

# HSDL2 高表达促进直肠癌细胞增殖 :基于激活 CDK6/cyclinD1 信号通路

程 阳<sup>1,2</sup>, 何旭旭<sup>2,3</sup>, 王 炼<sup>2,3</sup>, 许轶博<sup>2</sup>, 沈梦迪<sup>2,4</sup>, 张文静<sup>2</sup>, 夏勇生<sup>2,3</sup>, 张 婕<sup>2</sup>, 张 敏<sup>2</sup>, 王宜君<sup>2,6</sup>, 胡建国<sup>5</sup>, 张 军<sup>1</sup>  
蚌埠医学院第一附属医院<sup>1</sup>输血科,<sup>3</sup>胃肠外科,<sup>4</sup>消化内科,<sup>5</sup>检验科,安徽 蚌埠 233004;<sup>2</sup>蚌埠医学院,安徽 蚌埠 233000;<sup>6</sup>蚌埠医学院组织移植重点实验室,安徽 蚌埠 233030

**摘要:**目的 明确羟基类固醇脱氢酶样蛋白2(HSDL2)在直肠癌组织中的表达及对癌细胞增殖能力的影响。方法 基于前瞻性临床数据库和生物标本库系统分析2020年1月~2022年6月我院收治的90例直肠癌患者的临床资料。采用免疫组化法检测90例直肠癌组织与癌旁组织中HSDL2的表达水平。根据HSDL2表达中位数为高表达组( $n=45$ )与低表达组( $n=45$ ),分析其与肿瘤临床病理参数间的关系。基于GEO数据库,对HSDL2进行GO功能注释和KEGG通路富集,分析HSDL2在直肠癌中潜在的生物学功能和作用机制;分别采用慢病毒NC、Si-HSDL2与LV-HSDL2转染SW480细胞,CCK8法检测各组细胞增殖能力,流式细胞术检测HSDL2对细胞周期的影响,免疫印迹法检测细胞周期相关蛋白的表达。结果 直肠癌组织中HSDL2的表达水平显著高于癌旁组织( $P<0.05$ )。Spearman相关性分析显示HSDL2、Ki67蛋白与血CEA、血CA19-9水平均呈正相关( $P<0.01$ )。HSDL2高表达组患者的T3-4期、N2-3期、血CEA $\geq 5 \mu\text{g/L}$ 与血CA19-9 $\geq 37 \text{ kU/L}$ 比例明显高于低表达组( $P<0.05$ )。GO分析显示HSDL2主要富集到DNA复制等生物学过程。KEGG富集显示HSDL2主要参与细胞周期等信号通路。上调HSDL2表达显著促进SW480细胞的体外增殖能力( $P<0.05$ ),同时促进S期细胞比例( $P<0.05$ )与细胞周期相关蛋白CDK6、CyclinD1的表达( $P<0.05$ );下调HSDL2则抑制细胞增殖、S期细胞比例与CDK6、CyclinD1的表达( $P<0.05$ )。结论 HSDL2在直肠癌组织中高表达,与直肠癌恶性进展相关,并促进直肠癌细胞增殖能力,影响细胞周期进程。

**关键词:**直肠癌;HSDL2;细胞增殖;细胞周期;生物标志物

## HSDL2 overexpression promotes rectal cancer progression by regulating cancer cell cycle and promoting cell proliferation

CHENG Yang<sup>1,2</sup>, HE Xuxu<sup>2,3</sup>, WANG Lian<sup>2,3</sup>, XU Yibo<sup>2</sup>, SHEN Mengdi<sup>2,4</sup>, ZHANG Wenjing<sup>2</sup>, XIA Yongsheng<sup>2,3</sup>, ZHANG Jie<sup>2</sup>, ZHANG Min<sup>2</sup>, WANG Yijun<sup>2,6</sup>, HU Jianguo<sup>5</sup>, ZHANG Jun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Blood Transfusion, <sup>3</sup>Department of Gastrointestinal Surgery, <sup>4</sup>Department of Gastroenterology, <sup>5</sup>Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233004, China; <sup>2</sup>Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China; <sup>6</sup>Key Laboratory of Tissue Transplantation, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China

**Abstract: Objective** To analyze the expression of hydroxysteroid dehydrogenase like 2 (HSDL2) in rectal cancer tissues and the effect of changes in HSDL2 expression level on proliferation of rectal cancer cells. **Methods** Clinical data and tissue samples of 90 patients with rectal cancer admitted to our hospital from January 2020 to June 2022 were collected from the prospective clinical database and biological specimen database. The expression level of HSDL2 in rectal cancer and adjacent tissues was detected by immunohistochemistry, and based on the median level of HSDL2 expression, the patients were divided into high expression group ( $n=45$ ) and low expression group ( $n=45$ ) for analysis the correlation between HSDL2 expression level and the clinicopathological parameters. GO and KEGG enrichment analyses were performed to explore the role of HSDL2 in rectal cancer progression. The effects of changes in HSDL2 expression levels on rectal cancer cell proliferation, cell cycle and protein expressions were investigated in SW480 cells with lentivirus-mediated HSDL2 silencing or HSDL2 overexpression using CCK-8 assay, flow cytometry and Western blotting. **Results** The expressions of HSDL2 and Ki67 were significantly higher in rectal cancer tissues than in the adjacent tissues ( $P<0.05$ ). Spearman correlation analysis showed that the expression of HSDL2 protein was positively correlated with Ki67, CEA and CA19-9 expressions ( $P<0.01$ ). The rectal cancer patients with high HSDL2 expressions had significantly higher likelihood of having CEA  $\geq 5 \mu\text{g/L}$ , CA19-9  $\geq 37 \text{ kU/L}$ , T3-4 stage, and N2-3 stage than those with a low HSDL2 expression ( $P<0.05$ ). GO and KEGG analysis showed that HSDL2 was mainly enriched in DNA replication and cell cycle. In SW480 cells, HSDL2 overexpression significantly promoted cell proliferation, increased cell percentage in S phase, and enhanced the expression levels of CDK6 and cyclinD1 ( $P<0.05$ ), and HSDL2 silencing produced the opposite effects ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The high expression of HSDL2 in rectal cancer participates in malignant progression of the tumor by promoting the proliferation and cell cycle progress of the cancer cells.

