



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: PRMT5 激活 JAK2/STAT3 信号通路促进结直肠癌血管生成
作者: 张稳, 耿永勇, 涂喜疆, 姚千惠, 郭文龙, 姚博刚, 孙旭凌
收稿日期: 2026-03-19
网络首发日期: 2026-04-13
引用格式: 张稳, 耿永勇, 涂喜疆, 姚千惠, 郭文龙, 姚博刚, 孙旭凌. PRMT5 激活 JAK2/STAT3 信号通路促进结直肠癌血管生成[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260411.1130.002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

PRMT5 激活 JAK2/STAT3 信号通路促进结直肠癌血管生成

张 稳^{1,2}, 耿永勇³, 涂喜疆⁴, 姚千惠^{1,2}, 郭文龙^{1,2}, 姚博刚^{1,2}, 孙旭凌¹

(¹石河子大学第一附属医院胃肠外科, 石河子 832008; ²石河子大学医学院, 石河子 832002; ³新疆生产建设兵团第三师图木舒克市总医院普外科, 图木舒克 844000; ⁴新疆生产建设兵团第九师医院普外科, 白杨 831399)

摘要 目的 探究蛋白精氨酸甲基转移酶 5 (PRMT5) 通过 Janus 激酶 2/信号转导及转录激活因子 3 (JAK2/STAT3) 信号通路对结直肠癌 (CRC) 血管生成的影响。**方法** 结合癌症基因组图谱 (TCGA)、基因表达综合数据库 (GEO) 分析 PRMT5 在 CRC 组织中的表达及预后价值, 收集 105 例 CRC 患者癌组织及癌旁组织标本, 免疫组织化学法 (IHC) 检测 PRMT5 表达; Western blot 检测正常结肠上皮细胞 (FHC) 及 CRC 细胞系 (RKO、SW480 等) 中 PRMT5 蛋白水平。将 SW48、LoVo 细胞分为 NC 组、PRMT5 干扰组, 构建稳定敲低模型后, 检测其条件培养基对人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 增殖、周期、迁移及管腔形成的影响; 通过实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR)、酶联免疫吸附试验 (ELISA) 等分析 PRMT5 与血管内皮生长因子 A (VEGFA) 的关系, 结合基因集富集分析 (GSEA) 富集、胞质胞核分离实验验证调控通路。**结果** PRMT5 在 CRC 组织及细胞系中高表达, 与患者不良预后及病理特征相关 (均 $P < 0.05$); PRMT5 敲低可显著抑制 HUVECs 血管生成相关能力 (均 $P < 0.05$), 下调 VEGFA 表达 (均 $P < 0.01$)。GSEA 提示 PRMT5 与 JAK2/STAT3 通路激活相关 (均 $P < 0.001$), PRMT5 敲低可抑制 JAK2/STAT3 活化、STAT3 核转位及核内磷酸化 STAT3 (p-STAT3) 水平, 进而抑制 VEGFA 表达。**结论** PRMT5 在 CRC 中高表达且预示不良预后, 通过激活 JAK2/STAT3 通路促进 STAT3 核转位及转录活性, 驱动 VEGFA 表达以促进肿瘤血管生成。

关键词 结直肠癌; PRMT5; VEGFA; JAK2/STAT3 信号通路; 血管生成; 肿瘤预后

中图分类号 R 735.3+4

文献标志码 A

PRMT5 promotes angiogenesis in colorectal cancer via the JAK2/STAT3

2026-03-19 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 82260521); 北京科创医学发展基金会项目 (编号: KC2023-JX-0186-FQ037); 兵团指导性科技计划项目 (编号: 2025ZD038); 石河子大学第一附属医院“队列研究”建设项目 (编号: 2025DLYJ08)

作者简介: 张 稳, 男, 硕士研究生;

孙旭凌, 男, 副主任医师, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: tjhsxl@126.com

signaling pathway

Zhang Wen^{1,2}, Geng Yongyong³, Tu Xijiang⁴, Yao Qianhui^{1,2}, Guo Wenlong^{1,2}, Yao Bogang^{1,2}, Sun Xuling¹

(¹Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832008; ²Medical College of Shihezi University, Shihezi 832002; ³Department of General Surgery, General Hospital of Tumxuk City, Third Division, Xinjiang Production and Construction Corps, Tumxuk 844000; ⁴Department of General Surgery, the 9th Division Hospital, the 9th Division, Xinjiang Production and Construction Corps, Baiyang 831399)

Abstract Objective To investigate the effect of protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) on the angiogenesis of colorectal cancer (CRC) through the Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway. **Methods** The expression and prognostic value of PRMT5 in CRC tissues were analyzed based on The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Gene Expression Omnibus (GEO) databases. A total of 105 pairs of cancer tissues and matched adjacent non-tumor tissues were collected from CRC patients, and PRMT5 expression was detected by immunohistochemistry (IHC); Western blot was used to detect the PRMT5 protein level in normal colonic epithelial cells (FHC) and CRC cell lines (including RKO, SW480). SW48 and LoVo cells were divided into negative control (NC) group and PRMT5 knockdown interference group. After the stable knockdown cell models were successfully constructed, the effects of conditioned medium on the proliferation, cell cycle, migration and tube formation abilities of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were detected; The correlation between PRMT5 and vascular endothelial growth factor A (VEGFA) was analyzed by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Gene set enrichment analysis (GSEA) and cytoplasm-nucleus separation assay were performed to verify the regulatory pathway. **Results** PRMT5 was highly expressed in CRC tissues and cell lines, which was significantly correlated with poor prognosis and pathological characteristics of patients (all $P < 0.05$); PRMT5 knockdown could significantly inhibit the angiogenesis-related abilities of HUVECs (all $P < 0.05$) and down-regulate the expression of VEGFA (all $P < 0.01$). GSEA results indicated that PRMT5 expression was significantly associated with the activation of JAK2/STAT3 signaling pathway (all $P < 0.001$). PRMT5

