

## T 淋巴细胞代谢重塑与动脉粥样硬化发病

冯娟, 吕思霖, 王宪

(北京大学基础医学院生理学与病理生理学系 教育部分子心血管学重点实验室, 北京市 100191)

[专家简介] 王宪, 生理学博士, 北京大学基础医学院生理学与病理生理学系生理学家江特聘教授。主要从事代谢性心血管疾病炎症的免疫发病机制及内源性活性多肽保护作用的研究工作。担任《生理科学进展》杂志主编、美国《Am J Physiol Cell Physiol》杂志编委等工作。曾任北京大学教育部分子心血管学重点实验室主任、教育部基础医学教学指导委员会主任、中国生理学会副理事长等。先后主持包括基金委国家杰出青年科学基金项目、重点项目和“创新群体”及科技部“973”课题等 30 余项科研基金项目, 已在《Circ Res》《Diabetes》和《J Immunol》等杂志发表 SCI 原著论文 180 余篇。

[关键词] T 淋巴细胞; 代谢重塑; 动脉粥样硬化

[摘要] 物质能量稳态是维持细胞生存和正常功能的重要条件, 代谢失衡导致多种疾病的发生。近年来, 细胞代谢与功能之间的关系成为对各种代谢性疾病、肿瘤及自身免疫性疾病研究的热点。本文将关注 T 淋巴细胞能量代谢与其激活和细胞生物学功能之间的关系及相应调节机制, 并初步探讨 T 淋巴细胞代谢相关酶 M2 型丙酮酸激酶可能作为动脉粥样硬化干预靶点的新策略和意义。

[中图分类号] R363;R5

[文献标识码] A



### T lymphocyte metabolic remodeling and atherosclerosis

FENG Juan, LÜ Silin, WANG Xian

(Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Peking University & Key Laboratory of Molecular Cardiovascular Science, Ministry of Education, Beijing 100191, China)

[KEY WORDS] T lymphocyte; metabolic remodeling; atherosclerosis

[ABSTRACT] Material and energy homeostasis is essential for maintaining cell survival and regular functions, and the loss of material and energy homeostasis may result in a variety of diseases. Recently, the relationship between cellular metabolism and function has become a hotspot in the study of various metabolic diseases, cancer and autoimmune diseases. This review focuses on the roles and regulatory mechanisms of T lymphocytes energy metabolism in its activation, differentiation and physiological function. It also discusses the significance of type M2 pyruvate kinase, which is the key enzyme in glycolysis, for the treatment of atherosclerosis.

物质能量代谢为细胞的基本特性, 除满足细胞在各种功能状态下的能量和生物合成需求外, 也参与信号级联反应而调控细胞的功能及命运。近年来, 细胞代谢与功能之间的关系成为对多种代谢性相关疾病研究的热点。其中 T 淋巴细胞能量代谢引起了越来越多研究者的关注。细胞代谢重塑在 T 淋巴细胞生长、增殖、存活和效应功能正常发挥中具有重要作用。代谢重塑为激活的 T 淋巴细胞提

供能量和物质保证; 部分代谢中间产物作为活性分子直接调控细胞功能; 一些代谢酶兼具催化代谢反应和调控基因转录活性, 因此从细胞代谢和基因表达两个水平调控 T 淋巴细胞功能。此外, T 淋巴细胞代谢异常也与多种疾病发病相关。本文从 T 淋巴细胞的代谢调控, 包括糖酵解代谢、线粒体相关物质和能量代谢、氨基酸代谢、胆固醇代谢与脂质合成等方面及其对动脉粥样硬化发病过程的影响

[收稿日期] 2018-05-15

[修回日期] 2018-06-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(91439206, 81770445)

[作者简介] 冯娟, 生理学博士, 副研究员, 研究方向为代谢性心血管病的炎症免疫发病机制及干预靶点探究, E-mail 为 juan-feng@bjmu.edu.cn。通信作者王宪, E-mail 为 xwang@bjmu.edu.cn。

进行介绍和讨论。

## 1 T 淋巴细胞代谢及其功能的调控

T 淋巴细胞在机体免疫反应中起着重要调控作用。激活的 T 淋巴细胞对葡萄糖、氨基酸和脂质等多种物质代谢能力增强,以满足 T 淋巴细胞激活后对生物能量和物质合成的迫切需要,即发生代谢重塑。越来越多的研究表明,细胞代谢重塑更是 T 淋巴细胞命运的决定因素。

### 1.1 糖酵解

在氧气充足的情况下,细胞通过糖酵解将葡萄糖代谢为丙酮酸,并进一步生成乳酸的现象称为有氧糖酵解,即瓦伯格效应。瓦伯格效应在肿瘤细胞的存活、增殖和迁移中具有重要作用<sup>[1]</sup>。随着研究

进展,人们逐渐认识到激活的 T 淋巴细胞也存在代谢方式由氧化磷酸化向有氧糖酵解转换的代谢重塑现象,这种代谢变化对 T 淋巴细胞存活、增殖、分化和效应功能发挥至关重要<sup>[2]</sup>(图 1)。一方面,糖酵解途径产能更为迅速,且其本身及其代谢旁路,包括磷酸戊糖途径和丝氨酸合成途径,可为激活的 T 淋巴细胞的蛋白质、脂质和核酸合成提供前体物质,满足激活的 T 淋巴细胞对能量和物质合成的巨大需求<sup>[3-5]</sup>;另一方面,多种糖酵解酶直接调控 T 淋巴细胞关键分子的基因表达,具体机制包括调控染色质重塑、mRNA 转录后翻译及基因表达的变异剪切<sup>[2,6-7]</sup>。由此可见,糖酵解可以从细胞能量物质合成和基因转录表达等多个层次调控 T 淋巴细胞激活。下面简要介绍糖酵解对于不同亚型 T 淋巴细胞调控的特点。

