

· 综 述 ·

血小板型磷酸果糖激酶介导的代谢重编程机制及其在疾病中的作用研究进展

王道辉^{1,2}, 刘凤英², 骆 媛², 王 天¹, 王永安²

(1. 烟台大学药学院分子药理和药物评价教育部重点实验室, 山东 烟台 264005; 2. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850)

摘要: 血小板型磷酸果糖激酶(PFKP)是细胞能量代谢糖酵解途径中重要的限速酶,在细胞内的表达保持动态平衡且相对稳定,发挥着调控细胞生物合成和能量代谢的作用,是代谢类疾病和癌症领域的研究热点。当细胞所处微环境发生变化时,如氧供应不足、代谢底物匮乏或细胞癌变时,细胞内出现 PFKP 介导的通过改变自身代谢模式而形成的代谢重编程,从而改善环境变化引起的不利影响;另一方面,PFKP 在调控以 Warburg 效应为主的代谢模式中发挥重要作用,使代谢模式向糖酵解转移,形成有氧糖酵解方式。本文主要围绕 PFKP 介导的代谢重编程作用机制及其参与肿瘤、呼吸系统等疾病的病理生理机制和靶向治疗研究进展进行综述。

关键词: 血小板型磷酸果糖激酶; 代谢重编程; 肿瘤; 糖酵解; 细胞能量代谢

中图分类号: Q55, R963

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)02-0141-08

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.02.008

在人类各种疾病中,尤其是癌症、神经退行性疾病和糖尿病等代谢类疾病,人体细胞在发生病变后常引起整体的代谢模式变化,这种异常改变有碍于人体正常细胞的代谢状态,使病变细胞更具有生长和存活优势,引起病情的发展和恶化。同样,代谢类疾病的致病因素和致病机制复杂多变,一直以来都是医学研究的难点和热点。近年研究表明,细胞因微环境变化或癌变引起的代谢重编程不仅在代谢性疾病研究中具有举足轻重的地位,在其他涉及代谢重编程的疾病中也逐渐成为研究的主要切入点,如呼吸系统疾病。磷酸果糖激酶 1(phosphofructokinase-1, PFK-1)能催化果糖-6-磷酸转化为果糖-1,6-二磷酸,并受果糖-2,6-二磷酸的调控。PFK-1 是糖酵解过程的主要限速酶,也是糖酵解过程中的主要调节点。当细胞发生代谢重编程时可通过调节 PFK-1,改变糖酵解代谢状态,如肿瘤细胞通过调节 PFK-1 的活性或表达使代谢模式向有氧糖酵解转变,以支持肿瘤细胞的快速增殖^[1-3]。根据构型不同,PFK-1 分为 3 种亚型:肝型 PFK 在人体中分布广泛,不具有组织特异性;肌肉型 PFK 主

要分布于骨骼肌细胞的内质网中;血小板型 PFK(platelet isoform of PFK, PFKP)是其活性亚型,介导糖酵解途径的催化反应,是细胞能量代谢的重要调控者。PFKP 广泛存在于各种组织细胞中,在细胞代谢、能量产生、细胞生长和增殖等方面发挥重要作用。近年来,PFKP 由于在代谢中不可替代的地位,已成为药理学的热门靶点和研究内容。许多研究团队将 PFKP 作为研究重点,通过改变其活性或表达,或通过对抗病变引发的代谢重编程而引起细胞整体代谢模式的改变,达到调控多种疾病的目的。鉴于 PFKP 与代谢重编程间的紧密联系,本文综述了 PFKP 介导的代谢重编程机制及其在多种疾病中的重要调控作用,为基础医学研究和临床治疗提供参考和指导。

1 细胞主要能量代谢途径

通常来说,细胞有 2 条利用葡萄糖产生 ATP 的代谢途径:糖酵解途径和三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)途径。糖酵解途径通过催化酶(如 PFKP)的作用,将 1 分子葡萄糖转化为 2 分子丙酮酸,净产生 2 分子 ATP^[4]。丙酮酸作为糖酵解途径的中间产物,既可转化为乙酰辅酶 A 参与线粒体的 TCA,也能转化为乳酸,而乳酸与多种疾病的严重

