

2-脱氧-D-葡萄糖联合羟基喜树碱协同诱导 乳腺癌细胞凋亡的作用*

葛贤明¹, 刘亚明¹, 张 配², 孙小锦², 甄亚男¹, 李佳会¹, 刘 浩^{1△}

1. 蚌埠医学院药学院/安徽省生化药物工程技术研究中心(蚌埠 233030); 2. 蚌埠医学院药学院(蚌埠 233030)

【摘要】 目的 探究 2-脱氧-D-葡萄糖(2-deoxy-D-glucose, 2-DG)联合羟基喜树碱(hydroxycamptothecin, HCPT)对乳腺癌细胞抗肿瘤活性的影响及其机制。**方法** 采用 2-DG(0、1.25、2.5、5、10、20 mmol/L)、HCPT(0、5、10、20、40 μ mol/L)单独作用以及 5 mmol/L 2-DG 与各浓度 HCPT 联合作用于乳腺癌细胞 MDA-MB-231 与 MCF-7, 使用 MTT 法检测细胞增殖;溴化丙啶(propidium iodide, PI)检测 5 mmol/L 2-DG、10 μ mol/L HCPT 单独作用以及联合作用对 MDA-MB-231 细胞的凋亡作用;不同浓度 2-DG 作用于 MDA-MB-231 细胞 6 h 后,测定细胞内 ATP 含量变化;Western blot 检测 MDA-MB-231 细胞 Akt、P-Akt、Bcl-2/Bax、PARP、Caspase-8 和 Caspase-3 蛋白的表达。**结果** 5 mmol/L 2-DG 与 HCPT 联合具有协同作用,处理 48 h 结合指数(CI<1),合用组凋亡率均高于单用组($P<0.05$),同时两者合用抑制 Akt 蛋白的磷酸化以及增加了 Caspase-3 蛋白的活化,增加了对 PARP 蛋白的剪切。**结论** 2-DG 联合 HCPT 可以协同诱导乳腺癌细胞凋亡,其机制可能是抑制肿瘤细胞能量生成以及抑制 Akt 蛋白的磷酸化和增强 Caspase-3 蛋白的活性。

【关键词】 乳腺癌 2-脱氧-D-葡萄糖 羟基喜树碱 细胞凋亡

Synergistic Effect of 2-deoxy-D-glucose Combined with Hydroxycamptothecin on Apoptosis of Breast Cancer Cells GE Xian-ming¹, LIU Ya-ming¹, ZHANG Pei², SUN Xiao-jin², ZHEN Ya-nan¹, LI Jia-hui¹, LIU Hao^{1△}. 1. School of Pharmacy, Bengbu Medical College/Anhui Biochemical Drug Engineering Technology Research Center, Bengbu 233030, China; 2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China

△ Corresponding author, E-mail: liuhao6886@foxmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of 2-deoxy-d-glucose (2-DG) combined with hydroxycamptothecin (HCPT) on anti-tumor activity of breast cancer cells and its mechanism. **Methods** MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cells were incubated with varying concentrations of 2-DG (0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 mmol/L), HCPT(0, 5, 10, 20, 40 μ mol/L) and 2-DG (5 mmol/L) combined with HCPT. Cell viability was measured using the MTT assay; Propidium iodide (PI) detected the apoptosis of MDA-MB-231 cells by 5 mmol/L 2-DG, 10 μ mol/L HCPT alone or in combination; MDA-MB-231 cells were treated with 2-DG (0, 2.5, 5, 10, 20 mmol/L) and the level of ATP was detected by ATP kit; the expression of Akt, p-Akt, Bcl-2/Bax, PARP, Caspase-8 and Caspase-3 proteins in MDA-MB-231 cells were measured by Western blot assay. **Results** The combination of 2-DG (5 mmol/L) and HCPT had a synergistic effect. The 48 h combination index (CI<1) was higher than that of the single-use group ($P<0.05$). At the same time, the combination of the two drugs inhibits the phosphorylation of Akt protein and increases the activation of Caspase-3 protein, thereby increasing the cleavage of PARP proteins. **Conclusion** The combination of 2-DG and HCPT can synergistically induce the apoptosis of breast cancer cells, which may be caused by inhibiting the energy generation of tumor cells, inhibiting the phosphorylation of Akt protein and enhancing the activity of caspase-3 protein.

