

M2 型丙酮酸激酶的抗肿瘤作用研究进展

李淑敏,李燕京,白玉贤

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院,黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:糖酵解(Warburg 效应)是肿瘤细胞的重要特征,其相比于线粒体氧化磷酸化来说更高效地产生能量及大量的中间产物用于生物合成,还可抑制活性氧的生成。M2 型丙酮酸激酶(pyruvate kinase M2,PKM2)多以低活性的二聚体形式存在于肿瘤细胞等快速增殖细胞中,作为催化糖酵解最后一个步骤的限速酶,是肿瘤细胞 Warburg 效应的一个关键调节因子。PKM2 在肿瘤细胞中也发挥着重要的非代谢作用,PKM2 被诱导转移入细胞核后,通过磷酸化特定的核蛋白后激活诸多基因的转录,促进肿瘤的生长。基于这些研究成果,该文综述了 PKM2 在肿瘤生长中的作用,并对 PKM2 的抑制剂和激活剂的抗肿瘤疗效分别进行讨论,并预测 PKM2 可能成为癌症治疗的潜在靶点。

关键词:M2 型丙酮酸激酶;Warburg 效应;核转位;细胞增殖;激活剂;抑制剂;肿瘤代谢

中图分类号:R73 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2019)03-0202-06

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2019.03.A008

Research Progress on Anticancer Effects of Pyruvate Kinase M2

LI Shu-min, LI Yan-jing, BAI Yu-xian

(Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

Abstract: Glycolysis (Warburg effect) is an important metabolic feature of tumor cells. Compared with mitochondrial oxidative phosphorylation, glycolysis promotes rapid energy production and a great number of glycolytic intermediates for biosynthesis without the accumulation of reactive oxygen species. Pyruvate kinase M2(PKM2) is expressed in proliferative cells and cancer cells. The predominant form of PKM2 is the dimer with lower activity. It is the rate-limiting enzyme of the last step of glycolysis and the critical regulatory factor of aerobic glycolysis. PKM2 also plays an important role in non-glycolytic functions. After translocating to nucleus, PKM2 phosphorylates specific nucleoproteins and activates the transcription of related genes to promote tumor growth. This article reviews the role of PKM2 in tumor cell growth, the anticancer effects of PKM2 activators and inhibitors, and explores the possibility of PKM2 as a potential target for cancer treatment.

Key words: pyruvate kinase M2; Warburg effect; nuclear translocation; cell proliferation; activator; inhibitor; tumor metabolism

不同于正常细胞主要依靠三羧酸循环和氧化磷酸化供能,肿瘤细胞有其独特的产能方式,即使在有氧条件下,其产生 ATP 也主要依靠糖酵解,这一特征被称为有氧糖酵解或 Warburg 效应^[1]。在细胞质内,葡萄糖通过一系列糖酵解步骤被催化生成丙酮酸。M2 型丙酮酸激酶(pyruvate kinase M2,PKM2),

糖酵解的关键酶之一,催化磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate,PEP)生成丙酮酸,其酶活性高低可决定丙酮酸下一步是否生成乳酸或是乙酰辅酶 A^[2-4]。PKM2 通过调节 Warburg 效应而在肿瘤细胞的生长过程中发挥至关重要的作用。当 PKM2 处于低活性时,可以促使丙酮酸生成乳酸(Warburg 效应),而 PKM1 和高活性的 PKM2 则会促使丙酮酸生成乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环。近几年来,许多研究者都投身于 PKM2 的代谢和非代谢作用研究中。本文综述了 PKM2 在肿瘤细胞生长中的作用,并对

收稿日期:2018-09-28;修回日期:2019-01-15

基金项目:国家自然科学基金(青年项目,81602662);吴阶平基金(320.6750.16002);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院科学研究基金(BJQN2018-02, JJZ2011-18, JJMS2014-03)

