

下调 HPV16 E6/E7 表达宫颈癌细胞 Siha 上清液代谢组学

肖金宝, 赵骏达, 马俊旗
(新疆医科大学第一附属医院妇科门诊, 新疆 乌鲁木齐 830000)

[摘要] **目的** 基于核磁共振氢谱(^1H NMR)代谢组学筛选抑制 HPV16 E6/E7 表达, 检测宫颈癌 Siha 细胞中差异代谢物以及相关通路, 以明确感染高危型 HPV16 宫颈癌发生的关键代谢标志物。**方法** 通过 RNAi 片段转染 Siha 细胞下调 E6/E7 表达, 分为正常对照组(Siha 细胞)、空载组(si-NON)、si-E6 组与 si-E7 组, 并验证其转染效率。利用 ^1H NMR 代谢组学技术揭示干扰 Siha 细胞中 E6/E7 表达后所涉及的差异代谢物; 结合 MetaboAnalyst 5.0 在线软件, 得到改变的差异性代谢物和相关的代谢途径。**结果** 荧光倒置显微镜观察细胞荧光存在; Western blotting 检测结果显示, 与 Siha 组比较, si-E6 组与 si-E7 组中 E6/E7 的表达量降低($F=145.8$, $P<0.001$); 下调 E6/E7 表达后, 检测 13 种共有差异代谢物, 包括异亮氨酸(Isoleucine), 亮氨酸(Leucine), 缬氨酸(Valine); MetaboAnalyst 5.0 在线软件分析结果提示, 以上代谢物主要涉及氨酰-tRNA 生物化学合成途径; 异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸的生物化学合成途径; 酪氨酸、苯丙氨酸以及色氨酸的生物化学合成等 10 条代谢途径。**结论** HPV16 感染后通过改变葡萄糖及氨基酸相关代谢促进宫颈癌的进展, 为宫颈癌的防治提供理论依据。

[关键词] HPV16 E6/E7; 宫颈癌; 代谢组学

[中图分类号] R737.33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)01-0022-06

Metabolomics of Siha Supernatant in Cervical Cancer Cells with Down-regulated HPV16 E6/E7 Expression

XIAO Jinbao, ZHAO Junda, MA Junqi
(Dept. of Gynecology, The 1st Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University,
Urumqi Xinjiang 830000, China)

[Abstract] **Objective** To detect the differential metabolites and related pathways in Siha cells of cervical cancer by screening the inhibition of HPV16 E6/E7 expression based on ^1H NMR metabolomics so as to identify the key metabolic markers involved in the development of high-risk HPV16 cervical cancer. **Methods** Siha cells were transfected with RNAi fragments to down-regulate the expression of E6/E7, which were divided into the normal control group(Siha cells), no-load group(si-NON), si-E6 group and si-E7 group, and their transfection efficiency was verified. ^1H NMR metabolomics was used to reveal the differential metabolites involved in interfering E6/E7 expression in Siha cells. Combined with MetaboAnalyst 5.0 online software, differential metabolites and related metabolic pathways were obtained. **Results** Fluorescence was observed by inverted fluorescence microscope. Western blotting results showed that compared with Siha group, the expression of E6/E7 in si-E6 group and si-E7 group was decreased($F=145.8$, $P<0.001$). After down-regulating the expression of E6/E7, 13 common differential metabolites, including Isoleucine, Leucine and valine, were detected. The results of MetaboAnalyst 5.0 online software analysis suggested that the above metabolites were mainly involved in the biochemical synthesis pathway of aminoacyl-tRNA, biochemical synthesis pathway of isoleucine, Leucine and valine; There were 10 metabolic pathways of tyrosine, phenylalanine and tryptophan biochemical synthesis. **Conclusion** After HPV16

[收稿日期] 2023-10-10

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81960463)

[作者简介] 肖金宝(1984~), 女, 新疆乌鲁木齐人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事妇科腔镜、妇科内分泌、妇科肿瘤研究工作。

[通信作者] 马俊旗, E-mail: xjmjq@163.com

infection, changes of glucose and amino acid metabolism can promote the progression of cervical cancer, which provide a theoretical basis for the prevention and treatment of cervical cancer.

