

M2型巨噬细胞来源的XBP1调控SREBP2对结直肠癌细胞奥沙利铂耐药性的影响

赵斌¹, 刘继攀¹, 张丽^{2*}, 刘亚彬³

¹衡水市人民医院肛肠和小儿外科, 河北衡水 053000; ²衡水学院化学系, 河北衡水 053010; ³河北医科大学第四医院普二科, 河北石家庄 050011

[中图分类号] R735.3 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1844.2025.1230

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 赵斌, 刘继攀, 张丽, 等. M2型巨噬细胞来源的XBP1调控SREBP2对结直肠癌细胞奥沙利铂耐药性的影响[J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(3): 372-380.

[收稿日期] 2024-11-05 [录用日期] 2025-12-16 [上线日期] 2025-12-30

[摘要] 目的 探讨M2型巨噬细胞来源的X-box结合蛋白1(XBP1)调控固醇调节元件结合蛋白2(SREBP2)对结直肠癌(CRC)细胞奥沙利铂(Ox)耐药性的影响。方法 将HCT116、SW480和LoVo细胞置于Ox培养液中培养48 h, 选取对Ox最敏感的细胞系, 采用药物浓度递增法建立CRC-Ox耐药细胞系。分别采用M0条件培养基(M0-CM)和M2-CM处理Ox亲本敏感细胞(HCT116-S)和Ox耐药细胞(HCT116-R), 观察M0-CM和M2-CM对两种细胞的影响, 根据处理情况将其分为M0-CM+HCT116-S组、M2-CM+HCT116-S组、M0-CM+HCT116-R组、M2-CM+HCT116-R组。为研究M2型巨噬细胞中XBP1激活对HCT116细胞生长和Ox耐药的影响, 将HCT116-R细胞分为过表达阴性对照M2-CM组(M2^{oe-NC}-CM组)、M2^{oe-NC}-CM+Ox组、过表达XBP1 M2-CM组(M2^{oe-XBP1}-CM组)、M2^{oe-XBP1}-CM+Ox组。为研究敲减SREBP2对HCT116-R细胞的影响, 将HCT116-R细胞分为正常对照组、SREBP2小干扰RNA组(si-SREBP2组)、M2^{oe-XBP1}-CM组、si-SREBP2+M2^{oe-XBP1}-CM组。采用CCK-8法、Transwell实验、流式细胞术检测各组细胞活力、侵袭能力、凋亡情况, qRT-PCR检测细胞中SREBP2 mRNA表达水平, Western blotting检测细胞中XBP1和SREBP2蛋白表达水平。将转染空载体或oe-XBP1的M2型巨噬细胞和HCT116细胞接种于裸鼠皮下构建裸鼠成瘤动物模型, 比较各组肿瘤体积与重量, 免疫组化染色检测肿瘤中XBP1和SREBP2的表达水平。结果 CCK-8法检测结果显示, 与SW480和LoVo细胞相比, Ox可明显抑制HCT116细胞的活力($P<0.05$)。与M0-CM+HCT116-S组相比, M2-CM+HCT116-S组细胞活力、侵袭能力明显升高, 细胞凋亡率明显降低($P<0.05$); 与M0-CM+HCT116-R组相比, M2-CM+HCT116-R组细胞活力、侵袭能力明显升高, 细胞凋亡率明显降低($P<0.05$)。与M0-CM+HCT116-R组相比, M2-CM+HCT116-R组细胞中XBP1蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。与M2^{oe-NC}-CM组比较, M2^{oe-XBP1}-CM组细胞活力和侵袭能力增高, 细胞凋亡率降低($P<0.05$)。与M2^{oe-NC}-CM+Ox组相比, 过表达XBP1可明显提高SREBP2 mRNA和蛋白表达水平($P<0.05$)。与正常对照组比较, si-SREBP2组细胞活力和侵袭能力降低($P<0.05$), 细胞凋亡率增高($P<0.05$)。与M2^{oe-XBP1}-CM组相比, si-SREBP2+M2^{oe-XBP1}-CM组细胞活力和侵袭能力降低($P<0.05$), 细胞凋亡率增高($P<0.05$)。体内实验表明, 过表达XBP1可逆转Ox对肿瘤生长的抑制($P<0.05$), 上调SREBP2的表达($P<0.05$)。结论 M2型巨噬细胞来源的XBP1通过激活SREBP2促进CRC细胞的Ox耐药性。

[关键词] M2型巨噬细胞; X-box结合蛋白1; 结直肠癌; 奥沙利铂

Effects of M2-type macrophage-derived XBP1 on oxaliplatin resistance in colorectal cancer cells by regulating SREBP2

Zhao Bin¹, Liu Ji-Pan¹, Zhang Li^{2*}, Liu Ya-Bin³

¹Department of Anorectal and Pediatric Surgery, Hengshui People's Hospital, Hengshui, Hebei 053000, China

²Department of Chemistry, Hengshui University, Hengshui, Hebei 053010, China

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划项目(20221233); 衡水学院校级课题重点项目(2024ZRZ03)

[作者简介] 赵斌, 硕士研究生, 副主任医师, 主要从事结直肠癌诊断与治疗方面的研究

[通信作者] 张丽, E-mail: ziyuting0310@163.com

³Department of General Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050011, China

*Corresponding author, E-mail: ziyuting0310@163.com

This work was supported by the Hebei Medical Science Research Project (20221233), and the Hengshui University University-level Key Project (2024ZRZ03)

