

肝 癌

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001526

PCK1 影响肝癌细胞迁移能力的研究

向 进¹, 度 琳¹, 高庆祝¹, 杨 翼¹, 梁 利¹, 夏 杰¹, 唐 霓¹, 汪 凯²

(重庆医科大学 1. 感染性疾病分子生物学教育部重点实验室; 2. 基础医学院病原生物学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:构建编码磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)的基因 PCK1 重组腺病毒和基因敲除 2 种细胞模型,并初步观察 PCK1 过表达和敲除后对肝癌细胞迁移能力的影响。**方法:**PCK1 cDNA 克隆到 pAdTrack-TO4 载体,构建重组腺病毒质粒,在 HEK293 细胞中包装、扩增成高滴度重组腺病毒 AdPCK1;利用 CRISPR/Cas9 系统在 PLC/PRF/5 肝癌细胞系中筛选出 PCK1 基因敲除的稳定细胞株。首先,在过表达模型将 Huh7 细胞设为 2 组:AdGFP 组和 AdPCK1 组,AdGFP 组为感染腺病毒 AdGFP 的对照组,AdPCK1 组为感染腺病毒 AdPCK1 的实验组。在敲除模型设 Parental 组和 KO 组,Parental 组是 PLC/PRF/5 细胞作为对照组,KO 组是 PCK1 基因敲除稳定细胞株作为实验组。Western blot 技术检测 2 种模型蛋白表达量,采用划痕实验观察细胞迁移能力,进一步经 qRT-PCR 检测影响肝癌细胞的迁移关键分子。**结果:**重组腺病毒 AdPCK1 构建成功,经 Western blot 鉴定 PCK1 在 Huh7 细胞中的表达。向导 RNA(single guide RNA, sgRNA)寡核苷酸双链成功插入酶切后的 LentiCRISPR-V2 质粒载体中且测序正确;经 Western blot 鉴定 PCK1 敲除的细胞株筛选成功。划痕结果显示, PCK1 过表达模型在 48 h 的细胞迁移率为 $(66.300 \pm 0.383)\%$,与 AdGFP 组 $(42.900 \pm 3.833)\%$ 相比明显增加 ($t=10.540, P=0.000$);PCK1 敲除 KO 组在 48 h 的细胞迁移率为 $(59.40 \pm 5.68)\%$,与亲本细胞组 $(79.00 \pm 5.20)\%$ 相比明显减少 ($t=4.420, P=0.012$)。qRT-PCR 结果显示, PCK1 过表达后,相较于对照组 AdGFP, Cdh1 相对表达量为 2.733 ± 0.501 ($t=5.989, P=0.004$),相对表达增高;PCK1 敲除后,相较于亲本细胞组, Cdh1 相对表达量为 0.664 ± 0.017 ($t=34.290, P=0.000$),相对表达减少。**结论:**PCK1 过表达后可明显抑制肝癌细胞的迁移能力,而敲除后促进其迁移,证实 PCK1 可能作为抑癌基因参与肝癌的发生和发展。

【关键词】PCK1; 重组腺病毒; CRISPR/Cas9; 肝癌; 迁移**【中图分类号】**R735.7**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-11-14

Effect of PCK1 on migration of hepatocarcinoma cells

Xiang Jin¹, Tuo Lin¹, Gao Qingzhu¹, Yang Yi¹, Liang Li¹, Xia Jie¹, Tang Ni¹, Wang Kai²

(1. Key Laboratory of Molecular Biology for Infectious Diseases, Ministry of Education, Chongqing Medical University; 2. Teaching and Research Section of Pathogenic Biology, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To construct overexpression and knockout model of phosphoenolpyruvate carboxykinase1(PCK1) gene and to investigate the effects of PCK1 on migration of hepatocarcinoma cell. **Methods:** The cDNA of PCK1 was cloned into plasmid pAdTrack-TO4. Recombinant adenovirus plasmid pAdTrack-PCK1 was transfected into HEK293 cells to package and generate high titer recombinant adenoviruses encoding PCK1(AdPCK1). The PCK1 knockout cell lines using CRISPR/Cas9 system were selected in PLC/PRF/5 cells. First, the Huh7 cells were set into two groups in the overexpression model, one of which was AdGFP group as control group infected with adenovirus AdGFP, and the other of which was AdPCK1 group as experimental group infected with adenovirus AdPCK1. The knockdown model included two groups, one of which was Parental group as control group using PLC/PRF/5 cells, and the other of which was KO group as experimental group using PCK1 knockout cells. Two models were confirmed by Western blot. The effect on the migration of hepatocarcinoma cells was observed by wound assay. Further, Cdh1 were analyzed by qRT-PCR. **Results:** AdPCK1 was successfully constructed and Western blot showed PCK1 overexpression in AdPCK1 infected cells. Western blot showed that PLC/

