

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.02.001

• 基础研究 •

谷胱甘肽转移酶 ω 1 基于酶活位点调控波形蛋白表达
并促进肺腺癌恶性进展 *沈凝香 罗鸣宇 顾玮铭 张墨聪 沈 璞^Δ

(上海交通大学医学院药理学与化学生物学系 上海 200025)

摘要 目的:探究谷胱甘肽转移酶 ω 1 (Glutathione S-Transferase Omega 1, GSTO1) 关键酶活位点 Cys32 与肺腺癌恶性进展的关系与初步作用机制。**方法:**构建 GSTO1 野生型与酶活失活点突变 C32A 型过表达的肺腺癌细胞系,观察过表达细胞的形态变化及增殖能力的变化。以临床数据生物信息学分析探究 GSTO1 调控的促肿瘤蛋白,使用免疫印迹法验证该蛋白在 GSTO1 野生型与酶活失活点突变 C32A 型过表达的肺腺癌细胞系中的表达差异,并结合临床公共数据库分析该蛋白与患者预后的关联。**结果:**发现过表达野生型 GSTO1 能够引起肺腺癌细胞 PC9 的形态变化并促进 PC9 细胞增殖,而过表达 C32A 突变型 GSTO1 的 PC9 细胞与空载体组细胞形态及增殖能力相似;临床数据提示 GSTO1 与波形蛋白(Vimentin, VIM)表达呈现正相关,免疫印迹法显示野生型 GSTO1 过表达能够引起 Vimentin 蛋白表达上调,而 C32A 酶活失活点突变型 GSTO1 过表达无法引起 Vimentin 蛋白表达上调;通过临床样本数据观察 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达的肺腺癌患者肿瘤恶性程度更高、发生转移的比例更大,同时无病生存期与总生存期更短。**结论:** GSTO1 基于其酶活位点调控 Vimentin 表达,改变肺腺癌细胞形态并促进肺腺癌细胞增殖,研究结果为靶向 GSTO1 的肺腺癌治疗提供了新思路。

关键词:谷胱甘肽转移酶 ω 1; 波形蛋白; 肺腺癌**中图分类号:**R-33; R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)02-201-05Glutathione S-Transferase Omega 1 Regulates Vimentin Expression
Based on Active Site and Promote Malignancy of Lung Adenocarcinoma *SHEN Ning-xiang, LUO Ming-yu, GU Wei-ming, ZHANG Mo-cong, SHEN Ying^Δ

(Department of Pharmacology and Chemical Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the relationship between key activity site Cys32 of Glutathione S-Transferase Omega 1 (GSTO1) and malignant progression of lung adenocarcinoma, and to clarify the potential mechanism. **Methods:** Wild-type (GSTO1^{WT}) and inactivation mutant GSTO1 (GSTO1^{C32A}) were overexpressed in lung adenocarcinoma PC9 cells by lentivirus packaging and infection system. Western blot assay was used to verify whether the model was constructed successfully. Cell morphology was investigated by inverted phase-contrast microscopy. CCK8 assay and clonogenic assay were performed to detect cell proliferation. Clinical data mining was used to explore the cancer-promoting protein regulated by GSTO1, and western blot assay was performed to verify protein levels in GSTO1^{WT} and GSTO1^{C32A} overexpressed lung adenocarcinoma cell lines. Correlation between expression levels and clinical stage, differentiation, metastasis, and survival of lung adenocarcinoma patients using clinical databases. **Results:** Morphological changes of lung adenocarcinoma cells was induced by GSTO1^{WT} instead of GSTO1^{C32A} overexpression. Comparing with GSTO1^{C32A} overexpression and empty vehicle group, GSTO1^{WT} overexpression promoted the proliferation of PC9 cells. Clinical data suggested that there was a positive correlation between the expression of GSTO1 and vimentin (VIM), and western blot assay showed that the overexpression of GSTO1^{WT} upregulated protein level of vimentin, while GSTO1^{C32A} overexpression not. Clinical data mining showed that lung adenocarcinoma patients with high co-expression of GSTO1 and vimentin were associated with a greater degree of tumor malignancy and a higher proportion of metastasis, as well as shorter disease-free survival and overall survival. **Conclusion:** The GSTO1 regulates expression of vimentin based on its enzyme-active site and promote the malignancy of lung adenocarcinoma, which indicates that GSTO1 was a potential metabolic vulnerability in lung adenocarcinoma.

