

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.03.006

抗 ATPase F1 α 抗体 MAb3D5AB1 对荷 A549 肺腺癌小鼠的抑制作用

周俊平¹, 楼国良^{2*}, 李敏玉², 朱海沫², 胡宗涛¹, 芦东徽¹(1. 解放军第 105 医院 肿瘤中心, 安徽 合肥 230031; 2. 第二军医大学 附属长海医院 特诊科, 上海 200433)

[摘要] 目的: 探讨一种新型抗 ATPase F1 α 抗体, 人血管抑制和肿瘤转移相关蛋白(human angiostatin interacting and tumor metastasis involving protein, HAI-TMIP)抗体 MAb3D5AB1(简称 GX)对 A549 肺腺癌小鼠移植瘤的抑制作用。方法: 在 C57BL/6 小鼠右前腋窝接种 A549 肺腺癌细胞, 制备小鼠荷瘤模型, 32 只荷瘤小鼠随机分为对照组(无任何处理)及 A、B、C 治疗组(分别腹腔注射 125、250、500 ng/ml GX)。观察各组移植瘤小鼠肿瘤体积、生长延迟时间(tumor growth delay, TGD)及小鼠生存期。免疫组织化学法检测瘤组织内微血管密度。TUNEL 法检测肿瘤细胞凋亡。结果: 成功建立了荷 A549 肺癌小鼠模型, 治疗组小鼠移植瘤的体积明显减小($P < 0.05$)、TGD 随 GX 剂量增加而显著延长($P < 0.01$)、瘤组织内微血管密度明显减少($P < 0.05$)、TUNEL 法检测发现各治疗组瘤细胞凋亡率均显著高于对照组(均 $P < 0.01$)。结论: GX 可以抑制肿瘤新生血管生成, 促进肿瘤细胞凋亡, 使 A549 肺腺癌小鼠移植瘤生长减慢, 并延长小鼠生存期。

[关键词] 肺腺癌; 抗 ATPase F1 α 抗体; MAb3D5AB1; 微血管密度; 凋亡

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)03-0238-05

Inhibitory effect of anti-ATPase F1 α antibody against lung adenocarcinoma A549 cells in mice

ZHOU Jun-ping¹, LOU Guo-liang^{2*}, LI Min-yu², ZHU Hai-mo², HU Zong-tao¹, LU Dong-hui¹(1. Oncology Center, No. 105 Hospital of PLA, Hefei 230031, Anhui, China; 2. Department of Special Clinic, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effect of a new anti-ATPase F1 α antibody, anti-human angiostatin interacting and tumor metastasis involving protein (HAI-TMIP) antibody (MAb3D5AB1, GX), against lung adenocarcinoma cell line A549 in mouse tumor model. **Methods:** The tumor-bearing mouse model was established by injecting A549 cells into the right infra-axillary dermis of C57BL/6 mice. Thirty-two mice were evenly randomized into 4 groups. The control group was untreated; group A, B, and C were treated with different concentrations of GX (125, 250, 500 ng/ml, respectively). The tumor volume, tumor growth delay (TGD) and survival time of mice was observed in all groups. Microvascular density (MVD) of the tumors was determined by immunocytochemistry and apoptosis of tumor cells was examined by TUNEL assay. **Results:** Human lung adenocarcinoma A549 implanted animal model was successfully established in C57BL/6 mice. Tumor volumes in all GX-treated mice were smaller than that in control mice ($P < 0.05$). TGD in all GX-treated mice was prolonged as the concentration of GX increasing. After treatment with GX, the MVD in tumors was significantly decreased ($P < 0.05$) and survival time was increased ($P < 0.05$) compared with those in control group. TUNEL results revealed that apoptosis rate of tumor cells of GX-treated mice was higher than that in control mice ($P < 0.01$). **Conclusion:** GX can inhibit angiogenesis in implanted A549 tumors and promote apoptosis of A549 cells, thus inhibiting tumor growth and prolonging survival of tumor-bearing mice.

