

文章编号 1006-8147(2022)04-0390-08

论 著

## 头颈鳞癌与中心碳代谢通路研究

黄鑫<sup>1</sup>, 闫申<sup>2</sup>, 阮宏莹<sup>1,3</sup>

(1.天津医科大学一中心临床学院,天津 300192;2.天津医科大学口腔医学院,天津 300070;3.中南大学湘雅医学院附属海口医院耳鼻咽喉头颈外科,海口 570000)

**摘要** 目的:探究头颈鳞癌代谢重编程机制。方法:通过对头颈鳞癌和癌旁组织进行真核有参转录组学、TMT标记定量蛋白质组学和非靶向代谢组学分析,找到差异表达基因、蛋白质和代谢物,进行基因本体(GO)富集分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析等生物信息学分析,两组学联合分析预测参与头颈鳞癌代谢重编程的重要代谢通路。然后进行平行反应监测(PRM)验证通路重要蛋白,找到差异表达蛋白及代谢通路。结果:联合分析结果提示,肿瘤中心碳代谢和蛋白质消化吸收途径可能与肿瘤有关。PRM结果表明,表皮生长因子受体(EGFR)、乳酸脱氢酶A(LDHA)、磷酸甘油酸酯转位酶1(PGAM1)、己糖激酶3(HK3)和磷酸果糖激酶(PFKP)在肿瘤中表达升高并参与肿瘤中心碳代谢途径。结论:肿瘤中心碳代谢通路及相关蛋白EGFR、PGAM1、LDHA、HK3、PFKP在头颈鳞癌发生、发展中起关键作用。

**关键词** 头颈鳞状细胞癌;转录组学;蛋白质组学;代谢组学;平行反应监测

中图分类号 R762

文献标志码 A

## Study on central carbon metabolism pathway in head and neck squamous cell carcinoma

HUANG Xin<sup>1</sup>, YAN Shen<sup>2</sup>, RUAN Hong-ying<sup>1,3</sup>

(1.First Central Clinical School, Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China; 2.College of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 3. Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine, Haikou 570000, China)

**Abstract Objective:** To investigate the metabolic mechanisms of head and neck squamous cell carcinoma(HNSCC). **Methods:** Eukaryotic transcriptomics, TMT labeled quantitative proteomics, and untargeted metabolomics on head and neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues were performed to identify differentially expressed genes, proteins, and metabolites. Gene ontology(GO) enrichment analysis, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) enrichment analysis, and other bioinformatics analyses were performed. Integration analyses were carried out to predict important pathways involved in metabolic reprogramming in HNSCC and perform parallel reaction monitoring(PRM) were used to identify differentially expressed proteins and metabolic pathways. **Results:** Integration analyses indicated central carbon metabolism in cancer and protein digestion and absorption pathway might be relevant to tumorigenesis. In addition, the results of PRM clarified significantly elevated levels of epidermal growth factor receptor(EGFR), phosphoglycerate mutase 1(PGAM1), lactate dehydrogenase A(LDHA), Hexokinase 3(HK3), and phosphofructokinase(PFKP), which were consistent with central carbon metabolism. **Conclusion:** Central carbon metabolism in cancer is the critical metabolomic pathway in which EGFR, PGAM1, LDHA, HK3, PFKP play essential roles in the development of HNSCC.

**Key words** head and neck squamous cell carcinoma; transcriptomics; proteomics; metabolomics; parallel reaction monitoring

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是一种死亡率较高的恶性肿瘤,目前的治疗方法以手术治疗为主,严重损害患者外观和功能(呼吸、发音和吞咽)<sup>[1]</sup>。由于诊断不够及时和治疗的困难性,HNSCC患者的5年生存率并不理想<sup>[1]</sup>。近年来,高通量和质谱技术不断应用在肿瘤研究中,转录组学、蛋白质组学和代谢组学促进了肿瘤的精准治疗。多组学整合分析提高了对复杂癌变过程的全面认识,弥补了单一组学的不足。平行反应监测(parallel reaction monitoring, PRM)应用于定量蛋

白质组学,具有良好的敏感性、特异性和对背景肽段的抗干扰性<sup>[2]</sup>。代谢重编程被认为是肿瘤标志之一<sup>[3]</sup>,其产生的酸性缺氧的肿瘤微环境能够促进肿瘤转移<sup>[4]</sup>。肿瘤有突出的代谢适应性,能够不利用氧迅速提供能量,从而促进肿瘤进展<sup>[5]</sup>。因此研究头颈鳞癌的代谢改变对HNSCC患者的治疗具有重要意义。

本研究首次通过转录组学、蛋白质组学和代谢组学探讨了HNSCC的代谢重编程。通过多组学和PRM的共同研究,证实了肿瘤中心碳代谢通路以及相关蛋白表皮生长因子受体(EGFR)、磷酸甘油酸酯变位酶1(PGAM1)、乳酸脱氢酶A(LDHA)、己糖

作者简介 黄鑫(1996-),硕士在读,研究方向:头颈鳞癌代谢编程;  
通信作者:阮宏莹, E-mail: hongyingruan@tmu.edu.cn。

激酶3(HK3)、磷酸果糖激酶(PFKP)在头颈鳞癌中的作用。本研究为探索 HNSCC 的诊断和治疗提供了新的方向。

## 1 材料与方法

1.1 临床样品采集 组织样本取自天津市第一中心医院确诊并手术的10例头颈鳞癌患者,每例患者术中切除了肿瘤组织和癌旁组织,直接放入液氮中,并储存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 。本项研究获得了天津市第一中心医院伦理委员会的批准(2019N182KY),所有患者均知情同意。

1.2 转录组学研究 Trizol 法提取样本总 RNA,使用 NanoPhotometer<sup>®</sup> 分光光度计(IMPLEN,美国)检测 A260/A280、A260/A230。使用 Bioanalyzer 2100 系统(Agilent,美国)评估 RNA 完整性。样品检测合格后,用带有 Oligo(dT)的磁珠富集真核生物的 mRNA。合成 cDNA,纯化,末端修复、加 A 尾并连接测序接头,然后用 AMPure XP beads 进行片段大小选择,最后进行 PCR 富集得到最终的 cDNA 文库。文库构建完成后,对文库的插入片段长度和有效浓度进行检测,以保证文库质量。文库质控合格后在 Illumina HiSeq 平台(Illumina,美国)上测序<sup>[6]</sup>。

