氨基酸代谢抑制剂V9302对胃癌恶性进展及糖酵解效应的影响与机制研究

杜家俊[1]，赵瑞阳[1]，徐其轩[1]，袁 震[2]，卫 勃[3]
[1]解放军医学院，北京 100853；[2]南开大学医学院，天津 300071；[3]解放军总医院第一医学中心普通外科医学部，北京 100853

摘要：背景 胃癌是全球范围内致死率较高的恶性肿瘤之一，治疗面临诸多挑战。V9302是一种靶向氨基酸转运蛋白ASCT2的抑制剂，能够有效抑制多种肿瘤细胞的生长和代谢，但尚不明确其在胃癌中的具体功能及潜在机制。**目的** 研究氨基酸代谢抑制剂V9302对胃癌细胞恶性生物学行为的影响及对胃癌细胞糖酵解的调控。**方法** Western blot筛选ASCT2表达较高的胃癌细胞系，检测胃癌细胞糖酵解关键酶表达。体外细胞实验检测胃癌细胞增殖和迁移能力。蛋白组学分析检测V9302处理下胃癌细胞差异表达蛋白，酶标比色法检测胃癌细胞糖酵解效应。构建裸鼠皮下荷瘤模型研究V9302对胃癌裸鼠体内瘤体的作用。**结果** AGS、MGC-803细胞系中的ASCT2表达程度较高。V9302能够抑制胃癌细胞的增殖能力($P<0.01$)和迁移能力($P<0.01$)。V9302干预胃癌AGS细胞糖酵解进程的调控。V9302增强胃癌细胞的糖酵解效应(ATP相对产生量：$P<0.05$；丙酮酸相对产生量：$P<0.01$；葡萄糖相对摄取率：$P<0.05$；乳酸相对产生量：$P<0.01$)，并且未改变糖酵解关键酶活性。V9302在裸鼠体内抑制胃癌瘤体生长($P<0.05$)，抑制裸鼠体内胃癌细胞Ki-67抗原、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen，PCNA)表达(PCNA：$P<0.001$；Ki-67：$P<0.01$)，促进胃癌细胞末端脱氧核苷酸转移酶dUTP缺口末端标记表达($P<0.001$)。**结论** V9302在体内外条件下抑制胃癌细胞的增殖和迁移能力，促进胃癌细胞凋亡。V9302通过干预胃癌AGS细胞糖酵解进程，增强胃癌细胞的糖酵解效应。

关键词：胃癌；肿瘤代谢；V9302；糖酵解；谷氨酰胺
中图分类号：R735. 2 **文献标志码：**A **文章编号：**2095-5227(2025)07-0653-08
DOI：10.12435/j.issn.2095-5227.25040401
引用本文：杜家俊，赵瑞阳，徐其轩，等.氨基酸代谢抑制剂V9302对胃癌恶性进展及糖酵解效应的影响与机制研究［J］.解放军医学院学报，2025，46（7）：653-660.

Effect of amino acid metabolism inhibitor V9302 on malignant progression and glycolytic reprogramming of gastric cancer and its mechanisms

DU Jiajun[1], ZHAO Ruiyang[1], XU Qixuan[1], YUAN Zhen[2], WEI Bo[3]
[1]Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; [2]School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China; [3]Department of General Surgery, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China
Corresponding author: WEI Bo. Email: weibo@301hospital.com.cn

Abstract: Background Gastric cancer (GC) is one of the most lethal malignancies worldwide, with significant therapeutic challenges. V9302, an inhibitor targeting the alanine-serine-cysteine transporter 2 (ASCT2), has been shown to suppress tumor growth and metabolism in various cancers; however, its functional roles and mechanisms in GC remain poorly understood. **Objective** To investigate the effects of V9302 on malignant behaviors and glycolytic regulation in GC cells. **Methods** ASCT2-high-expressing GC cell lines (AGS and MGC-803) were screened by Western blot (WB). The expression of key glycolytic enzymes, including hexokinase 2 (HK2), phosphoglycerate mutase 1 (PGAM1), and enolase 1 (ENO1), was analyzed. Cell proliferation and migration were evaluated using CCK-8, colony formation, scratch wound healing, and Transwell assays. Proteomic profiling and bioinformatic analysis were performed to identify differentially expressed proteins in V9302-treated cells. Glycolytic activity was assessed by measuring glucose uptake, ATP production, pyruvate levels, and lactate secretion. A subcutaneous xenograft model in nude mice was established to evaluate the antitumor effects of V9302 *in vivo*. **Results** AGS and MGC-803 cells exhibited high ASCT2 expression. V9302 significantly inhibited GC cell proliferation ($P < 0.01$) and migration ($P < 0.01$). Proteomic analysis revealed that V9302 modulated glycolytic regulatory pathways in AGS cells. V9302 enhanced glycolytic flux, as evidenced by increased ATP production ($P < 0.05$), pyruvate accumulation ($P < 0.01$), glucose uptake ($P < 0.05$), and lactate secretion ($P < 0.01$),

收稿日期：2025-04-04
基金项目：国家自然科学基金面上项目(8227111040)
第一作者：杜家俊，硕士。Email: dujiajun2025@163.com
通信作者：卫勃，博士，主任医师，教授。Email: weibo@301hospital.com.cn

without altering the activity of key glycolytic enzymes. *In vivo*, V9302 suppressed tumor growth ($P < 0.05$), reduced Ki-67 ($P < 0.01$) and PCNA ($P < 0.001$) expression, and promoted apoptosis (TUNEL, $P < 0.001$). **Conclusion** V9302 inhibits proliferation, migration, and induces apoptosis in GC cells both *in vitro* and *in vivo*. Mechanistically, V9302 enhances glycolytic activity by targeting metabolic regulatory networks, independent of canonical enzyme-driven pathways. These findings provide a theoretical basis for combining V9302 with glycolysis inhibitors to overcome metabolic adaptation in GC therapy.

Keywords: gastric cancer; tumor metabolism; V9302; glycolysis; glutamine

Cited as: Du JJ, Zhao RY, Xu QX, et al. Effect of amino acid metabolism inhibitor V9302 on malignant progression and glycolytic reprogramming of gastric cancer and its mechanisms[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46(7): 653-660.

