

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.13.008

NDRG2 对胶质瘤 U87-MG 细胞组蛋白乙酰化的影响及机制研究 *

葛英为 秦 娜 于修贤 白文红 邓艳春[△]

(第四军医大学西京医院神经内科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨 NDRG2 对胶质瘤 U87-MG 细胞组蛋白乙酰化的影响,从代谢组学角度明确其抑癌机制,为胶质瘤治疗提供新思路。**方法:**利用慢病毒介导的外源性 NDRG2 基因在胶质瘤 U87-MG 细胞株中过表达,并采用 MTT 检测其对胶质瘤 U87-MG 细胞增殖的影响,采用 Western blot 技术研究其对胶质瘤 U87-MG 细胞组蛋白乙酰化及 AKT-ACLY 通路磷酸化状态的影响,并使用酶联反应检测胞内乙酰辅酶 A 的水平。**结果:**NDRG2 在胶质瘤 U87-MG 细胞中外源过表达可降低 AKT 及下游分子 ACLY 的磷酸化水平,减少胞内乙酰辅酶 A 的合成,抑制组蛋白乙酰化。**结论:**NDRG2 可能通过抑制 AKT 通路,减少组蛋白乙酰化,进而抑制胶质瘤 U87-MG 细胞增殖。

关键词:胶质瘤;组蛋白;乙酰化;NDRG2;细胞增殖;柠檬酸裂解酶

中图分类号:R739.41 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)13-2431-04

The Effect and Mechanism of NDRG2 on the Histone Acetylation of Glioma U87-MG Cells*

GE Ying-wei, QIN Na, YU Xiu-xian, BAI Wen-hong, DENG Yan-chun[△]

(Department of Neurology, Xi Jing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect and mechanism of NDRG2 on the histone acetylation in U87-MG cells and provide new ideas for the treatment of glioma. **Methods:** NDRG2 overexpression was mediated by lentivirus, and the level of histone acetylation was measured by Western blot using acetylation antibodies in U87-MG cells. ELISA was used to evaluate the effect on acetyl-CoA metabolism of NDRG2 overexpression. The AKT-ACLY pathway was detected to illustrate this mechanism. **Results:** The phosphorylation of AKT and ACLY in U87MG cell were significantly down-regulated with the overexpression of NDRG2, resulting in change of acetyl-CoA/CoA ratio. The histone acetylation level was down-regulated, which had an effect on the proliferation of glioma cells. **Conclusions:** NDRG2 might participate in the metabolism of acetyl-CoA and regulate the histone acetylation, which could further suppress the proliferation of U87-MG glioma cell.

Key words: Glioma; Histone; Acetylation; NDRG2; Proliferation; ATP-Citrate lyase

Chinese Library Classification(CLC): R739.41 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)13-2431-04

前言

胶质瘤是起源于神经系统胶质细胞的恶性肿瘤,约占神经系统肿瘤的 46%,至今仍居于颅内原发性肿瘤发病率和病死率的首位,其中位生存时间仅为 1.5 年^[1]。胶质瘤在颅内呈浸润性生长,手术难以全部切除,临床对高级别胶质瘤患者推荐术后接受放射治疗和替莫唑胺(temozolomide, TMZ)化疗,但患者生存情况并无明显改善。目前,探索胶质瘤新治疗靶点及耐药机制为研究热点。

NDRG2(N-Myc Downstream-Regulated Gene 2)是我们团队在 1999 年利用消减杂交技术发现的新基因^[2],因其在神经胶质细胞、唾液腺等终末分化组织中呈高表达,在多种肿瘤和肿瘤细胞系中呈低表达,故被作为抑癌候选基因被广泛研究。我们

前期研究已明确 NDRG2 的抑癌表型,但对具体机制仍不清楚^[3]。根据生物信息学分析, NDRG2 含有一酰基携带(Acyl-carrier protein, ACP)样结构域,提示其可参与乙酰基代谢调节过程。近年代谢组学研究表明乙酰辅酶 A 代谢可直接参与调控组蛋白乙酰化,并影响肿瘤细胞增殖^[4]。故本研究从代谢组学入手,通过观察 NDRG2 对细胞内乙酰辅酶 A 代谢的调控作用,探讨 NDRG2 的抑癌机制。

