

· 综 述 ·

恶性肿瘤有氧糖酵解关键酶研究进展

焦健华, 王 鹏, 李积彬, 黄启超

[摘要] 近年来恶性肿瘤发病率及病死率逐年上升,其早期预防、诊断和治疗已成为肿瘤临床及基础研究的热点领域。有氧糖酵解是恶性肿瘤最显著的特征之一,即在氧气充足条件下肿瘤细胞的能量供应仍主要依赖效率较低的糖酵解途径,并产生大量乳酸。这一现象于1920年被Otto Warburg发现并命名为“Warburg效应”,并已成功应用于恶性肿瘤的临床诊断。研究表明,恶性肿瘤中糖酵解关键酶表达异常与“Warburg效应”显著相关,并极具成为肿瘤诊断标志物及治疗靶点的潜能。因此,本文旨在总结恶性肿瘤细胞糖酵解过程中关键酶(己糖激酶、磷酸果糖激酶、丙酮酸脱氢酶、乳酸脱氢酶)的研究进展,进而深入理解其潜在的重要诊断、治疗价值。

[关键词] 恶性肿瘤;有氧糖酵解;关键酶;糖代谢重编程

[中图分类号] Q493.4; R34

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2013)06-0361-05

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2013.06.013

代谢是机体生命活动的基本特征。细胞生长、分裂、运动等多项生命活动都需要消耗大量能量,其绝大部分由三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)供应,而糖代谢是最主要的ATP生成途径。正常生理状态下,胞外葡萄糖可经葡萄糖转运体进入胞浆,通过己糖激酶(hexokinase, HK)等糖酵解酶分解代谢,生成丙酮酸,丙酮酸再进入线粒体转化为乙酰辅酶A,通过三羧酸循环后彻底氧化生成30分子或32分子的ATP,实现高效供能;而在缺氧条件下,糖酵解过程生成的丙酮酸无法进入线粒体,而主要被还原成乳酸,因此其产能效率较低。由于具有快速生长、分裂等特性,肿瘤细胞必须进行代谢重编程,即重新整合代谢体系以提供其快速生长之所需。早在1920年,德国生物学家Otto Warburg就发现肿瘤细胞即便在有氧条件下仍表现出活跃的葡萄糖摄取和糖酵解现象(“Warburg效应”),并因此获得1931年的诺贝尔医学奖^[1]。近年来,随着该领域研究的不断深入,人们几乎在所有肿瘤中都证实了“Warburg效应”的存在。2011年*Cell*杂志发表综述文章,将代谢异常改变归结为肿瘤细胞十大典型特征之一^[2]。

那么肿瘤细胞是如何从看似异常的代谢中获益的呢?研究表明:由于快速生长,肿瘤内部细胞常由于远离血管而处于缺氧状态,而活跃的糖酵解则可提高组织细胞对缺血、缺氧的耐受性,避免由氧化磷酸化被抑制而导致的细胞凋亡^[3];其次,肿瘤细胞

可以利用糖酵解的中间产物为合成代谢提供物质原料,如6-磷酸葡萄糖以及6-磷酸果糖可用于糖原及磷酸戊糖的合成、磷酸二羟丙酮可用于甘油及磷脂的合成^[3],而肿瘤中低活性的丙酮酸激酶2可使丙酮酸上游的磷酸代谢物在肿瘤细胞中累积,进而用于脂肪酸及核酸的合成^[3];再次,肿瘤细胞可通过上调磷酸戊糖途径将葡萄糖代谢为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)用于脂肪酸合成,满足肿瘤细胞快速增殖所需细胞膜合成的需要,同时NADPH也可抵抗肿瘤内高氧自由基环境引起的细胞凋亡^[4];另外,糖酵解产生高浓度乳酸而造成的酸性微环境可分解破坏细胞基质,促进肿瘤细胞的浸润与转移。最近Gatenby等^[5]观察到恶性肿瘤细胞产生的乳酸可调节树突状细胞活性,提示肿瘤源性的乳酸还会影响抗肿瘤T细胞的免疫应答。

造成肿瘤细胞糖酵解增强的主要原因与糖酵解酶的表达、活性增强有关。近年来,人们开始关注通过抑制肿瘤细胞糖酵解途径的方法来达到治疗肿瘤的目的。研究发现,抑制糖酵解过程具有抑制肿瘤细胞增殖和杀伤肿瘤细胞的作用。同时M2型丙酮酸激酶(pyruvate kinase subtype M2, PKM2)作为一种新的高敏感性肿瘤标志物,在恶性肿瘤的诊断、预后等方面显示出了很好的前景。因此,本文将从糖酵解过程中4个主要关键酶(HK、磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶、乳酸脱氢酶)的生化特征、恶性肿瘤细胞中的表达、功能异常改变及其在恶性肿瘤诊断和治疗方面的研究进展进行论述。

