

土贝母苷甲通过调控糖代谢重编程抑制肝癌细胞增殖*

鲁睿¹ 董佳琪² 张乐¹ 田凯乐¹ 路蔓³

(1. 空军军医大学唐都医院介入疼痛科, 陕西 西安 710038; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 710046;

3. 空军军医大学唐都医院检验科, 陕西 西安 710038)

【摘要】 目的 探讨土贝母苷甲(TBMS I)对肝癌细胞增殖的影响及其分子机制。方法 采用 MTS 实验和克隆形成实验检测不同浓度 TBMS I 对肝癌细胞株 MHCC97-H 生长的影响。采用检测葡萄糖摄取、乳酸生成、乳酸脱氢酶(LDH)活性、细胞外液 pH、细胞氧耗和线粒体呼吸链复合体 IV 活性的实验,分析 TBMS I 对肝癌细胞糖酵解、氧化磷酸化的影响。采用 qRT-PCR 和 Western blot 实验检测肝癌细胞株 MHCC97-H 中缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的表达。结果 TBMS I 作用使肝癌细胞的增殖能力下降,且呈一定的剂量和时间依赖效应;使葡萄糖摄取和乳酸生成减少,LDH 活性降低,细胞外培养液 pH 升高,细胞氧耗和线粒体呼吸链复合体 IV 活性增加。结论 TBMS I 通过抑制 HIF-1 α 的表达抑制细胞糖酵解和促进氧化磷酸化,进而抑制肝癌细胞增殖。

【关键词】 肝细胞肝癌;土贝母苷甲;HIF-1 α ;增殖;糖代谢重编程

【中图分类号】 R735.7 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2024.11.007

TBMS I inhibits the proliferation of liver cancer cells by regulating sugar metabolism reprogramming

LU Rui¹, DONG Jiaqi², ZHANG Le¹, TIAN Kaile¹, LU Man³

(1. Department of Interventional Pain Medicine, Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xian 710038, China;

2. Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 710046, Shanxi, China;

3. Department of Laboratory Medicine, Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xian 710038, China)

【Abstract】 **Objective** This study aims to investigate the impact of Tubeimoside I on the proliferation of liver cancer cells and its molecular mechanism. **Methods** MTS assay and colony formation assay were conducted to examine the effects of different concentrations of Tubeimoside I on the growth of MHCC97-H liver cancer cells. Glucose uptake, lactate production, LDH activity, extracellular pH, cellular oxygen consumption and mitochondrial respiratory chain complex IV activity were measured to analyze the influence of Tubeimoside I on glycolysis and oxidative phosphorylation in liver cancer cells. qRT-PCR and Western blot were performed to detect the expression of HIF1 α in MHCC97-H liver cancer cells. **Results** Tubeimoside I treatment decreased the proliferation ability of liver cancer cells in a dose- and time-dependent manner. It also reduced glucose uptake, lactate production and LDH activity, increased extracellular pH, and enhanced cellular oxygen consumption and mitochondrial respiratory chain complex IV activity. **Conclusion** Tubeimoside I inhibits cell glycolysis and promotes oxidative phosphorylation by suppressing the expression of HIF-1 α , thereby suppressing the proliferation of liver cancer cells.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Tubeimoside I (TBMS I); HIF-1 α ; Proliferation; Reprogramming of glucose metabolism

基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目一般项目(面上)
(2024JC-YBMS-731)

通讯作者:路蔓, E-mail: luman0226@163.com

引用本文:鲁睿,董佳琪,张乐,等.土贝母苷甲通过调控糖代谢重编程抑制肝癌细胞增殖[J].西部医学,2024,36(11):1594-1599. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2024.11.007

癌症有八大特征,包括获得维持增殖信号、逃避生长抑制、抵抗细胞死亡、实现复制不朽、诱导/进入脉管系统、激活入侵和转移、重编程细胞代谢和避免免疫破坏的能力^[1]。早在 20 世纪 20 年代,Warburg 等^[2]首次发现,与正常细胞在线粒体中通过氧化磷酸化分解葡萄糖不同,肿瘤细胞即使在氧气充足的条件

