

干扰乳酸脱氢酶 A 表达对 ErbB2 高表达 乳腺癌细胞迁移和侵袭的影响*

贺丽^{1,2}, 李梦龙², 申越³, 马雪娇¹, 余蓉¹, 赵玉华^{2△}

1. 四川大学华西药学院 微生物与生化药学教研室(成都 610041);
2. 四川大学华西基础医学与法医学院 生物化学与分子生物学教研室(成都 610041);
3. 四川大学华西基础医学与法医学院 人体解剖学教研室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨体外干扰乳酸脱氢酶 A(LDHA)表达对人类表皮生长因子受体 2(ErbB2)高表达乳腺癌 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞迁移和侵袭的影响及其分子机制。方法 用 siLDHA 转染(以转染 scramble siRNA 为阴性对照)SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞干扰 LDHA 的表达;Western blot 法检测 LDHA 蛋白表达水平;Transwell 小室检测细胞的迁移和侵袭能力;采用乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒测定细胞的 LDH 活性;采用葡萄糖和乳酸检测试剂盒分别测定培养基中的葡萄糖浓度和乳酸浓度,计算细胞对葡萄糖的摄取量和乳酸生成量。结果 与阴性对照组比较,siLDHA 下调 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞 LDHA 的蛋白水平($P < 0.01$);降低细胞的迁移和侵袭能力($P < 0.001$);下调 SK-BR-3 细胞的 LDH 活性,减少两种细胞葡萄糖摄取量和乳酸生成量,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 干扰 LDHA 表达通过降低糖酵解从而抑制 ErbB2 高表达乳腺癌细胞的迁移和侵袭。

【关键词】 乳腺癌 小干扰 RNA 乳酸脱氢酶 A 糖酵解 迁移与侵袭

Effect of LDHA Knockdown by siRNA on Migration and Invasion of ErbB2 Overexpressing Breast Cancer Cell Line

HE Li^{1,2}, LI Meng-long², SHEN Yue³, MA Xue-jiao¹, YU Rong¹, ZHAO Yu-hua^{2△}. 1. Department of Microbiology and Biochemical Pharmacy, West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Anatomy, West China School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: zhaoyh@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effect of small interfering RNA of lactate dehydrogenase A (siLDHA) on migration and invasion of epidermal growth factor receptor 2 (ErbB2) over expressing breast cancer cell line SK-BR-3, MDA-MB-453 and its molecular mechanism. **Methods** SK-BR-3 and MDA-MB-453 cells were transfected with siLDHA to interfere with the expression of LDHA. The transfection of scramble siRNA was used as negative control. The LDHA protein levels were detected by Western blot ($P < 0.01$). Cell migration and invasion was detected by Transwell assays. Lactate dehydrogenase (LDH) activity was measured by LDH assay kit. The glucose and lactate concentration in the culture media was determined by glucose and lactate assay kit, respectively, and then glucose uptake and lactate production by the cells were calculated. **Results** siLDHA downregulated LDHA protein levels in SK-BR-3 and MDA-MB-453 cells ($P < 0.01$). Compared with negative control group, siLDHA significantly decreased migration and invasion of SK-BR-3 and MDA-MB-453 cells ($P < 0.001$). siLDHA reduced LDH activity in SK-BR-3 cells, glucose uptake and lactate production in SK-BR-3 and MDA-MB-453 cells, the difference was significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Knockdown of LDHA by siRNA inhibits the migration and invasion via downregulation of glycolysis in ErbB2 over expressing breast cancer cell line.

