



评审

# EDIM-TKTL1/Apo10血液检测：一种基于先天免疫系统的液体活检，用于癌症的早期检测、鉴定和靶向治疗

约翰内斯F. 腓腓的

法兰克福, Lyoner Straße 20, D-60528法兰克福, 德国; 约翰内斯博士. de;  
遥测组件: +49-176-4343-0632

学术编辑: 赵志欣

收到日期: 2017年3月16日; 接受日期: 2017年4月17日; 出版日期: 2017年4月20日

**摘要:** 单核细胞表位检测 (EDIM) 是一种利用先天免疫系统的液体活检方法。活化的单核细胞 (巨噬细胞) 吞噬来自全身的不需要的细胞/细胞片段, 包括固体组织。当巨噬细胞返回血液时, 它们可以用于生物标记物的非侵入性检测, 从而提供高灵敏度和特异性, 因为细胞内生物标记物的存在是由于先天免疫反应。流式细胞术分析血液可以检测巨噬细胞和被吞噬的细胞内生物标志物。为了建立一种泛癌症测试, 两种基本生物物理机制的生物标志物已经被开发出来。DNaseX/Apo10蛋白表位是肿瘤细胞异常凋亡和增殖的特征。转酮醇酶样1 (TKTL1) 是厌氧糖代谢 (Warburg效应) 的标志物, 它伴随着侵袭性生长/转移, 并对根治性和凋亡诱导治疗产生耐药性。血液巨噬细胞中Apo10和TKTL1的检测对前列腺、乳腺和口腔鳞状细胞癌的检测具有敏感性 (95.8%) 和特异性 (97.3%)。由于TKTL1是一个可用药的靶点, 基于EDIM的TKTL1检测可以使用维生素生物硫胺素或苯酚-氧硫胺素来靶向治疗癌症。

**关键词:** 液体活检、吞噬作用、巨噬细胞、EDIM、转酮醇酶、TKTL1、DNase、DNaseX、华宝

## 1. 介绍

使用流式细胞术检测血液中巨噬细胞中的生物标志物的能力为一种全新的非侵入性诊断形式 (“液体活检”) 打开了大门, 通过这种方法可以更早地检测肿瘤并确定其恶性肿瘤的特征。通过 “泛癌症测试”, 恶性肿瘤可以通过两种生物标志物的存在来检测, 这表明了基本的生物物理过程, 并在所有形式的恶性肿瘤 [1, 2] 中发生改变。这使得医疗专业人员能够评估手术肿瘤切除 [3] 的成功程度, 并在 [4] 早期发现复发, 以便更好地监测治疗过程。同时, 生物标志物允许医疗专业人员识别耐药性, 并为每个患者调整治疗方法。因此, 准确选择的治疗方法可以显著提高他们的成功。

肿瘤的成功治疗受到恶性肿瘤检测的时间点和治疗的正确选择的强烈影响。影像学措施, 如乳房的放射学检查 (乳房x线检查) 被用于肿瘤的早期发现。此外, 骨盆的超声波扫描也为发现卵巢癌等恶性肿瘤提供了可能。如果影像学检查显示恶性肿瘤, 通过微创方法分离的可疑组织样本可以通过免疫组化方法进行分析, 从而区分良性和恶性细胞。对这种组织样本中的生物标志物的测定, 可以做到这一点

用于评估恶性程度, 以及检测细胞结构, 可作为治疗的靶点。生物标志物Ki-67表明细胞增殖, 从而提供了关于肿瘤[5]的生长行为和恶性程度的重要信息。另一方面, 生物标志物Her2/neu不仅携带有关肿瘤恶性肿瘤的信息, 而且也是使用药物赫赛汀[6]进行靶向癌症治疗的直接对象。对赫赛汀等靶向治疗的攻击点的定义允许一个药物诊断概念, 其中生物标志物的识别能够识别有资格用于靶向治疗的癌症患者。血液中肿瘤相关生物标志物的检测用于恶性肿瘤的检测。例如, CA-125被用作检测卵巢癌[7]的肿瘤标志物。然而, 在许多情况下, 对肿瘤/生物标记物的希望在许多情况下并没有实现, 因为它们对早期和可靠的恶性肿瘤检测没有必要的敏感性和特异性。因此, 用于前列腺癌检测的生物标志物前列腺特异性抗原 (PSA) 的特异性非常低, 导致了許多假阳性结果, 并伴随了相当大的问题[8]。然而, 与恶性肿瘤的最初诊断相比, PSA等生物标志物在用于治疗监测和癌症复发 (复发) 的检测时, 提供了显著更好的临床信息。这使得生物标志物PSA, 最终不是肿瘤标志物, 而是一种组织特异性标志物, 当之前前列腺被切除 (前列腺切除术) 时, 可以检测到前列腺癌的复发。然而, 敏感性并不是很高, 因为不是在所有病例中, 前列腺癌的复发和转移形成PSA, 导致PSA增加被误导地视为事后护理的稳定情况。由于这些假阴性结果, 癌症治疗已经为时已晚。然而, 血液中诸如PSA等生物标志物的浓度的反复增加, 通常是癌症复发的肯定迹象。由于大多数肿瘤标记物只能用于特定的肿瘤类型, 因此到目前为止还不可能使用肿瘤标记物用于恶性肿瘤的一般检测。正因为如此, 人们越来越多地寻找能够普遍检测肿瘤的生物标记物。这种“泛肿瘤”检测将极大地简化所有类型肿瘤的诊断, 从而显著提高治疗和监测水平。因此, 早期发现肿瘤会增加良性肿瘤的比例, 也会降低恶性肿瘤的比例, 从而增加可手术肿瘤的比例。由于手术切除肿瘤仍然是对肿瘤疾病的一种决定性的、尤其是非常成功的治疗方法, 因此建立早期发现癌症的诊断方法是通过手术切除肿瘤来提高治疗成功率的一个重要选择。到目前为止, 小良性肿瘤和小恶性肿瘤不能检测到肿瘤标记, 确定在血液/血清, 因为他们释放相对少量的生物标志物, 也将大大稀释血容量, 没有显著增加生物标志物的浓度在血液/血清是可测量的。

## 2. 利用EDIM技术检测生物标志物

一种早期检测恶性肿瘤的新方法称为单核细胞表位检测 (EDIM), 可以检测血液中的在[1, 2]中携带肿瘤物质的特殊细胞中的生物标记物。这些细胞的细胞表面标记物CD14和CD16呈阳性, 表明单核细胞代表活化的单核细胞 (巨噬细胞)。这些巨噬细胞中所含的肿瘤物质不会被血容量稀释, 而是在细胞内部保持高度集中。这是决定EDIM技术灵敏度的一个重要因素。这种方法是基于免疫系统最古老和非常有效的目的: 通过包围和消化它们来识别和消除不必要的细胞结构 (吞噬细胞)。这些不需要的细胞结构可能是外来入侵者, 如细菌和寄生虫, 或生长和凋亡异常的内源性细胞, 也称为肿瘤细胞。在巨噬细胞吞噬肿瘤细胞或其碎片后, 它们会在几天的时间内消化细胞/细胞碎片, 在此期间, 它们离开肿瘤, 通过血管系统进入血液。此外, 其他肿瘤细胞可能被血液中的巨噬细胞直接吞噬。这个

在血细胞中存在含有表面标记物CD14和CD16的肿瘤标记物，首先是通过在这些细胞[9]中存在PSA而发现的。这些在细胞质中含有肿瘤物质（“胃内容物”）的清除夫细胞可以在全血样本中被识别出来，因为它们具有表面标记物CD14和CD16。这些细胞表面的细胞结构可以在血液样本中使用染料标记的抗体非常有效地检测到，并随后通过流式细胞术[1, 2]通过激光束检测这些染料。这使得检测血液中的巨噬细胞成为可能，并进一步计数和确定这些细胞的特征。

