·基础研究·

二脂酰甘油酰基转移酶 2 在神经母细胞瘤中的表达及与 MYCN 表达相关性的分析

吴沂羲[1]，潘　睿[2]，杨　洋[1]，冯　良[1]，吴伟睿[2]，方珍珍[1]，齐炜炜[1,3]，杨　霞[1,3]
（1. 中山大学中山医学院生物化学与分子生物学教研室，广东 广州 510080；2. 中山大学中山医学院，广东 广州 510080；3. 广东省基因操作和生物大分子产物工程技术研究中心，广东 广州 510080）

摘　要：【目的】探讨神经母细胞瘤（NB）中影响甘油二酯代谢的关键基因，明确二脂酰甘油酰基转移酶 2（*DGAT2*）在 NB 中的表达及临床意义，为 NB 的诊断和靶向治疗提供理论依据。【方法】从 GEO（GSE49710）及 TCGA（TARGET-NBL）数据库获取 NB 转录组数据，筛选 *MYCN* 扩增组共同上调的差异表达基因（DEGs），并与甘油二酯代谢相关基因集取交集后通过预后分析比较获得关键基因 *DGAT2*；通过 R2 数据库分析 *DGAT2* 的表达情况；结合单细胞数据集 GSE137804 分析探索 *DGAT2* 对免疫微环境的潜在影响；采用免疫组织化学法（IHC）检测 55 例 NB 临床组织及小鼠异体移植肿瘤组织中 *DGAT2* 的表达水平及与 *MYCN* 表达相关性；【结果】①共筛选出 907 个 *MYCN* 扩增组共同上调的 DEGs，有 3 个 DEGs 在甘油二酯代谢基因集中高表达（$P<0.05$），经比较后发现 *DGAT2* 对预后影响最为显著（HR=1.4，95% CI：1.2，1.7；$P=5.41\times10^{-7}$）；生存分析显示，*DGAT2* 高表达患者总生存期显著缩短。②单细胞分析显示 *DGAT2* 高表达导致 NB 免疫抑制微环境。③IHC 结果显示，在临床 NB 患者肿瘤组织芯片及小鼠异位移植瘤肿瘤组织中 *DGAT2* 在 NB 组织中表达与 *MYCN* 表达呈显著正相关（$r_s=0.369\ 4$，$P<0.01$）。【结论】*DGAT2* 在 *MYCN* 扩增型 NB 中高表达，可独立预示 NB 患者不良预后，有望成为 NB 的诊断标志物及 *MYCN* 扩增型 NB 的潜在治疗靶点。

关键词：二脂酰甘油酰基转移酶 2；神经母细胞瘤；甘油二酯；MYCN；预后
中图分类号：R739.4　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-3554（2026）02-0227-11
DOI：10.11714/jsysu.med.YX20260020

Expression of Diacylglycerol Acyltransferase 2 in Neuroblastoma and its Correlation with MYCN Expression

WU Yixi[1], PAN Rui[2], YANG Yang[1], FENG Liang[1], WU Weirui[2], FANG Zhenzhen[1], QI Weiwei[1,3], YANG Xia[1,3]
（1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Guangdong Engineering Research Center for Gene Manipulation and Bio-macromolecular Products, Guangzhou 510080, China）
Correspondence to: QI Weiwei, E-mail: qiww3@mail.sysu.edu.cn; YANG Xia, E-mail: yangxia@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objective】To explore the key genes influencing diacylglycerol metabolism in neuroblastoma (NB), clarify the expression and clinical significance of diacylglycerol acyltransferase 2 (*DGAT2*) in NB, and provide a theoretical basis for the diagnosis and targeted therapy of NB.【Methods】NB transcriptome data were obtained from GEO

收稿日期：2026-01-26　　**录用日期：**2026-03-10
基金项目：国家自然科学基金（82273116，82570945）；广东省自然科学基金（2024A1515010149）；深圳市科技计划（JCYJ20250604143318024）
作者简介：吴沂羲，第一作者，研究方向：神经母细胞瘤发生发展机制研究，E-mail：1393987096@qq.com；齐炜炜，通信作者，副教授，硕士生导师，研究方向：代谢性疾病发生发展的分子机制，E-mail：qiww3@mail.sysu.edu.cn；杨霞，通信作者，教授，博士生导师，研究方向：病理性血管新生抑制和代谢调控研究，E-mail：yangxia@mail.sysu.edu.cn

(GSE49710) and TCGA (TARGET-NBL) databases. Differentially expressed genes (DEGs) commonly upregulated in *MYCN*-amplified groups were screened, and the key gene *DGAT2* was identified by intersecting the screened DEGs with the diacylglycerol metabolism-related gene set followed by prognostic analysis and comparison. The expression of *DGAT2* was analyzed via the R2 database. The potential impact of *DGAT2* on the immune microenvironment was explored by combining the single-cell dataset GSE137804. Immunohistochemistry (IHC) was used to detect the expression level of *DGAT2* and its correlation with *MYCN* expression in 55 clinical NB tissues and mouse xenograft tumor tissues.【Results】A total of 907 DEGs commonly upregulated in the *MYCN*-amplified groups were screened, among which three DEGs were highly expressed in the diacylglycerol metabolism-related gene set ($P<0.05$). After comparison, *DGAT2* was found to have the most significant impact on prognosis (HR=1.4, 95% CI: 1.2, 1.7; $P=5.41\times10^{-7}$). Survival analysis showed that patients with high *DGAT2* expression had a significantly shorter overall survival. Single-cell analysis revealed that high expression of *DGAT2* led to an immunosuppressive microenvironment in NB. IHC results showed that the expression of *DGAT2* in NB tissues was significantly positively correlated with *MYCN* expression in the tumor tissue microarrays of clinical NB patients and the tissues of mouse ectopic xenograft tumors ($r_s=0.369\ 4$, $P<0.01$).【Conclusions】*DGAT2* is highly expressed in *MYCN*-amplified NB, and may independently predict poor prognosis in NB patients. It is expected to become a diagnostic marker for NB and a potential therapeutic target for *MYCN*-amplified NB.

