



蛋白质修饰与肿瘤糖代谢

李玲, 徐小洁*, 叶棋浓*

军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100850

* 联系人, E-mail: miraclerxj@126.com; yeqn66@yahoo.com

收稿日期: 2015-04-26; 接受日期: 2015-05-17; 网络版发表日期: 2015-11-02

国家自然科学基金(批准号: 81472589, 31100604)、北京市科技新星计划(批准号: Z141102001814055)、北京市自然科学基金(批准号: 7132155)和军事医学科学院创新基金转化医学项目(批准号: ZHYX003)资助

doi: 10.1360/N052015-00067

摘要 蛋白质分子链上接上某种化学基团, 从而改变其执行生命复杂的调控和信息传递的功能, 这一过程称为“蛋白质修饰”. 常见的蛋白质翻译后修饰过程有磷酸化、乙酰化、泛素化、糖基化和甲基化等, 它们使蛋白质的结构更为复杂, 功能更为完善, 作用更为专一, 调控更为精细. 蛋白质修饰在生命体中具有十分重要的作用. 在肿瘤代谢中, 肿瘤细胞即使在氧气充足的情况下仍进行糖酵解, 称为 Warburg 效应. 目前越来越多的研究表明, 蛋白质翻译后修饰与肿瘤糖代谢密切相关. 本文将就常见的蛋白质修饰方式对肿瘤糖代谢的影响方面的研究进展进行综述.

关键词

蛋白质修饰
肿瘤
糖代谢

蛋白质分子链上接上某种化学基团, 从而改变其执行生命复杂的调控和信息传递的功能, 这一过程称为“蛋白质修饰”. 常见的蛋白质翻译后修饰过程有磷酸化、乙酰化、泛素化、糖基化和甲基化等, 它们使蛋白质的结构更为复杂, 功能更为完善, 调节更为精细, 作用更为专一. 蛋白质修饰在生命体中具有十分重要的作用, 因为大多数翻译后修饰是可逆的, 正常细胞常以翻译后修饰作为“开关”, 严密调控细胞存活、细胞增殖以及细胞周期等生命过程. 新陈代谢是机体生命活动的基本特征, 包括物质代谢和能量代谢. 有机体在物质代谢过程中能量的释放、转换和利用过程, 称为能量代谢. 细胞能量主要来自糖代谢. 正常细胞在氧气存在的条件下通过糖的有氧氧化来获得能量, 只有在缺氧时才发生糖酵解. 而肿瘤细胞无论是否有氧存在都主要依赖糖酵解方式进行代谢, 消耗大量葡萄糖并伴有乳酸的产生, 这一现象

称为有氧糖酵解, 在 20 世纪 20 年代被德国生物学家 Otto Warburg 发现, 因此也被称为 Warburg 效应. 目前越来越多的研究表明, 蛋白质翻译后修饰与肿瘤糖代谢密切相关. 本文将就常见的蛋白质修饰方式对肿瘤糖代谢的影响方面的研究进展进行综述.

1 概述

1.1 肿瘤糖代谢

肿瘤细胞中糖代谢存在异常现象, 发生有氧糖酵解. 肿瘤细胞的生长速度快, 过快增长使细胞经常处于缺氧状态, 因此, 肿瘤细胞关闭了需要线粒体的有氧氧化反应, 能量则通过葡萄糖的无氧酵解提供. 肿瘤细胞部分关闭三羧酸循环, 降低了进入三羧酸循环的糖代谢中间产物, 由此导致糖酵解途径代谢中间产物的积累, 使与糖酵解途径相连的戊糖磷酸

引用格式: 李玲, 徐小洁, 叶棋浓. 蛋白质修饰与肿瘤糖代谢. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 1101–1109

Li L, Xu X J, Ye Q N. Protein modification and tumor glycolysis. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 1101–1109, doi: 10.1360/N052015-00067

途径(pentose phosphate pathway, PPP)获得更高的底物浓度和反应活性, PPP产生的戊糖和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(triphosphopyridine nucleotide, NADPH)能满足肿瘤细胞合成膜磷脂的需要, 并且也保证了肿瘤细胞的抗氧化能力以抵抗细胞凋亡。肿瘤细胞可以利用糖代谢中间产物进行合成代谢, 如葡萄糖-6-磷酸、丙酮酸可以参与合成脂肪酸、核酸, 糖酵解可以直接启动肿瘤细胞对营养物质的摄取, 为肿瘤细胞提供自主、直接的营养物质; 糖酵解代谢产物使肿瘤周围微环境酸化, 利于肿瘤细胞的浸润和转移并抑制抗癌免疫效应。在肿瘤细胞中, 一些原癌基因(如 *c-Myc*(cell-myc), *HIF-1*(hypoxia inducible factor-1)等)作为转录因子调控代谢酶的转录水平, 或者是通过信号通路调控蛋白的修饰从而影响酶活或者蛋白水平。糖酵解可促进缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)表达, 通过其下游的信号传导途径促进肿瘤细胞增殖、启动肿瘤血管生成、逃脱细胞凋亡程序等, 同时 HIF-1 反过来可直接促进肿瘤细胞糖酵解, 从而形成恶性循环。