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81171966)

[作者单位] 710032 陕西 西安,第四军医大学学员旅2010级四队(焦健华,王 鹏),基础医学教学实验中心(李积彬,黄启超)

[通讯作者] 黄启超, E-mail: huangqichao1@163.com

1 HK

1.1 HK的生化特征 HK是糖酵解途径的第1个限速酶。该酶可催化葡萄糖产生葡萄糖-6-磷酸,后者不仅可通过氧化磷酸化作用或糖酵解作用生成ATP,也能通过磷酸戊糖途径参与核苷酸等重要物质的合成^[6]。HK包含4种亚型,即HK I、HK II、HK III、HK IV,且各亚型均具有一定的组织特异性^[7]。

1.2 HK在恶性肿瘤细胞中的异常改变及功能变化在几种亚型中, HK II在乳腺癌^[8]、恶性胸膜间皮瘤、骨髓瘤、结肠癌、胰腺癌及胶质母细胞瘤等多种恶性肿瘤中的表达均显著上调^[9-13]。Wolf等^[14]最近研究表明, HK II在人胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)有氧糖酵解过程中发挥重要作用,即正常大脑组织和低恶性GBM主要表达HK I,但高度恶性GBM主要表达HK II。另有研究证实,原微量表达HK II的肝癌细胞系SNU-449在转染外源HK II基因后增殖速率提高1.5~2.0倍^[15]。可见,大量HK II能促进肿瘤细胞进行高效率的糖酵解作用。

1.3 以HK II为靶点的肿瘤治疗 HK II维持肿瘤细胞高效率糖酵解,使肿瘤细胞快速增殖,提高了肿瘤细胞的侵袭能力。同时, HK II还通过自身生物学功能发挥耐抗肿瘤药物的功能。因此,以HK II为靶点治疗将有利于降低肿瘤细胞糖酵解速率,削弱恶性肿瘤细胞的抗凋亡和耐药能力以辅助治疗。以HK II为靶点的治疗主要包括以下3种方式。

1.3.1 使HK II与线粒体分离 HK II再结合在线粒体外膜后,能够上调糖酵解反应的速率且会产生抗凋亡作用。而克霉唑、白味唑和氯化锂能够促进B16黑色素瘤中HK II和线粒体的解离^[16-17],降低肿瘤细胞活性,抑制细胞增殖。此外,3-溴丙酮酸(3-Bromopyruvate, 3-BrPA)是一种强烷化剂,能通过降低HK II与线粒体的结合活性,从而抑制肿瘤细胞的快速生长^[18]。

1.3.2 抑制HK II活性 氯尼达明(lonidamine, LND)是一种HK II的活性抑制剂。相关研究揭示, LND对肿瘤细胞中高表达的HK II具有较强的抑制作用,该药不仅能通过抑制HK II表达有效抑制肿瘤细胞生长,还可杀伤对化疗药物不敏感的肿瘤细胞^[19-20]。

1.3.3 抑制HK II表达 RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术已广泛应用于抑制恶性肿瘤相关基因的表达。研究表明,小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)可显著抑制HeLa细胞HK II的表达,遏制肿瘤细胞高糖酵解作用。通过质粒稳定干涉人结肠癌LoVo细胞HK II的表达,可有效抑制结

肠癌LoVo细胞的体外增殖^[21]。

2 磷酸果糖激酶

2.1 磷酸果糖激酶的生化特征 磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK)是糖代谢过程的第2个限速酶,可催化6-磷酸果糖转化为1,6-二磷酸果糖。磷酸果糖激酶包括2个亚型——PFK-1和PFK-2,这2种酶可分别将葡萄糖催化为1,6-二磷酸果糖和2,6-二磷酸果糖并消耗1分子ATP。PFK-1在机体内以四聚体的形式存在,但不同器官中四聚体的组成存在差异。

