

## 磷酸丙糖异构酶1对不同类型肺癌细胞生物学功能的影响

刘尚书<sup>1,2</sup>, 李春笋<sup>2</sup>, 王平<sup>3</sup>, 刘鹿<sup>4</sup>, 任佳博<sup>1,2</sup>, 王梓瑞<sup>2</sup>, 殷悦<sup>1,2</sup>, 陈良安<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>解放军医学院, 北京 100853; <sup>2</sup>解放军总医院第一医学中心呼吸与危重症医学科, 北京 100853;

<sup>3</sup>解放军总医院第八医学中心呼吸与危重症医学科, 北京 100091; <sup>4</sup>解放军总医院第一医学中心营养科, 北京 100853

**摘要:**背景 磷酸丙糖异构酶1(triosephosphate isomerase 1, TPI1)与多种肿瘤的发生发展密切相关, 但其在肺癌中作用的研究尚不充分。目的 探讨TPI1在不同类型肺癌细胞系中的表达水平及生物学功能。方法 应用癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库, 通过生物信息学分析TPI1在肺腺癌和鳞癌组织中的表达; 采用qPCR和Western blot检测TPI1在不同肺癌细胞系中的表达。采用慢病毒稳定感染技术分别建立肺腺癌细胞A549、肺鳞癌细胞Calu1和肺大细胞癌细胞95D的TPI1敲低细胞株, 通过mRNA水平验证敲低效率。分别采用CCK-8法、黏附实验、划痕实验、Transwell实验和流式细胞术检测细胞的增殖、黏附、迁移、侵袭能力和细胞周期。应用普通转录组测序技术和KEGG通路富集分析初步探索可能的机制。结果 生物信息学分析显示, 与正常肺组织相比, TPI1在肺腺癌和肺鳞癌组织中表达上调( $P<0.05$ ); 与肺泡上皮细胞系HPAEPic相比, 肺腺癌细胞系A549、肺鳞癌细胞系Calu1和肺大细胞癌细胞系95D中TPI1在mRNA水平和蛋白水平均呈高表达(均 $P<0.05$ ), 肺小细胞癌细胞系H446中TPI1在mRNA水平呈低表达( $P<0.05$ )、在蛋白水平的表达无统计学差异( $P>0.05$ )。在A549、Calu1和95D细胞中敲低TPI1后, 细胞增殖、黏附、迁移和侵袭能力均下降, 细胞周期发生G0/G1期阻滞(均 $P<0.05$ )。KEGG通路富集分析结果显示, 差异基因显著富集在PI3K/AKT信号通路和MAPK信号通路。结论 TPI1在肺腺癌A549、肺鳞癌Calu1和肺大细胞癌95D细胞系中高表达, 可能通过PI3K/AKT和MAPK信号通路调控细胞增殖、黏附、迁移、侵袭及周期, 推动肺癌的发展。

**关键词:**肺癌; 磷酸丙糖异构酶1; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞周期

中图分类号:R734.2

文献标志码:A

文章编号:2095-5227(2025)04-0362-07

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.25031405

引用本文: 刘尚书, 李春笋, 王平, 等. 磷酸丙糖异构酶1对不同类型肺癌细胞生物学功能的影响 [J]. 解放军医学院学报, 2025, 46 (4): 362-368.

## Effects of Triosephosphate isomerase 1 on biological functions of different types of lung cancer cells

LIU Shangshu<sup>1,2</sup>, LI Chunshun<sup>2</sup>, WANG Ping<sup>3</sup>, LIU Lu<sup>4</sup>, REN Jiabo<sup>1,2</sup>, WANG Zirui<sup>2</sup>, YIN Yue<sup>1,2</sup>, CHEN Liang'an<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; <sup>2</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; <sup>3</sup>Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Eighth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100091, China; <sup>4</sup>Department of Nutrition, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: CHEN Liang'an. Email: lianganchen301@263.net

**Abstract: Background** Triosephosphate isomerase 1 (TPI1) is closely associated with the development of various tumors, but its role in lung cancer has not been fully investigated. **Objective** To explore the expression levels and biological functions of TPI1 in different types of lung cancer cell lines. **Methods** The expression of TPI1 in lung adenocarcinoma and squamous carcinoma tissues was analyzed using bioinformatics from the TCGA database. Quantitative PCR and Western blotting were employed to detect TPI1 expression in various lung cancer cell lines. Lentivirus-mediated stable infection technology was used to establish TPI1 knockdown cell lines in lung adenocarcinoma A549 cells, squamous carcinoma Calu1 cells, and large cell lung cancer 95D cells. The knockdown efficiency was verified at the mRNA level. Cell proliferation, adhesion, migration, invasion, and cell cycle were assessed by CCK-8 assay, adhesion assay, scratch assay, Transwell assay, and flow cytometry, respectively. RNA sequencing and KEGG pathway enrichment analysis were applied to explore potential mechanisms. **Results** Bioinformatics analysis showed that, compared to normal lung tissues, TPI1 expression was upregulated in lung adenocarcinoma and squamous carcinoma tissues ( $P<0.05$ ). Compared to the alveolar epithelial cell line HPAEPic, TPI1 was highly expressed at both the mRNA

收稿日期: 2025-03-14

基金项目: 首都卫生发展科研专项项目(首发2020-1-5011)

