神经病学 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001215

U251细胞 MCT1、4 在氧糖剥夺后的表达变化及其意义

陈玉琴，侯姣姣，魏小于，杨 美
（重庆医科大学神经科学中心、重庆医科大学基础医学院解剖教研室，重庆 400016）

【摘 要】**目的**：观察氧糖剥夺（oxygen-glucose deprivation，OGD）后，神经胶质瘤细胞 U251 的乳酸转运和单羧酸转运蛋白（monocarboxylate transporter，MCT）1、4 的表达变化，以探讨胶质瘤增殖生长的分子机制。**方法**：U251 细胞随机分为对照组和模型组（OGD 组），模型组的干预时间点为 1、3、6 h。四甲基偶氮唑盐比色法（methyl thiazolyl tetrazolium，MTT）检测细胞增殖生长情况，HE 染色观察细胞的形态变化，乳酸试剂盒检测细胞培养液中的乳酸含量，免疫荧光和免疫印迹观察 MCT1 和 MCT4 的表达变化情况。**结果**：与对照组相比，随着氧糖剥夺时间延长，模型组细胞增殖能力下降（对照组、OGD 1 h、OGD 3 h、OGD 6 h 组的光密度值分别为 0.584 ± 0.031、0.537 ± 0.046、0.441 ± 0.079 和 0.200 ± 0.011），细胞培养液中的乳酸浓度增高（对照组、OGD 1 h、OGD 3 h、OGD 6 h 组乳酸浓度值分别为 0.150 ± 0.029、0.707 ± 0.022、1.167 ± 0.024 和 1.325 ± 0.023）。MCT1、4 的表达上调，并随氧糖剥夺时间延长其表达逐渐增强（MCT1：F=46.256，P=0.000；MCT4：F=247.400，P=0.000）。细胞培养液中加入 MCTs 的抑制剂 4-CIN 后，其乳酸浓度降低（对照组、150 μmol/L 组、425 μmol/L 组的乳酸浓度值分别为 0.249 ± 0.012、0.222 ± 0.016、0.167 ± 0.117）。**结论**：U251 细胞氧糖剥夺后，随着细胞培养液中乳酸浓度增加，MCT1、4 亦表达上调，而细胞的增殖生长能力下降；抑制 MCT 的表达，细胞培养液中的乳酸浓度降低，提示 MCT1、4 可能通过参与神经胶质瘤缺血缺氧微环境中乳酸的转运，进而调控细胞的增殖生长过程。

【关键词】单羧酸转运蛋白；神经胶质瘤；氧糖剥夺
【中图分类号】R322.81 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-10-09

Expression pattern of monocarboxylate transporter 1,4 in U251 glioma cells during oxygen-glucose deprivation and their significance

Chen Yuqin, Hou Jiaojiao, Wei Xiaoyu, Yang Mei
(*Institute of Neuroscience; Teachig and Research Section of Anatomy, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To examine expression patterns of monocarboxylate transporter 1,4 and lactate transporting in U251 malignant glioma cells with oxygen-glucose deprivation(OGD) so as to explore the possible the role of MCT 1,4 proliferating, aggressiveness in human glioma cells. ***Methods***: U251 cells were randomly divided into two groups, namely, control group and OGD group. The cultures were incubated for certain periods(1,3,6 hours) with oxygen-glucose deprivation. Cell survival rate was tested by MTT assay, cell morphology was observed by HE staining. The lactic acid concentration was measured by lactate assay kit. The expression patterns of MCT1,4 were detected by immunofluorescence and Western blot. ***Results***: Compared with those of control group, cell viability decreased(the OD values of control group and OGD 1 hour, 3 hours, 6 hours were 0.584 ± 0.031, 0.537 ± 0.046, 0.441 ± 0.079, 0.200 ± 0.011 respectively) and lactate content increased in OGD group with oxygen-glucose deprivation time(the lactate content of control, OGD 1 h, 3 h, 6 h were 0.150 ± 0.029, 0.707 ± 0.022, 1.167 ± 0.024, 1.325 ± 0.023 respectively), and lactic acid content decreased by adding 4-CIN, the inhibitor of MCTs(the lactate content of Control, 150 μmol/L, 425 μmol/L were 0.249 ± 0.012, 0.222 ± 0.016, 0.167 ± 0.117). The MCT1,4 expression increased in the OGD group than in control group and continuously increased with the extension of oxygen-glucose deprivation time. ***Conclusion***: MCT1,4 increases and cell viability decreases in U251 glioma cells with the up-regulation of lactic acid content after OGD. The lactic acid content decreases by adding 4-CIN. The above results suggest that MCT1,4 may be contributed to lactate transport of malignant glioma microenvironment, and regulate its proliferation and survival.

