

二氢乳清酸脱氢酶在恶性肿瘤进展中的作用机制研究进展

车鑫, 胡震, 王永刚, 李耀平

Research Progress on Mechanism of Action of DHODH in Progression of Malignant Tumors

CHE Xin, HU Zhen, WANG Yonggang, LI Yaoping

The Fifth Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China

Corresponding Author: LI Yaoping, E-mail: liyaoping1600@sina.com

Abstract: Dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) is a flavin-dependent metabolic enzyme that oxidizes dihydroorotate acid to orotic acid in the de novo synthesis pathway of pyrimidine metabolism. DHODH is located in mitochondria, closely related to cellular oxidative phosphorylation, and an important suppressor of the ferroptosis pathway. This study investigates the influence of DHODH on the progression of malignant tumors, including its important role in the de novo synthesis of pyrimidine, oxidative phosphorylation, and ferroptosis. The objective is to present evidence that DHODH is a potential target for the clinical treatment of tumors.

Key words: Dihydroorotate dehydrogenase; Neoplasms; De novo pyrimidine biosynthesis; OXPHOS; Ferroptosis; DHODH inhibitor

Funding: Shanxi Applied Basic Research Program (No. 201901D111431; No. 202103021224379), Shanxi Medical Key Research Project (No. 2022XM25)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘 要: 二氢乳清酸脱氢酶 (DHODH) 是一种黄素依赖性的代谢酶, 在嘧啶代谢从头合成途径中将二氢乳清酸氧化成乳清酸。同时它位于线粒体上, 与细胞氧化磷酸化存在紧密联系。此外, DHODH 也是铁死亡途径的一个重要抑制因子。本文主要阐述DHODH影响恶性肿瘤进展的内在作用机制, 包括其在嘧啶从头合成、氧化磷酸化及铁死亡等方面的重要作用, 为DHODH作为恶性肿瘤临床治疗的潜在靶点提供依据。

关键词: 二氢乳清酸脱氢酶; 恶性肿瘤; 嘧啶从头合成; 氧化磷酸化; 铁死亡; DHODH抑制剂

中图分类号: R730

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

二氢乳清酸脱氢酶 (Dihydroorotate dehydrogenase, DHODH) 是一种含铁的黄素依赖性线粒体酶, 催化细胞嘧啶代谢中从头合成途径的关键步骤^[1]。嘧啶是DNA、RNA、磷脂和糖蛋白等物质合成重要前体, 因此嘧啶对细胞代谢和细胞生长起到重要作用。靶向DHODH的药物已被证明对疟疾^[2]、自身免疫性疾病^[3]、恶性肿瘤^[4]、类风湿

性关节炎^[5]等疾病有效。在恶性肿瘤中, 细胞增殖需要大量核苷酸, 其大部分通过嘧啶代谢的从头途径合成, 作为嘧啶合成的限速酶, DHODH抑制引起的嘧啶缺失直接或间接地阻碍了恶性肿瘤的发展; 同时DHODH位于线粒体内膜, 直接耦连线粒体内的电子传递链 (electron transport chain, ETC), 参与泛醌 (ubiquinone, CoQ) 的氧化还原循环, DHODH的表达被抑制时, 会引起ETC复合体的活性与功能受损, 进而影响细胞氧化磷酸化功能^[6]; 此外, DHODH还是细胞铁死亡体系的重要抑制因子之一, 通过DHODH-CoQH₂ (DHODH-Ubiquinol) 途径抑制细胞铁死亡的发生^[7]。通过抑制DHODH诱发的铁死亡可直接或通过增加肿瘤细胞对放化疗敏感性等方面延缓恶性肿瘤的发展。大量研究表明, DHODH的表达和活性与恶性肿瘤的进展直接相关。DHODH抑制剂的不断开发为其机制研究的临床转化提供了可能, 然而DHODH

收稿日期: 2023-10-09; 修回日期: 2023-11-04

基金项目: 山西省应用基础研究计划 (201901D111431, 202103021224379), 山西省医学重点科研项目 (2022XM25)

作者单位: 030012 太原, 山西医科大学第五临床医学院

通信作者: 李耀平 (1966-), 男, 博士, 教授, 主任医师, 主要从事结肠直肠癌相关疾病的诊治研究, E-mail: liyaoping1600@sina.com, ORCID: 0000-0001-7176-2916