[**Key words**] HPV E6/E7; Cervical cancer; Metabolomics

子宫颈癌(cervical cancer, CC)作为女性恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率持续上升且呈现低龄化,因而受到广泛关注^[1]。宫颈癌恶性进展中主要是受到高危型人乳头瘤病毒 HPV16、18 型的持续感染,导致癌基因 E6 和 E7 蛋白的活化,进而影响多条信号途径,促进癌细胞持续增殖,最终形成宫颈癌^[2-3]。研究表明, E6 和 E7 对葡萄糖^[4-5]、脂肪酸^[6]、氨基酸^[7] 代谢具有一定的影响,宫颈癌细胞的增殖、转移离不开代谢产能的供给。因此,本研究探讨 HPV E6/E7 蛋白的活化与宫颈癌相关能量代谢改变的关系,从而对宫颈癌的筛查、治疗、预后提供有利的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞 人源宫颈癌 Siha(HPV16+)细胞,购买于武汉 Pricella 生命科技有限公司。

1.1.2 主要试剂 HPV16 E6 抗体(sc-460)、HPV16 E7 ED17 抗体(sc-6981)购买于美国 Santa Cruz Biotechnology 公司。FBS 胎牛血清、青-链霉素、DMEM 培养基购买于 BI 公司, X-tremeGENE™ HP DNA 转染试剂盒购买于默克生命科学公司,每组质粒由海吉凯生物科技有限公司构建, RNAi 片段引物序列如下,见表 1。

表 1 E6 RNAi、E7 RNAi 片段引物序列

Tab. 1 Primer sequences of E6 RNAi and E7 RNAi fragments

基因名	引物序列
E6 RNAi	上游 TGCTGATGTATAGTTGTTTGCAGCTCGTTTTGGCCACTGACTGACGAGCTGCACAACACTATACAT 下游 CCTGATGTATAGTTGTCAGCTCGTCAGTCAGTGGCCAAAACGAGCTGCAAACAACACTATACATC
E7 RNAi	上游 TGCTGTTGTAATGGGCTCTGTCCGGTGTGTTTGGCCACTGACTGACACCGGACAGCCATTACAA 下游 CCTGTTGTAATGGGCTGTCCGGTGTGTCAGTCAGTGGCCAAAACACCGGACAGAGCCATTACAAC

1.2 实验方法

1.2.1 建立宫颈癌细胞 Siha 的 RNAi 载体转染 siRNA 片段、对照(si-NON)构建于由吉凯基因科技有限公司(上海)。本实验根据默克公司生产的质粒转染试剂(名称: X-tremeGENE HP DNA)说明书,其官网 <http://www.powerful-transfection.com/> 尚写的详细操作实验步骤,首先调整 Siha 细胞生长状态和所需的细胞数量进行试验。其次按照 3 μL X-tremeGENE HP DNA Transfection Reagent 添加至 1 μg 质粒 DNA/100 μL MEM 培养基中的比例进行转染。48 h 后应用莱卡荧光倒置显微镜(Leica DMIL LED)观察 Siha 细胞转染效率,应用 Western blot 验证。

1.2.2 细胞培养 宫颈癌 Siha 培养于 DMEM 完全培养基,包含 10%FBS 及 2%PS,培养于 37℃、5% 的 CO₂ 培养箱内。

1.2.3 核磁共振检测细胞上清液 -80℃ 冰箱中取出样品,准备在室温中 4℃ 的冰水混合物中逐渐解冻,准备无酶 EP 管,并加入 450 μL 的每组细胞上清液,并加入 DSS 缓冲溶液 50 μL(配置比例: 0.045MNaH₂PO₄+0.045MK₂HPO₄inD₂O)。本实

