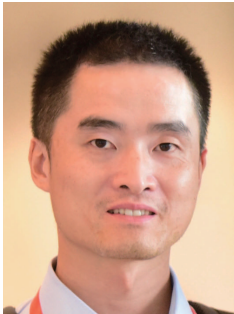


特约综述



余巍教授, 复旦大学生命科学学院博士生导师、国家“青年千人”、上海市“东方学者”特聘教授。余巍教授带领的课题组近十年的研究工作揭示了去乙酰化酶sirtuins家族调控衰老相关疾病的分子机制, 目前仍聚焦于包括肿瘤代谢在内的相关疾病发生的机制研究。自2010年以来, 以第一或通讯作者(含并列)的身份在*Cell*、*Mol Cell*、*Nat Commun*、*PNAS*、*J Biol Cell*等学术期刊上发表多篇研究论文, 被引超过2 000次。近年来, 余巍教授多次受邀在学术组织如FASEB、IUBMB组织的国际学术会议上作特邀报告。2018年担任中国细胞生物学会衰老生物学分会委员。

一碳单位代谢以及抗叶酸类抗肿瘤药物

魏珍 余巍*

(遗传工程国家重点实验室, 复旦大学生命科学学院, 上海 200438)

摘要 一碳单位代谢能感知细胞的葡萄糖、氨基酸等营养状况, 以满足细胞生长和增殖的需要。一碳单位代谢通路借助叶酸循环和甲硫氨酸循环来调控核酸、蛋白质和脂质的合成, 并维持细胞的氧化还原内稳态以及表观遗传的稳定性。近年来的研究发现, 代谢重编程是肿瘤细胞一个重要的表征, 而靶向一碳单位代谢酶和下游核酸代谢酶的抗肿瘤药物越来越受到人们的关注。该文就一碳单位代谢与疾病的关系以及抗叶酸类抗肿瘤药物的研究现状进行综述, 展望了这类化疗药物在临床应用的前景以及面临的挑战。

关键词 一碳单位代谢; 丝氨酸代谢; 甘氨酸代谢; 甲硫氨酸循环; 抗叶酸抗肿瘤药物

One-Carbon Metabolism and Anti-Folate Chemotherapeutic Drugs

Wei Zhen, Yu Wei*

(State Key Laboratory of Genetic Engineerings, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China)

Abstract One-carbon metabolism not only provides cellular components, including nucleotides, lipids and proteins, for cell growth, but also generates glutathione and S-adenosylmethionine to maintain the cellular redox status and epigenetic status. One-carbon metabolism involving folic acid cycle and methionine cycle, satisfies the requirements of cell growth and proliferation. Recently, metabolic reprogramming is the hallmark of tumor cells. Chemotherapeutic drugs directly targeting the enzymes involved in one-carbon metabolism and nucleic acids metabolism have raised a surge of interest. This review focuses on the recent developments in our understanding of one-carbon metabolism, and has led to the new recognition of relationship between metabolism and cancer biology.

Keywords one-carbon metabolism; serine metabolism; glycine metabolism; methionine cycle; anti-folate agents

国家自然科学基金(批准号: 31771545、91749120)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-31246672, E-mail: yuw@fudan.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31771545, 91749120)

*Corresponding author. Tel: +86-21-31246672, Email: yuw@fudan.edu.cn

网络出版时间: 2018-11-30 09:51:57

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.q.20181130.0951.002.html>

只含有一个碳原子的基团,称为一碳单位(one carbon units)。有关一碳单位生成和转移的代谢称为一碳单位代谢。体内的一碳单位存在多种形式:甲基(-CH₃, methyl)、亚甲基(-CH₂-, methylene)、次甲基(-CH=, methenyl)、甲酰基(-CHO, formyl)、羟甲基(-CH₂OH, hydroxymethyl)和亚氨基(-CH=NH, formimino)等。一碳单位不能以游离的形式存在,通常与四氢叶酸(tetrahydrofolate, THF)结合而被转运或参与生物代谢。在动物体内,四氢叶酸由叶酸经过二氢叶酸还原酶的两次还原反应生成。四氢叶酸是一碳单位转移酶的辅酶,且作为一碳单位的载体。当机体内缺乏叶酸或者不能生成四氢叶酸时,核酸合成受阻,细胞不分裂,细胞体积增大从而出现巨幼红细胞贫血症。THF的化学分子式由三部分构成:甲基蝶呤、对氨基苯甲酸酯和谷氨酸。一碳单位共价连接于THF分子的N5、N10位或N5和N10位上(图1)。

THF携带不同种类的一碳单位可以在细胞质和线粒体中相互转化,同时伴随氨基酸代谢、嘌呤合成、嘧啶合成、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)以及还原型谷胱甘肽生成等多个生理过程的发生。

一碳单位主要来源于氨基酸代谢,如5,10-meTHF来源于丝氨酸和甘氨酸、5-formimino-THF(以及下游5-formyl-THF)来源于组氨酸、10-formyl-THF来源于色氨酸等。这些氨基酸的缺乏可能引起诸如肝

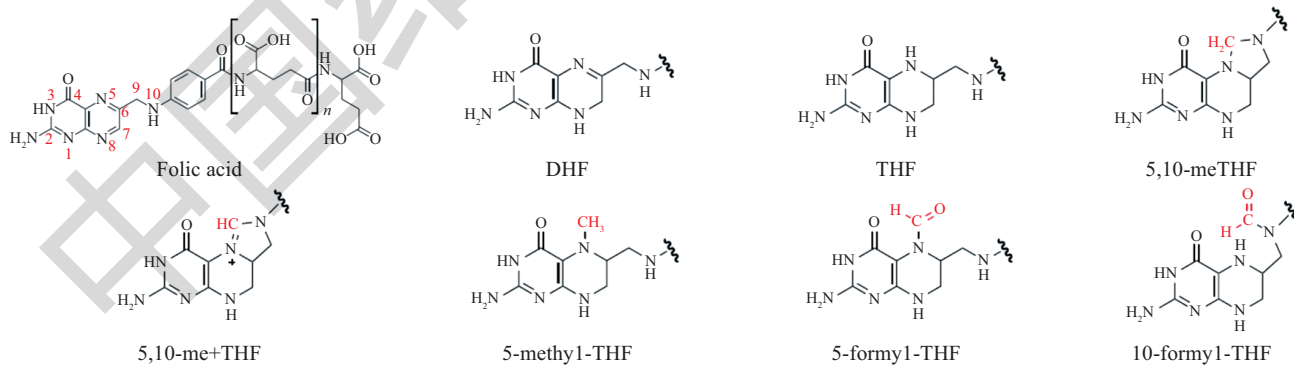
胆阻塞等严重疾病。

1 一碳单位代谢与疾病

1.1 丝氨酸代谢与疾病

丝氨酸是一种非常重要的非必需氨基酸,影响许多信号通路和生物合成途径,包括甘氨酸、半胱氨酸等氨基酸、磷脂以及核酸的合成。相比于葡萄糖,氨基酸对于生物大分子的合成更加重要^[1]。

