

网络出版时间:2025-05-12 16:06:19 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250509.1631.036

## 己糖激酶 2 通过增强糖酵解途径促进前列腺癌的发生

徐凌凡,丁和康,施浩强,杨 诚,郇 胜

(安徽医科大学第一附属医院泌尿外科,合肥 230022)

**摘要** **目的** 探讨己糖激酶 2(HK2)在前列腺癌发生、发展过程中的生物学作用及其调控机制。**方法** 采用免疫组织化学方法对良性前列腺增生组织和前列腺癌组织进行染色,以了解 HK2 的蛋白表达情况,并分析 HK2 与相关临床指标的关系;采用蛋白质印迹法探究 HK2 在各前列腺癌细胞系中的蛋白表达,并通过噻唑蓝(MTT)方法检测细胞活力;利用小鼠皮下成瘤模型观察肿瘤在动物体内的生长情况;采用同位素示踪的方法研究葡萄糖在前列腺癌细胞中的代谢流向。**结果** 前列腺癌组织中 HK2 的表达高于良性前列腺增生组织( $P < 0.05$ )。HK2 的表达强度与肿瘤的恶性程度、前列腺特异性抗原(PSA)水平以及有无远处转移呈正相关( $P < 0.05$ )。过表达 HK2 后,前列腺癌细胞增殖速率增快( $P < 0.01$ ),敲低 HK2 后小鼠肿瘤发生率降低。HK2 增强了前列腺肿瘤细胞中糖酵解通路的活性( $P < 0.05$ )。**结论** HK2 通过调节糖酵解代谢通路的活性促进前列腺癌的发生、发展。

**关键词** 前列腺癌;己糖激酶 2;糖酵解;细胞增殖;免疫组化;同位素示踪

**中图分类号** R 739.8

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2025)05-0912-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.05.019

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是男性泌尿生殖系统中常见的恶性肿瘤,在西方国家呈高发状态<sup>[1-2]</sup>。近年来,随着前列腺肿瘤早期筛查技术的普及以及国民健康体检意识的增强,PCa 在我国的

发病率呈现出逐年攀升的趋势,严重危害我国老年男性人群的健康<sup>[3]</sup>。尽管前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)作为 PCa 筛查的关键肿瘤指标在临床上得到广泛应用,但由于 PCa 起病较为隐匿,患者就诊时常处于疾病进展期。因此,了解影响 PCa 发生、发展的分子机制,对于疾病的早发现、早干预具有重要意义。肿瘤细胞内的代谢重编被认为是导致肿瘤发生和发展的重要驱动因素。葡萄糖作为“三大能源物质”之一,其代谢活性直接影响肿瘤细胞的生物学功能。糖酵解途径是葡萄糖在肿瘤

2025-02-08 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:82272886);安徽省教育厅  
高校科研项目(编号:2022AH030118);安徽省转化医学研  
究院科研基金项目(编号:2022zhyc-C37)

作者简介:徐凌凡,男,博士,副主任医师,校聘副教授,硕士生导师,  
通信作者,E-mail: ayfxf@163.com

tion of the biocompatibility of AP-SF membrane by CCK-8 and live cell staining. Alkaline phosphatase staining (ALP) and alizarin red staining (ARS) were used to detect the osteogenic differentiation of rBMSCs in each group.

**Results** AP was successfully extracted from AS, and the membrane prepared from a mixed solution of SF and AP with a solid content of 10:9 had the strongest wet tensile performance, reaching 8.46 MPa. The CCK-8 and live dead cell staining test results of the AP-SF membrane showed no significant difference compared to the blank group and SF group, indicating that both membranes had good biocompatibility. The ALP test and ARS results indicated that AP-SF membrane had a more significant ability to promote osteogenic differentiation of rBMSCs compared to SF membrane. **Conclusion** The prepared AP-SF membrane has both good mechanical and biological properties, and has certain clinical application potential.

**Key words** aragonite platelets; silk fibroin; nacre; guided bone regeneration; bone defect repair; osteogenic differentiation

**Fund programs** Health Research Project of Anhui Province (No. AHWJ2022b001); Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2022zhyc-B03)

**Corresponding author** Xu Wenhua, E-mail: xuwenhua@ahmu.edu.cn

细胞中的重要代谢途径之一。作为其代谢通路中重要的限速酶之一,己糖激酶 2(hexokinase 2, HK2) 负责催化分解葡萄糖为 6-磷酸葡萄糖。HK2 已被证实多种实体肿瘤中扮演“促瘤”的角色<sup>[4-5]</sup>, 然而其在 PCa 中的作用却未见阐明。因此, 该研究拟通过回顾性研究的方法探讨 HK2 在 PCa 组织中的表达, 并分析 HK2 与相关临床指标的相关性; 同时进行体内动物皮下成瘤实验和体外细胞实验, 揭示 HK2 在 PCa 细胞中的生物学功能以及对糖酵解通路代谢活性的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞** 人 PCa 细胞 LNCaP、PC3, 人正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 购自美国 ATCC 公司。

