



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.260125
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.260125
China Journal of General Surgery, 2026, 35(5):990-1002.

· 基础研究 ·

H3K18 乳酸化通过转录激活 POM121 促进胰腺癌免疫逃逸的机制研究

叶轲¹, 朱忠成², 逯子川¹, 唐甜甜³, 梁帅²

(中南大学湘雅医院 1. 肝脏外科 2. 胰胆外科, 湖南 长沙 410008; 3. 湖南省湘雅博爱康复医院福源院区 肿瘤科, 湖南 长沙 410100)

摘要

背景与目的: 胰腺癌具有高度侵袭性及显著免疫抑制特征, 其免疫逃逸机制尚未完全阐明。肿瘤糖酵解增强导致乳酸大量积累, 可通过组蛋白乳酸化参与基因转录调控, 但其在胰腺癌免疫微环境重塑中的作用及机制尚不清楚。本研究旨在探讨组蛋白 H3 第 18 位赖氨酸乳酸化 (H3K18la) 调控核孔膜蛋白 121 (POM121) 表达促进胰腺癌免疫逃逸的作用及分子机制。

方法: 利用 TCGA 数据库分析乳酸脱氢酶 A (LDHA) 和 POM121 在胰腺癌中的表达及预后价值。采用 Western blot 检测胰腺癌细胞中泛赖氨酸乳酸化 (Pan-Kla)、H3K18la 及 POM121 表达水平; 通过 LDH 抑制剂 oxamate 处理或 siRNA 沉默 LDHA 抑制乳酸生成, 采用乳酸检测试剂盒、CCK-8 实验和平板克隆形成实验评价细胞乳酸水平及增殖能力。构建胰腺癌细胞与 CD8⁺ T 细胞共培养体系, 采用流式细胞术检测 GZMB、TNF- α 和 IFN- γ 表达。应用 ChIP-qPCR 和双荧光素酶报告基因实验验证 H3K18la 对 POM121 转录活性的调控作用; 通过 POM121 敲低及过表达实验明确其在乳酸化介导免疫调控中的作用。建立 PANC02 荷瘤小鼠模型验证体内效应。

结果: LDHA 和 POM121 在胰腺癌组织中均呈高表达, 并与患者较差预后相关。胰腺癌细胞中 Pan-Kla 及 H3K18la 水平明显升高。oxamate 处理或 LDHA 沉默均可降低细胞内乳酸水平及 H3K18la 表达, 抑制胰腺癌细胞增殖, 同时促进 CD8⁺ T 细胞效应分子 GZMB、TNF- α 和 IFN- γ 表达。POM121 在胰腺癌细胞中高表达, 其表达受 H3K18la 调控。ChIP-qPCR 及双荧光素酶实验表明, H3K18la 富集于 POM121 启动子区域并增强其转录活性。敲低 POM121 可抑制肿瘤细胞增殖并增强 CD8⁺ T 细胞功能; 过表达 POM121 则可部分逆转 oxamate 诱导的抗肿瘤免疫效应。动物实验进一步证实, 抑制乳酸生成可降低 POM121 表达并促进 CD8⁺ T 细胞浸润, 而 POM121 过表达能够削弱上述作用。

结论: 胰腺癌中糖酵解产生的乳酸通过促进 H3K18 乳酸化修饰激活 POM121 转录, 进而抑制 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤免疫功能并促进免疫逃逸。乳酸-H3K18la-POM121 信号轴有望成为胰腺癌免疫治疗的新靶点。

关键词

胰腺肿瘤; 组蛋白类; 乳酸; 核孔膜蛋白 121; 肿瘤逃逸

中图分类号: R735.9

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (2023JJ30910); 湖南省自然科学基金企业联合基金资助项目 (2025JJ90293); 中南大学湘雅医院横向基金资助项目 (2025013)。

收稿日期: 2026-03-08; **修订日期:** 2026-05-12。

作者简介: 叶轲, 中南大学湘雅医院副主任医师, 主要从事肝癌及甲状腺癌综合治疗方面的研究。

通信作者: 梁帅, Email: doctorbach@csu.edu.cn

H3K18 lactylation promotes immune escape in pancreatic cancer through transcriptional activation of POM121

YE Ke¹, ZHU Zhongcheng², LU Zichuan¹, TANG Tiantian³, LIANG Shuai²

(1. Department of Hepatology 2. Department of Biliary and Pancreatic Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 3. Department of Oncology, Fuyuan Campus, Xiangya Boai Rehabilitation Hospital, Changsha 410100, China)

Abstract

Background and Aims: Pancreatic cancer is characterized by high aggressiveness and a profoundly immunosuppressive microenvironment, while the mechanisms underlying its immune evasion remain incompletely understood. Enhanced glycolysis in tumor cells leads to excessive lactate accumulation, which can regulate gene transcription through histone lactylation. However, the role of histone lactylation in remodeling the immune microenvironment of pancreatic cancer and its underlying molecular mechanisms remains unclear. This study aimed to investigate the role and molecular mechanism of histone H3 lysine 18 lactylation (H3K18la) in regulating nuclear pore membrane protein 121 (POM121)-mediated immune escape in pancreatic cancer.

Methods: The expression patterns and prognostic significance of lactate dehydrogenase A (LDHA) and POM121 in pancreatic cancer were analyzed using The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Western blotting was performed to determine the levels of pan-lysine lactylation (Pan-Kla), H3K18la, and POM121 in pancreatic cancer cells. Lactate production was inhibited by treatment with the LDH inhibitor oxamate or by siRNA-mediated LDHA silencing, followed by assessment of intracellular lactate levels, cell proliferation, and colony-forming ability using lactate assays, CCK-8 assays, and colony formation assays. A co-culture system of pancreatic cancer cells and CD8⁺ T cells was established, and the expression of GZMB, TNF- α , and IFN- γ was analyzed by flow cytometry. ChIP-qPCR and dual-luciferase reporter assays were used to verify the transcriptional regulation of POM121 by H3K18la. Gain- and loss-of-function experiments of POM121 were performed to determine its role in lactylation-mediated immune regulation. A PANC02 tumor-bearing mouse model was established to validate the in vivo effects.

Results: LDHA and POM121 were significantly upregulated in pancreatic cancer tissues and were associated with poor patient prognosis. Levels of Pan-Kla and H3K18la were markedly increased in pancreatic cancer cells. Oxamate treatment or LDHA silencing reduced intracellular lactate production and H3K18la levels, suppressed pancreatic cancer cell proliferation, and enhanced CD8⁺ T-cell effector functions, as evidenced by increased expression of GZMB, TNF- α , and IFN- γ . POM121 was highly expressed in pancreatic cancer cells and positively regulated by H3K18la. ChIP-qPCR and dual-luciferase assays demonstrated that H3K18la was enriched at the POM121 promoter region and enhanced its transcriptional activity. Knockdown of POM121 inhibited tumor cell proliferation and enhanced CD8⁺ T-cell function, whereas POM121 overexpression partially reversed the antitumor immune effects induced by oxamate. In vivo experiments further confirmed that inhibition of lactate production reduced POM121 expression and promoted CD8⁺ T-cell infiltration, while POM121 overexpression attenuated these effects.

Conclusion: Lactate generated by glycolytic reprogramming promotes H3K18 lactylation, which transcriptionally activates POM121, thereby suppressing CD8⁺ T-cell-mediated antitumor immunity and facilitating immune escape in pancreatic cancer. The lactate-H3K18la-POM121 signaling axis may represent a promising therapeutic target for pancreatic cancer immunotherapy.

