论著·“乳腺癌精准靶向与转化”重点号

SGK3通过稳定PCK2蛋白调控糖酵解促进ER阳性乳腺癌细胞增殖的机制研究

胡青华[1,2],陈波[1,2],黄光旭[1,2],陈晓娇[1,2],周维英[1,2,3] 重庆医科大学药学院:[1]药理学系,[2]药物代谢重点实验室,[3]生物化学与分子药理学重点实验室,重庆

[摘要] **目的** 乳腺癌代谢重编程是肿瘤进展的重要驱动因素,但其关键调控分子机制在雌激素受体阳性(estrogen receptor-positive,ER$^+$)乳腺癌中仍不清楚。本研究旨在探讨血清和糖皮质激素调节激酶3(serum and glucocorticoid-regulated kinase 3,SGK3)通过调控磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶2(phosphoenolpyruvate carboxykinase 2,PCK2)维持糖酵解相关代谢表型及促进ER$^+$乳腺癌细胞增殖的作用机制。**方法** ①MCF7细胞分别构建SGK3功能获得模型(Tet-On诱导过表达,+Dox *vs* −Dox)及功能缺失模型(siSGK3 *vs* siNC)。分别进行蛋白质组学与非靶向代谢组学分析(n=3)。②通过PEP、乳酸及ATP含量测定及2-NBDG葡萄糖摄取实验评估糖酵解代谢活性;JC-1染色检测线粒体膜电位(ΔΨm),DCFH-DA探针检测胞内活性氧(ROS)水平。③利用TIMER2.0、GEPIA2及Kaplan-Meier plotter数据库分析PCK2在乳腺癌中的表达特征、与SGK3的相关性及其预后价值。④Western blot及实时荧光定量PCR检测PCK2表达变化,并在裸鼠移植瘤模型中进一步验证SGK3敲低对PCK2蛋白表达的调控作用。⑤通过放线菌酮(cycloheximide,CHX)追踪实验联合溶酶体抑制剂氯喹(CQ)及蛋白酶体抑制剂MG132处理,分析PCK2蛋白稳定性及降解途径。⑥免疫共沉淀(Co-IP)、免疫荧光(IF)及分子对接分析SGK3与PCK2的相互作用。⑦糖酵解抑制剂2-脱氧葡萄糖(2-deoxy-D-glucose,2-DG)及氧化磷酸化抑制剂寡霉素(Oligomycin)敏感性实验评估SGK3-PCK2轴对细胞代谢依赖模式的影响,并结合克隆形成实验评价其对细胞增殖能力的作用。**结果** ①蛋白质组学和代谢组学分析显示,SGK3相关差异分子主要富集于糖酵解/糖异生和丙酮酸代谢通路(FDR<0.05),其中PCK2被鉴定为关键候选调控分子,其催化产物丙酮酸在SGK3敲低后显著下降(P<0.05)。②SGK3敲低显著降低PEP、乳酸及ATP水平(P<0.01),抑制葡萄糖摄取能力,并伴随线粒体膜电位下降及ROS水平升高;SGK3过表达则呈相反变化。③TIMER2.0及Western blot分析显示,PCK2在ER$^+$乳腺癌组织及细胞系中显著高表达(P<0.05);GEPIA2相关性分析进一步证实PCK2与SGK3表达呈显著正相关(r=0.11,P=0.000 22)。Kaplan-Meier生存分析表明,PCK2高表达与较差的总生存期(OS)及无复发生存期(RFS)显著相关(P<0.01)。④机制研究表明,SGK3不影响PCK2 mRNA表达(P>0.05),但显著正调控其蛋白水平(P<0.05)。在敲低SGK3的裸鼠异种移植瘤模型中,肿瘤组织PCK2蛋白水平同样显著降低(P<0.01),进一步在体内验证了SGK3对PCK2蛋白的正向调控作用。⑤CHX追踪实验显示SGK3延长PCK2蛋白半衰期。进一步降解通路分析显示,CQ可逆转SGK3敲低所致PCK2下降,而MG132无明显影响,提示SGK3主要通过抑制溶酶体依赖性降解维持PCK2蛋白稳定性。⑥Co-IP、IF及分子对接结果一致证实SGK3与PCK2存在相互作用。⑦代谢依赖性分析显示,SGK3过表达增强细胞对2-DG的敏感性,并提高对寡霉素的耐受性;PCK2沉默显著削弱上述效应。功能实验显示,PCK2敲低可部分逆转SGK3过表达诱导的克

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82373901);重庆市自然科学基金创新发展联合基金(CSTB2022NSCQ-LZX0041);重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2025NSCQ-GPX1168)

[通信作者] 周维英,E-mail:wyzhou0118@cqmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2026,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:胡青华,陈波,黄光旭,等. SGK3通过稳定PCK2蛋白调控糖酵解促进ER阳性乳腺癌细胞增殖的机制研究[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(18):2561-2577. DOI:10.16016/j.2097-0927.202606067.

Citation:Hu Q H,Chen B,Huang G X,*et al*. Mechanistics of SGK3 promoting proliferation in ER-positive breast cancer cells by stabilizing PCK2 protein to regulate glycolysis[J]. J Army Med Univ,2026,48(18):2561-2577. DOI:10.16016/j.2097-0927.202606067.

隆形成能力增强,进一步支持SGK3-PCK2轴在糖酵解代谢重编程及细胞增殖调控中的关键作用。**结论** SGK3通过与PCK2相互作用并抑制其溶酶体依赖性降解,从而维持PCK2蛋白稳定性,进而驱动ER^+乳腺癌细胞形成糖酵解相关代谢表型并促进细胞增殖。SGK3-PCK2轴可能构成ER^+乳腺癌重要的代谢调控节点及潜在治疗靶点。

[关键词] SGK3;ER阳性乳腺癌;PCK2;糖酵解;溶酶体途径
[中图法分类号] R343;R730.23;R737.9 [文献标志码] A

Mechanistics of SGK3 promoting proliferation in ER-positive breast cancer cells by stabilizing PCK2 protein to regulate glycolysis

Hu Qinghua[1,2], Chen Bo[1,2], Huang Guangxu[1,2], Chen Xiaojiao[1,2], Zhou Weiying[1,2,3] [1]Department of Pharmacology, [2]Key Laboratory of Drug Metabolism, [3]Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Pharmacology, School of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing, China

[**Abstract**] **Objective** Metabolic reprogramming in breast cancer is an important driver of tumor progression, yet the key regulatory molecular mechanisms governing this process in estrogen receptor-positive (ER^+) breast cancer remain unclear. This study aims to investigate the mechanism by which serum and glucocorticoid-regulated kinase 3 (SGK3) maintains glycolysis-associated metabolic phenotypes and promotes proliferation in ER^+ breast cancer cells by regulating phosphoenolpyruvate carboxykinase 2 (PCK2). **Methods** ①MCF7 cells were used to construct SGK3 gain-of-function (Tet-On inducible overexpression, +Dox *vs* −Dox) and loss-of-function (siSGK3 *vs* siNC) models, followed by proteomics and untargeted metabolomics analyses (n=3). ② Glycolytic metabolic activity was evaluated by measuring phosphoenolpyruvate (PEP), lactate and ATP contents, together with 2-NBDG glucose uptake assay. Mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi m$) and intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were assessed using JC-1 staining and DCFH-DA probe, respectively. ③TIMER2.0, GEPIA2 and Kaplan-Meier Plotter databases were used to analyze the expression profiles of PCK2 in breast cancer, its correlation with SGK3, and its prognostic value in breast cancer. ④Western blotting and quantitative real-time PCR were performed to determine PCK2 expression, and a nude mouse xenograft model was constructed to validate the regulatory effect of SGK3 knockdown on PCK2 protein expression. ⑤Cycloheximide (CHX) chase assay combined with chloroquine (CQ, lysosomal inhibitor) and MG132 (proteasomal inhibitor) treatment were used to analyze PCK2 stability and degradation pathways. ⑥Co-immunoprecipitation (Co-IP), immunofluorescence (IF) assay and molecular docking were applied to examine the interaction between SGK3 and PCK2. ⑦Sensitivity assays with 2-deoxy-D-glucose (2-DG, glycolysis inhibitor) and oligomycin (oxidative phosphorylation inhibitor) were used to evaluate the effect of the SGK3-PCK2 axis on metabolic dependency, and colony formation assay was employed to evaluate its effect on cell proliferation. **Results** ① Proteomic and metabolomic analyses revealed that SGK3-related differentially expressed proteins were predominantly enriched in the glycolysis/gluconeogenesis and pyruvate metabolism pathways (FDR <0.05). PCK2 was identified as a key candidate regulator, and its catalytic product, pyruvate, was significantly reduced after SGK3 knockdown (P<0.05). ②SGK3 knockdown significantly decreased PEP, lactate and ATP levels (P<0.01), suppressed glucose uptake, accompanied by reduced $\Delta\Psi m$ and increased intracellular ROS levels, whereas SGK3 overexpression produced the opposite effects. ③TIMER2.0 analysis and Western blotting demonstrated that PCK2 was highly expressed in ER^+ breast cancer tissues and cell lines (P<0.05). GEPIA2 correlation analysis further confirmed a significant positive correlation between PCK2 and SGK3 expression (r=0.11, P=0.000 22). Kaplan-Meier survival analysis showed that high PCK2 expression was significantly

associated with poorer overall survival (OS) and relapse-free survival (RFS) (P<0.01). ④ Mechanistically, SGK3 did not affect the mRNA expression of PCK2 (P>0.05) but significantly positively regulated its protein level (P<0.05). In the nude mouse xenograft model with SGK3 knockdown, PCK2 protein levels were also markedly decreased in tumor tissues (P<0.01), further validating the positive regulation of PCK2 by SGK3 *in vivo*. ⑤ CHX chase assays demonstrated that SGK3 prolonged the half-life of PCK2 protein. Further degradation pathway analysis showed that CQ, but not MG132, restored the reduction of PCK2 induced by SGK3 knockdown, indicating that SGK3 maintains PCK2 protein stability primarily by suppressing lysosome-dependent degradation. ⑥ Co-IP, IF and molecular docking consistently confirmed the interaction between SGK3 and PCK2. ⑦ Metabolic dependency analysis demonstrated that SGK3 overexpression enhanced cellular sensitivity to 2-DG while increased tolerance to oligomycin; these effects were markedly attenuated by PCK2 silence. Functional assays further showed that PCK2 knockdown partially reversed the enhancement of clonogenic formation induced by SGK3 overexpression, supporting the critical role of the SGK3-PCK2 axis in glycolytic metabolic reprogramming and cell proliferation. **Conclusion** SGK3 drives glycolysis-related metabolic phenotypes and promotes cell proliferation in ER^+ breast cancer cells by interacting with PCK2 and inhibiting its lysosome-dependent degradation, thereby maintaining PCK2 protein stability. The SGK3-PCK2 axis may represent an important metabolic regulatory node and a potential therapeutic target in ER^+ breast cancer.

