

· 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.006

## TRAP1 在结肠癌组织中的表达与病理特征和患者预后的关系及其可能的机制

畅靖嘉, 吴昊, 张文桃, 张昕彤, 胡艳芬, 刘铭, 李莉, 朱剑军(山西医科大学基础医学院 医学细胞生物与遗传学教研室, 山西 太原 030001)

**[摘要]** **目的:** 探讨肿瘤坏死因子受体相关蛋白1 (TRAP1) 在结肠癌组织和细胞中的表达及其与临床病理特征和患者预后的关系和相关分子机制。 **方法:** 通过TCGA和GEO数据全面分析TRAP1在结肠癌中的表达及其与临床病理特征和患者预后的关系, 选取2020年10月至2021年03月间在山西医科大学第一医院手术切除的10例结肠癌组织及相应癌旁组织标本, 用IHC染色法检测中国人结肠癌组织中TRAP1的表达进行验证, 运行R包(survival和survminer)进行Kaplan-Meier生存分析; 在线分析TRAP1蛋白的信号肽及穿膜结构域, 通过基因富集分析软件进行GO分析和KEGG分析。培养结肠癌SW480和SW620细胞, 将si-NC和si-TRAP1转染结肠癌细胞, 实验分为空白对照组、si-NC组和si-TRAP1组, 采用qPCR法检测转染后各组结肠癌细胞中TRAP1的表达, FCM检测转染后各组细胞的细胞周期和凋亡情况。 **结果:** 与癌旁组织比较, TRAP1在结肠癌组织中呈高表达 ( $P<0.01$ ), TRAP1表达水平与淋巴结转移有关联 ( $P<0.05$ ), TRAP1高表达组结肠癌患者5年OS率较低 ( $P<0.05$ )。TRAP1蛋白属于胞质蛋白, 功能富集结果显示TRAP1及其相关分子与细胞周期、核糖体生物发生等信号通路有关 (均  $P<0.01$ ), TRAP1高表达组的结肠癌代谢重编程基因簇和线粒体蛋白输入基因簇水平升高 (均  $P<0.01$ )。敲减TRAP1后, 结肠癌细胞周期阻滞于G1期, 细胞凋亡水平显著升高 (均  $P<0.01$ )。 **结论:** TRAP1在结肠癌组织中呈高表达, 且与患者淋巴结转移和低OS率相关联, 敲减TRAP1可阻滞结肠癌细胞周期并促进其凋亡。

**[关键词]** 结肠癌; SW480细胞; SW620细胞; 肿瘤坏死因子受体相关蛋白1; 细胞周期; 凋亡

**[中图分类号]** R735.3<sup>+</sup>5; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)01-0042-08

## Expression of TRAP1 in colon cancer tissues and its relationship with clinicopathological features and patient prognosis and the possible molecular mechanisms

CHANG Jingjia, WU Hao, ZHANG Wentao, ZHANG Xintong, HU Yanfen, LIU Ming, LI Li, ZHU Jianjun (Department of Medical Cellular Biology and Genetics, Basic Medicine College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of tumor necrosis factor receptor associated protein 1 (TRAP1) in colon cancer tissues and its relationship with clinicopathological features and patient prognosis, as well as the related molecular mechanisms. **Methods:** The expression of TRAP1 in colon cancer and its relationship with clinicopathological features and patient prognosis were comprehensively analyzed by TCGA and GEO databases. In addition, 10 pairs of colon cancer tissues and corresponding paracancerous tissues surgically resected at the First Hospital of Shanxi Medical University between October 2020 and March 2021 were selected, and the expression of TRAP1 in colon cancer tissues of Chinese was detected by IHC staining for validation. Kaplan-Meier survival analysis was performed by running R package (survivor and survminer); The signal peptide and membrane piercing domain of TRAP1 protein were analyzed by online software, and GO analysis and KEGG analysis were carried out by gene enrichment analysis software. Colon cancer SW480 and SW620 cells were cultured and transfected with si-NC or si-TRAP1, and divided into blank control group, si-NC group and si-TRAP1 group. The TRAP1 expression in colon cancer cells of each group after transfection was detected by qPCR, and the cell cycle and apoptosis of the transfected cells were detected by FCM technique. **Results:** TRAP1 was highly expressed in colon cancer tissues compared with paracancerous tissues ( $P<0.01$ ). The expression level of TRAP1 was correlated with lymph node metastasis ( $P<0.05$ ), and the 5-year overall survival (OS) rate of colon cancer patients with high TRAP1 expression was lower than

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No.81902513); 山西省应用基础研究计划资助项目(No.202103021224228, No.201901D211346)

**[作者简介]** 畅靖嘉(1998—), 女, 硕士生, 主要从事胃肠道肿瘤发病机制的研究, E-mail: changjingjia1998@163.com

**[通信作者]** 朱剑军, E-mail: scdx007@163.com

those with low TRAP1 expression ( $P<0.05$ ). TRAP1 protein is a cytoplasmic protein, and functional enrichment results showed that TRAP1 and its related molecules are associated with signaling pathways such as cell cycle and ribosome biogenesis (all  $P<0.01$ ). GSEA enrichment results showed that the levels of colon cancer metabolic reprogramming gene cluster and mitochondrial protein input gene cluster were elevated in the high TRAP1 expression group (all  $P<0.01$ ). Knockdown of TRAP1 resulted in cell cycle arrest in G1 phase with significantly elevated level of apoptosis of colon cancer cells (all  $P<0.01$ ). **Conclusions:** TRAP1 is highly expressed in colon cancer tissues and correlated with lymph node metastasis and dismal OS rate in patients. Knockdown of TRAP1 can block cell cycle and promote apoptosis in colon cancer cells.

