



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.240185
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.240185
China Journal of General Surgery, 2025, 34(3):485-494.

· 专题研究 ·

m6A 阅读器 IGF2BP2 在胰腺癌中的表达及意义

朱卫东¹, 向伟², 严安², 欧峥嵘¹, 朱红伟², 余泉²

(1. 湖南师范大学附属岳阳医院 普外二科, 湖南 岳阳 414000; 2. 中南大学湘雅三医院 肝胆胰外科II, 湖南 长沙 410013)

摘要

背景与目的: N^6 -甲基腺苷 (m6A) 表观遗传学修饰对基因转录后的表达及生理、病理过程, 包括肿瘤发生都有重要的调控作用。m6A 阅读器 IGF2BP2 能够显著增强 mRNA 的稳定性和翻译效率, 并在多种肿瘤中存在表达异常。然而, 目前 IGF2BP2 在胰腺癌中的具体生物学功能尚不明确。因此, 本研究探讨 m6A 阅读器 IGF2BP2 在胰腺癌中的表达及对胰腺癌细胞功能的影响。

方法: 采用癌症基因组图谱 (TCGA)、基因型及基因表达量关联数据库 (GTEx) 和基因表达综合数据库 (GEO) 分析 m6A 编辑器、擦除器和阅读器相关基因的表达水平, 并采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 m6A 阅读器 IGF2BP2 表达与胰腺癌患者预后的关系; 采用免疫组化在胰腺癌组织及癌旁组织临床标本中验证 IGF2BP2 的表达水平; 采用 CCK-8 实验、流式细胞周期检测、平板克隆形成实验、Transwell 分析 m6A 阅读器 IGF2BP2 敲低后胰腺癌细胞增殖活性、细胞周期、克隆形成数目与迁移能力的变化。

结果: TCGA-GTEx 及 GEO 数据库分析显示, m6A 阅读器基因 IGF2BP2 在胰腺癌组织中高表达 (均 $P < 0.05$), 且高表达与不良的总体生存期相关 (均 $P < 0.05$)。临床标本的免疫组化结果证实 m6A 阅读器 IGF2BP2 在胰腺癌组织的表达高于癌旁组织。功能性实验结果显示, IGF2BP2 基因敲减后, 两株细胞的增殖能力明显减弱, 且细胞周期更多停在静止期 (G0~G1 期), 细胞克隆形成数目明显减少, 细胞迁移能力明显降低 (均 $P < 0.05$)。

结论: m6A 阅读器 IGF2BP2 在胰腺癌组织中呈高表达, 且与胰腺癌患者不良预后密切相关, 其作用机制可能与促进癌细胞生长与迁移有关。

关键词

胰腺肿瘤; 甲基化; IGF2BP2; 预后; 生物标记, 肿瘤
中图分类号: R735.9

Expression and significance of m6A reader IGF2BP2 in pancreatic cancer

ZHU Weidong¹, XIANG Wei², YAN An², OU Zhengrong¹, ZHU Hongwei², YU Xiao²

(1. Department of General Surgery II, Yueyang Hospital Affiliated to Hunan Normal University, Yueyang, Hunan 414000, China;
2. Department of Hepatopancreatobiliary Surgery II, the Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract

Background and Aims: N^6 -methyladenosine (m6A) epigenetic modification plays a crucial role in post-transcriptional gene expression regulation and various physiological and pathological processes,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82000614); 湖南省自然科学基金资助项目 (2021JJ70051, 2024JJ5533); 湖南省卫生健康委科研计划资助项目 (202204015341); 中南大学湘雅三医院汇智育才基金资助项目 (YX202203)。

收稿日期: 2024-04-02; **修订日期:** 2024-09-16。

作者简介: 朱卫东, 湖南师范大学附属岳阳医院主任医师, 主要从事胰腺癌方面的研究 (向伟为共同第一作者)。

通信作者: 朱红伟, Email: zuhongweizhw1987@126.com; 余泉, Email: yuxiaoyx4@126.com

including tumorigenesis. The m6A reader IGF2BP2 significantly enhances mRNA stability and translation efficiency and is abnormally expressed in multiple cancers. However, the specific biological function of IGF2BP2 in pancreatic cancer remains unclear. Therefore, this study investigated the expression of the m6A reader IGF2BP2 in pancreatic cancer and its effects on pancreatic cancer cell functions.

Methods: The expression levels of m6A-related writers, erasers, and readers were analyzed using The Cancer Genome Atlas (TCGA), the Genotype-Tissue Expression (GTEx) database, and the Gene Expression Omnibus (GEO). Kaplan-Meier survival analysis was conducted to assess the relationship between IGF2BP2 expression and the prognosis of pancreatic cancer patients. Immunohistochemistry was used to validate IGF2BP2 expression in clinical specimens of pancreatic cancer tissues and adjacent normal tissues. Functional experiments, including CCK-8 assay, flow cytometry for cell cycle analysis, colony formation assay, and Transwell migration assay, were performed to evaluate changes in cell proliferation, cell cycle distribution, colony formation ability, and migration capacity after IGF2BP2 knockdown in pancreatic cancer cells.

Results: TCGA-GTEx and GEO database analyses showed that IGF2BP2 was highly expressed in pancreatic cancer tissues (both $P < 0.05$) and that its high expression was associated with poor overall survival (both $P < 0.05$). Immunohistochemical staining of clinical specimens confirmed that IGF2BP2 protein expression was higher in pancreatic cancer than in adjacent normal tissue. Functional experiments demonstrated that IGF2BP2 knockdown significantly reduced the proliferation ability of pancreatic cancer cells, arrested more cells in the G0-G1 phase, decreased colony formation, and impaired cell migration (all $P < 0.05$).

Conclusion: The m6A reader IGF2BP2 is highly expressed in pancreatic cancer tissues and is closely associated with poor prognosis in patients with this disease. Its mechanism of action may be related to the promotion of cancer cell growth and migration.

