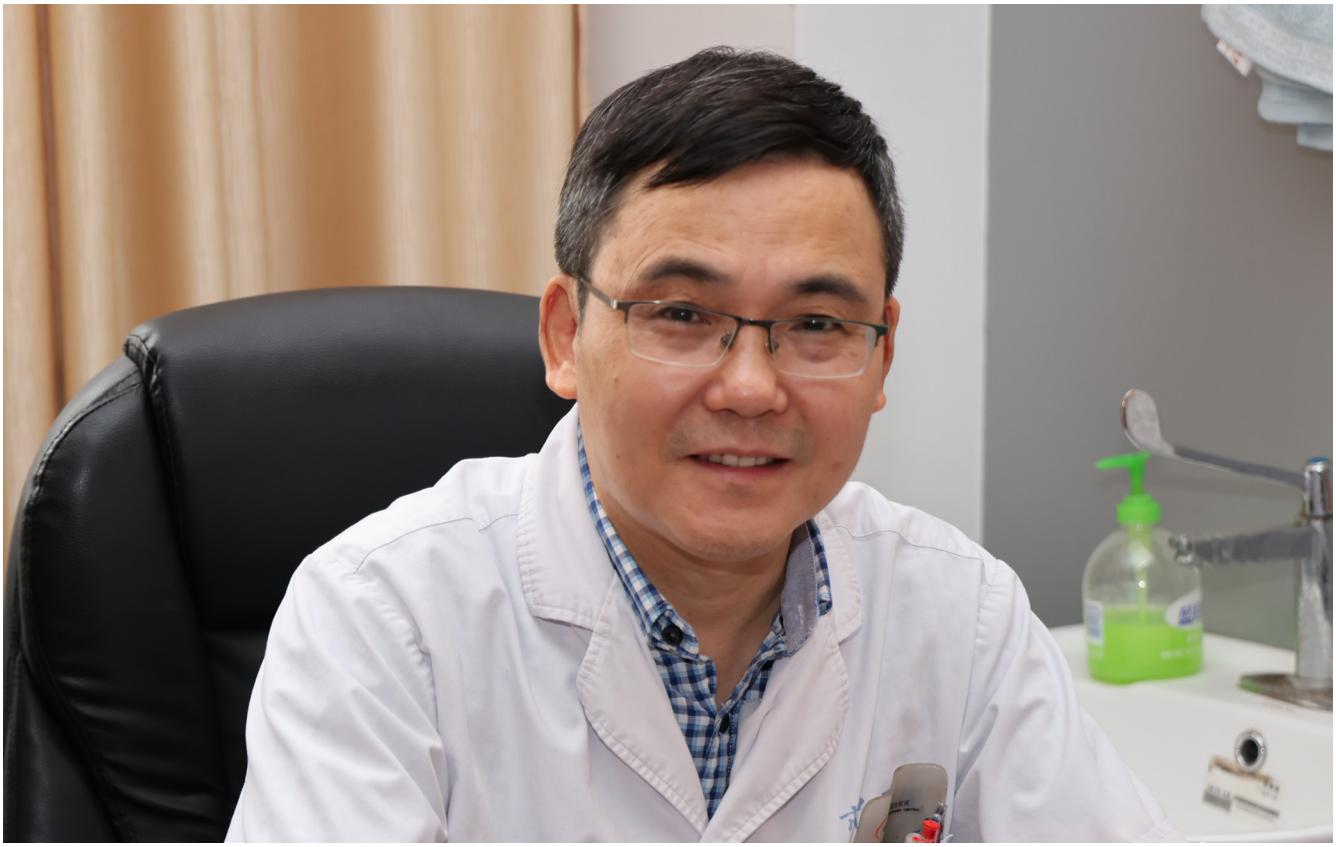
ISSN 1009-3079 (print)
ISSN 2219-2859 (online)

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2025 年 7 月 28 日　第 33 卷　第 7 期　(Volume 33 Number 7)



7/2025

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

ISSN 1009-3079
07>
9 771009 307056

世界华人消化杂志
https://www.wjgnet.com
二零二五年七月二十八日
第三十三卷
第七期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2025年7月28日 第33卷 第7期 (总第759期)

述评

513 肝细胞癌免疫检查点抑制剂相关性肺炎的机制与治疗进展

邓楷飞, 张靓, 李乐, 费书珂

522 饮食-肠道微生物-脑肠轴的交互作用对情绪影响的研究进展

成杰, 马宇, 蔡丽颖, 唐启群

527 单细胞测序在肠道疾病中的应用现状

林佳漫, 侯秋科

文献综述

535 *SEPTIN9*基因甲基化在消化系统肿瘤研究及临床诊治中的价值

刘洋, 高梦晗, 葛钧, 高娇

临床研究

543 ERAS理念下Dex应用时机对老年肝脏手术患者肝脏缺血再灌注损伤及免疫功能影响的研究

饶湘, 陈舍黄, 周信阳, 钟学武, 李玲, 黄高石

553 外周血HBP、ALD及CAR水平对高脂血症型胰腺炎患者预后的预测价值

于芳芳, 吴世民, 秦利花, 孟兰兰, 蒋柯炜, 项利娟

562 饮酒模式与结直肠晚期腺瘤的相关性研究

卢盛言, 丁思元, 崔沥元, 李佳宇, 秦晓蕾, 刘旭

571 海岛基层医院64排螺旋CT在结肠癌术前诊断与分期中的应用价值

张军, 葛益辉, 刘鑫林, 刘常恩

基础研究

578 全球和中国胃食管反流疾病负担和未来趋势预测

孟令真, 保亚明, 汤武亨, 潘赐明, 曹春宇

590 敲低HMGN5增强5-FU耐药结直肠癌细胞对其的敏感性

李军益, 冯星星

目次

消　　息

534　《腹水诊断、鉴别诊断与治疗学》书讯
552　《世界华人消化杂志》修回稿须知
589　《世界华人消化杂志》正文要求
598　《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

本刊编委张晓春，主任中医师，学术继承指导老师，博士生导师. 扬州市中医院肿瘤科主任、肿瘤中心主任，中医肿瘤领军专家(全国优秀中医临床人才、江苏省中医药领军人才)，江苏省名中医. 张教授深耕中医肿瘤领域，提出“辨病、辨证、辨期相结合”、“全程化管理、一体化诊疗”等创新理念. 他坚信中医在肿瘤术后防复发、减轻放化疗毒副反应及晚期姑息治疗中具独特优势，尤擅食管癌、胃癌、肠癌等消化道肿瘤综合治疗. 主持省部级课题3项、厅局级课题18项；发表SCI及核心期刊论文80余篇.

本期责任人

编务 吴云晓健；送审编辑 张佳琳；组版编辑 郑晓梅；英文编辑 王天奇；
形式规范审核编辑部主任 郭旭；最终清样审核总编辑 马连生

世界華人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(月刊)
创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2025-07-28
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编
党双锁，博士，教授，研究员，主任医师，710004，陕西省西安市，西安交通大学医学院第二附属医院感染科
郭晓钟，博士，教授，110840，辽宁省沈阳市，北部战区总医院消化内科
江学良，博士，教授，250001，山东省济南市，山东中医药大学第二附属医院消化中心
王小众，博士，教授，350001，福建省福州市，福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福，博士，教授，226001，江苏省南通市，南通大学附属医院临床医学研究中心

编辑委员会
编辑委员会成员在线名单，详见：
https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm

编辑部
王金磊，主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

出版
百世登出版集团有限公司
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

制作
北京百世登生物医学科技有限公司
100025，北京市朝阳区东四环中路62号，远洋国际中心D座903室
电话：+86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议，开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(https://www.baishideng.com)，所有办公流程一律可以在线进行，包括投稿、审稿、编辑、审读，以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明
本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点，除非特别声明. 本刊如有印装质量问题，请向本刊编辑部调换.