Key words

Pancreatic Neoplasms; Histones; Lactic Acid; Nuclear Pore Membrane Protein 121; Tumor Escape

CLC number: R735.9

胰腺癌是一种侵袭性强、致死率高的消化系统肿瘤^[1], 总体5年生存率仅约8%~13%。预计到2030年, 胰腺癌将成为癌症相关死亡的第二大原因^[2]。该病早期诊断困难^[3], 大多数患者在出现症状时已处于疾病晚期, 治疗选择十分有限^[4]。因此, 亟须深入探究胰腺癌的潜在分子机制, 为其早期发现与预防提供新策略。

研究表明, 肿瘤细胞可以逃脱机体先天免疫和适应性免疫的识别和清除, 从而在体内存活并迅速增殖形成肿瘤^[5]。这些免疫逃逸的机制在免疫压力下的肿瘤进化过程中被选择和强化^[6]。乳酸最初被认为是糖酵解的副产物, 但近期研究发现, 乳酸可通过多种途径在肿瘤微环境中重新获得功能, 介导细胞间通讯、代谢调控及肿瘤细胞生物学过程^[7-9]。“糖酵解开关”也被称为“Warburg效应”, 导致乳酸和乳酸盐在肿瘤环境中积累, 从而促进肿瘤免疫逃逸^[10]。

核孔膜蛋白121 (nuclear pore membrane protein 121, POM121) 作为核孔复合体的重要组成部分, 最初被发现参与核质转运和核包膜组装^[11-12]。越来越多的研究发现, POM121在多种恶性肿瘤中表达异常, 且其高表达与口腔癌^[13]、喉癌^[14]、结直肠癌^[15]及胃癌^[16]的不良预后呈正相关。然而, POM121是否参与胰腺癌免疫微环境重塑, 以及组蛋白乳酸化是否通过调控POM121介导胰腺癌免疫逃逸, 目前尚不清楚。因此, 本研究拟探讨组蛋白乳酸化对POM121表达的调控作用及其在胰腺癌免疫逃逸中的功能, 阐明糖酵解代谢重编程、表观遗传修饰与肿瘤免疫调控之间的潜在联系, 以为胰腺癌免疫治疗提供新的理论依据和潜在干预靶点。

1 材料与方法

1.1 差异基因表达与生存分析

从The Cancer Genome Atlas (TCGA) 数据库 (<https://www.cancer.gov>) 中下载胰腺癌肿瘤样本的RNA-seq数据, 其中肿瘤样本为179个, 正常样本为171个。使用R语言的“edgeR”包基于基因的

读数对其进行差异表达分析。筛选标准为 $\log_2\text{FC}|>2$ 和 $P<0.05$ 来确定差异基因。根据关键基因的高低表达, 分为高表达组和低表达组。随后, 通过“survival”包和“survminer”包对关键基因进行生存分析。

1.2 细胞培养

人胰腺导管细胞HPNE、人胰腺癌细胞Capan-1、小鼠胰腺腺泡细胞MPC-83和小鼠胰腺癌细胞PANC02均购自长沙维世尔生物科技有限公司 (中国, 长沙), 并在含有10%胎牛血清、100 IU/mL青霉素和100 mg/mL链霉素的RPMI 1640培养基中培养。上述细胞均置于37℃、含5% CO₂的细胞培养箱中培养, 定期换液和传代。所有细胞均经过短串联重复序列鉴定, 且没有支原体污染。

1.3 细胞转染

针对小鼠来源乳酸脱氢酶A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 和POM121的小干扰RNA (siRNA) 及阴性对照 (si-NC) 均设计并合成自长沙奥诺基因公司。具体靶向序列如下: si-NC (5'-AGG CCC ACC AGT TGA CCG TGA-3'), si-LDHA#1 (5'-CCC AAA AAC CGA GTA ATT GGA-3'), si-LDHA#2 (5'-ATG TTG TAC AGG ATA TTT TAT-3'), si-LDHA#3 (5'-AAC CTT GAA CAG TGA AAA AAA-3'), si-POM121#1 (5'-GAG CAG ATA CTC GAT ACA ACA-3'), si-POM121#2 (5'-GAG AAA AGG TTA CAG ATA CAA-3'), si-POM121#3 (5'-GTG AGA TTC ATT CCT TTT AAA-3')。此外, 利用Honorgene构建并合成了POM121过表达载体 (oe-POM121) 及其阴性对照载体 (oe-NC)。简而言之, 取对数生长期、密度为80%的PANC02细胞, 用3 μg相应的质粒和5 μL Lip2000 (11668019, Invitrogen, 美国) 转染细胞。转染后在5% CO₂, 37℃培养条件下继续培养48 h。最后利用Western blot来验证细胞转染效率。

1.4 CD8⁺ T细胞共培养实验

首先, 用抗小鼠CD3/CD28 (BioLegend) 刺激小鼠CD8⁺ T细胞 (CP-M380, 普诺赛, 中国武汉) 3 d。随后, 在RPMI-1640培养液中添加IL-2 (10 ng/mL) 维持培养。将PANC02细胞贴壁过夜后, 与活化的

CD8⁺ T细胞按照1:5的比例共同孵育48 h。用PBS洗涤去除T细胞和细胞碎片,然后使用酶标仪在595 nm波长下定量分析活癌细胞的数量。

1.5 Western blot

将PANC02细胞用200 μ L RIPA裂解缓冲液(AWB0136,艾碧维,中国长沙)处理10 min。采用BCA蛋白定量试剂盒(P0010S,碧云天,中国上海)测定提取总蛋白浓度。随后进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),并将蛋白质转印至硝酸纤维素膜上。为封闭非特异性结合位点,使用含5%脱脂牛奶的1 $\times$ PBST溶液进行封闭处理。一抗按特定比例用1 $\times$ PBST溶液稀释后,于4 $^{\circ}$ C摇床中与膜孵育过夜。随后在室温下与辣根过氧化物酶HRP标记的二抗(SA00001-1/SA00001-2, Proteintech, 美国)孵育90 min。使用Quantity One 4.6.6 (Bio-Rad公司, 美国)测定蛋白条带的灰度值。所用一抗信息具体如下:泛赖氨酸乳酸化(pan-lysine lactylation, Pan-Kla) (PTM-1401, 1:1 000, 景杰生物, 中国杭州), H3K18la (PTM-1427, 1:1 000, 景杰生物, 中国杭州), H3K9la (PTM-1419, 1:1 000, 景杰生物, 中国杭州), H3K23la (PTM-1413, 1:5 000, 景杰生物, 中国杭州), LDHA (21799-1-AP, 1:10 000, Proteintech), POM121 (15645-1-AP, 1:2 000, Proteintech), H3 (PTM-6621, 1:2 000, 景杰生物, 中国杭州), β -actin (66009-1-Ig, 1:5 000, 景杰生物, 中国杭州)。

1.6 乳酸检测

加入200 μ L生理盐水(0.9% NaCl溶液)匀浆,共 5×10^6 个细胞。匀浆后4 $^{\circ}$ C, $10\ 000 \times g$ 离心10 min,取上清液放在冰上待测。剩余上清液用于蛋白浓度测定。根据Elabscience(中国武汉)的乳酸比色测定试剂盒说明书,测量前应用标准品制作标准曲线。使用酶标仪(MB-530, HEALES, 中国深圳)在530 nm处测量各孔光密度值。

1.7 细胞增殖检测(CCK-8法)

将细胞以每孔 3×10^3 个细胞的密度接种于96孔板中,随后向每孔加入10 μ L CCK-8 (NU679, DOJINDO, 日本),孵育4 h。使用酶标仪(MB-530, HEALES)在450 nm波长处测定光密度值以评估细胞活力。

1.8 平板克隆形成实验

将PANC02细胞接种至6孔板中培养,每组设置3个复孔。培养7~10 d后弃去培养基,用PBS清

洗2遍,然后用4%多聚甲醛固定30 min,再用0.25%结晶紫染色2 min,清洗干净后在室温下自然干燥。拍照并计数各孔中的细胞克隆球数目。

1.9 流式细胞术

在流式细胞术检测中,使用CD8抗体和相应细胞因子抗体进行共染色,检测CD8⁺ T细胞内及细胞膜上的颗粒酶B(granzyme B, GZMB)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)和干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)表达水平(反映CD8⁺ T细胞的效应功能)。简单来说,细胞用500 μ L的10% FBS 1640重悬,然后加入1 μ L Cell Stimulation Cocktail(加蛋白转运抑制剂)在37 $^{\circ}$ C下培养4 h。用1 mL 0.5% BSA-PBS洗涤细胞后,加入CD8抗体(MA5-44117, ebioscience, 美国)避光染色30 min。随后,用100 μ L $\times 1$ permeabilization buffer重悬细胞沉淀,加入抗体GZMB(11-8898-82, eBioscience)、TNF- α (11-7321-82, eBioscience)或IFN- γ (11-7311-41, eBioscience)在室温下避光孵育30 min。最后,用150 μ L 0.5% BSA-PBS重悬细胞,并在流式细胞仪上(A00-1-1102, Beckman, 美国)检测。

1.10 染色质免疫沉淀定量PCR(ChIP-qPCR)

先使用1.1%甲醛进行细胞固定,然后通过超声处理将染色质DNA分解成单个片段。将剩余样本与H3K18la抗体(82832-1-RR, Proteintech)或对照抗体一起在4 $^{\circ}$ C下孵育过夜,其中一部分样本用作输入对照。随后加入蛋白质磁珠以捕获抗体-染色质复合物。经过洗涤、去交联和纯化步骤后,获得DNA片段。最后,使用2^{- $\Delta\Delta Ct$} 方法进行qRT-PCR分析,计算抗体组中目标片段的富集倍数。

