



· 论 著 ·

TIPE通过调控LDHA表达影响三阴性乳腺癌糖代谢重编程机制研究

胡 玮¹, 任晓朦², 王 洋³, 赵培庆⁴, 曹 凯⁵

1. 淄博市中心医院乳腺外科, 山东 淄博 255036;
2. 淄博市中心血站中心实验室, 山东 淄博 255033;
3. 桓台县人民医院检验科, 山东 淄博 256400;
4. 淄博市中心医院转化医学中心, 山东 淄博 255036;
5. 淄博市中心医院药剂科, 山东 淄博 255036

[摘要] 背景与目的: 肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白8 (tumor necrosis factor alpha-induced protein 8, TNFAIP8, TIPE) 在多种恶性肿瘤中发挥重要的调控作用, 但其在三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 代谢重编程中的分子机制尚未阐明。本研究旨在揭示TIPE通过调控糖酵解关键酶乳酸脱氢酶A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 表达影响TNBC细胞增殖和糖代谢重编程的作用机制, 为TNBC的临床治疗提供新的分子靶点。方法: 采用慢病毒载体系统在MDA-MB-231细胞中建立TIPE-shRNA稳定转染株, 通过嘌呤霉素筛选获得稳定细胞系, 利用转录组测序分析TIPE对TNBC细胞糖代谢重编程通路的影响, 通过SeaHorse能量代谢分析仪检测细胞外酸化率 (extracellular acidification rate, ECAR), 并结合乳酸检测等实验评估TIPE对TNBC细胞糖酵解能力的影响; 采用Co-IP/MS技术筛选TIPE相互作用蛋白, 在HEK-293T细胞中共转染TIPE-Myc和LDHA-Flag质粒, 进一步验证TIPE与LDHA蛋白存在相互作用; 通过CHX追踪实验和泛素化分析检测TIPE对LDHA蛋白稳定性的影响; 通过细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) CCK-8和ECAR实验、裸鼠移植瘤模型 (伦理批号: 202212007) 结合免疫组织化学检测进一步验证TIPE介导LDHA影响TNBC细胞增殖与糖代谢重编程过程。结果: TIPE促进了TNBC细胞糖代谢重编程, 实验数据显示, TIPE敲除显著抑制了TNBC细胞的糖酵解能力、糖酵解容量及乳酸生成量 ($P < 0.001$); 免疫共沉淀实验证实TIPE与糖酵解关键酶LDHA存在直接结合, 进一步机制研究表明TIPE通过泛素化-蛋白酶体途径延缓LDHA蛋白降解过程, 但对其mRNA表达水平无显著影响; 细胞实验证实TIPE通过调控LDHA显著促进TNBC细胞增殖 ($P < 0.001$) 和糖酵解活性 ($P < 0.001$), 在裸鼠移植瘤模型中TIPE敲除组肿瘤体积显著缩小 ($P < 0.05$)、重量减轻 ($P < 0.01$), 肿瘤组织免疫组织化学分析显示TIPE与LDHA表达呈显著正相关。结论: TIPE通过抑制LDHA泛素化水平降解促进TNBC细胞增殖与糖酵解能力。

[关键词] 肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白8; 三阴性乳腺癌; 糖代谢重编程; 乳酸脱氢酶A; 泛素化

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2025.04.006

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2021MC165)。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

伦理批件: 202212007。

知情同意: 已披露。

引用本文: 胡 玮, 任晓朦, 王 洋, 等. TIPE通过调控LDHA表达影响三阴性乳腺癌糖代谢重编程机制研究 [J]. 中国癌症杂志, 2025, 35(4): 386-393.

Funding: Shandong Provincial Natural Science Foundation (ZR2021MC165).

Conflicts of interest: authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: 202212007.

Informed consent: available.

Cite this article: HU W, REN X M, WANG Y, et al. TIPE regulates glucometabolic reprogramming by modulating LDHA expression in triple-negative breast cancer [J]. Chin Oncol, 2025, 35(4): 386-393.

TIPE regulates glucometabolic reprogramming by modulating LDHA expression in triple-negative breast cancer HU Wei¹, REN Xiaomeng², WANG Yang³, ZHAO Peiqing⁴, CAO Kai⁵ (1. Department of Breast Surgery, Zibo Central Hospital, Zibo 255036, Shandong Province, China; 2. Department of Central Laboratory, Zibo Central Blood Station, Zibo 255033, Shandong Province, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Huantai County People's Hospital, Zibo 256400, Shandong Province, China; 4. Translational Medical Center, Zibo Central Hospital, Zibo 255036, Shandong Province, China; 5. Department of Pharmacy, Zibo Central Hospital, Zibo 255036, Shandong Province, China)