【Key words】 Breast cancer siRNA Lactate dehydrogenase A Glycolysis Migration and invasion

乳腺癌是全球范围内最常见的女性恶性肿瘤^[1],约40%乳腺癌患者在辅助化学治疗后出现远

处转移症状,且转移是导致乳腺癌患者死亡的主要原因^[2]。乳腺癌转移是一个复杂的病理生理过程,其中细胞迁移与侵袭是体外研究转移的两个重要过程。人类表皮生长因子受体 2(epidermal growth factor receptor 2, ErbB2),又称为 Her2 或 neu,是

* 国家自然科学基金(No. 81272907)资助

△ 通信作者, E-mail: zhaoyh@scu.edu.cn

一种致癌基因,在 25%~30%的乳腺癌患者中高表达。ErbB2 表达水平与患者不良预后正相关,ErbB2 的高表达可以促进乳腺癌的转移^[3]。

乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA)是糖酵解途径中的一种关键酶,催化糖酵解最后一步丙酮酸向乳酸的转变。研究证实 LDHA 在多种恶性肿瘤中表达上调,如乳腺癌^[4]、结直肠癌^[5]和前列腺癌^[6],并且 LDHA 的表达水平与恶性肿瘤患者肿瘤大小、临床分期、组织学分级和远端转移呈正相关,与患者总生存期和无病生存期呈负相关。因此 LDHA 是恶性肿瘤预后的标志物和潜在的治疗靶点^[4, 7]。

已有研究报道,干扰 LDHA 表达或抑制 LDHA 活性能降低小鼠乳腺癌 4T1 和前列腺癌 PC-3 等肿瘤细胞的糖酵解水平,进而抑制细胞的迁移和侵袭能力^[6, 8-9],但靶向 LDHA 对 ErbB2 高表达乳腺癌细胞迁移和侵袭的影响国内外尚未见报道。我们前期的研究结果证明 LDHA 在 ErbB2 高表达乳腺癌细胞的糖酵解中起重要作用^[10],而且 ErbB2 介导的糖酵解能够促进乳腺癌细胞的迁移^[11]。因此,本研究旨在探讨干扰 LDHA 表达对 ErbB2 高表达乳腺癌 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞迁移和侵袭的影响及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞及其培养

人乳腺癌 SK-BR-3 细胞购自中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心,用含 100 mL/L 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、10 mL/L 青霉素-链霉素的 RPMI1640 培养基培养,人乳腺癌 MDA-MB-453 细胞购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,用含 100 mL/L FBS、10 mL/L 青霉素-链霉素的 DMEM/F12 培养基培养,于 37 °C、50 mL/L CO₂ 恒温培养箱中培养,隔天换液。

1.2 小干扰 RNA(siRNA)

siRNA 购自上海吉玛制药技术有限公司,scramble siRNA 即阴性对照(negative control, NC)序列为:sense: 5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3', antisense: 5'-ACGTGACACGTTCCGAGAA-3'; siLDHA-A 序列为:sense: 5'-TTGTTGATGCA TCGAGG-3', antisense: 5'-CCTCGATGCATCA ACAA-3'; siLDHA-B 序列为:sense: 5'-GGGTC CTTGGGGAACATG-3', antisense: 5'-CATGTTC

CCCAAGGACCC-3'^[12]。

1.3 试剂

DMEM/F12、RPMI1640 培养基和青霉素-链霉素购自美国 Hyclone 公司, FBS 购自广州蕊特生物科技有限公司。转染试剂 Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司, Opti-MEM 培养基购自美国 Gibco 公司。乳酸检测试剂盒和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所,葡萄糖检测试剂盒购自北京普莱利基因技术有限公司。Bradford 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术研究, PVDF 膜购自美国 Bio-Rad 公司,化学发光试剂盒购自美国 Thermo 公司。Matrigel 基底胶和细胞培养池购自美国 BD 公司。LDHA 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司, β -actin 购自美国 Sigma 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 siRNA 转染细胞 在 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞中分别转染 NC、siLDHA-A 和 siLDHA-B;以每孔 30%~40% 的细胞密度铺入 6 孔板中,待 24 h 细胞完全贴壁。先用 0.1 mL Opti-MEM 稀释 siRNA (SK-BR-3 细胞: 200 nmol/L NC, 200 nmol/L siLDHA-A, 50 nmol/L siLDHA-B; MDA-MB-453 细胞: 200 nmol/L NC, 200 nmol/L siLDHA-A, 100 nmol/L siLDHA-B), 另外用 0.1 mL Opti-MEM 稀释 5 μ L 转染试剂, 室温静置 5 min 后将上述稀释的 siRNA 和转染试剂按体积比 1:1 混合, 室温放置 20 min 后将混合液加入 6 孔板中, 恒温培养箱中培养, 6 h 后将培养基换为无抗生素完全培养基。转染 24 h 后, 将培养基换为 DMEM 低糖培养基, 培养 24 h 后收集培养基以测定葡萄糖摄取量和乳酸生成量。转染 48 h 后收集细胞用于 LDH 活性和 Western blot 检测, 实验重复 3 次。