**1.2 主要试剂和仪器** RPMI-1640、DMEM 培养基、磷酸盐平衡液(phosphate buffered saline, PBS)(美国 Gibco 公司), HK2 过表达质粒、HK2 敲低质粒(shHK2)(生工生物工程上海股份有限公司), 细胞增殖试剂盒(上海钰博生物科技有限公司), TRIzol 试剂、逆转录试剂盒、SYBRGreen 试剂盒、细胞转染试剂 Lipofectamine、CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 葡萄糖、乳酸含量测定试剂盒(武汉伊莱瑞特公司), HK2、Actin 抗体(美国 Cell signaling 公司), 多功能微孔读板仪(美国 BioTek 公司)。

**1.3 组织与临床资料** 回顾性分析 2023 年于安徽医科大学第一附属医院泌尿外科就诊的良性前列腺增生患者以及 PCa 患者的临床资料。良性前列腺增生患者行经尿道前列腺电切术, PCa 患者行机器人辅助腹腔镜下根治性前列腺切除术。所有纳入研究的患者年龄在 56~81 岁, 无严重的慢性疾病及心肺系统合并症。组织病理切片由安徽医科大学第一附属医院病理科调取, 共获取良性前列腺增生组织 10 例, 低级别 PCa(Gleason 评分 $\leq 7$  分) 组织 10 例, 高级别 PCa(Gleason 评分 $\geq 8$  分) 组织 10 例。结果采用 H-score 评分方法进行量化, 分数 = 染色强度(0、1、2、3)  $\times$  染色范围(0%~100%, 即阳性细胞数量占切片中所有细胞数量的百分数)。

**1.4 细胞活力测定** 采用噻唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT]法鉴定。将 LNCaP 和 PC3 细胞以 1 000 细胞/孔的密度接种于 96 孔细胞培养板中, 待细胞贴壁后, 更换 200  $\mu$ l/孔新鲜培养液, 于第 1、2、3 天加入 10  $\mu$ l 的 MTT 反应试剂, 37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后, 于多功能

微孔读板仪在 490 nm 波长读取吸光度值。所有结果均标准化至第 0 天的结果。

**1.5 细胞转染** 将 LNCaP 细胞接种于 6 孔细胞培养板中, 待细胞密度达 70% 时, 将 HK2 过表达 DNA 质粒按 2.5  $\mu$ g/孔与 7.5  $\mu$ l Lipofectamine、2.5  $\mu$ l Plus 试剂混合, 滴加入细胞培养液中, 24 h 后更换新鲜培养液, 构建 LNCaP/HK2 细胞系, 并进行后续实验。同法, 于 PC3 细胞中加入 shHK2 质粒, 构建 PC3/shHK2 细胞系。

**1.6 蛋白质印迹(Western blot)实验** 收集细胞后, 加入 RIPA 细胞裂解液, 并通过 BCA 法测定蛋白质浓度。计算蛋白上样量后与 SDS 溶液混合, 加入至 12% 分离胶中进行电泳。随后, 以 200 mA 稳定电流在 4  $^{\circ}$ C 下进行转膜 2 h, 使用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 在 4  $^{\circ}$ C 下加入目标蛋白抗体(HK2 按 1:1 000 稀释, Actin 按 1:5 000 稀释)孵育过夜; 次日漂洗后加入酶标记抗兔二抗(1:5 000)或抗鼠二抗(1:5 000)室温孵育 1 h, 利用增强化学发光曝光显影。

**1.7 动物实验** 选取 16 只 4 周龄雄性非肥胖糖尿病/重症联合免疫缺陷(NOD Scid gamma, NSG)小鼠(体质量约 20 g/只, 种系: NOD.Cg-PrkdcscidIl2rgtm1Wjl/SzJ), 在 SPF 级别条件下进行饲养。按皮下接种肿瘤细胞数目不同, 将小鼠随机分为两大组(2 000 细胞/肿瘤; 500 细胞/肿瘤), 每个大组分为对照组(shCtrl)和实验组(shHK2)。将 PC3/shCtrl 和 PC3/shHK2 细胞按 2 000 个/50  $\mu$ l 细胞重悬液(或 500 个/50  $\mu$ l 细胞重悬液)与 50  $\mu$ l 的 matrigel 混合, 接种于 NSG 小鼠皮下, 于 5 周后处死小鼠, 解剖皮下新生肿瘤, 记录新生肿瘤数量, 并计算成瘤率。