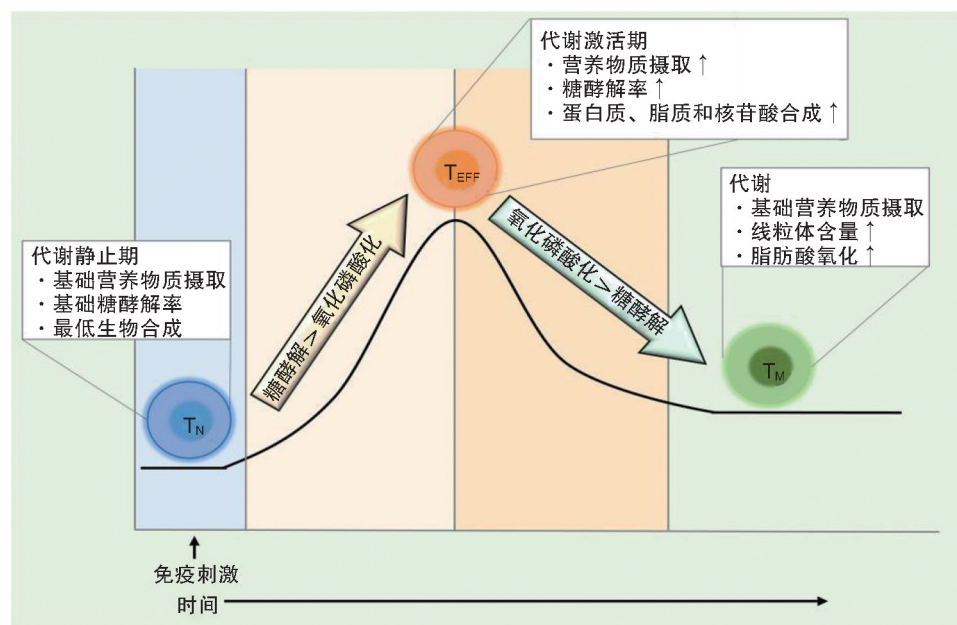


图 1. T 淋巴细胞功能变化过程与物质代谢的关系 T 淋巴细胞存活、增殖、分化和效应功能发挥过程中,伴随着代谢方式,即氧化磷酸化和糖酵解相互转换的代谢重塑现象。

Figure 1. Relationship between T lymphocyte function and substance metabolism

#### 1.1.1 糖酵解对效应性 T 淋巴细胞功能的调控

在静息 T 淋巴细胞中,磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde phosphate dehydrogenase, GAPDH)与细胞因子 IFN $\gamma$  的 mRNA 3' 非翻译区结合,抑制 IFN $\gamma$  mRNA 翻译;T 淋巴细胞激活后,代谢方式由氧化磷酸化向有氧糖酵解转变,GAPDH 主要发挥糖酵解酶活性,由此减少了对 IFN $\gamma$  mRNA 翻译的抑制作用,使激活的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 IFN $\gamma$  合成增加,促进炎症反应<sup>[2]</sup>。记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞在二次抗原

刺激下可以快速激活,释放 IFN $\gamma$ ,也触发免疫反应,此过程依赖于细胞质中 GAPDH 含量及活性上调而迅速激活的细胞糖酵解代谢,其机制可能是糖酵解代谢激活引起了 IFN $\gamma$  启动子区域染色质重塑而促进 IFN $\gamma$  表达上调<sup>[6]</sup>。

#### 1.1.2 糖酵解对调节性 T 淋巴细胞功能的调控

糖酵解在抑炎的调节性 T 淋巴细胞中的作用仍存在争议。有研究指出,T 细胞受体(T cell receptor, TCR)信号激活体外诱导调节性 T 淋巴细胞分化的

过程依赖于糖酵解酶——烯醇酶-1。烯醇酶-1 募集至叉头转录因子(forkhead transcription factor P3, Fox P3)基因座并诱导其 mRNA 的变异剪切<sup>[7]</sup>。相较于 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>-</sup> 的传统 T 淋巴细胞,体外激活的人调节性 T 淋巴细胞具有更高的糖酵解率,且其增殖和免疫抑制功能均依赖于细胞糖酵解代谢<sup>[8]</sup>。但是,亦有研究报道,转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 体外诱导的小鼠调节性 T 淋巴细胞的免疫抑制作用并不依赖于糖酵解<sup>[9]</sup>。

### 1.1.3 糖酵解对记忆性 T 淋巴细胞功能的调控

糖酵解调控记忆性 T 淋巴细胞的存活。在小鼠记忆性 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞中,Notch 信号通路上调 GLUT1 表达,促进葡萄糖摄取;抑制剂下调 Notch 信号通路或特异性敲除 Notch 信号蛋白(Rbpj)均导致记忆性 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞数目减少而改善动物实验性自身免疫脑脊髓炎;给予丙酮酸能够减少由于 Notch 信号通路被下调而引起的细胞凋亡<sup>[10]</sup>。2-脱氧葡萄糖(2-deoxyglucose, 2-DG)阻断糖酵解引起记忆性 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞线粒体膜电位下降,线粒体氧自由基 ROS 产生增多,细胞发生凋亡;给予丙酮酸恢复线粒体膜电位,减少线粒体 ROS 产生,维持记忆性 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞存活<sup>[11]</sup>。但是,糖酵解对记忆性 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞分化调控尚有争议。由此可见,糖酵解在记忆性 T 淋巴细胞的形成中起到重要作用,但其具体机制和意义仍有待进一步阐释。

1.1.4 糖酵解调控效应性 T 淋巴细胞和调节性 T 淋巴细胞的平衡 缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 转录调控多种糖酵解酶的表达,激活细胞内糖酵解通路。HIF-1 $\alpha$  缺失或使用 2-DG 阻断糖酵解能抑制 Th17 细胞分化,促进调节性 T 淋巴细胞形成,进而减轻小鼠自身免疫反应性神经炎症<sup>[12]</sup>。丙酮酸脱氢酶参与催化丙酮酸生成乙酰辅酶 A,是糖酵解和氧化磷酸化的分叉点。丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDHK)对丙酮酸脱氢酶起抑制作用。敲低 PDHK1 或者使用二氯乙酸抑制 PDHK,导致 Th17 细胞分化减少,因而调节性 T 淋巴细胞分化增加<sup>[13]</sup>。

## 1.2 线粒体相关物质和能量代谢

尽管激活的 T 淋巴细胞倾向于代谢葡萄糖生成乳酸,但其线粒体功能往往同时增强。线粒体三羧酸循环将乙酰辅酶 A 中的乙酰基氧化成二氧化碳和还原当量,在产生生物合成前体分子的同时,还原 NAD<sup>+</sup> 和 FADH 生成 NADH 和 FADH<sub>2</sub>,两者为电子传递链氢离子供体,被氧化后生成 H<sub>2</sub>O,伴随 ATP 合成。葡萄糖来源的丙酮酸,细胞内的游离脂

肪酸和谷氨酰胺均可作为原料参与三羧酸循环。三羧酸循环偶联氧化磷酸化产生 ATP,可以在葡萄糖匮乏的情况下维持激活的 T 淋巴细胞能量供给;三羧酸循环的中间代谢产物亦可为生物合成提供前体物质,或直接调控细胞功能<sup>[5,14]</sup>;氧化磷酸化产生的还原当量和活性氧影响细胞氧化还原状态而调控细胞功能<sup>[5,15]</sup>。由此提示线粒体相关代谢途径在 T 淋巴细胞功能发挥中具有重要作用。

1.2.1 葡萄糖氧化 葡萄糖由糖酵解途径代谢生成的丙酮酸,通过丙酮酸转运体进入线粒体,由丙酮酸脱氢酶催化生成乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环。在葡萄糖利用或代谢障碍的情况下,静息 T 淋巴细胞凋亡增加,补充丙酮酸可以维持细胞存活<sup>[10-11]</sup>;补充丙酮酸或半乳糖(半乳糖培养基中细胞进行线粒体氧化磷酸化代谢)同样可以改善由葡萄糖限制所引起的 T 淋巴细胞增殖下降和细胞因子 IL-2 合成障碍<sup>[2,15]</sup>。二氯乙酸抑制 PDHK 而促进丙酮酸氧化,促进自发性狼疮小鼠的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞分化成为 Th1 细胞;抑制单羧酸转运蛋白和线粒体丙酮酸载体而抑制丙酮酸进入线粒体,能够减少自发性狼疮小鼠 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 IFN $\gamma$  分泌<sup>[16]</sup>。这些结果提示,葡萄糖氧化在维持 T 淋巴细胞存活和效应功能发挥中起到重要作用。

