

# ACSL5在胃癌中的表达、预后意义及其对癌细胞增殖的影响

王乐佳<sup>1,2#</sup> 袁晓霞<sup>1,3#</sup> 何雨洋<sup>1,2</sup> 杨强<sup>1,4</sup> 邓世豪<sup>1,4</sup> 张斌<sup>1,2</sup> 罗瑶敏<sup>1,5</sup> 龙科汛<sup>1,2</sup>  
阴新强<sup>1,3\*</sup> 许朝英<sup>1,6\*</sup> 蒋振<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>川北医学院基础医学与法医学研究所, 南充 637100; <sup>2</sup>川北医学院基础医学与法医学院生物化学与分子生物学教研室, 南充 637100; <sup>3</sup>川北医学院基础医学与法医学院病原生物学实验教学中心, 南充 637000; <sup>4</sup>川北医学院药学院, 南充 637100; <sup>5</sup>川北医学院附属医院康复科, 南充 637100; <sup>6</sup>川北医学院基础医学与法医学院法医学物证与毒理学分析教研室, 南充 637100)

**摘要** 长链脂肪酸CoA合成酶家族成员5(acyl-CoA synthetase long-chain family member 5, ACSL5)可催化游离长链脂肪酸与CoA生成脂酰CoA, 是脂质合成与脂肪酸 $\beta$ -氧化的关键步骤。研究报道其与肿瘤发生关系密切, 但其在胃癌中的表达特征及生物学作用尚不清楚。该文基于iTRAQ定量蛋白质组学筛选发现ACSL5在胃癌组织中显著上调。结合GEPIA数据库分析进一步证实, ACSL5在胃癌中呈异常高表达。经IHC检测验证ACSL5在胃癌组织中的表达水平显著升高, 并与淋巴结转移、TNM分期等临床病理特征存在显著相关性。预后生存分析结果显示: ACSL5高表达胃癌患者总体生存率(overall survival, OS)及首次进展(first progression, FP)较差, 并在女性群体、低分化状态、TNM III期亚组、TNM IV期亚组患者中预后较差。GSEA基因富集分析结果显示, 在ACSL5高表达组中有33条通路显著富集, 分别涉及脂肪酸代谢、胆固醇代谢、脂质生成、胆汁酸代谢及三羧酸循环等代谢通路。体外实验证明下调ACSL5表达可显著抑制胃癌细胞增殖及改变细胞内TG、TC、LDL-C及HDL-C水平。该研究表明, ACSL5在胃癌患者中显著高表达并与胃癌临床预后密切相关, 其可能通过细胞内多条脂质代谢通路发挥促癌作用, 下调ACSL5可显著抑制胃癌细胞增殖及重调细胞内脂质水平, 为ACSL5作为潜在临床诊疗靶点提供研究依据。

**关键词** 胃癌; iTRAQ; ACSL5; 脂代谢

## The ACSL5 Expression, Prognostic Significance and Its Biological Effect on Gastric Cancer Cell Proliferation

WANG Lejia<sup>1,2#</sup>, YUAN Xiaoxia<sup>1,3#</sup>, HE Yuyang<sup>1,2</sup>, YANG Qiang<sup>1,4</sup>, DENG Shihao<sup>1,4</sup>, ZHANG Bin<sup>1,2</sup>,  
LUO Yaomin<sup>1,5</sup>, LONG Kexun<sup>1,2</sup>, YIN Xinqiang<sup>1,3\*</sup>, XU Chaoying<sup>1,6\*</sup>, JIANG Zhen<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Basic Medicine and Forensic Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China; <sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medicine and Forensic Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China; <sup>3</sup>Pathogen Biology Experimental Teaching Center, School of Basic Medicine and Forensic Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China; <sup>4</sup>School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China; <sup>5</sup>Department of Rehabilitation, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China; <sup>6</sup>Department of Forensic Evidence and Toxicology Analysis, School of Basic Medicine and Forensic Medicine, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China)

收稿日期: 2026-05-05

接受日期: 2026-05-26

四川省科学技术厅(批准号: 2020YJ0379)和南充市市校合作项目(批准号: 20SXJCQN0004、20SXQT0053、18SXHZ0281)资助的课题

#共同第一作者

\*通信作者。Tel: 0817-3352032, E-mail: yinxq06@163.com; xuey@nsmc.edu.cn; royzhen@126.com

Received: May 5, 2026

Accepted: May 26, 2026

This work was supported by the Department of Sichuan Science and Technology (Grant No.2020YJ0379), and the Cooperation between Nanchong Government and North Sichuan Medical College Fund (Grant No.20SXJCQN0004, 20SXQT0053, 18SXHZ0281)

#These authors contributed equally to this work

\*Corresponding authors. Tel: +86-817-3352032, E-mail: yinxq06@163.com; xuey@nsmc.edu.cn; royzhen@126.com

**Abstract** ACSL5 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 5) can catalyze the formation of fatty acyl-CoA from free long-chain fatty acids and CoA, which is a key step in lipid synthesis and fatty acid  $\beta$ -oxidation. It is reported that ACSL5 is closely related to tumorigenesis, but its expression characteristics and biological role in gastric cancer are still unclear. Based on iTRAQ quantitative proteomics screening, ACSL5 was found to be significantly upregulated in gastric cancer tissues. Combined with GEPIA database analysis, it was further confirmed that ACSL5 was highly expressed in gastric cancer. The expression level of ACSL5 in gastric carcinoma was significantly increased, and it was significantly correlated with the clinicopathological features such as lymph node metastasis and TNM stage. The results of prognostic survival analysis showed that the OS (overall survival) and FP (first progression) of patients with gastric cancer with high ACSL5 expression were poor, and they were significantly correlated in female, poorly differentiated state, TNM III and TNM IV stages. GSEA gene enrichment analysis showed that 33 pathways were significantly enriched in ACSL5 high expression group, which involved fatty acid metabolism, cholesterol metabolism, lipid production, bile acid metabolism and tricarboxylic acid cycle, respectively. *In vitro* down-regulation of ACSL5 expression can significantly inhibit the proliferation of gastric cancer cells and change the levels of TG, TC, LDL-C and HDL-C in cells. This study shows that ACSL5 is significantly highly expressed in gastric cancer patients and is closely related to the clinical prognosis of gastric cancer. It may play a cancer-promoting role through multiple intracellular lipid metabolism pathways. Down-regulation of ACSL5 can significantly inhibit the proliferation of gastric cancer cells and re-regulate intracellular lipid levels, which provides a research basis for ACSL5 as a potential clinical diagnosis and treatment target.

