

PKM2 在肿瘤代谢及进展中的作用

李玉环¹ 综述 孙国平¹ 李俊² 审校

摘要 葡萄糖代谢方式的改变是肿瘤细胞的一大重要特征。在氧气充足的情况下正常哺乳动物细胞依靠线粒体有氧呼吸产生能量,而肿瘤细胞即使在氧气充足的条件下也主要利用糖酵解这种低效的产能方式维持细胞能量需求。糖酵解消耗葡萄糖产生乳酸,该代谢过程的中间产物可以转变为支撑肿瘤细胞生长所必需的物质如氨基酸、核苷酸、脂质等,因此糖酵解可以为肿瘤细胞生存提供重要的物质基础。丙酮酸激酶是糖酵解途径的关键酶,催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸。研究显示在哺乳动物体内共有4种丙酮酸激酶的同工酶,M2型丙酮酸激酶(PKM2)在肿瘤细胞中表达增

多,大量的研究也证实了PKM2在肿瘤进展中扮演着极其重要的角色,近年来PKM2相关的研究也成为肿瘤研究的热点之一。本文对近二十年PKM2的相关研究进行了总结,从其结构、酶活性的调节、对肿瘤生长的影响、在肿瘤诊断治疗中的价值以及该领域可能的发展方向等多方面作一综述。

关键词 PKM2;糖酵解;肿瘤

中图分类号 R 730.23

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)05-0818-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.035

丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)是葡萄糖代谢的关键酶之一,其催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸,同时产生腺嘌呤核苷三磷酸。在哺乳动物细胞中,PK由PKLR和PKM两种基因编码,共产生四种亚型,分别是PKL、PKR、M1型丙酮酸激酶(pyruvate kinase M1, PKM1)和PKM2^[1]。PKL和PKR来源于基因PKLR,PKLR基因在组织特异性启动子的作用下表达于不同的组织细胞内,其中PKR表达于红细胞,PKL表达于肝脏;PKM1和PKM2来自于同

2017-11-21 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81572430,81473268)

作者单位:¹安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科,合肥 230022

²安徽医科大学药学院,合肥 230032

作者简介:李玉环,女,硕士研究生;

孙国平,男,教授,博士生导师,主任医师,责任作者,E-mail: sunguoping@ahmu.edu.cn;

