DOI:10.16016/j.2097-0927.202403068

葡萄糖饥饿促进 hnRNPA2B1 细胞质转位并激活 AKT 维持前列腺癌细胞存活

孙梁博[1],贺 梦[1],刘 冬[1],何凤田[2],连继勤[1],杨明珍[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学):药学与检验医学系临床生物化学教研室[1],基础医学院生物化学与分子生物学教研室[2]

[摘要] **目的** 探讨葡萄糖饥饿后介导核不均一核糖核蛋白 A2B1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2B1,hnRNPA2B1)向细胞质转位的分子机制及 hnRNPA2B1 细胞质转位增加对前列腺癌 PC3 细胞存活的影响。**方法** 前列腺癌 PC3 细胞株在含葡萄糖的正常 1640 培养基中常规培养(正常组),在不含葡萄糖的 1640 培养基中培养构建葡萄糖饥饿模型(饥饿组)。2 组分别进行不同处理:去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A(trichostatin A,TSA)联合尼克酰胺(nicotinamide,NAM)处理(TSA/NAM 组)、AKT 抑制剂 BEZ235 处理、si-NC 转染和 si-hnRNPA2B1 转染。采用细胞质和细胞核蛋白分离技术、免疫沉淀联合 Western blot 实验检测 hnRNPA2B1 乙酰化(acetylation,Ac)水平、AKT 总蛋白及其磷酸化水平、细胞质和细胞核中 hnRNPA2B1 的表达水平;采用 CCK-8 检测各组细胞存活情况。**结果** 与正常组比较,在葡萄糖饥饿处理 3~5 h 后,PC3 细胞 hnRNPA2B1 蛋白乙酰化降低($P<0.01$),其细胞质转位增加($P<0.01$),AKT 磷酸化增强促进 AKT 信号通路的激活;与饥饿组比较,使用 TSA/NAM、BEZ235 和转染 si-hnRNPA2B1 处理后 hnRNPA2B1 乙酰化水平明显上调($P<0.01$),能够抑制葡萄糖饥饿介导的 hnRNPA2B1 细胞质转位、抑制 AKT 磷酸化,同时导致葡萄糖饥饿处理后的细胞存活率进一步降低($P<0.01$)。**结论** 葡萄糖饥饿环境通过诱导 Ac-hnRNPA2B1-AKT 信号通路激活,从而维持 PC3 细胞存活。

[关键词] 葡萄糖饥饿;前列腺癌;核不均一核糖核蛋白 A2B1;乙酰化;AKT 信号
[中图法分类号] R343.23;R730.23;R737.25 [文献标志码] A

Glucose starvation promotes hnRNPA2B1 cytoplasmic translocation and activates AKT to maintain prostate cancer cell survival

SUN Liangbo[1], HE Meng[1], LIU Dong[1], HE Fengtian[2], LIAN Jiqin[1], YANG Mingzhen[1] [1]Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy and Laboratory Medicine; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the molecular mechanism of translocation of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2B1 (hnRNPA2B1) to the cytoplasm after glucose starvation and the effects of increased cytoplasmic translocation of hnRNPA2B1 on the survival of prostate cancer PC3 cells. **Methods** Human prostate cancer PC3 cells were divided into normal control group (cultured conventionally with glucose-containing medium, RPMI 1640 Medium) and glucose starvation group (cultured with glucose-free medium, RPMI 1640 Medium). The 2 types of cells were treated with deacetylase inhibitor, trichostatin A (TSA) combined with nicotinamide (NAM), AKT inhibitor BEZ235, si-NC transfection, and si-hnRNPA2B1 transfection, respectively. Cytoplasmic and nuclear protein separation, immunoprecipitation and Western blotting were used to detect changes in hnRNPA2B1 acetylation, total AKT protein and its

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(32300626);重庆市自然科学基金面上项目(cstc2021jcyj-msxmX0318);陆军军医大学科技创新能力提升专项项目(2022XQN05)

[通信作者] 杨明珍,E-mail:yangmingzhen0807@126.com

2097-0927/Copyright © 2024, 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/)

phosphorylation level, and expression levels of hnRNPA2B1 in the cytoplasm and nucleus. CCK-8 assay was employed to observe cell survival in each group. **Results** After 3~5 h of glucose starvation treatment, the acetylation of hnRNPA2B1 protein was reduced ($P<0.01$), and its cytoplasmic translocation was increased in PC3 cells ($P<0.01$), which was accompanied by enhanced AKT phosphorylation and activation of the AKT signaling pathway. TSA/NAM treatment, BEZ235 treatment, and si-hnRNPA2B1 transfection all resulted in obvious increase in acetylation of hnRNPA2B1 protein when compared with glucose starvation treated cells ($P<0.01$), which could inhibit the glucose starvation-mediated cytoplasmic translocation of hnRNPA2B1, suppress AKT phosphorylation, and consequently decrease the cell survival rate after glucose starvation ($P<0.01$). **Conclusion** Glucose starvation can maintain the survival of PC3 cells by inducing the activation of the Ac-hnRNPA2B1-AKT signaling pathway.