**Keywords** gastric cancer; iTRAQ; ACSL5; lipid metabolism

胃癌 (gastric cancer, GC) 是我国最常见的恶性肿瘤之一, 因其早期缺乏典型临床症状, 多数患者在确诊时已处于局部晚期或伴有远处转移, 严重影响患者的总体生存率和临床预后。尽管随着分子分型和精准治疗的发展, 多个新型胃癌相关生物标志物相继被发现, 如HER2、PD-L1及CLDN18.2等分子在胃癌的早期筛查、预后评估及个体化治疗中显示出良好的应用前景<sup>[1-2]</sup>。然而, 这些标志物在不同胃癌患者群体中仍存在表达异质性较大、检测标准尚未完全统一及早期诊断灵敏度不足等问题, 因此寻找新型胃癌标志物是亟需解决的问题。

近年来, 基于iTRAQ(isobaric tags for relative and absolute quantification)联合液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术, 能够实现肿瘤样本高通量、高灵敏度定量分析, 因此该技术广泛应用于多种恶性肿瘤相关差异蛋白的筛选和功能研究<sup>[3-5]</sup>。该技术通过体外合成经标记多肽内标, 可对蛋白质进行绝对定量, 为新型肿瘤标志物的发现提供了强有力的技术支持<sup>[6-8]</sup>。

本研究拟采用iTRAQ标记联合LC-MS/MS定量蛋白质组学技术, 对胃癌组织中的差异表达蛋白进行系统筛选, 鉴定具有潜在临床应用价值的胃癌早

期诊断标志物, 为胃癌的早期诊断、预后评估提供新的证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床标本及细胞培养

研究收集川北医学院附属医院手术切除的胃癌组织及配对癌旁组织60例, 所有患者均签署知情同意书。人胃癌HGC-27和AGS细胞株由本实验室保存。细胞采用含10%胎牛血清和1%双抗的DMEM或RPMI-1640培养基, 于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。本研究经川北医学院伦理委员会批准(批准号: 2021063)。

### 1.2 数据库分析

GEPIA(Gene Expression Profiling Interactive Analysis)数据库是基于TCGA(The Cancer Genome Atlas)和GTEx(Genotype-Tissue Expression Project)构建的肿瘤基因表达分析平台。本研究利用GEPIA数据库分析ACSL5在胃癌及正常胃组织中的表达水平, 并进一步评估其表达与患者预后的关系。

### 1.3 样本处理与iTRAQ标记

胃癌组织样本加入含蛋白酶抑制剂的PBS溶

液进行机械匀浆处理,于4 °C条件下以1 000 ×g离心10 min,弃去上清后收集沉淀。加入RIPA裂解液后进行超声裂解处理,随后以12 000 r/min、4 °C离心15 min,取上清液并经0.22 μm微孔滤膜过滤。采用Bradford法测定蛋白含量,并将蛋白样品置于-80 °C保存备用。取等量蛋白行胰蛋白酶消化处理后,加入iTRAQ试剂反应2 h以完成肽段标记。标记产物以含25%乙腈及25 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH2.7)的缓冲体系复溶后,上样至Ultremex SCX色谱柱(Phenomenex)进行分离纯化。色谱洗脱先以全比例A液进行柱平衡,随后采用5%~35%及35%~80% B液梯度体系(25 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、1 mol/L KCl、25%乙腈,pH2.7)依次洗脱,合并、脱盐后冻干保存。

#### 1.4 液相色谱-串联质谱分析及蛋白鉴定

冻干样品以2%乙腈及0.1%甲酸的溶液复溶,调整终浓度至0.25 μg/μL。采用LTQ Orbitrap Velos质谱系统(ThermoFisher Scientific公司)行LC-MS/MS检测分析,每次进样体积为10 μL,质量扫描范围为350~2 000 *m/z*。原始质谱数据利用Mascot软件进行数据库检索,并在International Protein Index数据库中完成蛋白鉴定。将半胱氨酸残基的脲甲基化设定为固定修饰参数,差异蛋白筛选标准定义为表达变化倍数≥1.2倍。

#### 1.5 免疫组织化学检测

石蜡组织切片经常规脱蜡处理后,被制备成厚度为3~4 μm的连续切片,于60 °C条件下烘烤2 h,4 °C保存备用。采用抗长链脂肪酸CoA合成酶家族成员5(acyl-CoA synthetase long-chain family member 5, ACSL5)抗体(1:100)4 °C孵育过夜,以PBS替代一抗作为阴性对照。DAB显色体系(北京索莱宝科技有限公司)用于信号显色,苏木素室温复染30 s后依次经70%、80%、95%的无水乙醇脱水,二甲苯透明封片。免疫染色结果按强度与阳性比例进行评分。染色强度分为无(0)、弱(1)、中等(2)及强(3);阳性细胞比例分为≤5%(0)、6%~25%(1)、26%~50%(2)、51%~75%(3)及76%~100%(4)。两项评分相乘作为最终表达评分,>3判定为高表达,≤3为低表达。

#### 1.6 基因集富集分析

基因集富集分析用于评估ACSL5高表达组中显著富集的功能通路及相关基因集。数据集来源于GEO(Gene Expression Omnibus)数据库中的GSE62254队列,该数据集包含300例亚洲胃癌患者的全基因组mRNA表达谱信息。基于表达分组分

析ACSL5与信号通路之间的关联关系。富集结果以标准化富集分数(NES)>1、*P*<0.05且假发现率(FDR)<0.25为显著性判定标准。

#### 1.7 细胞增殖检测(CCK-8法)

将胃癌细胞以1×10<sup>4</sup>/孔密度接种于96孔板中,每组设置5个重复孔。分别于培养24 h、48 h及72 h加入CCK-8反应液,继续孵育4 h后测定450 nm波长处吸光度(*D*<sub>450</sub>)值。以未处理细胞作为对照组。实验数据采用GraphPad Prism 8软件进行统计分析。

#### 1.8 细胞内甘油三酯、总胆固醇、低密度与高密度脂蛋白测定

脂质指标测定按试剂盒说明书(南京建成生物工程研究所)操作执行。以甘油三酯为例,收集细胞悬液后以1 000 r/min室温离心10 min,弃去上清并保留沉淀。加入等渗磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH7.0~pH7.4)清洗1~2次,以相同条件再次离心后去除液相。随后加入0.2~0.3 mL匀浆液(0.1 mol/L磷酸盐缓冲液或生理盐水)进行重悬处理。置于冰水浴条件下超声破碎(功率300 W,3~5 s/次,间隔30 s,重复3~5轮)获得细胞匀浆,上清无需进一步分离直接用于检测。采用酶标仪在500 nm波长处测定吸光度(*D*)值,并据此计算脂质含量。

#### 1.9 统计学分析

数据处理采用SPSS 32.0软件完成。计数资料比较应用χ<sup>2</sup>检验或Fisher精确概率法。计量数据以均值±标准差表示,两组间差异采用*t*检验分析。以*P*≤0.05作为差异具有统计学意义的判定标准。

