

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.003438

乙酰辅酶 A 羧化酶 2 通过调控细胞周期促进肝癌细胞增殖

张芷榕, 汪 凯, 唐 霓

(重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究乙酰辅酶 A 羧化酶 2(acetyl-co carboxylase 2, ACC2)对肝癌细胞增殖、迁移能力的影响以及其潜在的作用机制。**方法:**通过 TCGA、GEO、CPTAC 数据库对 ACC2 在肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者肝脏组织中的表达和预后价值进行分析。采用 CRISPR-Cas9 系统构建了 ACC2 敲低肝癌细胞系,观察肝癌细胞增殖、迁移能力以及细胞周期的变化,Western blot 实验检测细胞周期相关蛋白的表达。**结果:**ACC2 在肝癌组织中低表达($P<0.05$)且与预后不良相关($P<0.05$)。体外细胞功能学实验表明降低 ACC2 表达显著促进肝癌细胞增殖、迁移能力($P<0.05$)。细胞周期流式分析显示敲低 ACC2 促进肝癌细胞周期 G1/S 期的转变($P<0.05$),细胞周期相关蛋白中 CyclinE2 和 p21 的表达降低,而 CyclinA2 和 p-RB 的表达升高。**结论:**ACC2 可以促进肝癌细胞增殖和迁移的能力,对细胞增殖的促进作用是通过加速肝癌细胞周期 G1 向 S 期的转化实现的。

【关键词】肝癌;细胞增殖;细胞周期;乙酰辅酶 A 羧化酶 2**【中图分类号】**R735.7**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2024-01-08

Promotion of the proliferation of hepatocellular carcinoma cells by acetyl-CoA carboxylase 2 through cell cycle regulation

Zhang Zhirong, Wang Kai, Tang Ni

(Key Laboratory of Molecular Biology of Infectious Diseases Designated by the Chinese Ministry of Education, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the impact of acetyl-CoA carboxylase 2 (ACC2) on the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells (HCCs) as well as the potential mechanism of action. **Methods:** The expression of ACC2 in the liver tissue of patients with HCC and its prognostic significance were analyzed in The Cancer Genome Atlas, Gene Expression Omnibus, and Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium databases. The ACC2-knockdown cell lines of HCCs were established using the CRISPR-Cas9 system; the changes in proliferation, migration, and cell cycle of the HCCs were observed. The expression of cell cycle-related proteins was measured using Western blot assay. **Results:** ACC2 showed low expression in the HCC tissue ($P<0.05$) and was associated with unfavorable prognoses ($P<0.05$). *In vitro* cell functional experiments revealed that the decrease in ACC2 expression significantly enhanced the proliferation and migration of the HCCs ($P<0.05$). Flow cytometric analysis of cell cycles proved that ACC2 knockdown promoted the G1/S phase transition ($P<0.05$), with decreased expression of CyclinE2 and p21 and increased expression of CyclinA2 and p-RB among the cell cycle-related proteins. **Conclusion:** ACC2 promotes the proliferation and migration of HCCs, which is achieved by accelerating the G1-to-S phase transition of the HCCs.

【Key words】hepatocellular carcinoma; cell proliferation; cell cycle; acetyl-CoA carboxylase 2

作者介绍: 张芷榕, Email: zhirong@stu.cqmu.edu.cn,
研究方向: 肝癌发病机制。

通信作者: 唐 霓, Email: nitang@cqmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 82072286); 国家自然科学基金资助项目(编号: 82272975); 重庆市教委科学技术研究计划资助项目(编号: KJZD-M202000401)。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240206.1111.040>
(2024-02-09)

肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种恶性程度较高的肿瘤,我国原发性肝癌发病率和死亡率均高于全球平均值,每年死亡病例高达 33.6 万^[1]。HCC 的高危因素主要包括 HBV/HCV 慢性感染、饮酒、肥胖等^[2]。近年来研究发现,代谢失调特别是脂质代谢异常可能在 HCC 的发生发展中起到重要的促进作用,但其具体机制尚未完全阐明^[3]。

乙酰辅酶 A 羧化酶 2 (acetyl-CoA carboxylase 2, ACC2) 作为参与脂肪酸合成代谢的代谢酶之一, 催化乙酰辅酶 A 转变为丙二酰辅酶 A, 在脂肪酸的合成中发挥关键作用^[4]。其编码基因为 *ACACB*, 位于人染色体 12q24.11。ACC 有 2 种亚型 (ACC1 和 ACC2), ACC2 主要位于线粒体的胞质表面, 其代谢产物丙二酰辅酶 A 可以作为肉碱棕榈酰辅酶 A 转移酶 I (carnitine palmitoyltransferase 1, CPT1) 的抑制阻碍脂肪酸氧化。ACC2 在肺癌中低表达^[5], 头颈癌中高表达^[6], 推测其表达可能具有器官特异性。研究发现, ACC2 在不同组织来源的肿瘤中可能发挥抑癌或致癌基因的作用, 例如乳腺癌中 *Snail* 对 ACC2 的转录抑制激活了 CPT1 依赖的脂肪酸氧化, 促进乳腺癌的转移^[7]。单磷酸腺苷活化的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 在非小细胞肺癌中对 ACC2 的磷酸化修饰可以抑制其活性并达到促癌效果^[8]。但是 ACC2 的高表达促进头颈鳞状细胞癌恶性进展^[6]。目前 ACC2 在 HCC 发生发展中的作用无相关研究报道。