作者简介: 王道辉, 硕士研究生, 主要从事抗高原缺氧新药研究。

通讯作者: 王 天, E-mail: bluewt2000@163.com; 王永安, E-mail: yonganw@126.com

程度和死亡率密切相关^[5]。因此,丙酮酸作为纽带性底物调控 2 种主要的细胞能量代谢途径。具体来讲,在生理条件下,丙酮酸可被丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)催化生成乙酰辅酶 A,并产生 2 种还原性辅酶参与线粒体的氧化磷酸化,最终产生 36 分子 ATP^[6]。然而,当 pH 值、营养物质或氧浓度等发生改变引起细胞微环境变化时,细胞为适应环境变化必须改变代谢模式,从而满足自身对底物和能量的需求,这种改变自身代谢模式的变化称为代谢重编程^[7]。一般来说,细胞发生代谢重编程主要是通过调控代谢途径中关键酶的表达或活性,或影响细胞利用代谢底物进行生物合成和产能的代谢途径,通过改变代谢模式满足细胞生长和增殖的需求,通常指癌细胞发生糖酵解增强的 Warburg 效应,其中,代谢底物包括葡萄糖、氨基酸和脂肪酸等,代谢途径包括磷酸戊糖途径、糖酵解途径和 TCA 途径等^[8]。研究表明,营养有效性和氧浓度是代谢重编程驱动因素^[7]。营养有效性是指细胞所处微环境中进行代谢所需的底物不足时,迫使细胞利用其他能量代谢途径满足代谢需求;氧浓度变化主要影响氧化磷酸化和关键代谢酶的表达,如低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)和 PFKP 等^[5]。但鉴于代谢重编程主要通过调节代谢酶的活性或表达而改变细胞代谢模式,从而调控细胞对微环境中代谢底物的需求。因此,本文重点讨论关键代谢酶 PFKP 参与代谢重编程的机制及其与疾病的关系和药物靶向治疗研究进展。

2 PFKP 参与代谢重编程的机制

PFKP 是糖酵解的三大限速酶之一,许多研究表明,通过调控 PFKP 表达或活性影响细胞代谢重编程,从而实现对多种疾病的调控作用。

2.1 PFKP 的结构与功能

细胞初始合成的 PFKP 单体无活性且不稳定,需通过二聚反应和低聚反应形成具有活性的稳定四聚体结构,才能发挥催化作用^[9]。研究表明,PFKP 以浓度和配体依赖方式组装成四聚体,从而维持一定水平糖酵解以满足 TCA 所需底物。因此,通过影响 PFKP 四聚体的形成或结构,调控其活性而改变代谢模式,不失为一种有效的干预措施。如变构激活剂 PFK-2/果糖-2,6-二磷酸酶 3(PFK-2/fructose-2,6-bisphosphatase 3, PFKFB3)有利于四聚体的形成^[10-12]。然而,当细胞所处微环境发生

变化时,如稳态失衡或 PFKP 高表达,细胞会发生代谢重编程,形成以糖酵解为主的代谢模式。另有研究发现,体细胞发生突变后,新表达的 PFKP 在结构上发生了明显变化,导致催化活性改变而影响糖酵解。因此,通过改变 PFKP 活性或表达来调控糖酵解失调可能是一种有效的治疗策略^[10]。

2.2 HIF 通路调控 PFKP 介导的代谢重编程

在代谢重编程过程中,多种环境因素可通过调控 HIF 通路诱导细胞代谢重编程,其中氧浓度降低是主要诱导因素^[13]。HIF 是炎症关键调控因子,可改善组织炎症所致的缺氧微环境^[14]。HIF 分为 HIF-1 和 HIF-2 亚型,HIF-1 又分为 HIF-1 α 和 HIF-1 β 亚型。HIF-1 α 主要存在于细胞质,当细胞处于缺氧状态时,HIF-1 α 进入细胞核并与核内 HIF-1 β 结合形成复合体,随后与启动子位点上含有 HRE 的基因片段结合,激活下游基因转录,如 PFKP、葡萄糖转运体 1、红细胞生成素和血管内皮生长因子等。通过 HIF-1 α 上调 PFKP 等基因的表达,引起细胞发生代谢重编程,调节细胞从氧化磷酸化转变为以糖酵解为主的代谢模式^[2]。

代谢重编程通过调节能量代谢促进细胞快速生长和增殖,被认为是肿瘤细胞的独特标志,而低氧微环境是导致代谢重编程的重要因素。肿瘤细胞低氧微环境的形成可分为 2 个阶段^[2]:①在细胞癌变初期,细胞微环境氧含量充足,脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)羟基化 HIF-1 α ,再通过泛素化修饰和蛋白酶体降解,完成 HIF-1 α 降解,维持细胞内 HIF-1 α 动态平衡。但肿瘤细胞内琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)可发生突变而失去催化活性,无法将琥珀酸转化为富马酸,使肿瘤细胞内积累大量琥珀酸。除上述累积方式外,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)可诱导柠檬酸失衡并产生累积,这会诱导衣康酸积累,衣康酸是 SDH 弱竞争性拮抗剂,同样也会导致大量琥珀酸积累。通过以上方式,细胞内超出正常水平的琥珀酸诱导 PHD 失活,引起胞内 HIF-1 α 诱导多种基因表达,诱发代谢重编程,生成“假低氧”状态。这样的变化使肿瘤细胞优先利用糖酵解作为代谢途径,消耗大量葡萄糖而快速产能,以满足细胞对底物的需求,达到肿瘤细胞快速生长和增殖的目的。②细胞癌变后的短时间内,肿瘤细胞会处于快速增殖状态,极易出现血管化程度不全情况,导致微环境代谢所需底物匮乏,如葡萄糖和氧,形成真正的低氧状态,并进一步诱导 HIF 调控 PFKP 在肿瘤细胞的代谢重编程。基于此,许多研究结果表明,通

