

烯醇化酶-1 在口腔鳞状细胞癌患者唾液和组织中的表达研究

郑凯月¹, 张倩雨², 马莹³, 贺婵娟¹, 喻洁⁴, 刘英^{1,4}

(1. 川北医学院口腔医学系, 四川南充 637000; 2. 中国人民解放军 32081 部队, 北京 100000; 3. 四川省总工会成都工人疗养院, 四川成都 610000; 4. 川北医学院附属医院口腔科, 四川南充 637000)

【摘要】目的: 探究烯醇化酶- α (ENO-1) 在口腔鳞状细胞癌 (OSCC) 患者和正常人组织和唾液中的表达。**方法:** 免疫组化 (IHC) 法检测在高、中、低分化各 15 例 OSCC 患者肿瘤中 ENO-1 蛋白的表达; qRT-PCR、Western Blot 检测 16 例 OSCC 患者肿瘤中 ENO-1 蛋白质及 mRNA 的表达; ELISA 检测 20 例 OSCC 患者及正常人唾液中 ENO-1 的表达; Pearson 相关分析 OSCC 组织及唾液中 ENO-1 蛋白表达与临床病理的相关性。**结果:** IHC 结果显示, ENO-1 在 OSCC 和正常组织中均有表达, 且肿瘤组织中表达明显增强 ($P < 0.001$); 不同病理分级的 OSCC 组织中 ENO-1 的表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。qRT-PCR 结果显示, ENO-1 mRNA 的表达高于正常人 ($P < 0.001$)。Western Blot 和 ELISA 结果显示, OSCC 患者组织和唾液中 ENO-1 蛋白表达高于正常人 ($P < 0.001$); 与正常对照组相比, OSCC 组织和唾液中 ENO-1 表达的 Pearson 相关系数为 $\rho = 0.75$, 具有相关性 ($P < 0.001$)。**结论:** ENO-1 在 OSCC 组织和唾液中的表达变化一致, 唾液检测具有无创、简便的优点, 唾液中 ENO-1 mRNA 表达的检测有望成为 OSCC 早期筛查和早期诊断的生物标志物之一。

【关键词】 口腔鳞状细胞癌; 烯醇化酶- α ; 烯醇化酶-1; 唾液; 肿瘤标志物

【中图分类号】 R739.8; R739.85 **【文献标志码】** A

Expression of enolase- α in saliva and tissues of oral squamous cell carcinoma patients

ZHENG Kai-yue¹, ZHANG Qian-yu², MA Ying³, HE Chan-juan¹, YU Jie⁴, LIU Ying^{1,4}

(1. Department of Stomatology, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan; 2. 32081 Troops of the PLA, Beijing 100000; 3. Chengdu Worker Sanatorium of Sichuan Federation of Trade Unions, Chengdu 610000; 4. Department of Stomatology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the expression of Enolase- α (ENO-1) in the tissues and saliva of patients with Oral Squamous Cell Cancer (OSCC) and normal persons. **Methods:** The expression of ENO-1 in tumor and adjacent noncancerous tissues of 15 OSCC tissues with high, medium and low differentiation and 15 cases of normal mucosal tissues was detected by immunohistochemistry (IHC). The expression of ENO-1 in tumor and adjacent noncancerous tissues of 16 OSCC patients was detected by qRT-PCR. The protein expression of ENO-1 in tumor and adjacent noncancerous tissues of 16 OSCC patients was detected by Western Blot. The expression of ENO-1 in saliva of 20 OSCC patients and 20 normal controls was detected by ELISA. Pearson correlation analysis was used to explore the correlation of ENO-1 expression of protein in tissues and saliva of OSCC and normal. **Results:** IHC test results showed that ENO-1 was expressed in OSCC and normal tissues, and the expression was increased in tumor tissues ($P < 0.0001$). However, the expression of ENO-1 was not significantly different in OSCC tissues with different pathological grades ($P > 0.05$). qRT-PCR results showed that the mRNA expression of ENO-1 in OSCC tissues was higher than that in normal population ($P < 0.001$). Western Blot and ELISA results showed that expression of protein of ENO-1 in tissues and saliva of OSCC patients was significantly higher than that of normal population ($P < 0.001$). The Pearson correlation coefficient of the expression of ENO-1 in tissues and saliva of OSCC and normal was $\rho = 0.75$, suggesting a strong correlation ($P = 0.001$). **Conclusion:** The expression changes of ENO-1 in saliva and tissues are consistent, and the detection of saliva has the advantages of noninvasive, simple and easy, suggesting that the detection of ENO-1 mRNA expression in saliva is expected to be one of the biomarkers for early screening and early diagnosis of OSCC.