第一作者: 刘尚书, 在读硕士。Email: liushangshu101@163.com

通信作者: 陈良安, 博士, 主任医师, 教授。Email: lianganchen301@263.net

and protein levels in lung adenocarcinoma A549, squamous carcinoma Calu1, and large cell lung cancer 95D cell lines (all  $P < 0.05$ ), while TPI1 expression was low at the mRNA level in the small cell lung cancer H446 cell line ( $P < 0.05$ ), with no significant difference at the protein level ( $P > 0.05$ ). After TPI1 knockdown in A549, Calu1, and 95D cells, cell proliferation, adhesion, migration, and invasion abilities were significantly decreased, and cell cycle arrest occurred in the G0/G1 phase (all  $P < 0.05$ ). KEGG pathway enrichment analysis revealed that differentially expressed genes were significantly enriched in the PI3K/AKT and MAPK signaling pathways. **Conclusion** TPI1 is highly expressed in lung adenocarcinoma A549, squamous carcinoma Calu1, and large cell lung cancer 95D cell lines, and may regulate cell proliferation, adhesion, migration, invasion, and cell cycle through the PI3K/AKT and MAPK signaling pathways, promoting lung cancer development.

**Keywords:** lung cancer; triosephosphate isomerase 1; cell proliferation; cell migration; cell cycle

**Cited as:** Liu SHSH, Li CHS, Wang P, et al. Effects of Triosephosphate isomerase 1 on biological functions of different types of lung cancer cells[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(4): 362-368.

肺癌是起源于肺部支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤，全球每年约有220万肺癌新发病例和179万肺癌死亡病例<sup>[1]</sup>。肺癌早期缺乏明显的临床症状，且具有易转移、耐药性强的特点，大大增加了治疗的难度，肺癌患者的整体预后较差<sup>[2]</sup>。目前，肺癌发生和发展的机制不完全明确，探索相关分子的作用和机制，可为肺癌的诊疗提供助力。

磷酸丙糖异构酶1(triosephosphate isomerase 1, TPI1)是由两个相同亚基构成的同型二聚体蛋白质，在糖酵解过程中促进磷酸二羟丙酮与3-磷酸甘油醛的相互转化，参与肿瘤细胞的增殖、迁移扩散等生物学过程<sup>[3-4]</sup>。TPI1的表达异常与多种恶性肿瘤的发生和发展相关<sup>[5-6]</sup>，但其在肺癌中作用的研究较少。本研究通过生物信息学分析和细胞实验，对TPI1在肺癌组织和不同类型肺癌细胞系中的表达和生物学功能及潜在的分子机制进行初步探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞来源、试剂与仪器

肺泡上皮细胞系 HPAEpic、肺腺癌细胞系 A549、肺鳞癌细胞系 Calu1 和肺小细胞癌细胞系 H446 均购自中国医学科学院细胞中心，肺大细胞癌细胞系 95D 取自解放军总医院第一医学中心病理科。1640 培养基(HY1640, TBD), F12-K 培养基 (C11330500BT, Gibco), DMEM 培养基 (11965092, Gibco), 胰蛋白酶(T1300, 索莱宝), 胎牛血清(10099141, Gibco), RIPA 裂解液(C1053, 普利莱), BCA 蛋白定量试剂盒(P1511, 普利莱), CCK-8(C0038, 碧云天)、细胞黏附试剂盒(BB-48120, 贝博), 细胞周期检测试剂盒(KGA9101-20, 江苏凯基), TPI1 抗体 (A303-755A-T, Invitrogen), GAPDH 抗体 (PA1-987, Invitrogen), 山羊抗兔 IgG(ZB-2301, 中杉金桥), 山羊抗小鼠 IgG(ZB-2305, 中山金桥), 倒置荧光显微镜 (Olympus), 37°C 恒温培养箱 (Thermo), Illumina

HiSeq 测序仪(Novogene)。

### 1.2 生物信息学分析

从癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库下载1 043 例肺腺癌和鳞癌组织样本以及110 例正常肺组织样本的RNA 测序数据。通过R 软件(v 3.6.3)处理所得数据，使用Limma 包分析TPI1 在肺癌中的差异表达。

### 1.3 细胞培养与传代

HPAepic、95D 和 H446 细胞使用 1640 培养基，A549 细胞使用 F12-K 培养基，Calu1 细胞使用 DMEM 培养基，均添加 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素，于 5% CO<sub>2</sub>、37°C 孵箱中培养。待细胞达到 80% 融合度时进行传代等操作。

### 1.4 短发夹 RNA(shRNA)慢病毒感染肺癌细胞及分组

慢病毒分为 TPI1 敲低慢病毒 Lenti-GFP-Puro shRNA TPI1 和对照慢病毒 Lenti-GFP-Puro shRNA.ctl, 根据干扰靶点的不同，TPI1 敲低慢病毒分为 a、b、c、d、e 五株。分别检测其敲低效率后选择敲低效率最高，同时细胞状态最好的 1 株进行后续实验。胰酶消化对数生长期、状态良好的肺癌细胞，400 g 离心 5 min 后弃上清，用 1 mL 完全培养基重悬细胞，调整密度为  $2 \times 10^6$ /mL。用慢病毒分别感染 A549、Calu1 和 95D 细胞(感染复数 MOI=20)。分别提取被感染细胞的总 RNA，通过 qPCR 验证 TPI1 敲低效率。将所得细胞分为 A549-NC 和 A549-shTPI1 组、Calu1-NC 和 Calu1-shTPI1 组、95D-NC 和 95D-shTPI1 组(其中 NC 表示对照组，shTPI1 表示 TPI1 敲低组)。