【Key words】 Breast cancer 2-deoxy-D-glucose Hydroxycamptothecin Apoptosis

乳腺癌是一种严重危害女性身心健康的肿瘤疾病,其发病率居高不下,目前治疗手段以手术及放化

疗为主,内分泌等其他治疗为辅^[1]。研究表明^[2-5],羟基喜树碱(hydroxycamptothecin, HCPT)有着广泛的抗肿瘤活性,比如肝癌、肺癌、骨肉瘤和乳腺癌,且由于其杀死肿瘤细胞的特殊分子机制,当与其它抗肿瘤药物联用时很难产生肿瘤多药耐药,表现出良好的抗肿瘤活性,但是由于大剂量使用带来的毒

* 国家自然科学基金(No. 81372899, No. 81603155),安徽省自然科学基金项目(No. 1508085MH166)和安徽省教育厅重大项目(No. KJ2016SD39)资助

△ 通信作者, E-mail: liuhao6886@foxmail.com

副作用以及肿瘤细胞耐药机制的复杂性,单独使用 HCPT 作用肿瘤并不是最有效且最安全的治疗手段。2-脱氧-D-葡萄糖(2-deoxy-D-glucose, 2-DG)是一种葡萄糖类似物,对多种肿瘤细胞具有增殖抑制作用,研究表明^[6-7],2-DG 在体内外均能增强肿瘤细胞对化疗和放疗的敏感性,说明该药物在联合用药中可能表现出较好的效果。联合用药可以发挥不同药物的协同抗肿瘤作用,从而通过减少化疗药物使用剂量或其他方面达到减少化疗药物毒副作用的同时增加药物治疗效果的目的^[8]。本研究探讨 2-DG 与 HCPT 联合用药对两株乳腺癌细胞的增殖抑制作用的影响,并选取乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株分析两者合用可能的作用机制,以期为临床乳腺癌的联合药物治疗提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人乳腺上皮癌细胞株 MDA-MB-231 与 MCF-7 购于中科院上海细胞库,由蚌埠医学院生化药理实验室冻存。

1.1.2 主要试剂 DMEM 高糖培养基,胎牛血清购于 Gibco,胰蛋白酶、2-DG、MTT、碘化丙啶(propidium iodide, PI)购于 Sigma,ATP 检测试剂盒购于碧云天生物技术研究,HCPT 购于上海麦克林有限公司,Akt、p-Akt、Bcl-2/Bax、山羊抗兔 IgG、山羊抗小鼠 IgG 抗体购于 Abcam 公司,PARP、 β -actin、Caspase-8、Caspase-3 抗体购于 CST 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 乳腺癌细胞培养于含有 10% (MDA-MB-231)和 15% (MCF-7)胎牛血清和青霉素 1×10^5 U/L、链霉素 100 mg/L 的 DMEM 高糖培养基中,并置于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 恒温培养箱中。

1.2.2 MTT 检测细胞增殖 将对数生长期的 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞接种于 96 孔板, 1×10^4 /孔,放置于恒温 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中,细胞培养 24 h 后,弃去孔中培养液,加入含有不同浓度(0、1.25、2.5、5、10、20 mmol/L) 2-DG 的 DMEM 培养液,并设置调零孔,每组 5 个复孔。加药后置于培养箱,分别作用 24 h 与 48 h,每孔加入 15 μ L MTT,继续孵育 4 h,弃掉孔中培养液,每孔中加入 150 μ L DMSO 使其溶解,并置于 37 °C 温箱中 30 min,酶标仪设置 490 nm,检测此波长下各个

孔的吸光度,并重复以上实验 3 次,根据增殖曲线计算出 2-DG 作用于细胞的半数致死浓度(IC₅₀),再选用浓度低于 IC₅₀ 的 2-DG 与不同浓度(0、5、10、20、40 μ mol/L) HCPT 组联合作用 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞 48 h,观察单用 HCPT 以及 HCPT 与 2-DG 联用对 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞增殖的影响。