过靶向调控 HIF-1 或 PHD, 可抑制肿瘤细胞生长、增殖和转移^[15]。

在这 2 个阶段中, 以细胞癌变初期研究最为深入, 并将这种“假低氧”环境的代谢模式称为 Warburg 效应, 即在氧充足条件下, 恶性肿瘤细胞的糖酵解代谢依然有异常活跃的有氧糖酵解方式^[16]。一般情况下, 肿瘤细胞利用代谢重编程改变代谢模式, 向产生 ATP 速度快于氧化磷酸化的糖酵解转变, 从而满足自身对快速增殖和生长的需求^[17]。通常表现为葡萄糖摄取量提高, 乳酸产量提高, 单次 ATP 产量少, 但速度快, 可满足能量需求。因此, 基于 Warburg 效应的分子或基因水平调控为肿瘤的靶向治疗提供了新策略。Warburg 效应依赖的糖酵解途径存在 3 个关键的限速酶: 己糖激酶、PFK-1 和丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PK), 均是糖酵解途径不可逆反应的催化酶, 控制代谢水平^[5]。肿瘤细胞发生代谢重编程依赖的 Warburg 效应主要通过调节糖酵解限速酶的表达或活性, 改善微环境资源供应不足的情况, 满足肿瘤细胞生长、增殖和侵袭能力的需求^[14]。因此, 调控糖酵解限速酶是癌症或代谢类疾病的主要治疗策略。

总之, 发生低氧或细胞癌变后, 细胞内 HIF-1 通过激活细胞核内启动子位点含有 HRE 的基因片段, 上调以 PFKP 为代表的糖酵解基因表达, 提高细胞的糖酵解能力, 引起细胞代谢重编程, 使代谢模式从氧化磷酸化转化为以糖酵解为主的 Warburg 效应, 满足细胞生长增殖对代谢底物和能量的需求。

2.3 PFKP 介导的代谢重编程的其他分子机制

在糖酵解途径中, PFKP 作为限速酶具有调节代谢的重要作用。研究发现, 激活蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 可促进 PFKP 表达。三结构域蛋白 21 (tripartite motif-containing protein 21, TRIM21) 含 E3 连接酶, 可引起 PFKP 泛素化, 最终完全降解, 保持稳态。但 PFKP 的 S386 位点在特殊条件下可被 Akt 磷酸化, 而磷酸化 PFKP 无法被 TRIM21 泛素化, 使 PFKP 含量升高^[18]。另外, 该过程还通过调节 M2 型丙酮酸激酶的上游底物磷酸烯醇式丙酮酸的产生及其变构活化剂果糖-6-磷酸产量共调节 M2 型丙酮酸激酶活性。此外, 磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)-Akt-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路也是经典的 PFKP 激活机制, 这一信号通路还可通过三碘甲状腺原氨酸与甲状腺激素受体 β 结合而激活, 调节代谢模式^[19]。因此, PFKP 表达高低可反映细胞代谢模式及状态。

糖酵解途径和戊糖磷酸途径 (pentose phosphate pathway, PPP) 中的关键限速酶活性, 如 PFKP, 可被硫氧还蛋白相互作用蛋白 (thioredoxin-interacting protein, TXNIP) 改变而改善细胞内能量供应^[20]。上述研究表明, 硫氧还蛋白系统的功能可被 TXNIP 抑制, 介导如氧化应激、抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡等。首先, PPP 通过增加还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸和还原型/氧化型谷胱甘肽的比值调节氧化还原功能, 共同对抗活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS)。其次, 抑制 TXNIP 可导致葡萄糖转运体 1 的 mRNA 和蛋白水平明显升高, 表明葡萄糖摄取提高。最后, PFKP、PK 和乳酸脱氢酶活性提高, 从而增加丙酮酸和乳酸生成、提升细胞内 ATP 水平和增强线粒体活性。以上 3 方面共同作用改变细胞代谢模式。

除改变蛋白水平引起代谢模式的变化, 基因层面也有相似变化。PFKP 基因的启动子区域不仅可被 HIF-1 复合体结合, 也可被转录因子 Krüppel 样因子 4 (Krüppel-like factor 4, KLF4) 或含锌指结构的转录调节因子 GATA4 结合并促进相关基因转录表达, 引起细胞代谢重编程^[21-22]。鉴于此, 通过靶向结合 PFKP 基因启动子位点发生促进或抑制作用也是一种改变代谢模式的策略。

