

DOI: 10.13376/j.cbbls/2024056

文章编号: 1004-0374(2024)04-0527-10

果糖激酶的研究进展

李雨佳¹, 王 丽², 张 策^{3*}, 赵乃倩^{2*}

(1 山西医科大学第二临床医学院内分泌科, 太原 030001; 2 山西医科大学第二医院老年科, 太原 030001; 3 山西医科大学基础医学院, 太原 030001)

摘要: 果糖激酶 (KHK) 是果糖分解代谢的限速酶, 有果糖激酶 C(KHK-C) 和果糖激酶 A(KHK-A) 两种剪接变体。KHK-C 是果糖分解代谢功能的主要承担者, 并且通过其蛋白质乙酰化作用, 促使果糖的代谢产物更多地用于甘油三酯的合成, 是果糖相关代谢性疾病的根本原因。KHK 还在多种肿瘤的生长、增殖和转移中发挥重要作用。KHK-C 可激活与代谢重编程有关的信号通路和代谢通路, KHK-A 则是作为一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 通过激活不同的信号转导分子或代谢通路的限速酶, 促进肿瘤的生长、增殖和转移。该文就 KHK 的结构、分布、调节、功能及与临床疾病的相关性进行综述, 以期为后续研究提供理论依据。

关键词: 果糖激酶; 果糖代谢; 代谢性疾病; 蛋白激酶; 肿瘤代谢

中图分类号: Q555+.7 文献标志码: A

Research progress of ketohexokinase

LI Yu-Jia¹, WANG Li², ZHANG Ce^{3*}, ZHAO Nai-Qian^{2*}

(1 Department of Endocrinology, The Second Clinical College of Medicine of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2 Department of Geriatric, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 3 Basic Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract: Ketohexokinase (KHK), the rate-limiting enzyme in the first step of fructose metabolism, exists in two alternatively spliced isoforms of ketohexokinase C (KHK-C) and ketohexokinase A (KHK-A). KHK-C is the main undertaker of fructose catabolism, and through its protein acetylation, fructose metabolites are more used in the synthesis of triglycerides, which is the root cause of fructose-related metabolic diseases. Moreover, KHK also plays an important role in the growth, proliferation and metastasis of many different types of cancers. KHK-C triggers a reprogrammed transcriptional and metabolic profile, while KHK-A acts as a serine or threonine protein kinase, phosphorylating and activating different signaling molecules or some rate-limiting enzyme to facilitate tumor growth, proliferation and metastasis. This article reviews the structure, distribution, regulation, function, and correlation with clinical diseases of KHK, in order to provide a theoretical foundation for further researches.

Key words: ketohexokinase; fructose metabolism; metabolic disease; protein kinase; cancer metabolism

果糖是常见于日常饮食中的一种单糖, 主要来源于蔗糖和高果糖玉米糖浆 (high fructose corn syrup, HFCS) 两种最常用的甜味剂。蔗糖是一分子果糖与一分子葡萄糖相结合而形成的双糖, HFCS 是单糖形式的果糖和葡萄糖组成的混合物^[1]。随着蔗糖和 HFCS 被越来越广泛地用于食品加工和含糖饮料的制作中, 人群中果糖的摄入量显著增加^[2]。过量的果糖在体内代谢时可诱导肥胖、内脏脂肪蓄积、肾

小管损伤、心肌损伤、血压升高和胰岛素抵抗, 以及促进多种肿瘤的生长和转移等不良后果^[3-8], 而

收稿日期: 2023-11-05; 修回日期: 2023-12-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(81871125)

*通信作者: 赵乃倩, Tel: 18235150464, E-mail: 407288101@qq.com; 张策, Tel: 13753184051, E-mail: 1951584811@qq.com

启动果糖代谢的果糖激酶在其中发挥着关键性的作用。果糖激酶又名己酮糖激酶(ketohexokinase, KHK), 是果糖进入果糖代谢途径的第一个代谢酶, 也是果糖代谢的限速酶, 有果糖激酶 C (KHK-C) 和果糖激酶 A (KHK-A) 两种剪接变体^[9]。KHK-C 的主要功能是在肝脏、肾脏和小肠等主要的果糖代谢组织中, 启动果糖代谢途径^[1,10-11], 并通过诱导蛋白质乙酰化促使果糖代谢的中间产物更多地用于甘油三酯的合成, 生成尿酸和甘油三酯等代谢终产物, 进而诱导果糖相关代谢性疾病的发生和发展^[12]。在携带致癌 KRAS 突变的胰腺癌肿瘤组织中, KHK-C 除了可激活果糖分解代谢通路, 为肿瘤细胞提供营养物质外, 还可激活与代谢重编程有关的 KRAS/MAPK 和 mTORC/rapS6 信号通路, 促使肿瘤细胞采用更佳的代谢方式利用微环境中存在的营养物质, 促进其生长和增殖^[13]。而 KHK-A 仅有微弱的催化果糖代谢的作用, 它主要作为一种作用广泛的蛋白激酶, 通过激活多种信号转导分子及一些代谢通路的限速酶, 促进多种肿瘤的生长和转移^[14-17]。因此, 深入了解果糖激酶的研究进展, 对于进一步明确果糖相关代谢性疾病和肿瘤的发病机制, 发掘预防和治疗这些疾病的新药物和新方法具有重要意义。

1 果糖激酶的结构特征和组织分布

1.1 果糖激酶基因序列的结构特征

编码人 KHK 的基因位于 2 号染色体短臂 2p23 上^[18], 全长 14 kb, 有 1、2、3a、3c 和 4~8 共 9 个外显子^[9]。在 KHK 基因转录起始位点上游的 -5 kb 区域有一个多态性 CA 重复序列^[9,18], 在 -1.5 kb 区域的核苷酸序列具有 CpG 岛序列的特征^[9], CA 重复序列的甲基化或羟甲基化状态, 以及 CpG 岛序列的甲基化状态可影响 KHK 基因的表达水平。在 KHK 基因的 -2.9 kb 区域有保守的碳水化合物反应元件(carbohydrate response element, ChRE), 在 -700 kb 区域有不完全保守的 ChRE, 可与碳水化合物反应元件结合蛋白(carbohydrate response element binding protein, ChREBP) 结合, 激活 KHK 基因转录^[19]。3a 和 3c 两个外显子通过基因内复制产生, 具有序列同源性并且彼此相邻^[9]。两者长度均为 135 bp, 中间被一个长度 188 bp 的短内含子相隔^[9]。KHK 基因 3a 和 3c 两个外显子的互斥剪接产生两种不同的 KHK mRNA, 进而翻译成 KHK-C 和 KHK-A 两种剪接变体^[9]。KHK 这种外显子-内含子结构和选择性剪接模式在大鼠、小鼠和人等物种中都是保守

的, 表明了这两种 KHK 亚型具有不同的保守功能^[9]。KHK 外显子 2 中的 40 号密码子 Gly40 和 43 号密码子 Ala43 为原发性果糖尿症的突变位点^[9,20]。