Key words

Pancreatic Neoplasms; Methylation; IGF2BP2; Prognosis; Biomarkers, Tumor

CLC number: R735.9

胰腺癌是一种发病率持续上升且致命性高的消化系统肿瘤，2024年美国癌症统计数据^[1]表明，胰腺癌在美国男性中发病率排第10位（占3%），在女性中排第7位（占3%），同时，男性病死率排第4位（占8%），女性病死率排第3位（占8%），且5年生存率仅约为13%，处于所有恶性肿瘤中最低水平。因此，积极研究胰腺癌的成因和寻找新的有效治疗方法对于其临床治疗具有重大意义。

*N*⁶-甲基腺嘌呤（*N*⁶-methyladenosine, m6A）是指腺嘌呤（A）第6位氮原子（N）上发生甲基化修饰，是真核生物信使RNA（mRNA）最为普遍的表观遗传学修饰方式。m6A甲基化通过影响mRNA的可变剪接、定位、稳定性以及翻译效率等方式调控相关基因表达和功能表型，进而参与肿瘤增殖、迁移等多种病理生理过程^[2-4]。m6A修饰过程

主要由编辑器-甲基化转移酶、擦除器-去甲基化酶和阅读器介导^[5]，mRNA上的m6A标记主要由甲基转移酶复合物（METTL3/METTL14/WTAP）及辅助因子^[6]共同修饰完成，并且可以被去甲基化酶（如FTO或ALKBH5）^[7]去除。m6A表观遗传学修饰的效应主要依赖于m6A阅读器，首个被发现的m6A阅读器是YTHDF2，其通过调控mRNA的稳定性，影响急性髓细胞性白血病的发生和进展^[8]，m6A编辑器及擦除器相关基因及蛋白已被多项研究证明在各种类型的恶性肿瘤中发挥关键的致癌作用^[9]。

胰岛素样生长因子2 mRNA结合蛋白（IGF2BP）家族是一类新发现的m6A阅读器蛋白，可以稳定含有m6A修饰的mRNA，并且通过K同源（KH）结构域促进翻译^[10-12]，参与表达调控。目前研究均聚焦探索IGF2BP家族在恶性肿瘤中的致癌作用，

如结直肠癌、白血病、胰腺癌等^[13-16]。然而,IGF2BP2作为被新发现的m6A阅读器对恶性肿瘤中的生物学功能的研究有限,因此,本研究探索m6A阅读器在胰腺癌中的表现,及其对胰腺癌细胞增殖、迁移的影响。

1 材料与方法

1.1 数据的收集

使用GP6244平台,从癌症基因组图谱(TCGA, <https://portal.gdc.cancer.gov>)中收集胰腺组织样本的转录组数据,其中胰腺癌样本178例,癌旁组织样本4例。从基因型及基因表达量关联数据库(GTEX, <https://xenabrowser.net/datapages>)中收集胰腺组织样本的转录组数据,正常胰腺组织样本167例。从基因表达综合数据库(GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)下载胰腺癌相关基因表达数据集GSE28735、GSE62452中的表达数据。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 将常规保存于中南大学湘雅三医院中心实验室的BXPC3和SW1990人胰腺癌细胞株接种于含有10%胎牛血清、1%青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 μg/mL)的DMEM培养液中,置于37℃、5%CO₂的孵育箱中培养,每隔2~3d传代1次。

1.2.2 免疫组化 将癌和癌旁组织切片置于玻片上,放入60℃恒温箱中烘烤60min,使其固定,玻片浸泡于二甲苯中脱蜡3次,10min/次。依次将玻片浸入100%、95%、85%、70%、50%的乙醇溶液中,每个步骤3min,蒸馏水冲洗,完成水化;滴加3%过氧化氢溶液于组织切片上,室温孵育10min,去除内源性过氧化物酶活性;采用磷酸盐缓冲液(PBS)轻轻洗涤3次,每次5min,玻片置于柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)进行抗原修复,微波炉100℃,10min;切片自然冷却至室温,采用PBS冲洗切片3次,每次5min;采用5%牛血清白蛋白(BSA)在室温下孵育切片30min,阻断非特异性蛋白结合位点。倾去封闭液,不洗涤,滴加兔多克隆IGF2BP2抗体(1:300稀释),确保完全覆盖组织,4℃孵育过夜,确保抗体与抗原充分结合,使用PBS缓冲液轻轻洗涤切片3次,每次5min。滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:50稀释),确保覆盖整个组织,室温孵育1h,使用PBS洗涤切片3次,每次5min,向切片滴加DAB显色

剂,于显微镜下观察,直至切片出现棕色或棕黄色,用蒸馏水轻轻冲洗10min终止反应;将切片置于苏木精染液中染色1min,自来水冲洗切片,浸泡10min,使组织返蓝,按脱蜡的逆向顺序将切片依次置于70%、85%、95%和100%乙醇中脱水,每个步骤3min;将切片置于二甲苯中透明,共2次,每次5min;滴加中性树胶于切片上,盖上盖玻片,常温下晾干切片;于显微镜下观察癌和癌旁组织中IGF2BP2的表达情况(阳性信号表现为棕色或棕黄色颗粒),并评估癌和癌旁组织中IGF2BP2表达水平。

1.2.3 细胞转染 Lipofectamine 3000转染试剂购自美国Invitrogen公司;阴性对照小干扰RNA(si-NC),IGF2BP2小干扰RNA(si-IGF2BP2)购自吉玛基因;提取RNA试剂盒、cDNA逆转录试剂盒和RT-PCR试剂盒源于翌圣生物(中国上海,11123ES)。按照常规方法将BXPC3、SW1990细胞分别于中板培养,当细胞融合度为60%时,使用无血清的培养液洗涤细胞,并按照Lipofectamine 3000步骤依次转染si-NC(si-NC组)和si-IGF2BP2(si-IGF2BP2组),再孵育48h后备用。

1.2.4 qRT-PCR 使用TRIzol试剂提取转染后si-NC组和si-IGF2BP2组细胞的总RNA,检测RNA浓度及纯度;逆转录获得cDNA,-20℃保存备用;采用SYBR Green试剂盒,在荧光定量PCR仪上进行实时定量PCR分析,PCR反应条件为:95℃预变性30s;95℃变性20s,60℃退火30s,72℃延伸30s,45个循环,72℃,延伸5min;实验重复3次。采用2^{-ΔΔCt}法计算IGF2BP2的相对表达量,即 $\Delta Ct = Ct_{\text{样本}} - Ct_{\text{内参}}$,以GAPDH作为内参基因。

1.2.5 Western blot 将BXPC3及SW1990细胞分别接种至6孔板,接种量为 2×10^4 /孔,5%CO₂、37℃培养箱孵育,待细胞密度达到50%~60%/孔,实验设置转染si-NC组、si-IGF2BP2组(转染体系5μL lipo3000,10μL si-NC或si-IGF2BP2分别加入500μL无血清基础培养基,混匀静置15min,再分别加入已更换1500μL新鲜培养基的6孔板中),5%CO₂、37℃培养箱转染48h。每孔加入200μL细胞裂解液(1mL Lysis buffer中加入磷酸酶抑制剂及蛋白酶抑制剂各10μL),冰上裂解20~30min,再分别移至2mL微量离心管中,14000rpm,4℃离心15min,取上清即为细胞全蛋白提取物,BCA法测定蛋白浓度,计算上样量。按4:1加入上样缓冲液,