本研究首次发现 HCC 组织中 ACC2 明显低表达, 且与预后不良相关, 敲低 ACC2 促进肝癌细胞的增殖和迁移。初步机制研究发现, ACC2 通过促进肝癌细胞周期进程来促进肝癌细胞的增殖。这一发现有望为研究 HCC 发生发展的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 细胞

人正常肝细胞系 MIHA 由香港理工大学柯子斌教授赠予, 人肝癌细胞系 HepG2、SK-Hep1、SNU449、PLC/PRF/5 购自美国 ATCC 公司, 人肝癌细胞系 MHCC-97H、Huh7 以及 HEK293T 细胞购自上海中国科学院细胞库。

1.2 试剂

DMEM 培养基购于美国 Gibco 公司, 胎牛血清购于阿根廷 NTC 公司, 青霉素-链霉素购自美国 MCE 公司; 转染试剂 Lipo8000 购自杭州碧云天生物技术有限公司。靶向 ACC2 的 LentiCRISPR-sgACC2 质粒购自苏州泓迅生物科技有限公司。BCA 蛋白定量试剂盒购于杭州碧云天生物技术有限公司, PVDF 膜购于美国 Millipore 公司, 化学发光底物 ECL 购于美国 Bio-rad 公司。8 μm Transwell 小室购自美国 Corning 公司; 结晶紫染料购自北京索莱宝科技有限公司。ACC2 抗体购自美国 Boster 公司 (货号: A03668-2); Rb 抗体、p21 抗体、CyclinA2 抗体购自武汉 ABclonal 公司 (货号: A16966、A1483、A19036); β -actin 抗体购自北京中山金桥生物技术有限公司 (货号: TA-09); CyclinE2 抗体购自美国 Bioworld 公

司 (货号: BS65503); p-Rb 抗体购自英国 Abcam 公司 (货号: ab184702)。细胞周期检测试剂盒购自苏州四正柏生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 HEK293T 细胞、Huh7 细胞、PLC/PRF/5 细胞均培养于 DMEM 培养基中 (含 10% 胎牛血清和 1% 的青-链霉素), 培养于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 细胞培养箱中。

1.3.2 慢病毒包装 实现 ACC2 的靶向敲低, 我们通过 Lipo8000 转染试剂将包装质粒 pMD2.G、psPAX 以及 LentiCRISPR-sgACC2 这 3 种质粒以 1:2:3 的比例转染至 HEK293T 细胞, 收集换液 72 h 后的细胞上清, 感染肝癌细胞来靶向敲低肝癌细胞中 ACC2 的表达。

1.3.3 Western blot 实验 用细胞裂解液提取细胞总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度后, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 电泳完成后, 通过湿转法将蛋白转印到 PVDF 膜上, 脱脂牛奶室温封闭 1.5 h 后孵育一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 12 h。一抗孵育完成后, TBST 缓冲液洗膜, 室温孵育二抗 1.5 h, 再次洗膜后进行 ECL 显影。

1.3.4 细胞增殖实验 将 PLC/PRF/5 细胞和 Huh7 细胞铺于 96 孔板中, 密度分别为 1×10^3 个/孔和 1.5×10^3 个/孔, 待细胞贴壁后于 Incucyte ZOOM 活细胞成像仪中拍摄记录第 1 天的细胞图像并每隔 24 h 拍摄 1 次, 持续 5 d, 根据细胞底面积计算细胞数量并绘制生长曲线。

1.3.5 克隆形成实验 将 PLC/PRF/5 细胞 (1×10^3 个/孔)、Huh7 细胞 (1.5×10^3 个/孔) 铺于 6 孔板中, 正常培养 10 d 左右, 直至细胞长出肉眼可见的细胞集落后, 4% 多聚甲醛室温固定细胞 30 min, 结晶紫染色 5 min, 最后拍照并计数细胞克隆数。

1.3.6 Transwell 实验 使用 8 μm transwell 小室进行实验, 将 3×10^4 个 PLC/PRF/5 细胞和 Huh7 细胞分别培养在无血清培养基的小室内, 小室外加入含 10% 胎牛血清的培养基。培养 24 h 后取出, 用 4% 多聚甲醛室温固定小室 30 min 后结晶紫染色 5 min, 清洗小室并将小室内部的细胞拭去后于显微镜下拍照记录, 随机选取 5 个区域进行细胞计数。