作者简介: 车鑫 (1997-), 男, 硕士, 住院医师, 主要从事消化系统恶性肿瘤的诊治研究, ORCID: 0009-0005-1889-9549

在多种恶性肿瘤中的详细作用机制仍不明确。因此,本文旨在对DHODH在恶性肿瘤进展中的作用机制进行综述。

1 DHODH与恶性肿瘤嘧啶代谢

嘧啶是生物体内DNA、RNA、糖蛋白和磷脂等物质合成所必需的原料^[1]。生物体内嘧啶合成主要通过从头合成途径与挽救途径两条途径产生^[8]。在嘧啶的从头合成途径中,DHODH将二氢乳清酸氧化为乳清酸,后者与磷酸核糖焦磷酸(Phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP)结合生成尿苷单磷酸(uridine monophosphate, UMP),UMP是其他嘧啶核苷酸和各种生物过程的前体,影响了DNA、RNA合成等生物过程^[9-10]。

不同类型细胞和不同发育阶段细胞的嘧啶合成依赖的途径也不同。在快速增殖的细胞如活化的T细胞中,嘧啶核苷酸的从头合成占据主导地位^[11-12];在静息状态或完全分化的细胞中,其嘧啶的合成主要通过挽救途径^[12-14]。因此,DHODH对恶性肿瘤细胞等快速增殖的细胞影响更大。这些细胞可能对DHODH抑制高度敏感。研究发现,在乳腺癌PTEN突变细胞中,其生长依赖于通过嘧啶从头合成途径中的谷氨酰胺通量,当DHODH被抑制时会导致支持复制所需的核苷酸不足,进而使得细胞增殖速度减慢^[13]。抑制DHODH的表达还可导致Rad3相关激酶(ATR)激活,进而导致DNA损伤和细胞死亡的增加^[13]。此外,由于DHODH抑制而导致的嘧啶核苷酸库缺失,可能会损害核糖体的生物生成,激活肿瘤抑制因子p53通路从而导致细胞周期阻滞^[15]。Shi等通过IDH(异柠檬酸脱氢酶)突变型胶质瘤小鼠模型实验证明,DHODH表达降低导致的核苷酸库不平衡引起了DNA损伤的敏感性,抑制了IDH突变型胶质瘤的发展^[16]。以上研究表明抑制DHODH可以直接阻断嘧啶的从头合成途径从而影响细胞的增殖功能。

DHODH抑制导致的嘧啶损耗还对一些生物过程产生间接影响。例如,O-GlcNAc是糖基化修饰的一种,可以在UDP上添加N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)^[17]。通过抑制DHODH降低UMP可能导致急性髓系白血病(AML)中蛋白N-乙酰糖基化的整体降低进而促进AML细胞分化^[18]。Gwynn等研究发现,在髓母细胞瘤中抑制DHODH活性可导致UMP缺乏进而致使蛋白质O-GlcNAc减少、细胞周期停滞和细胞凋亡^[19]。此外,研究发现在神经母细胞瘤中,可通过抑制DHODH减少MYC的

表达抑制肿瘤发展,DHODH联合替莫唑胺成为了一种有潜力的治疗方法^[20]。He等发现通过抑制DHODH致使胃癌细胞在体内和体外实验中对化疗敏感^[21]。综上所述,DHODH在恶性肿瘤嘧啶代谢中起到关键作用,DHODH抑制引起的嘧啶缺失可直接影响多种恶性肿瘤的细胞增殖能力,此外,嘧啶缺失也可抑制恶性肿瘤细胞的糖基化水平、降低多种恶性肿瘤的耐药性,从而间接抑制恶性肿瘤的发展。

2 DHODH与线粒体功能

线粒体是人体最重要的细胞器之一,线粒体功能为细胞提供能量,是细胞呼吸作用和氧化磷酸化的场所,被称为“细胞动力工厂”^[22]。而氧化磷酸化系统(oxidative phosphorylation, OXPHOS)是细胞代谢的核心,它由五个酶复合物和两个在线粒体电子传递链中工作的移动电子载体组成^[22]。

