

低氧与HIF-1对谷氨酰胺代谢的影响

刘梦琦, 王冬杨, 邬超越, 曹诣斌*

浙江师范大学, 化学与生命科学学院, 浙江 金华
Email: 1411973029@qq.com, *463668428@qq.com

收稿日期: 2021年1月4日; 录用日期: 2021年3月1日; 发布日期: 2021年3月10日

摘要

在氧气充足的情况下, 葡萄糖可以通过糖酵解和线粒体柠檬酸(TCA)循环为细胞提供能源和碳源。低氧会使TCA循环和电子传递链(ECT)受到抑制, 葡萄糖无法被完全氧化, 细胞缺乏能源和碳源。为了补充碳源和能源, 低氧细胞促进谷氨酰胺代谢途径合成的柠檬酸参与TCA循环, 为细胞提供必要的能源和碳源, 低氧诱导因子(HIF-1)参与了这一调控。本文主要介绍了低氧环境下的谷氨酰胺代谢, 分析了HIF-1与谷氨酰胺代谢之间的相互作用, 为低氧糖代谢的调控机制提供理论依据。

关键词

低氧, HIF-1, 谷氨酰胺, 糖代谢, TCA循环

Effects of Hypoxia and HIF-1 on Glutamine Metabolism

Mengqi Liu, Dongyang Wang, Chaoyue Wu, Yibin Cao*

College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang
Email: 1411973029@qq.com, *463668428@qq.com

Received: Jan. 4th, 2021; accepted: Mar. 1st, 2021; published: Mar. 10th, 2021

Abstract

When oxygen is sufficient, glucose can provide energy and carbon source for cells through glycolysis and mitochondrial citric acid (TCA) cycle. Hypoxia can inhibit TCA cycle and electron transport chain (ECT), glucose cannot be completely oxidized, and cells lack energy and carbon sources. In order to supplement carbon source and energy, hypoxic cells promote glutamine metabolism,

*通讯作者。

synthesize citric acid, participate in TCA cycle, and provide necessary energy and carbon source for cells. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) is involved in this regulation. This paper mainly introduces glutamine metabolism in hypoxic environment, analyzes the interaction between HIF-1 and glutamine metabolism, and provides theoretical basis for the regulation mechanism of hypoxic glucose metabolism.

Keywords

Hypoxia, HIF-1, Glutamine, Glucose Metabolism, TCA Cycle

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

低氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1)是低氧条件下广泛存在于哺乳动物和人体内的一种转录因子[1], 它通过调控一系列与适应低氧相关的基因(如糖代谢[2]), 对维持机体内的氧稳态平衡发挥着重要的生理学作用。巴斯德效应(Pasteur effect)首次描述了低氧细胞中葡萄糖向乳酸转化增加的现象。由于缺少氧气, 细胞中的三羧酸循环(TCA 循环)和电子传递链被抑制, 葡萄糖转化成丙酮酸后, 无法被丙酮酸脱氢酶(PDH)催化合成柠檬酸参与 TCA 循环, 而是与 NH_3 结合生成乳酸, 排出体外。葡萄糖无法被利用, 细胞缺乏生长所必需的碳源和能源。最近的研究发现, 低氧下细胞能够通过增加谷氨酰胺(Gln)的摄取, 为低氧细胞提供能源和碳源。而 HIF-1 能够通过促进谷氨酰胺代谢, 为细胞提供碳源, 帮助细胞适应低氧环境。本文对低氧下谷氨酰胺的代谢过程以及 HIF-1 与谷氨酰胺代谢之间的相互作用进行了综述, 为低氧细胞的代谢适应提供理论基础。