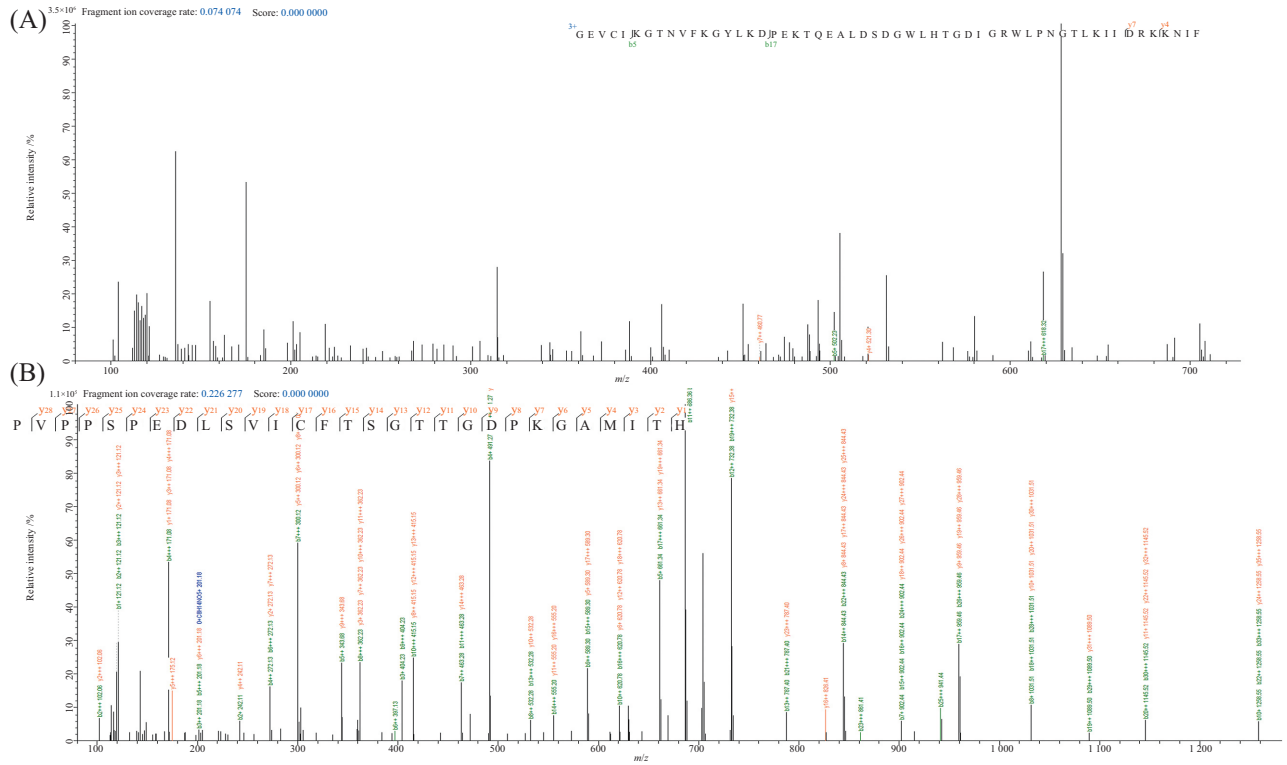
## 2 结果

### 2.1 质谱鉴定ACSL5在胃癌组织中的表达水平

课题组前期iTRAQ标记蛋白质组学分析显示,胃癌组织中ACSL5表达水平较对应癌旁组织升高1.209倍,差异具有显著性<sup>[9]</sup>,ACSL5的MS/MS肽段图谱见图1。此外,基于GEPIA数据库的分析结果表明,ACSL5在多种恶性肿瘤中呈高表达趋势,在胃癌中上调更为显著(图2)。

### 2.2 免疫组织化学验证ACSL5表达特征

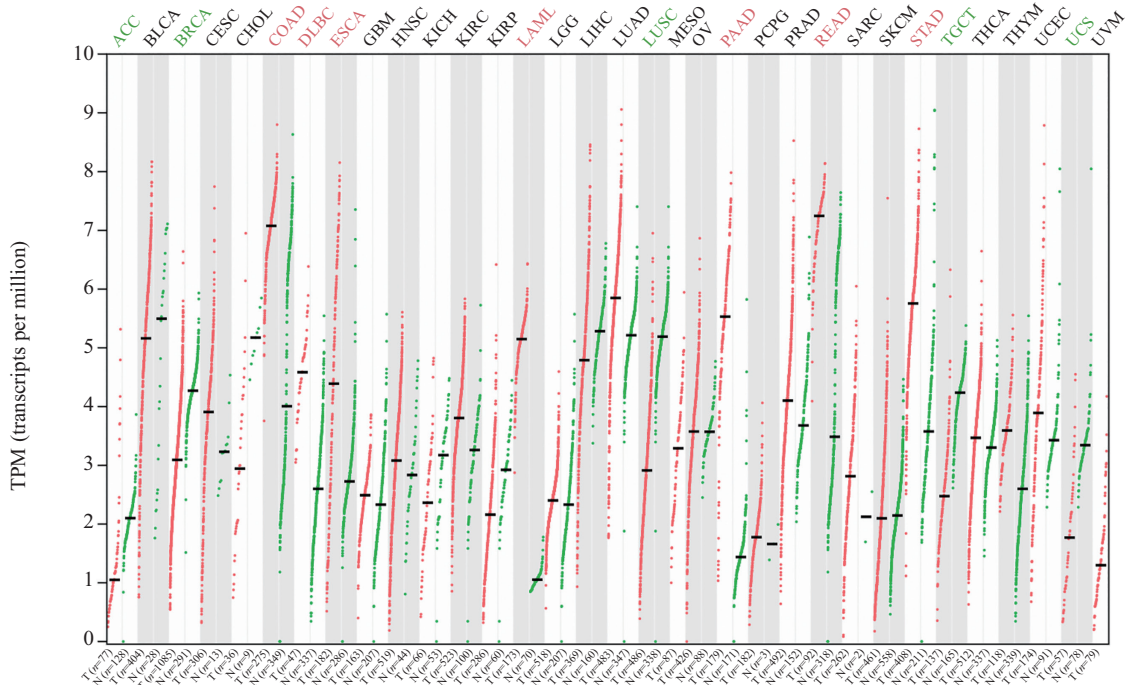
为进一步验证ACSL5的表达情况,我们取胃癌组织、配对癌旁组织行免疫组化检测。结果显示,与癌旁组织相比,胃癌组织中ACSL5染色增强,与蛋白质组学结果一致(图3)。统计结果显示,在60例胃癌组织中有62%的患者ACSL5呈高表达,而癌旁组



A: 癌旁组织中ACSL5的MS/MS质谱图; B: 胃癌组织中ACSL5的MS/MS质谱图。  
A: the MS/MS spectrum of ACSL5 in paracancerous tissue; B: the MS/MS spectrum of ACSL5 in gastric cancer tissue.

