

逆转肿瘤微环境异常 pH 梯度的抗癌新策略

王谊扬, 刘阳, 袁胜涛, 孙立*

(中国药科大学江苏新药筛选重点实验室, 江苏 南京 210009)

[摘要] 外酸化与内碱化的现象普遍存在于不同类型的恶性肿瘤中。这种微环境异常 pH 梯度的形成与肿瘤细胞的组织结构和代谢特点密切相关。微环境负 pH 梯度的维持与一些离子交换蛋白, 如 Na^+/H^+ 交换体-1 (NHE-1)、空泡质子泵 (V-ATPase)、 HCO_3^- 转运体等息息相关。碳酸酐酶 (CA) 对肿瘤细胞内外 pH 梯度的维持也有着重要意义。综述肿瘤微环境失调 pH 的成因、异常的微环境 pH 对肿瘤生长发展的影响以及一些逆转微环境异常 pH 梯度的治疗策略, 为相关药物的开发提供思路。

[关键词] 肿瘤; 外酸化; 内碱化; 离子交换蛋白; 抑制剂; 碳酸酐酶; pH 梯度; 抗癌策略

[中图分类号] R730.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2019) 07-0544-07

New Anti-cancer Strategies to Reverse the Abnormal pH Gradient of Tumor Microenvironment

WANG Yiyang, LIU Yang, YUAN Shengtao, SUN Li

(Jiangsu Key Laboratory of Drug Screening, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] External acidification and internal alkalization are common in different types of malignant tumors. The formation of this abnormal microenvironment of pH gradient is closely related to the tissue structure and metabolic characteristics of tumor cells. The maintenance of the negative pH gradient in the microenvironment is closely related to some ion exchange proteins such as Na^+/H^+ exchanger-1 (NHE-1), vacuolar proton pump (V-ATPase), HCO_3^- transporter and so on. Carbonic anhydrase (CA) also plays an important role for the maintenance of the pH gradient in the microenvironment. This article reviews the causes of abnormal pH of tumor and the influence on its growth and progression, and some treatment strategies to reverse the abnormal pH gradient of tumor microenvironment, so as to provide some ideas for the development of related drugs.

[Key words] tumor; external acidification; internal alkalization; ion exchange protein; inhibitor; carbonic anhydrase; pH gradient; anti-cancer strategy

pH 梯度失调是癌细胞的共同特征。与正常细胞相比, 肿瘤细胞具有升高的细胞内 pH (pHi) 和降低的细胞外 pH (pHe)^[1]。利用微电极、磁共振光谱法等方法测定肿瘤细胞内外的 pH, 可以发现肿瘤组织的酸性程度远高于正常组织^[2]。肿瘤细胞不能长时间在 pHi 过低的条件下生存, 于是将胞内的酸性产物排出, 从而引起肿瘤微环境的外酸化和内碱化。这种微环境负 pH 梯度的维持与一些离子交换蛋白 [如 Na^+/H^+ 交换体-1 (NHE-1)、空泡质子泵 (V-ATPase)、 HCO_3^- 转运体等] 密切相关。目前逆转微环境 pH 的方法主要包括直接利用小分子碱性药物^[3] 和间接使用离子蛋白抑制剂, 如 NHE-1

抑制剂^[4]、质子泵抑制剂 (PPIs)^[5] 等。此外, 通过抑制碳酸酐酶 (CA) 的活性, 也能一定程度逆转 pHe/pHi。基于上述研究成果, 本文简介了肿瘤失调 pH 的成因及肿瘤微环境 pH 失调对肿瘤生长发展的影响, 着重对近年来一些逆转微环境异常 pH 梯度的治疗策略的研究进展作一综述, 为逆转肿瘤失调 pH 药物的开发提供思路。

1 肿瘤微环境的异常 pH

1.1 外酸化与内碱化

在各种恶性肿瘤中, 细胞的外酸化与内碱化的现象普遍存在。在生理状况下, 正常组织中 pHe 一般保持在 7.4 而 pHi 一般保持在 7.2 (pHe > pHi)。然而在肿瘤细胞中, pHe 大多介于 6.5~7.0 而呈弱酸性, pHi 则与正常细胞类似, 为碱性或接近中性^[3]。这一发现颠覆了癌细胞中的 pHi 也比正常细胞更低的传统认知。在大多数肿瘤中都可以观察到这种负

接受日期: 2019-03-11

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 81872892)

***通讯作者:** 孙立, 研究员;

研究方向: 肿瘤药理学;