1 材料和方法

1.1 材料

U87-MG 胶质瘤细胞购自上海中科院细胞库;DMEM 高糖培养液及胎牛血清购自 Hyclone 公司;过表达 NDRG2 的慢病毒 Lenti-NDRG2 及对照组病毒(Lenti-Cherry)均由第四军医

* 基金项目:陕西省自然科学基金项目(2014JM3080)

作者简介:葛英为(1990-),男,硕士研究生,研究方向:胶质瘤的发病机制研究,电话:13259472033, E-mail: aspirins@live.cn

[△] 通讯作者:邓艳春,教授,主任医师,博士生导师, E-mail: yanchundeng@yahoo.com

(收稿日期:2016-12-03 接受日期:2016-12-26)

大学生化教研室提供;兔抗人 AKT 抗体、兔抗人 p-AKT (Ser473)抗体、组蛋白 H3、H4 及乙酰化购自 Cell signaling technology 公司,兔抗人 ACLY、兔抗人 p-ACLY(Ser455)购自 Abcam 公司,兔抗人 β -actin 抗体购自博士德公司,HRP 标记的山羊抗兔 IgG 和山羊抗鼠 IgG 购自 Abbkine 公司,乙酰辅酶 A 检测试剂盒购自 Sigma 公司,化学底物发光试剂盒购自晶彩公司,SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒及电泳相关试剂购自碧云天公司,硝酸纤维素膜购自 Millipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 U87-MG 细胞培养于含 10 %胎牛血清的 DMEM 培养基中。细胞培养于含 5 % CO₂ 的 37 °C 恒温孵育箱中。细胞传代使用 0.25 %胰酶消化。检测蛋白磷酸化前预使用无血清 DMEM 12 h 同步化处理,收集细胞样本于 1.5 mL EP 管 -80 °C 备用。

1.2.2 Western blot 实验 细胞样本收集于 1.5 mL EP 管,每管内加入含蛋白酶磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液 100 μ L,冰上裂解 30 min,使用 BCA 法测相对蛋白浓度,稀释成等浓度后加入 5 $\times$ loading buffer,煮沸 5 min。配置 SDS-PAGE 凝胶,于各孔分别上样品及蛋白 marker,蛋白上样量为 20 μ g。连结电极,恒压电泳分离蛋白样品(浓缩胶 120 V,分离胶 160 V),待蛋白分离至合适程度时停止电泳,使用湿转法恒流 300 mA 2 h 转膜于 NC 膜上。根据目的蛋白大小将 NC 膜裁至合适大小,5 %脱脂牛奶封闭 1 h。TBST 洗膜后,使用相应比例稀释的一抗缓冲液 4 °C 孵育过夜。经 TBST 洗膜 10 min $\times$ 3 次,相应比例二抗缓冲液常温孵育 1 h,再经 TBST 洗膜 10 min $\times$ 3 次后行底物发光检测。

1.2.3 MTT 法检测细胞增殖能力 将 20 mg MTT 粉末溶于 4 mL PBS 中,配置成 MTT 溶液,过滤除菌后 4 °C 避光保存。将处于对数生长期 U87-MG 亲本、U87-MG-vector、U87-MG-NDRG2 细胞接种于六块 96 孔板,每种细胞每板设置 6 个复孔,每孔接种 2000 个细胞于 200 μ L 高糖 DMEM 培养液。从第二天起每天收取一 96 孔板,每孔加入 20 μ L MTT 溶液,37 °C 培养 4 h 后吸尽培养液,加入 150 μ L DMSO 溶解紫色结晶物。使用酶联反应仪在 490 nm 波长上测定吸光度值。