2. HIF-1 概述

上世纪 90 年代初, Semenza [1]和 Wang [3]在低氧条件下培养的哺乳动物细胞中, 发现了一种能够与红细胞生成素 EPO 基因上的低氧反应元件(HRE)特异性结合的蛋白质, 后来发现它广泛存在于低氧细胞内, 将它命名为低氧诱导因子(HIFs)。HIFs 是异二聚体, 由一个氧敏感性 α 亚单位(HIF-1 α 、HIF-2 α 、HIF-3 α)和氧不敏感的 HIF-1 β 亚单位组成。低氧诱导因子-1 (HIF-1)由 HIF-1 α (如图 1)和 HIF-1 β 两个亚基组成, 都属于 bHLH-PAS 转录因子家族[4]。HIF-1 α 由位于 N 端和 C 端的两个转录激活域, 以及 PAS 结构域、bHLH 结构域和氧依赖性降解域(ODDD)组成[4]。

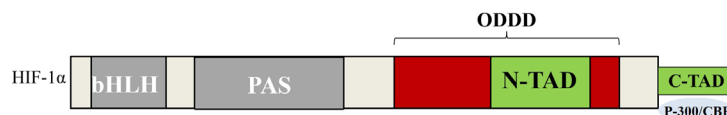


Figure 1. Structure of HIF-1 α

图 1. HIF-1 α 的结构图

HIF-1 的转录活性主要取决于 α 亚基的活性[5], β 亚基对氧不敏感, 在常氧或低氧状态下均持续性表达, α 亚基对氧浓度敏感, 受氧浓度严格调控, 其 ODDD 区域的保守脯氨酸残基的共价修饰对 HIF-1 α 蛋白的稳定性起决定性作用。常氧下, HIF-1 α 亚基半衰期很短, 在细胞中不断地被合成又被快速降解,

这是由于 α 亚基 ODDD 结构域中的两个脯氨酸残基(pro402 和 pro564)能够被脯氨酰羟化酶(PHDs)羟基化,羟基化的脯氨酸残基与肿瘤抑制基因蛋白(pVHL)发生相互作用,并通过泛素-蛋白酶体途径降解[5][6]。PHDs 的活性取决于氧、抗坏血酸和辅酶 Fe^{2+} 的含量[7],低氧下,PHDs 活性丧失,HIF-1 α 不被降解并向细胞核内转移,与 HIF-1 β 亚基形成 HIF-1 二聚体,再与靶基因表达调控区域的 HRE 结合,参与调节靶基因的表达。

受 HIF-1 调控的靶基因的启动子或增强子内含有一个或多个低氧反应元件(HRE),通过对 HRE 的鉴定,迄今发现的能够与 HIF-1 直接作用的基因有 60 多个,这些靶基因与细胞内的多种生理活动密切相关,包括血管生成[8]、血管舒张[9]和糖代谢[2]等。

3. 谷氨酰胺代谢

3.1. 谷氨酰胺

大多数细胞在增殖过程中都会消耗大量的葡萄糖和谷氨酰胺[10][11][12]。葡萄糖和谷氨酰胺分别作为碳源和氮源,能够促进肿瘤细胞的生长[11][12][13]。Gln 在生物体内被认为是一种非必需氨基酸,肌肉和其他器官能够合成谷氨酰胺并可通过其他氨基酸代谢来清除多余的氨。肾脏通过释放谷氨酰胺中的氨来维持酸碱平衡[10],肝脏和肾脏通过尿素循环消除谷氨酰胺中以尿素形式存在的过量氨。根据细胞代谢状态的不同,Gln 可以作为蛋白质、核苷酸、谷胱甘肽生物合成的前体或产生 ATP 为驱动线粒体提供动力[14]。由于这种双重功能,Gln 对许多细胞的增殖是必不可少的,如肠粘膜细胞、活化淋巴细胞、肾小管细胞和癌细胞等。谷氨酰胺可通过转运蛋白(如 SLC1A5)进入细胞[15][16],也可利用 L 型氨基酸转运体 1 (LAT1, SLC7A5 和 SLC3A2 的异质二聚体)[17]将其他氨基酸(如亮氨酸)交换到细胞外的。除了转运外,癌细胞还能在营养缺乏的情况下通过大分子的分解获得谷氨酰胺[18][19]。