**1.8 葡萄糖及乳酸含量测定** 分别取 10<sup>6</sup> 个 LNCaP/Ctrl 和 LNCaP/HK2 细胞、10<sup>6</sup> 个 PC3/shCtrl 和 PC3/shHK2 细胞加入 300  $\mu$ l 的 PBS 溶液中进行匀浆, 4  $^{\circ}$ C、1 000 r/min 离心 5 min 后取上清液。在标准孔中加入不同浓度梯度的标准品, 制作标准曲线。将样品取 5  $\mu$ l 加入样品孔中。根据试剂盒说明依次加入相应的工作液及反应液, 孵育后于酶标仪 530 nm 处测定各孔 OD 值。根据标准曲线浓度计算出各样品的代谢物浓度。

**1.9 <sup>13</sup>C6-葡萄糖同位素示踪实验** 在不含葡萄糖的 DMEM 培养液中加入 4.5 g/L 的 <sup>13</sup>C 标记的葡萄糖, 0.22  $\mu$ m 孔径真空抽吸过滤膜过滤, 4  $^{\circ}$ C 保存。将 LNCaP/Ctrl 和 LNCaP/HK2 细胞、PC3/shCtrl 和 PC3/shHK2 细胞分别以 1  $\times 10^5$  细胞/孔接种于 6 孔

板中。待细胞贴壁后吸除培养液, PBS 漂洗 1 遍, 加入相同体积 (2 ml/孔)  $^{13}\text{C}_6$ -葡萄糖培养液, 培养 24 h 后收取细胞内代谢产物, 送检液相质谱分析。

**1.10 TCGA 数据库分析** 癌症基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库采用在线分析工具 cBioportal (<https://www.cbioportal.org/>) 分析 HK2 在前列腺正常组织和肿瘤组织中的表达量。

**1.11 统计学处理** 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,  $t$  检验和  $\chi^2$  检验分别用于比较不同 HK2 表达的患者相关临床指标之间的差异。HK2 表达的 H-score 评分和患者 PSA 水平的相关性采用 Pearson 相关性分析。GraphPad Prism 5.0 绘制图表。采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 HK2 在前列腺组织中的表达** 采用免疫组织化学染色的方法对良性前列腺增生组织、低级别、高

级别 PCa 组织的病理样本进行染色。结果显示: 良性前列腺组织中的 HK2 表达水平最低; 低级别 PCa 组织中的 HK2 表达水平高于良性组织 ( $t = 13.83, P < 0.01$ ), 但明显低于高级别 PCa 组织中的表达水平 ( $t = 8.48, P < 0.01$ ) (图 1A、1B)。说明 HK2 的表达水平升高可能是促进 PCa 肿瘤发生、发展的重要因素。为进一步验证上述实验结果在 PCa 中具有普遍性, 本研究在 TCGA 数据库中分析发现 HK2 在前列腺肿瘤组织中的表达水平明显高于正常对照组 ( $t = 5.69, P < 0.01$ ) (图 1C)。此外, 类似的结果在体外细胞系模型中也得到了证实。通过检测正常前列腺上皮细胞 RWPE-1、雄激素依赖的 LNCaP 细胞、雄激素非依赖的 PC3 细胞 HK2 的蛋白水平, 发现 HK2 在肿瘤细胞 LNCaP 和 PC3 中的表达水平明显高于在正常上皮细胞 RWPE-1 中的表达, 并且在临床分期较晚的 PC3 细胞中, HK2 的表达量最高 (图 1D)。