1.2.4 过表达细胞系构建 预先将 U87-MG 细胞接种至六孔板,每组细胞接种三个孔,分别设为空白组,对照组(感染 Lenti-cherry),实验组(感染 Lenti-NDRG2)。待细胞生长至 70 %密度时,吸尽培养基,按照 MOI 值 $\approx$ 50 的病毒细胞比加入无血清 DMEM 稀释后的病毒液,空白组加入无血清 DMEM。感染 24 h 后,使用荧光显微镜检测转染效率。传代生长后使用含有 3 μ g/mL 杀稻瘟菌素(blasticidin)的新鲜 DMEM 培养基培养细胞,筛选 2 周后收取适量细胞通过 Western blot 检测蛋白表达。

1.2.5 乙酰辅酶 A 检测 根据偶联酶促反应原理,使用 Sigma Acetyl-Coenzyme A Assay Kit 检测细胞内乙酰辅酶 A 含量。标准品经倍比稀释后绘制 OD 值 / 乙酰辅酶 A 浓度标准曲线。细胞样品经高氯酸处理后脱去蛋白质,经超声裂解后 13000 rpm 离心 10 min,将上清转移至新 EP 管内,样品中乙酰辅酶 A 与荧光探针结合,于 580 nm 波长检测发光值,与标准曲线回归得到样品内乙酰辅酶 A 含量。

1.3 统计学分析

每组实验至少重复 3 次,每组实验组内至少设置 3 个复孔。统计分析使用 SPSS19.0 软件。计量资料结果使用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用两独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 NDRG2 过表达细胞系的构建及对胶质瘤 U87-MG 细胞增殖的影响

使用同期包装有 pLenti6.3-Cherry 荧光蛋白基因和 pLenti6.3-NDRG2 的慢病毒转染 U87-MG 细胞,无血清 DMEM 培养细胞感染 24 小时后使用荧光显微镜检测转染效率(图 1A),其转染效率可达 83 %。以 10 ng/ μ L 杀稻瘟菌素(blasticidin)筛选稳转细胞。筛选两周后使用 Western blot 检测细胞内 NDRG2 表达水平(图 1B),NDRG2 在 U87MG 亲本及对对照组呈极低表达,经慢病毒介导后呈明显高表达。

为验证 NDRG2 对胶质瘤 U87-MG 细胞增殖水平的抑制,对亲本 U87-MG 细胞与稳转有 Cherry 和 NDRG2 细胞进行 MTT 试验检测增殖情况。结果显示 NDRG2 过表达可明显抑制 U87-MG 细胞增殖(图 1C)。

2.2 NDRG2 对胶质瘤 U87-MG 细胞组蛋白乙酰化及胞质内乙酰辅酶 A 水平的影响

既往研究证实细胞内乙酰辅酶 A/辅酶 A 比值升高有利于细胞增殖并减少凋亡,主要通过增加相关增殖基因组蛋白乙酰化水平来调控细胞增殖能力^[46]。为此,我们检测了 NDRG2 过表达对组蛋白乙酰化的调控作用。与对照组相比,NDRG2 过表达显著抑制胶质瘤 U87-MG 细胞组蛋白 H3Lys9、H4Lys8 的乙酰化(图 2A、2B、2C)。

近年代谢组学研究提示组蛋白乙酰化水平与胞内乙酰辅酶 A 含量呈正相关^[47]。为此,我们使用试剂盒检测细胞内乙酰辅酶 A 含量。在低糖培养下,肿瘤处于低增殖状态,NDRG2 对乙酰辅酶 A 代谢没有明显影响。在高糖培养下,NDRG2 可抑制胞内乙酰辅酶 A 含量(图 2D),提示 NDRG2 抑制细胞增殖状态可能通过降低乙酰辅酶 A 含量以降低组蛋白乙酰化实现。

2.3 NDRG2 通过调控 ACLY 磷酸化水平调节组蛋白乙酰化

柠檬酸裂解酶(ATP-Citric acid lysis, ACLY)可将胞质中柠檬酸裂解为乙酰辅酶 A 和草酰乙酸,该途径是胞质内乙酰辅酶 A 的主要来源^[89]。ACLY 在肿瘤细胞中受 AKT 磷酸化其 455 位 Ser 活化其功能,为细胞增殖产生必要的乙酰辅酶 A,以增加组蛋白乙酰化水平^[10]。既往研究证实 NDRG2 可通过 PP2A 抑制 AKT 通路活化发挥抑癌作用^[11]。为验证 NDRG2 对 ACLY 功能影响,我们采用 Western blot 技术检测 NDRG2 过表达对 U87-MG 细胞 AKT 及 ACLY 磷酸化水平的影响。