[Abstract] Objective To investigate the impact of X-box binding protein 1 (XBP1) derived from M2-type macrophages on oxaliplatin (Ox) resistance in colorectal cancer (CRC) cells by modulating sterol regulatory element binding protein 2 (SREBP2). **Methods** HCT116, SW480, and LoVo cells were cultured in Ox-containing medium for 48 h. The cell line that was most sensitive to Ox was selected, and the CRC-Ox resistant cell line was established by the method of gradually increasing drug concentration. Ox-sensitive parental cells (HCT116-S) and Ox-resistant cells (HCT116-R) were treated with M0-conditioned medium (M0-CM) and M2-CM, respectively, to observe the effects of M0-CM and M2-CM on the cells. According to the treatment conditions, the cells were divided into M0-CM+HCT116-S group, M2-CM+HCT116-S group, M0-CM+HCT116-R group, and M2-CM+HCT116-R group. To study the effect of XBP1 activation in M2-type macrophages on the growth and OX-resistance of HCT116 cells, HCT116-R cells were divided into overexpression negative control (oe-NC) M2-CM group (M2^{oe-NC}-CM group), M2^{oe-NC}-CM+Ox group, XBP1 overexpression M2-CM group (M2^{oe-XBP1}-CM group), and M2^{oe-XBP1}-CM+Ox group. To study the effect of SREBP2 knockdown on HCT116-R cells, HCT116-R cells were divided into normal control group, SREBP2 small interference RNA group (si-SREBP2 group), M2^{oe-XBP1}-CM group, and si-SREBP2+M2^{oe-XBP1}-CM group. CCK-8 assay was used to detect the viability of HCT116 cells in each group. The invasion capacity of CRC cells was detected by Transwell assay. Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate. The mRNA level of SREBP2 was detected by qRT-PCR. The protein expression levels of XBP1 and SREBP2 were detected by Western blotting. M2-type macrophages and HCT116 cells transfected with empty vector or oe-XBP1 were subcutaneously inoculated into nude mice to construct a tumor-bearing nude mouse model. The tumor volume and weight were compared among groups, and the expression levels of XBP1 and SREBP2 in tumors were detected by immunohistochemical staining. **Results** The results of CCK-8 assay showed that, compared with SW480 and LoVo cell lines, Ox could significantly inhibit the viability of HCT116 cells ($P<0.05$). Compared with M0-CM+HCT116-S group, cell viability and invasion capacity in M2-type-CM+HCT116-S group were significantly increased, while the apoptosis rate was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with M0-CM+HCT116-R group, cell viability and invasion capacity in M2-CM+HCT116-R group were significantly increased, while the apoptosis rate was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with M0-CM+HCT116-R group, the XBP1 protein expression level in cells of M2-CM+HCT116-R group was notably increased ($P<0.05$). Compared with M2^{oe-NC}-CM group, cell viability and invasion capacity in M2^{oe-XBP1}-CM group were significantly increased, and the apoptosis rate was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with M2^{oe-NC}-CM+Ox group, overexpression of XBP1 significantly increased the expression levels of SREBP2 mRNA and protein ($P<0.05$). Compared with control group, cell viability and invasion capacity were decreased, while the apoptosis rate was significantly increased in si-SREBP2 group ($P<0.05$). Compared with M2^{oe-XBP1}-CM group, the cell viability and invasion capacity in si-SREBP2+M2^{oe-XBP1}-CM group were decreased, and cell apoptosis was increased ($P<0.05$). *In vivo* experimental results showed that overexpression of XBP1 reversed the inhibition of Ox on tumor growth and upregulated SREBP2 protein expression in nude mice ($P<0.05$). **Conclusion** XBP1 derived from M2-type macrophages significantly enhances Ox resistance in CRC cells by activating SREBP2.

[Key words] M2 macrophages; X-box binding protein 1; colorectal cancer; oxaliplatin

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)作为全球范围内最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率均居高不下^[1-3]。随着医学研究的不断深入,化疗已成为CRC综合治疗的重要手段^[4]。奥沙利铂(oxaliplatin, Ox)作为第3代铂类化疗药物,在CRC治疗中的应用日益广泛^[5]。而在临床实践中,Ox耐药性严重影响CRC患者疗效^[6]。因此,探索Ox耐药机制及其潜在干预靶点对改善CRC患者的预后和提高整体治疗效果具有重要临床价值和现实意义。

目前肿瘤微环境在肿瘤耐药机制中的作用备受关注^[7]。巨噬细胞作为肿瘤微环境的重要组成部分,与肿瘤耐药密切相关^[8-9],其可分为M1型和M2型,M2型巨噬细胞在肿瘤进展、血管生成、免疫抑制及

化疗耐药等方面发挥着重要作用^[10-11]。X-box结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)作为关键性转录因子,参与调控多种细胞生理过程,包括内质网应激、脂质代谢、免疫反应等,其表达上调可促进CRC细胞的增殖^[12]。同时,XBP1在M2型巨噬细胞中高表达^[13],因此,M2型巨噬细胞来源的XBP1可能参与CRC细胞的增殖。作为XBP1的下游因子之一,固醇调节元件结合蛋白2(sterol regulatory element binding protein 2, SREBP2)可促进CRC、肝癌、膀胱癌等多种癌症的发展^[14-15],与未剪接的XBP1共同参与肿瘤细胞的代谢重编程,通过调节胆固醇的生物合成促进癌细胞的生长和侵袭^[16-17]。此外,SREBP2抑制剂通过抑制SREBP2活性,降低肝癌细胞的耐药性,提

高化疗药物疗效^[18]。但M2型巨噬细胞来源的XBP1是否能够通过调节SREBP2进而影响CRC细胞耐药仍未被揭示。本研究旨在深入探讨M2型巨噬细胞来源的XBP1是否可通过调控SREBP2的表达,影响CRC细胞对Ox的耐药性,以期为CRC的化疗耐药提供新的治疗思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料 本研究获衡水市人民医院伦理审批(2021KY174)。本研究用人类CRC细胞系HCT116、SW480、LoVo购自American Type Culture Collection; THP-1巨噬细胞购自中国科学院上海细胞库; BABL/c裸鼠购自北京维通达生物技术有限公司[生产许可证号: SCXK(京)2023-0014]; 胎牛血清、1%青霉素-链霉素、RPMI-1640培养基购自美国Hyclone公司; XBP1过表达载体质粒、si-SREBP2购自广州市锐博生物科技有限公司; Lipofectamine 3000细胞转染试剂盒、大容量cDNA反转录试剂盒(4368813)购自美国Thermo Fisher Scientific公司; CCK-8试剂盒(HY-K0301)购自美国MedChemExpress公司; Transwell小室购自美国康宁公司; Annexin V-FITC/丙吡啶碘化物(PI)凋亡试剂盒(40302ES20)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司; RIPA裂解液(abP0013B)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0009)、ECL化学发光试剂盒(P0018S)购自上海碧云天生物技术有限公司; 一抗XBP1(ab37152)、SREBP2(ab30682)及山羊抗兔IgG H&L (HRP)二抗(ab6721)购自美国Abcam公司; Trizol试剂盒(12183555)购自美国Invitrogen公司; 结晶紫溶液(G1062)购自北京索莱宝科技有限公司; 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。微孔板读数器(Synergy HT ZX-22)购自美国佛蒙特州生物泰克仪器公司; 流式细胞仪(Accuri™ C6 Plus)购自美国BD Biosciences公司; 显微镜(IX73P2F)购自日本Olympus公司。

1.2 Ox耐药细胞株筛选 将HCT116、SW480和LoVo细胞置于含有Ox(浓度为0.1 μg/ml)的培养液中,于37℃、5% CO₂的恒温培养箱中培养48 h。采用CCK-8法检测0、5、10、15、20 h时的细胞活力,选取对Ox最敏感的细胞系用于后续研究。

1.3 CRC-Ox耐药细胞系的建立 通过药物浓度递增法将Ox添加到含亲本敏感细胞(HCT116-S)培养物的培养基中,以产生对Ox耐药的HCT116-R细胞株。具体步骤:将HCT116细胞置于含递增浓度(0~4 μg/ml)Ox的培养基中,持续6个月。将生长状态良好的HCT116-R细胞传代培养进行后续研究。

1.4 诱导巨噬细胞极化 将处于对数生长期的THP-1细胞离心,使用RPMI-1640培养基重悬。加入佛波

酯(phorbol ester, PMA)调整细胞密度为5×10⁵个/ml, PMA终浓度为100 ng/ml。将细胞接种于6孔板中,于37℃、5% CO₂条件下培养48 h,诱导细胞分化为M0型巨噬细胞。加入IL-4(20 ng/ml)和IL-13(20 ng/ml),于37℃、5% CO₂条件下继续培养48 h以上,诱导M0型巨噬细胞向M2型极化。