胃癌是当今全球常见恶性肿瘤之一，发病率和病死率均居于恶性肿瘤前列[1]。我国胃癌发病率和病死率均高于世界平均水平，治疗和预防都面临巨大挑战[2-3]。由于胃癌肿瘤异质性强、易发生耐药及免疫逃逸，现有针对进展期胃癌的治疗手段获益有限[4-6]。积极寻找新的胃癌治疗策略和潜在治疗靶点具有重要意义。

随着对肿瘤细胞特有代谢模式的深入认识，开发针对肿瘤代谢的治疗手段成为现代医学的探索方向之一[7-8]。肿瘤细胞对于谷氨酰胺的高度依赖，使靶向谷氨酰胺代谢成为一种潜在的癌症治疗方向[9-11]。ASCT2是谷氨酰胺摄取的主要转运蛋白，ASCT2药理学抑制剂或短发夹RNA (short hairpin RNA，shRNA)介导的ASCT2敲低抑制谷氨酰胺摄取被证明可以成功抑制多种肿瘤类型的癌细胞生长和增殖，包括胃癌、肺癌、前列腺癌、乳腺癌等[12-14]。然而，肿瘤微环境中错综复杂的代谢交互网络和代谢适应机制为这一治疗策略带来了困难，单一的靶向代谢疗法对肿瘤的杀伤和抑制效果往往有限，这也是靶向代谢药物未能在临床广泛应用的主要原因[15-16]。有氧糖酵解为肿瘤细胞提供快速能量、生物合成原料等，在肿瘤细胞的生存进展中至关重要；有研究表明，限制肿瘤细胞的谷氨酰胺摄取会引发肿瘤细胞的代谢重编程，通过增强有氧糖酵解，以适应谷氨酰胺匮乏的环境，可降低靶向谷氨酰胺的抗癌效果[17]。V9302是一种高效型谷氨酰胺摄取抑制剂，通过竞争性结合ASCT2抑制肿瘤细胞的代谢和生长。对比其他靶向谷氨酰胺代谢药物，V9302显示出更好的抑癌效果[18]。研究表明，V9302在乳腺癌、胰腺癌等恶性肿瘤中表现出良好的抑癌效果，而其在胃癌中作用的研究较为匮乏，尚不明确其在胃癌治疗中的潜在能力[19-21]。本研究旨在利用体内外实验，系统评估V9302对胃癌的恶性生物学行为的影响，并研究V9302对肿瘤细胞糖酵解效应的影响，探究胃癌细胞是否通过增强有氧糖酵解适应谷氨酰胺匮乏环境，为V9302作为胃癌治疗药物的进一步研究和临床转化提供新思路和理论支撑。

1 材料与方法

1.1 细胞与动物来源及培育

人胃癌细胞系(AGS、MGC-803、BGC-823、SGC-7901、MKN-45、MKN-7)购自中国科学研究院上海细胞库；使用含有10%胎牛血清(fetal bovine serum，FBS；Gibco，美国)和1%青霉素/链霉素(塞维尔，中国)的Dulbecco改良培养基(DMEM)、PPMI-1640培养基、Hams F12K培养基，在37℃、5% CO_2下孵箱中培养。

实验动物来源及培养：4周龄雄性裸鼠无胸腺免疫缺陷BALB/c Nude鼠购自江苏集萃药康生物技术公司。裸鼠饲养在无特定病原体的条件下。向裸鼠提供充足无菌水和饲料。所有动物实验均经解放军总医院动物伦理委员会批准(2021-X17-88)，实验操作遵循动物伦理操作规范。

1.2 主要实验试剂

V9302试剂购自上海奥默生物科技公司；Cell Counting Kit-8试剂购自南京诺唯赞生物科技有限公司；组织细胞固定液(4%)购自北京阳光英锐生物公司；Transwell小室购自美国康宁公司；结晶紫溶液购自上海碧云天生物技术公司；放射免疫沉淀分析缓冲液(radioimmunoprecipitation assay buffer，RIPA)细胞裂解液购自北京索莱宝科技有限公司；二辛可宁酸(bicinchoninic acid，BCA)蛋白定量试剂盒购自美国Thermo Fisher Scientific公司；蛋白胶和预染蛋白Marker购自南京诺唯赞生物科技有限公司；HK2、ENO1、PGAM1、β-肌动蛋白(β-actin)一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗购自美国Abcam公司；苏木素染色液、伊红染色液购自北京阳光英锐生物公司；Ki-67一抗购自美国Abcam公司；PCNA一抗购自美国CST公司；TUNEL试剂盒购自上海Yeasen公司；免疫组化二抗试剂盒购自丹麦Dako公司；增强化学发光法(enhanced chemiluminescence，ECL)试剂盒购自上海碧云天生物技术公司；葡萄糖检测试剂盒、乳

酸测定试剂盒、ATP比色/荧光分析试剂盒和丙酮酸比色/荧光分析试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 Western blot检测6种胃癌细胞ASCT2、糖酵解关键酶蛋白表达量

RIPA细胞裂解液从AGS、MGC-803、SGC-7901、BGC-823、MKN-45、MKN-7这6种胃癌细胞系中提取蛋白，BCA蛋白检测试剂盒对提取的蛋白进行定量并计算上样量。通过10%～12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离总蛋白，并转移到聚偏二氟乙烯膜上。在室温下用5%脱脂牛奶封闭膜1 h，然后在4℃下与一抗孵育过夜。将膜在室温下暴露于二抗下孵育2 h。用ECL发光溶液对印迹进行成像。

将AGS、MGC-803细胞系培育至对数生长期，按照实验方案，V9302组加入含V9302(AGS 35 μmol/L；MGC-803 50 μmol/L)培养基，NC组加入不含药物的培养基培育24 h。通过上述Western blot实验流程，使用对应一抗、二抗检测V9302对糖酵解关键酶表达的影响。