下也倾向于将葡萄糖转化为乳酸。这种现象被称为有氧糖酵解或 Warburg 效应,其特征是葡萄糖摄取和乳酸生成增强。研究发现,缺氧诱导因子-1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)是机体对缺氧环境作出反应并调节多种基因表达的主要转录调控因子,与恶性肿瘤的生物学行为密切相关^[3]。还有研究发现,HIF-1 α 的调控与降低放、化疗以及靶向治疗的疗效相关,其靶基因还参与多种病理生理机制,如调节血管生成、细胞增殖和存活、葡萄糖代谢、免疫逃逸、铁代谢等^[4-5]。土贝母苷甲(Tubeimoside I, TBMS I)提取于葫芦科假贝母属的土贝母(Tubeimoside, TBMS),已有实验证明 TBMS I 可以抑制多种体外培养的人类癌细胞的生长,包括宫颈癌细胞株(HeLa cells)^[6]、人早幼粒白血病细胞株(HL-60)^[7]和鼻咽癌细胞株(CNE-2Z)^[8]等癌细胞。在肝癌中,有研究已经证明 TBMS I 可以抑制肝癌细胞生长、诱导其凋亡^[9]、迁移和侵袭^[10]。然而,目前鲜有报道 TBMS I 对肝癌细胞生长的抑制是否与糖代谢重编程有关系。因此,本研究拟探讨 TBMS I 对肝癌细胞增殖的作用、对糖代谢重编程中的影响及其分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株 人类肝癌细胞株 MHCC97-H 来自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。人肝永生代化细胞 THLE-2 购自美国 ATCC 细胞库(CRL-2706TM)。

1.2 主要试剂 TBMS I 购于天津一方科技有限公司(中国)。过表达 HIF-1 α 慢病毒及其对照均购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司;RNA 提取试剂盒(9112)、反转录试剂盒(RR036A)、qPCR 定量试剂盒(RR820A)购自宝日医生物技术(北京)有限公司;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清购自生工生物工程(上海)股份有限公司。MTS 试剂盒购自美国 Promega 公司(G3581),乳酸检测试剂盒购自美国 BioVision 公司,葡萄糖检测试剂盒购自美国 Molecular Probes 公司。蛋白定量检测试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司,乳酸脱氢酶(LDH)活性检测试剂盒(BC0685)、嘌呤霉素(P8230)均购自北京 Solarbio 公司;聚偏二氟乙烯膜购自美国 Invitrogen 公司,超敏电化学发光法(ECL)试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。线粒体呼吸链复合体 IV 活性检测试剂盒(ab109909)、鼠单抗兔单 HIF-1 α 抗体购自英国 Abcam 公司,兔多抗 β -actin 抗体购自天万方数据德悦(北京)生物科技有限责任公司,羊抗兔二抗购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 主要仪器 微孔板多功能酶标仪美国购自 BioTek 公司,细胞氧耗仪(782 Oxygen Meter 氧电极)购自美国 Strathkelvin 公司,pH 计(PB-11 Basic Meter)购自德国 Sartorius 公司;荧光定量 PCR 仪(QTOWER2.2)购自德国耶拿公司,基因扩增仪购自中国 BIO-GENER 公司。

1.4 方法

1.4.1 药品配制 将 TBMS I 粉剂溶解于已灭菌的 PBS 溶液中,配制成 18.452 mg/mL TBMS I 母液,待完全溶解后用 0.22 μ M 滤膜过滤除菌,分装,-20 $^{\circ}$ C 保存,使用前解冻。用 TBMS I 处理细胞的时候,配置的 TBMS I 母液储液分别用 1 640 培养基稀释,得到的 TBMS I 终浓度为 10、20 和 30 μ M。

1.4.2 细胞培养 肝癌细胞 MHCC97-H 和人永生代化肝细胞 THLE-2 应用 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清),都在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 条件下培养。

1.4.3 MTS 实验 根据制造商的方案,采用细胞增殖实验 MTS 法测定细胞活性。将对数生长期的 MHCC97-H 和 THLE-2 细胞分别接种于 96 孔板中,每孔约 1×10^4 个细胞,向每孔加入 100 μ L 培养基培养 12 h,每个样品设 3 个复孔。待细胞贴壁后,分别加入 100 μ L 不同浓度(10、20 和 30 μ M)的 TBMS I 溶液;另以不加 TBMS I 的细胞为对照,以不含细胞的培养基孔为空白对照。各组分别于培养 24 h 时,向每孔添加 20 μ L MTS-PMS 溶液,于 37 $^{\circ}$ C 继续孵育 2 h 后,在酶标仪 490 nm 波长处测定光密度(OD)值。相对细胞活力 = [(加药细胞组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白对照组 OD 值)] $\times 100\%$ 。

1.4.4 克隆形成实验检测细胞克隆形成能力 将 MHCC97-H 和 THLE-2 细胞分别按每孔 1×10^3 个细胞的密度接种到 6 孔平板上培养 24 h。培养至细胞贴壁后,分别加入 3 mL 含相应种类及浓度药物(10、20 和 30 μ M 的 TBMS I 或 10 μ mol/L 5-FU)的培养基,并以只加等量培养基的细胞为对照,每个样品设 3 个复孔。继续培养各组细胞,3 d 换一次含药培养基,培养 10 d 后。用 4% 多聚甲醛固定 40 min,以结晶紫染色 15 min 后,拍照并使用 Image J 软件计算每孔的菌落数。

