

非肌层与肌层浸润性膀胱癌组织中谷氨酰胺代谢依赖性差异比较

孙宁川¹ 梁晔² 孙立江¹ 牛海涛^{1,2}

(青岛大学附属医院, 山东 青岛 266003 1 泌尿外科; 2 青岛市泌尿外科与男科重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨非肌层浸润性膀胱癌(NMIBC)与肌层浸润性膀胱癌(MIBC)谷氨酰胺(Gln)代谢依赖性的差异。**方法** 利用 Oncomine 数据库检索相关 NMIBC 与 MIBC 谷氨酰胺酶(Gls)差异性表达的文献并进行分析。通过免疫组化技术分别检测 NMIBC 和 MIBC 病理组织中 Gls 的表达水平。利用 MTT、免疫印迹、细胞凋亡等实验方法分析比较 Gln 依赖性不同的膀胱癌细胞系 T24、5637 在 Gln 存在或缺乏条件下的 Gls 蛋白表达、细胞增殖以及凋亡水平。**结果** 与 NMIBC 相比,MIBC 组织中 Gls 表达水平更高。Gln 依赖程度不同的肿瘤细胞 T24 和 5637 的 Gls 表达水平不同。针对 Gln 依赖性肿瘤细胞 T24,Gln 的浓度越高,其 Gls 的表达水平越高,细胞增殖越快,凋亡越少。**结论** NMIBC 和 MIBC 存在 Gln 代谢依赖性差异,Gln 缺乏可能通过促进肿瘤细胞凋亡而影响 MIBC 的存活。

[关键词] 膀胱肿瘤;谷氨酰胺;谷氨酰胺酶;细胞增殖;细胞凋亡

[中图分类号] R737.14 **[文献标志码]** A

A COMPARISON OF DEPENDENCE ON GLUTAMINE METABOLISM BETWEEN NON-MUSCLE-AND MUSCLE-INVASIVE BLADDER CANCERS SUN Ningchuan, LIANG Ye, SUN Lijiang, NIU Haitao (Department of Urology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the difference in dependence on glutamine (Gln) metabolism between non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC) and muscle-invasive bladder cancer (MIBC). **Methods** The Oncomine database was searched to analyze the articles on differential expression of glutaminase (Gls) between NMIBC and MIBC. The expression levels of Gls in NMIBC and MIBC tissues were determined by immunohistochemistry. MTT assay, Western Blot, and cell apoptosis assay were used to analyze and compare the expression of Gls protein, cell proliferation, and apoptosis level in bladder cancer cell lines T24 and 5637, which had different degrees of Gln dependence, in the presence or absence of Gln. **Results** The MIBC tissues had higher expression of Gls than NMIBC tissues. Gls expression level was different between T24 and 5637 cells, which had different degrees of Gln dependence. For Gln-dependent T24 cells, higher concentration of Gln was associated with higher expression of Gls, higher cell proliferation rate, and less cell apoptosis. **Conclusion** There is a difference between NMIBC and MIBC regarding dependence on Gln metabolism. Gln deficiency may affect the survival of MIBC by promoting the apoptosis of tumor cells.

[KEY WORDS] Urinary bladder neoplasms; Glutamine; Glutaminase; Cell proliferation; Apoptosis

膀胱癌是泌尿系统常见的肿瘤之一,其发病率近年来逐年上升。根据病理组织中肿瘤浸润深度不同,膀胱癌可分为非肌层浸润性膀胱癌(NMIBC)与肌层浸润性膀胱癌(MIBC)^[1]。与 NMIBC 相比较,MIBC 的恶性程度更高,病人复发转移以及死亡率也更高^[2]。关于肿瘤能量代谢的重编程一直是肿瘤分子生物学的热点^[3]。谷氨酰胺(Gln)作为肿瘤微环境中最丰富的氨基酸,其可通过补充三羧酸循环、维持氧化还原状态、参与免疫应答等途径影响