通信作者:白玉贤, E-mail: bai_yuxian@126.com

PKM2 的抑制剂和激活剂的抗肿瘤疗效分别进行讨论,以期能对新的抗肿瘤疗效有所发现。

1 丙酮酸激酶的 4 个亚型

丙酮酸激酶(pyruvate kinase,PK)催化 PEP 生成丙酮酸,产生 ATP。哺乳动物中存在 4 种 PK 亚型(L,R,M1,M2)。L 和 R 亚型由 *PKLR* 基因编码,其表达存在组织特异性,由不同的因子调控。其中,PKL 亚型在肝脏、肾脏和肠组织中表达,PKR 亚型则在红细胞中表达^[5];PKM1 和 PKM2 由 *PKM* 基因编码,在两个互相排斥的选择性剪切子的作用下生成含外显子 9 的 PKM1 或含外显子 10 的 PKM2^[5,6]。PKM1 在大多数成人分化成熟的组织中表达,如脑组织、肌组织等,PKM2 在胚胎细胞、成人干细胞及肿瘤细胞等快速增殖细胞中表达^[2,7,8]。*PKM* 的剪切受剪切遏制子、异质性胞核核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein,hnRNP)A1 和 A2 以及多聚嘧啶序列结合蛋白(polypyrimidine tract binding protein,PTB/hnRNPI)调节,hnRNPs 通过与外显子 9 结合抑制 *PKM1* mRNA 的剪切,使得外显子 10 剪切而促进 PKM2 的高表达。进一步研究表明,转录因子 c-Myc 可上调这 3 种蛋白的表达而促进 PKM2 的选择性剪切^[5,6,9]。

2 PKM2 在肿瘤细胞中的表达及调控

PKM2 的高表达在诸多肿瘤细胞系和肿瘤患者的血液、血清、粪便等生物样本中均可检测到^[2]。PKM2 的表达受多种调节因素调控^[5,10,11]。活化的 mTOR 可促进 c-Myc-hnRNPs 对 PKM2 的选择性剪切诱导而上调 PKM2 的表达,促进肿瘤细胞的有氧糖酵解,活化的雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)亦能促使缺氧诱导因子 1(hypoxia-inducible factor 1,HIF-1)直接结合到 *PKM* 基因的启动子区域,增强 *PKM* 的转录^[10,12]。最近的一项研究表明,热应激同源蛋白 70(Hsc70)结合蛋白(Hsc70-interacting protein,CHIP),可作为 E3 连接酶调节 PKM2 的泛素化与降解,通过下调 PKM2 进而抑制糖酵解,发挥抑癌作用^[13]。用致癌物 12-O-十四烷酰佛波醇-13-醋酸酯(TPA)作用于皮肤细胞 24h 内

可诱导 PKM2 的表达并增加其活性而下调 PKM1 的表达,进而促进细胞的肿瘤转化,而经线粒体呼吸底物琥珀酸盐、苹果酸/丙酮酸预处理细胞和 *PKM2* 基因敲降的细胞则没有观察到该现象,表明 PKM2 的活化可能是肿瘤发生过程中的早期事件^[14]。

3 PKM2 在肿瘤细胞代谢中的作用

PKM2 有低活性的二聚体和高活性的四聚体形式,正常的增殖细胞中主要为四聚体,肿瘤细胞中主要为二聚体^[2,15]。Hitosugi 等^[15]通过研究发现 PKM2 的酪氨酸磷酸化(Tyr105)抑制了四聚体的激活,导致其活性降低。PKM2 突变细胞中,酪氨酸残基 105 被苯基丙氨酸取代后可使 PK 活性升高。因此,PKM2 的低活性二聚体形式是糖酵解的一个重要驱动力,相反,PKM1 和 PKM2 的高活性四聚体驱动细胞进行三羧酸循环^[2,3,15]。

PKM2 相对于 PKM1 的表达较高而糖酵解酶活性较低,可促进肿瘤细胞生长、抑制活性氧的生成,其机制分为以下两方面^[2,3,7]:首先,糖酵解可比氧化磷酸化更高效地生成 ATP,使碳更快地用于合成其生物活性物质^[3]。糖酵解和氧化磷酸化都可降解葡萄糖,在 ATP 的产量和产率之前进行权衡,糖酵解消耗大量葡萄糖生成 ATP,其产率高而产量低,氧化磷酸化则相反;另一方面,低活性的 PKM2 可促进糖酵解的中间产物进入糖酵解的旁路途径,为肿瘤细胞的快速增殖提供丰富的底物,如甘油合成途径和磷酸戊糖途径,磷酸戊糖途径可产生 NADPH 进而抑制活性氧的生成,并参与核苷酸的合成^[3,7]。若敲除 PKM2 而以 PKM1 代替,可逆转 Warburg 效应,表现为乳酸产量降低、氧消耗量增加,肿瘤细胞在裸鼠体内的成瘤率也降低^[2]。

