

RAB31 促进肾透明细胞癌增殖、侵袭及转移的机制研究

董宇豪^{1,2}, 陈欣然¹, 高石亮³, 邹南鑫¹, 陈立军⁴, 张旭²

¹解放军总医院研究生院, 北京 100853; ²解放军总医院第三医学中心泌尿外科, 北京 100143; ³解放军联勤保障部队第908医院泌尿外科, 江西南昌 330001; ⁴解放军总医院第五医学中心泌尿外科, 北京 100039

摘要:背景 肾透明细胞癌是肾癌最常见的病理类型, 探究肾透明细胞癌的发生发展机制、找寻新的治疗靶点有重要意义。**目的** 探索 RAB31 对肾透明细胞癌的增殖、迁移、侵袭能力以及线粒体分裂融合方面的影响。**方法** 采用荧光定量 PCR 与 Western blot 检测配对肾透明细胞癌组织和癌旁组织中 RAB31 的表达情况; 分析 RAB31 的表达与肾透明细胞癌患者分期分级的关系; 采用 Western blot 检测 NC-RAB31 组、shRAB31-1 组、shRAB31-2 组、NC-786-O 组、OE-RAB31 组细胞的 RAB31 及 MMP2、SLUG 等 EMT 相关蛋白, BAX、BCL-2 等凋亡相关蛋白, DRP1、FIS1 等线粒体分裂相关基因在肾透明细胞癌细胞中的表达情况; 采用 CCK8 实验、划痕实验和 Transwell 实验分别检测 RAB31 对肾透明细胞癌细胞增殖和迁移能力的影响; 利用 RNA-seq 技术对稳定敲低 RAB31 的肾透明细胞癌细胞进行测序分析。**结果** RAB31 在肾透明细胞癌组织中的表达高于在癌旁组织中的表达。Western blot 结果显示, 与 NC-RAB31 组比较, sh-RAB31-1 组与 shRAB31-2 组肾透明细胞癌细胞 EMT 相关通路被抑制, 凋亡通路被激活, 线粒体融合增多, 过表达组则相反。CCK8 实验结果显示, 稳定敲低 RAB31 的肿瘤细胞增殖能力低于正常肿瘤细胞, 结果具有统计学差异 ($P < 0.001$); Transwell 实验结果显示, 稳定敲低 RAB31 的肿瘤细胞侵袭和迁移能力低于正常肿瘤细胞, 结果具有统计学差异 ($P < 0.001$)。划痕实验结果显示, 稳定敲低 RAB31 的肿瘤细胞迁移能力低于正常肿瘤细胞, 结果具有统计学差异 ($P < 0.001$)。**结论** RAB31 在肾透明细胞癌组织中高表达并可能通过增强肿瘤细胞能量代谢提升其增殖和迁移能力。

关键词: 肾透明细胞癌; 线粒体; 侵袭转移; 脂代谢; 凋亡

中图分类号: R737.11

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(XXXX)XX-0001-07

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.XXXX.2024年12期-董宇豪-RAB31促进肾透明细胞癌增殖、侵袭及转移的机制研究

引用本文: 董宇豪, 陈欣然, 高石亮, 等. RAB31 促进肾透明细胞癌增殖、侵袭及转移的机制研究 [J]. 解放军医学院学报, XXXX, XX (XX): 1-7.

Effects and mechanisms of RAB31 on proliferation, invasion and metastasis of kidney renal clear cell carcinoma

Dong Yuhao^{1,2}, Chen Xinran¹, Gao Shiliang³, Zou Nanxin¹, CHEN Lijun⁴, Zhang Xu²

¹Graduate School of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; ²Urology Department, the third Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100143, China; ³The 908th Hospital of Chinese People's Liberation Army Joint Logistic Support Force, Jiangxi Province, Nanchang 330001, China; ⁴Urology Department, the Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100039, China
Corresponding author: Zhang Xu. Email: xzhang301@163.com

Abstract: Background Kidney renal clear cell carcinoma (KIRC) represents the predominant histological subtype of renal neoplasms. Elucidating the pathogenesis of ccRCC and identifying novel therapeutic targets are crucial for advancing treatment strategies. **Objective** This study aimed to investigate the role of RAB31 in the proliferation, migration, and invasiveness of ccRCC, as well as its impact on mitochondrial dynamics. **Methods** The expression levels of RAB31 in ccRCC and adjacent non-tumorous tissues were assessed using quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and Western blot analysis. The correlation between RAB31 expression and patient prognosis was statistically analyzed. Expression profiles of epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers (MMP2, SLUG), apoptosis-related proteins (BAX, BCL-2), and mitochondrial fission regulators (DRP1, FIS1) in ccRCC cells were evaluated by Western blot. The effects of RAB31 on ccRCC cell proliferation and migration were determined using CCK-8 and Transwell assays, respectively. RNA sequencing (RNA-seq) was employed to analyze the transcriptomic alterations in ccRCC cells following RAB31 knockdown. **Results** The expression of RAB31 in renal clear cell carcinoma tissues was higher than that in adjacent tissues. Western blot results showed that compared with the NC-RAB31 group, the EMT related pathway was inhibited, the apoptosis pathway was activated, and mitochondrial fusion was increased in the sh-RAB31-1 and shRAB31-2 groups, which was

