

论著·基础研究

HIF-1 α -PDK1 信号系统参与急性单核细胞白血病糖代谢和耐药的机制研究

许晓巍, 赵初娴, 李 肃, 王 椿, 宋献民, 白海涛

上海交通大学附属第一人民医院血液科, 上海 200080

[摘要] **目的**·探讨 HIF-1 α -PDK1 信号系统调控急性单核细胞白血病细胞糖代谢以及耐药的机制。**方法**·定量聚合酶链式反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 检测 U937 细胞、U937/DNR 细胞和原代急性单核细胞白血病细胞中丙酮酸脱氢酶激酶 1 (pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1) 的 mRNA 水平。采用基因沉默构建 siRNA HIF-1 α 质粒, 分别转染作用于 U937 和 U937/DNR 细胞 24 h; 噻唑蓝 (MTT) 比色法检测细胞增殖抑制, qPCR 检测 *PDK1* mRNA 表达量, 蛋白印迹法 (Western blotting) 检测 PDK1 和多药耐药基因 1 (multi-drug resistance gene 1, MDR1) 蛋白的表达, 流式细胞术检测染料 JC-1 水平以评估线粒体膜电位变化, 血气分析仪测定培养液中乳酸含量。用二氯乙酸盐 (dichloroacetate, DCA) 和柔红霉素 (daunorubicin, DNR) 作用于 U937/DNR 和原代急性单核细胞白血病细胞 24 h; MTT 比色法检测细胞增殖抑制, Western blotting 检测 PDK1 和 MDR1 蛋白的表达。**结果**·*PDK1* mRNA 在原代急性单核细胞白血病细胞、U937 细胞和 U937/DNR 细胞中均高表达。沉默低氧诱导因子 -1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 可显著抑制 U937 和 U937/DNR 细胞的增殖活力、PDK1 和 MDR1 蛋白的表达以及乳酸的生成。DCA 能够逆转 U937/DNR 细胞和已复发的原代急性单核细胞白血病细胞对 DNR 的耐药。**结论**·HIF-1 α -PDK1 信号系统可调控细胞糖代谢并参与急性单核细胞白血病的耐药。

[关键词] 丙酮酸脱氢酶激酶 1; 多药耐药; 低氧诱导因子 -1 α ; 急性单核细胞白血病
[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2018.11.004 **[中图分类号]** R557.2 **[文献标志码]** A

Mechanism of HIF-1 α -PDK1 signaling system involved in glucose metabolism and drug resistance in acute monocytic leukemia

XU Xiao-wei, ZHAO Chu-xian, LI Su, WANG Chun, SONG Xian-min, BAI Hai-tao

Department of Hematology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

[Abstract] **Objective**·To investigate the mechanism of HIF-1 α -PDK1 signaling system mediated glucose metabolism and drug resistance in acute monocytic leukemia cells. **Methods**·The expression of pyruvate dehydrogenase kinase 1 (*PDK1*) mRNA in U937, U937/DNR and acute monocytic leukemia cells was detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). siRNA HIF-1 α plasmid was constructed and transferred to U937 and U937/DNR cells for 24 h by gene silencing. Cell proliferation inhibition was examined by MTT assay. The level of *PDK1* mRNA was detected by qPCR, and the expression of PDK1 and multi-drug resistance gene 1 (MDR1) proteins was detected by Western blotting. Cell membrane potential was measured by flow cytometry using JC-1. Lactic acid level in the culture fluid was determined by blood gas analyzer. Dichloroacetate (DCA) and daunorubicin (DNR) were added to treat U937/DNR and acute monocytic leukemia cells for 24 h, MTT was used to calculate cell proliferation inhibition and Western blotting was used to estimate the expression of PDK1 and MDR1 proteins. **Results**·*PDK1* mRNA was highly expressed in U937, U937/DNR and acute monocytic leukemia cells. Silencing hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) significantly inhibited the proliferation activity, PDK1 and MDR1 expression and lactic acid production in U937 and U937/DNR cells. DCA could reverse the resistance to DNR in U937/DNR and relapsed acute monocytic leukemia cells. **Conclusion**·HIF-1 α -PDK1 signaling system may regulate glucose metabolism and participate in the drug resistance of acute monocytic leukemia. **[Key words]** pyruvate dehydrogenase kinase 1 (*PDK1*); multidrug resistance; hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α); acute monocytic leukemia