仅对血液中巨噬细胞的识别和计数不足以早期发现恶性肿瘤，因为健康和癌症患者[10]的巨噬细胞数量没有显著差异。然而，在健康受试者和癌症患者[1, 2]中，含有肿瘤物质的巨噬细胞数量存在显著差异。为了检测细胞内含有肿瘤表位的肿瘤特异性巨噬细胞亚群，必须处理血液中的巨噬细胞，以便在其细胞膜上形成孔洞。这使得染料偶联抗体能够到达巨噬细胞内部，从而检测巨噬细胞胞内腔室中肿瘤细胞的细胞结构。当使用这种方法时，细胞膜上孔的数量和大小，以及创建孔产生的时间长度，是非常关键的参数。必须选择这些参数，以便有足够数量的染料标记抗体进入巨噬细胞，从而允许识别细胞质内的肿瘤物质，但要使巨噬细胞中过量的染料标记抗体可以逃逸。因此，必须避免非特定的信号。通过掌握这种复杂而脆弱的检测方法，已经有可能可靠地检测巨噬细胞内的肿瘤细胞结构[1-3, 9, 11-14]。这种在活化的单核细胞（巨噬细胞）中进行肿瘤表位检测的新技术利用了先天免疫系统对肿瘤细胞的高度特异性的检测和消除。因此，肿瘤细胞检测的敏感性和特异性受到免疫系统的敏感性和特异性的强烈影响，而不仅仅是受所使用的肿瘤标记物的敏感性和特异性的影响。因此，该检测的敏感性和特异性是免疫系统的敏感性和特异性以及所使用的肿瘤标记物的敏感性和特异性的结合，使检测的敏感性和特异性远远优于所使用的肿瘤标记物的敏感性和特异性。由于巨噬细胞中吞噬产生的每一种表位都可以用于单核细胞表位检测（EDIM），EDIM技术为检测包括肿瘤标记物在内的生物标志物提供了一个新的技术平台。作为先天免疫反应的一部分，活化的单核细胞（巨噬细胞）到达人体的每个区域，以消除不需要的细胞/细胞结构。之后，巨噬细胞会回到血液中，因此，其中的肿瘤物质可以通过血液中的巨噬细胞进行分析。因此，EDIM技术的基础是先天免疫系统已经执行的内在液体活检。将这种自然发生的液体活检与基于流式细胞术的巨噬细胞鉴定和细胞内存在的肿瘤表位的分析相结合，为检测和表征癌症打开了一扇新的大门。许多研究表明，与游离血液漂浮的生物标志物相比，EDIM技术检测标志物的敏感性和特异性更强[11-13]。生物标志物和EDIM技术可以联合使用，以便更早检测肿瘤，具有特异性和特异性。

### 3. DNaseX: 一种检测肿瘤细胞异常凋亡的生物标志物

只有在所有形式的恶性肿瘤中都能检测到特定的生物标志物，才有可能进行对恶性肿瘤的一般检测。乍一看，寻找这种生物标记物的概念似乎是不现实的，因为恶性细胞的发展是一个非常复杂、多阶段的过程，从非常不同形式的健康细胞开始。因此，流行的学派是这种生物标记并不存在。如果这是真的，就不可能建立一个可以检测所有形式的恶性肿瘤。然而，新的研究表明，有一些生物标志物可以检测所有形式的恶性肿瘤[2]的基本生物物理机制发生显著改变。虽然

不同肿瘤实体之间存在各种无序的过程和信号通路,表明其具有高度的复杂性和异质性,在所有肿瘤细胞中有两个基本过程发生类似的改变。恶性肿瘤细胞(癌细胞)表现出向氧独立能量释放的代谢转换,但是,首先,所有的肿瘤细胞在计划的细胞死亡(凋亡)过程中都有紊乱。只有当这一过程被破坏,从而导致细胞不再杀死自己时,肿瘤细胞才会出现。根据这一基本原理,肿瘤细胞始终具有显示细胞凋亡受损的生物标志物。由于导致细胞凋亡诱导的信号级联是多因素的,因此寻找导致不可逆细胞死亡的细胞凋亡的最后一步是有用的。在这种情况下,这最后一个不可逆的步骤是通过被称为DNA酶的酶将染色体DNA切割成300个碱基对片段。20世纪90年代初,时任海德堡德国癌症研究中心负责人、后来的诺贝尔奖得主的哈拉尔德·祖尔·豪森发起了一项分子基因组分析试点项目,系统地识别基因组Xq28区域的所有基因。这导致了一种基因的发现,该基因编码一种酶,将DNA切割成300个碱基对片段,由于该基因位于X染色体上,它被命名为DNaseX [15]。DNaseX蛋白与之前发现的DNase I蛋白有很强的序列相似性。由于DNase I蛋白是消化食物中的DNA所必需的,而且由于它在胰腺中大量产生,因此DNase I最初被认为是一种消化酶,在消化道中产生。直到后来才发现DNase I酶在血液中DNA的消化中也起着重要作用——它消化死细胞中的DNA。如果DNase I不能将死亡细胞释放的DNA降解到血液中,就会导致自身免疫性疾病系统性红斑狼疮(SLE)。进一步的研究表明,在不需要的细胞(恶性前细胞和恶性细胞)中,DNA降解受到抑制,从而在肿瘤细胞[16, 17]中,细胞凋亡被抑制。例如,可以证明DNase I酶的表达在宫颈癌肿瘤发生[17]的过程中连续下降,而在健康的宫颈上皮中,DNase I酶的正常表达。在宫颈上皮内瘤变(CIN)中,DNase I在浸润性癌中不断移动到具有最低水平的活性。这强调了DNase I酶存在的减少与CIN和宫颈癌的恶性程度的增加有关。这表明,在CIN和宫颈癌病例中,DNase I酶的存在减少有助于降低DNA降解率;因此,细胞没有足够的强度进行凋亡,从而增加CIN和宫颈癌细胞的存活。相反,与健康的宫颈上皮细胞相比,CIN和宫颈癌细胞中DNaseX酶的表达增加(Coy, 数据未显示)。乍一看,这一矛盾的结果源于这样一个事实:尽管执行凋亡最后一步的DNaseX酶的表达增加,但肿瘤细胞通过形成抑制剂[16]来抑制该酶的活性。这阻止了肿瘤细胞DNA的切割,尽管存在DNaseX酶的浓度升高。这种阻断DNaseX的积累不仅在CIN和宫颈癌细胞中检测到,而且在迄今为止研究的所有形式的恶性前和恶性细胞中也检测到。当使用DNaseX蛋白序列中的所谓的Apo10蛋白表位来检测[2]时,这一点得到了特别充分的证明。这种阻断细胞凋亡的最后一步和DNaseX和Apo10蛋白表位的积累代表了恶性前和恶性肿瘤细胞发展的一般过程,现在可以用于诊断。

#### 4. TKTL1基因的诊断意义

祖尔·豪森教授的系统分析基因组区域Xq28导致了另一个基因的发现,转酮类酶1(TKTL1)[18],形成改变的基础基本的生物物理过程在所有肿瘤细胞,代表能量释放的开关氧化磷酸化向发酵能量释放[19, 20]。TKTL1基因代表了脊椎动物进化过程中产生的转酮醇酶(TKT)的一种显著改变形式。肿瘤细胞中TKTL1基因的激活导致了一种发酵的、氧独立的代谢,这伴随着葡萄糖摄入量的增加和乳酸[21 - 23]值的形成的增加。

1924年, 诺贝尔奖得主奥托·沃伯格发现了这种发酵代谢, 这种代谢不被氧气抑制, 并称之为“有氧糖酵解”, 因为尽管有有氧条件和所谓的巴斯德效应(通过氧气抑制发酵)[24], 它仍会发生。后来, 这种特殊的发酵形式被称为瓦伯格效应。自从华宝效应被重新解释为代谢与功能保护健康和恶性细胞[19, 20], 而不是癌症特定的代谢, 它成为许多癌症研究人员的焦点, 发表的研究数量华宝效应呈指数级增长。事实上, 沃堡效应并不存在于所有的肿瘤细胞中, 而且它也存在于许多健康细胞中, 这表明了一种重要的功能[19, 20]。这种发酵代谢, 导致乳酸的形成, 即使存在氧气, 也允许周围基质的酸基降解。其结果是组织重塑和细胞的侵袭性生长。这代表了伤口愈合以及肿瘤侵袭性生长中的一个重要过程。由于肿瘤从非侵入性生长向侵袭性生长的转变是恶性肿瘤增加的决定性因素, 可显著缩短生存时间, 因此瓦伯格效应及其发酵代谢具有重要的临床意义。TKTL1-1基因在肿瘤细胞中的激活的因果作用——它导致发酵代谢的转换, 并与葡萄糖摄入量增加、乳酸产生增加和侵袭性生长行为相结合——最近再次被证实为[23, 25]。同时, 肿瘤细胞中TKTL1基因的激活导致细胞增殖增加和凋亡失活, 这通常是由生长因子和激素[26]的退出触发的。此外, TKTL1基因的激活可以避免自由基的形成, 因为这种发酵代谢使ATP通过底物链磷酸化产生, 因此, 这种产生方式不会产生自由基。在生物物理学上, TKTL1酶的能量释放与通过线粒体的氧化磷酸化在自由基形成的程度上有很大的不同, 因此也有对细胞损伤的副作用。此外, 自由基被发酵代谢的代谢物中和, 如丙酮酸, 因此通过阳光或x射线等外源性因素形成的自由基可以被中和。这在视网膜中起着重要的作用——例如, 在抑制由阳光形成的自由基方面。而使用线粒体氧化磷酸化使释放非常有效的能量, 因为葡萄糖完全分解成水和二氧化碳, 能量的发酵释放不那么有效乍一看, 因为葡萄糖部分分解和能量丰富的分子乳酸释放细胞外。然而, 虽然这种乳酸没有从体内排出体外, 但它会继续被使用, 因此整个生物体不会失去能量。因此, 发酵不是一种能量的损失, 而是一种有效的途径, 只要有足够的葡萄糖存在, 乳酸可以从细胞中释放出来。事实上, 当没有氧气可用于氧化磷酸化时, 这是释放能量的唯一途径。当必须避免自由基的形成时, 这也是能量释放的唯一方法。由于自由基的形成是一个损害健康细胞和恶性细胞的过程, 因此制定防止其形成的策略是很重要的。例如, 最高的发酵能量释放活性, 或有氧糖酵解, 和最高浓度的TKTL1存在于一个人的睾丸[19]。即使在氧气存在的情况下, 这种发酵的原因是精子细胞中产生的DNA, 而不被自由基破坏。如果精子中的DNA暴露于自由基中, 而自由基是通过氧化能量释放产生的, 那么它会显著增加精子中突变的数量, 从而增加残疾儿童的数量, 从而降低人类的生育能力。因此, TKTL1蛋白是男性[27]中最重要生育标记之一也就不足为奇了。发酵代谢在干细胞中也起着至关重要的作用, 因为干细胞的突变有特别的负面影响, 因为它们被用于再生许多细胞和组织。健康的干细胞和癌症干细胞都利用发酵代谢来防止自由基的形成。发酵代谢对机体整体生存的保护功能也已被证明为[28]。例如, 沃纳综合征(WS)会导致快速衰老和早产

