

多发性骨髓瘤有氧糖酵解的研究进展

杨夏影 马银娟 师丽丽 吉小凡 潘耀柱

摘 要 有氧糖酵解是肿瘤细胞重要的特征之一,即在氧气充足的条件下,细胞仍偏爱于糖酵解的方式为其供能。多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶性浆细胞病,预后差、易复发、当前不可治愈。葡萄糖转运蛋白、糖酵解关键酶(己糖激酶、磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶)及乳酸生成关键酶(乳酸脱氢酶)在多发性骨髓瘤中的表达普遍升高,对骨髓瘤有氧糖酵解的这一细胞生物学的深入理解,将有可能为骨髓瘤的治疗提供新思路。

关键词 多发性骨髓瘤 能量代谢 糖酵解 Warburg 效应

中图分类号 R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.11.004

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种浆细胞恶性克隆增殖性疾病,是临床上常见的全身性血液系统疾病之一,仅次于淋巴瘤,多发于老年,目前仍无法治愈^[1]。复发或难治性 MM 患者中位总生存期仅有 8 个月^[2]。常见的症状包括骨髓瘤相关器官功能损伤的表现,即“CRAB”症状[血钙增高(calcium elevation)、肾功能损害(renal impairment)、贫血(anemia)、骨病(bone disease)]以及继发淀粉样变性等^[1]。因此寻求新的治疗策略迫在眉睫。目前以¹⁸F-FDG 作为标准核医学成像方式的 PET/CT 越来越多地应用于 MM 的早期诊断、疗效评估、预后判断以及 LDH 在修订的国际分期系统(R-ISS)中被视为影响预后的独立危险因素^[1,3]。相信糖酵解酶与 MM 的发生、发展有着千丝万缕的联系。故本文就有氧糖酵解在 MM 中的研究进展进行综述如下。

一、有氧糖酵解途径

1924 年,德国生物化学家 Otto Heinrich Warburg 研究发现,肝癌细胞的糖酵解较正常肝细胞活跃,并首次提出在氧气充足条件下,恶性肿瘤细胞糖酵解同样活跃的观点。这种有氧糖酵解的代谢特征被称为瓦博格(Warburg)效应。正常细胞在有氧条件下通过氧化磷酸化代谢葡萄糖,1mol 葡萄糖彻底氧化净生成 30mol 或 32mol ATP,而通过糖酵解途径最终只

能生成 2mol ATP。糖酵解是一种低产能的代谢模式,为何肿瘤细胞却如此偏爱后者?研究发现,代谢最终产物乳酸形成的酸性微环境有利于肿瘤细胞的迅速生长及远处转移;用于满足恶性增殖的生物大分子可以通过糖酵解中间代谢产物进行合成;抑制了线粒体功能可使活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成减少,从而减轻 ROS 的细胞毒性以抵抗凋亡^[4]。那么,葡萄糖是如何进入细胞代谢并生成乳酸及 ATP 的呢?首先,葡萄糖进入细胞是在葡萄糖转运蛋白(glucose transporters, GLUTs)的辅助下实现的;其次,在己糖激酶(hexokinase, HKs)、磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFKs)、丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PKs)等关键酶调控下促进丙酮酸生成并逐步释放能量,最终生成的丙酮酸经三羧酸循环途径代谢或者由乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDHs)催化生成乳酸。在此过程中,由限速酶参与的不可逆反应起了重要的调节作用。

二、葡萄糖转运蛋白与 MM

葡萄糖吸收入血后首先进入细胞,这是依赖 GLUTs 实现的。GLUTs 由 13 个成员、3 个亚类组成,包括作为葡萄糖转运体的 GLUTs: GLUT1、GLUT2、GLUT3、GLUT4;作为果糖转运体的 GLUTs: GLUT5、GLUT7、GLUT9、GLUT11;结构不典型且迄今定义不明确的 GLUTs: GLUT6、GLUT8、GLUT10、GLUT12 和肌醇转运蛋白(HMITL1)。有研究证实,与非恶性肿瘤组织比较, GLUT1、GLUT3、GLUT4、GLUT6 在恶性肿瘤中表达上调,如子宫内膜癌、乳腺癌等^[5]。在营养缺乏的癌细胞中, Akt 信号增加可过度表达 GLUT1, PI₃K/Akt 信号通过 GLUT1 膜定位调节葡萄糖摄取增加糖酵解速率,由此对抗细胞凋亡。 GLUT1