Tel: 025-83271057; **E-mail:** sunli@cpu.edu.cn

的 pH 梯度 ($pH_e < pH_i$)。

1.2 异常 pH 梯度的成因

肿瘤微环境异常 pH 梯度的形成与肿瘤细胞的组织结构以及代谢特点息息相关。在恶性肿瘤的发展过程中, 由于组织增生迅速、肿瘤组织的血管发育不良等原因, 造成部分组织供氧严重不足。缺氧的状况阻抑了肿瘤细胞通过有氧呼吸获得能量, 肿瘤细胞向糖酵解代谢发生转变以满足能量需要。因此, 肿瘤细胞以比正常细胞更高的速率消耗葡萄糖并产生乳酸来产生供其生存所需的能量。实际上, 癌细胞不管在有氧和无氧状况下都保持较高的糖酵解效率^[6] (即 Warburg 效应)。糖酵解的增加引起大量的乳酸产生, 肿瘤血管异常又不可及时清除积聚的乳酸, 这是引起肿瘤微环境酸化的因素之一。

另外, 胞内生成的 CO_2 弥散到胞外, 肿瘤缺氧的状态活化了缺氧诱导因子 1 (HIF-1), 诱导肿瘤细胞高表达 CA, 催化 CO_2 和 H_2O 反应生成碳酸^[7]。综上所述, 乳酸和 CO_2 是肿瘤酸性环境产生的两大物质基础。肿瘤细胞无法在 pH_i 过低的条件下长期

生存, 因此必须通过某些机制将酸性产物不断排出细胞外而维持胞内 pH 稳定。乳酸产生后, 一些氢离子和乳酸根被单羧酸盐转运蛋白 (monocarboxylate transporter, MCT) 以共转运的方式运输到细胞外, 大部分的氢离子则被细胞膜上众多激活的离子转运蛋白运至细胞外或泵入某些细胞器中, 最终导致肿瘤细胞在维持胞内 pH 呈中性至碱性的同时, 胞外及胞内一些细胞器 (如内涵体、溶酶体) 的 pH 明显降低。

1.3 异常 pH 梯度的维持

癌细胞 pH_e/pH_i 的维持与位于细胞质膜上一些离子转运体息息相关。维持癌细胞负 pH 梯度的离子转运蛋白主要包含 NHE-1、V-ATPase、 HCO_3^- 转运体、MCT^[8] 等 (见图 1)。NHE 是一种调节 pH_i 的重要跨膜蛋白, 可以使细胞内部的 H^+ 与细胞外部的 Na^+ 以等比例的方式发生跨膜交换从而调节 pH_i , 防止细胞内酸化。NHE 家族总体包括 9 个亚型 (NHE-1~9), 其中 NHE-1 是最早被发现的亚型^[9], 对 NHE 抑制剂敏感度最高。NHE-1 亚型的表达广泛, 对细胞内 pH 的调控起到重要作用。

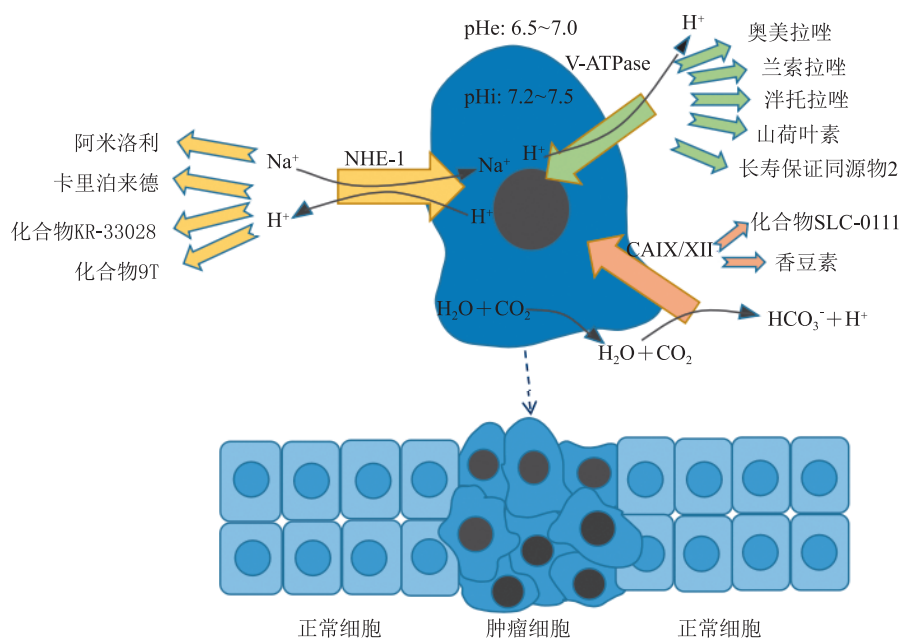


图 1 维持肿瘤细胞异常 pH 梯度的膜转运体

Figure 1 Membrane transporters maintaining abnormal pH gradient in tumor cells

V-ATPase 作为一种细胞 pH 调节泵, 也是最近几年的研究热点之一。V-ATPase 不止在细胞内的细胞器 (如溶酶体、内涵体、分泌小泡) 膜上表达,

而且在细胞质膜上表达。肿瘤细胞升高 V-ATPase 的活性, 将细胞内 H^+ 泵到细胞外或溶酶体、内涵体等细胞器内^[10], 造成肿瘤细胞外酸性环境, 并且防止

