

一碳代谢途径通路在癌症发生中作用研究进展

陈炳宇 黄四洲*

(成都医学院基础医学院, 人体解剖与组织胚胎学教研室,
四川省发育与再生四川省重点实验室, 成都 610500)

摘要 我国癌症发病群体不断年轻化, 发病率不断增加。最近科学研究表明, 细胞代谢相关调控基因已成为新的癌症诊断标记和治疗靶点。一碳代谢对于细胞代谢必不可少, 一碳代谢需要叶酸、丝氨酸和蛋氨酸等细胞必需的生物代谢物质参与, 同时也产生嘌呤、腺苷和胸苷酸等生物代谢物质。一碳代谢包括三类关键反应: 叶酸循环、蛋氨酸循环、反硫化途径。在叶酸循环中, 叶酸及叶酸循环中间产物可以通过产生嘌呤和胸苷酸调控癌症细胞的生长和增殖。在蛋氨酸循环中产生的多胺和甲基等中间产物也能调控癌症细胞的生长和增殖。反硫化途径是谷胱甘肽合成的重要途径, 谷胱甘肽能够生成与肿瘤细胞密切相关的活性氧。该研究将简要综述一碳代谢在癌症发生中的作用, 概况了近年来一碳代谢通路重要因子及中间产物作为靶点对癌症治疗的意义。

关键词 一碳代谢; 叶酸; DNA甲基化; 多胺; 癌症

Progress in the Role of one Carbon Metabolism Pathway in Carcinogenesis

Chen Bingyu, Huang Sizhou*

(Basic Medical School, Chengdu Medical College, Development and Regeneration
Key Laboratory of Sichuan Province, Department of Anatomy and Histology and Embryology;
Basic Medical School, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

Abstract In China, the incidence of cancer is getting higher as well the patients are younger than before. Recently, scientific research shows that the regulation genes relation of cellular metabolism has being as a new target for cancer diagnosis and treatment. One-carbon metabolism is essential for cell metabolism, during this process, not only require folate, serine and methionine, but also can produce the other biological macromolecules, such as purine, adenosine and thymide. Three kinds of key reactions are included in one-carbon metabolism: folate cycle, methionine cycle and trans-sulfuration pathway. In the folate cycle, folate and its intermediates regulate the growth and proliferation of cancer cells by providing purine and thymidine. Moreover, polyamines and DNA methyl groups also regulate the growth and proliferation of cancer cells in the methionine cycle. The tran-sulfurization pathway is an important pathway for the synthesis of glutathione, which can generate reactive oxygen species (ROS) closely related to tumor cells. In this paper, the role of one-carbon metabolism in cancer development is briefly reviewed. And the significance of some important factors and intermediates in one-carbon metabolism is summarized, which might be as the targets for cancer treatment.

Keywords one-carbon metabolism; folate; DNA methylation; polyamine; cancer

收稿日期: 2019-02-25 接受日期: 2019-04-30

国家自然科学基金(批准号: 31741091)和四川省教育厅自然科学基金重点项目(批准号: 18ZA0142)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13688403423, E-mail: huangyuy1027@126.com

Received: February 25, 2019 Accepted: April 30, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31741091) and the Natural Science Foundation Of Sichuan Education Department (Grant No.18ZA0142)

*Corresponding author. Tel: +86-13688403423, E-mail: huangyuy1027@126.com

网络出版时间: 2019-07-16 16:10:49 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190716.1610.012.html>