1.3 代谢组学研究 样本于 $4^{\circ}\text{C}$ 下缓慢溶解后,使用甲醇/乙腈/水溶液(2:2:1)处理后取上清液进样分析。样品采用 Agilent 1290 Infinity LC 超高压液相色谱仪(Agilent,美国)及其色谱柱进行分离,整个分析过程中样品置于 $4^{\circ}\text{C}$ 自动进样器中样本队列中并插入 QC 样品,采用 Triple TOF 6600 质谱仪(SCIEX,美国)在正负离子模式下进行样本一级、二级谱图的采集<sup>[7]</sup>。

1.3 蛋白质组学研究 用 SDT(4% SDS,100 mmol/L Tris-HCl,1 mmol/L DTT)缓冲液提取蛋白,并用 BCA 蛋白检测试剂盒(Bio-Rad,美国)进行定量。胰蛋白酶用于消化蛋白质,遵循过滤器辅助样品制备(filter-aided sample preparation,FASP)程序。消化后的肽段经脱盐、冻干、用 $40\ \mu\text{L}$  0.1%甲酸重新溶解后定量。蛋白质使用串联质谱(tandem mass tags,TMT)试剂(Thermo Fisher Scientific,美国)进行标记,并使用 AKTA 净化器系统(GE Healthcare)通过强阳离子交换(strong cation exchange,SCX)色谱进行分离。Q Exactive 质谱仪(Thermo Fisher Scientific,美国)耦联 Easy-nlc 1000(Thermo Fisher Scientific,美国)进行液相色谱串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry,LC-MS/MS)分析<sup>[8]</sup>。

1.4 PRM 样本蛋白质提取后酶解,对鉴定到的目标蛋白的目标肽段进行 PRM 定量分析,将适合

PRM 分析的肽段信息 Xcalibur2.2 软件中进行 PRM 方法设置。采用 HPLC 系统(Agilent,美国)进行色谱分离,高效液相色谱分离后的样品用 Q-Exactive HF 质谱仪(Thermo Fisher Scientific,美国)进行 PRM 质谱分析<sup>[9]</sup>。

1.5 生物信息学分析 采用 Cluster 3.0<sup>[10]</sup> 和 Java Treeview 3.0<sup>[11]</sup>进行层次聚类分析,CELLO 2.5<sup>[12-13]</sup>预测蛋白质亚细胞定位。选取差异表达蛋白的蛋白序列,使用 NCBI BLAST+和 InterProScan 5<sup>[14]</sup>进行局部搜索,然后用 Blast2GO 6.0 软件<sup>[15]</sup>进行基因本体(GO)注释,从参与的生物过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组分(CC)3个方面描述基因和基因产物的属性。对基因和蛋白质在京都基因和基因组百科全书(KEGG)在线数据库上进行 blast,以检索其 KEGG 同源性鉴定,并映射 KEGG 通路。富集分析采用 Fisher 精确检验, $P$ 值采用 Benjamini-Hochberg 校正, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

转录组与蛋白质组关联分析,有转录组表达信息且被鉴定到的蛋白即为关联结果,寻找在两个组学中差异表达基因和蛋白均注释到的功能条目,并统计在该功能条目中蛋白、基因的数量以及蛋白和基因关联到的数量,按照差异蛋白和差异基因在各 KEGG 条目中富集显著性情况分类,选择两个组学都显著富集的通路,以确定蛋白质参与的生化代谢途径和信号转导途径。转录/蛋白和代谢组学整合分析是指对来自转录组/蛋白组和代谢组等不同生物分子层次的批量数据进行归一化处理及统计学分析,建立不同层次分子间数据关系。使用 R3.5.1 软件对差异基因/蛋白与代谢物进行 KEGG 通路注释及富集关联分析,计算蛋白质和代谢物在各个通路的富集度的显著性水平。