急性单核细胞白血病是比较常见的急性髓细胞白血病。由于其对化学治疗 (简称化疗) 药物具有耐药性, 患者复发较为常见, 5 年生存率较低。现有的异基因造血干细胞移植虽可以治愈部分患者, 但仍有部分患者存在复

发的情况, 因此探索新的治疗手段解决其耐药问题成为了血液基础科学研究者关注的热点。肿瘤细胞主要通过葡萄糖有氧酵解获得能量, 且线粒体氧化磷酸化过程受到明显抑制 (“Warburg 效应”), 即仅产生 2 分子 ATP; 然

[基金项目] 上海市卫生和计划生育委员会科研课题面上项目 (201440292) (Scientific Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, 201440292)。

[作者简介] 许晓巍 (1974—), 女, 主治医师, 博士; 电子信箱: xuxiaowei1616@126.com。

[通信作者] 白海涛, 电子信箱: 13817548894@163.com。



而, 正常细胞的葡萄糖代谢过程是通过三羧酸循环及氧化磷酸化作用, 产生 36 分子 ATP 以获得能量。根据肿瘤细胞的这一生物学特性, 近年来科研工作者发现通过抑制肿瘤细胞的糖代谢途径可以抑制肿瘤细胞生长, 因此, 6-脱氧葡萄糖等糖代谢抑制剂已逐渐应用于临床试验^[1]。目前已有一些研究^[2]表明, 糖酵解与肿瘤耐药密切相关, 主要通过降低糖代谢途径的一些关键限速酶如己糖激酶(hexokinase, HK)、丙酮酸激酶的活性和表达来逆转肿瘤细胞对化疗药物的耐药。丙酮酸脱氢酶激酶(pyruvate dehydrogenase kinase, PDK)可抑制丙酮酸脱氢酶(pyruvate dehydrogenase, PDH)并催化丙酮酸脱氢生成乙酰辅酶A, 而乙酰辅酶A是三羧酸循环的起始底物, 该底物的减少则可抑制三羧酸循环和氧化磷酸化过程。PDK在绝大部分的组织细胞中有4种异构体, 即PDK1~4; 其中, PDK1作为糖酵解过程中重要的调节酶, 特异性地在肿瘤细胞中高表达, 有可能成为肿瘤治疗的新靶点。已有研究^[3-4]发现, PDK1在众多实体肿瘤中, 如乳腺癌、胃癌、恶性胶质细胞瘤等, 参与肿瘤细胞的侵袭和转移。PDK可能还与肿瘤细胞的耐药相关, Shen等^[5]使用PDK抑制剂逆转肝癌细胞对索拉菲尼的耐药, 但在急性单核细胞白血病细胞中, PDK1的表达与耐药机制间的关系尚不十分清楚。低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)在肿瘤的糖酵解中发挥重要作用, 可调控下游的许多靶基因如PDK1、己糖激酶、乳酸脱氢酶A等的表达。研究^[6]显示, HIF-1 α 的高表达与急性淋巴细胞白血病细胞对化疗药物的耐药相关。然而, PDK1作为HIF-1 α 下游的靶基因, 是否参与了急性单核细胞白血病细胞的耐药, 值得进一步研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞培养 人白血病细胞株U937购自中国科学院上海生命科学院细胞资源中心。耐药细胞株U937/DNR由上海美轩生物科技有限公司提供。U937细胞用RPMI-1640(Gibco, 美国)培养基(含10%小牛血清, 链霉素及青霉素各100 μ g/mL)于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中培养。U937/DNR细胞的培养条件与U937细胞相同, 且需加入柔红霉素(daunorubicin, DNR), 使其终浓度为1 ng/mL。U937及U937/DNR细胞每3 d换药1次。U937/DNR细胞于实验前脱药培养2周。所有细胞均取对数生长期进行实验。

1.1.2 患者样本 取2014年1月—2017年10月于上

海交通大学附属第一人民医院确诊为急性单核细胞白血病(acute monocytic leukemia M5, AML-M5)及AML-M4的患者31例。其中, 男性19例, 女性12例[伦理号: 2014KY017(2)]。设置入组的31例患者为初发组; 根据骨髓细胞涂片结果, 将其分为复发组18例、缓解组13例。患者年龄为23~68岁, 中位年龄为49岁。取患者骨髓3 mL, 采用Ficoll法分离骨髓单个核细胞, 并用CD34⁺磁珠分选单个核细胞获得原代急性单核细胞白血病细胞。缓解组收集患者骨髓单个核细胞。