knockdown could inhibit the activation of JAK2/STAT3, the nuclear translocation of STAT3 and the protein level of phosphorylated STAT3 (p-STAT3) in the nucleus, thus inhibiting the expression of VEGFA. **Conclusion** PRMT5 is highly expressed in CRC tissues and indicates poor prognosis of patients. It promotes the nuclear translocation and transcriptional activity of STAT3 by activating the JAK2/STAT3 pathway and drives the expression of VEGFA to promote tumor angiogenesis.

Key words Colorectal Cancer; PRMT5; VEGFA; JAK2/STAT3 Signaling Pathway; Angiogenesis; Tumor Prognosis

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 82260521); Project of BEIJING SCIENCE AND TECHNOLOGY INNOVATION MEDICAL DEVELOPMENT FOUNDATION (No. KC2023-JX-0186-FQ037); Bingtuan Science and Technology Guiding Program (No. 2025ZD038); The "Cohort Study" Construction Project of the First Affiliated Hospital of Shihezi University (No. 2025 DLYJ08)

Corresponding author Sun Xyuling, E-mail: tjhsxl@126.com

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是中国最常见的五大癌症类型之一, 2022 年其新发癌症病例数在全国范围内排名第二; 其年龄标准化死亡率 (age-standardized mortality rate, ASMR) 为 8.56/10 万, 位居全国第四^[1]。外科 R0 根治性手术切除为治疗肿瘤—淋巴结—转移分期系统 (Tumor-Node-Metastasis, TNM) I-III 期 CRC 的首选方法, 但 IV 期转移性或复发性 CRC 患者很难实现手术根治。传统氟尿嘧啶+奥沙利铂+亚叶酸钙化疗方案 (fluorouracil, oxaliplatin and leucovorin, FOLFOX) 治疗反应率仅为 30% 至 60%^[2], 疗效有限, 靶向治疗革新了恶性肿瘤的治疗模式^[3]。抗血管内皮生长因子 A 抗体治疗 (anti-VEGF monoclonal antibody therapy, anti-VEGF) 的核心目的是阻断血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA) 介导的分子通路^[4], 个体患者对该治疗产生耐药或敏感性差异的具体机制未完全阐明^[5]。蛋白精氨酸甲基转移酶 5 (protein arginine methyltransferase 5, PRMT5) 是一种重要的甲基转移酶^[6], 其调控肿瘤血管生成机制尚未完全明确。该研究通过分析 CRC 细胞中 PRMT5 在血管生成中的作用机制, 为解决 CRC 靶向治疗的耐药问题提供新思路。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与试剂

选取 CRC 细胞系 RKO、SW480、HCT116、SW48 和 LoVo, 正常结肠上皮细胞 FHC 和

人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs), 由华中科技大学附属同济医院分子医学中心馈赠。HCT116 细胞培养于含 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 McCoy's 5A 培养基; LoVo、RKO、FHC 细胞在含 10% FBS 的 DMEM 培养基中生长; SW480 和 SW48 细胞培养于含 10% FBS 的 L15 培养基; HUVECs 则在含 10% FBS 的 1640 培养基中培养。甘油醛—3—磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (sc-137179)、磷酸化 Janus 激酶 2 (phosphorylated Janus kinase 2, p-JAK2) 抗体 (sc-21870) 购自圣克鲁斯生物技术公司 (上海); PRMT5 抗体 (A19533) 购自爱博泰克生物科技有限公司 (武汉); VEGFA 抗体 (ab1316) 购自艾博抗贸易有限公司 (上海); 信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 抗体 (#9139)、磷酸化 STAT3 (phosphorylated STAT3, p-STAT3) (Tyr705) 抗体 (#9145)、Janus 激酶 2 (Janus kinase 2, JAK2) 抗体 (#3230) 购自赛信通 (上海) 生物试剂有限公司。

1.2 临床组织样本与伦理批准

包含 105 例结直肠癌及其癌旁正常组织的人类结直肠组织芯片由石河子大学医学院病理学教研室馈赠。本项目的书面知情同意书已经获得石河子大学第一附属医院医学伦理委员会的批准 (批件号: KJ2022-054-01)。

1.3 构建稳定低表达细胞系

利用慢病毒 (shPRMT5 和对照组) 对 SW48 和 LoVo 细胞进行感染, 持续 48 h, 随后加入 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的嘌呤霉素, 直至空白对照组细胞死亡, 剩余的贴壁细胞即为稳定细胞, 转染序列分别为 shPRMT5#1: CCGGCCATCCTCTCCCTATTAAGCTCGAGCTTAATAGGGAAGAGGATGGGTTTTTG; shPRMT5#2: GTACCGGCCATCAGAGAGGAGCATTTCTCGAGGAAATGCTCCTCTCTG ATGGGTTTTTTG。

1.4 制备条件培养基 (conditioned medium, CM)