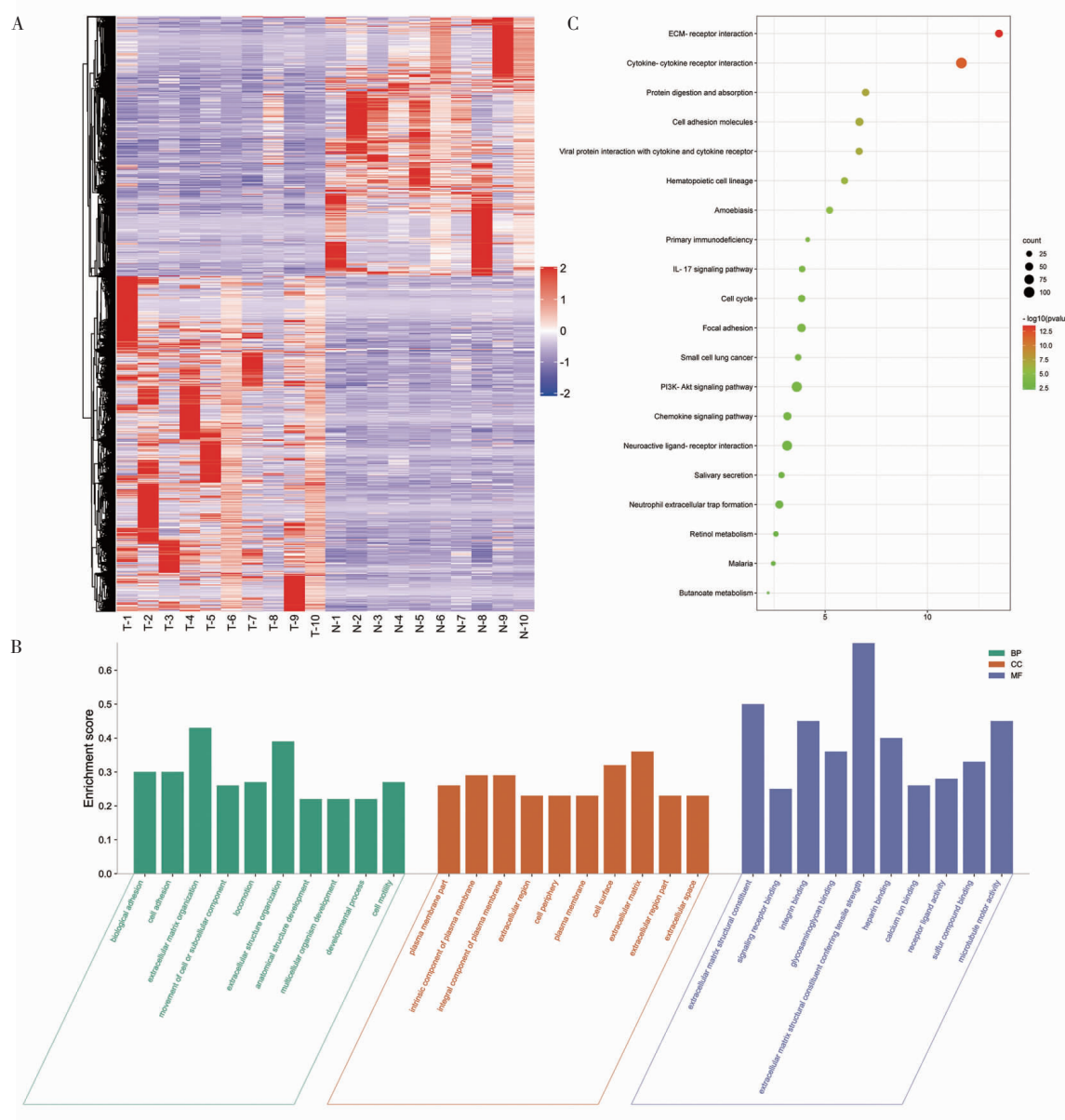
## 2 结果

2.1 患者资料 从10例 HNSCC 患者中收集了10例肿瘤组织和10例正常组织。

2.2 转录组学分析结果 将 $P<0.05$ , $|\log_2\text{foldchange}|>1$ 作为差异显著性标准筛选差异表达基因,与癌旁正常组织相比,肿瘤组织中有3876个基因上调,3067个基因下调(图1A),选取差异表达基因进行 GO 注释和富集分析(图1B),主要包括 biological adhesion,extracellular matrix organization, multicellular organism development 等。对差异基因进行 KEGG 富集分析,确定受到显著影响的代谢和信号转导途径(图1C),包括 ECM-receptor interaction, cytokine-cytokine receptor interaction,protein digestion and absorption 等通路。

2.3 代谢组学分析结果 正负离子模式下合并后实验鉴定 416 种代谢物并根据其化学分类归属信息进行分类统计,其中正负离子模式分别鉴定 275 和 212 种。以正交偏最小二乘判别分析的变量权重值 (Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis Variable Importance for the Projection, OPLS-DA VIP) >1 和  $P < 0.05$  为标准,在正负离子模式下分别筛选显著性差异代谢物(图 2A、2B)。合并正负离子模式筛选到的显著差异代谢物,进行 KEGG 通路注释与富集分析(图 2C)。富集通路主要有 protein digestion and absorption, central carbon metabolism in cancer, ABC transporters, aminoacyl-tRNA biosynthesis 等。

2.4 蛋白质组学分析结果 实验测得肽段总数 59 924,特异性肽段数 51 333,鉴定蛋白质数 10 162,可定量蛋白质数 8 616。Fold Change >1.2 或 <0.83 且  $P < 0.05$  为标准,得到差异蛋白质数目。与癌旁组织相比,肿瘤组织中 1 553 个蛋白质上调,1 848 个蛋白质下调,总差异蛋白质数为 3 401(图 3A)。为了进一步探索蛋白质的功能,亚细胞定位分析表明线粒体可能是 HNSCC 细胞中重要的细胞器(图 3B)。对差异蛋白质进行 GO 富集分析如图 3C 所示,包括 striated muscle cell development, muscle structure development, RNA binding, blood microparticle 等。将差异表达蛋白质进行 KEGG 通路注释与富集分析(图 3D),



注: T1~T10: 肿瘤组织; N1~N10: 正常组织; BP: 生物过程; CC: 细胞成分; MF: 分子功能

图 1 头颈部鳞状细胞癌与正常组织中差异表达基因的转录组学分析

Fig 1 Transcriptomics analysis of differentially expressed genes in head and neck squamous cell carcinoma tissues compared to adjacent normal tissues



富集到的通路主要有complement and coagulation cascades,chemical carcinogenesis,cell adhesion molecules、central carbon metabolism in cancer 等。

**2.5 转录组学和代谢组学联合分析** 统计鉴定到的基因和代谢物共同参与数最多的代谢通路(图4A)主要有calcium signaling pathway,MAPK signaling pathway,protein digestion and absorption,central carbon metabolism in cancer 等。通过对转录组学和代谢组学进行通路富集的比较分析,计算得出基因和代谢物在各个通路的富集度的显著性水平(图4B),主要包括 protein digestion and absorption,neuroactive ligand and receptor interaction,human papillomavirus infection 等。

**2.6 转录组学和蛋白质组学联合分析** 整合同样本来源的转录组学和蛋白质组学数据,当某一个蛋白被鉴定到且在转录组水平有表达信息时,则认为基因和蛋白被关联到。在可定量层面上得到关联到的蛋白和基因数为4 739,显著差异的层面上关联到基因及其蛋白数为182。对关联上的差异蛋白

的 KEGG 通路注释,确定出蛋白质参与的最主要生化代谢途径和信号转导途径(图5A),主要包括 focal adhesion,IL-17 signaling pathway,protein digestion and absorption 等。寻找到在两个组学中都注释到的功能条目,以及各 KEGG 条目中两个组学均显著富集的通路,如 complement and coagulation cascades,chemical carcinogenesis,cell adhesion molecules 等(图5B)。

**2.7 蛋白质组学和代谢组学联合分析** 对差异蛋白和差异代谢物进行 KEGG 通路注释比较,统计本次实验鉴定到的蛋白质和代谢物共同参与数最多的 KEGG 通路,包括 central carbon metabolism in cancer,protein digestion and absorption,glycolysis/gluconeogenesis 等(图6A)。通过对蛋白组和代谢组进行通路富集的比较分析,计算蛋白质和代谢物在各个通路的富集度的显著性水平,得到两个组学均显著富集的通路,包括 neuroactive ligand-receptor interaction 和 central carbon metabolism in cancer (图6B)。

