

重楼皂苷VI激活 JNK 通路诱导食管癌细胞凋亡和抑制 ERK/c-Myc 通路调节有氧糖酵解的研究

钟方明^{1,2}, 吕 望¹, 方礼逵², 叶 波², 胡 坚¹

(1. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江 杭州 310003; 2. 杭州市红十字会医院, 浙江 杭州 310003)

摘 要: [目的] 研究中药重楼的活性成分重楼皂苷 VI (Polyphyllin VI, PP VI) 对食管癌细胞凋亡和有氧糖酵解的影响及作用机制。[方法] MTT 和集落形成实验分析 PP VI 对食管癌细胞 KYSE150 和 EC109 增殖和生长能力的影响; 流式细胞术分析细胞凋亡情况, Western blot 实验检测凋亡相关蛋白和 JNK 通路蛋白的表达和磷酸化水平; 分光光度法检测葡萄糖消耗和乳酸生成, Western blot 实验检测糖酵解相关蛋白 (GLUT-1、HK II、LDHA) 和 ERK/c-Myc 通路蛋白的表达和磷酸化水平。[结果] PP VI 显著抑制食管癌细胞 KYSE150 和 EC109 的增殖。PP VI (2.5 μmol/L 和 5 μmol/L) 作用 24h, 细胞的凋亡率显著上升; Bax、Bak、cleaved Caspase 9、cleaved Caspase 3 和 cleaved PARP 的表达显著上调, Bcl-2 的表达显著下降; JNK 的磷酸化水平显著上升。PP VI 作用 24h, 食管癌细胞对葡萄糖的消耗和乳酸生成量显著下降; GLUT-1、HK II 和 LDHA 蛋白的表达下降; ERK1/2 的磷酸化水平显著下降, c-Myc 的表达亦显著下降。[结论] PP VI 通过激活线粒体凋亡途径诱导食管癌细胞凋亡, 其作用机制与 JNK 通路的激活相关; 通过抑制 ERK/c-Myc 通路, 抑制糖酵解相关蛋白的表达调控食管癌细胞糖代谢重编程。

关键词: 食管癌; 重楼皂苷 VI; 凋亡; JNK 通路; 有氧糖酵解; ERK/c-Myc 通路

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2020)01-0063-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.01.A009

Polyphyllin VI Induces Apoptosis of Esophageal Cancer Cells Through Activating JNK Pathway and Regulates Aerobic Glycolysis Through Inhibition of ERK/c-Myc Pathway

ZHONG Fang-ming^{1,2}, LYU Wang¹, FANG Li-kui², YE Bo², HU Jian¹

(1. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China; 2. Hangzhou Red Cross Hospital, Hangzhou 310003, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effect of Polyphyllin VI (PP VI), the active ingredient of traditional Chinese medicine Chonglou, on the apoptosis and aerobic glycolysis of esophageal cancer cells, and the corresponding mechanisms. [Methods] MTT assay and colony formation assay were performed to analyze the effects of PP VI on the proliferation and growth of esophageal cancer KYSE150 and EC109 cells; apoptosis level was determined by flow cytometry; and the expression and phosphorylation levels of apoptosis-related proteins and JNK pathway proteins were detected by Western blotting. Spectrophotometry was adopted to detect glucose consumption and lactate production. Western blotting was conducted to examine the expression and phosphorylation levels of glycolytic proteins GLUT-1, HK II, LDHA and proteins in ERK/c-Myc pathway. [Results] PP VI significantly inhibited the proliferation of esophageal cancer KYSE150 and EC109 cells. After 24h of PP VI treatment (2.5 μmol/L and 5 μmol/L), the apoptosis rate increased significantly. The expression levels of Bax, Bak, cleaved Caspase 9, cleaved Caspase 3 and cleaved PARP were significantly up-regulated; Bcl-2 expression was significantly inhibited; and the phosphorylation level of JNK was significantly enhanced. After PP VI treatment for 24h, the glucose consumption and lactate production level of esophageal cancer cells decreased significantly; the expression of GLUT-1, HK II and LDHA protein decreased; the phosphorylation level of ERK1/2 decreased significantly, and the expression level of c-Myc decreased significantly as well. [Conclusion] PP VI can induce apoptosis of esophageal cancer cells by activating mitochondrial apoptosis pathway, which was related to the activation of JNK pathway. By inhibiting the ERK/c-Myc pathway, PP VI inhibits the expression of glycolytic proteins thereby regulates the reprogramming of glucose metabolism in esophageal cancer cells.