肿瘤的增殖、存活^[4-6]。抑制 Gln 代谢已被证明可有效抑制肿瘤细胞生长^[7],而根据肿瘤细胞类型的不同,补充 Gln 可诱导或抑制该肿瘤细胞死亡^[8]。作为 Gln 代谢过程中的关键代谢酶,谷氨酰胺酶(Gls)可催化 Gln 产生谷氨酸^[9]。据报道 Gls 的表达水平与肿瘤的恶性程度和细胞的生长速率呈正相关^[10]。目前研究已经证实 Gln 可影响膀胱癌的存活^[11]。但 Gln 对 NMIBC 和 MIBC 是否存在不同的影响尚不清楚。因此本实验主要针对 NMIBC 和 MIBC 是否对 Gln 代谢依赖性存在差异进行探讨,从能量代谢角度为临床治疗 MIBC 提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 对 Oncomine 数据库中有关膀胱癌 Gls 基因表达相关文献的筛选及分析

本研究利用美国 Oncomine microarray 数据库

[收稿日期] 2019-02-22; [修订日期] 2019-03-27
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81772713,81472411,81372752,81401899);山东省泰山学者计划项目(tsqn20161077);山东省自然科学基金资助项目(ZR2014HM088);山东省重点研究发展计划项目(2018GSF118-197);中国博士后科学基金项目(2017M622144)和青岛博士后应用研究项目;青岛青年科学家应用基础研究基金项目(15-9-1-105-jch,15-9-1-51-jch)
[通讯作者] 孙立江,Email:slijiangqd@163.com;牛海涛,Email:niuht0532@126.com

(<http://www.oncomine.org>)筛选有关对膀胱癌基因表达水平的相关文献。设定以下检索条件:①基因:Gls;②肿瘤类型:Bladder Cancer。检索到的结果在 Sanchez-Carbayo Bladder 2、Dyrskjot Bladder 3 和 Modlich Bladder 2 进行队列差异分析。

1.2 膀胱癌病理组织选取和标本制作

选取于青岛大学附属医院泌尿外科 2017 年 6 月—2017 年 12 月诊断为移行尿路上皮癌的膀胱癌病人的标本 25 例,其中 NMIBC 13 例,MIBC 12 例。手术切除的组织样品通过免疫组织化学(IHC)染色后予以甲醛固定、石蜡包埋等处理。

1.3 膀胱癌病理组织 GlS 的 IHC 分析

经由两位病理学专家对所有样本进行独立的病理学复查后,采用兔单克隆抗体(1:3 000, GlS)进行染色标记。最终将阳性细胞评分和染色强度评分乘积作为最终评分^[12],按照 GlS 蛋白的表达水平分为低表达组和高表达组。

1.4 膀胱癌细胞系 T24、5637 细胞培养

将膀胱癌细胞系贴壁细胞 T24(购买于中国科学院细胞库(中国上海))以及膀胱癌细胞系贴壁细胞 5637(购买于中国科学院细胞库(中国上海))于含 2 g/L 葡萄糖(Glu)和 300 mg/L Gln 的 BI 1 640 培养基中常规培养 24 h。随后将培养后的膀胱癌细胞 T24 和 5637 分别加入到含 2 g/L Glu 以及 0、150、300 mg/L 不同 Gln 浓度的 BI 改良的无 Glu 和 Gln 的 Eagle 培养基中继续培养。以上培养液中均添加体积分数为 0.10 牛血清以及 6 g/L 青霉素和 10 g/L 链霉素。细胞在 37 ℃、含体积分数为 0.50 CO₂ 的环境中培养。

1.5 细胞增殖实验

根据 MTT 操作步骤,取对数生长期 T24 细胞,以 5×10^7 个/L 接种于 96 孔板中,边缘用无菌 PBS 溶液填充,将细胞分为 2 组,然后分别加入含 Gln 的培养基(Gln+)以及不含 Gln 的培养基(Gln-),于 0、24、48、72 h 向每孔中加入 MTT 溶液 10 μ L,于 37 ℃孵育 4 h 后加入二甲基亚砷,在酶标仪上 490 nm 波长下检测吸光度(A)值。

1.6 免疫印迹实验

用含有 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟的细胞裂解缓冲液,裂解在不同的 Gln 浓度下培养 72 h 后的膀胱癌 T24 和 5637 细胞。将样品(30 μ g 蛋白质/泳道)在 SDS-PAGE 中电泳并转移到硝酸纤维素膜上。并用 50 g/L 的血清白蛋白封闭膜,随后在 4 ℃下用一抗 GlS(1:1 000, CST)孵育过夜。然后,将膜与

