

DOI:10.13350/j.cjpb.250804

• 论著 •

弓形虫 WH6 株培养上清降低 METTL3 表达 抑制肝癌细胞 HepG2 增殖研究^{*}

孙航, 李亚楠, 朱文菊, 王琦, 董宏杰, 赵桂华, 徐超, 尹昆, 解晓曼^{**}

(山东省寄生虫病防治研究所, 山东第一医科大学(山东省医学科学院), 山东济宁 272033)

【摘要】 目的 探讨弓形虫 WH6 株培养上清是否通过调控 METTL3 介导的 m⁶A 甲基化修饰抑制肝癌细胞 HepG2 增殖。**方法** 采用弓形虫 WH6 株培养上清感染 HepG2 细胞模型, 结合 CCK-8 增殖检测、划痕愈合及 Transwell 侵袭实验系统评估弓形虫 WH6 株培养上清液对肝癌细胞表型的影响。通过 siRNA 转染构建 METTL3 敲低细胞系, 联合 qRT-PCR 和 Western blot 检测 m⁶A 甲基化核心因子表达变化。所有数据均采用 SPSS 22.0 进行方差分析与 t 检验。**结果** 弓形虫 WH6 株培养上清显著抑制 HepG2 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。CCK-8 实验显示, 感染 24、48、72 h 后细胞增殖抑制率分别为 28.4%(1.30±0.10 vs. 0.93±0.09, $P<0.05$)、42.3%(2.08±0.08 vs 1.20±0.08, $P<0.01$) 和 46.5%(3.03±0.11 vs 1.62±0.15, $P<0.01$); 划痕实验和 Transwell 实验进一步证实其对细胞迁移和侵袭的抑制作用; 数据库分析显示 METTL3 在肝癌组织中高表达且与患者预后不良相关($P<0.05$); 敲低 METTL3 实验证实其对 HepG2 细胞增殖具有时间依赖性的抑制作用(72 h 抑制率达 26.2%, 2.44±0.07 vs. 1.80±0.05, $P<0.01$); 弓形虫 WH6 株培养上清通过下调 METTL3 表达(mRNA 降低至 36.8%, 蛋白降低至 46.1%)并上调 VEPH1 表达来发挥抑制作用。**结论** 本研究揭示了弓形虫 WH6 株培养上清液通过 METTL3/VEPH1 通路抑制肝癌细胞恶性表型的新机制, 为肝癌治疗提供了潜在靶点。

【关键词】 弓形虫中国 I 型 WH6 株; 肝癌; HepG2 细胞; 增殖; METTL3

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2025)08-0988-06

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Aug.; 20(08):988–993.]

The culture supernatant of *Toxoplasma gondii* WH6 strain inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma HepG2 cells by downregulating METTL3 expression

SUN Hang, LI Yanan, ZHU Wenju, WANG Qi, DONG Hongjie, ZHAO Guihua, XU Chao, YIN Kun, XIE Xiaoman (Shandong Institute of Parasitic Diseases, Shandong First Medical University (Shandong Academy of Medical Sciences, Jining 272033, Shandong, China)^{***}

【Abstract】 Objective To investigate whether the culture supernatant of the *Toxoplasma gondii* WH6 strain suppresses the proliferation of HepG2 cells by regulating METTL3-mediated m⁶A methylation. **Methods** A cellular model was established by treating HepG2 cells with the supernatant. The phenotypic impacts were systematically evaluated using CCK-8 proliferation assays, scratch wound healing tests, and transwell invasion experiments. METTL3-knockdown cell lines were generated via siRNA transfection, and changes in the expression of m⁶A methylation core factors were detected using qRT-PCR and Western blot. All data were analyzed using SPSS 22.0, with ANOVA and t-tests. **Results** The WH6 strain culture supernatant significantly inhibited HepG2 cell proliferation, migration, and invasion. CCK-8 assays demonstrated 24 h, 48 h, and 72 h proliferation inhibition rates of 28.4%, 42.3%, and 46.5%, respectively ($P<0.05$). Scratch and Transwell assays corroborated its suppressive effects on migration and invasion. Database analyses revealed elevated METTL3 expression in HCC tissues associated with poor prognosis ($P<0.05$). METTL3 knockdown induced time-dependent proliferation inhibition (26.2% at 72 h, $P<0.01$). The culture supernatant of *Toxoplasma gondii* WH6 strain exerted inhibitory effects by downregulating METTL3 expression (mRNA reduced to 36.8%, protein reduced to 46.1%) and upregulating VEPH1 expression. **Conclusion** This study reveals a novel mechanism by which the *Toxoplasma gondii* WH6 strain culture supernatant inhibits the malignant

