

本文引文格式:李玟,赵禹博,马佳纯,等. TRIM40 对人胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J].
右江民族医学院学报,2025,47(1):16-22.

【论著与临床报道】

TRIM40 对人胰腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

李玟^{1,2}, 赵禹博³, 马佳纯², 母红叶^{2,4}, 宋美慧², 齐玲², 张梦阳²

1. 大理大学药学院, 云南 大理 671000;
2. 广州医科大学附属清远医院, 清远市人民医院消化内科, 广东 清远 511518;
3. 广州医科大学附属清远医院, 清远市人民医院神经外科, 广东 清远 511518;
4. 遵义医科大学, 贵州 遵义 563000)

摘要:目的 探讨 TRIM40 在胰腺癌细胞中的表达及其对 MIA PaCa-2 细胞生物学行为的影响。方法 采用 Western Blot 实验检测胰腺癌细胞中 TRIM40 的蛋白表达水平; 免疫荧光联合激光共聚焦显微镜观察 MIA PaCa-2 细胞和 PANC-1 细胞中 TRIM40 蛋白表达和分布; 使用慢病毒 TRIM40 感染 MIA PaCa-2 细胞过表达 TRIM40, 通过 qRT-PCR 实验检测 TRIM40 的表达以验证感染效率; 采用 CCK-8、伤口愈合、Transwell 小室、平板克隆实验分别检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖、迁移、侵袭、克隆形成能力的变化。结果 与胰腺正常导管上皮 (HPDE) 细胞相比, 胰腺癌细胞中的 TRIM40 水平显著降低。采用 CCK-8、伤口愈合、Transwell 小室、平板克隆实验结果显示, 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖、迁移、侵袭、克隆形成能力显著降低。结论 TRIM40 在胰腺癌细胞中的表达显著低于 HPDE 细胞, 过表达 TRIM40 可抑制胰腺癌细胞增殖、迁移、侵袭、克隆形成能力。

关键词:胰腺肿瘤; TRIM40; 肿瘤细胞增殖; 肿瘤细胞迁移; 肿瘤细胞侵袭

中图分类号: R735.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2025)01-0016-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.003

The effects of TRIM40 on proliferation, migration, and invasion of human pancreatic cancer cells

LI Wen^{1,2}, ZHAO Yubo³, MA Jiachun², MU Hongye^{2,4},
SONG Meihui², QI Ling², ZHANG Mengyang²

1. School of Pharmacy, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China;
2. Department of Gastroenterology, Qingyuan People's Hospital, Affiliated Qingyuan Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China;
3. Department of Neurosurgery, Qingyuan People's Hospital, Affiliated Qingyuan Hospital of Guangzhou Medical University, Qingyuan 511518, Guangdong, China;
4. Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of TRIM40 in pancreatic cancer cells and its effects on the biological behavior of MIA PaCa-2 cells. **Methods** Western Blot assay was used to detect the protein expression level of TRIM40 in pancreatic cancer cells; immunofluorescence combined with laser confocal microscopy was used to observe the expression and distribution of TRIM40 protein in MIA PaCa-2 and PANC-1 cells. Lentivirus-mediated TRIM40 was used to infect MIA PaCa-2 cells to overexpress TRIM40, and qRT-PCR was

基金项目:国家自然科学基金项目(82203351);广东省基础研究委员会基础与应用基础研究基金项目(2021A1515111095)

第一作者:李玟,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤的发病机制及其靶点验证,E-mail:2296544282@qq.com

通讯作者:张梦阳,博士,研究方向:肿瘤微环境与细胞互作、炎症疾病与干细胞治疗研究,E-mail:zhangmengyang1018@163.com

performed to verify the infection efficiency by detecting TRIM40 expression. The effects of TRIM40 overexpression on the proliferation, migration, invasion, and colony formation abilities of MIA PaCa-2 cells were assessed using CCK-8, wound healing, Transwell chamber, and colony formation assays, respectively. **Results**

Compared with human pancreatic ductal epithelial (HPDE) cells, the level of TRIM40 in pancreatic cancer cells was significantly reduced. The results of CCK-8, wound healing, Transwell chamber, and colony formation assays showed that the proliferation, migration, invasion, and colony formation abilities of MIA PaCa-2 cells were significantly decreased after overexpressing TRIM40. **Conclusion** The expression of TRIM40 in pancreatic cancer cells is significantly lower than that in HPDE cells, and overexpression of TRIM40 inhibits the proliferation, migration, invasion, and colony formation abilities of pancreatic cancer cells.