### 1.5 qPCR 检测 TPI1 mRNA 水平的表达

Trizol 法提取细胞总 RNA，用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA，上机扩增检测 TPI1 基因的表达， $\beta$ -actin 作内参。引物由北京泉熙特生物科技有限公司合成，序列如下。 $\beta$ -actin 引物序列：正向 5' -CATGTACGTTGCTATCCAGGC-3'；反向

5'-CTCCTTAATGTCTATCCAGGC-3'; TPI1引物序列: 正向5'-CTCATCGGCACTCTGAACG-3'; 反向5'-GCGAAGTCGATATAGGCAGTAGG-3'。扩增条件: 95°C预变性3 min; 95°C变性3 s、60°C退火1 min, 循环40次。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对所得数据进行分析。

### 1.6 Western blot检测TPI1蛋白水平的表达

使用RIPA裂解液提取各组细胞总蛋白, 用BCA蛋白定量试剂盒进行定量。按30  $\mu\text{g}$ /孔的蛋白量进行SDS-PAGE凝胶电泳以分离蛋白, 随后将蛋白湿转至PVDF膜。PVDF膜置于含5%脱脂奶粉的封闭液中室温封闭1 h后, 分别加入TPI1(1:1 000)、GAPDH(1:6 000)抗体, 4°C孵育过夜。第2天 $1 \times \text{TBST}$ 洗膜10 min  $\times$  3次后, 加入相应二抗(1:5 000), 室温孵育1 h。再次洗膜10 min  $\times$  3次后滴加发光液进行避光显影, 曝光拍照。使用Image J处理分析蛋白条带灰度值, 并以GAPDH条带灰度值为对照计算TPI1的相对蛋白表达量。

### 1.7 CCK-8法检测细胞增殖能力

胰酶消化处在对数生长期的A549-shTPI1、Calu1-shTPI1、95D-shTPI1及各自对照组细胞, 制成细胞悬液, 并调整浓度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$ , 接种于96孔板。设置24 h、48 h、72 h、96 h、120 h共5个检测点, 每组细胞做5个复孔。检测时弃去对应分组的旧培养基, 加入配好的CCK-8试剂(完全培养基:CCK-8溶液=10:1), 1 h后测量450 nm波长处吸光度。

### 1.8 黏附实验检测细胞黏附能力

提前12 h用纤连蛋白包被96孔板; 胰酶消化处在对数生长期的A549-shTPI1、Calu1-shTPI1、95D-shTPI1及各自的对照组细胞, 按 $1 \times 10^5/\text{孔}$ 接种于96孔板, 每组设5个复孔。5%  $\text{CO}_2$ 、37°C条件下孵育2 h后洗涤并加入新鲜的基础培养基, 再次孵育4 h后加入CCK-8溶液, 检测细胞在450 nm波长处吸光度。

### 1.9 划痕实验检测细胞迁移能力

将处在对数生长期的A549-shTPI1、Calu1-shTPI1、95D-shTPI1及各自的对照组细胞用胰酶消化, 均匀铺到6孔板中, 置于5%  $\text{CO}_2$ 、37°C孵箱中培养。待细胞融合度达到80%~90%时, 使用200  $\mu\text{L}$ 移液器枪头在孔内过孔心画一条直线。用 $1 \times \text{PBS}$ 洗掉脱落细胞, 加入基础培养基后分别于0 h、6 h、12 h、18 h和24 h在倒置显微镜下拍照。

### 1.10 Transwell实验检测细胞侵袭能力

将基础培养基和Matrigel胶按1:4比例稀释, 在Transwell小室的每个上室中铺入20  $\mu\text{L}$  Matrigel胶。将胰酶消化后的A549-shTPI1、Calu1-shTPI1、95D-shTPI1及各自的对照组细胞用基础培养基重悬, 按 $5 \times 10^4/\text{孔}$ 接种于上室, 下室每孔加入600  $\mu\text{L}$ 完全培养基。将上室重新放回24孔板中继续培养24 h后用0.5%结晶紫染液固定染色30 min, 清水洗去结晶紫染液, 晾干后在倒置显微镜下拍照, 使用Image J软件计算穿过小室小孔的细胞数目。

### 1.11 流式细胞术检测细胞周期

胰酶消化处在对数生长期的A549-shTPI1、Calu1-shTPI1、95D-shTPI1及各自的对照组细胞, 以 $1 \times 10^5/\text{孔}$ 接种于6孔板。观察到细胞再次生长至对数期时, 将其消化后置于1.5 mL离心管中并加入75%乙醇固定, 置于4°C冰箱过夜。第2天400 g离心5 min弃上清, 经 $1 \times \text{PBS}$ 洗涤后每管加入500  $\mu\text{L}$  PI/RNase反应液, 常温避光孵育30 min, 随后上机检测细胞周期。使用Flowjo10.8.1软件对所得数据进行分析。

