

丙酮酸脱氢酶与肿瘤

李亚青, 樊慧杰, 张明智, 钟亚莉, 李小丽, 索振河

Pyruvate Dehydrogenase and Tumor

LI Yaqing, FAN Huijie, ZHANG Mingzhi, ZHONG Yali, LI Xiaoli, SUO Zhenhe

Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Corresponding Author: SUO Zhenhe, E-mail: zhenhesuo@aliyun.com

Abstract: Pyruvate dehydrogenase is a key enzyme which transforms pyruvate into acetyl-coenzyme A (acetyl-CoA) by pyruvate decarboxylation. Acetyl coenzyme A is the primary raw material for aerobic oxidation of glucose into the Krebs cycle. The activity of pyruvate dehydrogenase can be negatively regulated by pyruvate dehydrogenase kinase. The overall expression of pyruvate dehydrogenase kinase is increased in tumor cells, which results in the decreasing activity of pyruvate dehydrogenase with an increased glycolysis for energy even in the presence of oxygen. The increased glycolytic activity of malignant tumor cells can promote cell proliferation and inhibit apoptosis. The glycolytic microenvironment protects tumor cells from host immune system and chemotherapy resistance, and promotes tumor cells invasion and metastasis. Embryonic and adult stem cells rely on glycolysis for energy. Thus, the activity of pyruvate dehydrogenase plays an important role in regulation of cancer cell stemness.

Key words: Pyruvate dehydrogenase; Glycolysis; Tumor; Pyruvate; Krebs cycle

摘要: 丙酮酸脱氢酶是丙酮酸生成乙酰辅酶A的关键酶, 而乙酰辅酶A是葡萄糖进入三羧酸循环有氧化化的首要原料。丙酮酸脱氢酶激酶可以抑制丙酮酸脱氢酶的活性。肿瘤细胞的总体丙酮酸脱氢酶激酶表达增加, 造成丙酮酸脱氢酶活性降低, 导致肿瘤细胞主要通过糖酵解的方式获取能量。恶性肿瘤糖酵解活跃能促进细胞增殖和抑制细胞凋亡, 而形成肿瘤细胞糖酵解的微环境可保护肿瘤细胞逃避宿主免疫杀伤并减轻化疗药物损伤, 还有利于肿瘤细胞的侵袭和转移。因此, 丙酮酸脱氢酶在肿瘤的发生发展过程中起作用。事实上胚胎干细胞以及成体干细胞也主要是以糖酵解的方式获取能量。由此推断, 丙酮酸脱氢酶的活性可能与肿瘤细胞的干性相关。

关键词: 丙酮酸脱氢酶; 糖酵解; 肿瘤; 丙酮酸; 三羧酸循环

中图分类号: R730.2 **文献标识码:** A

0 引言

正常细胞的能量代谢特点是使用葡萄糖在线粒体内进行氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS), 这种代谢方式既经济, 效率也高。肿瘤细胞能量代谢的特点表现在活跃地摄取葡萄糖, 进行有氧糖酵解(aerobic glycolysis)。这种看上去很不经济的能量供给方式对肿瘤细胞却是必需的, 它既为肿瘤细胞的不断生长提供能量, 也为它们提供了生物合成的原料。肿瘤细胞这种能量代谢方式早在20世纪20年代就被德国科学家Otto Warburg观察到, 故又称

Warburg效应^[1]。有氧糖酵解是恶性肿瘤细胞独特的能量代谢特点, 葡萄糖的摄取和糖酵解处于增高状态是肿瘤细胞的生物学特征之一。肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs或tumor stem cells, TSCs)是肿瘤组织中少量的致瘤能力强、有自我更新和分化潜能的细胞, 是近年来肿瘤学研究的热点之一。研究表明, 低氧的微环境与肿瘤细胞的干性维持密切相关^[2-4], 而低氧也可以迫使细胞进行糖酵解, 由此推测, 糖酵解可能是肿瘤细胞维持其干性特性的重要途径。而丙酮酸脱氢酶作为细胞进入三羧酸循环的关键限速酶, 在调节糖酵解和糖氧化磷酸化中起重要作用, 因此丙酮酸脱氢酶的活性可能与肿瘤细胞的干性维持相关。