1.11 双荧光素酶报告基因检测

使用24孔板培养4组293T细胞,分别转染各质粒,具体分组如下:(1)对照组+wt-POM121组:转染POM121-WT大提质粒的细胞。(2)乳酸抑制剂草氨酸钠(oxamate)+wt-POM121组:转染POM121-WT大提质粒并加入20 mmol/L oxamate处理24 h的细胞。(3)对照组+mut-POM121组:转染POM121-MUT大提质粒的细胞。(4)oxamate+mut-POM121组:转染POM121-MUT大提质粒并加入20 mmol/L oxamate处理24 h的细胞。转染48 h后,收集细胞并用裂解缓冲液进行裂解。依次加入萤火虫荧光素酶底物和海肾荧光素酶底物,并测量各自的荧光素酶活性。以海肾荧光素酶活性作为内部参考,计算萤火虫与海肾荧光素酶活性的比值,以评估

乳酸对POM121启动子转录活性的影响。

1.12 实验动物

9只C57BL/6小鼠在无病原体环境下适应性饲养1周后,皮下注射PANC02细胞(对照组、oxamate组)或POM121过表达质粒处理的PANC02细胞(oxamate+POM121过表达组),每只小鼠注射细胞量为 1×10^6 个,注射体积为100 μ L,注射位置为右侧腋下。肿瘤细胞注射后,oxamate组和oxamate+POM121过表达组每天腹腔注射300 mg/kg oxamate,持续28 d。每周2次观察小鼠体质量和瘤体情况,并用游标卡尺测量瘤体体积。采用公式 $V=(L \times W^2)/2$ 计算肿瘤体积,其中V为体积(mm^3),L为最大径(mm),W为最小径(mm)。接种后28 d实验结束,腹腔注射戊巴比妥钠溶液200 mg/kg处死动物。安乐死后采集样本并拍照。本研究经中南大学湘雅医院伦理委员会批准(审批号:2024051707),所有动物实验设计与操作均按照动物伦理准则进行。

1.13 统计学处理

数据分析采用GraphPad Prism 8.0软件完成,

并且结果以3次独立实验的平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组比较采用单因素或双因素方差分析,事后检验采用Tukey检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖酵解与胰腺癌的联系

为初步探究糖酵解在胰腺癌中的临床相关性,首先比较了LDHA在胰腺癌组织和正常组织中的表达水平。通过TCGA数据库分析显示,LDHA在胰腺癌中明显高表达(图1A)。随后,通过生存分析观察到较高的LDHA转录水平与较差的总生存期相关(图1B)。此外,检测了不同的组蛋白乳酸化修饰位点在胰腺癌细胞系中的表达情况。Western blot结果显示,Pan-K1a和H3K181a在Capan-1和PANC02细胞中表现出最显著的变化(图1C)。以上结果表明组蛋白乳酸化水平在胰腺癌中上调。

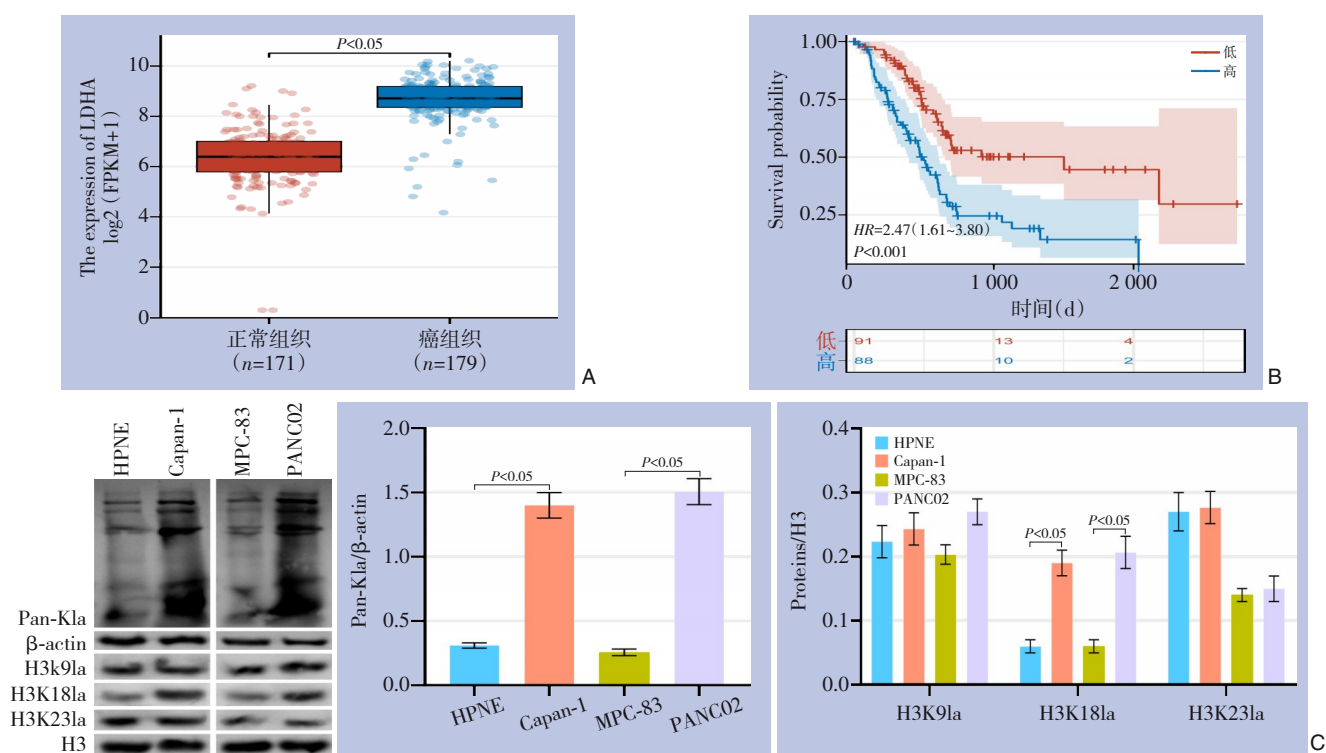


图1 组蛋白乳酸化水平在胰腺癌细胞中增加 A: 糖酵解关键酶LDHA在胰腺癌和癌旁正常组织中的表达水平; B: TCGA数据库中LDHA高表达和低表达胰腺癌患者的总生存率; C: Western blot检测Pan-K1a和位点特异性组蛋白乳酸化的表达

Figure 1 Increased histone lactylation levels in pancreatic cancer cells A: Expression of LDHA in pancreatic cancer and adjacent normal tissues; B: Overall survival of pancreatic cancer patients with high and low LDHA expression based on TCGA data; C: Expression of Pan-K1a and site-specific histone lactylation detected by Western blot

2.2 乳酸对胰腺癌细胞免疫调节的影响

乳酸测定和 Western blot 分析表明, LDH 抑制剂 oxamate 以浓度依赖的方式降低了乳酸水平 (图 2A), 并降低了组蛋白乳酸化水平 (图 2B)。随后, 在 PANC02 细胞中转染 si-LDHA, 并验证转染效率 (图 2C)。敲低 LDHA 抑制了细胞内乳酸化

水平 (图 2D), 以及 Pan-Kla 和 H3K18la 表达 (图 2E)。与此同时, PANC02 细胞的增殖水平明显降低 (图 2F-G)。此外, 在 CD8⁺ si-LDHA 组中 GZMB、TNF- α 和 IFN- γ 的水平明显高于 CD8⁺ si-NC (图 2H)。该结果表明, 抑制组蛋白乳酸化水平可能促进 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤免疫。