1.3.7 划痕实验 将密度为 90% 的 PLC/PRF/5 细胞和 Huh7 细胞铺于 96 孔板中, 待细胞贴壁并形成均匀单层细胞后, 使用划痕器划痕, 分别于划痕后 0 h 和 24 h 在 Incucyte ZOOM 活细胞成像仪中拍摄细胞图像, 计算细胞迁移率。

1.3.8 流式细胞术细胞周期分析 在 6 cm 培养皿中培养细胞, 待细胞贴壁后使用无血清培养基饥饿细胞 12 h 使细胞周期同步, 常规情况下培养 36 h 后消化细胞并收集细胞沉淀, 随后 4 $^{\circ}\text{C}$ 下用 75% 乙醇固定细胞 12 h, 固定完毕使用碘化丙啶在 37 $^{\circ}\text{C}$ 染色 30 min, 染色完毕后流式细胞术上机检测, 利用 Modfit 4.1 软件对细胞周期曲线进行分析和拟合。

1.3.9 数据库分析 The Cancer Genome Atlas (TCGA) 数据库 (<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>) 下载肝癌 (TCGA-LICH) 数据集, 用 R 语言分析 *ACACB* mRNA 在肝癌及正常肝组织中的表达差异和生存分析。

Gene Expression Omnibus(GEO)数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中获取 HCC 转录组数据集 GSE6764, 并使用 R 语言分析 *ACACB* mRNA 在 HCC 不同阶段的表达。使用蛋白数据库 Clinical Proteomic Tumor Analysis Consortium(CPTAC)在线工具 cProSite(<https://proteomics.cancer.gov/data-portal>)分析 *ACC2* 蛋白在肝癌及癌旁组织中的表达情况。

1.4 统计学方法

统计学分析采用 Graphpad Prism 8 软件进行, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式呈现。两组数据比较采用两独立样本 *t* 检验, 多组比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。数据来自至少 3 个独立重复实验的结果。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 *ACC2* 在肝癌中低表达且预后不良相关

据 TCGA 数据库分析结果显示, *ACACB* 在肝癌组织中的转录水平较正常肝组织显著下降(正常组织: 4.44 ± 0.55 , 肿瘤组织: 3.76 ± 1.01 , $P<0.001$, 图 1A), *ACACB* 低表达与肝癌患者较差的总体生存率密切相关($P=0.023$, 图 1B)。GEO 数据集 GSE6764 的分析结果显示, 肝癌组织中 *ACACB* mRNA 水平明显低于正常肝组织, 且随着肝癌的不同发展阶段, 正常肝组织、纤维化肝组织、早期肝癌和晚期肝癌组织中 *ACACB* mRNA 水平呈梯度下降(a: 9.64 ± 1.02 , b: 5.55 ± 0.79 ,

c: 5.12 ± 1.18 , d: 2.80 ± 0.40 , e: 2.70 ± 0.67 , f: 1.77 ± 0.32 , $P<0.01$, 图 1C)。蛋白表达数据库 CPTAC 中的分析结果也表明, *ACC2* 蛋白在肝癌组织中的表达显著低于癌旁组织(癌旁组织: 0.42 ± 0.40 , 肿瘤组织: -0.90 ± 0.77 , $P<0.001$, 图 1D)。上述研究结果表明, HCC 组织中的 *ACC2* 水平更低, 其表达与肝癌的恶性程度负相关。

2.2 构建 *ACC2* 敲低肝癌细胞系

本研究在肝癌细胞系中检测内源性 *ACC2* 的表达水平, Western blot 结果显示肝癌细胞系 *ACC2* 的表达均低于正常肝细胞 MIHA 细胞, 相较之下 PLC/PRF/5 细胞和 Huh7 细胞中 *ACC2* 的表达水平最高, 而 SNU449、MHCC-97H 细胞中 *ACC2* 表达水平最低(图 2A)。于是通过 CRISPR-Cas9 系统, 选择 *ACC2* 表达水平最高的 2 个细胞系 PLC/PRF/5 和 Huh7 构建了 *ACC2* 靶向敲低细胞模型(图 2B), 并在后续实验中采用敲低细胞模型观察 *ACC2* 对肝癌细胞生物学行为的影响。

2.3 敲低 *ACC2* 促进肝癌细胞增殖

细胞增殖实验结果显示细胞在体外正常培养 5 d, 相较于 sgCtrl 组(Huh7: 8.31 ± 0.39 ; PLC/PRF/5: 8.30 ± 0.23), sg*ACC2*-1(Huh7: 12.36 ± 0.40 , $P<0.001$; PLC/PRF/5: 12.23 ± 0.41 , $P<0.001$)和 sg*ACC2*-2(Huh7: 13.33 ± 0.34 , $P<0.001$; PLC/PRF/5: 12.80 ± 0.66 , $P<0.001$)组的细胞增殖能力明显提高(图 3A)。克隆形成实验也显示, 相较于 sgCtrl 组(Huh7: 257.30 ± 11.24 ; PLC/PRF/5: 97.33 ± 15.50), sg*ACC2*-1

