

肿瘤药学专题

· 专家述评 ·



[专家简介] 欧阳亮, 博士, 教授, 博导, 四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室研究员, 国家优秀青年基金获得者(2019), 二十二届中国药学会-施维雅青年药物化学奖获得者(2019), 中国医学科学院医学健康长寿青年奖掖项目获得者(2019), 四川大学好未来优秀学者奖获得者(2020), 四川大学“双百人才工程”入选者, 四川大学科技领军人才培养项目获得者。现担任四川省药理学学会理事(2018-), 四川省药理学学会肿瘤药理委员会委员(2017-), Signal Transduction and Targeted Therapy(2020-)编委, Acta Pharmaceutica Sinica B(2017-)青年编委, Chinese Chemical Letters(2017-)青年编委, Frontiers in Pharmacology(2017-)编委, Mini Review in Medicinal Chemistry(2017-)编委。在 Chemical Science, Journal of Medicinal Chemistry, Autophagy, Signal Transduction and Targeted Therapy, Acta Pharmaceutica Sinica B 等刊物发表 SCI 论文 90 余篇(第一或通讯作者 30 余篇), 论文他引总数超过 2100 余次, 个人 H 指数 25, 其中单篇最高引用次数 787 次, 多篇入选领域前 1% 高被引论文。以负责人身份主持国家自然科学基金项目 5 项, 国家重点研发计划项目子课题 1 项, 国家重大新药创制子课题 1 项, 四川省重大项目 1 项。受邀在国内外药物化学和转化医学学术会议作主旨报告 6 次。申请中国发明专利 8 项, 部分专利已经实现落地和临床转化。

叶酸介导的一碳代谢在癌症中的研究进展*

杨成灿, 张吉发, 陈俊成, 欧阳亮[△]

610041 成都, 四川大学华西医院 生物治疗国家重点实验室

[摘要] 叶酸代谢涵盖了对增殖细胞的生长和生存至关重要的过程, 包括核苷酸合成、DNA 甲基化和氧化还原防御。真核细胞中, 它在线粒体、细胞质和细胞核中被分隔开。70 多年前, 人们就认识到抗叶酸药物对恶性肿瘤有一定的治疗作用。研究表明, 叶酸代谢的过度激活可能与肿瘤的发生及叶酸代谢酶如 SHMT2、MTHFD2 等有关, 促使叶酸代谢逐渐成为肿瘤靶向治疗研究的热点。本文回顾了叶酸代谢的基本过程, 描述了叶酸代谢关键酶在肿瘤异常生长中的多因素作用, 介绍了目前关于叶酸代谢小分子抑制剂的研究进展。

[关键词] 叶酸; 一碳代谢; SHMT2; MTHFD2; 癌症

[中图分类号] Q591.9; R730.231 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2021.10.002

引文格式: Yang CC, Zhang JF, Chen JC, *et al.* Research progress of folate mediated one carbon metabolism in cancer[J]. J Cancer Control Treat, 2021, 34(10): 886-894. [杨成灿, 张吉发, 陈俊成, 等. 叶酸介导的一碳代谢在癌症中的研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(10): 886-894.]

Research Progress of Folate Mediated One Carbon Metabolism in Cancer

Yang Chengcan, Zhang Jifa, Chen Juncheng, Ouyang Liang

State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China

Corresponding author: Ouyang Liang, E-mail: ouyangliang@scu.edu.cn

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81922064, No. 81874290).

[Abstract] Objective: The folate metabolism supports several processes that are vital for the growth and survival of proliferating cells, including nucleotide synthesis DNA methylation and redox defence. In eukaryotic cells, it is compartmentalized

and separated in mitochondria, cytoplasm and nucleus. Over 70 years ago, it was recognized that there is a link between folic acid and cancer, and anti-folate drugs have a certain therapeutic effect on the malignant tumour. Studies have

[收稿日期] 2021-01-10

[基金项目] * 国家自然科学基金(编号:81922064, 81874290)

[通讯作者] [△] 欧阳亮, E-mail: ouyangliang@scu.edu.cn

shown that excessive activation of folate metabolism may be related to tumorigenesis and some folate metabolizing enzymes, such as SHMT2 and MTHFD2. This makes folate metabolism gradually become a hotspot of cancer targeted therapy research. In this review, we review the basic processes of folate metabolism. We also describe the multifactorial role of some folate metabolizing enzymes in abnormal growth, and introduce some research advances in targeting folate metabolizing compounds.

[Key words] Folate; One-carbon metabolism; SHMT2; MTHFD2; Cancer

癌症的代谢通常以代谢需求、营养供应和代谢酶调节为特征^[1]。虽然这些特征中有许多与特定的遗传因素有关,但越来越多的证据表明,代谢调节与遗传因素一致,对癌症的发病率和生物学进展有重要影响^[2,3]。因此,特异性靶向肿瘤代谢成为肿瘤治疗的主要治疗策略。叶酸是一种水溶性 B 族维生素,从食物中提取,在体内转化为四氢叶酸(tetrahydrofolate, THF),参与体内许多生化反应。通过叶酸介导的一碳代谢(folate-mediated one-carbon metabolism, FOCM), THF 可以为 DNA 复制或甲基化提供必需的核苷酸或一碳基团,在表观遗传学中

具有重要作用^[4]。最早关于 FOCM 和癌症治疗的报告可以追溯到 20 世纪 40 年代(图 1)。抗叶酸剂氨基蝶呤被发现可以缓解儿童急性淋巴细胞白血病(acute lymphoid leukemia, ALL)的症状,在治疗急性白血病、绒毛膜癌和肺腺癌方面曾具有重要意义^[5],表明靶向 FOCM 治疗癌症是一个行之有效的方法。本文重点综述 FOCM 中关键酶(SHMT2 和 MTHFD2)作为潜在的癌症治疗靶标,讨论其在癌症中的表达、潜在功能、调控机制以及部分抑制剂,为未来开发对应的药物提供参考。