[**Key words**] glucose starvation; prostate cancer; hnRNPA2B1; acetylation; AKT signal

Supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (32300626), the General Project of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2021jcyj-msxmX0318) and the Special Project of Science and Technology Innovation Capacity Promotion of Army Medical University (2022XQN05).
Corresponding author: YANG Mingzhen, E-mail: yangmingzhen0807@126.com

根据2023年在美国范围内的癌症病例报告,前列腺癌(prostate cancer,PCa)在所有癌症中的预计发生率排第1位,预计死亡率排第2位[1]。前列腺癌在中国所有癌症中的预计新发生率居第7位,死亡率居第14位[2]。因此,前列腺癌已成为一种对男性健康造成巨大威胁的疾病,不容忽视。目前对前列腺癌治疗方式包括根治性手术治疗、放疗、内分泌治疗等,但适用范围有限,不良反应明显且常发生各种并发症,甚至导致死亡。前列腺癌为实体瘤,其中心很难获取营养,常处于缺氧缺血以及缺乏葡萄糖、氨基酸等营养物质的状态,但其在这些应激条件下仍具有强大的适应能力。肿瘤细胞对营养物质缺乏环境的适应能力是影响其生存和发展的关键。

癌症发展过程中常见的并发症为营养限制性疾病。与正常细胞相比,肿瘤细胞需要吸收更多的葡萄糖才能维持其生长[3]。在实体瘤的快速增殖过程中,由于血管生成不足导致肿瘤的中心区域出现葡萄糖供应不足[4]。葡萄糖饥饿可导致不同类型肿瘤细胞的凋亡、坏死、自噬或生长停滞,具体取决于遗传、表观遗传和环境等因素[5-6]。葡萄糖水平影响细胞的存活率,而葡萄糖饥饿引发前列腺癌细胞的相关反应及葡萄糖剥夺诱导细胞死亡的分子机制尚未完全明确。核不均一核糖核蛋白A2B1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2B1,hnRNPA2B1)通过识别并结合特定的RNA底物和DNA基序,参与RNA的转录、剪接、稳定性及翻译过程,调控多种基因表达。有研究报道显示,hnRNPA2B1调控多种肿瘤细胞存活以及促进肿瘤细胞应对营养物质缺乏[7-8]。本研究采用葡萄糖饥饿的方法,利用PC3细胞在体外模拟PCa晚期葡萄糖缺乏的生存环境,发现葡萄糖饥饿导致PC3细胞中hnRNPA2B1乙酰化(acetylation,Ac)降低、hnRNPA2B1蛋白由细胞核向细胞质的转位,进而激活AKT,最终维持PC3细胞存活,为PCa的研究、治疗新思路提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人前列腺癌细胞株PC3细胞由陆军军医大学药学与检验医学系临床生物化学教研室保存。正常含葡萄糖1640培养基和不含葡萄糖的1640培养基购自Thermo Fisher公司;胎牛血清、0.25%胰酶购自Gibco公司;CCK-8试剂、蛋白定量试剂盒、RIPA裂解液(强)、PMSF、IgG均购自碧云天公司;BEZ235、组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素A(trichostatin A,TSA)、组蛋白去乙酰化酶抑制剂尼克酰胺(nicotinamide,NAM)购自Selleck公司;hnRNPA2B1、p-AKT、AKT、H3、β-actin抗体购自Proteintech公司;GAPDH抗体、山羊抗兔的二抗购自Bioworld technology公司;赖氨酸乙酰化修饰抗体(Acety-lysine)购自Abcam公司;PVDF膜,ECL发光液购自Bio-Rad公司。

1.2 细胞培养与加药处理

PC3细胞在含10%胎牛血清的含葡萄糖1640培养基中,于5%CO_2、37 ℃条件下培养。利用胰酶消化进行细胞传代。细胞生长至对数生长期后,进行药物处理,处理时间为24 h,然后收集细胞进行后续实验。

1.3 细胞处理

前列腺癌PC3细胞株在含葡萄糖的正常1640培养基中常规培养(正常组),在不含葡萄糖的1640培养基中培养构建葡萄糖饥饿模型(饥饿组),饥饿时间为1、3、5 h。在以上2组基础上细胞分别加入TSA联

合 NAM 处理(TSA/NAM 组)、AKT 抑制剂 BEZ235 处理(BEZ235 组)、小干扰 RNA 阴性对照转染(si-NC 组)、小干扰 RNA-hnRNPA2B1 转染(si-hnRNPA2B1 组),以加 DMSO 作为溶剂对照组。

1.4 细胞转染

细胞转染使用 Opti-MEM 转染专用的无葡萄糖培养基,并按照供应商提供的比例加入质粒/siRNA 和 Lipofectamine 3000,混合液室温下静置 20 min 后,加入到待转染的细胞中。转染 12 h 后,移除转染试剂并继续后续处理。hnRNPA2B1 及对照的 siRNA 由北京擎科生物公司合成。si-hnRNPA2B1 #1 序列:5′-GGAGAGTAGTTGAGC-CAAA-3′ 和 si-hnRNPA2B1 #2 序列:5′-GCTACGGA-GGTGGTTATGA-3′。