Key words: pancreatic neoplasms; tripartite motif-containing protein 40; tumor cell proliferation; tumor cell migration; tumor cell invasion

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)是胰腺癌最常见的种类^[1], 预计到 2030 年, PDAC 将成为癌症相关死亡的第二大常见原因^[2]。手术切除后再进行辅助化疗是 PDAC 的最佳治疗方法^[3], 但是 PDAC 诊断较晚, 常在患者发生转移后才被诊断出来^[4], 所以预后不良, 5 年总生存率约为 11%^[5-6]。因此, 深入研究 PDAC 的生长及转移机制和寻找新的分子靶标至关重要。

TRIM40 是一种 E3 泛素连接酶, 属于 TRIM 家族的一员。TRIM 家族参与多种细胞信号转导过程, 调节癌症的发生、进展和治疗耐药性, 在不同的人类癌症类型中可表现出致癌或抑癌的功能。此外, TRIM 家族成员具有作为癌症诊断和预后的生物标志物的潜力^[7]。TRIM 家族由 1 个 N 端 RING 结构域、1 个或 2 个 B-box 基序和 α 螺旋结构域组成, 后面是从 N 端到 C 端的高度可变的羧基末端结构域。RING 结构域是催化中心, 通过介导蛋白质-蛋白质相互作用来发挥作用。RING 的二聚化通常是泛素连接酶活性的先决条件^[8]。TRIM 家族成员参与多种细胞活动和过程, 包括 mRNA 抑制和 mRNA 定位^[9]、自噬^[10-11]、细胞焦亡、细胞凋亡^[12]、细胞周期和有丝分裂^[13]、DNA 损伤反应^[14]、病毒感染^[15]、免疫激活和炎症过程^[16-17]。研究表明, TRIM40 直接靶向 Rho 相关卷曲螺旋蛋白激酶 1 (ROCK1) 使其降解, 最终导致了炎症性肠病的发展。缺乏 RING、B-box 或 C 末端结构域的突变体 TRIM40 促进 ROCK1 降解的能力受损。研究表明, TRIM40 缺陷的雄性小鼠对硫酸葡聚糖钠 (DSS) 诱导的结肠炎具有高度抵抗力^[18]。但关于 TRIM40 在胰腺癌中发挥作用及具体分子机制尚未阐明。本研究探讨 TRIM40 在胰腺癌细胞系中的表达, 通过在胰腺癌 MIA PaCa-2 细胞中过表达 TRIM40 分析其对细胞增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力的影响, 为胰腺癌的诊断和治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人胰腺正常导管上皮细胞 HPDE、人源胰腺癌 PANC-1、MIA PaCa-2 细胞(美国 ATCC 细胞库)。

1.2 主要试剂与仪器 DMEM 高糖培养基、链霉素/青霉素和胰蛋白酶(美国 GIBCO 公司), 胎牛血清(澳大利亚 ExCell Bio 公司), 4%~8% FuturePAGE TM 蛋白预制胶(南京艾思易生物科技有限公司), 嘌呤霉素(上海碧云天生物技术有限公司), TRIM40(上海吉玛制药技术有限公司), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司), RIPA Lysis Buffer(康为世纪生物科技有限公司), CCK-8 试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司), SuperKine 超敏型 ECL 发光液(亚科因生物技术有限公司), GAPDH 抗体(货号: 60004-1-Ig)、Goat Anti-Rabbit IgG 抗体(货号: SA00001-2)、Goat Anti-Mouse IgG 抗体(货号: SA00001-1)、TRIM40 抗体(货号: 67073-1-1g)(武汉三鹰生物技术有限公司), CO₂ 恒温培养箱(ESCO 公司), 冷冻离心机(广州火元医疗器械有限公司), 共聚焦激光显微镜(Zeiss 公司), 伯乐 Gel Doc XR+ 凝胶成像系统(美国 BIO-RAD 公司), 金属浴(上海一恒科技有限公司), 酶标仪(SPECTOR Star 公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 在人胰腺正常导管上皮细胞 HPDE、人胰腺癌细胞株 PANC-1 和 MIA PaCa-2 添加了 10% 的胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素新鲜配置的 DMEM 培养基中培养, 培养条件为 37 °C, 5% CO₂, 培养至一定密度即 80% 左右后, 取对数生长期的细胞进行后续的接种处理。