Key words: esophageal cancer; Polyphyllin VI; apoptosis; JNK pathway; aerobic glycolysis; ERK/c-Myc pathway

收稿日期: 2019-09-12; 修回日期: 2019-10-30

基金项目: 浙江省中医药科技计划重点研究项目 (2015ZZ007); “十三五”

浙江省中医药 (中西医结合) 重点学科 (2017-XK-A33)

第一作者钟方明现工作于杭州市红十字会医院胸外科

通信作者: 胡 坚, E-mail: dr_hujian@zju.edu.cn

食管癌居我国恶性肿瘤死亡率的第4位^[1]。食管癌恶性程度较高,对放化疗较为耐受,患者的总体预后仍然较差^[2]。中医认为“热毒内蕴”是诱发食管癌的病机,清热解毒、活血化瘀类中药在食管癌治疗中取得了一定的疗效^[3]。因此,从天然药物中分离鉴定新的潜在抗食管癌小分子化合物是可行的途径。

中药重楼有清热解毒,消肿止痛,凉肝定惊的功效^[4]。研究表明,重楼提取物通过阻断肿瘤细胞的有丝分裂、抑制血管新生、诱导细胞凋亡、逆转耐药等机制抑制结肠癌^[5]、卵巢癌^[6]、肝癌^[7]、非小细胞肺癌^[8]等多种恶性肿瘤的进展。重楼的抗肿瘤作用主要与其活性成分重楼皂苷Ⅱ、重楼皂苷Ⅵ(Polyphyllin Ⅵ, PP Ⅵ)、重楼皂苷Ⅶ等有关^[5-8]。PP Ⅵ是否具有杀伤食管癌的作用值得研究,本研究探讨PP Ⅵ诱导食管癌细胞凋亡和调控糖代谢重编程的机制。

1 材料与方法

1.1 药物和细胞株

重楼皂苷Ⅵ(Polyphyllin Ⅵ, PP Ⅵ): $C_{39}H_{62}O_{13}$,分子量738.91,购自成都曼思特生物科技有限公司,DMSO配成50mmol/L的储存液,-80℃保存。食管癌细胞KYSE150和EC109购自中国科学院细胞库。

1.2 主要试剂

RPMI 1640培养基、胎牛血清和胰酶购自Biological Industries公司,MTT和结晶紫购自Amersco公司;Apoptosis Detection Kit购自Sony Biotechnology公司(货号:3804570);Glucose Uptake Colorimetric Assay Kit试剂盒、Lactate Assay Kit试剂盒购自Sigma公司;兔抗人Bax、Bak、Bcl-2、cleaved Caspase 9、cleaved Caspase 3、cleaved RARP、p-JNK、JNK、GLUT-1、HK Ⅱ、LDHA、p-ERK1/2、ERK1/2、c-Myc和 β -actin抗体及HRP标记的羊抗兔IgG抗体购自Proteintech公司;ECL化学发光试剂购自Millipore公司。

1.3 MTT法检测PP Ⅵ对细胞生长的影响

KYSE150和EC109细胞以 3.0×10^3 /孔接种于96孔培养板,贴壁后加入含 $1 \mu\text{mol/L}$ 、 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 、 $5 \mu\text{mol/L}$ 和 $10 \mu\text{mol/L}$ PP Ⅵ的培养基,对照组加入等体积的完全培养基。PP Ⅵ作用24h,MTT法分析PP Ⅵ对食管癌细胞生长的影响,酶标仪测定各孔490nm处的吸光度(A值),计算细胞存活率,实验重

复3次。

1.4 集落形成实验分析PP Ⅵ对细胞增殖的影响

KYSE150和EC109细胞以 2×10^3 /孔接种于6孔培养板。细胞贴壁后,实验组分别加入含 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 和 $5 \mu\text{mol/L}$ 的PP Ⅵ培养基,继续培养7d;4%多聚甲醛固定细胞,0.5%结晶紫溶液染色10min,分析各组集落形成的情况(随机挑选5个视野计数克隆形成数,含10个细胞以上的集落为1个克隆,放大100 $\times$),实验重复3次。

1.5 流式细胞术分析PP Ⅵ对细胞凋亡的影响

食管癌细胞以 3×10^5 /孔接种于6孔培养板。PP Ⅵ($2.5 \mu\text{mol/L}$ 和 $5 \mu\text{mol/L}$)作用24h后收集各组细胞,Binding Buffer重悬细胞;加入 $5 \mu\text{l}$ Annexin V-FITC和 $10 \mu\text{l}$ PI,震荡混匀,室温避光孵育15min;上机检测细胞的凋亡率,实验重复3次。

1.6 细胞对葡萄糖消耗的检测

细胞接种及药物处理同1.5。收集PP Ⅵ作用24h的培养基,并收集培养时间为0h的培养基作为本底葡萄糖浓度,按照Glucose Uptake Colorimetric Assay Kit试剂盒的说明书测定葡萄糖浓度,实验重复3次。

1.7 细胞乳酸生成量的检测

细胞接种及药物处理同1.5,按照Lactate Assay Kit试剂盒说明书配置各工作液,测定各样品吸光值,计算乳酸含量,实验重复3次。

1.8 Western blot 实验检测蛋白的表达和磷酸化水平

细胞培养及药物处理同1.5。提取PP Ⅵ作用24h的各组细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度。以 $30 \mu\text{g}$ 蛋白上样,5%的积层胶和12%的分离胶行PAGE-SDS电泳,半干转至PVDF膜。3% BSA溶液封闭1h,Bax、Bak、Bcl-2、cleaved Caspase 9、cleaved Caspase 3、cleaved RARP、p-JNK、JNK、GLUT-1、HK Ⅱ、LDHA、p-ERK1/2、ERK1/2、c-Myc和 β -actin抗体室温孵育2h,TBST洗膜3次,HRP标记的羊抗兔IgG抗体室温孵育1h,TBST洗膜3次。滴加ECL试剂于凝胶成像系统内曝光,分析目的蛋白的表达和磷酸化水平。