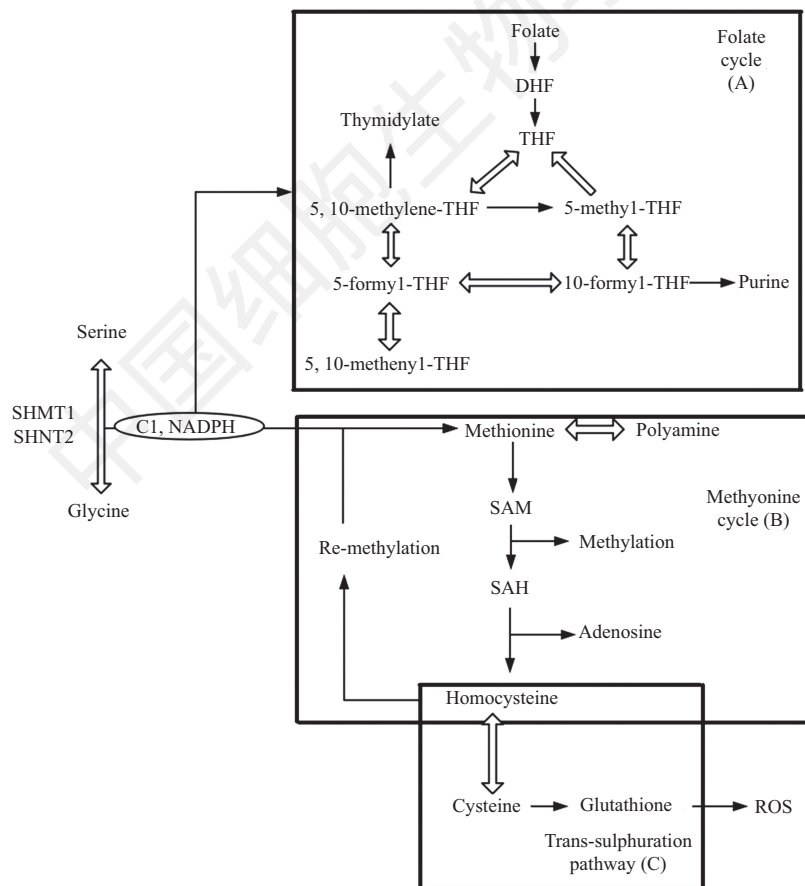
生命现象错综复杂, 新陈代谢是生命活动的最基本表现, 它是以生物体与外环境进行物质代谢和能量代谢为基础的生命现象。在生命活动进行过程中, 机体需要不断从外界获取营养物质(糖、脂肪和蛋白质等)、原材料等小分子物质, 在体内经过化学变化合成大分子物质及机体的组成部分, 如细胞、组织及体液的组成成分等。与此同时, 体内的组成成分、大分子物质又不断地被破坏或分解, 并将代谢产物排出体外。机体就是这样在不断地、按一定规律地与环境进行着物质交换及体内物质形式、能量的转换过程中完成各种生命活动。这种代谢既要适应环境变化, 又要维持机体的相对稳定。机体一旦出现代谢紊乱, 就会发生疾病。

癌症发生是一极其复杂的过程, 导致癌症发生的因素总体上包括环境因素和遗传因素。二者均可导致细胞代谢紊乱以至于细胞发生癌变。最近在临

床及基础研究中表明, 细胞代谢紊乱已作为一个重要的标志用以标记和诊断癌症的发生^[1]。代谢紊乱与癌症发生的联系主要与以下五个代谢途径相关, 即: 一碳代谢、有氧糖酵解、磷酸戊糖代谢、脂肪酸从头合成代谢及谷氨酰胺分解代谢。本文主要对一碳代谢途径紊乱在癌症发生中的作用做一综述。

一碳代谢是指在含一个碳原子的有机基团经过转移参与生物合成的代谢过程。通常把含一个碳原子的有机基团称为“一碳单位”或者“一碳基团”。体内的一碳单位包括甲基(-CH₃, methyl)、甲酰基(-CHO, formyl)、亚甲基(-CH₂, methylene)、亚氨基(-CH=NH, formimino)及甲炔基(-CH=, methenyl)等, 通常来自甘氨酸、色氨酸、丝氨酸、蛋氨酸等的代谢产物。

一碳代谢(图1)途径包括三类关键反应: 叶酸循环、蛋氨酸循环、反硫化途径。细胞产生一碳单位(也称为甲基群)的主要途径是叶酸循环和蛋氨酸循环。



A: 叶酸循环; B: 蛋氨酸循环; C: 反硫化途径。

A: folic acid cycle; B: methionine cycle; C: anti-sulfurization pathway.