【Key words】monocarboxylate transporter; glioma; oxygen glucose deprivation

作者介绍：陈玉琴，Email：1021437025@qq.com，研究方向：胶质瘤的相关研究。
通信作者：杨 美，Email：yangmei19802002@126.com。
基金项目：国家自然科学基金资助项目（编号：81671312、81000566）；重庆市基础与前沿研究计划资助项目（编号：cstc2015jcyjA10018）。
优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20170313.1522.090.html（2017-03-13）

神经胶质瘤是最常见的原发性中枢神经系统肿瘤。根据病理分型，世界卫生组织（World Health Organization，WHO）将胶质瘤分为 4 级（Ⅰ~Ⅳ），Ⅰ~Ⅱ级为低度恶性肿瘤，Ⅲ~Ⅳ级为恶性度高的肿瘤[1-2]。目前，外科手术、放疗和化疗是胶质瘤的治疗原则，但其治疗效果难以令人满意[3-4]。众所周知，肿瘤细胞生长迅速、能量需求高，因而实体肿瘤瘤体中心细胞相对处于缺血缺氧的环境；同时研究发现，肿瘤无论在有氧或无氧条件下其能量供应都主要来源于糖酵解[5-7]。这些研究提示，干预肿瘤的能量代谢过程，可能为包括胶质瘤在内的实体肿瘤提供治疗新靶点。有报道称，肿瘤的能量代谢过程与单羧酸蛋白家族（monocarboxylate transporter，MCTs）密切相关[8-10]。然而，目前有关 MCTs 在神经胶质瘤中的表达变化，尤其在神经胶质瘤氧糖剥夺后的表达变化及其在神经胶质瘤细胞生长增殖方面的作用，仅在本课题组前期的研究中有报道，且该研究并未对乳酸含量进行检测[11]。同时，前期研究的 U87 细胞为病理分级高、细胞异型性高的多型性胶质瘤母细胞瘤，而对于低度恶性的星型胶质瘤细胞或者低度恶性浸润型胶质瘤向胶质母细胞瘤进展的中间阶段细胞，氧糖剥夺（oxygen-glucose deprivation，OGD）后，其 MCTs 的表达变化、乳酸的含量变化以及细胞生长增殖情况，目前尚不清楚。因此，本研究通过模拟缺血缺氧肿瘤微环境，运用免疫荧光及免疫印迹观察 MCT1、4 在神经胶质瘤细胞 U251 中氧糖剥夺后表达变化，探讨 MCT1、4 在神经胶质瘤细胞增殖生长过程中的作用，为神经胶质瘤的治疗寻找新靶点提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

高糖/无糖 DMEM（dulbecco modified eagle medium）培养基购自美国 Gibco 公司；胎牛血清购自美国 Gemini 公司；Trypsin/EDTA 购自美国 HyClone 公司；四甲基偶氮唑盐比色法（methyl thiazolyl tetrazolium，MTT）试剂盒购自凯基生物；多克隆山羊抗人 MCT1、MCT4 购自 Santa Cruz 公司；单克隆小鼠抗人 GAPDH、Cy3 驴抗山羊（IgG）购自上海碧云天生物技术有限公司；辣根酶标记的山羊抗小鼠 IgG、辣根酶标记的鼠抗山羊 IgG，显色试剂盒购自中杉金桥公司。

1.2 U251 细胞培养

人胶质瘤细胞 U251 由第三军医大学西南医院神经外科惠赠。用含 10%胎牛血清和 1%青-链霉素的高糖 DMEM 培养基，5% CO_2、37 ℃培养箱常规培养 U251 细胞，当细胞密度接近 80 %~90 %融合度时，胰酶消化传代。倒置相差显微镜下观察细胞生长情况。

1.3 实验分组和 U251 细胞氧糖剥夺模型的建立

U251 细胞随机分为对照组和模型组（OGD 组）。对照组：放入培养箱（5%CO_2，21%O_2，37 ℃）常规培养。模型组：去掉常规培养 U251 细胞中的培养基，磷酸盐缓冲液（phosphate buffer saline，PBS）冲洗 3 次，换为不含血清的无糖 DMEM 培养基，置于 1%O_2、5%CO_2、94% N_2 的三气培养箱培养，氧糖剥夺 1、3、6 h 后，收集细胞。

