

· 肿瘤学研究 ·

PKM2抑制Hippo信号通路促进肝癌细胞增殖和侵袭迁移能力

欧蓉¹, 郁飞¹, 马俊¹, 穆四清¹, 黄德松¹, 倪绪浩², 饶建华², 管步高^{1*}

¹金湖县人民医院普外科, 江苏 金湖 211600; ²南京医科大学第一附属医院肝胆中心/肝移植中心, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨PKM2对肝癌细胞增殖和侵袭迁移能力的影响及其机制。方法:定量PCR、Western blot和免疫组化检测肝癌组织及肝癌细胞系(HepG2、Hep3B、Huh7和SMMC-7721)PKM2的表达;采用小干扰RNA(siRNA)抑制肝癌细胞PKM2表达,分析其对肝癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响,并研究PKM2 siRNA对Hippo信号通路的影响。结果:定量PCR、Western blot和免疫组化显示PKM2在肝癌组织表达较癌旁组织表达明显升高,在肝癌细胞较肝细胞(L02)中表达明显升高;PKM2 siRNA可有效抑制肝癌细胞增殖、侵袭和迁移,进一步证实肝癌细胞中Hippo信号通路被抑制,PKM2 siRNA可有效提高Hippo信号通路活性,且抑制Hippo信号活性能明显逆转PKM2 siRNA抑制肝癌细胞增殖、侵袭和迁移能力。结论:PKM2可能通过抑制LATS1和YAP磷酸化,进而抑制Hippo信号通路,促进肝癌细胞增殖、侵袭和迁移能力。

[关键词] PKM2;Hippo信号;肝癌细胞;增殖;迁移

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)08-1183-05

doi:10.7655/NYDXBNS20190816

PKM2 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation, invasion and migration by decreasing Hippo signaling pathway

Ou Rong¹, Yu Fei¹, Ma Jun¹, Mu Siqing¹, Huang Desong¹, Ni Xu hao², Rao Jianhua², Guan Bugao^{1*}

¹Department of General Surgery, People's Hospital of Jinhu, Jinhu 211600; ²Hepatobiliary/Liver Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate effects and mechanisms of PKM2 on hepatocellular carcinoma (HCC) cell. **Methods:** PKM2 expression was detected in liver cancer tissues and liver cancer cell lines (HepG2, Hep3B, HuH7 and smmc-7721) by quantitative PCR (qPCR), Western blot (WB) and immunohistochemistry (IHC). PKM2 expression was inhibited by small interfering RNA (siRNA) in HCC cell lines. Effects of siRNA on the proliferation, invasion and migration was analyzed in HCC cell lines. In addition, we studied the effect of PKM2 siRNA on Hippo signaling pathway. **Results:** qPCR, WB and IHC showed PKM2 expression was significantly higher in HCC tissues than paracancer tissue, and in HCC cell lines than normal liver cell line (L02). PKM2 siRNA effectively inhibited the proliferation, invasion and migration of HCC cells. Further study confirmed that Hippo signaling activity was inhibited in HCC cell lines compared with L02, and was enhanced in PKM2 siRNA-treated HCC cell lines. Inhibition of Hippo signaling activity significantly reversed inhibition of proliferation, invasion and migration in PKM2 siRNA-mediated HCC cell lines. **Conclusion:** PKM2 may inhibit phosphorylation of LATS1 and YAP, decrease Hippo signaling pathway, and promote HCC cell proliferation, invasion and migration.