1 丙酮酸脱氢酶基因结构、染色体定位和复合体丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH),

收稿日期: 2013-07-11; 修回日期: 2013-11-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81272824)

作者单位: 450052 郑州, 郑州大学第一附属医院肿瘤科

通信作者: 索振河, E-mail: zhenhesuo@aliyun.com

作者简介: 李亚青(1987-), 女, 博士在读, 医师, 主要从事肿瘤干细胞研究

是由丙酮酸脱氢酶 E1 α 亚单位 (PDHA1) 和E1 β 亚单位 (PDHB) 基因编码的 α 和 β 亚基组成的结合硫胺素焦磷酸盐 (TPP) 的异四聚体^[5]。Koike等^[6]首先克隆和测序了编码人类PDHE1 α 和E1 β 亚单位的cDNA序列。PDHA1的基因组DNA全长15.92kB, 含有11个外显子, 位于X染色体短臂上 (Xp22.1~22.2)。其中含有保守的硫辛酸焦磷酸盐结合区, 位于外显子6的编码195氨基酸残基和外显子7的编码255氨基酸残基之间。此外, 在4号染色体上有一段与PDHA1同源的无内含子的序列, 主要在睾丸组织表达。PDHB基因位于3p13~q23, 全长1.5kB, 含有10个外显子。

丙酮酸脱氢酶复合体 (pyruvate dehydrogenase complex, PDHc) 是定位在线粒体中的多酶复合物, PDHc包含3个催化酶和2个调节酶, 以及3个辅因子和1个结合蛋白。催化酶分别是丙酮酸脱氢酶 (E1)、二氢硫辛酰胺转乙酰酶E2和二氢硫辛酰胺脱氢酶E3。E3不是PDHc特定的, 但是被其他两个丙酮酸脱氢酶复合物组份共享, 从而E3活性不足通常有超越预期分离的丙酮酸脱氢酶复合体缺乏的后果。丙酮酸脱氢酶复合体的所有蛋白均是核编码的。

高等生物中丙酮酸脱氢酶复合体的快速调节主要是由PDH激酶 (pyruvate dehydrogenase kinase, PDK) 和磷酸酶 (pyruvate dehydrogenase phosphatase, PDP) 介导E1 α 亚基可逆性磷酸化实现的, 丙酮酸脱氢酶E1 α 亚基存在三个磷酸化位点。而细菌的PDHc活性主要是通过别构效应来调节, PDHc缺陷导致代谢障碍, 组织受损^[7]。

2 丙酮酸脱氢酶的功能

PDHc是一组限速酶, 催化丙酮酸不可逆氧化脱羧转化成乙酰辅酶A (Acetyl CoA), 同时将NAD⁺还原为NADH, 使糖的有氧氧化与三羧酸循环和氧化磷酸化连接起来, 在细胞线粒体呼吸链能量代谢中起着重要的作用。丙酮酸脱氢酶复合体广泛存在于微生物、哺乳动物及高等植物中, 该复合体在有线粒体的任何生物细胞中的能量产出方面都非常重要, PDHc缺陷将导致一系列复杂的病理生理变化。

PDHc缺陷是导致线粒体能量代谢障碍最常见的原因之一, 同时也是儿童乳酸酸中毒和早发性退行性神经变性病的最常见病因。脑内乙酰辅酶A几乎都来源于丙酮酸, 所以PDHc的缺乏常导致多种神经系统损害, 如大脑发育不全、Leigh's脑病

和间歇性共济失调^[8]。Brown等^[9]首先在2个患者中发现E1 β 亚单位缺乏。该基因缺陷的临床表现相对轻微, 主要表现为乳酸酸中毒和肌张力低下。

虽然PDHc缺乏的临床表现谱很广, 主要的临床表现包括神经系统及神经肌肉退行性变性, 神经影像学表现为结构病变, 生化方面的异常主要为乳酸性酸中毒和血乳酸丙酮酸比值 ≤ 2.0 。

