



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.016
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.016
China Journal of General Surgery, 2024, 33(9):1488-1498.

· 基础研究 ·

亚甲基四氢叶酸脱氢酶1在胰腺癌中的表达及临床意义

张功铭¹, 刘毅¹, 胡伟², 杜生旺³

(南京医科大学康达学院第一附属医院 1. 病理科 2. 肝胆外科, 江苏 连云港 222001; 3. 南京中医药大学附属连云港医院 普通外科, 江苏 连云港 222001)

摘要

背景与目的: 亚甲基四氢叶酸脱氢酶1 (MTHFD1) 在多种肿瘤中发挥重要作用。然而, MTHFD1 在胰腺癌中的作用尚不明确。因此, 本研究通过生物信息学分析及临床样本验证, 探讨 MTHFD1 在胰腺癌中的表达及临床意义, 同时对 MTHFD1 在胰腺癌中的可能作用机制进行分析。

方法: 使用 GEPIA2 在线平台对 TCGA 胰腺癌数据进行 MTHFD1 的差异表达分析、生存分析以及病理分期分析, 分析 MTHFD1 表达与胰腺癌患者临床病理特征的关系; Cox 比例风险模型进行 TCGA 数据单因素与多因素分析。通过 GO、KEGG 和 GSEA 分析预测 MTHFD1 在胰腺癌中可能的机制。用免疫组化法、qRT-PCR 和 Western blot 检测 80 例胰腺癌和癌旁组织中 MTHFD1 的表达情况, 并分析其表达与临床病理特征的关系。

结果: 在 TCGA 数据库中, 胰腺癌组织中的 MTHFD1 表达量明显高于正常组织 ($P<0.05$); MTHFD1 在胰腺癌中高表达患者与不良预后明显相关 ($P=0.007$); TCGA 数据显示 MTHFD1 的表达与肿瘤分期密切相关 ($P<0.05$); MTHFD1 的表达是胰腺癌患者预后的独立影响因素 ($HR=1.777$, $P=0.01$)。GO 分析、KEGG 分析和 GSEA 分析显示 MTHFD1 与细胞周期有关, 相关性热图表明, MTHFD1 基因与细胞周期具有高度相关性。TIMER 数据库中, MTHFD1 表达水平与 B 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞等免疫细胞有明显相关性 (均 $P<0.05$)。GDSC 数据库显示, MTHFD1 低表达组患者与高表达组患者相比对多种治疗药物更敏感。临床胰腺癌标本中, 胰腺癌组织中 MTHFD1 的阳性表达率、mRNA 和蛋白表达水平明显高于癌旁组织 (均 $P<0.05$); MTHFD1 的表达与肿瘤分化程度、临床分期、淋巴结转移及神经浸润有关 (均 $P<0.05$); MTHFD1 高表达患者总生存期明显短于低表达患者 ($P<0.05$)。

结论: MTHFD1 在胰腺癌组织中高表达, 并与不良预后相关, 在胰腺癌中 MTHFD1 可能通过细胞周期参与肿瘤的发生、发展, 并与肿瘤免疫细胞浸润过程相关。

关键词

胰腺肿瘤; 亚甲基四氢叶酸脱氢酶1; 预后; 计算生物学
中图分类号: R735.9

Expression of methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 in pancreatic cancer and its clinical significance

ZHANG Gongming¹, LIU Yi¹, HU Wei², DU Shengwang³

(1. Department of Pathology 2. Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Kangda College of Nanjing

基金项目: 江苏省连云港市科技计划基金资助项目 (SF2119); 江苏省连云港卫生科技基金资助项目 (202102)。

收稿日期: 2024-06-11; **修订日期:** 2024-09-09。

作者简介: 张功铭, 南京医科大学康达学院第一附属医院主管技师, 主要从事消化道病理方面的研究。

通信作者: 杜生旺, Email: lygadu@163.com

Medical, Lianyungang, Jiangsu 222001, China; 3. Department of General Surgery, Affiliated Lianyungang Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Lianyungang, Jiangsu 222001, China)

Abstract

Background and Aims: Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 (MTHFD1) is essential in various tumors. However, the role of MTHFD1 in pancreatic cancer remains unclear. This study was conducted to explore the expression and clinical significance of MTHFD1 in pancreatic cancer through bioinformatics analysis and clinical sample validation, as well as to analyze its potential mechanisms of action in pancreatic cancer.

Methods: The GEPIA2 online platform was used to analyze the differential expression of MTHFD1, survival, and pathological stage in TCGA pancreatic cancer data, examining the relationship between MTHFD1 expression and clinicopathologic features of pancreatic cancer patients. Univariate and multivariate analyses were performed using the Cox proportional hazards model on TCGA data. GO, KEGG, and GSEA analyses were conducted to predict the possible mechanisms of MTHFD1 in pancreatic cancer. The expression of MTHFD1 in 80 cases of pancreatic cancer and adjacent tissues was detected using immunohistochemistry, qRT-PCR, and Western blot and its expression with clinicopathologic characteristics was analyzed.

Results: In the TCGA database, MTHFD1 expression in pancreatic cancer tissues was significantly higher than in normal tissues ($P<0.05$). High expression of MTHFD1 was significantly associated with poor prognosis in pancreatic cancer patients ($P=0.007$). TCGA data indicated a close correlation between MTHFD1 expression and tumor stage ($P<0.05$). MTHFD1 expression was identified as an independent prognostic factor for pancreatic cancer ($HR=1.777$, $P=0.01$). GO, KEGG, and GSEA analyses showed that MTHFD1 was related to the cell cycle, and correlation heatmaps indicated a strong association between the MTHFD1 gene and the cell cycle. In the TIMER database, MTHFD1 expression level was significantly correlated with various immune cells, including B cells, $CD8^+$ T cells, $CD4^+$ T cells, macrophages, neutrophils, and dendritic cells (all $P<0.05$). The GDSC database revealed that patients with low MTHFD1 expression were more sensitive to various therapeutic agents than those with high expression. In clinical pancreatic cancer specimens, the positive expression rate of MTHFD1 and its mRNA and protein levels were significantly higher in cancer tissues than in adjacent tissues (all $P<0.05$). MTHFD1 expression was associated with tumor differentiation, clinical stage, lymph node metastasis, and neural infiltration (all $P<0.05$). Patients with high MTHFD1 expression had significantly shorter overall survival than those with low expression ($P<0.05$).

Conclusion: MTHFD1 is highly expressed in pancreatic cancer tissues and is associated with poor prognosis. It may participate in the occurrence and development of pancreatic cancer through the cell cycle and is related to the infiltration of tumor immune cells.

