

·基础研究·

CYHR1 通过激活 IL-6/STAT3/MALAT1 轴调控结直肠癌细胞的增殖与迁移侵袭

邓秋敏, 刘莹, 黄嘉颖, 刘小会, 高学娟, 刘朗夏

(暨南大学肿瘤分子生物学教育部重点实验室//暨南大学生命科学技术学院, 广东 广州 510632)

摘要:【目的】阐明 CYHR1 在 CRC 中的表达特征及其对肿瘤细胞增殖和转移相关表型的调控作用。【方法】基于 TCGA 数据库分析 CYHR1 在结直肠癌组织与癌旁组织中的表达差异,并评估其与患者生存预后的相关性。构建 CYHR1 过表达的 CRC 细胞模型,采用 qRT-PCR 验证相关分子的表达变化;通过 MTT 实验、克隆形成实验以及 Transwell 迁移和侵袭实验,评估 CYHR1 与 MALAT1 对 CRC 细胞增殖及转移能力的影响,并进一步开展联合干预实验。【结果】数据库分析结果显示,CYHR1 在 CRC 组织中显著高表达,且其高表达与较差的总体生存期显著相关。与正常对照细胞相比,CRC 细胞系(HCT116、RKO 等)中 CYHR1 的 mRNA 表达水平明显升高($P=0.002$; $P=0.006$)。功能实验表明,CYHR1 过表达可显著促进 HCT116 细胞的增殖($P<0.001$)、克隆形成($P<0.001$)以及迁移($P=0.002$)和侵袭能力($P=0.002$);而敲低 CYHR1 或 MALAT1 均可抑制 CRC 细胞增殖并降低其迁移($P=0.006$)和侵袭能力($P=0.006$)。在 CYHR1 过表达的背景下联合敲低 MALAT1,可部分逆转 CYHR1 对 CRC 细胞增殖及迁移侵袭的促进作用($P<0.001$; $P=0.001$)。机制研究进一步发现,CYHR1 过表达可上调 MALAT1 的 mRNA 表达水平($P<0.001$),而敲低 CYHR1 则导致 MALAT1 表达下调($P<0.001$);敲低 MALAT1 同样可下调 CYHR1 的表达,提示二者之间可能存在相互促进的正向调控关系。此外,CYHR1 可以激活 IL-6/STAT3 信号轴,而敲低 IL-6 或 STAT3 则抑制了 CYHR1 对 MALAT1 ($P=0.031$; $P=0.006$)表达的上调作用。【结论】CYHR1 在结直肠癌中异常高表达并与不良预后密切相关。CYHR1 可能通过激活 IL-6/STAT3/MALAT1 轴促进 CRC 细胞的增殖、迁移和侵袭。

关键词: 结直肠癌; 半胱氨酸/组氨酸蛋白 1; 肺腺癌转移相关转录本 1; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R735.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2026)04-0670-11

DOI: 10.11714/jysu.med.YX20260051

CYHR1 Regulates the Proliferation, Migration, and Invasion of Colorectal Cancer Cells by Activating the IL-6/STAT3/MALAT1 Axis

DENG Qiumin, LIU Ying, HUANG Jiaying, LIU Xiaohui, GAO Xuejuan, LIU Langxia

(MOE Key Laboratory of Tumor Molecular Biology, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Correspondence to: GAO Xuejuan, E-mail: tgaoxj@jnu.edu.cn; LIU Langxia, E-mail: langxialiu@gmail.com

Abstract:【Objective】To elucidate the expression patterns of CYHR1 in colorectal cancer (CRC) and its regulatory role in tumour cell proliferation and metastasis-related phenotypes.【Methods】Expression differences of CYHR1 between colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues were analyzed using data from The Cancer Genome Atlas (TCGA)

收稿日期: 2026-04-01

录用日期: 2026-07-02

基金项目: 国家自然科学基金(32370966); 广东省基础与应用基础研究基金(2025A1515012769); 肿瘤分子生物学教育部重点实验室开放课题(202402)

作者简介: 邓秋敏, 第一作者, 研究方向: 肿瘤发病的机制研究, E-mail: dqm74500@163.com; 刘莹, 共同第一作者, 研究方向: 肿瘤发病的机制研究, E-mail: 826191940@qq.com; 高学娟, 共同通信作者, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向: 肿瘤发病及药物作用机理研究, E-mail: tgaoxj@jnu.edu.cn; 刘朗夏, 通信作者, 教授, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤发病及药物作用机理研究, E-mail: langxialiu@gmail.com

database, and the association between CYHR1 expression and patient survival was evaluated. A CRC cell model with CYHR1 overexpression was established, and changes in the expression of related molecules were verified by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Cell proliferation and metastatic potential were assessed using MTT assays, colony formation assays, and Transwell migration and invasion assays to evaluate the effects of CYHR1 and MALAT1 on CRC cell proliferation and migration/invasion, including combined intervention experiments.【Results】Database analysis revealed that CYHR1 is significantly overexpressed in CRC tissues, and that this overexpression is significantly associated with poorer overall survival. Compared with normal control cells, mRNA expression levels of CYHR1 were markedly elevated in CRC cell lines (HCT116, RKO, etc.) ($P=0.002$; $P=0.006$). Functional experiments demonstrated that CYHR1 overexpression significantly promoted the proliferation ($P<0.001$), colony formation ($P<0.001$), migration ($P=0.002$) and invasive capacity ($P=0.002$) of HCT116 cells; whereas knockdown of either CYHR1 or MALAT1 inhibited CRC cell proliferation and reduced their migration ($P=0.006$) and invasive capacity ($P=0.006$). In the context of CYHR1 overexpression, combined knockdown of MALAT1 partially reversed the promotional effect of CYHR1 on CRC cell proliferation, migration and invasion ($P<0.001$; $P=0.001$). Mechanistic studies further revealed that CYHR1 overexpression upregulates MALAT1 mRNA expression levels ($P<0.001$), whilst CYHR1 knockdown leads to downregulation of MALAT1 expression ($P<0.001$); MALAT1 knockdown likewise downregulates CYHR1 expression, suggesting a mutually reinforcing positive regulatory relationship between the two. Furthermore, CYHR1 can activate the IL-6/STAT3 signalling axis, whilst knockdown of IL-6 or STAT3 inhibited the upregulation of MALAT1 expression by CYHR1 ($P=0.031$; $P=0.006$).【Conclusion】CYHR1 is abnormally overexpressed in colorectal cancer and is closely associated with poor prognosis. CYHR1 may promote the proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer (CRC) cells by activating the IL-6/STAT3/MALAT1 axis.

