

- at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML[J]. Blood, 2006, 107(11):4250-4256. DOI: 10.1182/blood-2005-11-4406.
- [10] Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, et al. International randomized study of interferon vs STI571 (IRIS) 8-year follow up: Sustained survival and low risk for progression or events in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase (CML-CP) treated with imatinib[J]. Blood (ASH annual meeting abstract), 2009, 114(22): 462.
- [11] Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2006, 355(23):2408-2417. DOI: 10.1056/NEJMoa062867.
- [12] Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2010, 362(24):2260-2270. DOI: 10.1056/NEJMoa1002315.
- [13] Porkka K, Khoury HJ, Paquette RL, et al. Dasatinib 100 mg once daily minimizes the occurrence of pleural effusion in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase and efficacy is unaffected in patients who develop pleural effusion[J]. Cancer, 2010, 116(2):377-386. DOI: 10.1002/cncr.24734.
- [14] Hagihara M, Iriyama N, Yoshida C, et al. Association of pleural effusion with an early molecular response in patients with newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia receiving dasatinib: Results of a D-First study[J]. Oncol Rep, 2016, 36(5):2976-2982. DOI: 10.3892/or.2016.5110.
- [15] Eliasson L, Clifford S, Barber N, et al. Exploring chronic myeloid leukemia patients' reasons for not adhering to the oral anticancer drug imatinib as prescribed[J]. Leuk Res, 2011, 35(5):626-630. DOI: 10.1016/j.leukres.2010.10.017.
- [16] Marin D, Bazeos A, Mahon FX, et al. Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(14):2381-2388. DOI: 10.1200/JCO.2009.26.3087.

(收稿日期:2019-11-30)

(本文编辑:王叶青)

IDH1 基因调控 THP-1 细胞凋亡和化疗药物敏感性的机制研究

马秋玲^{1,2,3} 杨敏¹ 金洁¹

¹浙江大学医学院附属第一医院血液科,杭州 310003; ²河南中医药大学第二附属医院血液科,郑州 450002; ³河南中医药大学,郑州 450046

通信作者:金洁, Email: jie0503@163.com

基金项目:河南省科技攻关项目(162102310455);河南省高校科技创新人才支持计划(17HASTTT046);国家自然科学基金(U1404806)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.04.012

How does IDH1 gene regulate THP-1 cell apoptosis and chemosensitivity?

Ma Qiuling^{1,2,3}, Yang Min¹, Jin Jie¹

¹Department of Hematology & Institute of Hematology, The First Affiliated Hospital, Zhejiang University, Hangzhou, 310003 China; ²Department of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China; ³Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

异柠檬酸盐脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)是三羧酸循环的限速酶,催化柠檬酸为 α 酮戊二酸

(α -ketoglutarate, α -KG),其家族包括IDH1、IDH2和IDH3三个成员, IDH1定位于细胞质和过氧化物酶体中, IDH2和

IDH3 定位于细胞线粒体。IDH1 和 IDH2 突变作为急性髓系白血病(AML)进展中早期克隆事件,对 AML 预后的作用受到突变位点和其他共同发生突变的影响,对 12 747 例 IDH1/2 突变患者进行 meta 分析发现,正常核型急性髓系白血病(CN-AML)患者中 IDH1 突变者完全缓解率、总生存率和无事件生存率较低,而 IDH2 突变患者的总生存率较高^[1-3]。Ward 等^[4]采用 siRNA 沉默 IDH1 基因直接导致神经胶质瘤细胞株 SF188 细胞生长减慢,证明 IDH1 抑制神经胶质瘤细胞增殖,而不是抑癌基因。我们前期对 320 例 CN-AML 患者研究显示,与 IDH1 基因 mRNA 低表达患者相比较,高表达患者预后差, IDH1 基因表达水平是独立于 WBC、原始细胞比例、染色体核型和基因突变等临床特征的独立预后因素之一^[5]。本研究主要探讨 IDH1 基因影响 AML 预后的可能机制。

