

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.20.006

N-豆蔻酰化转移酶在乳腺癌组织中的表达及作用研究 *

郭绍文¹ 谢轶群² 鄂裘恺¹ 钟锦婵¹ 常聪聪¹ 林 昶^{3△}

(1 上海交通大学医学院附属第九人民医院黄浦分院病理科 上海 200011;

2 上海交通大学医学院附属第九人民医院黄浦分院乳腺科 上海 200011;3 同济大学附属东方医院肿瘤科 上海 200120)

摘要 目的:研究 N-豆蔻酰化转移酶 1(NMT1)和 2(NMT2)在乳腺癌组织中的表达及对乳腺癌细胞生物学作用。**方法:**ELISA 检测 NMT1 和 NMT2 在 40 例乳腺癌组织中含量, 免疫组化证实其表达。小 RNA 干扰技术敲减乳腺癌细胞 MCF-7 及 BT-474 中 NMT1 和 NMT2 表达水平。CCK-8 及 Transwell 小室穿膜试验检测 NMT1 和 NMT2 敲减前后细胞增殖及转移能力变化。**结果:** NMT1 及 NMT2 在发生淋巴结转移、III/IV 期患者的乳腺癌组织中表达显著升高 ($P<0.01$)。利用 CCK-8 检测发现 NMT1 或 NMT2 敲减 48h 后乳腺癌细胞 BT-474、MCF-7 增殖活性较对照组细胞显著减弱 ($P<0.0001$)。Transwell 小室穿膜试验检测发现, NMT1 或 NMT2 敲减组细胞较对照组细胞, 穿膜细胞数显著减低 ($P<0.01$)。**结论:** NMT1 及 NMT2 在乳腺癌的发生、发展过程中起到关键作用, 敲减 NMT1 及 NMT2 可削弱乳腺癌细胞增殖和转移能力。靶向抑制 NMT1 及 NMT2 有望成为干预乳腺癌的重要分子靶点。

关键词: 乳腺癌; N-豆蔻酰化转移酶; 增殖; 转移

中图分类号:R-33; R737.9 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)20-3828-06

Galactophore Department The Clinical and Biological Role of N-myristoyltransferase in Breast Cancer*

GUO Shao-wen¹, XIE Yi-qun², E Qiu-kai¹, ZHONG Jin-chan¹, CHANG Cong-cong¹, LIN Yun^{3△}

(1 Department of Pathology, Huangpu branch, the Ninth People's Hospital Affiliated to the Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200011, China; 2 Galactophore Department Huangpu branch, the Ninth People's Hospital Affiliated to the Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200011, China;

3 Department of Oncology, East Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai, 200120, China)

ABSTRACT Objective: To study the expression of N-myristoyltransferase 1 (NMT1) and 2 (NMT2) in breast cancer tissues and their biological effects on breast cancer cells. **Methods:** The expression of NMT1 and NMT2 in 40 breast cancer tissues were detected by ELISA, and their expressions were confirmed by immunohistochemistry. Small RNA interference technology knocked down the expression levels of NMT1 and NMT2 in breast cancer cells MCF-7 and BT-474. CCK-8 and Transwell chamber transmembrane assays were used to detect the changes of cell proliferation and metastasis before and after NMT1 and NMT2 knockdown. **Results:** The expressions of NMT1 and NMT2 in breast cancer tissues of patients with lymph node metastasis and stage III/IV were significantly increased ($P<0.01$). Using CCK-8 detection, it was found that the proliferation activity of breast cancer cells BT-474 and MCF-7 after NMT1 or NMT2 knockdown for 48 h was significantly lower than that of control cells ($P<0.0001$). Transwell chamber penetration test showed that the number of transmembrane cells in the NMT1 or NMT2 knockdown group was significantly lower than that in the control group ($P<0.01$). **Conclusion:** NMT1 and NMT2 play a key role in the occurrence and development of breast cancer. Knockdown of NMT1 and NMT2 can weaken the proliferation and metastasis of Breast cancer cancer cells. Targeted inhibition of NMT1 and NMT2 is expected to become an important molecular target for intervention in breast cancer.

Key words: Breast cancer; N-myristoyltransferase; Proliferation; Migration**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R737.9 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2022)20-3828-06

前言

乳腺癌的发生率逐年升高, 其发病率和死亡率在女性恶性

肿瘤中居首位^[1-3]。尽管现有的筛查手段和治疗方法显著改善了乳腺癌患者的预后, 但仍有部分患者预后不佳^[4-6]。为此揭示乳腺癌的致病机制、挖掘关键分子靶点对提高乳腺癌的疗效和预

* 基金项目:上海市卫生健康委员会科研项目(2020040464)

