

• 论 著 •

谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839 介导 T 细胞效应抑制肺癌细胞中 αKGA、Gln 转化的作用机制^{*}

张启新¹, 周 游², 黄 飞^{1△}

南通市海门区人民医院:1. 胸外科;2. 病理科, 江苏南通 226100

摘要:**目的** 研究谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839(简称 CB-839)介导 T 细胞效应抑制肺癌细胞 α-酮戊二酸(αKGA)、谷氨酰胺(Gln)转化的作用机制。**方法** 10 只 SPF 级健康 SD 裸鼠均建立肺癌动物模型,分为模型组及抑制剂组,模型组裸鼠常规饲养;抑制剂组裸鼠皮下注射 CD-839,测量两种肿瘤体积。人肺癌细胞 A549 购自上海匹拓公司,将肺癌细胞分为 I 组(肺癌细胞常规培养)、II 组(肺癌细胞+0.25 μmol/L 浓度 CB-839)、III 组(肺癌细胞+0.50 μmol/L 浓度 CB-839)、IV 组(肺癌细胞+1.00 μmol/L 浓度 CB-839)。MTT 法测 A549 细胞增殖,流式细胞仪测 A549 细胞凋亡及 CD80、CD86、主要组织相容性复合体 II(MHC II)水平,RT-qPCR 测谷氨酸脱氢酶(GLUD1)mRNA、谷氨酰胺酶(GLS)mRNA 水平,αKGA 试剂盒测 αKGA 水平。**结果** 培养 24、48 及 72 h 时 I 组肺癌 A549 细胞吸光度(A 值)高于 II 组,差异有统计学意义($P<0.05$);培养 24、48 及 72 h 时 IV 组肺癌 A549 细胞 A 值与 III 组比较,明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。I、II、III 及 IV 组肺癌 A549 细胞凋亡率分别为(3.02±0.39)%、(4.72±0.52)%、(7.95±0.84)%及(13.22±1.28)%。与 III 组相比,IV 组肺癌 A549 细胞中 CD80、CD86、MHC II 水平升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。IV 组肺癌 A549 细胞中 αKGA 水平与 III 组比较,明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。GLUD1 mRNA 与 GLS mRNA 呈正相关($r=0.671, P<0.001$),GLUD1 mRNA 与 αKGA 呈正相关($r=0.708, P<0.001$)。GLS mRNA 与 αKGA 呈正相关($r=0.671, P<0.001$)。**结论** CB-839 可能通过介导 T 淋巴效应提高 CD80、CD86、MHC II 水平,抑制 αKGA 及 Gln 相关基因转化,从而降低肺癌细胞活性,促进其凋亡,为今后肺癌的临床治疗及新药研发提供参考依据。

关键词:谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839; T 细胞效应; 肺癌细胞; α-酮戊二酸; 谷氨酰胺

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.05.014 **中图法分类号:**R734.2

文章编号:1673-4130(2023)05-0582-06 **文献标志码:**A

Mechanism of T cell effect mediated by glutaminase inhibitor CB-839 to inhibit αKGA and Gln transformation in lung cancer cells^{*}

ZHANG Qixin¹, ZHOU You², HUANG Fei^{1△}

1. Department of Thoracic Surgery; 2. Department of Pathology, Haimen District People's Hospital, Nantong, Jiangsu 226100, China

Abstract: Objective To study the mechanism of T cell effect mediated by glutaminase inhibitor CB-839 (CB-839 for short) to inhibit the transformation of α-ketoglutaric acid (αKGA) and glutamine (Gln) in lung cancer cells. **Methods** Lung cancer animal models were established in 10 SPF healthy SD nude mice, including model group and inhibitor group. In the inhibitor group, nude mice were injected with CD-839 subcutaneously to measure the volume of two tumors. Human lung cancer cells A549 were purchased from Shanghai pituo company. The lung cancer cells were divided into group I (conventional culture of lung cancer cells), group II (lung cancer cells+CB-839 at a concentration of 0.25 μmol/L), and group III (lung cancer cells+0.50 μmol/L concentration of CB-839), IV group (lung cancer cells+1.00 μmol/L concentration of CB-839). A549 cell proliferation was measured by MTT assay, flow cytometry measures A549 cell apoptosis and CD80, CD86, major histocompatibility complex II (MHC II) levels, RT-qPCR measures glutamate dehydrogenase 1 (GLUD1)mRNA, glutaminase (GLS)mRNA levels, and αKGA kit measures αKGA content. **Results** The absorbance (A value) of A549 cells in group I was higher than that in group II at 24, 48 and 72 h, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The A value of lung cancer A549 cells in group IV was significantly lower than that in group III at 24, 48 and 72 h, and the difference was statistically significant ($P<$

