



Dostępne online www.journals.wco.pl/los

Zeszyty Naukowe WCO, Letters in Oncology Science 2021;19(1):1-8

DOI: 10.21641/los.2022.19.1.215

Letters in Oncology Science

ISSN 2543-6724

ZESZYTY NAUKOWE WIELKOPOLSKIEGO
CENTRUM ONKOLOGII

Praca poglądowa/Review paper

The Significance of chloride intracellular channel 1 (CLIC1) in head and neck cancer

Bartosz Wojtera¹

¹ *Zakład Radioterapii I, Wielkopolskie Centrum Onkologii, Poznań, Polska*

Streszczenie

Kanały jonowe są integralnymi białkami błonowymi, obecnymi zarówno w błonie komórkowej, jak i w wewnątrzkomórkowych błonach. Zidentyfikowano ponad 400 genów kodujących białka kanałów jonowych w ludzkim genomie. Jednym z nich jest wewnątrzkomórkowy kanał chlorkowy 1 (Chloride Intracellular Channel 1, CLIC1). CLIC1 wpływa na regulację wielu procesów związanych z nowotworzeniem, takich jak proliferacja, migracja, inwazja komórek, czy angiogeneza. W zakresie nowotworów głowy i szyi wykazano zwiększoną ekspresję białka CLIC1 w tkankach guza oraz w osoczu pacjentów z rakiem jamy ustnej oraz z rakiem nosogardła, co wskazuje na możliwość wykorzystania CLIC1 jako potencjalnego markera nowotworowego.

Abstract

Ion channels are integral membrane proteins present on the plasma membrane as well as intracellular membranes. In the human genome, there are more than 400 known genes encoding ion channel proteins. One of their representatives is the Chloride Intracellular Channel 1 (CLIC1). It regulates various neoplastic processes including cell proliferation, migration, invasion and angiogenesis. In the head and neck cancer, CLIC1 protein has an increased expression in tumor tissues and blood plasma in patients with oral and nasopharyngeal cancer. Therefore, it may be potentially used as a cancer biomarker.

Słowa kluczowe: CLIC1; wewnątrzkomórkowy kanał chlorkowy 1; nowotwory głowy i szyi; rak jamy ustnej; rak nosogardła; marker nowotworowy

Keywords: CLIC1, Chloride intracellular channel 1, head and neck cancer, rak jamy ustnej; rak nosogardła; cancer biomarker

Adres do korespondencji

Bartosz Wojtera

Zakład Radioterapii I,

Wielkopolskie Centrum Onkologii, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań, Polska

Telefon. +48 ?????????

e-mail: bartosz.wojtera96@gmail.com

Wprowadzenie

W ostatnim czasie kanały jonowe zyskały uwagę jako markery wielu chorób organicznych, czynnościowych, jak i nowotworowych. Istotnymi przedstawicielami są wewnątrzkomórkowe kanały chlorkowe (*Chloride intracellular channels, CLICs*), których rodzina liczy 6 białek: CLIC1, CLIC2, CLIC3, CLIC4, CLIC5 oraz CLIC6. Występują one w błonach komórkowych oraz w formach rozpuszczalnych w cytoplazmie komórek wszystkich organizmów. Pełnią ważną rolę w fizjologii i patofizjologii układu krążeniowo-oddechowego, układu nerwowego, zaburzeń słuchu oraz nowotworów [1,2].

Najlepiej poznanym wewnątrzkomórkowym kanałem chlorkowym biorącym udział w procesach związanych z nowotworzeniem jest białko CLIC1. Funkcje genu oraz białka CLIC1 zostały określone w badaniach dotyczących różnych nowotworów i obejmują udział w regulacji ścieżek sygnałowych PI3K/AKT, MAPK/ERK oraz MAPK/p38 [3–7], produkcji reaktywnych form tlenu [8,9], cyklu komórkowego, proliferacji, mobilizacji, inwazji, migracji, inwazji naczyń, czy przerzutowaniu [5,7,8,10–12]. Ponadto, istnieją doniesienia o CLIC1 jako potencjalnym czynnikiem prognostycznym [13–15], markerze nowotworowym [16–20], czy markerze odpowiedzi na leczenie [21].

W literaturze wykazano oddziaływanie biguanidów na białko CLIC1 – metformina i inne leki z tej grupy hamują proliferację i żywotność komórek nowotworowych wpływając na CLIC1 [22–24]. Innym związkiem oddziałującym na CLIC1 jest plumbagina (5-hydroksy-2-metylo-1,4-naftochinon), czego dowiedziono na podstawie hodowli komórkowej raka języka [25]. Ponadto, wykazano, że żywiczne glikozydy z *Semen Pharbitidis* prowadzą do apoptozy komórek nowotworowych w podobnym mechanizmie [22], a także zidentyfikowano 6 naturalnych substancji, na podstawie których można zsyntetyzować celowane inhibitory CLIC1 mogące mieć potencjalne zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej [27].

