

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2025.04.0300

论著

环指蛋白 14 调控乳酸代谢抑制肺腺癌的机制研究

杨淑婷, 赵猛

(天津医科大学肿瘤医院检验科, 国家恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津市肿瘤防治重点实验室, 天津 300060)

摘要 目的:探讨环指蛋白 14(RNF14)对肺腺癌乳酸代谢调控及肺腺癌进展的影响。方法:通过数据库分析 RNF14 和单羧酸转运蛋白(MCT)1 的表达及预后;通过克隆形成、CCK-8 细胞活力测定、EdU-488 细胞增殖检测和 Transwell 小室迁移实验检测 RNF14 对肺腺癌细胞增殖及迁移能力的影响;通过免疫共沉淀实验检测 RNF14 与 MCT1 的相互作用及其对 MCT1 泛素化水平的影响;通过生化方法检测乳酸与葡萄糖含量。结果:RNF14 在肺腺癌组织中低表达($P<0.0001$),且高表达患者总生存率更高($P<0.0001$),而 MCT1 在肺腺癌组织中高表达($P<0.0001$),并与不良预后相关($P<0.0001$)。免疫共沉淀实验显示,RNF14 与 MCT1 相互作用并介导 MCT1 的泛素化。与对照组相比,RNF14 敲降的 A549 细胞中 RNF14 的 mRNA($F=260.7, P<0.0001$)及蛋白表达水平($F=49.34, P<0.001$)下降。敲低 RNF14 后,A549 细胞克隆数明显增多($F=153.5, P<0.0001$),增殖(CCK-8: $F=31.27, P<0.0001$;EdU: $F=5.481, P<0.05$)及迁移($F=95.52, P<0.0001$)能力显著增强。此外,RNF14 敲降的 A549 细胞培养基中乳酸含量增加($F=40.15, P<0.0001$),葡萄糖含量减少($F=42.16, P<0.0001$)。结论:RNF14 通过抑制乳酸外排进而减弱肺腺癌细胞增殖及迁移能力,抑制其进展。

关键词 环指蛋白 14;单羧酸转运蛋白;肺腺癌;乳酸代谢

中图分类号 R734.2

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2025)04-0300-08

Ring finger protein 14 suppresses the progression of lung adenocarcinoma by regulating lactate metabolism

YANG Shuting, ZHAO Meng

(Department of Clinical Laboratory, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin 300060, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of ring finger protein 14(RNF14) on lactate metabolism regulation and progression in lung adenocarcinoma (LUAD). **Methods:** Bioinformatics analysis was performed to evaluate the expression and prognostic significance of RNF14 and monocarboxylate transporter 1 (MCT1). The effects of RNF14 on the proliferation and migration of lung adenocarcinoma cells were assessed using colony formation, CCK-8, EdU, and Transwell assays. Co-immunoprecipitation (Co-IP) was conducted to examine the interaction between RNF14 and MCT1, as well as its effect on the ubiquitination level of MCT1. Lactate and glucose levels were measured using biochemical assays. **Results:** RNF14 was significantly downregulated in LUAD tissues ($P<0.0001$), and patients with high RNF14 expression exhibited a better overall survival rate ($P<0.0001$). In contrast, MCT1 was markedly upregulated in LUAD tissues ($P<0.0001$) and was associated with poor prognosis ($P<0.0001$). Co-IP confirmed that RNF14 binded to MCT1 and promoted its ubiquitination. Compared to the control group, RNF14 knockdown in A549 cells resulted in a significant reduction in both RNF14 mRNA ($F=260.7, P<0.0001$) and protein expression levels ($F=49.34, P<0.001$). Upon RNF14 silencing, A549 cells exhibited a marked increase in colony formation ($F=153.5, P<0.0001$), enhanced proliferation (CCK-8 assay: $F=31.27, P<0.0001$; EdU assay: $F=5.481, P<0.05$), and significantly elevated migration ($F=95.52, P<0.0001$). Furthermore, the lactate content increased ($F=40.15, P<0.0001$) and glucose levels decreased ($F=42.16, P<0.0001$) in the culture medium of A549 cells knocked down by RNF14. **Conclusion:** RNF14 reduces the proliferation and migration of LUAD cells and inhibits their progression by suppressing lactate efflux.

Key words RNF14; MCT1; lung adenocarcinoma; lactate metabolism

肺癌是全球范围内肿瘤相关死亡的主要原因之一,其发病率和死亡率居高不下,其中肺腺癌

(LUAD)是最常见的非小细胞肺癌亚型^[1]。LUAD 的发病机制涉及多个基因和信号通路的异常激活。随

基金项目 国家自然科学基金项目(82372894);天津市卫健委中医中西医结合课题(2023088);天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK-009A)

作者简介 杨淑婷(2000-),女,硕士在读,研究方向:医学技术;通信作者:赵猛,E-mail:zhaomeng@tmu.edu.cn。

着精准医学的发展,针对特定基因突变的靶向治疗显著改善了部分患者的预后,但仍有相当比例的患者缺乏有效的治疗靶点^[2-3]。因此,深入了解 LUAD 的发病机制,寻找新的治疗靶点具有重要意义。

研究表明,肺癌细胞往往表现出较高的糖酵解活性,其常见的表皮生长因子受体(EGFR)、Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)突变均与葡萄糖代谢上调有关,相关激酶途径的激活可诱导糖酵解酶的表达,从而产生乳酸积累^[4-5]。越来越多的证据表明,乳酸是肿瘤发展、维持和转移的关键调节因子,在促进免疫逃逸、血管生成、治疗抵抗方面具有重要作用,并可作为患者预后的预测指标^[6-7]。因此,靶向肿瘤乳酸代谢有望成为 LUAD 患者改善治疗结局的新方法。