3.2. 谷氨酰胺的胞内代谢

Glu 进入细胞后,可促进核苷酸的生物合成[20];也能促进尿苷二磷酸 N-乙酰葡萄糖胺(UDP-GlcNAc)合成,促进蛋白质折叠和运输;还能通过谷氨酰胺酶转化成谷氨酸,被转运蛋白转入线粒体中。进入线粒体的谷氨酸可通过氧化或还原途径[21](图 2)被利用:谷氨酸脱氢酶(GLUD)或转氨酶将谷氨酸转化为 α -酮戊二酸(α -KG), α -KG 可以被 α -酮戊二酸脱氢酶(α KGDH)氧化为琥珀酸,参与 TCA 循环,为细胞提供能量;TCA 循环衍生的草酰乙酸(OAA)或苹果酸被输出到细胞质中,苹果酸通过苹果酸酶产生 NADPH 和丙酮酸,OAA 可以转化为天冬氨酸,以支持核苷酸的合成; α -KG 也可以被异柠檬酸脱氢酶(IDH2)还原羧化为柠檬酸。谷氨酸衍生的柠檬酸可被运输到细胞质中,以生成乙酰辅酶 A (Ac-CoA),用于脂肪酸合成等[22][23]。因此,谷氨酰胺可以作为仅次于葡萄糖的碳源。

谷氨酰胺还能够作为氮源,谷氨酰胺-氮对细胞的生存是必不可少的,细胞对谷氨酰胺-氮的利用主要从以下几个方面。谷氨酸通过 GLUD 或转氨酶转化为 α -KG, GLUD 反应的副产物是 $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$,对细胞有毒性,而转氨酶反应的副产物是其他氨基酸(如脯氨酸、天冬氨酸等)[24],不产生 $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ 。示踪实验证明,体外培养的癌细胞中至少 50%用于蛋白质合成的非必需氨基酸可以直接通过谷氨酰胺代谢获取[15][25]。例如谷氨酸作为氨基转移反应的氮供体,通过谷氨酸草酰乙酸转氨酶(GOT)、谷氨酸丙酮酸转氨酶(GPT)[26]和磷酸丝氨酸转氨酶 1 (PSAT1)的作用,参与合成丙氨酸、天冬氨酸和丝氨酸[27];TCA 循环中衍生的天冬氨酸还可通过一系列的酶将氮转移到嘧啶前体;同时,谷氨酰胺还可以直接提供酰胺氮和间接提供胺氮以进行核苷酸生物合成。缺乏谷氨酰胺的癌细胞会发生细胞周期停滞,但这种停滞可以被外源核苷酸挽救(但不能被草酰乙酸等 TCA 循环中间产物挽救)[20][28]。事实上,在体外培养的人类原发性肺癌细胞中,人们已经观察到外源性谷氨酰胺合成核苷酸的现象[29]。