1.5 CCK-8 实验

将 PC3 细胞培养至对数生长期后,通过消化和重悬细胞,使用血球计数板进行细胞计数,将大约 3 000 个细胞接种到 96 孔板的每孔中,并在培养箱中过夜。第 2 天,对细胞进行药物处理持续 24 h。处理完成后,移除每孔中的旧培养基,并加入 100 μL 含有 10% CCK-8 的含葡萄糖 1640 培养基。将孔板放回细胞培养箱中继续培养约 2 h,然后使用 450 nm 波长在光谱仪上测定每孔的光密度值[$D(450)$]。记录测量结果后,计算各组的细胞存活率,以评估不同处理条件对细胞存活率的影响。

1.6 总蛋白的提取

在 4 ℃以 1 000×g 离心 5 min 收集细胞,然后向各组加入含有 1 mmol/L PMSF 的 RIPA 裂解液,在冰上裂解 20 min。在 4 ℃以 14 000×g 离心 10 min,小心吸取上清液并转移到新的 EP 管中,使用 BCA 法测定蛋白质浓度,根据需要将各组的蛋白质浓度调整至一致。

1.7 细胞核蛋白与细胞质蛋白的分离与提取

细胞处理后离心收集 2×10^7 个细胞,将 20 μL 细胞沉淀加入 200 μL 含有 1 mmol/L PMSF 的细胞质蛋白抽提试剂中,然后置于冰浴中孵育 15 min。在 4 ℃条件下以 16 000×g 离心 5 min,立即小心吸取上清液转移到 1 个预冷的塑料管中,该成分为细胞质蛋白。对于细胞沉淀,彻底吸除残留的上清液,然后加入 50 μL 添加了 PMSF 的细胞核蛋白抽提试剂,每隔 2 min 进行 1 次高速剧烈涡旋 30 s,持续 30 min。在 4 ℃条件下以 16 000×g 离心 10 min。吸取上清液转移到另 1 个预冷的塑料管中,该成分为细胞核蛋白。

1.8 Western blot 检测

首先对蛋白质样品进行定量,然后将其与适量的 5×loading buffer 混合,并在 100 ℃下煮沸 5 min 变性蛋白质,将蛋白样品上样到凝胶中进行电泳,每孔加入 20 μg 蛋白,然后使用半干转法将蛋白质从凝胶转移到 PVDF 膜上,使用碧云天的快速封闭液在 37 ℃下封闭膜 30 min。用一抗稀释液(1∶1 000)在 4 ℃下摇床孵育过夜。第 2 天,用含 0.1% Tween-20 的 PBST 溶液洗膜 3 次。随后用 PBST 溶液(1∶5 000)稀释的山羊抗兔二抗在室温下孵育膜 1 h。再次用 PBST 溶液洗膜 3 次。最后,将膜放入化学发光仪中进行显影和曝光,以检测目标蛋白质。

1.9 免疫沉淀(immunoprecipitation,IP)实验

免疫沉淀实验遵循 Pierce Cross-link Magnetic IP/Co-IP 试剂盒(Thermo Fisher 公司)的说明书指导,首先收集细胞进行裂解,在 15 000×g 离心 10 min 以沉淀细胞蛋白质。随后,通过 BCA 法检测蛋白质样品的浓度,并根据检测结果对样品进行浓度标定,确保每个样品中包含 1.5 mg 的总蛋白,溶于 500 μL 的细胞裂解缓冲液中。接着,取 5 μg 的抗赖氨酸乙酰化抗体与 A/G 蛋白磁珠进行交联结合。每个样品中的 500 μL 细胞裂解液与带有交联磁珠的管子一起在旋转器中于 4 ℃下孵育过夜,以实现免疫沉淀过程。沉淀完成后,使用酸性洗脱液洗脱结合在磁珠上的蛋白质,随后用中和液中和洗脱液。最后,将变性的蛋白质样品加入非还原电泳缓冲液中,并进行煮沸处理以进行后续的免疫印迹分析(immunoblotting, IB),并设置阳性对照(input)。