验中应用的实验仪器微波 ¹HNMR, 并采用 NOESYPRESAT-ID 脉冲序列进行上清液内的氢谱测定,内标为 DSS,将化学位移设定值为 0 ppm。最后采用预饱和方式进一步抑制水峰,其时间设置为 2 s,采样点数为 32 k,谱宽需为 10 000 Hz,扫描次数设为 126 次,采样时间平均 1.64 s,测试温度为恒温(25℃)。

1.2.4 代谢谱数据分析方法 所有 ¹HNMR 谱需要经过相位和基线校正,并用增宽因子为 0.5 Hz 的指数窗函数进行处理。数据用 SIMCA-P+11 软件进行上清代谢数据的 OPLS-DA 分析。各组细胞上清中差异性的代谢物需要经过 OPLS-DA 分析,并确定从中得到其变量重要性的参数(variable importance in the projection, VIP)值,要求 VIP >1。

1.3 统计学处理

本文所涉及的实验结果均经过 3 次独立实验的验证后取平均值。统计学分析采用 SPSS17.0 软件。定量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据间的对比需采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 E6-RNAi 和 E7-RNAi 的细胞模型建立

通过荧光倒置显微镜对转染 HPV16 编码 E6

或 E7 基因序列特异性 RNAi 片段的宫颈癌细胞进行观察, 明确转染效果见图 1A。Western blotting 验证各组细胞 E6/E7 蛋白表达量。结果显示, 与 Siha 组比较, si-E6 组与 si-E7 组中 E6/E7 的表达量降低($F=145.8, P<0.001$, 图 1B, 图 1C)。

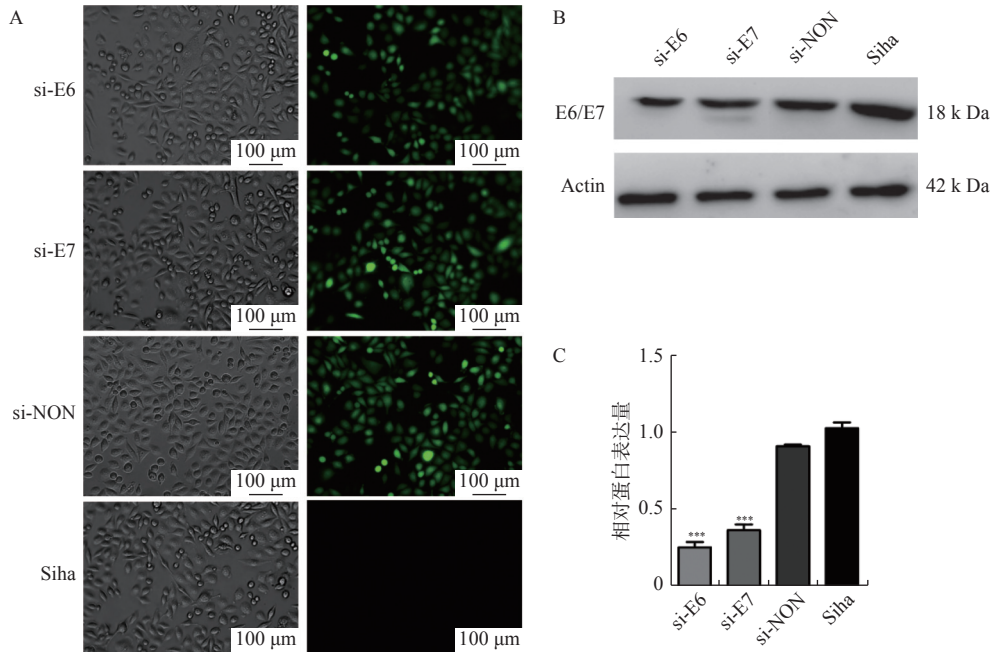


图 1 检测 SiHa 细胞内 E6-RNAi 和 E7-RNAi 的转染效率

Fig. 1 The transfection efficiency of E6-RNAi and E7-RNAi in SiHa cells was detected