**[Key words]** colon cancer; SW480 cells; SW620 cells; tumor necrosis factor receptor associated protein 1 (TRAP1); cell cycle; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(1): 42-49. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.01.006]

结直肠癌全球发病率和病死率分别位居所有恶性肿瘤第3位和第2位<sup>[1]</sup>。2020年,全球新发结直肠癌病例约190万,死亡病例约93万<sup>[1]</sup>。结直肠癌的发生发展是一个涉及多基因参与、多步骤的复杂过程<sup>[2]</sup>。结直肠癌被认为是社会经济发展的标志物<sup>[1]</sup>。生活方式的改变、动物源食物摄取增多、肥胖等均是结直肠癌独立风险因素<sup>[1]</sup>。CEA、CA19-9等是目前结直肠癌诊断、评价疗效常用的标志物<sup>[3-5]</sup>。手术治疗、化疗、放疗及靶向治疗等是治疗结直肠癌的主要方式,然而,多数患者在确诊时已处于中晚期,5年生存率仍然较低<sup>[3-5]</sup>。因此,继续筛查与结直肠癌发病相关基因,阐明其在结直肠癌发病过程中作用,对前移结直肠癌诊断窗口期和改善患者预后具有重要临床意义。本课题组前期通过广谱筛查结直肠癌差异表达基因,构建了与结直肠癌预后相关的风险模型,纳入模型的有肿瘤坏死因子受体相关蛋白1(tumor necrosis factor receptor associated protein 1, TRAP1)。TRAP1是一个定位于线粒体的伴侣蛋白,归属于热激蛋白90(heat shock protein, HSP90)蛋白家族<sup>[6]</sup>。TRAP1在多种人类恶性肿瘤中呈异常表达<sup>[7-9]</sup>。有研究<sup>[7-8]</sup>发现,TRAP1在乳腺癌和胃癌中表达水平显著升高。COSTANTINO等<sup>[9]</sup>研究发现,TRAP1在65.38%的结直肠癌组织中呈高表达。有研究<sup>[6]</sup>发现,TRAP1与肿瘤细胞凋亡、细胞迁移与侵袭、细胞代谢重编程和耐药等有关。然而,TRAP1在结肠癌中的表达及其功能仍不完全清楚。本研究利用TCGA和GEO结肠癌数据库分析并通过中国人结肠癌组织和细胞实验,探讨TRAP1在结肠癌组织中的表达及其与结肠癌临床病理特征和患者预后的关系和相关分子机制,为临床治疗结肠癌提供潜在的靶标分子。

## 1 资料与方法

### 1.1 细胞、试剂与组织标本

结肠癌细胞SW480和SW620为本实验室保存细胞。DMEM培养液购自美国Gibco公司,胎牛血清购自四季青公司,胰酶和青链霉素购自索莱宝公司,

Lipofectamine™ 2000 购自美国Invitrogen公司, RNAiso Plus、PrimeScript™ RT Master Mix 反转录试剂盒、TB Green® Premix Ex Taq™ II 购自日本TaKaRa公司,兔抗TRAP1购自美国Proteintech公司, MaxVision-HRP(鼠/兔)和DAB显示液购自福州迈新公司, Mayer H-E 染色液购自中国LEAGENE公司, Cell Counting Kit 购自中国Seven公司,细胞周期检测试剂盒和细胞凋亡检测试剂盒购自中国贝博公司。siRNA由通用生物(安徽)有限公司合成,qPCR引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。

选取2020年10月至2021年03月在山西医科大学第一医院手术切除的10例结肠癌组织及相应癌旁组织。纳入标准:初次确诊为结肠癌;治疗前未进行化疗、放疗及免疫治疗等。本研究方案经山西医科大学伦理委员会审批通过(批准号:No.2019LL168)。

1.2 利用TCGA和GEO数据库分析TRAP1在结肠癌组织中的表达及其与临床病理特征和患者预后的关系

下载并整理癌症基因数据库(The Cancer Genome Atlas, TCGA)中结肠癌转录组数据和临床信息数据,纳入本研究的结肠癌组织408例,癌旁组织39例。GEO官网搜索GSE39582、GSE41258和GSE44076数据集,下载并整理转录组数据。GSE39582包括535例结肠癌组织,17例癌旁组织;GSE41258包括69例结肠癌组织,25例癌旁组织;GSE44076包括98例结肠癌组织,98例癌旁组织。

基于TCGA和GEO数据,分析TRAP1在结肠癌组织和癌旁组织中的表达水平,并分析TRAP1水平与结肠癌患者临床病理特征的关系。根据TCGA数据,以TRAP1表达水平中位值(7.02448)为标准,将结肠癌患者分为TRAP1低表达组和TRAP1高表达组。运行R包(survival和survminer)绘制Kaplan-Meier生存曲线。

1.3 TRAP1的蛋白质属性、穿膜结构域及亚细胞定位的分析

使用Signal P 4.1 Server在线网站分析TRAP1的信号肽结构。S值、Y值与C值分别判断信号肽存在、

剪切位点及剪切位点值。Mean S值>0.5提示可能是分泌蛋白。使用TMHMM Server v. 2.0在线网站分析TRAP1的穿膜结构域,预测蛋白质是否存在穿膜区。使用PSORT II在线网站分析TRAP1的亚细胞定位。

