

NaAsO₂ 染毒 HaCaT 细胞中丝氨酸合成途径关键酶的表达及其作用

李凤敏, 韩进美, 黄红茜, 王娜, 张爱华, 韩雪

贵州医科大学, 公共卫生与健康学院/环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025



DOI 10.11836/JEOM21514

摘要:

[背景] 丝氨酸合成途径(SSP)关键酶在肿瘤的生长、增殖、侵袭中发挥重要作用,但其在砷致癌中的作用尚不明确。

[目的] 以人永生皮肤角质形成细胞(HaCaT 细胞)和 NaAsO₂ 所致恶性转化 HaCaT(T-HaCaT)细胞为研究对象,观察 NaAsO₂ 染毒对 SSP 关键酶 [如磷酸甘油酸脱氢酶(PHGDH)、磷酸丝氨酸转氨酶 1(PSAT1)和磷酸丝氨酸磷酸酶(PSPH)] 表达及对细胞增殖、迁移能力的影响,探讨 SSP 关键酶在砷致癌中的作用。

[方法] (1)取课题组前期构建的 T-HaCaT 细胞,实验分组为传代对照(0 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)组、T-HaCaT(0.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)组、NCT503(PHGDH 抑制剂,25 μmol·L⁻¹)组、NCT503(25 μmol·L⁻¹) + T-HaCaT(0.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)组。Western blotting 法检测传代对照组和 T-HaCaT 组细胞的 SSP 关键酶蛋白表达水平,CCK8 法和细胞划痕试验分别检测各组细胞的增殖率和迁移率。(2)取生长良好的对数生长期 HaCaT 细胞,以 0、0.625、1.25 和 2.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂ 染毒细胞 0、24、48 和 72 h,检测细胞增殖率和 SSP 关键酶的蛋白表达水平。后续实验给予 HaCaT 细胞 25 μmol·L⁻¹ NCT503 预处理 6 h 后,用 2.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂ 继续染毒 72 h,实验分组为对照(0 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)组、染毒(2.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)组、预处理组(25 μmol·L⁻¹ NCT503)、预处理(25 μmol·L⁻¹ NCT503)+染毒(2.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂)组,检测各组细胞的增殖率。

[结果] T-HaCaT 组细胞中 PHGDH 的蛋白表达水平是传代对照组的 1.60 倍($P < 0.05$),其增殖率(177.51%±14.69%)和迁移率(53.85%±0.94%)高于传代对照组[(100.00%±0.00%)、(24.30%±2.26%)](均 $P < 0.05$)。NCT503 干预后,NCT503+T-HaCaT 组细胞的增殖率(144.97%±8.08%)和迁移率(35.80%±0.99%)较 T-HaCaT 组细胞降低(均 $P < 0.05$)。NaAsO₂ 染毒 72 h 后 HaCaT 细胞的增殖率随染毒浓度的增加而增加($r=0.862, P < 0.05$),与此一致,各染毒组 HaCaT 细胞中 SSP 关键酶的蛋白水平均较对照组表达增加(均 $P < 0.05$)。2.5 μmol·L⁻¹ NaAsO₂ 染毒后的 HaCaT 细胞增殖率随染毒时间的延长而增加($r=0.775, P < 0.05$),与细胞中 PHGDH 蛋白表达水平的变化一致。NCT503 干预后,预处理+染毒组细胞增殖率低于染毒组细胞($P < 0.05$)。

[结论] SSP 关键酶可能在 NaAsO₂ 所致的 T-HaCaT 细胞增殖中扮演重要的角色。

关键词: 磷酸甘油酸脱氢酶;磷酸丝氨酸氨基转移酶;磷酸丝氨酸磷酸酶;亚砷酸钠;HaCaT 细胞;NaAsO₂ 所致的恶性转化 HaCaT 细胞

Expressions and roles of key enzymes in serine synthesis pathway in NaAsO₂-treated HaCaT cells LI Fengmin, HAN Jinmei, HUANG Hongqian, WANG Na, ZHANG Aihua, HAN Xue (School of Public Health/Key Laboratory of Environmental Pollution and Disease Monitoring and Control, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract:

[Background] The key enzymes of serine synthesis pathway (SSP) play an important role in tumor growth, proliferation, and invasion, but their roles in arsenic carcinogenesis are unclear.