1.2 实验方法

1.2.1 HIF-1 α 沉默 实验分为干扰质粒(siRNA HIF-1 α)组、空白对照质粒(negative control plasmid, 简称CT)组及空白对照(blank control, 简称con)组。采用siRNA技术进行HIF-1 α 沉默。质粒Luciferase GL2(Thermo Scientific, 美国)由双链RNA寡核苷酸合成。采用操纵子(Eurofins MWG Operon Ebersberg, 德国)合成干扰序列。HIF-1 α 的干扰序列为: 上游引物5'-CCACAGGACAGTACAGGATG-3', 下游引物5'-TCAAGTCGTGCTGAATAATACC-3'。U937和U937/DNR细胞按 1.5×10^5 /L接种到底面积为12.5 cm²的培养皿中培养24 h, 使用转染试剂Interferin(Polyplus-transfection Inc, 美国)向U937和U937/DNR细胞转染不同浓度的siRNA HIF-1 α 质粒进行预试验, 摸索合适的质粒浓度。最终, 选择75 nmol/L的siRNA HIF-1 α 质粒浓度进行后续实验。

1.2.2 乳酸测定 经siRNA HIF-1 α 转染作用于U937和U937/DNR细胞24 h, 取3组细胞培养的上清液, 用血气分析仪GEM3000检测乳酸含量。

1.2.3 线粒体膜电位JC-1测定 于流式细胞仪(FACS Calibur, Becton Dickinson, 美国)上行线粒体膜电位检测, JC-1的单体和聚合物荧光信号分别在FL1-H和FL2-H探测器上获得。JC-1单体标记为绿色荧光, 表示凋亡细胞; JC-1聚合物标记为红色荧光, 表示正常细胞。

1.2.4 MTT比色法检测细胞增殖抑制 利用HIF-1 α 沉默检测U937和U937/DNR细胞的增殖抑制作用。取对数生长期的细胞悬液接种在96孔板中, 调整至5 000个/孔。分别向U937和U937/DNR细胞转染siRNA HIF-1 α , 每组设5个复孔; 转染24 h后加入CCK-8 10 μ L, 2 h后酶标仪上检测450 nm波长处吸光度D值, 最后比色以con组调零。增殖活力=每组实测D值-空白对照组D值。

1.2.5 qPCR检测PDK1 mRNA水平 引物的设计和构建由上海生工生物科技有限公司完成(表1)。反应体系



(20 μL): 2 \times SYBR 染料 10 μL , 上游引物 0.4 μL , 下游引物 0.4 μL , DNA 模板 2 μL , ROX reference II 染料 0.4 μL , 无菌双蒸水 6.8 μL 。qPCR 为两步法扩增: 第一步, 95 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 1 个循环; 第二步, 95 $^{\circ}\text{C}$ 、5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 、34 s, 40 个循环。GAPDH 为内参。

表 1 qPCR 检测的引物序列
Tab 1 Primer sequences in qPCR

基因名称	上游引物 (5' \rightarrow 3')	下游引物 (5' \rightarrow 3')
PDK1	CCAAGACCTCGTGTGGAGACC	AATACAGCTTCAGGTCTCCTTGG
GAPDH	GACATGCCGCCTGGAGAAAC	GTCCACCACCCTGTTGCTGTAG

1.2.6 二氯乙酸盐的工作浓度选定 将 U937/DNR 细胞和原代急性单核细胞白血病细胞放置于不同浓度的二氯乙酸盐 (dichloroacetate, DCA) (即 0、10、20、40 mmol/L) 中孵育 24 h, 观察 DCA 对上述 2 种细胞的生长抑制作用。最终, 本研究选择 20 mmol/L 作为 DCA 的工作浓度。

1.2.7 Western blotting 测 PDK1 和 MDR1 表达 PDK1 和多药耐药基因 1 (multi-drug resistance gene 1, MDR1) 的单抗购自美国 Cell Signal 公司。

(1) 经 siRNA HIF-1 α 转染 24 h 后, 收集 U937 和 U937/DNR 细胞, 待检测。

(2) 将 DCA (20 mmol/L) 和 DNR (1 ng/mL) 分别作用于 U937/DNR 和复发组的原代急性单核细胞白血病细胞, 该实验分为 8 组: a. U937/DNR 细胞空白对照; b. DNR (1 ng/mL) 作用于 U937/DNR 细胞; c. DCA (20 mmol/L) 作用于 U937/DNR 细胞; d. DCA (20 mmol/L) 和 DNR (1 ng/mL) 联合作用于 U937/DNR 细胞; e. 原