图1 ACSL5肽谱鉴定图谱

Fig.1 The MS/MS spectrum of ACSL5 peptide



STAD: 胃腺癌; T: 肿瘤组织; N: 正常组织。  
STAD: stomach adenocarcinoma; T: tumor tissues; N: normal tissues.

图2 GEPIA数据库分析ACSL5基因在肿瘤中表达水平

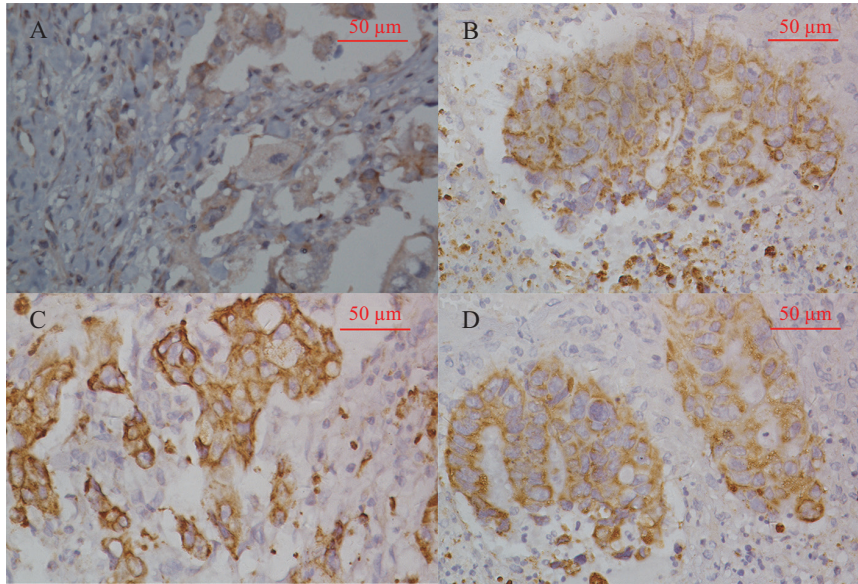
Fig.2 The expression profile of ACSL5 gene in cancer in GEPIA database

织阳性率为38%, 两组之间具有明显差异。

### 2.3 ACSL5表达与临床病理特征的相关性

为进一步分析 ACSL5 与临床病理特征的关系,

采用 $\chi^2$ 检验及 Fisher 精确概率法分析 ACSL5 表达与胃癌临床病理参数之间的关联。结果见表 1, 在有淋巴结转移的胃癌患者中, ACSL5 的表达水平显



A: 癌旁组织; B-D: 胃癌组织。

A: adjacent gastric tissues; B-D: gastric cancer tissues.

图3 免疫组化检测胃癌组织中ACSL5蛋白表达水平

Fig.3 Immunohistochemical evaluation of ACSL5 protein levels in gastric cancer tissues

表1 ACSL5表达与胃癌临床病理因素的关系

Table 1 Relationship between ACSL5 expression and clinicopathological factors in gastric carcinoma

病理因素 Clinicopathological factors	ACSL5高表达 High expression of ACSL5	ACSL5低表达 Low expression of ACSL5	病例数 Cases	P值 P-values
Age /year				
≥60	24	16	40	0.71
≤59	13	7	20	
Sex				
Male	27	13	40	0.19
Female	10	10	20	
Histology classification				
Adenocarcinoma	34	22	56	0.57
Signet-ring cell Carcinoma	3	1	4	
Histological grade				
I	20	10	30	0.425
II and III	17	13	30	
Lymph node metastasis				
Positive	29	9	38	0.002
Negative	8	14	22	
TNM staging				
I-II	25	8	33	0.013
III-IV	12	15	27	

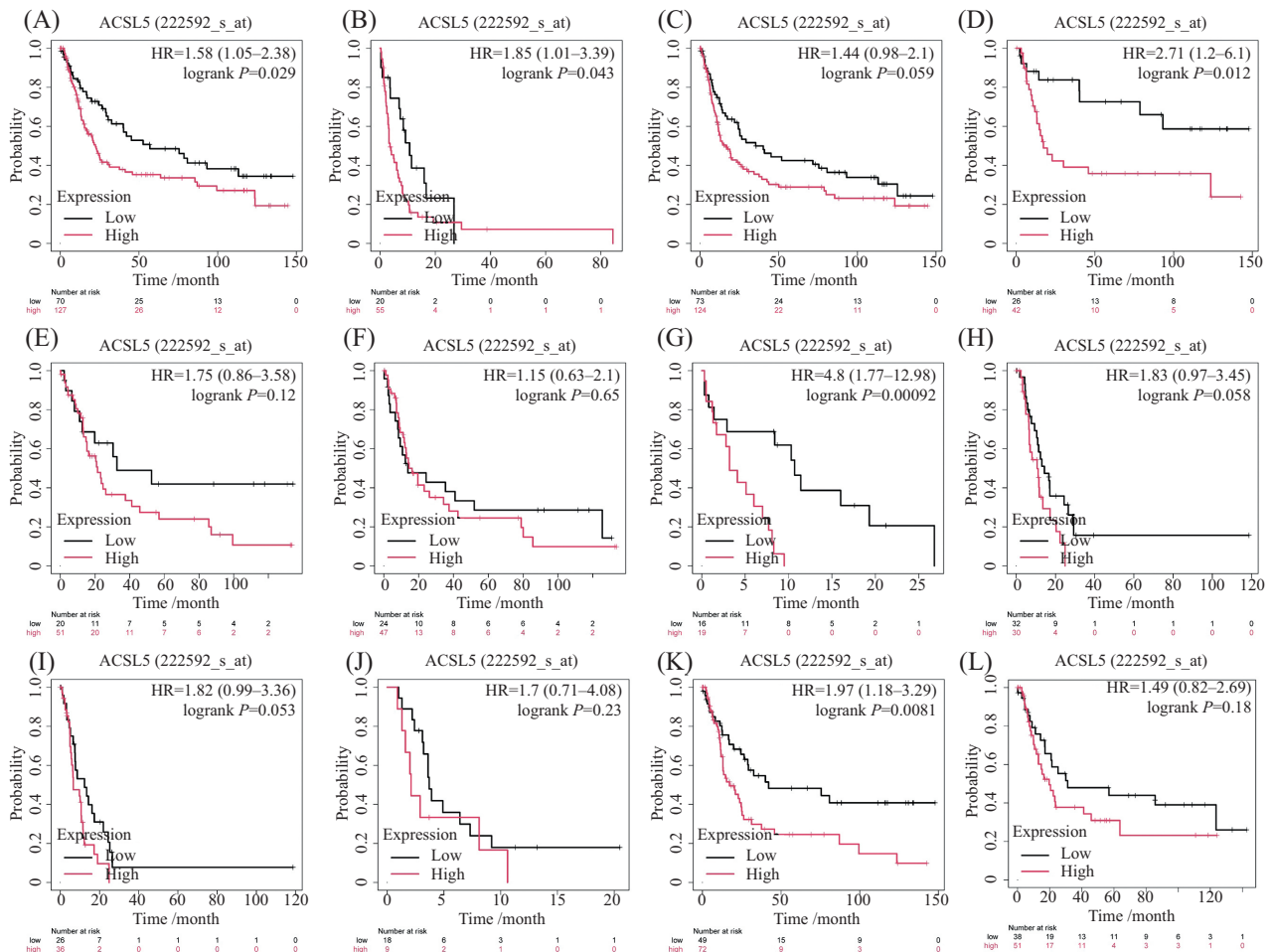
著高于无淋巴结转移胃癌患者( $P=0.002$ )。TNM分期结果表明, ACSL5在I~II期病人中的阳性率显著高于III~IV期胃癌患者, 差异具有统计学意义( $P=0.013$ )。