作者介绍: 向 进, Email: no2xiangjin@126.com,

研究方向: 肝癌的发生发展机制。

通信作者: 汪 凯, Email: wangkai@cqmu.edu.cn。**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(编号: 81602417、81572683、81602045); 重庆市科委基础与前沿重点资助项目(编号: cstc2015jcyjBX0011)。**优先出版:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180321.1014.016.html>
(2018-03-21)

PRF/5 cell lines with PCK1 knockout were successfully established by the usage of CRISPR/Cas9 system. Wound assay showed PCK1 significantly inhibited the migration of hepatocarcinoma cells compared with control group. The wound closure rate of AdPCK1 group was $(66.300 \pm 0.383)\%$ compared with that of $(42.900 \pm 3.833)\%$ in AdGFP control ($t=10.540, P=0.000$). The wound closure rate of KO group was $(59.40 \pm 5.68)\%$ compared with that of $(79.00 \pm 5.20)\%$ in parental cell

control($t=4.420, P=0.012$). In addition, qRT-PCR showed that the expressions of Cdh1 genes in EMT signal pathway were significantly inhibited by the gene of PCK1 than control. qRT-PCR showed that AdPCK1 compared with those of AdGFP control group, the relative expression of Cdh1 was $2.733 \pm 0.501 (t=5.996, P=0.004)$, and KO group compared with those of parental cell, the relative expression of Cdh1 was $0.664 \pm 0.017 (t=34.290, P=0.000)$. **Conclusion:** PCK1 inhibited the migration of hepatocarcinoma cells through regulating the expression of Cdh1 genes in EMT pathway, suggesting that PCK1 may be involved in the initiation and progress of hepatocarcinoma.

【Key words】phosphoenolpyruvate carboxykinase1; recombinant adenoviruses; CRISPR/Cas9; hepatocellular carcinoma; cell migration

糖异生作用是非糖的前体物质如丙酮酸、甘油和乳酸等转变为葡萄糖和糖原的过程。在生理情况下,肝脏是糖异生的主要器官,占糖异生总量的90%。磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)能够催化草酰乙酸生成磷酸烯醇丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP),是调控糖异生途径的关键酶之一^[1]。PEPCK有2种同工酶,一种是位于细胞质的 PEPCK-C,由 PCK1 基因编码;另一种是位于线粒体的 PEPCK-M,由 PCK2 基因编码。Wurmbach 等^[2]早期研究发现丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)引起的早期肝细胞癌中 PCK1 和 PCK2 基因低表达。Ma 等^[3]2013 年报道肝细胞癌中糖异生途径重要的限速酶 PCK1 和葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6PC)基因低表达,糖异生能力减弱;而激素类药物地塞米松可以上调 PCK1 和 G6PC 的表达,通过促进糖异生作用而抑制肝癌细胞生长。

代谢重编程被视为肿瘤的重要标志之一,其中葡萄糖代谢的改变对恶性肿瘤的发生发展至关重要^[4]。肝脏是糖异生的主要器官,肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中糖异生的关键酶 PCK1 表达明显下调,而过表达 PCK1 基因能够抑制肝癌细胞生长^[3],提示 PCK1 是一种新的潜在抑癌基因,但其具体机制仍未阐明。

本课题分别成功构建 PCK1 重组腺病毒过表达及敲除细胞模型,并在过表达和基因敲除 2 种细胞模型中共同验证了 PCK1 对肝癌细胞迁移能力的影响,为进一步揭示 PCK1 在 HCC 发生中的分子机制奠定了基础,并有望提供新的靶点用于临床肝癌的诊断和治疗。

1 材料和方法

1.1 质粒和细胞

PCK1 cDNA 质粒 pOTB7-PCK1 购自 Genecopoeia 公司(货号:FL07339);lentiCRISPR-v2 载体以及 pMD2.G、psPAX2