丝氨酸是重要的一碳单位原料。来源于丝氨酸的一碳单位帮助细胞内嘌呤和胸腺嘧啶核苷酸等核酸前体物质合成。丝氨酸羟甲基酶(serine hydroxymethyltransferase, SHMT)在将丝氨酸转换成甘氨酸的过程中,一个甲基基团从丝氨酸上脱离而进入叶酸循环。随着四氢叶酸上一碳单位的转换,丝氨酸上的甲基会进入甲硫氨酸循环(methionine cycle)。稳定同位素示踪实验表明,整体水平上同型半胱氨酸的再次甲基化修饰中,绝大部分甲基供体来自于丝氨酸代谢^[2]。因此,来源于丝氨酸的甲基可能以S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)依赖的形式对细胞内的脂质、核酸和蛋白进行甲基化修饰。肿瘤细胞的丝氨酸代谢也可以通过ATP的从头合成来参与SAM的生成,从而对DNA或者RNA进行甲基化修饰^[3]。丝氨酸也是甘氨酸和半胱氨酸合成的前体物质(通过直接的转硫途径),而这两种氨基酸最终生成重要的抗氧化物——还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)。



THF: 四氢叶酸; DHF: 二氢叶酸; 5,10-meTHF: 5,10-亚甲基四氢叶酸; 5,10-me+THF: 5,10-次甲基四氢叶酸; 5-methyl-THF: 5-甲基四氢叶酸; 5-formyl-THF: 5-甲酰四氢叶酸; 10-formyl-THF: 10-甲酰四氢叶酸。

THF: tetrahydrofolate; DHF: dihydrofolate; 5,10-meTHF: 5,10-methylenetetrahydrofolate; 5,10-me+THF: 5,10-methenyltetrahydrofolate; 5-methyl-THF: 5-methyltetrahydrofolate; 5-formyl-THF: 5-formyltetrahydrofolate; 10-formyl-THF: 10-formyltetrahydrofolate。

图1 叶酸以及携带不同形式一碳单位的四氢叶酸化学结构式

Fig.1 The chemical structure of folate and THF carrying different forms of one carbon units

细胞内的丝氨酸主要有三个来源: 从头合成、细胞外摄取和蛋白水解回收、甘氨酸的转换。

1.1.1 丝氨酸从头合成途径(SSP) 机体在禁食的情况下, 细胞内大约70%的丝氨酸来源于从头合成途径(*de novo* serine synthesis pathway, SSP)。SSP的源头是糖酵解和糖异生的中间代谢产物——3-磷酸甘油酸(3-phosphoglycerate, 3-PG)。有意思的是, 丝氨酸能直接结合糖酵解的最后一个限速酶丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)并促进PKM2的变构激活^[4], 影响糖酵解和丝氨酸合成。当丝氨酸缺乏时, PKM2酶活性降低从而导致糖酵解上游的中间代谢产物累积, 其中也包括3-磷酸甘油酸, 而3-磷酸甘油酸的增多又会促进丝氨酸的从头合成^[5], 以满足细胞对丝氨酸的需求。

SSP途径主要分成三个步骤。首先, 3-磷酸甘油酸脱氢酶(phosphoglycerate dehydrogenase, PGDH/PHGDH)催化3-磷酸甘油酸转变成3-磷酸羟基丙酮酸(3-phosphohydroxypyruvate, 3-PH); 经PHGDH催化得到的3-磷酸羟基丙酮酸从谷氨酸获得一个氨基转换成3-磷酸丝氨酸(3-phosphoserine, 3-PS), 这个过程由磷酸丝氨酸转氨酶(phosphoserine aminotransferase, PSAT)催化; 接着, 通过磷酸丝氨酸磷酸酶(phosphoserine phosphatase, PSP/PSPH)的去磷酸化修饰, 最终生成丝氨酸, 完成丝氨酸的从头合成。为了应对丝氨酸缺乏, 细胞会通过SSP酶进行变构调节或翻译后修饰来促进丝氨酸的合成。丝氨酸本身就是PHGDH的变构抑制剂^[6]。当细胞内丝氨酸水平低, PHGDH的变构抑制解除导致丝氨酸合成增加。

丝氨酸从头合成途径中的任何一个酶的缺失都会导致丝氨酸缺乏病征, 特别是PHGDH的缺失在大部分这类病人体内都可以检测到。丝氨酸缺乏会造成脑脊液和血浆中丝氨酸浓度不足, 引起新生儿精神运动性抑制、小头畸形和癫痫以及导致成年人进行性多发性神经病的发生^[7]。

很多癌组织中丝氨酸合成途径是激活的。有研究在乳腺癌^[8]和黑色素瘤^[9]的肿瘤组织样本中发现PHGDH基因拷贝数增加, 且PSAT1和PSPH在高转移的乳腺癌细胞系中表达上调^[10]。在非小细胞肺癌细胞系中也能检测到丝氨酸从头合成途径酶的上调表达^[11]。在PHGDH高表达的乳腺癌细胞中敲低PHGDH会显著降低细胞的成瘤能力, 而且丝氨酸从

头合成途径酶高表达的乳腺癌细胞系对丝氨酸饥饿的耐受性更强^[8]。PHGDH小分子抑制剂的使用能有效地降低丝氨酸的合成, 抑制肿瘤细胞的增殖与成瘤^[12-14]。这些研究结果说明, 上调丝氨酸的合成可以经由一碳单位代谢通路, 为肿瘤细胞提供大量可利用的一碳单位从而促进肿瘤发生。然而在已成瘤的乳腺癌移植瘤模型中, PHGDH的敲低并不影响瘤体的维持和生长^[15]。从这个角度来说, 仅仅使用丝氨酸从头合成途径酶的抑制剂来治疗丝氨酸从头合成途径激活类型的癌症可能临床效果并不会太理想。因为丝氨酸从头合成途径只是细胞内丝氨酸来源的一种方式, 细胞内的丝氨酸还存在其他的补偿途径。