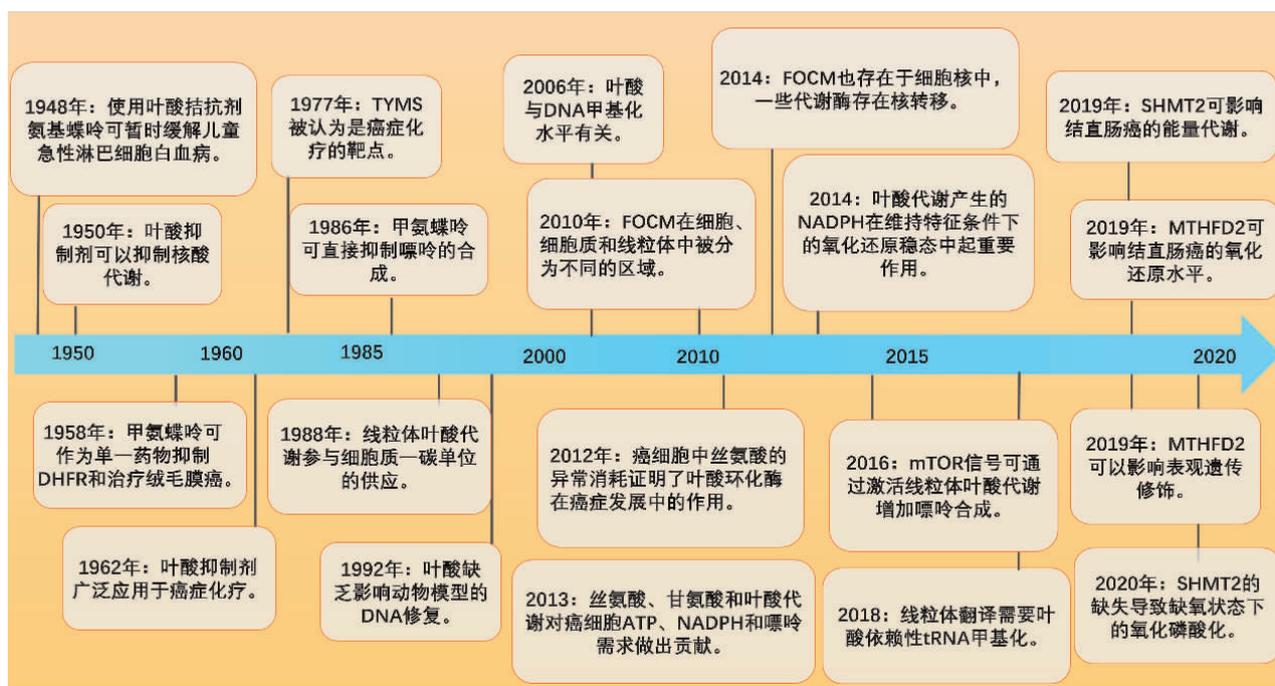


图 1 FOCM 在癌症中发现的时间线

1 癌症中叶酸介导的一碳代谢

FOCM 包括与叶酸代谢相互连接的代谢途径网络,这些代谢途径对丝氨酸和甘氨酸的相互转化、从头嘌呤合成、从头胸腺嘧啶合成以及同型半胱氨酸到蛋氨酸的甲基化至关重要。FOCM 在细胞中被室隔化,分别定位于细胞质、细胞核或线粒体(图 2)^[6]。FOCM 作为细胞营养状态的调节器和传感

器,控制一碳基团在不同受体之间分配,进而影响核苷酸、某些氨基酸、S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)和谷胱甘肽的合成^[7]。此外,FOCM 通过产生谷胱甘肽参与氧化还原稳态的调节^[8]。因此,FOCM 不仅合成生物所需的各种营养物质,而且通过其表观遗传和氧化还原状态调节细胞的营养状态。FOCM 涉及多种途径,包括核苷酸合成、甲基化和氧化还原稳态,是细胞增殖所必需的。在乳腺

