

敲低LDHA抑制脑胶质瘤细胞生长和EMT的研究

彭光泉 韩秀 陈曦 唐宇 程洁 熊二梦 彭琬昕 龚爱华*

(江苏大学医学院基础医学系, 镇江 212013)

摘要 该研究旨在探讨乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A, LDHA)基因对脑胶质瘤细胞上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)以及细胞生长的影响。用sh-LDHA质粒转染脑胶质瘤细胞, 比色法检测细胞内LDHA活性, 流式细胞术检测细胞凋亡率, CCK-8法和克隆形成实验分析细胞增殖能力, 划痕实验和Transwell实验检测细胞迁移能力, q-PCR检测LDHA mRNA水平, 以及Western blot检测LDHA和EMT相关蛋白质水平。结果表明, 转染sh-LDHA质粒能显著降低LDHA mRNA和蛋白质水平。同时, 敲低LDHA诱导U87MG细胞发生凋亡, LDHA活性降至原来水平的50% U87MG细胞的增殖和迁移能力低于sh-EGFP组($P < 0.05$)。另外, 敲低LDHA抑制U87MG细胞的EMT过程。而在LDHA表达水平相对较低的U251MG和SW1783细胞中, 干扰LDHA对细胞生长和EMT没有显著影响。该研究结果说明, LDHA在脑胶质瘤细胞的EMT过程和生长中发挥了重要作用。

关键词 脑胶质瘤; 乳酸脱氢酶A; EMT

Knockdown of LDHA Inhibits Growth and EMT of Glioma Cells

Peng Guangquan, Han Xiu, Chen Xi, Tang Yu, Cheng Jie, Xiong Ermeng, Peng Wanxin, Gong Aihua*

(Department of Basic Medical Sciences, School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract To investigate the effects of LDHA on the EMT (epithelial-to-mesenchymal transition) and growth of human glioma cells, we first detected LDHA expression in different glioma cell lines. Then, the sh-LDHA were transfected into the glioma cells U87MG. Colorimetric assay, flow cytometry, CCK-8 assay, colony formation assay, wound healing assay, Transwell experiment, q-PCR and Western blot were used to investigate the effect of LDHA activity, apoptosis, proliferation, migration and EMT induced by LDHA knockdown in U87MG cells. The results showed that sh-LDHA could significantly reduce LDHA expression both in mRNA and protein levels. At the same time, LDHA knockdown induced apoptosis in U87MG cells, while inhibited LDHA activity about 50%. The proliferation rate was lower than control group and migration of U87MG cells was much lower compared to sh-EGFP group ($P < 0.05$). In addition, knockdown of LDHA induced EMT of U87MG cells. However, LDHA down-regulation did not exert an obvious effect on U251MG and SW1783 glioma cells. Taken together, our results suggested that LDHA played an important role in the EMT of glioma cells and affected growth of glioma cells.

Keywords glioma; LDHA; EMT

脑胶质瘤是原发于中枢神经系统的、最常见的恶性肿瘤, 目前患者经手术治疗、放疗和化疗后的平均生存时间仍小于16个月^[1]。病人预后较差与脑胶质瘤细胞的高增殖能力、高浸润性密切相关。

收稿日期: 2017-03-28 接受日期: 2017-08-07

国家自然科学基金(批准号: 81372718)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0511-80538449, E-mail: ahg@mail.ujs.edu.cn

Received: March 28, 2017 Accepted: August 7, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81372718)

*Corresponding author. Tel: +86-511-80538449, E-mail: ahg5@mail.ujs.edu.cn

网络出版时间: 2017-09-05 17:29:51

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170905.1729.010.html>

因此, 要战胜这种疾病需要深入了解脑胶质瘤细胞快速增殖和转移的内在机制。能量代谢重编程是癌症的十大特征之一^[2]。肿瘤细胞最显著的代谢表型就是著名的瓦博格效应(Warburg effect), 即肿瘤细胞更倾向于利用糖酵解来获取能量, 而正常细胞大多采用氧化磷酸化途径提供细胞增殖所需的能量和原料^[3]。在糖酵解途径中, 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)催化丙酮酸和乳酸之间的可逆反应, 而乳酸脱氢酶A(lactate dehydrogenase A, LDHA)作为调控糖酵解过程中一种重要的催化酶负责将丙酮酸还原为乳酸。早在1964年就发现, 肿瘤细胞中常常存在LDHA基因的异常激活现象, 这些细胞包括小细胞肺癌、胃癌、结直肠癌和胃癌^[3-7]。肿瘤中高表达的LDHA与病人不良预后和放化疗抵抗呈相关性。最新的研究表明, 细胞代谢的中间物有许多是表观遗传修饰的底物或辅助因子, 如丙酮酸会抑制组蛋白去乙酰化酶1(histone deacetylase 1, HDAC1)/组蛋白去乙酰化酶3, 从而引起肿瘤细胞凋亡^[3]。Jiang等^[8]发现, 膀胱癌中LDHA通过促进丙酮酸还原生成乳酸而激活HDACs, 从而调控肿瘤细胞的EMT。目前, 关于LDHA在脑胶质瘤中的作用的研究并不多, 本研究旨在探讨敲低LDHA对胶质瘤U87MG细胞EMT及其增殖、迁移的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和质粒 脑胶质瘤细胞株U87MG、U251MG和SW1783购自美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC); pLKO.1-sh-EGFP、pLKO.1-sh-LDHA1、pLKO.1-sh-LDHA2、pMD2.G和psPAX2载体由江苏大学基础医学研究所提供。sh-EGFP的上游引物序列: 5'-CCG GTA CAA CAG CCA CAA CGT CTA TCT CGA GAT AGA CGT TGT GGC TGT TGT ATT TTT G-3', 下游引物序列: 5'-AAT TCA AAA ATA CAA CAG CCA CAA CGT CTA TCT CGA GAT AGA CGT TGT GGC TGT TGT A-3'。sh-LDHA1的上游引物序列: 5'-CCG GGC CTG TGC CAT CAG TAT CTT ACT CGA GTA AGA TAC TGA TGG CAC AGG CTT TTT TG-3', 下游引物序列: 5'-AAT TCA AAA AGC CTG TGC CAT CAG TAT CTT ACT CGA GTA AGA TAC TGA TGG CAC AGG CT-3'。sh-LDHA2的上游引物序列为: 5'-

