DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0440
文章编号 1671-8852(2025)06-0729-09

GPSM1在肺腺癌中的表达及其对肺腺癌细胞糖酵解的调控与潜在机制

程金凤[1] 江万里[2]
[1]黄冈市中心医院科教科 湖北 黄冈 438000；
[2]武汉大学人民医院胸外科 湖北 武汉 430060

摘要 目的：探讨G蛋白信号调节受体1(GPSM1)在肺腺癌组织和细胞中的表达及其对肺腺癌细胞侵袭和迁移的影响与可能的机制。方法：通过生物信息学方法分析TCGA数据库，探索GPSM1在肺腺癌组织与正常肺组织中的表达差异，并使用Western Blot法和qPCR法检测人正常肺支气管肺泡上皮细胞BEAS-2B和人肺腺癌细胞A549、H1299、H460中GPSM1的表达水平，并选取GPSM1表达水平更低的H1299和H460细胞进行后续实验。构建GPSM1过表达质粒转染肺腺癌细胞，通过Transwell实验和细胞划痕实验分别检测过表达和敲低GPSM1对肺腺癌细胞侵袭和迁移的影响。使用LinkedOmics工具在线分析肺腺癌中GPSM1共表达基因并进行富集分析。通过检测糖酵解关键酶mRNA表达水平及细胞能量代谢分析明确GPSM1对肺腺癌细胞糖酵解的影响，并使用HIF-1α激动剂探索GPSM1/HIF-1α轴对肺腺癌细胞侵袭和迁移能力的影响。结果：GPSM1在肺腺癌组织和细胞中均呈低表达。过表达GPSM1后，肺腺癌细胞侵袭和迁移能力显著降低；肺腺癌内GPSM1表达参与多种生物学过程；过表达GPSM1后，肺腺癌细胞糖酵解能力下降，且糖酵解本身不影响GPSM1表达水平；GPSM1过表达伴随肺腺癌细胞内HIF-1α表达下调，且激活HIF-1α后肺腺癌细胞迁移和侵袭能力得到恢复。结论：GPSM1在肺腺癌组织和细胞中均呈低表达，其表达水平下调可能通过激活HIF-1α/糖酵解通路促进肺腺癌细胞侵袭和迁移。

关键词 肺腺癌；G蛋白信号调节受体1；侵袭；迁移；糖酵解；缺氧诱导因子1α
中图分类号 R734.2
文献标识码 A
开放科学(资源服务)标识码(OSID)：

Expression of GPSM1 in lung adenocarcinoma and its regulation and potential mechanism of glycolysis in lung adenocarcinoma cells

CHENG Jinfeng[1], JIANG Wanli[2]
[1]Dept. of Research & Education, Huanggang Central Hospital, Huanggang 438000, Hubei, China;
[2]Dept. of Thoracic Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China

Abstract

Objective: To investigate the expression of G-protein signaling modulator 1 (GPSM1) in lung adenocarcinoma tissues and cells, and its impact on the invasion and migration of lung adenocarcinoma cells, along with potential mechanisms. **Methods:** By analyzing the TCGA database through bioinformatics methods, we aimed to explore the differential expression of GPSM1 in lung adenocarcinoma tissues compared to normal lung tissues. Subsequently, we utilized Western Blot and qPCR techniques to measure the expression levels of GPSM1 in human normal bronchial epithelial cells (BE-

课题来源：国家自然科学基金青年项目(编号：82100368)；湖北省自然科学基金资助项目(编号：2019CFB306)
作者简介：程金凤，女，1979—，医学硕士，副主任护师，主要从事外科疾病的临床和基础研究，E-mail：358437146@qq.com
通信作者：江万里，男，1988—，医学博士，副主任医师，主要从事胸外科疾病的临床和基础研究，E-mail：Jiang.wanli@qq.com

AS-2B) and human lung adenocarcinoma cells (A549, H1299, and H460). Among these, H1299 and H460 cells with lower GPSM1 expression levels were selected for further experiments. Following this, we constructed a GPSM1 overexpression plasmid for transfection into lung adenocarcinoma cells and examined the impact of overexpressing or silencing GPSM1 on the invasive and migratory capabilities of lung adenocarcinoma cells using Transwell and wound healing assays, respectively. Additionally, we conducted an online analysis of co-expressed genes of GPSM1 in lung adenocarcinoma and performed enrichment analysis using the LinkedOmics tool. Furthermore, through measuring the mRNA expression levels of key glycolysis enzymes and analyzing cellular energy metabolism, we elucidated the effect of GPSM1 on glycolysis in lung adenocarcinoma cells. Finally, we investigated the influence of the GPSM1/HIF-1α axis on the invasive and migratory abilities of lung adenocarcinoma cells by using an activator of HIF-1α. **Results:** The gene GPSM1 exhibits low expression in both lung adenocarcinoma tissues and cells (both $P<0.01$). Upon overexpression of GPSM1, the invasive and migratory abilities of lung adenocarcinoma cells significantly decrease. GPSM1 overexpression in lung adenocarcinoma is involved in multiple biological processes. Following GPSM1 overexpression, the glycolytic capacity of lung adenocarcinoma cells decreases, with glycolysis itself not affecting the expression levels of GPSM1. Overexpression of GPSM1 correlates with the downregulation of HIF-1α expression in lung adenocarcinoma cells. Additionally, upon activation of HIF-1α, the migratory and invasive capabilities of lung adenocarcinoma cells are restored. **Conclusion:** The expression of GPSM1 is downregulated in both lung adenocarcinoma tissues and cells. This downregulation may promote invasion and migration of lung adenocarcinoma cells through activating the HIF-1α/glycolysis pathway.