定价
每期136.00元 全年12期1632.00元

© 2025 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 33 Number 7 July 28, 2025

EDITORIAL

513 Mechanisms and therapy of checkpoint inhibitor-related pneumonitis in patients with hepatocellular carcinoma

Deng KF, Zhang L, Li L, Fei SK

522 Progress in research of impact of interaction between diet, gut microbiota, and brain-gut axis on emotions

Cheng J, Ma Y, Cai LY, Tang QQ

527 Applications of single-cell sequencing in intestinal diseases

Lin JM, Hou QK

REVIEW

535 Value of *SEPTIN9* gene methylation in research and clinical diagnosis of digestive system tumors

Liu Y, Gao MH, Ge J, Gao J

CLINICAL RESEARCH

543 Effect of dexmedetomidine administration timing on hepatic ischemia-reperfusion injury and immune function in elderly patients undergoing liver surgery within ERAS framework

Rao X, Chen SH, Zhou XY, Zhong XW, Li L, Huang GS

553 Predictive value of peripheral blood HBP, ALD, and CAR levels for prognosis of patients with hyperlipidemic pancreatitis

Yu FF, Wu SM, Qin LH, Meng LL, Jiang KW, Xiang LJ

562 Association between drinking patterns and advanced colorectal adenomas

Lu SY, Ding SY, Cui LY, Li JY, Qin XL, Liu X

571 Application value of 64-slice spiral CT in preoperative diagnosis and staging of colon cancer in an island basic hospital

Zhang J, Ge YH, Liu XL, Liu CE

BASIC RESEARCH

578 Global and China's burden of gastroesophageal reflux disease and future trend projections

Meng LZ, Bao YM, Tang WH, Pan CM, Cao CY

590 Downregulation of HMGN5 enhances sensitivity of 5-fluorouracil-resistant colorectal cancer cells to chemotherapy

Li JY, Feng XX

World Chinese Journal of Digestology
Volume 33 Number 7 July 28, 2025

Contents

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Gastroenterology*, Xiao-Chun Zhang, Chief Chinese Medicine Practitioner, Yangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, No. 577 Wenchang Middle Road, Ganjiang District, Yangzhou 225002, Jiangsu Province, China. ceiq@sina.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yun-Xiaojian Wu*
Review Editor: *Jia-Lin Zhang*
Production Editor: *Xiao-Mei Zheng*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xu Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date July 28, 2025

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

ISSN
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D,
Ocean International Center,
No. 62 Dongsihuan Zhonglu,
Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue
RMB 1632 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2025 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36. If you do not have web access, please contact the editorial office.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2025年7月28日; 33(7): 590-598

DOI: 10.11569/wcjd.v33.i7.590

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

基础研究 BASIC RESEARCH

敲低HMGN5增强5-FU耐药结直肠癌细胞对其的敏感性

李军益, 冯星星

李军益, 冯星星, 台州市中心医院(台州学院附属医院)药剂科 浙江省台州市 318000

李军益, 本科, 药师, 研究方向为化疗药物的基础与临床药学方面.

作者贡献分布: 李军益负责提出研究思路、实验执行、对实验数据分析与解释、撰写文章; 冯星星负责提供实验试剂、对数据可视化呈现、研究设计的制定与监管进度、论文修改与审定.

通讯作者: 李军益, 本科, 318000, 浙江省台州市经济开发区东海大道999号, 台州市中心医院(台州学院附属医院)药剂科. 15967656422@163.com

收稿日期: 2025-04-21
修回日期: 2025-05-26
接受日期: 2025-07-01
在线出版日期: 2025-07-28

Downregulation of HMGN5 enhances sensitivity of 5-fluorouracil-resistant colorectal cancer cells to chemotherapy

Jun-Yi Li, Xing-Xing Feng

Jun-Yi Li, Xing-Xing Feng, Department of Pharmacy, Taizhou Central Hospital (Taizhou University Hospital), Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Jun-Yi Li, Bachelor, Department of Pharmacy, Taizhou Central Hospital (Taizhou University Hospital), No. 999 Donghai Avenue, Economic Development Zone, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China. 15967656422@163.com

Received: 2025-04-21
Revised: 2025-05-26
Accepted: 2025-07-01
Published online: 2025-07-28

Abstract

BACKGROUND

As a nuclear non-histone protein, high mobility group ncleosomal binding domain 5 (HMGN5) is extensively involved in chromatin remodeling and the regulation of tumor malignant progression. However, its biological role and molecular mechanisms in 5-fluorouracil (5-FU) resistance in colorectal cancer (CRC) remain unclear.

AIM

To elucidate the regulatory role of HMGN5 in 5-FU resistance of CRC cells and its preliminary molecular mechanism, aiming to provide potential intervention targets for reversing chemotherapy resistance in CRC.

METHODS

HMGN5 expression was detected in tumor tissues between responders and non-responders to 5-FU-containing chemotherapy in CRC patients using the CTR-DB database. A 5-FU-resistant CRC cell model was established using a concentration gradient escalation method combined with intermittent pulse exposure. Western blot analysis was employed to compare HMGN5 expression between resistant and parental cells. A cell line with stable HMGN5 knockdown was generated using shRNA technology. The effects of HMGN5 depletion on cell proliferation, apoptosis, and 5-FU sensitivity were evaluated *via* CCK-8 assay, EdU staining, and flow cytometry. Western blot and immunofluorescence were used to assess protein expression and subcellular localization of key Hippo pathway proteins.

RESULTS

Compared with the 5-FU chemotherapy response group, the expression of HMGN5 in CRC tissues was significantly upregulated in the non-response group. Additionally, the expression level of HMGN5 in 5-FU-resistant cells was significantly higher than that in parental cells. HMGN5 knockdown markedly enhanced the sensitivity of 5-FU-resistant CRC cells to 5-FU. HMGN5 knockdown promoted the phosphorylation levels of the Hippo pathway core kinases macrophage stimulating protein 1 and larger tumor

suppressor 1, as well as the expression of Yes-associated protein 1 (YAP1), and inhibits the nuclear translocation of YAP1.

CONCLUSION

HMGN5 knockdown can partially restore the sensitivity of 5-FU-resistant CRC cells to 5-FU, and the mechanism may be related to enhancing the apoptosis pathway induced by 5-FU and activating the Hippo-YAP1 signaling axis.

© The Author(s) 2025. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: HMGN5; Colorectal cancer; 5-FU resistance; Hippo signaling pathway; Targeted therapy

Citation: Li JY, Feng XX. Downregulation of HMGN5 enhances sensitivity of 5-fluorouracil-resistant colorectal cancer cells to chemotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2025; 33(7): 590-598
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v33/i7/590.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v33.i7.590

摘要

背景

高迁移率族蛋白N5(high mobility group ncleosomal binding domain 5, HMGN5)作为核内非组蛋白, 广泛参与染色质重塑及肿瘤恶性进展调控. 然而, 其在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)耐药性中的生物学功能及其分子机制尚未阐明.

