

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.01.001

• 基础研究 •

皮下种植黑色素瘤对小鼠血液中脂肪和氨基酸代谢的影响*

郝苗 陆叶 汪文敏 宋海昭 廖榕玉 徐俐 周林康[△]

(清华大学生命科学学院 北京 100084)

摘要 目的:探讨皮下种植黑色素瘤对小鼠血液中相关脂肪和氨基酸代谢的影响。**方法:**野生型小鼠皮下种植 B16 黑色素瘤细胞,两周后观察小鼠并取不同的组织称重,检测血液中甘油三酯、葡萄糖、脂肪酸、炎症因子的水平。利用质谱方法检测血液中氨基酸的水平。**结果:**野生型小鼠皮下肿瘤种植 2 周后体重没有明显变化,脾脏和肝脏的重量明显增加,皮下脂肪组织和腹腔脂肪组织的重量没有明显变化。血液中甘油三酯的水平明显增高,葡萄糖和甘油的水平明显下降。血液中炎症因子 Interleukin 6(IL6)和 Interferon gamma(IFN γ)的水平明显增加。血液的质谱结果显示有四种氨基酸的水平有明显变化,其中胱氨酸(Cystine)增加了约 30 倍,丝氨酸(Serine)、谷氨酰胺(Glutamine)和色氨酸(Tryptophan)分别有不同程度的降低。**结论:**皮下黑色素瘤显著影响小鼠机体营养状态和炎症,并特异性影响血液中氨基酸的代谢。

关键词: 荷黑色素瘤小鼠;血液代谢指标;炎症因子;氨基酸

中图分类号: R33; Q95-3; R730.231; R739.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)01-1-05

The Effect of Subcutaneous B16 Melanoma on the Blood Lipid and Amino Acid Metabolism in Mice*

YU Miao, LU Ye, WANG Wen-min, SONG Hai-zhao, LI O Rong-yu, XU Li, ZHOU Lin-kang[△]

(School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing, 100084, China)

ABSTRACT Objective: Here, we want to investigate the role of subcutaneous B16 melanoma in regulating blood lipid and amino acid metabolism in mice. **Methods:** The mice were inoculated subcutaneously with B16 melanoma. Two weeks later, mice were sacrificed and tissues were collected. The weight of adipose tissue, liver and spleen were measured. Serum level of triglyceride, glucose, glycerol and free fatty acids were measured. Serum metabolite changes of amino acids were detected by targeted metabolomic analysis. **Results:** The body weight of 2 week-B16-inoculated mice was similar to control mice. The livers and spleens of B16-inoculated mice were larger than that of control mice. Regardless of no changes in the weight of subcutaneous and gonadal fat tissues. The serum level of triglyceride was increased in B16-inoculated mice, while the level of glucose and glycerol was decreased. Serum level of Cystine was increased 30 folds in B16-inoculated mice compared with control mice. Level of Serine, Glutamine and Tryptophan was decreased in B16-inoculated mice. **Conclusions:** Subcutaneous B16 inoculation in mice dramatically affected the nutrition and inflammation status of mice. B16-inoculation in mice altered specific amino acids level in serum.

Key words: Subcutaneous B16 inoculation; Serum parameter; Inflammation; Amino acid

Chinese Library Classification(CLC): R33; Q95-3; R730.231; R739.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)01-1-05

前言

肿瘤的发生是基因和环境共同作用的结果^[1]。研究肿瘤相关的代谢变化可以深入理解肿瘤的发生以及对肿瘤进行预防和治疗^[2]。肿瘤相关的代谢主要体现在以下几个方面^[3-6]:肿瘤细胞自身代谢的变化;肿瘤发生后对周围正常细胞代谢的影响;肿瘤发生对机体整体代谢水平的影响;机体代谢的变化反作用于肿瘤细胞的生长。细胞癌化后,其整个代谢网络发生明显变

化,这一变化目的是从周围摄取营养物质来满足肿瘤细胞的快速增长。肿瘤细胞利用葡萄糖和氨基酸尤其是谷氨酰胺的能力大大增强。在某些特殊情况下,肿瘤细胞会通过吞噬细胞外的蛋白、凋亡小体(Apoptotic Body)甚至是细胞来满足营养的需求^[7,8]。同时癌细胞会利用糖酵解和三羧酸循环(TCA cycle)的中间代谢产物来满足肿瘤生成的需求以及 NADH 的生成^[9]。肿瘤细胞还会进行一系列的基因水平上的变化来提高对氮源的摄入^[10]。机体代谢的变化,比如脂代谢的紊乱能显著增加肿瘤

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31771303,31701031);中国博士后科学基金项目(2013T60103,2012M520249);

周林康博士受中国科学技术协会 2016-2018 年度青年人才托举计划的支持

作者简介:郝苗(1988-),博士研究生,主要研究方向:代谢生物学,电话:01062797133, E-mail: yumiao918@163.com

[△] 通讯作者:周林康,博士,助理研究员,主要研究方向:代谢生物学,电话:01062797133, E-mail: zhoulinkang@mail.tsinghua.edu.cn