^{*} 基金项目:南通市健康委员会科研项目(QB2019019)。
作者简介:张启新,男,主治医师,主要从事胸部肿瘤研究。△ 通信作者, E-mail:1006466493@qq.com。

0.05)。The apoptosis rates of A549 cells in groups I, II, III and IV were $(3.02 \pm 0.39)\%$, $(4.72 \pm 0.52)\%$, $(7.95 \pm 0.84)\%$ and $(13.22 \pm 1.28)\%$, respectively. Compared with group III, the levels of CD80, CD86 and MHC II in lung cancer A549 cells in group IV were increased, with statistical significance ($P < 0.05$). The α KGA level in A549 cells in group IV was significantly lower than that in group III, with statistical significance ($P < 0.05$). GLUD1 mRNA was positively correlated with GLS mRNA ($r = 0.671, P < 0.001$), and GLUD1 mRNA was positively correlated with α KGA ($r = 0.708, P < 0.001$). GLS mRNA was positively correlated with α KGA ($r = 0.671, P < 0.001$). **Conclusion** CB-839 may increase the levels of CD80, CD86 and MHC II by mediating T lymphoid effect, inhibit α KGA and Gln-related gene transformation, and thus reduce the activity of lung cancer cells and promote their apoptosis, providing reference for future clinical treatment of lung cancer and new drug research and development.

Key words: glutaminase inhibitor CB-839; T cell effect; lung cancer cells; α -ketoglutaric acid; glutamine

肺癌是由于下呼吸道产生病变或腺体组织发生异常所引起的一种重大疾病,其可分为两种病型:中央型,产生于支气管与叶支气管中,常见会引发鳞癌等;周围型,产生在下支气管和肺泡中,常见会引发腺癌^[1]。导致肺癌产生的原因复杂多样,长期吸烟、环境影响、不健康饮食习惯及患有严重的肺部疾病等均可引起肺癌的发生。肺癌患者病情的严重程度与肿瘤发生的部位及大小等联系甚密。肺癌早期存在隐匿性,一般无明显临床特征,中晚期主要临床症状为咳嗽、咯血等。神经系统及骨组织是肺癌细胞最常见的转移部位,且其转移的部位与其临床产生的病症联系密切,此外,肺癌还可转移至肝脏、胃肠道等^[2]。谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839(简称 CB-839)是一种针对癌细胞对谷氨酰胺(Gln)代谢依赖所研究的靶向药物,且已有研究证实,CB-839 对宫颈癌、黑色素瘤均有显著的抗肿瘤作用^[3-4]。调节性 T 细胞在免疫调节中具有重要作用,参与肿瘤的产生及转移。在结肠癌、肝癌等多种肿瘤中均发现高比率的 T 细胞,在肺癌中发现其与癌细胞的侵袭呈正相关^[5-7]。上述研究提示,T 细胞在肿瘤组织中大量聚集导致癌细胞通过免疫逃逸形成肿瘤。Gln 参与细胞生长。报道显示,在肺癌中 Gln 可影响癌细胞的增殖,抑制其水平后可促进癌细胞凋亡^[8]。 α -酮戊二酸(α KGA)作为 Gln 的前体物质,是三羧酸循环的代谢产物,与氨结合生成谷氨酸和 Gln。 α KGA 能有效促进机体氮代谢,可以降低铵

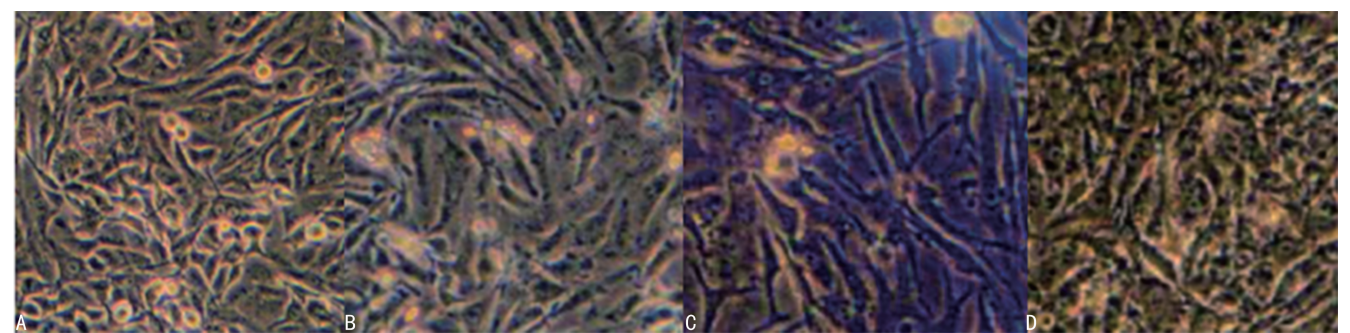
离子对机体的毒性^[9]。目前,关于 CB-839 对肿瘤 T 细胞效应及 Gln 转化机制尚不明确,因此,本文研究 CB-839 介导 T 细胞效应抑制肺癌细胞 α KGA 向 Gln 转化的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验细胞及动物来源 人肺癌细胞 A549 购自上海匹拓公司,10 只 SPF 级健康 SD 裸鼠购自北京亿鸣复兴公司,许可证号:SCXK(京)2020-0311,体重 20~25 g,鼠龄 2~4 周,适应性饲养 1 周后进行实验,饲养环境许可证号:0011277。本次实验已经过本院动物伦理委员会审批(批号:20200227)。

