ESCC细胞中过表达HMGCS1后发现,ESCC细胞的体外迁移及侵袭能力显著降低。这进一步证实ESCC患者发生淋巴结及肺转移可能是与肿瘤组织中HMGCS1表达下调有关。

导致基因表达下调常见的原因可能有基因突变,在转录水平、表观遗传学水平及蛋白质修饰等多种层面改变,从而导致其表达失活。Li等<sup>[17]</sup>发现,ESCC中,抑癌基因DESC1的表达受lncRNA

LOXL1-AS1在表观水平的调控,其表达下调可促进ESCC侵袭转移,本课题组通过组织标本及体外实验发现HMGCS1表达下调,并通过细胞功能实验验证其也发挥“抑癌基因”的功能,Zhou等<sup>[16]</sup>发现,在宫颈癌中,低表达的HMGCS1受miR-223调控,miR-223通过与其3'UTR区结合从而抑制其表达,促进宫颈癌细胞的恶性增殖。在肝癌中,运用突变分析发现HMGCS1基因存在非同义突变从而导致其表达下调<sup>[18]</sup>,而在ESCC中,HMGCS1表达下调的机制不明,我们将在后续实验中对其进行深入的探讨。

综上所述,在ESCC中,HMGCS1的表达显著低于正常食管组织,且HMGCS1表达与ESCC发生转移相关,在发生淋巴结转移的ESCC患者中,HMGCS1表达低于未发生转移的患者。HMGCS1能够通过抑制ESCC细胞的迁移及侵袭能力从而抑制ESCC的进展。因此,HMGCS1可以作为抑制ESCC进展的潜在治疗靶点。但本研究也存在一定局限性,研究未进行体内实验,同时HMGCS1抑制ESCC细胞转移能力的具体分子机制仍需要进一步的探索。

#### [参考文献]

- [1] 邹小农,赵平. 中国癌症态势七十年分析[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2019, 26(10): 1153-1161
- [2] 魏文强. 我国食管癌防控的现状与挑战[J]. 中华预防医学杂志, 2019, 53(11): 1081-1083
- [3] 贾瑞诺,盛漫曦,孔金玉,等. 我国食管癌研究新进展[J]. 中国研究型医院, 2021, 8(1): 2-12
- [4] FUJIMOTO N, AKIYAMA M, SATOH Y, et al. Interaction of gal-7 with HMGCS1 *in vitro* may facilitate cholesterol deposition in cultured keratinocytes [J]. J Invest Dermatol, 2022, 142(3 pt a): 539-548
- [5] JAIN S, DHINGRA S. Pathology of esophageal cancer and Barrett's esophagus [J]. Ann Cardiothorac Surg, 2017, 6(2): 99-109
- [6] DISIENA M, PERELMAN A, BIRK J, et al. Esophageal cancer: an updated review [J]. South Med J, 2021, 114(3): 161-168
- [7] YANG Y M, HONG P, XU W W, et al. Advances in targeted therapy for esophageal cancer [J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 229
- [8] MARTIN J T. Consolidation therapy in esophageal cancer [J]. Surg Clin North Am, 2021, 101(3): 483-488
- [9] WANG X, HOBBS B, GANDHI S J, et al. Current status and application of proton therapy for esophageal cancer [J]. Radiother Oncol, 2021, 164: 27-36
- [10] 朱亚宁,吴健,孙苏安,等. 食管癌中TAZ蛋白的表达

(下转第1458页)