

领域前沿 · 中国



雷群英, 博士, 教授, 博士生导师, 国家杰出青年, 长江学者特聘教授, 首席科学家。1993年获江西医学院学士学位, 1999年获苏州医学院硕士学位, 2002年获上海医科大学医学博士学位, 之后在美国加州大学洛杉矶分校做博士后研究, 2006年被复旦大学引进, 先后入选上海市科委“浦江人才”、教育部“新世纪优秀人才”、上海市卫生系统“优秀学科带头人”、上海市教委“曙光学者”、上海市优秀学术带头人。2014年入选科技部中青年科技领军人才, 2016年入选万人计划。雷群英教授迄今发表SCI论文50余篇, 曾获教育部自然科学一等奖和二等奖、上海市三八红旗手、第十届中国青年女科学家奖、普康奖教金和上海市牡丹奖等奖项。雷群英教授及其合作者程金科教授、王义平博士近期在Molecular Cell上发表的研究成果发现了胰腺癌非经典谷氨酰胺代谢的调控机制。

胰腺癌通过调控非经典谷氨酰胺代谢 维持氧化还原稳态

王义平^{1*} 雷群英^{2*}

(¹上海交通大学医学院基础医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海 200025;

²复旦大学上海医学院生物医学研究院, 肿瘤代谢实验室, 上海 200032)

摘要 胰腺导管腺癌是一种高度恶性的肿瘤, 近年来胰腺癌的治疗并未取得突破性进展。从代谢的角度干预胰腺癌发生发展成为具有重要应用前景的治疗策略。胰腺癌细胞的增殖高度依赖于葡萄糖和谷氨酰胺。胰腺癌细胞并不依赖葡萄糖维持细胞内还原力NADPH的生成, 而通过非经典谷氨酰胺代谢途径产生还原力, 进而维持细胞的氧化还原稳态。蛋白精氨酸甲基转移酶可作为氧化压力的感受器, 通过调控苹果酸脱氢酶的甲基化水平将非经典谷氨酰胺代谢通路和氧化还原稳态偶联起来。

关键词 胰腺癌; 谷氨酰胺代谢; 氧化还原稳态; 蛋白精氨酸甲基转移酶CARM1; 苹果酸脱氢酶MDH1

Pancreatic Cancer Couples Cellular Redox Homeostasis with Non-Canonical Glutamine Metabolism

Wang Yiping^{1*}, Lei Qunying^{2*}

(¹Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, Shanghai Jiao Tong University
School of Medicine, Shanghai 200025, China; ²The Cancer Metabolism Research Lab,

Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University Shanghai Medical College, Shanghai 200032, China)

Abstract Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a highly aggressive cancer, with marginal therapeutic advances in recent years. Targeting the metabolism of pancreatic cancer has emerged as a promising

*通讯作者。Tel: 021-63846590, E-mail: wangyiping@shsmu.edu.cn; Tel: 021-54237935, E-mail: qlei@fudan.edu.cn

*Corresponding authors. Tel: +86-21-63846590, E-mail: wangyiping@shsmu.edu.cn; Tel: +86-21-54237935, E-mail: qlei@fudan.edu.cn

网络出版时间: 2016-12-30 08:44:37

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161230.0844.002.html>

strategy to treat PDAC. Pancreatic cancer cells are highly dependent on glucose and glutamine. Interestingly, pancreatic cancer cells rely on non-canonical glutamine metabolism, but not glucose metabolism, to sustain NADPH production and maintain redox homeostasis. Protein arginine methyltransferase 4 (PRMT4/CARM1) functions as a redox sensor, and couples glutamine metabolism with redox status by modulating arginine methylation of malate dehydrogenase 1 (MDH1).