DHODH位于线粒体内膜上,与ETC直接相连。CoQ是一种移动电子载体,它接受ETC复合物I和II及DHODH上的电子,并将它们转移到ETC复合物III上。DHODH的反应机制主要涉及传递电子给CoQ将其还原成CoQH₂,CoQH₂能够将电子直接传递给ETC复合物III^[23]。Yin等研究表明,在胃癌细胞中,DHODH表达受抑制时会导致电子传递链II和III功能受到抑制,进而导致OXPHOS功能障碍^[6]。另有研究表明,利用抗霉素A抑制ETC复合体III功能,使得CoQH₂氧化成为CoQ受阻,致使DHODH催化功能受到抑制,从而抑制急性髓性白血病细胞的增殖,促进其分化^[24]。Martínez-Reyes等研究表明,由于电子传递链复合物III/IV受损导致的ETC功能失调,抑制肺癌细胞增殖,通过引入替代氧化酶(AOX)恢复CoQ氧化还原后肺癌细胞的生长抑制消失,证明了CoQ的氧化还原循环是肿瘤生长所必需的,DHODH参与并影响了这一过程^[25]。此外,在乳腺癌中,Bajzikova等通过ETC复合物III和IV重新激活DHODH恢复嘧啶核苷酸生物合成来充分恢复呼吸缺陷型癌细胞的肿瘤生长^[26],证明了由OXPHOS驱动的全新嘧啶生物合成对肿瘤生长至关重要。另有研究表明,氧化还原循环受抑制时,DHODH可反向驱动琥珀酸脱氢酶(SDH)将电子沉积到富马酸盐上,同时,富马酸盐的还原也可维持DHODH的活性^[27]。综上所述,DHODH主要通过CoQ的氧化还原循环参与到OXPHOS中,将其OXPHOS与嘧啶代谢联系到一起。DHODH的表达可影响ETC复合物的活性

与功能导致OXPHOS功能改变,进而影响肿瘤发展;同时,也可通过抑制CoQ的氧化还原循环导致的OXPHOS功能改变驱动DHODH介导的嘧啶代谢发生改变,进而影响肿瘤的发展。

3 DHODH与铁死亡途径

铁死亡是近年来发现的一种新型细胞死亡途径,在细胞死亡过程中通常伴随着大量的铁积累和脂质过氧化^[28]。它在形态和机制上不同于凋亡和其他类型的细胞死亡。在形态学上表现为线粒体萎缩和线粒体嵴数量减少、细胞核无破裂及细胞膜破裂^[29-30]。癌细胞有着独特的细胞代谢,其高负荷的ROS及一些特定的突变使其更加容易受到铁死亡的影响,因此,促进铁死亡是一种关键的肿瘤抑制机制^[30-31]。

Qiu等通过透射电子显微镜观察到DHODH敲除的口腔鳞癌细胞中线粒体嵴结构减少和紊乱,这与细胞铁死亡的形态学表现相符^[32]。另有研究表明,纤维肉瘤细胞使用RSL3(GPX4抑制剂)处理诱导铁死亡后,细胞内UMP合成显著上升^[7]。这提示铁死亡和嘧啶核苷酸合成可能相关。通过补充嘧啶合成中间代谢物,发现二氢乳清酸抑制RSL3诱导的铁死亡,而乳清酸使细胞对RSL3更为敏感^[7]。Jiang等研究发现,在宫颈癌中,当DHODH被抑制时脂质过氧化物丙二醛增多、铁离子浓度升高^[33]。以上均提示DHODH参与了细胞铁死亡的发生。

DHODH位于线粒体内膜上,通过将电子传递给CoQ,进而还原成CoQH₂,CoQH₂除了具有线粒体电子传递功能外,还可以捕获脂质过氧自由基,从而抑制脂质过氧化和铁死亡。研究表明:在GPX4受到抑制时,DHODH的表达显著增加,导致CoQH₂生成增加,从而减少线粒体脂质过氧化抑制了铁死亡的发生;但是当GPX4与DHODH均受到抑制时,细胞线粒体发生了脂质过氧化物累积及铁死亡;虽然能够产生CoQH₂的其他线粒体酶还有电子传递链复合物I和II,但是通过抑制剂使其失活后未诱导出铁死亡^[7]。以上证据表明:DHODH-CoQH₂是位于线粒体中的一种铁死亡抑制途径。此外,在肝癌中,DHODH被抑制时,诱导细胞内线粒体铁死亡发生,降低了肝癌对奥沙利铂的敏感度^[34]。Zhang等研究发现,添加MnCl₂可降低DHODH在小鼠结直肠癌细胞内的表达,使得肿瘤细胞内脂质过氧化及ROS水平提高,进而诱导肿瘤细胞发生铁死亡,延缓肿瘤的发展^[35]。Amos等研究表明,在敲低SOD2构建的鼻

咽癌氧化应激细胞模型中,DHODH表达与活性受到抑制,诱发了细胞的铁死亡途径,进而增强了鼻咽癌对放射治疗的敏感度^[36]。综上,DHODH是细胞铁死亡途径的一个重要抑制因子,当DHODH定位于线粒体时,通过将CoQ还原为CoQH₂,减少细胞内脂质过氧化物的积累,抑制细胞铁死亡的发生。DHODH表达受抑制时,可直接抑制肿瘤细胞增殖或增加肿瘤细胞对放化疗的敏感度。