作者简介:郭绍文(1973-02),男,副主任医师,研究方向:乳腺肿瘤疾病,E-mail: guo_19730@sina.com

△ 通讯作者:林昀(1973-02),男,硕士,副主任医师,研究方向:肿瘤复发转移分子机制研究,

电话:021-38804518, E-mail: ylin@tongji.edu.cn

(收稿日期:2022-04-22 接受日期:2022-05-18)

后具有重要的临床意义。

豆蔻酰化是细胞内蛋白发生常见脂化修饰之一,肉豆蔻酸残基以共价键的形式连接到具有特定 α 氨基酸序列蛋白N端的甘氨酸残基上,形成豆蔻酰化蛋白^[7]。目前已知的可发生豆蔻酰化的蛋白却已经达到100种以上。靶蛋白通过豆蔻酰化修饰一般可以增强其自身的稳定性,同时也可以加强其与质膜的亲和力,进而影响到蛋白本身的生物学功能,如信号传导、亚细胞定位、蛋白与蛋白之间或是蛋白与脂质间的相互作用^[8-12]。N-豆蔻酰转移酶(N-myristoyltransferase, NMT)是催化蛋白发生豆蔻酰化的关键酶,在人体细胞中,主要有2种同工酶分别是NMT1(N-myristoyltransferase 1, NMT1)和NMT2,对催化蛋白底物的识别和选择起到重要作用^[13-19]。N-豆蔻酰转移酶在乳腺癌中的研究报导较少,本研究拟对NMT1及NMT2在乳腺癌组织中的表达以及对乳腺癌细胞增殖和转移的生物学作用进行研究,为其成为潜在干预靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集上海交通大学医学院附属第九人民医院黄浦分院2020年1月-2022年1月收治的乳腺癌术后癌组织石蜡标本40例,并收集相关临床资料,所有标本均经知情同意。患者术前均未接受化疗或放疗。所有标本均本院病理科确诊。

1.2 材料

人N-肉豆蔻酰基转移酶1(NMT1)和人N-肉豆蔻酰基转移酶2(NMT2)ELISA试剂盒购买自上海颖心实验室设备有限公司。NMT1和NMT2购自Santa Cruz Biotechnology,二抗及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。乳腺癌细胞MCF-7及BT-474均为美国模式培养物集存库(ATCC)。siRNA由上海生工合成。脂质体转染试剂Lipofectamine 3000说明书购自Thermo Fisher Scientific公司。总RNA提取、逆转录及荧光定量PCR按试剂盒为大连宝生物购买。CCK-8试剂盒购自碧云天生物有限公司。Transwell小室购自Corning公司。

1.3 方法

1.3.1 酶联免疫吸附(ELISA)测定NMT1和NMT2含量 从-80℃冰箱/液氮中取出已保存的乳腺癌组织,剪下3/4绿豆大小体积的组织样本,加入蛋白裂解液,并超声研磨,离心沉淀取上清液进行检测。NMT1和NMT2含量检测按商品化试剂盒人N-肉豆蔻酰基转移酶1(NMT1)和人N-肉豆蔻酰基转移酶2(NMT2)ELISA试剂盒进行检测。

1.3.2 免疫组化方法检测NMT1和NMT2表达 石蜡标本经切片、烤片、脱蜡和水化。封闭内源性过氧化物酶,柠檬酸钠溶液煮沸,进行抗原修复暴露抗原决定簇。5%羊血清室温30 min,封闭非特异性蛋白。一抗NMT1和NMT2(Santa Cruz Biotechnology)37℃孵育2 h。二抗孵育30 min,DAB显色3~10 min,二抗及二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。苏木精复染1~2 min,脱水,中性树脂封片。

1.3.3 细胞培养及实验分组 乳腺癌细胞MCF-7及BT-474均为美国模式培养物集存库(ATCC),于含10%胎牛血清和100 U/mL青霉素/链霉素的DMEM培养基于37℃、5%CO₂

条件下培养。细胞培养至70-80%进行传代。乳腺癌细胞依据实验处理方式分成:1)实验对照组:乳腺癌细胞转染对照siRNA;2)siNMT1或siNMT2转染组:乳腺癌细胞转染针对NMT1或NMT2 siRNA。

1.3.4 siRNA转染 siRNA由上海生工合成。阴性对照siRNA为:5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG U-3'。NMT1的2条siRNA分别为,siNMT1-1;5'-GCG AGA AUG AGG AGG ACA ACA-3',siNMT1-2;5'-GCA AAC GGA GAG GUG ACA GAU-3'。NMT2的2条siRNA分别为,siNMT2-1;5'-GGU GCA AUU GAA CCA GAU AAA -3',siNMT2-25';GAA GAU GGU AGA AAU CAA CUU -3'。siRNA转染乳腺癌细胞株按脂质体转染试剂Lipofectamine 3000说明书(Thermo Fisher Scientific公司)进行操作。