CLIC1 w nowotworach głowy i szyi

W nowotworach głowy i szyi jedynymi markerami prognostycznymi uwzględnionymi w codziennej praktyce są obecność wirusa HPV (p16) oraz ekspresja PD-L1 [28]. Określenie kolejnych prognostycznych, a także diagnostycznych markerów nowotworowych przyczyniłoby się do dalszego rozwoju onkologii otorynolaryngologicznej, co zwiększyłoby szansę pacjentów na wczesne rozpoznanie nowotworu lub wznowy, ocenę ryzyka, diagnostykę różnicową, monitorowanie oraz ocenę odpowiedzi na leczenie [29].

Niewiele publikacji skupia się na ocenie CLIC1 w nowotworach głowy i szyi [16,17,30–33]. Pomimo obiecujących wyników w raku jamy ustnej [5,16] oraz raku nosogardła [17], znaczenie CLIC1 w nowotworach tej okolicy wymaga dalszych badań. W Tabeli 1 przedstawiono doniesienia naukowe związane ze znaczeniem genu lub białka CLIC1 w nowotworach głowy i szyi.

Tabela 1. Publikacje dotyczące znaczenia CLIC1 w nowotworach głowy i szyi.

Autor	Rok publikacji	Kraj badań	Badany nowotwór
Feng i in. [5]	2019	Chiny	Rak jamy ustnej
Xu i in. [16]	2018	Chiny	Rak jamy ustnej
Peyvandi i in. [30]	2018	Iran	Rak krtani
Zhou i in. [25]	2015	Chiny	Rak jamy ustnej
Karsani i in. [31]	2014	Malezja	Rak jamy ustnej
Cristofaro i in. [32]	2014	Włochy	Rak jamy ustnej
Kim i in. [33]	2010	Korea Południowa	Rak krtani
Chang i in. [17]	2009	Tajwan	Rak nosogardła

• Rak jamy ustnej

Badania na hodowlach komórkowych wykazały, że CLIC1 bierze udział w progresji, proliferacji, migracji, inwazji oraz procesie angiogenezy raka jamy ustnej [5], a stężenie białka CLIC1 różni się między komórkami nowotworowymi i zdrowymi komórkami [31]. Potwierdzone zostało zaangażowanie CLIC1 w ścieżki sygnałowe MAPK/ERK oraz MAPK/p38 określone wcześniej w nowotworach o innej lokalizacji [3–5,7].

Zwiększoną ekspresję białka CLIC1 w guzach raka jamy ustnej wykazali Cristofaro i in. na podstawie 3 guzów dziąsła [32], co następnie potwierdzili Xu i in. [16]. Ponadto, dowiedli, że ekspresja białka CLIC1 istotnie koreluje z gradingiem, stagingiem TNM oraz wielkością guza. Co więcej, białko CLIC1 zostało wskazane jako potencjalny marker nowotworowy raka jamy ustnej, ze względu na istotnie podwyższone jego stężenia w osoczu krwi pacjentów [16].

• Rak nosogardła

Analiza sekretomu komórek raka nosogardła wskazała białko CLIC1 jako potencjalny marker diagnostyczny tego nowotworu, co następnie zostało potwierdzone poprzez zbadanie 40 usuniętych guzów. Ponadto, wykazano istotnie zwiększone stężenie białka CLIC1 w osoczu pacjentów z rakiem nosogardła. Na podstawie osoczowego stężenia CLIC1 można było przydzielić osoby do grupy chorych na raka nosogardła oraz grupy kontrolnej z czułością 63% oraz swoistością 77% [17]. Niestety, powyższe obiecujące wyniki nie zostały potwierdzone w żadnym innym badaniu.

• Rak krtani

Ekspresja genu CLIC1 jest istotnie zwiększona w komórkach raka krtani [30]. Co więcej, CLIC1 promuje w nich (hodowla komórkowa HEP-2) produkcję reaktywnych form tlenu. Na tej podstawie zwiększona ekspresja CLIC1 zwiększa wrażliwość komórek raka krtani na radioterapię, podczas gdy jego supresja zwiększa ich oporność [33]. Cytowane badania nie stawiały CLIC1 jako głównego celu badawczego, co powinno zostać rozważone w przyszłych projektach naukowych.

CLIC1 w innych nowotworach

Wzmogoną ekspresję genu lub białka CLIC1 oraz jego funkcjonalne znaczenie wykazano w wielu nowotworach innych lokalizacji, takich jak rak żołądka, rak jelita grubego, glejak wielopostaciowy, rak pęcherza moczowego, rak jajnika, rak piersi, rak wątrobowokomórkowy, rak trzustki, rak płuc, rak szyjki macicy, ostra białaczka limfoblastyczna B-komórkowa, rak prostaty, medulloblastoma, rak endometrium, czy mięsaki. [3,4,6–15,18–24,26,34–61] Krótkie podsumowanie znaczenia CLIC1 w tych chorobach zawarto w Tabeli 2.

Tabela 2. Znaczenie CLIC1 w innych nowotworach.

