



· 综述 ·

丙酮酸激酶 2 与骨肉瘤关系的研究进展

向仁堃 杨俊涛* 王晓旭[△] (南华大学附属第二医院手足外科 湖南衡阳 421000)

摘要: 骨肉瘤在儿童及青少年中最为常见,是发病率最高的骨恶性肿瘤。大量研究发现丙酮酸激酶 2 (PKM2) 的异常表达与多种类型恶性肿瘤的发生及发展过程密切相关,本文将对丙酮酸激酶 2 与骨肉瘤的研究现状作一综述。

关键词: 丙酮酸激酶 2 骨肉瘤 肿瘤的代谢

中图分类号: R738.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2018) 12-314-03

骨肉瘤是儿童和青少年时期最常见的高度恶性骨肿瘤^[1]。主要特征为早期的肺部转移和肿瘤细胞对局部组织的浸润,长期研究表明各种治疗手段及患者预后情况都非常差^[2]。近几年来越来越多的研究逐步将重心从肿瘤实质细胞转到肿瘤微环境^[3]。研究结果表明 PKM2 与多种恶性肿瘤的发生,发展及代谢过程中有着特殊的关系,是影响肿瘤患者预后的一个重要因素。

1 Warburg 效应与丙酮酸激酶 (PK)

糖代谢过程的异常表现是肿瘤细胞发生及发展中的一个重要特点^[4]。德国生物学家 Otto Warburg 通过研究发现,肿瘤细胞生长过程中即使在氧气充足的条件下,其仍然会消耗比正常细胞生长所需要更多的葡萄糖并同时产生大量乳酸,但最终产生的 ATP 却非常少,这一现象被称为 Warburg 效应,后来也有人称作“有氧糖酵解”^[5]。目前已有多项研究结果表明,在 PI3K-AKT-mTOR 通路被激活及诱导因子-1 (HIF-1) 和转录因子 c-Myc 表达的上调的条件下,癌细胞中的有氧糖酵解代谢过程变得更为活跃,其合成代谢及肿瘤细胞增殖所需的相关物质如脂质、核苷酸及氨基酸等,都由糖分的中间产物转变而来^[6]。

丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PK) 又称磷酸丙酮酸激酶,是糖酵解途径中特别是为肿瘤细胞生长提供所需能量的糖代谢过程中极为关键的限速酶之一,可发生催化反应生成丙酮酸和 ATP^[7-9],是目前的研究热点酶之一。目前所知存在四种 PK 同种型: PKM1, PKM2, PKL 和 PKR^[10]。PKL 和 PKR 因为不同的组织特异性而在不同细胞中表达,PKL 表达于干细胞中而 PKR 充分表达于红细胞中^[11]。在成人组织中 PKM1 将优先表达,而 PKM2 在胚胎组织和迅速增殖的肿瘤细胞以及分化组织如肺、脂肪、视网膜和胰岛中大量表达^[12]。在胚胎发育期间,PKM2 逐渐被相应的组织特异性同工酶代替。而在肿瘤发生期间,PKM2 同工酶高度表达。研究数据显示 PKM2 在各种类型肿瘤组织中表达增强,被认为是肿瘤发生及发展过程中的极其重要的一个分子。各项研究结果表明 PKM2 与肿瘤的发生发展过程中有着特殊的关系,目前 PKM2 被认为是肿瘤治疗过程中的一个潜在靶点。

2 PKM2 对肿瘤发展的影响

二聚体和四聚体结构是生物中 PKM2 主要存在的形式。在分化的组织和正常增殖的细胞中 PKM2 以四聚体形式存在,糖代谢过程中葡萄糖将转化为丙酮酸来供能。然而在肿瘤细胞中 PKM2 通常以二聚体形式存在并且与底物 PEP 的亲和力低,一些物质合成过程如氨基酸和核酸的合成也与二聚体形式的 PKM2 密切相关^[13]。正常细胞和组织中以四聚体形式存在的 PKM2 主要参与各种酶催化相关反应,而二聚体形式的 PKM2 在肿瘤细胞增殖与代谢过程中起到了不可忽视的作用。糖酵解中间产物的积累为肿瘤细胞快速增殖所需的其他生物合成提