Key words: Glutathione S-Transferase Omega 1; Vimentin; Lung adenocarcinoma**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R734.2 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2024)02-201-05

* 基金项目:上海市高水平地方高校建设项目 -- 药学科(P21010)

作者简介:沈凝香(1998-),女,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤药理学,E-mail: aomi2020@sjtu.edu.cn

^Δ 通讯作者:沈璞,女,博士生导师,研究员,主要研究方向:肿瘤药理学,E-mail: yshen0510@sjtu.edu.cn

(收稿日期:2023-08-15 接受日期:2023-08-31)

前言

肺癌是目前发病率与死亡率均居前列的恶性肿瘤^[1-3]。根据组织学分型肺癌可以被分为非小细胞肺癌(约占 85 %,分为肺腺癌、肺鳞癌与大细胞肺癌)与小细胞肺癌(约占 15 %)^[4]。通常早期非小细胞肺癌标准治疗方式为手术切除,而化疗则被广泛应用于晚期非小细胞肺癌患者。近年来兴起的以表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂为代表的分子靶向治疗方案,仍不可避免地发生耐药的现象,于是发现新的治疗靶标具有重要的临床价值^[5-7]。

代谢重编程是肿瘤的重要标志之一,代谢酶可发挥非经典的兼有功能(Moonlighting Functions),参与多种肿瘤恶性进展,已成为目前研究的热点之一^[8,9]。谷胱甘肽转移酶(Glutathione-S-transferase, GSTs)是一类广泛存在于细胞质、线粒体和微粒体的酶,生理状态下主要参与 II 期代谢,不仅能通过谷胱甘肽偶联发挥异种解毒作用,还能在内源性化合物合成及代谢、氧化还原平衡和细胞信号转导中发挥作用^[10-12]。 ω 类 GST 因其独特的 Cys32(简称为 C32)位点具有独特的生理功能,同时也在疾病进展方面发挥着独特作用。谷胱甘肽转移酶 ω 1 (Glutathione S-Transferase Omega 1, GSTO1) 具有 C32 位点依赖的还原酶、硫醇转移酶、去谷胱甘肽酶等一系列酶活功能^[13,14]。GSTO1 可以发挥还原酶活性,参与无机砷的生物转化;发挥硫醇转移酶活性将 S-(苯酰基)谷胱甘肽还原为相应的苯乙酮;对蛋白质发挥去谷胱甘肽化活性^[15,16]等。GSTO1 的异常高表达在多种肿瘤中报道,包括胰腺癌、食管腺癌、结直肠癌等,表明 GSTO1 在肿瘤恶性进展方面具有研究价值^[17-19]。然而目前对于 GSTO1 是否基于其酶活功能发挥促进肿瘤恶性进展的功能及其具体机制尚未研究清楚。本文围绕 GSTO1 的关键酶活位点进行探究,探究其促进肺腺癌恶性进展是否依赖于其酶活位点及其机制,通过构建 GSTO1 野生型及酶活失活点突变型过表达细胞系,观察 GSTO1 酶活位点对于细胞形态及增殖能力的影响,并深入探究 GSTO1 基于其酶活位点影响的关键分子,使用临床数据库肺腺癌患者样本分析该分子与患者预后的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 人肺腺癌细胞系 PC9 以及人胚肾上皮永生化细胞系 293FT 来自上海交通大学医学院药理学与化学生物学系, GSTO1 野生型及 C32A 突变型过表达细胞模型由本课题组构建。

1.1.2 实验仪器 细胞培养箱、生物安全柜购自 Thermo Fisher Scientific 公司;移液器、低温高速离心机购自 Eppendorf 公司;实验用超纯水系统购自 Millipore 公司;制冰机购自 Scotsman 公司;蛋白电泳及转印系统、多功能酶标仪购自 Bio-Rad 公司;倒置显微镜购自 Nikon 公司;扫描仪购自中国惠普有限公司。

