

芹菜素通过下调 HK-2 表达抑制非小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解和球形成

孙菲, 袁庆, 张坚松

(湖南师范大学医学院, 长沙 410013)

【摘要】目的: 研究芹菜素能否通过下调糖代谢相关激酶 HK-2 表达抑制体外培养非小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解及自我更新能力。**方法:** HK-2 cDNA 转染、亚细胞毒浓度的芹菜素 (20 μ M、40 μ M 和 80 μ M) 处理或芹菜素 (80 μ M) 联合 HK-2 cDNA 转染 H460 细胞。蛋白质印迹检测 HK-2 表达水平, 检测乳酸产物和葡萄糖消耗水平, 同时, 球形成实验测验自我更新能力。**结果:** 亚细胞毒浓度的芹菜素以剂量依赖趋势下调非小细胞肺癌 H460 细胞的糖代谢相关激酶 HK-2 表达和减少乳酸产物和葡萄糖消耗, 并且降低球形成率。此外, 过表达 HK-2 能救援芹菜素抑制非小细胞肺癌 H460 细胞乳酸产生、葡萄糖消耗以及球形成率作用。**结论:** 芹菜素通过下调 HK-2 表达抑制非小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解及自我更新能力。

【关键词】 非小细胞肺癌; 芹菜素; HK-2; 糖酵解; 自我更新

【中图分类号】 R734.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-016X(2023)01-0001-06

Apigenin Inhibits Glycolysis and Spheroid Formation via Downregulation of HK-2 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer H460 Cells

SUN Fei, YUAN Qing, ZHANG Jiansong

(School of Medicine, Hunan Normal University, Changsha 410013, China)

【Abstract】 Objective To investigate whether apigenin (API) inhibits the glycolysis and self-renewal capacity by downregulating the expression of glucose metabolism related kinase HK-2 in non-small cell lung cancer (NSCLC) H460 cells *in vitro*. **Methods** H460 cells were transfected with HK-2 cDNA, treated with sub-cytotoxicity concentrations of API (20 μ M; 40 μ M and 80 μ M) or in combination with API (80 μ M) treatment and HK-2 cDNA transfection. Western blot was utilized to detect the expression of HK-2. The levels of lactate production and glucose consumption were using measurement of lactate production and glucose consumption assays. The spheroid formation assay was employed to detect the self-renewal capacity in H460 cells. **Results** The sub-cytotoxic concentrations of API decreased the expression of glucose metabolism related kinase HK-2 and reduced lactate production and glucose consumption, as well as decreased sphere formation rate in NSCLC H460 cells in a dose-dependent tendency. Moreover, overexpression of HK-2 could rescue the inhibitory effects of API on lactate production, glucose consumption and spheroid formation in NSCLC H460 cells. **Conclusion** API can inhibit glycolysis and self-renewal capacity by downregulating HK-2 expression in NSCLC H460 cells.

【Key words】 non-small cell lung cancer; apigenin; HK-2; glycolysis; self renewal

占肺癌 80% 以上的非小细胞肺癌 (NSCLC) 是全球癌症相关死亡的首要原因^[1]。尽管手术切除、化疗、放疗、免疫治疗及综合治疗等先进的治疗手段已经取得进展, 但非小细胞肺癌患者的 5 年总生存率仍不到 20%^[2]。糖酵解是肿瘤细胞获取能量的主要方式^[3], 糖酵解关键酶己糖激酶 2(hexokinase 2, HK-2) 在肿瘤细胞中高表达; 且被认为是肝细胞癌^[4]、乳腺癌^[5]和胃

癌^[6]预后差的预测标记物。除此之外, 据报道 HK-2 还具有增强小细胞肺癌自我更新能力的非代谢功能^[7]。已经证明芹菜素在各种类型的癌症, 包括乳腺癌^[8]、黑色素瘤^[9]、肺癌^[10]、白血病^[11]和胶质瘤^[12]中显示出广泛的抗癌作用。尽管已有研究表明芹菜素通过抑制糖酵解增加胶质瘤干细胞的放疗敏感性^[12], 并且我们先前研究发现芹菜素抑制小细胞肺癌自我更新^[10], 然而, 芹菜素能否通过抑制糖酵解关键酶 HK-2 抑制非小细胞肺癌自我更新能力还不清楚。本文研究芹菜素能否通过下调糖代谢相关激酶 HK-2 表达抑制体外培养非

收稿日期: 2022-12-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.81172375)