[Key words] lung adenocarcinoma; ATPase F1 α antibody; MAb3D5AB1; microvascular density; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(3): 238-242]

[基金项目] 全军医学科研“十一五计划”资助项目(No. 1MA159)。Supported by the Medical Science Research “11th Five-Year Plan” of PLA (No. 1MA159)

[作者简介] 周俊平(1974-),男,安徽太湖人,博士,主治医师,主要从事恶性肿瘤免疫治疗方面的研究

* 通讯作者(Corresponding author). E-mail: gllou@hotmail.com

肺癌是目前发病率和病死率最高的恶性肿瘤之一。非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是临床上常见的肺癌组织学类型,其 5 年存活率仅 10% ~ 15%。NSCLC 靶向治疗的研究取得了很大进展^[1-2],其有效药物较多,主要有吉非替尼 (gefitinib)、埃罗替尼 (erlotinib)、西妥昔单抗 (cetuximab)、贝伐单抗 (bevacizumab) 等。其中吉非替尼应用较为广泛,我国报道该药的最高缓解率为 30%^[3]。但是靶向治疗 NSCLC 的药物仍面临很多亟待解决的问题,包括整体疗效不高、毒性作用较大^[1]、价格昂贵等。ATP 合成酶 (ATP synthetase, ATPase) 是近几年肿瘤靶向治疗研究的热点。人血管抑制和肿瘤转移相关蛋白 (human angiostatin interacting and tumor metastasis involving protein, HAI-TMIP) 抗体 MAb3D5AB1 (以下简称 GX) 是新型抗 ATPase F1 α 抗体,已证实 GX 通过特异地与 NSCLC 血管内皮细胞膜上 HAI-TMIP 或 ATPase F1 α 结合,抑制 NSCLC 来源的血管内皮细胞 (NSCLC-derived vascular endothelial cells, NSCLC-VECs) 的增殖并诱导其凋亡^[46]。本研究探讨抗 HAI-TMIP 抗体 GX 对人肺腺癌细胞株 A549 小鼠移植瘤的抑制效应,并讨论其相关的临床意义,为其靶向治疗 NSCLC 提供初步的实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料及细胞株

清洁级 C57BL/6 纯系小鼠,购自上海中科院实验动物中心,实验动物合格证号为 SCXK(沪)2002-0006,均选用雌性,8 ~ 10 周龄,体重为 18 ~ 22 g,饲养于第二军医大学 SPF 级动物房。SP 试剂盒购自上海蓝基生物科技有限公司,F12 培养液、标准胎牛血清、CD34 单克隆抗体为 Gibco 公司产品,IV 型胶原酶、胰蛋白酶为 Sigma 公司产品,抗 HAI-TMIP 抗体 GX^[5] 由本实验室制备、保存。

人肺腺癌细胞株 A549 购自中科院上海细胞生物研究所,用 F12K 培养液 (含 10% 小牛血清,青、链霉素各 100 U/ml),于 37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度的细胞培养箱中培养。A549 细胞呈单层贴壁生长,每 2 ~ 3 d 传代 1 次。

1.2 A549 肺腺癌细胞小鼠移植瘤模型的建立

将处于对数生长期的 A549 细胞制成 3.0 × 10⁷/ml 的细胞悬液,在每只 C57BL/6 纯系小鼠右腋部皮下注射 A549 细胞悬液 0.2 ml。

1.3 移植瘤小鼠的分组及实验方案

C57BL/6 纯系小鼠右腋部移植瘤体最大直径达

到 0.8 ~ 1.0 cm 时,将移植瘤小鼠随机分为 4 组:对照组、治疗 A 组、治疗 B 组、治疗 C 组,每组各 8 只。对照组无任何处理;治疗 A、B、C 组每只小鼠腹腔注射 1 ml GX,3 组的 GX 质量浓度分别为 125、250、500 ng/ml,注射时间均为第 1、3、5、8、10、12 天。