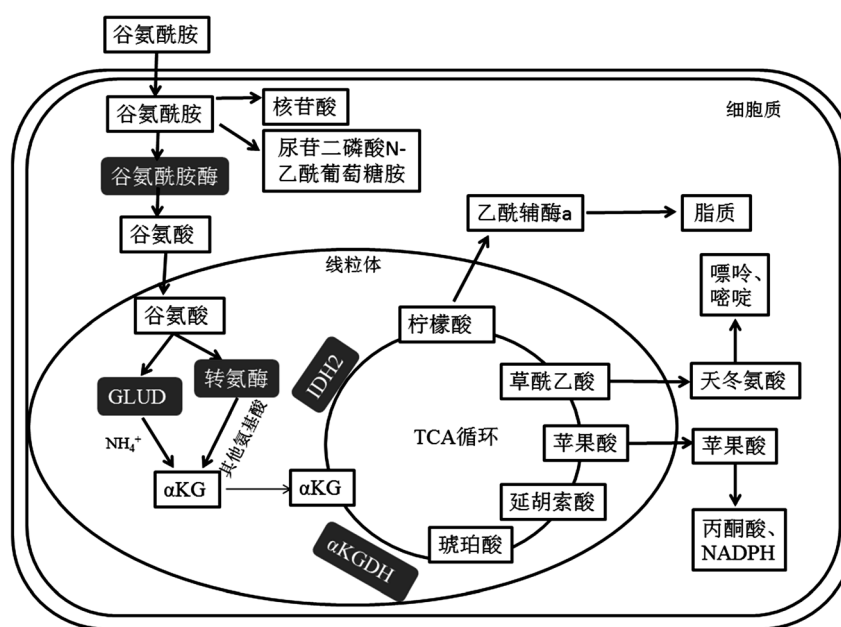


Figure 2. Glutamine metabolism and its products

图 2. 谷氨酰胺代谢过程及其产物

4. 低氧与 HIF-1 对谷氨酰胺代谢的影响

4.1. 低氧促进谷氨酰胺 - 碳的利用

氧气在细胞呼吸中承担着重要的角色，一方面，氧气是线粒体电子传递链中电子的最终受体，低氧导致电子传递异常；另一方面，缺乏氧气还会导致烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)被破坏，影响柠檬酸循环。低氧细胞虽然增加了对葡萄糖的摄取，但低氧导致 TCA 循环被抑制，葡萄糖无法通过有氧呼吸为细胞提供足够的能源和碳源，只能转化成乳酸，排出细胞外[30] [31]。导致细胞缺乏碳源，特别是细胞增殖所必需的脂质。

Gln 可通过氧化途径参与 TCA 循环，也可以通过还原途径生成柠檬酸，合成脂肪酸前体 Ac-CoA [22] [32]，为细胞提供碳源。还原途径在 HIF-1 α 稳定的细胞中更受青睐[33] [34]。研究发现，在低氧的肿瘤细胞中，谷氨酰胺被用作的主要的碳源，尤其是用于脂质生物合成[34] [35]。Ac-CoA 是合成脂质的前体，柠檬酸又是 Ac-CoA 的前体物质。在常氧下，葡萄糖和谷氨酰胺都对细胞柠檬酸库有贡献，谷氨酰胺是草酰乙酸的主要来源[13]，葡萄糖是 Ac-CoA [36]的主要来源，柠檬酸合成酶将 Ac-CoA 的乙基与草酰乙酸的酮基缩合生成柠檬酸。丙酮酸脱氢酶(PDH)将葡萄糖衍生的丙酮酸转化为 Ac-CoA，以及通过 TCA 循环将谷氨酰胺转化为草酰乙酸都依赖于 NAD^+ ，然而， NAD^+ 在低氧条件下可被破坏，柠檬酸的合成受到抑制。谷氨酰胺成为低氧细胞柠檬酸盐的主要来源已被证实[35]。谷氨酰胺衍生的 α -酮戊二酸能够被线粒体异柠檬酸脱氢酶(IDH2)还原羧化形成异柠檬酸，然后异构化为柠檬酸。最近的研究发现，低氧条件下的肺癌细胞中异柠檬酸脱氢酶 IDH2 的依赖性羧化增加[11]，谷氨酰胺成为柠檬酸盐的主要来源，当缺少谷氨酰胺或 RNAi 使 IDH2 沉默时，低氧细胞将无法增殖。低氧条件下谷氨酰胺衍生的 Ac-CoA 比例也显著提高[37]。此外，低氧下葡萄糖产生的乳酸也可以诱导谷氨酰胺摄取和代谢[38]。