辣根过氧化物酶缀合的山羊抗兔/小鼠 IgG(1:10 000, Abcam)一起温育 2 h。将相同的膜与单克隆 GAPDH 抗体一起温育,然后与辣根过氧化物酶缀合的山羊抗兔 IgG 一起温育。在 Fluorchem Q(蛋白质简单,类型:Alphamager)中可视化蛋白质条带。最后使用 ImageJ 软件(NIH, 美国)分析目的条带的灰度值。

1.7 细胞凋亡分析

将膀胱癌细胞系 T24 细胞以 3×10^5 个/孔的密度预先接种到含有 1 640 培养基的 6 孔板中培养 24 h。然后用 Gln(+), Gln(-)培养液培养 48 h 后,通过凋亡和坏死分析试剂盒(上海碧云天生物技术)进行细胞凋亡检测。实验组和对照组均用冷 PBS 洗涤 3 次,然后收集上清液中黏附于平板上的细胞。在黑暗中用 AnnexinV-FITC 温育 15 min 后,用冷 PBS 再次洗涤细胞 3 次。加入 PI 并立即通过流式细胞术(BD Bioscience, 美国)分析各组的荧光值。

1.8 统计分析

使用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。计量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示;对单因素实验数据,两组间采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析后 LSD-*t* 检验比较每两组之间的差异。对多因素实验数据,先采用双因素方差分析,比较两因素之间的交互作用并分别分析各因素单独效应。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 GlS 在人 NMIBC 及 MIBC 组织中的表达

Sanchez-Carbayo Bladder2(NMIBC 28 例, MIBC 81 例)、Dyrskjot Bladder 3(NMIBC 13 例, MIBC 33 例)、Modlich Bladder 2(NMIBC 6 例, MIBC 3 例)数据集有关对人 NMIBC 和 MIBC 组织中的 GlS 表达谱分析的文献显示,与 NMIBC 样本相比, GlS 在 MIBC 样本中存在过表达(图 1)。进一步采用免疫组化法分析了 25 例膀胱癌病人组织中 GlS 表达水平,结果显示 MIBC 组织中 GlS 染色深度明显高于 NMIBC(图 2)。

2.2 膀胱癌细胞系 T24 以及 5637 Gln 依赖性差异比较

MTT 法实验结果显示,膀胱癌细胞系 T24 在 Gln(-)条件下培养 0、24、48、72 h 后,细胞在 490 nm 波长处的吸光度值分别为 0.378 ± 0.008 、 1.138 ± 0.035 、 1.954 ± 0.054 、 2.443 ± 0.086 。而对照组 Gln

(+)T24 细胞在 490 nm 波长处的吸光度值分别为 0.314 ± 0.006 、 1.543 ± 0.043 、 2.683 ± 0.031 、 4.417 ± 0.071 。两组 T24 细胞增殖水平受到时间和 Gln 交互作用的影响,且两者均对 T24 增殖具有显著的独立效应($F_{交互}=191.182$, $F_{时间}=583.682$, $F_{Gln}=1\,000.141$, $P<0.05$)。在 Gln(-)条件下培养 0、24、48、72 h 后,5637 细胞在 490 nm 波长处的吸光

度值分别为 0.242 ± 0.006 、 0.301 ± 0.015 、 0.475 ± 0.040 、 0.698 ± 0.021 ,而对照组 Gln(+)5637 细胞的吸光度值分别为 0.244 ± 0.008 、 0.314 ± 0.020 、 0.434 ± 0.002 、 0.628 ± 0.010 。方差分析的结果提示时间和 Gln 不存在交互作用,且仅仅时间因素对 5637 细胞增殖具有显著的独立效应($F_{交互}=1.872$, $P>0.1$; $F_{时间}=189.477$, $P<0.05$)。