Key words

Pancreatic Neoplasms; Methylenetetrahydrofolate Dehydrogenase 1; Prognosis; Computational Biology

CLC number: R735.9

胰腺癌是临床常见的消化道恶性肿瘤之一,胰腺癌患者总体5年存活率仅约12%^[1]。胰腺癌在全球男性恶性肿瘤发病率中排名第七,女性中排名第十一,发病率和病死率均呈明显上升趋势^[2]。由于确诊时已到疾病中晚期,手术机会较少并且

易出现血行播散,约80%患者术后出现复发和(或)转移^[3-4]。随着肿瘤基因测序技术发展,探究胰腺癌发生、发展的分子生物学信号通路,明确胰腺癌转移相关的生物指标,为患者制定个性化治疗方案,改善胰腺癌患者预后成为研究热点^[5-6]。

亚甲基四氢叶酸脱氢酶1 (MTHFD1) 定位于14号染色体长臂2区4带(14q24), 催化935个氨基酸合成^[7]。广泛存在于细胞质中, 具有甲基-四氢叶酸环化水解酶、甲酰-四氢叶酸合成酶和MTHFD1三种酶活性, 经叶酸循环生成5, 10-亚甲基四氢叶酸, 是合成胸苷酸, 嘌呤核苷酸和蛋氨酸的重要底物^[8]。多项研究表明, MTHFD1蛋白在卵巢癌^[9]、头颈鳞癌^[10]、淋巴细胞性白血病^[11]、肝细胞癌^[12]和非小细胞肺癌^[13]中存在差异表达, 但在胰腺癌中的表达水平及具体机制的研究较少。

本研究通过检索TCGA数据库, 探讨MTHFD1在胰腺癌中的表达及在胰腺癌患者预后中的作用, 通过免疫组织化学方法检测MTHFD1在胰腺癌组织中的表达情况, 分析与胰腺癌患者临床病理特征及预后的关系, 对MTHFD1在胰腺癌中的可能的机制进行探索, 以期临床诊疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床样本

收集2014年6月—2021年9月在南京医科大学康达学院第一附属医院手术切除的80例胰腺癌和癌旁组织(距癌组织>1 cm)。纳入标准:(1)入组患者的临床资料需完整。(2)术前均未接受任何形式的放射疗法、化学疗法以及叶酸代谢相关的辅助治疗。(3)术后标本需具有明确的病理诊断。患者电话随访时间至2022年2月。本研究经我院伦理委员会批准(伦理审批号: KY20190924002), 所有患者均签署知情同意书。

1.2 数据集下载与整理

TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov>)中下载胰腺癌患者的基因信息和临床病理数据。通过GEP1A2在线平台(<http://gepia2.cancer-pku.cn>)对TCGA数据中的胰腺癌MTHFD1基因进行的差异表达分析、生存分析以及病理分期分析; 使用TIMER数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer>)评估MTHFD1 mRNA表达水平与B细胞、CD8⁺ T细胞、CD4⁺ T细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞等免疫细胞浸润相关性。GDSC数据库(<https://www.cancerrxgene.org>)下载胰腺癌一线治疗药物的半最大抑制浓度(IC₅₀值)的自然对数值。

1.3 组织学检查与免疫组化染色

经手术切除确诊的胰腺癌组织和癌旁组织,

福尔马林固定、组织脱水、石蜡包埋, 切片厚度4 μm, 70℃温箱烤片1 h, 置于全自动免疫组化仪(Dako Omnis, 丹麦), MTHFD1抗体(10794-1-AP, 1:200, Proteintech, 中国)孵育、过氧化物酶阻断(SM801)、加辣根过氧化物酶标记的二抗(SM802)、DAB显色(SM803)等均在全自动免疫组化仪内完成。

1.4 组织学 Western blot 和 qRT-PCR

新鲜组织充分裂解后离心吸取上清液, 提取总蛋白, 蛋白与上样缓冲液充分混合后加热5 min变性, 依次用5%浓缩胶和10%分离胶进行SDS-PAGE。转膜后用5%脱脂牛奶阻断膜, 加入一抗4℃孵育过夜, 清洗后加入二抗孵育1 h, 用ECL化学发光试剂盒检测蛋白, 凝胶系统全自动化学发光成像仪分析结果。TRIzol试剂提取组织总RNA, 按照试剂盒说明书操作, 用逆转录试剂盒将RNA合成cDNA。MTHFD1上游序列: 5'-ACC CAG AAG ACT GTG GAT GG-3', 下游序列: 5'-TTC AGC TCA GGG ATG ACC TT-3'; GAPDH上游序列: 5'-TTG TTG GCC CAG AAG GGT TT-3', 下游序列: 5'-CTG ACA GTG GCA ACA AGC AC-3'。以cDNA为模板配置qRT-PCR反应体系: cDNA 2 μL, 上下游引物各0.4 μL, SYBR Mix 10 μL, ddH₂O 7.2 μL, 共20 μL。用Light Cycler[®] 480 II进行qRT-PCR扩增。反应条件: 95℃ 5 min; 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 40个循环。

1.5 免疫组化评分

采用半定量积分法, 即肿瘤细胞阳性表达所占整个显微镜视野的比例和着色强度评分相乘的方法。选取染色效果均匀一致的肿瘤细胞区域, 分别计算5~10个高倍镜视野, 肿瘤细胞阳性表达所占比例和着色强度综合评分。(1)阳性细胞数占比计分: 76%~100%为4分, 51%~75%为3分, 26%~50%为2分, 6%~25%为1分, 少于6%为0分。(2)按着色强弱计分: 切片无色为0分, 呈淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分。将(1)和(2)相乘, 0~4分为低表达, 5~12分为高表达。结果由2位高年资病理医师采用双盲法评分。

1.6 统计学处理

通过R包中的“survival”“survminer”包取最佳截断值区分高低表达组并绘制Kaplan-Meier生存率曲线, 基于TCGA获得与MTHFD1显著相关的基因, 并进行GO与KEGG功能分析。采用Pearson相

关分析基因间的相关性, $0.1 \leq |r| \leq 1.0$ 时定义为存在相关性。使用 R 包 “oncoPredict” 对胰腺癌治疗药物进行预测。临床相关数据分析采用 SPSS 23.0 统计学软件, 计量资料以例数 (百分比) [n (%)] 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。使用 GSEA4.2.2 软件进行基因集富集分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTHFD1在胰腺癌组织中的表达

TCGA 数据集显示, MTHFD1 蛋白在胰腺癌组

织中表达量明显高于正常组织 ($P < 0.05$) (图 1A); 171 例正常胰腺组织标本中, 包含 TCGA 4 例癌旁组织及 GETx 数据库中 167 例正常胰腺组织。免疫组化法检测我院 80 例胰腺癌组织和癌旁组织中 MTHFD1 的表达结果显示, 蛋白阳性颗粒定位于细胞质中; MTHFD1 在胰腺癌标本中高表达率为 52.5% (42/80), 癌旁组织中高表达率为 13.75% (11/80), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 1B)。Western blot 和 qRT-PCR 检测人胰腺癌组织和正常胰腺组织中 MTHFD1 蛋白和 mRNA 的表达情况, 结果显示, MTHFD1 蛋白和 mRNA 在胰腺癌组织中的表达水平均高于正常胰腺组织 (均 $P < 0.05$) (图 1C-D)。

