

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.08.005

· 基础研究 ·

烯醇化酶 1 过表达促进肺癌 PC14 细胞的增殖和迁移

丁聪聪, 郜赵伟, 左佳蕙, 刘冲, 董轲, 张惠中(空军军医大学 第二附属医院 检验科, 陕西 西安 710038)

[摘要] **目的:**探讨烯醇化酶 1(enolase 1, ENO1)表达水平对肺癌 PC14 细胞增殖、凋亡及迁移能力的影响。**方法:**构建 ENO1 过表达载体-pcDNA3.1/ENO1,利用脂质体 Lipofectamine™ 2000 转染对数生长期肺癌细胞 PC14, G418 筛选 ENO1 稳转细胞株。用 CCK-8 法、划痕愈合实验和流式细胞术分别检测过表达 ENO1 对 PC14 细胞增殖、迁移和凋亡的影响。**结果:**成功构建了 ENO1 过表达细胞模型,与 PC14-vehicle 和野生型 PC14 细胞相比,PC14-ENO1 细胞中 ENO1 mRNA 及蛋白表达水平均显著升高(均 $P < 0.05$)。PC14-ENO1 细胞增殖能力显著高于 PC14-vehicle 和 PC14 细胞,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);PC14-ENO1 细胞的相对迁移率明显高于 pcDNA3.1-vehicle 细胞的相对迁移率[(13.26±1.13)% vs (8.46±1.11)%、(7.86±1.00)%],均 $P < 0.05$],PC14-ENO1、PC14-vehicle 和 PC14 细胞的凋亡率差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。**结论:**ENO1 过表达促进肺癌 PC14 细胞的增殖和迁移能力。

[关键词] 肺癌;PC14 细胞;ENO1;增殖;迁移;凋亡

[中图分类号] R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)08-0856-06

Enolase 1 over-expression promotes proliferation and migration of lung cancer PC14 cells

DING Congcong, GAO Zhaowei, ZUO Jiahui, LIU Chong, DONG Ke, ZHANG Huizhong (Department of Clinical Laboratories, The Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, 710038, Shanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of enolase 1 (ENO1) expression on proliferation, apoptosis and migration of lung cancer PC14 cells. **Methods:** ENO1 over-expression vector-pcDNA3.1/ENO1 was constructed and transfected into PC14 cells at logarithmic growth phase with liposome Lipofectamine™ 2000. G418 was used to screen PC14 cells that stably expressing ENO1. The effects of ENO1 over-expression on proliferation, migration and apoptosis of PC14 cells were detected by CCK-8 method, scratch-healing assay and flow cytometry, respectively. **Results:** The ENO1 over-expression cell model was successfully constructed. Compared with PC14-vehicle and wild-type PC14 cells, the mRNA and protein expression levels of ENO1 in PC14-ENO1 cells were significantly elevated (all $P < 0.05$), and the proliferation of PC14-ENO1 cells was significantly increased (all $P < 0.05$). The relative mobility of PC14-ENO1 cells was significantly higher than that of pcDNA3.1-vehicle cells and wild-type PC14 cells [(13.26±1.13)% vs [8.46±1.11]%, [7.86±1.00]%, both $P < 0.05$). There was no significant difference in apoptotic rate among PC14-ENO1, PC14-vehicle and PC14 cells (all $P > 0.05$). **Conclusion:** Over-expression of ENO1 promotes proliferation and migration of lung cancer PC14 cells.

[Key words] lung cancer; PC14 cell; ENO1; proliferation; migration; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(8):856-861. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.08.005]

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,近年来全球肺癌的发病率和死亡率均呈上升态势^[1]。肺癌的发生与多种因素相关,包括遗传因素、抽烟、空气污染等,然而其中的分子机制尚未阐明,研究肺癌发生发展的分子机制对于肺癌的早期诊断及临床治疗具有重要意义。近年来研究^[2]显示,能量代谢异常是肿瘤细胞的重要特征,并且对肿瘤的发生发展具有重要作用。烯醇化酶 1(enolase 1, ENO1)属于烯醇化酶家族,基因定位于 1 号染色体,表达蛋白的相对分子质量为 48 000,以二聚体形式存在于细胞膜^[3-4]和细胞质中^[5]。作为糖酵解途径中重要的限速酶,ENO1 在糖