1.4 CCK-8实验检测胃癌细胞增殖能力

收集对数生长期的胃癌细胞接种在96孔板中，调整浓度为5×10^4/mL并培养24 h，V9302组加入含V9302(AGS：35 μmol/L；MGC-803：50 μmol/L)的培养基，NC组加入不含药物的培养基，培养至48 h、72 h后，分别加入10 μL CCK-8溶液，并使用酶标仪(Biotek，美国)孵育1 h后测量450 nm处吸光度，根据吸光度数值计算出相对细胞活力。

1.5 划痕试验检测胃癌细胞迁移能力

将胃癌细胞培养达到90%～100%的汇合，使用200 μL无菌移液枪头在细胞单层上划一条直线。V9302组加入含V9302(AGS：35 μmol/L；MGC-803：50 μmol/L)的培养基，NC组加入等量的不含药物的培养基。划痕制造后0 h、24 h显微镜拍照记录划痕愈合情况，计算24 h细胞迁移率。细胞迁移率计算公式：细胞迁移率=(初始细胞间距离均值-24 h细胞间距离均值)/初始细胞间距离均值。

1.6 Transwell实验检测胃癌细胞迁移能力

将预先饥饿处理的胃癌细胞制备成单细胞悬液，V9302组用加入V9302(AGS：35 μmol/L；MGC-803：50 μmol/L)的无FBS培养基重悬细胞，调整细胞密度至5×10^5/mL。将100 μL细胞悬液加入Transwell小室的上室。下室加入600 μL含10% FBS的培养基作为趋化因子，NC组使用未加入V9302的培养基培养。孵育48 h，4%多聚甲醛固定肿瘤细胞15 min后，使用0.1%结晶紫染液染色15 min。晾干后显微镜观察并拍摄图像，选择随机区域计数侵袭到膜底部的细胞。

1.7 克隆形成实验检测胃癌细胞集落形成能力

调整胃癌细胞悬液密度至1 000/mL，每孔1 000个细胞加入预先涂覆有培养基的6孔培养皿中培养12 h。V9302组每孔加入3 mL含有V9302(AGS：7 μmol/L；MGC-803：10 μmol/L)的培养基，NC组加入不含V9302培养基，持续培养14 d。4%多聚甲醛固定肿瘤细胞15 min后，结晶紫染色15 min，烘干后使用显微镜拍照并计算集落形成数目。

1.8 裸鼠皮下成瘤实验检测胃癌皮下瘤体生长、增殖能力

收集胃癌细胞，调整细胞浓度至1×10^7/mL。选择4周龄雄性裸鼠BALB/c小鼠，在小鼠下背部皮下注射200 μL细胞悬液(约含2×10^6个细胞)。成瘤裸鼠饲养7 d后，V9302组以45 mg/(kg·d)的剂量腹腔注射V9302溶剂，NC组裸鼠注射相同体积的0.9%氯化钠注射液，每3 d测量1次肿瘤体积：游标卡尺测量肿瘤的最长径(a)和最短径(b)，计算体积：$V=1/2ab^2$。3周后，杀死裸鼠，剖出瘤体称重。

1.9 生物信息学分析检测胃癌细胞蛋白表达差异

V9302组在胃癌AGS细胞中加入含V9302(35 μmol/L)的培养基培育24 h，NC组使用不加入药物的培养基培养24 h。借助蛋白质组学技术分析V9302处理下胃癌AGS细胞的差异表达蛋白，通过GO分析和KEGG分析对差异表达蛋白的生物过程、分子功能和细胞组分进行富集分析。比较各个GO条目和KEGG通路在目标蛋白质集合和总体蛋白质集合中的分布情况。

1.10 糖酵解效应相关实验检测胃癌细胞糖酵解强度

V9302组在胃癌细胞中加入含V9302(AGS：35 μmol/L；MGC-803：50 μmol/L)的培养基培育24 h，NC组使用不加入药物的培养基培养，根据试剂盒制造商提供的方案，使用葡萄糖摄取测定试剂盒、ATP比色测定试剂盒、乳酸测定试剂盒和丙酮酸比色测定试剂盒分别测定反映乳酸生成量、ATP和丙酮酸产生量及葡萄糖摄取量的相关产物对应的特定波长的吸光度，根据吸光度对相关指标进行定量。

1.11　免疫组织化学、TUNEL染色和苏木精-伊红染色染色检测胃癌皮下瘤体增殖、凋亡情况

用4%多聚甲醛固定剖出的瘤体包埋在石蜡中并切片。玻片脱蜡并再水化以进行后续处理。

免疫组织化学(immunohistochemistry，IHC)：乙醇浸洗切片后蒸馏水润洗，3%双氧水溶液孵育25 min。在组化圈内滴加3%牛血清白蛋白均匀覆盖组织，室温封闭30 min。加入一抗4℃孵育过夜，切片甩干，在圈内滴加二抗(辣根过氧化物酶标记)覆盖组织，室温孵育50 min。二氨基联苯胺显色液显色，阳性为棕黄色。苏木素复染细胞核。白光显微镜(尼康，日本)下观察并采集图像。随机截取图像，计算阳性细胞单一视野下占比。

苏木精-伊红(hematoxylin and eosin，HE)染色：将石蜡组织切片放入二甲苯中彻底脱掉石蜡。室温下用乙醇浸泡切片，蒸馏水润洗。苏木素染色液染色10 min，伊红染色液染色2 min。脱水封片。显微镜(尼康，日本)下观察并采集图像。

TUNEL染色：将切片脱蜡后乙醇浸洗，20 μg/mL的蛋白酶K溶液、1×平衡缓冲液处理切片。取TUNEL试剂盒内适量末端脱氧核苷酸转移酶，dUTP，缓冲液按1∶5∶10比例混合后处理切片，4'，6-二脒基-2-苯基吲哚染色后封片。于荧光显微镜(尼康，日本)下观察并采集图像，计算染色阳性细胞平均光密度。

1.12　统计学分析

采用ImageJ软件进行图像处理，GraphPad Prism软件进行统计分析。正态分布数据以$\bar{x}\pm s$表示，组间比较采用两独立样本t检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