Correspondence to: CAO Kai E-mail: wwwcaokai@126.com

[**Abstract**] **Background and purpose:** Tumor necrosis factor alpha-induced protein 8 (TNFAIP8), also called TIPE, plays critical regulatory roles in various malignancies, yet its molecular mechanisms in metabolic reprogramming of triple-negative breast cancer (TNBC) remain elusive. This study aimed to elucidate how TIPE regulates the expression of the glycolytic key enzyme lactate dehydrogenase A to influence TNBC cell proliferation and glycolytic reprogramming, thereby providing potential molecular targets for TNBC therapy. **Methods:** Stable TIPE-knockdown MDA-MB-231 cell lines were established using a lentiviral shRNA system and selected with puromycin. Transcriptome sequencing was used to analyze TIPE's impact on TNBC glycolytic pathways. Extracellular acidification rate (ECAR) was measured using the Seahorse XF Analyzer, complemented by lactate production assays to evaluate glycolytic capacity. Co-IP/MS was carried out to identify TIPE-interacting proteins, with subsequent validation of TIPE-LDHA interaction through co-transfection of TIPE-Myc and LDHA-Flag plasmids in HEK-293T cells. Protein stability was assessed via cycloheximide (CHX) chase and ubiquitination assays. The cell counting kit-8 (CCK-8) assay and animal experiments (Approval Number for Animal Ethics: 202212007) were conducted to investigate how TIPE affects the proliferation and glucometabolic reprogramming of TNBC by mediating LDHA. **Results:** TIPE promoted glycolytic metabolic reprogramming in TNBC. Knockdown of TIPE significantly inhibited TNBC glycolytic activity and glycolytic capacity ($P < 0.001$). TIPE interacted with the key glycolytic enzyme LDHA and suppressed its degradation rate through a ubiquitination-dependent mechanism. Cellular experiments demonstrated that TIPE mediated LDHA to enhance TNBC cell proliferation ($P < 0.001$) and glycolytic activity ($P < 0.001$). Animal studies confirmed that TIPE knockdown significantly suppressed tumor volume ($P < 0.05$) and weight ($P < 0.01$), with a positive correlation between TIPE and LDHA expression levels in tumor tissues. **Conclusion:** TIPE enhances TNBC cell proliferation and glycolytic capacity by inhibiting LDHA ubiquitination-mediated degradation.

[**Key words**] TIPE; Triple-negative breast cancer; Glycometabolic reprogramming; Lactate dehydrogenase A; Ubiquitination

肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白8 (tumor necrosis factor- α -induced protein 8, TNFAIP8, TIPE) 家族主要包括4个成员: TIPE、TIPE1、TIPE2以及TIPE3。尽管它们具有高度的序列同源性,但在多种疾病中发挥不同的生物学功能^[1]。我们先前的研究发现, TIPE1在乳腺癌中通过细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 信号转导通路行使抑癌基因的功能^[2]。然而也有研究^[3]发现TIPE在多种肿瘤类型中促进肿瘤进展, TIPE在炎症相关肠癌中发挥抑癌基因的功能,表明TIPE家族在不同类型肿瘤中可能发挥不同的生物学作用。三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 是一种雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 及人类表皮生长因子受体2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 均为阴性的乳腺癌病理学类型,是乳腺癌中病死率最高、预后最差的病理学类型。Tian等^[4]研究发现, TIPE可通过调控糖酵解关键酶M2-型丙酮酸激酶 (pyruvate kinase M2, PKM2) 参与黑色素瘤肿瘤干性的形成,然而TIPE是否通过调控代谢重编程参与TNBC疾病进程尚不清楚。在本研究中,我们发现TIPE通过正向调控乳酸脱氢酶A (lactate dehydrogenase A, LDHA) 的表达,促进TNBC糖酵解过程,并进一步影响了其肿瘤增殖。本研究的完成将为发现TNBC新型代谢治疗靶点提供理论与实践基础。

1 材料和方法

1.1 主要材料与试剂

人TNBC细胞系MDA-MB-231及HEK-293T细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库/中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 和改良鹰酮基本培养基 (Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM) 购自美国Gibco公司, IP蛋白裂解液和细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 购自上海碧云天生物技术股份有限公司 (P0013), CHX (P-411N) 购自美国AccuStandard公司, IP专用蛋白裂解液 (BL509A) 购自北京兰杰柯科技有限公司,寡霉素和2-DG购自美国Sigma公司,聚偏氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜购自美国Bio-Rad公司。LDHA过表达慢病毒及TIPE基因敲低慢病毒皆由上海吉凯基因医学科技股份有限公司合成,病毒加入量按照感染复数值 (MOI) 进行操作。TIPE-Myc、泛素载体 (Ub-HA)、LDHA-Flag载体由本课题组构建并保存。标签抗体HA (AP0005M)、Flag (AP007) 和Myc (AP0031) 以及LDHA抗体 (MB63796) 购自美国Bioworld公司, Anti-Flag磁珠 (#B26101) 购自美国Selleck公司, TIPE一抗 (ab195810) 购自英国Abcam公司乳酸测定试剂盒购自南京建成科技有限公司。

1.2 转录组测序

TIPE基因敲低慢病毒转染MDA-MB-231细胞系后, 利用嘌呤霉素筛选构建稳定表达细胞株。取3组对数生长期的TIPE基因敲低细胞株与3组对照组细胞株送上海吉凯基因医学科技股份有限公司进行转录组测序, 具体流程如下:

① mRNA的获取: 利用真核生物大部分mRNA都带有polyA尾的结构特征, 通过Oligo (dT) 磁珠富集带有polyA尾的mRNA; ② 文库构建: 以片段化的mRNA为模版, 随机寡核苷酸为引物, 在M-MuLV反转录酶体系中合成cDNA第一条链, 随后用RNaseH降解RNA链, 并在DNA polymerase I体系下, 以dNTPs为原料合成cDNA第二条链。纯化后的双链cDNA经过末端修复、加polyA尾并连接测序接头, 用AMPure XP beads筛选250~300 bp左右的cDNA, 进行PCR扩增并再次使用AMPure XP beads纯化PCR产物, 最终获得文库。建库用试剂盒为NEBNext[®] Ultra[™] RNA Library Prep Kit for Illumina[®]。③ 上机测序: 库检合格后, 把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求pooling后进行Illumina测序。测序的基本原理是边合成边测序。测序时加入4种荧光标记的dNTP、DNA聚合酶以及接头引物进行扩增, 在每一个测序簇延伸互补链时, 每加入一个被荧光标记的dNTP就能释放出相对应的荧光, 测序仪通过捕获荧光信号, 并通过计算机软件将光信号转化为测序峰, 从而获得待测片段的序列信息。测序结果经KEGG及GSEA分析后, 找到TIPE调控的糖酵解信号转导通路。

1.3 Co-IP及Co-IP/MS实验

利用Lipofectamine[™]2000转染试剂把TIPE-Myc及LDHA-Flag质粒转染至HEK293T细胞, 48 h后利用IP专用蛋白裂解液收集蛋白, 裂解液的主要成分为20 mmol/L Tris (pH为7.5)、150 mmol/L NaCl、1% Triton X-100、焦磷酸钠、 β -甘油磷酸、乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、 Na_3VO_4 及leupeptin等多种抑制剂。可以有效地抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。冰上裂解30 min后, 12 000 r/min离心10 min (离心半径15 cm), 取上清液加入带Flag标签免疫磁珠4 °C混悬过夜, 次日利用IP裂解液对磁珠清洗3次, 每次5 min, 利用磁力架对沉淀物进行富集, 加入1×上样缓冲液对蛋白进行变性, 最后通过蛋白质印迹法 (Western blot) 对目的蛋白进行验证; Co-IP/MS实验则在磁珠清洗后送至和元生物技

术 (上海) 股份有限公司进行蛋白质谱分析。MS步骤如下: 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 胶加入洗脱样品, 每孔上样30 μL , 待marker跑到分离胶1.5 cm后, 将浓缩胶用水冲洗干净, 切下被浓缩聚集的样品条带, 切成1 mm²的小片, 装于Eppendorf试管 (EP管) 内进行过夜酶解。酶解完毕, 依次加入含0.1%甲酸的50%乙腈溶液, 含0.1%甲酸的80%乙腈溶液以及纯乙腈将肽段从胶粒从萃取出来, 合并后冻干。样品由EASY-nanoLC 1000的Q Exactive[™] Plus质谱仪 (购自美国Thermo Fisher公司) 进行分析。最后得到约325个蛋白肽段信息, 找到与糖酵解相关的蛋白肽段, 作为本实验目标蛋白。

1.4 细胞外酸化率 (extracellular acidification rate, ECAR) 及乳酸检测

ECAR采用美国Agilent公司的SeaHorse XF细胞外通量分析仪进行测定, 分析前需在特定的时间点处理细胞 [葡萄糖 (10 mmol/L), 然后是寡霉素 (1 $\mu\text{mol/L}$) 和2-DG (50 mmol/L)], 最后用SeaHorse XF软件测量ECAR值; 乳酸测定试剂盒用于检测细胞乳酸产量, 操作按说明书进行。

1.5 CCK-8法测生长曲线

MDA-MB-231细胞以1 000个/孔密度种于96孔板中, 待第2天细胞贴壁后, 加入10 μL CCK-8试剂, 于450 nm波长处检测吸光度 (D) 值, 连续检测5 d, 并绘制细胞增殖曲线。

1.6 Western blot实验

首先利用SDS-PAGE胶分离目的蛋白, 将其转移到PVDF膜上。经过5%脱脂牛奶封闭后, 于4 °C下与一抗温育过夜; 次日用含有吐温-20三乙醇胺缓冲盐溶液 (Tris-buffered saline Tween, TBST) 洗膜3次, 室温下与二抗温育2 h, 最后使用电化学发光液 (electrochemiluminescence, ECL) 对目的蛋白进行显影。

1.7 CHX及泛素化实验

TIPE-Myc及LDHA-Flag质粒转染HEK293T细胞, 24 h后加入100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的CHX, 并于0、1、2、4 h时收集蛋白, 采用Western blot检测LDHA-Flag蛋白降解速率。泛素化实验则为TIPE-Myc、Ub-HA及LDHA-Flag质粒转染HEK293T细胞, 48 h后收集蛋白, 用带Flag标签的磁珠富集LDHA蛋白, 蛋白变性后用HA抗体检测其泛素化水平。

1.8 裸鼠移植瘤实验

裸鼠移植瘤实验采用从河南斯克贝斯生物科技股份有限公司购得的7~8周龄（体重20 g左右）雌性BALB/c裸鼠进行。将小鼠总数随机分组后饲养于标准无病原体环境中。所有动物实验均经淄博市中心医院动物伦理委员会批准（伦理审批号：202212007）。敲低TIPE的MDA-MB-231细胞系接种裸鼠皮下，每只小鼠接种 10^6 个细胞，待肿瘤生长至0.5 cm时，每3 d检测1次肿瘤体积，15 d后处死小鼠，取出肿瘤组织称重。