PKM2 的二聚体和四聚体形式的转换受很多因子调节^[15]。正性调节因子中,果糖-1,6-二磷酸(fructose-1,6-bisphosphate,FBP),糖酵解的中间产物之一,可以与 PKM2 共轭结合促进四聚体活性形式的合成;丝氨酸,由糖酵解中间产物 3-磷酸甘油酸转化而来,也是 PKM2 酶活性的正性调节因子^[16]。负性调节因子中,PKM2 被酪氨酸磷酸化后可释放 FBP,使 PKM2 从四聚体形式转换为低活性的二聚体形式^[17];L-半胱氨酸也可特异性抑制 PKM2 的酶

活性,诱导四聚体解聚为二聚体^[18]。有研究证明,氧化应激也可导致四聚体分裂而降低 PKM2 酶活性^[19]。Wang 等^[20]通过生化与结构分析探究证明 PKM2 的四聚体与二聚体转化是一种转录后调节, Y105 位点的磷酸化通过抑制 FBP 对 PKM2 活性形式的维持作用而降低其酶活性, K305 位点的乙酰化则通过阻碍四聚体形成维持 PKM2 的低活性。

4 PKM2 在肿瘤细胞中的非代谢作用

PKM2 的功能受很多因素调控^[10,15,19,21],其中有一些因子通过调节 PKM2 的糖酵解功能直接影响 Warburg 效应,也有一些因子参与调控 PKM2 的非代谢作用,包括激活基因转录与促进细胞增殖等,这些作用的前提均为 PKM2 的核转位。PKM2 入核机制与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)活化有关,亦与生长抑素类似物、过氧化氢(H₂O₂)、紫外光照射等凋亡刺激因子相关^[10,22,23]。p300 乙酰转移酶可与 PKM2 的变构激活剂 FBP 结合,特异性地乙酰化 PKM2,通过干扰 FBP 与 PKM2 结合抑制该酶活性,从而增加 PKM2 在核内的集聚与蛋白激酶活性^[24]。

在细胞质内,PKM2 的催化酶活性形式是四聚体,而在细胞核内,PKM2 以二聚体形式作为蛋白激酶发挥作用。PKM2 通过磷酸化信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)的 Y705 位点转录激活 MAP 激酶激酶 5 (MAP kinase kinase 5, MEK5),进而促进细胞增殖^[22]。Luo 等^[10]发现在氧化应激时,PKM2 入核后可与 HIF-1 α 亚基结合,增强 HIF-1 α 的结合能力与 p300 的招募,进而促进 HIF-1 α 靶基因的转录。有趣的是, HIF-1 α 也可以转录激活 PKM2,说明 PKM2 和 HIF-1 α 之间存在正反馈机制。另一项研究发现,在胶质瘤细胞中,EGFR 活化后引起 PKM2 核转位, PKM2 的 K433 位点可与 β -连环蛋白的 c-Src-磷酸化的 Y333 位点结合促进 β -连环蛋白的转录,二者都被募集到细胞周期蛋白 D1(CCND1)启动子区,使组蛋白去乙酰化酶 3(HDAC3)解离,组蛋白 H3 乙酰化,进而上调 CCND1 和癌基因转录因子 c-Myc,促进细胞增殖^[23]。而 c-Myc 可上调 hnRNPs 的转录水平,导致 PKM2/PKM1 的比率升高^[5,6]。c-Myc 也可