Key words: diacylglycerol acyltransferase 2; neuroblastoma; diacylglycerol; MYCN; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2026, 47(2): 227-237]

神经母细胞瘤(neuroblastoma, NB)是婴儿期中发病率最高的癌症,起源于神经嵴细胞,是一种儿童交感神经系统异质性肿瘤[1]。*MYCN*癌基因在50%的高危神经母细胞瘤患者中发生扩增,为NB侵袭性进展的重要分子标志[2],同时也是高危NB的核心分子特征和肿瘤进展的关键驱动因素[3]。直接靶向*MYCN*看似具有较强吸引力,但实际操作却困难十足,由于*MYCN*缺乏小分子结合结构域、存在多个辅助调节因子及长期抑制的严重毒性问题,临床应用面临诸多挑战[4]。因此,靶向*MYCN*下游致癌通路便对改善患者预后具有重要意义。在*MYCN*激活的肿瘤中,生长和生物量积累的高需求通过代谢重编程实现,其中脂质代谢异常是其关键特征[5-6]。有研究表明,*MYCN*扩增肿瘤具有明显的甘油酯特征,主要表现为甘油二酯(DGs)的显著富集,具体为高表达的脂肪酸转运蛋白2(solute carrier family 27 member 2, *SLC27A2*)增强肿瘤细胞对内外源脂肪酸的摄取,促进DGs合成从而导致NB中DGs聚集[6],DGs是磷脂合成的重要前体,即可通过CDP-胆碱途径生成磷脂酰胆碱,为肿瘤快速增殖提供细胞膜结构原料[7-8],同时也可作为第二信使促进肿瘤增殖和侵袭等[9],但其过度堆积会引起细胞毒性[10],因此这提示DGs代谢平衡可能为调控NB恶性进展的关键节点。二酰基甘油酰基转移酶2(diacylglycerol acyltransferase 2, *DGAT2*)是参与甘油三酯(TGs)合成的关键酶,与二酰基甘油酰基转移酶1(diacylglycerol acyltransferase 1, *DGAT1*)共同催化酰基辅酶A与DGs发生酯化生成TGs[11]。*DGAT1*在小肠等部位高表达,*DGAT2*在肝脏、心脏和脂肪组织中高表达,核心功能为调控脂质储存与维持细胞内脂质稳态,为细胞增殖和生长提供能量[12-14]。有研究证实,*DGAT2*在乳腺癌[15]、胃癌[16]、肝癌[17]等多种实体瘤中高表达并促进癌症进展,考虑到具有相似生物学功能的*DGAT1*可通过将过量甘油二酯转化成甘油三酯并存储于脂滴中来保护肿瘤免受因脂毒性损伤,因此*DGAT2*可能在NB中也发挥着类似的作用。但*DGAT2*在NB中的表达特征、与*MYCN*表达相关性及临床意义尚不可知。本研究拟通过生物信息学筛选并分析*DGAT2*在*MYCN*扩增型NB中的表达特征,探索其对免疫微环境的潜在影响;再通过IHC检测肿瘤组织中*DGAT2*表达,探讨其与临床分期、病理分型及*MYCN*表达的关系,为NB的诊断、预后评估及靶向治疗提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 脂质组学数据

从已发表文献中获取神经母细胞瘤患者肿瘤组织的脂质组学数据[6],包括原发肿瘤样本*MYCN*

扩增组（MYCN-A）18例和*MYCN*非扩增组（MYCN-NA）18例。该数据集包含全面的脂质种类图谱，且采用Welch's双样本*t*检验比较*MYCN*扩增型和非扩增型原发肿瘤之间的代谢产物水平（$P \leqslant 0.05$），并对代谢物进行GSEA通路富集分析以评估统计学意义，用Benjamini-Hochberg程序调整*P*值，得到FDR。本文先筛选$P<0.05$及$FDR<0.25$的代谢通路，后采用正常化富集分数（normalized enrichment scores，NES）大小作为代谢亚通路富集排序依据。

1.2　关键基因筛选

1.2.1　*数据的获取*　通过GEO（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/）和TCGA（https://portal.gdc.cancer.gov/）数据库下载GSE49710及TARGET-NBL两个转录组数据原始表达矩阵及样本临床信息表。采用limma R包中的normalizeBetweenArrays函数处理原始数据，标准化组间表达差异；后续结合探针注释文件完成基因名转化，对重复探针取平均值，获得的标准化表达矩阵用于后续分析。

1.2.2　*差异表达分析*　运用limma（R package）对两个数据集的MYCN扩增组与非扩增组基因表达数据分别进行差异表达分析，以$P<0.01$且$|logFC|>0.5$为筛选阈值（logFC>0.5定义为上调基因，logFC<-0.5定义为下调基因）。采用ggplot2包绘制火山图，可视化差异基因分布特征，通过VennDiagram包绘制韦恩图，筛选两个数据集共有的上调差异表达基因（DEGs），构建共表达差异基因集。

1.2.3　*关键基因的筛选*　分子特征数据库（MSigDB：Molecular Signatures Database）是一个包含数万个注释基因集的资源库，包括人类基因集和鼠类基因集。从MsigDB数据库中获取甘油二酯代谢及转移活动3个基因集，包括GOBP_DIACYLGLYCEROL_METABOLIC_PROCESS. v2025.1. Hs（26个基因）、GOMF_DIACYLGLYCEROL_O_ACYLTRANSFERASE_ACTIVITY.v2025.1.Hs（7个基因），经合并去重复后得到甘油二酯代谢基因集（29个基因）。随后将甘油二酯代谢基因集与上调基因取交集并绘制韦恩图，获得在2个数据集的MYCN扩增组中均上调的与甘油二酯代谢相关的关键基因。

1.2.4　*预后分析*　R2数据库（R2：Genomics Analysis and Visualization Platform）汇集了包含GEO、TCGA等数据库的癌症转录组测序数据与临床信息。利用R2数据库分析关键基因的表达水平对NB患者总生存期（overall survival，OS）的影响。

1.3　单细胞分析

下载GSE137804数据集，包含14个原发性神经母细胞瘤（其中MYCN-NA有11例：T214、T69、T40、T10、T19、T71、T27、T34、T44、T75、T92；MYCN-A有3例：T230、T200、T162）和6个正常对照（F2、F7、F106、F107、F366、F379）的单细胞测序数据，运用Seurat包进行单细胞数据整理，利用Harmony R包进行去批次效应，利用decontx R包去除RNA污染，利用RunPCA函数与RunUMAP函数降维聚类（dims=1：15），利用FindAllMarkers函数（min. pct=0.30）进行marker基因的选取，利用SingleR包辅助细胞注释，采用ggplot2包可视化。

1.4　免疫组化检测

1.4.1　*样本信息*　临床组织芯片：本研究用到的55例NB患者肿瘤组织标本，均来源于广州市妇女儿童医疗中心，标本采集时间范围为2010年3月至2015年5月。所有标本均经过病理确诊且保存状态良好。样本采集工作严格按照医院伦理委员会批准的指南执行，所参与研究患者均已签署书面知情同意书。临床肿瘤组织标本已制为组织芯片并用于后续免疫组化检测。动物肿瘤石蜡切片：鼠源NB细胞系Neuro-2a和975A2异体移植肿瘤石蜡切片由本实验组成员制备并留存，已通过中山大学动物实验中心伦理审查。