Keywords pancreatic ductal adenocarcinoma; glutamine metabolism; redox homeostasis; protein arginine methyltransferase 4; malate dehydrogenase 1

1 胰腺癌细胞的代谢特点

近年研究发现, 肿瘤细胞具有独特的代谢表型^[1-3], 代谢重塑是肿瘤发生发展的关键特征之一^[4]。干预肿瘤细胞的代谢或修正肿瘤细胞异常代谢途径逐渐成为极具潜力的治疗方式^[5]。

胰腺癌是一种高度恶性的肿瘤, 被称为“癌症之王”, 其五年存活率仅为3%~5%^[6]。胰腺癌对传统的放化疗和靶向治疗都会发生抵抗, 因此, 近年来胰腺癌治疗并未获得突破性进展^[7]。系统地揭示胰腺癌的代谢特征、发掘潜在的抑制胰腺癌代谢的靶点, 进而从代谢的角度干预胰腺癌发生发展成为具有高度应用前景的治疗策略。

原癌基因*KRAS*(kirsten rat sarcoma viral oncogene)的激活突变是胰腺癌发生过程中的早期标志性遗传事件, *KRAS*的激活突变存在于超过90%的临床胰腺癌病例中^[8]。与此同时, 在诱导表达的动物模型中发现, 在胰腺癌形成之后将*KRAS*的激活突变体失活会导致肿瘤的迅速消退^[9]。这些研究表明, *KRAS*在胰腺癌的发生发展过程中发挥着极其关键的作用。进一步的研究表明, *KRAS*激活突变体会通过影响胰腺癌细胞中的信号转导、重塑胰腺癌细胞的代谢促进肿瘤的发生和发展。例如, *KRAS*的持续激活可以增强其下游信号通路的活力[包括MAPK(mitogen-activated protein kinase)通路和PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)-mTOR(mammalian target of rapamycin)通路等], 进而促进胰腺癌细胞的增殖和存活。然而, 目前在体外培养的胰腺癌细胞系和体内动物模型中的研究表明, 针对*KRAS*下游信号通路的抑制剂并未体现出高效的抑癌作用^[10-11]。因此, 干预胰腺癌的代谢引起了广泛的研究兴趣。

胰腺癌细胞的代谢具有肿瘤代谢共通的特点, 如沃伯格效应(Warburg effect)^[12-13]。胰腺癌细胞从外界环境中高效摄入葡萄糖, 并采用无氧糖酵解方

式将摄取的葡萄糖分子用于生物合成^[14]。转录组和代谢组研究发现, 胰腺癌细胞的糖代谢体现出一些独有的特征。*KRAS*的激活突变可以促使胰腺癌细胞更快地摄取葡萄糖分子, 并经过糖酵解途径进一步将糖酵解中间产物用于己糖胺合成通路, 相应的胰腺癌细胞内的蛋白普遍被高度糖基化; 另一方面, *KRAS*突变导致吸收进入细胞的葡萄糖用于磷酸戊糖途径的非氧化还原支路, 进而促进细胞中核糖的产生, 维持胰腺癌细胞中核酸分子的生物合成^[9]。

磷酸戊糖途径包括氧化还原和非氧化还原两个阶段, 两个阶段均可产生五碳糖, 即核糖^[15]。而磷酸戊糖途径的氧化还原支路可以为细胞提供另一种重要的代谢物, 即还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)。NADPH是细胞内重要的还原力, 一方面, 可用于维持生物合成反应, 如脂肪酸的合成^[16]; 另一方面, 可用于再生还原型谷胱甘肽, 维持细胞内的氧化还原稳态^[17]。氧化还原稳态对肿瘤细胞的存活尤为重要。胰腺癌细胞将葡萄糖选择性的经由非氧化还原磷酸戊糖途径进行代谢会导致还原力NADPH生成的缺乏。肿瘤细胞内部的稳态对维持肿瘤细胞的存活和增殖非常关键^[18]。因此, 胰腺癌需要利用其他的代谢途径产生NADPH, 维持细胞内的氧化还原平衡, 保证细胞的存活和增殖。