1.3.5 实时荧光定量PCR 总RNA提取、逆转录及荧光定量PCR按试剂盒说明书操作。Real-time定量PCR条件为:95℃10 min后,95℃15 s,60℃1 min,40循环。Real-time定量PCR使用ABI 7500仪器进行。根据待测标本的Ct值,以GAPDH作为内参照,采用 $2^{\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达倍数变化。其中各基因引物为:NMT1:F:5'-GGT CAG GGA CCT GCC AAA AC-3',R:5'-CAT GGG TGT TCA CCA CTT CG-3'。NMT2:F:5'-GGA GGC ACC AAG TCA GAC TC-3',R:5'-AGC TCC ATT GCT CTC TGG ATA -3'。GAPDH:F:5'-CTC TGC TCC TCC TGT TCG AC -3',R:5'-GAC CAA ATC CGT TGA CTC CG-3'。

1.3.6 CCK-8检测细胞增殖活性 取对数生长期细胞消化后,接种细胞于96孔板,1000细胞/孔μL,37℃,5%CO₂环境中孵育24 h后吸取上清,分别加入不同浓度5-FU,每孔终体积为100 μL,每个浓度设6个复孔。加药48 h后,向每孔加入10 μL CCK-8溶液,37℃,继续孵育4 h。在酶标仪450 nm处读取各孔的吸光值。

1.3.7 Transwell小室法检测细胞转移能力 乳腺癌细胞制成单细胞悬液并调整浓度至 5×10^4 接种于Transwell小室,下室加入正常含胎牛血清完全培养基700 μL,培养48 h后取出小室。预冷甲醇,固定10 min,在PBS中用棉签刮去小室上层细胞后,进行结晶紫染色,ddH₂O清洗。倒置显微镜取3个视野,计数取均值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件比较不同组别间的差异,2组独立样本间比较采用独立样本t检验;多组间比较采用Dunnett-t检验。取P<0.05为假设检验有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 NMT1和NMT2在乳腺癌组织中的表达

应用ELISA检测NMT1和NMT2在乳腺癌中的表达含量发现,NMT1及NMT2在发生淋巴结转移、III/IV期患者的乳腺癌组织中表达显著升高(P<0.01,如表1所示)。乳腺癌组织分级3级标本中NMT1表达显著升高(P<0.05);NMT2表达变化虽然无统计学差异(P>0.05),但有升高趋势。NMT1和NMT2表达与年龄、肿瘤大小因素无显著相关性(P>0.05)。

我们在上述标本中选择了淋巴结转移及未转移组织(图1)、II期及III期组织(图2)各一对标本进行免疫组化染色验证

表 1 NMT1 和 NMT2 在乳腺癌中的表达
Table 1 The expression of NMT1 and NMT2 in breast cancer

Groups	n	NMT1($\mu\text{g}/\text{mL}$)			NMT2($\mu\text{g}/\text{mL}$)		
		$P_{50}(P_{25}-P_{75})$	U	P	$P_{50}(P_{25}-P_{75})$	U	P
Age							
≥ 50	20	4.8(4.0-5.7)	182.0	0.634	6.2(5.2-71)	191.0	0.815
<50	20	4.7(3.9-5.4)			6.2(5.3-7.1)		
Lymph node metastasis							
No	22	4.4(3.9-5.1)	96.5	0.0049**	5.8(4.8-6.6)	99.5	0.0064**
Yes	18	5.4(4.5-5.8)			6.9(6.1-7.4)		
Tumor size							
<2 cm	12	4.2(3.7-4.6)	104.0	0.0587	6.1(4.9-7.0)	137.5	0.376
$\geq 2\text{cm}$	28	5.2(4.2-5.6)			6.4(5.3-7.1)		
TNM stage							
I-II	22	4.4(3.7-5.1)	96.5	0.0049**	5.8(4.8-6.6)	99.5	0.0064**
III-IV	18	5.4(4.5-5.8)			6.9(6.1-7.4)		
Grade							
1-2	20	4.4(3.7-5.2)	121.5	0.033*	5.9(4.8-7.0)	136.5	0.087
3	20	5.2(4.4-5.7)			6.6(5.7-7.2)		

Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

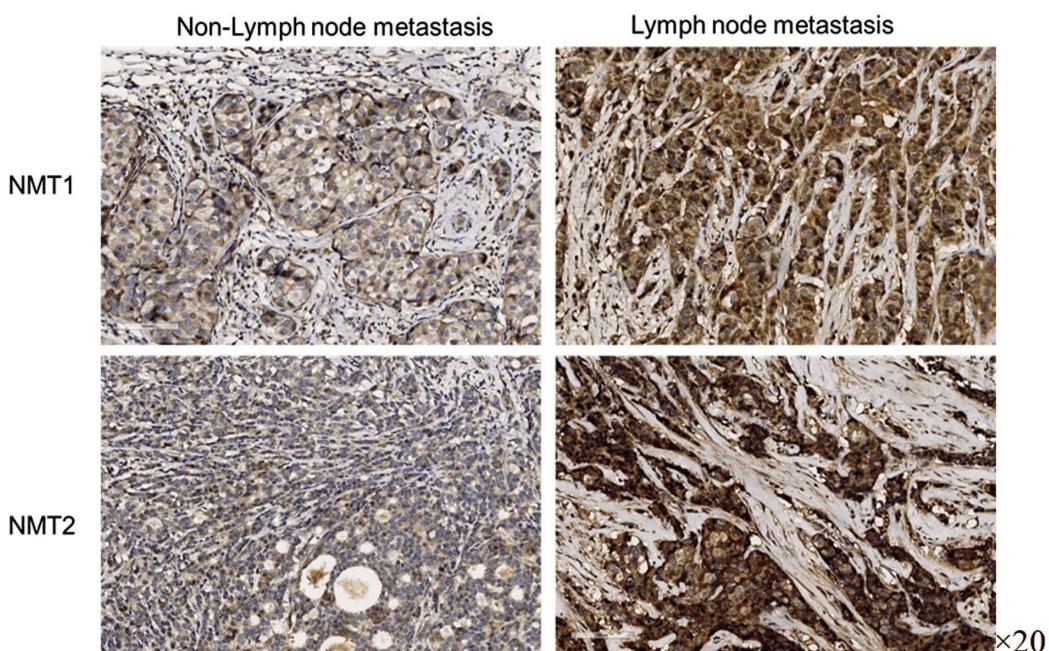


图 1 NMT1 及 NMT2 在发生淋巴结转移 / 未转移组织中的表达

Fig.1 The expression of NMT1 and NMT2 in breast cancer tissues with lymph node metastasis and non-lymph node metastasis

ELISA 结果。结果发现 NMT1 和 NMT2 在发生淋巴结转移和 III 期患者的乳腺癌中染色强度更高,与 ELISA 结果相符。

2.2 NMT1 和 NMT2 转染 siRNA 后的表达变化

我们在 BT-474 和 MCF-7 中分别转染针对 NMT1 的 siNMT1-1、siNMT1-2 以及针对 NMT2 的 siNMT2-1、siNMT2-2, 利用 qPCR 检测 4 种 siRNA 转染后 NMT1 和 NMT2 下降变化。

如表 2、表 3 所示, siNMT1-1 及 siNMT2-1 敲减效率最高, 后续以此 2 条 siRNA 进行生物学功能试验。

2.3 NMT1 和 NMT2 敲减对细胞增殖的影响

利用 CCK-8 检测对照组及 NMT1、NMT2 敲减组乳腺癌细胞增殖活性。结果发现 NMT1 或 NMT2 敲减 48h 后乳腺癌细胞 BT-474、MCF-7 增殖活性显著减弱 ($P<0.0001$, 表 4)。

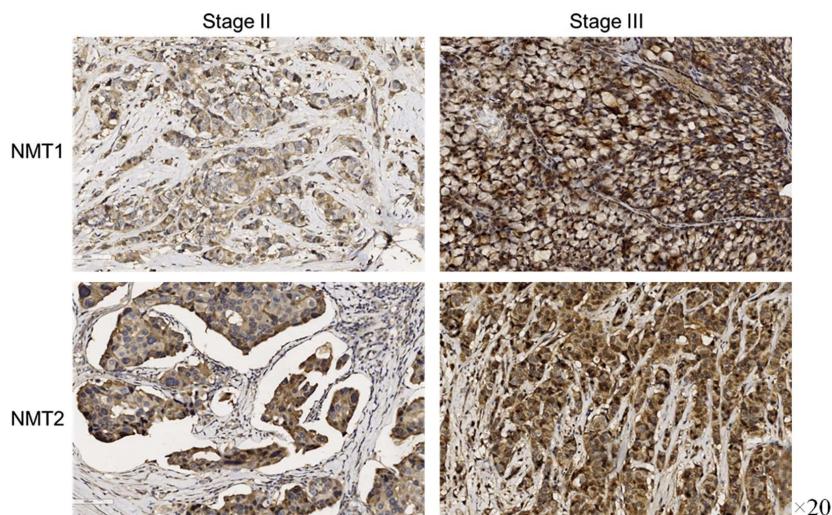


图 2 NMT1 及 NMT2 在 II 期 /III 期组织中的表达

Fig.2 The expression of NMT1 and NMT2 in breast cancer tissues from patients with stage II and stage III

表 2 转染 NMT1 特异性 siRNA 后 NMT1 的表达变化(n=3)

Table 2 The NMT1 expression in cells treated with NMT1 siRNA or control cells

Cells	Group	Relative fold Change	t	P
BT-474	Control	1.00±0.099		
	siNMT1-1	0.34±0.054	10.21	0.0005
	siNMT1-2	0.67±0.021	5.58	0.0050
MCF-7	Control	1.00±0.080		
	siNMT1-1	0.22±0.023	16.12	<0.0001
	siNMT1-2	0.57±0.042	8.11	0.0013

Note: Compare to the control.