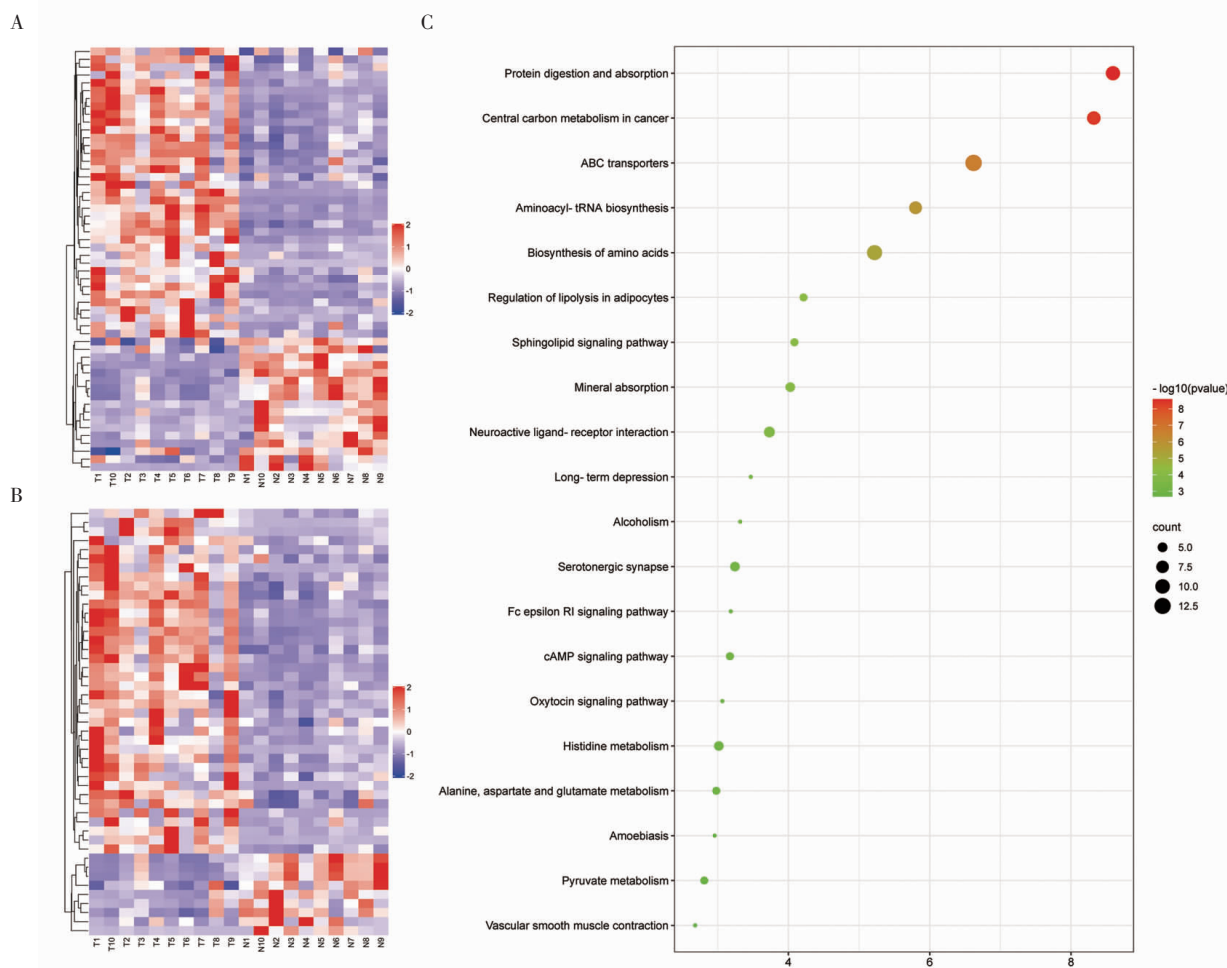
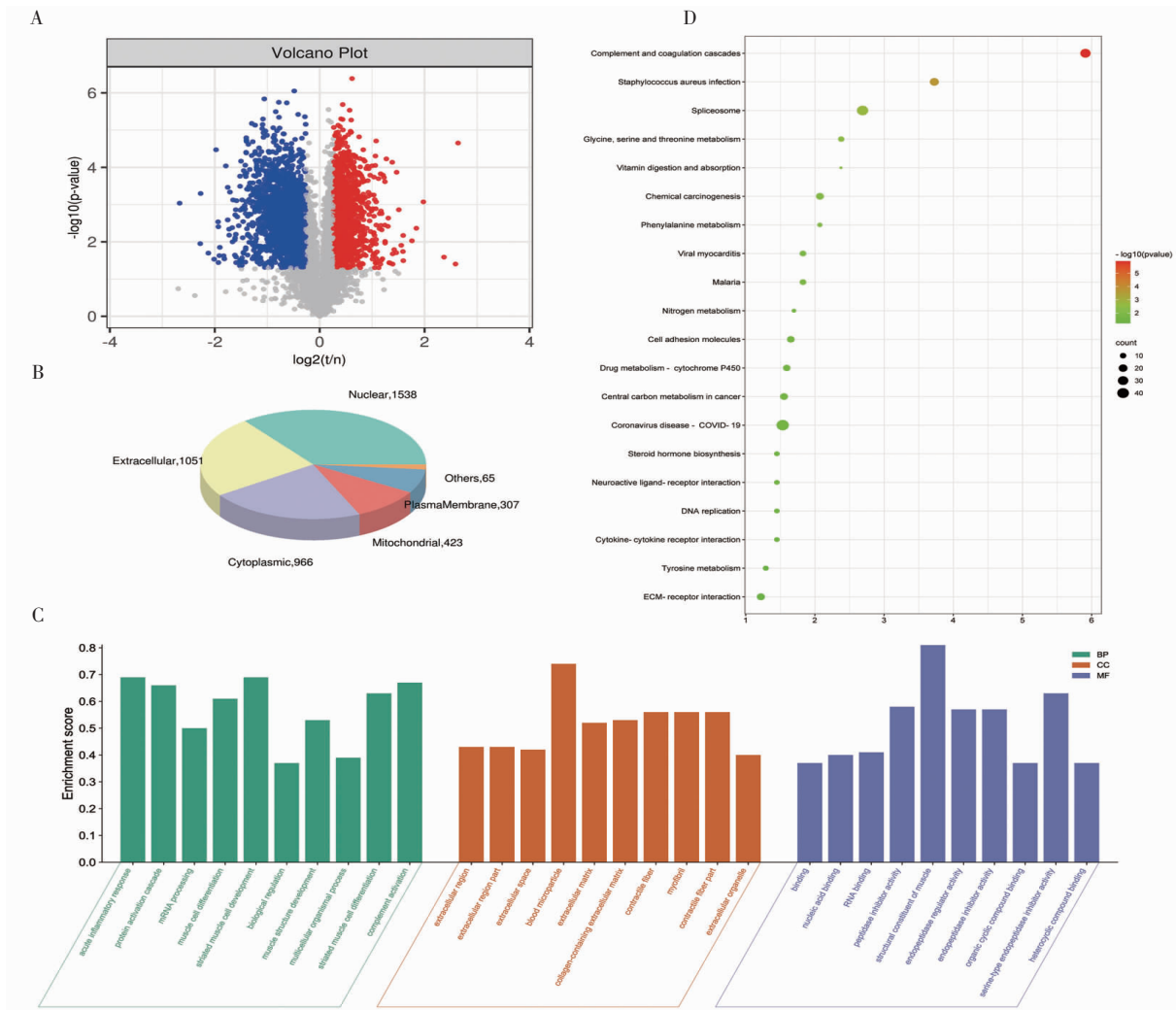