[Objective] To observe the effects of NaAsO₂ treatment on the expressions of key enzymes [such as phosphoglycerate dehydrogenase (PHGDH), phosphoserine aminotransferase 1 (PSAT1), and phosphoserine phosphatase (PSPH)] of SSP and on the ability to proliferate and migrate in human immortalized skin keratinocytes (HaCaT) and NaAsO₂-induced malignant transformed HaCaT (T-HaCaT), and to explore the roles of SSP key enzymes in arsenic carcinogenesis.

基金项目

国家自然科学基金项目(U1812403,81302394)

作者简介

李凤敏(1996—),女,硕士生;

E-mail: 2383375818@qq.com

通信作者

韩雪, E-mail: hanxueshiqi@163.com

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-11-01

录用日期 2022-02-17

文章编号 2095-9982(2022)05-0545-05

中图分类号 R11

文献标志码 A

引用

李凤敏, 韩进美, 黄红茜, 等. NaAsO₂ 染毒 HaCaT 细胞中丝氨酸合成途径关键酶的表达及其作用 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(5): 545-549.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21514

Funding

This study was funded.

Correspondence to

Han Xue, E-mail: hanxueshiqi@163.com

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2021-11-01

Accepted 2022-02-17

To cite

LI Fengmin, HAN Jinmei, HUANG Hongqian, et al. Expressions and roles of key enzymes in serine synthesis pathway in NaAsO₂-treated HaCaT cells[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(5): 545-549.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21514

[Methods] (1) The T-HaCaT cells constructed earlier by our research team were divided into a passage control ($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂) group, a T-HaCaT ($0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂) group, a NCT503 (PHGDH inhibitor, $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) group, and a NCT503 ($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + T-HaCaT ($0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂) group. Western blotting was used to detect the protein expression levels of SSP key enzymes in the passage control group and the T-HaCaT group. CCK8 assay and cell scratch test were used to detect the proliferation and migration rates of cells in each group respectively. (2) Well-grown logarithmic-phase HaCaT cells were treated with 0, 0.625, 1.25, and $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ for 0, 24, 48, and 72 h to detect cell proliferation rate and protein expression levels of SSP key enzymes. In the subsequent experiment, HaCaT cells were pretreated with $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCT503 for 6 h, and then treated with $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ for 72 h continuously. The experimental groups included a control ($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂) group, an exposure ($2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂) group, a pretreatment ($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCT503) group, and a pretreatment ($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCT503) + exposure ($2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂) group, to detect the proliferation rate of cells in each group.

[Results] The protein expression level of PHGDH in the T-HaCaT group were 1.60 times higher than that in the passage control group ($P < 0.05$), and its proliferation rate ($177.51\% \pm 14.69\%$) and migration rate ($53.85\% \pm 0.94\%$) were also higher than the passage control group's ($100.00\% \pm 0.00\%$ and $24.30\% \pm 2.26\%$) (both $P_s < 0.05$), respectively. After the NCT503 intervention, the proliferation rate ($144.97\% \pm 8.08\%$) and migration rate ($35.80\% \pm 0.99\%$) of cells in the NCT503 + T-HaCaT group were lower than those in the T-HaCaT group (both $P < 0.05$). The proliferation rate of HaCaT cells after NaAsO₂ exposure for 72 h increased with the increase of exposure concentration ($r = 0.862$, $P < 0.05$), and consistently, the protein levels of SSP key enzymes in HaCaT cells in each exposure group were higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The proliferation rate of HaCaT cells treated with $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ increased with the extension of exposure time ($r = 0.775$, $P < 0.05$), which was consistent with the changes of PHGDH levels in cells. After the NCT503 intervention, the proliferation rate of the pretreatment + exposure group was significantly lower than that of the exposure group ($P < 0.05$).

[Conclusion] The key enzymes of SSP may play an important role in the proliferation of T-HaCaT cells induced by NaAsO₂.