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372132);中国人民解放军后勤保障部应用基础研究项目(CLB19J047);甘肃省卫生行业科研计划项目(GSWSKY-2019-63)

作者单位:750004 银川,宁夏医科大学临床医学院(杨夏影); 730050 兰州,中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院血液科(杨夏影、马银娟、师丽丽、吉小凡、潘耀柱)

通讯作者:潘耀柱,电子邮箱:panyaozhu@163.com

的表达也因缺氧诱导因子(HIFs)的增加而增加。Matsumoto 等^[6]研究发现,一些骨髓瘤细胞系如 NCI-H929 和 RPMI8226 细胞通过 GLUT1 结合葡萄糖,与正常细胞比较增加了葡萄糖摄取能力。应用 GLUT1 特异性抑制剂 STF-31 后发现, GLUT1 高表达的骨髓瘤细胞死亡,而对 GLUT1 低表达细胞,如来自健康供体的外周血单个核细胞(PBMC)没有显示毒性作用。这一结果表明, STF-31 诱导的细胞凋亡与细胞内葡萄糖缺失相关且与 GLUT1 的表达水平呈正相关。同时协同 STF-31 增强了美法仑(Mel)、阿霉素和硼替佐米(Bort)诱导的细胞死亡。GLUT4 对 MM 细胞存活也是非常重要的。McBrayer 等^[7]进行基因表达谱研究,发现 MM 中失调的 GLUTs 家族成员,并证明骨髓瘤细胞依赖结构性细胞表面定位的 GLUT4 来消耗基础葡萄糖,维持 Mcl-1 表达、细胞生长和存活。随后 Cao 等^[8]对 MM 细胞增殖与 GLUT4 表达之间的关系进行了研究,通过抑制基因转录途径中关键因子 PGC-1 α 降低了 GLUT4 的表达,抑制了 RPMI8226 细胞的增殖。由此可知,不同或相同的骨髓瘤细胞可能表达不同的 GLUTs,故在应用 GLUTs 靶向治疗时应评估负责肿瘤细胞葡萄糖摄取的转运体。

三、糖酵解关键酶与 MM

1. 己糖激酶(HKs):葡萄糖进入细胞后发生磷酸化反应,生成葡糖-6-磷酸(G-6-P),该反应不可逆,是糖酵解的第 1 个限速步骤,由 HKs 催化, Mg^{2+} 参与。HKs 已知有 5 种不同的类型,是由不同染色体的不同基因控制。在哺乳动物中分别为 HK1、HK2、HK3、HK4、HK5, 又称己糖激酶结构域蛋白 1(HKDC1), HK1 和 HKDC1 基因首尾相连排列,显示它们是通过串联基因复制而形成的产物。研究发现, HK2 在多种实体瘤中高表达,如肺癌、胰腺癌、肝癌等。在哺乳动物正常细胞中低表达,也是 HK2 抑制剂临床应用的基础。HK2 不仅可促进葡萄糖发生磷酸化反应,在 MM 细胞中,高表达 HK2 与线粒体外膜中的电压依赖性阴离子通道(VDAC)相互作用,并驱动糖酵解途径。细胞周期蛋白 D1 与 HIF1 α 结合在基因转录水平上控制了 HK2 的表达并通过增强糖酵解途径及新生血管的形成,导致 MM 细胞具有抗凋亡表型^[9]。除此之外, Ikeda 等^[10]研究发现,在 MM 细胞中,缺氧诱导 HK2 的高表达,并通过 HK2-mTORC1 途径调节细胞自噬功能由此对抗细胞凋亡。因此靶向 HK2 具有重要的临床意义。