慢病毒包装质粒由清华大学生命科学院薛定教授馈赠;pAd-Track-T04 载体、BJ5183、DH10B 感受态及人胚肾细胞系 HEK293、人胚肾细胞系 HEK293T、人肝癌细胞系 Huh7 和 PLC/PRF/5 为本实验室保存。

1.2 主要试剂

*Bam*H I、*Hind* III、*Pac* I、*Pme* I、*Bsm*B I 限制性内切酶购于 NEB 公司;T4 DNA 连接酶和质粒提取试剂盒购于 Promega 公司;DNA marker 5000、15000 购于 Takara 公司;转染试剂 Lipofectamine 2000 购于 Invitrogen 公司;蛋白 BCA 定量试剂盒购于鼎国生物公司;结晶紫染料购于碧云天公司;PCK1 抗体购自 Bioworld 公司(货号:BS6870);二抗(羊抗兔)抗体购于 Abcam 公司; β -actin 抗体购于 Bio-sharp 公司;DMEM 培养基、青链霉素购自 Hyclone 公司;胎牛血清购自 Gibco 公司;划痕板 LimageLock(型号:4379)购于 Essen Bioscience 公司;iTaq Universal SYBR Green Supermix 酶购自 Bio-Rad 公司(货号:1725122)。基因组 DNA 提取试剂盒购自吉锐生物公司。

1.3 构建 PCK1 重组腺病毒

1.3.1 构建 PCK1 腺病毒穿梭质粒 依据 PCK1 CDS 基因序列设计引物序列(表 1),以 PCK1 cDNA 质粒为模板,PCR 扩增出 DNA 片段大小约 1 900 bp。用限制性内切酶 *Bam*H I、*Hind* III 酶切 PCR 产物和 pAd-Track-T04 质粒,经凝胶电泳回收纯化,T4 连接酶 4 ℃连接 16 h,电转入 DH10B 感受态细胞中,涂板后置 37 ℃孵箱中过夜,挑单克隆菌落进行摇菌扩增,并提取质粒,酶切鉴定后送擎科基因测序分析。

表 1 引物序列

Tab.1 Sequences of the primers

引物名称	引物序列
PCK1	正义链 5' -CGCGGATCCACCATGGGCCCTCCTCAGCTGCAAAACGGCC-3'
	反义链 5' -CCCAAGCTTCTACATCTGGCTTATCTTTGCTTCAAG-3'
PCK1-sg	正义链 5' -CACCGGCTGAAGAAGTATGACAAC-3'
	反义链 5' -AAACGTTGTCATACTTCTTCAGCC-3'
PCK1-seq	正义链 5' -AACCTGTGGATCTCCCTTC-3'
	反义链 5' -CAAATCAATGTTCCGCTCA-3'
GAPDH	正义链 5' -GTATGACAACGAATTGGCTACAG-3'
	反义链 5' -TGAGGGTCTCTCTCTTCTCTTGT-3'
Cdh1	正义链 5' -TGCCCAGAAAATGAAAAAGG-3'
	反义链 5' -GTGTATGTGGCAATGCGTTC-3'

1.3.2 构建 PCK1 腺病毒 测序正确后,用限制性内切酶 *Pme* I 酶切,使重组质粒线性化,电转入感受态菌 BJ-AdEasy 中,涂板 37 °C 孵箱过夜。挑选单克隆菌,接种于含 100 mg/L 卡那霉素的 LB 液体中,37 °C 摇床过夜。用 Promega 试剂盒提取质粒,用限制性内切酶 *Pac* I 酶切后凝胶电泳筛选阳性重组质粒 AdEasy-PCK1。

1.3.3 包装扩增 PCK1 重组腺病毒质粒 AdEasy-PCK1 经 *Pac* I 酶切后,乙醇沉淀法纯化,加 20 μ L 无核酶水溶解。6 cm 培养皿贴壁 4 h 的 HEK293 细胞吸干培养基后加入不含青链霉素培养基,于 37 °C、5% CO₂ 孵箱。加 250 μ L Opti-MEM、7.5 μ L Lipofectamine 2000 混匀,37 °C 孵育 5 min,然后加入 3 μ g 酶切后的 AdEasy-PCK1 线性化质粒混匀,继续孵育 15 min,最后将混合物加入 HEK293 细胞培养皿中,过 4 h 换液,加入含抗生素的完全培养基。转染成功后 10~14 d,收取细胞上清液,用约 1/2 的量感染下一轮 HEK293 细胞,如此反复扩增 5 次后可获得高滴度的 PCK1 重组腺病毒(AdPCK1)。