95 ℃煮沸 10 min, 完成蛋白提取。制备 10% SDS-PAGE 凝胶, 待凝固加入电泳缓冲液, 拔出梳子, 加入蛋白分子量标记物 (mark), 以及根据 BCA 法测定的 IGF2BP2 蛋白在 si-NC 组和 si-IGF2BP2 组中的浓度, 按每孔上样量为 10 μg 计算并加入相应体积蛋白样品, 恒压 80 V, 20 min, 转 120 V, 30 min; 转膜, PVDF 膜甲醇活化 1 min 后, 黑-胶-膜顺序, 加入转膜缓冲液, 冰浴, 恒流 400 mA, 30 min, 转膜后裁膜, 按照 mark 位置分别裁出 IGF2BP2 及 β-actin 分子量段条带, 快速封闭液封闭 10~15 min, 将膜分别置于 IGF2BP2 一抗、β-actin 一抗溶液中, 4 ℃孵育过夜; TBST 溶液清洗 PVDF 膜 3 次, 每次 10 min, 以移除未结合的一抗; 将膜转移到二抗溶液, 室温下摇床孵育 1 h, TBST 溶液将 PVDF 膜清洗 3 次, 每次 10 min; 配制 ECL 显影液, 各张膜依次显影。

1.2.6 CCK-8 法检测细胞增殖 将 BXPC3 及 SW1990 细胞转染 48 h 后的 si-NC 组、si-IGF2BP2 组, 分别胰酶消化并接种至 96 孔板 (5 × 10³/孔) 并孵育 24 h 贴壁; 培养皿稍倾斜, 移液枪贴底部洗净培养基; 按浓度梯度每组不少于 3 个复孔; 观察细胞生长到一定的密度弃去培养基, 使用 PBS 洗涤细胞 1 次; 每孔加入 100 μL 含有 10% CCK-8 的新鲜完全细胞培养基。37 ℃孵育 30~60 min, 采用酶标仪于 450 nm 处的吸光度测量活细胞数量。

1.2.7 流式细胞周期检测 将 BXPC3 和 SW1990 细胞分别以每孔 1 × 10⁴ 细胞的密度接种于 6 孔板中, 37 ℃孵育过夜, PBS 清洗 3 遍, 分别转染 si-NC、si-IGF2BP2, 37 ℃孵育 48 h。将培养细胞分别收集至离心管, 1 000 r/min 离心 5 min, 吸除上清, 留底部沉淀细胞约 50 μL; 向每个离心管中加入 1 mL 预冷的 PBS, 轻轻重悬细胞, 并转移到新的离心管中, 1 000 rpm 离心 5 min, 吸除上清; 向每个样品中加入 1 mL 预冷的 70% 乙醇, 轻轻吹打使细胞均匀分散, 在 4 ℃下固定 2 h, 1 000 r/min 离心 5 min, 吸除上清; 加入 1 mL 预冷的 PBS 重悬细胞, 离心 (1 000 rpm, 5 min), 弃去上清; 每个样品中加入 0.5 mL 碘化丙啶染色液, 缓慢而充分地重悬细胞以确保均匀染色; 37 ℃、避光条件下孵育 30 min, 使细胞充分染色, 样品送至流式细胞仪进行检测。

1.2.8 平板克隆形成实验 使用 0.25% 的胰蛋白酶处理对数生长期的 BXPC3 和 SW1990 细胞转染样本, 轻轻震荡制成单细胞悬浮液后, 接种于 6 孔板

上 (1 000 个细胞/孔), 置 37 ℃、5% CO₂ 温箱培养, 待克隆肉眼可见时终止培养, 并丢弃培养基, 4% 多聚甲醛固定 15 min, 结晶紫染色 30 min, 最后计数克隆数。

1.2.9 细胞迁移实验 将分别已转染 48 h 的 si-NC、si-IGF2BP2 的 SW1990、BXPC3 细胞消化, 并分别将细胞密度调整为 × 10⁴/mL 备用; 取 1 块 24 孔板, 向每孔加入 600 μL 含有 20% 胎牛血清的完全培养基 (作为趋化因子吸引细胞迁移), 将 Transwell 小室插入 24 孔板的孔中, si-NC 组、si-IGF2BP2 组各设置 3 个复孔, 在 Transwell 小室的上室中加入 100 μL 无血清培养基, 确保覆盖底部的膜。在 Transwell 的上室中每个孔分别加入 si-NC 组或 si-IGF2BP2 组 100 μL 已调整好密度的细胞悬液 (细胞数量约为 2 × 10³ 细胞/孔), 轻轻摇晃 24 孔板, 确保细胞均匀分布在 Transwell 膜上; 将 24 孔板置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h; 培养结束后, 取出 Transwell 小室, 使用 PBS 轻轻冲洗上室, 去除未迁移的细胞, 棉签轻轻擦去上室未迁移的细胞, Transwell 小室在 4% 多聚甲醛中固定 10~15 min, PBS 清洗小室 2 次, 向下室加入结晶紫并孵育 10~30 min, 使用 PBS 清洗以去除过量染料, 采用倒置显微镜观察膜底部的迁移细胞, 高倍镜随机选取 3 个视野, 计算细胞数。

1.3 统计学处理

应用 GraphPad Prism 8.0.1 软件进行统计分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两样本的比较采用 *t* 检验, 每项实验至少重复进行 3 次。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 m6A 相关基因的差异表达

分别将 TCGA 与 GTEX 数据库及 GEO 数据集 GSE28735 与 GSE62452 胰腺癌数据合并矩阵并去批次效应, m6A 编辑器相关基因 (ZC3H13、RBM15B、METTL3、RBM15、METTL4、WTAP)、擦除器相关基因 (FTO、ALKBH5)、阅读器相关基因 (HNRNPA2B1、YTHDF1、YTHDC1、YTHDC2、YTHDF3、IGF2BP1、IGF2BP2、IGF2BP3、RBMX、YTHDF2、HNRNPC) 中有 18 个相关基因在 TCGA-GTEX 数据库 (胰腺癌样本 178 例、正常胰腺样本 171 例) 显示具有明显的表达差异, 其中 IGF2BP2 在胰腺癌中呈高表达 (均 P < 0.05); 19 个 m6A 表观

