

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.01.008

MAT2A 抑制剂阻断食管鳞状细胞癌进展及其对下游信号网络的影响

肖远帆, 陈杰(北京大学肿瘤医院 分子肿瘤研究室, 北京 100143)

[摘要] **目的:**探索甲硫氨酸腺苷转移酶2(MAT2A)对食管鳞状细胞癌(ESCC)细胞的作用,以及MAT2A抑制剂PF9366对ESCC细胞的抑制作用及其分子机制。**方法:**选用人ESCC细胞KYSE450、KYSE510、KYSE180和KYSE410及正常食管上皮细胞(NEEC),通过ELISA实验验证S-腺苷甲硫氨酸(SAM)在细胞中的产生情况。分别用0、5、10和25 $\mu\text{mol/L}$ PF9366处理KYSE450、KYSE510细胞,通过ELISA实验、MTS实验、平板克隆形成实验检测PF9366对ESCC细胞甲硫氨酸(MET)活性和细胞增殖的抑制效果,采用RNA-seq实验观察PF9366对KYSE450细胞下游促癌信号通路的影响。构建KYSE450、KYSE510细胞移植瘤小鼠模型,观察PF9366对荷瘤小鼠移植瘤生长的影响。**结果:**ESCC细胞中的MET活性显著高于NEEC(均 $P < 0.01$)。使用PF9366后,KYSE450、KYSE510细胞SAM活性均显著降低(均 $P < 0.01$),细胞的增殖能力显著降低(均 $P < 0.01$),其抑制作用呈现出明显的剂量依赖性(均 $P < 0.05$)。RNA-seq分析表明,PF9366处理后的ESCC细胞中,有20个与肿瘤发生和发展相关的信号通路被下调。荷瘤小鼠实验表明,PF9366能显著抑制ESCC细胞小鼠移植瘤的生长(均 $P < 0.0001$)。**结论:**MAT2A抑制剂PF9366能抑制ESCC细胞中SAM的产生、抑制细胞增殖并激活下游关键促癌信号网络,提示MET代谢关键酶MAT2A是治疗ESCC的潜在靶点。

[关键词] 食管鳞状细胞癌;甲硫氨酸腺苷转移酶2;甲硫氨酸代谢;PF9366

[中图分类号] R735.1; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 01-0056-08

MAT2A inhibitor blocks the progression of esophageal squamous cell carcinoma and affects downstream signaling networks

XIAO Yuanfan, Chen Jie (Molecular Tumor Research Laboratory, Beijing University Cancer Hospital, Beijing 100143, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of methionine adenosyltransferase 2 (MAT2A) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and evaluate the inhibitory effects of MAT2A inhibitor PF9366 on ESCC cells and its underlying molecular mechanisms. **Methods:** Human ESCC cell lines (KYSE450, KYSE510, KYSE180, and KYSE410) and normal esophageal epithelial cells (NEECs) were used in this study. S-adenosylmethionine (SAM) production in these cells was verified by ELISA assay. KYSE450 and KYSE510 cells were treated with various concentrations of PF9366 (0, 5, 10, and 25 $\mu\text{mol/L}$). The inhibitory effects of PF9366 on methionine (MET) activity and proliferation of ESCC cells were assessed using ELISA, MTS assay, and plate cloning formation assay. RNA-seq was performed to observe the effects of PF9366 on downstream oncogenic signaling pathways in KYSE450 cells. KYSE450 and KYSE510 cell xenograft models were constructed in mice to observe the effects of PF9366 on tumor growth *in vivo*. **Results:** MET activity in ESCC cells was significantly higher than that in NEECs ($P < 0.01$). Following PF9366 treatment, SAM activity and cellular proliferation in KYSE450 and KYSE510 cells were significantly inhibited (all $P < 0.01$), with a clear dose-dependent inhibitory effect (all $P < 0.05$). RNA-seq analysis revealed that 20 signaling pathways associated with carcinogenesis and progression were downregulated in PF9366-treated ESCC cells. *In vivo* xenograft experiments demonstrated that PF9366 treatment significantly inhibited the growth of ESCC cell-derived tumors in mice (all $P < 0.0001$). **Conclusion:** MAT2A inhibitor PF9366 inhibits SAM production in ESCC cells, suppresses cell proliferation, and activates key downstream oncogenic signaling networks, suggesting that MAT2A, a key enzyme in methionine metabolism, is a potential therapeutic target for ESCC.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); methionine adenosyltransferase 2 (MAT2A); methionine metabolism; PF9366

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(1): 56-63. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.01.008]

[基金项目] 国家自然科学基金(No. 81972243)

[作者简介] 肖远帆(1997—),女,硕士生,主要从事食管鳞癌发生发展的机制研究。E-mail: xyfam1@163.com

[通信作者] 陈杰, E-mail: cj_blue@126.com

食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)是全球范围内高发肿瘤之一。目前,ESCC 的治疗主要依靠手术和放化疗,由于缺乏有效的分子分型和 ESCC 中关键促癌分子及其调控的信号通路和相关作用机制尚未明了,导致靶向药物在 ESCC 治疗中的效果不佳。因此,寻找 ESCC 细胞中关键促癌分子并阐明其调控 ESCC 进展的分子机制是当前肿瘤学研究的重点。在哺乳动物细胞中,无论是正常细胞还是肿瘤细胞都需要获取必需氨基酸,这些必需氨基酸与细胞增殖、周期运转、细胞迁移及可塑性调控等生物学活动密切相关^[1]。通过正电子发射断层扫描技术进行的临床研究^[2-4]揭示,在脑肿瘤、胶质瘤和多发性骨髓瘤的患者中,肿瘤细胞对甲硫氨酸(methionine, MET)的摄取增加。研究^[5]发现,ESCC 细胞可大量摄取 MET 来合成 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl-L-methionine, SAM),进而促进 ESCC 进展。尤为关键的是,限制 MET 的摄入能增强肿瘤细胞对免疫检查点抑制剂的反应,起到显著的抗肿瘤作用^[6]。甲硫氨酸腺苷转移酶 2(methionine adenosyltransferase 2, MAT2A)是甲硫氨酸腺苷转移酶亚型,其活性阻断可通过降低精氨酸甲基转移酶 5 活性,抑制甲硫腺苷磷酸化酶缺陷肿瘤细胞的增殖^[7]。靶向 MAT2A 能够抑制肿瘤起始细胞的产生,进而抑制肿瘤进展,是重要的肿瘤治疗靶点^[8]。本研究通过探究 MAT2A 在 ESCC 中的作用,以及通过阻断 MET 代谢抑制 ESCC 进展的可能性,旨在为 ESCC 提供新的治疗靶点和生物标志物。