材料与方 法

1. 细胞株与细胞培养:人 AML 细胞株 THP-1 细胞购于中国科学院上海细胞生物学研究所,测序证实为 IDH1 和 IDH2 野生型,培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,置于 37 ℃、5% CO₂、饱和湿度的恒温培养箱中培养。取生长状态良好的对数生长期细胞进行实验。

2. 主要试剂:胎牛血清和 RPMI 1640 培养基购自美国 Gibco 公司;噻唑蓝(MTT)购自美国 Sigma 公司;Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Biovision 公司;β-actin 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;Caspase-3、poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)、Cytc、BCL-2、Bak、PI3K、AKT、p-AKT、p-mTOR 和 p-p70S6K 等抗体均购自美国 Cell Signaling 公司;阿柔比星(ACR)纯品由深圳万乐药业公司赠送,高三尖杉酯碱(HHT)纯品购自浙江省药品检验所,柔红霉素(DNR)纯品购自大连美仑生物科技有限公司;siRNA 由美国 Invitrogen 公司合成,序列见表 1;siRNA 的阴性对照(negative control, NC)、带红色荧光的阳性对照、Lipofectamine™ RNAiMAX 转染试剂、Opti-MEM I Medium 和 RT 试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司;RNAiso plus 和 SYBR Green(SYBR@ Premix Ex Taq TM II)购自宝生物工程(大连)有限公司;随机引物由生工生物工程(上海)有限公司合成。

3. siRNA 干扰试验:取生长状态良好的对数生长期 THP-1 细胞,875×g 离心 5 min,弃上清,用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基重悬并计数,调整细胞密度为 6×10⁵/ml,铺于 24 孔板内,每孔 500 μl。按照 Lipofectamine™ RNAiMAX 操作说明配制转染混合物。500 μl 转染体系的转染混合物

的比例如下:混合物 1: Opti-MEM I Medium 50 μl, Lipofectamine™ RNAiMAX 1 μl, 共计 51 μl;混合物 2: Opti-MEM I Medium 50 μl, siRNA 1 μl(20 nmol/L), 共计 51 μl。混合物 1 和混合物 2 充分混匀后置于室温 20 min 后,加入已经铺好细胞的 24 孔板内,轻轻混匀,置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱培养。转染后 24、48 和 72 h 收集细胞,用流式细胞仪检测转染效率。实验均重复 3 次。

4. 实时荧光定量 PCR 检测 IDH1 的相对表达量:总 RNA 抽提按照 RNAiso plus 说明书进行。cDNA 逆转录应用 Invitrogen RT 试剂盒,根据说明书将 1 μg 的总 RNA 逆转录为 cDNA。IDH1 基因 mRNA 表达量按 SYBR Green (SYBR@Premix Ex Taq TM II) PCR Kit 说明书操作。以 C-ABL 基因作为内参,PCR 引物序列如下:C-ABL:正向引物 5'-TGGAGATAACACTCTAAGCATAACTAAAGGT-3',反向引物 5'-GATGTAGTTGCTTGGGACCCA-3'。IDH1:正向引物 5'-TCCCTACGTGGAATTGGATCTACA-3',反向引物 5'-TGCAGCATCCTTGGTGACTTG-3'。冰上配制 PCR 体系:2×SYBR® Premix Ex Taq TM II 12.5 μl;上游引物(10 μmol/L)0.25 μl,下游引物(10 μmol/L)0.25 μl, cDNA 1.0 μl, ddH₂O 11.0 μl,共 25 μl; PCR 程序:95 ℃ 预变性 5 min, 95 ℃ 30 s, 60 ℃ 1 min, 40 个循环。变性、退火、延伸扩增 40 个循环。制作 C-ABL 和 IDH1 熔解曲线,所有引物的熔解曲线为单一熔解峰,均介于 75~85 ℃,表明 PCR 特异性较好。每个样本重复 3 次, IDH1 的相对表达量用 2^{-ΔΔCT} 计算。