Key Words Lung Adenocarcinoma; G Protein Signaling Regulatory Receptor 1; Invasion; Migration; Glycolysis; Hypoxia-Inducible Factor 1α

肺癌仍是目前癌症死亡的首要原因,据估计,全球每年肺癌死亡例数180万例,占所有癌症死亡病例的18%[1]。在我国,据国家癌症中心公布的《全国癌症统计数据》,肺癌发病率和死亡率在我国所有恶性肿瘤中均位居首位[2]。肺腺癌是肺恶性肿瘤中最常见的病理类型之一,探究参与肺腺癌发生发展的关键基因对于肺癌的防治靶点发现和临床药物开发具有重要意义。尽管目前已经识别包括EGFR、KRAS在内的多种肺癌特征基因,但靶向治疗后出现的耐药性和基因突变仍是当前肺癌治疗的重点问题[3],进一步解释肺腺癌发生发展的生物学事件及关键参与基因具有重要临床意义。

G蛋白信号调节受体1(G-protein signaling modulator 1,GPSM1)是G蛋白信号转导(AGS)蛋白家族成员之一,参与调控有丝分裂、膜蛋白转运、细胞自噬、炎症信号激活等细胞过程[4-7]。已有研究证明GPSM1参与多种肿瘤进展过程,在前列腺癌中,GPSM1激活ERK1/2和MAPK信号通路,并促进雄激素受体表达,进而促进前列腺肿瘤增殖[8]。此外,GPSM1可通过PI3K/AKT/mTOR途径调节自噬,促进癌症结直肠癌转移[9]。在血液系统肿瘤中,GPSM1通过调节JNK信号传导来促进BALL-1和Reh细胞中的肿瘤生长[10]。研究表明,在部分肿瘤中,GPSM1具有保护作用,如在食管鳞状细胞癌中过表达GPSM1可降低肿瘤细胞的增殖能力,表明GPSM1在不同肿瘤类型中发挥的作用可能不同。目前,GPSM1在肺腺癌中的作用及机制尚无研究报道,因此,本研究分析了GPSM1在肺腺癌组织及细胞中的表达水平,通过体外实验探究过表达GPSM1对肺腺癌细胞迁移、侵袭影响,并初步探索了GPSM1通过调控糖酵解在肺腺癌发生发展中的机制,以期为未来探究GPSM1在肺腺癌中的深入机制和干预药物开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 生物信息学资料获取及分析 在TIMER在线工具中获取癌症基因组图谱(TCGA)数据库(http://tcga-data.nci.nih.gov/taga/)中GPSM1表

达数据，分析GPSM1在不同肿瘤类型中的表达差异。应用GEPIA数据库（http://gepia.cancer-pku.cn/index.html）中的Box plot功能，分析GPSM1在肺腺癌和正常组织中的表达水平。应用UALCAN数据库（http://ualcan.path.uab.edu/index.html）平台，分析GPSM1在肺腺癌不同分期中的表达变化，并进一步检索肺腺癌及正常肺组织中GPSM1基因启动子甲基化水平差异。在The Human Protein Atlas数据库（https://www.proteinatlas.org）中，检索正常肺组织和肺腺癌组织中GPSM1蛋白的免疫组化结果，明确其在正常肺组织和肺腺癌组织中的表达差异。使用LinkedOmics（http://www.linkedomics.org/login.php）数据库对肺腺癌中GPSM1共表达基因及差异基因进行京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Gene and Genomes，KEGG）富集分析及基因本体论（Gene Ontology，GO）富集分析。

1.2　细胞及主要试剂　人支气管肺泡上皮细胞系BEAS-2B及人肺腺癌细胞系A549、H1299、H460均购自美国ATCC细胞库，由本课题组常规冻存及培养。0.25%胰酶、胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、DMEM培养基、RPMI 1640培养基均购自普诺赛公司。Western Blot实验所使用一抗抗GPSM1、抗HIF-1α抗体均购自Proteintech公司，抗β-actin购自Abclonal公司，所用HRP偶联抗鼠及抗兔二抗购自武汉塞维尔公司，蛋白质marker购自雅酶公司。逆转录cDNA合成试剂盒及qPCR试剂盒购自Abclonal公司。糖酵解抑制剂2-脱氧葡萄糖（2-DG），HIF-1α激动剂DMOG购自MedChemExpress公司。Transwell小室和Matrigel购自塞维尔公司，GPSM1表达质粒购自上海吉凯基因公司。Seahorse XF细胞培养板及细胞线粒体压力测试试剂盒均购自安捷伦公司。

1.3　细胞培养、转染及主要处理　BEAS-2B、A549、H1299细胞使用含有10%FBS血清的DMEM培养基培养，在37 ℃、5%CO_2饱和湿度培养箱中培养，H460细胞使用RPMI 1640培养基培养，其他常规培养步骤同上。将细胞均匀铺于6孔板，密度为80%左右。转染流程参照Lipofectamine™ 2000脂质体转染试剂盒说明书，在H1299和H460细胞中转染GPSM1表达质粒或GPSM1小干扰RNA。转染48 h后，进行下一步处理。转染成功的细胞使用1 μmol•L^{-1}浓度DMOG处理6 h，随后进行后续实验。

1.4　Western Blot法检测细胞蛋白质表达水平检测　向不同处理条件下的细胞中添加含磷酸化酶抑制剂和蛋白酶抑制剂的细胞裂解液，裂解1 h后超声进一步裂解，4 ℃离心30 min，取离心上清添加loading buffer，随后100 ℃处理10 min获得细胞总蛋白样品。使用10% SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白质样品，并电转至PVDF膜上，裁剪相应蛋白分子量的PVDF膜条带，使用TBST溶液5 min清洗3次后，置于1∶1 000的一抗中4 ℃孵育过夜。再次使用TBST溶液清洗3次后使用HRP偶联抗鼠及抗兔二抗常温孵育1 h，TBST清洗3次后使用化学发光法对蛋白质进行显影，随后使用Image J软件统计PVDF膜上蛋白质条带灰度值。