[Key words] PKM2; Hippo signaling; HCC cell; proliferation; migration

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(08):1183-1187, 1256]

肝癌是一种严重威胁人类健康的高死亡率疾

病,具有高度的增殖活性和侵袭转移特征,目前临床整体治疗效果难以令人满意^[1]。因此,揭示肝癌高度增殖活性和侵袭转移的精确分子机制对判断预后、寻找特异治疗靶点及提高肝癌的疗效具有重要意义。肿瘤细胞代谢及能量产生与正常细胞有着显著的区别。Warburg效应明确阐述了肿瘤细胞

[基金项目] 淮安市科技计划项目(HAB2017040);国家自然科学基金青年科学基金(81400650)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: 18915199132@163.com

的代谢特点:与正常细胞氧化磷酸化产生ATP不同,肿瘤细胞主要依赖糖酵解途径产生ATP,这种现象即使在氧气充足条件下也没有改变^[2]。糖酵解虽然能快速产生ATP,但是消耗大量葡萄糖其产生ATP效率却远远没有氧化磷酸化高,这就决定了肿瘤细胞要消耗更多葡萄糖来满足其快速、无限增殖所需要的能量。丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)是催化糖酵解的关键酶,用于催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸,同时使ADP磷酸化而生成ATP^[3]。PK在哺乳动物细胞中主要有4种亚型:PKL、PKR、PKM1和PKM2,分别由PKLR和PKM基因编码^[4]。PKLR基因编码PKL和PKR,PKL主要在肝脏和肾脏表达而PKR高表达于红细胞;PKM基因编码PKM1和PKM2,PKM1在骨骼肌、心脏和脑组织中高表达,PKM2主要表达于增殖旺盛的组织中,如肿瘤细胞以及发育中的胚胎^[5-6]。PKM2已经被证实实在肿瘤组织中高度表达,在肿瘤微环境高代谢变化可影响肿瘤的发生及发展。本研究旨在探讨PKM2对肝癌细胞增殖和侵袭迁移能力的影响及其机制,为临床治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

在南京医科大学第一附属医院收集了2017年10月—2018年10月间行肝癌切除的82对肝癌组织和癌组织标本,所有标本的病理结果通过病理常规和免疫组化确认。所有新鲜标本通过液氮和福尔马林分别保存,课题得到患者本人知情同意及南京医科大学第一附属医院伦理委员会审批同意。人类肝癌细胞系(HepG2, Hep3B, HuH7和smmc-7721)和正常人类肝细胞系(L02)均购自中科院上海细胞库。

胎牛血清(FBS)、DMEM培养基、0.25%胰酶、青链霉素(Gibco公司,美国),TRIzol(Invitrogen公司,美国)、反转录试剂盒、SBRR Green和定量PRC试剂盒(TaKaRa公司,日本),引物合成(上海Invitrogen公司),蛋白提取试剂盒和BCA蛋白测定试剂盒(南京凯基公司),PVDF(Bio-Rad, Hercules, CA, 美国),抗 β -actin、抗p-LATS1、抗p-YAP、抗LATS1、抗YAP(Cell Signaling Technology公司,美国),PKM2 siRNA和YAP siRNA上海吉玛生物公司设计合成,细胞迁移、侵袭小室和Matrigel(BD公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

所有细胞均在恒温恒湿37℃、含有5%CO₂的细

胞培养箱中进行培养,培养基为添加了10%的胎牛血清50 U/mL青霉素和50 ug/mL庆大霉素的DMEM培养基。

1.2.2 慢病毒的包装及感染

包装有PKM2 siRNA、LATS siRNA和非特异性(NC)siRNA慢病毒载体购自上海吉玛制药技术有限公司,病毒感染HepG2细胞过程按照使用说明书操作。

1.2.3 实时定量PCR

提取各组组织和细胞的RNA逆转录成cDNA,以GAPDH为内参对照分析PKM2表达。其中PKM2引物序列:5'-ATGTCGAAGCCCCATAGTGAA-3'和5'-TGGGTGGTGAATCAATGTCCA-3';GAPDH引物序列:5'-CATCTTCTTTTTCGCTCGCCA-3'和5'-TA-AAAGCAGCCCTGGTGACC-3',引物购自上海Invitrogen公司。结果采用2^{- $\Delta\Delta Ct$} 法计算相对表达量。