Nowotwór	Znaczenie CLIC1
Rak żołądka	CLIC1 aktywuje ścieżki sygnałowe PI3K/AKT, MAPK/ERK oraz MAPK/p38 [3,4] Wysoka ekspresja CLIC1 koreluje z obniżeniem ekspresji AMOT-p130, zwiększając inwazyjność i migrację komórek nowotworowych [34] Wysoka ekspresja CLIC1 koreluje z gorszym przeżyciem pacjentów, przerzutami w węzłach chłonnych, inwazją naczyń i nerwów oraz stagingiem [35] Obniżenie ekspresji CLIC1 obniża migrację i inwazję komórek, lecz również promuje wzrost komórek nowotworowych [36] PA28β reguluje inwazję komórek nowotworowych oddziałując na CLIC1 [37] Wysoka ekspresja CLIC1 jest związana z opornością komórek nowotworowych na winkrystynę [38]

Rak jelita grubego	Zwiększona ekspresja CLIC1 w komórkach bez względu na stopień zaawansowania [39] CLIC1 reguluje migrację oraz inwazję komórek nowotworowych [10] CLIC1 bierze udział w przerzutowaniu, regulując ścieżkę sygnałową ROS/ERK w procesie hipoksja-reoksygenacja [40] Zwiększona ekspresja CLIC1 w komórkach przerzutowych, szczególnie na obwodzie guza [41] Istotnie zwiększona ekspresja CLIC1 w osoczu [18,18] Żywicze glikozydy z <i>Semen Pharbitidis</i> prowadzą do apoptozy komórek nowotworowych oddziałując z CLIC1 [26]
Glejak wielopostaciowy	Istotnie podwyższona ekspresja [42,43] Blokada CLIC1 ułatwia apoptozę komórek opornych na chemioterapię [44] Błonowe białko CLIC1 reguluje proliferację, jest związane z regulacją pH oraz wytwarzaniem reaktywnych form tlenu [8] CLIC1 moduluje progresję cyklu komórkowego komórek glejaka [8,22] Metformina i inne biguanidy hamują proliferację i żywotność komórek nowotworowych poprzez oddziaływanie na CLIC1 [22,23] CLIC1 jest wydzielany do krwiobiegu; CLIC1 reguluje wzrost komórek nowotworowych [45]
Rak pęcherza moczowego	Istotnie podwyższona ekspresja [14,43,46] Korelacja ekspresji CLIC1 z zaawansowaniem, czynnik prognostyczny [14] Hhsa-miR-372 reguluje progresję komórek nowotworowych poprzez oddziaływanie na CLIC1 [47] CLIC1 promuje mobilizację oraz inwazyjność komórek raka pęcherza moczowego, biorąc udział w przerzutowaniu [11] Metformina hamuje proliferację komórek poprzez oddziaływanie na CLIC1 [24]
Rak jajnika	Istotnie zwiększona ekspresja w surowicy pacjentów [19,20] oraz w tkance guza [13] Czynnik prognostyczny [13] Ekspresja CLIC1 koreluje ze złośliwością, będąc najwyższą w chorobie z licznymi przerzutami [48] CLIC1 jest zaangażowany w tworzenie guza, reguluje wrażliwość na chemioterapię [49] Rekombinowane białko CLIC1 (MtHsp70-CLIC1) wzmacnia immunizację przeciw komórkom nowotworowym [50]
Rak piersi	Zwiększona ekspresja w komórkach raka potrójnie ujemnego; ekspresja CLIC1 wskazuje grupy pacjentów z różną odpowiedzią na leczenie oraz różną agresywnością nowotworu [51,52] Zwiększona ekspresja naczyniach guza [51,53] CLIC1 reaguje z pep5 prowadząc do apoptozy komórek [54]
Rak wątrobowokomórkowy	miRNA-124 oddziałowuje na CLIC1 zatrzymując migrację i inwazję komórek nowotworowych [55] Ekspresja CLIC1 jest związana z zaawansowaniem nowotworu; niska ekspresja koreluje z dłuższym przeżyciem [56] CLIC1 umożliwia inwazję naczyń oraz przerzutowanie poprzez aktywację PIP5K1A/C oraz tworzenie lamelipodii i inwadopodii [12]
Rak trzustki	Istotnie zwiększona ekspresja, związana z gorszym przeżyciem; regulacja proliferacji oraz migracji [57] CLIC1 jest jednym z 7 genów, których ocena ekspresji prognozuje przeżycie pacjentów po resekcji guza [15]
Rak płuc	Wyciszenie genu CLIC1 w ścieżce p38 MAPK zatrzymuje proliferację i migrację komórek; ekspresja białka CLIC1 koreluje z krótszym przeżyciem pacjentów [6] CLIC1 reguluje produkcję reaktywnych form tlenu oraz stężenie jonów Ca ²⁺ [9]
Rak szyjki macicy	Istotnie podwyższona ekspresja, wyższa ekspresja związana z krótszym czasem przeżycia; CLIC 1 promuje rozwój nowotworu poprzez NF-κB (nuclear factor kappa B) [58]
Ostra białaczka limfocytowa B-komórkowa	Marker oceny odpowiedzi na leczenie [21]

Rak prostaty	CLIC1 reguluje proliferację oraz migrację poprzez ścieżkę MAPK/ERK [7]
Medulloblastoma	Istotnie zwiększona ekspresja; wyciszenie genu CLIC1 powoduje aktywację p38 MAPK oraz zatrzymanie wzrostu komórek nowotworowych [59]
Rak endometrium	Istotnie zwiększona ekspresja [60]
Mięsaki	Istotnie zwiększona ekspresja [61]