### 1.12 普通转录组测序及数据分析

分别提取95D-NC细胞和95D-shTPI1细胞的总RNA, 对RNA样品的纯度、浓度和完整性进行严格质控后, 使用Illumina HiSeq测序仪(Novogene)进行测序。使用HISAT2(v2.0.5)、featureCounts(v1.5.0-p3)和DESeq2(v1.20.0)等软件将高质量读段与参考基因组比对, 计算每百万映射读段转录物的每千碱基片段数值, 并对两组之间的差异基因表达水平进行分析。使用clusterProfiler(v3.8.1)软件进行差异表达基因的KEGG通路富集分析。

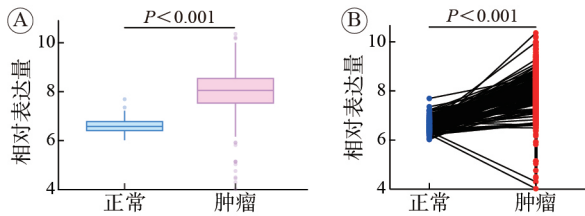
### 1.13 统计学分析

采用SPSS 26.0、GraphPad Prism 9等软件对实验结果进行统计分析及可视化。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 $t$ 检验, 多组间比较使用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 生物信息学分析TPI1在肺腺癌和鳞癌组织中的表达

通过TCGA数据库分析TPI1在肺腺癌和鳞癌配对组织及非配对组织中的表达。结果表明, 与正常肺组织相比, TPI1在肺腺癌和肺鳞癌组织中表达上调, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。见图1。



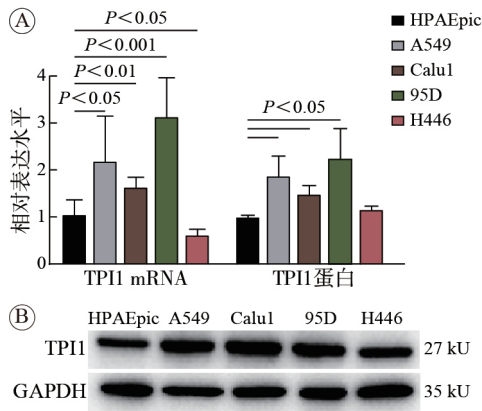
A: 非配对肺腺癌和鳞癌及癌旁组织 TPI1 差异表达; B: 配对肺腺癌和鳞癌及癌旁组织 TPI1 差异表达。

图 1 TPI1 在肺腺癌和鳞癌组织中的表达

Fig. 1 Expression of TPI1 in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma tissues

### 2.2 TPI1 在肺癌细胞系中的表达

与肺泡上皮细胞系 HPAEpic 比较, 肺腺癌细胞系 A549、肺鳞癌细胞系 Calu1 和肺大细胞癌细胞系 95D 中 TPI1 在 mRNA 和蛋白水平均呈高表达, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ); 肺小细胞癌细胞系 H446 中 TPI1 在 mRNA 水平呈低表达( $P < 0.05$ ), 在蛋白水平表达无统计学差异( $P > 0.05$ )。见图 2。



A: 不同类型肺癌细胞系中 TPI1 mRNA、TPI1 蛋白相对表达水平; B: Western blot 检测。

图 2 TPI1 在不同类型肺癌细胞系中的表达情况

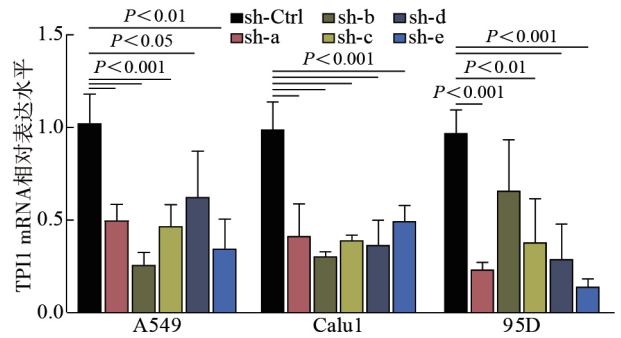
Fig. 2 Expression of TPI1 in different types of lung cancer cell lines

### 2.3 慢病毒感染肺癌细胞效果验证

qPCR 结果显示, A549、Calu1 和 95D 细胞感染 TPI1 敲低慢病毒后, TPI1 的 mRNA 表达水平降低。根据敲低效率和细胞状态, 选择 A549-shTPI1-b、Calu1-shTPI1-b 和 95D-shTPI1-e 用于后续实验。见图 3。

### 2.4 TPI1 对肺癌细胞生物学功能的影响

**2.4.1 TPI1 对肺癌细胞增殖能力的影响** CCK-8 实验显示, 与对照组比较, A549、Calu1 和 95D TPI1 敲低组细胞在 450 nm 处的吸光度值下降, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ); 提示敲低 TPI1 后, 肺癌细胞的增殖能力减弱。见图 4。



