

N6-甲基腺苷阅读蛋白人类抗原 R 对结直肠癌细胞的迁移、侵袭和糖酵解的影响及其与磷酸果糖激酶 1 的关系

王一丹, 王泊雅, 李璐, 张勇, 褚菲菲, 吴慧丽
(郑州大学附属郑州中心医院 消化内科, 河南 郑州, 450000)

摘要: 目的 探讨 N6-甲基腺苷 (m^6A) 阅读蛋白人类抗原 R (HuR) 对结直肠癌细胞迁移、侵袭及糖酵解能力的影响及其与 6-磷酸果糖激酶 1 (PFK1) 的关系。方法 收集 2022 年 4—12 月在郑州大学附属郑州中心医院首次确诊为结直肠癌的 33 例患者的组织标本, 通过实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测结直肠癌患者的癌组织、癌旁组织中 *HuR* 和 *PFK1* mRNA 表达量, 检测正常肠上皮细胞 NCM460 以及结直肠癌细胞 HCT8、SW480、SW620、HCT116、LoVo、RKO 和 COLO205 中 *HuR* mRNA 表达量; 使用小干扰 RNA 构建敲低 HuR 的结直肠癌细胞模型, 通过细胞划痕实验、Transwell 实验分别检测 HuR 对结直肠癌细胞迁移和侵袭能力的影响; 通过 qRT-PCR、Western blot 实验分别检测 *PFK1* mRNA 及其蛋白表达量; 采用葡萄糖含量试剂盒、丙酮酸含量试剂盒分别检测葡萄糖摄入量、丙酮酸生成量; 通过生物信息学分析探讨 HuR 与 PFK1 的关系, 采用放线菌素 D 实验评估 HuR 对 *PFK1* mRNA 稳定性的影响。结果 在结直肠癌组织中, *HuR*、*PFK1* 在 mRNA 水平上呈高表达; 在结直肠癌细胞系中, *HuR* 在 mRNA 水平上呈高表达; 下调 HuR 可以显著抑制结直肠癌细胞迁移、侵袭能力, 同时可以降低葡萄糖消耗量及丙酮酸生成量; 敲低 HuR 可以抑制 *PFK1* mRNA 的稳定性, 降低其在 mRNA 和蛋白水平的表达量。PFK1 上存在 m^6A 修饰位点。结论 m^6A 阅读蛋白 HuR 可能通过识别结合 PFK1 上的 m^6A 位点降低 *PFK1* mRNA 稳定性, 从而调控结直肠癌细胞的迁移、侵袭和糖酵解能力。

关键词: 结直肠癌; N6-甲基腺苷; 人类抗原 R; 6-磷酸果糖激酶 1; 迁移; 侵袭; 糖酵解

中图分类号: R 735.3; R 446; R 73-3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2024)07-009-07 DOI: 10.7619/jcmp.20240233

Effects of N6-methyladenosine reading protein human antigen R on migration, invasion and glycolysis of colorectal cancer cells and its relationship with 6-phosphofructokinase 1

WANG Yidan, WANG Boya, LI Lu, ZHANG Yong, CHU Feifei, WU Huili

(Department of Gastroenterology, Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450000)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of N6-methyladenosine (m^6A) reading protein human antigen R (HuR) on the migration, invasion and glycolysis of colorectal cancer cells and its relationship with 6-phosphofructokinase 1 (PFK1). **Methods** The tissue samples of 33 patients who were first diagnosed as colorectal cancer in Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University from April to December 2022 were collected. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of *HuR* and *PFK1* mRNA in colorectal cancer tissues and adjacent tissues. The expression of *HuR* mRNA in normal intestinal epithelial cells NCM460 and colorectal cancer cells HCT8, SW480, SW620, HCT116, LoVo, RKO and COLO205 was detected. Small interfering RNA (siRNA) was used to construct a HuR knockdown colorectal cancer cell model. The effects of HuR on the migration and invasion of colorectal cancer cells were

收稿日期: 2024-01-15 修回日期: 2024-02-15

基金项目: 2021 年度河南省科技攻关计划项目 (LHGJ20210763); 2022 年度河南省科技攻关计划项目 (222102310146)