### 2.4 ACSL5表达与临床胃癌患者预后相关性

生存分析结果提示, ACSL5表达水平与胃癌患者总体生存(overall survival, OS)、首次进展(first progression, FP)呈显著相关(图4A和图4B)。在女性胃癌患者中, ACSL5高表达患者总体预后较差(图4D)。在TNM3期胃癌患者中, ACSL5表达与患者预后呈显著负相关(图4G)。在低分化胃癌患者中, ACSL5高表达患者预后较差(图4K)。

### 2.5 GSEA富集分析结果

依据 ACSL5表达水平将样本分为高表达组(前50%)与低表达组(后50%)。富集分析结果显示, ACSL5高表达组中, 在纳入分析的50条信号通路中, 共有33条显著富集通路, 而低表达组17条通路呈显著富集状态。高表达组中排名前12的富集通路见图5A~图5L。其中, ACSL5显著富集的脂质代谢通路依次为脂肪酸代谢(fatty acid metabolism)、胆固醇代谢(cholesterol homeostasis)、脂肪生成(adipogenesis)、氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)、胆汁酸代谢(bile acid metabolism), 这些通路主要涉及细胞内脂肪酸代谢、胆固醇稳态通路、脂质生成、氧化磷酸

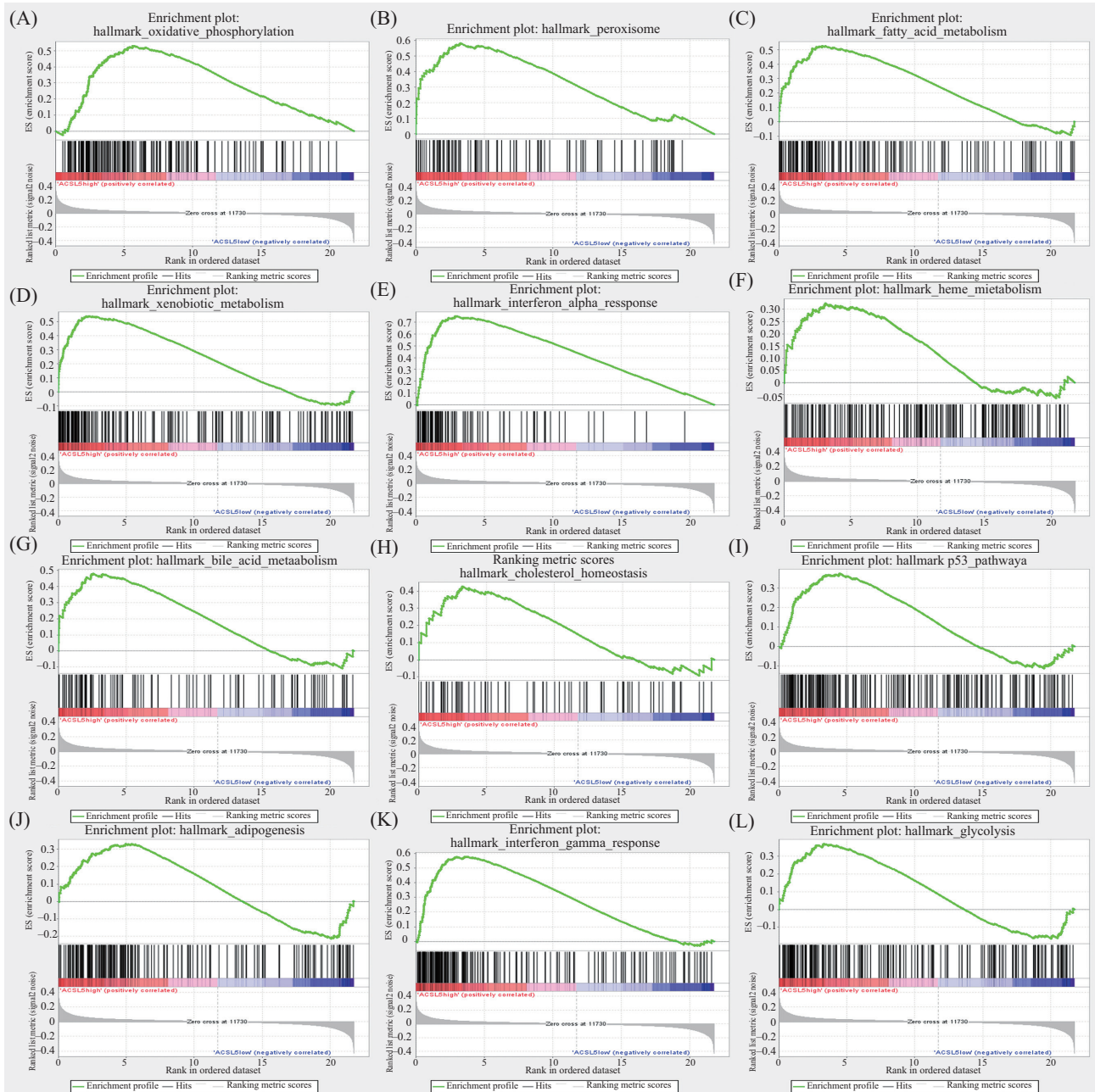


A、B: 胃癌患者高表达ACSL5与OS及FP的关系; C: ACSL5表达与PPS的关系; D: ACSL5高表达预示女性胃癌患者总体生存不良; E~G: 高表达ACSL5与TNM III期患者OS、FP及PPS的关系; H~J: 高表达ACSL5与TNM IV期患者OS、FP及PPS的关系; K、L: 高表达ACSL5与低分化及HER2阳性胃癌患者OS的关系。

A,B: the relationship between high expression of ACSL5 in gastric cancer patients and OS as well as FP; C: the relationship between expression of ACSL5 and PPS; D: high expression of ACSL5 predicted poor OS in female gastric cancer patients. E-G: the relationship between high expression of ACSL5 and OS, FP, PPS in TNM III patients. H-J: the relationship between high expression of ACSL5 and OS, FP, PPS in TNM IV patients. K,L: the relationship between high expression of ACSL5 and OS in poor differentiation and HER2<sup>+</sup> gastric cancer patients.