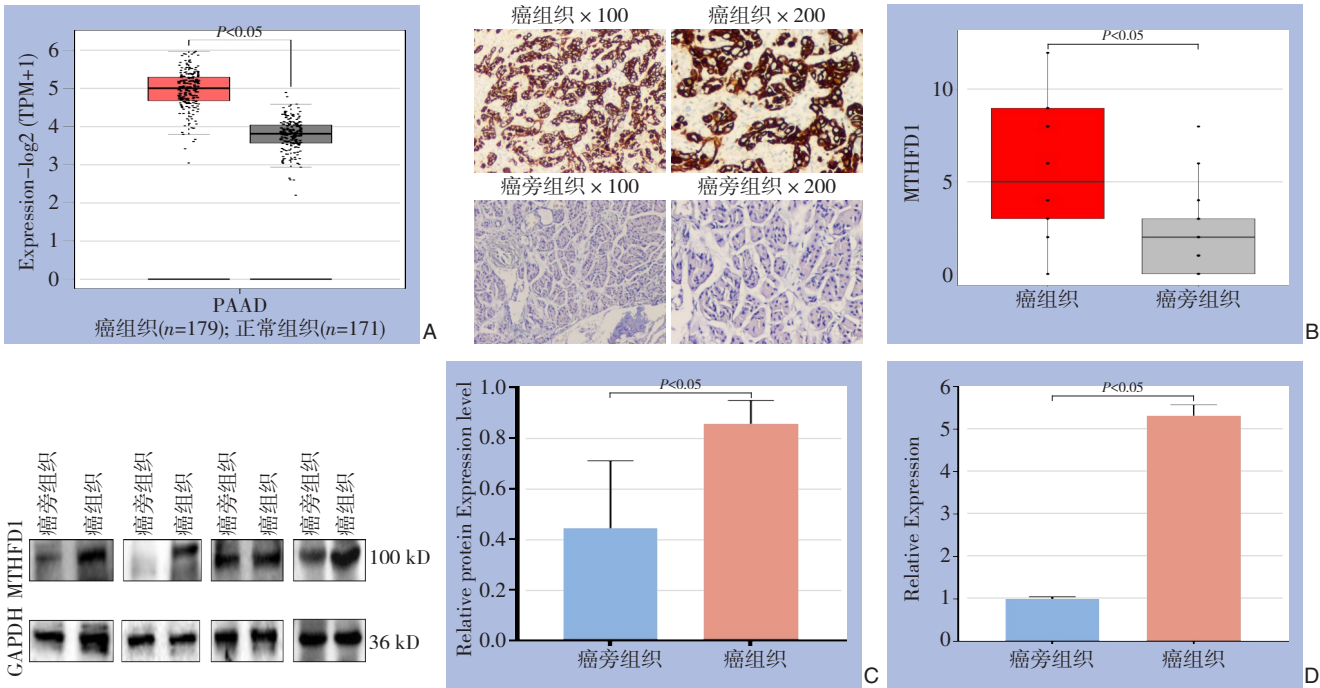


图1 MTHFD1在胰腺癌组织中的表达情况 A: TCGA数据库分析; B: 临床样本免疫组化检测; C: 临床样本Western blot检测; D: 临床样本qRT-PCR检测

Figure 1 Expression of MTHFD1 in pancreatic cancer tissue A: Analysis from the TCGA database; B: Immunohistochemical detection in clinical samples; C: Western blot detection in clinical samples; D: qRT-PCR detection in clinical samples

2.2 MTHFD1表达与胰腺癌患者预后的关系

GEPIA2 在线平台对 MTHFD1 进行生存分析显示, MTHFD1 高表达组预后明显差于低表达组患者 ($P < 0.05$) (图 2A)。在 80 例胰腺癌患者中, 通过 Kaplan-Meier 生存曲线, 提示高表达患者与不良预后相关 ($P < 0.05$) (图 2B)。通过对 TCGA 数据库中

的临床病理特征进行单因素与多因素 Cox 分析, 单因素 Cox 分析结果显示, 在 TCGA 数据库中, MTHFD1 的表达、肿瘤分期和肿瘤分级与胰腺癌患者预后相关 (均 $P < 0.05$); TCGA 数据库多因素 Cox 分析显示, MTHFD1 的表达和肿瘤分期是影响胰腺癌患者预后的独立因素 ($P < 0.05$) (表 1)。

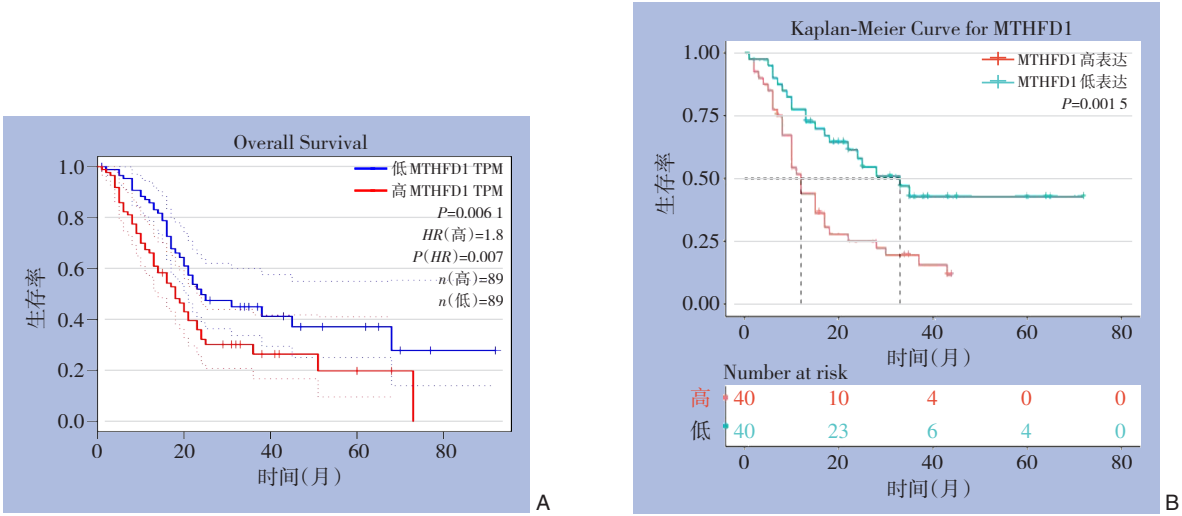


图2 MTHFD1表达与胰腺癌预后的关系 A: TCGA分析; B: 临床样本分析

Figure 2 Relationship between MTHFD1 expression and prognosis in pancreatic cancer A: TCGA analysis; B: Clinical sample analysis

