

Le métabolisme de la cellule tumorale : l'effet Warburg

The metabolism of cancer cells: the Warburg effect

D. Puyraimond-Zemmour¹, S. Vignot²

¹Immunology PhD program, Harvard Medical School, Boston, United States

²Service d'oncologie médicale, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière–Charles-Foix, Paris, France

Reçu le 27 février 2013 ; accepté le 19 juillet 2013

Abstract: The sole dysregulation of the cell cycle's molecular program does not explain the uncontrolled growth of cancer cells. Metabolism adaptation is also required. When differentiated (quiescent) cells depend on lactic fermentation in the absence of oxygen (and mitochondrial respiration when oxygen is present), cancer cells rely on lactic fermentation independently of oxygen availability. This metabolic adaptation is named as the Warburg effect. In this review, we will discuss the initial discovery of the Warburg effect and argue that it is not a simple adaptation to hypoxia. The Warburg effect emerges as a complex phenomenon and is now a hallmark of cancer due to its universality and specific molecular regulation. These recent discoveries open novel avenues for diagnostic and therapeutic interventions.

Keywords: Warburg effect – Tumorigenesis – Metabolism – Positron emission tomography

Résumé : La prolifération chronique et incontrôlée des cellules cancéreuses n'est pas le résultat unique d'une dérégulation du contrôle moléculaire de la prolifération cellulaire, mais correspond aussi à une adaptation du métabolisme énergétique à cette nouvelle demande. Alors que les cellules différenciées quiescentes utilisent la fermentation lactique en l'absence d'oxygène et la respiration mitochondriale en présence d'oxygène,

les cellules cancéreuses utilisent la fermentation lactique quelles que soient les conditions d'oxygénation. Cette adaptation métabolique irréversible des cellules cancéreuses porte le nom d'effet Warburg. Dans cette revue, nous discuterons de la découverte de l'effet Warburg et argumenterons qu'il n'est pas qu'une simple adaptation à l'hypoxie. En effet, bien qu'une explication consensuelle de ses bénéfices reste un sujet actif de recherche, l'effet Warburg émerge aujourd'hui comme une propriété fondamentale des cancers par son universalité et son mécanisme de régulation moléculaire spécifique. Les découvertes récentes dans ce domaine ouvrent aujourd'hui de nouvelles applications cliniques à la fois diagnostiques (TEP-FDG) et thérapeutiques.

Mots clés : Effet Warburg – Tumorigenèse – Métabolisme – Tomographie par émission de positron

Introduction

Respiration et fermentation sont les deux voies métaboliques utilisées par les cellules mammifères pour produire l'énergie nécessaire à leur fonctionnement. L'utilisation de l'une ou l'autre de ces deux voies dépend de la disponibilité en oxygène et du niveau de prolifération de la cellule (Fig. 1). En phase quiescente et en l'absence d'oxygène, les cellules catabolisent le glucose en acide lactique (fermentation lactique). En présence d'oxy-

gène, elles n'utilisent plus de glucose (effet Pasteur), mais brûlent d'autres molécules organiques (acides gras, etc.) avec de l'oxygène, conduisant à la production de dioxyde de carbone et de molécules d'eau (respiration). L'énergie libre dégagée durant ces deux réactions chimiques est utilisée pour la synthèse d'ATP (adénosine triphosphate), le stock énergétique cellulaire. L'effet Warburg décrit une propriété cellulaire particulière, contredisant l'effet Pasteur, par laquelle les cellules en phase de croissance métabolisent préférentiellement le glucose en lactate indépendamment de la disponibilité en oxygène. Cette observation a des applications très larges en biologie. En oncologie, les cellules cancéreuses, proliférantes, présentent cette caractéristique métabolique qui les différencie des cellules « normales », différenciées et quiescentes, et cette observation ouvre de nombreuses applications cliniques. Dans un autre domaine, d'intérêt peut-être plus général, les levures en phase de croissance catabolisent le glucose provenant du malt en éthanol et dioxyde de carbone, produisant de la bière. Une explication définitive de l'effet Warburg reste toujours un sujet actif de recherche, notamment parce qu'il semble à première vue paradoxal que des cellules proliférantes, nécessitant beaucoup d'énergie, ne métabolisent pas complètement le glucose pour maximiser la production d'ATP. Dans cette revue, nous explorerons l'histoire de la découverte de l'effet Warburg, les différentes hypothèses expliquant ce phénomène,

