

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.07.001

· 基础研究 ·

沉默 TIGAR 基因对非小细胞肺癌细胞增殖和代谢的影响 *

申梦琴 赵小平 赵 丽 黄 钢 刘建军[△]

(上海交通大学医学院附属仁济医院核医学科 上海 200127)

摘要 目的:通过沉默 TIGAR(Tp53 induced glycolysis and apoptosis regulator)基因,探讨其对非小细胞肺癌细胞增殖及代谢的影响及可能的机制。**方法:**用靶向 TIGAR 的 siRNA 沉默 TIGAR,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)及蛋白印迹(WB)分别检测 TIGAR mRNA 和蛋白表达水平,将敲除效率较好的敲除序列包装进重组慢病毒感染细胞构建稳定敲减 TIGAR 的细胞。通过 CCK-8 法、软琼脂克隆形成、FCM 法分别检测细胞的增殖速率、克隆形成能力和细胞周期分布;蛋白印迹法检测 TIGAR 沉默后周期相关蛋白 CDK4 和 p27 的表达情况。RT-qPCR 检测 TIGAR 对糖代谢相关酶表达的影响;¹⁸F-FDG、1-¹⁴C、6-¹⁴C 摄取实验分别检测相应的代谢流量,乳酸试剂盒和 ROS 试剂盒分布检测细胞乳酸生成和 ROS 水平。**结果:**转染 siTIGAR 或感染 shTIGAR 病毒后细胞 TIGAR 表达水平明显下降(P 值均<0.005)。成功构建了两株稳定敲减 TIGAR 的非小细胞肺癌细胞株,shTIGAR 组细胞增殖速率和克隆形成能力明显下降,细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期,P27 蛋白明显上调,CDK4 蛋白明显下调。沉默 TIGAR 促进细胞糖酵解速率和乳酸生成,抑制磷酸戊糖途径和氧化磷酸化,细胞 ROS 生成增加尤其是低氧情况下(P 值<0.05)。**结论:**下调 TIGAR 表达的非小细胞肺癌细胞增殖能力下降,其机制可能与调控 CDK4 和 P27 表达及代谢流量再分布相关。

关键词:非小细胞肺癌;TIGAR;RNA 干扰;细胞增殖;代谢流量

中图分类号:R-33;R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)07-1201-06

Effects of TIGAR Knockdown on the Proliferation and Metabolism of Human Non-small Cell Lung Cancer*

SHEN Meng-qin, ZHAO Xiao-ping, ZHAO Li, HUANG Gang, LIU Jian-jun[△]

(Department of Nuclear medicine, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200127, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of TIGAR on the proliferation and metabolism flux in non-small cell lung cancer and explore its possible mechanisms. **Methods:** A549 cells were transfected with two pair of siTIGAR or siNC (as the control). The efficiency of TIGAR silencing was detected by real-time fluorescence quantitative PCR and Western blotting, respectively. The effective shTIGAR was constructed into a recombinant lentiviral vector, and then infected cells. The proliferation ability, colony formation, cell cycle was detected by CCK-8 assay, soft agar assay and FCM assay, respectively. Western blotting determined the effect of TIGAR on the protein expression of P27 and CDK4. The mRNA levels of several glycolysis enzyme was detected by RT-qPCR when knockdown TIGAR. ¹⁸F-FDG intake, 1-¹⁴C intake, 6-¹⁴C intake assay indicated relevant metabolism flux. Lactate and ROS was quantified by kits. **Results:** The expression of TIGAR mRNA and protein were strongly decreased after transfection with siTIGAR (both P value<0.005). The NSCLC cells stably knockdown TIGAR were successfully constructed. The depressed proliferation and cloning ability, arrested in G₀/G₁ phase were found in stably knockdowned-TIGAR cells. The protein of P27 was upregulated while CDK4 was downregulated by TIGAR knockdown. TIGAR gene silencing significantly promoted the glycolysis and lactate production and inhibited the flux of pentose phosphate pathway and oxidative phosphorylation. Inhibition of TIGAR induced the ROS Production, especially in the hypoxia status. **Conclusion:** TIGAR silencing may inhibit the proliferation via regulating the P27 and CDK4 expressions and the redistribution of metabolism flux.

Key words: Non-small cell lung cancer; TIGAR; RNA interference; Cell Proliferation; Metabolism flux

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)07-1201-06

前言

肺癌是全球发病率和死亡率均居首位的恶性肿瘤^[1],我国

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81471687)

作者简介:申梦琴(1991-),女,硕士研究生,研究方向:肿瘤代谢,电话:18621782117, E-mail: shenmengqin2013@126.com

△ 通讯作者:刘建军,男,博士,教授,研究方向:肿瘤代谢,电话:021-68383963, E-mail: nuclearj@163.com

(收稿日期:2017-12-08 接受日期:2017-12-28)

近年肺癌死亡率明显上升并有继续增长的趋势^[2]。非小细胞肺癌占全部肺癌总数的 80%左右,包括腺癌、鳞癌、大细胞癌和腺鳞癌。大部分非小细胞肺癌患者在诊断时已属晚期,5 年生存率低^[3]。尽管肺癌的临床靶向治疗已取得一定的进步,但有效的肺癌早期诊断与治疗亟待解决。