4.2. 低氧促进谷氨酰胺 - 氮的排泄

低氧细胞在摄取和利用谷氨酰胺时，如果谷氨酰胺 - 氮代谢同化不能与谷氨酰胺 - 碳同步，细胞就

需要清除多余的氨基氮,因为游离的氨对细胞有毒性[39][40]。游离的氨可在谷氨酰胺合成酶的作用下与谷氨酸逆合成谷氨酰胺,但这一过程可以看作谷氨酰胺脱氨的逆转,对谷氨酰胺衍生氨的清除并没有实际上的作用。常氧下,氨在氨甲酰磷酸合成酶 I (CPSI)的作用下合成尿素,或者被 GLUD 催化将 α -酮戊二酸和氨转化成谷氨酸,并转移胺基使其他氨基酸(如脯氨酸和天冬氨酸)直接获得氨中的氮,还能与丙酮酸结合生成丙氨酸排出体外。然而, Wang 等人[37]发现低氧下体外培养的肿瘤细胞中尿素和丙氨酸等的合成并未增加。低氧实质上导致了细胞核苷酸前体特别是嘧啶前体的积累,包括氨甲酰天冬氨酸、二氢乳清酸和乳清酸,其中二氢乳清酸是细胞主要的分泌产物[37]。游离的氨可以被二氢乳清酸酶(CAD)转化成氨基甲酰磷酸或者被草草转氨酶 1 (GOD1)将氨并入天冬氨酸中,氨基甲酰磷酸和天冬氨酸在 CAD 的作用下生成氨甲酰天冬氨酸,最后生成二氢乳清酸,分泌到细胞外。

总的来说,低氧下谷氨酰胺转化为 Ac-CoA,用于低氧条件下的脂肪生成,同时通过 TCA 循环和 GOT1 将谷氨酰胺和谷氨酰胺基因并入分泌型二氢乳清酸中,从而为细胞增殖提供碳源,并排出细胞中多余的氮。

4.3. HIF-1 对谷氨酰胺代谢的调控

HIF-1 是低氧调控的关键因子,近 20% (12/65)的 HIF-1 靶基因(如 GLUT-1、丙酮酸激酶(PKM)、乳酸脱氢酶(LDHA)、己糖激酶 1 和 2 (HK1 和 HK2)或葡萄糖激酶(GCK))直接或间接参与葡萄糖代谢。低氧促进谷氨酰胺代谢,主要是通过激活 HIF-1 调控糖代谢和 TCA 循环相关的酶,来抑制葡萄糖源柠檬酸的合成,促进谷氨酰胺源柠檬酸参与 TCA 循环和脂质的合成,补偿低氧细胞的能量需求,为细胞提供碳源。

已知的 HIF-1 对谷氨酰胺代谢的调控,主要是通过激活几种关键酶(如图 3 所示)来进行的。首先, HIF-1 能够直接激活其靶基因丙酮酸脱氢酶激酶 1 (PDK1)基因,使得 TCA 循环酶—丙酮酸脱氢酶(PDH)失活[40]。由于 PDH 的作用是将丙酮酸转化为 Ac-CoA,这会导致丙酮酸不再进入 TCA 循环,而是被还原成乳酸排出细胞外,造成葡萄糖源柠檬酸盐的缺乏。同时, HIF-1 的激活促进 α -KG 脱氢酶(α KGDH)复合物(OGDH2) E1 亚单位 48kDa 剪接变异体的 SIAH2 靶向泛素化和蛋白水解[35]。 α KGDH 由 E1 (oxoglutarate dehydrogenase, OGDH)、E2 (dihydropyridine S-琥珀酰转移酶, DLST)和 E3 (dihydropyridine dehydrogenase, DLD)组成,它们共同将 α KG 转化为琥珀酰辅酶 a 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸[41]。SIAH2 的泛素化和蛋白水解使得 α KGDH 活性降低, α -KG 水平升高,推动了异柠檬酸脱氢酶的逆反应,谷氨酰胺类柠檬酸盐增加,促进谷氨酰胺类脂质的合成。除此之外,在肺癌细胞中[42], HIF-1 还能够通过上调谷氨酰胺脱氢酶(GDH)的表达,增加了肺癌细胞对谷氨酸的吸收、谷氨酸到酮戊二酸的代谢通量和 ATP 的生成。HIF1a 结合 GDH 的启动子,促进肺癌细胞中 GDH 基因的转录。