1 材料与方法

1.1 细胞、实验动物及主要试剂

人 ESCC 细胞 KYSE450、KYSE510、KYSE180 和 KYSE410 及正常食管上皮细胞(normal esophageal epithelial cell, NEEC)由恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室提供。

BALB/c-nu/nu 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物合格证号:110011231106811985。本研究已获得北京大学肿瘤医院伦理委员会的批准,研究人员严格遵守伦理规范进行研究(实验动物福利伦理批准号:EAEC 2022-06)。

MAT2A 抑制剂 PF9366(货号:HY-107778)购自美国 MCE 公司,SAM ELISA 试剂盒(货号:ab287822)购自英国 Abcam 公司,MTS 检测试剂盒(货号:G3580)购自美国 Progenia 公司,RPMI 1640 培养基(货号:A1049101)和胎牛血清(货号:100KYSE99)均购自美国 Gibco 公司。

1.2 细胞培养及 PF9366 分组处理

ESCC 细胞 KYSE450、KYSE510、KYSE180 和

KYSE410 及 NEEC 在含有 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 RPMI 1640 培养基中,在 37 °C、5%CO₂ 培养箱中培养。选用对数生长期 KYSE450、KYSE510 细胞,分别经 0、5、10 和 25 μmol/L 的 PF9366 处理,实验分为 0 μmol/L(对照)组、5 μmol/L 组、10 μmol/L 组和 25 μmol/L 组。

1.3 MTS 实验检测 ESCC 细胞的增殖能力

选取各组对数生长期 KYSE450 和 KYSE510 细胞,按每孔 3×10^3 个细胞的密度均匀接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后,继续培养 48 h 后,每孔加入 10 μL MTS 溶液。使用酶标仪测定 490 nm 波长处每孔的光密度(D)值。根据 D 值测量结果,通过与对照组比较,评估细胞的增殖活性。实验重复 3 次。

1.4 平板克隆形成实验检测 ESCC 细胞的克隆形成能力

将各组对数生长期 KYSE450 及 KYSE510 细胞胰酶消化后,重悬成细胞悬液并计数。于 60 mm × 15 mm 培养皿中接种 5×10^2 个细胞/孔,继续培养 8 d。PBS 洗涤后,每孔加入 1 mL 4% 多聚甲醛溶液固定 30~60 min,洗涤后,每孔加入 1 mL 0.1% 结晶紫溶液染色 10~20 min,PBS 洗涤、晾干后,数码相机拍照。按照公式“细胞克隆形成率 = (克隆数/接种细胞数) × 100%”计算细胞克隆形成率。实验重复 3 次。

1.5 ELISA 检测 ESCC 细胞的 MAT2A 代谢活性

将 NEEC、KYSE450、KYSE510、KYSE180 和 KYSE410 细胞以 $10\,000 \times g$ 、4 °C 离心 5 min,收集上清液。在 96 孔板中每孔加入 50 μL 细胞上清液和 50 μL 生物素抗体工作液,37 °C 下作用 45 min。弃去上层溶液,用 1 × 洗涤液洗涤 3 次(2 min/次)。清洗后,将 96 孔板置于吸收性滤纸上吸干。每孔加入 0.1 mL 链霉亲和素-生物素复合物(SABC)工作溶液,37 °C 下反应 30 min。每孔加入 90 μL 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)底物,37 °C 下作用 15~30 min,后加入 50 μL 停止液,20 min 内在 450 nm 波长处用酶标仪读取结果。实验重复 3 次。

1.6 转录组测序(RNA-seq)分析 PF9366 对 KYSE450 细胞下游网络的影响

将 KYSE450 细胞分为对照组和处理组 PF9366 (25 μmol/L),培养 24 h。收集细胞,用预冷 PBS 清洗,离心收集细胞沉淀。加入 1 mL TRIzol 混匀,静置 5 min 后加入 200 μL 氯仿,振荡 15 s,静置 15 min。4 °C 下 $12\,000 \times g$ 离心 15 min,取上清液。加入 500 μL 异丙醇混匀,室温静置 10 min。再次离心 10 min,弃上清液,用 1 mL 75% 乙醇洗涤沉淀,4 °C 下 $8\,000 \times g$ 离心 5 min,收集 RNA 样本。将获得的 mRNA 在 94 °C 条件下利用镁离子打断试剂盒进行片段化处

理,时间 5~7 min。后将片段化 RNA 逆转录合成 cDNA,使用 *E. coli* DNA polymerase I 与 RNase H 合成双链 cDNA,将双链 cDNA 末端补齐,加上一个 A 碱基,与接头连接。利用磁珠筛选和纯化特定大小的片段,用尿嘧啶 DNA 糖基化酶消化二链,通过 PCR 扩增形成 (300 ± 50) bp 的文库。最后,使用 Illumina Novaseq™ 6000 进行双端测序。原始数据 (fastq 格式) 进行质控,去除接头、重复序列和低质量序列。使用 HISAT2 将测序数据比对到基因组上,生成 bam 文件。用 String Tie 软件进行基因或转录本组装和 FPKM 定量,使用 R 包 edgeR 分析差异基因表达,FC > 2 倍或 < 0.5 倍,且 $P < 0.05$ 。最后,使用 DAVID 软件对基因进行 KEGG 富集分析。RNA-seq 数据可通过 NCBI 的 SRA 通过登录号 PRJNA1081481 获得。

