

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.003021

结直肠癌中辅酶 Q₁₀ 的功能及分子机制探讨

杜翀龙, 孟佩新, 孙世杰, 王义涛, 陈全梅, 温含璐

(重庆医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:探索辅酶 Q₁₀(coenzyme Q₁₀, CoQ₁₀)对结直肠癌细胞增殖和迁移能力的影响及潜在分子机制。**方法:**使用 CoQ₁₀ 分别处理 SW480 细胞和 RKO 细胞后, 采用细胞计数和细胞划痕实验探究 CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞增殖和迁移能力的影响; 采用流式细胞术探究 CoQ₁₀ 对结直肠癌 SW480 细胞周期和细胞凋亡的影响; 采用 RNA-seq 测序分析 CoQ₁₀ 对结直肠癌 RKO 细胞系基因表达谱的影响, 将差异表达基因进行 GO 和 KEGG 通路分析, 最后采用定量 RT-PCR 验证 RNA-seq 结果。**结果:**①CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞系 SW480 的细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡和细胞迁移均无明显影响, 对结直肠癌细胞系 RKO 的细胞增殖也无明显影响, 但可抑制 RKO 细胞迁移。②CoQ₁₀ 处理结直肠癌 RKO 细胞后的 RNA-seq 结果表明, 差异表达基因明显富集于细胞黏附分子信号通路、细胞外基质受体信号通路和胆固醇信号通路等。定量 RT-PCR 验证结果表明, CoQ₁₀ 处理确实可导致胆固醇合成通路中的 PCSK9、HMGCR、HMGCS1 和 DHCR7 基因表达明显上调, 提示 CoQ₁₀ 可能通过调节这些基因的表达来抑制结直肠癌细胞 RKO 的迁移。**结论:**CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞的增殖无明显影响, 但可通过参与调节胆固醇代谢而抑制部分结直肠癌细胞的迁移能力。

【关键词】辅酶 Q₁₀; 结直肠癌; 细胞增殖与迁移; 胆固醇代谢

【中图分类号】R734

【文献标志码】A

【收稿日期】2022-02-10

Primary investigation on the function and molecular mechanism of coenzyme Q₁₀ in colorectal cancer

Du Kailong, Meng Peixin, Sun Shijie, Wang Yitao, Chen Quanmei, Wen Hanlu

(Teaching and Research Section of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the potential molecular mechanism of coenzyme Q₁₀(CoQ₁₀) on the proliferation and migration of colorectal cancer cells. **Methods:** SW480 cells and RKO cells were treated with CoQ₁₀ respectively, then cell count and cell scratch experiment were conducted to explore the effect of CoQ₁₀ on the proliferation and migration of colorectal cancer cells. SW480 cells were treated with CoQ₁₀ and then flow cytometry was performed to explore the effect of CoQ₁₀ on cell cycle and apoptosis of colorectal cancer SW480 cells. In order to explore the effect of CoQ₁₀ on gene expression profile of colorectal cancer RKO cell line, RKO cells treated with CoQ₁₀ were analyzed by RNA-seq sequencing, and the results were analyzed by GO and KEGG pathways. Finally, quantitative RT-PCR was used to verify the RNA-seq results. **Results:** ①CoQ₁₀ did not affect the proliferation, cell cycle, apoptosis and migration of colorectal cancer cell SW480, nor did it affect the proliferation of colorectal cancer cell RKO, but it inhibited the migration of RKO. ②The RNA-seq results showed that differentially expressed genes were significantly enriched in cell adhesion molecule signaling pathway, extracellular matrix receptor signaling pathway and cholesterol signaling pathway. Quantitative RT-PCR results showed that CoQ₁₀ treatment did significantly up-regulate the expression of PCSK9, HMGCR, HMGCS1 and DHCR7 genes in cholesterol synthesis pathway. These results suggest that CoQ₁₀ may inhibit RKO migration in colorectal cancer cells by regulating the expression of these genes. **Conclusion:** CoQ₁₀ has no significant effect on the proliferation of colorectal cancer cells, but may inhibit the migration ability of partial colorectal cancer cells by regulating cholesterol metabolism.

【Key words】coenzyme Q₁₀; colorectal cancer; cell proliferation and migration; cholesterol metabolism

作者介绍: 杜翀龙, Email: dklong@stu.cqmu.edu.cn,

研究方向: 分子肿瘤学。

通信作者: 温含璐, Email: wenhanlu123@163.com。

基金项目: 重庆市九龙坡区科技计划资助项目(编号: 2021-02-013-Y)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20220425.0913.002.html>

(2022-04-26)

结直肠癌是常见恶性肿瘤之一,发病率和死亡率常年居高不下,严重威胁人们的健康和生命^[1]。结肠镜筛查与息肉切除术的广泛开展有效降低了结直肠癌的发病率和死亡率,但结直肠癌仍然是男性中第二常见以及女性中第三常见的癌症。结直肠癌 I 期、II 期患者的 5 年相对生存率分别为 91% 和 82%^[2]。然而,IV 期的 5 年生存率下降至 12%^[2]。手术治疗和化疗相结合是结直肠癌治疗的主要手段之一,但根治性手术后超过 30% 的患者存在复发和转移的风险并导致死亡^[3-4]。结直肠癌的转移是一个复杂的过程,而且往往会加速结直肠癌患者死亡。目前结直肠癌细胞迁移涉及的分子机制仍不是十分清楚,需要更多的研究来揭示其背后机制。