研究发现, HK2 抑制剂 3-溴代丙酮酸(3-Br-PA)可导致骨髓瘤细胞内 ATP 严重耗竭及抑制药物流出转运蛋白,具有显著的抗肿瘤作用。与 Bort 协同增强了促细胞凋亡作用;与 Bort 联合增强了后者在耐药患者中的促细胞凋亡作用,单用也具有同样效应。研究还发现, HK2 抑制剂非诺贝特、葡萄糖类似物 2-脱氧葡萄糖(2-DG)等均具有显著的抗肿瘤作用并应用于治疗舌肿瘤及晚期肺癌、乳腺癌的临床实验中^[11]。除 3-BrPA 外,希望有更多安全的 HK2 抑制剂应用于 MM 临床实验中。此外, HK2 的表达与 MM 预后具有显著相关性。Caillot 等^[9]通过数据分析发现 HK2 高表达, MM 患者的无事件生存期(EFS)和总生存期(OS)明显缩短。Abe 等^[12]对 90 例初诊的 MM 患者进行分析并首次发现低表达 HK2 相关的假阴性 PET/CT 与患者较好预后具有相关性。

2. 磷酸果糖激酶(PFKs): PFKs 又称 6-磷酸果糖激酶-1(PFK-1)是糖酵解的第 2 个关键酶,催化果糖-6-磷酸转变为果糖-1,6-二磷酸(F-1,6-BP),该反应不可逆,是糖酵解的第 2 个限速步骤。在人类中有 3 种亚型: PFKL(肝脏型)、PFKM(肌肉型)和 PFKP(血小板型)。PFK-1 的动力学和调控特性是由细胞内不同亚基的类型和比例所决定的。PFK-1 活性受细胞内中间代谢产物调节,如 ATP、ADP、果糖-6-磷酸和果糖-2,6-双磷酸(F-2,6-BP)。与正常细胞比较,来自大鼠甲状腺癌、人白血病及胶质瘤的 PFK-1 受 F-2,6-BP 的激活更敏感。PFKFB-PFK-2/果糖二磷酸酶-2,是负责 F-2,6-BP 合成和降解的双功能酶。PFKFB3 普遍表达且具有较高的激酶活性,其通过促进 F-2,6-BP 的合成,间接影响 PFK-1 的表达是调控糖酵解速率至关重要的方式。

Liu 等^[13]在人 MM 细胞系 RPMI8226、ARP-1、OPM2 及健康志愿者的 PBMC 中发现,与对照组比较, PFKFB3 在 MM 细胞系中的表达更高,通过抑制 PFKFB3,降低了细胞内 F-2,6-BP 水平,从而抑制葡萄糖摄取并加速 MM 细胞的凋亡。3PO 作为 PFKFB3 的小分子拮抗剂可部分和短暂减少糖酵解,且对正常组织无严重毒性作用。PFK15 作为 3PO 衍生物,具有更高的选择性,抑制效果增加了约 100 倍,与二甲双胍联合具有协同抗骨髓瘤作用。PFK158 是一种新型 PFKFB3 抑制剂并在实体瘤中进行 I 期临床试验(NCT02044861),目前尚未报道出严重的不良事件,有望用于多发性骨髓瘤的治疗^[14]。

此外,研究发现,在乳腺癌中存在 PFK - 1 类型转换,即从 PFKL 到 PFKP 是糖酵解程度增强主要因素^[15]。在急性髓性白血病中发现 PFKL 水平可显著升高。Ganapathy - Kanniappan 等^[16]应用临床样本以及实验模型发现肺癌中的 PFKP 表达与 OS 相关,PFKP 的下调具有显著抗癌效应。那么,骨髓瘤中是否也存在类型转换及关键酶作用如何仍有待进一步研究。靶向 PFK - 1 在骨髓瘤治疗方面具有广阔前景,未来也有望成为疾病监测的重要指标。