1.2.4 Western blot 实验

用RIPA裂解液裂解组织和细胞,提取总蛋白,BCA测蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液100℃水浴煮沸5 min。SDS-PAGE进行电泳分离后,采用湿转法转PVDF膜上,5%脱脂奶粉溶液室温封闭2 h,加入一抗4℃孵育过夜,TBST洗膜后加入二抗孵育1 h,TBST洗涤后,加入发光液,凝胶电泳成像系统进行分析,实验重复3次。

1.2.5 免疫组织化学染色

82对肝癌及癌旁组织经4%中性福尔马林固定,石蜡包埋,制作成组织芯片切成4 μ m的石蜡切片,免疫组化的染色步骤包括:脱蜡、水化、3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶,柠檬酸抗原修复,封闭液封闭非特异性结合位点,一抗(PKM2)4℃封闭孵育过夜,加生物素二抗,加辣根酶标记链霉卵白素工作液,DAB染色,苏木紫复染,脱水,透明,中性树脂封片。具体步骤参考免疫组化试剂盒的说明书(ZSGB-BIO)。

1.2.6 流式细胞仪检查细胞周期

将6孔板中已转染小干扰序列的HepG2细胞培养24 h后吸去培养基,加入不含有血清的DMEM培养基饥饿24 h后重新加入完全培养基培养12 h,细胞消化重悬于5 mL 75%乙醇放置于4℃冰箱过夜。第2天PBS清洗3次后,按照周期染色试剂盒(杭州联科生物)说明书对细胞进行染色并在流式细胞仪上检测各分裂期细胞的数量和百分比。

1.2.7 侵袭迁移能力检测

Transwell小室纤维膜孔径为8 mm下室中加入

含10%胎牛血清的DMEM 500 μ L,上室中加入不含血清的DMEM 200 μ L,同时每个上室中加入含 2×10^4 个细胞/mL的悬液,置于细胞培养箱培养24 h后取出小室,结晶紫染色后在显微镜下随机选取5个视野拍照计数。

1.3 统计学方法

各组数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用Graphpad5.0统计软件对数据进行分析。满足正态分布以及方差齐性检验的两组间差异的比较采用两组独立样本的*t*检验;细胞不同时间点增殖分析采用重复测量方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