【Key words】 Oral squamous cell carcinoma (OSCC); Enolase- α ; ENO-1; Saliva; Biomarkers

基金项目: 川北医学院基础科研项目 (CBY19 - YZ08); 川北医学院附属医院院级科研课题 (2021LC010; 2019ZX003)

作者简介: 郑凯月 (1996 -), 女, 硕士研究生, 住院医师。E-mail: 576816403@qq.com

通讯作者: 刘英。E-mail: liuying08_nsmz@163.com

口腔癌是口腔颌面部最常见的疾病之一,发病率较高。在全身恶性肿瘤中居第六位,其中约 90% 为口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)。此外,颌面部淋巴结和血供丰富,使口腔鳞癌易发生远处转移。手术加放化疗虽然能有效切除病灶,防止疾病复发,但预后较差,中晚期患者的 5 年生存率仅为 30% ~ 40%^[1],患者术后外观严重受损,对语言、吞咽等功能也有非常严重的影响。

随着分子生物学检测技术的进步,人们发现肿瘤组织能自身产生并分泌许多特异性物质,不仅在肿瘤组织中特异性高表达,而且被肿瘤细胞分泌到周围环境中,或随着血液循环分布在唾液、血液、尿液等体液中,这些物质被称为肿瘤标志物。越来越多的科学家开始尝试检测体液中特异性肿瘤标志物的变化,从而达到早期诊断和治疗恶性肿瘤的目的。唾液有类似血清的成分,包括水、无机盐、有机化合物、蛋白质、激素等。有研究者^[2]提示,唾液和血清一样,一般可以作为疾病监测和检测的介质,检测结果可以反映疾病的某些过程和状态。唾液作为 OSCC 生长的外部液体环境,也存在于肿瘤细胞自身的代谢分泌物中。因此,唾液中 OSCC 标记物的含量可能比血清中 OSCC 标记物的含量更为敏感和特异^[3-4]。此外,由于其易获取、无创、患者易接受、可重复采集、易于保存等优点,寻找唾液中 OSCC 标记物已成为近年来的研究热点。

糖代谢是肿瘤细胞快速生长和增殖的主要物质和能量来源。在 1924 年,Warburg 提出了著名的“Warburg 效应”,即在氧气充足的条件下,肿瘤细胞仍然主要通过糖酵解而不是线粒体氧化磷酸化来进行糖代谢^[5-7],肿瘤糖酵解酶的异常是近年来的研究热点。烯醇化酶是糖酵解过程中的关键酶,在许多生理过程中起着至关重要的作用,可用作疾病诊断和预后的相关因素或某些感染和癌症的靶向治疗靶点^[8-10]。它分为 α 、 β 和 γ 三种亚型,参与组织的特异性表达。烯醇化酶- α (ENO-1)在细胞质中主要起糖酵解酶,在糖酵解过程中,形成同型二聚体或异型二聚体,催化 PGA 脱水形成 PEP,也催化 PEP 水合合成 PGA^[11-13]。目前研究^[14-18]表明,ENO-1 与体内不同肿瘤(如非小细胞肺癌、胰腺癌等)的发生发展密切相关。Bag 等^[19]发现,ENO-1 在口腔鳞状癌前病变口腔黏膜下纤维化(OSF)患者中高表达,首次证实且验证 ENO-1 可作为 OSF 癌前早期诊断的生物标志物。此外,Ito 等^[20]研究表明,ENO-1 产物亚细胞定位的差异可能与 OSCC 的发生密切相关。因此,本研究将进一步探讨 ENO-1 在 OSCC 发生发展中的作用及在 OSCC 患者唾液和组织中的表