肿瘤细胞内酸化, 逃避凋亡损伤, 导致肿瘤细胞对化疗药物的耐药性增强。此外, V-ATPase 在多种类型的转移性肿瘤中过表达, 与肿瘤的侵袭性和转移潜力表现出正相关性。因此, 阻断 V-ATPase 的表达可以抑制肿瘤的生长和转移。

此外, CA 对维持癌细胞内外的 pH 梯度起关键作用。其是一类广泛存在于人体内的含锌金属酶, 可以有效催化 CO_2 与水合成碳酸的可逆过程。目前在灵长类动物中共发现了 16 种 α -CA, 其中有 15 种是常见且在人类中共有的^[6]。研究发现, CA 在维持癌细胞 pHi 方面起着重要作用。

2 异常的微环境 pH 对肿瘤的影响

2.1 促进肿瘤的生长转移

Pouyssegu 及其同事研究发现, 较高的 pHi 可以被看作肿瘤细胞增殖率提高的信号^[11]。近年来 Grillohill 等^[12] 也已在体内证实了 pHi 依赖性的肿瘤细胞增殖。肿瘤细胞中 pHi 的增加也与细胞侵袭表型有关; 降低的 pHe 则可通过增加基质金属蛋白酶 (MMP) 的活性促使肿瘤细胞发生浸润和迁移^[13]。酸性微环境中排出的一些产物 (如组织蛋白酶 B 和其他蛋白水解酶) 造成细胞外部基质降解^[14] 及周围正常细胞的坏死和凋亡。降低 pHi 或增加 pHe 则可抑制肿瘤细胞的生长迁移^[15]。因此, 设法降低 pHi 或增加 pHe 有望成为阻遏肿瘤生长和迁移的治疗新方法。

2.2 增加肿瘤的耐药性

研究发现, 酸性微环境导致肿瘤细胞产生抗药性并逃避化疗药物损伤^[16]。目前, 临床上大多数化学治疗药物均为弱碱性, 药物分子在胞外酸性条件下发生质子化, 难以穿过细胞膜脂质层到达细胞内部, 从而引起了肿瘤细胞对化学治疗药物的天然抗性。另一方面, 耐药性肿瘤细胞通常比对药物敏感的细胞含有更多的酸化细胞器 (例如内涵体、溶酶体等), 并且酸化程度更高。化疗药物到达胞内之后被酸性细胞器捕获, 经质子化后被隔离, 接着通过外吐作用被排到细胞外部, 因此减少了胞质内药物浓度^[2]。此外, 酸性微环境还导致肿瘤细胞的免疫功能发生异常, 逃避宿主免疫应答以及免疫治疗,

并引起肿瘤细胞对放疗的敏感度下降。

3 逆转肿瘤 pH 梯度的治疗策略

3.1 小分子碱性药物

Raghunand 等^[17] 早期研究发现, 对移植人类肿瘤的小鼠经口给予或注射 NaHCO_3 能够诱导肿瘤发生碱化, 增强乳腺癌模型对米托蒽恩或多柔比星治疗的敏感度, 且未引起正常肌肉 pHe 的明显提高。Robey 等^[18] 发现, 给乳腺癌转移模型小鼠经口给予或脾内注射 NaHCO_3 能够有针对性地升高肿瘤细胞的 pHe, 同时减少淋巴结和肝转移灶的形成。此外, 与对照组相比, 经过 NaHCO_3 治疗的小鼠体内的癌细胞显著减少, 总生存时间也得以延长。因此, 通过碳酸氢盐调控 pH 的变化从而实现肿瘤转移的控制, 是将来值得深入的研究方向^[19]。

3.2 离子转运蛋白抑制剂

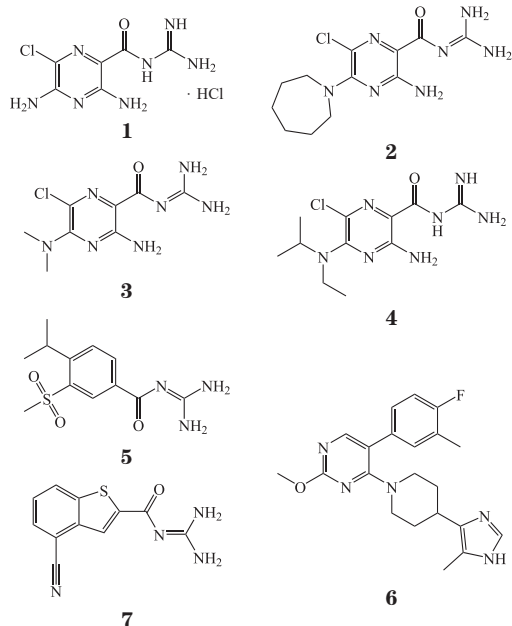
3.2.1 Na^+/H^+ 交换体-1 抑制剂 NHE-1 参与 pH 的调节并且在许多不同的恶性肿瘤中上调, 其活化是避免细胞内酸化并保护肿瘤细胞免于凋亡的一种方式。如在胶质瘤的治疗中, 敲低或抑制 NHE-1 的活性都能显著抑制神经胶质瘤细胞的迁移和增殖^[20]; 在 T 细胞急性淋巴细胞白血病 (T-ALL) 中, 沉默 NHE-1 可以增强细胞对多柔比星的敏感程度^[21]。因此, 开发 NHE-1 抑制剂有望应用于癌症的预防及治疗。Amith 等^[22] 已发现 NHE-1 抑制剂通过降低乳腺癌细胞的 pHi, 诱导细胞发生凋亡。