表1 TCGA数据单多因素Cox回归分析

Table 1 Univariate and multivariate Cox regression analysis of TCGA data

变量	单因素		多因素	
	P	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)
性别	0.319	1.230(0.818~1.849)	—	—
年龄	0.230	1.285(0.853~1.937)	—	—
病理分期	0.004	2.161(1.287~3.627)	0.029	2.102(1.079~4.094)
肿瘤分级	0.032	2.349(1.077~5.123)	0.607	0.772(0.288~2.069)
MTHFD1	0.001	2.008(1.318~3.058)	0.010	1.777(1.150~2.748)

2.3 MTHFD1与肿瘤分期的关系

GEPIA2 在线平台对 TCGA 数据中的病理分期进行相关性分析，发现胰腺癌患者的病理分期与 MTHFD1 的表达相关 ($P<0.05$) (图 3)，对 TCGA 数据患者的临床病理特征进行分析，MTHFD1 表达与肿瘤分期相关 ($P=0.012$)，而与胰腺癌患者的年龄、性别、肿瘤分级、家族肿瘤史均无相关性 (均 $P>0.05$) (表 2)。80 例胰腺癌患者中，MTHFD1 高表达患者与胰腺癌分化程度、淋巴结转移、临床分期以及神经浸润显著相关 (均 $P<0.05$)，与胰腺癌患者性别、年龄、肿瘤最大径、是否发生脉管侵袭无明显相关性 (均 $P>0.05$) (表 3)。

2.4 MTHFD1在胰腺癌中相关机制分析

TCGA 数据库中，通过 Pearson 法获得与 MTHFD1 基因显著相关的基因进行 GO 和 KEGG 分析，在 GO 分析的分子功能 (BP) 中显示与细胞分裂和有丝分裂细胞周期有关 ($P<0.05$) (图 4A)；KEGG 分析结果显示与细胞周期有关 ($P<0.05$) (图 4B)。

GSEA 分析的结果同样也显示 MTHFD1 在胰腺癌中高表达时与细胞周期相关 ($P<0.05$) (图 4C)。此外，在 TCGA 数据中通过相关性热图对 MTHFD1 与细胞周期关键基因进行相关性分析，结果显示，MTHFD1 与细胞周期的关键基因具有高度相关性 ($P<0.05$) (图 4D)。

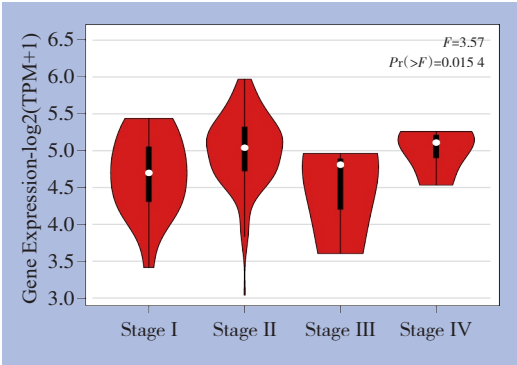


图3 MTHFD1表达与胰腺癌临床分期的关系

Figure 3 The relationship between MTHFD1 expression and clinical stage

表 2 TCGA 数据库分析 MTHFD1 表达与胰腺癌患者临床病理特征的关系[n (%)]

Table 2 Analysis of the relationship between MTHFD1 expression and clinicopathologic features of pancreatic cancer patients using the TCGA database [n (%)]

因素	高表达(n=88)	低表达(n=88)	P	
年龄(岁)			0.174	
<65	42(47.7)	51(58.0)		
≥65	46(52.3)	37(42.0)		
性别			0.880	
女	39(44.3)	40(45.5)		
男	49(55.7)	48(54.5)		
肿瘤分级			0.095	
G1~G2	58(65.9)	68(77.3)		
G3~G4	30(34.1)	20(22.7)		
肿瘤分期			0.012	
I~IIA	17(19.3)	32(36.4)		
IIB~IV	71(80.7)	56(63.6)		
肿瘤家族史			0.451	
无	46(52.3)	41(46.6)		
有	42(47.7)	47(53.4)		

表 3 80 例胰腺癌患者的 MTHFD1 表达与临床病理特征的关系[n (%)]

Table 3 Relationship between MTHFD1 expression and clinical pathological features in 80 pancreatic cancer patients [n (%)]

因素	高表达(n=42)	低表达(n=38)	χ^2	P
性别			0.164	0.685
男	24(57.1)	20(52.6)		
女	18(42.9)	18(47.4)		
年龄(岁)			1.637	0.201
≤60	14(33.3)	18(47.4)		
>60	28(6.7)	20(52.6)		
肿瘤最大径(cm)			0.222	0.638
<5	21(50.0)	17(44.7)		
≥5	21(50.0)	21(55.3)		
分化程度			7.218	0.007
高/中	15(35.7)	25(65.8)		
低	27(64.3)	13(34.2)		
淋巴结转移			5.440	0.020
无	19(45.2)	27(71.1)		
有	23(54.8)	11(28.9)		
脉管侵袭			0.042	0.837
无	20(47.6)	14(36.8)		
有	22(52.4)	24(63.2)		
临床分期			4.357	0.037
I~IIA	19(45.2)	26(68.4)		
IIB~IV	23(54.8)	12(31.6)		
神经浸润			5.895	0.015
无	21(50.0)	29(76.3)		
有	21(50.0)	9(23.7)		