TIGAR 即 TP53(肿瘤蛋白 53)诱导的糖酵解和凋亡调节因子,定位于染色体 12p13-3,包括 6 个编码外显子和 2 个 P53 结合位点^[4]。研究显示 TIGAR 存在与蛋白磷酸葡萄糖变构酶(PGM)家族蛋白有相似之处,具有双磷酸酶作用,能够分解果糖 -2,6- 双磷酸(F-2, 6-BP),果糖 -2,6- 双磷酸是磷酸果糖激酶(PFK)的变构激活剂。因此,TIGAR 通过分解 F-2,6-BP 抑制 PFK 活性,将代谢流量从糖酵解途径转向磷酸戊糖途径^[5]。众所周知,磷酸戊糖途径为核酸的合成提供磷酸核糖,生成的 NADPH 是清除细胞内 ROS 的主要来源。目前,国内外的研究显示 TIGAR 在保护细胞免受 ROS 诱导的凋亡及 DNA 损伤修复上发挥作用^[6]。本课题组前期分析肺癌临床数据显示 TIGAR 蛋白与肺癌发生发展及患者预后存在明显相关性。结合临床数据分析,我们推测 TIGAR 可能具有促进 NSCLC 增殖的作用。因此,本研究主要探讨了 TIGAR 对 NSCLC 细胞增殖和代谢的影响及相关作用机制,为肺癌靶向治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞及试剂

非小细胞肺癌细胞 A549、H1299、H1650 均由本实验室保存。高糖 DMEM 购自江苏凯基生物,胎牛血清购自美国 Gibco 公司;siTIGAR(或 shTIGAR)和 siNC(或 shNC)由上海吉玛公司合成,qPCR 引物由上海铂尚生物技术有限公司,转染试剂 lipofect2000 购自美国 Invitrogen;Western 裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司,PVDF 膜购自美国 GE 公司,化学发光 HRP 底物溶液购自美国 Millipore 公司;RNA 抽提试剂盒购自美国 OMEGA 公司;反转录试剂盒和 RT-qPCR 试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司;TIGAR 抗体,CDK4 抗体和 P27 抗体购自美国 Abcam 公司, β -actin 抗体、 β -Tubulin 抗体、兔二抗及鼠二抗购自 Proteintech 公司;乳酸检测试剂盒和 ROS 检测试剂盒购自南京建成生物技术有限公司;CCK8 试剂盒购自日本同仁公司;细胞周期检测试剂盒购自达科为生物技术公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 所有的细胞均培养在含 10%胎牛血清、青霉素(U/mL)、链霉素(100 μ g/mL)的高糖 DMEM,培养条件为 37℃,5% CO₂,细胞融合率为 85%时,0.25%胰酶消化传代,所有的培养液使用前均预热到 37℃。

1.2.2 细胞转染和稳定敲减细胞构建 将生长处于对数期的细胞铺于 6 孔板过夜,按照转染试剂说明书稀释转染试剂(7.5 μ L/孔)和 siRNA(75 pmol/孔)室温静置 5 min 后混合,20 min 均匀加到每孔中,轻混匀后放置培养箱,48 h 后进行实验或检测。将生长处于对数期的细胞铺在 6 孔板中过夜,按照慢病毒感染操作说明加入慢病毒,48 h 后镜下观察细胞 GFP 表达情况,然后用 Puromycin 筛细胞,最后挑单克隆,验证蛋白敲除效率。

1.2.3 CCK8 检测细胞增殖和软琼脂克隆形成实验 将上述

构建好的稳定敲减细胞计数后铺在 96 孔板中,每孔 3000 个细胞,DMEM(100 μ L/孔)加入 CCK8(10 μ L/孔)混合均匀后加到 96 孔板后,培养箱放置 1 h 后检测波长为 450 nm 处的吸光度。下层琼脂糖浓度为 0.6%,上层琼脂糖浓度为 0.4%,将 100 个细胞与上述上层琼脂糖混合完全后覆盖在下层琼脂糖上,室温放置 30 min 后每孔加入培养液没过表面,2 周后进行固定染色拍照计数。

1.2.4 FCM 法检测细胞周期 按照细胞周期检测试剂盒说明书,细胞消化后用 PBS 清洗两遍后用检测试剂重悬完全后,数据的收集和分析均来自德国耶拿流式细胞仪。

1.2.5 放射性同位素示踪检测代谢流量 细胞铺板过夜,第二天进行 siTIAGR(或 siNC)转染,48 h 后弃上清用 PBS 清洗细胞残渣,每孔加入含 ¹⁸F-FDG 的 500 μ L PBS(4uCi/mL),放置培养箱 1h 后吸弃上清,用 PBS 轻洗两次后加入 0.1 M NaOH 500 μ L/孔,将裂解充分的细胞液用 SN-695B γ 射线检测仪检测,¹⁸F-FDG 摄取量 = CPM 值 / 细胞数。¹C 和 ⁶C 放射性同位素示踪检测方法类似,每孔加入 0.1 uCi/mL¹C 或 ⁶C 稀释液,温育 1 h 后加入 500 μ L 1M H₂SO₄,培养皿内挂置 CO₂ 吸收剂,37℃无 CO₂ 温箱 1 h,最后将 CO₂ 吸收剂和 2 mL 闪烁剂充分混匀后检测。