CCG GCC ACC ATG ATT AAG GGT CTT TCT CGA GA A AGA CCC TTA ATC ATG GTG GTT TTT G-3', 下游引物序列为: 5'-AAT TCA AAA ACC ACC ATG ATT AAG GGT CTT TCT CGA GA A AGA CCC TTA ATC ATG GTG G-3'。

1.1.2 主要试剂 CCK-8购自Sigma公司; LDHA试剂盒购自南京建成生物工程研究所; Transwell细胞培养小室(3422型, membrane filter孔径8 μm)购自Costor公司; 鼠抗人α-Tubulin单克隆抗体、兔抗LDHA抗体购自Bioworld公司; 兔抗Vimentin抗体、兔抗Snail抗体购自Cell Signaling公司; 兔抗Fibronectin抗体、鼠抗N-Cadherin抗体和兔抗E-Cadherin抗体购自Santa Cruz公司; 兔抗MMP-2(matrix metalloprotein-2)抗体、兔抗MMP-9抗体购自Immunoway公司; DMEM培养基、胎牛血清购自Gibco公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 脑胶质瘤细胞U87MG、U251MG和SW1783培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液中, 37 °C、5% CO₂及饱和湿度培养箱中培养至对数生长期用于实验。

1.2.2 病毒包装及稳转细胞株筛选 按Addgene公司的操作手册(<http://www.addgene.org/tools/protocols/plko/>)包装病毒并用于U87MG细胞稳转细胞株筛选。获得对照sh-EGFP、干扰LDHA的sh-LDHA1和sh-LDHA2的3株稳转U87MG细胞株并用于后续实验。

1.2.3 实时定量PCR(q-PCR) 细胞接种48 h后且达到约90%汇合时, 用Trizol法提取转染细胞的总RNA, 逆转录为cDNA后用SYBGreen法进行q-PCR。LDHA的上游引物为: 5'-CCA ACA TGG CAG CCT TTT CC-3', 下游引物为: 5'-TCA CGT TAC GCT GGA CCA AA -3'。GAPDH的上游引物为: 5'-CTC TGC TCC TCC TGT TCG AC-3', 下游引物为: 5'-GCG CCC AAT ACG ACC AAA TC-3'。按如下条件进行反应: 95 °C预变性3 min; 95 °C变性10 s, 60 °C退火30 s, 40个循环。

1.2.4 Western blot检测细胞中相关蛋白的表达 裂解细胞时加入2×蛋白上样缓冲液, 95 °C加热5 min, 用10% SDS-PAGE分离样品, 湿转法转至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭2 h, 加入一抗4 °C孵育过夜, 加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)

标记的二抗室温孵育1 h, ECL化学发光检测显影, 在凝胶成像系统上拍照并分析。

1.2.5 LDHA活性测定 细胞接种48 h后且达到约90%汇合时取 1×10^6 细胞, 用200 μL PBS重悬细胞并超声破碎后, 离心取上清作为样品, 然后按LDHA试剂盒操作手册测定LDHA活性。

1.2.6 细胞凋亡检测 采用Annexin V/PI双染色法检测U87MG细胞的凋亡率。选取干扰效率较高的稳转细胞系U87MG-sh-LDHA2作为实验组, U87MG-sh-EGFP作为对照组。细胞种板48 h后加不含EDTA的胰酶消化细胞, PBS洗2次。100 μL $1 \times$ 结合缓冲液重悬细胞分别加入5 μL 的Annexin V-FITC和1 μL 的PI染料, 室温孵育30 min, 转移至冰上操作。每管加入400 μL $1 \times$ 结合缓冲液, 轻轻混匀后转移至流式管, 待上机检测。

1.2.7 细胞生长曲线绘制 细胞以 $2 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于96孔板(100 $\mu\text{L}/$ 孔), 第12 h加入10 μL CCK-8, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h后在酶联免疫检测仪450 nm处测量各孔的吸光度(D)值, 此结果作为第1 d的吸光度值, 以后每隔24 h取3个复孔测1次吸光度值。细胞相对增殖率按以下公式计算: 相对增殖率($\%$)= $(D_n/D_1) \times 100\%$, (注: 第n天D值为减去空白孔后校准的D值)。然后, 以此绘制细胞增殖曲线。

