

· 专题研究:乳腺癌 ·

IGF2BP3 通过 m6A-EP300 轴介导乳酸化修饰驱动三阴性乳腺癌代谢与表观遗传交互作用

李逸涵, 王子文, 陈锐, 杨海燕, 蔡梦媛, 李驿洵, 吴柯非, 王雨欣, 丁强*

南京医科大学第一附属医院乳腺病中心, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的: 探讨乳酸对三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)细胞恶性行为的影响, 并揭示胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白3(insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3, IGF2BP3)通过m6A依赖性方式调控EP300, 进而介导代谢重编程的表观遗传学机制。方法: 通过外源性添加乳酸钠处理TNBC细胞, 采用CCK-8、集落形成、划痕愈合和Transwell实验检测细胞增殖与迁移能力; 利用shRNA慢病毒载体构建IGF2BP3稳定敲低细胞模型, 结合Western blot分析组蛋白乳酸化修饰水平; 进一步通过RIP-seq、MeRIP-seq筛选IGF2BP3的m6A靶基因, 并利用qRT-PCR和Western blot验证关键分子表达。结果: 乳酸钠处理显著增强了TNBC细胞的增殖和迁移能力, 且泛乳酸化水平随乳酸浓度梯度升高而增加。IGF2BP3敲低可降低组蛋白乳酸化修饰水平。通过整合RIP-seq和MeRIP-seq数据, 鉴定出699个其转录本同时被IGF2BP3特异性结合且携带m6A修饰的候选基因, 这些基因显著富集于表观遗传调控和代谢相关通路。EP300转录本上IGF2BP3的结合区域与m6A修饰位点高度重合, 且EP300的表达水平在IGF2BP3敲低后明显下调。结论: 外源性乳酸通过泛乳酸化修饰促进TNBC的恶性进展。IGF2BP3通过m6A依赖性机制调控EP300的表达, 进而介导组蛋白乳酸化修饰与代谢重编程的协同作用, 最终驱动TNBC的肿瘤进展。上述发现为靶向代谢-表观遗传交互调控的新型治疗策略提供了理论依据。

[关键词] 三阴性乳腺癌; 乳酸; IGF2BP3; EP300

[中图分类号] R737.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2025)07-905-08

doi: 10.7655/NYDXBNSN250474

IGF2BP3 drives the metabolic - epigenetic crosstalk in triple - negative breast cancer through m6A-EP300 axis-mediated lactylation modification

LI Yihan, WANG Ziwen, CHEN Rui, YANG Haiyan, CAI Mengyuan, LI Yixun, WU Kefei, WANG Yuxin, DING Qiang*

Breast Disease Center, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the functional impact of lactate on triple-negative breast cancer (TNBC) malignancy and elucidate an m6A-dependent epigenetic mechanism through which insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3 (IGF2BP3) orchestrates metabolic reprogramming *via* regulation of EP300. **Methods:** TNBC cells were treated with exogenous sodium lactate supplementation to investigate their oncogenic effects. Cell proliferation and migration were assessed *via* CCK-8, colony formation, wound healing, and Transwell assays. Stable IGF2BP3-knockdown cell models were established using shRNA lentiviral vectors, with histone lactylation modification levels analyzed by Western blot. RNA immunoprecipitation sequencing (RIP-seq) and m6A-specific methylated RNA immunoprecipitation sequencing (MeRIP-seq) were used to identify IGF2BP3's m6A target genes, validated by qRT-PCR and Western blot for key molecule expression. **Results:** Sodium lactate treatment significantly enhanced TNBC cell proliferation and migration, with pan-lactylation levels increasing dose-dependently. IGF2BP3 knockdown reduced histone lactylation. Integrated RIP-seq/MeRIP-seq analysis identified 699 candidate genes whose transcripts bore both IGF2BP3-specific binding and m6A modifications, significantly enriched in epigenetic regulation and metabolic pathways. IGF2BP3-binding regions on EP300 transcripts overlapped extensively with m6A sites, and EP300 expression was markedly downregulated post-IGF2BP3 knockdown. **Conclusion:**

[基金项目] 江苏省科技重大专项(BG2024026)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: dingqiang@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-1499-6200)

Exogenous lactate drives TNBC malignant progression by orchestrating pan-lactylation modifications. IGF2BP3 regulates EP300 expression through m6A-dependent mechanisms, mediating the synergistic interplay between histone lactylation and metabolic reprogramming to drive TNBC progression. These findings provide a theoretical basis for novel therapeutic strategies targeting metabolism-epigenetics crosstalk.

[Key words] TNBC; lactate; IGF2BP3; EP300

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(07): 905-912]

三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是乳腺癌中侵袭性最强、预后最差的亚型,其病理特征为雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)的缺失表达^[1-2]。由于缺乏明确的治疗靶点, TNBC患者对内分泌治疗及HER2靶向治疗均不敏感,主要依赖传统化疗,但极易产生耐药性并伴随高复发风险。近年来,代谢重编程作为肿瘤的特征之一,成为TNBC研究的重要方向^[3]。与其他乳腺癌亚型相比, TNBC表现出显著的糖酵解依赖性,其特征包括葡萄糖转运蛋白(如GLUT1)和关键糖酵解酶(如HK2、LDHA)的异常高表达,导致肿瘤微环境中乳酸的大量累积^[4]。这一代谢特征不仅为肿瘤细胞提供快速增殖所需的能量和生物合成前体,还可能通过重塑微环境促进免疫逃逸和转移。