Key words: colorectal cancer; cysteine/histidine-rich 1; metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1; proliferation; migration; invasion

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2026, 47(4): 670-680]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)发病率长期位居恶性肿瘤前列,在常见癌症中排名第三。尽管筛查、手术及化疗、靶向治疗等手段不断进步,患者总体生存率有所提高,但晚期转移性CRC患者5年生存率仍不足20%~26%,提示亟需更有效、精准的治疗策略^[1-3]。因此,寻找预测预后的分子标志物并探索疾病进展关键靶点具有重要意义。富含半胱氨酸/组氨酸蛋白1(cysteine/histidine-rich 1, CYHR1)编码一种富含半胱氨酸和组氨酸的蛋白,可能参与蛋白互作或金属离子结合,但其功能机制报道有限。既往研究提示CYHR1可能是食管鳞状细胞癌的潜在治疗靶点,并与预后相关^[4],但其在CRC中的作用尚不明确。MALAT1是研究较深入的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA),最早发现于非小细胞肺癌,并与肿瘤转移密切相关^[5]。MALAT1主要定位于细胞核“核斑点”,参与转录后调控^[6-7],在多种肿瘤中异常高表达,并与侵袭、转移及不良预后相关^[6, 8-9]。在CRC中, MALAT1可通过Wnt/ β -catenin、SOX9、YAP、

PI3K/AKT/mTOR及p53等通路,并以ceRNA方式调控多种microRNA,促进CRC进展^[6, 10-12]。慢性炎症与肿瘤密切相关,其中IL-6/STAT3通路是连接炎症微环境与肿瘤进展的重要桥梁,可促进增殖、抗凋亡、血管生成和免疫逃逸^[13-14]。近年来研究发现,该通路还可调控多种lncRNA表达与功能^[15-16]。基于此,本研究拟探讨CYHR1在CRC中的表达、临床意义及其对细胞增殖、迁移和侵袭的影响,并进一步分析其是否通过激活IL-6/STAT3信号轴调控MALAT1表达,参与CRC发生发展。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

BCA蛋白质浓度测定试剂盒购于碧云天生物公司; Opti-MEM购于美国Gibco公司; Lipo2000购于美国Invitrogen公司; 小室购于美国Corning公司; 爬片及载玻片(80346-0910)购于江苏世泰; 实验器材有限公司二氧化碳恒温细胞培养箱购于日

本三洋公司;生物安全柜购于上海力康生物医疗科技有限公司;-80℃低温冰箱购于 Thermo Fisher;LSM880 激光共聚焦超分辨率显微镜购于 Carl Zeiss;DNA 凝胶电泳成像仪、SDS-PAGE 凝胶电泳系统和实时荧光定量 PCR 仪购于 Bio-Rad;恒温培养摇床购于一恒仪器公司;研究级倒置荧光显微镜购于 Nikon;超声波细胞破碎仪购于宁波新芝公司;化学发光成像系统购于上海天能公司。

1.2 实验方法

1.2.1 生物信息学与转录组分析 利用 TCGA 数据库分析 CYHR1 在 CRC 及其癌旁组织中的表达差异,并利用 Kaplan-Meier 进行生存预后分析。生信分析可参考我们之前的研究^[17]。

1.2.2 质粒与 siRNA 转染 按照转染试剂说明书操作,将 CYHR1 (Accession: NM_001408049.1) 表达质粒 (pEGFP-N1-CYHR1) 或其 siRNA (GC-CUCCGUGUACCAGUGUATT、UACACUGGUACAC-GGAGGCTT) 转染 HCT116 细胞。转染前一天将细胞接种于培养皿,使转染时细胞密度约为 60%~70%。转染体系采用无血清培养基配制,混匀质粒(或 siRNA)与转染试剂,室温孵育后加至细胞中,4~6 h 后更换含血清完全培养基。转染 48 h 后收集细胞用于 qRT-PCR、Western blot、MTT 和 Transwell 等实验。

1.2.3 qRT-PCR 使用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA,按试剂说明书进行反转录,获得 cDNA。采用 SYBR Green 法在实时荧光定量 PCR 仪 (Bio-Rad) 上检测 *CYHR1* (qRT-PCR 引物: GCTGAGCACACACGAAGACT、CGCACATCAAGTGACCATTAG) 和 *MALAT1* (qRT-PCR 引物: GACGGAGGTTGAGATGAAGC、ATTCGGGGCTCTGTAGTCCT) 基因的表达, GAPDH (qRT-PCR 引物: TCACCATCTTCCAGGAGCG、CTGCTTACCACCTTCTTGA) 为内参。相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算,每组至少设置 3 个复孔,实验重复 3 次。

1.2.4 蛋白印迹实验 收集细胞,用裂解液提总蛋白,4℃、约 $13\,500\times g$ 离心 30 min,经 BCA 法测定蛋白浓度。等量蛋白样品经 SDS-PAGE 分离后转移至 PVDF 膜,使用质量浓度 50 g/L 脱脂奶粉封闭,分别加入 CYHR1 (Thermo Fisher) 和 GAPDH (Protein-tech) 等一抗在 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜后加入二抗孵育, ECL 显色,利用图像软件进行量化分析。

1.2.5 迁移与侵袭实验 采用 Transwell 小室 (广州洁特生物公司) 评估细胞迁移与侵袭能力。迁移实验中不铺基质胶,侵袭实验则在上室膜表面预包被稀释好的基质胶。将转染后细胞重悬于无血清培养基中加入上室,下室加入含体积分数 100 mL/L 胎牛血清的培养基作为趋化因子,孵育适当时间后,用多聚甲醛固定、结晶紫染色,棉签擦除未迁移细胞,在显微镜下 (日本尼康) 随机选择多个视野计数穿膜细胞数并进行量化。