1.2 实验试剂 CB-839(上海阿拉丁公司)、MTT 溶液(南京森贝伽公司)、青霉素(山东康迪公司)、流式细胞仪(邢台瑞联公司)、酶标仪(山东恒美公司)、 α KGA 试剂盒(泉州睿信公司)、链霉素(武汉罗森杰公司)。

1.3 实验分组与肺癌细胞 A549 与 CB-839 共培养 A549 细胞于常规培养箱中培养,待细胞生长至 85% 左右时传代。当细胞传至第 3 代时,收集细胞(5×10^4 个/mL)并接种到 96 孔板中,常规培养。次日,细胞贴壁后,将细胞分为 I、II、III、IV 组。CB-839 浓度参照文献[10]进行,I 组常规培养,II 组给予 0.25 μ mol/L 浓度 CB-839、III 组给予 0.50 μ mol/L 浓度 CB-839、IV 组给予 1.00 μ mol/L 浓度 CB-839。显微镜下观察细胞形态,见图 1。



注:A(I 组肺癌 A549 细胞)细胞贴壁生长,呈梭形或多角形,部分细胞有突起,可见处于不同分裂相的细胞,增殖能力较强,细胞散在分布,体积较大,轮廓较清晰,边缘光滑,细胞质丰富透亮;B(II 组肺癌 A549 细胞)、C(III 组肺癌 A549 细胞)和 D(IV 组肺癌 A549 细胞)细胞可见细胞形态发生明显改变,许多细胞形态回缩变圆、与周围细胞脱离,甚至脱离瓶底,漂浮于培养液中细胞的边缘僵硬,细胞核轮廓欠清,细胞质浑浊,透光性欠佳。

图 1 各组肺癌细胞形态($\times 100$)

1.4 肺癌动物模型建立 将肺癌细胞离心制成细胞悬液(5×10^6)后,接种于裸鼠右腋下,每只裸鼠注射 0.2 mL。待移植瘤生长至肉眼可见后,将成瘤小鼠随机分为模型组、抑制剂组,每组 5 只。模型组裸鼠常规饲养;抑制剂组裸鼠皮下注射 CD-839 20 mg/kg,1 次/天,共 2 周,治疗过程中模型组及抑制剂组均无死亡。

1.5 检测指标

1.5.1 MTT 法检测肺癌 A549 细胞增殖情况 取各组细胞接种于 96 孔板中,设置 6、24、48、72 h 时间点,加入 MTT 溶液,孵育 4 h 后,弃上清液,每孔加入二甲基亚砷 150 μ L,震荡 10 min,使紫色结晶充分溶解,酶标仪检测 450~490 nm 波长处各孔的吸光度(A 值),参比波长为 600~650 nm。以 A 值来反映其增殖情况。

1.5.2 流式细胞仪检测肺癌 A549 细胞凋亡 于 96 孔板中接种各组肺癌 A549 细胞常规培养,24 h 后弃培养液,采用乙二胺四乙酸的胰酶消化细胞,离心 5 min,2 000 r/min,弃去上清液,PBS 清洗,加入 500 μ L 结合缓冲液,10 μ L PI 及 5 μ L AnnexinV-FITC,混匀,无光孵育 5 min,流式细胞仪测细胞凋亡,细胞凋亡率(%)=凋亡细胞计数所有细胞计数 $\times$ 100%。

1.5.3 流式细胞术检测 T 细胞 CD80、CD86、主要组织相容性复合体 II (MHC II) 水平 于 96 孔板中接种各组肺癌 A549 细胞,24 h 收集细胞,PBS 清洗,加入 10%山羊血清 4 $^{\circ}$ C 无光孵育 25 min,PBS 清洗,1:100 比例加入 PE anti-mouseCD80、FITCanti-mouseCD86、PerCP/Cy5. 5anti-mouseI-A/I-E 抗体,4 $^{\circ}$ C 无光孵育 15 min 后,加入 1 mL 流式缓冲液,充分洗涤。500 μ L 流式缓冲液重悬后,流式细胞仪检测,复孔 2 次,实验重复 3 次。