代急性单核细胞白血病细胞对照; f. DNR (1 ng/mL) 作用于原代急性单核细胞白血病细胞; g. DCA (20 mmol/L) 作用于原代急性单核细胞白血病细胞; h. DCA (20 mmol/L) 和 DNR (1 ng/mL) 联合作用于原代急性单核细胞白血病细胞。反应结束后, 收集上述细胞待检测。

分别提取上述 (1)、(2) 实验的细胞总蛋白。加入一抗 (1:1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; 弃一抗, 1 \times 磷酸缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 洗膜 3 次 (5 min/次); 加入辣根过氧化物酶偶联的二抗 (1:1 000), 室温孵育 2 h; 弃二抗, 1 \times PBS 洗膜 3 次 (5 min/次); 加入底物发光的 ECL 显色剂 (Millipore, 美国) 曝光显影, 用 Chemi Doc XRS⁺ (Bio-Rad, 美国) 化学发光成像系统进行检测。

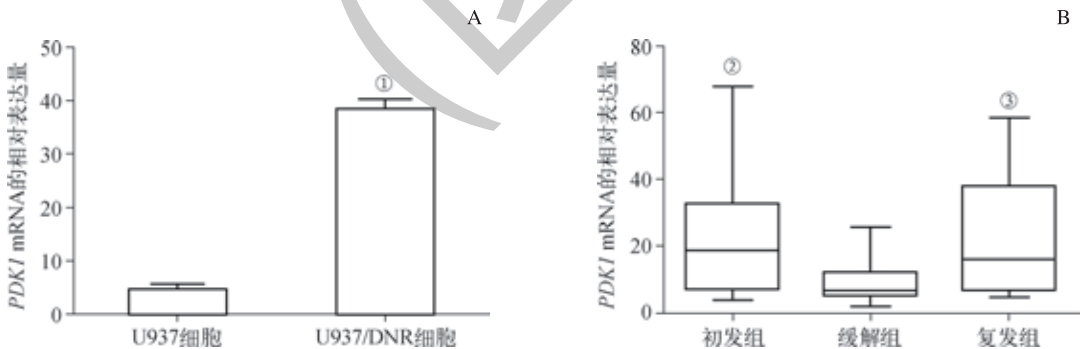
1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行统计分析。定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多个样本均数的组间比较采用单因素方差分析。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PDK1 mRNA 相对表达量检测

qPCR 结果 (图 1) 显示, U937/DNR 和 U937 细胞比较, PDK1 mRNA 表达明显升高 (P=0.013); 与缓解组相比, 初发组和复发组的 PDK1 mRNA 表达较高 (P=0.005, P=0.002)。经分析显示, 18 例复发患者中有 7 例 (38.89%) 与初发组比较, PDK1 mRNA 表达明显升高 (采用基因芯片结果分析法, 即 PDK1 mRNA 表达量是初发组表达量 2 倍以上为判定标准)。



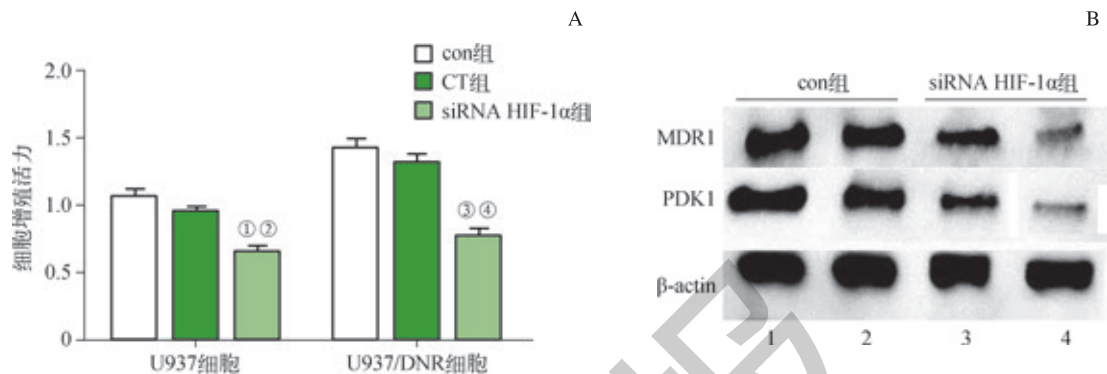
注: A. U937 和 U937/DNR 细胞的 PDK1 mRNA 相对表达量; B. 初发组、缓解组和复发组患者原代急性单核细胞白血病细胞的 PDK1 mRNA 相对表达量。
^① P=0.013, 与 U937 细胞比较; ^② P=0.005, ^③ P=0.002, 与缓解组比较。