表 3 转染 NMT2 特异性 siRNA 后 NMT2 的表达变化(n=3)

Table 3 The NMT2 expression in cells treated with NMT2 siRNA or control cells

Cells	Groups	Relative fold Change	t	P*
BT-474	Control	1.00±0.120		
	siNMT2-1	0.27±0.018	10.30	0.0005
	siNMT2-2	0.65±0.041	4.73	0.0091
MCF-7	Control	1.00±0.140		
	siNMT2-1	0.25±0.023	9.43	0.0007
	siNMT2-2	0.57±0.035	5.21	0.0065

Note: Compare to the control.

表 4 对照组及 NMT1、NMT2 敲减组乳腺癌细胞增殖活性比较(n=6)

Table 4 The cell viability of breast cancer cells with NMT1/NMT2 inhibition or controls

Cells	Groups	A _{450nm}	q	P
BT-474	Control	0.563±0.022		
	siNMT1	0.339±0.018	18.77	<0.0001
	siNMT2	0.361±0.022	16.72	<0.0001
MCF-7	Control	0.691±0.015		
	siNMT1	0.439±0.016	26.71	<0.0001
	siNMT2	0.330±0.018	38.27	<0.0001

Note: Compare to the control.

2.4 NMT1 和 NMT2 敲减对细胞转移影响

Transwell 小室检测对照和 NMT1 和 NMT2 敲减组细胞的转移能力比较。结果发现 NMT1 或 NMT2 敲减组细胞较对照

组细胞,穿膜细胞数显著减低($P<0.01$),转移能力受到抑制(图 3 及表 5)。

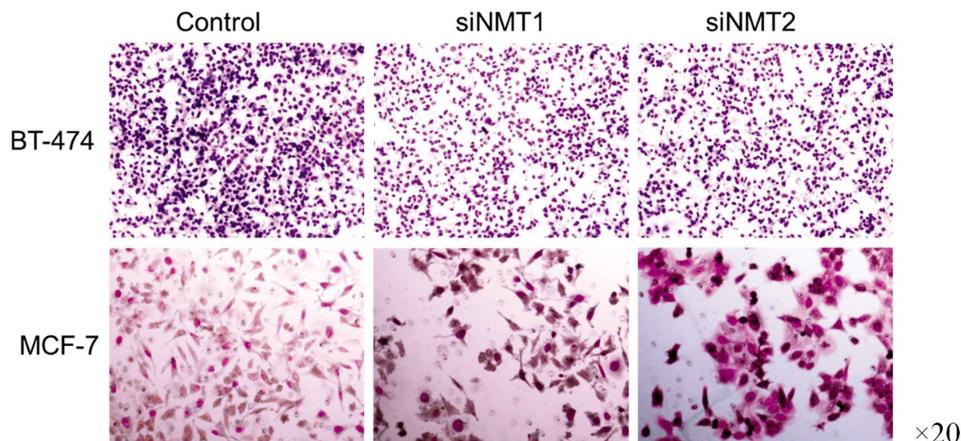


图 3 对照组及 NMT1、NMT2 敲减组乳腺癌细胞转移能力比较

Fig.3 The migration ability of breast cancer cells with NMT1/NMT2 inhibition or controls

表 5 对照组及 NMT1、NMT2 敲减组乳腺癌细胞转移能力比较(n=3)

Table 5 The migration ability of breast cancer cells with NMT1/NMT2 inhibition or controls

Cells	Groups	Cells/HP	q	P
BT-474	Control	406±18		
	siNMT1	272±13	11.70	<0.0001
	siNMT2	273±10	11.64	<0.0001
MCF-7	Control	173±10		
	siNMT1	87±16	8.80	0.0002
	siNMT2	101±10	7.40	0.0006

Note: Compare to the control.

3 讨论

蛋白的豆蔻酰化修饰在 1982 年首次被报道,被视为是一种不可逆的蛋白修饰,在不同蛋白发挥众多生物学功能中扮演了重要角色,比如细胞信号传导、细胞内跟踪、亚细胞定位、蛋白蛋白相互作用和蛋白脂质相互作用^[20]。NMT 是一种在细胞内普遍存在的可以识别并催化某些特定肽段发生豆蔻酰化的关键酶。越来越多的证据表明,NMT 表达异常与人类的癌症发生发展密切相关^[21,22],然而在乳腺癌的研究报导中较少。因此,本研究从 NMT 在乳腺癌组织中的表达意义及对乳腺癌细胞的增殖侵袭能力影响开展研究。