2 胰腺癌细胞的非经典谷氨酰胺代谢

除葡萄糖外, 谷氨酰胺也是肿瘤细胞重要的营养物质。早在上世纪50年代, 肿瘤代谢领域的先驱们就发现, 肿瘤细胞对谷氨酰胺的摄入超过其他必需氨基酸十倍以上^[19], 表明谷氨酰胺在细胞内不仅仅是核酸和蛋白合成的前体物质。随后的研究发现, 肿瘤细胞会将谷氨酰胺来源的碳以乳酸的形式分泌到细胞外^[20], 表明谷氨酰胺可作为肿瘤细胞的能源物质。进一步研究表明, 胰腺癌、脑胶质

瘤、白血病、肺癌等多种肿瘤对谷氨酰胺的利用均显著增强^[20-22]。谷氨酰胺被摄取进入细胞后, 经过脱氨和氧化转变为 α -酮戊二酸, 进而进入柠檬酸循环用于供能或生物合成。谷氨酰胺来源的苹果酸可从线粒体转运到胞质中, 进而作为苹果酸酶(malic enzyme 1, ME1)的底物用于NADPH的生成^[23](图1), 为脂肪酸等生物分子的合成提供还原力, 促进肿瘤细胞增殖。

与其他肿瘤相似, 胰腺癌细胞的增殖和存活不仅高度依赖于葡萄糖, 同时依赖于谷氨酰胺。不同的是, 胰腺癌细胞采用了一条独特的谷氨酰胺代谢通路。胰腺癌细胞将谷氨酰胺来源的谷氨酸转变为天冬氨酸, 进而天冬氨酸被转运至胞质中, 随后由谷草转氨酶1(glutamic-oxaloacetic transaminase 1, GOT1)、苹果酸脱氢酶1(malate dehydrogenase 1, MDH1)和苹果酸酶1催化连续的酶促反应, 将天冬氨酸转变成为苹果酸、丙酮酸, 同时生成NADPH^[24]。这条非经典的谷氨酰胺代谢通路被认为和细胞的氧化还原稳态密切相关, 因此, 胰腺癌细胞需要将非经典谷氨酰胺代谢途径与细胞的氧化还原状态偶联到一起, 其调控分子机制引起了我们极大的兴趣。

3 MDH1精氨酸甲基化偶联谷氨酰胺代谢和氧化还原状态

我们的工作发现, 胰腺癌细胞通过调控MDH1

的甲基化状态将谷氨酰胺代谢和细胞内的氧化还原状态相偶联。除了在非经典谷氨酰胺代谢中发挥功能外, MDH1同时也是苹果酸-天冬氨酸穿梭途径中的重要蛋白, 负责将糖酵解产生的还原力NADH转移到线粒体内用于线粒体呼吸^[25]。蛋白精氨酸甲基转移酶4(protein arginine methyltransferase 4, PRMT4, 又称CARM1)对非经典谷氨酰胺代谢通路中重要的代谢酶MDH1进行甲基化修饰。MDH1的主要甲基化位点是第248位精氨酸(R248)。CARM1介导的R248甲基化可以通过阻断MDH1蛋白的二聚化进而抑制其催化活力(图2), 从而降低胰腺癌细胞的线粒体呼吸和谷氨酰胺代谢活性^[26]。

当细胞处在氧化压力下时, CARM1的甲基转移酶活力显著下降。MDH1的甲基化水平相应降低, 而MDH1的催化活力显著增强, 确保胰腺癌细胞通过谷氨酰胺代谢通路产生更多的NADPH, 为对抗氧化压力提供还原力(图3)。因此, CARM1可作为细胞氧化还原状态的感受器, 维持细胞氧化还原平衡^[26]。

另外, *KRAS*的激活突变下调CARM1蛋白的表达水平, 进而降低MDH1的R248甲基化, 从而促进胰腺癌细胞的谷氨酰胺代谢, 维持胰腺癌细胞的快速生长和增殖(图3)。更重要的是, 在临床胰腺癌组织中, MDH1呈现高表达状态, 而CARM1处于低表达状态。相应地, 胰腺癌细胞中MDH1的甲基化处于较低水平, 其活力显著增强^[26]。这些证据充分表明, MDH1的甲基化调控在胰腺癌代谢以及胰腺癌发生