**2.2 HK2 与 PCa 临床特征的相关性** 参照先前

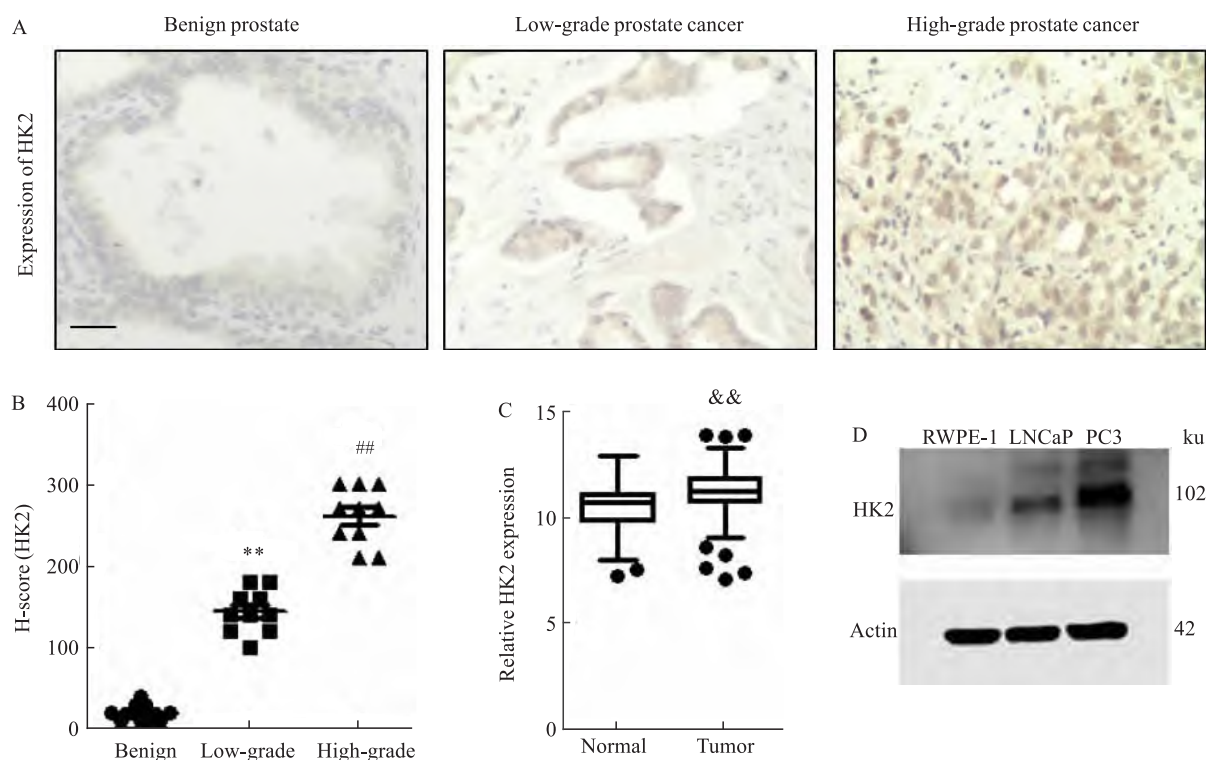


图 1 HK2 在前列腺组织和细胞系中的表达

Fig. 1 The expression of HK2 in prostate tissue and cell lines

A: Immunohistochemical staining of HK2 in benign prostate tissue, low-grade prostate cancer tissue and high-grade prostate cancer tissue  $\times 100$ ; B: H-score of HK2 expression in human prostate tissue; C: HK2 expression in normal prostate tissue and prostate cancer tissue interrogated from TCGA dataset; D: Western blot showed HK2 expression in indicated cell lines; \*  $P < 0.01$  vs Benign group; ##  $P < 0.01$  vs Low-grade group; &&  $P < 0.01$  vs Normal group.

文献的高、低表达的划分标准<sup>[6]</sup>,按 HK2 的 H-score 评分结果可将 20 例 PCa 患者分为高表达组 (H-score  $\geq 200$ ) 和低表达组 (H-score  $< 200$ )。患者年龄在两组中未见统计学差异 [低表达组 ( $68.80 \pm 5.59$ ) 岁,高表达组 ( $70.50 \pm 7.58$ ) 岁,  $P = 0.58$ ] (表 1)。HK2 蛋白表达强度高的患者 H-score 和 Gleason 评分更高 (表 1),HK2 水平的高低与 PSA 的水平呈正相关 ( $r = 0.73, P = 0.0003$ ) (图 2),低表达组 PSA 水平 ( $8.83 \pm 2.27$ ) ng/ml,高表达组 PSA 水平 ( $60.64 \pm 58.83$ ) ng/ml,  $P = 0.02$ 。另外,在 HK2 高表达组中,存在转移病灶的患者占高表达组患者总数的 60% (6 例),5 例患者存在盆腔淋巴结转移,1 例患者存在骨转移;而在 HK2 低表达组中未见肿瘤转移诊断 (表 1)。综上, HK2 的表达强弱与 PCa 临床分期、疾病进展存在紧密联系。

**2.3 HK2 促进 PCa 细胞增殖** 在激素依赖的 LNCaP 细胞中过表达 HK2 (图 3A),可见细胞增殖速率明显增快 ( $t = 11.03, P < 0.01$ ) (图 3B)。相反,在高表达 HK2 的 PC3 细胞中,应用两组不同的干扰 RNA 抑制 HK2 的表达 (shHK2-1、shHK2-2)。Western blot 显示细胞转染 shRNA 后, HK2 的蛋白表达明显受到抑制 (图 3C)。进一步的细胞增殖实验显

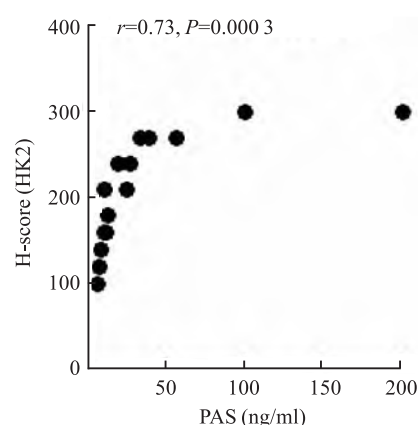


图 2 HK2 表达的 H-score 评分和患者 PSA 水平的相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis of the H-score of HK2 expression and PSA levels