本研究首先应用 ELISA 检测 NMT1 和 NMT2 在乳腺癌中的表达含量,我们发现 NMT1 及 NMT2 在发生淋巴结转移、II-I/IV 期患者的乳腺癌组织中表达显著升高,表明豆蔻酰化修饰在乳腺癌细胞转移、疾病进程中异常活化,可能起到了关键作用。Mackey 等人^[23]在一项 706 例乳腺癌患者的研究中发现:NMT1 及 NMT2 高表达与高组织级别、高表达 Ki67 以及低表达激素受体有关;而 NMT2 高表达与不良预后有关,此项结果也证实了 NMT1 和 NMT2 在乳腺癌中的恶性表现。在其他肿

瘤研究中有也发现了 NMT1 与 NMT2 在肿瘤组织中过表达,且过表达与不良临床表型有关。Sun 等人^[23]发现 NMT1 在膀胱癌组织中表达升高,并且其高表达与患者预后负相关。NMT1 在肝癌中发现其表达水平与预后不良有关。导致临床表型相关性提示 NMT1 及 NMT2 可能通过催化癌基因的豆蔻酰化修饰,增加其促癌活性有关。据报导,Src 家族激酶(Src family kinases, SFKs)的豆蔻酰化可增强其稳定性,与前列腺癌的增殖、迁移和侵袭能力有着正相关^[24]。NMT1 在膀胱癌中过高表达促进 LAMTOR1 蛋白发生过度的豆蔻酰化修饰,增强 LAMTOR1 蛋白的稳定性,从而促进了膀胱癌的发生发展,并进一步增强 mTOR 信号通路^[23]。本研究发现 NMT 表达随着疾病进程升高,可能通过增强癌基因的豆蔻酰化修饰及其功能,促进乳腺癌发生,但其具体机制还需进一步研究。

鉴于 NMT 表达在淋巴结转移和晚期患者组织中升高,我们推测 NMT 与维持乳腺癌增殖和转移中有密切关系。我们发现敲减 NMT1 或 NMT2 后,乳腺癌细胞增殖能力显著减低;同时利用 Transwell 小室,我们也发现了下调 NMT1 或 NMT2 后,乳腺细胞转移能力显著减弱,从而证实我们的假设即 NMT 在维持乳腺癌恶性肿瘤生物学特性中起到了至关重要的作用。

此外,本研究设计针对NMT1及NMT2的siRNA对乳腺癌细胞具有显著抑制效应,提示NMT1及NMT2为临床治疗较有潜力的干预靶点。近年来发现不同的NMT抑制剂应用于癌细胞系或动物模型^[25-27]。有机金属化合物三二亚苄基丙酮二钯(tris DBA palladium)是一种有效的NMT1抑制剂,可在体外降低胰腺癌细胞的增殖和集落形成,并抑制体内原位小鼠模型的生长、腹水产生和远处转移^[28]。B13是一种人工合成的myristoyl-CoA类似物,靶向NMT的活性。B13抑制成纤维细胞生长因子受体底物2(fibroblast growth factor receptor substrate 2, FRS2α)豆蔻酰化,从而抑制癌细胞增殖、迁移和异种移植肿瘤的生长^[29,30]。针对NMT1和NMT2的抑制剂PCLX-001可抑制B细胞受体信号通路,从而杀伤淋巴瘤细胞^[31]。因此,本研究设计NMT1和NMT2的siRNA为乳腺癌治疗提供了潜在应用依据。

综上所述,NMT1及NMT2在乳腺癌的发生、发展过程中起到关键作用,敲减NMT1及NMT2可削弱乳腺癌细胞增殖和转移能力。NMT1及NMT2可能通过增强细胞内的豆蔻酰化修饰水平。靶向抑制NMT1及NMT2有望成为干预乳腺癌的重要分子靶点。

参考文献(References)

