

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.19.001

• 基础研究 •

磷酸丝氨酸氨基转移酶 1 介导肺腺癌细胞粘附及其机制探究 *

罗鸣宇 周 烨 梁 倩 邹菁华 沈 璞[△]

(上海交通大学医学院药理学与化学生物学系 上海 200025)

摘要 目的:探究丝氨酸生物合成途径(SSP)关键酶磷酸丝氨酸氨基转移酶 1(PSAT1)与肺腺癌细胞粘附的关系,并初步探讨其作用机制。**方法:**使用 siRNA 抑制 PSAT1 蛋白表达,观察肺腺癌细胞形态以及粘附变化,同时过表达 PSAT1,反向观察 PSAT1 对肺腺癌细胞粘附的影响。初步探究其作用机制,采用免疫共沉淀-蛋白质谱法寻找与 PSAT1 直接相互作用的蛋白,筛选差异蛋白,并在过表达细胞体系中验证。结合临床公共数据库分析互作蛋白与患者预后关系。**结果:**发现敲低 PSAT1 引起肺腺癌细胞形态改变;敲低 PSAT1 抑制肺腺癌 PC9、HCC827 细胞粘附;过表达 PSAT1 增强 PC9 及 HCC827 细胞粘附;免疫共沉淀-蛋白质谱检测到 2560 个可能与 PSAT1 结合的蛋白,进一步通过免疫共沉淀-免疫印迹法验证 PSAT1 过表达使细胞中与间皮素(MSLN)结合显著上升;通过临床样本数据观察 PSAT1 与 MSLN 共同高表达的肺腺癌患者,其预后更差。**结论:**本文首次报道 PSAT1 可能通过与 MSLN 等蛋白-蛋白相互作用影响肺腺癌细胞粘附的新机制,提示 PSAT1 有望成为潜在抗肿瘤靶点,靶向其相互作用蛋白能为小分子抑制剂设计及患者个体化治疗提供新思路。

关键词:磷酸丝氨酸氨基转移酶;间皮素;细胞粘附;肺腺癌

中图分类号:R-33;R734.2;R943 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)19-3601-06

Effect and Mechanism of Cell Adhesion in Lung Adenocarcinoma Mediated by Phosphoserine Aminotransferase 1*

LUO Ming-yu, ZHOU Ye, LIANG Qian, ZOU Jing-hua, SHEN Ying[△]

(Department of Pharmacology and Chemical Biology, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China)

ABSTRACT Objective: To explore the relationship between phosphoserine aminotransferase 1 (PSAT1), a key enzyme of serine biosynthesis pathway (SSP), and the adhesion of lung adenocarcinoma cells, and to clarify the potential mechanism. **Methods:** Knocking down PSAT1 by siRNA to observe the morphology and adhesion changes of lung adenocarcinoma cells. Meanwhile, overexpressing PSAT1 to observe the effect of PSAT1 on the adhesion of lung adenocarcinoma cells. Immunoprecipitation-proteomic analysis was used to explore the protein that directly interacts with PSAT1, the differential proteins were screened and verified in overexpressed cells to investigate the mechanism. And the relationship between interaction proteins and patient prognosis was analyzed by clinical public database. **Results:** Morphological changes of lung adenocarcinoma cells was induced by knocking down PSAT1. Knockdown of PSAT1 inhibited adhesion of PC9 and HCC827 cells. Overexpression of PSAT1 enhanced the adhesion of PC9 and HCC827 cells. About 2560 proteins that may bind to PSAT1 were detected by proteomic analysis. It was further verified by co-immunoprecipitation-Western blotting the overexpression of PSAT1 promoted a significant increase in the binding of mesothelin (MSLN) in lung adenocarcinoma cells. High expression of PSAT1 and MSLN was correlated negatively with the prognosis of patients with lung adenocarcinoma according to the clinical data. **Conclusions:** The new mechanism was first reported that PSAT1 might affect the adhesion of lung adenocarcinoma cells by binding to MSLN and other proteins. Targeting the interacting proteins of PSAT1, a potential anti-tumor target, could provide new insights for the design of small molecular inhibitors and individualized therapy for patients.