**Keywords:** rectal cancer; HSDL2; cell proliferation; cell cycle; biomarkers

收稿日期:2022-09-15

基金项目:安徽省高校协同创新项目(GXXT-2020-021);安徽省高等学校自然科学研究项目(KJ2018A1024)

作者简介:程 阳,在读硕士研究生,E-mail: cy1585942570@163.com

通信作者:张 军,副教授,主任技师,硕士生导师,E-mail: 13909652118@163.com

世界范围内直肠癌的发病率和死亡率分别居于恶性肿瘤的第3位和第2位,每年约有120万左右新发患者<sup>[1-3]</sup>。我国是直肠癌高发国家之一,据统计2018年我国新发结直肠癌患者约50万人,死亡25万人<sup>[4,5]</sup>。深入探索直肠癌的恶性进展规律和机制是提高直肠癌诊疗水平的重要途径。羟基类固醇脱氢酶样蛋白2(HSDL2)

是短链脱氢酶/还原酶(SDR)超家族的成员<sup>[6-10]</sup>。新近的研究显示HSDL2在多种恶性肿瘤组织(卵巢癌、宫颈癌和甲状腺乳头状癌等)中高表达不仅提示预后不良且参与肿瘤细胞恶性行为的调控,包括促进肿瘤细胞增殖和侵袭等<sup>[11-13]</sup>。然而,HSDL2在直肠癌中的表达规律及其作用尚不明确。本研究旨在探讨HSDL2在直肠癌组织中的表达情况,评估HSDL2与直肠癌患者临床病理参数间的关系,采用GO和KEGG数据库预测HSDL2调控直肠癌的可能途径及机制,并通过基因干预方式体外研究HSDL2对直肠癌细胞恶性行为的影响,以期明确HSDL2在直肠癌中的作用,为临床诊疗和发病机制的进一步研究提供参考。

## 1 资料和方法

### 1.1 临床资料和采集方法

纳入分析2020年1月~2022年6月我院收治的90例直肠癌患者的临床资料。纳入标准:依据病理检查明确诊断为直肠癌;成功施行直肠癌根治术,并达到R0切除;临床资料完整。排除标准:合并其他组织起源的恶性肿瘤;合并严重肝肾功能障碍;术前接受过化疗。临床数据和标本来源于永久保存的电子病案系统和前瞻性临床数据和生物标本库系统。采集患者如下临床数据,包括:(1)一般资料:性别、年龄、肿瘤临床分期及手术病理诊断等;(2)外周血肿瘤标志物:癌胚抗原(CEA)及糖抗原19-9(CA19-9);(3)手术病理蜡块:癌组织和癌旁组织。该研究方案得到了蚌埠医学院伦理委员会的批准。伦科批号[2021]第221号。

### 1.2 免疫组织化学检测

将石蜡组织制成5  $\mu\text{m}$ 切片,经脱蜡、乙醇水化、抗原修复、封闭后,孵育HSDL2抗体(1:200, Proteintech公司),切片洗去未结合抗体后孵育二抗,经苏木精复染细胞核后,于400倍镜下观察5个不重复的视野,采用Image-Pro Plus 6.0软件计算每个视野HSDL2蛋白的积分光密度值(IOD),以癌旁IOD值为基准,计算癌组织及癌旁组织的相对IOD值。以癌组织IOD值的中位数为界限,将患者分别HSDL2高表达组与低表达组。

### 1.3 免疫印迹实验

采用RIPA裂解液提取细胞或组织总蛋白,BCA试剂盒(碧云天)对蛋白定量,经SDS-PAGE电泳、转膜、封闭、孵育一抗HSDL2(兔抗人多克隆抗体;1:1000; Proteintech),CDK6(兔抗人多克隆抗体;1:1000; Proteintech),GAPDH(兔抗人多克隆抗体;1:1000; Abcam)及CyclinD1(兔抗人多克隆抗体;1:1000; Proteintech),孵育二抗,采用凝胶成像系统显色,Image-Pro Plus 6.0软件分析目的蛋白光密度值,以内参蛋白GAPDH的光密度值为基准,计算目的蛋白的相对表

达量。

### 1.4 RT-qPCR检测

采用trizol法提取细胞中总mRNA,测定浓度及纯度后,反转录为cDNA,采用SYBR Green法进行RT-qPCR,以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析目的基因相对表达量,基因名称及引物序列如下:GAPDH(F:5'-CTGGGCTACACTGAGCACC-3'; R:5'-AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG-3')、HSDL2(F:5'-ATGTTACC CAACACCGGGAG-3'; R:5'-GCTTTCAATGCAATA GCTTTGCC-3')。

### 1.5 基因集富分析(GESA)

从GEO数据库中(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获得直肠癌数据集GSE21510(123例直肠癌样本,25例正常样本)。以HSDL2表达中位数(median)为界,将GSE21510数据集中123例直肠癌样本分为HSDL2高表达组和HSDL2低表达组,通过R软件clusterProfiler包以HSDL2表达为标准进行基因本体注释(GO)富集分析及京都基因和基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析,并对富集分析结果绘制相关图形。

### 1.6 细胞学实验

1.6.1 细胞及培养 人直肠癌细胞系SW480(武汉普诺赛生命科技有限公司),采用含10%胎牛血清(FBS)的DMEM基础培养基并添加终浓度为1%的青霉素和链霉素,置于37  $^{\circ}\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中进行培养。