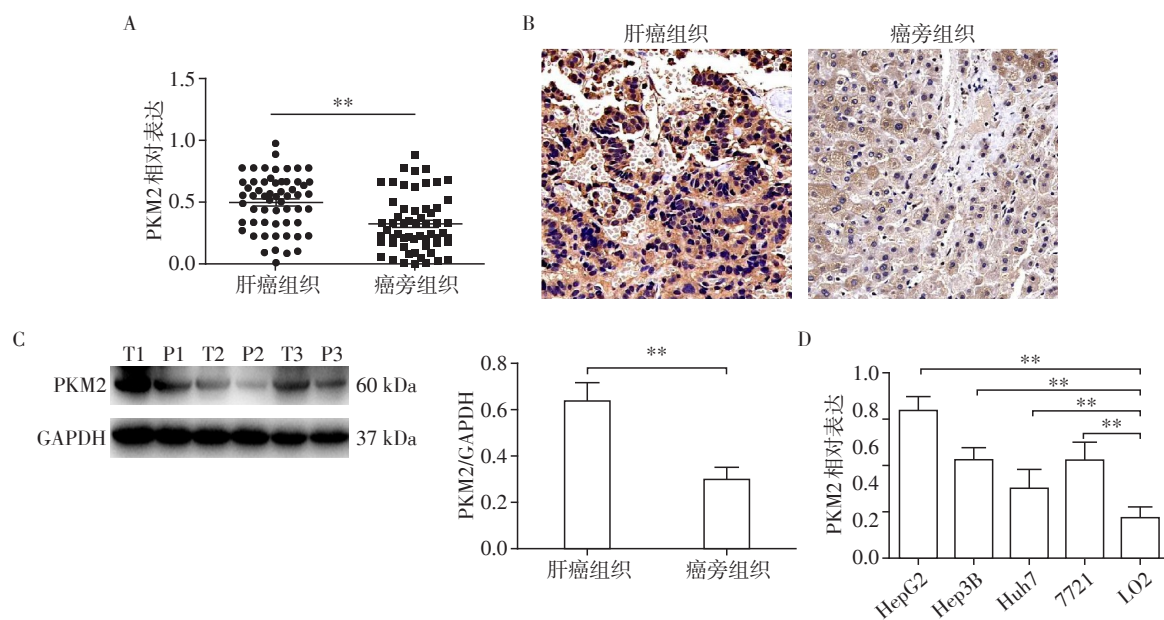
2.1 PKM2高表达于肝癌组织和肝癌细胞

收集临床肝癌组织和癌旁组织共82对,采用定

量PCR检测PKM2表达,结果显示PKM2高表达于肝癌组织($P < 0.01$,图1A)。免疫组化显示肝癌组织PKM2表达明显高于癌旁组织(图1B),Western blot进一步证实肝癌组织中PKM2蛋白表达明显高于癌旁组织($P < 0.01$,图1C)。此外,采用定量检测4种肝癌细胞(HepG2、Hep3B、Huh7和SMMC-7721)和正常肝细胞(LO2)中PKM2表达,结果显示4种肝癌细胞中PKM2表达明显高于正常肝细胞,差异有统计学意义($P < 0.01$,图1D)。

2.2 PKM2 siRNA抑制肝癌细胞增殖

采用小干扰技术沉默HepG2的PKM2表达后,流式细胞术分析对照组(NC)和干扰组(PKM2 siRNA)细胞增殖情况,结果显示PKM2 siRNA组较NC组G0/G1比值升高,S期数量减少,G2/M比值降低,且差异有统计学意义(图2),证实PKM2 siRNA可有效抑制肝癌细胞增殖。



A: 定量PCR检测PKM2在肝癌组织和癌旁组织中表达;B: 免疫组化标记PKM2表达($\times 400$);C: Western blot检测PKM2表达;D: 定量PCR检测PKM2在肝癌细胞和正常肝细胞中表达。两组比较,“ $P < 0.01$ ”。

图1 PKM2高表达于肝癌组织和肝癌细胞系

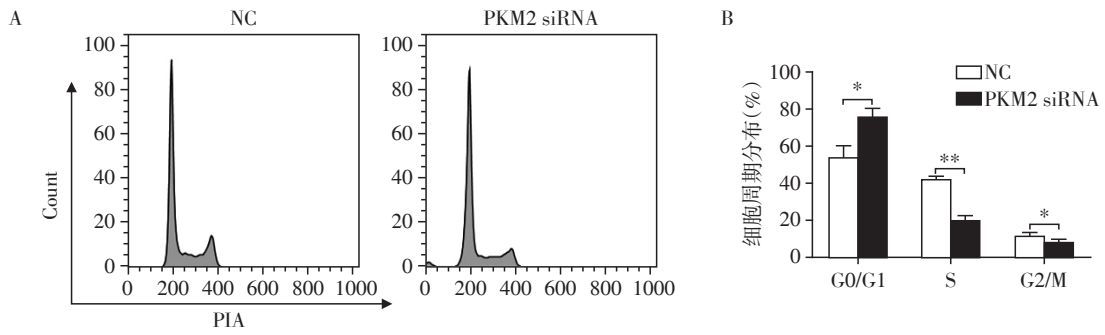
Figure 1 The expression of PKM2 was higher in HCC tissues (HCC cell lines) compared with peritumor tissues (hepatic cell line)

2.3 PKM2 siRNA抑制肝癌细胞侵袭

采用小干扰技术沉默HepG2的PKM2表达后,Transwell小室培养分析NC组和PKM2 siRNA组细胞侵袭迁移水平,结果显示PKM2 siRNA组较NC组侵袭迁移明显减少,且差异有统计学意义(图3),证实PKM2 siRNA可有效抑制肝癌细胞侵袭迁移能力。

