

pH 值调控肿瘤细胞生长转移的机制

The Mechanism of pH Regulation on Tumor Cell Growth and Metastasis
HUANG Yu-bing, SONG Fang-zhou

黄裕兵, 宋方洲

(重庆医科大学分子医学与肿瘤研究中心, 生物化学与分子生物学教研室, 重庆 400016)

摘要: 实体瘤存在一个显著的特征是肿瘤细胞内呈碱性和胞外呈酸性的微环境, 这种酸性微环境能促进肿瘤细胞的生长、侵袭转移。调节肿瘤酸性微环境的主要因子是膜离子交换体, 这些离子交换体如 NHE 和 VHA 不仅是肿瘤酸性微环境的主要调节者, 而且能促进肿瘤细胞的生长转移。通过调节肿瘤胞内外 pH 值变化可以抑制肿瘤细胞生长转移, 但 pH 值的变化对肿瘤细胞生长转移的调控机制尚不清楚。全文对肿瘤细胞转移的发生机制、肿瘤酸性微环境的形成和膜离子交换体对其调节作用以及三者的关系进行阐述。

关键词: 肿瘤转移; 机制; 肿瘤酸性微环境; 膜离子交换体; pH 值

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)06-0428-06

尽管目前各类癌症的治疗有很大进步, 但癌症仍居死因首位^[1]。大多数癌症患者并不是死于原癌本身, 而是死于转移癌, 肿瘤转移是恶性肿瘤的临床治疗失败的根本原因^[2]。抗肿瘤转移是癌症攻关的关键所在, 肿瘤转移不仅取决于肿瘤细胞自身的特性, 还涉及到肿瘤细胞与肿瘤酸性微环境之间的相互作用^[3], 越来越多的体内外实验及临床检测都证明酸性微环境对癌细胞的生长转移起着重要作用^[4], 癌细胞在酸性微环境中更具侵袭力^[5], 这种酸性微环境的维系主要是癌细胞具有高效的膜离子转运系统, 包括 Na⁺/H⁺交换体 (Na⁺/H⁺ exchangers, NHE), HCO₃⁻转运体和囊泡型 H⁺-ATPase (vacuolar-H⁺-ATPase, V-ATPase, VHA) 等, 它们是肿瘤酸性微环境的主要调节者^[6], 也与肿瘤细胞生长转移密切相关。有人认为, pH 值调节肿瘤细胞的能力将是一个有效杀死癌细胞的方式^[6,7], 然而, 酸碱微环境对肿瘤细胞生长转移的调控机制尚不清楚, 由于癌细胞具有上调离子交换体的补偿性质来维持肿瘤细胞胞内呈碱性和胞外呈酸性的酸性微环境, 同时促进

癌细胞的侵袭转移。本文根据近年相关文献, 对肿瘤转移的发生机制、酸性微环境的形成机制和离子交换体对其调节的作用关系进行阐述, 试图寻求适当的干扰胞内 pH (pHi) 和胞外 pH (pHe) 为目标来诱导肿瘤消退的疗法。

1 肿瘤转移发生机制

肿瘤转移的发生机制目前有两种学说, 一是 Ewing 提出的解剖-机械学说, 主张肿瘤转移纯属血管系统解剖结构-机械因素所致; 二是 Paget 提出的“种子-土壤”学说, Paget 仔细分析了 735 例死于乳腺癌和其他肿瘤的女性尸检记录后发现, 特定的肿瘤细胞(种子)与特定的组织或器官(土壤)具有特殊亲和力, 只有“种子”和“土壤”相适应才会发生转移, 随着分子生物学的发展, 越来越多的证据支持这种学说。Fidler^[8]在《肿瘤转移发病机制: 再论种子和土壤学说》一文中, 仍承认这一判断的正确性, 并发展为以下三个方面的内容: ①原发肿瘤(和转移癌)既有肿瘤细胞成分, 也包含有宿主其他细胞成分, 如上皮细胞、成纤维细胞、内皮细胞和浸润的白细胞; ②