目的

揭示HMGN5对CRC细胞5-FU耐药性的调控作用及初步分子机制, 为逆转CRC化疗耐药提供潜在干预靶点.

方法

基于CTR-DB数据库分析含5-FU化疗的CRC患者(分为化疗响应组和无响应组)肿瘤组织中HMGN5表达差异. 采用浓度梯度递增法联合间歇性冲击策略构建CRC 5-FU耐药细胞模型; 通过Western blot比较耐药细胞与亲本细胞中HMGN5的表达差异; 利用shRNA技术构建HMGN5稳定敲低细胞系, 结合CCK-8实验、EdU染色及流式细胞术分析HMGN5缺失对细胞增殖、凋亡及5-FU敏感性的影响; 通过Western blot和免疫荧光检测Hippo通路关键分子的蛋白表达与亚细胞定位.

结果

与5-FU化疗响应组相比, CRC组织中HMGN5的表达在不响应组显著上调. 此外, 5-FU耐药细胞系中的HMGN5表达水平较亲本细胞显著升高. HMGN5敲低显著增强了-FU耐药CRC细胞对5-FU的敏感性. HMGN5敲低通过促进Hippo通路核心激酶巨噬细胞刺激蛋白1、大肿瘤抑制因子1的磷酸化水平以及Yes关联蛋白1(Yes-associated protein 1, YAP1)表达, 抑制YAP1核转位.

结论

敲低HMGN5能部分恢复5-FU耐药CRC细胞对其敏感性, 其机制可能与增强5-FU诱导的凋亡通路与激活Hippo-YAP1信号轴有关.

© The Author(s) 2025. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: HMGN5; 结直肠癌; 5-FU耐药性; Hippo信号通路; 靶向治疗

核心提要: 敲低高迁移率族蛋白N5能部分恢复5-氟尿嘧啶耐药结直肠癌细胞对其敏感性, 其机制可能与抑制Hippo-YAP1信号轴有关.

文献来源: 李军益, 冯星星. 敲低HMGN5增强5-FU耐药结直肠癌细胞对其的敏感性. 世界华人消化杂志 2025; 33(7): 590-598
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v33/i7/590.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v33.i7.590

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球范围内最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在消化系统肿瘤中位居前列[1]. 尽管近年来在CRC的早期诊断和治疗方面取得了显著进展, 但化疗耐药性, 尤其是5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)的耐药性, 已成为限制CRC治疗效果的主要障碍之一[2]. 5-FU作为CRC治疗中广泛使用的化疗药物, 其主要作用机制是通过抑制胸苷酸合成酶或干扰核酸代谢来抑制肿瘤细胞的增殖. 然而, 随着治疗时间的延长, 肿瘤细胞可通过多种机制产生5-FU耐药性, 如DNA修复能力增强、5-FU代谢途径的改变、凋亡信号通路的抑制以及肿瘤微环境的重塑等, 这些机制共同作用导致了治疗失败和肿瘤复发[3]. 因此, 深入解析5-FU耐药的分子靶点及其调控网络, 对于开发新型靶向治疗策略, 逆转耐药性并提高CRC患者生存率具有重要意义. 近年来, 高迁移率家族(high mobility group, HMG)蛋白因其在染色质重塑、基因转录调控及肿瘤发生发展中的重要作用而受到广泛关注[4]. HMG蛋白是一类通过与染色质结合并调节核小体稳定性来直接影响基因表达的核蛋白[5]. 高迁移率族蛋白N5(high mobility group ncleosomal binding domain 5, HMGN5)作为该家族的重要成员, 具有独特的结构和功能特性, 能够在特定基因组区域增强或抑制转录活性. 已有研究表明[6], HMGN5在多种肿瘤中表现出重要的致癌作用, 例如通过调控增殖、侵袭和转移相关的信号通路(如PI3K/AKT、

Wnt/β-catenin等)促进肿瘤进展. 此外, HMGN5还可能通过调节染色质结构影响肿瘤细胞的表观遗传状态, 进而参与肿瘤对化疗药物的敏感性调控[7]. 尽管HMGN5在多种癌症中的功能逐渐被揭示, 其在CRC中的具体作用及其在5-FU耐药性调控中的潜在机制仍未被充分研究. 基于此, 本研究旨在探讨HMGN5在CRC中对5-FU耐药性的调控作用及其潜在分子机制, 并希望为克服5-FU耐药性并改善CRC患者的临床治疗效果提供新的思路和策略.

1 材料和方法

1.1 材料 胎牛血清和DMEM培养基购自美国Gibco; 青霉素和链霉素均购自美国Sigma; 人结直肠癌细胞系HCT-8和HCT-116购自武汉普诺赛生命科技有限公司; 抗巨噬细胞刺激蛋白1(macrophage stimulatory protein 1, MST1)(abs155521)、抗磷酸化(phosphorylated, p)-MST1(abs172571)、抗大肿瘤抑制因子1(larger tumor suppressor 1, LATS1)(abs147075)、抗p-LATS1(abs172461)、抗Cleaved caspase 9抗体(abs174433)、抗多聚ADP核糖聚合酶(poly-ADP-ribose polymerase, PARP)抗体(abs155772)、抗Cleaved PARP抗体(abs132006)购自上海爱必信生物技术有限公司; 抗Yes关联蛋白1(Yes-associated protein 1, YAP1)(ab52771)和抗GAPDH(ab9485)购自美国Abcam公司; HRP标记的羊抗兔IgG(A0216)、Cy3标记的羊抗兔IgG(A0516)、抗Caspase 3抗体(AF6370)、抗Caspase 9抗体(AF1264)、抗Cleaved caspase 3抗体(AC033)、BCA快速蛋白定量试剂盒(P0009)、Beyo ECL Plus试剂盒(P0018S)、BeyoClick EdU细胞增殖检测试剂盒(C0078L)和Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(C1062M)购自上海碧云天生物技术有限公司; RNA isolater试剂(R401-01)购自南京诺唯赞生物科技有限公司; 逆转录试剂盒(4897030001)购自瑞士Roche; SYBR Green Master Mix试剂盒(ALH185)购自北京百奥莱博科技有限公司.

1.2 方法

1.2.1 CTR-DB数据库检测5-FU耐药CRC组织中HMGN5表达: 通过CTR-DB数据库(http://ctrdb.cloudna.cn)筛选以5-FU化疗(包含FOLFOX4、FOLFIRI、FOLFOX和FOLFOX6等含5-FU的化疗)的结直肠癌患者, 比较响应化疗和不响应化疗的肿瘤组织中HMGN5表达差异.

1.2.2 CRC细胞系的培养与耐药细胞模型的构建: 人结直肠癌细胞系HCT-8和HCT-116在含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素双抗的DMEM培养基中, 于37 ℃、5% CO_2的恒温培养箱中进行常规培养. 采用浓度递增法联合间歇性冲击策略构建5-FU耐药细胞系. 具体步骤如下: 以HCT-8和HCT-116为亲本细胞, 首先通过CCK-8法检测5-FU对亲本细胞的半数抑制浓度(IC50)值. 随后, 将亲本细胞分别接种于含其IC50值10%浓度的5-FU培养基中培养12 h, 之后将残存细胞转移至正常培养基中继续培养24 h. 此过程反复多次, 直至细胞能够在含10% IC50浓度的5-FU培养基中稳定生长. 随后逐步增加5-FU浓度(每次递增量为IC50的5%), 并重复上述刺激方法, 持续诱导3 mo, 最终筛选出具有稳定耐药表型的细胞亚群(HCT-8/5-FU和HCT-116/5-FU), 并通过计算耐药指数(resistance index, RI)来评估耐药细胞构建是否成功. RI = 耐药细胞IC50值/亲本细胞IC50值.