1.2.6 乳酸检测 转染 24 h 后细胞换液,转染 48 h 时吸取各上清 10 μ L 用于检测乳酸浓度,收集细胞用于细胞计数。按照乳酸试剂盒说明书进行操作,最后在波长为 530 nm 处检测吸光度,跟标准样品的 OD 值算出相应样本的乳酸浓度,计算公式:样本乳酸浓度 = (样品 OD 值 - 空白 OD 值) / (标准品 OD 值 - 空白 OD 值) * 标准品乳酸浓度。

1.2.7 实时荧光定量 PCR 收集细胞沉淀抽提 RNA,检测最终 RNA 浓度做反转录,以 CB 为内参,检测 TIGAR、PFKFB3、LDHB、MCT1、MCT2 和 PKM2 的 mRNA 水平,引物序列详见表 1,实时荧光定量 PCR 的反应条件为 95℃ 5 min,95℃ 10s,60℃ 30 s,美国 StepOnePlus Real-Time PCR 系统进行数据的采集和分析。

表 1 qPCR 引物序列
Table 1 Primers used in Real-Time PCR

Genes	Primers
TIGAR	F: 5'-CTCTGACTGTTGTCCGGCAT-3' R: 5'-TGCATGGTCTGCTTTGTCCT-3'
PFKFB3	F: 5'-AGCCCGATTACAAAGACTGC-3' R: 5'-GGTAGCTGGCTTCATAGCAAC-3'
LDHB	F: 5'-TACAGGATCATTGGCTACACACC-3' R: 5'-GGTCACATCGCTCCAGACT-3'
MCT1	F: 5'-AGGTCCAGTTGGATACACCCC-3' R: 5'-GCATAAGAGAAGCCGATGGAAAT-3'
MCT2	F: 5'-GGGTTGGATTGTGGTTGGAG-3' R: 5'-TCCTGCGTACATAACAGCCAG-3'
PKM2	F: 5'-GGGCCATAATCGTCCTCACC-3' R: 5'-TTGCACAGCACAGGAAGAT-3'

1.2.8 蛋白印迹法 收集细胞沉淀加入细胞裂解液(含蛋白酶抑制剂 PMSF 和 Cocktail 混合剂)冰上裂解 30 min 后,15,000×g 4℃ 30 min,取上清加入 Loading Buffer,充分混匀后 100℃ 10 min 后上样跑 SDS-PAGE 电泳,然后转膜封闭孵一抗过夜,1×TBST 清洗 3 次,每次 5min,孵二抗 TBST 洗三次后显影。

1.3 统计学方法

所有的实验均独立进行三次重复,采用 GraPhPad Prism7 统计学软件进行数据分析处理,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间两两比较采用 t 检验,计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 视为具有统计学差异。

2 结果

2.1 瞬敲和稳敲 TIGAR 肺癌细胞的敲除效率

将两对 siTIGAR 瞬时转染至 A549,蛋白印迹检测和实时荧光定量 PCR 结果(图 1A)显示 TIGAR 表达明显下调(P 值均 < 0.0001),其中 siTIAGR-1 的 mRNA 和蛋白水平分别下降约 85%和 80%,siTIAGR-2 的 mRNA 和蛋白水平平均下降约 75%和 72%。将敲除效率较好的 siTIGAR-1 序列合成相应的 shTIGAR 序列插入慢病毒载体内,进行病毒包装构建稳定敲减 TIGAR 细胞株,荧光显微镜下观察到绝大部分细胞着绿色荧光,验证结果(图 1B-1C)显示稳定敲减 TIGAR 的两株细胞, TIGAR 的 mRNA 和蛋白均明显下调(P 值均 < 0.005)。