1.2.8 划痕实验 细胞转染48 h后, 消化细胞并接种于24孔板中, 过夜至细胞达90%汇合时划痕, 并更换为无血清培养基, 于固定位置拍照。48 h后再次在固定位置拍照, 计算相对迁移距离, 重复3次后取平均值。

1.2.9 Transwell实验 用500 μL 无血清DMEM预处理小室1 h, 用无血清DMEM将细胞浓度调整为 $5 \times 10^5/\text{mL}$, 取100 μL 细胞加入上室, 在下室中加入650 μL 含10%胎牛血清的DMEM。培养箱中培养10 h取出上室用4%多聚甲醛固定10 min。然后, 用0.1%的结晶紫染色10 min, 用棉签擦去上室内细胞, 并用PBS清洗, 然后在显微镜下拍照并计数。

1.2.10 克隆形成实验 细胞沉淀重悬为单细胞悬液后计数, 将细胞以1 000/孔接种到6孔板中, 轻轻摇晃, 使细胞分布均匀, 常规培养。每3 d更换1次完全培养基, 约2周后肉眼即可看到细胞克隆, 此时, 吸弃培养基, 用PBS溶液轻轻地漂洗2次, 4%多聚甲醛固定10~20 min, 再用PBS溶液轻轻地漂洗2次, 每孔加入1 mL 0.5%结晶紫染液染色20 min, 缓缓地

洗去多余染液, 在倒置显微镜下观察, 计数大于50个细胞的克隆数, 每组实验独立进行3次, 每次3个复孔。

1.3 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 17.0统计软件进行方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

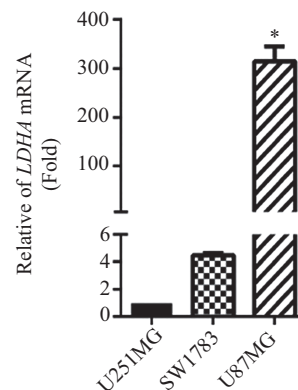
2 结果

2.1 3株脑胶质瘤细胞中LDHA mRNA水平比较

用q-PCR方法检测3株脑胶质瘤细胞系U251MG、SW1783和U87MG中LDHA mRNA水平, 结果显示, U87MG细胞中表达LDHA mRNA水平显著高于U251MG和SW1783细胞(图1)。

2.2 敲低LDHA基因对脑胶质瘤细胞中EMT相关蛋白质水平的影响

选择U87MG、U251MG、SW1783细胞进行LDHA敲低实验。在U87MG细胞中, 转染72 h后, 荧光定量PCR结果表明, 与对照组(sh-EGFP)相比, 实验组(sh-LDHA1、sh-LDHA2)中LDHA的水平明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图2A)。Western blot检测结果证实, 实验组LDHA的蛋白表达量也明显降低(图2B)。说明本研究所用的sh-LDHA1、sh-LDHA2能够有效地抑制胶质瘤U87MG中LDHA的表达。Western blot实验结果显示, 干扰LDHA后, U87MG细胞的上皮细胞标志物E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达升高; 间质表型标志物N-钙黏蛋白(N-cadherin)、纤连蛋白(fibronectin)、波形蛋白(vimentin)表达上调; 诱导EMT的转录因子Snail蛋



q-PCR检测LDHA mRNA水平。* $P < 0.05$, 与U251MG组比较。

Determination of LDHA mRNA level by q-PCR. * $P < 0.05$ vs U251MG group.

图1 3株脑胶质瘤细胞中LDHA基因的表达

Fig.1 Expressions of LDHA gene in three glioma cells

白质水平下调; 对诱导EMT有辅助作用的MMP-2、MMP-9蛋白质水平也下调(图2B)。结果表明, 敲低LDHA显著抑制U87MG细胞的EMT。在U251MG细胞中, 敲低LDHA基因对细胞的生长和EMT没有影响, 同时在SW1783细胞中, 敲低LDHA基因对细胞的生长和EMT过程影响不明显(图3和图4)。

2.3 敲低LDHA对U87MG细胞LDH活性的影响

为了研究敲低LDHA基因表达对U87MG细胞中LDHA活性的影响, 在质粒转染后, 运用比色法检测LDHA活性。结果表明, 与对照组相比, 实验组细胞的LDHA活性低于对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。这说明, 敲低LDHA显著抑制U87MG细胞的LDHA活性(图5)。

2.4 敲低LDHA基因对U87MG细胞凋亡的影响

为检测敲低LDHA基因后, U87MG细胞凋亡率的变化, 质粒转染细胞后, 我们采用流式细胞仪检测细胞早期凋亡的晚期凋亡比例的变化。结果显示, 与对照组比较, 实验组细胞早期凋亡和晚期凋亡率都增高(图6)。结果说明, 敲低LDHA诱导了U87MG细胞的凋亡。

