

·实验研究 Experimental research·

M2 型丙酮酸激酶同工酶表达对肝细胞癌化疗敏感性的影响

徐 强, 宋 杰, 许 敏, 安天志, 王黎洲, 李 兴, 周 石

【摘要】 目的 研究 M2 型丙酮酸激酶同工酶(PKM2)对肝癌细胞 HepG2 增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响,探讨 PKM2 表达对肝细胞癌(HCC)化疗敏感性的影响。**方法** 采用蛋白印迹和实时定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测正常肝细胞株 HL-7702 和肝癌细胞株 HepG2 中 PKM2 蛋白和 mRNA 表达。构建靶向 PKM2 基因重组质粒(PKM2-siRNA)和对照质粒(siRNA-NC),并转染至 HepG2 细胞中,蛋白印迹和 qRT-PCR 检测 PKM2 敲低情况。细胞克隆形成、Transwell 趋化和 TUNEL 法分析 PKM2 表达对细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响。不同浓度多柔比星(DOX)处理各组细胞后,CCK-8 和 TUNEL 法检测细胞活性和凋亡。**结果** HepG2 细胞株中 PKM2 蛋白和 mRNA 表达与 HL-7702 相比显著上调 [mRNA (1.01±0.01)%对(5.04±0.02)%,蛋白(1.34±0.04)%对(4.03±0.02)%, $P<0.05$]。PKM2 在 PKM2-siRNA 转染 HepG2 细胞中表达在转录和翻译水平显著降低,细胞克隆形成率、细胞侵袭数均低于空白转染组和转染 siRNA-NC 对照组,细胞凋亡率高于空白转染组和转染 siRNA-NC 对照组,DOX 半抑制浓度(IC₅₀)为 7.25 μg/mL,转染 siRNA-NC 对照组为 18.51 μg/mL。随着 DOX 给药浓度增加,细胞凋亡率显著增加。转染 PKM2-siRNA 细胞组凋亡数明显高于转染 siRNA-NC 对照组($P<0.05$)。**结论** PKM2 在人肝癌细胞株 HepG2 中高表达。敲低 PKM2 表达可抑制细胞增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡,增强对 DOX 化疗敏感性。PKM2 可能是 HCC 治疗的潜在靶点。

【关键词】 肝细胞癌; M2 型丙酮酸激酶同工酶; 化学敏感性; 有氧糖酵解; 细胞凋亡

中图分类号: 735.7 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2019)-09-0855-06

Effect of PKM2 expression on the chemosensitivity of hepatocellular carcinoma XU Qiang, SONG Jie, XU Min, AN Tianzhi, WANG Lizhou, LI Xing, ZHOU Shi. School of Medical Imaging, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

Corresponding author: ZHOU Shi, E-mail: 156722229@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of pyruvate kinase isozyme type M2(PKM2) on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of HepG2 cells, and to discuss the effect of PKM2 expression on chemosensitivity of hepatocellular carcinoma(HCC). **Methods** Western blotting(WB) and real-time quantitative polymerase chain reaction(RT-qPCR) were used to detect the expressions of PKM2 protein and mRNA in normal liver cell line HL-7702 and HepG2 cell line. Targeted PKM2 gene recombinant plasmid(PKM2-siRNA) and control plasmid (siRNA-NC) were constructed and transfected into HepG2 cells. WB and RT-qPCR were used to check the knockdown of PKM2. Cell clone formation assay, Transwell chemotaxis assay and TUNEL assay were used to analyze the effects of PKM2 expression on cell proliferation, migration, invasion and apoptosis. Cell viability and apoptosis were tested by CCK-8 assay and TUNEL assay after all groups of cells were treated with different concentrations of doxorubicin(DOX). **Results** The expression of PKM2 protein and mRNA in HepG2 cells was significantly up-regulated when compared with HL-7702 [mRNA (1.01±0.01)% versus (5.04±0.02)%; protein (1.34±0.04)% versus (4.03±0.02)%; $P<0.05$]. The

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.09.011

基金项目: 贵州省普通高等学校医学影像工程研究中心项目(黔教合 KY2016012)、贵州医科大学医学影像工程研究中心项目(2016001)