1.4 MTT 比色法检测细胞存活及增殖能力

U251 细胞，经胰酶消化后计数，约 1×10^5 个/孔接种于 96 孔板中，每组设 5 个复孔，同时设立空白对照孔（只加培养液，不加细胞）；将培养板分别置入常氧和氧糖剥夺环境中培养 1、3、6 h；培养后每孔加入 10 μL MTT，置培养箱孵育 4 h 后，吸出孔内液体，每孔加 150 μL 二甲基亚砜至 MTT 反应结晶产物完全溶解，置全自动酶标仪上测出每孔吸光度（absorbance，A）值，测定波长为 570 nm。

1.5 HE 染色

U251 细胞爬片在 24 孔板中，当细胞密度接近 80%融合度时，将培养板分别置入常氧和氧糖剥夺环境中培养 1、3、6 h；处理完毕后将 4 组细胞依次固定、PBS 冲洗、0.5%苏木精液染色、饱和碳酸锂溶液复蓝、0.5%伊红液染色、梯度酒精脱水，晾干，中性树胶封片。

1.6 乳酸含量测定

乳酸含量测定法是以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide-adenine dinucleotide，NAD+）为氢受体，乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）催化乳酸脱氢产生丙酮酸，使 NAD+转化成还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（reduced nicotinamide-adenine dinucleotide，NADH）。各组细胞培养液用南京建成乳酸测试试剂盒测量乳酸含量。培养液中乳酸含量=（测定 A 值-空白 A 值）/（标准 A 值-空白 A 值）×标准品浓度（3 mmol/L）×样本稀释倍数。

1.7 免疫荧光染色

细胞接种在预先铺好盖玻片的 24 孔板内，每孔接种 1×10^4 个细胞，氧糖剥夺处理后 PBS 漂洗，然后置入预冷 4%多聚甲醛溶液中固定 20 min，PBS 漂洗 3 次，每次 10 min，用含 0.2% Triton X-100 和 4%马血清的 PBS 室温封闭 30 min，每孔玻片上滴加一抗 MCTl（1:200）、MCT4（1:100），放入 4 ℃冰箱过夜，取出后置于 37 ℃水浴箱复温，二抗 cy3（1:200）室温避光孵育 1 h，最后 DAPI 染核，50%甘油封片，荧光显微镜下进行观察并采集图片。

1.8 免疫印迹检测

各组细胞加入 RAPI 裂解液（上海碧云天公司），冰上裂解 30 min，4 ℃ 12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，测总蛋

白浓度。电泳分离蛋白，通过湿转方式将蛋白转至硝酸纤维膜上，用免疫印迹封闭液 37 ℃ 封闭 1 h，分别加入一抗 MCT1（1:300）、MCT4（1:200）、GAPDH（1:1 000）的新鲜配制液，4 ℃过夜孵育，PBST 漂洗后加入相应辣根过氧化物酶标记的二抗，室温孵育 1 h。用增强化学发光法暗室下曝光于 X 胶片上，常规显色、显影、定影和采图。Quantity one 软件分析各条带灰度值，将各目的条带与其内参 GAPDH 条带的灰度值做比较，计算相对表达量。实验重复 3 次，取均值做统计学分析。

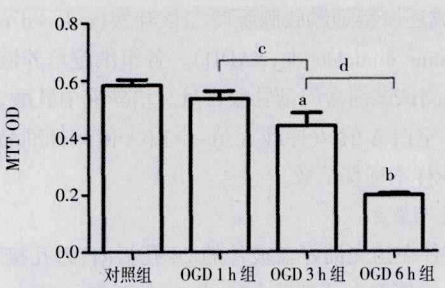
1.9　统计学处理

应用 SPSS 18.0 软件进行统计分析，各组数据用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，各组之间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 法，检验水准 α=0.05。

2　结　果

2.1　MTT 检测细胞增殖存活能力

MTT 检测各组细胞的增殖存活能力。结果显示，细胞氧糖剥夺处理后，对照组、OGD 1 h 组、OGD 3 h 组、OGD 6 h 组的 A 值分别为 0.584 ± 0.031、0.537 ± 0.046、0.441 ± 0.079、0.200 ± 0.011，4 组比较方差分析结果为：F=37.370，P=0.000；除 OGD 1 h 组外，其余各组与对照组相比其差异有统计学意义（OGD 1、3、6 h 与对照组相比较，其对应结果分别为 t_D=8.752，P=0.264；t_D=6.170，P=0.005；t_D=5.386，P=0.000），提示在氧糖剥夺的初期，细胞的增殖存活能力没有改变。而随着氧糖剥夺时间延长，模型各组之间比较，差异具有统计学意义（OGD 3 h 组与 OGD 1 h 组比较，t_D=3.467，P=0.043；OGD 6 h 组与OGD 3 h 组比较，t_D=2.508，P=0.000）（图 1）。



