

果糖-1, 6-二磷酸酶及其抑制剂的研究进展

李荣翠, 刘率男, 申竹芳*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 晶型药物研究北京市重点实验室, 中国医学科学院糖尿病研究中心, 北京 100050)

摘要: 果糖-1, 6-二磷酸酶 (fructose 1, 6-bisphosphatase, FBPase) 是位于糖异生过程中第二步的限速酶, 在机体血糖调控中发挥重要的生理作用。因此, 针对该酶的抑制剂将具有抗糖尿病活性。目前, 已有数个 FBPase 抑制剂分别进入不同临床研究阶段, 提示针对该靶点的抗糖尿病药物研发前景十分可观。除此以外, 近年研究发现, FBPase 还可参与和调节其他疾病如肿瘤的发生、发展过程等。本文将围绕 FBPase 的结构特征、生理作用、其与 2 型糖尿病糖异生和胰岛素分泌的关系、FBPase 抑制剂的研究进展以及该酶在其他疾病中调控作用等方面作一综述。

关键词: 果糖-1, 6-二磷酸酶; 2 型糖尿病; 糖异生; 胰岛素分泌

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 09-1477-07

Advances in the pharmacological function of FBPase and development of FBPase inhibitors

LI Rong-cui, LIU Shuai-nan, SHEN Zhu-fang*

(Diabetes Research Center of Chinese Academy of Medical Sciences, Key Laboratory of Polymorphic Drugs of Beijing, State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Fructose 1, 6-bisphosphatase (FBPase), a second rate-limiting enzyme in gluconeogenesis, has an important role in the control of gluconeogenesis, which involves in energy metabolism and glucose homeostasis. Inhibitors of FBPase exhibit an anti-diabetic activity. Some of FBPase inhibitors have entered the stage of clinical trials, which indicates that FBPase is a promising therapeutic target for the discovery and development of hypoglycemic drugs. In addition, recent studies have shown that FBPase can be used to treat other diseases such as the initiation and development of tumors in several cancer types. Here, we provide a review of the biological characteristics of FBPase and contributions of FBPase on gluconeogenesis and insulin secretion, the research and development of FBPase inhibitors and the regulatory role of FBPase in other diseases.

Key words: fructose-1, 6-bisphosphatase; type 2 diabetes mellitus; gluconeogenesis; insulin secretion

果糖-1,6-二磷酸酶 (fructose 1,6-bisphosphatase,

FBPase) 是糖异生代谢途径中的关键酶^[1]。早在 1943 年, Gomori 等^[2]发现动物肾脏和肝脏中存在一种磷酸酶, 可将果糖-1,6-二磷酸 (fructose-1,6-disphosphate, FDP) 水解成磷酸盐和果糖-6-磷酸 (fructose-6-bisphosphate, F6P), 该磷酸酶即为 D-果糖-1,6-二磷酸酶 (FBPase)。FBPase 的酶动力学基本特征是需要二价金属阳离子 (如 Zn^{2+} 、 Mg^{2+}) 的催化, 酶激活后动

收稿日期: 2018-03-30; 修回日期: 2018-04-26.

基金项目: 国家科技重大专项重大新药创制基金项目 (2018ZX09711002-003-012); 中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费 (2016ZX350009); 中国医学科学院医学与健康创新工程 (2017-I2M-1-010).

*通讯作者 Tel: 86-10-83172669, E-mail: shenzhf@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0282

力学曲线为 S 型, Hill 常数接近于 2^[3]。

近年, 随着对 FBPase 的生理作用及其与糖尿病、肿瘤发生发展相关研究的深入, 发现 FBPase 具有广泛的生物学功能, 以及可能参与调节机体中的多种生理环节。本文主要阐述 FBPase 基本特征、生理作用、其抑制剂研发以及该酶在其他疾病中调控机制。

1 FBPase 的生物学特征

1.1 FBPase 的结构特征

根据氨基酸序列和蛋白质结构特征将 FBPase 分为 5 大类^[4]。其中, I 型 FBPase 分布最为广泛, 存在于所有的真核生物、大多数细菌(含大肠杆菌)和少数古生菌中, 多以同源四聚体的形式存在。II 型 FBPase 存在于大肠杆菌中的 GlpX 和集胞藻 PCC6803 中。III 型存在于枯草芽孢杆菌中, IV 型存在于热球菌中, V 型存在于火球菌中。因 II 型至 V 型的 FBPase 较少见, 现研究多围绕 I 型 FBPase 展开, 其分布广泛, 且生理功能明确。该酶的基本生物学特征是: 它是一个分子质量约为 140 kDa 的同源四聚体蛋白(图 1), 由 4 个完全相同的含有 337 个氨基酸残基多肽链组成的蛋白, 4 个亚基排列在同一平面, 每一个亚基的分子质量约为 37 kDa^[5]。I 型 FBPase 的每个亚基都含有 3 个结合位点: 底物结合位点、单磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)变构位点和金属离子结合位点, 金属离子结合位点介于底物结合位点和 AMP 结合位点之间^[6, 7]。此外, 亚基之间还存在一个亚单位界面间结合位点^[8]。