图 1 qPCR 检测细胞中 PDK1 mRNA 的相对表达量
Fig 1 PDK1 mRNA levels checked by qPCR

2.2 细胞增殖活力以及 PDK1、MDR1 表达检测

经 siRNA HIF-1 α 转染作用 24 h 后, MTT 比色法结果显示, U937 及 U937/DNR 细胞增殖活力较 con 组和 CT

组明显受到抑制 (均 $P<0.05$); Western blotting 结果显示, 与 con 组相比, U937 和 U937/DNR 细胞经 siRNA HIF-1 α 转染后, PDK1 和 MDR1 的表达有所下降 (图 2)。



注: A. 细胞的增殖活力比较; B. PDK1 和 MDR1 的表达。^① $P=0.006$, ^② $P=0.000$, 与 con 组比较; ^③ $P=0.004$, ^④ $P=0.001$, 与 CT 组比较。1、3. U937 细胞, 2、4. U937/DNR 细胞。

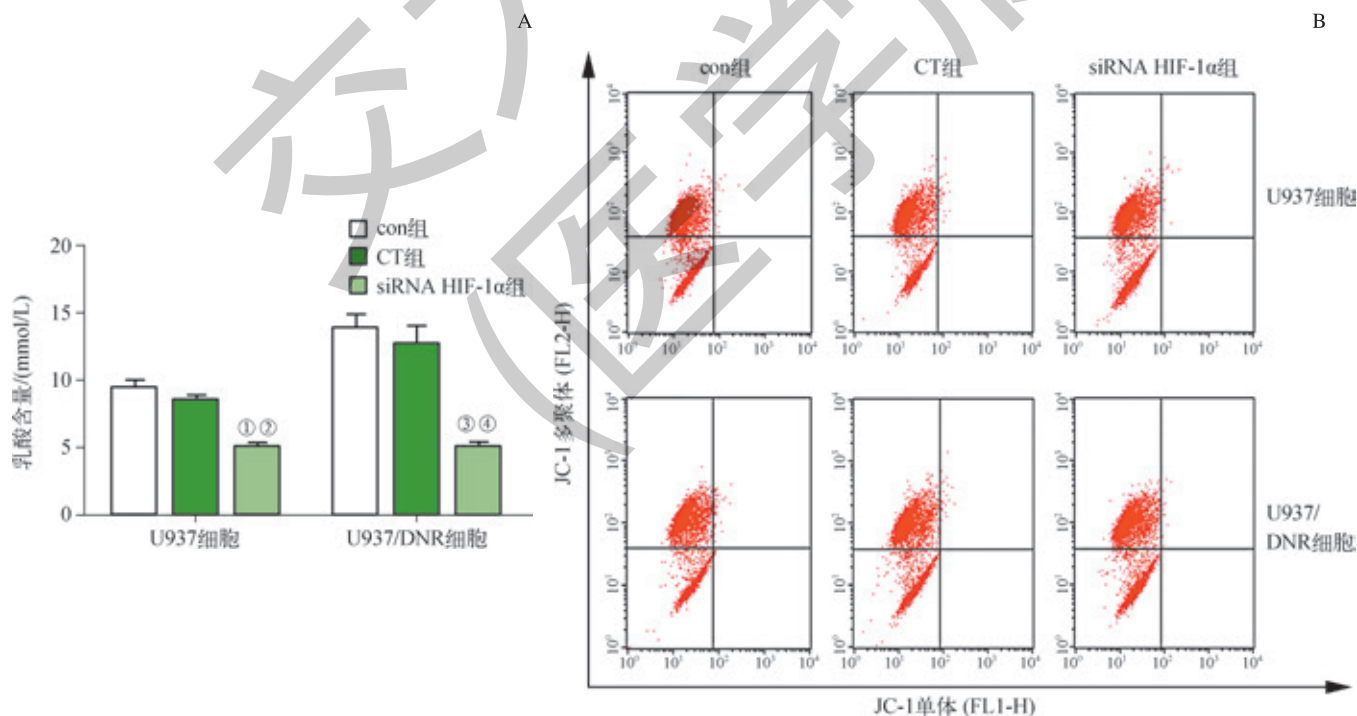
图 2 U937 和 U937/DNR 细胞的增殖活力以及 PDK1 和 MDR1 的表达