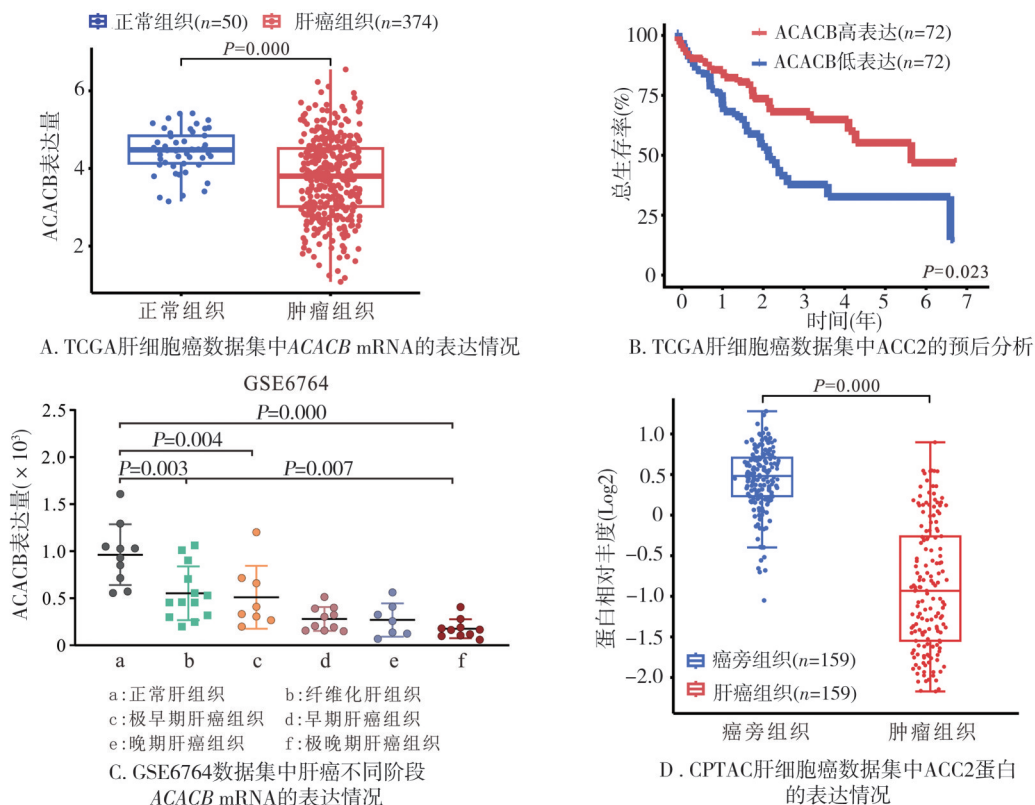
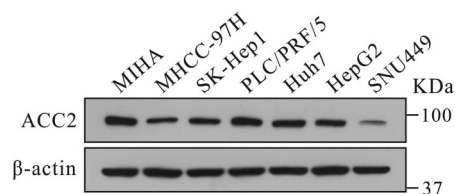
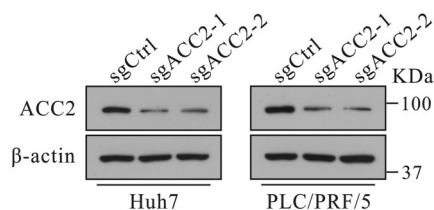


图1 *ACC2*在肝癌组织中低表达且与不良相关

组(Huh7: 320.00 ± 22.11 , $P=0.008$; PLC/PRF/5: 185.30 ± 20.60 , $P=0.001$) 和 sgACC2-2 组(Huh7: 357.00 ± 17.35 , $P<0.001$; PLC/PRF/5: 184.30 ± 10.97 , $P=0.001$) 的克隆形成能力更强(图 3B)。该部分结果表明,敲低 ACC2 促进肝癌细胞增殖。



A. ACC2在不同肝癌细胞系的蛋白表达量



B. ACC2敲低效果验证

图2 构建ACC2敲低肝癌细胞系

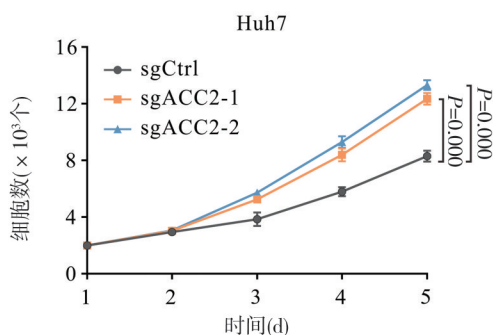
2.4 敲低ACC2促进肝癌细胞迁移能力

为了观察ACC2水平敲低对肝癌细胞迁移能力的影响,通过划痕实验和Transwell实验检测肝癌细胞的体外迁移能力。划痕实验结果显示,sgACC2-1组(Huh7: 48.93 ± 4.42 , $P<0.001$; PLC/PRF/5: 41.62 ± 1.84 , $P<0.001$) 和 sgACC2-2 组