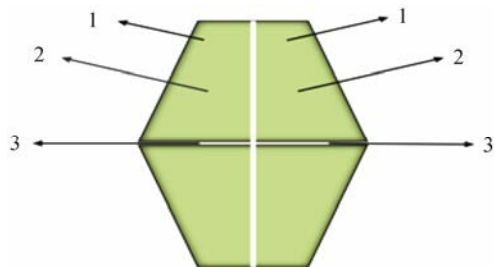


Figure 1 Homotetramer of FBPase. 1: Substrate binding site; 2: AMP allosteric site; 3: Subunit inter plane binding site

1.2 FBPase 种属差异与组织细胞分布

FBPase 广泛地分布在微生物、植物和动物体内。在不同物种体内, FBPase 参与的代谢途径也存在一些差异。在微生物中^[4], FBPase 主要参与甘油醋酸和琥珀酸等物质的合成; 在植物中, 于细胞质中参与糖异生过程; 于叶绿体基质中参与光合碳还原^[9]; 在哺乳动物体内, FBPase 在肝脏或肾脏组织中参与糖异生的过程。其中, 哺乳动物体内, 特别是人类的 FBPase 研究最为深入, 以下主要围绕人 FBPase 的组织细胞分布进行介绍。

人类 FBPase 的基因分为 *fbp1* 和 *fbp2* 两种, 分别表达两种亚型的同工酶, 即肝型 FBPase (FBP1) 和肌型 FBPase (FBP2), 它们在蛋白质结构上的同源性大约为 77%^[10]。FBP1 主要分布在肝脏和肾脏, 肝脏是糖异生的主要器官, 参与机体血糖水平的调节; 而肾脏在长时间饥饿或糖尿病时也会参与糖异生的调节。FBP2 主要在非糖异生的细胞中广泛表达^[11], 但具体功能尚不明确, 可能与细胞分裂、分化及凋亡的调节有关^[12]。此外, 在人的肾上腺、胰腺、心脏、胃和小肠、前列腺、卵巢、睾丸、I 型肺细胞、II 型肺细胞和粒性白细胞中也发现了 FBPase^[13]。

不同组织的 FBPase, 其分布也受到体内不同生物信号分子的调节。研究发现, 原代肝细胞中 FBPase 的分布受到葡萄糖、二羟基丙酮(dihydroxypropanone, DHA)和胰岛素的调节, 在缺乏以上 3 种物质时, FBPase 主要存在于细胞质中; 但当葡萄糖和 DHA 存在时, FBPase 会由细胞质转移到细胞核中。在高浓度的葡萄糖或者 DHA 存在时, FBPase 会从细胞质基质移到细胞的边缘和糖原合成酶共处^[14]。上述变化体现了 FBPase 的细胞分布对血糖和机体糖代谢调节的重要性。

1.3 FBPase 活性调节

FBPase 在正常生理条件下, 可处于两种状态, 激活状态(R 状态)和失活状态(T 状态)。FBPase 处于何种状态, 主要取决于其不同配体的相对浓度^[7, 15]。其中, 金属离子(Mg^{2+})和 FDP 等配体能稳定 FBPase 的激活构象; 而 AMP 与 FBPase 形成复合物为失活构象, 即活性抑制。生理性抑制剂 AMP 与 FBPase 酶结合, 酶的亚基之间发生相对旋转, 顺时针旋转 15°^[16], 从而影响 Mg^{2+} 结合位点, 干扰酶的活性位点, 使酶失活^[6, 7]。另外有研究发现, 肌肉型的 FBPase (FBP2) 比肝脏型的 FBPase (FBP1) 与 AMP 的结合更敏感^[17]。

此外, FBPase 的活性还可受到多种激素(主要是胰岛素和胰高血糖素)调节, 激素调节使 FBPase 活性产生较长时间的变化。其中, 胰高血糖素可通过其信号通路使 FBPase 表达增加^[18], 亦可降低内源性抑制剂果糖-2,6-二磷酸浓度, 减少对 FBPase 的抑制, 增加 FBPase 活性^[19]; 而胰岛素则通过抑制胰高血糖素的作用, 使 FBPase 表达降低, 增加 FDP 浓度, 抑制 FBPase 活性^[18, 19]。另外, 最新研究报道, 在正常的单核细胞中, 1,25-二羟维生素 D₃ 也可以上调 FBPase 的活性^[20]。