与对照组比较，a：P<0.01；b：P=0.000；
两组间比较，c：P<0.05；d：P=0.000

图 1　MTT 比色法检测对照组与模型组中 U251 细胞的存活及增殖情况

Fig.1　Survival and proliferation of U251 cells in the control and OGD group detected by MTT colorimetric method

2.2　HE 染色检测细胞形态变化

HE 染色法观察各组细胞形态结构的改变。在氧糖剥夺初期，细胞出现肿胀，胞质淡染。随着氧糖剥夺时间的延长而呈现出不同的细胞形态学改变，表现为贴壁细胞减少、细胞皱缩、胞核浓聚（图 2）。

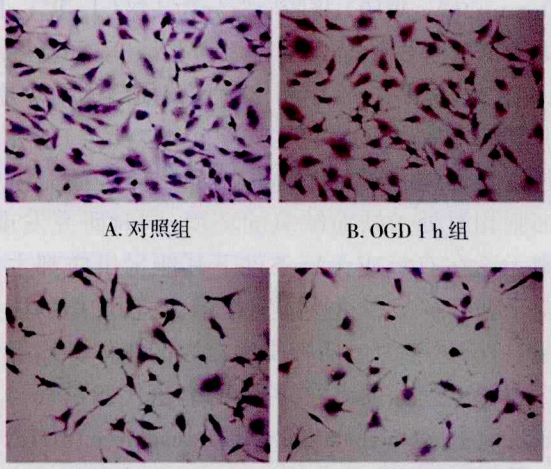


图 2　U251 细胞不同缺血缺氧时间点 HE 染色结果（20×）

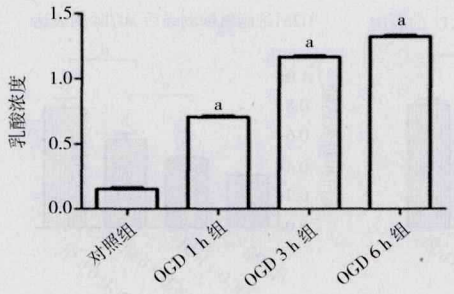
Fig.2　HE staining for U251 cells at different oxygen-glucose deprivation time point（20×）

2.3　细胞培养液中乳酸含量的测定

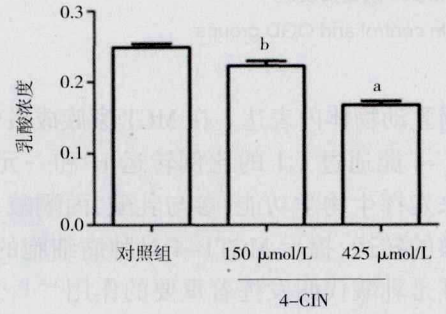
细胞培养液中乳酸含量测定结果显示：与对照组相比，OGD 后细胞培养液中乳酸含量增高，其对照组、OGD 1 h组、OGD 3 h 组、OGD 6 h 组乳酸浓度值分别为 0.150 ± 0.029、0.707 ± 0.022、1.167 ± 0.024、1.325 ± 0.023。4 组比较方差分析结果为：F=2 278.071，P=0.000；OGD 1、3、6 h 组与对照组比较，其对应结果分别为 t_D=114.652，P=0.000；t_D=87.359，P=0.000；t_D=118.952，P=0.000；模型各组比较的结果为：OGD 3 h 组与 OGD 1 h 组比较，t_D=63.471，P=0.000；OGD 6 h 组与 OGD 3 h 组比较，t_D=78.650，P=0.000（图 3 A）。采用 MCTs 抑制剂 4-CIN 处理U251 细胞后，结果显示：与对照组相比，细胞培养液中乳酸含量降低（对照组、150 μmol/L 组、425 μmol/L 组的乳酸浓度值分别为 0.249 ± 0.012、0.222 ± 0.016、0.167 ± 0.117），3 组方差分析结果为 F=36.358，P=0.000，150 μmol/L 组、425 μmol/L 组与对照组比较，其对应的 t_D、P 值分别为 7.830，0.000；11.681，0.000。药物各组比较的结果为：425 μmol/L 组与 150 μmol/L 组比较，t_D=8.746，P=0.000（图 3B）。