1.4.2　*样本检测*　DGAT2抗体购自Bioss公司，MYCN抗体购自Proteintech公司。实验操作严格遵循标准化流程：组织芯片依次经烤片，二甲苯脱蜡，梯度水化处理，高压热抗原修复，30 ml/L过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性，50 g/L BSA室温封闭1 h，一抗4 ℃冰箱孵育过夜，二抗37 ℃条件孵育1小时，依次完成DAB显色、苏木素复染、梯度脱水、二甲苯透明处理，最终以中性树胶封片。实验结束后，采用全自动玻片扫描系统（KF-FL-400）对组织芯片进行扫描成像。

1.4.3　*免疫组化结果判断*　DGAT2表达于细胞浆；MYCN主要表达于细胞核，部分可见细胞浆同时着色，以细胞核的表达为阳性判断依据。所有免疫组化切片在高倍镜下选取5个不同视野观察，通过染色指数（SI）评判表达结果，染色指数为染色强度与染色范围的乘积。染色范围按被染色的细胞数分为：小于5%阳性细胞为0分；5%~25%阳性细胞为1分；26%~50%阳性细胞为2分；51%~75%阳

性细胞为3分;大于75%阳性细胞为4分。染色强度分为:染色阴性(无着色)为0分;染色弱阳性(淡黄色)为1分;染色中等强度(棕黄色)为2分;染色强阳性(黄褐色)为3分。

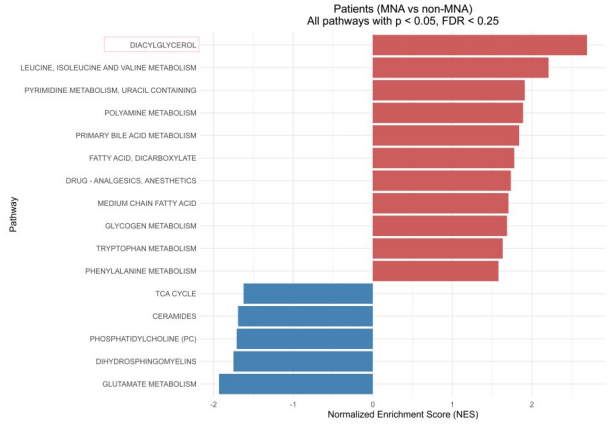
1.5 统计学分析

连续定量数据并符合正态分布,用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较采用t检验。两组以上的比较采用单因素方差分析(One Way-ANOVA),组间两两比较采用最小有意义差异t检验(LSD-t)。二分类变量比较用卡方检验Chi-square。两连续变量相关性用Pearson相关进行分析,涉及等级资料的变量相关性分析采用Spearman秩相关系数分析。单细胞分析免疫细胞比例统计学分析采用Mann-Whitney秩和检验分析。以上采用GraphPad Prism(10.0版)进行分析并绘图。P<0.05认为具有统计学意义。

2 结 果

2.1 甘油二酯在MYCN扩增型患者中显著富集

将NB患者肿瘤组织脂质组学可视化后发现,与MYCN非扩增型患者相比,MYCN扩增型患者的甘油二酯最为富集(图1),结果表明MYCN促进了甘油二酯的积聚,显著改变了NB肿瘤中的脂代谢。



The pathways have been subjected to enrichment analysis using the GSEA algorithm. Subpathways with FDR < 0.25 and P < 0.05 were selected and ranked according to NES. Red: upregulated subpathways; Blue: downregulated sub-pathways.