1.5　RT-qPCR法检测细胞内GPSM1 mRNA表达水平　向不同处理条件下的细胞中添加TRIzol试剂裂解细胞，收集裂解液，加入适量氯仿，低温离心后取上层RNA水相溶液，加入等体积异丙醇混匀，离心弃除异丙醇获得RNA沉淀，使用75%乙醇清洗3次后，加入DEPC水获得总RNA溶液。根据逆转录试剂盒说明书对总RNA逆转录得到cDNA，参照Abclonal qPCR试剂盒对cDNA进行qPCR实验。GPSM1上游引物序列为CTTTCTTCGAGGCTGCTGTG；下游引物为TCATCGAATCGGCCTAGGAC。β-actin上游引物序列为CATGTACGTTGCTATCCAGGC；下游引物序列为CTCCTTAATGTCACGCACGAT。

1.6　细胞划痕实验　将细胞消化后以1×10^6个细胞每孔铺至6孔板，待其基本融合后用10 μL移液枪枪头划痕，PBS洗去孔内悬浮细胞后，加入无血清培养基，在0和24 h时使用倒置显微镜随机选取5个视野，100×进行拍照。使用Image J进行图像测量处理。

1.7　Transwell侵袭实验　将Matrigengel和无血清培养基按1∶8稀释后，均匀铺于Transwell上室底部，随后置于细胞培养箱（37 ℃）内使其聚合成凝胶。吸取200 μL细胞悬液接种于上室，下室加入含10% FBS完全培养基500 μL。36 h后取出上室，使用甲醇室温固定30 min，结晶紫染色30 min，PBS洗3次后镜下观察。随机取5个100倍视野拍照并计数细胞个数。

1.8　细胞能量代谢分析　将细胞消化后接种以1×10^5每孔接种于Seahorse XF细胞培养板中，加入80 μL培养基后置入细胞培养箱内固定1 h，随后加入70 μL培养基，置于培养箱内过夜。同时打开

Seahorse仪器及软件,过夜预热。将过夜培养的细胞培养基更换为检测液,随后置入培养箱继续培养1 h。根据试剂盒说明书配置稀释药物,加入探针板。随后将细胞从培养箱取出上机检测,测试结束后对数据进行归一化处理。

1.9 统计学分析 所有主要实验均独立重复3次。采用SPSS 26.0统计学软件对实验数据进行统计分析,以GraphPad Prism 8.0软件绘图。符合正态分布的计量数据以$\bar{x}\pm s$表示,两组间数据比较采用t检验。以$P<0.05$界定差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GPSM1在肺腺癌组织和细胞中表达下调 通过TIMER工具进行正常组织和肿瘤组织中GPSM1泛癌分析,结果显示,GPSM1在不同类型肿瘤中表达差异不同,其中在肺腺癌、肺鳞癌、子宫内膜癌中表达下调(图1A)。进一步使用GEPIA工具分析TCGA数据库中肺腺癌患者GPSM1 mRNA表达变化,验证了GPSM1在肺腺癌中表达下调(图1B),并分析不同肿瘤分期患者肺腺癌组织内GPSM1转录水平差异,结果显示Ⅰ~Ⅳ期肺腺癌组织内GPSM1转录水平均低于正常肺组织(图1C)。使用UALCAN数据库分析发现,肺腺癌组织中GPSM1基因启动子甲基化水平显著高于正常肺组织,提示肺腺癌组织内GPSM1转录水平受到抑制(图1D)。进一步,我们检索了HPA数据库中肺腺癌组织和正常肺组织中GPSM1免疫组化染色切片,发现肺腺癌组织中GPSM1蛋白表达水平显著低于正常肺组织(图1E)。随后检测了三种肺腺癌细胞系中GPSM1蛋白及mRNA表达水平,相较于人正常支气管肺泡上皮BEAS-2B细胞系,肺腺癌细胞系A549、H1299及H460细胞系中GPSM1均呈低表达状态,且在H1299和H460细胞中表达下调最显著,因此我们使用H1299细胞和H460细胞开展后续实验。上述结果表明,相较于正常肺组织和肺上皮细胞,肺腺癌组织和细胞中GPSM1表达均下调,肺腺癌中低表达的GPSM1可能与肺腺癌发生发展相关。

2.2 上调GPSM1表达可抑制肺腺癌细胞侵袭和迁移能力 为了验证GPSM1参与肺腺癌发生发展过程,我们在H1299和H460细胞系中过表达GPSM1,Transwell侵袭实验结果显示(图2A、2B),相较于对照组,过表达GPSM1后肺腺癌细胞系侵袭能力显著减弱($P<0.01$)。细胞划痕实验表明(图2D、2E),过表达GPSM1后肺腺癌细胞系24 h划痕愈合百分比显著减少($P<0.01$)。上述结果表明,GPSM1参与调控肺腺癌细胞侵袭和迁移能力。

2.3 下调GPSM1表达对肺腺癌细胞侵袭和迁移能力无显著影响 鉴于过表达GPSM1可增强肺腺癌细胞侵袭和迁移能力,我们进一步在H1299和H460细胞系中转染GPSM1 si-RNA并重复Transwell侵袭实验及细胞划痕实验,以探究敲低GPSM1对肺腺癌细胞的影响。出乎意料的是,结果显示(图3A~3D),敲低GPSM1对肺腺癌细胞系侵袭能力及迁移能力无明显影响。

2.4 GPSM1与肺腺癌组织中差异基因相关性分析 使用Linked-omics工具分析TCGA数据库中肺腺癌患者转录组数据进行GPSM1基因共表达分析。差异表达基因与GPSM1基因相关性热图(图4A,4B)显示,肺腺癌组织中,GPSM1与CTAGE5、RAB11A、HIGD1A、MAGT1等基因表达正相关,与NCS1、COBRA1、MIER2、RILPL1等基因表达呈负相关。随后,采用基因集富集分析确定GPSM1共表达基因的主要基因本体(GO)项。我们进一步分析了GO的生物过程类别,发现GPSM1及其共表达基因主要参与细胞发育、黏附、迁移和小GTP酶介导的信号传导等生物过程的调节(图4C)。随后进行KEGG富集分析,结果表明共表达基因在黏着斑、MAPK信号通路、磷脂酶D信号通路和肿瘤内信号通路中富集(图4D)。既往研究已表明,上述信号通路参与调控多种亚型肺恶性肿瘤发生发展过程,但在肺腺癌中,GPSM1如何与这些信号通路交互作用尚无研究报道,GPSM1作为激活G蛋白信号传导的重要辅助蛋白,可能通过直接或间接途径参与调控这些生物学过程,鉴于肿瘤发生发展过程中广泛发生的代谢重编程事件,解析GPSM1在肺腺癌代谢重塑过程中的复杂调控作用可能促进临床研究人员对肿瘤代谢的理解。上述分析结果表明,GPSM1可能通过调节肺腺癌肿瘤细胞内多种生物学过程影响肺腺癌进展。