辅酶 Q(coenzyme Q, CoQ) 又称泛醌,是一类脂溶性醌类化合物。不同物种中的 CoQ 侧链异戊烯单位的数目不同(6~10),哺乳动物细胞内的 CoQ 含有 10 个异戊烯单位,故又称辅酶 Q₁₀(coenzyme Q₁₀, CoQ₁₀)^[5]。CoQ₁₀ 作为线粒体呼吸链中将电子从复合物 I/II 传递到复合物 III 的重要成分,可减少电子传递链中漏电现象引起的线粒体活性氧产生,从而保护线粒体免受活性氧攻击,是一种天然的细胞抗氧化分子^[5-7]。CoQ₁₀ 最常用于心脏疾病的治疗,如心力衰竭、心绞痛和高血压等。现在,越来越多的证据表明,CoQ₁₀ 对多种疾病具有辅助治疗作用,如改善顺铂用药诱发的肾脏毒性^[8]、抑制类风湿关节炎^[9]、促进结肠炎恢复^[10]等。补充 CoQ₁₀ 对多种癌症也有辅助治疗作用,如前列腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、宫颈癌等^[11-15]。研究表明,添加 CoQ₁₀ 可以增强肾脏足细胞的迁移能力^[16]。CoQ₁₀ 可以维持暴露于代谢应激中的 p53 缺陷型结直肠癌细胞的嘧啶核苷酸合成以及减弱辛伐他汀引起的结直肠癌细胞 CT26 的凋亡^[17-18]。但 CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞增殖迁移等恶性表型的影响及作用机制尚不清楚,有待进一步研究。

本研究发现 CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞的增殖无明显影响,但可能通过参与调节胆固醇代谢而抑制部分结直肠癌细胞的迁移能力。该发现将为存在转移风险的结直肠癌患者开发新的治疗策略提供一定理论基础。

1 材料与方法

1.1 CoQ₁₀ 溶液配制与细胞处理

CoQ₁₀(HY-N0111)粉末购于 MCE 公司,称取适量的 CoQ₁₀

粉末置于 1.5 mL 离心管中,加入相应体积的二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide, DMF),于 37℃ 水浴并超声 10 min 溶解,制成 10 mmol/L 的母液。现配现用,避光保存。超声使用宁波海曙科生超声设备有限公司的超声仪(KS-JY),频率 40 kHz。

添加 CoQ₁₀ 处理前,将细胞以 4×10^5 个/孔接种于 6 孔培养板中,24 h 后观察细胞贴壁且生长状态良好,当细胞密度达到 60%~70% 时,开始添加不同浓度的 CoQ₁₀(50、100 μ mol/L),24 h 后进行后续实验。

1.2 细胞增殖实验

细胞以 1.5×10^5 个/孔接种于 6 孔培养板中,24 h 后观察细胞贴壁且生长状态良好,添加不同浓度的 CoQ₁₀(50、100 μ mol/L),显微镜下拍照,此时为 0 h。之后分别在 24、48、72 h 继续拍照并进行细胞计数。

1.3 流式细胞术检测细胞周期

取对数生长期细胞接种于 6 孔板。24 h 后加入不同浓度的 CoQ₁₀,对照组加入同体积 DMF。48 h 后收集细胞,1 200 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 洗 1 次,每孔加入 700 μ L 75%乙醇,4℃ 固定过夜。1 200 r/min 离心 5 min,PBS 洗涤 2 次,重悬于 1 mL PBS 中。加入碘化丙啶,室温孵育 20 min 后流式细胞仪测定细胞周期。

1.4 流式细胞术检测细胞凋亡

将对数生长期细胞接种于 6 孔板中,24 h 后加入不同浓度的 CoQ₁₀,并设置同体积 DMF 作为对照组。48 h 后收集细胞,1 200 r/min 离心 5 min,弃上清,PBS 洗涤 2 次,用 300 μ L 结合缓冲液重悬细胞,加入碘化丙啶和 Annexin V-FITC 溶液,室温孵育 20 min 后流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.5 细胞划痕愈合实验

将对数生长期细胞接种于 6 孔板中,24 h 后加入不同浓度的 CoQ₁₀,并设置同体积 DMF 作为对照组。48 h 后,用 10 μ L 的枪头吸管划痕划过 6 孔板,PBS 洗 2 次,加入无血清培养基。置于 37℃、5%CO₂ 培养箱培养,分别于 0、12、24 h 在显微镜下拍照同一视野。