图1 MYCN扩增型NB患者肿瘤组织代谢亚通路富集情况

Fig. 1 Subpathway enrichment of tumor tissues in MYCN-amplified NB patients

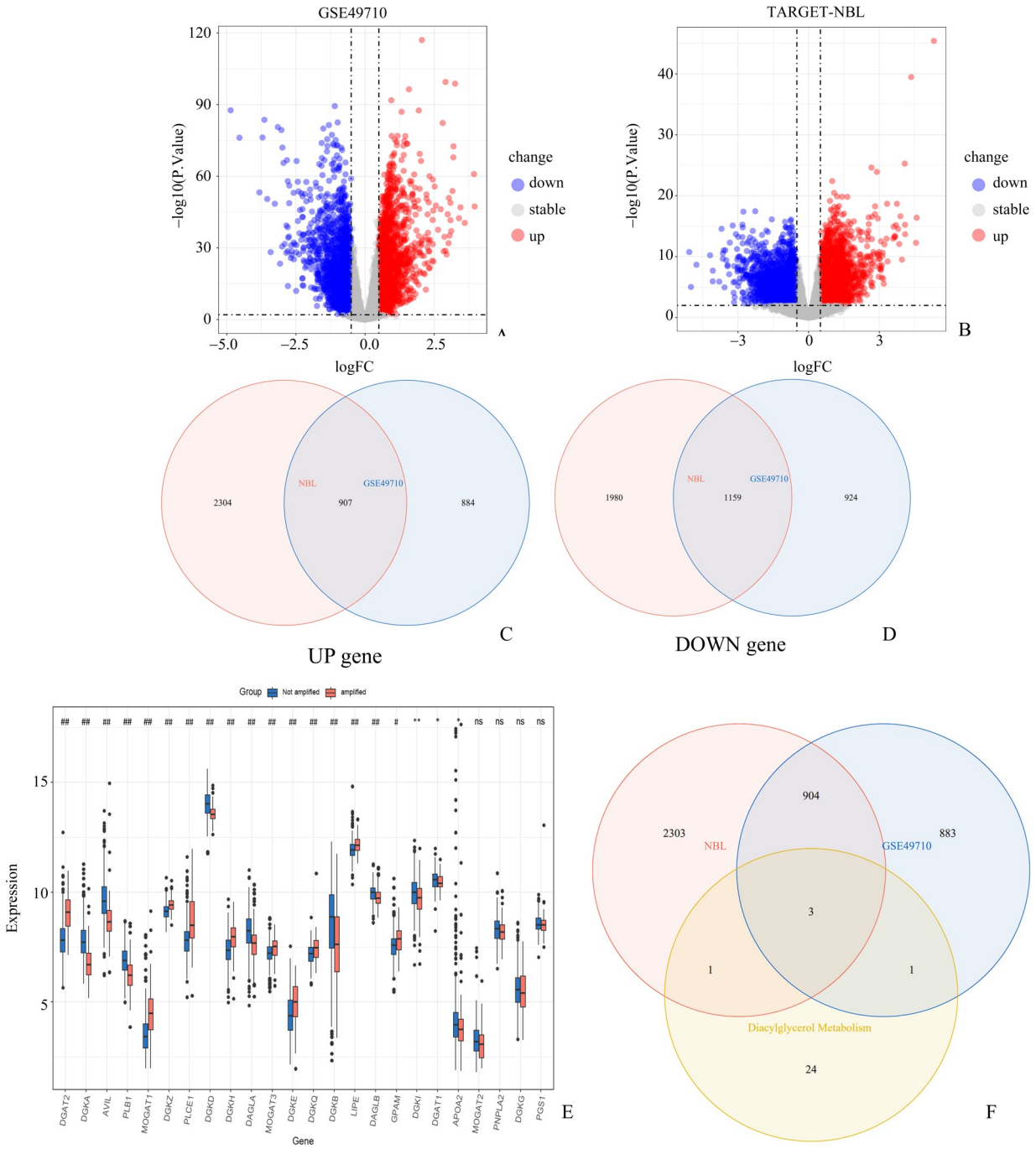
2.2 生物信息学分析

2.2.1 甘油二酯代谢差异表达基因分析 通过对GSE49710及TARGET-NBL两个数据集的MYCN扩增组和非扩增组基因表达数据进行差异分析,分别筛选出DEGs:TARGET-NBL数据集共6 350个(上调3 211个、下调3 139个),GSE49710数据集共3 874个(上调1 791个、下调2 083个;图2A-D)。选取GSE49710数据集,以箱线图展示其可检测到的甘油二酯代谢相关基因(甘油二酯代谢基因集合共29个基因,其中24个基因可检测,其余未检测到的基因未纳入分析)在MYCN扩增型和非扩增型NB中的表达分布情况(图2E),进一步将两个数据集的上调DEGs与甘油二酯代谢基因集制作韦恩图取交集,其中有3个共同上调基因,包括*DGAT2*、*PLCE1*和*MOGAT1*(图2F)。

2.2.2 甘油二酯代谢关键基因的筛选 为了探究在NB甘油二酯代谢发挥重要作用的关键基因,以3个共表达差异上调基因为后续研究对象,进一步分析这些基因在2个数据集的MYCN扩增组和非扩增组患者中的表达情况,发现*DGAT2*变化为最显著(GSE49710:LogFC=1.14,P=2.86×10^{-7};TARGET-NBL:LogFC=1.15,P=6.71×10^{-28};表1),且为了进一步评估交集中的甘油二酯代谢差异基因预后价值,在R2数据库中选取GSE49710分析这些关键基因对NB患者总生存期的影响,预后分析显示,*DGAT2*对NB患者的预后影响最为显著(HR=1.4,95%CI:1.2~1.7,P=5.41×10^{-7};表2,图3),上述结果提示*DGAT2*可能为在MYCN-A型NB甘油二酯代谢中发挥作用的关键基因。

2.2.3 DGAT2在MYCN扩增型NB上调并与不良预后相关 为了评估*DGAT2*的预后价值,选取GSE49710分析*DGAT2*在*MYCN*扩增型和非扩增型NB中的表达情况及与*MYCN*的相关性,并通过R2数据库分析*DGAT2*表达对总生存期的影响。结果发现*DGAT2*在*MYCN*扩增型NB中高表达(P<0.000 1,图4A),且与*MYCN*表达显著正相关(r=0.38,P=2.2×10^{-16},图4B),表明*DGAT2*有望成为NB治疗的潜在靶点。

2.2.4 单细胞分析发现高表达DGAT2导致免疫抑制微环境 下载GSE137804中14例原发性神经母细胞瘤肿瘤组织单细胞测序数据,应用Seurat包分析单细胞测序数据,通过线粒体基因组质控过滤低质量细胞,使用Decontx包去除RNA污染,使用



A and B: Volcano Plots of the data sets GSE49710 and TARGET-NBL. Blue color represents the downregulated genes (logFC < −0.5, $P < 0.01$) and red color represents the upregulated genes (logFC > 0.5, $P < 0.01$) in MYCN-A NB; C: Venn diagram of co-upregulated DEGs; D: Venn diagram of co-downregulated DEGs; E: Box plots showing the expression of diacylglycerol metabolism genes in MYCN-amplified and non-amplified NB from the GSE49710 dataset. F: Venn diagram of co-upregulated diacylglycerol metabolism-related DEGs in the MYCN-amplified groups of the 2 datasets. *P<0.05, **P<0.01, $^{\#}P$<0.001, $^{\#\#}P$<0.000 1.

图 2　NB 中甘油二酯代谢相关 DEGs 的筛选

Fig. 2　Screening of DEGs related to diacylglycerol metabolism in NB

Harmony 包去除批次效应，标准化后进行主成分分析（PCA）并聚类，通过 UMAP 可视化细胞亚群分布。利用 FindAllMarkers 函数鉴定各簇的差异表达基因，根据已知细胞类型标志物及 CellMarker 数据库注释细胞类型，使用 SingleR 包辅助注释，在已完成前置生信分析（包括数据处理，细胞分群）的基础上，依照不同细胞来源，本研究纳入 14 例 NB 样本及 6 例正常发育对照样本（表 3）。对于 NB 样本，计

表1 3个共上调DEGs在不同数据集的表达差异

Table 1 Expression differences of 3 co-upregulated DEGs in different database

DEGs	GSE49710		TARGET-NBL	
	LogFC	*P*	LogFC	*P*
DGAT2	1.14	2.86×10^{-7}	1.15	6.71×10^{-28}
PLCE1	0.86	5.45×10^{-6}	0.93	2.72×10^{-18}
MOGAT1	1.07	1.54×10^{-5}	0.99	8.75×10^{-18}

表2 差异基因对NB患者总生存期的影响

Table 2 The impact of DEGs expression on the overall survival of patients with NB

DEGs	High expression /*n*	Low expression /*n*	HR (95%CI)	*P*
DGAT2	55	443	1.4 (1.2, 1.7)	5.41×10^{-7}
PLCE1	100	398	1.1 (0.96, 1.2)	3.86×10^{-3}
MOGAT1	389	109	1.1 (0.96, 1.3)	0.033

算其肿瘤细胞中*DGAT2*的平均表达量;对于正常样本,计算其对应细胞群中*DGAT2*的平均表达量。随后,基于14例NB样本的肿瘤细胞*DGAT2*平均表达量进行排序,以中位数为截断值,将NB样本分为*DGAT2*高表达组(7例)和*DGAT2*低表达组(7例),6例正常样本作为独立对照,结果发现*DGAT2*在MYCN-A型NB中显著高表达(P=0.022 9),而在MYCN-NA型NB和正常发育组织中维持低水平表达(图5A)。而后分别计算每一个NB样本中的细胞比例并进行组间比较,明确样本中各类免疫、基质或功能特化细胞的组成及比例(图5B-C)。结果分析*DGAT2*高表达NB样本的$CD4^+$T细胞(P=0.043 1)、$CD8^+$T细胞(P=0.045 5)、浆细胞样树突状细胞(pDC)(P=0.034 4)、单核细胞(P=0.032 6)浸润水平均低于*DGAT2*低表达NB样本(图5D),表明NB中*DGAT2*高表达导致免疫抑制微环境。