1.2.3 IC50值测定: 分别将1×10^4个细胞/孔接种于96孔板, 24 h后加入梯度稀释的5-FU(终浓度范围1-100 μg/mL), 继续培养24 h. 每孔加入10 μL CCK-8试剂, 37 ℃孵育2 h后, 酶标仪450 nm波长测定吸光度(optical density, OD)值, 以药物浓度为横坐标、细胞存活率为纵坐标绘制剂量-效应曲线, 通过GraphPad Prism 8.0计算IC50值.

1.2.4 细胞转染: 针对HMGN5的shRNA载体(HMGN5-shRNA)由广州锐博生物技术有限公司构建, 将靶向HMGN5的shRNA序列插入载体质粒中, 阴性对照载体作为阴性对照(Con-shRNA). 构建的耐药细胞分别以1×10^6个/孔接种于6孔板, 待细胞融合度达80%时, 使用Lipofectamine 3000转染试剂(Invitrogen)分别将HMGN5-shRNA或Con-shRNA载体转染至细胞中. 转染后48 h, 通过RT-qPCR(检测HMGN5 mRNA水平)和Western Blot(检测HMGN5蛋白水平)验证转染效率.

1.2.5 RT-qPCR检测基因表达: 总RNA采用RNA isolater试剂提取总RNA, 经NanoDrop 2000测定浓度后, 使用Roche逆转录试剂盒合成cDNA. qPCR反应体系包含2 μL cDNA、0.4 μL上下游引物(10 μM)、0.4 μL ROX Reference Dye、10 μL 2×SYBR Green Master Mix, 反应条件为95 ℃预变性2 min, 95 ℃变性10 s、60 ℃退火30 s, 共40个循环. 以GAPDH为内参, 采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$方法计算HMGN5 mRNA相对表达量.

1.2.6 细胞增殖的测定: 将用5-FU处理转染后的细胞接种于96孔板后, 分别用CCK-8法和EdU法检测细胞的增殖情况. CCK-8法: 待细胞贴壁(6 h)后, 加入CCK-8试剂(检测方法同“1.2.3”)检测450 nm波长测定OD值, 细胞活性 = 处理组OD值/对照组OD值×100%. EdU法: 待细胞贴壁(6 h)后, 加入EdU试剂(50 μmol/L)孵育2 h, 随后固定细胞并透化, 用Click反应液(Click 标记594荧光染料)标记增殖细胞, DAPI复染细胞核. 荧光显微镜40×视野下观察, 随机选取5个视野计数EdU阳性细胞比例.

1.2.7 细胞凋亡流式分析: 转染后的细胞经5-FU处理24 h后, 按试剂盒方法, 分别用Annexin V-FITC/PI双染试剂

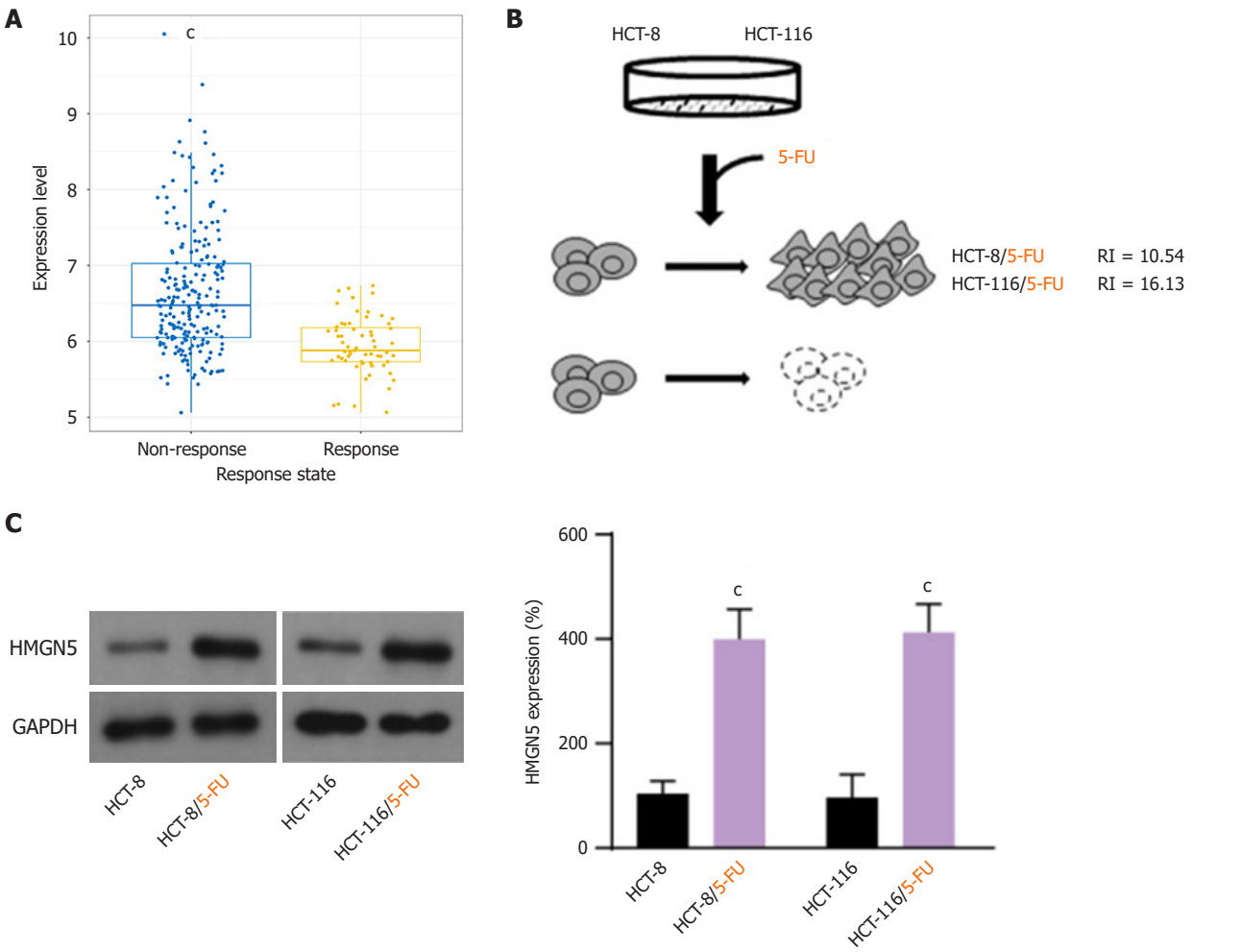


图 1 HMGN5在CRC的5-FU化疗不响应组和构建的5-FU耐药细胞中的上调表达. A: 5-FU化疗不响应组和响应组中HMGN5表达差异, $^cP<0.01$ *vs* 响应组; B: CRC细胞系中5-FU耐药细胞系的构建示意图及RI验证结果; C: CRC亲本细胞系与相应5-FU耐药细胞系中HMGN5蛋白表达水平的Western blot实验结果; mean±SD, $n = 3$; $^cP<0.01$ *vs* HCT-8细胞或HCT-116细胞. RI: 耐药指数; HMGN5: 高迁移率族蛋白N5; CRC: 结直肠癌; 5-FU: 5-氟尿嘧啶.