1.2 果糖激酶氨基酸序列的结构特征

KHK 属于碳水化合物激酶家族中的磷酸果糖激酶 B 型亚家族(phosphofructokinase B type, PfkB)^[21]。PfkB 家族蛋白在进化上具有较高的保守性, 其氨基酸序列有两个短的强同源性序列, 一个靠近氨基末端, 含有保守的二甘氨酸重复序列, 参与底物识别结构域的构成, 另一个靠近羧基末端, 含有保守的具有催化底物作用的 DTXGAGD 基序^[22-23]。因此, PfkB 家族成员均具有高度保守的底物识别结构域和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP) 结合位点。PfkB 家族蛋白的三级结构由一个较大的 α/β 型结构域和一个较小的 β -折叠结构域组成, 共同构成了 PfkB 家族成员均具有的 PfkB 结构域^[21-23]。KHK 基因选择性剪接后得到的 KHK-C 和 KHK-A 两种剪接变体三级结构相似, 其较大的 α/β 型结构域由 9 个 β -折叠组成, 两侧各有 5 个 α -螺旋, 较小的 β -折叠结构域由 4 个 β -折叠组成^[21]。KHK-C 和 KHK-A 的四级结构是由两个同源 PfkB 结构域组成的二聚体, 其中两个较小的 β -折叠结构域聚集在一起形成 β -clasp 结构, 构成二聚体界面^[21,24]。KHK-C 和 KHK-A 的每个亚基均有一个活性中心, 位于较大的 α/β 型结构域和形成二聚体界面的 β -折叠结构域之间的缝隙中, β -折叠结构域如同盖子一样覆盖在活性中心上^[21]。KHK-C 和 KHK-A 的活性中心具有果糖和 ATP 的结合位点, 当果糖和 ATP 都与活性中心结合时, 镁离子也同时结合至活性中心上^[21]。每个 KHK-C 和 KHK-A 亚基均由 298 个氨基酸残基组成, 对 KHK-C 和 KHK-A 的氨基酸序列进行比对可以发现, 两者从第 72 位氨基酸残基开始至第 115 位氨基酸残基结束, 共有 44 个氨基酸残基是不相同的^[21]。这一互不相同的氨基酸序列位于 KHK-C 和 KHK-A 的二聚体界面, 造成了两者 β -clasp 结构空间构象的显著差异, 使得 KHK-C 始终有且仅有一个亚基处于开放状态^[21]。 β -clasp 结构空间构象上的差异是 KHK-C 对果糖的亲合力明显高于 KHK-A、热稳定性明显低于 KHK-A 的原因(图 1)。KHK 第 40 号密码子 Gly40 编码二甘氨酸重复序列中的第一个甘氨酸, Gly40 基因突变(Gly40Arg) 导致甘氨酸变为精氨酸, 较大的精氨酸侧链占据了底物结合位点并阻止其与果糖结合, 使 KHK-C 和 KHK-A 失去了酶活性。KHK 第 43 号

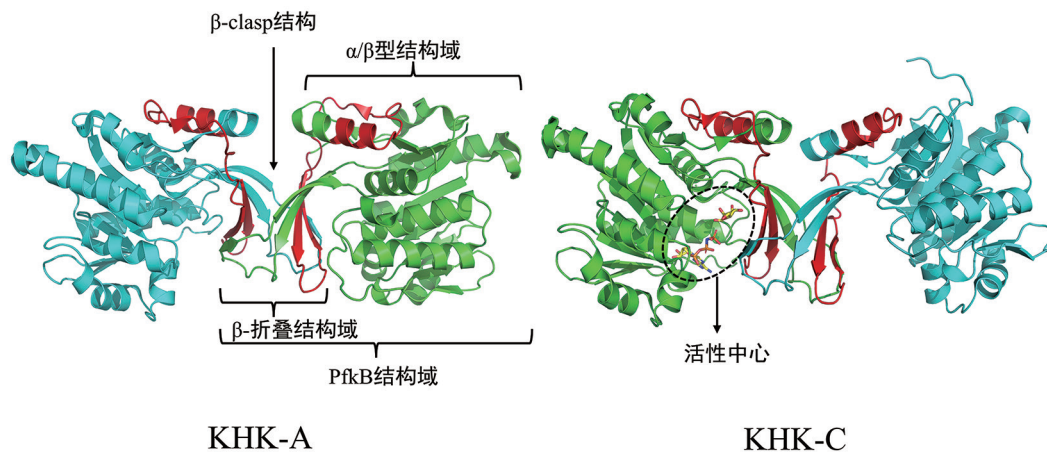


图1 KHK-A和KHK-C的结构

密码子 Ala43 编码的丙氨酸也参与底物识别结构域的构成, Ala43 基因突变 (Ala43Thr) 导致丙氨酸变为苏氨酸, 庞大的苏氨酸侧链会破坏该结构域的空间构象, 使 KHK-C 和 KHK-A 的热稳定性显著下降, 导致在生理温度下 KHK-C 的酶活性显著降低, KHK-A 的酶活性得以保留^[10,21]。

1.3 果糖激酶的组织分布和亚细胞定位

KHK 的选择性剪接具有组织特异性, KHK-C 在肝脏、肾脏和小肠等主要的果糖代谢组织中表达水平较高, KHK-A 表达水平较低, 但分布范围广泛, 在脑、肾上腺、子宫、肺、心脏、骨骼肌、脾脏、脂肪组织、眼以及胎儿生长发育最初阶段的所有组织中均有表达^[9,11,25-26]。KHK-C 分布于肝细胞、近端肾小管直部上皮细胞^[11]和肠道隐窝-绒毛轴上皮细胞的细胞质中^[27], 比如在肠上皮细胞中, KHK-C 主要位于基底外侧区的细胞质中^[28], 说明此处的果糖代谢最为活跃。KHK-A 在正常细胞中的分布情况不明, 但在主要表达 KHK-A 的肿瘤细胞系中, 在细胞质和细胞核中均有分布, 与其执行蛋白激酶功能有关^[14]。

2 果糖激酶表达和活性的调节

2.1 果糖激酶表达的调节

KHK 基因转录由一系列转录因子和过氧化物酶体所调节。ChREBP 是在主要代谢组织中表达的一种转录因子, 可感知细胞内碳水化合物代谢产物浓度的变化, 以调节代谢基因的表达模式^[29]。果糖代谢的第一步是在 KHK 的作用下生成 1-磷酸果糖和尿酸, 而尿酸可诱导 ChREBP 表达, 进而通过增加 ChREBP 与 KHK 基因启动子区 ChRE 的结合,

促进 KHK mRNA 的表达, 以正反馈的方式加速果糖代谢^[19,30], 证明了 ChREBP 是 KHK mRNA 表达的正调控因子^[31-33]。过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha, PPAR α) 是调节参与脂质代谢和脂肪细胞分化基因表达的一种转录因子^[34]。在肝组织中, PPAR α 激动剂可下调 KHK mRNA 表达, 提示 PPAR α 是 KHK mRNA 表达的负调控因子^[35]。低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factors, HIFs) 是主要在低氧状态下调节机体适应性反应的一组转录因子。在肝脏和肾脏等主要的果糖代谢组织中, 缺氧和 von Hippel-Lindau (VHL) 肿瘤抑制蛋白功能缺失通过激活 HIF2 α 抑制 KHK mRNA 表达; 缺氧和 VHL 功能缺失也可通过诱导过氧化物酶体降解, 减少过氧化物酶体的数量, 抑制 KHK mRNA 表达, 证实 HIF2 α 和过氧化物酶体缺乏是 KHK mRNA 表达的负调控因子^[36]。