1.9 免疫组织化学染色

取甲醛固定的小鼠肿瘤组织进行脱水、石蜡包埋、切片。切片经入水处理后，DAB染色法进行免疫组织化学染色，结果采用半定量评分标准对样本组织中的蛋白表达量进行评分，染色指数值（0~12）定义为染色强度与阳性区域得分的乘积。对染色强度评分如下：0分为无染色；1分为弱染色；2分为中等染色；3分为强染色。阳性区域定义如下：<5%染色为0分；5%~25%染色为1分；>26%~50%染色为2分；>50%~75%染色为3分；>75%染色为4分。

1.10 统计学处理

数据先经正态性检验符合正态分布且方差齐，非配对数据两两比较采用独立样本 t 检验，两组以上比较采用Kruskal-Wallis检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用Graphpad Prism 8.0.软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 TIPE促进TNBC细胞系MDA-MB-231糖酵解进程

我们利用TIPE敲低慢病毒转染TNBC细胞系MDA-MB-231后，进行转录组测序分析，发现TIPE可促进其糖酵解进程（图1A、B）。利用ECAR实验，发现TIPE可显著促进TNBC糖酵解

能力和糖酵解容量值（图1C~E），乳酸产量也显著增多（图1F）。以上结果表明TIPE促进了TNBC细胞系MDA-MB-231糖酵解能力。

2.2 TIPE与LDHA相互作用并促进其蛋白水平表达

为明确TIPE导致TNBC细胞系MDA-MB-231糖酵解能力提升机制，我们利用Co-IP/MS实验发现TIPE可与糖酵解关键酶LDHA相互作用（图2A），后续Co-IP实验也得到进一步的验证（图2B）。此外，TIPE可明显促进LDHA蛋白水平表达（图2C），但对其mRNA水平表达影响无统计学意义（图2D），表明TIPE可能是通过蛋白翻译后修饰促进了LDHA的表达。

2.3 TIPE通过泛素化方式抑制LDHA降解

为进一步明确TIPE调控LDHA表达深层分子机制，本研究进行了CHX实验，发现TIPE可显著抑制LDHA的蛋白降解速率（图3A）。基于泛素化机制是影响蛋白降解最主要因素，我们检测了TIPE对LDHA蛋白泛素化水平的影响。结果显示，TIPE可显著抑制LDHA的泛素化降解进程（图3B）。

2.4 TIPE以LDHA依赖方式促进TNBC增殖与糖酵解

采用CCK-8实验，我们发现TIPE可显著促进MDA-MB-231细胞增殖。敲低TIPE的同时过表达LDHA，可逆转敲低TIPE对MDA-MB-231增殖的抑制作用（图4A），表明TIPE介导LDHA促进了MDA-MB-231的增殖；另外，ECAR实验也表明过表达LDHA可逆转TIPE介导的MDA-MB-231糖酵解能力（图4B、C）。动物实验表明TIPE促进了MDA-MB-231细胞的体内增殖过程（图4D），免疫组织化学检测发现TIPE与LDHA表达也呈正相关（图4E）。以上结果进一步表明TIPE介导LDHA促进MDA-MB-231细胞增殖和糖酵解过程。

编者·作者·读者

《中国癌症杂志》开放获取声明

《中国癌症杂志》是一种采用单盲同行审评议、开放获取的期刊。本刊所有内容均以知识共享—署名—非商业性—禁止演绎4.0协议（CC BY-NC-ND 4.0）发布。所有使用者使用本刊发表的文章应以CC BY-NC-ND 4.0协议为前提。

按照CC BY-NC-ND 4.0协议的定义，所有文章以开放获取形式发表，发表后的文章可立即公开并可在《中国癌症杂志》网站（www.china-oncology.com）上免费获取，允许使用者阅读、下载、复制、打印等非商业用途使用，但禁止对作品进行改编、翻译等演绎。