2.5 GPSM1过表达抑制肺腺癌细胞糖酵解水平 能量代谢模式由氧化磷酸化向有氧糖酵解转变是肿瘤细胞的核心特征,代谢从重编程为肿瘤细胞增殖、迁移提供大量能量与生物分子[12]。鉴于肺腺癌中GPSM1及其共表达基因在细胞发育、黏附、迁移过程中富集,我们推测GPSM1可能参与调控肺腺

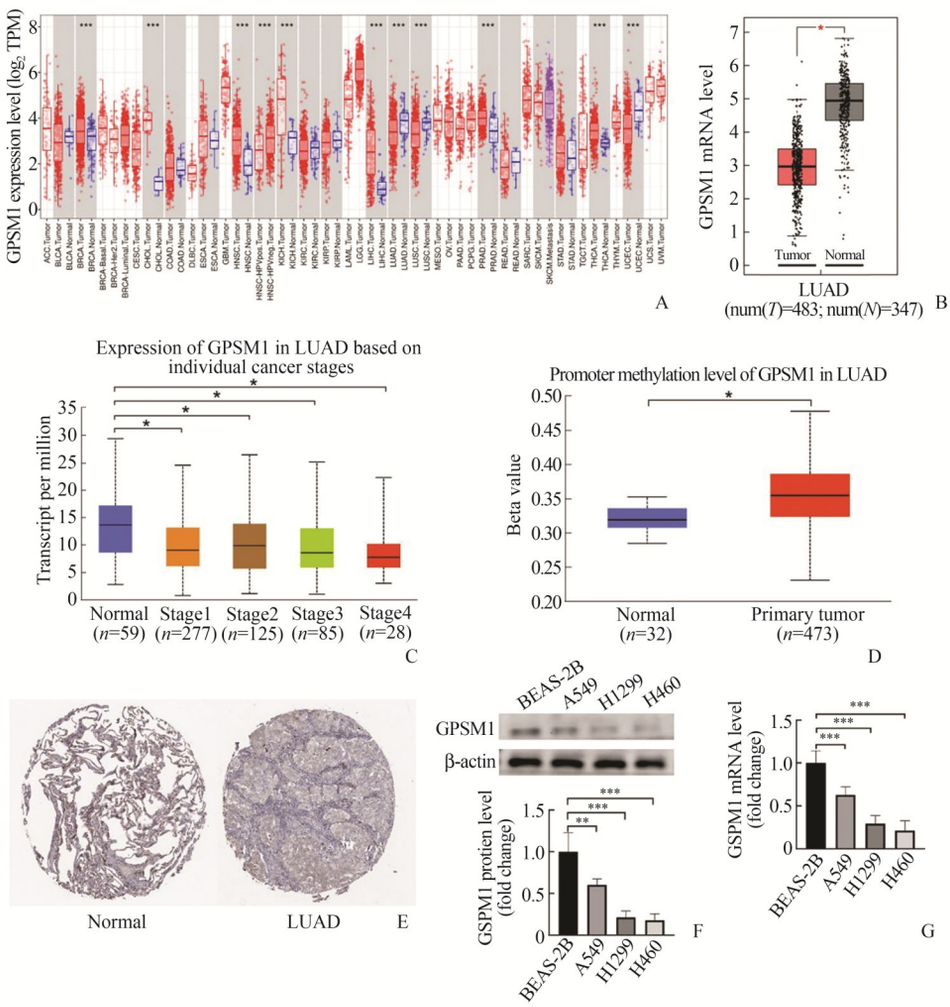


图 1　肺腺癌组织和细胞中 GPSM1 的表达水平

A. 泛癌组织和正常组织中 GPSM1 mRNA 表达水平；B. TCGA 数据库中肺腺癌组织和正常肺组织内 GPSM1 mRNA 表达水平；C. 不同分期肺腺癌组织内 GPSM1 mRNA 表达水平；D. 正常肺组织和肺腺癌组织内 GPSM1 基因甲基化水平；E. 正常肺组织和肺腺癌组织 GPSM1 免疫组化图；F. 人正常支气管肺泡上皮和肺腺癌细胞中 GPSM1 蛋白表达水平及定量结果；G. 人正常支气管肺泡上皮和肺腺癌细胞中 GPSM1 mRNA 表达水平。LUAD：lung adenocarcinoma，肺腺癌。$^{*}P<0.05$；$^{**}P<0.01$；$^{***}P<0.001$

癌细胞糖酵解过程。在 H1299 和 H460 细胞系中过表达 GPSM1 后，检测糖酵解关键酶 mRNA 表达水平发现，GPSM1 过表达可抑制肺腺癌细胞糖酵解过程（图 5A、5B）。使用糖酵解抑制剂 2-脱氧葡萄糖（2-DG）处理 H1299 细胞和 H460 细胞后，肺腺癌细胞中 GPSM1 表达无明显变化（图 5C、5D），表明 GPSM1 位于肿瘤细胞糖酵解途径改变的上游。随后，检测过表达 GPSM1 后肺腺癌细胞的胞外酸化率（extracellular acidification rate，ECAR），结果显示，过表达 GPSM1 后肺腺癌细胞糖酵解容量显著下降（图 5E、5F）。以上结果表明，GPSM1 下调参与了肺腺癌细胞糖酵解途径。