1.2 蛋白质修饰与糖代谢的关系

目前越来越多的研究表明, 蛋白质翻译后修饰与肿瘤糖代谢密切相关。例如, 糖酵解过程许多代谢酶, 如葡萄糖转运体(glucose transporters 1, GLUT1)、己糖脱氢酶 2(hexokinase 2, HK2)、磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK)等均受可逆磷酸化的调控, 从而调控糖酵解反应的进行。乙酰化广泛修饰代谢酶及代谢相关酶, 对代谢具有广泛调控功能。研究发现, 乙酰化对清除细胞内 ROS(reactive oxygen species)的关键酶超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)具有调控作用, 乙酰化调节的 SOD2 活力与代谢存在密切关系^[1]。精氨酸的甲基化修饰与糖代谢相关疾病如糖尿病等密切相关。蛋白质精氨酸甲基转移酶(protein arginine methyltransferases, PRMTs)活性下降及表达异常是糖代谢疾病的重要发病基础。目前研究表明, PRMTs 在糖代谢调节中起重要作用, 与葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)、磷酸烯醇丙酮酸羧化激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)等糖代谢关键酶以及与胰岛素受体-胰岛素受体配体 1-磷脂酰肌醇 3 激酶通道等密切相关。深入研究蛋白质修饰与糖代谢调节之间的联系及机制, 可为防治糖代谢疾病及相关

并发症提供更多的理论依据。

2 蛋白质修饰与糖代谢——代表性事例

2.1 转录因子修饰与糖代谢

(1) 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF1 α)。缺氧诱导因子-1 是缺氧条件下广泛存在于哺乳动物和人体内的一种核转录因子, 能与缺氧反应元件上特定位置结合, 启动靶基因的转录, 调节缺氧反应基因产物的合成, 在肿瘤血管生成、细胞能量代谢中起调控作用。HIF-1 α 作为 HIF-1 的调节亚基和活性亚基, 在糖代谢中发挥重要作用, 其蛋白稳定性和转录活性均受细胞内氧浓度的调节。HIF-1 α 对缺氧依赖性强, 常氧状态下经泛素-蛋白酶体途径被迅速降解, 随着氧浓度的降低, HIF-1 α 表达量呈指数增长, 从而导致其下游糖代谢相关酶基因如 *GLUT1*, *PGK1*(phosphoglycerate kinase 1), *PKM2*(pyruvate kinase isozymes M2), *LDHA*(lactate dehydrogenase)等表达增强(图 1)。据报道, HIF-1 α 可促进肿瘤发生中的关键步骤, 包括血管新生、代谢、增殖、转移和分化。

常氧状态下, HIF-1 α 蛋白 ODD 结构域(oxygen dependent degradation domain)的两个脯氨酸位点(Pro402 和 Pro564)可以被羟基化修饰(表 1)。羟化后的 HIF-1 α 蛋白易于与 E3 泛素连接酶 VHL(Von Hippel-Lindau)相结合, 从而通过泛素蛋白酶体途径降解; 低氧条件下, HIF-1 α 羟基化被抑制, 与 VHL 相互作用减弱, HIF-1 α 表达水平增高并迅速稳定, 入核与 HIF-1 β 形成异二聚体, 与辅激活因子 CBP(CREB binding protein), 环磷酸腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB) /p300 作用, 结合到低氧反应元件上, 从而激活下游靶基因转录^[2]。文献报道, 无论常氧或缺氧状态下组蛋白乙酰化酶 p300 均能在 Lys 709 位特异性乙酰化 HIF-1 α , 从而降低 HIF-1 α 泛素化水平, 增强其稳定性^[3]。乙酰转移酶 ARD1(arrest defective 1)可以乙酰化 HIF-1 α ODD 结构域的 Lys 532 位点, HIF-1 α 乙酰化后结合 VHL 的能力增强, 使 HIF-1 α 最终被蛋白酶体降解, 其活性不受氧浓度影响, 但低氧环境下其表达量较常氧减少^[4]。研究发现, 去乙酰化酶 SIRT1 与 HIF-1 α 结合并去乙酰化 HIF-1 α Lys674 位点, 通过抑制 p300 的募集使 HIF-1 α 失活, 从而抑制 HIF-1 α 下游靶基

因^[5](表 1). 此外, 磷酸化酶参与 HIF-1 α 的合成过程, 调节 HIF-1 α 的转录、表达及稳定.