通信作者: 吴慧丽, E-mail: wuhuili660912@zzu.edu.cn

detected by cell scratch assay and Transwell assay. The expression of *PFK1* mRNA and protein was detected by qRT-PCR and Western blot. Glucose intake and pyruvate production were detected by glucose content kit and pyruvate content kit, respectively. The relationship between HuR and PFK1 was analyzed by bioinformatics analysis, and the effect of HuR on the stability of *PFK1* mRNA was evaluated by actinomycin D assay. **Results** In colorectal cancer tissues, *HuR* and *PFK1* were highly expressed at mRNA level; *HuR* was highly expressed at mRNA level in colorectal cancer cell lines. Down-regulation of HuR significantly inhibited the migration and invasion of colorectal cancer cells, as well as glucose consumption and pyruvate production. Knockdown of HuR could reduce the stability of *PFK1* mRNA and its expression at mRNA and protein levels. There were m⁶A modification sites on PFK1. **Conclusion** The m⁶A reading protein HuR may regulate the migration, invasion and glycolysis of colorectal cancer cells by recognizing the m⁶A site on PFK1 and reducing the stability of *PFK1* mRNA.

Key words: colorectal cancer; N6-methyladenosine; human antigen R; 6-phosphofructokinase 1; migration; invasion; glycolysis

结直肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率在各种恶性肿瘤中分别位居第3位和第2位^[1]。目前针对结直肠癌的治疗取得了较大进展,但患者的5年生存率仍不足40%^[2]。肿瘤细胞即使在有氧条件下也倾向于通过糖酵解途径来获取能量,这一现象被称为“Warburg效应”^[3]。有氧糖酵解参与能量的快速合成、肿瘤微环境的改变和细胞信号通路的激活^[4]。由基因肌肉磷酸果糖激酶(*PFKM*)编码的6-磷酸果糖激酶1(*PFK1*)在糖酵解途径中发挥重要作用。相关文献^[5]显示下调*PFK1*抑制鼻咽癌的增殖、迁移和侵袭能力,促进细胞凋亡,但*PFK1*在结直肠癌中的研究鲜有报道。

N6-甲基腺苷(m⁶A)修饰受三类调节因子调控,包括甲基化酶、去甲基酶和m⁶A阅读蛋白^[6]。决定m⁶A修饰命运的是m⁶A阅读蛋白,其可以识别并与含有m⁶A的RNA相互作用,调节其功能^[7]。m⁶A阅读蛋白人类抗原R(HuR)是一种胚胎致死性视觉异常RNA结合蛋白,由基因ELAV样蛋白1(*ELAVL1*)所编码,可通过识别并结合靶基因上的m⁶A修饰位点增强mRNA稳定性^[8]。HuR参与肺腺癌^[9]、肝癌^[10]、乳腺癌^[11]的糖酵解过程,而目前关于HuR在结直肠癌糖酵解中的研究较少,作用机制尚不清楚。本课题组前期生物信息分析显示,*PFK1*上存在m⁶A修饰位点,且HuR与*PFK1*表达呈正相关,推测二者存在密切联系。本研究探讨HuR对结直肠癌细胞生物学行为的影响及其与*PFK1*的关系,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入2022年4—12月就诊于郑州大学附属郑州中心医院的33例结直肠癌患者,收集其结直肠癌组织及其对应的癌旁组织,术后立即将标本冷冻保存于-80℃冰箱中待用。本研究经郑州大学附属郑州中心医院伦理委员会批准并监督(伦理号:202242),且获得所有患者的知情同意。纳入标准:①患者原发癌经组织病理学证实;②未接受放疗、化疗者;③临床病历资料完整者。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②已接受相关药物治疗者。

人正常肠上皮细胞NCM460及结直肠癌细胞系HCT8、SW480、SW620、HCT116、LoVo、RKO购自武汉普诺赛生命科技有限公司;Trizol试剂、RIPA裂解液、反转录试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒及ECL化学发光试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;青霉素、链霉素、胎牛血清、基础培养基、完全培养基购自武汉益普生物公司;Transwell小室、基质胶、细胞培养瓶及6孔板购自Corning公司;葡萄糖含量检测试剂盒、丙酮酸含量检测试剂盒购自北京索莱宝生物科技公司;HuR、PFK1、β-actin引物由上海华大基因科技有限公司合成;HuR小干扰RNA(si-HuR-1; si-HuR-2; si-HuR-3)及其阴性对照组(si-NC)由河南睿英生物公司提供;β-actin(兔源,稀释比例1:10 000)、PFK1(兔源,稀释比例1:1 000)一抗抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗

抗体均购自 Proteintech 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养：将 NCM460、HCT8、SW480、SW620、HCT116、LoVo、RKO 和 COLO205 细胞置于含有 1% 青霉素、链霉素、10% 胎牛血清的完全培养基中，在 37 ℃、5% CO₂ 培养箱内培养。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCT)：使用 Trizol 试剂提取 RNA，通过反转录试剂盒合成 cDNA，并使用 SYBR Green 法进行扩增反应，β-actin 作为内参。反应条件为：95 ℃ 预变性 10 min，95 ℃ 下 10 s，60 ℃ 下 30 s，共 45 个循环，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 HuR、PFK1 的相对表达量。PCR 引物及序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列	
基因名称	引物序列(5'→3')
PFK1	上游：CTACAGTCTCCAACAATGTCCC
	下游：CCACCCATAGTCTCAATGATAAAC
HuR	上游：GGGTGACATCGGGAGAACG
	下游：CTGAACAGGCTTCGTAACATCAT
β-actin	上游：CATGTACGTTGCTATCCAGGC
	下游：CTCCTTAATGTCACGCACGAT

1.2.3 蛋白免疫印迹实验 (Western blot)：收集细胞后，使用 RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂从细胞中提取蛋白，通过 BCA 检测试剂盒进行定量，金属浴煮沸使蛋白变性。使用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质样本，并转移到 PVDF 膜上，5% 脱脂牛奶封闭 1 h，TBST 洗涤后，将 PVDF 膜与特异性一抗 PFK1 (1: 1 000)、β-actin (1: 10 000) 在 4 ℃ 下孵育过夜。再次 TBST 洗涤后，加入二抗 (1: 10 000) 在室温下孵育 1 h；将膜置于化学发光成像仪中，均匀加入 ECL 显色液，观察蛋白条带。β-actin 作为内参，通过 Image J 软件分析蛋白灰度值。

1.2.4 细胞分组：将 si-NC、si-HuR-1、si-HuR-2、si-HuR-3 分别转染处于对数生长期的 HCT116、SW480 细胞，命名为 si-NC 组、si-HuR-1 组、si-HuR-2 组、si-HuR-3 组，转染 48 h 后进行后续实验。HuR siRNA 序列见表 2。

1.2.5 细胞划痕实验：将 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板中的每个孔中，并生长至 100% 汇合度，用无菌 10 μL 移液器枪头垂直划痕，磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤后，加入不含 FBS 的基础培养基。计算细胞在第 0、24 小时的划痕面积。划痕愈合率 (%) = (第 0 小时的划痕面积 - 第 24 小时的划痕

表 2 siRNA 序列

siRNA	序列(5'→3')
si-NC	正义链：UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
	反义链：ACGUGACACGUUCCGAGAATT
si-HuR-1	正义链：GGUUGGCUUUGUGACCAUTT
	反义链：AUGGUCACAAAGCCAAACCTT
si-HuR-2	正义链：GAACGAAUUUGAUCGUCAATT
	反义链：UUGACGAUCAAUUCGUUCTT
si-HuR-3	正义链：GGUUGGGCGGAUCAUCAATT
	反义链：UGAUGAUCCGCCAAACCTT

面积)/第 0 小时的划痕面积 × 100%。

1.2.6 Transwell 实验：使用含有小室的 24 孔板 (带或不带基质胶涂层) 进行迁移和侵袭实验。在上层小室内加入含 200 μL 细胞悬浮液的无血清培养基 (每孔 2.5×10^5 个细胞)，并将 600 μL 含 10% FBS 的基础培养基加入下层小室中。培养 48 h 后，用棉签擦去上室的细胞和基质胶，4% 多聚甲醛固定细胞 15 min，0.5% 结晶紫染色 25 min，空气风干。在显微镜下观察细胞并拍照，通过 Image J 软件分析细胞数。

1.2.7 RNA 稳定性实验：将 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板中的每个孔中，转染 48 h 后，使用 5 μg/mL 放线菌素 D 处理细胞 0、3、6 h，分别收集上述时间点的细胞，提取细胞 RNA，通过 qRT-PCR 检测 PFK1 mRNA 相对表达量。