作者单位: 550004 贵阳 贵州医科大学影像学院

通信作者: 周 石 E-mail: 156722229@qq.com

expression of PKM2 in the HepG2 cells transfected with PKM2-siRNA was significantly decreased at the transcriptional and translational levels. The cell clone formation rate and cell invasion number were lower than those in the blank transfection group and in the control group transfected with siRNA-NC. The apoptotic rate was higher than that in the blank transfection group and in the control group transfected with siRNA-NC. The half-inhibitory concentration (IC_{50}) of DOX was 7.25 $\mu\text{g/mL}$, and the IC_{50} of the control group transfected with siRNA-NC was 18.51 $\mu\text{g/mL}$. With the concentration of DOX increasing, the apoptosis rate increased significantly. The number of apoptotic cells in transfected PKM2-siRNA cells group was significantly higher than that in the control group transfected with siRNA-NC ($P < 0.05$). **Conclusion** PKM2 is highly expressed in HepG2 cell line. Knockdown of PKM2 expression can inhibit cell proliferation, migration and invasion, which can also promote the apoptosis and enhance the chemosensitivity of HCC to DOX. PKM2 may be a potential target in treating HCC. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 855-860)

【Key words】 hepatocellular carcinoma; pyruvate kinase isozyme type M2; chemosensitivity; aerobic glycolysis; apoptosis

肝细胞癌(HCC)远期预后仍很差^[1],外科治愈性切除后 5 年生存率为 57%, 中位生存时间为 60 个月^[2]。因此需要深入研究筛选反映肿瘤生长和进展的可靠分子标记,了解其潜在分子机制,开发新的诊断生物标志物和有效治疗靶点。葡萄糖代谢异常促进生物合成和细胞增殖,是肿瘤发生的重要组成部分。丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)是催化糖酵解的最终和限速步骤酶,由 PKM 和 PKLR 基因编码,可在哺乳动物中产生 M1、M2、L、R 亚型,通常以酶的高活性四聚体形式存在。研究显示 M2 型丙酮酸激酶同工酶(pyruvate kinase isozyme type M2, PKM2)有助于维持有氧糖酵解^[3],各类癌症如神经胶质瘤、舌肿瘤、HCC 中均能检测到 PKM2 过表达^[4-7]。有研究发现 HCC 中 PKM2 表达上调^[8]。然而导致 HCC 中 PKM2 异常表达的潜在机制仍未知,PKM2 是否影响肝癌细胞迁移和侵袭,其表达对肝癌细胞化疗敏感性影响尚不清楚。本研究通过构建靶向 PKM2 基因重组质粒并转染细胞,研究 PKM2 表达对 HCC HepG2 细胞增殖、细胞凋亡和细胞迁移侵袭的影响,进一步分析 PKM2 表达对 HCC 化疗敏感性的影响及其相关机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料和主要试剂

人肝癌细胞株 HepG2 和人 HL-7702 肝细胞株购自中国科学院上海细胞研究院。主要试剂包括 Dulbecco 改良伊格尔培养基(DMEM)、胎牛血清(FBS)(美国 Gibco 公司)、二甲基亚砷(DMSO)(美国 Sigma 公司)、质粒抽提试剂盒(天根生化科技北京公司)、TRIzol 试剂、逆转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司)、

0.22 μm 聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(美国 Millipore 公司)、增强型化学发光(ECL)显色液(美国 Thermo Fisher 科技公司)、脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)试剂盒(上海碧云天生物技术公司)、四甲基乙二胺(TEMED)(日本 TaKaRa 公司)、十二烷基硫酸钠(SDS)(北京索莱宝科技公司)、Tris 缓冲 0.9%NaCl 溶液(TBST)(日本 TaKaRa 公司)、随机引物、脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)(美国 Promega 公司)、细胞计数试剂盒(CCK)-8(江苏凯基生物技术公司)、二辛可酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术公司)、PKM2 一抗(1:500,英国 Abcam 公司)、微管蛋白(tubulin)(1:500,北京全式金生物技术公司)、多柔比星(doxorubicin, DOX)(成都西亚试剂公司)。