1.2.3 计算结合指数(CI)和剂量减少指数(DRI) 根据 MTT 检测数据使用 CompuSyn 软件计算 CI 和 DRI。CI 是用来指示两种或两种以上药物的相互作用是协同的、加性的还是拮抗的一个参数,其中结合指数 CI<1、CI=1 和 CI>1 分别表示协同、相加和拮抗作用,DRI 是量度在同组合中每一种药物在给定的效应水平下可以减少多少倍,与每一种药物单独使用的剂量相等。

1.2.4 倒置显微镜观察细胞形态与密度变化 将乳腺癌 MDA-MB-231 细胞接种于 6 孔板, 30×10^4 /孔,置于恒温 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中,细胞培养 24 h 后,弃去孔中培养液,细胞分为 4 组: DMEM 培养液对照组、5 mmol/L 2-DG 组、10 μ mol/L HCPT 组、2-DG 与 HCPT 联用组,继续培养 48 h 后使用倒置显微镜拍照。

1.2.5 PI 染色检测细胞凋亡 将 MDA-MB-231 细胞接种于 12 孔板, 15×10^4 /孔,培养 24 h 后,更换为含有 DMEM 培养液对照组、5 mmol/L 2-DG、10 μ mol/L HCPT 以及两者联合的 DMEM 培养液,再培养 48 h 后收集各孔细胞于离心管中,使用 1 000 r/min 离心 8 min,弃去培养液,加入预冷的 75% 乙醇 1 mL 固定,4 °C 环境保存过夜,次日转移至 5 mL EP 管中,1 000 r/min 离心 8 min,弃上清液,PI 染液染色,4 °C 避光静置 2 h,流式细胞仪检测亚 G₁ 峰即凋亡率。实验重复 3 次。

1.2.6 ATP 水平检测 取对数生长期细胞接种于 6 孔板中, 30×10^4 /孔,培养 24 h 后加药处理,2-DG 终浓度分别为 0、2.5、5、10、20 mmol/L。6 h 后吸弃培养液,按照每孔加入 200 μ L 的比例加入裂解液,裂解细胞后转移进 EP 管中,使用 4 °C 离心机 12 000 $\times g$ 离心 5 min,吸取上清用于后续测定。后续按照 ATP 检测试剂盒操作步骤进行实验(避光操作),最后使用多功能酶标仪进行检测(样品用 BCA 蛋白定量法定量)。实验重复 3 次。

1.2.7 Western blot 检测 Akt、P-Akt、Bcl-2/Bax、PARP、Caspase-8 和 Caspase-3 蛋白表达 MDA-MB-231 细胞接种于 60 mm 平皿 24 h 后,更换为含

有 DMEM 培养液对照组、5 mmol/L 2-DG、10 μ mol/L HCPT 以及两者联合的 DMEM 培养液,作用相应时间后收集细胞,加入适当蛋白裂解液于冰上裂解 30 min。4 $^{\circ}$ C 低温离心机 12 000 r/mim 离心 30 min,提取蛋白上清,使用 BCA 法进行蛋白定量,使各组蛋白至等浓度。每组取 50 μ g 蛋白,SDS-PAGE 电泳;转膜至 PVDF 膜;5%脱脂牛奶封闭 4 h;TPBS 洗膜 3 次,5 min/次;一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜,TPBS 洗膜 3 次;二抗室温 2 h,TPBS 洗膜 3 次;ECL 试剂盒发光显影,凝胶成像系统获取图像。采用 Image J 测定各显色条带的灰度值,以目的条带与 β -actin 灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.2.8 统计学方法 实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。各组间差异比较使用单因素方差分析以及 LSD 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2-DG、HCPT 单用及联合用药对 MDA-MB-231 与 MCF-7 细胞增殖的影响