1.3.4 确定 PCK1 重组腺病毒最适滴度 以 40% 左右密度将 Huh7 细胞重铺于 24 孔培养板,每组浓度 3 个复孔,6 h 后将 PCK1 重组腺病毒以 10 μ L 为初始量按 1/2 等比稀释,即加入腺病毒的量分别为 10、5、2.5、1.25、0.75、0.375 μ L。48 h 左右在显微镜下观察感染状况,将状态好、荧光适度的量作为 PCK1 重组腺病毒的最适滴度。

1.4 构建 PCK1 敲除细胞模型

1.4.1 构建重组质粒 在 <http://www.e-crisp.org/ECRISP/designcrispr.html> 网站设计合成 2 条 PCK1 Oligo 单链并添加合适酶切位点(表 1, PCK1-sg)。将寡核苷酸单链退火形成双链 DNA;用限制性内切酶 *BsmB* I 酶切 LentiCRISPR-v2 质粒,连接酶切后的质粒和退火后的双链 DNA。16 °C 连接 16 h,连接产物电转 DH10B 感受态涂板,提取质粒,送检测序。

1.4.2 包装慢病毒 将 HEK293T 细胞重铺 60%~70% 密度至 T25 培养皿,10 h 后,如上述脂质体介导的转染法,按质量 3:2:1 的比例混合重组质粒、psPAX2、pMD2.G 后转染到 HEK293T 细胞,3 d 收取细胞上清,即为病毒上清。

1.4.3 筛选稳定细胞株 用病毒上清感染肝癌细胞 PLC/PRF/5,辅加 8 μ g/mL 的 Polybrene。2 d 后加嘌呤霉素(0.8 μ g/mL)筛选,待未感染病毒的对照组细胞全部被杀死后,将感染慢病毒的细胞换正常培养基,重铺到 96 孔板筛选单克隆细胞,将筛选得到的单克隆细胞传代培养、冻存。提取细胞蛋白检测 PCK1 的敲除效果,试剂盒提取基因组 DNA,PCR 扩增(引物见表 1, PCK1-seq)并进行 TA 克隆,送公司测序。

1.5 划痕实验

以 6×10^4 个/孔的细胞数铺至 ImageLock 96 孔板中,待细胞长满后,使用 Essen Bioscience 公司划痕器,然后换液,将 96 孔板放入 IncuCyte Zoom 仪器中拍照作为 0、48 h 后再次拍照,观察划痕愈合情况。

1.6 Real-time PCR 检测

铺 40% 密度细胞 36 h 后,用 Trizol 法提取细胞总 RNA,

凝胶电泳可见 5、18、28 s 左右 3 条亮带,然后用 Promega 逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,接着用 iTaq Universal SYBR Green Supermix 酶进行 qRT-PCR。本实验重复 3 次。

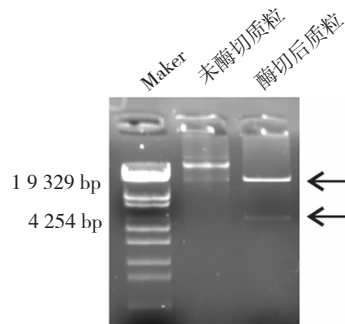
1.7 统计学方法

每种实验都进行 3 次独立重复实验。采用 SPSS 19.0 统计分析软件分析每种实验结果。数据采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

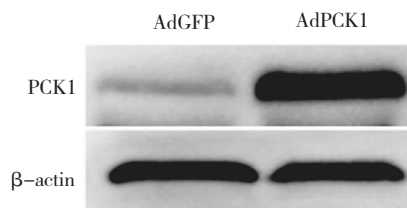
2 结果

2.1 PCK1 重组腺病毒的构建

以 pOTB7-PCK1 为模板进行 PCR 扩增出目的条带,酶切后构建在 pAd-Track-T04 载体上送检测序成功。将构建成功的重组质粒电转入 BJ-AdEasy 感受态中,再次提取质粒。用 *Pac* I 酶切后跑凝胶电泳,可见大约 19 kb 与 4.5 kb 位置分别有亮带,提示重组腺病毒质粒构建成功(图 1A)。将构建成功的重组腺病毒质粒在 *Pac* I 酶酶切线性化后,用 Lipofectamine 2000 转染至 HEK293 细胞,2 周后收集含病毒的上清液。用 PCK1 重组腺病毒感染 Huh7 细胞,设置对照组 AdGFP,感染对照的 GFP 腺病毒,48 h 后提取细胞蛋白,Western blot 鉴定 AdPCK1 组与 AdGFP 组的表达差异。结果显示,PCK1 重组腺病毒有明显的过表达,如图 1B 所示。