1.4.2 Western blot 检测细胞 LDHA 蛋白表达 冰上裂解细胞 30 min, 离心(12 000 r/min, 20 min)后取上清, Bradford 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白定量。蛋白上样量为 35 μ g, 100 °C 变性 5 min, 100 mL/L SDS-PAGE 电泳后, 湿转法转膜, 电流 300 mA, 90 min。50 mL/L 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 充分洗膜。4 °C 过夜孵育 LDHA 一抗, 室温孵育辣根酶过氧化物酶标记的二抗 1 h, 一抗和二抗稀释比均为 1:1 000。用 TBST 洗膜后, 以 β -actin 或 GAPDH 为内参, 化学发光试剂盒检测 LDHA 条带, 用 Image Lab 软件拍照并进行灰度扫描分析, 以

LDHA 条带与内参条带灰度比值作为 LDHA 蛋白的相对表达量, 实验重复 3 次。

1.4.3 Transwell 迁移实验检测细胞的迁移能力 细胞转染 24 h 后, 消化细胞, 用含 2.5 mL/L 牛血清白蛋白(BSA)的基础培养基制备细胞悬液并进行细胞计数, 以 2×10^5 /孔(SK-BR-3)或 6×10^5 /孔(MDA-MB-453)细胞数铺入 8 μ m 细胞培养池上室, 下室加入 700 μ L 含 200 mL/L FBS 的细胞基础培养基, 放入恒温培养箱。24 h 后用 PBS 清洗小室, 棉签擦去上室细胞后, 无水甲醇固定 10 min, 1 mL/L 结晶紫染色 20 min, 用 PBS 洗净结晶紫, 于 37 $^{\circ}$ C 烘干小室。小室上室放于倒置显微镜(100 倍)下, 随机选取 5 个视野拍照和记录迁移的细胞数, 用迁移的细胞数表示细胞的迁移能力。实验重复 3 次。

1.4.4 Transwell 侵袭实验检测细胞的侵袭能力 侵袭实验在细胞铺入小室之前, 把 100 μ L Matrigel 稀释液(200~300 μ g/mL)加入小室上室, 于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO₂ 恒温培养箱放置 2 h 包被备用, 后续步骤同 1.4.3。用 100 倍光镜下 5 个随机视野平均的侵袭细胞数表示细胞的侵袭能力, 实验重复 3 次。

1.4.5 LDH 活性的测定 同 1.4.2 裂解细胞并收集细胞裂解液, 按 LDH 测定试剂盒说明书进行操作, 于 450 nm 波长测定吸光度值, 并用 Bradford 蛋白测定试剂盒测定细胞裂解液的蛋白浓度, 根据样品吸光度值与蛋白浓度计算细胞的 LDH 活性, 以 U/mg 表示。

1.4.6 葡萄糖摄取量的测定 用葡萄糖检测试剂盒测定培养基中的葡萄糖浓度, 根据培养基中的葡萄糖浓度计算细胞对葡萄糖的摄取量, 即细胞葡萄糖摄取量等于培养基本底葡萄糖浓度减去实验后培养基葡萄糖浓度。葡萄糖摄取量以细胞总蛋白含量标准化, 用 μ mol/mg protein 表示。

1.4.7 乳酸生成量的测定 按乳酸检测试剂盒说明书进行实验, 于波长 530 nm 测定吸光度值, 根据吸光度值计算培养基中本底的乳酸浓度, 扣除培养基中的乳酸浓度即为乳酸的生成量, 以细胞总蛋白含量标准化, 用 μ mol/mg protein 表示。

1.5 统计学方法

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 *t* 检验进行组间差异分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 siLDHA 对 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞

LDHA 蛋白表达的影响

结果见图 1。设 NC 组 LDHA 蛋白相对表达量为 100%。在 SK-BR-3 细胞中, 转染 siLDHA 后各干扰组 LDHA 蛋白相对表达量减少至 $62.40\% \pm 1.07\%$ (siLDHA-A)、 $49.88\% \pm 3.92\%$ (siLDHA-B), siLDHA-A 和 siLDHA-B 均能干扰 SK-BR-3 中 LDHA 蛋白表达 ($P < 0.001$), 且 siLDHA-B 的干扰效果优于 siLDHA-A ($P < 0.05$)。在 MDA-MB-453 细胞中, siLDHA-A 能将蛋白相对表达量降至 $74.90\% \pm 2.53\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); siLDHA-B 能将蛋白相对表达量降至 $71.13\% \pm 0.59\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 但 siLDHA-A 与 siLDHA-B 的干扰效果无明显差异。

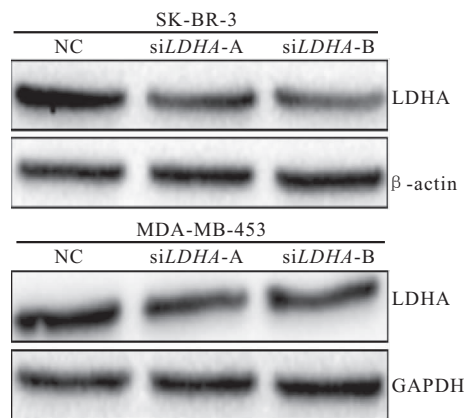


图 1 siLDHA 对 LDHA 蛋白水平的影响

Fig 1 Effect of siLDHA on LDHA protein levels

2.2 siLDHA 对 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞迁移的影响

结果见图 2。SK-BR-3 细胞中, 与 NC 组迁移的细胞数 (173.20 ± 16.23) 相比, siLDHA-A 组 (81.40 ± 5.64) 和 siLDHA-B 组 (60.50 ± 12.85) 迁移的细胞数减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); siLDHA-B 组迁移细胞比 siLDHA-A 组迁移细胞少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 MDA-MB-453 细胞中, 与 NC 组迁移的细胞数 (99.60 ± 3.26) 相比, siLDHA-A 组 (44.20 ± 5.03) 和 siLDHA-B 组 (49.80 ± 5.38) 迁移的细胞数亦减少 ($P < 0.001$); siLDHA-A 组与 siLDHA-B 组迁移细胞数间的差异无统计学意义。

2.3 siLDHA 对 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞侵袭的影响

结果见图 3。在 SK-BR-3 细胞中, siLDHA-A

组侵袭细胞数(47.60 ± 4.50)和 siLDHA-B 组侵袭细胞数(31.33 ± 5.56)均低于 NC 组侵袭细胞数(93.20 ± 5.54),差异有统计学意义($P < 0.001$),同时 siLDHA-B 组侵袭细胞数低于 siLDHA-A 组,差异有统计学意义($P < 0.01$);在 MDA-MB-453 细

胞中, siLDHA-A 组侵袭细胞数(48.20 ± 5.04)和 siLDHA-B 组侵袭细胞数(48.00 ± 5.38)均低于 NC 组(97.60 ± 11.09),差异有统计学意义($P < 0.001$),而 siLDHA-A 组与 siLDHA-B 组侵袭细胞数的差异无统计学意义。