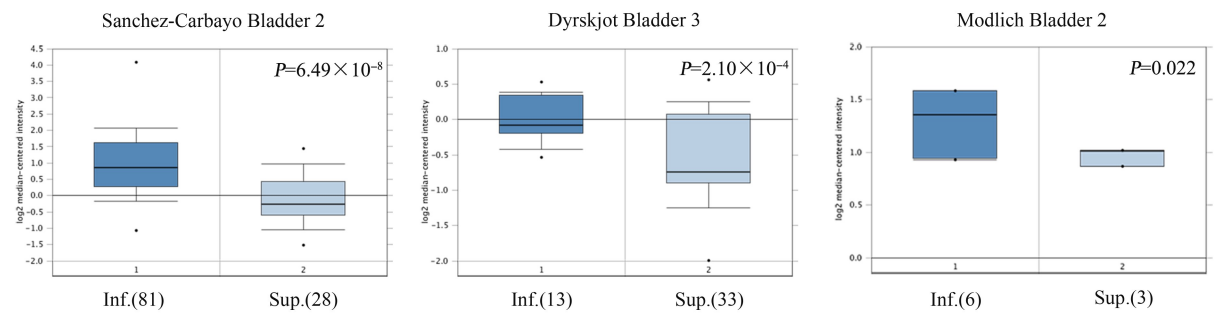
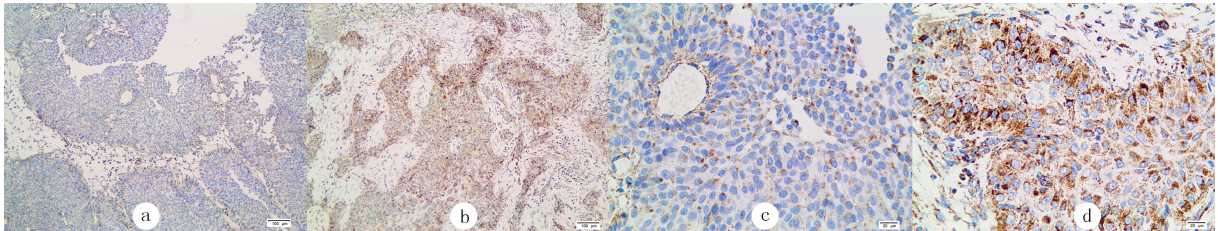


图 1 Oncomine 数据库文献中有关 NMIBC 和 MIBCGIs 表达的分析结果



a:NMIBC,100 倍;b:MIBC,100 倍;c:NMIBC,400 倍;d:MIBC,400 倍;以上均为 GIs 染色。

图 2 NMIBC 和 MIBC 病理组织中 GIs 表达水平

2.3 不同 Gln 浓度下 T24 和 5637 细胞 GIs 表达的差异

免疫印迹实验结果示,同样在 Gln(300 mg/L)条件下培养 72 h 后,T24 细胞 GIs 蛋白表达量明显高于 Gln 非依赖性膀胱癌细胞系 5637($t=14.06$, $P<0.01$)。实验组 300、150 mg/L Gln 组 T24 细胞的 GIs 的表达量与对照组 Gln(-)T24 组比较,差异均具有显著性($F_{组间}=38.831$, $P<0.001$; $P_{300-0}<0.001$, $P_{150-0}<0.01$)。与 T24 细胞相反,实验组 300、150 mg/L Gln 组 5637 细胞的 GIs 的表达量与对照组 Gln(-)组比较,差异并无显著性($P_{300-0}>0.1$, $P_{150-0}>0.05$)(图 3)。

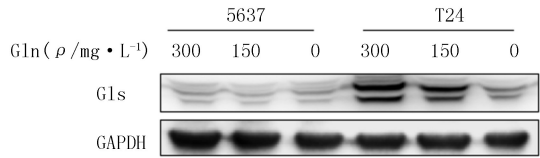


图 3 膀胱癌细胞系 5637、T24 的 GIs 差异性表达

2.4 Gln 缺乏对膀胱癌细胞 T24 的凋亡和存活水平的影响

流式细胞凋亡实验结果显示,培养 48 h 后,实

验组 Gln(+)T24 凋亡及存活比例分别为 $(7.00\pm1.60)\%$ 和 $(92.37\pm1.97)\%$ 。而对照组 Gln(-)T24 细胞凋亡以及存活比例分别为 $(36.59\pm11.03)\%$ 和 $(47.70\pm22.48)\%$ 。两组细胞凋亡以及存活比例比较,差异均具有显著性($t=5.232$ 、 3.573 , $P<0.05$)