酵解过程中催化 2-磷酸甘油酸形成磷酸烯醇丙酮酸,并产生 ATP。目前有大量研究^[5-6]显示,ENO1 对细胞能量代谢具有重要调控作用,同时 ENO1 还参与细胞

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81772485)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81772485)

[作者简介] 丁聪聪(1994-),女,硕士生,主要从事恶性肿瘤生物治疗及疫苗研发方面的研究,E-mail:fmmdcc@163.com

[通信作者] 张惠中(ZHANG Huizhong, corresponding author),博士,博士生导师,教授,主要从事恶性肿瘤生物治疗及疫苗研发方面的研究,E-mail:huizz328@163.com

内多种生理过程,如生长调控、缺氧耐受、自身免疫调节等。然而目前学术界仍未就ENO1与肿瘤发生、发展的关系达成共识,其具体机制有待进一步阐明。本研究以肺癌细胞系PC14为研究对象,构建ENO1过表达细胞模型,通过细胞生物学行为实验探究ENO1对PC14细胞增殖、凋亡及迁移能力的影响,明确ENO1与肿瘤恶性表型的关系,为进一步研究其具体分子机制奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株和主要实验材料

人肺癌细胞株PC14为本实验室保存。DMEM培养液为美国Gibco公司产品,新生牛血清为浙江天杭四季青公司产品,pcDNATM3.1载体、脂质体LipofectamineTM2000试剂盒为Invitrogen公司产品,TRIzol试剂、反转录试剂盒、工具酶(LA Taq DNA聚合酶、T4DNA连接酶、HindIII和BamH I酶)等为TaKaRa公司产品,BCA蛋白定量试剂盒为北京鼎国昌盛公司产品,SDS-PAGE凝胶试剂、RIPA裂解液为碧云天生物技术有限公司产品,CCK-8细胞增殖检测试剂盒为江苏凯基生物公司产品,鼠抗人ENO1单克隆抗体为Abcam公司产品,鼠抗人GAPDH单克隆抗体为上海生物工程技术服务公司产品,山羊抗鼠IgG为北京中杉金桥公司产品,引物由西安擎科泽西生物技术有限公司合成,Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒为美国BD公司产品。

1.2 细胞培养

使用DMEM培养基(含10%新生牛血清)于细胞培养箱中,37℃、5%CO₂培养,根据细胞生长情况,每2d左右进行1次换液。

1.3 ENO1克隆及表达载体构建

设计ENO1克隆引物,委托西安擎科公司合成。引物序列上游5'-aagcttGCCACCATGTCTATTCTCAAGATCCATG-3',下游5'-ggatccTACTTGGCCAAGGGTTTCTG-3'。提取PC14细胞总RNA,利用反转录试剂盒将mRNA反转录为cDNA,经PCR扩增获得ENO1片段,然后利用HindIII和BamH I酶双酶切将扩增片段连接至pcDNA3.1表达载体,转化大肠杆菌JM109感受态,筛选阳性克隆,测序鉴定,鉴定正确的质粒命名为pcDNA3.1/ENO1。

1.4 细胞转染及筛选

按照 2×10^5 个/孔的细胞密度接种于6孔板,每组设3个复孔,当细胞覆盖培养孔80%左右时,按照LipofectamineTM2000脂质体操作手册将pcDNA3.1/ENO1表达载体或pcDNA3.1载体转染细胞,每孔脂质体8μl、质粒4μg(opti-MEM稀释)。继续

培养6h后更换为DMEM完全培养基。加入终质量浓度为0.8mg/ml的G418筛选稳定转染细胞株,隔2~3d换1次筛选培养基。

1.5 RT-PCR检测ENO1 mRNA表达水平

培养pcDNA3.1/ENO1转染细胞、pcDNA3.1转染细胞及野生型PC14细胞,收集细胞,提取细胞总RNA,将其反转录为cDNA,RT-PCR检测ENO1 mRNA表达水平,以GAPDH为内参,比较3种细胞株ENO1的mRNA相对表达水平。ENO1引物:上游为5'-AGCAAGAACTGAACGTCAC-3',下游为5'-CTCCAGGCCTTCTTTATTCTC-3';GAPDH引物:上游为5'-GGTGGTCTCCTCTGACTTCAACAG-3',下游为5'-GTTGCTGTAGCCAAATTCGTTGT-3'。