2 FBPase 的生理作用

截止目前, 对 FBPase 的生理作用的报道主要集

中在公认的参与糖异生环节, 以及其可能参与调节葡萄糖刺激的胰岛素分泌功能。另外, 还有一些关于其参与体重调节、脂肪调节和肿瘤发生等方面的报道。

2.1 FBPase 参与糖异生途径 在正常生理状态下, 机体处于饥饿缺乏外源的葡萄糖摄入时, 体内非糖物质 (如丙酮酸、乳酸、草酰乙酸、氨基酸和甘油等) 在一系列酶作用下生成葡萄糖, 以维持机体重要器官特别是大脑的血糖浓度。这一过程称之为糖异生^[21]。糖异生在体内分布广泛。除肝脏外, 肾脏也具有糖异生功能。另外, 在哺乳动物的肠道内也存在糖异生^[22]。

FBPase 是糖异生途径中间环节的高度可控的关键限速酶, 只参与糖异生途径 FDP 的水解, 并不参与其他的代谢途径。糖异生途径中, 起关键作用的酶还有丙酮酸羧化酶 (pyruvic carboxylase, PC)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)、葡萄糖-6-磷酸酶 (glucose 6 phosphatase, G6Pase) (图 2)^[23], 其中 FBPase 位于糖异生反应的第二步, 且为限速酶。因此, FBPase 在机体内源性葡萄糖的合成、输出及调控中发挥重要作用。

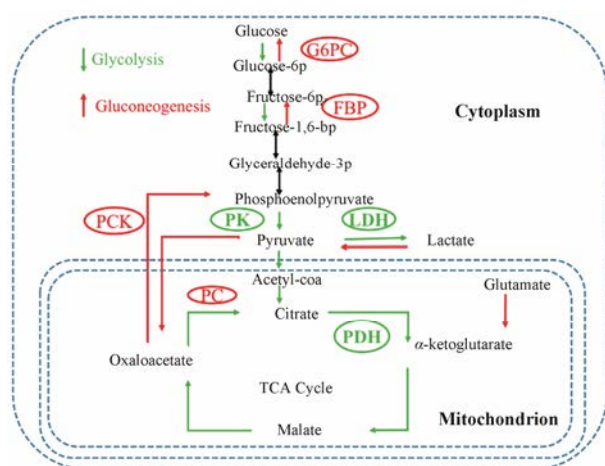


Figure 2 The pathway of gluconeogenesis^[23]. There are three irreversible steps in the gluconeogenic pathway: ① conversion of pyruvate to PEP via oxaloacetate, catalyzed by PC and PCK; ② dephosphorylation of fructose 1, 6-bisphosphate by FBP; ③ dephosphorylation of glucose 6-phosphate by G6PC. G6PC: Glucose-6-phosphatase; FBP: Fructose-1, 6-bisphosphatase; PCK: Phosphoenolpyruvate carboxykinase; PC: Pyruvic carboxylase; PK: Phosphoenolpyruvate kinase; LDH: Lactate dehydrogenase; PDH: Pyruvate dehydrogenase

另外, FBPase 与糖酵解中的限速酶 6-磷酸果糖激酶 (6-phosphofructokinase, PFK) 协同, 决定了细胞内 F6P 与 FDP 间的动态转化, 以及葡萄糖在酵解与异生间的动态平衡。FBPase 的催化水解产物 F6P

是一个在各种生物合成途径的重要前体。FBPase 催化的反应与果糖磷酸激酶催化糖酵解反应为不可逆反应。由于糖异生途径, FBPase 参与葡萄糖-6-磷酸 (glucose-6-phosphate, G6P) 的合成, 而 G6P 又是糖原合成的前期底物, 所以, FBPase 在糖原合成方面, 也发挥着一定的生理作用^[24]。由于 FBPase 可以位于细胞核和细胞浆, 也可推测, FBPase 穿梭在细胞核和细胞质之间, 其可能作为一种转录因子, 通过磷酸化和去磷酸化的方式调节转录因子的活性, 或者是参与 DNA 的代谢^[24]。

糖异生是 2 型糖尿病空腹血糖升高的主要原因。研究发现, 在肥胖和胰岛素抵抗动物模型中, FBPase 的活性及其调节的糖异生作用均增加^[25]。由于 50% 肝脏葡萄糖生成都来自糖异生, 且 FBPase 在糖异生调节中起重要作用, 因此, 抑制 FBPase, 可以有效减少糖异生的增加, 进而有效控制空腹血糖。且由于 FBPase 处于糖异生的中间环节, 抑制该酶相比于抑制第一步或第三步关键酶不良反应要小, 如抑制 PC 会发生脂肪肝, 而抑制第三步的关键酶 G6Pase 会发生严重低血糖。因此, 基于其调节糖异生的重要生理作用, 寻找 FBPase 抑制剂将会是糖尿病新药研发的一个重要方向。