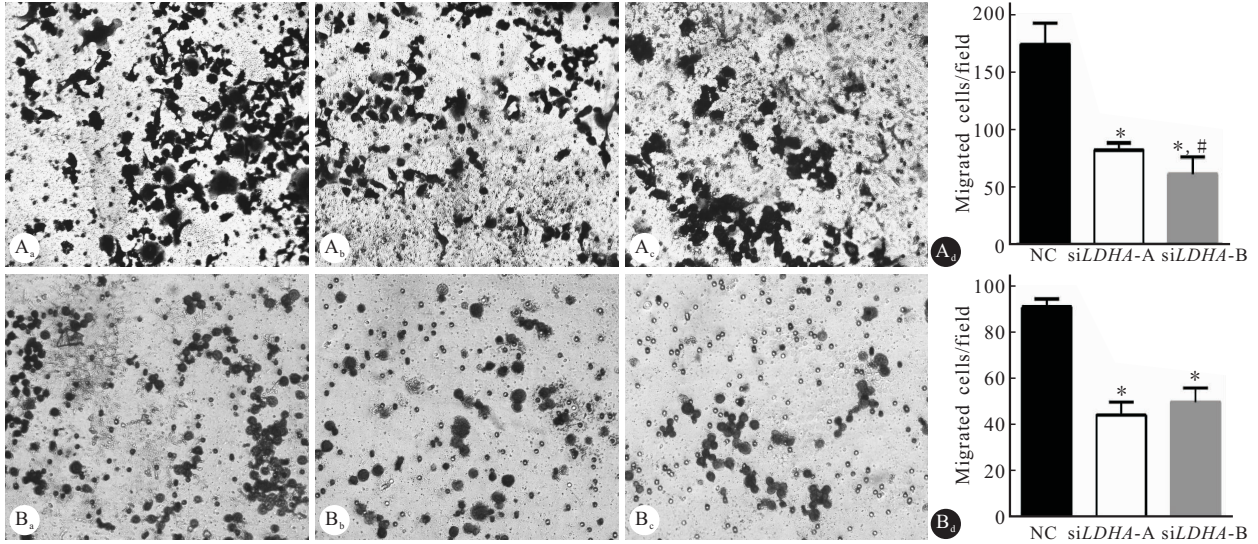


图2 siLDHA抑制SK-BR-3(A)和MDA-MB-453(B)细胞的迁移

Fig 2 siLDHA inhibits migration of SK-BR-3 (A) and MDA-MB-453 (B) cells

a: NC group; b: siLDHA-A group; c: siLDHA-B group; d: Histogram. * $P < 0.001$, vs. NC group; # $P < 0.05$, vs. siLDHA-A group

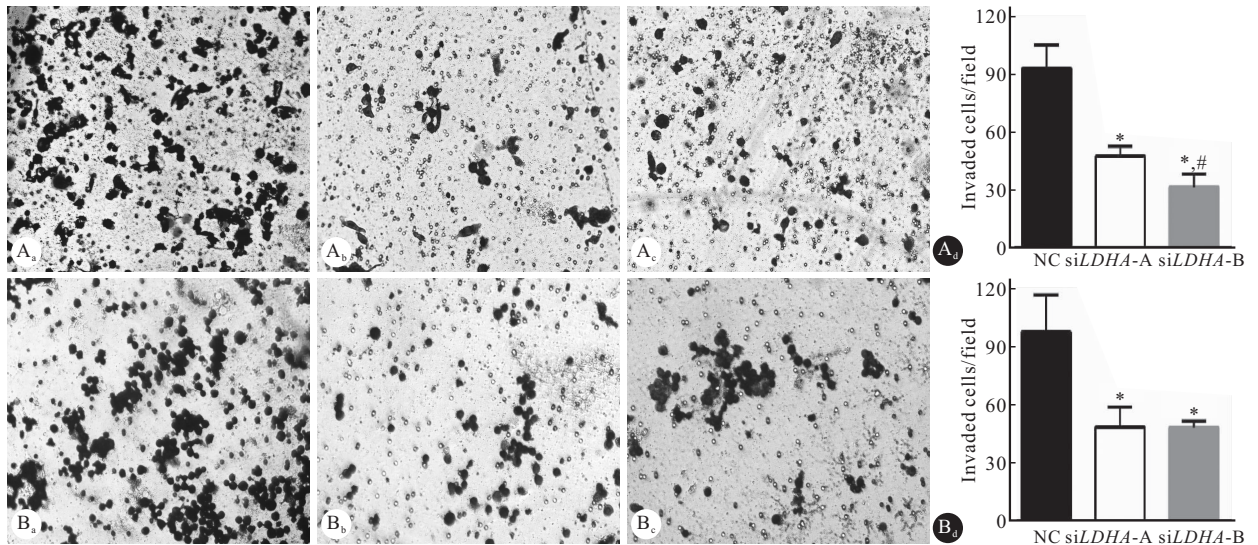


图3 siLDHA抑制SK-BR-3(A)和MDA-MB-453(B)细胞的侵袭

Fig 3 siLDHA inhibits invasion of SK-BR-3 (A) and MDA-MB-453 (B) cells

a: NC group; b: siLDHA-A group; c: siLDHA-B group; d: Histogram. * $P < 0.001$, vs. NC group; # $P < 0.01$, vs. siLDHA-A group