通信作者: 张坚松, E-mail: jwc_zjs@126.com

小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解及自我更新能力。

1 材料与amp;方法

1.1 细胞培养与药物处理 人 H460 细胞系来自中国科学院细胞库(Shanghai, China)。细胞用添加 10% 胎牛血清(GIBCO, Australia)的达尔伯克改良伊格尔培养基(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), 并置于 37 °C、含 5% CO₂ 的饱和湿度环境中孵育。细胞用磷酸盐缓冲液(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)轻轻冲洗 2 遍, 500 μL 胰蛋白酶(GIBCO, Australia)在 37 °C 培养箱中消化 5 min, 添加含血清培养基终止消化, 然后, 按照 1 : 3 的比例扩增培养。关于药物处理, 用 0.1% 二甲基亚砷(Sigma-Aldrich St., Louis, MO, USA)和亚细胞毒浓度(20 μM、40 μM 和 80 μM)的芹菜素(Sigma-Aldrich St., Louis, MO, USA)处理 H460 细胞 24 h。

1.2 细胞活力测定 细胞计数-8 试剂盒(Dojindo, Kumamoto, Japan)测量细胞存活力。简言之, 单细胞悬浮液以 1 000 个细胞/孔的密度培养在 96 孔板(Corning Inc., Corning, NY, USA)中, 分别用标示浓度的芹菜素处理 24 小时。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 孵育 2 h。用酶标仪(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)检测每个样品在 450 nm 处的吸光度。

1.3 质粒转染 HK-2(ORF004940)载体购自 Applied Biological Materials(ABM)公司(Richmond, BC, Canada)。脂质体 2 000 转染试剂购自 Invitrogen 公司(Carlsbad, CA, USA)。载体和脂质体 2 000 转染试剂分别与无血清培养基混合, 然后, 室温放置 5 min; 上述经无血清培养基稀释的载体和脂质体 2 000 转染试剂再次混合后, 添加至含融合度为 90% 的 H460 细胞的 24 孔培养板中, 置于培养箱 6 h 后更换培养液。

1.4 蛋白免疫印迹分析 亚细胞毒浓度的芹菜素(20 μM、40 μM 和 80 μM)或 0.1% DMSO(阴性对照组)处理 H460 细胞 24 h。用或不用芹菜素(80 μM)分别处理阴性对照质粒 pcDNA3.1 和 pcDNA-HK-2 转染的 H460 细胞 24 h。用含 1% 蛋白酶抑制剂的放射免疫沉淀法裂解缓冲液(Roche, Germany)在冰上裂解经上述处理的细胞 30 min, 4 °C 离心 5 min, 随后提取上清液并按比例加入蛋白上样缓冲液(Beyotime, Shanghai, China) 95 °C 加热 5 min 以提取蛋白。用 7.5% 凝胶(EpiZyme, Shanghai, China)及快速电泳液粉末(APPLYGEN, Beijing, China)通过聚丙烯酰胺凝胶电泳分离上述蛋白质, 并转移至聚偏二氟乙烯膜(Millipore, USA)。用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后, 使用 HK-2 兔抗(Cell Signaling Technology, Inc. Danvers, MA, USA, cat.no.#2867,

1 : 1 000 稀释)用作一抗 4 °C 孵育过夜, 然后, 羊抗兔 Ig G 抗体(Beyotime, Shanghai, China, cat.no.A0239, 1 : 2 000 稀释)用作二抗, 完成免疫印迹。抗 β-Actin 抗体(Cell Signaling Technology, Inc. Danvers, MA, USA, cat.no. #93473, 1 : 2 000 稀释)作为加样对照。通过增强型化学发光试剂(Amersham, USA)显影蛋白条带。

1.5 球形形成试验 H460 细胞以每孔 1 000 个细胞的密度接种入超低附着 24 孔板(Corning Inc., Corning, NY, USA), 然后, 用肿瘤干细胞培养基(含 20 ng/mL 人重组碱性成纤维细胞生长因子(hrbFGF)和人重组表皮生长因子(hrEGF), 5 μg/mL 胰岛素(Sigma-Aldrich St., Louis, MO, USA), 0.4% 牛血清白蛋白和 2% B27(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)悬浮培养 6 天, 直到形成超过 30 个细胞的细胞球。球形形成率(%) = 形成的肿瘤球数 / 接种细胞数(24 孔板每孔 1 000 个细胞) × 100%。进行 3 次独立实验结果的分析。