1.4.5 慢病毒感染 将对数生长期的肝癌细胞 MHCC97-H 铺种于 6 孔板,每孔约为 5×10^5 个细胞。设对照组(Control 组)、阴性慢病毒对照组(LV-Control 组)、HIF-1 α 过表达组(HIF-1 α 组)。慢病毒感染方法:各组细胞恒温培养 24 h,待细胞密度达到 50%~60%时,弃去上清液;HIF-1 α 组和 LV-Control 组分别加入过表达 HIF-1 α 慢病毒液和阴性对照慢病毒液进

行转染。通过 qRT-PCR 和 Western blot 实验检测慢病毒感染效果,收集慢病毒转染成功的细胞进行后续实验。

1.4.6 葡萄糖摄取和细胞外乳酸含量及 pH 的检测

取对数生长期细胞接种于 6 孔板中,细胞在 3 mL 含有 4 500 mg/L 葡萄糖的 DMEM 培养基中培养 24 h 至细胞贴壁。分别加入无药培养基 (Control) 和 10 μ M TBMS I 3 mL 处理 48 h 后,收集细胞培养液,细胞外 pH 检测在样品收集后 2 min 内完成。应用乳酸试剂盒检测细胞培养基中的乳酸含量,应用葡萄糖检测试剂盒检测葡萄糖摄取,应用多功能酶标仪检测 OD 值。采用二喹啉甲酸 (BCA) 法进行细胞蛋白定量,葡萄糖摄取、细胞外乳酸含量和 pH 的检测,结果均要先采用细胞蛋白总量进行标准化校正后,再进行各组之间的比较。相对葡萄糖摄取量=[(加药细胞组 OD 值-空白对照组 OD 值)/(对照组 OD 值-空白对照组 OD 值)],相对乳酸生成量=[(加药细胞组 OD 值-空白对照组 OD 值)/(对照组 OD 值-空白对照组 OD 值)]。每个样品设 3 个复孔。

1.4.7 细胞 LDH 活性检测

将 MHCC97-H 及过表达 HIF-1 α MHCC97-H 细胞以 1×10^6 cell 种植在六孔板中,24 h 贴壁后分别加入无药培养基 (control) 和 10 μ M TBMS I 3 mL,于 37 $^{\circ}$ C 孵箱培养 24 h,用 0.25% 的胰酶消化收集细胞于 0.5 mL PBS 中,冰浴超声破碎细胞,10 000 rpm 离心 5 min,收集上清细胞匀浆。按试剂盒说明书操作步骤表进行操作,最后测各管吸光度值。LDH 活性=测定管吸光度值/(标准管吸光度-空白管吸光度值) \times 标准浓度/样品蛋白浓度。

1.4.8 线粒体呼吸链复合体 IV 活性检测

培养 MHCC97-H 及过表达 HIF-1 α MHCC97-H 细胞至对数生长期,用 0.25% 的胰酶消化收集细胞 10^6 个于 0.5 mL PBS 中,冰浴超声破碎细胞,12 000 rpm 离心 20 min 收集上清液。将 200 μ L 样本加入 Complex IV Rodent Enzyme Activity (ab109909, Abcam) 检测孔中,室温下孵育 3 h 后,依据说明书加入反应液及清洗液,最终在 550 nm 处检测吸光值,计算呼吸链复合体活性。每个样品采集 3 次。

1.4.9 细胞氧耗的检测

应用细胞氧耗仪检测细胞氧耗,清洁电极,取电解液 (半饱和 KCL 溶液),铂极一滴,银极两滴,安装电极模的,连接连接线。连接电极,用水验证是否漏液。将电极连接到控制盒背面的 Electrode 接口,将控温器插头连接到 Chamber 接口,连接数据线与电脑。在反应杯中加入一定量的蒸馏水 (0.2~2.5 mL),放入磁转子。连通电源、校正氧电

极、设置温度、建立空气线、建立零氧线。在实验设计的时间点测定样品。在测定前,将盛有样品的烧杯放在与测定温度相同的水浴中适应 5 min。用蒸馏水清洗反应杯 3 次,在反应杯中加入待测样品,放入转子,进行测定。每个样品采集 3 次。实验完成后选择 save as 进行保存,根据试验要求选取一段约 3~5 min 较平直稳定的线段计算,耗氧率 (Oxygen consumption rate, OCR) = 选定线段的斜率/细胞数。