LoVo 稳定细胞以 5×10^3 个/mL 的浓度接种在 6 孔板里, 细胞贴壁过夜后, 用 PBS 溶液轻柔洗涤, 更换为无血清基础孵育基继续培养, 为去除 FBS 的影响, 24 h 后 1 000 r/min 离心 5 min, 取上清液即获得无血清 CM。分别标记为为 CM-shNC、CM-PRMT5#1、CM-PRMT5#2, 保存于 -80°C 冰箱里, 进行血管生成相关的管腔形成实验, 以及 VEGFA 的酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测。

1.5 生物信息学分析

从癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 与基因表达综合数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 公共数据库筛选不同数据集, 用 R 语言和 RStudio 平台分析具有显著表达差异显著的基因, 随后使用 Graphpad Prism9.5、Origin 2024 等软件进行数据可视化, 基于 PRMT5 的表达水平进行基因集富集分析 (Gene Set Enrichment Analysis, GSEA), 相关分析采用 GSEA_4.4.0 软件完成。

1.6 细胞增殖实验

细胞以 2 000 个/孔的密度植入在 96 孔板里, 24、48、72 h 后, 用 CCK-8 试剂盒 (上海碧云天公司) 进行孵育, 培养持续 1 h, 用微孔板阅读器测量 450 nm 波长处的吸光度 (absorbance, A)。

1.7 细胞周期分析

将 LoVo 稳定细胞株用胰酶消化后, 1 000 r/min 低速离心 5 min 弃上清液, 用 80% 的冷乙醇在 4 °C 固定过夜, PBS 洗涤后, 1 000 r/min 低速离心 5 min 洗涤并弃去上清液后, 加入 200 μ L 结合缓冲液 (Binding buffer)、5 μ L 碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 和 5 μ L 核糖核酸酶 (RNase), 充分吹打混匀, 在室温下避光静置 30 min, 最终使用流式细胞术分析细胞周期的分布比例。

1.8 Transwell 迁移实验

向 24 孔板的上室加入 250 μ L 无血清培养基 (约 10^4 细胞), 下室加入 600 μ L 含 10% FBS 的培养基。细胞在培养箱 (37 °C, 5% CO₂) 中迁移 24 h, 之后固定细胞膜, 用结晶紫染色, 在光学显微镜下观察并计数迁移细胞数量。

1.9 体外管腔形成实验

将 HUVECs 与含 10% FBS 的 DMEM 培养基混合形成细胞悬液。细胞悬浮液被接种到 96 孔板的基质胶里, 放入 CO₂ 培养箱培养 4 h。监测管状结构的生成情况, 采集记录数据。

1.10 实时荧光定量 PCR (real-time quantitative PCR, qRT-PCR)

使用 TRIzol 试剂 (美国 Invitrogen 公司) 提取总 RNA, 通过 ABI7300 系统 (美国 Applied Biosystems 公司) 结合 SYBR Green PCR Master Mix (大连 Takara 公司) 检测目标基因的 mRNA, 目的基因的表达水平用 GAPDH 基因标准化, 通过 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算。定量聚合酶链式反应引物序列示例如下: PRMT5 (正向: 5'-CTGTCTTCCATCCGCGTTTCA-3'; 反向: 5'-GCAGTAGGTCTGATCGTGTCTG-3') ; GAPDH (正向:) ;

5'-ATGGGGAAGGTGAAGGTCGG-3'; 反向: 5'-GACGGTGCCATGGAATTTGC-3'); PDGFB (正向: 5'-CTCGATCCGCTCCTTTGATGA-3'; 反向: 5'-CGTTGGTGCGGTCTATGAG-3'); 碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, BFGF) (正向: 5'-AGTGTGTGCTAACCGTTACCT-3'; 反向: 5'-ACTGCCCAGTTCGTTTCAGTG-3'); 表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) (正向: 5'-TGTCCACGCAATGTGTCTGAA-3'; 反向: 5'-CATTATCGGGTGAGGAACAACC-3') ; VEGFA (正向: 5'-AGGGCAGAATCATCACGAAGT-3'; 反向: 5'-AGGGTCTCGATTGGATGGCA-3')。

1.11 胞质胞核分离实验

6孔板每孔加150 μ L的buffer A裂解,细胞刮下来,每隔10 min用200 μ L枪头轻吹5次,共30 min,每200 μ L裂解液加11 μ L buffer B,涡旋剧烈振荡5 s,冰上静置1 min,涡旋剧烈振荡5 s,4 $^{\circ}$ C离心10 min,吸上清液,即为胞质。沉淀用buffer A 200 μ L洗涤1次,4 $^{\circ}$ C离心,弃上清液。向沉淀中加buffer C (与Buffer A的比例为1:2),冰上30 min,期间超声2次,每次2轮。再次4 $^{\circ}$ C离心,取上清液,即为胞核。

1.12 Western blot

采集总蛋白后,用含蛋白酶及磷酸酶抑制剂混合物的NP40裂解液制备,样本通过SDS-PAGE方法分离,转移到PVDF膜上,阻断处理完毕,膜在4 $^{\circ}$ C环境里与PRMT5、JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3、VEGFA、GAPDH、Histone H3对应靶标一抗孵育过夜,随后,膜与辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 (稀释比例 1:5000) 孵育2 h,最后用ECL试剂检测。

1.13 酶联免疫吸附试验 (ELISA)

用ELISA试剂盒进行实验,严格按照操作指南逐步操作,对条件培养基 (CM-shNC, CM-PRMT5#1, CM-PRMT5#2) 里的VEGFA蛋白浓度进行了检测,通过微孔板读数器在450 nm波长测定吸光度 (A_{450})。