Key words: Phosphoserine aminotransferase 1; Mesothelin; Cell adhesion; Lung adenocarcinoma

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2; R943 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)19-3601-06

前言

肺癌因其高发病率及高致死率已成为人类健康的头号杀

手之一^[1]。以表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(Epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)为主的靶向药在肺癌治疗中取得了很大进展^[2],但是由于不可避

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81773748;82073868);上海市科委"科技创新行动计划"生物医药科技支撑专项项目(20S11900100)

作者简介:罗鸣宇(1995-),男,硕士研究生,研究方向:肿瘤药理学, E-mail: mingyu5991@sjtu.edu.cn

△ 通讯作者:沈璞,女,博导,研究员,主要研究方向:肿瘤药理学, E-mail: yshen0510@sjtu.edu.cn

(收稿日期:2021-03-23 接受日期:2021-04-18)

免的耐药问题使肺癌治疗瓶颈依旧难以突破,根据肺癌疾病特点选择新的治疗策略至关重要^[3,4]。在肺癌进展过程中,原发部位肿瘤细胞会通过局部浸润、血管及淋巴管途径转移到其他部位继续生长^[5]。转移不仅是治疗失败耐药复发的常见原因,更是患者最常见的死因^[6,7]。肿瘤细胞可通过灵活调节代谢酶适应转移过程中不同环境维持自身生长^[8],靶向肿瘤代谢关键酶已成为抗肿瘤药物研究热点之一^[9]。

磷酸丝氨酸氨基转移酶 1 (Phosphoserine aminotransferase 1, PSAT1) 是丝氨酸生物合成途径 (Serine synthesis pathway, SSP) 关键酶,在催化 3- 磷酸羟基丙酮酸生成磷酸丝氨酸的同时可将谷氨酰胺转化为 α - 酮戊二酸,为下游一系列生化反应提供能量和物质基础^[10]。PSAT1 在乳腺癌组织中高表达^[11],作为癌基因促进结直肠癌发生发展^[12],是肺鳞癌中潜在的治疗靶点^[13],以及能够促进肺腺癌细胞体内转移^[14],但目前尚无关于 PSAT1 促进肿瘤细胞粘附具体分子机制的报道。由于体循环中细胞能否定植到远端部位与其粘附能力密切相关^[15],所以充分了解肿瘤转移机制并从这一角度寻找新的靶点进行药物开发能帮助我们更有效地治疗肿瘤。课题组前期研究首次报道 SSP 关键酶磷酸甘油酸脱氢酶 (Phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH) 在肺腺癌获得性耐药中发挥重要作用^[16],我们之后发现 PSAT1 也能参与肺腺癌细胞对 EGFR-TKIs 的适应性耐药^[17],提示 PSAT1 同样具有重要的生物学功能。本研究将围绕 PSAT1 是否影响肺腺癌细胞粘附及其分子作用机制进行深入探究,我们通过敲低以及过表达 PSAT1 蛋白,观察肺腺癌细胞粘附的变化,并利用免疫共沉淀 - 银染法 - 蛋白质谱法寻找并验证相互作用蛋白,通过肿瘤公共数据库分析互作蛋白与临床预后相关性。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

生物安全柜, CO₂ 细胞培养箱购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;制冰机购自美国 Scotsman 公司;蛋白电泳及转印系统,预制胶,多功能酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司;实验用超纯水系统购自美国 Millipore 公司;Incucyte 活细胞动态实时成像仪购自美国 Essen 公司;Odyssey 双色红外成像系统购自美国 LI-COR 公司;倒置显微镜购自日本 Nikon 公司;磁力搅拌器购自德国 IKA 公司;移液器,低温高速离心机购自德国 Eppendorf 公司。

1.2 细胞系与试剂

人肺腺癌细胞系 HCC827 及 PC9,人胚肾上皮永生化细胞系 293FT 均在上海交通大学医学院药理学与化学生物学系保存并使用,过表达 PSAT1 细胞模型由本课题组自行构建。