癌、肝癌、肺癌、结直肠癌和膀胱癌等多种癌症中都发现了叶酸代谢异常^[9-12]。表明癌症中叶酸代谢的研究具有普遍性:1)它为细胞增殖提供必要的营养

物质;2)影响氧化还原在体内的稳定性。因此,FOCM 作为癌症治疗的可行目标引起了广泛关注。

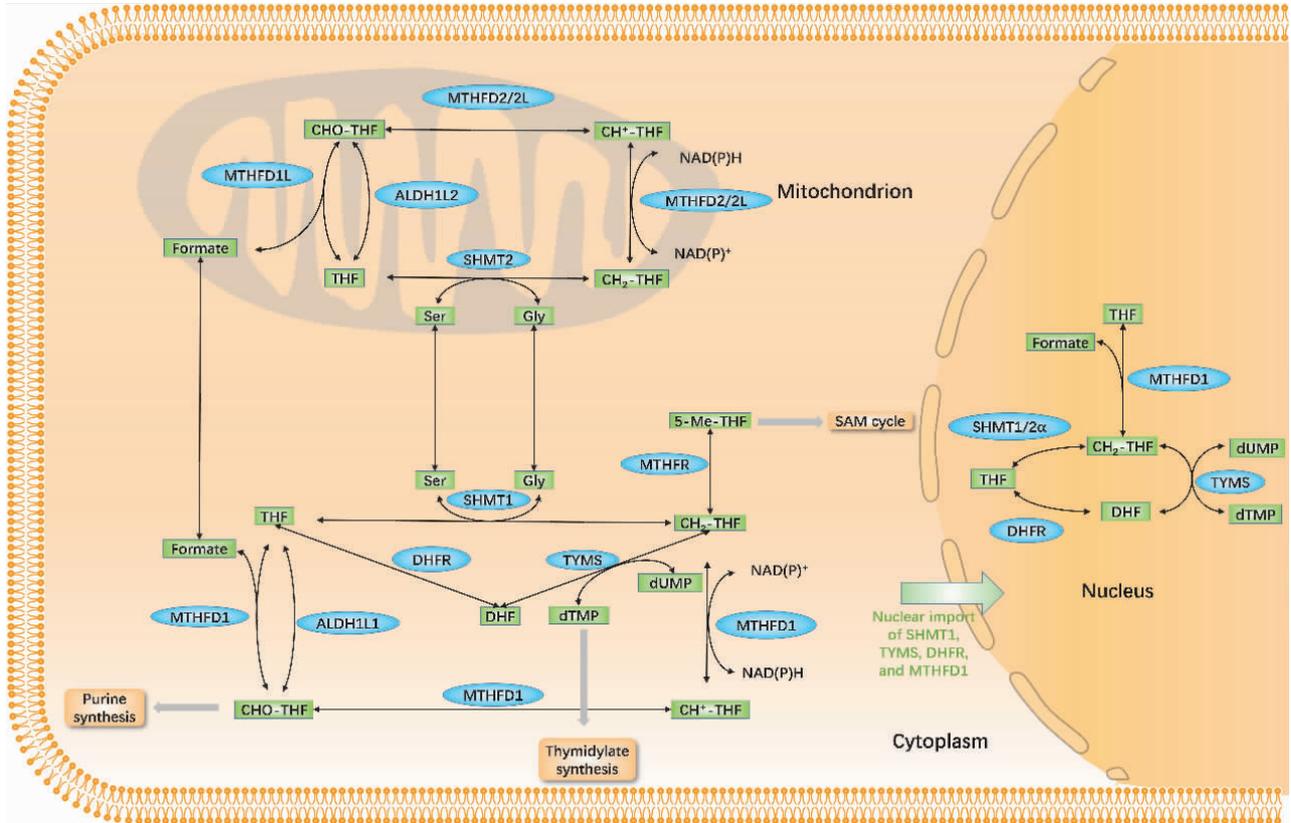


图2 FOCM 在细胞中的室隔化

2 癌症治疗中的抗叶酸药物

目前美国食品药品监督管理局列出的抗叶酸抗肿瘤药物主要为胸腺嘧啶核苷酸合酶 (thymidylate synthase, TYMS) 和二氢叶酸还原酶 (dihydrofolate reductase, DHFR) 的抑制剂。这两类药物通过影响 FOCM 中嘌呤和胸苷酸的合成,抑制癌细胞中 DNA 的复制^[13]。到目前为止,相关药物已被广泛应用于急性淋巴细胞白血病、结直肠癌、晚期非鳞状细胞癌和外周血淋巴细胞淋巴瘤^[14]。最近,针对线粒体中的 SHMT2 和 MTHFD2 在癌症治疗中受到高度关注。线粒体不仅是细胞的能量工厂,还为细胞的生长提供各种营养素。在对癌细胞中的 mRNA 的分析研究中发现,SHMT2 和 MTHFD2 为多种肿瘤中表达水平最高的五大基因之一^[15-16]。此外,有研究表明,SHMT2 和 MTHFD2 的异常表达会影响 DNA 合成并破坏氧化还原平衡^[17]。因此,FOCM 是癌症治疗中一个有吸引力的目标。鉴于线粒体代谢与癌症

之间的关系,我们在此重点介绍线粒体酶 SHMT2 和 MTHFD2,以突出其作为癌症治疗目标的潜力。

3 SHMT2

人类肿瘤的大规模基因组研究结果显示,SHMT2 对肿瘤细胞的存活至关重要^[15]。此外,SHMT2 在许多癌症中高表达,如胶质瘤、结直肠癌和乳腺癌^[10,18-19]。在敲除 SHMT2 之后能够抑制癌细胞的增殖,这为靶向 SHMT2 进行癌症治疗提供了良好的思路^[20]。

3.1 SHMT2 影响氨基酸代谢

丝氨酸是叶酸循环中重要的一碳单位供体,它参与核苷酸合成、甲基化反应和 NADPH 形成,并在氧化还原稳态中发挥作用^[18]。SHMT2 可以催化线粒体中丝氨酸分解为甘氨酸和 CH₂-THF(图 2)。甘氨酸也被纳入下游代谢物,如谷胱甘肽和嘌呤,而 CH₂-THF 通过一碳单位转移到细胞质,产生嘌呤和胸腺嘧啶^[13,21]。谷胱甘肽能维持氧化还原稳态,提

示 SHMT2 影响氨基酸代谢后,进一步影响体内氧化还原稳态和核苷酸合成。

3.2 SHMT2 能够影响线粒体呼吸链

SHMT2 与氧化还原状态之间的关系和线粒体呼吸链有关^[22-23]。研究表明 SHMT2 敲除可以下调线粒体呼吸链相关复合物,包括复合物 I 和复合物 IV;相比之下,SHMT2 的过度表达具有相反的效果^[24]。证实 SHMT2 的表达对线粒体呼吸链的正常功能是有利的。事实上,抑制 SHMT2 导致的复合物下调是翻译而非转录调控的结果,当复合物 I 被翻译时,线粒体核糖体倾向于留在密码子 AAG 和 UUG 上^[25]。此外,SHMT2 敲除基本上消除了复合物 I 单体、复合物 III 二聚体和复合物 IV 超复合物的表达;相比之下,复合物 III 和复合物 V 单体的含量没有受到影响^[26]。SHMT2 的敲除选择性地阻碍了 293A 细胞中复合物 I 和复合物 III 二聚体和复合物 IV 超复合物的组装^[26]。基于以上内容,我们推测 SHMT2 的缺失抑制了复合物 I 的表达,并对复合物 III/IV/V 的组装有抑制作用,但影响复合物 III/IV/V 组装的具体机制有待进一步研究。

3.3 调控机制

一些研究已经描述了 SHMT2 表达的潜在调控机制,其中包括大量已知的信号通路和相关转录因子(图 3)^[27-30]。mTOR 是哺乳动物中的一种丝氨酸/苏氨酸激酶,对调节核苷酸、脂类和蛋白质的合成至关重要。mTORC1 的激活可抑制糖原合成酶激酶 3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3) 介导的转录因子叉头/翼螺旋族 k1 (transcription factor forkhead/winged helix family k1, FOXK1) 磷酸化,并促进代谢重编程,同时还上调了 SHMT2 的表达^[27]。JAK/STAT 信号通路是多种细胞因子信号转导的共同途径,广泛参与细胞增殖、分化、凋亡和炎症等过程。在 LNCaP 细胞中,白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6) 激活 JAK2/STAT3 后,活化的 STATs 在细胞核内迅速积累,并与 SHMT2 启动子结合,上调 SHMT2 的线粒体表达^[30]。SHMT2 可维持氧化还原稳态,通过减少氧化磷酸化过程中的糖酵解和催化细胞代谢生成生物合成前体^[28]。此外,其他调控 SHMT2 表达的途径已经被证实。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor 2, NRF2) 是氧化应激的主要传感器,通过激活转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 促进 SHMT2 的表达,以维持正常的氧化还原稳态^[29]。最近对内质网应激的研究表明,EIF2AK3/EIF2AK4 也可以上调 SHMT2 的