5. MTT 法检测细胞增殖和化疗药物敏感性: siRNA IDH1-181+182 和 NC 转染 THP-1 细胞后,细胞密度调整为 1.5×10⁴/ml,以每孔 200 μl 接种于 96 孔培养板内,设置 4 个复孔,培养 1~7 d。siRNA IDH1-181+182 和 NC 转染 THP-1 细胞 48 h 后,收集细胞,密度调整为 1×10⁵/ml,以每孔 200 μl 的体积接种于 96 孔培养板内,分别加入不同浓度化疗药物 HHT(10、20、40、80 和 160 ng/ml)、ACR(20、40、80 和 160 ng/ml)和 DNR(20、40、60、80 和 100 ng/ml),对照孔细胞加入相应体积的溶解药物溶剂,每个浓度设置 4 个复孔。根据实验要求相应的时间后加入 MTT 工作液(5 mg/ml),每孔 20 μl,充分混匀后置于 5% CO₂、37 ℃、饱和湿度的培养箱继续培养 4 h。2 189×g 离心 10 min,弃上清,加入 DMSO,每孔 200 μl,用 Bio-rad 酶标仪,检测 570 nm 吸光度值。实验均重复 3 次。

6. Annexin V/PI 双染法检测细胞凋亡率:按照 Annexin V/PI 检测试剂盒说明进行操作。收集 siRNA 干扰的 THP-1 细胞,预冷 PBS 洗涤 2 遍,875×g 离心 5 min,弃去上清;细胞团块重悬于 1×结合缓冲液 100 μl,将细胞重悬液转移到试管

表 1 IDH1 siRNA 的序列

siRNA	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
IDH1-181	AAAUGAUUCGUGUCAUUUCAUCUCC	GGAGAUGAAAUGACACGAAUCAUUU
IDH1-182	AAAUCAGUUGCUCUGUAUUGAUCCC	GGGAUCAAUACAGAGCAACUGAUUU
IDH1-183	UUCAAACUGGGACUUGUACUGCUUG	CAAGCAGUACAAGUCCAGUUUGAA

中;分别加入 5 μl PI 和 5 μl Annexin V,充分混匀,室温避光反应 10 min 后上流式细胞仪检测,应用 Cellquest 1.2 软件分析结果。实验均重复 3 次。

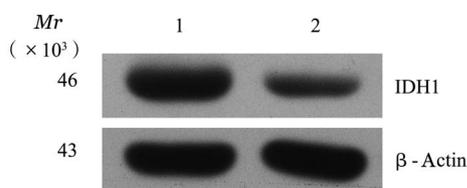
7. PI 法检测细胞周期:收集 siRNA 干扰的 THP-1 细胞,预冷 PBS 洗涤 2 遍,875×g 离心 5 min,弃去上清;75%酒精重悬细胞,4 °C 固定;预冷 PBS 洗涤固定好的细胞悬液 3 遍,弃去上清;1 ml 预冷的 PBS 重悬细胞,加入 RNA 酶 2 μl,37 °C 反应 30 min,悬液冷却后加入 PI 工作液 30 μl,避光,4 °C 孵育 30 min;用流式细胞仪检测,ModfitLD 软件分析细胞周期结果。实验均重复 3 次。

8. Western blot 法检测蛋白的表达水平:收集 siRNA 干扰的 THP-1 细胞,预冷 PBS 洗涤 3 遍,加入细胞裂解液混匀后冰上裂解 40 min,离心收集上清,BCA 法检测蛋白浓度。以 40 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 后转膜至 PVDF 膜,50 g/L 脱脂牛奶室温封闭 1 h,一抗 4 °C 孵育过夜,次日洗涤后加入相应二抗共孵育 1 h,洗涤后进行 X 线胶片显影。

9. 统计学处理:采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。IC₅₀ 采用加权直线回归方程计算,常规进行方差齐性和正态性检验。单变量组间比较采用 *t* 检验,方差不齐者采用非参数检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。统计图则采用 Graphpad Prism 6.0 软件进行绘制。