(收稿日期:2018-03-28 接受日期:2018-04-24)

发生的风险^[11-13]。肥胖患者的脂肪组织功能不健全,脂肪水解的速率提高,释放出较多的脂肪酸^[14]。同时脂肪组织分泌的脂联素(Adiponectin)水平下降,而炎症因子 TNF- α 、白介素 6(IL6)等提高^[15,16],使机体处在一种慢性炎症的状态,机体发生肝癌、肠癌、胰腺癌的概率大大增加^[11]。

肿瘤患者在肿瘤进展的后期往往出现营养极度缺乏的状态,一方面由于肿瘤的生长耗费大量营养,另一方面是由于机体状态的恶化导致营养的吸收变差。后期的肿瘤患者一般会有 Cachexia 的现象,表现为脂肪组织和肌肉组织严重减少^[17,18]。ATGL 是一种在脂肪组织中高表达的酶,其主要负责将甘油三酯分解。ATGL 敲除的小鼠脂肪组织不能被有效的降解,能够明显抵制 Cachexia 的现象^[19],说明脂肪代谢在肿瘤进展中的重要作用。

在本研究中,我们利用皮下种植黑色素瘤的小鼠模型来系统研究肿瘤的生长对机体各组织、血液中各生化指标的影响,以期对肿瘤的代谢研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

实验使用的小鼠为三月龄 C57BL/6J 品系。野生型小鼠购自于清华大学实验动物平台。B16 细胞购自 ATCC 公司,细胞培养所使用的 RPMI1640 培养基和胎牛血清购买自 GIBCO。甲醇等有机溶剂购买自京纯。基底膜基质购自 BD 公司,货号 356237。甘油三酯检测试剂盒购自 sigma,货号 TR0100。脂肪酸检测试剂盒购自 wako,货号为 294-63601。白介素 6 的检测试剂盒购自 eBioscience,货号为 88-7064-88。IFN γ 的检测试剂盒购自 biolegend,货号为 430807。

1.2 方法

1.2.1 小鼠实验 本研究中用到的小鼠饲养于清华大学生物医学测试中心实验动物平台。B16 细胞在含有 10% 血清的 RPMI1640 培养基,37 $^{\circ}\text{C}$, 5%CO₂ 的培养箱中培养。在细胞达到 90% 汇合的时候利用胰酶将细胞消化下来,待约一半细胞脱离培养皿时加入培养基终止消化,800 rpm 离心 3min。细胞用 PBS 重悬后计数。为促进肿瘤细胞的生长,按照 1:1 体积加入基底膜基质。每只小鼠 B16 细胞的注射量为 2×10^6 个细胞,小鼠麻醉后利用注射器将细胞种植在小鼠皮下。小鼠饲养及肿瘤种植受到清华大学实验动物伦理委员会的监督。皮下种植 2 周后,称重小鼠,之后处死小鼠,称取不同组织的重量。分离小鼠的肿瘤组织并将外围的非肿瘤清理干净后称重。肿瘤的生长会明显影响到附近皮下脂肪的取样,因此皮下脂肪组织我们是取对侧的皮下脂肪组织进行称重。生殖腺旁边的脂肪组织在腹腔,我们解剖得到后进行称重。血液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 4000 rpm 离心 30 min。取上清 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.2 小鼠血液指标的检测 荷瘤小鼠和对照组小鼠血液中的指标采用试剂盒分析。血液中葡萄糖的检测采用罗氏的血糖试纸。血清中的甘油三酯和甘油的水平采用 sigma 的甘油三酯检测试剂盒。血液中脂肪酸的检测采用 wako 的试剂盒。白介素 6(IL6)的检测采用 eBioscience 公司的试剂盒。IFN γ 的检测采用 biolegend 公司的试剂盒。所有的检测均按照相应的说明书进行。

1.2.3 血液中氨基酸的检测 取 100 μL 的血清,加入 400 μL 在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的甲醇。混匀后 12000 rpm 离心 15 min 取上清。上清在真空冷冻旋转蒸发仪上真空抽干。样品在清华大学生物医学测试中心代谢组平台检测代谢产物的水平。

1.3 统计学分析

所有的数据采用平均值 $\pm$ 方差的形式展示。利用 Graphpad Prism 5.0 作图。利用 t-检验比较两组数据是否有统计学差异, P 值 <0.05 认为存在显著差异。* 代表 $P<0.05$,** 代表 $P<0.01$,*** 代表 $P<0.001$ 。