1.6.2 主要耗材和试剂 培养基、青霉素和链霉素(北京索莱宝公司);RIPA裂解液、BCA蛋白浓度检测试剂盒、ECL化学发光检测试剂盒等免疫印迹相关试剂(上海碧云天公司);免疫印迹实验配胶试剂盒(上海雅酶公司);逆转录及荧光定量PCR试剂盒(大连Takara);兔抗人GAPDH、兔抗人HSDL2、兔抗人Ki67、兔抗人CDK6、兔抗人CyclinD1、酶标二抗(Proteintech);Lipofectamine 2000转染试剂(ThermoFisher);si-RNA-HSDL2(5'-GGCAAAGCTATTGCATTGAAAGC-3'),HSDL2干扰及过表达慢病毒载体与空载由上海吉凯生物有限公司构建。

1.6.3 慢病毒转染实验 构建HSDL2干扰及过表达慢病毒载体与空载,根据MOI值计算所需病毒量。取对数生长期细胞SW480接种于24孔板( $3 \times 10^4$ 孔),待细胞汇合度达70%后,更换为含病毒液的无血清培养基,于37  $^{\circ}\text{C}$ ,5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中继续培养12 h后更换为完全培养基,继续培养72 h,添加1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 嘌呤霉素(上海碧云天)筛选稳转细胞株,直至细胞转染效率达90%以上,进行后续实验。且细胞实验分组依次为阴性对照组(NC)、干扰HSDL2组(Si-HSDL2)及过表达HSDL2组(LV-HSDL2)。

1.6.4 细胞增殖检测(CCK-8实验) 根据实验分组,将细胞接种于96孔板( $2 \times 10^3$ 个孔),每孔加入10  $\mu$ L CCK-8试剂(北京索莱宝),于37  $^{\circ}$ C,5% CO<sub>2</sub>培养箱中继续培养2 h,于酶标仪450 nm波长处测定吸光度值,每组设置3个复孔。

1.6.5 细胞周期检测 根据实验分组,将细胞接种于6孔板中,转染24 h后,消化收集细胞,采用70%乙醇固定过夜,采用细胞周期检测试剂盒(上海碧云天)检测细胞周期变化,于BD流式细胞仪(型号:FACSCanto)收集细胞并使用Flowjo软件分析细胞周期。

1.7 统计学分析

采用SPSS 26.0进行统计分析,符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用*t*检验,计数资料采用 $\chi^2$ 检验。HSDL2蛋白表达与外周血CEA、CA19-9水平的相关性分析采用Spearman检验。所有统计检验均为双侧, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HSDL2蛋白在直肠癌组织中的表达

免疫组织化学法检测结果显示,HSDL2主要定位

于直肠癌细胞质中(图1A),恶性肿瘤增殖标志物Ki67主要定位于直肠癌细胞核中(图1B)。免疫组织化学检测目标蛋白IOD值统计分析显示,直肠组织中HSDL2和Ki67表达均显著高于癌旁组织(图1C、D)。进一步相关性分析显示,癌组织中HSDL2的表达与Ki67呈显著正相关性( $r=0.374, P < 0.01$ ,图1E)。

2.2 HSDL2蛋白表达与外周血CEA、CA19-9水平的相关性

Spearman相关性分析显示,直肠癌组织中HSDL2蛋白相对表达量(IOD值)与患者外周血中CEA( $r=0.4410, P < 0.01$ ,图2A)及CA19-9水平均呈正相关性( $r=0.4262, P < 0.01$ ,图2B)。

2.3 HSDL2蛋白在直肠癌组织中的表达与临床病理参数的关系

以直肠癌组织中免疫组织化学所测HSDL2的IOD值中位数(IOD=2.67)为临界值,将90例患者分为HSDL2高表达组( $n=45$ )与低表达组( $n=45$ )。分析显示,高表达组的T3-4期、N2-3期、血CEA $\geq 5 \mu$ g/L和血CA19-9 $\geq 37$ kU/L的患者比例显著高于低表达组,两组患者在性别、年龄及肿瘤直径上差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表1)。