达变化之间的关系,从而确定唾液中 ENO-1 检测在 OSCC 患者能否替代组织学检测,成为 OSCC 早期诊断的生物标志物。

1 资料与方法

1.1 一般资料

实验组织及唾液标本均来自川北医学院附属医院口腔颌面外科住院部,病理诊断明确。以 2014 年至 2016 年高、中、低分化的 OSCC 患者各 15 例为实验组,15 例口腔颌面部黏膜组织正常的患者(非肿瘤手术患者)为对照组,行免疫组织化学(IHC)检测。采集 2015 年至 2016 年 20 例 OSCC 患者的唾液样本作为实验组,正常人(来自无全身性疾病的 OSCC 患者健康家庭成员)唾液作为正常对照组,唾液样品在 4 °C,12 000 rpm 离心 10 min 后取上清,装于 1.5 mL 无酶 EP 管中行 ELISA 检测。收集 16 例未坏死的口腔鳞癌组织为实验组,以癌旁正常组织为对照组,进行实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和 Western Blot(WB)分析,组织样品收集在 1.5 mL 无酶 EP 管中,置于 -80 °C 冰箱。本研究获院伦理委员会批准(批准号:2021ER(A)034),所有患者知情同意。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色(IHC) 免疫组化 SP 法检测 ENO-1 蛋白。标本组织经石蜡包埋、切片后,于 60 °C 下溶蜡 1 h 后,用环保透明剂脱蜡、梯度乙醇水化,然后用柠檬酸进行抗原修复。然后将其与 ENO-1 兔多克隆抗体(1:200)在 4 °C 孵育过夜,用 PBS 洗涤 3 次后,在 37 °C 中二次孵育 1 h,用 DAB 显色法显色,苏木精复染,梯度乙醇脱水,透明环保剂脱水,中性树脂封片。免疫组化染色评价:采用双盲法对染色结果进行判定,根据阳性细胞比例和染色强度进行 ENO-1 表达的半定量分析,显微镜(4 × 10)下观察切片计算阳性细胞表达数占总细胞数的百分比,其中:0 分(0%);1 分(0% ~ 25%);2 分(25% ~ 50%);3 分(50% ~ 75%);4 分(75% ~ 100%)。在 20 倍显微镜下随机选取 5 个不同视野计算细胞染色强度,取 5 个视野得分的平均值作为该切片的最终得分,其中:0 分(阴性)、1 分(浅黄色)、2 分(黄色或深黄色)、3 分(深褐色),两个积分结果相加得出综合评分:0 分为阴性;1 ~ 3 分为弱阳性;4 ~ 5 分为阳性;6 ~ 7 分为强阳性。

1.2.2 蛋白质印迹分析(WB) 将上述冰冻的 OSCC 肿瘤及癌旁正常组织磨碎,加入适量蛋白裂解液充分裂解,震荡离心后,取上清液作为所需蛋白提取物,用 BCA 试剂盒进行蛋白定量,用 10% SDS 聚丙

烯酰胺凝胶电泳和转膜,含 5% 脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 1 h, ENO-1 兔多克隆抗体(1:5 000)和内参 GAPDH 抗兔多克隆抗体(1:3 000)在 4 °C 脱色摇床孵育过夜, TBST 膜洗涤 3 次,每次 10 min,二抗(1:3 000)室温孵育 1 h, TBST 膜洗涤 10 min × 3 次, ECL 显影剂处理后, PVDF 膜曝光、成像; 利用 Image J 软件检测蛋白条带的吸光度值,用目的蛋白条带的吸光度值与内参蛋白条带的吸光度值之比表示目的蛋白的表达水平。

1.2.3 酶联免疫吸附试验(ELISA) 在 96 孔板中依次加入 50 μL 标准蛋白和 50 μL 待测样品,每孔板中加入 50 μL 鸡尾酒溶液,贴封膜于室温下将孔板置于 400 rpm 摇床上避光孵育 1 h,用 1 × 冲洗缓冲液 PT 冲洗每个孔 3 次。洗涤后倒去多余液体,向每个孔中加入 100 μL TMB 底物显色剂,并在室温下 400 rpm 摇床上避光孵育 10 min。每孔加入 100 μL 终止液,轻轻震荡 1 min 将其混匀,将孔板放入在全波长自动酶标仪中,记录 450 nm 下的 OD 值。