李俊,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: lj@ahmu.edu.cn

- [16] Lamb C A, Mansfield J C, Tew G W, et al. AlphaEbeta7 integrin identifies subsets of pro-inflammatory colonic CD4⁺ T lymphocytes in ulcerative colitis [J]. *J Crohns Colitis* 2017, 11(5): 610-20.
- [17] Zundler S, Becker E, Weidinger C, et al. Anti-adhesion therapies in inflammatory bowel disease-molecular and clinical aspects [J]. *Front Immunol* 2017, 8: 891.
- [18] Stange E F. Improvement of a 'Leaky' Intestinal Barrier [J]. *Dig Dis* 2017, 35(1-2): 21-4.
- [19] 钦丹萍,孙佩娜,周毅毅,等.雷公藤多苷对溃疡性结肠炎大鼠模型炎症及TLR4/MyD88信号通路的作用[J].*中华医学杂志*, 2016, 96(18): 1444-9.
- [20] Kayama H, Takeda K. Regulation of the human gut homeostasis by anti-inflammatory CD14⁺ CD163^{high} CD160^{high} myeloid cells [J]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2016, 39(5): 441-7.
- [21] Wenzel U A, Jonstrand C, Hansson G C, et al. CD103⁺ CD11b⁺ dendritic cells induce Th17 T cells in muc2-deficient mice with extensively Spread Colitis [J]. *PLoS One* 2015, 10(6): e0130750.
- [22] Cholapranee A, Hazlewood G S, Kaplan G G, et al. Systematic review with meta-analysis: comparative efficacy of biologics for induction and maintenance of mucosal healing in Crohn's disease and ulcerative colitis controlled trials [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2017, 45(10): 1291-302.
- [23] Ma Y H, Zhang J, Chen X, et al. Increased CD4⁺ CD45RA⁻ FoxP3^{low} cells alter the balance between Treg and Th17 cells in colitis mice [J]. *World J Gastroenterol* 2016, 22(42): 9356-67.
- [24] Loren V, Cabre E, Ojanguren I, et al. Interleukin-10 enhances the intestinal epithelial barrier in the presence of corticosteroids through p38 MAPK activity in Caco-2 monolayers: a possible mechanism for steroid responsiveness in ulcerative colitis [J]. *PLoS One* 2015, 10(6): e0130921.
- [25] Wang X, Zhu Y, Zhang M, et al. Ulcerative colitis is characterized by a decrease in regulatory B cells [J]. *J Crohns Colitis* 2016, 10(10): 1212-23.
- [26] Theede K, Holck S, Ibsen P, et al. Fecal calprotectin predicts relapse and histological mucosal healing in ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis* 2016, 22(5): 1042-8.
- [27] Tsuboi K, Nishitani M, Takakura A, et al. Autophagy protects against colitis by the maintenance of normal gut microflora and secretion of Mucus [J]. *J Biol Chem* 2015, 290(33): 20511-26.
- [28] Zhang C, Yan J, Xiao Y, et al. Inhibition of autophagic degradation process contributes to claudin-2 expression increase and epithelial tight junction dysfunction in TNF-alpha treated cell monolayers [J]. *Int J Mol Sci* 2017, 18(1): 157.
- [29] Hooper K M, Barlow P G, Stevens C, et al. Inflammatory bowel disease drugs: a focus on autophagy [J]. *J Crohns Colitis* 2017, 11(1): 118-27.
- [30] Comincini S, Manai F, Meazza C, et al. Identification of autophagy-related genes and their regulatory miRNAs associated with celiac disease in children [J]. *Int J Mol Sci* 2017, 18(2): 391.

一基因 PKM, PKM 基因转录生成的 mRNA 在剪切因子的作用下可以形成含外显子 9 的 PKM1 或含外显子 10 的 PKM2。PKM1 主要表达在骨骼肌和脑组织中, PKM2 主要表在于代谢旺盛的胚胎组织以及肿瘤组织, 在胚胎逐渐发育成熟的过程中, PKM2 的逐渐消失。细胞发生恶变时, 无论其恶变前为何种组织来源, PKM2 的表达重新升高甚至取代原先的 PK 形式, 因此 PKM2 也被称作为肿瘤特异性 PK^[2]。

1 PKM2 的二聚体及四聚体状态

PKM2 有二聚体和四聚体两种主要状态, 其中 PKM2 的二聚体状态具有较低的 PK 活性, 肿瘤细胞中该酶的主要以二聚体状态存在, 这种状态的 PKM2 一方面与核酸和氨基酸等营养物质的合成密切相关, 另一方面二聚体的 PKM2 可以进入细胞核作为转录因子激活肿瘤生长相关基因。当 PKM2 处于四聚体状态时, 与其底物磷酸烯醇式丙酮酸具有较高的亲和力, 因此拥有较高的 PK 活性, 催化更多的磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸进而产生能量。二聚体状态的 PKM2 与四聚体状态的 PKM2 的比值决定了细胞内的丙酮酸是参与核酸、蛋白的合成还是参与能量代谢过程, 当二聚体与四聚体比值升高时说明此时细胞主要以物质合成为主, 反之以产能为主^[3]。

2 PKM2 的调节

2.1 代谢中间产物 1,6-二磷酸果糖(fructose-1,6-diphosphate, FBP) 是葡萄糖代谢的中间产物之一, 从上世纪六十年代开始, FBP 就被认为是 PKM2 的激活剂。研究^[4]显示 FBP 可与 PKM2 可逆性结合并稳定 PKM2 的四聚体状态因此促进其 PK 活性, 当细胞内的葡萄糖浓度增高时, FBP 的浓度随之升高, PKM2 大部分处于高活性的四聚体状态。