^{*} **【基金项目】** 山东省医药卫生科技发展计划项目 (No. 202201050466, 202201060464); 山东省自然科学基金青年基金项目 (No. ZR2023QH253); 济宁市重点研发计划项目 (No. 2022YXNS158); 山东省高等学校“青创团队发展计划”项目 (No. 2022KJ194); 山东省泰山学者项目工程 (No. tsqn202103186); 山东省医学科学院医药卫生科技创新工程。

^{**} **【通信作者】** 解晓曼, E-mail: xiaoman20220801@163.com

【作者简介】 孙航 (1997-), 男, 山东人, 硕士, 研究实习员。主要研究方向: 弓形虫致病机制。E-mail: sunhang1997@163.com

phenotypes of HCC cells through the METTL3/VEPH1 pathway, providing potential therapeutic targets and new insights for HCC treatment.

【Keywords】 *Toxoplasma gondii* Chinese 1 genotype WH6 strain; hepatocellular carcinoma; HepG2 cells; proliferation; METTL3

肝癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率居高不下。根据世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)发布的2020年全球癌症负担数据,肝癌发病率位居第六,死亡率位居第三,严重威胁人类健康^[1]。尽管手术、放疗、化疗等治疗手段不断进步,但肝癌患者的预后仍然较差,5年生存率仅为18%^[2-3]。因此,寻找新的、有效的肝癌治疗策略至关重要。

近年来,寄生原虫刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)与肿瘤的相互作用逐渐成为研究热点。多项研究表明,弓形虫感染可通过激活宿主固有免疫、诱导肿瘤细胞周期阻滞或凋亡等途径抑制实体瘤进展^[4-5],但其分子机制尚未完全阐明。例如,弓形虫分泌的效应蛋白GRA16可能通过劫持宿主表观遗传修饰系统(如组蛋白乙酰化、DNA甲基化)调控肿瘤相关基因表达^[6-7]。弓形虫WH6株是我国分离的一种弱毒力弓形虫株,其抗肿瘤作用机制未明。 m^6A 甲基化修饰作为一种重要的RNA表观遗传修饰,在肿瘤发生发展中的作用备受关注。 m^6A 甲基化修饰是由甲基转移酶复合体(包括METTL3、METTL14、WTAP等)催化,由去甲基化酶(FTO、ALKBH5等)去除的动态可逆过程^[8-9]。研究表明, m^6A 甲基化修饰参与调控mRNA的剪接、转运、翻译和降解等过程,在细胞增殖、分化、凋亡等生命活动中发挥重要作用^[10-11]。

METTL3是 m^6A 甲基转移酶复合体的核心组分,负责催化 m^6A 甲基化修饰。研究表明,METTL3在多种肿瘤中异常高表达,促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移^[12-14]。例如,METTL3在肝癌组织中高表达,且与患者预后不良相关^[15]。METTL3通过调控下游靶基因的 m^6A 甲基化修饰,影响其表达水平,从而促进肝癌细胞增殖、侵袭和转移^[16-17]。VEPH1是一种新发现的肿瘤抑制因子,其表达受 m^6A 甲基化修饰调控。VEPH1可以通过调节Hippo-YAP信号通路抑制胃癌的进展^[18]。还有研究表明,VEPH1在肝癌组织中表达下调,与患者预后不良相关^[19]。然而,VEPH1在弓形虫WH6株抗肿瘤中的作用尚未见报道。

本研究旨在探讨弓形虫WH6株培养上清是否通过调控METTL3介导的 m^6A 甲基化修饰抑制肝癌细胞HepG2增殖、迁移和侵袭,为肝癌治疗提供新的思路和潜在靶点。