1.1.2 丝氨酸的胞外摄取和蛋白质水解回收 足够的细胞外丝氨酸有利于癌细胞的存活和增殖。丝氨酸饥饿抑制结直肠癌细胞的体外增殖和体内瘤体生长^[3,16]。限制丝氨酸和甘氨酸摄入能抑制小鼠肿瘤生长, 提高荷瘤小鼠的生存时间^[17]。更加有趣的是, 在p53缺失的肿瘤细胞中, 这种效果更明显。在丝氨酸饥饿的情况下, p53的激活促使结直肠癌细胞利用有限的丝氨酸合成谷胱甘肽提高细胞的抗氧化能力从而促进细胞存活^[18]。有研究表明, 钠离子依赖的中性氨基酸转运蛋白SLC1A4(solute carrier family 1 member 4)在乳腺癌^[19]和肺癌^[19]细胞系中高表达。这也从侧面说明, 癌细胞可能需要摄入更多的丝氨酸以及其他氨基酸来满足其快速生长的要求。

细胞可以通过胞内蛋白质的水解重新获得丝氨酸, 这个过程由巨胞饮作用和自噬完成。然而分解自身生物大分子来获得必需代谢原料势必会减缓细胞的增殖, 于是分解外源蛋白质成为细胞补给营养的有效途径。Commisso等^[20]发现, KRAS(Kirsten rat sarcoma viral proto-oncogene)持续激活突变的癌细胞可以通过巨胞饮作用维持氨基酸的巨大需求, 其中包括一碳单位的原料——丝氨酸。这种现象也在胰腺癌细胞中存在^[21]。丝氨酸可以来源于内源蛋白的自噬降解, 尤其是在营养极度匮乏的情况下, 但这并不是长久之计^[22]。已经有报道指出, 肿瘤相关的胰腺星状细胞通过巨自噬给邻近癌细胞提供非必需氨基酸^[23]。通过自身或其他细胞蛋白的自噬获得丝氨酸补给或许是癌细胞一种有效的环境适应手段。

1.1.3 丝氨酸来源于甘氨酸的转换 细胞质以及线粒体中的丝氨酸羟甲基转移酶SHMT可以催化甘氨酸和丝氨酸的相互转换。细胞质的SHMT1倾向于合成丝氨酸, 线粒体的SHMT2倾向于利用丝氨酸。在多种人源肿瘤样本中SHMT2都高表达^[24-25], 这说明, 癌细胞的增殖高度依赖于丝氨酸。

1.2 甘氨酸代谢与疾病

甘氨酸是嘌呤合成的前体物质, 它的两个碳原子都参与嘌呤骨架环的生成, 而且由丝氨酸生成甘氨酸过程中产生的5,10-meTHF经过一系列一碳单位代谢最后转换成的10-formyl-THF, 也为嘌呤环提供四个碳原子^[16]。甘氨酸是细胞内核酸合成的重要原料, 甘氨酸缺乏会导致DNA合成受阻, 细胞生长和增殖受损。

线粒体是细胞内ROS(reactive oxygen species)的主要产生场所, 同时也是许多还原力的产生场所。还原型谷胱甘肽是细胞主要抗氧化物, 它由半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸合成。由于遗传或营养条件造成的甘氨酸缺乏会导致线粒体功能紊乱、癌细胞生长停滞。

甘氨酸也是一种双功能性的神经递质。在脑干和脊髓中, 甘氨酸作为抑制性神经递质^[26], 与特定受体结合从而抑制神经冲动传递; 而在大脑皮层中, 甘氨酸是一类兴奋性神经递质, 能竞争性结合N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体^[27]。NMDA受体的激活对于神经系统的发育很重要, 影响退行性疾病的发生。

1.2.1 甘氨酸的合成代谢与疾病 细胞内的甘氨酸来源有很多。丝氨酸通过SHMT的转换生成甘氨酸。苏氨酸经过苏氨酸脱氢酶(threonine dehydrogenase, TDH)和甘氨酸C-端乙酰转移酶(glycine C-acetyltransferase, GCAT)生成甘氨酸。甜菜碱、胆碱、N-甲基甘氨酸、二甲基甘氨酸等经过一系列脱甲基作用也可以生成甘氨酸。

SHMT催化的丝氨酸和甘氨酸的相互转换, 为一碳单位库提供了主要的甲基来源, 对核酸从头合成和DNA甲基化非常重要。这个反应连接着丝氨酸和甘氨酸这两个重要的非必需氨基酸, 对正常的氨基酸代谢、氧化还原内稳态、表观遗传、基因组稳定、肿瘤的发生和神经发育等都非常重要。因而, 丝氨酸羟甲基转移酶SHMT引起了足够的关注。

哺乳动物SHMT是一种磷酸吡哆醛(pyridoxal

5'-phosphate, PLP)依赖的代谢酶。它催化一个可逆反应, 将丝氨酸的 β 碳原子转移到THF上, 生成甘氨酸和5,10-meTHF。人基因组中有两个SHMT核编码基因: *SHMT1*和*SHMT2*, 它们分别编码细胞质丝氨酸羟甲基转移酶SHMT1和线粒体丝氨酸羟甲基转移酶SHMT2。*SHMT1*和*SHMT2*都是转录因子c-Myc的靶基因^[28], 而且在不同肿瘤中都发现了c-Myc对它们的表达以及活性的调控作用。尽管SHMT1和SHMT2催化着同样的生物化学反应, 但是它们在肿瘤以及其他疾病里的表现并不相同。在c-Myc诱导的淋巴瘤生成小鼠模型中, SHMT1缺失与否对瘤体的生长并没有明显影响。在Apc^{Min}小鼠模型中, SHMT1缺失也不影响结肠腺癌的发生和发展^[29]。多个肿瘤病人RNAseq和病理组织切片芯片数据显示, SHMT2在多种肿瘤里高表达而SHMT1并没有^[25,30]。因此, 线粒体里的一碳单位代谢对疾病的发生发展尤为重要。

SHMT2在多种肿瘤中的表达显著上调, 包括结直肠癌、脑癌、肾癌、膀胱癌等。临床研究表明, SHMT2高表达与肿瘤进展以及病人预后密切相关^[31-32]。在乳腺癌细胞中, 低氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor 1 subunit alpha, HIF1 α)和Myc协作上调SHMT2表达^[24], 提高细胞内NADPH浓度, 恢复氧化还原内稳态, 从而促进癌细胞在低氧条件下的生长。在小鼠局部坏死的脑组织中, SHMT2高表达且在低氧条件下过表达SHMT2能促进胶质瘤细胞LN229的增殖^[33]。下调SHMT2的表达能抑制肝细胞癌细胞的成瘤^[34]。此外, 在人结直肠癌细胞中同时敲除*SHMT1*和*SHMT2*能完全抑制移植瘤的形成^[35]。大多数情况下, 一碳单位的供体甲酸能恢复由于SHMT抑制引起的细胞增殖减慢^[36], 然而在甘氨酸受体缺陷的弥漫性大B细胞瘤细胞系中回补甲酸, 会加剧SHMT抑制情况下的细胞死亡^[37]。在甘氨酸缺失的情况下, 过多的一碳单位会对细胞造成压力, 反而迫使细胞停止生长甚至死亡。最近, Wei等^[38]发现, 长寿基因*SIRT3*[Sirtuin (silent mating type information regulation 2 homolog) 3]通过去乙酰化SHMT2稳定SHMT2的表达且保持其高的酶活性, 从而促进结直肠癌的发生。因而, SHMT2在癌症发展中发挥重要作用。除此之外, 敲除*SHMT2*会影响T细胞的存活以及T细胞的成熟分化^[39]。