乳酸的跨膜转运对于维持细胞内环境稳态以及肿瘤微环境的调节至关重要^[8]。单羧酸转蛋白(MCTs)家族在这一过程中发挥关键作用,尤其是 MCT1 和 MCT4^[9-10]。在 LUAD 细胞中,MCTs 的表达水平和活性发生了显著变化,以适应肿瘤细胞的代谢需求。研究发现,MCT1 在 LUAD 组织中的表达明显上调,且其表达水平与 LUAD 的恶性程度、预后等密切相关^[11]。

环指蛋白 14(RNF14)最初作为一种雄激素受体(AR)转录共激活因子而被发现,其进化高度保守且在人体组织中广泛表达,可能参与人前列腺癌的发生、发展^[12]。有研究发现,RNF14 具有 E3 泛素连接酶活性,属于 RBR(RING-in-between-RING)家族。这一结构赋予了它独特的生物学功能,尤其是在蛋白质的泛素化修饰过程中发挥关键作用^[13]。越来越多的证据表明,RBR E3 连接酶在神经退行性疾病、感染、炎症和肿瘤中起重要作用^[14]。RNF14 在一些肿瘤中呈现高表达趋势,如食管癌^[15]、结直肠癌^[16]等,而其在 LUAD 中的表达及其对 LUAD 疾病进展的影响仍然未知。本研究旨在探讨 RNF14 在 LUAD 乳酸代谢中的调控作用及其对 LUAD 进展的影响,为临床靶向 LUAD 乳酸代谢治疗提供新的见解与思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料 人胚肾细胞系 HEK293T、人肺癌细胞系 A549 源于美国 ATCC 公司,为本实验室保存培养;DMEM 培养基(L110KJ)、RPMI-1640 培养基(L220KJ)、0.25%胰蛋白酶(S310JV)购自中国上海源培生物科技有限公司;胎牛血清(04-001-1acs)购自以色列 BI 公司;Flag-MCT1 质粒购自中

国上海吉凯基因医学科技股份有限公司;PEI 转染试剂(408727)、抗 FLAG M2 亲和凝胶(A2220)、3×Flag 肽(F4799)、不含 EDTA 的蛋白酶抑制剂混合物(04693132001)购自德国默克生命科学技术有限公司;非变性组织/细胞裂解液(R0030)、RIPA 细胞裂解液(P0013B)、EdU-488 细胞增殖检测试剂盒(C0071S)购自中国上海碧云天生物技术有限公司;总 RNA 提取试剂(R1100)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(PC0020)购自中国北京索莱宝科技有限公司;氯仿替代物(G3014-01)购自中国武汉赛维尔生物科技有限公司;逆转录试剂盒(R312-01)购自中国南京诺唯赞生物科技有限公司;qPCR 试剂盒(B21202)购自美国 bimake 生物科技有限公司;RNF14 抗体(sc-376701)购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司;Flag 抗体(F1804)、 β -actin 抗体(A1978)购自德国 Sigma-Aldrich 公司;Ub 抗体(3936S)、HA 抗体(3724S)购自美国 Cell Signaling Technology 公司;CCK-8 试剂盒(K009-1000T)购自美国 ZETA LIFE 公司;细胞培养小室(14242-D)购自中国北京兰杰柯科技有限公司;NP40 buffer(50 mmol/L Tris-HCL,120 mmol/L NaCL,0.5% NP40,pH7.5)实验室自配。

1.2 方法

1.2.1 数据库分析 利用 Lung Cancer Explorer 网站(LCE,<http://lce.biohpc.swmed.edu/>)分析 RNF14 和 MCT1 在 LUAD 组织与癌旁组织间的表达差异。通过 Kaplan-Meier Plotter 网站(<https://www.kmplot.com/>)分析 RNF14 和 MCT1 表达情况对患者生存时间的影响。

1.2.2 细胞培养 HEK293T 细胞用含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 培养基培养,A549 细胞用含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养,并置于 37℃、5%CO₂ 恒温培养箱中,每日观察细胞生长情况,待细胞长到 80%~90%时,用 0.25%胰酶消化传代。

1.2.3 实验分组 将感染对照质粒的 A549 细胞设置为对照组;将感染 RNF14-1/2 质粒的 A549 细胞设置为 RNF14 敲降组。

1.2.4 质粒转染 待 HEK293T 细胞密度为 70%~80%时进行转染。转染质粒量为 30 μ g/ml,质粒与 PEI 转染试剂比例为 1:3,转染总体积为 1.5 mL。分别用无血清 DMEM 培养基配制质粒混合体系和转染试剂混合体系各 750 μ L,室温静置 5 min,之后将转染试剂体系缓慢轻柔滴加至质粒体系中,室温静置 20 min,补无血清培养基至 5 mL 加入待转染的细

胞中,6 h后换为含10%血清的DMEM培养基继续培养48 h。

1.2.5 稳定敲低细胞系的构建 病毒包装过程同质粒转染,质粒用量如下:重组质粒12 μg 、psPAX2质粒9 μg 、pMD2G质粒3 μg ,转染总体系为1 mL,转染48 h后收集细胞上清液并用细菌滤器过滤分装至1.5 mL无菌离心管中于 -80°C 保存。将A549细胞计数铺板,第2天密度为30%~40%时进行病毒感染。设置一对照孔,其余孔加入polybrene(终浓度为8 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、病毒液(1 mL)和完全培养基的混合液。24 h后换为完全培养基继续培养,待密度达到80%~90%时使用嘌呤霉素进行筛选。

1.2.6 RNA提取与qPCR 将细胞均匀铺至六孔板中,待细胞长满后,每孔加入1 mL Trizol裂解液,置于冰上吹打收集细胞,随后加入100 μL 氯仿替代物抽提RNA, 4°C ,12 000 $\times g$ 离心15 min,收集上清透明层,加入异丙醇沉淀RNA,用80%乙醇清洗2次。加入适量无菌无酶水溶解RNA沉淀,并测定RNA浓度。根据逆转录说明书将RNA逆转录为cDNA,随后按照说明书配制20 μL 的扩增体系,使用PCR仪扩增。利用CT值计算 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 数值。