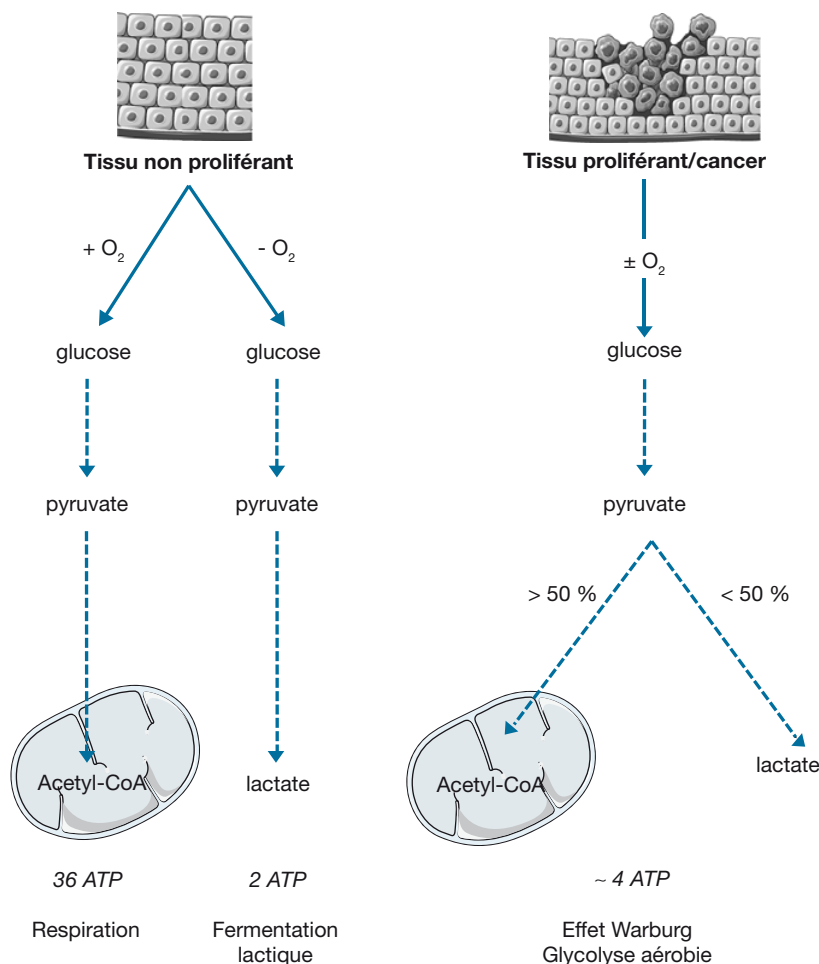


Fig. 1.

Les métabolismes des tissus proliférants et cancéreux sont différents. Figure adaptée de la référence [17]. En phase quiescente et en l'absence d'oxygène, les cellules catabolisent le glucose en acide lactique (fermentation lactique, glycolyse anaérobie). En présence d'oxygène, elles brûlent le glucose avec de l'oxygène en dioxyde de carbone et molécules d'eau (respiration, glycolyse aérobie). L'énergie libre dégagée durant ces deux réactions chimiques est utilisée pour la synthèse d'ATP. L'effet Warburg décrit une propriété cellulaire particulière par laquelle les cellules en phase de croissance métabolisent préférentiellement le glucose en lactate indépendamment de la disponibilité en oxygène

sa régulation et ses implications médicales.