1.2.4 RNA 提取和定量实时 PCR(qRT-PCR) 用组织剪将 OSCC 肿瘤及癌旁组织剪成糊状。采用 Trizol 法提取 RNA,检测总 RNA 的浓度和纯度, A260/280 的总 RNA 纯度 1.8 ~ 2.0 为合格。根据逆转录试剂盒说明书中描述的反应体系和反应条件进行 cDNA 的合成。那么,用逆转录合成的 2 μL cDNA 进行 q-PCR,以 β-actin 作为内源对照,使不同样本总 RNA 量的差异标准化。对每个样品重复三个孔,并进行了 3 次独立实验。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	上游引物	下游引物
ENO-1	5'-GCCCTGAACGAGAAGTCTG-3'	5'-ACGCTCAAGAGACTCGGT-3'
β-actin	5'-GAGCTACGAGCTGCTGACG-3'	5'-GTAGTTTCGTGGATGCCACAG-3'

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 8 对数据进行分析与处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验;qRT-PCR 结果采用秩和检验;相关性采用 Pearson 相关分析法,相关强度以相关系数 ρ 表示:0.8 ~ 1.0 = 极强相关;0.6 ~ 0.8 = 强相关;0.4 ~ 0.6 为中等相关;0.2 ~ 0.4 为弱相关;0.0 ~ 0.2 为极弱相关或不相关。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。 ρ 计算公式如下:

$$\rho_{x,y} = \frac{\sum(X - \bar{X})(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum(X - \bar{X})^2 \sum(Y - \bar{Y})^2}}$$

2 结果

2.1 正常黏膜及 OSCC 肿瘤组织中 ENO-1 的表达

IHC 评分结果显示, ENO-1 主要在细胞质中表达,在正常黏膜组织中呈弱阳性,细胞呈淡黄色,在 OSCC 肿瘤组织中呈阳性表达,细胞呈明显的黄色或棕黄色。 ENO-1 在 OSCC 肿瘤组织中的表达水平高于正常组织(1.32 ± 0.54),差异有统计学意义($P < 0.001$),而在高(4.00 ± 1.15)、中(3.91 ± 0.62)和低(3.69 ± 0.93)分化的不同病理分级的 OSCC 肿瘤组织中, ENO-1 的表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。

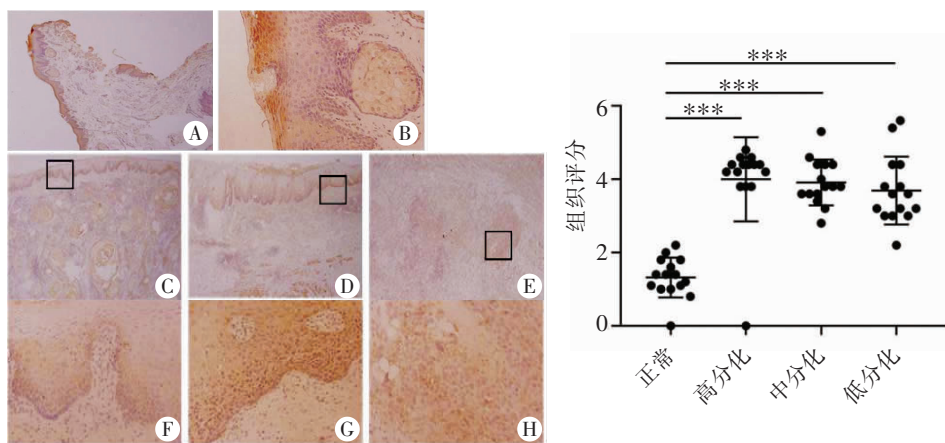


图 1 ENO-1 在正常组织及 OSCC 肿瘤组织中的表达(倒置显微镜下观察)

A. ENO-1 在正常口腔黏膜组织中的表达(40×); B. ENO-1 在正常口腔黏膜组织中的表达(400×); C、E、G. ENO-1 在低、中、高分化 OSCC 肿瘤组织中的表达(40×); D、F、H. ENO-1 在低、中、高分化 OSCC 肿瘤组织中的表达(400×)。*** $P < 0.001$ 。