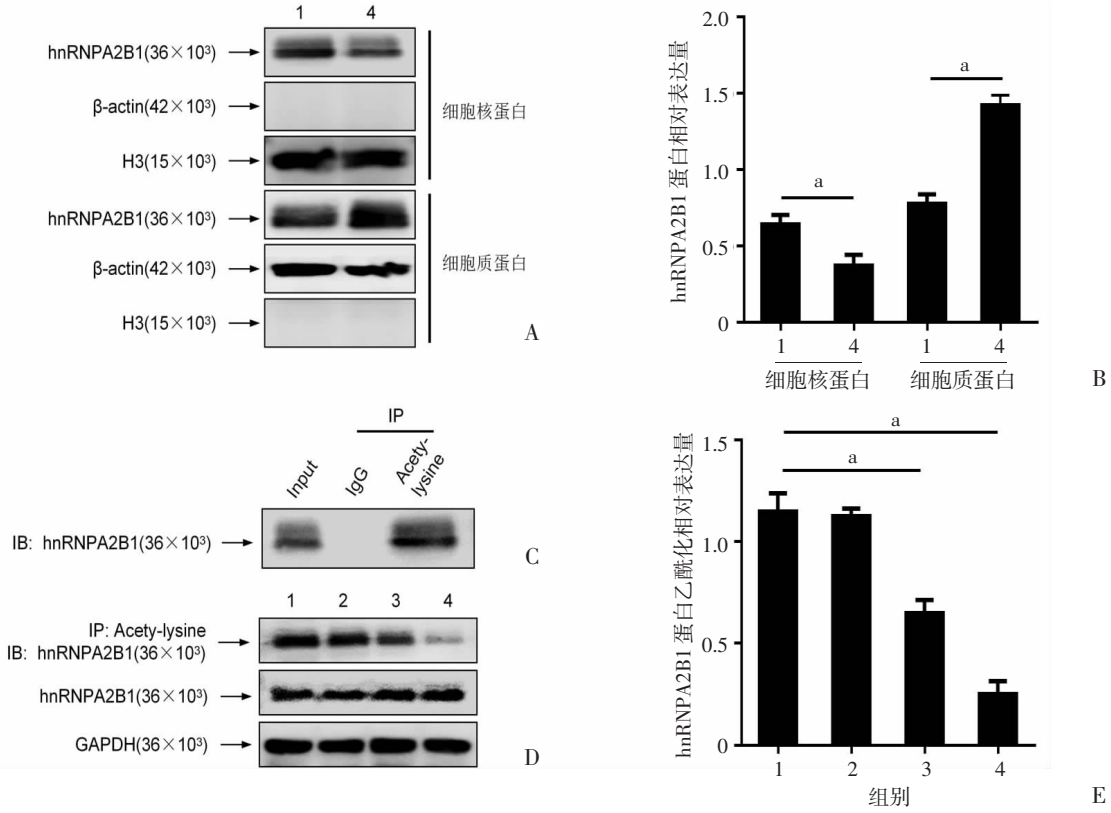
1.10 统计学分析

采用 GraphPad Prism 7.0 软件对数据进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多样本间的两两比较采用 Dunnett-t 检验进行多重比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 葡萄糖饥饿条件下 hnRNPA2B1 去乙酰化和细胞质转位增强

免疫沉淀联合 Western blot 检测结果显示:PC3 细胞在不含葡萄糖的培养基培养 5 h 后,细胞质中 hnRNPA2B1 蛋白表达显著升高,而细胞核中的 hnRNPA2B1 蛋白含量降低($P<0.01$,图 1A、B),提示葡萄糖的缺乏可能导致 hnRNPA2B1 蛋白向细胞质转位。蛋白质的翻译后修饰是影响蛋白质亚细胞定位的关键因素,进一步检测 hnRNPA2B1 蛋白的乙酰化水平,发现在正常培养条件下,hnRNPA2B1 蛋白发生明显乙酰化修饰(图 1C),而在经不含葡萄糖的培养基中培养 1 h 后,hnRNPA2B1 蛋白乙酰化修饰未发生显著改变,而随着葡萄糖饥饿时间延长,hnRNPA2B1 蛋白发生明显去乙酰化修饰($P<0.01$,图 1D、E)。



1:正常组;2~4:饥饿培养 1、3、5 h 组;a:$P<0.01$

A:Western blot 检测细胞核和细胞质中 hnRNPA2B1 蛋白的表达;B:hnRNPA2B1 蛋白相对表达量;C:免疫沉淀联合 Western blot 检测总蛋白中 hnRNPA2B1 乙酰化水平(Ac-hnRNPA2B1);D:免疫沉淀联合 Western blot 检测葡萄糖饥饿不同时间后 hnRNPA2B1 蛋白表达及乙酰化水平;E:hnRNPA2B1 蛋白乙酰化水平定量分析

图 1 葡萄糖饥饿条件下 hnRNPA2B1 去乙酰化和亚细胞定位的改变

2.2 hnRNPA2B1 去乙酰化促进其向细胞质转位

免疫沉淀联合 Western blot 检测结果显示,TSA/NAM 组 hnRNPA2B1 蛋白的乙酰化修饰水平显著上调($P<0.01$,图 2A、B)。在联合使用 TSA 和 NAM 作用 24 h 后,细胞分别在正常培养基和不含葡萄糖的培养基中培养 5 h,发现 TSA/NAM 组显著抑制葡萄糖缺乏条件下 hnRNPA2B1 蛋白向细胞质的转位($P<0.01$,图 2C~E)。这说明 hnRNPA2B1 蛋白去乙酰化是葡萄糖剥夺介导 hnRNPA2B1 蛋白向细胞质转位的关键因素。CCK-8 实验结果发现 TSA 联合 NAM 的加入使 PC3 细胞对葡萄糖剥夺更不耐受,细胞存活率进一步降低($P<0.01$,图 2F),这提示 hnRNPA2B1 蛋白向细胞质的转位可能对 PC3 细胞在葡萄糖剥夺环境中的生存是有益的。