供了丰富的细胞大分子。此外,丙酮酸合成的相对减少将介导乳酸生产的增加和重塑肿瘤的微环境,其作为肿瘤细胞代谢的燃料,促进血管生成,并诱导免疫抑制^[14-15]。即使有足够的氧气,PKM2 通过有氧糖酵解促进大多数肿瘤中乳酸的合成,而不是通过线粒体中的有氧氧化,肿瘤细胞提供生长需要的能量就是通过此过程所获得。目前,PKM2 对于骨肉瘤的生长,血管新生、肿瘤细胞的早期转移及细胞凋亡过程的影响各有不同。

2.1 PKM2 对骨肉瘤生长的影响

骨肉瘤的生长过程中与多种信号通路及相关分子关系密切。骨肉瘤的发生及发展也离不开糖代谢和信号通路传导的异常。Yang 等^[16]研究发现,通过转染使骨肉瘤中的组蛋白修饰因子能抑制骨肉瘤细胞的增殖。Ma 等^[17]在体外实验过程中发现,骨肉瘤中 Wnt/ β -catenin 信号转导通路会在夹竹桃苷干预的条件下被明显抑制,结果导致骨肉瘤也会因此发生凋亡过程。Hitosugi 等^[18]发现 PKM2 在某种情况下也能发生酶促反应,并且能够使酪氨酸磷酸化,在此过程中成纤维细胞生长因子受体 1 (FGFR1) 可以将酪氨酸残基 105 (Y105) 位点直接磷酸化。PKM2 与 FBP 的结合形式将会因为上述过程而被破坏同时抑制 PKM2 四聚体形式的形成。PKM2 在某些其他因素的影响下可能不会发生酪氨酸磷酸化,这将会使 Warburg 效应降低,因为细胞的耗氧量显著增加且乳酸生成量明显减少,最终抑制细胞的增殖。PKM2 同样会促进骨肉瘤的生长与发育过程,具体机制尚待进一步研究。

2.2 PKM2 对骨肉瘤血管新生的影响

肿瘤血管生成是一个非常复杂的过程,包括血管内皮基质降解,内皮细胞迁移和内皮细胞增殖^[19]。肿瘤中新生血管的形成也依赖于抗血管生成因子的减少与促血管生成因子的增多这种不平衡现象的出现^[20]。在肿瘤血管生成过程中需要胰岛素样生长因子 (IGF)、血管内皮生长因子 (VEGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 等的参与,其中特别是 VEGF 扮演着最重要的角色^[21]。新生血管形成过程中也依赖内皮细胞的增殖,内皮细胞的特异性受体 f1t 和 f1t/KDR 与 VEGF 的结合其结果会使内皮细胞明显增殖^[22]。骨肉瘤的发生及发展同样依赖新生血管。骨肉瘤微血管密度 (MVD) 增加会促进骨肉瘤血管生成,其中原因之一是因为磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt) 信号转导通路被骨肉瘤中的 VEGF 所激活^[23]。骨肉瘤患者治疗及预后情况极差与 (HIF)-1 α 及和 MVD 密不可分^[24]。

PKM2 (二聚体,而不是四聚体) 在血液中可通过增强的内皮细胞增殖,迁移和细胞-ECM 粘附,最终促进肿瘤生长促进肿瘤血管生成^[25]。仅在最近,据报道 PKM2 与 NF- κ B 亚基 p65/RelA 相互作用并促进肿瘤血管生成和癌症进展^[26]。通过参与 PKM2/NF- κ B/miR-148a/152 机制调节的肿瘤血管生成和肿瘤进展中表明 PKM2 在肿瘤细胞增殖和肿瘤发生中起重要作用。Azoitei 等^[27]研究发现,PKM2 干扰 NF- κ B/p65 和 HIF-1 α 激活,最终引发 VEGF-A 分泌和随后的血管形成。骨肉瘤