1.14 免疫组织化学 (immunohistochemistry, IHC)

肿瘤组织用4%多聚甲醛固定后进行石蜡包埋,石蜡块被切成4 μ m厚的切片,切片经过脱蜡、复水、抗原修复和封闭操作,然后在4 $^{\circ}$ C下与抗PRMT5抗体培养一夜,次日早晨,样品用辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的第二抗体孵育,随后用二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 显色试剂进行着色反应,最终用光学显微镜采集IHC的代表性图像。由两名经验丰富的病理医师采用双盲法独立评估染色结果。表达水平通过强

度评分与比例评分相乘计算得出，其中阳性染色比例评分（1：≤10%；2：>10%~50%；3：>50%~75%；4：>75%。染色强度评分（0：无染色；1：弱；2：中等；3：强）。0~3 分为低表达，4 分以上为高表达。

1.15 统计学处理

所有实验均独立重复进行了至少 3 次。使用 IBM SPSS Statistics 27 软件和 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计学分析。两组数据之间的比较采用独立样本 *t* 检验。多组之间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），方差齐性时进一步采用 Dunnett 法进行实验组与对照组的两两比较，方差不齐时则采用 Dunnett's T3 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PRMT5 在 CRC 中高表达且预示不良预后

GEO 公共数据库数据显示，CRC 组织中 PRMT5F 的转录水平显著高于正常组织（均 $P<0.001$ ），见图 1A、1B。PRMT5 高表达的 CRC 病人，总生存期（overall survival, OS）和无病生存期（disease free survival, DFS）都比较短，PRMT5 高表达和 CRC 患者的较差预后有关（均 $P<0.01$ ），见图 1C、1D。105 对配对 CRC 组织和癌旁正常组织的免疫组化分析显示，PRMT5 蛋白在肿瘤细胞内表达强度显著高于邻近正常组织（均 $P<0.01$ ），见图 1E、1F、表 1。统计数据显示，PRMT5 在肿瘤组织中的高表达与肿瘤直径≥5 cm、分化程度较低、临床分期较晚（III/IV 期）以及肿瘤浸润深度增加等不良病理特征相关（ $P<0.05$ ），见表 2。

表 1 癌与癌旁组织 PRMT5 表达差异

Tab.1 Differential expression of PRMT5 in tumor and paracancerous tissues

Variable	Count	Expression of PRMT5		
		Low	High	Percentage of high PRMT5 expression (%)
Tumor	105	21	84	80.0
Normal	105	79	26	24.8

注：OR (95%CI)=12.15 (6.32-23.34); $\chi^2=64.22$, $df=1$, $P<0.001$.

表 2 PRMT5 表达与临床病理特征关系

Tab.2 Correlation between PRMT5 Expression and Clinicopathological Characteristics

Variable	Count	Expression of PRMT5		χ^2 value	P value
		Low (n=21)	High (n=84)		
Gender				0.038	0.845

Male	48	10	38		
Female	57	11	46		
Age (years)				0.155	0.695
<60	46	10	36		
≥60	59	11	48		
Tumor site				0.087	0.770
Colon	47	10	37		
Rectum	58	11	47		
Maximum tumor diameter (cm)				4.203	0.041
<5	54	15	39		
≥5	51	6	45		
Cancer differentiation				8.791	0.003
Well	7	4	3		
Moderately	84	17	67		
Poorly	14	0	14		
Depth of invasion				16.172	<0.001
T1	5	2	3		
T2	33	14	19		
T3	35	4	31		
T4	32	1	31		
Lymph node metastases				3.015	0.084
Negative	68	17	51		
Positive	37	4	33		
TNM stage				13.747	<0.001
I	28	14	14		
II	37	3	34		
III	31	4	27		
IV	9	0	9		

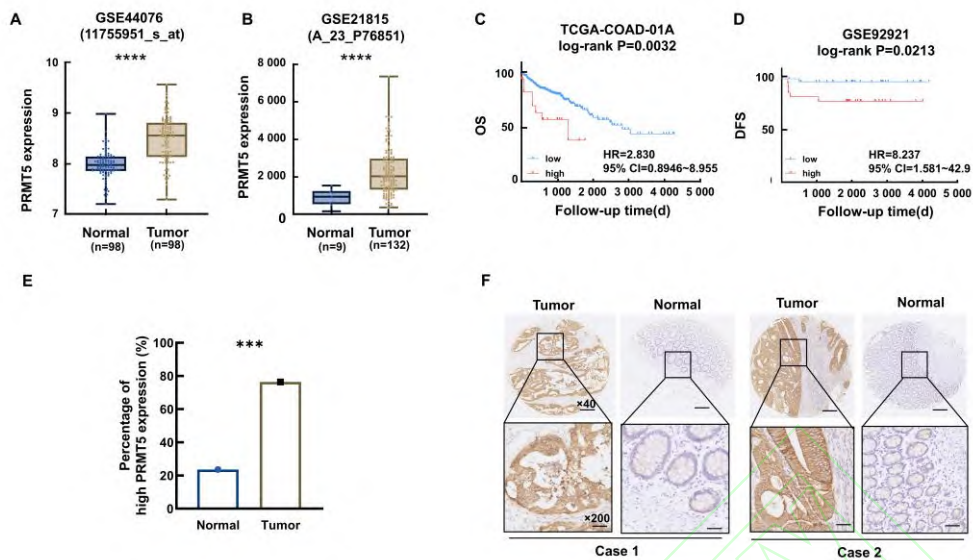


图 1 结直肠癌 PRMT5 高表达提示预后不良

Fig. 1 High expression of PRMT5 indicated poor prognosis in colorectal cancer

注：A,B: PRMT5 expression difference in tumor vs adjacent tissues analyzed based on GEO datasets GSE44076 and GSE21815; C:, The effects of PRMT5 on OS analyzed based on TCGA colorectal adenocarcinoma; D:The effects of PRMT5 on DFS analyzed based on GSE92921; E: Comparison of PRMT5 protein expression levels in tumor vs adjacent tissues; F: IHC staining of PRMT5 in colorectal cancer and adjacent tissues; *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs Normal tissue.