收稿日期: 2024-09-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82173085)

作者简介: 董宇豪, 男, 硕士。研究方向: 泌尿系肿瘤发生发展机制。Email: 1016008793@qq.com

通信作者: 张旭, 男, 博士生导师, 主任医师, 教授。Email: xzhang301@163.com

opposite in the overexpression group. CCK8 assay showed that the proliferation ability of tumor cells with stable knockdown of RAB31 was lower than that of normal tumor cells, and the results were statistically significant ($P < 0.001$). The results of Transwell assay showed that tumor cells with stable knockdown of RAB31 had lower invasion and migration abilities than normal tumor cells, and the results were statistically significant ($P < 0.001$). Wound healing assay showed that the migration ability of tumor cells with stable RAB31 knockdown was lower than that of normal tumor cells, and the results were statistically significant ($P < 0.001$). **Conclusion** RAB31 is highly expressed in renal clear cell carcinoma tissues and may promote tumor cell proliferation and migration by enhancing energy metabolism.

Keywords: renal clear cell carcinoma; mitochondria; invasion and metastasis; lipid metabolism; apoptosis

Cited as: Dong Yuhao, Chen Xinran, Gao Shiliang, et al. Effects and mechanisms of RAB31 on proliferation, invasion and metastasis of kidney renal clear cell carcinoma[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, XXXX, XX(XX): 1-7.

肾透明细胞癌(kidney renal clear cell carcinoma, KIRC)是常见的泌尿系肿瘤,约占全部肾癌的80%~90%^[1-2]。目前,手术是主要的治疗手段。然而,无论是肾癌根治术或者肾部分切除术后仍然有20%~30%患者出现转移性复发^[3],复发后主要以靶向治疗与免疫治疗为主^[4]。对于复发患者仍然缺乏有效的治疗手段,寻找新的诊断与治疗靶点,新的治疗方式对肾透明细胞癌的诊治有重要意义。

小GTP结合蛋白31(ras-related protein RAB31)属于小G蛋白家族成员,是小G蛋白中最大的Ras超家族^[5],主要定位于细胞核膜与高尔基体,调节细胞核与高尔基体与线粒体之间的物质运输,如4型葡萄糖转运蛋白及表皮生长因子等^[6]。RAB31被认为是肿瘤发生发展的重要因素。在以往报道中,RAB31被公认为良好的乳腺癌标志物^[7],在乳腺癌中,有报道称RAB31的蛋白水平可以通过雌激素受体 α (ER α)的RNA结合蛋白HuR稳定其转录^[8]。除此之外,RAB31在胶质母细胞瘤中表达升高^[9],在胰腺癌中RAB31的升高与总生存率降低相关^[10],在胃癌与骨肉瘤中与RAB31的程度与肿瘤的恶性程度相关^[11-12]。但RAB31在肾透明细胞癌中的表达情况以及在肾癌中的调控机制仍处于空白阶段。因此,本研究旨在探究RAB31在肾透明细胞癌增殖、迁移、侵袭方面的影响,为其寻找新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 样本采集

本研究中所用17对肾癌及癌旁正常组织标本均源自2022至2023年间于解放军总医院第五医学中心泌尿外科医学部医学部行肾癌根治术的肾透明细胞癌患者。所有在术前接受放疗或化疗的病例均被排除在外。本研究中临床样本的收集均获得解放军总医院医学伦理委员会的批准和许可,

并且均获得所有纳入患者的知情同意。

1.2 实验材料

人肾癌细胞系(786-O、ACHN)购于普诺赛公司;DMEM培养基、1640培养基、胎牛血清和青霉素-链霉素购自普诺赛公司;CCK8检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司;Transwell小室购自美国康宁公司;结晶紫溶液购自上海碧云天生物技术有限公司;BCA蛋白定量试剂盒购自索莱宝公司;蛋白胶和预染蛋白marker购自南京诺唯赞生物科技有限公司;SYBR购自诺唯赞公司;RAB31、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、MMP2、SNAIL、Slug、GAPDH一抗购自美国abcam公司;Bax与BCL-2一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗购自protein公司;ECL发光试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;基质胶购自美国康宁公司。

1.3 细胞培养与敲低及过表达RAB31的肾透明细胞癌稳转株的构建

293-TN细胞复苏后,重悬于含有10%血清与1%青霉素链霉素DMEM的培养基中,将包装质粒与目的质粒使用jetprime按照PAX2:VSVG:目的质粒=3:2:5的比例进行转染使293-TN细胞生成慢病毒。48h后使用0.45 μ m滤器,过滤含病毒培养基并加入病毒浓缩液。4 $^{\circ}$ C过夜后,12000rpm离心30min,PBS重悬后保存于-80 $^{\circ}$ C冰箱备用。ACHN及786-O细胞系复苏后分别重悬于含有10%血清与1%青霉素链霉素的DMEM及1640的培养基中,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂细胞培养箱中培养。使用此前生成的慢病毒进行转染,分别获得ACHN(NC-RAB31, shRAB31-1, shRAB31-2),786-O(NC-786-O,OE-RAB31),共5组细胞系。