1.6 RNA-seq 测序分析

收集指数生长期的对照组和 50、100 μ mol/L CoQ₁₀ 处理组的 RKO 细胞,构建 cDNA 文库并测序,用 TRIzol 试剂(Invitrogen)提取总 RNA 并用 DNase I (TAKARA)处理。RNA 完整性由 2100 bioanalyzer(Agilent)验证。然后用 oligo-dT 珠子分离多聚腺苷酸尾的 mRNA 并进行片段化。将 RNA 片段用于随机六聚体引物合成双链 cDNA,然后使用 T4 DNA 聚合酶、Klenow 片段和 T4 多核苷酸激酶进行末端修复,使用 Klenow 3' 到 5' 外切聚合酶添加多聚腺苷酸尾的 mRNA,与使用 T4 快速 DNA 连接酶的接头连接。最后通过 PCR 扩增含有接头的片段并用磁珠纯化以获得文库。文库内容的质量和数量通过 Agilent 2100 生物分析仪和实时 PCR 进行验证,然后使用 Illumina HiSeq2000(Illumina, San Diego, CA, USA)进行测序。短寡核苷酸比对程序(short oligonucleotide

comparison procedure, SOAP)用于映射特定转录本的读取。每个转录本的表达值通过每百万映射读数(reads per kilobase per million mapped reads, RPKM)每千碱基转录本序列的读数来衡量。

1.7 定量 RT-PCR 分析

采用逆转录试剂盒进行 RNA 逆转录,将 PCR 产物存放于-20℃冰箱备用。采用荧光试剂 TB Green® Premix Ex Taq™ (RR420W)进行定量 RT-PCR 检测,于冰上避光进行,每个样本设置 3 个复孔,加样体系见表 1。反应程序设置为:95℃预变性 10 s,95℃变性 5 s,58℃退火 15 s,72℃延伸 15 s,设置 40 个循环,65~95℃溶解曲线分析 5 s。RT-PCR 引物见表 2。RT-PCR 结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析。

表 1 定量 RT-PCR 反应体系

试剂	使用量/ μ L
TB Green® Premix Ex Taq™ (2 ×)	10.0
RT-PCR 上游引物 (10 μ mol/L)	0.4
RT-PCR 下游引物 (10 μ mol/L)	0.4
DNA 模板	2.0
灭菌水	7.2
合计	20.0

表 2 定量 RT-PCR 引物序列

基因	引物序列
<i>GAPDH</i>	F: 5'-ACGCAGGCCUUAAGGAGAATT-3' R: 5'-UUCUCCUUAAGGCCUGCGUTT-3'
<i>PCSK9</i>	F: 5'-AGACCCACCTCTCGCAGTC-3' R: 5'-GGAGTCCTCCTCGATGTAGTC-3'
<i>NOXO1</i>	F: 5'-CTGTTGAAACCTATTCTCGGAG-3' R: 5'-GGTGCAGAAGAAGCCAGTGAT-3'
<i>HMGR</i>	F: 5'-TGATTGACCTTTCCAGAGCAAG-3' R: 5'-CTAAATTTGCCATTCCACGAGC-3'
<i>INSIG1</i>	F: 5'-CCTGGCATCATCGCCTGTT-3' R: 5'-AGAGTGACATTCTCTGGATCTG-3'
<i>DHCR7</i>	F: 5'-GCTGCAAAATCGCAACCCAA-3' R: 5'-GCTCGCCAGTGAAAACCACT-3'
<i>HMGS1</i>	F: 5'-GATGTGGGAATTGTTGCCCTT-3' R: 5'-ATTGTCTCTGTTCCAACCTCCAG-3'

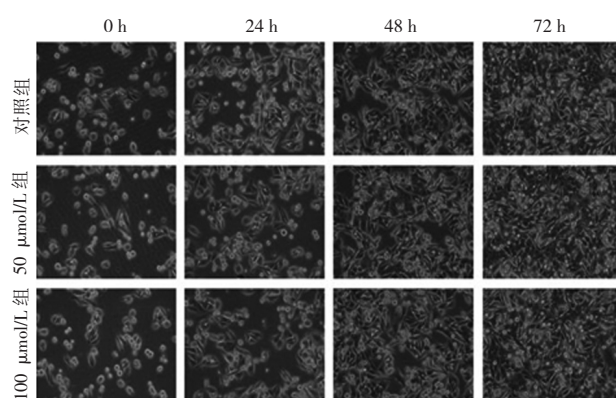
1.8 统计学处理

采用 SPSS 17.0 进行统计分析。实验数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。2 组间的比较采用独立样本 *t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 CoQ₁₀ 处理对结直肠癌 SW480 细胞增殖的影响

首先选取实验室正在培养的结直肠癌细胞 SW480 进行实验。将 SW480 细胞铺于 6 孔板内,待细胞贴壁后,分别添加 50、100 μ mol/L CoQ₁₀ 溶液,每孔选取 3 个视野拍照,记为 0 h,之后 24、48、72 h 在显微镜下拍照,并进行细胞计数。结果如图 1A、B 所示,CoQ₁₀ 对 SW480 细胞增殖无明显影响。



A. 显微镜拍照观察细胞增殖

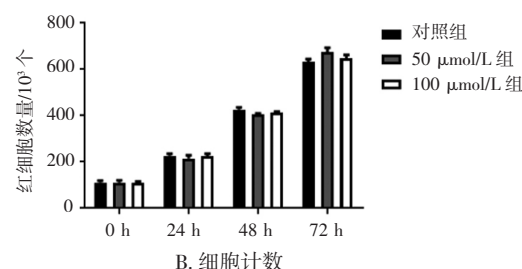
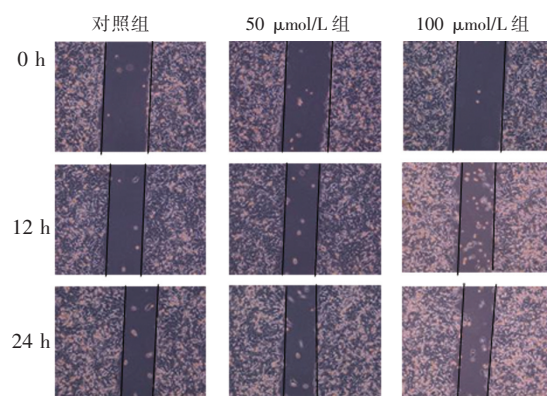