2.6　GPSM1 抑制 HIF-1α 表达影响肺腺癌细胞侵袭和迁移能力　缺氧诱导因子 1α（hypoxia inducible factor-1α，HIF1α）是细胞对缺氧做出反应的主要分子，其通过激活糖酵解以维持细胞在缺氧环境下的能量供应。肿瘤细胞有氧糖酵解反映了激活 HIF-1α 的伪缺氧状态，并促进肿瘤进展[13-14]。既往研究[15]表明，MAPK 信号通路参与调控 HIF-1α 激活，从而参与肿瘤血管生成和非小细胞肺癌进展。鉴于前述差异基因相关性结果中表明肺腺癌中 GPSM1 参与调控 MAPK 信号通路，我们推测 GPSM1 可能影响 HIF1α 表达，从而参与调控肺腺癌细胞糖酵解水平。检测过表达 GPSM1 后肺腺癌细胞中 HIF-1α 表达水平显示，过表达 GPSM1 后 H1299 和 H460 细胞内 HIF-1α 水平下调（图 6A、6B）。随后使用 HIF-1α 激动剂 DMOG 处理肺腺癌细胞后发现，激活 HIF-1α 增强了 H1299 细胞和

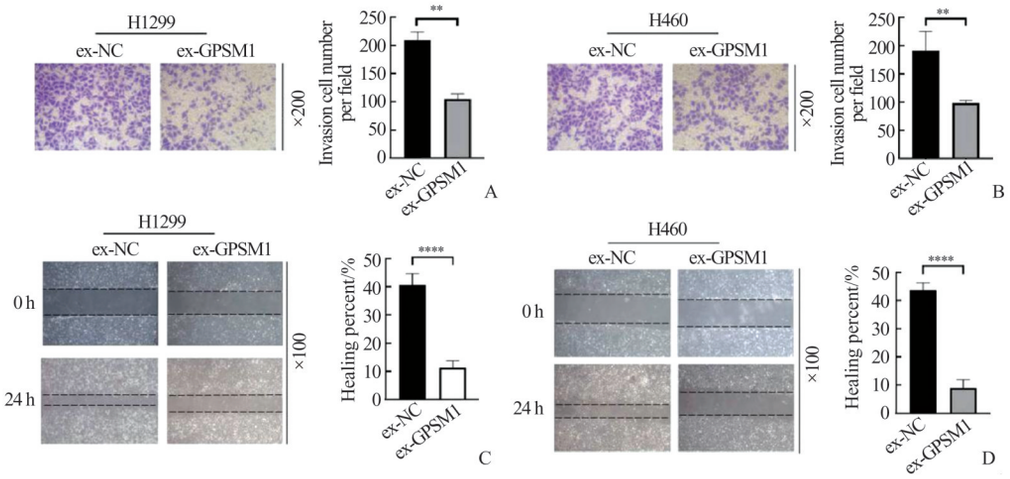


图2 过表达GPSM1对肺腺癌细胞侵袭和迁移能力的影响

A. 过表达GPSM1对H1299细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色,×200);B. 过表达GPSM1对H460细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色,×200);C. 过表达GPSM1对H1299细胞迁移能力的影响;D. 过表达GPSM1对H460细胞迁移能力的影响。$^{**}P<0.01$,$^{****}P<0.01$

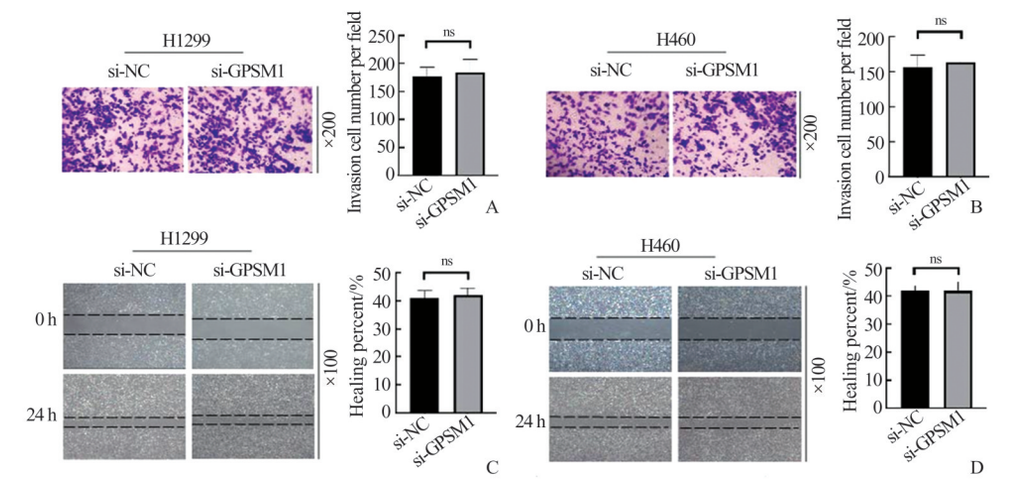


图3 敲低GPSM1对肺腺癌细胞侵袭和迁移能力的影响

A. 敲低GPSM1对H1299细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色,×200);B. 敲低GPSM1对H460细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色,×200);C. 敲低GPSM1对H1299细胞迁移能力的影响;D. 敲低GPSM1对H460细胞迁移能力的影响。ns:$P>0.05$

H460细胞侵袭和增殖能力(图6C~6F)。以上结果表明,GPSM1可能通过抑制HIF-1α表达,进而下调细胞糖酵解能力参与肺腺癌细胞侵袭和迁移能力。

3 讨论

GPSM1参与调控细胞内多种生物学过程,与多种肿瘤发生发展相关。既往研究表明,GPSM1在肿瘤类型中作用不同,如在前列腺癌[8]、结直肠癌[9]中促进肿瘤进展,但在食管癌中过表达GPSM1可抑制肿瘤细胞增殖[11]。表明GPSM1在不同肿瘤发生发展过程中的作用不同,这可能与肿瘤特定起源细胞和组织环境相关。在肺腺癌中GPSM1的作用此前未见研究报道,本研究首次揭示了GPSM1在肺腺癌组织和细胞中低表达,且过表达GPSM1后可显著降低肺腺癌细胞增殖和侵袭能力。