4 结论与展望

近年来,靶向治疗已成为恶性肿瘤治疗的有效方式,寻找有潜力的恶性肿瘤靶点成为了其治疗的有效方法。DHODH是嘧啶从头合成途径中的关键酶,抑制DHODH引起的嘧啶缺失直接或间接地抑制了恶性肿瘤的发展。同时DHODH位于线粒体内膜上,与ETC直接耦连,通过参与CoQ的氧化还原循环对线粒体功能产生影响,在嘧啶代谢与OXPHOS之间起到纽带作用。通过DHODH的抑制引起的OXPHOS障碍可极大程度影响肿瘤发展。同时,DHODH介导的线粒体DHODH-CoQH₂,是一种线粒体铁死亡抑制途径,通过抑制DHODH诱发的肿瘤细胞铁死亡可直接抑制肿瘤增殖或增强肿瘤对放化疗敏感性来阻碍肿瘤发展。对铁死亡机制的深入了解将为癌症的靶向治疗提供理论基础。DHODH通过影响嘧啶代谢、OXPHOS、细胞铁死亡等方面在肿瘤的发展过程中起到重要作用。同时,DHODH的抑制剂加速开发,使得DHODH对恶性肿瘤靶向治疗的临床转化成为可能。DHODH抑制剂对多种恶性肿瘤均具有敏感性,DHODH与其他药物的联合靶向治疗可能是一种有发展前景的治疗策略。DHODH生物学功能及内在作用机制的挖掘,对实现恶性肿瘤的精准治疗具有深远意义。

利益冲突声明:

所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] Vyas VK, Ghatge M. Recent developments in the medicinal chemistry and therapeutic potential of dihydroorotate dehydrogenase (DHODH) inhibitors[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2011, 11(12): 1039-1055.
- [2] Phillips MA, Lotharius J, Marsh K, *et al.* A long-duration dihydroorotate dehydrogenase inhibitor (DSM265) for prevention and treatment of malaria[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(296): 296ra111.
- [3] Scott LJ. Teriflunomide: A Review in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis[J]. *Drugs*, 2019, 79(8): 875-886.
- [4] Li L, Ng SR, Colon CI, *et al.* Identification of DHODH as a