2.5 敲低LDHA基因对脑胶质瘤细胞增殖和迁移的影响

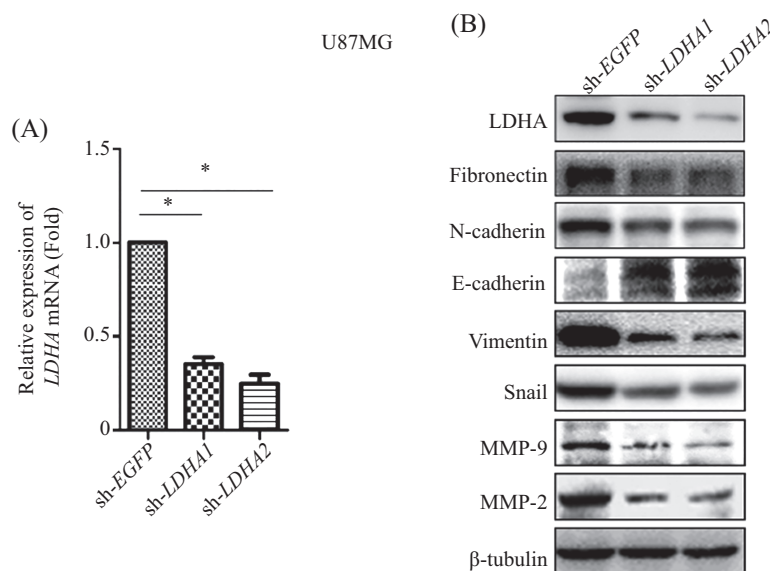
通过CCK-8实验和克隆形成实验, 研究敲低

LDHA对脑胶质瘤细胞增殖能力的影响。CCK-8实验结果显示, U87MG细胞中, 与对照组相比, 实验组细胞的增殖速率下降, 随时间延长下降越明显。2周以后, 实验组克隆形成数明显少于对照组($P < 0.05$)。结果说明, 敲低LDHA基因可以抑制U87MG细胞的增殖能力(图7A和图7B)。在U251MG细胞中抑制LDHA对细胞的增殖没有影响, 在SW1783细胞中敲低LDHA对细胞增殖能力的影响不明显。

划痕实验结果显示, sh-EGFP组细胞24 h的相对迁移距离为78.5%, 而sh-LDHA1组和sh-LDHA2组细胞的相对迁移距离分别为42.3%和39.8%。实验组细胞迁移能力显著低于对照组细胞(图7C)。Transwell结果显示, sh-EGFP组细胞的迁移数为 299 ± 12 , 实验组迁移数明显减少, 其中sh-LDHA1组和sh-LDHA2组细胞的迁移数分别为 121 ± 6 和 162 ± 10 , 差异具有统计学意义($P < 0.05$, 图7D)。

3 讨论

目前, 胶质瘤的治疗是以手术切除为主, 联合化疗、放疗的综合治疗, 但由于胶质瘤界限不清, 侵袭性强, 对放化疗抵抗等因素, 使得术后综合治疗的效果仍不乐观^[9-10]。随着对肿瘤代谢重编程的深入研究, 异常能量代谢成为肿瘤治疗新的靶点。