图2 头颈部鳞状细胞癌与正常组织中差异代谢物的代谢组学分析

Fig 2 Metabolomics analysis of differential metabolites in head and neck squamous cell carcinoma tissues compared to adjacent normal tissues



注:正常组织;BP:生物过程;CC:细胞成分;MF:分子功能

图3 头颈部鳞状细胞癌与正常组织中差异蛋白质的蛋白质组学分析

Fig 3 Proteomics analysis of differential proteins in head and neck squamous cell carcinoma tissues compared to adjacent normal tissues

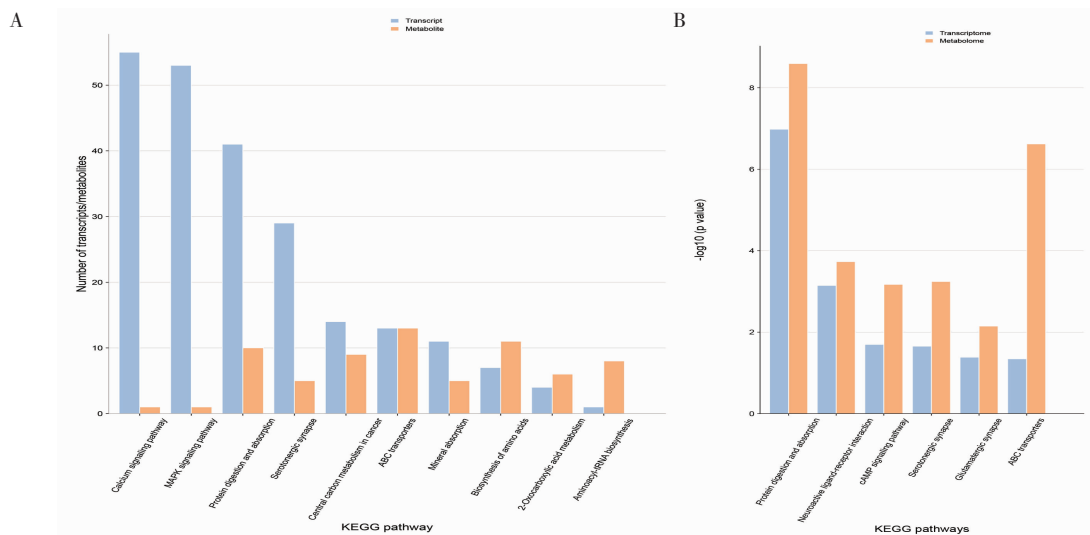


图4 转录组学和代谢组学联合分析

Fig 4 Integrated analysis of transcriptomics and metabolomics

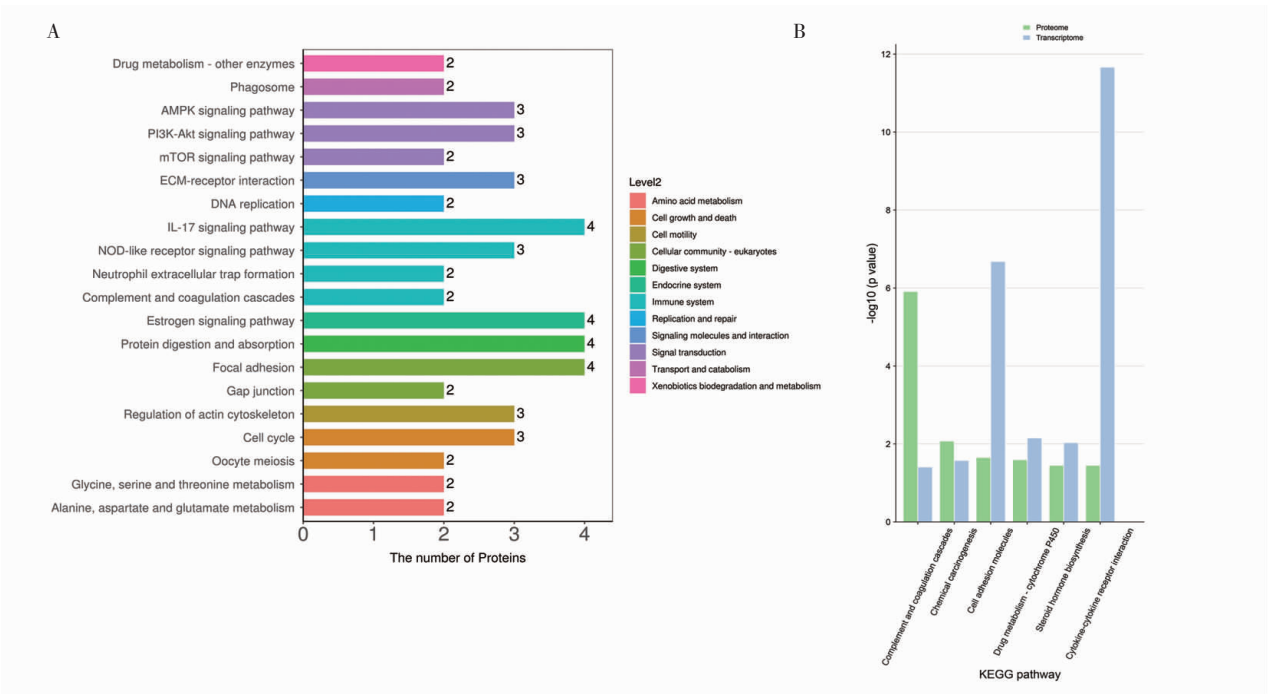


图 5 转录组学和蛋白质组学的联合分析  
Fig 5 Integrated analysis of transcriptomics and proteomics

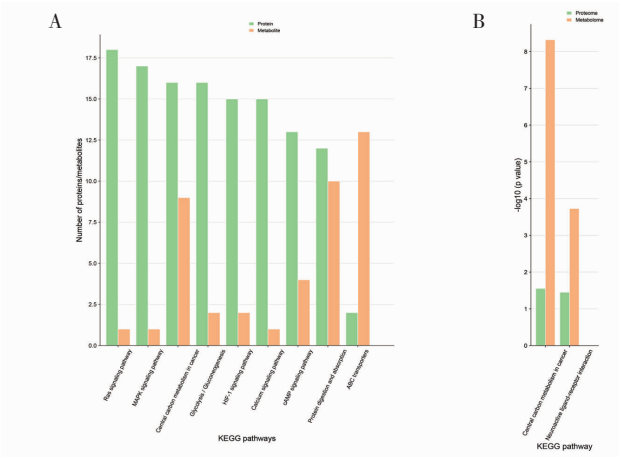


图 6 蛋白质组学和代谢组学的联合分析  
Fig 6 Integrated analysis of proteomics and metabolomics

2.8 靶向蛋白的 PRM 验证分析 根据转录组学、蛋白质组学、代谢组学和两两组学的 KEGG 通路分析, 优先筛选多组学同时检测到差异分子的通路, 并查阅大量代谢与肿瘤相关文献, 结果提示 central carbon metabolism in cancer 和 protein digestion and absorption 可能参与了头颈鳞癌的代谢重编程。此外, 选择稳定差异表达且可测得性高的与这两条代谢通路相关的蛋白质进行 PRM 验证实验。相关蛋白质包括羧肽酶 B2 (CPB2)、1 型胶原蛋白链 (COL1A1)、胶原蛋白 VI  $\alpha 1$  链 (COL6A1)、胶原蛋白 VI  $\alpha 2$  链 (COL6A2)、胶原蛋白类型 XIV  $\alpha 1$  链 (COL14A1)、胶原蛋白 XVIII  $\alpha 1$  链 (COL18A1)、乳酸脱氢酶 B (LDHB)、磷酸甘油酸酯变位酶 2 (PGAM2)、丙酮酸脱氢酶 E1 亚基  $\beta$  (PDHB)、