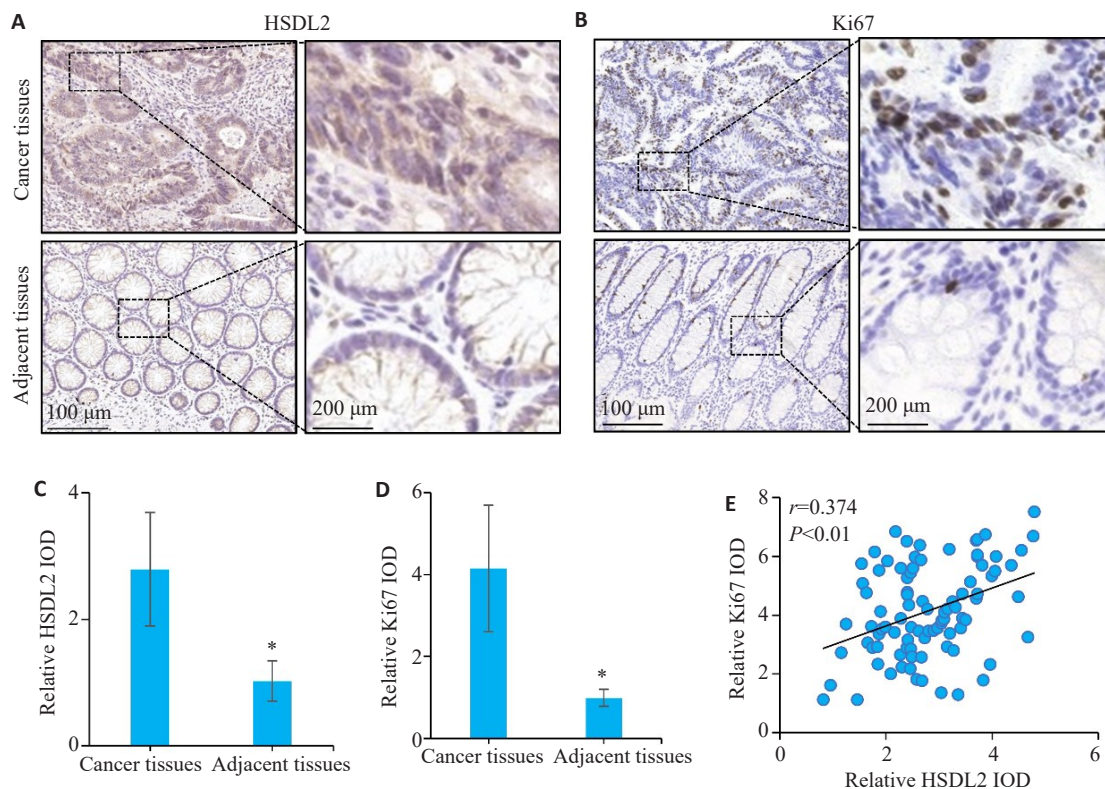


图1 HSDL2和Ki67在直肠癌组织和癌旁组织中的表达与细胞定位

Fig1 Expression and cellular localization of HSDL2 and Ki67 in rectal cancer and adjacent tissues. A: Immunohistochemical analysis of HSDL2 protein expression and localization. B: Immunohistochemical analysis of Ki67 protein expression and localization. C: Statistical analysis of IOD value of HSDL2 protein. D: Statistical analysis of IOD value of Ki67 protein. E: Correlation analysis between HSDL2 and Ki67. \* $P < 0.05$  vs adjacent tissues.

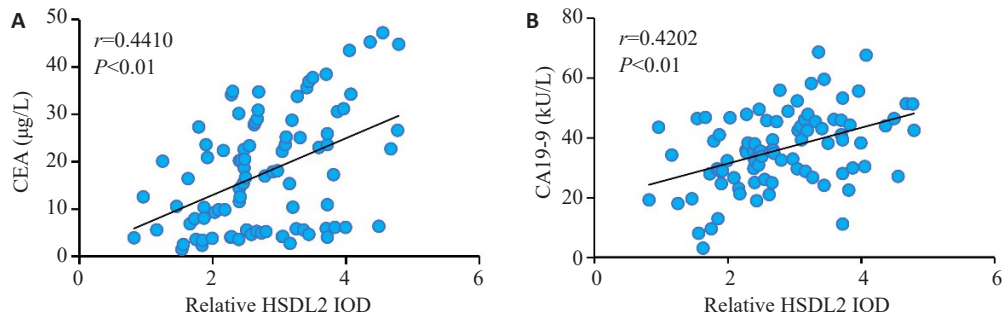


图2 直肠癌组织HSDL2与外周血CEA、CA19-9的相关性

Fig.2 Correlation between HSDL2 expression level in rectal cancer tissues and CEA and CA19-9 levels in peripheral blood. A: Correlation analysis of HSDL2 and CEA. B: Correlation analysis of HSDL2 and CA19-9.

表1 HSDL2蛋白表达与临床病理参数间的关系

Tab.1 Relationship between HSDL2 expression level in rectal cancer and clinicopathological parameters of the patients

Parameters	n	HSDL2		$\chi^2$	P
		Low expression (n=45)	High expression (n=45)		
Gender					
Female	57	32	25	2.344	0.126
Male	33	13	20		
Age (years)					
<60	43	20	23	0.401	0.527
≥60	47	25	22		
Tumor size (cm)					
<5	44	24	20	0.711	0.399
≥5	46	21	25		
T Stage					
T1+T2	23	17	6	7.067	<0.01
T3+T4	67	28	39		
N Stage					
0-1	52	31	21	4.555	0.033
2-3	38	14	24		
CEA (µg/L)					
<5	20	15	5	6.429	0.011
≥5	70	30	40		
CA19-9 (kU/L)					
<37	47	34	13	19.639	<0.01
≥37	43	11	32		

2.4 HSDL2的GO功能注释和KEGG通路分析

通过GO富集分析发现,HSDL2富集到生物学过程(BP)主要涉及DNA复制、核糖体生物发生、染色体分离等;富集到细胞组分(CC)主要涉及染色体区域、肌动蛋白细胞骨架、纺锤体等;富集到分子功能(MF)主要涉及肌动蛋白结合、催化活性、ATP水解活性(图3A)。此外,KEGG信号通路分析结果显示,HSDL2主要参与细胞周期、细胞粘附等与癌症进行相关的信号通路(图3B、C)。

2.5 HSDL2对SW480细胞增殖能力的影响

免疫印迹和RT-qPCR结果显示HSDL2过表达组和干扰组和对照组的差异具有统计学意义(图4A~C, P<0.05)。CCK-8法检测结果显示,与对照组相比,下调HSDL2表达可显著抑制SW480细胞的增殖(P<0.05),而上调HSDL2则显著促进细胞增殖(图4D, P<0.05)。