1.4 CCK8实验检测肾透明细胞癌的增殖能力

将ACHN(NC-RAB31, shRAB31-1, shRAB31-2)3组细胞系,按每孔2000个细胞均匀铺至96孔板中,每组细胞系检测4次,设3个复

孔, 每组细胞系铺 12 个孔。待细胞贴壁后, 每组细胞系取 3 个复孔进行换液, 每孔加入 100 μ L 新鲜培养基及 10 μ L CCK8 试剂, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h 后, 使用酶标仪 450 nm 测定吸光度, 根据吸光度对细胞增殖水平进行定量。

1.5 Transwell 实验测定细胞侵袭与迁移能力

将 ACHN(NC-RAB31, shRAB31-1, shRAB31-2)3 组细胞系分别配成无血清混悬液, 将 Transwell 小室置于 24 孔板之中, 吸取 100 μ L 细胞悬液接种到上层, 并在下层添加 750 μ L 含 20% 血清的培养基, 培养 24 h 后, 使用 4% 多聚甲醛固定, 并用 1% 结晶紫染色 15 min。用棉签轻轻擦去小室上层细胞, 待小室晾干后置于显微镜下拍照并计数。侵袭实验先将 8 μ L 基质胶加入预冷的 1.5 mL 离心管中, 然后加入 64 μ L 预冷的无血清培养基, 并用枪头吹打充分混匀。吸取 60 μ L 稀释后的基质胶, 垂直加入 Transwell 上室中, 均匀平铺在底部。放入培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂)中孵育 3 h, 使基质胶聚合成薄膜。孵育后将上室中多余液体吸掉, 在每孔中加入 100 μ L 无血清培养基后, 于培养箱放置 30 min, 进行基底膜水化。将上室中液体吸掉, 检查是否有液体穿过小室进入到下室中, 若没有, 按前述方法接种细胞, 处理后按前述方法拍照计数。

1.6 Western blot 实验检测肾透明细胞癌细胞中 RAB31、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、MMP2、SNAIL、Slug、BAX、BCL-2、DRP1、FIS1、GAPDH 蛋白的表达水平

取 ACHN(NC-RAB31, shRAB31-1, shRAB31-2)3 组细胞加入适量 RIPA 及 PMSF 后, 冰上裂解 30 分钟, 将提取的蛋白进行 BCA 定量, 加入上样缓冲液 95 $^{\circ}$ C 加热 10 min。准备好样品后, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 此后, 将蛋白转移至甲醇预激活的 PVDF 膜上。5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 分别加入不同一抗(RAB31、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、MMP2、SNAIL、Slug、BAX、BCL-2、DRP1、FIS1、GAPDH)4 $^{\circ}$ C 过夜和对应二抗室温孵育 2 h, 进行 ECL 发光检测。

1.7 细胞划痕实验检测细胞迁移能力

将 ACHN(NC-RAB31, sh-RAB31-1, shRAB31-2)3 组细胞分别接种在含有 10% 血清与 1% 青霉素链霉素的 1640 培养基的 6 孔板中, 当细胞生长至 80% 密度时, 用无菌 200 μ L 枪头尖端垂直划痕; PBS 洗涤去除漂浮细胞, 加入不含血清的

培养基培养 24 h 与 48 h 后分别拍照。使用 imagej 软件量化细胞迁移能力。

1.8 荧光定量 PCR 实验检测肾透明细胞癌细胞中 RAB31 mRNA 表达水平

采用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA, 使用 cDNA 反转录试剂盒反转录成 cDNA。通过 SYBR PCR 试剂盒测定肾透明细胞癌细胞中各种 mRNA 的相对表达水平。反应体系 (20 μ L): 10 μ L SYBR Taq (2 \times), 0.5 μ L Primer F, 0.5 μ L Primer R, 2 μ LRT 产物, 9.5 μ L ddH₂O。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 70 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 作为内参, 采用 2 \pm $\Delta\Delta$ Ct 法计算肾透明细胞癌细胞中各种 mRNA 的相对表达水平。RAB31 引物见下表:

名称	序列(5'-3')	长度
RAB31(Forward Primer)	GGGGTTGGGAAATCAAGCATC	21
RAB31(Reverse Primer)	GCCAATGAATGAAACCGTTCCT	22

1.9 统计方法

采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计分析。多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