乳酸曾长期被视为代谢废物,但近年研究发现,其在肿瘤中可通过多种机制发挥信号分子功能^[5]。例如,乳酸可通过酸化微环境激活基质金属蛋白酶,促进细胞外基质降解和肿瘤侵袭^[6]; 还可通过抑制T细胞功能介导免疫抑制^[7]。2019年, Zhang等^[8]首次报道了乳酸诱导的组蛋白乳酸化修饰,揭示了乳酸直接参与基因表达调控的表观遗传新机制。组蛋白乳酸化通过将乳酸共价结合至组蛋白赖氨酸残基(如H3K18la),动态调节炎症、代谢相关基因的转录,从而将代谢状态与表观遗传调控直接关联^[9]。这一发现为理解肿瘤代谢产物如何驱动恶性表型提供了全新视角^[10]。然而,目前关于乳酸化修饰在TNBC中的具体功能及其上游调控网络仍存在显著的知识缺口。

E1A结合蛋白p300(E1A binding protein p300, EP300)是一种多功能的转录共激活因子,具有组蛋白乙酰转移酶活性,能够通过乙酰化组蛋白(如H3K27ac)或非组蛋白底物(如转录因子p53、STAT3)调控基因转录^[11]。研究表明, EP300在多种癌症中异常高表达,并通过激活促癌信号通路(如Wnt/ β -catenin、HIF-1 α)驱动肿瘤进展^[12-14]。值得注

意的是, EP300的功能不仅限于乙酰化修饰。最新证据表明, EP300可被乳酸诱导的组蛋白乳酸化修饰招募至特定基因启动子区(如MYC、HIF1A),协同增强其转录活性,提示EP300可能作为代谢-表观遗传交互的关键枢纽分子^[10]。

胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白3(insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 3, IGF2BP3)是一种保守的RNA结合蛋白,属于IGF2BP家族成员,通过识别并结合靶mRNA的特定序列(如m6A修饰位点)调控其稳定性、定位及翻译效率^[15-16]。IGF2BP3在胚胎发育中高表达,但在正常成人组织中表达受限。值得注意的是, IGF2BP3在包括TNBC在内的多种恶性肿瘤中异常激活,其过表达与肿瘤侵袭性增强、转移潜能提升及患者不良预后显著相关^[17]。本课题组前期研究发现, IGF2BP3在TNBC组织中特异性高表达,且与糖酵解活性呈正相关,提示其可能通过调控代谢相关基因的转录后修饰参与TNBC代谢重编程。然而, TNBC中IGF2BP3是否通过表观遗传机制(如乳酸化修饰)协调代谢与基因表达程序,目前尚无报道。此外, IGF2BP3的靶基因网络及其与EP300的功能关联仍需深入解析。本研究旨在揭示TNBC中乳酸化修饰的动态调控网络,为靶向代谢-表观遗传交互机制的精准治疗策略提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

人TNBC细胞系MDA-MB-231、HCC-1806购自美国典型培养物保藏中心(ATCC),由南京医科大学乳腺中心实验室冻存。所有细胞均在含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的DMEM高糖培养基中,于37℃、5% CO₂恒温培养箱中常规培养。

实时荧光定量PCR相关试剂: HiScript Q RT SuperMix for qPCR及ChamQ SYBR qPCR Master Mix(南京诺唯赞生物科技有限公司)。蛋白质实验试剂: 细胞裂解液、RIPA裂解液(强/中/弱)、Tris-HCl缓冲液(pH6.8、pH8.8)、甘氨酸、十二烷基硫酸钠、预

染蛋白分子量标准及Western blot试剂(封闭液、洗涤液、二抗稀释液等)(南京碧云天生物技术有限公司); Tris/MOPS/SDS电泳缓冲液、速溶型蛋白上样缓冲液(上海雅酶生物医药); 蛋白质常规分子量标记、IGF2BP3多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司); anti-l-lactyl lysine兔源多克隆抗体(杭州景杰生物科技)。

细胞培养相关试剂: DMEM、RPMI1640培养基及高级胎牛血清(南京维森特生物技术有限公司); Lipofectamine 3000转染试剂(赛默飞世尔科技公司, 美国); 一步冻存液(苏州海星生物科技有限公司); 0.25%胰蛋白酶(含EDTA)(武汉普诺赛生命科技有限公司)。其他试剂: 结晶紫染液、DMSO、PBS等(南京碧云天生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 慢病毒转染

采用感染复数(multiplicity of infection, MOI)=10进行慢病毒转染实验。将MDA-MB-231和HCC-1806细胞按 2×10^5 个/孔接种于6孔板, 待贴壁率达80%时更换含10% FBS的完全培养基。细胞融合度为40%~50%时, 弃去旧培养基, 经PBS清洗后加入冰上解冻的慢病毒液及5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Polybrene, 37 $^{\circ}\text{C}$ 共培养16~24 h。转染后更换新鲜培养基, 继续培养48~72 h, 通过荧光显微镜观测荧光蛋白表达(随机5个视野统计阳性率)及细胞形态学变化评估转染效率。转染72 h后采用5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘌呤霉素持续筛选7~10 d。

1.2.2 蛋白质印迹分析(Western blot实验)