1.9 统计学处理

采用SPSS21.0统计软件包分析实验数据,各组数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用One-way ANOVA方差分析法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PP VI抑制食管癌细胞的生长和增殖

MTT 实验表明,PP VI具有抑制 KYSE150 和 EC109 细胞生长的作用,并呈剂量依赖关系。2.5、5 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 处理组细胞存活率与对照组相比有统计学意义($P<0.0001$),见表 1(Table 1)。

Table 1 Effect of PP VI with various concentrations on proliferation of esophageal cancer cells

Concentration ($\mu\text{mol/L}$)	Survival 24h(%)	
	KYSE150	EC109
0	100.0	100.0
1	97.9 $\pm$ 4.7	98.8 $\pm$ 6.3
2.5	58.1 $\pm$ 2.7*	62.5 $\pm$ 2.9*
5	15.2 $\pm$ 4.6*	13.5 $\pm$ 4.5*
10	10.6 $\pm$ 2.5*	9.4 $\pm$ 1.8*

Note: *, $P<0.0001$, vs negative control group

PP VI作用 7d,对照组 KYSE150 细胞的集落形成数为 134.3 $\pm$ 33.0,PP VI 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 34.7 $\pm$ 9.3,PP VI 5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 19.3 $\pm$ 7.6;PP VI作用 7d,对照组 EC109 细胞的集落形成数为 155.0 $\pm$ 21.1,PP VI 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 39.3 $\pm$ 13.6,PP VI 5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 27.7 $\pm$ 11.6;PP VI组的集落形成数与对照组相比有统计学意义($P<0.01$),见图 1(Figure 1)。

2.2 PP VI诱导食管癌细胞凋亡

PP VI具有诱导 KYSE150 和 EC109 细胞凋亡的作用(Figure 2A)。对照组 KYSE150 细胞的凋亡率为 6.7% $\pm$ 3.1%,PP VI (2.5 $\mu\text{mol/L}$)组为 35.3% $\pm$ 5.5%,PP VI 5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 77.8% $\pm$ 6.4%;对照组 EC109 细胞的凋亡率为 4.4% $\pm$ 2.4%,PP VI 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 28.5% $\pm$ 6.4%,PP VI 5 $\mu\text{mol/L}$ 组为 82.8% $\pm$ 7.2%;PP

VI组与对照组相比均有统计学意义($P<0.01$)。

PP VI作用 24h,KYSE150 和 EC109 细胞的凋亡相关蛋白 cleaved Caspase 3 和 cleaved PARP 表达水平与对照组相比显著上调($P<0.001$)(Figure 2B)。

2.3 PP VI激活线粒体凋亡途径

进一步检测线粒体凋亡途径相关蛋白的表达。Bax、Bak 和 cleaved Caspase 9 的表达随 PP VI浓度增加而增高($P<0.01$),抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达呈下降趋势($P<0.05$),见图 3(Figure 3)。表明线粒体凋亡途径参与了 PP VI诱导 KYSE150 和 EC109 细胞的凋亡。

2.4 PP VI促进 JNK 通路蛋白的磷酸化

PP VI作用 KYSE150 和 EC109 细胞 24h,JNK 的磷酸化水平显著上升($P<0.001$),但 JNK 蛋白的表达与对照组相比无显著差异,见图 4(Figure 4)。

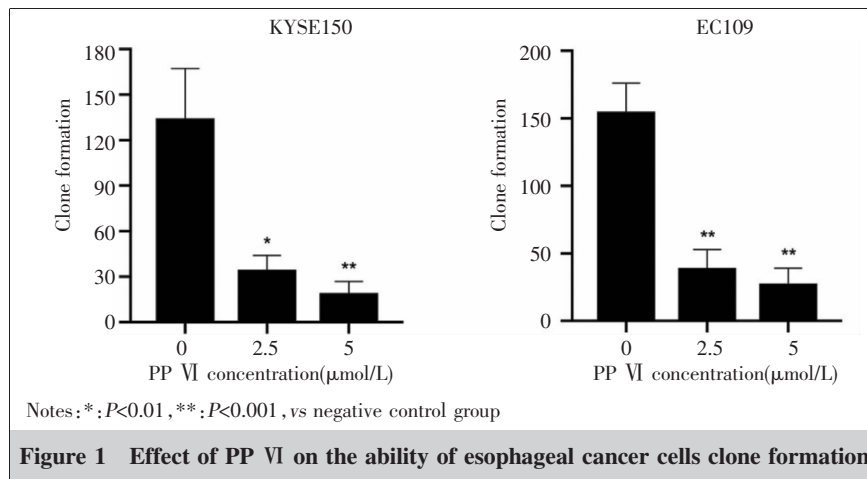
2.5 PP VI抑制食管癌细胞的有氧糖酵解代谢

PP VI处理组 KYSE150 和 EC109 细胞的葡萄糖消耗相比于对照组明显下降($P<0.001$),见图 5A(Figure 5A)。PP VI处理组细胞的乳酸生成能力相比于对照组有明显的降低($P<0.001$),见图 5B(Figure 5B)。