(2) p53. p53 是由 TP53 编码的具有抑癌功能的蛋白, TP53 基因突变与肿瘤的发生发展密不可分. 基因毒性损伤、缺氧、癌基因的激活等内外源性应激信号均能激活 p53, 促进 DNA 的损伤修复、调控细胞周期以及诱导细胞凋亡. p53 在代谢调节中也具有重要作用, 主要表现在对糖酵解的抑制和对线粒体功能的维持. 近来研究表明, 泛素化对 p53 调控发挥中心作用. HAUSP(herpes virus-associated ubiquitin specific protease)是一种在体内均能对 p53 去泛素化的蛋白, 在 p53 负调控因子 MDM2(murine double minute 2)存在时仍可稳定 p53^[6]. 磷酸化和乙酰化也是 p53 蛋白两种重要的修饰方式, 能使 p53 稳定性增加. DNA 损伤诱导 p53 Ser15 和 Ser20 磷酸化可减弱 p53 和 MDM2 的结合(表 1); p53 可被 p300 和 CBP 乙酰化修饰, 促进其在应激反应中的累积和激活; p53 也可被 Sirt1 去乙酰化修饰. p53 的活性和稳定性增强会抑制其下游靶基因以及糖代谢相关靶基因的表达, 最终调控肿瘤糖代谢进程. p53 靶向 TIGAR (TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator)降低 2,6-二磷酸果糖(1,6-fructose diphosphate, 2,6-BFP)的水平, 使磷酸果糖激酶-1 失去 2,6-BFP 的变构激活作用^[7]; 帕金森致病基因 *Parkin* 作为 p53 的靶基因与 p53 协同调节糖代谢并在抵抗氧化应激中发挥作用^[8]; 此外, p53 可以直接抑制 *GLUT1* 和 *GLUT4* 的表达(图 1), 并通过 NK- κ B 信号通路间接抑制 *GLUT3*. 突变型的 p53 可以反式激活 *HK2* 的表达, 将葡萄糖转化为葡糖-6-磷酸.

2.2 糖代谢相关酶的修饰与糖代谢

(1) Akt. Akt, 亦被称为蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB), 是一种丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶, 在葡萄糖代谢、细胞存活凋亡以及细胞迁移等多种细胞过程中起重要作用. PI3K-Akt 信号途径是一条经典的胰岛素等生长因子介导的信号转导通路, 胰岛素等生长和存活因子都可以激活 Akt 信号途径. Akt 激活包括两个磷酸化位点: 可被 PDK1(pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 1)磷酸化的 Thr308 位点和可被 MTORC2(mammalian target of rapamycin complex 2)磷酸化的 Ser473 位点^[9](图 1 和表 1). Akt 的过表达现象是在许多肿瘤细胞中均呈现的代谢表

型特征^[10]. 葡萄糖吸收是糖酵解第一步, 为糖酵解提供碳源. 葡萄糖转运进入细胞需要 GLUT 家族的参与, GLUT 家族由 14 个膜转运蛋白成员组成, 其中 GLUT1 几乎存在于人体每一个细胞中, 是大脑、神经系统、肌肉等组织器官中最重要的葡萄糖转运蛋白, 对于维持人的正常生理功能极为重要. 研究发现, Akt 的表达能够通过促进葡萄糖转运体(GLUT1, GLUT2, GLUT4)的表达以及募集到细胞膜上(图 1), 促进葡萄糖的摄取、提高糖酵解速率和细胞内 ATP(adenosine triphosphate)水平^[11,12]. 此外, Akt 能刺激肿瘤细胞有氧糖酵解, 并借此维持细胞生长和存活^[13]. 虽然 AKT 的自身磷酸化在肿瘤细胞有氧糖酵解中起重要作用, 但 Akt 是否直接通过磷酸化 GLUT 家族成员或者通过磷酸化其他相关蛋白因子促进 GLUT1 在膜上的募集以及葡萄糖摄取, 还有待进一步研究.

(2) 己糖激酶-2(hexokinase, HK2). 己糖激酶是别构酶, 专一性不强, 受葡萄糖-6-磷酸和 ADP(adenosine diphosphate)的抑制, 亲和性强, 可以针对多种六碳糖进行作用. 在糖酵解第一步中, 葡萄糖在己糖激酶催化下和 ATP 发生磷酸化反应, 生成葡萄糖-6-磷酸和 ADP. HK2 是糖酵解第一个限速酶. Gottlob 等人^[14]发现在成纤维细胞 Rat1a 中 Akt 能促进 HK2 定位到线粒体(图 1), 而线粒体中的 HK2 比在胞质中的更容易获取 ATP 进行更有效的酶活反应, 这对于调控糖酵解效率以满足细胞增殖的需求至关重要. Akt 可直接磷酸化 HK2 的 Thr473 位点, 促进 HK2 在线粒体的定位^[15](图 1 和表 1). 在肿瘤细胞中, Akt 磷酸化 HK2 的机制与之相似, 增强 HK2 的催化效率从而促进糖酵解.

(3) M2 型丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PKM2). M2 型丙酮酸激酶是糖酵解过程中一个重要的调节因子, 该酶催化其上游底物磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)生成丙酮酸. PKM2 主要表达于脑组织以及增殖的细胞中, 尤其是肿瘤细胞. 越来越多的研究表明, PKM2 可能是 Warburg 效应与肿瘤发生的链接因素. Christofk 等人^[16]发现体内外 PKM2 高表达均能增强 Warburg 效应, 促进肿瘤发生. Hitosugi 等人^[17]发现 FGFR1(fibroblast growth factor receptor type 1)促进 PKM2 的酪氨酸 Tyr105(Y105)磷酸化从而抑制 PKM2 活性, 在缺氧条件下 PKM2(Y105F)突变体与野生型相比, 细胞生长

减慢、氧化磷酸化增加而乳酸含量减少、裸鼠(*Nude Mouse*)体内肿瘤生长减慢(图1和表1)。然而Chen等人^[18]在肝癌细胞中发现, 肿瘤抑制因子TRIM35(tripartite motif-containing protein 35)与PKM2相互作用, 抑制其Tyr105位磷酸化, 从而抑制Warburg效应和致癌性。由此可见, PKM2 Tyr105位磷酸化、PKM2活性及与肿瘤生长三者间的关系似乎有矛盾的结果, 因此有待深入研究。Yang等人^[19]发现, ERK2(extracellular signal-regulated kinase)可直接结合PKM2, 并磷酸化其Ser37位点, 随后异构酶Pin1募集并促进PKM2核定位, 核中的PKM2作为 β -catenin的共激活因子能诱导*c-Myc*表达, 从而促进