2.4 siLDHA对SK-BR-3细胞LDH活性的抑制作用

结果见表1。siLDHA-A和siLDHA-B转染组SK-BR-3细胞的LDH活性低于NC组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 siLDHA对SK-BR-3和MDA-MB-453细胞葡萄糖摄取和乳酸生成量的抑制作用

结果见表2、表3。在两种细胞中,siLDHA-A和siLDHA-B转染组的葡萄糖摄取量和乳酸生成量均低于NC组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 siLDHA 对 SK-BR-3 细胞 LDH 活性的影响

Table 1 The effect of siLDHA on LDH activity in SK-BR-3 cells

Group	n	LDH activity/(U/mg)
NC	3	7.85±1.13
siLDHA-A	3	5.20±0.39*
siLDHA-B	3	3.81±0.32**

* P<0.05, ** P<0.01, vs. NC group

表 2 siLDHA 对 SK-BR-3 细胞葡萄糖摄取和乳酸生成的影响

Table 2 The effect of siLDHA on glucose uptake and lactate production in SK-BR-3 cells

Group	n	Glucose uptake/ ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}$)	Lactate production/ ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}$)
NC	3	0.76±0.03	1.33±0.04
siLDHA-A	3	0.60±0.01**	1.17±0.02**
siLDHA-B	3	0.62±0.02**	0.75±0.03***

** P<0.01, *** P<0.001, vs. NC group

表 3 siLDHA 对 MDA-MB-453 细胞葡萄糖摄取和乳酸生成的影响

Table 3 The effect of siLDHA on glucose uptake and lactate production in MDA-MB-453 cells

Group	n	Glucose uptake/ ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}$)	Lactate production/ ($\mu\text{mol}/\text{mg protein}$)
NC	3	0.44±0.02	0.67±0.01
siLDHA-A	3	0.33±0.02**	0.54±0.01***
siLDHA-B	3	0.34±0.01**	0.52±0.04**

** P<0.01, *** P<0.001, vs. NC group

3 讨论

肿瘤细胞通过改变代谢方式,适应不断变化的微环境从而影响肿瘤的发生、和发展^[13],即使在氧气充足的条件下,肿瘤细胞优先通过无氧糖酵解满足其对能量以及生物大分子的需求,该现象被称为瓦伯格效应^[14]。因此靶向糖酵解途径的一些代谢酶是可行的肿瘤治疗方法^[15]。LDH 是由两种亚基 M(A)和 H(B)组成的同型或异型四聚体,根据 M 和 H 亚基的不同比例产生 5 种同工酶,分别为 M4、M3H1、M2H2、M1H3、H4。M 和 H 亚基分别由基因 LDHA 和 LDHB 编码,其中 M 亚基(LDHA)催化糖酵解的最后一步即丙酮酸转变为乳酸,其表达上调后能促进肿瘤细胞的糖酵解^[16]。

LDHA 不仅在糖酵解中发挥重要作用,还能通过其催化产物乳酸进一步影响肿瘤的发生和发展。RIZWAN 等^[8]和 XIE 等^[17]在不同小鼠模型体内通过沉默或敲除 LDHA,研究乳酸与肿瘤生长、转移的关系,发现随着 LDHA 的下调,乳酸水平减少,肿瘤的生长与转移也随之被抑制。BAUMANN 等^[9]在神经胶质瘤 HTZ349 细胞中沉默 LDHA 能减少肿瘤中乳酸水平,细胞迁移能力随之减弱,研究其分子机制发现乳酸水平下调后转化生长因子- $\beta 2$