死亡在WS患者的细胞中可以发现自由基的产生的增加和DNA损伤的增加。基因突变可导致细胞中发酵代谢和TKL1蛋白的表达停止,从而导致自由基的产生增加和DNA损伤[28]。因此,预期寿命大大缩短了。这表明了发酵代谢对缓慢衰老和长寿的重要性。最终,这种发酵途径代表了一种防止自由基相关细胞损伤的策略,并允许单个细胞和整个生物体[28, 29]更长的存活。

### 5. 哺乳动物乳酸发酵的第二种方式: 脊椎动物进化过程中的一个重要时刻

值得注意的是,有氧糖酵解,即使在氧气存在下的发酵(华宝效应)及其酶的基础在生物化学或医学教科书中没有描述。在教科书中,人类乳酸的产生只被描述为缺氧的结果,因为如果没有足够的氧气来燃烧,它就会发生在骨骼肌中。线粒体中的氧化磷酸化被关闭,因为没有足够的氧气来氧化氢。然后,只有在发酵代谢的帮助下,才能实现ATP的重要能量连接。一个有六个碳原子的葡萄糖分子被分成两半,每个半有三个碳原子,在恩伯登-迈耶霍夫途径的帮助下,作为氢的受体,形成两个乳酸分子。因此,它可以在没有氧气的情况下分解葡萄糖,从而产生ATP。然而,这样做的代价是乳酸的形成,它只能在组织、血液或整个身体的pH值变得过酸之前形成一定的浓度。

在短期内,由于缺氧而产生的乳酸是一种很好的生存机制——例如,当骨骼肌缺乏足够的氧气供应时,它可以维持骨骼肌的活动。这使得我们的狩猎采集祖先可以练习战斗或飞行,即使他们的骨骼肌不再提供足够的氧气。在赢得战斗或逃跑后,狩猎采集者可以休息,从而形成的乳酸被氧化分解,利用当时足够的氧气。与骨骼肌不同,心肌不使用这种紧急发酵,因为由于心肌靠近肺,它可以更好地提供氧气。心脏还通过氧化降解骨骼肌中形成的乳酸,促进战斗或逃跑行动,从而使骨骼肌能够更长时间地形成乳酸。心肌的贡献很大。到乳酸器官在骨骼肌和心肌之间的交换,这增加和延长了骨骼肌的表现。这也解释了为什么心肌更喜欢在氧化能量释放过程中使用乳酸,因为它能保存血糖和使它可用于骨骼肌。当骨骼肌中有足够的氧气时,它就开始了通过氧化代谢来降低,不再形成乳酸。这种由氧抑制发酵的作用是以这一原理的发现者-巴斯德效应命名的。1924年,诺贝尔奖得主奥托·海因里希·沃伯格在对癌组织代谢的研究中指出,氧气对这种特殊发酵代谢的抑制作用并不存在[24]。相比之下,他在这些实验中检查的青蛙的骨骼肌显示了“巴斯德效应”,因为葡萄糖向乳酸的发酵被氧气的影 响立即停止。即使有足够的氧气进行燃烧,癌也会进行发酵,导致乳酸。华宝称这种发酵为“有氧糖酵解”[24]。他认为这是导致癌症的根本原因。在他的实验中,华宝还检查了老鼠的视网膜和睾丸,以及青蛙的骨骼肌,发现这些健康组织在氧气存在下也会形成乳酸(有氧糖酵解)。这表明,这种发酵形式不仅局限于癌症,而且也存在于健康组织中。瓦伯格不能说出在视网膜和睾丸等健康组织中使用有氧糖酵解的原因,但无论如何,他假设有氧糖酵解是导致癌症的主要原因。这种未解决的矛盾增加了被拒绝的可能性

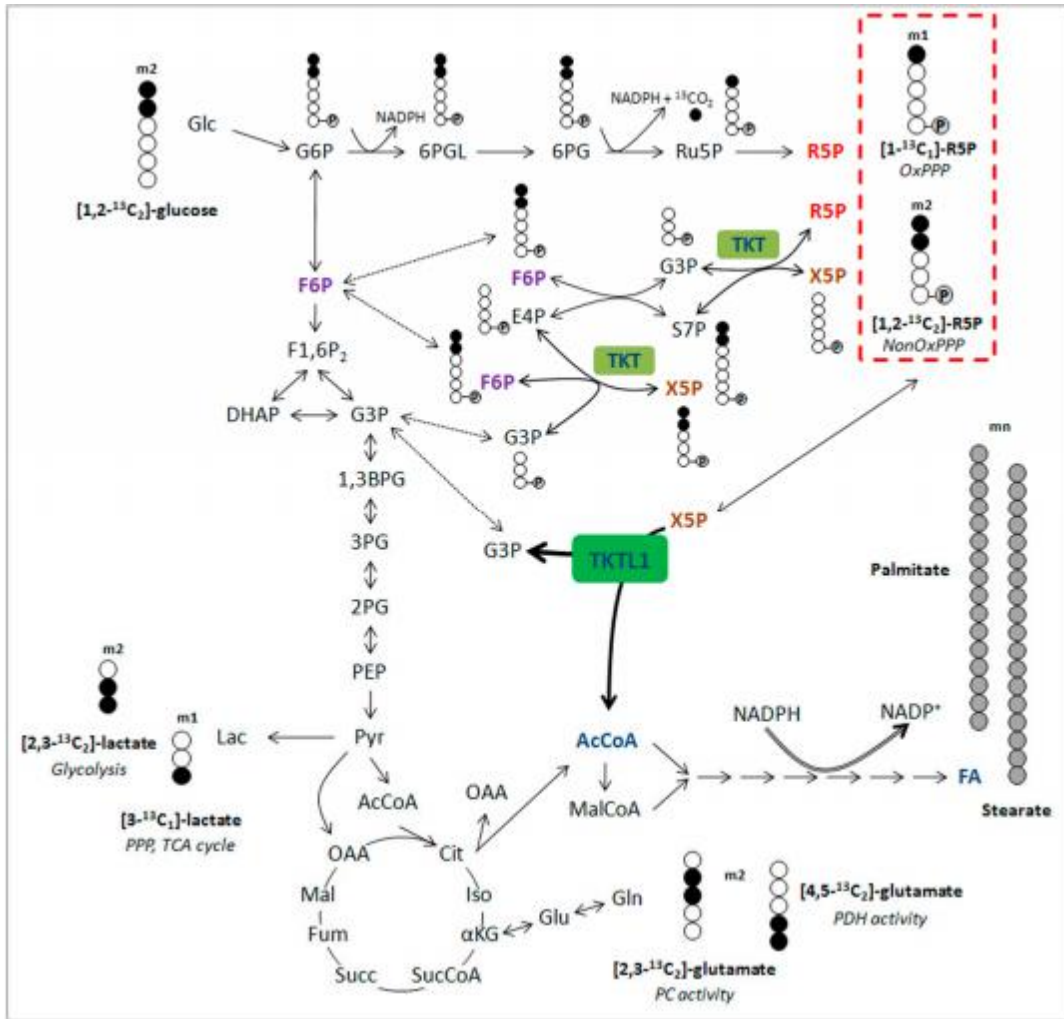
许多癌症研究人员反对奥托·海因里希·沃伯格的癌症代谢原因理论。这些电阻得到进一步加强，在接下来的几十年里发现了劳斯肉瘤病毒的作用，DNA突变被确定在癌症的发展中发挥了重要作用。瓦伯格关于厌氧代谢对癌症起着至关重要的作用的理论已被诺贝尔奖得主阿尔伯特·森特-乔吉证实。他把生命分为第一个厌氧期，即所谓的阿尔法期（阿尔法状态），然后是第二个有氧期（贝塔期），其中氧气是普遍的电子受体[30]。艾伯特·森特-乔吉假设：“在随后的有氧期，更高度分化的生命形式可能会因为O<sub>2</sub>，一个强电子受体，导致更大程度的去饱和。然而，当分裂时，贝型细胞部分恢复到增殖状态“[30]”。因此，阿尔伯特·森特-乔吉意识到，包括癌细胞在内的分裂细胞将进行代谢转换为与氧无关的能量代谢——厌氧阿尔法状态。TKTL1基因的发现的基础新型哺乳动物特定的非氧能量代谢类似于异发酵乳酸菌使重新解释华宝和Szent-Gyorgyi发现代谢转换非氧能量代谢是保护代谢增殖细胞在癌细胞和正常细胞[19, 20]。此外，TKTL1的酶促反应解释了教科书中初步提出的磷酸戊糖途径（PPP）的非氧化分支反应与实际观察结果之间的差异<sup>14</sup>C同位素标记。虽然PPP代表了一种基本的生化途径，但在教科书中提出的PPP的非氧化分支的反应仍存在争议，因为其程度<sup>14</sup>C同位素标记及其在果糖-6-磷酸碳原子中的分布与反应序列预测的不同。Horecker和同事的作者描述了PPP的非氧化分支反应发现初步提出反应方案和实验结果之间的差异：“然而，从结果标记磷酸戊糖，很明显，转酮醇酶转醛缩酶序列的反应，如介绍，本身不足以解释己糖单磷酸己糖的形成，因为同位素的分布产品与预测的这些反应大大不同”[31]。令人惊讶的是，初步提出的反应方案与实验结果之间的显著差异从那时起获得了PPP审稿人和教科书作者的不加批判的批准。