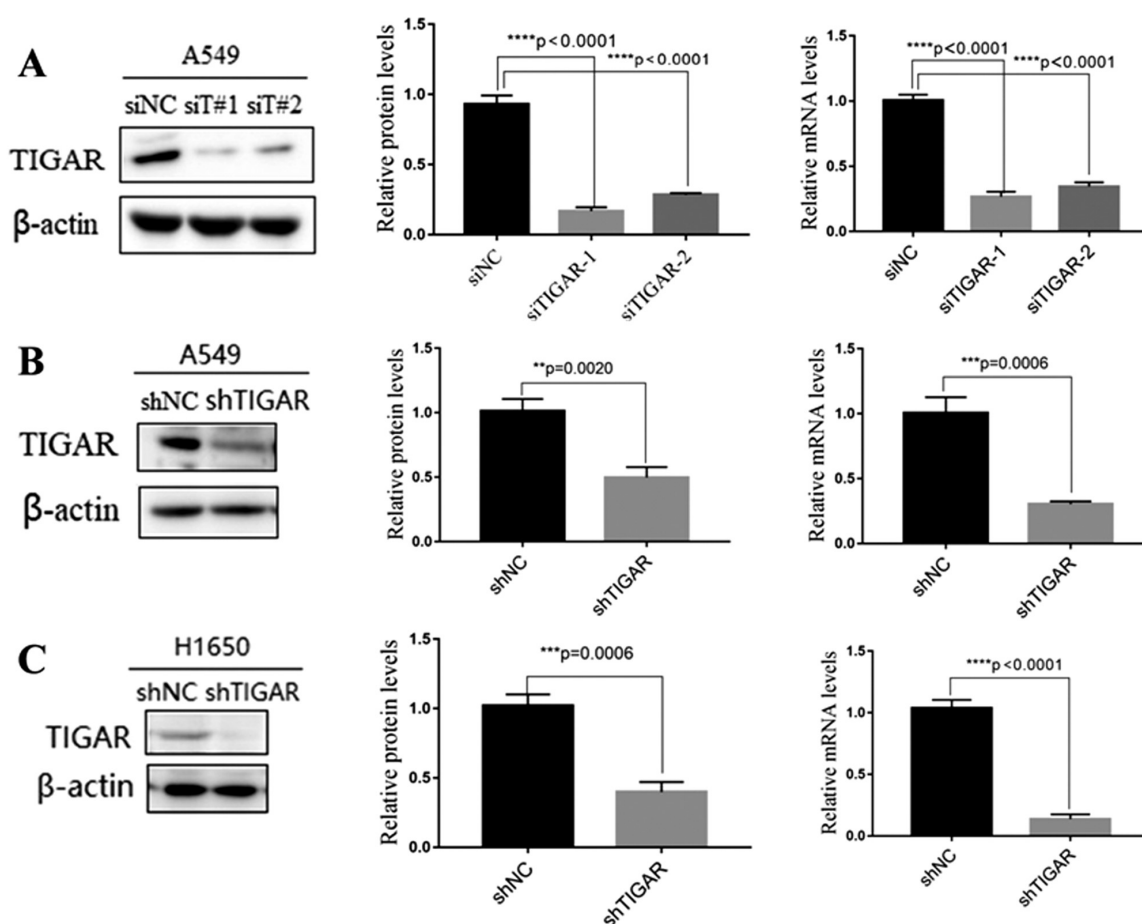


图 1 实时定量 PCR 和蛋白印迹检测瞬敲 TIGAR(A)和稳敲 TIGAR(B-C)细胞的 TIGAR 敲除效率

Fig.1 The efficiency of TIGAR knockdown in instantly (A) and stably (B-C) knockdown cells was determined by Real-time quantitative PCR (left) and Western blotting (right). siNC (shNC): cells were transfected with negative control siRNA (shRNA); siTIGAR (shTIGAR): cells were transfected with siTIGAR (shTIGAR).

2.2 沉默 TIGAR 基因对肺癌细胞增殖和周期的影响

软琼脂克隆形成实验结果(图 2A)显示稳定敲减 TIGAR 组细胞克隆形成数量明显下降(P 值 = 0.0002)。另外用 CCK8 检测细胞的增殖速率,两株稳定敲减 TIGAR 细胞株的结果显示(图 2B-2C)shNC 组细胞增殖速率明显高于 shTIGAR 组。FCM 法检测结果(图 2D)显示 H1299 shNC 细胞 G_0/G_1 期、S 期、 G_2 期细胞所占比例分别是 56.1%、32.9%、11%,而 H1299 shTIGAR 细胞 G_0/G_1 期、S 期、 G_2 期细胞所占比例分别是 61.96%、26.04%、12.5%,与对照组相比,shTIGAR 组中 G_0/G_1 期细胞所占比例明

显升高(P 值 < 0.05)。

2.3 沉默 TIGAR 对细胞周期相关蛋白 P27 和 CDK4 表达的影响

上面的研究结果显示敲减 TIGAR 后细胞周期停滞在 G_0/G_1 期。我们知道细胞周期依赖激酶(cyclin-dependent kinase 4, CDK4)促使细胞从 G_1 期进入 S 期,进而促进细胞增殖^[7],另外 P27 作为一种细胞周期依赖激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitor, CDKI),主要通过抑制细胞周期蛋白 CDK2 和 CDK4 等 G_1 期激酶复合物,使细胞不能通过 G_1 期^[8],所以我们推测 TIGAR 促进肿瘤增殖可能是通过调节 CDK4 和 P27 蛋