1.4.10 Western blot 检测

各组肝癌细胞常规使用胰酶消化、离心,利用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液裂解细胞,提取细胞总蛋白,利用 BCA 蛋白定量测定细胞蛋白浓度。使用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白后,恒定电压 100 V 转膜,室温下 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,4 $^{\circ}$ C 一抗孵育过夜, TBST 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min;37 $^{\circ}$ C 二抗孵育 1 h, TBST 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min。采用 ECL 检测试剂盒检测蛋白的表达。实验重复 3 次。

1.4.11 实时定量 PCR 的检测

取各组对数生长期肝癌细胞进行胰酶常规消化后,提取细胞内总 RNA,逆转录成 cDNA 后,进行荧光定量 PCR 检测。HIF-1 α 的正向引物为 5'-GTCGGACAGCCTCACCAAACAGAGC-3',反向引物为 5'-GTAACTTGATCCAAAGCTCTGAG-3'; β -actin 的正向引物为 5'-CCCAGCATGTACGTTGCAT-3',反向引物为 5'-TCACCGGAGTCCATCACGAT-3'。每个样品均设置 3 个复孔。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件进行数据处理和统计分析。实验数据用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,先进行正态性和方差齐性检验,满足正态分布和方差齐性后多组间采用单因素方差分析,若组间差异有统计学意义,采用 Bonferroni 检验等进行多重比较,两组之间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TBMS I 抑制肝癌细胞 MHCC97-H 的增殖

MTS 实验显示,经 10、20 和 30 μ M 的 TBMS I 处理 24 h 后,肝癌细胞 MHCC97-H 细胞和正常肝细胞 THLE-2 的细胞活力随 TBMS I 浓度增加而降低 (图 1A),而克隆形成实验结果也同样表现出 TBMS I 对肝癌细胞 MHCC97-H 细胞和正常肝细胞 THLE-2 增殖能力的抑制呈剂量依赖 (均 $P < 0.05$, 图 1B)。经 10 μ M 的 TBMS I 分别作用 24、48 和 72 h,结果显示, MHCC97-H 细胞活力随 TBMS I 处理时间增加呈现降低趋势,且在处理后 24 h MHCC97-H 细胞增殖已经明显被抑制 (均 $P < 0.05$, 图 1C)。

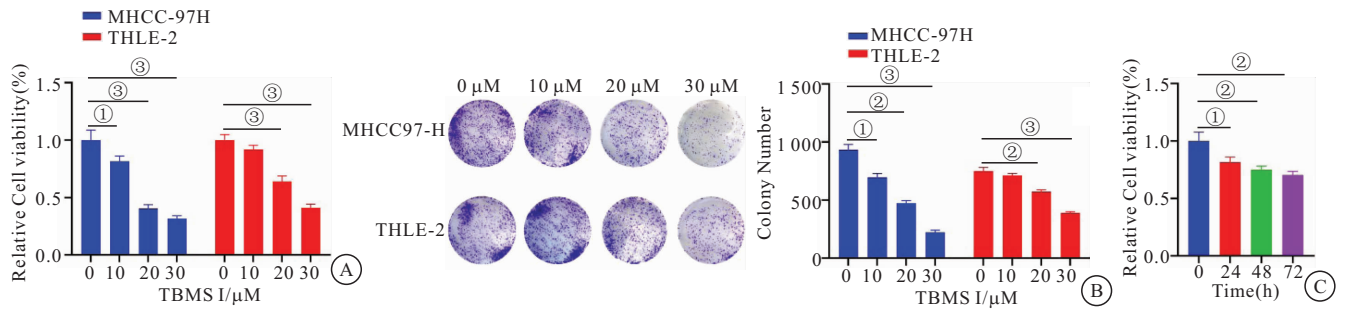


图 1 TBMS I 浓度及时间对肝癌细胞和正常肝细胞增殖能力的影响

Figure 1 The effects of the concentration and time of TBMS I on the proliferation ability of liver cancer cells and normal liver cells

注: A. MTS 检测; B. 克隆形成实验; C. MTS 检测。两组比较, ① $P < 0.05$; ② $P < 0.01$; ③ $P < 0.001$ 。

2.2 TBMS I 减弱肝癌细胞的 Warburg 效应 选用终浓度为 0 (control) 和 10 μM 的 TBMS I 分别作用于肝癌细胞 MHCC97-H, 24 h 后检测各组葡萄糖摄取水平、细胞外乳酸含量、pH、LDH 活性、OCR 及线粒体呼吸链复合体 IV 活性。结果显示, 与对照组相比,