EGFR、PGAM1、LDHA、HK3、PFKP, 其中 EGFR、LDHA、PGAM1、HK3、PFKP 表达显著升高, COL6A1 显著下调(表 1)。

表 1 靶向蛋白质的 PRM 分析结果  
Tab 1 PRM analysis of targeted protein and peptide

蛋白质名称	T/N	P
CPB2	0.869 0	0.270 7
COL18A1	0.693 1	0.227 2
EGFR	2.963 5	0.021 1
LDHA	1.837 0	0.015 8
COL1A1	1.269 1	0.562 3
LDHB	1.399 1	0.321 7
PDHB	0.938 8	0.702 7
COL6A1	0.653 7	0.022 0
COL6A2	0.704 6	0.273 1
PGAM2	0.133 0	0.128 8
PGAM1	1.550 4	0.000 1
HK3	6.438 1	0.002 8
PFKP	2.042 8	0.000 8
COL14A1	0.943 7	0.615 6

注: PRM: 平行反应监测; T/N: 蛋白在肿瘤组织与癌旁组织表达比值; CPB2: 羧肽酶 B2; COL18A1: 胶原蛋白 XVIII  $\alpha 1$  链; EGFR: 表皮生长因子; LDHA: 乳酸脱氢酶 A; COL1A1: 1 型胶原蛋白链; LDHB: 乳酸脱氢酶 B; PDHB: 丙酮酸脱氢酶 E1 亚基  $\beta$ ; COL6A1: 胶原蛋白 VI  $\alpha 1$  链; COL6A2: 胶原蛋白 VI  $\alpha 2$  链; PGAM2: 磷酸甘油酸酯变位酶 2; PGAM1: 磷酸甘油酸酯变位酶 1; HK3: 己糖激酶 3; PFKP: 磷酸果糖激酶; COL14A1: 胶原蛋白类型 XIV  $\alpha 1$  链

3 讨论

HNSCC 早期即可出现淋巴结转移和局部浸润<sup>[6]</sup>, 因此常常预后不良, 需要新的策略来应对。本研究首次通过转录组学、蛋白质组学、代谢组学、联

合分析和 PRM,系统地阐明了宏观代谢变化,证实了肿瘤中心碳代谢通路及其相关蛋白(EGFR、PGAM1、LDHA、HK3、PFKP)在 HNSCC 的代谢重编程中起重要作用,有助于全面认识肿瘤的发病机制,为 HNSCC 的精准、个性化治疗提供依据。