1.2.7 总蛋白提取与Western印迹检测 消化收集细胞,加入适量PIPA裂解液吹打混匀后,置于冰上20 min,离心取上清并用BCA法测定蛋白浓度。蛋白变性后进行SDS-PAGE凝胶电泳,随后将蛋白转移到PVDF膜上,封闭完成后 4°C 孵育,加入一抗anti-RNF14(1:1 000)、anti- β -actin(1:5 000)过夜。次日室温孵育,加入山羊抗兔二抗(1:10 000)。随后用显影仪进行成像曝光。

1.2.8 变性及非变性免疫共沉淀实验 质粒转染48 h后收集细胞。对于非变性条件,每皿加入1 mL非变性组织/细胞裂解液(含蛋白酶抑制剂),用细胞刮刀刮下细胞并置于 4°C 旋转混悬仪上裂解1 h, 4°C 14 000 r/min离心20 min,取100 μL 作为Input。对于变性条件,每皿加入1 mL变性蛋白裂解液(4% SDS+NP40 buffer+蛋白抑制剂) 95°C 加热20 min,取100 μL 作为Input,其余蛋白裂解物用NP40 buffer稀释10倍。吸取适量包被有抗Flag抗体的琼脂糖珠子,用相应裂解液缓冲液洗涤3次。将清洗好的珠子均分至各管,置于 4°C 混悬仪旋转结合过夜。次日,用相应裂解缓冲液清洗珠子6次,加入适量3 \times Flag肽洗脱蛋白,随后离心取上清并加入适量5 \times loading 95°C 变性10 min,进行Western印迹检测。

1.2.9 克隆形成实验 以1 500个/孔的密度将细

胞接种在6孔板中,每组设置3个复孔。每隔3~4 d更换1次新的完全培养基,持续培养细胞10 d左右,待细胞自我繁殖的克隆数超过50时,终止实验。4%多聚甲醛固定20 min后加结晶紫染色15 min,清洗干净背景后拍照计数。

1.2.10 CCK-8实验 以1 500个/孔的密度将细胞接种在96孔板中,每组设置5个复孔,连续检测5 d。次日,以10:1的比例用培养基稀释CCK-8试剂,配制工作液,每孔加入110 μL ,放入 37°C 孵箱中孵育2 h。在450 nm波长下检测OD值作为Day0的数据。此后每隔24 h在相同时间点加CCK-8工作液,检测吸光度值作为Day1、2、3、4的数据。

1.2.11 EdU实验 将待测细胞计数 6×10^4 个铺于24孔板中,设置3个复孔。次日,用无血清培养基将EdU工作液稀释1 000倍后,加入孔中,置于孵箱孵育2 h。随后用4%多聚甲醛固定细胞20 min,0.3% Triton-100通透细胞15 min,固定和通透后均需用5%BSA清洗3次。按照说明书比例避光制备Click反应液,加入孔中孵育30 min,BSA洗液清洗后加入DAPI染液(用PBS 1:1 000稀释)染色10 min,再次清洗后于荧光显微镜下采集图像,计算绿色荧光细胞所占比例。

1.2.12 Transwell迁移实验 将细胞计数 6×10^5 个,用500 μL 无血清1640培养基重悬后加入小室上室,在下室(即12孔板底部)加入1 mL含10%血清的1640培养基,放入孵箱中培养48 h后,用4%多聚甲醛固定,结晶紫染色,镜检拍照。

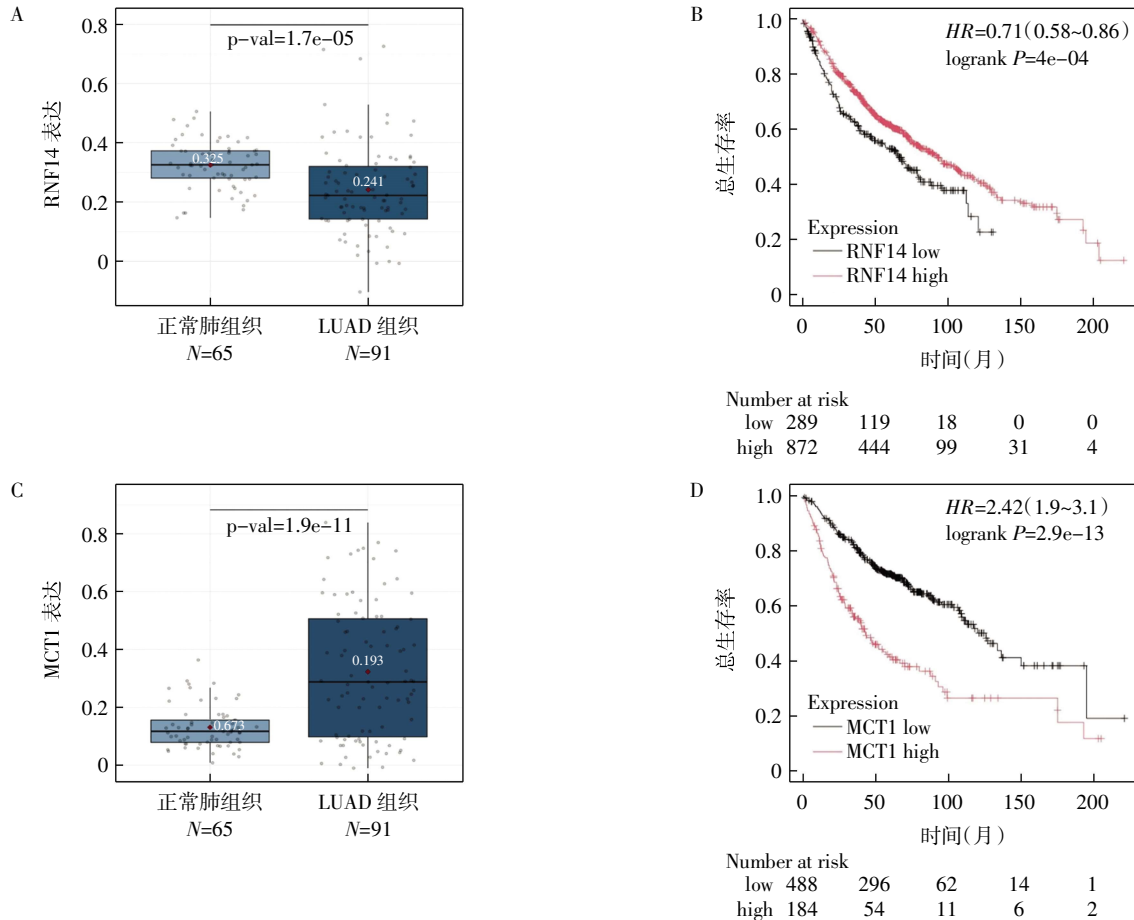
1.2.13 乳酸和葡萄糖测定 将细胞计数 1×10^6 个铺于六孔板中,每种分组铺3个复孔。待细胞密度至80%~90%时,用含10%FBS的无酚红培养基取代原培养基,分别于0、4、8、12和24 h吸取200 μL 细胞培养上清液,之后收集六孔板中的细胞并加入RIPA裂解液测蛋白浓度。将每个时间点的细胞上清液稀释3倍加入测量小杯中,使用自动生化分析仪测定乳酸及葡萄糖含量。乳酸产生及葡萄糖消耗量数值计算:每个时间点乳酸产生量($\mu\text{mol}/\text{mg}$)=(每个时间点的乳酸值-0 h乳酸值)/对应孔的蛋白浓度,每个时间点葡萄糖消耗量($\mu\text{mol}/\text{mg}$)=(0 h葡萄糖量-每个时间点葡萄糖量)/对应孔蛋白浓度。