《中国癌症杂志》编辑部

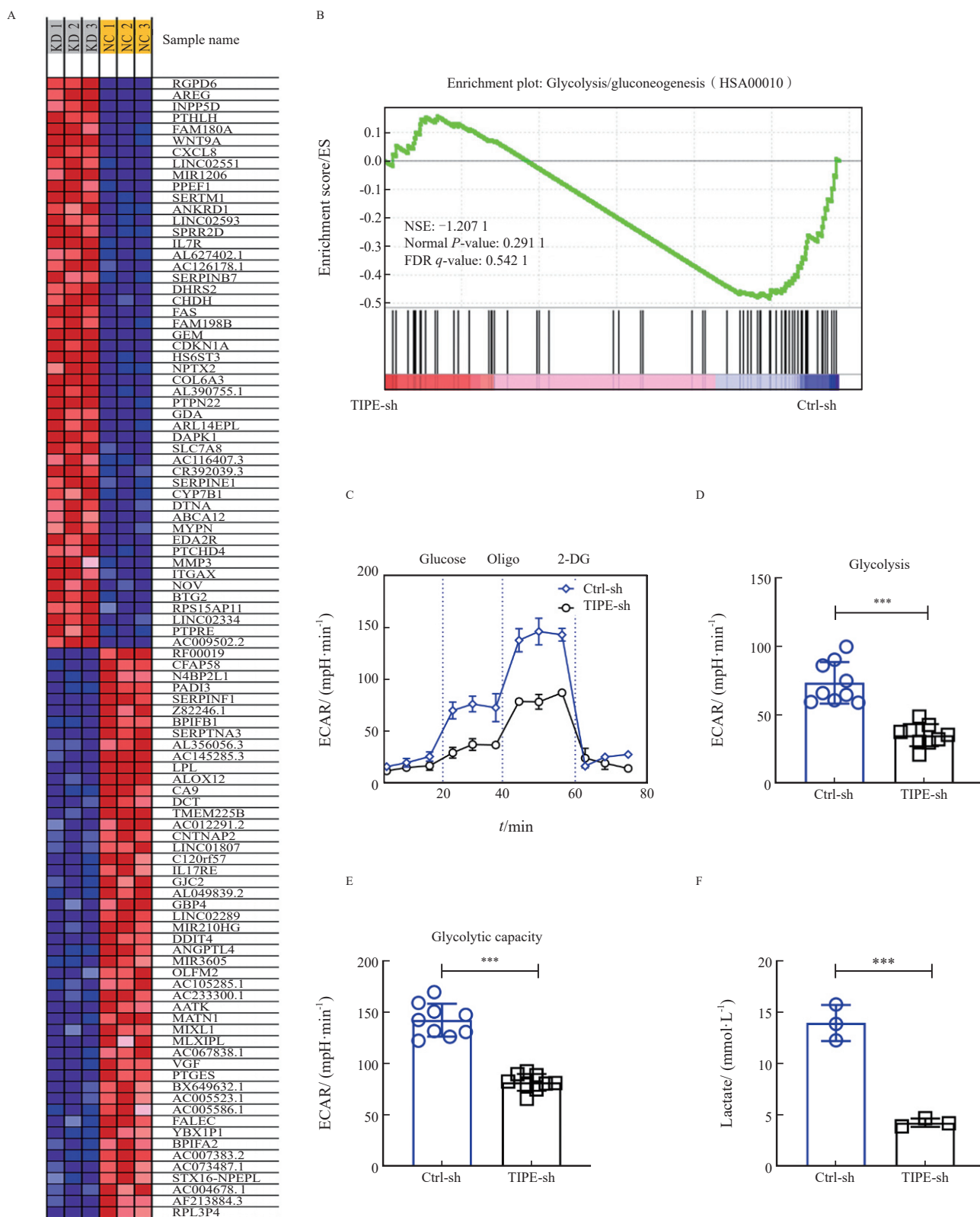


图1 TIPE促进TNBC糖酵解

Fig. 1 TIPE promotes glycolysis in TNBC

A: Heatmap of transcriptome sequencing after knocking down TIPE expression in MDA-MB-231 cells; B: GSEA showed enrichment of the glycolysis pathway in the Ctrl-sh group; C-E: ECAR result indicated that both glycolytic capacity (C-D) and glycolytic reserve (E) were significantly downregulated after TIPE knockdown; F: Lactate concentration was significantly reduced after TIPE knockdown. *** $P < 0.001$, assessed by unpaired t -tests.

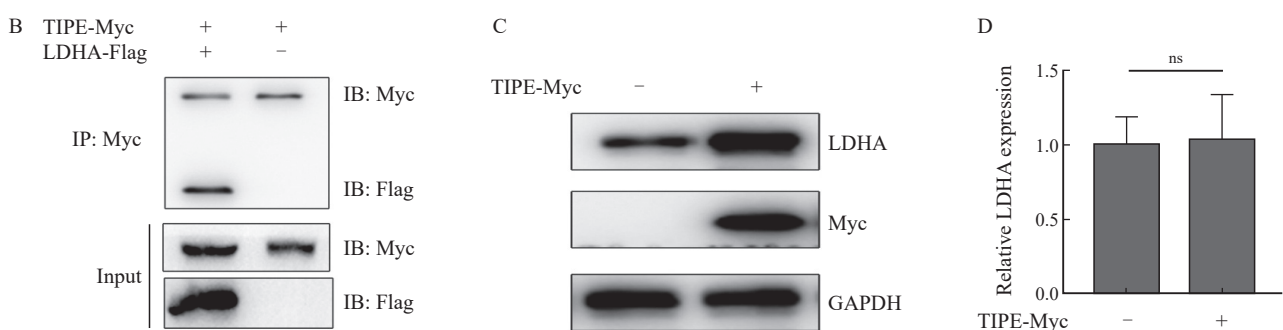
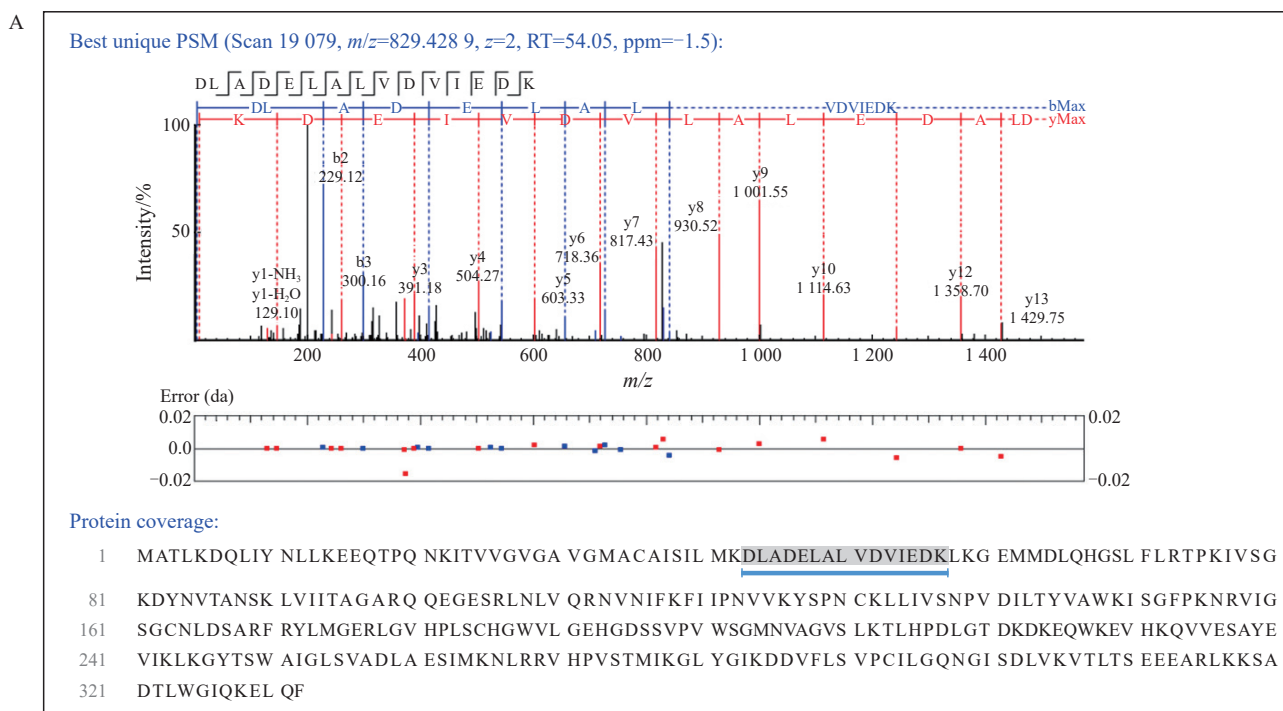