收稿日期: 2012-12-02

通讯作者: 宋方洲, E-mail: fzsongcq@163.com

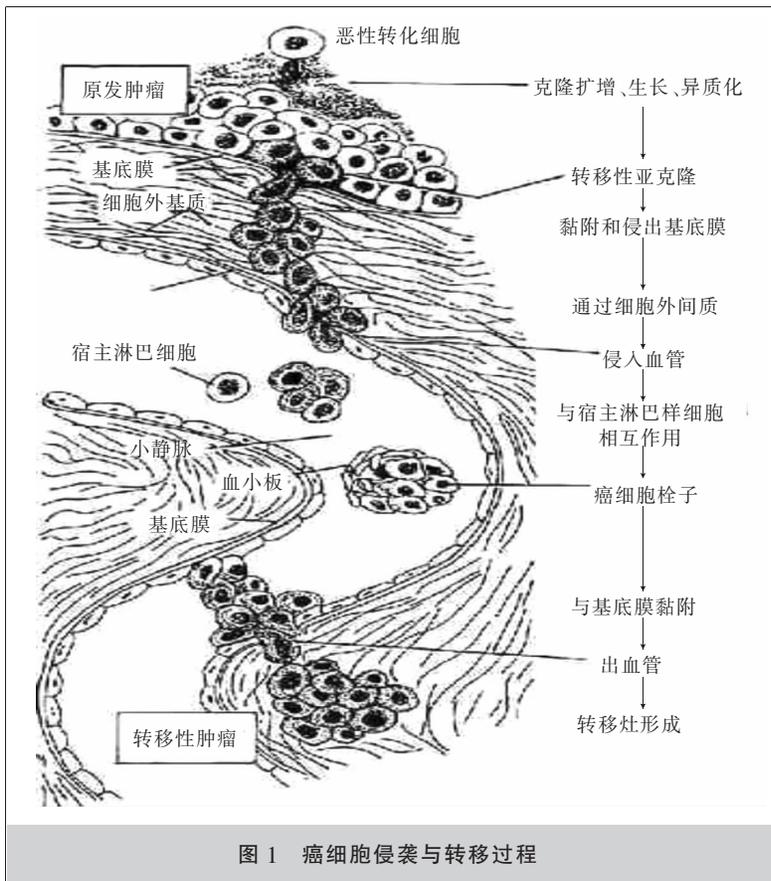


图1 癌细胞侵袭与转移过程

肿瘤细胞的转移过程具有选择性,要经历侵袭、栓塞、迁移中存活、远距离毛细血管中停留、从血管中穿出并在器官中生长等过程;③转移瘤仅发生在特定器官,不同器官的微环境可能具有生物学独特性。大致转移过程如图1所示。

肿瘤转移的“种子—土壤”学说至少给我们两点提示:①不是所有肿瘤都会出现转移或(和)完全转移;②相同肿瘤经过选择异质性可向不同器官转移。明确使癌细胞转移并有选择栖息的能力的原因对阐明肿瘤转移的机制和提供治疗原则具有很大意义。我们认为,这与肿瘤微环境的改变密切相关,尤其是肿瘤的酸性微环境。

2 肿瘤酸性微环境形成机制

研究发现肿瘤细胞对葡萄糖的摄取量极高,认为肿瘤的酸性是由于它们高效率的糖酵解生成的乳酸所致^[9],即主要是无氧代谢决定了肿瘤的酸度。另一方面,胞内产生的 CO₂ 通过弥散作用排

到胞外,由于肿瘤组织细胞缺氧,激活缺氧诱导因子1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1) 诱导肿瘤细胞高表达 CA-IX, 催化 CO₂ 和 H₂O 反应生成碳酸^[10]。这就提示,乳酸和碳酸是肿瘤细胞外酸性微环境的主要来源,以及肿瘤酸性微环境的形成原因主要与肿瘤细胞的糖酵解代谢和缺氧有关^[11]。