- therapeutic target in small cell lung cancer[J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(517): eaaw7852.
- [5] Wiese MD, Hopkins AM, King C, *et al.* Precision Medicine With Leflunomide: Consideration of the DHODH Haplotype and Plasma Teriflunomide Concentration and Modification of Outcomes in Patients With Rheumatoid Arthritis[J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2021, 73(7): 983-989.
- [6] Yin S, Kabashima T, Zhu Q, *et al.* Fluorescence assay of dihydroorotate dehydrogenase that may become a cancer biomarker[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40670.
- [7] Mao C, Liu X, Zhang Y, *et al.* DHODH-mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer[J]. *Nature (London)*, 2021, 593(7860): 586-590.
- [8] Evans DR, Guy HI. Mammalian Pyrimidine Biosynthesis: Fresh Insights into an Ancient Pathway[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(32): 33035-33038.
- [9] Löffler M, Fairbanks LD, Zameitat E, *et al.* Pyrimidine pathways in health and disease[J]. *Trends Mol Med*, 2005, 11(9): 430-437.
- [10] Robinson AD, Eich ML, Varambally S. Dysregulation of de novo nucleotide biosynthetic pathway enzymes in cancer and targeting opportunities[J]. *Cancer Lett*, 2020, 470: 134-140.
- [11] Brown JM, Giaccia AJ. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(7): 1408-1416.
- [12] Fairbanks LD, Bofill M, Ruckemann K, *et al.* Importance of ribonucleotide availability to proliferating T-lymphocytes from healthy humans. Disproportionate expansion of pyrimidine pools and contrasting effects of de novo synthesis inhibitors[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(50): 29682-29689.
- [13] Mathur D, Stratikopoulos E, Ozturk S, *et al.* PTEN Regulates Glutamine Flux to Pyrimidine Synthesis and Sensitivity to Dihydroorotate Dehydrogenase Inhibition[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(4): 380-390.
- [14] Lewis TA, Sykes DB, Law JM, *et al.* Development of ML390: A Human DHODH Inhibitor That Induces Differentiation in Acute Myeloid Leukemia[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2016, 7(12): 1112-1117.
- [15] Hubackova S, Davidova E, Boukalova S, *et al.* Replication and ribosomal stress induced by targeting pyrimidine synthesis and cellular checkpoints suppress p53-deficient tumors[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 110.
- [16] Shi DD, Savani MR, Levitt MM, *et al.* De novo pyrimidine synthesis is a targetable vulnerability in IDH mutant glioma[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(9): 939-956.
- [17] Fardini Y, Dehennaut V, Lefebvre T, *et al.* O-GlcNAcylation: A New Cancer Hallmark?[J]. *Frontiers in endocrinology (Lausanne)*, 2013, 4: 99.
- [18] Sykes DB, Kfoury YS, Mercier FE, *et al.* Inhibition of Dihydroorotate Dehydrogenase Overcomes Differentiation Blockade in Acute Myeloid Leukemia[J]. *Cell*, 2016, 167(1): 171-186.
- [19] Gwynne WD, Suk Y, Custers S, *et al.* Cancer-selective metabolic vulnerabilities in MYC-amplified medulloblastoma[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(12): 1488-1502.
- [20] Olsen TK, Dyberg C, Embaie BT, *et al.* DHODH is an independent prognostic marker and potent therapeutic target in neuroblastoma[J]. *JCI Insight*, 2022, 7(17): e153836.
- [21] He D, Chen M, Chang L, *et al.* De novo pyrimidine synthesis fuels glycolysis and confers chemoresistance in gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2022, 549: 215837.
- [22] Vercellino I, Sazanov LA. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(2): 141-161.
- [23] Khutornenko AA, Roudko VV, Chernyak BV, *et al.* Pyrimidine biosynthesis links mitochondrial respiration to the p53 pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(29): 12828-12833.
- [24] Zhang Y, Luo T, Ding X, *et al.* Inhibition of mitochondrial complex III induces differentiation in acute myeloid leukemia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 547: 162-168.
- [25] Martínez-Reyes I, Cardona LR, Kong H, *et al.* Mitochondrial ubiquinol oxidation is necessary for tumour growth[J]. *Nature (London)*, 2020, 585(7824): 288-292.
- [26] Bajzikova M, Kovarova J, Coelho AR, *et al.* Reactivation of Dihydroorotate Dehydrogenase-Driven Pyrimidine Biosynthesis Restores Tumor Growth of Respiration-Deficient Cancer Cells[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(2): 399-416.
- [27] Spinelli JB, Rosen PC, Sprenger HG, *et al.* Fumarate is a terminal electron acceptor in the mammalian electron transport chain[J]. *Science*, 2021, 374(6572): 1227-1237.
- [28] Li J, Cao F, Yin HL, *et al.* Ferroptosis: past, present and future[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88.
- [29] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al.* Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Non-Apoptotic Cell Death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [30] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, *et al.* Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [31] Zhang Y, Shi J, Liu X, *et al.* BAP1 links metabolic regulation of ferroptosis to tumour suppression[J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(10): 1181-1192.
- [32] Qiu X, Jiang S, Xiao Y, *et al.* SOX2-dependent expression of dihydroorotate dehydrogenase regulates oral squamous cell carcinoma cell proliferation[J]. *Int J Oral Sci*, 2021, 13(1): 3.
- [33] Jiang M, Song Y, Liu H, *et al.* DHODH Inhibition Exerts Synergistic Therapeutic Effect with Cisplatin to Induce Ferroptosis in Cervical Cancer through Regulating mTOR Pathway[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(2): 546.
- [34] Zhan M, Ding Y, Huang S, *et al.* Lysyl oxidase-like 3 restrains mitochondrial ferroptosis to promote liver cancer chemoresistance by stabilizing dihydroorotate dehydrogenase[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3123.
- [35] Zhang S, Kang L, Dai X, *et al.* Manganese induces tumor cell ferroptosis through type-I IFN dependent inhibition of mitochondrial dihydroorotate dehydrogenase[J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 193(Pt 1): 202-212.
- [36] Amos A, Jiang N, Zong D, *et al.* Correction: Depletion of SOD2 enhances nasopharyngeal carcinoma cell radiosensitivity via ferroptosis induction modulated by DHODH inhibition[J]. *BMC Cancer*, 2023, 23(1): 462.

[编辑：邱颖慧；校对：安凤]

作者贡献：

车 鑫：文献整理、论文构思及撰写

胡 震：文献整理

王永刚：文献指导、校对

李耀平：文献指导、校对及修改