材料与方法

1 材料

1.1 细胞与虫株 人肝癌细胞HepG2购自中科院细胞库。弓形虫中国I型WH6株由本实验室保存,采用Vero细胞进行传代培养。

1.2 实验试剂 DMEM高糖培养基(Gibco,美国)胎牛血清(FBS, Gibco, 美国)青霉素-链霉素双抗溶液(HyClone, 美国)0.25%胰蛋白酶-EDTA消化液(Gibco, 美国)无血清DMEM培养基(用于弓形虫传代, Gibco, 美国)细胞裂解缓冲液(含0.05% Triton X-100, Sigma, 美国)METTL3 siRNA及阴性对照siRNA(Santa Cruz Biotechnology, 美国)METTL3抑制剂STM2457(MedChemExpress, 美国)Lipofectamine 3000转染试剂(Invitrogen, 美国)CCK-8细胞增殖检测试剂盒(Beyotime, 中国)Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒(BD Biosciences, 美国)抗METTL3抗体(Abcam, 英国, 稀释比例1:1 000)抗VEPH1抗体(Cell Signaling Technology, 美国, 稀释比例1:1 000)抗GAPDH抗体(Proteintech, 美国, 稀释比例1:5 000)TRIzol RNA提取试剂(Invitrogen, 美国)PrimeScript RT反转录试剂盒(Takara, 日本)SYBR Green qPCR预混液(Takara, 日本)METTL3及靶基因qPCR引物(华大生物科技, 中国, 定制合成)

2 方法

2.1 数据库分析 从TCGA数据库(<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>)UALCAN数据库(Plotter数据库)

2.2 细胞培养与弓形虫感染 人肝癌细胞HepG2采用含10%胎牛血清的DMEM培养基,在37℃、5%CO₂培养箱中培养。收集新鲜弓形虫速殖子,调整虫体浓度后感染HepG2细胞,感染复数(MOI)为10:1。感染后,分别在24、48、72 h收集细胞进行后续实验。

2.3 弓形虫培养上清制备 将弓形虫WH6株速殖子接种于HeLa细胞(DMEM含2% FBS, 37℃、5% CO₂培养48 h),待宿主细胞裂解后,经3 μm滤膜过滤并离心收集虫体,PBS洗涤后调整浓度至1×10⁷/mL。将纯化虫体于无血清DMEM中厌氧培养(1% O₂, 24 h),收集上清并通过0.22 μm滤膜除菌,离心超滤浓缩(10 ku)后分装保存,用于后续细胞实验。

2.4 细胞转染 将HepG2细胞以适当密度接种于6孔板中,待细胞融合度达到60%~70%时进行转染。

使用 Lipofectamine 3000 转染试剂,按照说明书配制转染复合物:将 50 nmol/L METTL3 siRNA 与 10 μ L siRNA 稀释液混合,加入 250 μ L Opti-MEM 培养基中,轻轻混匀;同时将 5 μ L Lipofectamine 3000 试剂稀释于 250 μ L Opti-MEM 中,室温静置 5 min。将两者混合后室温孵育 15 min,随后逐滴加入细胞培养孔中,轻轻混匀。转染 6 h 后更换为完全培养基,继续培养 24~48 h 用于后续实验。转染效率可通过 qRT-PCR 或 Western blot 检测 METTL3 表达水平进行验证。

2.5 细胞增殖检测 采用 CCK-8 法检测细胞增殖。将 HepG2 细胞以每孔 5×10^3 个细胞的密度接种于 96 孔板,分别设置对照组和实验组。感染 24、48、72 h 后,每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,继续培养 2 h,用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度值。每组实验重复 3 次,取平均值进行分析。

2.6 细胞划痕实验 将 HepG2 细胞以每孔 2×10^5 个细胞的密度接种于 6 孔板,待细胞融合度达到 90% 时,用 200 μ L 无菌枪头在细胞单层上划出一条直线,PBS 洗涤去除漂浮细胞,分别设置对照组和实验组。继续培养 24 h 后,于倒置显微镜下观察并拍照记录划痕愈合情况。使用 ImageJ 软件分析划痕宽度,计算细胞迁移率。

2.7 细胞侵袭实验 采用 Transwell 小室进行细胞侵袭实验。将 Matrigel 胶用无血清培养基稀释至 1 mg/mL,取 100 μ L 铺于 Transwell 上室底部,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 使其凝固。将 HepG2 细胞重悬于无血清培养基中,调整细胞密度为 1×10^5 个/mL,取 200 μ L 细胞悬液接种于 Transwell 上室,分别设置对照组和实验组。下室加入含 10% 胎牛血清的培养基,继续培养 24 h 后,用棉签擦去上室未侵袭的细胞,4% 多聚甲醛固定,0.1% 结晶紫染色,于倒置显微镜下观察并拍照记录侵袭细胞数。每组实验重复 3 次,取平均值进行分析。