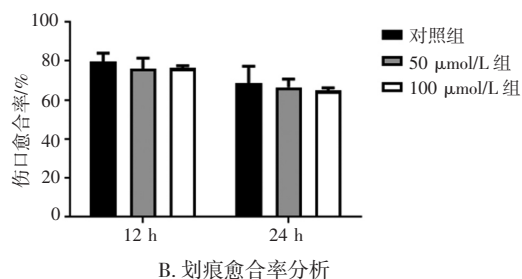
图 1 CoQ₁₀ 对 SW480 细胞增殖的影响

2.2 CoQ₁₀ 处理对结直肠癌 SW480 细胞迁移的影响

将 SW480 细胞铺于 6 孔板内,待细胞贴壁后,融合度达到 60%~70%,分别添加 50、100 μ mol/L 的 CoQ₁₀ 溶液处理 24 h 后,用 10 μ L 的枪头吸管划过 6 孔板,PBS 洗 2 次,加入无血清培养基。置于 37℃、5%CO₂ 培养箱培养,分别于 0、12、24 h 在显微镜下拍照。使用 Image J 软件对划痕宽度进行测量。结果如图 2A、B 所示,CoQ₁₀ 对 SW480 细胞迁移无明显影响。



A. 细胞划痕实验



B. 划痕愈合率分析

图 2 CoQ₁₀ 对 SW480 细胞迁移的影响

2.3 CoQ₁₀ 处理对结直肠癌 SW480 细胞周期和细胞凋亡的影响

待 SW480 细胞融合度达 40%~50% 后,分别添加 50、100 $\mu\text{mol/L}$ CoQ₁₀ 溶液,24 h 后进行流式检测细胞周期和细胞凋亡。结果如图 3A 所示,细胞周期检测显示 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 CoQ₁₀ 处理后的 SW480 细胞 G₁ 期细胞比例和 G₂/M 期细胞比例和对照组相比均无明显变化,表明 CoQ₁₀ 对细胞周期没有影响。如图 3B 所示,50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 CoQ₁₀ 处理后的 SW480 细胞凋亡情况与对照组相比也无明显变化,表明 CoQ₁₀ 对 SW480 细胞凋亡没有影响。

2.4 CoQ₁₀ 处理对结直肠癌 RKO 细胞增殖的影响

用 RKO 细胞进行相同的细胞增殖实验,将 RKO 细胞铺

于 6 孔板内,待细胞贴壁后,分别添加 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 CoQ₁₀ 溶液,每孔选取 3 个视野拍照,记为 0 h,之后 24、48、72 h 在显微镜下拍照,并进行细胞计数。结果如图 4A、B 所示,CoQ₁₀ 对 RKO 细胞增殖无明显影响。

2.5 CoQ₁₀ 处理抑制结直肠癌 RKO 细胞的迁移

将 RKO 细胞铺于 6 孔板内,待细胞贴壁后,融合度达到 60%~70%,随机分为对照组,不同浓度(0、50、100 $\mu\text{mol/L}$)的 CoQ₁₀ 处理组,24 h 后用 10 μL 的枪头吸管划过 6 孔板,PBS 洗 2 次,加入无血清培养基。置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 培养箱培养,分别于 0、12、24 h 在显微镜下拍照。使用 Image J 软件对划痕宽度进行测量。结果如图 5A、B 所示,CoQ₁₀ 抑制 RKO 细胞迁移。

