

论著·基础研究

ABCA7在结直肠癌中的临床价值及转录调控机制

孙瑞状¹, 乔坤朋², 李 璞¹, 徐小莲¹, 孟 俊^{1,3}

1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院海南医院 (海南博鳌研究型医院) 检验科, 琼海 571437; 2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院海南医院 (海南博鳌研究型医院) 病理科, 琼海 571437; 3. 上海交通大学医学院附属瑞金医院检验科, 上海 200025

[摘要] **目的**·探讨ATP结合盒转运蛋白A7 (ATP-binding cassette subfamily A member 7, *ABCA7*) 基因在结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 中的预后评估价值, 为CRC的精准诊断和个性化治疗提供新型分子标志物。**方法**·从肿瘤免疫单细胞数据库 (Tumor Immune Single-cell Hub, TISCH) 获取CRC的单细胞转录组数据, 从基因表达综合 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库下载GSM8594571样本的空间转录组数据 (基于10x Genomics Visium平台), 从癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库提取TCGA-COAD和TCGA-READ项目的转录组数据。通过多组学整合分析策略, 利用单细胞转录组数据解析*ABCA7*在不同细胞亚群的表达模式, 结合空间转录组数据探究其在肿瘤及邻近组织中的空间分布特征; 采用比例风险回归模型 (proportional hazards model, Cox模型) 评估*ABCA7*的预后价值; 通过成簇规律间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) 敲除技术结合CERES算法验证其对CRC细胞增殖的影响; 利用Cistrome数据库的ChIP-seq数据及Pearson相关性分析, 构建*ABCA7*与转录因子锌指BTB结构域蛋白33 (zinc finger BTB domain-containing protein 33, *ZBTB33*)、核因子κB抑制因子 (nuclear factor-κB-repressing factor, *NKRF*) 的转录调控网络。**结果**·分析发现, *ABCA7*在CRC恶性细胞中显著高表达, 尤其在Ki-67高表达的肿瘤组织中表达进一步上调, 且肿瘤组织中*ABCA7*mRNA表达显著高于正常组织 ($P<0.05$), 具有一定诊断效能 [受试者操作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线下面积 (area under curve, AUC) =0.686]。敲除*ABCA7*可显著抑制CRC细胞系 (如C75、CL11) 的增殖能力。*ABCA7*高表达组患者的总生存期 (overall survival, OS)、疾病特异性生存期 (disease-specific survival, DSS) 和无进展生存期 (progression-free interval, PFI) 均显著缩短 (均 $P<0.05$)。表观遗传分析显示, *ZBTB33*和*NKRF*可直接结合*ABCA7*基因调控区域, 形成*ZBTB33/NKRF-ABCA7*转录调控轴, 且三者在CRC中均显著上调表达 ($P<0.05$)。**结论**·*ABCA7*在CRC中高表达且与不良预后相关, *ZBTB33/NKRF-ABCA7*调控轴可能是驱动CRC进展的关键机制。

[关键词] ATP结合盒转运蛋白A7; 结直肠癌; 空间转录组; 单细胞测序; CRISPR技术; 表观遗传; 转录调控轴

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2025.11.008 **[中图分类号]** R735.3; R394.3 **[文献标志码]** A

Clinical value and transcriptional regulatory mechanism of *ABCA7* in colorectal cancer

SUN Ruizhuang¹, QIAO Kunpeng², LI Pu¹, XU Xiaolian¹, MENG Jun^{1,3}

1. Department of Laboratory Medicine, Ruijin-Hainan Hospital Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (Hainan Boao Research Hospital), Qionghai 571437, China; 2. Department of Pathology, Ruijin-Hainan Hospital Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (Hainan Boao Research Hospital), Qionghai 571437, China; 3. Department of Laboratory Medicine, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the prognostic value of the ATP-binding cassette subfamily A member 7 (*ABCA7*) gene in colorectal cancer (CRC) and provide a novel molecular marker for the precise diagnosis and personalized treatment of CRC. **Methods**·Single-cell transcriptome data of CRC were retrieved from the Tumor Immune Single-cell Hub (TISCH). Spatial transcriptome data of sample GSM8594571 (based on the 10x Genomics Visium platform) were downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database. Transcriptome data from the TCGA-COAD and TCGA-READ projects were extracted from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Using a multi-omics integration analysis strategy, single-cell transcriptome data were employed to analyze the expression patterns of *ABCA7* in different cell subpopulations and were combined with spatial transcriptome data to explore its spatial distribution characteristics in tumor and adjacent tissues. The Cox Proportional Hazards Model (Cox) was used to evaluate the prognostic value of *ABCA7*. The effect of *ABCA7* on CRC cell proliferation was verified using Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) knockout technology combined with the CERES algorithm.

[通信作者] 孟 俊, 副主任技师, 硕士; 电子信箱: mjun2004@126.com。

[Corresponding Author] MENG Jun, E-mail: mjun2004@126.com.

The transcriptional regulatory network between *ABCA7* and the transcription factors zinc finger BTB domain-containing protein 33 (*ZBTB33*) and Nuclear factor- κ B-repressing factor (*NKRF*) was constructed using chromatin immunoprecipitation sequencing (ChIP-seq) data from the Cistrome database and Pearson correlation analysis. **Results** The analysis revealed that *ABCA7* was significantly overexpressed in CRC malignant cells, with further upregulation particularly in tumor tissues with high Ki-67 expression. Moreover, the mRNA expression of *ABCA7* in tumor tissues was significantly higher than that in normal tissues ($P < 0.05$), showing certain diagnostic efficacy [area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic (ROC) curve=0.686]. Knockout of *ABCA7* significantly inhibited the proliferative capacity of CRC cell lines (e.g., C75, CL11). Patients in the *ABCA7* high-expression group had significantly shorter overall survival (OS), disease-specific survival (DSS), and progression-free interval (PFI) (all $P < 0.05$). Epigenetic analysis showed that *ZBTB33* and *NKRF* could directly bind to the regulatory region of the *ABCA7* gene, forming a *ZBTB33/NKRF-ABCA7* transcriptional regulatory axis, and all three were significantly upregulated in CRC ($P < 0.05$). **Conclusion** *ABCA7* is highly expressed in CRC and associated with poor prognosis. The *ZBTB33/NKRF-ABCA7* regulatory axis may be a key mechanism driving CRC progression.

[Key words] ATP-binding cassette subfamily A member 7 (*ABCA7*); colorectal cancer; spatial transcriptomics; single-cell sequencing; CRISPR technology; epigenetics; transcriptional regulatory axis

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全球第三大常见恶性肿瘤, 在癌症相关死亡原因中排第2位, 严重威胁公共卫生^[1]。全球癌症统计数据显示, 2020年全球新发CRC约193万例, 死亡约94万例^[2-3]。据美国癌症协会 (American Cancer Society, ACS) 统计, 2024年美国预计新发CRC 152 810例, 死亡53 010例; 2025年预计新发病例约154 270例, 死亡52 900例, 且2025年全球病例持续高位。我国CRC发病率与死亡率均呈上升趋势, 已成消化系统恶性肿瘤重要组成。随着人口老龄化加剧、饮食结构改变以及生活方式的转变, 预计疾病负担将进一步加重。尽管外科手术、化疗、放疗及靶向治疗等取得显著进展, 但CRC患者总体5年生存率仍待提升, 晚期预后尤差^[4-5]。

ATP结合盒转运蛋白A7 (ATP-binding cassette subfamily A member 7, *ABCA7*) 基因位于人类染色体19p13.3区域, 编码由2 146个氨基酸组成的跨膜转运蛋白, 属ABC转运蛋白超家族A亚家族, 含2个跨膜结构域和2个核苷酸结合结构域^[6-8]。该蛋白主要参与细胞膜脂质代谢、胆固醇外排及细胞膜稳态维持等。近年研究^[9-10]结果表明*ABCA7*基因在多种肿瘤中作用关键, 其异常表达与乳腺癌侵袭转移密切相关; 肺癌研究^[11]发现该基因可能通过调节细胞凋亡和药物耐受性影响肿瘤进展; 胃癌研究^[12]也提示其参与肿瘤微环境重塑及免疫逃逸。然而, 尽管*ABCA7*在多种恶性肿瘤中的作用已有报道, 但其在CRC中的表达模式以及临床意义未被系统性阐述, 这一空白限制了对CRC分子机制的全面理解。传统转录组学研究虽然能够提供基因表达的定量信息, 但