盐酸阿米洛利 (amiloride hydrochloride, **1**) 是最先被发现的 NHE-1 抑制剂^[6]。此后, 其吡嗪环 5 位被取代的化合物陆续被合成, 如 5-(*N,N*-六亚甲基) 阿米洛利 (HMA, **2**)、5-(*N,N*-二甲基) 阿米洛利 (DMA, **3**)、5-(*N*-乙基-*N*-异丙基) 阿米洛利 (EIPA, **4**) 等, 它们对 NHE-1 的抑制效果大多比盐酸阿米洛利要好^[23]。在急性髓性白血病 (AML) 中, AML 细胞比健康的造血细胞显示出更高的 pHi^[24], HMA 可以抑制 NHE-1 活性进而抑制 AML 细胞系的生长, 诱导其发生凋亡。此外, 研究发现 HMA 能够抑制肺癌干细胞 (CSCs) 的增殖、迁移和侵袭, 并促进细胞凋亡^[25]。

卡立泊来德 (cariporide, **5**) 是另一种 NHE-1

选择性抑制剂。Albatany 等^[26]研究发现, 对小鼠单剂量腹腔注射卡立泊来德后, 可以诱导多形性胶质母细胞瘤的急性细胞内酸化; Lee 等^[27]研究发现, 卡立泊来德可以诱导恶性间皮瘤细胞发生 DNA 损伤和细胞凋亡; 陈琦等^[28]研究发现, 该药增加了乳腺癌细胞对化疗的敏感性。卡立泊来德作为目前研究结果较理想的、特异性较强的 NHE-1 抑制剂, 有望在各种人类恶性肿瘤的治疗中成为一种毒性轻微而又有效的新型抗癌剂。

除了卡立泊来德之外, 研究新发现了一种有效的 NHE-1 抑制剂, 即化合物 9T (6)。该化合物对 NHE-1 的抑制活性已被证明是卡立泊来德的 500 倍以上^[29], 且能靶向抑制 NHE-1 (高于 NHE-2 约 1 400 倍)。与其他 NHE-1 抑制剂相比, 化合物 9T 的安全性较好, 是目前较有开发前景的抗肿瘤药物之一^[30]。此外, 另一种 NHE-1 的新型小分子抑制剂, 化合物 KR-33028 (7) 被发现可以抑制三阴性乳腺癌细胞的转移^[31]。其通过靶向 NHE-1, 调节肿瘤微环境的异常 pH, 起到很好的预防乳腺癌细胞转移的作用, 而其较小的相对分子质量也使其易被口服吸收。

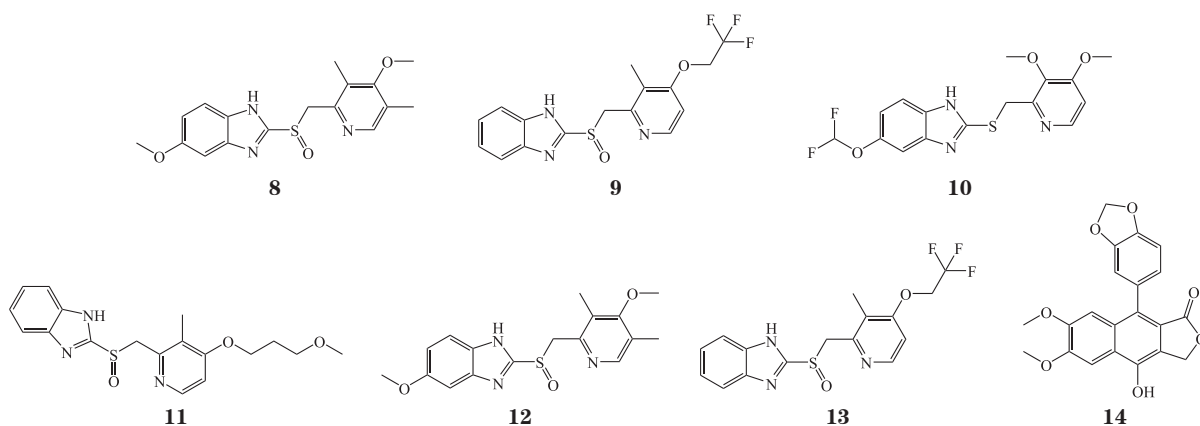


3.2.2 空泡质子泵抑制剂 PPIs 能抑制 V-ATPase 的活性, 调控多种癌细胞的 pH 梯度, 从而抑制肿瘤细胞的生长并诱导其发生凋亡^[32]。PPIs 也可以调控细胞内酸性细胞器的 pH 梯度 (如内涵体、溶酶体),