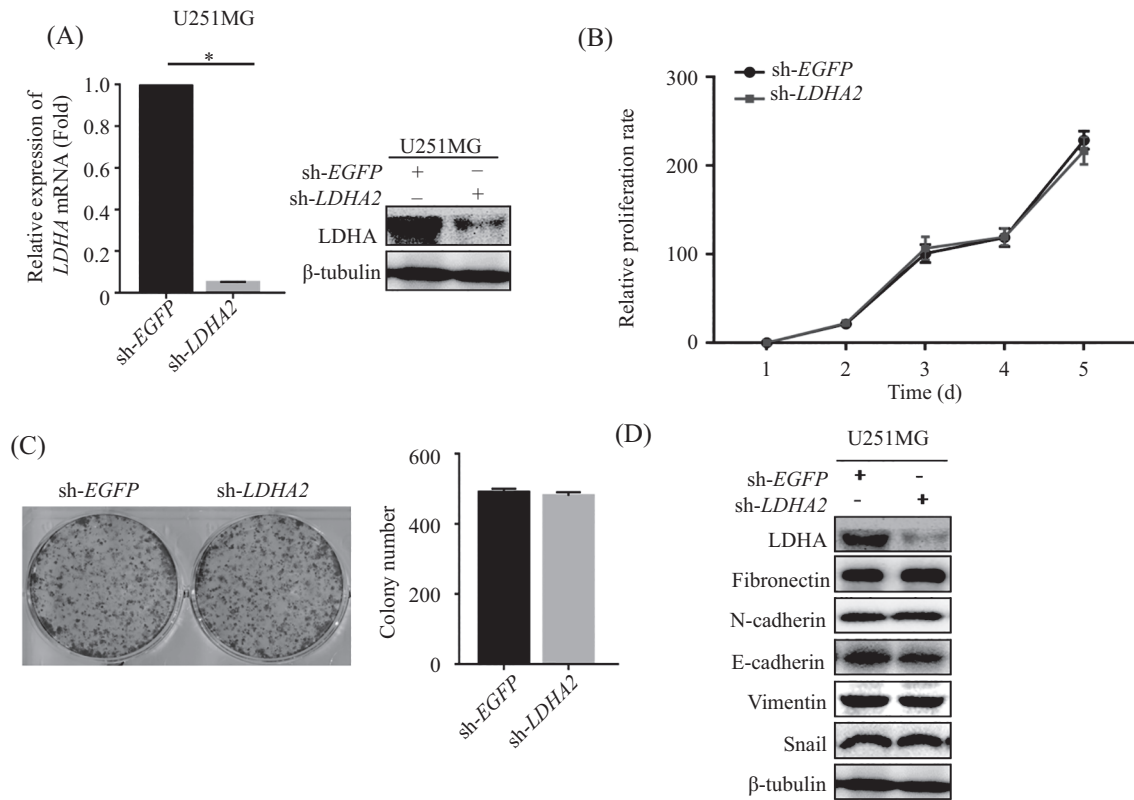


A: q-PCR检测3株稳转细胞中LDHA mRNA水平。* $P < 0.05$, 与sh-EGFP组比较; B: sh-LDHA1和sh-LDHA2转染U87MG细胞后, LDHA及EMT相关蛋白水平。

A: determination of LDHA mRNA level by q-PCR. * $P < 0.05$ vs sh-EGFP group; B: expression of LDHA and the levels of proteins related to EMT in U87MG cells transfected by sh-LDHA1 and sh-LDHA2.

图2 敲低LDHA基因对U87MG中EMT相关蛋白的影响

Fig.2 Knockdown of LDHA gene influenced the levels of EMT related proteins in U87MG cells



A: sh-LDHA2转染U251MG细胞后LDHA mRNA和蛋白质水平; B、C: sh-LDHA2转染U251MG细胞后细胞增殖速率; D: sh-LDHA2转染U251MG细胞后, EMT相关蛋白质水平。

A: determination of LDHA mRNA level by q-PCR and protein levels by Western blot; B,C: relative proliferation rate of U251MG cells transfected by sh-LDHA2; D: expression of the levels of EMT related protein in U251MG cells transfected by sh-LDHA2.

图3 敲低LDHA基因表达对和U251MG细胞增殖和EMT影响

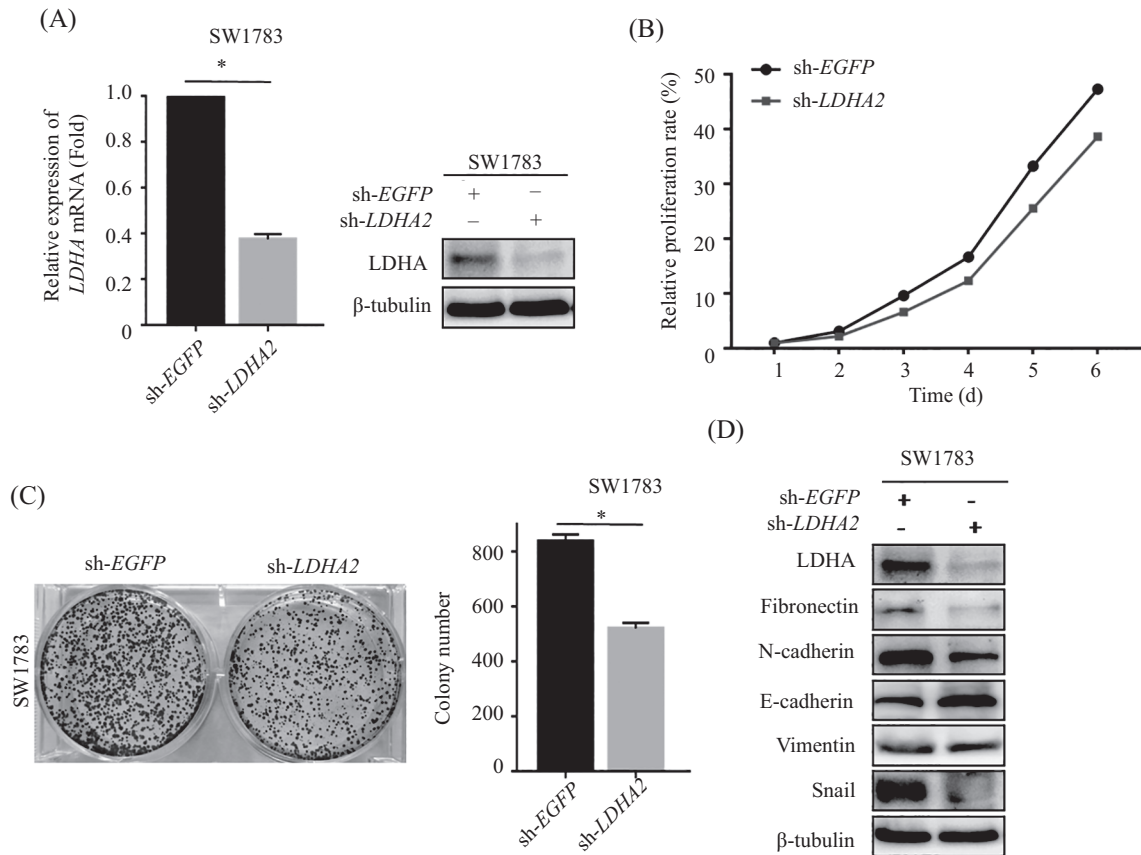
Fig.3 The effect of knockdown of LDHA gene on cell proliferation and EMT of U251MG cells