不仅如此, 当 PFKP 的表达或活性被抑制时也会诱导代谢模式变化。Kim 等^[23]研究表明, PFKP 活性可被上皮-间充质转化的关键转录抑制因子 Snail 抑制, 从而调节糖酵解通量, 使更多葡萄糖进入到 PPP, 并调节 NADPH 稳态, 特别是在资源有限的分解代谢环境中更为明显。Snail 也可抑制果糖-1,6-二磷酸脂酶 (PFK-1 催化反应的逆反应催化酶), 使糖酵解效率增高。另外, 在卵丘细胞中, 过量神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 会与神经营养受体酪氨酸激酶 1 (NGF 的高亲和力受体) 结合, 从而显著降低 PFKP 和乳酸脱氢酶 A 的转录和表达^[24]。

3 PFKP 介导的代谢重编程与疾病

多种疾病中, 如癌症和呼吸系统疾病, PFKP 介导的代谢重编程均具有重要的调控作用。在癌症中, 细胞通过 PFKP 介导的代谢重编程不仅维持和加快肿瘤细胞的生长、增殖和侵袭, 且靶向抑制 PFKP 的表达或活性。此外, 相比于其他人体系统, 在呼吸系统疾病中, 细胞能量代谢的影响更加显著。因此, 调节代谢对于疾病的致病和治疗都十分

重要。在其他疾病的研究中,也出现微环境变化引起 PFKP 介导代谢重编程的发生。

3.1 肿瘤

有氧糖酵解对肿瘤细胞具有重要意义,不仅能为细胞快速供能,还能产生各种底物,为肿瘤生长、增殖和侵袭提供能量和物质保障。

在多种肿瘤组织中均发现 PFKP 高表达,包括乳腺癌、肝癌和胰腺导管腺癌等。Cardim 等^[25]研究发现,PFKP 可调节 P44/42 丝裂原活化蛋白激酶 (P44/42 mitogen-activated protein kinase, P44/42 MAPK) 通路的信号转导,诱发代谢重编程。敲除 PFKP 会下调 P44/42 MAPK 表达,同时肿瘤细胞对抗肿瘤药物敏感性显著增强;而 PFKP 表达增高时,肿瘤细胞对抗肿瘤药物的耐受性显著增强。此外,异柠檬酸脱氢酶 1 (isocitrate dehydrogenase 1, IDH-1) 发生突变可导致 PFKP 表达增加,引起糖酵解增强,促进肿瘤发生^[26]。以上研究结果表明,在筛选抗肿瘤药物时,可以 PFKP 介导的代谢重编程为出发点,指导药物的研发。

共济失调-毛细血管扩张突变激酶 (ataxia-telangiectasia mutated kinase, ATM) 是抗 DNA 损伤的调节因子,然而在低氧条件下,细胞会生成与 DNA 损伤无关的氧化 ATM,并激活 HIF-1 α 结合 HRE,上调 PFKP 表达增强糖酵解,促进乳腺癌细胞生长和转移^[27]。因此,通过靶向抑制氧化 ATM 调控 PFKP 可抑制乳腺癌发展。另外,当口腔鳞癌处于“饥饿”条件时,PFKP 表达明显增加,这会促进糖酵解、细胞自噬和上皮-间充质转化,引起口腔鳞癌快速发展^[28]。因此,肿瘤细胞在微环境发生变化时,多通过改变 PFKP 的表达引起代谢重编程,适应环境继续生长增殖。

此外,PFKP 在抑制肿瘤方面也发挥重要作用。如肝癌细胞的 WAP 4-二硫化物核心域蛋白 21 的假基因 (WAP four-disulfide core domain 21 pseudogene, WFDC21P, 一种长链非编码 RNA) 可与 PFKP 靶向结合,阻碍四聚体的形成而抑制其活性,从而抑制肝癌细胞的增殖、生长和侵袭^[29]。WFDC21P 也可与 M2 型丙酮酸激酶 (M2 type pyruvate kinase, PKM2) 结合,阻止 PKM2 核转位,抑制 HIF-1 α 对相关基因表达的调控作用。WFDC21P 在结构上存在明显的区域划分,WFDC21P 的外显子 3 (421-621nt) 负责与 PFKP 相互作用,而外显子 2 (272-420nt) 负责与 PKM2 相互作用。上述研究表明,WFDC21P 通过调控 PFKP 的活性介导代谢重编程而影响肿瘤细胞代谢模式。

ZBTB7A 蛋白,又称 POKEMON,属于人 POZ/BTB 和 Kruppel (POK) 转录抑制因子家族,在透明细胞性肾细胞癌中可直接与 PFKP 基因启动子区域结合并产生抑制性作用,从而抑制肿瘤生长^[30]。另外,在乳腺癌细胞中,PFKP 表达减少与 WNT5A (一种分泌型糖蛋白) 信号通路相关^[31],具体来说,WNT5A 显著抑制胞外信号调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinases 1/2, ERK1/2) 信号转导,而 ERK1/2 可激活 β 连环蛋白并诱导 PFKP 表达。因此,乳腺癌细胞的 WNT5A 高表达可抑制 PFKP,从而抑制肿瘤进展。从以上研究不难发现,内源性物质能影响 PFKP 的表达而引起代谢重编程和代谢模式的变化,因此,外源性的补充或干预是一种对抗肿瘤的治疗策略。