2 结果

2.1 皮下种植黑色素瘤对小鼠体重及各组织的影响

为了研究肿瘤发生对机体代谢的影响,我们在野生型小鼠皮下种植了 B16 黑色素瘤细胞。黑色素瘤属于一种恶性程度较高的肿瘤,其本身的免疫原性也比较高,能引起小鼠较大的炎症和免疫反应^[20]。黑色素瘤常发生于皮肤和粘膜表面,小鼠皮下种植黑色素瘤细胞能够较好的模拟其在人群中的发病状况。黑色素瘤对小鼠的代谢影响较大,有利于寻找其作用的代谢通路。14 天后,观察肿瘤的大小和小鼠的状态。相对于正常小鼠(对照组),荷瘤小鼠的体重明显增加。正常小鼠体重在 32.3 克附近,而带肿瘤的小鼠体重在 36.2 克附近。解剖小鼠后可发现带肿瘤小鼠皮下有一颗实体瘤,周边有较多的组织增生。肿瘤的大小约 3.1 克。肿瘤并没有转移到机体其他的组织,包括肝脏,心脏,肺部和整个腹腔。我们发现荷瘤小鼠去除肿瘤后的体重和对照组类似,说明 2 周的肿瘤生长尚没有显著影响小鼠的体重。我们的一些结果显示,当肿瘤继续增长时,21 天后小鼠的机能明显减弱,体重明显减轻,因此时机体能力太差。因此,后续我们利用两周的荷瘤小鼠来研究肿瘤发生早期对小鼠代谢的影响。

我们分析了两周荷瘤小鼠的各组织的重量变化。作为体内重要的免疫器官,荷瘤后小鼠脾脏的重量明显增加,平均从 0.09 克增加到 0.23 克。荷瘤后小鼠的皮下脂肪组织和腹腔脂肪组织没有明显的变化。有意思的是,荷瘤后小鼠的肝脏组织明显增重,平均重量由 1.59 克增加到 1.96 克,提示肝脏在对机体荷瘤的反应中要早于脂肪组织。

2.2 皮下黑色素瘤对小鼠血液中甘油三酯、脂肪酸、葡萄糖的影响

血液中的代谢指标是反映机体功能的重要方面。因此,我们分析了 2 周荷瘤小鼠血液中相关指标的变化。我们发现甘油三酯(Triglyceride, TAG)的水平在荷瘤小鼠中明显增加,水平从 0.6 mg/mL 增加到 1.2 mg/mL。血液中的甘油三酯可以被各个组织表面的酯酶所降解,分解为甘油和脂肪酸被机体吸收利用。血液中脂肪酸水平较高时会引起脂毒性。荷瘤后血液中脂肪酸的水平与对照组类似,说明在早期的肿瘤发生时,机体尚可以协调脂肪酸的代谢,将血液中的脂肪酸维持在一定水平。荷瘤小鼠中葡萄糖和甘油的水平明显下降,说明荷瘤后肿瘤的生长主要依靠葡萄糖和甘油。