3. 丙酮酸激酶(PKs):PKs 是糖酵解的第 3 个限速酶,作用于有氧糖酵解途径的倒数第 2 步,催化磷酸烯醇式丙酮酸转变为丙酮酸,此反应不可逆。PKs 包括 4 种同工酶:PKL 型(肝脏型)、PKR 型(红细胞型)、PKM 型(肌肉型),M 型又分为 M1 型(PKM1)和 M2 型(PKM2)。PKM1 和 PKM2 是由 PKM 基因经不同剪接方式编码而生成的产物。PKM2 低活性的二聚体形式有助于癌细胞增殖所需物质积累;高活性的四聚体形式具有很强的催化活性,导致 ATP 合成和分解代谢。PKM2 主要分布在快速增殖的胚胎组织和肿瘤细胞,在细胞质及细胞核中均有分布。先前有研究报道 PKM2 主要在细胞核中发挥作用,主要与细胞增殖相关。然而,He 等^[17]利用 PKM2 siRNA 转染 RPMI8226 细胞后发现,PKM2 表达降低,细胞周期阻滞,生长速率明显受抑。利用 PKM2 siRNA 干扰 RPMI8226 和 U266 细胞,PKM2 下调提高了细胞的黏附率,黏附状态下的 MM 细胞 PKM2 核聚集,且对 Bort、Mel 和米托蒽醌(Mito)的敏感度低于悬浮细胞,从而证实了通过沉默 PKM2 提高了细胞黏附率并促进耐药性的产生,其可能通过核 PKM2 发挥药物抵抗作用。

目前 PKM2 在 MM 中的研究尚不充分,具体作用机制有待于进一步探索。在 MM 中,为适应其增殖和代谢需要,也存在 PKM1 向 PKM2 亚型的转变。Gu 等^[18]在 NEK2 过表达的人骨髓瘤细胞 ARP1、OPM2 中研究发现,NEK2 通过与异质性胞核核糖核蛋白(hnRNP)A1/2 的相互作用调控了 MM 细胞 PKM 未成熟 RNA 的选择性剪接,上调了 PKM2 的表达,增加了 PKM2/PKM1 的比值,促进了有氧糖酵解,促进了细胞增殖并增强了其致癌活性。同时对 351 例新诊断的 MM 患者进行了 EFS 和 OS 的 Kaplan - Meier 分析显示,高 NEK2、PKM2 组的 EFS 和 OS 明显缩短。由此而知,PKM2 与 MM 的发生、发展关系密切。靶向 PKM2 在治疗 MM 中有望成为有效的治疗措施,还需更多的基础和临床研究来探索。

4. 乳酸脱氢酶与 MM:LDHs 是乳酸生成的关键酶也是细胞有氧糖酵解的关键限速酶之一。LDH 是一类烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性激酶,由 LDHA、LDHB、LDHC 3 种亚基组成。哺乳动物 LDH 是由 4 个亚基组成的四聚体,常见的 A、B 两种亚基构成的 5 种同工酶,即 LDH1、LDH2、LDH3、LDH4、LDH5。对不同的底物有不同的反应性。而 C 亚基则仅组成一种 LDH 同工酶即 LDH - C4(特异性存在于哺乳动物生殖细胞)。LDH 主要存在于细胞内,当细胞受损时,就会被释放入血,导致血清 LDH 水平增高。LDH 通常在造血系统恶性肿瘤患者中升高明显,如霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)或 MM。其中 LDHA 与癌症的发生、发展具有高度相关性。

与正常细胞比较,在 MM 细胞中,LDHA 过表达导致细胞具有以糖酵解为主的新陈代谢,其通过增强 LDH 酶的活性、乳酸的产生,从而促进细胞增殖,且与氧气供应无关,PGC1 β 在此过程中起到了正性调控作用^[19]。此外,LDHA 的表达还受 miR - 489 影响。研究发现,高表达 miR - 489 通过下调 LDHA,具有抑制葡萄糖摄取、乳酸分泌和 ATP 产生的作用,从而抑制有氧糖酵解并导致 MM 细胞增殖减少^[20]。在肿瘤免疫中,乳酸生成能够调节肿瘤细胞微环境(TEM)并通过阻止下游通路间接抑制肿瘤细胞的免疫应答,抑制机体免疫功能,从而帮助细胞发生免疫逃逸。同时酸性 TEM 的形成,有助于肿瘤细胞的增殖和转移^[21]。因此,靶向 LDHA 是抑制肿瘤细胞转移,延缓疾病进展的基础。草氨酸盐、棉酚、棉酚衍生物 - FX11、陪黄素等是目前公认的 LDHA 抑制剂,在乳腺癌、肝癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤细胞中具有很好的抗肿瘤作用,但由于缺乏特异性、作用较弱、不良反应多且具有明显的毒性不良反应等特点限制了其在临床的应用^[22]。在同样高表达的 MM 中这些药物是否有效且不影响周围正常组织有待于进一步研究。