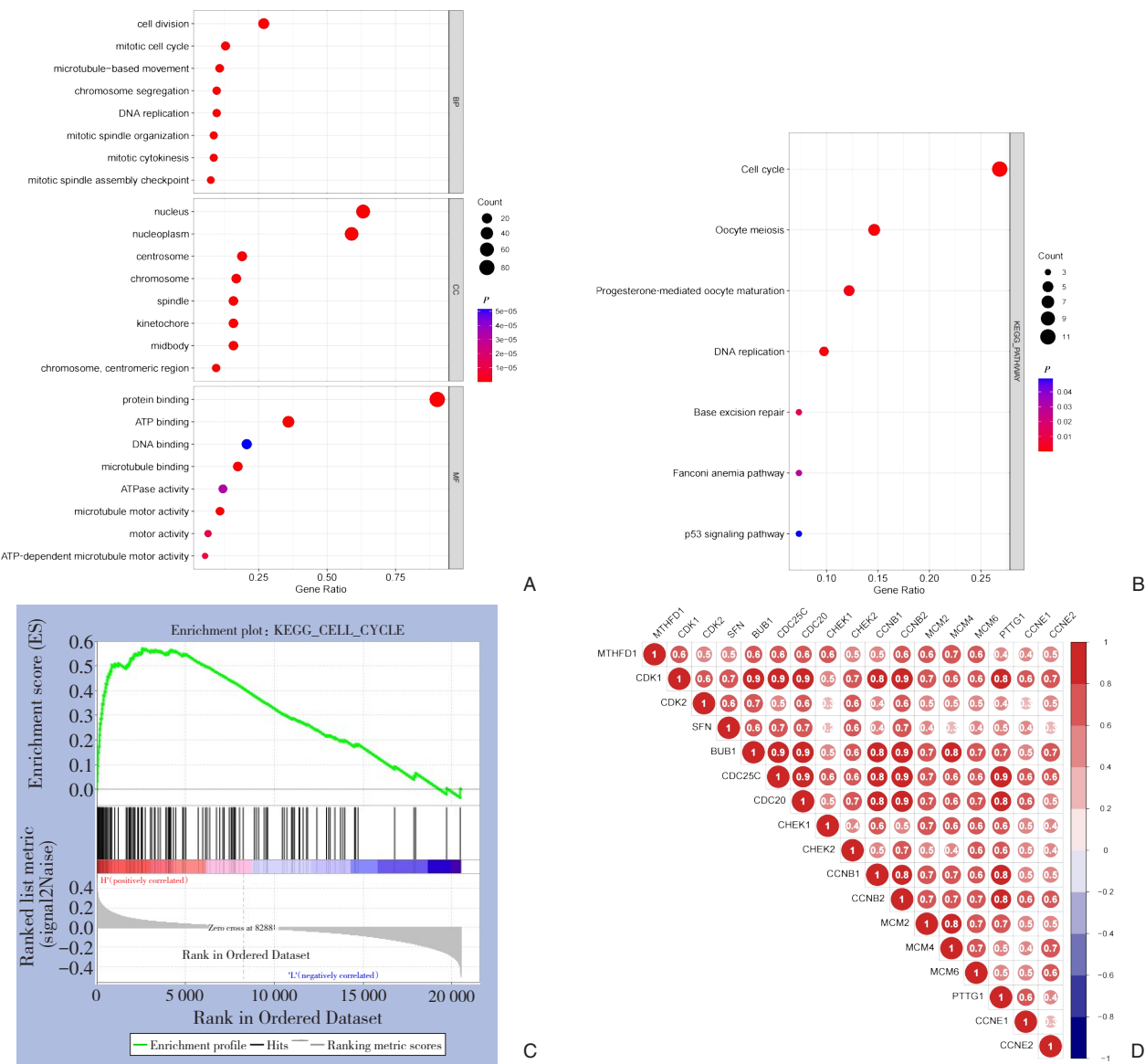


图4 MTHFD1表达与相关机制分析 A: GO分析; B: KEGG分析; C: GSEA分析; D: 相关性热图分析

Figure 4 Analysis of MTHFD1 expression and related mechanisms A: GO analysis; B: KEGG analysis; C: GSEA analysis; D: Correlation heatmap analysis

2.5 MTHFD1与胰腺癌免疫细胞浸润的关系

为探究MTHFD1表达与胰腺癌免疫细胞浸润的相关性，在TIMER数据库检索肿瘤免疫相互作用的分子特征，结果显示，MTHFD1转录表达与B细胞、CD8⁺ T细胞、CD4⁺ T细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞等免疫细胞呈正相关（图5）。

2.6 MTHFD1与治疗药物的敏感性的关系

为研究MTHFD1表达与治疗药物敏感性的关系，利用GDSC对常见的胰腺癌治疗药物进行了治

疗效果预测。结果共有五种常用药物（奥拉帕利、奥沙利铂、吉西他滨、顺铂、伊立替康）在MTHFD1高表达组与低表达组之间的IC₅₀估计值差异有统计学意义（均P<0.05）（图6）。

2.7 MTHFD1时间依赖性ROC曲线

ROC曲线分析结果显示，胰腺癌组织中MTHFD1预测患者术后1年生存率的曲线下面积（AUC）为0.644，2年生存率的AUC为0.693，5年生存率的AUC为0.741（图7）。