0.25 %胰蛋白酶、PBS 缓冲液、青霉素 - 链霉素 (双抗) 溶液及谷氨酰胺溶液购自上海源生生物科技股份有限公司;助转染试剂聚凝胺 (Polybrene) 购自上海吉凯基因化学技术有限公司;转染专用减血清培养基、RPMI 1640 培养基、BCA 蛋白定量试剂盒、预染蛋白分子量 marker、Lipofectamine 3000 试剂、P3000 试剂及 ECL 显色液购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;胎牛血清购自美国 Gemini 公司;Ku86 抗体、正常兔 IgG 及琼脂糖珠子 (Protein A/G PLUS-Agarose) 购自美国 Santa Cruz

Biotechnology 公司;PSAT1 抗体及 MSLN 抗体购自美国 Proteintech Group 公司;辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 及抗小鼠 IgG 购自美国 Cell Signaling Technology 公司;RIPA 裂解液、NP40 裂解液、Western 一抗稀释液、快速银染试剂盒及蛋白酶抑制剂 PMSF 购自上海碧云天公司;siRNA 购自上海吉玛制药有限公司,正义链序列 (5'-3') 如下:

siNC: UUC-UCC-GAA-CGU-GUC-ACG-UTT、

siPSAT1#1: CCU-CGG-UCC-UGG-AAU-ACA-ATT、

siPSAT1#2: CCA-GAC-AAC-UAU-AAG-GUG-ATT、

siPSAT1#3: GCC-AAG-AAG-TTT-GGG-ACT-ATA。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及传代 向 RPMI 1640 培养基中加入 10% 胎牛血清, 1% 双抗, 1% 谷氨酰胺配成完全培养基。待 25 cm² 培养瓶中细胞汇合度约 85% 左右时传代, 吸去原培养基, 用 3 mL PBS 缓冲液清洗, 加入 1 300 μ L 提前预热的 0.25% 胰蛋白酶, 显微镜下观察细胞消化下来后, 使用 3 mL 新鲜完全培养基终止消化。用移液枪轻柔吹打, 按 1:3-1:5 的比例吸取单细胞悬液至新培养瓶中, 加入新鲜完全培养基至终体积为 5 mL, 在培养瓶上注明细胞名称代数等信息, 摇匀后将细胞放入恒温培养箱中培养, 第二天视细胞生长情况半量换液或继续生长至下次传代。

1.3.2 构建过表达 PSAT1 细胞系 将 293FT 细胞种于 6 孔板中, 细胞汇合度达 90% 可进行慢病毒包装。配制 A 液 (250 μ L 转染专用减血清培养基 + 8 μ L Lipo3000) 和 B 液 (250 μ L 转染专用减血清培养基 + 8 μ L P3000 试剂 + 慢病毒质粒混合物), 混合 AB 液后室温放置 10 min。更换 6 孔板中包装培养基, 小心滴加上述混合物后继续培养, 6 h 后更换包装培养基继续培养。24 h 后第一次收集病毒, 再过 24 h 第二次收集病毒。待 6 孔板中细胞汇合度达 50% 可慢病毒感染, 吸掉培养基, 用 PBS 缓冲液清洗, 加入 1 mL 含病毒培养液, 加入聚凝胺 (终浓度为 5-10 μ g/mL), 感染 6 h 后补加完全培养基; 第二天换液, 待细胞汇合度达到 90% 后转移至 25 cm² 培养瓶中培养, 加入对应的抗生素筛选 2-3 次后扩增、保种及后续实验。

1.3.3 siRNA 转染 转染方法如下 (以 6 孔板为例): 将消化后的细胞种于 6 孔板中, 待细胞汇合度达 40% 即可进行转染。更换培养基为不含双抗的完全培养基, 配置 20 nM siRNA, A 液: 转染专用减血清培养基 125 μ L + Lipo 3000 5 μ L, B 液: 转染专用减血清培养基 125 μ L + siRNA 2 μ L, 将 A 液加至 B 液中, 静置 5-10 min 后逐滴加入, 摇晃均匀后放入培养箱继续培养; 转染相应时间可进行后续操作。

1.3.4 粘附实验 消化对数生长期或者 siRNA 作用 48 h 后的细胞, 计数后按 30000 个 / 孔种于 96 孔板, 保证各组细胞数目相同, 将 96 孔板放入培养箱中。1.5 h 后轻轻吸掉培养基, 缓缓加入 100 μ L PBS 缓冲液洗涤 2 次, 洗掉 96 孔板中未粘附到板上的细胞。加入 100 μ L 4% 多聚甲醛固定, 在 Incucyte 活细胞动态实时成像仪拍照, 对数据进行分析后导出结果。