根据目标蛋白分子量范围配制不同浓度分离胶(5%胶适用于50~150 kDa, 7%胶分离30~90 kDa, 10%胶适配20~80 kDa), 采用1.5 mm玻璃板制胶模具, 注入分离胶后以无水乙醇压胶形成平整界面, 室温聚合后灌注5%浓缩胶并插入上样梳。待胶体完全固化后, 将凝胶垂直安装至电泳槽, 加入1 \times 电泳缓冲液, 以80 V恒压进行电泳, 待样品迁移至浓缩胶底部后调整电压至120 V, 通过预染蛋白分子量标准品(10~180 kDa)监控迁移进程, 当目标条带接近分离胶下1/3时终止电泳。转膜前将PVDF膜经甲醇活化10 s, 与凝胶、滤纸及海绵垫按“阴极板-海绵-3层滤纸-凝胶-膜-3层滤纸-海绵-阳极板”顺序组装转膜夹, 全程使用玻璃棒排除气泡。转膜槽置于冰水浴中, 以400 mA恒流转膜30 min(50~100 kDa蛋白)至60 min(>100 kDa蛋白)。转膜结束后, 依次进行2 h 5%脱脂牛奶封闭、4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜一抗孵育(anti-l-

lactyl lysine及IGF2BP3抗体等)及室温1 h HRP标记的二抗孵育, 最终通过ECL化学发光显影系统对目的蛋白表达进行显影检测。

1.2.3 RNA提取与RT-qPCR分析

采用TRIzol法提取总RNA: 收集 1×10^6 个细胞沉淀, 加入1 mL TRIzol裂解液冰浴裂解, 经氯仿分层、异丙醇沉淀及75%乙醇洗涤后, 用30 μL 无RNase水溶解RNA沉淀, NanoDrop测定浓度及纯度, 分装保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 。逆转录使用HiScript Q RT SuperMix, 取500 ng RNA于37 $^{\circ}\text{C}$ 反应15 min合成cDNA。qPCR采用ChamQ SYBR Master Mix构建10 μL 反应体系(含0.4 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 正反向引物及1 μL cDNA模板), 在Roche荧光定量PCR仪上运行程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s; 40个循环(95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s); 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s \rightarrow 60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s \rightarrow 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s。以 β -actin为内参, 通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目标基因相对表达量, 熔解曲线单峰验证扩增特异性。

特异性PCR引物如下, IGF2BP3正向: 5'-TTG-CAGGAATGACGCTGTA-3', 反向: 5'-ACCCAAG-GCGTTCAGATTTA-3'; β -actin正向: 5'-TCACCCACACTGTGCCCATCTACGA-3', 反向: 5'-CAGCG-GAACCGCTCATTTGCCAATGG-3'; EP300正向: 5'-CTCAGCCGGAGGATATTCA-3', 反向: 5'-GACGG-TAAGTGCCTCCCAA-3'。

1.2.4 细胞划痕实验

将MDA-MB-231和HCC-1806细胞接种于6孔板, 待融合至80%~90%时, 使用无菌移液器尖端划出均一划痕(宽度200~500 μm), PBS轻柔冲洗去除脱落细胞后更换无血清培养基以抑制增殖。分别于0、24 h在倒置显微镜下采集图像(固定放大倍率及光照条件), 采用Image J软件量化划痕宽度, 按公式计算迁移率: 迁移率(%)=(初始宽度-终点宽度)/初始宽度 \times 100%。每组设3个技术重复, 独立实验重复3次, 确保数据可靠性。

1.2.5 CCK-8细胞增殖检测

将MDA-MB-231和HCC-1806细胞以 3×10^3 个/孔接种于96孔板, 设置空白对照(无细胞培养基)及实验组(含梯度浓度处理药物), 每组设3个复孔。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后, 弃去原培养基, 每孔加入含10% CCK-8试剂的无血清培养基100 μL , 避光孵育2 h。使用酶标仪于450 nm波长测定吸光度值(OD值), 按公式计算细胞存活率: 存活率(%)=(实验组OD-空白组OD)/(对照组OD-空白组OD) \times 100%。每组实验独立重复3次。

1.2.6 细胞Transwell实验

将MDA-MB-231和HCC-1806细胞以 1×10^5 个/孔接种于8 μm 孔径Transwell上室(含200 μL 无血清培养基),下室添加含10% FBS的500 μL 完全培养基作为趋化诱导。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h后,移除上室未迁移细胞,4%多聚甲醛固定15 min,0.1%结晶紫染色20 min,PBS冲洗后于倒置显微镜下随机选取5个视野计数下室膜面迁移细胞数。实验设置3个复孔,独立重复3次。

1.3 统计学方法

实验数据采用GraphPad Prism 9及SPSS 19.0进行统计学分析,结果以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间差异评估采用Student's *t*检验或单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外源性乳酸钠通过乳酸化修饰促进TNBC细胞增殖及迁移

与其他乳腺癌亚型相比,TNBC对糖酵解途径的依赖性更为显著,表现为多个关键糖酵解酶和转运蛋白的上调,伴随葡萄糖摄取和乳酸分泌的增加。为了进一步探讨TNBC细胞分泌的大量乳酸对细胞的作用,并排除pH变化对细胞行为的潜在影响,在MDA-MB-231 TNBC细胞系的完全培养基中外源性添加了5 mmol/L乳酸钠。乳酸钠作为乳酸的钠盐形式,可以避免乳酸引起的酸性变化,从而确保乳酸的作用能够被准确评估^[18]。