1.7 KYSE450 和 KYSE510 细胞移植瘤小鼠模型的构建与观察

选择 4 周龄雌性 BALB/c-nu/nu 小鼠进行实验。对实验裸鼠腋下进行消毒,将 100 μ L 密度为 5×10^6 个/mL 对数生长期 KYSE450、KYSE510 细胞分别注射裸鼠腋部皮下,分为实验组和对照组 (10 只/组)。7 d 后,测量实验裸鼠移植瘤的体积,随后每隔 7 d 测量一次。

待移植瘤体积长至约 100 mm³ 左右,实验组小鼠每天给予 PF9366 (25 mg/kg·d⁻¹) 灌胃处理,每周 3 次,持续 4 周;对照组给予等量生理盐水灌胃,3 次/周,持续 4 周。每周观察移植瘤的体积变化,以分析 PF9366 对移植瘤生长抑制作用。实验结束时,以颈椎脱臼法处死小鼠,切取心、肝、脾和肾,进行常规固定、石蜡包埋、制片、切片和 H-E 染色,光镜下观察 PF9366 对小鼠心、肝、脾和肾有无毒性作用。

1.8 统计学处理

采用 Graphpad Prism 绘图和统计软件对实验数据进行绘图和统计分析。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,独立两组间比较采用非配对 *t* 检验,量效关系分析采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

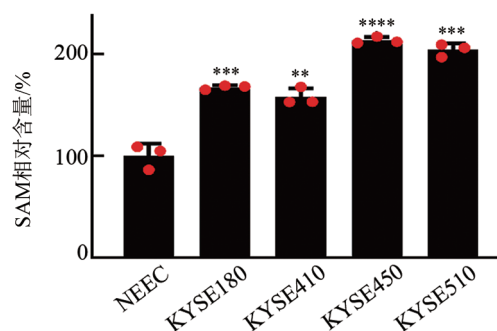
2 结果

2.1 MAT2A 代谢活性在 ESCC 细胞中显著上调

ELISA 检测结果 (图 1) 显示,与 NEEC 相比,ESCC 细胞中相对 SAM 含量均显著高于 NEEC (均 $P < 0.01$)。结果表明,MAT2A 活性与 ESCC 细胞的恶性进展存在显著关联性。

2.2 PF9366 显著抑制 ESCC 细胞的 MAT2A 代谢活性和增殖能力

ELISA 检测结果 (图 2A) 显示,与对照 (0 μ mol/L) 组相比,5、10、25 μ mol/L PF9366 均显著降低 KYSE450 和 KYSE510 细胞中 SAM 含量 (均 $P < 0.01$),其抑制作用呈明显的浓度梯度依赖性 (均 $P < 0.05$)。结果提示,PF9366 能有效地抑制 ESCC 细胞的 MAT2A 代谢。



与 NEEC 相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

图1 不同 ESCC 细胞中 MAT2A 代谢活性比较

MTS 法检测结果 (图 2B) 显示,与对照组相比,5、10、25 μ mol/L PF9366 均能显著降低 KYSE450 及 KYSE510 细胞的增殖能力 (均 $P < 0.01$)。平板克隆形成实验结果 (图 2C) 显示,5、10、25 μ mol/L PF9366 处理 KYSE450 和 KYSE510 细胞 8 d 后,两种细胞的克隆形成率均显著下降 (均 $P < 0.01$),其对细胞增殖抑制作用呈明显的浓度梯度依赖性 (均 $P < 0.05$)。实验结果表明,PF9366 通过抑制 MAT2A 代谢活性能有效地阻断 ESCC 细胞的恶性进展。

2.3 PF9366 抑制 ESCC 细胞中下游促癌信号网络

转录组测序分析结果 (图 3) 显示,PF9366 抑制 KYSE450 细胞中下游信号网络。进一步热图分析结果 (图 4) 显示,PF9366 能够抑制单纯疱疹病毒 I 型感染通路、Fanconi 贫血通路、疟疾通路、原发性免疫缺陷通路、抑制碱基切除修复通路、硒复合代谢通路、GPI-锚生物合成通路、嘧啶代谢通路、核苷酸切除修复通路、氨酰基 tRNA 生物合成通路,以及氧化磷酸化通路中基因的表达 (表 1)。以上测序分析结果系统地揭示了 MAT2A 抑制剂 PF9366 阻断 ESCC 细胞中下游信号网络相关基因的表达。

2.4 PF9366 显著抑制 ESCC 细胞移植瘤的生长

成功建立 KYSE450 及 KYSE510 细胞皮下荷瘤小鼠模型。给予小鼠 MAT2A 抑制剂 PF9366 灌胃治疗 28 d 时,两种细胞荷瘤小鼠移植瘤体积均显著小于对照组 (均 $P < 0.0001$, 图 5A)。H-E 染色结果显示,PF9366 对小鼠心、肝、脾和肾组织无明显毒性作用 (图 5B)。体内实验结果表明,MAT2A 抑制剂 PF9366 在体内显著抑制 KYSE450 及 KYSE510 细胞小鼠移植瘤的生长,且无系统性毒性。