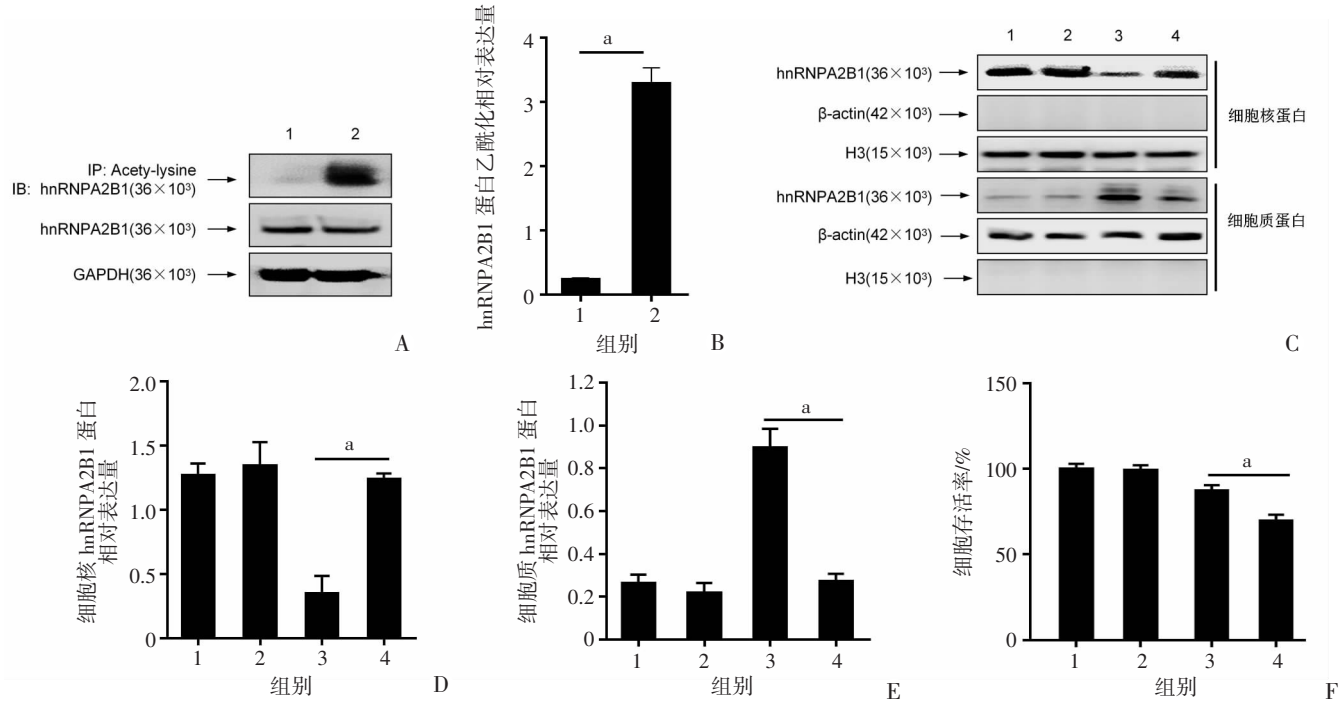
2.3 hnRNPA2B1 激活 AKT 信号通路

实验结果显示:随葡萄糖饥饿时间延长,PC3 细胞 AKT 磷酸化水平上调($P<0.01$,图 3A、B),在葡萄糖饥饿条件下,使用 hnRNPA2B1 的 siRNA 转染 PC3 细胞 36 h 敲低 hnRNPA2B1 表达,PC3 细胞 AKT 磷酸化水平受抑制($P<0.01$,图 3C、D)。表明葡萄糖饥饿可能通过上调 hnRNPA2B1 表达激活 AKT 信号通路。

2.4 hnRNPA2B1 通过激活 AKT 信号通路来维持细胞存活

为了明确葡萄糖缺乏环境中 AKT 信号通路的激活、hnRNPA2B1 乙酰化与 PC3 细胞存活之间的关系,研究加入 AKT 抑制剂 BEZ235 处理 PC3 细胞 24 h 后进行葡萄糖饥饿处理,结果显示:抑制 AKT 信号通路后 PC3 细胞的存活率进一步降低($P<0.01$,图 4A),提示 AKT 激活在饥饿环境中利于 PC3 细胞的存活。