Découverte de l'effet Warburg

C'est en examinant les travaux de Louis Pasteur sur la fermentation alcoolique à la fin du XIX^e siècle et en les appliquant aux tissus mammifères qu'Otto Warburg observe en 1924 les cellules cancéreuses « fermenter » le glucose en lactate (glycolyse anaérobie) in vitro même en présence de quantités d'oxygène suffisantes pour permettre la phosphorylation oxydative [18]. Son modèle expérimental a consisté à prélever des cellules car-

cinomateuses péritonéales, les cultiver dans du liquide d'ascite et comparer la proportion d'ATP produite par la fermentation ou la respiration. Ces dernières sont mesurées expérimentalement par la production d'acide lactique et la consommation d'oxygène, respectivement. Il est important de souligner que l'effet Warburg ne stipule pas que les tumeurs utilisent préférentiellement la glycolyse aérobie, mais que la fermentation occupe une place plus importante dans le métabolisme des cellules cancéreuses que dans celui des cellules normales. Otto Warburg a lui-même démontré que la fermentation est utilisée jusqu'à 50 % pour la produc-

tion d'ATP dans les cellules cancéreuses, versus moins de 1 % dans des cellules normales [18].

En 1926, Warburg apporte une preuve expérimentale in vivo, chez le poulet, du phénomène qui porte son nom [19]. Il démontre tout d'abord que dans des conditions d'activité et d'oxygénation physiologique, il n'y a pas de formation d'acide lactique (la concentration en acide lactique est similaire dans les veines et artères irriguant différents organes). Au contraire, il observe que la veine axillaire drainant l'aile transplantée avec un sarcome de Roux contient moins de glucose et plus d'acide lactique que l'aile saine. Il conclut que la tumeur produit de l'acide lactique et consomme plus de glucose que le tissu sain. Des observations similaires ont été ensuite décrites chez un patient présentant une tumeur au niveau de l'avant-bras.

Pourquoi les cellules cancéreuses utilisent-elles la glycolyse aérobie comme voie catabolique principale ?

Une dysfonction mitochondriale longtemps recherchée

Otto Warburg a lui-même formulé une hypothèse mécanistique pour expliquer l'utilisation anormale de la glycolyse aérobie par les cellules cancéreuses. Selon lui, une altération sévère de la respiration est à l'origine de l'effet Warburg et est la cause ultime de tous les cancers [18]. Selon sa théorie, le processus de tumorigénèse se déroule en deux étapes successives. La première phase consiste en un dysfonctionnement irréversible de la respiration des cellules saines. Ces cellules ne peuvent alors plus produire assez d'énergie pour maintenir leur état différencié. Lors de la seconde phase, la plupart de ces cellules meurent, mais celles qui survivent utilisent la fermentation et se différencient dans un état où la fermentation leur permet de se maintenir. Une des nouvelles propriétés de cet état est la croissance incontrôlée, et ces cellules

sont alors devenues des cellules cancéreuses. Otto Warburg appuie sa théorie sur ses observations que de nombreux inhibiteurs de la respiration (acide arsénique, éthyl-carbamate, etc.) sont aussi des carcinogènes parmi d'autres expériences et stipule que cette altération de la respiration provient d'une dysfonction mitochondriale.

Aujourd'hui, l'origine génétique et non métabolique des cancers est maintenant établie [12]. Comment interpréter les observations d'Otto Warburg et qu'en est-il de sa théorie aujourd'hui ? Il se trouve que le facteur confondant des études d'Otto Warburg est l'activité mutagène directe ou indirecte des inhibiteurs de la respiration qu'il a utilisés. L'hypothèse de la dysfonction mitochondriale n'a elle aussi pas été confirmée, notamment au travers des travaux de Fantin et al. qui, en diminuant la capacité des cellules cancéreuses à convertir le pyruvate en lactate, ont observé que la respiration mitochondriale était stimulée [10].