1.6 WB检测ENO1蛋白表达水平

培养并收集pcDNA3.1/ENO1转染细胞、pcDNA3.1转染细胞及野生型PC14细胞,RIPA裂解液(含1%PMSF)提取细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度。取等量蛋白样品(40μg)进行SDS-PAGE,转PVDF膜,5%脱脂奶粉室温封闭2h,加入一抗,4℃孵育过夜。一抗孵育结束后,TBST洗涤(洗3次,每次10min)。然后用HRP标记的山羊抗鼠IgG(1:5000)二抗室温孵育2h,TBST充分洗涤(洗3次,每次10min),显影。实验重复3次。

1.7 CCK-8法检测PC14细胞增殖能力

将pcDNA3.1/ENO1转染细胞、pcDNA3.1转染细胞及野生型PC14细胞胰酶消化后接种于96孔培养板(2×10^3 个细胞/孔)中,每孔加入100μl培养基,每组设7个复孔,继续培养,分别在24、48、72和96h利用CCK-8法检测细胞增殖能力。

1.8 划痕愈合实验检测PC14细胞迁移能力

将pcDNA3.1/ENO1转染细胞、pcDNA3.1转染细胞及野生型PC14细胞接种至6孔板中(5×10^5 个细胞/孔)。待细胞贴壁且达到80%时,换无血清培养基培养过夜,在每个孔底平行划3条线性划痕,D-Hank's液洗涤3次,加入无血清培养基。显微镜下成像,并测量划痕宽度。培养48h后再次拍照记录划痕宽度,计算相对迁移率=(0h划痕距离-48h划痕距离)/0h划痕距离 $\times 100\%$ 。

1.9 流式细胞术PC14细胞凋亡情况

培养pcDNA3.1/ENO1转染细胞、pcDNA3.1转染细胞及野生型PC14细胞,胰酶消化收集细胞(1×10^5 个细胞),PBS洗涤2次,弃上清,利用Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒处理细胞:100μl结合缓冲液悬浮细胞,加入5μl Annexin V-FITC和5μl PI,混匀,室温避光孵育15min,加入400μl的结合缓冲液(在1h内进行流式细胞术检测)。用CELL

Quest 软件对结果散点图进行分析。

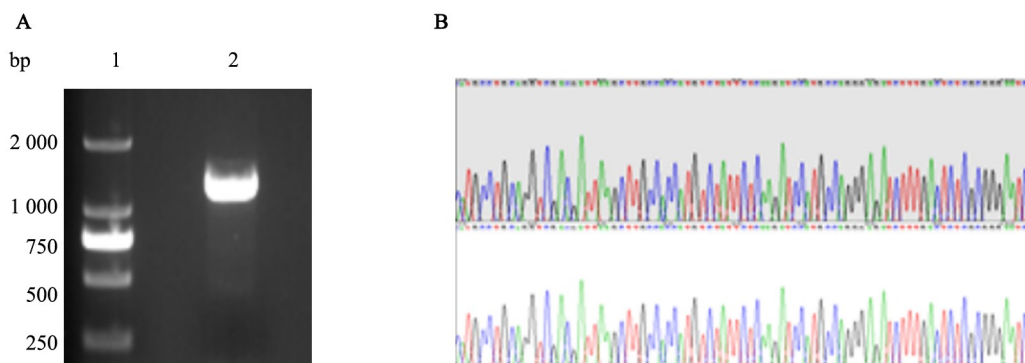
1.10 统计学处理

采用 SPSS22.0 统计学软件, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验和近似 *t* 检验; 多组间的均数比较采用单因素方差分析, 组内的两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建 pcDNA3.1/ENO1 过表达载体

以 PC14 细胞 cDNA 为模板克隆了 ENO1 基因编码区片段, 得到约 1 300 bp 的条带(图 1A), 与目的片段大小相符。经酶切、连接操作后将其连接至 pcDNA3.1 表达载体, 交由西安擎科公司进行测序鉴定, 测序结果显示正确(图 1B), 说明已成功构建了 pcDNA3.1/ENO1 过表达载体。



A: Agarose gel electrophoresis of RT-PCR product of ENO1 gene. B: Sequencing result of pcDNA3.1/ENO1
1: DL2000 DNA marker; 2: The RT-PCR products of human ENO1 gene