1.4 移植瘤小鼠治疗后疗效的观察

1.4.1 肿瘤体积及生长曲线 实验过程中每隔 1 d 由专人用游标卡尺测量肿瘤的面积。体积 (V) = 1/6ab² π (a ≥ b)^[7],a 为肿瘤的最大长径,b 为与 a 垂直的最大横径。计算各组小鼠肿瘤平均体积,绘制 15 d 内肿瘤生长曲线,比较各组小鼠生长情况。

1.4.2 肿瘤生长延迟时间 (tumor growth delay, TGD) 实验组肿瘤体积增加到实验开始时体积的 4 倍时所需的时间 D,与对照组肿瘤所需时间 D₀ 的差值^[8]。

1.4.3 小鼠生存期 以生存率表示,根据各组小鼠死亡情况计算生存率,生存率 (%) = (8 - 小鼠死亡数) / 8 × 100%。

1.5 免疫组织化学检测移植瘤组织中 CD34 的表达并计算微血管密度 (microvascular density, MVD)

实验组小鼠死亡后立即取移植瘤组织,4% 中性甲醛固定,乙醇逐级脱水,石蜡包埋,切片,脱蜡。免疫组织化学染色 SP 法检测 CD34 的表达,一抗为 CD34 单克隆抗体,以 PBS 代替一抗作阴性对照。用已知 CD34 阳性的乳腺癌组织切片作阳性对照。以 10% 以上细胞质呈棕黄色者为 CD34 蛋白表达阳性。

微血管密度定量方法:参照 Weiderner^[9] 的方法,在 100 倍光镜下挑选微血管分布最密区域,200 倍视野下计数 5 个不重复视野中被 CD34 染成棕色的血管数目,取其均值作为 MVD。与邻近的微血管明显分离的染色阳性的单个内皮细胞或内皮细胞簇计为一个血管,凡管腔大于 8 个红细胞、带较厚肌层的血管均不计数。

1.6 TUNEL 法检测移植瘤细胞的凋亡

取移植瘤石蜡切片,脱蜡,TUNEL 法检测细胞凋亡率:(1) 3% H₂O₂ 室温孵育 10 min,去除内源性过氧化物酶,PBS 冲洗 2 min,3 次;(2) 滴加 0.1% TritonX-100,4 °C 2 min,PBS 冲洗 2 min,3 次;(3) 滴加 TUNEL 反应液 50 μ l,37 °C 孵育 1 h,PBS 冲洗 2 min,3 次;(4) 滴加 POD 50 μ l,37 °C 孵育 1 h,PBS 冲洗 2 min,3 次;(5) 滴加 50 μ l DAB 显色。镜下控制显色时间,待阳性部位显色时终止反应,蒸馏水冲洗。

结果判断:凋亡细胞胞核被染成棕黄色。随机选取 10 个高倍镜视野,计数 1 000 个肿瘤细胞中阳

性染色细胞数。凋亡率(%)=(凋亡细胞数/细胞总数)×100%。

1.7 统计学处理

所有计量资料均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 Excel 行 *t* 检验,生存分析采用 log-rank 检验,应用 SPSS10.0 软件进行统计处理。

2 结果

2.1 GX 对荷瘤小鼠一般状态的影响

C57BL/6 纯系小鼠共 32 只,均成功建立荷 A549 肺癌模型,瘤体生长于右前肢腋下,质硬。2 周时对照组荷瘤小鼠反应迟钝,活动少,毛色灰暗;GX 治疗 A 组小鼠欠灵敏,活动较少,毛色稍灰暗;GX 治疗 B 组小鼠反应灵敏,活动较多,毛色光亮;GX 治疗 C 组小鼠反应灵敏,活动多,毛色光亮。