白。在稳定敲减 TIGAR 的细胞中,CDK4 明显下调,P27 蛋白明显上调(图 3A-B)。因此,TIGAR 可能通过调控 CDK4、P27 来调

控细胞周期,从而影响细胞增殖。

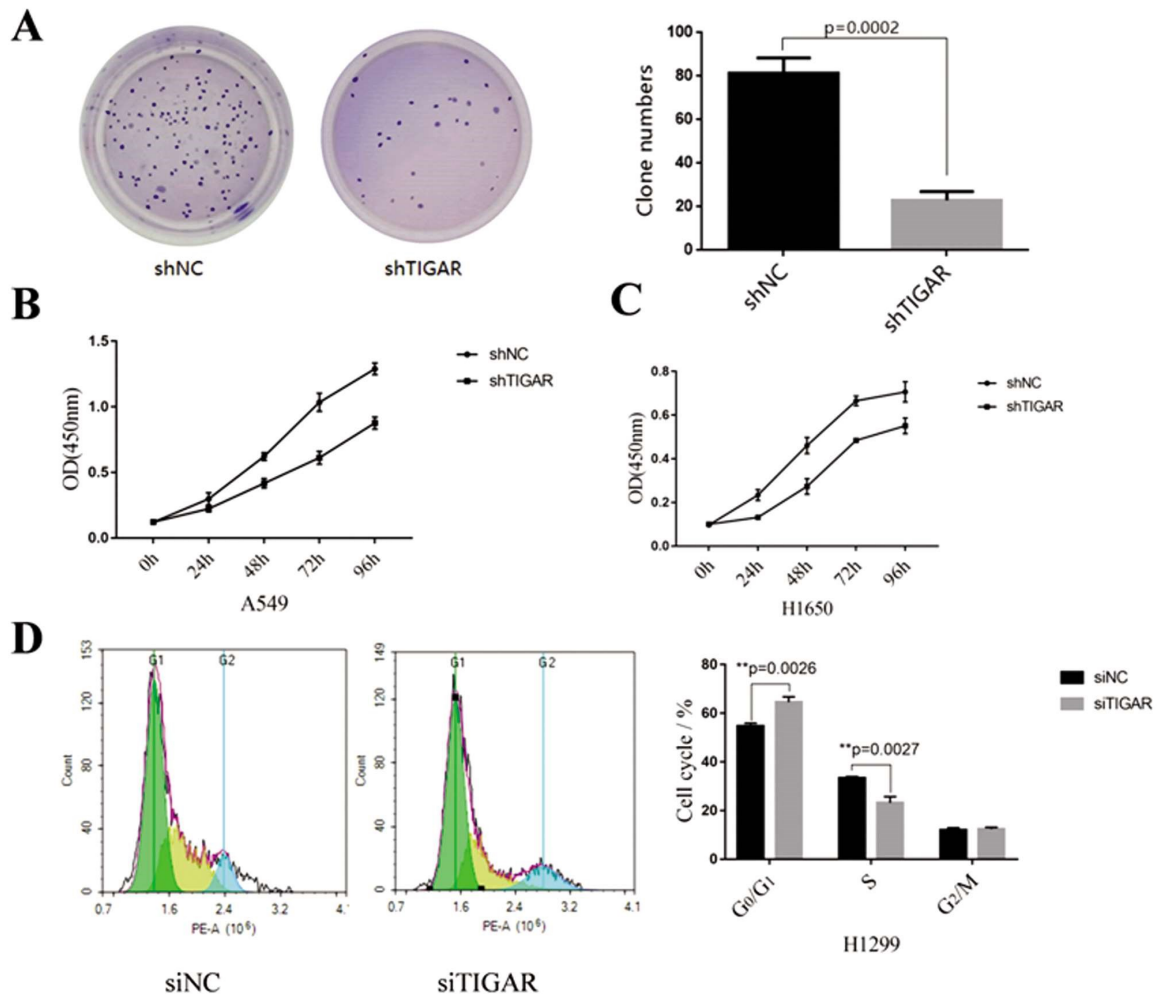


图 2 沉默 TIGAR 基因对人非小细胞肺癌细胞增殖、克隆形成和细胞周期分布的影响

Fig.2 The effect of TIGAR silencing on the clone forming ability (A), proliferation (B) and cell cycle distribution (C) in human non-small cell lung cancer cells was detected by soft clone-forming assays, CCK8 and FCM assay, respectively. siNC (shNC): cells were transfected with negative control siRNA (shRNA); siTIGAR (shTIGAR): cells were transfected with siTIGAR (shTIGAR).

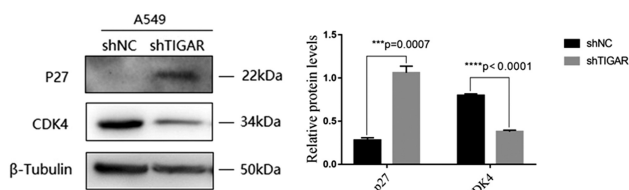


图 3 实时定量 PCR 和蛋白印迹法检测 TIGAR 对 CDK4、P27 的 mRNA 和蛋白表达的影响

Fig.3 The mRNA (B) and Protein (A) expression of CDK4 and P27 upon TIGAR knockdown were determined by Real-time quantitative PCR and Western blotting, respectively.

2.4 TIGAR 对肺癌细胞代谢的影响

首先检测敲减 TIGAR 糖代谢相关酶,检测 PFKFB3、LDHB、MCT1、MCT2 的 mRNA 表达水平变化。PFKFB3 是糖酵解关键酶^[9],LDHB 将乳酸脱氢生成丙酮酸进入三羧酸循环^[10],MCT1 和 MCT2 则为重要的乳酸转运体,与糖酵解流量方向相反^[11]。敲减 TIGAR 结果(图 4A)显示 PFKFB3 上调,LDHB、

MCT1 和 MCT2 下调(P 值均<0.05),提示 TIGAR 抑制糖酵解促进氧化磷酸化。进一步利用放射性同位素示踪法检测代谢流量,结果显示敲减 TIGAR 后 ¹⁸F-FDG 摄取增加(图 4B)且乳酸生成增加(图 4C),提示 TIGAR 抑制糖酵解和乳酸生成。用 ¹⁴C 标记葡萄糖 1 位碳原子检测细胞磷酸戊糖途径和氧化磷酸通路流量,用 ¹⁴C 标记葡萄糖 6 位碳原子检测细胞氧化磷酸通路流量,结果(图 4D-4E)显示敲减 TIGAR 磷酸戊糖途径和氧化磷酸通路流量明显下降。由此可见,TIGAR 促进磷酸戊糖途径和氧化磷酸,抑制糖酵解。