2.2 磷酸化 PKM2 是一种磷酸化酶, 其酪氨酸残基 Y105 磷酸化现象已经在人类的多种实体肿瘤中被发现。PKM2 的酪氨酸残基 Y83、Y105、Y148、Y175、Y370、Y390 可被成纤维细胞生长因子受体 1 直接磷酸化, 磷酸化的 PKM2 与 FBP 结合减少进而抑制了 PKM2 四聚体形式的存在, 降低其 PK 活性。有报道^[5]显示 TRIM35(tripartite motif containing 35) 可与 PKM2 直接结合抑制 PKM2 Y105 磷酸化, 进而升高酶活性。Jun 氨基末端激酶 1 磷酸化 PKM2 苏氨酸残基 Thr365 抑制酶活性^[6]。

2.3 乙酰化 乙酰化是 PKM2 另外一种翻译前修

饰方式, 其能降低 PKM2 的酶活性, 增加糖酵解中间产物, 支持生物合成。P300 乙酰转移酶催化 PKM2 的 K433 乙酰化, 乙酰化的 PKM2 与 FBP 亲和力降低, PKM2 四聚体形式减少, 活性降低^[7]。

2.4 蛋白质间相互作用 PKM2 的活性也受许多与之接触的蛋白质调节, 结合位点与作用机制各有不同。黏液素 1、死亡相关蛋白与 PKM2 结合可提高酶活性促进糖酵解; 杂交双酵母技术研究^[8]显示 PIAS3(protein inhibitor of activated STAT3) 通过羧基端与 PKM2 相结合来调节酶活性; 组蛋白去甲基化酶 JMJD5、L-半胱氨酸与 PKM2 结合可降低酶活性^[9-10]; 5-氨基-4-琥珀酸甲酰胺咪唑核糖核苷酸通过直接接触变构调节激活 PKM2^[11]。丝氨酸作为 PKM2 的天然配体可有效激活 PKM2^[12]。

2.5 转录调节和选择性剪接 PKM 基因的剪接因子包括 PTB、hnRNPAI、hnRNPA2 三种异质性核糖蛋白, 其通过结合外显子 9, 释放外显子 10 来促进 PKM2 的表达同时抑制 PKM1 的表达, NIMA 相关蛋白激酶 2 可以通过与 hnRNPAI/A2 结合来促进外显子 10 的释放, 进一步增加 PKM2 的表达^[13]。

2.6 miRNA 越来越多的研究^[14]显示 PKM2 的表达与非编码 RNA 家族中的 miRNA 相关, 其中 miRNA 是一类短链的非编码 RNA, 其靶向作用于 mRNA 来影响蛋白质的合成因此在基因的调控中起重要作用。研究^[15]显示, miRNA-326 与 PKM2 的 3' UTR 端有两个结合位点, 在胶质瘤细胞中转染 miRNA-326 后 PKM2 的表达水平降低, 因此证明 miRNA-326 抑制 PKM2 的表达。在肠癌细胞中 miRNA-let-7a 通过下调 PKM2 的表达来抑制肠癌的增殖、侵袭、迁移^[16]。类似的有: miRNA-433a、miRNA-433b、miRNA-422、miRNA-338-3P 也可降低 PKM2 的表达水平。miRNA-124、miRNA-137、miRNA-340 靶向作用于剪接因子 PTB、hnRNPAI、hnRNPA2 促使 PKM mRNA 的表达由 PKM2 转向 PKM1, PKM2 的表达量减少。

3 PKM2 与肿瘤的关系

糖代谢异常是肿瘤细胞的一大重要特征。绝大多数正常细胞在氧供应正常时都是通过线粒体有氧氧化将葡萄糖彻底氧化成二氧化碳和水, 只有在氧气缺乏时才会进行糖酵解产生乳酸, 而肿瘤细胞无论氧气存在与否都主要通过糖酵解进行能量代谢, 这就是著名的 Warburg 效应。PKM2 作为糖酵解途径的关键酶之一, 已经在多种肿瘤细胞中被发现高