2.2 GX 对移植肿瘤生长的影响

GX 治疗前各组肿瘤体积无显著性差异。GX 治疗第 5 天时各组肿瘤体积(cm^3)分别为:A 组 1.36 ± 0.17 ($t=2.300, P<0.05$)、B 组 1.32 ± 0.21 ($t=2.476, P<0.05$)、C 组 1.07 ± 0.16 ($t=5.469, P<0.01$)均明显小于对照组 1.58 ± 0.21 ,这种现象随时间的延长更加显著;C 组肿瘤体积显著小于 A 组($t=3.481, P<0.01$)和 B 组($t=2.737, P<0.05$),但生长曲线始终没有显著分离(图 1)。

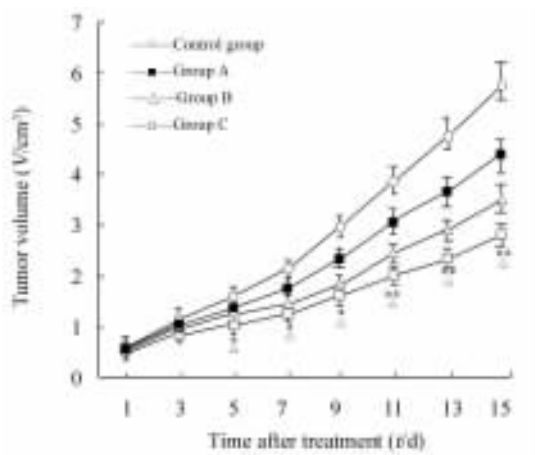


图 1 GX 对 A549 移植瘤生长的影响

Fig.1 Effect of GX on the growth of implanted A549 tumors

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ group A, B or C vs control group;

[△] $P<0.05$ vs group A or group B

2.3 GX 对 TGD 及小鼠生存期的影响

经 GX 治疗后,各治疗组小鼠的移植瘤均较对照组肿瘤生长延迟,A、B、C 治疗组的 TGD 分别为 2.4、3.0、3.8 d。随 GX 浓度的提高,TGD 随之增

加;与 A 组相比,治疗 C 组小鼠 TGD 明显延长($t=10.164, P<0.01$)。所有荷瘤小鼠生存期均超过 15 d,GX 治疗后小鼠 4 周生存率在 60% 以上,而对照组生存期未超过 4 周,A、B、C 组与对照组相比有显著差异($\chi^2=4.56 \sim 6.24, P<0.05$,图 2)。

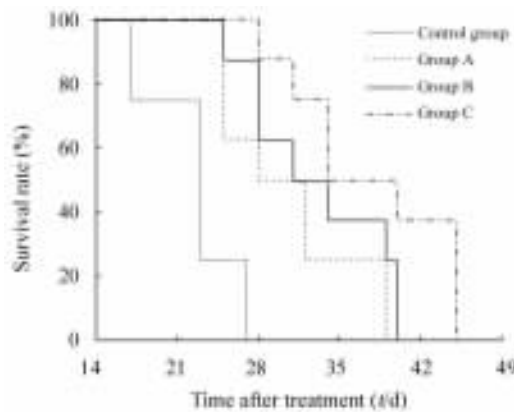


图 2 GX 延长移植瘤小鼠的生存率

Fig.2 GX prolonged survival rate of A549-bearing mice

2.4 GX 对移植瘤组织中微血管密度的影响

用免疫组织化学法检测 MVD,各组 MVD 分别为:对照组 41.69 ± 9.76 ,GX 治疗 A 组 30.52 ± 7.75 ($t=2.535, P<0.05$),GX 治疗 B 组 29.37 ± 8.04 ($t=2.756, P<0.02$),GX 治疗 C 组 24.88 ± 10.12 ($t=3.382, P<0.005$),均显著高于对照组。A、B、C 治疗组间两两比较无显著差别($t=0.291 \sim 1.251, P>0.10$)。