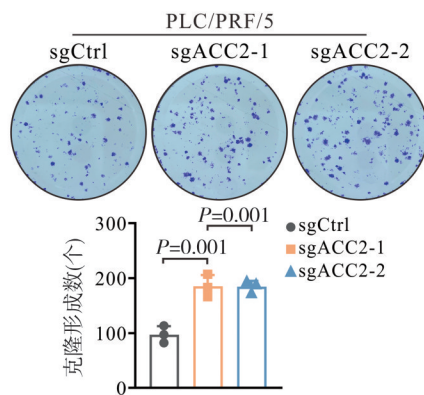
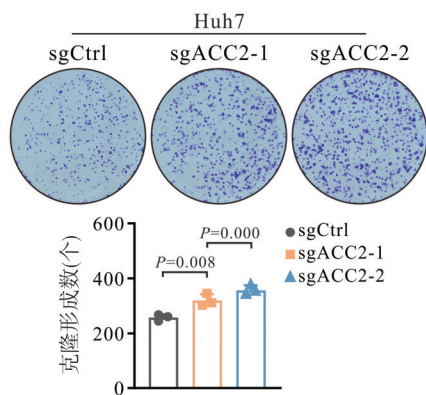
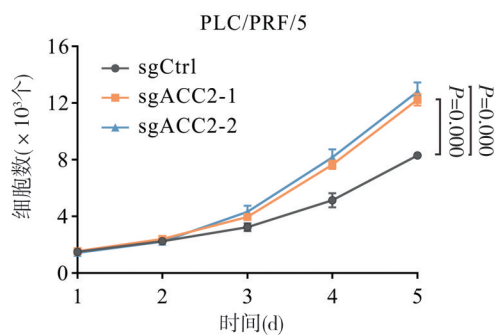
(Huh7: 54.49 ± 3.81 , $P<0.001$; PLC/PRF/5: 44.25 ± 2.80 , $P<0.001$) 的细胞迁移能力显著高于 sgCtrl 组(Huh7: 25.38 ± 2.73 ; PLC/PRF/5: 26.90 ± 1.31) (图 4A)。Transwell 实验也表明,相较于 sgCtrl 组(Huh7: 49.00 ± 4.93 ; PLC/PRF/5: 31.00 ± 4.73), sgACC2-1 组(Huh7: 67.00 ± 3.00 , $P=0.002$; PLC/PRF/5: 55.00 ± 3.61 , $P<0.001$) 和 sgACC2-2 组(Huh7: 73.00 ± 6.08 , $P=0.008$; PLC/PRF/5: 61.00 ± 3.61 , $P=0.001$) 的细胞具有更强的迁移能力(图 4B)。结果表明,敲低 ACC2 促进肝癌细胞迁移能力。

2.5 敲低ACC2促进肝癌细胞周期

为了探索敲低ACC2促进肝癌细胞增殖的具体机制,我们通过流式细胞术检测了细胞周期的变化。实验发现敲低ACC2后肝癌细胞G1期减少(Huh7-sgACC2-1: 38.06 ± 0.15 , $P<0.001$; Huh7-sgACC2-2: 37.29 ± 0.29 , $P<0.001$; PLC/PRF/5-sgACC2-1: 38.98 ± 0.78 , $P<0.001$; PLC/PRF/5-sgACC2-2: 38.82 ± 0.67 , $P<0.001$), S期增多(Huh7-sgACC2-1: 53.33 ± 0.50 , $P<0.001$; Huh7-sgACC2-2: 54.29 ± 0.55 , $P<0.001$; PLC/PRF/5-sgACC2-1: 45.59 ± 0.33 , $P<0.001$; PLC/PRF/5-sgACC2-2: 45.42 ± 0.69 , $P<0.001$), 促进了细胞周期检查点G1/S的转换(图 5A)。对细胞周期相关蛋白表达的检测也发现,敲低ACC2后细胞周期抑制蛋白p21表达下降, p-Rb表达升高, G1期周期特征性蛋白Cyclin E2表达减弱而S期周期蛋白Cyclin A2表达增强(图 5B), 这些变化都提示敲低ACC2后通过促进细胞周期由G1向S期转换,促进肝癌细胞的增殖。