图4 高表达ACSL5与胃癌患者预后生存情况

Fig.4 Prognostic outcomes of ACSL5 overexpression in gastric cancer



A~L: 高表达 $ACSL5$ 胃癌患者中显著富集的信号通路。

A-L: top enriched molecular pathways in  $ACSL5$  upregulated gastric cancer patients.

图5 高表达 $ACSL5$ 富集相关信号通路结果

Fig.5 Enrichment profiles of signaling cascades with  $ACSL5$  high expression

化及胆汁酸代谢等通路。

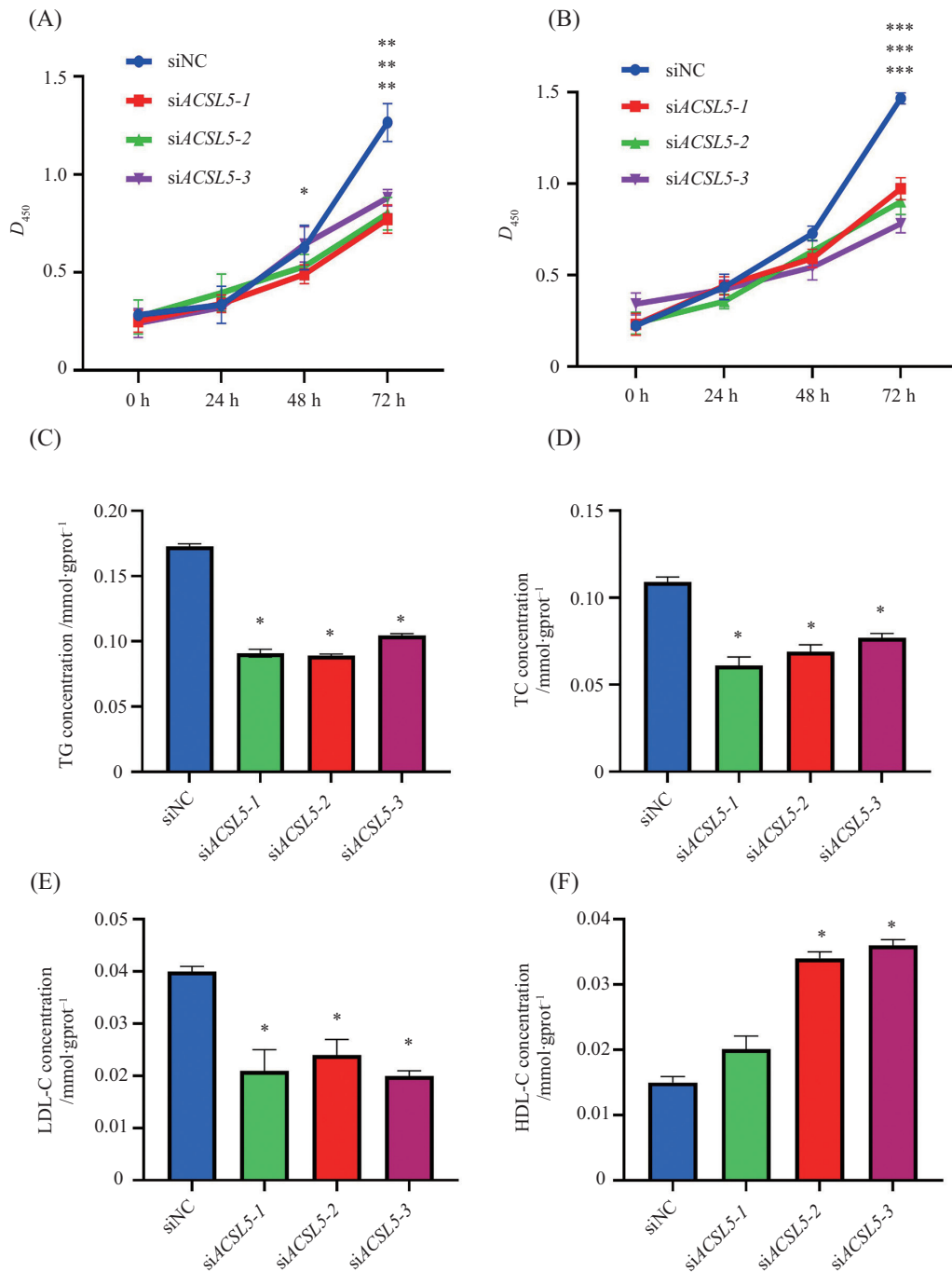
## 2.6 下调 $ACSL5$ 表达对胃癌细胞增殖的影响

为阐明  $ACSL5$  对胃癌细胞增殖的作用, 针对  $ACSL5$  设计 3 条 siRNA (si $ACSL5$ -1、si $ACSL5$ -2 与 si $ACSL5$ -3), 并将其转染至胃癌 AGS 及 HGC-27 细胞。CCK-8 检测结果显示, 与对照组相比,  $ACSL5$  下调后 AGS 及 HGC-2 细胞活力明显下降 (图 6A 和图 6B), 提示抑制  $ACSL5$  表达可有效抑制胃癌细胞

增殖。

## 2.7 敲减 $ACSL5$ 改变胃癌细胞内脂质水平

为进一步了解  $ACSL5$  对胃癌细胞内 TG、TC、LDL-C 及 HDL-C 的影响, 我们在转染 si $ACSL5$  后 48 h 检测细胞内脂质含量。结果显示敲减  $ACSL5$  后胃癌细胞内 TG、TC 和 LDL-C 水平显著下降, 而 HDL-C 水平明显上升 (图 6C~图 6F), 提示  $ACSL5$  介导了胃癌细胞内脂质蓄积。



A、B: CCK-8法检测敲减 $ACSL5$ 后细胞增殖能力; C-F: 检测敲减 $ACSL5$ 后胃癌细胞内TG、TC、LDL-C及HDL-C水平。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , 与siNC组比较。

A,B: cell proliferative capacity following  $ACSL5$  silencing was evaluated by the CCK-8 assay. C-F: triglyceride, total cholesterol, LDL-C and HDL-C was determined following  $ACSL5$  knockdown. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  compared with siNC group.