1.3.5 免疫印迹法 (Western blotting) 撕掉预制胶底部胶条, 将组合好的凝胶架放在电泳槽中, 倒入电泳缓冲液, 拔出梳齿, 加入蛋白样品及适量蛋白分子量 marker, 60 V 电压至蛋白样品压缩为细条状, 调整电压为 90 V 至蛋白样品跑至分离胶底部; 从电泳槽中取出凝胶板, 弃去浓缩胶, 使用甲醇活化 PVDF

膜。转膜夹子从下往上分别放好滤纸-凝胶-PVDF膜-滤纸,将转膜夹子固定在转膜槽中,放入冰盒并补充转膜液,于冷室0.22 A 恒流转膜 2-3 h; 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h; 加入一抗,于冷室孵育过夜;室温二抗孵育 1-2 h;显影:用 ECL 显色液显影,保存条带结果进行数据处理。

1.3.6 免疫共沉淀 (Co-Immunoprecipitation) 10 cm 皿中细胞汇合度到达 90%可提蛋白,每个皿加入 800 μ L NP40 裂解液(已提前加入蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂),在冰板上裂解 10 min,研磨后收集裂解液至 1.5 mL EP 管中,在冷室继续裂解 30 min。提前预冷离心机,14000 r/min 离心 20 min,收集上清用于 BCA 定量。平衡琼脂糖珠子,放入冰盒中备用。调整样品浓度,取含有 0.5 mg 总蛋白的上清加入琼脂糖珠子中,在冷室摇床孵育 30 min,去除非特异性结合。另取部分上清,制备 TL (Total lysate)样品。预孵育结束后样品在 1000 r/min 离心 2 min,取出上清用于制备 IP 样品及 IgG 阴性对照,以 PSAT1 为例 IP 总蛋白约为 0.5 mg,各加 10 μ L PSAT1 IP 抗体(20 μ L 抗体:1 mg 起始总蛋白量)。孵育 24-48 h 再加入平衡好的琼脂糖珠子,在冷室摇床孵育过夜。第二天样品 1000 r/min,离心 2 min。弃去上清,用提前预冷的 PBS 缓冲液洗三次。用注射器吸净剩余液体,IP 样品中加入 2 $\times$ SDS 上样缓冲液,金属浴加热变性 5-10 min,待样品冷却后立即上样或者保存至冰箱等待后期上样检测。免疫印迹法检测过程同 1.3.3。

1.3.7 银染法 将跑完电泳后凝胶放入加有固定液的玻璃皿中,在水平摇床上以 70 rpm 的转速摇动过夜。倒掉固定液,加入 30%乙醇,摇动 10 min。弃 30%乙醇,用超纯水洗 3 次。弃

水,加入银染增敏液,摇 2 min。弃增敏液,加入超纯水洗 2 次。弃水,加入银溶液,摇床室温摇动 10 min。弃银溶液,加水洗涤。弃水后,加入银染显色液,摇动直至出现预期条带。弃显色液,加入终止液,摇 10 min。弃终止液,超纯水洗 2-5 min。拍照后切割胶条,可直接送样检测。

1.3.8 定性蛋白质组学分析 胶条送样至上海交通大学医学院公共技术平台蛋白质组学实验室检测。

1.4 统计学分析

细胞粘附实验结果采用 mean $\pm$ SD 表示,使用 t-test 进行检验各组间是否具有显著性差异,GraphPad Prism 7 软件作图。 $P<0.05$ 表示有显著性差异(其中 <0.05 用 "*" 表示, $P<0.01$ 用 "**" 表示, $P<0.001$ 用 "***" 表示, $P<0.0001$ 用 "****" 表示)。