由于肿瘤组织生成血管异常化导致血流灌注相对不足,无法满足肿瘤高代谢的氧需求,在缺氧条件下,一方面 HIF-1 被激活,并由其激活下游的各种信号级联反应,使糖酵解相关酶(HK I、HK II、PFK-L、ALD-A、ALD-C、PGK1、ENO-alpha、PYK-M2、LDH-A、PFKFB-3)和葡萄糖转运蛋白(GLUT1、GLUT3)等表达增高,上调糖酵解代谢^[12],同时有效减少线粒体代谢,抑制线粒体的功能,这又增加改善肿瘤细胞的糖代谢过程^[13],从而导致大量乳酸生成;另一方面, HIF-1 可诱导肿瘤细胞高表达 CA-XII 催化 CO₂ 和 H₂O 反应生成碳酸^[14]。Warburg

发现大多数肿瘤细胞在有氧条件下仍能进行低能量的糖酵解,即所谓的 Warburg 效应,这是肿瘤进化自然选择的结果^[15]。这样,碳酸和缺氧和(或)有氧糖酵解生成大量的乳酸在胞内累积,这时,癌细胞激活离子转运系统把胞内碳酸和乳酸的 H⁺ 转运到胞外以维持肿瘤细胞 pHi 呈碱性,又因肿瘤组织周围血管异常使泵出胞外的 H⁺ 无法及时清除而聚集,致使 pHe 呈酸性,从而导致肿瘤酸性微环境的形成。

肿瘤酸性微环境对肿瘤细胞生长转移的影响主要是:①改变肿瘤细胞的生物学活性^[6],如图2所示:

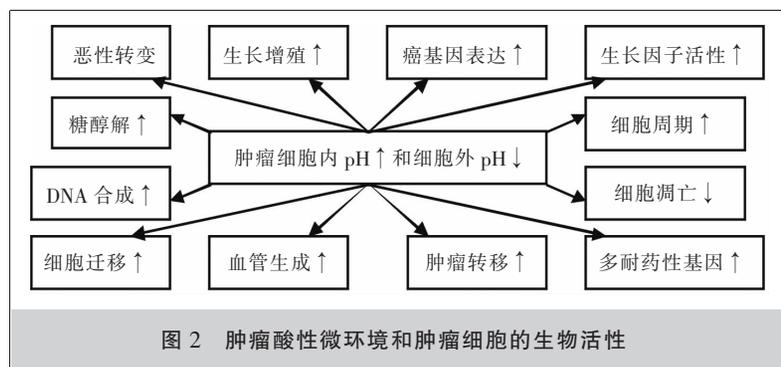


图2 肿瘤酸性微环境和肿瘤细胞的生物活性

从肿瘤发病机制到治疗各个环节的研究领域都与肿瘤酸性微环境有关;②通过上调 VEGF 等基因表达,促进肿瘤新生血管生成^[17]。可见,肿瘤细胞的生长转移与肿瘤酸性微环境密切相关。

3 酸性微环境对肿瘤细胞生长转移的促进作用

越来越多体内外实验及临床检测证明酸性微环境对肿瘤细胞的生长转移起重要作用^[4],实验结果显示,在酸性条件下培养癌细胞,癌细胞的侵袭和转移能力增加^[18],缺氧的肿瘤组织酸化导致正常细胞死亡和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解,以便推进肿瘤细胞在酸性微环境中生长增殖,并促进肿瘤转移^[19]。酸性介导的入侵假说其支持的依据是肿瘤异种移植模型在癌周区域的酸性梯度^[19]。目前已知肿瘤入侵转移的生理生化过程为:①肿瘤细胞与基底膜细胞外基质黏附;②胞浆和细胞器中释放酸使基底膜水解;③分泌酸依赖的金属蛋白酶;④癌细胞运动增强,向周围组织迁移。其中后三个过程主要受肿瘤细胞胞内外 pH 的调节^[20]。

由 ³¹P 磁共振 (³¹P magnetic resonance spectroscopy, MRS) 的应用发现,肿瘤细胞内 pH 值约为 7.12~7.24,明显高于组织液 pH 值(6.99~7.05);恶性肿瘤细胞外 H⁺比细胞内高,因此恶性肿瘤细胞内 pH 值高于细胞外,但较相应正常细胞内 pH 值低^[5]。在肿瘤酸性微环境下,介导调节肿瘤细胞胞内外 pH 值主要是膜离子转运体,包括 NHE, HCO₃⁻ 交换体,囊泡型 H⁺-ATPase 等。