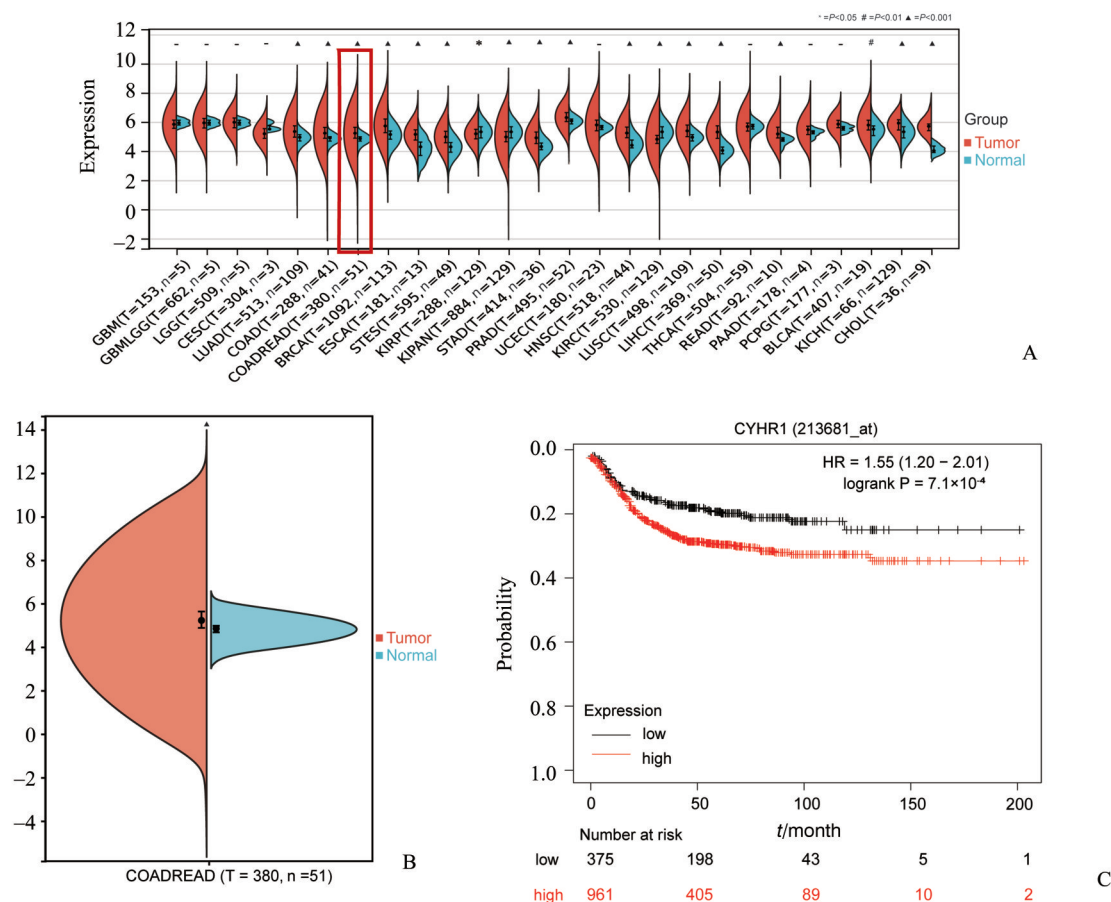
1.2.6 细胞增殖与克隆形成实验 MTT 实验用于评估细胞增殖能力。将处理后的 HCT116 细胞按一定密度接种于 96 孔板 (广州洁特生物公司),每孔接种约 1 000 个细胞,每组设置 3 个复孔。细胞贴壁后进行质粒或 siRNA 转染,自转染起连续检测 7 d,每天加入 MTT (广州斯佳生物有限公司) 工作液孵育, DMSO 溶解生成的结晶后于酶标仪测定 570 nm 吸光度,绘制生长曲线。克隆形成实验用于检测细胞长期增殖能力。将转染处理后的细胞按低密度接种于六孔板 (广州洁特生物公司),每孔约 1 000 个细胞,培养约 10~14 d 后,弃去培养基,用甲醇固定并结晶紫染色,待染色晾干后在显微镜下 (日本尼康) 计数克隆斑。

1.2.7 统计学分析 本研究采用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行统计分析及作图。每个实验组均包含至少 3 次生物学重复。符合正态分布和方差齐性的实验组以平均值 $\pm$ 标准差 (Mean $\pm$ SD) 表示,两组间比较采用 *t* 检验 (*t*-test) 检验,多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 及事后多重比较 (Tukey)。其中 ns 代表 $P>0.05$; * 表示 $P<0.05$; ** 表示 $P<0.01$; *** 表示 $P<0.001$ 。

2 结果

2.1 CYHR1 在结直肠癌中高表达并与患者预后不良相关

通过网络平台 SangerBox 分析 TCGA 数据库中, CYHR1 在多种肿瘤中的表达差异情况。结果显示, CYHR1 在多种肿瘤组织中的表达显著升高; 其中, 在结直肠癌中的升高幅度处于中等偏上水平 (图 1A, B)。Kaplan-Meier 生存分析表明, CYHR1 高表达与总生存期降低相关 (图 1C), 显示 CYHR1 的表达水平与预后不良相关。



A: The SangerBox web platform (<http://vip.sangerbox.com/home.html>) analyzed the differential expression of the CYHR1 gene between normal and tumor samples across various tumors in the TCGA database; B: Using the TCGA database within the SangerBox platform, we analyzed CYHR1 expression in colorectal cancer tumor samples versus adjacent non-cancerous tissue; C: The Kaplan-Meier platform (<https://kmplot.com/analysis/>) was employed to examine the relationship between CYHR1 expression levels and patient survival in colorectal cancer patients. * $P < 0.05$; # $P < 0.01$; ▲ $P < 0.001$.

图1 CYHR1在结直肠癌中的表达及其与结直肠癌患者生存期的关系

Fig. 1 Expression of CYHR1 in colorectal cancer and its relationship with survival in colorectal cancer patients

2.2 CYHR1正调节lncRNA MALAT1的表达

为了检测结直肠癌细胞系中的内源性CYHR1的表达情况,对293T细胞系,人源结直肠癌细胞系HCT116和RKO进行qRT-PCR实验。经单因素方差分析,不同细胞系间的CYHR1基因表达量具有显著差异($F=22.05$, $P=0.002$)。采用Tukey事后多重比较分析结果显示, CYHR1在HCT116细胞(8.84 ± 1.62 , $P=0.002$)和RKO细胞(7.22 ± 2.09 , $P=0.006$)中的表达均显著高于标准化的对照组293T细胞。此外, HCT116与RKO细胞之间CYHR1表达差异无统计学意义($P=0.443$;图2A)。

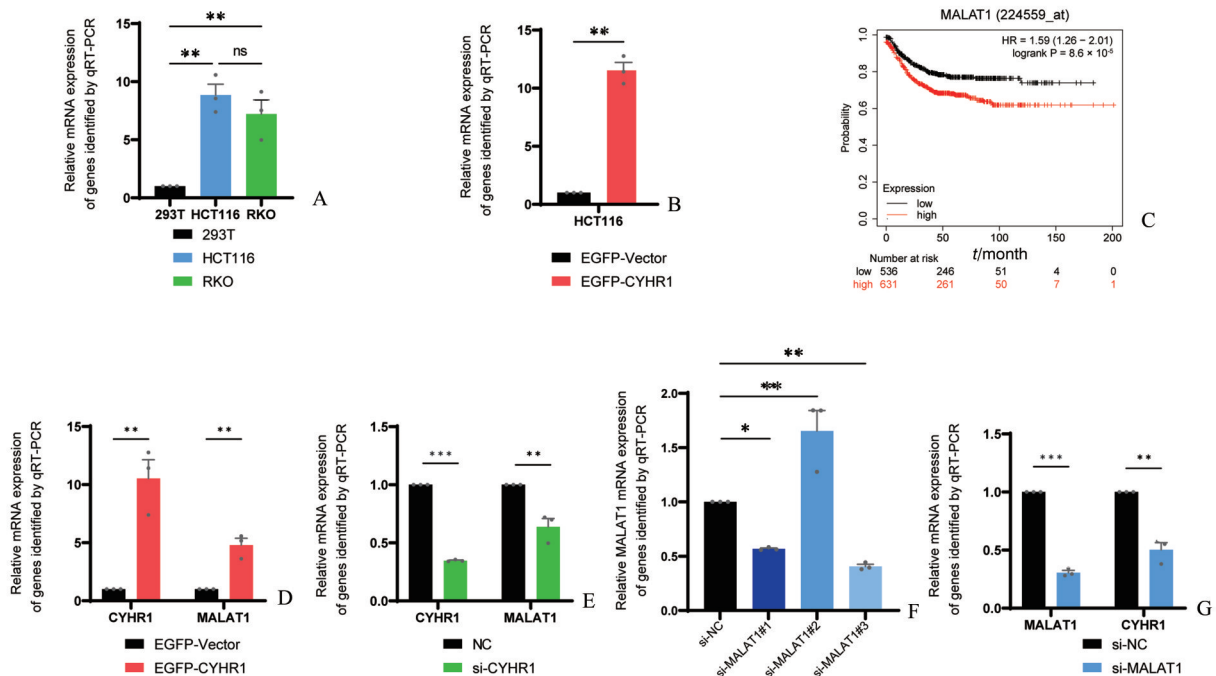
本研究选用HCT116细胞来验证CYHR1蛋白的表达情况,我们将构建的EGFP-CYHR1过表达质粒瞬时转染至HCT116细胞中。如图2B所示,