缺乏空间位置信息, 难以揭示基因在组织微环境中的空间表达模式。空间转录组学技术为肿瘤研究带来革新, 可在保持组织形态结构完整性的同时, 获得基因表达的空间分布信息, 为解析肿瘤异质性与微环境特征提供支撑^[13-14]。

10x Genomics Visium空间转录组测序平台是当前先进空间转录组技术之一, 可通过载玻片位置特异性条形码寡核苷酸探针, 实现转录组与空间位置精准对应^[15], 既能识别肿瘤空间异质性, 又能解析肿瘤与微环境的相互作用, 结合单细胞转录组学可精准识别细胞类型分子特征与功能状态, 为肿瘤机制研究提供技术支撑。

基于上述背景, 本研究拟整合多组学分析, 系统性阐述*ABCA7*在CRC中的表达特征、空间分布、生物学功能及预后价值。采用肿瘤免疫单细胞数据库 (Tumor Immune Single-cell Hub, TISCH) 数据, 深入分析*ABCA7*在CRC不同细胞亚群中的表达模式; 利用10x Genomics Visium空间转录组数据, 探索其在肿瘤组织不同解剖区域的空间表达梯度; 结合癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库的大样本临床数据, 评估*ABCA7*的预后预测价值; 通过成簇规律间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR), 阐明其在CRC细胞增殖中的作用机制。通过这一系列综合性分析, 本研究期望能够填补*ABCA7*在CRC研究中的知识空白, 为CRC的精准诊断、预后评估和个体化治疗提供新分子标志物, 奠定转化医学研究基础。

1 资料与方法

1.1 数据获取与处理

单细胞转录组数据来源于 TISCH 数据库中的 CRC 相关数据集以及基因表达综合 (Gene Expression Omnibus, GEO) 数据库中的 GSE201348 数据集; 其中 GSE201348 数据集来源于美国的结直肠癌研究项目 (CRC-101), 包含样本 CRC-101-04-1A 肿瘤组织的 4 351 个高质量单细胞转录组数据^[1]。空间转录组数据来源于 GEO 数据库的 GSM8594571 切片样本和已发表的 CRC 样本^[16], 基于 10x Genomics Visium 平台生成。预后和表达信息分析数据来源于 TCGA 数据库中的 TCGA-COAD 和 TCGA-READ 项目, 采用 STAR 流程处理的 RNAseq 数据, 提取转录本每百万次映射读数 (transcripts per million, TPM) 格式的基因表达数据及相应临床预后信息。ABCA7 免疫组化表达分析数据基于人蛋白质图谱计划 (The Human Protein Atlas, THPA) 在线数据库。转录因子敲除数据来自 GEO 数据库的 GSE176756 (*NKRF* 敲除) 和 GSE69155 (*ZBTB33* 敲除) 数据集。

对单细胞转录组数据采用严格的细胞过滤标准: 剔除线粒体基因表达比例>10%的细胞、基因表达数<200或>6000的细胞, 以及 UMI 计数<1000的低质量细胞。空间转录组数据进行以下质控步骤: ① 过滤低质量空间点 (spot), 剔除检测基因数<500或 UMI 计数<1000的点。② 通过组织切片 H&E 染色图像检查, 确保空间点与组织解剖区域准确对应。③ 使用 SpaceRanger (v1.3.0) 进行数据预处理, 剔除背景噪声和批次效应。预后分析数据预处理阶段, 剔除正常组织样本和缺乏完整临床信息的样本, 对基因表达数据进行 $\log_2(\text{value}+1)$ 标准化转换。TCGA-COAD 项目的 RNA 测序数据过滤掉正常样本, 仅保留肿瘤样本, 对基因表达数据进行 $\log_2(\text{value}+1)$ 转换。

1.2 单细胞测序和空间转录组数据分析

使用 Seurat 包 (v4.1.0) 进行细胞聚类分析和细胞类型识别, 系统评估 *ABCA7* 在肿瘤细胞、免疫细胞、基质细胞等关键细胞亚群中的表达水平。对 GSE201348 数据集的单细胞 RNA 测序数据进行质量控制、标准化和降维聚类分析后, 使用 InferCNV 算

法通过检测染色体拷贝数变异来识别恶性细胞, 结合结直肠癌细胞特异性标志基因的表达模式进一步验证和鉴定恶性上皮细胞亚群。

对空间转录组数据经质控后, 通过基于 BayesSpace (v1.8.0) 的空间聚类分析和基因表达热图可视化技术, 分析 *ABCA7* 在肿瘤核心区、边缘区、基质区及正常邻近组织中的空间表达梯度分布特征。

1.3 ABCA7基因的预后和表达信息分析

基于 R 语言分析平台, 本研究采用比例风险回归模型 (proportional hazards model, Cox 模型) 对 CRC 患者的多种生存指标进行了深入的预后分析, 包括总生存期 (overall survival, OS)、疾病特异性生存期 (disease specific survival, DSS) 和无进展生存期 (progress free interval, PFI)。针对 *ABCA7*、转录因子锌指 BTB 结构域蛋白 33 (zinc finger BTB domain-containing protein 33, *ZBTB33*) 和核因子 κ B 抑制因子 (nuclear factor- κ B-repressing factor, *NKRF*) 基因的预后分析, 采用 R 语言 survival 包 (v3.3.1) 进行比例风险假设检验, 以确保 Cox 模型的适用性。具体而言, 通过 schoenfeld 残差检验评估各基因表达及其他协变量是否满足比例风险假设, 检验结果显示各变量 *P* 值均>0.05, 表明未违反假设, 模型适用。随后, 构建多变量 Cox 模型, 纳入 *ABCA7*、*ZBTB33* 和 *NKRF* 表达水平 (经 $\log_2$ 标准化后的 TPM 值) 及临床变量作为候选协变量。为筛选显著变量, 采用基于赤池信息准则 (Akaike information criterion, AIC) 的逐步回归法筛选显著变量, 最终模型保留各基因表达作为独立预后因子, 评估其对患者生存预后的预测价值。为实现最佳风险分层, 利用 survminer 包 (v0.4.9) 的 surv_cutpoint 函数, 通过最大化 log-rank 统计量, 确定各基因表达的最佳截断值, 据此将患者精准划分为高风险组和低风险组。分组后, log-rank 检验显示 2 组在 OS、DSS 和 PFI 上的生存差异是否具有统计学意义, 为后续预后分析提供了可靠基础。最终通过 survminer 和 ggplot2 包 (版本 3.4.4) 对生存分析结果进行专业化可视化展示, 包括 Kaplan-Meier 生存曲线、风险评分分布图和受试者操作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线等, 为 CRC 患者的个体化预后评估和精准治疗决策提供重要的分子生物学依据。

1.4 基于 THPA 数据库的 ABCA7 免疫组化表达分析

基于 THPA 在线数据库进行 ABCA7 在结直肠癌中的免疫组化数据分析。该数据库采用标准化的免疫组化检测方法,使用 HPA041564 抗体对大规模临床样本进行系统性检测。通过访问 THPA 官方网站 (www.proteinatlas.org) 检索 ABCA7 蛋白在结直肠癌组织中的表达模式,数据库提供了包括正常结肠组织、结直肠腺癌等不同病理类型的免疫组化染色图像,每个样本均经过严格的质量控制和标准化处理,染色强度按照阴性 (negative)、弱阳性 (weak)、中度阳性 (moderate)、强阳性 (strong) 4 个等级进行分类,同时提供 ABCA7 蛋白表达的亚细胞定位信息 (细胞核、细胞质、细胞膜等)。所有数据均可免费获取并支持批量下载,研究者可结合临床信息和基因表达数据进行综合分析,以探索 ABCA7 蛋白表达在结直肠癌中的分布特征和表达模式。

1.5 ABCA7 对 CRC 细胞增殖影响的功能验证

为深入探究 ABCA7 基因在 CRC 细胞中的生物学功能,本研究采用 CRISPR 敲除筛选技术通过 CERES 算法计算依赖性得分,精确评估 ABCA7 在不同 CRC 细胞系中的功能重要性。负依赖性得分表明敲除 ABCA7 会显著阻碍细胞生长,提示该基因对细胞增殖具有促进作用且为细胞生存所必需^[17]。相反,正依赖性得分则意味着敲除 ABCA7 会促进细胞生长,表明该基因具有潜在的肿瘤抑制功能。