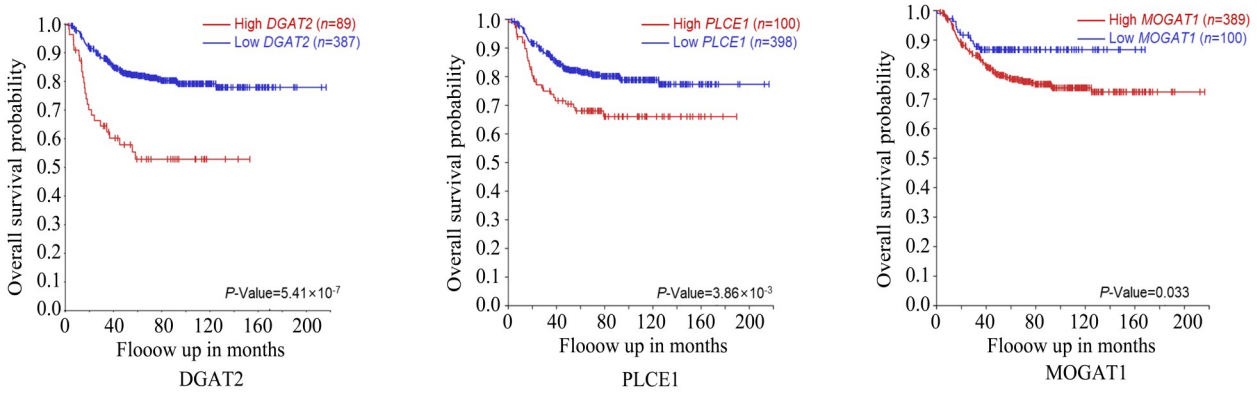


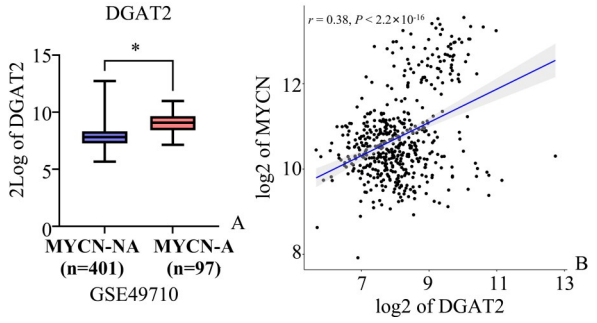
图3 关键基因的表达水平与NB患者总生存期的关系

Fig. 3 Relationship between the key genes expression levels and overall survival in patients with NB patients

2.3 免疫组织化学结果

2.3.1 NB临床患者肿瘤组织芯片结果 在神经母细胞瘤中,通过免疫组织化学实验检测55例收集自广州妇女儿童医疗中心的患者样本组织芯片中*MYCN*和*DGAT2*表达水平,发现MYCN高表达组中*DGAT2*表达显著增加(P=0.002 7),且*MYCN*与*DGAT2*表达呈正相关(r_s=0.369 4, P=0.005 5;图6A-C)。*DGAT2*表达在NB患者年龄(P=0.090)、性别(P=0.595)、肿瘤细胞分化程度(P=0.912)、有丝分裂核碎裂指数(mitosis karyorrhexis index, MKI)(P=1.000)、INSS分期(international neuroblastoma staging system, INSS)(P=0.852)、局部淋巴结转移(P=0.289)、骨髓转移(P=0.655)及远隔转移(P=0.431)中均无统计学意义,仅与*MYCN*状态(P=0.006)有关(表4)。

2.3.2 小鼠肿瘤组织石蜡切片结果 975A2是TH-MYCN转基因小鼠的自发性神经母细胞瘤,TH-MYCN转基因小鼠通过将人类*MYCN*基因与酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)启动子结合,使*MYCN*基因在交感神经系统中特



A: Expression of DGAT2 in MYCN-A NB shown in GSE49710; *$P < 0.000\ 1$, compared with MYCN-NA NB. B: DGAT2-MYCN Correlation scatter plot (GSE49710, r=0.38, $P < 2.2\times10^{-16}$).

图 4　DGAT2在NB中表达及预后情况

Fig. 4　The expression of DGAT2 in NB and its prognostic relationship

异性表达，在组织学和遗传学上类似于高危MYCN-A型神经母细胞瘤。免疫组织化学染色结果显示在获取的NB细胞系来源的异体移植肿瘤（cell line-derived xenograft，CDX）中也显示了相同的趋势，与Neuro-2a CDX小鼠肿瘤组织相比，975A2（MYCN转基因细胞系）的*DGAT2*表达也更多（P=0.001 2，图7 A-B）。