1.3 统计学处理 采用GraphPad Prism 9.0统计软件进行统计学分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和双因素方差分析(two-way ANOVA)。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RNF14 和 MCT1 在 LUAD 中的表达与患者预后数据库分析显示,RNF14 在 LUAD 组织的表达显著低于癌旁组织($P<0.0001$,图 1A),其高表达与较好

的总生存率显著相关($P<0.0001$,图 1B)。而MCT1 在 LUAD 组织的表达显著高于癌旁组织($P<0.0001$,图 1C),并且 MCT1 高表达的患者总生存率更低($P<0.0001$,图 1D)。



注:RNF14:环指蛋白14;MCT1:单羧酸转运蛋白1;A:RNF14在LUAD组织及癌旁组织中的表达情况;B:Kaplan-Meier Plotter在线数据库分析低表达和高表达RNF14患者的总生存率;C:MCT1在LUAD组织及癌旁组织中的表达情况;D:Kaplan-Meier Plotter在线数据库分析低表达和高表达MCT1患者的总生存率

图1 RNF14和MCT1在LUAD中的表达与患者预后

Fig.1 The expression of RNF14 and MCT1 in LUAD and their association with patient prognosis

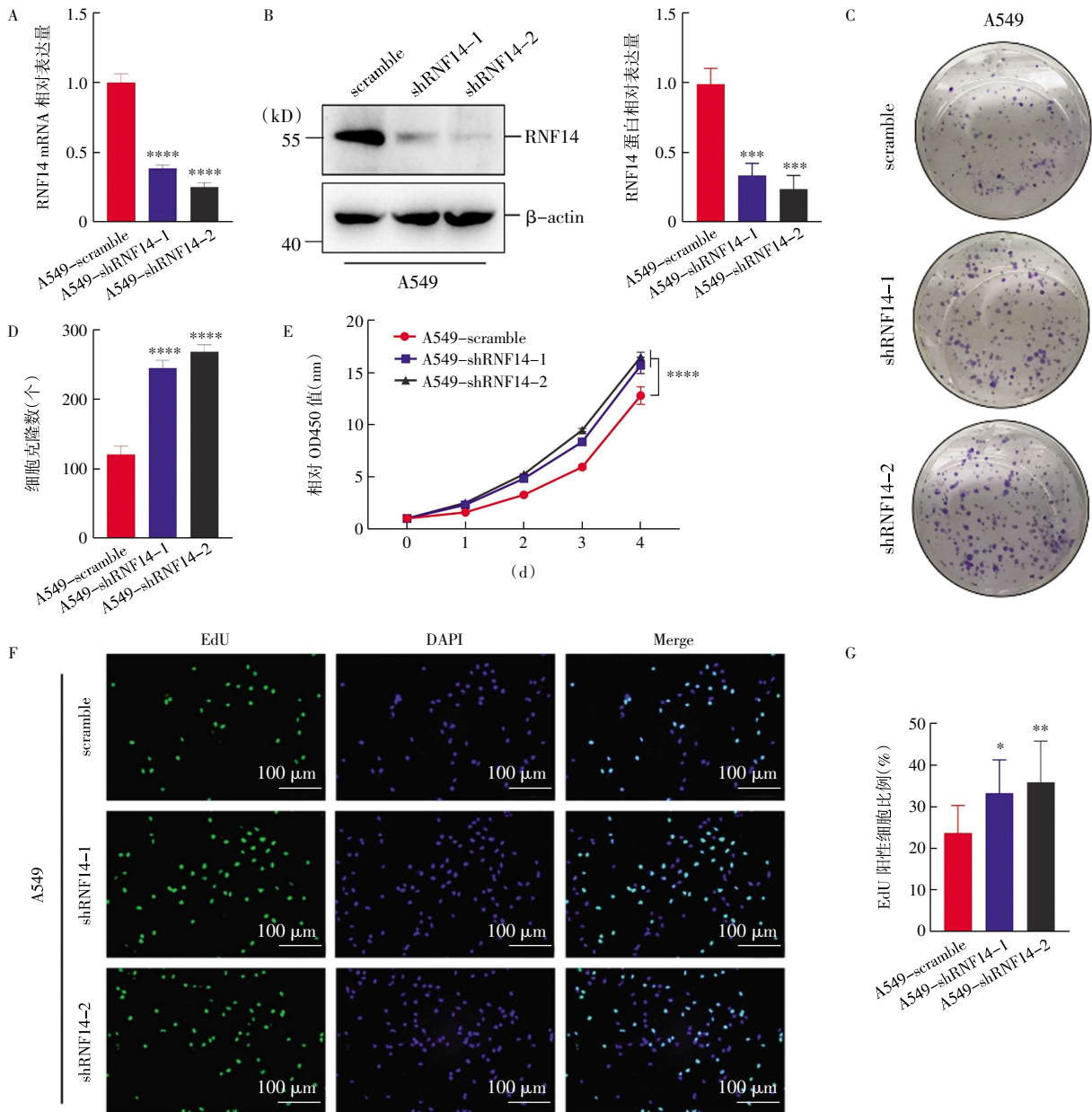
2.2 RNF14 能够抑制 LUAD 细胞的增殖 利用 LUAD 细胞系 A549 构建 RNF14 敲降稳系,通过 qPCR 及 Western 印迹实验检测其敲低效率。结果显示,与对照组相比,敲降组中 RNF14 的 mRNA ($F=260.7, P<0.0001$)及蛋白表达水平 ($F=49.34, P<0.001$)均显著下降(图 2A、2B)。利用敲降稳系进行 CCK-8 和克隆形成实验,结果显示,与对照组相比,RNF14 敲降细胞的增殖活力 ($F=31.27, P<0.0001$)及集落形成能力 ($F=153.5, P<0.0001$)明显增强(图 2C~2E)。同时,EdU 细胞增殖成像分析也得到了相同的结论,RNF14 敲降组中 EdU 阳性细胞所占比例显著高于对照组 ($F=5.481, P<0.05$),见图 2F、2G。