1.2.2 脂肪酸氧化 胞质中的游离脂肪酸首先由脂酰辅酶 A 合成酶(acyl coenzyme A synthetase, ACS)催化生成脂酰辅酶 A,再经由肉毒碱棕榈酰基转移酶 1(carnitine palmitoyl transferase 1, CPT1)、肉毒碱棕榈酰基转移酶 2(carnitine palmitoyl transferase 2, CPT2)和转位酶组成的肉毒碱穿梭系统,转运进入线粒体而生成乙酰辅酶 A,进入三羧酸循环。

脂肪酸氧化对调节性 T 淋巴细胞功能具有重要调节作用。离体诱导分化的小鼠 CD4<sup>+</sup> 调节性 T 淋巴细胞相较于效应性 T 淋巴细胞具有更高的脂肪酸氧化率,阻断脂肪酸氧化显著降低调节性 T 淋巴细胞分化,下调其免疫抑制功能<sup>[9]</sup>。使用蛋白质组学对人调节性 T 淋巴细胞和传统 T 淋巴细胞进行检测,结果显示直接分离的人调节性 T 淋巴细胞具有高糖酵解率和低脂肪酸氧化率的特点。然而离体激活人调节性 T 淋巴细胞后,其增殖能力依赖于糖酵解和脂肪酸氧化两者的共同维持<sup>[8]</sup>。

脂肪酸氧化也参与调控记忆性 T 淋巴细胞的形成和存活。IL-15 上调 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞 CPT1 表达,促进细胞脂肪酸氧化,细胞剩余呼吸能力增强,



促进记忆性 CD8<sup>+</sup>T 的形成和存活<sup>[17]</sup>。肿瘤坏死因子受体相关分子 6 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) 缺失导致 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞脂肪酸代谢基因表达下降, 抑制腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 激活, 因此脂肪酸氧化下降, 导致记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞形成障碍; 而 AMPK 激活剂二甲双胍能改善由于 TRAF6 缺失引起的脂肪酸氧化率下降和记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞形成障碍<sup>[18]</sup>。

**1.2.3 谷氨酰胺和醋酸代谢** 谷氨酰胺经由谷氨酰胺分解途径代谢生成  $\alpha$ -酮戊二酸, 进而进入三羧酸循环。激活的 T 淋巴细胞上调谷氨酰胺转运体的表达, 谷氨酰胺摄取增加<sup>[19-20]</sup>。在葡萄糖利用受限时, 谷氨酰胺可以通过三羧酸循环代谢维持细胞内 ATP 水平和生物前体物质合成, 保证 T 淋巴细胞效应功能的正常发挥<sup>[21]</sup>。

病毒感染后, 动物血中醋酸水平快速增加。记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞摄取醋酸, 代谢生成柠檬酸, 由 ATP-柠檬酸裂解酶分解后上调细胞质内乙酰辅酶 A 水平, 促进 GAPDH 乙酰化, 使得 GAPDH 酶活性增强, 催化糖酵解能力上调, 引起 IFN $\gamma$  快速分泌。在李斯特菌感染的小鼠模型中, 回输醋酸预处理的记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞能够获得更好的免疫保护作用<sup>[22]</sup>。

**1.2.4 线粒体功能变化影响其物质能量代谢而调控 T 淋巴细胞功能** T 淋巴细胞由静息状态到效应阶段, 最后形成记忆性 T 淋巴细胞的过程中, 其线粒体含量逐步增加, 提示线粒体在不同状态的 T 淋巴细胞中都具有重要作用 (图 1)。抗原激活的 T 淋巴细胞相较于初始 T 淋巴细胞, 其线粒体含量增加, 线粒体结构可塑性和线粒体功能增强, 有利于 T 淋巴细胞免疫功能的正常发挥<sup>[6, 11, 17]</sup>。

记忆性 T 淋巴细胞在二次感染时的快速反应能力与其线粒体功能相关。记忆性 T 淋巴细胞较静息 T 淋巴细胞具有更多的线粒体和更高的剩余呼吸能力, 使得其在代谢应激的情况下, 可以保证能量产生以维持快速增殖和细胞因子分泌等效应功能的快速发挥<sup>[6, 11, 17]</sup>。将线粒体 ATP 依赖的糖酵解酶己糖激酶和线粒体解偶联, 能够阻断 T 淋巴细胞糖酵解上调而抑制细胞增殖, 提示线粒体来源的 ATP 是保证记忆性 T 淋巴细胞糖酵解快速上调和维持细胞快速反应能力所必需<sup>[23]</sup>。

线粒体蛋白质组学检测结果显示, 激活的 T 淋巴细胞线粒体一碳单位代谢通路明显上调。由丝氨酸供给的线粒体一碳单位代谢通过促进嘌呤和

嘧啶的合成维持 T 淋巴细胞增殖和存活。基因干扰抑制线粒体丝氨酸分解酶 SHMT2 导致 T 淋巴细胞部分细胞因子合成和释放减少, 细胞增殖能力下降, 凋亡增加。由此可见, 线粒体一碳单位代谢对 T 淋巴细胞激活和存活具有重要意义<sup>[24]</sup>。

线粒体通过融合和分裂的动态过程调整其结构和功能。线粒体的动态变化决定了 T 淋巴细胞的代谢和命运。电镜结果显示, 记忆性 T 淋巴细胞线粒体呈融合状, 线粒体嵴分布紧密, 这种结构使得电子传递链功能增强, 有利于细胞线粒体氧化磷酸化和脂肪酸氧化能力增强。即使是在诱导效应性 T 淋巴细胞的培养条件下, 药理性抑制线粒体分裂或促进线粒体融合都可使 T 淋巴细胞呈现记忆性表型。视神经萎缩蛋白 1 (Opa1) 是线粒体融合过程中的一个重要蛋白, 敲除 Opa1 导致记忆性 T 淋巴细胞形成障碍。然而, 效应性 T 淋巴细胞线粒体呈间断状, 线粒体嵴扩张, 这种结构造成线粒体电子传递效率下降, 细胞氧化磷酸化能力下调, 反馈诱导细胞糖酵解代谢增强。记忆性和效应性 T 淋巴细胞截然相反的线粒体结构和代谢状态, 说明线粒体通过代谢重塑调控 T 淋巴细胞命运<sup>[25]</sup>。