* 通信作者: 杨俊涛。

Δ 审校: 王晓旭。



血管新生离不开 VEGF 和其他相关促血管生成因子的参与,骨肉瘤中表达的 PKM2 可能通过促进 VEGF 或其他血管生成因子的大量分泌来诱导新生血管的生成,但具体机制需要进一步探索。

2.3 PKM2 对骨肉瘤转移的影响

肿瘤患者的最主要死亡原因之一是肿瘤的转移,也是恶性肿瘤最根本的特征。骨肉瘤细胞侵袭运动、骨肉瘤相关基因远处器官表达与骨肉瘤细胞的转移性密切相关。上皮间质转化(EMT)在肿瘤转移过程中扮演重要角色,其是指在多种因素影响下,上皮细胞运动能力显著增强而粘附能力明显减弱,转变为具有转移能力的间质表型的上皮细胞同时失去细胞原有极性的过程。研究表明,骨肉瘤的侵袭和转移过程中与 EMT 具有明显的相关性^[28]。研究发现在骨肉瘤细胞株中 Wnt 信号传导通路的配体及受体高表达,骨肉瘤转移能力的调节与此信号通路关系密切^[29];其他信号通路同样能激活骨肉瘤 EMT 促进骨肉瘤转移,如 Notch 信号传导通路^[30]。人类端粒硫酸酯酶(STS)可以增强 PKM2 的表达,PKM2 过度表达可以刺激癌细胞侵袭和转移。Hamabe A 等^[31]研究表明,EMT 刺激 PKM2 的核异位并降低上皮钙粘蛋白转录(EMT 诱导的要求),同时还表明 PKM2 与转录因子 TGF- β 诱导的因子同源框 2 相互作用,其诱导蛋白 H3 的脱乙酰化,导致抑制的 E-钙粘蛋白表达。其研究确定 PKM2 通过调节 CDH1 表达显著的影响了 EMT 诱导,从而为 EMT 获取提供分子基础。早期的肺部转移是骨肉瘤治疗及预后极差的主要原因,因此研究 PKM2 在促进骨肉瘤转移过程中发挥的具体作用及机制是十分必要的,充分阐明其影响过程还需进一步研究。

2.4 PKM2 在骨肉瘤细胞凋亡中的作用

细胞凋亡是在维持内环境稳定下,由基因控制的细胞自主的有序死亡。由于线粒体功能障碍和致癌刺激,肿瘤细胞会比正常细胞表现出更多的氧 ROS,从而诱导肿瘤细胞凋亡。在氧化应激的条件下,肿瘤细胞通过激活 ROS 清除系统变得适应这种压力,并最终抑制凋亡^[32]。受体途径和线粒体途径是细胞凋亡的主要途径。其中后者主要通过 Bcl-2 蛋白家族调控^[33]。增殖细胞抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)是细胞后期 G1/S 期的内在组织学标志物,骨肉瘤病人预后与其直接相关。Bcl-2 的磷酸化可阻止基于 Cul3 的 E3 连接酶与 Bcl-2 的结合并随后降解 Bcl-2,最终抑制由氧化应激诱导的细胞凋亡^[34]。NF- κ B 亚基 p65 的稳定性由于 PKM2 的过表达而增强,同时也促进了 Bcl-xL 启动子与 NF- κ B 亚基的结合^[35]。由此,PKM2 可上调 Bcl-xL 的蛋白(Bcl-2 蛋白质家族的抗细胞凋亡成员)在转录水平的表达,从而抑制细胞的凋亡过程。Li 等^[36]研究发现,B 细胞淋巴瘤基因 Bcl-2 的表达将会被微小 RNA(miRNA)-143 明显抑制,同时含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3 也被其主动激活,最终导致骨肉瘤细胞启动凋亡程序。动物、细胞及其他各项相关实验验证了在肿瘤的发生、发展中 PKM2 介导的 Bcl-2 磷酸化扮演了关键性的作用,研究骨肉瘤细胞的凋亡过程是改善患者预后及治疗的关键步骤,PKM2 在骨肉瘤细胞的抗凋亡过程中也发挥着重要的作用,但其机制还需要进一步深入研究。