[**Key words**] serum and glucocorticoid-regulated kinase 3; ER-positive breast cancer; phosphoenolpyruvate carboxykinase 2; glycolysis; lysosomal pathway

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82373901), the Joint Innovation and Development Fund of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2022NSCQ-LZX0041), and the General Project of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2025NSCQ-GPX1168). Corresponding author: Zhou Weiying, E-mail: wyzhou0118@cqmu.edu.cn

乳腺癌是全球女性中发病率最高的恶性肿瘤,其中雌激素受体阳性(estrogen receptor,ER^+)乳腺癌约占70%[1]。尽管以内分泌治疗为核心的综合治疗策略显著改善了患者预后,但部分患者对治疗的反应仍存在显著异质性,其潜在分子机制尚未完全阐明[2]。近年来研究表明,肿瘤细胞通过重塑能量代谢方式以适应快速增殖需求,是肿瘤发生发展的重要特征之一。即使在氧供充足条件下,肿瘤细胞仍倾向增强糖酵解活性以获取能量和生物合成前体,即Warburg效应[3]。糖酵解增强不仅为肿瘤细胞提供持续增殖所需的能量和生物合成原料,还与侵袭转移、治疗耐受及不良预后密切相关[4-5]。因此,解析ER^+乳腺癌糖酵解相关代谢表型形成的关键调控机制,对于理解肿瘤代谢适应及发现新的干预靶点具有重要意义。

血清和糖皮质激素调节激酶3(serum and glucocorticoid-regulated kinase 3,SGK3)属于AGC丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族,是PI3K信号通路的重要下游效应分子[6]。与AKT家族成员不同,SGK3具有独特的Phox homology(PX)结构域,可特异性结合磷脂酰肌醇-3-磷酸并定位于内体及溶酶体相关膜结构,从而参与膜运输、营养感知及信号转导等生物学过程[7-8]。现有研究表明,SGK3在ER^+乳腺癌中异常高表达,并与患者不良预后密切相关[9]。本课题组前期研究发现,SGK3可通过激活STAT3/ZMIZ2信号通路稳定β-catenin蛋白,促进ER^+乳腺癌细胞增殖与维持肿瘤干性表型[10],并筛选获得靶向SGK3的小分子抑制剂,证实其具有抗ER^+乳腺癌的先导化合物潜力[11]。然而,SGK3在糖酵解相关代谢表型形成中的作用及其下游效应分子的调控机制尚不明确。

磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶2(phosphoenolpyruvate carboxykinase 2,PCK2)是定位于线粒体的关键代谢酶,催化草酰乙酸转化为磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate,PEP),连接三羧酸循环与糖酵解/糖异生代谢网络[12-13]。近年来研究表明,PCK2除参与经典糖异生过程外,还可通过维持代谢中间产物供给、促进生物合成及维持氧化还原稳态等方式支持肿瘤细胞存活和增殖[14-15]。在肺癌、肝癌及乳腺癌等多种肿瘤中,PCK2被认为是维持肿瘤细胞代谢适应能力的重要调控分子[16-17]。然而,PCK2在ER^+乳腺癌中是否受SGK3调控及其具体机制尚未明确。

基于前期蛋白质组学分析发现,PCK2可能是SGK3的重要下游效应分子。本研究结合蛋白质组

学、代谢组学及分子生物学实验,系统探讨SGK3对PCK2的调控机制及其在ER^+乳腺癌细胞糖酵解相关代谢表型形成中的作用,旨在阐明SGK3-PCK2轴促进肿瘤糖酵解及增殖的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

人ER^+乳腺癌细胞系MCF7和T47D购自中国科学院细胞库。MCF7细胞采用DMEM培养基培养,T47D细胞采用RPMI-1640培养基培养,培养基均含10%胎牛血清及1%青链霉素,于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养。

1.2 主要试剂与抗体

兔抗SGK3抗体(#8156)购自美国Cell Signaling Technology公司;兔抗PCK2抗体(YP-Ab-03441)购自HUABIO公司;鼠抗β-actin抗体(#66009-1-Ig)购自Proteintech公司。HRP标记二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。放线菌酮(cycloheximide,CHX)、氯喹(chloroquine,CQ)、MG132、2-脱氧葡萄糖(2-deoxy-D-glucose,2-DG)及寡霉素(oligomycin)购自上海陶术生物科技有限公司。Lipo8000™转染试剂、结晶紫、Hochest 33342及相关代谢检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。

1.3 细胞转染

使用Lipo8000™转染试剂将siRNA或质粒转染至MCF7和T47D细胞。siSGK3序列:正义链5′-GGACCAGAUGAAUCAGAAU-3′,反义链5′-AUUCUGAUUCAUCUGGUCC-3′;siPCK2序列:正义链5′-GCCUGAAGACAUCAAGAAT-3′,反义链5′-UUCUUGAUGUCUUCAGGC-3′。SGK3过表达质粒由本实验室构建保存。转染48 h后收集细胞。

1.4 蛋白质组学分析

采用MCF7-Tet-On细胞建立SGK3过表达模型(+Dox *vs* −Dox)及相应对照组,每组3个生物学重复。Tet-On系统是一种激活性四环素诱导表达系统,核心元件包括反义Tet转录活化因子(rtTA)和Tet响应元件(TRE),多西环素(doxycycline,Dox)处理后,Dox与rtTA结合导致其构象改变,使其能够特异性结合TRE,从而激活下游最小启动子,开启目的基因的表达,从而诱导SGK3蛋白表达。提取总蛋白,经酶解、TMT标记后,采用纳升液相色谱串联Orbitrap Fusion Lumos质谱进行检测,以数据依赖采集模式获取原始数据。差异表达蛋白筛选标准为$|\log_2FC|>0.5$且$P<0.05$,对差异蛋白进行KEGG通路富集分析,并进一步对其中代谢相关差异蛋白进行聚类分析。

1.5 非靶向代谢组学分析

采用SGK3敲低MCF7细胞(siSGK3 *vs* siNC)及相应对照细胞,每组3个生物学重复。收集细胞样本后,采用甲醇-水体系提取胞内代谢物,经离心取上清后,利用UPLC-MS/MS平台(ACQUITY UPLC-Xevo TQ-S)进行检测,部分代谢物经衍生化处理以提高检测灵敏度。采用OPLS-DA模型分析组间整体代谢差异,并基于检测到的代谢物进行代谢通路影响分析;以变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)>1且$P<0.05$为标准筛选差异代谢物。

1.6 公共数据库分析

本研究中涉及的公共数据库分析包括TIMER2.0、GEPIA2及Kaplan-Meier plotter。TIMER2.0用于分析目的基因在泛癌组织中的mRNA表达水平,GEPIA2用于分析基因间的表达相关性,Kaplan-Meier plotter用于评估基因表达与乳腺癌患者总生存期(OS)及无复发生存期(RFS)的关联。上述分析均基于各数据库公开数据及其标准分析流程完成。

1.7 Western blot检测

细胞经RIPA裂解(含蛋白酶抑制剂),BCA法测定蛋白浓度。取30 μg蛋白,进行SDS-PAGE电泳,转至PVDF膜(87 V,时间按1 min/kDa)。5%脱脂奶粉封闭2 h,一抗4 ℃孵育过夜(SGK3 1∶1 000,PCK2 1∶1 000,β-actin 1∶2000),二抗室温孵育2 h,化学发光法(enhanced chemiluminescence,ECL)显影。

1.8 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测

TRIzol法提取总RNA,并反转录为cDNA。RT-qPCR使用SYBR Green法在Bio-Rad CFX Connect上进行:95 ℃ 30 s预变性;40个循环(95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s)。*PCK2*引物:正向5′-GCCATCATGCCGTAGCATC-3′,反向5′-AGCCTCAGTTCCATCACAGAT-3′;内参*β-actin*引物:正向5′-CCTGGCACCCAGCACAAT-3′,反向5′-GGGCCGGACTCGTCATAC-3′。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达量。

1.9 磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)检测

PEP检测试剂盒(碧云天,S0183)检测细胞PEP含量。按照试剂盒说明书操作,于570 nm波长处检测吸光度。

1.10 乳酸生成检测

乳酸检测试剂盒(碧云天,S0201S)检测细胞乳酸生成水平。收集细胞培养上清,按照试剂盒说明书操作,于450 nm波长处检测吸光度。

1.11 ATP含量检测

ATP检测试剂盒(碧云天,S0026)检测细胞ATP含量。处理后收集细胞并裂解,取上清按照试剂盒说明书操作,采用化学发光仪检测相对发光单位(relative light unit, RLU)。

1.12 葡萄糖摄取检测

2-NBDG葡萄糖摄取检测试剂盒(碧云天,S0039S)检测细胞葡萄糖摄取能力。处理后细胞加入终浓度为10 μmol/L的2-NBDG工作液,37 ℃避光孵育30 min。PBS洗涤后,采用荧光显微镜观察并拍照(Ex/Em=488 nm/525 nm)。

1.13 活性氧(ROS)水平检测

活性氧检测试剂盒(碧云天,S0033S)检测细胞内ROS水平。处理后的细胞,加入终浓度为10 μmol/L的DCFH-DA工作液,37 ℃避光孵育20 min。洗涤后,采用荧光显微镜观察并拍照(Ex/Em=488 nm/525 nm)。

1.14 线粒体膜电位(ΔΨm)检测

线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1,碧云天,C2006)检测细胞线粒体膜电位变化。处理后的细胞,加入1 ml JC-1染色工作液,37 ℃孵育20 min;吸除上清,用JC-1染色缓冲液(1×)洗涤2次。加入2 mL细胞培养液,在荧光显微镜下观察并拍照。

1.15 蛋白稳定性与降解途径检测

CHX追踪实验:细胞转染siRNA敲低SGK3/Dox诱导SGK3过表达后,加入CHX(100 μg/mL),于0、5、10、15 h收集细胞,Western blot检测PCK2蛋白水平。降解途径分析:细胞转染siRNA敲低SGK3/Dox诱导SGK3过表达后,分别加入CQ(10 μmol/L)或MG132(10 μmol/L)处理6 h,Western blot检测PCK2蛋白表达水平。