1.5.4 RT-qPCR 检测谷氨酸脱氢酶(GLUD1)、谷氨酰胺酶(GLS)mRNA 水平 取各组肺癌 A549 细胞,25%胰蛋白酶消化后重悬细胞,将细胞悬液防御试管中。Trizol 提取总 RNA,逆转录 cDNA 后进行实验,条件为 42 $^{\circ}$ C 作用 60 min,72 $^{\circ}$ C 作用 5 min,4 $^{\circ}$ C 终点。每个细胞设置 6 个复孔,内参为 β -actin,反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预作用 3 min,95 $^{\circ}$ C 作用 5 s,58 $^{\circ}$ C 退火,

40 个循环,计算方法用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行分析,引物序列见表 1。

1.5.5 α KGA 测定试剂盒检测 α KGA 水平 严格按照试剂盒说明进行操作,取各组肺癌 A549 细胞,离心 20 min 后收集上清液,4 $^{\circ}$ C 密封保存。设置标准孔和样品孔,在样品孔中加入 50 μ L α KGA,除空白孔外,标准样品孔和样品孔加入 100 μ L 辣根过氧化物酶标记的检测抗体,封闭 1 h,祛除封闭液,清洗,无光孵育 15 min,加入 50 μ L 终止液,450 nm 测定 A 值。

1.5.6 检测各组裸鼠瘤重 治疗结束后,处死各组裸鼠,取出瘤体,采用游标卡尺测量瘤体的长径(L)和短径(W),计算肿瘤体积($V=L\times W^2/2$)。

表 1 引物序列

基因	方向	引物序列
GLUD1	正向	5'-ATCGGGTGCATCTGAGAAAG-3'
	反向	5'-CAGGTCCAATCCCACGTTATAC-3'
GLS	正向	5'-CTGGAGGAAAGGTTGCAGATTA-3'
	反向	5'-GAATGCCTCTGTCCATCTACTG-3'
β -actin	正向	5'-CAGGGCGTGATGGTGGGCA-3'
	反向	5'-CAAACATCATCTGGGTCATTCTC-3'

1.6 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据分析,实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,不同时间点多组间比较采用重复测量方差分析,组间比较采用 t 检验,Pearson 相关系数分析 GLUD1 mRNA、GLS mRNA、 α KGA 相关性, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组肺癌 A549 细胞增殖情况比较 培养 6 h 时各组肺癌 A549 细胞 A 值比较,差异无统计学意义($P>0.05$);培养 24、48 及 72 h 时 I 组肺癌 A549 细胞 A 值高于 II 组,差异有统计学意义($P<0.05$);培养 24、48 及 72 h 时 II 组肺癌 A549 细胞 A 值高于 III 组,差异有统计学意义($P<0.05$);培养 24、48 及 72 h 时 IV 组肺癌 A549 细胞 A 值与 III 组比较,明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组肺癌 A549 细胞增殖情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	6 h	24 h	48 h	72 h
I 组	6	0.32 $\pm$ 0.02	0.48 $\pm$ 0.07	0.72 $\pm$ 0.09	0.89 $\pm$ 0.08
II 组	6	0.31 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.05 [*]	0.61 $\pm$ 0.07 [*]	0.65 $\pm$ 0.07 [*]
III 组	6	0.30 $\pm$ 0.04	0.29 $\pm$ 0.02 ^{*#}	0.52 $\pm$ 0.04 ^{*#}	0.51 $\pm$ 0.05 ^{*#}
IV 组	6	0.29 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.01 ^{*#@}	0.33 $\pm$ 0.02 ^{*#@}	0.36 $\pm$ 0.02 ^{*#@}
<i>F</i>		0.889	41.920	43.570	85.790
<i>P</i>		0.464	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 I 组比较,^{*} $P<0.05$;与 II 组比较,[#] $P<0.05$;与 III 组比较,[@] $P<0.05$ 。

2.2 肺癌 A549 细胞凋亡检测结果 I、II、III 及 IV 组肺癌 A549 细胞凋亡率分别为 $(3.02 \pm 0.39)\%$ 、 $(4.72 \pm 0.52)\%$ 、 $(7.95 \pm 0.84)\%$ 及 $(13.22 \pm 1.28)\%$ 。I 组肺癌 A549 细胞凋亡率较 II 组明显降低($t=7.860, P<0.05$)，II 组细胞凋亡率低于 III 组($t=9.240, P<0.05$)，与 III 组相比，IV 组肺癌 A549 细胞凋亡率升高明显($t=8.290, P<0.05$)。