通过上调葡萄糖转运体 1(GLUT1)和乳酸脱氢酶 A (LDHA)的表达促进糖酵解^[25]。由此可推测,PKM2 的核转位调节可能存在一个反馈环路。

综合以上发现,我们可以看出 PKM2 的二聚体形式对肿瘤的发生发展有至关重要的作用。在代谢方面,低活性的 PKM2 可以使肿瘤细胞维持糖酵解表型,促进糖酵解中间产物进入旁路代谢途径进行生物合成;在非代谢方面,二聚体的 PKM2 入核后可作为蛋白激酶磷酸化特殊的核蛋白进而调控癌基因的表达,促进细胞增殖。

5 PKM2 激活剂的抗肿瘤作用

鉴于 PKM2 的低活性二聚体形式是糖酵解的一个重要驱动力,能够为肿瘤细胞增殖过程中的生物合成提供大量底物,且只有二聚体形式的 PKM2 才可入核转录激活下游癌基因,因此,选择性地激动 PKM2 的催化酶活性可能会逆转 Warburg 效应,使肿瘤细胞的代谢方式正常化。基于该思路,中外许多研究者将 PKM2 激活剂视为新一代抗肿瘤药物,并设计合成了多种不同种类的激活剂。

Kung 等^[26]研究发现,PKM2 激活剂有独特的变构结合域,使 PKM2 活性提高后可使肿瘤细胞的代谢重新分配,表现为对非必需氨基酸的强依赖性以支持细胞增殖。Anastasiou 等^[27]对 PKM2 的小分子激活剂 thieno[3,2-b]pyrrole[3,2-d]pyridazinone NCGC00186528(TEPP-46)和 N,N'-diarylsulfonamide NCGC00185916(DASA-58)进行研究发现,TEPP-46 和 DASA-58 均可抑制体内移植瘤的生长和肿瘤的发生。在接下来的机制研究中揭示了这两个小分子激活剂与 PKM2 的内源性激活剂 FBP 竞争性结合 PKM2 的亚基结合位点,维持四聚体形式的稳定性。不同于 FBP,小分子激活剂与 PKM2 的结合促进其持续处于高活性状态而避免被酪氨酸磷酸化蛋白抑制。有文献报道^[28],丝氨酸是 PKM2 的天然配体并能变构激活 PKM2,显著增强了 PKM2 与其底物 PEP 的结合能力,并且丝氨酸是唯一能够激活 PKM2 的标准氨基酸。Boxer 等^[29]开发了一系列 N,N'-二芳基磺胺类药物作为 PKM2 激活剂,并合成了大量类似物并对其结构—活性关系进行评估和筛选,最终筛选出包括 55、56、58 在内的 3 个 PKM2 激活剂新药。

这些激活剂通过增加 PKM2 与 PEP 的结合提高其酶活性, 减弱 Warburg 效应。Xu 等^[30] 研究发现 PKM2 的一系列新型酰胺类小分子激活剂 3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-5-carboxamides 可以起到抗肿瘤增殖的效果。也有研究者对中草药成分对 PKM2 酶活性的影响进行了探索, Aslan 等发现^[31] 杨梅酮和槲皮黄酮等多酚提取物有高效地激活 PKM2 酶活性作用, 芥子酸和对香豆酸也可作为 PKM2 激活剂, 均可起到抗肿瘤作用。然而, Guo 等^[32] 提出单独激活 PKM2 酶活性不足以改变肿瘤细胞的代谢, 他们发现 2-((1H-benzo [d]imidazol-1-yl)methyl)-4H-pyrido [1,2-a]pyrimidin-4-ones 与 PKM2 之间有独特的连接方式, 可作为潜在的特异性 PKM2 激活剂。

综合以上研究, 通过促进二聚体的 PKM2 转化为四聚体, 增强其与代谢底物 PEP 的结合能力能够改变肿瘤细胞的代谢方式, 即逆转 Warburg 效应, 从而起到抗肿瘤的疗效。目前已经开发了众多不同类型的小分子 PKM2 激活剂, 它们大多都能稳定 PKM2 的四聚体, 从而起到稳定的抗肿瘤疗效。