#### 1.4 GO和KEGG分析

上传TRAP1高、低表达组全部基因表达矩阵,基因富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)软件中Gene sets database选择c2.all.v 7.4.symbols.gmt [curated],运行GSEA。基于UALCAN数据库下载TRAP1相关基因,与结肠癌差异表达基因取交集,获得在结肠癌中呈差异表达的TRAP1相关基因。运行R包(enrichplot和ggplot2)进行GO分析和KEGG分析。

#### 1.5 细胞培养及转染

结肠癌SW480、SW620细胞用含10%胎牛血清的DMEM培养液常规培养。将细胞接种于6孔板( $1 \times 10^4$ 个/孔),待细胞汇合度达约80%时,采用Lipofectamine™ 2000转染试剂将si-NC与3个si-TRAP1片段(#1,#2,#3)分别转染结肠癌细胞。实验分组:对照组(不转染)、si-NC组(转染si-NC)、si-TRAP1#1组(转染si-TRAP1#1)、si-TRAP1#2组(转染si-TRAP1#2)和si-TRAP1#3组(转染si-TRAP1#3)。

#### 1.6 qPCR法检测转染后各组结肠癌细胞中TRAP1的表达

用RNAiso Plus试剂提取转染后各组结肠癌细胞的RNA。用反转录试剂将RNA反转录为cDNA。用TB Green®试剂盒进行PCR扩增。PCR反应条件:95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 共计40个循环。引物序列:TRAP1正向引物为5'-GGGAGTTAG AACCGGACAA-3',反向引物为5'-ACTCCTCAT GTTGCCACTCA-3'; $\beta$ -actin正向引物为5'-ACTCTTCCAGCCTTCCTCC-3',反向引物为5'-TCTCCTTCTGCATCCTGTCG-3'。以 $\beta$ -actin为内参基因,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算出TRAP1的相对表达量。

#### 1.7 IHC染色法检测中国人结肠癌组织中TRAP1的表达水平

结肠癌组织和癌旁组织石蜡切片经二甲苯和乙醇脱蜡脱水后,PBS洗涤,用3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温下处理10 min,柠檬酸钠抗原修复液高温处理12 min,5% BSA封闭液37℃下处理30 min,加入TRAP1抗体(1:200)4℃下处理过夜,MaxVision-HRP试剂室温下处理15 min,DAB显色液室温下处理1 min,H-E复染,脱水,中性树胶封片。显微镜下观察、拍照。用ImageJ软件计算结肠癌组织和癌旁组织TRAP1阳性细胞百分比例。

#### 1.8 FCM检测转染后各组结肠癌细胞的周期和凋亡情况

取转染后对数生长期各组癌细胞( $1.5 \times 10^6$ 个),预冷PBS洗涤2次,PBS重悬细胞,加入预冷75%乙醇,4℃下处理过夜。PBS洗涤2次后重悬细胞,加入RNase A溶液37℃下处理30 min,离心,加入PI染液,混匀后4℃避光处理30 min。应用FCM检测各组细胞的细胞周期。

将对数生长期的转染后各组结肠癌细胞(含 $1.5 \times 10^6$ 个细胞)与400  $\mu$ L结合缓冲液混匀,将10  $\mu$ L Annexin V-FITC加入细胞悬浮液中,4℃避光处理15 min。加入5  $\mu$ L PI染色液,4℃避光处理5 min。于1 h内上流式细胞仪检测各组细胞的凋亡水平。

#### 1.9 统计学处理

采用GraphPad Prism 8进行统计分析。以上主要实验均独立重复3次,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间的差异通过t检验法和Mann-Whitney U检验分析,多组间的差异通过单因素方差分析(ANOVA)计算。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 数据库数据分析与中国人组织标本检测显示TRAP1在结肠癌组织中呈高表达

TCGA数据分析结果显示,与癌旁组织相比,TRAP1 mRNA在结肠癌组织中呈显著高表达(图1A,  $P < 0.01$ )。GEO数据集验证TRAP1 mRNA在结肠癌中的表达水平,结果显示,与癌旁组织相比,TRAP1在结肠癌组织中也呈高表达(均 $P < 0.01$ ,图1A)。用IHC染色法对中国人结肠癌组织进行验证,结果显示,与癌旁组织比较,TRAP1蛋白在结肠癌组织中呈高表达( $P < 0.01$ ,图1B)。

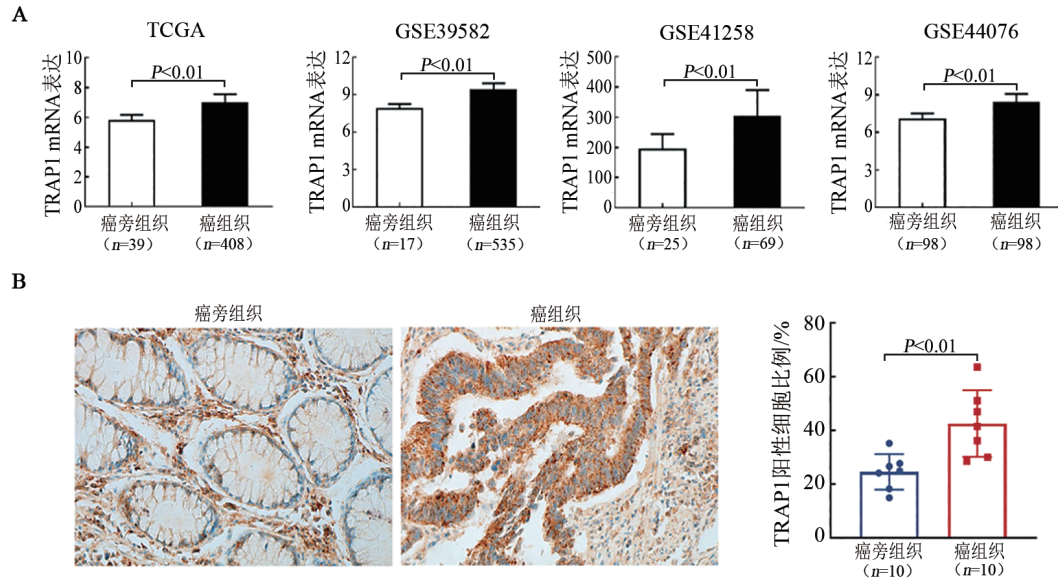
### 2.2 数据库分析显示TRAP1高表达与结肠癌淋巴结转移和患者不良预后相关联