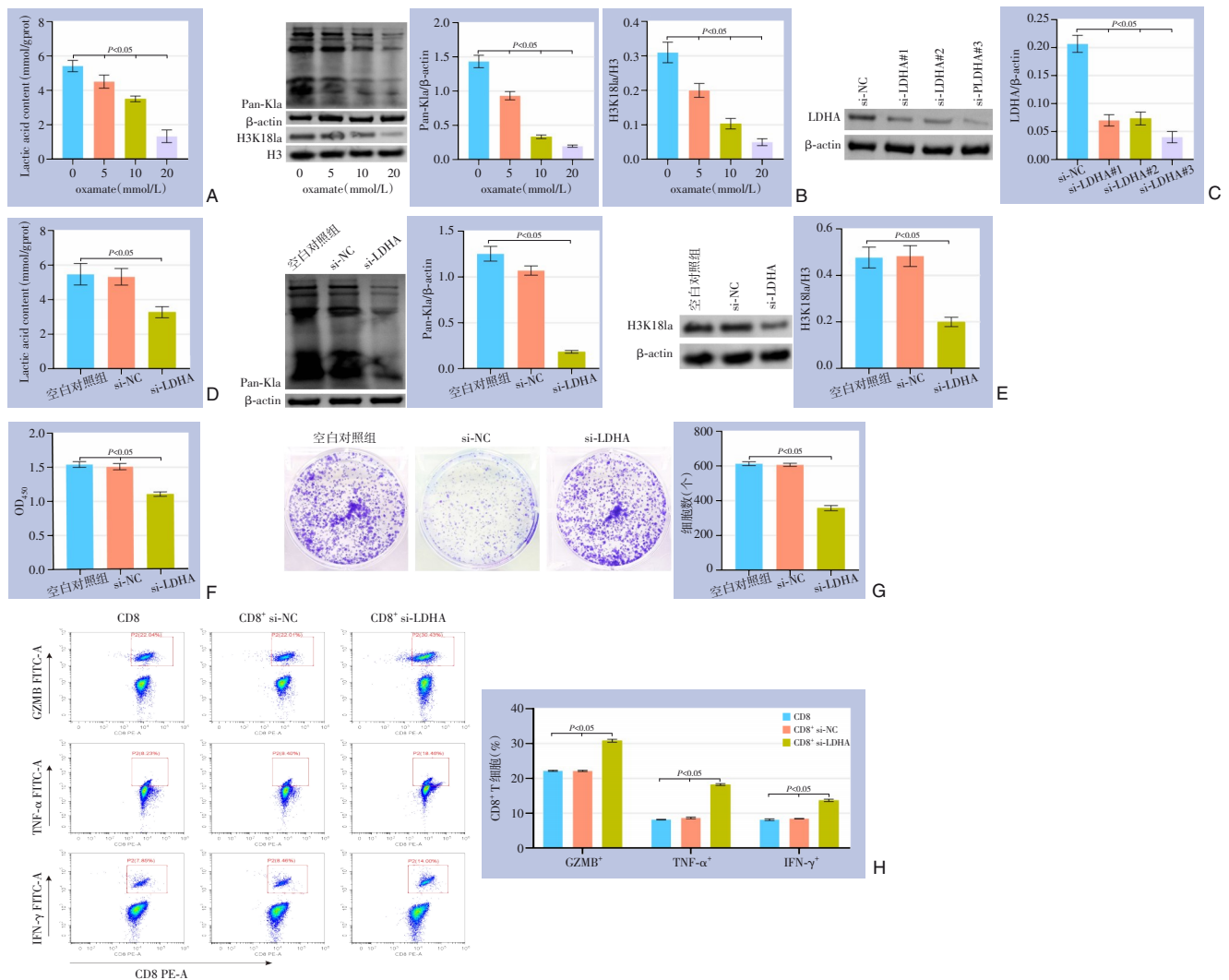


图2 组蛋白乳酸化参与CD8⁺T细胞的功能调控 A: 乳酸比色试剂盒检测在不同浓度的oxamate中培养的PANC02细胞内的乳酸水平; B: Western blot检测在不同浓度的oxamate中培养的PANC02细胞中Pan-Kla和H3K18la的表达; C: Western blot筛选si-LDHA位点; D: 乳酸比色试剂盒检测了在PANC02细胞中敲低LDHA对乳酸水平的影响; E: Western blot检测了在PANC02细胞中敲低LDHA对Pan-Kla和H3K18la表达的影响; F: 通过CCK-8法检测敲低LDHA对PANC02细胞活力的影响; G: 平板克隆形成实验评估敲低LDHA对PANC02细胞成球能力的影响; H: 流式细胞术检测CD8⁺T细胞中GZMB、TNF- α 和IFN- γ 水平

Figure 2 Histone lactylation participates in the regulation of CD8⁺ T-cell function A: Intracellular lactate levels in PANC02 cells treated with different concentrations of oxamate; B: Expression of Pan-Kla and H3K18la in PANC02 cells treated with different concentrations of oxamate; C: Screening of si-LDHA transfection efficiency by Western blot; D: Effect of LDHA knockdown on intracellular lactate levels; E: Effect of LDHA knockdown on Pan-Kla and H3K18la expression; F: Effect of LDHA knockdown on PANC02 cell viability determined by CCK-8 assay; G: Effect of LDHA knockdown on colony-forming ability assessed by colony formation assay; H: Expression of GZMB, TNF- α , and IFN- γ in CD8⁺ T cells detected by flow cytometry

2.3 组蛋白乳酸化对POM121的调控作用

然而, H3K18la-POM121 轴是否可以重塑胰腺癌的免疫微环境仍未明确。通过TCGA数据库分析显示, POM121在胰腺癌中高表达(图3A)。与正常胰腺细胞相比(HPNE和MPC-83), POM121在Capan-1和PANC02细胞中表达增加(图3B)。经

oxamate处理后, POM121的蛋白表达明显降低(图3C)。ChIP-qPCR和双荧光素酶报告基因结果显示, oxamate抑制了H3K18la在POM121启动子区域的富集水平, 并且POM121的启动子活性明显降低(图3D-E)。这些发现表明, H3K18的乳酸化修饰可以调控POM121的转录水平。

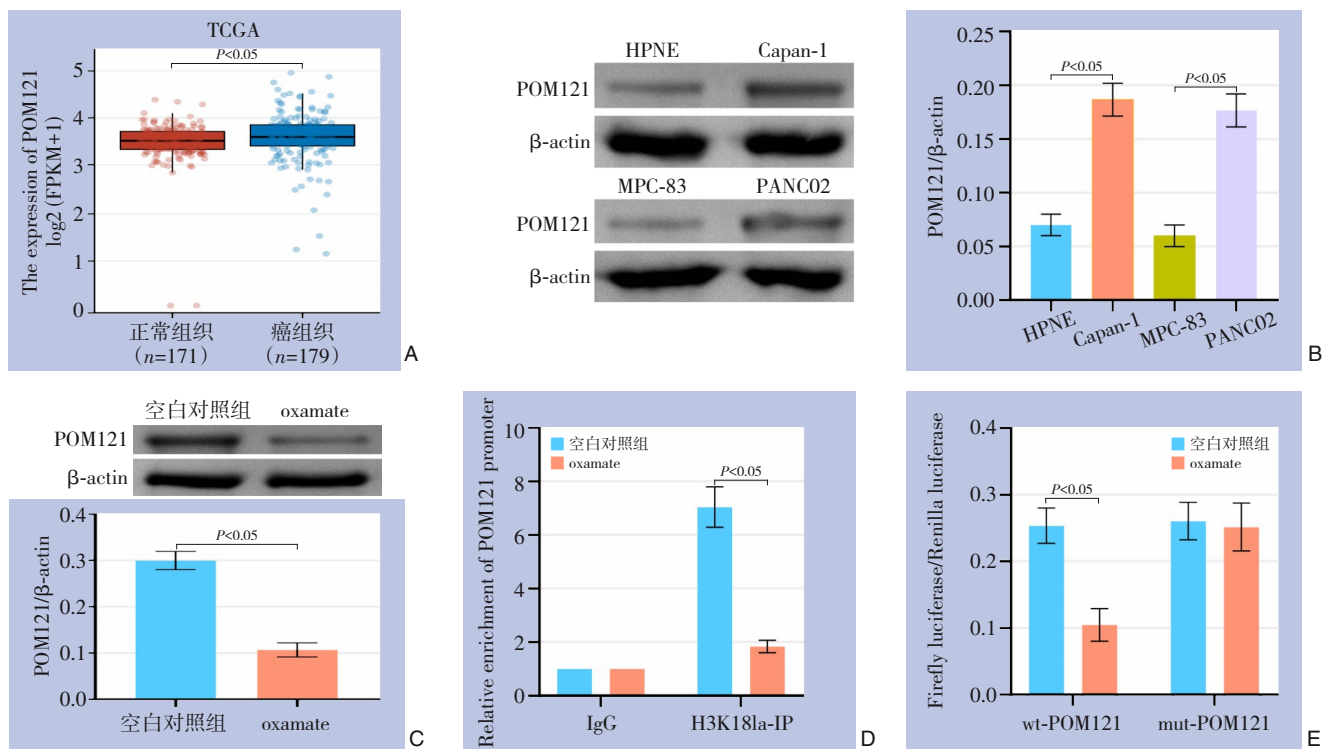


图3 H3K18la激活胰腺癌细胞中POM121的转录 A: POM121在胰腺癌和癌旁正常组织中的表达水平; B: Western blot检测POM121在胰腺癌细胞中的表达; C: Western blot检测oxamate (20 mmol/L)对PANC02细胞中POM121表达的影响; D: ChIP-qPCR检测H3K18与POM121的结合关系; E: 双荧光素酶报告基因实验检测POM121启动子活性