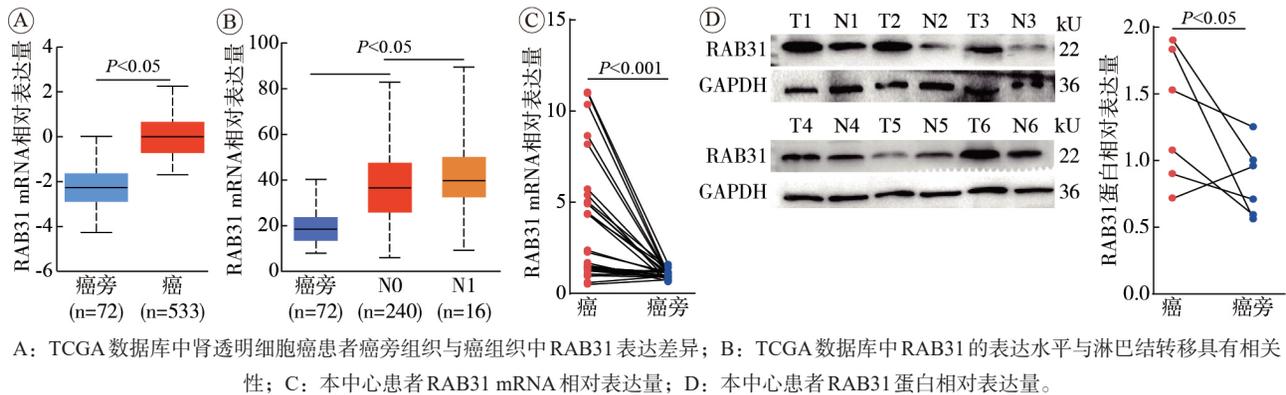
2 结果

2.1 RAB31 在肾透明细胞癌中高表达且影响肿瘤分级分期

首先通过 TCGA 数据库选取 533 例肾透明细胞癌组织及 72 例正常组织进行 *t* 检验分析。结果显示, RAB31 在肾透明细胞癌组织中表达水平高于癌旁组织, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 1A)。将数据库中 533 名患者分为 RAB31 高表达组与低表达组, 采用 log-rank 检验分析 RAB31 表达水平与肾透明细胞癌患者淋巴转移的关系, RAB31 高表达组转移更多 (图 1B)。此后对我院 17 名肾透明细胞癌患者的配对肿瘤组织与正常组织进行荧光定量 PCR (Realtime fluorescence quantitative PCR) 分析, 肿瘤组织较正常组织 RAB31 的 mRNA 水平增高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$) (图 1C)。使用 Western-blot 实验对我院 6 对患者肿瘤组织与正常组织蛋白水平进行检测, 肿瘤组织 RAB31 蛋白表达大部分高于正常组织 (图 1D)。

2.2 敲低 RAB31 表达水平抑制肾透明细胞癌增殖、迁移和侵袭

通过 qPCR 实验与 western-blot 实验进行验证,



A: TCGA 数据库中肾透明细胞癌患者癌旁组织与癌组织中 RAB31 表达差异; B: TCGA 数据库中 RAB31 的表达水平与淋巴结转移具有相关性; C: 本中心患者 RAB31 mRNA 相对表达量; D: 本中心患者 RAB31 蛋白相对表达量。

图1 RAB31 在肾透明细胞癌中的表达情况

Fig.1 Expression of RAB31 in clear cell renal cell carcinoma patients

结果显示稳定敲低 RAB31 的肾透明细胞癌细胞系构建成功(图 2A)。本文分别构建敲低与过表达 RAB31 的细胞系, 通过调控 RAB31 蛋白的含量探究其在肿瘤细胞中的生物学功能。CCK8 实验表明, 生长 72 h 后, 与 NC-RAB31 组相比, 敲低 RAB31 组 ACHN 细胞增殖能力减弱, 差异具有统计学意义($P < 0.001$)(图 2B)。划痕实验证明, 与 NC-RAB31 组相比, 敲低 RAB31 组 ACHN 细胞迁移能力减弱, 低表达 RAB31 的细胞间隙更大, 差异具有统计学意义($P < 0.001$)(图 2C)。Transwell 实验表明, 与 NC 组相比, 敲低 RAB31 的表达减弱了 ACHN 细胞的迁移与侵袭能力, 穿过 Transwell 小室的细胞减少(图 2D), 差异具有统计学意义($P < 0.001$)。综上, 肾透明细胞癌细胞系中低表达 RAB31 可以降低肾透明细胞癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力。