2.6 HSDL2调控细胞周期对SW480细胞增殖的影响

细胞周期结果显示,下调HSDL2促进G1期的细胞数量且减少S细胞数量(P<0.05);上调HSDL2细胞周

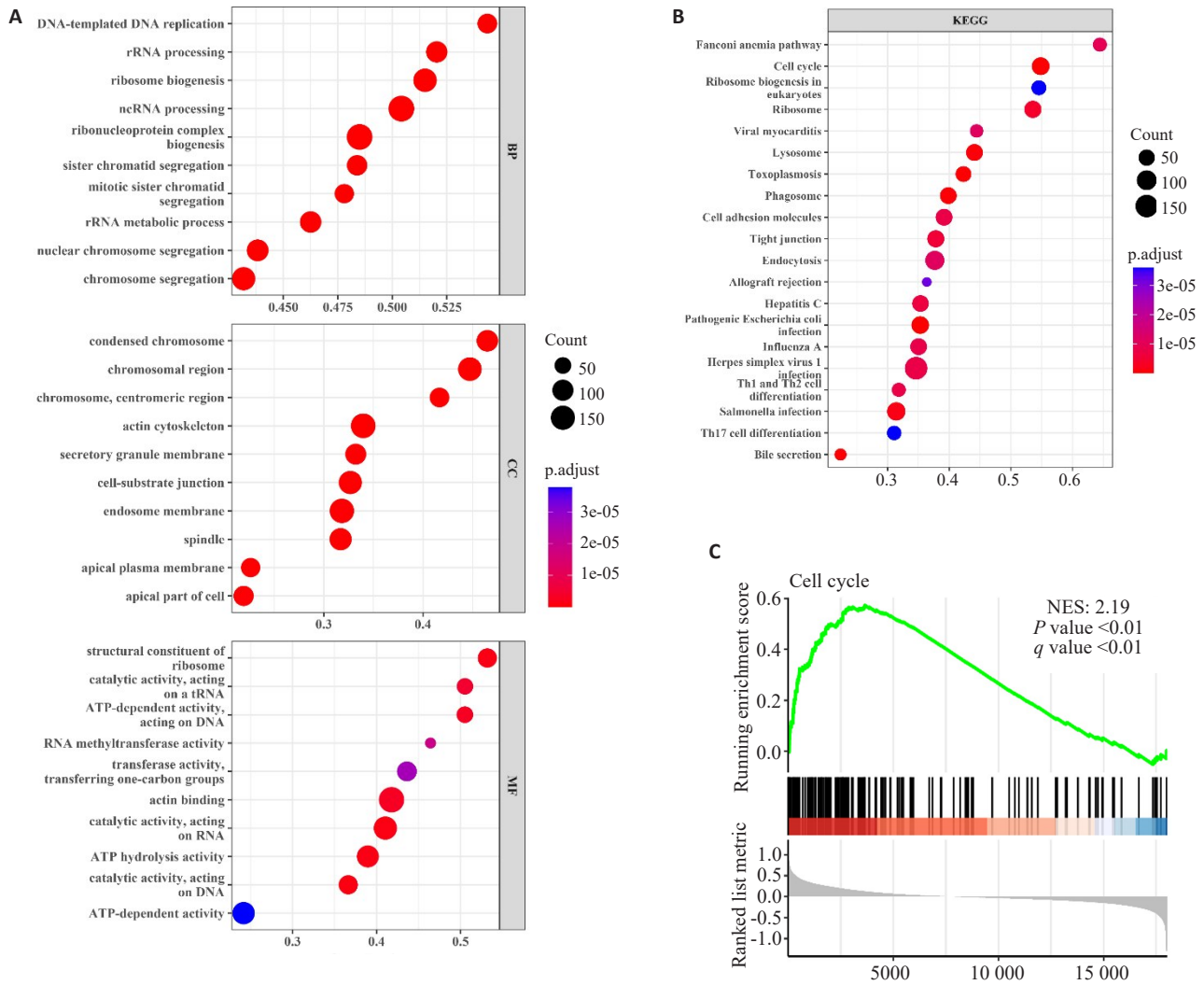


图3 HSDL2蛋白的GO与KEGG富集分析

Fig.3 GO and KEGG enrichment analysis of HSDL2 protein. A: GO enrichment analysis of HSDL2 in rectal cancer. B: Analysis of KEGG function enrichment of HSDL2 in rectal cancer. C: Enrichment analysis of cell cycle signal pathways in different HSDL2 levels.