2.3 RNF14 能够减弱 LUAD 细胞的迁移能力 用 RNF14 敲低的细胞系进行了 Transwell 小室细胞迁

移实验,结果显示,在 A549 中敲低 RNF14 后,肿瘤细胞的迁移能力显著提升 ($F=95.52, P<0.0001$),见图 3A、3B。

2.4 RNF14 与 MCT1 相互作用并介导 MCT1 的泛素化 通过使用预先包被有抗 Flag 抗体的琼脂糖珠子对 Flag-MCT1 进行免疫沉淀来检测 RNF14。结果显示,RNF14 存在于拉下来的 Flag-MCT1 珠子结合物中,二者在体外存在相互作用(图 4A)。在过表达 RNF14 的 HEK293T 细胞中进行了体内泛素化测定,结果显示,当过表达 RNF14 后,MCT1 的泛素化水平显著上调(图 4B)。

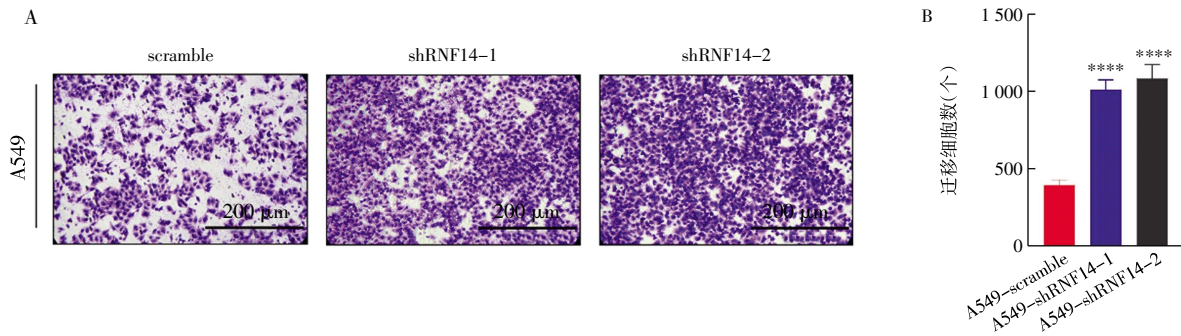
2.5 RNF14 抑制 LUAD 细胞的乳酸外排 通过生化方法检测细胞上清中乳酸及葡萄糖水平,结果显示,敲低 RNF14 后,与对照组相比,上清中的乳酸含



注: scramble: 对照组; shRNF14-1/2: RNF14 敲降组; RNF14: 环指蛋白 14 蛋白; β -actin: 内参蛋白; A: qPCR 检测 RNF14 mRNA 表达水平; B: Western 印迹检测 RNF14 蛋白表达水平; C、D: 克隆形成实验检测细胞克隆数; E: CCK-8 实验检测细胞增殖活力; F、G: EdU 实验检测细胞增殖能力(比例尺: 100 μ m); 与对照组相比 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