3.1 Na⁺/H⁺交换体

Na⁺/H⁺交换体(Na⁺/H⁺ exchangers, NHE)NHE 是存在于哺乳动物的胞膜离子转运体,NHE 蛋白家族有 9 种亚型,命名为 NHE1~9,其中 NHE1~5 均位于细胞膜表面,NHE6~9 分布于细胞质内的细胞器表面。9 种亚型中 NHE1 最具特征,NHE1 广泛存在于各种组织细胞中,其 cDNA 全长约 5Kb,开放阅读框长 2 445bp,该基因定位于染色体的 1p35~36 上,蛋白质分子有 815 个氨基酸残基,NHE1 的结构域为疏水性 N 端和亲水性 C 端,N 端功能域是 NHE1 介导一个 Na⁺向胞外和一个 H⁺向胞内的充要条件,即当 NHE-1 的胞内部分缺失仅存在 N 端功能域时,仍可进行 NHE,该功能域缺失则丧失交换活性;C 端功

能域约有 300 个氨基酸,位于胞质内,决定 NHE1 进行 NHE 的 pH 调定点,从而调节胞内 pH 值水平。

在肿瘤细胞中,由于高代谢使胞内产生大量的 H⁺,肿瘤细胞为了防止胞内酸化得以生存,于是通过多种信号通路上调 NHE 系统,将胞内 H⁺泵出胞外,同时泵进 Na⁺以避免胞内酸中毒,从而调整肿瘤细胞内碱外酸的酸性微环境^[21],而这种酸性微环境有利于肿瘤细胞的新陈代谢,促进肿瘤细胞的生长,并诱导 ECM 降解,促进肿瘤细胞侵袭转移^[22],这表明,NHE1 不仅是使肿瘤细胞内 pH 呈碱性和胞外 pH 呈酸性的主要调节者,也能激发肿瘤生长增殖,促进肿瘤细胞的恶性转化及转移。

体外实验发现,通过抑制 NHE1 活性,可使得胆管上皮癌细胞内 pH 值降低,而且细胞内 pH 值的降低与胆管上皮癌细胞的增殖减少和凋亡增加成正比,这个反应在 pH 值为 6.8 的培养液内最明显^[23]。Kislin 等^[24]近年报道,下调 NHE1 可显著抑制脑胶质瘤细胞的侵袭和转移。因此,我们认为,通过下调干扰 NHE 表达使肿瘤细胞生长受阻并抑制肿瘤侵袭转移,将是有潜力的抗肿瘤治疗新策略。

3.2 HCO₃⁻转运体

HCO₃⁻进入胞内以维持在肿瘤细胞 pH_i 的升高,是确保肿瘤增长和生存的重要组成部分^[25]。HCO₃⁻转运体蛋白包括 Cl⁻/HCO₃⁻交换体(SLC4A1, SLC4A3), Na⁺/HCO₃⁻共运体,Na 依赖的 Cl⁻/HCO₃⁻转运体(NCBE)等^[26]。例如 NCBE 将 Na⁺、HCO₃⁻运入细胞内交换出 Cl⁻、H⁺来调节 pH_i。HCO₃⁻转运体蛋白在肿瘤生长和转移中发挥的确切作用尚不清楚。

3.3 囊泡型 H⁺-ATPase

囊泡型 H⁺-ATPase (Vacuolar H⁺-ATPase, VHA)普遍存在于从酵母到人的真核生物中,VHA 是 ATP 酶的一种多亚基复合酶,主要由 V₁ 和 V₀ 两个功能域组成,位于胞浆的 V₁ 由 8 种不同亚基组成(3A、3B、C、D、E、F、2G、H),功能为水解 ATP;位于胞膜的 V₀ 由 6 种不同亚基组成(a、d、e、c' 和 c''),功能是质子运输通道。