Podsumowanie

CLIC1 koduje białko tworzące kanał jonowy, istotny dla proliferacji, rozwoju, migracji i przerzutowania wielu nowotworów. W leczeniu onkologicznym może pełnić funkcję markera progresji, markera diagnostycznego, czynnika predykcyjnego, a także celu terapeutycznego. W odniesieniu do nowotworów głowy i szyi, gen oraz białko CLIC1 są szczególnie specyficzne dla raka jamy ustnej oraz raka nosogardła – wykazują zwiększone stężenia zarówno w tkankach guzów, jak i w osoczu pacjentów. Przyszłe badania naukowe powinny skupiać się na potencjalnym znaczeniu CLIC1 w raku krtani oraz na wpływie biguanidów na nowotwory głowy i szyi poprzez CLIC1. Co więcej, istotne byłoby bliższe spojrzenie na inne kanały jonowe z rodziny CLIC w onkologii otorynolaryngologicznej.

Bibliografia

- [1] Gururaja Rao, S.; Patel, N.J.; Singh, H. Intracellular Chloride Channels: Novel Biomarkers in Diseases. *Front. Physiol.* **2020**, *11*, 96, doi:10.3389/fphys.2020.00096.
- [2] Jentsch, T.J.; Günther, W. Chloride Channels: An Emerging Molecular Picture: Chloride Channels. *BioEssays* **1997**, *19*, 117–126, doi:10.1002/bies.950190206.
- [3] Li, B.-P.; Mao, Y.-T.; Wang, Z.; Chen, Y.-Y.; Wang, Y.; Zhai, C.-Y.; Shi, B.; Liu, S.-Y.; Liu, J.-L.; Chen, J.-Q. CLIC1 Promotes the Progression of Gastric Cancer by Regulating the MAPK/AKT Pathways. *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **2018**, *46*, 907–924, doi:10.1159/000488822.
- [4] Zhao, W.; Lu, M.; Zhang, Q. Chloride Intracellular Channel 1 Regulates Migration and Invasion in Gastric Cancer by Triggering the ROS-Mediated P38 MAPK Signaling Pathway. *Mol. Med. Rep.* **2015**, *12*, 8041–8047, doi:10.3892/mmr.2015.4459.
- [5] Feng, J.; Xu, J.; Xu, Y.; Xiong, J.; Xiao, T.; Jiang, C.; Li, X.; Wang, Q.; Li, J.; Li, Y. CLIC1 Promotes the Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma via Integrins/ERK Pathways. *Am. J. Transl. Res.* **2019**, *11*, 557–571.
- [6] Yasuda, Y.; Nagano, T.; Jimbo, N.; Kiriu, T.; Suraya, R.; Hazama, D.; Yamamoto, M.; Maniwa, Y.; Nishimura, Y.; Kobayashi, K. Chloride Intracellular Channel 1 Expression Is Associated With Poor Prognosis of Lung Adenocarcinoma. *Anticancer Res.* **2022**, *42*, 271–277, doi:10.21873/anticancer.15482.
- [7] Tian, Y.; Guan, Y.; Jia, Y.; Meng, Q.; Yang, J. Chloride Intracellular Channel 1 Regulates Prostate Cancer Cell Proliferation and Migration Through the MAPK/ERK Pathway. *Cancer Biother. Radiopharm.* **2014**, *29*, 339–344, doi:10.1089/cbr.2014.1666.
- [8] Peretti, M.; Raciti, F.M.; Carlini, V.; Verduci, I.; Sertic, S.; Barozzi, S.; Garré, M.; Pattarozzi, A.; Daga, A.; Barbieri, F.; et al. Mutual Influence of ROS, PH, and CLIC1 Membrane Protein in the Regulation of G₁–S Phase Progression in Human Glioblastoma Stem Cells. *Mol. Cancer Ther.* **2018**, *17*, 2451–2461, doi:10.1158/1535-7163.MCT-17-1223.
- [9] Lee, J.-R.; Lee, J.-Y.; Kim, H.-J.; Hahn, M.-J.; Kang, J.-S.; Cho, H. The Inhibition of Chloride Intracellular Channel 1 Enhances Ca²⁺ and Reactive Oxygen Species Signaling in A549 Human Lung Cancer Cells. *Exp. Mol. Med.* **2019**, *51*, 1–11, doi:10.1038/s12276-019-0279-2.
- [10] Wang, P.; Zhang, C.; Yu, P.; Tang, B.; Liu, T.; Cui, H.; Xu, J. Regulation of Colon Cancer Cell Migration and Invasion by CLIC1-Mediated RVD. *Mol. Cell. Biochem.* **2012**, *365*, 313–321, doi:10.1007/s11010-012-1271-5.
- [11] Wang, J.-W.; Peng, S.-Y.; Li, J.-T.; Wang, Y.; Zhang, Z.-P.; Cheng, Y.; Cheng, D.-Q.; Weng, W.-H.; Wu, X.-S.; Fei, X.-Z.; et al. Identification of Metastasis-Associated Proteins Involved in Gallbladder Carcinoma Metastasis by Proteomic Analysis and Functional Exploration of Chloride Intracellular Channel 1. *Cancer Lett.* **2009**, *281*, 71–81, doi:10.1016/j.canlet.2009.02.020.
- [12] Peng, J.-M.; Lin, S.-H.; Yu, M.-C.; Hsieh, S.-Y. CLIC1 Recruits PIP5K1A/C to Induce Cell-Matrix Adhesions