2.5 GX 对移植瘤细胞凋亡的影响

用 TUNEL 法检测,显微镜下可见凋亡细胞核固缩,细胞核中有棕黄色颗粒,聚集在胞核周边;非凋亡细胞的胞核呈蓝色。各组肿瘤细胞凋亡率分别为:对照组为(2.25 ± 0.86)%,A 组(5.65 ± 1.32)% ($t=6.104, P<0.001$),B 组为(8.48 ± 1.56)% ($t=9.892, P<0.01$),C 组为(14.74 ± 2.16)% ($t=15.195, P<0.01$),均显著高于对照组;B 组($t=3.917, P<0.01$)、C 组均显著高于 A 组($t=10.157, P<0.01$);C 组显著高于 B 组($t=6.645, P<0.01$,图 3)。

3 讨论

NSCLC 的靶向治疗研究取得了很大进展,目前有大量的靶向治疗研究是针对肿瘤血管内皮细胞。已找到一些对肺癌的恶性表型有重要作用的靶分子,尤其是膜表面的抗原性蛋白^[10],ATPase 就是其中之一,这些靶分子被阻断后可抑制肺癌生长和扩

散。ATPase 是一种合成酶复合物,相对分子质量 500 000,分为球形的 F1 段和嵌入膜中的 FO 段。F1 由 5 种多肽组成 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ 复合体,具有 3 个 ATP 合成的催化位点(每个 β 亚基具有一个);FO 是由 3 种多肽组成的 $\alpha\beta_2\gamma_{12}$ 复合体,嵌入线粒体内膜,12 个 γ 亚基组成一个环形结构,具有质子通道,可使质子由膜间隙流回基质^[11]。过去 ATPase 被认为是严格表达在线粒体膜上,后发现线粒体膜外也表达 ATPase α 、 β 亚基。很多类型肿瘤细胞及内皮细胞膜

上均表达 F1/F1FO^[12-16]。ATPase 可作为多种配体的受体,参与多种过程,如内皮细胞分化、肿瘤的免疫识别、转录调控、端粒酶活性、DNA 修复、细胞增殖控制和凋亡等^[17-19]。结直肠癌患者细胞中 ATPase F1 β 的表达水平越高,接受以 5-FU 为基础的化疗后,其 5 年无病生存率越低^[20]。利用抗体中和 ATPase 是抑制肿瘤生长的有效途径^[21-22]。研究^[23-24]已证实,利用抗体与 ATPase 结合可抑制乳腺癌、结直肠癌的生长。

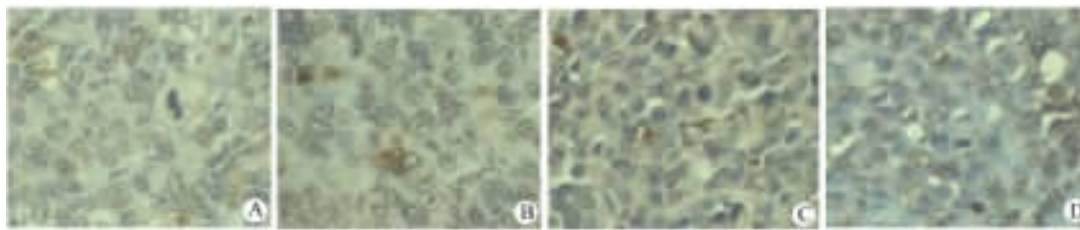


图 3 GX 对移植瘤细胞凋亡的影响(×200)