CCK-8法评估外源性乳酸钠(5 mmol/L)对MDA-MB-231 TNBC细胞增殖能力的影响,结果显示,与未处理的对照组(231 WT)相比,乳酸钠处理组在120 h内的相对增殖能力显著增强(图1A)。此外,

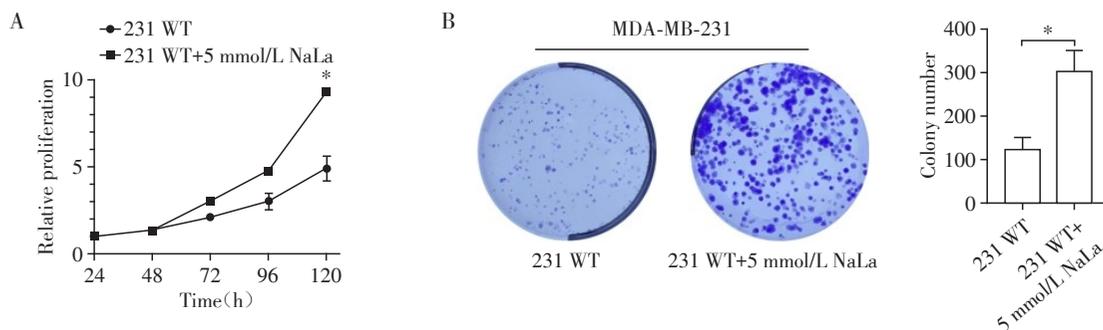
采用集落形成实验进一步验证了乳酸钠对细胞增殖能力的作用。结果表明,乳酸钠处理组的集落数量显著高于对照组(图1B),差异有统计学意义($P < 0.05$)。这表明外源性乳酸钠能够显著促进TNBC细胞的增殖能力。

为了评估乳酸对TNBC细胞迁移能力的影响,分别在0和24 h拍摄并分析了细胞迁移情况。结果显示,相比对照组,外源性加入乳酸的TNBC细胞在24 h后的划痕愈合率明显增加(图2A)。此外,Transwell小室实验也显示,乳酸处理组的迁移细胞数显著增多(图2B),且差异有统计学意义($P < 0.05$)。为了评估组蛋白乳酸化是否参与其中,在细胞外梯度加入乳酸来检测细胞整体乳酸化水平是否改变(图2C)。显然,10 mmol/L外源乳酸补充显著增强了泛乳酸化水平。这一结果提示,乳酸可能通过调节乳酸化相关通路或信号转导途径,进一步促进了TNBC的恶性生物学行为。

2.2 IGF2BP3敲低抑制TNBC的乳酸化修饰

前期研究已经发现IGF2BP3在TNBC组织中存在特异性高表达特征^[19]。为探究IGF2BP3对TNBC细胞组蛋白乳酸化修饰的调控作用,本研究选取了2个IGF2BP3高表达的TNBC细胞系(MDA-MB-231和HCC-1806),根据2种细胞系的最佳MOI值,分别转染了2种特异性靶向IGF2BP3的shRNA慢病毒载体(shIGF2BP3-1和shIGF2BP3-2)以及阴性对照载体(shRNA-NC),成功构建了IGF2BP3稳定敲低的细胞模型。

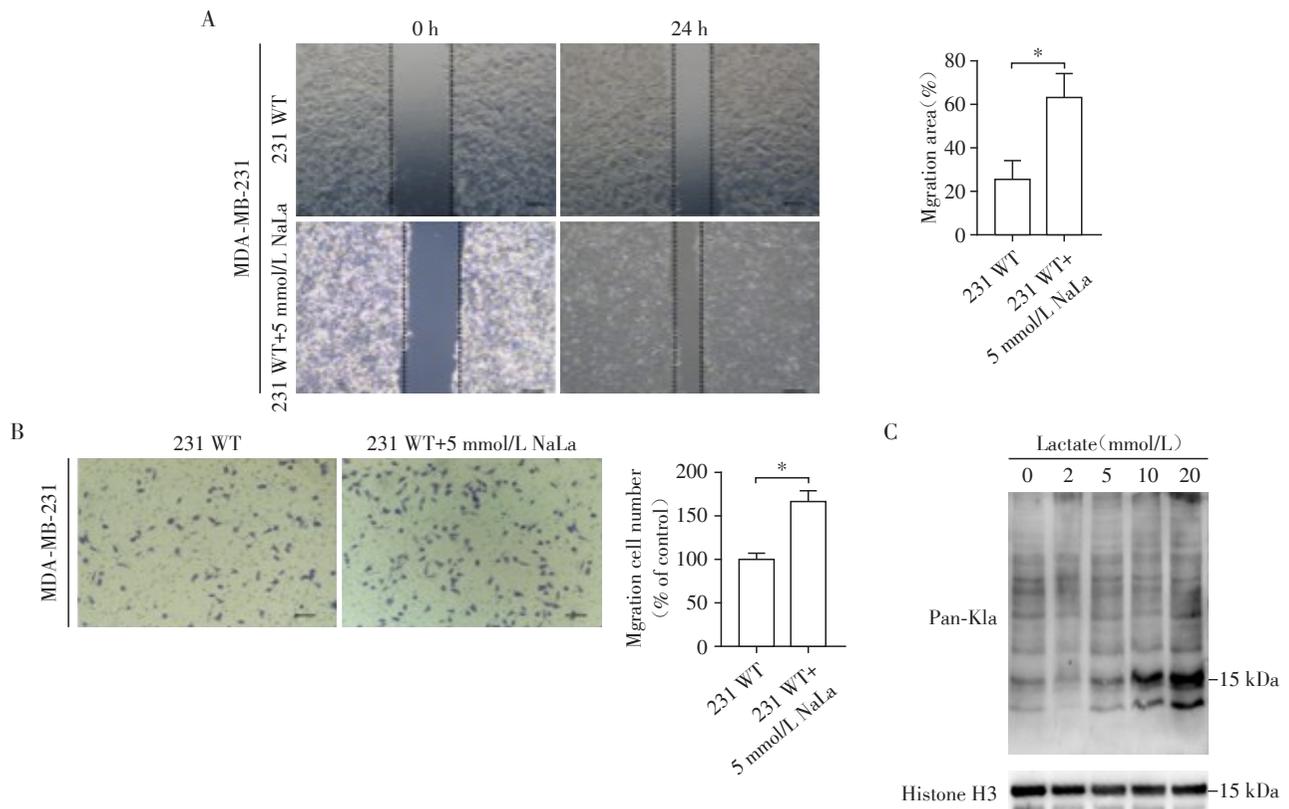
采用RT-qPCR和Western blot验证基因沉默效率,结果显示与shRNA-NC组相比,shIGF2BP3组细胞的IGF2BP3 mRNA及蛋白表达水平均显著下降(图3A、B),且差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一