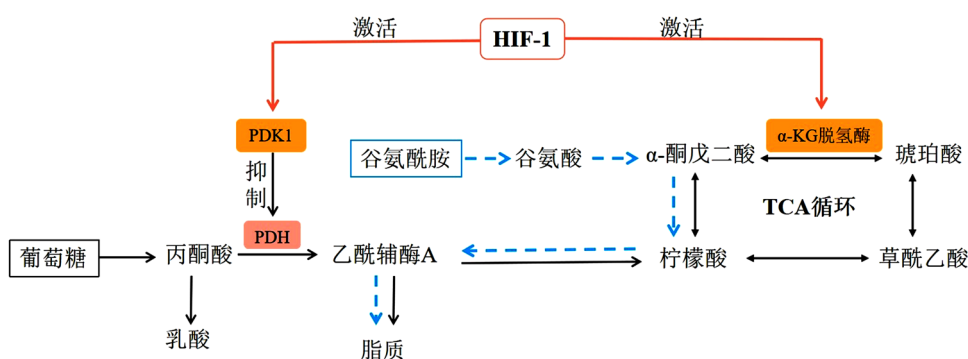


Figure 3. Effect of HIF-1 on glutamine metabolism

图 3. HIF-1 对谷氨酰胺代谢的影响

5. 总结与展望

综上所述, 谷氨酰胺对低氧细胞的增殖是必不可少的, 低氧下的谷氨酰胺承担了重要的生理作用, 如合成核苷酸、氨基酸和脂质, 代替葡萄糖成为低氧细胞中主要的碳源。而低氧诱导因子 HIF-1 对谷氨酰胺代谢中的许多重要基因都有调节作用。如, HIF-1 能够激活丙酮酸脱氢酶激酶 1 (PDK1) 基因的表达, 使 TCA 循环酶—丙酮酸脱氢酶(PDH)失活, 造成葡萄糖源柠檬酸盐的缺乏。还能促进 α -酮戊二酸脱氢酶 (α -KGDH) 泛素化和蛋白水解, 使得 α -KGDH 活性降低, α -KG 水平升高, 推动了异柠檬酸脱氢酶的逆反应, 为细胞的生长和增殖提供脂质。谷氨酰胺代谢过程中产生的游离的氨, 通过 GOD1 被并入分泌型二氢乳清酸中, 排出细胞外。

大多数肿瘤生活在低氧环境中, HIF-1 通过促进肿瘤细胞的谷氨酰胺代谢、促进细胞能量代谢对肿瘤发生、转移及肿瘤抗药性等方面发挥了重要作用, 因此, HIF-1 是肿瘤治疗的靶点。目前已有抑制 HIF-1 的药物进入临床试验, 但还应考虑 HIF-1 与谷氨酰胺代谢之间的作用。通过控制谷氨酰胺及其代谢产物的含量以及相关酶的表达, 从而达到抗肿瘤的效果, 具有重要的应用前景。