Fig. 3 Effect of GX on apoptosis of implanted tumor cells

A: Control; B: 125 ng/ml GX; C: 250 ng/ml GX; D: 500 ng/ml GX

GX 是新型抗 ATPase F1 α 抗体,已证实 GX 通过特异地与 NSCLC 血管内皮细胞膜上 HAI-TMIP 或 ATPase F1 α 结合,抑制 NSCLC-VECs 的增殖、迁移并诱导 NSCLC-VECs 的凋亡^[4-6]。本实验研究了 GX 对人肺腺癌 A549 移植瘤小鼠的影响,结果表明,经抗体治疗后各组移植瘤的 TGD 显著延长;移植瘤体积较对照组明显减小,治疗组小鼠生存期明显延长;移植瘤组织内 MVD 较对照组显著减少;治疗组瘤组织内细胞凋亡率显著提高。其中,500 ng/ml GX 治疗组移植瘤体积和瘤内微血管密度最小,且生存期最长,表明 GX 的抗肿瘤作用与其剂量有正相关趋势。移植瘤组织内 MVD 减少进一步证实了 GX 主要作用于血管内皮细胞,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤生长,从而提高了荷瘤小鼠的生存期。目前包括肺癌在内的许多恶性肿瘤的治疗仍无突破性进展,多年来总的治愈率和生存期未见明显改善,因而积极寻找一种安全有效的肿瘤治疗手段意义非常重大。已有的研究显示, GX 具有十分诱人的应用前景,它的出现为临床靶向治疗 NSCLC 这一人类难题提供了广阔的前景。

[参考文献]

[1] Cascone T, Gridelli C, Ciardiello F. Combined targeted therapies in non-small cell lung cancer: a winner strategy[J]? *Curr Opin Oncol*, 2007, 19(2): 98-102.

[2] Gridelli C. Targeted therapies and non-small cell lung cancer: new developments[J]. *Curr Opin Oncol*, 2007, 19(2): 75-77.

[3] 张晓彤,李龙芸,王树兰,等. 吉非替尼治疗晚期非小细胞肺癌疗效观察[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2005, 28(3): 180-183.

[4] 彭艳,张霞,王葵,等. 不同转移潜能肝癌细胞株的差异蛋白质组的二维液相色谱分析[J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(13): 1482-1487.

[5] Chi SL, Wahl ML, Mowery YM, et al. Angiostatin-like activity of a monoclonal antibody to the catalytic subunit of F1FO ATP synthase[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(10): 4716-4724.

[6] 周俊平,楼国良,朱海沫,等. 抗 ATPase F1 α 抗体对人非小细胞肺癌血管内皮细胞的抑制作用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15(3): 217-222.

[7] 姜扬文,钱莉,蒋桂花,等. Bcr-abl 基因疫苗对小鼠 SP2/0/BCR-ABL 移植瘤的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2006, 14(4): 800-803.

[8] 陆雪官, Luka M. Satraplatin 提高头颈部鳞癌放射治疗疗效的动物实验研究[J]. *肿瘤*, 2007, 27(3): 199-201.

[9] Weidemer N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer[J]. *Am J Pathol*, 1995, 147(7): 9-19.

[10] Ramalingam S, Belani CP. Recent advances in targeted therapy for non-small cell lung cancer[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2007, 11(2): 245-257.

[11] Pedersen PL, Amzel LM. ATP synthases: structure, reaction center, mechanism, and regulation of one of nature's most unique machines[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 9937-9940.

[12] Burrell HE, Wlodarski B, Foster BJ, et al. Human keratinocytes release ATP and utilize three mechanisms for nucleotide intercon-