图6 敲减胃癌细胞中 $ACSL5$ 抑制细胞增殖并改变脂质成分

Fig.6 Suppression of  $ACSL5$  attenuates growth and altered the lipids components level in gastric cancer cells

### 3 讨论

$ACSL5$ 是长链脂肪酸CoA合成酶家族成员之一,可催化游离长链脂肪酸与CoA结合生成脂酰CoA,这是脂质合成与脂肪酸 $\beta$ -氧化的关键起始步骤。该过程与脂肪酸活化、膜脂生成及能量代谢等

多条代谢通路相关,在细胞脂质稳态维持中具有重要作用<sup>[10-13]</sup>。 $ACSL5$ 在肠上皮及肝组织中表达水平较高,可调控脂肪酸进入三酰甘油储存或 $\beta$ -氧化途径,从而影响细胞能量供给与氧化应激水平。研究显示, $ACSL$ 家族在多种肿瘤中参与脂质代谢调控,

通过调控脂肪酸氧化及膜脂合成促进肿瘤细胞增殖、迁移及侵袭<sup>[14-17]</sup>。此外, ACSL5在肿瘤细胞中还可能通过调节脂质底物利用方式, 参与肿瘤细胞存活及适应性代谢重塑过程。

本研究通过 iTRAQ 标记质谱检测发现 ACSL5 在胃癌组织中表达水平升高 1.209 倍, 进一步通过 IHC 验证其在胃癌组织中呈高表达 (62%), 且 ACSL5 高表达与淋巴结转移呈显著正相关, 提示 ACSL5 可能促进胃癌细胞的淋巴结转移 (表 1)。而且, ACSL5 在早期胃癌病人中表达水平高于晚期患者, 提示 ACSL5 可能参与了胃癌早期发生过程 (表 1)。既往研究发现 ACSL5 在肿瘤细胞代谢重编程中发挥着重要作用<sup>[18-22]</sup>。CHEN 等<sup>[23]</sup>研究发现, 在肺优先转移性乳腺癌中, ACSL5 通过 COX2 介导 PGE2 积累来激活 PI3K/AKT 和 ERK 信号通路并促进棕榈酸水平升高, 进而促进细胞存活和肺转移, 提示 ACSL5 在肿瘤转移过程中发挥了重要作用。TIAN 等<sup>[24]</sup>研究发现, 在结直肠癌中当谷氨酰胺缺乏的情况下, ACSL5 表达上调, ACSL5 解除由 p53 介导的对 PGAM1 的抑制, 从而增强结直肠癌细胞糖酵解, 维持肿瘤细胞的存活和改变结直肠癌细胞对化疗的敏感性。

为进一步研究 ACSL5 对胃癌患者生存的影响, 我们发现高表达 ACSL5 胃癌患者的 OS、FP 显著低于 ACSL5 低表达患者, 提示 ACSL5 高表达促进了胃癌患者差 OS 和 FP 预后 (图 4A 和图 4B), 这种总体生存差异在女性患者中更加明显 (图 4D)。同时, 在 TNM III 期胃癌患者中, 高表达 ACSL5 患者有着更差的进展后生存期 (图 4G)。在低分化胃癌患者中, ACSL5 高表达患者有着更差的 OS (图 4K)。上述结果提示, 高表达胃癌患者有着较差的总体生存期及首次进展, 并在女性群体、低分化状态、TNM III 期亚组、TNM IV 期亚组患者中预后较差。

为进一步探索 ACSL5 在胃癌细胞内的调控通路, 我们通过 GSEA 富集分析发现, 在高表达 ACSL5 胃癌患者中, 显著富集到 33 条信号通路, 其中得分最高的前 5 条脂质代谢通路为脂肪酸代谢、胆固醇代谢、脂肪生成、氧化磷酸化、胆汁酸代谢 (图 5)。已有报道上述脂质代谢通路与肿瘤进展显著相关<sup>[25-27]</sup>。在脂肪酸代谢通路中, PEETERS 等<sup>[25]</sup>发现 CD37, 一种侵袭性 B 细胞淋巴瘤的预后标志物, 是脂肪酸 (fatty acid, FA) 代谢的关键膜定位抑制剂, 功能分析和代谢组学结果表明, 淋巴瘤细胞中 CD37 的缺失会导致

FA 氧化增加。在胆固醇代谢通路中, 有报道显示中性胆固醇酯水解酶 1 (neutral cholesterol ester hydrolase 1, NCEH1) 通过调控 NRP1 并激活 TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 信号通路来促进乳腺癌的进展<sup>[26]</sup>。ZHANG 等<sup>[27]</sup>整合了脂质组学和转录组学数据显示, 棕榈酸 (C16:0) 和硬脂酸 (C18:0) 是肺癌特异性脂质, 二者能够以时间和剂量依赖的方式上调 ACSL5 或 CSF2 的表达, 而这两个基因的缺失会导致细胞对 C16:0 或 C18:0 不敏感。这些研究提示, 脂质代谢异常在肿瘤发生和发展过程中扮演着重要角色, 其代谢通路中的关键分子可能成为肿瘤治疗中的重要靶点<sup>[28-31]</sup>。

为进一步探究 ACSL5 对胃癌细胞增殖及脂质水平的影响, 我们构建了针对 ACSL5 的小干扰 RNA 片段, 转染胃癌细胞后发现, 敲减 ACSL5 后胃癌细胞增殖受到显著抑制 (图 6A 和图 6B)。脂质水平检测提示敲减 ACSL5 后 TG、TC 及 LDL-C 水平显著下降, 而 HDL-C 水平升高 (图 6C~图 6F)。上述结果说明, ACSL5 是调控胃癌细胞内脂质水平的重要分子, 也是抑制胃癌细胞生长的重要潜在靶点。

综上所述, 本研究发现 ACSL5 在胃癌组织中显著高表达, 并与胃癌进展及不良临床预后显著相关, 其可能通过多条脂质代谢信号通路起作用。功能实验进一步表明, ACSL5 通过促进胃癌细胞增殖及改变细胞内脂质水平蓄积介导胃癌细胞进展。上述结果提示, ACSL5 有望作为胃癌诊断及靶向干预的潜在分子靶点, 为其临床转化研究提供了研究依据。

## 参考文献 (References)

- [1] MORAES F C A, RODRIGUES SOBREIRA L E, CAVALCANTI SOUZA M E, et al. The role of CLDN18.2 in gastric cancer prognosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Biomarkers*, 2024, 29(8): 528-38.
- [2] SATO Y, OKAMOTO K, KAWANO Y, et al. Novel biomarkers of gastric cancer: current research and future perspectives [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(14): 4646.
- [3] GHOSH D, LIM T K, BASU A, et al. Quantitative proteomics identifies possible flow of metastatic cues between progressive stages of colorectal cancer via transfer of ceramide-dependent exosomal cargoes [J]. *FEBS J*, 2025, 292(17): 4516-39.
- [4] QIANMAN B, JIASHARETE T, WUPUER A, et al. Serum and urinary proteomic signatures revealing redox and metabolic dysregulation in acute Achilles tendon rupture [J]. *Protein Pept Lett*, 2025, 32(6): 437-50.
- [5] CHAN S H, KUO W H, WANG L H. SCEL regulates switches between pro-survival and apoptosis of the TNF- $\alpha$ /TNFR1/NF- $\kappa$ B/c-FLIP axis to control lung colonization of triple negative breast cancer [J]. *J Biomed Sci*, 2023, 30(1): 93.