GLUT1和LDHA的表达。另有研究表明, 高糖浓度会刺激PKM2的Lys305乙酰化, 从而抑制其酶活、促进其通过分子伴侣介导的自噬溶酶体途径降解^[20]。另外, 乙酰基转移酶p300在PKM2独有的Lys433位点上使其乙酰化, 通过干扰其与果糖1,6-二磷酸(fructose 1,6-bisphosphate, FBP)结合可阻止PKM2激活, 促进PKM2在细胞核中累积, 提高它的蛋白激酶活性, 由此促进有丝分裂及癌变^[21]。此外, Anastasiou等人^[22]研究表明, 在肺癌细胞中, ROS急速增加会导致PKM2 Cys358位点氧化从而其活性被抑制(图1和表1)。

(4) 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDHA)。

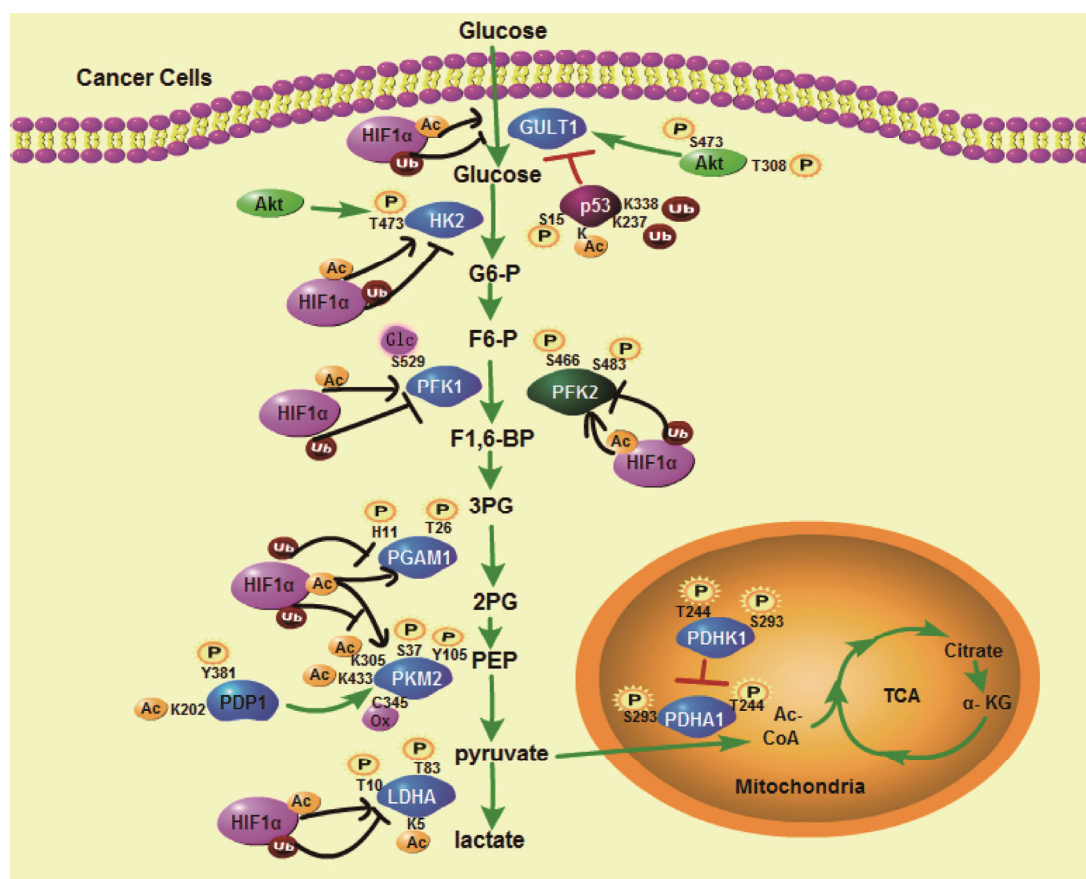


图1 糖代谢相关酶的修饰与糖代谢

P: phosphorylation, 磷酸化; Ac: acetylation, 乙酰化; Ub: ubiquitination, 泛素化; Glc: glycosylation, 糖基化; Ox: oxidation, 氧化; K: Lysine, 赖氨酸; S: Serine, 丝氨酸; T: Threonine, 丝氨酸; Y: Tyrosine, 酪氨酸; H: Histidine, 组氨酸; C: Cysteine, 半胱氨酸。Glucose: 葡萄糖; G6-P: glucose 6-phosphate, 葡萄糖 6-磷酸; F6-P: fructose 6-phosphate, 果糖 6-磷酸; F1,6-BP: fructose 1,6-bisphosphate, 果糖 1,6-二磷酸; 3PG: glyceraldehyde 3-phosphate, 三磷酸甘油醛; 2PG: glyceraldehyde 2-phosphate, 二磷酸甘油醛; PEP: phosphoenolpyruvate, 磷酸烯醇丙酮酸盐; pyruvate: 丙酮酸; lactate: 乳酸; TCA: tricarboxylic acid cycle, 三羧酸循环; Mitochondria: 线粒体; Ac-CoA: Acetyl-CoenzymeA, 乙酰-辅酶A; Citrate: 柠檬酸; α -KG: α -酮戊二酸; PDHK1: pyruvate dehydrogenase kinase 1, 丙酮酸脱氢酶激酶1; PDHA1: pyruvate dehydrogenase A1, 丙酮酸脱氢酶 A1; PDP1: PDH phosphatase 1, PDH 磷酸酯酶; PGAM1: phosphoglycerate mutase 1, 磷酸甘油酸变位酶