1.5 条件培养基(conditional medium, CM)的制备 将M0型、M2型巨噬细胞分别使用无血清的培养基培养24 h,收集上清液与含有10% FBS的培养基以1:1体积混合,制备成M0-CM和M2-CM培养基。备存于-20℃冰箱中。

1.6 细胞分组及处理 HCT116-S和HCT116-R细胞置于M0-CM和M2-CM培养基中分别进行培养,分为M0-CM+HCT116-S组、M2-CM+HCT116-S组、M0-CM+HCT116-R组、M2-CM+HCT116-R组,比较M0型和M2型巨噬细胞对CRC细胞生物学行为的影响。

为研究M2型巨噬细胞中XBP1激活对HCT116细胞生长和Ox耐药的影响,将HCT116-R细胞分为过表达阴性对照M2-CM组(M2^{oe-NC}-CM组,在M2型巨噬细胞中转染oe-NC,制成CM后与HCT116-R细胞共同培养)、M2^{oe-NC}-CM+Ox组(在M2型巨噬细胞中转染oe-NC,制成CM后与4 μg/ml Ox处理的HCT116-R细胞共同培养)、过表达XBP1 M2-CM组(M2^{oe-XBP1}-CM组,在M2型巨噬细胞中转染XBP1过表达质粒,制成CM后与HCT116-R细胞共同培养)、M2^{oe-XBP1}-CM+Ox组(在M2型巨噬细胞中转染XBP1过表达质粒,制成CM后与4 μg/ml Ox处理的HCT116-R细胞共同培养)。

为研究敲减SREBP2对HCT116-R细胞的影响,将HCT116-R细胞分为正常对照组(HCT116-R细胞不做处理)、SREBP2小干扰RNA组(si-SREBP2组, HCT116-R细胞转染si-SREBP2)、M2^{oe-XBP1}-CM组(在M2型巨噬细胞中转染XBP1过表达质粒,制成CM后与HCT116-R细胞共同培养)、si-SREBP2+M2^{oe-XBP1}-CM组(在M2型巨噬细胞中转染XBP1过表达质粒,制成CM后被转染si-SREBP2的HCT116-R细胞共同培养)。oe-NC、oe-XBP1、si-SREBP2转染使用Lipofectamine 3000细胞转染试剂盒完成,具体步骤依据试剂盒说明书进行。

1.7 CCK-8法检测HCT116细胞增殖活性 将各组HCT116细胞(5×10³个/孔)接种至96孔板中。培养48 h后,弃掉原培养基,加入10 μl/孔的CCK-8试剂,于37℃下孵育1 h。使用微孔板读数器测量450 nm波长下的吸光度值。

1.8 Transwell实验检测HCT116细胞侵袭能力 将各组HCT116细胞(1×10⁶个/孔, 200 μl)加入涂有

Matrigel 包被膜的 Transwell 小室上腔中，下腔中注入 400 μl 含 10% FBS 的全培养基。37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 条件下孵育 24 h。4% 多聚甲醛溶液固定细胞 15 min，0.2% 结晶紫染色 8 min。用棉签去除培养基中漂浮的细胞（未侵入膜）。观察 Transwell 小室下腔 5 个视野，在显微镜下测定细胞的相对侵袭率。

1.9 流式细胞术检测 HCT116 细胞凋亡情况 使用 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒测定各组 HCT116 细胞凋亡率。细胞共培养处理 72 h 后，使用 0.125% 胰酶制备细胞悬液，以 1500 r/min 离心 5 min，PBS 洗涤。以 1×10^6 个/ml 的浓度在结合缓冲液 (10 mmol/L HEPES, pH 7.4, 140 mmol/L NaCl 和 2.5 mmol/L CaCl_2) 中悬浮，黑暗环境下使用 Annexin V-FITC 和 PI 染色 20 min，通过流式细胞仪分析细胞凋亡率。

1.10 Western blotting 检测 HCT116-R 细胞中 XBP1、SREBP2 蛋白的表达 将 HCT116-R 细胞在含蛋白酶抑制剂的 RIPA 缓冲液中裂解提取总蛋白。使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。将等量的蛋白样品 (40 μg) 通过 12% SDS-PAGE 分离，转移到 PVDF 膜上。室温下使用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。TBST 洗涤 3 次 $\times 10$ min。将膜在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下与兔源 XBP1 抗体 (1:1000) 和兔源 SREBP2 抗体 (1:1000) 孵育过夜。TBST 洗涤 2 次，与山羊抗兔 IgG H&L (HRP) 在室温下孵育 2 h。TBST 洗涤。将 ECL 试剂添加至膜上，自动化学发光成像设备下进行显影。使用 ImageJ 软件进行灰度分析。

1.11 qRT-PCR 检测 HCT116-R 细胞中 SREBP2 mRNA 的表达 使用 Trizol 试剂提取细胞中总 RNA，利用脱氧核糖核酸酶 I 去除基因组 DNA，采用大容量 cDNA 反转录试剂盒将总 RNA 反转录为 cDNA。在 Bio-Rad CFX96 检测系统中，通过 SYBR Green I 实时检测试剂盒进行实时定量 PCR。反应体系 (20 μl): cDNA 2 μl 、SYBR Green 染料 10 μl 、上游引物 0.5 μl 、下游引物 0.5 μl 、 ddH_2O 7 μl 。反应步骤：95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s；95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s，95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s，共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析目的基因的相对表达量，并将 mRNA 水平以相对值表示，以 GAPDH 作为内参基因。具体引物序列如下：SREBP2 正向 TGGCTTCTCTCCCTACTCCA，反向 GAGAGGCAC AGGAAGGTGAG；GAPDH 正向 CGACCACTTTGTC AAGCTCA，反向 AGGGGTCTACATGGCAACTG。

1.12 裸鼠成瘤模型 24 只 BALB/c 雄性裸鼠 (4~6 周龄，体重 18~20 g) 饲养于无特殊病原体的环境中，随机分为 4 组：HCT116+M2^{vector} 组、HCT116+M2^{vector}+Ox 组、HCT116+M2^{oe-XBP1} 组及 HCT116+M2^{oe-XBP1}+Ox 组，每组 6 只。HCT116+M2^{vector} 组、HCT116+M2^{vector}+Ox 组裸鼠注射转染空载体的 M2 型巨噬细胞和 HCT116-R 细胞的混合液；HCT116+M2^{oe-XBP1} 组和