1.6 乳酸产物和葡萄糖消耗的测定实验 H460 细胞接种入含 10% 胎牛血清的培养基的 6 孔板中生长。细胞融合度达到 90% 时, 吸除培养基, PBS 洗涤 2 次, 用无血清和无酚红培养基培养 24 h, 随后胰蛋白酶消化细胞并测定细胞密度, 收集培养液, 葡萄糖检测分析试剂盒(BioVision, USA)测定培养液葡萄糖浓度, 对比对照组葡萄糖浓度确定葡萄糖消耗量。乳酸检测分析试剂盒 II(BioVision, USA)用于测量培养基中的乳酸。数据通过每孔细胞密度标化。

1.7 统计学分析 使用 SPSS 20.0 软件(IBM, Armonk, NY, USA)进行统计分析, 数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。与对照组的比较采用双尾 Student's *t* 检验。所有各组间的配对比较均采用单因素方差分析(ANOVA)和 Dunnett's 检验。*P* < 0.05 认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 芹菜素对非小细胞肺癌 H460 细胞系的亚细胞毒性浓度的筛选 为排除细胞毒性和糖酵解及球形形成抑制作用之间的混淆, 我们首先用 CCK-8 试剂盒测定芹菜素处理的非小细胞肺癌 H460 细胞的存活力。图 1 的 CCK-8 检测结果显示, 芹菜素在一定浓度范围内呈浓度依赖性抑制 H460 细胞存活, H460 细胞存活率随芹菜素浓度增加而降低, 芹菜素干预 H460 细胞 24 h 的半数抑制浓度(IC₅₀)为 156.6 μM。根据 CCK-8 检测结果, 将 1/2 IC₅₀ 近似值浓度 80 μM 作为后续实验的最大剂量。

2.2 芹菜素下调 HK-2 蛋白表达抑制非小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解和自我更新 用亚细胞毒浓度的芹菜素(20 μM、40 μM 和 80 μM)或 0.1% DMSO(阴性对照组)

处理 H460 细胞 24 h, 与 0.1% DMSO 处理的对照组比较, 图 2A 蛋白免疫印迹分析显示, HK-2 表达呈剂量依赖性减少; 然后检测乳酸产物量及葡萄糖消耗量, 乳酸产物检测结果表明芹菜素显著降低非小细胞肺癌 H460 细胞乳酸产生, 且呈剂量依赖性, 结果见图 2B; 葡萄糖消耗检测结果表明芹菜素剂量依赖性显著降低非小细胞肺癌 H460 细胞葡萄糖消耗量, 见图 2C; 球形形成试验分析显示, 芹菜素处理的非小细胞肺癌 H460 细胞球形形成率呈剂量依赖性下降, 见图 2D。结果表明, 芹菜素下调 HK-2 蛋白表达抑制非小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解和自我更新。

2.3 过表达 HK-2 救援芹菜素抑制非小细胞肺癌 H460 细胞糖酵解和自我更新 为了进一步验证芹菜

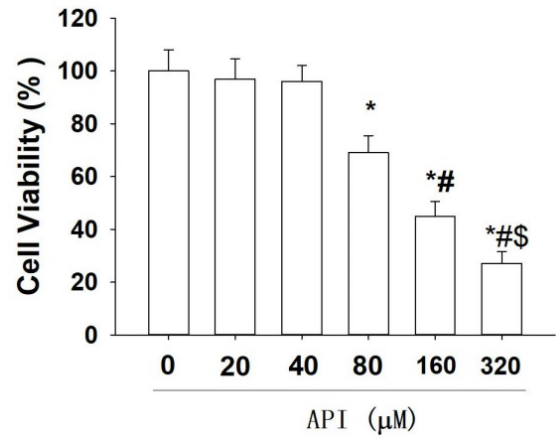


图1 不同浓度芹菜素对非小细胞肺癌H460细胞存活力的影响与溶媒(0.1% DMSO)处理H460细胞比较,* $P < 0.05$; 与80μM芹菜素处理H460细胞比较# $P < 0.05$; 与160μM芹菜素处理H460细胞比较\$ $P < 0.05$ ($\bar{x} \pm s, n=3$)。