PP VI作用 24h,糖酵解关键蛋白 GLUT-1、HK II 和 LDHA 的表达水平与对照组相比显著下降 ($P<0.05$),见图 5C(Figure 5C)。

2.6 PP VI抑制 ERK/c-Myc 通路的活性

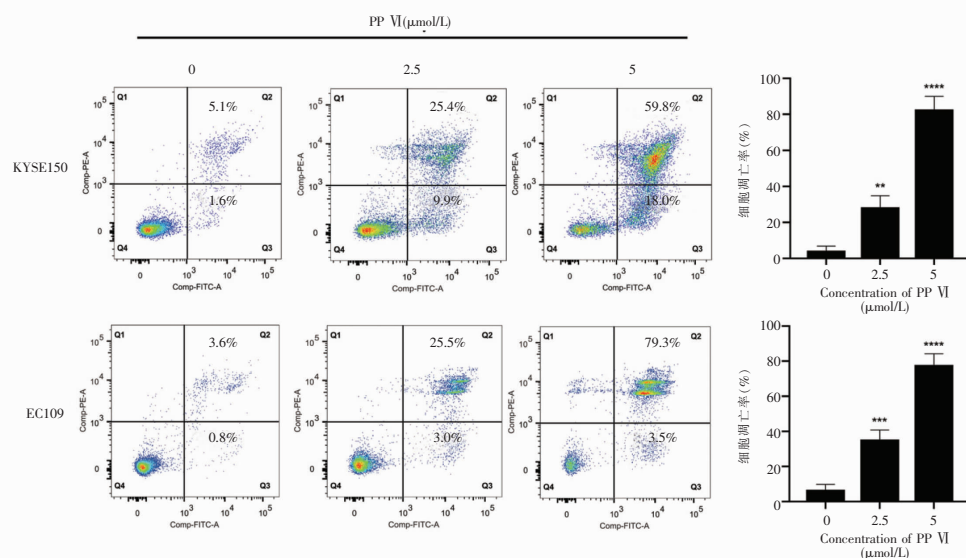
PP VI作用 KYSE150 和 EC109 细胞 24h,ERK1/2 的磷酸化水平显著下降,但 ERK1/2 蛋白的表达与对照组相比无显著差异($P<0.001$);下游 c-Myc 蛋白的表达与对照组相比显著下降 ($P<0.05$)。见图 6(Figure 6)。



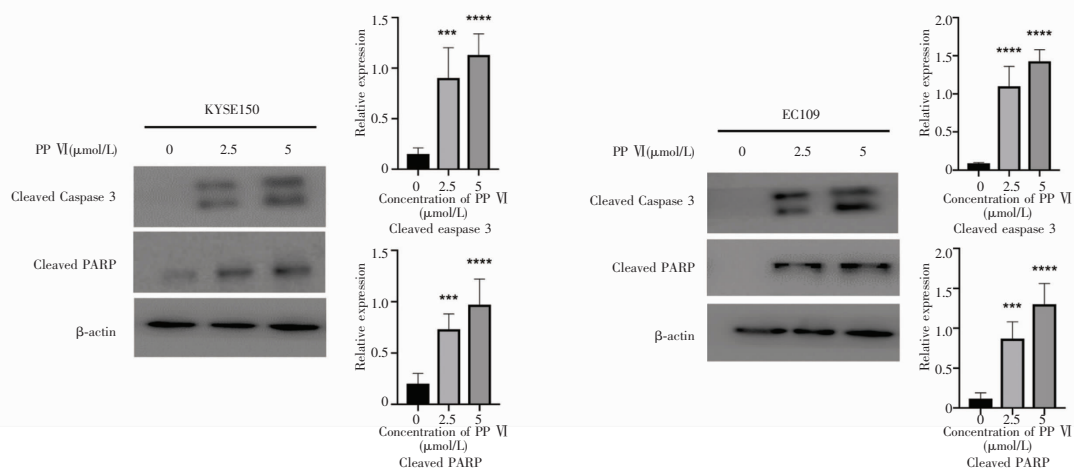
3 讨论

重楼中主要成分为甾体皂苷类,根据苷元的不同,可分为薯蓣皂苷元类和偏诺皂苷元类,重楼皂苷 I、II 属薯蓣皂苷,而重楼皂苷 VI、VII 属偏诺皂苷。重楼皂苷 VI (PP VI) 提取自中药重楼的干燥根茎,是重楼中最主要的抗癌成分之一。Lin 等^[9]发现 PP VI 通过上调 p53、死亡受体 3

A



B



A. PP VI induces apoptosis in KYSE150 and EC109 cells by flow cytometric analysis

B. PP VI promotes the expression of cleaved Caspase 3 and cleaved PARP in KYSE150 and EC109 cells

Notes: *, $P < 0.01$, **, $P < 0.001$, ***, $P < 0.0001$, vs negative control group