2.3 RAB31 表达水平与凋亡相关通路及 EMT 通路的关系

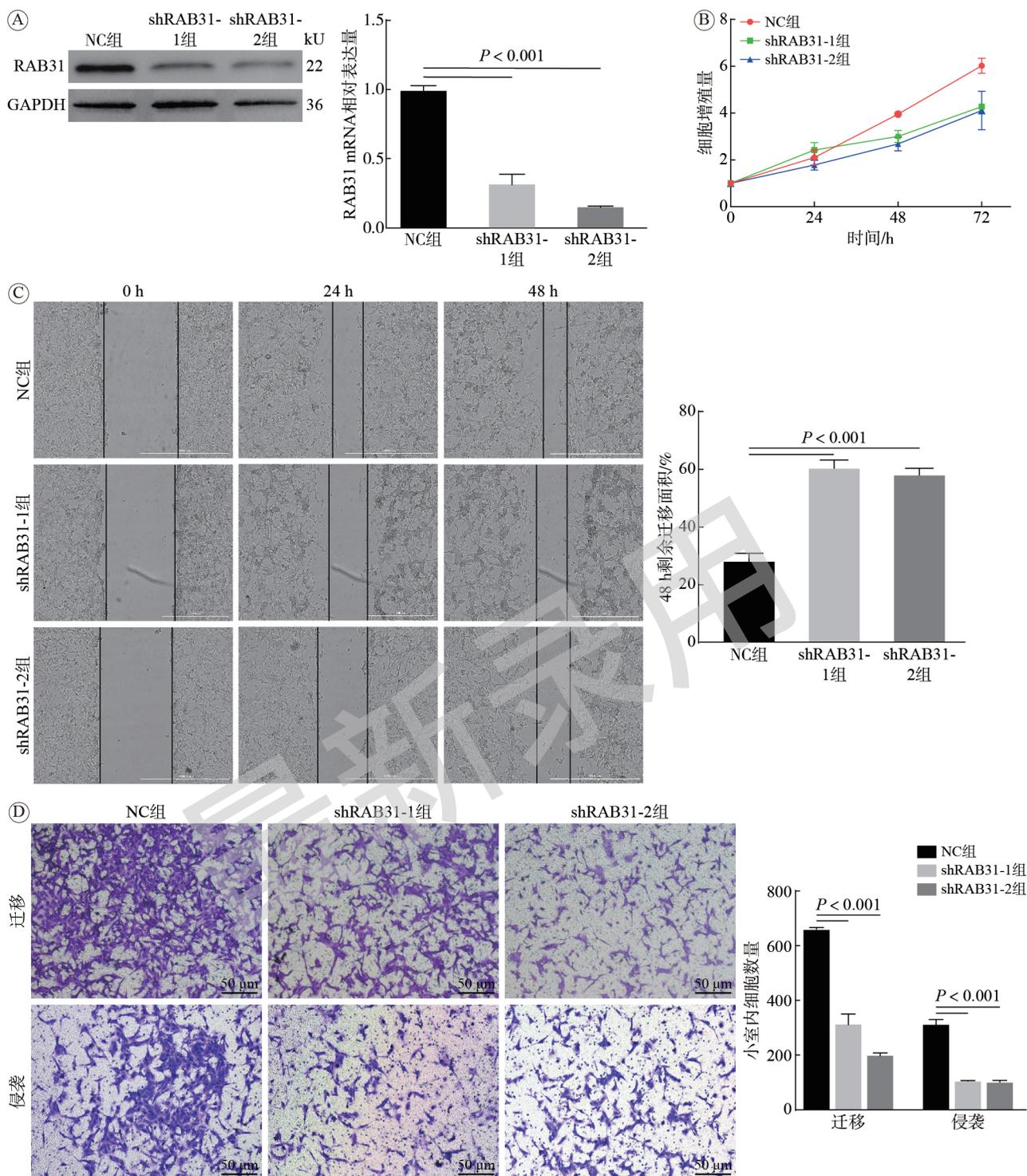
观察到敲低 RAB31 细胞对增殖有影响之后, 我们首先检测了凋亡相关蛋白的表达, Bax 通常被认为是重要的促凋亡蛋白, 通过形成多聚体插入至线粒体外膜改变线粒体通透性, 通过释放细胞色素 c 激活 caspase 家族, 进而引起凋亡。Bcl-2 作为体内最重要的抗凋亡的蛋白, 分别通过线粒体与内质网途径抗凋亡^[13]。因此, 选择这两种蛋白作为凋亡标志物, 通过 western-blot 实验对 Bax 与 Bcl-2 蛋白表达量进行检测, 结果显示, 敲低 RAB31 后 BAX 表达量升高, Bcl-2 表达量降低, 提示细胞发生凋亡, 增殖减低。此后, 我们在 786-O 细胞系中构建了稳定过表达 RAB31 的肾透明细胞癌细胞系(图 3A), 而过表达 RAB31 的细胞中观察到相反的趋势, 过表达 RAB31 激活了抗凋亡通路

(图 3B)。同时, 观察到敲低 RAB31 的细胞在迁移侵袭中的表型之后, 我们检测了 EMT 相关蛋白的表达, EMT 通路被广泛报道与肿瘤迁移与侵袭相关^[14]。结果显示, 敲低 RAB31 之后, 在肾癌 ACHN 细胞系中 E-cadherin 表达量升高, N-cadherin、Vimentin、MMP2、Snail、Slug 表达量减低。过表达 RAB31 之后, 在肾癌 786-O 细胞系中 E-cadherin 表达量减低, Vimentin、MMP2、Snail、Slug 表达量升高(图 3C)。综上, 从蛋白水平证明, 在敲低 RAB31 在肾癌细胞中诱导细胞发生凋亡, 而过表达 RAB31 发挥了抗凋亡的作用。在敲低 RAB31 在肾癌细胞中 EMT 通路激活, 而过表达 RAB31 细胞中 EMT 通路被抑制。