遗传学修饰相关基因中有17个在GEO数据集胰腺癌样本 (n=114) 和正常胰腺样本 (n=106) 中表

达, 并有9个显示差异化表达, 其中IGF2BP2在胰腺癌中呈高表达 (均 $P < 0.05$) (图1-2)。

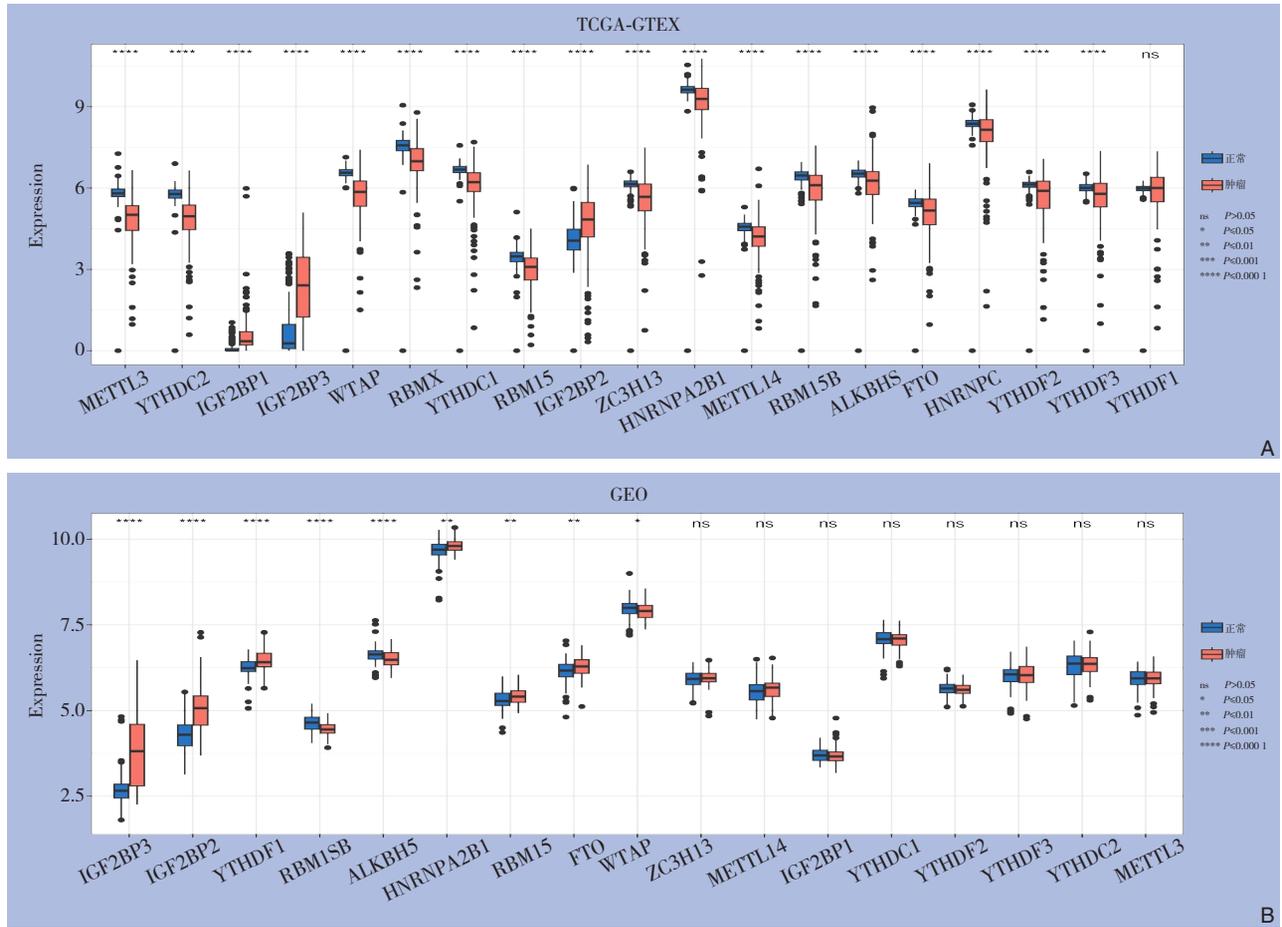


图1 m6A 相关基因差异表达分析 A: TCGA-GTEX; B: GEO
Figure 1 Differential expression analysis of m6A related genes A: TCGA-GTEX; B: GEO

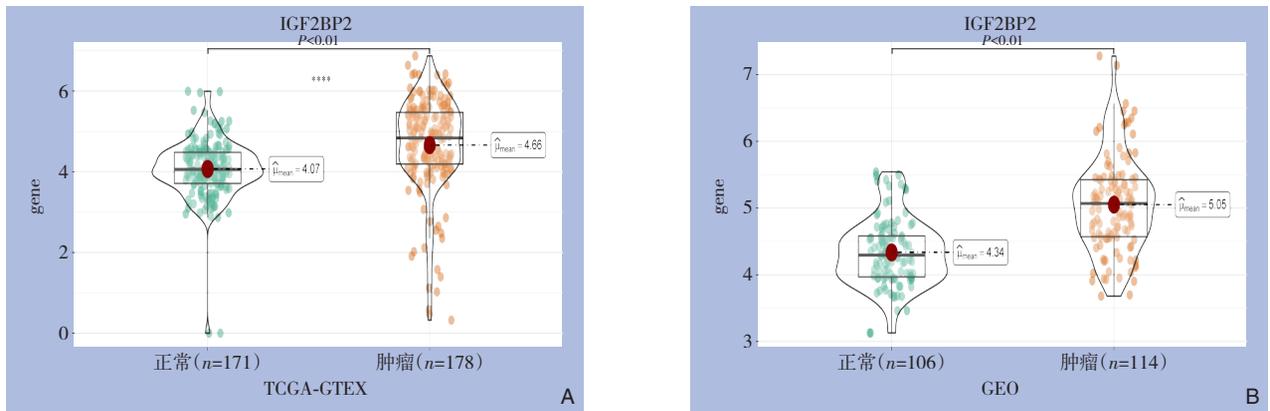


图2 IGF2BP2 肿瘤与正常样本差异表达分析 A: TCGA-GTEX; B: GEO
Figure 2 Differential expression analysis of IGF2BP2 in tumor and normal samples A: TCGA-GTEX; B: GEO