乳腺癌细胞 MDA-MB-231 与 MCF-7 经过 2-DG (0、1.25、2.5、5、10、20 mmol/L)分别作用 24 h 与 48 h,显示 2-DG 对细胞具有增殖抑制作用,MDA-MB-231 细胞 48 h $IC_{50}=8.80$ mmol/L, MCF-7 细胞 48 h $IC_{50}=7.57$ mmol/L,故后续实验中选择 5 mmol/L 2-DG 与 HCPT (0、5、10、20、40 μ mol/L)联合作用细胞 48 h,结果(图 1)显示联合组增殖抑制作用均高于单用组($P<0.05$)。使用 5 mmol/L 2-DG 分别与不同浓度(5~40 μ mol/L) HCPT 联合作用于 MDA-MB-231 与 MCF-7 细胞

48 h,结果(表 1)均显示 $CI<1$,DRI 结果显示联合药物中使用的剂量低于具有同等效果的单药剂量,其中 MDA-MB-231 细胞组结果较为明显,说明 2-DG 与 HCPT 联用具有协同作用。

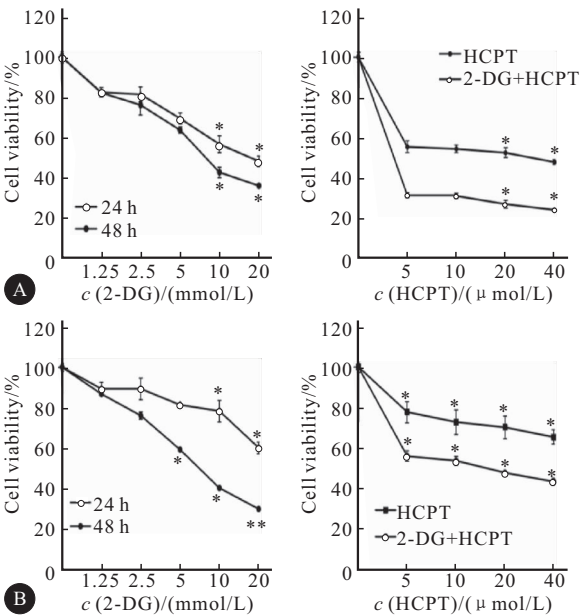


图 1 2-DG 和 HCPT 单用或联用对 MDA-MB-231(A)和 MCF-7(B)细胞增殖的影响

Fig 1 Combinatorial effects of 2-DG and HCPT on MDA-MB-231 (A) and MCF-7 (B) cells

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. 0 mmol/L 2-DG or 0 μ mol/L HCPT

2.2 2-DG、HCPT 单用或联合用药对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞形态学的影响

结果(图 2)显示,5 mmol/L 2-DG 药物处理组细胞形态和密度与对照组相比无明显差别,

表 1 2-DG 和 HCPT 联合作用 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞的结合指数(CI)和剂量减少指数(DRI)

Table 1 Combination index (CI) and dose reduction index (DRI) analysis for 2-DG and HCPT combination therapy in MDA-MB-231 and MCF-7 cells

Combination therapy		MDA-MB-231			MCF-7		
2-DG/ (mmol/L)	HCPT/ (μ mol/L)	CI	DRI (2-DG)	DRI (HCPT)	CI	DRI (2-DG)	DRI (HCPT)
5	5	0.22	4.47	1 351.30	0.93	1.11	3.46
5	10	0.22	4.55	744.82	0.86	1.22	22.18
5	20	0.17	5.75	1 443.19	0.66	1.61	25.82
5	40	0.15	6.91	2 085.99	0.55	1.95	23.77

10 μ mol/L HCPT 组细胞密度减小,合用组细胞的形态与密度则有更明显的改变。

2.3 2-DG、HCPT 单用或联合用药对 MDA-MB-231 凋亡的影响

PI 染色结果(图 3)显示,5 mmol/L 2-DG 作用细胞,凋亡率与对照组比较,差异无统计学意义

($P>0.05$),联用组凋亡率与对照组以及单用组差异均有统计学意义($P<0.05$),结果表明 5 mmol/L 2-DG 无诱导细胞凋亡作用,但是和 10 μ mol/L HCPT 联用后与单用 HCPT 相比细胞凋亡率增加。