1.2 细胞培养和转染

HepG2 和 HL-7702 细胞培养于含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的 DMEM 中,孵育于 37 $^{\circ}\text{C}$ 含 5% CO_2 培养箱。取对数生长期 HepG2 细胞接种于 6 孔板中,待细胞汇合度为 60% 后进行转染。PKM2-siRNA 靶 mRNA 序列为 AACCAGACCUGGAACAAUUC A。标准培养条件下采用 Lipofectamine TM 2000(美国 Invitrogen 公司)将 100 pM PKM2-siRNA 或对照核苷酸 PKM2-siRNA 转染至 HepG2 细胞,同时设置空白对照组(Mock 组),转染 48 h 后显微镜下观察转染情况,收获细胞用于后续实验。

1.3 蛋白印迹检测

转染 48 h 后收集各组细胞和上清液,预冷的放射免疫沉淀测定(RIPA)缓冲液分解细胞后提取蛋白质,12 000 g/min 离心 15~30 min,收集上清液;

Bradford 法检测相关蛋白浓度。蛋白质经 SDS-聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶电泳分离后,转移至 PVDF 膜上;将 PVDF 膜按蛋白印迹位置剪开,加入一抗 PKM2、tubulin,置于 4 ℃冰箱孵育过夜;缓冲液中摇动漂洗 3 次,置于含对应二抗(辣根过氧化物酶 HRP 标记羊抗兔/鼠 IgG 抗体)缓冲液中室温孵育 1 h 洗涤;置于 Super ECL Plus 超敏发光液中 2 min,置于凝胶成像仪中成像。采用 Image Lab 分析软件分析蛋白条带灰度值,以 β -tubulin 作为内参,计算相应目的蛋白条带灰度值。

1.4 实时定量聚合酶链反应检测

转染 48 h 后弃上清液,收获细胞并提取 RNA,加入 20~200 μ L 无核糖核酸酶(RNase)水使 RNA 溶解;采用分光光度计测量 RNA 浓度,分析吸光度(OD)260 与 OD280 比率和总 RNA 质量。琼脂糖凝胶电泳检测提取 RNA。RNA 逆转录为 cDNA:总体积 20 μ L,反应条件 37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,4 ℃ 保存。采用 PikoReal™ 实时聚合酶链反应(RT-PCR)检测系统(美国 Thermo Fisher 科技公司)、SYBR Premix Ex Taq II 试剂和实时定量 PCR(RT-qPCR)检测 PKM2 mRNA 表达(反应条件:95 ℃预变性 5 min,共 40 个循环变性在 95 ℃下进行 10 s,59 ℃退火 30 s,60 ℃退火 30 s)。产物经 1%琼脂糖凝胶电泳分析,Image-Pro Plus 图像分析系统计算 OD 值,以与 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)相对值记录结果。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析基因相对表达。计算公式: $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t(\text{实验组}) - \Delta C_t(\text{对照组})$ 。反应过程中实时荧光强度达到设定阈值时,Ct 参考扩增的循环数。引物序列(苏州金唯智生物科技公司合成):PKM2 上游 5'-AGAACTTGTGCGAGCCTCAA-3',下游 5'-GAG-CAGACCTGCCAGACTC-3';GAPDH 上游 5'-GGC-AAAGTTCAACGGCACAG-3',下游 5'-ACGCCAG-TAGACTCCACGAC-3'。

1.5 细胞迁移和侵袭实验

将 200 μ L RPMI-1640 培养基稀释的 5×10^5 个细胞接种在 24 孔 Transwell 板(美国 Corning 公司)中培养,插入 8.0 μ m 孔聚碳酸酯膜将孔分成上室和下室,下室填充 800 μ L 10%FBS-RPMI-1640。实验前 30 min,用 500 μ L 无血清 DMEM 将基底膜水合,孵育 48 h 后用棉签除去上室表面中非迁移细胞,将膜底侧迁移细胞用 4%多聚甲醛固定 10 min,三步染色试剂(美国 Richard-Allan Scientific 公司)染色;光学显微镜(日本 Olympus 公司)明场下计数膜底表面细胞迁移数;将含 10%FBS 培养基中细胞