3 肿瘤组织中丙酮酸脱氢酶的作用

瓦伯格效应是肿瘤细胞能量代谢的一个特征, 形成了肿瘤细胞依赖细胞质糖酵解生成ATP代替了线粒体氧化磷酸化的作用。虽然糖酵解是一种产能效率较低的过程, 但对于肿瘤细胞来说却是一个有益的权衡, 可能是肿瘤细胞对化疗和放射治疗抵抗的基础; 同时使肿瘤细胞突变率增加, 从而使肿瘤细胞的侵袭和转移能力也增强^[10]。

肿瘤细胞偏向于糖酵解获取能量, 部分是由于肿瘤细胞中PDK活性上调而抑制了PDH的活性。研究显示通过二氯乙酸 (DCA) 靶向抑制PDK促进了肿瘤细胞的代谢形式由糖酵解转化为氧化磷酸化并且抑制了肿瘤的生长。这一发现显示PDK/PDH轴可能对肿瘤细胞的代谢生长起一定的作用^[11]。另一研究显示与癌旁组织相比, PDK3在结肠癌组织中的表达极大的增加, 且PDK3的表达与缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 的表达呈正相关, 其表达水平的高低与肿瘤的严重性和无疾病进展生存具有相关性。同时体外研究发现, 结肠癌细胞系PDK3的表达是由HIF-1 α 控制且对缺氧诱导细胞耐药起到一定作用, 这也解释了为什么PDK3过表达的患者容易出现治疗失败。而下调PDK3的表达减低了细胞在缺氧条件下的生存率并且减弱了缺氧诱导的乳酸产生和药物耐药^[12]。这均说明了在肿瘤组织及细胞中丙酮酸脱氢酶激酶活性增高或降低与肿瘤的恶性表型具有一定的相关性。另一项研究也提示缺氧调节的PDK3的过表达极大抑制了细胞的凋亡并增加了对顺铂或紫杉醇的耐药。而敲除PDK3抑制了缺氧诱导的糖酵解且增加了肿瘤细胞对顺铂、紫杉醇、奥沙利铂等抗癌药物的敏感度^[13]。这些结果显示PDK3或PDH与缺氧诱导的药物耐药相关并且可能是一个潜在的新的提高化疗疗效和克服药物耐药的靶点。

有氧糖酵解与肿瘤的恶性表型及较差临床预后的相关性国内外文献已有不少报道, 但它们之间的机制联系却鲜有报道。缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factors, HIFs) 被认为在调

节肿瘤细胞的糖代谢转换中起一定作用。McFate等^[14]发现在头颈部鳞癌中,使用shRNA下调PDK-1,恢复PDHc的活性,能够减低肿瘤的生长和侵袭能力,同时HIF-1 α 的表达也降低。PDK-1可能是HIF-1 α 的调节蛋白,HIF-1 α 与肿瘤细胞的干性程度具有一定相关性^[15-16],因此我们推断丙酮酸脱氢酶缺乏或活性降低可能与肿瘤的恶性表型及干性程度相关。Zhao等^[17]同样研究了HIF-1 α 与PDK及PDH之间的相互关系。该研究显示缺氧通过上调HIF-1 α 诱导了PDK3的表达,从而促进了代谢从线粒体氧化呼吸向糖酵解的方式转变。而PDK作为PDHc活性的主要调节者,间接表明了PDH与HIF-1 α 和肿瘤干细胞可能具有潜在的相关性。

肿瘤组织中PDK-1的过表达引起了代谢由有氧氧化向糖酵解的转换,而对于正常高表达PDK的组织,却未出现这种代谢的转换^[18]。

综上所述表明高水平或者低水平的丙酮酸脱氢酶可能是细胞通过加强糖酵解维持其干细胞特性的重要途径。其机制可能在于其大量糖酵解产生的中间代谢产物的特殊调控功能。

4 丙酮酸脱氢酶与其他疾病

丙酮酸脱氢酶缺乏症是儿童乳酸酸中毒和早发性、退行性神经变性病的最常见病症^[19-20]。它是由于先天的PDHc中E1、E2和E3的基因突变所造成的糖代谢阻碍,导致机体内丙酮酸大量积累,被乳酸脱氢酶催化转化为大量的乳酸,从而引起乳酸中毒,主要表现为乳酸酸中毒和脑发育不全,严重时甚至出现新生儿期死亡。