1.6 相关性分析

选择 ABCA7 基因 (ENSG00000131269.19) 作为目标分子,使用 R 软件 (版本 4.2.1) 采用 Pearson 相关系数分析 ABCA7 基因与转录组中所有其他基因的表达相关性。采用 Benjamini-Hochberg (BH) 方法对 P 值进行校正,筛选标准设定为:相关系数 $r > 0.7$ 且校正后 $P < 0.05$ 的基因作为与 ABCA7 高度相关的共表达基因。

1.7 转录因子调控分析

基于 Cistrome 数据库 (<http://cistrome.org/db/#/>) 进行转录因子结合位点预测分析。该数据库整合了多种细胞系的 ChIP-seq 数据,包括人类 K562 红细胞样细胞 (骨髓来源) 和 HCT-116 结肠癌细胞系的转录因

子结合数据。参考 DAVIS 等^[18] 在 Nucleic Acids Research 发表的 NKRF 转录因子数据以及 GERTZ 等^[19] 2013 年发表的 ZBTB33 转录因子数据,对不同批次的数据进行质量控制和标准化处理。根据转录因子与目标基因结合位点的预测评分,设定 $\text{score} > 0.3$ 作为转录因子靶基因的筛选阈值,该阈值基于 ChIP-seq 信号强度和结合位点保守性综合评估确定。

1.8 转录因子敲除对 ABCA7 表达调控的分子机制研究方法

为探究转录因子 NKRF 和 ZBTB33 对 ABCA7 基因表达的调控作用,本研究采用基因敲除策略结合转录组学分析方法。首先,本研究从 GEO 数据库获取了 2 个独立的转录因子敲除数据集: GSE176756 (NKRF 敲除) 和 GSE69155 (ZBTB33 敲除)。通过对比分析野生型对照组与相应转录因子敲除组的转录组数据,系统性评估 NKRF 和 ZBTB33 缺失对 ABCA7 mRNA 表达水平的影响。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 软件进行统计学分析。定量数据不符合正态分布的,采用 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,且使用 Wilcoxon 秩和检验评估 ABCA7 基因表达的组间差异。定性数据则使用 χ^2 检验进行分析。所有统计分析均采用双侧检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

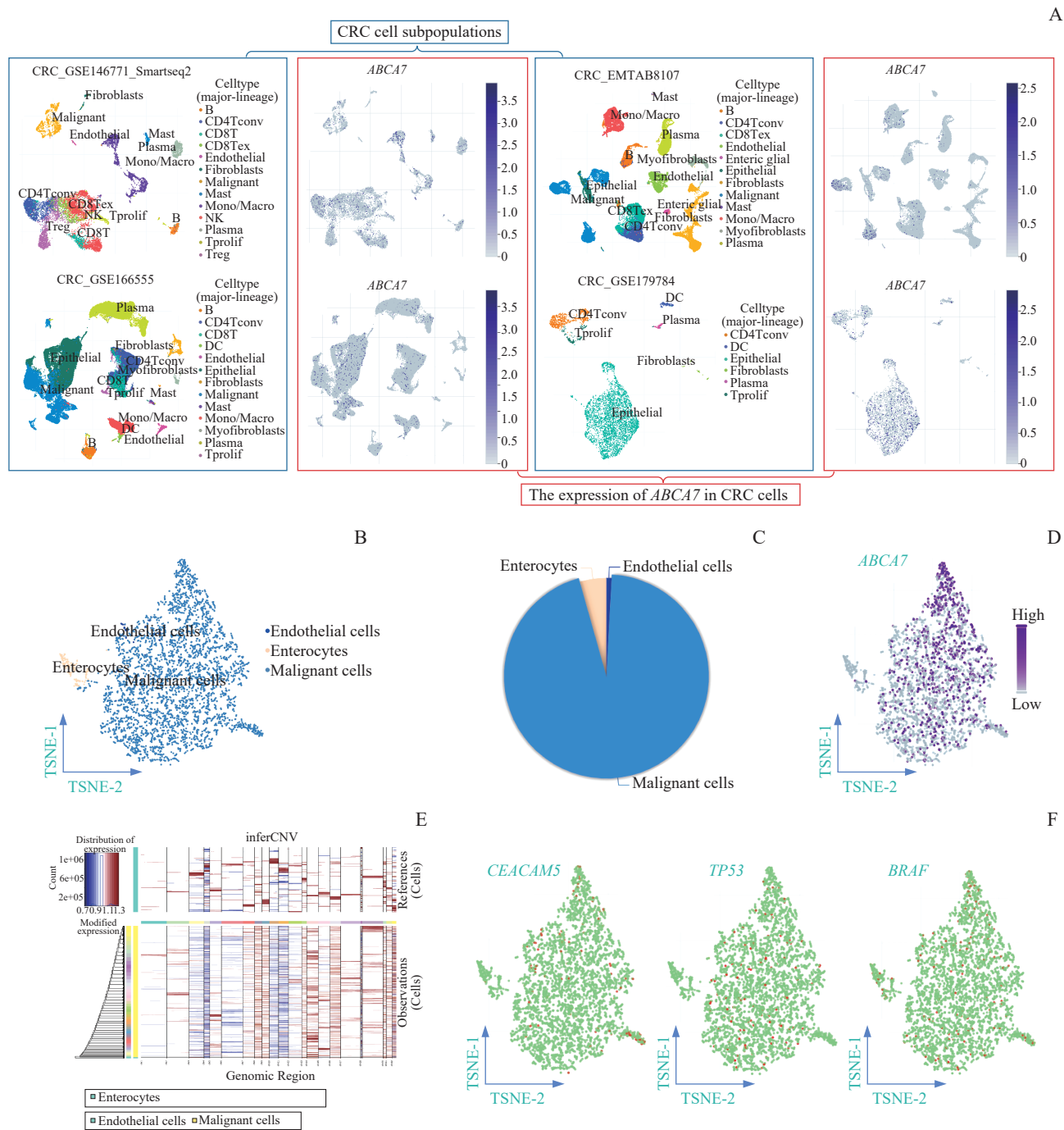
使用 pROC 包绘制 ROC 曲线,并计算曲线下面积 (area under the curve, AUC) 值来评估 ABCA7 表达水平的诊断效能,AUC 值越接近 1 表明诊断性能越优。所有统计分析均在 R 软件环境中完成,确保结果的可重复性和可靠性。

2 结果

2.1 ABCA7 在 CRC 中呈现显著高表达模式

ABCA7 在 CRC 组织中表现出显著的高表达特征。单细胞转录组分析显示,ABCA7 基因在恶性细胞中表达水平明显升高 (图 1A)。除此之外 ABCA7 在样本 CRC-101-04-1A 肿瘤组织 CRC 恶性细胞中高表达 (图 1B~D),并且确定恶性细胞具有二倍体突变、具备肿瘤细胞的特质,以及相关 CRC 细胞标志物在恶性细胞中高表达 (图 1E、F)。进一步分析发现,

*ABCA7*在MKi-67高表达的CRC组织中同样呈现高表达趋势(图2A~C),提示其可能与肿瘤细胞的增殖活性密切相关。在第2组切片中*ABCA7*同样显示高表达的状态(图2D、E)。