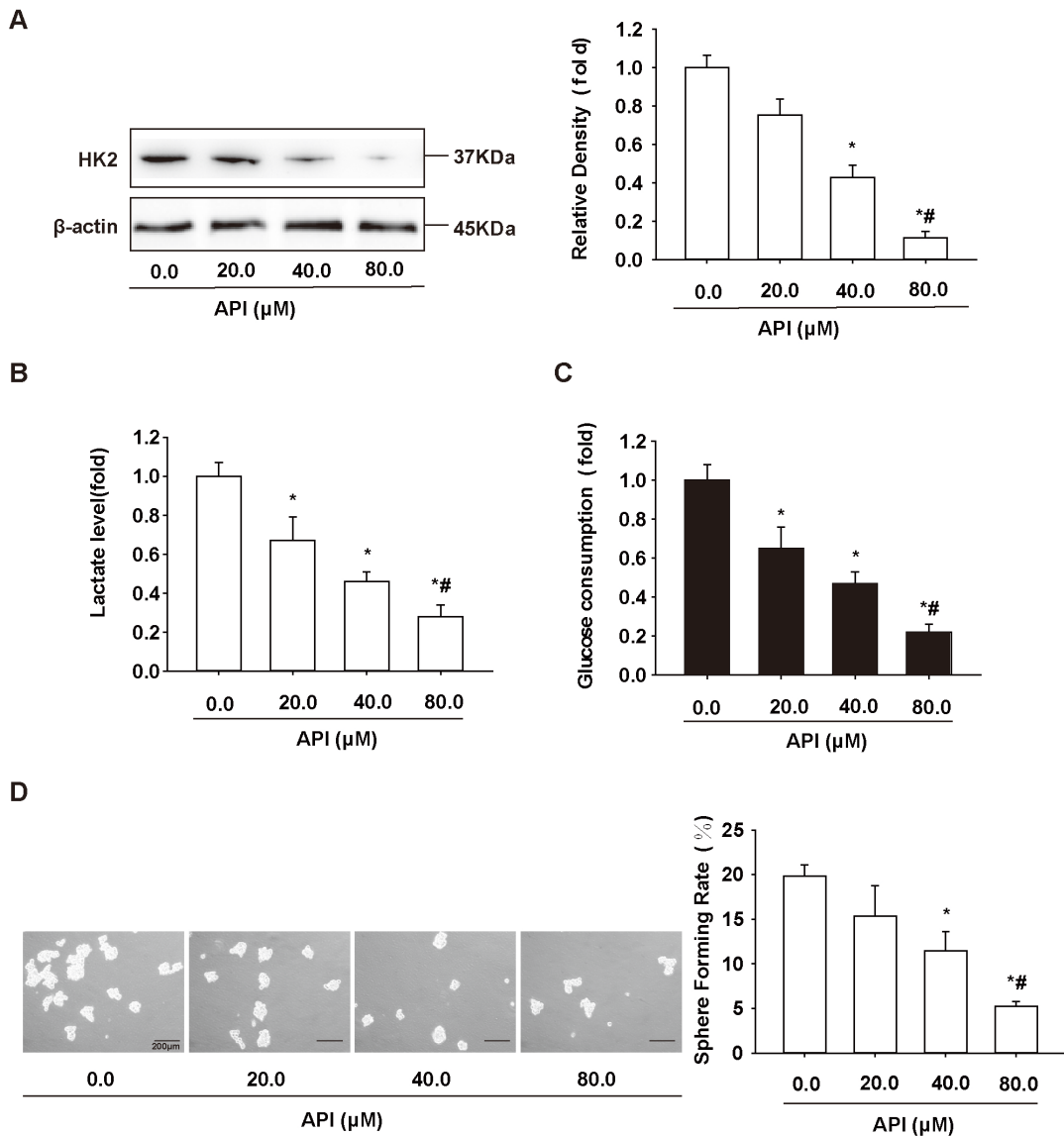


图2 芹菜素对非小细胞肺癌H460细胞HK-2表达、糖酵解和自我更新的影响

A.HK-2蛋白表达水平; B.乳酸产生量; C.葡萄糖消耗量; D.肿瘤球形形成率。与溶媒(0.1% DMSO)处理H460细胞比较,* $P < 0.05$; 与芹菜素(20μM)处理H460细胞比较,# $P < 0.05$ ($\bar{x} \pm s, n=3$)。

素对非小细胞肺癌 H460 细胞的作用, 将 pcDNA-HK-2 转染入 H460 细胞以过表达 HK-2 蛋白, 然后用或不用 80 μ M 芹菜素处理, 随后进行蛋白免疫印迹分析。图 3A 结果显示, 与空载组中芹菜素显著下调 H460 细胞 HK-2 蛋白表达相比, 在过表达 HK-2 组中, 芹菜素下调 H460 细胞 HK-2 蛋白表达并没有那么显著; 然后, 检测乳酸产物量及葡萄糖消耗量, 与空载组中芹菜素