- for Tumor Metastasis. *J. Clin. Invest.* **2021**, *131*, e133525, doi:10.1172/JCI133525.
- [13] Yu, W.; Cui, R.; Qu, H.; Liu, C.; Deng, H.; Zhang, Z. Expression and Prognostic Value of CLIC1 in Epithelial Ovarian Cancer. *Exp. Ther. Med.* **2018**, doi:10.3892/etm.2018.6000.
- [14] Ding, Q.; Li, M.; Wu, X.; Zhang, L.; Wu, W.; Ding, Q.; Weng, H.; Wang, X.; Liu, Y. CLIC1 Overexpression Is Associated with Poor Prognosis in Gallbladder Cancer. *Tumor Biol.* **2015**, *36*, 193–198, doi:10.1007/s13277-014-2606-5.
- [15] Magouliotis, D.E.; Sakellaridis, N.; Dimas, K.; Tasiopoulou, V.S.; Svokos, K.A.; Svokos, A.A.; Zacharoulis, D. In Silico Transcriptomic Analysis of the Chloride Intracellular Channels (CLIC) Interactome Identifies a Molecular Panel of Seven Prognostic Markers in Patients with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Curr. Genomics* **2020**, *21*, 119–127, doi:10.2174/1389202921666200316115631.
- [16] Xu, Y.; Xu, J.; Feng, J.; Li, J.; Jiang, C.; Li, X.; Zou, S.; Wang, Q.; Li, Y. Expression of CLIC1 as a Potential Biomarker for Oral Squamous Cell Carcinoma: A Preliminary Study. *Oncotargets Ther.* **2018**, *11*, 8073–8081, doi:10.2147/OTT.S181936.
- [17] Chang, Y.-H.; Wu, C.-C.; Chang, K.-P.; Yu, J.-S.; Chang, Y.-C.; Liao, P.-C. Cell Secretome Analysis Using Hollow Fiber Culture System Leads to the Discovery of CLIC1 Protein as a Novel Plasma Marker for Nasopharyngeal Carcinoma. *J. Proteome Res.* **2009**, *8*, 5465–5474, doi:10.1021/pr900454e.
- [18] Taguchi, A.; Rho, J.; Yan, Q.; Zhang, Y.; Zhao, Y.; Xu, H.; Tripathi, S.C.; Wang, H.; Brenner, D.E.; Kucherlapati, M.; et al. MAPRE1 as a Plasma Biomarker for Early-Stage Colorectal Cancer and Adenomas. *Cancer Prev. Res. (Phila. Pa.)* **2015**, *8*, 1112–1119, doi:10.1158/1940-6207.CAPR-15-0077.
- [19] Tang, H.-Y.; Beer, L.A.; Chang-Wong, T.; Hammond, R.; Gimotty, P.; Coukos, G.; Speicher, D.W. A Xenograft Mouse Model Coupled with In-Depth Plasma Proteome Analysis Facilitates Identification of Novel Serum Biomarkers for Human Ovarian Cancer. *J. Proteome Res.* **2012**, *11*, 678–691, doi:10.1021/pr200603h.
- [20] Singha, B.; Harper, S.L.; Goldman, A.R.; Bitler, B.G.; Aird, K.M.; Borowsky, M.E.; Cadungog, M.G.; Liu, Q.; Zhang, R.; Jean, S.; et al. CLIC1 and CLIC4 Complement CA125 as a Diagnostic Biomarker Panel for All Subtypes of Epithelial Ovarian Cancer. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 14725, doi:10.1038/s41598-018-32885-2.
- [21] Dehghan-Nayeri, N.; Eshghi, P.; Pour, K.G.; Rezaei-Tavirani, M.; Omrani, M.D.; Gharehbaghian, A. Differential Expression Pattern of Protein Markers for Predicting Chemosensitivity of Dexamethasone-Based Chemotherapy of B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2017**, *80*, 177–185, doi:10.1007/s00280-017-3347-0.
- [22] Gritti, M.; Würth, R.; Angelini, M.; Barbieri, F.; Peretti, M.; Pizzi, E.; Pattarozzi, A.; Carra, E.; Siritto, R.; Daga, A.; et al. Metformin Repositioning as Antitumoral Agent: Selective Antiproliferative Effects in Human Glioblastoma Stem Cells, via Inhibition of CLIC1-Mediated Ion Current. *Oncotarget* **2014**, *5*, 11252–11268, doi:10.18632/oncotarget.2617.
- [23] Barbieri, F.; Würth, R.; Pattarozzi, A.; Verduci, I.; Mazzola, C.; Cattaneo, M.G.; Tonelli, M.; Solari, A.; Bajetto, A.; Daga, A.; et al. Inhibition of Chloride Intracellular Channel 1 (CLIC1) as Biguanide Class-Effect to Impair Human Glioblastoma Stem Cell Viability. *Front. Pharmacol.* **2018**, *9*, 899, doi:10.3389/fphar.2018.00899.
- [24] Liu, Y.; Wang, Z.; Li, M.; Ye, Y.; Xu, Y.; Zhang, Y.; Yuan, R.; Jin, Y.; Hao, Y.; Jiang, L.; et al. Chloride Intracellular Channel 1 Regulates the Antineoplastic Effects of Metformin in Gallbladder Cancer Cells. *Cancer Sci.* **2017**, *108*, 1240–1252, doi:10.1111/cas.13248.
- [25] Zhou, S.-F.; Pan, S.-T.; Qin, Y.; Zhou, Z.-W.; He, Z.-X.; Zhang, X.; Yang, T.; Yang, Y.; Wang, D.; Qiu, J.-X. Plumbagin Suppresses Epithelial to Mesenchymal Transition and Stemness via Inhibiting Nrf2-Mediated Signaling Pathway in Human Tongue Squamous Cell Carcinoma Cells. *Drug Des. Devel. Ther.* **2015**, 5511, doi:10.2147/DDDT.S89621.
- [26] Zhu, D.; Chen, C.; Xia, Y.; Kong, L.-Y.; Luo, J. A Purified Resin Glycoside Fraction from *Pharbitidis Semen* Induces Paraptosis by Activating Chloride Intracellular Channel-1 in Human Colon Cancer Cells. *Integr. Cancer Ther.* **2019**, *18*, 153473541882212, doi:10.1177/1534735418822120.
- [27] Wang, W.; Wan, M.; Liao, D.; Peng, G.; Xu, X.; Yin, W.; Guo, G.; Jiang, F.; Zhong, W.; He, J. Identification of Potent Chloride Intracellular Channel Protein 1 Inhibitors from Traditional Chinese Medicine through Structure-Based Virtual Screening and Molecular Dynamics Analysis. *BioMed Res. Int.* **2017**, *2017*,