图2 TIPE与LDHA相互作用并促进其蛋白水平表达

Fig. 2 TIPE interacted with LDHA and promoted its protein expression

A: Co-IP/MS results suggested an interaction between TIPE and LDHA; B: Co-IP results confirmed the interaction between TIPE and LDHA; C-D: After overexpressing TIPE, the protein level of LDHA was significantly upregulated in TNBC cells (C), but there was no statistically significant change in mRNA level (D). ns: Not statistically significant, assessed by unpaired *t*-tests.

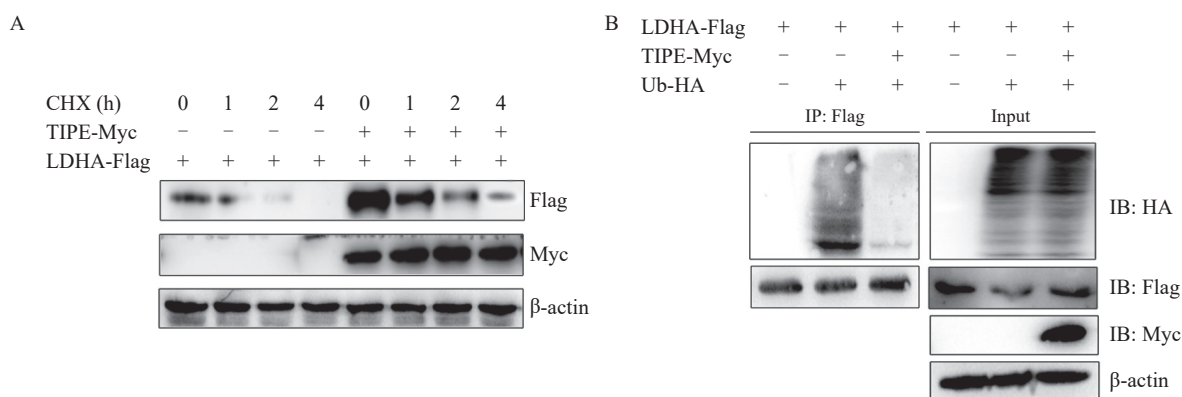


图3 TIPE抑制LDHA泛素化水平降解

Fig. 3 TIPE inhibited ubiquitination-mediated degradation of LDHA

A: CHX experiment showed that overexpressing TIPE can inhibit the degradation rate of LDHA protein; B: Ubiquitination experiment indicated that TIPE could significantly inhibit ubiquitination-mediated degradation of LDHA protein.