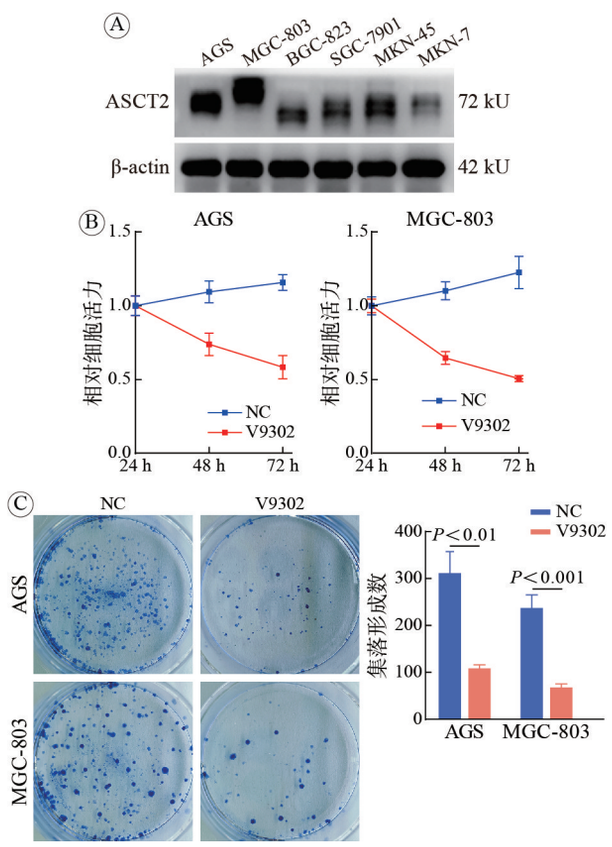
2　结果

2.1　ASCT2在AGS和MGC-803细胞系中表达量较高

Western blot实验检测AGS、MGC-803、SGC-7901、BGC-823、MKN-45、MKN-7胃癌细胞系中ASCT2表达，发现这6种细胞系中均有ASCT2蛋白的表达，AGS、MGC-803两种细胞系表达较高，选择这两种细胞系进行后续实验(图1A)。

2.2　V9302抑制胃癌细胞增殖能力

CCK-8实验发现V9302组(AGS：35 μmol/L；MGC-803：50 μmol/L)胃癌细胞活力低于NC组(AGS 48 h：P=0.005；72 h：$P<0.001$；MGC-803 48 h：$P<0.001$；72 h：$P<0.001$；图1B)。克隆形成实验发现V9302(AGS：7 μmol/L；MGC-803：10 μmol/L)处理的AGS、MGC-803细胞集落形成能力对比NC组下降，集落数减少(AGS：P=0.002；MGC-803：$P<0.001$；图1C)。V9302试剂能抑制胃癌细胞增殖能力。



A：Western blot检测ASCT2表达；B：CCK-8实验：V9302抑制AGS (AGS 48 h：P=0.005；72 h：$P<0.001$；MGC-803 48 h：$P<0.001$；72 h：$P<0.001$)、MGC-803细胞活力；C：克隆形成实验：V9302抑制胃癌细胞克隆形成能力。

图1　Western blot检测胃癌细胞系中ASCT2的表达及V9302对胃癌细胞增殖的抑制效果

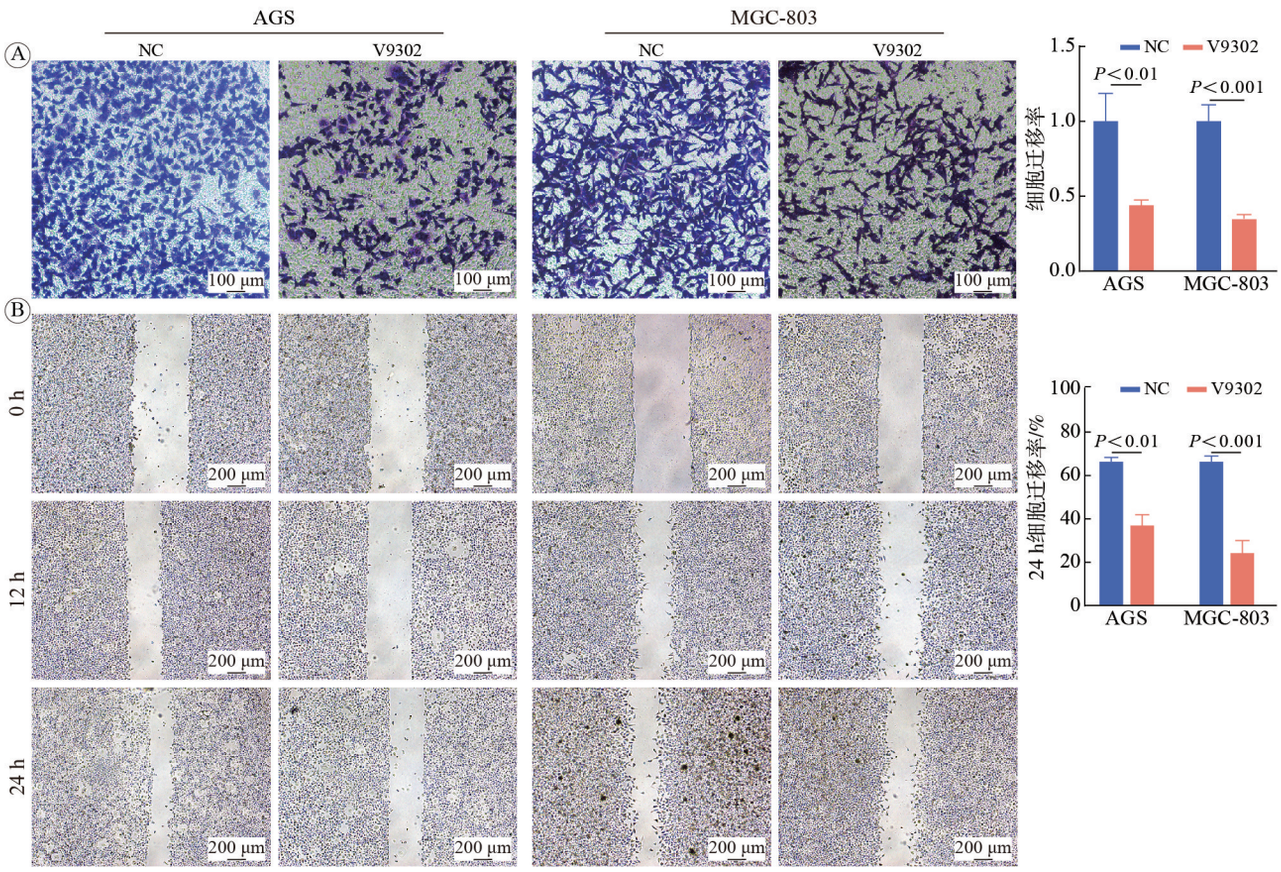
Fig. 1　Analysis of ASCT2 expression by Western blot and V9302-induced proliferation inhibition in gastric cancer cells