标记细胞, 避光孵育15 min后通过流式细胞仪检测. 采用FlowJo软件分析细胞凋亡亚型, 并统计细胞凋亡率.

1.2.8 Western Blot分析: 转染后的细胞经5-FU处理24 h后, 用RIPA裂解细胞, 提取总蛋白. BCA法测定蛋白浓度. 蛋白样品经10% SDS-PAGE分离后, 采用湿转法转移至甲醇预活化的PVDF膜, 5%脱脂奶粉封闭1 h, 随后加入一抗(抗HMGN5、抗MST1、抗LATS1、抗YAP1、抗PARP抗体、抗caspase 9和抗caspase 3, 稀释比均1:3000; 抗p-MST1、抗p-LATS1、抗Cleaved caspase 9、抗Cleaved caspase 3和抗Cleaved PARP, 稀释比均1:1000; 抗-GAPDH, 1:8000)4 ℃孵育过夜. 洗涤后, 用HRP标记的羊抗兔(稀释比1:2000)37 ℃孵育1 h后, 用ECL化学发光试剂显像, 以GAPDH为内参蛋白, Image J软件对蛋白表达进行半定量分析.

1.2.9 免疫荧光定位分析: 将用5-FU处理转染后的细胞接种于无菌盖玻片, 4%多聚甲醛固定15 min后, 0.1% Triton X-100透化5 min. 用5%山羊血清封闭30 min, 加入抗-YAP1一抗(1:1000稀释), 4 ℃孵育过夜. 次日用Cy3标记的羊抗兔IgG二抗(1:500稀释)37 ℃孵育1 h, DAPI复染后封片. 荧光显微镜400×镜下采集图像, 分析蛋白亚细胞定位.

统计学处理 实验数据以均数±标准差(mean±SD)表示. 两组间比较采用独立样本*t*检验, 多组间均数的多重比较采用单因素方差分析的事后Tukey法, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 HMGN5在5-FU耐药CRC细胞中上调表达 CTR-DB数据库检索结果(图1A)表明, 与含5-FU的化疗响应组相比, CRC组织中HMGN5的表达在不响应组显著上调($P<0.001$). 为探究HMGN5在CRC获得性5-FU耐药中的作用, 本研究构建5-FU耐药CRC细胞系(HCT-8/5-FU和HCT-116/5-FU), CCK-8法验证显示, 耐药细胞对5-FU的IC50值显著高于亲本细胞, HCT-8/5-FU的RI = 10.54; HCT-116/5-FU的RI = 16.13, 见图1B; 依据Snow标准(RI>3判定耐药), 确认耐药细胞系构建成功. Western blot分析

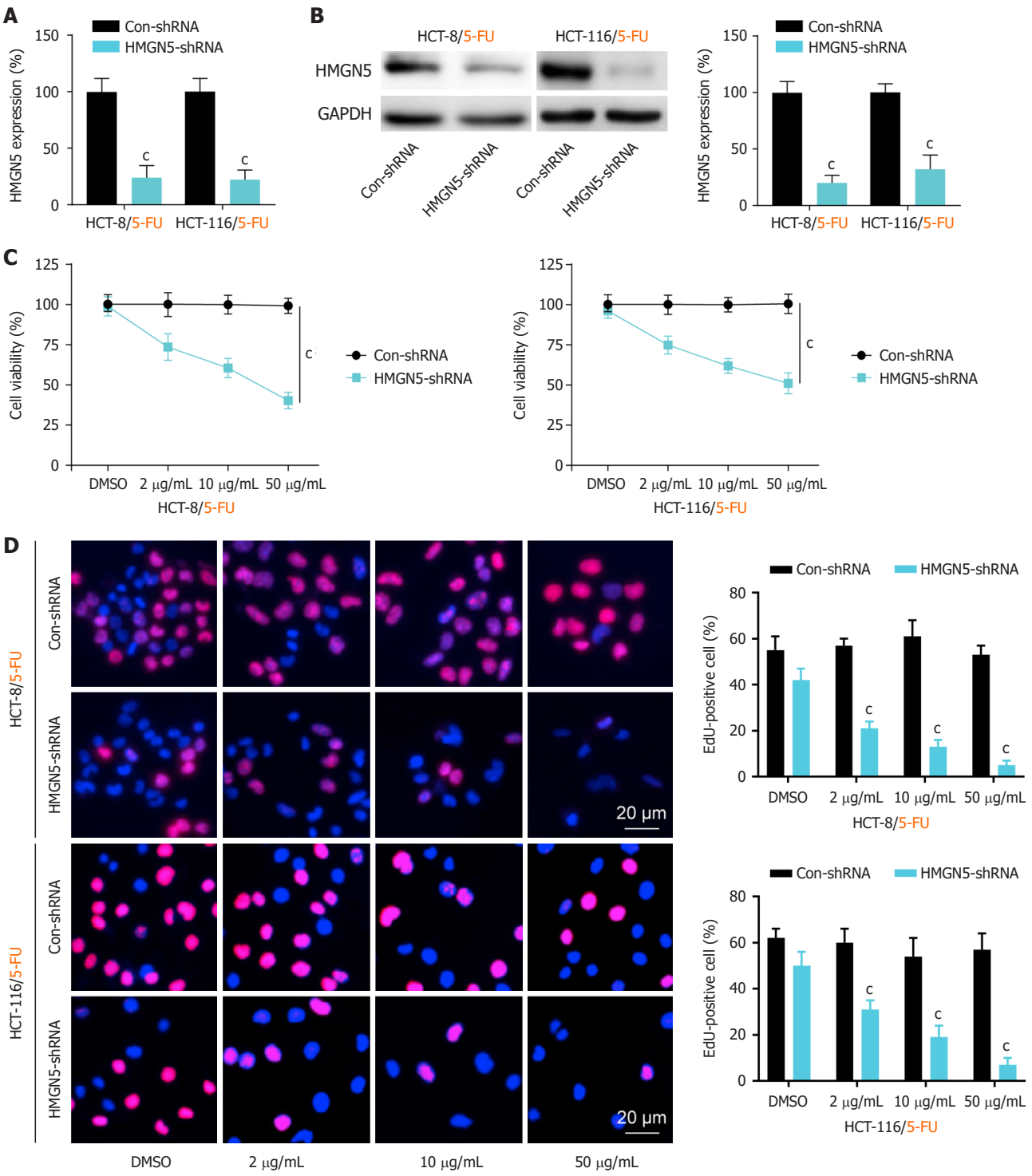


图 2 HMGN5敲低抑制CRC细胞5-FU耐药性. A: shRNA干扰后5-FU耐药CRC细胞系(HCT-8/5-FU和HCT-116/5-FU)中HMGN5 mRNA表达水平变化; B: shRNA干扰后5-FU耐药CRC细胞系中HMGN5蛋白表达水平变化; C: CCK-8法检测显示, HMGN5敲低显著增强5-FU对耐药细胞系的增殖活性的抑制效应; D: EdU染色实验检测HMGN5敲低对HCT-8/5-FU和HCT-116/5-FU细胞在不同浓度5-FU处理下的EdU阳性细胞比例的影响(标尺: 20 μmol/L). mean±SD, n = 3; ^cP<0.01 *vs* Con-shRNA组. HMGN5: 高迁移率族蛋白N5; CRC: 结直肠癌; 5-FU: 5-氟尿嘧啶.