3.2 呼吸系统疾病

低氧、基因突变等致病因素会引起急性肺损伤 (acute lung injury, ALI)、肺动脉高压、肺纤维化等呼吸系统疾病。研究发现,代谢重编程与很多呼吸系统疾病的病理生理过程亦密切相关。

LPS 可激活肺成纤维细胞 PI3K-Akt-mTOR 信号通路,引起 PFKP 诱导的代谢重编程,激活并促进肺成纤维细胞增殖,同时合成大量胶原,最终引起肺纤维化^[32]。Gong 等^[33]研究结果显示,PFKP 也参与脓毒症所致 ALI 的病理过程。大多数脓毒症和脓毒性休克患者的血清中乳酸浓度会异常升高,表明糖酵解是该类患者的主要代谢方式。在 Wang 等^[34]的报道中也出现相似的研究结果,异常增强的糖酵解产生过量的乳酸激活 NF- κ B 信号通路,这会产生并释放促炎因子、黏附因子和趋化因子等,引起白细胞聚集、浸润并增强内皮细胞通透性,导致细胞功能紊乱、炎症和肺水肿等,最终形成 ALI。进一步研究表明,PFKP 高表达会引起内皮细胞糖酵解增强,激活 NF- κ B 通路,促进炎症因子表达^[35]。炎症因子在早期可诱导肺内皮细胞炎症,并引发肺血管收缩,在后期可造成内皮细胞增殖,引起丛状病变,形成肺动脉高压。在这种病理条件下,细胞以糖酵解作为主要代谢方式,进一步引起病情恶化,形成恶性循环。通过以上机制研究发现,PFKP 介导代谢重编程改变代谢模式在呼吸系统疾病的病理生理过程尤为重要。因此,影响代谢模式发生改变是治疗呼吸系统疾病的可行性策略。

3.3 其他疾病

除肿瘤和呼吸系统疾病外,PFKP 介导的代谢重编程也参与其他疾病的病理生理过程,其中类风

湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)最具代表性。RA 患者关节腔内含有大量滑膜液,病变后细胞所处微环境出现特殊变化,促使细胞发生 PFKP 介导的代谢重编程^[12]。RA 患者病理变化主要表现为微环境中葡萄糖浓度降低和乳酸浓度升高,形成低氧微环境。在这种病理条件下,细胞产生 HIF 信号级联反应,诱导包括 PFKP 在内的基因表达。因此,细胞能借助 PFKP 介导的代谢重编程适应低氧微环境而继续生长增殖。然而代谢重编程并非都是病理性的,神经元的分化过程中也会出现代谢重编程,并由 3 种不同代谢途径共同进行调控:早期分化阶段是 PFKP 介导的糖酵解增强;后期分化阶段,细胞借助线粒体生物合成途径和谷氨酸-谷氨酰胺途径共同作用完成神经元分化进程^[36]。

4 基于 PFKP 分子的药物靶向治疗策略

鉴于 PFKP 在多种疾病中具有重要调控作用,因此,基于 PFKP 介导代谢重编程的靶向治疗策略成为研究热点。老药新用是新药开发有效、快捷的策略之一,Spitz 等^[37]研究发现,阿司匹林不仅具有解热、镇痛和抗炎等传统的药理活性,还可以剂量依赖性方式改变 PFKP 四聚体结构从而达到抑制细胞糖酵解的目的。此外,克霉唑(clotrimazole)除具有抑制真菌细胞膜的合成以及影响代谢过程的作用外,还可通过与阿司匹林相似的作用机制对 PFKP 产生同样的效果^[38]。在传统中医药研究中,黄酮醇类化合物槲皮素对多种疾病具有良好疗效,不仅可显著减少脂肪因子表达,还能抑制低氧条件下 ROS 生成,从而保护线粒体和稳定 HIF-1 α 。然而,最近研究发现,槲皮素亦可间接抑制 PFKP,纵使在低氧条件下也能对线粒体起到保护作用^[39]。除外源性物质的治疗策略,近几年发现,某些内源性物质对 PFKP 也能达到类似作用。一般情况下,R-2-羟基戊二酸(R-2-hydroxyglutarate, R-2HG)由异柠檬酸脱氢酶催化产生,外源性增加 R-2HG 可抑制白血病患者细胞中出现的 PFKP 高表达情况,达到抑制有氧糖酵解的目的^[40]。此外,HMG-CoA 还原降解酶 1(HMG-CoA reductase degradation protein 1, HRD1)在生理条件下可与 PFKP 结合,发生泛素化并促进 PFKP 降解,从而保持 PFKP 稳态。在乳腺癌细胞中给予一定剂量的 HRD1,可降低 PFKP 蛋白含量和活性,抑制乳腺癌生长和转移,为乳腺癌提供新的治疗策略^[41]。除作为糖酵解途径中的限速酶外,PFKP 还能磷酸化 2,5-脱水甘露醇生成 2,5-脱