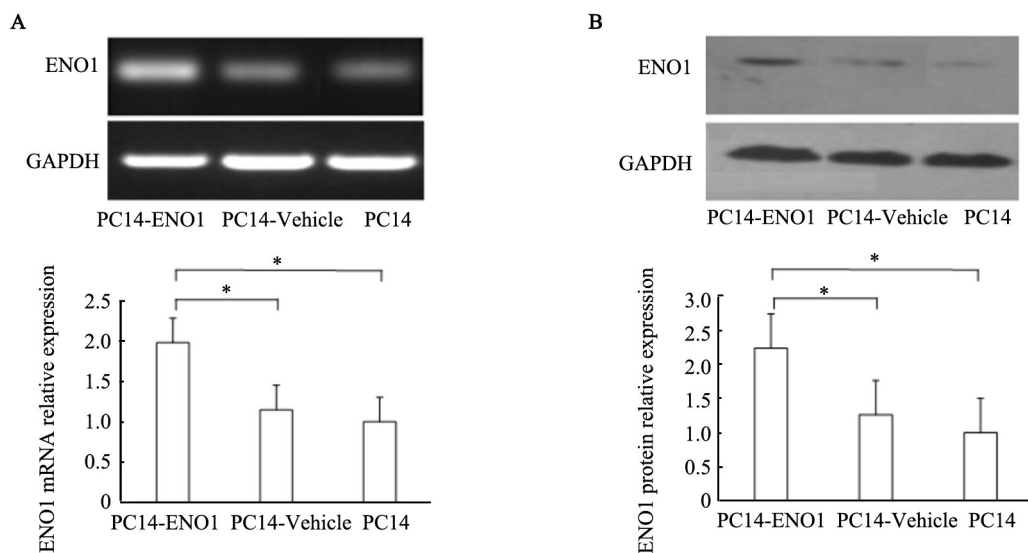
图1 pcDNA3.1/ENO1 过表达载体构建

Fig. 1 Construction of pcDNA3.1/ENO1 over-expression vector

2.2 ENO1 过表达肺癌 PC14 细胞模型鉴定

利用脂质体转染方法分别将 pcDNA3.1/ENO1 和 pcDNA3.1 空载体转染至 PC14 细胞, 经 G418 筛选后得到稳定转染细胞株, 分别命名为 PC14-ENO1 和 PC14-vehicle。利用 RT-PCR 和 WB 分别检测 PC14-

ENO1、PC14-vehicle 和野生型 PC14 细胞中 ENO1 的 mRNA 和蛋白表达水平, 结果(图 2)显示, 与 PC14-vehicle 和野生型 PC14 细胞相比, PC14-ENO1 细胞中 ENO1 mRNA 及蛋白表达水平均显著升高(均 $P < 0.05$)。



* $P < 0.05$

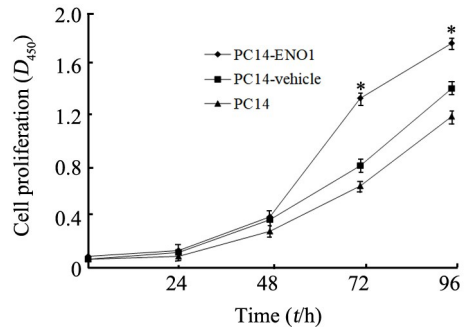
A: Identification of the mRNA expression level by RT-PCR; B: Identification of the protein expression level by WB