Fig 2 Proliferation activity and PDK1 and MDR1 expression in U937 and U937/DNR cells

2.3 糖酵解和线粒体氧化磷酸化水平检测

通过测定肿瘤细胞的乳酸水平及线粒体膜电位, 可间接反映其糖酵解及氧化磷酸化水平。研究结果显示, 经 siRNA HIF-1 α 转染后, 与 con 组和 CT 组相比, U937 和

U937/DNR 细胞中的乳酸含量明显受到抑制 (均 $P<0.05$), 其中 U937/DNR 细胞中乳酸含量受抑制程度更加显著; 然而, 2 种细胞中的线粒体细胞膜电位并未发生明显变化 (图 3)。



注: A. 细胞乳酸含量比较; B. 细胞线粒体膜电位变化。^① $P=0.005$, ^② $P=0.000$, 与 con 组比较; ^③ $P=0.007$, ^④ $P=0.001$, 与 CT 组比较。

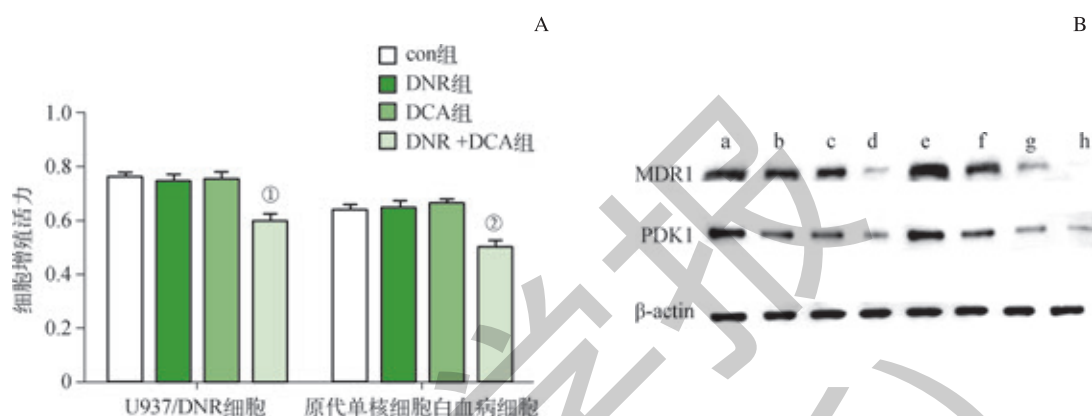
图 3 U937 和 U937/DNR 细胞培养液中乳酸含量和细胞线粒体膜电位变化

Fig 3 Lactic acid level and mitochondrial membrane potential change in U937 and U937/DNR cells

2.4 DCA 可逆转 U937/DNR 和复发的原代急性单核细胞白血病细胞对 DNR 的耐药

U937/DNR 细胞对 DNR 的耐药终浓度为 1 ng/mL, 且该浓度对复发的原代急性单核细胞白血病细胞也无明显的增殖抑制作用; 同时, 20 mmol/L DCA 对 U937/DNR 细胞和复发的原代急性单核细胞白血病细胞亦无明显的增殖抑制作用。然而, 20 mmol/L DCA 与 1 ng/mL DNR 联合

作用于 U937/DNR 细胞和复发的原代急性单核细胞白血病细胞后, 则能够明显抑制细胞的增殖, 与单纯 1 ng/mL DNR 作用相比差异具有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 同时, PDK1 和 MDR1 的表达也明显下降 (图 4)。上述结果说明, DCA 能够逆转 U937/DNR 细胞和原代急性单核细胞白血病细胞对 DNR 的耐药。



注: A. MTT 比色法检测细胞增殖活力; ^① $P=0.003$, ^② $P=0.004$, 与 DNR 组比较。B. Western blotting 检测不同组别的 PDK1、MDR1 表达 (a ~ h 见 1.2.7 中分组所示)。DNR 浓度为 1 ng/mL, DCA 浓度为 20 mmol/L。