A. 敲低ACC2后Huh7、PLC/PRF/5细胞的增殖能力



B. 敲低ACC2后Huh7、PLC/PRF/5细胞的克隆形成能力

图3 敲低ACC2促进肝癌细胞体外增殖

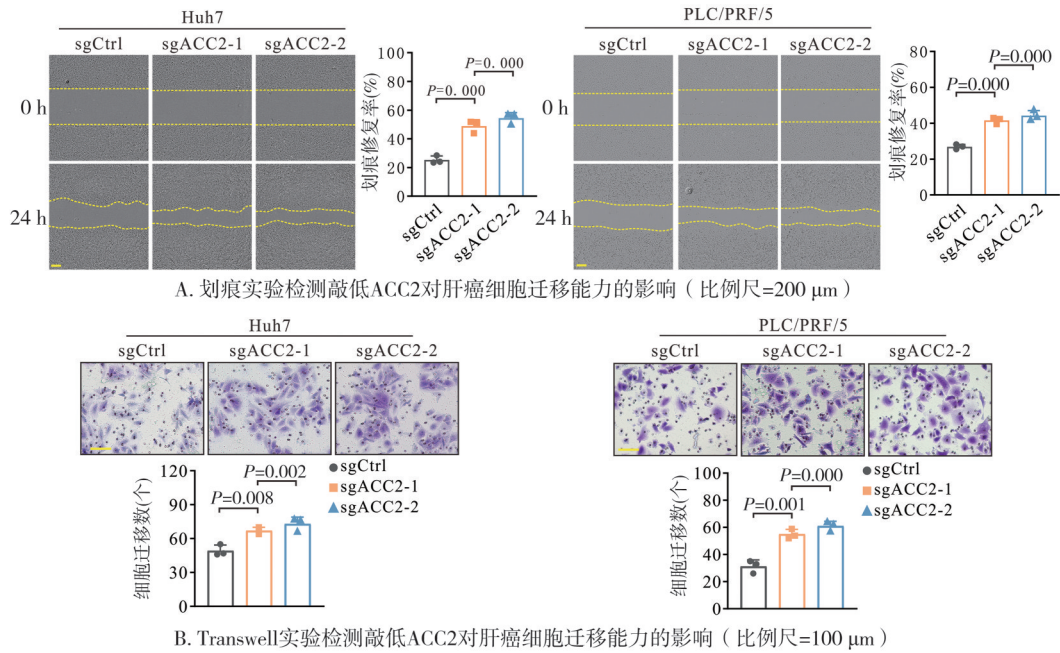
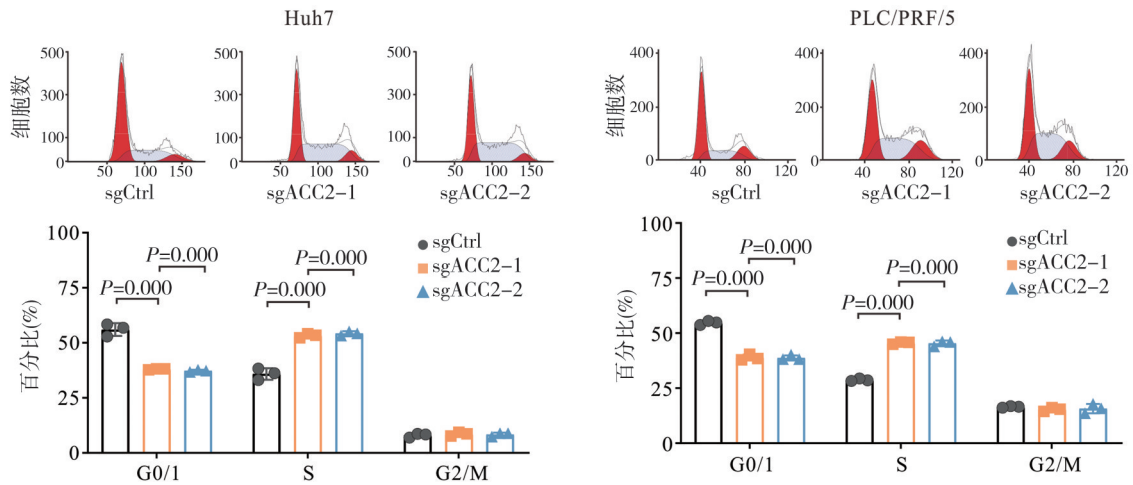
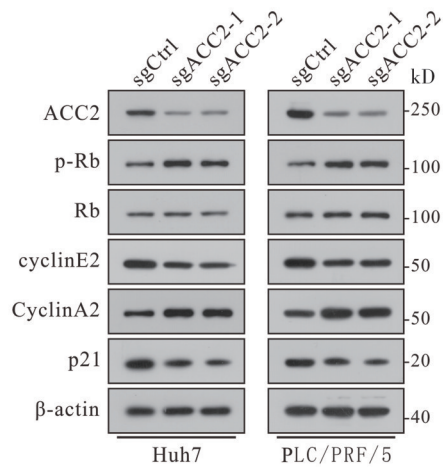