1.16 免疫共沉淀(Co-IP)检测

细胞裂解后取500 μg总蛋白,加入2 μg SGK3抗体或兔IgG抗体,4 ℃旋转孵育过夜;加入40 μL Protein A/G琼脂糖珠,4 ℃孵育4 h,洗涤5次,经SDS上样缓冲液煮沸变性后,Western blot检测PCK2蛋白水平。

1.17 免疫荧光(IF)检测

细胞经4%多聚甲醛固定15 min、0.5% Triton X-100透化10 min、5% BSA封闭1 h;一抗(SGK3 1∶200,PCK2 1∶100)4 ℃孵育过夜,PBS洗3次,荧光二抗(1∶200)室温避光孵育1 h,PBS洗3次,Hochest33342染核,激光共聚焦显微镜(Leica TCS SP8)拍摄图像。

1.18 细胞克隆形成实验

细胞分为NC组、OE-SGK3组、siPCK2组及OE-SGK3+siPCK2组。转染后,细胞以1×10^{3}个/孔接种于12孔板,培养14 d,4%多聚甲醛固定15 min,0.1%结晶紫染色30 min,拍照并计数。

1.19 代谢抑制剂敏感性实验

采用Tet-On系统诱导SGK3过表达(+Dox,1 μg/mL,48 h),-Dox为对照。细胞以5×10^{3}个/孔接种于96孔板,分别加入梯度浓度2-DG(0~100 mmol/L)或寡霉素(0~20 μmol/L)处理48 h;为评估敲低PCK2对上述效应的影响,在SGK3过表达后,采用siRNA敲低PCK2,然后加入梯度浓度2-DG(0~100 mmol/L)或寡霉素(0~20 μmol/L)处理48 h;CCK-8法(每孔10 μL,37 ℃孵育2 h)于450 nm测吸光度,计算IC_{50}。

1.20 统计学方法

使用GraphPad Prism 8.0.2软件进行统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示。两组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey多重比较检验。P<0.05为差异有统计学意义。

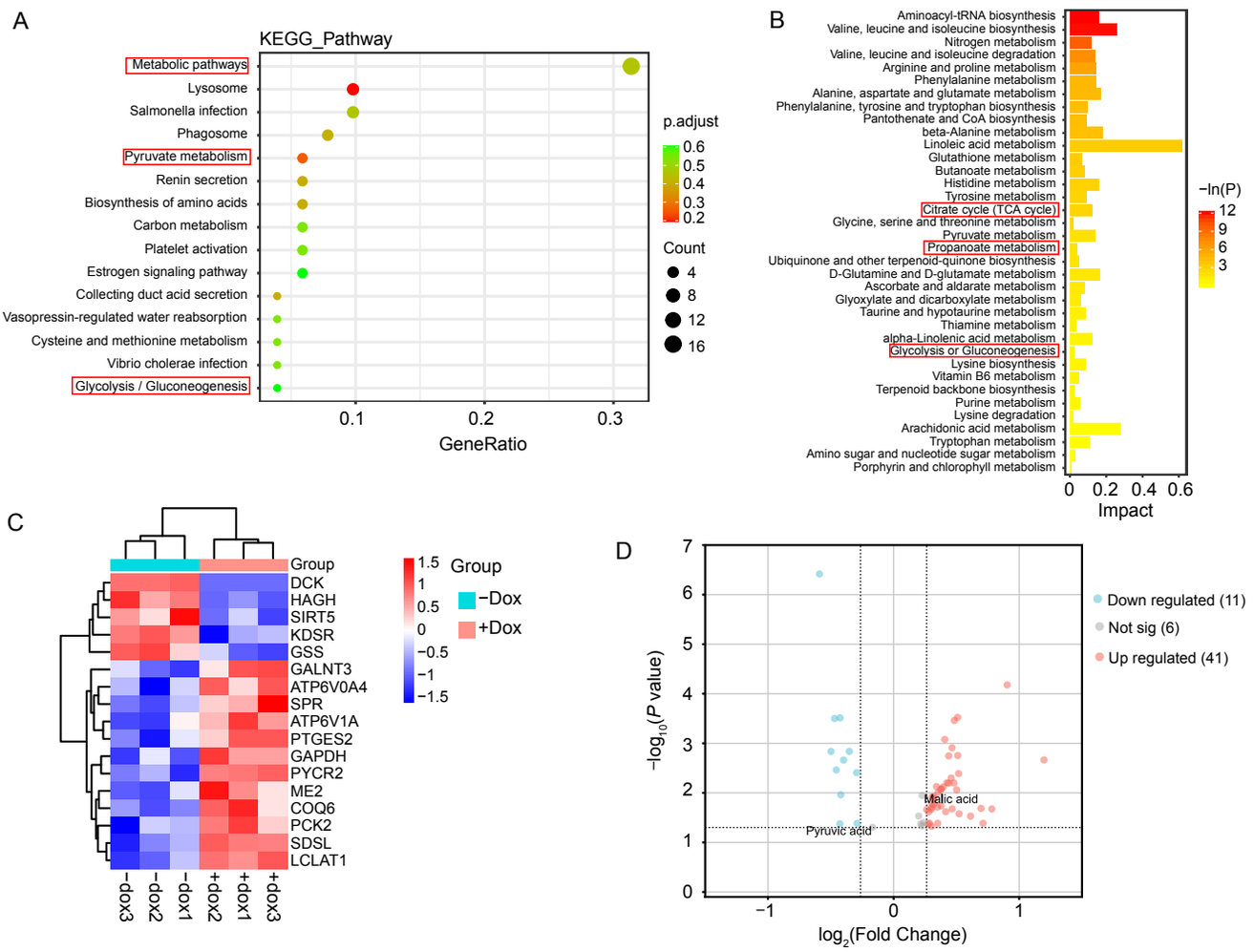
2 结果

2.1 多组学分析揭示SGK3调控糖酵解和丙酮酸代谢通路

为阐明SGK3在ER$^+$乳腺癌代谢调控中的作用,本研究采用蛋白质组学与代谢组学联合分析。蛋白质组学KEGG富集分析显示,SGK3过表达后差异蛋白主要富集于糖酵解及丙酮酸代谢等能量代谢相关通路(FDR<0.05,图1A)。代谢组学通路分析进一步证实,敲低SGK3同样显著扰动糖酵解及丙酮酸代谢通路(图1B),提示SGK3可能参与肿瘤细胞代谢重编程过程。

进一步结合代谢相关差异蛋白聚类热图分析(图1C),发现线粒体关键代谢酶PCK2的表达变化与糖酵解及丙酮酸代谢通路的变化趋势高度一致。同时,代谢组学分析结果显示,SGK3敲低导致丙酮酸等关键代谢物水平显著下降(P<0.05,图1D),进一步支持PCK2可能参与SGK3介导的代谢调控过程。

综合蛋白质组学与代谢组学结果,PCK2同时位于糖酵解与丙酮酸代谢网络的关键节点,其表达变化与代谢通路扰动及代谢物变化趋势一致。因此,本研究确定PCK2为SGK3介导ER$^+$乳腺癌代谢重编程的重要候选下游分子,并围绕其开展后续机制研究。



A: KEGG enrichment analysis of differentially expressed proteins in SGK3-overexpressing cells; B: Pathway impact analysis of differential metabolites in SGK3-knockdown cells; C: Heatmap of metabolism-related differential proteins; D: Volcano plot of differential metabolites

图1 多组学分析筛选SGK3调控的核心代谢通路及候选分子

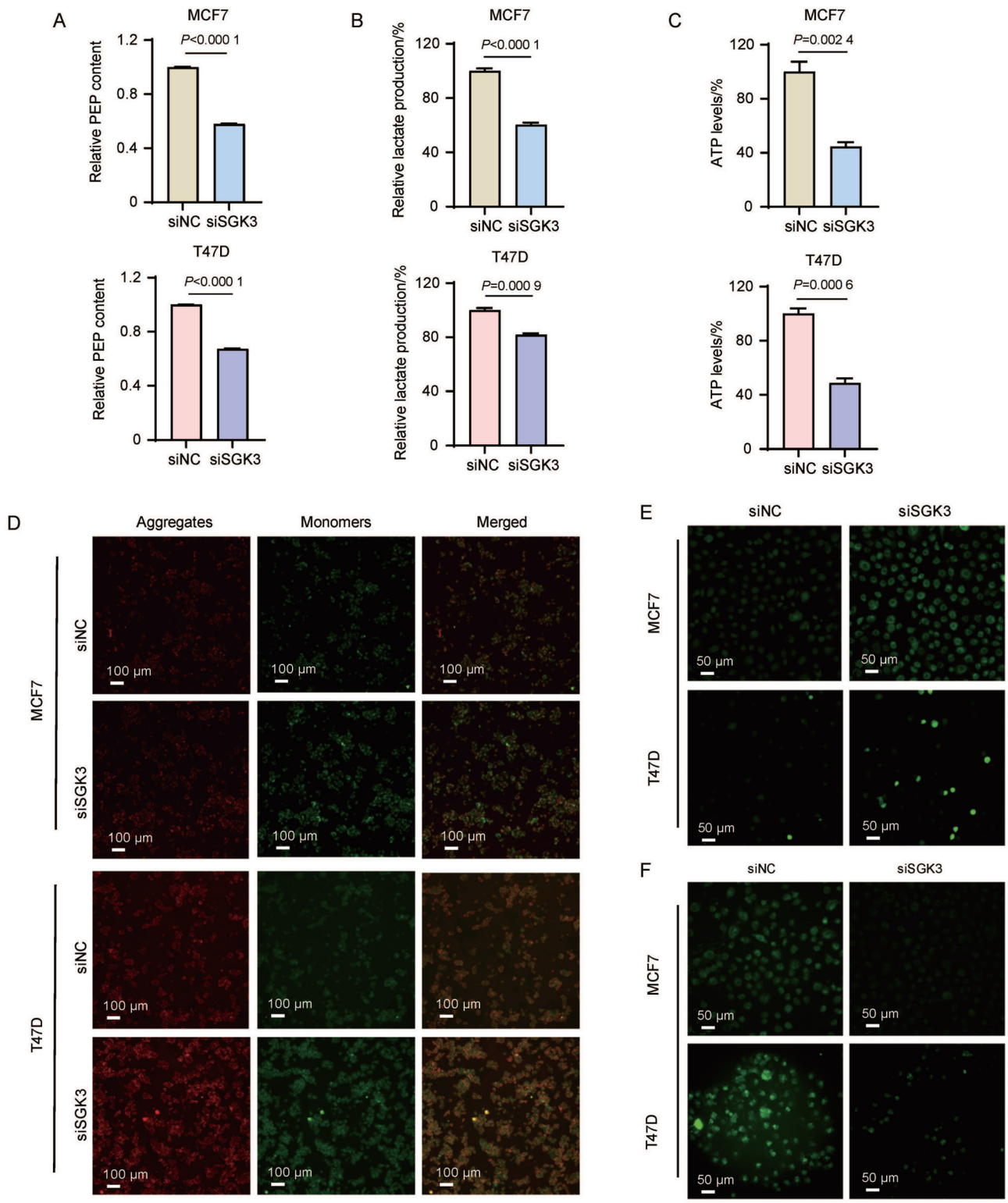
Figure 1 Multiomics analysis to screen core metabolic pathways and candidate molecules regulated by SGK3 in ER$^+$ breast cancer cells