代谢重编程是肿瘤进展过程中的核心事件,糖代谢重编程是其中的标志之一,其特征是活跃的糖酵解驱动葡萄糖碳流量从三羧酸循环向糖酵解分流,以产生大量有助于肿瘤细胞异常生长、增殖和侵袭的能量和代谢产物[12]。目前已经鉴定了肿瘤糖代谢重编程的多种驱动因素,在基因水平上,促癌基因KRAS可调控葡萄糖转运蛋白和糖酵解关键酶的转录[16];此外,肿瘤细胞内HIF-1α的激活可促进糖酵解关键酶的转录,进而促进肿瘤细胞糖酵解[14]。在蛋白水平上,糖代谢关键酶活性上调参与了肿瘤细胞糖酵解激活,如肿瘤细胞内上调的

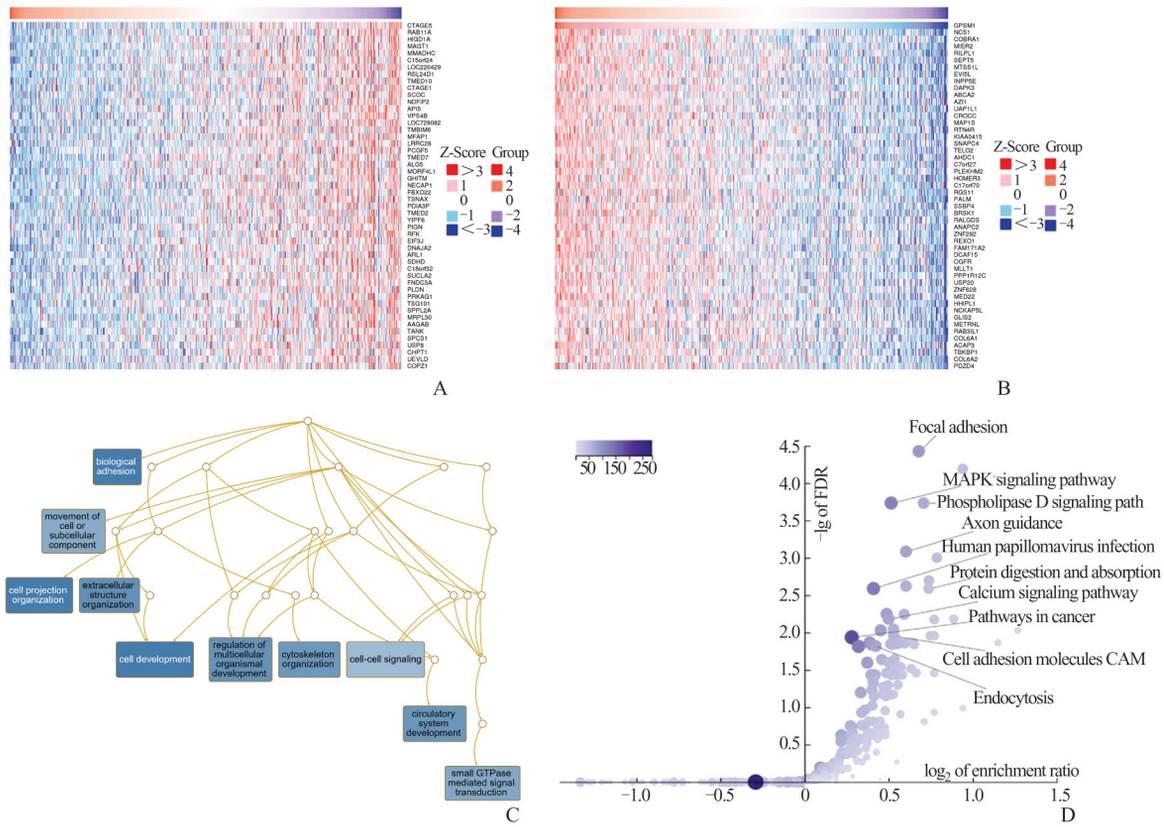


图 4　GPSM1 与肺腺癌组织中差异基因相关性分析

A. 肺腺癌队列中与 GPSM1 共表达的 top50 阳性共表达基因；B. 肺腺癌队列中与 GPSM1 共表达的 top50 阴性共表达基因；C. 肺腺癌队列中 GPSM1-GO 分析（生物过程）的有向无环图；D. 肺腺癌队列中 GPSM1 KEGG 分析火山图