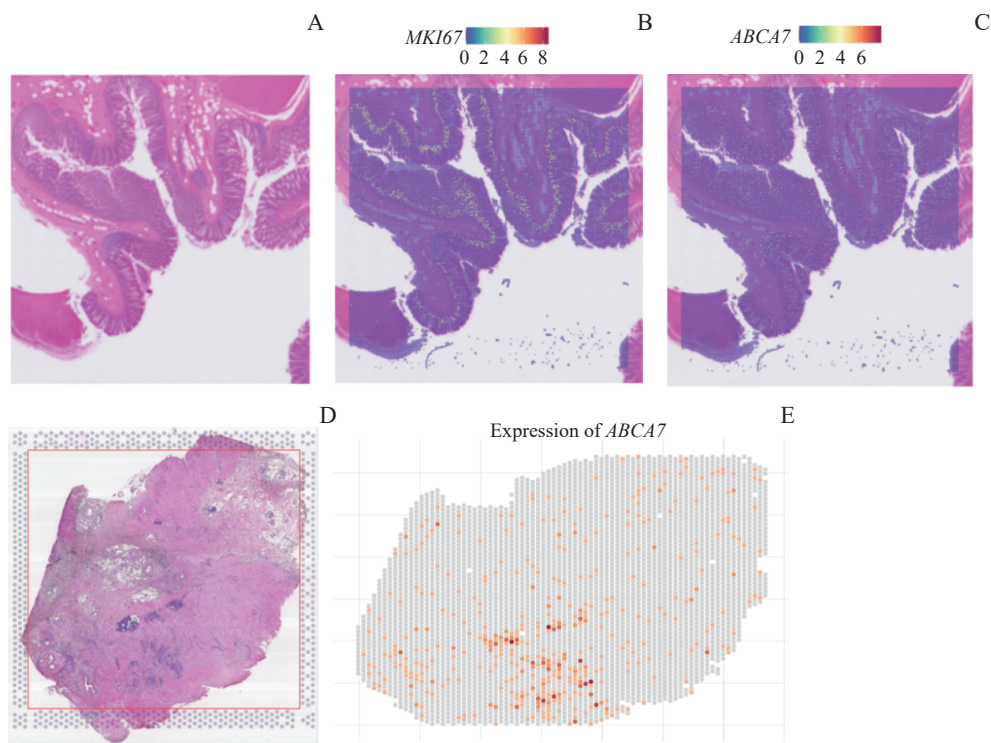


Note: A. Subgroup division of multiple CRC single-cell sequencing datasets, displaying the expression distribution of *ABCA7* in different CRC cell subgroups. B. Identification of CRC and microenvironmental cell types (including endothelial cells, intestinal epithelial cells, malignant cells, etc.) using t-SNE dimensionality reduction clustering. C. Pie charts presenting the proportion of different cell types in CRC samples, reflecting the dominance of malignant cells. D. t-SNE visualization of *ABCA7* expression distribution in CRC cells, with color gradients indicating differences in expression levels. E. Heatmap analysis of differentially expressed genes in CRC, showing gene expression patterns in subgroups and screening for differentially expressed genes. F. t-SNE display of the expression distribution of key CRC genes (*CEACAM5*, *TP53*, *BRAF*, etc.) in cells.

图1 *ABCA7*单细胞测序数据展示CRC恶性细胞中*ABCA7*的表达分布

Fig 1 Single-cell sequencing data of *ABCA7* showing the expression distribution of *ABCA7* in malignant cells of CRC

转录组水平的差异表达分析证实了上述发现。通过比较肿瘤组织与正常组织的*ABCA7* mRNA表达水平,发现肿瘤组织中该基因表达显著上调($P<0.05$)。在正常组织样本中($n=51$),*ABCA7*表达的 $M(Q_1,$



Note: A. H-E staining of the first group of CRC tissues. B. Spatial transcriptome showing the expression distribution of MKI-67 in CRC tissues, with a color gradient (0-8) representing expression levels. C. Spatial transcriptome presenting the expression distribution of *ABCA7* in CRC tissues, with a color gradient (0-6) reflecting expression levels, suggesting high expression of *ABCA7* in active tissue cells of CRC. D. H&E staining image of the second group of CRC tissues. E. Mapping of *ABCA7* expression values to tissue space, with scatter points and color shading showing the expression distribution, quantifying and visualizing differences and accurately indicating its high expression in active tissue cells of CRC.

图2 *ABCA7*在CRC活性组织中细胞的空间转录组表达分布

Fig 2 Spatial transcriptome showing the expression distribution of *ABCA7* in active tissue cells of CRC

Q_3) 为 2.602 (2.221, 2.929), 均值为 2.524 ± 0.533 , 表达范围为 1.226~3.367。而在肿瘤组织样本中 ($n=647$), *ABCA7* 表达的 $M (Q_1, Q_3)$ 为 2.949 (2.510, 3.495), 四分位距为 0.985, 均值为 3.003 ± 0.761 , 表达范围为 0.683~5.828, 显示出更高的表达水平和更大的表达变异性。ROC 曲线分析进一步评估了 *ABCA7* 的诊断价值, 结果显示该基因具有良好的诊断效能, $AUC=0.686$ (95%CI 0.626~0.747), 表明 *ABCA7* 在 CRC 诊断中具有一定的临床应用潜力 (图 3A、B)。并且进一步发现敲除 *ABCA7* 后 CRC 相关细胞受到抑制 (图 3C)。

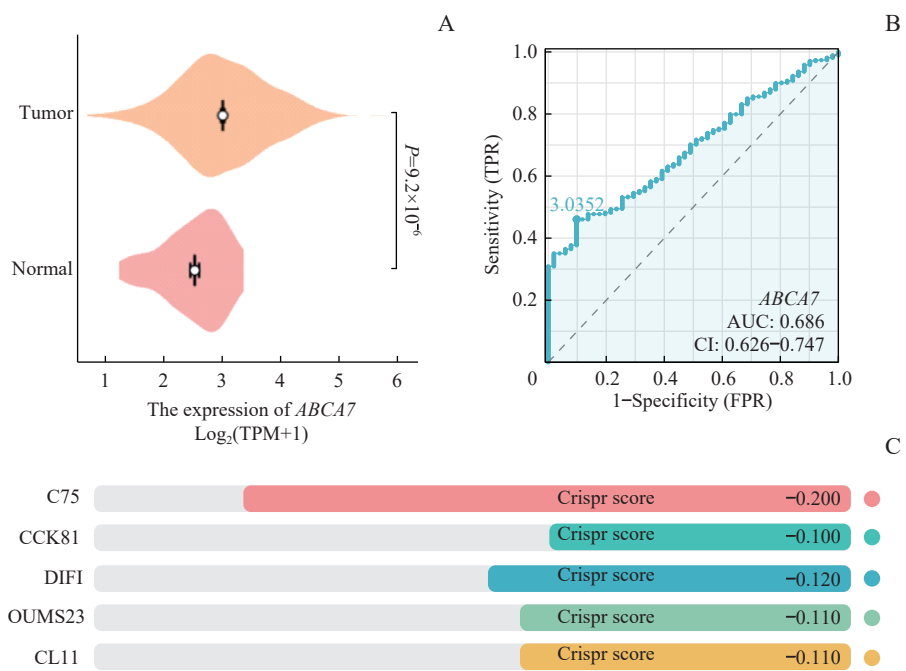
2.2 *ABCA7* 敲除显著抑制 CRC 细胞增殖

为验证 *ABCA7* 在 CRC 细胞增殖中的功能作用, 敲除 *ABCA7* 基因后, 多种 CRC 细胞系的增殖能力受到显著抑制, 包括 C75、CL11 等细胞系 (图 3C)。提示 *ABCA7* 在维持 CRC 细胞的增殖活性和生存能力中发挥关键作用, 进一步证实了其作为潜在治疗靶点的价值。并且进一步发现免疫组化染色显示 *ABCA7*