Keywords: phosphoglycerate dehydrogenase; phosphoserine aminotransferase; phosphoserine phosphatase; sodium arsenite; HaCaT; NaAsO₂-induced malignantly transformed HaCaT

无机砷是严重危害人类健康的环境毒物,国际癌症研究机构将其列为 I 类致癌物^[1],其致癌机制复杂多样,已发现有染色体畸变、表观遗传修饰、氧化应激和 DNA 损伤等致癌模式^[2-3]。然而,砷致癌的潜在机制尚不完全清楚。

代谢变化已被认为是癌细胞的主要标志之一^[4]。癌细胞经历特定的代谢重编程以维持细胞生长和增殖。除了大量的能量需求外,癌细胞还积累构建新细胞成分的基石,包括核酸、蛋白质和脂质,以及维持细胞氧化还原状态的重要辅助因子。在合成代谢途径中,丝氨酸合成途径(serine synthetic pathway, SSP)是葡萄糖转化的关键转折点^[5],糖酵解中间产物 3-磷酸甘油酸通过三步酶促反应转化为丝氨酸。SSP 关键酶如磷酸甘油酸脱氢酶(phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH)、磷酸丝氨酸转氨酶 1(phosphoserine aminotransferase 1, PSAT1)和磷酸丝氨酸磷酸酶(phosphoserine phosphatase, PSPH)在多种癌症中过度表达,并在癌细胞恶性特性的获得和增殖中起关键作用。

代谢重编程为砷的致癌机制提供了新的线索,多项实验研究表明砷暴露会导致葡萄糖、脂质和氨基酸代谢发生变化,并被认为是有助于恶性细胞转化和肿瘤发展(包括侵袭和转移)^[6],但砷暴露与 SSP 间的关系还未得以充分阐明。本研究以人永生化皮肤角质形成

细胞(HaCaT 细胞)和课题组前期构建的 NaAsO₂ 所致恶性转化 HaCaT 细胞(T-HaCaT)为研究对象,观察 SSP 关键酶在 T-HaCaT 细胞中的表达情况和干预后对细胞增殖、迁移率的影响,以及 SSP 关键酶在 NaAsO₂ 染毒的 HaCaT 细胞中的表达情况和干预后对细胞增殖率的影响,探讨代谢变化与砷致癌作用间的关联。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

主要试剂:亚砷酸钠(NaAsO₂,美国 Sigma)、RPMI-1640 培养基、胎牛血清(美国 Gibco),CCK-8 细胞增殖毒性检测试剂盒(日本 Dojindo),BCA 蛋白定量试剂盒(中国碧云天生物技术公司),兔抗 β -actin、PHGDH、PSAT1 和 PSPH 抗体(美国 Proteintech),PHGDH 抑制剂 NCT503(美国 MCE)。

主要仪器:超净工作台(中国苏州佳宝净化工程设备有限公司),CO₂ 细胞培养箱(日本 Sanyo),倒置荧光显微镜(日本 Nikon),酶标仪(美国 Thermo),电泳仪、电转槽和凝胶成像系统(美国 Bio-Rad)。

1.2 细胞培养及染毒

T-HaCaT 细胞由课题组前期构建,详见参考文献[7],在 5%(体积分数) CO₂、37 °C 条件下培养于含 10%(体积分数)胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基中,待细胞贴壁并恢复形态后,实验分组设为传代对照

($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)组、T-HaCaT($0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)组、NCT503(PHGDH 抑制剂^[8], $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)组、NCT503($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)+T-HaCaT($0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)组。HaCaT 细胞从武汉大学中国典型培养物保藏中心购得, 常规培养至细胞贴壁并恢复形态后, 换用含 0、0.625、1.25 和 $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2 的 RPMI-1640 完全培养基继续培养 0、24、48 和 72 h。后续干预实验使用 NCT503($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)预处理细胞 6 h 后, 换用含 $2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2 的 RPMI-1640 完全培养基继续培养 72 h, 实验分组为对照($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)组、染毒($2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)组、预处理($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCT503)组、预处理($25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCT503)+染毒($2.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)组。