数据库分析结果(表1)显示,TRAP1表达水平与淋巴结转移有关联,与其他临床病理特征无关联。Kaplan-Meier分析结果显示,TRAP1低表达组( $n=188$ )患者5年OS率为71.20%;TRAP1高表达组( $n=220$ )患者5年OS率为54.00%。TRAP1高表达组患者总OS明显短于低表达组患者( $P < 0.05$ ,图2)。

2.3 TRAP1的蛋白质属性、亚细胞定位和生物学功能  
信号肽结构分析结果显示,位于第21位的天冬氨酸的C值最大,分值为0.119;位于第13位的缬氨酸的Y值最大,分值为0.189;位于第1位的蛋氨酸的S值最大,分值为0.385。TRAP蛋白质序列1~12位氨基酸的平均S值为0.279,结果提示TRAP1不具有信号肽,可能不是分泌性蛋白(图3A)。穿膜结构分析结果显示,TRAP1氨基酸序列均位于膜外区,提示

TRAP1 为膜外蛋白, 不存在穿膜区(图 3B)。TRAP1 亚细胞定位分析结果显示, 百分率从高至低依次为细胞质(47.8%)、细胞核(26.1%)、线粒体(17.4%)、细胞骨架(4.3%)和内质网(4.3%)。功能富集结果显示, 生物过程方面主要与核分裂、细胞器分裂、核糖核蛋白复合体合成等过程有关。在细胞组成方面主要与染色质区域、凝缩染色体等有关。分子功能方

面主要与 ATP 酶活性、作用于 DNA 的催化活性等有关。KEGG 信号通路富集结果显示, TRAP1 主要与细胞周期、真核细胞核糖体合成、细胞衰老等信号通路有关(图 3C)。GSEA 结果(图 3D)显示, TRAP1 高表达组结肠癌代谢重编程基因集水平升高(NES=-2.42), 线粒体蛋白输入基因集水平升高(NES=-2.21)。



A: TCGA 和 GEO 数据集中 TRAP1 mRNA 相对表达水平; B: IHC 染色法检测中国人结肠癌组织中 TRAP1 蛋白水平( $\times 200$ )

图 1 TRAP1 在结肠癌组织中的表达情况

表 1 TRAP1 表达水平与结肠癌临床病理特征的关系

特征	TRAP1 表达水平		P 值
	例数(%)	评分	
性别			
男	220(53.9)	7.01	0.782
女	188(46.1)	7.02	
年龄/岁			
<60	116(28.4)	7.04	0.366
$\geq 60$	292(71.6)	7.01	
肿瘤分期			
I+II	230(56.4)	7.06	0.183
III+IV	178(43.6)	6.96	
T 分期			
Tis+T1+T2	82(20.1)	7.11	0.086
T3+T4+TX	326(79.9)	6.99	
N 分期			
N0	238(58.3)	7.07	0.047
N1+N2	170(41.7)	6.94	
M 分期			
M0	309(75.7)	7.03	0.602
M1+MX	99(24.3)	6.96	