从而改变抗癌药物在胞内的分布情况, 增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感度^[33]。此外, PPIs 可以通过调控肿瘤细胞自噬使其对化疗药物的敏感性增加^[34]。自从第 1 代 PPIs 奥美拉唑 (omeprazole, 8) 在 20 世纪 80 年代被美国 FDA 批准用于治疗胃酸分泌异常及相关疾病以来, 兰索拉唑 (lansoprazole, 9)、泮托拉唑 (pantoprazole, 10)、雷贝拉唑 (rabeprazole, 11)、埃索美拉唑 (esomeprazole, 12) 和右兰索拉唑 (dexlansoprazole, 13) 也分别陆续获批用于治疗胃酸相关性疾病。而研究发现, PPIs 不仅是治疗消化性溃疡的一线药物, 其还具有抑制 V-ATPase 活性的重要作用, 可用于改善癌症治疗效果。

Zhang 等^[35]研究发现, 作为癌症治疗的辅助药物时, 奥美拉唑具有协同增效作用, 可以提高辅助放疗 (CRT) 疗效并减少直肠癌的复发。癌细胞中的酸性内涵体可以介导自噬, 同时增加癌细胞的耐药性并促进癌细胞的存活。Yu 等^[36]发现, 兰索拉唑可以浓度依赖性地提高内涵体 pH 并减少多柔比星在体内的滞留; 此外, 兰索拉唑可以改善阿霉素分布并增加其活性, 增强阿霉素在实体瘤中的治疗效果。细胞自噬的上调是化疗耐药的一种机制, 而泮托拉唑可以下调 V-ATPase 的表达, 抑制自噬并增加癌细胞对药物的敏感性。Tan 等^[37]发现, 泮托拉唑可以改善抗癌药物多西紫杉醇的细胞毒作用。

此外, 在乳腺癌的治疗中, Fan 等^[38]观察到长寿保证同源物 2 (LASS2) 能够抑制 V-ATPase 活性。在体外试验中, LASS2 改善了阿霉素 (DOX)、顺铂 (DDP) 和 5-氟尿嘧啶 (5-FU) 的疗效。他们检测到, LASS2 与 V-ATPase 的亚基 C 结合, 抑制了 V-ATPase 的功能, 从而增加这些化疗药物的治疗效果, LASS2 也导致溶酶体 pH 增加, 使隔离在细胞质的 DOX 能在细胞核释放, 从而增加了 DOX 对细胞凋亡的诱导。Wang 等^[39]也发现, LASS2 可以通过调节 V-ATPase 活性抑制膀胱癌的生长和侵袭。另外, 天然产物山荷叶素 (diphyllin, 14) 被发现可有效抑制 V-ATPase 活性, 用于食管癌的治疗^[40]。以上研究结果表明: 靶向抑制 V-ATPase, 有望提高肿瘤对化疗药物的敏感性, 改善抗癌治疗效果。



3.3 碳酸酐酶抑制剂

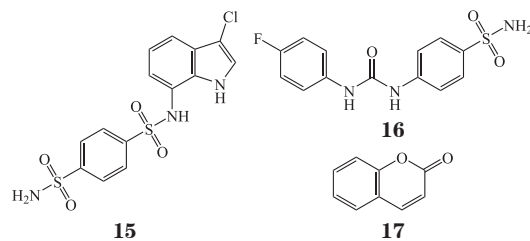
在对 CA 的研究中发现, 有 2 种与肿瘤相关性较大的 CA, 分别为 CAIX 和 CAXII。CAIX 和 CAXII 主要存在于缺氧肿瘤细胞中, 在正常组织中其表达则受限, 活性位点闭合, 因此酶保持无活性。最新研究也证实了 CAIX 和 CAXII 是癌症治疗中抗肿瘤转移的有吸引力的靶标^[41]。研究发现, CAIX/XII 抑制剂与其他抗癌剂, 如顺铂、PPIs、多柔比星、替莫唑胺等都具有协同作用, 是一种多功能的新兴抗癌药物^[42]。