(transforming growth factor- $\beta 2$, TGF- $\beta 2$)表达沉默,从而减少下游基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和整合素 $\alpha_v \beta_3$ 水平。BRAND 等^[18]研究发现在黑色素瘤中,乳酸含量增加可抑制肿瘤 T 细胞浸润和 NK 细胞的活化,使细胞因子干扰素- γ (IFN- γ)的产生减少,导致肿瘤细胞免疫逃逸,从而促进肿瘤的生长。因此 LDHA 是治疗恶性肿瘤的一个潜在靶点。

本研究结果显示,所用 siLDHA-A 和 siLDHA-B 成功干扰了 MDA-MB-453 和 SK-BR-3 细胞 LDHA 的蛋白水平,干扰 LDHA 表达使细胞的迁移和侵袭能力明显降低。进一步研究其分子机制发现,siLDHA 能显著降低 SK-BR-3 细胞的 LDH 活性和两种细胞的葡萄糖摄取量和乳酸生成量,即 siLDHA 能抑制细胞的糖酵解。在 SK-BR-3 细胞中 siLDHA-B 干扰效果优于 siLDHA-A,但在 MDA-MB-453 细胞中 siLDHA-A 和 siLDHA-B 具有相似的干扰作用,这种现象是由于不同细胞转染效率不同所导致的。

上述结果提示,在乳腺癌 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞中干扰 LDHA 表达可以通过降低糖酵解而抑制细胞的迁移和侵袭能力。这与在胶质母细胞瘤和前列腺癌细胞中,干扰 LDHA 表达可以通过降低糖酵解从而抑制细胞的迁移和侵袭的研究报道一致^[6, 19]。但是目前靶向 LDHA 抑制恶性肿瘤细胞迁移侵袭的分子机制仍不完全清楚。ARSENEAULT 等^[20]报道在黑色素瘤 MDA-MB-435 细胞中用 shRNA 沉默 LDHA 能抑制细胞糖酵解,使细胞代谢从糖酵解转向线粒体氧化磷酸化,从而增加线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成,促进原肌球蛋白的氧化,改变纤维状肌动蛋白的动力学特征,最终抑制细胞的迁移。SHENG 等^[21]的研究表明在肝癌 HCCLM-3 细胞中用 shRNA 下调 LDHA 蛋白水平能抑制细胞的侵袭,在异种移植瘤小鼠模型中能抑制肺转移,对其分子机制进行研究发现,转移相关因子如粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、MMP-2、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和 E-cadherin 在其中发挥重要作用。

本研究发现在 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞中用 siLDHA 干扰 LDHA 表达可以抑制葡萄糖摄取。LDHA 催化糖酵解中丙酮酸向乳酸的转变,并伴随烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的生成。通过合成糖酵解早

期阶段所必须的 NAD^+ , LDHA 维持细胞的高糖酵解率^[22]。当 LDHA 表达被 siRNA 干扰, 乳酸生成减少的同时, NAD^+ 生成减少, 导致糖酵解率降低, 从而使细胞对葡萄糖的摄取减少, 然而 siLDHA 减少葡萄糖摄取的具体分子机制尚不清楚。

综上所述, 本研究证实在 ErbB2 高表达乳腺癌 SK-BR-3 和 MDA-MB-453 细胞中用两个不同 siRNA 序列干扰 LDHA 表达能抑制糖酵解, 从而抑制细胞的迁移和侵袭能力, 但其分子机制有待进一步研究。由于样品量问题本研究未能验证不同 siRNA 序列干扰 LDHA 表达对 MDA-MB-453 细胞 LDH 酶活性的影响, 之后将继续对其进行研究。靶向 LDHA 有可能成为逆转 ErbB2 高表达乳腺癌转移的一种新方法。

参 考 文 献

[1] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL RL, *et al.* Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2):87-108.

[2] WEIGELT B, PETERSE JL, VAN 'T VEER LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5(8):591-602.

[3] JOHNSON E, SEACHRIST DD, DELEON-RODRIGUEZ CM, *et al.* HER2/ErbB2-induced breast cancer cell migration and invasion require p120 catenin activation of Rac1 and Cdc42. *J Biol Chem*, 2010, 285(38):29491-29501.