3 讨 论

Gln 主要参与肿瘤细胞能量合成、生物合成、抗氧化防御和细胞信号调节等重要生理过程^[4,7]。目前已有相关研究证实,在小细胞肺癌、甲状腺癌、乳腺癌和肝细胞癌等肿瘤中,GIs 的表达水平高于正常组织并明确了 Gln 对其生长的影响^[13-17]。GIs 作为肿瘤细胞 Gln 代谢关键酶,其表达水平代表肿瘤细胞对 Gln 的代谢程度。作为临床上通用的膀胱癌病理分型,NMIBC 和 MIBC 存在 Gln 依赖性差异。本研究通过免疫组化以及 Oncomine 数据库分析比较 NMIBC、MIBC 病理类型下膀胱癌组织中 GIs 的表达情况,证实不同病理类型的膀胱癌组织存在 GIs 表达的差异。即与 NMIBC 相比,MIBC 的 GIs 表达水平明显升高。

为了清楚地表征 Gls 与膀胱癌 Gln 代谢依赖程度的相关性,本研究选取 Gln 依赖性不同的膀胱癌细胞系 T24、5637^[18],并分析比较了在外界环境中 Gln 浓度变化的情况下,两种细胞系 Gls 蛋白水平的表达变化。针对 Gln 依赖性肿瘤细胞 T24,随着环境中 Gln 浓度的增加,Gls 的表达水平增高,细胞的增殖速率增高。与 T24 不同,Gln 非依赖性的膀胱癌细胞 5637 的 Gls 的表达水平以及细胞增殖速率与外界环境 Gln 变化无相关性。综上所述,膀胱癌肿瘤细胞的 Gls 表达水平可反映其自身的 Gln 依赖性以及代谢程度。结合 MIBC 比 NMIBC 的 Gls 的表达水平更高,进一步说明 MIBC 比 NMIBC 具有更强的 Gln 依赖性。

事实上,在任何情况下,细胞外 Gln 水平都会影响癌细胞对不同凋亡诱发因素的易感性。据报道,Gln 缺失使 HeLa 细胞对 Fas(CD95)配体、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和热休克介导的细胞凋亡更加敏感^[19]。除此以外,Gln 缺乏还可以通过增加线粒体 ROS 水平并通过降低谷胱甘肽含量来促进细胞凋亡^[20-22]。目前已被证实,Gln 缺乏可诱导肝癌、杂交瘤、白血病、骨髓瘤和成纤维细胞的凋亡^[23]。因此本研究进一步通过 Gln 缺乏情况下,存在 Gln 依赖性的 T24 细胞的凋亡和存活水平证实,膀胱癌细胞中 Gln 代谢与肿瘤细胞凋亡水平存在相关性。在 Gln 缺乏的情况下,T24 细胞凋亡比例明显增加,存活比例明显降低。目前已经证实,通过抑制 Gln 代谢在诱导细胞凋亡以及抑制肿瘤生长方面是比较有效的^[24]。明确 MIBC 的 Gln 依赖性对于临床治疗相关肿瘤具有指导性意义。Gln 代谢利用增加不仅为膀胱癌细胞的生长和增殖提供能量和底物,而且使 Gln 成为癌症治疗的有力候选者。在肝癌、黑色素瘤和乳腺癌等肿瘤中发现,敲除 Gls 或使用 Gls 抑制剂可显著抑制该肿瘤的生长^[13,17,25]。目前,已开发出几种 Gls 抑制剂,并在临床前模型中显示出抑制肿瘤的活性,包括 968、BPTES 以及 CB-389^[17,26-28]。Gls 作为 Gln 代谢过程的关键酶,研发 Gls 特异性抑制剂是肿瘤代谢治疗的重要潜在靶向治疗方法^[29-34]。