2 结果

2.1 敲除 PSAT1 引起肺腺癌细胞形态变化

免疫印迹法结果显示 siPSAT1#1 和 #3 序列作用 48 h 均可成功敲低 HCC827 细胞 PSAT1 蛋白水平(图 1A)。为了探究 PSAT1 在肺腺癌中的作用,我们采用 20 nM siPSAT1#1 作用于 HCC827 细胞 48 h,显微镜观察细胞形态变化(图 1B)。siNC 对照组细胞轮廓清晰,骨架正常,触角结构明显,呈星状或不规则形状成团伸展生长,背景干净,未观察到漂浮细胞,细胞生长状态好。敲除 PSAT1 蛋白后,HCC827 细胞之间轮廓模糊,触角结构减少,细胞团最外层细胞变圆皱缩,表明敲除 PSAT1 引起细胞形态发生改变。

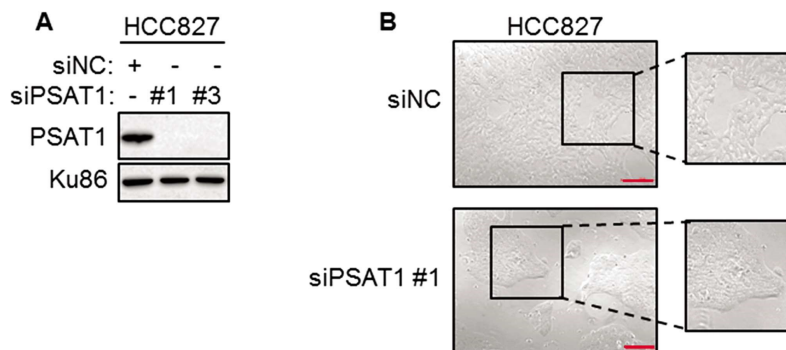


图 1 敲除 PSAT1 引起肺腺癌细胞形态变化

Fig.1 Morphological changes of lung adenocarcinoma cells induced by PSAT1 knockdown

Note: A. Knockdown efficiency of PSAT1 measured by western blotting; B. Morphological changes of HCC827 cells; scale bar=250 μ m; Ku86 as loading control; siNC as negative control.

2.2 敲除 PSAT1 抑制肺腺癌细胞粘附

肿瘤细胞形态与粘附能力有关^[18],表型实验结果显示 siPSAT1 引起肺腺癌细胞形态改变,那么对其粘附是否也有影响,值得深入探究。采用 siPSAT1#1 和 siPSAT1#3 两个序列均能减弱 HCC827 细胞粘附率(图 2A, siPSAT1#1 $P<0.0001$; siPSAT1#3 $P<0.001$),提示敲除 PSAT1 可抑制肿瘤细胞粘附。随后我们也在 PC9 细胞中进行验证(图 2C), siPSAT1#1 和 #2 序列作用 48 h 均可成功敲低 PC9 细胞 PSAT1 蛋白水平(图 2B), siPSAT1 同样抑制 PC9 细胞粘附(图 2C, siPSAT1#1 $P<0.01$; siPSAT1#2 $P<0.01$)。

2.3 过表达 PSAT1 促进肺腺癌细胞粘附

为了进一步探究 PSAT1 调控细胞粘附的作用,我们采用慢病毒感染构建过表达细胞进行反向验证,免疫印迹法结果证实细胞构建成功(图 3A)。当 PC9 及 HCC827 细胞过表达 PSAT1 之后,细胞粘附能力均发生显著上调(图 3B 和 3C, PP: $P<0.001$; HP: $P<0.01$)。对照为空载体组,排除慢病毒感染这一操作对实验结果的影响。

2.4 在肺腺癌细胞中 PSAT1 结合 MSLN

蛋白-蛋白相互作用(Protein-Protein Interaction, PPI)在生物体中极其常见,在肿瘤发生发展过程中起到了重要的角色^[19,20]。为了寻找与 PSAT1 直接结合的蛋白,我们进行了免疫共沉淀-蛋白质谱法检测。银染结果(图 4A)提示在 43 kDa 附近,相比

Note: A. Silver staining of proteins binding to PSAT1; B. List of candidate proteins screened; C. Identification of PSAT1-binding proteins by coIP-western blotting; PE=PC9-EV, PP=PC9-PSAT1, FC=fold change, TL=total lysate; IgG as negative control; Ku86 as loading control; Heavy chain suggested the same volume of antibody was added.