A549、Calu1、95D 敲低 TPI1 细胞株 TPI1 mRNA 相对表达水平。

图 3 肺癌细胞 TPI1 敲低效率验证

Fig. 3 Validation of TPI1 knockdown efficiency in lung cancer cells

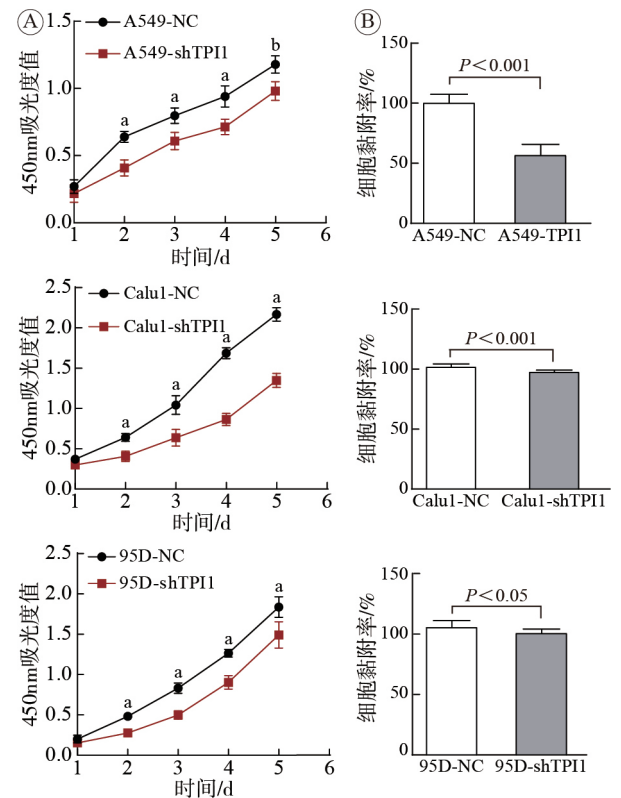


图 4 敲低 TPI1 对肺癌细胞增殖(A)和黏附(B)能力的影响

Fig. 4 Effects of knocking down TPI1 on the proliferation (A) and adhesion (B) ability of lung cancer cells

**2.4.2 TPI1 对肺癌细胞黏附能力的影响** 黏附实验结果显示, 与对照组比较, A549、Calu1 和 95D TPI1 敲低组的细胞黏附率降低, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。提示敲低 TPI1 后肺癌细胞的黏附能力减弱。见图 4。

**2.4.3 TPI1 对肺癌细胞迁移能力的影响** 划痕实验结果显示, 与对照组比较, A549、Calu1 和 95D TPI1 敲低组的细胞划痕愈合速度降低, 差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。表明敲低 TPI1 后肺癌细胞的迁移能力下降。见图 5。

**2.4.4 TPI1 对肺癌细胞侵袭能力的影响** Transwell

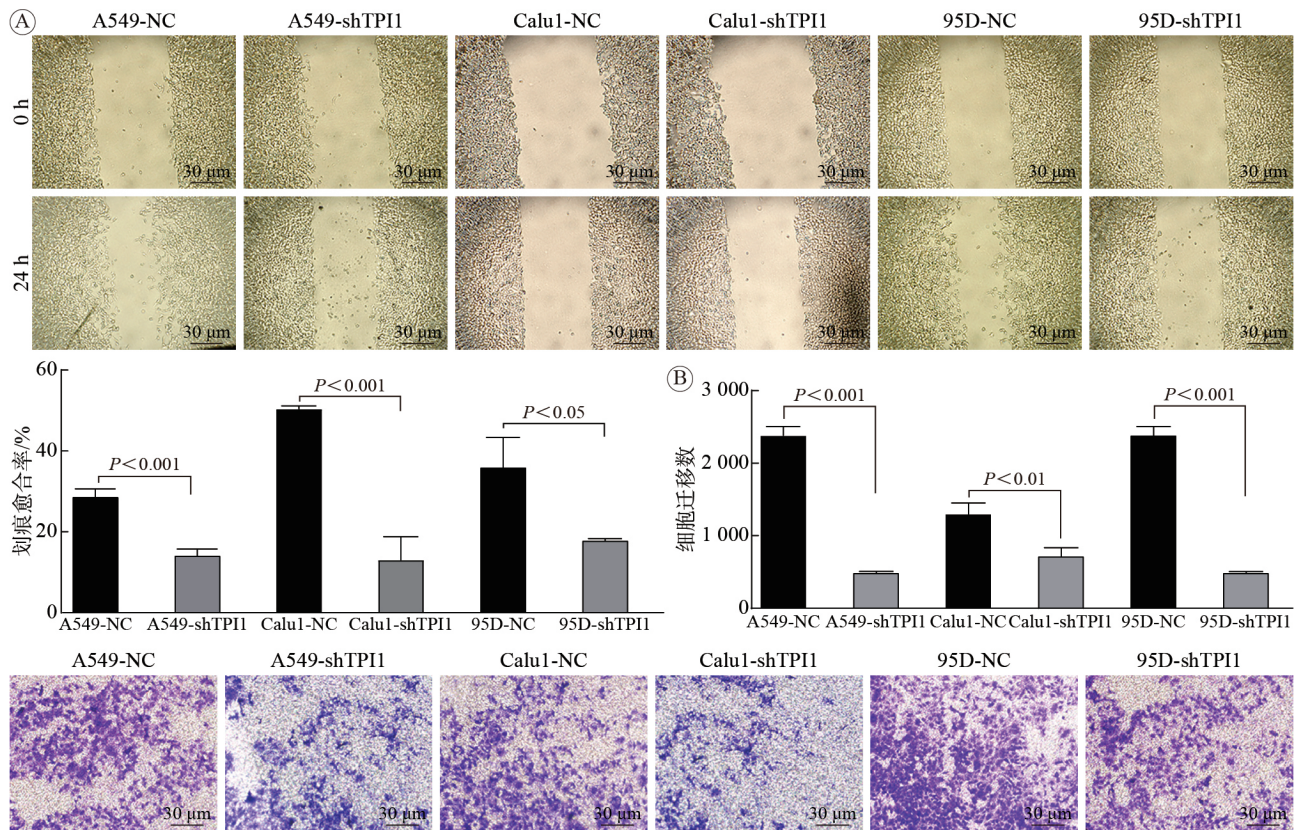


图5 敲低TPI1对肺癌细胞迁移(A)和侵袭(B)能力的影响(400×)