显著抑制 H460 细胞的乳酸产生及葡萄糖消耗相比, 在过表达 HK-2 组中, 芹菜素的抑制作用并不明显(图 3B 和 3C); 球形成试验结果显示, 与空载组中芹菜素显著抑制 H460 细胞球形成相比, 在过表达 HK-2 组中, 芹菜素抑制 H460 细胞的球形成并不显著(图 3D)。结果表明过表达 HK-2 显著减弱芹菜素抑制非小细胞肺癌 H460 细胞的糖酵解和肺癌球形成作用。

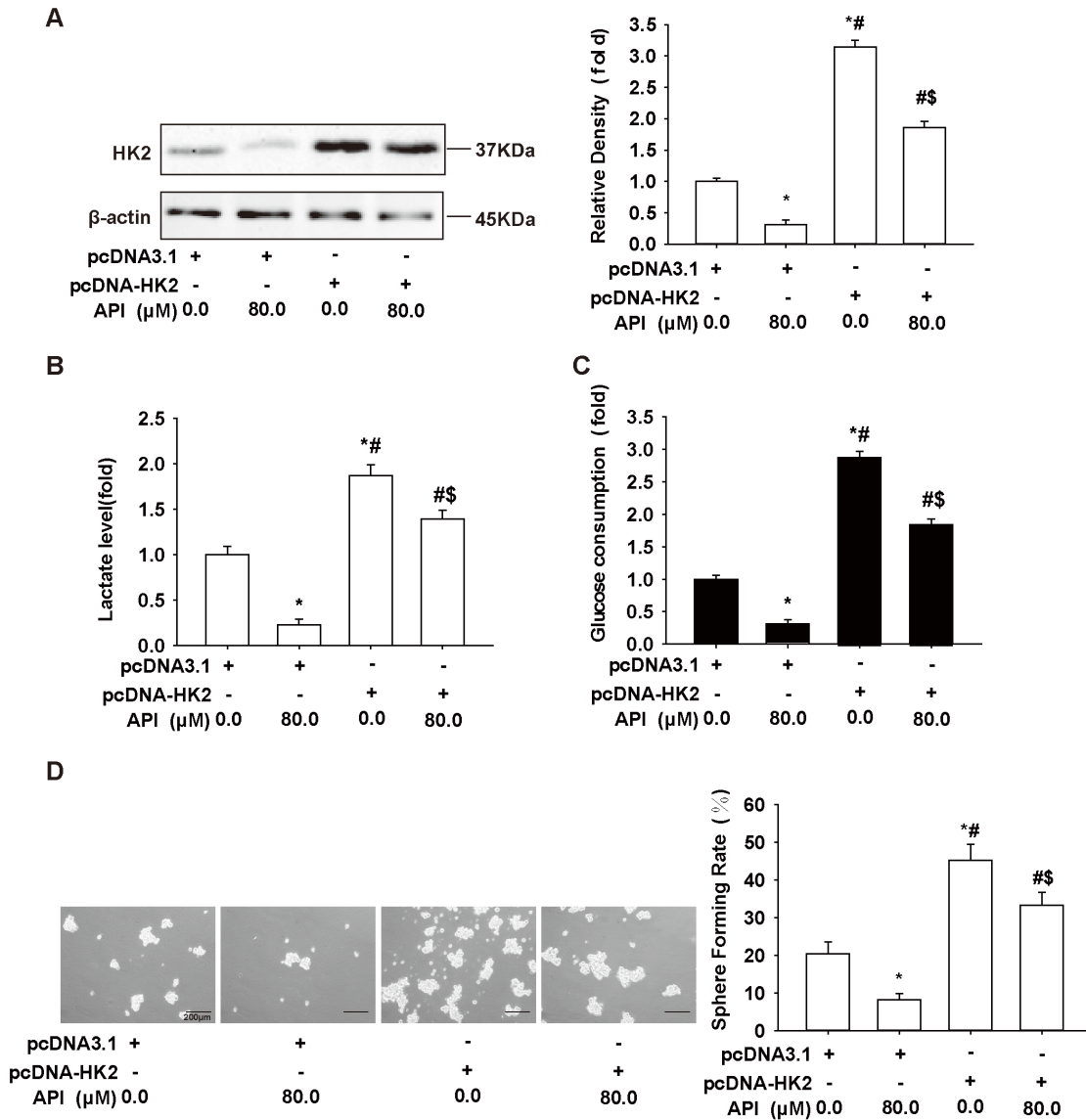


图3 芹菜素联合HK-2 cDNA转染对非小细胞肺癌H460细胞糖酵解和肺癌球形成的影响

A.HK-2蛋白表达水平; B.乳酸产生量; C.葡萄糖消耗量; D.肿瘤球形成率。与转染pcDNA3.1的H460细胞比较, * $P < 0.05$; 与芹菜素(80 μ M)处理的H460细胞比较, # $P < 0.05$; 与pcDNA-HK-2转染的H460细胞比较, \$ $P < 0.05$ ($\bar{x} \pm s, n=3$)。