2.3 皮下黑色素瘤引起小鼠炎症反应的增强

荷瘤后会引发小鼠的炎症反应。我们检测了荷瘤后 IL6 和 IFN γ 的水平。正常小鼠的 IL6 的水平非常低,约为 0.056

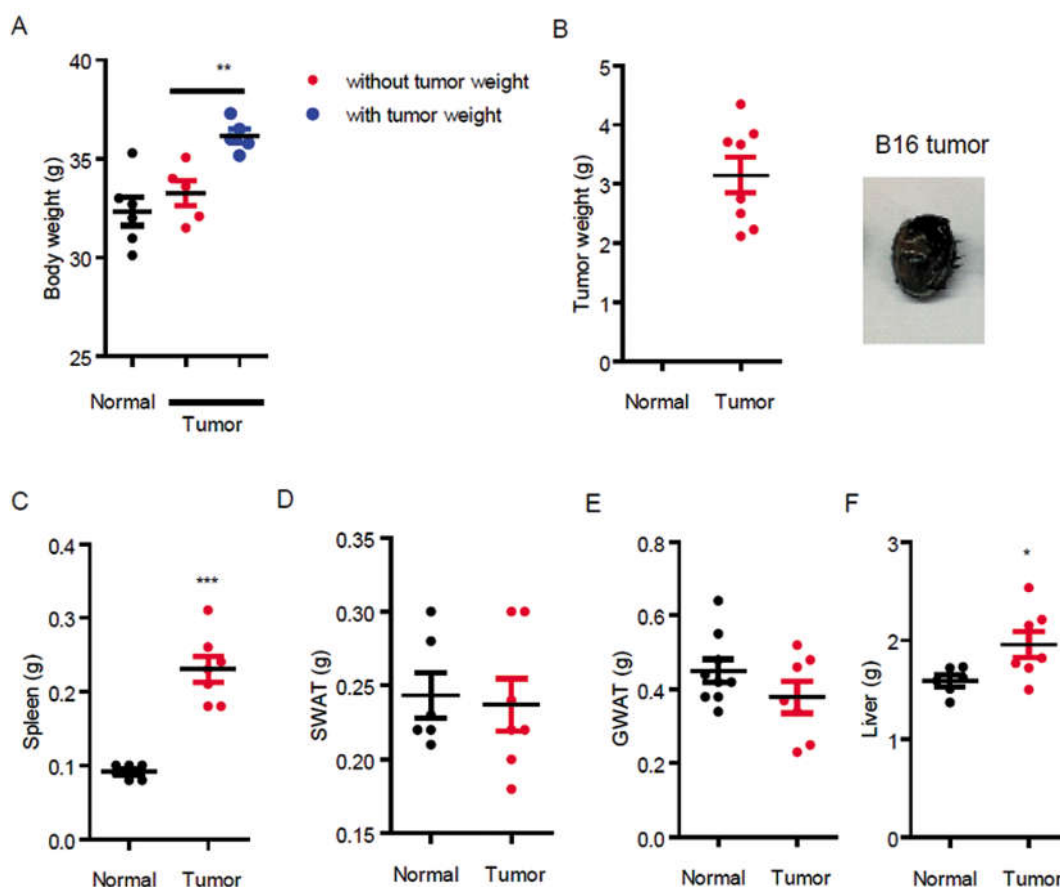


图1 野生型小鼠皮下种植黑色素瘤对机体和各组织重量的影响

3个月野生型(WT)小鼠皮下种植 B16 黑色素瘤细胞,2周后小鼠称重,处死小鼠后取不同的组织称重。A:小鼠体重。对照组,荷瘤小鼠(减去肿瘤重量)以及带肿瘤的小鼠体重。B:肿瘤的重量以及代表性的肿瘤图片。C:小鼠脾脏的重量。D:小鼠皮下脂肪组织的重量。E:小鼠生殖腺旁脂肪组织的重量。F:小鼠肝脏的重量。展示平均值和标准差,*表示 t 检验 $P<0.05$ 。**表示 t 检验 $P<0.01$ 。***表示 t 检验 $P<0.001$ 。

Fig.1 Body and tissue weight of mice with subcutaneous B16 inoculation.

3months old mice was subcutaneous inoculated with B16 melanoma. Two weeks later, mice were sacrificed and tissues were collected. (A)Body weight of B16-inoculated mice and control mice. (B) Tumor weight and representative picture of subcutaneous B16 tumors. (C-F) tissue weight. $n=5-8$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

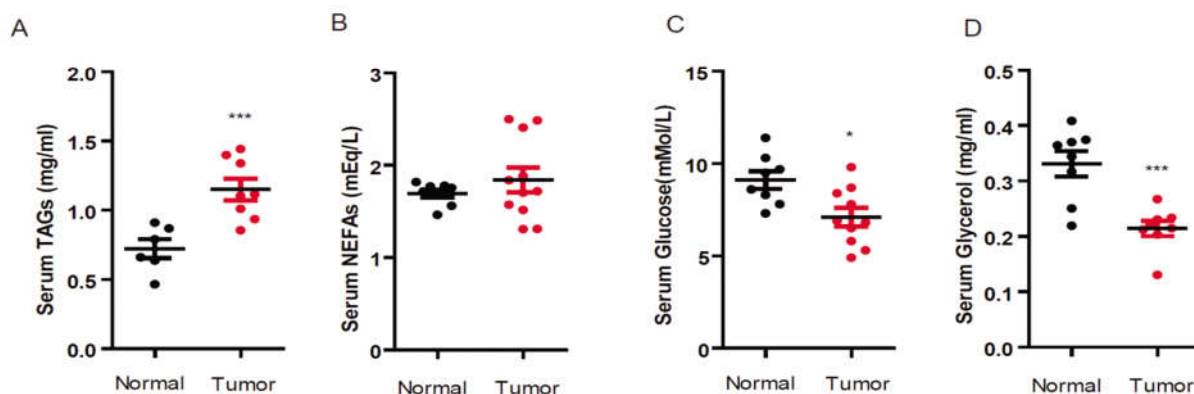


图2 野生型小鼠皮下种植黑色素瘤对血液中代谢指标的影响

3个月野生型(WT)小鼠皮下种植 B16 黑色素瘤细胞,2周后处死小鼠后取血液,检测血液中甘油三酯(TAG),脂肪酸(Non-esterified fatty acids),葡萄糖(Glucose)和甘油(Glycerol)的水平。A:荷瘤小鼠血液中TAG的水平明显增加。B:相对于对照组小鼠,荷瘤小鼠血液中脂肪酸水平没有明显变化。C-D:荷瘤小鼠血液中葡萄糖和甘油的水平明显降低。数据展示平均值和标准差,*表示 t 检验 $P<0.05$ 。***表示 t 检验 $P<0.001$ 。

Fig.2 Serum parameters of mice with tumor

3 months old mice was subcutaneous inoculated with B16 melanoma. Two weeks later, mice were sacrificed and serum was collected. Serum level of Triglyceride(A), Non-esterified fatty acids (B), Glucose (C) and Glycerol (D) in mice with B16 inoculation. $n=6-8$. * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