Figure 3 H3K18la activates POM121 transcription in pancreatic cancer cells A: Expression of POM121 in pancreatic cancer and adjacent normal tissues; B: Expression of POM121 in pancreatic cancer cells detected by Western blot; C: Effect of oxamate (20 mmol/L) on POM121 expression in PANC02 cells; D: Enrichment of H3K18la at the POM121 promoter detected by ChIP-qPCR; E: POM121 promoter activity determined by dual-luciferase reporter assay

2.4 POM121介导胰腺癌细胞的免疫调节

为了进一步探究POM121与CD8⁺ T细胞抗肿瘤免疫的联系, 在PANC02细胞中敲低了POM121的表达(图4A)。与si-NC比较, si-POM121组中细胞活力和细胞增殖水平明显降低(图4B-C)。流式细胞术结果显示, 敲低POM121促进了GZMB、TNF- α 和IFN- γ 的表达(图4D)。该结果表明敲低POM121可促进CD8⁺ T细胞的功能。

2.5 乳酸介导POM121调控抗胰腺癌细胞免疫

上述数据提示, 乳酸具有促进胰腺癌细胞增殖的能力, 其效果可能是通过组蛋白乳酸化转录

性上调POM121来介导的。为明确乳酸的作用是否依赖于POM121, 在oxamate处理的PANC02细胞中进一步转染了过表达POM121质粒(oe-POM121)。结果显示, POM121过表达不影响oxamate对细胞内乳酸产生和组蛋白乳酸化的抑制作用(图5A-B)。然而, 过表达POM121恢复了PANC02细胞的细胞活力(图5C-D)。在与CD8⁺ T细胞共培养的体系中, oxamate处理促进了GZMB、TNF- α 和IFN- γ 的表达, 而过表达POM121逆转了这一效应(图5E)。综上所述, 上述结果表明乳酸可通过POM121途径抑制CD8⁺ T细胞对胰腺癌细胞的免疫杀伤能力。

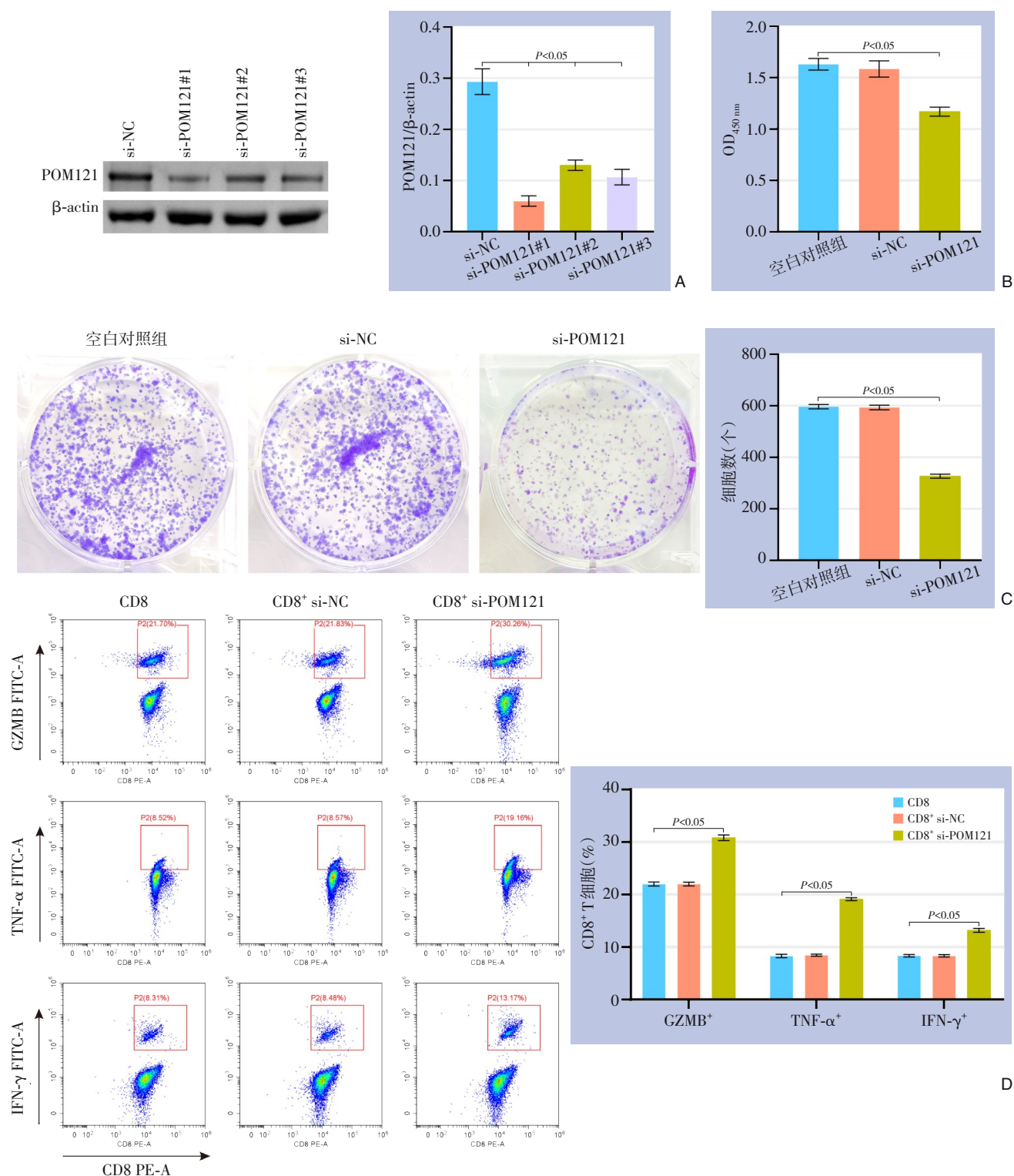


图4 敲低POM121表达可通过CD8⁺T细胞增强抗胰腺癌细胞免疫 A: Western blot筛选si-POM121位点; B: CCK-8法评估敲低POM121对PANC02细胞活力的影响; C: 平板克隆形成实验评估敲低POM121对PANC02细胞成球能力的影响; D: 流式细胞术检测CD8⁺T细胞中GZMB、TNF-α和IFN-γ水平以评估敲低POM121对CD8⁺T细胞功能的影响

Figure 4 POM121 knockdown enhances CD8⁺T-cell-mediated antitumor immunity against pancreatic cancer cells A: Screening of si-POM121 transfection efficiency by Western blot; B: Effect of POM121 knockdown on PANC02 cell viability determined by the CCK-8 assay; C: Effect of POM121 knockdown on colony-forming ability assessed by the colony formation assay; D: Expression of GZMB, TNF-α, and IFN-γ in CD8⁺T cells detected by flow cytometry