- [1] Harborg S, Zachariae R, Olsen J, et al. Overweight and prognosis in triple-negative breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis[J]. NPJ Breast Cancer, 2021, 7(1): 119-220
- [2] Lukasiewicz S, Czeczelewski M, Forma A, et al. Breast Cancer-Epidemiology, Risk Factors, Classification, Prognostic Markers, and Current Treatment Strategies-An Updated Review [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(17): 4287
- [3] da Costa Vieira RA, Andrade WP, Vieira SC, et al. Surgical management of locally advanced breast cancer: Recommendations of the Brazilian Society of Surgical Oncology [J]. J Surg Oncol, 2022, 126(1): 57-67
- [4] Desai P, Aggarwal A. Breast Cancer in Women Over 65 years- a Review of Screening and Treatment Options [J]. Clin Geriatr Med, 2021, 37(4): 611-623
- [5] Marinopoulos S, Dimitrakakis C, Kalampalikis A, et al. Adjuvant Treatment of Elderly Breast Cancer Patients: Offer the Best Chances of Cure[J]. Breast Care (Basel), 2022, 17(1): 71-80
- [6] Di Iorio P, Ronci M, Giuliani P, et al. Pros and Cons of Pharmacological Manipulation of cGMP-PDEs in the Prevention and Treatment of Breast Cancer[J]. Int J Mol Sci, 2021, 27; 23(1): 262-264
- [7] Meinnel T, Dian C, Giglione C. Myristylation, an Ancient Protein Modification Mirroring Eukaryogenesis and Evolution [J]. Trends Biochem Sci, 2020, 45(7): 619-632
- [8] Yuan M, Song ZH, Ying MD, et al. N-myristylation: from cell biology to translational medicine [J]. Acta Pharmacol Sin, 2020, 41 (8): 1005-1015
- [9] Giglione C, Meinnel T. Mapping the myristoylome through a complete understanding of protein myristylation biochemistry [J]. Prog Lipid Res, 2022, 85[Epub ahead of print]
- [10] Udenwobele DI, Su RC, Good SV, et al. Myristylation: An Important Protein Modification in the Immune Response [J]. Front Immunol, 2017, 8(2): 751-753
- [11] Martin DD, Beauchamp E, Berthiaume LG. Post-translational myristylation: Fat matters in cellular life and death [J]. Biochimie, 2011, 93(1): 18-31
- [12] Sharma RK. Potential role of N-myristoyltransferase in pathogenic conditions [J]. Potential role of N-myristoyltransferase in pathogenic conditions[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2004, 82(10): 849-859
- [13] Perinpanayagam MA, Beauchamp E, Martin DD, et al. Regulation of co- and post-translational myristylation of proteins during apoptosis: interplay of N-myristoyltransferases and caspases[J]. FASEB J, 2013, 27(2): 811-21
- [14] Ma X, Yuan Y, Lu J, et al. Long noncoding RNA ANCR promotes migration, invasion, EMT progress and stemness of nasopharyngeal carcinoma cells via the miR-4731-5p/NMT1 axis[J]. Pathol Res Pract, 2021, 224[Epub ahead of print]
- [15] Chen YC, Navarrete MS, Wang Y, et al. N-myristoyltransferase-1 is necessary for lysosomal degradation and mTORC1 activation in cancer cells[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 11952-11953
- [16] Zhu G, Wang F, Li H, et al. N-Myristylation by NMT1 Is POTE-E-Dependent to Stimulate Liver Tumorigenesis via Differentially Regulating Ubiquitination of Targets [J]. Front Oncol, 2021, 11(1): 681366-681370
- [17] Beauchamp E, Yap MC, Iyer A, et al. Targeting N-myristylation for therapy of B-cell lymphomas[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 5348-5352
- [18] Kosciuk T, Price IR, Zhang X, et al. NMT1 and NMT2 are lysine myristoyltransferases regulating the ARF6 GTPase cycle [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1067-1080
- [19] Khalil R, Ashraf S, Khalid A, et al. Exploring Novel N-Myristoyl-transferase Inhibitors: A Molecular Dynamics Simulation Approach [J]. ACS Omega, 2019, 4(9): 13658-13670
- [20] Wang B, Dai T, Sun W, et al. Protein N-myristylation: functions and mechanisms in control of innate immunity[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(4): 878-888
- [21] Mackey JR, Lai J, Chauhan U, et al. N-myristoyltransferase proteins in breast cancer: prognostic relevance and validation as a new drug target[J]. Breast Cancer Res Treat, 2021, 186(1): 79-87
- [22] Zhang J, Zeng Y, Xing Y, et al. Myristylation-mediated phase separation of EZH2 compartmentalizes STAT3 to promote lung cancer growth[J]. Cancer Lett, 2021, 516(12): 84-98
- [23] Kim S, Alsaidan OA, Goodwin O, et al. Blocking Myristylation of Src Inhibits Its Kinase Activity and Suppresses Prostate Cancer Progression[J]. Cancer Res, 2017, 77(24): 6950-6962
- [24] Das U, Kumar S, Dimmock JR, et al. Inhibition of protein N-myristylation: a therapeutic protocol in developing anticancer agents[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2012, 12(6): 667-692