(抗体: HPA041564) 在 CRC 组织中高表达 (图 4A、B)。

2.3 *ABCA7* 高表达预示 CRC 患者不良预后

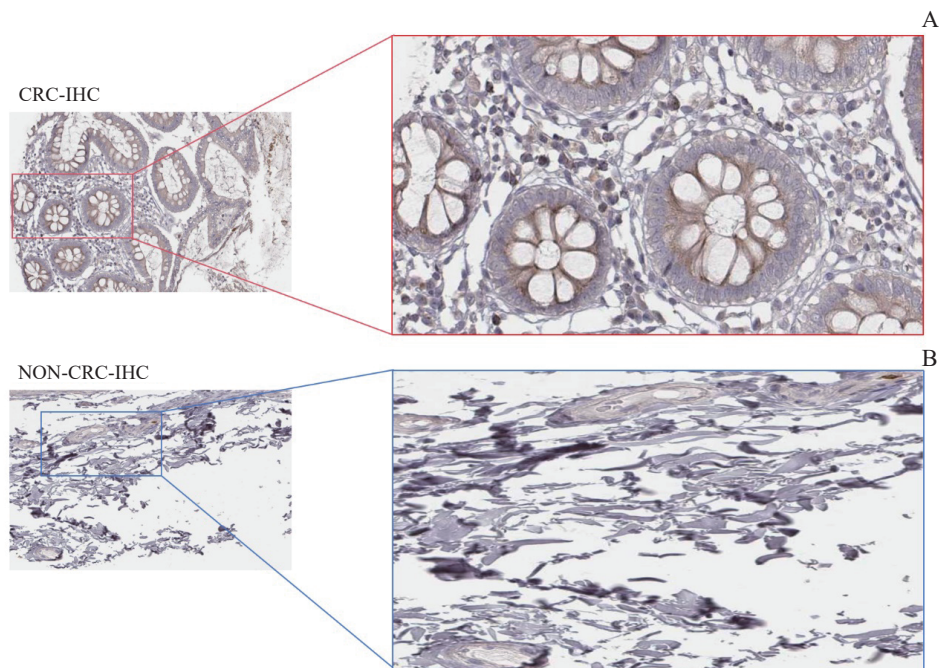
基于 Kaplan-Meier 生存分析的预后评估结果显示, 根据 *ABCA7* 基因表达的最佳截断值 (通过 survminer 包 surv_cutpoint 函数最大化 log-rank 统计量确定), 将患者分为高表达组和低表达组后, 高表达组患者在 3 个关键预后指标上均表现出显著较差的生存预后。具体而言, 在 OS 分析中, *ABCA7* 高表达组患者的死亡风险是低表达组的 1.77 倍 ($HR=1.77$, 95%CI 1.24~2.52, $P=0.002$); 在疾病 DSS 分析中, 高表达组的疾病相关死亡风险增加了 2.07 倍 ($HR=2.07$, 95%CI 1.30~3.30, $P=0.002$); 而在 PFI 分析中, 高表达组患者疾病进展的风险是低表达组的 1.56 倍 ($HR=1.56$, 95%CI 1.15~2.13, $P=0.005$) (图 5)。log-rank 检验显示 2 组在 OS、DSS 和 PFI 上的生存差异均具有统计学意义, 表明分组效果良好。



Note: A. Violin plot comparing tumor and normal tissues, showing high mRNA expression of *ABCA7* in CRC. B. ROC curve evaluating the diagnostic efficacy of *ABCA7* mRNA for CRC, with an AUC of 0.686 (95% CI 0.626–0.747). C. CRISPR screening results showing CRISPR scores corresponding to different sgRNAs, with CRISPR score<0 suggesting that *ABCA7* promotes CRC cell growth.

图3 *ABCA7*在CRC中mRNA水平的表达及其对CRC细胞生长的影响

Fig 3 mRNA expression level of *ABCA7* in CRC and its effect on CRC cell growth



Note: A. CRC tissue: low magnification (×20) showing tumor gland distribution, and high magnification (×40) showing positive staining of *ABCA7* in tumor cells. B. NON-CRC normal tissue: low magnification (×20) presenting normal tissue morphology, and high magnification (×40) showing *ABCA7* expression in normal cells.

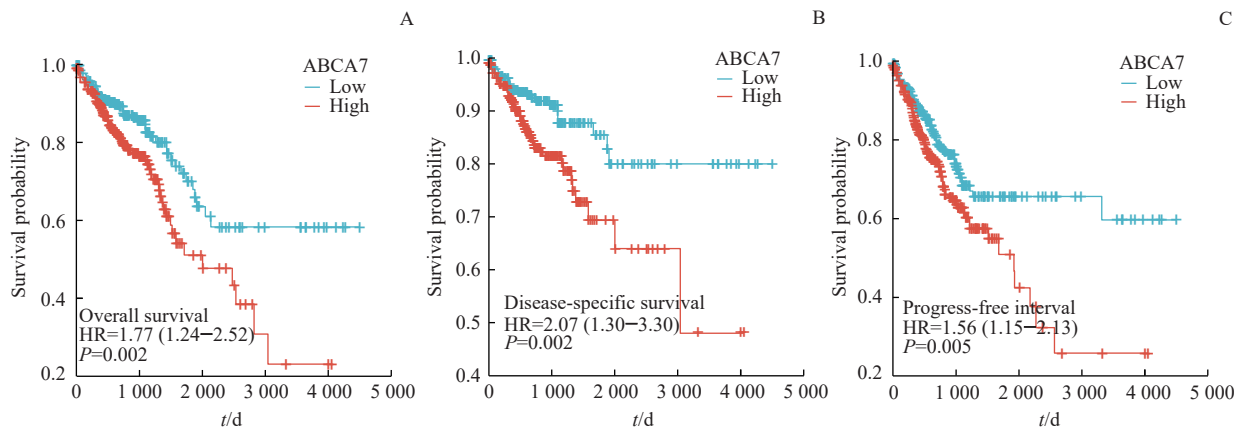
图4 *ABCA7*在CRC正常组织和肿瘤组织中的免疫组化染色图

Fig 4 Immunohistochemical staining images of *ABCA7* in normal and tumor tissues of CRC

2.4 *ABCA7*与转录因子*ZBTB33*、*NKRF*的共表达关系及转录调控机制分析

通过 Pearson 相关性分析, 我们识别出与 *ABCA7* 基因显著共表达的基因集合 (相关系数 $r>0.7$, 校正

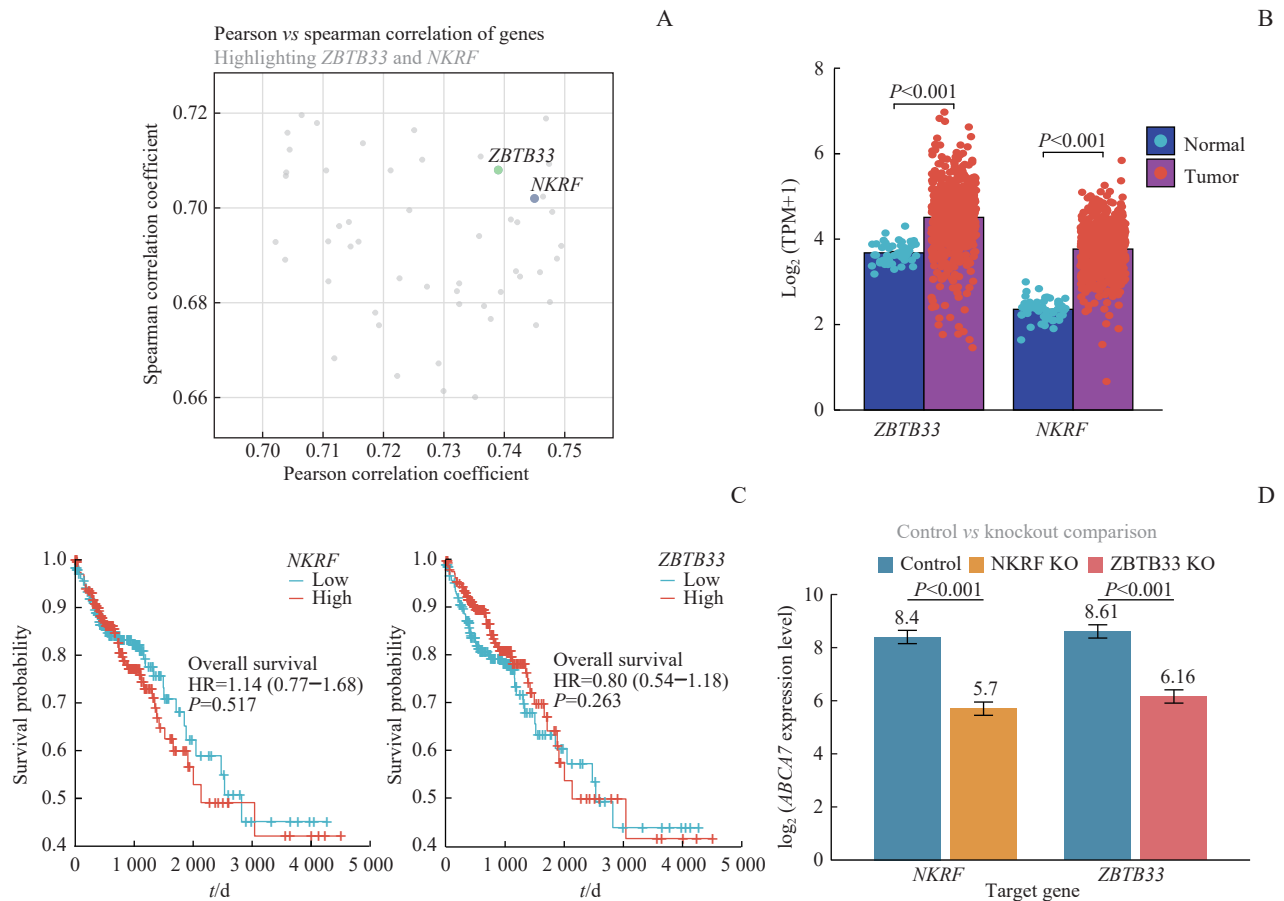
后 $P<0.05$), 其中 *ZBTB33*和*NKRF*等转录调控因子表现出与 *ABCA7*的高度正相关性 (图 6A)。差异表达分析显示, *ZBTB33*和*NKRF*在CRC肿瘤组织中均呈现显著上调表达 ($P<0.001$), 其表达水平 [$\log_2$



Note: A. Overall survival (OS) cohort: low-expression group ($n=239$, events=39) vs high-expression group ($n=238$, events=64). B. Disease-specific survival (DSS) cohort: low-expression group ($n=234$, events=24) vs high-expression group ($n=227$, events=40). C. Progression-free interval (PFI) cohort: low-expression group ($n=239$, events=54) vs high-expression group ($n=238$, events=74).