2.2 SGK3调控ER$^+$乳腺癌细胞糖酵解相关代谢表型

为验证SGK3对ER$^+$乳腺癌细胞代谢的调控作用,本研究分别在MCF7和T47D细胞中建立敲低SGK3及Tet-On系统诱导过表达SGK3细胞系,并系统检测糖酵解及线粒体功能相关指标。结果显示,敲低SGK3后,糖酵解关键中间产物PEP(P<0.000 1)、乳酸(P<0.001)及胞内ATP(P<0.01)水平明显降低,葡萄糖摄取能力下降;同时线粒体膜电位($\Delta\Psi$m)降低、胞内ROS水平升高(图2A~F)。与之相反,诱导过表达SGK3后,PEP(P<0.001)、乳酸(P<0.01)及ATP(P<0.001)生成升高,葡萄糖摄取增强,线粒体膜电位上升、ROS水平下降(图3A~F)。上述结果证实,SGK3可正向促进糖酵解过程并维持线粒体稳态,从而驱动ER$^+$乳腺癌形成糖酵解相关代谢表型。

2.3 PCK2与ER$^+$乳腺癌不良预后相关

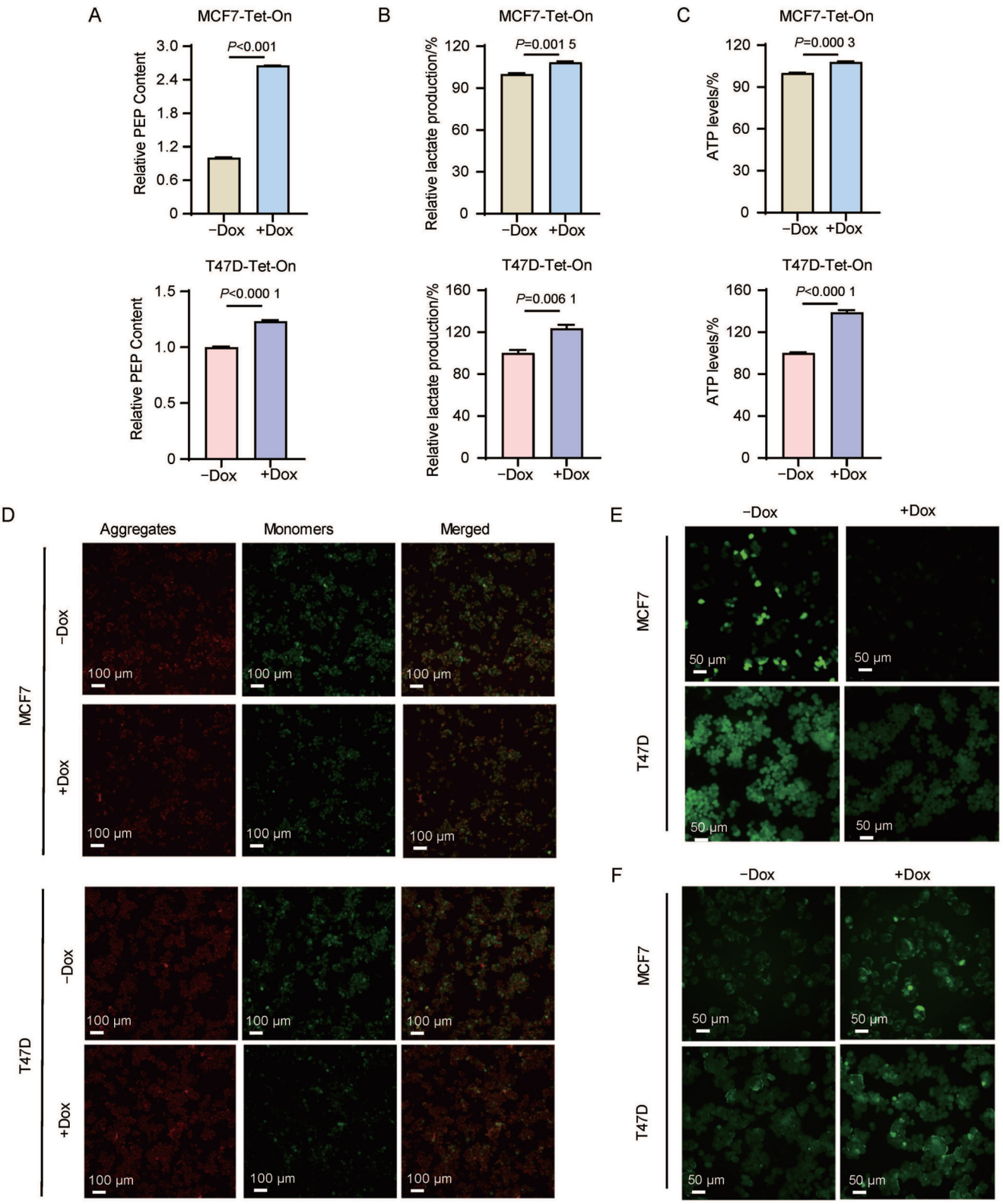
基于蛋白质组学KEGG富集分析结果,糖酵解/糖异生和丙酮酸代谢两条显著富集通路的重叠靶基因为PCK2。PCK2是催化草酰乙酸生成磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)的关键代谢酶,结合代谢组学结果显示,SGK3干预后PEP水平发生显著变化。因此,需要进一步探究PCK2在ER$^+$乳腺癌中的表达特征及临床意义。TIMER 2.0数据库数据分析结果显示,乳腺癌组织中PCK2表达水平显著高于正常乳腺组织(P<0.05),且ER$^+$乳腺癌亚型(Luminal A和Luminal B)表达最高(图4A)。相关性分析显示,乳腺癌组织中PCK2与SGK3表达呈显著正相关(图4B)。Kaplan-Meier生存



A to C: Phosphoenolpyruvate (PEP), lactate and ATP levels after SGK3 knockdown in MCF7 and T47D cells (n=3); D: Mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi$m) after SGK3 knockdown in MCF7 and T47D cells; E: ROS levels after SGK3 knockdown in MCF7 and T47D cells; F: Glucose uptake after SGK3 knockdown in MCF7 and T47D cells

图2 敲低SGK3抑制ER$^+$乳腺癌细胞糖酵解并损伤线粒体功能

Figure 2 SGK3 knockdown suppresses glycolysis and impairs mitochondrial function in ER$^+$ breast cancer cells



A to C: PEP, lactate and ATP levels after SGK3 overexpression by Tet-on system in MCF7 and T47D cells (n=3); D: ΔΨ m after SGK3 overexpression by Tet-on system in MCF7 and T47D cells; E: ROS levels were detected after overexpression of SGK3 by Tet-on system in MCF7 and T47D cells; F: Glucose uptake after SGK3 knockdown using Tet-on system in MCF7 and T47D cells

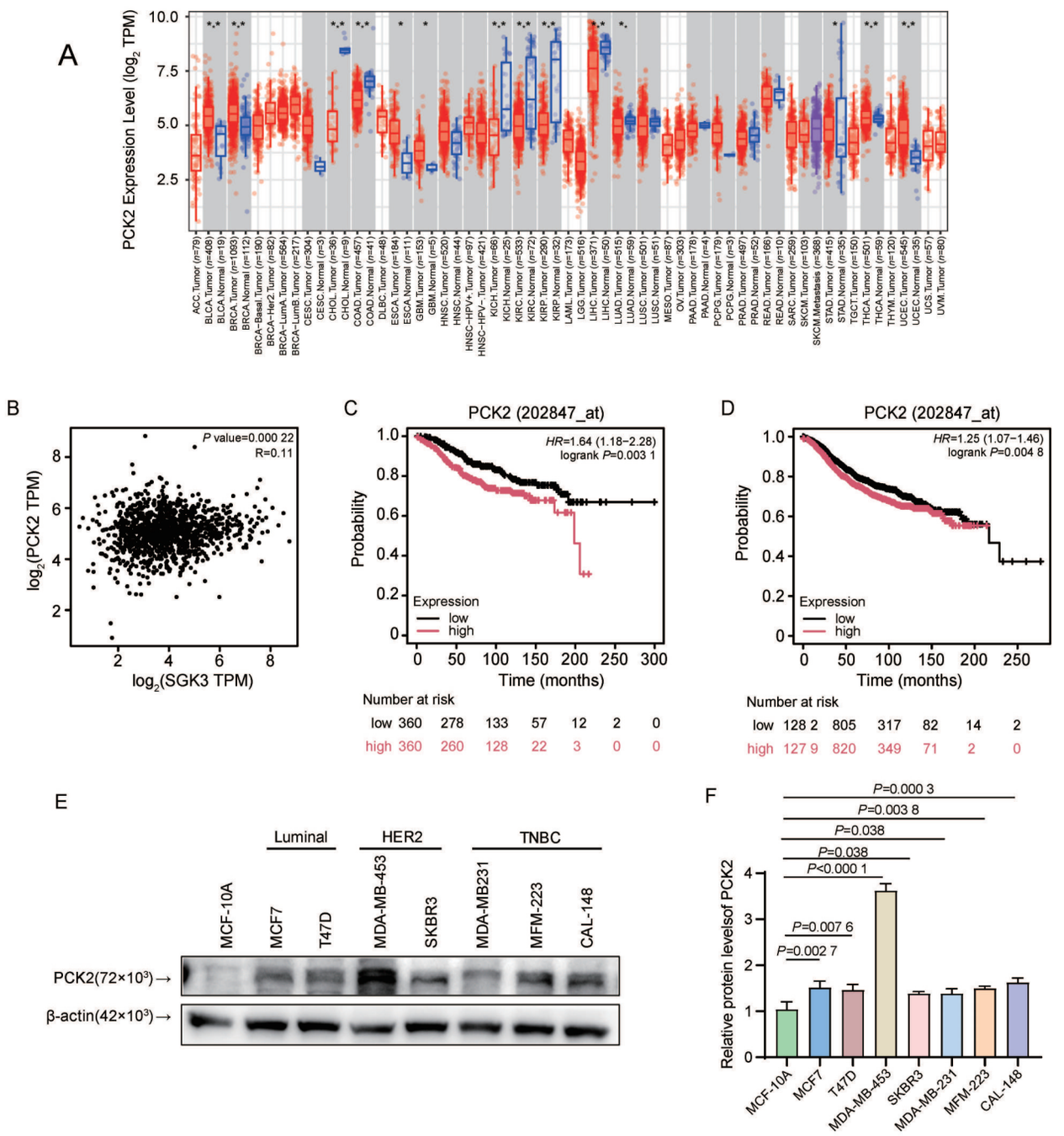
图3 过表达SGK3促进ER$^+$乳腺癌细胞形成糖酵解相关代谢表型

Figure 3 SGK3 overexpression promotes the glycolysis-related metabolic phenotypes in ER$^+$ breast cancer cells