SHMT2参与线粒体dTMP的合成^[40], 而SHMT1

和缺失线粒体导肽的SHMT2 α 参与细胞核dTMP的合成^[41]。缺失SHMT2基因的小鼠线粒体呼吸链功能故障, 出现未老先衰表型, 有的甚至胚胎致死^[42]。同样, 在人Jurkat白血病T细胞中敲除SHMT2导致线粒体tRNA甲酰化产物, fMet-tRNA^{Met}的生成受阻^[43], 而此甲酰化修饰是线粒体基因起始翻译的必要条件。类似情况也存在于人HCT116细胞中, SHMT2缺失导致线粒体tRNA甲基化修饰不足, 从而影响线粒体基因的翻译, 特别是呼吸链复合体蛋白的翻译, 导致线粒体呼吸链功能受损, 氧化磷酸化效率低下^[44]。有研究报道, SHMT2是去泛素化复合体BRISC(BRCC36-containing isopeptidase complex, BRCC36异肽酶复合体)的骨架蛋白^[45]。SHMT2被证实在BRISC对干扰素受体IFN α 1 K63去泛素修饰过程中, 限制受体内吞和溶酶体途径降解的过程中是必需的。这也提示, SHMT2在细胞质定位的可能性。同样, Wei等^[38]也认为, 在某些条件刺激下SHMT2会存在于细胞质中。他们的研究表明, 高葡萄糖浓度下, 高度乙酰化的SHMT2会在细胞质中被自噬溶酶体降解^[38]。

甘氨酸的合成代谢特别是经SHMT2转换的甘氨酸生成, 在不同组织、不同类型的癌细胞、不同营养或环境条件下的表现和调控不尽相同, 因此, 需谨慎处理甘氨酸合成代谢与疾病的关系。

1.2.2 甘氨酸的分解代谢与疾病 甘氨酸裂解系统(glycine cleavage system, GCS)也称为甘氨酸脱羧酶复合体(glycine decarboxylase complex, GDC), 主要由四种不同功能的酶组成: P-蛋白、H-蛋白、T-蛋白和L-蛋白。P-蛋白为甘氨酸脱羧酶(glycine decarboxylase, GLDC); H-蛋白为骨架蛋白(glycine cleavage system protein H, GCSH), 负责中间产物的穿梭; T-蛋白为氨甲基转移酶(aminomethyltransferase, GCST或AMT); L-蛋白为二氢硫辛酸脱氢酶(dihydrolipoyl dehydrogenase, GCSL或DLD)。在体内, 它们组成一个比较稳定的复合体, 大约以2P:27H:9T:1L组成^[46], 可以松散地附着在动植物线粒体内膜上。但是在体外, 这个系统的组成并不稳定。

GCS催化甘氨酸的氧化裂解是一个多步反应过程。首先, P-蛋白催化甘氨酸分子脱羧产生一个CO₂分子, 同时将氨甲基转移到氧化型H-蛋白(Hox)的硫辛酸基团的硫原子上, 产生氨甲基化H-蛋白(Ham)。

随后, T-蛋白催化Ham上的亚甲基转移到THF上, 释放一个NH₃分子从而产生还原型H-蛋白(Hred)。最后, Hred上的二氢硫辛酸基团被L-蛋白氧化, Hox上的硫辛酸基团得以再生, 完成整个甘氨酸裂解循环。整个GCS过程最终将甘氨酸分解成CO₂和NH₃被机体排出体外, 且为一碳单位代谢提供一个甲基。

几乎在所有物种中, GCS作为甘氨酸降解系统都发挥了重要功能。人类GCS基因发生一个突变就会引起血液中甘氨酸急剧累积导致严重的神经疾病, 如非酮性高甘氨酸血症(nonketotic hyperglycinemia, NKH)或者称甘氨酸脑病(glycine encephalopathy)^[47]。NKH是一种罕见常染色体隐性遗传的甘氨酸代谢紊乱疾病, 是继苯丙酮尿症后, 由于氨基酸代谢紊乱导致的第二大常见严重疾病。NKH病人的体液和组织液特别是脑脊液的甘氨酸水平异常高, 且常常出现神经性病理症状如癫痫、认知障碍和脑发育异常。

Kim等^[33]认为, GLDC的抑制会损伤高表达SHMT2的癌细胞。因为如果抑制GLDC, 由丝氨酸经SHMT2转换而来的甘氨酸就不能正常被GCS降解, 促使过多的甘氨酸生成细胞毒性分子氨基丙酮和丙酮醛。很多癌细胞都依赖于SHMT2的高表达, 然而这些细胞对甘氨酸的裂解系统也很敏感, 或许这是治疗这一类癌症的新思路。

1.3 甲硫氨酸循环

THF携带的还原程度最高的一碳单位形式5-methyl-THF最后脱去甲基, 重新再进入叶酸循环前需先进入甲硫氨酸循环。甲硫氨酸循环能活化甲硫氨酸的S-甲基使之转变成细胞内一个重要的甲基供体——SAM。SAM参与了组蛋白、DNA、RNA的甲基化以及所有蛋白质上赖氨酸和精氨酸的甲基化^[48-50], 是细胞内一个主要的甲基供体。来源于一碳单位的甲基为翻译后修饰提供了丰富的底物。

在甲硫氨酸合酶及其辅酶维生素B12的催化下, 同型半胱氨酸从5-methyl-THF得到一个甲基生成甲硫氨酸, 伴随产生的THF被SHMT利用再次进入叶酸循环。S-腺苷甲硫氨酸合酶催化甲硫氨酸和三磷酸腺苷(ATP)反应生成S-腺苷甲硫氨酸即SAM。SAM作为甲基供体被各种甲基转移酶利用对底物进行甲基化修饰, 失去甲基的SAM则为S-腺苷同型半胱氨酸(S-adenosyl homocysteine, SAH)。SAH在SAH水解酶的作用下, 脱去腺苷再生成同型半胱氨酸。