VHA 通过将 H⁺泵到胞外或者膜间腔内,来维持细胞质的中性 pH、囊腔内的酸性 pH 和胞外的酸性微环境^[27],大多数实体肿瘤是缺氧的,肿瘤细胞通过葡萄糖酵解获得能量,酵解代谢过程产生多量的酸性产物,具有高转移潜能的肿瘤细胞通常采取 VHA 的途径将多产生的 H⁺泵出细胞外,从而维持细胞内

pH 值稳定在正常范围,以保证细胞不因酸中毒而凋亡,同时造成肿瘤细胞外的酸性微环境。

在肿瘤细胞中,VHA 将 H^+ 泵出胞外,使胞外酸化,维持胞内呈碱性和胞外呈酸性的微环境,这种胞外低 pH 还可能通过蛋白水解酶的激活促进 ECM 的降解和重构,从而促进肿瘤的侵袭和转移^[28],而这些蛋白酶的激活需要一个胞外低 pH 环境,包括基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)、骨形态发生蛋白-1 型金属蛋白酶、组织丝氨酸蛋白酶、adamalysin 相关膜蛋白酶等^[29]。提示由 VHA 调节形成的肿瘤酸性微环境可激活蛋白水解酶促进 ECM 的降解,导致肿瘤的侵袭转移。

在许多不同类型的转移瘤中,VHA 呈高表达,且能促进肿瘤细胞的侵袭转移行为。Souad 等^[30]用免疫组化等方法研究显示,在高转移的乳腺癌细胞株的细胞膜上 VHA 显色明显,而在低转移株中显色很弱,酶活性检测结果相同,认为 VHA 与肿瘤细胞的浸润转移有关。研究 uPA 和 V-ATPase mRNA 在肝癌组织中的表达情况时发现,V-ATPase mRNA 在癌组、癌旁组及对照组的阳性率有显著性差异,提示肝细胞癌中 V-ATPase mRNA 高表达与肝癌的侵袭转移有关^[31]。体外研究显示,以抑制 VHA 作为治疗策略,可防止肿瘤转移^[32]。体内实验发现,通过抑制肿瘤细胞 VHA 活性,改变酸性环境,可对肿瘤细胞产生细胞毒性作用,并且抑制动物模型上人类移植瘤的生长^[33]。因此我们认为,VHA 是抗肿瘤转移治疗的潜力靶点。

肿瘤细胞通过上调离子转运体来调节内碱外酸的酸性微环境还包括 CA-IX, AE2, NBC, MCT4 等,以确保肿瘤细胞的 pH_i 呈碱性和 pH_e 呈酸性,并促进肿瘤转移。

4 碳酸氢盐碱性治疗

Silva 等^[34]利用计算机模拟和数学建模做配对研究后,提出摄入 $NaHCO_3$ 所表现出全身的 pH 缓冲液作用,可减少肿瘤微环境的酸化这一假说。Robey 等^[35]采用磁共振波谱分析发现,给乳腺癌转移模型鼠口服或脾内注射 $NaHCO_3$,可选择性提高肿瘤细胞外 pH 值,减少淋巴结和肝转移灶的形成;更重要的是,与对照组相比,通过碳酸氢盐的治疗,使小鼠体内的癌细胞大量减少和总生存期延长,尽管对原

发肿瘤生长无明显影响。利用碳酸氢盐调节 pH 值改变来控制肿瘤转移,是未来一个令人兴奋的研究领域^[25]。

有研究结果显示,提高转移肿瘤细胞的胞外环境的 pH 值,可抑制肿瘤转移酶的激活,阻止 ECM 的降解与重构^[36,37],从而阻止肿瘤细胞的侵袭转移行为,或者通过其他途径提高胞内 pH,都可能诱导肿瘤细胞凋亡。对此,我们推断调高 pH 值为碱性的微环境,可能改变了肿瘤酸性微环境,抑制肿瘤细胞的生物学活性,从而干扰肿瘤细胞的生长转移,甚至诱导肿瘤消退。笔者认为,碱性微环境可能成为有效抗肿瘤细胞生长转移的新途径。