表达,例如直肠癌、乳癌、肺癌、肝癌、胃癌、肾癌等。其表达与肿瘤细胞糖摄取增多、乳酸生成增多以及耗氧量减少密切相关。

一方面 PKM2 可以在细胞质中发挥 PK 活性促进糖酵解中间产物积累利于肿瘤细胞合成需要,另一方面其也可以通过其 C-端的核定位信号在白介素-3、生长激素抑制剂类似物 TT-232、过氧化物、紫外线辐射等因素下由细胞质转移到细胞核内以二聚体的形式发挥蛋白激酶活性作用于细胞核内的多种转录因子进而影响多种信号通路促进肿瘤的发展。微阵列实验已经证明,PKM2 是一种具有多效性的蛋白激酶,其可以使人体大约一百种以上的蛋白质发生磷酸化。近年来有研究^[17]显示肿瘤表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)也能够诱导 PKM2 进入细胞核,入核的 PKM2 对 EGF 诱导的 β -连环素(β -catenin)信号通路对细胞生长产生非常重要的作用。表皮生长因子受体被 EGF 激活后促使下游细胞因子非受体酪氨酸激酶 C-SRC 进入细胞核磷酸化 β -catenin 的第 333 位酪氨酸,由于 PKM2 可以与磷酸化的酪氨酸结合,因此可以和 β -catenin 形成复合体与 CCND1 启动子区域结合磷酸化组蛋白 H3,磷酸化后的组蛋白 H3 与组蛋白脱乙酰化酶 3 分离,使得组蛋白 H3 的第九位酪氨酸乙酰化,进而促进细胞增殖重要的细胞因子周期素 D (CycinD1) 的表达。PKM2 也可通过影响 β -catenin 调控靶基因 C-MYC, C-MYC 又可发过来促进 PKM2 的基因转录及 hnRNA 的剪切^[18]。除了可以通过调节 CycinD1 的表达影响 G1-S 转化外,PKM2 还可调节有丝的方式,其能够调节有丝分裂蛋白 Bub3 的 207 位酪氨酸,促进 Bub3-Bub1 复合物的形成, Bub3-Bub1 复合物进一步作用于外着丝粒蛋白 Blinkin,促使其与配体 Bub 结合因而精确调节染色体分离以及细胞增殖^[19]。Gao et al^[20]通过研究证实细胞核内的 PKM2 能够使信号传导因子及转录活化因子 3 第 705 位酪氨酸磷酸化,进一步促进:磷酸化丝裂原活化蛋白激酶激酶 5 (mitogen activated protein kinase kinase 5, MEK5) 的转录,MEK5 对肿瘤细胞的生长起促进作用。Li et al^[21]的研究证实 PKM2 通过磷酸化转录活化因子 3 导致肠癌患者对吉西他滨耐药。也有文献^[22]报道显示 PKM2 可以使蛋白激酶 B 底物 1 的第 202/203 位丝氨酸促进其与 14-3-3 结合激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白敏感型复合体 1 (mechanistic target of rapamycin complex 1, mTORC1) 信号通路促进肿瘤生长。PKM2 可以直

接磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2),促进肿瘤生长^[23]。研究^[24]显示 PKM2 能直接结合低氧诱导因子 1- α 的活性结构域促进下游血管内皮生长因子的表达激活。去乙酰化酶 6 可以使细胞核内 PKM2 第 433 位赖氨酸脱乙酰化促使其转出细胞核进而抑制肝癌^[25]。综上所述,一方面 PKM2 在细胞浆内作为 PK 促进肿瘤细胞无氧糖酵解的来满足肿瘤生长所必需的物质需求;另一方面细胞核内的 PKM2 又作为一种重要的转录因子促进 β -catenin、C-MYC、CycinD1、MEK5、mTORC1 的表达以及 ERK1/2 的磷酸化,而这些基因的表达又会从另一方面对肿瘤的生长起促进作用。