Fig. 5 Effects of knocking down TPI1 on the migration (A) and invasive (B) ability of lung cancer cells (400 ×)

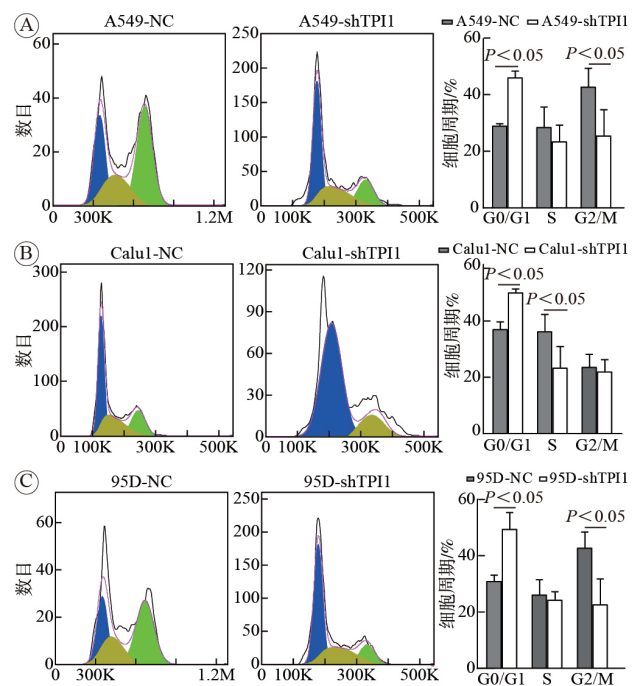
实验结果显示, A549、Calu1和95D TPI1敲低组细胞穿过基质胶和小室小孔的数量低于对照组, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ ); 提示敲低TPI1后肺癌细胞的侵袭能力下降。见图5。

**2.4.5 TPI1对肺癌细胞细胞周期的影响** 流式细胞术结果显示, 与对照组比较, 敲低TPI1后A549、Calu1和95D细胞的G0/G1期占比均升高, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ ); 提示敲低TPI1后, 肺癌细胞被阻滞在G0/G1期。见图6。

**2.4.6 TPI1通过PI3K/AKT信号通路和MAPK信号通路调控肺癌细胞的生物学功能** 普通转录组测序结果显示, 95D-shTPI1细胞与95D-NC细胞相比, 共鉴定出7 775个差异基因, 其中上调基因4 325个, 下调基因3 450个( $|\log_2\text{FoldChange}| \geq 2.0$ ,  $P_{\text{adj}} < 0.05$ )(图7A)。KEGG通路富集分析结果显示, 差异基因显著富集在PI3K/AKT信号通路和MAPK信号通路(图7B)。

### 3 讨论

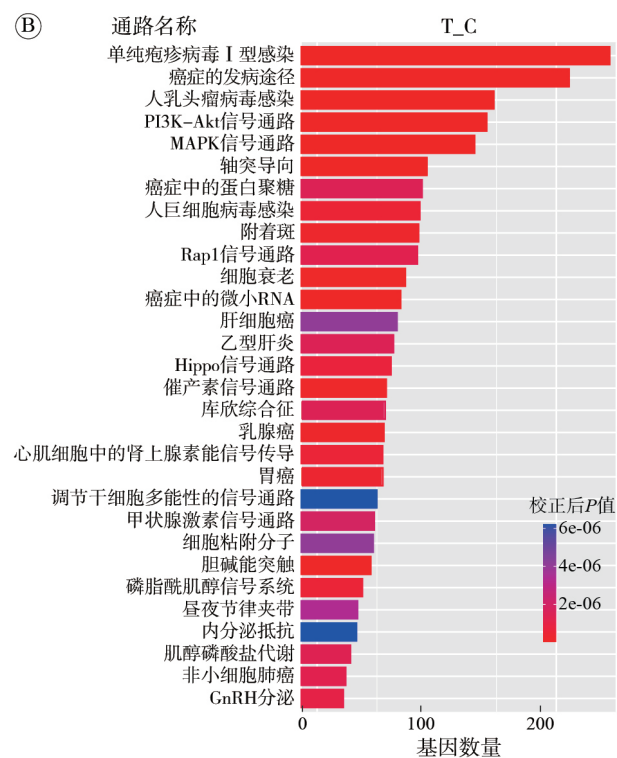
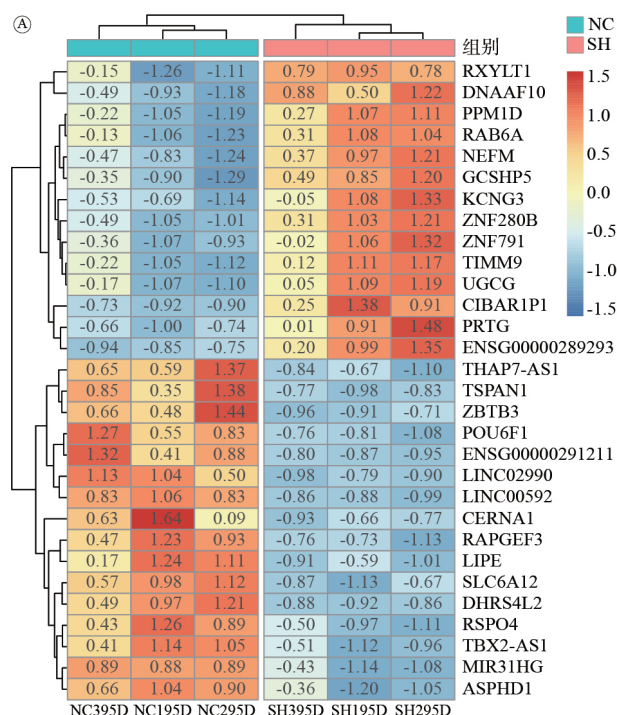
肺癌是全球范围内发病率逐年上升的恶性肿瘤之一<sup>[7]</sup>。肺癌相关分子及靶向研究有助于提高肺