2.4 Hippo通路在PKM2调控肝癌细胞增殖和侵袭中发挥关键性作用

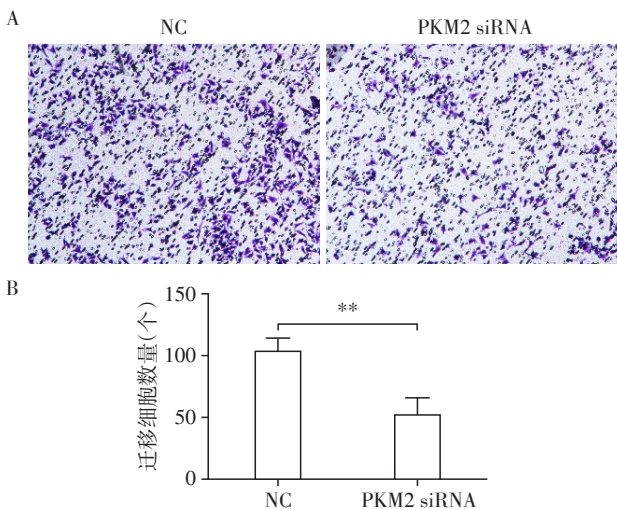
首先采用Western blot分析PKM2 siRNA处理后HepG2细胞Hippo信号通路,结果显示PKM2 siRNA组p-LATS1和p-YAP表达较NC组明显升高,而LATS1和YAP表达则明显降低(图4A),因而PKM2 siRNA阻断了PKM2对肝癌细胞Hippo通路的抑制,



A:流式细胞术分析HepG2肝癌细胞增殖情况;B:统计分析分裂期细胞数量百分比。两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图2 PKM2 siRNA抑制肝癌细胞增殖