1.3 CCK-8 法检测细胞增殖

制备细胞悬液, 将细胞以 8×10^3 个·孔⁻¹ 接种于 96 孔板, 在 5%(体积分数) CO_2 、 37°C 细胞培养箱中培养, 待细胞贴壁后, 分别给予不同浓度 NaAsO_2 染毒不同时间, 或给予 NCT503 处理, 见前文“1.2 细胞培养及染毒”, 每组设 3 个平行样。染毒或干预结束后每孔更换新鲜培养液 100 μL 后, 避光加入 10 μL CCK-8 溶液, 在细胞培养箱中继续孵育 2 h。酶标仪检测 450 nm 处的光密度(D)值并计算细胞增殖率, $V_{\text{细胞增殖率}} = [(D_{\text{染毒}} - D_{\text{空白}}) / (D_{\text{对照}} - D_{\text{空白}})] \times 100\%$ 。

1.4 细胞划痕试验测定细胞迁移愈合能力

细胞以 5×10^5 个·孔⁻¹ 接种于 6 孔板, 细胞生长至 90%以上融合时用 200 μL 枪头划痕, 加入无血清培养基培养。在 0 和 24 h 分别观察拍照, 以 Image J 1.52 a 软件对划痕宽度进行分析, 计算细胞迁移率, $V_{\text{细胞迁移率}} = (V_{0\text{h}} \text{ 划痕宽度} - V_{24\text{h}} \text{ 划痕宽度}) / V_{0\text{h}} \text{ 划痕宽度} \times 100\%$, 每组设 3 个复孔。

1.5 Western blotting 测定蛋白表达

用 RIPA 裂解液提取细胞蛋白, BCA 蛋白定量试剂盒进行定量, 取 10 μg 蛋白上样, 100 V 电泳 100 min, 300 mA 转膜 60 min, 5%(质量分数)脱脂奶粉封闭 2 h, 用 β -actin 抗体(1:8000)、PHGDH 抗体(1:2000)、PSPH 抗体(1:1000)、PSAT1 抗体(1:2000)在 4°C 孵育过夜后, 山羊抗兔抗体(1:10000)常温孵育 1 h, 在凝胶成像系统中显影, 以 Image J 1.52a 软件进行行 PHGDH、PSAT1 和 PSPH 蛋白灰度分析。

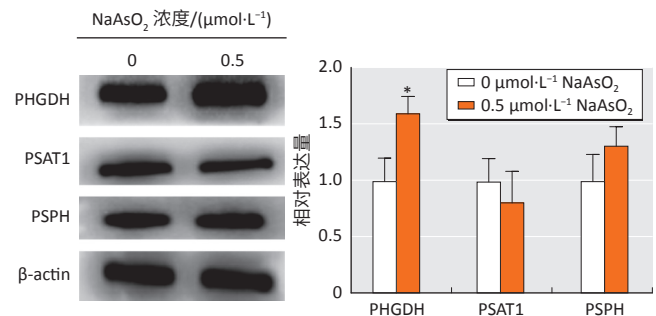
1.6 统计学分析

用 SPSS 26.0 软件作数据统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, 用 Graphpad prism 8.0.1 软件作统计图。两独立样本间比较采用 t 检验; 多组间比较采用 one-way ANOVA 分析, 进一步两两比较采用最小显著差异法, 两组变量之间的线性相关程度用 Pearson 相关分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 T-HaCaT 细胞中 SSP 关键酶蛋白表达

T-HaCaT 组细胞中 PHGDH 的蛋白表达水平是传代对照组的 1.60 倍($t=4.30, P<0.05$), 而 PSPH、PSAT1 蛋白表达水平较传代对照组比较差异无统计学意义, 见图 1。