1.1.3 实验试剂 胰蛋白酶、磷酸缓冲盐溶液(Phosphate Buffered Saline, PBS)、青霉素-链霉素(双抗)及谷氨酰胺购自上海源培生物科技股份有限公司;助转染试剂聚凝胺(Polybrene)购自上海吉凯基因化学技术有限公司;转染专用减血清培养基、RPMI 1640 培养基、BCA 蛋白定量试剂盒、预染蛋白

分子量 marker、Lipofectamine 3000 试剂、P3000 试剂及 ECL 显影液购自 Thermo Fisher Scientific 公司;胎牛血清购自 Gemini 公司;Ku86、 β -Actin、GSTO1 抗体购自 Santa Cruz Biotechnology 公司;Vimentin 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司;RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂购自上海碧云天公司;4 %多聚甲醛购自生工生物工程(上海)股份有限公司;GSTO1 野生型及 C32A 突变型质粒购自吉满生物科技(上海)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与传代 PC9 细胞培养使用 RPMI 1640 完全培养基(含 10 %胎牛血清、1 %谷氨酰胺和 1 %双抗),293FT 细胞培养使用高糖 DMEM 完全培养基(含 10 %胎牛血清、1 %谷氨酰胺和 1 %双抗)。细胞培养过程中,需要保持其在对数生长期以避免接触抑制对细胞活力的伤害,当观察到细胞汇合度约为 70 %-90 %时则进行传代操作:将细胞培养液吸尽,加入 PBS 清洗培养瓶中残余的培养基、细胞碎片等物质,吸尽 PBS。加入适量胰酶使之均匀铺于细胞表面,培养箱内孵育 2-5 分钟,拍打细胞培养瓶使尽可能多的细胞处于悬浮状态,加入适量完全培养基终止胰酶的消化,重悬细胞。以适当的比例(1:6~1:3 之间)将细胞转移至预先加入完全培养基的新培养瓶中,转移至 37℃ 5 % CO₂ 的细胞培养箱使之生长。

1.2.2 构建 GSTO1 野生型及其 C32A 突变型过表达细胞系 将 293FT 细胞种于 6 孔板,待细胞汇合度达 95 %左右。按照比例制备包装质粒、目的质粒与转染试剂的混合物,混合后静置 15 分钟,将混合物滴加至 6 孔板细胞之中,轻晃摇匀。6 小时后换包装培养基培养过夜。24 小时后第一次收取含病毒的培养液,加入新的包装培养基,继续培养 1 天并收取第二次含病毒的培养液。收取完毕后,离心取上清液,进行慢病毒感染。待感染细胞种于 6 孔板中,细胞汇合度为 60 %左右,加入含有 polybrene 的无血清培养基与病毒上清液。次日换液,细胞长满后传代,并用含有 1-2 μ g/mL 嘌呤霉素的培养基筛选培养三代(嘌呤霉素浓度以没有感染过慢病毒的正常细胞全部死亡为参照)。

1.2.3 免疫印迹实验(Western blot) 将待测定蛋白丰度的细胞提前种于 6 孔板,于冰上裂解提取蛋白,使用 BCA 法(详见说明书)测定蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液并加热变性。配制 SDS-PAGE 凝胶,将制备好的蛋白样品混匀后依次加入上样孔内。电泳、转膜,然后使用含有 5 %脱脂奶粉的 TBST 溶液室温孵育 1-2 小时进行膜封闭。加入一抗于 4℃孵育过夜,二抗室温孵育 1-2 小时,最后使用 ECL 显影液进行蛋白显影。

1.2.4 细胞增殖实验(CCK8 法) 将处于对数生长期的待测细胞消化重悬并计数,按照 3000-4000 个/孔种相同数量的待测细胞于 96 孔板中(每个组至少 3 个复孔),放入培养箱中培养。72 小时后,取出 96 孔板,弃去培养液,加入 CCK8 溶液,于 37℃培养约半小时。使用酶标仪,在 450 nm 下测定吸光度。

1.2.5 克隆形成实验 克隆形成实验是通过单细胞生成克隆的能力,用于反映细胞的生长相关指标。将待测细胞从培养瓶中消化,计数。取计数后的细胞悬液加入细胞培养液稀释至含细胞数约 500 个/mL。将稀释好的细胞悬液加入 6 孔板中,每孔加入 2 mL 细胞悬液使每孔含有约 1000 个细胞,充分摇匀。将 6 孔板平稳放回培养箱内,培养 7 天以上。用 4 %多聚甲醛