1.3.2 Western Blot 实验 收集生长状态良好的 HPDE、MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞, 加入 RIPA 裂解液提取蛋白, 采用 BCA 试剂盒进行浓度测定及定量。将取出的 SDS-PAGE 凝胶于电泳槽固定, 以总蛋白量为 30 ng 上样, 恒压 160 V、50 min 进行电泳。然后将分离后的蛋白质采用湿法进行转膜, 将转膜后的

PVDF 膜在 5% 脱脂牛奶中室温封闭 2 h, 用 TBST 10 分/次, 洗 3 次, 加入 TRIM40 (1 : 3 000) 或 GAPDH (1 : 10 000) 抗体中 4 °C 缓慢孵育过夜。第 2 天, 取出膜用 TBST 洗 3 次, 加入二抗 (1 : 10 000) 室温摇床孵育 2 h, 使用凝胶成像仪进行显影成像, 使用 ImageJ 软件读取目的蛋白和内参蛋白灰度值, 以目标蛋白和内参蛋白的净光密度比值作为相对表达量, 进行半定量分析及绘图。

1.3.3 免疫荧光实验 将 PANC-1 和 MIA PaCa-2 细胞铺板于免疫荧光小皿中央, 培养 24 h 后, 用 PBS 洗 5 min, 洗 3 次, 多聚甲醛固定 30 min, 再次用 PBS 洗, Triton X-100 透化 5 min, PBS 洗干净, 5% BSA 封闭 2 h 后, 加入用 1% BSA 配制的 TRIM40 (1 : 200) 抗体 4 °C 过夜孵育。次日, 用 PBST 洗净, 避光孵育兔二抗 (1 : 500) 2 h, PBST 洗 3 次, DAPI 避光染核 5 min, 用 PBST 洗净, 在共聚焦显微镜下观察 TRIM40 的表达和定位情况并拍照。

1.3.4 构建稳转细胞株 取对数生长期的 MIA PaCa-2 细胞接种到 24 孔板中, 37 °C、5% CO₂ 培养 16~24 h, 细胞汇合度约 50%~60% 用带 GFP tag 绿色荧光蛋白标签的慢病毒 TRIM40 感染, 16 h 后换液, 感染 72 h 可观察荧光强度并加入嘌呤霉素筛选感染的细胞株, 以 1 mg/mL 逐步增加至 10 mg/mL, 约 15 d 左右可构建成功, 并进行感染效率测定, 后续培养以嘌呤霉素 5 mg/mL 作为维持浓度。

1.3.5 qRT-PCR 实验 用 Trizol 法提取总 RNA, 并使用反转录试剂盒 (Takara) 将其反转录为 cDNA。qRT-PCR 使用 SYBR Green qPCR 法在 PCR 仪器中进行。以 GAPDH 为内参, 使用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达水平, 见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Gene	Sequence (5' to 3')
TRIM40 Fw	TCTATGTGTGGAATGCCTGGTGTCT
TRIM40 Rv	GAGTCGTTCTTGTAGTGGCTGAG
GAPDH Fw	GGACGTGCAGGGCAACTACC
GAPDH Rv	AGCCGACGATGAGAAAGGGG

1.3.6 细胞增殖实验 将处于对数生长期的细胞消化稀释, 配制为 1 000 个/孔 (1×10⁴ 个/mL) 的细胞悬液, 以 100 微升/孔接种到 96 孔板中, 每组至少 3 个复孔, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。培养 48 h 后每孔加入 10 μL 的 CCK8 试剂, 于培养箱中避光孵育 2 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 波长处测定吸光度值, 进行统计分析。

1.3.7 克隆形成实验 将处于对数生长期的细胞消化稀释, 配制为 1 000 个/孔的细胞悬液, 接种到 6 孔

板中, 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养, 每间隔 3 d 进行换液, 连续培养 14 d。用 PBS 洗涤后多聚甲醛固定 15 min, 1% 的结晶紫染色 15 min, 晾干后拍照。

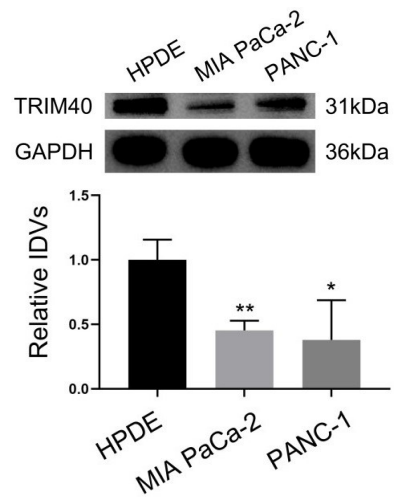
1.3.8 细胞划痕实验 将处于对数生长期的细胞消化稀释, 配制 3.5×10⁴ 个/孔的细胞悬液, 吸取 70 μL 均匀铺在伤口愈合插件里, 待细胞汇合度为 90% 左右, 拔下伤口愈合插件, PBS 清洗, 加入培养基, 于 0 h 和 24 h 分别进行拍照。