4 诊断治疗

PKM2 在肿瘤细胞的代谢以及进展过程中发挥着非常重要作用,是肿瘤诊断治疗极具希望的靶点之一。有研究^[26]显示在应用铂类药物化疗的非小细胞肺癌患者体内 PKM2 的含量越高,其肿瘤无进展生存期、总生存期、疾病控制率越低,PKM2 可以作为非小细胞肺癌患者铂类药物化疗敏感性的指标。由于 PKM2 在多种肿瘤中表达增多,所以有理由相信降低 PKM2 的活性的药物能够靶向治疗肿瘤。事实上,已经有 PKM2 抑制剂被设计出来并有证据证明其对癌症生长和存活有抑制作用。研究^[27]表明紫草醌可能通过抑制 PKM2 活性引起细胞死亡来起到抗癌活性,关于 PKM2 抑制剂的临床试验已经在进行之中。尽管如此,近来也有研究^[28]显示激活 PKM2 基因也能够抑制肿瘤发展。但无论怎样,进一步研究 PKM2 在癌细胞中的作用,深入挖掘其具体作用机制是该领域最具有挑战性的任务。

5 展望

细胞代谢的重新编程为肿瘤细胞在低氧、物质需求量急剧增大的环境下提供了特殊的生长优势。PKM2 糖酵解途径的最后一个限速酶,在肿瘤细胞代谢重新编程中发挥了不可忽视的作用。虽然近十几年来已经对 PKM2 在肿瘤细胞中的调节和功能有了多层次的了解,但关于其通过具体何种机制进入细胞核以及在细胞核内作为转录共刺激因子参与各种信号通路的机制仍需进一步研究。在充分整合好 PKM2 的代谢功能和非代谢功能,清晰地掌握其在体内的作用和机制的前提下,努力研发针对 PKM2 相关的靶向药物,必将推动肿瘤治疗走向新台阶。