表达^[28]。鉴于 SHMT2 的异常表达与多种癌症相关因素有关,包括氧化还原稳态和代谢重编程,靶向 SHMT2 治疗癌症是一个很好的前瞻性策略。

3.4 抑制剂的开发

根据 SHMT2 的表达模式及其在各种癌症中敲除后产生的效应,开发其选择性抑制剂对癌症治疗具有一定的前景。NSC127755 是第一个 SHMT 抑制剂,但由于不良反应,其开发受到限制^[31]。Leukopsin 也被证明能抑制两种 SHMT 亚型,因其在体内容易转化为其他叶酸类似物而并未应用于临床^[32]。2015 年,Marani 等^[33]发现化合物 2.12 (图 3a) 是一种植物源性 SHMT 抑制剂(专利申请 WO2013182472A1),可以通过凋亡诱导肺癌细胞死亡。2017 年,Ducker 等^[20]基于植物源性抑制剂优化了 SHIN1 (图 3b),体外实验显示 SHIN1 对 SHMT 的活性增强 (SHMT1:IC₅₀ = 5 nM, SHMT2:IC₅₀ = 13 nM),且可以抑制 HCT116 的增殖。然而,由于其清除迅速,无法进行进一步的体内研究。对 SHIN1 进一步优化得到 SHIN2 (图 3c) (IC₅₀ = 318 nM),可抑制人 T 细胞 ALL (T-ALL) 细胞系的增殖,并在 NOTCH1 驱动的小鼠模型和异种移植模型中均具有体内抗白血病作用^[34]。此外,Han 等^[35]通过虚拟筛选验证了吡啶啉结构(图 3d、e、f)可用作 SHMT2 抑制剂。Dekhne 等^[36]报告了关于吡咯并吡啶叶酸类似物的研究。其中,AGF347 (图 3g) 在体外对羟甲基转移酶 1/2 (serine hydroxymethyltransferase 1/2, SHMT1/2) 有抑制作用,对肺癌、结肠癌和胰腺癌有广谱抗肿瘤作用^[36]。最近的研究揭示了抗叶酸药物的结构基础,通过洛美曲索 (lometrexol, LTX) (图 3h) 和培美曲塞 (pemetrexed, PTX) (图 3i) 与 SHMT2 共结晶,证实 LTX 和 PTX 是该酶的抑制剂,体外对 SHMT2 的抑制活性分别为 49.7% ± 4.7% 和 79.2% ± 6.8%^[37]。因此,LTX 也可以被认为是开发有效 SHMT2 抑制剂的良好起点。

4 MTHFD2

MTHFD2 在胚胎和转化细胞的线粒体中均有表达^[38-41]。在叶酸途径中,MTHFD2 催化两个连续的步骤:CH₂-THF 脱氢和 NADH/NAD⁺ 介导的 CHO-THF 生成,产物可以提供甲酸盐充当一碳单位^[42]。大量研究表明,MTHFD2 在许多类型的快速增殖肿瘤(如乳腺癌和结肠直肠癌)中显著上调,提示其高表达与低生存率之间存在相关性^[9,12,16,43]。此外,MTHFD2 在大多数健康成人组织中均未发现表达,