图1 一碳代谢途径完整示意图(根据参考文献[2,5]修改)

Fig.1 A complete schematic diagram of one-carbon metabolic pathways (modified from references [2,5])

这两个循环能合成重要的生物代谢前体,并且参与甲基化反应^[2]。叶酸循环(图1A)既能合成在核酸生物合成中有重要作用的嘌呤和嘧啶;同时,蛋氨酸循环中(图1B),S-腺苷酰蛋氨酸(SAM)可提供甲基参与体内多种物质合成生物大分子,例如多胺、肾上腺素、胆碱、胆酸等等。一碳代谢不仅是氨基酸与核苷酸及一些重要生物物质的合成路径;同时也能为生物活动所需的各种有机物分配碳原子^[3]。

最近的研究表明,DNA甲基化是一碳代谢过程的重要枢纽,在细胞生命过程中起着关键作用。一碳代谢中的四氢叶酸(THF)是一种重要的中间体,由膳食中的叶酸合成。其中丝氨酸与甘氨酸通过甲基转移酶SHMT1(多存在细胞质)和SHMT2(多存在线粒体)的作用相互转化时,会产生以不同化学结构存在并且可以相互转化的甲基群,其中主要有甲基-THF、甲炔基-THF、甲酰基-THF和甲烯基-THF等。食物中的叶酸需要先转化为二氢叶酸(DHF),再转化为THF,然后THF再接受来自氨基酸(甘氨酸、丝氨酸)的单碳单位,用于嘌呤和胸苷酸的合成和蛋氨酸循环途径的同型半胱氨酸甲基化。值得注意的是,文献中提到在肿瘤细胞中随着代谢率的增高,活性氧(ROS)水平有所下降,能量平衡也会被打破^[4]。

综上所述,一碳代谢是基于丝氨酸与甘氨酸相互转化的复杂代谢网络。

1 叶酸代谢通路

叶酸是由喋啶、谷氨酸残基和对氨基苯甲酸构成的一种水溶性B族维生素。几乎所有天然叶酸在饮食和身体中都以还原形式存在。在代谢过程中叶酸需要先还原为DHF,再转化为THF,然后在人体中以5-甲基-THF的形式产生生物活性;同时,5-甲基-THF可以提供甲基将同型半胱氨酸再甲基化为蛋氨酸,连接叶酸和蛋氨酸循环^[5]。一碳单位在体内不能以游离形式存在,常与四氢叶酸THF的第五位、第十位结合后转运或参加生物代谢,所以如果减少THF,则一碳单位失去了载体,细胞不能得到足够的一碳单位而使得嘌呤、嘧啶等核苷酸合成受阻,核酸合成发生障碍,肿瘤细胞生长及增殖得到抑制^[2,6]。Farber及其同事^[7-8]在发现叶酸可以刺激急性淋巴细胞性白血病(ALL)细胞增殖后,为了进一步了解叶酸代谢过程中化学合成的中间体是否可以拮抗细胞增殖,于是进行了一系列开创性的研究,发现使

用叶酸代谢中间体氨基喋呤能缓解所有急性淋巴细胞白血病患者临床症状。也有研究表明,通过姜黄素与紫杉醇(抗癌药物)低浓度联合用药后,能降低叶酸受体的表达和减少紫杉醇治疗的不良反应,并且有效抑制癌细胞增值^[9]。自然,这些研究表明叶酸代谢是癌症控制的合理靶标。