3　讨论

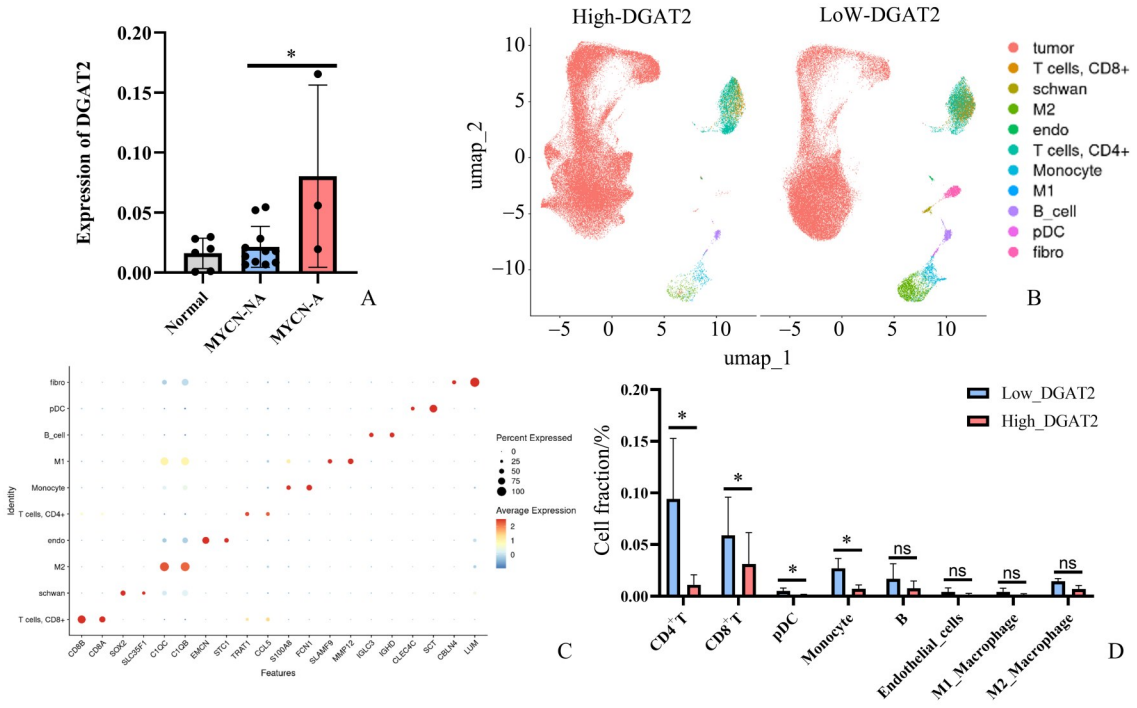
神经母细胞瘤是一种儿童交感神经系统实体瘤，占儿童癌症总死亡率的15%，尽管有多种治疗方法，但高危NB患者的5年生存率仍低于50%[18]。*MYCN*作为一种转录因子[19]，可通过调控众多靶基因表达，进而参与促进糖酵解[20]、脂肪生成[21]和多胺代谢[22]等代谢过程以维持细胞增殖。因此，靶向*MYCN*下游的代谢过程，可能是克服直接靶向*MYCN*的困难的一种有效策略[23]。脂类代谢的紊乱已被确定为肿瘤发生和肿瘤进展的关键，脂肪酸作为脂质的关键成分，因其在调节肿瘤细胞新陈代谢中的作用而备受关注[24]。

表 3　单细胞数据样本临床信息

Table 3　Clinical information of single-cell data samples

Sample	Gender	Group	MYCN	Tissue	Disease	Survival	Age
T71	M	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Death	5 d
T19	F	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	2 y 2 m
T27	M	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Death	3 y 4 m
T34	F	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	3 y 2 m
T44	F	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	2 m 6 d
T75	F	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	9 m 10 d
T92	F	Low_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	3 y 5 m
T214	F	High_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	3 m 28 d
T69	M	High_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	2 y 5 m
T40	M	High_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	2 m 26 d
T10	M	High_DGAT2	MYCN-NA	adrenal	NB	Survival	3 y 3 m
T230	M	High_DGAT2	MYCN-A	adrenal	NB	Survival	4 y 8 m
T200	F	High_DGAT2	MYCN-A	adrenal	NB	Survival	2 y 6 m
T162	M	High_DGAT2	MYCN-A	adrenal	NB	Survival	2 y 9 m
F366	/	Normal	/	Embryo	/	/	4 w
F379	/	Normal	/	Embryo	/	/	4 w
F2	/	Normal	/	Fetal adrenal	/	/	8 w 6 d
F7	/	Normal	/	Fetal adrenal	/	/	8 w 3 d
F106	/	Normal	/	Fetal adrenal	/	/	14 w 4 d
F107	/	Normal	/	Fetal adrenal	/	/	13 w 2 d

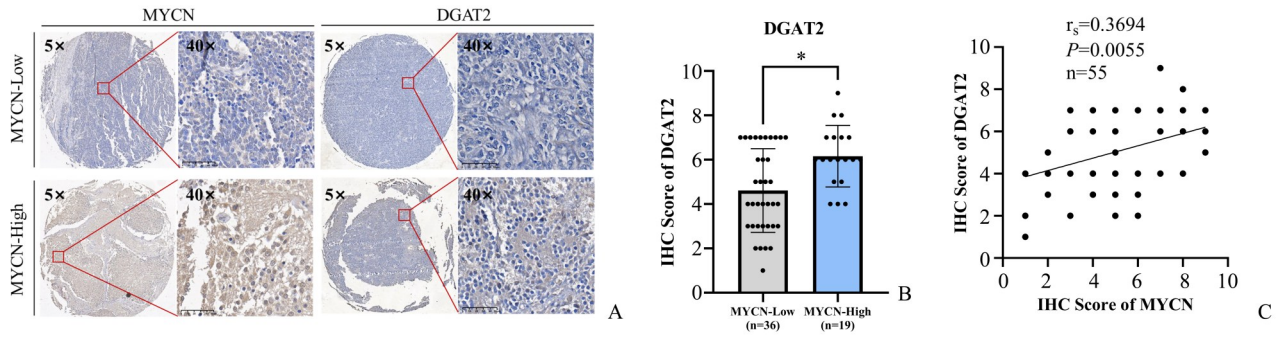
y: year; m: month; w: week.



A: DGAT2 expression in normal and NB subgroups shown in GSE137804. B and C: Dimensionality reduction analysis and cell subpopulation annotation of the GSE137804 dataset. D: Cell subpopulation analysis of Low_DGAT2 and High_DGAT2 samples in the GSE137804 dataset, with statistical comparison based on DGAT2 expression level. *P<0.05.

图5 单细胞数据分析DGAT2高表达NB免疫细胞浸润较低

Fig. 5 Single-cell data analysis reveals lower immune cell infiltration in DGAT2 high NB



A: DGAT2 is significantly higher in MYCN highly expressed NB tissues than in MYCN lowly expressed tissues. B: Tissue microarray immunohistochemical analysis of MYCN and DGAT2 expression stratified by MYCN expression status (MYCN-High, n=19; MYCN-Low, n=36, P=0.002 7). C: Correlation curves were generated based on MYCN and DGAT2 immunoreactivity scores. *P<0.01.