TKTL1基因代表了一种转酮醇酶的一种形式，在脊椎动物进化过程中产生了一个哺乳动物特异性基因[18]；具体来说，它有一个缺失的外显子编码保守的氨基酸残基，这对转酮醇酶的酶促反应方式很重要。通过该外显子的缺失和伴随的保守氨基酸残基的去除，典型的转酮醇酶的双底物反应转移到首选的单底物反应。由于这种修饰的酶反应，使乳酸和乙酰辅酶a形成，乙酰辅酶a直接用于脂肪合成[25]（图1）。与吡酮脱氢酶作为emden-meyer霍夫途径的下游酶生成乙酰辅酶a相比，TKTL1生成乙酰辅酶a是优越的，因为二氧化碳的产生不会丢失碳原子。这意味着如果丙酮酸辅酶a是由丙酮酸脱氢酶酶促反应产生的，每个丙酮酸失去一个碳原子——大约三分之一的碳原子。如果我们以葡萄糖作为起始底物，这意味着当一个细胞从葡萄糖中产生乙酰辅酶a时，6个碳原子中的两个就会丢失。这种情况存在于想要繁殖的细胞中。乙酰辅酶a是合成脂质和脂肪等细胞成分的最重要的代谢物之一。通过埃姆登-迈耶霍夫途径将糖转化为脂肪是极其低效的，因为三分之一的糖由于二氧化碳的形成而损失。然而，在TKTL1酶的帮助下，由糖生成乙酰辅酶a是非常有效的，因为葡萄糖的所有碳原子都转化为脂肪，没有有价值的原材料丢失。除了以乙酰辅酶a的形式形成高能连接外，TKTL1酶还允许形成丙酮酸，因为氢可以被转移并形成乳酸。这允许再生

NADH + H<sup>+</sup>以及通过发酵产生ATP。将含有5个碳原子的糖分解成乙酰辅酶a和乳酸的能力在进化的早期就形成了，至今仍被异发酵乳酸菌用来分解葡萄糖。该反应的关键酶是磷酸酮醇酶，它属于硫胺素依赖酶家族。TKTL1酶能够在脂肪[25]中加入乙酰辅酶a，这是进化中的一个里程碑，因为一个突变能够改变转酮醇酶的反应，从而使一个新的反应导致乳酸和乙酰辅酶a的产生。几十亿年前，细菌就已经建立了一种所谓的磷酸酮醇酶，由含有五个碳原子的糖形成乳酸和乙酰辅酶a。这意味着在哺乳动物中，靠近Embden-Meyerhof途径，磷酸酮醇酶样酶反应（TKTL1）也允许糖降解为乙酰辅酶a和乳酸。因此，从进化的角度来看，TKTL1酶促反应代表了磷酸酮醇酶反应的重新发明，使哺乳动物能够更有效地合成乙酰辅酶a，即使在氧气存在的条件下也能释放自由基的能量。与Embden-迈耶尔hof途径产生的乳酸相比，由于TKTL1酶促反应的好处，它是在没有氧气和有氧气的情况下进行的。这种类型的发酵是在氧气存在的条件下进行的，因为由氧气或高能射线造成的损害可以被抑制。在视网膜中，光引起的损伤和失明被抵消，因为线粒体中没有形成其他自由基，而且由于参与发酵代谢的其他代谢物，如丙酮酸，具有自由基中和作用。在睾丸中，TKTL1发酵代谢也使阻断和抑制自由基的形成成为可能，它保护精子中的DNA不受自由基引发的DNA突变的影响。由于TKTL1酶促反应的高葡萄糖通量，睾丸也是显示高葡萄糖摄入量（“热鸡蛋”）的一个很好的例子18FDGPET扫描。随着肿瘤大小的增大，自由基负荷和缺氧（缺氧）相应增加；肿瘤细胞中TKTL1的激活和肿瘤细胞的发酵代谢代表了选择性生存优势，因为自由基的产生减少或中和，肿瘤细胞可以在没有氧气的情况下生长。因此，RedOx的稳态受到发酵TKTL1代谢和磷酸戊糖途径的氧化部分的积极影响。形成足够的还原当量，如NADPH + H<sup>+</sup>和谷胱甘肽，它们进行细胞色素c的还原。这反过来又导致了细胞凋亡的启动被抑制。发酵代谢不仅中和了自由基，而且进一步避免了自由基的形成，由于细胞色素c的减少，抑制了细胞凋亡的诱导。因此，在神经细胞和癌细胞中，通过线粒体中的细胞色素c触发的细胞凋亡被抑制，从而避免了细胞死亡的[32]。对于神经元来说，这是一个重要的生存因子。研究表明，当淀粉样蛋白斑块存在时，神经细胞不会死亡。然而，条件是有氧发酵（瓦堡效应）必须发生[33]。没有这种保护性发酵类型的神经细胞不能在淀粉样斑块的形成中存活。因此，在氧气存在下的发酵代谢途径为细胞提供了关键的保护因子，从而为整个生物体提供了关键的保护因子。因此，健康的细胞可以免受自由基的损伤和过早死亡。这个保护计划是在脊椎动物进化过程中开发出来的，是针对哺乳动物的，是进化研究中最重要解释之一。由于这一发现，哺乳动物能够在神经系统 and 大脑中发展出高而持久的功能。TKTL1和DNaseX/Apo10在健康细胞和癌细胞中的功能和失调是

汇总见表1。





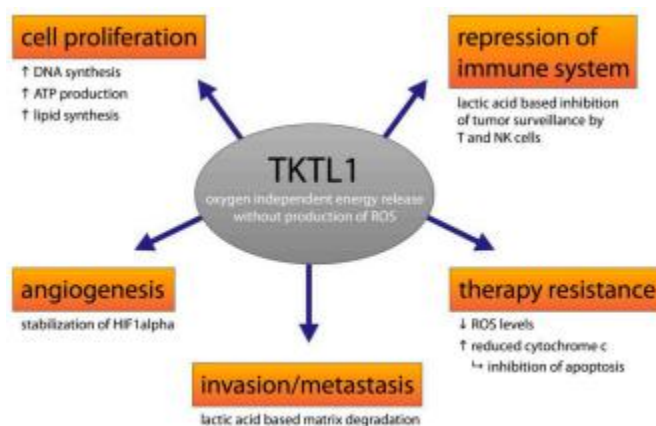
**图1.** 通过碳分布形成同位素的概述 $^{13}\text{C}_2$  葡萄糖。碳原子的分布来自于 $[1,2-^{13}\text{C}_2]$ -葡萄糖导致来自乳酸、谷氨酸和-5-磷酸核糖的不同种类的同位素的存在，并反映了特定途径的参与（斜体）。5-磷酸核糖，包含3、4或 $^{13}\text{C}$ 原子（ $m_3$ 、 $m_4$ 和 $m_5$ ）是通过磷酸戊糖途径PPP中标记分子的再循环而产生的。碳碳用圆圈表示。填充的圆圈表示已经包含了标签形式的碳原子 $^{13}\text{C}_2$ -葡萄糖，开圈代表未标记的碳。含有P的圆圈代表磷酸基。缩写：  $m_1$ 、 $m_2$ 、同位素； 1、3BPG，1、3-二磷酸甘油酸，2PG，磷酸； 2、磷酸甘油醛、G3P、甘油醛-3-磷酸、磷酸、G6P、葡萄糖-6-6-磷酸、磷酸、PC、PEP、磷酸烯醇式丙酮酸、丙酮酸； R5P，5-磷酸核糖； Ru5P，5-磷酸核酮糖； S7P，硫酮糖-7-磷酸； 琥珀酸； 琥珀酸； 三羧酸； TKT，转酮酶； TKTL1，类转酮酶1； X5P，木酮糖-5-磷酸； 仪KG，仪-酮戊二酸酯。图发表在[25]上。