2.2 IGF2BP2 高表达与胰腺癌预后的关系

TCGA-GTEX、GEO 数据库中 Kaplan-Meier 生存分析显示, m6A 阅读器 IGF2BP2 高表达与较差的总体生存期相关 (均 $P < 0.05$) (图3)。

2.3 IGF2BP2 在肿瘤样本中的表达情况

进一步用临床样本通过免疫组化验证其表达情况, 结果与生信分析相一致的是, 相较于胰腺正常组织, IGF2BP2 在肿瘤样本中呈明显高表达 (图4)。

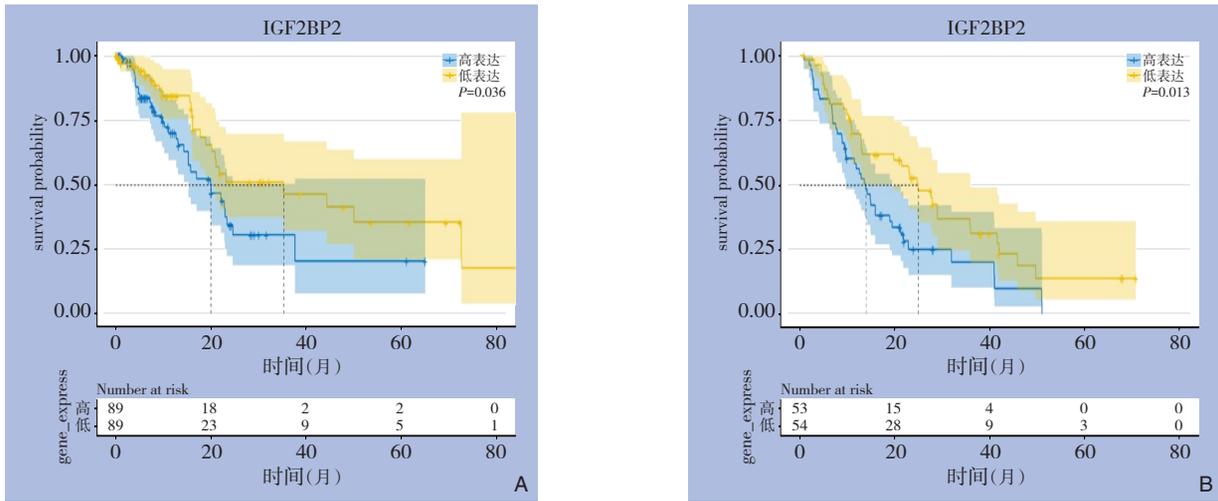


图3 不同 IGF2BP2 表达水平胰腺癌患者的生存曲线 A: TCGA; B: GEO

Figure 3 Survival curves of pancreatic cancer patients with different IGF2BP2 expression levels A: TCGA; B: GEO

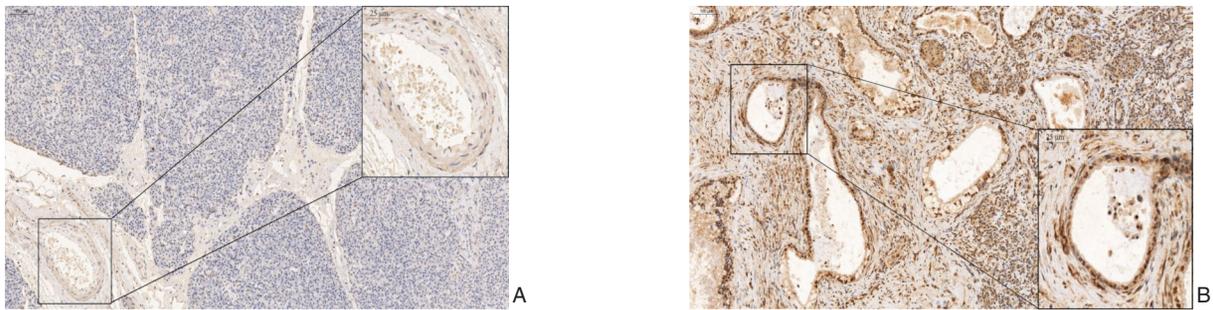


图4 免疫组化检测 IGF2BP2 在胰腺癌组织与正常胰腺组织样本中的表达 A: 正常胰腺组织结构清晰、细胞排列整齐; B: 胰腺肿瘤组织结构混乱, 细胞大小不一, 排列混乱, 整个视野被 IGF2BP2 染成深黄色

Figure 4 Immunohistochemical staining for IGF2BP2 expression in pancreatic cancer tissues and normal pancreatic tissue samples (magnification indicated in the images above) A: Normal pancreatic tissue with a clear structure and orderly cell arrangement; B: Pancreatic tumor tissue with a disorganized structure, irregular cell sizes, and chaotic arrangement, with the entire field stained dark yellow for IGF2BP2

2.4 IGF2BP2对胰腺癌细胞生物学功能的影响

为了进一步分析 m6A 阅读器 IGF2BP2 的生物学功能, 选择了两种胰腺癌细胞株 (SW1900 及 BXP3) 作为研究对象。转染效果分析显示, 两株细胞进行 IGF2BP2 基因敲减后, si-IGF2BP2 组的 IGF2BP2 表达在转录水平及蛋白水平均较各自

si-NC 组明显降低 (均 $P < 0.05$) (图 5)。IGF2BP2 基因敲减后, 两株细胞的增殖能力明显减弱, 且细胞周期更多停在静止期 (G0~G1 期), 细胞克隆形成数目明显减少, 细胞迁移能力明显降低 (均 $P < 0.05$) (图 6)。

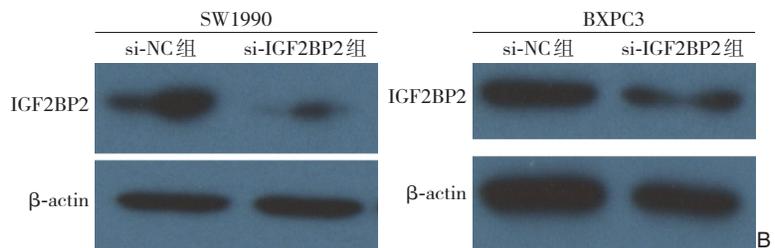
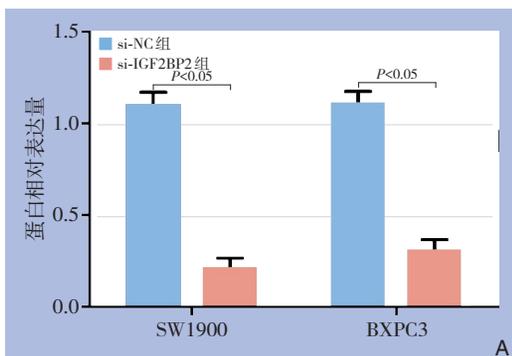