### 1.3 胆固醇代谢和脂质合成

T 淋巴细胞激活, 伴随着脂质代谢改变, 一方面为克隆增殖的细胞提供生物膜合成的原料; 另一方面也可以作为活性分子直接调控 T 淋巴细胞功能。CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞激活后, 胆固醇合成酶表达上调, 而胆固醇外排相关酶表达下降, 提示细胞内胆固醇含量对 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞激活具有重要作用。抑制乙酰辅酶 A 酯酰转移酶减少胆固醇酯化, 促使细胞膜胆固醇含量增加, 有助于 T 淋巴细胞受体聚集成簇形成免疫突触, 传递激活信号, 使得 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞增殖能力上调, 细胞毒性增强, 细胞因子分泌增加, 抗肿瘤能力增强<sup>[26]</sup>。调节性 T 淋巴细胞的免疫抑制功能同样也依赖于胆固醇代谢。抑制胆固醇生物合成的关键酶, 导致调节性 T 淋巴细胞增殖减少, 细胞表面细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T lymphocyte associated protein 4, CTLA-4) 和可诱导 T 淋巴细胞共刺激分子 (inducible T cell co-stimulator, ICOS) 表达均下降, 使得细胞免疫抑制功能障碍<sup>[27]</sup>。

细胞通过脂质合成与外源摄取获得所需脂质, 这两种脂质代谢方式在 T 淋巴细胞中均具有重要作用。葡萄糖来源的脂肪酸从头合成调控效应性 T 淋巴细胞功能。Th17 细胞高表达脂肪酸合成通路的代谢酶, 而抑制脂肪酸合成的关键酶乙酰辅酶 A

羧化酶 1 (acetyl coenzyme A carboxylase 1, ACC1) 能够减少 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞向 Th17 分化, 增加调节性 T 淋巴细胞数量<sup>[28]</sup>。CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞激活后, 固醇调控原件结合蛋白 1 (sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP1) 调控的脂肪酸合成相关基因的表达上调。抑制 ACC1 能够下调从 Th0 诱导分化而来的 Th1 和 Th2 细胞, 下调抗原激活的记忆性 Th2 细胞的增殖能力。同时, 激活的 T 淋巴细胞通过哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR)-过氧化物酶体增殖物激活型受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 上调脂肪酸摄取相关基因的表达, 从而增加脂肪酸的摄取。而抑制 PPAR $\gamma$  或者敲低 PPAR $\gamma$  基因均导致抗原激活的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞脂肪酸摄取减少, 糖酵解和氧化磷酸化被抑制, 增殖能力减弱; 下调记忆性 Th2 细胞的增殖能力。外源性给予脂肪酸可改善由于脂肪酸摄取或脂肪酸合成受限所引起的 T 淋巴细胞激活障碍<sup>[29]</sup>。因此, 脂肪酸摄取和脂肪酸合成在维持 T 淋巴细胞正常功能中均具有重要作用。

近来研究发现, 不同于效应性 T 淋巴细胞通过外源摄取获得脂肪酸, 记忆性 T 淋巴细胞主要依赖于葡萄糖来源的脂质从头合成获得脂肪酸。水通道蛋白 9 (aquaporin 9, AQP9) 是甘油转运体。IL-7 诱导记忆 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞 AQP9 表达上调, 甘油摄取增加, 细胞内甘油三酯合成和储存增加, 通过脂肪酸氧化上调细胞内 ATP 水平, 促进记忆性 T 淋巴细胞形成; 敲除 AQP9 导致 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞甘油摄取障碍, 甘油三酯合成减少, 细胞内 ATP 下降, 导致病毒特异性记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞形成障碍<sup>[30]</sup>。溶酶体酸性脂肪酶 (lysosomal acid lipase, LAL) 可以调动合成的脂肪酸参与脂肪酸氧化, 敲低 LAL 导致记忆性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞形成减少<sup>[31]</sup>。以上结果表明, 脂肪酸氧化在记忆性 T 淋巴细胞形成和存活中具有重要作用, 而细胞内脂质从头合成可能是记忆性 T 淋巴细胞脂质的主要来源。

#### 1.4 氨基酸代谢

谷氨酰胺是血液中含有最高的氨基酸, 不仅可以在葡萄糖利用受限时进入线粒体代谢而为细胞供能<sup>[21]</sup>, 其本身在 T 淋巴细胞的增殖和分化中也起到重要调控作用。T 淋巴细胞激活后, 谷氨酰胺转运体 (SNAT1、SNAT2 和 ASCT2) 表达上调, 谷氨酰胺摄取增加; 反之, 谷氨酰胺匮乏导致激活的 T 淋巴细胞增殖能力下降和细胞因子分泌减少, 这一现象不能够被谷氨酰胺代谢产物天冬氨酸或脯氨酸

所改善, 说明谷氨酰胺本身在 T 淋巴细胞激活中具有重要作用<sup>[19-20]</sup>。ASCT2 介导的谷氨酰胺转运参与 TCR 信号对 mTORC1 的激活; ASCT2 缺失导致 T 淋巴细胞向 Th1 和 Th17 细胞分化能力下降<sup>[19]</sup>。在诱导 Th1 细胞分化的培养条件下, 谷氨酰胺缺乏导致 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞向调节性 T 淋巴细胞分化增多; 而补充谷氨酰胺代谢产物  $\alpha$ -酮戊二酸类似物, 可以上调 Th1 细胞关键转录因子 T-bet 表达, 促进其向 Th1 细胞分化<sup>[32]</sup>。

谷氨酰胺还可以通过氨基己糖合成途径进行代谢, 从而调控尿苷二磷酸-N-乙酰氨基葡萄糖 (uridine diphospho-N-acetyl glucosamine, UDP-GlcNAc) 的合成。UDP-GlcNAc 作为 O-GlcNAc 转移酶底物, 参与 O-GlcNAc 转移酶对细胞蛋白质丝氨酸和苏氨酸残基 O-GlcNAc 化修饰。有研究证实, 谷氨酰胺和葡萄糖通过氨基己糖合成途径, 直接参与细胞内蛋白质 N-乙酰葡萄糖基化修饰的动态调控。在 T 淋巴细胞发育和激活阶段, Notch、TCR 信号和 c-Myc 通过调控谷氨酰胺和葡萄糖转运, 改变细胞内 UDP-GlcNAc 含量, 进而动态修饰蛋白质 O-GlcNAc。O-GlcNAc 转移酶缺失阻断 T 淋巴细胞祖细胞的更新和外周 T 淋巴细胞的克隆增殖<sup>[33]</sup>。

除谷氨酰胺外, 还有多种氨基酸也参与 T 淋巴细胞功能的调控。系统 L 转运体 (Slc7a5 或 LAT1) 转运苯丙氨酸、酪氨酸、亮氨酸、精氨酸和色氨酸; 缺失 LAT1 的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞增殖能力下降, 离体分化为 Th1 或 Th17 能力下降, 但是向调节性 T 淋巴细胞分化能力不受影响; 敲除 LAT1 抑制 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的增殖和分化<sup>[34]</sup>。