[4] XIAO X, HUANG X, YE F, *et al.* The miR-34a-LDHA axis regulates glucose metabolism and tumor growth in breast cancer. *Sci Rep*, 2016, 6:21735.

[5] WANG J, WANG H, LIU A, *et al.* Lactate dehydrogenase A negatively regulated by miRNAs promotes aerobic glycolysis and is increased in colorectal cancer. *Oncotarget*, 2015, 6(23):19456-19468.

[6] XIAN ZY, LIU JM, CHEN QK, *et al.* Inhibition of LDHA suppresses tumor progression in prostate cancer. *Tumour Biol*, 2015, 36(10):8093-8100.

[7] HUANG X, LI X, XIE X, *et al.* High expressions of LDHA and AMPK as prognostic biomarkers for breast cancer. *Breast*, 2016, 30: 39-46 [2018-01-27]. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2016.08.014>.

[8] RIZWAN A, SERGANOVA I, KHANIN R, *et al.* Relationships between LDH-A, lactate, and metastases in 4T1 breast tumors. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(18):5158-5169.

[9] BAUMANN F, LEUKEL P, DOERFELT A, *et al.* Lactate promotes glioma migration by TGF-beta2-dependent

regulation of matrix metalloproteinase-2. *Neuro Oncol*, 2009, 11(4):368-380.

- [10] ZHAO YH, ZHOU M, LIU H, *et al.* Upregulation of lactate dehydrogenase A by ErbB2 through heat shock factor 1 promotes breast cancer cell glycolysis and growth. *Oncogene*, 2009, 28(42):3689-3701.
- [11] ZHOU L, JIANG S, FU Q, *et al.* FASN, ErbB2-mediated glycolysis is required for breast cancer cell migration. *Oncol Rep*, 2016, 35(5):2715-2722.
- [12] ZHANG R, SU J, XUE SL, *et al.* HPV E6/p53 mediated down-regulation of miR-34a inhibits Warburg effect through targeting LDHA in cervical cancer. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(2):312-320.
- [13] DEBERARDINIS RJ, THOMPSON CB. Cellular metabolism and disease: what do metabolic outliers teach us? *Cell*, 2012, 148(6):1132-1144.
- [14] WARBURG O. On the origin of cancer cells. *Science*, 1956, 123(3191):309-314.
- [15] CHEONG H, LU C, LINDSTEN T, *et al.* Therapeutic targets in cancer cell metabolism and autophagy. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(7):671-678.
- [16] MIAO P, SHENG S, SUN X, *et al.* Lactate dehydrogenase A in cancer: a promising target for diagnosis and therapy. *IUBMB Life*, 2013, 65(11):904-910.
- [17] XIE H, HANAI J, REN JG, *et al.* Targeting lactate dehydrogenase — a inhibits tumorigenesis and tumor progression in mouse models of lung cancer and impacts tumor-initiating cells. *Cell Metab*, 2014, 19(5):795-809.
- [18] BRAND A, SINGER K, KOEHL GE, *et al.* LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells. *Cell Metab*, 2016, 24(5):657-671.
- [19] LI J, ZHU S, TONG J, *et al.* Suppression of lactate dehydrogenase A compromises tumor progression by downregulation of the Warburg effect in glioblastoma. *Neuroreport*, 2016, 27(2):110-115.
- [20] ARSENEAULT R, CHIEN A, NEWINGTON JT, *et al.* Attenuation of LDHA expression in cancer cells leads to redox-dependent alterations in cytoskeletal structure and cell migration. *Cancer Lett*, 2013, 338(2):255-266.
- [21] SHENG SL, LIU JJ, DAI YH, *et al.* Knockdown of lactate dehydrogenase A suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *FEBS J*, 2012, 279(20):3898-3910.
- [22] BUI T, THOMPSON CB. Cancer's sweet tooth. *Cancer Cell*, 2006, 9(6):419-420.

(2018-07-10 收稿, 2018-11-03 修回)

编辑 余琳