图5 *ABCA7*在CRC中mRNA水平的表达与预后相关性

Fig 5 mRNA expression level of *ABCA7* in CRC and its correlation with prognosis



Note: A. Pearson and Spearman analyses screening genes co-expressed with *ABCA7* ($r>0.7$, $P<0.05$. e.g., *ZBTB33*, *NKRF*), with scatter plots showing expression correlation. B. mRNA expression of *ZBTB33* and *NKRF* in CRC tumor tissues (purple) vs normal tissues (blue), showing higher expression in tumor tissues. C. Survival curves indicating a higher overall survival probability in CRC patients with low *ZBTB33* and *NKRF* expression (*ZBTB33*: HR=0.80, $P=0.263$; *NKRF*: HR=1.14, $P=0.517$), reflecting the association between co-expressed genes and prognosis. D. Knockout experiments showing downregulated *ABCA7* expression after *NKRF* and *ZBTB33* knockout, revealing their transcriptional regulatory effect on *ABCA7*.

图6 *ABCA7*与CRC中高表达的*ZBTB33*和*NKRF*的共表达分析

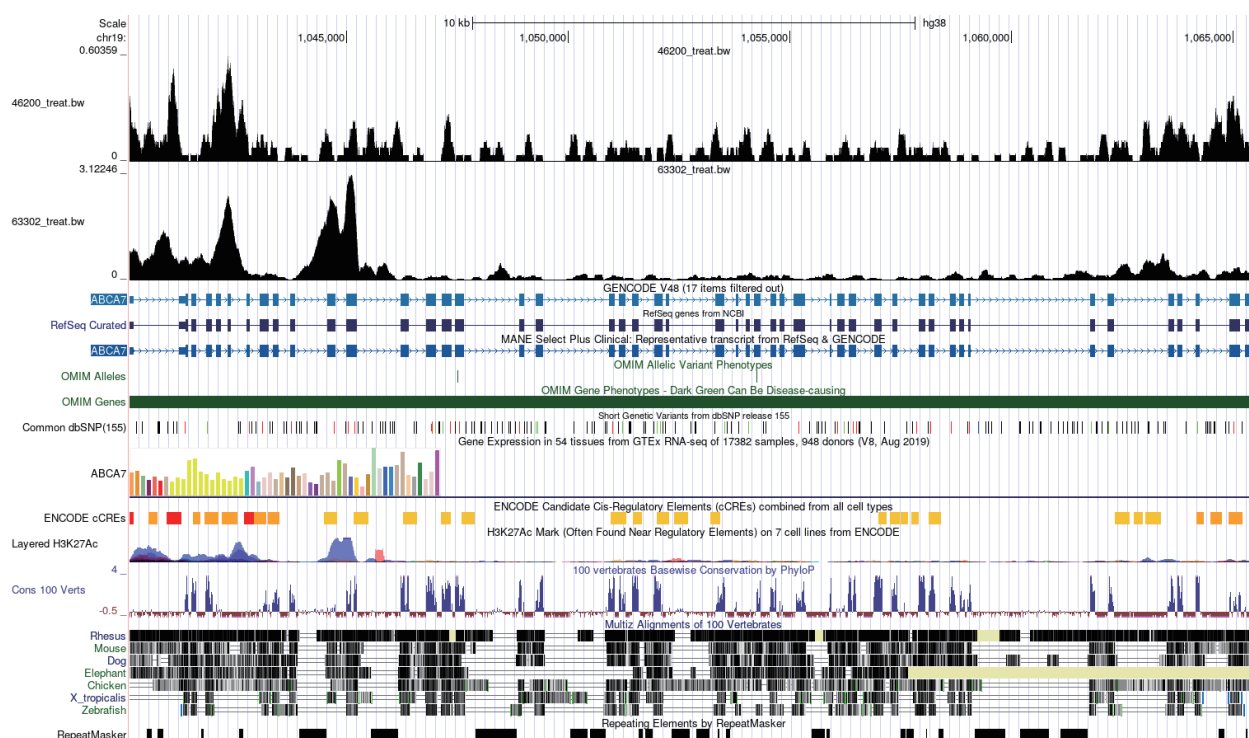
Fig 6 Co-expression analysis of *ABCA7* with highly expressed *ZBTB33* and *NKRF* in CRC

(TPM+1)] 显著高于正常结肠组织, 与*ABCA7*的表达模式具有一致性 (图6B)。基于*ZBTB33*和*NKRF*

基因表达的最佳截断值 (通过survminer包surv_cutpoint函数最大化log-rank统计量确定), 将患者分

为高表达组和低表达组后, Kaplan-Meier生存分析显示, *NKRF*高表达组患者的总生存期相对较短 ($HR=1.14$, $95\%CI$ 0.77~1.68, $P=0.517$), 而 *ZBTB33*高表达组患者显示出更好的生存趋势 ($HR=0.80$, $95\%CI$ 0.54~1.18, $P=0.263$), 但均未达到统计学显著性 (图 6C)。进一步敲除相关转录因子发现 *ABCA7*表达下调 ($P<0.001$) (图 6D)。基于 ENCODE 数据库 ChIP-seq 数据的综合分析显示, *ZBTB33*和 *NKRF*转录因子能够直接结合到 *ABCA7*基因的调控区域, 其结合信号在多个细胞系中表现出明显的结合峰 (图 7)。整合组蛋白修饰标记和 DNase I 超敏位点数

据发现, *ABCA7*基因启动子和增强子区域存在活跃的转录调控信号, *ZBTB33*和 *NKRF*的结合位点与开放染色质区域高度重叠, 且结合评分均超过 0.3 的阈值标准, 符合功能性转录因子结合位点的特征。这些结果表明, *ZBTB33*和 *NKRF*作为转录调控因子, 通过直接结合 *ABCA7*基因的顺式调控元件参与其转录激活过程, 为观察到的共表达关系提供了分子机制基础, 揭示了在 CRC 中这些基因通过转录调控网络协同发挥生物学功能, 构建了 *ABCA7*相关的转录调控轴, 为理解 CRC 的分子机制和开发靶向治疗策略提供了重要线索。



Note: Integration of multi-omics data (chromatin accessibility, gene expression, epigenetic regulatory elements, etc.) to present the epigenetic regulatory effect of *ABCA7* on highly expressed *ZBTB33* and *NKRF* in CRC, and analysis of CRC gene regulatory network through chromatin status and binding element regulation.