表 1 蛋白质修饰与糖代谢关系总结表

修饰方式	靶蛋白	修饰位点	功能(糖代谢)	参考文献
磷酸化	Akt	Thr308, Ser473	定位; 增强酶活, 促进糖酵解	[9]
	HK2	Thr473	增强酶活, 促进糖酵解	[15]
	PKM2	Ser37	增强酶活, 促进糖酵解	[19]
	PKM2	Tyr105	促进糖酵解	[17]
	PFK2	Ser466, Ser483	酶活增加, 促进糖酵解	[28]
	LDHA	Tyr10, Tyr 83	酶活增加, 促进糖酵解	[26]
	PGAM1	His11, Tyr26	促进糖酵解	[29,30]
	PDHK1	Tyr243, Tyr244	酶活增加, 负调控 PDHA1	[33]
	PDHA1	Ser293, Tyr301	抑制酶活, 阻碍与丙酮酸的结合	[31,32]
	PDP1	Tyr381	提高丙酮酸脱氢酶复合物的活性	[35]
	p53	Ser15	增强蛋白稳定性, 抑制糖酵解	[34]
	HIF-1 α	ODD 结构域	蛋白降解, 糖酵解效率下降	[4]
	p53	Lys237, Lys338	蛋白降解, 提高糖酵解水平	[7]
泛素化	PKM2	Lys305, Lys433	蛋白降解, 酶活下降, 糖酵解水平下降	[20,21]
	LDHA	Lys5	蛋白降解, 酶活下降, 糖酵解水平下降	[24]
	PGAM1	Lys251, Lys253, and Lys-254	增强酶活, 刺激糖酵解	[36]
	PDHA1	Lys321	抑制酶活, 促进糖酵解	[35]
	PDP1	Lys202	抑制酶活, 抑制糖酵解	[35]
乙酰化	HIF-1 α	乙酰化: Lys709, Lys532	增强蛋白稳定性, 促进糖酵解	[3,4]
		去乙酰化: Lys674	蛋白失活, 抑制下游靶基因表达, 抑制糖酵解	[5]
	p53	Lys	增强蛋白稳定性, 抑制糖酵解	[37]
	PKM2	Cys358	下调酶活, 抑制糖酵解	[22]
	PFK1	Ser529	下调酶活, 抑制糖酵解	[38]

乳酸脱氢酶是糖酵解的关键酶之一, 其主要的功能是催化丙酮酸转化为乳酸并产生 NAD^+ , 该过程是糖酵解的最后一步. 乳酸脱氢酶是一种四聚体酶, 具有 M 亚基和 H 亚基, 根据 M, H 亚基的不同比例可分成 5 种同工酶(LDH-1~5). LDH-5 即 M4 型, 因由 *LDH-A* 基因编码又被称作 *LDHA*. 许多肿瘤细胞中存在 *LDHA* 过表达的现象, 其过表达能够提高糖酵解的有效性, 降低对氧的依赖性, 肿瘤的生长、侵袭与之密切相关. 在肿瘤细胞中, *LDHA* 基因表达由 HIF 和 c-Myc 正向调控, 促进乳酸含量增加^[23~25]. Fan 等人^[26]研究表明, FGFR1(oncogenic receptor tyrosine kinase)能直接磷酸化 LDHA 的 Tyr10 和 Tyr83 位点, 磷酸化后的 LDHA 活性增强, 且 LDHA 的 Tyr10 磷酸化在多种肿瘤细胞中普遍存在. 此外, Zhao 等人^[27]报道, 在胰腺癌细胞中, LDHA 在 Lys5 位点乙酰化后酶活性降低, 并且乙酰化能刺激 LDHA 通过 CMA(chaperone-mediated autophagy)降解, 而 Sirt2 通过对 Lys5 去乙酰化增强 LDHA 活性(图 1 和表 1).

3 诊断与治疗方面的应用

各种类型的蛋白质修饰在糖代谢过程中发挥关键作用, 影响肿瘤细胞的生长、增殖、侵袭等多种重要过程. 研究蛋白质修饰作用与糖代谢的具体机制, 并以其中的关键分子为靶标, 将有利于解决临床上的实际问题, 为肿瘤治疗提供新的策略与方法. 例如, 蛋白酶体抑制剂 PS-341 可以阻断或抑制 MDM2 的 E3 活性, 刺激 p53 在 Ser15 发生磷酸化修饰, 使 p53 蛋白的稳定性增加, 抑制下游靶基因的表达, 抑制糖代谢, 从而选择性杀死肿瘤细胞而达到治疗乳腺癌的目的^[39].