**表1.** DNaseX/Apo10和TKTL1蛋白在健康细胞中的生物学作用，以及激活/抑制导致不同疾病的影响。

生物标志物	健康细胞	功能	抑制/缺失>病	激活>病
DNaseX/Apo10	内切酶活性导致300 bp的DNA片段	执行导致细胞凋亡的最后一步来消除不想要的东西 细胞/肿瘤细胞	异常细胞增殖和抑制细胞凋亡的产生 肿瘤细胞	
	从碳水化合物、生糖氨基酸和甘油中释放能量，而不产生ROS	避免ROS的产生和保护ROS诱导的细胞损伤，特别是在视网膜、睾丸和干细胞	高水平的ROS导致细胞损伤，增强衰老和细胞过早死亡导致 (a) 沃纳综合征 (b) 男性不育症 (c) 早衰神经元 death/neurodegeneration (e.g., 阿尔茨海默病)	肿瘤细胞的激活导致ROS的预防和抑制。细胞色素c的减少伴随着肿瘤细胞恶性肿瘤的增加，凋亡的抑制和放疗耐药性的增加，许多化疗(e.g., 铂衍生物)和靶向治疗, 如伊马替尼, 索拉非尼。
TKTL1	转化/降解 糖原性碳水化合物 氨基酸和甘油到 乙酰辅酶a无损失 碳原子	乙酰辅酶a的生成最多是合成的重要代谢物 细胞增殖的脂质。TKTL1 乙酰辅酶a的依赖性生成是用于合成代谢条件, 然而丙酮酸脱氢酶依赖性 乙酰辅酶a用生成 柠檬酸(克雷布斯)循环的分解代谢条件和能量释放	硫胺素抑制TKTL1 缺乏症增加/诱发慢性疾病 糖尿病并发症。抑制作用 氧化硫酸对TKTL1/TKT的影响 由某些烹饪创造的 病情会导致终末期肾脏疾病 疾病	
	碳水化合物、葡萄糖生成氨基酸和甘油的转化/降解为核糖和脱氧核糖，用于DNA/mRNA的合成，并通过磷酸戊糖途径的氧化部分增加NADPH的生成	DNA和mRNA的生成。通过NADPH和谷胱甘肽控制Redox稳态。	健康细胞的DNA损伤增强会导致过早衰老	肿瘤细胞DNA损伤的增强修复导致对放射和许多化疗的治疗耐药性。g., 铂衍生物
	氧独立的能量释放和乳酸的产生，即使在氧气的存在和稳定 hif1 $\alpha$	细胞在缺氧条件下的存活代表了由缺血或梗死引起的细胞不再获得血氧的生存机制	乳酸基降解和侵袭性生长抑制伤口愈合e.g., 糖尿病患者	肿瘤细胞的激活导致乳酸基降解，并伴随侵袭性生长和转移以及对血管生成治疗的耐药性e.g., 阿瓦斯汀和埃比特
	使细胞存活和抵抗生长刺激的退出e.g., 激素消融术			肿瘤细胞的激活导致乳酸基抑制T和NK细胞的防止免疫系统攻击
		允许当单个细胞在体内迁移时存活		对激素消融术治疗的抵抗e.g., 雄激素消融治疗

## 6. 激活TKTL1基因的临床意义

今天, TKTL1基因对智人很重要, 因为它是人类认知表现[34]进化的关键因素。不幸的是, 在不必要的肿瘤细胞中激活这种保护程序也对预防自由基(ROS)、细胞损伤和抑制细胞死亡触发器有保护作用。在肿瘤中, TKTL1基因导致对自由基和凋亡诱导治疗的耐药性, 因此癌症患者无法从新辅助化疗和放疗[35]中获益。TKTL1活性, e. g., 也与宫颈癌[36, 37]的增殖和进展以及甲状腺癌[38]中的淋巴结转移相关。此外, 肿瘤细胞中TKTL1基因的激活导致葡萄糖摄入量和乳酸的形成、侵袭性生长、远处转移的形成和复发率的增加[20, 23, 35, 39-42]。tktl1阳性肿瘤的恶性程度也增加了, 因为产生的乳酸导致免疫细胞和肿瘤细胞的酸基抑制, 不能被免疫细胞, 如杀伤细胞[43, 44]。此外, 由于细胞凋亡触发被生长因子的退出所抑制, tktl1阳性的肿瘤细胞对抗生长策略e更有抵抗力。g., 抗激素疗法[26]。这些个体效应导致tktl1表达的肿瘤恶性肿瘤的显著增加(图2), 并显著缩短了患者的生存时间[20、23、35、39-42]。同时, 通过激活TKTL1基因, 肿瘤细胞对自由基和凋亡触发治疗的敏感性降低, 使肿瘤细胞对放疗和化疗[35]更具耐药性。此外, 发酵代谢也导致了对靶向治疗的耐药性, 如索拉非尼[45]、伊马替尼[46]和西妥昔单抗[47]。在索拉非尼的情况下, 发酵代谢的激活导致自由基的抑制, 从而导致对索拉非尼的耐药性。如果发酵代谢被药物氧硫胺素抑制, 这将导致索拉非尼[45]的疗效。伊马替尼也可以通过氧硫胺素[46]抑制发酵代谢而再次有效。此外, 氧硫胺素成功用于抑制化疗耐药卵巢癌[48]患者卵巢癌细胞的生长。除了基于小化合物的发酵代谢抑制外, TKTL1的敲除通过抑制NADPH和核糖-5-磷酸的水平来补充顺铂诱导的细胞毒性, 这表明TKTL1可能是提高顺铂联合治疗癌症患者[49]的一个有前途的靶点。这表明, 可以抑制发酵代谢, 抑制化疗耐药癌细胞的生长, 并通过联合使用它们来对抗耐药性来提高治疗的有效性。



**图2.** TKTL1在癌细胞中的作用。TKTL1及其代谢物对癌症的重要特征的贡献, 导致恶性肿瘤、生存、免疫逃逸、治疗耐药性和癌细胞在体内的分布增加。“箭头向上”表示增加, 箭头向下表示减少。

## 7. 苯酚-氧硫胺素：一件新衣服里的维生素拮抗剂氧硫胺素

对氧硫胺素的研究表明，维生素的类似物可以用来成功地治疗癌症。随着甲氨蝶呤作为叶酸（维生素B9）的建立，有可能抑制二氢叶酸还原酶，这是叶酸生物合成的关键酶。甲氨蝶呤成功地阻断了叶酸依赖的RNA和DNA的产生，从而缺乏了促进癌细胞生长的重要元素。在维生素B1（硫胺素）拮抗剂氧硫胺素的情况下，有可能抑制硫胺素依赖的酶，如转酮醇酶，以及丙酮酸脱氢酶和-酮戊二酸脱氢酶。糖代谢可以在氧硫胺素非常有效地抑制，如转酮醇酶（TKT和TKTL1）的硫胺素依赖酶反应，丙酮脱氢酶和酮戊酮脱氢酶控制Embden-迈耶霍夫途径，磷酸戊糖途径和柠檬酸循环（克雷布斯循环），或者换句话说，糖的整体代谢。这同时导致自由基的形成增加，细胞色素c的氧化和DNA修复的抑制。由于这些癌细胞对自由基和细胞凋亡触发疗法变得敏感，这种效果已在研究中得到证实。氧硫胺素不仅抑制DNA和RNA合成，还增加自由基（活性氧-ros）的形成，从而大量改变RedOx稳态。这两种作用都能协同抑制癌细胞的生长，并提高癌症治疗的疗效。由于转酮醇酶反应是乳酸形成的关键因素，这可以通过抑制该酶反应和抑制乳酸介导的基质降解来解决，从而降低癌细胞的侵袭性和转移性。由于目前还没有一种药物能够成功地抑制癌细胞的侵袭性和转移，因此这种治疗效果对未来的癌症治疗具有重要意义。能够选择抑制癌症的侵袭和转移将相当于肿瘤学领域的一个范式转变。由于癌细胞的乳酸形成对免疫系统[43, 44]消除癌细胞也有抑制作用，因此抑制葡萄糖代谢也为开发更有效的免疫疗法开辟了可能性。

上述氧硫胺素的作用是大量研究的一部分，表明该药物是一种很有前途的癌症患者的药物治疗方法。尽管有这些关于其效果的耸人听闻的数据，但它在未来不太可能作为一种癌症治疗方法使用。氧硫胺素及其作用已经为人所知几十年，使其在癌症中的应用不再是新的，也不再可以申请专利。因此，制药公司已经放弃将氧硫胺素作为临床开发新药的有效成分。如果没有对制药公司的专利保护，它们就不可能收回它们在临床药物开发方面的大量资金投入，因为竞争对手可以以快速和低成本引进非专利药物，从而在市场上与它们竞争。因此，氧硫胺素很可能加入临床有效但未经批准，因此不适用。解决这一困境的一种方法可能是建立苯-羟硫胺素（BOT）作为一种全新的、可申请专利的药物，这是一种以前未知的硫胺素类似物，可以在人体中释放羟硫胺素。这为临床开发专利活性成分最终成为氧硫胺素的前药。由于苯酚-氧硫胺素现在可以在良好的生产实践（GMP）条件下大量生产，临床评价是可能的。