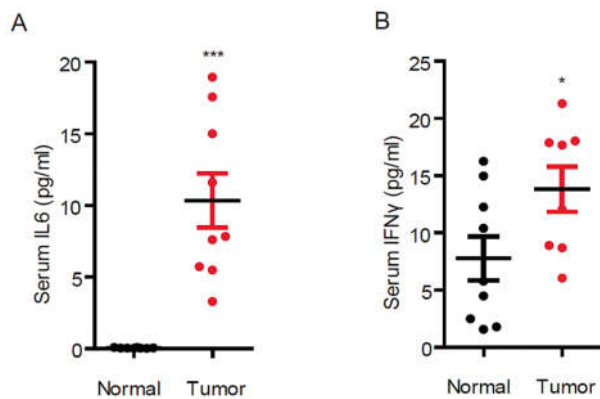


图3 野生型小鼠皮下种植黑色素瘤对机体炎症指标的影响

3个月野生型(WT)小鼠皮下种植B16黑色素瘤细胞,2周后处死小鼠取血液,检测血清中IL6和IFN γ 的水平。A:相对于对照组,荷瘤小鼠血液中IL6的水平明显增加。B:相对于对照组,荷瘤小鼠血液中IFN γ 的水平增高。数据展示方式为平均值和标准差,*表示t检验 $P<0.05$ 。

***表示t检验 $P<0.001$ 。

Fig.3 Serum level of IL6 and IFN γ of mice with B16 melanoma

3 months old mice was subcutaneous inoculated with B16 melanoma. Two weeks later, mice were sacrificed and serum was collected. Serum level of Interleukin 6 (A) and Interferon γ (B) in mice with B16 inoculation.

n=6-10. * $P<0.05$. *** $P<0.001$.

pg/mL。两周的皮下肿瘤生长引起小鼠IL6的急剧增加,血液中的IL6达到10.4 pg/mL。IFN γ (Interferon gamma)也有一定程度的增加,从7.78 pg/mL高到13.8 pg/mL。IFN γ 在肿瘤的杀伤中起到重要作用,但是在此处荷瘤小鼠血液中并没有很显著的增加(仅有两倍),说明野生型小鼠自身的抗肿瘤能力较弱,通过提高血液中或者肿瘤局部IFN γ 的水平有可能起到抗肿瘤的作用。

2.4 皮下黑色素瘤对小鼠血液中氨基酸水平的影响

肿瘤发生时机体营养的供应尤其蛋白质的供应非常重要。

我们取2周荷瘤小鼠和对照小鼠的血清,抽提其中的水溶性代谢产物。进行质谱检测其中的氨基酸水平。根据质谱结果,我们一共检测到18种氨基酸。丙氨酸(Alanine)没有检测到。亮氨酸(Leucine)和异亮氨酸(Isoleucine)由于结构类似而无法分开。在所有检测到的18种氨基酸中,有4种有明显变化。其中增加的是胱氨酸(Cystine),增加了约30倍。降低的分别为丝氨酸(Serine)谷氨酰胺(Glutamine)色氨酸(Tryptophan)。其中脯氨酸(Proline)和甘氨酸(Glycine)的水平有增加的趋势,但没有显著性差异。

3 讨论

本研究采用皮下种植B16黑色素瘤细胞,系统研究了肿瘤的生长对机体代谢的影响。我们发现2周的荷瘤小鼠体重并没有明显的降低,在后期的时候约3周才出现极度消瘦的现象。2周荷瘤小鼠的脾脏重量有显著增加,说明机体的免疫系统对黑色素瘤细胞发生了反应。有意思的是,我们在2周荷瘤小鼠的血液中检测到四种有变化的氨基酸,这些氨基酸水平的变化可能是由于肿瘤的生长影响了机体的代谢,导致相关的氨基酸代谢发生变化。也有可能是肿瘤的生长需要这些特殊的氨基酸。在本研究中,荷瘤小鼠血液中Cystine(胱氨酸)的水平升高了近30倍。Cystine是Cysteine(半胱氨酸)的二聚体,其在体内的相对水平较低。细胞通过一套穿梭体系,摄入Glutamine,并排出Cystine^[21]。导致血液中Glutamine的水平明显降低,而Cystine的水平明显升高。肿瘤细胞的生长需要大量的营养,而Glutamine是除葡萄糖以外很好的营养来源,同时其也是肿瘤细胞脂类合成的重要底物^[22]。肿瘤细胞通过改变自身的代谢通路提高Glutamine的吸收和利用,对机体的代谢造成很大影响。肿瘤的Glutamine代谢是肿瘤治疗中的一个很好靶点。Tryptophan是很多代谢产物的前体^[23],其能够在IDO(indoleamine