分析显示,PCK2高表达患者的OS及RFS均显著低于PCK2低表达患者(P<0.01,图4C、D)。进一步检测正常乳腺上皮细胞及乳腺癌细胞系中的PCK2蛋白表达水平,结果显示,多株乳腺癌细胞系中PCK2蛋白表达均明显高于正常乳腺上皮细胞(P<0.05,图4E、F)。上述结果提示,PCK2在ER$^+$乳腺癌中呈高表达状态,并与患者不良预后密切相关。

2.4　SGK3调控PCK2蛋白水平

为明确SGK3调控PCK2表达的分子层次,本研究在MCF7和T47D细胞中分别过表达或敲低SGK3,采用qPCR及Western blot检测PCK2的mRNA和蛋白表达水平。qPCR结果显示,SGK3过表达或敲低,PCK2

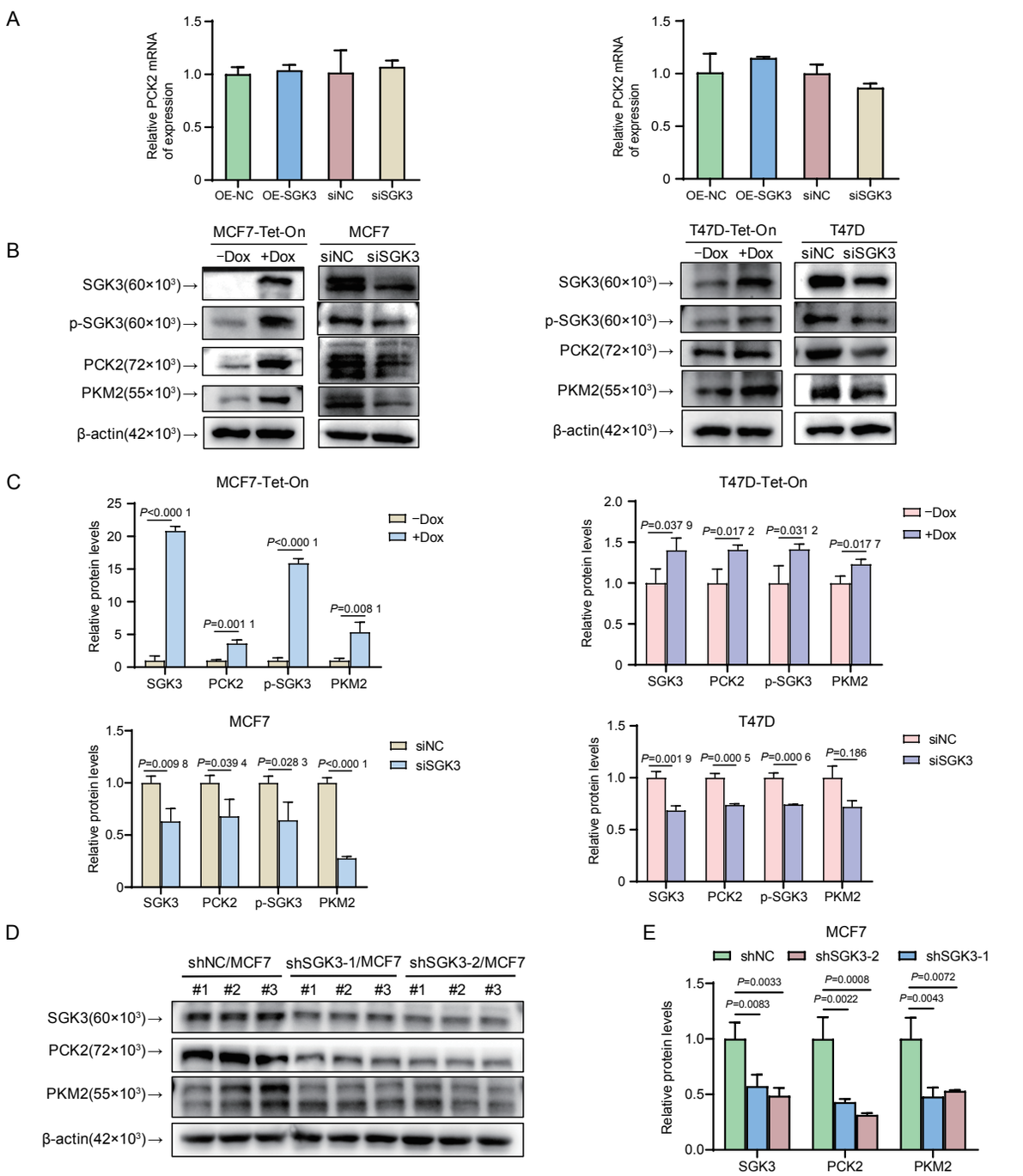


A: PCK2 expression analysis in the TIMER2.0 database; B: Correlation analysis SGK3 and PCK2 in GEPIA2 database; C and D: Overall survival (OS) and relapse-free survival (RFS) analyses according to PCK2 expression; E and F: Expression and statistical analysis of PCK2 protein in breast epithelial cells and breast cancer (n=3)

图4　PCK2高表达与ER$^+$乳腺癌不良预后相关

Figure 4　High expression of PCK2 is associated with poor prognosis in ER$^+$ breast cancer

的mRNA表达水平均无显著变化(P>0.05,图5A)。然而,Western blot结果显示,过表达SGK3后,显著上调PCK2蛋白水平(P<0.05);敲低SGK3后,显著降低PCK2蛋白水平(P<0.05,图5B、C)。进一步建立敲低SGK3稳转细胞株(shSGK3/MCF7)裸鼠异种移植瘤模型,检测肿瘤组织中SGK3和PCK2的蛋白水平;结果显示,敲低SGK3同样可显著降低肿瘤组织中PCK2蛋白表达水平(P<0.01,图5D、E)。上述结果提示,SGK3主要通过翻译后水平调控PCK2蛋白水平,而非转录水平。



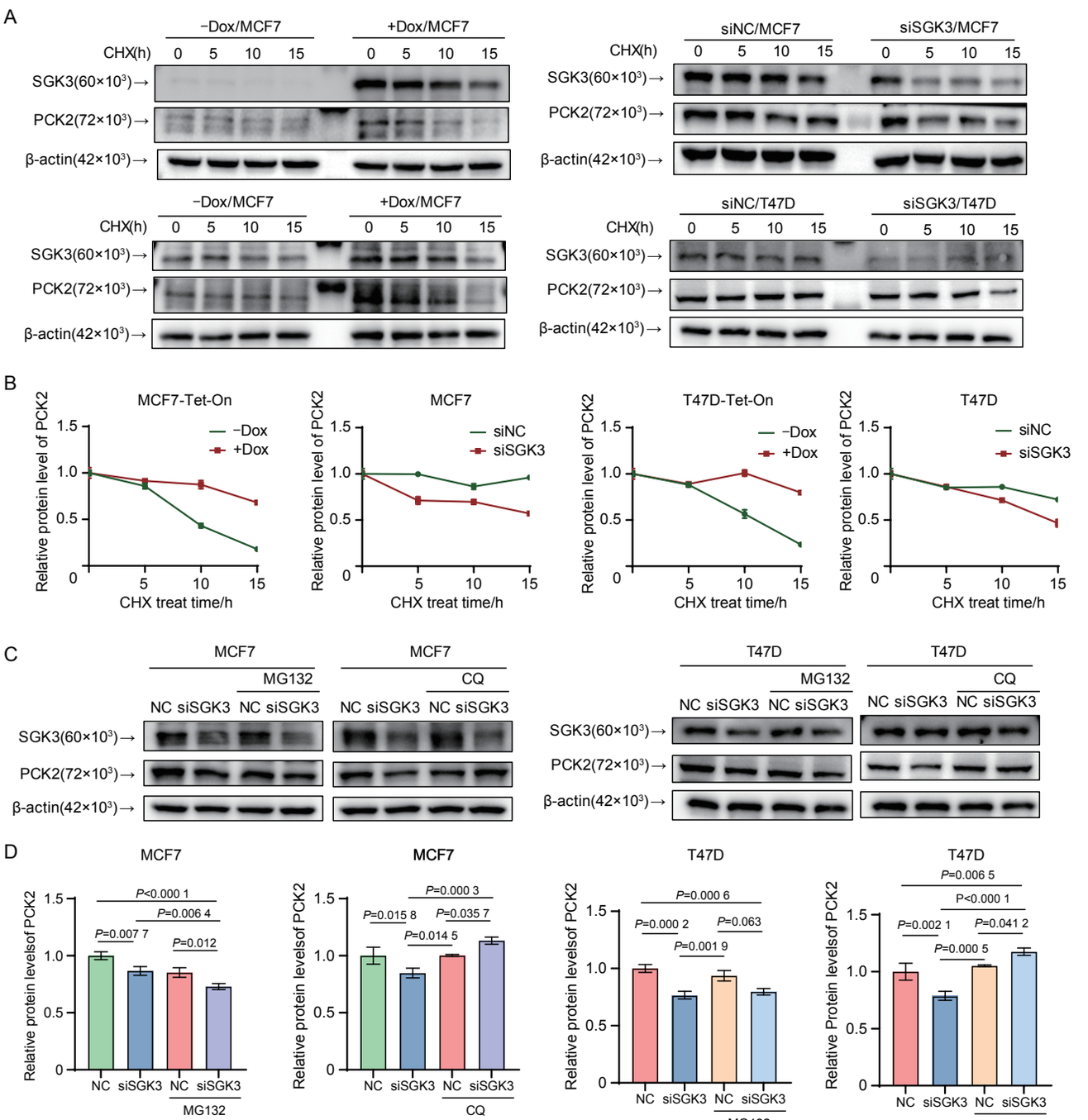
A: PCK2 mRNA levels after SGK3 overexpression or knockdown; B and C: Protein levels and quantitative analyses of SGK3, p-SGK3, PCK2, and PKM2 after SGK3 overexpression (Tet-on system, +DOX *vs* −DOX) or knockdown (siSGK3 *vs* siNC); D and E: Protein levels and quantitative analyses of SGK3, PCK2, and PKM2 in transplanted tumor tissues after SGK3 knockdown