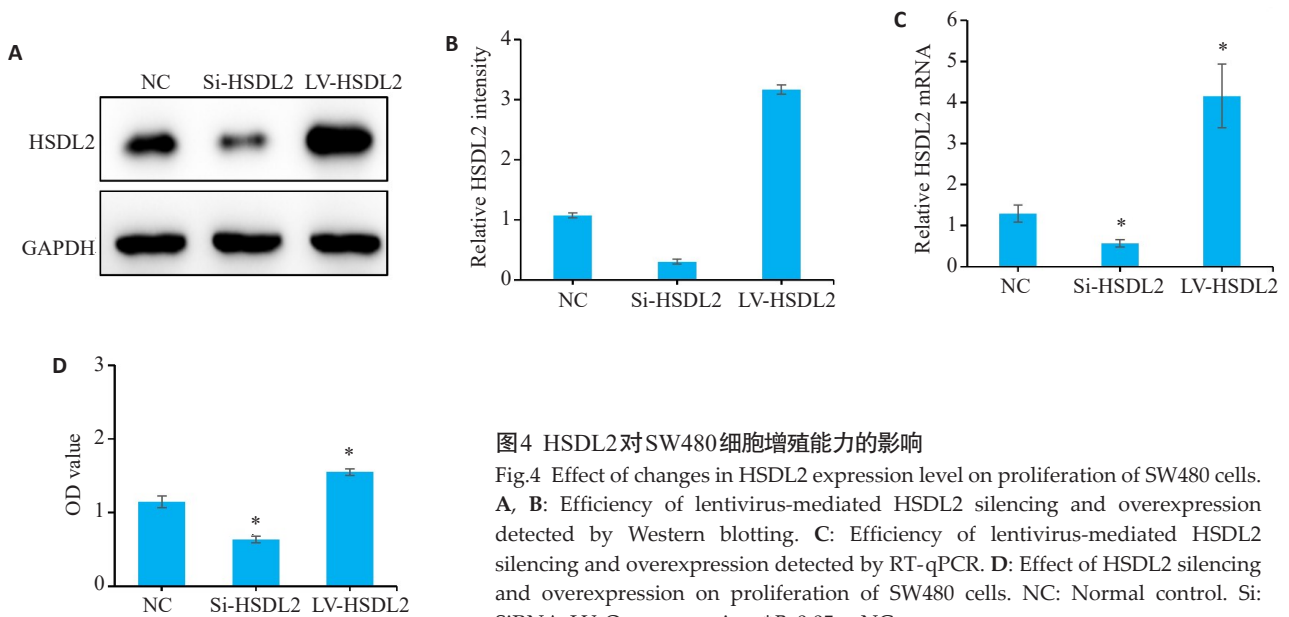


图4 HSDL2对SW480细胞增殖能力的影响

Fig.4 Effect of changes in HSDL2 expression level on proliferation of SW480 cells. A, B: Efficiency of lentivirus-mediated HSDL2 silencing and overexpression detected by Western blotting. C: Efficiency of lentivirus-mediated HSDL2 silencing and overexpression detected by RT-qPCR. D: Effect of HSDL2 silencing and overexpression on proliferation of SW480 cells. NC: Normal control. Si: SiRNA. LV: Overexpression. \*P<0.05 vs NC.

期减少G1期细胞数量而促进S期细胞数量(图5A、B,  $P < 0.05$ )。免疫印迹法检测细胞周期相关信号分子,结

果显示下调HSDL2后增殖关键因子CDK6与CyclinD1的表达明显减少(图5C~E,  $P < 0.05$ )。

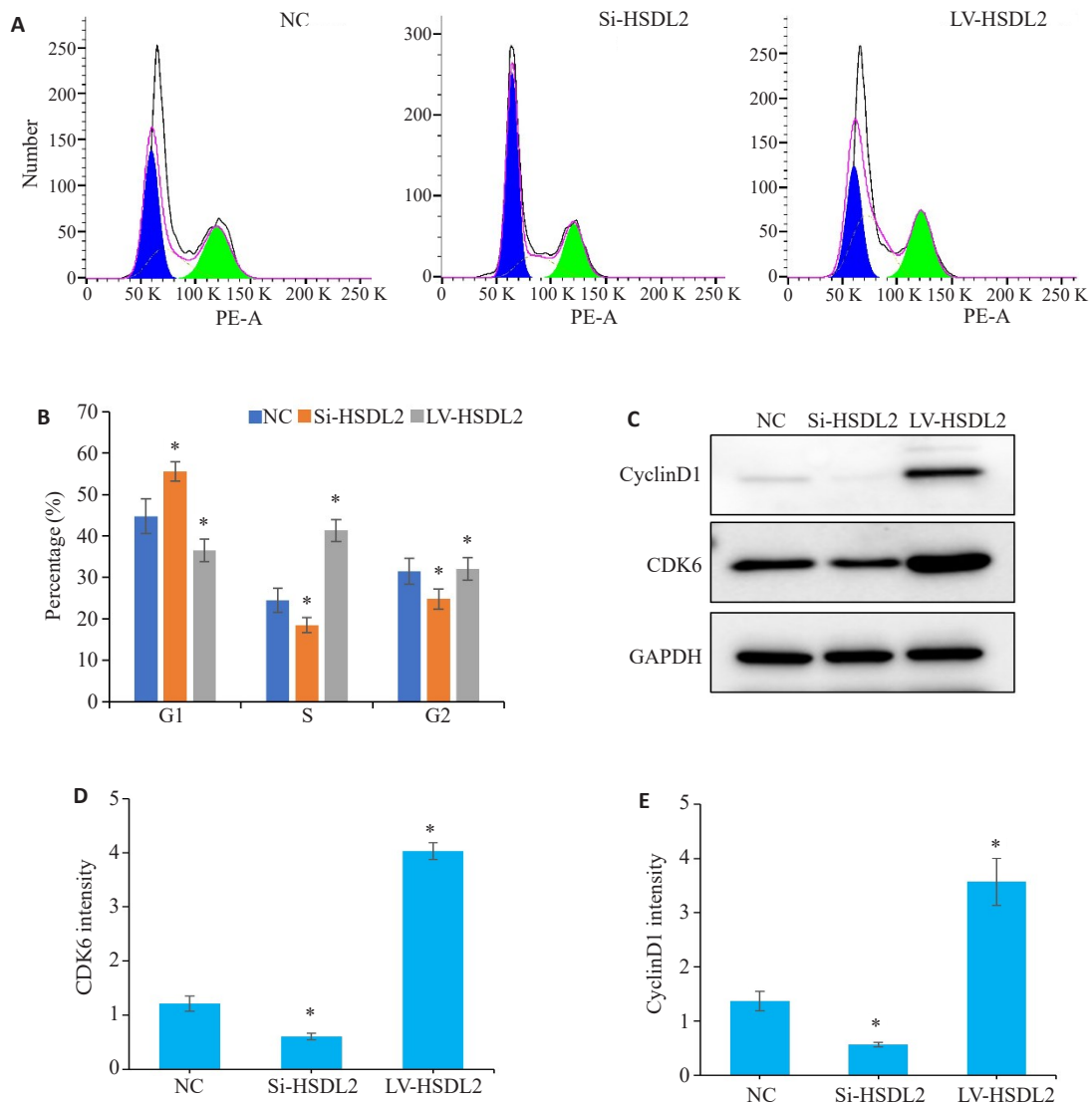


图5 HSDL2对SW620细胞周期和细胞增殖的影响

Fig.5 Effects of lentivirus-mediated HSDL2 silencing and overexpression on cell cycle and proliferation of SW620 cells. **A, B**: Percentage of G1/S phase cells detected by flow cytometry. **C**: Expressions of CDK6 and cyclinD1 detected by Western blotting. **D, E**: Statistical analysis of relative expression of CDK6 and cyclinD1 proteins. NC: Normal control. Si: SiRNA. LV: Overexpression. \* $P < 0.05$  vs NC.