RNA 结合蛋白和稀有糖在 KHK mRNA 转录后加工生成 KHK-C 和 KHK-A 两种 mRNA 的过程中发挥重要作用。激素敏感 RNA 结合蛋白 APOBEC1 互补因子 (APOBEC1 complementation factor, A1CF) 为 RNA 结合蛋白的异质核糖核蛋白 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP) 家族成员, 通过调节转录后 mRNA 编辑参与多种细胞过程。A1CF 主要在肝脏、小肠和肾脏中表达, 可结合至 KHK 前体 mRNA 外显子 3c 下游紧邻 5' 剪接位点的内含子区, 促进 KHK-C mRNA 的形成和表达, 且 A1CF 表达水平高的组织, KHK-C 表达水平也高, 表明 A1CF 是促进 KHK-C 表达的关键调节因子^[37]。剪接因子 3B 亚单位 1 (splicing factor 3B subunit 1, SF3B1) 是剪接体的核心组成部分, 参与前体 mRNA 剪接

分支位点的识别以调节转录后 mRNA 编辑。心肌在常氧状态下主要表达 KHK-A, 但在缺氧状态下, 通过活化 HIF1 α 诱导 SF3B1 表达, SF3B1 与 KHK 前体 mRNA 外显子 3c 上游的 RNA 序列结合, 促进 KHK-C mRNA 的形成, 介导了从低活性 KHK-A mRNA 向高活性 KHK-C mRNA 的剪接转换^[38]。hnRNPH1/2 是一种外显子剪接沉默子, 可与 A1CF 竞争与 KHK 前体 mRNA 同一区域的结合, 阻断 A1CF 的作用, 促进从 KHK-C mRNA 向 KHK-A mRNA 的剪接转换^[37]。在去分化和转分化的组织中, 如肝癌和非小细胞肺癌 (non-small-cell lung carcinoma, NSCLC) 等肿瘤组织中, hnRNPH1/2 的表达显著增加, 伴随着 KHK-A 的表达也显著升高^[16,37,39]。L-山梨糖是一种稀有糖, 为果糖三号位碳的差向异构体。在人肝癌细胞系中, L-山梨糖在 KHK-C 的作用下生成 L-山梨糖-1-磷酸 (L-sorbose-1-phosphate, S-1-P), S-1-P 可降低 KHK-A 的表达和升高 KHK-C 的表达, 提示 S-1-P 可能通过调节 KHK 的剪接转换机制, 进而诱导肝癌细胞的凋亡^[40], 但具体的分子机制有待进一步阐明。

KHK 蛋白在溶酶体中的降解速度可影响 KHK 蛋白的表达水平。葡萄糖转运蛋白 5 (glucose transporter 5, GLUT5) 是特异性转运果糖进入细胞的膜转运蛋白, 在结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 细胞中, GLUT5 与 KHK 蛋白结合, 抑制溶酶体对 KHK 蛋白的降解, 上调 KHK 蛋白表达, 通过增强 CRC 细胞对果糖的利用, 促进 CRC 的生长^[41]。

2.2 果糖激酶活性的调节

KHK 的活性受多种金属离子的影响。在肝细胞中, 锌离子以剂量依赖的方式抑制 KHK 的活性, 且锌离子可降低肝细胞中 ATP 和二磷酸腺苷 (adenosine diphosphate, ADP) 的浓度, 提示锌离子可能通过影响腺嘌呤核苷酸的合成和分解代谢调节 KHK 的活性^[42]。在肝组织匀浆中, 当钾离子浓度在 0.14~0.4 mol/L 范围内变动时, 果糖磷酸化的速度随着钾离子浓度的升高而加快, 说明钾离子是 KHK 的激活剂^[9,43]。镁离子是 KHK 所必需的辅助因子, 在 KHK-A、果糖和一种 ATP 类似物 AMP-PNP 形成的三元复合物结构中, 可观察到与镁离子的八面体结构相对应的电子密度, 为 KHK 必须与镁离子结合才具有生物活性提供了间接证据^[21]。钙离子可抑制 KHK 的活性, 可能与和镁离子竞争与 KHK 的结合有关^[44]。KHK 中含有巯基, 是 KHK 酶活性的必需基团, 汞等重金属离子可与之结合, 进而抑制其

活性^[44]。

迄今为止, 已发现多种植物提取物和化学物质具有抑制 KHK-C 活性的作用。圆叶当归、黄芩、欧芹和山竹是四种可持续生长、成本较低和食用安全的植物, 其提取物及甲氧基异巴伐尔酮、甲氧基欧芹酚 (osthole)、克拉托克斯树酮 E 和 α/γ -芒果苷四种天然化合物, 在无细胞高通量筛选酶活性测定中可抑制重组 KHK-C 的酶活性, 并在过表达 KHK-C 的肝癌细胞中阻断果糖诱导的 ATP 耗竭以及尿酸和甘油三酯的生成^[45]。其中, osthole 是从当归中分离出来的一种高度浓缩的香豆素, 在高果糖饮食喂养的大鼠中, 可剂量依赖地抑制肾皮质 KHK 的活性和 KHK 蛋白的过表达, 剂量依赖地减少其中的 ATP 消耗以及尿酸和甘油三酯的生成, 并阻断高果糖引起的氧化应激和肾功能损伤^[46]。除此之外, osthole 还具有缓解肾纤维化、肾缺血再灌注损伤和急性肾损伤的作用^[47-49], 其抑制 KHK-C 活性的作用还可保护患遗传性果糖不耐受症 (hereditary fructose intolerance, HFI) 的小鼠免受醛缩酶 B 缺乏所致的致命性损害^[50], 是一种很有临床应用前景的植物性化合物。PF-06835919 是一种人工合成的强效高选择性可逆性 KHK-C 抑制剂, 可通过与 KHK-C 的 ATP 结合位点结合, 阻断 ATP 与 KHK-C 的结合, 进而抑制 KHK-C 的活性^[51]。PF-06835919 可逆转高果糖饮食大鼠的高胰岛素血症和高甘油三酯血症, 健康受试者在口服单剂量 PF-06835919 后, 血清果糖浓度呈剂量依赖性增加, 且安全性和耐受性良好, 在体内证实了 PF-06835919 对 KHK-C 的抑制作用^[52]。一项大鼠体内 KHK 抑制试验显示, 在一系列新型的 KHK 抑制剂中, 化合物 14 较 PF-06835919 具有更强的 KHK-C 抑制活性和更高的肝脏药物分布浓度, 可能是一种很有希望的临床候选药物^[53]。一项与 KHK 晶体结构有关的研究发现, 一种亚型选择性配体与小鼠 KHK 和人 KHK-A 的结合效力是 KHK-C 的 50 倍, 且这种配体与小鼠 KHK 结合后可引起后者的晶体结构发生大幅度的构象改变, 研究结果为进一步设计物种和亚型高选择性 KHK 抑制剂奠定了基础^[54]。