- [11] 钟海彬, 彭伟强, 吴海涛, 等. 口腔幽门螺杆菌根除预防胃内幽门螺杆菌感染的多中心研究 [J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(2): 146-148, 162
- [12] Yu J, Yang P, Qin X, et al. Impact of smoking on the eradication of *Helicobacter pylori* [J]. *Helicobacter*, 2022, 27(1): e12860
- [13] 蒋卫民, 何向阳, 张莹, 等. 慢性胃病患者胃蛋白酶原 I、II 水平与幽门螺旋杆菌感染的关系研究 [J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(14): 2722-2725, 2737
- [14] Ferro A, Morais S, Pelucchi C, et al. Smoking and *Helicobacter pylori* infection: an individual participant pooled analysis (Stomach Cancer Pooling- StoP Project)[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2019, 28(5): 390-396
- [15] Hu N, Wang K, Zhang L, et al. Epidemiological and clinical features of functional dyspepsia in a region with a high incidence of esophageal cancer in China [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 134(12): 1422-1430
- [16] Sanches-Lopes JM, Ferreira GC, Pinheiro LC, et al. Consistent gastric pH-dependent effects of suppressors of gastric acid secretion on the antihypertensive responses to oral nitrite [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 7(177): 113940
- [17] 张明伟, 汪建超, 王启之, 等. 安徽中南部地区幽门螺杆菌流行病学调查[J]. 中华全科医学, 2020, 18(8): 1395-1398
- [18] Cai Q, Zhu C, Yuan Y, et al. Development and validation of a prediction rule for estimating gastric cancer risk in the Chinese high-risk population: a nationwide multicentre study[J]. *Gut*, 2019, 68(9): 1576-1587
- [19] Deng G, Wu Y, Song Z, et al. Tea Polyphenol Liposomes Overcome Gastric Mucus to Treat *Helicobacter pylori* Infection and Enhance the Intestinal Microenvironment[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(11): 13001-13012
- [20] Park H, Cho D, Huang E, et al. Amelioration of Alcohol Induced Gastric Ulcers Through the Administration of Lactobacillus plantarum APSulloc 331261 Isolated From Green Tea [J]. *Front Microbiol*, 2020, 17(11): 420
- [21] Lin Y, Wu C, Yan W, et al. Sociodemographic and Lifestyle Factors in Relation to Gastric Cancer in a High-Risk Region of China: A Matched Case-Control Study[J]. *Nutr Cancer*, 2020, 72(3): 421-430
- [22] Nabavi-Rad A, Azizi M, Jamshidizadeh S, et al. The Effects of Vitamins and Micronutrients on *Helicobacter pylori* Pathogenicity, Survival, and Eradication: A Crosstalk between Micronutrients and Immune System[J]. *J Immunol Res*, 2022, 16(3): 4713684
- [23] Zhao S, Wan D, Zhong Y, et al. 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D3 protects gastric mucosa epithelial cells against *Helicobacter pylori*-infected apoptosis through a vitamin D receptor-dependent c-Raf/MEK/ERK pathway[J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 801-809
- [24] 王玉婷, 陆红. 幽门螺杆菌阴性的消化性溃疡 [J]. 胃肠病学, 2020, 25(3): 180-182
- [25] 黄学. 胃蛋白酶原、胃泌素-17 和幽门螺杆菌抗体在早期胃癌筛查中的研究进展[J]. 海南医学, 2020, 31(18): 2414-2418
- [26] Jiang J, Chen Y, Shi J, et al. Population attributable burden of *Helicobacter pylori*-related gastric cancer, coronary heart disease, and ischemic stroke in China[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2017, 36(2): 199-212
- [27] Shindler-Itskovitch T, Chodick G, Shalev V, et al. *Helicobacter pylori* infection and prevalence of stroke [J]. *Helicobacter*, 2019, 24(1): e12553
- [28] 王怡茹, 张一凡, 韦婧, 等. 动脉粥样硬化炎症相关信号通路的研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(23): 4077-4080
- [29] Wang N, Zhou F, Chen C, et al. Role of Outer Membrane Vesicles From *Helicobacter pylori* in Atherosclerosis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 1(9): 673993
- [30] 蒋毅, 鲁锦国, 王四坤, 等. 原发性高血压患者颈动脉粥样硬化、新发心脑血管事件与幽门螺旋杆菌感染的关系[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(3): 511-514

(上接第 3833 页)

- [25] Brannigan JA, Wilkinson AJ. Drug discovery in leishmaniasis using protein lipidation as a target[J]. *Biophys Rev*, 2021, 13(6): 1139-1146
- [26] Xu M, Xie L, Yu Z, et al. Roles of Protein N-Myristylation and Translational Medicine Applications [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2015, 25(3): 259-268
- [27] Kosciuk T, Lin H. N-Myristoyltransferase as a Glycine and Lysine Myristoyltransferase in Cancer, Immunity, and Infections [J]. *ACS Chem Biol*, 2020, 15(7): 1747-1758
- [28] Elsey J, Bubley JA, Zhu L, et al. Palladium based nanoparticles for the treatment of advanced melanoma [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 3255-3256
- [29] Kallemeijn WW, Lueg GA, Faronato M, et al. Validation and Invalidation of Chemical Probes for the Human N-myristoyltransferases[J]. *Cell Chem Biol*, 2019, 26(6): 892-900
- [30] Sulejmani E, Cai H. Targeting protein myristylation for the treatment of prostate cancer[J]. *Oncoscience*, 2018, 5(1): 3-5
- [31] Beauchamp E, Yap MC, Iyer A, et al. Targeting N-myristylation for therapy of B-cell lymphomas[J]. *Nat Commun*, 2020, 22; 11(1): 5348-5350