酸以完成甲硫氨酸循环(methionine cycle)。

改变甲硫氨酸的浓度会引起细胞内SAM/SAH的比值改变, 从而影响许多甲基化修饰。SAM/SAH的比值受到一碳单位代谢的调控, SAM能抑制MTHFR的活性^[51], 减少5-methyl-THF的产生避免同型半胱氨酸再次被甲基化; 5-methyl-THF通过抑制甘氨酸N-末端甲基转移酶(glycine-N-methyltransferase, GNMT)的活性^[52]来减少SAM的消耗; SHMT1对5-methyl-THF高度亲和^[53], 截留5-methyl-THF阻断甲硫氨酸循环。而且研究发现, SHMT1缺失会提高小鼠体内SAM水平^[54], 而SHMT1过表达则会降低SAM水平^[55]。

表观遗传修饰是细胞在不改变DNA序列的情况下, 受到外部环境或内部生命进程的影响处于动态变化的一种调控过程, 它会影响到基因的表达从而改变机体表型并可能导致疾病的发生。甲基化修饰是表观遗传中一个重要的类别。SAM是细胞内主要的甲基供体, 因此DNA或组蛋白的甲基化依赖于—碳单位代谢的甲硫氨酸循环且受到饮食中叶酸、胆碱和甜菜碱含量的影响, 表观遗传与营养条件之间有着密切的联系。

1.4 叶酸依赖的还原力生成

定量代谢流分析显示, 来自磷酸戊糖途径和苹果酸脱氢酶产生的NADPH大约占细胞内NADPH总产量的30%, 来源于—碳单位代谢途径的NADPH大约占到了40%^[56]。敲低细胞质或者线粒体亚甲基四氢叶酸脱氢酶(methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, MTHFD)都能导致细胞内NADPH/NADP⁺和GSH/GSSG比值下降, 从而提高细胞对氧压力的敏感性。NADH和NADPH是很多抗氧化蛋白发挥功能所必需的。线粒体MTHFD2在催化5,10-meTHF生成10-formyl-THF的过程中产生的NADPH以及10-formyl-THF最终氧化产生的NADPH, 将—碳单位代谢与呼吸链上的氧化磷酸化连接起来, 形成线粒体氧化还原内稳态的调控体系。MTHFD2敲除的小鼠胚胎致死, 而在成年人的大多数正常组织中MTHFD2是缺失的。在多种癌症类型病人体内MTHFD2持续高表达, 且MTHFD2高表达伴随着乳腺癌病人预后差^[57]。

丝氨酸、甘氨酸以及甲硫氨酸代谢失常, 都会影响到线粒体内还原力的生成从而造成线粒体功能紊乱以及细胞癌变。还原型谷胱甘肽(GSH)是细

胞内另一重要的抗氧化剂, 由半胱氨酸、甘氨酸和谷氨酸构成, 它在细胞内的浓度很高, 经常能达到5 mmol/L^[58]。谷氨酰胺代谢会生成还原型谷胱甘肽和NADPH, 而许多癌细胞生长需要大量摄入谷氨酰胺^[59]。还原型谷胱甘肽对清除活性氧(ROS)维持NADPH/NADP⁺的正常比例非常重要, 而后者往往为合成代谢所必需。低浓度的ROS有利于细胞的存活和增殖, 但是高浓度的ROS会促使DNA损伤和细胞死亡^[60-61]。此外, 激活的T细胞主要依赖于谷胱甘肽控制细胞内ROS浓度^[62]。

2 靶向—碳单位通路代谢酶的临床药物

细胞的增殖需要为新生成的子细胞提供蛋白质、脂质、核酸等生物大分子, 同时也要保证母细胞和子细胞内氧化还原内稳态和维持基因组、表观遗传的稳定性。包括丝氨酸和甘氨酸在内的氨基酸代谢以及它们提供的一碳单位, 正好可以满足癌细胞快速增殖的这些要求。因此, 现代很多癌症治疗策略已经靶向了—碳单位代谢酶和—碳单位代谢通路下游的核酸代谢酶。这种化疗方法的尝试一开始是基于70年前抗叶酸药物对恶性血液病的有效缓解^[63-64]。目前已被美国FDA批准的一碳单位通路代谢酶的靶向药物见表1。

在这类药物中, 甲氨蝶呤和培美曲塞是主要的癌症化疗药物, 它们目前被用于治疗多种类型的癌症, 包括急性白血病、乳腺癌、膀胱癌和淋巴瘤。最近研究表明, 培美曲塞在体外能抑制SHMT2的活性^[65]。5-氟尿嘧啶模拟尿嘧啶抑制胸腺嘧啶核苷酸合酶的活性, 从而阻止脱氧尿嘧啶甲基化为脱氧胸腺嘧啶^[66], 扰乱叶酸循环, 阻碍DNA的合成。亚叶酸钙与5-氟尿嘧啶联用被临床证明能提高晚期结肠癌患者的生存时间。

由于—碳单位对正常细胞和癌细胞都是必需的, 因此抗叶酸抗肿瘤药物存在一些严重副作用。此外, 与其他的化疗药物一样, 这些药物也面临着一个耐药性的问题。癌细胞对抗叶酸抗肿瘤靶向药的耐药性机制^[67]主要有四点: 一是药物摄入受阻, 叶酸转运受体[如RFC(reduced folate carrier)、PCFT(proton-coupled folate transporter)、FR(folate receptor)]受损; 二是不能在细胞内稳定滞留, 叶酰多聚谷氨酸合成酶(folylpoly- γ -glutamate synthetase, FPGS)缺失或功能异常, 导致抗叶酸

表1 靶向一碳单位代谢酶的抗肿瘤药物

Table 1 Anti-tumor drugs targeting one-carbon metabolic enzymes

中文名 Drug Chinese name	英文名 Drug English name	靶点 Targets	主要适用的肿瘤类型 Therapeutic uses
吉西他滨	Gemcitabine	Ribonucleotide reductase	Pancreatic cancer
5-氟尿嘧啶	5-Fluorouracil	TYMS	Multiple cancers, such as colorectal cancer
甲氨蝶呤	Methotrexate	DHFR, MTHFR	Multiple cancers, such as acute leukemia
培美曲塞	Pemetrexed	DHFR, TYMS, MTHFR	Non-small cell lung carcinoma, pleural mesothelioma
普拉曲沙	Pralatrexate	DHFR	Peripheral T-cell lymphoma
雷替曲塞	Raltitrexed	DHFR, TYMS	Colorectal cancer

TYMS: 胸腺嘧啶核苷酸合酶; DHFR: 二氢叶酸还原酶; MTHFR: 亚甲基四氢叶酸还原酶。

TYMS: thymidylate synthas; DHFR: dihydrofolate reductase; MTHFR: methylenetetrahydrofolate.