2.5 PSAT1-MSLN 共同高表达与肺腺癌患者不良预后相关

为了验证我们的实验结果与临床的契合性,我们在临床数据库中观察 PSAT1 和 MSLN 水平与患者预后关系,PSAT1 和 MSLN 同时高表达与肺腺癌患者的预后呈负相关,与两个蛋白

同时低表达的患者具有显著性差异(图 5A, $P<0.0001$),而在肺鳞癌患者中并未观察到类似的相关性(图 5B),以上结果提示, PSAT1 与 MSLN 相互作用可能与肺腺癌恶性转化密切相关。

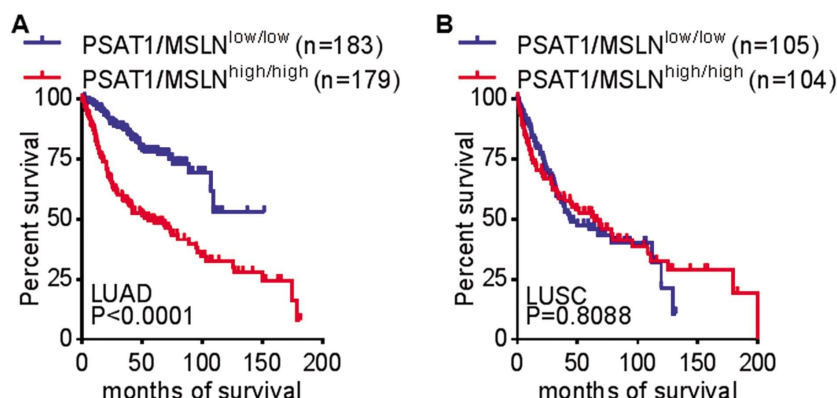


图 5 PSAT1-MSLN 共同高表达与肺腺癌患者不良预后相关

Fig.5 High level of PSAT1 and MSLN is associated with unfavorable prognosis in lung adenocarcinoma patients

Note: A. Lung adenocarcinoma; B. Lung squamous cell carcinoma; Data was downloaded from Kaplan-Meier plotter.

3 讨论

肿瘤转移是多种癌症进展到晚期的重要表现,深入研究其机制对于寻找新的治疗策略提高患者生存率至关重要^[21]。我们发现敲低 PSAT1 后肺腺癌细胞贴壁所用时间会更长,而粘附能力又影响体循环中转移的肿瘤细胞能否在远端部位定植^[22],但目前尚未见关于 PSAT1 影响肺腺癌细胞粘附的报道。于是我们提出科学假设:PSAT1 是否会影响肺腺癌细胞粘附,其所依赖何种分子作用机制?不同于 SSP 起始酶 PHGDH^[23],目前尚无 PSAT1 小分子抑制剂的报道,而 PSAT1 在多种肿瘤中高表达,是一个极具潜力的治疗靶点^[24],我们是否可以利用其粘附特性为 PSAT1 小分子抑制剂的研发提供新的思路?

为了解决这些问题,我们在体外敲除 PSAT1 作用 48 h 后重新平板观察细胞粘附能力的变化,模拟肿瘤细胞进入血液循环到其他部位定植的过程。结果显示敲除 PSAT1 明显抑制 HCC827 及 PC9 细胞粘附。为了进一步说明 PSAT1 与肺腺癌细胞粘附的关系,我们通过慢病毒过表达 PSAT1 反向验证,结果显示过表达 PSAT1 能够促进肺腺癌细胞粘附。与此同时, Hua 等的研究也证实了 PSAT1 能够影响肺腺癌运动^[14]:他们利用小鼠尾静脉模型发现侵袭力强的肺癌细胞在敲除 PSAT1 后形成的肺部结节减少。相反,过表达 PSAT1 促进了侵袭力弱的细胞在小鼠肺部结节的形成。综合我们的试验结果及文献报道,我们认为 PSAT1 是调节肺癌细胞运动潜能的关键分子。