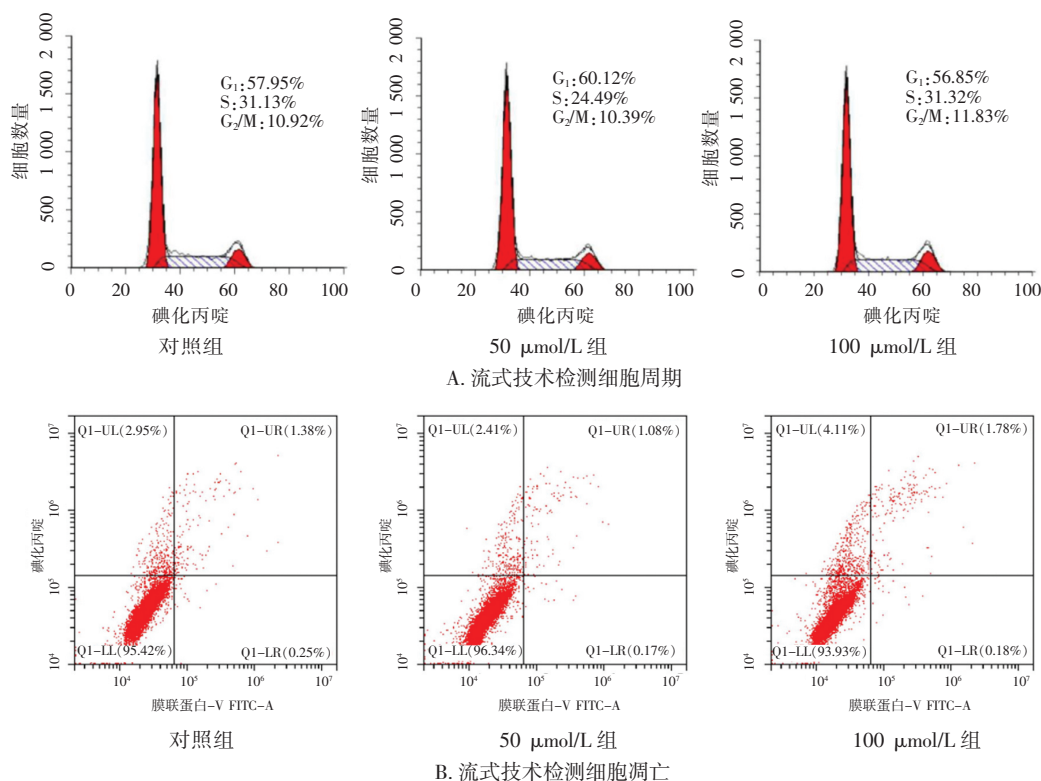


图 3 CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞 SW480 周期和凋亡的影响

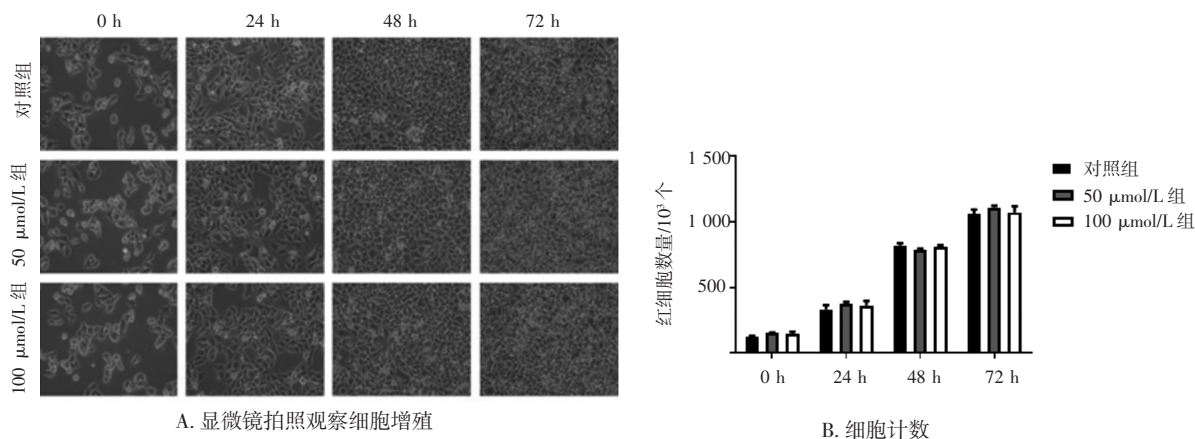
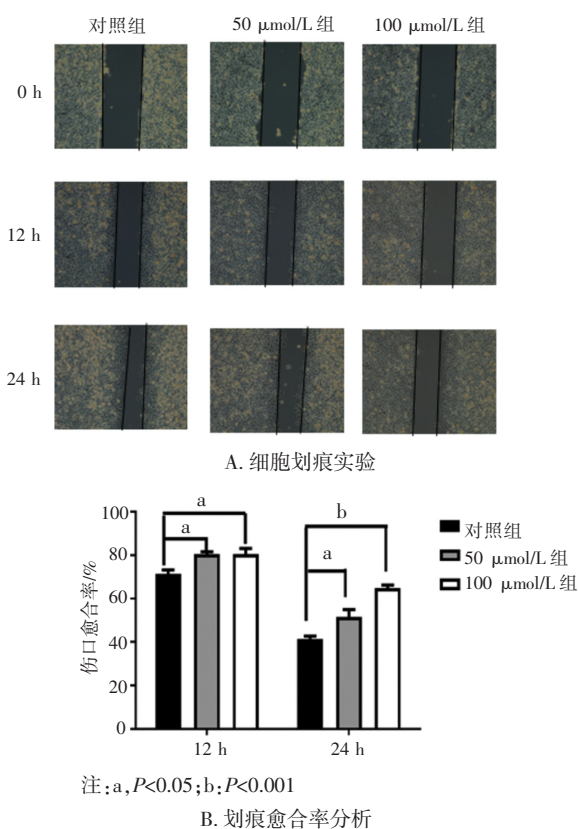


图 4 CoQ₁₀ 对 RKO 细胞增殖的影响

图 5 CoQ₁₀ 抑制结直肠癌 RKO 细胞迁移2.6 CoQ₁₀ 处理结直肠癌 RKO 细胞后基因表达谱的变化

取经过 CoQ₁₀ 处理后的 RKO 细胞送至华大测序公司进行 RNA-seq 测序分析, 利用 R 软件的 pheatmap 包对差异表达基因进行分层聚类并绘制热图(图 6)。结果显示, 50 $\mu\text{mol/L}$ 的 CoQ₁₀ 处理后共有 967 个基因的 mRNA 表达水平出现明显变化, 其中 420 个基因表达上调, 547 个基因表达下调。而 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 CoQ₁₀ 处理后共有 1 110 个基因的 mRNA 表达水平出现明显变化, 其中 734 个基因表达上调, 376 个基因表达下调。