图 4 U937/DNR 细胞和复发的原代急性单核细胞白血病细胞的增殖活力及 PDK1、MDR1 的表达

Fig 4 Proliferation activity and PDK1 and MDR1 expression in U937/DNR cells and relapsed acute monocytic leukemia cells

3 讨论

PDK 有 4 种异构体, 即 PDK1 ~ 4; 其中, PDK1、PDK2 和 PDK3 与细胞糖代谢密切相关, 而 PDK4 则主要参与细胞的脂肪代谢且与糖尿病的发生机制有关。由于 PDK1 特异性参与肿瘤细胞的糖酵解, 在正常组织中低表达, 因此本研究更加关注 PDK1 在肿瘤细胞中的生物学作用^[7]。Goto 等^[8]报道急性单核细胞白血病株 THP-1 在低氧条件下可以激活 PDK1, 抑制细胞氧化磷酸化作用, 但具体机制尚不明确。近年来, 有关 PDK1 的表达与化疗药物的敏感性研究已逐渐成为该领域的热点。在急性髓细胞白血病细胞中, 研究^[9]发现, 在 42% 患者的白血病细胞中 PDK1 呈现高表达, 这些患者 5 年生存率较 PDK1 低表达的患者显著降低, 表明 PDK1 可能参与急性髓细胞白血病的耐药过程。本研究发现, *PDK1* mRNA 在 U937/DNR 细胞中的表达较 U937 明显增高。随后, 本研究进一步收集 31 例 AML-M4 和 AML-M5 患者骨髓 CD34⁺ 细胞, 经 PCR 检测发现: 复发组、初发组均较缓解组的 *PDK1* mRNA 表达明显升高, 且 38.89% 的复发患者 (AML-M4 或 AML-M5) 细胞较其初发时细胞的 *PDK1* mRNA 表达升高。该结果显示, PDK1 不仅与急性单核细胞白血病

细胞的糖酵解有关, 而且也与细胞耐药密切相关。目前, PDK1 在急性单核细胞白血病细胞中表达上调与细胞耐药的相关机制尚不清楚。

实体肿瘤研究^[10]已发现, HIF-1 α 可上调 PDK1 的表达, 促使肿瘤细胞糖酵解, 抑制细胞氧化磷酸化。近年来的体外研究^[11]显示, HIF-1 α -PDK1 信号系统活化与黑色素瘤细胞对放射治疗 (简称放疗) 的不敏感相关; 因此, 抑制 HIF-1 α -PDK1 信号途径可恢复黑色素瘤细胞对放疗的敏感性。在非凋亡的健康细胞中, 线粒体呼吸产生的细胞能量以电化学梯度方式维持, 该梯度构成了线粒体的高跨膜电位, 这一膜电位可促使细胞驱动 ATP 合成。然而, 在肿瘤细胞中, ATP 合成则是通过有氧酵解的方式获得^[12]。MDR1 表达与细胞糖代谢和微环境有关, 可减少肿瘤细胞的糖代谢及乳酸生成、提高细胞外的 pH 值, 进而提升肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[13]。因此, 抑制肿瘤细胞的有氧酵解则可能逆转肿瘤细胞的耐药。本研究证实, 在急性单核细胞白血病细胞中, PDK1 的表达也受到 HIF-1 α 的调控。siRNA HIF-1 α 能够抑制 U937 和 U937/DNR 细胞中 PDK1 和 MDR1 的表达, 同时抑制细胞增殖。进一步的研究发现, PDK1 能够显著抑制 U937 和 U937/DNR 细胞的乳酸含量, 且 U937/DNR 细胞中乳酸含量较

U937 细胞更低, 而对 U937 和 U937/DNR 细胞中的线粒体膜电位则无明显影响。因此, 本研究结果初步揭示了 HIF-1 α 可通过抑制 PDK1 表达来抑制细胞的糖酵解; 同时调控 MDR1 的表达, 参与 U937 细胞对 DNR 的耐药。

急性单核细胞白血病标准诱导方案为 DA 方案, 即每日采用 40 mg/m² DNR (第 1 ~ 3 日) 联合 100 mg/m² 阿糖胞苷 (第 1 ~ 7 日), 该方案对蒽环类药物尤其是 DNR 的耐药机制研究具有现实意义。目前, 研究比较明确的且与 DNR 耐药相关的机制是 MDR1 和 P-gp 蛋白的高表达有关^[14]。作为 PDK1 的抑制剂, DCA 在体内吸收利用度较高, 已被证实在诱导肿瘤细胞的凋亡中具有明显效应,