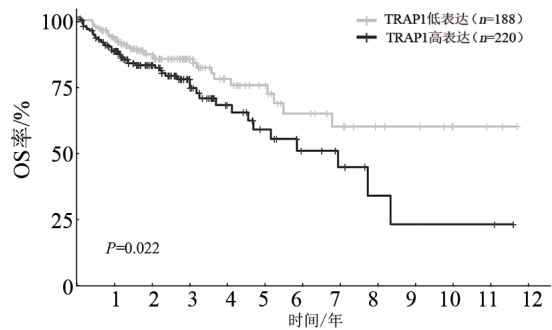
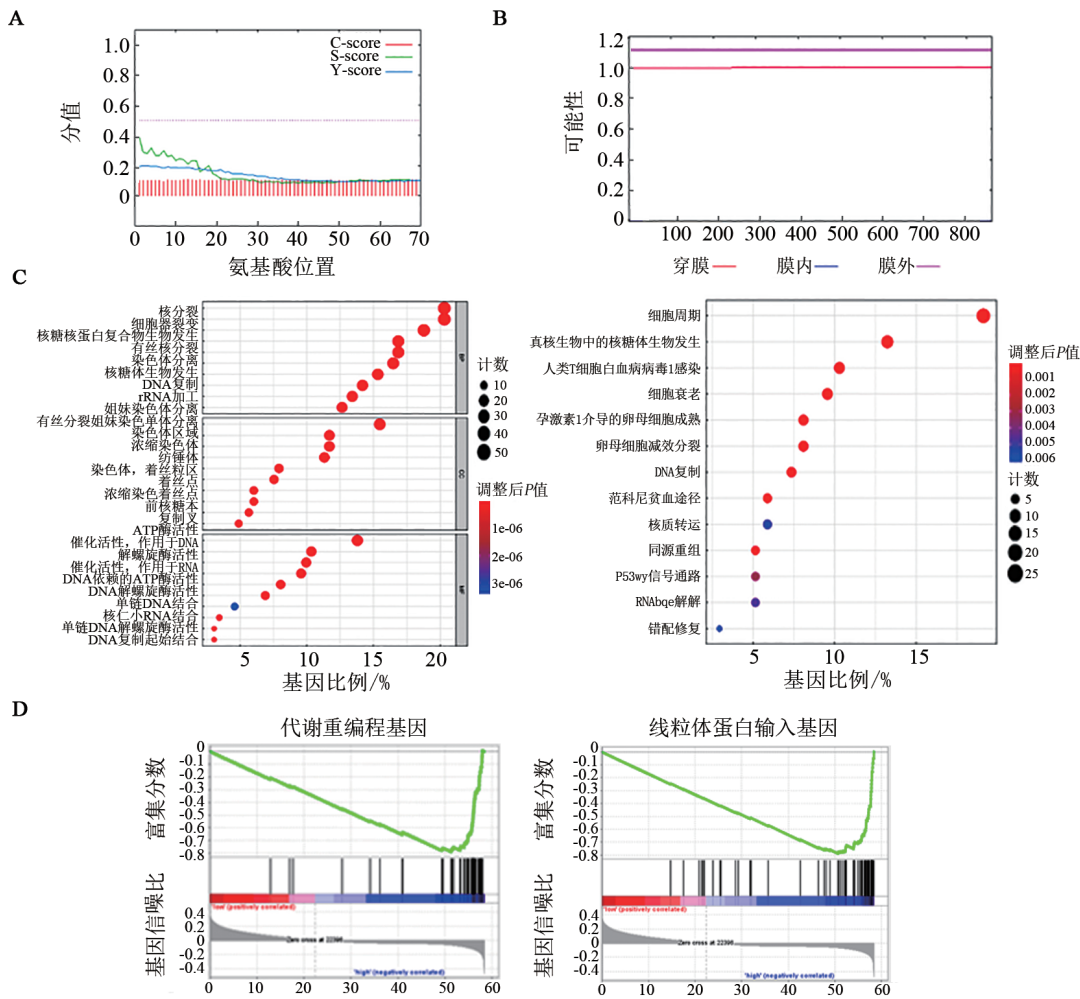


图 2 TRAP1 水平与结肠癌患者 5 年 OS 的关系分析

#### 2.4 结肠癌细胞转染敲减了 TRAP1 mRNA 的表达

qPCR 法检测结果(图 4)显示, si-NC 组相比, si-TRAP1#1~3 组结肠癌细胞中 TRAP1 mRNA 表达水平均显著下降(均  $P < 0.01$ ), 其中以 si-TRAP1#3 组细胞下降最为明显; 与空白组相比, si-NC 组 TRAP1 mRNA 表达水平无显著变化(均  $P > 0.05$ )。以上研究结果表明, si-TRAP1#3 组细胞中敲减 TRAP1 的效果最高, 后续选择 si-TRAP1#3 转染细胞进行实验。



A: 信号肽预测分析TRAP1蛋白是否有信号肽; B: 穿膜结构域分析TRAP1蛋白是否具有穿膜结构域; C: GO和KEGG分析与TRAP1相关的信号通路; D: GSEA软件分析TRAP1相关基因

图3 TRAP1的蛋白质属性、亚细胞定位、生物学功能及其相关基因集

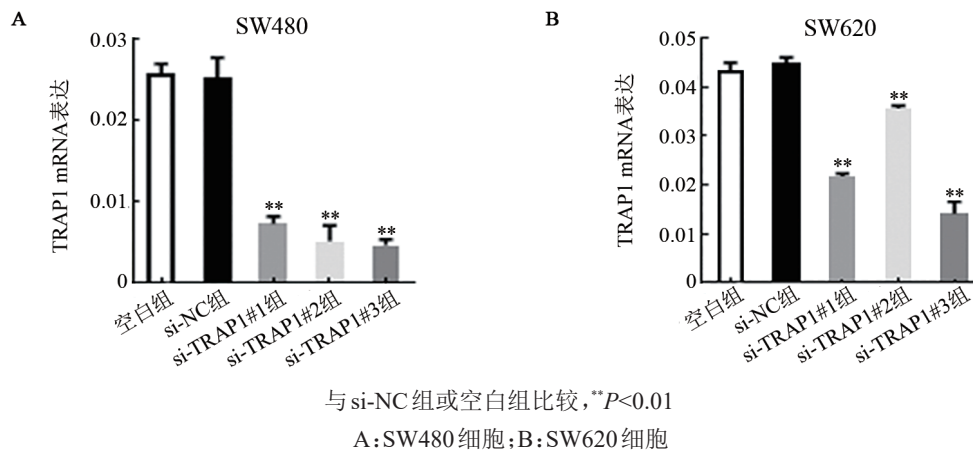


图4 qPCR法检测转染各组结肠癌细胞TRAP1 mRNA的表达

2.5 敲减TRAP1可阻滞结肠癌SW480细胞于G1期  
FCM检测结果显示,在SW480细胞中,与si-NC组相比,敲减TRAP1后结肠癌细胞G1期细胞增多(图5A)。在SW620细胞中,与si-NC组相比,敲减

TRAP1后结肠癌细胞G1期细胞比例无显著改变(图5B)。以上研究结果表明,靶向敲减TRAP1能够阻滞结肠癌SW480细胞于G1期,但对SW620细胞周期无影响。