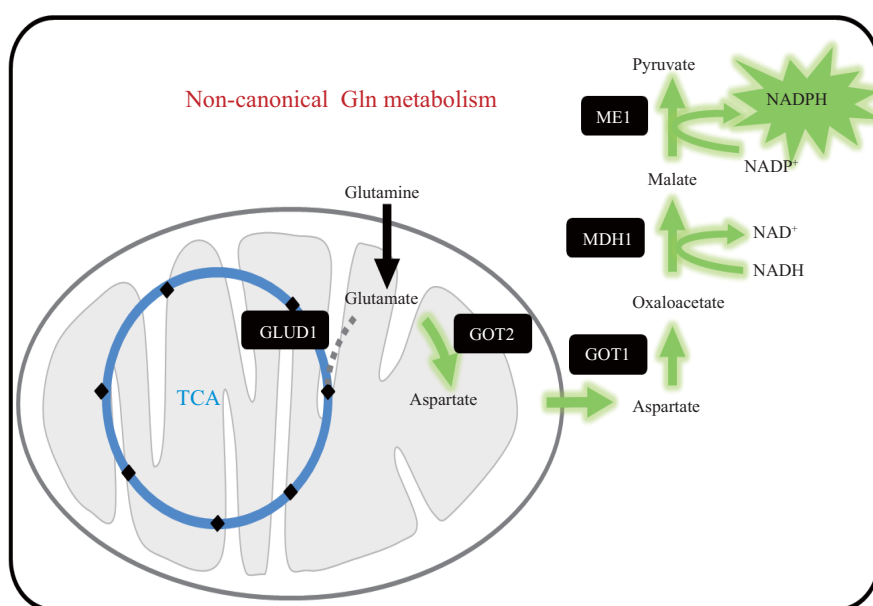


图1 胰腺癌细胞的非经典谷氨酰胺代谢过程

Fig.1 Non-canonical glutamine metabolism of pancreatic cancer

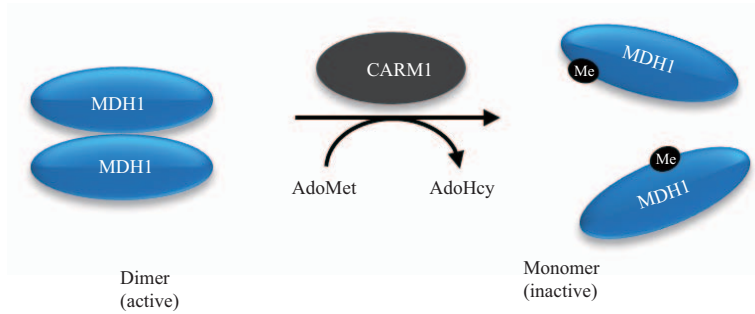


图2 CARM1甲基化MDH1并抑制其二聚体形成

Fig.2 CARM1 methylates MDH1 and inhibits its dimerization

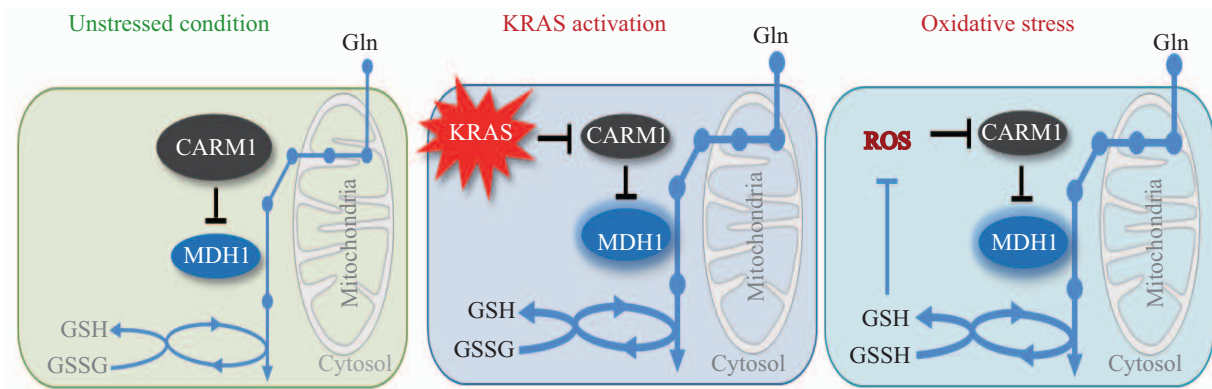


图3 KRAS的激活或氧化压力降低MDH1甲基化水平从而增强谷氨酰胺代谢

Fig.3 Oncogenic activation of KRAS and oxidative stress induce hypomethylation of MDH1 and enhance glutamine metabolism