3 果糖激酶的生物学功能及其机制

3.1 果糖激酶C的生物学功能及其机制

KHK-C 主要在肝脏、肾脏和小肠等果糖代谢的主要场所发挥作用, 其生物学功能是作为代谢酶启动体内的果糖代谢过程^[1,10-11]。果糖在 KHK-C 的

催化作用下, 以 ATP 为磷酸供体, 生成 1- 磷酸果糖和 ADP, 这是一个快速不可逆反应。果糖磷酸化引起细胞内磷酸盐水平显著降低, 促使 ADP 经过一系列酶促反应, 最终生成尿酸^[55-56]。1- 磷酸果糖则在醛缩酶 B 的作用下分解为甘油醛 (glyceraldehyde, GA) 和磷酸二羟丙酮 (dihydroxyacetone phosphate, DHAP) 而进入果糖分解代谢途径^[1]。GA 在甘油醛激酶的作用下, 以 ATP 为磷酸供体, 生成 3- 磷酸甘油醛。3- 磷酸甘油醛可进入糖酵解途径, 生成丙酮酸, 而 DHAP 可在 α - 磷酸甘油脱氢酶的作用下还原为 α - 磷酸甘油。在氧供不足的情况下, 丙酮酸在丙酮酸脱氢酶的作用下生成乳酸。在氧供充足的情况下, 丙酮酸进入线粒体, 在丙酮酸脱氢酶复合体的作用下, 氧化脱羧生成乙酰辅酶 A, 再进入三羧酸循环彻底氧化。当果糖生成的乙酰辅酶 A 超过三羧酸循环的代谢能力时, 过量的乙酰辅酶 A 便进入脂肪从头合成途径, 转化为脂肪酸, 并进一步与甘油缩合成甘油三酯。在禁食、饥饿、低碳水化合物饮食或剧烈运动等情况下, 3- 磷酸甘油醛和 DHAP 在醛缩酶的催化作用下生成 1,6- 二磷酸果糖以进入糖异生途径生成葡萄糖。在生物合成旺盛的细胞中, 3- 磷酸甘油醛可优先进入磷酸戊糖代谢途

径, 生成磷酸戊糖, 为核酸和氨基酸等的生物合成提供原料 (图 2)。KHK-C 还具有全面性蛋白质乙酰化作用, 一方面通过诱导脂肪酸从头合成途径的首个限速酶 ATP- 柠檬酸裂解酶 (ATP-citrate lyase, ACLY) 乙酰化, 增加 ACLY 蛋白水平, 促进脂肪酸的生物合成, 另一方面通过诱导脂肪酸氧化过程中的限速酶肉碱棕榈酰转移酶 1 α (carnitine palmitoyl-transferase 1 α , CPT-1 α) 乙酰化, 降低 CPT-1 α 蛋白水平, 抑制脂肪酸的氧化, 以确保果糖代谢的中间产物更多地用于甘油三酯的合成, 进而导致甘油三酯的蓄积^[12]。正常人长期过量摄入果糖, 过量的果糖进入果糖分解代谢途径, 导致尿酸和甘油三酯等代谢产物的生成持续增加, 将会导致肥胖、内脏脂肪蓄积和胰岛素抵抗等不良代谢后果。

肿瘤组织的独特标志是能量代谢重编程, 可根据微环境中营养物质的不同, 选择不同的代谢方式, 为自身的生长和增殖提供能量和生物大分子。在多种肿瘤组织中, 转运果糖进入细胞的 GLUT5 和催化果糖分解代谢的 KHK-C 的表达水平均较高, 其也是果糖代谢的重要场所^[13,41]。果糖分解代谢过程中生成的多种代谢产物为不同肿瘤细胞复杂多变的代谢模式提供了可供选择的营养物质, 因而具有促

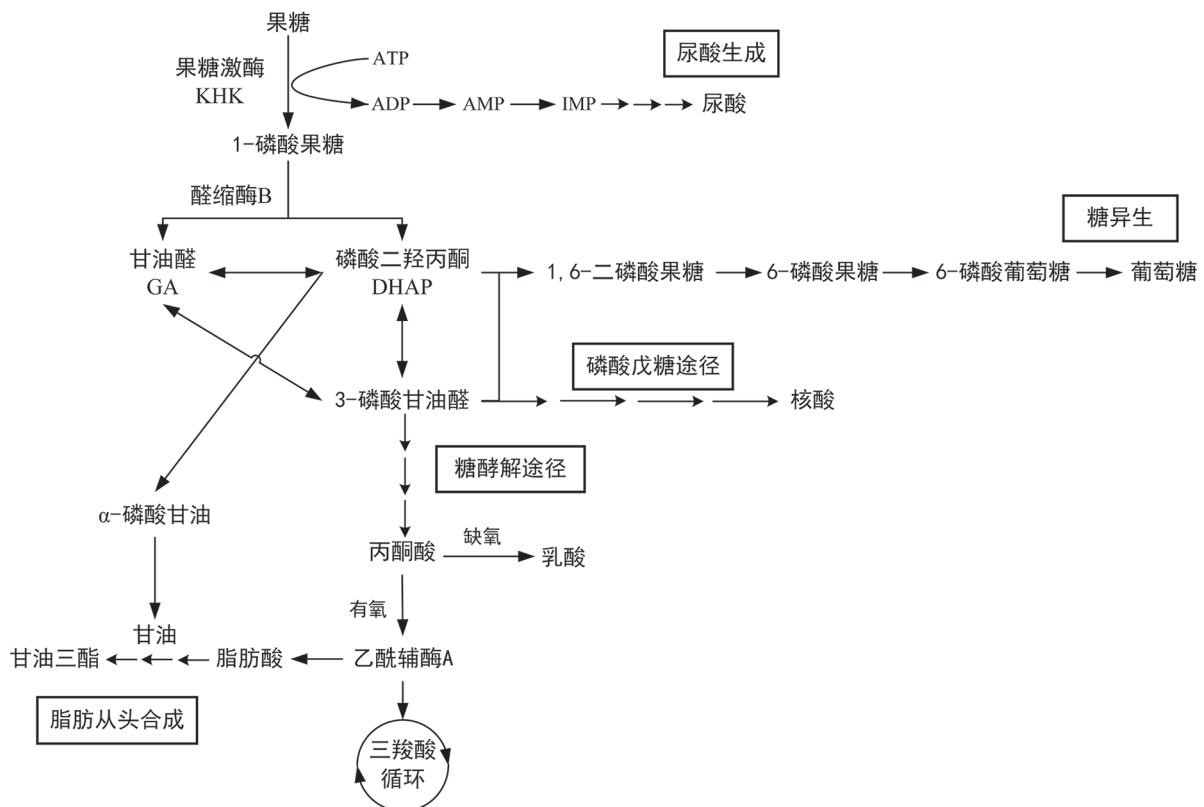


图2 果糖的代谢过程

进肿瘤细胞生长和增殖的作用。在携带致癌 KRAS 突变的胰腺癌等肿瘤组织中, KHK-C 表达和酶活性均显著增加, 果糖以剂量依赖的方式促进肿瘤细胞的生长和增殖; KHK-C 过表达可激活 KRAS/MAPK 和 mTORC/rpS6 信号通路, 促进肿瘤细胞的增殖和迁移, 且在果糖不存在的情况下, 依然具有促进肿瘤细胞增殖和迁移的作用^[13]。KRAS/MAPK 和 mTORC/rpS6 信号通路和肿瘤细胞的代谢重编程有关, 这表明, KHK-C 不仅可以在携带致癌 KRAS 突变的胰腺肿瘤中作为代谢酶, 激活果糖分解代谢通路, 生成核酸和脂肪酸等代谢产物, 为肿瘤细胞提供营养物质, 还能够独立地调节肿瘤细胞与代谢重编程有关的信号通路, 促使肿瘤细胞采用更好的代谢方式, 充分利用微环境中的营养物质。