接种至 6 孔板中,通过将细胞培养物培养至汇合使之静止,用含 0.5%血清新鲜培养基替换培养基 1 d;用无菌移液管尖端在单层中制造伤口,表皮细胞生长因子(EGF)(最终浓度 50 ng/mL)刺激细胞,PBS 洗涤细胞并用含 10%FBS 培养基更换,分别于 0、24 h 摄片。所有实验均作 3 个复孔。

1.6 CCK-8 检测细胞活性

96 孔培养皿中 HepG2 细胞每孔密度为 2×10^4 ,细胞黏附后用 Lipofectamine TM 2000 将 PKM2 siRNA 和对照 siRNA-NC 转染入 HepG2 细胞;转染 24 h 后向细胞中加入不同浓度梯度 DOX;转染 48 h 后每孔加入 10 μ L CCK-8,置于培养箱中孵育 2 h 后用酶标仪检测 450 nm 处 OD,根据 OD 值计算细胞抑制率和半抑制浓度(IC₅₀)。每个浓度作 6 个复孔。

1.7 TUNEL 法检测细胞凋亡

取对数生长期 HepG2 细胞,消化计数后以 2×10^5 个细胞接种于 6 孔培养板中进行细胞爬片,待细胞汇合度至 80%左右后将 siRNA-NC(对照组)和 PKM2-siRNA(敲低组)转染 HepG2 细胞;转染 24 h 后用不同浓度 DOX(0、2.5、5、7.5、10 μ g/mL)处理 48 h,显微镜下观察细胞凋亡情况(激发波长 488 nm,发射波长 530 nm,每张片至少观察 500 个细胞),计数每 100 个细胞中凋亡数,取平均值计算出凋亡指数。

1.8 数据分析

采用 Prism 6 统计学软件对实验数据进行计算和分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,t 检验作组间比较, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。柱状图通过 Graph Pad Prism 6.0 软件制作。

2 结果

2.1 HepG2 肝癌细胞中 PKM2 表达

与正常未分化肝细胞株 HL-7702 比较,蛋白印迹和 RT-qPCR 检测 HepG2 肝癌细胞中 PKM2 蛋白和 mRNA 表达显著上调(表 1)。

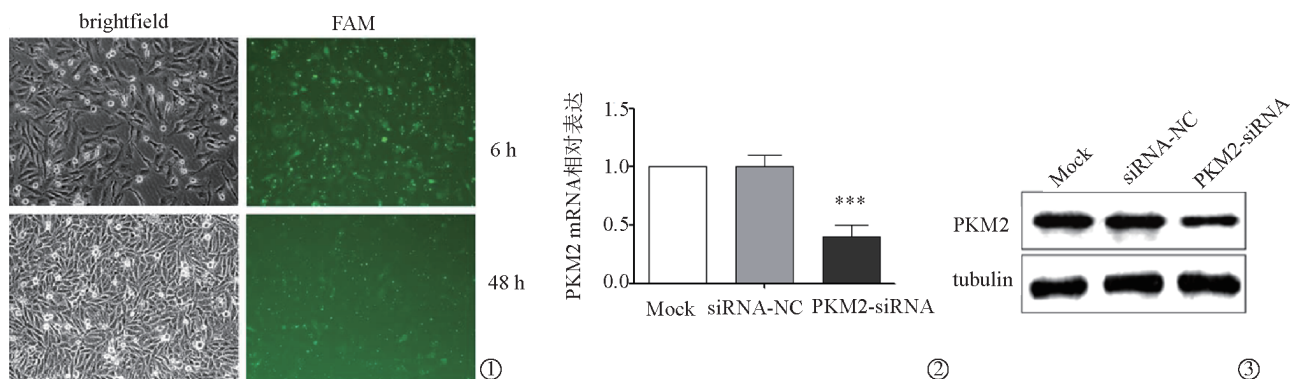
表 1 肝癌细胞株 HepG2 中 PKM2 表达 %

细胞株	mRNA	蛋白
HL-7702	1.01 \pm 0.01	1.34 \pm 0.04
HepG2	5.04 \pm 0.02*	4.03 \pm 0.02*

*与 HL-7702 组相比, $P < 0.05$

2.2 特异性 siRNA 敲低 PKM2 表达

转录和翻译水平 PKM2-siRNA 转染 HepG2 细胞中 PKM2 表达显著降低。与 Mock 组比较,转染 siRNA-NC 细胞对 PKM2 表达水平无显著影响(图 1)。