细胞质型支链氨基酸转氨酶 (cytoplasmic branched-chain amino acid aminotransferase, BCATc) 调控支链氨基酸降解; TCR 信号激活的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞通过 NFAT 上调 BCATc 表达, 促进细胞中亮氨酸的转氨基反应; 缺失 BCATc 的 T 淋巴细胞 mTORC1 通路激活上调, 细胞糖酵解能力增强<sup>[35]</sup>。在增殖的 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞中, LAT1 和异质二聚体 CD98 不对称地分配到子代细胞中; 获得更多氨基酸转运体的子代细胞, mTORC1 向溶酶体募集增多且活性上调, 伴有 c-Myc 高表达, 使得细胞糖酵解和线粒体呼吸能力增强, 增殖和效应性细胞因子分泌上调<sup>[36-37]</sup>。代谢组和蛋白质组结果显示, 人 T 淋巴细胞激活后精氨酸代谢明显上调, 由此造成细胞内 L-精氨酸含量下降; L-精氨酸处理激活 T 淋巴细胞, 代谢方式由糖酵解向氧化磷酸化转变, 形成中心记



忆性 T 淋巴细胞增加,细胞存活和抗肿瘤能力上调<sup>[38]</sup>。

### 1.5 不同代谢途径通过重塑整合而满足细胞功能的物质能量需求

在不同的活化状态或功能状态下,T 淋巴细胞的代谢方式不一样。初始 T 淋巴细胞主要依赖氧化磷酸化途径以及脂肪酸氧化合成 ATP 产能,而糖酵解程度较低<sup>[39]</sup>。抗原刺激后,T 淋巴细胞发生代谢重组,细胞氧化磷酸化水平增加成为主要产能形式,细胞也从分解代谢转变为合成代谢状态(图 1)。活化的 T 细胞中糖酵解、磷酸戊糖途径及谷氨酰胺

裂解途径都显著增加,合成大量蛋白质、脂质、核酸以维持细胞分化和增殖的需要<sup>[39]</sup>。谷氨酰胺分解途径是有氧糖酵解对 TCA 循环的重要添补环节,可以利用葡萄糖来源的柠檬酸进行脂肪酸合成。另外, $\alpha$ -酮戊二酸可用于多胺的合成,后者对于 DNA 合成及复制至关重要<sup>[3]</sup>。尽管有氧糖酵解在效应性 T 细胞葡萄糖代谢中占主要地位,氧化磷酸化途径同样必不可少<sup>[39-40]</sup>。各种不同代谢途径的重塑和整合调控了不同亚群以及细胞不同功能状态的物质和能量需求(图 2)。

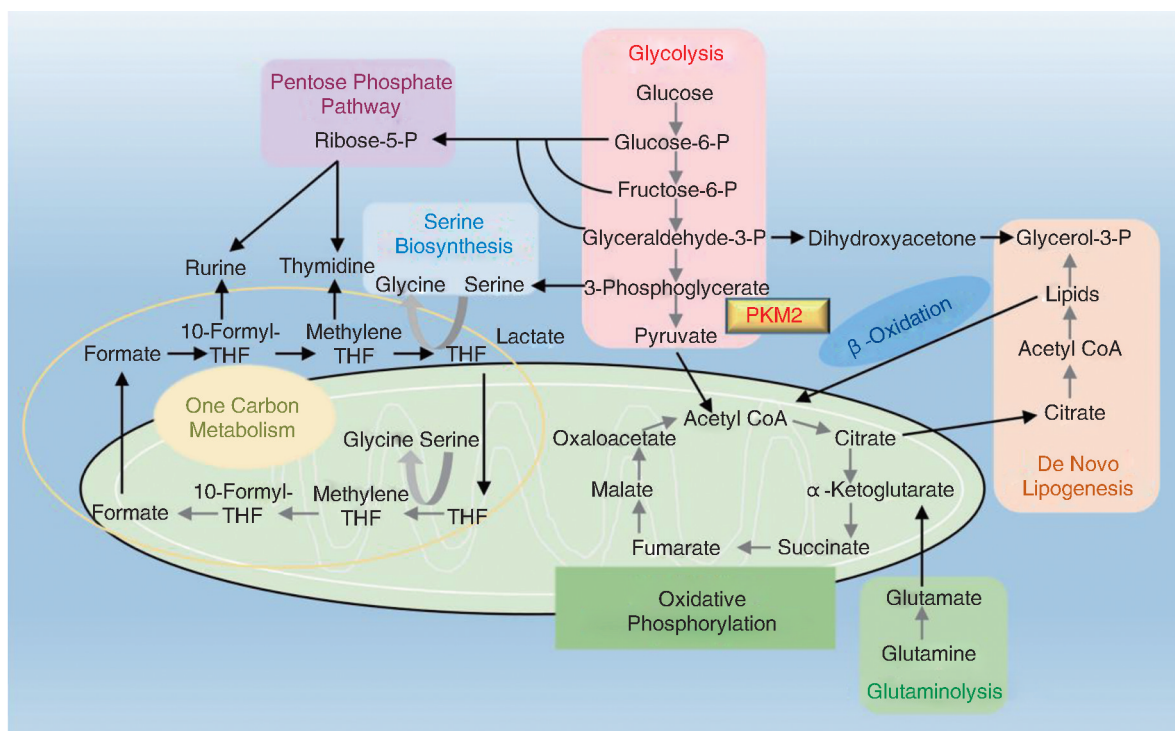


图 2. 代谢通路的重塑和整合

Figure 2. Remodeling and integration of metabolic pathways

## 2 M2 型丙酮酸激酶介导的糖-脂代谢轴调控 T 淋巴细胞功能而促进动脉粥样硬化发生

细胞代谢重组除了表现为各种代谢通路的变化外,还包括相关代谢酶、营养物转运体表达量改变以及同工酶的转换。代谢酶是细胞进行一系列生化反应的重要催化剂。糖酵解和 TCA 循环是细胞葡萄糖代谢的关键途径,其中多个关键代谢酶在细胞能量代谢调节过程中发挥重要作用,不仅因为其限速酶的特点,也因为陆续发现它们具有对多种基因表达调节的功能。目前代谢酶参与各种肿瘤发病的相关研究进展比较快;与之相比,心血管领

域的相关研究进展明显滞后。激活的免疫细胞具有和肿瘤细胞相类似的由氧化磷酸化向有氧糖酵解转换的代谢重塑现象<sup>[2]</sup>。这种代谢变化在免疫细胞的存活、生长、增殖和效应功能发挥中具有重要作用。这里简要介绍 T 淋巴细胞 M2 型丙酮酸激酶(type M2 pyruvate kinase, PKM2)及其参与高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)促发动脉粥样硬化的可能机制。

### 2.1 PKM2 的表达调控

丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)是调节糖酵解过程最后一步反应的限速酶,催化磷酸烯醇式丙酮酸向丙酮酸转化,生成 ATP。两种 PK 基因