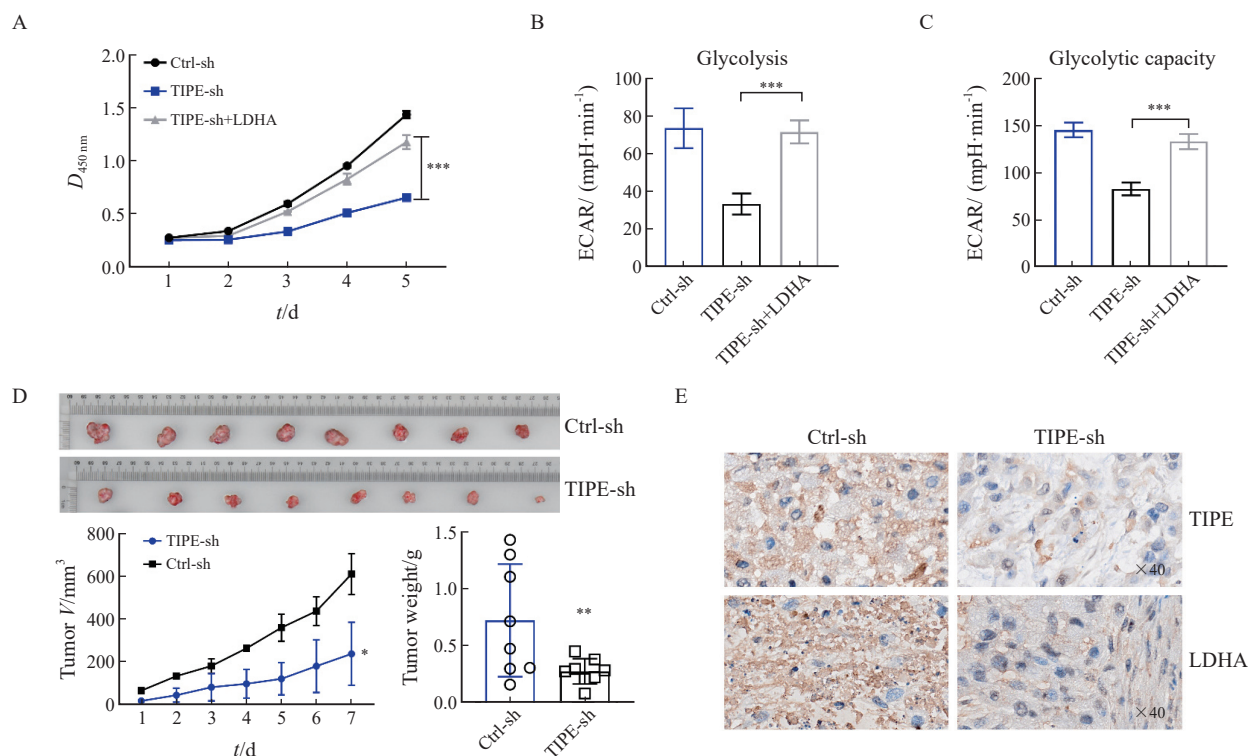


图4 TIPE以LDHA依赖方式促进TNBC增殖与糖酵解

Fig. 4 TIPE promoted TNBC proliferation and glycolysis in an LDHA-dependent manner

A: CCK-8 results suggested that overexpressing LDHA could reverse TIPE-mediated proliferation of MDA-MB-231 cells; B-C: ECAR experiments indicated that overexpressing LDHA can reverse TIPE-mediated glycolytic capacity and glycolytic reserve of MDA-MB-231 cells; D: Nude mouse tumorigenesis experiments showed that knocking down TIPE significantly reduced tumor volume and weight; E: Immunohistochemical findings revealed that LDHA expression was also significantly downregulated in the TIPE knockdown group. *: $P < 0.05$, compared with each other; **: $P < 0.01$, compared with each other; ***: $P < 0.001$, compared with each other; Data were assessed by unpaired t -tests and Kruskal-Wallis tests.

3 讨 论

乳腺癌发病率位列女性恶性肿瘤之首。据文献^[5]报道,中国乳腺癌发病率的增速是全球平均增速的2倍。TNBC是一种ER、PR及HER2均阴性的乳腺癌病理学类型,发病率虽然只占乳腺癌的15%,但其死亡率较高,因此是患者预后较差的一类病理学类型^[6]。一般而言,乳腺癌的主要治疗手段主要包括手术、化疗、内分泌治疗以及分子靶向治疗。由于TNBC缺乏3种受体的表达,导致内分泌治疗和分子靶向治疗效果欠佳,且治疗手段比较单一,主要依靠化疗^[7]。研究^[8]发现,由于TNBC的代谢异质性,开发针对肿瘤代谢特征的个性化治疗可能是TNBC治疗的关键所在。

基于此前的研究报道,即TIPE通过促进黑色素瘤细胞肿瘤干性进而促进其糖酵解水平^[4]。我们利用基因敲低技术对TNBC细胞系MDA-MB-231中TIPE表达进行敲低,结果发现TIPE可显著促进其糖酵解进程。能量代谢的重编程是恶性肿瘤标志之一。即使在有氧情况下,肿瘤细胞也表现出糖酵解作用而非氧化磷酸化作用,这种

现象被称为有氧糖酵解,也称Warburg效应^[9]。不同于其他乳腺癌亚型,TNBC表现出较高的代谢重编程作用、较强的攻击性和缺乏靶向治疗药物等特点,提示针对其代谢靶点的治疗策略可能是具有广阔前景的治疗手段^[10]。后续研究^[11]发现,TIPE可能通过介导LDHA表达促进了糖酵解过程。研究发现^[11]LDHA通过催化丙酮酸转化为乳酸,同时从NADH再生NAD⁺,参与有氧糖酵解关键步骤。因此,调控其表达水平可影响TNBC的糖酵解进程。

乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)是一类NAD依赖性激酶,有LDHA、LDHB、LDHC共3种亚基,可构成6种四聚体同工酶。本研究中,我们发现TIPE可与LDHA相互作用并明显促进其蛋白水平表达。进一步研究发现,TIPE主要通过泛素化机制正向调控了LDHA的蛋白表达水平。研究^[12]表明,调控LDHA的表达可发生在多种层面,例如热休克因子1(heat shock transcription factor 1, HSF1)可作为转录因子调控LDH转录激活, ErbB2则可使LDH基因启动子区HSF1富集,提高LDH表达水平;在胰腺癌中叉头框蛋白M1(forkhead box M1, FOXM1)与