1.3.9 Transwell 实验 迁移实验: 在 Transwell 小室的上室加入 1×10⁵ 个悬浮于 100 μL 无血清培养基的细胞, 下室加入 600 μL 完全培养基。37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 48 h 后取出小室, PBS 洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 1% 的结晶紫染色 5 min, 用湿棉签擦掉上室中未穿过来的细胞, 并用 PBS 洗涤干净。在倒置显微镜下观察拍照并计数。侵袭实验: 在 Transwell 上室膜预涂 100 μL 基质胶, 在 37 °C 下静置 2 h, 待其凝固后吸去多余基质胶。后续步骤同迁移实验。

1.3.10 统计学方法 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用独立样本 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌细胞中 TRIM40 蛋白表达水平及 TRIM40 蛋白表达和定位情况 与 HPDE 细胞相比, MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞中 TRIM40 的蛋白表达水平显著降低 (*P* < 0.01 或 *P* < 0.05)。MIA PaCa-2 细胞中 TRIM40 蛋白表达更低, 且 MIA PaCa-2 细胞状态佳, 细胞增殖快, 易培养, 故选择 MIA PaCa-2 细胞进行后续实验。免疫荧光联合激光共聚焦显微镜观察显示, TRIM40 在 MIA PaCa-2 和 PANC-1 细胞中主要分布在细胞质。见图 1 和图 2。



注: 与 HPDE 组相比, * *P* < 0.01, ** *P* < 0.05; *n* = 3。

图 1 Western Blot 法检测不同细胞中 TRIM40 蛋白表达

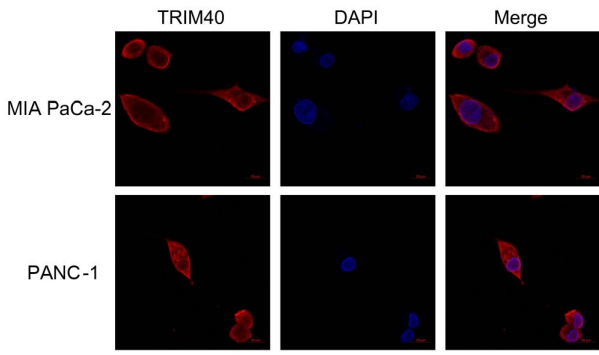
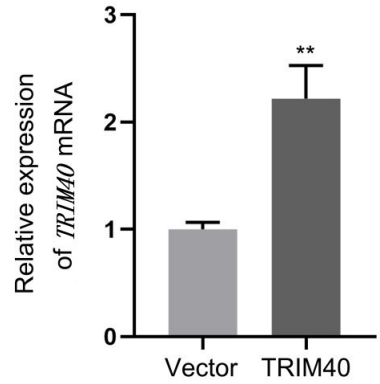


图 2 免疫荧光实验检测 MIA PaCa-2 细胞和 PANC-1 细胞中 TRIM40 蛋白表达(标尺=20μm)

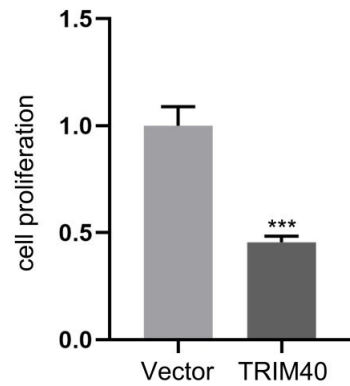


注:与 Vector 组相比,** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

图 3 qRT-PCR 实验检测 2 组 MIA PaCa-2 细胞中 TRIM40 的表达

2.2 MIA PaCa-2 细胞过表达 TRIM40 的转染效率
在 MIA PaCa-2 细胞中过表达 TRIM40 后通过 qRT-PCR 实验检测 TRIM40 mRNA 的表达,结果显示,与 Vector 组比较,过表达 TRIM40 组细胞中 TRIM40 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.3 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖和克隆形成能力的变化 CCK-8 实验检测细胞增殖能力,与对照组比较,细胞接种培养 48 h 后,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞增殖活性显著降低 ($P < 0.001$)。平板克隆形成实验结果显示,与 Vector 组相比,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞克隆形成数明显减少 ($P < 0.01$)。见图 4 和图 5。