四、展 望

MM 不仅是基因病也是能量代谢异常性疾病。现有研究发现,在 MM 中葡萄糖转运蛋白 GLUT、糖酵解关键酶——HK、PFK、PK 及乳酸生成关键酶 LDH 在肿瘤细胞能量代谢过程中发挥了重要作用。当前复发难治性成为严重影响 MM 患者生存质量及预后的关键因素。由于此类患者缺乏标准化治疗方案,个体化治疗又显得尤为重要。如何及时有效掌握病人的病情变化,选择合适的治疗方案是目前急需解

决的问题。GLUT、HK、PFK、PK 与 MM 的发生、发展关系密切,未来有望成为临床诊治 MM 的重要生物学标志物并用于指导临床。

参考文献

- 1 中国医师协会血液科医师分会,中华医学会血液学分会,中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会.中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020 年修订)[J].中华内科杂志,2020,59(5):341-346
- 2 侯元美,李军朋.复发或难治性多发性骨髓瘤免疫治疗新进展[J].国际肿瘤学杂志,2020,47(12):765-768
- 3 Kircher S, Stolzenburg A, Kortüm KM, *et al.* Hexokinase-2 expression in 11C-methionine-positive, 18F-FDG-negative multiple myeloma[J]. J Nucl Med, 2019, 60(3): 348-352
- 4 Lebelo MT, Joubert AM, Visagie MH. Warburg effect and its role in tumourigenesis[J]. Arch Pharm Res, 2019, 42(10): 833-847
- 5 Gu CJ, Xie F, Zhang B, *et al.* High glucose promotes epithelial-mesenchymal transition of uterus endometrial cancer cells by increasing ER/GLUT4-mediated VEGF secretion[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 50(2): 706-720
- 6 Matsumoto T, Jimi S, Migita K, *et al.* Inhibition of glucose transporter 1 induces apoptosis and sensitizes multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents[J]. Leuk Res, 2016, 41: 103-110
- 7 McBrayer SK, Cheng JC, Singhal S, *et al.* Multiple myeloma exhibits novel dependence on GLUT4, GLUT8, and GLUT11: implications for glucose transporter-directed therapy[J]. Blood, 2012, 119: 4686-4697
- 8 Cao D, Zhou H, Zhao J, *et al.* PGC-1 α integrates glucose metabolism and angiogenesis in multiple myeloma cells by regulating VEGF and GLUT-4[J]. Oncol Rep, 2014, 31(3): 1205-1210
- 9 Caillot M, Bourgeais J, Dakik H, *et al.* Cyclin D1 targets hexokinase 2 to control aerobic glycolysis in myeloma cells[J]. Oncogenesis, 2020, 9(7): 68
- 10 Ikeda S, Abe F, Matsuda Y, *et al.* Hypoxia-inducible hexokinase-2 enhances anti-apoptotic function via activating autophagy in multiple myeloma[J]. Cancer Sci, 2020, 111(11): 4088-4101
- 11 常涵月,马海龙,杨溪,等.有氧糖酵解在头颈鳞癌中的研究进展[J].临床口腔医学杂志,2020,36(9):569-571