2.2 FBPase 影响胰岛素分泌 最初研究发现^[26], 在啮齿动物和人的胰岛 β 细胞内有肝脏型 FBPase (FBP1) 的表达。Zhang 等研究者^[27]通过在小鼠 β 细胞内过表达 FBP1, 发现小鼠 β 细胞内的葡萄糖代谢率下降, 同时胰岛素分泌降低; 在胰岛 β 细胞系 MIN6 中给予 FBP1 抑制剂 MB05032 处理后, 可以使其葡萄糖利用率、糖刺激产生的 ATP 及糖刺激的胰岛素分泌均有所增加。上述结果提示: FBP1 是正常 β 细胞葡萄糖刺激胰岛素分泌的一个重要负调节因子, 发挥着重要的生物学作用^[27], 其 FBP1 活性与胰岛素的分泌调控有着密切的联系。

最新研究发现, 有一种含有 BTB 结构域的新型锌指蛋白 ZBTB20, 可以抑制 β 细胞内 FBP1 的活性。在全基因敲除 ZBTB20 的小鼠中表现出严重的糖代谢紊乱, 该小鼠 β 细胞内 FBP1 表达显著升高。进一步研究发现, ZBTB20 能够结合到 *fbp1* 基因的启动子区域, 且 ZBTB20 能够抑制 FBPase 启动子报告基因的活性^[28]。该结果亦表明 FBP1 活性变化确实影响 β 细胞的胰岛素分泌功能。

因此, 上述研究提示, FBP1 抑制剂除了可以抑制内源性葡萄糖的产生外, 还可能促进 β 细胞的胰岛素分泌增加。FBP1 的这两种生理功能决定了其抑制

剂可能具有双重的降糖作用,将会有更好的临床应用前景。

2.3 FBPase 的其他生理作用 除上述主要生理功能外,FBPase 也可能参与其他一些生理环节的调节作用。FBPase 可能参与食欲调节。Fam 等研究者^[29]首次发现了肝脏 FBPase 作为非中枢食欲调节的一个重要因子,其活性增加可以抑制刺激食欲的神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 和刺鼠基因相关蛋白 (agouti gene-related protein, AGRP) 的表达,从而达到抑制食欲的作用。此外,FBPase 在多数肿瘤患者体内^[30,31]表达水平显著下降,表达低的患者预后较差,可作为判断肿瘤患者预后的参考指标^[32]之一。

3 FBPase 抑制剂的研发进展

3.1 FBPase 生理抑制剂及调节机制 FBPase 有两种内源性生理抑制剂,一种是底物 FDP 的类似物果糖-2,6-二磷酸,它与 FDP 竞争性地结合于 FBPase 的激活位点,抑制其活性;另一种是与 FBPase 变构位点结合的 AMP,可使 FBPase 处于失活状态^[33]。

因此,根据 FBPase 的结构特点及抑制剂的调节方式,以 FBPase 为靶点设计抑制剂可以有 3 种可能结合的作用位点:① 底物 FDP 和内源性抑制剂结合的催化活性位点(竞争性抑制剂);② AMP 结合的变构调节位点(非竞争性抑制剂);③ 位于 4 个亚基之间接触面的变构调节位点(反竞争性抑制剂)^[34]。其中,FBPase 的激活位点和变构位点已经作为新药研发的两个靶点。

3.2 新型小分子 FBPase 抑制剂的发现 目前,已经报道的新结构类型的小分子 FBPase 抑制剂主要分为两类^[16]:① 反竞争性抑制剂^[34],主要包括苯胺唑啉衍生物^[35]、拟肽和唑啉衍生物,其半数抑制浓度(IC_{50})为微摩尔级。② 非竞争性抑制剂,即针对 AMP 结合位点的抑制剂,分为含磷抑制剂和非磷基抑制剂两个种类。其中含磷抑制剂包括嘌呤衍生物^[36]、苯并咪唑衍生物^[35]和噻唑衍生物(其中的代表化合物为目前已进入临床的候选药物的先导抑制剂 MB05032, $IC_{50} = 16 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[37])和恶唑衍生物^[38];非磷基抑制剂包括咪唑衍生物^[39,40](代表化合物为 MDL-29951, $IC_{50} = 0.99 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、苯并恶唑衍生物、不同的 N、O、S 杂环衍生物、磺酰基衍生物^[41]和植物素^[42]等,这一部分新结构化合物的抑酶活性 IC_{50} 值也均达到了微摩尔级。