TBMS I 处理组的 MHCC97-H 细胞的葡萄糖摄取和乳酸生成减少, LDH 活性降低, 细胞外培养液 pH 升高, 细胞氧耗增加, 线粒体呼吸链复合体 IV 活性增加 (均 $P < 0.05$), 见图 2。

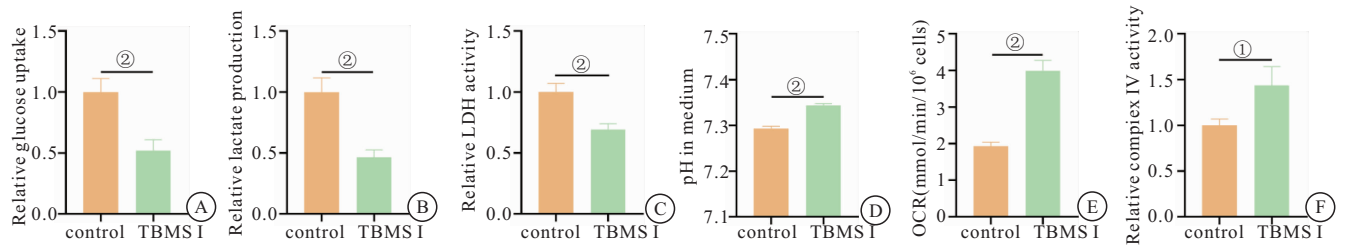


图 2 TBMS I 处理对肝癌细胞 MHCC97-H 糖代谢及氧化磷酸化的影响

Figure 2 TBMS I treatment effects on glycolysis and oxidative phosphorylation in liver cancer cells MHCC97-H

注: A. 葡萄糖相对摄取水平; B. 乳酸相对生成水平; C. LDH 活性; D. pH; E. OCR; F. 线粒体呼吸链复合体 IV 活性。两组比较, ① $P < 0.05$; ② $P < 0.05$ 。

2.3 TBMS I 抑制 HIF-1 α 的表达 采用 qRT-PCR 方法检测 HIF-1 α 的表达。结果显示, MHCC97-H 细胞中 HIF-1 α 的表达显著降低 ($P < 0.05$) (图 3A)。Western blot 检测 HIF-1 α 蛋白的表达显示同样的结果, 见图 3B。

2.4 TBMS I 可以逆转过表达 HIF-1 α 对肝癌细胞的作用 构建 MHCC97-H 细胞过表达 HIF-1 α 的稳转细胞 (HIF-1 α 组), 与阴性病毒组 (control 组) 相比, HIF-1 α mRNA 及蛋白的表达明显增加 (均 $P < 0.05$, 图 4A~B)。将过表达 HIF-1 α 的稳转细胞分别分为对照组 (control), HIF-1 α 过表达组 (HIF-1 α), HIF-1 α + 10 μM 土贝母昔甲组 (HIF-1 α + TBMS I)。qRT-PCR 和 Western blot 实验显示, TBMS I 可以逆转稳转细胞 HIF-1 α 的表达 (均 $P < 0.05$, 图 4C~D); MTS 实验显示, 在肝癌细胞 MHCC97-H 中, 与对照组相比, 过表达 HIF-1 α 后, 肝癌细胞活力增强, 进一步加入 TBMS I 治疗后细胞活力受到抑制 (均 $P < 0.05$)。进一步检测糖代谢及氧化磷酸化的水平, 发现过表达 HIF-1 α 处理的肝癌细胞, 葡萄糖摄取和乳酸生成增加, LDH 活性升高, 细胞外培养液 pH 降低, 细胞氧耗和线粒体呼吸链复合体 IV 活性降低, 而加入 TBMS I 治疗后, 糖代谢及氧化磷酸化的水平被部分逆转 (均 $P < 0.05$), 见图 4E~K。

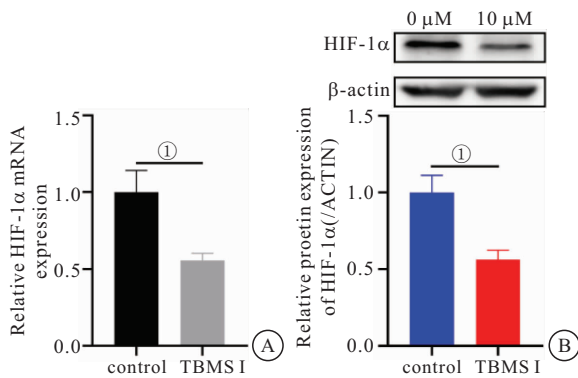


图 3 qRT-PCR 法和 Western blot 法检测 HIF-1 α 的表达

Figure 3 Detection of HIF-1 α expression using qRT-PCR method and Western blot method