2.2 PRMT5 在 CRC 细胞系中的高表达状态，构建低表达 PRMT5 的稳转染细胞系

Western blot 检测证实 PRMT5 在 RKO、SW480、SW48、LoVo 等 4 种 CRC 细胞系的蛋白表达水平高于 FHC。定量统计结果进一步显示其在这 4 种细胞系中表达显著上调（均 $P < 0.0001$ ），其中 LoVo（升高至 FHC 的约 3.5 倍）和 SW48（升高至 FHC 的约 2 倍）细胞表现为 PRMT5 蛋白基础表达量最高的两种细胞系。见图 2A。基于上述 PRMT5 高表达的 LoVo 和 SW48 细胞系，课题组使用慢病毒介导的 RNA 干扰技术（shPRMT5 #1/#2），建立了 PRMT5 持续性敲低的细胞模型。对应定量结果进一步证实，处理组 PRMT5 相对表达量较 shNC 组显著降低（均 $P < 0.0001$ ）。见图 2B。

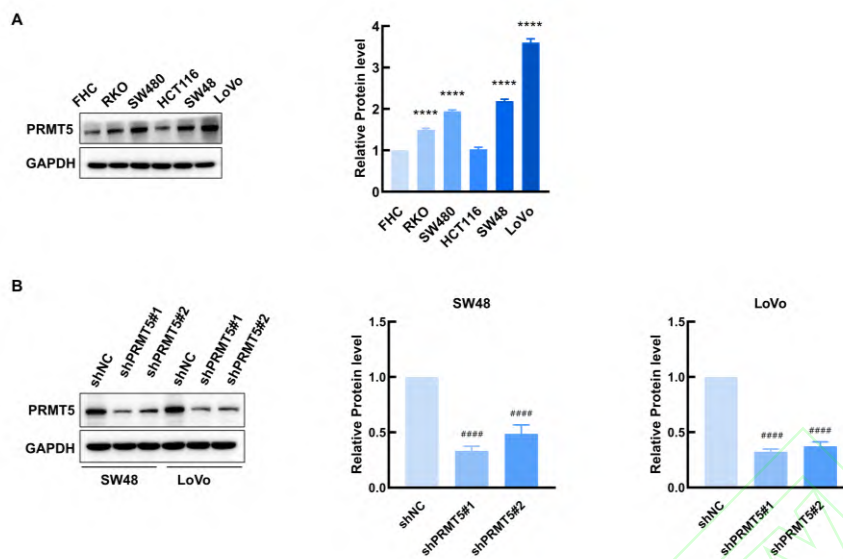


图 2 PRMT5 在结直肠癌细胞系的表达及低表达稳转细胞系构建

Fig. 2 Expression of PRMT5 in CRC cell lines and establishment of stable cell lines with PRMT5 knockdown

注: A: Western blot analysis of PRMT5 protein in 5 colorectal adenocarcinoma cell lines and FHC cells; B: Western blot analysis of PRMT5 protein in SW48 and LoVo cells after silencing with shNC or PRMT5 shRNA (1/2); **** $P < 0.0001$ vs FHC; #### $P < 0.0001$ vs shNC.

2.3 PRMT5 促进 CRC 血管生成

与 CM 相比, 使用 shPRMT5 感染 LoVo 细胞的 CM 培养的 HUVECs 增殖能力降低 (P 均 <0.05)。见图 3A。经 shPRMT5 处理的 LoVo 细胞来源的 CM 孵育后, HUVECs 的细胞周期发生 G2-M 期阻滞, PRMT5 调控内皮细胞周期进程从而干扰恶性增殖。见图 3B。经 shPRMT5 处理的 LoVo 细胞来源的 CM 孵育后, HUVECs 的迁移被明显抑制 (P 均 <0.01)。见图 3C。经此 CM 处理后, HUVECs 的血管生成结构形成也明显受阻 (P 均 <0.01)。见图 3D。