图 7 *ABCA7*对CRC中高表达 *ZBTB33*和 *NKRF*的表观遗传调控及基因网络解析

Fig 7 Epigenetic regulation of *ABCA7* on highly expressed *ZBTB33* and *NKRF* in CRC and analysis of gene network

3 讨论

本研究首次运用空间转录组学技术系统性阐述了 *ABCA7*基因在CRC中的表达特征和临床意义, 为深入理解该基因在肿瘤发生发展中的作用机制提供了重要的科学依据。本研究的研究结果表明, *ABCA7*在CRC中显著高表达, 与肿瘤细胞增殖密切相关, 并且是患者不良预后的独立预测因子。*ABCA7*作为ATP结合盒转运蛋白, 可能通过调控细胞膜脂质代谢

和胆固醇外排, 影响关键信号通路的活性, 进而促进肿瘤细胞增殖。例如, *ABCA7*可能通过调节膜脂微环境^[20], 激活PI3K/AKT^[21-22]信号通路, 该通路在CRC中被广泛报道与细胞增殖和抗凋亡相关。此外, *ABCA7*可能通过调控胆固醇稳态, 间接上调固醇调节元件结合蛋白2 (sterol regulatory element-binding protein 2, SREBP2)的活性, SREBP2可诱导脂质合成相关基因表达, 增强肿瘤细胞的代谢适应性, 促进增殖^[23]。CRISPR敲除技术的应用进一步证实, 敲除

*ABCA7*显著抑制C75、CL11等CRC细胞系的增殖,提示其可能通过维持膜脂环境稳定,调控c-Myc^[24]等增殖相关转录因子的表达或活性。

除此之外,本研究的空间转录组分析首次揭示了*ABCA7*在CRC组织中的空间表达梯度,这一发现具有重要的生物学意义。*ABCA7*在肿瘤核心区的高表达可能反映了该区域肿瘤细胞的高度恶性特征,而在肿瘤边缘区的表达模式则可能与肿瘤侵袭前沿的生物学行为相关。基于这一发现,本研究提出“肿瘤空间功能分区”的概念,即同一基因在肿瘤组织的不同空间位置可能承担不同的生物学功能,这一概念为本研究重新认识肿瘤生物学提供了新的视角^[25-26]。具体而言,空间转录组分析揭示*ABCA7*在肿瘤核心区高表达,可能通过调控脂质代谢^[27]和胆固醇^[28]外排,促进肿瘤细胞的增殖和代谢活性,增强恶性表型;在肿瘤边缘区,*ABCA7*的表达可能与肿瘤侵袭和迁移相关,介导上皮-间质转化过程,增强肿瘤细胞的侵袭能力;在基质区,*ABCA7*可能通过调节肿瘤微环境中基质细胞的脂质稳态,影响免疫细胞(如T细胞和巨噬细胞)的募集和功能^[29],进而塑造免疫抑制微环境。这些区域特异性作用机制表明,*ABCA7*通过空间异质性调控肿瘤微环境的动态平衡,为精准靶向治疗提供了潜在靶点。

*ABCA7*的预后预测价值为CRC的个体化治疗提供了新的分子标志物。本研究的生存分析显示,*ABCA7*高表达与患者生存预后显著相关,该基因可以作为风险分层的重要指标。高低表达组之间的生存差异可能源于*ABCA7*通过激活Wnt/ β -catenin信号等通路^[30],Wnt/ β -catenin通路在CRC中的异常激活是导致不良预后的重要机制之一^[31]。基于*ABCA7*表达水平,临床医生可以更精确地识别高危患者群体,制定相应的治疗策略。更重要的是,*ABCA7*作为膜转运蛋白,具有成为治疗靶点的潜力,开发针对*ABCA7*的特异性抑制剂可能为CRC治疗提供新的选择。*ABCA7*高表达与CRC预后不良的机制可能在于其通过调控膜脂质代谢和胆固醇外排,激活Wnt/ β -catenin通路^[30-31],增强 β -catenin核转位,上调c-Myc和Cyclin D1表达,促进肿瘤细胞增殖和侵袭,进而导致OS、DSS和PFI显著缩短(HR分别为1.77、2.07和1.56, $P<0.01$)。此外,*ABCA7*可能与*APC*基因(Wnt通路关键负调控因子)相互作用,高表达的*ABCA7*可能通过膜脂环境改变抑制*APC*功能^[32],进

一步加剧Wnt通路异常激活;同时,*ABCA7*可能与EGFR通路协同作用^[33],增强肿瘤细胞的增殖信号,为联合靶向治疗提供了新思路。

在此基础上,本研究还提示*ABCA7*的转录激活可能受到特定转录因子的精细调控,尤其是*ZBTB33*和*NKRF*的共表达关系和调控潜力,揭示了肿瘤细胞内复杂的转录网络对脂质代谢基因表达的统筹控制。这种多层次的调控模式并非孤立的现象。已有研究发现,*ZBTB33*(也称Kaiso)可通过与DNA甲基化状态交互^[34],调节多种癌症相关基因的转录活性。PIERRE等^[35]曾报道Kaiso在结直肠癌中调控Wnt/ β -catenin信号下游靶基因的表达,影响细胞增殖和分化。同样,*NKRF*作为NF- κ B信号的抑制调控因子,早在2022年被ZHUO等^[36]证实可直接结合靶基因启动子区抑制炎症相关基因的表达,这提示其在肿瘤微环境免疫调控中的潜在角色。结合本研究的空间转录组和ChIP-seq数据结果,这些转录因子在*ABCA7*启动子和增强子区的结合位点与染色质开放区域和活跃修饰标记高度一致,支持它们可能直接驱动*ABCA7*的表达上调。类似的机制在脂质代谢基因的转录调控中已有报道。如*SREBP2*通过结合脂质代谢基因启动子区调控胆固醇合成酶表达^[37],从而满足肿瘤细胞的高代谢需求。因此,*ZBTB33/NKRF-ABCA7*转录调控轴不仅可能在CRC中驱动脂质代谢重编程,还可能作为未来多靶点治疗和转录因子干预策略的重要理论基础。

基于本研究结果,我们提出了*ABCA7*作为CRC潜在分子标志物的研究前景。空间转录组和单细胞转录组分析揭示了*ABCA7*在肿瘤组织和恶性细胞中的高表达及空间分布特征,提示其可能参与调控CRC的空间异质性和增殖活性。此外,基于多组学数据库的整合分析,我们发现*ABCA7*与转录因子*ZBTB33*和*NKRF*存在协同高表达和潜在的转录调控关系,构建了一个可能的*ABCA7*调控网络,为理解其表达上调的分子机制提供了线索。

尽管本研究利用多组学公开数据获得了系统性发现,但仍存在局限。分析结果主要来源于数据库挖掘和体外表达数据,缺乏更多体内功能验证。未来研究需要扩大空间转录组样本量,结合动物模型和功能实验深入阐明*ABCA7*在CRC发生发展中的作用机制,并探索其与关键转录因子的交互调控对肿瘤生物学行为的影响。此外,还需进一步评估*ABCA7*作为诊断、预后或治疗靶点的临床应用潜力。

利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

作者贡献/Authors' Contributions

孟俊、孙瑞状负责课题设计与论文修改;李璞、徐小莲负责数据搜集、数据分析;孙瑞状、乔坤朋负责论文撰写与修改。所有作者均阅读并同意了最终稿件的提交。

MENG Jun and SUN Ruizhuang were responsible for study design and manuscript revision. LI Pu and XU Xiaolian were in charge of data collection and data analysis. SUN Ruizhuang and QIAO Kunpeng were responsible for paper writing and revision. All authors have read the last version of paper and consented to its submission.