所有组织中均有 MTHFD2 mRNA 的低表达,但未发现 MTHFD2 mRNA 的翻译^[44]。MTHFD2 在细胞核

中调节 DNA 复制位点共定位,参与 RNA 合成的核蛋白相互作用及转录后修饰^[45-46]。

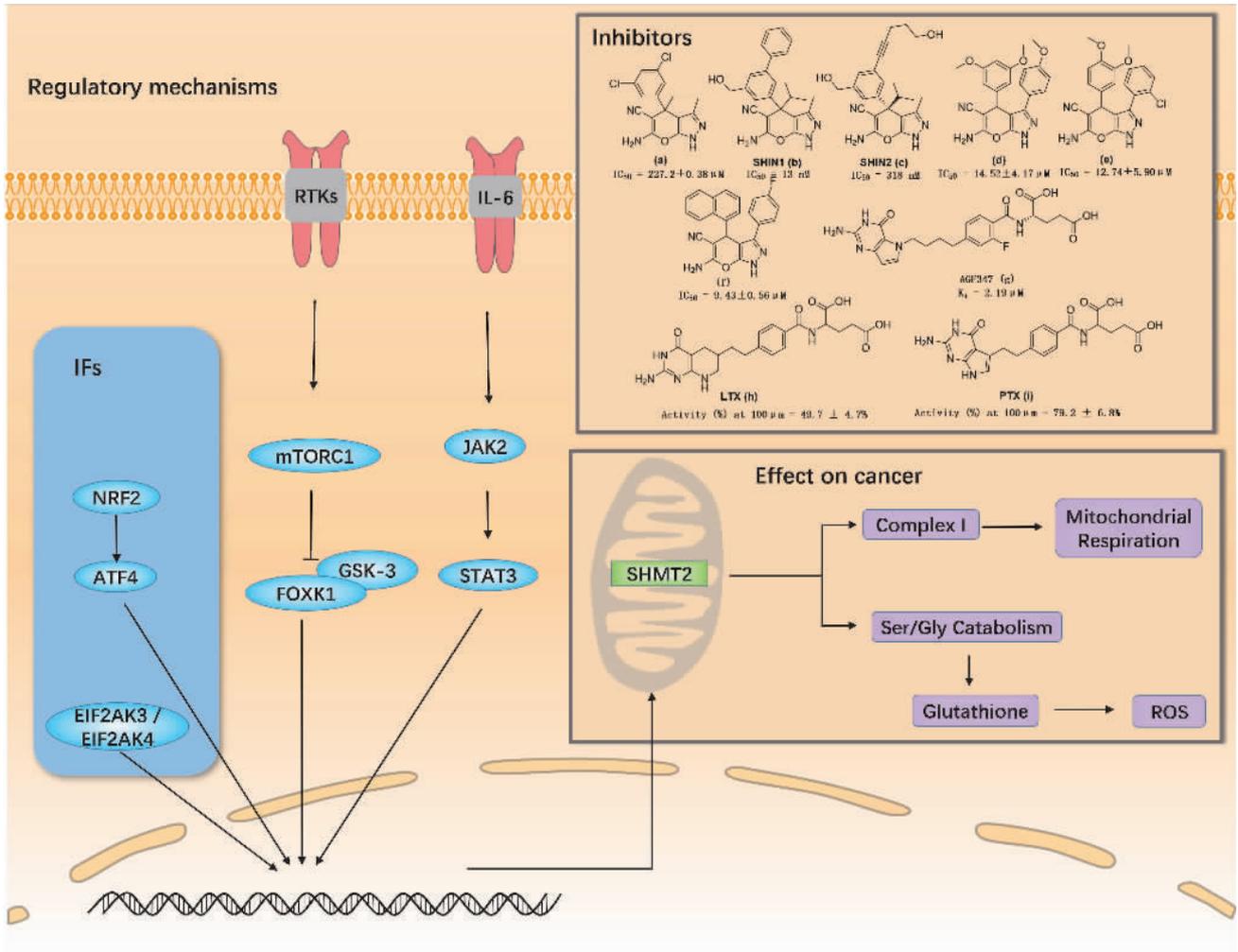


图3 SHMT2 的调控机制和相关抑制剂

4.1 MTHFD2 影响嘌呤的合成

最近研究报道了 MTHFD2 如何影响癌症,包括嘌呤和 NADPH 的合成^[12,47]。mTORC1 可通过激活 ATF4 诱导 MTHFD2 在乳腺癌细胞中的表达^[47]。进一步的实验表明, MTHFD2 可以影响对嘌呤从头合成至关重要的甲酸盐的生产^[47]。此外, MTHFD2 基因敲除导致了嘌呤合成的重要中间体 4-氨基胺-卡巴酰胺核糖核苷酸 (aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside, AICAR) 的显著堆积^[48]。MYCN 通过 MTHFD2 提供的一碳单位来增强嘌呤合成,进一步调节癌症进展^[49]。敲除 MTHFD2 后,可降低细胞增殖、集落形成、迁移能力和 DNA 合成,提示 MTHFD2 可以影响增殖细胞中嘌呤的合成^[50]。

4.2 MTHFD2 影响氧化还原稳态

MTHFD2 是一种 NAD(P) 依赖的酶,在一定条

件下能维持氧化还原的稳态^[12,40]。MTHFD2 抑制剂 LY345899 可以通过降低 NADPH 的产生来调节结肠癌的氧化还原稳态^[12]。此外,抑制 MTHFD2 可以降低 NADPH/NADP⁺ 和 GSH/GSSG 比值^[17,51-53],可以抑制肿瘤的增殖和转移^[12,54-55]。相关机制研究表明,c-Myc 通过 KRAS 激活的 AKT 和 ERK 途径转录上调 MTHFD2 的表达^[12]。因此, MTHFD2 被认为在氧化还原稳态中具有重要作用,并具有靶向肿瘤治疗的潜力。

4.3 调控机制

MTHFD2 表达的潜在调控机制已相继被报道(图 4)。与 SHMT2 类似, MTHFD2 受 mTOR 通路的影响。在 KRAS 相关和细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 途径中也发现 MTHFD2 受到其调控。在非小细胞肺癌中, KRAS

的诱导可激活 AKT 和 ERK1/2 通路,并通过 c-Myc 识别并结合 MTHFD2 启动子上调 MTHFD2 的表达^[12]。此外,一些转录因子也被报道影响 MTHFD2 的调控。性别决定区域 Y-相关高迁移率组框 7 (sex-determining region Y-related high mobility group box 7, SOX7) 作为一种肿瘤抑制因子,能与 MTHFD2 启动子结合,抑制 MTHFD2 的表达,有利于 SOX7 介导的肿瘤抑制^[56]。在 Ewing 肉瘤 (Ewing sarcoma, EWS) 中,嵌合转录因子 EWS-FLI1 是主要的致癌驱动因子,正调控 MTHFD2 和 MTHFD1L 的表达,并影响细胞氧化还原状态^[57]。考虑到 MTHFD2 在多种癌症中的异常表达,靶向 MTHFD2 治疗癌症是一个很好的前瞻性策略。

4.4 抑制剂的开发

MTHFD2 在多种癌症中存在广泛的表达,显示出癌症治疗的潜力^[12,16]。目前已有 MTHFD2 晶体

结构的报道^[43] 并发现 4 种 MTHFD2 抑制剂。Ly345889 (图 4j) 是首次报道的 MTHFD2 合成抑制剂^[42],但 LY345889 对 MTHFD2 缺乏足够的选择性,MTHFD1 和 MTHFD2 的 IC₅₀ 值分别为 96 nM 和 663 nM^[42]。在天然产物中发现的 carolacton (图 4k) 抑制腺癌细胞和人口腔表皮癌细胞的生长,当 U-937 细胞在去叶酸培养基中生长时,EC₅₀ 为 42 mM,最大抑制率为 70%^[58]。最近,DS44960156 (图 4l) 被报道对 MTHFD2 具有良好的选择性 (MTHFD2 IC₅₀ = 1.6 nM; MTHFD1 IC₅₀ > 30 nM)。在进一步优化后,获得了 DS18561882 (图 4m),对 MTHFD2 的 IC₅₀ 值为 6.3 nM^[59]。在小鼠异种移植模型中,口服 DS18561882 显著抑制肿瘤增殖^[59]。DS18561882 被认为是一种很有前途的 MTHFD2 抑制剂,用于乳腺癌的临床治疗,但其在其他类型癌症中的生物学功能亟待研究。