2.2 qRT-PCR 检测正常黏膜及 OSCC 肿瘤组织中 ENO-1 mRNA 的表达

OSCC 组织中 ENO-1 的 mRNA 表达低于癌旁正

常组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 WB 检测正常黏膜及 OSCC 肿瘤组织中 ENO-1 蛋白的表达

结果显示, ENO-1 蛋白在口腔鳞癌组织中的表达 (2.10 ± 0.90) 高于正常组织 (0.71 ± 0.26), 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。见图 3A-3B。

2.4 ELISA 检测正常人及 OSCC 唾液中 ENO-1 蛋白的表达

ELISA 的结果与 ENO-1 在 OSCC 和癌旁正常组织中的蛋白表达相似。OSCC 肿瘤患者唾液中 ENO-1 蛋白的表达 (220.57 ± 51.93) 高于正常人 (148.96 ± 19.56), 差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 说明 OSCC 肿瘤患者与正常人的唾液中 ENO-1 表达的差异可能与 OSCC 的发生发展有关。见图 3C。

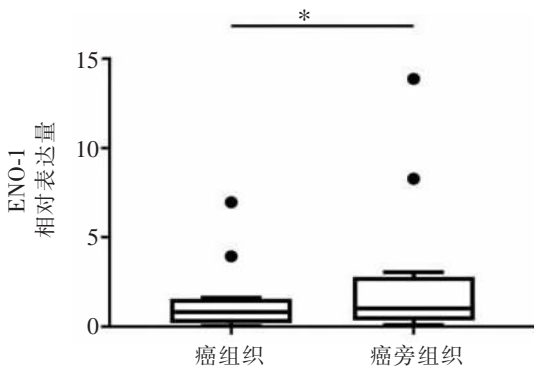


图 2 口腔鳞癌组织及癌旁组织中 ENO-1 的 mRNA 表达水平

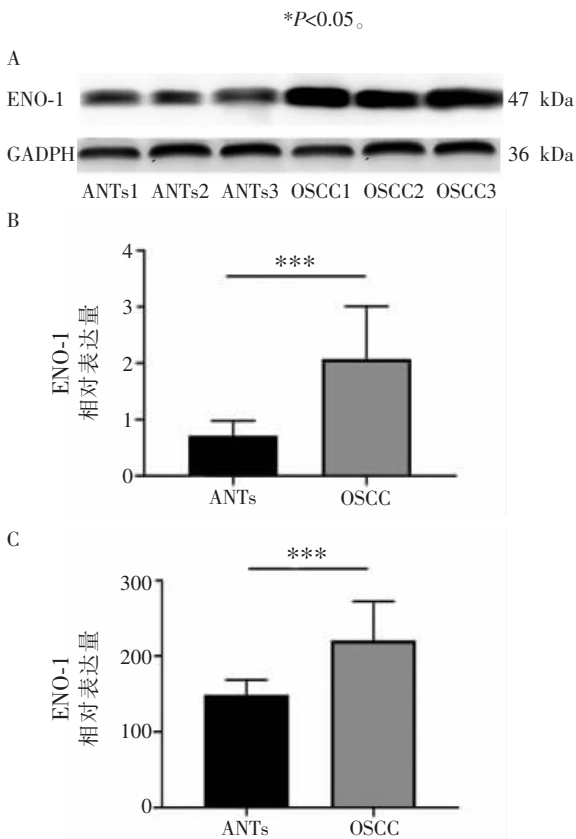


图 3 ENO-1 在 OSCC 患者及正常人组织和唾液中的蛋白表达

A-B. ENO-1 蛋白在口腔鳞癌组织及癌旁组织中的表达情况; C. ENO-1 在 OSCC 肿瘤患者及正常人唾液中蛋白的表达情况。*** $P < 0.001$ 。