• Received: 2025-07-02

• Accepted: 2025-08-18

• Published online: 2025-11-28

参 · 考 · 文 · 献

- [1] BILLER L H, SCHRAG D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 325(7): 669-685.
- [2] MCELROY J A, SMITH J B, EVERETT K D. Monthly variations in colorectal cancer screening tests among federally qualified health center patients in Missouri: quality improvement project[J]. JMIR Cancer, 2025, 11: e64809.
- [3] HOSEINI B, RAHMATINEJAD Z, GOSHAYESHI L, et al. Colorectal Cancer in North-Eastern Iran: a retrospective, comparative study of early-onset and late-onset cases based on data from the Iranian hereditary colorectal cancer registry[J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 48.
- [4] BIREBENT R, DRUBAY D, ALVES COSTA SILVA C, et al. Surrogate markers of intestinal dysfunction associated with survival in advanced cancers[J]. Oncoimmunology, 2025, 14(1): 2484880.
- [5] ZUCCHINI V, D'ACAPITO F, RAPPOSELLI I G, et al. Impact of RAS, BRAF mutations and microsatellite status in peritoneal metastases from colorectal cancer treated with cytoreduction + HIPEC: scoping review[J]. Int J Hyperthermia, 2025, 42(1): 2479527.
- [6] WANG N, PAN Y N, STARLING S C, et al. Neuronal ABCA7 deficiency aggravates mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dement, 2025, 21(3): e70112.
- [7] FANG S C, WANG L, CHENG M T, et al. Structural insights into human ABCA7-mediated lipid transport[J]. Structure, 2025, 33(3): 583-593.e5.
- [8] MA X Y, PROKOPENKO D, WANG N, et al. Alzheimer's disease risk ABCA7 p. A696S variant disturbs the microglial response to amyloid pathology in mice[J]. Neurobiol Dis, 2025, 206: 106813.
- [9] ZAPPE K, KOPIC A, SCHEICHEL A, et al. Aberrant DNA methylation, expression, and occurrence of transcript variants of the ABC transporter ABCA7 in breast cancer[J]. Cells, 2023, 12(11): 1462.
- [10] BEHL T, KAUR I, SEHGAL A, et al. The interplay of ABC transporters in $\alpha\beta$ translocation and cholesterol metabolism: implicating their roles in Alzheimer's disease[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(4): 1564-1582.
- [11] MARQUES A V L, RUGINSK B E, DE OLIVEIRA PRADO L, et al. The association of ABC proteins with multidrug resistance in cancer[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2025, 1872(2): 119878.
- [12] NOORI M, MAHBOOBI R, NABAVI-RAD A, et al. *Helicobacter pylori* infection contributes to the expression of Alzheimer's disease-associated risk factors and neuroinflammation[J]. Heliyon, 2023, 9(9): e19607.
- [13] JI C L, SHENG L, HAN K J, et al. Microglial intervention in ischemic stroke: roles and intervention strategies[J]. Neural Regen Res, 2026, 21(2): 443-454.
- [14] LI J, LI L L, LIANG W Q, et al. Spatial multi-omics analysis of metabolic heterogeneity in zebrafish exposed to microcystin-LR and its disinfection byproducts[J]. Water Res, 2025, 280: 123599.
- [15] IRWIN S, VAN DAELEN M, ALMARAZ I, et al. Fidaxomicin reduces collagen expression in intestinal fibroblasts via platelet-derived growth factor receptor beta and glycogen synthase kinase-3 beta inhibition[J]. Gastroenterology, 2025, 169(5): 925-941.e2.
- [16] WU Y C, YANG S X, MA J Q, et al. Spatiotemporal immune landscape of colorectal cancer liver metastasis at single-cell level[J]. Cancer Discov, 2022, 12(1): 134-153.
- [17] ZHANG J N, ZHANG H Z, WANG Y H, et al. MCM2-7 in clear cell renal cell carcinoma: MCM7 promotes tumor cell proliferation[J]. Front Oncol, 2021, 11: 782755.
- [18] DAVIS C A, HITZ B C, SLOAN C A, et al. The Encyclopedia of DNA elements (ENCODE): data portal update[J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(D1): D794-D801.
- [19] GERTZ J, SAVIC D, VARLEY K E, et al. Distinct properties of cell-type-specific and shared transcription factor binding sites[J]. Mol Cell, 2013, 52(1): 25-36.
- [20] ZABOROVA V, BUDANOVA E, KRYUCHKOVA K, et al. Nitric oxide: a gas transmitter in healthy and diseased skin[J]. Med Gas Res, 2025, 15(4): 520-528.
- [21] ROY S, DEKA D, KONDAVEETI S B, et al. An overview of potential of natural compounds to regulate epigenetic modifications in colorectal cancer: a recent update[J]. Epigenetics, 2025, 20(1): 2491316.
- [22] ALBASSAM H, ALMUTAIRI O, ALNASSER M, et al. Discovery of a selective PI3K α inhibitor via structure-based virtual screening for targeted colorectal cancer therapy[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2025, 40(1): 2468852.
- [23] YU M T, LINARES J F, MARTINEZ-ORDOÑEZ A, et al. Enhanced SREBP2-driven cholesterol biosynthesis by PKC α /t deficiency in intestinal epithelial cells promotes aggressive serrated tumorigenesis[J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 8075.
- [24] ZHENG H, LI S L, WANG Y, et al. Curcumin inhibits colorectal cancer progression by targeting PTBP1 and CDK2-mediated pathways[J]. Front Oncol, 2025, 15: 1566889.
- [25] LI J K, GUANGDONG B R S, LIU H L, et al. Unveiling spatial heterogeneity in medulloblastoma: a multi-omics analysis of cellular state and geographical organization[J]. Neuro-Oncology, 2025: noaf020.
- [26] WONG B H S, POH Z S, WEI J T C, et al. High extracellular K(+) skews T-cell differentiation towards tumour promoting Th2 and T(reg) subsets[J]. Eur J Immunol, 2025, 55(2): e202451440.
- [27] XIAO Y Y, HE M Y, ZHANG X P, et al. Research progress on the mechanism of tumor cell ferroptosis regulation by epigenetics[J]. Epigenetics, 2025, 20(1): 2500949.
- [28] LI X, PENG X. The impact of combined use of probiotics and metformin on metabolic parameters in patients with polycystic ovary syndrome[J]. Gynecol Endocrinol, 2025, 41(1): 2504980.
- [29] LLOPIZ D, SILVA L, RUIZ M, et al. MERTK inhibition improves therapeutic efficacy of immune checkpoint inhibitors in hepatocellular carcinoma[J]. Oncoimmunology, 2025, 14(1): 2473165.
- [30] DENG J X, ZHANG J W, SU M L, et al. *Fusobacterium mortiferum* and its metabolite 5-aminovaleric acid promote the development of

- colorectal cancer in obese individuals through Wnt/ β -catenin pathway by DKK2[J]. Gut Microbes, 2025, 17(1): 2502138.
- [31] YE Y Y, FANG J W, WANG Y, et al. YWHAE affects proliferation, migration and apoptosis of colorectal cancer by regulating extracellular vesicles secretion and Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Transl Cancer Res, 2025, 14(4): 2260-2273.
- [32] FENG Y, ZHU N X, BEDI K, et al. SOX9 suppresses colon cancer *via* inhibiting epithelial-mesenchymal transition and SOX2 induction[J]. J Clin Invest, 2025, 135(11): e184115.
- [33] HIGUCHI S, OTSU H, MASUDA T, et al. SEC61G promotes colorectal cancer progression by regulating cytosolic Ca^{2+} concentration[J]. J Gastroenterol, 2025, 60(9): 1091-1107.
- [34] BEAUCHAMP E M, LEVENTHAL M, BERNARD E, et al. ZBTB33 is mutated in clonal hematopoiesis and myelodysplastic syndromes and impacts RNA splicing[J]. Blood Cancer Discov, 2021, 2(5): 500-517.
- [35] PIERRE C C, HERCULES S M, YATES C, et al. Dancing from bottoms up-Roles of the POZ-ZF transcription factor Kaiso in Cancer[J]. Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer, 2019, 1871(1): 64-74.
- [36] ZHUO H B, LIU J Y. Nuclear factor interleukin 3 (NFIL3) participates in regulation of the NF- κ B-mediated inflammation and antioxidant system in *Litopenaeus vannamei* under ammonia-N stress[J]. Fish Shellfish Immunol, 2022, 131: 1192-1205.
- [37] CODENOTTI S, ASPERTI M, POLI M, et al. Synthetic inhibition of SREBP2 and the mevalonate pathway blocks rhabdomyosarcoma tumor growth *in vitro* and *in vivo* and promotes chemosensitization[J]. Mol Metab, 2025, 92: 102085.

[本文编辑] 张慧俊

学术快讯

上海交通大学基础医学院童雪梅课题组发现高乳酸肿瘤微环境中抑制 Treg 活性和增强 CD8⁺ T 细胞功能的代谢调控策略

2025年8月22日,上海交通大学基础医学院生化与分子细胞生物学系童雪梅教授课题组及其合作团队——复旦大学基础医学院卢颖青年研究员、上海市免疫学研究所李斌研究员、上海交通大学医学院附属第九人民医院贾仁兵教授在 *Nature Metabolism* 在线发表题目为“*Targeting MondoA-TXNIP restores antitumour immunity in lactic-acid-induced immunosuppressive microenvironment*”的研究论文。该研究揭示转录因子 MondoA 诱导的硫氧还蛋白相互作用蛋白 (transcriptional factor MondoA-induced thioredoxin interacting protein, TXNIP) 转录是调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg 细胞) 和 CD8⁺ T 细胞对乳酸响应的共同特征。靶向 MondoA-TXNIP 轴具有双重调控作用: 一方面增强效应性 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤功能, 另一方面抑制 Treg 活性。研究人员发现在多种癌症类型中靶向 MondoA-TXNIP 轴能增强抗肿瘤免疫反应, 尤其在对于程序性死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) 抗体治疗不响应的结直肠癌动物模型中能促进有效 T 细胞应答。