注: A. HIF-1 α mRNA 的相对表达量; B. HIF-1 α 蛋白的相对表达量。两组比较, ① $P < 0.01$ 。

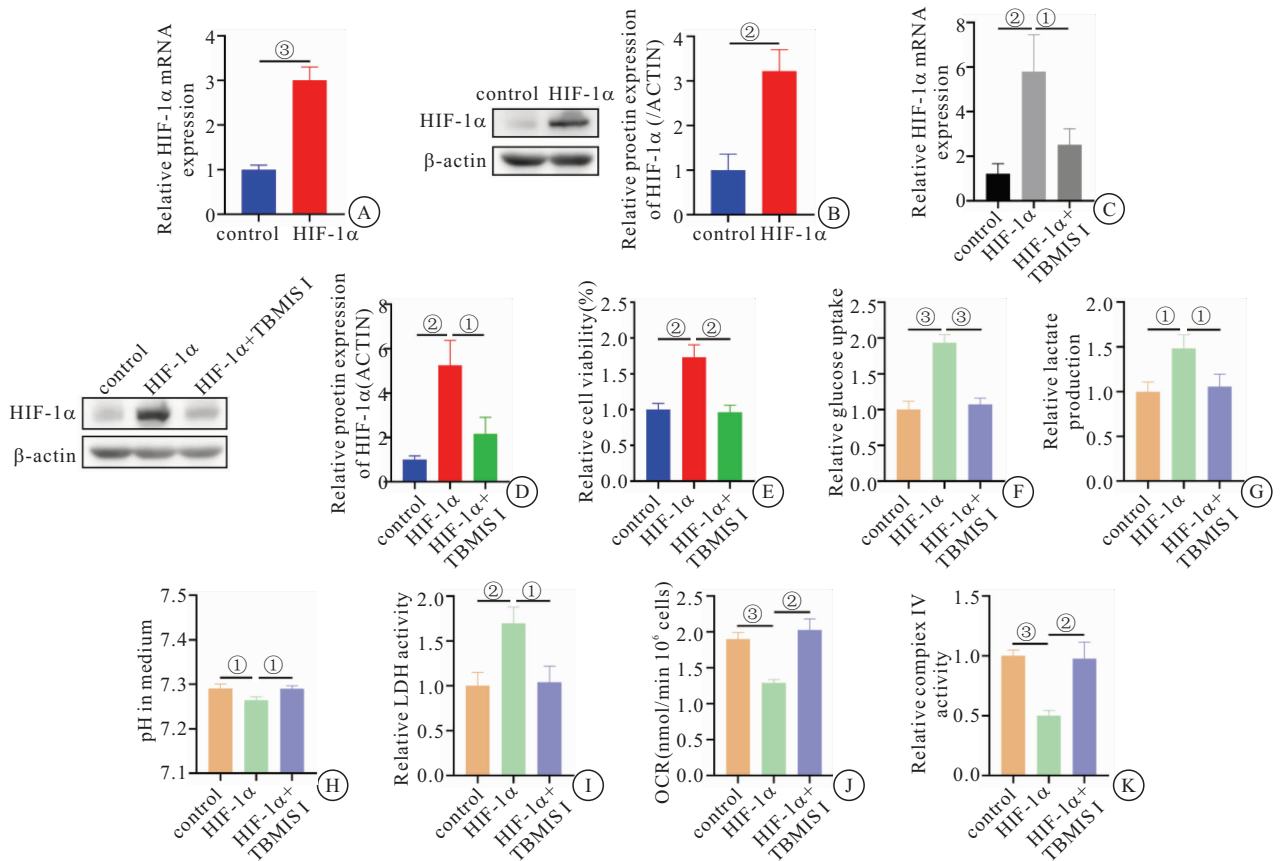


图 4 TBMS I 可以逆转过表达 HIF-1α 处理对肝癌细胞的作用

Figure 4 TBMS I can reverse the effects of HIF-1α overexpression treatment on liver cancer cells

注: A, C. HIF-1α mRNA 的表达; B, D. HIF-1α 蛋白的表达; E. MTS 检测; F. 葡萄糖相对摄取水平; G. 乳酸相对生成水平; H. pH; I. LDH 活性; J. OCR; K. 线粒体呼吸链复合体 IV 活性。两组比较, ① $P < 0.05$; ② $P < 0.01$; ③ $P < 0.001$ 。