2.5 OSCC 组和正常组唾液中 ENO-1 蛋白表达与组织学变化的相关性

WB 结果显示, ENO-1 在 OSCC 肿瘤组织中的蛋白表达高于癌旁组织, 提示 ENO-1 在口腔鳞癌组织中的表达变化可能与口腔鳞癌的发生发展有关。同时, ENO-1 在 OSCC 患者和正常人群组织中的蛋白表达变化与 ELISA 法检测的唾液中的变化相似。相关分析显示, $\rho = 0.75, P = 0.001$, 说明 OSCC 组和正常组唾液中 ENO-1 的表达水平与其组织中的变化密切相关。见表 2。

表 2 OSCC 患者与正常人唾液及组织中 ENO-1 表达的相关性

	WB	ELISA
WB		
Pearson		
Correlation	1	0.750 *
Sig. (2-tailed)		0.001
N	30	30
ELISA		
Pearson		
Correlation	0.750 *	1
Sig. (2-tailed)	0.001	
N	30	30

$\rho = 0.750, P = 0.001$ 。* 相关性在 0.01 水平上为显著。

3 讨论

肿瘤的发生发展是一个复杂的过程, 其中基因突变、环境改变、自噬和细胞代谢异常与肿瘤的发生、迁移和侵袭密切相关^[21-22], 但其发病机制尚不清楚。相关研究表明, 糖酵解是肿瘤细胞生存的重要能量来源, ENO-1 是重要的糖酵解酶, 所以人体内 ENO-1 含量的差异可作为肿瘤发展的标志之一。目前, 临床上用于检测肿瘤标志物的样本主要来自血液和组织, 但这两种样本采集方法都存在一定的局限性。首先, 样本采集方法会对患者造成不同程度的创伤, 采集过程复杂; 其次, 样本采集过程中容易引起医源性感染; 其三, 血液和组织检测结果一般需要患者等待一定时间。与组织和血液样本不同, 唾液无论生理或病理条件如何, 都会 24 h 在人体口腔中分泌。唾液采集方便, 无创, 成本低, 便于重复采集。此外, 不受时间、地点和其他客观条件的限制。

在本研究中, ENO-1 在正常人和 OSCC 患者的唾液和组织中成功表达。ENO-1 蛋白在 OSCC 肿瘤组织中的表达高于癌旁组织 ($P < 0.0001$), 但在不同病理分级的 OSCC 组织中表达差异不明显。同时, OSCC 患者唾液中 ENO-1 蛋白的表达与正常人有明显性差异。相关分析显示, ENO-1 在 OSCC 患者和正常人唾液中的差异表达与 OSCC 患者肿瘤组织和癌旁正常组织中的差异表达有显著相关性

($\rho = 0.75, P < 0.001$)。

qRT-PCR 结果显示, ENO-1 mRNA 在 OSCC 组织中的表达低于癌旁组织, 与 WB 结果相反, 可能是由于 ENO-1 mRNA 和蛋白在 OSCC 组织中的表达趋势不同, 其机制有待后期进一步探讨。即便如此, 本研究表明, ENO-1 在 OSCC 组织和正常组织中的表达差异, 提示 ENO-1 可能参与了 OSCC 的发生发展, 在未来可作为筛查 OSCC 的生物标志物。此外, 唾液中 ENO-1 表达的差异与组织中 ENO-1 表达的差异密切相关, 提示检测唾液中 ENO-1 含量可作为组织学检测的替代方法, 在 OSCC 早期作为一种简便、无创、快速的组织学检测方法。然而, 唾液也有其一定的局限性: 它的蛋白质含量低于血液和组织中的蛋白质含量。因此, 检测 ENO-1 在唾液中的表达需要一种灵敏且高度特异的实验方法。