丙酮酸脱氢酶复合体是一个年龄相关疾病的治疗靶点。这些年龄相关的疾病包括肌肉减少症、葡萄糖不耐症、神经退行性疾病和癌症^[21]。通过抑制PDK激活PDHc已经成为了一个有效的避免心肌疾病的治疗靶点,尤其是在心脏手术和局部缺血时。另外,糖尿病及肥胖患者的PDHc活性降低,葡萄糖有氧氧化也下降。丙酮酸脱氢酶缺乏引起了脑、心肌、骨骼肌和其他组织的分化功能障碍。PDHc严重缺乏时在胚胎期影响了脑的发育导致了大脑的结构发育异常和癫痫症;中等缺乏时引起了认知障碍、共济失调和轻度的癫痫发作^[19]。另外一项最新的通过代谢谱检测和功能干预的研究,确定了PDH在癌基因BRAF V600E诱导的细胞衰老中起关键作用。BRAF V600E诱导的衰老同时伴随着PDK1的抑制和丙酮酸脱氢酶磷酸酶2(PDP2)的诱导激活,而通过激活PDK1或

失活PDP2抑制了PDH并清除了OIS,因此沉默了BRAF V600E驱动黑色素瘤的发展。这些结果揭示了OIS与一个关键的代谢信号途径PDK1-PDP2-PDH机制联系,可以作为治疗的靶点^[22]。因此我们假设:丙酮酸脱氢酶活性增加,葡萄糖进入三羧酸循环进行有氧氧化的程度提高,细胞得以正常的分化;而丙酮酸脱氢酶的活性降低,细胞的干性维持较高,细胞难以分化,形成相关的组织/器官的功能障碍。

5 抑制丙酮酸脱氢酶的途径

5.1 化学抑制剂

4个丙酮酸脱氢酶激酶的异构体和2个丙酮酸磷酸化酶异构体控制了PDHc的活性状态。两者联合作用的磷酸化-去磷酸化循环决定了激活的、非磷酸化丙酮酸脱氢酶的比例。通过抑制PDK的活性来增加PDHc复合体的活性是糖尿病、心脏疾病治疗的药物靶点,最近也应用到了肿瘤中^[23]。目前丙酮酸脱氢酶激酶1、2、3被鉴定为肿瘤抗糖酵解治疗的潜在靶点。

丙酮酸脱氢酶主要是在丙酮酸脱氢酶复合体中存在,通过直接靶向该酶以改变其活性是比较困难的,目前的研究主要集中在PDHc的直接调节者PDK上。直接靶向丙酮酸脱氢酶复合体的抑制剂也逐渐出现。丁酸是结肠细菌发酵产生的短链脂肪酸,在结肠癌细胞中丁酸可以靶向PDC的活性。丁酸治疗后肿瘤细胞的特征是乳酸产生减少并且肿瘤细胞增殖抑制^[23]。目前发现苯基丁酸(phenylbutyrate),应用于尿素循环缺陷和肿瘤患者中的药物,导致了纤维母细胞和小鼠中磷酸化的E1 α 亚单位的减少和酶活性的增加^[24]。

5.2 小分子抑制剂二氯乙酸钠与肿瘤治疗的新进展

令人关注的是,Bonnet等^[25]报道采用二氯乙酸(DCA)处理肿瘤细胞,可以显著地抑制其存活及移植瘤的生长。DCA是一种小分子丙酮酸脱氢酶抑制剂,目前被批准用于先天性乳酸中毒症的治疗。DCA能通过抑制PDK去磷酸化激活丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH),促进葡萄糖的氧化磷酸化,这一过程中释放大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和细胞色素C,上调K⁺通道电位,导致K⁺外流和caspase凋亡通路的活化,而进一步促进凋亡、抑制肿瘤细胞生长。基于这一原理,DCA作为抗癌药物的临床应用与开发将具有一定前景。Cao等^[26]报道了DCA增加了野生型和Bcl-2过表达的前列腺癌细胞对放疗