目前, 研究最多的 CA 抑制剂主要有磺胺类和香豆素类。许多磺胺类、氨基磺酸盐类、香豆素类的 CA 抑制剂都被发现能有效靶向 CAIX^[43]。其中, 磺胺类抑制剂是一类较早被研究的 CA 抑制剂, 也是目前最重要的 CAIX/XII 抑制剂。然而, 这类化合物大多数对 CAIX/XII 的抑制特异性不强, 因此还需基于药物的结构设计和开发不同的磺酰胺衍生物, 并从中筛选更具选择性的肿瘤靶向 CAIX/XII 抑制剂。

磺胺类药物中, *N*-(3-氯-1*H*-吡啶-7-基)-1,4-苯二磺酰胺 (indisulam, **15**) 作为抗肿瘤药物进入临床试验, 并进入了 II 期临床试验阶段, 但在 2016 年终止。最近, 另一种磺胺类 CAIX/XII 抑制剂——SLC-0111 (**16**) 治疗晚期转移性实体瘤的 I 期临床试验获得成功, 目前处于 I b/II 期临床试验阶段^[42], 并正作为单一疗法或与其他药物如吉西他滨等联用。最新研究证明: SLC-0111 不仅增强了目前用于晚期黑色素瘤治疗的达卡巴嗪和替莫唑胺的细胞毒性, 还增加乳腺癌细胞对阿霉素的反应, 并增强 5-FU

对结肠癌细胞的抑制活性^[44]。

香豆素 (**17**) 是另一类 CAIX/XII 抑制剂。作为广泛存在的天然产物, 香豆素具有苯并吡喃酮结构, 是一种重要的杂环化合物。研究发现, 香豆素能抑制 CA 的活性。其中, 一些靶向 CAIX 和 CAXII 的糖基取代香豆素已被发现在过表达 CA 的乳腺癌原发性肿瘤和转移瘤动物模型中都能显著抑制肿瘤细胞的生长^[45]。香豆素不仅易于获取和制备, 且因其与 CA 结合位点的特殊性, 能实现对不同亚型的选择性抑制^[46]。因此, 香豆素及其衍生物也是一种靶向 CA 的抗肿瘤的潜力药物。此外, CAIX 和 CAXII 的单克隆抗体也是目前 CA 选择性抑制药物开发的重要方向。



4 结语

恶性肿瘤中, 微环境的外酸化和内碱化普遍存在。通过靶向调控微环境 pH 梯度的离子转运蛋白及 CA, 可以一定程度上逆转肿瘤微环境的异常 pH 梯度, 进而抑制肿瘤细胞增殖, 减弱肿瘤侵袭能力并降低肿瘤耐药性。因此, 研究和开发靶向性强的、毒性轻微、新型有效的 NHE1、V-ATPase 和 CAIX/XII 抑制剂是逆转 pHe/pHi 的重要方法。最近一项研究表明: 与单一药物治疗相比, 质子泵抑制剂 PPI 和 CA 抑制剂的联合使用获得了更有效的抗肿瘤效果^[47]。这代表了首次尝试同时靶向肿瘤微环境 pH

调控中涉及的2种重要机制的特殊治疗方法。当然, 在将上述药物相互组合或与其他抗癌药物联合使用时, 必须考虑药动学中药物间的相互作用, 深入探

讨其协同作用的动力学机制。相信在不久的将来, 这些逆转肿瘤细胞微环境pH梯度相关药物的开发, 能作为有效的抗癌治疗新策略。

[参考文献]