Figure 2 PKM2 siRNA inhibited proliferation of HCC cell line



A:Transwell分析HepG2肝癌细胞侵袭迁移水平($\times 200$);B:统计分析侵袭迁移细胞数量。两组比较,** $P < 0.01$ 。

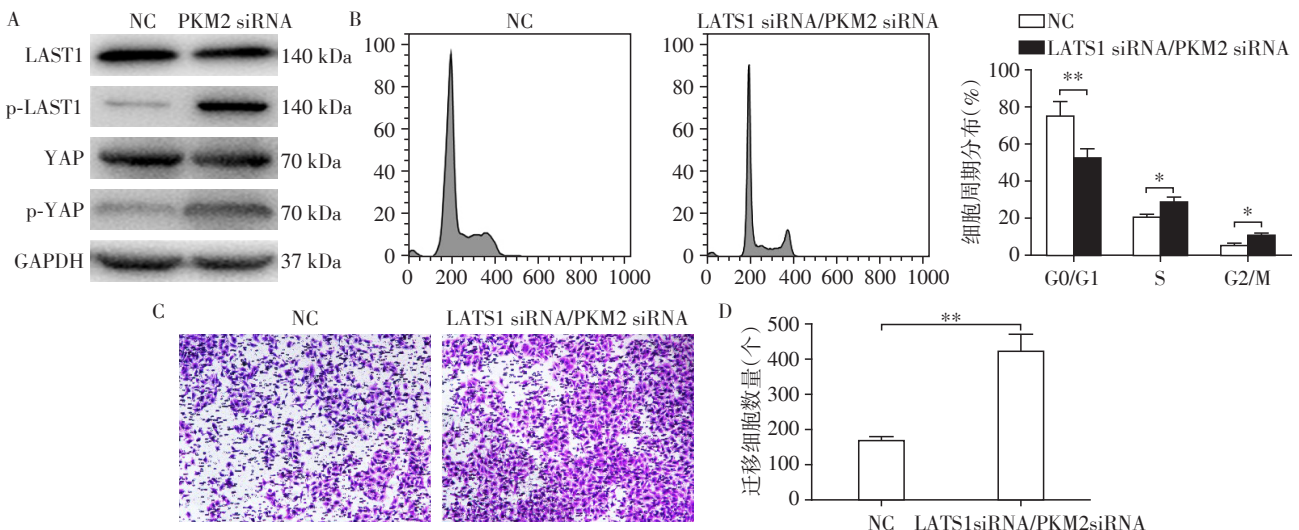
图3 PKM2 siRNA抑制肝癌细胞侵袭迁移

Figure 3 PKM2 siRNA inhibited invasion/migration of HCC cell line

继而抑制肝癌细胞的增殖和侵袭。通过LATS siRNA处理PKM2 siRNA处理后的HepG2,采用流式细胞术分析肝癌细胞增殖情况,结果显示LATSsiRNA有效恢复PKM2 siRNA对肝癌细胞增殖的影响(图4B);此外,Transwell小室培养也证实LATS siRNA有效恢复PKM2 siRNA对肝癌细胞侵袭迁移的影响(图4C)。

3 讨论

PKM2对肿瘤增殖、侵袭的调节正在被逐步阐明,然而,PKM2在肿瘤组织中的作用仍然有争议。本研究显示PKM2在肝癌组织及肝癌细胞系表达均升高,且抑制PKM2表达可抑制肝癌细胞增殖、侵袭和迁移能力;进一步研究显示PKM2可能抑制LATS和YAP磷酸化,进而抑制Hippo信号通路促进肝癌的发生和发展。



A:Western blot分析LATS1、p-LATS1、YAP、p-YAP和GAPDH表达;B流式细胞术分析HepG2肝癌细胞增殖情况;C:Transwells分析HepG2肝癌细胞侵袭迁移水平($\times 200$)。两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图4 Hippo通路在PKM2调控肝癌细胞增殖和侵袭中发挥关键性作用

Figure 4 Hippo signaling pathway was critical for PKM2-mediated proliferation and migration in HCC cell line

PKM2在脑胶质瘤组织中的水平与脑胶质瘤恶性程度及患者预后密切相关,因而,PKM2可能是脑胶质瘤恶性程度和预后的重要生物标志;进一步研究发现PKM2是 β -连环蛋白的主要激活剂^[7-8]。研究表明PKM2可调节胆管癌细胞体外迁移、侵袭和增殖,具有广泛的生物学影响,但并未分析其机制^[9]。另外,除了催化糖酵解外,PKM2在肿瘤的发生发展过程中有着非常重要的非代谢作用^[10]。PKM2可以通过磷酸化组蛋白H3促进基因转录以及肿瘤形成^[11],ERK1/2可以磷酸化PKM2使其进入细胞核促进Warburg效应^[12],细胞核内的PKM2还可以上调表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)活性从而增加 β -catenin基因转录^[13]。在低氧条件下,胰腺癌细胞中PKM2通过干扰核因子(NF)- κ B/p65和缺氧诱导因子(HIF)-1 α 活化,引起血管内生长因子(VEGF)-A分泌,最终促进血管的形成^[14]。上述研究与本研究具有相似的结果,即PKM2促进肿瘤的发生和发展,且为PKM2的非代谢性作用。Hippo信号通路在肿瘤发生发展中发挥关键性作用,YAP是Hippo信号通路的效应分子,可直接被上游LATS1/2磷酸化,继而抑制YAP促生长、抗凋亡、促癌等活性^[15]。本研究首次阐述了PKM2调控Hippo信号通路影响肝癌细胞增殖和侵袭迁移能力。