综上所述,膀胱癌病理分型 NMIBC 和 MIBC 表现出不同的 Gln 代谢依赖性,其中 MIBC 的 Gln 代谢依赖性较 NMIBC 更高。与此同时,Gln 可参与膀胱癌细胞的凋亡和存活。该实验仅从生物学特征上研究了 NMIBC 和 MIBC 的 Gln 代谢依赖差异,但其具体的相关调控机制还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] HUMPHREY P A, MOCH H, CUBILLA A L, et al. The 2016 WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs-part B: Prostate and bladder tumours[J]. *Eur Urol*, 2016,70(1):106-119.
- [2] HUMAYUN-ZAKARIA N, ARNOLD R, GOEL A, et al. Tropomyosins: Potential biomarkers for urothelial bladder cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019,20(5):1102.
- [3] SHAN M R, DAI D, VUDEM A, et al. Multi-scale computational study of the Warburg effect, reverse Warburg effect and glutamine addiction in solid tumors[J]. *PLoS Comput Biol*, 2018,14(12):e1006584.
- [4] ZHANG J, PAVLOVA N N, THOMPSON C B. Cancer cell metabolism: The essential role of the nonessential amino acid, glutamine[J]. *EMBO J*, 2017,36(10):1302-1315.
- [5] DAYE D, WELLEN K E. Metabolic reprogramming in cancer: Unraveling the role of glutamine in tumorigenesis[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012,23(4):362-369.
- [6] CRUZAT V, MACEDO ROGERO M, NOEL KEANE K, et al. Glutamine: Metabolism and immune function, supplementation and clinical translation[J]. *Nutrients*, 2018,10(11):1564.
- [7] Rubin H. Deprivation of glutamine in cell culture reveals its potential for treating cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019,116(14):6964-6968.
- [8] FUCHS B C, BODE B P. Stressing out over survival: Glutamine as an apoptotic modulator[J]. *J Surg Res*, 2006,131(1):26-40.
- [9] DEBERARDINIS R J, MANCUSO A, DAIKHIN E, et al. Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007,104(49):19345-19350.
- [10] LORA J, ALONSO F J, SEGURA J A, et al. Antisense glutaminase inhibition decreases glutathione antioxidant capacity and increases apoptosis in Ehrlich ascitic tumour cells[J]. *Eur J Biochem*, 2004,271(21):4298-4306.
- [11] TIAN Y, DU W, CAO S, et al. Systematic analyses of glutamine and glutamate metabolisms across different cancer types[J]. *Chin J Cancer*, 2017,36(1):88.
- [12] ZHOU B, ZHAN H X, TIN L, et al. TUFT1 regulates metastasis of pancreatic cancer through HIF1-Snail pathway induced epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cancer Lett*, 2016,382(1):11-20.
- [13] VAN DEN HEUVEL A P, JING J P, WOOSTER R F, et al. Analysis of glutamine dependency in non-small cell lung cancer: GLS1 splice variant GAC is essential for cancer cell growth[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012,13(12):1185-1194.
- [14] KIM H M, LEE Y K, KOO J S. Expression of glutamine metabolism-related proteins in thyroid cancer[J]. *Oncotarget*, 2016,7(33):53628-53641.