## 8. EDIM-TKTL1/Apo10血液检测：一种基于先天免疫系统的液体活检，用于检测符合靶向治疗条件的癌症患者

由于TKTL1发酵代谢肿瘤的恶性程度增加和治疗耐药性增强，这类癌症患者的生存概率明显较低。肿瘤材料中TKTL1的检测为识别这一患者子集提供了可能性，并通过密切联系的诊断进行监测，并准确地应用早期和靶向治疗。在

同时,对肿瘤中TKTL1发酵代谢的检测为识别需要对癌症治疗敏感的肿瘤提供了大门。在未来,在化疗或放疗前,可以通过维生素拮抗剂苯酚-氧硫胺素或氧硫胺素对葡萄糖代谢进行药理抑制,从而增加自由基的形成和凋亡,促进癌细胞的死亡。通过这种对糖代谢的药物抑制,一种新的治疗选择可以显著延长先前预后不良的癌症患者的生存时间和治疗。此外,EDIM血液检测可以检测TKTL1以及所有其他药物靶点,使针对肿瘤中实际现有靶点的个性化癌症治疗成为可能。因此,EDIM血液检测将是靶向治疗的一个重要和必要的组成部分。

#### 9. EDIM-TKTL1/Apo10血液检测法检测符合条件的患者18FDG-肿瘤的PET成像

肿瘤的代谢特征,因为巨噬细胞中TKTL1水平升高与葡萄糖摄取增加相关<sup>18</sup>氟脱氧葡萄糖(FDG)pet成像,因此肿瘤患者有资格进行18FDG-PET成像可通过EDIM-TKTL1血液检测[1]进行识别。这种对肿瘤患者的预选使其具有低成本的应用18FDG-PET,因为阳性检查的数量明显增加。此外,EDIM-TKTL1血液检测可以识别出糖代谢增强的癌症患者,同时可以选择对全身肿瘤的详细可视化和定位,这是改进治疗的基础。总的来说,EDIM技术允许识别可用于可视化和靶向治疗的生物标志物。这可以通过检测受体等目标来实现。g.,胃泌素释放肽受体,然后用放射性标记的激动剂或其拮抗剂进行靶向治疗。

#### 10. EDIM-TKTL1/Apo10血液检测用于癌症治疗的监测

由于EDIM-TKTL1/Apo10血液检测是基于先天免疫系统的活性,癌症治疗影响免疫系统和巨噬细胞的活性将影响检测结果。由于大多数细胞毒性癌症治疗确实对巨噬细胞的活性有这样的影响,细胞毒性和其他影响免疫系统的癌症治疗不能通过EDIM技术来监测。

#### 11. EDIM-TKTL1/Apo10血液检测对肿瘤手术切除的监测

在EDIM-TKTL1/Apo10血液检测的帮助下,可以监测肿瘤的手术切除情况([2,3](表2)。术前后评分的比较表明肿瘤是否通过手术成功切除。这是EDIM-TKTL1/Apo10试验的一个重要应用,因为癌症患者可以检测到谁需要进一步的手术切除剩余的肿瘤材料或其他形式的治疗。

**表2。** (a) 口腔鳞状细胞癌 (b) 乳腺癌 (c) 前列腺癌患者单核细胞术后表位检测 (EDIM) -Apo10和TKTL1评分。表发表在[2]上。

(a) 口腔鳞状细胞癌患者单核细胞 (EDIM) 术后前后表位检测-Apo10和TKTL1评分 (n = 3)。			
特点	外科手术前的	术后	
患者总数n = 3	Apo10得分TKTL1得分	Apo10分数	TKTL1分数
患者1	143 134	102	111
患者2	119 146	99	102
患者3	124 121	100	93

(b) 乳腺癌患者单核细胞术后术前和术前表位检测 (EDIM) -Apo10和TKTL1评分 (n = 3)。			
特点	外科手术前的	术后	
患者总数n = 3	Apo10得分TKTL1得分	Apo10分数	TKTL1分数
患者1	161 129	81	100
患者2	126 155	96	77
患者3	133 132	98	89

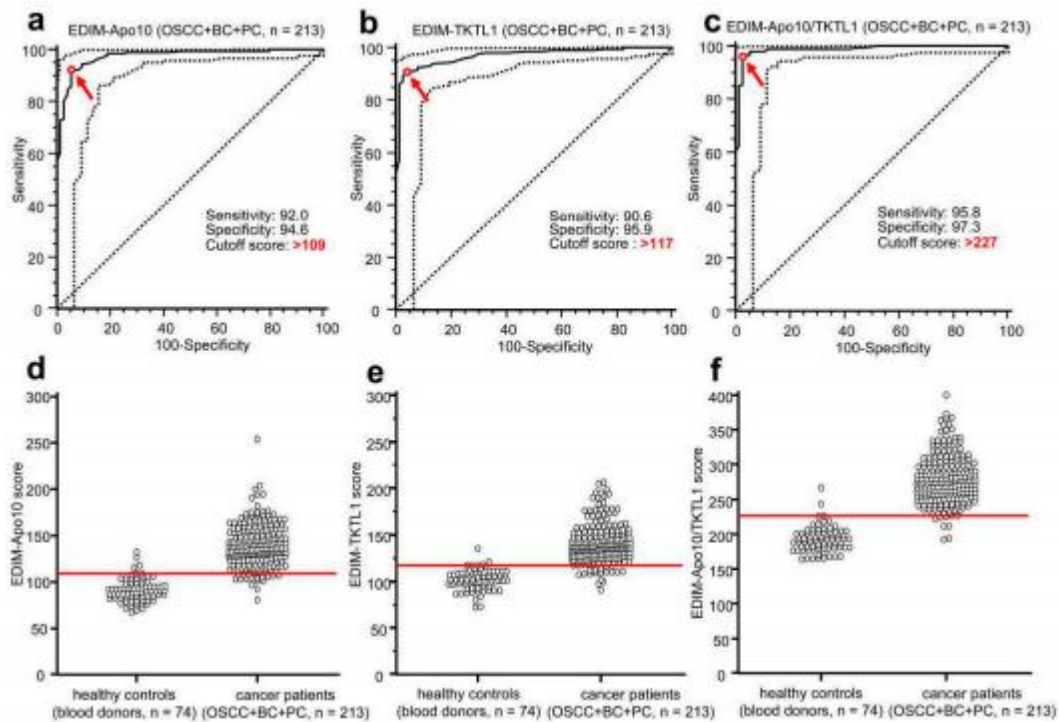
(c) 前列腺癌患者单核细胞术后前后表位检测 (EDIM) -Apo10和TKTL1评分 (n = 6)。			
特点	外科手术前的	术后	
患者总数n = 6	Apo10得分TKTL1得分	Apo10分数	TKTL1分数
患者1	155 149	98	99
患者2	144 166	93	106
患者3	153 165	93	101
患者4	162 143	105	104
患者5	139 149	102	88
患者6	158 144	95	95

## 12. EDIM-TKTL1/Apo10血液检测对癌症复发的早期检测

通过EDIM-TKTL1/Apo10血液检测, [4]可以早期发现癌症复发。在这种情况下, EDIM血液检测比在血清中应用肿瘤标志物检测可以更早地检测复发。必须进行未来的研究来证明这是否是普遍的情况。

## 13. EDIM-TKTL1/Apo10血液检测的癌症早期检测

通过血液检测, 巨噬细胞中存在生物标志物DNaseX/Apo10和TKTL1的证据表明, 可以早期检测迄今为止分析的所有癌症类型[1, 2, 4]。而EDIM-Apo10的敏感性和特异性(分别为92.0和94.6)和EDIM-TKTL1(90.6和95.9)非常好, EDIM-Apo10和EDIM-TKTL1优越, 导致非凡的敏感性95.8%, 特异性97.3%, 与乳腺癌、口腔和前列腺癌检测[2](图3)。这强调了这种新的血液检测程序的诊断潜力, 并表明如果两种生物标志物的结果表明两种不同的基本生物物理机制被一起用于检测恶性肿瘤, 特异性和敏感性显著提高。检测结果的特异性可能会更高, 因为献血者已经被用作阴性对照, 但这些献血者并不代表真正的阴性对照, 因为目前尚不知道他们是否患有肿瘤。到目前为止, 本研究的结果证实了EDIM-TKTL1/Apo10血液检测是一种很有前途的诊断方法, 可用于所有类型的恶性肿瘤的早期检测。



**图3.**与健康个体相比，所有癌症样本（OSCC、乳腺癌和前列腺癌、n = 213）中单核细胞-Apo10、EDIM-TKTL1和联合EDIM Apo10/TKTL1评分的表位检测的受试者工作特征（n = 74）分析。真实阳性率（敏感性）绘制在函数的假阳性率（100特异性）测量截止点：ROC分析诊断所有癌症样本/实体（OSCC、乳腺癌和前列腺癌，a-c）显示计算截止值最高的EDIM-Apo10(a)，EDIM-TKTL10(b)和EDIM Apo10/TKTL1 (c)评分(a, EDIM-Apo10评分>109：敏感性92.0%，95%置信区间(CI) 87.5 - 95.3%，特异性94.6%，95% CI 86.7 - 98.5%；b，EDIM-TKTL1评分>117：敏感性90.6%，95% CI 85.9 - 94.2%，特异性95.9%，95%CI 88.6-99.2%；c，联合EDIM-Apo10+EDIM-TKTL1评分>227：敏感性95.8%，95% CI 92.1 - 98.0%，特异性97.3%，95% CI 90.6 - 99.7%。虚线表示95%的CI。OSCC，口腔鳞状细胞癌；乳腺癌；PC，前列腺癌。在交互式点图（ROC曲线分析的一部分，d-f）中，健康对照组和癌症组的数据以两个垂直轴上的点表示。水平线表示在健康对照组和癌症组之间具有最佳分离/最高准确性（最小的假阴性和假阳性结果）的分界点。相应的检测特征的敏感性和特异性如上所示。图发布在[2，附加文件13]中。