(PKLR 和 PKM) 编码表达四种亚型的 PK, 分别是 PKL、PKR、PKM1 和 PKM2<sup>[41]</sup>。PKLR 基因通过组织特异性启动子编码 PKR 和 PKL 的表达; PKR 表达于红细胞; PKL 主要表达于肝组织; PKM 基因通过选择性剪切相互排斥的第 9 号和第 10 号外显子, 分别编码 PKM1 和 PKM2 的表达; PKM1 主要表达于分解代谢活跃的组织, 如心脏、骨骼肌和脑组织等; PKM2 主要表达于增殖活跃的细胞, 如淋巴细胞和肠上皮细胞等<sup>[42-44]</sup>。

PKM2 的选择性剪切由剪切增强子和剪切抑制因子协同调控。丝氨酸/精氨酸富集剪切因子 3 (serine/arginine-rich splicing factor 3, SRSF3) 激活第 10 号外显子, 促进 PKM2 表达, 进而调控葡萄糖代谢<sup>[45]</sup>; 三种异质性核糖核蛋白 (heterogeneous ribonucleoprotein, hnRNP) 家族成员, 包括多聚嘧啶区结合蛋白质 (PTB; hnRNP1) 以及 hnRNP1 和 hnRNP2 抑制性结合第 9 号外显子的侧翼序列, 促进第 10 号外显子的表达<sup>[43]</sup>。C-Myc 促进肿瘤细胞 PTB、hnRNP1 和 hnRNP2 表达, 上调 PKM2/PKM1<sup>[46]</sup>。但也有研究认为, PKM2 表达上调源于 PKM 基因整体表达增加, 而非 PKM2 和 PKM1 的此消彼长<sup>[47-48]</sup>。PKM2 还是多种 microRNA 的靶分子, miR-122、miR-326、miR-let-7a、miR-133a 及 miR-133b 下调 PKM2 的表达<sup>[49-52]</sup>。

## 2.2 PKM2 的活性调控

PKM2 具有三种不同活性的聚合形式。PKM2 四聚体酶活性最高, 与 PKM1 催化活性相类似, 有利于 ATP 快速合成; PKM2 二聚体活性较弱, 但是有利于上游糖酵解代谢中间产物累积, 促进生物合成; PKM2 单体酶活性最低<sup>[53]</sup>。PKM2 酶活性被多种内源性分子变构调控。丝氨酸、1,6-二磷酸果糖和嘌呤核苷酸合成中间产物琥珀酰-5-氨基咪唑-4-甲酰胺-5-磷酸核糖 (SAICAR) 促进 PKM2 形成四聚体, 上调其酶活性。丙氨酸、ATP 和甲状腺素 T3 调控 PKM2 形成活性较低的二聚体<sup>[54]</sup>。此外, PKM2 酶活性还受到乙酰化、氧化和磷酸化修饰的调控<sup>[55-57]</sup>。

## 2.3 PKM2 激活 T 淋巴细胞而促发动脉粥样硬化

目前关于糖代谢与动脉粥样硬化的关系仍存在分歧。动脉粥样硬化斑块处葡萄糖摄取增加, 提示细胞代谢与动脉粥样硬化发生的联系<sup>[58]</sup>。Glut1 缺陷的骨髓细胞移植实验证明, Glut1 缺陷抑制 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠造血干细胞和多能祖细胞增殖及扩增, 进而减弱骨髓移植的受体 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠动脉粥样硬化形成。但在另一项研究中, 骨髓细胞过表达 Glut1

不会促进低密度脂蛋白受体敲除小鼠动脉粥样硬化的形成<sup>[58-59]</sup>。尽管细胞代谢和动脉粥样硬化的关系存有争议, 但目前研究结果仍提示 PKM2 可能是联系代谢失能和免疫细胞炎性激活的关键分子。来自冠状动脉粥样硬化患者的单核细胞和巨噬细胞葡萄糖利用增加, 线粒体活性氧产生增多, 导致 PKM2 核转位而上调 IL-6 和 IL-1 $\beta$  表达而引起系统性和组织局部炎症反应<sup>[60]</sup>。该研究再次为细胞代谢与动脉粥样硬化形成的相关性提供了证据, 并指出 PKM2 可能是心血管疾病的潜在治疗靶点。

HHcy 是动脉粥样硬化独立的危险因素。我们研究室系列的实验结果证实 T 淋巴细胞的激活在 HHcy 加速动脉粥样硬化的发生过程中有重要的作用<sup>[61-62]</sup>。随后我们发现 PKM2 是 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞主要表达的 PK 亚型, 其蛋白表达和糖酵解酶活性均可以被 HHcy 所显著上调。基于 PKM2 是糖酵解关键的限速酶, 提示其可能参与了 HHcy 对 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞的代谢调控和炎性激活。继而糖代谢组学结果显示, Hcy 刺激导致 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞糖酵解代谢中间产物含量增加; 氨基酸和核酸代谢相关的多种代谢中间产物含量上调; T 淋巴细胞特异性敲除 PKM2 后, 不仅阻断 Hcy 引起的糖酵解代谢产物累积, 同时显著抑制氨基酸及核酸代谢相关产物的上调<sup>[63]</sup>。因此, Hcy 可能通过 PKM2 增强 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞糖酵解, 进而激活与之相关的重要生物合成通路, 以满足 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞激活后对能量和物质合成的需求。三羧酸循环的中间产物柠檬酸是脂质从头合成的重要底物<sup>[28]</sup>, 提示葡萄糖代谢与脂质代谢联系紧密, 上游葡萄糖代谢增强可能伴随下游脂质代谢重塑。我们应用 LC-MS/MS 测定的脂质组学结果显示, Hcy 引起 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞内多种脂质成分累积, 而这一现象可以被 PKM2 敲低而阻断<sup>[63]</sup>。因此, PKM2 介导了 Hcy 对 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞糖-脂代谢通路的激活。

CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞和 IFN $\gamma$  在动脉粥样硬化斑块处同时存在<sup>[64-65]</sup>。给免疫缺陷的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠回输来自患有动脉粥样硬化的 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞, 会加重受体小鼠动脉粥样硬化的形成<sup>[66]</sup>。提示 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞与动脉粥样硬化的发生相关。我们之前的研究也证明 T 淋巴细胞过度激活及其炎性细胞因子 IFN $\gamma$  分泌增多参与 HHcy 加速 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠动脉粥样硬化的提前发生<sup>[61]</sup>。在此基础上, 我们通过细胞回输实验揭示 PKM2 介导的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞代谢参与 HHcy 促进的动脉粥样硬化形成过程。与回输正常 T 淋巴细胞的对照组相

比,回输 PKM2 缺陷的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞给 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠,HHcy 增加的动脉粥样硬化斑块面积减小,斑块处巨噬细胞和 T 淋巴细胞浸润减少,血管组织局部以及血液中多种促炎型巨噬细胞相关炎症因子水平下调,说明 PKM2 介导的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞激活加速 HHcy 引起的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠动脉粥样硬化提前发生<sup>[63]</sup>。

综上所述,我们的研究指出 HHcy 激活 T 淋巴细胞 PKM2 依赖的糖-脂代谢通路,促进其炎性激活而介导 HHcy 加速的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠动脉粥样硬化发生;PKM2 可能作为 HHcy 相关血管疾病的干预新靶点。