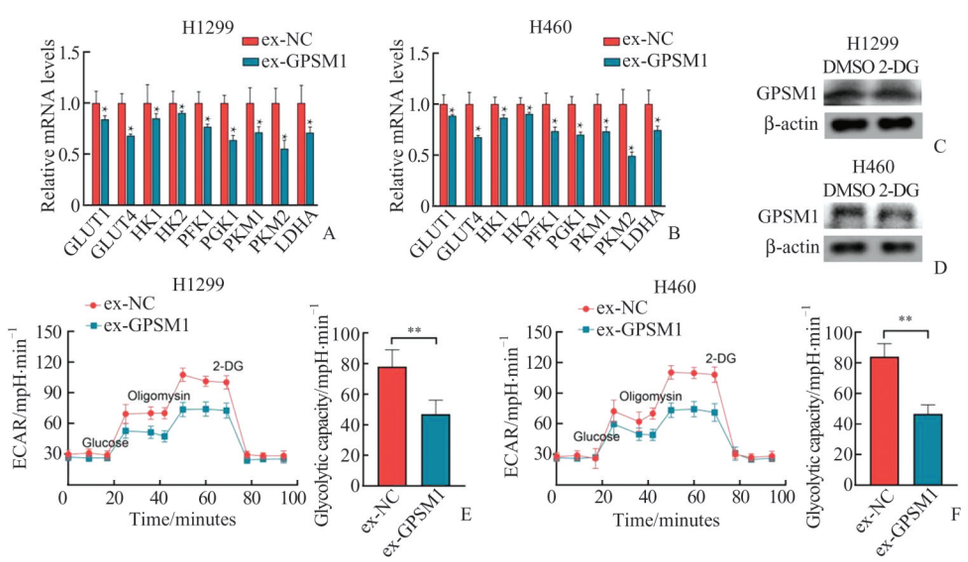


图 5　GPSM1 过表达抑制肺腺癌细胞糖酵解水平

A. 过表达 GPSM1 对 H1299 细胞糖酵解关键酶 mRNA 表达水平的影响；B. 过表达 GPSM1 对 H460 细胞糖酵解关键酶 mRNA 表达水平的影响；C. 使用 2-DG 抑制糖酵解对 H1299 细胞内 GPSM1 表达水平的影响；D. 使用 2-DG 抑制糖酵解对 H460 细胞内 GPSM1 表达水平的影响；E. 过表达 GPSM1 对 H1299 细胞糖酵解容量的影响；过表达 GPSM1 对 H460 细胞糖酵解容量的影响。$^{*}P<0.05$；$^{**}P<0.01$

O-GlcNAc 转移酶可通过 O-GlcNAc 修饰抑制丙酮酸激酶 M2 的酶活性，从而导致糖代谢向糖酵解途径分流[17]。此外，肿瘤微环境改变也是驱动葡萄糖代谢重编程的关键因素，如肿瘤相关巨噬细胞分泌的 TGF-β 可下调乳腺癌细胞中琥珀酸脱氢酶的表达，抑制线粒体三羧酸循环，从而使葡萄糖碳流量

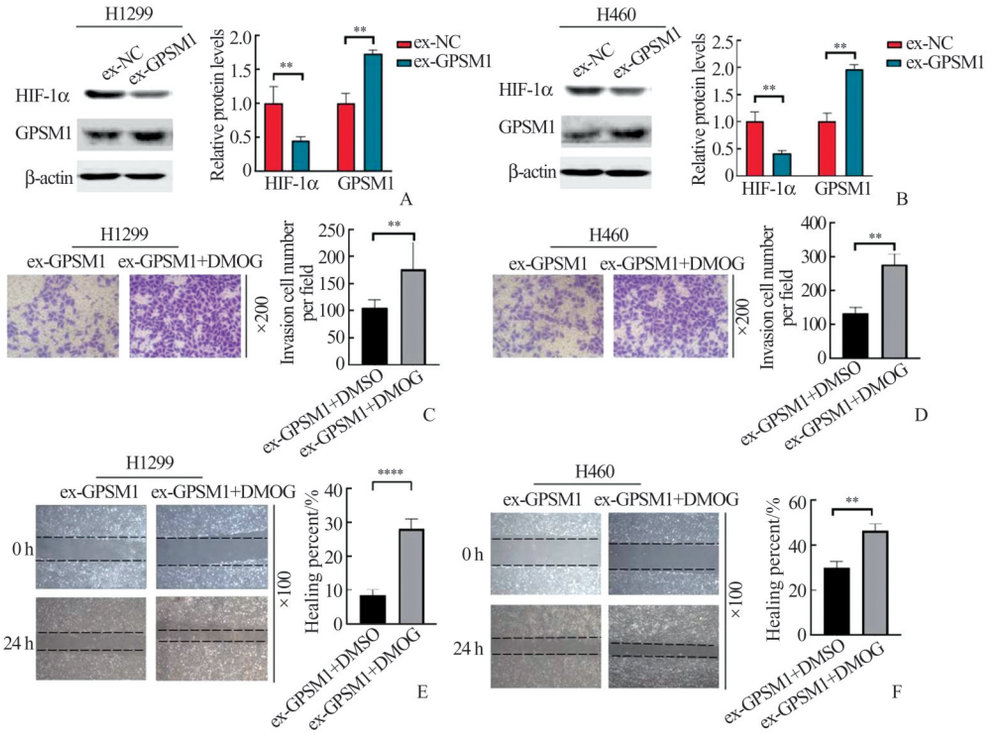


图6 GPSM1抑制HIF-1α表达影响肺腺癌细胞侵袭和迁移能力

A. 过表达GPSM1对H1299细胞HIF-1α蛋白表达水平的影响；B. 过表达GPSM1对H460细胞HIF-1α蛋白表达水平的影响；C. HIF-1α激动剂DMOG处理过表达GPSM1的H1299细胞侵袭能力影响；D. DMOG处理过表达GPSM1的H460细胞侵袭能力影响；E. DMOG处理过表达GPSM1的H1299细胞迁移能力影响；F. DMOG处理过表达GPSM1的H460细胞侵袭能力影响。$^{**}P<0.01$，$^{****}P<0.0001$

向糖酵解途径分流[18]。在本研究中，我们发现过表达GPSM1后肺腺癌细胞糖酵解能力下调，并且使用糖酵解抑制剂处理肺腺癌细胞后GPSM1表达无明显变化，表明GPSM1参与调控肺腺癌细胞中的糖酵解，且GPSM1位于糖酵解调控上游。值得注意的是，本研究还发现敲低GPSM1对肺腺癌细胞增殖和迁移能力无明显影响，我们推测可能的原因是肺腺癌细胞中GPSM1本身低表达，而GPSM1发挥作用可能依赖一定阈值，未来还需进一步的研究揭示GPSM1表达对肺腺癌细胞的复杂调控作用。KEGG分析发现肺腺癌中GPSM1共表达基因富集于MAPK信号通路。HIF-1α是调控糖酵解激活的关键因素[19-20]，并参与多种肿瘤的发生发展过程[21]，既往研究[15,22]显示，HIF-1α活性及表达受到MAPK信号通路调节，我们在肺腺癌细胞中过表达GPSM1后发现，HIF-1α表达下调，且使用HIF-1α激动剂处理后，过表达GPSM1的肺腺癌细胞迁移和侵袭能力恢复，表明HIF-1α参与了过表达GPSM1对肺腺癌细胞迁移和侵袭能力的影响。此外，本研究的GPSM1基因共表达分析结果表明，GPSM1及其共表达基因参与黏着斑、MAPK信号通路、磷脂酶D信号通路等生物过程，这些生物学事件与糖酵解过程存在广泛的交互调节关系[15,23-24]，提示GPSM1可能通过糖酵解途径介导更复杂的分子生物事件参与肺腺癌的发生发展过程，未来对这些事件的深入研究可能深化研究者对肺腺癌发生发展机制的理解。