EGFP-CYHR1在HCT116细胞中能有效的过表达(11.52 ± 1.19 , $t=15.310$, $P<0.001$)。利用Kaplan-Meier分析平台对CRC中MALAT1的表达水平与患者生存期之间的关系进行分析(图2C),结果表明高表达的MALAT1与CRC患者短的总生存期相关,提示MALAT1可能促进结直肠癌的发展。我们随后探究了CYHR1与MALAT1表达之间的关系。在HCT116细胞中瞬时转染EGFP-CYHR1质粒,结果如图2D所示,当CYHR1过表达后的MALAT1的mRNA水平(4.79 ± 1.03)显著上调($t=6.380$, $P=0.003$);而通过siRNA敲低CYHR1表达后, MALAT1的水平(0.64 ± 0.17)也明显下降($t=5.091$, $P=0.007$;图2E)。

随后设计了3条针对MALAT1的siRNA片段

并转染至 HCT116 细胞中,结果显示,#2 号片段不能有效敲低 MALAT1 的表达(1.95 ± 0.60 , $P=0.005$),而#1 号(0.67 ± 0.17 , $P=0.048$)和#3 号(0.57 ± 0.07 , $P=0.009$)片段均能显著下调 MALAT1 表达,且#3 号片段的敲低效果更为显著(图 2F),所以在后续实

验中选择了#3 号片段。为了进一步验证 MALAT1 是否对 CYHR1 具有反馈调节作用,将 MALAT1 干扰片段转染 HCT116 细胞,结果如图 2G 所示, MALAT1 敲低后 CYHR1 表达(0.50 ± 0.11)也显著下降($t=8.045$, $P=0.001$)。



A: qRT-PCR detection of endogenous CYHR1 mRNA expression levels in different cell types; B: qRT-PCR detection of CYHR1 mRNA expression levels to validate CYHR1 plasmid transfection efficiency in colorectal cancer cell lines; C: Analysis of the relationship between MALAT1 expression and patient survival in colorectal cancer using the Kaplan-Meier survival curve analysis platform; D: qRT-PCR detection of CYHR1 and MALAT1 expression in the colorectal cancer cell line HCT116; E: Detection of CYHR1 and MALAT1 mRNA expression levels in the colorectal cancer cell line HCT116 after transfection with CYHR1-targeting interference fragments; F: qRT-PCR detection of the knockdown effect of MALAT1 in the colorectal cancer cell line HCT116; G: Detection of the expression of MALAT1 and CYHR1 in the colorectal cancer cell line HCT116 after transfection with MALAT1-targeting interference fragments. $n=3$, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

图2 CYHR1与MALAT1的表达存在正反馈调节作用

Fig. 2 CYHR1 and MALAT1 expression exhibit positive feedback regulation

2.3 CYHR1通过上调MALAT1的表达促进结直肠癌细胞的增殖和克隆形成

接着,我们对CYHR1在HCT116细胞增殖中的作用进行了检测。结果显示过表达CYHR1后(0.50 ± 0.11 , $t=3.084$, $P=0.037$),过表达组细胞增殖能力(0.81 ± 0.05)显著强于对照组(2.63 ± 0.08), $t=32.96$, $P < 0.001$,差异有统计学意义(图 3A,D)。相反,敲低CYHR1(0.29 ± 0.11 , $t=5.086$, $P=0.007$)或MALAT1(0.41 ± 0.11 , $t=4.765$, $P=0.009$;图 3E,F),敲低CYHR1组(0.51 ± 0.02 , $t=17.56$, $P < 0.001$)和敲低

MALAT1组(0.41 ± 0.02 , $t=20.74$, $P < 0.001$)细胞的增殖能力均明显被抑制(图 3B,C)。当过表达CYHR1(2.14 ± 0.02 , $P=0.048$)联合敲低MALAT1(0.47 ± 0.07 , $P < 0.001$)后,MTT检测结果显示敲低MALAT1后(0.69 ± 0.01 , $t=20.52$, $P < 0.001$)逆转了CYHR1过表达(1.40 ± 0.03 , $t=16.36$, $P < 0.001$)对细胞增殖的促进作用, $t=15.58$, $P < 0.001$,差异有统计学意义(图 3G,H)。

我们随后进行了细胞克隆实验。经单因素方差分析, CYHR1 的过表达和敲低以及 MALAT1

的敲低显著影响了HCT116细胞的克隆形成能力($F=98.52, P<0.001$)。采用Tukey事后两两比较发现:过表达CYHR1促进HCT116细胞的克隆形成能力($162.33\pm6.11, P<0.001$),敲低MALAT1则降低细胞的克隆形成能力($19.33\pm2.08, P<0.001$),且敲低MALAT1逆转了CYHR1过表达对细胞克隆形成能力的促进作用($107.67\pm8.02, P<0.001$;图3I,J)。

2.4 MALAT1介导CYHR1对结直肠癌细胞迁移与侵袭能力的调节作用

为进一步评估CYHR1及MALAT1对HCT116细胞迁移侵袭能力的影响,我们采用了Transwell实验进行检测。经单因素方差分析,CYHR1的过表达和敲低以及MALAT1的敲低显著影响了CRC细胞的迁移($F=124.10, P<0.001$)和侵袭($F=89.96, P<0.001$)能力。采用Tukey事后两两比较发现:过表达CYHR1促进CRC细胞的迁移($120.00\pm8.49, P=0.002$)和侵袭能力($101.00\pm5.66, P=0.002$);相反,敲低MALAT1则降低CRC细胞的迁移($31.50\pm6.36, P=0.006$)和侵袭能力($26.00\pm8.49, P=0.006$),CYHR1也降低CRC细胞的迁移($31.00\pm1.41, P=0.006$)和侵袭能力($26.00\pm2.83, P=0.006$;图4A-C)。