3.2 果糖激酶A的生物学功能及其机制

KHK-A 在大多数组织中均有表达, 但表达水平较低, 对果糖的亲合力仅为 KHK-C 亲和力的 1/50, 仅能小量、缓慢地催化果糖生成 1-磷酸果糖的磷酸化反应。但在 KHK-C 基因选择性缺失的小鼠小肠中, 果糖的分解代谢活性仍然高达 50%, 表明在小肠中 KHK-A 可以部分代偿 KHK-C 的果糖分解代谢功能^[57]。与野生型小鼠相比, KHK-A 基因选择性缺失的小鼠在进食等量的高果糖饮食后, KHK 活性和肝内尿酸水平明显升高, 肝内磷酸盐水平明显降低, 且具有更为严重的肥胖、脂肪肝和胰岛素抵抗, 表明 KHK-A 在主要的果糖代谢组织之外具有一定的果糖分解代谢功能, 通过减少进入肝脏中的果糖量, 部分对抗 KHK-C 诱导的代谢综合征^[58]。在携带致癌 KRAS 突变的胰腺肿瘤组织中, 在果糖不存在的情况下, 与野生型肿瘤组织相比, KHK-A 基因选择性缺失肿瘤组织的生长和增殖更为明显; 其转录谱特征是: 参与细胞周期、KRAS 和 mTORC 等信号转导通路以及果糖分解代谢、磷酸戊糖途径、糖酵解和糖异生等代谢通路基因的表达水平显著升高; 其代谢谱特征是: 果糖分解代谢、磷酸戊糖途径、糖酵解和糖异生等代谢通路显著上调, 与这些代谢通路相关的生化反应显著上调。这表明 KHK-A 可部分对抗 KHK-C 在这类胰腺肿瘤组织中的代谢重编程功能^[13]。

KHK-A 更为重要的功能是作为一种作用广泛的蛋白激酶, 通过激活多种信号转导分子以及一些代谢通路的限速酶, 促进多种肿瘤的生长和转移。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 细胞过表达转录因子 c-Myc, c-Myc 可上调 hnRNPH1/2 的表

达, hnRNPH1/2 进而通过促进 KHK-C 向 KHK-A 的剪接转换, 致使 HCC 细胞特异性高表达 KHK-A^[16]。缺氧应激可诱导 5'-一磷酸腺苷激活的蛋白激酶 (5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK) 与 KHK-A 结合, AMPK 使 KHK-A 外显子 3a 编码的第 80 位丝氨酸残基 (KHK-A S80) 磷酸化。磷酸化的 KHK-A 发挥蛋白激酶作用, 使自噬体货物蛋白 p62 第 28 位丝氨酸残基 (p62 S28) 磷酸化, 磷酸化的 p62 与衔接蛋白 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 聚集在一起, 导致 Keap1 经自噬溶酶体途径降解, 解除了 Keap1 对转录调控因子核因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 的抑制作用, Nrf2 因而得以核转位进入细胞核中, 诱导拮抗氧化应激相关基因的表达, 从而提高 HCC 细胞的存活率, 并促进 HCC 的进展^[15]。在常氧状态下, KHK-A 与嘌呤合成代谢的限速酶磷酸核糖焦磷酸合成酶 1 (phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 1, PRPS1) 结合, 使 PRPS1 第 225 位苏氨酸残基 (PRPS1 T225) 磷酸化, 致使 PRPS1 活化, 活化的 PRPS1 激活磷酸戊糖途径依赖的核酸从头合成, 进而促进 HCC 细胞和食管鳞状细胞癌细胞的增殖^[16,59]。在缺氧应激下, AMPK 诱导的 KHK-A 磷酸化可破坏 KHK-A 与 PRPS1 结合, 避免 PRPS1 被 KHK-A 磷酸化, 表明 HCC 细胞中的 KHK-A 在不同的状态下具有不同的蛋白激酶功能, 但无论执行哪种蛋白激酶功能, 都是为了更好地促进 HCC 细胞的存活和增殖。在乳腺癌细胞中, 果糖诱导 KHK-A 与核转运蛋白 LRRC59 和 KPNB1 结合, LRRC59 和 KPNB1 协同将 KHK-A 转运至细胞核中, KHK-A 使细胞核中桥梁蛋白 YWHAH 第 25 位丝氨酸残基 (YWHAH S25) 磷酸化, 磷酸化的 YWHAH 将转录因子 SLUG 固定至 E-钙黏蛋白 CDH1 的启动子区域抑制 CDH1 的表达, 导致 CDH1 功能缺失, 进而促进肿瘤细胞的侵袭与转移^[14]。分子动力学模拟分析和定向突变氨基酸替换分析显示, 在 YWHAH S25 和 PRPS1 T225 之前均有保守的 DDMA 基序, 可与 KHK-A 外显子 3 编码的肽段相互作用, 将 YWHAH S25 和 PRPS1 T225 维持在 KHK-A 的 ATP 结合位点附近, 以使之磷酸化, 表明 KHK-A 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶^[14]。在肿瘤组织中, 在缺乏葡萄糖的情况下, AMPK 使乙酰辅酶 A 合成酶 2 (acetyl-CoA synthetase 2, ACSS2) 第 659 位丝氨酸残基 (ACSS2 S659) 磷酸化, 磷酸化的 ACSS2 核转位进入细胞核

中, 与溶酶体相关基因和自噬相关基因的启动子区结合以促进乙酰辅酶 A 的生成^[60]。乙酰辅酶 A 是赖氨酸乙酰化的主要乙酰基供体, 可使组蛋白的特异性赖氨酸残基乙酰化, 调节基因转录, 以促进肿瘤进展^[17]。在 NSCLC 肿瘤组织中, KHK-A 和磷酸化 ACSS2 S659 的表达水平显著高于邻近的非肿瘤组织, 且 KHK-A、磷酸化 ACSS2 S659 以及 KHK-A 与磷酸化 ACSS2 S659 的比值是 NSCLC 预后不良的独立生物学标志物, 提示 KHK-A 可能通过诱导 ACSS2 S659 磷酸化促进 NSCLC 的进展^[17]。