结果

1. AML 细胞株 THP-1 细胞 IDH1 siRNA 干扰效果: IDH1 siRNA 有 IDH1-181、IDH1-182 和 IDH1-183 三个片段,三个片段单独应用时 IDH1 基因 mRNA 下调水平不理想,将三个片段按不同方式组合,总浓度仍为 20 nmol/L,转染 THP-1 细胞 48 h 后检测 IDH1 基因 mRNA 的表达情况, IDH1-181+183、IDH1-181+182、IDH1-182+183 和 IDH1-181+182+183 组的 IDH1 基因 mRNA 抑制率分别为 (63.69 ± 7.73)%、(71.64 ± 9.64)%、(64.91 ± 9.79)% 和 (69.04 ± 5.27)%。因此,选用 IDH1-181+182 组合进行后续试验。 IDH1-181+182 转染 THP-1 细胞 48 h 后 Western blot 检测 IDH1 蛋白表达情况,结果如图 1 所示, IDH1 蛋白表达明显下调,表明 THP-1 细胞 IDH1 基因 siRNA 成功。



1: 阴性对照; 2: IDH1-181+182 干扰组

图 1 siRNA IDH1-181+182 干扰 THP-1 细胞 48 h IDH1 蛋白表达

2. 沉默 IDH1 基因对 THP-1 细胞增殖的影响: IDH1-181+182 转染 THP-1 细胞后, MTT 法检测 THP-1 细胞的增殖,结果如图 2 所示,与 NC 组相比较,沉默 IDH1 基因能够抑制 THP-1 细胞的增殖 (*t* = 2.60, *P* = 0.040)。

3. 沉默 IDH1 基因对 THP-1 细胞凋亡和细胞周期的影响: 对干扰细胞进行凋亡检测,结果如图 3A 所示,干扰 72 h 后, IDH1-181+182 干扰组凋亡率为 (37.22 ± 8.27)%, 明显高于 NC 组的 (19.50 ± 1.18)% (*t* = -3.67, *P* = 0.021)。如图 3B 所示, IDH1-181+182 干扰组和 NC 组 G₀/G₁ 期细胞的比例分别为 (50.05 ± 4.02)% 和 (50.42 ± 1.23)%, 差异无统计学意义 (*t* = 0.15, *P* = 0.890)。

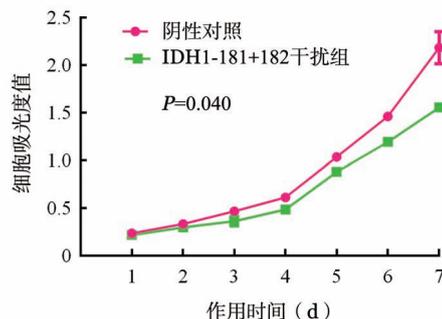


图 2 沉默 THP-1 细胞 IDH1 基因对细胞增殖的影响

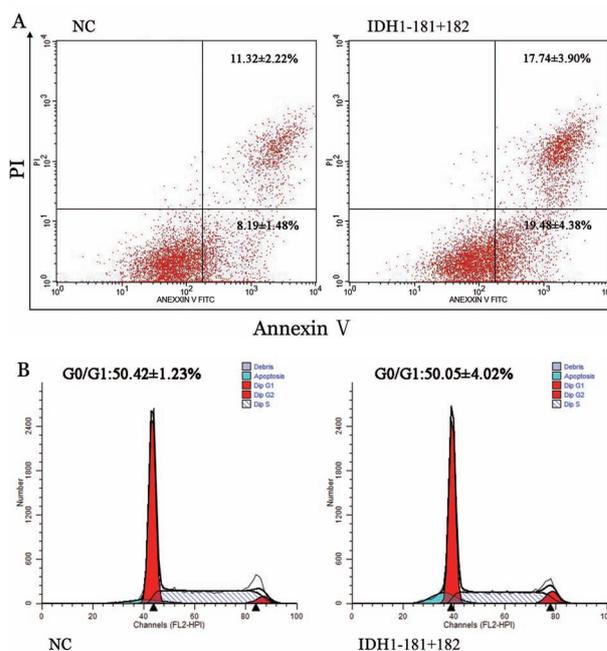
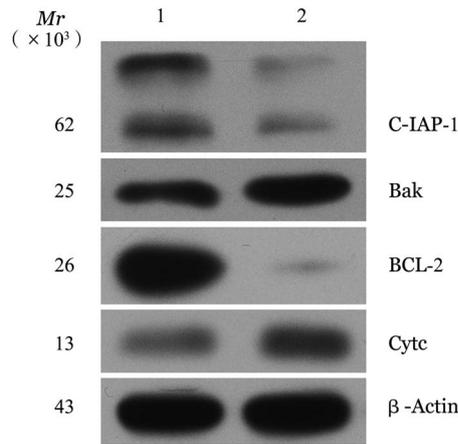
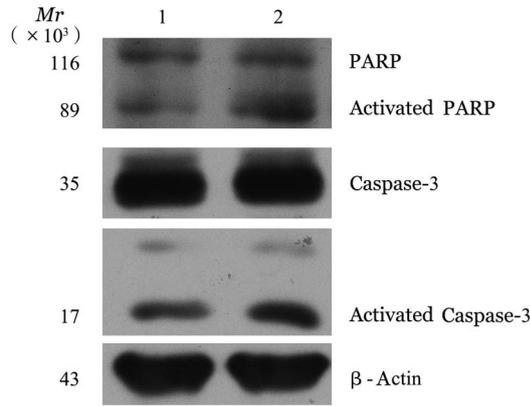