### 3 结语和展望

细胞的能量代谢方式与微环境直接相关,环境中氧气与营养物含量都将影响细胞代谢状态。炎症引起典型的缺氧及营养物缺乏微环境,免疫细胞从淋巴结或脾脏中迁移到炎症部位需面临严苛的代谢应激。与氧气可以自由弥散进入组织不同,很多营养物如葡萄糖的转运依赖于特定转运体,很难得到迅速补充,缺乏效应明显。动脉粥样硬化是一种常见的血管慢性炎症反应性疾病;T 细胞在炎症微环境下的代谢及功能改变可能成为促进动脉粥样硬化发生发展的一个重要原因。最新研究成果揭示糖酵解关键酶 PKM2 参与 T 淋巴细胞代谢重塑而参与动脉粥样硬化的发生发展过程。尽管目前关于免疫细胞在炎症应激状态下代谢重塑的研究刚刚起步,仍有很多问题亟待解决,例如,PKM2 对基因转录和表观遗传同样具有调节作用<sup>[39-40]</sup>,其调控机制以及与动脉粥样硬化之间的关系;PKM2 是否参与免疫细胞的分化,分别在固有免疫和适应性免疫中的具体调控机制以及 PKM2 是否具有作为免疫炎症疾病的标志物或治疗靶点的潜能等等。但随着研究的逐步深入,干预细胞代谢有望成为阻断或延缓动脉粥样硬化等慢性炎症性疾病发生进程的有效手段。

#### [参考文献]

- [1] Warburg O. On the origin of cancer cells[J]. *Science*, 1956, 123: 309-314.
- [2] Chang CH, Curtis JD, Maggi LB Jr, et al. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis[J]. *Cell*, 2013, 153: 1239-1251.
- [3] Wang R, Dillon CP, Shi LZ, et al. The transcription factor Myc controls metabolic reprogramming upon T lymphocyte activation[J]. *Immunity*, 2011, 35: 871-882.
- [4] Nguyen HD, Chatterjee S, Haarberg KM, et al. Metabolic reprogramming of alloantigen-activated T cells after hematopoietic cell transplantation[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126: 1337-1352.
- [5] Pearce EL, Poffenberger MC, Chang CH, et al. Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function[J]. *Science*, 2013, 342: 1242-1245.
- [6] Gubser PM, Bantug GR, Razik L, et al. Rapid effector function of memory CD8<sup>+</sup> T cells requires an immediate-early glycolytic switch[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14: 1064-1072.
- [7] De Rosa V, Galgani M, Porcellini A, et al. Glycolysis controls the induction of human regulatory T cells by modulating the expression of FOXP3 exon 2 splicing variants[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16: 1174-1184.
- [8] Procaccini C, Carbone F, Di Silvestre D, et al. The proteomic landscape of human ex vivo regulatory and conventional T cells reveals specific metabolic requirements[J]. *Immunity*, 2016, 44: 406-421.
- [9] Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4<sup>+</sup>T cell subsets[J]. *J Immunol*, 2011, 186: 3299-3303.
- [10] Maekawa Y, Ishifune C, Tsukumo S, et al. Notch controls the survival of memory CD4<sup>+</sup>T cells by regulating glucose uptake[J]. *Nat Med*, 2015, 21: 55-61.
- [11] Dimeloe S, Mehling M, Frick C, et al. The immune-metabolic basis of effector memory CD4<sup>+</sup>T cell function under hypoxic conditions[J]. *J Immunol*, 2016, 196: 106-114.
- [12] Shi LZ, Wang R, Huang G, et al. HIF1 $\alpha$ -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells[J]. *J Exp Med*, 2011, 208: 1367-1376.
- [13] Gerriets VA, Kishton RJ, Nichols AG, et al. Metabolic programming and PDHK1 control CD4<sup>+</sup>T cell subsets and inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125: 194-207.
- [14] Palsson-McDermott EM, O'Neill LA. The Warburg effect then and now: from cancer to inflammatory diseases[J]. *Bioessays*, 2013, 35: 965-973.
- [15] Sena LA, Li S, Jairaman A, et al. Mitochondria are required for antigen-specific T cell activation through reactive oxygen species signaling[J]. *Immunity*, 2013, 38: 225-236.
- [16] Yin Y, Choi SC, Xu Z, et al. Glucose oxidation is critical for CD4<sup>+</sup>T cell activation in a mouse model of systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol*, 2016, 196: 80-90.
- [17] van der Windt GJ, Everts B, Chang CH, et al. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8<sup>+</sup>T cell memory development[J]. *Immunity*, 2012, 36: 68-78.