2.6 敲减 TRAP1 促进结肠癌细胞凋亡

FCM 检测结果 (图 6) 显示, 与 si-NC 组比较, si-TRAP1 组结肠癌 SW480 和 SW620 细胞的凋亡率

均明显升高 (均  $P < 0.01$ )。结果表明, 敲减 TRAP1 能够促进结肠癌 SW480 和 SW620 细胞的凋亡。

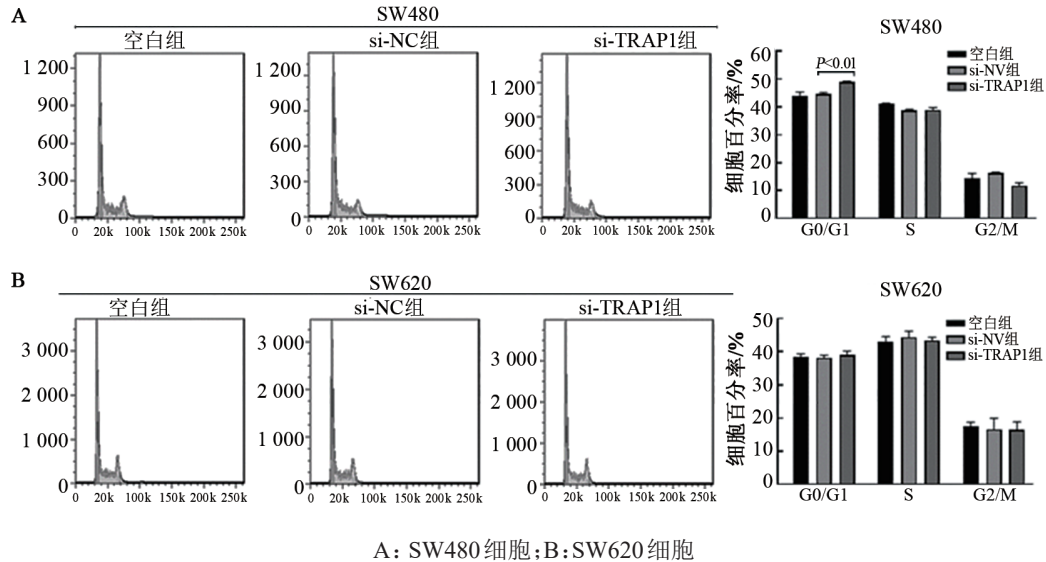
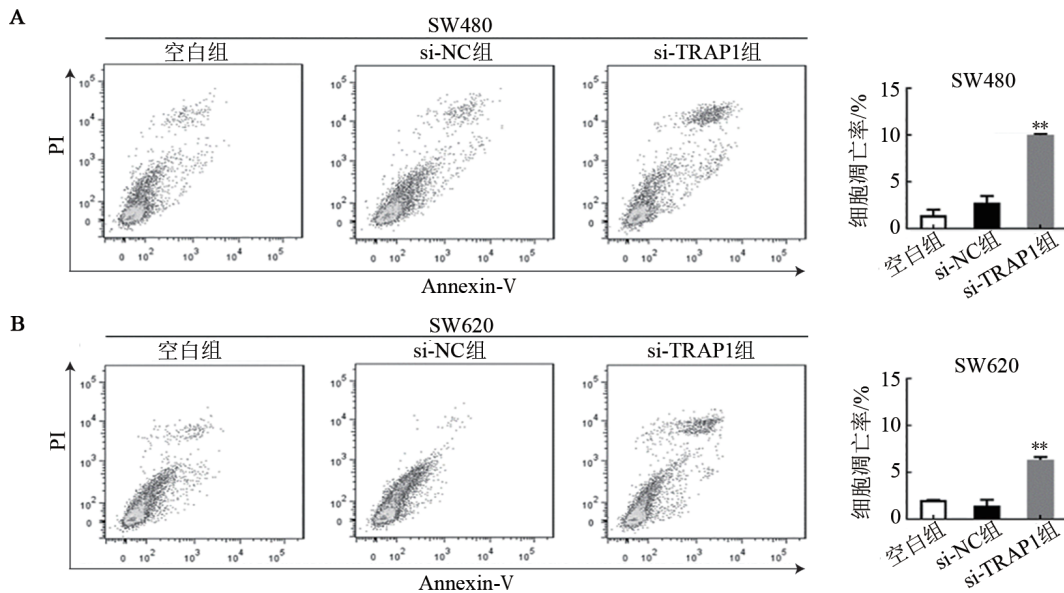


图 5 敲减 TRAP1 对结肠癌细胞细胞周期分布的影响



与 si-NC 组或空白组比较,  $**P < 0.01$

A: SW480 细胞; B: SW620 细胞

图 6 转染 si-TRAP1 对结肠癌细胞凋亡的影响

3 讨论

TRAP1 是一个定位于线粒体的 HSP90 家族分子伴侣, 本研究发现 TRAP1 在结肠癌组织中呈显著高表达, 且 TRAP1 水平与结肠癌淋巴结转移有关联。近年来, 在多种恶性肿瘤中均发现 TRAP1 呈高表达, 包括胰腺癌、胃癌、食管癌、乳腺癌等<sup>[7-9]</sup>。李莉娜等<sup>[8]</sup>研究发现, TRAP1 在胃癌中表达升高, 且 TRAP1 水平与肿瘤大

小、淋巴结转移、TNM 分期密切相关。PIETRAFESA 等<sup>[10]</sup>发现, TRAP1 在 60%~70% 人结直肠癌中呈高表达。GAO 等<sup>[11]</sup>报道, TRAP1 高表达与淋巴结转移、TNM 分期有关联, 且 TRAP1 在具有淋巴结转移的结直肠癌组织中表达水平升高。然而, 本研究发现 TRAP1 在具有淋巴结转移的结肠癌组织中表达水平降低, 这种差异可能与不同研究团队的研究对象纳入标准不同有关。有研究<sup>[10]</sup>报道, TRAP1 表达上调