A: RNAi 细胞模型的激光共聚焦成像观察(48 h); B: Western blot 检测 E6、E7 蛋白表达量; C: E6、E7 蛋白相对表达量; 与 Siha 组比较, $***P<0.001$ 。

2.2 E6、E7 蛋白表达下调对宫颈癌细胞上清代谢谱变化的影响

利用 $^1\text{H-NMR}$ 代谢谱分析细胞上清液, 在 si-E6、si-E7 组和 Siha 组中共有差异代谢物 13 种, 见图 2。异亮氨酸, 亮氨酸, 缬氨酸, 酪氨酸, β -羟丁酸, 苯丙氨酸, 甲酸酪氨酸, α -葡萄糖, β -葡萄糖, 乙酸, 苯丙氨酸含量下降($P<0.05$); 乳酸, 丙氨酸, 甲酸含量上升($P<0.05$), 见表 2。

2.3 E6、E7 蛋白表达下调对相关代谢通路的影响

利用 MetaboAnalyst 5.0 在线软件分析, 得到与 13 种差异代谢物相关的变化 10 条途径($P<0.05$), 主要分为糖代谢与氨基酸代谢 2 类。其中氨基酸代谢主要包含: (1) 氨酰-tRNA 生物合成途径; (2) 缬氨酸、亮氨酸以及异亮氨酸生物化学代谢途径; (3) 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物化学合成途径; (4) 苯丙氨酸合成途径; (5) 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解途径; (6) 苯丙氨酸的代谢途径; (7) 酮体的合成与降解途径; (8) 泛醌和其他萘类-醌类生物的合成途径。而糖代谢途径主

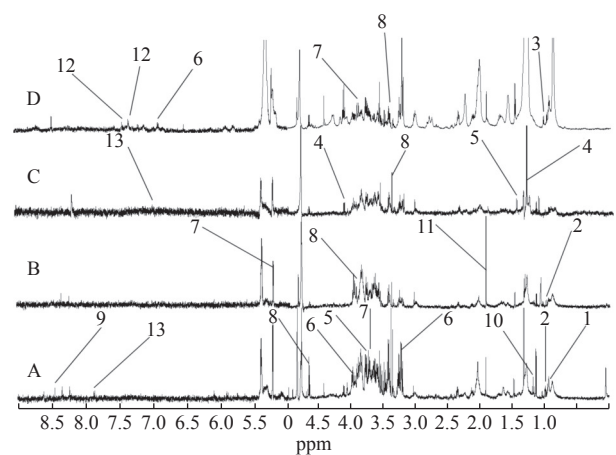


图 2 RNA 干扰后 SiHa 细胞上清 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

Fig. 2 $^1\text{H-NMR}$ spectra of SiHa suspension after RNAi

A: Siha 组 $^1\text{H-NMR}$ 谱; B: si-NON 组 $^1\text{H-NMR}$ 谱; C: si-E6 组 $^1\text{H-NMR}$ 谱; D: si-E7 组 $^1\text{H-NMR}$ 谱; (1) 异亮氨酸; (2) 亮氨酸; (3) 缬氨酸; (4) 乳酸; (5) 丙氨酸; (6) 酪氨酸; (7) α -葡萄糖; (8) β -葡萄糖; (9) 甲酸; (10) β -羟丁酸; (11) 乙酸; (12) 苯丙氨酸; (13) 甲基组氨酸。

表 2 RNA 干扰组与非干扰组¹HNMR 谱经过 OPLS-DA 分析获得的主要差异性代谢物及其相关系数

Tab. 2 Otherness metabolites of different cell samples using OPLS-DA based on different normalization methods and its correlation coefficients