2.4 2-DG 对 MDA-MB-231 细胞 ATP 水平的影响

不同浓度 2-DG 处理细胞 6 h 后,随着药物浓度

逐渐增加,ATP 水平呈现逐渐下降的趋势,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。

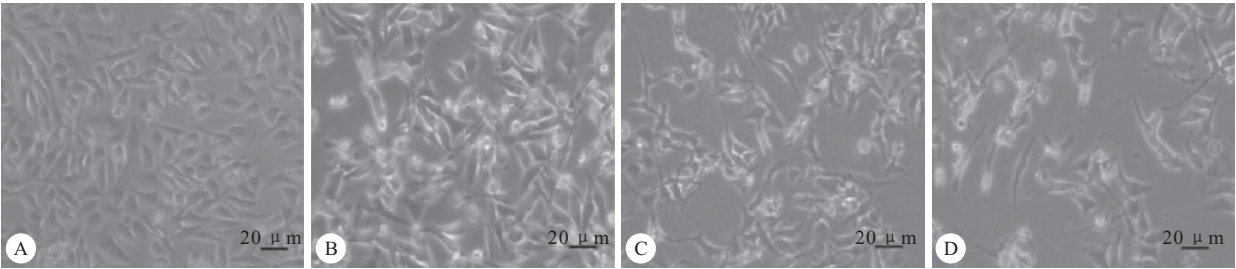


图 2 MDA-MB-231 细胞形态学变化
Fig 2 Morphological changes of the MDA-MB-231 cells

A: Control group; B: 2-DG group; C: HCPT group; D: 2-DG+HCPT group

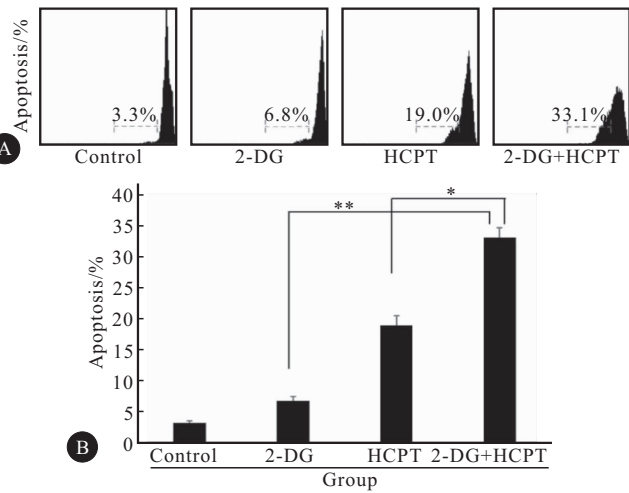


图 3 2-DG/HCPT 诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的作用
Fig 3 Effect of 2-DG and HCPT combination treatment on the induction of apoptosis in MDA-MB-231 cells

A: Flow cytometry analyses of MDA-MB-231 cells ; B: Bar graphs representing the proportion of apoptosis cells ($n=3$) * $P<0.05$, ** $P<0.01$

2.5 2-DG 与 HCPT 联合应用对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 Akt 信号通路蛋白表达的影响

Western blot 结果(图 5)显示, 5 mmol/L 2-DG 与 10 μ mol/L HCPT 联用组 Akt 蛋白的磷酸化明显低于对照组和单用组,说明 2-DG 与 HCPT 联合应用组抑制 Akt 磷酸化的作用高于单用药物组。

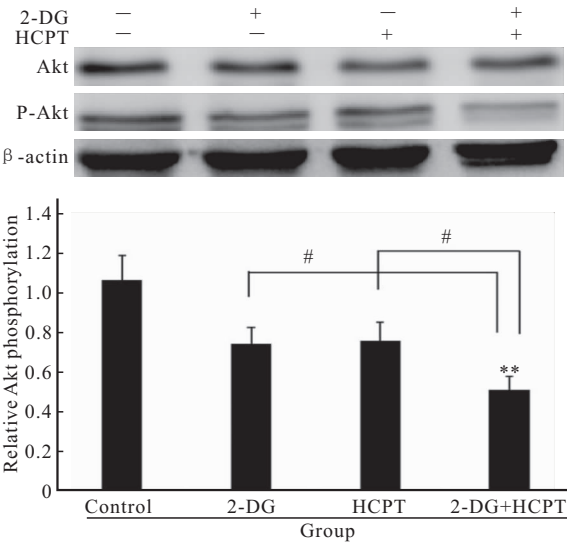


图 5 2-DG/HCPT 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 Akt 信号通路蛋白表达的影响