图 3 沉默 THP-1 细胞 IDH1 基因对细胞凋亡(A)和周期(B)的影响

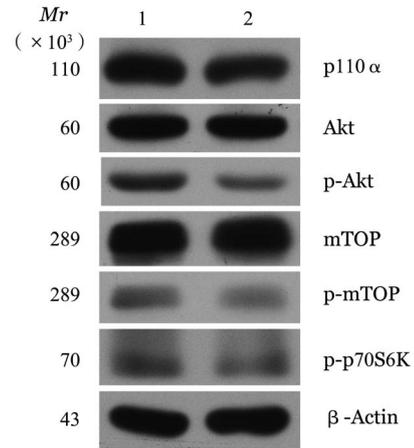
4. 沉默 IDH1 基因对 THP-1 细胞凋亡蛋白表达的影响: 采用 Western blot 法检测干扰 48 h THP-1 细胞凋亡蛋白的变化,结果如图 4 所示,与 NC 组相比较, IDH1-181+182 干扰组的 Caspase-3 和 PARP 的剪切带明显增加,促凋亡蛋白 Bak 和 Cyt c 表达水平明显升高,而抗凋亡蛋白 BCL-2 和 IAP 家族成员 c-IAP1 表达水平明显下调。

5. 沉默 IDH1 基因对 THP-1 细胞信号通路的影响: PI3K/AKT 信号通路在肿瘤细胞增殖和凋亡中起重要的作用,因此,我们检测沉默 IDH1 基因 48 h THP-1 细胞 PI3K/AKT 信号通路蛋白的变化。结果如图 5 所示, IDH1-181+182 干扰