序号	代谢物	化学位移/(mg/L)	归属	相关系数r			
				si-NON/si-/E6	si-NON/si-/E6	Siha/si-E6	Siha/si-E7
1	异亮氨酸	0.93(t)	δ-CH ₃	-0.84	-0.74	-0.93	-0.77
2	亮氨酸	0.95(d), 0.97(d)	δ-CH ₃ , δ-CH ₃	-0.88	-0.74	-0.94	-0.83
3	缬氨酸	0.98(d), 1.04(d)	CH ₃ , CH ₃ , α-CH ₂	-0.84	-0.79	-0.89	-0.85
4	丙氨酸	1.47(d), 3.76(q)	CH ₃ , α-CH	0.72	0.47	0.55	0.56
5	酪氨酸	3.95(dd), 6.89(d), 7.18(d)	CH ₂ , α-CH, H ₃ /H ₅	-0.59	-0.69	-0.92	-0.83
6	苯丙氨酸	7.32(d), 7.37(m), 7.42(m)	H ₂ /H ₆ , H ₄ , H ₃ /H ₅	-0.59	-0.51	-0.91	-0.84
7	甲基组氨酸	7.03(s), 7.74(s)	H ₄ , H ₂	0.65	0.45	0.96	0.91
8	α-葡萄糖	3.53(dd), 3.72(dd), 5.23(d), 3.84(ddd) 3.24(t), 3.40(t),	C-H ₂ , halfCH ₂ -CH ₆ , C-H ₁	-0.80	-0.87	-0.83	-0.71
9	β-葡萄糖	3.47(ddd), 3.70(dd), 3.90(dd), 4.64(d),	C-H ₄ , C-H ₅ , halfCH ₂ -CH ₆ , C-H ₁	-0.72	-0.7	-0.81	-0.68
10	乳酸	1.33(d), 4.11(q)	CH ₃ , CH	0.59	0.58	0.66	0.53
11	乙酸	1.91(s)	CH ₃	-0.54	-0.94	-0.73	-0.69
12	甲酸	8.44(s)	CH	0.49	0.41	0.91	0.63
13	β-羟丁酸	1.18(t), 4.17(dd)	γ-CH ₃ , β-CH		-0.63	-0.67	-0.65

s: 单峰; d: 双重峰; t: 三重峰; q: 四重峰; m: 多重峰; dd: 双重双重峰; ddd: 双重双重双重峰。

要包括: (1)糖酵解/糖异生途径; (2)丙酮酸的代谢途径, 乙醛酸和二羧酸类的代谢途径, 见图 3, 表 3。

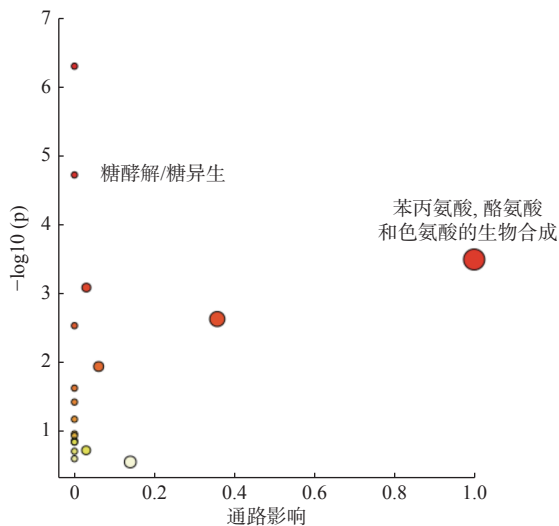


图 3 下调 Siha 细胞 E6/E7 蛋白代谢通路分析图

Fig. 3 Analysis of down-regulated E6/E7 protein metabolic pathways in Siha cells

3 讨论

宫颈癌位居女性妇科恶性肿瘤第 2 位, 其不

但威胁身心健康也会造成一定的经济负担。新疆地区高发肿瘤包括子宫颈癌, 其发病率正呈现为年轻化^[8-9]。宫颈癌诱发的主要原因是高危型的人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)2a 以上的持续性感染, 其中常见于 HPV16 和 18 的感染^[10]。其机制为 HPV 的 DNA 与宿主细胞的 DNA 整合, 通过诱导致癌基因 E6、E7 和调控细胞周期得蛋白存在相互作用, 紊乱细胞的周期, 从而促进它无限增殖, 演变为癌细胞^[11]。