L'adénosine triphosphate n'est pas la seule destinée du glucose

L'effet Warburg semble difficile à conceptualiser parce que notre compréhension actuelle du métabolisme cellulaire repose principalement sur l'étude de cellules différenciées non proliférantes, pour lesquelles le facteur principal limitant l'activité cellulaire est l'ATP. Ce n'est que récemment que le métabolisme des cellules proliférantes et sa régulation ont été activement étudiés, et l'un des résultats majeurs de ces études est justement que le facteur limitant la prolifération des cellules n'est pas la disponibilité en ATP. En effet, Christofk et al. ont démontré que les cellules cancéreuses utilisant la glycolyse aérobie ou la phosphorylation oxydative produisent et consomment la même quantité d'ATP (ATP/ADP ratio constant) [3]. Partant de cette observation, d'autres voies de recherche s'appuyant sur une vue plus globale du métabolisme cellulaire se sont dessinées. En se divisant, une cellule a besoin d'énergie

mais aussi d'augmenter sa biomasse (lipides, acides aminés et nucléotides). Or, le glucose et le pyruvate ne sont pas uniquement catabolisés en ATP, mais participent aussi aux voies anaboliques de synthèse d'acides aminés, de nucléotides et de lipides. Le facteur limitant de ces voies d'anabolisme n'est pas tant la disponibilité en ATP, mais celle de carbone et d'électrons (NADPH). Par exemple, la synthèse de palmitate (composant principal des membranes cellulaires) requiert sept molécules d'ATP, huit molécules d'acétyl-CoA (16 carbones), et 14 molécules de NADPH (28 électrons). De façon similaire, la synthèse d'acides aminés et de nucléotides requiert plus de carbones et d'électrons que de molécules d'ATP. Or, le glucose peut être métabolisé de trois façons différentes :

- soit être totalement catabolisé et produire 36 molécules d'ATP (phosphorylation oxydative) ;
- soit être partiellement catabolisé et fournir trois acétyl-CoA (via la glycolyse anaérobie et la transformation du pyruvate en acétyl-CoA) ;
- ou encore fournir 30 molécules d'ATP et 2 NADPH. Pour la synthèse de palmitate, sept molécules de glucose sont donc nécessaires pour générer la quantité requise de NADPH, alors qu'une molécule de glucose génère cinq fois la quantité d'ATP nécessaire [17].

Ainsi, pour qu'une cellule prolifère, il est plus avantageux que le glucose ne soit pas totalement catabolisé en ATP, mais redirigé vers d'autres voies de synthèse. La glycolyse aérobie semble de ce point de vue un mécanisme d'optimisation des voies métaboliques d'une cellule proliférante.

Cependant, bien que ce modèle biosynthétique explique la consommation accrue de glucose par les cellules tumorales, il ne prédit pas correctement la sécrétion accrue de lactate observée dans l'effet Warburg. DeBerardinis et al. ont récemment résolu ce paradoxe en démontrant que les cellules cancé-

reuses convertissent la glutamine en acide lactique au cours du cycle de Krebs pour produire du NADPH nécessaire à la biosynthèse lipidique et de l'oxaloacétate nécessaire pour le fonctionnement du cycle de Krebs [6].

L'effet Warburg comme mécanisme de résistance à l'apoptose

Il est possible que l'utilisation de la glycolyse contribue à une autre caractéristique importante des cellules cancéreuses : la résistance à l'apoptose. En effet, il a été démontré que l'inhibition de la glycolyse aérobie ne conduit pas simplement à l'utilisation de la respiration et à une diminution de la prolifération tumorale comme attendu, mais déclenche aussi l'apoptose [1]. Au moins deux mécanismes ont été impliqués spécifiquement dans les cellules cancéreuses : l'augmentation de la synthèse de réactifs dérivés de l'oxygène et la dépolarisation mitochondriale relarguant le cytochrome c. Cependant, les études principales rapportant cette propriété s'appuient principalement sur une inhibition pharmacologique de la pyruvate-déshydrogénase-kinase (dichloroacétate, utilisée dans le traitement de l'acidose congénitale lactique), n'excluant pas de potentiels effets bystander sur d'autres kinases [13].

Comment l'effet Warburg est-il régulé ?