A: Relative proliferation was assessed by CCK-8 assay in MDA-MB-231 cells. Results showed that 5 mmol/L NaLa significantly enhanced cell proliferation. Compared to the 231 WT group, $^*P < 0.05$. B: Colony formation assay showed that 5 mmol/L NaLa treatment significantly increased colony numbers in MDA-MB-231 cells. Compared to the 231 WT group, $^*P < 0.05$ ($n=3$).

图1 外源性乳酸钠促进TNBC细胞增殖

Figure 1 Exogenous sodium lactate promotes TNBC cell proliferation



A: Wound healing assay indicated that 5 mmol/L NaLa significantly promoted cell migration in MDA-MB-231 cells($\times 100$). Compared to the 231 WT group, $^*P < 0.05$. B: Transwell invasion assay demonstrated that 5 mmol/L NaLa significantly enhanced invasive capacity in MDA-MB-231 cells ($\times 100$). Compared to the 231 WT group($\times 100$), $^*P < 0.05$. C: Global lactylation changes after lactate addition to the extracellular gradient($n=3$).

图2 外源性乳酸钠通过泛乳酸化促进TNBC细胞的增殖和迁移

Figure 2 Exogenous sodium lactate promotes proliferation and migration of TNBC cells *via* pan-lactylation

步通过免疫印迹法检测组蛋白整体乳酸化修饰水平,发现IGF2BP3敲低细胞的乳酸化修饰标志物表达明显降低(图3C)。这些发现初步证实IGF2BP3可能通过调控组蛋白乳酸化修饰参与TNBC恶性进展的表观遗传学机制。

2.3 EP300是TNBC中IGF2BP3的m6A靶标

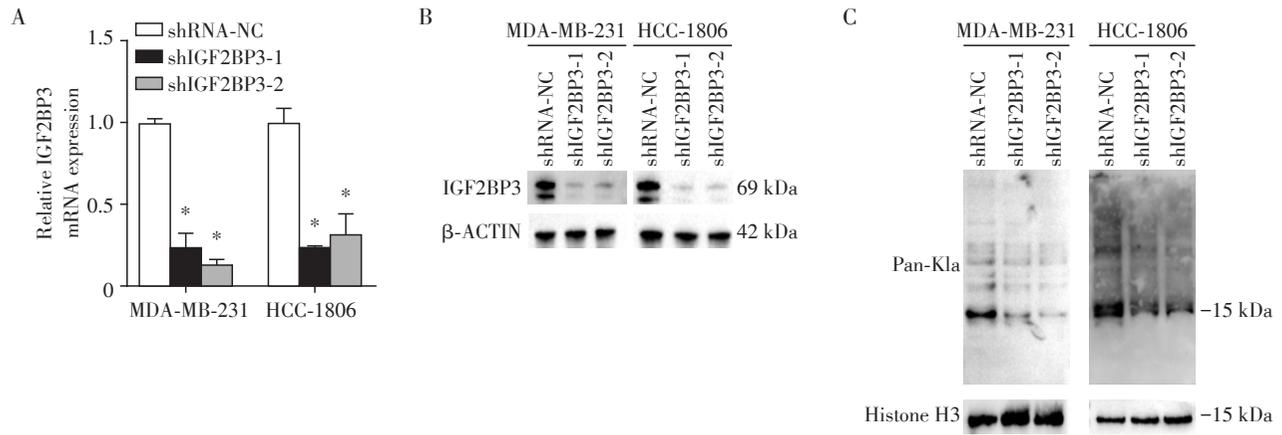
通过对MDA-MB-231细胞系进行RIP-seq(RNA结合蛋白免疫沉淀测序)和MeRIP-seq(m6A甲基化RNA免疫沉淀测序)的联合分析,鉴定出699个被IGF2BP3特异性识别并结合的存在m6A修饰的转录本^[19]。值得注意的是,通过基因本体(gene ontology, GO)分析发现,这些基因显著富集于表观遗传调控和代谢重编程相关通路($P < 0.001$),提示IGF2BP3可能通过m6A依赖的转录后调控网络协调肿瘤细胞的表观与代谢重塑(图4A)。进一步聚焦于核心调控因子,鉴定出转录共激活因子EP300作为关键枢纽分子。EP300是一种多功能的转录共激活因子,具有组蛋白乙酰转移酶活性,能够通过乙酰化组蛋白或非组蛋白底物调控基因转