1.2.8 糖酵解水平检测：将 1×10^5 个细胞接种于 6 孔板中的每个孔中，转染 48 h 后，收集各组细胞，使用葡萄糖含量检测试剂盒、丙酮酸含量检测试剂盒检测细胞葡萄糖摄取量、丙酮酸生成量。

1.3 统计学方法

应用 GraphPad Prism9.0 软件进行数据分析，所有数据以均数 ± 标准差表示。HuR、PFK1 在结直肠癌及对应癌旁组织的表达量使用配对样本 *t* 检验，各细胞组间差异比较使用独立样本 *t* 检验进行分析。所有实验均重复 3 次，*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HuR 在结直肠癌组织和细胞系中高表达

基于基因表达水平值的交互式分析平台 (GEPIA) 数据库分析显示，结直肠癌组织中的 HuR 表达水平高于正常组织，差异有统计学意义 (*P* < 0.001)；与癌旁组织相比，结直肠癌组织中 HuR mRNA 表达量升高，差异有统计学意义 (*P* <

0.001); 与人正常肠上皮细胞 NCM460 相比, HuR 在人结直肠癌细胞系 HCT8、SW480、SW620、HCT116、LoVo、RKO 和 COLO205 细胞中的表达量升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中 HCT116、SW480 细胞的 HuR 表达水平相对较高, 选择 HCT116、SW480 细胞进行后续实验。将 3

种实验组 siRNA-HuR 及阴性对照组转染到 HCT116、SW480 细胞中, 相较于对照组, 实验组 HuR mRNA 表达量显著下降, 其中 si-HuR-1 和 si-HuR-3 的差异最为显著 ($P < 0.01$), 说明转染明显有效, 选择 si-HuR-1 和 si-HuR-3 进行后续细胞功能试验。见图 1。