2.8 RNA 提取和实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 采用 TRIzol 法提取细胞总 RNA,按照试剂盒说明书进行操作。使用 Nanodrop 测定 RNA 浓度和纯度, A_{260}/A_{280} 比值在 1.8~2.0 之间视为合格。取 1 μ g RNA 进行逆转录合成 cDNA,采用 SYBR Green 法进行 qRT-PCR 检测 METTL3 mRNA 表达水平。引物序列如下:METTL3 正向引物:5'-GTGATCGTAGCTGAGGTTCGT-3',反向引物:5'-GGGTTGCACATTGTGTGGTC-3';GAPDH 正向引物:5'-AATGGGCAGCCGTTAGGAAA-3',反向引物:5'-GCCC AATACGACCAAATCAGAG-3'。VEPH1 引物:5'-TCCTGTGCAAAGAGAGAGTGTGTC-3',反向引物:

5'-GTCCCCAGCTCGTGAAAGAT-3'。反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 30 s,共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量,以 GAPDH 作为内参。

2.9 Western blot 检测 收集对照组和实验组的 HepG2 细胞,加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度。取等量蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,转膜后分别与 METTL3(1:1 000)、GAPDH(1:2 000)等一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,再加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,ECL 显色后观察蛋白表达情况。使用 ImageJ 软件分析条带灰度值,计算蛋白相对表达量。

3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 弓形虫 WH6 株培养上清抑制 HepG2 细胞增殖

CCK-8 实验结果显示,与对照组相比,实验组 HepG2 细胞的增殖能力显著降低,且呈时间依赖性($P < 0.05$)(图 1)。24 h A_{450} 值较对照组降低 28.4% (1.30 ± 0.10 vs. 0.93 ± 0.09 , $P < 0.05$),48 h 降低 42.3% (2.08 ± 0.08 vs. 1.20 ± 0.08 , $P < 0.01$),72 h 降低 46.5% (3.03 ± 0.11 vs. 1.62 ± 0.15 , $P < 0.01$)。感染 24、48、72 h 后,细胞增殖抑制率分别为 28.4%、42.3%、46.5%(表 1)。表明,弓形虫 WH6 株培养上清培养细胞后可显著抑制 HepG2 细胞增殖。

表 1 弓形虫 WH6 株培养上清对 HepG2 细胞增殖率影响分析
Table 1 Analysis of the effect of *T. gondii* WH6 strain culture supernatant on HepG2 cell proliferation rate

时间点 (h)	组别	均值 $\pm$ SD (对照)	均值 $\pm$ SD (WH6)	样本量 (每组)	P 值
24	Control vs WH6	1.30 ± 0.10	0.93 ± 0.09	5	0.03
48	Control vs WH6	2.08 ± 0.08	1.20 ± 0.08	5	<0.01
72	Control vs WH6	3.03 ± 0.11	1.62 ± 0.15	5	<0.01

2 弓形虫 WH6 株培养上清抑制 HepG2 细胞迁移

细胞划痕实验结果显示,与对照组相比,实验组 HepG2 细胞的迁移能力显著降低($P < 0.05$)(图 2A)。感染 24 h 后,对照组细胞迁移率为 30.7%,而实验组细胞迁移率为 11.3%(图 2B)。表明,弓形虫 WH6 株培养上清可以显著抑制 HepG2 细胞迁移。

3 弓形虫 WH6 株培养上清抑制 HepG2 细胞侵袭

Transwell 实验结果显示,与对照组相比,实验组 HepG2 细胞的侵袭能力显著降低($P < 0.05$)(图

3A)。感染 24 h 后,对照组侵袭细胞数为 103.0 ± 3.3 ,而实验组侵袭细胞数为 36.8 ± 1.9 (图 3B)。表明,弓形虫 WH6 株培养上清液可显著抑制 HepG2 细胞侵袭。

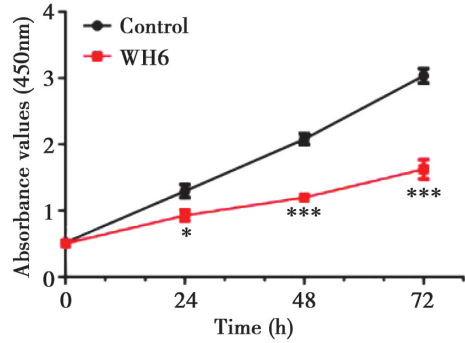
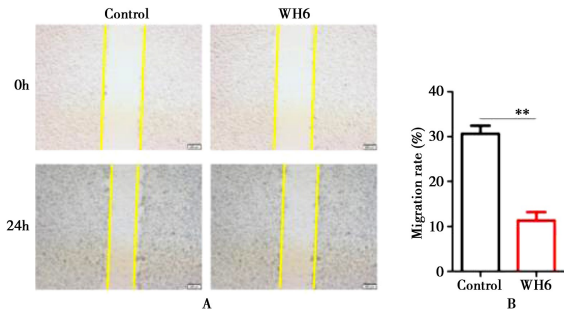