的敏感度,这种作用是通过与Bcl-2相互作用增强了凋亡机制。Fiebiger等^[27]也报道了DCA在体外能增加部分铂类药物卡铂、赛特铂及其代谢物JM118对化疗耐药的肺癌细胞株的敏感度。总之,通过DCA靶向PDK能增加肿瘤细胞对化疗、放疗的敏感度并且能克服药物耐药。但是DCA具有肝脏和外周神经毒性。

5.3 siRNA设计

国内一项研究采用干扰质粒降低结肠癌细胞LS174T的PDK-1表达,检测了在不同浓度5-Fu作用下该组细胞和对照细胞的半数抑制浓度,结果表明PDK-1干扰的LS174T细胞的 IC_{50} 数值显著低于对照组细胞。说明抑制PDK-1后结肠癌LS174T对5-Fu治疗更敏感,使结肠癌细胞在较低的药物浓度下达到较高的凋亡率^[28]。

6 丙酮酸脱氢酶与肿瘤细胞的干性

胚胎干细胞、造血干细胞、成体干细胞以及体外诱导的多能干细胞的能量代谢特征之一也是偏向糖酵解的方式获取能量,这些细胞中糖酵解活性也增强^[29-30]。而对前列腺癌、食管癌和卵巢癌细胞系体外不同氧浓度下干细胞特性的研究发现,肿瘤细胞在低氧情况下可以相应上调缺氧诱导因子,从而上调上述干细胞相关因子。随着这些干细胞相关因子的上调,细胞的克隆形成能力、球形生长能力、多药耐药因子三磷酸腺苷结合盒转运体成员ABCG2(ATP-binding cassette superfamily G member2)以及细胞表面干细胞相关分子CD133和CD44^{high}等的表达也相继大大提高,肿瘤细胞的干性程度增加^[2]。低氧的微环境与肿瘤细胞的干性维持密切相关,而低氧的条件也迫使细胞通过糖酵解的方式产生能量。据此推测迫使肿瘤细胞进行糖酵解可能会增加肿瘤细胞的干性水平。通过靶向三羧酸循环与糖酵解代谢转换的关键酶丙酮酸脱氢酶,通过RNA干扰或基因敲除等办法降低或者消除丙酮酸脱氢酶活性可能是获得肿瘤干细胞的途径之一。有效的办法是通过体外实验在细胞系中敲除丙酮酸脱氢酶基因,观察细胞的生物学特性及干细胞特性变化的规律,并进一步对稳定的丙酮酸脱氢酶基因敲除的细胞系进行动物实验,观察其成瘤能力,进一步研究丙酮酸脱氢酶活性与肿瘤干细胞的关系,从而研究肿瘤干细胞的干性调节将具有积极的意义。

某些细胞如Beta细胞中大约50%的葡萄糖来源的丙酮酸是通过丙酮酸脱氢酶复合物转化成

乙酰辅酶A而进入三羧酸循环进行有氧代谢,其余的50%则可通过丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase)所催化的补偿途径草酰乙酸进入三羧酸循环。等量的丙酮酸通过这两种途径进入三羧酸循环^[31]。另外一项动物试验表明肝细胞中丙酮酸经补偿途径进入三羧酸循环可以是经丙酮酸脱氢酶途径的7倍,说明细胞的丙酮酸进入三羧酸循环的补偿途径可以有很大的细胞特异性^[32]。因此可以推断丙酮酸脱氢酶基因敲除后某些细胞可以通过代偿作用增强丙酮酸羧化酶途径来增强丙酮酸进入三羧酸循环,其确切作用仍需要一定的体内外实验研究证实。