丝氨酸与甘氨酸作为重要成分参与了叶酸循环(图1A)。丝氨酸可由甲基转移酶SHMT1和SHMT2转化为甘氨酸^[4],同时生成一个单碳单位使THF接受该单位形成甲烯基THF,然后甲烯基THF可以被转化为甲酰基THF。甲酰基THF可以将其单碳单元用于嘌呤合成,甲烯基THF将其单碳单元用于胸苷酸合成。因此,叶酸循环能促进胸苷酸和嘌呤、嘧啶合成^[2]。癌症细胞中丝氨酸羟甲基转移酶(SHMT)功能紊乱与癌症发生密切相关:我们知道,胸腺嘧啶核苷酸(dTMP)合成需要尿嘧啶核苷酸(dUMP)和甲烯基-THF,在肺癌细胞中敲低SHMT1会大大降低甲烯基-THF含量,从而减少dTMP合成,也就会造成尿嘧啶积累,导致细胞周期阻滞和凋亡^[10]。研究也表明,尿嘧啶类似物五氟尿嘧啶(5-FU)是一种常用的具有明显疗效的抗代谢物,它通过干扰嘧啶的稳态使核苷酸代谢的特异性改变并破坏叶酸循环。进一步的研究表明,5-FU能通过叶酸代谢通路影响嘧啶的生成治疗结肠直肠癌^[11]。临床上的用药也有许多例子,比如,普拉曲沙(pemetrexed)是一种胸苷酸合成酶抑制剂,通过叶酸载体和叶酸受体转运到细胞内^[12],临床上已经被批准用于结直肠癌、乳腺癌、胃食管癌和间皮瘤等疾病的治疗。又有Matherly等^[13]发现,新型吡咯嘧啶化合物能抑制线粒体和胞质中的单碳代谢,且具有较强的抗肿瘤作用,这些新化合物药物广谱作用于肺癌、结肠癌和胰腺癌。吉西他滨(gemcitabine)是一种临床认可的核苷类似物药物,通过阻止胞嘧啶核苷酸的合成从而终止DNA复制^[14],已经被批准用于治疗非小细胞肺癌、胰腺癌、卵巢癌和乳腺癌治疗。

因此,控制一碳代谢叶酸循环中的相关代谢物的含量,对癌症治疗具有重要的意义。

2 蛋氨酸循环

在蛋氨酸循环中(图1B),S-腺苷酰蛋氨酸(SAM)能提供对表观遗传控制至关重要的多胺。不同类型多胺都有多个氨基(-NH₂),其中比较典型的包括亚精

胺和精胺。在包括DNA甲基化在内的许多甲基转移酶反应中, SAM作为甲基供体被转化为s-腺苷酰-1-同型半胱氨酸(SAH)。SAH是一种甲基转移酶(DNMT)的有效抑制剂, 通过腺苷同型半胱氨酸酶快速水解转化为同型半胱氨酸和腺苷^[15-17], 同型半胱氨酸通过蛋氨酸甲基转移酶再甲基化转化为蛋氨酸^[18]。

已有的研究表明, 多胺的生物合成量在癌症患者的细胞中增多, 即多胺浓度(尤其是精胺浓度)和参与多胺生物合成基因表达的酶在肿瘤组织中的活性高于正常周围组织的活性^[19-23]。细胞内多胺浓度的增加, 主要是通过多胺生物合成酶的上调, 这与细胞增殖和肿瘤发生发展有关^[24-26]。研究表明, 前列腺癌、皮肤癌中多胺水平升高^[27-28]。多胺的缺乏由精胺补充后能够抑制年龄相关的DNA甲基化和1,2-二甲基胍诱导肿瘤的发生^[29]。

在小鼠中敲除丙酮酸激酶M2(*PKM2*)等位基因促进了SAM的产生, 研究表明, 丙酮酸激酶M2具有通过SAM介导的甲基化调控癌症表型的重要作用^[30]。*PKM2*是丙酮酸激酶基因选择性剪接的产物, 在肿瘤分化细胞中高表达。研究发现, 通过刺激转化生长因子- β 使丙酮酸激酶M2蛋白进入细胞核后, 能使结肠癌的发生率增高^[31]。鸟氨酸脱羧酶(ODC)是一种由多胺合成半衰期短的限速酶, 肿瘤细胞恶性转化与鸟氨酸脱羧酶的高表达密切相关。进一步研究发现, 绿色荧光标记的鸟氨酸脱羧酶能检测癌症干细胞, 这些被绿色荧光标记的癌细胞在小鼠中显示出免疫缺陷、活性氧生成减少等特征, 对化疗和放射治疗具有抵抗性并且具有癌细胞侵袭致瘤性^[32-34]。以上研究表明, 多胺代谢紊乱与肿瘤等多种疾病的发生发展密切相关, 蛋氨酸代谢途径的组分也成为相关疾病预防治疗的重要分子靶点。