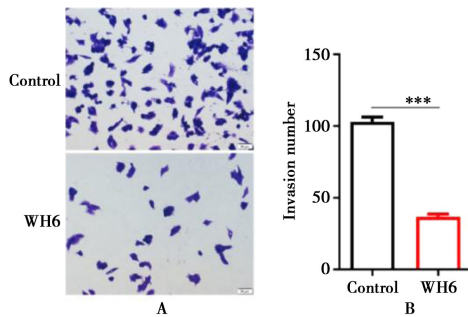
图 1 CCK-8 检测弓形虫 WH6 株培养上清对 HepG2 细胞增殖能力的影响

Fig. 1 Evaluation of HepG2 cell proliferation using CCK-8 assay following treatment with *T. gondii* WH6 strain culture supernatant



A 划痕实验明场照片 B 划痕实验细胞迁移率统计学分析
图 2 细胞划痕实验检测弓形虫 WH6 株培养上清对 HepG2 细胞迁移能力的影响

Fig. 2 Scratch wound healing assay to evaluate the effects of *T. gondii* WH6 strain culture supernatant on the migration of HepG2 cells



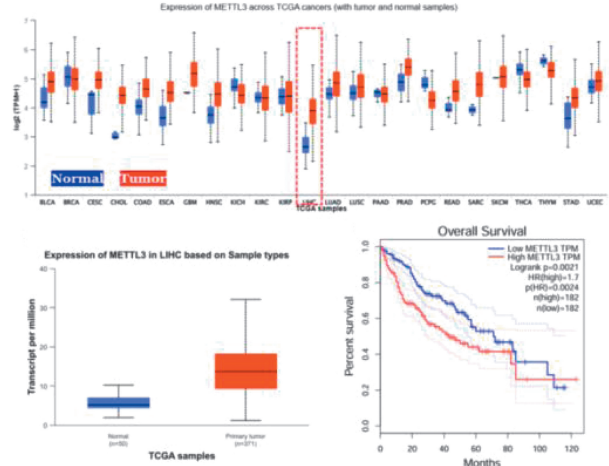
A Transwell 明场照片 B Transwell 侵袭细胞个数统计学分析
图 3 Transwell 检测弓形虫 WH6 株培养上清对 HepG2 细胞侵袭能力的影响

Fig. 3 Transwell assay to evaluate the effects of *T. gondii* WH6 strain culture supernatant on the invasion of HepG2 cells

4 高表达 METTL3 与肝癌患者预后不良相关

TCGA 和 UALCAN 数据库分析结果显示, METTL3 在肝癌组织中的表达水平显著高于正常组织($P < 0.05$)(图 4A、图 4B)。Kaplan-Meier Plotter

数据库分析结果显示, METTL3 高表达肝癌患者的总体生存期显著短于 METTL3 低表达患者($P < 0.05$)(图 4C)。METTL3 在肝癌中高表达,且与患者预后不良相关。



A TCGA 数据库显示 METTL3 在肝癌患者中高表达 B UALCAN 数据库显示 METTL3 在肝癌患者中高表达 C Kaplan-Meier Plotter 数据库显示高表达 METTL3 与患者预后不良相关

图 4 数据库显示 METTL3 在肝癌患者中高表达,且与患者预后不良相关
Fig. 4 Database analysis demonstrating high expression of METTL3 in hepatocellular carcinoma patients and its correlation with poor prognosis

5 敲低 METTL3 显著抑制 HepG2 细胞增殖

通过 CCK-8 实验检测 24、48、72 h 的细胞增殖变化,敲低 METTL3 显著抑制 HepG2 细胞增殖,且抑制作用随时间延长逐渐增强(图 5)。24 h A_{450} 值较对照组降低 9.4% (0.85 ± 0.04 vs. 0.77 ± 0.03 , $P > 0.05$),48 h 降低 21.7% (1.61 ± 0.06 vs. 1.26 ± 0.11 , $P < 0.05$),72 小时降低 26.2% (2.44 ± 0.07 vs. 1.80 ± 0.05 , $P < 0.01$)(表 2)。表明,敲低 METTL3 对 HepG2 细胞增殖具有显著的抑制作用,且其效应呈时间依赖性。