2.3 各组肺癌 A549 细胞中 T 细胞 CD80、CD86、MHC II 水平检测结果 I 组肺癌 A549 细胞中 CD80、CD86、MHC II 水平低于 II 组；II 组肺癌 A549 细胞中 CD80、CD86、MHC II 水平低于 III 组；与 III 组相比，IV 组肺癌 A549 细胞中 CD80、CD86、MHC II 水平升高，差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3、图 2。

表 3 各组肺癌 A549 细胞 CD80、CD86、MHC II 水平对比($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD80(MFI)	CD86(MFI)	MHC II (MFI)
I 组	6	2 874.21±265.34	342.31±33.14	2 945.67±282.31
II 组	6	3 247.31±356.47 [*]	542.44±52.37 [*]	3 425.67±345.31 [*]
III 组	6	4 325.64±411.38 ^{*#}	825.44±87.37 ^{*#}	4 522.45±426.11 ^{*#}
IV 组	6	5 142.63±507.62 ^{*#@}	1 024.31±100.31 ^{*#@}	5 847.62±545.37 ^{*#@}
F		41.05	101.30	58.89
P		<0.001	<0.001	<0.001

注：与 I 组比较，^{*} $P<0.05$ ；与 II 组比较，[#] $P<0.05$ ；与 III 组比较，[@] $P<0.05$ ；MFI 表示平均荧光强度。

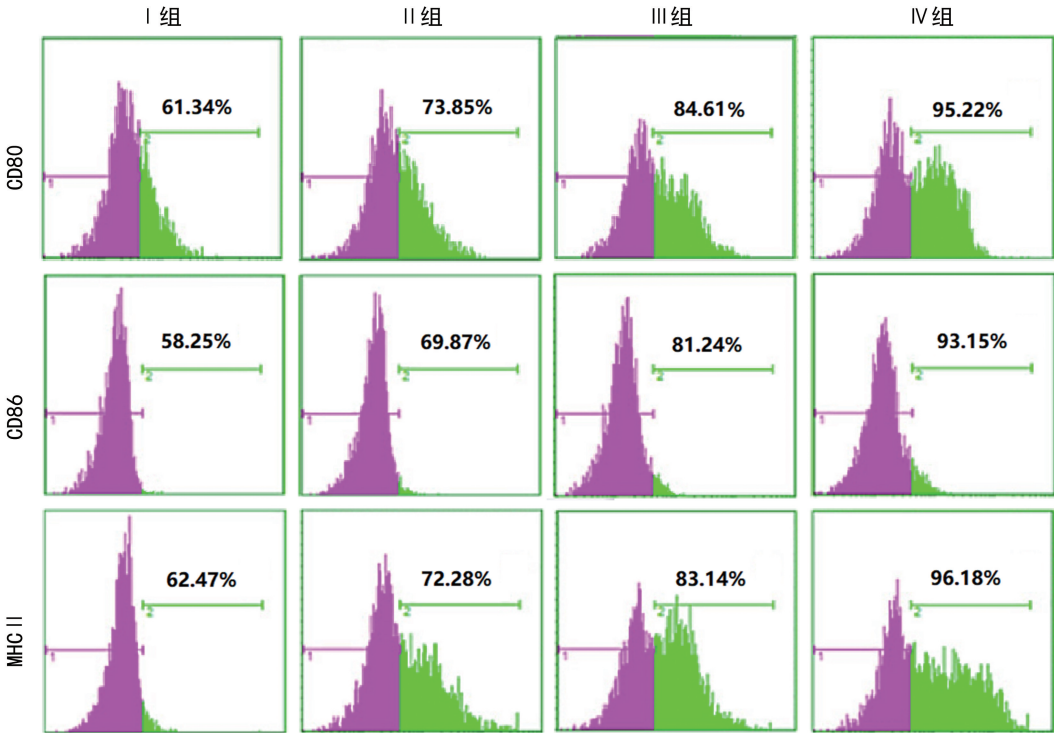


图 2 各组 CD80、CD86、MHC II 水平对比

2.4 各组肺癌 A549 细胞 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 水平检测结果 I 组肺癌 A549 细胞中 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 水平高于 II 组($t_{\text{GLUD1 mRNA}}=2.408, P_{\text{GLUD1 mRNA}}=0.036; t_{\text{GLS mRNA}}=2.930, P_{\text{GLS mRNA}}=0.015$)，II 组 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 水平高于 III 组($t_{\text{GLUD1 mRNA}}=2.341, P_{\text{GLUD1 mRNA}}=0.041; t_{\text{GLS mRNA}}=2.578, P_{\text{GLS mRNA}}=0.027$)，III 组 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 水平高于 IV 组($t_{\text{GLUD1 mRNA}}=3.217, P_{\text{GLUD1 mRNA}}=0.009; t_{\text{GLS mRNA}}=2.408, P_{\text{GLS mRNA}}=0.036$)，见表 4。