7 结论

丙酮酸脱氢酶作为葡萄糖有氧氧化的主要限速酶之一,在肿瘤细胞的糖代谢中起到了关键的作用。肿瘤细胞的瓦伯格效应使肿瘤细胞倾向于糖酵解的方式获得能量,且肿瘤细胞中糖代谢由氧化磷酸化转化为糖酵解方式的比例变化与肿瘤细胞的恶性程度相关。先天性丙酮酸脱氢酶缺乏引起的乳酸酸中毒症状和脑发育不全等都与细胞的分化障碍相关,提示丙酮酸脱氢酶的正常活性是细胞正常分化的保证。从一定意义上讲,肿瘤是细胞分化障碍性疾病,而肿瘤干细胞之所以可以维持其很高的干性特性,极有可能与其高度的有氧糖酵解能力相关。推测肿瘤细胞糖酵解过程中的某些中间产物可能是维持肿瘤细胞干性的重要调节因子,而通过敲除丙酮酸脱氢酶这一糖酵解过程的关键酶迫使细胞主要通过糖酵解的方式获取能量可能是获取肿瘤干细胞的途径之一。

参考文献:

- [1] Warburg O. On the origin of cancer cells[J]. Science, 1956, 123(3191): 309-14.
- [2] Ma Y, Liang D, Liu J, et al. Prostate cancer cell lines under hypoxia exhibit greater stem-like properties[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e29170.
- [3] Liang D, Ma Y, Liu J, et al. The hypoxic microenvironment upgrades stem-like properties of ovarian cancer cells[J]. BMC Cancer, 2012, 12: 201.
- [4] Liu J, Fan H, Ma Y, et al. Notch1 is a 5-fluorouracil resistant and poor survival marker in human esophagus squamous cell carcinomas[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56141.
- [5] Ciszak E, Korotchkina LG, Hong YS, et al. Crystallization and initial X-ray diffraction analysis of human pyruvate dehydrogenase[J]. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 2001, 57(Pt 3): 465-8.