- [6] LIU Z Y, LIU J R, CHACHAR Z, et al. ITRAQ and PRM-based quantitative saliva proteomics in gastric cancer: biomarker discovery [J]. *Front Mol Biosci*, 2025, 12: 1640508.
- [7] WU C C, KUO C W, KUO M C, et al. Exploring the role of YES1 kinase in regulating cisplatin resistance through iTRAQ-based quantitative proteomic analysis in urothelial carcinoma [J]. *Am J Cancer Res*, 2025, 15(6): 2535-50.
- [8] CHEN W J, YE Q H, ZHANG B Y, et al. Identification of FGG as a biomarker in early gastric cancer via tissue proteomics and clinical verification [J]. *J Proteome Res*, 2024, 23(11): 5122-30.
- [9] JIANG Z, SHEN H C, TANG B, et al. Quantitative proteomic analysis reveals that proteins required for fatty acid metabolism may serve as diagnostic markers for gastric cancer [J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 464: 148-54.
- [10] HOU T Y, TIAN Y, CAO Z Y, et al. Cytoplasmic SIRT6-mediated ACSL5 deacetylation impedes nonalcoholic fatty liver disease by facilitating hepatic fatty acid oxidation [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(21): 4099-115.e9.
- [11] HU T, MA T Y, HUO M M, et al. JAB1/CRL4B complex represses PPARG/ACSL5 expression to promote breast tumorigenesis [J]. *Cell Death Differ*, 2025, doi: 10.1038/s41418-025-01642-0.
- [12] LIANG M Z, HUANG X F, ZHU J C, et al. A machine learning-based glycolysis and fatty acid metabolism-related prognostic signature is constructed and identified ACSL5 as a novel marker inhibiting the proliferation of breast cancer [J]. *Comput Biol Chem*, 2025, 119: 108507.
- [13] DENG X, LUO Y, GAO Y, et al. Long-chain acyl-CoA synthetases: biological functions, diseases and therapeutic targets [J]. *Mol Biomed*, 2025, doi: 10.1186/s43556-025-00366-4.
- [14] LUO Y B, ZENG Y M, LIU Y H, et al. ACSL5 regulated acetyl-CoA to promote bladder cancer cellular senescence via 53BP1 acetylation [J]. *Oncogene*, 2025, 44(34): 3096-112.
- [15] CHEN H M, LI M Z, ZHANG Y, et al. AURKB inhibition induces rhabdomyosarcoma apoptosis and ferroptosis through NPM1/SPI/ACSL5 axis [J]. *JCI Insight*, 2025, 10(3): e182429.
- [16] ZHANG C, LÜ Z H, LIANG H S, et al. Bioinformatics insights into ACSL1 and ACSL5: prognostic and immune roles in low-grade glioma [J]. *BMC Cancer*, 2025, 25(1): 226.
- [17] LÜ J T, WANG Y T, SHAN W. Regulatory roles of ACSL5 in the anti-tumor function of palmitic acid (C16:0) via the ERK signaling pathway [J]. *Eur J Histochem*, 2023, 67(4): 3867.
- [18] MA Y X, NENKOV M, BERNDT A, et al. The diagnostic value of ACSL1, ACSL4, and ACSL5 and the clinical potential of an ACSL inhibitor in non-small-cell lung cancer [J]. *Cancers*, 2024, 16(6): 1170.
- [19] LI R J, YANG T, REN K E, et al. Identification of new potential targets for pancreatic ductal adenocarcinoma by integrated bioinformatic analysis [J]. *Anticancer Res*, 2024, 44(10): 4233-50.
- [20] XU J Y, LIU M Z, XUE J, et al. Deciphering fatty acid biosynthesis-driven molecular subtypes in pancreatic ductal adenocarcinoma with prognostic insights [J]. *Cell Oncol*, 2024, 47(4): 1475-91.
- [21] LAI Y F, GAO Y, LIN J H, et al. Dietary elaidic acid boosts tumoral antigen presentation and cancer immunity via ACSL5 [J]. *Cell Metab*, 2024, 36(4): 822-38.e8.
- [22] YE W L, WANG J H, HUANG J S, et al. ACSL5, a prognostic factor in acute myeloid leukemia, modulates the activity of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by palmitoylation modification [J]. *Front Med*, 2023, 17(4): 685-98.
- [23] CHEN S C, CHANG C, LIU X Q, et al. ACSL5 mediates adaptation to the palmitic acid-enriched pulmonary microenvironment to enhance metastatic breast cancer cell survival and lung metastasis [J]. *Cancer Res*, 2026, 86(8): 1987-2003.
- [24] TIAN S, ZHANG Q X, SUN X D, et al. ACSL5 regulates glucose metabolism and chemotherapy sensitivity in colorectal cancer cells under glutamine deficiency [J]. *Adv Sci*, 2026, 13(7): e10801.
- [25] PEETERS R, CUENCA-ESCALONA J, ZAAL E A, et al. Fatty acid metabolism in aggressive B-cell lymphoma is inhibited by tetraspanin CD37 [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 5371.
- [26] SUN J, LIU Y Q, MO J J, et al. NCEH1 promotes breast cancer progression by regulating NRP1 and activating the TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B signalling pathway [J]. *Cell Adhes Migr*, 2026, 20(1): 2616948.
- [27] ZHANG L L, LÜ J P, CHEN C S, et al. Roles of acyl-CoA synthetase long-chain family member 5 and colony stimulating factor 2 in inhibition of palmitic or stearic acids in lung cancer cell proliferation and metabolism [J]. *Cell Biol Toxicol*, 2021, 37(1): 15-34.
- [28] LI H C, WANG W J, ZHAN J C, et al. The multifaceted roles of the ACSL family in cancer: metabolic reprogramming, ferroptosis regulation and tumour immune microenvironment remodeling [J]. *Clin Transl Med*, 2026, 16(3): e70643.
- [29] ZHANG Q N, XIONG L F, WEI T, et al. Hypoxia-responsive PPARGC1A/BAMBI/ACSL5 axis promotes progression and resistance to lenvatinib in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2023, 42(19): 1509-23.
- [30] QUAN J, BODE A M, LUO X J. ACSL family: the regulatory mechanisms and therapeutic implications in cancer [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 909: 174397.
- [31] SUN M H, HU D C, LI T J, et al. Multidimensional transcriptomic analysis and *in vitro* experiments dissect the landscape of 2',2',4',4'-tetrabromodiphenyl ether in bladder cancer progression [J]. *Chem Biol Interact*, 2026, 434: 112079.