6 PKM2 抑制剂的抗肿瘤作用

PKM2 在肿瘤细胞中高表达, 一系列的机制研究表明抑制 PKM2 的表达可抑制肿瘤细胞的增殖活力和侵袭转移能力而起到抗肿瘤作用, 还可增强化疗药物的敏感性^[33-36]。用基因手段减弱 PKM2 表达导致肿瘤细胞体外增殖减少, 凋亡增加, 体内抑制肿瘤生长并减少血管生成。其机制可能是通过抑制 HIF-1 α 而减少血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的分泌^[33]。敲降后可减少乳酸产生和高迁移率族蛋白 1 (high-mobility group box 1, HMGB1) 的表达^[34]。在肺腺癌细胞中, PKM2 敲除显著抑制细胞增殖、葡萄糖吸收率、ATP 和脂肪酸合成, 并可增强线粒体呼吸能力; 更重要的是, PKM2 敲除后抑制了基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase 2, MMP2) 和 VEGF, 该研究说明降低 PKM2 的表达可抑制肿瘤生长和转移侵袭^[35]。另一项研究表明将 PKM2 基因沉默可明显增强多西他赛对人非小细胞肺癌细胞 A549 和 H460 的化疗敏感性^[36]。在结肠癌细胞中, 沉默 PKM2 的表达后可引起 p53 和 p21 表达增加而抑制增殖、增加凋亡^[37]。以上研究结

果提示, PKM2 抑制剂单独或与化疗药物联用可能收获很好的抗肿瘤疗效。

紫草醌, 小分子活性物质, 可通过抑制 PKM2 阻止 TPA 介导的皮肤细胞早期向癌症转化, 其可修复 TPA 导致的线粒体功能损伤, 并减少糖酵解标志物乳酸的产生, 也可以通过介导坏死克服膀胱癌对顺铂的耐药性^[14,38]。泮托拉唑 (pantoprazole, PPZ) 可下调 PKM2 的表达抑制胃癌细胞增殖并介导凋亡发生, 因此 PPZ 可作为 PKM2 的潜在抑制剂^[39]。Chen 等^[40] 证明维生素 K3 和 K5 是 PKM2 的相对特异性抑制剂, 能够明显抑制 PKM2 而对 PKM1 和 PKL 影响较小, 可以作为化疗的辅助用药。另外, 二甲双胍也被证实可下调 PKM2, 但其特异性不高^[41,42]。大麻素通过抑制 Akt/c-Myc 通路减少 PKM2 的表达和活性, 进而抑制糖酵解和谷氨酰胺吸收而发挥抗肿瘤作用^[43]。Masou 等^[44] 在探究环孢素 (acyclosporine A, CsA) 对乳腺癌作用时发现 CsA 能明显下调 PKM2 的表达, 减少 ATP 的合成, 诱导细胞坏死。不同于以上机制, 齐墩果酸 (oleanolic acid, OA) 可诱导 PKM2 转化为 PKM1, 进而逆转 Warburg 效应。另外 OA 也可使 mTOR 信号通路失活, 又进一步地减少 c-Myc 依赖的 hnRNPs 对 PKM2 的选择性剪切, 从而下调 PKM2 的表达^[45]。

综上所述, PKM2 的抑制剂作为抗肿瘤药物具有非常好的发展前景, 但如何能更加特异地靶向 PKM2 而不影响正常的细胞内代谢酶类则需进一步的研究。

7 总结与展望

对于 PKM2 在细胞代谢和细胞增殖与侵袭转移方面的作用和机制, 近年来的研究已取得较大进展。PKM 的选择性剪切受多种因素调控, 在肿瘤细胞中 PKM2 优势性表达, PKM2 的低活性二聚体在细胞质中参与糖代谢并促进糖酵解中间产物的聚积, 为肿瘤细胞增殖所需的生物合成提供底物; 在细胞核中, PKM2 主要发挥蛋白激酶作用, 修饰多种重要的转录因子, 调节下游癌基因的表达。PKM2 的活性高低决定了肿瘤细胞的代谢方式并对肿瘤的发生发展有很大影响, 这也是为什么选择性激活剂和抑制剂都能达到治疗目的的原因。尽管已经有很多针对