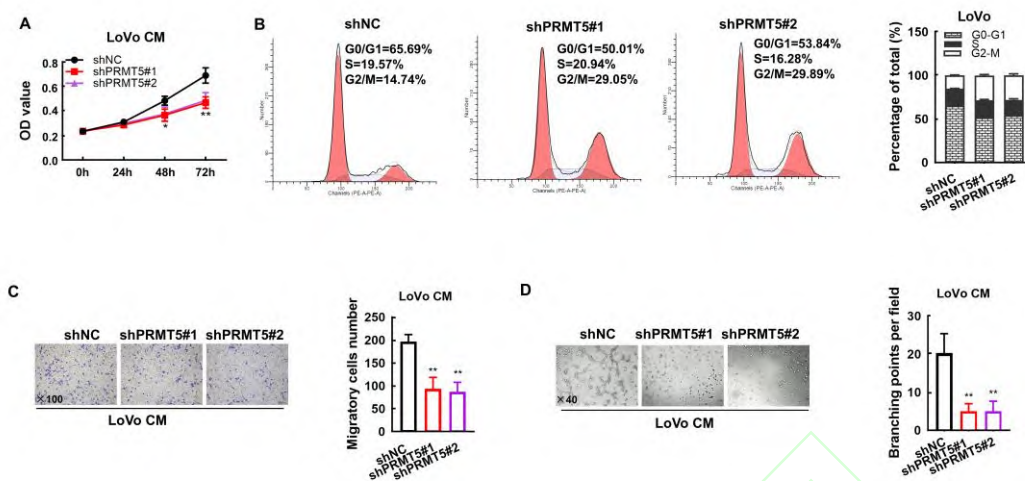


图 3 PRMT5 促进结直肠癌血管生成

Fig. 3 PRMT5 promoted angiogenesis in CRC

注：A: CCK-8 assay was used to detect the proliferation of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) cultured with conditioned medium from LoVo cells; B: Flow cytometry was used to detect the cell cycle distribution of HUVECs incubated with conditioned medium from LoVo cells; C: Transwell assay was used to detect the migration ability of HUVECs treated with conditioned medium from LoVo cells; D: Tube formation assay was used to detect the tube formation ability of HUVECs treated with conditioned medium from LoVo cells; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs shNC group.

2.4 VEGFA 是 PRMT5 介导的血管生成所必需的因子

基于 GSE21510 数据集和 GSE18105 数据集分析，GSEA 富集分析显示“HALLMARK_ANGIOGENESIS”(血管生成特征)通路在 PRMT5 高表达 CRC 样本的 GSEA 结果里呈现显著的富集信号(均 $P < 0.010$)。见图 4A。PRMT5 敲低会抑制 VEGFA 的 mRNA 转录和蛋白分泌水平。qRT-PCR 结果显示，敲低 PRMT5 后降低 VEGFA 的 mRNA 转录水平 ($P < 0.01$)，而 PDGFB、EGF、BFGF 的 mRNA 表达水平未见明显变化。见图 4B。Western blot 分析显示，PRMT5 敲低导致 LoVo 细胞内的 VEGFA 蛋白水平下调。见图 4C。ELISA 检测发现，与对照组相比，PRMT5 敲低组 (shPRMT5#1 和 shPRMT5#2) 的细胞 CM 中，VEGFA 浓度均显著降低 ($P < 0.01$)。见图 4D。

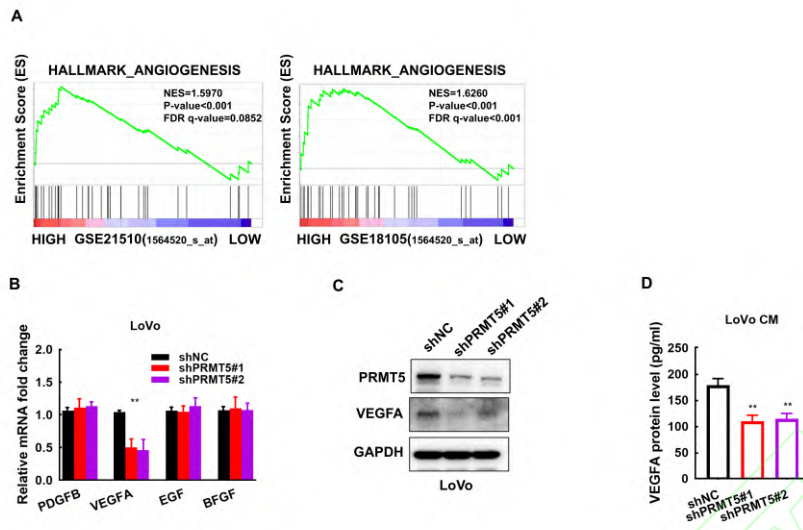


图 4 VEGFA 是 PRMT5 介导结直肠癌血管生成的必需因子

Fig. 4 VEGFA was an essential factor for PRMT5-mediated angiogenesis in CRC

注: A: GSEA enrichment analysis of PRMT5 high and low expression groups in GEO datasets GSE21510 and GSE18105; B: qRT-PCR was used to detect the mRNA expression of PDGFB, BFGF, EGF and VEGFA in LoVo cells (shNC/shPRMT5#1/#2); C: Western blot analysis of PRMT5 protein in lysates from the above LoVo cells; D: ELISA was used to detect the concentration of VEGFA in the conditioned medium of the above LoVo cells; ** $P < 0.01$ vs shNC.

2.5 PRMT5 促进 CRC 中 STAT3 信号通路的激活

GSEA 分析表明 PRMT5 调控的转录组特征谱在 IL6-JAK-STAT3 信号通路中显著富集 (均 $P < 0.001$)。见图 5A。Western blot 检测显示, PRMT5 敲低后, STAT3 磷酸化水平 (p-STAT3) 显著降低, VEGFA 蛋白表达也相应减少, 但总 STAT3、JAK2 及 JAK2 磷酸化水平 (p-JAK2) 未发生显著变化。见图 5B。胞质胞核分离实验证实, PRMT5 被敲低后, STAT3 在细胞核内的分布减少, PRMT5 经由激活 JAK2/STAT3 磷酸化级联, 驱动 STAT3 转运到细胞核并增强其转录活性, 从而促进下游靶基因 VEGFA 的表达, 最终促进 CRC 的血管生成。如图 5C。