在明确了 RAB31 与抗凋亡通路及 EMT 通路之间存在的关系后, 我们根据 Rab 家族功能推断其在与其本身的生物学功能相关。线粒体是细胞能量中心, 线粒体本身的状态与细胞凋亡与 EMT 密切相关, 线粒体分裂与融合是反映线粒体状态的重要指标, 根据先前的研究结果, 线粒体状态不佳时通过融合清除^[15-16], 我们推测 RAB31 可能通过线粒体分裂融合影响细胞凋亡及 EMT。通过 western-blot 实验对线粒体分裂相关蛋白进行检测, 发现敲低 RAB31 的 ACHN 细胞中 DRP1 与 FIS1 均降低, 提示线粒体融合发生增多, 受损的线粒体被清除(图 4A)。同时我们对敲低 RAB31 的 ACHN 细胞系进行了 RNA-seq 测序, 结果提示其与类固醇通路密切相关, 为我们进一步探求 RAB31 在肾透明细胞癌细胞中发挥的生物学功能机制提供了线索(图 4B)。

3 讨论

肾透明细胞癌作为肾癌中最常见的类型, 寻



A: western-blot 实验及 qPCR 实验验证 RAB31 稳定敲低细胞株构建成功; B: CCK8 实验检测 RAB31 稳定敲低的 ACHN 细胞增殖能力; C: 划痕实验检测 RAB31 稳定敲低的 ACHN 细胞迁移能力(40×); D: transwell 实验检测 RAB31 稳定敲低的 ACHN 细胞迁移及侵袭能力(40×)。

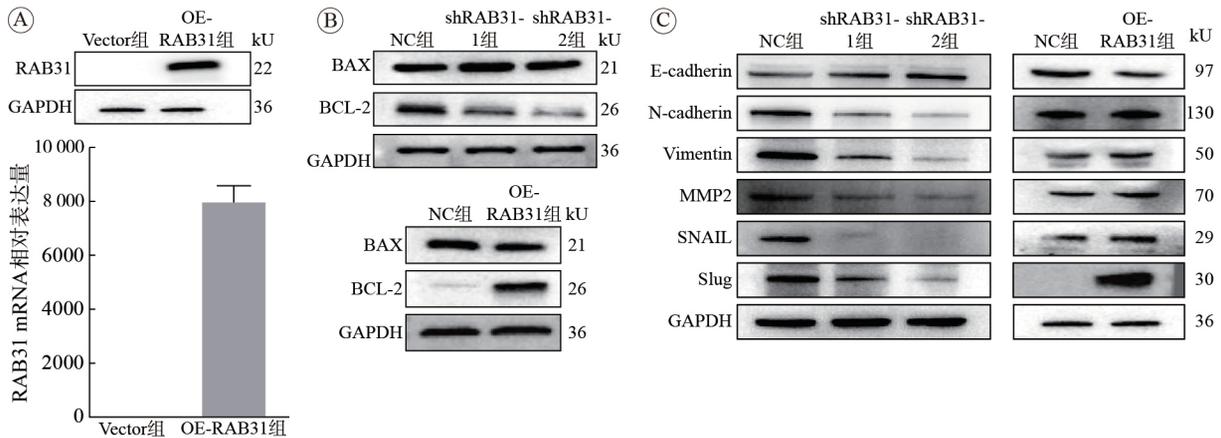
图2 RAB31 影响肾透明细胞癌的增殖、侵袭及迁移

Fig.2 RAB31 affects the proliferation, invasion and migration of renal clear cell carcinoma

找介导肾透明细胞癌发生发展中的关键因子,对患者具有重要意义。RAB31 通过其本身功能在肿瘤中发挥了重要作用,在本研究中,我们利用TCGA 数据库及我院前期所收集的临床样本,利用确定 western-blot 实验及 qPCR 实验在肾透明细胞癌