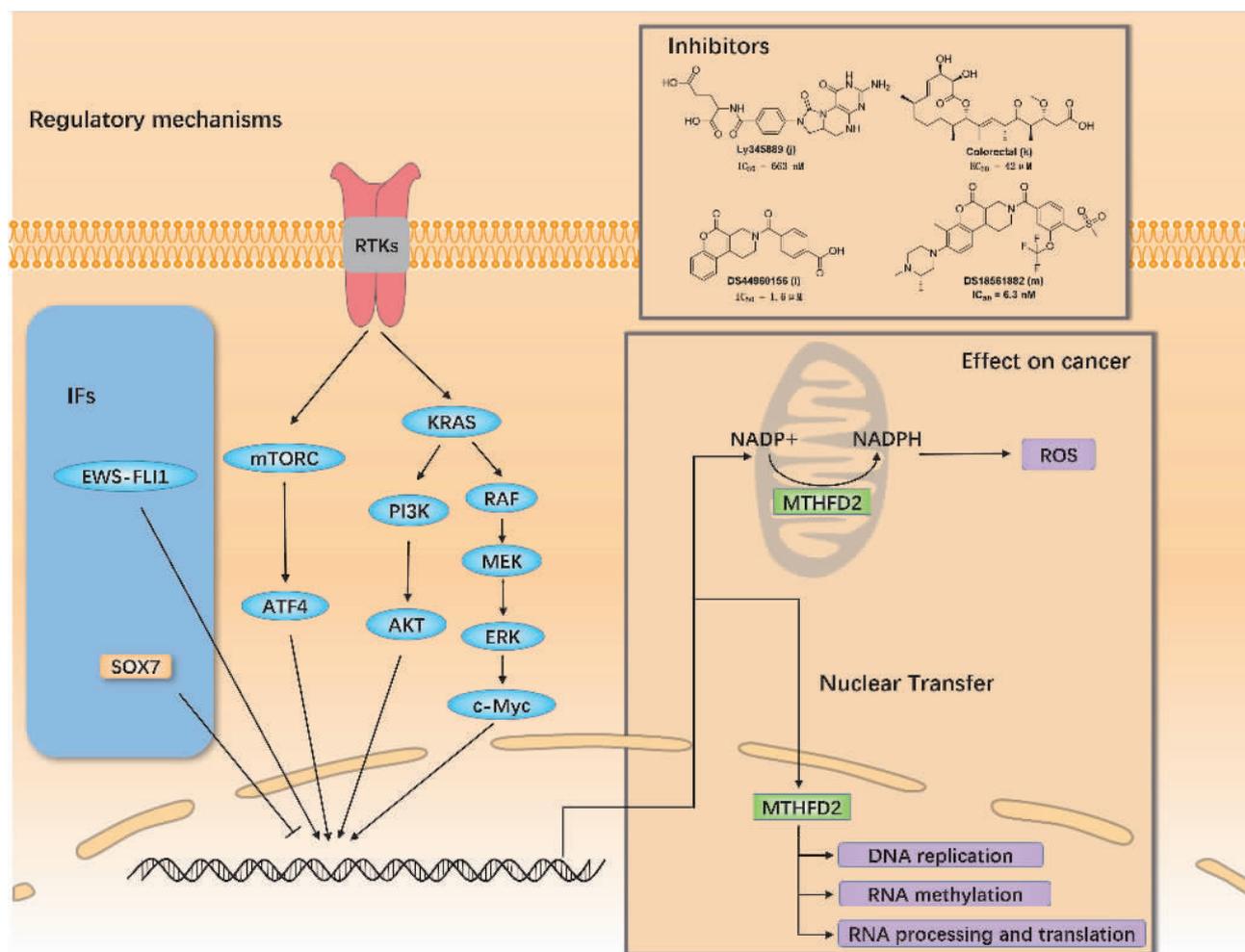


图 4 MTHFD2 的调控机制和相关抑制剂

5 其他潜在的靶点

5.1 ALDH1L2

ALDH1L2 也是线粒体中提供 NADPH 还原的关键酶^[17]。研究表明,ALDH1L2 产生的 NADPH 能降低黑色素瘤细胞的氧化应激,促进肿瘤转移。在 NSG 小鼠中,敲除 ALDH1L2 可抑制远处转移,而使用抗氧化剂可促进远处转移^[54]。与正常组织相比,人类结直肠癌肿瘤组织中 ALDH1L2 的表达上调^[19]。此外,编码一碳代谢酶基因的表达与结直肠癌和胰腺癌患者的生存率相关,与线粒体 SHMT2、MTHFD2 和 ALDH1L2 低表达的患者相比,高表达的患者总生存率较低。

5.2 SHMT1

SHMT1 是 SHMT2 在细胞质的同工酶形式^[60]。SHMT1 的功能似乎与 dTMP 和维生素 B6 的合成有关^[61]。SHMT1 阻止 dUMP 整合到双链 DNA 上,防止它破坏 DNA 双链的稳定性^[62]。Neu5Ac 是氨基糖和核苷酸代谢的中间产物,能促进促癌细胞因子 IL-6 和 IL-8 的表达。有研究表明,SHMT1 的下调通过影响 Neu5Ac 水平,进而阻止卵巢癌的生长和迁移^[63]。SHMT1 也可以通过抑制尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 1 (recombinant nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 1, NOX1) 介导的活性氧产生来抑制肝癌的转移^[64]。此外,一种能优先靶向 SHMT1 的吡喃衍生物也能诱导肺癌细胞凋亡^[33]。

6 结语与展望

本文综述了叶酸代谢中的关键酶 SHMT2 和 MTHFD2 在肿瘤异常生长中的多因素作用。叶酸代谢的关键酶 MTHFD2 和 SHMT2 的表达具有一定的特异性,在多种肿瘤细胞中均有显著的高表达(如乳腺癌、膀胱癌),这无疑是在叶酸代谢与癌症之间架起了一座新的桥梁。目前的研究已经表明 SHMT2 和 MTHFD2 可以影响癌中重要的氨基酸代谢,嘌呤合成以及氧化还原稳态,相关小分子抑制剂也在体内实验中表现出一定的治疗效果,提示靶向调控 SHMT2 和 MTHFD2 在癌症治疗中的巨大潜力。在未来,针对肿瘤细胞中异常高表达的叶酸代谢酶或许是一个主流方向。

[参考文献]

[1] Li X, Wenes M, Romero P, et al. Navigating metabolic pathways to

enhance antitumour immunity and immunotherapy [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(7): 425-441.