随后,在HCT116细胞中过表达CYHR1联合敲低MALAT1。结果表明,敲低MALAT1可显著逆转CYHR1过表达所诱导的CRC细胞迁移($59.33\pm2.89, P<0.001$)和侵袭($63.00\pm6.56, P=0.001$)能力增强效应(图4D-G)。

2.5 CYHR1通过IL-6/STAT3轴调控MALAT1的表达

为验证IL-6/STAT3信号在CYHR1调控MALAT1过程中的作用,在HCT116细胞中过表达CYHR1并检测IL-6、STAT3及MALAT1的mRNA表达。结果如图5A所示,过表达CYHR1后,MALAT1($2.90\pm0.39, t=8.36, P<0.001$)、IL-6($3.30\pm0.71, t=5.58, P=0.005$)、STAT3($2.60\pm0.29, t=9.68, P<0.001$)的表达水平均明显上调。相反,敲低CYHR1后,MALAT1($0.33\pm0.03, t=44.13, P<0.001$)、IL-6($0.47\pm0.09, t=10.67, P<0.001$)、STAT3($0.69\pm0.15, t=3.50, P=0.02$)的mRNA表达水平均下调,同时磷酸化STAT3($0.32\pm0.03, t=9.14, P<$

0.001)的水平也明显下调(图5B,C)。图5D为推测的CYHR1通过激活IL6/STAT3信号轴上调MALAT1表达的模型图。

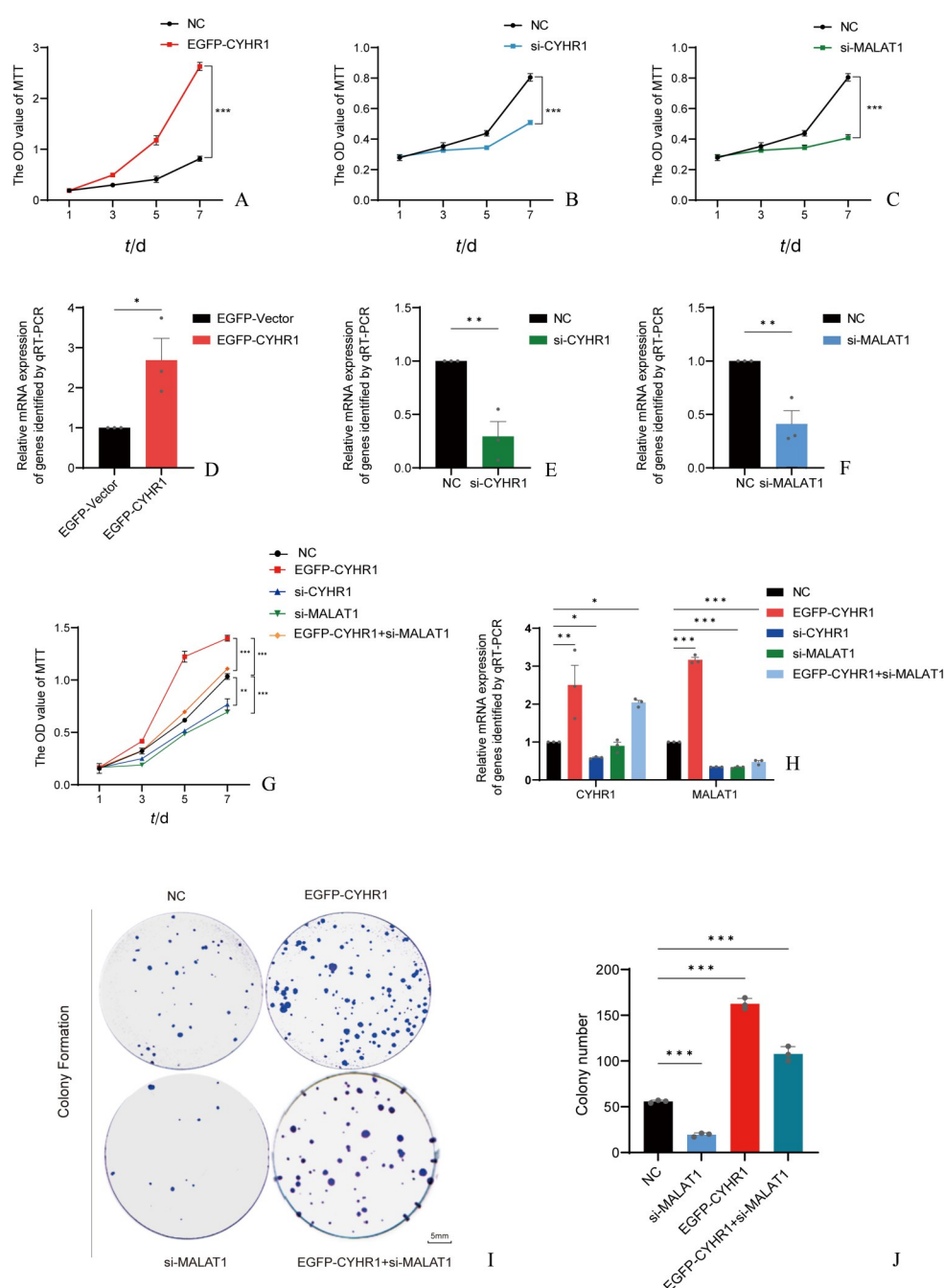
为了进一步验证此推测,我们在HCT116细胞中瞬时过表达CYHR1联合靶向敲低IL-6,检测CYHR1、IL-6、MALAT1的表达变化。结果如图5E所示,过表达CYHR1($6.34\pm1.13, P=0.003$)使IL-6($2.21\pm0.75, P=0.031$)和MALAT1($3.09\pm0.30, P<0.001$)的表达水平上调,敲低IL-6($0.30\pm0.1, P=0.039$)则下调MALAT1($0.17\pm0.02, P=0.031$)的表达水平,并逆转了过表达CYHR1对MALAT1的上调($1.20\pm0.23, P=0.007$),提示CYHR1通过IL-6调节MALAT1的表达。同理,过表达CYHR1($2.80\pm0.38, P=0.007$)使STAT3($3.03\pm0.54, P=0.001$)、MALAT1($3.36\pm0.47, P<0.001$)表达水平上调,敲低STAT3($0.34\pm0.21, P=0.045$)可逆转过表达MALAT1的上调作用($2.24\pm0.33, P=0.006$;图5F),提示CYHR1可能通过STAT3调节MALAT1的表达。