图5 转染效果检测 A: IGF2BP2 mRNA 表达检测; B: IGF2BP2 蛋白表达检测

Figure 5 Transfection efficiency detection A: IGF2BP2 mRNA expression analysis; B: IGF2BP2 protein expression analysis

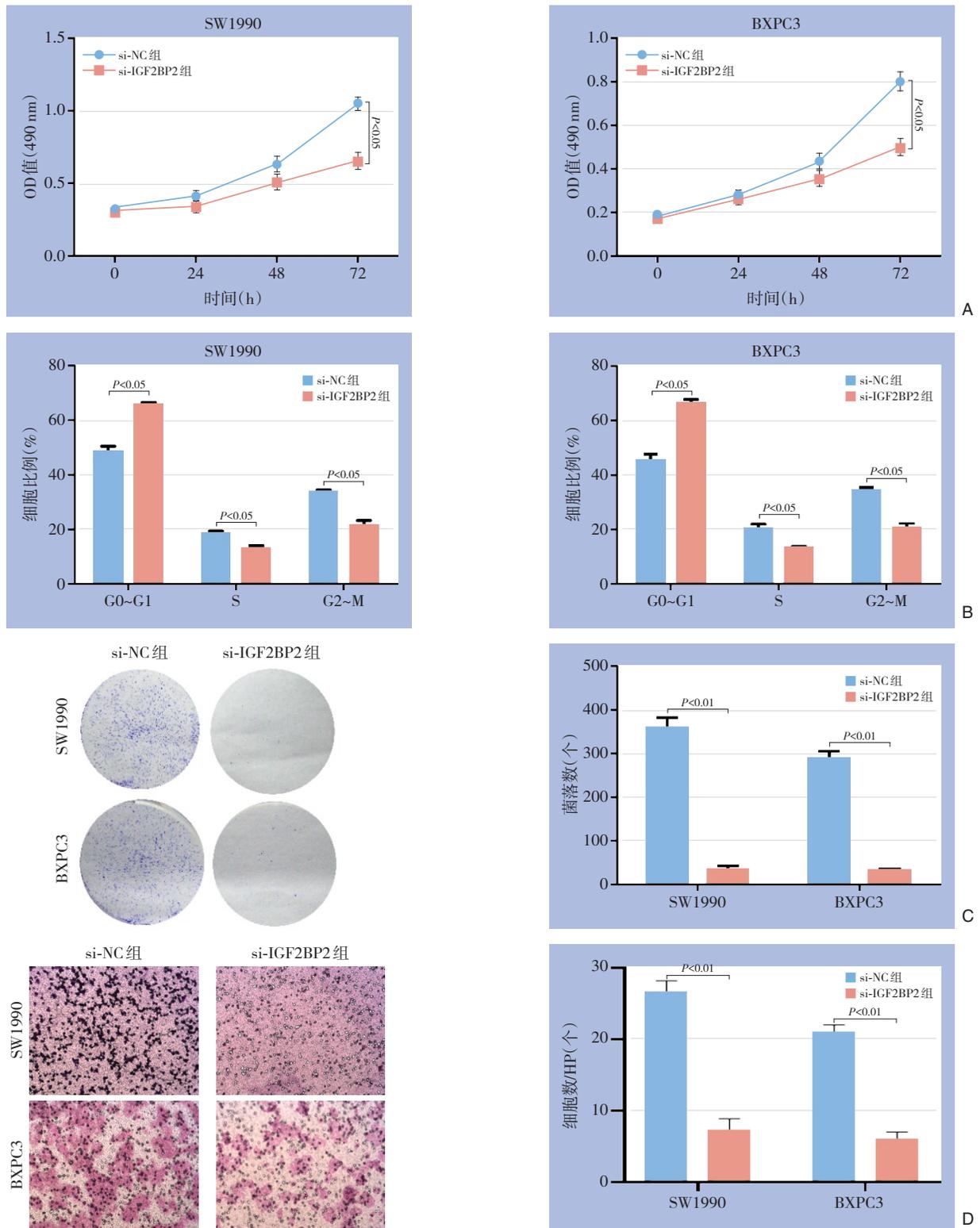


图6 细胞功能学实验 A: CCK-8实验检测细胞增殖活性; B: 流式细胞术检测细胞周期; C: 克隆形成实验检测细胞扩增能力; D: Transwell实验检测细胞迁移能力

Figure 6 Cell functional experiments A: CCK-8 assay for cell proliferation activity; B: Flow cytometry for cell cycle analysis; C: Colony formation assay for cell expansion ability; D: Transwell assay for cell migration ability

3 讨论

越来越多的研究证据揭示, m6A是真核生物 mRNA 中最常见的转录后修饰, 对于 mRNA 的稳定性具有重要的意义^[17], m6A 修饰与多种癌症存在显著关联, 例如白血病、结直肠癌、乳腺癌、肝癌等^[13,18-20]。因此, m6A 修饰引起表型遗传学改变的深层机制值得进一步探索。在胰腺癌中, 研究发现多个 m6A 相关基因在胰腺癌患者中异常表达, 这些基因包括 METTL3、METTL14 等核心 m6A 甲基转移酶, 以及 m6A 修饰的关键阅读器蛋白, 如 IGF2BP2、YTHDF1 和 YTHDF2 等^[21-22]。通过对 TCGA 和 GEO 数据库的整合分析, 发现胰腺癌中存在 9 个 m6A 相关基因的显著表达差异, 尤其是 m6A 阅读器 IGF2BP2 在胰腺癌组织中相较癌旁显著高表达, 提示其可能在胰腺癌的进展中发挥关键作用。