由于 GLUT 担任了从细胞外向细胞内运载“口粮”葡萄糖、维持肿瘤细胞生存的关键作用, 阐明转运蛋白 GLUT1 的结构和作用机制, 就有可能通过调控它实现对葡萄糖转运的人工干预, 在保证正常细胞内葡萄糖供应的基础上通过特异阻断对癌细胞的葡萄糖供应, 达到抑制癌细胞生长的目的. 有文献报道, 一些化合物如多酚类化合物 WZB27, WZB115

等直接靶向转运蛋白。且 2-脱氧葡萄糖(2-deoxyglucose)可以与葡萄糖竞争作为己糖激酶的底物,从而阻止葡萄糖在糖酵解过程中发生磷酸化和氧化。

由于 PKM2 在肿瘤细胞代谢和增殖中发挥重要作用,因此 PKM2 可作为检测肿瘤代谢和增殖状态的生物标志物。目前已在结肠癌患者的粪便样品中以及在卵巢癌、乳腺癌、肺癌和许多其他癌症患者的乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝血浆中检测到了 PKM2 的存在,且其含量与肿瘤的分期密切相关^[40-43]。另外,选择性抑制 PKM2 可作为临床上肿瘤治疗的新靶点。多肽药物 TLN-232(以 Thallion 制药公司命名)能特异地结合 PKM2 并抑制其活性,动物试验证明,TLN-232 能对肝癌、胰腺癌和黑色素瘤等多种肿瘤发挥杀伤作用,II 期临床试验证明显示,TLN-232 安全有效并有良好的耐受性^[44]。

乳酸脱氢酶(LDH)在临床诊断和治疗方面具有潜在意义。血清 LDH 是多种肿瘤的关键生物标志,其测定对临床许多肿瘤性疾病的诊断、疗效判断和预后均有重要价值。LDH 总活性在肿瘤患者血清中升高,如恶性淋巴瘤、白血病、结直肠癌、卵巢癌患者血清中异常增高。血清 LDH 水平与患者预后密切相关,治疗前 LDH 水平与其他预后参数组成不同的预后模式可用来预测患者达到缓解和获得长期生存的可能性,若 LDH 水平高于正常者,获得长期生存的可能性要比 LDH 值正常者小。在治疗方面,Langhammer 等人^[45]报道紫杉醇耐药的细胞对 LDHA 抑制剂草氨酸盐敏感性更高;Sheng 等人^[46]发现沉默 LDHA 能抑制 HCCLM3(high metastatic liver cancer cell 3,人高转移肝癌细胞 3)在体外的增殖侵袭,也能抑制体内肝细胞癌 HCC 的迁移和生长;Zhang 等人^[47]发现 LDHA 在 ITGC(intestinal type of gastric cancer,人胃肠型胃癌)的发展和不良预后中具有关键作用,可通过慢病毒介导的抑制 LDHA 的小干扰 RNA 抑制其致癌性。

总之,蛋白质修饰与肿瘤细胞糖代谢密切相关,可以从细胞代谢角度解释肿瘤发生发展机制,通过抑制肿瘤细胞的代谢来控制肿瘤的发生和发展。随着现代医学、分子生物学技术的飞速发展,可以从分子生物学和细胞学角度,深入探讨糖代谢关键因子

蛋白质修饰在肿瘤发生机制中的作用,阐明防治和阻断肿瘤发展与其调控分子靶点的关系,为预防及治疗肿瘤提供新思路、新方法。

4 展望

代谢是最基础的生命活动,为分裂的细胞提供基本的需要,包括快速产生 ATP 保持能量状态、增大分子生物合成以及维持适度细胞氧化还原状态。代谢网络从最简单的原核生物到复杂的哺乳动物保持了基本一致,显示了代谢对生命的重要意义。糖代谢作为四大类代谢过程之一,一直是研究人员关心的热点问题。很多研究表明,蛋白质翻译后修饰与肿瘤细胞糖代谢 Warburg 效应和代谢重编程密切相关。

糖代谢酶可以分别被多种机制所调控,但是糖代谢是一个相互联系的网络体系。例如,PKM2,LDHA 可以被多种修饰方式如乙酰化、磷酸化等修饰,这些修饰方式相互间可能交叉影响糖代谢;而代谢酶相互之间也能影响,PKM2 核定位后刺激 HIF-1 α 表达,从而促进 LDHA 的表达。代谢过程相互联系、复杂纷繁,上百个代谢酶和数十条代谢通路间如何被整体协调这个问题还未能被回答。例如,乙酰化作为普遍修饰代谢酶的一种调控方式使其有可能成为一种平衡代谢网络的调控机制。但到目前为止,还没有完整的实验证据表明乙酰化可以在全代谢网络层面上协调各个代谢酶和各条代谢通路。可以预期的是随着代谢研究深入,最终可以明白乙酰化是否具有协调整个代谢网络的功能。