水-D-葡萄糖醇-1,6-二磷酸。通过在细胞培养液中额外添加 2,5-脱水-D-葡萄糖醇-1,6-二磷酸可达到竞争性抑制 PFKP 表达和活性的目的,从而抑制 PFKP 在糖酵解中的作用^[42]。综上,通过靶向 PFKP 改变细胞病理状态下的代谢模式是一种高效治疗策略。随着对 PFKP 介导代谢重编程在疾病中机制的深入研究,未来将会有更多基于 PFKP 分子的药物靶向治疗策略出现。

5 结语

近几年的研究中,不仅癌症,在许多其他难以攻克的疾病(如呼吸系统疾病、神经退行性疾病和糖尿病等)中也发现了以代谢重编程为主的特殊致病机制及 PFKP 对糖酵解的调控性作用。在对抗疾病过程中,代谢重编程引起代谢模式的改变一直是研究者们关注的焦点,其中,关键糖酵解酶 PFKP 是不可忽视的重要因素。近年来,随着对 PFKP 介导代谢重编程的机制探索越来越深入,PFKP 的靶向性药物逐渐增多。无论是老药新用的研发思路,还是竞争性抑制的研究路线,都在不断地为对抗代谢重编程提供新的治疗策略,为靶向药物的研发提供新的例证。在研究新型对抗代谢重编程药物的同时,除将经典的 PFKP 作为主要研究机制和靶点外,也要考虑糖酵解之外的其他能量代谢途径并深入研究,为新药研发提供更可靠的信息数据并拓展更宽广的研究领域。

参考文献:

- [1] Yi W, Clark PM, Mason DE, *et al*. Phosphofructokinase 1 glycosylation regulates cell growth and metabolism [J]. *Science*, 2012, 337(6097): 975-980.
- [2] Moreno-Sánchez R, Marín-Hernández A, Gallardo-Pérez JC, *et al*. Phosphofructokinase type 1 kinetics, isoform expression, and gene polymorphisms in cancer cells [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(5): 1692-1703.
- [3] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144: 646-674.
- [4] Han HS, Kang G, Kim JS, *et al*. Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective [J/OL]. *Exp Mol Med*, 2016, 48(3): e218-e227 (2016-03-11) [2021-08-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26964834/>. DOI: 10.1038/emm.2015.122.
- [5] Wong HR, Lindsell CJ, Pettila V, *et al*. A multibio-marker-based outcome risk stratification model for