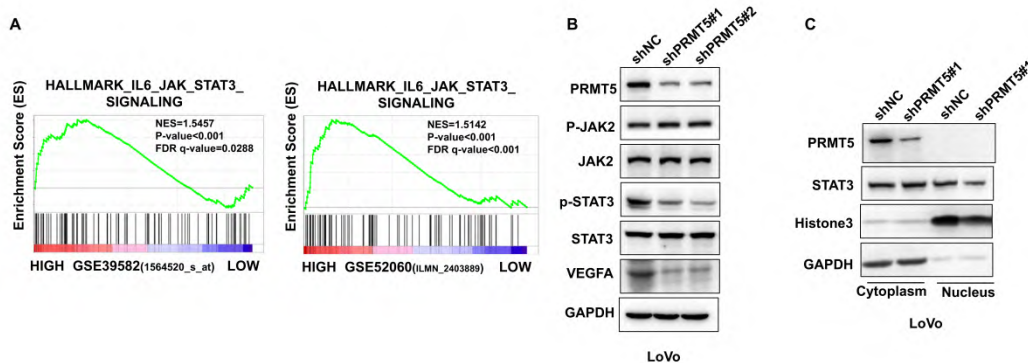


图 5 PRMT5 促进结直肠癌 STAT3 信号通路激活

Fig. 5 PRMT5 promoted activation of the STAT3 signaling pathway in CRC

注：A: GSEA enrichment analysis of PRMT5 high and low expression groups in GEO datasets GSE39582 and GSE52060 (associated with IL6/JAK/STAT3 signaling pathway); B: Western blot analysis of protein expression levels of p-JAK2, JAK2, p-STAT3, STAT3 and VEGFA in LoVo cells after PRMT5 knockdown; C: Western blot analysis of protein distribution of PRMT5 and STAT3 in cytoplasmic and nuclear fractions of LoVo cells (control/PRMT5 shRNA treatment).

3 讨论

PRMT5 在多种恶性肿瘤进展中发挥作用，通过沉默关键抑癌基因^[7]，促进肿瘤进展。Yang et al^[8]发现 PRMT5 和 zeste 同源物 2 增强子（enhancer of Zeste homolog 2, EZH2）相互作用，表观沉默细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2B（cyclin dependent kinase inhibitor 2B, CDKN2B），促进 CRC 的增殖；Li et al^[9]的工作则揭示 PRMT5 与微染色体维持复合物 7（minichromosome maintenance complex component 7, MCM7）相互作用，调节细胞周期进程来促进肿瘤的生长和转移；这些研究阐明 PRMT5 促进 CRC 肿瘤生长和转移的普遍机制。近年的研究揭示 PRMT5 在肿瘤微环境中存在多维度调控功能，Meng et al^[10]发现 PRMT5 通过 AlkB 同源物 5（AlkB homolog 5, ALKBH5）介导的 N6-甲基腺苷（N6-methyladenosine, m6A）修饰提高分化簇 276（CD276 molecule, CD276）表达促进免疫逃逸；Qu et al^[11]团队证实 PRMT5 通过抑制铁死亡蛋白溶质载体家族 7 成员 11（solute carrier family 7 member 11, SLC7A11）来增强氧化应激抵抗效应。在治疗转化方向，Abumustafa et al^[12]证实靶向 PRMT5

能够调控 Dickkopf WNT 信号通路抑制剂 1 (Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 1, DKK1) 增敏化疗, 这为 PRMT5 抑制剂的临床转化提供了实验支持。在血管生成领域, Ye et al^[13]团队证实 PRMT5 在低氧诱导的血管生成中起关键作用。本研究在结直肠癌模型中证实, PRMT5 通过激活 JAK2/STAT3 磷酸化级联, 驱动 STAT3 核转位, 进而转录上调 VEGFA 表达, 这是对肿瘤血管生成调控网络的重大补充。

本研究将生物信息学分析与临床组织芯片统计结果相结合, 呈现 PRMT5 在 CRC 进展中的重要作用, 数据显示 CRC 组织中存在 PRMT5 过表达现象, PRMT5 的表达水平与肿瘤恶性程度呈正相关, 它是患者不良预后的独立风险因子, 会导致 OS 和 DFS 缩短。为了更充分认识 PRMT5 的生物学功能, 本研究建立了 PRMT5 稳定敲低的 CRC 细胞模型, 通过 shRNA 介导的 PRMT5 敲低明显抑制 CRC 细胞的增殖, 这种抑制表现为 G2-M 期阻滞。细胞的迁移能力和体外血管生成能力也受到明显抑制, 该现象通过成管实验得到了验证。这些证据进一步表明 PRMT5 是促进 CRC 恶性进展的关键调控因子。

VEGFA 激活血管内皮细胞表面的血管内皮生长因子受体 1/2 (vascular endothelial growth factor receptor 1/2, VEGFR1/2) 受体, 由此促进内皮细胞的迁移与增殖, 并使血管通透性增强^[14]; Zheng et al^[15]在肺癌模型中验证 PRMT5 通过激活缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 subunit alpha, HIF-1 α) /VEGFR/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号轴促血管生成。; Abe et al^[16]发现 PRMT5 通过影响 STAT3 保持肿瘤干细胞特性, 促进肿瘤生长的同时, 建立了 STAT3 激活的正反馈循环。本研究证实敲低 PRMT5 后 VEGFA 在转录和蛋白水平都受到显著抑制。这个结果比 EGF、BFGF 等其他常见血管生成因子更为显著, 这表明 PRMT5 在调控 CRC 血管生成中的作用具有特异性。上游机制的探索表明, PRMT5 主要通过调控 JAK2/STAT3 磷酸化及其核转位来激活该通路。