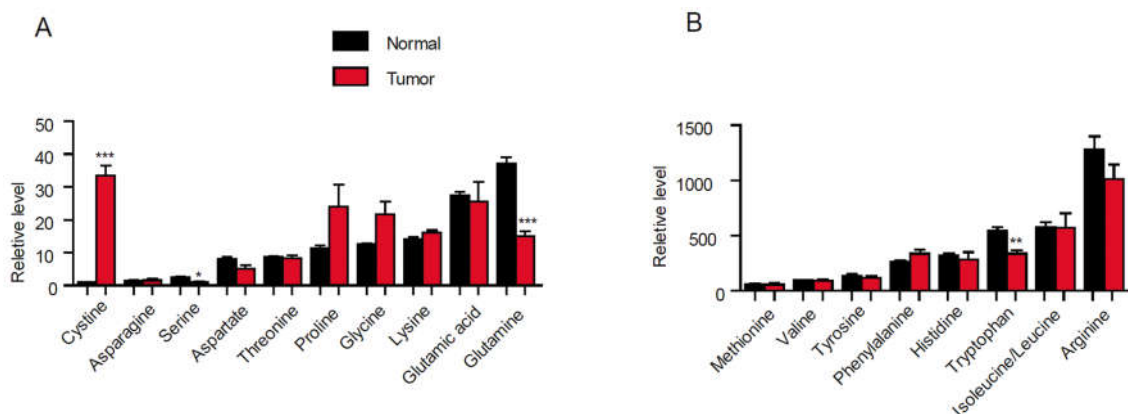


图4 野生型小鼠皮下种植黑色素瘤对血液中氨基酸水平的影响

3个月野生型(WT)小鼠皮下种植B16黑色素瘤细胞,2周后处死小鼠后取血液,检测血清中氨基酸的水平。A-B:相对于对照组小鼠,荷瘤小鼠血液中氨基酸水平的相对变化。Cystine(胱氨酸) Asparagine(天冬酰胺) Serine(丝氨酸) Aspartate(天冬氨酸) Threonine(苏氨酸) Proline(脯氨酸) Glycine(甘氨酸) Lysine(赖氨酸) Glutamic acid(谷氨酸) Glutamine(谷氨酰胺) Methionine(蛋氨酸) Valine(缬氨酸) Tyrosine(酪氨酸) Phenylalanine(苯丙氨酸) Histidine(组氨酸) Tryptophan(色氨酸) Isoleucine/Leucine(异亮氨酸/亮氨酸) Arginine(精氨酸)展示平均值和标准差,

*表示t检验 $P<0.05$ 。***表示t检验 $P<0.001$ 。

Fig.4 Serum amino acid level of mice with B16 melanoma

3 months old mice was subcutaneous inoculated with B16 melanoma. Two weeks later, mice were sacrificed and serum was collected.

(A-B)Serum level of amino acids. n=4. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

2,3-dioxygenase) 作用下进入 Kynurenine pathway 来产生 NAD^+ , 而 IDO 在多种肿瘤组织中都有高表达^[24]。总之, 这些氨基酸可能作为后续的临床营养补给开发以及研究肿瘤氨基酸代谢的新的靶点。

在本研究中, 两周大的荷瘤小鼠的皮下脂肪和腹腔脂肪尚无变化, 说明肿瘤在早期生长的时候尚不会明显影响机体的脂肪组织。有研究表明肥胖人群患某些癌症的概率大大增加^[11]。白色脂肪组织 (white adipose tissue, WAT) 中的脂肪基质细胞 (Adipose stromal cell, ASC) 会迁移到附近的肿瘤中来促进前列腺癌和卵巢癌的进展, 这一过程主要是由趋化因子 CXCL1 和 CXCL8 介导的^[25-27]。前列腺周围的脂肪组织通过分泌趋化因子 CCL7 来促进前列腺癌细胞的迁移, 而在肥胖人群中, CCL7 的表达明显增加^[26]。后续研究肿瘤进展不同时期的脂肪组织的变化可以更加系统地理解脂肪组织和肿瘤细胞代谢的关系。

免疫系统在肿瘤生长和治疗中起到重要作用^[28,29]。免疫系统分为先天免疫和获得性免疫, 先天免疫主要是由巨噬细胞和 NK 细胞来执行的。获得性免疫中起杀伤作用的主要是 CD8T 细胞。有研究表明运动能够显著提高 NK 细胞的杀伤活性^[30], 能明显抑制皮下肿瘤细胞的生长, 具体的分子机制是运动能显著提高肾上腺素的分泌, 通过 IL6 途径来激活 NK 细胞。CD8T 细胞在肿瘤杀伤中的作用已经有了非常多的研究, 针对于 CD8 细胞 CRT 免疫治疗已经有非常好的临床应用和前景。CD8T 细胞本身的代谢也对其功能的执行起到非常重要的作用。有研究显示 CD8 细胞中胆固醇的代谢对其活性非常重要^[31], 在 CD8T 细胞中特异性敲除胆固醇脂合成的关键酶 ACAT2 会引起细胞内胆固醇水平的升高, 其通过改变 CD8T 细胞表面胆固醇的水平, 促进 TCR 信号的活化, 能够显著提高 CD8 细胞的激活, 达到抗肿瘤的目的。氨基酸的代谢在免疫系统的功能维持中起到重要作用。有研究系统分析了 CD4 细胞活化后细胞内代谢产物的变化^[32], 发现精氨酸 (Arginine) 的水平在 CD4 细胞活化后有明显的增加。Arginine 的加入能够明显增加人 T 细胞的分裂、分化和生存。在 T 细胞的激活中, 丝氨酸 (Serine)、甘氨酸 (Glycine)、一炭代谢网络 (Serine, Glycine, one-carbon; SGOC) 相关酶的活性明显增加, 而其中丝氨酸的水平是最关键的^[33]。即使在外源葡萄糖充足的情况下, T 细胞也需要摄入外源的丝氨酸来维持 T 细胞的功能。在本研究中, 我们发现荷瘤小鼠血液中丝氨酸的水平明显下降, 因此如果外源补充丝氨酸有可能通过激活机体 T 细胞的杀伤性功能来起到控制肿瘤大小的功能。