PKM2 的抑制剂和激活剂的研究,但是它们的具体应用并未得到全面深入的探究,如在肿瘤的个体化治疗中,抑制剂和激活剂应分别用于何种病种及疾病的哪个阶段,都值得我们进一步研究。随着特异性高的激活剂和抑制剂的开发和研究,靶向 PKM2 的药物必将在肿瘤的治疗中得到更大的应用。

参考文献:

- [1] Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body[J]. *J Gen Physiol*, 1927, 8(6): 519-530.
- [2] Christofk HR, Vander Heiden MG, Harris MH, et al. The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth [J]. *Nature*, 2008, 452(7184): 230-233.
- [3] Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1029-1033.
- [4] Iansante V, Choy PM, Fung SW, et al. PARP14 promotes the Warburg effect in hepatocellular carcinoma by inhibiting JNK1-dependent PKM2 phosphorylation and activation [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7882.
- [5] Clower CV, Chatterjee D, Wang Z, et al. The alternative splicing repressors hnRNP A1/A2 and PTB influence pyruvate kinase isoform expression and cell metabolism[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(5): 1894-1899.
- [6] David CJ, Chen M, Assanah M, et al. HnRNP proteins controlled by c-Myc deregulate pyruvate kinase mRNA splicing in cancer[J]. *Nature*, 2010, 463(7279): 364-368.
- [7] Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(2): 85-95.
- [8] Hsu MC, Hung WC. Pyruvate kinase M2 fuels multiple aspects of cancer cells: from cellular metabolism, transcriptional regulation to extracellular signaling [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 35.
- [9] Chen M, David CJ, Manley JL. Concentration-dependent control of pyruvate kinase M mutually exclusive splicing by hnRNP proteins [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(3): 346-354.
- [10] 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.
- [11] Panasyuk G, Espeillac C, Chauvin C, et al. PPARgamma contributes to PKM2 and HK2 expression in fatty liver[J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 672.
- [12] Sun Q, Chen X, Ma J, et al. Mammalian target of rapamycin up-regulation of pyruvate kinase isoenzyme type M2 is critical for aerobic glycolysis and tumor growth[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(10): 4129-4134.
- [13] Shang Y, He J, Wang Y, et al. CHIP/Stub1 regulates the Warburg effect by promoting degradation of PKM2 in ovarian carcinoma[J]. *Oncogene*, 2017, 36(29): 4191-4200.
- [14] Li W, Liu J, Zhao Y. PKM2 inhibitor shikonin suppresses TPA-induced mitochondrial malfunction and proliferation of skin epidermal JB6 cells[J]. *Mol Carcinog*, 2014, 53(5): 403-412.
- [15] 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): 73.
- [16] Ye J, Mancuso A, Tong X, et al. Pyruvate kinase M2 promotes de novo serine synthesis to sustain mTORC1 activity and cell proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(18): 6904-6909.
- [17] Christofk HR, Vander Heiden MG, Wu N, et al. Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein [J]. *Nature*, 2008, 452(7184): 181-186.
- [18] 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): 1067-1076.
- [19] Anastasiou D, Poulogiannis G, Asara JM, et al. Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses [J]. *Science*, 2011, 334(6060): 1278-1283.
- [20] Wang P, Sun C, Zhu T, Xu Y. Structural insight into mechanisms for dynamic regulation of PKM2 [J]. *Protein Cell*, 2015, 6(4): 275-287.
- [21] Wu X, Zhou Y, Zhang K, et al. Isoform-specific interaction of pyruvate kinase with hepatitis C virus NS5B [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582(15): 2155-2160.
- [22] 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.
- [23] Yang W, Xia Y, Ji H, et al. Nuclear PKM2 regulates beta-catenin transactivation upon EGFR activation [J]. *Nature*, 2011, 480(7375): 118-122.
- [24] Lv L, Xu YP, 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): 340-352.
- [25] Munoz-Pinedo C, El Mjiyad N, Ricci JE. Cancer metabolism: current perspectives and future directions[J].