随后我们对 PSAT1 促进肺腺癌细胞运动的机制做了初步探究,通过免疫共沉淀-蛋白质谱法筛选并确证 MSLN 能够和 PSAT1 结合,提示 PSAT1 可能通过与 MSLN 结合促进肺腺癌粘附。MSLN 作为一种肿瘤抗原,在包括恶性间皮瘤、肺腺癌及胰腺癌等许多肿瘤中异常表达^[25]。并且 MSLN 与肿瘤侵袭性相关,在肺腺癌转移灶及 KRAS 突变的肿瘤中 MSLN 均高表达^[26]。由于正常情况下它仅在间皮细胞表达,故被视为肿瘤免疫治疗中一个有吸引力的靶点。目前已经有几种针对 MSLN

的疫苗、T 细胞疗法和抗体-药物结合物正在开展临床试验,包括免疫毒素 LMB-100^[27]、结合 DNA 烷化剂 MED2460 的 MDX-1382、以及结合微管蛋白聚合酶抑制剂 DM4 的 Anetumab ravtansine 等^[28,29]。多个临床试验均证实了 MSLN 是一种具有安全性和可行性的免疫治疗靶点^[30,31]。结合肺癌患者临床数据库,我们发现 PSAT1 与 MSLN 共同高表达仅与肺腺癌患者预后呈负相关,提示 PSAT1-MSLN 可能为促进肺腺癌发展特异性机制,为肺腺癌的治疗提供新的思路。PSAT1 与 MSLN 结合提示我们是否一方面可以从两者蛋白结合位点进行 PSAT1 的小分子抑制剂的设计,另一方面是否可以通过构建靶向 MSLN 的 siPSAT1 纳米载体,使用 siRNA 在体内抑制 PSAT1 抑制肿瘤生长。

综上所述,本研究表明丝氨酸生物合成途径关键酶 PSAT1 是极具潜力的抗肿瘤靶标,首次发现 PSAT1 与肺腺癌细胞粘附能力密切相关,并初步探究了 PSAT1 参与调控肿瘤细胞粘附的新机制,为靶向 PSAT1 研发新型抑制剂治疗肿瘤提供理论基础,对肺腺癌患者个体化治疗具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Turner MC, Andersen ZJ, Baccarelli A, et al. Outdoor air pollution and cancer: An overview of the current evidence and public health recommendations[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(6): 460-479
- [2] Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. N Engl J Med, 2018, 378(2): 113-125
- [3] Nagasaka M, Zhu VW, Lim SM, et al. Beyond osimertinib: The development of 3(rd)-generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors[J]. J Thorac Oncol, 2020 [Epub ahead of print]
- [4] Lee PC, Fang YF, Yamaguchi H, et al. Targeting PKC δ as a Therapeutic Strategy against Heterogeneous Mechanisms of EGFR Inhibitor Resistance in EGFR-Mutant Lung Cancer [J]. Cancer Cell, 2018, 34(6): 954-969
- [5] Tsay JJ, Wu BG, Sulaiman I, et al. Lower Airway Dysbiosis Affects