2.2 PFK在恶性肿瘤细胞中的异常改变及功能变化 在正常细胞中, PFK-1受到高水平ATP、磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)和柠檬酸盐的抑制,同时受到磷酸腺苷、PFK-2等的激活。但在恶性肿瘤中,存在多种调节机制可使PFK表达量增加,如ras、c-src等原癌基因的活化可使PFK-2表达增强。PFK-2可催化6-磷酸果糖转变为1,6-二磷酸果糖,促使丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)四聚体化,转变为糖酵解酶复合物,促进糖酵解途径进行^[22-23];此外,缺氧环境可诱导肿瘤细胞低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)^[24]、HIF-1 β 表达量增加, HIF-1 α 、HIF-1 β 又可进一步上调PFK-1的表达。研究表明,野生型Hepal-6细胞的PFK表达量是HIF-1 β (c4)缺陷型Hepal-6细胞的PFK表达量的2倍^[25]。

2.3 以PFK为靶点的肿瘤学诊断和治疗 研究发现,克霉唑可直接抑制PFK的活性,改变6-磷酸果糖激酶-1的结构和其对底物的亲和性。但克霉唑在细胞、组织中的作用情况及其抑制糖代谢的机制尚不清楚,有待进一步研究^[16,26]。Israel等^[27]报道, TP53诱导的糖酵解和凋亡调控子(TP53-induced glycolysis and apoptosis regulator, TIGAR)可通过减少PFK-2的表达,抑制糖酵解。Martinez-Outschoorn等^[28]报道,高表达TIGAR的人乳腺癌细胞系MCF-7可对抗雌激素药产生耐药性。因此, TIGAR可能成为研究肿瘤耐药的关键环节,但深入的分子机制尚待进一步阐明。

3 PK

3.1 PK的生化特征 PK是糖代谢过程的第3个限速酶。该酶可通过特异性催化PEP不可逆转化为丙酮酸,并生成1分子ATP,这一过程对糖酵解速率的调节发挥着极为重要的作用。人类和哺乳动物的PK由2种结构基因(L基因和M基因)编码,包括4种同工酶,即L型、R型、M1型和M2型,且各

同工酶均具有一定的组织特异性。其中 PKM2 主要在肺组织^[29]、胚胎细胞和肿瘤细胞等^[30]核酸合成旺盛的细胞中表达,胎儿出生后 PKM2 逐渐被其他 3 种亚型所取代。因此,对 PK 在恶性肿瘤的相关研究主要集中于 PKM2。

3.2 PKM2 在恶性肿瘤细胞中的异常改变及功能变化 PKM2 通常以四聚体和二聚体 2 种形式存在^[31]。四聚体形式 PKM2 对底物磷酸烯醇式丙酮酸亲和力高,并可与其他糖酵解酶组成酶复合体,有效提高了糖酵解速率^[32]。而二聚体形式 PKM2 对磷酸烯醇式丙酮酸亲和力低,对于生理浓度的磷酸烯醇式丙酮酸几乎无催化活性。利用凝胶渗透色谱法分析的研究表明,在肺组织中 PKM2 主要以四聚体形式存在;但在肿瘤细胞中,该酶主要以二聚体形式存在,这一形式的 PKM2 被称为肿瘤型 PKM2^[27]。此外,四聚体形式 PKM2 比二聚体形式 PKM2 对 ATP 和鸟嘌呤三核苷酸磷酸 (guanosine triphosphate, GTP) 具有更强的亲和力。因此,正常细胞中高 ATP:ADP (adenosine diphosphate, 二磷酸腺苷) 和 GTP:GDP (guanosine diphosphate, 鸟嘌呤二核苷酸磷酸) 与四聚体形式 PKM2 相关,而肿瘤细胞中即低 ATP:ADP 和 GTP:GDP 与二聚体形式 PKM2 相关^[33]。对活性较高的四聚体形式 PKM2 能够促进糖酵解途径并产生能量,但当肿瘤细胞快速分裂需要合成大量大分子物质时,PK 活性会受到抑制,由四聚体形式转变为二聚体形式,并使碳源物质进入磷酸戊糖途径^[34]。

3.3 PKM2 的肿瘤学诊断 大量的可特异性识别二聚体形式 PKM2 的免疫组织化学实验证实,肿瘤型 PKM2 特异性存在于多种恶性肿瘤中且表达显著增加。进一步的研究表明,肿瘤型 PKM2 与癌胚抗原、黏蛋白癌抗原、癌抗原 125 (cancer antigen 125, CA125) 和 CA19-9 等肿瘤标志物联合使用,可提高对于恶性肿瘤诊断的敏感性和准确性^[35]。另一方面,肿瘤型 PKM2 可用于预后和复发风险的评估。Yoo 等^[36]研究表明,在 11 个胃癌细胞系中,胃癌细胞对顺铂耐药性的增强可能与 PKM2 表达量减少相关。综上所述,PKM2 在恶性肿瘤的诊断具有重要意义。