图 2 RNF14 抑制 LUAD 细胞的增殖

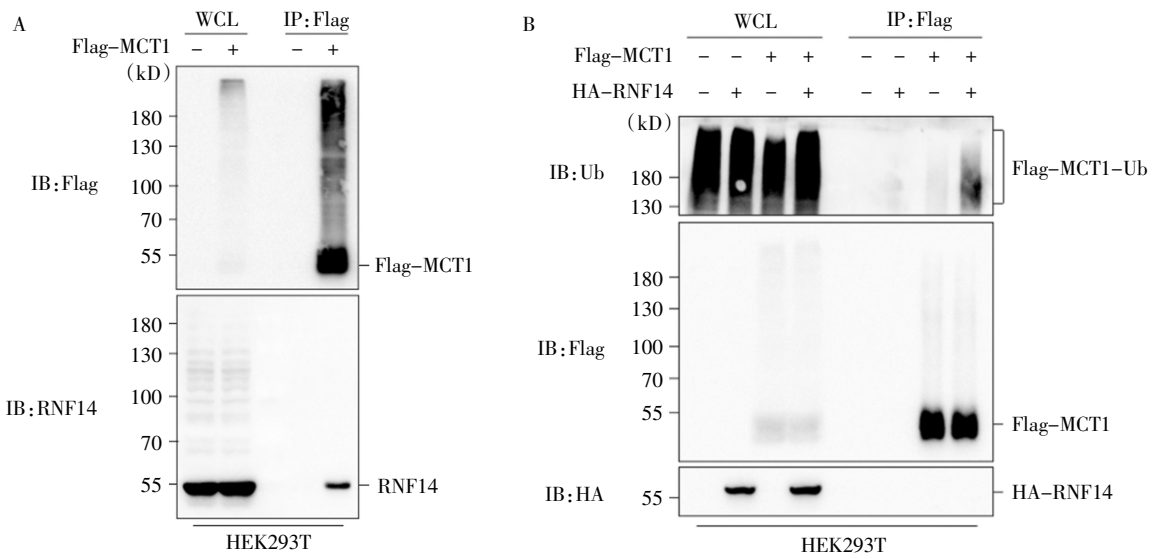
Fig.2 RNF14 suppressed the proliferation of LUAD cells



注: scramble: 对照组; shRNF14-1/2: RNF14 敲降组; A、B: Transwell 小室迁移实验检测细胞的迁移能力(比例尺: 200 μ m); 与对照组相比, **** $P < 0.0001$

图 3 RNF14 减弱 LUAD 细胞的迁移能力

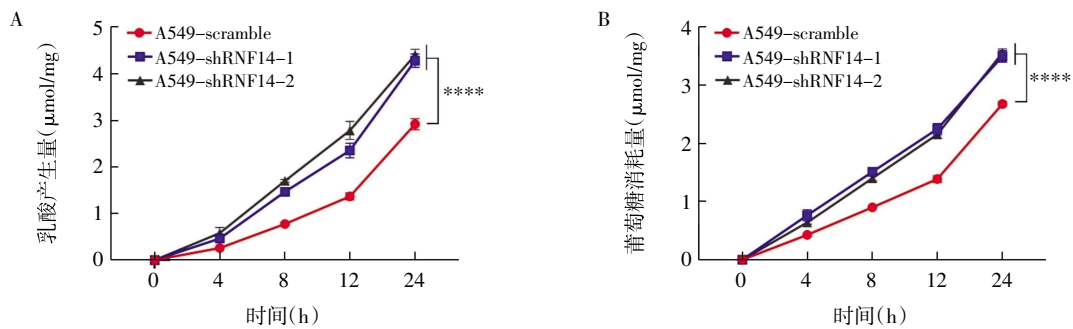
Fig.3 RNF14 suppressed the migratory ability of LUAD cells



注: WCL: 全细胞裂解液; Flag-MCT1: Flag 标签标记的 MCT1 质粒; HA-RNF14: HA 标签标记的 RNF14 质粒; A: HEK293T 细胞中转染图示质粒, 用抗 FLAG 琼脂糖珠进行非变性免疫共沉淀实验后进行 Western 印迹; B: HEK293T 细胞中转染图示质粒, 用抗 FLAG 琼脂糖珠进行变性免疫共沉淀实验后进行 Western 印迹

图 4 RNF14 与 MCT1 相互作用并介导 MCT1 的泛素化

Fig.4 RNF14 interacted with MCT1 and mediated the ubiquitination of MCT1



注: scramble: 对照组; shRNF14-1/2: RNF14 敲降组; A: 检测不同时间点的乳酸产生量; B: 检测不同时间点的葡萄糖消耗量; 与对照组相比, **** $P < 0.0001$

图 5 RNF14 抑制 LUAD 细胞的乳酸外排

Fig.5 RNF14 inhibited lactate efflux in LUAD cells

量显著增加 ($F=40.15, P < 0.0001$), 见图 5A, 葡萄糖含量显著降低 ($F=42.16, P < 0.0001$), 见图 5B。

3 讨论

肺癌是全球范围内发病率和死亡率均位居前列的恶性肿瘤, 严重威胁人类健康。在肺癌众多亚型中, LUAD 占据主导地位, 占有所有肺癌的 40% 以上, 且其发病率呈逐年上升趋势。LUAD 的发病隐匿, 早期症状不明显, 多数患者确诊时已处于中晚期, 错失了最佳手术治疗时机。即便接受综合治疗, 如化疗、放疗、靶向治疗等, 患者的 5 年生存率仍较低, 生活质量严重下降。此外, LUAD 易发生远处转移, 如脑转移、骨转移等, 进一步增加了治疗的难度和患者的痛苦。近年来, 靶向治疗为携带特定基因突变的 LUAD 患者带来了新的希望, 显著延长了患者的生存期, 但耐药问题不可避免。免疫治疗虽取

得了一定的疗效, 但并非对所有患者有效, 且可能引发免疫相关不良反应^[17-19]。因此, 深入了解 LUAD 的发病机制, 寻找新的治疗靶点和策略, 对于提高 LUAD 的治疗效果具有重要意义。