图2 转染 pcDNA3.1/ENO1 的 PC14 细胞中 ENO1 表达水平

Fig. 2 Expression level of ENO1 in PC14 cells transfected with pcDNA3.1/ENO1

2.3 ENO1过表达提高PC14细胞的增殖能力

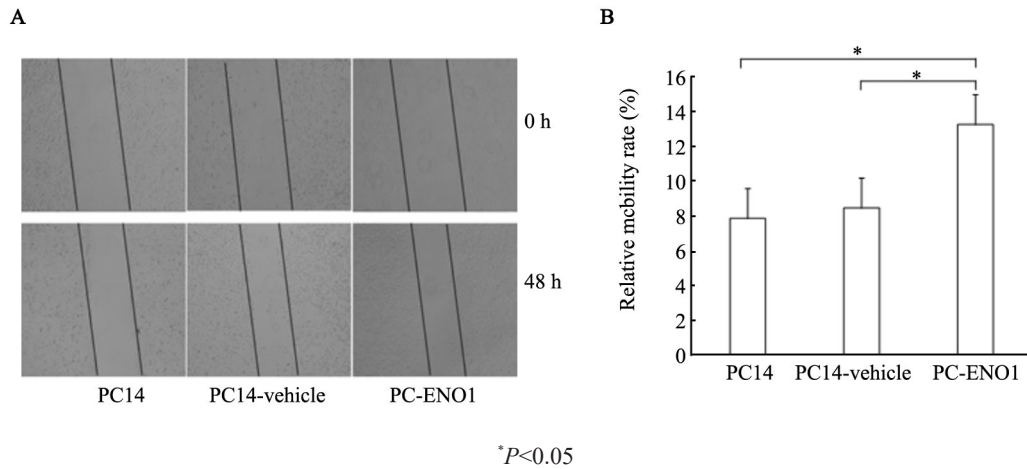
CCK-8法检测结果显示(图3),PC14-ENO1细胞增殖能力显著高于PC14-vehicle和PC14细胞,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);而PC14-vehicle与PC14细胞增殖能力无显著差异($t=2.672, P > 0.05$)。上述结果表明,ENO1过表达对PC14细胞增殖具有促进作用。



* $P < 0.05$ vs PC14 or PC14-vehicle
 图3 ENO1过表达对PC14细胞增殖的影响
 Fig. 3 Effects of ENO1 over-expression on proliferation of PC14 cells

2.4 ENO1过表达提高PC14细胞的迁移能力

划痕愈合实验(图4)显示,PC14-ENO1细胞的迁移率明显高于pcDNA3.1-vehicle细胞的迁移率[(13.26±1.13)% vs (8.46±1.11)%、(7.86±1.00)%],均 $P < 0.05$;PC14-vehicle和PC14细胞的迁移率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。上述结果表明,ENO1过表达对PC14细胞的迁移能力具有促进作用。



* $P < 0.05$
 图4 ENO1过表达对PC14细胞迁移能力的影响(×100)
 Fig. 4 Effects of ENO1 over-expression on migration of PC14 cells(×100)

2.5 ENO1过表达对PC14细胞凋亡无明显影响

流式细胞术检测结果(图5)显示,PC14-ENO1、PC14-vehicle和PC14细胞的凋亡率无显著差异

[(5.14±0.15)% vs (5.85±0.30)%、(6.55±0.24)%],均 $P > 0.05$ 。上述结果表明ENO1过表达对PC14细胞凋亡无明显影响。

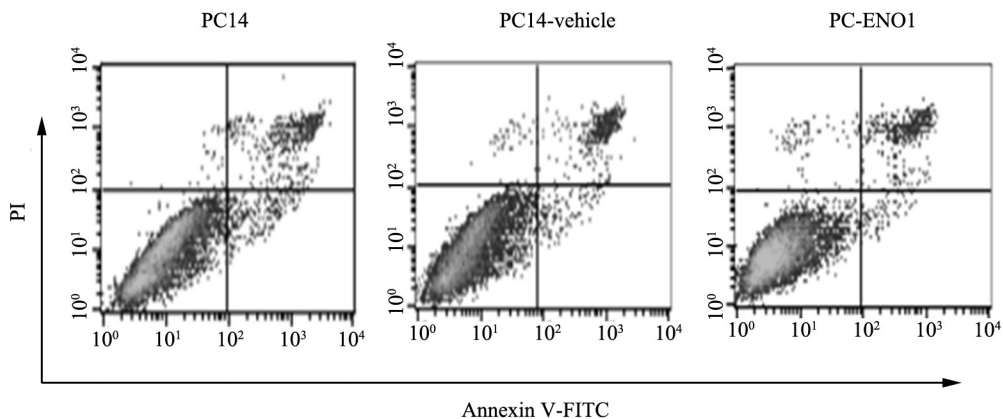


图5 ENO1过表达对PC14细胞凋亡水平的影响
 Fig. 5 Effects of ENO1 over-expression on apoptosis of PC14 cells

3 讨论

细胞能量代谢异常是恶性肿瘤的重要特征之一。在肿瘤形成和发展期间,增加葡萄糖代谢对于肿瘤细胞的不受控增殖是必需的^[7]。有关于肿瘤代谢的学说中,德国生物化学家 Warburg 提出的“Warburg 效应”尤为重要。该效应是指肿瘤细胞通过糖的无氧酵解来获取能量,即便是在氧气充足的情况下,肿瘤细胞也倾向于利用这种产能率相对较低的供能方式。整个过程产生大量乳酸以及许多肿瘤细胞生物合成所需要的前体分子,继而为肿瘤的快速生长提供蛋白质、脂肪及核酸等大分子物质,从而促进肿瘤细胞恶性增殖。