4 果糖激酶与临床疾病的相关性

4.1 果糖激酶与先天性果糖代谢缺陷病

原发性果糖尿症 (essential fructosuria, EF) 是因 KHK 基因突变导致 KHK-C 酶活性丧失, 引起的一种以摄入果糖、蔗糖和山梨醇后出现果糖尿为特征的代谢异常。在唯一进行过 KHK 基因检测的家族中, 受累个体均为 Gly40Arg 和 Ala43Thr 两个突变的复合杂合子, 致使 KHK-C 的酶活性完全丧失, 而 KHK-A 的酶活性得以保留^[10,20]。未发现 EF 患者有任何病态表现, 预期寿命也是正常的, 表明 EF 是一种良性代谢异常, 也提示 KHK-C 抑制剂可用于果糖相关代谢性疾病的防治。HFI 是醛缩酶 B 基因突变导致醛缩酶 B 功能丧失, 致使 1- 磷酸果糖蓄积和 ATP 耗竭, 进而引起低血糖、恶心、呕吐和肝肾衰竭等症状的一种遗传病^[61]。HFI 是一种具有潜在致命性的疾病, 但并无有效的治疗方法, 只能通过限制果糖的摄入进行预防。动物研究发现, KHK 基因缺失和 KHK-C 抑制剂均可有效避免 HFI 小鼠的低血糖、肠道损伤以及肝肾损伤, 而 KHK-A 基因选择性缺失可加重 HFI 小鼠的这些致命性代谢损伤, 表明采用 KHK-C 抑制剂阻断 KHK-C 的酶活性将会是极有潜力的预防和治疗 HFI 的新方法^[50,61]。

4.2 果糖激酶与代谢综合征

过量摄入果糖会导致高尿酸血症、高甘油三酯血症、肥胖、非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、高血糖和高血压等代谢综合征候群, 但 KHK 基因缺失的小鼠摄入高果糖饮食并不会发生代谢综合征, 而 KHK-A 基因的选择性缺失则可导致更为严重的肥胖、肝脂肪变性和胰岛素抵抗等, 表明果糖诱导的代谢综合征是由 KHK-C 介导的^[46,58]。肥胖 NAFLD 患者肝组织中 KHK mRNA 和蛋白表达水平显著升高^[62]。2 型糖

尿病患者血清 KHK 浓度显著升高^[63]。高选择性 KHK-C 抑制剂 PF-06835919 的随机、双盲、安慰剂对照 2a 期研究显示, PF-06835919 可显著降低 NAFLD 和 2 型糖尿病患者的肝脏脂质沉积, 且安全性和耐受性良好^[64-65], 尤其是 KHK 基因缺失的小鼠在摄入高脂肪和高蔗糖饮食后肝脂肪变性较野生型小鼠明显减轻, 且没有野生型小鼠的低度炎症反应和纤维化改变^[66], 表明 KHK-C 介导的果糖分解代谢是 NAFLD 发生发展的一个重要原因。

4.3 果糖激酶与糖尿病认知功能障碍

在糖尿病血糖升高的情况下, 大脑的多元醇通路被激活, 内源性果糖生成增加, 并在 KHK 的作用下进入果糖分解代谢途径。大脑的 KHK 主要位于小胶质细胞中, 在瘦素受体缺陷 2 型糖尿病小鼠的海马中, KHK 表达水平升高, 致使海马中的果糖分解代谢增强, 通过促进烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 的表达和线粒体易位, 导致线粒体损伤和活性氧生成增加^[67]。而通过 KHK 基因缺失抑制果糖的分解代谢可减少小胶质细胞的活化, 恢复线粒体的稳态和突触的可塑性, 改善海马 CA1 区锥体神经元的电生理活动, 从而使认知功能障碍得到缓解, 表明海马小胶质细胞中 KHK 介导的内源性果糖分解代谢增强可能在糖尿病相关认知功能障碍中具有决定性作用^[67]。

4.4 果糖激酶与恶性肿瘤

在人胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 肿瘤组织中, KHK-C 表达和酶活性均显著增加, KHK-C 基因过表达和 KHK-A 基因缺失可激活 KRAS 和 mTORC 等信号转导通路以及果糖分解代谢、磷酸戊糖途径、糖酵解和糖异生等代谢通路, 促进肿瘤细胞的增殖和迁移, 而 KHK-C 基因缺失可抑制这些信号转导通路和代谢通路, 抑制肿瘤细胞的增殖和迁移, 表明 KHK-C 在 PDAC 的增殖和转移中发挥重要作用, 减少 KHK-C 表达的治疗方法可能将有助于改善 PDAC 患者的预后^[13]。在人 HCC 肿瘤组织中, c-Myc、hnRNPH1/2、KHK-A 和磷酸化 PRPS1 T225 表达水平显著升高, 是 HCC 患者总生存期的独立不良预后因素, 表明 KHK-A 依赖的 PRPS1 T225 磷酸化在人 HCC 的侵袭性生长中具有关键性作用^[16]。在人 HCC 肿瘤组织中, KHK-A S80 磷酸化和 p62 S28 磷酸化水平与 Nrf2 在细胞核中的聚集水平呈正相关, 且与 HCC 患者的不良预后呈正相关, 表明磷酸化 KHK-A S80 依赖的 KHK-A

蛋白激酶活性在 HCC 拮抗氧化应激和 HCC 进展中具有重要作用^[15]。人乳腺癌组织阵列的免疫组化分析显示, 细胞核中 KHK-A 和磷酸化 YWHAH S25 表达水平随着乳腺癌严重程度的升高而升高, 乳腺癌转移组细胞核中 KHK-A 和磷酸化 YWHAH S25 表达水平较非转移组明显升高, 且 KHK-A 表达水平与磷酸化 YWHAH S25 表达水平呈正相关, 提示 KHK-A 介导的 YWHAH S25 磷酸化可能具有促进乳腺癌侵袭和转移的作用^[14]。在人 NSCLC 肿瘤组织中, KHK-A 和磷酸化 ACSS2 S659 的表达水平与各阶段 NSCLC 的总生存期呈负相关, 表明 KHK-A 在 NSCLC 的进展中也具有重要作用^[17]。

5 结语与展望

综上所述, KHK 是启动果糖分解代谢的限速酶, 由于 KHK 基因转录过程中的互斥间接作用, 形成了 KHK-C 和 KHK-A 两种剪接变体。KHK-C 是果糖分解代谢功能的主要承担者, 在肝脏、肾脏和小肠等主要的果糖代谢组织中, 果糖在 KHK-C 的作用下进入果糖分解代谢途径, 并在 KHK-C 使蛋白质乙酰化作用下, 通过增强脂肪酸的生物合成和抑制脂肪酸的氧化, 促使果糖分解代谢的中间产物更多地用于甘油三酯的合成, 这是长期过量摄入果糖导致代谢性疾病的根本原因。KHK-A 仅有微弱的果糖分解代谢作用, 但 KHK-A 在主要的果糖代谢组织之外的果糖分解代谢作用可减少进入肝脏的果糖量, 部分对抗 KHK-C 诱导的代谢异常。更为重要的是, KHK-C 和 KHK-A 还在多种肿瘤的生长、增殖和转移中发挥重要作用。在胰腺导管腺癌肿瘤组织中, KHK-C 可激活与代谢重编程有关的信号通路以及相应的代谢通路, 促进肿瘤细胞的生长和增殖, 而 KHK-A 可抑制这些信号通路和代谢通路, 部分对抗 KHK-C 对这种肿瘤组织的促进作用。在肝细胞癌、乳腺癌和非小细胞肺癌等其他肿瘤组织中, KHK-A 作为一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 通过激活不同的信号转导分子或代谢通路的限速酶而促进这些肿瘤的生长、侵袭和转移。因此, 以 KHK 为靶点的治疗策略是防治果糖相关代谢性疾病和肿瘤性疾病的关键。目前正在研发的 KHK 抑制剂, 无论是植物提取物, 还是人工合成的化合物, 都是 KHK-C 酶活性的抑制剂, 主要用于果糖相关代谢性疾病的治疗, 疗效和安全性尚有待进一步验证, 并无靶向 KHK 激酶活性和代谢重编程功能的 KHK 抑制剂问世, 这是因为 KHK-C 和 KHK-A