HCT116+M2^{oe-XBP1}+Ox 组裸鼠注射转染 oe-XBP1 的 M2 型巨噬细胞和 HCT116-R 细胞的混合液构建异种移植肿瘤模型。具体方法：将转染空载体或 oe-XBP1 的 M2 型巨噬细胞和 HCT116-R 细胞以 1:1 的比例混合，调整细胞浓度为 5×10^7 个/ml，皮下接种于 HCT116+M2^{vector}+Ox 组和 HCT116+M2^{oe-XBP1}+Ox 组小鼠右侧腹部，每只 0.1 ml。2 周后，每只小鼠腹腔注射 5 mg/(kg·d) Ox 进行治疗，每周使用游标卡尺测量皮下肿瘤的大小，计算肿瘤体积。肿瘤体积 (mm^3) = (长 \times 宽²)/2。第 1 次治疗后第 4 周，对所有裸鼠实施安乐死，手术切除肿瘤，收集肿瘤组织，称重并拍照。

1.13 免疫组化检测裸鼠肿瘤组织中 XBP1 和 SREBP2 的表达水平 小鼠肿瘤组织于 4% 多聚甲醛溶液中进行固定，嵌入石蜡并切成 5 μm 的切片后进行染色，乙醇和二甲苯脱蜡和水化。于煮沸的柠檬酸盐缓冲液中进行抗原修复 20 min，室温下使用 3% H_2O_2 抑制内源性过氧化物酶活性 30 min。切片于 5% BSA 阻断液中进行封闭，4 $^{\circ}\text{C}$ 下与兔源 XBP1 抗体 (1:200) 和兔源 SREBP2 抗体 (1:200) 孵育过夜，使用 HRP 标记的抗兔 IgG 二抗 (1:100) 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1 h。使用 DAB 染色，并采用苏木精对 DNA 进行复染。使用显微镜 (200 \times) 观察肿瘤组织，每只小鼠随机取 10 张切片，每张切片随机选 5 个视野，计数阳性细胞数。

1.14 统计学处理 采用 GraphPad 8.0 软件进行统计分析。计量资料符合正态分布，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA)，进一步两两比较采用 LSD 法，采用 GEPIA 网站预测 XBP1 和 SREBP2 在结直肠癌中的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 M2 型巨噬细胞对 HCT116 细胞 Ox 耐药的影响 CCK-8 法检测结果显示，与 SW480 和 LoVo 细胞相比，Ox 可明显抑制 HCT116 细胞的活力 ($P < 0.001$ ，图 1A)。据此采用 HCT116 细胞构建同源获得性 Ox 耐药细胞系。选取 Ox 浓度为 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时存活的 HCT116-R 细胞进行传代培养，细胞生长状态良好则表示耐药细胞系建立成功。HCT116-R 和 HCT116-S 细胞的 IC_{50} 分别为 237.52 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 和 11.26 $\mu\text{mol}/\text{L}$ ，耐药指数为 21.09。

CCK-8 法、Transwell 实验、流式细胞术检测结果显示，与 M0-CM+HCT116-S 组相比，M2-CM+HCT116-S 组细胞活力、侵袭能力明显升高，细胞凋亡率明显降低；与 M0-CM+HCT116-R 组相比，M2-CM+HCT116-R 组细胞活力、侵袭能力明显升高，细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.05$ ，图 1B-D)。

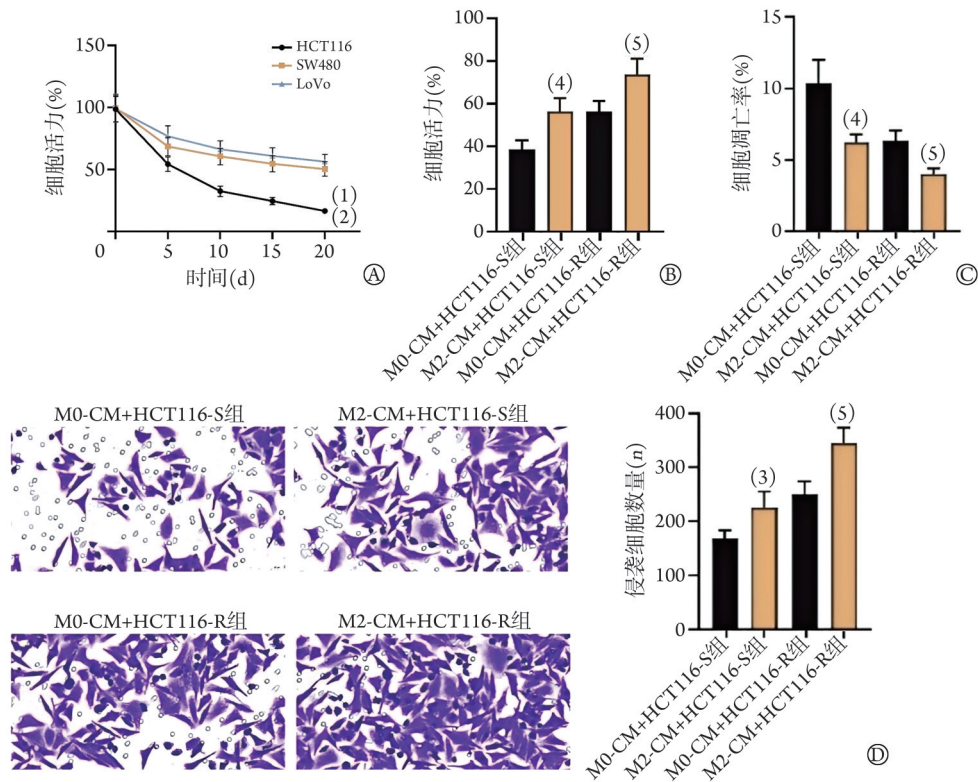


图1 M2型巨噬细胞对HCT116细胞Ox耐药性的影响

Fig.1 Effect of M2-type macrophages on Ox resistance in HCT116 cells

A. CCK-8法检测Ox对不同CRC细胞系活力的影响；B. CCK-8法检测各组HCT116细胞增殖情况；C. 流式细胞术检测各组HCT116细胞凋亡情况；D. Transwell实验检测各组HCT116细胞侵袭能力。与SW480比较，(1) $P<0.001$ ；与LoVo比较，(2) $P<0.001$ ；与M0-CM+HCT116-S组比较，(3) $P<0.01$ ；(4) $P<0.001$ ；与M0-CM+HCT116-R组比较，(5) $P<0.001$ 。Ox. 奥沙利铂；CRC. 结直肠癌；M0-CM. M0条件培养基；M2-CM. M2条件培养基

2.2 XBP1对耐药HCT116-R细胞生长的影响 Western blotting 检测结果显示，与M0-CM+HCT116-R组相比，M2-CM+HCT116-R组HCT116-R细胞中XBP1蛋白表达水平明显升高($P<0.05$ ，图2A)。CCK-8法、Transwell实验、流式细胞术检测结果显示，与M2^{oe-NC}-CM组相比，M2^{oe-NC}-CM+Ox组细胞增殖与侵袭能力明显降低，细胞凋亡率明显升高($P<0.05$)；而过表达XBP1明显提高HCT116-R细胞增殖与侵袭能力，并抑制其凋亡($P<0.05$ ，图2B—D)。