药物的多聚谷氨酸化受阻或者 γ -谷氨酰水解酶(γ -glutamyl hydrolase, GGH)过表达,造成多聚谷氨酸化的抗叶酸药物水解成易被输出的单谷氨酸化状态;三是抗叶酸药物的靶点酶过表达或者突变降低对药物的亲和力;四是MDR型ABC转运蛋白[the multidrug resistance (MDR)-type ATP-binding cassette (ABC) transporters]的高表达促使抗叶酸药物的输出。

未来抗叶酸药物可能直接针对特定的一碳单位代谢酶,比如癌细胞中高表达的SHMT2^[24-25]和只在胚胎、肿瘤和未分化组织中表达的MTHFD2^[57],疗效或许会得到改善。而设计抗叶酸药物小分子偏向结合癌细胞特有的叶酸转运受体可能降低药物的副作用。针对线粒体一碳单位代谢的靶向抑制剂药物还有一个不足,即生物膜透过性差。抑制剂必须有效通过细胞膜以及线粒体的两层脂质膜才能到达线粒体基质发挥作用,亲脂性正离子附着药物表面或许能提高靶向抑制剂的脂质生物膜透过性^[68]。靶向丝氨酸从头合成途径中PHGDH的小分子抑制剂近年来也研究得比较多,虽然初步实验证明这些小分子抑制剂能抑制PHGDH依赖型的癌细胞的生长和成瘤^[12-14],但是在已成型的瘤体内并不见效。PHGDH是一个多功能酶,作为化疗靶点还需要更进一步的理论支撑。不依赖高丝氨酸从头合成途径活性的肿瘤细胞可以通过从细胞外摄取丝氨酸来满足需求,因此饮食控制丝氨酸和甘氨酸摄入或许也是一种有效抗癌手段。非常有意思的是,最近美国科学家Kanarek等^[69]发表在*Nature*上的文章指出,组氨酸降解途径影响细胞对甲氨蝶呤的敏感性,饮食中补充组氨酸可以在保持良好的化疗效果的同时减少

病人服用甲氨蝶呤的剂量。开发针对肿瘤细胞一碳代谢酶的特异性靶向药物可以降低药物对正常细胞的损伤,从而减少副作用,但是细胞内代谢通路通常都有补偿机制,这对靶向药物的研发又是一项挑战。因此,研究人员仍需付出巨大努力进行抗一碳单位代谢化疗药物的筛选。

3 结语与展望

一碳单位代谢对细胞的存活和增殖非常重要,尤其是对快速增殖的肿瘤细胞。来源于丝氨酸的一碳单位为细胞核以及线粒体的核酸合成提供原材料和能量。丝氨酸和甘氨酸的相互转换促使不同形式的一碳单位经过叶酸循环而进入甲硫氨酸循环,为表观遗传提供甲基供体-SAM,丰富细胞的精细调控机制。过多的ROS是多种神经退行性疾病以及细胞衰老的诱因,而一碳单位在相互转换时合成还原力NAD(P)H,联合还原型谷胱甘肽及时有效地清除ROS,维持细胞的氧化还原内稳态,以保证各项生命活动的正常进行。

目前,针对一碳单位代谢酶设计靶向抗肿瘤药物已得到广泛关注,多种靶向药物逐渐上市。然而这些药物的副作用和耐药性是一个不容忽视的问题。未来,针对不同叶酸受体的个性化治疗、攻破癌细胞特异性高表达代谢酶的基础研究、结合高分子材料设计线粒体膜高透性的给药系统以及丝氨酸、甘氨酸、组氨酸等食疗可能是抗叶酸抗肿瘤药物开发的主流方向。

参考文献 (References)