综上所述，本文明确了GPSM1在肺腺癌组织和细胞中表达下调，并促进肺腺癌细胞系H1299和H460增殖、侵袭，其机制可能与GPSM1下调导致HIF-1α激活，进而促进肿瘤细胞糖酵解相关。本研究的不足之处在于缺乏动物体内实验研究，肺腺癌中GPSM1表达下调以及GPSM1影响HIF-1α表达的机制也未阐明，对这些过程的进一步探索有望深化对肺腺癌发生发展机制的理解，为肺腺癌治疗药物开发和临床应用奠定实验基础。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] 郑荣寿, 张思维, 孙可欣, 等. 2016年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2023, 45(3): 212-220.
ZHENG R S, ZHANG S W, SUN K X, et al. Cancer statistics in China, 2016[J]. Chin J Oncol, 2023, 45(3): 212-220.

[3] TAN A C, TAN D S W. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations[J]. J Clin Oncol, 2022, 40(6): 611-625.

[4] SANADA K, TSAI L H. G protein betagamma subunits and AGS3 control spindle orientation and asymmetric cell fate of cerebral cortical progenitors[J]. Cell, 2005, 122(1): 119-131.

[5] GROVES B, GONG Q, XU Z, et al. A specific role of AGS3 in the surface expression of plasma membrane proteins[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(46): 18103-18108.

[6] VURAL A, MCQUISTON T J, BLUMER J B, et al. Normal autophagic activity in macrophages from mice lacking Gαi3, AGS3, or RGS19[J]. PLoS One, 2013,8(11): e81886.

[7] YAN J, ZHANG Y M, YU H R, et al. GPSM1 impairs metabolic homeostasis by controlling a pro-inflammatory pathway in macrophages[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 7260.

[8] ADEKOYA T O, SMITH N, ALADENIYI T, et al. Activator of G protein signaling 3 modulates prostate tumor development and progression[J]. Carcinogenesis, 2019, 40(12): 1504-1513.

[9] CHEN Y, SONG Y L, WANG L. G-protein signaling modulator 1 promotes colorectal cancer metastasis by PI3K/AKT/mTOR signaling and autophagy[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2023, 157: 106388.

[10] ZHANG Y, ZHOU B, SUN J J, et al. Knockdown of GPSM1 inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of B-cell acute lymphoblastic leukemia cells by suppressing the ADCY6-RAPGEF3-JNK signaling pathway[J]. Pathol Oncol Res, 2021, 27: 643376.

[11] SHI H, REN H R, YANG X J, et al. Overexpression of activator of G-protein signaling 3 decreases the proliferation of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Pathol Res Pract, 2015, 211(6): 449-455.

[12] STINE Z E, SCHUG Z T, SALVINO J M, et al. Targeting cancer metabolism in the era of precision oncology[J]. Nat Rev Drug Discov, 2022, 21(2): 141-162.

[13] BAO X T, ZHANG J H, HUANG G M, et al. The crosstalk between HIFs and mitochondrial dysfunctions in cancer development[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2): 215.

[14] LING S B, SHAN Q N, ZHAN Q F, et al. USP22 promotes hypoxia-induced hepatocellular carcinoma stemness by a HIF1α/USP22 positive feedback loop upon TP53 inactivation[J]. Gut, 2020, 69(7): 1322-1334.

[15] ZHOU F, SUN J G, YE L Y, et al. Fibronectin promotes tumor angiogenesis and progression of non-small-cell lung cancer by elevating WISP3 expression *via* FAK/MAPK/HIF-1α axis and activating Wnt signaling pathway[J]. Exp Hematol Oncol, 2023, 12(1): 61.

[16] KERR E M, GAUDE E, TURRELL F K, et al. Mutant Kras copy number defines metabolic reprogramming and therapeutic susceptibilities[J]. Nature, 2016, 531(7592): 110-113.

[17] SINGH J P, QIAN K, LEE J S, et al. O-GlcNAcase targets pyruvate kinase M2 to regulate tumor growth [J]. Oncogene, 2020, 39(3): 560-573.

[18] GÓMEZ V, EYKYN T R, MUSTAPHA R, et al. Breast cancer-associated macrophages promote tumorigenesis by suppressing succinate dehydrogenase in tumor cells[J]. Sci Signal, 2020, 13(652): eaax4585.

[19] LIU J, ZHANG X M, CHEN K, et al. CCR7 chemokine receptor-Inducible lnc-Dpf3 restrains dendritic cell migration by inhibiting HIF-1α-Mediated glycolysis[J]. Immunity, 2019, 50(3): 600-615. e15.

[20] ZHENG F, CHEN J N, ZHANG X Q, et al. The HIF-1α antisense long non-coding RNA drives a positive feedback loop of HIF-1α mediated transactivation and glycolysis[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 1341.

[21] COWMAN S J, KOH M Y. Revisiting the HIF switch in the tumor and its immune microenvironment[J]. Trends Cancer, 2022, 8(1): 28-42.

[22] LI H X, LIANG J H, WANG J, et al. Mex3a promotes oncogenesis through the RAP1/MAPK signaling pathway in colorectal cancer and is inhibited by hsa-miR-6887-3p[J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(6): 472-491.

[23] MA Q X, JIANG H F, MA L N, et al. The moonlighting function of glycolytic enzyme enolase-1 promotes choline phospholipid metabolism and tumor cell proliferation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2023, 120(15): e2209435120.

[24] PARK J S, BURCKHARDT C J, LAZCANO R, et al. Mechanical regulation of glycolysis *via* cytoskeleton architecture[J]. Nature, 2020, 578(7796): 621-626.

（2024-06-10 收稿）
编辑　沈建国