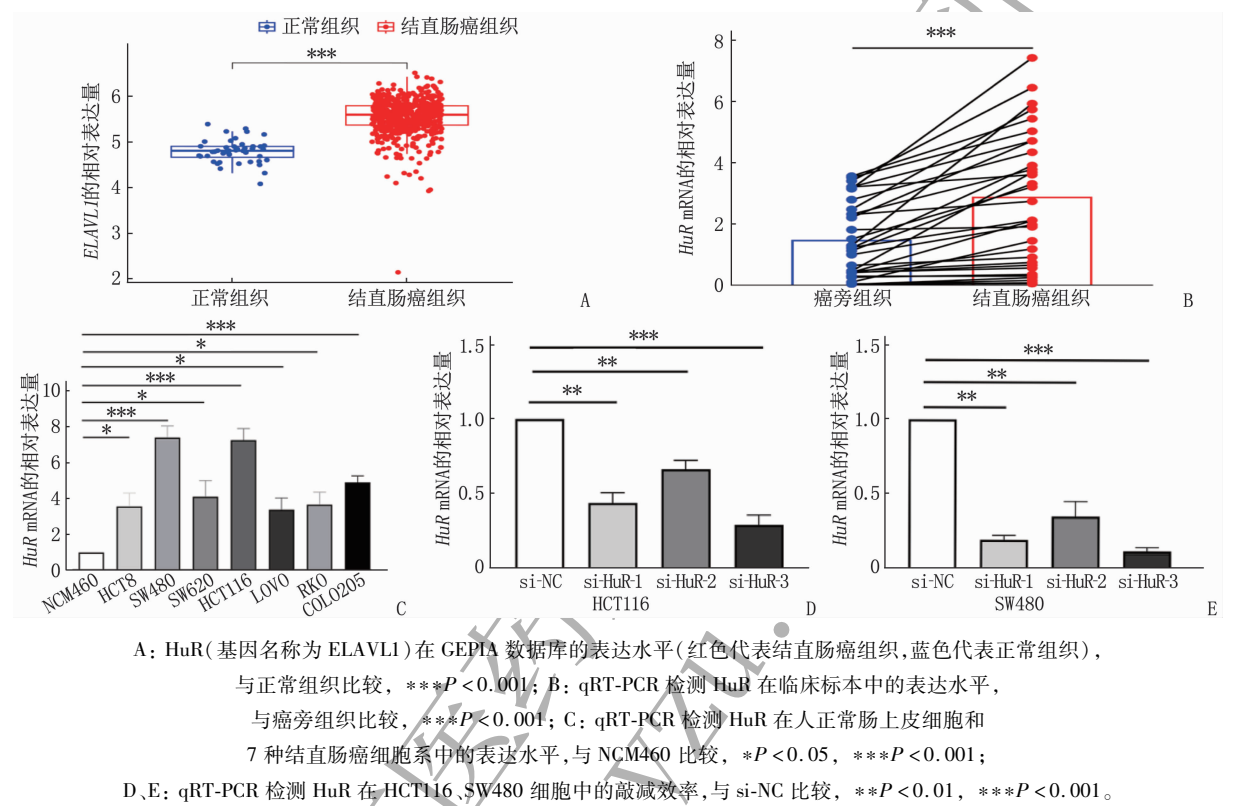


图 1 HuR 在结直肠癌组织和细胞系中的表达以及构建敲减细胞系

2.2 敲低 HuR 抑制结直肠癌细胞迁移和侵袭

与对照组 si-NC 相比, 实验组 si-HuR-1、si-HuR-3 的划痕愈合率下降, 差异有统计学意义

($P < 0.05$), 见图 2; 与对照组 si-NC 相比, 实验组 si-HuR-1、si-HuR-3 的迁移细胞数、侵袭细胞数减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

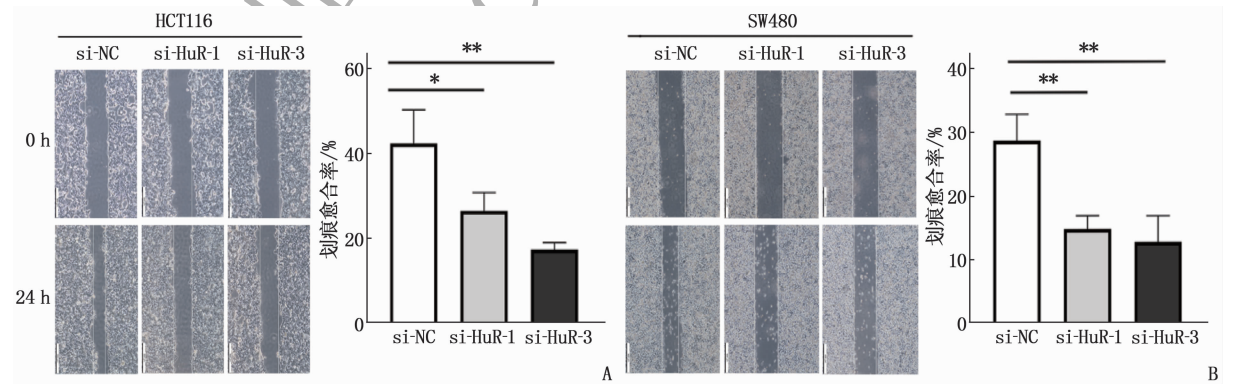
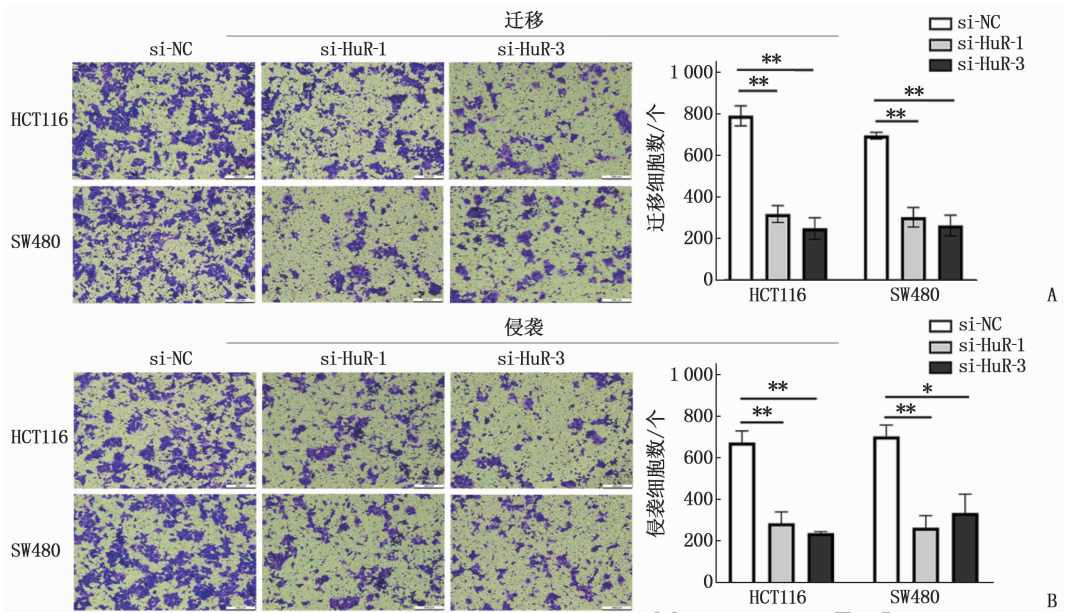