正常情况下,NDRG2 过表达的 U87-MG 细胞中磷酸化 AKT、ACLY 表达均较对照组明显降低($P < 0.05$)。使用 EGF(10 ng/mL)刺激 U87MG 细胞,结果显示 NDRG2 过表达的 U87-MG 细胞中磷酸化 AKT、ACLY 表达均较对照组明显降低($P < 0.05$),而乙酰辅酶 A 合成增加,NDRG2 过表达组与对照组比较无明显差异($P > 0.05$),提示 NDRG2 对细胞内乙酰辅酶 A/辅酶 A 比值的调控作用可能与抑制 AKT 通路有关。

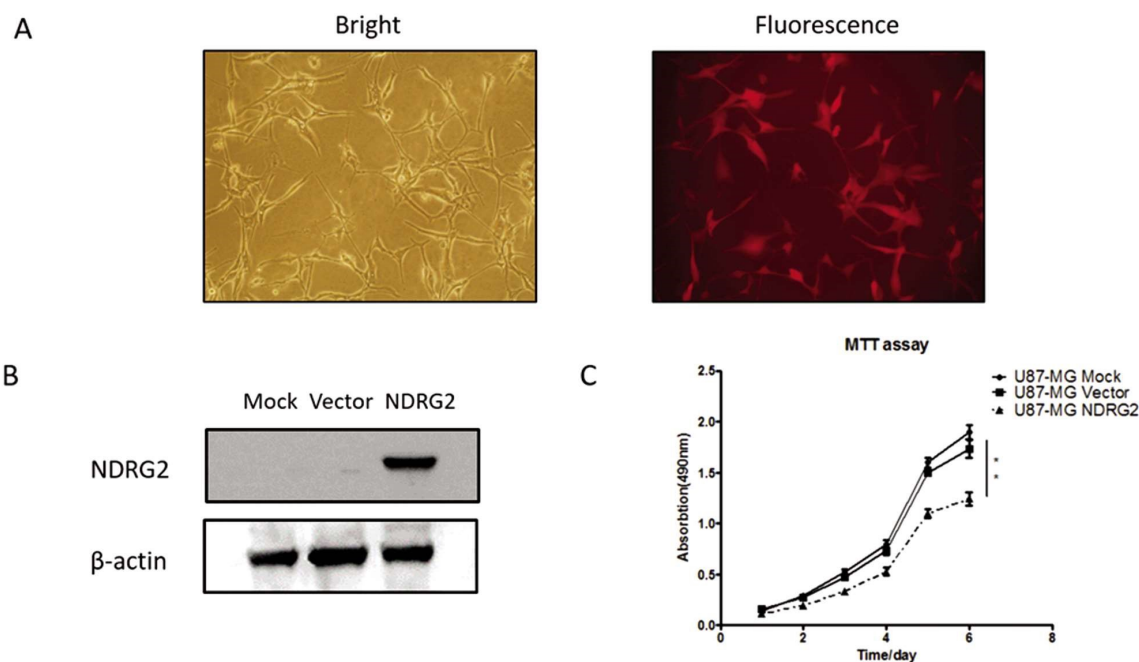


图1 A.免疫荧光检测慢病毒感染效率($\times 400$);B.Western blot 检测 NDRG2 过表达水平;C.MTT 试验检测 NDRG2 过表达后对 U87MG 细胞增殖能力的抑制(** $p<0.01$)

Fig.1 A.Quantize the transfection efficiency using immunofluorescence ($\times 400$). B. The expression levels of NDRG2 in U87MG cell line with the overexpression of NDRG2. C. The proliferation of U87MG cell is detected by MTT assay (** $p<0.01$)