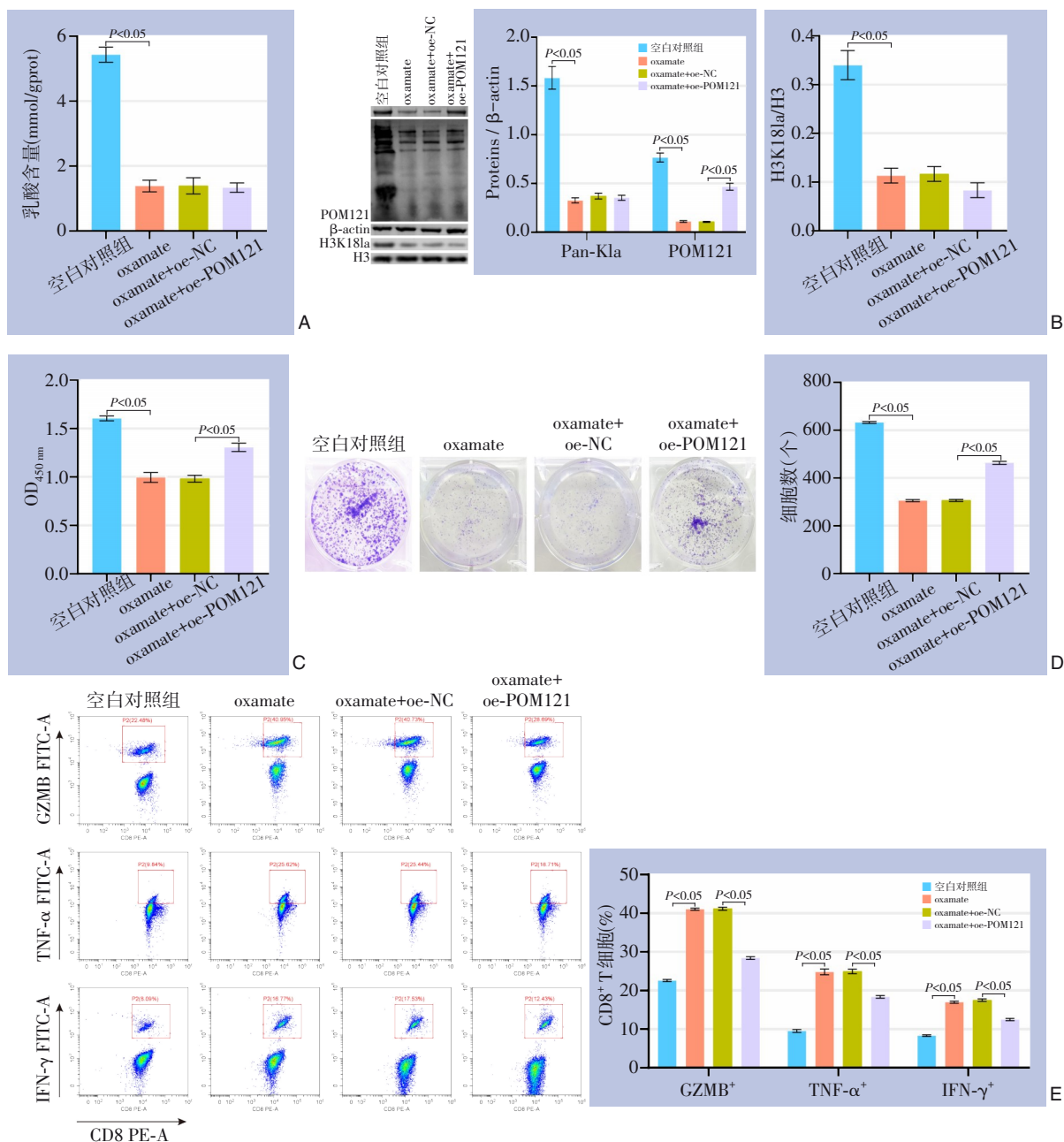


图5 乳酸通过POM121抑制CD8⁺T细胞功能 A: 乳酸比色试剂盒检测PANC02细胞内的乳酸水平; B: Western blot检测PANC02细胞中Pan-Kla和H3K18la的表达; C: CCK-8法评估PANC02的细胞活力; D: 通过平板克隆形成实验评估PANC02的细胞增殖能力; E: 流式细胞术检测CD8⁺T细胞中GZMB、TNF- α 和IFN- γ 水平

Figure 5 Lactate suppresses CD8⁺T-cell function through POM121 A: Intracellular lactate levels in PANC02 cells; B: Expression of Pan-Kla and H3K18la in PANC02 cells detected by Western blot; C: Cell viability of PANC02 cells assessed by the CCK-8 assay; D: Colony-forming ability of PANC02 cells evaluated by the colony formation assay; E: Expression of GZMB, TNF- α , and IFN- γ in CD8⁺T cells detected by flow cytometry

2.6 乳酸通过POM121抑制抗肿瘤免疫

为进一步验证H3K18la-POM121轴在胰腺癌进展中的作用,本研究使用小鼠胰腺癌细胞PANC02构建了移植瘤模型。使用oxamate处理可明显抑制肿瘤生长,而在此基础上过表达POM121则逆转了该抑制作用,恢复了肿瘤生长(图6A-B)。此外,

oxamate处理降低了肿瘤组织中POM121、Pan-Kla和H3K18la的蛋白表达,以及乳酸含量。相比之下,oxamate联合POM121过表达组中,POM121表达和乳酸含量显著增加,Pan-Kla和H3K18la的表达水平无明显变化(图6C-D)。随后,本研究评估了乳酸和POM121对T细胞浸润的影响。流式细胞术分

析表明, oxamate 单独处理促进了 CD8⁺ T 细胞浸润水平, 而 oxamate 联合 POM121 过表达处理后 CD8⁺ T 细胞浸润水平则降低 (图 6E)。同时, oxamate 处理下过表达 POM121 逆转了 oxamate 处理

对 GZMB、TNF- α 和 IFN- γ 水平的促进作用 (图 6F)。综上所述, 这些结果表明糖酵解阻断通过抑制 POM121 的表达, 增强了 T 细胞抗肿瘤反应。

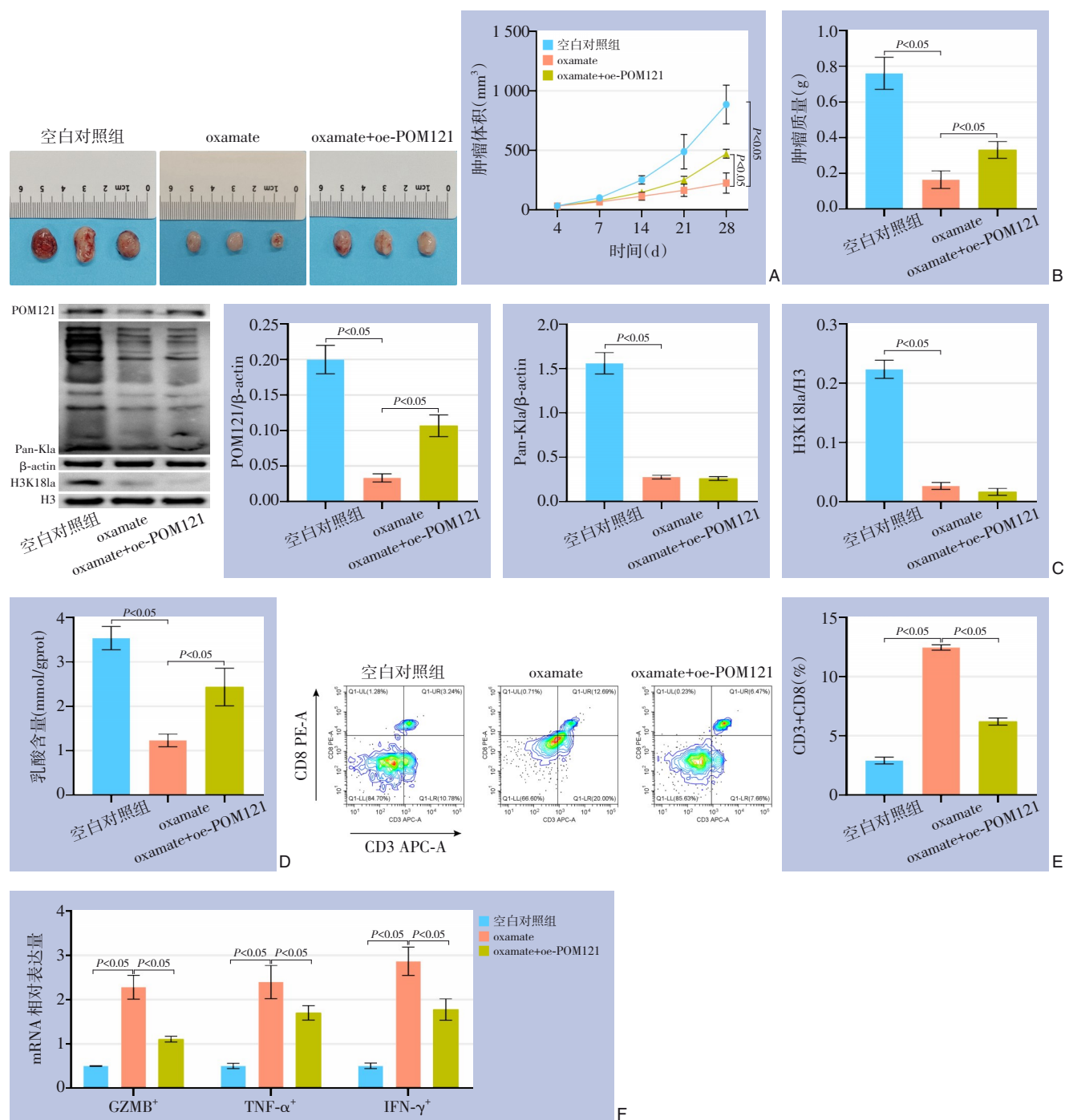


图 6 在胰腺癌异种移植模型中分析 H3K18la-POM121 轴对肿瘤免疫的调控作用 A: 肿瘤体积测量与生长曲线分析; B: 肿瘤质量比较; C: Western blot 检测肿瘤组织中 POM121、Pan-Kla 和 H3K18la 表达; D: 肿瘤组织中的乳酸含量检测; E: 流式细胞术分析 CD8⁺ T 细胞的浸润水平; F: qRT-PCR 检测肿瘤组织中 GZMB、TNF- α 和 IFN- γ 水平