中的表达情况,同时进行生存分析发现其表达水平与肾透明细胞癌患者肿瘤分期分级密切相关,与此前 RAB31 在乳腺癌中的结果一致^[17]。

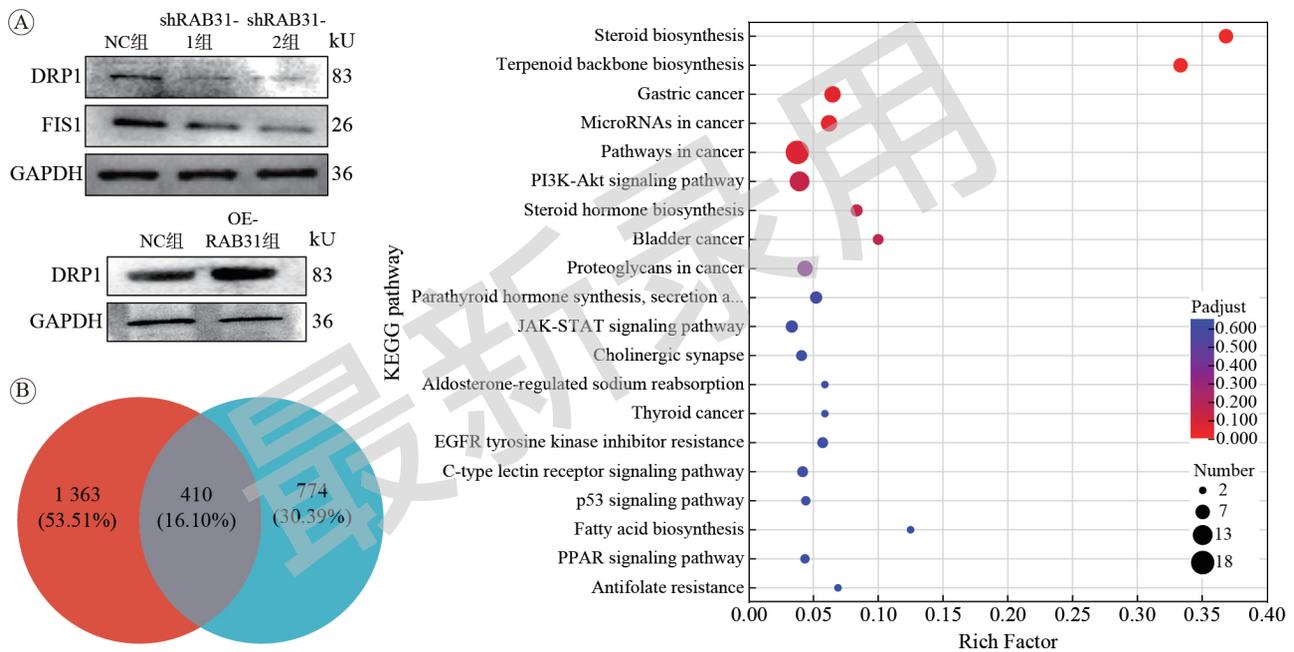
此前有研究说明,在结肠癌中 RAB31 可以通过 mTOR 通路促进结肠癌细胞的增殖^[18],同时,



A: western-blot实验及qPCR实验验证RAB31稳定过表达的786-O细胞构建成功；B: 稳定敲低与稳定过表达RAB31在肾透明细胞癌细胞中对EMT通路相关标志物的影响；C: 稳定敲低与稳定过表达RAB31在肾透明细胞癌细胞中对凋亡相关通路相关标志物的影响。

图3 RAB31影响肾透明细胞癌的EMT通路及凋亡相关通路

Fig.3 RAB31 affects EMT pathway and apoptosis-related pathways in renal clear cell carcinoma



A: RNA-seq提示敲低RAB31影响肾透明细胞癌的脂代谢；B: western-blot实验检测稳定敲低与稳定过表达RAB31在肾透明细胞癌细胞中对线粒体分裂融合相关标志物的影响。

图4 RAB31影响肾透明细胞癌的脂质代谢及线粒体分裂融合

Fig.4 RAB31 affects EMT pathway and apoptosis-related pathways in renal clear cell carcinoma

在乳腺癌中HuR能够结合到RAB31 mRNA的特定区域，阻止了mRNA的降解，从而增加了RAB31 mRNA在细胞中的稳定性和半衰期，提高了RAB31的表达水平^[19]。然而，RAB31在肾癌之中的生物学行为尚不明确。在本研究中，我们构建了RAB31稳定敲低的肾透明细胞癌细胞系，并提取其蛋白与RNA进行验证。随后，我们证明了敲低RAB31可以显著抑制肾透明细胞癌的增殖及迁移能力，一定程度上揭示了RAB31在肾透明细胞癌发生发展中的重要作用。

在近期的研究报道中，线粒体在肿瘤中与脂滴相关代谢密切相关^[20-21]，在本研究中，在对稳定敲低RAB31的RNAseq测序中，脂代谢通路被明显富集，考虑到脂质代谢在细胞中代谢场所主要在线粒体与内质网。RAB31曾报道与细胞囊泡循环相关^[22]，wei等的研究表明RAB31与细胞外分泌的生成密切相关^[6]。根据RAB31在亚细胞器中的定位，我们猜测RAB31在内质网与线粒体脂质代谢运输中或许发挥了重要作用。肾透明细胞癌与代谢重编程高度相关^[23]，其特点为脂质大量异常

堆积, 脂代谢紊乱^[24]。RAB31通过影响脂代谢及细胞能量供应状态来影响肾透明细胞癌包括增殖, 迁移及侵袭相关的恶性生物学行为。

综上所述, RAB31在肾透明细胞癌中显著高表达, 其表达水平与肾透明细胞癌预后相关。降低RAB31的表达水平, 可扰乱肾透明细胞癌细胞的能量代谢过程, 从而影响肾透明细胞癌的增殖, 迁移及侵袭的生物学过程。本研究为进一步发展RAB31为肾透明细胞癌靶点提供了理论依据。