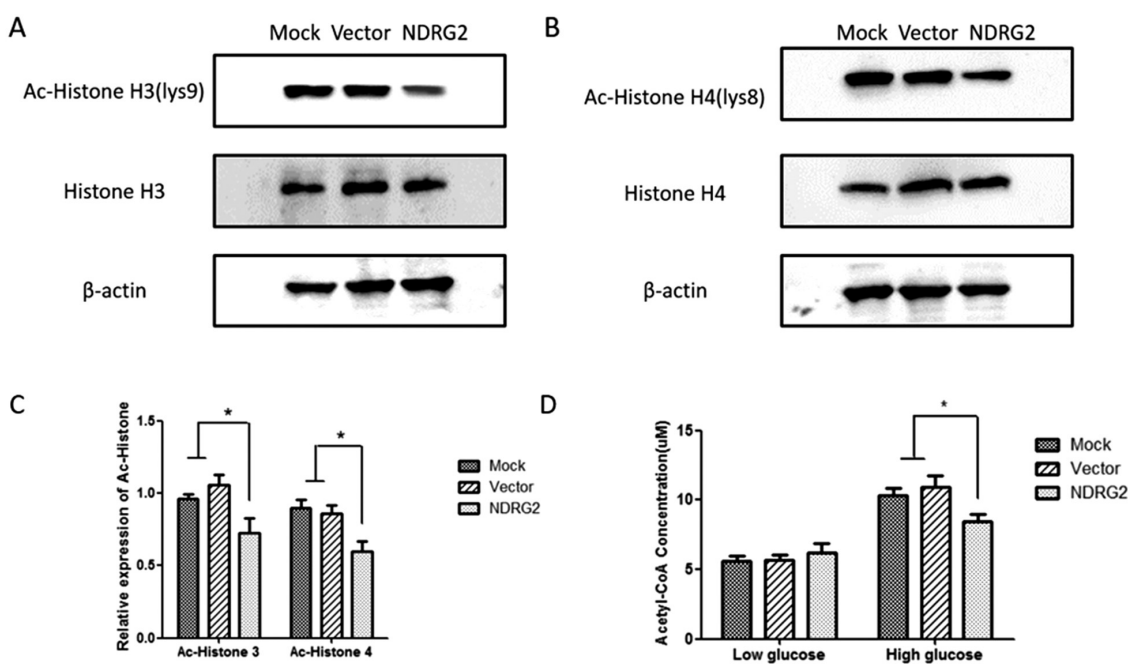


图2 ABC.Western blot 检测 NDRG2 过表达后对组蛋白 H3(lys9)(A)H4(lys8)(B)乙酰化水平调控;D.NDRG2 过表达在高糖培养下可降低细胞内乙酰辅酶 A 水平(* $P<0.05$)

Fig.2 ABCThe expression of Ac-H3(lys9)(A) Ac-H4(lys8) (B) in U87MG cell line with the overexpression of NDRG2 using Western blot. D. The acetyl-CoA concentration is lower than control with the overexpression of NDRG2 in high glucose (* $P<0.05$)

3 讨论

组蛋白乙酰化是组蛋白表观遗传修饰的主要形式,对基因转录起到重要调控作用。近年随肿瘤代谢组学发展,大量研究证实细胞内代谢物乙酰辅酶 A 含量对组蛋白乙酰化水平有直接影响^[12]。处于高度增殖状态的恶性肿瘤通过摄取高糖满足代谢需要,线粒体中产生的大量乙酰辅酶 A 以柠檬酸形式穿梭

进入胞质,再经柠檬酸裂解酶生成草酰乙酸和乙酰辅酶 A^[13]。该途径是胞质中乙酰辅酶 A 的主要来源,柠檬酸裂解酶作为该过程的核心酶一直是肿瘤代谢研究热点。目前研究显示 ACLY 在肿瘤细胞中呈高表达,干扰其表达和功能可抑制组蛋白乙酰化水平并抑制肿瘤细胞增殖^[8,14-17],已有多种抑制剂进入基础及临床研究^[18]。