2.3 过表达XBP1对HCT116-R细胞中SREBP2表达水平的影响 GEPIA预测结果显示，XBP1与SREBP2在CRC中的表达中呈正相关($P=0.0092$ ，图3A)。使用过表达XBP1的巨噬细胞培养基处理HCT116-R细胞，qRT-PCR和Western Blotting检测结果显示，与M2^{oe-NC}-CM组相比，M2^{oe-NC}-CM+Ox组SREBP2 mRNA和蛋白表达水平明显降低，M2^{oe-XBP1}-CM组SREBP2 mRNA和蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)；与M2^{oe-NC}-CM+Ox组相比，过表达XBP1明显提高SREBP2 mRNA和蛋白表达水平($P<0.05$ ，图3B、C)。

2.4 敲减SREBP2对HCT116-R细胞增殖的影响 将转染si-SREBP2的HCT116-R细胞置于M2^{oe-XBP1}-CM中

培养，CCK-8法、Transwell实验和流式细胞术检测结果显示，与正常对照组相比，si-SREBP2组细胞增殖与侵袭能力明显下降，细胞凋亡率明显升高；M2^{oe-XBP1}-CM组细胞增殖与侵袭能力明显升高，细胞凋亡率明显降低($P<0.05$)。与M2^{oe-XBP1}-CM组相比，敲减SREBP2后可明显抑制HCT116-R细胞的增殖与侵袭能力，促进其凋亡($P<0.05$ ，图4A—C)。

2.5 过表达XBP1对裸鼠肿瘤生长的影响 与HCT116+M2^{vector}组相比，HCT116+M2^{oe-XBP1}组裸鼠肿瘤体积与重量明显增加，而Ox治疗后可明显抑制裸鼠肿瘤生长；与HCT116+M2^{vector}+Ox组相比，HCT116+M2^{oe-XBP1}+Ox组裸鼠肿瘤体积与重量明显增加($P<0.05$ ，图5A、B)。免疫组化检测结果显示，与HCT116+M2^{vector}组相比，HCT116+M2^{oe-XBP1}组XBP1和SREBP2阳性表达均增强，而HCT116+M2^{vector}+Ox组XBP1和SREBP2阳性表达降低；与HCT116+M2^{vector}+Ox组相比，过表达XBP1明显上调XBP1和SREBP2阳性表达($P<0.05$ ，图5C)。

3 讨论

Ox作为晚期CRC患者的标准辅助化疗药物，应

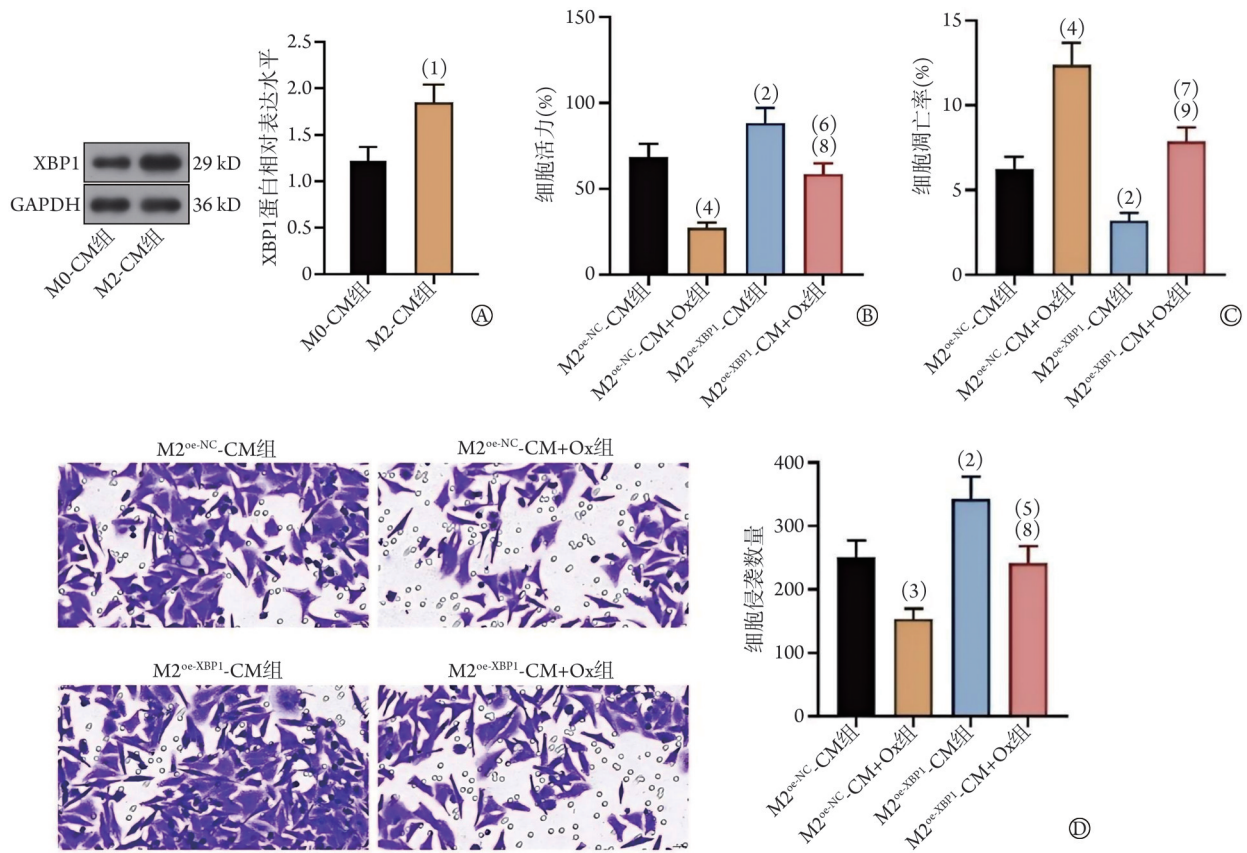


图2 XBP1对CRC细胞增殖、侵袭和凋亡情况的影响

Fig.2 Effects of XBP1 on the proliferation, invasion and apoptosis of CRC cells

A. Western blotting 检测HCT116-R细胞中XBP1 蛋白表达水平; B. CCK-8法检测各组HCT116-R细胞增殖情况; C. 流式细胞术检测各组HCT116-R细胞凋亡情况; D. Transwell 实验检测各组HCT116-R细胞侵袭能力。与M0-CM组相比, (1) $P<0.05$; 与M2^{oe-NC}-CM组相比, (2) $P<0.05$, (3) $P<0.01$, (4) $P<0.001$; 与M2^{oe-NC}-CM+Ox组相比, (5) $P<0.05$, (6) $P<0.01$, (7) $P<0.001$; 与M2^{oe-XBP1}-CM组相比, (8) $P<0.05$, (9) $P<0.01$ 。CM. 条件培养基; XBP1. X-box结合蛋白1