2.5 各组肺癌 A549 细胞中 αKGA 水平检测结果

I 组肺癌 A549 细胞中 αKGA 水平(2.43 ± 0.24)高于 II 组(1.62 ± 0.12)；II 组肺癌 A549 细胞中 αKGA 水平高于 III 组(1.31 ± 0.11)；IV 组肺癌 A549 细胞中 αKGA 水平(1.03 ± 0.09)与 III 组比较，明显降低，差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.6 GLUD1 mRNA、GLS mRNA、αKGA 相关性分析 GLUD1 mRNA 与 GLS mRNA 呈正相关($r=0.671, P<0.001$)，GLUD1 mRNA 与 αKGA 呈正相关($r=0.708, P<0.001$)。GLS mRNA 与 αKGA 呈正相关($r=0.671, P<0.001$)。见图 3。

2.7 瘤体体积及质量检测结果 模型组裸鼠瘤体体

积(208.33 ± 14.28)mm³, 瘤体质量(1.42 ± 0.66)g, 均高于抑制剂组裸鼠瘤体体积(110.24 ± 9.37)mm³, 瘤体质量(0.84 ± 0.42)g, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 4。

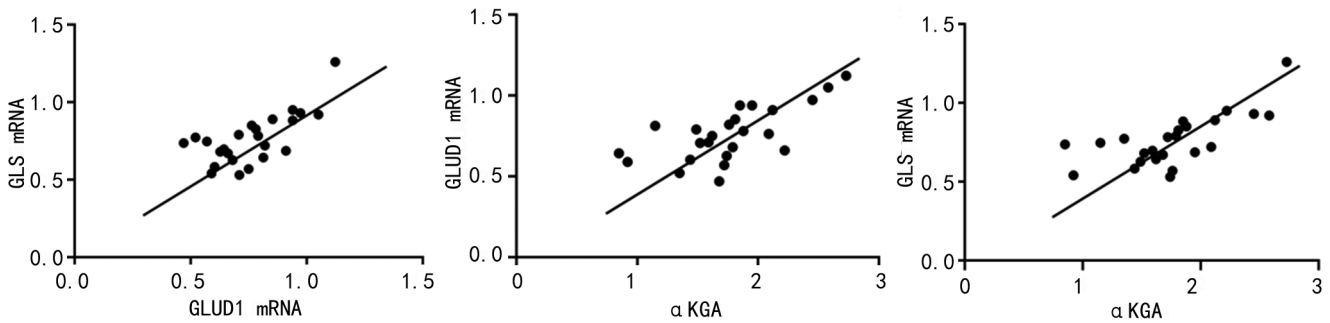


图 3 GLUD1 mRNA、GLS mRNA、αKGA 相关性分析

表 4 各组肺癌 A549 细胞 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 水平对比($\bar{x} \pm s$)			
组别	n	GLUD1 mRNA	GLS mRNA
I 组	6	1.08 ± 0.12	1.03 ± 0.11
II 组	6	$0.92 \pm 0.11^*$	$0.86 \pm 0.09^*$
III 组	6	$0.79 \pm 0.08^{* \#}$	$0.74 \pm 0.07^{* \#}$
IV 组	6	$0.66 \pm 0.05^{* \# @}$	$0.61 \pm 0.07^{* \# @}$
F		21.890	25.550
P		<0.001	<0.001

注:与 I 组比较, * $P < 0.05$;与 II 组比较, # $P < 0.05$;与 III 组比较, @ $P < 0.05$ 。

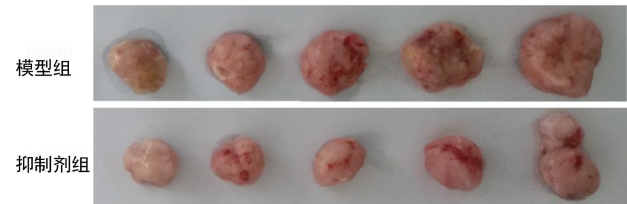


图 4 各组裸鼠瘤体体积对比

3 讨 论

据有关报道统计,在全球范围内,肺癌的发病率及死亡人数逐年增长,且其预后较差,因此,对于肺癌的治疗至关重要^[11]。

靶向恶性肿瘤新陈代谢的治疗是近年热门的研究领域。Gln 的代谢可促进肿瘤发展,因此,抑制其水平发展成为了治疗肿瘤的新方向。在本研究中提出,随着 CB-839 浓度的增加,肺癌细胞的增殖逐渐降低,凋亡逐渐增加,呈现出剂量依赖性,且大鼠实验结果显示 CB-839 可抑制肺癌裸鼠移植瘤瘤体体积。廖英等^[12]在研究谷氨酰胺酶抑制剂的实验中提出,其可抑制肿瘤细胞的增殖。沈伟涛等^[13]对肺癌细胞的实验中提出,CB-839 通过抑制肺癌细胞增殖、促进凋亡,改善病情发展。本研究与文献[12-13]报道结果相似。未成熟树突状细胞常呈现低表达的 MHC II,导致 T 细胞无反应,促进肿瘤的发展。诱导树突状细胞适当活化和调控适应性免疫反应可以清除有害的病原体或肿瘤细胞。在肿瘤微环境中,由于受肿瘤免疫抑制影响,树突状细胞无法通过表达抗原肽复合物和共刺激分子,向毒性 T 淋巴细胞提供抗原活化信号,甚至