图4 敲低ACC2抑制肝癌细胞的迁移能力



A. 流式细胞术检测敲低ACC2对肝癌细胞周期的影响



B. 敲低ACC2后肝癌细胞周期蛋白的变化

图5 敲低ACC2促进肝癌细胞G1/S期转换

3 讨 论

脂肪酸是构成细胞膜的主要成分,也是能量存储和细胞信号传递的重要分子^[9]。近年来研究发现,脂肪酸代谢异常通过对多种关键分子和信号通路的调控,参与 HCC 发生与发展。首先,脂肪酸代谢可以调控 HCC 进展的信号通路活化。例如,ATP 柠檬酸裂解酶(ATP citrate lyase, ACLY)是脂肪酸从头合成的第一步,可以通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进肝癌细胞的干性、迁移和侵袭^[10]。脂肪酸转运蛋白 5(fatty acid transport protein-5, FATP5)通过促进 ATP 的产生抑制 AMPK 活性,进一步激活下游 mTOR 以支持 HCC 的进展和转移^[11]。此外,脂肪酸代谢途径产生的代谢物还可以直接作为信号分子调控 HCC 进程。溶血磷脂酸(phospholipids, LPC)是 PI3K/AKT、mTOR 和 MAPK 信号通路的重要调控分子,可以增强肝癌细胞的迁移、侵袭和黏附^[12]。油酸处理也可以直接激活 FABP5/HIF-1 α 轴,从而促进肝癌细胞的脂质积累和细胞增殖^[13]。脂肪酸代谢还能通过对肿瘤微环境的调控抑制免疫细胞杀伤功能,促进肿瘤细胞的免疫逃逸。例如肿瘤组织中的 Treg 细胞可以通过 SREBP 依赖的脂质从头合成来维持肿瘤微环境中 Treg 细胞的功能状态,阻碍机体抗肿瘤免疫^[14]。

鉴于脂肪酸代谢异常参与多种肿瘤包括 HCC 的发生发展过程,靶向脂肪酸代谢的抑制剂可能具有一定的抑癌作用。脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FASN)抑制剂奥利司他在体外和小鼠肝癌模型中均表现出良好的抗肿瘤活性^[15-16],该酶抑制剂 C75^[17], triclosan^[18]和 EGCG^[19]在体外也具有抑癌效果。硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1(stearoyl-CoA desaturase-1, SCD1)抑制剂 CAY10566 也成功地改善体内外的肝癌进展^[20-22]。提示靶向脂肪酸代谢的新型抑制剂可以为肝癌的靶向治疗提供新的策略。

ACC 催化乙酰辅酶 A 羧化为丙二酰辅酶 A 的酶促反应过程,是脂肪酸合成途径的主要限速步骤。有研究发现,在 DEN/CCl₄ 诱导的小鼠肝癌模型中,抑制 ACC1/2 的活性可显著降低小鼠肝癌模型的肿瘤进展^[23]。并且,肝脏特异性抑制剂 ND-654 可以通过模拟 ACC1/2 的磷酸化阻断其活性,抑制

HCC 的进展^[24]。但在 DEN/CCl₄ 诱导的小鼠肝癌模型中肝脏特异性 ACC1/2 基因敲除反而导致肿瘤细胞显著增加^[24]。有研究发现,ACC1 在 HCC 中高表达并促进肝癌发生发展^[25],但 ACC2 在 HCC 中的作用机制仍然未知。本研究通过多个数据库的分析发现肝癌组织中 ACC2 的表达在转录和蛋白水平均低于正常肝组织,且与预后不良相关。体外实验发现敲低 ACC2 可以明显促进肝癌细胞的增殖和转移。

细胞周期失调是导致恶性肿瘤异常增殖的关键因素。G₁/S 期以及 G₂/M 期 2 个细胞周期调控点的失控会直接导致肿瘤细胞的异常增殖^[26]。研究表明,多种代谢途径可以参与调控细胞周期进程,如丙酮酸激酶 M2(pyruvate kinase M2, PKM2)在 G₁ 期可以发生核转位,通过 cMyc/ β -catenin 轴激活周期蛋白 CyclinD 的转录^[27-28]。6-磷酸果糖-2-激酶(6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase, PFKFB)通常在 G₁ 期晚期被激活,在营养限制期促进糖酵解,从而有利于 G₁/S 期的转换^[29]。结果显示,敲低 ACC2 后促进了肝癌细胞周期 G₁ 期向 S 期的转换,进而增强肝癌细胞的增殖能力。

本研究发现 HCC 中 ACC2 低表达,且其表达与 HCC 预后不良相关。敲低 ACC2 使肝癌细胞的增殖、迁移能力得到明显的增强。初步机制研究发现,ACC2 对肝癌细胞增殖的促进作用是通过促进 G1/S 期转换实现的。今后将在临床样本中验证 ACC2 的表达情况,并进一步探索 ACC2 促进肝癌细胞周期转换的具体机制。

参 考 文 献

- [1] Xia CF, Dong XS, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. Chin Med J, 2022, 135(5):584-590.
- [2] Ganesan P, Kulik LM. Hepatocellular carcinoma: new developments[J]. Clin Liver Dis, 2023, 27(1):85-102.
- [3] Finley LWS. What is cancer metabolism?[J]. Cell, 2023, 186(8):1670-1688.
- [4] Currie E, Schulze A, Zechner R, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. Cell Metab, 2013, 18(2):153-161.
- [5] Yu FY, Xu Q, Wei QY, et al. ACC2 is under-expressed in lung adenocarcinoma and predicts poor clinical outcomes[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2022, 148(11):3145-3162.
- [6] Li K, Zhang CC, Chen L, et al. The role of acetyl-coA carboxyl-