2.4　MCT1 和 MCT4 的细胞免疫荧光

免疫荧光结果显示，各组中均有 MCT1 和 MCT4 的表达。图像结果分析显示，4 组比较方差分析结果为 MCT1（F=46.256，P=0.000）和 MCT4（F=247.400，P=0.000）表达增强，而且随着缺血缺氧时间的延长，MCT1 和 MCT4 表达进一步增强，其差异具有统计学意义（OGD 3 h 组与 OGD 1 h 组 的MCT1 A 值比较，t_D=214.580，P=0.000；OGD 6 h 组与 OGD 3 h 组的 MCT1 A 值比较，t_D=118.75，P=0.001；OGD 3 h 组与 OGD 1 h 组的MCT4 A 值比较，t_D=97.236，P=0.038；OGD 6 h 组与 OGD 3 h 组的 MCT4 A 值比较，t_D=65.721，P=0.000）（图 4，图 5、表 1）。



A. 对照组及氧糖剥夺组细胞培养液中的乳酸浓度



与对照组比，a：$P=0.000$；b：$P<0.01$

B. 加入不同浓度 4-CIN 后，细胞培养液中的乳酸浓度

图 3　U251 细胞对照组与模型组中乳酸(LD)的浓度

Fig.3　Concentration of LD in different treatment groups

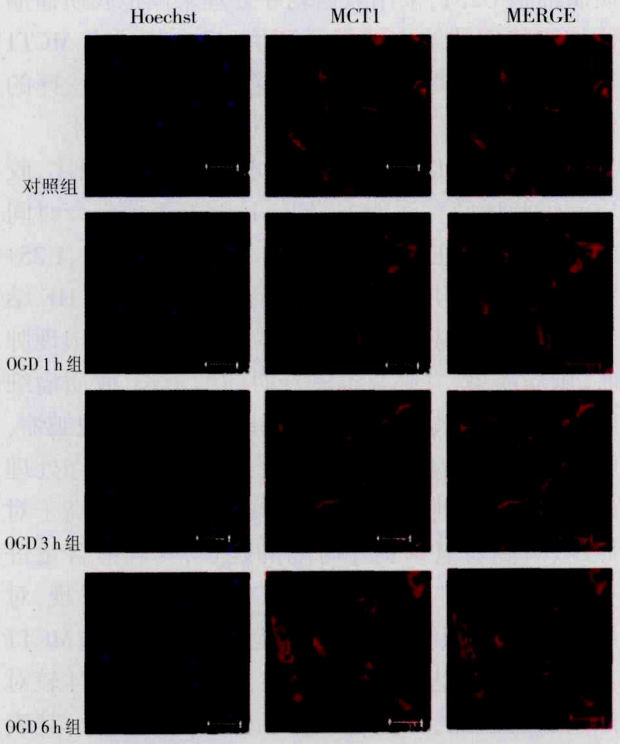


图 4　对照组和模型组 U251 中 MCT1 的表达(800×)

Fig.4　Expression of MCT1 in control and OGD groups (800×)

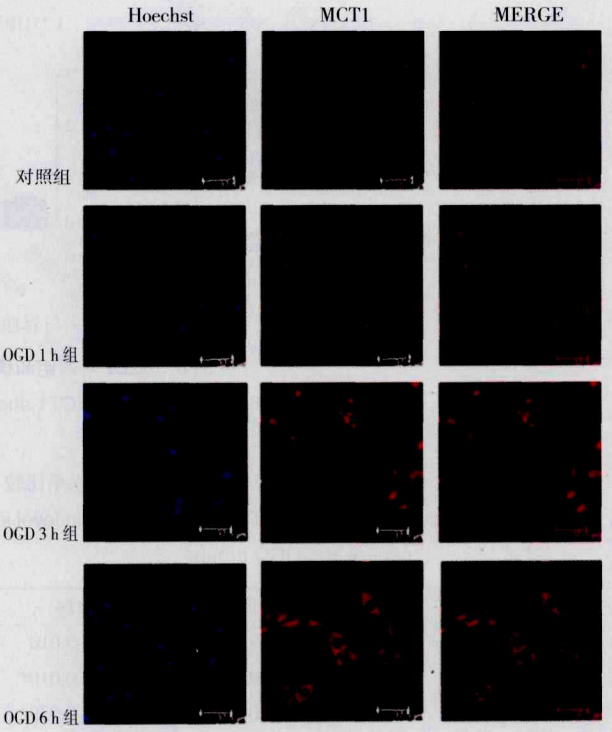


图 5　对照组和模型组 U251 中 MCT4 的表达(800×)