肿瘤发生的起初阶段由于存在缺氧微环境, 为适应这种微环境, 肿瘤细胞倾向于利用糖酵解获取能量, 这种代谢过程的改变为肿瘤细胞提供了生存优势, 即使肿瘤获得了良好的血供, 肿瘤细胞的糖酵解仍然非常活跃, 这被称为瓦博格效应^[3]。丙酮酸代谢是糖酵解中心环节, LDHA作为其中一个重要的作用分子, 参与催化丙酮酸转化为乳酸的过程, 为肿瘤细胞提供能量而发挥其促肿瘤作用^[8]。其次, 乳酸创造了一种酸性微环境, 这一催化反应减少了丙酮酸的量而影响表观遗传修饰, 如影响HDACs活性^[8]。

研究证明, LDHA在胶质瘤中高度表达, 其阳性表达率及表达强度随着病理级别增加而上升^[11]。研究者运用18F-FDG PET和磁共振质子波谱技术 (proton magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS)检测胶质瘤发现, 肿瘤病灶显像中表现为葡萄糖和乳酸高摄取, 并且与胶质瘤的分级相关。Li等^[12]在脑胶质瘤细胞中直接敲低LDHA后, 乳酸产量和葡萄

糖的消耗明显减少, 同时肿瘤细胞的增殖能力和迁移能力降低, 细胞凋亡增多。由此证明, LDHA能够通过调控肿瘤的瓦博格效应而阻碍肿瘤进展。我们的结果也显示, 来源于IV级胶质瘤的U87MG细胞中LDHA的表达显著高于来源于III-IV级的U251MG和III级的SW1783细胞。但是, 目前LDHA在胶质瘤中的功能和具体调控机制还不完全清楚。研究显示, 肿瘤细胞中异常激活的LDHA促进了细胞的增殖和迁移能力^[9], 干扰LDHA诱导细胞凋亡而影响细胞的生长能力。在本研究中, 敲低LDHA, U87MG细胞的增殖和迁移能力受到明显抑制, 并且下调LDHA诱导了细胞凋亡, 细胞中LDH活性受到影响, 与其他研究组的报道基本一致。

EMT是上皮细胞获得迁移能力的有效方式, 是恶性肿瘤中90%以上的上皮细胞癌浸润转移的一个重要途径。发生EMT时, 肿瘤细胞E-钙黏蛋白的表达会受到抑制而失去细胞与细胞之间的连接^[14]; 细胞会显示出间质细胞的表型, 包括上调间质表型标志物

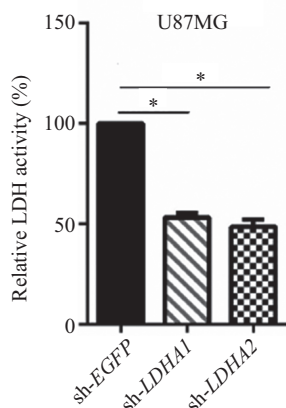


A: sh-LDHA2转染SW1783细胞后LDHA mRNA和蛋白质水平; B、C: sh-LDHA2转染SW1783细胞后细胞增殖速率; D: sh-LDHA2转染SW1783细胞后, EMT相关蛋白质水平。*P<0.05, 与sh-EGFP组比较。

A: determination of LDHA mRNA level by q-PCR and protein levels by Western blot; B,C: relative proliferation rate of SW1783 cells transfected by sh-LDHA2; D: expression of the levels of EMT related protein in SW1783 cells transfected by sh-LDHA2. *P<0.05 vs sh-EGFP group.

图4 敲低LDHA基因表达对和SW1783细胞增殖和EMT影响

Fig.4 The effect of knockdown LDHA gene on cell proliferation and EMT of SW1783 cells



sh-LDHA1和sh-LDHA2转染U87MG细胞后LDHA的活性。*P<0.05, 与sh-EGFP组比较。

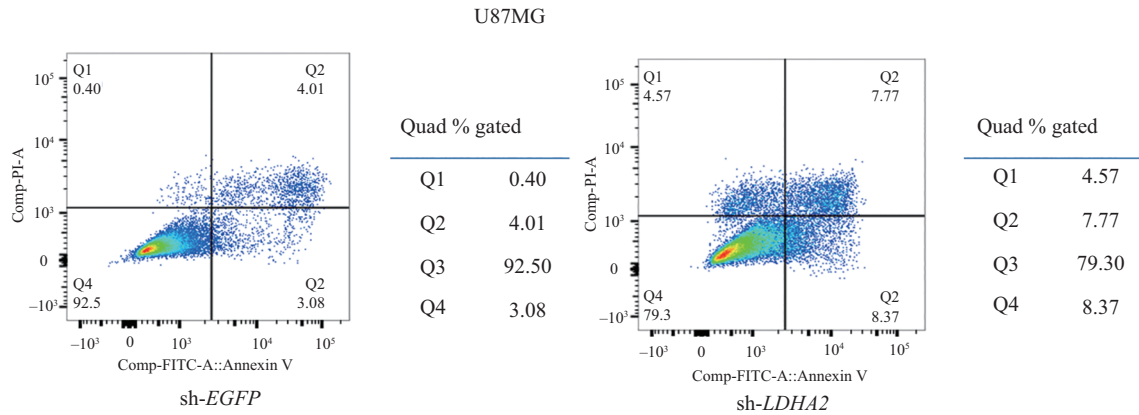
Relative LDHA activity of U87MG cells transfected by sh-LDHA1 and sh-LDHA2. *P<0.05 vs sh-EGFP group.