- [18] Pearce EL, Walsh MC, Cejas PJ, et al. Enhancing CD8 T-cell memory by modulating fatty acid metabolism[J]. *Nature*, 2009, 460: 103-107.
- [19] Nakaya M, Xiao Y, Zhou X, et al. Inflammatory T cell responses rely on amino acid transporter ASCT2 facilitation of glutamine uptake and mTORC1 kinase activation[J]. *Immunity*, 2014, 40: 692-705.
- [20] Carr EL, Kelman A, Wu GS, et al. Glutamine uptake and metabolism are coordinately regulated by ERK/MAPK during T lymphocyte activation[J]. *J Immunol*, 2010, 185: 1037-1044.
- [21] Blagih J, Coulombe F, Vincent EE, et al. The energy sensor AMPK regulates T cell metabolic adaptation and effector responses in vivo[J]. *Immunity*, 2015, 42: 41-54.
- [22] Balmer ML, Ma EH, Bantug GR, et al. Memory CD8<sup>+</sup>T cells require increased concentrations of acetate induced by stress for optimal function[J]. *Immunity*, 2016, 44: 1312-1324.
- [23] van der Windt GJ, O'Sullivan D, Everts B, et al. CD8 memory T cells have a bioenergetic advantage that underlies their rapid recall ability[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 14336-14341.
- [24] Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation[J]. *Cell Metab*, 2016, 24: 104-117.
- [25] Buck MD, O'Sullivan D, Klein Geltink RI, et al. Mitochondrial dynamics controls T cell fate through metabolic programming[J]. *Cell*, 2016, 166: 63-76.
- [26] Yang W, Bai Y, Xiong Y, et al. Potentiating the antitumor response of CD8<sup>+</sup>T cells by modulating cholesterol metabolism[J]. *Nature*, 2016, 531: 651-655.
- [27] Zeng H, Yang K, Cloer C, et al. mTORC1 couples immune signals and metabolic programming to establish T (reg)-cell function[J]. *Nature*, 2013, 499: 485-490.
- [28] Berod L, Friedrich C, Nandan A, et al. De novo fatty acid synthesis controls the fate between regulatory T and T helper 17 cells[J]. *Nat Med*, 2014, 20: 1327-1333.
- [29] Angela M, Endo Y, Asou HK, et al. Fatty acid metabolic reprogramming via mTOR-mediated inductions of PPAR-gamma directs early activation of T cells[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13683.
- [30] Cui G, Staron MM, Gray SM, et al. IL-7-induced glycerol transport and TAG synthesis promotes memory CD8<sup>+</sup>T cell longevity[J]. *Cell*, 2015, 161: 750-761.
- [31] O'Sullivan D, van der Windt GJ, Huang SC, et al. Memory CD8<sup>+</sup>T cells use cell-intrinsic lipolysis to support the metabolic programming necessary for development[J]. *Immunity*, 2014, 41: 75-88.
- [32] Klysz D, Tai X, Robert PA, et al. Glutamine-dependent alpha-ketoglutarate production regulates the balance between T helper 1 cell and regulatory T cell generation[J]. *Sci Signal*, 2015, 8: ra97.
- [33] Swamy M, Pathak S, Grzes KM, et al. Glucose and glutamine fuel protein O-GlcNAcylation to control T cell self-renewal and malignancy[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17: 712-720.
- [34] Sinclair LV, Rolf J, Emslie E, et al. Control of amino-acid transport by antigen receptors coordinates the metabolic reprogramming essential for T cell differentiation[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14: 500-508.
- [35] Ananieva EA, Patel CH, Drake CH, et al. Cytosolic branched chain aminotransferase (BCATc) regulates mTORC1 signaling and glycolytic metabolism in CD4<sup>+</sup>T cells[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289: 18793-18804.
- [36] Verbist KC, Guy CS, Milasta S, et al. Metabolic maintenance of cell asymmetry following division in activated T lymphocytes[J]. *Nature*, 2016, 532: 389-393.
- [37] Pollizzi KN, Sun IH, Patel CH, et al. Asymmetric inheritance of mTORC1 kinase activity during division dictates CD8<sup>+</sup>T cell differentiation[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17: 704-711.
- [38] Geiger R, Rieckmann JC, Wolf T, et al. L-arginine modulates T cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity[J]. *Cell*, 2016, 167: 829-842, e813.
- [39] Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Science*, 2009, 324: 1029-1033.
- [40] MacIver NJ, Michalek RD, Rathmell JC. Metabolic regulation of T lymphocytes[J]. *Ann Rev Immunol*, 2013, 31: 259-283.
- [41] Yang J, Liu H, Liu X, et al. Synergistic allosteric mechanism of fructose-1,6-bisphosphate and serine for pyruvate kinase M2 via dynamics fluctuation network analysis[J]. *J Chem Inf Model*, 2016, 56: 1184-1192.
- [42] Imamura K, Tanaka T. Multimolecular forms of pyruvate kinase from rat and other mammalian tissues. I. Electrophoretic studies[J]. *J Biochem*, 1972, 71: 1043-1051.
- [43] 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: 1894-1899.
- [44] Eigenbrodt E, Leib S, Kramer W, et al. Structural and kinetic differences between the M2 type pyruvate kinases from lung and various tumors[J]. *Biomed Biochim Acta*, 1983, 42: S278-282.
- [45] Wang Z, Chatterjee D, Jeon HY, et al. Exon-centric regulation of pyruvate kinase M alternative splicing via mutu-

- ally exclusive exons[J]. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4: 79-87.
- [46] 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: 364-368.
- [47] Bluemlein K, Gruning 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.
- [48] Zhan C, Yan L, Wang L, et al. Isoform switch of pyruvate kinase M1 indeed occurs but not to pyruvate kinase M2 in human tumorigenesis[J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0118663.
- [49] Lu W, Zhang Y, Zhou L, et al. miR-122 inhibits cancer cell malignancy by targeting PKM2 in gallbladder carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2015(1-11).
- [50] Wong TS, Liu XB, Chung-Wai Ho A, et al. Identification of pyruvate kinase type M2 as potential oncoprotein in squamous cell carcinoma of tongue through microRNA profiling[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123: 251-257.
- [51] Kefas B, Comeau L, Erdle N, et al. Pyruvate kinase M2 is a target of the tumor-suppressive microRNA-326 and regulates the survival of glioma cells[J]. *Neuro Oncol*, 2010, 12: 1102-1112.
- [52] Tang R, Yang C, Ma X, et al. MiR-let-7a inhibits cell proliferation, migration, and invasion by down-regulating PKM2 in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 5972-5984.
- [53] Wong N, Ojo D, Yan J, et al. PKM2 contributes to cancer metabolism[J]. *Cancer Letters*, 2015, 356: 184-191.
- [54] Dayton TL, Jacks T, Vander Heiden MG. PKM2, cancer metabolism, and the road ahead[J]. *EMBO Rep*, 2016, 17: 1721-1730.
- [55] 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: ra73.
- [56] Lv L, Li D, Zhao D, et al. Acetylation targets the M2 isoform of pyruvate kinase for degradation through chaperone-mediated autophagy and promotes tumor growth[J]. *Mol Cell*, 2011, 42: 719-730.
- [57] Anastasiou D, Poulgiannis G, Asara JM, et al. Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses[J]. *Science*, 2011, 334: 1278-1283.
- [58] Sarrazy V, Viaud M, Westerterp M, et al. Disruption of Glut1 in hematopoietic stem cells prevents myelopoiesis and enhanced glucose flux in atheromatous plaques of ApoE<sup>-/-</sup> Mice[J]. *Circ Res*, 2016, 118: 1062-1077.
- [59] Nishizawa T, Kanter JE, Kramer F, et al. Testing the role of myeloid cell glucose flux in inflammation and atherosclerosis[J]. *Cell Reports*, 2014, 7: 356-365.
- [60] Shirai T, Nazarewicz RR, Wallis BB, et al. The glycolytic enzyme PKM2 bridges metabolic and inflammatory dysfunction in coronary artery disease[J]. *J Exp Med*, 2016, 213: 337-354.
- [61] Ma K, Lv S, Liu B, et al. CTLA4-IgG ameliorates homocysteine-accelerated atherosclerosis by inhibiting T-cell overactivation in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 97: 349-359.
- [62] Feng J, Zhang Z, Kong W, et al. Regulatory T cells ameliorate hyperhomocysteinaemia-accelerated atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84: 155-163.
- [63] Lu S, Deng J, Liu H, et al. PKM2-dependent metabolic reprogramming in CD4<sup>+</sup>T cells is crucial for hyperhomocysteinemia-accelerated atherosclerosis [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2018, 96(6): 585-600.
- [64] Zhou X, Paulsson G, Stemme S, et al. Hypercholesterolemia is associated with a T helper (Th) 1/Th2 switch of the autoimmune response in atherosclerotic apo E-knockout mice[J]. *J Clin Invest*, 1998, 101: 1717-1725.
- [65] Frostegard J, Ulfgren AK, Nyberg P, et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines[J]. *Atherosclerosis*, 1999, 145: 33-43.
- [66] Zhou X, Nicoletti A, Elhage R, et al. Transfer of CD4<sup>+</sup>T cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient apolipoprotein E knockout mice[J]. *Circulation*, 2000, 102: 2919-2922.

(此文编辑 文玉珊)