Figure 2 PP VI induces apoptosis in esophageal cancer cell lines

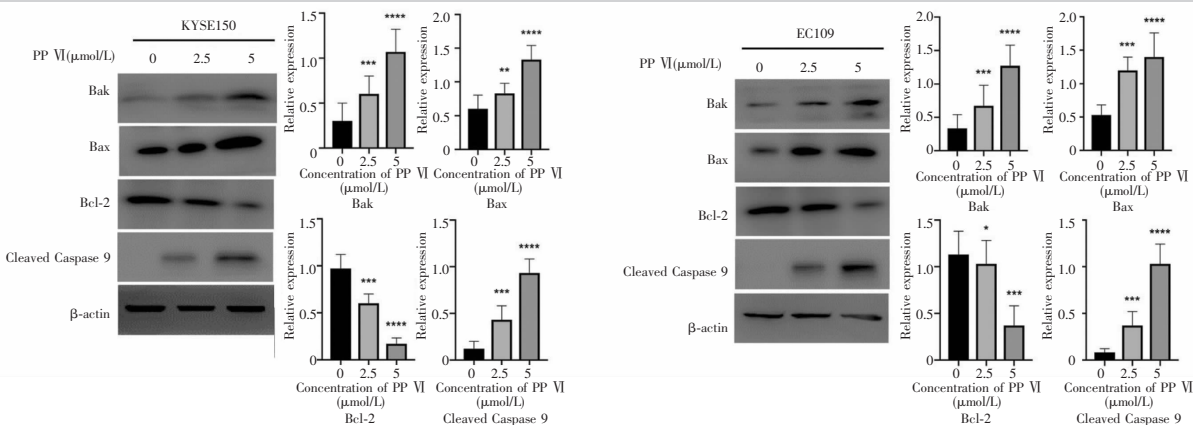
Notes: *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$, ***, $P < 0.001$, ****, $P < 0.0001$, vs negative control group

Figure 3 PP VI promotes the expression of mitochondrial apoptotic pathway proteins

(DR3)、死亡受体 5(DR5)和 Fas 的表达,下调 cyclin B1 的表达,诱导细胞 G₂/M 期阻滞和凋亡抑制肺癌细胞的增殖。Liu 等^[10]证实 PP VI 通过下调 cyclin A2 和 CDK2 的表达诱导细胞 S 期阻滞;通过激活死亡受体途径和线粒体凋亡途径诱导肝细胞癌细胞凋

亡。Ni 等^[11]证实一定浓度 PP VI 作用 24h 能抑制 HepG2 肝癌细胞的增殖,且与时间、剂量正相关。我们发现,PP VI 具有诱导食管癌细胞凋亡的作用,凋亡标志蛋白 cleaved Caspase 3 和 cleaved PARP 的表达在 PP VI 作用后显著增加。

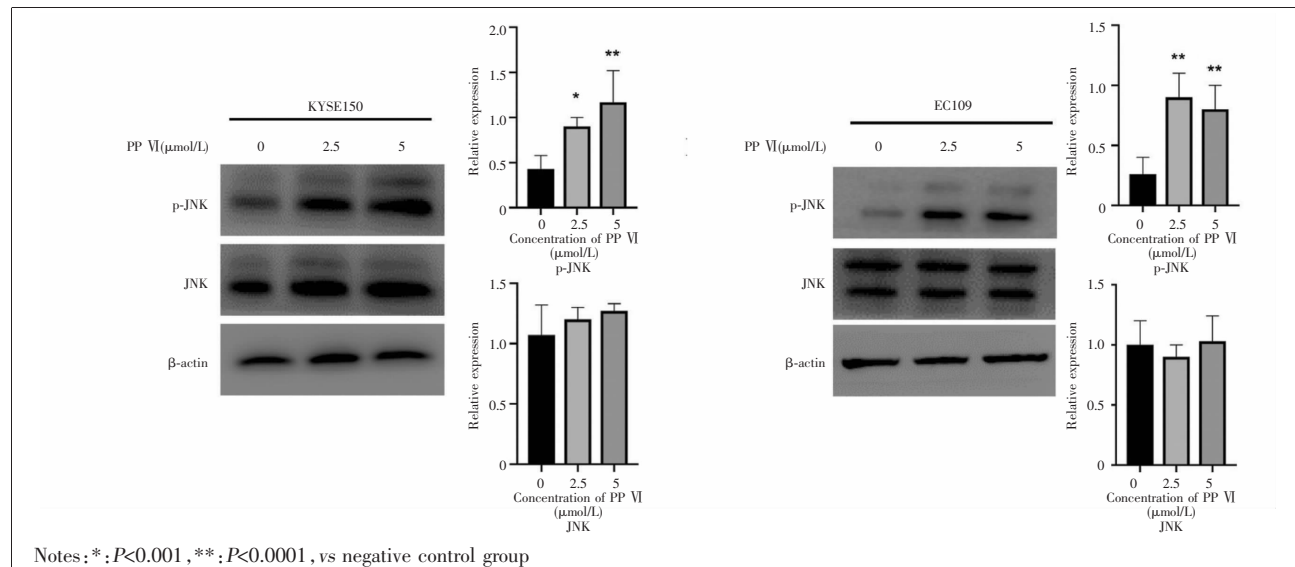
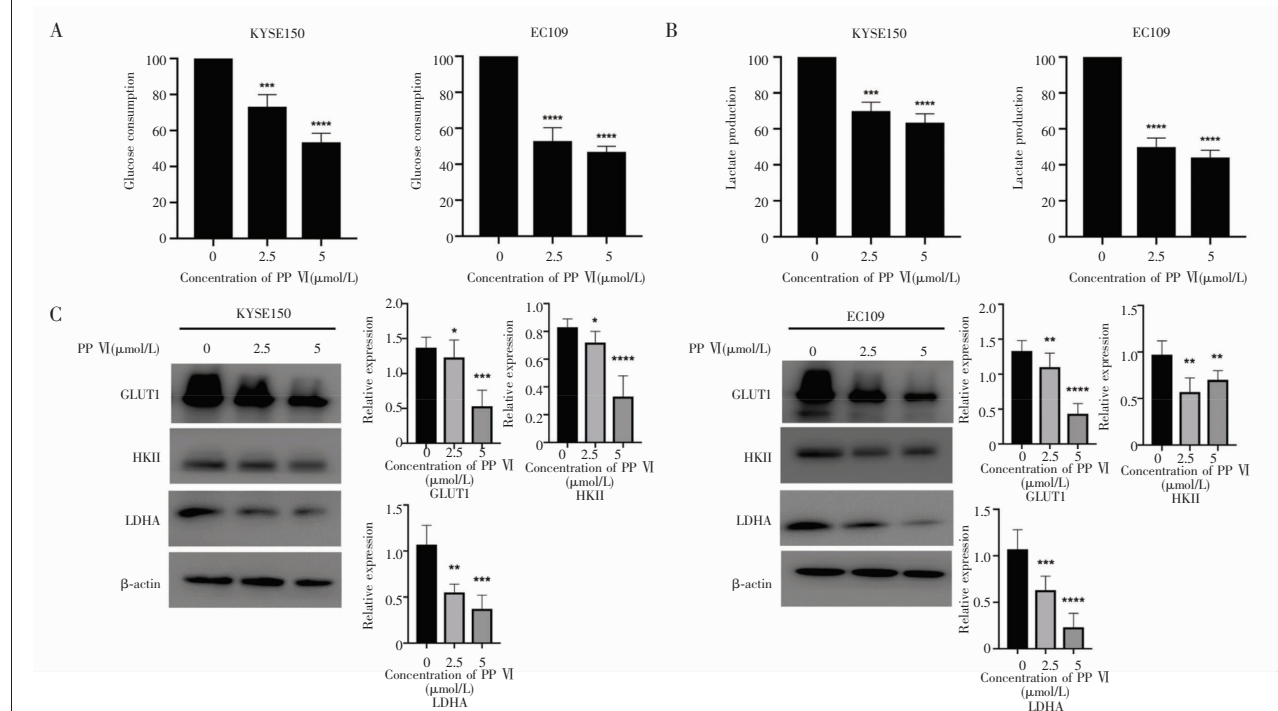