表明, 与亲本细胞系相比, 耐药细胞系中HMGN5蛋白表达水平显著上调(P<0.001; 图1C), 提示HMGN5可能参与5-FU耐药机制.

2.2 敲低HMGN5增强5-FU耐药CRC细胞对5-FU的敏感性 分别将Con-shRNA和HMGN5-shRNA转入5-FU耐药CRC细胞系(HCT-8/5-FU与HCT-116/5-FU)细胞, 通过mRNA和蛋白表达水平进行了验证, 与Con-shRNA组比较, HMGN5-shRNA组HMGN5的mRNA和蛋白表达水平均显著降低(P<0.001; 图2A和B), 提示成功构建了HMGN5敲低细胞系构建成功. 通过CCK-8实验和EdU染

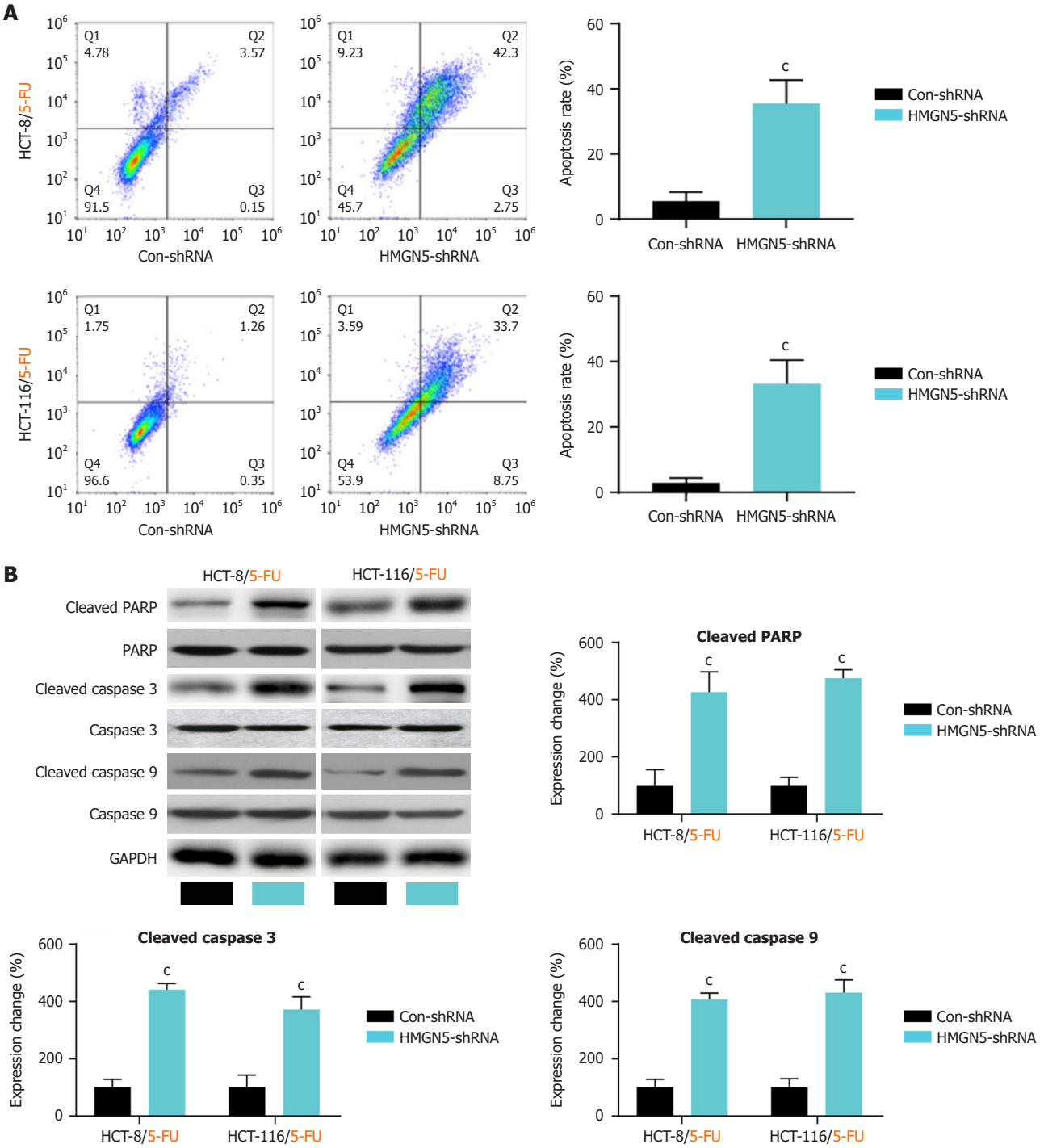


图 3 HMGN5敲低对5-FU耐药CRC细胞5-FU诱导凋亡的影响. A: 流式细胞术检测HMGN5敲低对5-FU耐药CRC细胞系在5-FU处理下凋亡敏感性的影响; B: Western blot检测HMGN5敲低后, 5-FU耐药CRC细胞中凋亡标志物Cleaved-caspase 3、Cleaved-caspase 9和Cleaved-PARP在5-FU处理下的表达变化. mean±SD, n = 3; ^{c}P<0.01 *vs* Con-shRNA组. HMGN5: 高迁移率族蛋白N5; CRC: 结直肠癌; 5-FU: 5-氟尿嘧啶; PARP: 多聚ADP核糖聚合酶; Cleaved-PARP: 裂开的PARP.

色实验在5-FU剂量依赖性条件下验证了敲低HMGN5对细胞增殖的抑制作用(图2C和D).

2.3 敲低HMGN5增强5-FU诱导的细胞凋亡 流式细胞术结果显示, HMGN5敲低显著增强了CRC耐药细胞系对5-FU治疗的凋亡敏感性(P<0.001; 图3A). Western blot检测表明, 在5-FU处理下, HMGN5敲低的5-FU耐药CRC细胞中凋亡标志物Cleaved-caspase 3、Cleaved-caspase 9和Cleaved-PARP的表达较Con-shRNA组显著上调(均P<0.001; 图3B). 上述结果提示, HMGN5下调可有效增强5-FU诱导的细胞凋亡效应.