图 2 敲低 HuR 抑制 HCT116、SW480 细胞迁移能力

2.3 敲低 HuR 抑制结直肠癌细胞糖酵解

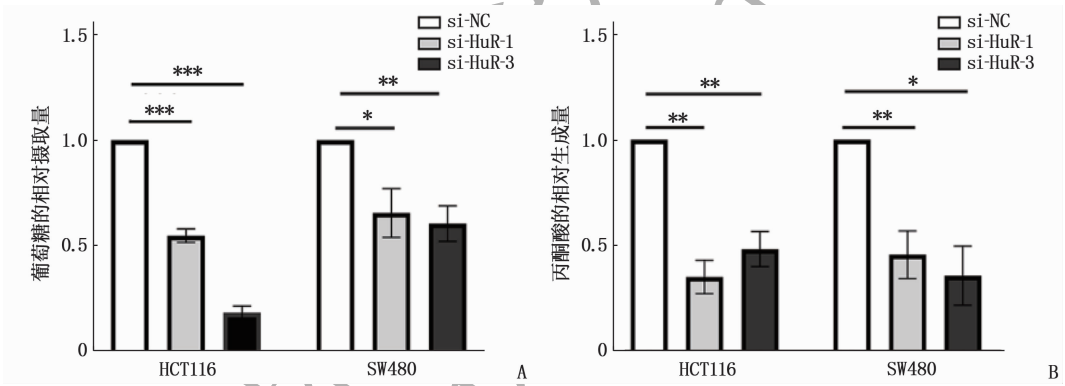
与对照组 si-NC 相比, 实验组 si-HuR-1、si-HuR-3 的葡萄糖摄取量均降低, 差异有统计学

意义 ($P < 0.05$); 敲低 HuR 使 HCT116、SW480 细胞的丙酮酸生成量均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。



A: 敲低 HuR 对 HCT116、SW480 细胞迁移的影响; B: 敲低 HuR 对 HCT116、SW480 细胞侵袭的影响。
与 si-NC 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 敲低 HuR 抑制 HCT116、SW480 细胞迁移和侵袭能力(结晶紫染色放大 100 倍)



A: 敲低 HuR 对 HCT116、SW480 葡萄糖摄取量的影响; B: 敲低 HuR 对 HCT116、SW480 细胞丙酮酸生成量的影响。
与 si-NC 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 4 敲低 HuR 抑制 HCT116、SW480 细胞的葡萄糖摄取量和丙酮酸生成量

2.4 敲低 HuR 抑制结直肠癌细胞 *PFK1* mRNA 和蛋白的表达量

GEPIA 数据库分析显示 *PFK1* 在结直肠癌中高表达,差异有统计学意义($P < 0.001$); *PFK1* mRNA 在结直肠癌组织中的表达量高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.001$); GEPIA 数据库分析显示,结直肠癌组织中 HuR 与 *PFK1* 表达水平呈正相关;与对照组相比,实验组 *PFK1* mRNA 及其蛋白的表达量均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 5。

2.5 敲低 HuR 抑制 *PFK1* mRNA 的稳定性

利用 RMBase 数据库分析发现 *PFK1* 上存在着 m^6A 修饰的序列;使用 m^6A Var 数据库显示基因组上的功能变异能够使 *PFK1* 上的 m^6A 修饰的

序列发生改变,并且 RM2Target 算法预测 *PFK1* 能够与 HuR 存在直接结合;敲低 HuR 降低了 *PFK1* 的 mRNA 半衰期,即抑制 *PFK1* mRNA 稳定性,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 6。