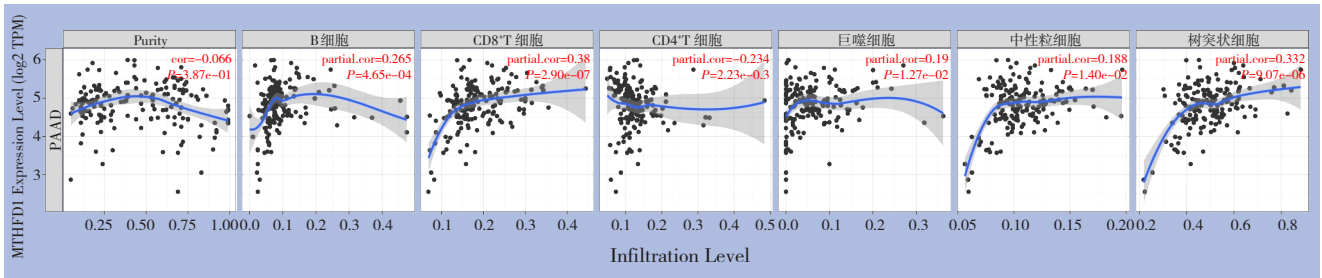


图 5 MTHFD1 与免疫浸润细胞分析
Figure 5 Analysis of MTHFD1 and immune infiltrating cells

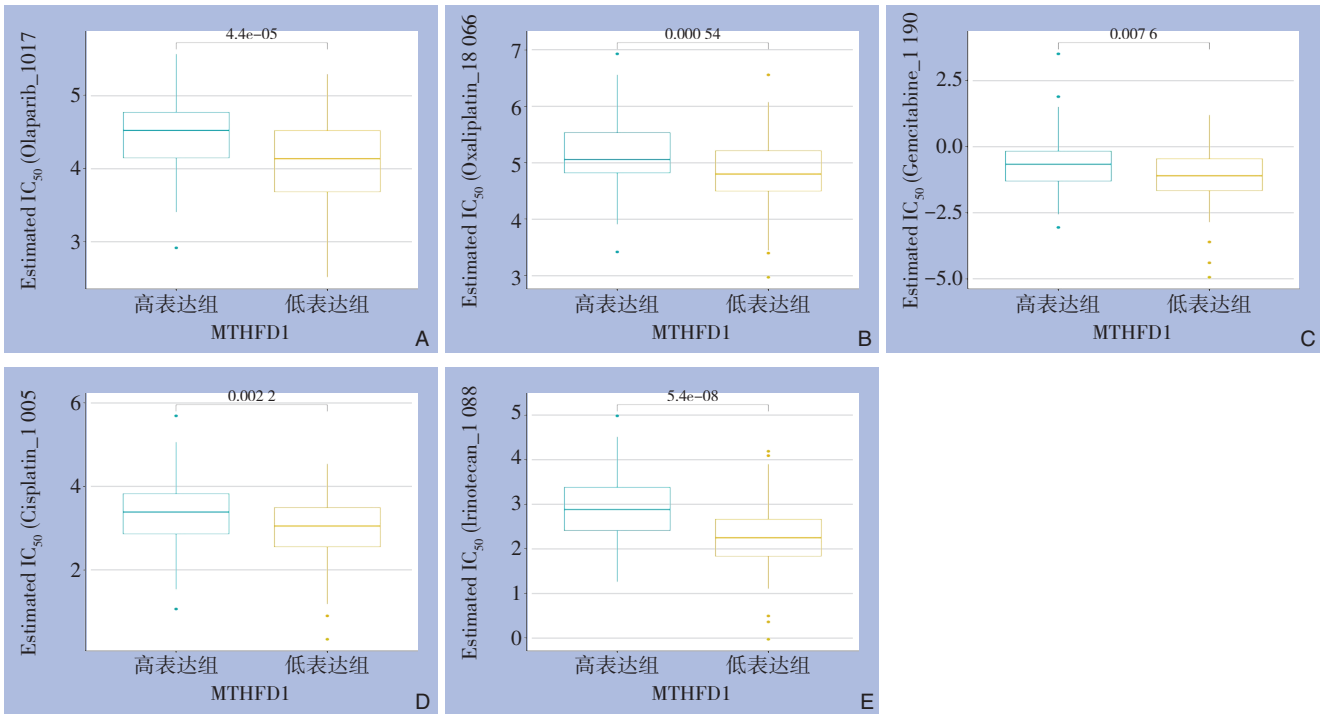


图 6 MTHFD1 表达和药物的 IC₅₀ 分析 A: 奥拉帕利; B: 奥沙利铂; C: 吉西他滨; D: 顺铂; E: 伊立替康
Figure 6 Analysis of MTHFD1 expression and drug IC₅₀ values A: Olaparib; B: Oxaliplatin; C: Gemcitabine; D: Cisplatin; E: Irinotecan

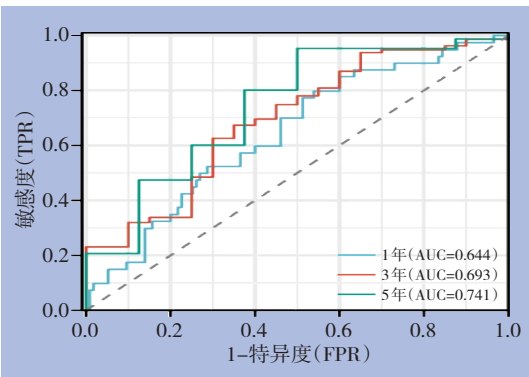


图 7 胰腺癌组织中 MTHFD1 预测患者术后生存率的 ROC 曲线
Figure 7 ROC curve of MTHFD1 in pancreatic cancer tissues predicting postoperative survival rates of patients

3 讨论

胰腺癌是一种高度恶性的消化道疾病，早期筛查诊断难度大，治疗成功率低，并且是所有恶性肿瘤中预后最差的一种^[14-15]。局限性或临界可切除的胰腺癌仅占 10%~20%，通过手术干预，患者的 5 年生存率为 15%~25%^[16-17]。外科手术与辅助化疗相结合仍是目前治疗胰腺癌的主要方式^[18]。虽然靶向治疗和免疫疗法已成为多种恶性肿瘤治疗的主要方法，但对于胰腺癌，仍旧缺少敏感的一线非化疗手段^[19]。因此，寻找新的治疗靶点对于丰富胰腺癌患者治疗手段有重要意义。

本研究显示，TCGA 数据集中，MTHFD1 表达

量在胰腺癌组织中明显高于癌旁组织；高表达患者的预后明显差于低表达患者。通过检测 80 例胰腺癌手术标本，MTHFD1 表达量在胰腺癌组织中明显高于癌旁组织，高表达患者的生存时间缩短，与数据库中的结果相一致。此外，MTHFD1 表达与临床分期、淋巴结转移、分化程度以及神经浸润密切相关。利用 GO 分析、KEGG 分析和 GSEA 分析结果均富集到细胞周期，且相关性热图也表明 MTHFD1 与细胞周期的关键蛋白高度相关。研究^[20]表明，人体内半胱氨酸是合成谷胱甘肽的天然成分，主要来源于细胞内丝氨酸-叶酸代谢和蛋氨酸的转化。富马酸二甲酯被用于治疗多发性硬化症、银屑病治疗和缓解复发性疾病^[21-23]，近来发现可以对胰腺癌细胞增殖有抑制作用，通过对生物信息学检索并且验证表明，富马酸二甲酯与 MTHFD1 和 NADPH 的活性域结合，L-半胱氨酸可以对结合过程进行阻断，表明 MTHFD1 可能是富马酸二甲酯的潜在下游靶点；并且实验得出，MTHFD1 在胰腺癌患者中高表达，并且与患者的总生存率呈负相关^[24]，与本研究结果相一致。

胰腺肿瘤基质丰富，但肿瘤微环境中缺乏淋巴细胞浸润，且大多数淋巴细胞处于耗竭状态，导致胰腺癌对大多数靶向治疗和免疫治疗的反应不佳，是典型“冷”肿瘤之一^[25]。胰腺癌组织中的肿瘤细胞与其肿瘤微环境互相调控，促进胰腺癌细胞侵袭、转移和复发^[26]。检索 TIMER 数据库中 MTHFD1 转录表达水平与 B 细胞、CD8⁺ T 细胞及树突状细胞呈正相关，与其不良预后相关。此外，研究^[27]表明，肿瘤细胞侵袭胰腺内神经称为神经浸润，可以促进疼痛和肿瘤转移，某些恶性肿瘤的神经浸润发生率较高，而胰腺癌的神经浸润发生率高达 80%。本研究得出 MTHFD1 的表达与胰腺癌神经浸润密切相关，表明 MTHFD1 与胰腺癌不良预后明显相关；类似的研究在 MTHFD1 过表达的肝细胞肝癌的患者中，同样存在不良预后。

免疫检查点抑制剂联合化疗以及靶向治疗，晚期胰腺癌患者疾病控制率 77%，中位生存期可达 7.8 个月，表明免疫治疗和靶向治疗、化疗联合应用对胰腺癌治疗的有效性^[28]。药物治疗敏感性预测结果显示 MTHFD1 低表达组患者的药物敏感性更高，表明 MTHFD1 低表达患者通过药物治疗的预后可能优于高表达患者；MTHFD1 可能在胰腺癌肿瘤微环境免疫应答中发挥着重要作用，并为胰腺癌患者化疗方案的选择提供一定的参考依据。