2.4 敲低HMGN5可激活5-FU耐药CRC中的Hippo-YAP1信号通路 为探讨5-FU耐药CRC细胞中HMGN5的下游

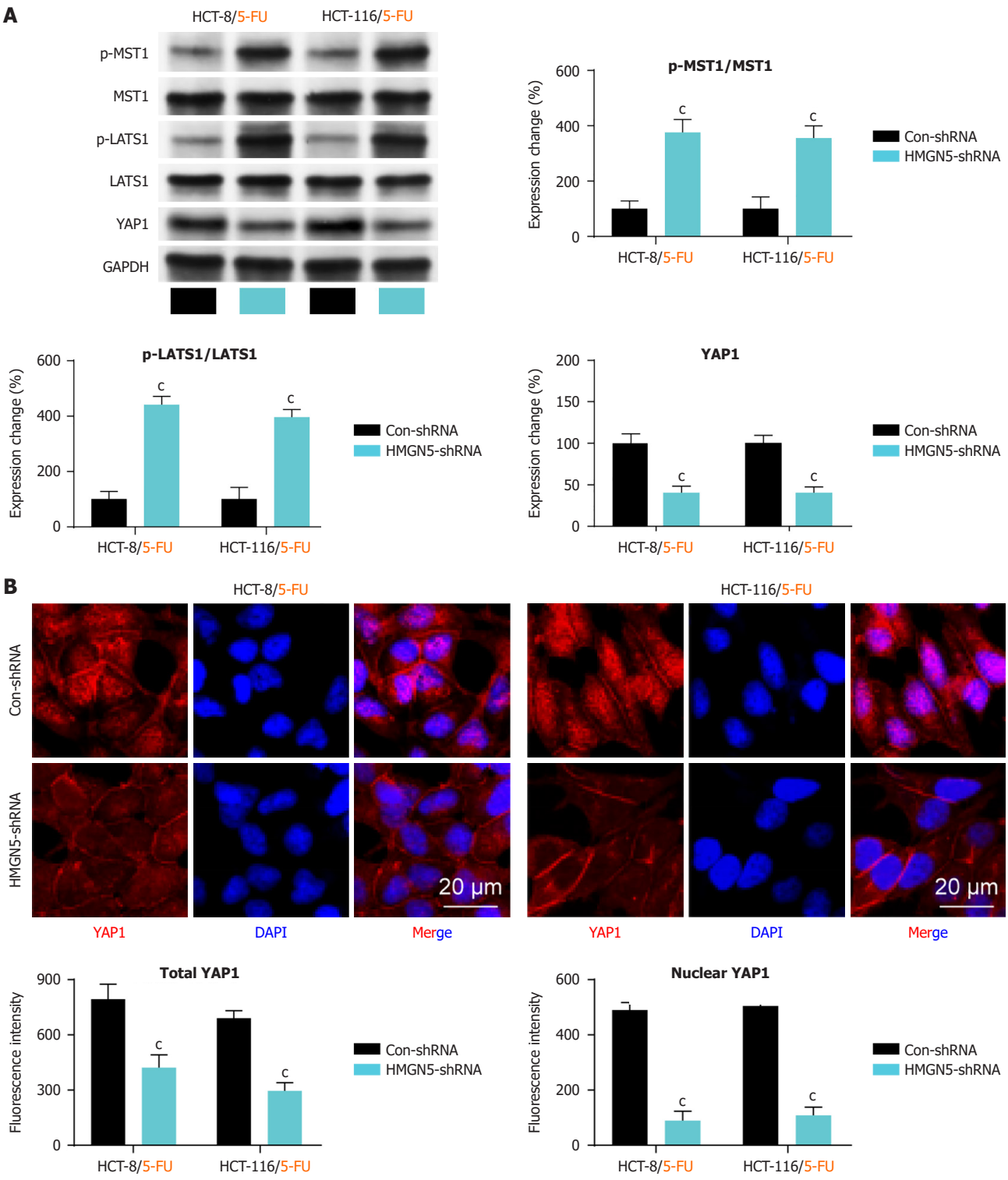


图 4　HMGN5敲低可激活5-FU耐药CRC细胞中的Hippo-YAP1信号通路. A: Western blot检测HMGN5敲低后Hippo-YAP1信号通路关键蛋白(p-MST1、p-LATS1和YAP1)的表达水平; B: 免疫荧光实验检测HMGN5敲低后YAP1的表达和定位(标尺: 20 μmol/L). mean±SD, n = 3; ^cP<0.01 *vs* Con-shRNA组. HMGN5: 高迁移率族蛋白N5; CRC: 结直肠癌; 5-FU: 5-氟尿嘧啶; MST1: 巨噬细胞刺激蛋白1; p-MST1: 磷酸化的MST1; LATS1:大肿瘤抑制因子1; p-LATS1: 磷酸化的LATS1; YAP1: Yes关联蛋白1.

调控机制, 我们验证了Hippo-YAP1信号通路是否为其潜在靶通路. 通过Western blot检测Hippo-YAP1信号通路关键蛋白的表达水平, 结果显示(图4A), HMGN5敲低显著增强了p-MST1和p-LATS1蛋白的表达, 同时显著降低了YAP1蛋白的表达(均P<0.001; 图4A). 免疫荧光检测进一步证实, HMGN5敲低不仅抑制了YAP1蛋白的表达, 还阻断了YAP1的核转位(图4B). 上述结果表明, HMGN5敲低可激活Hippo-YAP1信号通路.

3 讨论

CRC化疗耐药性是临床治疗的关键挑战. 作为一线化疗药物, 5-FU的耐药机制主要涉及肿瘤细胞通过多重分子机制逃逸药物杀伤. 本研究发现, 在含5-FU化疗不响应的患者CRC组织以及5-FU耐药的CRC细胞系中HMGN5呈现显著高表达特征, 提示其不仅是耐药性生物标志物, 更可能是驱动耐药形成的关键调控因子. 通过系统性的功能实验, 我们证实HMGN5敲低可显著逆转CRC细胞对5-FU的耐药表型, 为靶向HMGN5的精准治疗策略提供了理论支撑.

现有研究表明[8-10], HMGN5在乳腺癌、膀胱癌及胶质瘤等多种恶性肿瘤中异常高表达, 但其在CRC中的生物学功能尚未明确. 本研究揭示HMGN5过表达与CRC细胞5-FU耐药性存在显著关联. 作为HMG家族的成员, HMGN5可能通过以下三重分子机制CRC细胞的5-FU耐药性: (1)通过与核小体相互作用, 改变染色质空间构象, 抑制DNA损伤修复相关基因(BRCA1、RAD51等)的转录, 从而增强细胞对5-FU诱导DNA损伤的耐受性[11,12]; (2)通过招募组蛋白去乙酰化酶和甲基化酶等表观修饰因子, 调控PI3K-AKT信号通路关键基因(如PTEN)的表达, 形成多维度耐药网络[13]; (3)通过拮抗Hippo-YAP1信号通路维持YAP1的核转位及促癌功能[14-16]. 本实验数据显示, 敲低HMGN5可显著激活Hippo通路核心激酶MST1和LATS1的磷酸化, 同时抑制YAP1表达及其核转位. 这一结果提示了敲低HMGN5消除CRC细胞对5-FU的耐药性的作用机制在一定程度上与此有关.

此外, 在凋亡调控层面, 本研究证实HMGN5敲低可显著增强5-FU诱导的caspase依赖性凋亡, 具体表现为cleaved-caspase 3、cleaved-caspase 9及cleaved-PARP等凋亡标志物的表达上调. 这一结果直接反映了HMGN5敲低能够提升CRC细胞对5-FU的敏感性. 该发现与HMGN5在肿瘤中普遍表现出的抗凋亡功能特性一致, 但其具体的特异性作用靶点仍需进一步深入解析.

4 结论

综上, 本研究阐明了HMGN5在CRC的5-FU耐药性中的作用并初步揭示了敲低HMGN5恢复5-FU耐药CRC细胞的5-FU敏感性的机制可能与其增强5-FU诱导的细胞凋亡以及增强Hippo-YAP1信号通路活性有关. 这一发现为基于HMGN5靶向治疗的新型策略提供了重要的理论依据. 此外, 针对HMGN5的小分子抑制剂可能成为逆转CRC中5-FU耐药的有效工具, 但其临床转化潜力仍需通过动物实验及其他体内研究进一步验证.