Figure 6 Regulatory effects of the H3K18la-POM121 axis on tumor immunity in a pancreatic cancer xenograft model A: Tumor growth curves and tumor volume analysis; B: Comparison of tumor weights; C: Expression of POM121, Pan-Kla, and H3K18la in tumor tissues detected by Western blot; D: Lactate levels in tumor tissues; E: Infiltration of CD8⁺ T cells analyzed by flow cytometry; F: Expression of GZMB, TNF- α , and IFN- γ in tumor tissues determined by qRT-PCR

3 讨论

许多研究表明,胰腺癌的侵袭性肿瘤生物学特性与代谢物和表观遗传重编程密切相关^[17-18]。胰腺癌细胞通过“代谢重编程”来支持快速增殖、侵袭及多种恶性生物学行为^[19]。本研究揭示了胰腺癌中糖酵解代谢重编程通过组蛋白乳酸化修饰调控基因转录,进而影响CD8⁺T细胞抗肿瘤免疫功能的新机制。本研究表明,糖酵解键酶LDHA在胰腺癌中高表达,并与患者不良预后密切相关。在胰腺癌细胞中抑制组蛋白乳酸化水平能够显著提升CD8⁺T细胞的效应功能。此外,本研究首次报道了POM121在胰腺癌中高表达,并进一步证实H3K18位点的乳酸化修饰通过转录上调POM121表达,从而抑制抗肿瘤免疫应答。这些发现将细胞代谢、表观遗传修饰与肿瘤免疫调控有机联系起来,为胰腺癌的免疫治疗提供了潜在新靶点。

组蛋白参与调节各种生理功能,其翻译后修饰在消化系统肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[20-21]。乳酸衍生的乳酸化在核心组蛋白上被确认作为一种新的组蛋白标记^[22-23]。到目前为止,已经确定了28个组蛋白乳酸化位点,包括H3K4和H3K18等。组蛋白通过影响下游基因的表达和激活来发挥生物效应^[24]。本研究证实了抑制组蛋白乳酸化可增强CD8⁺T细胞功能。肿瘤细胞的有氧糖酵解导致乳酸堆积,不仅为肿瘤生长提供能量支持,更通过乳酸化修饰重塑表观遗传景观^[25-26]。本研究的数据显示,LDHA在胰腺癌组织中显著过表达,且与患者总生存期负相关,这与此前关于糖酵解酶在多种肿瘤中高表达的报道一致^[27-29]。值得注意的是,使用LDH抑制剂oxamate处理或沉默LDHA表达,不仅降低了细胞内乳酸水平和组蛋白乳酸化修饰,还显著增强了共培养CD8⁺T细胞的效应分子(GZMB、TNF- α 、IFN- γ)表达。既往研究主要聚焦于乳酸作为能量底物或信号分子的功能,而本研究证明了组蛋白乳酸化介导的表观遗传调控在肿瘤免疫逃逸中的关键作用。近期,Ma等^[27]在肝细胞癌中发现乳酸化修饰可影响T细胞功能,而笔者在胰腺癌中的发现进一步证实了这一调控模式的普遍性,并明确了H3K18la作为关键修饰位点的重要性。

POM121在转录调控和凋亡方面的多样性,使其在肿瘤发生发展中具有潜在的功能。有研究^[30]

表明,POM121通过促进雄激素受体和骨髓细胞瘤病毒癌基因同源物(myelocytomatosis viral oncogene homolog, MYC)的输入蛋白依赖性核转运,促进前列腺癌的增殖。通过组蛋白H3K18乳酸化激活POM121/MYC/PD-L1通路增强非小细胞肺癌细胞免疫逃逸^[31]。在本研究中,笔者创新性地发现POM121在胰腺癌细胞中表达显著升高。敲低POM121显著抑制了胰腺癌细胞的增殖活力,同时增强CD8⁺T细胞的功能效应。该结果提示POM121表达可能通过CD8⁺T细胞调控胰腺癌细胞的免疫微环境。此外,POM121可能作为促癌因子参与胰腺癌恶性进展,这为后续深入研究其分子机制奠定了基础。

赖氨酸乳酸化(lysine lactylation, K1a)作为一种新型翻译后修饰,能够激活基因转录^[23]。在眼部黑色素瘤中,组蛋白乳酸化通过促进YTHDF2的激活,加速肿瘤发生进程,进而触发m6A修饰的周期蛋白1和TP53蛋白降解^[32]。结直肠癌来源的乳酸通过H3K18la促进类Rubicon自噬增强子表达,并与Beclin 1相互作用,这不仅促进细胞增殖,还导致贝伐珠单抗耐药^[33]。本研究阐明了H3K18la通过转录激活POM121表达进而抑制抗肿瘤免疫的分子机制。本研究通过ChIP-qPCR和双荧光素酶报告基因实验证实,乳酸诱导的H3K18la富集于POM121启动子区域,激活其转录。而抑制乳酸化则降低POM121表达。功能上,敲低POM121可抑制胰腺癌细胞增殖并增强CD8⁺T细胞杀伤功能。反之,过表达POM121能够逆转oxamate诱导的免疫增强效应。类似机制在其他肿瘤中也有体现,如在结直肠癌中,PD-L1的乳酸化修饰调控细胞毒性T细胞介导的免疫逃逸^[34]。总之,笔者的结果揭示了肿瘤通过代谢重编程改变表观景观,上调免疫抑制相关基因。

从转化医学角度而言,本研究具有潜在的临床意义。胰腺癌因其高度免疫抑制微环境被称为“冷肿瘤”,对现有免疫疗法响应率低^[35]。本研究的发现提示,靶向乳酸代谢(如LDH抑制剂)或组蛋白乳酸化修饰,可能通过下调POM121重塑肿瘤免疫微环境,增强CD8⁺T细胞浸润和功能。此外,POM121可能作为预后标志物或治疗靶点,值得进一步开发。然而,本研究存在一定局限性。本研究明确了H3K18la通过转录上调POM121进而抑制CD8⁺T细胞功能,但POM121究竟如何影响

CD8⁺ T细胞的具体分子机制仍有待阐明。通过组蛋白乳酸化依赖方式上调POM121,可增强MYC的核转运并直接结合CD274启动子诱导PD-L1表达,从而间接抑制CD8⁺ T细胞的活化与杀伤功能^[31,36]。基于这些发现,笔者推测在胰腺癌中,H3K18la驱动的POM121高表达可能同样通过促进MYC等转录因子的核转运,上调PD-L1或其他免疫调节分子,从而诱导CD8⁺ T细胞耗竭。这将作为笔者未来研究的方向,并解析POM121连接代谢重编程、表观遗传修饰与免疫逃逸的完整信号网络。