参考文献

- [1] Israelsen W J , Dayton T L , Davidson S M , et al. PKM2 isoform-specific deletion reveals a differential requirement for pyruvate kinase in tumor cells [J]. *Cell* , 2013 , 155(2) : 397 - 409.
- [2] Jacinto E , Loewith R , Schmidt A , et al. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive [J]. *Nat Cell Biol* , 2004 , 6(6) : 1122 - 8.
- [3] Dombrauckas J D , Santarsiero B D , Mesecar A D. Structural basis for tumor pyruvate kinase M2 allosteric regulation and catalysis [J]. *Biochemistry* , 2005 , 44(27) : 9417 - 29.
- [4] Anastasiou D , Yu Y , Israelsen W J , et al. Pyruvate kinase M2 activators promote tetramer formation and suppress tumorigenesis [J]. *Nat Chem Biol* , 2012 , 8(10) : 839 - 47.
- [5] Chen Z , Wang Z , Guo W , et al. TRIM35 Interacts with pyruvate kinase isoform M2 to suppress the Warburg effect and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene* , 2015 , 34(30) : 3946 - 56.
- [6] Iansante V , Choy P M , Fung S W , et al. PARP14 promotes the Warburg effect in hepatocellular carcinoma by inhibiting JNK1-dependent PKM2 phosphorylation and activation [J]. *Nat Commun* , 2015 , 6: 7882.
- [7] Lv L , Xu Y P , Zhao D , et al. Mitogenic and oncogenic stimulation of K433 acetylation promotes PKM2 protein kinase activity and nuclear localization [J]. *Mol Cell* , 2013 , 52(3) : 340 - 52.
- [8] Spoden G A , Dieter M , Daniela E , et al. The SUMO-E3 ligase PIAS3 targets pyruvate kinase M2 [J]. *J Cell Biochem* , 2009 , 107(2) : 293 - 302.
- [9] Wang H J , Hsieh Y J , Cheng W C , et al. JMJD5 regulates PKM2 nuclear translocation and reprograms HIF-1 α -mediated glucose metabolism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2014 , 111(1) : 279 - 84.
- [10] Nakatsu D , Horiuchi Y , Kano F , et al. l-cysteine reversibly inhibits glucose-induced biphasic insulin secretion and ATP production by inactivating PKM2 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2015 , 112(10) : E1067.
- [11] Keller K E , Tan I S , Lee Y S. SAICAR stimulates pyruvate kinase isoform M2 and promotes cancer cell survival in glucose-limited conditions [J]. *Science* , 2012 , 338(6110) : 1069 - 72.
- [12] Chaneton B , Hillmann P , Zheng L , et al. Serine is a natural ligand and allosteric activator of pyruvate kinase M2 [J]. *Nature* , 2011 , 491(7424) : 458 - 62.
- [13] Gu Z , Xia J , Xu H , et al. NEK2 promotes aerobic glycolysis in multiple myeloma through regulating splicing of pyruvate kinase [J]. *J Hematol Oncol* , 2017 , 10(1) : 17.
- [14] Wong T S , Liu X B , Chung-Wai Ho A , et al. Identification of pyruvate kinase type M2 as potential oncoprotein in squamous cell carcinoma of tongue through microRNA profiling [J]. *Int J Cancer* , 2008 , 123(2) : 251 - 7.
- [15] Kefas B , Comeau L , Erdle N , et al. Pyruvate kinase M2 is a target of the tumor-suppressive microRNA-326 and regulates the survival of glioma cells [J]. *Neuro Oncol* , 2010 , 12(11) : 1102 - 12.
- [16] Tang R , Yang C , Ma X , et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation , migration , and invasion by down-regulating PKM2 in gastric cancer [J]. *Oncotarget* , 2016 , 7(5) : 5972 - 84.
- [17] Yang W , Xia Y , Ji H , et al. Nuclear PKM2 regulates β -catenin transactivation upon EGFR activation [J]. *Nature* , 2011 , 480(7375) : 118 - 22.
- [18] David C J , Chen M , Assanah M , et al. HnRNP proteins controlled by c-Myc deregulate pyruvate kinase mRNA splicing in cancer [J]. *Nature* , 2010 , 463(7279) : 364 - 8.
- [19] Jiang Y , Li X , Yang W , et al. PKM2 regulates chromosome segregation and mitosis progression of tumor cells [J]. *Molecular Cell* , 2014 , 53(1) : 75 - 87.
- [20] Gao X , Wang H , Yang J , et al. Pyruvate kinase M2 regulates gene transcription by acting as a protein kinase [J]. *Molecular Cell* , 2012 , 45(5) : 598 - 609.
- [21] Li Q , Zhang D , Chen X , et al. Nuclear PKM2 contributes to gefitinib resistance via upregulation of STAT3 activation in colorectal cancer [J]. *Sci Rep* , 2015 , 5: 16082.
- [22] He C L , Bian Y Y , Xue Y , et al. Pyruvate kinase M2 activates mTORC1 by phosphorylating AKT1S1 [J]. *Sci Rep* , 2016 , 6: 21524.
- [23] Keller K E , Doctor Z M , Dwyer Z W , et al. SAICAR induces protein kinase activity of PKM2 that is necessary for sustained proliferative signaling of cancer cells [J]. *Mol Cell* , 2014 , 53(5) : 700 - 9.
- [24] Azoitei N , Becher A , Steinestel K , et al. PKM2 promotes tumor angiogenesis by regulating HIF-1 α through NF- κ B activation [J]. *Mol Cancer* , 2016 , 15: 3.
- [25] Bhardwaj A , Das S. SIRT6 deacetylates PKM2 to suppress its nuclear localization and oncogenic functions [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 2016 , 35(4) : 899 - 909.
- [26] Papadaki C , Sfakianaki M , Lagoudaki E , et al. PKM2 as a biomarker for chemosensitivity to front-line platinum-based chemotherapy in patients with metastatic non-small-cell lung cancer [J]. *Br J Cancer* , 2014 , 111(9) : 1757 - 64.
- [27] Porporato P E , Dhup S , Dadhich R K , et al. Anticancer targets in the glycolytic metabolism of tumors: a comprehensive review [J]. *Front Pharmacol* , 2011 , 2(49) : 49.
- [28] Tech K , Tikunov A P , Farooq H , et al. Pyruvate kinase inhibits proliferation during postnatal cerebellar neurogenesis and suppresses medulloblastoma formation [J]. *Cancer Res* , 2017 , 77(12) : 3217 - 30.