示, PC3 细胞在 HK2 蛋白被抑制的情况下,第 4 天细胞活力明显下降 ( $t = 127.60, 26.61$ , 均  $P < 0.01$ ) (图 3D)。上述结果表明 HK2 可以促进 PCa 细胞的生长。

**2.4 敲低 HK2 抑制肿瘤的发生** 体内动物实验进一步验证 HK2 对于肿瘤形成的影响。将 PC3/shCtrl 细胞及 PC3/shHK2 细胞按 500 细胞/肿瘤接种于小鼠皮下,观察肿瘤的形成效率。结果显示, HK2 被

表 1 PCa 患者的临床资料

Tab. 1 Clinical information of investigated patients

| Group               | n  | H-score<br>(HK2)   | Age<br>(years)   | PSA<br>(ng/ml)    | Gleason<br>score | Lymph node<br>metastasis | Bone<br>metastasis |
|---------------------|----|--------------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------------|--------------------|
| HK2 low expression  | 10 | 144.00 $\pm$ 26.33 | 68.80 $\pm$ 5.59 | 8.83 $\pm$ 2.27   | 6.60 $\pm$ 0.52  | 0                        | 0                  |
| HK2 high expression | 10 | 261.00 $\pm$ 34.79 | 70.50 $\pm$ 7.58 | 60.64 $\pm$ 58.83 | 8.50 $\pm$ 0.71  | 5 (5/10)                 | 1 (1/10)           |
| $t/\chi^2$ value    |    | 8.48               | 0.57             | 2.78              | 6.86             | —                        | —                  |
| P value             |    | $< 0.01$           | 0.58             | 0.02              | $< 0.01$         | $< 0.01$                 | 0.30               |

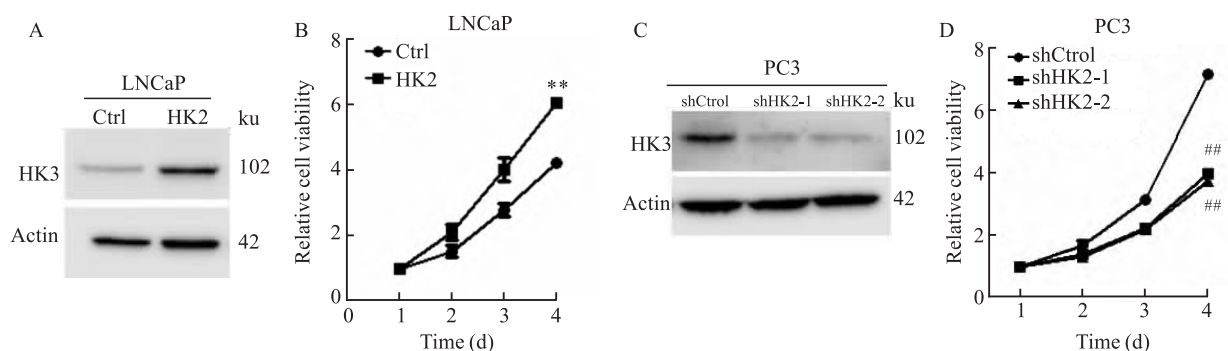


图 3 HK2 对 PCa 细胞增殖的影响

Fig. 3 The effect of HK2 on cellular proliferation of prostate cancer

A: The level of HK2 in HK2-overexpressing LNCaP cells detected by Western blot; B: MTT assay showed cell viability of LNCaP cells with or without HK2 overexpression; C: Western blot showed HK2 levels in knockdown HK2-expressing PC3 cells; D: MTT assay showed cell viability of PC3 cells with or without HK2; \*  $P < 0.01$  vs Ctrl group; ##  $P < 0.01$  vs shCtrl group.