m6A 阅读器包括 IGF2BP1、IGF2BP2、IGF2BP3 等, 人类胰岛素样生长因子 2 (IGF2) mRNA 结合蛋白家族 (IMP/IGF2BP) 参与了一系列的生物过程, 包括发育、肿瘤生成和干细胞性质^[23], IGF2BP2 隶属此家族且其被鉴定为 IGF2 mRNA 结合蛋白, 具有协助 IGF2 家族 mRNA 转运到胞质, 可增强 mRNA 稳定性和协助翻译的功能^[24]。在 IGF2BP1 缺失的裸鼠模型中, 其体内的卵巢癌细胞生长和转移能力明显减弱^[25]。其次, 敲除胰腺癌 PANC-1 细胞中的 IGF2BP1 发现, 大部分细胞阻滞在 G1 期, 从而抑制肿瘤的生长^[23]。在肝癌中, IGF2BP3 的高表达与较差的预后密切相关, 并且与肿瘤转移的程度有着高度的关联^[26]。基于对 IGF2BP 家族的前期研究, 本研究旨在探讨 IGF2BP2 对胰腺癌表型的影响。本研究首先整合了 TCGA-GTEX 及 GSE28735-GSE62452 数据集, 去除了批次效应, 解决了正常样本量较少导致的分析可靠性问题。通过生信发现 IGF2BP2 相较于 IGF2BP1 及 IGF2BP3 在胰腺癌组织中相对表达更高, 较癌旁组织高表达更显著, 并且与患者不良预后密切相关, 提示其在胰腺癌发生或者发展中发挥重要作用。

近年来, m6A 阅读器 IGF2BP2 在多种肿瘤的发生和发展机制中受到了广泛关注, 其在不同类型肿瘤中的作用机制已进行了研究。在结直肠癌中, IGF2BP2 通过识别并结合 m6A 修饰的 SOX2 mRNA, 增强了 SOX2 mRNA 的稳定性, 维持 SOX2 的高表达水平, 从而推动了癌细胞的干性维持、侵袭和转

移能力增强^[14,27]。在急性白血病中, m6A 阅读器 IGF2BP2 通过稳定关键基因 (如 MYC、GPT2 和 SLC1A5) 的 mRNA 并促进翻译, 增强谷氨酰胺代谢, 维持癌细胞的能量供应, 促进癌细胞快速增殖^[13]。在肺癌中 IGF2BP2 通过 m6A 修饰提高 FLT4RNA 的稳定性, 加速肿瘤微环境血管生成, 促进肺癌的侵袭转移^[28]。IGF2BP2 作为 m6A 修饰的关键阅读器, 在多种肿瘤中通过调控不同的靶基因及代谢通路, 推动肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移。在胰腺癌的研究中, 已有研究分别利用 GEO 和 TCGA 数据库探讨 IGF2BP2 的高表达及其与胰腺癌生物学行为的关系。例如, 一项研究^[29]通过 GEO 数据集发现 IGF2BP2 在胰腺癌组织中较癌旁组织高表达, 并通过 TGF- β 诱导的上皮-间充质转化实验推测 IGF2BP2 与胰腺癌上皮-间充质转化过程密切相关。另有研究^[30-31]利用 TCGA 数据集探讨了 IGF2BP2 对 lncRNA DANCR 的表达和稳定性调控, 进而促进胰腺癌细胞的增殖。与以往依赖单一数据库的研究相比, 本研究通过整合多个公共数据库 (TCGA、GTEX、GEO) 的数据, 使分析结果更具可靠性和广泛代表性。在此基础上, 通过体外实验进一步验证了 IGF2BP2 对胰腺癌细胞的影响, 结果显示, 敲除 IGF2BP2 后, CCK-8 检测显示胰腺癌细胞的增殖能力显著下降, 流式细胞周期分析表明大部分癌阻滞在 G0~G1 期, 平板克隆形成实验则显示克隆形成能力显著减弱。此外, 细胞迁移能力也受到显著抑制。这些结果表明, IGF2BP2 在胰腺癌细胞增殖、迁移及细胞周期调控中发挥了重要作用。

综上所述, m6A 阅读器 IGF2BP2 在胰腺癌组织中呈高表达, 且与胰腺癌患者不良预后密切相关, 其作用机制可能与促进癌细胞生长与迁移有关, IGF2BP2 有望成为胰腺癌的生物标志物及潜在治疗靶点, 为胰腺癌的治疗提供新途径。

作者贡献声明: 朱卫东、向伟负责实验设计实施、数据整理、统计分析、论文撰写, 严安、欧峥嵘负责生信分析; 朱红伟、余泉负责研究指导, 论文修改。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