*** 与空白转染细胞相比, $P < 0.01$

①转染后 6 h 或 24 h 检测 HepG2 细胞中羧基荧光素(FAM)标记的 PKM2-siRNA; ②转染 24 h 后 RT-qPCR 检测各组 PKM2 mRNA 水平; ③转染 48 h 后蛋白印迹分析各组 PKM2 蛋白水平

图 1 特异性 siRNA 敲低 PKM2 表达

2.3 敲低 PKM2 对 HepG2 细胞增殖的影响

PKM2-siRNA 沉默 PKM2 表达检测显示, PKM2-siRNA 转染的 HepG2 细胞克隆形成率降低, PKM2-siRNA 转染细胞集落形成率为 $(8.5 \pm 3.6)\%$, 低于 Mock 组 $(14.9 \pm 1.6)\%$ 和 siRNA-NC 组 $(15.31 \pm 2.1)\%$ ($P < 0.05$), 表明 PKM2 表达能促进 HepG2 细胞增殖(图 2)

2.4 敲低 PKM2 对 HepG2 细胞迁移和侵袭的影响

转染 PKM2-siRNA 的 HepG2 细胞迁移数 (48.92 ± 5.87) 明显低于 Mock 组 (106.30 ± 6.93) 和 siRNA-NC 组 (108.10 ± 7.45) (P 均 < 0.05); 转染 PKM2-siRNA 的 HepG2 细胞侵袭数 (58.95 ± 3.12) 明显低于 Mock 组 (101.20 ± 2.57) 和 siRNA-NC 组 (98.60 ± 5.65) (P 均 < 0.05)(图 3)。敲低 PKM2 表达导致 HepG2 细胞迁移和侵袭显著抑制, 表明 PKM2 能促进 HepG2 细胞迁移侵袭。

2.5 敲低 PKM2 影响 HepG2 细胞对 DOX 敏感性

经 DOX 处理后, 转染 PKM2-siRNA 的 HepG2 细胞 IC₅₀ 值与转染 siRNA-NC 的对照组相比明显

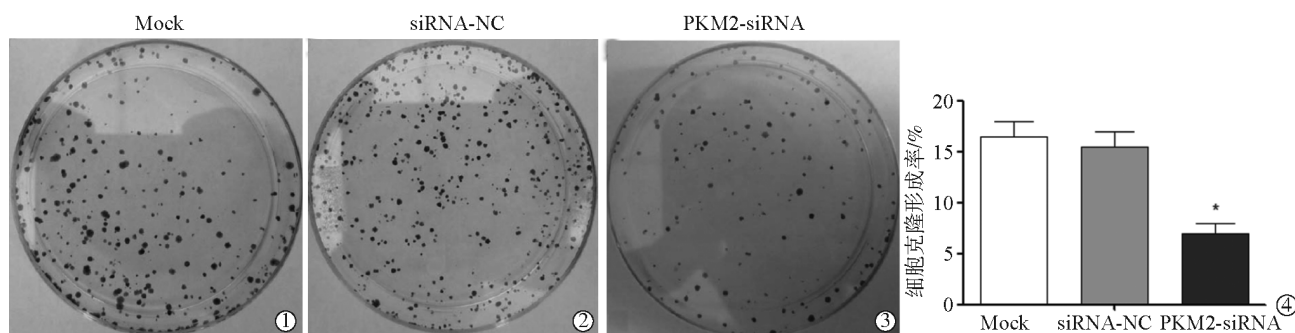
降低 $(7.25 \mu\text{g/mL}$ 对 $18.51 \mu\text{g/mL})$, 表明 PKM2 高表达的 HepG2 细胞可耐受更高浓度 DOX, 低表达的 PKM2 细胞对 DOX 治疗更敏感(图 4)。

2.6 敲低 PKM2 表达对 DOX 诱导细胞凋亡的影响

随着 DOX 给药浓度增加, 细胞凋亡率明显增加, PKM2-siRNA 转染细胞组凋亡细胞数明显比 siRNA-NC 增多 ($P < 0.05$)(图 5), 提示 PKM2 能抑制 DOX 诱导的细胞凋亡。