近年来, 代谢重编程作为癌症标志之一, 快速生长的癌细胞可以适应其不断增长的能量需求。癌细胞的是从缺乏营养的环境中获得必要的营养物质, 并利用这些营养物质来维持细胞的活力、增殖。癌细胞的异常代谢功能最初是由奥托·瓦博格提出的, 对于正常细胞而言, 其肿瘤细胞偏向于消耗较多葡萄糖, 提出“Warburg effect”^[12-13]。自此, 众多科学研究集中在与癌症相关其它类型的代谢重编程, 如葡萄糖的氧化磷酸化、氨基酸合成和脂质氧化等代谢变化, 为寻找癌症进展中其余的潜在的治疗靶点。课题组前期研究发现异常的糖代谢, 脂代谢等会影响宫颈癌恶性进展^[14-15]。

在宫颈癌进展中, 参与糖酵解过程中关键酶如 HK2 等呈现过表达, 促进宫颈癌细胞的生长、

表 3 下调 Siha 细胞 E6/E7 蛋白后 10 条相关代谢通路

Tab. 3 10 metabolic pathways associated with down-regulation of E6/E7 protein in SIHA cells

代谢通路名称	总计	表达	数目	原始P值	差异倍数	Holm校对	错误检出率	影响
氨酰-tRNA生物合成	48	0.371 61	6	0.00000051598	6.2874	0.000043 342	0.000043 342	0
缬氨酸、亮氨酸和 异亮氨酸的生物合成	8	0.061 935	3	0.000019458	4.7109	0.001 615	0.000817	0
苯丙氨酸、酪氨酸和 色氨酸的生物合成	4	0.030 968	2	0.000327	3.4854	0.026817	0.009157	1
糖酵解/糖异生	26	0.201 29	3	0.000835	3.0784	0.067 623	0.017532	0.35714
苯丙氨酸合成途径	10	0.077 419	2	0.00239	2.6216	0.191 21	0.040153	0.02399
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解	40	0.309 68	3	0.002983	2.5254	0.235 65	0.041 76	0
苯丙氨酸代谢途径	22	0.170 32	2	0.011 65	1.9337	0.908 73	0.1398	0.06065
丙酮酸代谢途径, 乙醛酸和 二羧酸代谢	32	0.247 74	2	0.023961	1.6205	1	0.251 59	0
酮体的合成与降解	5	0.038 71	1	0.038 163	1.4184	1	0.356 19	0
泛醌和其他萘类-醌生物合成	9	0.069 677	1	0.067 728	1.1692	1	0.56891	0

转移等恶性行为^[16]。研究显示,在肿瘤细胞中,抑制烯醇化酶 1(enolase 1, ENO1)表达将抑制宫颈癌 HeLa 细胞发生典型上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)样形态学改变^[17]。前期研究发现 RACK1 通过 IGF1R/Akt/mTOR 信号通路激活糖酵解途径促进宫颈癌发生淋巴结转移^[18]。另 1 个常见的代谢变化是氨基酸代谢增加,特别是谷氨酰胺代谢。谷氨酰胺是 1 种主要的能量底物,为癌细胞提供额外的能量来源^[19]。在肿瘤细胞中多种特定的氨基酸转运体均过表达,如钠离子依赖的中性氨基酸转运蛋白 2(sodium-dependent neutral amino acid transporter 2, SNAT2)、丙氨酸-丝氨酸-半胱氨酸转运蛋白 2(alanine-serine-cysteine transporter 2, ASCT2)溶、质载体家庭 6 成员 14(solute carrier family 6 member 14, SLC6A14)等^[20]。若靶向一些氨基酸的转运体,将会抑制其转运氨基酸,记忆布减弱其细胞捏 ATP 能量代谢。