LDH基因启动子结合并促进其在胰腺癌中的转录水平^[13]。特定氨基酸的磷酸化和乙酰化可显著增加LDHA的酶活性，并参与肿瘤进展。在乳腺癌中，LDHA蛋白Y10磷酸化可引发LDHA表达升高，促进癌细胞侵袭^[14]。胰腺癌中LDHA乙酰化水平降低，也可激活LDHA的酶活性，进而抑制LDHA蛋白水平的降解^[15]。另外，以泛素化机制调控LDHA表达也是调控其表达的重要方式^[16]。然而TIPE家族通过泛素化机制调控糖酵解关键酶尚无相关研究。本研究中，我们发现TIPE可能通过泛素化机制调控了LDHA的表达，但深层的分子机制还需要进一步探讨。

虽然本研究深入阐述了TIPE介导LDHA影响TNBC代谢重编程过程，但临床转化之路任重而道远。总之，我们发现TIPE介导LDHA泛素化显著促进MDA-MB-231细胞增殖和糖酵解能力，为发现TNBC的代谢治疗新型靶点提供了理论与实践基础。

第一作者：

胡玮（ORCID：0009-0003-6716-4907），博士研究生，副主任医师，E-mail: realhuwei@126.com

通信作者：

曹凯（ORCID：0009-0006-1514-1246），硕士研究生，副主任药师，E-mail: wwwcaokai@126.com

作者贡献声明：

胡玮：实施研究过程、论文写作；任晓朦：细胞实验、动物实验；王洋：动物实验、分子机制研究；赵培庆：研究设计、研究方案可行性分析；曹凯：研究设计、研究方案可行性分析、论文写作指导。

[参 考 文 献]

- [1] YANG M H, ZHANG Y Z, LIU G P, et al. TIPE1 inhibits osteosarcoma tumorigenesis and progression by regulating PRMT1 mediated STAT3 arginine methylation [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(9): 815.
- [2] HU W, FENG C M, LIU L Y, et al. TIPE1 inhibits breast cancer proliferation by downregulating ERK phosphorylation and predicts a favorable prognosis [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 400.
- [3] LOU Y W, TIAN X Q, SUN C, et al. TNFAIP8 protein functions

as a tumor suppressor in inflammation-associated colorectal tumorigenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4): 311.

- [4] TIAN M J, YANG L, ZHAO Z Q, et al. TIPE drives a cancer stem-like phenotype by promoting glycolysis via PKM2/HIF-1 α axis in melanoma [J]. *eLife*, 2024, 13: RP92741.
- [5] HAN B, ZHENG R, ZENG H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. *J Natl Cancer Cent*, 2024, 4(1): 47-53.
- [6] MA L F, XU L L, YUAN L J, et al. Discovery of NO donor-aurovertin hybrids as dual ferroptosis and apoptosis inducers for treating triple-negative breast cancer [J]. *J Med Chem*, 2024, 67(15): 13089-13105.
- [7] SUN X H, VERMA S P, JIA G C, et al. Case-case genome-wide analyses identify subtype-informative variants that confer risk for breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2024, 84(15): 2533-2548.
- [8] YANG F, XIAO Y, DING J H, et al. Ferroptosis heterogeneity in triple-negative breast cancer reveals an innovative immunotherapy combination strategy [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(1): 84-100.e8.
- [9] FENDT S M. 100 years of the Warburg effect: a cancer metabolism endeavor [J]. *Cell*, 2024, 187(15): 3824-3828.
- [10] DU Y, WEI N, MA R L, et al. A miR-210-3p regulon that controls the Warburg effect by modulating HIF-1 α and p53 activity in triple-negative breast cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9): 731.
- [11] YU Y H, DENG H F, WANG W W, et al. LRPPRC promotes glycolysis by stabilising LDHA mRNA and its knockdown plus glutamine inhibitor induces synthetic lethality via m6A modification in triple-negative breast cancer [J]. *Clin Transl Med*, 2024, 14(2): e1583.
- [12] HE L, LV S N, MA X J, et al. ErbB2 promotes breast cancer metastatic potential via HSF1/LDHA axis-mediated glycolysis [J]. *Med Oncol*, 2022, 39(4): 45.
- [13] CUI J J, SHI M, XIE D C, et al. FOXM1 promotes the Warburg effect and pancreatic cancer progression via transactivation of LDHA expression [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(10): 2595-2606.
- [14] DAI H J, XU W T, WANG L L, et al. Loss of SPRY2 contributes to cancer-associated fibroblasts activation and promotes breast cancer development [J]. *Breast Cancer Res*, 2023, 25(1): 90.
- [15] AN Y J, JO S, KIM J M, et al. Lactate as a major epigenetic carbon source for histone acetylation via nuclear LDH metabolism [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(10): 2238-2247.
- [16] LIU S G, XIANG Y N, WANG B S, et al. USP1 promotes the aerobic glycolysis and progression of T-cell acute lymphoblastic leukemia via PLK1/LDHA axis [J]. *Blood Adv*, 2023, 7(13): 3099-3112.

（收稿日期：2024-12-12 修回日期：2025-01-14）

（责任编辑：王琳辉）