- 12 Abe Y, Ikeda S, Kitadate A, *et al.* Low hexokinase-2 expression-associated false-negative 18F-FDG PET/CT as a potential prognostic predictor in patients with multiple myeloma[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2019, 46(6): 1345-1350
- 13 Liu X, Zhao Y, Zhang E, *et al.* The synergistic effect of PFK15 with metformin exerts anti-myeloma activity via PFKFB3[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 515(2): 332-338
- 14 Kotowski K, Rosik J, Machaj F, *et al.* Role of PFKFB3 and PFKFB4 in cancer: genetic basis, impact on disease development/progression, and potential as therapeutic targets[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(4): 909
- 15 郑春雷,王一喆,刘云鹏,等.基于在线分析的磷酸果糖激酶在肺癌中的预后意义探讨[J].现代肿瘤医学,2020,28(1):48-52
- 16 Ganapathy-Kanniappan S. PFKP phenotype in lung cancer: prognostic potential and beyond[J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(10): 8271-8272
- 17 He Y, Wang Y, Liu H, *et al.* Pyruvate kinase isoform M2 (PKM2) participates in multiple myeloma cell proliferation, adhesion and chemoresistance[J]. Leuk Res, 2015, 39(12): 1428-1436
- 18 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
- 19 Zhang H, Li L, Chen Q, *et al.* PGC1 β regulates multiple myeloma tumor growth through LDHA-mediated glycolytic metabolism[J]. Mol Oncol, 2018, 12(9): 1579-1595
- 20 Wu H, Wang X, Wu T, *et al.* miR-489 suppresses multiple myeloma cells growth through inhibition of LDHA-mediated aerobic glycolysis[J]. Genes Genomics, 2020, 42(3): 291-297
- 21 李响,冯丽丽,闻浩.乳酸脱氢酶 A 促进恶性肿瘤发生发展机制的研究进展[J].现代肿瘤医学,2020,28(14):2532-2535
- 22 丘金梅,龚娟,谢青池,等.乳酸脱氢酶在肿瘤代谢中的作用及其为靶标的抗肿瘤药物研发[J].肿瘤防治研究,2020,47(12):980-985

(收稿日期:2021-02-25)

(修回日期:2021-09-13)

(上接第 4 页)

- 23 吕鹏,赵欢,石凤芹,等.复方浙贝颗粒联合顺铂对急性淋巴细胞白血病耐药细胞株移植瘤细胞耐药相关酶表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2019,26(11):52-56
- 24 郑智,侯丽,许亚梅,等.复方浙贝颗粒联合阿霉素影响 K562/A02 移植瘤细胞耐药相关酶表达研究[J].医学研究杂志,2009,38(12):29-31,146
- 25 陈信义,郑智,陈菊,等.复方浙贝颗粒联合阿霉素对 K562/A02 移植瘤细胞凋亡及相关蛋白表达的影响[J].中国实验血液学杂志,2009,17(6):1439-1442
- 26 吕鹏,董青,刘宇,等.复方浙贝浸膏对人结肠癌耐奥沙利铂细胞株 HCT-116/L-OHP 裸鼠移植瘤及凋亡蛋白表达的影响[J].北京中医药大学学报,2020,43(10):834-840
- 27 褚雨霆,王荣华,陈信义.白血病干细胞的天然耐药性分析[J].中国肿瘤,2014,23(12):1010-1013

- 28 黄晓,王荣华,李冬云,等.急性髓系白血病患者骨髓细胞相关分子标志物表达研究[J].中国实验血液学杂志,2014,22(5):1193-1198
- 29 赖宗浪,李冬云,王婧,等.缓解与未缓解髓系白血病干细胞表面抗原 CD34+CD123+表达差异研究[J].现代生物医学进展,2014,14(4):631-633
- 30 张宇,田劭丹,侯丽,等.川芎嗪对急性髓性白血病 KG-1a 细胞表面标志物的影响[J].现代生物医学进展,2015,15(5):844-848
- 31 Zhang Y, Hou L, Chen XY. Effects of compound zhebei granule(复方浙贝颗粒) combined with doxorubicin on expression of specific surface antigens in mice with transplanted KG-1a cells[J]. Chin J Integr Med, 2018, 24(3): 213-217

(收稿日期:2021-03-29)

(修回日期:2021-05-07)