2.3　V9302抑制胃癌细胞迁移能力

Transwell实验发现加入V9302试剂(AGS：35 μmol/L；MGC-803：50 μmol/L)的V9302组对比NC组，迁移到下室的胃癌细胞减少(AGS：P=0.007；MGC-803：$P<0.001$)。划痕试验显示V9302组细胞迁移能力低于NC组，划痕愈合能力下降(AGS：P=0.001；MGC-803：$P<0.001$)。上述研究表明V9302试剂抑制胃癌细胞的迁移能力。见图2。

2.4　V9302干预胃癌细胞糖酵解的调控

为了进一步研究V9302对胃癌细胞的作用机制，本团队对V9302处理过的胃癌AGS细胞进行



A：Transwell迁移实验(200 ×)；B：划痕试验(放大倍数：100 ×)。

图 2　V9302对胃腺癌细胞迁移的抑制效果

Fig. 2　Inhibitory effect of V9302 on the migration of gastric cancer cells

了蛋白质组学分析，找到了V9302处理下胃癌细胞AGS的差异表达蛋白(图3A)，对差异表达蛋白进行KEGG分析和GO分析，KEGG分析结果显示，差异表达蛋白在代谢通路中富集的程度最高(图3B)；GO分析提示，差异表达蛋白在生物进程大类中富集到糖酵解调控进程的程度排在生物进程的第4位(图3C)，说明V9302干预了胃癌细胞AGS的糖酵解调控进程。

2.5　V9302增强胃癌细胞的糖酵解效应

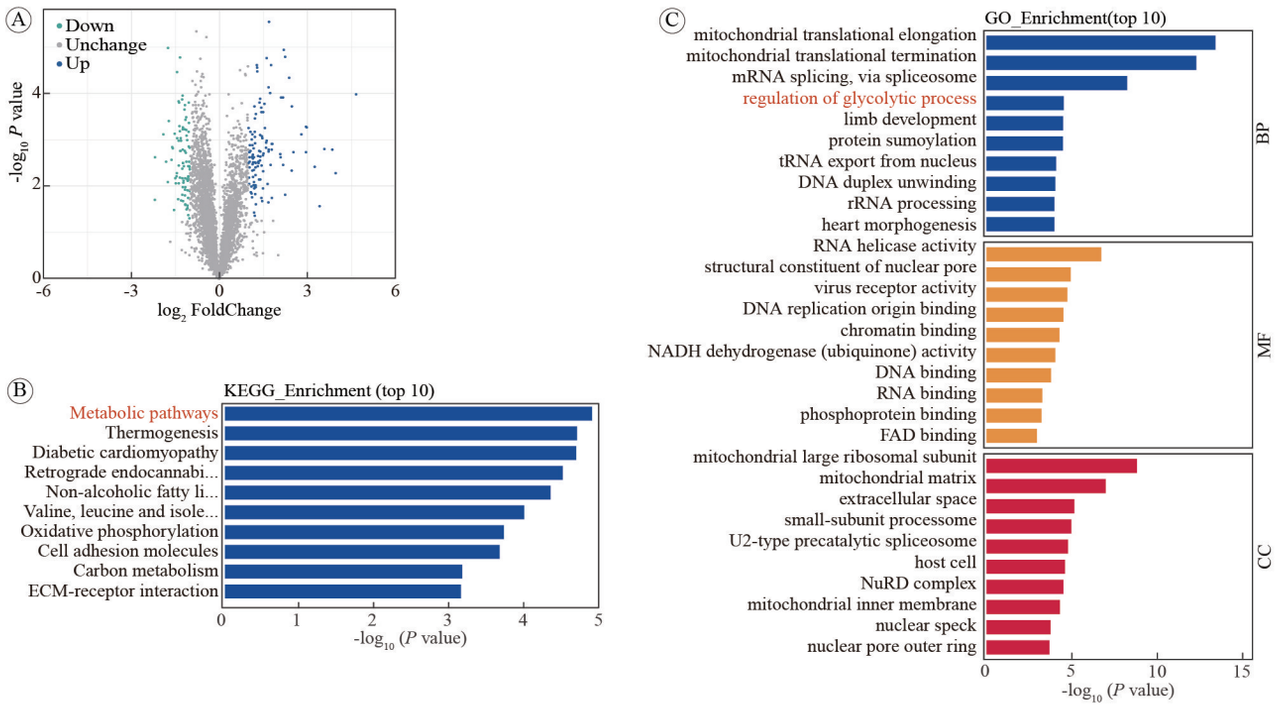
为了探究V9302对胃癌细胞糖酵解效应强度的具体影响，通过酶标比色法检测糖酵解相关产物结果发现V9302组细胞ATP产生量(AGS：P=0.026；MGC-803：P=0.003)、丙酮酸含量(AGS：P=0.001；MGC-803：P=0.006)、葡萄糖摄取率(AGS：P=0.010；MGC-803：P=0.002)、乳酸含量(AGS：P=0.001；MGC-803：P<0.001)均高于NC组。V9302试剂增强胃癌细胞的糖酵解效应。见图4。