3 讨论

糖代谢异常是多种类型癌症最具代表性的代谢特征。在最近对这一概念的阐述中^[11], 细胞代谢调节和避免免疫破坏被分离为“新兴特征”, 但现在, 13 年过去了, 很明显, 它们就像最初的六个特征一样, 被认为是癌症的核心特征。糖代谢重编程是肿瘤的十大特征之一, 在促进肿瘤的发生发展中起着关键作用通过调控 HIF-1α 促进如胰腺导管腺癌^[12]、肺腺癌^[13]、胰腺癌^[14]、白血病^[15]等多种肿瘤的发生和进展。而有研究发现乳酸产生提供的酸性环境也为癌细胞的侵袭以及转移提供了条件^[16]。另有研究发现, HIF-1α 作为关键转录因子之一, 是通过激活多种参与糖酵解的基因转录, 在肿瘤的有氧糖酵解中发挥着重要作用^[17]。一系列研究已证明 HIF-1α 的激活是包括肝细胞癌在内的多种癌症的共同特征^[18-20]。因此, HIF-1α 已被认为在可产生缺氧环境的疾病(如恶性肿瘤)中发挥重要作用。HIF-1α 作为糖酵解关键转录因子, 通过促进糖酵解酶 PKM2、HK2、LDHA 等的表达, 促进肿瘤糖酵解, 形成肿瘤进展的正反馈回路^[21]。

通过大量文献研究发现, 土贝母苷甲诱导的癌细

胞生长抑制很可能是通过凋亡相关过程介导的, 包括微管解聚^[22]、内质网应激延长^[23]和线粒体功能障碍, 这些过程导致抗凋亡蛋白表达减少、促凋亡蛋白表达增加和细胞色素 c 释放^[23]。

本研究结果显示, TBMS I 呈时间及剂量依赖性抑制 MHCC97-H 细胞的增殖, 在浓度 10 μM, 并且在处理后 24 h 增殖已经明显被抑制。但随着浓度和处理时间的增加, TBMS I 同样会抑制正常肝细胞 TH-LE-2 的增殖, 这和之前已有的研究结果一致^[11]。检测代谢物水平, 结果显示, TBMS I 抑制细胞葡萄糖摄取和乳酸产生而促进氧的消耗, 即抑制肝癌细胞糖代谢重编程。进一步研究转录因子 HIF-1α 在 MHCC97-H 细胞的表达发现, TBMS I 抑制 HIF-1α 的表达。接着在进行过表达 HIF-1α 处理后, 与空白对照组比较, 肝癌细胞生长能力均增强, 而进一步加入 TBMS I 治疗后, 增强作用被逆转。各细胞组的 HIF-1α 表达的结果表明, TBMS I 通过抑制 HIF-1α 抑制肝癌细胞糖酵解和促进氧化磷酸化。