并已开始应用于临床试验。最近研究^[15]中报道, DCA 能增强原代胃癌细胞对 5- 氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 的耐药敏感性, 抑制 PDK1 的表达。本研究表明, DCA 联合 DNR 可抑制 U937/DNR 细胞和复发的原代急性单核细胞白血病细胞的增殖, 下调 PDK1 和 MDR1 的表达, 从而逆转上述细胞对 DNR 的耐药。

本研究将 PDK1 作为急性单核细胞白血病细胞耐药的标志物, 通过体外研究阐述 HIF-1 α -PDK1 信号途径调节 U937 和 U937/DNR 细胞的糖代谢与耐药作用机制。该研究结果可能为复发耐药的急性单核细胞白血病的治疗开拓新的思路。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Martín-Martín N, Carracedo A, Torrano V. Metabolism and transcription in cancer: merging two classic tales[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2017, 5: 119.
- [2] Emmanouilidi A, Falasca M. Targeting PDK1 for chemosensitization of cancer cells[J]. *Cancers(Basel)*, 2017, 9(10). DOI: 10.3390/cancers 9100140.
- [3] Fujiwara S, Kawano Y, Yuki H, et al. PDK1 inhibition is a novel therapeutic target in multiple myeloma[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(1): 170-178.
- [4] Velpula KK, Bhasin A, Asuthkar S, et al. Combined targeting of PDK1 and EGFR triggers regression of glioblastoma by reversing the Warburg effect[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(24): 7277-7289.
- [5] Shen YC, Ou DL, Hsu C, et al. Activating oxidative phosphorylation by a pyruvate dehydrogenase kinase inhibitor overcomes sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2013, 108(1): 72-81.
- [6] Frolova O, Samudio I, Benito JM, et al. Regulation of HIF-1 α signaling and chemoresistance in acute lymphocytic leukemia under hypoxic conditions of the bone marrow microenvironment[J]. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13(10): 858-870.
- [7] Sutendra G, Michelakis ED. Pyruvate dehydrogenase kinase as a novel therapeutic target in oncology[J]. *Front Oncol*, 2013, 3: 38.
- [8] Goto M, Miwa H, Suganuma K, et al. Adaptation of leukemia cells to hypoxic condition through switching the energy metabolism or avoiding the oxidative stress[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 76.
- [9] Zabkiewicz J, Pearn L, Hills RK, et al. The PDK1 master kinase is over-expressed in acute myeloid leukemia and promotes PKC-mediated survival of leukemic blasts[J]. *Haematologica*, 2014, 99(5): 858-864.
- [10] Slominski A, Kim TK, Brożyna AA, et al. The role of melanogenesis in regulation of melanoma behavior: melanogenesis leads to stimulation of HIF-1 α expression and HIF-dependent attendant pathways[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014, 563: 79-93.
- [11] Zhao H, Jiang H, Li Z, et al. 2-Methoxyestradiol enhances radiosensitivity in radioresistant melanoma MDA-MB-435R cells by regulating glycolysis via HIF-1 α /PDK1 axis[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(5): 1531-1540.
- [12] Yokosuka T, Goto H, Fujii H, et al. Flow cytometric chemosensitivity assay using JC-1, a sensor of mitochondrial transmembrane potential, in acute leukemia[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 72(6): 1335-1342.
- [13] Tavares-Valente D, Baltazar F, Moreira R, et al. Cancer cell bioenergetics and pH regulation influence breast cancer cell resistance to paclitaxel and doxorubicin[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2013, 45(5): 467-475.
- [14] Ghoneum A, Sharma S, Gimzewski J. Nano-hole induction by nanodiamond and nanoplatinum liquid, DPV576, reverses multidrug resistance in human myeloid leukemia (HL60/AR)[J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8: 2567-2573.
- [15] Xuan Y, Hur H, Ham IH, et al. Dichloroacetate attenuates hypoxia-induced resistance to 5-fluorouracil in gastric cancer through the regulation of glucose metabolism[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 321(2): 219-230.

[收稿日期] 2018-04-18

[本文编辑] 邢宇洋