3 讨论

m^6A 修饰是真核生物 mRNA 中最丰富的内部修饰,参与多种生物过程,如 RNA 剪接、稳定性和翻译^[12]。HuR 是 m^6A 修饰中的重要成员,在癌症的进展中发挥重要作用^[13]。DUAN X H 等^[14]发现敲低 HuR 可通过降低肺癌细胞 *FGFR1* mRNA 的稳定性抑制化疗耐药性,进而诱导其凋亡。LIU H L 等^[15]研究显示 HuR 在肝癌中高表达,抑制 HuR 的表达能够降低 *MMP1* mRNA 的稳定性,进

能够抑制结直肠癌细胞的迁移、侵袭能力。

“Warburg 效应”的特征是葡萄糖摄取和乳酸产生增强,乳酸的产生为肿瘤细胞提供了酸性环境,促使肿瘤细胞进一步增殖、迁移、侵袭以及抵抗凋亡,同时诱导分泌血管内皮生成因子为肿瘤细胞生长提供养料^[16-17]。为探讨 HuR 是否参与结直肠癌糖酵解途径,通过检测葡萄糖摄取水平和丙酮酸生成水平,发现敲低 HuR 可以抑制 HCT116、SW480 细胞的葡萄糖摄取量、丙酮酸生成量,证明 HuR 参与并促进结直肠癌的糖酵解途径。

肿瘤细胞有氧糖酵解能力是正常细胞的 20 ~ 30 倍,为肿瘤代谢提供大量能量和中间产物^[3]。研究^[18]显示,抑制肿瘤细胞糖酵解途径能够有效抑制肿瘤细胞的增殖,甚至可以起到杀伤肿瘤细胞的作用。因此阻断有氧糖酵解目前被认为是一种有前景的肿瘤治疗策略,靶向糖酵解等异常环节的代谢酶也成为抗肿瘤治疗的重点^[19]。PFK1 是糖酵解的主要限速酶和主要调节点,催化 6-磷酸果糖生成 1, 6-二磷酸果糖 (F2-6BP)^[20]。既往研究^[21]显示,PFK1 不仅能够参与糖酵解过程,还在多种肿瘤中扮演着重要角色,如下调 PFK1 抑制肝癌细胞增殖能力,过表达 PFK1 可促进肺癌生长和转移^[22]。本研究中,GEPIA 数据库分析显示 PFK1 (编码基因 *PFKM*) 在结直肠癌组织中显著高表达,并且与 HuR 表达水平呈正相关;进一步通过 qRT-PCR 验证显示 PFK1 在结直肠癌组织中的表达量显著升高;敲低 HuR 后,HCT116、SW480 细胞中 *PFK1* mRNA 和蛋白表达量降低,提示敲低 HuR 能够抑制 PFK1 表达。HuR 是一种关键的 m⁶A 阅读蛋白,其发挥作用的机制可能为:首先,通过生物信息学分析预测 HuR 与 PFK1 (编码基因 *PFKM*) 结合,且 PFK1 上存在 m⁶A 修饰位点;其次,通过 RNA 稳定性实验发现敲低 HuR 可以抑制 *PFK1* mRNA 半衰期,即降低 *PFK1* mRNA 稳定性。本研究并未进行实验证明 PFK1 上存在 m⁶A 位点,后续将通过甲基化 RNA 免疫共沉淀实验 (MeRIP) 来验证。

综上所述,m⁶A 阅读蛋白 HuR 在结直肠癌中高表达,可能通过识别结合 PFK1 上的 m⁶A 位点,降低 *PFK1* mRNA 稳定性,从而调控结直肠癌细胞的迁移、侵袭和糖酵解能力。

参考文献

- [1] XI Y, XU P F. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040 [J]. *Transl Oncol*, 2021, 14 (10): 101174.
- [2] JIANG Y F, YUAN H Y, LI Z Y, *et al*. Global pattern and trends of colorectal cancer survival: a systematic review of pop-