- version at the cell surface[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(33): 29667-29676.
- [13] Champagne E, Martinez LQ, Collet X, *et al.* Ecto-F1Fo ATP synthase/F1ATPase: metabolic and immunological functions[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2006, 17(3): 279-284.
- [14] Moser TL, Kenan DJ, Ashley TA, *et al.* Endothelial cell surface F1Fo ATP synthase is active in ATP synthesis and is inhibited by angiostatin[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(12): 6656-6661.
- [15] Arakaki N, Nagao T, Niki R, *et al.* Possible role of cell surface H⁺-ATP synthase in the extracellular ATP synthesis and proliferation of human umbilical vein endothelial cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(13): 931-939.
- [16] Chi SL, Pizzo SV. Angiostatin is directly cytotoxic to tumor cells at low extracellular pH: a mechanism dependent on cell surface-associated ATP synthase[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 875-882.
- [17] Burwick NR, Wahl ML, Fang J, *et al.* An inhibitor of the F1 subunit of ATP synthase (IF1) modulates the activity of angiostatin on the endothelial cell surface[J]. *Biol Chem*, 2005, 280(3): 1740-1745.
- [18] Huber O, Ménard L, Haurie V, *et al.* Pontin and reptin, two related ATPases with multiple roles in cancer[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(17): 6873-6876.
- [19] Watabe M, Nakaki T. ATP depletion does not account for apoptosis induced by inhibition of mitochondrial electron transport chain in human dopaminergic cells[J]. *Neuropharmacology*, 2007, 52(2): 536-541.
- [20] Lin PC, Lin JK, Yang SH, *et al.* Expression of beta-F1-ATPase and mitochondrial transcription factor A and the change in mitochondrial DNA content in colorectal cancer: clinical data analysis and evidence from an *in vitro* study[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2008, 23(12): 1223-1232.
- [21] Barinaga M. A surprising partner for angiostatin[J]. *Science*, 1999, 283(5409):1831.
- [22] Mijatovic T, Ingrassia L, Facchini V, *et al.* Na⁺/K⁺-ATPase alpha subunits as new targets in anticancer therapy[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2008, 12(11):1403-1417.
- [23] Kim DW, Kim KH, Yoo BC, *et al.* Identification of mitochondrial F1Fo ATP synthase interacting with galectin-3 in colon cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(10): 1884-1891.
- [24] Zhang X, Gao F, Yu LL, *et al.* Dual functions of a monoclonal antibody against cell surface F1Fo ATP synthase on both HUVEC and tumor cells[J]. *Acta pharmacol Sin*, 2008, 29(8): 942-950.
- [收稿日期] 2009-01-09 [修回日期] 2009-03-09
[本文编辑] 徐红梅

· 科技动态 ·

c-myc 通过抑制 miR-23a/b 增强线粒体谷氨酰胺酶表达和谷氨酰胺代谢

如今,生命科学的研究已经渐渐转向功能蛋白组学的方向,确定蛋白质在机体细胞中的相互作用和机制是个复杂而艰巨的任务。Western blotting 这样的传统的蛋白质表达分析法费时费力,于是,以双向电泳和质谱为主要代表的蛋白组学,一种以蛋白质为基础的整体生物学研究方法应运而生,并在生命科学领域里占据了越来越重要的地位。其中双向电泳从 1975 年发展到现在,已成为蛋白质组学中一种流行的蛋白分离手段。

瓦氏效应(Warburg effect)是奥托·海因里希·瓦尔堡(Otto Heinrich Warburg)所提出的理论,认为癌细胞的生长速度远大于正常细胞的原因来自于能量来源的差别。癌细胞会偏向使用糖解作用取代一般正常细胞的有氧循环,所以癌细胞使用粒线体的方式与正常细胞会有所不同。粒线体以及调控有氧循环与糖解作用过程一直是癌症研究的重要问题。

在癌细胞的代谢过程中,谷氨酰胺是代谢产生 ATP 和乳酸的重要组份,大量的谷氨酰胺会被运输到癌细胞中促进癌细胞增殖、生物合成和碳循环,然而谷氨酰胺的代谢调节机制一直不明。

该研究小组运用双向电泳作为上游的突破口对癌细胞瓦氏效应展开研究,结果发现 c-myc 原癌基因能够上调癌细胞中谷氨酰胺酶的表达水平,并经 Western blotting 验证。结果还显示 c-myc 能抑制癌细胞中 miR-23a/b 水平。于是,该研究通过 CHIP 方法验证了 c-myc 能直接调节 miR-23a/b,荧光报告基因的结果发现 miR-23a/b 能直接作用于谷氨酰胺酶的 3'UTR 区域。这些研究结果揭示了 c-myc 通过抑制 miR-23a/b 增强线粒体谷氨酰胺酶表达和谷氨酰胺代谢这样的一个癌症能量代谢调节机制。

[叶 硕 摘译,徐红梅 审阅. Gao P, Tchernyshyov I, Chang TC, *et al.* *Nature*, 2009, 458(7239): 762-765.]