进一步促进 Treg 的增殖,抑制 T 细胞杀伤效应,CD80、CD86、MHC II 标志着树突状细胞的成熟^[14]。CB-839 可通过诱导肿瘤氧化反应及能量应激提高免疫功能,发挥抗肿瘤作用。本研究发现,经过 CB-839 干预后肺癌细胞中 CD80、CD86、MHC II 水平升高,且呈现出明显的剂量依赖性。在张雪伟等^[15]对肺癌细胞的实验研究中提出,红景天苷通过提高 CD80、CD86、MHC II 水平,加快树突状细胞的成熟,清除癌细胞,改善病情发展。马国峰^[16]在对肾癌的实验提出,Gln 剥夺后通过调控 T 细胞改善免疫功能,抑制肿瘤生长。本研究与上述研究结果相似,因此本研究认为,CB-839 通过调控 T 细胞,杀伤肺癌细胞,阻滞肿瘤发展。

Gln 可促进血管新生,对肿瘤的转移具有促进作用^[17]。Gln 是癌细胞的营养物,当癌细胞缺氧/线粒体功能障碍,癌细胞依赖 Gln 合成脂质等分子物质。这种由葡萄糖代谢转向 Gln 还原羧基化途径的变化对癌细胞增殖具有重要作用。 α -KGA 是三羧酸循环的代谢产物,在 GLUD1 mRNA 的作用下产生谷氨酸,进一步形成 Gln,通过下列关系式表示: α -KGA + 铵根离子(NH_4^+) + 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸还原态(NADH) $\rightarrow$ 谷氨酸 + 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化态(NAD^+);谷氨酸 + $\text{NH}_4^+ \rightarrow$ Gln + 二磷酸腺苷(ADP) + 磷(Pi)。GLS mRNA 是上述反应的关键酶,在不同物种及组织中均有分布^[18]。已有研究发现,在肝脏中高水平的 α -KGA 可转换为 Gln^[19]。本研究发现,经过 CB-839 干预后,GLUD1 mRNA、GLS mRNA 及 α -KGA 水平降低,且呈现出剂量依赖性,在相关性分析结果中显示 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 及 α -KGA 之间均呈正相关。滕翠芳^[20]在对肺癌细胞的实验中提出, α -KGA 在肺癌中为高表达,经过降低其表达后,可改善癌细胞的糖代谢,减少癌细胞增殖。在俞小凤等^[21]对肺癌细胞的研究中提出,GLUD1 mRNA、GLS mRNA 水平在肺癌中为高表达,降低其表达后,改善糖代谢,抑制癌细胞增殖并促进凋亡。本研究与上述研究结果相似,因此本研究认为,CB-839 通过提高 CD80、CD86、MHC II 水平促进癌细胞凋亡并抑制增殖,从而

使得 GLUD1 mRNA、GLS mRNA 及 α -KGA 水平降低,阻止 Gln 向 α -KGA 转化。

综上所述,CB-839 可能通过介导 T 淋巴效应提高 CD80、CD86、MHC II 水平,抑制 α KGA 及 Gln 相关基因转化,从而降低肺癌细胞活性,促进其凋亡,为今后肺癌的临床治疗及新药研发提供参考依据。

参考文献

[1] ERREN T C, MORFELD P, GLENDE C B, et al. Lung cancer[J]. *Epidemiology*, 2020, 18(4): 521.

[2] SHIJUBOU N, SUMI T, KEIRA Y, et al. Pseudocirrhosis due to liver metastasis from lung adenocarcinoma[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(17): 2407-2410.

[3] 裴亚萍, 苟元凤, 李菲, 等. ENO1 mAb 联合谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839 抗宫颈癌细胞作用[J]. *兰州大学学报(医学版)*, 2022, 48(4): 10-16.

[4] VARGHESE S, PRAMANIK S, WILLIAMS L J, et al. The glutaminase inhibitor CB-839 (telaglenastat) enhances the antimelanoma activity of T-cell-mediated immunotherapies[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(3): 500-511.

[5] LI X, BERAHOVICH R, ZHOU H, et al. PLAP-CAR T cells mediate high specific cytotoxicity against colon cancer cells[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2020, 25(9): 1765-1786.