敲低后,肿瘤发生率明显低于对照组(20% vs 60%)。增加接种肿瘤细胞的密度(2 000 细胞/肿瘤)显示出同样的结果,对照组中肿瘤发生率为100%,而 shHK2 组中肿瘤发生率仅为 60%(图 4),说明抑制 HK2 的表达可以遏制肿瘤的发生。

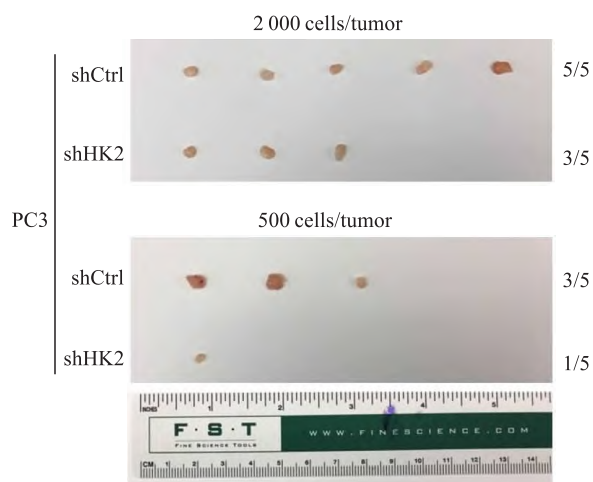


图 4 HK2 对小鼠皮下肿瘤成瘤率的影响

Fig. 4 The effect of HK2 on tumorigenesis of prostate cancer

**2.5 HK2 通过调节糖酵解途径的活性影响 PCa 细胞的生物学功能** HK2 是糖酵解途径中重要的限速酶之一,催化葡萄糖最终转化为乳酸(图 5A)。在过表达 HK2 的 LNCaP 细胞中,发现 LNCaP 细胞中的葡萄糖含量降低,而乳酸含量升高(图 5B),说明糖酵解途径的活性升高。相反,在 PC3 细胞中敲低 HK2 的表达,葡萄糖的浓度升高,乳酸的含量降低(图 5C),说明葡萄糖的利用率降低,糖酵解途径的活性下降。进一步的  $^{13}\text{C}_6$ -葡萄糖同位素示踪实

验显示葡萄糖至乳酸的代谢流在 HK2 过表达时明显加强(被同位素标记的乳酸含量升高);而在 HK2 表达被抑制时,其代谢流明显减弱(被同位素标记的乳酸含量降低)(图 5D)。综上, HK2 可能是 PCa 细胞中重要的代谢调控因子,通过控制糖酵解途径的活性,从而影响肿瘤细胞的生物学特征。

### 3 讨论

PCa 的发病因素至今未明。除了环境、饮食、生活习惯等外界影响因素外,器官内基因组层面的分子改变受到了广泛的关注和研究<sup>[7]</sup>。大量的肿瘤样本测序结果揭示了在前列腺癌变过程中多种重要分子及信号转导通路的改变。例如,雄激素受体 (androgen receptor, AR) 是重要的转录因子,其介导的信号网络在前列腺上皮细胞的生存和增殖中扮演重要角色。研究<sup>[8]</sup>表明 AR 的突变、扩增、转录后修饰、剪接体变异等事件均可导致 PCa 的发生,并且进一步影响 PCa 产生内分泌治疗抵抗,从而使疾病进展为去势抵抗型 PCa (castration-resistant PCa, CRPC)。

然而,诸多分子调控机制的改变归根结底需要通过代谢物质发挥生物学效应<sup>[9]</sup>。因此,物质代谢与肿瘤形成的关系成为研究热点。肿瘤细胞中的代谢程序与正常细胞中的大相径庭。例如,在正常细胞中,葡萄糖在氧气充足的情况下,主要进入线粒体参与三羧酸循环及氧化磷酸化;然而,在肿瘤细胞中,无论氧气充足与否,葡萄糖均只通过糖酵解途径生成乳酸,而极少参与三羧酸循环,这便是著名的 Warburg 效应,或称为“有氧糖酵解”。Warburg 现象在 PCa 中体现得较为明显<sup>[10]</sup>。HK2 是糖酵解途径

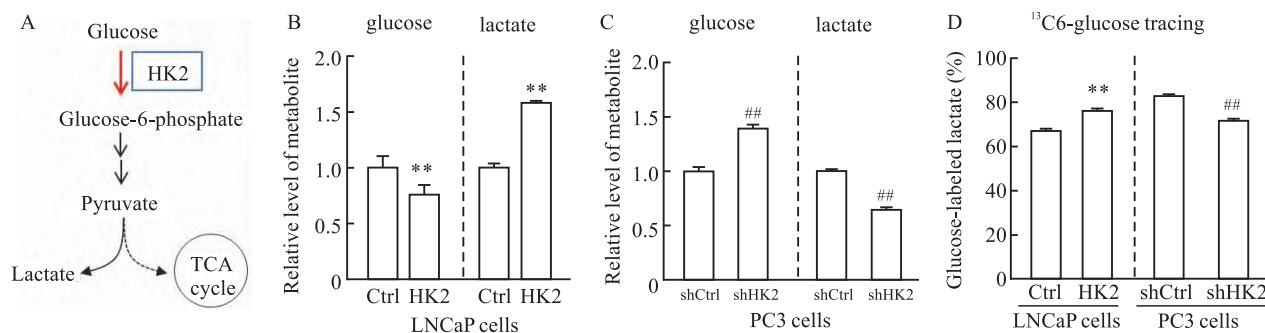


图 5 HK2 对 PCa 细胞中糖酵解途径的影响

Fig. 5 The effect of HK2 on glycolysis of prostate cancer cells

A: Scheme showed metabolic flux of glucose metabolism; B, C: Bar plots showed cellular glucose and lactate levels under indicated conditions; D: Glucose tracing experiments showed labeled lactate in indicated cells; \*\*  $P < 0.01$  vs Ctrl group; ##  $P < 0.01$  vs shCtrl group.