NDRG2 是我们研究组自主发现的抑癌候选基因,与

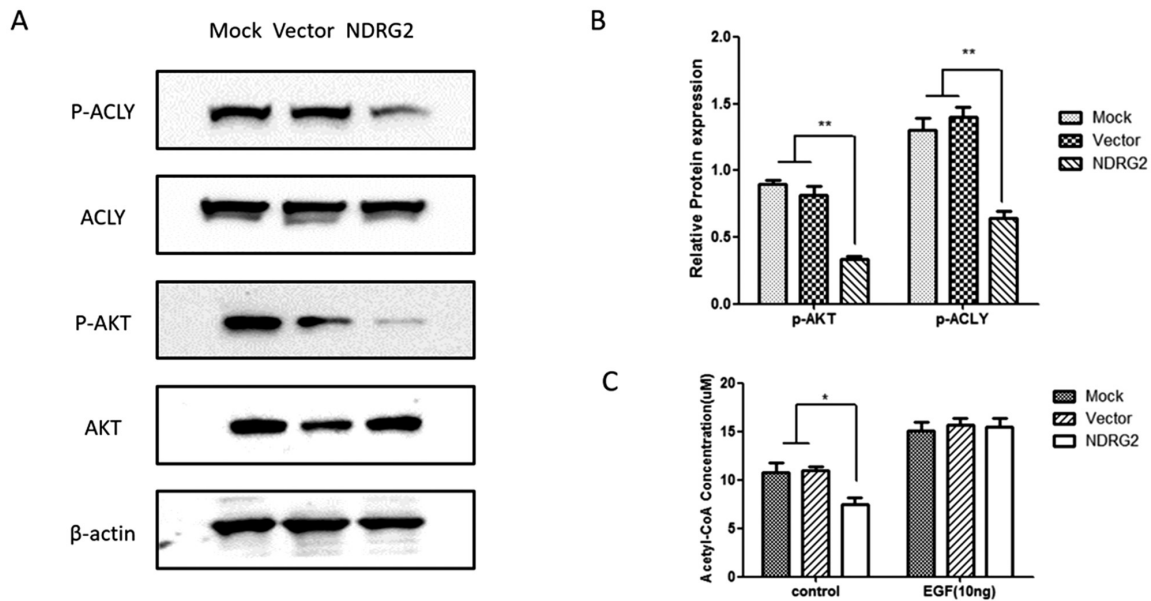


图3 A B. NDRG2 过表达可抑制 AKT-ACLY 通路活化,降低P-AKT 和 P-ACLY 水平;B. EGF 刺激细胞后可纠正 NDRG2 对乙酰辅酶 A 合成的抑制作用(* $P<0.05$, ** $P<0.01$)

Fig.3 A B. The relative expression of P-ACLY and P-AKT is lower with the overexpression of NDRG2. C. The suppression of acetyl-CoA with NDRG2 is rectified by adding EGF (* $P<0.05$, ** $P<0.01$)

NDRG1、NDRG3、NDRG4 同属于 NDRG 家族成员,属于 α/β 水解酶超家族。近年围绕其表达及抑癌机制进行广泛研究,已证实其在肿瘤细胞中存在多种调控作用^[3]。NDRG2 全长 2024bp,含有 357 个氨基酸,经过生物信息学分析,其内含有一 ACP 携带结构域,可与酰基存在相互作用,提示其可能参与乙酰基代谢过程。根据既往文献,NDRG2 可参与胰岛素代谢中,作为 AKT 和 PKC 下游分子调控下游代谢环路^[19]。此外,NDRG2 可通过活化 PTEN 蛋白抑制 AKT 通路活性发挥抑癌作用^[11]。这些研究提示 NDRG2 具有代谢调控可能性。2015 年,Xu 等研究证实,NDRG2 通过调控 C-Myc 可抑制多种糖酵解过程代谢酶表达,从代谢组角度解释了 NDRG2 具有广泛抑癌作用的可能^[20]。