3 总结与展望

PKM2 在肿瘤发生、发展及代谢过程中发挥了不可忽视的作用,PKM2 二聚体、四聚体间的结构转变与这一作用紧密相关。越来越多的研究正在如火如荼的进行,究其原因目的是为了从各个方面及不同层次阐明 PKM2 在肿瘤发生及发展中的调节作用。经过不断研究 PKM2 在蛋白水平的作用机制及转录选择性剪切也得到了进一步明确。目前,以围绕 PKM2 为中心的干扰肿瘤代谢的治疗方案正处于积极地探索中。但是仅敲除 PKM2 基因并不能够使肿瘤细胞的增殖得到完全的抑制。在肿瘤发生发展过程中肿瘤相关巨噬细胞(TAM)所产生的作用

同样受到了更多的重视。研究发现骨肉瘤高度表达的丙酮酸激酶 2 的表达水平与 M2 型巨噬细胞有相关性。PKM2 与 TAM 在骨肉瘤中的某种联系或许为未来骨肉瘤发生、发展及治疗的研究提供了一个更新的方向。PKM2 是否还与其他相关介质或通过其他途径参与骨肉瘤的发生发展及其他相互作用呢?若能解决上述相关问题将使我们对于 PKM2 及骨肉瘤的相互作用得到进一步的认识,或许这将成为骨肉瘤治疗的新靶点。

参考文献

- [1]Jaffe N, Bruland O S, Bielack S. Pediatric and Adolescent Osteosarcoma[J]. 2009.
- [2]Morrow JJ, Khanna C. Osteosarcoma genetics and epigenetics: emerging biology and candidate therapies[J]. Critical Reviews in Oncogenesis, 2015,20(3-4): 173-197.
- [3]Alfranca A, Martinnez-Cruzado L, Tornin J, et al. Bone microenvironment signals in osteosarcoma development[J]. Cell Mol Life Sci,2015,72(16):3097-3113.
- [4]Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer the next generation[J]. Cell, 2011,144: 646-674.
- [5]Heiden M G V, Cantley L C, Thompson C B. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation[J]. Science, 2009, 324(5930):1029.
- [6]Gordan J D, Thompson C B, Simon M C. HIF and c-Myc: sibling rivals for control of cancer cell metabolism and proliferation[J]. Cancer Cell, 2007, 12(2):108.
- [7]Brandi J, Cecconi D, Cordani M, et al. The antioxidant uncoupling protein 2 stimulates hnRNP A2/B1, GLUT1 and PKM2 expression and sensitizes pancreas cancer cells to glycolysis inhibition. [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2016, 101:305.
- [8]Camariño J M, Ullery J C, Rose K L, et al. Electrophilic Modification of PKM2 by 4-Hydroxynonenal and 4-Oxononenal Results in Protein Cross-Linking and Kinase inhibition [J]. Chem Res Toxicol,2017,30(2):635-641.
- [9]Dayton T L, Jacks T, Vander Heiden M G PKM2, cancer metabolism, and the road ahead[J]. EMBO Rep, 2016, 17(12):1721-1730.
- [10]Chaneton B, Gottlieb E. Rocking cell metabolism: revised functions of the key glycolytic regulator PKM2 in cancer. [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2012, 37(8):309.
- [11]Brinck U, Eigenbrodt E, Oehmke M, et al. L- and M2-pyruvate kinase expression in renal cell carcinomas and their metastases[J]. Virchows Arch,1994,424:177-185.
- [12]Chiavarina B, Whitaker-Menezes D, Martinez-Outschoorn U E, et al. Pyruvate kinase expression (PKM1 and PKM2) in cancer-associated fibroblasts drives stromal nutrient production and tumor growth[J]. Cancer Biology & Therapy, 2011, 12(12):1101-1113.
- [13]Mazurek S, Zwierschke W, Jansen-Durr P, et al. Effects of the human papilloma virus HPV-16 E7 oncoprotein on glycolysis and glutaminolysis: role of pyruvate kinase type M2 and the glycolytic-enzyme complex [J]. Biochem J, 2001, 356: 247 -256.
- [14]Zaheed H, Pankaj S, Sukhatme VP. Tumor-derived lactate and myeloid-derived suppressor cells.Oncoimmunology.2013;2:e26383.
- [15]Kim J, Dang C V. Cancer's Molecular Sweet Tooth and the Warburg Effect[J]. Cancer Research, 2006, 66(18):8927-8930.
- [16]Yang C, He L, He P, et al. Increased drug resistance in breast cancer by tumor-associated macrophages through IL-10/STAT3/bcl-2 signaling pathway[J]. Med Oncol,2015,32(2):352.
- [17]Ma Y, Zhu B, Liu X, et al. Inhibition of oleandrin on the proliferation and invasion of osteosarcoma cells in vitro