叶酸代谢过程通过改变基因组稳定性和 DNA 甲基化诱导细胞癌变，其关键酶的基因多态性通过改变酶活性，干扰高半胱氨酸和 S-腺苷甲硫氨酸 (SAM) 合成，参与 DNA 合成过程和细胞甲基化反应^[29]。研究^[30]表明，1958G>A 突变的单核苷酸多态性，即 1958G>A 突变，导致精氨酸突变为谷氨酰胺，与人类对多种疾病的易感性相关。MacFarlane 等^[31]研究结果显示，MTHFD1 1958GA 或 AA 基因型突变存在于恶性肿瘤晚期患者 ($P=0.04$) 和生存期较短的患者 ($P=0.03$) 中，提示 MTHFD1 的基因多态性可能参与肿瘤的发展过程，其具体的作用机制值得进一步探究。

综上所述，MTHFD1 在胰腺癌组织中表达上调，高表达患者的预后更差，其可能通过细胞周期参与胰腺癌的发生、发展的过程，并与胰腺癌免疫细胞浸润有关，有望成为判断胰腺癌预后的重要指标。后续仍需临床大样本及细胞、动物实验验证其具体作用机制。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：张功铭负责采集及数据，文章撰写；刘毅负责生物信息学和统计分析数据；胡伟负责对文章的知识性内容作批评性审阅及项目研究经费；杜生旺负责分析数据和审核稿件。

参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1):7-30. doi:10.3322/caac.21590.
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660.
- [3] 李铭旭, 仲成成, 张功铭, 等. DEP 结构域蛋白质 1B 在胰腺癌中的表达及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(3):261-268. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.003.
- [4] Li MX, Zhong CC, Zhang GM, et al. Expression of DEP domain protein 1B in pancreatic cancer and its clinical significance[J]. China Journal of General Surgery, 2021, 30(3): 261-268. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2021.03.003.
- [5] Raufi AG, Liguori NR, Carlsen L, et al. Therapeutic targeting of autophagy in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:751568. doi:10.3389/fphar.2021.751568.
- [6] 秦雯, 陈泰文, 郑海平, 等. 胰腺癌组织中 SOX4 和 E-cadherin 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(10):1160-

1165. doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2021.10.003.
- Qin W, Chen TW, Zheng HP, et al. Expression of SOX4 and E-cadherin in pancreatic carcinoma and their clinical significance[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2021, 37(10):1160–1165. doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2021.10.003.
- [6] 高慧婕, 李倩, 田斌, 等. 牛磺酸对胰腺癌细胞系 BxPC-3 和 PANC-1 细胞增殖、凋亡和迁移的影响[J]. 天津医药, 2023, 51(7): 707–712. doi:10.11958/20221545.
- Gao HJ, Li Q, Tian B, et al. Effects of taurine on proliferation, apoptosis and migration of human pancreatic cancer cell lines BxPC-3 and PANC-1[J]. Tianjin Medical Journal, 2023, 51(7):707–712. doi:10.11958/20221545.
- [7] 彭勇, 崔建华, 赵新华, 等. MTHFD1 基因多态性与大肠癌遗传易感性的研究[J]. 中国现代医生, 2014, 52(23):1–3.
- Peng Y, Cui JH, Zhao XH, et al. Research of MTHFD1 gene polymorphism with genetic susceptibility to colorectal cancer[J]. China Modern Doctor, 2014, 52(23):1–3.
- [8] Yu H, Wang H, Xu HR, et al. Overexpression of MTHFD1 in hepatocellular carcinoma predicts poorer survival and recurrence[J]. Future Oncol, 2019, 15(15):1771–1780. doi:10.2217/fon-2018-0606.
- [9] Pawlik P, Mostowska A, Lianeri M, et al. Folate and choline metabolism gene variants in relation to ovarian cancer risk in the Polish population[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(5):5553–5560. doi:10.1007/s11033-011-1359-0.
- [10] Silva LM, Silva JN, Galbiatti AL, et al. Head and neck carcinogenesis: impact of MTHFD1 G1958A polymorphism[J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2011, 57(2):194–199. doi:10.1590/s0104-42302011000200018.
- [11] Zhang H, Ma H, Li L, et al. Association of methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 polymorphisms with cancer: a meta-analysis[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e69366. doi:10.1371/journal.pone.0069366.
- [12] Rao K, Zheng K, Zhao Q, et al. The negative effect of G1958A polymorphism on MTHFD1 protein stability and HCC growth[J]. Cell Oncol (Dordr), 2023, 46(3): 735–744. doi:10.1007/s13402-023-00780-2.
- [13] Ding K, Jiang J, Chen L, et al. Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 silencing expedites the apoptosis of non-small cell lung cancer cells via modulating DNA methylation[J]. Med Sci Monit, 2018, 24:7499–7507. doi:10.12659/MSM.910265.
- [14] 魏伟, 欧政林, 窦晓琳, 等. 基于机器学习的胰腺癌特征基因筛选初步研究[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(9):1203–1209. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.009.
- Wei W, Ou ZL, Dou XL, et al. Machine learning-based feature gene screening of pancreatic cancer[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(9): 1203–1209. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.09.009.
- [15] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1):7–34. doi:10.3322/caac.21551.
- [16] Strobel O, Neoptolemos J, Jäger D, et al. Optimizing the outcomes of pancreatic cancer surgery[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(1): 11–26. doi:10.1038/s41571-018-0112-1.
- [17] Conroy T, Pfeiffer P, Vilgrain V, et al. Pancreatic cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up[J]. Ann Oncol, 2023, 34(11): 987–1002. doi:10.1016/j.annonc.2023.08.009.
- [18] 阮万百, 李俊峰, 尹艳梅, 等. 胰腺癌靶向治疗及免疫治疗的研究新进展[J]. 中国全科医学, 2024. doi:13.1222.R.20240822.1628.014.
- Ruan WB, Li JF, Yin YM, et al. Research Progress of Targeted Therapy and Immunotherapy for Pancreatic Cancer[J]. Chinese General Practice, 2024. doi:13.1222.R.20240822.1628.014.
- [19] Tempero MA, Malafa MP, Al-Hawary M, et al. Pancreatic adenocarcinoma, version 2.2021, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2021, 19(4): 439–457. doi:10.6004/jnccn.2021.0017.
- [20] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394–424. doi:10.3322/caac.21492.
- [21] Papadopoulou A, D'Souza M, Kappos L, et al. Dimethyl fumarate for multiple sclerosis[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2010, 19(12): 1603–1612. doi:10.1517/13543784.2010.534778.
- [22] Xu Z, Zhang F, Sun FL, et al. Dimethyl fumarate for multiple sclerosis[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 2015(4): CD011076. doi:10.1002/14651858.CD011076.pub2.
- [23] Gold R, Kappos L, Arnold DL, et al. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis[J]. N Engl J Med, 2012, 367(12):1098–1107. doi:10.1056/NEJMoa1114287.
- [24] Chen K, Wu S, Ye S, et al. Dimethyl fumarate induces metabolic crisis to suppress pancreatic carcinoma[J]. Front Pharmacol, 2021, 12:617714. doi:10.3389/fphar.2021.617714.
- [25] Krishnamoorthy M, Lenehan JG, Burton JP, et al. Immunomodulation in pancreatic cancer[J]. Cancers, 2020, 12(11): 3340. doi:10.3390/cancers12113340.
- [26] Makohon-Moore A, Iacobuzio-Donahue CA. Pancreatic cancer biology and genetics from an evolutionary perspective[J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(9):553–565. doi:10.1038/nrc.2016.66.
- [27] Xu WC, Liu JZ, Zhang JL, et al. Tumor microenvironment crosstalk between tumors and the nervous system in pancreatic cancer: molecular mechanisms and clinical perspectives[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2024, 1879(1): 189032. doi:10.1016/j.bbcan.2023.189032.
- [28] Oweida AJ, Mueller AC, Piper M, et al. Response to radiotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma is enhanced by inhibition of myeloid-derived suppressor cells using STAT3 anti-sense oligonucleotide[J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70(4):989–