综上所述,胰腺癌中糖酵解产生的乳酸通过促进H3K18乳酸化修饰激活POM121转录,进而抑制CD8⁺ T细胞抗肿瘤免疫功能,并重塑肿瘤免疫微环境为免疫抑制状态。

作者贡献声明:叶轲、朱忠成、逯子川、唐甜甜负责实验操作、数据采集与数据处理与图像分析等;叶轲负责论文撰写;梁帅负责论文修改;叶轲、梁帅负责实验方案设计、论文审阅与最终定稿,提供经费支持。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] 朱卫东, 向伟, 严安, 等. m6A阅读器IGF2BP2在胰腺癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2025, 34(3):485-494. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240185.
Zhu WD, Xiang W, Yan A, et al. Expression and significance of m6A reader IGF2BP2 in pancreatic cancer[J]. China Journal of General Surgery, 2025, 34(3):485-494. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240185.
- [2] Stoop TF, Javed AA, Oba A, et al. Pancreatic cancer[J]. Lancet, 2025, 405(10485): 1182-1202. doi: 10.1016/S0140-6736(25)00261-2.
- [3] 王涛, 叶林, 罗纪光, 等. miR-510在胰腺导管腺癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2025, 34(2):390-396. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240592.
Wang T, Ye L, Luo JG, et al. Expression and significance of miR-510 in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. China Journal of General Surgery, 2025, 34(2):390-396. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240592.
- [4] Stoffel EM, Brand RE, Goggins M. Pancreatic cancer: changing epidemiology and new approaches to risk assessment, early detection, and prevention[J]. Gastroenterology, 2023, 164(5): 752-765. doi:10.1053/j.gastro.2023.02.012.
- [5] 张冰冰, 张晶, 郑建明. 胰腺癌肿瘤免疫逃逸的研究进展[J]. 中华胰腺病杂志, 2019, 19(2):152-155. doi:10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2019.02.021.
Zhang BB, Zhang J, Zheng JM. Research progress of tumor immune escape in pancreatic cancer[J]. Chinese Journal of Pancreatology, 2019, 19(2):152-155. doi:10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2019.02.021.
- [6] Roerden M, Spranger S. Cancer immune evasion, immunoediting and intratumour heterogeneity[J]. Nat Rev Immunol, 2025, 25(5): 353-369. doi:10.1038/s41577-024-01111-8.
- [7] Ippolito L, Morandi A, Giannoni E, et al. Lactate: a metabolic driver in the tumour landscape[J]. Trends Biochem Sci, 2019, 44(2): 153-166. doi:10.1016/j.tibs.2018.10.011.
- [8] Apostolova P, Pearce EL. Lactic acid and lactate: revisiting the physiological roles in the tumor microenvironment[J]. Trends Immunol, 2022, 43(12):969-977. doi:10.1016/j.it.2022.10.005.
- [9] García-Cañaveras JC, Chen L, Rabinowitz JD. The tumor metabolic microenvironment: lessons from lactate[J]. Cancer Res, 2019, 79(13):3155-3162. doi:10.1158/0008-5472.can-18-3726.
- [10] Siska PJ, Singer K, Evert K, et al. The immunological Warburg effect: Can a metabolic-tumor-stroma score (MeTS) guide cancer immunotherapy? [J]. Immunol Rev, 2020, 295(1): 187-202. doi: 10.1111/imr.12846.
- [11] Antonin W, Franz C, Haselmann U, et al. The integral membrane nucleoporin Pom121 functionally links nuclear pore complex assembly and nuclear envelope formation[J]. Mol Cell, 2005, 17(1): 83-92. doi:10.1016/j.molcel.2004.12.010.
- [12] Mitchell JM, Mansfeld J, Capitanio J, et al. Pom121 links two essential sub complexes of the nuclear pore complex core to the membrane[J]. J Cell Biol, 2010, 191(3): 505-521. doi: 10.1083/jcb.201007098.
- [13] Ma H, Li L, Jia L, et al. POM121 is identified as a novel prognostic marker of oral squamous cell carcinoma[J]. J Cancer, 2019, 10(19): 4473-4480. doi:10.7150/jca.33368.
- [14] Zhao R, Tang G, Wang T, et al. POM121 is a novel marker for predicting the prognosis of laryngeal cancer [J]. Histol Histopathol, 2020, 35(11):1285-1293. doi:10.14670/hh-18-267.
- [15] Wang T, Sun H, Bao Y, et al. POM121 overexpression is related to a poor prognosis in colorectal cancer[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2020, 20(3):345-353. doi:10.1080/14737159.2020.1707670.
- [16] Kang C, Jia L, Hao L, et al. POM121 promotes the proliferation and metastasis of gastric cancer via PI3K/AKT/MYC pathway[J]. Am J Cancer Res, 2023, 13(2):485-497.
- [17] Yang J, Ren B, Yang G, et al. The enhancement of glycolysis regulates pancreatic cancer metastasis[J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(2):305-321. doi:10.1007/s00018-019-03278-z.

- [18] El Kaoutari A, Fraunhofer NA, Audebert S, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma ubiquitination profiling reveals specific prognostic and theranostic markers[J]. *eBioMedicine*, 2023, 92: 104634. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104634.
- [19] Qin C, Yang G, Yang J, et al. Metabolism of pancreatic cancer: paving the way to better anticancer strategies[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):50. doi:10.1186/s12943-020-01169-7.
- [20] Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications[J]. *Cell Res*, 2011, 21(3): 381–395. doi: 10.1038/cr.2011.22.
- [21] 曾丹丹, 罗文凤, 叶甲舟, 等. 组蛋白乳酸化在消化系统肿瘤中的研究进展及展望[J]. *中国癌症杂志*, 2025, 35(4):424–430. doi: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2025.04.011.
- Zeng DD, Luo WF, Ye JZ, et al. Research progress and prospect of histone lactylation in digestive system tumors[J]. *China Oncology*, 2025, 35(4):424–430. doi:10.19401/j.cnki.1007-3639.2025.04.011.
- [22] Dai X, Lv X, Thompson E, et al. Histone lactylation: epigenetic mark of glycolytic switch[J]. *Trends Genet*, 2022, 38(2): 124–127. doi:10.1016/j.tig.2021.09.009.
- [23] Zhang D, Tang ZY, Huang H, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation[J]. *Nature*, 2019, 574(7779):575–580. doi:10.1038/s41586-019-1678-1.
- [24] Li F, Si W, Xia L, et al. Positive feedback regulation between glycolysis and histone lactylation drives oncogenesis in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 90. doi: 10.1186/s12943-024-02008-9.
- [25] Li H, Sun L, Gao P, et al. Lactylation in cancer: Current understanding and challenges[J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(11):1803–1807. doi:10.1016/j.ccell.2024.09.006.
- [26] Lv X, Lv Y, Dai X. Lactate, histone lactylation and cancer hallmarks[J]. *Expert Rev Mol Med*, 2023, 25: e7. doi: 10.1017/erm.2022.42.
- [27] Ma Z, Yang J, Jia W, et al. Histone lactylation-driven B7-H3 expression promotes tumor immune evasion[J]. *Theranostics*, 2025, 15(6):2338–2359. doi:10.7150/thno.105947.
- [28] Jiang X, Guo S, Wang S, et al. EIF4A3-Induced circARHGAP29 Promotes Aerobic Glycolysis in Docetaxel-Resistant Prostate Cancer through IGF2BP2/c-Myc/LDHA Signaling[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(5):831–845. doi:10.1158/0008-5472.can-21-2988.
- [29] Liu J, Zhang C, Zhang TL, et al. Metabolic enzyme LDHA activates Rac1 GTPase as a noncanonical mechanism to promote cancer[J]. *Nat Metab*, 2022, 4(12): 1830–1846. doi: 10.1038/s42255-022-00708-4.
- [30] Rodriguez-Bravo V, Pippa R, Song WM, et al. Nuclear pores promote lethal prostate cancer by increasing POM121-driven E2F1, MYC, and AR nuclear import[J]. *Cell*, 2018, 174(5): 1200–1215. doi:10.1016/j.cell.2018.07.015.
- [31] Zhang C, Zhou L, Zhang M, et al. H3K18 lactylation potentiates immune escape of non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2024, 84(21):3589–3601. doi:10.1158/0008-5472.can-23-3513.
- [32] 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. doi:10.1186/s13059-021-02308-z.
- [33] 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. doi:10.1080/15548627.2023.2249762.
- [34] Tong H, Jiang Z, Song L, et al. Dual impacts of serine/Glycine-free diet in enhancing antitumor immunity and promoting evasion via PD-L1 lactylation[J]. *Cell Metab*, 2026, 38(1):247. doi:10.1016/j.cmet.2025.12.002.
- [35] Ullman NA, Burchard PR, Dunne RF, et al. Immunologic strategies in pancreatic cancer: making Cold tumors Hot[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(24):2789–2805. doi:10.1200/jco.21.02616.
- [36] Wang KP, Kong FY, Han X, et al. Integrative multi-omics reveal NSUN2 facilitates glycolysis and histone lactylation-driven immune evasion in renal carcinoma[J]. *Genes Immun*, 2025, 26(4): 312–323. doi:10.1038/s41435-025-00336-4.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:叶轲, 朱忠成, 逮子川, 等. H3K18乳酸化通过转录激活 POM121 促进胰腺癌免疫逃逸的机制研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2026, 35(5):990–1002. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.260125

Cite this article as: Ye K, Zhu ZC, Lu ZC, et al. H3K18 lactylation promotes immune escape in pancreatic cancer through transcriptional activation of POM121[J]. *Chin J Gen Surg*, 2026, 35(5): 990–1002. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.260125