录。EP300的mRNA分子上存在多个IGF2BP3高置信度结合位点,且这些位点与m6A修饰基序高度重叠(图4B)。

qRT-PCR及Western blot实验证实,IGF2BP3敲低导致EP300的mRNA和蛋白表达水平显著降低(图5),且差异有统计学意义($P < 0.05$),表明EP300是IGF2BP3的直接功能靶点。

3 讨论

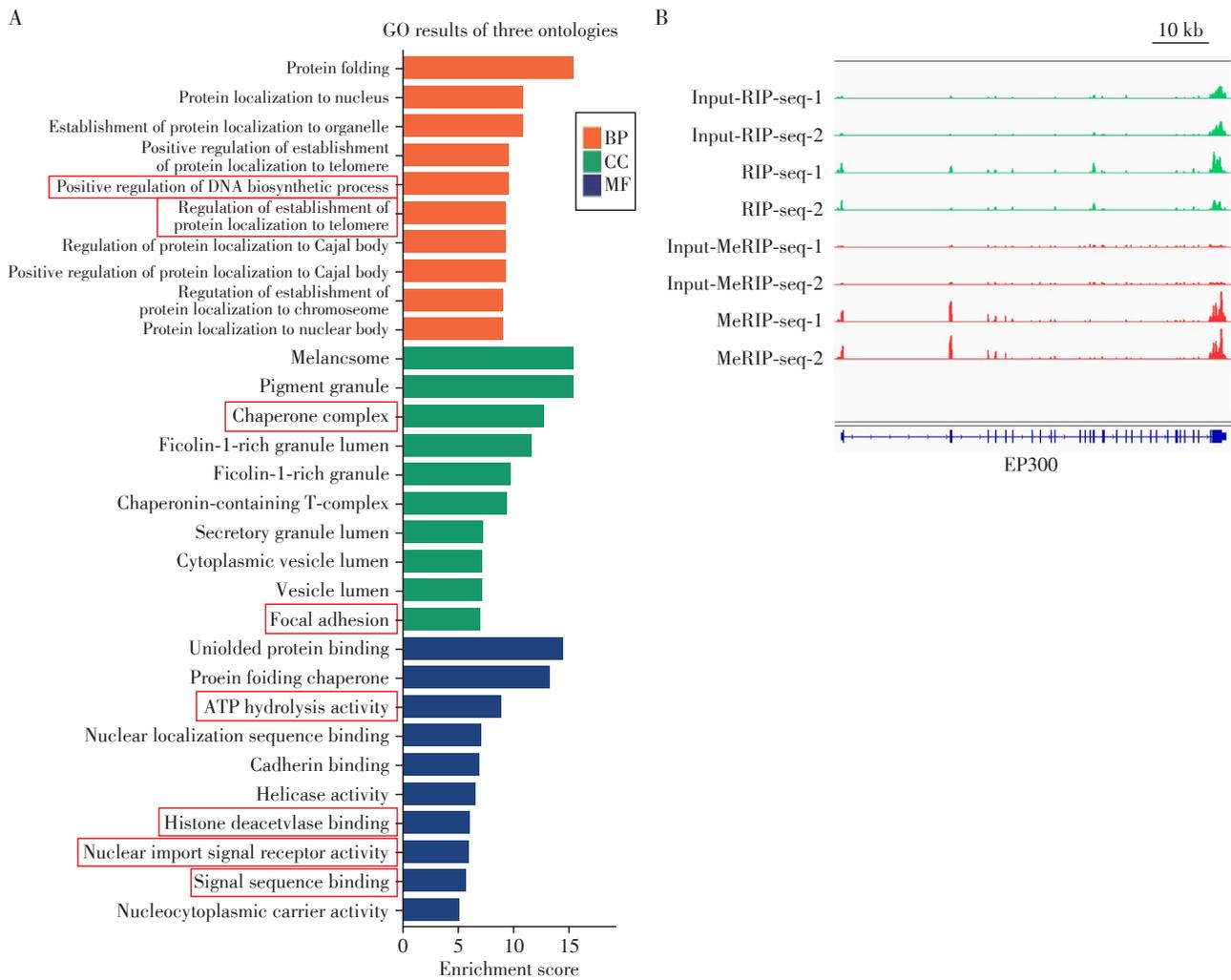
TNBC占乳腺癌新发病例的15%~20%,其缺乏ER、PR和HER2表达的特征导致靶向治疗受限,患者5年生存率显著低于其他亚型^[20-21]。近年来,表观遗传调控机制异常逐渐被认为是TNBC恶性进展的核心驱动因素^[22]。其中,RNA m6A甲基化作为可逆的动态修饰,通过调控mRNA代谢(如稳定性、翻译效率)在肿瘤干性维持、转移和耐药中发挥关键作用^[23-24]。IGF2BP3作为m6A的“阅读蛋白”,通过识别并结合靶基因mRNA的m6A修饰位点增强其稳定性,已被证实是多种实体瘤(如胶质瘤、结直肠



A: RT-qPCR was used to detect the relative expression levels of IGF2BP3 in triple-negative breast cancer cell lines after lentivirus-mediated knockdown. Compared to the shRNA - NC group, * $P < 0.05$. B: Western blot analysis was performed to validate the knockdown efficiency of IGF2BP3 at the protein level. C: Western blot analysis of global histone lactylation levels following IGF2BP3 knockdown($n=3$).