的生物学功能既存在着显著的差异, 又有着密切的关联, 同时还有许多机制未明, 有待研究者去探索。比如, KHK-C 蛋白质乙酰化作用的机制是怎样的, 这种蛋白质乙酰化作用与 KHK-C 的果糖代谢酶功能有着怎样的联系? 又比如, KHK-C 是怎样激活与代谢重编程有关的信号通路的, KHK-A 又是通过怎样的机制对 KHK-C 的这种功能发挥对抗作用的, 等等。相信随着研究的深入, 这些谜团终将被解开, 也终将会对果糖相关代谢性疾病和肿瘤性疾病的认识和防治产生根本性的影响。

[参 考 文 献]

- [1] Jensen T, Abdelmalek MF, Sullivan S, et al. Fructose and sugar: a major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2018, 68: 1063-75
- [2] Hannou SA, Haslam DE, McKeown NM, et al. Fructose metabolism and metabolic disease. *J Clin Invest*, 2018, 128: 545-55
- [3] Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988, 37: 1595-607
- [4] Jung S, Bae H, Song WS, et al. Dietary fructose and fructose-induced pathologies. *Annu Rev Nutr*, 2022, 42: 45-66
- [5] Tasevska N, Jiao L, Cross AJ, et al. Sugars in diet and risk of cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Int J Cancer*, 2012, 130: 159-69
- [6] Joh HK, Lee DH, Hur J, et al. Simple sugar and sugar-sweetened beverage intake during adolescence and risk of colorectal cancer precursors. *Gastroenterology*, 2021, 161: 128-42.e20
- [7] Inoue-Choi M, Robien K, Mariani A, et al. Sugar-sweetened beverage intake and the risk of type I and type II endometrial cancer among postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, 22: 2384-94
- [8] Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*, 2009, 119: 1322-34
- [9] Hayward BE, Bonthron DT. Structure and alternative splicing of the ketohexokinase gene. *Eur J Biochem*, 1998, 257: 85-91
- [10] Asipu A, Hayward BE, O'Reilly J, et al. Properties of normal and mutant recombinant human ketohexokinases and implications for the pathogenesis of essential fructosuria. *Diabetes*, 2003, 52: 2426-32
- [11] Diggle CP, Shires M, Leitch D, et al. Ketohexokinase: expression and localization of the principal fructose-metabolizing enzyme. *J Histochem Cytochem*, 2009, 57: 763-74
- [12] Helsley RN, Park SH, Vekaria HJ, et al. Ketohexokinase-C regulates global protein acetylation to decrease carnitine palmitoyltransferase 1a-mediated fatty acid oxidation. *J*

- Hepatology, 2023, 79: 25-42
- [13] Guccini I, Tang G, To TT, et al. Genetic ablation of ketohexokinase C isoform impairs pancreatic cancer development. *iScience*, 2023, 26: 107368
- [14] Kim J, Kang J, Kang YL, et al. Ketohexokinase-A acts as a nuclear protein kinase that mediates fructose-induced metastasis in breast cancer. *Nat Commun*, 2020, 11: 5436
- [15] Xu D, Li X, Shao F, et al. The protein kinase activity of fructokinase A specifies the antioxidant responses of tumor cells by phosphorylating p62. *Sci Adv*, 2019, 5: eaav4570
- [16] Li X, Qian X, Peng LX, et al. A splicing switch from ketohexokinase-C to ketohexokinase-A drives hepatocellular carcinoma formation. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 561-71
- [17] Yang X, Shao F, Shi S, et al. Prognostic impact of metabolism reprogramming markers acetyl-CoA synthetase 2 phosphorylation and ketohexokinase-A expression in non-small-cell lung carcinoma. *Front Oncol*, 2019, 9: 1123
- [18] Hayward BE, Fantès JA, Warner JP, et al. Co-localization of the ketohexokinase and glucokinase regulator genes to a 500-kb region of chromosome 2p23. *Mamm Genome*, 1996, 7: 454-8
- [19] Lanaspá MA, Sanchez-Lozada LG, Cicerchi C, et al. Uric acid stimulates fructokinase and accelerates fructose metabolism in the development of fatty liver. *PLoS One*, 2012, 7: e47948
- [20] Bonthron DT, Brady N, Donaldson IA, et al. Molecular basis of essential fructosuria: molecular cloning and mutational analysis of human ketohexokinase (fructokinase). *Hum Mol Genet*, 1994, 3: 1627-31
- [21] Trinh CH, Asipu A, Bonthron DT, et al. Structures of alternatively spliced isoforms of human ketohexokinase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2009, 65: 201-11
- [22] Wu LF, Reizer A, Reizer J, et al. Nucleotide sequence of the *Rhodobacter capsulatus* fruK gene, which encodes fructose-1-phosphate kinase: evidence for a kinase superfamily including both phosphofructokinases of *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 1991, 173: 3117-27
- [23] Bork P, Sander C, Valencia A. Convergent evolution of similar enzymatic function on different protein folds: the hexokinase, ribokinase, and galactokinase families of sugar kinases. *Protein Sci*, 1993, 2: 31-40
- [24] Sigrell JA, Cameron AD, Jones TA, et al. Structure of *Escherichia coli* ribokinase in complex with ribose and dinucleotide determined to 1.8 Å resolution: insights into a new family of kinase structures. *Structure*, 1998, 6: 183-93
- [25] Kozak M, Hayward B, Borek D, et al. Expression, purification and preliminary crystallographic studies of human ketohexokinase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2001, 57: 586-8
- [26] Funari VA, Herrera VL, Freeman D, et al. Genes required for fructose metabolism are expressed in Purkinje cells in the cerebellum. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, 142: 115-22
- [27] Tharabenjasin P, Douard V, Patel C, et al. Acute interactions between intestinal sugar and calcium transport *in vitro*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 306: G1-12
- [28] Patel C, Douard V, Yu S, et al. Fructose-induced increases in expression of intestinal fructolytic and gluconeogenic genes are regulated by GLUT5 and KHK. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2015, 309: R499-509
- [29] Kim M, Astapova II, Flier SN, et al. Intestinal, but not hepatic, ChREBP is required for fructose tolerance. *JCI Insight*, 2017, 2: e96703
- [30] Sanchez-Lozada LG, Andres-Hernando A, Garcia-Arroyo FE, et al. Uric acid activates aldose reductase and the polyol pathway for endogenous fructose and fat production causing development of fatty liver in rats. *J Biol Chem*, 2019, 294: 4272-81
- [31] Iizuka K, Bruick RK, Liang G, et al. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 7281-6
- [32] Iizuka K. Recent progress on fructose metabolism—ChREBP, fructolysis, and polyol pathway. *Nutrients*, 2023, 15: 1778
- [33] Kato T, Iizuka K, Takao K, et al. ChREBP-knockout mice show sucrose intolerance and fructose malabsorption. *Nutrients*, 2018, 10: 340
- [34] Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev*, 1999, 20: 649-88
- [35] Chu R, Lim H, Brumfield L, et al. Protein profiling of mouse livers with peroxisome proliferator-activated receptor α activation. *Mol Cell Biol*, 2004, 24: 6288-97
- [36] Eberhart T, Schönenberger MJ, Walter KM, et al. Peroxisome-deficiency and HIF-2 α signaling are negative regulators of ketohexokinase expression. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 566
- [37] Nikolaou KC, Vatandaslar H, Meyer C, et al. The RNA-binding protein A1CF regulates hepatic fructose and glycerol metabolism via alternative RNA splicing. *Cell Rep*, 2019, 29: 283-300.e8
- [38] Mirtschink P, Krishnan J, Grimm F, et al. HIF-driven SF3B1 induces KHK-C to enforce fructolysis and heart disease. *Nature*, 2015, 522: 444-9
- [39] Deng Q, Wu M, Deng J. USP36 promotes tumor growth of non-small cell lung cancer via increasing KHK-A expression by regulating c-MYC-hnRNPH1/H2 axis. *Hum Cell*, 2022, 35: 694-704
- [40] Xu HL, Zhou X, Chen S, et al. Rare sugar L-sorbose exerts antitumor activity by impairing glucose metabolism. *Commun Biol*, 2023, 6: 259
- [41] Shen Z, Li Z, Liu Y, et al. GLUT5-KHK axis-mediated fructose metabolism drives proliferation and chemotherapy resistance of colorectal cancer. *Cancer Lett*, 2022, 534: 215617
- [42] Coyle P, Tichelman E, Pauw R, et al. Zinc inhibition of hepatic fructose metabolism in rats. *Biol Trace Elem Res*, 2003, 92: 41-54
- [43] Sener A, Giroix MH, Malaisse WJ. Hexose metabolism in pancreatic islets. The phosphorylation of fructose. *Eur J Biochem*, 1984, 144: 223-6