2.6　V9302未改变糖酵解关键酶的活性

为探究V9302对胃癌细胞糖酵解关键酶活性的影响，Western blot实验检测胃癌细胞中糖酵解关键酶己糖激酶2(hexokinase 2，HK2)、磷酸甘油酸变位酶1(phosphoglycerate mutase 1，PGAM1)、烯醇化酶1(enolase 1，ENO1))表达。结果提示，与对照组比较，经V9302处理的癌细胞糖酵解关键酶表达无统计学差异，说明V9302不是通过调控糖酵解关键酶活性调控胃癌细胞的糖酵解效应(图4)。

2.7　V9302在裸鼠体内抑制胃癌瘤体生长和增殖，促进凋亡

裸鼠皮下成瘤实验发现V9302组肿瘤重量小于对照组(P=0.034)，肿瘤生长速度低于NC组小鼠(第16天：P<0.05；图5)。裸鼠皮下瘤体病理切片HE染色、TUNEL染色、Ki-67、PCNA染色结果提示，与NC组肿瘤细胞比较，V9302组PCNA和Ki-67阳性细胞单一视野下占比下降(PCNA：P<0.001；Ki-67：P=0.005)；V9302组TUNEL阳性荧光平均光密度高于NC组，P<0.001；图6)。在小鼠体内条件下，V9302表现出对恶性胃腺癌瘤体增殖能力的抑制，并且促进肿瘤细胞凋亡。



A：差异表达蛋白火山图；B：KEGG分析结果柱状图；C：GO分析结果柱状图。

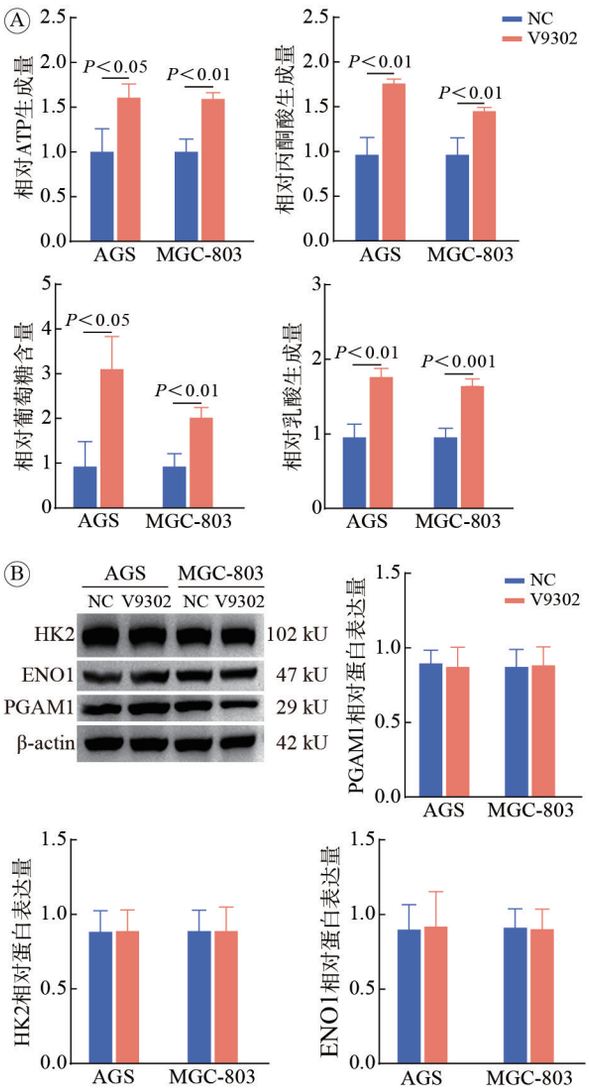
图3　V9302处理后胃癌AGS细胞的差异表达蛋白以及生信分析

Fig. 3　Proteomic profiling and bioinformatic analysis of V9302-treated gastric cancer AGS cells

3　讨论

我国是胃癌高发大国，现有的治疗手段对进展期胃癌患者的生存获益十分有限，并且可能导致各种不良反应，发掘更有效、更安全的治疗手段对于进展期胃癌的治疗具有重大意义。本团队研究发现，V9302在体外条件下抑制胃癌细胞增殖和迁移；在体条件下抑制裸鼠皮下胃癌瘤体生长，促进瘤体细胞凋亡。既往研究表明，V9302通过扰乱肿瘤代谢、增加氧化应激、改善抗肿瘤免疫等机制抑制结肠癌、胰腺癌、乳腺癌等多种恶性肿瘤的生物学行为，与本研究的结论一致。该证据提示V9302在胃癌治疗中具有良好的临床转化潜力和应用前景[19-20,22-23]。此外，在筛选细胞系的实验中发现，AGS和MGC-803细胞系ASCT2的表达程度较高，AGS和MGC-803细胞系都属于低分化胃腺癌模型。结合相关研究发现，胃癌临床样本中ASCT2高表达往往意味着不良预后，靶向ASCT2可能对这类患者更具精准治疗价值[24]。

代谢可塑性是细胞在不同环境下变换代谢模式的能力，可协助肿瘤细胞在缺氧、营养缺乏、化疗药暴露等不利条件下生存和增殖[25-27]。本研究通过生物信息学分析以及检测糖酵解相关产物证实V9302干预了胃癌细胞的糖酵解调控进程并且增强胃癌细胞的糖酵解效应，这种现象预示着胃癌细胞的代谢重塑：V9302抑制肿瘤细胞的谷氨酰胺代谢，诱导肿瘤细胞代谢向糖酵解转变[15,22]。Li等[17]的研究提示，在谷氨酰胺剥夺环境下，癌细胞通过增强糖酵解适应谷氨酰胺剥夺环境，维持癌细胞的存活，这与本团队的研究结果相似，此结果提示肿瘤细胞可能具有针对谷氨酰胺匮乏的抵抗能力，进而降低V9302的肿瘤抑制效应。此外，本研究发现V9302虽然促进了胃腺癌细胞糖酵解，然而糖酵解途径的关键酶表达并未显著改变，这说明V9302并非通过调节糖酵解关键酶活性来调控胃癌细胞的糖酵解效应，这种现象可能与肿瘤细胞的糖酵解通路关键酶的变构效应、葡萄糖转运蛋白表达增加、胞内葡萄糖浓度升高等因素有关[28]。糖酵解效应的增强可能使肿瘤细胞对糖酵解抑制剂更加敏感，为开发靶向谷氨酰胺代谢和糖代谢联合治疗提供了新的方向[29]。Wang等[20]的研究发现，同时抑制胰腺癌的糖酵解和谷氨酰胺代谢，可引起细胞焦亡而抑制胰腺癌恶性进展。Luo等[30]研究发现，通过前药胶束制剂共同递送糖代谢抑制剂2-脱氧葡萄糖和V9302，在体内外水平均表现出较好的抗肿瘤功效。本研究进一步佐证了肿瘤细胞可在代谢压力下通过代谢适应维持存活的机制，提示单一靶向谷氨酰胺代谢可