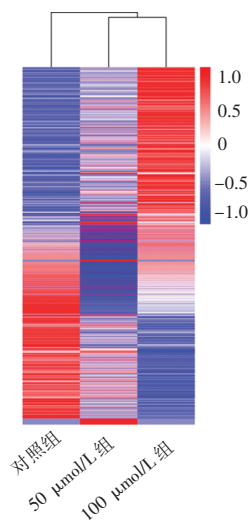


图 6 RNA-seq 测序后的聚类热图

2.7 CoQ₁₀ 处理结直肠癌 RKO 细胞后的差异表达基因 GO 和 KEGG 富集分析

采用 DAVID 在线软件进行差异表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析。分析结果显示, 50 $\mu\text{mol/L}$ 组(图 7A)和 100 $\mu\text{mol/L}$ 组(图 7B)的差异表达基因富集的 GO-BP 项主要与细胞黏附、细胞外基质组织和胆固醇代谢有关。50 $\mu\text{mol/L}$ 组(图 7C)和 100 $\mu\text{mol/L}$ 组(图 7D)的差异表达基因明显富集于细胞黏附分子信号通路、细胞外基质受体信号通路以及胆固醇信号通路。分析结果表明, 这些基因可通过调控相关的生物学过程和关键通路, 影响 RKO 细胞迁移。

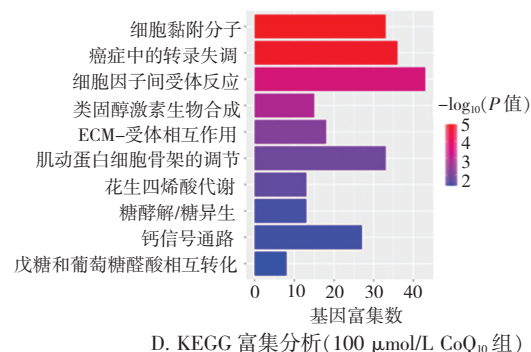
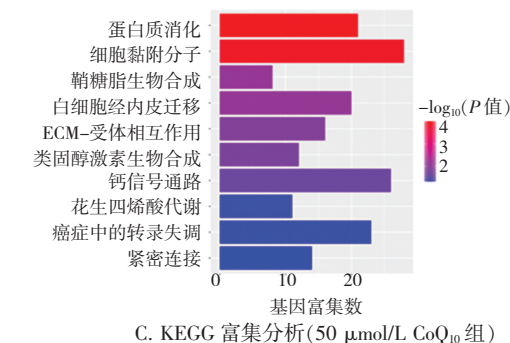
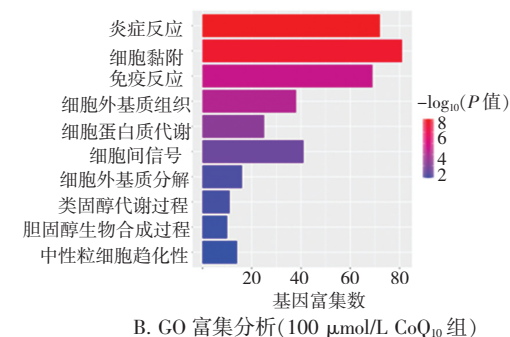
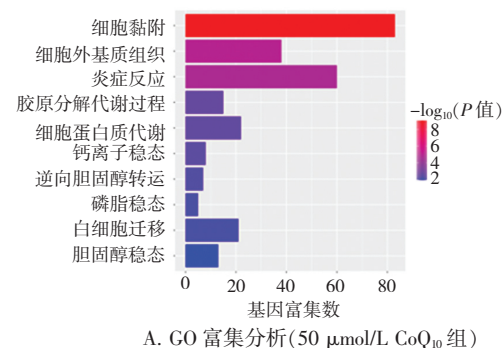
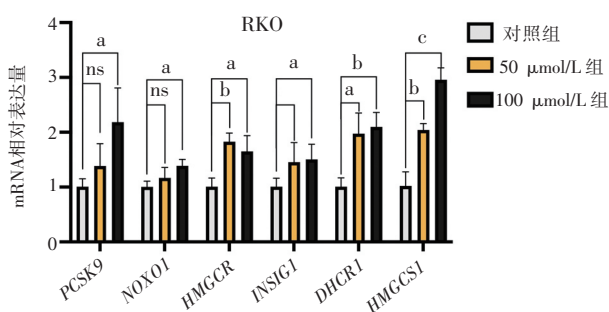


图 7 测序后 GO 和 KEGG 通路富集分析

2.8 CoQ₁₀ 处理结直肠癌 RKO 细胞后差异表达基因的 RT-PCR 验证

采用定量 RT-PCR 验证胆固醇合成通路相关的基因在结直肠癌中的表达。结果如图 8 所示,CoQ₁₀ 处理 RKO 细胞后,胆固醇合成通路中的人枯草溶菌素转化酶 9 基因(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9,PCSK9),3-羟-3-甲戊二酰辅酶 A 还原酶基因(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase,HMGCR),3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合酶基因(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1,HMGCS1),7-脱氢胆固醇还原酶基因(7-dehydrocholesterol reductase,DHCR7)的 mRNA 表达水平显著上调,提示 CoQ₁₀ 可能通过调节这些基因的表达来抑制结直肠癌细胞的迁移。