- ase2 in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7037.
- [7] Yang JH, Kim NH, Yun JS, et al. Snail augments fatty acid oxidation by suppression of mitochondrial ACC2 during cancer progression[J]. *Life Sci Alliance*, 2020, 3(7): e202000683.
- [8] Chen JQ, Zou L, Lu G, et al. PFKF alleviates glucose starvation-induced metabolic stress in lung cancer cells via AMPK-ACC2 dependent fatty acid oxidation[J]. *Cell Discov*, 2022, 8(1): 52.
- [9] Sangineto M, Villani R, Cavallone F, et al. Lipid metabolism in development and progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers*, 2020, 12(6): 1419.
- [10] Han Q, Chen CA, Yang W, et al. ATP-citrate lyase regulates stemness and metastasis in hepatocellular carcinoma via the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2021, 20(3): 251-261.
- [11] Wang MD, Wang NY, Zhang HL, et al. Fatty acid transport protein-5 (FATP5) deficiency enhances hepatocellular carcinoma progression and metastasis by reprogramming cellular energy metabolism and regulating the AMPK-mTOR signaling pathway[J]. *Oncogenesis*, 2021, 10(11): 74.
- [12] Xu M, Liu ZK, Wang C, et al. EDG2 enhanced the progression of hepatocellular carcinoma by LPA/PI3K/AKT/mTOR signaling[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(39): 66154-66168.
- [13] Seo J, Jeong DW, Park JW, et al. Fatty-acid-induced FABP5/HIF-1 reprograms lipid metabolism and enhances the proliferation of liver cancer cells[J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1): 638.
- [14] Lim SA, Wei J, Nguyen TM, et al. Lipid signalling enforces functional specialization of T_{reg} cells in tumours[J]. *Nature*, 2021, 591(7849): 306-311.
- [15] You BJ, Chen LY, Hsu PH, et al. Orlistat displays antitumor activity and enhances the efficacy of paclitaxel in human hepatoma Hep3B cells[J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(2): 255-264.
- [16] Zhang C, Sheng L, Yuan M, et al. Orlistat delays hepatocarcinogenesis in mice with hepatic co-activation of AKT and c-Met[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 392: 114918.
- [17] Gao Y, Lin LP, Zhu CH, et al. Growth arrest induced by C75, A fatty acid synthase inhibitor, was partially modulated by p38 MAPK but not by p53 in human hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(8): 978-985.
- [18] Miranda JF, Scarinci LD, Ramos LF, et al. The modulatory effect of triclosan on the reversion of the activated phenotype of LX-2 hepatic stellate cells[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2020, 34(1): e22413.
- [19] Huang CH, Tsai SJ, Wang YJ, et al. EGCG inhibits protein synthesis, lipogenesis, and cell cycle progression through activation of AMPK in p53 positive and negative human hepatoma cells[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2009, 53(9): 1156-1165.
- [20] Huang GM, Jiang QH, Cai C, et al. SCD1 negatively regulates autophagy-induced cell death in human hepatocellular carcinoma through inactivation of the AMPK signaling pathway[J]. *Cancer Lett*, 2015, 358(2): 180-190.
- [21] de Lima Luna AC, Forti FL. Modulation of SCD1 activity in hepatocyte cell lines: evaluation of genomic stability and proliferation[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(9): 3393-3405.
- [22] Zhou YP, Zhong L, Yu SJ, et al. Inhibition of stearyl-coenzyme A desaturase 1 ameliorates hepatic steatosis by inducing AMPK-mediated lipophagy[J]. *Aging*, 2020, 12(8): 7350-7362.
- [23] Lally JSV, Ghoshal S, DePeralta DK, et al. Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by phosphorylation or the inhibitor ND-654 suppresses lipogenesis and hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(1): 174-182.
- [24] Nelson ME, Lahiri S, Chow JD, et al. Inhibition of hepatic lipogenesis enhances liver tumorigenesis by increasing antioxidant defence and promoting cell survival[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14689.
- [25] Ye BY, Yin L, Wang QW, et al. ACC1 is overexpressed in liver cancers and contributes to the proliferation of human hepatoma Hep G2 cells and the rat liver cell line BRL 3A[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 3431-3440.
- [26] Jamasbi E, Hamelian M, Hossain MA, et al. The cell cycle, cancer development and therapy[J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(11): 10875-10883.
- [27] Liang J, Cao RX, Zhang YJ, et al. PKM2 dephosphorylation by Cdc25A promotes the Warburg effect and tumorigenesis[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12431.
- [28] Lu ZM. Nonmetabolic functions of pyruvate kinase isoform M2 in controlling cell cycle progression and tumorigenesis[J]. *Chin J Cancer*, 2012, 31(1): 5-7.
- [29] Yalcin A, Clem BF, Simmons A, et al. Nuclear targeting of 6-phosphofructo-2-kinase (PFKFB₃) increases proliferation via cyclin-dependent kinases[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(36): 24223-24232.

(责任编辑:周一青)