Fig 5 Effect of 2-DG/HCPT treatment on the Akt signaling pathways in MDA-MB-231 cells

$P<0.05$; ** $P<0.01$, vs. control group

2.6 2-DG 与 HCPT 联合应用对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Western blot 结果(图 6)显示,联合组 Bax 表达较其他组明显升高, Bcl-2 表达下降,诱导 Caspase-3 蛋白活化形式增加, Caspase-3 底物 PARP 蛋白被明显剪切,可证实 2-DG 与 HCPT 联合可以增加凋亡执行蛋白 Caspase-3 的激活。

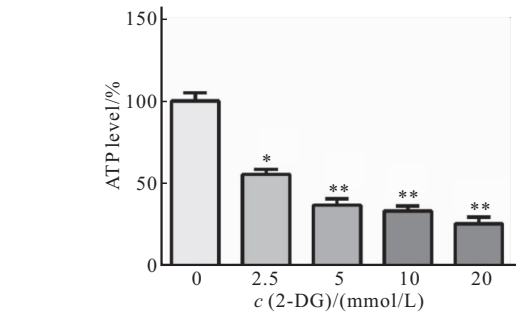


图 4 不同浓度 2-DG 对 MDA-MB-231 细胞 ATP 水平的影响
Fig 4 Effect of different concentration groups of 2-DG on ATP level in MDA-MB-231 cells

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. control group (0 mmol/L 2-DG)

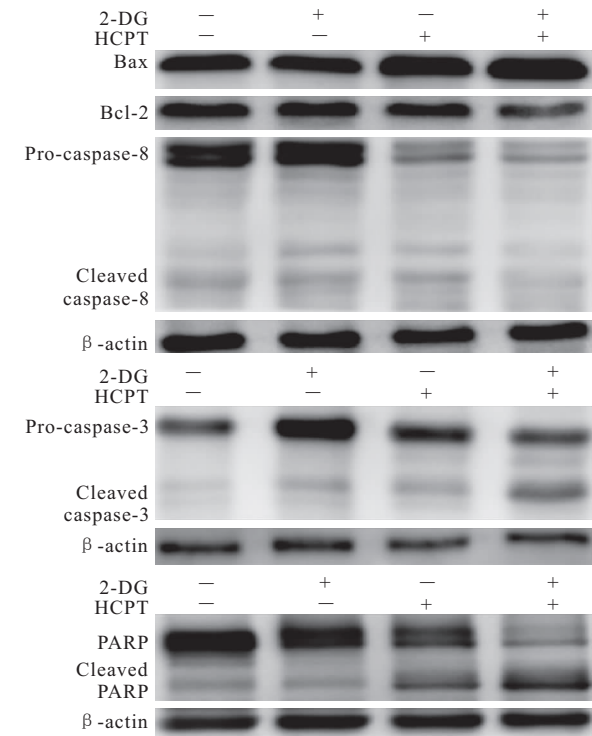


图 6 2-DG/HCPT 对 MDA-MB-231 细胞凋亡相关蛋白影响
Fig 6 Effect of 2-DG/HCPT treatment on the apoptosis-associated proteins in MDA-MB-231 cells