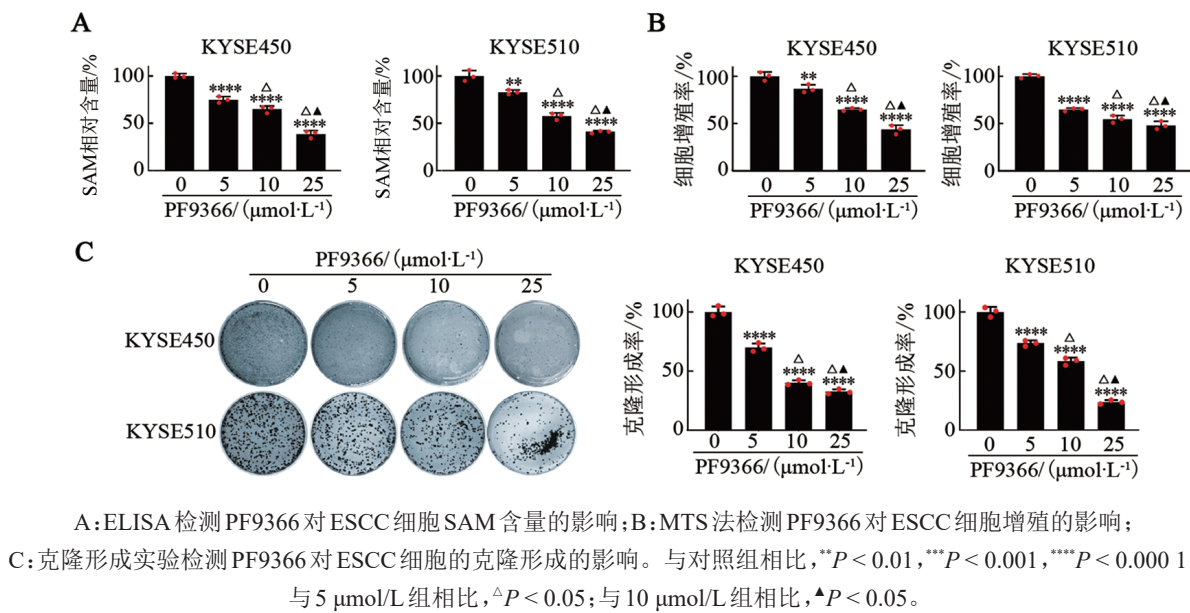


图2 不同浓度 PF9366 对 ESCC 细胞 MAT2A 代谢活性和增殖的影响

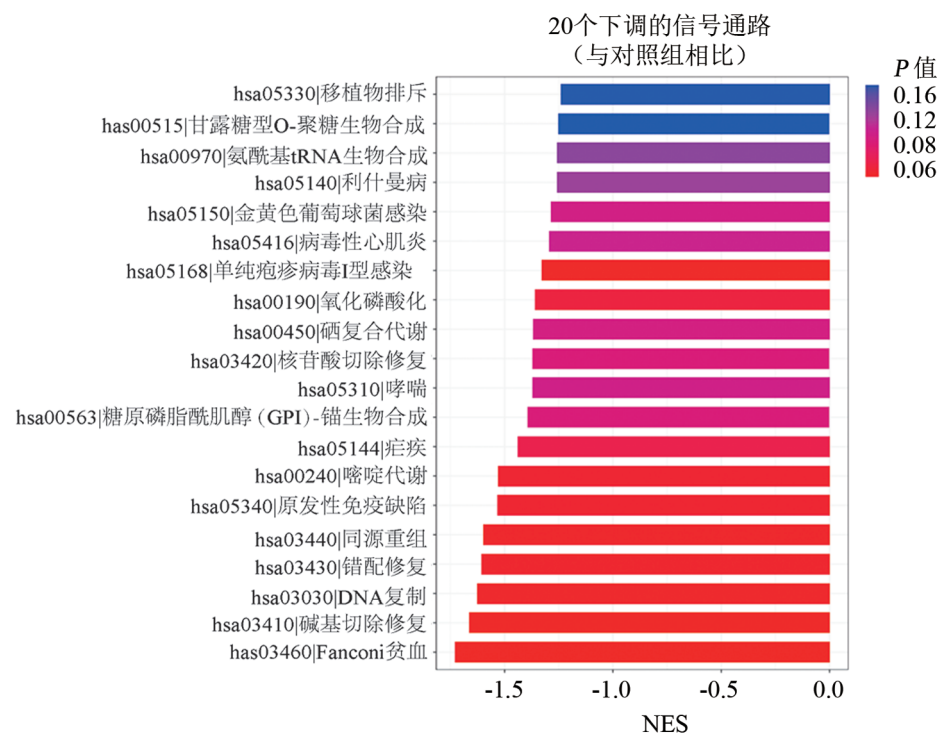


图3 PF9366(25 μmol/L)抑制 KYSE450 细胞下游信号网络

3 讨论

本研究发现, MET 代谢在 ESCC 细胞中异常活跃。通过使用 MAT2A 抑制剂 PF9366 能够显著抑制 ESCC 细胞的增殖能力, 与其抑制 MET 代谢密切相关, 提示 MAT2A 是介导 ESCC 进展的重要靶点分子之一。RNA-seq 分析结果显示, PF9366 可以抑制 ESCC 细胞中多条信号通路及多个促癌分子。因此, 阻断 MET 限速酶 MAT2A 的活性能够有效阻断

ESCC 细胞的恶性进展及相关的下游信号网络。氨基酸代谢, 尤其是 SAM 代谢, 是促进肿瘤恶性进展的重要原因之一。但是, SAM 代谢是否与 ESCC 进展有关, 阻断 SAM 代谢能否抑制 ESCC 的进展仍未可知。本研究通过使用 MTS 法及平板克隆形成实验观察 PF9366 对 ESCC 细胞增殖的影响。结果发现, PF9366 呈明显的浓度梯度剂量依赖性地抑制 ESCC 细胞在短时间(MTS 法评估)及长时间(平板克隆形成实验)中的增殖效应。重要的是, 本研究也观