by suppressing Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2015, 34(1):115.

[18] Hitosugi T, Kang S, Vander Heiden MG, et al. Tyrosine phosphorylation inhibits PKM2 to promote the Warburg effect and tumor growth [J]. Sci Signal, 2009, 2: ra73.

[19] Kedar V P, Zucconi B E, Wilson G M, et al. Direct binding of specific AUF1 isoforms to tandem zinc finger domains of tristetraprolin (TTP) family proteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(8):5459–5471.

[20] Silvan U, Diez-Torre A, Bonilla Z, et al. 2015, Vasculogenesis and angiogenesis in nonseminomatous testicular germ cell tumors, Urol. Oncol., 33(6): 268.e17–268.e28.

[21] Uma S, Arun R, Arumugam P. The Knowledge, Attitude and Practice Towards Blood Donation Among Voluntary Blood Donors in Chennai, India[J]. Journal of Clinical & Diagnostic Research Jcdr, 2013, 7(6):1043.

[22] Belair DG, Miller MJ, Wang S, et al. Differential regulation of angiogenesis using degradable VEGF-binding microspheres[J]. Biomaterials, 2016, 93: 27–37.

[23] Deryugina EI, Quigley JP. Tumor angiogenesis: MMP mediated induction of intravasation - and metastasis sustaining neovasculature[J]. Matrix Biol, 2015, 44–46:94–112.

[24] Tzeng HE, Tsai CH, Chang ZL, et al. Interleukin-6 induces vascular endothelial growth factor expression and promotes angiogenesis through apoptosis signal-regulating kinase 1 in human osteosarcoma[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(4):531–540.

[25] Li Z, Yang P, Li Z. The multifaceted regulation and functions of PKM2 in tumor progression[J]. Biochimica et biophysica acta, 2014, 1846(2):285.

[26] Xu Q, Liu L Z, Yin Y, et al. Regulatory circuit of PKM2/NF- κ B/miR-148a/152-modulated tumor angiogenesis and cancer progression[J]. Oncogene, 2015, 34(43):5482–93.

[27] Azoitei Ninel, Becher Alexander, Steinestel Konrad, 等. PKM2 promotes tumor angiogenesis by regulating HIF-1 α through NF- κ B activation[J]. Molecular Cancer, 2016, 15(1):3.

[28] 种阳, 李国军, 张世谦, 邵明, 杨艳梅. EMT与骨肉瘤转移相关性的研究进展[J]. 医学综述, 2015, 21(12):2185–2188.

[29] Zhao S, Kurenbekova L, Gao Y, et al. NKD2, a negative regulator of Wnt signaling, suppresses tumor growth and metastasis in osteosarcoma[J]. Oncogene, 2015, 34(39):5069.

[30] Ongaro A, Pellati A, Bgheri L, et al. Characterization of notch signaling during osteogenic differentiation in human osteosarcoma cell line MG63[J]. J Cell Physiol, 2016, 231(12):2652–2663.

[31] Hamabe A, Konno M, Tanuma N, et al. Role of pyruvate kinase M2 in transcriptional regulation leading to epithelial-mesenchymal transition. [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(43):15526–15531.