参考文献 (References)

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer, 2015, 136(5): E359-386
- [2] Pavlova NN, Thompson CB. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism[J]. Cell Metab, 2016, 23(1): 27-47
- [3] Keenan MM, Chi JT. Alternative fuels for cancer cells [J]. Cancer J, 2015, 21(2): 49-55
- [4] DeBerardinis RJ, Chandel NS. Fundamentals of cancer metabolism[J]. Sci Adv, 2016, 2(5): e1600200
- [5] Gentric G, Mieulet V, Mechta-Grigoriou F. Heterogeneity in Cancer Metabolism: New Concepts in an Old Field [J]. Antioxid Redox Signal, 2017, 26(9): 462-485
- [6] Yoshida GJ. Metabolic reprogramming: the emerging concept and associated therapeutic strategies[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34: 111
- [7] Commisso C, Davidson SM, Soydaner-Azeloglu RG, et al. Macropinocytosis of protein is an amino acid supply route in Ras-transformed cells[J]. Nature, 2013, 497(7451): 633-637
- [8] Palm W, Park Y, Wright K, et al. The Utilization of Extracellular Proteins as Nutrients Is Suppressed by mTORC1 [J]. Cell, 2015, 162(2): 259-270
- [9] Carmona-Fontaine C, Bucci V, Akkari L, et al. Emergence of spatial structure in the tumor microenvironment due to the Warburg effect[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(48): 19402-19407
- [10] Carey BW, Finley LW, Cross JR, et al. Intracellular alpha-ketoglutarate maintains the pluripotency of embryonic stem cells[J]. Nature, 2015, 518(7539): 413-416
- [11] Font-Burgada J, Sun B, Karin M. Obesity and Cancer: The Oil that Feeds the Flame[J]. Cell Metab, 2016, 23(1): 48-62
- [12] Pischon T, Nimptsch K. Obesity and Risk of Cancer: An Introductory Overview[J]. Recent Results Cancer Res, 2016, 208: 1-15
- [13] Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(8): 579-591
- [14] Nieman KM, Romero IL, Van Houten B, et al. Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1831(10): 1533-1541
- [15] Hotamisligil GS, Shargill NS, & Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance[J]. Science, 1993, 259(5091): 87-91
- [16] Taniguchi K, Karin M. IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer [J]. Semin Immunol, 2014, 26(1): 54-74
- [17] Meriggi F. Cancer Cachexia: One Step Ahead [J]. Rev Recent Clin Trials, 2015, 10(3): 246-250
- [18] Tijerina AJ. The biochemical basis of metabolism in cancer cachexia [J]. Dimens Crit Care Nurs, 2004, 23(6): 237-243
- [19] Das SK, Eder S, Schauer S, et al. Adipose triglyceride lipase contributes to cancer-associated cachexia [J]. Science, 2011, 333(6039): 233-238
- [20] Overwijk WW, Restifo NP. B16 as a mouse model for human melanoma[J]. Curr Protoc Immunol, 2001, Chapter 20: Unit 20 21
- [21] Guan J, Lo M, Dockery P, et al. The xc- cystine/glutamate antiporter as a potential therapeutic target for small-cell lung cancer: use of sulfasalazine[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2009, 64(3): 463-472
- [22] Hensley CT, Wasti AT, DeBerardinis RJ. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities[J]. J Clin Invest, 2013, 123(9): 3678-3684
- [23] Juhasz C, Nahleh Z, Zitron I, et al. Tryptophan metabolism in breast cancers: molecular imaging and immunohistochemistry studies [J]. Nucl Med Biol, 2012, 39(7): 926-932