察了PF9366抑制ESCC细胞增殖与其介导的MET活性抑制有密切的关联性。此外,通过动物实验验证了PF9366能够抑制小鼠体内肿瘤的生长,并对小鼠

心、肝、脾和肾组织均无明显毒性。这些结果均证实, MAT2A 抑制剂 PF9366 能够阻断 ESCC 细胞中 SAM 代谢,进而抑制细胞的增殖。

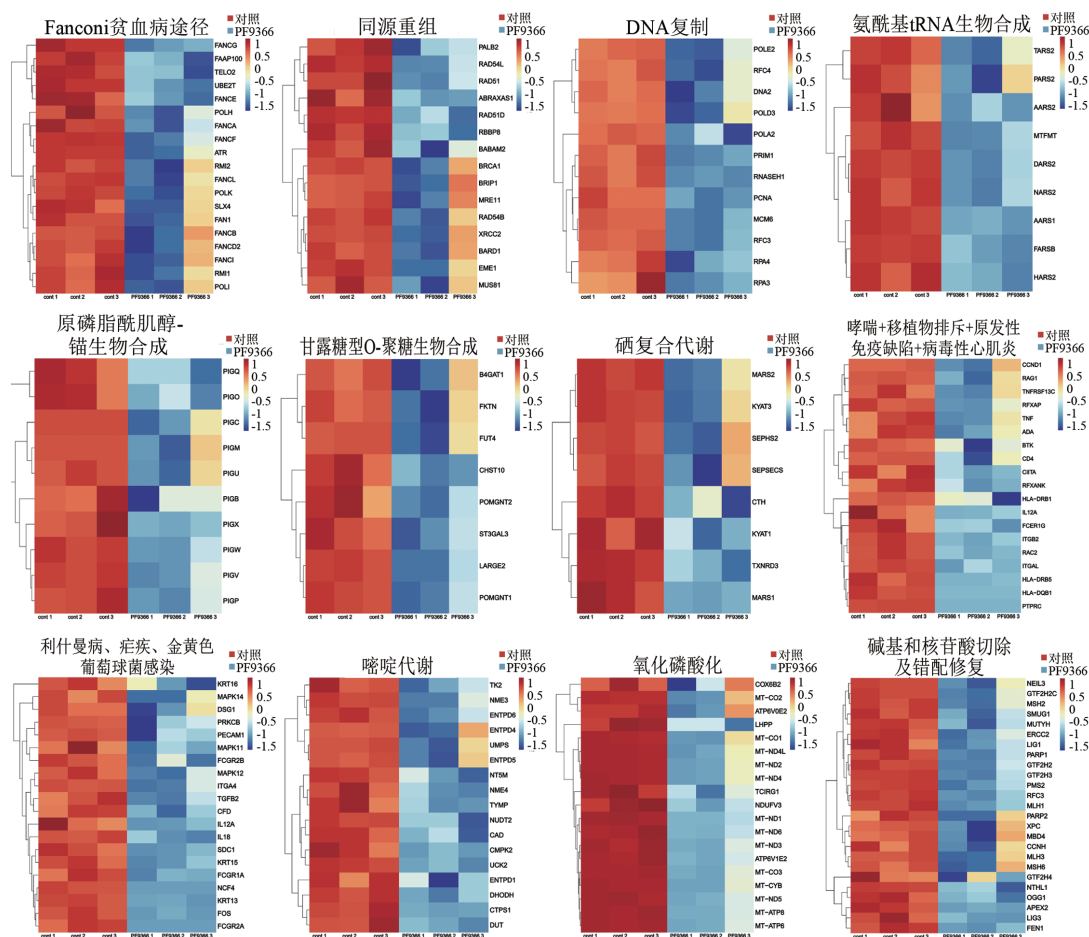


图4 PF9366抑制KYSE450细胞关键基因KEGG通路热图分析

肿瘤的恶性进展是由肿瘤细胞中重编程的信号网络所调控。DNA复制相关的通路与肿瘤的发生、发展、耐药性和患者的预后密切相关。代谢通路的重编程赋予了肿瘤细胞在微环境多种细胞组分的帮助下持续增殖,进而侵袭转移^[9]。促癌转录因子STAT3及NF- κ B信号通路在多种恶性肿瘤中处于激活状态,它们将炎症与肿瘤的发生与发展联系在一起^[10];同时诱导促癌基因、血管生成基因、免疫抑制因子等的表达及驯化肿瘤微环境,进而促进肿瘤的生长^[11-12]。其他信号通路(如Notch信号通路)亦在肿瘤细胞的转移、血管生成等方面发挥着重要的作用^[13]。Wnt/ β -catenin及Hippo通路的变异则会赋予肿瘤细胞无限增殖的能力并导致肿瘤细胞对治疗药物的耐受^[14-15]。以上的研究均表明,肿瘤细胞中代谢重编程的网络信号对于肿瘤的发生与发展及预后都有着非常重要的影响。本研究通过转录组学研究发现, MAT2A 抑制剂 PF9366 能够抑制 ESCC 细胞中大量

促癌信号通路的表达及激活。其中包括多种代谢通路,如硒复合代谢通路、甘露糖型O-聚糖生物合成通路、GPI-锚生物合成通路,以及与肿瘤细胞DNA复制及恶性增殖相关的通路。这些结果提示,ESCC细胞中MET的代谢能够引起肿瘤细胞中信号通路重编程而调控多条促癌通路的激活,导致ESCC细胞的无限增殖和其他恶性表型的产生。但是单纯地抑制其中某条通路并不能够有效地抑制ESCC细胞的恶性进展。本研究找到了调控这些促癌通路的“总开关”,即SAM代谢及其关键酶MAT2A,抑制MAT2A的活性就能有效地阻断多个促癌信号通路,为靶向肿瘤提供了研究思路,也进一步说明了MAT2A抑制剂在ESCC治疗中的重要性。