参考文献

- [1] Li G, Li X, Yang M, *et al.* Prediction of biomarkers of oral squamous cell carcinoma using microarray technology [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 42105.
- [2] Liu J, Duan Y. Saliva: A potential media for disease diagnostics and monitoring [J]. *Oral Oncology*, 2012, 48(7): 569 – 577.
- [3] Radhika T, Jeddy N, Nithya S, *et al.* Salivary biomarkers in oral squamous cell carcinoma-An insight [J]. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 2016, 6(Suppl 1): 51 – 54.
- [4] Khurshid Z, Zafar MS, Khan RS, *et al.* Role of Salivary Biomarkers in Oral Cancer Detection [J]. *Advances in Clinical Chemistry*, 2018, 86: 23 – 70.
- [5] Kobayashi Y, Banno K, Kunitomi H, *et al.* Warburg effect in Gynecologic cancers: Warburg effect in Gynecologic cancers [J]. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2019, 45(3): 542 – 548.
- [6] Fitzgerald G, Soro-Arnaiz I, Bock KD. The Warburg Effect in Endothelial Cells and its Potential as an Anti-angiogenic Target in Cancer [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2018, 6: 100.
- [7] Eichenlaub T, Villadsen R, Freitas FCP, *et al.* Warburg Effect Metabolism Drives Neoplasia in a Drosophila Genetic Model of Epithelial Cancer [J]. *Current Biology*, 2018, 28(20): 3220 – 3228.
- [8] Salazar N, Souza MCL, Biasioli AG, *et al.* The multifaceted roles of *Leptospira* enolase [J]. *Research in Microbiology*, 2017, 168(2): 157 – 164.
- [9] Zhan P, Zhao S, Yan H, *et al.* α -enolase promotes tumorigenesis

- and metastasis via regulating AMPK/mTOR pathway in colorectal cancer [J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2017, 56(5): 1427 – 1437.
- [10] Isgrò MA, Bottoni P, Scatena R. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2015, 867: 125 – 143.
 - [11] Poyner RR, Cleland WW, Reed GH. Role of Metal Ions in Catalysis by Enolase: An Ordered Kinetic Mechanism for a Single Substrate Enzyme [J]. *Biochemistry*, 2001, 40(27): 8009 – 8017.
 - [12] Zhu B, McBride JW. Alpha Enolase 1 Ubiquitination and Degradation Mediated by *Ehrlichia chaffeensis* TRP120 Disrupts Glycolytic Flux and Promotes Infection [J]. *Pathogens*, 2021, 10(8): 962.
 - [13] Didiasova M, Schaefer L, Wygrecka M. When Place Matters; Shuttling of Enolase-1 Across Cellular Compartments [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2019, 7: 61.
 - [14] Okudela K, Mitsui H, Matsumura M, *et al.* The potential significance of alpha-enolase (ENO1) in lung adenocarcinomas-A utility of the immunohistochemical expression in pathologic diagnosis: ENO1 expression in lung cancer [J]. *Pathology International*, 2017, 67(12): 602 – 609.
 - [15] Principe M, Borgoni S, Cascione M, *et al.* Alpha-enolase (ENO1) controls α v/ β 3 integrin expression and regulates pancreatic cancer adhesion, invasion, and metastasis [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2017, 10(1): 16.
 - [16] Sun L, Guo C, Cao J, *et al.* Over-Expression of Alpha-Enolase as a Prognostic Biomarker in Patients with Pancreatic Cancer [J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2017, 14(7): 655 – 661.
 - [17] Zhu W, Li H, Yu Y, *et al.* Enolase-1 serves as a biomarker of diagnosis and prognosis in hepatocellular carcinoma patients [J]. *Cancer Management and Research*, 2018, 10: 5735 – 5745.
 - [18] Qian X, Xu W, Xu J, *et al.* Enolase 1 stimulates glycolysis to promote chemoresistance in gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 47691 – 47708.
 - [19] Bag S, Dutta D, Chaudhary A, *et al.* Identification of α -enolase as a prognostic and diagnostic precancer biomarker in oral submucous fibrosis [J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2018, 71(3): 228 – 238.
 - [20] Ito S, Honma T, Ishida K, *et al.* Differential expression of the human-enolase gene in oral epithelium and squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Science*, 2007, 98(4): 499 – 505.
 - [21] Auberger P, Puissant A. Autophagy, a key mechanism of oncogenesis and resistance in leukemia [J]. *Blood*, 2017, 129(5): 547 – 552.
 - [22] Raffaghello L, Longo V. Metabolic Alterations at the Crossroad of Aging and Oncogenesis [J]. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2017, 332: 1 – 42.

(收稿日期: 2021 – 12 – 31

修回日期: 2022 – 01 – 26)