注:与 Vector 组相比,*** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

图 4 CCK-8 法检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞增殖能力变化

注:与 Vector 组相比,** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

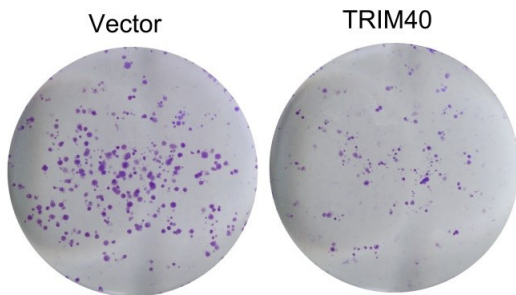
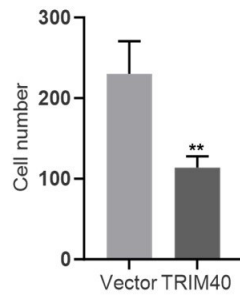


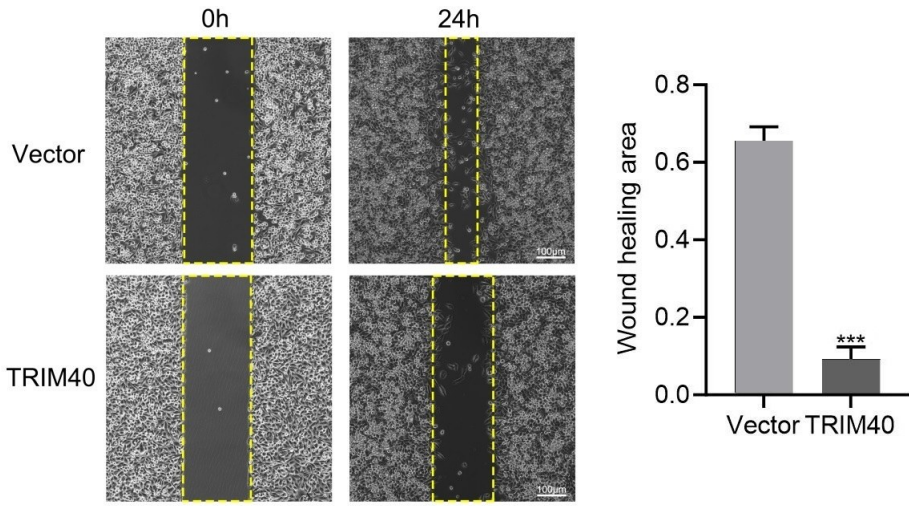
图 5 平板克隆实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞克隆形成能力变化(结晶紫)



2.4 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞划痕愈合能力变化 划痕后 24 h 观察,与对照组比较,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞划痕距离更宽,面积更大,划痕愈合能力明显降低 ($P < 0.001$)。见图 6。

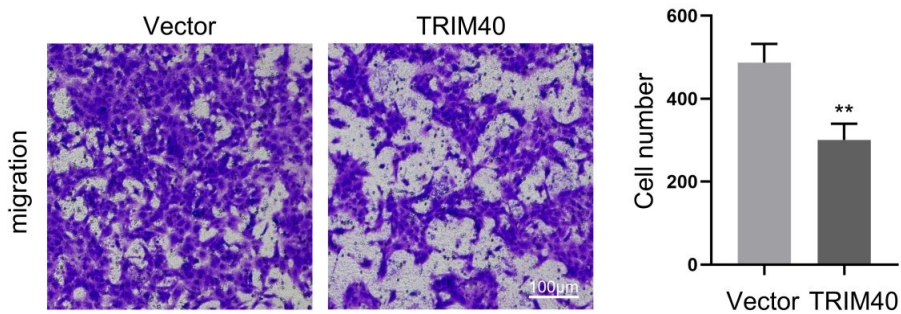
2.5 过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞迁移和侵

袭能力变化 Transwell 实验结果显示,与对照组比较,TRIM40 组 MIA PaCa-2 细胞的迁移和侵袭能力均显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。见图 7 和图 8。