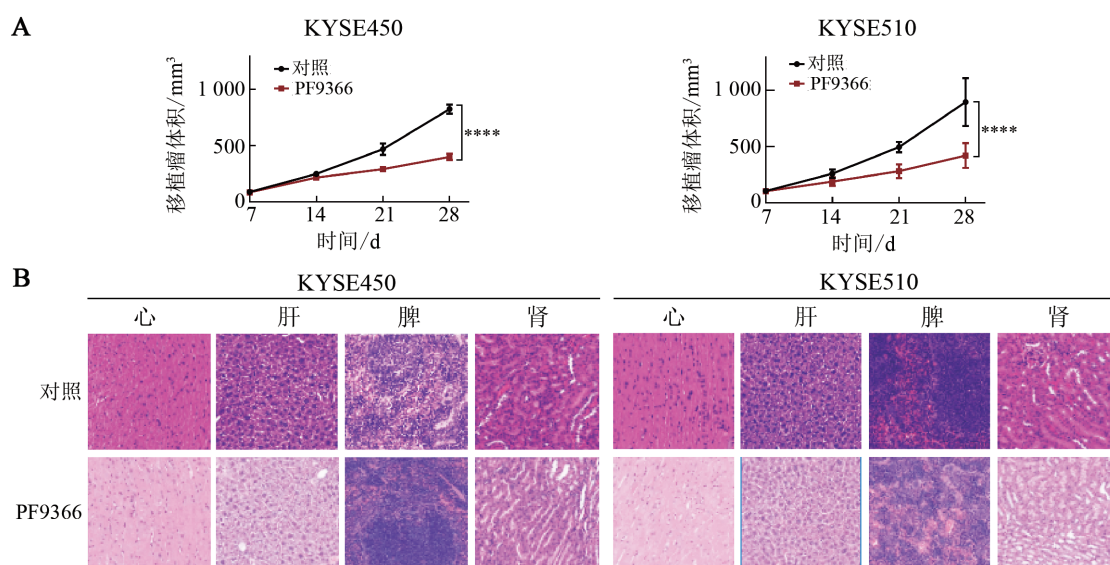
本研究进一步观察MAT2A抑制剂PF9366对阻断的信号通路中关键分子的抑制情况。其中,DNA复制通路中的微型染色体维护复合体组件6(minichromosome maintenance complex component 6,

MCM6)分子能够在临床诊断中判断多种肿瘤的恶性进展程度^[16-17]。在机制研究中,转录因子YAP能够结合于MCM6的启动子区域,激活MCM6,进而促进PI3K/AKT信号通路,诱导胃癌细胞的恶性进展^[18]。MCM6还能够诱导转录因子E2F1的活性、介导肝内胆管癌的上皮间质转化,促进肿瘤细胞的侵袭与转移^[19]。DNA复制通路的PCNA能够介导几乎所有实体瘤的恶性进展,是临床肿瘤恶性进展的重要标志物^[20-23]。参与细胞增殖通路中的CCND1(编码cyclin D1蛋白)是细胞周期的关键调节因子,与肿瘤的不良预后也有着密切的关系。Cyclin D1表达增加会导致细胞增殖失去控制进而导致癌变,同时还会帮助癌细胞的转移,促进血管生成为肿瘤细胞提供养分。因此,cyclin D1被认为是多种肿瘤的致癌驱动因素^[24]。当CCND1高表达时,cyclin D1合成增多与CDK4、CDK6结合激活细胞周期抑制蛋白,进而启动DNA的复制、促进细胞进入S期,从而促进肿瘤细胞增殖^[25]。以上这些分子均是促进肿瘤进展的关键调

控分子,作为标志物可以判断肿瘤的恶性程度。CCL5作为一种趋化因子,能够通过自分泌的形式在肿瘤细胞间进行传递,促进肿瘤细胞的增殖与转移。多项研究^[26-37]表明,巨噬细胞和中性粒细胞等也能够通过旁分泌的形式分泌CCL5,激活肿瘤细胞,促进肿瘤细胞内多种信号通路的激活,进而促进肿瘤细胞的增殖、侵袭与转移、血管生成及细胞可塑性等多种的恶性表型。更为有趣的是,肿瘤细胞释放的CCL5通过旁分泌途径作用于肿瘤微环境的细胞组分,从而驯化这些细胞,营造出一个有利于肿瘤细胞增殖的Niche微龛。因此,CCL5是介导肿瘤与微环境的关键枢纽因子,阻断其表达就能抑制利于肿瘤细胞增殖的肿瘤微环境。本研究发现,MAT2A抑制剂PF9366能够有效地阻断这些分子在ESCC细胞中的表达,进一步证实了MET代谢通路是促进大量促癌信号通路激活的源头,阻断其活性就能够有效地抑制ESCC细胞的恶性进展。