不同于本研究结果,有研究显示减少PKM2催化活性能增加肿瘤细胞的增殖,通过药物激活PKM2可以抑制细胞中大分子合成,从而阻碍肿瘤的发展^[16-20]。既然低活性的PKM2更有利于肿瘤细胞的增殖,为什么肿瘤细胞中PKM2的表达反而升高而不是降低呢?一种解释认为PKM2在细胞中有2种存在形式:有催化活性的四聚体形式以及没有催化活性的二聚体形式。二聚体形态的PKM2不能有效催化完成糖酵解,导致糖酵解的中间产物堆积,糖异生增加,从而为肿瘤细胞的生长增殖提供蛋白质、核酸等生物大分子,促进肿瘤的发展^[21]。作为糖代谢的关键酶,PKM2对巨噬细胞免疫反应的调节已有相关报导,然而激活PKM2是促进还是抑制免疫反应仍存在争论。例如,巨噬细胞中PKM2的激活可显著减少脂多糖(LPS)刺激引起的HIF-1 α 以及IL-1 β 的表达,从而抑制炎症反应^[22]。然而在脓毒血症中,PKM2可通过增加HIF-1 α 转录活性而促进巨噬细胞释放高迁移率族蛋白B1(HMGB1),最终导致炎症反应的增加^[23]。

本研究显示PKM2可能通过抑制Hippo信号通路促进肝癌细胞的增殖、侵袭和迁移,但PKM2

强大的生物学活性在肝癌发生和发展有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2003, 362(9399): 1907-1917
- [2] Warburg O. On the origin of cancer cells[J]. *Science*, 1956, 123(3191): 309-314
- [3] Mazurek S. Pyruvate kinase type M2: a key regulator of the metabolic budget system in tumor cells[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43(7): 969-980
- [4] Noguchi T, Yamada K, Inoue H, et al. The L- and R-type isozymes of rat pyruvate kinase are produced from a single gene by use of different promoters[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(29): 14366-14371
- [5] Yamada K, Noguchi T. Nutrient and hormonal regulation of pyruvate kinase gene expression[J]. *Biochem J*, 1999, 337(Pt 1): 1-11
- [6] Chaneton B, Gottlieb E. Rocking cell metabolism: revised functions of the key glycolytic regulator PKM2 in cancer[J]. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37(8): 309-316
- [7] Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1029-1033
- [8] Canal F, Perret C. PKM2: a new player in the β -catenin game[J]. *Future Oncol*, 2012, 8(4): 395-398
- [9] 柴浩,熊新魁,孙道一,等. PKM3对胆管细胞癌迁移、侵袭及增殖的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(5): 615-621
- [10] Israelsen WJ, Dayton TL, Davidson SM, et al. PKM2 isoform-specific deletion reveals a differential requirement for pyruvate kinase in tumor cells[J]. *Cell*, 2013, 155(2): 397-409
- [11] Yang W, Xia Y, Hawke D, et al. PKM2 phosphorylates histone H3 and promotes gene transcription and tumorigenesis[J]. *Cell*, 2012, 150(4): 685-696
- [12] Yang W, Zheng Y, Xia Y, et al. ERK1/2-dependent phosphorylation and nuclear translocation of PKM2 promotes the Warburg effect[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(12): 1295-304
- [13] Yang W, Xia Y, Ji H, et al. Nuclear PKM2 regulates beta-catenin transactivation upon EGFR activation[J]. *Nature*, 2011, 480(7375): 118-122
- [14] 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
- [15] Johnson R, Halder G. The two faces of Hippo: targeting