- Cell Death Dis, 2012, 3:248.
- [26] Kung C, Hixon J, Choe S, et al. Small molecule activation of PKM2 in cancer cells induces serine auxotrophy [J]. Chem Biol, 2012, 19(9): 1187–1198.
- [27] Anastasiou D, Yu Y, Israelsen WJ, et al. Pyruvate kinase M2 activators promote tetramer formation and suppress tumorigenesis[J]. Nat Chem Biol, 2012, 8(10): 839–847.
- [28] Chaneton B, Hillmann P, Zheng L, et al. Serine is a natural ligand and allosteric activator of pyruvate kinase M2 [J]. Nature, 2012, 491(7424): 458–462.
- [29] Boxer MB, Jiang JK, Vander Heiden MG, et al. Evaluation of substituted N,N'-diarylsulfonamides as activators of the tumor cell specific M2 isoform of pyruvate kinase [J]. J Med Chem, 2010, 53(3): 1048–1055.
- [30] Xu Y, Liu XH, Saunders M, et al. Discovery of 3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole-5-carboxamide activators of the M2 isoform of pyruvate kinase (PKM2)[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(2): 515–519.
- [31] Aslan E, Guler C, Adem S. In vitro effects of some flavonoids and phenolic acids on human pyruvate kinase isoenzyme M2[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2016, 31(2): 314–317.
- [32] Guo C, Linton A, Jalaie M, et al. Discovery of 2-((1H-benzodimidazol-1-yl)methyl)-4H-pyrido [1,2-a]pyrimidin-4-ones as novel PKM2 activators[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23(11): 3358–3363.
- [33] Azoitei N, Becher A, Steinestel K, et al. PKM2 promotes tumor angiogenesis by regulating HIF-1alpha through NF-kappaB activation[J]. Mol Cancer, 2016, 15: 3.
- [34] 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.
- [35] Sun H, Zhu A, Zhang L, et al. Knockdown of PKM2 suppresses tumor growth and invasion in lung adenocarcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(10): 24574–24587.
- [36] Yuan S, Qiao T, Zhuang X, et al. Knockdown of the M2 isoform of pyruvate kinase(PKM2) with shRNA enhances the effect of docetaxel in human NSCLC cell lines in vitro [J]. Yonsei Med J, 2016, 57(6): 1312–1323.
- [37] Ao R, Guan L, Wang Y, et al. Effects of PKM2 gene silencing on the proliferation and apoptosis of colorectal cancer LS-147T and SW620 cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42(5): 1769–1778.
- [38] Wang Y, Hao F, Nan Y, et al. PKM2 inhibitor shikonin overcomes the cisplatin resistance in bladder cancer by inducing necroptosis[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(13): 1883–1891.
- [39] Shen Y, Chen M, Huang S, et al. Pantoprazole inhibits human gastric adenocarcinoma SGC-7901 cells by downregulating the expression of pyruvate kinase M2 [J]. Oncol Lett, 2016, 11(1): 717–722.
- [40] Chen J, Jiang Z, Wang B, et al. Vitamin K(3) and K(5) are inhibitors of tumor pyruvate kinase M2 [J]. Cancer Lett, 2012, 316(2): 204–210.
- [41] Chen G, Feng W, Zhang S, et al. Metformin inhibits gastric cancer via the inhibition of HIF1alpha/PKM2 signaling[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(4): 1423–1434.
- [42] Zhang C, Hu J, Sheng L, et al. Metformin delays AKT/c-Met-driven hepatocarcinogenesis by regulating signaling pathways for de novo lipogenesis and ATP generation[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 365: 51–60.
- [43] Dando I, Donadelli M, Costanzo C, et al. Cannabinoids inhibit energetic metabolism and induce AMPK-dependent autophagy in pancreatic cancer cells [J]. Cell Death Dis, 2013, 4: 664.
- [44] Masuo T, Okamura S, Zhang Y, et al. Cyclosporine A inhibits colorectal cancer proliferation probably by regulating expression levels of c-Myc, p21(WAF1/CIP1) and proliferating cell nuclear antigen [J]. Cancer Lett, 2009, 285(1): 66–72.
- [45] Liu J, Wu N, Ma L, et al. Oleanolic acid suppresses aerobic glycolysis in cancer cells by switching pyruvate kinase type M isoforms[J]. PLoS One, 2014, 9(3): 91606.