表1 RNA-seq分析中下调的20个信号通路及相关基因

信号通路	基 因
hsa05168-单纯疱疹病毒 I 型感染	CCL5、ZNF552、STING1、ZNF25、ZSCAN32、ZNF658、OAS1、RNASEL、ZNF559、ZNF354A、ZNF226、ZNF347、CD74、ZNF30、ZNF589、ZNF90、ZNF841、ZNF556、ZNF561、ZNF783、PIK3CD、ZNF141、ZNF169、IFNAR2、ZNF283、ZNF665、ZNF619、ZNF785
has03460-Fanconi 贫血	FANCF、ATR、FANCL、EME1、POLK、RMI1、FAAP100、SLX4、ANCA、RMI2、UBE2T、FAN1、PALB2、POLI、FANCG、FANCD2、FANCB、FANCE、RPA4、BRIP1、POLH、RPA3、TELO2、FANCI
hsa05144-疟疾(Malaria)	ITGB2、ITGAL、PECAM1、TGFB2、SDC1、IL12A、IL18、TNF
hsa03410-碱基切除修复	POLE2、SMUG1、NEIL3、POLD3、NTHL1、MUTYH、LIG3、OGG1、LIG1、APEX2、PARP1、FEN1、PCNA、MBD4、PARP2
hsa00450-硒复合代谢	MARS2、KYAT1、TXNRD3、MARS1、SEPHS2、SEPSECS、KYAT3、CTH
hsa00515-甘露糖型 O-聚糖生物合成	LARGE2、CHST10、ST3GAL3、B4GAT1、FKTN、FUT4、POMGNT1、POMGNT2
hsa05340-原发性免疫缺陷	PTPRC、RFXAP、CIITA、BTK、RAG1、ADA、CD4、TNFRSF13C、RFXANK
hsa00563-GPI-锚生物合成	PIGW、PIGV、PIGC、PIGM、PIGQ、PIGP、PIGX、PIGU、PIGO、PIGB
hsa00240-嘧啶代谢	DHODH、ENTPD1、NME3、ENTPD6、UMPS、CMPK2、TK2、ENTPD5、NT5M、CTPS1、UCK2、NUDT2、NME4、ENTPD4、DUT、TYMP、CAD
hsa03440-同源重组	RAD54L、RAD51D、RAD51、RAD54B、XRCC2、ABRAXAS1、BRCA1、BARD1、MUS81、BABAM2、RBBP8、MRE11
hsa03430-错配修复	PMS2、RFC3、RFC4、MLH3、MLH1、MSH2、MSH6
hsa03420-核苷酸切除修复	GTF2H2、GTF2H2C、GTF2H3、ERCC2、RFC3、GTF2H4、XPC、CCNH
hsa03030-DNA 复制	PRIM1、MCM6、RFC3、POLA2、DNA2、RNASEH1
hsa05140-利什曼病	PRKCB、NCF4、FOS、FCGR2A、HLA-DRB1、MAPK12、TGFB2、ITGA4、FCGR1A、HLA-DQB1、IL12A、HLA-DRB5、MAPK11、MAPK14
hsa00970-氨酰基 tRNA 生物合成	MTFMT、DARS2、TARS2、AARS1、NARS2、AARS2、FARSB、PARS2、HARS2
hsa05150-金黄色葡萄球菌感染	KRT15、KRT13、FCGR2A、CFD、FCGR1A、FCGR2B、DSG1
hsa00190-氧化磷酸化	MT-ND1、MT-ND6、MT-ATP8、MT-ND3、MT-ND5、MT-ATP6、MT-CO3、MT-CYB MT-ND2、MT-ND4、MT-ND4L、MT-CO1 NDUFV3、TCIRG1、ATP6V1E2、MT-CO2、LHPP、ATP6V0E2、COX6B2
hsa05310-哮喘	FCER1G
hsa05416-病毒性心肌炎	RAC2、CASP8、CASP9、CCND1
hsa05330-移植物排斥	IL12A、HLA-DQB1



A: PF9366能够抑制荷瘤小鼠移植瘤生长; B: H-E染色法观察PF9366对裸鼠心、肝、脾和肾组织有无系统性毒性($\times 100$)。**** $P < 0.0001$ 。

图5 PF9366显著抑制ESCC细胞裸鼠移植瘤的生长

本研究利用荷瘤小鼠模型验证了PF9366对移植瘤生长的体内抑制效果。实验结果表明, PF9366在小鼠体内对移植瘤的生长具有显著的抑制作用。过去的研究^[28-30]已经揭示了ESCC中的多条关键的促癌信号通路, 包括AKT、NF- κ B及Notch等。至于PF9366是否通过抑制这些信号通路的激活及其功能, 进而阻断下游关键癌基因的表达, 尚需进一步的细胞生物学和分子生物学研究的验证。

综上所述, 本研究通过细胞学实验证实了阻断MAT2A活性能够显著减少ESCC细胞中SAM的产生并调控肿瘤细胞的增殖, 以及其下游关键促癌信号网络的激活, 研究结果提示, SAM代谢中的关键酶MAT2A可能是治疗ESCC的一个潜在靶点。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] ZHAO Y J, PU C R, LIU Z Z. Essential amino acids deprivation is a potential strategy for breast cancer treatment[J]. *Breast*, 2022, 62: 152-161. DOI: 10.1016/j.breast.2022.02.009.
- [2] GLAUDEMANS A W, ENTING R H, HEESTERS M A, *et al.* Value of ¹¹C-methionine PET in imaging brain tumours and metastases[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2013, 40(4): 615-635. DOI: 10.1007/s00259-012-2295-5.
- [3] KIM S, CHUNG J K, IM S H, *et al.* ¹¹C-methionine PET as a prognostic marker in patients with glioma: comparison with ¹⁸F-FDG PET[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2005, 32(1): 52-59. DOI: 10.1007/s00259-004-1598-6.
- [4] LÜCKERATH K, LAPA C, ALBERT C, *et al.* ¹¹C-Methionine-PET: a novel and sensitive tool for monitoring of early response to treatment in multiple myeloma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10): 8418-