#### 14. 未来的发展方向和限制

EDIM-TKTL1/Apo10血液检测可以是一种“泛肿瘤”血液检测，极大地简化了所有类型肿瘤的诊断，从而显著提高了治疗的成功率。因此，早期发现肿瘤会增加良性肿瘤的比例，也会减少恶性肿瘤的比例，从而增加可手术的和非转移的、可治愈的肿瘤的比例。因为手术切除肿瘤仍然代表着一个决定性的，最重要的是非常成功的治疗肿瘤疾病，建立癌症早期发现的诊断是一个重要的选择来增加手术切除和/或当前的癌症治疗无线电，化疗和有针对性的治疗。到目前为止，小良性肿瘤和小恶性肿瘤不能检测到肿瘤标记，确定在血液/血清，因为他们释放相对少量的生物标志物，也将大大稀释血容量，所以没有显著增加生物标志物在血液/血清的浓度是可测量的。EDIM技术在先天免疫系统的内在帮助下解决了这个问题。尽管如此，一个“泛肿瘤”

血液检测将是一个挑战, 因为(小的)肿瘤的早期发现将显著增加检测到的肿瘤的数量, 同时也会增加肿瘤患者的数量。虽然患有如此小肿瘤的人确实有很好的治愈机会, 但这种泛癌检测的应用应该与有关肿瘤早期发现的益处和提高治疗成功的教育联系起来。

**致谢:** 2006年颁发的“生物化学+3: 转酮醇酶TKTL1——肿瘤疾病诊断和治疗的新靶点——福德西索0313742”支持苯酚-氧硫酸胺的开发。Zyagnum AG支付了开放获取出版的费用。

**利益冲突:** 作者声明由于使用TKTL1和DNaseX/Apo10诊断癌症和苯酚-氧硫酸胺治疗癌症而存在利益冲突。作者是相应专利的所有者和城市、国家和塔瓦根尼股份有限公司的股东。

## 参考文献

1. Feyen, O.; 科伊, J. F.; 普拉萨德诉; 希尔, R.; 桑格, J.; 鲍姆, R. P. EDIM-TKTL1血液检测: 一种检测恶性肿瘤患者糖代谢上调的无创方法。未来的协议。2012, 8, 1349 - 1359. [PubMed](#)
2. 格林, M.; 施密特, S.; Teriete P.; Stenzl T.; 亨内洛特, J.; 恩, H. J.; Munz; ; Konig K.; 等。一种基于生物标志物的癌症检测和表征, 利用哺乳动物细胞中的两种基本生物物理机制。BMC癌症公司, 2013, 13, 569. [PubMed](#)
3. 格林, M.; Kraut, W.; Hoefert, S.; 克里梅尔, M.; Biegner, T.; 泰瑞特, P.; Cetligkeit, J.; 克鲁巴, S.; Munz, A.; 等人。基于生物标志物的口腔鳞状细胞癌手术切除的评价。Clin. 口腔侵入。2016, 20, 329 - 338. [PubMed](#)
4. 詹森, N. 科伊, J. F. 单核细胞血液检测中表位检测对结肠癌转移的早期诊断中的应用。未来的协议。2013, 9, 605 - 609. [PubMed](#)
5. 佩诺-洛卡, F.; 拉多舍维奇-罗宾, N. 在乳腺癌中的Ki67评估: 一个更新。病理学2017, 49, 166-171. [PubMed](#)
6. Huszno, J.; Nowara, E. 目前晚期乳腺癌患者抗her2的治疗策略。沉思。Oncol. 2016, 20, 1 - 7. [PubMed](#)
7. 乌兰, F. R. 卵巢癌生物标志物的视角: 过去、现在和未来。诊断2017, 7. [PubMed](#)
8. 雷克尔, F.; 塞勒尔, D.; 塞弗特 B.; 兰达佐先生; 克维亚特考斯基, M. 2013年PSA筛选: 背景和视角。Urol. A 2014, 53, 875 - 881. [PubMed](#)
9. 他威格; 佩尔泽, W; Rehder, P.; R; Pingera, G. M.; Gozzi, C.; 康瓦林卡, G.; 巴茨, G. 外周血巨噬细胞中细胞内和细胞外前列腺特异性抗原水平的测量: 对前列腺癌进行无创诊断的一种新方法。Clin. 前列腺癌 2004, 3, 184-188. [PubMed](#)
10. 格林, M.; Feyen, O.; 腓腓的人, J. F.; 霍夫曼, H.; Teriete, P.; 雷纳特, S. 口腔鳞状细胞癌患者外周血中循环CD14+/CD16+单核细胞来源的巨噬细胞 (MDMs) 的分析。口腔外科。口腔医学。口服致病药。口服放射线醇。2016, 121, 301 - 306. [PubMed](#)
11. Leers, M. P.; 午睡, M.; 赫威格, R.; Delaere, K.; 诺威尔, F. 循环中含psa的巨噬细胞作为前列腺癌检测的可能靶点: 对外周血样本的三色/五参数流式细胞仪研究。是J. Clin. 帕索尔。2008, 129, 649 - 656. [PubMed](#)
12. Japink, D.; 李尔斯, M. P.; Sosef, M. N.; Nap, M. 活化巨噬细胞中的CEA。早期结直肠癌肿瘤标志物的新诊断可能性。抗癌Res. 2009, 29, 3245 - 3251. [PubMed](#)
13. 费伯, T. J.; 日本人, D.; 领导, M. P.; Sosef, M. N.; von Meyenfeldt, M. F.; Nap, M. 结肠癌中含有肿瘤标记物的活化巨噬细胞: 一个概念的免疫组化证明。肿瘤生物体。2012, 33, 435 - 441. [PubMed](#)
14. 格林; Hoefert, S; 克里梅尔; M.; Biegner, T.; 费, O.; Teriete, P.; 惰, S. 使用一组新的代谢性血液生物标志物作为液体活检来监测一个口腔鳞状细胞癌病例的癌变情况。口服麦克斯托法克。外科医生2016, 20, 295 - 302. [PubMed](#)