图6 免疫组化检测DGAT2在NB患者组织中表达差异及与MYCN的相关性分析

Fig. 6 The different expression of DGAT2 detected by IHC in tissues of NB patients and its correlation analysis with MYCN

*DGAT2*在脂质代谢中发挥着重要作用[25-26],作为TGs合成关键酶,能利用新生DGs合成TGs[27],但其在神经母细胞瘤发生发展中的作用很大程度上是未经探索的。有多篇报道称*DGAT2*参与癌症进展,例如,*DGAT2*可降低MCF7乳腺癌细胞对辐射的敏感性[15],*DGAT2*能诱导脂滴聚集以促进胃癌转移[16]。我们发现,*DGAT2*可能是*MYCN*扩增型NB中甘油二酯代谢通路的关键分子。通过多数据集生信分析与临床样本验证,我们证实*DGAT2*在*MYCN*扩增型NB中高表达,虽与患者年龄、性别、肿瘤分期、转移状态等临床病理参数无显著性关联,但与*MYCN*扩增状态及表达呈显著正相关,提示*DGAT2*的上调主要受*MYCN*调控,而*MYCN*可作为转录因子调控许多靶基因表达[19],通过促进各类

表 4　DGAT2表达与NB各临床病理参数的关系

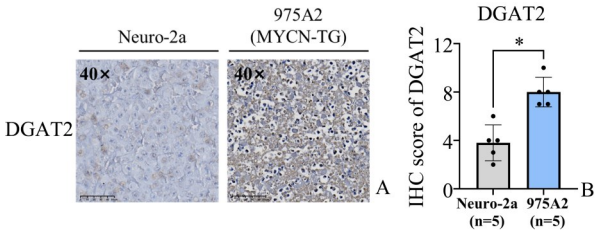
Table.4　Relationship between expression of DGAT2 and pathological parameters of NB

Clinical features	*n*	Expression of DGAT2 /*n*		χ^2	*P*
		High(*n*=23)	Low(*n*=32)		
Age of Diagnosis/month				2.867	0.090
<18 months	36	18	18		
≥18 months	19	5	14		
Gender				0.282	0.595
Male	31	12	19		
Female	24	11	13		
Differentiation Degree				0.012	0.912
diff	18	8	10		
Poorly diff	35	15	20		
Unknown	2				
MKI				0	1.000*
Low/Intermediate	38	15	24		
High	11	5	7		
Unknown	6				
INSS stage/s				0.034	0.852
1, 2, 4	39	16	23		
3, 4	16	7	9		
MYCN status				—	0.006#
Not amplified	30	11	19		
Amplified	6	6	0		
Unknown	19				
Local lymph node metastasis				1.124	0.289
Yes	15	8	7		
No	40	15	25		
Bone marrow metastasis				0.199	0.655
Yes	15	7	8		
No	40	16	24		
Distant Metastases				0.621	0.431
Yes	16	8	8		
No	39	15	24		

*Chi-square test for continuity correction; # Fisher's exact test; others with Pearson's Chi-square test. Unknown refers to the missing tissue samples or tissue samples lacking clinical information.

代谢过程以增强大分子生物合成和能量产生，*DGAT2*的上调可能是参与*MYCN*介导脂质代谢重编程的结果，这一结果与*MYCN*在肿瘤中通过调控脂质合成关键酶塑造代谢表型的经典机制一致[5-6]，进一步完善了“*MYCN*-脂质代谢-肿瘤发展”的调控轴。

*MYCN*能显著改变NB的脂质代谢，*MYCN*基因缺失后，基本上所有TGs都发生了下调，而在诱导*MYCN*上调后大多数TGs也显著增加[6]，这很有可能是*DGAT2*因*MYCN*缺失发生下调，最终导致TGs



A: DGAT2 is significantly higher in 975A2(MYCN-TG) than in Neuro-2a. B: Immunohistochemical analysis of DGAT2 expression in CDX tumors (Neuro-2a, n=5; 975A2, n=5; P=0.001 2). *P<0.01.

图7 免疫组化检测DGAT2在小鼠肿瘤组织中表达差异

Fig. 7 The different expression of DGAT2 detected by IHC in NB mouse tumor tissues

生成减少的结果,NB中DGs和TGs的同步变化可能反映出一种复杂的脂质平衡关系。DGs虽能转化为甘油磷脂满足肿瘤细胞扩增对膜结构的需求[7-8],但DGs的过量堆积会破坏内质网稳态、激活促凋亡通路,对肿瘤细胞产生毒性[28],因此在神经母细胞瘤中*DGAT2*的高表达很可能是肿瘤细胞为缓解脂质堆积毒性而采取的策略。相关研究表明,*DGAT2*可将DGs转化为TGs储存于脂滴中[12,29],这不仅减轻了脂肪酸、DGs过度堆积引起的细胞毒性,还能将多余脂质转化为肿瘤生长的能量储备[17]。脂滴还能为肿瘤细胞快速增殖提供膜合成原料及能量,并以隔离化疗药物、清除活性氧等方式来提升肿瘤细胞的抗应激能力[15-16]。单细胞数据分析初步表明*DGAT2*高表达会产生免疫抑制微环境。已知肿瘤细胞可通过分泌脂质来抑制效应T细胞和NK细胞功能[30],而*DGAT2*作为脂质代谢的关键分子,也可能通过调控脂滴形成及脂质产物分泌来促进肿瘤进展,这为未来联合靶向代谢与免疫治疗提供了理论依据[31]。

目前,关于*DGAT2*抑制剂的研究和应用已较为深入。*DGAT2*抑制剂PF-06427878的代谢产物(经过CYP450氧化代谢后形成的一种活性醌类物质)存在潜在的安全风险。辉瑞公司的研究人员优化了PF-06427878化合物的结构,并开发出了具有更好代谢稳定性的*DGAT2*抑制剂Ervogastat。它可以与ACC抑制剂Clesacostat结合使用,用于治疗代谢功能障碍相关性脂肪性肝炎(MASH),目前已进入Ⅱ期临床试验阶段[32]。并且*DGAT2*靶向反义寡核苷酸药物ION224也可通过抑制新生脂质合成降低肝脂肪含量,为MASH及纤维化靶向治疗提供了坚实的临床证据[33]。如果*DGAT2*确实在神经母细胞瘤的脂质代谢重编程中起关键作用,那么或许*DGAT2*抑制剂将会得到更广泛的应用。

本研究初步明确了*DGAT2*在*MYCN*扩增型NB中的高表达特征及临床意义,为NB脂质代谢重编程的研究提供了新思路,但仍存在一定局限性,本研究虽发现*DGAT2*与*MYCN*表达呈显著正相关,提示*DGAT2*的表达可能受*MYCN*调控,但未深入探究二者相互作用的具体分子机制,尚未明确*MYCN*是否通过直接结合*DGAT2*启动子的方式调控其转录,后续可通过双荧光素酶基因报告系统等实验进一步探究。

综上,*DGAT2*在*MYCN*扩增型NB组织中显著高表达,并可独立预示患者不良预后。本研究为研究神经母细胞瘤代谢重编程提供了新的思路,并为针对神经母细胞瘤的治疗奠定了新的理论基础。

参考文献

[1] Brodeur GM. Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma[J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(3): 203-216.

[2] Huang M, Weiss WA. Neuroblastoma and MYCN[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3(10): a014415.

[3] Qiu B, Matthay KK. Advancing therapy for neuroblastoma[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2022, 19(8): 515-533.