- endometrial carcinoma?[J]. *Am J Surg Pathol*, 2012, 36(5): 753-761
- [4] Moore KN, Fader AN. Uterine papillary serous carcinoma [J]. *Clin Obstet Gynecol*, 2011, 54(2): 278-291
- [5] Sykietis GP, Habeos IG, Samuelson AV, et al. The role of the antioxidant and longevity-promoting Nrf2 pathway in metabolic regulation[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2011, 14(1): 41-48
- [6] Sun Z, Zhang S, Chan JY, et al. Keap1 controls postinduction repression of the Nrf2-mediated antioxidant response by escorting nuclear export of Nrf2[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(18): 6334-6349
- [7] Kang MI, Kobayashi A, Wakabayashi N, et al. Scaffolding of Keap1 to the actin cytoskeleton controls the function of Nrf2 as key regulator of cytoprotective phase 2 genes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(7): 2046-2051
- [8] McMahon M, Lamont DJ, Beattie KA, et al. Keap1 perceives stress via three sensors for the endogenous signaling molecules nitric oxide, zinc, and alkenals [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(44): 18838-18843
- [9] Padmanabhan B, Tong KI, Ohta T, et al. Structural basis for defects of Keap1 activity provoked by its point mutations in lung cancer[J]. *Mol Cell*, 2006, 21(5): 689-700
- [10] Singh A, Misra V, Thimmulappa RK, et al. Dysfunctional KEAP1-NRF2 interaction in non-small-cell lung cancer [J]. *PLoS Med*, 2006, 3(10): e420
- [11] Giudice A, Montella M. Activation of the Nrf2-ARE signaling pathway: a promising strategy in cancer prevention [J]. *Bioessays*, 2006, 28(2): 169-181
- [12] Kwak MK, Kensler TW. Targeting NRF2 signaling for cancer chemoprevention[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1): 66-76
- [13] Zhang L, Wang N, Zhou S, et al. Propofol induces proliferation and invasion of gallbladder cancer cells through activation of Nrf2 [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31: 66
- [14] Cho JM, Manandhar S, Lee HR, et al. Role of the Nrf2-antioxidant system in cytotoxicity mediated by anticancer cisplatin: implication to cancer cell resistance[J]. *Cancer Lett*, 2008, 260(1-2): 96-108
- [15] Wang XJ, Sun Z, Villeneuve NF, et al. Nrf2 enhances resistance of cancer cells to chemotherapeutic drugs, the dark side of Nrf2 [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(6): 1235-1243
- [16] Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47: 89-116
- [17] Jeong WS, Jun M, Kong AN. Nrf2: a potential molecular target for cancer chemoprevention by natural compounds [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8(1-2): 99-106
- [18] Ohta T, Iijima K, Miyamoto M, et al. Loss of Keap1 function activates Nrf2 and provides advantages for lung cancer cell growth[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(5): 1303-1309
- [19] Kim YR, Oh JE, Kim MS, et al. Oncogenic NRF2 mutations in squamous cell carcinomas of oesophagus and skin [J]. *J Pathol*, 2010, 220(4): 446-451
- [20] Pi J, Diwan BA, Sun Y, et al. Arsenic-induced malignant transformation of human keratinocytes: involvement of Nrf2 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45(5): 651-658
- [21] Homma S, Ishii Y, Morishima Y, et al. Nrf2 enhances cell proliferation and resistance to anticancer drugs in human lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(10): 3423-3432
- [22] Xia M, Yu H, Gu S, et al. p62/SQSTM1 is involved in cisplatin resistance in human ovarian cancer cells via the Keap1-Nrf2-ARE system[J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(6): 2341-2348
- [23] Chen N, Yi X, Abushahin N, et al. Nrf2 expression in endometrial serous carcinomas and its precancers [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2010, 4(1): 85-96
- [24] Jain AK, Bloom DA, Jaiswal AK. Nuclear import and export signals in control of Nrf2[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(5): 2052
- [25] Shen H, Yang Y, Xia S, et al. Blockage of Nrf2 suppresses the migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells in hypoxic microenvironment [J]. *Dis Esophagus*, 2014, 27 (7): 685-692

(上接第5页)

- [24] Travers MT, Gow IF, Barber MC, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity and L-tryptophan transport in human breast cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1661(1): 106-112
- [25] Zhang T, Tseng C, Zhang Y, et al. CXCL1 mediates obesity-associated adipose stromal cell trafficking and function in the tumour microenvironment[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11674
- [26] Laurent V, Guerard A, Mazerolles C, et al. Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10230
- [27] Zhang Y, Nowicka A, Solley TN, et al. Stromal Cells Derived from Visceral and Obese Adipose Tissue Promote Growth of Ovarian Cancers[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136361
- [28] Kalinski P & Talmadge JE. Tumor Immuno-Environment in Cancer Progression and Therapy[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1036: 1-18
- [29] Shalapour S & Karin M. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3347-3355
- [30] Pedersen L, Idorn M, Olofsson GH, et al. Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(3): 554-562
- [31] Yang W, Bai Y, Xiong Y, et al. Potentiating the antitumour response of CD8(+) T cells by modulating cholesterol metabolism[J]. *Nature*, 2016, 531(7596): 651-655
- [32] Geiger R, Rieckmann JC, Wolf T, et al. L-Arginine Modulates T Cell Metabolism and Enhances Survival and Anti-tumor Activity [J]. *Cell*, 2016, 167(3): 829-842, e813
- [33] Ma EH, Bantug G, Griss T, et al. Serine Is an Essential Metabolite for Effector T Cell Expansion[J]. *Cell Metab*, 2017, 25(2): 482