1000. doi:[10.1007/s00262-020-02701-w](#).

2011, 32(3):427–433. doi:[10.1093/carcin/bgq270](#).

[29] Tibbetts AS, Appling DR. Compartmentalization of Mammalian folate-mediated one-carbon metabolism[J]. Annu Rev Nutr, 2010, 30:57–81. doi:[10.1146/annurev.nutr.012809.104810](#).

[30] Christensen KE, Rohlicek CV, Andelfinger GU, et al. The MTHFD1 p. Arg653Gln variant alters enzyme function and increases risk for congenital heart defects[J]. Hum Mutat, 2009, 30(2):212–220. doi:[10.1002/humu.20830](#).

[31] MacFarlane AJ, Perry CA, McEntee MF, et al. Mthfd1 is a modifier of chemically induced intestinal carcinogenesis[J]. Carcinogenesis,

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:张功铭,刘毅,胡伟,等. 亚甲基四氢叶酸脱氢酶1在胰腺癌中的表达及临床意义[J]. 中国普通外科杂志, 2024, 33(9): 1488–1498. doi:[10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.016](#)

Cite this article as: Zhang GM, Liu Y, Hu W, et al. Expression of methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 in pancreatic cancer and its clinical significance[J]. Chin J Gen Surg, 2024, 33(9):1488–1498. doi:[10.7659/j.issn.1005-6947.2024.09.016](#)

本刊常用词汇英文缩写表

C-反应蛋白	CRP	甲型肝炎病毒	HAV	心电图	ECG
Toll样受体	TLRs	碱性成纤维细胞转化生长因子	bFGF	心脏监护病房	CCU
氨基末端激酶	JNK	聚合酶链反应	PCR	血管紧张素Ⅱ	AngⅡ
白细胞	WBC	抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	ABC法	血管内皮生长因子	VEGF
白细胞介素	IL	辣根过氧化物酶	HRP	血管性血友病因子	vWF
半数抑制浓度	IC ₅₀	链霉抗生物素蛋白-生物素酶复合物法	SABC法	血红蛋白	Hb
变异系数	CV	磷酸盐缓冲液	PBS	血肌酐	SCr
标记的链霉抗生物素蛋白-生物素法	SP法	绿色荧光蛋白	GFP	血小板	PLT
表皮生长因子	EGF	酶联免疫吸附测定	ELISA	血压	BP
丙氨酸氨基转移酶	ALT	美国食品药品监督管理局	FDA	血氧饱和度	SO ₂
丙二醛	MDA	脑电图	EEG	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	NADPH
丙型肝炎病毒	HCV	内毒素/脂多糖	LPS	严重急性呼吸综合征	SARS
超氧化物歧化酶	SOD	内皮型一氧化氮合酶	eNOS	一氧化氮	NO
磁共振成像	MRI	内生肌酐清除率	CCr	一氧化氮合酶	NOS
极低密度脂蛋白胆固醇	VLDL-C	尿素氮	BUN	乙二胺四乙酸	EDTA
低密度脂蛋白胆固醇	LDL-C	凝血酶时间	TT	乙酰胆碱	ACh
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	凝血酶原时间	PT	乙型肝炎病毒	HBV
动脉血氧分压	PaO ₂	牛血清白蛋白	BSA	乙型肝炎病毒e抗体	HBeAb
二甲基亚砜	DMSO	热休克蛋白	HSP	乙型肝炎病毒e抗原	HBeAg
反转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	乙型肝炎病毒表面抗体	HBsAb
辅助性T细胞	Th	人绒毛膜促性腺激素	HCG	乙型肝炎病毒表面抗原	HBsAg
肝细胞生长因子	HGF	三磷酸腺苷	ATP	乙型肝炎病毒核心抗体	HBeAb
干扰素	IFN	三酰甘油	TG	乙型肝炎病毒核心抗原	HBeAg
高密度脂蛋白胆固醇	HDL-C	生理氯化钠溶液	NS	异硫氰酸荧光素	FLTC
谷胱甘肽	GSH	世界卫生组织	WHO	诱导型一氧化氮合酶	iNOS
固相pH梯度	IPG	双蒸水	ddH ₂ O	原位末端标记法	TUNEL
核糖核酸	RNA	丝裂原活化蛋白激酶	MAPK	杂合性缺失	LOH
核因子-κB	NF-κB	四甲基偶氮唑盐微量酶反应	MTT	增强化学发光法	ECL
红细胞	RBC	苏木精-伊红染色	HE	肿瘤坏死因子	TNF
红细胞沉降率	ESR	胎牛血清	FBS	重症监护病房	ICU
环氧化酶-2	COX-2	体质量指数	BMI	转化生长因子	TGF
活化部分凝血活酶时间	APTT	天门冬氨酸氨基转移酶	AST	自然杀伤细胞	NK细胞
活性氧	ROS	脱氧核糖核酸	DNA	直接胆红素	DBIL
获得性免疫缺陷综合征	AIDS	细胞间黏附分子	ICAM	总胆固醇	TC
肌酐	Cr	细胞外基质	ECM	总胆红素	TBIL
基质金属蛋白酶	MMP	细胞外调节蛋白激酶	ERK		
计算机X线断层照相技术	CT	纤连蛋白	FN		