8429. DOI: 10.18632/oncotarget.3053.

- [5] JIN X, LIU L, LIU D, *et al.* Unveiling the methionine cycle: a key metabolic signature and NR4A2 as a methionine-responsive oncogene in esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Cell Death Differ*, 2024, 31(5): 558-573[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11094133/>. DOI: 10.1038/s41418-024-01285-7.
- [6] LU W Q, LUO Y D. Methionine restriction sensitizes cancer cells to immunotherapy[J/OL]. *Cancer Commun*, 2023, 43(11): 1267-1270. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10631477/>. DOI: 10.1002/cac2.12492.
- [7] KALEV P, HYER M L, GROSS S, *et al.* MAT2A inhibition blocks the growth of MTAP-deleted cancer cells by reducing PRMT5-dependent mRNA splicing and inducing DNA damage[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(2): 209-224.e11. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.12.010.
- [8] LI C Z, GUI G, ZHANG L, *et al.* Overview of methionine adenosyltransferase 2A (MAT2A) as an anticancer target: structure, function, and inhibitors[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(14): 9531-9547. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c00395.
- [9] DEY P, KIMMELMAN A C, DEPINHO R A. Metabolic codependencies in the tumor microenvironment[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(5): 1067-1081. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-1211.
- [10] FAN Y H, MAO R F, YANG J H. NF- κ B and STAT3 signaling pathways collaboratively link inflammation to cancer[J]. *Protein Cell*, 2013, 4(3): 176-185. DOI: 10.1007/s13238-013-2084-3.
- [11] BOLLRATH J, GRETEN F R. IKK/NF-kappaB and STAT3 pathways: central signalling hubs in inflammation-mediated tumour promotion and metastasis[J/OL]. *EMBO Rep*, 2009, 10(12): 1314-1319[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2799209/>. DOI: 10.1038/embor.2009.243.
- [12] HE G B, KARIN M. NF- κ B and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer[J/OL]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 159-168[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3193410/>. DOI: 10.1038/cr.2010.183.

- [13] CLARA J A, MONGE C, YANG Y Z, *et al.* Targeting signalling pathways and the immune microenvironment of cancer stem cells - a clinical update[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(4): 204-232. DOI: 10.1038/s41571-019-0293-2.
- [14] NUSSE R, CLEVERS H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999. DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.016.
- [15] HAN Y Y. Analysis of the role of the Hippo pathway in cancer[J/OL]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 116[2024-07-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30961610/>. DOI: 10.1186/s12967-019-1869-4.
- [16] ZENG T, GUAN Y, LI Y K, *et al.* The DNA replication regulator MCM6: an emerging cancer biomarker and target[J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 517: 92-98. DOI: 10.1016/j.cca.2021.02.005.
- [17] FU Y, ZHOU Q Z, ZHANG X L, *et al.* Identification of hub genes using co-expression network analysis in breast cancer as a tool to predict different stages[J/OL]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 8873-8890[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6886326/>. DOI: 10.12659/MSM.919046.
- [18] WANG Y F, CHEN H R, LIU W X, *et al.* MCM6 is a critical transcriptional target of YAP to promote gastric tumorigenesis and serves as a therapeutic target[J/OL]. *Theranostics*, 2022, 12(15): 6509-6526[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9516235/>. DOI: 10.7150/thno.75431.
- [19] GAO C Q, LI J, ZENG F L, *et al.* MCM6 promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression by upregulating E2F1 and enhancing epithelial-mesenchymal transition[J]. *Carcinogenesis*, 2023, 44(4): 279-290. DOI: 10.1093/carcin/bgad023.
- [20] SMITH S J, LI C M, LINGEMAN R G, *et al.* Molecular targeting of cancer-associated PCNA interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma using a cell-penetrating peptide[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17: 250-256. DOI: 10.1016/j.omto.2020.03.025.
- [21] CUI D J, WU Y, WEN D H. CD34, PCNA and CK19 expressions in AFP- hepatocellular carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16): 5200-5205. DOI: 10.26355/eurrev_201808_15717.
- [22] HE X Y, PAN X M, JIN M M, *et al.* Long non-coding RNA AK027294 promotes tumor growth by upregulating PCNA in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(13): 5762-5769. DOI: 10.26355/eurrev_201907_18314.
- [23] CARDANO M, TRIBIOLI C, PROSPERI E. Targeting proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as an effective strategy to inhibit tumor cell proliferation[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2020, 20(4): 240-252. DOI: 10.2174/1568009620666200115162814.
- [24] TCHAKARSKA G, SOLA B. The double dealing of cyclin D1[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(2): 163-178. DOI: 10.1080/15384101.2019.1706903.
- [25] MARTÍNEZ-ALONSO D, MALUMBRES M. Mammalian cell cycle cyclins[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 107: 28-35. DOI: 10.1016/j.semcdb.2020.03.009.
- [26] XU H X, ZHAO J, LI J P, *et al.* Cancer associated fibroblast-derived CCL5 promotes hepatocellular carcinoma metastasis through activating HIF1 α /ZEB1 axis[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(5): 478[2024-07-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35589690/>. DOI: 10.1038/s41419-022-04935-1.
- [27] WANG K, CHEN X H, LIN P, *et al.* CD147-K148me2-driven tumor cell-macrophage crosstalk provokes NSCLC immunosuppression via the CCL5/CCR5 axis[J/OL]. *Adv Sci*, 2024, 11(29): e2400611[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11304266/>. DOI: 10.1002/advs.202400611.
- [28] HE Y, SUN M M, ZHANG G G, *et al.* Targeting PI3K/Akt signal transduction for cancer therapy[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 425[2024-07-23]. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8677728/>. DOI: 10.1038/s41392-021-00828-5.
- [29] YOU W K, SCHUETZ T J, LEE S H. Targeting the DLL/Notch signaling pathway in cancer: challenges and advances in clinical development[J]. *Mol Cancer Ther*, 2023, 22(1): 3-11. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-22-0243.
- [30] GUO Q, JIN Y Z, CHEN X Y, *et al.* NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 53[2024-07-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10910037/>. DOI: 10.1038/s41392-024-01757-9.

[收稿日期] 2024-07-24

[修回日期] 2024-12-22

[本文编辑] 党瑞山