3 一碳反应与DNA甲基化

DNA甲基化是指生物体以SAM作为供体, 在DNA甲基转移酶(DNMT)的作用下将甲基从SAM转移到同型半胱氨酸的过程。DNA甲基化是脊椎动物表观遗传修饰, 叶酸和蛋氨酸循环均为体内的各种代谢过程产生提供甲基, 表观遗传过程的破坏可导致基因表达和细胞功能的改变, 从而导致恶性肿瘤。经证实, 在肿瘤中的启动子高甲基化可抑制致癌信号通路中相关基因的表达及功能, 包括调控细胞周期、DNA修复、促进细胞凋亡以及调控肿瘤相关信号网

络^[35]。比如, 肝脏激酶B1丢失的*kras*突变细胞的致癌作用与甘氨酸与丝氨酸的相互转化和蛋氨酸循环均相关, 同时, 我们能发现细胞中DNA甲基转移酶被上调, DNA甲基化水平升高^[36]。

多种癌症的发生与DNA异常甲基化都有着重要的关系。比如, 启动子区域(CpG)的超甲基化导致肿瘤抑制基因沉默, 影响细胞生长周期, 从而导致口腔癌的发生^[37]。启动子区CpG高甲基化使前列腺癌患者雌激素受体基因失活, 所以可用雌激素治疗前列腺癌^[38]。小肠癌特异性甲基化基因半胱氨酸二氧合酶1(*CDO1*)启动子区域的DNA甲基化水平与非癌性小肠黏膜相比显著提高, 这有利于小肠癌预后的判断^[39]。随着科学研究的进一步发展, DNA甲基化与癌症的关系将为癌症早期诊断、药物研发以及预后判断等提供新的依据。

近年来, 研究者开始探究叶酸的增补对甲基化模式的影响与肿瘤等疾病发生之间的关系。Ramer-saud等^[40]研究发现, 一碳代谢过程中的叶酸与全基因组甲基化联系紧密, 叶酸缺乏及叶酸水平下降会明显降低人全基因组的甲基化水平。膳食中的叶酸摄入量超标可能导致癌症基因甲基化异常, Cui等^[41]的研究发现, 叶酸的补充可以通过蛋氨酸循环修饰DNA甲基化, 提高DNA甲基转移酶的活性和表达, 从而改变动脉粥样硬化相关基因的表达, 从而有效预防动脉粥样硬化。

4 反硫化途径中活性氧的作用

同型半胱氨酸与半胱氨酸通过中间体胱氨酸相互转化, 称为反硫化途径(图1C)。反硫化途径中的谷胱甘肽途径与肿瘤干细胞中活性氧的产生有关: 在正常情况下, ROS的产生和消除是通过活性氧清除剂(过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶系统)或其他非酶性性质物质的作用进行的。ROS是从分子氧(O_2)中得到的一组不均匀的高活性离子和分子, 包括超氧阴离子、羟基自由基、过氧化氢、单线态氧^[42]。低水平的活性氧促进细胞增殖和生长, 并增加细胞存活率, 促进肿瘤生长; 高水平的活性氧可引起细胞毒性并触发细胞凋亡, 氧化脂肪, 损伤细胞膜, 损伤蛋白质和DNA, 抑制肿瘤生长^[43-45]。

如上所述, 过多的ROS产生会导致DNA损伤, 并促进癌基因或抑制肿瘤抑制基因的活性。已有研究表明, H_2O_2 既诱导原癌基因*C-ha-ras-1*发生突变,

同时抑制肿瘤抑制基因p53的功能^[46]。除了诱导基因发生突变, H₂O₂已被报道为高甲基化肿瘤抑制物与视网膜母细胞瘤、乳腺癌均密切相关^[47-48]。此外, 细胞增殖相关细胞外调节激酶(Erk)1/2^[49-50]、细胞增殖和细胞周期核因子κB (NFκB)^[51]等各种蛋白质和信号分子的活动都受ROS影响。磷酸肌苷3-激酶(PI3K)/Akt(蛋白激酶B)信号转导与癌细胞增殖也受ROS调控^[52]。在肝癌患者的细胞中, ROS表达量减少能使细胞迁移和浸润力增强, 促进肿瘤的发生^[53]。因此, ROS可以通过直接和间接的机制调节与癌症发生相关的信号途径。