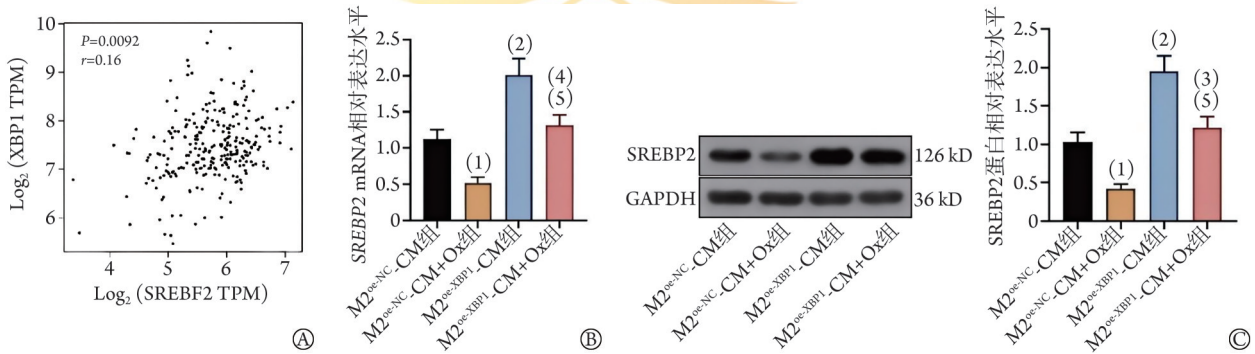


图3 过表达XBP1对HCT116-R细胞中SREBP2表达的影响

Fig.3 Effect of overexpression of XBP1 on SREBP2 expression in HCT116-R cells

A. GEPIA网站预测XBP1和SREBP2在CRC中的相关性; B. qRT-PCR检测HCT116-R细胞中SREBP2 mRNA表达水平; C. Western blotting 检测HCT116-R细胞中SREBP2蛋白表达水平。与M2^{oe-NC}-CM组相比, (1) $P<0.01$, (2) $P<0.001$; 与M2^{oe-NC}-CM+Ox组相比, (3) $P<0.01$, (4) $P<0.001$; 与M2^{oe-XBP1}-CM组相比, (5) $P<0.01$ 。GEPIA. 基因表达谱交互分析; CM. 条件培养基; XBP1. X-box结合蛋白1; SREBP2. 固醇调节元件结合蛋白2

用较为广泛,但其化学耐药性可影响晚期CRC患者的疗效和生存率,通常涉及多种复杂因素,包括肿瘤细胞内药物积累减少、解毒系统活性增强、DNA修复过程增加以及抑制细胞凋亡途径等,各种因素间相互作用导致化疗药物无法有效杀灭肿瘤细

胞^[19-20]。因此,本研究选择对Ox敏感的HCT116细胞作为体外研究对象,研究M2型巨噬细胞来源的XBP1通过调控SREBP2增强CRC细胞对Ox耐药性的机制,并建立裸鼠肿瘤模型进行体内实验验证。

肿瘤微环境是一个复杂的生态系统,包含大量

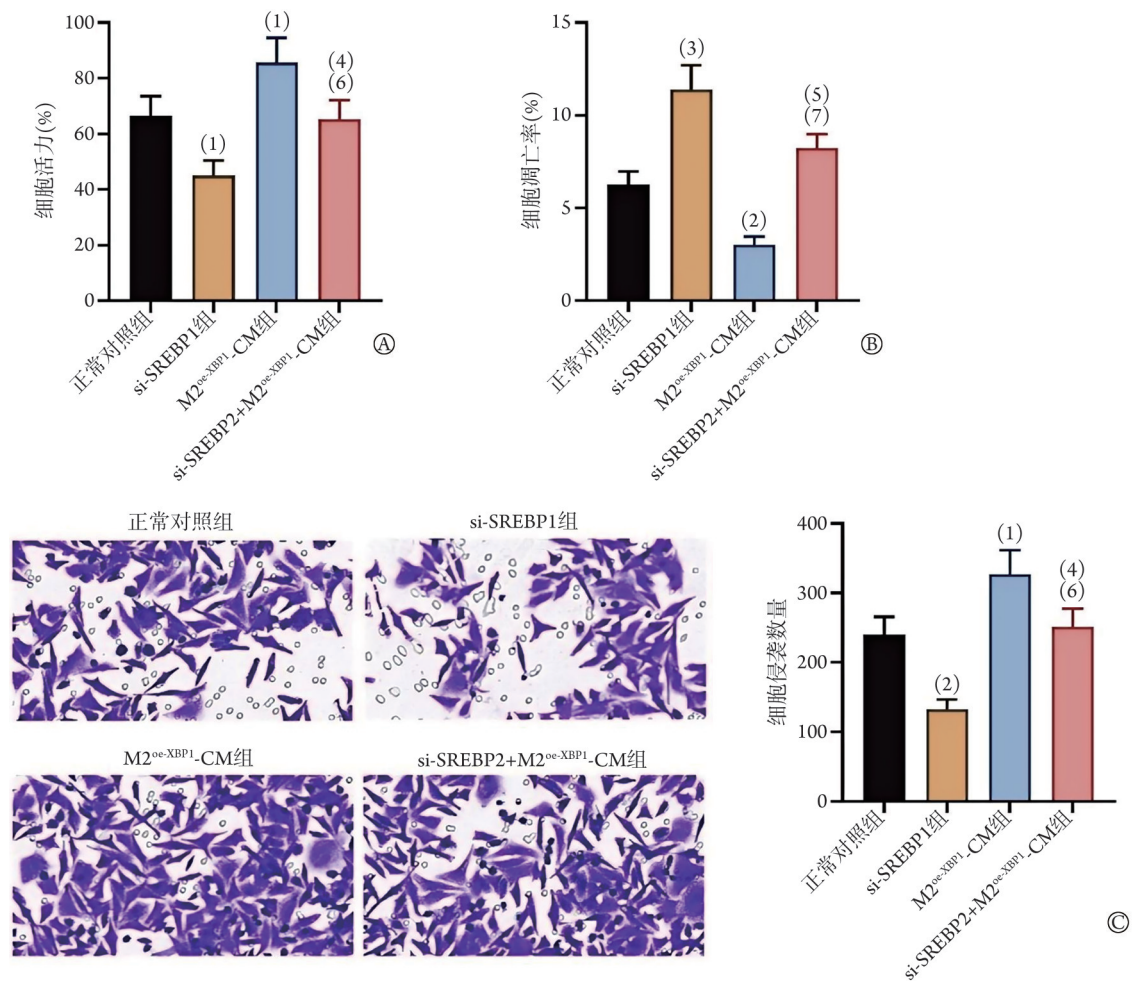


图4 敲减SREBP2对CRC细胞增殖、侵袭和凋亡的影响

Fig.4 Effects of SREBP2 knockdown on the proliferation, invasion and apoptosis of CRC cells

A. CCK-8法检测HCT116-R细胞增殖情况；B. 流式细胞术检测HCT116-R细胞凋亡情况；C. Transwell实验检测HCT116-R细胞侵袭能力。与正常对照组相比，(1) $P<0.05$ ，(2) $P<0.01$ ，(3) $P<0.001$ ；与si-SREBP2组相比，(4) $P<0.05$ ，(5) $P<0.001$ ；与M2^{oe-XBP1}-CM组相比，(6) $P<0.05$ ，(7) $P<0.001$ 。SREBP2. 固醇调节元件结合蛋白2；XBP1. X-box结合蛋白1；CM. 条件培养基；CRC. 结直肠癌