亚细胞器是细胞质内具有一定形态和功能的微器官(如线粒体、内质网等),是蛋白发挥功能的重要场所。本次研究中蛋白质组学亚细胞定位结果提示有较多差异蛋白质定位于线粒体。线粒体是细胞供能的主要细胞器,并参与细胞增殖凋亡等生物学过程<sup>[17]</sup>,提示 HNSCC 细胞与正常细胞相比在能量代谢上可能存在较大差异。肿瘤细胞比正常细胞摄取更多的糖,即使在氧气充足的条件下,仍会优先产生乳酸,这种现象被称为“Warburg 效应”或“有氧糖酵解”<sup>[18]</sup>。EGFR 能激活肿瘤细胞中心碳代谢,在有氧糖酵解过程中发挥重要作用。研究证实,EGFR 能直接或间接调控功能性葡萄糖转运蛋白 1 (GLUT1),维持糖酵解和戊糖磷酸途径<sup>[19]</sup>。EGFR 通过调节下游磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) /丝氨酸/苏氨酸激酶 (Akt) /哺乳动物雷帕霉素靶点 (mTOR) 信号通路调控糖酵解,促进 GLUT1 的正确定位<sup>[20]</sup>,调节肿瘤细胞黏附、增殖、侵袭和迁移,与预后呈负相关<sup>[21]</sup>。已有研究表明,抑制糖酵解途径可增加靶向 EGFR 治疗肿瘤的疗效,说明糖酵解可能是 EGFR 的主要致癌途径<sup>[22]</sup>。在本研究中,EGFR 在 HNSCC 组织中的表达高于癌旁组织,而 EGFR 可以促进葡萄糖摄取和糖酵解,提示高表达的 EGFR 可能通过糖酵解途径促进 HNSCC 细胞的生长<sup>[23]</sup>。

LDHA 在有氧糖酵解过程中将丙酮酸转化为乳酸。已经证实,高活性的 LDHA 与多种癌症的不良预后有关<sup>[24]</sup>。LDHA 浓度升高会导致肿瘤细胞中的 pH 值降低,进而创造出有利于肿瘤侵袭的酸性微环境。LDHA 还能提供糖酵解所需 NAD<sup>+</sup>、调节血管生成、产生乳酸诱导免疫逃逸,进而在很大程度上促进恶性肿瘤进展<sup>[24]</sup>。肿瘤细胞可以利用 LDHA 和柠檬酸循环的中间体,合成肿瘤细胞快速增殖所需的脂类、脂肪酸和核酸<sup>[25]</sup>。本研究证实,LDHA 的表达在 HNSCC 组织中明显上调,表明 HNSCC 肿瘤细胞更多地利用糖酵解而不是线粒体氧化磷酸化来满足其能量需求。LDHA 可能成为新的治疗靶点,阻断 LDHA 将导致细胞内 ATP 严重耗竭,从而发挥抗肿瘤作用。

己糖激酶 (HKs) 参与糖酵解过程的第一步,即催化葡萄糖磷酸化为葡萄糖-6-磷酸。HK3 是糖酵解的第一限速酶,在许多肿瘤中过表达并能影响肿

瘤患者的预后<sup>[26]</sup>。HK3 会增加细胞 ATP 水平并减少活性氧簇的产生。由于高度糖酵解的肿瘤常伴有免疫刺激性肿瘤微环境, HK3 可能参与免疫浸润并可以预测免疫治疗反应<sup>[27]</sup>。目前, HK3 在 HNSCC 中的报道较少。本研究发现 HK3 蛋白在 HNSCC 表达显著上调,提示糖酵解与恶性肿瘤之间存在密切联系, HK3 可能成为肿瘤治疗的新兴领域。

磷酸果糖激酶-1 (PFK-1) 是一类将果糖-6-磷酸转化为果糖-1,6,二磷酸的限速酶。在 PFK-1 的 3 种亚型中,血小板型 (PFKP) 比肝脏型 (PFKL) 和肌肉型 (PFKM) 在肿瘤中占比更多。有研究证实, PFKP 在肿瘤中过表达,可能提示预后不良<sup>[28]</sup>。PFKP 活性增强,糖酵解通路激活,促进 DNA 生物合成和损伤修复,从而刺激肿瘤细胞生长、迁移和侵袭<sup>[29-30]</sup>。近期研究表明, PFKP-LDHA 轴通过调节乳腺癌细胞的乳酸生成来介导有氧糖酵解<sup>[31]</sup>。抑制 PFKP 将使葡萄糖通量转向戊糖磷酸途径,在很大程度上挽救了代谢重编程和细胞死亡<sup>[28]</sup>。与既往研究结果一致,本研究进一步证实 PFKP 在 HNSCC 组织中表达上调,提示 PFKP 不仅是代谢重编程和维持细胞增殖的必要条件,而且可能为 HNSCC 的治疗提供潜在治疗靶点。

PGAM1 将 3-磷酸甘油酸 (3-PG) 转变为 2-磷酸甘油酸 (2-PG),是糖酵解途径的关键蛋白。抑制 PGAM1 会导致糖酵解活性降低,从而抑制肿瘤生长<sup>[32]</sup>。PGAM1 衰减后,其底物 3-PG 升高,抑制戊糖磷酸途径通量和核苷酸合成反应;产物 2-PG 降低,抑制氨基酸合成<sup>[33]</sup>。此外, mTOR-PGAM1 信号级联能促进 Warburg 效应,阻断 PGAM1 抑制了 mTOR 依赖性糖酵解<sup>[34]</sup>。本研究发现 HNSCC 患者 PGAM1 高表达,提示 PGAM1 参与了糖酵解相关的肿瘤的发展。这在 HNSCC 的治疗中具有重要价值,并有助于识别潜在的生物标志物和药物靶点。

总之,本研究通过高通量技术结合精确的 PRM,开辟了研究 HNSCC 代谢重编程的创新模式。EGFR、LDHA、PGAM1、HK3、PFKP 的表达升高激活肿瘤中心碳代谢通路,触发或调节肿瘤进展。本研究为 HNSCC 的进一步研究提供了有前景的肿瘤预后生物标志物和潜在的治疗靶点,有着重要的临床意义。

#### 参考文献:

- [1] HORTON J D, KNOCHELMANN H M, DAY T A, et al. Immune evasion by head and neck cancer: foundations for combination therapy [J]. Trends Cancer, 2019, 5(4): 208-232.
- [2] PETERSON A C, RUSSELL J D, BAILEY D J, et al. Parallel reaction monitoring for high resolution and high mass accuracy quantitative, targeted proteomics [J]. Mol Cell Proteomics, 2012, 11(11):