Fig.5　Expression of MCT4 in control and OGD groups (800×)

表 1　U251 对照组和氧糖剥夺组 MCT1 和 MCT4 平均光密度值

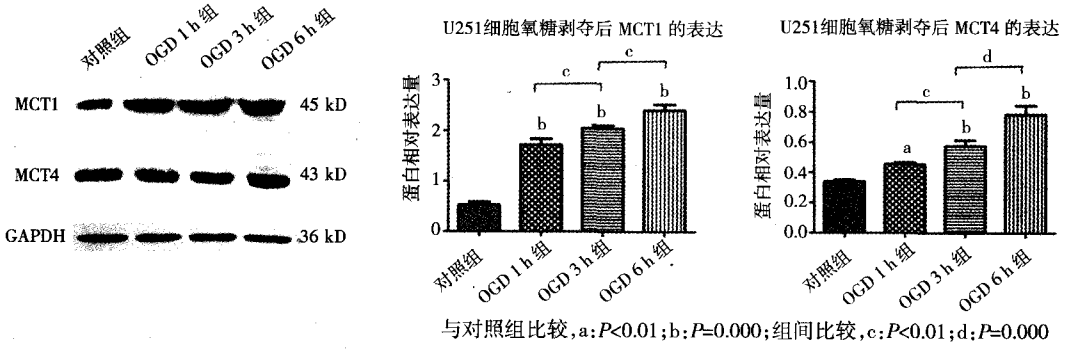
Tab.1　Mean density of MCT1 and MCT4 positive cells in control and OGD groups

组别	例数	MCT1	MCT4
对照组	3	1 525.000 ± 300.604	1 399.330 ± 170.849
OGD 1 h 组	3	2 620.330 ± 446.108[ab]	1 851.330 ± 153.575[ab]
OGD 3 h 组	3	3 708.330 ± 57.696[ab]	2 159.670 ± 116.543[ab]
OGD 6 h 组	3	5 651.330 ± 451.000[ab]	4 499.670 ± 162.863[ab]
F 值		46.256	247.400
P 值		0.000	0.000

注：a，与对照组相比，$P<0.05$；b：氧糖剥夺各时间点之间比较，$P<0.05$

2.5　MCT1 和 MCT4 的免疫印迹

免疫印迹结果显示，各组中均可见 MCT1 和 MCT4 的表达。4 组比较方差分析结果为 MCT1（$F=223.522$，$P=0.000$）和 MCT4（$F=1.984$，$P=0.000$）表达增强，而且随着缺血缺氧时间的延长，MCT1 和 MCT4 表达进一步增强，其差异具有统计学意义（MCT1：OGD 3 h 组与 OGD 1 h 组比较，$t_D=56.231$，$P=0.003$；OGD 6 h 组与 OGD 3 h 组比较，$t_D=68.745$，$P=0.001$；MCT4：OGD 3 h 组与 OGD 1 h 组比较，$t_D=17.857$，$P=0.004$；OGD 6 h 组与 OGD 3 h 组比较，$t_D=11.117$，$P=0.000$）（图 6，表2）。



与对照组比较，a：$P<0.01$；b：$P=0.000$；组间比较，c：$P<0.01$；d：$P=0.000$

图 6 U251 对照组和模型组中 MCT1、MCT4 的蛋白表达

Fig.6 Expression of MCT1 and MCT4 protein in control and OGD groups

表 2 U251 对照组和氧糖剥夺组 MCT1 和 MCT4 蛋白水平比较

Tab.2 Comparative analysis of MCT1 and MCT4 protein level in control and OGD groups

组别	例数	MCT1	MCT4
对照组	3	0.523 ± 0.061	0.339 ± 0.010
OGD 1 h 组	3	1.716 ± 0.126[ab]	0.457 ± 0.010[ab]
OGD 3 h 组	3	2.050 ± 0.059[ab]	0.576 ± 0.039[ab]
OGD 6 h 组	3	2.417 ± 0.114[ab]	0.789 ± 0.000[ab]
F 值		223.522	1.948
P 值		0.000	0.000