L'effet Warburg, résultat d'une simple adaptation à un microenvironnement hypoxique ?

Le rôle du facteur de transcription inductible par l'hypoxie (HIF) a été évalué pour expliquer la régulation de l'effet Warburg. HIF induit l'expression des transporteurs actifs de glucose (GLUT1), des enzymes clés de la glycolyse et du VEGF, et inhibe l'expression des enzymes impliquées dans la respiration mitochondriale. Il a été démontré que HIF est active dans les cellules tumorales en condition hypoxique. Cependant, puisque l'effet Warburg

est irréversible, HIF devrait être présent dans les cellules tumorales même en présence d'oxygène. Wiesener et al. ont démontré que l'expression de HIF restait couplée à la concentration en oxygène dans le tissu tumoral [20]. L'effet Warburg ne peut donc pas être expliqué uniquement par l'activation physiologique du programme transcriptionnel commandé par HIF.

Régulation de l'effet Warburg par différents oncogènes et supresseurs de tumeurs

Une des explications mécanistiques de tumorigenèse implique l'activation d'oncogènes ou l'inhibition de gènes suppresseurs de tumeurs régulant un programme global de prolifération cellulaire. Il est possible que l'activation de l'effet Warburg soit un composant majeur de ces programmes globaux. En effet, de nombreuses études ont connecté l'effet Warburg à l'activation de différents oncogènes (*c-MYC*, *AKT*, *PI3K*, *HRAS*) [7] ou gènes suppresseurs de tumeur (*TP53*) [14]. Par exemple, la voie *PI3K* rend les cellules dépendantes d'un flux plus important de glucose en induisant l'expression de transporteurs de glucose et en agissant sur les trois étapes clés de la glycolyse : transformation en glucose-6-phosphate par l'hexokinase, activation de la phosphofructokinase et induction de la pyruvate-kinase [2,7].

L'effet Warburg peut être déclenché par un événement moléculaire unique

L'enzyme pyruvate-kinase semble être une enzyme clé dans la régulation de l'effet Warburg. En effet, Christofk et al. ont pu démontrer in vitro et in vivo, chez l'humain et la souris, qu'un simple changement d'utilisation d'isoforme de la pyruvate-kinase était nécessaire et suffisant pour induire la glycolyse aérobie. Alors que l'isoforme M1 est exprimée par les cellules normales adultes, l'isoforme M2 est spécifiquement exprimée par les cellules cancéreuses (et physiologi-

quement au cours de l'embryogenèse) [4]. Alors que toutes les études précédemment décrites impliquaient un mécanisme moléculaire non spécifique de régulation de l'effet Warburg (oncogènes, HIF, etc.), cette étude est particulièrement intéressante dans la mesure où elle décrit un mécanisme moléculaire unique et spécifique de régulation de l'effet Warburg, et renvoie à un programme de régulation déjà utilisé au cours de l'embryogenèse.

Quelles sont les implications cliniques de l'effet Warburg ?

Les applications cliniques de l'effet Warburg ont commencé à émerger presque 60 ans après sa découverte en 1924. Aujourd'hui, l'effet Warburg sert principalement comme outil diagnostique avec le développement de la tomographie par émission de positrons (TEP) couplée à l'injection d'un analogue radioactif du glucose (^{18}F fluoro-désoxyglucose — FDG). Mais à mesure que les mécanismes moléculaires de régulation sont analysés, de nouvelles cibles thérapeutiques et de nouveaux biomarqueurs sont développés.

TEP-FDG

La TEP-FDG est une technique d'imagerie médicale utilisant un analogue du glucose comme traceur biologique, ^{18}F fluoro-désoxyglucose (FDG). Le FDG est internalisé par les cellules à fort métabolisme en glucose via les transporteurs GLUT1 et GLUT3, et est phosphorylé proportionnellement au flux glycolytique en FDG-6-PO₄ par les hexokinases I et II. FDG-6-PO₄ reste piégé dans le cytoplasme sans être métabolisé en pyruvate, car il est à la fois phosphorylé et sous la forme de désoxyglucose. La détection de l'émission de positrons couplée avec une tomographie à rayon X permet alors de combiner l'analyse morphologique et fonctionnelle des lésions cancéreuses envi-

ron une heure après l'injection du traceur [5].