非恶性基质细胞，与肿瘤细胞在肿瘤进展过程中共同演化，扮演着至关重要的角色^[21-22]。在全直肠系膜切除术中，大多数肿瘤相关巨噬细胞可在肿瘤细胞影响下转化为M2型巨噬细胞，促进肿瘤的免疫逃逸和进展^[23]。有研究发现M2型巨噬细胞分离的外泌体可参与胃癌进展，并明显升高癌细胞对Ox的耐药性^[24]。本研究将CRC细胞置于M2-CM中培养发现，M2型巨噬细胞可促进Ox耐药CRC细胞的增殖与侵袭，抑制其凋亡。该结果表明M2型巨噬细胞在CRC细胞生长生存方面发挥重要作用，可增强CRC细胞对Ox的化学抗性，这为改善CRC细胞耐药性研究提供了新思路。

XBP1为内质网驻留蛋白，通过调控多种基因的表达影响细胞生长、凋亡、自噬以及耐药等生物学过程^[25-27]。有研究发现巨噬细胞中XBP1的激活可促进CRC的生长和转移^[13]。本研究中XBP1在M2型巨噬细胞中高表达，且在M2型巨噬细胞中转染XBP1

过表达质粒制成的CM可明显促进CRC细胞生长，增加其对Ox的耐药性。其原因可能在于，M2型巨噬细胞高表达XBP1，可调控多种基因的表达促进CRC细胞的生长，并增强CRC细胞对Ox的耐药性。

SREBP2为固醇调节元件结合蛋白，GEPIA检索发现XBP1与SREBP2呈正相关，且SREBP2在CRC中表达上调。本研究发现，过表达XBP1明显提高CRC细胞中SREBP2水平。SREBP2在CRC中可通过调控脂质生物合成和细胞代谢，影响CRC细胞的生长、增殖和肿瘤形成^[28]。在肝细胞癌中，SREBP2通过调控胆固醇生物合成来增强癌细胞的生存能力和对药物的抵抗性^[29]。本研究发现，敲减SREBP2可明显逆转M2型巨噬细胞分泌的XBP1对癌细胞生长和耐药性的促进作用。在裸鼠成瘤体内实验中，过表达XBP1明显促进肿瘤生长，且可逆转Ox对CRC的治疗作用。因此，SREBP2表达下调可抑制CRC细胞的活力和对Ox的抵抗性，而过表达XBP1可促进

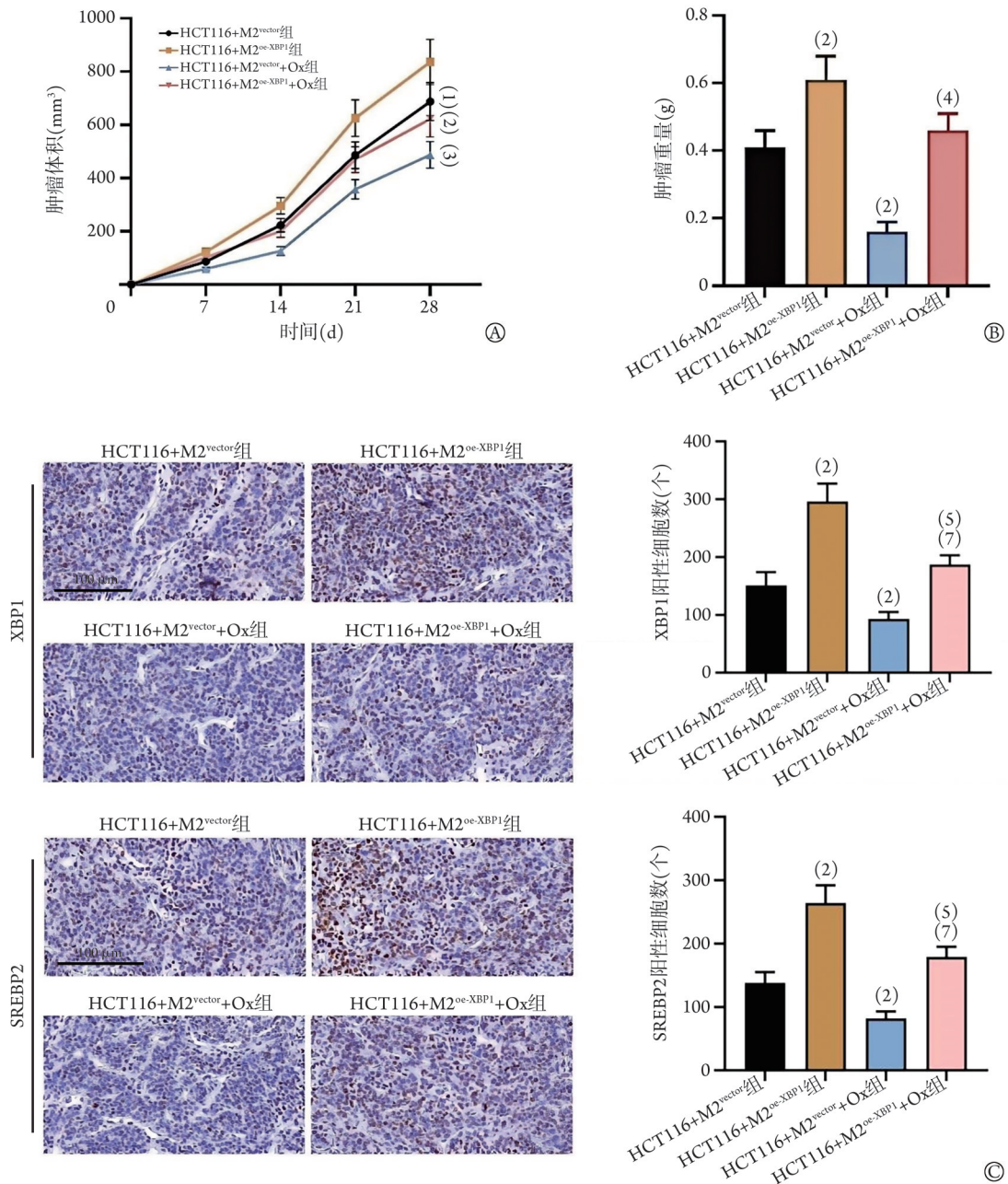


图5 M2型巨噬细胞中过表达XBP1对小鼠CRC肿瘤生长的影响

Fig.5 Effects of overexpression of XBP1 in M2-type macrophages on the growth of CRC tumors