作为糖酵解途径中重要的限速酶,ENO1 在肿瘤异常代谢中发挥至关重要的作用^[8-9]。CAPELLO 等^[10]提供了全面的蛋白组学、生物化学及功能学数据,证实 ENO1 是调控肿瘤代谢,促进肿瘤 Warburg 效应的主要调节分子。大量研究^[11-12]显示,ENO1 在多种类型的肿瘤细胞中高表达,且 ENO1 的过表达与肿瘤细胞代谢、增殖、转移、侵袭及耐药等恶性表型具有密切关系;ENO1 是在多种肿瘤中具有诊断及预后判断价值的生物标志物之一^[13-15]。ZHAO 等^[16]研究发现,在子宫内癌膜细胞系中沉默 ENO1 后,PI3K/AKT 信号通路失活,导致糖酵解减弱,抑制肿瘤细胞增殖及其上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的改变。ZHAN 等^[17]研究发现,在结直肠癌 HCT116 细胞系中过表达 ENO1,可以显著提升 HCT116 细胞的增殖、迁移及侵袭能力,并且促进小鼠模型体内的肿瘤生长和转移。同样,SONG 等^[12]通过实验发现,在胶质瘤 U87 和 U251 细胞中,沉默 ENO1 可以抑制 PI3K 和 AKT 磷酸化,进而抑制 PI3K/AKT 信号通路活性,同时下调细胞增殖相关分子的表达,如 Cyclin D1、Cyclin E1、pRb 及 NF- κ B 等。相应地,ENO1 过表达可促进胶质瘤细胞 U87 和 U251 的增殖、迁移和侵袭。上述研究均提示,ENO1 是与恶性肿瘤发生发展密切相关的癌基因,并在其中发挥了关键作用。

本文利用 ENO1 过表达载体(pcDNA3.1/ENO1)构建了 ENO1 过表达的肺癌细胞模型,研究结果显示,ENO1 过表达对肺癌 PC14 细胞的增殖和迁移具有显著的促进作用,与 ENO1 在神经胶质瘤^[12]、结直肠癌^[17]和胃癌^[18]中的研究结果一致。该结果为进一步研究 ENO1 在恶性肿瘤发生、发展中的具体分子机制提供了研究方向,并对开发针对 ENO1 靶点的肺癌免疫治疗奠定了初步实验与理论基础。

此外,之前的部分研究报道,ENO1 对肿瘤细胞

凋亡具有调控作用。有研究^[19]显示,利用 shRNA 干扰载体下调 ENO1 表达水平后,观察到胃癌细胞 MKN45 的凋亡率明显增加,ENO1 沉默促进了胃癌细胞 MKN45 的凋亡。与之相反,EJESKAR 等^[20]在成神经细胞瘤中过表达 ENO1,结果发现,ENO1 过表达对成神经细胞瘤细胞凋亡具有诱导作用,提示 ENO1 具有抑癌基因作用。而本实验结果显示,ENO1 过表达对肺癌 PC14 细胞的凋亡水平无明显影响,表明 ENO1 在不同类型肿瘤细胞中的作用并非一致,可能存在肿瘤特异性,因此针对 ENO1 在其他更多类型肿瘤中的作用尚需更广泛的研究。

综上所述,ENO1 作为一个糖酵解过程中的重要分子,其过表达能够提升肺癌细胞 PC14 的增殖活力和迁移能力,对其凋亡无直接影响,此研究为后续 ENO1 在肺癌诊断和临床治疗中的应用研究提供了实验依据。但 ENO1 如何调控肺癌的发生发展及侵袭转移的分子机制尚不明确,需要通过实验进一步探讨。

[参考文献]