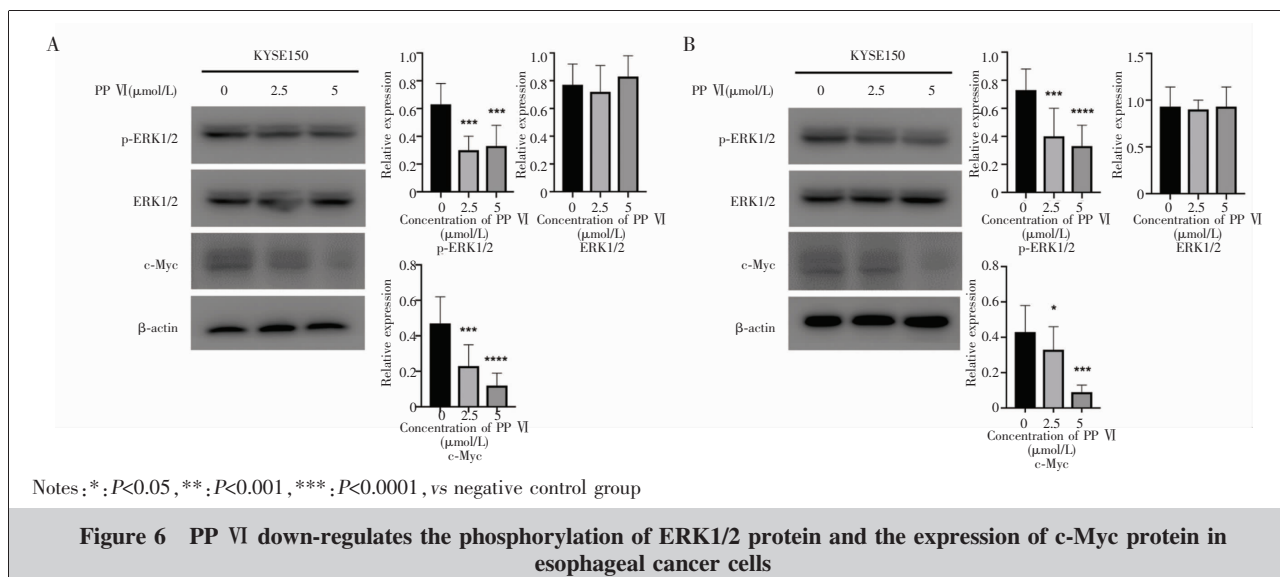
Figure 4 PP VI upregulates the phosphorylation of JNK protein in esophageal cancer cells



5A. Effect of PP VI on glucose consumption of KYSE150 and EC109 cells;5B. Effect of PP VI on lactate production in KYSE150 and EC109 cells;5C. PP VI down-regulates the expression of GLUT-1, HK II and LDHA