5 小 结

肿瘤细胞(种子)侵袭转移需要有一个可转移的微环境,本文的分析限定在酸碱微环境的范畴,然后才迁移到选择特异性组织或器官(土壤),如图 3 所示,肿瘤的侵袭转移依赖一个酸性微环境。

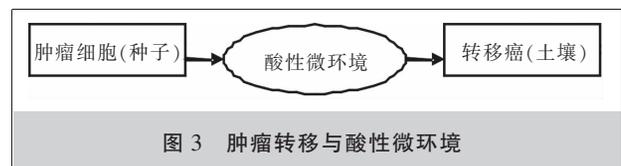


图 3 肿瘤转移与酸性微环境

我们把肿瘤酸性微环境定义为:肿瘤酸性微环境是肿瘤细胞进行缺氧和有氧糖酵解代谢产生的乳酸和缺氧所致的 HIF-1 激活相关酶催化 CO_2 变成碳酸在胞内聚集,迫使肿瘤细胞上调膜离子交换体以调节形成适应肿瘤生长转移的胞内呈碱性和胞外呈酸性的微环境。我们认为,肿瘤酸性微环境的形成是肿瘤细胞为了适应生存而自然选择的结果。肿瘤细胞拥有高效的膜离子转运体^[25],当肿瘤细胞胞内分泌酸越来越多时,肿瘤细胞为了防止酸中毒,膜离子转运体被激活并转运肿瘤胞内 H^+ 到胞外,以维系胞内 pH 呈碱性和胞外 pH 呈酸性的微环境。同时,越来越多的证据表明,这些膜离子交换体包括 NHE、VHA 和 HCO_3^- 转运体等不仅是使肿瘤细胞内 pH 呈碱性、胞外 pH 呈酸性这种特殊微环境的主要调节者,也能激发肿瘤生长增殖,促进肿瘤细胞的恶性转化及转移,它们的关系如图 4。

值得一提的是,快速增殖的肿瘤需要一个互补

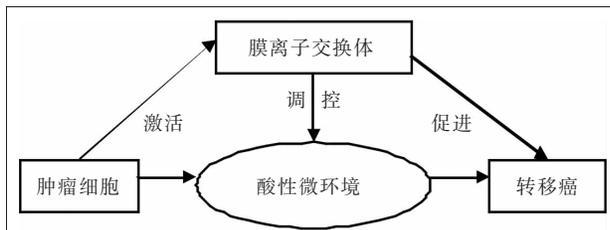


图 4 膜离子交换体和酸性微环境与肿瘤转移

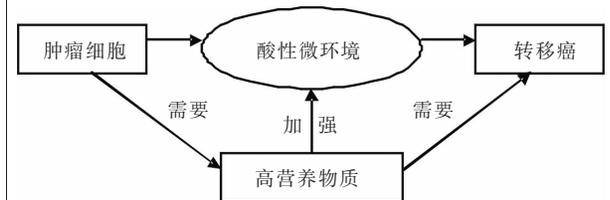


图 5 高营养物质和酸性微环境与肿瘤转移

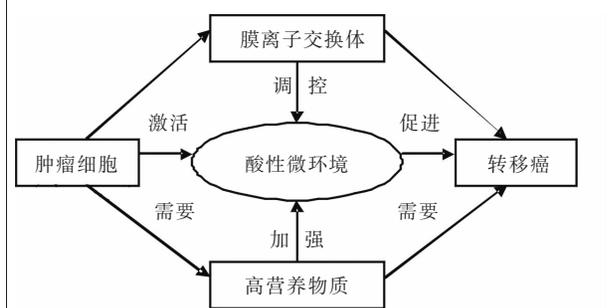


图 6 膜离子交换体、高营养物质和酸性微环境与肿瘤转移

的血管来提供氧气和生存所需的营养物质^[38],比如高营养物质,才能满足肿瘤细胞高代谢的需求,这又加强了肿瘤酸性微环境的酸化,它们的关系如图 5。

在 Paget 提出“种子—土壤”学说的基础上,结合本文,我们具体的将肿瘤转移的机制学说、酸性微环境的形成机制、膜离子交换体以及肿瘤细胞高代谢所需的养分之间的作用关系概括如图 6,由图提示,抗肿瘤细胞生长转移的关键在于调节膜离子交换体、调整酸性微环境和调控营养物质。