- [44] Bais R, James HM, Rofe AM, et al. The purification and properties of human liver ketohexokinase. A role for ketohexokinase and fructose-bisphosphate aldolase in the metabolic production of oxalate from xylitol. *Biochem J*, 1985, 230: 53-60
- [45] Le MT, Lanaspas MA, Cicerchi CM, et al. Bioactivity-guided identification of botanical inhibitors of ketohexokinase. *PLoS One*, 2016, 11: e0157458
- [46] García-Arroyo FE, Gonzaga-Sánchez G, Tapia E, et al. Osthol ameliorates kidney damage and metabolic syndrome induced by a high-fat/high-sugar diet. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 2431
- [47] Yu C, Li P, Qi D, et al. Osthole protects sepsis-induced acute kidney injury via down-regulating NF- κ B signal pathway. *Oncotarget*, 2017, 8: 4796-813
- [48] Huang T, Dong Z. Osthole protects against inflammation in a rat model of chronic kidney failure via suppression of nuclear factor- κ B, transforming growth factor- β 1 and activation of phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B/nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 signaling. *Mol Med Rep*, 2017, 16: 4915-21
- [49] Luo LN, Xie DQ, Zhang XG, et al. Osthole decreases renal ischemia-reperfusion injury by suppressing JAK2/STAT3 signaling activation. *Exp Ther Med*, 2016, 12: 2009-14
- [50] Lanaspas MA, Andres-Hernando A, Orlicky DJ, et al. Ketohexokinase C blockade ameliorates fructose-induced metabolic dysfunction in fructose-sensitive mice. *J Clin Invest*, 2018, 128: 2226-38
- [51] Futatsugi K, Smith AC, Tu M, et al. Discovery of PF-06835919: a potent inhibitor of ketohexokinase (KHK) for the treatment of metabolic disorders driven by the overconsumption of fructose. *J Med Chem*, 2020, 63: 13546-60
- [52] Gutierrez JA, Liu W, Perez S, et al. Pharmacologic inhibition of ketohexokinase prevents fructose-induced metabolic dysfunction. *Mol Metab*, 2021, 48: 101196
- [53] Zhu G, Li J, Lin X, et al. Discovery of a novel ketohexokinase inhibitor with improved drug distribution in target tissue for the treatment of fructose metabolic disease. *J Med Chem*, 2023, 66: 13501-15
- [54] Ebenhoch R, Bauer M, Romig H, et al. Crystal structures of human and mouse ketohexokinase provide a structural basis for species- and isoform-selective inhibitor design. *Acta Crystallogr D Struct Biol*, 2023, 79: 871-80
- [55] Mäenpää PH, Raivio KO, Kekomäki MP. Liver adenine nucleotides: fructose-induced depletion and its effect on protein synthesis. *Science*, 1968, 161: 1253-4
- [56] van den Berghe G, Bronfman M, Vanneste R, et al. The mechanism of adenosine triphosphate depletion in the liver after a load of fructose. A kinetic study of liver adenylylase deaminase. *Biochem J*, 1977, 162: 601-9
- [57] Jang C, Wada S, Yang S, et al. The small intestine shields the liver from fructose-induced steatosis. *Nat Metab*, 2020, 2: 586-93
- [58] Ishimoto T, Lanaspas MA, Le MT, et al. Opposing effects of fructokinase C and A isoforms on fructose-induced metabolic syndrome in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 4320-5
- [59] Yang J, Yang S, Wang Q, et al. KHK-A promotes the proliferation of oesophageal squamous cell carcinoma through the up-regulation of PRPS1. *Arab J Gastroenterol*, 2021, 22: 40-6
- [60] Li X, Yu W, Qian X, et al. Nucleus-translocated ACSS2 promotes gene transcription for lysosomal biogenesis and autophagy. *Mol Cell*, 2017, 66: 684-97.e9
- [61] Buziau AM, Schalkwijk CG, Stehouwer CDA, et al. Recent advances in the pathogenesis of hereditary fructose intolerance: implications for its treatment and the understanding of fructose-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 1709-19
- [62] Softic S, Gupta MK, Wang GX, et al. Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling. *J Clin Invest*, 2017, 127: 4059-74
- [63] Bian C, Wang Y, Li J, et al. Endogenous fructose is correlated with urinary albumin creatinine ratios and uric acid in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 2021, 179: 109034
- [64] Kazierad DJ, Chidsey K, Somayaji VR, et al. Inhibition of ketohexokinase in adults with NAFLD reduces liver fat and inflammatory markers: a randomized phase 2 trial. *Med*, 2021, 2: 800-13.e3
- [65] Saxena AR, Lyle SA, Khavandi K, et al. A phase 2a, randomized, double-blind, placebo-controlled, three-arm, parallel-group study to assess the efficacy, safety, tolerability and pharmacodynamics of PF-06835919 in patients with non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 2023, 25: 992-1001
- [66] Ishimoto T, Lanaspas MA, Rivard CJ, et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology*, 2013, 58: 1632-43
- [67] Li Y, Jiang T, Du M, et al. Ketohexokinase-dependent metabolism of cerebral endogenous fructose in microglia drives diabetes-associated cognitive dysfunction. *Exp Mol Med*, 2023, 55: 2417-32