与转移性结直肠癌不良预后相关联。TRAP1 高表达与结直肠癌患者 5 年 OS 降低显著相关<sup>[11]</sup>。本研究发现 TRAP1 高表达组结直肠癌患者 OS 较短,与上述研究结果一致。

TRAP1 异常表达与肿瘤细胞的多项特性有关,如凋亡抵抗、耐药、代谢调节和蛋白质质量控制等<sup>[12]</sup>。TRAP1 通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 途径调控结直肠癌细胞干性<sup>[13]</sup>。敲减 TRAP1 后,结直肠癌干细胞标志物表达水平降低,细胞克隆形成能力减弱<sup>[13]</sup>。研究<sup>[14]</sup>进一步证实,TRAP1 通过抑制  $\beta$ -catenin 磷酸化和泛素化降解,调节 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,维持干细胞干性。也有研究<sup>[14]</sup>表明,TRAP1 通过调控 LRP5/6 受体表达来调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路。以上研究说明,TRAP1 可能通过调控  $\beta$ -catenin 翻译后修饰,也可能通过调控 LRP5/6 受体的转录表达,从多个层面共同调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号途径。乳腺癌和结直肠癌体内实验证实,敲减 TRAP1 后,B-Raf 原癌基因丝氨酸/苏氨酸激酶(B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase, BRAF)泛素化增强,导致 BRAF 蛋白水平降低<sup>[12]</sup>。此外,敲减 TRAP1 导致细胞周期停滞<sup>[12]</sup>。本研究发现,敲减 TRAP1 后结肠癌细胞 G1 期细胞比率升高,细胞周期停滞于 G1 期,与上述研究结果一致。此外,本研究结果显示,TRAP1 及其相关基因可显著富集至细胞周期信号通路,高度提示高表达 TRAP1 可能通过调控细胞周期分布促进结直肠癌发生发展。

TRAP1 是一种参与线粒体内外应激保护和凋亡的伴侣分子<sup>[15]</sup>。TRAP1 和钙结合蛋白 Sorcin 相互作用,保护细胞免受凋亡<sup>[16]</sup>。在结直肠癌细胞中,敲减 TRAP1 后线粒体中 Sorcin 水平降低;敲减 Sorcin 后 TRAP1 降解增强<sup>[16]</sup>。本研究发现敲减 TRAP1 促进结直肠癌细胞凋亡。生物信息学结果提示,TRAP1 及其相关基因可富集至细胞衰老等信号通路,高度提示结直肠癌细胞凋亡抵抗特性与 TRAP1 高表达有关。也有研究<sup>[15]</sup>表明,TRAP1 与肿瘤细胞运动紧密相关。在代谢应激条件下,TRAP1 通过调控蛋白质合成调控癌细胞迁移<sup>[17]</sup>。TRAP1 通过调控翻译起始相关激酶 p70S6K 表达,在细胞迁移中发挥作用。敲减 TRAP1 后增强细胞迁移能力,与 AKT/p70S6K 信号通路和上皮间质转化有关<sup>[17]</sup>。上述研究结果提示,TRAP1 可能通过激活不同信号通路,影响结直肠癌细胞凋亡抵抗与细胞迁移。

本研究发现 TRAP1 及其相关基因主要富集至真核细胞核糖体合成信号通路。与本研究预测结果一致,BRUNO 等<sup>[18]</sup>发现,TRAP1 参与缺氧条件下结直肠癌细胞的应激反应,抑制核糖体生物发生。机制研究表明,TRAP1 参与调控缺氧诱导的 HIF-1 $\alpha$  稳定

性<sup>[18]</sup>。基因集富集结果显示,TRAP1 及其相关基因可显著富集至结肠癌代谢重编程基因集,缺氧条件下,敲减 TRAP1 后,结直肠癌细胞葡萄糖转运蛋白 1 表达水平降低、葡萄糖摄取和乳酸生成部分减少,提示 TRAP1 参与调控糖酵解。MADDALENA 等<sup>[19]</sup>研究发现,在结直肠癌细胞中 TRAP1 抑制 PFK1 泛素化降解,从而促进 PFK1 介导的糖酵解。TRAP1 通过上调 GLUT1 表达、促进葡萄糖摄取和乳酸生成,导致糖酵解增强,氧化磷酸化减弱<sup>[19]</sup>。以上研究结果提示,TRAP1 可能通过调控糖酵解和氧化磷酸化,参与结直肠癌细胞代谢重编程。亲环蛋白 D 与线粒体通透性转换孔的开放紧密相关,线粒体 TRAP1 通过特异性控制亲环蛋白 D 的折叠和稳定,参与肿瘤细胞线粒体蛋白质内稳定调节<sup>[20]</sup>。本研究发现 TRAP1 及其相关基因可显著富集至线粒体蛋白输入基因集,与上述结果相一致。以上研究结果提示,TRAP1 与线粒体内蛋白质稳态紧密相关。此外,也有研究报道 TRAP1 可定位于内质网,在内质网中的 TRAP1 和调控蛋白颗粒 TBP7 相互作用<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,除可能分布于线粒体,TRAP1 可能定位于细胞质、细胞核、细胞骨架和内质网,提示其在细胞内不同位置可能发挥不同功能,其作用机制有待深入研究。

综上所述,TRAP1 在结肠癌中呈高表达,敲减 TRAP1 后,结肠癌细胞 G1 期细胞增多,细胞凋亡率升高。基于此推测,TRAP1 可能通过调控细胞周期而促进结直肠癌细胞恶性生长。但是,TRAP1 是如何调控细胞周期、核糖体生物发生、代谢重编程及线粒体蛋白质内稳态,在结肠癌发生发展过程中发挥怎样的作用,这些问题有待进一步深入研究。