注: a, $P < 0.05$; b, $P < 0.01$; c, $P < 0.001$; ns: 无统计学差异

图 8 部分差异表达基因 RT-PCR 验证

3 讨论

CoQ₁₀ 是一个天然的人类可以自己合成的脂溶性抗氧化物质,可以清除自由基以减少氧化应激造成的损伤^[19]。CoQ₁₀ 作为代谢激活剂可激活细胞呼吸,从而保证心肌细胞和脑细胞充足的氧气和能量供应,达到抗疲劳增强免疫力的效果^[19]。服用他汀类降脂药会抑制体内 CoQ₁₀ 的自主合成^[20]。因此,高血脂患者在服用他汀类药物时,可同时服用 CoQ₁₀ 以改善他汀类药物的副作用^[20]。目前临床上 CoQ₁₀ 已经被广泛用于神经退行性疾病、高血压及双硫仑样反应等疾病的治疗,并且有良好的效果^[20]。

有研究表明,肺癌患者血浆中 CoQ₁₀ 含量明显低于正常患者血浆中的 CoQ₁₀ 含量,且 CoQ₁₀ 含量低的患者预后较差^[7]。乳腺癌患者癌组织中 CoQ₁₀ 的含量低于癌旁正常组织,且 CoQ₁₀ 含量低的患者预后较差^[11],表明低水平 CoQ₁₀ 与多种癌症的发生率增加和不良预后相关。临床上 CoQ₁₀ 可与化疗药物联合运用于肺癌、乳腺癌、结肠癌等癌症患者治疗以改善化疗药的毒性或肝脏毒性^[20]。这些表明

CoQ₁₀ 用于癌症患者的辅助治疗具有较好的前景。但目前 CoQ₁₀ 用于治疗相关肿瘤的具体作用机制研究还较少。少数研究报道,CoQ₁₀ 可以通过 PI3K-Akt 通路阻碍三阴性乳腺癌以及肝癌细胞的增殖、迁移^[21]。

本研究发现 CoQ₁₀ 能够抑制部分结直肠癌细胞的迁移,不影响细胞增殖。外源 CoQ₁₀ 处理后可导致 RKO 细胞中与细胞黏附、细胞外基质相关的基因表达明显变化。细胞黏附、细胞外基质相关基因的表达变化与细胞的迁移能力变化密切相关,但 CoQ₁₀ 通过何种方式调节这些基因的表达有待进一步研究。此外,本研究还发现外源 CoQ₁₀ 处理可导致胆固醇合成通路中的 PCSK9、HMGCR、HMGCS1 和 DHCR7 基因表达明显上调。而胆固醇在细胞运动及组织侵袭中扮演重要作用,低密度脂蛋白聚集可以调节黏着斑黏附促进细胞迁移,高密度脂蛋白可能抑制细胞运动^[22]。这提示 CoQ₁₀ 可能通过影响胆固醇代谢来抑制结直肠癌等恶性肿瘤细胞的迁移能力,但 CoQ₁₀ 调节胆固醇合成的具体环节有待进一步研究。研究报道,CoQ₁₀ 参与调节某些转录因子的表达如原癌基因 C-Jun、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)以及核转录因子红系 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)等,可通过 C-Jun 调节 ATP 结合盒转运子 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)基因表达促进巨噬细胞的胆固醇运输,通过 NF- κ B 调节炎症相关的白细胞介素-5(interleukin-5, IL-5)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等基因的表达参与炎症反应,通过 Nrf2 激活抗氧化应激的基因表达进而消除炎症反应等^[23-25]。推测 CoQ₁₀ 也可能通过参与调节某些转录因子的表达来控制细胞黏附、细胞外基质以及胆固醇代谢相关的基因表达影响结直肠癌细胞的迁移。

值得注意的是,由于 CoQ₁₀ 是内源脂溶性苯醌类化合物^[26],在水中和 DMSO 中溶解度不高,所以本研究使用有机溶剂二甲基甲酰胺来溶解 CoQ₁₀。在实验过程中发现,细胞状态会影响 CoQ₁₀ 处理的效果,只有在细胞生长状态良好且细胞数目适宜时,CoQ₁₀ 才会抑制结直肠癌细胞 RKO 迁移。后续研究需特别注意细胞状态和 CoQ₁₀ 的处理方法,以及采用更多结直肠癌细胞系和裸鼠转移瘤模型来进一

步验证 CoQ₁₀ 抑制迁移的效果。

综上所述,本研究对 CoQ₁₀ 影响结直肠癌细胞增殖和迁移能力及其潜在的分子机制进行了初步探索,发现 CoQ₁₀ 对结直肠癌细胞的增殖无明显影响,但可能通过影响胆固醇代谢来抑制部分结直肠癌细胞的迁移能力。该发现对进一步探索 CoQ₁₀ 在结直肠癌等恶性肿瘤的分子机制和治疗价值具有一定的理论和现实意义。