- [1] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90. DOI:10.3322/caac.20107.
- [2] HEIDEN MG. Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10: 671-684. DOI:10.1038/nrd3504.
- [3] PRINCIPE M, CERUTI P, SHIH N Y, et al. Targeting of surface alpha-enolase inhibits the invasiveness of pancreatic cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13): 11098-11113. DOI: 10.18632/oncotarget.3572.
- [4] HSIAO K C, SHIH N Y, FANG H L, et al. Surface alpha-enolase promotes extracellular matrix degradation and tumormetastasis and represents a new therapeutic target[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69354 [2019-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23894455>. DOI:10.1371/journal.pone.0069354.
- [5] WHITE-AI H N, DI MEO A, SCORILAS A, et al. Alpha-enolase is a potential prognostic marker in clear cell renal cellcarcinoma[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2015, 32(6): 531-541. DOI: 10.1007/s10585-015-9725-2.
- [6] GUILLOU C, FRÉRET M, FONDARD E, et al. Soluble alpha-enolase activates monocytes by CD14-dependent TLR4 signaling pathway and exhibits a dual function [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23796 [2019-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27025255>. DOI:10.1038/srep23796.
- [7] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [8] CAPPELLO P, PRINCIPE M, BULFAMANTE S, et al. Alpha-Enolase (ENO1), a potential target in novel Immunotherapies[J/OL]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2017, 22: 944-959[2019-05-12]. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1533033818784411>. DOI: 10.1177/1533033818784411.

- [9] FU Q F, LIU Y, FAN Y, et al. Alpha-enolase promotes cell glycolysis, growth, migration, and invasion in non-small cell lung cancer through FAK-mediated PI3K/AKT pathway[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8: 22 [2019-05-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25887760>. DOI:10.1186/s13045-015-0117-5.
- [10] CAPELLO M, FERRI-BORGOGNO S, RIGANTI C, et al. Targeting the Warburg effect in cancer cells through ENO1 knockdown rescues oxidative phosphorylation and induces growth arrest[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 5598-5612. DOI:10.18632/oncotarget.6798.
- [11] CHANG G C, LIU K J, HSIEH C L, et al. Identification of alpha-enolase as an autoantigen in lung cancer: its overexpression is associated with clinical outcomes[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(19): 5746-5754. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-06-0324.
- [12] SONG Y, LUO Q, LONG H, et al. Alpha-enolase as a potential cancer prognostic marker promotes cell growth, migration, and invasion in glioma[J/OL]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 65 [2019-03-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24650096>. DOI: 10.1186/1476-4598-13-65.
- [13] YU L, SHEN J, MANNOOR K, et al. Identification of ENO1 as a potential sputum biomarker for early-stage lung cancer by shotgun proteomics[J]. *Clin Lung Cancer*, 2014, 15(5): 372-378. DOI: 10.1016/j.clc.2014.05.003.
- [14] DAI L, QU Y, LI J, et al. Serological proteome analysis approach-based identification of ENO1 as a tumor-associated antigen and its autoantibody could enhance the sensitivity of CEA and CYFRA 21-1 in the detection of non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22): 36664-36673. DOI:10.18632/oncotarget.17067.
- [15] ZHU W, LI H, YU Y, et al. Enolase-1 serves as a biomarker of diagnosis and prognosis in hepatocellular carcinoma patients [J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 5735-5745 [2019-03-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30532594>. DOI: 10.2147/CMAR.S182183.
- [16] ZHAO M, FANG W, WANG Y, et al. Enolase-1 is a therapeutic target in endometrial carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17): 15610-15627. DOI:10.18632/oncotarget.3639.
- [17] ZHAN P, ZHAO S, YAN H, et al. Alpha-enolase promotes tumorigenesis and metastasis via regulating AMPK/mTOR pathway in colorectal cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(5): 1427-1437. DOI: 10.1002/mc.22603.
- [18] SUN L, LU T, TIAN K, et al. Alpha-enolase promotes gastric cancer cell proliferation and metastasis via regulating AKT signaling pathway[J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 845: 8-15 [2019-03-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30582908>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.12.035.
- [19] QIAO H, WANG Y, YUAN W, et al. Silencing of ENO1 by shRNA inhibits the proliferation of gastric cancer cells[J/OL]. *Technol Cancer Res Treat*, 2018, 17: 1533033818784411 [2019-03-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29986635>. DOI: 10.1177/1533033818784411.
- [20] EJESKAR K, KRONA C, CAREN H, et al. Introduction of in vitro transcribed ENO1 mRNA into neuroblastoma cells induces cell death[J/OL]. *BMC Cancer*, 2005, 5: 161 [2019-03-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16359544>. DOI: 10.1186/1471-2407-5-161.

[收稿日期] 2019-04-17

[修回日期] 2019-07-18

[本文编辑] 王映红