[32] Jin K, Gao W, Lu Y, et al. Mechanisms regulating colorectal cancer cell metastasis into liver (Review)[J]. Oncology Letters, 2012, 3(1):11–15.

[33] Green D R, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death[J]. Science, 2004, 305(5684):626–629.

[34] Ji L, Cao R, Wang X, Zhang Y, Wang P, Gao H, Li C, Yang F, Zeng R, Wei P, Li D, Li W, Yang W. Mitochondrial PKM2 regulates oxidative stress-induced apoptosis by stabilizing Bcl2. Cell Res. 2016; 27:329–351.

[35] Liang J, Cao R, Wang X, et al. Mitochondrial PKM2 regulates oxidative stress-induced apoptosis by stabilizing Bcl2[J]. Cell Research, 2017, 27(3):329–351.

[36] Li W H, Wu H J, Li Y X, et al. MicroRNA-143 promotes apoptosis of osteosarcoma cells by caspase-3 activation via targeting Bcl-2[J]. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 2016

(上接第313页)

能或者增强 DAI1 类受体的功能减弱 Th17/IL-17 轴所介导的炎症反应, 从而改善 MS 患者的免疫损伤。

参考文献

[1] Janković S M, Milovanović D, Mitrović M. Dopamine receptor subtypes[J]. 1996, 49(07–08):281–285.

[2] Bates M D, Gingrich J A, Bunzow J R. Molecular Characterization of Dopamine Receptors[J]. American Journal of Hypertension, 1990, 03(02):29S–33S.

[3] Pacheco R, Contreras F, Zouali M. The Dopaminergic System in Autoimmune Diseases[J]. Frontiers in Immunology, 2014, 5.

[4] 陈欣. Th17 细胞与多发性硬化[D]. 河北医科大学, 2010.

[5] 张召茹. TAOK1 负向调控 IL-17 诱导的信号通路和炎症反应[D]. 浙江大学, 2018.

[6] Waisman A, Hauptmann J, Regen T. The role of IL-17 in CNS diseases[J]. Acta Neuropathologica, 2015, 129(5):625–637.

[7] Melnikov M, Belousova O, Murugin V, et al. The role of dopamine in modulation of Th-17 immune response in multiple sclerosis[J]. J Neuroimmunol, 2016, 292:97–101.

[8] Nakano K, Higashi T, Hashimoto K, et al. Antagonizing dopamine D1-like receptor inhibits Th17 cell differentiation: Preventive and therapeutic effects on experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 373(2):286–291.

[9] Prado C, Contreras F, González H, et al. Stimulation of Dopamine Receptor D5 Expressed on Dendritic Cells Potentiates Th17-Mediated Immunity[J]. Journal of Immunology, 2012, 07(188):3062–3070.

[10] Cosentino M, Fietta A M, Ferrari M, et al. Human CD4+CD25+ regulatory T cells selectively express tyrosine hydroxylase and contain endogenous catecholamines subserving an autocrine/paracrine inhibitory functional loop[J]. Blood, 2007, 109(2):632–642.

[11] Kipnis J. Dopamine, through the Extracellular Signal-Regulated Kinase Pathway, Downregulates CD4+CD25+ Regulatory T-Cell Activity: Implications for Neurodegeneration[J]. Journal of Neuroscience, 2004, 24(27):6133–6143.

[12] Korn T, Mitsdoerffer M, Croxford A L, et al. IL-6 controls Th17 immunity in vivo by inhibiting the conversion of conventional T cells into Foxp3+ regulatory T cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(47):18460–18465.

[13] Ferreira T B, Barros P O, Teixeira B, et al. Dopamine favors expansion of glucocorticoid-resistant IL-17-producing T cells in multiple sclerosis[J]. Brain, Behavior, and Immunity, 2014, 41:182–190.

[14] Lieberknecht V, Junqueira S C, Cunha M P, et al. Pramipexole, a Dopamine D2/D3 Receptor-Preferring Agonist, Prevents Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Development in Mice[J]. Molecular Neurobiology, 2017, 54(2):1033–1045.