- [1] White K A, Grillohill B K, Barber D L. Cancer cell behaviors mediated by dysregulated pH dynamics at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2017, 130(4): 663-669.
- [2] 徐靛, 季峰. 肿瘤酸性微环境与抗肿瘤耐药对策研究进展 [J]. 国际消化病杂志, 2010, 30(2): 107-110.
- [3] Hao G, Xu Z P, Li L. Manipulating extracellular tumour pH: an effective target for cancer therapy[J]. *RSC Adv*, 2018, 8(39): 22182-22192.
- [4] Harguindey S, Koltai T, Reshkin S J. Curing cancer? Further along the new pH-centric road and paradigm[J]. *Oncoscience*, 2018, 5(5/6): 132-133.
- [5] 翁涵, 金海, 虞必光. 质子泵抑制剂抗肿瘤机制的研究进展 [J]. 医学综述, 2017, 23(3): 465-469.
- [6] Reza A M, Jaleh B, Pourseif M M, et al. Molecular machineries of pH dysregulation in tumor microenvironment: potential targets for cancer therapy [J]. *Bioimpacts*, 2017, 7(2): 115-133.
- [7] Sauvant C, Nowak M, Wirth C, et al. Acidosis induces multi-drug resistance in rat prostate cancer cells (AT1) *in vitro*, and *in vivo*, by increasing the activity of the p-glycoprotein, activation of p38[J]. *Int J Cancer*, 2010, 123(11): 2532-2542.
- [8] Spugnini E P, Sonveaux P, Stock C, et al. Proton channels and exchangers in cancer.[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2015, 1848(10): 2715-2726.
- [9] Mihaila R G. A minireview on NHE1 inhibitors. A rediscovered hope in oncohematology[J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2015, 159(4): 519-526.
- [10] Li W, Zhang H, Assaraf Y G, et al. Overcoming ABC transporter-mediated multidrug resistance: molecular mechanisms and novel therapeutic drug strategies[J/OL]. *Drug Resist Update*, 2016, 27: 14-29[2019-03-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27449595>. Doi:10.1016/j.drug.2016.05.001.
- [11] Pouyssegur J, Sardet C, Franchi A, et al. A specific mutation abolishing Na⁺/H⁺ antiport activity in hamster fibroblasts precludes growth at neutral and acidic pH[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 1984, 81(15): 4833-4837.
- [12] Grillohill B K, Choi C, Jimenezvidal M, et al. Increased H⁺ efflux is sufficient to induce dysplasia and necessary for viability with oncogene expression[J/OL]. *ELife*, 2015, 4: e03270 [2019-03-11]. <http://europepmc.org/abstract/med/25793441>. Doi: 10.7554/eLife.03270.
- [13] Yamamoto K, Murphy G, Troeberg L. Extracellular regulation of metalloproteinases[J]. *Matrix Biology*, 2015, 44-46: 255-263.
- [14] Gatenby R A, Gawlinski E T, Gmitro A F, et al. Acid-mediated tumor invasion: a multidisciplinary study[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(10): 5216-5223.
- [15] Parks S K, Pouyssegur J. The Na⁺/HCO₃⁻ Co-transporter SLC4A4 plays a role in growth and migration of colon and breast cancer cells[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(8): 1954-1963.
- [16] Vishvakarma N K, Kumar A, Singh V, et al. Hyperglycemia of tumor microenvironment modulates stage-dependent tumor progression and multidrug resistance: implication of cell survival regulatory molecules and altered glucose transport[J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(12): 932-945.
- [17] Raghunand N, Mahoney B P, Gillies R J. Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics. II. pH-dependent partition coefficients predict importance of ion trapping on pharmacokinetics of weakly basic chemotherapeutic agents.[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(7): 1219-1229.
- [18] Robey I F, Baggett B K, Kirkpatrick N D, et al. Bicarbonate increases tumor pH and inhibits spontaneous metastases[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2260-2268.
- [19] Parks S K, Chiche J, Pouyssegur J. pH Control mechanisms of tumor survival and growth[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 226(2): 299-308.
- [20] Zhu W, Carney K E, Pigott V M, et al. Glioma-mediated microglial activation promotes glioma proliferation and migration: roles of Na⁺/H⁺ exchanger isoform 1[J]. *Carcinogenesis*, 2016, 37(9): 839-851.
- [21] 陈琦, 池华茂, 许文林. 钠氢交换蛋白1与肿瘤耐药 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2019, 35(1): 13-18.
- [22] Amith S R, Fliegel L. Na⁺/H⁺ exchanger-mediated hydrogen ion extrusion as a carcinogenic signal in triple-negative breast cancer etiopathogenesis and prospects for its inhibition in therapeutics[J/OL]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 43: 35-41[2019-03-11]. <https://www.researchgate.net/publication/312482512>. Doi: 10.1016/j.semcancer.2017.01.004.
- [23] Scovassi A I, Aredia F. Manipulation of intracellular pH in cancer cells by NHE1 inhibitors[J]. *Protein Peptide Lett*, 2016, 23(12): 1123-1129.
- [24] Man C H, Lam S S Y, Sun M K H, et al. A novel tescalcic-sodium/hydrogen exchange axis underlying sorafenib resistance in FLT3-ITD⁺ AML[J]. *Blood*, 2014, 123(16): 2530-2539.
- [25] Zhang H S, Peng C X, Huang H, et al. Effects of amiloride on