乳酸代谢异常与 LUAD 细胞增殖、侵袭和转移能力密切相关。大量产生的乳酸可以为肿瘤细胞提供额外的能量来源, 支持其快速增殖所需的物质合成和能量消耗^[20-21]。乳酸可以通过调节上皮-间质转化 (EMT) 过程, 激活转化生长因子- β /Smad 等信号通路, 诱导 EMT 相关转录因子如 Snail、Slug 等的表达, 增强肿瘤细胞的侵袭和转移潜能^[22]。而乳酸发挥功能的过程中需要 MCTs 家族进行乳酸转运。MCTs 是溶质载体 16 (SLC16) 的成员, 该基因家族包括 14 个成员, 其中最常报道参与协助肿瘤细胞和基质细胞间代谢转变的是 MCT1 和 MCT4。据报道, 其在多

种肿瘤中过表达,并于不良预后相关^[23-24]。

为此,本课题组通过前期的质谱分析,寻找到可能与 MCT1 存在相互作用的蛋白 RNF14。通过非变性及变性免疫共沉淀实验验证了二者在体外存在相互作用,并且过表达 RNF14 能够使 MCT1 的泛素化水平增强。这提示 MCT1 可能是 RNF14 作为 E3 泛素连接酶而泛素化的底物蛋白,RNF14 很有可能通过泛素化调控 MCT1 的分子功能。RNF14 是一种 AR 结合蛋白,其在细胞内参与了多条重要的信号转导通路,这些通路对于细胞的正常生理功能和病理过程的调控起着关键作用。有研究表明,在结直肠癌中,RNF14 通过调节 β -catenin 的稳定性和核转位,影响下游靶基因的表达,从而促进结直肠癌细胞的增殖和侵袭^[16]。在前列腺癌中,异质核糖核蛋白(hnRNP)A1 被发现与 RNF14 相互作用并抑制 AR 反式激活,导致前列腺癌细胞生长受到抑制^[25]。这些研究成果表明,RNF14 与肿瘤的发生、发展以及患者的预后密切相关。已有研究报道 RNF14 属于 RBR 类 E3 泛素连接酶,其 Ring Finger 结构域赋予了 RNF14 与 E2 泛素结合酶特异性相互作用的能力,是 RNF14 发挥 E3 泛素连接酶活性的核心结构基础^[26]。泛素化是蛋白翻译后修饰的一种,在蛋白降解、细胞周期进展、转录调控、信号转导中发挥重要作用。越来越多的证据表明,泛素-蛋白酶体系在各种疾病的发生和发展中起着重要作用,肿瘤中也常出现泛素化信号失调^[27-28]。RNF14 在不同肿瘤中可能通过调节不同的信号通路和生物学过程,影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移和存活等生物学行为。这提示 RNF14 具有成为多种肿瘤诊断标志物和治疗靶点的潜力,为肿瘤的精准确治提供了新的思路和方向。

在 LUAD 中,目前关于 RNF14 的研究相对较少。课题组通过相关数据库分析发现,RNF14 在 LUAD 中表达较低且高表达 RNF14 的患者预后较好,而 MCT1 的表达与患者的不良预后相关。提示 RNF14 很有可能通过泛素化降解 MCT1 抑制其分子功能而发挥抑癌作用。为此,本研究通过进行克隆形成、CCK-8、EdU、Transwell 等一系列表型功能实验,发现在 LUAD 细胞中敲低 RNF14 能够显著增强其增殖及迁移能力,同时对代谢物乳酸及葡萄糖含量分析发现,敲低 RNF14 后细胞乳酸外排能力增强,葡萄糖消耗增加,提示 RNF14 在 LUAD 中的表达能够改善 LUAD 细胞乳酸代谢状态,从而减缓肿瘤细胞的增殖,抑制其迁移。

综上所述,本研究探讨了 RNF14 在 LUAD 进展

过程中的作用,发现 RNF14 能通过调控 LUAD 乳酸代谢状态而抑制其进展,为临床 LUAD 患者的靶向治疗提供了新思路,而 RNF14 调控 MCT1 分子功能的具体分子机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] HERBST R S, MORGENZTERN D, BOSHOFF C. The biology and management of non-small cell lung cancer [J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 446-454.
- [2] YU S K, YU T, WANG Y M, et al. CCT6A facilitates lung adenocarcinoma progression and glycolysis via STAT1/HK2 axis[J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1):460.
- [3] DENISENKO T V, BUDKEVICH I N, ZHIVOTOVSKY B. Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 117.
- [4] KIM J H, NAM B, CHOI Y J, et al. Enhanced glycolysis supports cell survival in EGFR-mutant lung adenocarcinoma by inhibiting autophagy-mediated EGFR degradation[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(16): 4482-4496.
- [5] KERR E M, MARTINS C P. Metabolic rewiring in mutant Kras lung cancer[J]. *FEBS J*, 2018, 285(1): 28-41.
- [6] WANG K, HUANG W, CHEN R, et al. Di-methylation of CD147-K234 promotes the progression of NSCLC by enhancing lactate export[J]. *Cell Metab*, 2021, 33(1): 160-173.
- [7] IPPOLITO L, MORANDI A, GIANNONI E, et al. Lactate: a metabolic driver in the tumour landscape[J]. *Trends Biochem Sci*, 2019, 44(2): 153-166.
- [8] PÉREZ-TOMÁS R, PÉREZ-GUILLÉN I. Lactate in the tumor microenvironment: an essential molecule in cancer progression and treatment[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(11):3244.
- [9] FELMLEE M A, JONES R S, RODRIGUEZ-CRUZ V, et al. Monocarboxylate transporters (SLC16): function, regulation, and role in health and disease[J]. *Pharmacol Rev*, 2020, 72(2): 466-485.
- [10] PAYEN V L, MINA E, VAN HEE V F, et al. Monocarboxylate transporters in cancer[J]. *Mol Metab*, 2020, 33: 48-66.
- [11] STEWART P A, PARAPATICS K, WELSH E A, et al. A pilot proteogenomic study with data integration identifies MCT1 and GLUT1 as prognostic markers in lung adenocarcinoma[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142162.
- [12] KANG H Y, YEH S, FUJIMOTO N, et al. Cloning and characterization of human prostate coactivator ARA54, a novel protein that associates with the androgen receptor[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(13): 8570-8576.
- [13] ITO K, ADACHI S, IWAKAMI R, et al. N-Terminally extended human ubiquitin-conjugating enzymes (E2s) mediate the ubiquitination of RING-finger proteins, ARA54 and RNF8[J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(9): 2725-2732.
- [14] WANG P, DAI X, JIANG W, et al. RBR E3 ubiquitin ligases in tumorigenesis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 67(Pt 2): 131-144.
- [15] WANG X W, WEI W, WANG W Q, et al. RING finger proteins are involved in the progression of barrett esophagus to esophageal adenocarcinoma: a preliminary study[J]. *Gut Liver*, 2014, 8(5): 487-494.
- [16] WU B, PILOTO S, ZENG W, et al. Ring finger protein 14 is a new