图5 敲低LDHA基因对U87MG细胞LDHA活性的影响

Fig.5 Knockdown of LDHA gene influenced the LDHA activity of U87MG cells

N-钙黏蛋白、纤连蛋白和波形蛋白^[15]; 同时, 一些转录抑制因子(如Twist、Snail和Slug)的表达也会上调^[16]。研究证明, 肿瘤细胞中异常激活的LDHA能够诱导EMT活化促进肿瘤的恶性进程^[8]。本研究在脑胶质瘤细胞U87MG中下调LDHA, 结果显示, 下调LDHA后细胞E-钙黏蛋白表达增加, 而N-钙黏蛋白和波形蛋白水平表达降低, 表明干扰LDHA具有抑制U87MG细胞EMT进程的作用。但是, 由于U251MG和SW1783细胞中LDHA表达水平很低, 敲低LDHA对这两种胶质瘤的生长和EMT过程没有明显的影响。

综上, 本研究通过构建LDHA干扰质粒转染细胞, 采用q-PCR、Western blot、CCK-8、划痕实验、克隆形成实验和流式细胞术验证了LDHA对脑胶质瘤细胞增殖、迁移和凋亡的作用, 并通过Western blot探索了LDHA对EMT相关蛋白质的影响。这些体外实验结果在一定程度上表明, LDHA通过激活

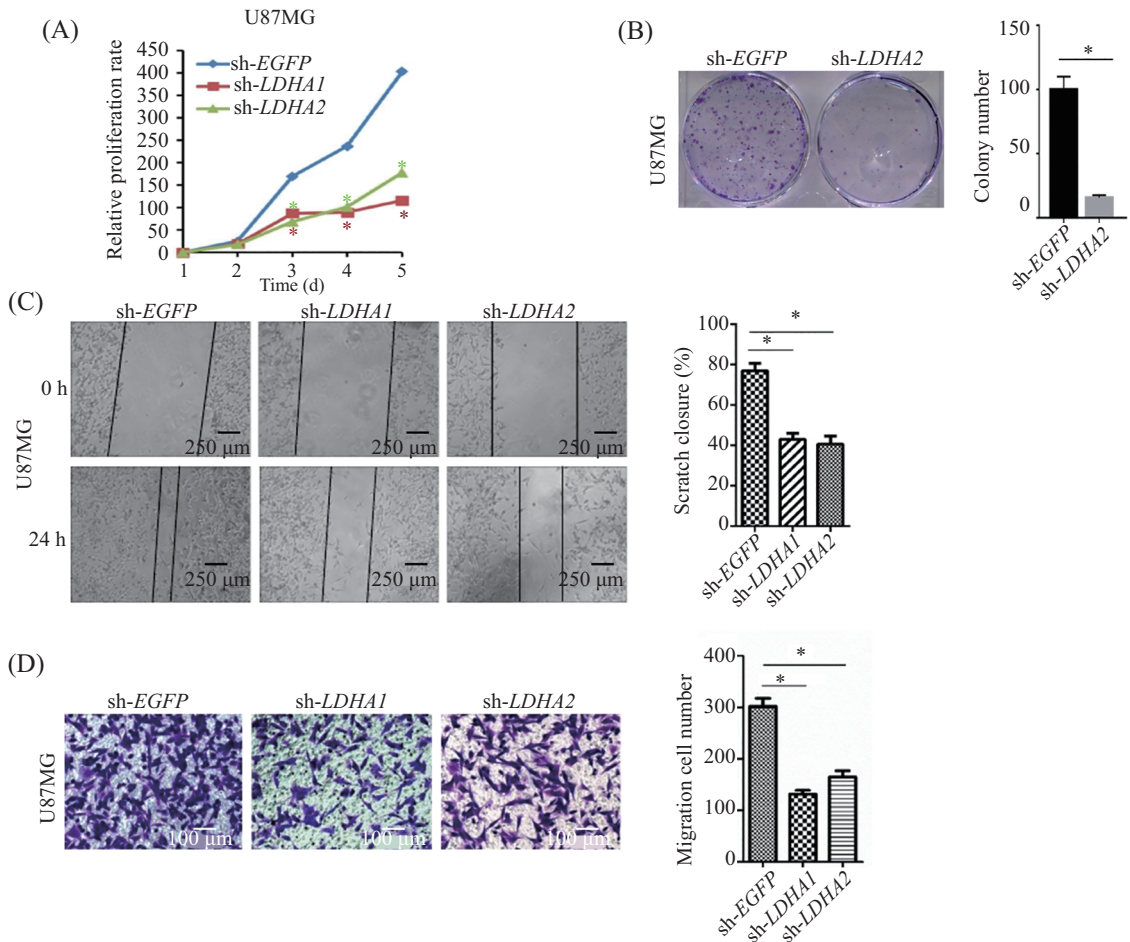


Annexin V/PI双染法检测sh-LDHA2转染U87MG细胞后细胞凋亡。

Apoptosis of U87MG cells transfected by sh-LDHA2 is detected by Annexin V/PI with flow cytometry.