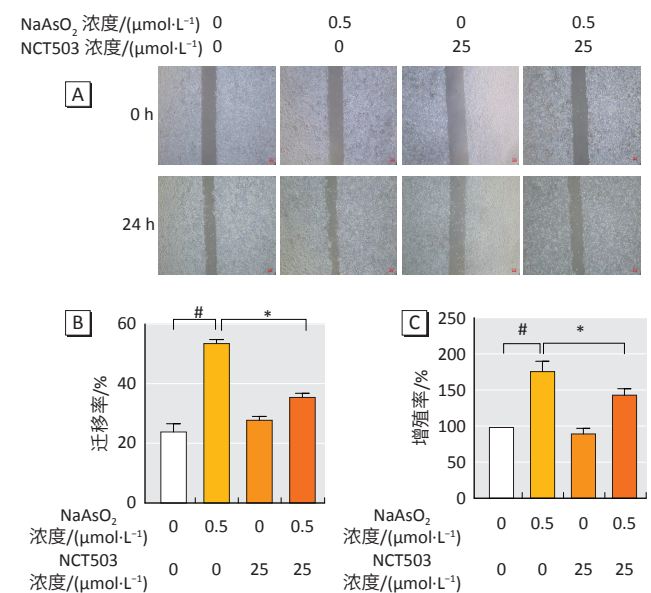


[注]: 与传代对照组($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)比较, $P<0.05$ 。

图 1 T-HaCaT 细胞中 SSP 关键酶的蛋白表达水平
Figure 1 Protein expression levels of SSP key enzymes in T-HaCaT cells

2.2 NCT503 干预对 T-HaCaT 细胞增殖和迁移能力的影响

T-HaCaT 组细胞的增殖率($177.51\% \pm 14.69\%$)、迁移率($53.85\% \pm 0.94\%$)分别高于传代对照组细胞[($100.00\% \pm 0.00\%$)、($24.30\% \pm 2.26\%$)]($t=14.50, 36.74$, 均 $P<0.05$); 而 NCT503 干预后, NCT503+T-HaCaT 组细胞的增殖率($144.97\% \pm 8.08\%$)和迁移率($35.80\% \pm 0.99\%$)较 T-HaCaT 组细胞降低($t=6.09, 22.44$, 均 $P<0.05$), 见图 2。

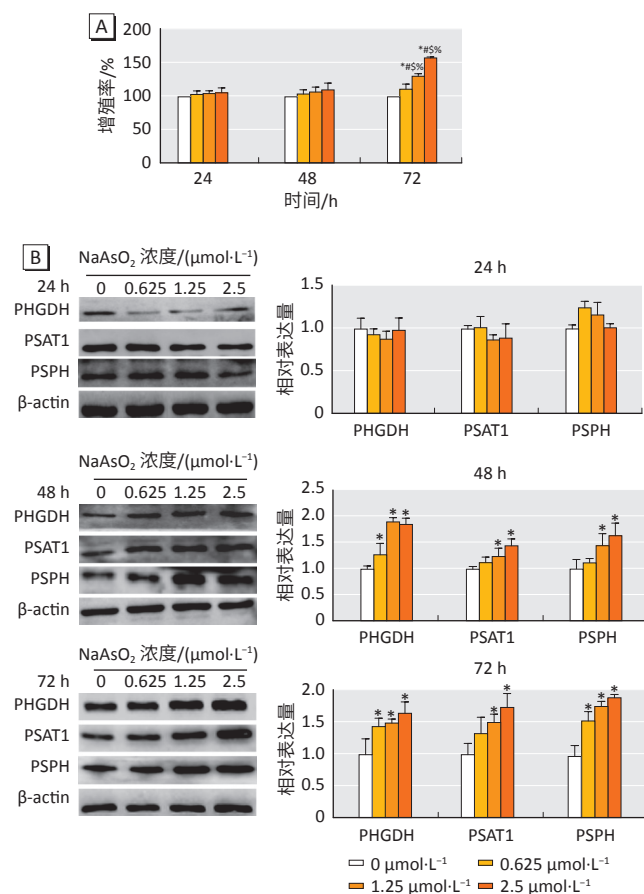


[注] A: 细胞划痕愈合图片($\times 40$); B: 细胞划痕愈合柱状图; C: 细胞增殖柱状图; #: 与传代对照组($0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)比较, $P<0.05$ 。*: 与 T-HaCaT 组($0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO_2)比较, $P<0.05$ 。