注：a，与对照组相比，$P<0.05$；b：氧糖剥夺各时间点之间比较，$P<0.05$

3 讨 论

神经胶质瘤即胶质细胞瘤，是发生于神经外胚层的肿瘤，为最常见的原发性中枢神经系统恶性肿瘤。其发病率约占原发性脑肿瘤的一半，且近年来有不断上升的趋势[3]。由于神经胶质瘤的生长速度快，并呈浸润性生长，故手术难以完全切除[3-4,12]。尽管术后辅以放化疗，其复发率仍然很高，因此，对神经胶质瘤的研究成为神经科学关注的热点之一。

研究证明，肿瘤细胞生长速度快而血管生成相对滞后，大量实体肿瘤尤其是肿瘤中心部位存在广泛的缺血缺氧[4]。因此，缺血缺氧是神经胶质瘤的特定微环境[13-14]。另有研究发现，即使在氧糖供应充分的情况下，肿瘤组织仍主要依赖糖酵解供能，而在糖酵解过程中将产生大量乳酸[5,15]。这些乳酸将通过相应的转运体被转运至细胞外，为肿瘤细胞提供更好的增殖生长微环境。研究证实，乳酸转运主要由 MCTs 介导。MCTs 是一类重要的膜转运载体，属于溶质运载蛋白家族（solute carrier family，SLC）16 A 的亚家族成员。迄今为止，共发现 14 种MCT 家族成员在哺乳动物体内表达。在 MCT 家族成员中，只有 MCT 1~4 能通过 1:1 的比例转运 H^+和一元羧酸阴离子来发挥生物学功能，参与乳酸、丙酮酸、丁酸等单羧酸的转运，提示 MCT1-4 对肿瘤细胞的能量代谢尤其是乳酸代谢发挥着重要的作用[4-5,15-17]。几乎所有肿瘤组织均表达 MCT1 和 MCT4[18-19]。而有关 MCTs 在胶质瘤细胞中作用，仅有本课题组前期对高度恶性的胶质瘤细胞 U87 研究的一篇报道[8]。众所周知，胶质瘤Ⅱ~Ⅲ级的中低度恶性胶质瘤在临床更为常见。因此，本研究通过选用低度恶性的胶质瘤细胞 U251，采用氧糖剥夺处理来模拟胶质瘤瘤体细胞特定的缺血缺氧微环境，进一步研究 MCT1 和 MCT4 在低度恶性胶质瘤能量代谢方面发挥的作用，以及对胶质瘤细胞增殖生长能力的影响。

本研究 MTT 检测结果显示，与对照组相比，胶质瘤细胞增殖存活能力降低，且随着氧糖剥夺时间的延长，其增殖存活能力下降。提示 OGD 后，U251 肿瘤细胞能量供应严重受阻，存活能力低下。HE 结果显示，氧糖剥夺早期，由于应激反应，细胞出现肿胀、胞质淡染，并随氧糖剥夺时间的延长，胶质瘤细胞能量供应障碍以及微环境的改变，细胞出现皱缩，胞核浓聚。乳酸含量测定结果显示，氧糖剥夺处理组中胶质瘤细胞培养液中乳酸的含量，明显高于对照组，且随着氧糖剥夺时间的延长，其乳酸含量进一步增多。同时，本实验对 MCT1、4 的研究发现，对照组与 OGD 组的胶质瘤细胞 U251 中均有 MCT1 和 MCT4 的表达；在 OGD 组中，MCT1 和 MCT4 较对照组表达增加，且随着氧糖剥夺时间的延长，其表达呈上调趋势。此外，采用 MCTs 抑制剂 4-CIN 处理 U251 细胞后，乳酸含量明显降低，提示 MCT 介导了 U251 细胞的乳酸转运。本研究结果表明，在氧

糖剥夺环境下，胶质瘤细胞能量供应主要依靠糖酵解，在此过程中产生的大量乳酸由 MCT1、4 转运至细胞外，即神经胶质瘤细胞 U251 中上调的 MCT1、4 可为缺血缺氧的肿瘤细胞提供更高速率的乳酸流动，从而加快糖酵解的过程，以产生更多的能量；而转运至胞外的乳酸，若未及时清除且过量堆积，将抑制胶质瘤细胞的增殖生长。本实验结果与本课题组之前报道的高级别胶质瘤中 MCT 的表达变化一致，提示在氧糖剥夺环境下，不同恶性程度的胶质瘤细胞享有相似的能量代谢方式，但其具体机制还有待进一步研究[14-18]。

肿瘤细胞能量代谢的基本特征是无氧糖酵解，能否通过调节 MCTs 的表达，进而干预乳酸等物质的转运过程，影响细胞内外环境的变化，即改变肿瘤的微环境（抑制或者上调 MCT1、4 的表达），可能成为肿瘤治疗的潜在靶标之一。

参 考 文 献

[1] 晏 怡，邓朝霞，唐文渊，等. 胶质瘤脑浸润程度与病理级别的相关性研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志，2010，9(4)：332-335.