图5 SGK3调控PCK2蛋白水平 (n=3, $\bar{x}\pm s$)

Figure 5 SGK3 regulates PCK2 protein levels(n=3, $\bar{x}\pm s$)

2.5　SGK3通过抑制溶酶体途径延长PCK2蛋白半衰期

为阐明SGK3调控PCK2蛋白稳定性的分子机制,本研究首先采用CHX追踪实验探究SGK3对PCK2蛋白半衰期的影响。结果显示,相较于对照组,过表达SGK3可明显延缓PCK2蛋白降解速率,延长PCK2蛋白半衰期;敲低SGK3可明显加快PCK2蛋白降解速率,缩短PCK2蛋白半衰期(图6A、B)。为进一步明确



A and B: PCK2 protein degradation by CHX trace assay after SGK3 overexpression/knockdown and relative protein levels of PCK2; C and D: Protein levels and relative quantitative analysis of PCK2 after SGK3 knockdown and treatment with proteasomal inhibitor MG132 or lysosomal inhibitor CQ

图6　SGK3通过抑制溶酶体降解途径延长PCK2蛋白半衰期 (n=3, $\bar{x}\pm s$)

Figure 6　SGK3 prolongs the half-life of PCK2 protein by inhibiting the lysosomal degradation pathway (n=3, $\bar{x}\pm s$)

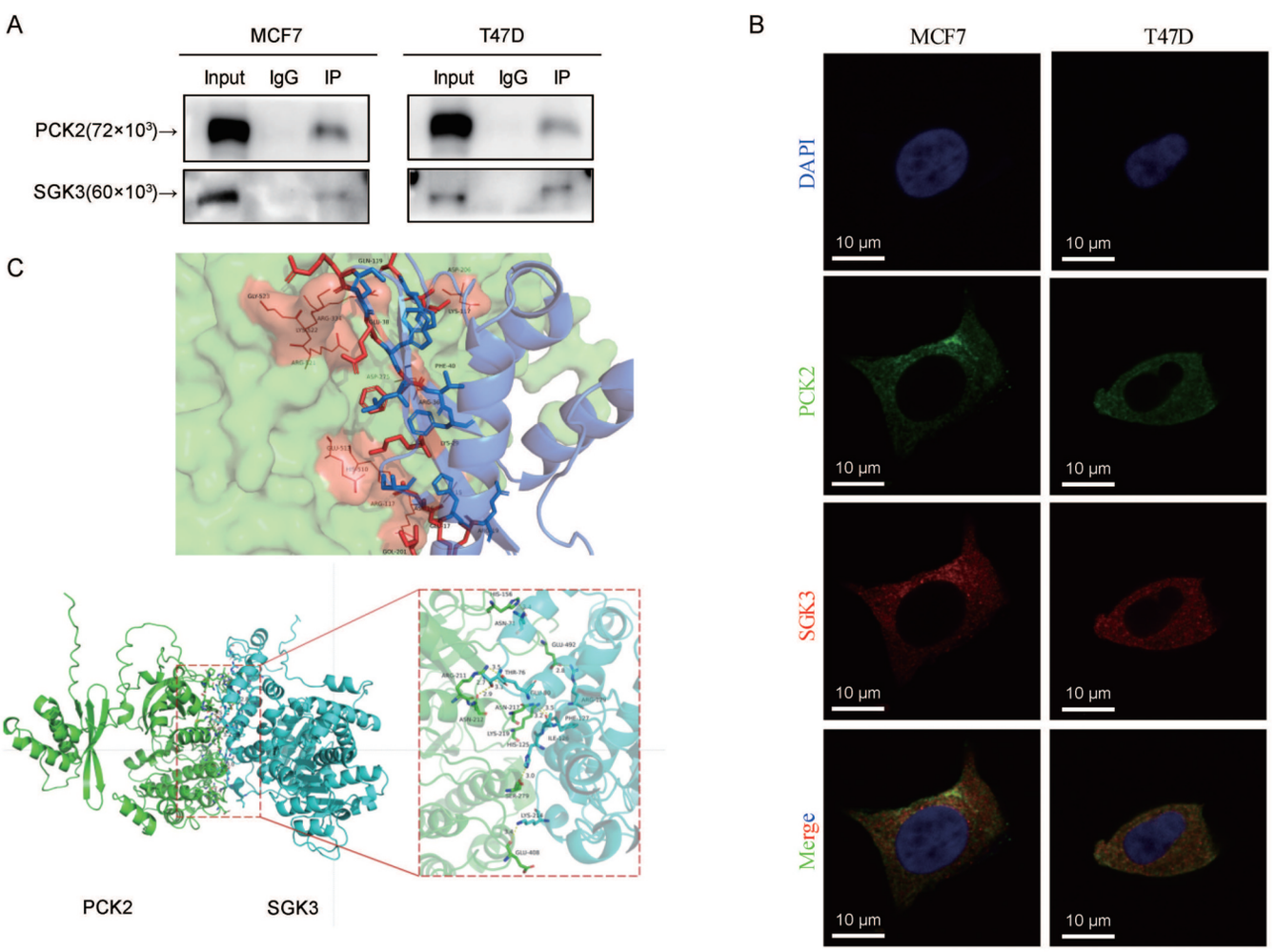
PCK2的主要降解通路,在敲低SGK3的细胞中分别加入溶酶体抑制剂氯喹(CQ)及蛋白酶体抑制剂MG132;结果显示,CQ处理可有效恢复PCK2蛋白表达,而MG132无明显挽救效果(图6C、D)。以上结果表明,SGK3主要通过抑制溶酶体依赖的蛋白降解过程维持PCK2蛋白稳定性。

2.6 SGK3与PCK2存在相互作用

鉴于SGK3在翻译后水平调控PCK2稳定性,本研究进一步探究二者是否存在物理相互作用。Co-IP结果显示,在MCF7、T47D细胞中利用SGK3抗体进行免疫共沉淀,均可在沉淀产物中检出PCK2(图7A);免疫荧光共定位结果显示SGK3(绿色)与PCK2(红色)在细胞质中共定位(图7B)。此外,分子对接分析亦提示SGK3与PCK2蛋白之间存在潜在结合界面(图7C),从结构层面支持二者存在物理相互作用。

2.7 SGK3-PCK2轴驱动糖酵解依赖性代谢重编程

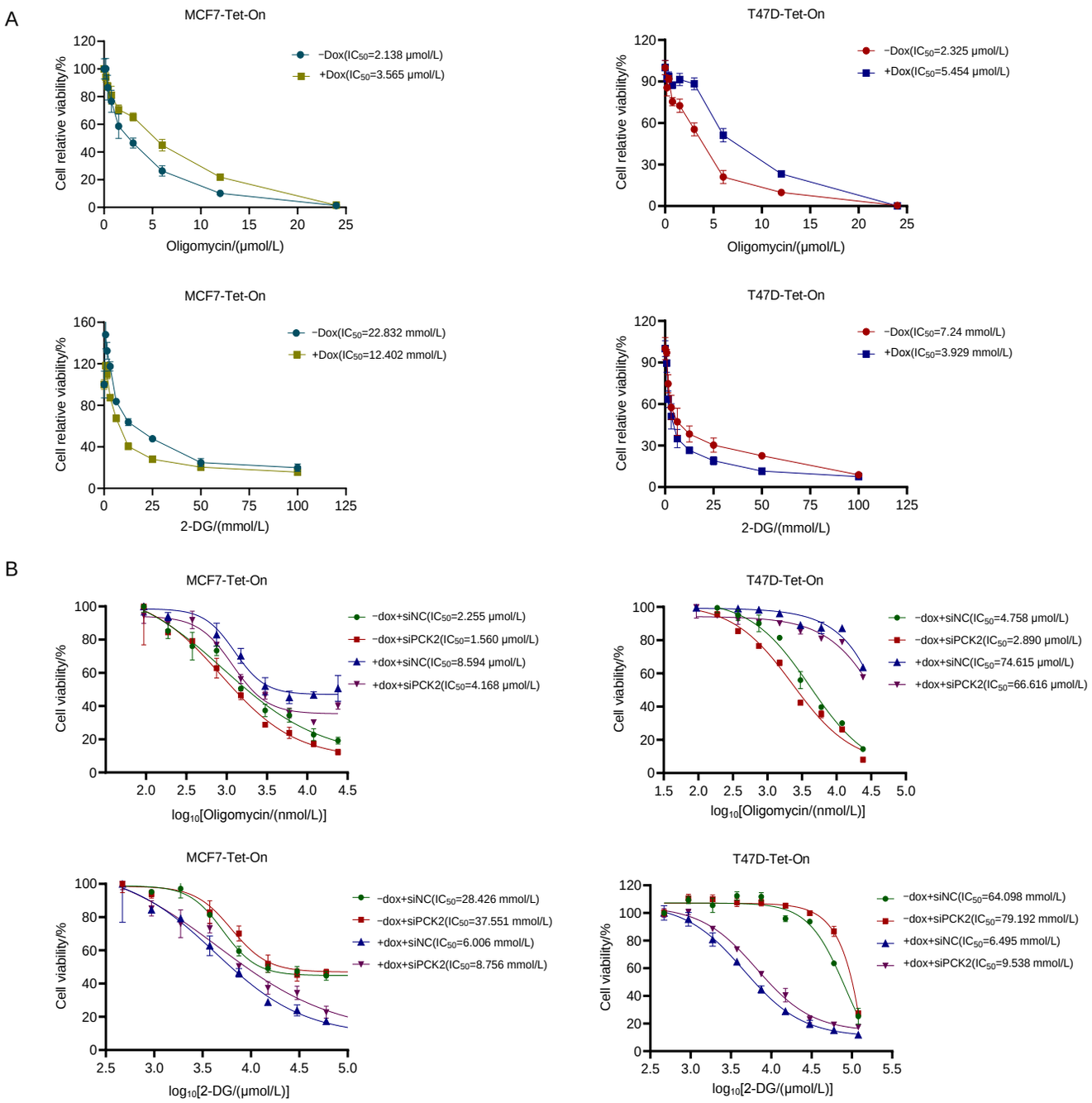
为探究SGK3-PCK2轴对细胞代谢依赖模式的调控,本研究采用代谢抑制剂敏感性实验,检测细胞对糖酵解抑制剂2-DG和氧化磷酸化抑制剂寡霉素的反应。结果显示,与未加Dox对照组相比,Dox诱导SGK3过表达细胞对2-DG的敏感性增加、IC_{50}降低,而对寡霉素的耐受性增强、IC_{50}升高,提示SGK3促使细胞代谢依赖由氧化磷酸化向糖酵解偏移(图8A)。同时过表达SGK3并敲低PCK2后,细胞对2-DG的敏感性下降、IC_{50}升高,同时对寡霉素的耐受能力显著下降(图8B)。上述结果表明,SGK3通过PCK2重塑ER^+乳腺癌细胞的代谢依赖模式,使细胞更加依赖糖酵解途径获取能量。