- physiological activity of stem cells of human lung cancer and possible mechanism[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 504(1): 1-5.
- [26] Albatany M, Li A, Meakin S, *et al.* *In vivo* detection of acute intracellular acidification in glioblastoma multiforme following a single dose of cariporide[J]. *Int J Clin Oncol*, 2018(6): 1-8.
- [27] Lee Y J, Bae J H, Kim S A, *et al.* Cariporide enhances the DNA damage and apoptosis in acid-tolerable malignant mesothelioma H-2452 cells[J]. *Mol Cells*, 2017, 40(8): 567-576.
- [28] 陈琦, 冯凡, 朱小兰, 等. 钠氢交换蛋白抑制剂 Cariporide 对 MCF-7/ADR 细胞化疗敏感性影响机制研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(8): 512-517.
- [29] Atwal K S, O'Neil S V, Ahmad S, *et al.* Synthesis and biological activity of 5-aryl-4-(4-(5-methyl-1H-imidazol-4-yl)piperidin-1-yl)pyrimidine analogs as potent, highly selective, and orally bioavailable NHE-1 inhibitors[J]. *Bioorganic Med Chem Lett*, 2006, 16(18): 4796-4799.
- [30] Alfarouk K O, Verduzco D, Rauch C, *et al.* Glycolysis, tumor metabolism, cancer growth and dissemination. A new pH-based etiopathogenic perspective and therapeutic approach to an old cancer question[J]. *Oncoscience*, 2014, 1(12): 777-802.
- [31] Amith S R, Wilkinson J M, Fliegel L. KR-33028, a potent inhibitor of the Na⁺/H⁺ exchanger NHE1, suppresses metastatic potential of triple-negative breast cancer cells[J/OL]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 118: 31-39[2019-03-11]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295216302271>. Doi:10.1016/j.bcp.2016.08.010.
- [32] Katara G K, Kulshrestha A, Jaiswal M K, *et al.* Inhibition of vacuolar ATPase subunit in tumor cells delays tumor growth by decreasing the essential macrophage population in the tumor microenvironment[J]. *Oncogene*, 2015, 35(8): 1058-1065.
- [33] Kubisch R, Fröhlich T, Arnold G J, *et al.* V-ATPase inhibition by archazolid leads to lysosomal dysfunction resulting in impaired cathepsin B activation *in vivo*[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(10): 2478-2488.
- [34] Lugini L, Federici C, Borghi M, *et al.* Proton pump inhibitors while belonging to the same family of generic drugs show different anti-tumor effect[J]. *J Enzym Inhib Med Chem*, 2015, 31(4): 538-545.
- [35] Zhang J L, Liu M, Yang Q, *et al.* Effects of omeprazole in improving concurrent chemoradiotherapy efficacy in rectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(14): 2575-2584.
- [36] Yu M, Lee C, Wang M, *et al.* Influence of the proton pump inhibitor lansoprazole on distribution and activity of doxorubicin in solid tumors[J]. *Cancer Sci*, 2015, 106(10): 1438-1447.
- [37] Tan Q, Joshua A M, Saggarr J K, *et al.* Effect of pantoprazole to enhance activity of docetaxel against human tumour xenografts by inhibiting autophagy[J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(5): 832-840.
- [38] Fan S, Niu Y, Tan N, *et al.* LASS2 enhances chemosensitivity of breast cancer by counteracting acidic tumor microenvironment through inhibiting activity of V-ATPase proton pump[J]. *Oncogene*, 2013, 32(13): 1682-1690.
- [39] Wang H, Zuo Y, Ding M, *et al.* LASS2 inhibits growth and invasion of bladder cancer by regulating ATPase activity[J]. *Oncology Lett*, 2016, 13(2): 661-668.
- [40] Chen H J, Liu P F, Zhang T, *et al.* Effects of diphyllin as a novel V-ATPase inhibitor on TE-1 and ECA-109 cells[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(3): 921-928.
- [41] Supuran C T. Carbonic anhydrase inhibition and the management of hypoxic tumors[J/OL]. *Metabolites*, 2017, 7(3): 48[2019-03-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28926956>. Doi:10.3390/metabo7030048.
- [42] Supuran, Claudiu T. Carbonic anhydrase inhibitors as emerging agents for the treatment and imaging of hypoxic tumors[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(12): 963-970.
- [43] Claudiu T S. How many carbonic anhydrase inhibition mechanisms exist?[J]. *J Enzym Inhib Med Chem*, 2015, 31(3): 345-360.
- [44] Andreucci E, Ruzzolini J, Peppicelli S, *et al.* The carbonic anhydrase IX inhibitor SLC-0111 sensitises cancer cells to conventional chemotherapy[J]. *J Enzym Inhib Med Chem*, 2019, 34(1): 117-123.
- [45] Touisni N, Maresca A, McDonald P C, *et al.* Glycosyl coumarin carbonic anhydrase IX and XII inhibitors strongly attenuate the growth of primary breast tumors[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(24): 8271-8277.
- [46] Sharma A, Tiwari M, Supuran C T. Novel coumarins and benzocoumarins acting as isoform-selective inhibitors against the tumor-associated carbonic anhydrase IX[J]. *J Enzym Inhib Med Chem*, 2014, 29(2): 292-296.
- [47] Federici C, Lugini L, Marino M L, *et al.* Lansoprazole and carbonic anhydrase IX inhibitors synergize against human melanoma cells[J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31(Sup1): 1-7.



【专家介绍】孙立：博士，研究员，博士生导师。2003年获中国药科大学药理学专业硕士学位；2010年获中国药科大学药理学专业博士学位；2013年获国家留学基金委资助赴美留学。专业方向为肿瘤药理学，研究内容包括肿瘤微环境对肿瘤转移相关机制研究、抗肿瘤药物筛选以及抗肿瘤药物评价。主持参与多项国家自然科学基金项目、863项目等国家级纵向课题；发表SCI论文70余篇，申请专利10余项，专利转让1项。