[6] ZHENG X, JIN W, WANG S, et al. Progression on the roles and mechanisms of tumor-infiltrating T lymphocytes in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Front Immunol*, 2021, 12(1): 729705.

[7] SENDI H, YAZDIMAMAGHANI M, HU M, et al. Nanoparticle delivery of miR-122 inhibits colorectal cancer liver metastasis[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(1): 105-113.

[8] 邢影, 董量, 付浩宇, 等. 谷氨酰胺对肺癌化疗患者营养状况, 化疗不良反应及治疗延迟的影响[J]. *中国临床医生杂志*, 2020, 48(4): 74-77.

[9] 岳东, 解培培, 卢静怡, 等. 固态发酵生产 α -酮戊二酸及其对小鼠生长, 肠道结构和免疫机能的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2020, 41(2): 4-12.

[10] 沈伟涛, 魏婷. 谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839 对耐药小细胞

(上接第 581 页)

[15] TERASHIMA M, ICHIKAWA W, OCHIAI A, et al. TOP2A, GGH, and PECAM1 are associated with hematogenous, lymph node, and peritoneal recurrence in stage II / III gastric cancer patients enrolled in the ACTS-GC study[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(34): 57574-57582.

[16] 袁梅琴, 王增, 王海洋, 等. 血清 PECAM-1 和 IGF-1 水平与晚期胃癌临床病理特征及预后的相关性研究[J]. *中华全科医学*, 2018, 16(7): 1051-1053.

[17] LI Y, ACHARYA G, ELAHY M, et al. The anthelmintic flubendazole blocks human melanoma growth and metastasis and suppresses programmed cell death protein-1 and myeloid-derived suppressor cell accumulation[J]. *Cancer Lett*, 2019, 459(9): 268-276.

肺癌细胞 H69AR 的杀伤作用研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(14): 1641-1644.

[11] PETTIT N, CINBAT M. Retrospective review of patients with lung cancer identified in the emergency department[J]. *Am J Emerg Med*, 2021, 50(1): 394-398.

[12] 廖英, 冀林华, 崔森. 谷氨酰胺酶新型抑制剂及其抗肿瘤活性研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2019, 46(7): 366-369.

[13] 沈伟涛, 魏婷. 谷氨酰胺酶抑制剂 CB-839 对耐药小细胞肺癌细胞 H69AR 的杀伤作用研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(14): 59-62.

[14] ZHENG L, QIN S, SI W, et al. Pan-cancer single-cell landscape of tumor-infiltrating T cells[J]. *Science*, 2021, 374(6574): 6474.

[15] 张雪伟, 张燕丽, 文泽馨, 等. 红景天苷通过 TLR4 调控 DC 提高 T 细胞对肺癌 3LL 细胞的杀伤力[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(1): 37-41.

[16] 马国峰. 肾癌中谷氨酰胺剥夺后通过 EGFR/ERK/C-Jun 通路诱导 PD-L1 的表达[D]. 青岛: 青岛大学, 2019.

[17] LI X, ZHU H, SUN W, et al. Role of glutamine and its metabolite ammonia in crosstalk of cancer-associated fibroblasts and cancer cells[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 479.

[18] SILVA C, ANDRADE N, RODRIGUES I, et al. The proliferative effect of interferon- γ in breast cancer cell lines is dependent on stimulation of ASCT2-mediated glutamine cellular uptake[J]. *Life Sci*, 2021, 286(1): 120054.

[19] HU J, YING H, ZHENG Y, et al. Alanine-glutamine protects against lipopolysaccharide-induced liver injury in mice via alleviating oxidative stress, inhibiting inflammation, and regulating autophagy[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(6): 1070.

[20] 滕翠芳. 肿瘤相关成纤维细胞诱导非小细胞肺癌糖代谢重编程的作用及机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2019.

[21] 俞小凤, 张腾, 黄辰, 等. H_2O_2 对肺腺癌 A549 细胞葡萄糖和谷氨酰胺代谢的影响[J]. *肿瘤*, 2014, 34(4): 324-330.

(收稿日期: 2022-08-01 修回日期: 2023-01-29)

[18] KURIRI F A, BURCHALL G, ALANAZI F, et al. Mice lacking PECAM-1 and Ceacam1 have enhanced platelet secretion and thrombus growth; novel link with PAR4[J]. *Thromb Haemost*, 2022, 122(6): 961-973.

[19] CAO S, WANG Y, LI J, et al. Prognostic implication of the expression level of PECAM-1 in non-small cell lung cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11(3): 587744.

[20] NAGARSHETH N, WICHA M S, ZOU W. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(9): 559-572.

(收稿日期: 2022-04-25 修回日期: 2023-01-16)