HPV 基因组转录本还含有非编码蛋白,通过蛋白质-蛋白质相互作用,在病毒与宿主的相互作用和感染的发展中发挥关键用途。E6/E7 直接促进糖酵解关键蛋白 HK2 表达^[21],或 HPV E6/p53 信号通路诱导的 miR-34a/LDHA 轴调控宫颈癌 Warburg 效应促进肿瘤的生长和侵袭^[22]。故靶向 HR-HPV 感染对抗糖酵解水平也可成为宫颈癌治疗的有效策略。研究显示,2 型转谷氨酰胺酶(transglutaminase 2, TG2)与宫颈癌细胞内 HPV16-E6 蛋白的表达水平存在相关性,可作为早期识别的重要指标以及判断预后的重要的分子标记物^[23]。本次研究通过下调 Siha 细胞中 E6、

E7 蛋白后,利用¹H-NMR 对转染后的细胞上清液进行代谢组学分析,筛选出 13 种共有的并变化的差异代谢物,其中,亮氨酸,异亮氨酸,缬氨酸,酪氨酸,β-羟丁酸,苯丙氨酸,酪氨酸,α-葡萄糖,β-葡萄糖,乙酸,苯丙氨酸含量下降,乳酸,丙氨酸,甲酸含量上升。以上差异代谢物涉及 10 条代谢通路,见图 3 和表 3。其主要影响氨基酸代谢以及葡萄糖代谢。提示 E6/E7 的表达异常与氨基酸代谢和糖代谢紊乱存在相关性。

综上所述,HPV16 感染导致宫颈癌发生是一个复杂的过程,本研究结果表明,E6、E7 蛋白下调对葡萄糖代谢与氨基酸代谢相关的物质含量有影响,提示 HPV16 感染与葡萄糖、氨基酸代谢改变之间存在着相互的关联,随着对 E6/E7 蛋白诱导 HPV 相关癌症的分子机制研究的不断深入,其可能会成为临床宫颈癌治疗的新靶点。本研究不足是缺少对 E6、E7 影响葡萄糖、氨基酸代谢的调控机制的研究,后续实验将会继续探索其存在的主要调控机制。

[参考文献]

- [1] Wang H, Hu H, Luo Z, et al. miR-4454 up-regulated by HPV16 E6/E7 promotes invasion and migration by targeting ABHD2/NUDT21 in cervical cancer[J]. Bioscience Reports, 2020, 40(9): 1-12.
- [2] Zhou Z, Yang H, Yang L, et al. Human papillomavirus type 16 E6 and E7 gene variations associated with cervical cancer in a Han Chinese population[J]. Infection, Genet-