- [15] YU Y, YU X H, FAN C L, et al. Targeting glutaminase-mediated glutamine dependence in papillary thyroid cancer[J]. J Mol Med, 2018,96(8):777-790.
- [16] LAMPA M, ARLT H, HE T, et al. Glutaminase is essential for the growth of triple-negative breast cancer cells with a de-regulated glutamine metabolism pathway and its suppression synergizes with mTOR inhibition[J]. PLoS One, 2017,12(9): e0185092.
- [17] XIANG Y, STINE Z E, XIA J S, et al. Targeted inhibition of tumor-specific glutaminase diminishes cell-autonomous tumorigenesis[J]. J Clin Invest, 2015,125(6):2293-2306.
- [18] LEA M A, ALTAYYAR M, DESBORDES C. Inhibition of growth of bladder cancer cells by 3-(3-pyridinyl)-1-(4-pyridinyl)-2-propen-1-one in combination with other compounds affecting glucose metabolism[J]. Anticancer Res, 2015,35(11): 5889-5899.
- [19] KO Y G, KIM E Y, KIM T, et al. Glutamine-dependent anti-apoptotic interaction of human glutaminyl-tRNA synthetase with apoptosis signal-regulating kinase 1[J]. J Biol Chem, 2001,276(8):6030-6036.
- [20] ROBERT S M, SONTHEIMER H. Glutamate transporters in the biology of malignant gliomas[J]. Cell Mol Life Sci, 2014, 71(10):1839-1854.
- [21] REID M A, WANG W I, ROSALES K R, et al. The B55 α subunit of PP2A drives a p53-dependent metabolic adaptation to glutamine deprivation[J]. Mol Cell, 2013,50(2):200-211.
- [22] WEINBERG F, HAMANAKA R, WHEATON W W, et al. Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010,107(19):8788-8793.
- [23] MATES J M, SEGURA J A, ALONSO F J, et al. Pathways from glutamine to apoptosis[J]. Front Biosci, 2006,11:3164-3180.
- [24] CHEN L, CUI H M. Targeting glutamine induces apoptosis: A cancer therapy approach[J]. Int J Mol Sci, 2015,16(9): 22830-22855.
- [25] GROSS M I, DEMO S D, DENNISON J B, et al. Antitumor activity of the glutaminase inhibitor CB-839 in triple-negative breast cancer[J]. Mol Cancer Ther, 2014,13(4):890-901.
- [26] HERNANDEZ-DAVIES J E, TRAN T Q, REID M A, et al. Vemurafenib resistance reprograms melanoma cells towards glutamine dependence[J]. J Transl Med, 2015,13:210.
- [27] WANG J B, ERICKSON J W, FUJI R, et al. Targeting mitochondrial glutaminase activity inhibits oncogenic transformation[J]. Cancer Cell, 2010,18(3):207-219.
- [28] STALNECKER C A, ULRICH S M, LI Y X, et al. Mechanism by which a recently discovered allosteric inhibitor blocks glutamine metabolism in transformed cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015,112(2):394-399.
- [29] XIANG L S, XIE G F, LIU C, et al. Knock-down of glutaminase 2 expression decreases glutathione, NADH, and sensitizes cervical cancer to ionizing radiation[J]. Biochim Biophys Acta, 2013,1833(12):2996-3005.
- [30] LEE Y Z, YANG C W, CHANG H Y, et al. Discovery of selective inhibitors of Glutaminase-2, which inhibit mTORC1, activate autophagy and inhibit proliferation in cancer cells[J]. Oncotarget, 2014,5(15):6087-6101.
- [31] YE H T K, KUO C C, LEE Y Z, et al. Design, synthesis, and evaluation of Thiazolidine-2, 4-dione Derivatives as a novel class of glutaminase inhibitors[J]. J Med Chem, 2017, 60(13):5599-5612.
- [32] LI J, CSIBI A, YANG S, et al. Synthetic lethality of combined glutaminase and Hsp90 inhibition in mTORC1-driven tumor cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015,112(1):E21-29.
- [33] MASAMHA C P, LAFONTAINE P. Molecular targeting of glutaminase sensitizes ovarian cancer cells to chemotherapy [J]. J Cell Biochem, 2018,119(7):6136-6145.
- [34] FU A, YU Z, SONG Y, ZHANG E. Silencing of glutaminase 1 resensitizes Taxol-resistant breast cancer cells to Taxol[J]. Mol Med Rep, 2015,11(6):4727-4733.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 116 页)

- Long-term outcome of epicardial implantable cardioverter-defibrillator systems in children; results justify its preference in paediatric patients[J]. Europace, 2018,20(9):1484-1490.
- [21] 华伟,丁立刚,郑黎辉,等. 全皮下植入型心律转复除颤器的临床应用一例[J]. 中华心律失常学杂志, 2014,18(6):469-470.
 - [22] 华伟,胡奕然,顾敏. 可穿戴式除颤器的临床应用一例[J]. 中华心律失常学杂志, 2018,22(5):439-440.
 - [23] SILVETTI M S, PAZZANO V, VERTICELLI L, et al. Subcutaneous implantable cardioverter-defibrillator: Is it ready for use in children and young adults? A single-centre study[J]. Europace, 2018,20(12):1966-1973.
 - [24] SPAR D S, BIANCO N R, KNILANS T K, et al. The US experience of the wearable cardioverter-defibrillator in pediatric patients[J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2018, 11(7): e006163.
 - [25] PETERSEN L D D, CHRISTIANSEN M K, PEDERSEN L N, et al. Implantable cardioverter-defibrillator therapy and device-related complications in young patients with inherited cardiomyopathies or channelopathies: A 17-year cohort study[J]. Europace, 2018,20(11):1849-1855.
 - [26] TIMMERS L, VAN HEUVERS WYN F, DE WILDE H, et al. Evaluating current implantable cardioverter defibrillator implantation procedures: Can common complications be minimised[J]? Expert Rev Cardiovasc Ther, 2016,14(5):579-589.
 - [27] DECHERT B E. Behavioural and emotional implications of implantable cardioverter-defibrillators in the young and in athletes[J]. Cardiol Young, 2017,27(S1):S138-S142.

(本文编辑 耿波 厉建强)