目前,针对 FBPase 抑制剂的研发主要在 Metabasis、辉瑞、Sanofi 等几家国际药物研发公司进行,上述 FBPase 抑制剂中进展最快的已完成临床 II

期试验。其中,第一代 FBPase 抑制剂 CS-917 (噻唑衍生物,即 MB05032 的前药),以 AMP 结构为基础的衍生物,主要结合于 AMP 类似的变构位点,临床 II 期获得较好的降糖疗效,但因其与二甲双胍联合应用引起了几例乳酸酸中毒不良反应^[16],目前已停止研发。第二代 FBPase 抑制剂 MB07803 改进了第一代的缺点,也已进入了临床 II 期研究,后续进展尚未报道。本研究团队也发现了一系列新型的咪唑衍生物类小分子 FBPase 变构抑制剂,在重组人源 FBPase 活性评价体系中,得到了抑制活性较强的化合物 14c,其 IC_{50} 可达到 $1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[40]。基于该结构进行后续的结构优化和体内活性评价工作也在继续进行,期望发现基于该靶点的新型抗糖尿病候选药物。

4 FBPase 对其他疾病的调控作用

针对 FBPase 与其他疾病相关的研究也有较多篇文献报道。其中,最为详细的研究主要针对 FBPase 缺乏症和其与肿瘤发生发展关系。

4.1 果糖-1,6-二磷酸酶缺乏症 1970 年, Baker 和 Winegrad^[43]首次描述 FBPase 缺乏症,其缺乏主要导致机体糖异生环节异常。这种疾病的特征是低血糖和代谢性酸中毒的反复性发作、呼吸暂停与困难和酮症。这是一种罕见的常染色体隐性遗传性代谢性疾病,发病率为万分之一^[44]。

目前,针对 FBPase 缺乏症的诊断主要可通过确定检测基因突变来确诊。FBP1 由 7 个外显子组成,其在染色体 9q22.2~q22.3 跨度超过 31 kb。自从 1995 年始至今,已发现 FBPase 至少有 36 种突变可导致该类疾病发生^[44]。在分子水平上确诊时,首要的基因标记物是 c.472C>T 和 c.841G>A 突变。在巴基斯坦人中,FBPase 缺乏症对于婴儿期和儿童常是致命性的疾病^[45];我国曾报道了 2 例 FBPase 缺乏症^[46],1 例为 23 个月的男性幼儿,1 例为 3 岁女童。针对 FBPase 缺乏症的患者,治疗方案主要以紧急接受蔗糖和果糖治疗,且要求长期限制饮食。

4.2 FBPase 与肿瘤的相关性研究 FBP1 在肿瘤组织中的表达普遍下调^[47],FBP1 低表达可能与肿瘤分期、总生存期缩短及肿瘤复发等存在一定相关性。在肝癌患者中,FBP1 低表达患者具有更高的恶性分型,包括肿瘤变大、低分化、糖异生受损和富氧条件下糖酵解(瓦伯格效应)增强等表征^[48]。另外发现在乳腺癌^[49]、肝癌^[48]、透明肾细胞癌^[31]、肺癌^[50]、胶质瘤^[51]等肿瘤中 FBPase 的表达也受到抑制。但乳腺癌脑转移瘤中的 FBP 表达是上调的^[52],可见肿瘤代谢重排的复杂性。

对 FBPase 和肿瘤调节机制相关性的研究报道主要有以下 4 个方面^[53]: ① FBP1 下调主要受到 DNA 的甲基化和组蛋白去乙酰化调节。在很多肿瘤内^[47, 48, 50], *FBP1* 的启动子发生了甲基化; 而对于组蛋白去乙酰化调节, 只有一项报道^[32], 在肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 患者中, 高表达组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 下调 *FBP1* 增强子中 H3K27Ac 水平, 抑制 FBP1 的表达。② FBP1 低表达与肿瘤组织糖代谢异常显著相关。瓦伯格效应是指肿瘤细胞在富氧的情况下仍表现出高速的糖酵解代谢。众多文献^[31, 48-50, 52]报道, FBP1 的下调可增强瓦伯格效应。此外, 由于肿瘤内部含氧量极低, 肿瘤细胞需要通过稳定表达低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor, HIF-1), 来维持自身的生存和增殖。FBP1 下调可缓解对 HIF-1 的抑制。③ FBP1 与肿瘤组织的凋亡与增殖也有一定联系。FBP1 可增加活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生, 降低肿瘤干细胞的产生, 引起凋亡。在肺癌干细胞、乳腺癌和胃癌中, 增强 FBP1 会促进凋亡^[54, 55]。在肝细胞癌和结肠癌中^[30], 强制性增加 FBP1 的表达, 会抑制细胞的分裂, 但具体作用机制尚不十分清楚。④ FBP1 可拮抗肿瘤的耐药性。在一些耐药的患者体内发现, 细胞外信号调节激酶 (extracellular signalling-regulated kinases, ERKs) 的活性增加。FBP1 可以抑制 ERKs 的磷酸化, 进而抑制其活性, 改善耐药。但 FBP1 拮抗胰腺癌耐药的具体分子机制仍有待进一步研究^[56]。