固定 30 分钟,结晶紫染色过夜,晾干后扫描图像。

1.3 统计学分析

CCK8 实验统计结果使用 Mean $\pm$ SD 表示,使用 GraphPad Prism 8.0.1 绘图并进行统计学分析,两组间差异比较使用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示具有显著性差异(其中 "*" 表示 $P < 0.05$, "***" 表示 $P < 0.01$)。肺腺癌患者临床数据来自 GSE140343^[20,21],包含共 51 位肺腺癌患者数据,生存分析两组间差异比较使用 Log-rank 检验。

2 结果

2.1 野生型及酶活失活突变型 GSTO1 过表达细胞系的构建

为了深入探究 GSTO1 在肺腺癌中发挥的功能及其具体机制,将肺腺癌细胞 PC9 作为亲本,分别构建稳定过表达 GSTO1 野生型及酶活失活突变型的细胞系。以 Lenti-CMV-MCS-PGK-Puro 作为载体(图 1A),将 GSTO1 关键酶活位点即 32 位点的半胱氨酸突变为丙氨酸(图 1B)。Western blot 结果显示, GSTO1 野生型 (PC9-GSTO1^{WT}) 及 GSTO1 酶活失活突变型 (PC9-GSTO1^{C32A}) 过表达细胞系中的 GSTO1 水平明显高于空载体组 (PC9-EV),表明细胞构建成功。

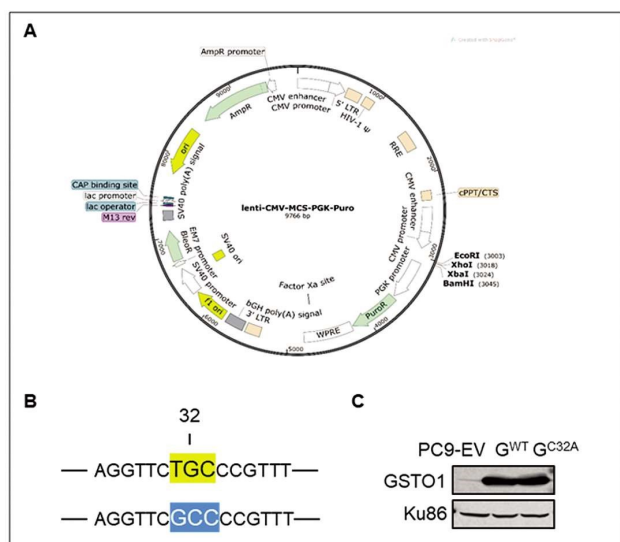


图 1 野生型及酶活失活突变型 GSTO1 过表达细胞系的构建

Fig.1 Construction of GSTO1^{WT} and GSTO1^{C32A} overexpression cells

Note: A. Plasmid vector map; B. Amino acid substitution at mutation site; C. Western blot analysis of GSTO1^{WT} and GSTO1^{C32A} stably overexpressed in PC9 cells; EV = PC9-EV, G^{WT} = PC9-GSTO1^{WT}, G^{C32A} = PC9-GSTO1^{C32A}; Ku86 was loading control.

2.2 GSTO1 依赖其 C32 酶活位点引起肺腺癌细胞形态变化并促进增殖

肿瘤细胞的形态与其功能密切相关,于是在显微镜下观察了野生型及酶活失活突变型 GSTO1 过表达的肺腺癌细胞系的形态。如图 2A 所示,PC9-EV 细胞形态多呈现椭圆形,边界相对不清晰,而过表达野生型 GSTO1 的细胞系 PC9-GSTO1^{WT} 形态则多呈长梭形,边界更清晰。与此同时,过表达酶活失活点突变的 PC9-GSTO1^{C32A} 细胞不同于野生型 GSTO1 过表达细胞,而呈现出类似 PC9-EV 细胞的形态,表明 GSTO1 依赖其 C32 酶活位点引起肺腺癌细胞形态的变化。通过 CCK8 实验检测了