中的限速酶之一。本研究结果显示,与其他几种酶相比,HK2 在 PCa 组织中的表达明显高于正常组织,并且在转移性/进展性 PCa 中表达水平更高,说明其在 PCa 的发生、发展中起关键作用。本研究临床数据分析显示 HK2 与 PSA、Gleason 评分等指标呈显著正相关,说明 HK2 表达的强弱预示肿瘤的恶性程度的高低。体内、体外实验以及代谢相关实验结果均表明 HK2 可促进肿瘤细胞的生长,并且这种肿瘤促进效应可能是通过上调糖酵解通路的活性而达成。类似的,HK2 促进肿瘤形成在其他肿瘤中同样得到了证实。一项泛癌的生物信息学分析<sup>[4]</sup>显示,HK2 在乳腺癌、肾癌、结肠癌、肺癌、卵巢癌组织中的表达均明显高于其在相应的正常组织中的表达。由此可见,HK2 无论是在 PCa 中,还是在其他肿瘤中,均表现出重要的促癌作用。

HK2 作为重要的限速酶,被多种因子所调控。在 PCa 中,Wang et al<sup>[11]</sup>发现肿瘤细胞中的抑癌因子磷酸酶-张力蛋白同源基因(phosphatase and tensin homolog,*PTEN*)和 *TP53* 的缺失选择性上调了 HK2,进一步的机制研究表明,*PTEN* 缺失激活了 AKT-mTORC1-4EBP1 信号轴,而 *TP53* 缺失通过抑制 miR-143 生物合成提高 HK2 的 mRNA 稳定性,由此增进了 HK2 的 mRNA 翻译为蛋白质。由于 *PTEN* 及 *TP53* 的缺失和沉默突变均是 PCa 发生发展的重要动因,由此可见,受其调控的下游代谢通路,即 HK2 介导的糖代谢途径,在疾病进展过程中可能发挥重要的生物学效应。

值得一提的是,“三大能源物质”中除了葡萄糖,氨基酸和脂质同样在肿瘤细胞中发挥了重要作用。例如,虽然葡萄糖在 PCa 中主要参加糖酵解过程,但 PCa 细胞中的线粒体功能及三羧酸循环的活性依然不减。研究<sup>[12]</sup>表明,谷氨酰胺作为人体血液中含有最为丰富的氨基酸,可以替代葡萄糖参与三羧酸循环并提供能量。此外,三羧酸循环的中间产物柠檬酸分解产生的乙酰辅酶 A 是脂肪酸合成的重要原料,而脂质是合成类固醇激素的主要组成部分<sup>[13]</sup>。由此可见,物质代谢网络纵横交错,通过抑制代谢通路活性治疗肿瘤需要全面了解代谢物质/关键酶所位于的环节,以及通路间交叉,如此,方可最大限度限制肿瘤细胞对代谢物质的摄取利用,并且阻止其他代谢通路的代偿效应而使肿瘤细胞产生治疗抵抗<sup>[14]</sup>。

该研究的局限性主要为未设计针对 HK2 蛋白

抑制剂的小分子化合物,以及相关药物临床前期试验研究。基因修饰所产生的生物学影响并不能完全等同于药物作用,因此,若将该研究的发现应用于临床转化仍需要大量的工作支持。此外,HK2 与 AR 的联系,其是否具有影响去势抵抗的生物学效应,也值得进一步的探究。