发展中发挥重要作用。

胰腺癌细胞通过调控MDH1的甲基化水平将细胞内的氧化还原稳态和非经典谷氨酰胺代谢偶联到一起。这种调控机制提示我们, CARM1的激活剂或MDH1的抑制剂可用于干预胰腺癌的谷氨酰胺代谢。目前, 许多研究正在设计和开发针对CARM1的小分子激活剂^[27]。胰腺癌代谢特征的逐步揭示将为我们干预胰腺癌代谢提供更多的药物靶点和治疗策略。

参考文献 (References)

- 1 李 阳, 赵世民. 乙酰化修饰调节代谢. 复旦学报(医学版) (Li Yang, Zhao Shimin. Acetylation expands its territory into metabolism. Fudan Univ J Med Sci) 2011; 38(4): 283-6.
- 2 杨 鑫, 刘博雅, 朱卫国, 罗建沅. 含有多种酶活性的SIRT5蛋白在细胞代谢中的功能. 中国科学: 生命科学(Yang Xin, Liu Boya, Zhu Weiguang, Luo Jianyuan. SIRT5, functions in cellular metabolism with a multiple enzymatic activities. Sci China Life Sci) 2015; 45(11): 1069-73.
- 3 朱友明, 吴 緬. 长非编码RNA与肿瘤代谢. 生命科学(Zhu Youming, Wu Mian. Long noncoding RNA and tumor metabolism. Chinese Bulletin of Life Sciences) 2016; 28(6): 671-9.
- 4 Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 2009; 324(5930): 1029-33.
- 5 王义平, 雷群英. 乙酰化对代谢的调控及其在代谢相关疾病中的作用. 中国科学: 生命科学(Wang Yiping, Lei Qunying. Regulation of metabolism by lysine acetylation and its role in metabolic diseases. Sci China Life Sci) 2015; 45(11): 1083-92.
- 6 Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. Lancet 2011; 378(9791): 607-20.
- 7 刘颖斌, 吴文广. 胰腺全系膜切除理念争议及评价. 中国实用外科杂志(Liu Yingbin, Wu Wenguang. Controversy and evaluation of the concept of total mesopancreas excision. Chinese Journal of Practical Surgery) 2016; 36(8): 836-8.
- 8 Gaglio D, Metallo CM, Gameiro PA, Hiller K, Danna LS, Balestrieri C, *et al.* Oncogenic K-Ras decouples glucose and glutamine metabolism to support cancer cell growth. Mol Syst Biol 2011; 7: 523.
- 9 Ying H, Kimmelman AC, Lyssiotis CA, Hua S, Chu GC, Fletcher-Sananikone E, *et al.* Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism. Cell 2012; 149(3): 656-70.
- 10 Rinehart J, Adjei AA, Lorusso PM, Waterhouse D, Hecht JR, Natale RB, *et al.* Multicenter phase II study of the oral MEK inhibitor, CI-1040, in patients with advanced non-small-cell lung, breast, colon, and pancreatic cancer. J Clin Oncol 2004; 22(22): 4456-62.
- 11 Ratain MJ, Eckhardt SG. Phase II studies of modern drugs directed against new targets: If you are fazed, too, then resist