数据共享声明 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取, Email: 1016008793@qq.com。

作者贡献 董宇豪: 论文撰写, 实验操作; 陈欣然: 实验操作, 数据处理; 高石亮: 论文撰写, 数据处理; 邹南鑫: 数据处理; 陈立军: 临床样本提供; 张旭: 实验指导, 论文写作指导和修订。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突。

参考文献

- 1 Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74 (3): 229-263.
- 2 赵厚铭, 黄庆波, 贾通宇, 等. 循环旁路技术在肾癌合并下腔静脉癌栓外科治疗中的应用进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2024, 45 (3): 315-319.
- 3 Rouprêt M, Seisen T, Birtle AJ, et al. European association of urology guidelines on upper urinary tract urothelial carcinoma: 2023 update [J]. *Eur Urol*, 2023, 84 (1): 49-64.
- 4 Dutcher JP, Flippot R, Fallah J, et al. On the shoulders of giants: the evolution of renal cell carcinoma treatment-cytokines, targeted therapy, and immunotherapy [J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2020, 40: 1-18.
- 5 Mima J. Self-assemblies of Rab- and Arf-family small GTPases on lipid bilayers in membrane tethering [J]. *Biophys Rev*, 2021, 13 (4): 531-539.
- 6 Wei DH, Zhan WX, Gao Y, et al. RAB31 marks and controls an ESCRT-independent exosome pathway [J]. *Cell Res*, 2021, 31 (2): 157-177.
- 7 Barzaman K, Karami J, Zarei Z, et al. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 84: 106535.
- 8 Soelch S, Beaufort N, Loessner D, et al. Rab31-dependent regulation of transforming growth factor β expression in breast cancer cells [J]. *Mol Med*, 2021, 27 (1): 158.
- 9 Kunkle BW, Yoo C, Roy D. Reverse engineering of modified genes by Bayesian network analysis defines molecular determinants critical to the development of glioblastoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (5): e64140.
- 10 Li H, Zhang SR, Xu HX, et al. SRPX2 and RAB31 are effective prognostic biomarkers in pancreatic cancer [J]. *J Cancer*, 2019, 10 (12): 2670-2678.
- 11 Yu Q, Li D, Wang D, et al. Effect of RAB31 silencing on osteosarcoma cell proliferation and migration through the Hedgehog signaling pathway [J]. *J Bone Miner Metab*, 2019, 37 (4): 594-606.
- 12 Tang CT, Liang Q, Yang L, et al. RAB31 targeted by miR-30c-2-3p regulates the GLI1 signaling pathway, affecting gastric cancer cell proliferation and apoptosis [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 554.
- 13 Newton K, Strasser A, Kayagaki N, et al. Cell death [J/OL]. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.11.044>.
- 14 Huang YH, Hong WQ, Wei XW. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15 (1): 129.
- 15 Homma Y, Hiragi S, Fukuda M. Rab family of small GTPases: an updated view on their regulation and functions [J]. *FEBS J*, 2021, 288 (1): 36-55.
- 16 Gao S, Hu JJ. Mitochondrial fusion: the machineries in and out [J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31 (1): 62-74.
- 17 Chen K, Xu J, Tong YL, et al. Rab31 promotes metastasis and cisplatin resistance in stomach adenocarcinoma through Twist1-mediated EMT [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14 (2): 115.
- 18 杨黎. Rab31与GPR116在结直肠癌发生发展中作用及机制研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
- 19 Grismayer B, Sölch S, Seubert B, et al. Rab31 expression levels modulate tumor-relevant characteristics of breast cancer cells [J]. *Mol Cancer*, 2012, 11: 62.
- 20 Han MQ, Bushong EA, Segawa M, et al. Spatial mapping of mitochondrial networks and bioenergetics in lung cancer [J]. *Nature*, 2023, 615 (7953): 712-719.
- 21 刘雯丽, 赵玲萍, 孙亚楠, 等. MIRO1修饰的人脐带间充质干细胞通过线粒体自噬修复肺上皮细胞损伤的实验研究 [J]. *解放军医学院学报*, 2024, 45 (6): 644-651.
- 22 Xu JC, Liang Y, Li N, et al. Clathrin-associated carriers enable recycling through a kiss-and-run mechanism [J]. *Nat Cell Biol*, 2024, 26 (10): 1652-1668.
- 23 Hu JY, Wang SG, Hou YX, et al. Multi-omic profiling of clear cell renal cell carcinoma identifies metabolic reprogramming associated with disease progression [J]. *Nat Genet*, 2024, 56 (3): 442-457.
- 24 Qu YY, Zhao R, Zhang HL, et al. Inactivation of the AMPK-GATA3-ECHS1 pathway induces fatty acid synthesis that promotes clear cell renal cell carcinoma growth [J]. *Cancer Res*, 2020, 80 (2): 319-333.

(责任编辑: 孟晓彤)