4 乳酸脱氢酶

4.1 乳酸脱氢酶的生化特征 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 是糖代谢过程的第 4 个限速酶。丙酮酸和 1 分子还原型烟酰胺嘌呤二核苷酸在 LDH 的催化下可逆地转化为乳酸。该酶使丙酮酸和还原型烟酰胺嘌呤二核苷酸得以循环利用,对促

进恶性肿瘤细胞高效糖酵解发挥着关键作用。LDH 的相对分子质量为 $(135\sim 140)\times 10^3$, 由 2 种亚单位 H 和 M 组成。它们按照不同的排列组合形成含有 4 种亚基的 5 种同工酶,即 LDH1、LDH2、LDH3、LDH4、LDH5,且各亚型均具有一定的组织特异性。

4.2 LDH 在恶性肿瘤细胞中的异常改变及功能变化 当氧气含量不足时,恶性肿瘤细胞中丙酮酸可在 LDH 的催化下生成乳酸并产生 1 分子氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,并将乳酸转运至细胞外,上述过程有利于提高恶性肿瘤细胞的糖酵解速率。此外,乳酸的产生和排出还导致肿瘤酸性微环境的形成,这种酸性环境与肿瘤转移及肿瘤患者预后显著相关^[37]。另一方面,与通常意义上的糖酵解不同,肿瘤中乳酸并不是代谢终产物。肿瘤组织可按氧气多少分为氧气充足区和缺氧区,缺氧区细胞可产生并排出乳酸;而氧气充足区细胞便可通过单羧酸转运蛋白-1 摄取乳酸,并将其转化为丙酮酸进入线粒体氧化磷酸化途径^[38-39]。

4.3 以 LDH 为靶点的肿瘤诊断与治疗 研究表明,血浆 LDH 含量可作为肿瘤组织缺氧、新生血管发生、不良预后的标志物。Scartozzi 等^[40]通过分析肝细胞癌患者血液中 LDH 水平和该患者导管动脉化疗栓塞效果之间的相关性的研究发现,化疗前 LDH 水平高的患者更适合进行经导管动脉内化疗栓塞。Nieder 等^[41]也报道,LDH 水平较低的肿瘤脑部转移患者在接受化疗后具有较好的预后,但在以 LDH 为靶点的治疗方面尚无十分有效的药物。但 Le 等^[42]通过 RNAi 技术对 P493 淋巴瘤细胞系的 LDH 基因进行了干涉,发现 LDH 表达下调可导致肿瘤细胞的死亡,但相关分子机制尚待进一步阐明。

5 展望

目前,恶性肿瘤糖代谢关键酶的相关研究已经取得可喜进展(表 1)。一方面,3-BrPA、LND 和克霉唑等可对特定的关键酶进行抑制以遏制肿瘤生长,有望进入临床试验阶段;另一方面,通过 RNAi 技术干扰糖酵解关键酶,如 HK、LDH 的表达,将成为靶向治疗的新方向^[43-45]。但目前以关键酶为靶点的相关药物的作用机制、不良反应尚不清楚,仍有待进一步研究。综上所述,糖酵解关键酶有望成为癌症诊断和治疗的新靶点。筛选和确定肿瘤细胞特异性表达的糖酵解关键酶亚型,并针对这些特异性的通路进行单靶点及多靶点的联合治疗,将是未来肿瘤治疗的新方向。

表1 恶性肿瘤糖酵解途径已有靶点及药物总结

关键酶	药物(示例)	作用
己糖激酶	克霉唑 ^[46] 、白呋唑 ^[17] 、氯化锂 ^[47] 3-BrPA、LND ^[19-20]	使HK II与线粒体分离, 抑制HK活性
磷酸果糖激酶	siRNA ^[48] 克霉唑 ^[26]	抑制基因表达 抑制PFK活性
丙酮酸激酶	生长激素抑制素及其衍生物 ^[49]	在凋亡信号的诱导下将 PKM2转移至细胞核
乳酸脱氢酶	siRNA ^[42]	抑制基因表达