- RECIST. *J Clin Oncol* 2004; 22(22): 4442-5.
- 12 李玲, 徐小洁, 叶棋浓. 蛋白质修饰与肿瘤糖代谢. *中国科学: 生命科学*(Li Ling, Xu Xiaojie, Ye Qinong. Protein modification and tumor glycolysis. *Sci China Life Sci* 2015; 45(11): 1101-9.
- 13 徐莺莺, 王健, 雷群英. 糖代谢异常与肿瘤发生发展. *中国生化药物杂志*(Xu Yingying, Wang Jian, Lei Qunying. Dysregulation of glucose metabolism in tumorigenesis and tumor progression. *Chinese Journal of Biochemical and Pharmaceutics* 2016; 36(9): 11-5.
- 14 Wellen KE, Lu C, Mancuso A, Lemons JM, Ryczko M, Dennis JW, *et al.* The hexosamine biosynthetic pathway couples growth factor-induced glutamine uptake to glucose metabolism. *Genes Dev* 2010; 24(24): 2784-99.
- 15 Xu SN, Wang TS, Li X, Wang YP. SIRT2 activates G6PD to enhance NADPH production and promote leukaemia cell proliferation. *Sci Rep* 2016; 6: 32734.
- 16 Jiang P, Du W, Wang X, Mancuso A, Gao X, Wu M, *et al.* p53 regulates biosynthesis through direct inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Nat Cell Biol* 2011; 13(3): 310-6.
- 17 Wang YP, Zhou LS, Zhao YZ, Wang SW, Chen LL, Liu LX, *et al.* Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress. *EMBO J* 2014; 33(12): 1304-20.
- 18 王宠, 张萍, 朱卫国. 细胞自噬与肿瘤发生的关系. *中国生物化学与分子生物学报*(Wang Chong, Zhang Ping, Zhu Weiguo. Relationship between autophagy and tumorigenesis. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*) 2010; 26(11): 988-97.
- 19 Eagle H, Oyama VI, Levy M, Horton CL, Fleischman R. The growth response of mammalian cells in tissue culture to L-glutamine and L-glutamic acid. *J Biol Chem* 1956; 218(2): 607-16.
- 20 Yang C, Sudderth J, Dang T, Bachoo RG, McDonald JG, DeBerardinis RJ. Glioblastoma cells require glutamate dehydrogenase to survive impairments of glucose metabolism or Akt signaling. *Cancer Res* 2009; 69(20): 7986-93.
- 21 Jacque N, Ronchetti AM, Larrue C, Meunier G, Birsén R, Willems L, *et al.* Targeting glutaminolysis has antileukemic activity in acute myeloid leukemia and synergizes with BCL-2 inhibition. *Blood* 2015; 126(11): 1346-56.
- 22 Tardito S, Oudin A, Ahmed SU, Fack F, Keunen O, Zheng L, *et al.* Glutamine synthetase activity fuels nucleotide biosynthesis and supports growth of glutamine-restricted glioblastoma. *Nat Cell Biol* 2015; 17(12): 1556-68.
- 23 Lewis CA, Parker SJ, Fiske BP, McCloskey D, Gui DY, Green CR, *et al.* Tracing compartmentalized NADPH metabolism in the cytosol and mitochondria of mammalian cells. *Mol Cell* 2014; 55(2): 253-63.
- 24 Son J, Lyssiotis CA, Ying H, Wang X, Hua S, Ligorio M, *et al.* Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway. *Nature* 2013; 496(7443): 101-5.
- 25 Yang H, Zhou L, Shi Q, Zhao Y, Lin H, Zhang M, *et al.* SIRT3-dependent GOT2 acetylation status affects the malate-aspartate NADH shuttle activity and pancreatic tumor growth. *EMBO J* 2015; 34(8): 1110-25.
- 26 Wang YP, Zhou W, Wang J, Huang X, Zuo Y, Wang TS, *et al.* Arginine methylation of MDH1 by CARM1 inhibits glutamine metabolism and suppresses pancreatic cancer. *Mol Cell* 2016; 64(4): 673-87.
- 27 Zeng H, Wu J, Bedford MT, Sbardella G, Hoffmann FM, Bi K, *et al.* A TR-FRET-based functional assay for screening activators of CARM1. *Chembiochem* 2013; 14(7): 827-35.