2.5 敲减 TIGAR 对肺癌细胞 ROS 生成的影响

如图 5A 所示,敲减 TIGAR 的细胞 ROS 生成明显升高,图片显示为绿色荧光强度明显增强。快速增殖的实体肿瘤常常处于低氧状态,我们进一步探索低氧条件下 TIGAR 对细胞 ROS 的作用,结果(图 5B)显示与常氧条件下相比,低氧下敲减 TIGAR 组与对照组细胞 ROS 生成比明显上升,提示在低氧情况下 TIGAR 帮助细胞清除 ROS 的作用更明显,更有利于肿瘤细胞存活。

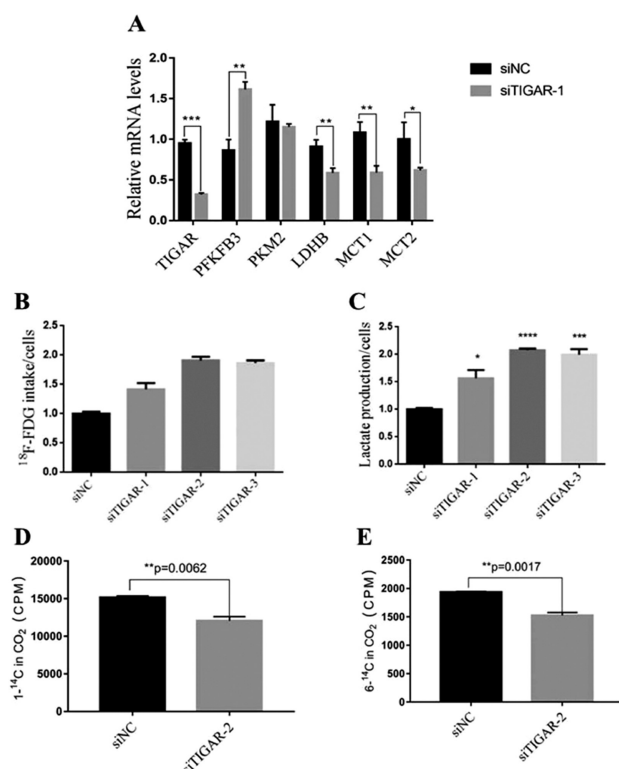


图4 TIGAR对糖酵解相关酶以及部分代谢流量的调节作用

Fig.4 The effect of TIGAR on glucose metabolism enzyme including PFKFB3, PKM2, MCT1, MCT2, and LDHB in mRNA level (A) was detected. The change of glucose intake(B), lactate production(C), metabolic fluxes both pentose phosphate pathway and oxidative phosphorylation(D) and metabolic flux of oxidative phosphorylation(E) were determined. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

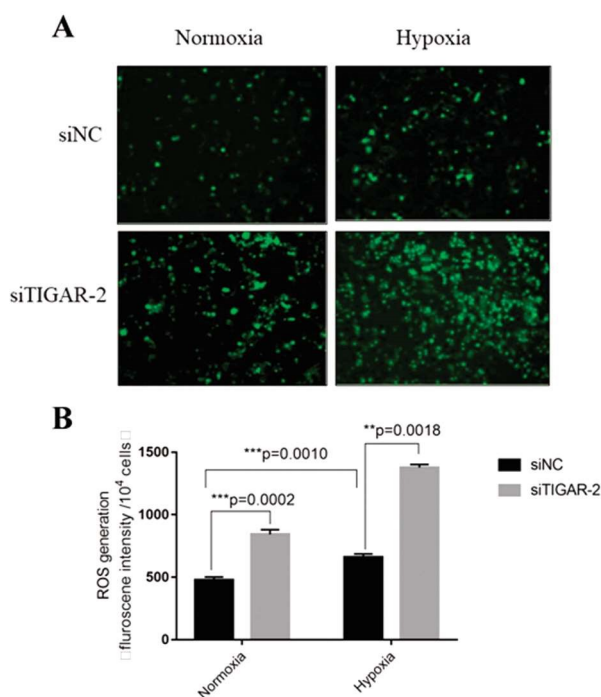


图5 正常氧和低氧情况下TIGAR对细胞活性氧簇(ROS)生成的影响

Fig.5 The effect of TIGAR on reactive oxygen species (ROS) in normoxia and hyoxia condition. The intensity of green fluorescence protein represents the ROS level (A, × 200)

3 讨论

越来越多的研究显示调节代谢通路对维持正常细胞生长和机体稳态有着非常重要的作用,代谢通路发生功能紊乱可以致病,比如肿瘤和糖尿病,而且靶向代谢酶的药物正用于肿瘤的治疗^[12]。与正常组织细胞相比,大部分肿瘤表现出糖摄取增加,即使氧气充足也偏向将葡萄糖酵解成乳酸,该效应称之为Warburg效应,近年研究强调代谢转化在肿瘤发展中的重要性。代谢酶分布与肿瘤发生发展之间的关系,使细胞正常生长或肿瘤恶性进展的各代谢酶之间的平衡关系仍未明确,需要更多的研究探索。