- Hosios AM, Hecht VC, Danai LV, Johnson MO, Rathmell JC,

- Steinhauser ML, *et al.* Amino acids rather than glucose account for the majority of cell mass in proliferating mammalian cells. *Dev Cell* 2016; 36(5): 540-9.
- 2 Davis SR, Stacpoole PW, Williamson J, Kick LS, Quinlivan EP, Coats BS, *et al.* Tracer-derived total and folate-dependent homocysteine remethylation and synthesis rates in humans indicate that serine is the main one-carbon donor. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 286(2): E272-9.
- 3 Maddocks OD, Labuschagne CF, Adams PD, Vousden KH. Serine metabolism supports the methionine cycle and DNA/RNA methylation through *de novo* ATP synthesis in cancer cells. *Mol Cell* 2016; 61(2): 210-21.
- 4 Chaneton B, Hillmann P, Zheng L, Martin ACL, Maddocks ODK, Chokkathukalam A, *et al.* Serine is a natural ligand and allosteric activator of pyruvate kinase M2. *Nature* 2012; 491(7424): 458-62.
- 5 Ye J, Mancuso A, Tong X, Ward PS, Fan J, Rabinowitz JD, *et al.* Pyruvate kinase M2 promotes *de novo* serine synthesis to sustain mTORC1 activity and cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(18): 6904-9.
- 6 Sugimoto E, Pizer LI. The mechanism of end product inhibition of serine biosynthesis. I. Purification and kinetics of phosphoglycerate dehydrogenase. *J Biol Chem* 1968; 243(9): 2081-9.
- 7 van der Crabben SN, Verhoeven-Duif NM, Brilstra EH, Van Maldergem L, Coskun T, Rubio-Gozalbo E, *et al.* An update on serine deficiency disorders. *J Inher Metab Dis* 2013; 36(4): 613-9.
- 8 Possemato R, Marks KM, Shaul YD, Pacold ME, Kim D, Birsoy K, *et al.* Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer. *Nature* 2011; 476(7360): 346-50.
- 9 Locasale JW, Grassian AR, Melman T, Lyssiotis CA, Mattaini KR, Bass AJ, *et al.* Phosphoglycerate dehydrogenase diverts glycolytic flux and contributes to oncogenesis. *Nat Genet* 2011; 43(9): 869-74.
- 10 Pollari S, Kakonen SM, Edgren H, Wolf M, Kohonen P, Sara H, *et al.* Enhanced serine production by bone metastatic breast cancer cells stimulates osteoclastogenesis. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 125(2): 421-30.
- 11 Zhang WC, Shyh-Chang N, Yang H, Rai A, Umashankar S, Ma S, *et al.* Glycine decarboxylase activity drives non-small cell lung cancer tumor-initiating cells and tumorigenesis. *Cell* 2012; 148(1/2): 259-72.
- 12 Pacold ME, Brimacombe KR, Chan SH, Rohde JM, Lewis CA, Swier LJ, *et al.* A PHGDH inhibitor reveals coordination of serine synthesis and one-carbon unit fate. *Nat Chem Biol* 2016; 12(6): 452-8.
- 13 Mullarky E, Lucki NC, Beheshti Zavareh R, Anglin JL, Gomes AP, Nicolay BN, *et al.* Identification of a small molecule inhibitor of 3-phosphoglycerate dehydrogenase to target serine biosynthesis in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113(7): 1778-83.
- 14 Wang Q, Liberti MV, Liu P, Deng X, Liu Y, Locasale JW, *et al.* Rational design of selective allosteric inhibitors of PHGDH and serine synthesis with anti-tumor activity. *Cell Chem Biol* 2017; 24(1): 55-65.
- 15 Chen J, Chung F, Yang G, Pu M, Gao H, Jiang W, *et al.* Phosphoglycerate dehydrogenase is dispensable for breast tumor maintenance and growth. *Oncotarget* 2013; 4(12): 2502-11.
- 16 Labuschagne CF, van den Broek NJ, Mackay GM, Vousden KH, Maddocks OD. Serine, but not glycine, supports one-carbon metabolism and proliferation of cancer cells. *Cell Rep* 2014; 7(4): 1248-58.
- 17 Maddocks ODK, Athineos D, Cheung EC, Lee P, Zhang T, van den Broek NJF, *et al.* Modulating the therapeutic response of tumours to dietary serine and glycine starvation. *Nature* 2017; 544(7650): 372-6.
- 18 Maddocks OD, Berkers CR, Mason SM, Zheng L, Blyth K, Gottlieb E, *et al.* Serine starvation induces stress and p53-dependent metabolic remodelling in cancer cells. *Nature* 2013; 493(7433): 542-6.
- 19 Riscal R, Schrepfer E, Arena G, Cisse MY, Bellvert F, Heuillet M, *et al.* Chromatin-bound MDM2 regulates serine metabolism and redox homeostasis independently of p53. *Mol Cell* 2016; 62(6): 890-902.
- 20 Commisso C, Davidson SM, Soydaner-Azeloglu RG, Parker SJ, Kamphorst JJ, Hackett S, *et al.* Macropinocytosis of protein is an amino acid supply route in Ras-transformed cells. *Nature* 2013; 497(7451): 633-7.
- 21 Kamphorst JJ, Nofal M, Commisso C, Hackett SR, Lu W, Grabocka E, *et al.* Human pancreatic cancer tumors are nutrient poor and tumor cells actively scavenge extracellular protein. *Cancer Res* 2015; 75(3): 544-53.
- 22 Galluzzi L, Pietrocola F, Bravo-San Pedro JM, Amaravadi RK, Baehrecke EH, Cecconi F, *et al.* Autophagy in malignant transformation and cancer progression. *EMBO J* 2015; 34(7): 856-80.
- 23 Sousa CM, Biancur DE, Wang X, Halbrook CJ, Sherman MH, Zhang L, *et al.* Pancreatic stellate cells support tumour metabolism through autophagic alanine secretion. *Nature* 2016; 536(7617): 479-83.
- 24 Ye J, Fan J, Venneti S, Wan YW, Pawel BR, Zhang J, *et al.* Serine catabolism regulates mitochondrial redox control during hypoxia. *Cancer Discov* 2014; 4(12): 1406-17.
- 25 Jain M, Nilsson R, Sharma S, Madhusudhan N, Kitami T, Souza AL, *et al.* Metabolite profiling identifies a key role for glycine in rapid cancer cell proliferation. *Science* 2012; 336(6084): 1040-4.
- 26 Betz H, Laube B. Glycine receptors: recent insights into their structural organization and functional diversity. *J Neurochem* 2006; 97: 1600-10.
- 27 Dannhardt G, Kohl BK. The glycine site on the NMDA receptor: structure-activity relationships and possible therapeutic applications. *Curr Med Chem* 1998; 5(4): 253-63.
- 28 Nikiforov MA, Chandriani S, O'Connell B, Petrenko O, Kotenko I, Beavis A, *et al.* A functional screen for Myc-responsive genes reveals serine hydroxymethyltransferase, a major source of the one-carbon unit for cell metabolism. *Mol Cell Biol* 2002; 22(16): 5793-800.
- 29 Nilsson LM, Forshell TZ, Rimpi S, Kreutzer C, Pretsch W, Bornkamm GW, *et al.* Mouse genetics suggests cell-context dependency for Myc-regulated metabolic enzymes during tumorigenesis. *PLoS Genet* 2012; 8(3): e1002573.
- 30 Lee GY, Haverty PM, Li L, Kljavin NM, Bourgon R, Lee J, *et al.* Comparative oncogenomics identifies PSMB4 and SHMT2 as