- 1475–1488.
- [3] HANAHAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer; the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646–674.
- [4] LEONE R D, POWELL J D. Metabolism of immune cells in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(9): 516–531.
- [5] FENDT S M, FREZZA C, EREZ A. Targeting metabolic plasticity and flexibility dynamics for cancer therapy[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(12): 1797–1807.
- [6] LI Z Q, WANG L L, ZHOU J, et al. Integration of transcriptomics and metabolomics profiling reveals the metabolic pathways affected in dictamnine-induced hepatotoxicity in mice[J]. *J Proteomics*, 2020, 213: 103603.
- [7] VAN DER MIJN J C, FU L, KHANI F, et al. Combined metabolomics and genome-wide transcriptomics analyses show multiple HIF1 $\alpha$ -induced changes in lipid metabolism in early stage clear cell renal cell carcinoma[J]. *Transl Oncol*, 2020, 13(2): 177–185.
- [8] CHEN Y, NI J, GAO Y, et al. Integrated proteomics and metabolomics reveals the comprehensive characterization of antitumor mechanism underlying Shikonin on colon cancer patient-derived xenograft model[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 14092.
- [9] RAFIQ S, YEKU O O, JACKSON H J, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847–856.
- [10] DE HOON M J, IMOTO S, NOLAN J, et al. Open source clustering software[J]. *Bioinformatics*, 2004, 20(9): 1453–1454.
- [11] SALDANHA A J. Java Treeview—extensible visualization of microarray data[J]. *Bioinformatics*, 2004, 20(17): 3246–3248.
- [12] YU C S, CHEN Y C, LU C H, et al. Prediction of protein subcellular localization[J]. *Proteins*, 2006, 64(3): 643–651.
- [13] YU C S, LIN C J, HWANG J K. Predicting subcellular localization of proteins for Gram-negative bacteria by support vector machines based on n-peptide compositions[J]. *Protein Sci*, 2004, 13(5): 1402–1406.
- [14] BLUM M, CHANG H Y, CHUGURANSKY S, et al. The InterPro protein families and domains database: 20 years on[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D344–D354.
- [15] GÖTZ S, GARCÍA-GÓMEZ J M, TEROL J, et al. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(10): 3420–3435.
- [16] CHOW L Q M. Head and neck cancer[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(1): 60–72.
- [17] ROTH K G, MAMBETSARIEV I, KULKARNI P, et al. The mitochondrion as an emerging therapeutic target in cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2020, 26(1): 119–134.
- [18] LU J R. The Warburg metabolism fuels tumor metastasis[J]. *Cancer Metast Rev*, 2019, 38(1–2): 157–164.
- [19] MAKINOSHIMA H, TAKITA M, MATSUMOTO S, et al. Epidermal growth factor receptor (egfr) signaling regulates global metabolic pathways in egfr-mutated lung adenocarcinoma[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(30): 20813–20823.
- [20] MAKINOSHIMA H, TAKITA M, SARUWATARI K, et al. Signaling through the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/mammalian target of rapamycin (mTOR) axis is responsible for aerobic glycolysis mediated by glucose transporter in epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated lung adenocarcinoma[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(28): 17495–17504.
- [21] DYRSTAD S E, LOTSBERG M L, TAN T Z, et al. Blocking aerobic glycolysis by targeting pyruvate dehydrogenase kinase in combination with egfr tki and ionizing radiation increases therapeutic effect in non-small cell lung cancer cells[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(5): 941.
- [22] ZHANGYUAN G, WANG F, ZHANG H, et al. VersicanV1 promotes proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma through the activation of EGFR-PI3K-AKT pathway[J]. *Oncogene*, 2020, 39(6): 1213–1230.
- [23] LEE J H, LIU R, LI J, et al. EGFR-phosphorylated platelet isoform of phosphofructokinase 1 promotes PI3K activation[J]. *Mol Cell*, 2018, 70(2): 197–210.
- [24] WANG Y, NIE H, LIAO Z, et al. Expression and clinical significance of lactate dehydrogenase a in colon adenocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 700795.
- [25] KHAN A, SIDDIQUI S, HUSAIN S A, et al. Phytochemicals targeting metabolic reprogramming in cancer: an assessment of role, mechanisms, pathways, and therapeutic relevance[J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(25): 6897–6928.
- [26] GUO Y, LIANG F, ZHAO F L, et al. Resibufogenin suppresses tumor growth and Warburg effect through regulating miR-143-3p/HK2 axis in breast cancer[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 466(1–2): 103–115.
- [27] LV Z T, QI L, HU X H, et al. Identification of a novel glycolysis-related gene signature correlates with the prognosis and therapeutic responses in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 18.
- [28] KIM N H, CHA Y H, LEE J, et al. Snail reprograms glucose metabolism by repressing phosphofructokinase PFKP allowing cancer cell survival under metabolic stress[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 12.
- [29] ZHANG Y M, LIU J K, WONG T Y. The DNA excision repair system of the highly radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* is facilitated by the pentose phosphate pathway[J]. *Mol Microbiol*, 2003, 48(5): 1317–1323.
- [30] CHEN Y, XU Q, JI D X, et al. Inhibition of pentose phosphate pathway suppresses acute myelogenous leukemia[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(5): 6027–6034.
- [31] UMAR S M, KASHYAP A, KAHOL S, et al. Prognostic and therapeutic relevance of phosphofructokinase platelet-type (PFKP) in breast cancer[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 396(1): 10.
- [32] HITOSUGI T, ZHOU L, ARELLANO M, et al. Phosphoglycerate mutase 1 coordinates glycolysis and biosynthesis to promote tumor growth[J]. *Can Cell*, 2012, 22(5): 585–600.
- [33] PENG X C, GONG F M, CHEN Y, et al. Proteomics identification of PGAM1 as a potential therapeutic target for urothelial bladder cancer[J]. *J Proteomics*, 2016, 132: 85–92.
- [34] SUN Q, LI S Z, WANG Y N, et al. Phosphoglyceric acid mutase-1 contributes to oncogenic mTOR-mediated tumor growth and confers non-small cell lung cancer patients with poor prognosis[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(6): 1160–1173.