3 讨论

2-DG 作为一种糖酵解抑制剂,可减少肿瘤细胞内 ATP 的产生^[9-10],但是 2-DG 作为单一药物应用时并没有较好的抗肿瘤活性。肿瘤主要的产能方式是糖酵解,但并不意味着肿瘤就放弃掉氧化磷酸化这种高效率的产能方式,所以,在氧气充足的情况下,肿瘤细胞还是会以线粒体的氧化磷酸化作为主要的产能方式,只是不同的肿瘤细胞糖酵解与氧化磷酸化产生的 ATP 比例不同而已,但是肿瘤细胞依赖糖酵解的程度远远高于正常细胞^[11]。细胞内部的活动多需依赖于 ATP,包括细胞凋亡的调控,肿瘤细胞耐药蛋白发挥作用等^[12-13]。因此我们认为通过抑制糖酵解或者间接地减少细胞对于葡萄糖的利用来抑制 ATP 的产生则有可能选择性地杀死肿瘤细胞,将 2-DG 与其它化疗药物联合使用也是一种前景较好的治疗方式,化疗药物与肿瘤细胞对抗的同时,能量抑制剂则减少肿瘤细胞能量产生,中断细胞的能量供应,两者协同作用,或许可以成为一种可行的通用治疗手段。

天然产物喜树碱(camptothecin, CPT)是一种五环生物碱, CPT 及其类似物作为一类有前途的

抗肿瘤药物受到越来越多的关注,它们以独特的机制抑制 DNA 拓扑异构酶,与 CPT 相比,HCPT 具有更强的抗肿瘤作用,在实验动物和临床评价中毒性更小,由于其特殊的抗肿瘤作用机制不同于其他细胞毒性药物,因此在与其它药物联用时,很难引起药物间的相互作用^[14-15]。

研究表明,2-DG 与各种抗肿瘤药物联用均具有良好的效果,比如 2-DG 与 IGF1R 抑制剂联用增强了对非小细胞肺癌的治疗^[16],以及 2-DG 可以增强乳腺癌细胞对抗肿瘤药物阿霉素的敏感性^[17]。本实验采用 2-DG 与 HCPT 联合,结果表明不同浓度的 2-DG 与 HCPT 单独处理乳腺癌 MDA-MB-231 与 MCF-7 细胞后,均表现出抑制作用,当两者合用时,合用药物组对细胞的增殖抑制作用高于单个用药组,且两者合用具有协同作用,众所周知,化疗药物几乎都是具有较大的副作用,而我们可以通过减少化疗药物的使用剂量来降低毒副作用,同时通过与相应适合药物联合从而达到增加疗效的目的。我们发现 2-DG 可以增加 HCPT 诱导的乳腺癌细胞凋亡,其机制可能是能量抑制剂 2-DG 减少了肿瘤细胞 ATP 水平,以及 2-DG 与 HCPT 联用可以更多的限制 Akt 信号通路, Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,被激活的 Akt 通过磷酸化下游一系列细胞内蛋白从而影响细胞的生存与发展,包括细胞存活、生长、增殖,细胞迁移和血管生成, Akt 磷酸化的底物多达 100 多种,对细胞有着广泛的影响^[18-21]。我们发现 2-DG 与 HCPT 联用可以降低 Akt 蛋白的磷酸化,干扰 Akt 的激活,从而抑制 Akt 生存通路,激活 Caspase-8/-3 通路,增强凋亡执行分子 Caspase-3 蛋白的活性,促进其底物 PARP 的剪切,导致细胞凋亡。

综上所述,本实验证明 2-DG 与 HCPT 联用具有协同作用,可以更好的抑制肿瘤细胞生长,诱导乳腺癌细胞发生更多的凋亡,其机制可能是通过降低肿瘤细胞内 ATP 水平、抑制 Akt 生存通路以及增加 Caspase-3 的活性,但是其更深的分子机制以及联合所需的具体浓度以及作用时间仍需要进一步的探究,并且需要体内实验的研究支持。

参 考 文 献

[1] FAN L, STRASSER-WEIPPL K, LI JJ, *et al.* Breast cancer in China. *Lancet Oncol*, 2014, 15(7):e279-e289.
[2] MIN X, HENG H, YU HL, *et al.* Anticancer effects of 10-hydroxycamptothecin induce apoptosis of human osteosarcoma through activating caspase-3, p53 and