近几年对肿瘤酸性微环境的研究越来越活跃,主要目的是为了了解肿瘤细胞内外 pH 值的变化与肿瘤细胞生长和转移的关系。许多研究显示,抑制膜离子交换体如 NHE 和 VHA 的表达来改变肿瘤细胞内外 pH 值可限制肿瘤生长转移,但抑制一个或几个离子转运蛋白难以高效杀死肿瘤细胞,应从

整体上考虑调节整个体质微环境的 pH 改变,以观察对肿瘤的生长转移的作用。此外,假如肿瘤细胞内碱外酸的酸性微环境是其生长转移必不可少的条件,那么我们可通过调节 pH 值的变化,将最终找到肿瘤细胞内适应性反应的失衡点,实现肿瘤细胞生物活性的丧失,从而使肿瘤消退。

参考文献:

- [1] Mathers CD, Boerma T, Ma Fat D. Global and regional causes of death[J]. Br Med Bull, 2009, 92: 7-32.
- [2] Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges[J]. Nat Med, 2006, 12(8): 895-904.
- [3] Cardone RA, Casavola V, Reshkin SJ. The role of disturbed pH dynamics and the Na⁺/H⁺ exchanger in metastasis[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(10): 786-795.
- [4] 沈秋瑾, 覃文新. 靶向肿瘤酸性微环境的抗肿瘤新策略[J]. 生命科学, 2008, 20(5): 795-799.
- [5] Harguindey S, Orive G, LuisPedraz J, et al. The role of pH dynamics and the Na⁺/H⁺ antiporter in the etiopathogenesis and treatment of cancer. Two faces of the same coin-one single nature [J]. Biochim Biophys Acta, 2005, 1756(1): 1-24.
- [6] Chiche J, Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: a common feature in cancer[J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(4): 771-794.
- [7] Harguindey S, Arranz JL, Wahl ML, et al. Proton transport inhibitors as potentially selective anticancer drugs[J]. Anticancer Res, 2009, 29(6): 2127-2136.
- [8] Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited [J]. Nat Rev Cancer, 2003, 3(6): 453-458.
- [9] Warburg O. On the origin of cancer cells [J]. Science, 1956, 123(3191): 309-414.
- [10] Winum JY, Rami M, Scozzafava A, et al. Carbonic anhydrase IX: a new druggable target for the design of antitumor agents[J]. Med Res Rev, 2008, 28(3): 445-463.
- [11] 张慈安, 魏品康, 李勇进. 肿瘤酸性微环境的研究进展[J]. 肿瘤, 2010, 30(6): 550-553.
- [12] Marín-Hernández A, Gallardo-Pérez JC, Ralph SJ, et al. HIF-1 alpha modulates energy metabolism in cancer cells by inducing over-expression of specific glycolytic isoforms [J]. Mini Rev Med Chem, 2009, 9(9): 1084-1101.
- [13] Semenza GL. Regulation of cancer cell metabolism by hypoxia-inducible factor 1 [J]. Semin Cancer Biol, 2009, 19(1): 12-16.