3 讨论

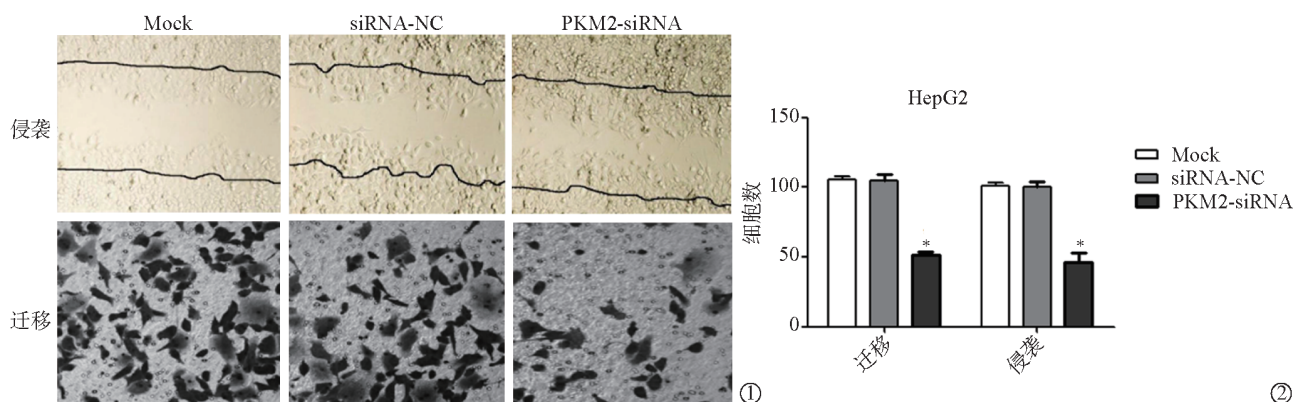
PKM2 在人类肺、乳腺、前列腺、血液、子宫颈、肾、膀胱、乳头状甲状腺癌和结肠等多种癌细胞中表达增加^[9-10]。由于 PKM2 能直接调控基因转录^[11], 其表达对癌细胞生长至关重要。研究显示体外和体内 PKM2 表达均能提供细胞增殖优势^[8]。Xu 等^[12]研究发现 miR-122 过表达可敲低 PKM2 表达水平, PKM2 低表达显著增加 HCC 细胞凋亡并减少 HCC 细胞迁移和侵袭, PKM2 重新表达后可部分消除 HCC 细胞生长停滞和凋亡。本研究通过 RT-qPCR