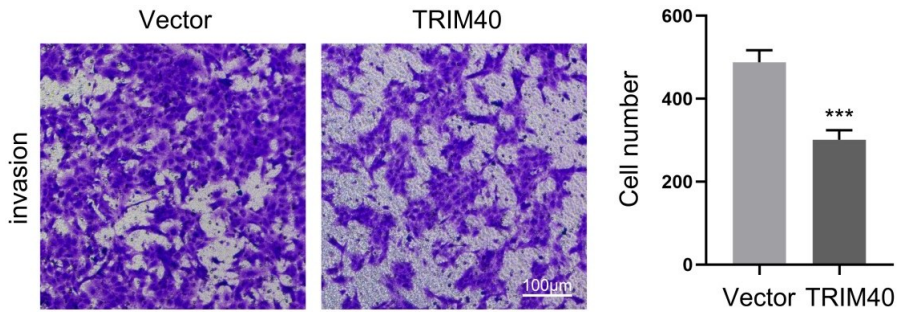
注:与 Vector 组相比,*** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

图 6 划痕实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞划痕愈合情况(标尺=100 μm)



注:与 Vector 组相比,** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

图 7 Transwell 小室实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞迁移情况



注:与 Vector 组相比,*** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

图 8 Transwell 小室实验检测过表达 TRIM40 后 MIA PaCa-2 细胞侵袭情况(标尺=100 μm)

3 讨论

PDAC 是一种致死性恶性肿瘤,由于 PDAC 在早期基本无症状,超过 80% 的患者通常被诊断时已为晚期或转移期,因此无法进行手术干预^[19-20]。此外,接受肿瘤完全切除的患者常在术后 2 年内出现局部或远处复发^[21]。其他治疗策略,如联合化疗、分子靶向药物和免疫检查点抑制剂,由于存在化疗和免疫耐药,疗效有限^[22-24]。因此亟待寻求新的诊断标志物及临床治疗靶点。

近年来,TRIM40 作为 TRIM 家族的重要成员,逐

渐成为肿瘤研究领域的热点对象。RNA-seq 分析表明,TRIM40 的表达在大多数人体组织中基本表达沉默^[18],在多种肿瘤中表达异常。如在炎症性肠病、食管癌中,TRIM40 的表达水平显著升高,且与肿瘤的分级、分期和预后密切相关^[18,25]。相反,在某些肿瘤如结直肠癌、IgA1 肾病中,TRIM40 的表达则显著降低^[26-27]。这些结果表明,TRIM40 在不同肿瘤中可能发挥不同的生物学功能。其通过结构域与其他蛋白质相互作用,参与如感染、炎症、信号转导、转录调控、泛素化修饰等多种细胞生物学过程^[26,28-30]。一些研究表

明 TRIM40 在抗病毒免疫中具有抑制作用^[31-32]。此外,TRIM40 通过泛素化使 NLRP3 炎症小体失活,抑制 IgA1 诱导的肾小球系膜细胞增殖^[27]。Riok3 通过其 RIO 结构域与 E3 连接酶 TRIM40 的 CC 结构域相互作用,促进 TRIM40 介导的 K48 和 K27 连接的泛素化,并诱导随后的 RIG-I 和 MDA5 蛋白酶体降解^[28]。糖尿病性视网膜病变是糖尿病患者常见的微血管并发症,研究表明 TRIM40 参与了糖尿病性视网膜病变的进展。在高糖条件下,TRIM40 和其效应蛋白 p-DAB1 的表达水平呈负相关,TRIM40 增强了 K48 连接的 DAB1 的泛素化,从而促进了 DAB1 的降解,研究揭示了 TRIM40 作为 Reelin/DAB1 信号通路干预的潜在治疗靶点,有助于糖尿病性视网膜病变的治疗^[33]。为了探究 TRIM40 与胰腺癌之间的关系,本研究通过 Western Blot 实验在 3 种胰腺癌细胞中检测 TRIM40 的表达,结果显示 TRIM40 在胰腺癌细胞的蛋白的表达显著低于 HPDE 细胞;免疫荧光染色结果显示,TRIM40 蛋白主要分布在胰腺癌细胞的细胞质中。为了进一步研究 TRIM40 对胰腺癌细胞的生物学行为的影响,本课题组使用 TRIM40 慢病毒感染并构建稳定过表达 TRIM40 的 MIA PaCa-2 细胞系进行后续检测。结果显示,过表达 TRIM40 后降低了 MIA PaCa-2 细胞的增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力。本研究结果表明:TRIM40 通过抑制细胞增殖、迁移、侵袭和克隆形成能力在胰腺癌中发挥重要作用,提示过表达 TRIM40 可能是胰腺癌的潜在治疗方法。本研究结果为胰腺癌的靶向治疗提供了理论依据,但 TRIM40 调控胰腺癌细胞生物学行为的具体机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] KLEEFF J, KORC M, APTE M, et al. Pancreatic cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2016, 2: 16022.