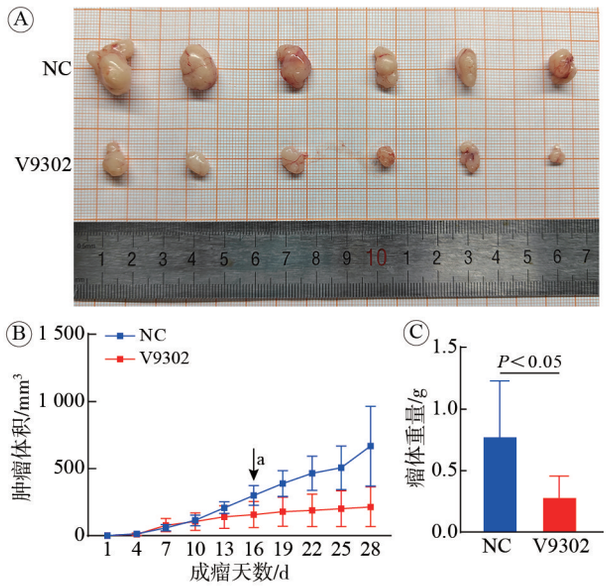
A：ATP产生量、丙酮酸水平、葡萄糖摄取速率、乳酸水平；B：Western blot检测糖酵解关键酶表达($P>0.05$)。

图4 V9302对胃腺癌细胞糖酵解效应的调控效果

Fig. 4 Regulatory effect of V9302 on glycolysis in gastric cancer cells

能因肿瘤代谢适应性而降低疗效。未来有望将靶向谷氨酰胺代谢和靶向糖酵解联合应用，打破肿瘤适应性生存机制，提升抗癌疗效。

免疫逃逸一直以来被视为肿瘤细胞的特征之一。既往研究证实，肿瘤细胞通过高表达谷氨酰胺转运蛋白(如ASCT2)和分解酶(如谷氨酰胺酶)，大量摄取并分解谷氨酰胺，导致肿瘤微环境中谷氨酰胺耗竭，使得免疫细胞(如T细胞、NK细胞)可用的谷氨酰胺有限，进而抑制免疫细胞的功能，削弱肿瘤微环境的抗肿瘤免疫[31]。Leone等[32]的研究提示靶向谷氨酰胺代谢可引发肿瘤细胞代谢紊乱、氧化还原稳态的失衡和生长抑制，而靶向肿瘤微环境中$CD8^+$ T细胞的谷氨酰胺代谢，可激活



A：裸鼠皮下瘤体；B：裸鼠皮下瘤体体积-时间折线图($^aP<0.05$, *vs* V9302)；C：裸鼠皮下瘤体重量柱状图。

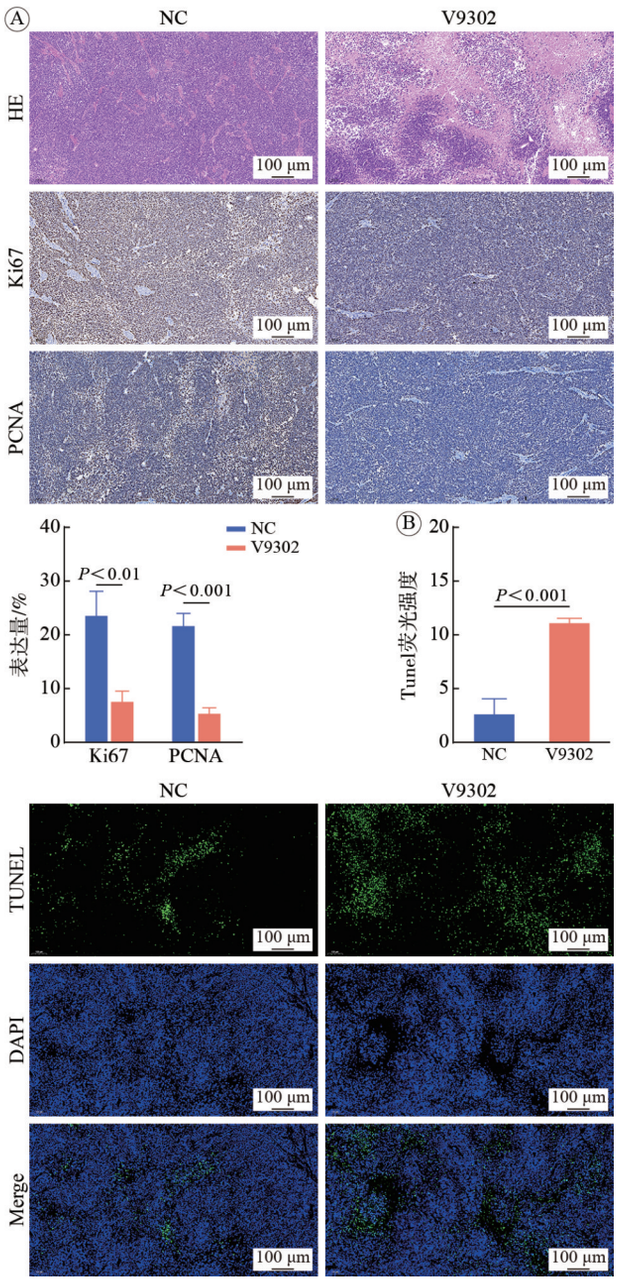
图5 V9302体内条件下对胃腺癌瘤体的抑制效果

Fig. 5 Inhibitory effect of V9302 on gastric cancer tumors under in vivo conditions