面对复杂的蛋白质修饰,可从蛋白质组学的角度详细、系统地研究蛋白质翻译后修饰与糖代谢。目前系统研究蛋白组学上的蛋白质修饰的还比较少,可以目前糖代谢相关的蛋白质修饰研究为基础,探索蛋白质修饰酶类和底物通过何种网络以及分子机制进行调控,从广度与深度上拓展代谢异常引发的肿瘤机理研究。在广度上主要系统地发现参与细胞糖代谢调控的蛋白质修饰酶,以及被代谢物调控的下游底物蛋白和信号通路。在深度上主要研究蛋白质修饰调节代谢的分子机理以及在代谢物调控下游蛋白修饰和信号通路的分子机理,这些工作将为修饰酶相关的肿瘤等疾病的诊断和治疗提供新的途径。

参考文献

- 1 Qiu X, Brown K, Hirschey M D, et al. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metab*, 2010, 12 : 662–667
- 2 Nicholas S A, Sumbayev V V. The role of redox-dependent mechanisms in the downregulation of ligand-induced Toll-like receptors 7, 8 and 4-mediated HIF-1 α prolyl hydroxylation. *Immunol Cell Biol*, 2010, 88: 180–186
- 3 Geng H, Liu Q, Xue C, et al. HIF1 α protein stability is increased by acetylation at lysine 709. *J Biol Chem*, 2012, 287: 35496–35505
- 4 Jeong J W, Bae M K, Ahn M Y, et al. Regulation and destabilization of HIF-1 α by ARD1-mediated acetylation. *Cell*, 2002, 111: 709–720
- 5 Lim J H, Lee Y M, Chun Y S, et al. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1 α . *Mol Cell*, 2010, 38: 864–878
- 6 Shcherbik N, Haines D S. Ub on the move. *J Cell Biochem*, 2004, 93: 11–19
- 7 Bensaad K, Tsuruta A, Selak M A, et al. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell*, 2006, 126: 107–120
- 8 Zhang C, Lin M, Wu R, et al. Parkin, a p53 target gene, mediates the role of p53 in glucose metabolism and the Warburg effect. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16259–16264
- 9 Sarbassov D D, Guertin D A, Ali S M, et al. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*, 2005, 307: 1098–1101
- 10 Robey R B, Hay N. Is Akt the “Warburg kinase”?-Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19: 25–31
- 11 Plas D R, Talapatra S, Edinger A L, et al. Akt and Bcl-xL promote growth factor-independent survival through distinct effects on mitochondrial physiology. *J Biol Chem*, 2001, 276: 12041–12048
- 12 Rathmell J C, Fox C J, Plas D R, et al. Akt directed glucose metabolism can prevent Bax conformation change and promote growth factor-independent survival. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 7315–7328
- 13 Elstrom R L, Bauer D E, Buzzai M, et al. Akt stimulates aerobic glycolysis in cancer cells. *Cancer Res*, 2004, 64: 3892–3899
- 14 Gottlob K, Majewski N, Kennedy S, et al. Inhibition of early apoptotic events by Akt/PKB is dependent on the first committed step of glycolysis and mitochondrial hexokinase. *Genes Dev*, 2001, 15: 1406–1418
- 15 Miyamoto S, Murphy A N, Brown J H. Akt mediates mitochondrial protection in cardiomyocytes through phosphorylation of mitochondrial hexokinase-II. *Cell Death Diff*, 2008, 15: 521–529
- 16 Christofk H R, Vander Heiden M G, Wu N, et al. Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein. *Nature*, 2008, 452: 181–186
- 17 Hitosugi T, Kang S, Vander Heiden M G, et al. Tyrosine phosphorylation inhibits PKM2 to promote the Warburg effect and tumor growth. *Sci Signal*, 2009, 2: ra73
- 18 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. *Oncogene*, 2014, doi: 10.1038/onc.2014.325
- 19 Yang W, Zheng Y, Xia Y, et al. ERK1/2-dependent phosphorylation and nuclear translocation of PKM2 promotes the Warburg effect. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 1295–1304
- 20 Lv L, Li D, Zhao D, et al. Acetylation targets the M2 isoform of pyruvate kinase for degradation through chaperone-mediated autophagy and promotes tumor growth. *Mol Cell*, 2011, 42: 719–730
- 21 Lv L, Xu Y P, Zhao D, et al. Mitogenic and oncogenic stimulation of K433 acetylation promotes PKM2 protein kinase activity and nuclear localization. *Mol Cell*, 2013, 52: 340–352
- 22 Anastasiou D, Poulgiannis G, Asara J M, et al. Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses. *Science*, 2011, 334: 1278–1283
- 23 Brown J E, Cook R J, Lipton A, et al. Serum lactate dehydrogenase is prognostic for survival in patients with bone metastases from breast cancer: a retrospective analysis in bisphosphonate-treated patients. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 6348–6355
- 24 Le A, Cooper C R, Gouw A M, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 2037–2042
- 25 Koukourakis M I, Giatromanolaki A, Sivridis E, et al. Lactate dehydrogenase 5 expression in operable colorectal cancer: strong association with survival and activated vascular endothelial growth factor pathway—a report of the Tumour Angiogenesis Research Group. *J Clin Oncol*, 2006, 24: 4301–4308
- 26 Fan J, Hitosugi T, Chung T W, et al. Tyrosine phosphorylation of lactate dehydrogenase A is important for NADH/NAD⁺ redox homeostasis in cancer cells. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 4938–4950