【参考文献】

- [1] Warburg O. On respiratory impairment in cancer cells [J]. *Science*, 1956, 124(3215):269-270.
- [2] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer; the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.
- [3] Kroemer G, Poussegur J. Tumor cell metabolism; cancer's Achilles' heel [J]. *Cancer Cell*, 2008, 13(6):472-482.
- [4] Pizer ES, Wood FD, Heine HS, et al. Inhibition of fatty acid synthesis delays disease progression in a xenograft model of ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(6):1189-1193.
- [5] Gatenby RA, Gawlinski ET, Gmitro AF, et al. Acid-mediated tumor invasion; a multidisciplinary study [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(10):5216-5223.
- [6] Pedersen PL. The cancer cell's "power plants" as promising therapeutic targets; an overview [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2007, 39(1):1-12.
- [7] Wilson JE. Isozymes of mammalian hexokinase; structure, subcellular localization and metabolic function [J]. *J Exp Biol*, 2003, 206(Pt 12):2049-2057.
- [8] Jiang S, Zhang LF, Zhang HW, et al. A novel miR-155/miR-143 cascade controls glycolysis by regulating hexokinase 2 in breast cancer cells [J]. *EMBO J*, 2012, 31(8):1985-1998.
- [9] Kaira K, Serizawa M, Koh Y, et al. Relationship between 18F-FDG uptake on positron emission tomography and molecular biology in malignant pleural mesothelioma [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(8):1244-1254.
- [10] Nakano A, Miki H, Nakamura S, et al. Up-regulation of hexokinase II in myeloma cells; targeting myeloma cells with 3-bromopyruvate [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2012, 44(1):31-38.
- [11] Izuishi K, Yamamoto Y, Sano T, et al. Molecular mechanism underlying the detection of colorectal cancer by 18F-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography [J]. *J Gastrointest Surg*, 2012, 16(2):394-400.
- [12] Natsuzaka M, Ozasa M, Darmanin S, et al. Synergistic up-regulation of Hexokinase-2, glucose transporters and angiogenic factors in pancreatic cancer cells by glucose deprivation and hypoxia [J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(15):3337-3348.
- [13] Wolf A, Agnihotri S, Munoz D, et al. Developmental profile and regulation of the glycolytic enzyme hexokinase 2 in normal brain and glioblastoma multiforme [J]. *Neurobiol Dis*, 2011, 44(1):84-91.
- [14] Wolf A, Agnihotri S, Micallef J, et al. Hexokinase 2 is a key mediator of aerobic glycolysis and promotes tumor growth in human glioblastoma multiforme [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(2):313-326.
- [15] Ahn KJ, Hwang HS, Park JH, et al. Evaluation of the role of hexokinase type II in cellular proliferation and apoptosis using human hepatocellular carcinoma cell lines [J]. *J Nucl Med*, 2009, 50(9):1525-1532.
- [16] Furtado CM, Marcondes MC, Sola-Penna M, et al. Clotrimazole preferentially inhibits human breast cancer cell proliferation, viability and glycolysis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e30462.
- [17] Penso J, Beitner R. Clotrimazole and bifonazole detach hexokinase from mitochondria of melanoma cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 1998, 342(1):113-117.
- [18] Chen Z, Zhang H, Lu W, et al. Role of mitochondria-associated hexokinase II in cancer cell death induced by 3-bromopyruvate [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(5):553-560.
- [19] Xu RH, Pelicano H, Zhou Y, et al. Inhibition of glycolysis in cancer cells; a novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(2):613-621.
- [20] Wang F, Ogasawara MA, Huang P. Small mitochondria-targeting molecules as anti-cancer agents [J]. *Mol Aspects Med*, 2010, 31(1):75-92.
- [21] Peng Q, Zhou Q, Zhou J, et al. Stable RNA interference of hexokinase II gene inhibits human colon cancer LoVo cell growth in vitro and in vivo [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(7):1128-1135.
- [22] Yalcin A, Telang S, Clem B, et al. Regulation of glucose metabolism by 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatases in cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2009, 86(3):174-179.
- [23] Moreno-Sánchez R, Marín-Hernández A, Gallardo-Pérez JC, et al. Phosphofructokinase type I kinetics, isoform expression, and gene polymorphisms in cancer cells [J]. *J Cell Biochem*, 2012, 113(5):1692-1703.
- [24] Minchenko O, Opentanova I, Minchenko D, et al. Hypoxia induces transcription of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase-4 gene via hypoxia-inducible factor-1alpha activation [J]. *FEBS Lett*, 2004, 576(1/2):14-20.