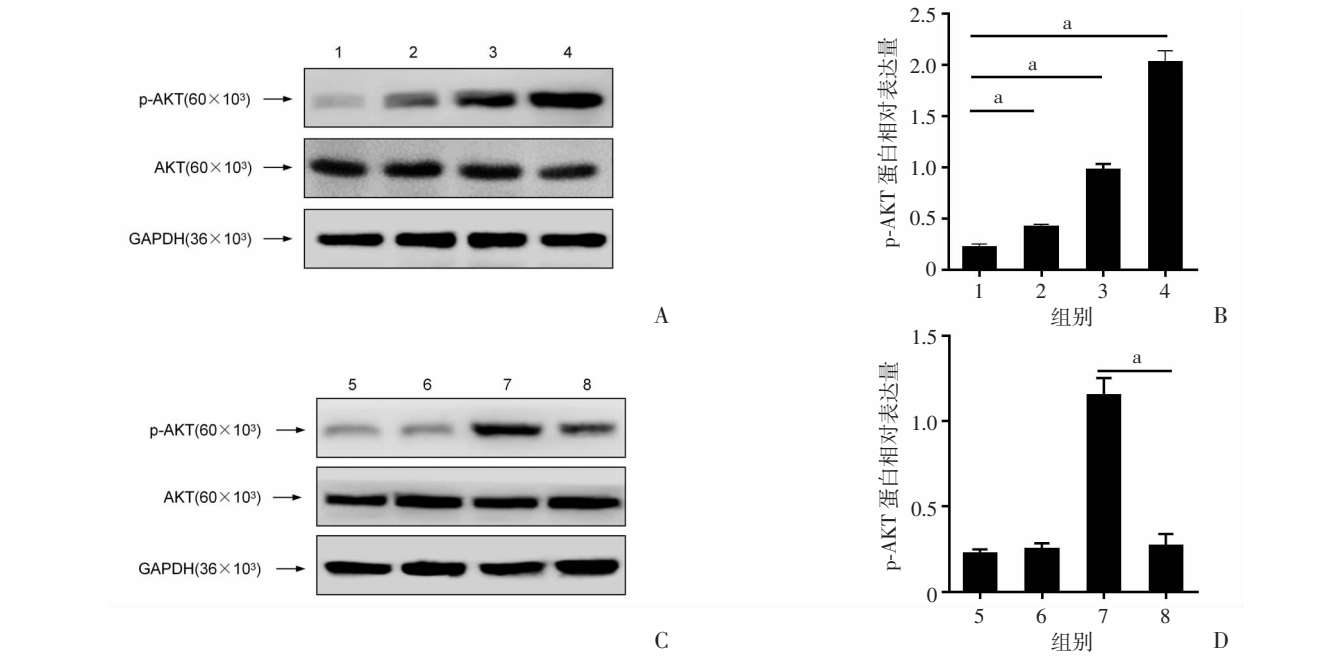
经 TSA/NAM 处理后 PC3 细胞中 p-AKT 显著降低,表明 TSA/NAM 处理与 AKT 抑制剂 BEZ235 处理效果一致,均能抑制 AKT 磷酸化($P<0.01$,图 4B、C)。提示 hnRNPA2B1 蛋白乙酰化水平上调后,可能通过转位到细胞质发挥激活 AKT 信号通路的作用。



1:正常溶剂对照组;2:正常 TSA/NAM 组;3:饥饿溶剂对照组;4:饥饿 TSA/NAM 组;a:$P<0.01$

A:去乙酰化酶抑制剂作用后免疫沉淀联合 Western blot 检测总蛋白中的 hnRNPA2B1 蛋白表达水平及乙酰化水平;B:hnRNPA2B1 蛋白乙酰化水平定量分析;C:去乙酰化酶抑制剂作用后葡萄糖饥饿处理,Western blot 检测 PC3 细胞胞质和胞核中 hnRNPA2B1 蛋白表达水平;D、E:细胞核和细胞质中 hnRNPA2B1 蛋白表达定量分析;F:CCK-8 检测去乙酰化酶抑制剂作用后 PC3 细胞存活情况

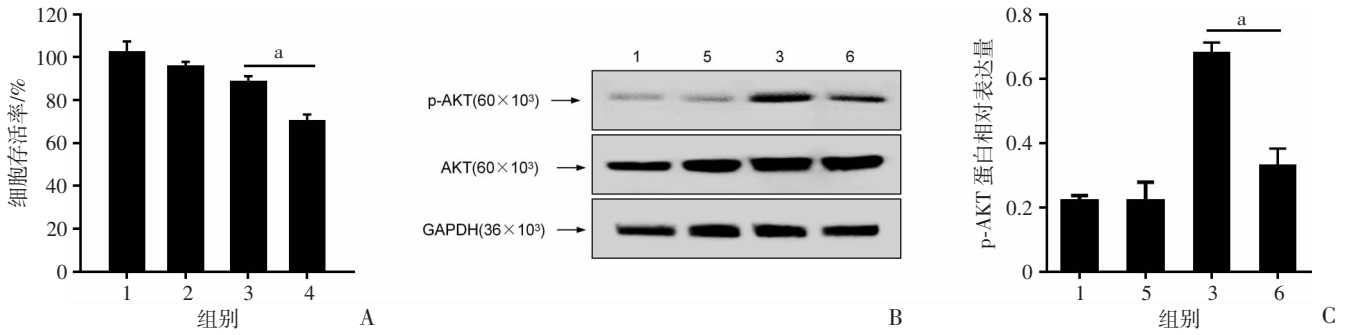
图 2 上调 hnRNPA2B1 乙酰化对 hnRNPA2B1 细胞质转位和细胞存活的影响



1:正常组;2~4:饥饿组培养 1、3、5 h;5:正常 si-NC 组;6:正常 si-hnRNPA2B1 组;7:饥饿 si-NC 组;8:饥饿 si-hnRNPA2B1 组;a:$P<0.01$

A:Western blot 检测葡萄糖饥饿不同时间后 AKT 及 p-AKT 蛋白表达;B:p-AKT 蛋白相对表达量;C:Western blot 检测敲低 hnRNPA2B1 后 AKT 及 p-AKT 蛋白表达;D:p-AKT 蛋白相对表达量