5 总结与展望

一碳代谢为癌细胞生长所需的丝氨酸提供前体物质, 同时一碳代谢也合成氨基酸和核苷酸、控制细胞的甲基化。在此过程中, 叶酸循环中的甘氨酸和丝氨酸为丝氨酸羟甲基转移酶的甲基化作用提供甲基, 产生嘌呤和核苷酸并调控癌细胞增殖。在一碳代谢的蛋氨酸循环与反硫化途径中, 同型半胱氨酸再甲基化生成蛋氨酸, 在S-腺苷酰蛋氨酸转化为半胱氨酸的同时, 提供对表观遗传控制至关重要的多胺等等。如上所述, 一碳代谢通路使癌细胞由简单甘氨酸与丝氨酸相互转变为起点, 逐渐产生不同氨基酸、核苷酸、及细胞快速生长与增殖需要的其他重要代谢产物, 这些代谢产物反过来服务于一碳代谢通路, 从而促进肿瘤生长、抑制肿瘤凋亡。总之, 对一碳代谢途径在肿瘤发生中的作用的认知将有助于更好地了解癌症发展过程, 为新的抗肿瘤药物的研制提供依据。

参考文献 (References)

- 1 Wishart DS. Is cancer a genetic disease or a metabolic disease. *EBioMedicine* 2015; 2(6): 478-9.
- 2 Newman AC, Maddocks ODK. One-carbon metabolism in cancer. *Br J Cancer* 2017; 116(12): 1499-504.
- 3 Lan X, Field MS, Stover PJ. Cell cycle regulation of folate-mediated one-carbon metabolism. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2018; e1426.
- 4 Tibbetts AS, Appling DR. Compartmentalization of mammalian folate-mediated one-carbon metabolism. *Annu Rev Nutr* 2010; 30(1): 57-81.
- 5 Gregory S, Duckerand Joshua D, Rabinowitz. One-carbon metabolism in health and disease. *Cell Metab* 2017; 25(1): 27-42.
- 6 石汉平. 肿瘤是一种代谢性疾病. 肿瘤代谢与营养电子杂志 (Shi hanping. Tumor is a metabolic disease. *Electronic Journal of Metabolism and Nutrition of Cancer*) 2018; 5(02): 111-6.
- 7 Farber S, Cutler EC, Hawkins Jw, Harrison JH, Peirce EC II, Lenz GG. The action of pteroylglutamic conjugates on man. *Science* 1947; 106(2764): 619-21.
- 8 Farber S, Diamond LK. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroylglutamic acid. *N Engl J Med* 1948; 238(23): 787-93.
- 9 Dhanasekaran S. Augmented cytotoxic effects of paclitaxel by curcumin induced overexpression of folate receptor-α for enhanced targeted drug delivery in HeLa cells. *Phytomedicine* 2018; 56: 279-85.
- 10 Paone A, Marani M, Fiascarelli A, Rinaldo S, Giardina G, Contestabile R, *et al.* SHMT1 knockdown induces apoptosis in lung cancer cells by causing uracil misincorporation. *Cell Death Dis* 2014; 5(11): e1525.
- 11 Ser Z, Gao X, Johnson C, Mehrmohamadi M, Liu X, Li S, Locasale JW, *et al.* Targeting one carbon metabolism with an antimetabolite disrupts pyrimidine homeostasis and induces nucleotide overflow. *Cell Rep* 2016 ; 15(11): 2367-76.
- 12 Franchini DM, Petersen-Mahrt SK. Aid and apobec deaminases: balancing DNA damage in epigenetics and immunity. *Epigenomics* 2014; 6(4): 427-43.
- 13 Matherly LH, Hou Z, Gangjee A. The promise and challenges of exploiting the proton-coupled folate transporter for selective therapeutic targeting of cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2018; 81(1): 1-15.
- 14 Bouffard DY, Laliberté J, Momparler RL. Kinetic studies on 2', 2'-difluorodeoxycytidine (gemcitabine) with purified human deoxycytidine kinase and cytidine deaminase. *Biochemical pharmacology* 1993; 45: 1857-61.
- 15 Ponnaluri VKC, Esteve PO, Ruse, Ruse CI, Pradhan S. S-Adenosylhomocysteine hydrolase participates in DNA methylation inheritance. *Mol Biol* 2018; 430(13): 2051-65.
- 16 Estève PO, Terragni J, Deepti K, Chin HG, Dai N, Espejo A, Corréa IR, *et al.* Methyllysine reader plant homeodomain (phd) finger protein 20-Like 1 (Phf2011) antagonizes DNA(cytosine-5) methyltransferase 1 (dnmt1) proteasomal degradation. *Biol Chem* 2014; 289(12): 8277-87.
- 17 Cohen HM, Griffiths A.D, Tawfik DS, *et al.* Determinants of cofactor binding to DNA methyltransferases: insights from a systematic series of structural variants of S-adenosylhomocysteine. *Org Biomol Chem* 2005; 3(1): 152-61.
- 18 Zhang B, Denomme MM, White CR, Leung KY, Lee MB, Greene ND, *et al.* Both the folate cycle and betaine-homocysteine methyltransferase contribute methyl groups for DNA methylation in mouse blastocysts. *FASEB J* 2015; 29(3): 1069-79.
- 19 Soda K. The mechanisms by which polyamines accelerate tumor spread. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30(1): 95.
- 20 Weiss TS, Bernhardt G, Buschauer A, Thasler WE, Dolgner D, Zirngibl H, *et al.* Polyamine levels of human colorectal adenocarcinomas are correlated with tumor stage and grade. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17(6): 381-7.
- 21 Upp JR, Saydjari R, Townsend CM, Singh P, Barranco SC, Thompson JC. Polyamine levels and gastrin receptors in colon cancers. *Ann Surg* 1988; 207(6): 662-9.
- 22 Gallesio C, Colombatt, S, Modica R. free and acetylated polyamines as markers of oral cavity tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994; 77(2): 167-71.