3 讨论

占肺癌 80% 以上的非小细胞肺癌是全球癌症相关死亡的首要原因^[1]。尽管手术切除、化疗、放疗、免疫治疗和综合治疗等先进的治疗手段已经在临床广泛应用, 但非小细胞肺癌患者的 5 年总生存率仍不到

20%^[2]。此外, 非小细胞肺癌的化疗耐药和高转移性削弱治疗效果^[13]。因此, 迫切需要新的治疗方法以提高非小细胞肺癌患者的生活质量。

糖酵解是肿瘤细胞获取能量的主要方式之一^[3], 此外, 糖酵解产物如乳酸盐也提供适当的促进肿瘤转移微环境^[14]。作为重要的糖酵解酶, HKs 负责葡萄糖代

谢过程中的第一个限速步骤,在这些不同的HKs中,发现HK-2在恶性肿瘤中表达率高,并在沃伯格表型发展中起关键作用。糖酵解的关键酶HK-2作为预测标记物在肝细胞癌^[4]、乳腺癌^[5]和胃癌^[6]等肿瘤细胞中高表达。除此之外,据报道HK-2还具有增强小细胞肺癌自我更新能力的非代谢功能^[10]。肿瘤干细胞作为肿瘤发生发展的源泉,自我更新能力是其主要特征之一,成球试验可以判断单个细胞在合适的条件培养基中自我更新的能力。目前,促癌性HK-2对非小细胞肺癌自我更新能力的作用尚不清楚。在本文研究中,HK-2增加非小细胞肺癌H460细胞球形形成率,这表明HK-2增强非小细胞肺癌H460细胞的自我更新能力。

芹菜素作为中草药的有效成分之一,其化学名为4',5,7-三羟基黄酮,属于黄酮亚类,在蔬菜,水果和饮料中很丰富,如菠菜,橘子,洋葱和茶叶。最近,芹菜素因其抗癌活性和低毒性而被广泛研究。已有报道,芹菜素在乳腺癌^[8]、黑色素瘤^[9]、肺癌^[10]、白血病^[11]、胶质瘤^[12]、肝癌^[15-16]等多种癌症中具有抗癌作用,并且能够调节多种信号传导途径,包括PI3K/AKT^[17]、NF- κ B^[18]、JAK/STAT^[19]、Wnt/ β -catenin^[20]、AMPK^[18]、MAPK/ERK和JNK^[21],以触发细胞凋亡,自噬和免疫应答,抑制细胞周期进程和细胞迁移和侵袭。由芹菜素同时触发的这些不同的抗肿瘤作用并同时靶向多种信号途径和蛋白激酶证明芹菜素具有广泛的抗肿瘤作用。尽管已有研究表明芹菜素通过抑制糖酵解增加胶质瘤干细胞的放疗敏感性^[12],然而芹菜素能否通过下调糖代谢相关激酶HK-2表达抑制体外培养非小细胞肺癌H460细胞糖酵解及自我更新能力仍然不清楚。在本文的研究中,我们率先发现亚细胞毒浓度的芹菜素不仅以浓度依赖方式下调非小细胞肺癌H460细胞HK-2表达水平,并且能有效地抑制糖酵解及球形形成。有趣的是,当我们过表达HK-2联合芹菜素处理H460细胞,发现过表达HK-2能大部分消除芹菜素抑制H460细胞糖酵解及肺癌球形形成的作用,提示芹菜素可能通过下调HK-2抑制非小细胞肺癌H460细胞的糖酵解及自我更新能力。HK-2的表达调控在肿瘤细胞中是复杂的。与糖酵解途径中的其他酶一样,HK-2表达主要受c-myc、HIF-1 α 和p53的调控^[22-23]。此外,microRNAs如miR-143和miR-155证明能够调节HK-2表达^[24-25]。在我们的研究中,检测到HK-2减少,HK-2的减少对于芹菜素在非小细胞肺癌H460细胞中发挥关键作用,但需要进一步研究芹菜素为什么或凭什么调控非小细胞肺癌细胞HK-2表达及糖酵解和自我更新能力。