三种细胞系的增殖活力(图 2B),结果显示,过表达野生型 GSTO1 的细胞系 PC9-GSTO1^{WT} 增殖能力显著强于 PC9-EV 及 PC9-GSTO1^{C32A} 细胞。克隆形成实验显示(图 2C),在相同条件下 PC9-GSTO1^{WT} 相比 PC9-EV 及 PC9-GSTO1^{C32A} 能够形成更大、更多的细胞克隆。以上结果显示, GSTO1 依赖其酶活位点引起肺腺癌细胞形态变化并促进增殖。

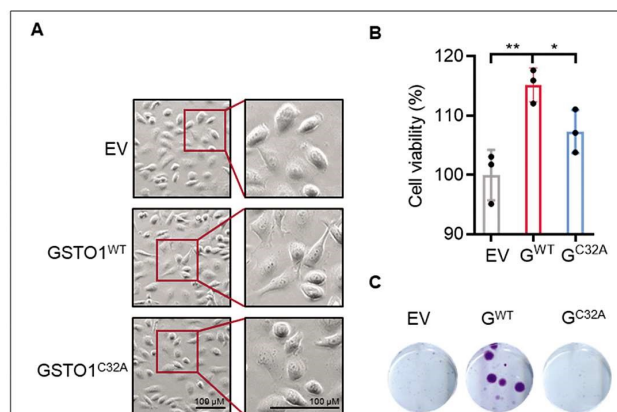


图 2 GSTO1 依赖其酶活位点引起肺腺癌细胞形态变化并促进增殖

Fig.2 GSTO1 relies on its active site to induce morphological changes and promote proliferation in lung adenocarcinoma cells

Note: A. Morphological changes of cells; B. Proliferation ability of cells detected by CCK8 assay. Data are presented as mean $\pm$ SD, * $P < 0.05$;

** $P < 0.01$; C. Clonogenic assay results;

EV = PC9-EV, G^{WT} = PC9-GSTO1^{WT}, G^{C32A} = PC9-GSTO1^{C32A}.

2.3 GSTO1 依赖其酶活位点上调 Vimentin 表达

为了探究 GSTO1 影响肺腺癌细胞形态及增殖能力的机制,对临床数据库(GSE140343^[20,21])中肺腺癌患者的 mRNA 水平进行分析。如图 3A 所示,发现 GSTO1 与 VIM 的表达呈现正相关 ($R = 0.5$, $P = 0.0004$)。已报道 Vimentin 与肿瘤恶性进展相关,能引起细胞形态由上皮样向间质细胞样的转变,同时还能促进肿瘤增殖。进一步探究了 GSTO1 基于其酶活位点引起肺腺癌细胞形态变化并促进增殖是否与 Vimentin 相关。Western blot 结果显示(图 3B),GSTO1 野生型过表达细胞中 Vimentin 蛋白水平上调,而酶活失活突变型 GSTO1 过表达则无法引起 Vimentin 蛋白水平升高。以上结果表明 GSTO1 基于其酶活位点上调 Vimentin 的表达。

2.4 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达与肺腺癌患者癌症进展和转移相关

为了探究研究结果是否与临床患者情况一致,进一步对临床数据库(GSE140343^[20,21])中肺腺癌患者样本进行分析。首先对患者肿瘤分期进行分析(图 4A),发现 GSTO1 与 VIM 共同高表达的患者相比低表达患者肿瘤分期处于 I 期和 II 期的比例更低,而处于恶性程度更高的 III 期和 IV 期的比例则更高。同时, GSTO1 与 VIM 共同高表达肺腺癌患者肿瘤弱分化占 75%(图 4B),发生肿瘤转移的患者比例也达 75%(图 4C)。以上结果提示 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达与肺腺癌患者癌症进展和转移相关。

2.5 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达与肺腺癌患者生存期缩短相关

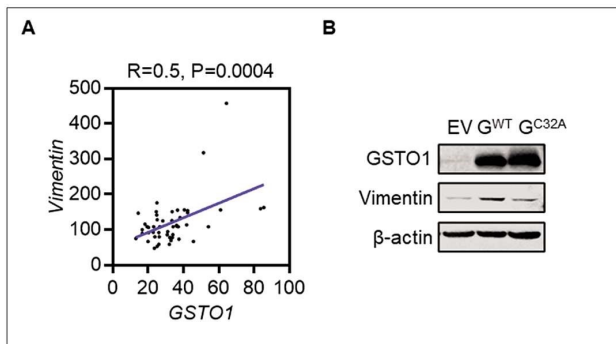


图3 GSTO1 依赖其酶活位点促进 Vimentin 表达

Fig.3 GSTO1 relies on its active site to upregulate level of Vimentin

Note: A. Correlation analysis between *GSTO1* and *VIM* levels based on a LUAD cohort composed of 51 individuals (GSE140343), $n=51$;