图6 敲低LDHA基因对U87MG细胞凋亡的影响

Fig.6 Knockdown of LDHA gene influenced the apoptosis of U87MG cells



A: sh-LDHA1和sh-LDHA2转染U87MG细胞后细胞增殖速率; B: sh-LDHA2转染U87MG细胞后细胞克隆形成能力; C: sh-LDHA1和sh-LDHA2转染U87MG细胞后细胞相对迁移距离; D: sh-LDHA1和sh-LDHA2转染U87MG细胞后细胞迁移率。*P<0.05, 与sh-EGFP组比较。

A: relative proliferation of U87MG cells transfected by sh-LDHA1 and sh-LDHA2; B: colony formation ability of U87MG cells transfected by sh-LDHA2; C: relative migration distance of U87MG cells transfected by sh-LDHA and sh-LDHA2; D: relative migration rate of U87MG cells transfected by sh-LDHA and sh-LDHA2. *P<0.05 vs sh-EGFP group.

图7 敲低LDHA基因表达对U87MG细胞增殖和迁移的影响

Fig.7 The effect of knockdown of LDHA gene on the proliferation and migration of U87MG cells

EMT促进了胶质瘤的恶性进程。这对于提高胶质瘤患者生存状况以及提供治疗的方向具有重要意义, 但尚需进一步的体内实验证实上述结果。此外, LDHA通过活化EMT影响增殖、迁移和凋亡的具体作用机制也需要进一步探讨。

参考文献 (References)

- 1 Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Liu Max, Blanda Rachel, Kromer Courtney, *et al.* CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro Oncol* 2015; doi: 10.1093/neuonc/nov189.
- 2 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
- 3 Feron O. Pyruvate into lactate and back: from the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. *Radiother Oncol* 2009; 92(3): 329-33.
- 4 Xian ZY, Liu JM, Chen QK, Chen HZ, Ye CJ, Xue J, *et al.* Inhibition of LDHA suppresses tumor progression in prostate cancer. *Tumour Biol* 2015; 36(10): 8093-100.
- 5 Qiu H, Jackson AL, Kilgore JE, Zhong Y, Chan LL, Gehrig PA, *et al.* JQ1 suppresses tumor growth through downregulating LDHA in ovarian cancer. *Oncotarget* 2015; 6(9): 6915-30.
- 6 Goldman RD, Kaplan NO, Hall TC. Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. *Cancer Res* 1964; 24: 389-99.
- 7 Ooi AT, Gomperts BN. Molecular pathways: targeting cellular energy metabolism in cancer via inhibition of SLC2A1 and LDHA. *Clin Cancer Res* 2015; 21(11): 2440-4.
- 8 Jiang F, Ma S, Xue Y, Hou J, Zhang Y. LDH-A promotes malignant progression via activation of epithelial-to mesenchymal transition and conferring stemness in muscle-invasive bladder cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 469(4): 985-92.
- 9 Duan R, Han L, Wang Q, Wei J, Chen L, Zhang J, *et al.* HOXA13 is a potential GBM diagnostic marker and promotes glioma invasion by activating the Wnt and TGF-beta pathways. *Oncotarget* 2015; 6(29): 27778-93.
- 10 Song T, Li H, Tian Z, Xu CJ, Liu JF, Guo Y. Disruption of NF-kappaB signaling by fluoxetine attenuates MGMT expression in glioma cells. *Onco Targets Ther* 2015; 20(8): 2199-208.
- 11 Evers JL. WHO grade 'a' sperm motility and zona pellucida-binding test predict IVF outcome. *Hum Reprod* 2007; 22(1): 311-2.
- 12 Li J, Zhu S, Tong J, Hao H, Yang J, Liu ZK, *et al.* Suppression of lactate dehydrogenase A compromises tumor progression by downregulation of the Warburg effect in glioblastoma. *Neuroreport* 2016; 27(2): 110-5.
- 13 Qureshi R, Arora H, Rizvi MA. EMT in cervical cancer: its role in tumour progression and response to therapy. *Cancer Lett* 2015; 356(2 Pt B): 321-31.
- 14 Du B, Shim JS. Targeting epithelial-mesenchymal transition (EMT) to overcome drug resistance in cancer. *Molecules* 2016; doi: 10.3390/molecules21070965.
- 15 Kahlert UD, Nikkhah G, Maciaczyk J. Epithelial-to-mesenchymal(-like) transition as a relevant molecular event in malignant gliomas. *Cancer Lett* 2013; 331(2): 131-8.
- 16 Kaufhold S, Bonavida B. Central role of Snail1 in the regulation of EMT and resistance in cancer: a target for therapeutic intervention. *J Exp Clin Cancer Res* 2014; 33: 62.