- [14] Winum JY, Rami M, Scozzafava A, et al. Carbonic anhydrase IX: a new druggable target for the design of antitumor agents[J]. *Med Res Rev*, 2008, 28(3): 445–463.
- [15] López-Lázaro M. The warburg effect: why and how do cancer cells activate glycolysis in the presence of oxygen? [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2008, 8(3): 305–312.
- [16] Ganapathy V, Thangaraju M, Prasad PD. Nutrient transporters in cancer: relevance to Warburg hypothesis and beyond [J]. *Pharmacol Ther*, 2009, 121(1): 29–40.
- [17] Favaro E, Nardo G, Persano L, et al. Hypoxia inducible Factor-1 alpha inactivation unveils a link between tumor cell metabolism and hypoxia-induced cell death [J]. *Am J Pathol*, 2008, 173(4): 1186–1201.
- [18] Lugini L, Matarrese P, Tinari A, et al. Cannibalism of live lymphocytes by human metastatic but not primary melanoma cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(7): 3629–3638.
- [19] Gatenby RA, Gawlinski ET, Gmitro AF, et al. Acid-mediated tumor invasion: a multidisciplinary study [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(10): 5216–5223.
- [20] Denker SP, Barber DL. Ion transport proteins anchor and regulate the cytoskeleton [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, 14(2): 214–220.
- [21] Gatenby RA, Smallbone K, Maini PK, et al. Cellular adaptations to hypoxia and acidosis during somatic evolution of breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2007, 97(5): 646–653.
- [22] Stock C, Cardone RA, Busco G, et al. Protons extruded by NHE1: digestive or glue? [J]. *Eur J Cell Biol*, 2008, 87(8-9): 591–599.
- [23] DiSario A, Bendia E, Omenetti A, et al. Selective inhibition of ion transport mechanisms regulating intracellular pH reduces proliferation and induces apoptosis in cholangiocarcinoma cells [J]. *Dig Liver Dis*, 2007, 39(1): 60–69.
- [24] Kislin KL, McDonough WS, Eschbacher JM, et al. NHERF-1: modulator of glioblastoma cell migration and invasion [J]. *Neoplasia*, 2009, 11(4): 377–387.
- [25] Parks SK, Chiche J, Pouyssegur J. pH control mechanisms of tumor survival and growth [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(2): 299–308.
- [26] Boron WF, Chen L, Parker MD. Modular structure of sodium-coupled bicarbonate transporters [J]. *J Exp Biol*, 2009, 212(Pt11): 1697–1706.
- [27] Nishi T, Forgacs M. The vacuolar (H⁺)-ATPases—nature's most versatile proton pumps [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(2): 94–103.
- [28] Sennoune SR, Luo DF, Martinez ZR. Plasmalemmal vacuolar-type H⁺-ATPase in cancer biology [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2004, 40(2): 185–206.
- [29] Kato Y, Lambert CA, Colige AC, et al. Acidic extracellular pH induces matrix metalloproteinase-9 expression in mouse metastatic melanoma cells through the phospholipase D-mitogen-activated protein kinase signaling [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(12): 10938–10944.
- [30] Souad SR, Bakunts K, Martinez GM, et al. Vacuolar H⁺-ATPase in human breast cancer cells with distinct metastatic potential: distribution and functional activity [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 286(6): 1443–1452.
- [31] Liae ZL, Lin J, Luo DZ. Expressions and significance of u-PA and V-ATPase mRNA in hepatocellular carcinoma [J]. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology*, 2008, 7(11): 631–634.
- [32] You H, Jin J, Shu H, et al. Small interfering RNA targeting the subunit ATP6L of proton pump V-ATPase overcomes chemoresistance of breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 280(1): 110–119.
- [33] Fais S, De Milito A, You H, et al. Targeting vacuolar H⁺-ATPases as a new strategy against cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(22): 10627–10630.
- [34] Silva AS, Yunes JA, Gillies RJ, et al. The potential role of systemic buffers in reducing intratumoral extracellular pH and acid-mediated invasion [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2677–2684.
- [35] Robey IF, Baggett BK, Kirkpatrick ND, et al. Bicarbonate increases tumor pH and inhibits spontaneous metastases [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2260–2268.
- [36] Lu XD, Qin WX, Li JJ, et al. The growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma xenografts are inhibited by small interfering RNA targeting to the subunit ATP6L of proton pump [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(15): 6843–6849.
- [37] Rofstad EK, Mathiesen B, Kindem K, et al. Acidic extracellular pH promotes experimental metastasis of human melanoma cells in athymic nude mice [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(13): 6699–6707.
- [38] Fraisl P, Baes M, Carmeliet P. Hungry for blood vessels: linking metabolism and angiogenesis [J]. *Dev Cell*, 2008, 14(3): 313–314.