图 3 葡萄糖饥饿条件下沉默 hnRNPA2B1 对 AKT 信号通路的影响



1:正常溶剂对照组;2:正常 BEZ235 组;3:饥饿溶剂对照组;4:饥饿 BEZ235 组;5:正常 TSA/NAM 组;6:饥饿 TSA/NAM 组;a:$P<0.01$

A:CCK-8 检测 AKT 抑制剂 BEZ235 作用后细胞存活情况;B:Western blot 检测去乙酰化酶抑制剂作用后 AKT 及 p-AKT 蛋白表达;C:p-AKT 蛋白相对表达量

图 4 葡萄糖饥饿条件下上调 hnRNPA2B1 乙酰化靶向 AKT 信号通路对细胞存活的影响

3 讨论

癌症进展过程中常会处于营养限制环境[9],肿瘤细胞适应饥饿环境的分子机制尚未完全了解。本研究选用前列腺癌 PC3 细胞株,采用葡萄糖饥饿的方法在体外模拟前列腺癌晚期肿瘤细胞面临的葡萄糖匮乏的生存环境。CCK-8 实验结果表明葡萄糖饥饿使 PC3 细胞活力降低及数量减少,但细胞仍保持了一定的存活能力抵抗葡萄糖饥饿。在无葡萄糖条件下,PC3 细胞可通过调节 hnRNPA2B1 的细胞质转位来激活 AKT 信号通路从而促进细胞存活。

hnRNPA2B1 具有促进多种肿瘤细胞存活的作用。研究表明 hnRNPA2B1 在前列腺癌、肝癌、结直肠癌等多种肿瘤组织中异常高表达[10-13],与肿瘤的恶性程度和不良预后密切相关。研究发现酪蛋白激酶 1 可促进 hnRNPA2B1 蛋白磷酸化增强其蛋白稳定性,hnRNPA2B1 进一步诱导 miR-25-3p/miR-93-5p 的成熟,调节 TGF-β 和 FOXO 途径,从而显著促进前列腺癌进展与细胞存活[13];hnRNPA2B1 还可通过靶向 ERK 和 STAT3 信号通路显著促进非小细胞肺癌和乳腺癌的细胞存活[14-15]。本研究证明 hnRNPA2B1 可以通过激活 AKT 信号通路,在葡萄糖饥饿条件下维持 PC3 细胞存活,而靶向敲低 hnRNPA2B1 削弱了 PC3 细胞抗葡萄糖饥饿的存活能力,这表明 hnRNPA2B1 在响应葡萄糖信号并维持细胞存活过程中发挥重要作用。

hnRNPA2B1 蛋白能够在细胞质和细胞核之间穿梭,且在肿瘤细胞质和细胞核的 hnRNPA2B1 可能发挥不同的功能。在人正常肝组织中 100% 的 hnRNPA2B1 蛋白均定位在细胞核,而随着病毒性肝炎进展为不同分化程度肝癌的过程中,hnRNPA2B1 逐渐转位到细胞质,在晚期或低分化的肝癌样本中,约有 72%的肝癌细胞出现大量的 hnRNPA2B1 聚集定位到细胞质[16]。随肝癌进展,hnRNPA2B1 细胞质定位显著增加,提示肿瘤组织中 hnRNPA2B1 细胞质定位百分比可反映肿瘤组织的去分化、恶性潜力、肿瘤的转移和血管浸润程度等[16]。晚期实体瘤中心组织常处于缺血缺氧环境(即营养匮乏或饥饿环境),因此 hnRNPA2B1 细胞质转位可能是在营养限制环境中维持肿瘤细胞存活及促进肿瘤进展的重要因素。本研究发现葡萄糖饥饿促进 PC3 细胞中 hnRNPA2B1 蛋白由细胞核向细胞质转位,而 hnRNPA2B1 细胞质转位可能正是维持 PC3 细胞在葡萄糖饥饿存活的重要因素。

hnRNPA2B1 的去乙酰化是增强其细胞质转位的重要因素。蛋白质亚细胞定位的精确控制对于蛋白质的功能至关重要,在不同的调控过程中,可逆的翻译后修饰提供了一种精准的机制来控制蛋白质定位[17]。乙酰化修饰可通过影响被修饰蛋白的空间结构而广泛影响蛋白质的亚细胞定位、稳定性、酶活性等[18-19]。但是关于 hnRNPA2B1 的亚细胞定位是否受到翻译后修饰的调控,目前尚未见报道。本研究发现葡萄糖饥饿条件下可使 PC3 细胞中的 hnRNPA2B1 蛋白乙酰化显著降低,进而促进 hnRNPA2B1 蛋白在细胞质转位增加并进一步激活 AKT 通路,最终维持葡萄糖饥饿环境中 PC3 细胞存活。

综上所述,本研究发现在葡萄糖饥饿环境中,PC3 细胞中 hnRNPA2B1 蛋白的乙酰化水平降低,明显由细胞核向细胞质转位,进一步激活 AKT 通路,维持 PC3 细胞在葡萄糖饥饿环境中存活。抑制 Ac-hnRNPA2B1-AKT 信号通路能够降低 PC3 细胞在葡萄糖饥饿环境中的细胞存活能力。本研究发现葡萄糖饥饿触发 Ac-hnRNPA2B1-AKT 通路的激活,上述信号通路是 PC3

细胞在葡萄糖饥饿环境中维持细胞存活能力的重要因素,为理解在葡萄糖饥饿环境中维持前列腺癌细胞存活等科学问题提供了理论与实验依据。

参考文献:

[1] SIEGEL R L, GIAQUINTO A N, JEMAL A. Cancer statistics, 2024[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(1): 12-49. DOI:10.3322/caac.21820.