* 与空白转染的细胞和 siRNA 转染的细胞相比, $P < 0.05$

①空白转染的 HepG2 细胞; ②siRNA 转染的 HepG2 细胞; ③PKM2-siRNA 转染的 HepG2 细胞; ④各组克隆形成率

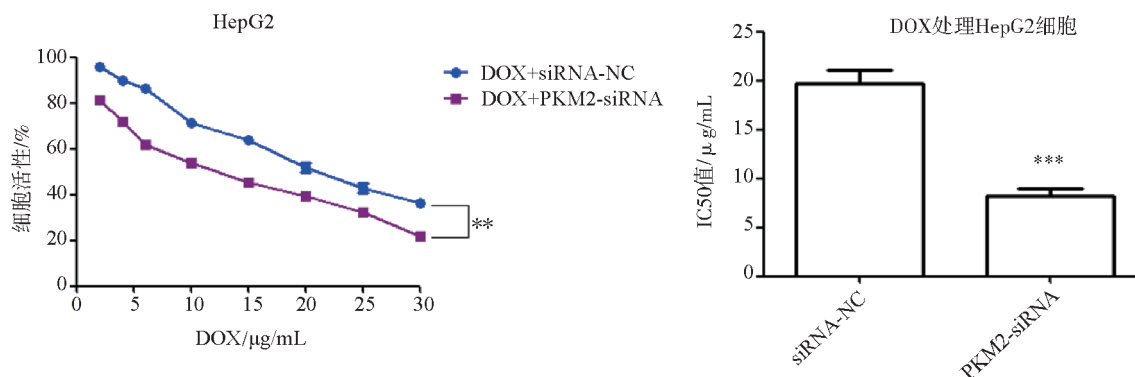
图 2 敲低 PKM2 对 HepG2 细胞克隆形成的影响



* 与空白转染的细胞和对照 siRNA 转染的细胞相比, $P < 0.05$

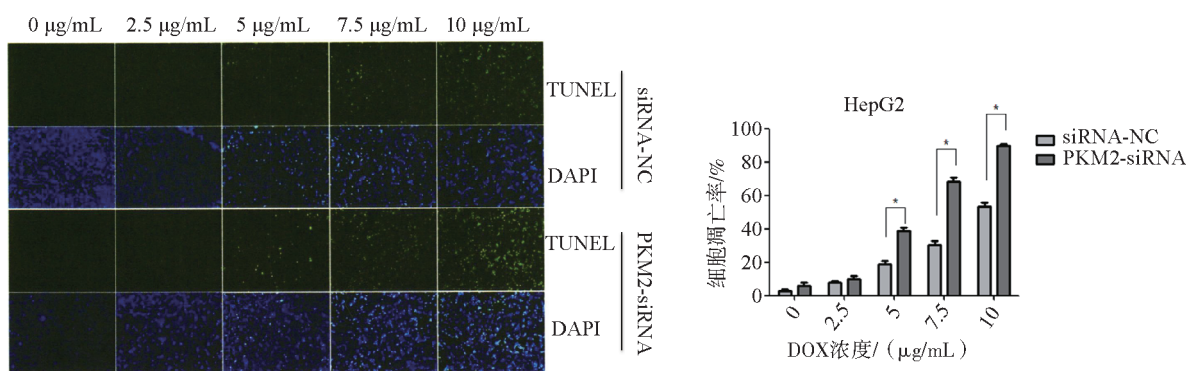
①各组转染的 HepG2 细胞迁移和侵袭; ②各组迁移和侵袭细胞数

图 3 敲低 PKM2 对 HepG2 细胞迁移和侵袭的影响



** 与 DOX+siRNA-NC 相比, $P < 0.05$; *** 与 siRNA-NC 相比, $P < 0.05$

图 4 敲低 PKM2 使 HepG2 细胞对 DOX 敏感性发生变化



* 与对照 siRNA 转染的细胞相比, $P < 0.05$

图 5 敲低 PKM2 表达对 DOX 诱导细胞凋亡的影响

和蛋白印迹检测显示 PKM2-siRNA 转染的 HepG2 细胞中 PKM2 mRNA 和蛋白表达与空白转染组和转染 siRNA 对照组相比均显著下调, 表明 PKM2-siRNA 能敲低 PKM2 表达; 转染 PKM2-siRNA 的 HepG2 细胞克隆形成率低于空白转染和对照 siRNA 转染组, 且转染 PKM2-siRNA 的 HepG2 细胞中迁移和侵袭细胞数少于其它组, PKM2-siRNA 转染组细胞凋亡率显著升高, 与之前研究结果一致。

本研究发现 HCC 细胞中 PKM2 为过表达, 且高表达的 PKM2 对 HepG2 肝癌细胞增殖、侵袭迁徙和凋亡均有不同程度影响。PKM2-siRNA 敲低 PKM2 表达, 可显著抑制 HepG2 肝癌细胞增殖、侵袭, 同时诱导细胞凋亡。然而关于以上 PKM2 生物学特性是否对肝癌化疗药物治疗中具有一定影响, 尚未可知。临床上肝癌治疗方法多种多样, 尤其是化疗或介入治疗时, 如果患者对化疗药物敏感性较差, 则

治疗效果大打折扣^[13]。DOX 是临床治疗各类恶性肿瘤常用的一线化疗药物,但长期应用后患者大多产生耐药性^[14],提高肿瘤细胞对 DOX 化疗药物敏感性是癌症治疗重要问题。