### 3 讨论

直肠癌是我国高发的恶性肿瘤之一,在西方化的生活饮食方式和人口老龄化等多种因素的影响下,其发病率有进一步升高的趋势<sup>[1,14-16]</sup>。阐明直肠癌恶性进展的规律和肿瘤细胞恶性行为的调控机制是提高诊疗效果的根本途径<sup>[17,18]</sup>。直肠癌的起源和进展过程复杂,尚未完全阐明,其中细胞周期紊乱是其恶性进展的关键因素之一<sup>[19,20]</sup>。HSDL2是一种特殊的SDR基因,参与调节不同的代谢和癌症信号通路<sup>[21-23]</sup>。因此,尝试分析HS-

DL2在直肠癌中的表达、作用和可能的作用途径显得至关重要。

我们的研究显示HSDL2的基因和蛋白水平于直肠癌组织中均呈现升高趋势。这一结果与新近报道的HSDL2于宫颈癌<sup>[10]</sup>、乳腺癌<sup>[23]</sup>和胰腺癌<sup>[9]</sup>中表达升高的研究结果相印证,提示HSDL2可能是一种新型的肿瘤标志物。而功能学研究显示HSDL2参与细胞增殖调控<sup>[7,9]</sup>,但其是否影响直肠癌的恶性增殖行为尚不明确。我们进一步分析发现HSDL2在直肠癌组织中的表

达水平和肿瘤增殖标志物 Ki67 的水平呈现显著正相关,提示 HSDL2 可能和直肠癌细胞增殖相关。同时,我们的数据还显示直肠癌组织中 HSDL2 表达量和反映肿瘤进展的外周血肿瘤标志物 CEA 和 CA19-9 水平显著正相关,佐证了 HSDL2 和直肠癌恶性进展的关联性。鉴于此,我们进一步分析了 HSDL2 表达量和直肠癌临床病理参数间的关系,结果发现 HSDL2 高表达直肠癌患者的外周血 CEA 和 CA19-9 水平,以及低分化癌、T3-4 期和 N2-3 期的比例均显著高于 HSDL2 低表达患者。

我们在以上临床和分子病理学水平的研究中证实了 HSDL2 在直肠癌中的表达升高具有提示肿瘤进展的价值。为了进一步明确 HSDL2 是否参与了直肠癌的恶性增殖,我们采用生物信息学工具挖掘公共数据库(GEO 数据库)中直肠癌和癌旁组织中 HSDL2 功能/信号富集<sup>[24-27]</sup>。GO 分析发现 HSDL2 参与调控直肠癌细胞中核糖体的生物发生、染色体分离等细胞增殖生物学进程;KEGG 富集分析结果显示,HSDL2 于细胞周期调控信号通路显著富集。

正常细胞的增殖受到严格的周期调控。在肿瘤发生过程中细胞周期检查点丢失可导致基因组不稳定<sup>[28]</sup>。既往研究表明,HSDL2 能够调控多种肿瘤的增殖与周期。例如,敲除 HSDL2 抑制肺腺癌细胞的增殖,阻滞细胞周期于 S 期<sup>[22]</sup>;干扰 HSDL2 的表达抑制卵巢癌细胞株的增殖,并将细胞周期阻滞在 G0/G1 期<sup>[29]</sup>;此外,沉默 HSDL2 抑制人脑胶质瘤细胞的增殖,周期阻滞于 S 期<sup>[23]</sup>。因此,我们推测 HSDL2 可能参与直肠癌细胞的增殖。GO 与 KEGG 预测结果初步肯定了我们的推测:HSDL2 在直肠癌中高表达可能参与了癌细胞的增殖和细胞周期调控过程。我们开展了体外实验以进一步证实该推测,采用慢病毒转染分别上调和下调 HSDL2 在直肠癌细胞 SW480 中的表达,结果发现上调 HSDL2 表达可显著促进 SW480 细胞增殖,而下调可抑制其增殖。尽管癌细胞增殖仍然需要经过完整的细胞周期,但其已经脱离细胞周期检查点的控制<sup>[30]</sup>。因此,将癌细胞的有丝分裂抑制在分裂间期可以有效抑制癌细胞的增殖<sup>[31]</sup>。我们的研究结果显示,下调 HSDL2 可以将直肠癌细胞 SW480 阻滞在 G1 期。此外,我们注意到,在不同癌症中,抑制 HSDL2 有不同的细胞周期阻滞效果,我们推测这可能与 HSDL2 在不同组织中的表达和参与不同细胞周期相关信号通路有关<sup>[7,13]</sup>。

研究表明,细胞周期关键分子 CyclinD1 可以与细胞周期依赖性蛋白激酶 CDK6 结合,促进细胞 G1/S 期转变,而周期检查点的调控蛋白异常往往与多种肿瘤的发生有关<sup>[32-34]</sup>。且研究<sup>[23]</sup>发现沉默 HSDL2 减弱乳腺癌细胞周期相关蛋白 CDK1、CyclinB1 和 CyclinD1 的表达。结合 HSDL2 对直肠癌细胞周期的调控作用,我们

验证了 HSDL2 对 CyclinD1 和 CDK6 表达水平的影响。我们的研究结果与上述研究相似,HSDL2 可促进直肠癌细胞中细胞周期关键点调控因子 CDK6 和 CyclinD1 的表达,而下调 HSDL2 则抑制其表达。以上结果提示,HSDL2 对直肠癌恶性增殖的调控可能和细胞周期相关因子 CDK6/CyclinD1 有关。

虽然我们的研究取得了一定发现,但由于临床样本量有限,所得结果仍然需要进一步扩大样本量验证。此外,HSDL2 对于直肠癌恶性增殖的调控机制可能是多途径的,仍然需要进一步深入探索。