[2] WASIM S, LEE S Y, KIM J. Complexities of prostate cancer [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(22): 14257. DOI: 10.3390/ijms232214257.

[3] WAWRZKIEWICZ-JAŁOWIECKA A, LALIK A, LUKASIAK A, *et al*. Potassium channels, glucose metabolism and glycosylation in cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(9): 7942. DOI: 10.3390/ijms24097942.

[4] ABDEL-WAHAB A F, MAHMOUD W, AL-HARIZY R M. Targeting glucose metabolism to suppress cancer progression: prospective of anti-glycolytic cancer therapy[J]. Pharmacol Res, 2019, 150: 104511. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104511.

[5] OAKES S A. Endoplasmic reticulum stress signaling in cancer cells[J]. Am J Pathol, 2020, 190(5): 934-946. DOI: 10.1016/j.ajpath.2020.01.010.

[6] CUI Y N, SUN Y L, LI D M, *et al*. The crosstalk among the physical tumor microenvironment and the effects of glucose deprivation on tumors in the past decade[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1275543. DOI: 10.3389/fcell.2023.1275543.

[7] PETRI B J, PIELL K M, SOUTHWHITT G C, *et al*. HNRNPA2B1 regulates tamoxifen- and fulvestrant-sensitivity and hallmarks of endocrine resistance in breast cancer cells [J]. Cancer Lett, 2021, 518: 152-168. DOI: 10.1016/j.canlet.2021.07.015.

[8] TAKAHASHI T, ANDO Y, ICHIKAWA H, *et al*. Serum/glucose starvation strikingly reduces heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 protein and its target, cyclin D1[J]. FEBS J, 2023, 290(16): 4126-4144. DOI: 10.1111/febs.16802.

[9] MARTÍNEZ-REYES I, CHANDEL N S. Cancer metabolism: looking forward[J]. Nat Rev Cancer, 2021, 21(10): 669-680. DOI: 10.1038/s41568-021-00378-6.

[10] WANG G L, ZHANG X F, CHENG W, *et al*. CHD1L prevents lipopolysaccharide-induced hepatocellular carcinomar cell death by activating hnRNP A2/B1-nmMYLK axis[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(10): 891. DOI: 10.1038/s41419-021-04167-9.

[11] GUO Q D, FAN Y, WANG Q T, *et al*. Glioblastoma upregulates SUMOylation of hnRNP A2/B1 to eliminate the tumor suppressor miR-204-3p, accelerating angiogenesis under hypoxia[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(2): 147. DOI: 10.1038/s41419-023-05663-w.

[12] LIU H, LI D X, SUN L N, *et al*. Interaction of lncRNA MIR100HG with hnRNPA2B1 facilitates m^6A-dependent stabilization of TCF7L2 mRNA and colorectal cancer progression[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 74. DOI: 10.1186/s12943-022-01555-3.

[13] QI F, SHEN W Y, WEI X Y, *et al*. CSNK1D-mediated phosphorylation of HNRNPA2B1 induces miR-25-3p/miR-93-5p maturation to promote prostate cancer cell proliferation and migration through m^6A-dependent manner[J]. Cell Mol Life Sci, 2023, 80(6): 156. DOI: 10.1007/s00018-023-04798-5.

[14] KIM M K, CHOI M J, LEE H M, *et al*. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 regulates the ERK and p53/HDM2 signaling pathways to promote the survival, proliferation and migration of non-small cell lung cancer cells [J]. Oncol Rep, 2021, 46(2): 153. DOI: 10.3892/or.2021.8104.

[15] GAO L B, ZHU X L, SHI J X, *et al*. HnRNPA2B1 promotes the proliferation of breast cancer MCF-7 cells via the STAT3 pathway[J]. J Cell Biochem, 2021, 122(3/4): 472-484. DOI: 10.1002/jcb.29875.

[16] CUI H Q, WU F, SUN Y L, *et al*. Up-regulation and subcellular localization of hnRNP A2/B1 in the development of hepatocellular carcinoma[J]. BMC Cancer, 2010, 10: 356. DOI: 10.1186/1471-2407-10-356.

[17] NARITA T, WEINERT B T, CHOUDHARY C. Functions and mechanisms of non-histone protein acetylation[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(3): 156-174. DOI: 10.1038/s41580-018-0081-3.

[18] INUZUKA H, GAO D M, FINLEY L W S, *et al*. Acetylation-dependent regulation of Skp2 function[J]. Cell, 2012, 150(1): 179-193. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.038.

[19] LI Y P, HE X N, LU X, *et al*. METTL3 acetylation impedes cancer metastasis via fine-tuning its nuclear and cytosolic functions[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 6350. DOI: 10.1038/s41467-022-34209-5.

(收稿:2024-03-14;修回:2024-05-30)

(编辑 汪勤俭)