- ulation-based registration data [J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 19 (2): 175 - 186.
- [3] KOCIANOVA E, PIATRIKOVA V, GOLIAS T. Revisiting the Warburg effect with focus on lactate [J]. *Cancers*, 2022, 14 (24): 6028.
- [4] 程多,褚菲菲,张楠,等.果糖二磷酸醛缩酶 C 在结肠癌组织和细胞中的表达及其对生物学行为的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2023, 39 (15): 1893 - 1900.
- [5] LI S, HE P, WANG Z W, *et al*. RNAi-mediated knockdown of PFK1 decreases the invasive capability and metastasis of nasopharyngeal carcinoma cell line, CNE-2 [J]. *Cell Cycle*, 2021, 20 (2): 154 - 165.
- [6] 杨相颖,安宁,谭耀,等.6-甲基腺嘌呤 RNA 甲基化与眼科疾病的研究进展 [J]. *实用临床医药杂志*, 2022, 26 (13): 139 - 144.
- [7] WANG Y M, WANG Y, PATEL H, *et al*. Epigenetic modification of m⁶A regulator proteins in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2023, 22 (1): 102.
- [8] CHANG Y Z, CHAI R C, PANG B, *et al*. METTL3 enhances the stability of MALAT1 with the assistance of HuR via m⁶A modification and activates NF- κ B to promote the malignant progression of IDH-wildtype glioma [J]. *Cancer Lett*, 2021, 511: 36 - 46.
- [9] LIANG Y K, WANG H, CHEN B, *et al*. circDCUN1D4 suppresses tumor metastasis and glycolysis in lung adenocarcinoma by stabilizing TXNIP expression [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 23: 355 - 368.
- [10] QIN C T, LIU S Y, CHEN W B, *et al*. HuR-induced circ_0082319 contributes to hepatocellular carcinoma by elevating PTK2 through miR-505-3p [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2023; Online ahead of print.
- [11] CHEN H, ZHANG L F, MIAO Y, *et al*. Verteporfin suppresses YAP-induced glycolysis in breast cancer cells [J]. *J Invest Surg*, 2023, 36 (1): 2266732.
- [12] FANG Z, MEI W T, QU C, *et al*. Role of m⁶A writers, erasers and readers in cancer [J]. *Exp Hematol Oncol*, 2022, 11 (1): 45.
- [13] 柴小兵,张利,褚菲菲,等.m⁶A 识别蛋白 HuR 调控 lncRNA TRG-AS1 抑制结直肠癌生长的机制研究 [J]. *天津医药*, 2023, 51 (2): 124 - 131.
- [14] DUAN X H, CHEN R, LI D S, *et al*. HuR affects chemoresistance of small cell lung cancer by regulating FGFR1 expression [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 24 (4): 638.
- [15] LIU H L, LAN T, LI H, *et al*. Circular RNA circDLC1 inhibits MMP1-mediated liver cancer progression via interaction with HuR [J]. *Theranostics*, 2021, 11 (3): 1396 - 1411.
- [16] WANG J H, MAO L, WANG J, *et al*. Beyond metabolic waste: lysine lactylation and its potential roles in cancer progression and cell fate determination [J]. *Cell Oncol*, 2023, 46 (3): 465 - 480.
- [17] DAVERIO Z, BALCERCZYK A, RAUTUREAU G J P, *et al*. How warburg-associated lactic acidosis rewires cancer cell energy metabolism to resist glucose deprivation [J]. *Cancers*, 2023, 15 (5): 1417.
- [18] KOZAL K, JÓZWIAK P, KRZESLAK A. Contemporary perspectives on the Warburg effect inhibition in cancer therapy [J]. *Cancer Control*, 2021, 28: 10732748211041243.
- [19] FUKUSHI A, KIM H D, CHANG Y C, *et al*. Revisited metabolic control and reprogramming cancers by means of the Warburg effect in tumor cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (17): 10037.
- [20] CAMPOS M, ALBRECHT L V. Hitting the sweet spot: how glucose metabolism is orchestrated in space and time by phosphofructokinase-1 [J]. *Cancers*, 2023, 16 (1): 16.
- [21] HU L, ZENG Z C, XIA Q, *et al*. Metformin attenuates hepatoma cell proliferation by decreasing glycolytic flux through the HIF-1 α /PFKFB3/PFK1 pathway [J]. *Life Sci*, 2019, 239: 116966.
- [22] LIN S, LI Y, WANG D, *et al*. Fascin promotes lung cancer growth and metastasis by enhancing glycolysis and PFKFB3 expression [J]. *Cancer Lett*, 2021 (518): 230 - 242.

(本文编辑:梁琥 钱锋;校对:周娟)