- [6] Koike K, Ohta S, Urata Y, *et al.* Cloning and sequencing of cDNAs encoding alpha and beta subunits of human pyruvate dehydrogenase[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988, 85(1):41-5.
- [7] Jeong JY, Jeoung NH, Park KG, *et al.* Transcriptional regulation of pyruvate dehydrogenase kinase[J]. Diabetes Metab J, 2012, 36(5):328-35.
- [8] Patel KP, O'Brien TW, Subramony SH, *et al.* The spectrum of pyruvate dehydrogenase complex deficiency: clinical, biochemical and genetic features in 371 patients[J]. Mol Genet Metab, 2012, 105(1):34-43.
- [9] Brown RM, Head RA, Boubriak II, *et al.* Mutations in the gene for the E1beta subunit: a novel cause of pyruvate dehydrogenase deficiency[J]. Hum Genet, 2004, 115(2):123-7.
- [10] Wu W, Zhao S. Metabolic changes in cancer: beyond the Warburg effect[J]. Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai), 2013, 45(1):18-26.
- [11] Lu CW, Lin SC, Chen KF, *et al.* Induction of pyruvate dehydrogenase kinase-3 by hypoxia-inducible factor-1 promotes metabolic switch and drug resistance[J]. J Biol Chem, 2008, 283(42):28106-14.
- [12] Lu CW, Lin SC, Chien CW, *et al.* Overexpression of pyruvate dehydrogenase kinase-3 increases drug resistance and early recurrence in colon cancer[J]. Am J Pathol, 2011, 179(3):1405-14.
- [13] Hur H, Xuan Y, Kim YB, *et al.* Expression of pyruvate dehydrogenase kinase-1 in gastric cancer as a potential therapeutic target[J]. Int J Oncol, 2013, 42(1):44-54.
- [14] McFate T, Mohyeldin A, Lu H, *et al.* Pyruvate dehydrogenase complex activity controls metabolic and malignant phenotype in cancer cells[J]. J Biol Chem, 2008, 283(33):22700-8.
- [15] Schwab LP, Peacock DL, Majumdar D, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 α promotes primary tumor growth and tumor-initiating cell activity in breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2012, 14(1):R6.
- [16] Lee JH, Shim JW, Choi YJ, *et al.* The combination of sorafenib and radiation preferentially inhibits breast cancer stem cells by suppressing HIF-1 α expression[J]. Oncol Rep, 2013, 29(3):917-24.
- [17] Zhao Y, Butler EB, Tan M. Targeting cellular metabolism to improve cancer therapeutics[J]. Cell Death Dis, 2013, 4:e532.
- [18] Stacpoole PW. The pyruvate dehydrogenase complex as a therapeutic target for age-related diseases[J]. Aging Cell, 2012, 11(3):371-7.
- [19] Prasad C, Rupal T, Prasad AN, *et al.* Pyruvate dehydrogenase deficiency and epilepsy[J]. Brain Dev, 2011, 33(10):856-65.
- [20] Barnerias C, Saudubray JM, Touati G, *et al.* Pyruvate dehydrogenase complex deficiency: four neurological phenotypes with differing pathogenesis[J]. Dev Med Child Neurol, 2010, 52(2):e1-9.
- [21] Roche TE, Hiromasa Y. Pyruvate dehydrogenase kinase regulatory mechanisms and inhibition in treating diabetes, heart ischemia and cancer[J]. Cell Mol Life Sci, 2007, 64(7-8):830-49.
- [22] Kaplon J, Zheng L, Meissl K, *et al.* A key role for mitochondrial gatekeeper pyruvate dehydrogenase in oncogene-induced senescence[J]. Nature, 2013, 498(7452):109-12.
- [23] Blouin JM, Penot G, Collinet M, *et al.* Butyrate elicits a metabolic switch in human colon cancer cells by targeting the pyruvate dehydrogenase complex[J]. Int J Cancer, 2011, 128(11):2591-601.
- [24] Ferriero R, Brunetti-Pierrri N. Anti-cancer drug phenylbutyrate increases activity of pyruvate dehydrogenase complex[J]. Oncotarget, 2013, 6(4):804-5.
- [25] Bonnet S, Archer SL, Allalunis-Turner J, *et al.* A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth[J]. Cancer Cell, 2007, 11(1):37-51.
- [26] Cao W, Yacoub S, Shiverick KT, *et al.* Dichloroacetate (DCA) sensitizes both wild-type and over expressing Bcl-2 prostate cancer cells *in vitro* to radiation[J]. Prostate, 2008, 68(11):1223-31.
- [27] Fiebiger W, Olszewski U, Ulsperger E, *et al.* *In vitro* cytotoxicity of novel platinum-based drugs and dichloroacetate against lung carcinoid cell lines[J]. Clin Transl Oncol, 2011, 13(1): 43-9.
- [28] Xie GF, Liang HJ, Tong JT, *et al.* Promoting effect of RNA-interfered pyruvate dehydrogenase kinase isozyme-1 on 5-fluorouracil-induced apoptosis of colon cancer cells[J]. J Third Mil Med Univ, 2012, 34(1):9-12.
- [29] Chung S, Arrell DK, Faustino RS, *et al.* Glycolytic network restructuring integral to the energetics of embryonic stem cell cardiac differentiation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 48(4):725-34.
- [30] Varum S, Rodrigues AS, Moura MB, *et al.* Energy metabolism in human pluripotent stem cells and their differentiated counterparts[J]. PLoS One, 2011, 6(6):e20914.
- [31] Srinivasan M, Choi CS, Ghoshal P, *et al.* β -Cell-specific pyruvate dehydrogenase deficiency impairs glucose-stimulated insulin secretion[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2010, 299(6):e910-7.
- [32] Sidhu S, Gangasani A, Korotchikina LG, *et al.* Tissue-specific pyruvate dehydrogenase complex deficiency causes cardiac hypertrophy and sudden death of weaned male mice[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 295(3): H946-52.

[编辑: 刘红武; 校对: 安凤]