Notes: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ****, $P < 0.0001$, vs negative control group

Figure 5 PP VI inhibits the aerobic glycolysis of esophageal cancer cells



我们的研究还发现,PP VI促进应激活化蛋白激酶 JNK 的磷酸化。活化的 JNK 通路可通过转录依赖的方式调节凋亡相关靶基因的表达诱导细胞凋亡^[12]。JNK 通路下游靶基因 Bax、Bak 的表达随 PP VI 浓度增加而增高,抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达显著下降;cleaved Caspase 9 蛋白的表达亦随 PP VI 浓度的增加而增高,表明线粒体凋亡途径参与了 PP VI 诱导食管癌细胞的凋亡。JNK 也可通过非转录依赖的方式,如促进 Bax 转位至线粒体膜形成通透性孔道激活线粒体凋亡途径^[13],PP VI 激活 JNK 是否通过非转录依赖的方式诱导细胞凋亡有待进一步研究。

研究表达,在肿瘤恶性发展过程中,整个代谢网络在癌基因、抑癌基因共同调节下被重新定义,以利于生物大分子合成和获得充足的能量^[14]。肿瘤细胞常表现为糖酵解过度活跃,线粒体有氧代谢削弱,被称为“Warburg 效应”。抑制糖酵解在体外可显著杀伤胶质瘤^[15]、肺癌^[16]、头颈部肿瘤^[17]等多种肿瘤细胞,并且抑制肿瘤细胞在体内的成瘤能力。我们发现,PP VI 抑制食管癌细胞摄取葡萄糖,减少乳酸的释放,抑制糖酵解关键蛋白 GLUT-1、HK II 和 LDHA 的表达,表明 PP VI 具有调节食管癌细胞糖代谢重编程的作用。

ERK/Myc 通路参与 Warburg 效应的调节。Zhao 等^[18]报道,SLIT2/ROBO1 轴通过激活 SRC/ERK/c-Myc/PFKFB2 通路增强 Warburg 效应促进骨肉瘤细胞的恶性进展。ERK1/2 通过调节分化抑制因子 1 (inhibitor of differentiation 1, Id1) 的表达,与 c-Myc 在

细胞内形成信息传递链促进肝癌细胞有氧糖酵解^[19]。我们发现,PP VI 抑制 ERK1/2 蛋白的磷酸化以及下游 c-Myc 蛋白的表达,表明 ERK/c-Myc 通路参与 PP VI 介导的食管癌细胞糖代谢重编程。但 PP VI 通过 ERK/Myc 通路介导食管癌细胞糖代谢重编程是否参与其诱导细胞凋亡的过程有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132.
- [2] Hsu PK,Chen HS,Liu CC,et al. Application of the Eighth AJCC TNM Staging System in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. Ann Thorac Surg,2018,105(5):1516-1522.
- [3] Liu WW,Qi YF. Qi Yuanfu's experience in the treatment of esophageal cancer[J]. Hunan Journal of Traditional Chinese Medicine,2018,34(1):31-33.[刘雯雯,齐元富. 齐元富治疗食管癌经验[J]. 湖南中医杂志,2018,34(1):31-33.]
- [4] Cheng HY,Xu J,Yan YG,et al. Research progress of medicinal plants of Paris in Shaanxi Province [J]. Journal of Shaanxi University of Chinese Medicine,2017,40 (1):107-111.[程虎印,徐进,颜永刚,等. 陕产重楼属药用植物的研究进展[J]. 陕西中医药大学学报,2017,40(1):107-111.]
- [5] Yu S,Wang L,Cao Z,et al. Anticancer effect of Polyphyllin I in colorectal cancer cells through ROS-dependent autophagy and G₂/M arrest mechanisms [J]. Nat Prod Res,2018,32(12):1489-1492.
- [6] Yang M,Zou J,Zhu H,et al. Paris saponin II inhibits human ovarian cancer cell-induced angiogenesis by modulating NF-κB signaling[J]. Oncol Rep,2015,33(5):2190-2198.
- [7] Zhang C,Jia X,Bao J,et al. Polyphyllin VII induces apoptosis in HepG2 cells through ROS-mediated mitochondrial dysfunction and MAPK pathways [J]. BMC Complement Altern Med,2016,16:58.