A: Co-immunoprecipitation showing the interaction between SGK3 and PCK2 in MCF7 and T47D cells; B: Immunofluorescence assay demonstrating co-localization of SGK3 (green) and PCK2 (red) in MCF7 and T47D cells; C: Molecular docking analysis of the 2 proteins

图7 SGK3与PCK2存在物理相互作用

Figure 7 SGK3 physically interacts with PCK2



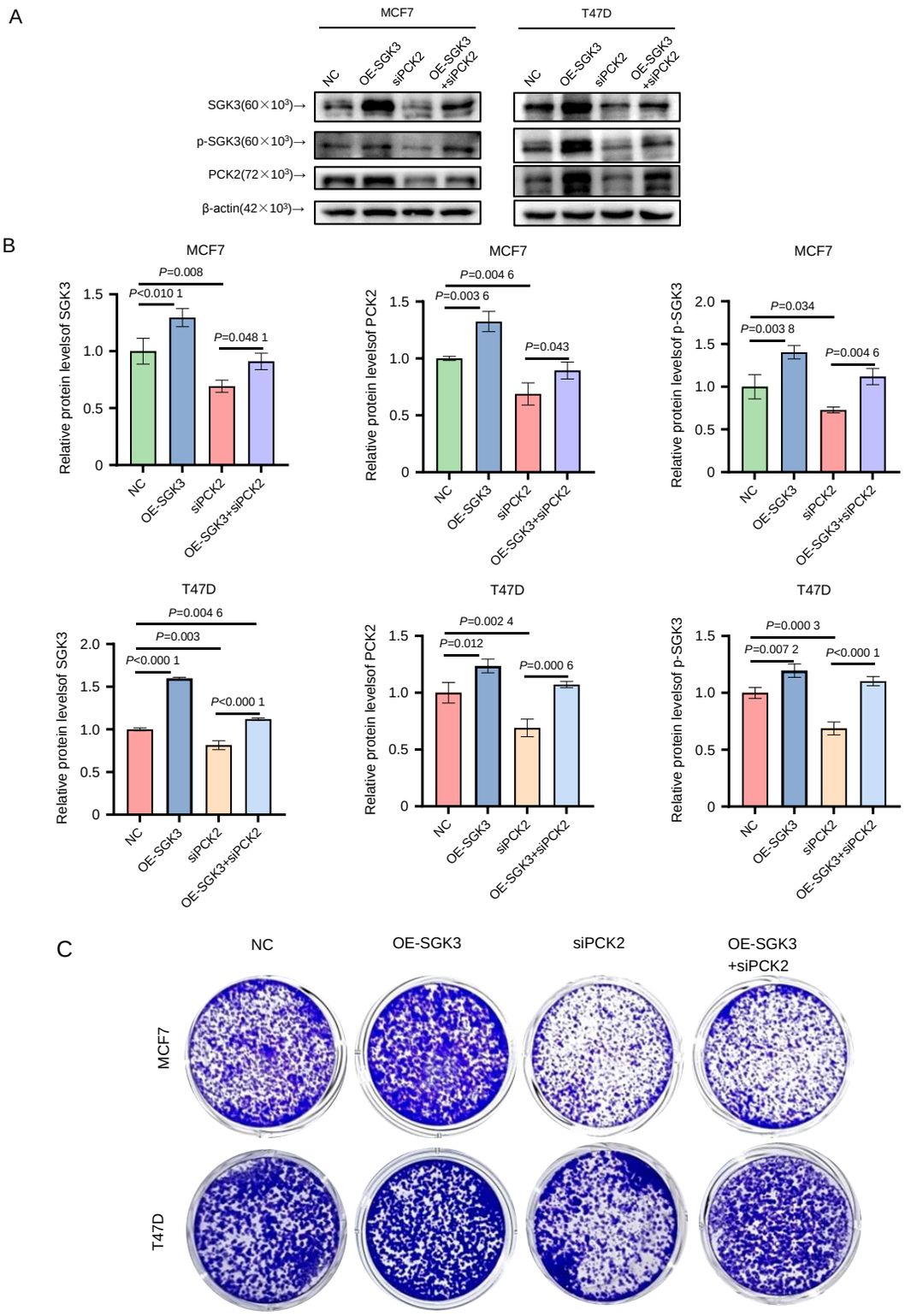
A: 2-DG and oligomycin dose-response curves and IC_{50} in MCF7-Tet-on and T47D-Tet-on cells; B: Effect of PCK2 knockdown on drug sensitivity of SGK3 overexpressing cells in MCF7-Tet-on and T47D-Tet-on cells

图8 SGK3-PCK2轴重塑ER$^+$乳腺癌细胞代谢依赖模式 (n=3, $\bar{x}\pm s$)

Figure 8 The SGK3 - PCK2 axis remodels the metabolism dependent pattern of ER$^+$ breast cancer cells (n=3, $\bar{x}\pm s$)

2.8 PCK2介导SGK3促进ER$^+$乳腺癌细胞增殖

为明确PCK2是否介导SGK3促进ER$^+$乳腺癌细胞增殖的作用,本研究构建SGK3过表达联合敲低PCK2的挽救模型。Western blot结果显示,SGK3过表达可显著上调PCK2蛋白水平(P<0.05),而敲低PCK2可显著逆转SGK3诱导的PCK2蛋白上调(P<0.05,图9A、B)。细胞克隆形成实验结果显示,SGK3过表达显著增强细胞克隆形成能力;敲低PCK2则明显抑制细胞克隆形成;在SGK3过表达背景下敲低PCK2,可部分逆转SGK3过表达诱导的促细胞增殖效应(图9C)。上述结果表明,PCK2是介导SGK3促进ER$^+$乳腺癌细胞增殖的重要下游效应分子。



A and B: Protein levels and quantitative analyses of SGK3, p-SGK3 and PCK2 across groups of MCF7 and T47D cells (n=3, $\bar{x}\pm s$); C: Colony formation assay across groups of MCF7 and T47D cells

图9 PCK2介导SGK3促进ER⁺乳腺癌细胞增殖

Figure 9 PCK2 mediates SGK3 to promote the proliferation of ER⁺ breast cancer cells

3 讨论

3.1 SGK3作为PI3K下游枢纽驱动ER⁺乳腺癌代谢重编程

SGK3作为PI3K信号通路下游效应分子,与AKT高度同源,其PX结构域使其能够定位于内体/溶酶体膜系统,从而参与膜运输、营养感知及信号转导[6-7]。在PIK3CA突变但AKT信号不活跃的ER⁺乳腺癌中,SGK3可替代AKT发挥促癌作用[18]。本课题组前期研究发现,SGK3可通过激活STAT3/ZMIZ2信号通路稳定β-catenin蛋白,从而促进ER⁺乳腺癌细胞增殖及干性维持[10],提示SGK3在ER⁺乳腺癌中具有广泛的生物学功能。

近年来研究提示SGK3可能参与代谢调控,包括通过hVps34-SGK3轴调控mTORC1活性[7]、经GSK3β信号参与代谢重编程[19]及氧化还原稳态维持[20]。结合其亚细胞定位特征,SGK3可能在营养感知、代谢适应及蛋白稳态维持中发挥重要作用。本研究进一步发现,敲低SGK3可降低PEP、乳酸及ATP水平,并抑制葡萄糖摄取,同时伴随线粒体膜电位下降和ROS水平升高;SGK3过表达则产生相反效应。这些结果提示SGK3能够驱动ER⁺乳腺癌细胞形成糖酵解相关代谢表型并维持线粒体稳态,进一步支持其参与PI3K信号介导的代谢重编程过程[21],并可能构成ER⁺乳腺癌细胞的潜在代谢脆弱环节[22]。

3.2 PCK2是SGK3驱动糖酵解重编程的核心执行节点

基于蛋白组学和代谢组学分析,本研究筛选出PCK2作为SGK3介导糖酵解重编程的关键候选下游分子。PCK2是定位于线粒体的磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶,催化草酰乙酸生成PEP,是三羧酸循环与糖酵解/糖异生代谢网络的交汇节点[12]。近年来研究表明,PCK2在肿瘤中的功能已超越经典糖异生酶的范畴,其可维持代谢中间产物供给,促进核苷酸、脂质及氨基酸等生物合成,并增强肿瘤细胞对营养缺乏环境的代谢适应能力[15]。PCK2不仅在ER⁺乳腺癌中具有明确的促癌作用,已有研究表明其参与调控细胞增殖及葡萄糖代谢[13],而且位于糖酵解与丙酮酸代谢的交汇处,使其成为解析SGK3介导代谢重编程机制的理想候选分子。

多维度证据确立了PCK2作为SGK3下游核心执行分子的地位,数据库分析显示PCK2在ER⁺乳腺癌组织中呈高表达,并与患者较差预后显著相关;GEPIA相关性分析进一步显示PCK2与SGK3表达呈显著正相关,提示二者可能存在功能联系。其次,在体外细胞及体内移植瘤模型中,敲低SGK3均伴随PCK2蛋白表达下降,支持SGK3对PCK2蛋白表达的正向调控。细胞克隆形成实验显示,敲低PCK2可部分逆转SGK3过表达诱导的促细胞增殖作用。上述结果从表达相关性、体内外验证及功能层面共同支持PCK2作为SGK3驱动糖酵解重编程的重要执行分子。

3.3 SGK3通过溶酶体依赖性蛋白稳态调控PCK2

机制研究表明,过表达或敲低SGK3均未引起PCK2 mRNA水平发生明显变化,而PCK2蛋白表达则随SGK3水平同步变化。CHX追踪实验进一步证实,SGK3可延长PCK2蛋白半衰期。降解通路分析显示,溶酶体抑制剂CQ能够逆转敲低SGK3导致的PCK2蛋白下降,而蛋白酶体抑制剂MG132则无明显影响,提示SGK3主要通过抑制PCK2溶酶体依赖性降解维持其蛋白稳定性。