[2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33.

[3] CONROY T, HAMMEL P, HEBBAR M, et al. FOLFIRINOX or gemcitabine as adjuvant therapy for pancreatic cancer [J]. N Engl J Med, 2018, 379(25): 2395-2406.

[4] MUCCIOLO G, ARAOS HENRÍQUEZ J, JIHAD M, et al. EGFR-activated myofibroblasts promote metastasis of pancreatic cancer [J]. Cancer Cell, 2024, 42(1): 101-118.

[5] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33.

[6] HALBROOK C J, LYSSIOTIS C A, PASCA DI MAGLIANO M, et al. Pancreatic cancer: advances and challenges [J]. Cell, 2023, 186(8): 1729-1754.

[7] HUANG N, SUN X L, LI P, et al. TRIM family contrib-

ute to tumorigenesis, cancer development, and drug resistance [J]. Exp Hematol Oncol, 2022, 11(1): 75.

[8] MERONI G, DIEZ-ROUX G. TRIM/RBCC, a novel class of 'single protein RING finger' E3 ubiquitin ligases [J]. Bioessays, 2005, 27(11): 1147-1157.

[9] CONNACHER R P, GOLDSTROHM A C. Molecular and biological functions of TRIM-NHL RNA-binding proteins [J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2021, 12(2): e1620.

[10] KUMAR S, CHAUHAN S, JAIN A, et al. Galectins and TRIMs directly interact and orchestrate autophagic response to endomembrane damage [J]. Autophagy, 2017, 13(6): 1086-1087.

[11] MANDELL M A, SAHA B, THOMPSON T A. The tripartite nexus: autophagy, cancer, and tripartite motif-containing protein family members [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 308.

[12] WAN T T, LI X D, LI Y B. The role of TRIM family proteins in autophagy, pyroptosis, and diabetes mellitus [J]. Cell Biol Int, 2021, 45(5): 913-926.

[13] VENUTO S, MERLA G. E3 Ubiquitin Ligase TRIM Proteins, Cell Cycle and Mitosis [J]. Cells, 2019, 8(5): 510.

[14] MCAVERA R M, CRAWFORD L J. TIF1 proteins in genome stability and cancer [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(8): 2094.

[15] CHAUHAN S, JENA K K, MEHTO S, et al. Innate immunity and inflammophagy: balancing the defence and immune homeostasis [J]. Febs J, 2022, 289(14): 4112-4131.

[16] DI RIENZO M, ROMAGNOLI A, ANTONIOLI M, et al. TRIM proteins in autophagy: selective sensors in cell damage and innate immune responses [J]. Cell Death Differ, 2020, 27(3): 887-902.

[17] KIMURA T, JAIN A, CHOI S W, et al. TRIM-directed selective autophagy regulates immune activation [J]. Autophagy, 2017, 13(5): 989-990.

[18] KANG S J, KIM J, PARK A, et al. TRIM40 is a pathogenic driver of inflammatory bowel disease subverting intestinal barrier integrity [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 700.

[19] WINTER J M, CAMERON J L, CAMPBELL K A, et al. 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: a single-institution experience [J]. J Gastrointest Surg, 2006, 10(9): 1199-1210; discussion 210-1.

[20] FORGENSEN J. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators [J]. J Gastrointest Surg, 2001, 5(6): 681.

[21] HESSMANN E, BUCHHOLZ S M, DEMIR I E, et al. Microenvironmental determinants of pancreatic cancer [J]. Physiol Rev, 2020, 100(4): 1707-1751.