1:阴性对照;2:IDH1-181+182干扰组

图4 沉默THP-1细胞IDH1基因对凋亡蛋白表达的影响



1:阴性对照;2:IDH1-181+182干扰组

图5 沉默THP-1细胞IDH1基因对PI3K/AKT/mTOR信号通路影响

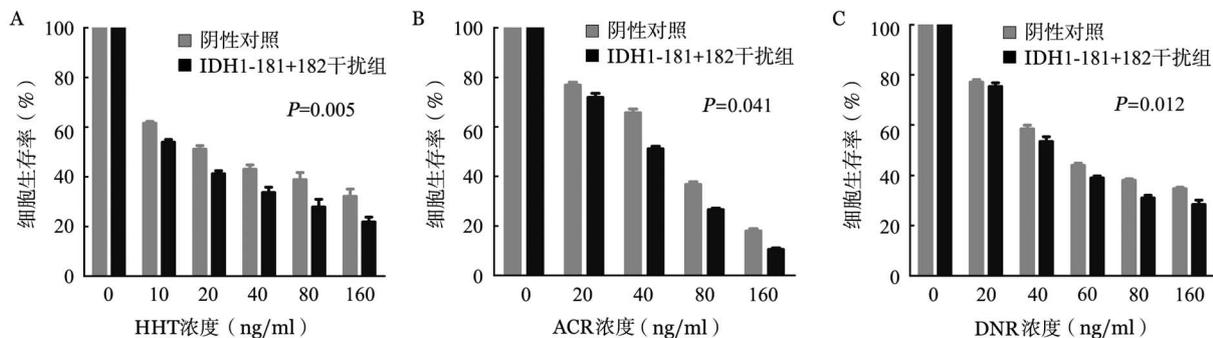
讨论

AML是一组高度异质性的血液系统恶性肿瘤,信号通路的调节紊乱和持续激活促进骨髓造血干/祖细胞的增殖。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路在多种肿瘤中被激活,对肿瘤细胞的增殖、凋亡、血管生成和代谢等方面起着重要作用^[6]。多项研究显示60%~80%的AML患者PI3K/Akt/mTOR信号通路被激活,这类患者总生存和无事件生存时间短,预后差,PI3K/Akt/mTOR信号通路被作为AML治疗的靶点^[7]。

IDH1位于胞质和过氧化物酶体,以NADP⁺作为辅助因子,催化异柠檬酸的氧化脱羧反应生成 α -酮戊二酸和NADPH,激活各种 α KG依赖性双加氧酶,并提供还原当量,在脂质生物合成和氧化还原稳态中起重要作用^[8]。大量研究证实肿瘤细胞IDH1突变为杂合的点突变,IDH1突变使其获得了新的酶活性,催化 α -KG生成2-羟戊二酸(2-HG),其通过竞争性抑制依赖 α -KG的酶活性来发挥病理作用。Ward等^[9]研究发现突变IDH1细胞胞质2-HG的产生依赖于保留的野生型IDH1等位基因的活性。我们前期对320例CN-AML患者研究显示IDH1基因mRNA高表达者预后差,是CN-AML独立预后因素之一^[5]。IDH1基因表达通过何种

组与NC组相比较,沉默IDH1基因后,PI3K/AKT/mTOR信号通路被抑制,信号通路中的PI3K110 α 、p-AKT、p-mTOR和p-p70S6K表达均下调。

6. 沉默THP-1细胞IDH1基因可增加化疗药物的敏感性:siRNA干扰THP-1细胞48h后,比较其对化疗药物的敏感性。结果如图6所示,HHT、ACR、DNR分别作用24h后,与NC组相比较,IDH1-181+182干扰组THP-1细胞生存率降低,差异均有统计学意义(HHT: $t=4.8, P=0.005$; ACR: $t=3.0, P=0.041$; DNR: $t=3.8, P=0.012$)。



A、B、C分别为对高三尖杉酯碱(HHT)、阿柔比星(ACR)、柔红霉素(DNR)敏感性的影响

图6 沉默THP-1细胞IDH1基因对化疗药物敏感性的影响

机制影响 AML 预后? 我们选择 AML 细胞株中 IDH1 基因表达量最高, IDH1 基因野生型的 THP-1 细胞作为研究对象, 设计 siRNA 干扰野生型 IDH1 基因的转录, 发现沉默 THP-1 细胞 IDH1 基因, 细胞增殖受抑制。siRNA 干扰野生型 IDH1 基因抑制 AML 细胞株 THP-1 细胞增殖与 Ward 等^[10]采用 siRNA 沉默胶质瘤细胞株 SF188 细胞 IDH1 基因导致细胞增殖减慢和 Metallo 等^[11]采用 shRNA 沉默肺癌细胞株 A549 细胞 IDH1 基因抑制细胞增殖一致。