A. 限制性内切酶 *Pac* I 酶切鉴定重组质粒



B. Western blot 验证 PCK1 重组腺病毒的过表达效果

图 1 PCK1 重组腺病毒质粒鉴定及其蛋白表达检测

Fig.1 Identification of PCK1 recombinant adenoviruses plasmid and protein expression

2.2 PCK1 敲除细胞模型的构建

LentiCRISPR v2-sgRNA 质粒构建后送检测序成功。将

其与慢病毒包装质粒用 Lipofectamine 2000 转染至 HEK293T 细胞,3 d 后收集病毒上清去感染肝癌细胞 PLC/PRF/5,采用嘌呤霉素筛选单克隆细胞,提取基因组 DNA,TA 克隆并测序,并与野生型 PCK1 基因组序列比对,结果如图 2 所示,KO 细胞 PCK1 基因组 34 个核苷酸(CATCCTCAGGCGGCTGAA-GAAGTATGACAAGTGG)缺失造成移码突变,导致翻译提前终止,进而 PCK1 表达敲除。

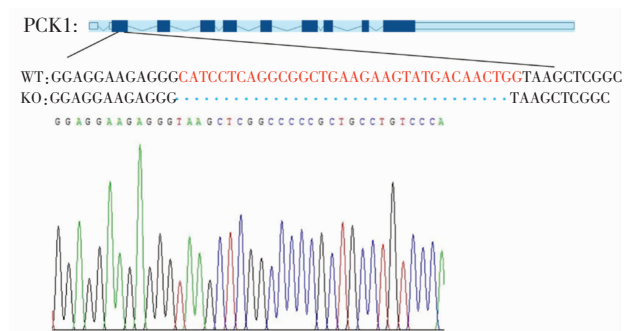


图2 PCK1 敲除细胞株 (KO) 基因组与野生型 PCK1 基因组 DNA 序列比对结果

Fig.2 DNA sequence alignment between PCK1 knockout cells genome and the wild-type genome DNA

筛选出的 KO 细胞提取细胞蛋白,Western blot 检测 PCK1 蛋白表达情况,以感染空的 LentiCRISPR v2 为对照组 Parental。结果显示,KO 细胞中 PCK1 被敲掉,如图 3 所示。

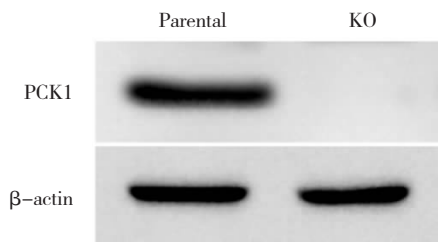


图3 蛋白水平验证 PCK1 敲除稳定细胞系

Fig.3 PCK1 knockout cell line was identified by Western blot

2.3 PCK1 过表达及敲除后对肝癌细胞系迁移能力的影响

划痕实验结果显示,PCK1 过表达模型在 48 h 的细胞迁移率为 $(66.300 \pm 0.383)\%$,与 AdGFP 组 $[(42.900 \pm 3.833)\%]$ 相比明显增加 ($t=10.540, P=0.000$);PCK1 敲除 KO 组在 48 h 的细胞迁移率为 $(59.40 \pm 5.68)\%$,与亲本细胞株 $[(79.00 \pm 5.20)\%]$ 相比明显减少 ($t=4.420, P=0.012$)。划痕实验提示 PCK1 可以抑制肝癌细胞的迁移能力,如图 4 和图 5 所示。

2.4 qRT-PCR 检测 PCK1 过表达及敲除后 Cdh1 的表达变化

AdPCK1 与 AdGFP 感染 Huh7 细胞后 36 h 提取细胞总 RNA,逆转录为 cDNA,用 qRT-PCR 方法检测 Cdh1 的 mRNA 表达变化。结果显示,PCK1 过表达后,相较于对照组 AdGFP, Cdh1 相对表达量为 $2.733 \pm 0.501 (t=5.989, P=0.004)$,说明过