[2] 罗 飞. WHOⅢ级胶质瘤患者放疗或联合化疗治疗的预后因素分析[J]. 重庆医科大学学报，2012，37(11)：976-979.

[3] Wen PY，Kesari S. Malignant gliomas in adults[J]. N Engl J Med，2008，359(5)：492-507.

[4] 范阳华，吕世刚. 放疗联合替莫唑胺治疗恶性脑胶质瘤疗效及安全性的系统评价[J]. 重庆医科大学学报，2015，40(5)：728-735.

[5] Colen CB，Shen Y，Ghoddoussi F，et al. Metabolic targeting of lactate efflux by malignant glioma inhibits invasiveness and induces necrosis：an in vivo study[J]. Neoplasia，2011，13(7)：620-632.

[6] An S，Lu X，Zhao W，et al. Amino acid metabolism abnormity and microenviroment variation mediated targeting and controlled glioma chemotherapy[J]. Small，2016，12(40)：5633-5645.

[7] Velpula KK，Bhasin A，Asuthkar S，et al. Combined targeting of PDK1 and EGFR triggers regression of glioblastoma by reversing the Warburg effect[J]. Cancer Res，2013，73(24)：7277-7289.

[8] Miranda-Gonçalves V，Granja S，Martinho O，et al. Hypoxia-mediated upregulation of MCT1 expression supports the glycolytic phenotype of glioblastomas[J]. Oncotarget，2016，7(29)：46335-46353.

[9] Halestrap AP，Price NT. The proton-linked monocarboxylate transporter(MCT) family：structure，function and regulation[J]. Biochem J，1999，343(Pt2)：281-299.

[10] Pinheiro C，Reis RM，Ricardo S，et al. Expression of monocarboxylate transporters 1，2，and 4 in human tumours and their association with CD147 and CD44[J]. J Biomed Biotechnol，2010，2010：427694.

[11] 魏小于，杨 美，任旭霞，等. 单羧酸转运蛋白 1，4 在人胶质瘤细胞 U87 氧糖剥夺后的表达变化[J]. 解剖学杂志，2015，38(2)：209-211.

[12] Izumi H，Torigoe T，Ishiguchi H，et al. Cellular pH regulators：potentially promising molecular targets for cancer chemotherapy[J]. Cancer Treat Rev，2003，29(6)：541-549.

[13] Kroemer G，Pouyssegu J. Tumor cell metabolism：cancer's Achilles' heel[J]. Cancer Cell，2008，13(6)：472-482.

[14] Vander Heiden MG，Cantley LC，Thompson CB. Understanding the Warburg effect：the metabolic requirements of cell proliferation[J]. Science，2009，324(5930)：1029-1033.

[15] Schurr A，Payne RS，Miller JJ，et al. Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia[J]. Brain Res，2001，895(1-2)：268-272.

[16] Bouzier AK，Voisin P，Goodwin R，et al. Glucose and lactate metabolism in C6 glioma cells：evidence for the preferential utilization of lactate for cell oxidative metabolism[J]. Dev Neurosci，1998，20(4-5)：331-338.

[17] Yamagata M，Hasuda K，Stamato T，et al. The contribution of lactic acid to acidification of tumours：studies of variant cells lacking lactate dehydrogenase[J]. Br J Cancer，1998，77(11)：1726-1731.

[18] Ord JJ，Streeter EH，Roberts IS，et al. Comparison of hypoxia transcriptome in vitro with in vivo gene expression in human bladder cancer[J]. Br J Cancer，2005，93(3)：346-354.

[19] Cheng C，Edin NF，Lauritzen KH，et al. Alterations of monocarboxylate transporter densities during hypoxia in brain and breast tumour cells[J]. Cell Oncol (Dordr)，2012，35(3)：217-227.

[20] Ullah MS，Davies AJ，Halestrap AP. The plasma membrane lactate transporter MCT4，but not MCT1，is up-regulated by hypoxia through a HIF-1a-dependent mechanism[J]. J Biol Chem，2006，281(14)：9030-9037.

（责任编辑：张辉洁）