- cytochrome c pathways. *Oncol Lett*,2018,15(2):2459-2464.
- [3] WU H, YU T, TIAN Y, *et al.* Enhanced liver-targeting via coadministration of 10-Hydroxycamptothecin polymeric micelles with vinegar baked *Radix Bupleuri*. *Phytomedicine*, 2018,44:1-8.
- [4] WEI Y, LI C, ZHANG Y, *et al.* Hydroxycamptothecin mediates antiproliferative effects through apoptosis and autophagy in A549 cells. *Oncol Lett*, 2018, 15 (5): 6322-6328.
- [5] CHEN F, ZHAO Y, PAN Y, *et al.* Synergistically enhanced therapeutic effect of a carrier-free hcpt/dox nanodrug on breast cancer cells through improved cellular drug accumulation. *Mol Pharm*,2015,12(7):2237-2244.
- [6] SINGH S, PANDEY S, BHATT AN, *et al.* Chronic dietary administration of the glycolytic inhibitor 2-deoxy-d-glucose (2-dg) inhibits the growth of implanted ehrlich's ascites tumor in mice. *PLoS One*, 2015, 10 (7): e132089 [2019-04-19]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132089>.
- [7] ZHANG Y, HUANG F, WANG J, *et al.* 2-DG-Regulated RIP and c-FLIP Effect on Liver Cancer Cell Apoptosis Induced by TRAIL. *Med Sci Monit*,2015,21:3442-3448.
- [8] PICCOLO MT, MENALE C, CRISPI S. Combined anticancer therapies: an overview of the latest applications. *Anticancer Agents Med Chem*,2015,15(4):408-422.
- [9] DWARKANATH BS, ZOLZER F, CHANDANA S, *et al.* Heterogeneity in 2-deoxy-D-glucose-induced modifications in energetics and radiation responses of human tumor cell lines. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*,2001,50(4):1051-1061.
- [10] JHA B, POHLIT W. Effect of 2-deoxy-D-glucose on DNA double strand break repair, cell survival and energy metabolism in euoxic Ehrlich ascites tumour cells. *Int J Radiat Biol*, 1992,62(4):409-415.
- [11] 李其响, 张 配, 刘 浩. 肿瘤细胞能量代谢特点及其研究进展. *中国药理学通报*,2017,33(11):1499-1502.
- [12] LIU Z, SUN Y, HONG H, *et al.* 3-bromopyruvate enhanced daunorubicin-induced cytotoxicity involved in monocarboxylate transporter 1 in breast cancer cells. *Am J Cancer Res*,2015,5(9):2673-2685.
- [13] OSHIKATA A, MATSUSHITA T, UEOKA R. Enhancement of drug efflux activity via MDR1 protein by spheroid culture of human hepatic cancer cells. *J Biosci Bioeng*,2011,111(5):590-593.
- [14] HSIANG YH, HERTZBERG R, HECHT S, *et al.* Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *J Biol Chem*, 1985, 260 (27):14873-14878.
- [15] MENG G, WANG W, CHAI K, *et al.* Combination treatment with triptolide and hydroxycamptothecin synergistically enhances apoptosis in A549 lung adenocarcinoma cells through PP2A-regulated ERK, p38 MAPKs and Akt signaling pathways. *Int J Oncol*, 2015, 46 (3):1007-1017.
- [16] LIU F, LIU Y, LIU X, *et al.* Inhibition of IGF1R enhances 2-deoxyglucose in the treatment of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*,2018,123:36-43.
- [17] AHMAD IM, MUSTAFA EH, MUSTAFA NH, *et al.* 2DG enhances the susceptibility of breast cancer cells to doxorubicin. *Open Life Sciences*,2010,5(6):739-748.
- [18] CIRUELOS GE. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer Treat Rev*,2014,40(7):862-871.
- [19] POLIVKA JJ, JANKU F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Pharmacol Ther*,2014,142(2):164-175.
- [20] JANKU F, KASEB AO, TSIMBERIDOU AM, *et al.* Identification of novel therapeutic targets in the PI3K/AKT/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma using targeted next generation sequencing. *Oncotarget*, 2014, 5 (10): 3012-3022.
- [21] SATHE A, NAWROTH R. Targeting the PI3K/AKT/mTOR Pathway in Bladder Cancer. *Methods Mol Biol*,2018, 1655:335-350.

(2018-11-12 收稿, 2019-04-26 修回)

编辑 汤 洁