15. 科伊, J. F.; 维尔哈根, 我; Himmele, R.; ; A; Zentgraf, H. 人X染色体上一个DNase的分离、差异剪接和蛋白表达。细胞死亡不同。1996, 3, 199 - 206. [PubMed](#)
16. 锥度, H. S. 改变了癌细胞中脱氧核糖核酸酶的活性及其在使用混合维生素C和K3的无毒辅助癌症治疗中的作用。抗癌Res. 2008, 28, 2727 - 2732. [PubMed](#)
17. 扎诺蒂, 美国; 埃克霍夫; 曼内赫兹, H. G. 在人宫颈发育不良和癌的特定阶段, 分化和凋亡标志物的拓扑表达的变化。妇科. Oncol. 2003, 89, 376 - 384. [CrossRef](#)
18. 科伊, J. F.; 杜bel; Kioschis, P.; 托马斯, K.; 米克勒姆, G.; Delius, H.; Poustka, A. 一个转酮醇酶相关基因的组织特异性转录本的分子克隆: 对脊椎动物新基因进化的意义。基因组学1996、32、309-316. [PubMed](#)
19. 科伊, J. F.; 德雷斯勒, D.; 王尔德, J.; 舒伯特, P. 转酮醇酶样基因TKTL1的突变: 对神经退行性疾病、糖尿病和癌症的临床意义。Clin. 实验室2005, 51, 257 - 273. [PubMed](#)
20. 朗拜因; ZerilliM.; 豪森; Loukan, N.; 特诺洛, M. P.; Steidler, A.; 外斯 C.; 以及其他转酮醇酶TKTL1的表达可以预测结肠癌和尿路上皮癌患者的生存期: Warburg效应被重新解释。巴西J. 癌症2006、94、578-585. [PubMed](#)
21. 徐, X.; Zur Hausen, A.; 科伊, J. F.; Lochelt, M. 转酮醇酶样蛋白1 (TKTL1) 是细胞快速生长和人类肿瘤细胞充分生存能力所必需的。Int. J. 癌症2009, 124, 1330-1337. [PubMed](#)
22. 孙, W.; 刘, Y.; Glazer, C. A.; 邵氏, C.; 巴汗, 年代; DemokanS.; 赵, M.; Rudek, M. A.; 哈, p. k. k.; 卡利法诺, J. A. TKTL1被启动子低甲基化激活, 并通过增加有氧糖酵解和HIF1仪稳定, 促进头颈部鳞状细胞癌的癌变。Clin. 癌症Res. 2010, 16, 857 - 866. [PubMed](#)
23. Jayachandran. H.; 丘赫, 一个. C.; Prithvirajp; 莫拉尼亚, R; 萨拉斯; 阿纳卡, M.; Cebon, J; Behren, A. 转酮醇酶样1异位表达与DNA低甲基化相关, 并在黑色素瘤细胞中诱导Warburg效应。BMC癌症公司, 2016, 16, 134. [PubMed](#)
24. 华宝, O.; 波森纳, K.; Negelein, E. 这是我的荣幸。生物化学. Z. 1924, 152, 309 - 344. [CrossRef](#)
25. Diaz-MoralliS.; arE; 马林, s; 腩腆, J. F.; 杜维尔钦先生; 安东尼维奇, M. R.; Meca-Cortes; 诺特巴特; 他, b; Eelen, g; 等. 转酮醇酶样1在肿瘤代谢重编程中的关键作用。本体目标2016, 7, 51875-51897. [PubMed](#)
26. Hartmannsberger, D.; 橡胶雨衣 B.; 埃格特 C.; 丹泽尔, 美国; Stepp, H.; 贝茨, C. S.; GiresO. 转酮醇酶样蛋白1对体外血清提取具有耐药性。癌症Lett. 2011, 300, 20 - 29. [PubMed](#)
27. 罗兰. D.; 艾薇儿, R.; 多 C.; 平静, p; 克瓦雷克, C.; 弗雷乌尔, T.; Evrard, B.; 勒克勒克, N.; 俄杰, J.; 松果, C. 利用整合基因组学方法鉴定人类精浆中的生殖道标记物。哼唱重复。2013, 28, 199 - 209. [PubMed](#)
28. 李, B.; 伊格莱西亚斯-佩德拉兹, J. M.; 陈, L. Y.; 阴, F.; Cadenas, E.; 雷迪, 美国; Comai, L. 沃纳综合征蛋白的下调会诱导代谢转移, 从而损害氧化还原稳态, 并限制癌细胞的增殖。老化细胞2014, 13, 367-378. [PubMed](#)
29. 狄米特里乌斯, L. A.; 科伊, J. F.; Tuszynski, J. A. 癌症的增殖与治疗: 瓦堡效应和量子代谢。西奥尔. 比奥尔. 医学模型2010, 7, 2. [PubMed](#)
30. Szent-Gyorgyi, 。生活状态和癌症。生理学. 化学物理学. 1980, 12, 99 - 110. [PubMed](#)
31. 霍雷克, L.; 吉布斯, M.; Klenow, H.; Smyrniotis, P. Z. 磷酸戊糖转化为一磷酸己糖的机理。I. 用肝酶制剂。J. 比奥尔. 化学1954, 207, 393 - 403. [PubMed](#)
32. 沃恩, A. E.; 德什穆克, M. 葡萄糖代谢通过氧化还原失活细胞色素c来抑制神经元和癌细胞的凋亡。Nat. 细胞生物体. 2008, 10, 1477 - 1483. [PubMed](#)
33. 纽明顿, J. T.; 皮茨, A.; 陈, A.; 阿塞诺特, R.; 舒伯特, D.; 卡明, R. C. 神经细胞系中的淀粉样蛋白抵抗是由瓦伯格效应介导的。《公共科学图书馆一号》2011、6、e19191. [PubMed](#)
34. Prufer, K.; RacimoF; 帕特森, N; 杰伊; S; 海因策, A.; RenaudSudmant, P. H.; 德菲利波, C.; 等人. 一个来自阿尔泰山脉的尼安德特人的全基因组序列。《自然》2014、505、43-49. [PubMed](#)

35. Schwaab, J.; 霍利斯伯格, K.; 斯特罗贝尔, p; 博恩, B.; 根塞百货公司, D.; Kahler, G.; Kienle, P.; 后, 年代; Wenz, F.; 霍夫曼, W. K.; 等人。转酮醇酶样基因1 (TKTL1) 的表达可以预测接受新辅助放化疗的局部晚期直肠癌患者的无病生存。BMC癌症协会, 2011, 11, 363. [PubMed](#)
36. 哥伦巴哈根, N. 沃尔克, H. U.; 施密特, M.; 卡普, M.; 克罗肯伯格, M.; 弗兰巴赫, T.; Dietl, J.; 卡默勒, U. 转酮醇酶样1 (TKTL1) 和p-Akt的表达与宫颈肿瘤的进展相关。J. 不确定。乙酰胆碱。物品2008, 34, 293 - 300. [PubMed](#)
37. 陈, H.; Yue, J. X.; 杨, S. H.; 丁, H.; 赵, R. W.; 张, S. 转酮醇酶样基因1的过表达与子宫颈癌的细胞增殖有关。J. 经验。Clin. 癌症Res. 2009, 28, 43. [PubMed](#)
38. M. Zerilli; 阿马托, M. C.; Martorana, A.; Cabibi, D.; 考伊, J. F.; 卡佩罗, F.; 庞贝, G.; Russo, A.; 乔达诺 C.; 罗多里科, V. 在直径小于1.5 cm的甲状腺乳头状癌中, 转酮醇酶样-1的表达增加与淋巴结转移有关。癌症2008、113、936-944. [PubMed](#)
39. Kayser; 西内尔; Kubitz, B.; 马特恩 D.; 粘纸, E.; 帕斯利克, B.; 沃纳, M.; Zur Hausen, A. 通过转酮醇酶TKTL1的表达, 可以预测原发性非小细胞肺癌的不良预后。病理学2011、43、719-724. [PubMed](#)
40. 宋, Y.; 刘, D.; 他, G. TKTL1和p63是胃癌患者预后不良的生物标志物。癌症生物方舟。2015, 15, 591 - 597. [PubMed](#)
41. 李, J. 朱, S. C.; 李, S. G.; 赵, Y.; 徐, J. R.; 歌曲, C. Y. TKTL1可促进食管鳞状细胞癌的细胞增殖和转移。比奥梅德。药剂师。2015, 74, 71 - 76. [PubMed](#)
42. Ahopelto, K.; Bockelman, C.; 哈格斯特罗姆, J.; 科斯肯萨洛, 美国; 哈格伦德, C. 转酮醇酶样蛋白1的表达预示着结直肠癌的不良预后。癌症生物。每一个。2016, 17, 163 - 168. [PubMed](#)
43. 费舍尔, K.; 霍夫曼, P.; VoelklS; 梅登鲍尔; 安默, J; 艾丁格, M.; 戈特弗里德; 施瓦茨; 玫瑰, G.; Hoves; S. 等。肿瘤细胞源性乳酸对人T细胞的抑制作用。血液2007, 109, 3812-3819. [PubMed](#)
44. 品牌, A.; 歌手, K.; Koehl, G. E.; Kolitzsm; G; 蒂尔, A.; 马, C.; Bruss, C.; Klobuch, S.; 彼得, K.; et al. LDHA相关乳酸的产生阻碍了T细胞和NK细胞的肿瘤免疫监测。单元格元。2016, 24, 657 - 671. [PubMed](#)
45. 徐, 我。M.; 赖, R. K.; 林, S. H.; 谢霆锋。P.; ChiuD. K.; Koh, H. Y.; 法律, C. T.; 王, C. M.; 蔡, Z.; 黄, C. C. 以及其他转酮醇酶可以抵消氧化应激来驱动癌症的发展。过程Nat1. 阿卡德。科学。美国2016、113、e725-e734. [PubMed](#)
46. 赵, F.; Mancuso, 一个; 但是, T. V.; 唐, X.; 格鲁伯, J. J.; Swilder, C. R.; 桑切斯, P. V.; Lum, J. J.; 赛义德, N.; 甜瓜, J. V.; 等人。与BCR-ABL上调相关的伊马替尼耐药性依赖于HIF-1阿尔法诱导的代谢重编程。致癌基因2010、29、2962-2972. [PubMed](#)
47. 蒙特罗内, F.; 罗莎, R.; Vitale, M.; 丹布罗西奥, C.; Succoio, M.; 福米萨诺, L.; Nappi, L.; 罗马诺, M. F.; 斯卡洛尼, A.; Tortora, G.; 等人。厌氧代谢增加是结直肠癌细胞模型中对抗表皮生长因子受体抗体抵抗的一个独特特征。蛋白质组学2013、13、866-877. [PubMed](#)
48. 里奇亚德利; 洛克曼, N. A.; Cheruvu, 美国; 谭, 我。A.; WeenM. P.; Pyragius, C. E.; 一个; 霍夫曼, p; 欧勒, M. K. 转酮醇酶在转移性腹膜植入物中表达上调, 并促进卵巢癌细胞增殖。Clin. 经验。转移2015、32、441-455. [PubMed](#)
49. 董, Y.; 王, M. 通过调节NADPH和核糖-5-磷酸的水平来补充顺铂诱导的鼻咽癌细胞的细胞毒性。比奥梅德。药剂师。2017, 85, 672 - 678. [PubMed](#)

作者著: ©2017. 被许可方MDPI, 巴塞尔, 瑞士。本文是一个开放的访问网站  
文章在知识共享署名的条款和条件下分配

(CC BY) 许可证 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