- adult septic shock [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(4): 781-789.
- [6] Lu J, Tan M, Cai Q. The Warburg effect in tumor progression: mitochondrial oxidative metabolism as an anti-metastasis mechanism [J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2 Pt A): 156-164.
- [7] Corcoran SE, O'Neill LA. HIF1 α and metabolic reprogramming in inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(10): 3699-3707.
- [8] Wettersten HI, Aboud OA, Lara PN Jr, et al. Metabolic reprogramming in clear cell renal cell carcinoma [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(7): 410-419.
- [9] Webb BA, Forouhar F, Szu FE, et al. Structures of human phosphofructokinase-1 and atomic basis of cancer-associated mutations [J]. *Nature*, 2015, 523(7558): 111-114.
- [10] Hesterberg LK, Lee JC. Self-association of rabbit muscle phosphofructokinase: effects of ligands [J]. *Biochemistry*, 1982, 21(2): 216-222.
- [11] Costa Leite T, Da Silva D, Guimarães Coelho R, et al. Lactate favours the dissociation of skeletal muscle 6-phosphofructo-1-kinase tetramers down-regulating the enzyme and muscle glycolysis [J]. *Biochem J*, 2007, 408(1): 123-130.
- [12] Zancan P, Marinho-Carvalho MM, Faber-Barata J, et al. ATP and fructose-2,6-bisphosphate regulate skeletal muscle 6-phosphofructo-1-kinase by altering its quaternary structure [J]. *IUBMB Life*, 2008, 60(8): 526-533.
- [13] Magnani ND, Dada LA, Queisser MA, et al. HIF and HOIL-1L-mediated PKC ζ degradation stabilizes plasma membrane Na, K-ATPase to protect against hypoxia-induced lung injury [J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(47): E10178-E10186 (2017-11-21) [2021-08-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29109255/>. DOI: 10.1073/pnas.1713563114.
- [14] Yang XY, Zheng KD, Lin K, et al. Energy metabolism disorder as a contributing factor of rheumatoid arthritis: a comparative proteomic and metabolomic study [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132695-e0132709 (2015-07-06) [2021-08-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26147000/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0132695.
- [15] Jiang H, Huang Y, Xu H, et al. Inhibition of hypoxia inducible factor-1 α ameliorates lung injury induced by trauma and hemorrhagic shock in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33: 635-643.
- [16] Sanzey M, Abdul Rahim SA, Oudin A, et al. Comprehensive analysis of glycolytic enzymes as therapeutic targets in the treatment of glioblastoma [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0123544-e0123559 (2015-05-01) [2021-08-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25932951/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0123544.
- [17] Lang L, Chemmalakuzhy R, Shay C, et al. PFKP signaling at a glance: an emerging mediator of cancer cell metabolism [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1134: 243-258.
- [18] Lee JH, Liu R, Li J, et al. Stabilization of phosphofructokinase 1 platelet isoform by Akt promotes tumorigenesis [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 949-962.
- [19] Moeller LC, Dumitrescu AM, Refetoff S. Cytosolic action of thyroid hormone leads to induction of hypoxia-inducible factor-1 α and glycolytic genes [J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(12): 2955-2963.
- [20] Jiang X, Pang Y, Zhao S, et al. Thioredoxin-interacting protein regulates glucose metabolism and improves the intracellular redox state in bovine oocytes during *in vitro* maturation [J/OL]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, 318(3): E405-E416 (2020-03-01) [2021-08-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31935112/>. DOI: 10.1152/ajpendo.00057.2019.
- [21] Moon JS, Kim HE, Koh E, et al. Krüppel-like factor 4 (KLF4) activates the transcription of the gene for the platelet isoform of phosphofructokinase (PFKP) in breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(27): 23808-23816.
- [22] Schrade A, Kyrölähti A, Akinrinade O, et al. GATA4 is a key regulator of steroidogenesis and glycolysis in mouse Leydig cells [J]. *Endocrinology*, 2015, 156(5): 1860-1872.
- [23] Kim NH, Cha YH, Lee J, et al. Snail reprograms glucose metabolism by repressing phosphofructokinase PFKP allowing cancer cell survival under metabolic stress [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14374-14385.
- [24] Zhai Y, Yao G, Rao F, et al. Excessive nerve growth factor impairs bidirectional communication between the oocyte and cumulus cells resulting in reduced oocyte competence [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16(1): 28-38.
- [25] Cardim PTR, Albanese JM, Schwab M, et al. Phosphofructokinase-P modulates P44/42 MAPK levels in HeLa cells [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(5): 1216-1226.
- [26] Fujiwara H, Tateishi K, Misumi K, et al. Mutant IDH1 confers resistance to energy stress in normal biliary cells through PFKP-induced aerobic glycolysis and AMPK activation [J/OL]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 18859 [2021-08-24]. <https://www.nature.com/articles/s41598->

- 019-55211-w.pdf. DOI: 10.1038/s41598-019-55211-w.
- [27] Peng M, Yang D, Hou Y, *et al.* Intracellular citrate accumulation by oxidized ATM-mediated metabolism reprogramming via PFKP and CS enhances hypoxic breast cancer cell invasion and metastasis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 228-243.
- [28] Chen G, Liu H, Zhang Y, *et al.* Silencing PFKP inhibits starvation-induced autophagy, glycolysis, and epithelial mesenchymal transition in oral squamous cell carcinoma [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 370(1): 46-57.
- [29] Guan YF, Huang QL, Ai YL, *et al.* Nur77-activated lncRNA WFDC21P attenuates hepatocarcinogenesis via modulating glycolysis [J]. *Oncogene*, 2020, 39(11): 2408-2423.
- [30] Sanders E, Diehl S. Analysis and interpretation of transcriptomic data obtained from extended Warburg effect genes in patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *Oncoscience*, 2015, 2(2): 151-186.
- [31] Prasad CP, Södergren K, Andersson T. Reduced production and uptake of lactate are essential for the ability of WNT5A signaling to inhibit breast cancer cell migration and invasion [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 71471-71488.
- [32] Hu X, Xu Q, Wan H, *et al.* PI3K-Akt-mTOR/PFKFB3 pathway mediated lung fibroblast aerobic glycolysis and collagen synthesis in lipopolysaccharide-induced pulmonary fibrosis [J]. *Lab Invest*, 2020, 100(6): 801-811.
- [33] Gong Y, Lan H, Yu Z, *et al.* Blockage of glycolysis by targeting PFKFB3 alleviates sepsis-related acute lung injury via suppressing inflammation and apoptosis of alveolar epithelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(2): 522-529.
- [34] Wang L, Cao Y, Gorshkov B, *et al.* Ablation of endothelial PFKFB3 protects mice from acute lung injury in LPS-induced endotoxemia [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 146: 104292-104328.
- [35] Cao Y, Zhang X, Wang L, *et al.* PFKFB3-mediated endothelial glycolysis promotes pulmonary hypertension [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(27): 13394-13403.
- [36] Agostini M, Romeo F, Inoue S, *et al.* Metabolic reprogramming during neuronal differentiation [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(9): 1502-1514.
- [37] Spitz GA, Furtado CM, Sola-Penna M, *et al.* Acetylsalicylic acid and salicylic acid decrease tumor cell viability and glucose metabolism modulating 6-phosphofructo-1-kinase structure and activity [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77(1): 46-53.
- [38] Marcondes MC, Sola-Penna M, Zancan P. Clotrimazole potentiates the inhibitory effects of ATP on the key glycolytic enzyme 6-phosphofructo-1-kinase [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2010, 497(1-2): 62-67.
- [39] Leiherer A, Stoemmer K, Muendlein A, *et al.* Quercetin impacts expression of metabolism-and obesity-associated genes in SGBS adipocytes [J]. *Nutrients*, 2016, 8(5): 282-293.
- [40] Qing Y, Dong L, Gao L, *et al.* R-2-hydroxyglutarate attenuates aerobic glycolysis in leukemia by targeting the FTO/m6A/PFKP/LDHB axis [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(5): 922-939.
- [41] Fan Y, Wang J, Xu Y, *et al.* Anti-Warburg effect by targeting HRD1-PFKP pathway may inhibit breast cancer progression [J]. *Cell Commun Signal*, 2021, 19(1): 18-31.
- [42] Riquelme PT, Wernette-Hammond ME, Kneer NM, *et al.* Mechanism of action of 2, 5-anhydro-D-mannitol in hepatocytes. Effects of phosphorylated metabolites on enzymes of carbohydrate metabolism [J]. *J Biol Chem*, 1984, 259(8): 5115-5123.