A. 肿瘤体积; B. 肿瘤重量; C. 免疫组化染色检测 XBP1 和 SREBP2 的表达。与 HCT116+M2^{vector} 组相比, (1)P<0.05, (2)P<0.01; (3)P<0.001 与 HCT116+M2^{oe-XBP1} 组相比, (4)P<0.05, (5)P<0.001; 与 HCT116+M2^{vector}+Ox 组相比, (6)P<0.001。XBP1. X-box 结合蛋白 1; CRC. 结直肠癌; SREBP2. 固醇调节元件结合蛋白 2

CRC 肿瘤的生长。

综上所述, 本研究结果表明, M2 型巨噬细胞来源的 XBP1 通过调控 SREBP2 增强 CRC 细胞对 Ox 的耐药性, 影响 CRC 细胞生长, 该结果为探索 CRC 耐药机制提供了新方案。但本研究存在一定局限性, 未对分子和细胞类型进行进一步的研究, 未来的研究应进一步研究分子和细胞类型在 CRC 中的具体作用机制, 探索其在改善患者预后和提高治疗效果方面的潜力。

【参考文献】

- [1] 章群, 胡静, 钱晓萍, 等. “放-靶-免”组合在微卫星稳定型晚期结直肠癌三线治疗中的价值初步探索[J]. 现代肿瘤医学, 2024, 32(10): 1843-1847.
- [2] 陈玉婷, 路亮. 术前血红蛋白/红细胞分布宽度比值、预后营养指数及癌胚抗原在结直肠癌诊断中的应用价值[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(8): 964-969.
- [3] 赵英楠, 高君妍, 贺子轩, 等. 中国结直肠癌早筛早诊早治高质量发展发展的思考[J]. 中国实用内科杂志, 2025, 45(5): 373-380.
- [4] 王雪星, 张蓉, 楚杰, 等. 中晚期结直肠癌患者一线化疗后骨髓抑制风险预测模型的构建与评价[J]. 医学新知, 2025, 35

- (1): 33-40.
- [5] Van CE, Nordlinger B, Cervantes A. Advanced colorectal cancer: ESMO clinical practice guidelines for treatment[J]. *Ann Oncol*, 2010, 21(5): v93-v97.
- [6] Liu Z, Xie Y, Xiong Y, *et al.* TLR 7/8 agonist reverses oxaliplatin resistance in colorectal cancer *via* directing the myeloid-derived suppressor cells to tumoricidal M1-macrophages[J]. *Cancer Lett*, 2019, 28(469): 173-185.
- [7] 陈意竹, 朱荔, 韦禹帆, 等. 肿瘤相关成纤维细胞在乳腺癌中的作用研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(4): 482-488.
- [8] Kerzel T, Giacca G, Beretta S, *et al.* *In vivo* macrophage engineering reshapes the tumor micro-environment leading to eradication of liver metastases[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(11): 1892-1910.
- [9] 王星翔, 赵颖, 任俏同, 等. M2巨噬细胞通过调控NF- κ B信号通路对非小细胞肺癌A549细胞上皮-间质转化和顺铂耐药的促进作用[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2025, 51(3): 642-652.
- [10] Li H, Luo F, Jiang X, *et al.* CircITGB6 promotes ovarian cancer cisplatin resistance by resetting tumor-associated macrophage polarization toward the M2 phenotype[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(3): e004029-e004043.
- [11] Zhou L, Li J, Liao M, *et al.* LncRNA MIR155HG induces M2 macrophage polarization and drug resistance of colorectal cancer cells by regulating ANXA2[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 71(5): 1075-1091.
- [12] Liu S, Gao Q, Li Y, *et al.* XBP1s acts as a transcription factor of IRE1 α and promotes proliferation of colon cancer cells[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2023, 15(737): 109552-109571.
- [13] Zhao Y, Zhang W, Huo M, *et al.* XBP1 regulates the protumoral function of tumor-associated macrophages in human colorectal cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 357-370.
- [14] Zhao Z, Liu X, Xiang Y, *et al.* Inhibiting cholesterol de novo synthesis promotes hepatocellular carcinoma progression by upregulating prostaglandin E synthase 2-mediated arachidonic acid metabolism under high fatty acid conditions[J]. *Cancer Sci*, 2023, 115(2): 477-489.
- [15] Liu Z, Zheng X, Chen J, *et al.* NFYC-37 promotes tumor growth by activating the mevalonate pathway in bladder cancer[J]. *Cell Rep*, 2023, 42(8): 112963-112984.
- [16] Wei M, Nurjanah U, Herkilini A, *et al.* Unspliced XBP1 contributes to cholesterol biosynthesis and tumorigenesis by stabilizing SREBP2 in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(9): 472-489.
- [17] Muta Y, Linares JF, Martinez-Ordoñez A, *et al.* Enhanced SREBP2-driven cholesterol biosynthesis by PKC α /I deficiency in intestinal epithelial cells promotes aggressive serrated tumorigenesis[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 8075-8094.
- [18] Fan M, Chen Z, Shao W, *et al.* SREBP2 inhibitor betulin sensitizes hepatocellular carcinoma to lenvatinib by inhibiting the mTOR/IL-1 β pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2023, 55(9): 1479-1486.
- [19] Meng N, Chen M, Chen D, *et al.* Small protein hidden in lncRNA LOC90024 promotes "cancerous" RNA splicing and tumorigenesis [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2020, 7(10): 1903233-1903245.
- [20] Jin ZB, Xu J, Li B, *et al.* Progress in the study of reproductive toxicity of platinum-based antitumor drugs and their means of prevention [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 13(15): 1327502-1327510.
- [21] Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy[J]. *Immunity*, 2014, 41(1): 49-61.
- [22] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437.
- [23] DeCordova S, Shastri A, Tsolaki AG, *et al.* Molecular heterogeneity and immunosuppressive microenvironment in glioblastoma[J]. *Front Immunol*, 2020, 17(11): 1402-1419.
- [24] Yu D, Chang Z, Liu X, *et al.* Macrophage-derived exosomes regulate gastric cancer cell oxaliplatin resistance by wrapping circ 0008253 [J]. *Cell Cycle*, 2022, 22(6): 705-717.
- [25] Yang Y, Wang S, Wang XX, *et al.* Tumorous IRE1 α facilitates CD8⁺ T cells-dependent anti-tumor immunity and improves immunotherapy efficacy in melanoma[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 83-101.
- [26] Foerster EG, Mukherjee T, Cabral-Fernandes L, *et al.* How autophagy controls the intestinal epithelial barrier[J]. *Autophagy*, 2021, 18(1): 86-103.
- [27] 卓灵剑, 王烁辰, 刘星, 等. 雌二醇通过上调IRE1 α -XBP1信号轴抑制小鼠腹腔巨噬细胞的分化[J]. *南方医科大学学报*, 2022, 42(3): 432-437.
- [28] Wen YA, Xiong X, Zaytseva YY, *et al.* Downregulation of SREBP inhibits tumor growth and initiation by altering cellular metabolism in colon cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 265-278.
- [29] Mok EHK, Leung CON, Zhou L, *et al.* Caspase-3-induced activation of SREBP2 drives drug resistance *via* promotion of cholesterol biosynthesis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(17): 3102-3115.

(责任编辑: 纪方方, 郭蕊)