- ics and Evolution: *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 2019, 73(4): 13–20.
- [3] Hasan Y, Furtado L, Tergas A, et al. A phase 1 trial assessing the safety and tolerability of a therapeutic DNA vaccination against HPV16 and HPV18 E6/E7 oncogenes after chemoradiation for cervical cancer[J]. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 2020, 107(3): 487–498.
- [4] Tang J, Li D, He L, et al. HPV 16 E6/E7 promote the glucose uptake of GLUT1 in lung cancer through downregulation of TXNIP due to inhibition of PTEN phosphorylation[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10(11): 559543.
- [5] Wang H, Lu Y, He L, et al. via HPV16 E6/E7 promote the translocation and glucose uptake of GLUT1 by PI3K/AKT pathway relieving miR-451 inhibitory effect on CAB39 in lung cancer cells[J]. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 2020, 11(9): 2040622320957143.
- [6] Diggle C, Pitt E, Roberts P, et al. N₃- and n₆-polyunsaturated fatty acids induce cytostasis in human urothelial cells independent of p53 gene function[J]. *Journal of Lipid Research*, 2000, 41(9): 1509–1515.
- [7] Kim D, Allwood J, Moore R, et al. A metabolomics investigation into the effects of HIV protease inhibitors on HPV16 E6 expressing cervical carcinoma cells[J]. *Molecular BioSystems*, 2014, 10(3): 398–411.
- [8] Li X, Zhou X, Zeng M, et al. PAX1 Methylation of gene promoter in the prediction of concurrent chemo-radiotherapy efficacy in cervical cancer[J]. *Journal of Cancer*, 2021, 12(17): 5136–5143.
- [9] 王丹萍, 周佳娣, 王伟, 等. 新疆乌鲁木齐市健康体检女性 HPV 感染情况及其基因型分布分析[J]. *新疆医学*, 2023, 53(3): 321–324.
- [10] Koc S, Yuksel D, Kayikioglu F. Colposcopic histopathology results of patients over 50: Is HPV genotyping useful?[J]. *Current Problems in Cancer*, 2022, 46(1): 100764.
- [11] Gandhi S, Nor Rashid N, Mohamad Razif M, et al. Proteasomal degradation of p130 facilitate cell cycle deregulation and impairment of cellular differentiation in high-risk human papillomavirus 16 and 18 E7 transfected cells[J]. *Molecular Biology Reports*, 2021, 48(6): 5121–5133.
- [12] Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body[J]. *J Gen Physiol*, 1927, 8(6): 519–530.
- [13] Vander Heiden M G, Locasale J W, Swanson K D, et al. Evidence for an alternative glycolytic pathway in rapidly proliferating cells[J]. *Science*, 2010, 329(5998): 1492–1499.
- [14] 阿仙姑·哈斯木, 努尔满古力·肉孜, 徐丽秀, 等. 宫颈癌发生与肿瘤组织代谢物变化及代谢途径的分析研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2018, 41(5): 521–527, 533.
- [15] 海燕, 美力班·吐尔逊, 阿仙姑·哈斯木. Pin1通过调控脂质代谢关键酶影响宫颈癌细胞的增殖及凋亡[J]. *昆明医科大学学报*, 2023, 44(1): 1–6.
- [16] 马建红, 高亚婷, 万子华, 等. 糖代谢与宫颈癌关系及其致病机制的研究进展[J]. *国际妇产科学杂志*, 2023, 50(3): 275–280.
- [17] 蔡鑫, 熊蓉, 范佳杨, 等. 沉默 ENO1 对人宫颈癌 HeLa 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响[J]. *山西医科大学学报*, 2020, 51(7): 616–622.
- [18] Xu L, Li J, Tursun M, et al. Receptor for activated C kinase 1 promotes cervical cancer lymph node metastasis via the glycolysis-dependent AKT/mTOR signaling[J]. *Int J Oncol*, 2022, 61(1): 83.
- [19] Hensley C T, Wasti A T, De Berardinis R J, et al. Glutamine and cancer: Cell biology, physiology, and clinical opportunities[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(9): 3678–3684.
- [20] 王林琳, 孙振亮. 氨基酸转运体在肿瘤代谢中的研究进展[J]. *生物技术进展*, 2022, 12(01): 50–56.
- [21] Hoppe-Seyler K, Honegger A, Bossler F, et al. Viral E6/E7 oncogene and cellular hexokinase 2 expression in HPV-positive cancer cell lines[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(63): 106342–106351.
- [22] Zhang R, Su J, Xue S L, et al. HPV E6/p53 mediated down-regulation of miR-34a inhibits warburg effect through targeting LDHA in cervical cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(2): 312–320.
- [23] 刘迎春. TG2及HPV16-E6蛋白在宫颈鳞癌中的表达研究[D]. 衡阳: 南华大学硕士学位论文, 2015.