- 23 Becciolini A, Porcian S, Lanini A, Balzi M, Cionini L, Bandettini L. Polyamine levels in healthy and tumor tissues of patients with colon adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 1991; 34(2): 167-73.
- 24 Pegg AE. Polyamine metabolism and its importance in neoplastic growth and a target for chemotherapy. *Cancer Res* 1988; 48(4): 759-74.
- 25 Gerner EW, Meyskens FL Jr. Polyamines and cancer: old molecules, new understanding. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(10): 781-92.
- 26 Casero RA, Marton LJ. Targeting polyamine metabolism and function in cancer and other hyperproliferative diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6(5): 373-90.
- 27 Gupta S, Ahmad N, Marengo SR, MacLennan GT, Greenberg NM, Mukhtar H. Chemoprevention of prostate carcinogenesis by alpha-difluoromethylornithine in TRAMP mice. *Cancer Res* 2000; 60(18): 5125-33.
- 28 Gilmour SK. Polyamines and nonmelanoma skin cancer. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 224(3): 249-56.
- 29 Soda K, Kano Y, Chiba F, Koizumi K, Miyaki Y. Increased polyamine intake inhibits age-associated alteration in global DNA methylation and 1,2-dimethylhydrazine-induced tumorigenesis. *PLoS ONE* 2013; 8(5): e64357.
- 30 Konno M, Koseki J, Kawamoto K, Nishida N, Matsui H, Dewi DL, *et al.* Embryonic microRNA-369 controls metabolic splicing factors and urges cellular reprogramming. *PLoS One* 2015; 10(7): e0132789.
- 31 Hamabe A, Konno M, Tanuma N, Shima H, Tsunekuni K, Kawamoto K, *et al.* Role of pyruvate kinase M2 in transcriptional regulation leading to epithelial-mesenchymal transition. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(43): 15526-31.
- 32 Hayashi K, Tamari K, Ishii H, Konno M, Nishida N, Kawamoto K, *et al.* Visualization and characterization of cancer stem-like cells in cervical cancer. *Int J Oncol* 2014; 45(6): 2468-74.
- 33 Kano Y, Konno M, Kawamoto K, Tamari K, Hayashi K, Fukusumi T, *et al.* Novel drug discovery system for cancer stem cells in human squamous cell carcinoma of the esophagus. *Oncol Rep* 2014; 31(1): 1133-8.
- 34 Tamari K, Hayashi K, Ishii H, Kano Y, Konno M, Kawamoto K, *et al.* Identification of chemoradiation-resistant osteosarcoma stem cells using an imaging system for proteasome activity. *Int J Oncol* 2014; 45(6): 2349-54.
- 35 Kulis M, Esteller M. DNA methylation and cancer. *Adv Genet* 2010; 70: 27-56.
- 36 Kottakis F, Nicolay BN, Roumane A, Karnik R, Gu H, Nagle JM, *et al.* LKB1 loss links serine metabolism to DNA methylation and tumorigenesis. *Nature* 2016; 539(7629): 390-5.
- 37 Shridhar K, Walia GK, Aggarwal A, Gulati S, Geetha AV, Prabhakaran D, *et al.* DNA methylation markers for oral pre-cancer progression: A critical review. *Oral Oncol* 2015; 53: 1-9.