图 2 NCT503 干预后对 T-HaCaT 细胞增殖和迁移能力的影响
Figure 2 Effects of NCT503 intervention on the migration and proliferation of T-HaCaT cells

2.3 NaAsO₂ 染毒对 HaCaT 细胞增殖和 SSP 关键酶蛋白表达水平的影响

NaAsO₂ 染毒 HaCaT 细胞 72 h 后细胞增殖率随染毒浓度的增加而增加($r=0.862$, $P<0.05$), 见图 3A。与此一致, 各染毒组 HaCaT 细胞中 SSP 关键酶的蛋白水平均较对照组表达增加(均 $P<0.05$)(图 3B)。2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ 染毒后的 HaCaT 细胞增殖率随染毒时间的延长而增加($r=0.775$, $P<0.05$)(图 4A), 与细胞中 PHGDH 的蛋白表达水平的变化一致(图 4B)。



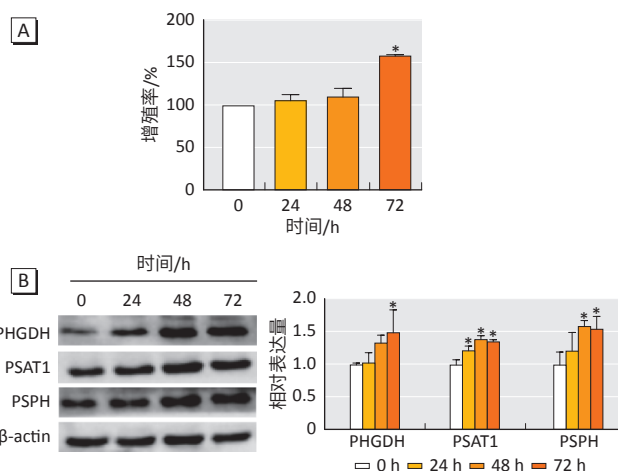
[注] 图 A 中, *: 与 24 h 的相同染毒剂量比较, $P<0.05$ 。#、&、\$: 分别与相同染毒时间的 0、0.625、2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 组比较, $P<0.05$ 。图 B 中, *: 与对照组(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)比较, $P<0.05$ 。

图 3 不同浓度 NaAsO₂ 染毒对 HaCaT 细胞增殖(A)及 SSP 关键酶(B)蛋白表达水平的影响

Figure 3 Effects of different-concentration NaAsO₂ treatments on HaCaT cell proliferation (A) and protein expression levels of key enzymes in SSP (B)

2.4 NCT503 干预对 NaAsO₂ 处理 HaCaT 细胞增殖的影响

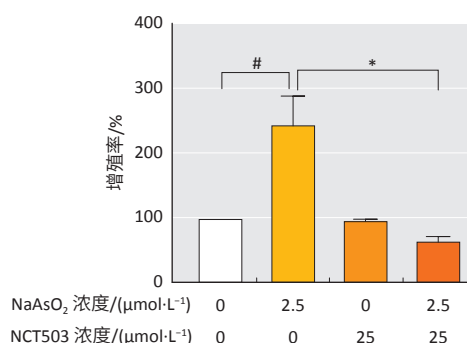
用 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NCT503 预处理 HaCaT 细胞 6 h, 换为 2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ 继续染毒 72 h 后发现: 预处理+染毒组细胞的增殖率低于染毒组细胞($t=10.15$, $P<0.05$), 见图 5。



[注] *: 与 0 h 比较, $P<0.05$ 。

图 4 2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ 染毒对 HaCaT 细胞增殖(A)及 SSP 关键酶(B)蛋白表达水平的影响

Figure 4 Effects of 2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaAsO₂ treatment on HaCaT cell proliferation (A) and protein expression levels of key enzymes in SSP (B)



[注] #: 与对照组(0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)比较, $P<0.05$ 。*: 与染毒组(2.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)比较, $P<0.05$ 。

图 5 NCT503 干预对 NaAsO₂ 染毒 HaCaT 细胞增殖率的影响
Figure 5 Effect of NCT503 intervention on proliferation of HaCaT cells exposed to NaAsO₂