- [25] Golinska M, Troy H, Chung YL, et al. Adaptation to HIF-1 deficiency by upregulation of the AMP/ATP ratio and phosphofructokinase activation in hepatomas [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:198.
- [26] Coelho RG, Calaça Ide C, Celestrini Dde M, et al. Clotrimazole disrupts glycolysis in human breast cancer without affecting non-tumoral tissues [J]. *Mol Genet Metab*, 2011, 103(4):394-398.
- [27] Israël M, Schwartz L. The metabolic advantage of tumor cells [J]. *Mol Cancer*, 2011, 10:70.
- [28] Martinez-Outschoorn UE, Goldberg A, Lin Z, et al. Anti-estrogen resistance in breast cancer is induced by the tumor microenvironment and can be overcome by inhibiting mitochondrial function in epithelial cancer cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 12(10):924-938.
- [29] Acebo P, Giner D, Calvo P, et al. Cancer abolishes the tissue type-specific differences in the phenotype of energetic metabolism [J]. *Transl Oncol*, 2009, 2(3):138-145.
- [30] Mazurek S, Boschek CB, Hugo F, et al. Pyruvate kinase type M2 and its role in tumor growth and spreading [J]. *Semin Cancer Biol*, 2005, 15(4):300-308.
- [31] 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.
- [32] Karp RL, Pérez Millán M, Dasgupta T, et al. Complex-linear invariants of biochemical networks [J]. *J Theor Biol*, 2012, 311:130-138.
- [33] Kumar Y, Mazurek S, Yang S, et al. In vivo factors influencing tumour M2-pyruvate kinase level in human pancreatic cancer cell lines [J]. *Tumour Biol*, 2010, 31(2):69-77.
- [34] Spoden GA, Mazurek S, Morandell D, et al. Isotype-specific inhibitors of the glycolytic key regulator pyruvate kinase subtype M2 moderately decelerate tumor cell proliferation [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(2):312-321.
- [35] Staib P, Hoffmann M, Schinköthe T. Plasma levels of tumor M2-pyruvate kinase should not be used as a tumor marker for hematological malignancies and solid tumors [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44(1):28-31.
- [36] Yoo BC, Ku JL, Hong SH, et al. Decreased pyruvate kinase M2 activity linked to cisplatin resistance in human gastric carcinoma cell lines [J]. *Int J Cancer*, 2004, 108(4):532-539.
- [37] Chiche J, Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J. Tumour hypoxia induces a metabolic shift causing acidosis: a common feature in cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(4):771-794.
- [38] Kennedy KM, Dewhirst MW. Tumor metabolism of lactate: the influence and therapeutic potential for MCT and CD147 regulation [J]. *Future Oncol*, 2010, 6(1):127-148.
- [39] Sonveaux P, Végran F, Schroeder T, et al. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(12):3930-3942.
- [40] Scartozzi M, Faloppi L, Bianconi M, et al. The role of LDH serum levels in predicting global outcome in HCC patients undergoing TACE: implications for clinical management [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e32653.
- [41] Nieder C, Marienhagen K, Dalhaug A, et al. Towards improved prognostic scores predicting survival in patients with brain metastases: pilot study of serum lactate dehydrogenase levels [J]. *ScientificWorldJournal*, 2012, 2012:609323.
- [42] Le A, Cooper CR, Gouw AM, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(5):2037-2042.
- [43] Bora RS, Gupta D, Mukkur TK, et al. RNA interference therapeutics for cancer: challenges and opportunities (review) [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(1):9-15.
- [44] Wang Z, Rao DD, Senzer N, et al. RNA interference and cancer therapy [J]. *Pharm Res*, 2011, 28(12):2983-2995.
- [45] Atsumi T, Chesney J, Metz C, et al. High expression of inducible 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase (iPFK-2; PFKFB3) in human cancers [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(20):5881-5887.
- [46] Furtado CM, Marcondes MC, Sola-Penna M, et al. Clotrimazole preferentially inhibits human breast cancer cell proliferation, viability and glycolysis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2):e30462.
- [47] Fu Y, Zheng S, Huang R, et al. A potential strategy for high-grade gliomas: combination treatment with lithium chloride and BmK CT [J]. *Biotechnol Lett*, 2012, 34(1):9-17.
- [48] Kim JE, Ahn BC, Hwang MH, et al. Combined RNA interference of hexokinase II and (131)I-sodium iodide symporter gene therapy for anaplastic thyroid carcinoma [J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(11):1756-1763.
- [49] Toulis KA, Goulis DG, Msaouel P, et al. Dexamethasone plus somatostatin-analog manipulation as bone metastasis microenvironment-targeting therapy for the treatment of castration-resistant prostate cancer: a meta-analysis of uncontrolled studies [J]. *Anticancer Res*, 2012, 32(8):3283-3289.