Co-IP、免疫荧光共定位及分子对接实验进一步证实SGK3与PCK2存在物理相互作用,为SGK3调控PCK2蛋白稳定性提供了支持。SGK3是否直接参与PCK2向溶酶体递送或降解过程,以及这一过程是否依赖其激酶活性,仍有待进一步研究。本研究揭示的SGK3通过调控溶酶体依赖性蛋白稳定性参与代谢调控的机制,可能并不限于PCK2,也可能适用于其他代谢酶或信号分子,提示SGK3在更广泛的代谢适应网络中可能发挥重要作用[23-24]。

3.4 SGK3-PCK2轴重塑代谢依赖性并驱动肿瘤恶性表型及治疗脆弱性

在功能层面,代谢抑制剂实验显示,SGK3过表达增强了对2-DG的敏感性并提高了对寡霉素的耐受性,而PCK2沉默可显著逆转上述变化。这表明SGK3-PCK2轴不仅调控细胞代谢活性,还可重塑其能量代谢依赖模式,使细胞表现出更强的糖酵解依赖性,从而形成潜在的代谢脆弱环节。已有研究表明,增强的糖酵解不仅能够快速产生ATP,还可为核苷酸、脂质及氨基酸合成提供关键代谢中间产物,从而满足肿瘤细胞快速增殖的需求[3-5]。综合上述结果推测,SGK3-PCK2轴介导的糖酵解相关代谢表型可能为ER⁺乳腺癌细胞增殖提供代谢基础。然而,本研究尚未通过代谢抑制或代谢挽救实验直接证明糖酵解增强与增殖促进之间的因果关系,仍有待进一步研究。

这种代谢模式与经典的Warburg效应高度一致[3],并为靶向糖酵解通路的治疗策略提供了精确的分子靶点[25]。该发现具有临床转化潜力,尤其在PIK3CA突变且AKT信号不活跃的ER⁺乳腺癌亚型中,

联合使用SGK3小分子抑制剂与溶酶体靶向药物,可能提供新的治疗策略[16,20]。本课题组前期已筛选获得具有抗ER⁺乳腺癌活性的SGK3小分子抑制剂[11],为后续药物优化及联合治疗策略开发提供了理论依据。

3.5 临床意义与局限性

本研究提示SGK3-PCK2轴可能为PIK3CA突变且AKT信号不活跃的ER⁺乳腺癌提供潜在治疗靶点。联合靶向SGK3(本课题组前期筛选抑制剂[11])及糖酵解或溶酶体通路,可能形成合成致死策略[16,20]。此外,SGK3表达水平或可作为潜在的代谢依赖生物标志物,用于筛选可能从糖酵解靶向治疗中获益的患者亚群。

然而,本研究仍存在一定局限:①SGK3调控PCK2溶酶体降解的具体分子机制尚未阐明[25];②SGK3维持PCK2稳定性是否依赖其激酶活性,仍需通过激酶死亡突变体加以验证;③该信号轴在体内的代谢调控作用仍有待在更多动物模型(如PDX)中进一步证实[26,29];④本研究主要基于关键代谢物水平评价代谢状态,尚缺乏^{13}C同位素示踪代谢流分析[27];⑤SGK3介导糖酵解相关代谢表型是否完全依赖PCK2,仍缺乏直接功能挽救实验支持;且本研究结论主要适用于Luminal型ER⁺乳腺癌,未来需要在更多ER⁺乳腺癌细胞、PDX模型及临床样本中进一步验证。

未来研究可进一步解析SGK3维持PCK2蛋白稳定性的分子机制;鉴定参与该过程的关键调控因子[28];在更大样本队列中评估SGK3-PCK2轴的临床病理相关性及预后价值;并在临床前模型中验证靶向该轴联合糖酵解抑制剂的治疗策略[26,29]。综上,本研究揭示了SGK3通过抑制PCK2溶酶体依赖性降解维持其蛋白稳定性,进而驱动ER⁺乳腺癌糖酵解相关代谢表型发挥促癌作用,明确了SGK3-PCK2代谢调控轴在ER⁺乳腺癌代谢重编程中的关键作用,为理解肿瘤代谢适应提供了新的理论依据和潜在的治疗靶点。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al*. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263. DOI: 10.3322/caac.21834.

[2] Nolan E, Lindeman G J, Visvader J E. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic[J]. Cell, 2023, 186(8): 1708-1728. DOI:10.1016/j.cell.2023.01.040.

[3] Vander Heiden M G, Cantley L C, Thompson C B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. Science, 2009, 324(5930): 1029-1033. DOI:10.1126/science.1160809.

[4] Boroughs L K, DeBerardinis R J. Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth[J]. Nat Cell Biol, 2015, 17(4): 351-359. DOI:10.1038/ncb3124.

[5] Faubert B, Solmonson A, DeBerardinis R J. Metabolic reprogramming and cancer progression[J]. Science, 2020, 368(6487): eaaw5473. DOI:10.1126/science.aaw5473.

[6] Lang F, Böhmer C, Palmada M, *et al*. (Patho)physiological significance of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase isoforms[J]. Physiol Rev, 2006, 86(4): 1151-1178. DOI: 10.1152/physrev.00050.2005.

[7] Bago R, Sommer E, Castel P, *et al*. The hVps34-SGK3 pathway alleviates sustained PI3K/Akt inhibition by stimulating mTORC1 and tumour growth[J]. EMBO J, 2016, 35(17): 1902-1922. DOI:10.15252/embj.201693929.

[8] Liao Q Q, Dong Q Q, Zhang H, *et al*. Contributions of SGK3 to transporter-related diseases[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 1007924. DOI:10.3389/fcell.2022.1007924.

[9] Kang T T, Wang Y F, Jiang Y X, *et al*. The SGK3/GSK3β/β-catenin signaling promotes breast cancer stemness and confers resistance to alpelisib therapy[J]. Int J Biol Sci, 2025, 21(6): 2462-2475. DOI:10.7150/ijbs.104850.

[10] Yuan L, Cai Y Q, Wang G, *et al*. SGK3 promotes estrogen receptor-positive breast cancer proliferation by activating STAT3/ZMIZ2 pathway to stabilise β-catenin[J]. Brit J Pharmacol, 2025, 182(8): 1856-1875. DOI: 10.1111/bph.17453.

[11] Zhou D F, Yu X P, Song Y, *et al*. Screening of and mechanism underlying the action of serum- and glucocorticoid-regulated kinase 3-targeted drugs against estrogen receptor-positive breast cancer[J]. Eur J Pharmacol, 2022, 927: 174982. DOI:10.1016/j.ejphar.2022.174982.

[12] Stark R, Guebre-Egziabher F, Zhao X J, *et al*. A role for mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK-M) in the regulation of hepatic gluconeogenesis[J]. J Biol Chem, 2014, 289(11): 7257-7263. DOI: 10.1074/jbc.C113.544759.

[13] Hsu H P, Chu P Y, Chang T M, *et al*. Mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase promotes tumor growth in estrogen receptor-positive breast cancer via regulation of the mTOR pathway[J]. Cancer Med, 2023, 12(2): 1588-1601. DOI:10.1002/cam4.4969.

[14] Chao C H, Wang C Y, Wang C H, *et al*. Mutant p53

attenuates oxidative phosphorylation and facilitates cancer stemness through downregulating miR-200c-PCK2 axis in basal-like breast cancer[J]. Mol Cancer Res, 2021, 19(11): 1900-1916. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-21-0098.

[15] Vincent E E, Sergushichev A, Griss T, *et al*. Mitochondrial phosphoenolpyruvate carboxykinase regulates metabolic adaptation and enables glucose-independent tumor growth[J]. Mol Cell, 2015, 60(2): 195-207. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.08.013.

[16] Xue S S, Cai Y H, Liu J, *et al*. Dysregulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase in cancers: a comprehensive analysis[J]. Cell Signal, 2024, 120: 111198. DOI:10.1016/j.cellsig.2024.111198.

[17] Yu Y, Li J Y, Ren K M. Phosphoenolpyruvate carboxykinases as emerging targets in cancer therapy[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1196226. DOI: 10.3389/fcell.2023.1196226.

[18] Vasudevan K M, Barbie D A, Davies M A, *et al*. AKT-independent signaling downstream of oncogenic PIK3CA mutations in human cancer[J]. Cancer Cell, 2009, 16(1): 21-32. DOI:10.1016/j.ccr.2009.04.012.

[19] Wang Y, Cheng C X, Lu Y J, *et al*. β-catenin activation reprograms ammonia metabolism to promote senescence resistance in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Res, 2024, 84(10): 1643-1658. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-23-0673.

[20] Lyu S Y, Gildor N, Zhang Q, *et al*. Rewiring cancer metabolism: oncogenic signaling pathways and targeted therapeutics[J]. Sci China Life Sci, 2025, 68(11): 3281-3302. DOI:10.1007/s11427-025-2979-3.

[21] Fruman D A, Chiu H, Hopkins B D, *et al*. The PI3K pathway in human disease[J]. Cell, 2017, 170(4): 605-635. DOI:10.1016/j.cell.2017.07.029.

[22] Kaelin W G Jr. The concept of synthetic lethality in the context of anticancer therapy[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(9): 689-698. DOI:10.1038/nrc1691.

[23] Rauch J, Volinsky N, Romano D, *et al*. The secret life of kinases: functions beyond catalysis[J]. Cell Commun Signal, 2011, 9(1): 23. DOI:10.1186/1478-811X-9-23.

[24] Cullen P J, Steinberg F. To degrade or not to degrade: mechanisms and significance of endocytic recycling[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(11): 679-696. DOI:10.1038/s41580-018-0053-7.

[25] Ganapathy-Kanniappan S. Molecular intricacies of aerobic glycolysis in cancer: current insights into the classic metabolic phenotype[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2018, 53(6): 667-682. DOI:10.1080/10409238.2018.1556578.

[26] Hidalgo M, Amant F, Biankin A V, *et al*. Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research[J]. Cancer Discov, 2014, 4(9): 998-1013. DOI:10.1158/2159-8290.cd-14-0001.

[27] Jang C, Chen L, Rabinowitz J D. Metabolomics and isotope tracing[J]. Cell, 2018, 173(4): 822-837. DOI:10.1016/j.cell.2018.03.055.

[28] Scott D E, Bayly A R, Abell C, *et al*. Small molecules, big targets: drug discovery faces the protein-protein interaction challenge[J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15(8): 533-550. DOI:10.1038/nrd.2016.29.

[29] Byrne A T, Alférez D G, Amant F, *et al*. Interrogating open issues in cancer precision medicine with patient-derived xenografts[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4): 254-268. DOI:10.1038/nrc.2016.140.

(收稿:2026-06-16;修回:2026-07-21)

(编辑 汤锦波)