[1] Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics, 2024[J]. CA

- Cancer J Clin, 2024, 74(1):12-49. doi:10.3322/caac.21820.
- [2] Boulias K, Greer EL. Biological roles of adenine methylation in RNA[J]. Nat Rev Genet, 2023, 24(3): 143-160. doi: 10.1038/s41576-022-00534-0.
- [3] Zhuang H, Yu B, Tao D, et al. The role of m6A methylation in therapy resistance in cancer[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1):91. doi: 10.1186/s12943-023-01782-2.
- [4] 万山, 邓丽聪, 楚杰. DNA甲基化修饰在胰腺癌中的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(3):441-447. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.03.014.
- Wan S, Deng LC, Chu J. Research progress of DNA methylation modification in pancreatic cancer[J]. China Journal of General Surgery, 32(3): 441-447. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2023.03.014.
- [5] Meyer KD, Jaffrey SR. The dynamic epitranscriptome: N6-methyladenosine and gene expression control[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(5):313-326. doi:10.1038/nrm3785.
- [6] Huang H, Weng H, Zhou K, et al. Histone H3 trimethylation at lysine 36 guides m6A RNA modification co-transcriptionally[J]. Nature, 2019, 567(7748): 414-419. doi: 10.1038/s41586-019-1016-7.
- [7] Zheng G, Dahl JA, Niu YM, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility[J]. Mol Cell, 2013, 49(1):18-29. doi:10.1016/j.molcel.2012.10.015.
- [8] Paris J, Morgan M, Campos J, et al. Targeting the RNA m6A reader YTHDF2 selectively compromises cancer stem cells in acute myeloid leukemia[J]. Cell Stem Cell, 2019, 25(1): 137-148. doi: 10.1016/j.stem.2019.03.021.
- [9] Huang H, Weng H, Chen J. m6A modification in coding and non-coding RNAs: roles and therapeutic implications in cancer[J]. Cancer Cell, 2020, 37(3):270-288. doi:10.1016/j.ccell.2020.02.004.
- [10] Huang H, Weng H, Sun W, et al. Recognition of RNA N6-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(3):285-295. doi:10.1038/s41556-018-0045-z.
- [11] Jiang Z, Chu PG, Woda BA, et al. Analysis of RNA-binding protein IMP3 to predict metastasis and prognosis of renal-cell carcinoma: a retrospective study[J]. Lancet Oncol, 2006, 7(7): 556-564. doi: 10.1016/S1470-2045(06)70732-X.
- [12] Schneider T, Hung LH, Aziz M, et al. Combinatorial recognition of clustered RNA elements by the multidomain RNA-binding protein IMP3[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2266. doi: 10.1038/s41467-019-09769-8.
- [13] Weng H, Huang F, Yu Z, et al. The m6A reader IGF2BP2 regulates glutamine metabolism and represents a therapeutic target in acute myeloid leukemia[J]. Cancer Cell, 2022, 40(12): 1566-1582. doi: 10.1016/j.ccell.2022.10.004.
- [14] Li T, Hu PS, Zuo Z, et al. METTL3 facilitates tumor progression via an m6A-IGF2BP2-dependent mechanism in colorectal carcinoma[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 112. doi: 10.1186/s12943-019-1038-7.
- [15] Yao B, Zhang QL, Yang Z, et al. CircEZH2/miR-133b/IGF2BP2 aggravates colorectal cancer progression via enhancing the stability of m6A-modified CREB1 mRNA[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1):140. doi:10.1186/s12943-022-01608-7.
- [16] 蒋美萍, 鞠云鹤. 胰岛素样生长因子 mRNA 结合蛋白 3 在胰腺癌中的表达及意义[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(9):1271-1275. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.09.008.
- Jiang MP, Ju YH. Expression of insulin-like growth factor mRNA binding protein3 in pancreatic cancer and its significance[J]. China Journal of General Surgery, 2016, 25(9):1271-1275. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.09.008.
- [17] Han X, Guo J, Fan Z. Interactions between m6A modification and miRNAs in malignant tumors[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(6):598. doi:10.1038/s41419-021-03868-5.
- [18] Xu Y, Song M, Hong Z, et al. The N6-methyladenosine METTL3 regulates tumorigenesis and glycolysis by mediating m6A methylation of the tumor suppressor LATS1 in breast cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 10. doi: 10.1186/s13046-022-02581-1.
- [19] Wang J, Yu H, Dong W, et al. N6-methyladenosine-mediated up-regulation of FZD10 regulates liver cancer stem cells' properties and lenvatinib resistance through WNT/ β -catenin and hippo signaling pathways[J]. Gastroenterology, 2023, 164(6): 990-1005. doi:10.1053/j.gastro.2023.01.041.
- [20] Liu X, He H, Zhang F, et al. m6A methylated EphA2 and VEGFA through IGF2BP2/3 regulation promotes vasculogenic mimicry in colorectal cancer via PI3K/AKT and ERK1/2 signaling[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(5):483. doi:10.1038/s41419-022-04950-2.
- [21] Peng WX, Liu F, Jiang JH, et al. N6-methyladenosine modified LINC00901 promotes pancreatic cancer progression through IGF2BP2/MYC axis[J]. Genes Dis, 2023, 10(2): 554-567. doi: 10.1016/j.gendis.2022.02.014.
- [22] Müller S, Bley N, Busch B, et al. The oncofetal RNA-binding protein IGF2BP1 is a druggable, post-transcriptional super-enhancer of E2F-driven gene expression in cancer[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(15):8576-8590. doi:10.1093/nar/gkaa653.
- [23] Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants[J]. Science, 2007, 316(5829): 1341-1345. doi:10.1126/science.1142382.
- [24] Dai N. The diverse functions of IMP2/IGF2BP2 in metabolism[J].

- Trends Endocrinol Metab, 2020, 31(9): 670–679. doi: 10.1016/j.tem.2020.05.007.
- [25] Müller S, Bley N, Glaß M, et al. IGF2BP1 enhances an aggressive tumor cell phenotype by impairing miRNA-directed downregulation of oncogenic factors[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(12):6285–6303. doi:10.1093/nar/gky229.
- [26] Jeng YM, Chang CC, Hu FC, et al. RNA-binding protein insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression promotes tumor invasion and predicts early recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2008, 48(4): 1118–1127. doi:10.1002/hep.22459.
- [27] 刘天玥, 韩晨颖, 胡尘辰, 等. 干扰 IGF2BP2 下调 MYC 表达抑制结直肠癌细胞增殖、迁移并促进肿瘤免疫[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(4):303–310. doi:10.13423/j.cnki.cjemi.009540.
- Liu TY, Han CY, Hu CC, et al. Knockdown of IGF2BP2 inhibits colorectal cancer cell proliferation, migration and promotes tumor immunity by down-regulating MYC expression[J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2023, 39(4):303–310. doi: 10.13423/j.cnki.cjemi.009540.
- [28] Fang H, Sun Q, Zhou J, et al. m6A methylation reader IGF2BP2 activates endothelial cells to promote angiogenesis and metastasis of lung adenocarcinoma[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 99. doi: 10.1186/s12943-023-01791-1.
- [29] Dahlem C, Barghash A, Puchas P, et al. The insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein IMP2/IGF2BP2 is overexpressed and correlates with poor survival in pancreatic cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13):3204. doi:10.3390/ijms20133204.
- [30] Hu XG, Peng WX, Zhou HX, et al. IGF2BP2 regulates DANCR by serving as an N6-methyladenosine reader[J]. Cell Death Differ, 2020, 27(6):1782–1794. doi:10.1038/s41418-019-0461-z.
- [31] Xu X, Yu Y, Zong K, et al. Up-regulation of IGF2BP2 by multiple mechanisms in pancreatic cancer promotes cancer proliferation by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):497. doi:10.1186/s13046-019-1470-y.

(本文编辑 熊杨)

本文引用格式: 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

Cite this article as: Zhu WD, Xiang W, Yan A, et al. Expression and significance of m6A reader IGF2BP2 in pancreatic cancer[J]. Chin J Gen Surg, 2025, 34(3): 485–494. doi: 10.7659/j. issn. 1005-6947.240185



微信扫一扫
关注该公众号

敬请关注《中国普通外科杂志》官方微信平台

《中国普通外科杂志》官方公众微信正式上线启动(订阅号: ZGPTWKZZ), 我们将通过微信平台定期或不定期推送本刊的优秀文章、工作信息、活动通知以及国内外最新研究成果与进展等。同时, 您也可在微信上留言, 向我们咨询相关问题, 并对我们的工作提出意见和建议。《中国普通外科杂志》公众微信号的开通是在移动互联网时代背景下的创新求变之举, 希望能为广大读者与作者带来更多的温馨和便利。

欢迎扫描二维码, 关注《中国普通外科杂志》杂志社官方微信服务平台。

中国普通外科杂志编辑部