细胞凋亡和周期阻滞是引起细胞生长抑制的常见原因。我们沉默 THP-1 细胞 IDH1 基因诱导细胞发生凋亡, 但细胞周期未受影响。细胞凋亡是程序性死亡, 细胞受到凋亡信号刺激后, 各种 Caspase 被级联剪切激活是凋亡过程中重要的事件, 受凋亡相关蛋白的调控, 如 BCL-2、BCL-x1、MCL-1 等拮抗细胞凋亡, Bax、Bak、Bid 等促进细胞凋亡, 其中 Bax/BCL-2 的比例决定细胞凋亡和 Caspase 激活的级联反应。Western blot 检测结果显示 siRNA 沉默 THP-1 细胞 IDH1 基因后抗凋亡蛋白 BCL-2 下调, 而促凋亡蛋白 Bak 上调, BCL-2 和 Bax 位于线粒体的外膜上, BCL-2 下调, 导致 Bax/BCL-2 比例上调, 细胞色素 C 从线粒体释放到胞质中, 促进 Caspase 激活的级联反应, 因此, 我们检测到 Caspase-3 及 PARP 被激活。IAP 家族由多个成员组成包括 CIAP-1、CIAP-2 和 XIAP 等, 结合并抑制 caspase 的活性来抑制凋亡, Western blot 检测结果显示 siRNA 沉默 IDH1 基因后 THP-1 细胞 CIAP-1 下调, 促进细胞凋亡。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路在 60% ~ 80% AML 患者中被激活, 调控细胞增殖和凋亡。Western blot 检测发现 siRNA 沉默 THP-1 细胞 IDH1 基因后 PI3K/AKT 信号通路被抑制, PI3K110 α 、p-AKT、p-mTOR 和 p-P70S6K 下调, 可能通过抑制 PI3K/Akt 通路, 诱导细胞凋亡, 通过 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 途径抑制蛋白合成和细胞增殖, 增加细胞对临床常用化疗药物 HHT、ACR 和 DNR 的敏感性。

综上所述, 在 AML 患者中, IDH1 基因 mRNA 高表达患者预后差, IDH1 基因可能通过 PI3K/AKT 途径抑制细胞凋亡和促进细胞增殖。因此, 下调 AML 细胞株 THP-1 细胞 IDH1 基因表达能够抑制 PI3K/AKT 信号通路, 诱导细胞凋亡和抑制细胞增殖, 增加化疗药物的敏感性。

参考文献

[1] Nomdedéu J, Hoyos M, Carricondo M, et al. Adverse impact of IDH1 and IDH2 mutations in primary AML: experience of the Spanish CETLAM group [J]. *Leuk Res*, 2012, 36(8):990-997.

DOI: 10.1016/j.leukres.2012.03.019.

- [2] Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute yeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2016, 374 (23): 2209- 2221. DOI: 10.1056/NEJMoa1516192.
- [3] Xu Q, Li Y, Lv N, et al. Correlation between isocitrate dehydrogenase gene aberrations and prognosis of patients with acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(15):4511-4522. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2628.
- [4] Ward PS, Patel J, Wise DR, et al. The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha- ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate [J]. *Cancer Cell*, 2010, 17 (3):225-234. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.01.020.
- [5] Ma QL, Wang JH, Wang YG, et al. High IDH1 expression is associated with a poor prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137 (5):1058- 1065. DOI: 10.1002/ijc.29395.
- [6] Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, et al. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer [J]. *Gene*, 2019, 698: 120-128. DOI: 10.1016/j.gene.2019.02.076.
- [7] Ricciardi MR, Mirabili S, Licchetta R, et al. Targeting the Akt, GSK-3, Bcl-2 axis in acute myeloid leukemia [J]. *Adv Biol Regul*, 2017, 65:36-58. DOI: 10.1016/j.jbior.2017.05.002.
- [8] Lee SM, Koh HJ, Park DC, et al. Cytosolic NADP (+)-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, 32(11):1185-1196. DOI: 10.1016/s0891-5849(02)00815-8.
- [9] Ward PS, Lu C, Cross JR, et al. The potential for isocitrate dehydrogenase mutations to produce 2-hydroxyglutarate depends on allele specificity and subcellular compartmentalization [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (6): 3804- 3815. DOI: 10.1074/jbc.M112.435495.
- [10] Ward PS, Patel J, Wise DR, et al. The common feature of leukemia-associated IDH1 and IDH2 mutations is a neomorphic enzyme activity converting alpha- ketoglutarate to 2-hydroxyglutarate [J]. *Cancer Cell*, 2010, 17 (3):225-234. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.01.020.
- [11] Metallo CM, Gameiro PA, Bell EL, et al. Reductive glutamine metabolism by IDH1 mediates lipogenesis under hypoxia [J]. *Nature*, 2011, 481(7381):380-384. DOI: 10.1038/nature10602.

(收稿日期:2019-11-09)

(本文编辑:王叶青)