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7–33.
- [2] Fan XY, Wang YT, Jiang TH, et al. B-Myb accelerates colorectal cancer progression through reciprocal feed-forward transactivation of E2F2[J]. Oncogene, 2021, 40(37): 5613–5625.
- [3] Kheirelseid EAH, Miller N, Chang KH, et al. Clinical applications of gene expression in colorectal cancer[J]. J Gastrointest Oncol, 2013, 4(2): 144–157.
- [4] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2014, 383(9927): 1490–1502.
- [5] Laredj LN, Licitra F, Puccio HM. The molecular genetics of coenzyme Q biosynthesis in health and disease[J]. Biochimie, 2014, 100: 78–87.
- [6] Mantle D, Heaton RA, Hargreaves IP. Coenzyme Q₁₀ and immune function: an overview[J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(5): 759.
- [7] Cobanoglu U, Demir H, Cebi A, et al. Lipid peroxidation, DNA damage and coenzyme Q₁₀ in lung cancer patients: markers for risk assessment?[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(6): 1399–1403.
- [8] Khalifa EA, Nabil Ahmed A, Hashem KS, et al. Therapeutic effects of the combination of alpha-lipoic acid (ALA) and coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) on cisplatin-induced nephrotoxicity[J]. Int J Inflam, 2020, 2020: 5369797.
- [9] Jhun J, Moon J, Ryu J, et al. Liposome/gold hybrid nanoparticle encoded with CoQ₁₀ (LGNP-CoQ₁₀) suppressed rheumatoid arthritis via STAT3/Th17 targeting[J]. PLoS One, 2020, 15(11): e0241080.
- [10] Lee SY, Lee SH, Yang EJ, et al. Coenzyme Q₁₀ inhibits Th17 and STAT3 signaling pathways to ameliorate colitis in mice[J]. J Med Food, 2017, 20(9): 821–829.
- [11] Cooney RV, Dai Q, Gao YT, et al. Low plasma coenzyme Q₁₀ levels and breast cancer risk in Chinese women[J]. Cancer Epidemiol Biomark Prev a Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol, 2011, 20(6): 1124–1130.
- [12] Hertz N, Lister RE. Improved survival in patients with end-stage cancer treated with coenzyme Q₁₀ and other antioxidants: a pilot study[J]. J Int Med Res, 2009, 37(6): 1961–1971.
- [13] Folkers K, Osterborg A, Nylander M, et al. Activities of vitamin Q₁₀ in animal models and a serious deficiency in patients with cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 234(2): 296–299.
- [14] Palan PR, Mikhail MS, Shaban DW, et al. Plasma concentrations of coenzyme Q₁₀ and tocopherols in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer[J]. Eur J Cancer Prev, 2003, 12(4): 321–326.
- [15] Rusciani L, Proietti I, Rusciani A, et al. Low plasma coenzyme Q₁₀ levels as an independent prognostic factor for melanoma progression[J]. J Am Acad Dermatol, 2006, 54(2): 234–241.
- [16] Ashraf S, Gee HY, Woerner S, et al. ADCK4 mutations promote steroid-resistant nephrotic syndrome through CoQ₁₀ biosynthesis disruption[J]. J Clin Invest, 2013, 123(12): 5179–5189.
- [17] Kaymak I, Maier CR, Schmitz W, et al. Mevalonate pathway provides ubiquinone to maintain pyrimidine synthesis and survival in p53-deficient cancer cells exposed to metabolic stress[J]. Cancer Res, 2020, 80(2): 189–203.
- [18] Qi XF, Kim DH, Yoon YS, et al. Involvement of oxidative stress in simvastatin-induced apoptosis of murine CT26 colon carcinoma cells[J]. Toxicol Lett, 2010, 199(3): 277–287.
- [19] Stefely JA, Pagliarini DJ. Biochemistry of mitochondrial coenzyme Q biosynthesis[J]. Trends Biochem Sci, 2017, 42(10): 824–843.
- [20] Wang Y, Hekimi S. Understanding ubiquinone[J]. Trends Cell Biol, 2016, 26(5): 367–378.
- [21] Yang HL, Thiagarajan V, Shen PC, et al. Anti-EMT properties of CoQ₁₀ attributed to PI3K/Akt/NFκB/MMP-9 signaling pathway through ROS-mediated apoptosis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 186.
- [22] Kanerva K, Uronen RL, Blom T, et al. LDL cholesterol recycles to the plasma membrane via a Rab8a-Myosin5b-actin-dependent membrane transport route[J]. Dev Cell, 2013, 27(3): 249–262.
- [23] Wang DL, Yan X, Xia M, et al. Coenzyme Q₁₀ promotes macrophage cholesterol efflux by regulation of the activator protein-1/miR-378/ATP-binding cassette transporter G1-signaling pathway[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(9): 1860–1870.
- [24] Allen RM, Vickers KC. Coenzyme Q₁₀ increases cholesterol efflux and inhibits atherosclerosis through microRNAs[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(9): 1795–1797.
- [25] Schmelzer C, Lindner I, Vock C, et al. Functional connections and pathways of coenzyme Q₁₀-inducible genes: an in-silico study[J]. IUBMB Life, 2007, 59(10): 628–633.
- [26] Sarmiento A, Diaz-Castro J, Pulido-Moran M, et al. Coenzyme Q₁₀ supplementation and exercise in healthy humans: a systematic review[J]. Curr Drug Metab, 2016, 17(4): 345–358.

(责任编辑:周一青)