- [8] Yang Q, Chen W, Xu Y, et al. Polyphyllin I modulates MALAT1/STAT3 signaling to induce apoptosis in gefitinib-resistant non-small cell lung cancer [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 356: 1–7.
- [9] Lin Z, Liu Y, Li F, et al. Anti-lung cancer effects of Polyphyllin VI and VII potentially correlate with apoptosis in vitro and in vivo[J]. *Phytother Res*, 2015, 29(10): 1568–1576.
- [10] Liu Y, Dong X, Wang W, et al. Molecular mechanisms of apoptosis in HepaRG cell line induced by Polyphyllin VI via the Fas death pathway and mitochondrial-dependent pathway[J]. *Toxins (Basel)*, 2018, 10(5): pii: E201.
- [11] Ni BR, Dong XX, Liu Y, et al. The effect of Polyphyllin VI on HepG2 cell apoptosis [J]. *Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2019, 34(4): 1391–1395. [倪博然, 董晓旭, 刘艺, 等. 重楼皂苷 VI 对肝癌 HepG2 细胞凋亡的作用[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(4): 1391–1395.]
- [12] Girnius N, Davis RJ. JNK promotes epithelial cell anoikis by transcriptional and post-translational regulation of BH3-only proteins[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(7): 1910–1921.
- [13] Tsuruta F, Sunayama J, Mori Y, et al. JNK promotes Bax translocation to mitochondria through phosphorylation of 14-3-3 proteins[J]. *EMBO J*, 2004, 23(8): 1889–1899.
- [14] Boroughs LK, DeBerardinis RJ. Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(4): 351–359.
- [15] Eriksson JA, Wanka C, Burger MC, et al. Suppression of oxidative phosphorylation confers resistance against bevacizumab in experimental glioma [J]. *J Neurochem*, 2018, 144(4): 421–430.
- [16] Kim SM, Yun MR, Hong YK, et al. Glycolysis inhibition sensitizes non-small cell lung cancer with T790M mutation to irreversible EGFR inhibitors via translational suppression of Mcl-1 by AMPK activation [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(10): 2145–2156.
- [17] Li HM, Yang JG, Liu ZJ, et al. Blockage of glycolysis by targeting PFKFB3 suppresses tumor growth and metastasis in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 7.
- [18] Zhao SJ, Shen YF, Li Q, et al. SLIT2/ROBO1 axis contributes to the Warburg effect in osteosarcoma through activation of SRC/ERK/c-MYC/PFKFB2 pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 390.
- [19] Sharma BK, Kolhe R, Black SM, et al. Inhibitor of differentiation 1 transcription factor promotes metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma cells [J]. *FASEB J*, 2016, 30(1): 262–275.

《中国肿瘤》稿约

《中国肿瘤》杂志创办于 1986 年, 1992 年经国家科委批准公开发行人。由国家卫生健康委员会主管, 中国医学科学院、全国肿瘤防治研究办公室主办, 中国肿瘤医学综合类科技月刊, 《中文核心期刊要目总览》(第 8 版) 核心期刊、中国科学引文数据库 (CSCD) 来源期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊 (ISSN 1004-0242 CN11-2859/R), 大 16 开, 80 页, 单价 15 元, 全年 180 元, 邮发代号: 32-100。主编赫捷院士。以交流肿瘤防治经验, 推广肿瘤科技成果, 促进肿瘤控制事业的发展为宗旨。以肿瘤控制为特色, 在肿瘤预防、流行病学方面独树一帜。主要栏目有: 癌情监测、防治工作、专题报道、医院管理、研究进展、论著等。有关撰稿要求如下:

1. 文稿务必材料可靠, 数据准确, 论据充足, 结论明确。文字通顺、准确和简练、重点突出, 层次清楚。
2. 文稿作者顺序请自行排列, 并注明全部作者的单位名称、邮政编码以及详细的联系方式、邮箱等。
3. 需附中英文摘要和关键词, 结构式摘要, 包括目的、方法、结果、结论四部分。英文摘要务必与中文摘要一一对应。英文摘要前需加英文文题、作者姓名汉语拼音、单位英文全称、所在地名及邮政编码。全部作者均需列出。关键词 3~8 个。

3. 凡文字能表达清楚的内容不必另列图表。图表设计应正确、合理, 数字用阿拉伯数字。务请稿件中图表的所有内容均中英文各一份。

4. 所列参考文献为作者亲自阅读的已发表的近 5 年内主要文献, 按文内引用先后顺序列于文末, 并在文内引用处右上角以 [] 号注明序号; 并且中文文献需采用中英文对照。具体格式如下:

期刊: [序号] 作者 (3 位以下全部写出, 姓名中间加逗号; 3 位以上时只写前 3 位于后加“等”)。文题 [J]. 刊名, 年, 卷 (期): 起页-止页。

书籍: [序号] 作者. 书名 [M]. 卷 (册) 次. 版本. 出版地: 出版者, 年. 起页-止页。

中文期刊文献举例如下: Chen WQ, Zhang SW, Zeng HM, et al. Report of cancer incidence and mortality in China, 2010 [J]. *China Cancer*, 2014, 23(1): 1–10. [陈万青, 张思维, 曾红梅, 等. 中国 2010 年恶性肿瘤发病与死亡 [J]. *中国肿瘤*, 2014, 23(1): 1–10.]

5. 《中国肿瘤》已启用稿件远程处理系统, 只接受网上投稿, 不接收电子邮件投稿和纸质稿。《中国肿瘤》网址: <http://www.chinaoncology.cn>

6. 网上投稿成功后, 请将单位介绍信、基金项目批文复印件邮寄至编辑部。本刊对所有来稿一律不收审稿费。

7. 编辑部对来稿有文字修改权, 凡涉及内容的修改, 则提请作者考虑, 文责自负。自作者接到收稿回执后 6 个月内未接到退稿通知, 作者欲改投它刊, 请函告编辑部。

8. 来稿一经录用, 收取一定版面费, 发表后寄赠当期杂志 2 册。

地址: 浙江省杭州市江干区机场路 30 号 (310004) 咨询电话和传真: 0571-88122280