3 讨论

丝氨酸代谢重编程是肿瘤代谢的主要特征之一^[9]。丝氨酸为人体必需氨基酸之一, 可作为原料合成核酸、蛋白质、脂质等生物大分子, 此外, 丝氨酸还是细胞内一碳单位的主要来源, 通过叶酸循环和甲硫氨酸循环为细胞内甲基化反应提供甲基供体。细胞内丝氨酸可通过细胞外环境输入或 SSP 来合成, SSP 的反应由 PHGDH、PSAT1 和 PSPH 催化。

据报道 PHGDH 在黑色素瘤^[10]和三阴性乳腺癌^[11]中表现出基因拷贝数增加。同样, 在预后较差的肺癌患者亚组中发现了高表达水平的 PHGDH^[12]。PHGDH 抑制可减少体内神经内分泌前列腺癌的肿瘤生长和分化^[13]。在对人胰腺癌细胞系 BxPC-3 和 SW1990 的研究中发现, 敲除 PHGDH 可下调 cyclinB1、cyclinD2、MMP-2

和 MMP-9 的表达,抑制细胞增殖、迁移和侵袭能力^[14],Jing 等^[15]亦发现敲除 *PHGDH* 可以通过调节 Bcl-2 和 caspase-3 抑制宫颈腺癌细胞增殖并增强顺铂敏感性。此外,PHGDH 不仅能够通过提供丝氨酸促进细胞增殖,还具有其他促进细胞增殖的优势。例如,培养基中添加过量的丝氨酸,无法促进 *PHGDH* 敲低的 PANC-1 细胞的细胞增殖;抑制人乳腺癌细胞中的 *PHGDH* 表达,会导致细胞增殖的强烈减少,向培养基中添加过量丝氨酸不能恢复其增殖^[16]。所有这些研究表明,PHGDH 对肿瘤细胞的增殖和存活具有非常重要的作用。此外,磷酸丝氨酸氨基转移酶作为 SSP 的第二步关键酶,在结肠癌^[17]和食管鳞状细胞癌^[18]中过度表达,促进细胞增殖、迁移和化疗耐药,导致预后不良。磷酸丝氨酸磷酸酶作为 SSP 的第三步关键酶,能够抑制肝癌细胞凋亡^[19],促进结直肠癌^[20]的增殖、迁移和侵袭能力。本研究发现 NaAsO₂ 所致的 T-HaCaT 细胞中 *PHGDH* 表达升高,细胞的增殖和迁移能力增加,而 NCT503 处理后,细胞的增殖和迁移能力下降。上述结果提示砷诱导的 T-HaCaT 细胞能够通过调节 *PHGDH* 的表达获得生存优势。

除了协调促进生长的代谢表型之外,已有证据还表明,当 *PHGDH* 以高水平表达时,可能具有引发细胞转化的特性。在乳腺上皮细胞中,PHGDH 的过度表达会诱导细胞核形态异常、扰乱细胞极性和锚定非依赖性生长,所有这些变化都与细胞恶性转化有关^[21],表明 *PHGDH* 过表达可能是获得恶性表型的一种手段,本研究结果亦表明 NaAsO₂ 短期暴露能够引起 SSP 关键酶的蛋白表达改变以及增殖能力增加,而 NCT503 干预后细胞的增殖下降,进一步提示 *PHGDH* 可能在砷所致细胞恶性转化中扮演重要角色。在未来的研究中,还需深入观察 SSP 关键酶在砷诱导细胞恶性转化过程中的动态变化过程,以探明 SSP 在砷致癌中的作用。

综上所述,在环境应激条件下,细胞的代谢重编程不仅赋予它们适应环境的生存优势,而且导致细胞增殖加速和异常分化,从而促进肿瘤发生。本研究通过砷致恶性转化细胞模型和亚砷酸钠短期染毒 HaCaT 细胞观察到 SSP 关键酶的变化,这一结果为未来进一步开展砷致癌过程中的代谢重编程研究提供了思路。

参考文献

[1] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.