本研究结果表明 NDRG2 可通过抑制 AKT-ACLY 通路的活化减少细胞内乙酰辅酶 A 水平,以抑制组蛋白乙酰化。通过对乙酰辅酶 A 代谢通路的抑制,NDRG2 可存在更广泛的抑癌作用。乙酰辅酶 A 作为代谢核心中间产物,联系三大代谢途径,其合成和代谢对肿瘤细胞具有重要作用。除了作为乙酰化过程的供体,乙酰辅酶 A 可参与脂肪酸、胆固醇合成,可满足细胞增殖中对磷脂等膜分子的需要。故针对 NDRG2 对乙酰辅酶 A 的研究仍可进一步明确其机制,并为进行其他代谢疾病的研究提供了可能。

目前,NDRG2 的抑癌作用已基本明确,但其具体功能和参与的细胞生物学过程中仍不清楚,其结构及相互作用蛋白仍需要生物信息学和更深入功能机制研究探明。此外,体外细胞学实验无法还原在体肿瘤发生发展及干预过程,故进一步研究中仍需要基因修饰小鼠或其他在体模型以验证假说,为肿瘤治疗应用提供更多的依据。

参考文献(References)

[1] Bloch O, Han S J, Cha S, et al. Impact of extent of resection for recurrent glioblastoma on overall survival: clinical article [J]. J Neurosurg, 2012, 117(6): 1032-1038

[2] Deng Yan-chun, Yao Li-bo, Liu Xin-ping, et al. Exploring a new gene containing ACP like domain in human brain [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2001, 28(1): 72-76

[3] Hu W, Fan C, Jiang P, et al. Emerging role of N-myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) in cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7(1): 209-223

[4] Pietrocola F, Galluzzi L, Bravo-San Pedro J M, et al. Acetyl Coenzyme A: A Central Metabolite and Second Messenger [J]. Cell Metab, 2015, 21(6): 805-821

[5] Wellen K E, Hatzivassiliou G, Sachdeva U M, et al. ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation [J]. Science, 2009, 324(5930): 1076-1080

[6] Lee J V, Carrer A, Shah S, et al. Akt-dependent metabolic reprogramming regulates tumor cell histone acetylation [J]. Cell Metab, 2014, 20(2): 306-319

[7] Shi L, Tu B P. Acetyl-CoA and the regulation of metabolism: mechanisms and consequences [J]. Curr Opin Cell Biol, 2015, 33: 125-131

[8] Bauer D E, Hatzivassiliou G, Zhao F, et al. ATP citrate lyase is an important component of cell growth and transformation [J]. Oncogene, 2005, 24(41): 6314-6322

[9] Guay C, Madiraju S R, Aumais A, et al. A role for ATP-citrate lyase, malic enzyme, and pyruvate/citrate cycling in glucose-induced insulin secretion [J]. J Biol Chem, 2007, 282(49): 35657-35665

[10] Robey R B, Hay N. Is Akt the "Warburg kinase"-Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis [J]. Semin Cancer Biol, 2009, 19(1): 25-31

[11] Nakahata S, Ichikawa T, Maneesay P, et al. Loss of NDRG2 expression activates PI3K-AKT signalling via PTEN phosphorylation in ATLL and other cancers [J]. Nat Commun, 2014, 5: 3393

[12] Cai L, Sutter B M, Li B, et al. Acetyl-CoA induces cell growth and proliferation by promoting the acetylation of histones at growth genes [J]. Mol Cell, 2011, 42(4): 426-437