VEGFA 作为关键促血管生成因子, 其信号通路的异常激活不仅是肿瘤血管生成的主要驱动力, 也与化疗耐药密切相关。赵秦英 等^[17]证实 HIF-1 α /VEGF 通路在 HCT15/5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 耐药株中显著活化, 而华蟾素通过抑制该通路逆转上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 并增强 5-FU 疗效; 本研究则揭示 PRMT5 驱动的 STAT3-VEGFA 轴在常氧下促进血管生成, 这两途径可能协同加剧 VEGF 信号传导, 共同成为克服 5-FU 耐药的潜在靶点。

综上所述, PRMT5 在 CRC 组织中高表达, 促进 STAT3 的磷酸化, 调控下游血管生成因子 VEGFA 的表达, 促进血管内皮细胞增殖, 提高其成管能力, 为开发以 PRMT5 为靶点

的新型抗肿瘤治疗策略提供了新思路。

参考文献

- [1] Han B, Zheng R, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022[J]. J Natl Cancer Cent, 2024, 4(1): 47-53. doi:10.1016/j.jncc.2024.01.006.
- [2] Lu W, Fu D, Kong X, et al. FOLFOX treatment response prediction in metastatic or recurrent colorectal cancer patients *via* machine learning algorithms[J]. Cancer Med, 2020, 9(4): 1419-29. doi:10.1002/cam4.2786.
- [3] Min H Y, Lee H Y. Molecular targeted therapy for anticancer treatment[J]. Exp Mol Med, 2022, 54(10): 1670-94. doi:10.1038/s12276-022-00864-3.
- [4] Quaggin S E. A half-century of VEGFA: from theory to practice[J]. J Clin Invest, 2024, 134(15): e184205. doi:10.1172/JCI184205.
- [5] Nixon A B, Sibley A B, Liu Y, et al. Plasma protein biomarkers in advanced or metastatic colorectal cancer patients receiving chemotherapy with bevacizumab or cetuximab: results from CALGB 80405 (alliance)[J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(13): 2779-88. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-2389.
- [6] Wu K, Niu C, Liu H, et al. Research progress on PRMTs involved in epigenetic modification and tumour signalling pathway regulation (Review)[J]. Int J Oncol, 2023, 62(5): 62. doi:10.3892/ijo.2023.5510.
- [7] Liang Z, Liu L, Wen C, et al. Clinicopathological and prognostic significance of PRMT5 in cancers: a system review and meta-analysis[J]. Cancer Control, 2021, 28: 10732748211050583. doi:10.1177/10732748211050583.
- [8] Yang L, Ma D W, Cao Y P, et al. PRMT5 functionally associates with EZH2 to promote colorectal cancer progression through epigenetically repressing CDKN2B expression[J]. Theranostics, 2021, 11(8): 3742-59. doi:10.7150/thno.53023.
- [9] Li X, Wang X, Zhao J, et al. PRMT5 promotes colorectal cancer growth by interaction with MCM7[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(7): 3537-47. doi:10.1111/jcmm.16436.
- [10] Meng S, Liu H, Xu J, et al. PRMT5-mediated ALKBH5 methylation promotes colorectal cancer immune evasion *via* increasing CD276 expression[J]. Research, 2025, 8: 549. doi:10.34133/research.0549.

- [11] Qu S, Feng B, Xing M, et al. PRMT5 K240lac confers ferroptosis resistance *via* ALKBH5/SLC7A11 axis in colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2025, 44(32): 2814-30. doi:10.1038/s41388-025-03457-2.
- [12] Abumustafa W, Castven D, Becker D, et al. Inhibition of PRMT5-mediated regulation of DKK1 sensitizes colorectal cancer cells to chemotherapy[J]. *Cell Signal*, 2024, 119: 111166. doi:10.1016/j.cellsig.2024.111166.
- [13] Ye Q, Zhang J, Zhang C, et al. Endothelial PRMT5 plays a crucial role in angiogenesis after acute ischemic injury[J]. *JCI Insight*, 2022, 7(9): e152481. doi:10.1172/jci.insight.152481.
- [14] Lee C, Kim M J, Kumar A, et al. Vascular endothelial growth factor signaling in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic perspectives[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2025, 10: 170. doi:10.1038/s41392-025-02249-0.
- [15] Zheng Y, Ji H, Yi W, et al. PRMT5 facilitates angiogenesis and EMT *via* HIF-1 α /VEGFR/Akt signaling axis in lung cancer[J]. *Aging*, 2023, 15(13): 6163-78. doi:10.18632/aging.204826.
- [16] Abe Y, Sano T, Otsuka N, et al. PRMT5-mediated methylation of STAT3 is required for lung cancer stem cell maintenance and tumour growth[J]. *Commun Biol*, 2024, 7: 593. doi:10.1038/s42003-024-06290-7.
- [17] 赵秦英, 吴悦, 桂仲璇, 等. 华蟾素调控 HIF-1 α /VEGF 通路逆转结肠癌 HCT15/5-FU 细胞耐药的体外研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(6): 902-7. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.06.004.
- [17] Zhao Q Y, Wu Y, Gui Z X, et al. Cinobufagin regulates HIF-1 α /VEGF pathway to reverse drug resistance in colorectal cancer cells HCT15/5-FU *in vitro*[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(6): 902-7. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.06.004.