B. Protein level of Vimentin in *GSTO1*^{WT} and *GSTO1*^{C32A} stably overexpression cells detected by western blot assay. β -Actin was loading control; EV = PC9-EV, *G*^{WT} = PC9-*GSTO1*^{WT}, *G*^{C32A} = PC9-*GSTO1*^{C32A}.

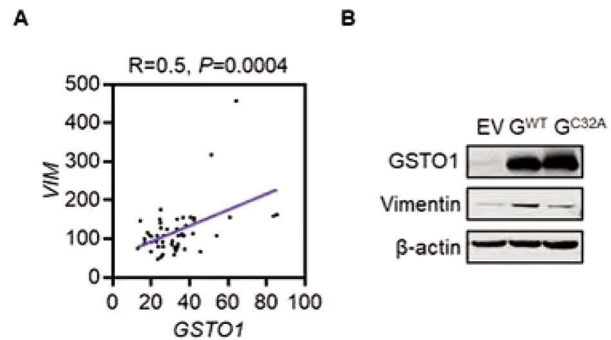


图4 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达与肺腺癌患者癌症进展和转移相关

Fig.4 Concurrent high levels of *GSTO1* and Vimentin is positively correlated with cancer progression and tumor metastasis of human lung adenocarcinoma

Note: A. Cancer stage grouping based on *GSTO1* and *VIM* levels;

B. Degree of differentiation grouping based on *GSTO1* and *VIM* levels;

C. Metastasis grouping based on *GSTO1* and *VIM* levels.

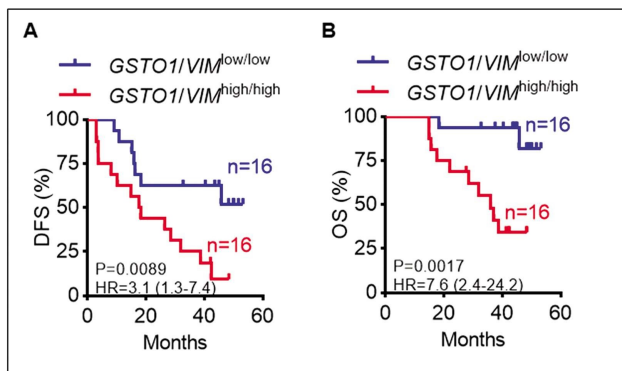


图5 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达与肺腺癌患者生存期缩短相关

Fig.5 Concurrent high levels of *GSTO1* and Vimentin is negatively correlated with survival time of lung adenocarcinoma patients

Note: A. Correlation of combined *GSTO1* and *VIM* expression with disease-free survival of LUAD patients, was performed by Kaplan-Meier survival analysis; B. Correlation of combined *GSTO1* and *VIM* expression with overall survival of LUAD patients was performed by Kaplan-Meier survival analysis; Significance of Kaplan-Meier survival analyses was performed by Log-rank test.

患者无病生存期 (Disease-free Survival, DFS) 与总生存期 (Overall survival, OS) 是评价患者预后的重要指标, 我们对临床数据库 (GSE140343^[20,21]) 中患者的 *GSTO1* 与 *VIM* 表达与生存期进行关联性分析。首先, 通过生存分析发现 (图 5A) *GSTO1* 与 *VIM* 共同高表达的肺腺癌患者的无病生存期明显较共同低表达的患者更短 ($P=0.0089$)。同时, 如图 5B 显示, *GSTO1* 与 *VIM* 共同高表达的肺腺癌患者的总生存期也较共同低表达的患者更短 ($P=0.0017$)。以上结果提示 *GSTO1* 与 Vimentin 共同高表达与肺腺癌患者不良预后相关。