- [2] Yang Z, Jones A, Widschwendter M, et al. An integrative pan-cancer-wide analysis of epigenetic enzymes reveals universal patterns of epigenomic deregulation in cancer [J]. Genome Biol, 2015, 16(1): 140.
- [3] Jia D, Lu M, Jung KH, et al. Elucidating cancer metabolic plasticity by coupling gene regulation with metabolic pathways [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(9): 3909-3918.
- [4] Kok DE, Steegenga WT, Smid EJ, et al. Bacterial folate biosynthesis and colorectal cancer risk: More than just a gut feeling [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2020, 60(2): 244-256.
- [5] Farber S, Diamond LK, Mercer RD, et al. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin) [J]. New Engl J Med, 1948, 238(23): 787-793.
- [6] Tibbetts AS, Appling DR. Compartmentalization of mammalian folate-mediated one-carbon metabolism [J]. Annu Rev Nutr, 2010, 30: 57-81.
- [7] Lamb R, Harrison H, Smith DL, et al. Targeting tumor-initiating cells: Eliminating anabolic cancer stem cells with inhibitors of protein synthesis or by mimicking caloric restriction [J]. Oncotarget, 2015, 6(7): 4585-4601.
- [8] Locasale JW. Serine, glycine and one-carbon units: Cancer metabolism in full circle [J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(8): 572-583.
- [9] Liu F, Liu Y, He C, et al. Increased MTHFD2 expression is associated with poor prognosis in breast cancer [J]. Tumour Biol, 2014, 35(9): 8685-8690.
- [10] Bernhardt S, Bayerlová M, Vetter M, et al. Proteomic profiling of breast cancer metabolism identifies SHMT2 and ASCT2 as prognostic factors [J]. Breast Cancer Res, 2017, 19(1): 112.
- [11] Yu H, Wang H, Xu HR, et al. Overexpression of MTHFD1 in hepatocellular carcinoma predicts poorer survival and recurrence [J]. Future Oncol, 2019, 15(15): 1771-1780.
- [12] Ju HQ, Lu YX, Chen DL, et al. Modulation of redox homeostasis by inhibition of MTHFD2 in colorectal cancer: Mechanisms and therapeutic implications [J]. J Natl Cancer Inst, 2019, 111(6): 584-596.
- [13] Field MS, Kamynina E, Chon J, et al. Nuclear folate metabolism [J]. Annu Rev Nutr, 2018, 38: 219-243.
- [14] Raimondi MV, Randazzo O, La Franca M, et al. DHFR inhibitors: Reading the past for discovering novel anticancer agents [J]. Molecules, 2019, 24(6): 1140.
- [15] Lee GY, Haverly PM, Li L, et al. Comparative oncogenomics identifies PSMB4 and SHMT2 as potential cancer driver genes [J]. Cancer Res, 2014, 74(11): 3114-3126.
- [16] Nilsson R, Jain M, Madhusudhan N, et al. Metabolic enzyme expression highlights a key role for MTHFD2 and the mitochondrial folate pathway in cancer [J]. Nat Commun, 2014, 5: 3128.
- [17] Fan J, Ye J, Kamphorst JJ, et al. Quantitative flux analysis reveals folate-dependent NADPH production [J]. Nature, 2014, 510(7504): 298-302.
- [18] Engel AL, Lorenz NI, Klann K, et al. Serine-dependent redox ho-

- meostasis regulates glioblastoma cell survival [J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(9) : 1391-1398.
- [19] Miyo M, Konno M, Colvin H, *et al.* The importance of mitochondrial folate enzymes in human colorectal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(1) : 417-425.
- [20] Ducker GS, Ghergurovich JM, Mainolfi N, *et al.* Human SHMT inhibitors reveal defective glycine import as a targetable metabolic vulnerability of diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(43) : 11404-11409.
- [21] Ducker GS, Rabinowitz JD. One-carbon metabolism in health and disease [J]. *Cell Metab*, 2017, 25(1) : 27-42.
- [22] Wei Z, Song J, Wang G, *et al.* Deacetylation of serine hydroxymethyltransferase 2 by SIRT3 promotes colorectal carcinogenesis [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1) : 4468.
- [23] Ye J, Fan J, Venneti S, *et al.* Serine catabolism regulates mitochondrial redox control during hypoxia [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(12) : 1406-1417.
- [24] Minton DR, Nam M, McLaughlin DJ, *et al.* Serine catabolism by SHMT2 is required for proper mitochondrial translation initiation and maintenance of formylmethionyl-tRNAs [J]. *Mol Cell*, 2018, 69(4) : 610-621. e5.
- [25] Morscher RJ, Ducker GS, Li SH, *et al.* Mitochondrial translation requires folate-dependent tRNA methylation [J]. *Nature*, 2018, 554(7690) : 128-132.
- [26] Lucas S, Chen G, Aras S, *et al.* Serine catabolism is essential to maintain mitochondrial respiration in mammalian cells [J]. *Life Sci Alliance*, 2018, 1(2) : e201800036.
- [27] He L, Gomes AP, Wang X, *et al.* mTORC1 promotes metabolic reprogramming by the suppression of GSK3-dependent Foxk1 phosphorylation [J]. *Mol Cell*, 2018, 70(5) : 949-960. e4.
- [28] Lebeau J, Saunders JM, Moraes VWR, *et al.* The PERK arm of the unfolded protein response regulates mitochondrial morphology during acute endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(11) : 2827-2836.
- [29] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, *et al.* Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2018, 1865(5) : 721-733.
- [30] Marrocco I, Altieri F, Rubini E, *et al.* Shmt2: A Stat3 signaling new player in prostate cancer energy metabolism [J]. *Cells*, 2019, 8(9) : 1048.
- [31] Snell K, Riches D. Effects of a triazine antifolate (NSC 127755) on serine hydroxymethyltransferase in myeloma cells in culture [J]. *Cancer Lett*, 1989, 44(3) : 217-220.
- [32] Stover P, Schirch V. 5-Formyltetrahydrofolate polyglutamates are slow tight binding inhibitors of serine hydroxymethyltransferase [J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(3) : 1543-1550.
- [33] Marani M, Paone A, Fiascarelli A, *et al.* A pyrazolopyran derivative preferentially inhibits the activity of human cytosolic serine hydroxymethyltransferase and induces cell death in lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(4) : 4570-4583.
- [34] García-Cañaveras JC, Lancho O, Ducker GS, *et al.* SHMT inhibition is effective and synergizes with methotrexate in T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2021, 35(2) : 377-388.
- [35] Han Y, He L, Qi Y, *et al.* Identification of three new compounds that directly target human serine hydroxymethyltransferase 2 [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2021, 97(2) : 221-230.
- [36] Dekhne AS, Shah K, Ducker GS, *et al.* Novel pyrrolo[3,2-d]pyrimidine compounds target mitochondrial and cytosolic one-carbon metabolism with broad-spectrum antitumor efficacy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18(10) : 1787-1799.
- [37] Scaletti E, Jemth AS, Helleday T, *et al.* Structural basis of inhibition of the human serine hydroxymethyltransferase SHMT2 by antifolate drugs [J]. *FEBS Lett*, 2019, 593(14) : 1863-1873.
- [38] Mejia NR, MacKenzie RE. NAD-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase in transformed cells is a mitochondrial enzyme [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988, 155(1) : 1-6.
- [39] Patel H, Pietro ED, MacKenzie RE. Mammalian fibroblasts lacking mitochondrial NAD⁺-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-cyclohydrolase are glycine auxotrophs [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(21) : 19436-19441.
- [40] Christensen KE, Mirza IA, Berghuis AM, *et al.* Magnesium and phosphate ions enable NAD binding to methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(40) : 34316-34323.
- [41] Mejia NR, Rios-Orlandi EM, MacKenzie RE. NAD-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase from ascites tumor cells. Purification and properties [J]. *J Biol Chem*, 1986, 261(20) : 9509-9513.
- [42] Gustafsson R, Jemth AS, Gustafsson NM, *et al.* Crystal structure of the emerging cancer target MTHFD2 in complex with a substrate-based inhibitor [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(4) : 937-948.
- [43] Tedeschi PM, Vazquez A, Kerrigan JE, *et al.* Mitochondrial methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (MTHFD2) overexpression is associated with tumor cell proliferation and is a novel target for drug development [J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(10) : 1361-1366.
- [44] Peri KG, MacKenzie RE. NAD⁽⁺⁾-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-cyclohydrolase: Detection of the mRNA in normal murine tissues and transcriptional regulation of the gene in cell lines [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1171(3) : 281-287.
- [45] Gustafsson Sheppard N, Jarl L, Mahadessian D, *et al.* The folate-coupled enzyme MTHFD2 is a nuclear protein and promotes cell proliferation [J]. *Sci Rep*, 2015, 5 : 15029.
- [46] Koufaris C, Nilsson R. Protein interaction and functional data indicate MTHFD2 involvement in RNA processing and translation [J]. *Cancer Metab*, 2018, 6 : 12.
- [47] Ben-Sahra I, Hoxhaj G, Ricoult SJH, *et al.* mTORC1 induces purine synthesis through control of the mitochondrial tetrahydrofolate cycle [J]. *Science*, 2016, 351(6274) : 728-733.
- [48] Nishimura T, Nakata A, Chen X, *et al.* Cancer stem-like properties and gefitinib resistance are dependent on purine synthetic metabolism mediated by the mitochondrial enzyme MTHFD2 [J]. *Oncogene*, 2019, 38(14) : 2464-2481.
- [49] Cheung CHY, Hsu CL, Tsuei CY, *et al.* Combinatorial targeting of