- potential cancer driver genes. *Cancer Res* 2014; 74(11): 3114-26.
- 31 Zhang L, Chen Z, Xue D, Zhang Q, Liu X, Luh F, *et al.* Prognostic and therapeutic value of mitochondrial serine hydroxyl-methyltransferase 2 as a breast cancer biomarker. *Oncol Rep* 2016; 36(5): 2489-500.
- 32 Miyo M, Konno M, Colvin H, Nishida N, Koseki J, Kawamoto K, *et al.* The importance of mitochondrial folate enzymes in human colorectal cancer. *Oncol Rep* 2017; 37(1): 417-25.
- 33 Kim D, Fiske BP, Birsoy K, Freinkman E, Kami K, Possemato RL, *et al.* SHMT2 drives glioma cell survival in ischaemia but imposes a dependence on glycine clearance. *Nature* 2015; 520(7547): 363-7.
- 34 Woo CC, Chen WC, Teo XQ, Radda GK, Lee PT. Downregulating serine hydroxymethyltransferase 2 (SHMT2) suppresses tumorigenesis in human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7(33): 53005-17.
- 35 Ducker GS, Chen L, Morscher RJ, Ghergurovich JM, Esposito M, Teng X, *et al.* Reversal of cytosolic one-carbon flux compensates for loss of the mitochondrial folate pathway. *Cell Metab* 2016; 24(4): 640-1.
- 36 Yang X, Wang Z, Li X, Liu B, Liu M, Liu L, *et al.* SHMT2 Desuccinylation by SIRT5 drives cancer cell proliferation. *Cancer Res* 2018; 78(2): 372-86.
- 37 Ducker GS, Ghergurovich JM, Mainolfi N, Suri V, Jeong SK, Hsin-Jung Li S, *et al.* Human SHMT inhibitors reveal defective glycine import as a targetable metabolic vulnerability of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(43): 11404-9.
- 38 Wei Z, Song J, Wang G, Cui X, Zheng J, Tang Y, *et al.* Deacetylation of serine hydroxymethyl-transferase 2 by SIRT3 promotes colorectal carcinogenesis. *Nat Commun* 2018; 9(1): 4468.
- 39 Ma EH, Bantug G, Griss T, Condotta S, Johnson RM, Samborska B, *et al.* Serine is an essential metabolite for effector T cell expansion. *Cell Metab* 2017; 25: 345-57.
- 40 Hebring SJ, Chai Y, Ji Y, Abo RP, Jenkins GD, Fridley B, *et al.* Serine hydroxymethyltransferase 1 and 2: gene sequence variation and functional genomic characterization. *J Neurochem* 2012; 120(6): 881-90.
- 41 Anderson DD, Stover PJ. SHMT1 and SHMT2 are functionally redundant in nuclear *de novo* thymidylate biosynthesis. *PLoS One* 2009; 4(6): e5839.
- 42 Tani H, Ohnishi S, Shitara H, Mito T, Yamaguchi M, Yonekawa H, *et al.* Mice deficient in the Shmt2 gene have mitochondrial respiration defects and are embryonic lethal. *Sci Rep* 2018; 8(1): 425.
- 43 Minton DR, Nam M, McLaughlin DJ, Shin J, Bayraktar EC, Alvarez SW, *et al.* Serine catabolism by SHMT2 is required for proper mitochondrial translation initiation and maintenance of formylmethionyl-tRNAs. *Mol Cell* 2018; 69(4): 610-21e5.
- 44 Morscher RJ, Ducker GS, Li SH, Mayer JA, Gitai Z, Sperl W, *et al.* Mitochondrial translation requires folate-dependent tRNA methylation. *Nature* 2018; 554(7690): 128-32.
- 45 Zheng H, Gupta V, Patterson-Fortin J, Bhattacharya S, Katlinski K, Wu J, *et al.* A BRISC-SHMT complex deubiquitinates IFNAR1 and regulates interferon responses. *Cell Rep* 2013; 5(1): 180-93.
- 46 Nakai T, Nakagawa N, Maoka N, Masui R, Kuramitsu S, Kamiya N. Structure of P-protein of the glycine cleavage system: implications for nonketotic hyperglycinemia. *EMBO J* 2005; 24(8): 1523-36.
- 47 Applegarth DA, Toone JR. Nonketotic hyperglycinemia (glycine encephalopathy): laboratory diagnosis. *Mol Genet Metab* 2001; 74(1/2): 139-46.
- 48 Katada S, Imhof A, Sassone-Corsi P. Connecting threads: epigenetics and metabolism. *Cell* 2012; 148(1/2): 24-8.
- 49 Chen C, Nott TJ, Jin J, Pawson T. Deciphering arginine methylation: Tudor tells the tale. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(10): 629-42.
- 50 Anderson OS, Sant KE, Dolinoy DC. Nutrition and epigenetics: an interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation. *J Nutr Biochem* 2012; 23(8): 853-9.
- 51 Kutzbach C, Stokstad EL. Mammalian methylenetetrahydrofolate reductase. Partial purification, properties, and inhibition by S-adenosylmethionine. *Biochim Biophys Acta* 1971; 250(3): 459-77.
- 52 Yeo EJ, Wagner C. Purification and properties of pancreatic glycine N-methyltransferase. *J Biol Chem* 1992; 267(34): 24669-74.
- 53 Herbig K, Chiang EP, Lee LR, Hills J, Shane B, Stover PJ. Cytoplasmic serine hydroxymethyltransferase mediates competition between folate-dependent deoxyribonucleotide and S-adenosylmethionine biosyntheses. *J Biol Chem* 2002; 277(41): 38381-9.
- 54 MacFarlane AJ, Liu X, Perry CA, Flodby P, Allen RH, Stabler SP, *et al.* Cytoplasmic serine hydroxymethyltransferase regulates the metabolic partitioning of methylenetetrahydrofolate but is not essential in mice. *J Biol Chem* 2008; 283(38): 25846-53.
- 55 MacFarlane AJ, Anderson DD, Flodby P, Perry CA, Allen RH, Stabler SP, *et al.* Nuclear localization of *de novo* thymidylate biosynthesis pathway is required to prevent uracil accumulation in DNA. *J Biol Chem* 2011; 286(51): 44015-22.
- 56 Fan J, Ye J, Kamphorst JJ, Shlomi T, Thompson CB, Rabinowitz JD. Quantitative flux analysis reveals folate-dependent NADPH production. *Nature* 2014; 510(7504): 298-302.
- 57 Nilsson R, Jain M, Madhusudhan N, Sheppard NG, Strittmatter L, Kampf C, *et al.* Metabolic enzyme expression highlights a key role for MTHFD2 and the mitochondrial folate pathway in cancer. *Nat Commun* 2014; 5: 3128.
- 58 Bennett BD, Yuan J, Kimball EH, Rabinowitz JD. Absolute quantitation of intracellular metabolite concentrations by an isotope ratio-based approach. *Nat Protoc* 2008; 3(8): 1299-311.
- 59 Hensley CT, Wasti AT, DeBerardinis RJ. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *J Clin Invest* 2013; 123(9): 3678-84.
- 60 Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12(12): 931-47.
- 61 Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell* 2012; 48(2): 158-67.
- 62 Mak TW, Grusdat M, Duncan GS, Dostert C, Nonnenmacher Y, Cox M, *et al.* Glutathione primes T cell metabolism for inflammation. *Immunity* 2017; 46(4): 675-89.
- 63 Farber S, Cutler EC, Hawkins JW, Harrison JH, Peirce EC 2nd, Lenz GG. The action of pteroylglutamic conjugates on man. *Science* 1947; 106(2764): 619-21.

- 64 Farber S, Diamond LK. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid. *N Engl J Med* 1948; 238(23): 787-93.
- 65 Daidone F, Florio R, Rinaldo S, Contestabile R, di Salvo ML, Cutruzzola F, *et al.* In silico and *in vitro* validation of serine hydroxymethyltransferase as a chemotherapeutic target of the antifolate drug pemetrexed. *Eur J Med Chem* 2011; 46(5): 1616-21.
- 66 Spears CP, Shahinian AH, Moran RG, Heidelberger C, Corbett TH. *In vivo* kinetics of thymidylate synthetase inhibition of 5-fluorouracil-sensitive and -resistant murine colon adenocarcinomas. *Cancer Res* 1982; 42(2): 450-6.
- 67 Gonen N, Assaraf YG. Antifolates in cancer therapy: structure, activity and mechanisms of drug resistance. *Drug Resist Updat* 2012; 15(4): 183-210.
- 68 Martinez-Reyes I, Chandel NS. Mitochondrial one-carbon metabolism maintains redox balance during hypoxia. *Cancer Discov* 2014; 4(12): 1371-3.
- 69 Kanarek N, Keys HR, Cantor JR, Lewis CA, Chan SH, Kunchok T, *et al.* Histidine catabolism is a major determinant of methotrexate sensitivity. *Nature* 2018; 559(7715): 632-6.

中国细胞生物学学报