5 结语与展望

2 型糖尿病的主要特征是胰岛素分泌缺陷、胰岛素抵抗和内源性葡萄糖输出增加 (endogenous glucose production, EGP, 又称糖异生异常)^[57]。其中, 糖异生异常是 2 型糖尿病患者空腹血糖升高的重要原因^[58]。目前, 市场上的抗糖尿病药物 (如胰岛素增敏剂、磺脲类、DPP-IV 抑制剂和 α 糖苷酶抑制剂等) 主要是围绕改善胰岛素抵抗, 增加胰岛素分泌和减少糖类吸收的环节, 缺乏针对抑制 EGP 的药物。因此, 靶向于糖异生重要限速酶 FBPase, 研发针对 EGP 环节的 FBPase 抑制剂类降血糖药物, 不仅可减少内源性葡萄糖生成, 亦可能通过增加葡萄糖刺激的胰岛素分泌, 发挥双重作用而控制血糖, 为糖尿病的防治提供新思路、新策略和新选择, 具有广阔的市场前景^[59]。

References

- [1] Paksu MS, Kalkan G, Asilioglu N, et al. Gluconeogenesis defect presenting with resistant hyperglycemia and acidosis mimicking diabetic ketoacidosis [J]. *Pediatr Emerg Care*, 2011, 12: 1180-1181.
- [2] Gomori G. Hexosediphosphatase [J]. *J Biol Chem*, 1943, 148: 139-149.
- [3] Tejwani GA. Regulation of fructose-bisphosphatase activity [J]. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1983, 54: 121-194.
- [4] Zhu H. The Study with Fluorescent Probe TNP-AMP on Binding Sites of Inhibitors to Cyanobacteria FBPase (荧光探针分子 TNP-AMP 识别蓝藻 FBPase 抑制剂作用位点的研究) [D]. Wuhan: Central China Normal University, 2015.
- [5] Marcus F, Edelman I, Reardon I, et al. Complete amino acid sequence of pig kidney fructose-1,6-bisphosphatase [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1982, 23: 7161-7165.
- [6] Mcininch JK, Kantrowitz ER. Use of silicate sol-gels to trap the R and T quaternary conformational states of pig kidney fructose-1,6-bisphosphatase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 2: 320-328.
- [7] Zhang Y, Liang JY, Huang S, et al. Toward a mechanism for the allosteric transition of pig kidney fructose-1,6-bisphosphatase [J]. *J Mol Biol*, 1994, 5: 609-624.
- [8] Li ZM, Bie JB, Song HR, et al. Recent advance in the discovery of allosteric inhibitors binding to the AMP site of fructose-1, 6-bisphosphatase [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2011, 11: 1291-1300.
- [9] Chiadmi M, Navaza A, Miginiac-Maslow M, et al. Redox signalling in the chloroplast: structure of oxidized pea fructose-1,6-bisphosphate phosphatase [J]. *EMBO J*, 1999, 23: 6809-6815.
- [10] Tillmann H, Eschrich K. Isolation and characterization of an allelic cDNA for human muscle fructose-1,6-bisphosphatase [J]. *Gene*, 1998, 2: 295-304.
- [11] Gizak A, Sok AJ, Lipinska A, et al. A comparative study on the sensitivity of *Cyprinus carpio* muscle and liver FBPase toward AMP and calcium [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2012, 1-3: 51-55.
- [12] Mamczur P, Sok AJ, Rzechonek A, et al. Cell cycle-dependent expression and subcellular localization of fructose 1,6-bisphosphatase [J]. *Histochem Cell Biol*, 2012, 1: 121-136.
- [13] Yanez AJ, Nualart F, Droppelmann C. Broad expression of fructose-1,6-bisphosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase provide evidence for gluconeogenesis in human tissues other than liver and kidney [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 1: 189-197.
- [14] Yanez AJ, Garcia-Rocha M, Bertinat R, et al. Subcellular localization of liver FBPase is modulated by metabolic conditions [J]. *FEBS Lett*, 2004, 1-2: 154-158.