3 讨论

3.1 CYHR1的作用及其与MALAT1在CRC中的功能相互作用

基于TCGA数据库的分析表明,CYHR1的高表达与结直肠癌患者的不良生存预后相关,这表明CYHR1具有潜在的致癌作用。功能实验表明,CYHR1的过表达显著促进HCT116细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭,而CYHR1敲低则产生相反的效果,表明CYHR1增强肿瘤细胞的恶性表型。结合文献中CYHR1是食管鳞癌患者的一个治疗靶点的研究结果^[7],可推测CYHR1可能在多种肿瘤中发挥作用。

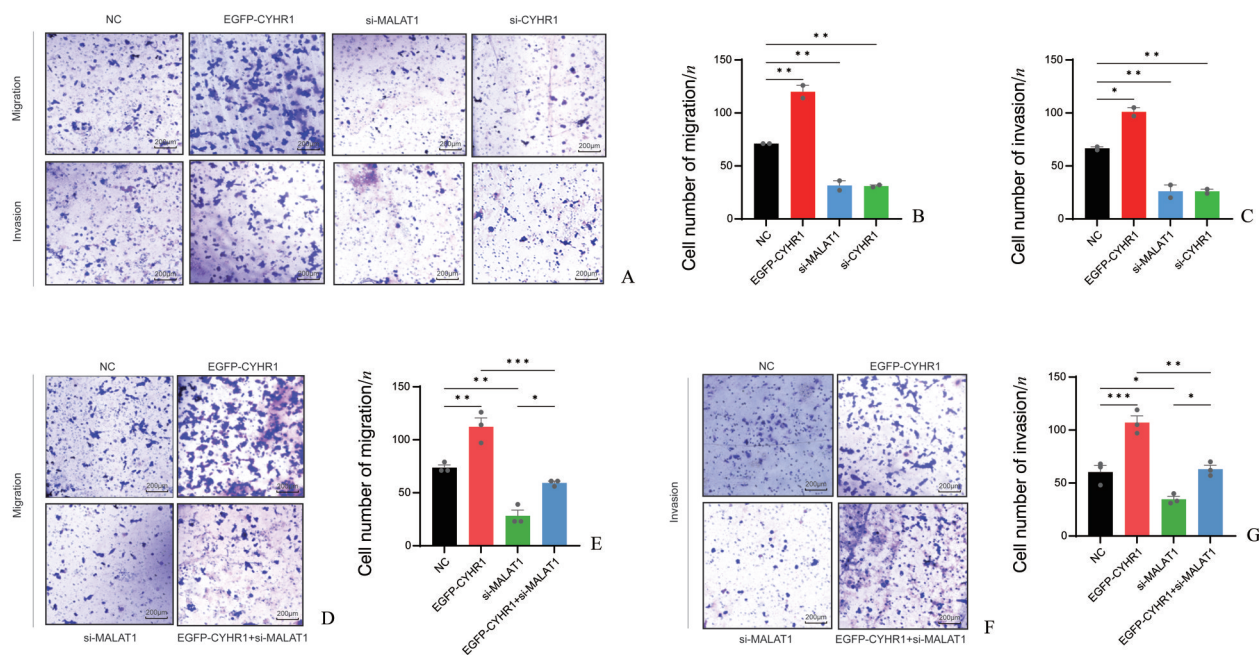
MALAT1是研究最广泛的lncRNA之一,在多种肿瘤中高表达,与转移和不良预后密切相关,它位于核斑点中并参与转录和剪接调节^[18-19]。MALAT1调节多种信号通路,并作为竞争性内源RNA(ceRNA)调节miRNA活性,从而在肿瘤进展中发挥重要作用^[12, 14-15, 20]。在CRC中,MALAT1据报道可靶向Wnt/ β -catenin、SOX9、YAP、RUNX2和PI3K/AKT/mTOR等通路,促进增殖和上皮间质转化(EMT)^[10-12]。与这些发现一致,本研究证实



A: MTT assay verifying the effect of CYHR1 overexpression on colorectal cancer cell proliferation; B: MTT assay verifying the effect of targeted CYHR1 knockdown on colorectal cancer cell proliferation; C: MTT assay verifying the effect of targeted MALAT1 knockdown on colorectal cancer cell proliferation; D: EGFP-CYHR1 overexpression effect in colorectal cancer cells; E: Knockdown efficacy of CYHR1 in colorectal cancer cells; F: Effect of MALAT1 knockdown in colorectal cancer cells; G-H: MTT assay verifying the effect of co-overexpressing CYHR1 and knocking down MALAT1 on colorectal cancer cell proliferation capacity and quantitative analysis of results; I-J: Clonogenic assay verifying the effect of co-overexpressing CYHR1 and knocking down MALAT1 on cell clonogenic capacity and quantitative analysis of results. Scale bar=5 mm. $n=3$, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

图3 CYHR1通过调控MALAT1的表达促进结肠癌细胞的增殖和克隆形成

Fig. 3 CYHR1 promotes proliferation and clonogenic formation of colorectal cancer cells by regulating MALAT1 expression



A–C: Migration and invasion assays validated the effects of CYHR1 overexpression and targeted knockdown of MALAT1 and CYHR1 on HCT116 colorectal cancer cell migration and invasion, along with quantitative analysis of the results. Scale bar=200 μ m; D–E: Migration and invasion assays validated the combined effects of CYHR1 overexpression and MALAT1 knockdown on the migration capacity of colorectal cancer cells (HCT116), along with quantitative analysis of the results. Scale bar=200 μ m; F–G: Migration and invasion assays validated the combined effects of CYHR1 overexpression and MALAT1 knockdown on the invasion capacity of colorectal cancer cells (HCT116), along with quantitative analysis of the results. Scale bar=200 μ m. $n=3$, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

图4 CYHR1通过调控MALAT1的表达促进结直肠癌细胞的迁移与侵袭

Fig. 4 CYHR1 promotes migration and invasion of colorectal cancer cells by regulating MALAT1 expression