文章亮点

实验背景

5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 5-FU)是结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的重要化疗药物, 但其耐药性导致治疗失败和肿瘤复发. 研究5-FU耐药的分子机制对改善治疗效果具有重要意义.

实验动机

高迁移率族蛋白N5(high mobility group ncleosomal binding domain 5, HMGN5)在多种肿瘤中发挥重要作用, 但其在CRC及5-FU耐药性中的作用尚不清楚. 本研究聚焦HMGN5对CRC细胞5-FU耐药性的调控作用及机制.

实验目标

本研究的主要目标是阐明HMGN5在CRC细胞5-FU耐药性中的调控机制, 并为逆转化疗耐药提供潜在的干预靶点.

实验方法

通过CTR-DB数据库分析CRC患者肿瘤组织中HMGN5的表达差异, 构建5-FU耐药细胞模型, 并利用Western blot、CCK-8实验、流式细胞术等方法评估HMGN5的表达及其对细胞增殖和凋亡的影响.

实验结果

研究发现, HMGN5在5-FU耐药细胞中显著上调, 敲低HMGN5可增强耐药细胞对5-FU的敏感性, 并激活Hippo-YAP1信号通路, 促进细胞凋亡.

实验结论

HMGN5的敲低能够部分恢复5-FU耐药CRC细胞的敏感性, 其机制可能与增强5-FU诱导的凋亡及激活Hippo-YAP1信号通路有关, 为靶向HMGN5的治疗策略提供了理论依据.

展望前景

未来的研究应关注HMGN5的小分子抑制剂在逆转CRC中5-FU耐药的临床应用潜力, 并通过动物实验验证其有效性.

5 参考文献

1 Patel SG, Dominitz JA. Screening for Colorectal Cancer. *Ann Intern Med* 2024; 177: ITC49-ITC64 [PMID: 38588547 DOI: 10.7326/AITC202404160]

2 Singh U, Kokkanti RR, Patnaik S. Beyond chemotherapy: Exploring 5-FU resistance and stemness in colorectal cancer. *Eur J Pharmacol* 2025; 991: 177294 [PMID: 39863147 DOI: 10.1016/

j.ejphar.2025.177294]
3 Qin J, Hu S, Lou J, Xu M, Gao R, Xiao Q, Chen Y, Ding M, Pan Y, Wang S. Selumetinib overcomes ITGA2-induced 5-fluorouracil resistance in colorectal cancer. *Int Immunopharmacol* 2024; 137: 112487 [PMID: 38889513 DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112487]
4 Rapoport BL, Steel HC, Theron AJ, Heyman L, Smit T, Ramdas Y, Anderson R. High Mobility Group Box 1 in Human Cancer. *Cells* 2020; 9: 1664 [PMID: 32664328 DOI: 10.3390/cells9071664]
5 He B, Kram V, Furusawa T, Duverger O, Chu EY, Nanduri R, Ishikawa M, Zhang P, Amendt BA, Lee JS, Bustin M. Epigenetic Regulation of Ameloblast Differentiation by HMGN Proteins. *J Dent Res* 2024; 103: 51-61 [PMID: 37950483 DOI: 10.1177/00220345231202468]
6 Shi Z, Tang R, Wu D, Sun X. Research advances in HMGN5 and cancer. *Tumour Biol* 2016; 37: 1531-1539 [PMID: 26700674 DOI: 10.1007/s13277-015-4693-3]
7 Guo Z, Zhang X, Li X, Xie F, Su B, Zhang M, Zhou L. Expression of oncogenic HMGN5 increases the sensitivity of prostate cancer cells to gemcitabine. *Oncol Rep* 2015; 33: 1519-1525 [PMID: 25572120 DOI: 10.3892/or.2014.3696]
8 Mou J, Huang M, Wang F, Xu X, Xie H, Lu H, Li M, Li Y, Kong W, Chen J, Xiao Y, Chen Y, Wang C, Ren J. HMGN5 Escorts Oncogenic STAT3 Signaling by Regulating the Chromatin Landscape in Breast Cancer Tumorigenesis. *Mol Cancer Res* 2022; 20: 1724-1738 [PMID: 36066963 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-22-0241]
9 Yao K, He L, Gan Y, Liu J, Tang J, Long Z, Tan J. HMGN5 promotes IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition of bladder cancer by interacting with Hsp27. *Aging (Albany NY)* 2020; 12: 7282-7298 [PMID: 32315283 DOI: 10.18632/aging.103076]
10 Ma Q, Wang X, Wang H, Song W, Wang Q, Wang J. HMGN5 Silencing Suppresses Cell Biological Progression via AKT/MAPK Pathway in Human Glioblastoma Cells. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 8610271 [PMID: 32596388 DOI: 10.1155/2020/8610271]
11 Moretti F, Rolando C, Winker M, Ivanek R, Rodriguez J, Von Kriegsheim A, Taylor V, Bustin M, Pertz O. Growth Cone Localization of the mRNA Encoding the Chromatin Regulator HMGN5 Modulates Neurite Outgrowth. *Mol Cell Biol* 2015; 35: 2035-2050 [PMID: 25825524 DOI: 10.1128/MCB.00133-15]
12 Kitayama S, Ikeda K, Sato W, Takeshita H, Kawakami S, Inoue S, Horie K. Testis-expressed gene 11 inhibits cisplatin-induced DNA damage and contributes to chemoresistance in testicular germ cell tumor. *Sci Rep* 2022; 12: 18423 [PMID: 36319719 DOI: 10.1038/s41598-022-21856-3]
13 Gan Y, He L, Yao K, Tan J, Zeng Q, Dai Y, Liu J, Tang Y. Knockdown of HMGN5 increases the chemosensitivity of human urothelial bladder cancer cells to cisplatin by targeting PI3K/Akt signaling. *Oncol Lett* 2017; 14: 6463-6470 [PMID: 29163683 DOI: 10.3892/ol.2017.7045]
14 Peng L, Zhou L, Li H, Zhang X, Li S, Wang K, Yang M, Ma X, Zhang D, Xiang S, Duan Y, Wang T, Sun C, Wang C, Lu D, Qian M, Wang Z. Hippo-signaling-controlled MHC class I antigen processing and presentation pathway potentiates antitumor immunity. *Cell Rep* 2024; 43: 114003 [PMID: 38527062 DOI: 10.1016/j.celrep.2024.114003]
15 Ma S, Meng Z, Chen R, Guan KL. The Hippo Pathway: Biology and Pathophysiology. *Annu Rev Biochem* 2019; 88: 577-604 [PMID: 30566373 DOI: 10.1146/annurev-biochem-013118-111829]
16 Zanconato F, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ at the Roots of Cancer. *Cancer Cell* 2016; 29: 783-803 [PMID: 27300434 DOI: 10.1016/j.ccell.2016.05.005]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 郑晓梅

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2025 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注码号. 如马连生[1]报告……, 研究[2-5]认为……; PCR方法敏感性高[6,7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp)和*World Journal of Gastroenterology*(http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号 ; 书籍: 序号, 作者(列出全部),书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2025 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.