- 1–10, doi:10.1155/2017/4751780.
- [28] De Keukeleire, S.J.; Vermassen, T.; Hilgert, E.; Creytens, D.; Ferdinande, L.; Rottey, S. Immuno-Oncological Biomarkers for Squamous Cell Cancer of the Head and Neck: Current State of the Art and Future Perspectives. *Cancers* **2021**, *13*, 1714, doi:10.3390/cancers13071714.
- [29] Henry, N.L.; Hayes, D.F. Cancer Biomarkers. *Mol. Oncol.* **2012**, *6*, 140–146, doi:10.1016/j.molonc.2012.01.010.
- [30] Peyvandi, H.; Peyvandi, A.A.; Safaei, A.; Zamanian Azodi, M.; Rezaei-Tavirani, M. Introducing Potential Key Proteins and Pathways in Human Laryngeal Cancer: A System Biology Approach. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **2018**, *17*, 415–425.
- [31] Karsani, S.; Saihen, N.; Zain, R.; Cheong, S.-C.; Abdul Rahman, M. Comparative Proteomics Analysis of Oral Cancer Cell Lines: Identification of Cancer Associated Proteins. *Proteome Sci.* **2014**, *12*, 3, doi:10.1186/1477-5956-12-3.
- [32] Cristofaro, M.G.; Scumaci, D.; Fiumara, C.V.; Di Sanzo, M.; Zuccalà, V.; Donato, G.; Caruso, D.; Riccelli, U.; Faniello, M.C.; Cuda, G.; et al. Identification of Prognosis-Related Proteins in Gingival Squamous Cell Carcinoma by Twodimensional Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry-Based Proteomics. *Ann. Ital. Chir.* **2014**, *85*, 518–524.
- [33] Kim, J.-S.; Chang, J.W.; Yun, H.S.; Yang, K.M.; Hong, E.-H.; Kim, D.H.; Um, H.-D.; Lee, K.-H.; Lee, S.-J.; Hwang, S.-G. Chloride Intracellular Channel 1 Identified Using Proteomic Analysis Plays an Important Role in the Radiosensitivity of HEp-2 Cells via Reactive Oxygen Species Production. *Proteomics* **2010**, *10*, 2589–2604, doi:10.1002/pmic.200900523.
- [34] Qiu, Y.; Mao, Y. -t.; Zhu, J. -h.; Zhao, K.; Wang, J. -f.; Huang, J. -m.; Chang, G. -q.; Guan, Y. -t.; Huang, F. -y.; Hu, Y. -j.; et al. CLIC1 Knockout Inhibits Invasion and Migration of Gastric Cancer by Upregulating AMOT-P130 Expression. *Clin. Transl. Oncol.* **2021**, *23*, 514–525, doi:10.1007/s12094-020-02445-0.
- [35] Chen, C.-D.; Wang, C.-S.; Huang, Y.-H.; Chien, K.-Y.; Liang, Y.; Chen, W.-J.; Lin, K.-H. Overexpression of CLIC1 in Human Gastric Carcinoma and Its Clinicopathological Significance. *PROTEOMICS* **2007**, *7*, 155–167, doi:10.1002/pmic.200600663.
- [36] Ma, P.-F. Function of Chloride Intracellular Channel 1 in Gastric Cancer Cells. *World J. Gastroenterol.* **2012**, *18*, 3070, doi:10.3748/wjg.v18.i24.3070.
- [37] Zheng, D.-L.; Huang, Q.-L.; Zhou, F.; Huang, Q.-J.; Lin, J.-Y.; Lin, X. PA28 β Regulates Cell Invasion of Gastric Cancer via Modulating the Expression of Chloride Intracellular Channel 1. *J. Cell. Biochem.* **2011**, n/a-n/a, doi:10.1002/jcb.24022.
- [38] Zhao, K.; Wang, Z.; Li, X.; Liu, J.; Tian, L.; Chen, J. Exosome-Mediated Transfer of CLIC1 Contributes to the Vincristine-Resistance in Gastric Cancer. *Mol. Cell. Biochem.* **2019**, *462*, 97–105, doi:10.1007/s11010-019-03613-9.
- [39] Petrova, D.T.; Asif, A.R.; Armstrong, V.W.; Dimova, I.; Toshev, S.; Yaramov, N.; Oellerich, M.; Toncheva, D. Expression of Chloride Intracellular Channel Protein 1 (CLIC1) and Tumor Protein D52 (TPD52) as Potential Biomarkers for Colorectal Cancer. *Clin. Biochem.* **2008**, *41*, 1224–1236, doi:10.1016/j.clinbiochem.2008.07.012.
- [40] Wang, P. Chloride Intracellular Channel 1 Regulates Colon Cancer Cell Migration and Invasion through ROS/ERK Pathway. *World J. Gastroenterol.* **2014**, *20*, 2071, doi:10.3748/wjg.v20.i8.2071.
- [41] Ceaușu, R.A.; Ciolofan, A.; Blidișel, A.; Crețu, O.M.; Cimpean, A.M.; Raica, M. Liver Metastatic Colorectal Tumor Cells Change Their Phenotype During Consecutive Passages on Chick Embryo Chorioallantoic Membrane: Lessons from the Lab to the Clinic. *In Vivo* **2021**, *35*, 2711–2718, doi:10.21873/invivo.12555.
- [42] Wang, H.; Wang, X.; Xu, L.; Lin, Y.; Zhang, J.; Cao, H. Low Expression of CDHR1 Is an Independent Unfavorable Prognostic Factor in Glioma. *J. Cancer* **2021**, *12*, 5193–5205, doi:10.7150/jca.59948.
- [43] Biasiotta, A.; D’Arcangelo, D.; Passarelli, F.; Nicodemi, E.M.; Facchiano, A. Ion Channels Expression and Function Are Strongly Modified in Solid Tumors and Vascular Malformations. *J. Transl. Med.* **2016**, *14*, 285, doi:10.1186/s12967-016-1038-y.
- [44] Kang, M.-K.; Kang, S.-K. Pharmacologic Blockade of Chloride Channel Synergistically Enhances Apoptosis of Chemotherapeutic Drug-Resistant Cancer Stem Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *373*, 539–544, doi:10.1016/j.bbrc.2008.06.070.
- [45] Setti, M.; Osti, D.; Richichi, C.; Ortensi, B.; Del Bene, M.; Fornasari, L.; Beznoussenko, G.; Mironov,