- regulator of TCF/ β -catenin-mediated transcription and colon cancer cell survival[J]. *EMBO Rep*, 2013, 14(4): 347-355.
- [17] SCHABATH M B, COTE M L. Cancer progress and priorities: lung cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019, 28(10): 1563-1579.
- [18] NOORELDEEN R, BACH H. Current and future development in lung cancer diagnosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8661.
- [19] ALEXANDER M, KIM S Y, CHENG H. Update 2020: management of non-small cell lung cancer[J]. *Lung*, 2020, 198(6): 897-907.
- [20] FAUBERT B, LI K Y, CAI L, et al. Lactate metabolism in human lung tumors[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 358-371.
- [21] SHANG S, WANG M Z, XING Z, et al. Lactate regulators contribute to tumor microenvironment and predict prognosis in lung adenocarcinoma[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1024925.
- [22] NIU D, LUO T, WANG H, et al. Lactic acid in tumor invasion[J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 522: 61-69.
- [23] SILVA A, CERQUEIRA M C, ROSA B, et al. Prognostic value of monocarboxylate transporter 1 overexpression in cancer: a systematic review[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5141.
- [24] ZHAO F, WANG Z, LI Z, et al. Identifying a lactic acid metabolism-related gene signature contributes to predicting prognosis, immunotherapy efficacy, and tumor microenvironment of lung adenocarcinoma[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 980508.
- [25] YANG Z, CHANG Y J, MIYAMOTO H, et al. Suppression of androgen receptor transactivation and prostate cancer cell growth by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 via interaction with androgen receptor coregulator ARA54[J]. *Endocrinology*, 2007, 148(3): 1340-1349.
- [26] LIPKOWITZ S, WEISSMAN A M. RINGs of good and evil: RING finger ubiquitin ligases at the crossroads of tumour suppression and oncogenesis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(9): 629-643.
- [27] HAN D, WANG L, JIANG S, et al. The ubiquitin-proteasome system in breast cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2023, 29(8): 599-621.
- [28] HWANG J T, LEE A, KHO C. Ubiquitin and ubiquitin-like proteins in cancer, neurodegenerative disorders, and heart diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 5053.

(2025-02-06 收稿)

(上接第 299 页)

- mins: major factors in the structural organization and function of the nucleus and chromatin[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(7): 832-853.
- [7] ZHAO C L, YU S, WANG S H, et al. Characterization of cluster of differentiation 47 expression and its potential as a therapeutic target in esophageal squamous cell cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 2017-2023.
- [8] GIGANTE, C M, DIBATTISTA M, et al. Lamin B1 is required for mature neuron-specific gene expression during olfactory sensory neuron differentiation[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15098.
- [9] PADIATH Q S, SAIGO H, SCHIFFMANN R, et al. Lamin B1 duplications cause autosomal dominant leukodystrophy[J]. *Nat Genet*, 2006, 38(10): 1114-1123.
- [10] HUA Y, HE Z, ZHANG X. A pan-cancer analysis based on weighted gene co-expression network analysis identifies the biomarker utility of lamin B1 in human tumors[J]. *Cancer Biomarkers*, 2022, 34(1): 23-39.
- [11] VASHISTH M, CHO S, IRIANTO J, et al. Scaling concepts in 'omics: Nuclear lamin-B scales with tumor growth and often predicts poor prognosis, unlike fibrosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(48): e2112940118.
- [12] HOU X, OUYANG J, TANG L, et al. KCN1 promotes proliferation and metastasis of breast cancer cells by activating lactate dehydrogenase A (LDHA) and up-regulating H3K18 lactylation[J]. *PLoS Biol*, 2024, 22(6): e3002666.
- [13] XIA C, DONG X, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants[J]. *Chin Med J* (Engl), 2022, 135(5): 584-590.
- [14] 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.
- [15] MAOMAO C, HE L, DIANQIN S, et al. Current cancer burden in China: epidemiology, etiology, and prevention[J]. *Cancer Biol Med*, 2022, 19(8): 1121-1138.
- [16] YANG Y, XIAO W, LIU R, et al. A lamin family-based signature predicts prognosis and immunotherapy response in hepatocellular carcinoma[J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 4983532.
- [17] TANG D, LUO H, XIE A, et al. Silencing LMNB1 contributes to the suppression of lung adenocarcinoma development[J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 2633-2642.
- [18] YANG Y, GAO L, CHEN J, et al. Lamin B1 is a potential therapeutic target and prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(4): 9211-9231.
- [19] LÄMMERHIRT L, KAPPELMANN-FENZL M, FISCHER S, et al. Knockdown of lamin B1 and the corresponding lamin B receptor leads to changes in heterochromatin state and senescence induction in malignant melanoma[J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2154.
- [20] WEISZ A, ABADI U, MAUSBACH L, et al. Nuclear $\alpha\beta 3$ integrin expression, post translational modifications and regulation in hematological malignancies[J]. *Hematol Oncol*, 2022, 40(1): 72-81.

(2025-01-02 收稿)