- MTHFD2 and PAICS in purine synthesis as a novel therapeutic strategy[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11) : 786.
- [50] Lin H, Huang B, Wang H, *et al*. MTHFD2 overexpression predicts poor prognosis in renal cell carcinoma and is associated with cell proliferation and vimentin-modulated migration and invasion[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(2) : 991-1000.
- [51] Shin M, Momb J, Appling DR. Human mitochondrial MTHFD2 is a dual redox cofactor-specific methylenetetrahydrofolate dehydrogenase/methylenetetrahydrofolate cyclohydrolase [J]. *Cancer Metab*, 2017, 5 : 11.
- [52] Lewis CA, Parker SJ, Fiske BP, *et al*. Tracing compartmentalized NADPH metabolism in the cytosol and mitochondria of mammalian cells[J]. *Mol Cell*, 2014, 55(2) : 253-263.
- [53] Ducker GS, Chen L, Morscher RJ, *et al*. Reversal of cytosolic one-carbon flux compensates for loss of the mitochondrial folate pathway [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(6) : 1140-1153.
- [54] Piskounova E, Agathocleous M, Murphy MM, *et al*. Oxidative stress inhibits distant metastasis by human melanoma cells[J]. *Nature*, 2015, 527(7577) : 186-191.
- [55] Jain M, Nilsson R, Sharma S, *et al*. Metabolite profiling identifies a key role for glycine in rapid cancer cell proliferation[J]. *Science*, 2012, 336(6084) : 1040-1044.
- [56] Zhang Y, Stovall DB, Wan M, *et al*. SOX7 target genes and their contribution to its tumor suppressive function[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5) : 1451.
- [57] Sen N, Cross AM, Lorenzi PL, *et al*. EWS-FLI1 reprograms the metabolism of Ewing sarcoma cells via positive regulation of glutamine import and serine-glycine biosynthesis[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(10) : 1342-1357.
- [58] Torres-Adorno AM, Lee J, Kogawa T, *et al*. Histone deacetylase inhibitor enhances the efficacy of MEK inhibitor through NOXA-Mediated MCL1 degradation in triple-negative and inflammatory breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(16) : 4780-4792.
- [59] He J, McLaughlin RP, van der Noord V, *et al*. Multi-targeted kinase inhibition alleviates mTOR inhibitor resistance in triple-negative breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 17(2) : 263-274.
- [60] Renwick SB, Snell K, Baumann U. The crystal structure of human cytosolic serine hydroxymethyltransferase: A target for cancer chemotherapy[J]. *Structure*, 1998, 6(9) : 1105-1116.
- [61] Pandey S, Garg P, Lee S, *et al*. Nucleotide biosynthesis arrest by silencing SHMT1 function via vitamin B6-coupled vector and effects on tumor growth inhibition[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(34) : 9332-9342.
- [62] Herbig K, Chiang EP, Lee LR, *et al*. Cytoplasmic serine hydroxymethyltransferase mediates competition between folate-dependent deoxyribonucleotide and S-adenosylmethionine biosyntheses[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(41) : 38381-38389.
- [63] Gupta R, Yang Q, Dogra SK, *et al*. Serine hydroxymethyl transferase 1 stimulates pro-oncogenic cytokine expression through sialic acid to promote ovarian cancer tumor growth and progression[J]. *Oncogene*, 2017, 36(28) : 4014-4024.
- [64] McLaughlin RP, He J, van der Noord VE, *et al*. A kinase inhibitor screen identifies a dual cdc7/CDK9 inhibitor to sensitise triple-negative breast cancer to EGFR-targeted therapy[J]. *Breast Cancer Res*, 2019, 21(1) : 77.