图3 IGF2BP3的敲低抑制了TNBC细胞的组蛋白乳酸化

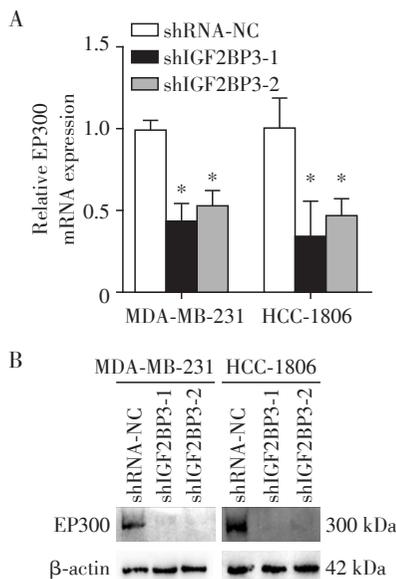
Figure 3 Knockdown of IGF2BP3 inhibits histone lactylation in TNBC cells



A: GO analysis indicates that these genes are significantly enriched in pathways related to epigenetic regulation and metabolic reprogramming. B: The mRNA of EP300 has multiple high-confidence binding sites for IGF2BP3, which overlap significantly with m6A modification motifs.

图4 IGF2BP3通过介导EP300的m6A修饰调控表观遗传与代谢重编程

Figure 4 IGF2BP3 regulates epigenetics and metabolic reprogramming through m6A modification of EP300



A, B: RT-qPCR (A) and Western blot (B) validation demonstrate that knockdown of IGF2BP3 leads to a significant decrease in the expression of EP300 mRNA and protein. Compared to the shRNA-NC group, $P < 0.05$ ($n=3$).

图5 IGF2BP3敲低导致EP300的转录和翻译水平降低
Figure 5 IGF2BP3 knockdown leads to a decrease in the transcription and translation levels of EP300

癌)的促癌因子^[25],但其在TNBC中的下游效应分子及功能网络尚未完全解析。与此同时,TNBC独特的代谢表型(高糖酵解活性导致的乳酸蓄积)不仅重塑肿瘤微环境,其衍生的组蛋白乳酸化修饰(一种新型代谢-表观遗传偶联机制)可通过直接修饰组蛋白赖氨酸残基调控染色质结构和基因转录^[8]。表观遗传共激活因子EP300作为组蛋白乙酰转移酶家族成员,不仅参与经典乙酰化修饰,近期研究提示其可能通过与其他翻译后修饰(如乳酸化)的交叉对话影响肿瘤可塑性。然而,TNBC中m6A依赖性RNA调控、乳酸化介导的代谢-表观遗传重编程以及EP300的功能整合如何协同驱动恶性表型,仍是亟待解决的科学问题。

本研究首次系统揭示了乳酸代谢与表观遗传重塑在TNBC恶性进展中的协同作用机制。实验证实外源性乳酸钠通过增强组蛋白泛乳酸化水平显著促进TNBC细胞增殖和迁移。值得注意的是,IGF2BP3作为调控枢纽被证实可同时影响代谢重编程和表观遗传修饰——其敲低不仅降低组蛋白乳酸化水平,更通过m6A依赖性方式调控表观修饰酶EP300的表达。联合测序分析揭示IGF2BP3-EP300轴通过整合RNA表观修饰(m6A)与组蛋白修饰(乳酸化),形成多层次调控网络,这可能是TNBC维持

高糖酵解活性和表观可塑性的关键机制。EP300作为具有组蛋白乙酰转移酶活性的共激活因子,其表达受IGF2BP3调控的发现,为代谢酶与染色质修饰因子的功能偶联提供了直接证据。

综上所述,本研究从代谢-表观遗传交互调控的新视角,阐明IGF2BP3通过m6A/EP300轴增强组蛋白乳酸化修饰、驱动TNBC恶性进展的作用机制。这一发现不仅拓展了乳酸生物学功能的理论认知,更为TNBC的靶向治疗提供了双重干预策略:既可针对代谢依赖性开发乳酸化抑制剂,也可通过靶向IGF2BP3-EP300信号轴实现表观遗传调控。

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。

Conflict of Interests:

The authors declared no conflict of interests.