综上,HSDL2 在直肠癌组织中高表达与肿瘤进展程度相关,其可能通过 CDK6/CyclinD1 信号促进细胞周期,从而参与直肠癌恶性增殖。

#### 参考文献:

- [1] Feng RM, Zong YN, Cao SM, et al. Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2019, 39(1): 22.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA A Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [4] 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.
- [5] Oronsky B, Reid T, Larson C, et al. Locally advanced rectal cancer: the past, present, and future [J]. *Semin Oncol*, 2020, 47(1): 85-92.
- [6] Kowalik D, Haller F, Adamski J, et al. In search for function of two human orphan SDR enzymes: hydroxysteroid dehydrogenase like 2 (HSDL2) and short-chain dehydrogenase/reductase-orphan (SDR-O) [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2009, 117(4/5): 117-24.
- [7] Dai JF, Xie Y, Wu QH, et al. Molecular cloning and characterization of a novel human hydroxysteroid dehydrogenase-like 2 (HSDL2) cDNA from fetal brain [J]. *Biochem Genet*, 2003, 41(5/6): 165-74.
- [8] Jia LH, Hu MD, Liu Y, et al. HSDL2 promotes bladder cancer growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(5): 654-9.
- [9] Han AN, Xu R, Liu Y, et al. HSDL2 acts as a promoter in pancreatic cancer by regulating cell proliferation and lipid metabolism [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 435-44.
- [10] Yang Y, Han AN, Wang XY, et al. Lipid metabolism regulator human hydroxysteroid dehydrogenase-like 2 (HSDL2) modulates cervical cancer cell proliferation and metastasis [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(10): 4846-59.
- [11] 韩安娜, 杨洋, 董兵, 等. 羟氢类固醇脱氢酶样蛋白 2 在肿瘤中的研究进展 [J]. *癌症进展*, 2020, 18(22): 2269-71.
- [12] Li M, Xiao YB, Liu MQ, et al. miR-26a-5p regulates proliferation, apoptosis, migration and invasion *via* inhibiting hydroxysteroid dehydrogenase like-2 in cervical cancer cell [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 876.
- [13] Zeng J, Ma X, Wang JJ, et al. Down-regulated HSDL2 expression suppresses cell proliferation and promotes apoptosis in papillary

- thyroid carcinoma[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(6): BSR20190425.
- [14] 郑莹, 王泽洲. 全球结直肠癌流行数据解读[J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(1): 149-52.
- [15] Wilkinson N. Management of rectal cancer[J]. *Surg Clin N Am*, 2020, 100(3): 615-28.
- [16] São Julião GP, Habr-Gama A, Vailati BB, et al. New strategies in rectal cancer[J]. *Surg Clin N Am*, 2017, 97(3): 587-604.
- [17] de Felice F, Crocetti D, Maiuri V, et al. Locally advanced rectal cancer: treatment approach in elderly patients[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2020, 21(1): 1.
- [18] Otegbeye EE, Mitchem JB, Park H, et al. Immunity, immunotherapy, and rectal cancer: a clinical and translational science review [J]. *Transl Res*, 2021, 231: 124-38.
- [19] Thoma OM, Neurath MF, Waldner MJ. Cyclin-dependent kinase inhibitors and their therapeutic potential in colorectal cancer treatment[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 757120.
- [20] Bertoli C, Skotheim JM, de Bruin RAM. Control of cell cycle transcription during G1 and S phases [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, 14(8): 518-28.
- [21] Dong B, Yang Y, Han AN, et al. Ectopic expression of HSDL2 is related to cell proliferation and prognosis in breast cancer[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 6531-42.
- [22] Shi YJ, Mao ZD, Huang YH, et al. Knockdown of HSDL2 inhibits lung adenocarcinoma progression *via* down-regulating AKT2 expression[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(4): BSR20200348.
- [23] Ruokun C, Yake X, Fengdong Y, et al. Lentivirus-mediated silencing of HSDL2 suppresses cell proliferation in human gliomas [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(11): 15065-77.
- [24] 罗金现, 高训锋, 温建燾. 基于GEO结直肠癌芯片数据的生物信息学分析[J]. *国际医药卫生导报*, 2017, 23(8): 1142-6.
- [25] 刘 伟. 基于生物信息学方法鉴定结直肠癌微环境相关预后基因[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [26] Liu BX, Huang GJ, Cheng HB. Comprehensive analysis of core genes and potential mechanisms in rectal cancer[J]. *J Comput Biol*, 2019, 26(11): 1262-77.
- [27] Mima K, Nishihara R, Qian ZR, et al. *Fusobacterium nucleatum* in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis[J]. *Gut*, 2016, 65(12): 1973-80.
- [28] de la Cena KOC, Ho RXY, Amraei R, et al. Transmembrane and immunoglobulin domain containing 1, a putative tumor suppressor, induces G2/M cell cycle checkpoint arrest in colon cancer cells[J]. *Am J Pathol*, 2021, 191(1): 157-67.
- [29] Sun Q, Zhang YL, Su JJ, et al. Role of hydroxysteroid dehydrogenase-like 2 (HSDL2) in human ovarian cancer[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 3997-4008.
- [30] Yu JH, Liu D, Sun XJ, et al. CDX2 inhibits the proliferation and tumor formation of colon cancer cells by suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling via transactivation of GSK-3 $\beta$  and Axin2 expression [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(1): 26.
- [31] Buckley AM, Lynam-Lennon N, O'Neill H, et al. Targeting hallmarks of cancer to enhance radiosensitivity in gastrointestinal cancers [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(5): 298-313.
- [32] Qi YQ, Wang D, Huang WH, et al. CyclinD1 inhibits dicer and crucial miRNA expression by chromatin modification to promote the progression of intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 413.
- [33] Liu J, Peng YH, Wei WY. Cell cycle on the crossroad of tumorigenesis and cancer therapy[J]. *Trends Cell Biol*, 2022, 32(1): 30-44.
- [34] Long ZJ, Wang JD, Xu JQ, et al. cGAS/STING cross-talks with cell cycle and potentiates cancer immunotherapy[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(3): 1006-17.

(编辑:吴锦雅)