- 38 Nojima D, Li LC, Dharia A, Perinchery G, Ribeiro-Filho L, Yen TS, *et al.* CpG hypermethylation of the promoter region inactivates the estrogen receptor- β gene in patients with prostate carcinoma. *Cancer* 2001; 92(8): 2076-83.
- 39 Kojima K, Nakamura T, Ooizumi Y, Igarashi K, Tanaka T, Yokoi K, *et al.* Clinical significance of cancer specific methylation of the CDO1 gene in small bowel cancer. *PLoS One* 2019; 14(1): e0211108.
- 40 Rampersaud GC, Kauwell GP, Hutson AD, Cerda JJ, Bailey LB. Genomic DNA methylation decreases in response to moderate folate depletion in elderly women. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(4): 998-1003.
- 41 Cui S, Li W, Lv X, Wang P, Gao Y, Huang G. Folic acid supplementation delays atherosclerotic lesion development by modulating MCP1 and VEGF DNA methylation levels *in vivo* and *in vitro*. *Int J Mol Sci* 2017; 18(5): 990.
- 42 Schiebe M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 2014; 4(10): R453-62.
- 43 Giannoni E, buricchi F, Raugeri G, Ramponi G, Chiarugi P. Intracellular reactive oxygen species activate Src tyrosine kinase during cell adhesion and anchorage-dependent cell growth. *Mol Cell Biol* 2005; 25(10): 6391-403.
- 44 Hoeijmakers JH. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med* 2009; 361(15): 1475-85.
- 45 Yee C, Yang W, Hekimi S. The intrinsic apoptosis pathway mediates the pro-longevity response to mitochondrial ROS in *C. elegans*. *Cell* 2014; 157(4): 897-909.
- 46 Du MQ, Carmichael PI, Phillip DH. Induction of activating mutations in the human c-Ha-ras-aproto-oncogene by oxygen free radicals. *Mol. Carcinog* 1994; 11: 170-5.
- 47 Ushijima T. Detection and interpretation of altered methylation patterns in cancer cells. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(3): 223-31.
- 48 Toyokuni, S. Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: From epidemiology to oxygenomics. *IUBMB Life* 2008; 60(7): 441-7.
- 49 Le KH, Kim SW, Kim JR. Reactive oxygen species regulate urokinase plasminogen activator expression and cell invasion via mitogen-activated protein kinase pathways after treatment with hepatocyte growth factor in stomach cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 73.
- 50 Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res* 2010; 44(5): 479-96.
- 51 Li Q, Engelhardt JF. Interleukin-1 β induction of NF κ B is partially regulated by H₂O₂-mediated activation of NF κ B-inducing kinase. *Biol Chem* 2006; 281(3): 1495-505.
- 52 Fresno Vara JA., Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, González-Barón M. PI3K/Akt signaling pathway and cancer. *Cancer Treat Rev* 2004; 30(2): 193-204.
- 53 Dou C, Xu Q, Liu J, Wang Y, Zhou Z, Yao W, *et al.* SHMT1 inhibits the metastasis of HCC by repressing NOX1-mediated ROS production. *J Exp Clin Cancer Res* 2019; 38(1): 70.