TIGAR作为一种果糖-2,6-双磷酸酶促进代谢流量转向磷酸戊糖途径,生成的NADPH具有抗氧化功能和促进脂代谢,核糖-5-磷酸用于DNA合成的,有研究报道在一些肿瘤组织中TIGAR表达增加^[13-15]。Yu等人研究发现TIGAR通过促进磷酸戊糖途径和Cdk4-ATM通路来促进DNA损伤修复,从而促进肿瘤细胞存活^[16]。Eric C.Cheung等人发现TIGAR是小肠再生以及小肠肿瘤形成所必须的^[17]。部分研究报道TIGAR通过调节RB-E2F1复合体诱导P53介导的细胞周期停滞,从而抑制肿瘤增殖,增加药物介导的肿瘤消退^[18]。尽管TIGAR是抑癌因子P53的下游靶基因,但是许多研究结果显示在肿瘤细胞中TIGAR表达不受P53调控,TIGAR的失控表达有助于肿瘤发生发展^[17]。我们的研究发现在非小细胞肺癌细胞株中,敲减TIGAR能明显降低细胞增殖速率和克隆形成能力。在进一步的机制探索中,我们发现TIGAR能调控细胞周期相关蛋白CDK4和P27的表达,CDK4与其他周期相关蛋白形成复合体促使细胞从G₁期过渡到S期,促进细胞增殖^[7],而P27主要通过抑制细胞周期蛋白CDK2和CDK4等G₁期激酶复合物,使细胞不能通过G₁期^[8],这就很好解释了敲减TIGAR细胞停滞在G₀/G₁期的现象。正是由于敲减TIGAR导致细胞停滞在G₀/G₁期,所以细胞增殖速率明显下降。

另外,本研究采用放射性核素示踪葡萄糖上的碳原子来反应代谢流量分布,试图从代谢角度阐述TIGAR促肿瘤细胞生长的机制。首先,我们通过对代谢相关酶PFKFB3、LDHB、MCT1、MCT2和PKM2在TIGAR敲减情况下mRNA水平的检测,发现抑制TIGAR增加促糖酵解的PFKFB3的表达,降低LDHB、MCT1和MCT2的表达,这提示TIGAR是一个抑制糖酵解和乳酸生成的代谢调节因子,在随后¹⁸F-FDG摄取和乳酸检测的结果验证了这一结论。用¹⁴C标记葡萄糖上的碳原子,检测CO₂的放射性计数来反应相关的代谢流量的变化,准确性更高。敲减TIGAR后,不管是1位还是6位碳来源的¹⁴C都明显下降,提示敲减TIGAR磷酸戊糖途径流量和氧化磷酸途径流量明显减低。越来越多的研究显示肿瘤通过将糖酵解代谢流量转向合成代谢途径(包括磷酸戊糖途径)来促进肿瘤发生发展,比如肺癌中PKM2发生突变后通过将糖酵解中间产物转向合成代谢通路(包括磷酸戊糖途径)促肿瘤细胞生长存活^[19];致癌因子Kras突变是胰腺胆管腺癌(PDAC)形成的标志,转录组学和代谢组学分析结果显示KrasG12D在调控肿瘤代谢中起关键作用,促进糖酵解流量转向磷酸戊糖途径^[20]。因此,我们推测敲减TIGAR后细胞增殖能力下降,可能与磷酸戊糖途径代谢

流量下降相关。

综上所述,抑制 TIGAR 表达能明显抑制非小细胞肺癌细胞的增殖速率和克隆形成能力,导致细胞周期阻滞,其可能是通过调控 P27、CDK4 蛋白表达和代谢流量分布实现的。因此, TIGAR 作为一种促癌基因,可为非小细胞肺癌的分子治疗提供新的靶点,为靶向代谢酶的药物治疗提供新的思路。

参考文献(References)