Platelet isoform of phosphofructokinase-mediated metabolic reprogramming and roles in diseases: research progress

WANG Dao-hui^{1,2}, LIU Feng-ying², LUO Yuan², WANG Tian¹, WANG Yong-an²

(1. Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation of Ministry of Education, School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. State Key Laboratory of Toxicology and Medical Countermeasures, Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: The platelet isoform of phosphofructokinase (PFKP) is a key rate-limiting enzyme during glycolysis. It is stably expressed in cells and controls biosynthesis and energy metabolism. Consistently,

PFKP has been a focus of study in metabolic diseases and cancer. On the one hand, when the cellular microenvironment changes, such as insufficient oxygen, metabolic substrate deprivation or canceration, PFKP-mediated metabolic reprogramming will occur by changing metabolic patterns to ameliorate the negative effects. Furthermore, PFKP plays an important role in regulating the metabolic mode dominated by the Warburg effect, which shifts the metabolic mode to glycolysis and intensifies aerobic glycolysis. This review focuses on the mechanism by which PFKP mediates metabolic reprogramming and gets involved in the pathophysiology of diseases, such as cancer and respiratory diseases, while outlining the research progress in targeted therapy strategies.

Key words: platelet isoform of phosphofructokinase; metabolic reprogramming; tumor; glycolysis; cellular energy metabolism

Corresponding author: WANG Tian, E-mail: bluewt2000@163.com; WANG Yong-an, E-mail: yonganw@126.com

(收稿日期: 2021-08-24 接受日期: 2021-11-15)

(本文编辑: 乔虹)

《中国药理学与毒理学杂志》对图表的要求

1. 论文中的病理照片、电泳图及化学结构式图等要求以“插入”→“图片”方式插入 word 文档,不要使用复制粘贴。病理照片必须加标尺,并以箭头指示典型病变位置。除照片外,其他图尽量不用彩色。

2. 统计的数据图表(包括线图和柱图等)一般通过“插入”→“图表”方式插入 word 文档,双击该图即可直接进入此图的作图软件,看到作图数据。

3. 双栏图大小:宽与高的比为 3:2,宽 \leq 7.5 cm;通栏图大小为:宽 \leq 15 cm;横、纵坐标字体为 Arial,字号为 8 或 9 磅。

4. 论著中的图表(包括图表题和图表注)全部使用英文,要求图表自明。图表注内容包括分组设计、药物浓度、给药顺序、作用时间、指标测试时间、各种缩写的解释说明、对观察内容必要的描述和统计方法等。

5. 线图图例依次使用 \circ \bullet \triangle \blacktriangle \square \blacksquare 等,柱图按组别顺序依次用空心、左斜线、右斜线和网格线填充。图例字体用 Arial,字号为 6 磅。

6. 论著中的数据统计图表,应该首先进行一级比较,如模型组与正常对照组比较,结果用“*”表示;各给药组与模型组比较,为二级比较,用“#”表示;待测药各组组间比较或者与阳性对照组比较,为三级比较,用“ Δ ”表示。统计学分析结果分 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 两个水平给出即可。

7. 综述中的图表全部使用中文。