- [30] Smith BK, Marcinko K, Desjardins EM, et al. Treatment of nonalcoholic fatty liver disease: role of AMPK [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2016, 311(4): E730-E740
- [31] 荆西民, 岳静静, 吴卫东, 等. 有氧运动对非酒精性脂肪肝大鼠肝组织 AMPK 蛋白活性的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2015, 34(7): 653-657
- [32] Mottillo EP, Desjardins EM, Crane JD, et al. Lack of Adipocyte AMPK exacerbates insulin resistance and hepatic steatosis through brown and beige adipose tissue function [J]. *Cell Metab*, 2016, 24(1): 118-129
- [33] Fritzen AM, Lundsgaard AM, Jordy AB, et al. New nordic diet-induced weight loss is accompanied by changes in metabolism and AMPK signaling in adipose tissue [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(9): 3509-3519
- [34] 姚笑睿, 夏凡, 唐外姣, 等. 护肝清脂片对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏中 AMPK 通路激活及 NF- κ B-p65 蛋白的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(1): 56-62
- [35] 马运芹, 张明亮, 陆俊茜, 等. 二甲双胍对非酒精性脂肪肝的缓解与 AMPK-GOS2 信号通路的关系[J]. *中国医药导刊*, 2016, 18(4): 401-402
- [36] Veličković N, Teofilović A, Ilic D, et al. Modulation of hepatic inflammation and energy-sensing pathways in the rat liver by high-fructose diet and chronic stress [J]. *Eur J Nutr*, 2018. doi: 10.1007/s00394-018-1730-1
- [37] 蔡芳芳, 曾庆新, 林志辉. 氧化应激和 NF- κ B 在大鼠非酒精性脂肪肝病中作用及机制[J]. *临床合理用药杂志*, 2016, 9(31): 149150
- [38] 石海燕, 李珏宏, 李昌平, 等. NF- κ B、血管紧张素 II-1 型受体在大鼠非酒精性脂肪肝病中的作用及其机制[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(2): 197-200
- [39] Tian Y, Ma J, Wang W, et al. Resveratrol supplement inhibited the NF- κ B inflammation pathway through activating AMPK α -SIRT1 pathway in mice with fatty liver [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 422(1-2): 75-84
- [40] Morita N, Hosaka T, Kitahara A, et al. Novel mechanisms modulating palmitate-induced inflammatory factors in hypertrophied 3t3-L1 adipocytes by AMPK [J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 9256482
- [41] 郭文文, 张志杰, 李珍. 女贞苷通过激活 AMPK 促进脂联素的组装[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(1): 18-21
- [42] Handa P, Maliken BD, Nelson JE, et al. Reduced adiponectin signaling due to weight gain results in nonalcoholic steatohepatitis through impaired mitochondrial biogenesis [J]. *Hepatology*, 2014, 60(1): 133-145
- [43] 陈灰. 脂联素激活 AMPK 信号通路调控奶牛肝细胞脂代谢的相关机制[D]. 吉林: 吉林大学, 2013

[收稿日期] 2018-12-01

(上接第 1187 页)

- the Hippo pathway for regenerative medicine and cancer treatment [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(1): 63-79
- [16] 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(97): ra73
- [17] Varghese B, Swaminathan G, Plotnikov A, et al. Prolactin inhibits activity of pyruvate kinase M2 to stimulate cell proliferation [J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(12): 2356-2365
- [18] Anastasiou D, Pouligiannis G, Asara JM, Boxer MB, Jiang JK, Shen M, Bellinger G, Sasaki AT, Locasale JW. Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses [J]. *Science*, 2011, 334(6060): 1278-1283
- [19] Lv L, Li D, Zhao D, Lin R, et al. Acetylation targets the M2 isoform of pyruvate kinase for degradation through chaperone-mediated autophagy and promotes tumor growth [J]. *Mol Cell*, 2011, 42(6): 719-730
- [20] Luo W, Hu H, Chang R, et al. Pyruvate kinase M2 is a PHD3-stimulated coactivator for hypoxia-inducible factor 1 [J]. *Cell*, 2011, 145(5): 732-744
- [21] Gao X, Wang H, Yang JJ, et al. Pyruvate kinase M2 regulates gene transcription by acting as a protein kinase [J]. *Mol Cell*, 2012, 45(5): 598-609
- [22] Palsson-McDermott EM, Curtis AM, Goel G, et al. Pyruvate kinase M2 regulates hif-1 α activity and IL-1 β induction and is a critical determinant of the Warburg effect in LPS-activated macrophages [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(1): 65-80
- [23] Yang L, Xie M, Yang M, et al. PKM2 regulates the Warburg effect and promotes HMGB1 release in sepsis [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4436

[收稿日期] 2019-04-30