既往研究报道 PKM2 参与各种肿瘤细胞生长和耐药性。Li 等^[15]研究显示,PKM2 可显著增加卵巢癌细胞对顺铂的耐药作用。Shi 等^[16]研究发现,敲除 PKM2 后多烯紫杉醇可显著抑制肺腺癌细胞增殖作用,同时诱导细胞凋亡。PKM2 表达增加与结直肠癌细胞晚期和淋巴转移相关,这也促进了奥沙利铂耐药性^[17]。这些数据表明,PKM2 在肿瘤细胞中异常表达可能与癌细胞对化疗药物耐药性有关。本研究结果显示,与模拟转染和对照 siRNA 转染的细胞相比,HepG2 细胞中 PKM2 表达水平受到抑制时对 DOX 化学敏感性增加;PKM2 高表达的 HepG2 细胞可耐受更高浓度 DOX,低表达 PKM2 的 HepG2 细胞对 DOX 治疗更敏感,PKM2 低表达细胞组对 DOX 敏感性增加,表明 PKM2 表达抑制可能是增加 HCC 细胞对 DOX 敏感性的新策略。

本研究结论认为,PKM2 在人肝癌细胞株 HepG2 中为高表达,敲低 PKM2 表达能抑制 HepG2 细胞增殖、迁移、侵袭,促进细胞凋亡,增强其对 DOX 化疗敏感性,特异性靶向 PKM2 抑制剂可能是未来 HCC 治疗的新思路。

[参 考 文 献]

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65: 87-108.
- [2] El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med, 2011, 365: 1118-1127.
- [3] Luo W, Semenza GL. Pyruvate kinase M2 regulates glucose metabolism by functioning as a coactivator for hypoxia-inducible factor 1 in cancer cells[J]. Oncotarget, 2011, 2: 551-556.
- [4] 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: 397-409.
- [5] Liu WR, Tian MX, Yang LX, et al. PKM2 promotes metastasis by recruiting myeloid-derived suppressor cells and indicates poor prognosis for hepatocellular carcinoma[J]. Oncotarget, 2015, 6: 846-861.
- [6] Yang W, Xia Y, Ji H, et al. Nuclear PKM2 regulates β -catenin transactivation upon EGFR activation[J]. Nature, 2011, 480: 118-122.
- [7] Yuan C, Li Z, Wang Y, et al. Overexpression of metabolic markers PKM2 and LDH5 correlates with aggressive clinicopathological features and adverse patient prognosis in tongue cancer[J]. Histopathology, 2014, 65: 595-605.
- [8] Qiuran XU, Xin L, Xin Z, et al. PKM2 regulates Gli1 expression in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Lett, 2014, 8: 1973-1979.
- [9] Bluemlein K, Grüning NM, Feichtinger RG, et al. No evidence for a shift in pyruvate kinase PKM1 to PKM2 expression during tumorigenesis[J]. Oncotarget, 2011, 2: 393-400.
- [10] Feng C, Gao Y, Wang C, et al. Aberrant overexpression of pyruvate kinase M2 is associated with aggressive tumor features and the BRAF mutation in papillary thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98: E1524-E1533.
- [11] 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: 230-233.
- [12] Xu Q, Zhang M, Tu J, et al. MicroRNA -122 affects cell aggressiveness and apoptosis by targeting PKM2 in human hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2015, 34: 2054-2064.
- [13] 欧 东, 陈奕霖, 付斯瑜, 等. 三氧化二砷联合TACE 治疗中晚期原发性肝癌疗效的 meta 分析[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 523-529.
- [14] 张为家, 李 爽, 苏小岩, 等. β -catenin 介导乳腺癌细胞多柔比星耐药实验研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2018, 25: 232-237.
- [15] Li SL, Ye F, Cai WJ, et al. Quantitative proteome analysis of multidrug resistance in human ovarian cancer cell line[J]. J Cell Biochem, 2010, 109: 625-633.
- [16] Shi HS, Li D, Zhang J, et al. Silencing of pkm2 increases the efficacy of docetaxel in human lung cancer xenografts in mice[J]. Cancer Sci, 2010, 101: 1447-1453.
- [17] Gines A, Bystrup S, Ruiz de Porras V, et al. PKM2 subcellular localization is involved in oxaliplatin resistance acquisition in HT29 human colorectal cancer cell lines[J]. PLoS One, 2015, 10: e0123830.

(收稿日期:2018-10-17)

(本文编辑:边 皓)