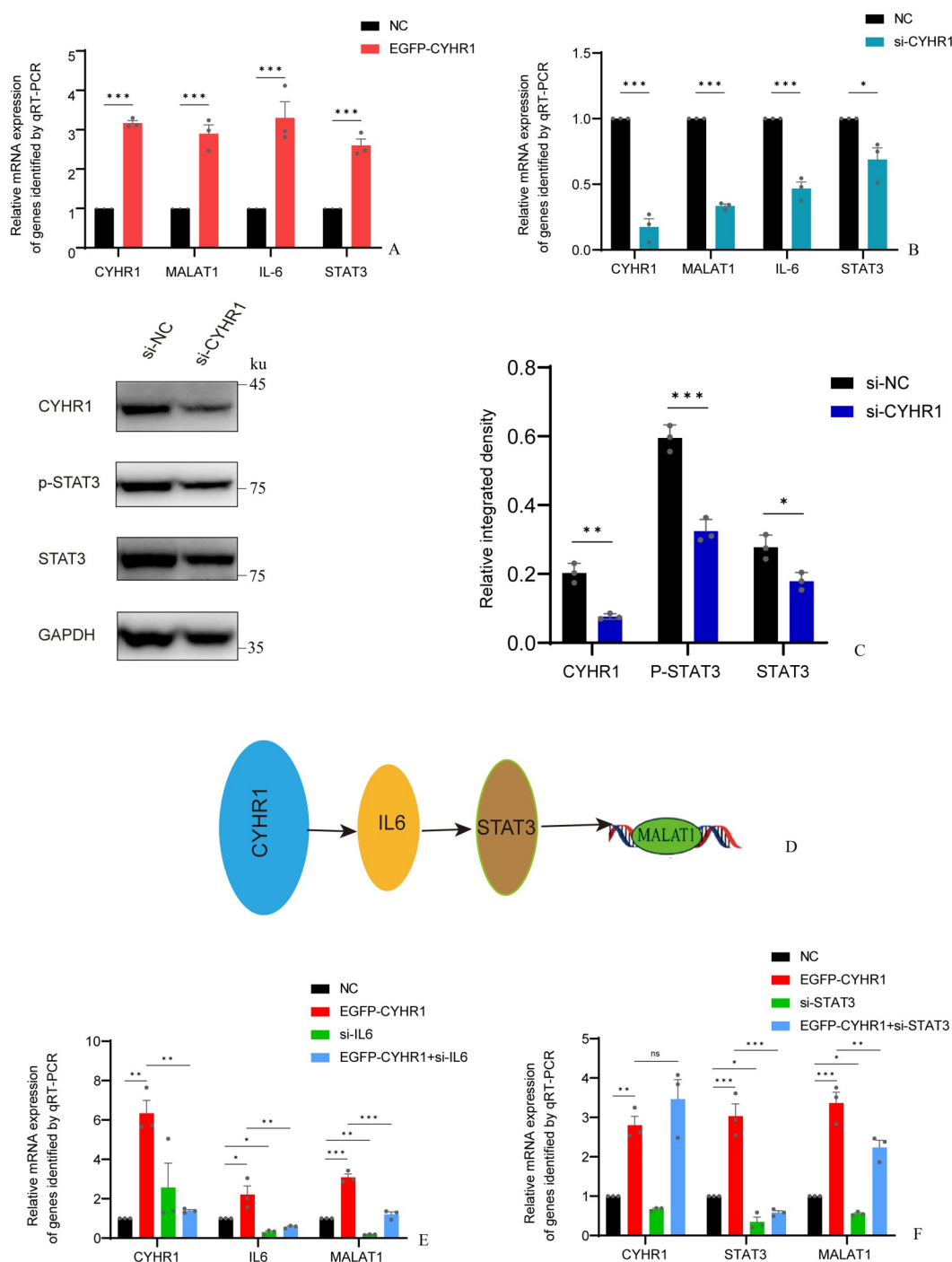
MALAT1促进CRC细胞增殖、迁移和侵袭。重要的是,发现CYHR1上调MALAT1表达,而MALAT1敲低则降低CYHR1表达,表明两者之间存在正反馈关系。此外,MALAT1敲低后,CYHR1对CRC细胞增殖、集落形成、迁移和侵袭的促肿瘤作用显著减弱,表明MALAT1部分介导了CYHR1的致癌作用。这项研究为MALAT1在CRC中的作用机制提供了新的见解。

3.2 IL-6/STAT3介导的调控网络与CYHR1/MALAT1正反馈环

机制方面,CYHR1上调MALAT1而MALAT1又反馈促进CYHR1表达的现象,提示这二者可能通过调控相同或交叉的转录调节网络共同强化肿瘤细胞的恶性表型。然而,CYHR1是否通过直接结合调节MALAT1的转录,均需要将来利用免疫共沉淀结合qRT-PCR技术等进行分析。鉴于CYHR1在CRC组织中的高表达与患者不良预

后密切相关,这一发现可能使其成为一种新的分子标志物。结合MALAT1在CRC中的促癌作用以及和预后的相关性^[9-10, 21],二者有望协调预测CRC的进展和预后。同时协调靶向CYHR1/MALAT1轴也为CRC的个性化治疗提供了新思路。

IL-6/STAT3信号通路是肿瘤炎症微环境和恶性细胞行为之间的重要枢纽。IL-6激活JAK家族成员,导致STAT3磷酸化;激活的p-STAT3二聚体易位到细胞核中并驱动参与增殖、抗凋亡和免疫调节的基因转录^[13-14]。该途径在许多癌症中持续激活并促进肿瘤生长和转移。在本研究中,CYHR1过表达显著增加IL-6和STAT3的mRNA水平并促进STAT3磷酸化,而CYHR1敲低则具有相反的效果。更重要的是,沉默IL-6或STAT3显著抑制CYHR1诱导的MALAT1上调,表明IL-6/STAT3轴是CYHR1和MALAT1之间的关键枢纽。近年来,



A: CYHR1 was overexpressed in HCT116 cells, and changes in the expression levels of MALAT1, IL6, and STAT3 were detected using qRT-PCR. B: CYHR1 was knocked down in HCT116 cells, and changes in the expression levels of MALAT1, IL6, and STAT3 were detected using qRT-PCR. C: Western blot (WB) analysis of changes in STAT3 and phosphorylated STAT3 protein levels following CYHR1 knockdown in HCT116 cells, along with a quantification graph of the WB results. D: Schematic diagram illustrating the regulation of MALAT1 expression by CYHR1 via the IL6/STAT3 axis. E: qRT-PCR analysis of the effects of CYHR1 overexpression combined with IL6 knockdown on the expression levels of IL6 and MALAT1 in HCT116 cells. F: qRT-PCR analysis of changes in MALAT1 expression levels following CYHR1 overexpression combined with STAT3 knockdown in HCT116 cells. $n=3$, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

图5 CYHR1通过激活IL6/STAT3轴调控MALAT1的表达

Fig. 5 CYHR1 regulates MALAT1 expression by activating the IL-6/STAT3 axis

非编码RNA与STAT3信号通路之间的交互调控受到越来越多关注,miRNA和lncRNA可调节STAT3信号活性,而STAT3也可反向调控多种非编码RNA的表达,从而影响CRC细胞增殖、凋亡、转移和免疫逃逸^[16,22]。此外,最新研究发现IL-6诱导的lncRNA MIR3142HG可通过与STAT3和Trx-1相互作用促进CRC细胞增殖、迁移和侵袭,为IL-6/STAT3调控lncRNA并驱动CRC进展提供了直接证据^[23]。本研究结果进一步支持该观点,提示CYHR1可能通过激活IL-6/STAT3信号通路,在转录水平上调MALAT1表达,从而促进结直肠癌进展。

值得注意的是,本研究发现MALAT1可上调CYHR1表达,形成正反馈循环:CYHR1增加IL-6和STAT3表达,激活IL-6/STAT3通路;IL-6/STAT3随后上调MALAT1;MALAT1反过来又增强CYHR1的表达。这种反馈回路维持通路激活并赋予增殖和转移稳定的优势。