$CD8^+$ T细胞并提升增殖活力，赋予其更强的抗肿瘤能力。这一结果证实了利用肿瘤细胞和抗肿瘤免疫细胞代谢的差异调节癌细胞和抗肿瘤免疫细胞代谢的可能性，预示着靶向谷氨酰胺代谢和免疫治疗的联合应用可能取得更好的抗肿瘤效果[33]。Huang等[34]的研究证明，靶向SLC7A5介导的谷氨酰胺代谢增强了PD-1抑制剂在三阴性乳腺癌中的疗效。Byun等[35]的研究表明，靶向癌细胞谷氨酰胺代谢增强抗PD-L1抗体的效能，同时促进T细胞在体外和体内的抗肿瘤功效。总之，靶向谷氨酰胺代谢通过双重调控肿瘤细胞代谢抑制与免疫细胞功能激活，抑制肿瘤生长并增强抗肿瘤免疫应答。未来可进一步探究肿瘤谷氨酰胺代谢与肿瘤免疫微环境动态互作机制，研发代谢-免疫双重靶向的联合疗法，并通过多组学技术筛选预测性生物标志物，探索临床转化路径，开发“靶向谷氨酰胺代谢增效免疫治疗”的精准抗癌疗法。

本研究存在一定局限性：(1)对于V9302的作用机制未进行深入系统研究，未来可借助基因编辑技术进一步探究差异表达蛋白在胃癌细胞中的功能，进一步研究V9302对胃癌细胞的作用机制，这是本团队下一步的研究方向；(2)未对V9302增强胃癌细胞糖酵解效应的潜在机制进行系统研究，其深层机制和临床意义有待于进一步探索。

综上，本研究发现V9302在体内外条件下抑



A：裸鼠皮下瘤体HE染色、Ki-67染色及PCNA染色(200 ×)；B：裸鼠皮下瘤体TUNEL荧光染色(200 ×)。

图 6　裸鼠皮下瘤体免疫组化、TUNEL染色

Fig. 6　Immunohistochemistry and TUNEL staining of subcutaneous tumor xenografts in nude mice

制胃癌细胞生长、增殖、迁移，促进胃癌细胞凋亡，干预胃癌细胞糖酵解效应的调控并增强胃癌细胞糖酵解效应。为V9302在进展期胃癌治疗中的应用提供了参考，也为靶向谷氨酰胺代谢联合靶向糖代谢、免疫疗法提供了新研究思路。

作者贡献　杜家俊：实验设计与实施，论文撰写；赵瑞阳：实验设计；徐其轩：实验实施，统计分析；袁震：实验数据整理；卫勃：实验设计与指导，论文审读和修订，获取研究经费。

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：dujiajun2025@163.com。

参考文献

1　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.

2　李茁钰，刘凯，张维汉，等. 全球及中国胃癌的流行病学特点及趋势：2018－2022《全球癌症统计报告》解读［J］. 中国普外基础与临床杂志，2024，31（10）：1236-1245.

3　郑荣寿，陈茹，韩冰峰，等. 2022年中国恶性肿瘤流行情况分析［J］. 中华肿瘤杂志，2024，46（3）：221-231.

4　Smyth EC，Nilsson M，Grabsch HI，et al. Gastric cancer［J］. Lancet，2020，396（10251）：635-648.

5　Xu HM，Li WQ. Early detection of gastric cancer in China：progress and opportunities［J］. Cancer Biol Med，2022，19（12）：1622-1628.

6　王瑜，雷浩. 不同新辅助联合化疗方案对老年进展期胃癌患者手术根治切除率、生存时间及不良反应的影响［J］. 吉林医学，2023，44（8）：2122-2124.

7　Mao YX，Xia ZY，Xia WJ，et al. Metabolic reprogramming，sensing，and cancer therapy［J］. Cell Rep，2024，43（12）：115064.

8　Ge TX，Gu X，Jia RB，et al. Crosstalk between metabolic reprogramming and epigenetics in cancer：updates on mechanisms and therapeutic opportunities［J］. Cancer Commun（Lond），2022，42（11）：1049-1082.

9　Faubert B，Solmonson A，DeBerardinis RJ. Metabolic reprogramming and cancer progression［J］. Science，2020，368（6487）：eaaw5473.

10　Altman BJ，Stine ZE，Dang CV. From Krebs to clinic：glutamine metabolism to cancer therapy［J］. Nat Rev Cancer，2016，16（10）：619-634.

11　Li X，Peng XQ，Li Y，et al. Glutamine addiction in tumor cell：oncogene regulation and clinical treatment［J］. Cell Commun Signal，2024，22（1）：12.

12　van Geldermalsen M，Wang Q，Nagarajah R，et al. ASCT2/SLC1A5 controls glutamine uptake and tumour growth in triple-negative basal-like breast cancer［J］. Oncogene，2016，35（24）：3201-3208.

13　Hassanein M，Qian J，Hoeksema MD，et al. Targeting SLC1a5-mediated glutamine dependence in non-small cell lung cancer［J］. Int J Cancer，2015，137（7）：1587-1597.

14　Ye JX，Huang Q，Xu J，et al. Targeting of glutamine transporter ASCT2 and glutamine synthetase suppresses gastric cancer cell growth［J］. J Cancer Res Clin Oncol，2018，144（5）：821-833.

15　Grasmann G，Mondal A，Leithner K. Flexibility and adaptation of cancer cells in a heterogenous metabolic microenvironment［J］. Int J Mol Sci，2021，22（3）：1476.

16　Zhu LF，Zhu XY，Wu Y. Effects of glucose metabolism，lipid metabolism，and glutamine metabolism on tumor microenvironment and clinical implications［J］. Biomolecules，2022，12（4）：580.

（下转第679页）