- Arsenic, metals, fibres, and dusts[J]. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 2012, 100: 11-465.
- [2] BUSTAFFA E, STOCORO A, BIANCHI F, et al. Genotoxic and epigenetic mechanisms in arsenic carcinogenicity[J]. Arch Toxicol, 2014, 88(5): 1043-1067.
- [3] SHI H, SHI X, LIU KJ. Oxidative mechanism of arsenic toxicity and carcinogenesis[J]. Mol Cell Biochem, 2004, 255(1/2): 67-78.
- [4] RUAN Y, FANG X, GUO T, et al. Metabolic reprogramming in the arsenic carcinogenesis[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2022, 229: 113098.
- [5] AMELIO I, CUTRUZZOLÀ F, ANTONOV A, et al. Serine and glycine metabolism in cancer[J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39(4): 191-198.
- [6] LI CS, LOCH-CARUSO R. Sodium arsenite inhibits migration of extravillous trophoblast cells in vitro[J]. Reprod Toxicol, 2007, 24(3/4): 296-302.
- [7] MA L, LI J, ZHAN Z, et al. Specific histone modification responds to arsenic-induced oxidative stress[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2016, 302: 52-61.
- [8] ROHDE JM, BRIMACOMBE KR, LIU L, et al. Discovery and optimization of piperazine-1-thiourea-based human phosphoglycerate dehydrogenase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem, 2018, 26(8): 1727-1739.
- [9] ZHAO X, FU J, HU B, et al. Serine metabolism regulates YAP activity through USP7 in colon cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 639111.
- [10] MATTAINI KR, SULLIVAN MR, LAU AN, et al. Increased *PHGDH* expression promotes aberrant melanin accumulation[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 723.
- [11] SAMANTA D, PARK Y, ANDRABI SA, et al. *PHGDH* expression is required for mitochondrial redox homeostasis, breast cancer stem cell maintenance, and lung metastasis[J]. Cancer Res, 2016, 76(15): 4430-4442.
- [12] ZHANG B, ZHENG A, HYDBRING P, et al. *PHGDH* defines a metabolic subtype in lung adenocarcinomas with poor prognosis[J]. Cell Rep, 2017, 19(11): 2289-2303.
- [13] REINA-CAMPOS M, LINARES JF, DURAN A, et al. Increased serine and one-carbon pathway metabolism by PKC λ /i deficiency promotes neuroendocrine prostate cancer[J]. Cancer Cell, 2019, 35(3): 385-400.e9.
- [14] SONG Z, FENG C, LU Y, et al. *PHGDH* is an independent prognosis marker and contributes cell proliferation, migration and invasion in human pancreatic cancer[J]. Gene, 2018, 642: 43-50.
- [15] JING Z, HENG W, XIA L, et al. Downregulation of phosphoglycerate dehydrogenase inhibits proliferation and enhances cisplatin sensitivity in cervical adenocarcinoma cells by regulating Bcl-2 and caspase-3[J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(4): 541-548.
- [16] POSSEMATO R, MARKS KM, SHAUL YD, et al. Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer[J]. Nature, 2011, 476(7360): 346-350.
- [17] VIÉ N, COPOIS V, BASCOUL-MOLLEVI C, et al. Overexpression of phosphoserine aminotransferase PSAT1 stimulates cell growth and increases chemoresistance of colon cancer cells[J]. Mol Cancer, 2008, 7: 14.
- [18] LIU B, JIA Y, CAO Y, et al. Overexpression of phosphoserine aminotransferase 1 (PSAT1) predicts poor prognosis and associates with tumor progression in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(1): 395-406.
- [19] SUN L, SONG L, WAN Q, et al. cMyc-mediated activation of serine biosynthesis pathway is critical for cancer progression under nutrient deprivation conditions[J]. Cell Res, 2015, 25(4): 429-444.
- [20] SATO K, MASUDA T, HU Q, et al. Phosphoserine phosphatase is a novel prognostic biomarker on chromosome 7 in colorectal cancer[J]. Anticancer Res, 2017, 37(5): 2365-2371.
- [21] LOCASALE JW, GRASSIAN AR, MELMAN T, et al. Phosphoglycerate dehydrogenase diverts glycolytic flux and contributes to oncogenesis[J]. Nat Genet, 2011, 43(9): 869-874.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣, 汪源)