[22] IACOBUIZIO-DONAHUE C A, FU B J, YACHIDA S,

- et al. DPC4 gene status of the primary carcinoma correlates with patterns of failure in patients with pancreatic cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(11):1806-1813.
- [23] PIPAS J M, ZAKI B I, MCGOWAN M M, et al. Neoadjuvant cetuximab, twice-weekly gemcitabine, and intensity-modulated radiotherapy (IMRT) in patients with pancreatic adenocarcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23(11):2820-2827.
- [24] HUANG X, TANG T Y, WANG X, et al. Calreticulin couples with immune checkpoints in pancreatic cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2020, 10(1):36-44.
- [25] JI Y L, LI F X, ZHANG H, et al. Targeting TRIM40 signaling reduces esophagus cancer development: a mechanism involving in protection of oroxylin A [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 137:112362.
- [26] HU F Y, ZHAO L L, WANG J Y, et al. TRIM40 interacts with ROCK1 directly and inhibits colorectal cancer cell proliferation through the c-Myc/p21 axis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2024, 1871(8):119855.
- [27] SHEN J J, WU Q, LIANG T Y, et al. TRIM40 inhibits IgA1-induced proliferation of glomerular mesangial cells by inactivating NLRP3 inflammasome through ubiquitination [J]. *Mol Immunol*, 2021, 140:225-232.
- [28] SHEN Y, TANG K J, CHEN D D, et al. Riok3 inhibits the antiviral immune response by facilitating TRIM40-mediated RIG-I and MDA5 degradation [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(12):109272.
- [29] JIA X Z, ZHAO C Y, ZHAO W. Emerging roles of MHC class I region-encoded E3 ubiquitin ligases in innate immunity [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:687102.
- [30] PAN Q, XIE Y, ZHANG Y, et al. EGFR core fucosylation, induced by hepatitis C virus, promotes TRIM40-mediated-RIG-I ubiquitination and suppresses interferon-I antiviral defenses [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1):652.
- [31] ZHAO C Y, JIA M T, SONG H, et al. The E3 ubiquitin ligase TRIM40 attenuates antiviral immune responses by targeting MDA5 and RIG-I [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(6):1613-1623.
- [32] YANG H G, MENG L, AI D B, et al. Acetic acid alleviates the inflammatory response and liver injury in septic mice by increasing the expression of TRIM40 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4):2789-2798.
- [33] XU X Z, LAN X M, FU S H, et al. TRIM40 ameliorates diabetic retinopathy through suppressing inflammation via Reelin/DAB1 signaling disruption; a mechanism by proteasomal degradation of DAB1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 664:117-127.

收稿日期:2024-11-26;修回日期:2024-12-28

(本文编辑 钟琳)

(上接第 15 页)

- [14] JIA S S, XI G P, ZHANG M, et al. Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(1):349-354.
- [15] GIRI R K, PARIJA T, DAS B R. D-limonene chemoprevention of hepatocarcinogenesis in AKR mice; inhibition of c-jun and c-myc [J]. *Oncol Rep*, 1999, 6(5):1123-1127.
- [16] 徐耀庭, 李劲松, 顾炜, 等. D-柠檬烯诱导人膀胱癌细胞周期阻滞及凋亡的研究 [J]. *中国医学工程*, 2010, 18(3):6-9.
- [17] YANG Y P, HONG Y, HAN J, et al. D-limonene alleviates oxidative stress injury of the testis induced by arsenic in rat [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2024, 202(6):2776-2785.
- [18] SHAN M H, QIN J F, JIN F F, et al. Autophagy suppresses isoprenaline-induced M2 macrophage polarization via the ROS/ERK and mTOR signaling pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 110:432-443.
- [19] YANG L P, HAO J, CHEN D. Role of oxidative stress in anti-cancer activity of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Tradit Med Res*, 2021, 6(6):50.
- [20] 肖丹, 钟华, 徐岚, 等. 黄芩苷通过诱导 ROS 发生抑制人 T 细胞淋巴瘤的增殖并促进凋亡 [J]. *肿瘤*, 2020, 40(8):541-548.
- [21] 王玲, 张秀珍. D-柠檬烯对人胃癌 MGC803 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *生命科学仪器*, 2009, 7(1):26-28.
- [22] CHEN X, ZHAO Y, LUO W, et al. Celastrol induces ROS-mediated apoptosis via directly targeting peroxiredoxin-2 in gastric cancer cells [J]. *Theranostics*, 2020, 10(22):10290-10308.
- [23] LING Z P, PAN J P, ZHANG Z F, et al. Small-molecule Molephantin induces apoptosis and mitophagy flux blockage through ROS production in glioblastoma [J]. *Cancer Lett*, 2024, 592:216927.
- [24] CHANG T M, CHI M C, CHIANG Y C, et al. Promotion of ROS-mediated apoptosis, G2/M arrest, and autophagy by naringenin in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(3):1093-1109.

收稿日期:2024-09-25;修回日期:2024-10-21

(本文编辑 钟琳)