- tablets[J]. Biopharm Drug Dispos, 2012, 33(3): 146-159
 - [8] Yang L, Tang H, Lee AM. Risk of Malignancy in Symptomatic Nodular Goiter Treated with Radiofrequency Ablation [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2016, 37(1): 7-8
 - [9] Yürekli Y, Cengiz A, Güney E. Graves Disease Induced by Radioiodine Therapy for Toxic Nodular Goiter: A Case Report[J]. Mol Imaging Radionucl Ther, 2015, 24(3): 135-137
 - [10] 翟中山,李天昕,陈学宝,等.甲状腺球蛋白及抗体测定在结节性甲状腺肿与甲状腺癌鉴别诊断中的意义 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(23): 4502-4504, 4528
Zhai Zhong-shan, Li Tian-xin, Chen Xue-bao, et al. Determination of Protein and Antibodies to Thyroglobulin in the Differential Diagnosis of Nodular Goiter and Thyroid Carcinoma [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(23): 4502-4504, 4528
 - [11] Kocic I, Homsek I, Dacevic M, et al. An investigation into the influence of experimental conditions on in vitro drug release from immediate-release tablets of levothyroxine sodium and its relation to oral bioavailability[J]. AAPS PharmSciTech, 2011, 12(3): 938-948
 - [12] Lau ST, Zhou T, Liu JA, et al. Dysregulation of clathrin promotes thyroid cell growth and contributes to multinodular goiter pathogenesis[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(8): 1676-1686
 - [13] Bischoff A. Solving the goiter nodule[J]. MMW Fortschr Med, 2015, 157(7): 18-20
 - [14] Choia HG, Kim TH, Kim SH, et al. Anti-allergic Inflammatory Triterpenoids Isolated from the Spikes of *Prunella vulgaris* [J]. Nat Prod Commun, 2016, 11(1): 31-32
 - [15] Al-Reza SM, Rahman A, Sattar MA, et al. Essential oil composition and antioxidant activities of *Curcuma aromatica* Salisb [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(6): 1757-1760
 - [16] Revathi S, Malathy NS. Antibacterial Activity of Rhizome of *Curcuma aromatica* and Partial Purification of Active Compounds[J]. Indian J Pharm Sci, 2013, 75(6): 732-735
 - [17] 王国霞.中西医结合治疗结节性甲状腺肿 68 例[J].河北中医, 2014, (11): 1651-1653
Wang Guo-xia. Treatment of multinodular goiter with combined therapy of Chinese and Western medicine[J]. Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, (11): 1651-1653
 - [18] Treglia G, Trimboli P, Verburg FA, et al. Prevalence of normal TSH value among patients with autonomously functioning thyroid nodule [J]. Eur J Clin Invest, 2015, 45(7): 739-744
 - [19] Graf H. Recombinant human TSH and radioactive iodine therapy in the management of benign multinodular goiter [J]. Eur J Endocrinol, 2015, 172(2): R47-R52
 - [20] Harbuwono DS, Pramono LA, Hendarto H, et al. Improvement of Metabolic Parameters Resulted from Levothyroxine Therapy in Hypothyroid Type 2 Diabetes Mellitus Patient [J]. Acta Med Indones, 2016, 48(2): 145-147
-
- (上接第 2434 页)
- [13] Watson J A, Fang M, Lowenstein J M. Tricarballic acid and hydroxycitrate: substrate and inhibitor of ATP: citrate oxaloacetate lyase [J]. Arch Biochem Biophys, 1969, 135(1): 209-217
 - [14] Zaidi N, Royaux I, Swinnen J V, et al. ATP citrate lyase knockdown induces growth arrest and apoptosis through different cell- and environment-dependent mechanisms [J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(9): 1925-1935
 - [15] Migita T, Narita T, Nomura K, et al. ATP citrate lyase: activation and therapeutic implications in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 2008, 68(20): 8547-8554
 - [16] Beckner M E, Fellows-Mayle W, Zhang Z, et al. Identification of ATP citrate lyase as a positive regulator of glycolytic function in glioblastomas[J]. Int J Cancer, 2010, 126(10): 2282-2295
 - [17] Zhou Y, Bollu L R, Tozzi F, et al. ATP citrate lyase mediates resistance of colorectal cancer cells to SN38 [J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(12): 2782-2791
 - [18] Khwairakpam A D, Shyamananda M S, Sailo B L, et al. ATP citrate lyase (ACLY): a promising target for cancer prevention and treatment [J]. Curr Drug Targets, 2015, 16(2): 156-163
 - [19] Burchfield J G, Lennard A J, Narasimhan S, et al. Akt mediates insulin-stimulated phosphorylation of NdrG2: evidence for cross-talk with protein kinase C theta [J]. J Biol Chem, 2004, 279 (18): 18623-18632
 - [20] Xu X, Li J, Sun X, et al. Tumor suppressor NDRG2 inhibits glycolysis and glutaminolysis in colorectal cancer cells by repressing c-Myc expression[J]. Oncotarget, 2015, 6(28): 26161-26176