- A.; Rappa, G.; Cuomo, A.; et al. Extracellular Vesicle-Mediated Transfer of CLIC1 Protein Is a Novel Mechanism for the Regulation of Glioblastoma Growth. *Oncotarget* **2015**, *6*, 31413–31427, doi:10.18632/oncotarget.5105.
- [46] Adelman, T.G.; Camerota, T.C.; Ceausu, A.R.; Cimpean, A.M.; Mazzanti, M.; Raica, M. Chloride Intracellular Channel Protein 1 (CLIC1) Is Over-Expressed in Muscle Invasive Urinary Bladder Cancer. *Anticancer Res.* **2020**, *40*, 6879–6884, doi:10.21873/anticancer.14710.
- [47] Zhou, N.; Cheng, W.; Peng, C.; Liu, Y.; Jiang, B. Decreased Expression of Hsa-MiR-372 Predicts Poor Prognosis in Patients with Gallbladder Cancer by Affecting Chloride Intracellular Channel 1. *Mol. Med. Rep.* **2017**, *16*, 7848–7854, doi:10.3892/mmr.2017.7520.
- [48] Ye, Y.; Yin, M.; Huang, B.; Wang, Y.; Li, X.; Lou, G. CLIC1 a Novel Biomarker of Intraperitoneal Metastasis in Serous Epithelial Ovarian Cancer. *Tumor Biol.* **2015**, *36*, 4175–4179, doi:10.1007/s13277-015-3052-8.
- [49] Qu, H.; Chen, Y.; Cao, G.; Liu, C.; Xu, J.; Deng, H.; Zhang, Z. Identification and Validation of Differentially Expressed Proteins in Epithelial Ovarian Cancers Using Quantitative Proteomics. *Oncotarget* **2016**, *7*, 83187–83199, doi:10.18632/oncotarget.13077.
- [50] Yu, W.; Qu, H.; Cao, G.; Liu, C.; Deng, H.; Zhang, Z. MtHsp70-CLIC1-Pulsed Dendritic Cells Enhance the Immune Response against Ovarian Cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2017**, *494*, 13–19, doi:10.1016/j.bbrc.2017.10.094.
- [51] Raica, M.; Ceausu, A.R.; Cimpean, A.M.; Comşa, Ş.; Sarb, S. Chloride Intracellular Channel Protein 1 (CLIC1), E-Cadherin and P-Cadherin Define Distinct Subclasses of HER2, Luminal B and Triple-Negative Breast Cancer. *Anticancer Res.* **2021**, *41*, 795–802, doi:10.21873/anticancer.14831.
- [52] Katayama, H.; Tsou, P.; Kobayashi, M.; Capello, M.; Wang, H.; Esteva, F.; Disis, M.L.; Hanash, S. A Plasma Protein Derived TGF β Signature Is a Prognostic Indicator in Triple Negative Breast Cancer. *Npj Precis. Oncol.* **2019**, *3*, 10, doi:10.1038/s41698-019-0082-5.
- [53] Hill, J.J.; Tremblay, T.-L.; Pen, A.; Li, J.; Robotham, A.C.; Lenferink, A.E.G.; Wang, E.; O'Connor-McCourt, M.; Kelly, J.F. Identification of Vascular Breast Tumor Markers by Laser Capture Microdissection and Label-Free LC-MS. *J. Proteome Res.* **2011**, *10*, 2479–2493, doi:10.1021/pr101267k.