Depuis sa première utilisation en 1982 chez des patients atteints de gliomes cérébraux [8], la TEP-FDG a maintenant permis de démontrer que la plupart des lésions primaires et secondaires cancéreuses ont une augmentation significative de la consommation en glucose. Sa sensibilité et sa spécificité sont diminuées par l'incapacité de détection des lésions inférieures à 0,8 cm³, et par la forte consommation en glucose d'autres tissus (cerveau, cœur et dans une moindre mesure tube digestif, muscles striés en cas de mouvement du patient). La sensibilité est également dépendante de la glycémie du patient (moindre performance en cas de déséquilibre glycémique). Enfin, le FDG est éliminé par les urines, ne permettant pas d'évaluer les voies excrétrices et la vessie [5]. La TEP-FDG sert actuellement en priorité dans la phase diagnostique, mais se développent également des évaluations pronostiques selon le niveau de fixation et l'évolution sous traitement. L'analyse quantitative de la consommation en glucose par les lésions cancéreuses a ainsi montré dans certaines études que la survie des patients était inversement corrélée avec la capacité des lésions à fixer le FDG (carcinome épidermoïde de la paroi oropharyngée, adénocarcinome gastrique) [15,16]. Ces résultats ont permis de démontrer l'importance clinique du métabolisme glycolytique dans la pathologie cancéreuse humaine et de traduire une observation scientifique des années 1920 dans une pratique courante d'oncologie médicale actuelle.

Vers de nouvelles thérapies moléculaires ciblées

Plusieurs caractéristiques conduisent à penser que l'effet Warburg pourrait être exploité pour cibler spécifiquement les tumeurs :

- la plupart des cancers semblent être dépendants de l'effet Warburg ;

- leur agressivité est corrélée à la consommation en glucose ;
- les cellules différenciées quiescentes n'utilisent pas la glycolyse aérobie ;
- les points de contrôle métaboliques de la glycolyse aérobie semblent être spécifiques (PK-M2) ;
- l'effet Warburg semble être un mécanisme irréversible au cours de la carcinogenèse.

Certains résultats préliminaires suggèrent également que cette stratégie pourrait être efficace. En effet, l'inhibition pharmacologique ciblée de la voie de transduction PI3K inhibe l'utilisation du glucose par les tumeurs et corrèle avec la régression tumorale chez des patients atteints de cancers pulmonaires [9]. De nombreuses études ayant déjà démontré que l'activation de la voie PI3K génère une dépendance à la glycolyse, il est possible qu'un des mécanismes d'action de ces nouveaux traitements implique l'inhibition de l'effet Warburg. D'autres études sont en effet en cours pour tester ces hypothèses cliniques. Les découvertes récentes de points de contrôle métaboliques spécifiques de la glycolyse aérobie, comme PK-M2, offrent également de nouvelles possibilités de thérapies ciblées.

Conclusion : l'effet Warburg n'est pas qu'une simple adaptation à l'hypoxie

De nombreuses données de recherche fondamentale et clinique accumulées depuis la découverte de l'effet Warburg en 1924 indiquent que la glycolyse aérobie est une caractéristique fondamentale des cellules cancéreuses, rejoignant alors les six propriétés classiques définies par Robert Weinberg [12]. L'effet Warburg est en effet un mécanisme irréversible d'adaptation métabolique des cellules cancéreuses qui leur apporte à la fois un avantage biosynthétique et potentiellement de résistance à l'apoptose. Ce nouveau paradigme et les découvertes

récentes du mécanisme de régulation moléculaire de l'effet Warburg ouvrent des applications diagnostiques et thérapeutiques prometteuses.