- 27 Zhao D, Zou S W, Liu Y, et al. Lysine-5 acetylation negatively regulates lactate dehydrogenase a and is decreased in pancreatic cancer. *Cancer Cell*, 2013, 23: 464–476
- 28 Deprez J, Vertommen D, Alessi D R, et al. Phosphorylation and activation of heart 6-phosphofructo-2-kinase by protein kinase B and other protein kinases of the insulin signaling cascades. *J Biol Chem*, 1997, 272: 17269–17275
- 29 Vander Heiden M G, Locasale J W, Swanson K D, et al. Evidence for an alternative glycolytic pathway in rapidly proliferating cells. *Science*, 2010, 329: 1492–1499
- 30 Hitosugi T, Zhou L, Fan J, et al. Tyr26 phosphorylation of PGAM1 provides a metabolic advantage to tumours by stabilizing the active conformation. *Nat Commun*, 2013, 4: 1790
- 31 Roche T E, Hiromasa Y. Pyruvate dehydrogenase kinase regulatory mechanisms and inhibition in treating diabetes, heart ischemia, and cancer. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64: 830–849
- 32 Fan J, Kang H B, Shan C, et al. Tyr-301 phosphorylation inhibits pyruvate dehydrogenase by blocking substrate binding and promotes the warburg effect. *J Biol Chem*, 2014, 289: 26533–26541
- 33 Hitosugi T, Fan J, Chung T W, et al. Tyrosine phosphorylation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase kinase 1 is important for cancer metabolism. *Mol Cell*, 2011, 44: 864–877
- 34 Yi G, He Z, Zhou X, et al. Low concentration of metformin induces a p53-dependent senescence in hepatoma cells via activation of the AMPK pathway. *Int J Oncol*, 2013, 43: 1503–1510
- 35 Fan J, Shan C, Kang H B, et al. Tyr phosphorylation of PDP1 toggles recruitment between ACAT1 and SIRT3 to regulate the pyruvate dehydrogenase complex. *Mol Cell*, 2014, 53: 534–548
- 36 Hallows W C, Yu W, Denu J M. Regulation of glycolytic enzyme phosphoglycerate mutase-1 by Sirt1 protein-mediated deacetylation. *J Biol Chem*, 2012, 287: 3850–3858
- 37 Vogelstein B, Lane D, Levine A J. Surfing the p53 network. *Nature*, 2000, 408: 307–310
- 38 Yi W, Clark P M, Mason D E, et al. Phosphofructokinase 1 glycosylation regulates cell growth and metabolism. *Science*, 2012, 337: 975–980
- 39 Duncan S J, Gruschow S, Williams D H, et al. Isolation and structure elucidation of Chlorofusion, a novel p53-MDM2 antagonist from a *Fusarium* sp. *J Am Chem Soc*, 2001, 123: 554–560
- 40 Ahmed A S, Dew T, Lawton F G, et al. M2-PK as a novel marker in ovarian cancer. A prospective cohort study. *Eur J Gynaecol Oncol*, 2007, 28: 83–88
- 41 Elia S, Massoud R, Guggino G, et al. Tumor type M2-pyruvate-kinase levels in pleural fluid versus plasma in cancer patients: a further tool to define the need for invasive procedures. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 33: 723–727
- 42 Schneider J, Neu K, Grimm H, et al. Tumor M2-pyruvate kinase in lung cancer patients: immunohistochemical detection and disease monitoring. *Anticancer Res*, 2002, 22: 311–318
- 43 Ugurel S, Bell N, Sucker A, et al. Tumor type M2 pyruvate kinase (TuM2-PK) as a novel plasma tumor marker in melanoma. *Int J Cancer*, 2005, 117: 825–830
- 44 Porporato P E, Dhup S, Dadhich R K, et al. Anticancer target in the glycolytic metabolism of tumors: a comprehensive review. *Front Pharmacol*, 2011, 2: 49
- 45 Langhammer S, Najjar M, Hess-Stumpp H, et al. LDH-A influences hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF1 alpha) and is critical for growth of HT29 colon carcinoma cells *in vivo*. *Target Oncol*, 2011, 6: 155–162
- 46 Sheng S L, Liu J J, Dai Y H, et al. Knockdown of lactate dehydrogenase A suppresses tumor growth and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Febs J*, 2012, 279: 3898–3910
- 47 Zhang Y, Zhang X, Wang X, et al. Inhibition of LDH-A by lentivirus-mediated small interfering RNA suppresses intestinaltype gastric cancer tumorigenicity through the downregulation of Oct4. *Cancer Lett*, 2012, 321: 45–54

Protein Modification and Tumor Glycolysis

LI Ling, XU XiaoJie & YE QiNong

Beijing Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Protein modification is a process in which the molecular chain of a protein is ligated with a kind of chemical group to alter its function in the regulation of complicated life and message transfer. Protein modifications include phosphorylation, acetylation, ubiquitination, glycosylation, and methylation, which make protein structures more complex, functions more sophisticated, effect more specific, and regulation more delicate. Protein modification plays an important role in life. Tumor cells use aerobic glycolysis even under oxygen-rich conditions, which is called “Warburg Effect”. Now more and more studies show that post-translational protein modifications are closely associated with tumor glycometabolism. This review summarizes the advances in protein modifications in tumor glycolysis.

protein modification, tumor, glycolysis

doi: 10.1360/N052015-00067