表达 PCK1 后,Cdh1 基因表达增加;PCK1 敲除后,相较于 Parental 组,Cdh1 相对表达量为 $0.664 \pm 0.017 (t=34.290, P=0.000)$,说明 PCK1 敲除后,Cdh1 基因表达降低。该实验重复 3 次。如图 6 所示。

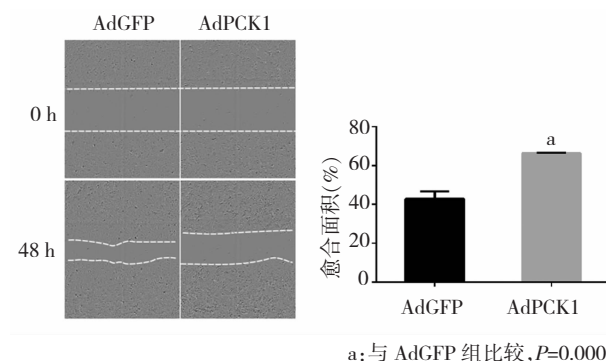


图4 PCK1 过表达 Huh7 细胞的迁移能力 (50 ×)

Fig.4 PCK1 overexpression inhibits the migration of Huh7 cells as detected by wound-healing assay (50 ×)

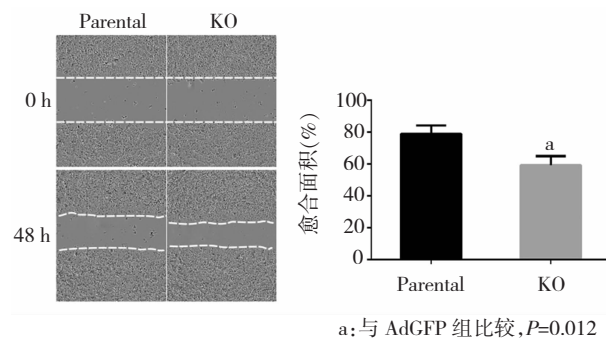
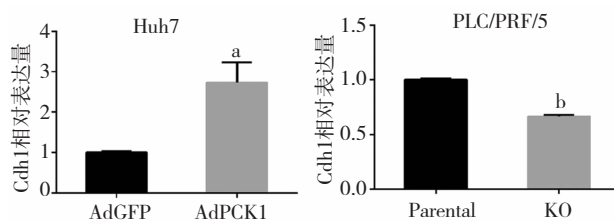


图5 PCK1 敲除促进 PLC/PRF/5 细胞的迁移能力 (50 ×)

Fig.5 PCK1 knockout promotes the migration of PLC/PRF/5 cells as detected by wound-healing assay (50 ×)



a: 与 AdGFP 组比较, $P=0.004$; b: 与 AdGFP 组比较, $P=0.000$

图6 qRT-PCR 检测 Cdh1 基因 mRNA 的表达变化

Fig.6 Target gene of Cdh1 was analyzed by qRT-PCR

3 讨论

HCC 是最常见的恶性肿瘤之一,全世界 50% 以上的新发和死亡肝癌患者发生在中国^[5]。乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 与丙型肝炎病毒 (hep-

atitis C virus, HCV)的传播和流行,以及肥胖和 2 型糖尿病的发病率越来越高,HCC 发病率在全球呈上升趋势,严重威胁人类健康。慢性 HBV 或 HCV 感染者若同时患有肥胖和糖尿病,HCC 的发生风险将增加 100 倍,提示代谢性因素和肝炎的协同作用^[6]。2011 年 Hanahan 和 Weinberg^[4]将肿瘤细胞的代谢重编程(metabolic reprogramming)归纳为肿瘤的十大标志之一。肿瘤不仅被认为是一种基因病,也是一种代谢病^[7-8]。肿瘤细胞不同于正常细胞,它们对能量的需求更高。肿瘤细胞通过重编程自身的代谢方式(有氧糖酵解,即 Warburg 效应)达到能量与物质合成的平衡,是其重要的生物学特征之一^[9]。