- [54] Russo, L.C.; Araujo, C.B.; Iwai, L.K.; Ferro, E.S.; Forti, F.L. A Cyclin D2-Derived Peptide Acts on Specific Cell Cycle Phases by Activating ERK1/2 to Cause the Death of Breast Cancer Cells. *J. Proteomics* **2017**, *151*, 24–32, doi:10.1016/j.jpro.2016.06.028.
- [55] Yue, X.; Cui, Y.; You, Q.; Lu, Y.; Zhang, J. MicroRNA-124 Negatively Regulates Chloride Intracellular Channel \square 1 to Suppress the Migration and Invasion of Liver Cancer Cells. *Oncol. Rep.* **2019**, doi:10.3892/or.2019.7250.
- [56] Huang, J.-J.; Lin, J.; Chen, X.; Zhu, W. Identification of Chloride Intracellular Channels as Prognostic Factors Correlated with Immune Infiltration in Hepatocellular Carcinoma Using Bioinformatics Analysis. *Medicine (Baltimore)* **2021**, *100*, e27739, doi:10.1097/MD.00000000000027739.
- [57] Lu, J.; Dong, Q.; Zhang, B.; Wang, X.; Ye, B.; Zhang, F.; Song, X.; Gao, G.; Mu, J.; Wang, Z.; et al. Chloride Intracellular Channel 1 (CLIC1) Is Activated and Functions as an Oncogene in Pancreatic Cancer. *Med. Oncol.* **2015**, *32*, 171, doi:10.1007/s12032-015-0616-9.
- [58] Wang, W.; Li, X.; Xu, Y.; Guo, W.; Yu, H.; Zhang, L.; Wang, Y.; Chen, X. Acetylation-Stabilized Chloride Intracellular Channel 1 Exerts a Tumor-Promoting Effect on Cervical Cancer Cells by Activating NF-KB. *Cell. Oncol.* **2021**, *44*, 557–568, doi:10.1007/s13402-020-00582-w.
- [59] Francisco, M.A.; Wanggou, S.; Fan, J.J.; Dong, W.; Chen, X.; Momin, A.; Abeyundara, N.; Min, H.-K.; Chan, J.; McAdam, R.; et al. Chloride Intracellular Channel 1 Cooperates with Potassium Channel EAG2 to Promote Medulloblastoma Growth. *J. Exp. Med.* **2020**, *217*, e20190971, doi:10.1084/jem.20190971.
- [60] Lomnytska, M.I.; Becker, S.; Gemoll, T.; Lundgren, C.; Habermann, J.; Olsson, A.; Bodin, I.; Engström, U.; Hellman, U.; Hellman, K.; et al. Impact of Genomic Stability on Protein Expression in Endometrioid Endometrial Cancer. *Br. J. Cancer* **2012**, *106*, 1297–1305, doi:10.1038/bjc.2012.67.
- [61] Murray, E.; Hernychová, L.; Scigelova, M.; Ho, J.; Nekulova, M.; O'Neill, J.R.; Nenutil, R.; Vesely, K.; Dundas, S.R.; Dhaliwal, C.; et al. Quantitative Proteomic Profiling of Pleomorphic Human Sarcoma Identifies CLIC1 as a Dominant Pro-Oncogenic Receptor Expressed in Diverse Sarcoma Types. *J. Proteome Res.* **2014**, *13*, 2543–2559, doi:10.1021/pr4010713.