总之,我们的研究结果清楚的表明芹菜素能下调非小细胞肺癌H460细胞HK-2表达以及抑制糖酵解和自我更新能力。这为芹菜素通过抑制肿瘤能量代谢和肿瘤干细胞特性而发挥治疗非小细胞肺癌的作用提供了新实验参数和理论依据;而且随着HK-2的增加,葡萄糖代谢的改变通常赋予癌细胞耐药性,有研究报道HK-2与放化疗抵抗密切相关^[26-27],证明通过靶向抑制HK-2糖酵解可以显著增强肿瘤细胞对化学疗法的敏感性^[28-29]。因此,鉴于芹菜素抑制非小细胞肺癌H460细胞HK-2和糖酵解的活性,我们认为芹菜素具有增强其他化疗对非小细胞肺癌有效性的潜力。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] Chansky K, Dettmerbeck F C, Nicholson A G, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: External Validation of the Revision of the TNM Stage Groupings in the Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer[J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(7): 1109-1121.
- [3] Koppenol W H, Bounds P L, Dang C V. Otto Warburg's contributions to current concepts of cancer metabolism[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(5): 325-37.
- [4] Chen L, Lin X, Lei Y, et al. Aerobic glycolysis enhances HBx-initiated hepatocellular carcinogenesis via NF- κ Bp65/HK2 signalling[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 329.
- [5] Zhang T, Zhu X, Wu H, et al. Targeting the ROS/PI3K/AKT/HIF-1 α /HK2 axis of breast cancer cells: Combined administration of Polydatin and 2-Deoxy-d-glucose[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(5): 3711-3723.
- [6] Li R, Mei S, Ding Q, et al. A pan-cancer analysis of the role of hexokinase II (HK2) in human tumors[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 18807.
- [7] Wang J, Shao F, Yang Y, et al. A non-metabolic function of hexokinase 2 in small cell lung cancer: promotes cancer cell stemness by increasing USP11-mediated CD133 stability[J]. Cancer Commun (Lond), 2022, 42(10): 1008-1027.
- [8] Adel M, Zahmatkeshan M, Akbarzadeh A, et al. Chemotherapeutic effects of Apigenin in breast cancer: Preclinical evidence and molecular mechanisms; enhanced bioavailability by nanoparticles[J]. Biotechnol Rep (Amst), 2022, 34: e00730.
- [9] Xu L, Zhang Y, Tian K, et al. Apigenin suppresses PD-L1 expression in melanoma and host dendritic cells to elicit synergistic therapeutic effects[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 261.
- [10] 舒玲, 袁庆, 崔迎红, et al. 芹菜素对NCL-H446细胞系球细胞自我更新和uPAR表达的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2016, 41(11): 1124-1127.
- [11] Mahbub A A, Le Maitre C L, Cross N A, et al. The effect of apigenin and chemotherapy combination treatments on apoptosis-related genes and proteins in acute leukaemia cell lines[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 8858.
- [12] Zhao Y, Huang H, Jia C H, et al. Apigenin increases radiosensitivity of glioma stem cells by attenuating HIF-1 α -mediated glycolysis[J]. Med Oncol, 2021, 38(11): 131.
- [13] Wang C, Wu Y, Shao J, et al. Clinicopathological variables influencing overall survival, recurrence and post-recurrence survival in resected stage I non-small-cell lung cancer[J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 150.
- [14] Peppicelli S, Bianchini F, Calorini L. Extracellular acidity, a "reappreciated" trait of tumor environment driving malignancy: perspectives in di-