表 2 敲低 METTL3 对 HepG2 细胞增殖率影响分析 Table 2 Analysis of the effect HepG2 cell proliferation rate upon METTL3 knockdown					
时间点 (h)	组别	均值±SD (对照)	均值±SD (WH6)	样本量 (每组)	P 值
24 h	Control vs si METTL3	0.85 ± 0.04	0.77 ± 0.03	5	0.16
48 h	Control vs si METTL3	1.61 ± 0.06	1.26 ± 0.11	5	0.02
72 h	Control vs si METTL3	2.44 ± 0.07	1.80 ± 0.05	5	< 0.0001

6 弓形虫 WH6 株培养上清通过抑制 METTL3 上调 VEPH1 表达进而抑制细胞的增殖

qRT-PCR 和 Western blot 结果显示,与对照组相比,实验组 HepG2 细胞中 METTL3 mRNA 和蛋白表达水平均显著下调($P < 0.05$)。感染 24 h 后, METTL3 mRNA 表达水平降低至对照组的 36.8%

(图 6A), 蛋白表达水平降低至对照组的 46.1% (图 6B)。为了进一步研究 METTL3 影响 HepG2 细胞增殖的机制, 构建 METTL3 敲低载体并转染至细胞内, 结果发现 siMETTL3 组 HepG2 细胞中 VEPH1 mRNA 和蛋白表达水平均显著上调 ($P < 0.05$) (图 6C、图 6D)。METTL3 在肝癌细胞中高表达, VEPH1 在肝癌细胞中低表达, 进而促进细胞增殖、迁移和侵袭。结果表明, 弓形虫 WH6 株培养上清可能通过抑制 METTL3 进而上调 VEPH1 的表达, 显著抑制 HepG2 细胞增殖、迁移和侵袭。

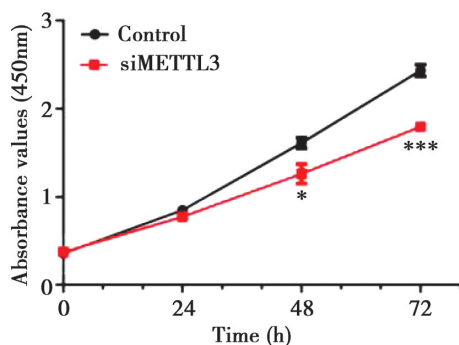
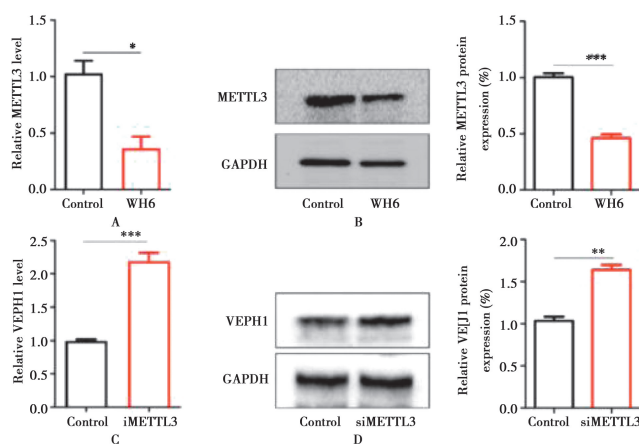


图 5 CCK-8 检测敲低 METTL3 对 HepG2 细胞增殖能力的影响
Fig. 5 Effect of METTL3 knockdown on the proliferative capacity of HepG2 cells as determined by CCK-8 assay



A、B qRT-PCR、WB 检测 WH6 弓形虫培养上清感染 HepG2 细胞后 METTL3 的表达 C、D qRT-PCR、WB 检测敲低 HepG2 细胞中 METTL3 后 VEPH1 的表达

图 6 弓形虫 WH6 株培养上清通过抑制 METTL3 上调 VEPH1 表达进而抑制细胞的增殖

Fig. 6 The culture supernatant of *T. gondii* WH6 strain inhibits cell proliferation by suppressing METTL3 and upregulating VEPH1 expression

讨论

本研究首次探讨了弓形虫 WH6 株培养上清是否通过调控 METTL3 介导的 m⁶A 甲基化修饰抑制肝癌细胞 HepG2 增殖、迁移和侵袭。数据库分析结果显示, METTL3 在肝癌组织中高表达, 且与患者预后不良相关。结果表明, 弓形虫 WH6 株培养上清感染