## [参考文献]

- [1] 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. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] ZHU G M, PEI L J, XIA H W, *et al.* Role of oncogenic KRAS in the prognosis, diagnosis and treatment of colorectal cancer[J/OL]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 143[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8571891/>. DOI:10.1186/s12943-021-01441-4.
- [3] LI J X, MA X D, CHAKRAVARTI D, *et al.* Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer[J]. *Genes Dev*, 2021, 35(11/12): 787-820. DOI:10.1101/gad.348226.120.
- [4] SCHMITT M, GRETEN F R. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(10): 653-667. DOI:10.1038/s41577-021-00534-x.
- [5] BURNETT-HARTMAN A N, LEE J K, DEMB J, *et al.* An update on the epidemiology, molecular characterization, diagnosis, and screening strategies for early-onset colorectal cancer[J/OL]. *Gastroenterology*, 2021, 160(4): 1041-1049[2022-09-10]. <https://>

- www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8273929/. DOI:10.1053/j.gastro.2020.12.068.
- [6] ZHANG X W, DONG Y, GAO M, *et al.* Knockdown of TRAP1 promotes cisplatin-induced apoptosis by promoting the ROS-dependent mitochondrial dysfunction in lung cancer cells[J/OL]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2): 1075-1082[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/6144655/>. DOI:10.1007/s11010-020-03973-7.
- [7] 赵莉, 黄景荣, 龚承先, 等. 紫草素对人食管癌 TE-1 细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响及其可能的机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(8): 889-894. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.08.09.
- [8] 李莉娜, 史锐敏, 王翠莲. 胃癌组织中 TRAP1 的表达及意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2015, 31(3): 323-325. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2015.03.022.
- [9] COSTANTINO E, MADDALENA F, CALISE S, *et al.* TRAP1, a novel mitochondrial chaperone responsible for multi-drug resistance and protection from apoptosis in human colorectal carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2009, 279(1): 39-46. DOI:10.1016/j.canlet.2009.01.018.
- [10] PIETRAFESA M, MADDALENA F, POSSIDENTE L, *et al.* Gene copy number and post-transductional mechanisms regulate TRAP1 expression in human colorectal carcinomas[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 145[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6981705/>. DOI:10.3390/ijms21010145.
- [11] GAO J Y, SONG B R, PENG J J, *et al.* Correlation between mitochondrial TRAP-1 expression and lymph node metastasis in colorectal cancer[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(41): 5965-5971[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3491605/>. DOI:10.3748/wjg.v18.i41.5965.
- [12] CONDELLI V, PISCAZZI A, SISINNI L, *et al.* TRAP1 is involved in BRAF regulation and downstream attenuation of ERK phosphorylation and cell-cycle progression: a novel target for BRAF-mutated colorectal tumors[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(22): 6693-6704. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-1331.
- [13] LETTINI G, SISINNI L, CONDELLI V, *et al.* TRAP1 regulates stemness through Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in human colorectal carcinoma[J/OL]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(11): 1792-1803[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5071570/>. DOI:10.1038/cdd.2016.67.
- [14] LETTINI G, CONDELLI V, PIETRAFESA M, *et al.* TRAP1 regulates Wnt/ $\beta$ -catenin pathway through LRP5/6 receptors expression modulation[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7526[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7589514/>. DOI:10.3390/ijms21207526.
- [15] MATASSA D S, AGLIARULO I, AMOROSO M R, *et al.* TRAP1-dependent regulation of p70S6K is involved in the attenuation of protein synthesis and cell migration: relevance in human colorectal tumors[J/OL]. *Mol Oncol*, 2014, 8(8): 1482-1494[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5528605/>. DOI:10.1016/j.molonc.2014.06.003.
- [16] LANDRISCINA M, LAUDIERO G, MADDALENA F, *et al.* Mitochondrial chaperone Trap1 and the calcium binding protein Sorcin interact and protect cells against apoptosis induced by antiproliferative agents[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(16): 6577-6586. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-1256.
- [17] AGLIARULO I, MATASSA D S, AMOROSO M R, *et al.* TRAP1 controls cell migration of cancer cells in metabolic stress conditions: correlations with AKT/p70S6K pathways[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(10 Pt A): 2570-2579. DOI:10.1016/j.bbamcr.2015.05.034.
- [18] BRUNO G, LI BERGOLIS V, PISCAZZI A, *et al.* TRAP1 regulates the response of colorectal cancer cells to hypoxia and inhibits ribosome biogenesis under conditions of oxygen deprivation[J/OL]. *Int J Oncol*, 2022, 60(6): 79[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9097768/>. DOI:10.3892/ijo.2022.5369.
- [19] MADDALENA F, CONDELLI V, MATASSA D S, *et al.* TRAP1 enhances Warburg metabolism through modulation of PFK1 expression/activity and favors resistance to EGFR inhibitors in human colorectal carcinomas[J/OL]. *Mol Oncol*, 2020, 14(12): 3030-3047[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7718945/>. DOI:10.1002/1878-0261.12814.
- [20] MATASSA D S, AMOROSO M R, AGLIARULO I, *et al.* Translational control in the stress adaptive response of cancer cells: a novel role for the heat shock protein TRAP1[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(10): e851[2022-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3824688/>. DOI:10.1038/cddis.2013.379.

[收稿日期] 2022-09-09

[修回日期] 2022-11-09

[本文编辑] 向正华, 沈志超