- [15] Ke HM, Liang JY, Zhang YP, et al. Conformational transition of fructose-1,6-bisphosphatase: structure comparison between the AMP complex (T form) and the fructose 6-phosphate complex (R form) [J]. *Biochemistry*, 1991, 18: 4412–4420.
- [16] Kaur R, Dahiya L, Kumar M. Fructose-1,6-bisphosphatase inhibitors: a new valid approach for management of type 2 diabetes mellitus [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 141: 473–505.
- [17] Shi R, Chen ZY, Zhu DW, et al. Crystal structures of human muscle fructose-1,6-bisphosphatase: novel quaternary states, enhanced AMP affinity, and allosteric signal transmission pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 9: e71242.
- [18] El-Maghrabi MR, Lange AJ, Kummel L, et al. The rat fructose-1,6-bisphosphatase gene. Structure and regulation of expression [J]. *J Biol Chem*, 1991, 4: 2115–2120.
- [19] Pilkis SJ, Claus TH. Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes [J]. *Annu Rev Nutr*, 1991, 11: 465–515.
- [20] Fujisawa K, Umesono K, Kikawa Y, et al. Identification of a response element for vitamin D₃ and retinoic acid in the promoter region of the human fructose-1,6-bisphosphatase gene [J]. *J Biochem*, 2000, 3: 373–382.
- [21] Li B. Recent proceedings in research of tumor-associated disorders of glucose metabolism [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci) (中山大学学报 (医学科学版))*, 2017, 2: 222–228.
- [22] Penhoat A, Fayard L, Stefanutti A, et al. Intestinal gluconeogenesis is crucial to maintain a physiological fasting glycemia in the absence of hepatic glucose production in mice [J]. *Metabolism*, 2014, 1: 104–111.
- [23] Yip J, Geng X, Shen J, et al. Cerebral gluconeogenesis and diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 521.
- [24] Yanez AJ, Bertinat R, Concha II, et al. Nuclear localization of liver FBPase isoenzyme in kidney and liver [J]. *FEBS Lett*, 2003, 1–3: 35–40.
- [25] Visinoni S, Fam BC, Blair A, et al. Increased glucose production in mice overexpressing human fructose-1,6-bisphosphatase in the liver [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 5: E1132–E1141.
- [26] Laybutt DR, Sharma A, Sgroi DC, et al. Genetic regulation of metabolic pathways in beta-cells disrupted by hyperglycemia [J]. *J Biol Chem*, 2002, 13: 10912–10921.
- [27] Zhang Y, Xie Z, Zhou G, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase regulates glucose-stimulated insulin secretion of mouse pancreatic beta-cells [J]. *Endocrinology*, 2010, 10: 4688–4695.
- [28] Zhang Y, Xie Z, Zhou L, et al. The zinc finger protein ZBTB20 regulates transcription of fructose-1,6-bisphosphatase 1 and beta cell function in mice [J]. *Gastroenterology*, 2012, 7: 1571–1580.e6.
- [29] Fam BC, Joannides CN, Andrikopoulos S. The liver: key in regulating appetite and body weight [J]. *Adipocyte*, 2012, 4: 259–264.
- [30] Chen M, Zhang J, Li N, et al. Promoter hypermethylation mediated downregulation of FBP1 in human hepatocellular carcinoma and colon cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 10: e25564.
- [31] Li B, Qiu B, Lee DS, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase opposes renal carcinoma progression [J]. *Nature*, 2014, 7517: 251–255.
- [32] Yang J, Jin X, Yan Y, et al. Inhibiting histone deacetylases suppresses glucose metabolism and hepatocellular carcinoma growth by restoring FBP1 expression [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 43864.
- [33] Rakus D, Tillmann H, Wysocki R, et al. Different sensitivities of mutants and chimeric forms of human muscle and liver fructose-1,6-bisphosphatases towards AMP [J]. *Biol Chem*, 2003, 1: 51–58.
- [34] Wright SW, Carlo AA, Carty MD, et al. Anilinoquinazoline inhibitors of fructose 1,6-bisphosphatase bind at a novel allosteric site: synthesis, *in vitro* characterization, and X-ray crystallography [J]. *J Med Chem*, 2002, 18: 3865–3877.
- [35] Wright SW, Hageman DL, McClure LD, et al. Allosteric inhibition of fructose-1,6-bisphosphatase by anilinoquinazolines [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 1: 17–21.
- [36] Erion MD, Dang Q, Reddy MR, et al. Structure-guided design of AMP mimics that inhibit fructose-1,6-bisphosphatase with high affinity and specificity [J]. *J Am Chem Soc*, 2007, 50: 15480–15490.
- [37] Erion MD, Van Poelje PD, Dang Q, et al. A potent and selective inhibitor of fructose 1,6-bisphosphatase for controlling gluconeogenesis in type 2 diabetes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 22: 7970–7975.
- [38] Dang Q, Liu Y, Cashion DK, et al. Discovery of a series of phosphonic acid-containing thiazoles and orally bioavailable diamide prodrugs that lower glucose in diabetic animals through inhibition of fructose-1,6-bisphosphatase [J]. *J Med Chem*, 2011, 1: 153–165.
- [39] Bie JB, Liu SN, Zhou J, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 7-nitro-1*H*-indole-2-carboxylic acid derivatives as allosteric inhibitors of fructose-1,6-bisphosphatase [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 6: 1850–1862.
- [40] Bie JB, Liu SN, Li ZM, et al. Discovery of novel indole derivatives as allosteric inhibitors of fructose-1,6 bisphosphatase [J]. *Eur J Med Chem*, 2015, 90: 394–405.
- [41] Rudnitskaya A, Huynh K, Torok B, et al. Novel hetero-aromatic organofluorine inhibitors of fructose-1,6-bisphos-