但是, TBMS I 是怎样抑制 HIF-1α 的表达, 又是通过怎样的通路调来控糖代谢重编程, 这其中的具体

分子机制还有待进一步研究。

4 结论

TBMS I 可抑制肝癌细胞的生长,而这种作用是通过抑制 HIF-1 α 来抑制细胞糖酵解实现的。这为 TBMS I 在肝癌防治中的应用提供了科学依据。

【参考文献】

- [1] HANAHAHAN D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(1): 31-46.
- [2] WARBURG O, WIND F, NEGELEIN E. The metabolism of tumors in the body[J]. *J Gen Physiol*, 1927, 8(6): 519-530.
- [3] FU Y, MACKOWIAK B, FENG D, *et al.* MicroRNA-223 attenuates hepatocarcinogenesis by blocking hypoxia-driven angiogenesis and immunosuppression[J]. *Gut*, 2023, 72(10): 1942-1958.
- [4] 夏宁,刘丽华. 低氧诱导因子促进恶性肿瘤免疫逃逸的机制及其临床转化[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(11): 1129-1134.
- [5] PAREDES F, WILLIAMS H C, SAN MARTIN A. Metabolic adaptation in hypoxia and cancer[J]. *Cancer Lett*, 2021, 502: 133-142.
- [6] XU Y, WANG G, CHEN Q, *et al.* Intrinsic apoptotic pathway and G2/M cell cycle arrest involved in tubeimoside I-induced EC109 cell death[J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25(3): 312-321.
- [7] JIA G, WANG Q, WANG R, *et al.* Tubeimoside-1 induces glioma apoptosis through regulation of Bax/Bcl-2 and the ROS/Cytochrome C/Caspase-3 pathway[J]. *OncoTargets Ther*, 2015, 8: 303-311.
- [8] LIN Y, XIE G, XIA J, *et al.* TBMS1 exerts its cytotoxicity in NCI-H460 lung cancer cells through nucleolar stress-induced p53/MDM2-dependent mechanism, a quantitative proteomics study[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1864(2): 204-210.
- [9] WANG Y, DENG L, ZHONG H, *et al.* Natural plant extract tubeimoside I promotes apoptosis-mediated cell death in cultured human hepatoma (HepG2) cells[J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(6): 831-838.
- [10] 钟洪哲,红郭,王雅婕. 土贝母昔甲对人肝癌 HepG2 细胞迁移和侵袭的抑制作用[J]. *武警后勤学院学报(医学版)*, 2016, 25(9): 705-707, 781.
- [11] MADHAVAN S, NAGARAJAN S. GRP78 and next generation cancer hallmarks: An underexplored molecular target in cancer chemoprevention research[J]. *Biochimie*, 2020, 175: 69-76.
- [12] ZHANG Z, ZHANG H J. Glycometabolic rearrangements-aerobic glycolysis in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC): roles, regulatory networks, and therapeutic potential[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2021, 25(12): 1077-1093.
- [13] LIAO Y F, YIN S, CHEN Z Q, *et al.* High glucose promotes tumor cell proliferation and migration in lung adenocarcinoma via the RAGE-NOXs pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(6): 8536-8541.
- [14] WANG G, LI Y, YANG Z, *et al.* ROS mediated EGFR/MEK/ERK/HIF-1 α Loop Regulates Glucose metabolism in pancreatic cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(4): 873-878.
- [15] ZHANG X, AI Z, CHEN J, *et al.* Glycometabolic adaptation mediates the insensitivity of drug-resistant K562/ADM leukemia cells to adriamycin via the AKT-mTOR/c-Myc signalling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(4): 1869-1876.
- [16] BHATTACHARYA R, BROWN J S, GATENBY R A, *et al.* A gene for all seasons: The evolutionary consequences of HIF-1 in carcinogenesis, tumor growth and metastasis [J]. *Semin Cancer Biol*, 2024, 102-103: 17-24.
- [17] MASSARI F, CICCARESE C, SANTONI M, *et al.* Metabolic phenotype of bladder cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2016, 45: 46-57.
- [18] LIN D, WU J. Hypoxia inducible factor in hepatocellular carcinoma: A therapeutic target[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(42): 12171-12178.
- [19] DING Z N, DONG Z R, CHEN Z Q, *et al.* Effects of hypoxia-inducible factor-1 α and hypoxia-inducible factor-2 α overexpression on hepatocellular carcinoma survival: A systematic review with meta-analysis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2021, 36(6): 1487-1496.
- [20] CAO S, YANG S, WU C, *et al.* Protein expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha and hepatocellular carcinoma: a systematic review with meta-analysis[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2014, 38(5): 598-603.
- [21] 陈嵘,李淑敏,李旭华,等. 软坚散结方调控小鼠 HIF-1 α 糖酵解分子转录抑制肝肿瘤细胞增殖机制研究[J]. *陕西中医*, 2023, 44(7): 839-842, 848.
- [22] MA R, SONG G, YOU W, *et al.* Anti-microtubule activity of tubeimoside I and its colchicine binding site of tubulin[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008, 62(4): 559-568.
- [23] XU Y, CHIU J F, HE Q Y, *et al.* Tubeimoside-1 exerts cytotoxicity in HeLa cells through mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress pathways[J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(3): 1585-1593.
- (收稿日期:2024-01-03;修回日期:2024-08-29;编辑:刘灵敏)
- (上接第 1593 页)
- [19] GHALEHBANDI S, YUZUGULEN J, PRANJOL M Z I, *et al.* The role of VEGF in cancer-induced angiogenesis and research progress of drugs targeting VEGF[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 949: 175586.
- [20] AHMAD A, NAWAZ M I. Molecular mechanism of VEGF and its role in pathological angiogenesis[J]. *J Cell Biochem*, 2022, 123(12): 1938-1965.
- [21] XU Q, KONG H, REN S, *et al.* Coix seed oil alleviates synovial angiogenesis through suppressing HIF-1 α /VEGF-A signaling pathways via SIRT1 in collagen-induced arthritis rats[J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 119.
- [22] JIANG T T, JI C L, YU L J, *et al.* Resveratrol-induced SIRT1 activation inhibits glycolysis-fueled angiogenesis under rheumatoid arthritis conditions independent of HIF-1 α [J]. *Inflamm Res*, 2023, 72(5): 1021-1035.
- (收稿日期:2024-04-18;修回日期:2024-08-07;编辑:刘灵敏)