Une vue plus systématique du métabolisme du cancer émerge actuellement de par l'étude de la régulation globale bioénergétique au cours du cancer et ses conséquences bien connues (cachexie), mais aussi via l'intégration de cette idiosyncrasie tumorale au sein d'autres fonctions cellulaires (prolifération, apoptose, migration, etc.). Ces découvertes récentes illustrent une tendance actuelle d'intégrer la maladie néoplasique à la fois au sein d'un tissu tumoral contenant une hétérogénéité de cellules cancéreuses, de cellules stromales et immunitaires. L'hétérogénéité métabolique des cellules tumorales apparaît alors comme un aspect essentiel de cette diversité. Par exemple, Feron et al. ont rapporté que certaines tumeurs sont composées de deux sous-populations symbiotiques. La première consiste en une population de cellules sécrétant du lactate (effet Warburg), alors que la seconde utilise ce lactate au lieu du glucose comme source énergétique principale [11].

Ces nouvelles voies de recherche offrent de nombreuses opportunités de découvertes de nouvelles molécules mais aussi d'utilisation de molécules déjà approuvées pour le traitement de maladies métaboliques. Plusieurs études ont par exemple démontré que la metformine permet de réduire le risque de cancer chez les patients diabétiques de 31 %. Une utilisation optimale de ces molécules et la découverte de nouvelles requièrent une meilleure compréhension du métabolisme des cellules cancéreuses et son interaction avec d'autres fonctions cellulaires, ainsi qu'une intégration plus globale au sein du tissu cancéreux et de l'organisme.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

1. Bonnet S, Archer SL, Allalunis-Turner J, et al. (2007) A mitochondria-K⁺ channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibits cancer growth. *Cancer Cell* 11(1): 37–51
2. Buzzai M, Jones RG, Amaravadi RK, et al. (2005) The glucose dependence of Akt-transformed cells can be reversed by pharmacologic activation of fatty acid beta-oxidation. *Oncogene* 24(26): 4165–73
3. Christofk HR, Vander Heiden MG, Wu N, et al. (2008) Pyruvate-kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein. *Nature* 452(7184): 181–6
4. Christofk HR, Vander Heiden MG, Harris MH, et al. (2008) The M2 splice isoform of pyruvate-kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature* 452(7184): 230–3
5. Czernin J, Phelps ME (2002) Positron emission tomography scanning: current and future applications. *Annu Rev Med* 53: 89–112
6. DeBerardinis RJ, Mancuso A, Daikhin E, et al. (2007) Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(49): 19345–50
7. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, et al. (2008) The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab* 7(1): 11–20
8. Di Chiro G, DeLaPaz RL, Brooks RA, et al. (1982) Glucose utilization of cerebral gliomas measured by [18F] fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *Neurology* 32(12): 1323–9
9. Engelman JA, Chen L, Tan X, et al. (2008) Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. *Nat Med* 14(12): 1351–6
10. Fantin VR, St-Pierre J, Leder P (2006) Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 9(6): 425–34
11. Feron O (2009) Pyruvate into lactate and back: from the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. *Radiother Oncol* 92(3): 329–33
12. Hanahan D, Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5): 646–74
13. Hsu PP, Sabatini DM (2008) Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell* 134(5): 703–7
14. Jones RG, Thompson CB (2009) Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev* 23(5): 537–48

15. Kunkel M, Reichert TE, Benz P, et al. (2003) Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with a poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 97(4): 1015–24
16. Mochiki E, Kuwano H, Katoh H, et al. (2004) Evaluation of 18F-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose positron emission tomography for gastric cancer. *World J Surg* 28(3): 247–53
17. Vander-Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB (2009) Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 324(5930): 1029–33
18. Warburg O (1956) On the origin of cancer cells. *Science* 123(3191): 309–14
19. Warburg O, Wind F, Negelein E (1927) The Metabolism of Tumors in the Body. *J Gen Physiol* 8(6): 519–30
20. Wiesener MS, Münchenhagen PM, Berger I, et al. (2001) Constitutive activation of hypoxia-inducible genes related to overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha in clear cell renal carcinomas. *Cancer Res* 61(13): 5215–22