相关研究报道证实 PCK1 在肿瘤组织中异常表达,北京大学朱卫国教授研究团队在人结肠癌细胞和肝癌细胞中发现,肿瘤抑制因子 p53 能够下调糖异生途径中 PCK1 和 G6PC 基因的表达,可能通过抑制糖异生而发挥肿瘤抑制功能^[10]。华中科技大学汪宁教授课题组 2014 年发现黑色素瘤再生细胞上调表达 PCK1,催化肿瘤干细胞糖代谢的逆向流动,促进更多的中间代谢产物合成以满足其自身旺盛的代谢需求^[11]。Montal 等 2015 年发现 PCK1 在结直肠癌中高表达,提高葡萄糖和谷氨酰胺代谢,促进肿瘤细胞生长,其机制可能是通过 mTOR1 调控肿瘤细胞代谢^[12-13]。综上所述,这些研究表明 PCK1 与肿瘤代谢密切相关,某些肿瘤中 PCK1 基因高表达,而另外一些肿瘤(如 HCC)中 PCK1 基因却低表达,PCK1 基因功能在肿瘤代谢中到底扮演什么角色?其具体分子机制仍有待于深入研究。

本研究构建了腺病毒 PCK1 过表达细胞模型,通过划痕实验观察到 PCK1 能抑制肝癌细胞的迁移能力。利用 CRISPR/Cas9 系统,在肝癌细胞株 PLC/PRF/5 中构建 PCK1 敲除细胞模型,Western blot 和 DNA 测序证实 PCK1 敲除细胞模型构建成功,通过划痕实验观察到 PCK1 敲除后促进肝癌细胞迁移。基因 Cdh1 编码的钙粘附蛋白 E-cadherin 在肿瘤发生发展过程中发挥了重要的作用,E-cadherin 下调使细胞间粘附性连接减弱,细胞由上皮样转化为间质样,增强了细胞的运动能力和侵袭能力^[14]。本研究进一步发现 PCK1 能够调控钙粘附蛋白 E-cadherin

的表达进而抑制肝癌细胞的迁移。接下来,将采用 Co-IP 等方法分析 PCK1 与 EMT 信号通路靶基因的相互关系,深入研究 PCK1 对影响肿瘤迁移能力的具体分子机制。

参 考 文 献

- [1] Méndez-Lucas A, Duarte JA, Sunny NE, et al. PEPCCK-M expression in mouse liver potentiates, not replaces, PEPCCK-C mediated gluconeogenesis[J]. J Hepatol, 2013, 59(1): 105-113.
- [2] Wurbach E, Chen YB, Khitrov G, et al. Genome-wide molecular profiles of HCV-induced dysplasia and hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2007, 45(4): 938-947.
- [3] Ma R, Zhang W, Tang K, et al. Switch of glycolysis to gluconeogenesis by dexamethasone for treatment of hepatocarcinoma[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2508.
- [4] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer; the next generation[J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [5] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [6] Chen CL, Yang HI, Yang WS, et al. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan[J]. Gastroenterology, 2008, 135(1): 111-121.
- [7] Hainaut P, Plymoth A. Cancer as a metabolic disease[J]. Curr Opin Oncol, 2012, 24(1): 56-57.
- [8] Masoudi-Nejad A, Asgari Y. Metabolic cancer biology: structural-based analysis of cancer as a metabolic disease, new sights and opportunities for disease treatment[J]. Semin Cancer Biol, 2015, 30: 21-29.
- [9] Ward PS, Thompson CB. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even warburg did not anticipate[J]. Cancer Cell, 2012, 21(3): 297-308.
- [10] Zhang P, Tu B, Wang H, et al. Tumor suppressor p53 cooperates with SIRT6 to regulate gluconeogenesis by promoting FoxO1 nuclear exclusion[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(29): 10684-10689.
- [11] Li Y, Luo S, Ma R, et al. Up regulation of cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase is a critical metabolic event in melanoma cells that repopulate tumors[J]. Cancer Res, 2015, 75(7): 1191-1196.
- [12] Montal ED, Dewi R, Bhalla K, et al. PEPCCK coordinates the regulation of central carbon metabolism to promote cancer cell growth[J]. Mol Cell, 2015, 60(4): 571-583.
- [13] Balsa-Martinez E, Puigserver P. Cancer cells hijack gluconeogenic enzymes to fuel cell growth[J]. Mol Cell, 2015, 60(4): 509-511.
- [14] Bhatt T, Rizvi A, Batta SP, et al. Signaling and mechanical roles of E-cadherin[J]. Cell Commun Adhes, 2013, 20(6): 189-199.

(责任编辑: 冉明会)