作者贡献声明:

李逸涵负责设计及实施实验、数据收集与处理、文章撰写;王子文负责实施实验、数据分析;陈锐负责数实施实验、数据结果可视化;杨海燕负责实施实验、数据整理;蔡梦媛、李驿洵、吴柯非、王雨欣协助实验,参与文章校对修订;丁强负责研究设计与实验指导,论文审阅。

Author's Contributions:

LI Yihan was responsible for research design, implementation of experiments, data collection and analysis, and manuscript writing; WANG Ziwen contributed to research design and data analysis; CHEN Rui conducted experiments and performed data visualization; YANG Haiyan carried out experiments and organized datasets; CAI Mengyuan, LI Yixun, WU Kefei, and WANG Yuxin assisted in experimental execution, manuscript proofreading, and revision; DING Qiang oversaw research design, provided experimental guidance, and revised the manuscript.

[参考文献]

- [1] DUAN X, XIE Y, YU J, et al. MCT4/lactate promotes PD-L1 glycosylation in triple-negative breast cancer cells[J]. *J Oncol*, 2022, 2022: 3659714
- [2] NAIK A, DECOCK J. Lactate metabolism and immune modulation in breast cancer: a focused review on triple negative breast tumors[J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 598626
- [3] MUNKÁCSY G, SANTARPIA L, GYÖRFFY B. Therapeutic potential of tumor metabolic reprogramming in triple-negative breast cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8): 6945
- [4] WANG Z, JIANG Q, DONG C. Metabolic reprogramming in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(1): 44-59
- [5] QIN W, CHEN B, LI X, et al. Cancer-associated fibroblasts secrete CSF3 to promote TNBC progression via

- enhancing PGM2L1-dependent glycolysis reprogramming [J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1):249
- [6] PÉREZ-TOMÁS R, PÉREZ-GUILLÉN I. Lactate in the tumor microenvironment: an essential molecule in cancer progression and treatment [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(11):3244
- [7] JIANG M, WANG Y, ZHAO X, et al. From metabolic byproduct to immune modulator: the role of lactate in tumor immune escape [J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1492050
- [8] ZHANG D, TANG Z, HUANG H, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation [J]. *Nature*, 2019, 574(7779):575-880
- [9] 刘 谦, 瞿 菲, 李 薇. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂在乳腺癌的治疗进展 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2024, 44(2):281-286
LIU Q, QU F, LI W. Progress in the treatment of breast cancer with histone deacetylase inhibitors [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2024, 44(2):281-286
- [10] YU J, CHAI P, XIE M, et al. Histone lactylation drives oncogenesis by facilitating m6A reader protein YTHDF2 expression in ocular melanoma [J]. *Genome Biol*, 2021, 22(1):85
- [11] CHEN Y J, ZHAO Y, YAO M Y, et al. Concurrent inhibition of p300/CBP and FLT3 enhances cytotoxicity and overcomes resistance in acute myeloid leukemia [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2025, 46(5):1390-1403
- [12] HECHT A, VLEMINCKX K, STEMMLER M P, et al. The p300/CBP acetyltransferases function as transcriptional coactivators of beta-catenin in vertebrates [J]. *Embo J*, 2000, 19(8):1839-1850
- [13] LIU J, HE D, CHENG L, et al. p300/CBP inhibition enhances the efficacy of programmed death-ligand 1 blockade treatment in prostate cancer [J]. *Oncogene*, 2020, 39(19):3939-3951
- [14] LASKO L M, JAKOB C G, EDALJI R P, et al. Discovery of a selective catalytic p300/CBP inhibitor that targets lineage-specific tumours [J]. *Nature*, 2017, 550(7674):128-132
- [15] ZHOU Y, HUANG T, SIU H L, et al. IGF2BP3 functions as a potential oncogene and is a crucial target of miR-34a in gastric carcinogenesis [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1):77
- [16] ZHANG M, ZHAO S, TAN C, et al. RNA-binding protein IMP3 is a novel regulator of MEK1/ERK signaling pathway in the progression of colorectal cancer through the stabilization of MEKK1 mRNA [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1):200
- [17] WANG B, WANG B, MA J, et al. LIN28B induced PCAT5 promotes endometrial cancer progression and glycolysis via IGF2BP3 deubiquitination [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(4):242
- [18] LI W, ZHOU C, YU L, et al. Tumor-derived lactate promotes resistance to bevacizumab treatment by facilitating autophagy enhancer protein RUBCNL expression through histone H3 lysine 18 lactylation (H3K18la) in colorectal cancer [J]. *Autophagy*, 2024, 20(1):114-130
- [19] ZHANG X, SHI L, SUN H D, et al. IGF2BP3 mediates the mRNA degradation of NF1 to promote triple-negative breast cancer progression via an m6A-dependent manner [J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(9):e1427
- [20] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249
- [21] BIANCHINI G, BALKO J M, MAYER I A, et al. Triple-negative breast cancer: challenges and opportunities of a heterogeneous disease [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(11):674-690
- [22] ZHOU L, YU C W. Epigenetic modulations in triple-negative breast cancer: therapeutic implications for tumor microenvironment [J]. *Pharmacol Res*, 2024, 204:107205
- [23] LIU T, WEI Q, JIN J, et al. The m6A reader YTHDF1 promotes ovarian cancer progression via augmenting EIF3C translation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(7):3816-3831
- [24] JIANG X, LIU B, NIE Z, et al. The role of m6A modification in the biological functions and diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1):74
- [25] WAN W, AO X, CHEN Q, et al. METTL3/IGF2BP3 axis inhibits tumor immune surveillance by upregulating N(6)-methyladenosine modification of PD-L1 mRNA in breast cancer [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1):60

[收稿日期] 2025-04-21

(本文编辑:唐 震)