## 参考文献

- [1] Posdizich P, Darr C, Hilser T, et al. Metastatic prostate cancer-a review of current treatment options and promising new approaches [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(2): 461. doi: 10.3390/cancers15020461.
- [2] Siegel R L, Miller K D, Fuchs H E, et al. Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33. doi: 10.3322/caac.21708.
- [3] 邢星,成少平,熊鹰,等. miR-181c-5p 调控 BIRC5 对前列腺癌细胞生物学行为的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(9): 1543-50. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.008.
- [3] Xing X, Cheng S P, Xiong Y, et al. Effects of miR-181c-5p on biological behaviors of prostate cancer cells by regulating BIRC5 [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(9): 1543-50. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.09.008.
- [4] Li R, Mei S, Ding Q, et al. A pan-cancer analysis of the role of hexokinase II (HK2) in human tumors[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 18807. doi: 10.1038/s41598-022-23598-8.
- [5] 李斌,陶陶,沈德赉,等. 人前列腺癌中己糖激酶-2 基因对 TH1/TH2 细胞的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(10): 1530-4. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.010.
- [5] Li B, Tao T, Shen D Y, et al. The impact of hexokinase-2 gene of human prostate cancer on T help 1/T help 2 cell[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2020, 55(10): 1530-4. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.010.
- [6] Jeon T, Kim A, Kim C. Automated immunohistochemical assessment ability to evaluate estrogen and progesterone receptor status compared with quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction in breast carcinoma patients[J]. *J Pathol Transl Med*, 2021, 55(1): 33-42. doi: 10.4132/jptm.2020.09.29.
- [7] Sivakumar S, Lee J K, Moore J A, et al. Comprehensive genomic profiling and treatment patterns across ancestries in advanced prostate cancer: a large-scale retrospective analysis[J]. *Lancet Digit Health*, 2023, 5(6): e380-9. doi: 10.1016/S2589-7500(23)00053-5.
- [8] Hung C L, Liu H H, Fu C W, et al. Targeting androgen receptor and the variants by an orally bioavailable proteolysis targeting chimeras compound in castration resistant prostate cancer[J]. *EBio-Medicine*, 2023, 90: 104500. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104500.

- [9] Benedetti E, Liu E M, Tang C, et al. A multimodal atlas of tumour metabolism reveals the architecture of gene-metabolite co-variation[J]. *Nat Metab*, 2023, 5(6): 1029 – 44. doi: 10.1038/s42255-023-00817-8.
- [10] Xu L, Ma E, Zeng T, et al. ATM deficiency promotes progression of CRPC by enhancing Warburg effect[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(1): 59 – 71. doi: 10.1530/ERC-18-0196.
- [11] Wang L, Xiong H, Wu F, et al. Hexokinase 2-mediated Warburg effect is required for PTEN- and p53-deficiency-driven prostate cancer growth[J]. *Cell Rep*, 2014, 8(5): 1461 – 74. doi: 10.1016/j.celrep.2014.07.053.
- [12] Xu L, Yin Y, Li Y, et al. A glutaminase isoform switch drives therapeutic resistance and disease progression of prostate cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(13): e2012748118. doi: 10.1073/pnas.2012748118.
- [13] Wang J, Xu L F, Liu C, et al. Identifying the role of apolipoprotein A-I in prostate cancer[J]. *Asian J Androl*, 2021, 23(4): 400 – 8. doi: 10.4103/aja.aja\_92\_20.
- [14] Xu L, Zhao B, Butler W, et al. Targeting glutamine metabolism network for the treatment of therapy-resistant prostate cancer[J]. *Oncogene*, 2022, 41(8): 1140 – 54. doi: 10.1038/s41388-021-02155-z.

## Hexokinase 2 promotes tumorigenesis of prostate cancer through enhancement of glycolysis pathway

Xu Lingfan, Ding Hekang, Shi Haoqiang, Yang Cheng, Tai Sheng

(Dept of Urology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract** *Objective* To investigate the biological functions and regulatory mechanism of hexokinase (HK2) in driving tumor initiation and development of prostate cancer. *Methods* Immunohistochemical staining was employed to assess HK2 expression in benign prostate tissue and prostate cancer tissue. Correlation analyses were performed to elucidate the association of HK2 expression and clinical factors. Western blot analyses were employed to assess HK2 expression in prostate cancer cell lines. Cellular viability was assessed using the MTT assay. *In vivo* tumorigenesis ability of HK2 was evaluated using xenograft animal models. Glucose flux tracing was conducted through isotopic analyses in prostate cancer cells. *Results* HK2 expression was elevated in prostate cancer tissues compared to benign prostate tissues ( $P < 0.05$ ). HK2 expression was positively correlated with Gleason Score, prostate-specific antigen (PSA) levels and the presence of metastases ( $P < 0.05$ ). Overexpression of HK2 enhanced cell proliferation *in vitro* ( $P < 0.01$ ). Knockdown of HK2 decreased tumorigenesis *in vivo*. HK2 augmented metabolic activity of glycolysis pathway in prostate cancer cells ( $P < 0.05$ ). *Conclusion* HK2 facilitates tumorigenesis in prostate cancer by upregulating glycolytic activity.

**Key words** prostate cancer; hexokinase 2; glycolysis; cellular proliferation; immunohistochemical staining; isotopic tracing

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82272886); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2022AH030118); Research Project of Anhui Provincial Institute of Translational Medicine (No. 2022zhyx-C37)

**Corresponding author** Xu Lingfan, E-mail: ayfyxlf@163.com