- [1] RL Siegel, KD Miller, A Jemal, et al. Cancer Statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67: 7-30
- [2] L Wang, C Yu, Y Liu, et al. Lung Cancer Mortality Trends in China from 1988 to 2013: New Challenges and Opportunities for the Government[J]. Int J Environ Res Public Health, 2016, 13(11): 1052-1063
- [3] M Julian R Molina, Ping Yang, Stephen D Cassivi, et al. Non-small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Survivorship[J]. Mayo Clin Proc, 2008, 83(5): 584-594
- [4] K Bensaad, A Tsuruta, MA Selak, et al. TIGAR, a P53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis[J]. Cell, 2006, 126(1): 107-120
- [5] DR Green, JE ChiPuk. P53 and metabolism: Inside the TIGAR[J]. Cell, 2006, 126 (1) 30-32
- [6] P Lee, KH Vousden, EC Cheung. TIGAR, TIGAR, burning bright[J]. Cancer Metab, 2014, 2(1):
- [7] MA Dickson. Molecular Pathways: CDK4 inhibitors for cancer therapy[J]. Clin Cancer Res, 2014, 20 (13) 3379-3383
- [8] MK Yoon, DM Mitrea, L Ou, et al. Cell cycle regulation by the intrinsically disordered proteins P21 and P27[J]. Biochem Soc Trans, 2012, 40(5): 981-988
- [9] Z Yang, JJ Goronzaya, CM Weyanda. The glycolytic enzyme PFKFB3 phosphofructokinase regulates autophagy [J]. Autophagy, 2014, 10 (2) 382-383
- [10] J Cui, M Quan, W Jiang, et al. Suppressed expression of LDHB promotes pancreatic cancer progression via inducing glycolytic phenotype[J]. Med Oncol, 2015, 32 (5): 143
- [11] AP HalestraP. The monocarboxylate transporter family Structure and functional characterization[J]. IUBMB Life, 2012, 64(1): 1-9
- [12] V Fritz, L Fajas. Metabolism and proliferation share common regulatory pathways in cancer cells[J]. Oncogene, 2010, 29(31): 4369-4377
- [13] EY Wong, SC Wong, CM Chan, et al. TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator promotes proliferation and invasiveness of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Oncol Lett, 2015, 9(2): 569-574
- [14] K Al-Khayal, M Abdulla, O Al-Obeed, et al. Identification of the TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator in various stages of colorectal cancer patients[J]. Oncol Rep, 2016, 35 (3): 1281-1286
- [15] M Hong, Y Xia, Y Zhu, et al. TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator protects from spontaneous apoptosis and predicts poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia[J]. Leuk Res, 2016, 50: 72-77
- [16] HP Yu, JM Xie, B Li, et al. TIGAR regulates DNA damage and repair through pentosephosphate Pathway and Cdk5-ATM pathway[J]. Sci Rep, 2015, 5: 9853
- [17] EC Cheung, D Athineos, P Lee, et al. TIGAR is required for efficient intestinal regeneration and tumorigenesis [J]. Dev Cell, 2013, 25 (5) 463-477
- [18] E Madan, R Gogna, P Kuppusamy, et al. TIGAR induces P53-mediated cell-cycle arrest by regulation of RB-E2F1 complex[J]. Br J Cancer, 2012, 107(3): 516-526
- [19] D Anastasiou, G Poulogiannis, JM Asara, et al. Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses[J]. Science, 2011, 334(6060): 1278-1283
- [20] H Ying, AC Kimmelman, CA Lyssiotis, et al. Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism[J]. Cell, 2012, 149(3): 656-670
- [20] Choi J, Ou J H. Mechanisms of liver injury. III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006, 290(5): G847-G851
- [21] Horimoto M, Fülöp P, Derdák Z, et al. Uncoupling protein-2 deficiency promotes oxidant stress and delays liver regeneration in mice [J]. Hepatology, 2004, 39(2): 386-392
- [22] Cortez-Pinto H, Yang S Q, Lin H Z, et al. Bacterial lipopolysaccharide induces uncoupling protein-2 expression in hepatocytes by a tumor necrosis factor- α -dependent mechanism[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 251(1): 313-319
- [23] Shang Y, Liu Y, Du L, et al. Targeted expression of uncoupling protein 2 to mouse liver increases the susceptibility to lipopolysaccharide/galactosamine-induced acute liver injury [J]. Hepatology, 2009, 50(4): 1204-1216
- [24] Baffy G. Uncoupling protein-2 and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Front Biosci, 2005, 10: 2082-2096
- [25] Hodny Z, Kolarova P, Rossmeisl M, et al. High expression of uncoupling protein 2 in foetal liver[J]. FEBS Lett, 1998, 425(2): 185-190
- [26] Chavin K D, Yang S, Lin H Z, et al. Obesity induces expression of uncoupling protein-2 in hepatocytes and promotes liver ATP depletion[J]. J Biol Chem, 1999, 274(9): 5692-5700
- [27] 刘均艳,赵海红,朱敏,等.性肝衰竭大鼠肝组织解偶联蛋白 2 的表达及其与氧化损伤的关系[J].中华肝脏病杂志, 2011, 19(1): 55-57
- [28] Liu Jun-yan, Zhao Hai-hong, Zhu Min, et al. Relationship between the expression of uncoupling protein 2 and the damage by oxygen free radicals in acute liver failure rats [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2011, 19(1): 55- 57
- [29] Choi C H, Spooner R, DeGuzman J, et al. Porphyromonas gingivalis-nucleoside-diphosphate-kinase inhibits ATP-induced reactive-oxygen-species via P2X7 receptor/NADPH-oxidase signalling and contributes to persistence [J]. Cellular Microbiology, 2013, 15 (6): 961-976
- [30] 温暖,朱以祥,吕仁更,等.肝组织解偶联蛋白 2 在梗阻性黄疸及胆道再通实验大鼠模型中的表达及意义 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015 (01): 88- 92
- [31] Wen Nuan, Zhu Yi-xiang, Lv Ren-geng, et al. Expression and significance of UCP-2 in rats with obstructive jaundice and bile flow restoration[J]. Journal of Clinical Hepatology, 2015(01): 88-92
- [32] Jamal M H, Ali H, Dashti A, et al. Effect of epigallocatechin gallate on uncoupling protein 2 in acute liver injury [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(1): 649-654

(上接第 1211 页)