3 讨论

代谢活动是细胞生命活动的物质能量基础, 而肿瘤细胞常发生代谢重编程, 在肿瘤恶性进展中发挥关键作用^[22,23], 近年来人们对代谢酶的认知仍在不断拓展^[9,24,25]。GSTO1 作为体内主

要参与 II 期代谢的关键酶家族的重要成员之一, 具备与其他成员不同的关键酶活位点 C32 位点, 在生理状态下发挥还原酶、硫醇转移酶、去谷胱甘肽酶等一系列酶活功能^[13,14]。GSTO1 高表达与多种肿瘤恶性进展相关, 然而我们构建了 GSTO1 野生型及 C32A 酶活失活点突变型过表达的肺腺癌细胞, 发现酶活失活点突变型过表达的肺腺癌细胞形态与空载体组细胞类似, 而与野生型 GSTO1 过表达肺腺癌细胞完全不同。于是我们提出科学假设: GSTO1 在肿瘤中的高表达是否依赖于其关键酶活位点发挥促进肿瘤进展的作用? 酶活失活点突变型 GSTO1 过表达是否仍能发挥促进肿瘤进展的作用? GSTO1 促进肿瘤恶性进展的分子机制如何?

为了解决这些问题, 我们通过 CCK8 法和克隆形成实验检测 GSTO1 野生型及 C32A 酶活失活点突变型过表达的肺腺癌细胞增殖能力的差异, 结果显示 GSTO1 野生型过表达能够显著提高肺腺癌细胞增殖能力, 然而 C32A 酶活失活点突变型过表达的肺腺癌细胞增殖能力与空载体组类似。为了进一步探究其中的分子机制, 通过临床数据分析发现 GSTO1 与 Vimentin 的表达呈现正相关, 并且 Western blot 结果显示 GSTO1 野生型过表达细胞中 Vimentin 蛋白水平上调, 而 C32A 酶活失活点突变型过表达细胞中 Vimentin 蛋白水平与空载体组相当。有文献报道, Vimentin 在胃癌、乳腺癌、肺癌、黑色素瘤、结直肠癌^[26]等多种上皮性癌症中的高表达, 并且能够使其获得间充质表型, 从而显著改变其形状并显示出更强的运动能力, 高表达的 Vimentin 可以促进肿瘤生长、侵袭, 与预后不良相关^[27-29]。接着, 我们对临床肺腺癌患者数据进行分析, 发现 GSTO1 与 Vimentin 共同高表达患者的恶性程度更高、发生转移的比例更大, 同时无病生存期与总生存期更短, 提示着 GSTO1 基于其酶活位点调控 Vimentin 的机制在肺腺癌恶性进展方面的重要作用, 为肺腺癌的治疗提供新的思路。

综上所述, 本文研究表明酶活失活点突变型 GSTO1 无法如野生型一致地引起肺腺癌细胞增殖。研究结果进一步揭示了 GSTO1 在促进肿瘤恶性进展方面发挥作用的方式, 为靶向

GSTO1 治疗肺腺癌提供了新的思路。

参考文献(References)