- Lung Cancer Progression[J]. *Cancer Discov*, 2020, 11(2): 293-307
- [6] Birkbak NJ, McGranahan N. Cancer Genome Evolutionary Trajectories in Metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(1): 8-19
- [7] Bergers G, Fendt SM. The metabolism of cancer cells during metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021 [Epub ahead of print]
- [8] Najumudeen AK, Ceteci F, Fey SK, et al. The amino acid transporter SLC7A5 is required for efficient growth of KRAS-mutant colorectal cancer[J]. *Nat Genet*, 2021, 53(1): 16-26
- [9] Bonekamp NA, Peter B, Hillen HS, et al. Small-molecule inhibitors of human mitochondrial DNA transcription[J]. *Nature*, 2020, 588(7839): 712-716
- [10] Hwang IY, Kwak S, Lee S, et al. Psat1-Dependent Fluctuations in α -Ketoglutarate Affect the Timing of ESC Differentiation [J]. *Cell Metab*, 2016, 24(3): 494-501
- [11] Xu R, Jones W, Wilcz-Villega E, et al. The breast cancer oncogene IKK ϵ coordinates mitochondrial function and serine metabolism[J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(9): e48260
- [12] Wang H, Cui L, Li D, et al. Overexpression of PSAT1 regulated by G9A sustains cell proliferation in colorectal cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 47
- [13] Stewart PA, Welsh EA, Slebos RJC, et al. Proteogenomic landscape of squamous cell lung cancer[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3578
- [14] Chan YC, Chang YC, Chuang HH, et al. Overexpression of PSAT1 promotes metastasis of lung adenocarcinoma by suppressing the IRF1-IFN γ axis[J]. *Oncogene*, 2020, 39(12): 2509-2522
- [15] Neri P, Ren L, Azab AK, et al. Integrin $\beta 7$ -mediated regulation of multiple myeloma cell adhesion, migration, and invasion [J]. *Blood*, 2011, 117(23): 6202-6213
- [16] Dong JK, Lei HM, Liang Q, et al. Overcoming erlotinib resistance in EGFR mutation-positive lung adenocarcinomas through repression of phosphoglycerate dehydrogenase[J]. *Theranostics*, 2018, 8(7): 1808-1823
- [17] 周焘, 顾玮铭, 梁倩, 等. 丝氨酸生物合成途径介导肺腺癌细胞 EGFR TKIs 靶向治疗适应性耐药[J]. *现代生物医学进展*, 2019, 19(17): 3218-3224
- [18] Bouchet BP, Noordstra I, van Amersfoort M, et al. Mesenchymal Cell Invasion Requires Cooperative Regulation of Persistent Microtubule Growth by SLAIN2 and CLASP1[J]. *Dev Cell*, 2016, 39(6): 708-723
- [19] Hinze L, Labrosse R, Degar J, et al. Exploiting the Therapeutic Interaction of WNT Pathway Activation and Asparaginase for Colorectal Cancer Therapy [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10 (11): 1690-1705
- [20] Jiang Y, Wang Y, Wang T, et al. PKM2 phosphorylates MLC2 and regulates cytokinesis of tumour cells[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5566
- [21] Ye M, Song Y, Pan S, et al. Evolving roles of lysyl oxidase family in tumorigenesis and cancer therapy [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 215: 107633
- [22] Jassam SA, Maherally Z, Smith JR, et al. TNF- α enhancement of CD62E mediates adhesion of non-small cell lung cancer cells to brain endothelium via CD15 in lung-brain metastasis [J]. *Neuro Oncol*, 2016, 18(5): 679-690
- [23] Rodriguez AE, Ducker GS, Billingham LK, et al. Serine Metabolism Supports Macrophage IL-1 β Production [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(4): 1003-1011
- [24] Méndez-Lucas A, Lin W, Driscoll PC, et al. Identifying strategies to target the metabolic flexibility of tumours [J]. *Nat Metab*, 2020, 2(4): 335-350
- [25] Robinson BW, Creaney J, Lake R, et al. Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma [J]. *Lancet*, 2003, 362 (9396): 1612-1616
- [26] Kachala SS, Bograd AJ, Villena-Vargas J, et al. Mesothelin overexpression is a marker of tumor aggressiveness and is associated with reduced recurrence-free and overall survival in early-stage lung adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4): 1020-1028
- [27] Jiang Q, Ghafoor A, Mian I, et al. Enhanced efficacy of mesothelin-targeted immunotoxin LMB-100 and anti-PD-1 antibody in patients with mesothelioma and mouse tumor models [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(550): 7252
- [28] Golfier S, Kopitz C, Kahnert A, et al. Anetumab ravtansine: a novel mesothelin-targeting antibody-drug conjugate cures tumors with heterogeneous target expression favored by bystander effect [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(6): 1537-1548
- [29] Morello A, Sadelain M, Adusumilli PS. Mesothelin-Targeted CARs: Driving T Cells to Solid Tumors[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(2): 133-146
- [30] Alewine C, Ahmad M, Peer CJ, et al. Phase I/II Study of the Mesothelin-targeted Immunotoxin LMB-100 with Nab-Paclitaxel for Patients with Advanced Pancreatic Adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(4): 828-836
- [31] Hassan R, Blumenschein GR Jr, Moore KN, et al. First-in-Human, Multicenter, Phase I Dose-Escalation and Expansion Study of Anti-Mesothelin Antibody-Drug Conjugate Anetumab Ravtansine in Advanced or Metastatic Solid Tumors[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(16): 1824-1835