A: A549对照和敲低TPI1细胞株; B: Calu1对照和敲低TPI1细胞株; C: 95D对照和敲低TPI1细胞株。

图6 敲低TPI1对肺癌细胞细胞周期的影响

Fig. 6 Effects of knocking down TPI1 on the cell cycle of lung cancer cells



A: 95D-shTPI1 差异基因表达热图; B: 95D-shTPI1 差异基因 KEGG 通路富集分析。

图 7 敲低 TPI1 后差异基因表达分析和 KEGG 通路富集分析结果

Fig. 7 The results of differential gene expression analysis and KEGG enrichment pathway analysis after TPI1 knockdown

癌诊断和治疗的准确性、及时性、有效性。由于肿瘤细胞的生长生存高度依赖糖酵解，TPI1 作为糖酵解中的关键分子，与肿瘤的发生发展密切相关，已成为目前的研究热点<sup>[8]</sup>。多项研究表明，

TPI1 作为一种促癌基因，在胃癌、结直肠癌、乳腺癌等多种肿瘤中表达异常，且与肿瘤分期和临床预后等相关<sup>[9-11]</sup>。

本研究聚焦 TPI1 基因，系统揭示了其在非小细胞肺癌多亚型中的调控作用及分子机制。本文的创新性发现主要有以下几个方面。

(1)在疾病特征层面：本研究通过整合 TCGA 数据库分析和多细胞系实验验证，证实了 TPI1 在肺腺癌、鳞癌及大细胞癌中均呈现高表达特征。这一发现突破了既往研究多局限于肺腺癌这一单一亚型的状况，提示 TPI1 可能作为非小细胞肺癌广谱性分子标志物。TPI1 的表达水平与肺癌细胞的恶性表型呈现关联，当通过稳定敲低技术降低肺癌细胞中 TPI1 的表达后，肺癌细胞不仅增殖能力受限，其黏附、迁移和侵袭等转移相关特性也发生衰减。这种多维度表型的同步抑制现象，提示 TPI1 可能处于肺癌恶性进展调控网络的核心节点。

(2)在细胞增殖层面：细胞增殖是细胞维持生命活动的关键环节，在肿瘤的发生发展中尤为重要。本研究发现，敲低 TPI1 抑制了肺癌细胞的增殖能力。TPI1 作为糖酵解途径中的重要酶，其功能缺失可能导致能量代谢紊乱，从而限制肿瘤细胞的快速增殖。

细胞黏附是通过表面分子相互作用实现细胞间或与胞外基质连接的过程，在肿瘤的发生发展中扮演关键角色<sup>[12]</sup>。研究表明，肿瘤细胞黏附特性的改变赋予了其侵袭性和迁移性表型，涉及肿瘤进展的各个阶段，包括从原发部位脱离、进入血液循环、外渗及在远端器官形成继发性病变等<sup>[13]</sup>。因此，细胞黏附被认为是决定肿瘤细胞侵袭性和转移性的关键因素。本研究发现，敲低 TPI1 后，肺癌细胞的黏附、迁移和侵袭能力均下降。Liu 等<sup>[14]</sup>的研究也报道了类似现象，其发现敲除肺腺癌细胞(A549/H1299)的 TPI1 后，细胞迁移和集落形成能力显著降低。

细胞增殖能力的变化通常伴随细胞周期的改变<sup>[15]</sup>。本研究流式结果显示，敲低 TPI1 后，肺癌细胞被阻滞在 G0/G1 期。G0/G1 期是 DNA 合成前期<sup>[16]</sup>，其阻滞导致 S 期进行 DNA 合成和复制的细胞数目减少，从而降低了细胞增殖能力<sup>[17]</sup>。

(3)在机制层面，普通转录组测序和 KEGG 通路分析的结果显示，差异基因显著富集在 PI3K/AKT 信号通路和 MAPK 信号通路，提示 TPI1 可能通过上述信号通路调控肺癌细胞的生物学功能。