显著抑制 HepG2 细胞中 METTL3 表达, 最终抑制 HepG2 细胞增殖、迁移和侵袭。

近年来, 弓形虫这一细胞内寄生原虫的抗肿瘤潜力逐渐被揭示。其抗肿瘤作用具有多机制、广谱性的特点, 已在多种恶性肿瘤中得到证实。在肺癌研究中, 弓形虫可通过激活宿主免疫系统发挥抗增殖作用^[20]; 针对胃癌的研究则揭示了其诱导肿瘤细胞凋亡和增殖的双重抑瘤机制^[21]。值得注意的是, 弓形虫对卵巢癌的抑制作用主要体现为对肿瘤微环境的重编程, 从而抑制癌细胞的侵袭转移能力^[22]。此外, 在白血病中的研究进一步拓展了其抗肿瘤机制, 揭示了弓形虫 ROP16 I/III 蛋白通过激活 STAT3 磷酸化抑制白血病细胞增殖并诱导凋亡的新机制, 为弓形虫抗肿瘤研究提供了重要理论依据^[23]。这些研究发现共同印证了弓形虫作为一种潜在的广谱抗肿瘤制剂的临床应用前景。

作为 m⁶A 甲基转移酶复合体的核心组分, METTL3 在肿瘤发生发展中扮演重要角色。研究表明, METTL3 通过动态调控 m⁶A 修饰水平促进肺癌细胞的异常增殖和转移^[24]。在胃癌中, 该酶通过影响下游致癌基因的 m⁶A 甲基化修饰增强肿瘤细胞的侵袭转移能力^[25-26]。在三阴性乳腺癌和神经胶质瘤的研究显示, METTL3 介导的 m⁶A 修饰通过激活 Wnt/ β -catenin 等关键通路驱动肿瘤进展^[27-28]。值得注意的是, 在神经胶质瘤中, METTL3 依赖的 RNA 甲基化修饰对维持肿瘤干细胞特性具有关键作用^[28]。本团队最新研究发现, 弓形虫 WH6 株培养上清液感染可显著下调 METTL3 表达, 导致整体 m⁶A 修饰水平降低, 进而抑制肝癌细胞 HepG2 的增殖、迁移和侵袭等恶性表型, 这为寄生虫介导的抗肿瘤治疗策略提供了新方向。

未来研究将进一步探讨弓形虫 WH6 株培养上清在其他肿瘤中的作用, 并评估其体内抗肿瘤效果, 为开发新型抗肿瘤药物提供理论依据。综上所述, 弓形虫 WH6 株培养上清通过抑制 METTL3 表达, 进而上调细胞内 VEPH1 的表达, 最终抑制肝癌细胞 HepG2 增殖、迁移和侵袭。本研究揭示了弓形虫 WH6 株培养上清抗肿瘤的新机制, 为肝癌治疗提供了新的思路和潜在靶点。

【参考文献】

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 Countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2018, 391(10127): 1301-1314.

- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [4] El Skhawry N, Eissa MM. Shedding light on a mysterious link between *Toxoplasma gondii* and cancer: A review [J]. Exp Parasitol, 2023, 250: 108544.
- [5] Chen J, Liao W, Peng H. *Toxoplasma gondii* infection possibly reverses host immunosuppression to restrain tumor growth[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 959300.
- [6] Bougdour A, Durandau E, Brenier-Pinchart MP, et al. Host cell subversion by *Toxoplasma* GRA16, an exported dense granule protein that targets the host cell nucleus and alters gene expression[J]. Cell Host Microbe, 2013, 13(4): 489-500.
- [7] Seo SH, Kim SG, Shin JH, et al. *Toxoplasma* GRA16 inhibits NF- κ B activation through PP2A-B55 upregulation in non-small-cell lung carcinoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18): 6642.
- [8] Zaccara S, Ries RJ, Jaffrey SR. Reading, writing and erasing mRNA methylation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(10): 608-624.
- [9] Liu J, Yue Y, Han D, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N6-adenosine methylation[J]. Nat Chem Biol, 2014, 10(2): 93-95.
- [10] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m(6) A Reader YTHDC1 Regulates mRNA Splicing[J]. Mol Cell, 2016, 61(4): 507-519.
- [11] Jiang X, Liu B, Nie Z, et al. The role of m6A modification in the biological functions and diseases[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 74.
- [12] Chen XY, Zhang J, Zhu JS. The role of m6A RNA methylation in human cancer[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 103.
- [13] Li Y, He X, Lu X, et al. METTL3 acetylation impedes cancer metastasis via fine-tuning its nuclear and cytosolic functions[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6350.
- [14] Mao Y, Li W, Weng Y, et al. METTL3-mediated m6A modification of lncRNA MALAT1 facilitates prostate cancer growth by activation of PI3K/AKT signaling [J]. Cell Transplant, 2022, 31: 9636897221122997.
- [15] Chen M, Wei L, Law CT, et al. RNA N6-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2[J]. Hepatology, 2018, 67(6): 2254-2270.
- [16] Wang L, Yang Q, Zhou Q, et al. METTL3-m6A-EGFR-axis drives lenvatinib resistance in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Lett, 2023, 559: 216122.
- [17] Li B, Xiong X, Xu J, et al. METTL3-mediated m6A modification of lncRNA TSPAN12 promotes metastasis of hepatocellular carcinoma through SENP1-dependent deSUMOylation of EIF31 [J]. Oncogene, 2024, 43(14): 1050-1062.
- [18] Nie X, Zhou Z, Chen Y, et al. VEPH1 suppresses the progression of gastric cancer by regulating the Hippo-YAP signalling pathway[J]. Dig Liver Dis, 2024, 56(1): 187-197.
- [19] Dong P, Wang X, Liu L, et al. Dampened VEPH1 activates mTORC1 signaling by weakening the TSC1/TSC2 association in hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 2020, 73(6): 1446-1459.
- [20] 焦玉萌, 陶志勇, 崔裕健, 等. 弓形虫排泄分泌抗原对 Lewis 肺癌小鼠瘤体生长的抑制作用[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(4): 400-403, 438.
- [21] 罗强, 孙黎, 田青青, 等. 刚地弓形虫速殖子培养上清液对人胃癌细胞 BGC-823 增殖和凋亡的影响[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2014, 32(2): 123-127.
- [22] Baird JR, Fox BA, Sanders KL, et al. Avirulent *Toxoplasma gondii* generates therapeutic antitumor immunity by reversing immunosuppression in the ovarian cancer microenvironment[J]. Cancer Res, 2013, 73(13): 3842-3851.
- [23] 殷荷, 马磊, 党甜甜, 等. 弓形虫 ROP16 I / III 蛋白激活 STAT3 磷酸化调节 THP-1 细胞周期、增殖及凋亡[J]. 中国人兽共患病学报, 2024, 40(12): 1115-1121, 1127.
- [24] Xu Y, Lv D, Yan C, et al. METTL3 promotes lung adenocarcinoma tumor growth and inhibits ferroptosis by stabilizing SLC7A11 m6A modification [J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 11.
- [25] Yang DD, Chen ZH, Yu K, et al. METTL3 promotes the progression of gastric cancer via targeting the MYC pathway [J]. Front Oncol, 2020, 10: 115.
- [26] Wang Q, Chen C, Ding Q, et al. METTL3-mediated m6A modification of HDGF mRNA promotes gastric cancer progression and has prognostic significance [J]. Gut, 2020, 69(7): 1193-1205.
- [27] Yu X, Li Y, Kong F, Xu Q. METTL3 regulates FAM83D m6A modification to accelerate tumorigenesis of triple-negative breast cancer via the Wnt/ β -catenin pathway [J]. Toxicol In Vitro, 2024, 95: 105746.
- [28] Yin J, Ding F, Cheng Z, et al. METTL3-mediated m6A modification of LINC00839 maintains glioma stem cells and radiation resistance by activating Wnt/ β -catenin signaling[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(7): 417.

【收稿日期】 2025-03-13 【修回日期】 2025-06-03

(上接 987 页)

- [22] Bretheau F, Castellanos-Molina A, Belanger D, et al. The alarmin interleukin-1 α triggers secondary degeneration through reactive astrocytes and endothelium after spinal cord injury [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 5786.
- [23] Jung SH, Hwang BH, Shin S, et al. Spatiotemporal dynamics of macrophage heterogeneity and a potential function of Trem2(hi) macrophages in infarcted hearts [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 4580.
- [24] Qin S, Zhu J, Zhang G, et al. Research progress of functional motifs based on growth factors in cartilage tissue engineering: A review [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2023, 11(1): 1127949.
- [25] 袁天阳. 应用增强 PRP 的生物 3D 打印水凝胶支架对脊髓损伤修复的实验研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2023.
- [26] Duan M, Xu Y, Li Y, et al. Targeting brain-peripheral immune responses for secondary brain injury after ischemic and hemorrhagic stroke [J]. J Neuroinflammation, 2024, 21(1): 102.
- [27] Feng Y, Peng Y, Jie J, et al. The immune microenvironment and tissue engineering strategies for spinal cord regeneration [J]. Front Cell Neurosci, 2022, 16(1): 969002.

【收稿日期】 2025-02-25 【修回日期】 2025-05-18