- [J]. 中国临床解剖学杂志, 2020, 38(1): 62-65.
- [19] Zhang X, Li C, Li J, et al. Protective effects of protocatechuic acid on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice via p38MAPK and NF- κ B signal pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 26(1): 229-236.
- [20] Signor C, Mello CF, Porto GP, et al. Spermidine improves fear memory persistence [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 730(5): 72-76.
- [21] Nishina K, Mikawa K, Takao Y, et al. Intravenous lidocaine attenuates acute lung injury induced by hydrochloric acid aspiration in rabbits [J]. *Anesthesiology*, 1998, 88(5): 1300-1309.
- [22] Morales-Ortiz J, Deal V, Reyes F, et al. Platelet-derived TLT-1 is a prognostic indicator in ALI/ARDS and prevents tissue damage in the lungs in a mouse model [J]. *Blood*, 2022, 132(23): 2495-2505.
- [23] 瞿利花, 陈阳晔, 李懿, 等. 甘草酸对 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤中 ACE2 的影响 [J]. 湖南师范大学学报医学版, 2020, 3(4): 7-10.
- [24] Jiang J, Huang K, Xu S, et al. Targeting NOX4 alleviates sepsis-induced acute lung injury via attenuation of redox-sensitive activation of CaMKII/ERK1/2/MLCK and endothelial cell barrier dysfunction [J]. *Redox Biol*, 2020, 36(3): 638-645.
- [25] Sekine K, Fujishima S, Sasaki J, et al. In vivo IL-18 supplementation ameliorates lethal acute lung injury in burn-primed endotoxemic mice: a novel anti-inflammatory role of IL-18 [J]. *Shock*, 2009, 32(5): 554-562.
- [26] Dolinay T, Kim Y S, Howrylak J, et al. Inflammasome-regulated Cytokines Are Critical Mediators of Acute Lung Injury [J]. *Am J Resp Crit Care*, 2012, 185(11): 1225-1234.
- [27] Zhao J, Yu H, Liu Y, et al. Protective effect of suppressing STAT3 activity in LPS-induced acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 311(5): L868-L880.
- [28] 胡天晓, 王秀景, 阮芸, 等. 高糖通过激活 NLRP3 炎症小体促进胎盘滋养细胞 IL-1 β 、IL-18 的释放 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2022, 38(01): 36-41.
- [29] Ao Z, Pan W, Lv J, et al. Protective Effect of Amygdalin on LPS-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting NF- κ B and NLRP3 Signaling Pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(3): 745-751.

上接第 5 页

- agnosis and therapy [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33(2-3): 823-832.
- [15] 刘丽华, 孙菲, 周志凌, 等. 芹菜素经上调 miR148a-3p 表达抑制 MHCC97H 细胞迁移和侵袭 [J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2021, 18(06): 7-9.
- [16] 姜素芳, 许畅, 陈阿, 等. 芹菜素对肝细胞癌 SMMC-7721 细胞系干样细胞自我更新及 CK2 α 表达的影响 [J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2017, 14(05): 1-3.
- [17] Zhou Z, Tang M, Liu Y, et al. Apigenin inhibits cell proliferation, migration, and invasion by targeting Akt in the A549 human lung cancer cell line [J]. *Anticancer Drugs*, 2017, 28(4): 446-456.
- [18] Masuelli L, Benvenuto M, Mattered R, et al. In Vitro and In Vivo Antitumoral Effects of the Flavonoid Apigenin in Malignant Mesothelioma [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 373.
- [19] Cao H H, Chu J H, Kwan H Y, et al. Inhibition of the STAT3 signaling pathway contributes to apigenin-mediated anti-metastatic effect in melanoma [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21731.
- [20] Xu M, Wang S, Song Y U, et al. Apigenin suppresses colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion via inhibition of the Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(5): 3075-3080.
- [21] Shukla S, Gupta S. Apigenin-induced cell cycle arrest is mediated by modulation of MAPK, PI3K-Akt, and loss of cyclin D1 associated retinoblastoma dephosphorylation in human prostate cancer cells [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(9): 1102-1114.
- [22] Mathupala S P, Ko Y H, Pedersen P L. Hexokinase II: cancer's double-edged sword acting as both facilitator and gatekeeper of malignancy when bound to mitochondria [J]. *Oncogene*, 2006, 25(34): 4777-4786.
- [23] Xue Y N, Yu B B, Li J L, et al. Zinc and p53 disrupt mitochondrial binding of HK2 by phosphorylating VDAC1 [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 374(1): 249-258.
- [24] Peschiaroli A, Giacobbe A, Formosa A, et al. miR-143 regulates hexokinase 2 expression in cancer cells [J]. *Oncogene*, 2013, 32(6): 797-802.
- [25] Jiang S, Zhang L F, Zhang H W, et al. A novel miR-155/miR-143 cascade controls glycolysis by regulating hexokinase 2 in breast cancer cells [J]. *EMBO J*, 2012, 31(8): 1985-1998.
- [26] 游启爱, 卓文磊, 陈正堂. 己糖激酶 2 在 NSCLC 厄洛替尼耐药中的作用及机制 [J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(05): 453-459.
- [27] 祝志强. 宫颈鳞癌患者己糖激酶 2 和丙酮酸激酶 2 的高表达与其发生放疗抵抗的关系 [J]. 当代医药论丛, 2019, 17(09): 61-62.
- [28] Vartanian A, Agnihotri S, Wilson M R, et al. Targeting hexokinase 2 enhances response to radio-chemotherapy in glioblastoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(43): 69518-69535.
- [29] Song K, Li M, Xu X, et al. Resistance to chemotherapy is associated with altered glucose metabolism in acute myeloid leukemia [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(1): 334-342.