- phatase [J]. *J Med Chem*, 2009, 3: 878–882.
- [42] Heng S, Harris KM, Kantrowitz ER. Designing inhibitors against fructose 1,6-bisphosphatase: exploring natural products for novel inhibitor scaffolds [J]. *Eur J Med Chem*, 2010, 4: 1478–1484.
- [43] Baker L, Winegrad AI. Fasting hypoglycaemia and metabolic acidosis associated with deficiency of hepatic fructose-1,6-diphosphatase activity [J]. *Lancet*, 1970, 7662: 13–16.
- [44] Nagahara K, Ariyasu D, Igaki J, et al. A Japanese boy with fructose-1,6-bisphosphatase deficiency who had a novel FBP1 mutation [J]. *Clin Pediatr Endocrinol*, 2017, 4: 275–278.
- [45] Ijaz S, Zahoor MY, Imran M, et al. Genetic analysis of fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase) deficiency in nine consanguineous Pakistani families [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2017, 11: 1203–1210.
- [46] Xu K, Liu XQ, Zhang C, et al. Genetic diagnosis of fructose-1,6-bisphosphatase deficiency: a case report [J]. *J Peking Univ (Health Sci) (北京大学学报 (医学版))*, 2014, 46: 681–685.
- [47] Dong C, Yuan T, Wu Y, et al. Loss of FBP1 by Snail-mediated repression provides metabolic advantages in basal-like breast cancer [J]. *Cancer Cell*, 2013, 3: 316–331.
- [48] Hirata H, Sugimachi K, Komatsu H, et al. Decreased expression of fructose-1,6-bisphosphatase associates with glucose metabolism and tumor progression in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2016, 11: 3265–3276.
- [49] Li K, Ying M, Feng D, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase is a novel regulator of Wnt/beta-catenin pathway in breast cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 1144–1149.
- [50] Zhang J, Wang J, Xing H, et al. Down-regulation of FBP1 by ZEB1-mediated repression confers to growth and invasion in lung cancer cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 1–2: 331–340.
- [51] Liu X, Wang X, Zhang J, et al. Warburg effect revisited: an epigenetic link between glycolysis and gastric carcinogenesis [J]. *Oncogene*, 2010, 3: 442–450.
- [52] Chen J, Lee HJ, Wu X, et al. Gain of glucose-independent growth upon metastasis of breast cancer cells to the brain [J]. *Cancer Res*, 2015, 3: 554–565.
- [53] Liu GM, Zhang YM. Targeting FBPase is an emerging novel approach for cancer therapy [J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 36.
- [54] Dai J, Ji Y, Wang W, et al. Loss of fructose-1,6-bisphosphatase induces glycolysis and promotes apoptosis resistance of cancer stem-like cells: an important role in hexavalent chromium-induced carcinogenesis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 331: 164–173.
- [55] Liu Y, Jiang Y, Wang N, et al. Invalidation of mitophagy by FBP1-mediated repression promotes apoptosis in breast cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 6: 1–13.
- [56] Jin X, Pan Y, Wang L, et al. Fructose-1,6-bisphosphatase inhibits ERK activation and bypasses gemcitabine resistance in pancreatic cancer by blocking IQGAP1-MAPK interaction [J]. *Cancer Res*, 2017, 16: 4328–4341.
- [57] Van Poelje PD, Potter SC, Erion MD. Fructose-1,6-bisphosphatase inhibitors for reducing excessive endogenous glucose production in type 2 diabetes [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2011, 203: 279–301.
- [58] Giaccari A, Morviducci L, Pastore L, et al. Relative contribution of glycogenolysis and gluconeogenesis to hepatic glucose production in control and diabetic rats. A re-examination in the presence of euglycaemia [J]. *Diabetologia*, 1998, 3: 307–314.
- [59] Visinoni S, Khalid NF, Joannides CN, et al. The role of liver fructose-1,6-bisphosphatase in regulating appetite and adiposity [J]. *Diabetes*, 2012, 5: 1122–1132.