[4] Sun Z, Zhang Z, Wang QQ, et al. Combined inactivation of CTPS1 and ATR is synthetically lethal to MYC-overexpressing cancer cells[J]. Cancer Res, 2022, 82(6): 1013-1024.

[5] Wolf A, Leardini D, Li L, et al. Deciphering the MYCN-driven metabolic microenvironment of neuroblastoma [J]. Trends Mol Med, 2025. doi: 10.1016/j.molmed.2025.08.005.

[6] Tao L, Mohammad MA, Milazzo G, et al. MYCN-driven fatty acid uptake is a metabolic vulnerability in neuroblastoma[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 3728.

[7] Gibellini F, Smith TK. The Kennedy pathway--de novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine [J]. IUBMB Life, 2010, 62(6): 414-428.

[8] Li L, Huang Y, Gui Y, et al. The role of phosphatidylcholine metabolism in tumors[J]. Med Oncol, 2025, 42(10): 450.

[9] Griner EM, Kazanietz MG. Protein kinase C and other diacylglycerol effectors in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(4): 281-294.

[10] Yoon H, Shaw JL, Haigis MC, et al. Lipid metabolism in

sickness and in health: emerging regulators of lipotoxicity[J]. Mol Cell, 2021, 81(18): 3708-3730.

[11] Cases S, Stone SJ, Zhou P, et al. Cloning of DGAT2, a second mammalian diacylglycerol acyltransferase, and related family members[J]. J Biol Chem, 2001, 276(42): 38870-38876.

[12] Chitraju C, Walther TC, Farese RV. The triglyceride synthesis enzymes DGAT1 and DGAT2 have distinct and overlapping functions in adipocytes[J]. J Lipid Res, 2019, 60(6): 1112-1120.

[13] 袁峥嵘，柳小春，马海明，等. 二脂酰甘油酰基转移酶2(DGAT2)基因研究进展[J]. 遗传，2008，(3)：289-294.
Yuan ZR, Liu XC, Ma HM, et al. Research progress of diacylglycerol acyltransferase 2 (DGAT2) gene[J]. Hereditas (Beijing), 2008(3): 289-294.

[14] Cases S, Smith SJ, Zheng YW, et al. Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis[J]. Proc Natl Acad Sci U SA, 1998, 95(22): 13018-13023.

[15] Nisticò C, Pagliari F, Chiarella E, et al. Lipid droplet biosynthesis impairment through DGAT2 inhibition sensitizes MCF7 breast cancer cells to radiation[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(18). doi: 10.3390/ijms221810102.

[16] Li S, Wu T, Lu YX, et al. Obesity promotes gastric cancer metastasis via diacylglycerol acyltransferase 2-dependent lipid droplets accumulation and redox homeostasis[J]. Redox Biol, 2020, 36: 101596.

[17] Li Y, Li T, Jin Y, et al. Dgat2 reduces hepatocellular carcinoma malignancy via downregulation of cell cycle-related gene expression[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 115: 108950.

[18] Park JR, Eggert A, Caron H. Neuroblastoma: biology, prognosis, and treatment[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2010, 24(1): 65-86.

[19] Baluapuri A, Wolf E, Eilers M. Target gene-independent functions of MYC oncoproteins[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(5): 255-267.

[20] Oliynyk G, Ruiz-Pérez MV, Sainero-Alcolado L, et al. MYCN-enhanced oxidative and glycolytic metabolism reveals vulnerabilities for targeting neuroblastoma[J]. iScience, 2019, 21: 188-204.

[21] Ruiz-Pérez MV, Sainero-Alcolado L, Oliynyk G, et al. Inhibition of fatty acid synthesis induces differentiation and reduces tumor burden in childhood neuroblastoma[J]. iScience, 2021, 24(2): 102128.

[22] Gamble LD, Purgato S, Murray J, et al. Inhibition of polyamine synthesis and uptake reduces tumor progression and prolongs survival in mouse models of neuroblastoma[J]. Sci Transl Med, 2019, 11(477). doi: 10.1126/scitranslmed.aau1099.

[23] Dang CV, Reddy EP, Shokat KM, et al. Drugging the 'undruggable' cancer targets[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(8): 502-508.

[24] Currie E, Schulze A, Zechner R, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. Cell Metab, 2013, 18(2): 153-161.

[25] 田轶男，赵雯娟，陈丝宇，等. 二脂酰甘油酰基转移酶2在动物脂肪代谢中的研究进展[J]. 家畜生态学报，2023，44(7)：92-96.
Tian YN, Zhao WJ, Chen SY, et al. Research advances of diacylglycerol acyltransferase 2 in animal fat metabolism[J]. Acta Ecologiae Animalis Domastici, 2023, 44(7): 92-96.

[26] Yen C-LE, Stone SJ, Koliwad S, et al. Thematic review series: glycerolipids. DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis[J]. J Lipid Res, 2008, 49(11): 2283-2301.

[27] 李远成，李荔. 多囊卵巢综合征高雄激素介导二酰基甘油酰基转移酶2基因促进颗粒细胞铁死亡[J]. 实用医学杂志，2025，41(16)：2498-2506.
Li YC, Li L. Androgen-mediated DGAT2 upregulation promotes ferroptosis in granulosa cells in polycystic ovary syndrome[J]. J Pract Med, 2025, 41(16): 2498-2506.

[28] Deng B, Kong W, Shen X, et al. The role of DGAT1 and DGAT2 in regulating tumor cell growth and their potential clinical implications[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 290.

[29] Elhan H, Damm A, Korfhage JL, et al. ATG2A-mediated DAG transfer recruits DGAT2 for lipid droplet growth[J]. Nat Struct Mol Biol, 2025, 32(12): 2601-2613.

[30] Sait S, Modak S. Anti-GD2 immunotherapy for neuroblastoma[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2017, 17(10): 889-904.

[31] Polychronopoulos PA, Bedoya-Reina OC, Johnsen JI. The neuroblastoma microenvironment, heterogeneity and immunotherapeutic approaches[J]. Cancers (Basel), 2024, 16(10). doi: 10.3390/cancers16101863.

[32] Wong VW-S, Amin NB, Takahashi H, et al. Efficacy and safety of ervogastat alone and in combination with clesacostat in patients with biopsy-confirmed metabolic dysfunction-associated steatohepatitis and F2-F3 fibrosis (MIRNA): results from a phase 2, randomised, double-blind, double-dummy study[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2025, 10(10): 924-940.

[33] Loomba R, Morgan E, Yousefi K, et al. Antisense oligonucleotide DGAT-2 inhibitor, ION224, for metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (ION224-CS2): results of a 51-week, multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial[J]. Lancet, 2025, 406(10505): 821-831.

（编辑　孙慧兰）