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023[J]. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73(1): 17-48.
- [4] THAI A A, SOLOMON B J, SEQUIST L V, et al. Lung cancer [J]. *Lancet*, 2021, 398(10299): 535-554.
- [5] FU K, XIE F, WANG F, et al. Therapeutic strategies for EGFR-mutated non-small cell lung cancer patients with osimertinib resistance[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 173.
- [6] ZHENG D, WANG R, ZHANG Y, et al. Prevalence and clinicopathological characteristics of ALK fusion subtypes in lung adenocarcinomas from Chinese populations [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, 142(4): 833-843.
- [7] ZHONG W Z, YAN H H, CHEN K N, et al. Erlotinib versus gemcitabine plus cisplatin as neoadjuvant treatment of stage IIIA-N2 EGFR-mutant non-small-cell lung cancer: final overall survival analysis of the EMERGING-CTONG 1103 randomised phase II trial [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 76.
- [8] BERGERS G, FENDT S M. The metabolism of cancer cells during metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): 162-180.
- [9] PAN C, LI B, SIMON M C. Moonlighting functions of metabolic enzymes and metabolites in cancer[J]. *Mol Cell*, 2021, 81(18): 3760-3774
- [10] RAMKUMAR K, SAMANTA S, KYANI A, et al. Mechanistic evaluation and transcriptional signature of a glutathione S-transferase omega 1 inhibitor[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13084.
- [11] SINGH R R, REINDL K M. Glutathione S-Transferases in Cancer [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(5).
- [12] CHATTERJEE A, GUPTA S. The multifaceted role of glutathione S-transferases in cancer[J]. *Cancer Lett*, 2018, 433: 33-42.
- [13] TSUBOI K, BACHOVCHIN D A, SPEERS A E, et al. Potent and selective inhibitors of glutathione S-transferase omega 1 that impair cancer drug resistance [J]. *J Am Chem Soc*, 2011, 133 (41): 16605-16616.
- [14] XIE Y, DAHLIN J L, OAKLEY A J, et al. Reviewing Hit Discovery Literature for Difficult Targets: Glutathione Transferase Omega-1 as an Example[J]. *J Med Chem*, 2018, 61(17): 7448-7470.
- [15] LI S, WANG L, XU Z, et al. ASC deglutathionylation is a checkpoint for NLRP3 inflammasome activation[J]. *J Exp Med*, 2021, 218(9).
- [16] SHIH Y Y, LIN H Y, JAN H M, et al. S-glutathionylation of Hsp90 enhances its degradation and correlates with favorable prognosis of breast cancer[J]. *Redox Biol*, 2022, 57: 102501.
- [17] DENG X, YANG X, CHENG Y, et al. GSTP1 and GSTO1 single nucleotide polymorphisms and the response of bladder cancer patients to intravesical chemotherapy[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14000.
- [18] PIAGGI S, RAGGI C, CORTI A, et al. Glutathione transferase omega 1-1 (GSTO1-1) plays an anti-apoptotic role in cell resistance to cisplatin toxicity[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5): 804-811.
- [19] XU Y, BANKHEAD A, 3RD, TIAN X, et al. Deletion of Glutathione S-Transferase Omega 1 Activates Type I Interferon Genes and Downregulates Tissue Factor [J]. *Cancer Res*, 2020, 80 (17): 3692-3705
- [20] ZHAO D, LIU X, SHAN Y, et al. Recognition of immune-related tumor antigens and immune subtypes for mRNA vaccine development in lung adenocarcinoma[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 5001-5013
- [21] XU J Y, ZHANG C C, WANG X, et al. Integrative Proteomic Characterization of Human Lung Adenocarcinoma[J]. *Cell*, 2020, 182 (1): 245
- [22] FAUBERT B, SOLMONSON A, DEBERARDINIS R J. Metabolic reprogramming and cancer progression[J]. *Science*, 2020, 368(6487): 152
- [23] XIA L Z, OYANG L D, LIN J G, et al. The cancer metabolic reprogramming and immune response[J]. *Molecular Cancer*, 2021, 20 (1). Epub ahead of print.
- [24] LUO M Y, ZHOU Y, GU W M, et al. Metabolic and Nonmetabolic Functions of PSAT1 Coordinate Signaling Cascades to Confer EGFR Inhibitor Resistance and Drive Progression in Lung Adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2022, 82(19): 3516-3531.
- [25] DASGUPTA S, RAJAPAKSHE K, ZHU B, et al. Metabolic enzyme PFKFB4 activates transcriptional coactivator SRC-3 to drive breast cancer[J]. *Nature*, 2018, 556(7700): 249-254.
- [26] SINGH S, SADACHARAN S, SU S, et al. Overexpression of vimentin: Role in the invasive phenotype in an androgen-independent model of prostate cancer [J]. *Cancer Research*, 2003, 63 (9): 2306-2311.
- [27] YANG R, PENG W L, SHI S, et al. The NLRP11 Protein Bridges the Histone Lysine Acetyltransferase KAT7 to Acetylate Vimentin in the Early Stage of Lung Adenocarcinoma [J]. *Adv Sci*, 2023. Epub ahead of print.
- [28] SATELLI A, LI S L. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68 (18): 3033-3046.
- [29] RIDGE K M, ERIKSSON J E, PEKNY M, et al. Roles of vimentin in health and disease[J]. *Gene Dev*, 2022, 36(7-8): 391-407.