然而,本研究限制于目前的实验主要使用细胞模型在体外进行,缺乏体内和大规模临床样本的验证。因此,CYHR1在体内是否发挥类似的促肿瘤

作用还有待进一步研究。

3.3 CYHR1/IL-6/STAT3/MALAT1轴在结直肠癌中的治疗意义

本研究初步揭示了CYHR1通过IL-6/STAT3/MALAT1轴促进CRC细胞恶性增殖和转移,为了解CRC的发病机制提供了新的实验证据。这些发现表明CYHR1/IL-6/STAT3/MALAT1信号轴可能作为结直肠癌分子分类和个体化治疗的潜在基础。这一调控网络的识别不仅加深了对肿瘤生物学的理解,而且凸显了CYHR1作为一个有前途的分子靶点。鉴于其与不良预后的相关性,CYHR1可能被进一步开发为CRC患者风险分层和疾病监测的预后生物标志物。

此外,CYHR1和MALAT1之间的协调相互作用表明,靶向单个分子可能不足以完全破坏肿瘤促进信号。相反,针对该轴多个组成部分的联合治疗策略可能会产生更有效的抗肿瘤结果。这种组合方法可能会克服通路冗余并提高治疗敏感性。总的来说,这项研究为未来旨在利用CYHR1/IL-6/STAT3/MALAT1轴作为诊断和治疗靶点的研究奠定了基础,并为改善结直肠癌患者的临床管理和结果开辟了新途径。

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] 龙泽萍,魏梦宁,石智. CRISPR-Cas9 敲除烯醇化酶ENO2抑制结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2025, 46(6): 723-735.
Long ZP, Wei MN, Shi Z. CRISPR-Cas9 knockout of enolase ENO2 inhibits proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells [J]. *J Jinan Univ Nat Sci Med Ed*, 2025, 46(6): 723-735.
- [3] Leowattana W, Leowattana P, Leowattana T. Systemic treatment for metastatic colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2023, 29(10): 1569-1588.
- [4] Desaki R, Sawada G, Okumura H, et al. As a novel prognostic marker, cysteine/histidine-rich 1 (CYHR1) is a therapeutic target in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(2): 586-593.
- [5] Frankish A, Carbonell-Sala S, Diekhans M, et al. GENCODE: reference annotation for the human and mouse genomes in 2023 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(D1): D942-d949.
- [6] Xu WW, Jin J, Wu XY, et al. MALAT1-related signaling pathways in colorectal cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 126.
- [7] Zong X, Nakagawa S, Freier SM, et al. Natural antisense RNA promotes 3' end processing and maturation of MALAT1 lncRNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(6): 2898-2908.
- [8] Zhang C, Qin Y, Wu Y, et al. Long non-coding RNA MALAT1 in hematological malignancies and its clinical applications [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2024, 137(10): 1151-1159.
- [9] Bitaraf A, Zafarani A, Jahandideh P, et al. MALAT1 as a molecular driver of tumor progression, immune evasion, and resistance to therapy [J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 245.
- [10] Masrou M, Khanmohammadi S, Habibzadeh A, et al.

- LncRNA MALAT1 as diagnostic and prognostic biomarker in colorectal cancers: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2024, 19(10): e0308009.
- [11] Wu CM, Chen CH, Tsai KW, et al. TCF12 and LncRNA MALAT1 cooperatively harness high cyclin D1 but low β -catenin gene expression to exacerbate colorectal cancer prognosis independently of metastasis [J]. *Cells*, 2024, 13(24): 2035.
- [12] Gao CY, Jia KP, Fang J, et al. CD95 promotes stemness of colorectal cancer cells by lncRNA MALAT1 [J]. *Life Sciences*, 2024, 338: 122394.
- [13] Thuya WL, Cao Y, Ho PC, et al. Insights into IL-6/JAK/STAT3 signaling in the tumor microenvironment: implications for cancer therapy [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2025, 85: 26-42.
- [14] Hu Y, Dong Z, Liu K. Unraveling the complexity of STAT3 in cancer: molecular understanding and drug discovery [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 23.
- [15] Liu S, Li W, Liang L, et al. The regulatory relationship between transcription factor STAT3 and noncoding RNA [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 4.
- [16] Rahbar Farzam O, Najafi S, Amini M, et al. Interplay of miRNAs and lncRNAs in STAT3 signaling pathway in colorectal cancer progression [J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 16.
- [17] 陈爱文, 姚华, 陈露璇, 等. 基于铁死亡相关基因的肺腺癌个体化风险分层及治疗应答预测 [J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2025, 46(3): 281-295.
- Chen A, Yao H, Chen L, et al. Ferroptosis-related gene signature enables personalized risk stratification and treatment response prediction in lung adenocarcinoma [J]. *J Jinan Univ Nat Sci Med Ed*, 2025, 46(3): 281-295.
- [18] Wang L, Cho KB, Li Y, et al. Long noncoding RNA (lncRNA)-mediated competing endogenous RNA networks provide novel potential biomarkers and therapeutic targets for colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 106(12): 1152-1159.
- [19] 李欢欢, 阚敏宸, 郝润英, 等. 急性缺血性脑卒中患者血清 LncRNA MALAT1、LncRNA MEG3 水平与脑梗死体积和神经功能缺损的关系 [J]. *联勤军事医学*, 2024, 38(10): 849-854.
- Li HH, Kan MC, Hao RY, et al. Relationship between serum LncRNA MALAT1, LncRNA MEG3 levels and cerebral infarction volume and neurologic impairment in patients with acute ischemic stroke [J]. *Mil Med Jnt Log*, 2024, 38(10): 849-854.
- [20] 杜予心, 王小平. 非编码 RNA 调控铜死亡相关基因在消化道肿瘤中的研究进展 [J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2025, 46(2): 230-237.
- Du YX, Wang XP. Noncoding RNAs regulate cuproptosis-related genes in digestive tract tumors: research progress [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci)*, 2025, 46(2): 230-237.
- [21] Li ZX, Zhu QN, Zhang HB, et al. MALAT1: a potential biomarker in cancer [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 6757-6768.
- [22] 李昂, 张芳, 唐爱琼, 等. CXCL10/CCL2 信号通路介导肿瘤微环境中宫颈癌的发展 [J]. *重庆医科大学学报*, 2023, 48(10): 1221-1228.
- Li A, Zhang F, Tang AQ, et al. CXCL10/CCL2 signaling pathway mediates the development of cervical cancer in tumor microenvironment [J]. *J Chongqing Med Univ*, 2023, 48(10): 1221-1228.
- [23] Fang D, Feng Q, Zhou B, et al. IL-6-induced long noncoding RNA MIR3142HG promotes tumorigenesis by interacting with thioredoxin-1 and STAT3 in human colorectal cancer [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2025, 30(1): 61.

(编辑 余菁)