PI3K/AKT 信号通路是细胞内重要的信号传导通路之一,参与细胞的生长、增殖、代谢等多种生物学过程<sup>[18]</sup>。PI3K/AKT 信号通路与多种疾病的发生发展密切相关,尤其是肿瘤,其异常激活可促进肿瘤细胞的生存、增殖和转移,是癌症治疗的重要靶点<sup>[19]</sup>。MAPK 信号通路主要由三级激酶级联反应构成,即 MAPK 激酶激酶(MAPKKK)、MAPK 激酶(MAPKK)和 MAPK。该通路有多个分支,包括 ERK、JNK、p38 和 ERK5 等<sup>[20]</sup>。MAPK 信号通路的异常激活与多种疾病的发生发展有关,如癌症、炎症性疾病和神经退行性疾病等。

此外,针对临床应用,本研究结果提示,选择性抑制 TPI1 可能产生双重获益,既可阻断肿瘤细胞的能量供给,又可下调关键促癌信号通路活性。

本研究存在一定的局限性,敲低 TPI1 后肺癌细胞生物学功能改变的可能机制仍需进一步验证,同时需增加研究维度,模拟更精准、更复杂的肿瘤环境,对 TPI1 进行更加全面和深入的研究。

综上所述,TPI1 在肺腺癌、肺鳞癌和肺大细胞癌细胞中高表达,敲低 TPI1 可使肺癌细胞的增殖、黏附、迁移和侵袭能力下降,细胞周期发生 G0/G1 期阻滞。上述生物学功能的改变可能是 TPI1 通过 PI3K/AKT 信号通路和 MAPK 信号通路调控的。TPI1 可能是肺癌发生发展过程的关键基因之一,有望成为肺癌的潜在诊断标志物、治疗靶点及预后评估指标,为肺癌的临床诊疗实践提供助力。

**作者贡献** 刘尚书:总体构思,进行实验,数据分析及制图,文章撰写;李春笋、王平:监督指导,提供材料及实验设备支持,文章审阅及修改;刘鹿、任佳博:协助实验,数据处理;王梓瑞、殷悦:协助实验;陈良安:提供研究思路、行政及资金支持。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突。

**数据共享声明** 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取,Email: liushangshu101@163.com。

#### 参考文献

- 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.
- Majernikova SM. Risk and safety profile in checkpoint inhibitors on non-small-cell lung cancer: a systematic review [J]. *Hum Vaccines Immunother*, 2024, 20 (1): 2365771.
- Liao MR, Yao DH, Wu LF, et al. Targeting the Warburg effect: a revisited perspective from molecular mechanisms to traditional and innovative therapeutic strategies in cancer [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14 (3): 953-1008.
- Chen TT, Huang ZG, Tian YX, et al. Role of triosephosphate isomerase and downstream functional genes on gastric cancer [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38 (3): 1822-1832.
- Liang YX, Zhong DY, Yang QY, et al. Single-cell RNA sequencing revealed that the enrichment of TPI1+ malignant hepatocytes was linked to HCC metastasis and immunosuppressive microenvironment [J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2024, 11: 373-383.
- Myers TD, Li YZ, Taiclet S, et al. Neuromuscular dysfunction and pathogenesis in triosephosphate isomerase deficiency [J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 18575.
- Yao J, Lin XW, Zhang X, et al. Predictive biomarkers for immune checkpoint inhibitors therapy in lung cancer [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2024, 20 (1): 2406063.
- Pekel G, Ari F. Therapeutic targeting of cancer metabolism with triosephosphate isomerase [J]. *Chem Biodivers*, 2020, 17 (5): e2000012.
- Zúñiga-Pérez N, Muñoz-Navarro H, Rivera C. Salivary biomarkers for the diagnosis of gastric cancer: a systematic review [J]. *Rev Cient Odontol (Lima)*, 2024, 12 (2): e199.
- Shi YT, Zhuang YY, Zhang JL, et al. Identification of tumorigenic and prognostic biomarkers in colorectal cancer based on microRNA expression profiles [J/OL]. <https://doi.org/10.1155/2020/7136049>.
- Jin XY, Wang DD, Lei MX, et al. TPI1 activates the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway to induce breast cancer progression by stabilizing CDCA5 [J]. *J Transl Med*, 2022, 20 (1): 191.
- Khalili AA, Ahmad MR. A review of cell adhesion studies for biomedical and biological applications [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16 (8): 18149-18184.
- Yayan J, Franke KJ, Berger M, et al. Adhesion, metastasis, and inhibition of cancer cells: a comprehensive review [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51 (1): 165.
- Liu P, Sun SJ, Ai YJ, et al. Elevated nuclear localization of glycolytic enzyme TPI1 promotes lung adenocarcinoma and enhances chemoresistance [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13 (3): 205.
- Masuda K, Sakurai T, Hirano A. A coupled model between circadian, cell-cycle, and redox rhythms reveals their regulation of oxidative stress [J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 15479.
- DeVeale B, Liu LQ, Boileau R, et al. G1/S restriction point coordinates phasic gene expression and cell differentiation [J]. *Nat Commun*, 2022, 13: 3696.
- 孙莉, 江源, 黄登亮, 等. 乳酸对人非小细胞肺癌细胞 A549 生物学特性影响的研究 [J]. *解放军医学院学报*, 2023, 44 (9): 1018-1024.
- Xie YB, Shi XF, Sheng K, et al. PI3K/Akt signaling transduction pathway, erythropoiesis and glycolysis in hypoxia (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19 (2): 783-791.
- Peng Y, Wang YY, Zhou C, et al. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 819128.
- Guo YJ, Pan WW, Liu SB, et al. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19 (3): 1997-2007.

(责任编辑:孟晓彤)