参考文献

- [1] Semenza, G.L. (2004) Hydroxylation of HIF-1: Oxygen Sensing at the Molecular Level. *Physiology (Bethesda)*, **19**, 176-182. <https://doi.org/10.1152/physiol.00001.2004>
- [2] Wolffe, D., Schmidt, H. and Jungermann, K. (1983) Short-Term Modulation of Glycogen Metabolism, Glycolysis and Gluconeogenesis by Physiological Oxygen Concentrations in Hepatocyte Cultures. *European Journal of Biochemistry*, **135**, 405-412. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1983.tb07667.x>
- [3] Wang, G.L. and Semenza, G.L. (1993) General Involvement of Hypoxia-Inducible Factor 1 in Transcriptional Response to Hypoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90**, 4304-4308. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.9.4304>
- [4] Lee, J.W., Bae, S.H., Jeong, J.W., et al. (2004) Hypoxia-Inducible Factor (HIF-1) α : Its Protein Stability and Biological Functions. *Experimental and Molecular Medicine*, **36**, 1-12. <https://doi.org/10.1038/emm.2004.1>
- [5] Ivan, M., Kondo, K., Yang, H., Kim, W., Valiando, J., Ohh, M., Salic, A., Asara, J.M., Lane, W.S. and Kaelin, W.G. (2001) HIF α Targeted for VHL-Mediated Destruction by Proline Hydroxylation: Implications for O₂ Sensing. *Science*, **292**, 464-468. <https://doi.org/10.1126/science.1059817>
- [6] Epstein, A.C., Gleadle, J.M., McNeill, L.A., Hewitson, K.S., O'Rourke, J., Mole, D.R., Mukherji, M., Metzen, E., Wilson, M.I., Dhanda, A., et al. (2001) *C. elegans* EGL-9 and Mammalian Homologs Define a Family of Dioxygenases that Regulate HIF by Prolyl Hydroxylation. *Cell*, **107**, 43-54. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00507-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00507-4)
- [7] Semenza, G.L. (2003) Targeting HIF-1 for Cancer Therapy. *Nature Reviews Cancer*, **3**, 721-732. <https://doi.org/10.1038/nrc1187>
- [8] Jelkmann, W. (1992) Erythropoietin: Structure, Control of Production and Function. *Physiological Reviews*, **72**, 449-489. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.2.449>
- [9] White, F.C., Carroll, S.M., Magnet, A. and Bloor, C.M. (1992) Exercise Induced Coronary Collateral Development: A Comparison to Other Models of Myocardial Angiogenesis. *Circulation Research*, **71**, 1490-1500. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3092-3_13
- [10] Taylor, L. and Curthoys, N.P. (2004) Glutamine Metabolism: Role in Acid-Base Balance. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, **32**, 291-304. <https://doi.org/10.1002/bmb.2004.494032050388>
- [11] DeBerardinis, R.J., Mancuso, A., Daikhin, E., et al. (2007) Beyond Aerobic Glycolysis: Transformed Cells Can Engage in Glutamine Metabolism That Exceeds the Requirement for Protein and Nucleotide Synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 19345-19350. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709747104>
- [12] Feron, O. (2009) Pyruvate into Lactate and Back: From the Warburg Effect to Symbiotic Energy Fuel Exchange in Cancer Cells. *Radiotherapy and Oncology*, **92**, 329-333. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2009.06.025>
- [13] Dang, C.V. (2010) Glutaminolysis: Supplying Carbon or Nitrogen or Both for Cancer Cells? *Cell Cycle*, **9**, 3884-3886. <https://doi.org/10.4161/cc.9.19.13302>
- [14] Dang, C.V. (2010) Rethinking the Warburg Effect with Myc Micromanaging Glutamine Metabolism. *Cancer Re-*

- search, **70**, 859-862. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3556>
- [15] Wise, D.R. and Thompson, C.B. (2010) Glutamine Addiction: A New Therapeutic Target in Cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, **35**, 427-433. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2010.05.003>
- [16] Bhutia, Y.D., Babu, E., Ramachandran, S. and Ganapathy, V. (2015) Amino acid Transporters in Cancer and Their Relevance to Glutamine Addiction: Novel Targets for the Design of a New Class of Anticancer Drugs. *Cancer Research*, **75**, 1782-1788. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3745>
- [17] Nicklin, P., *et al.* (2009) Bidirectional Transport of Amino Acids Regulates mTOR and Autophagy. *Cell*, **136**, 521-534. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.11.044>
- [18] Kamphorst, J.J., *et al.* (2015) Human Pancreatic Cancer Tumors Are Nutrient Poor and Tumor Cells Actively Scavenge Extracellular Protein. *Cancer Research*, **75**, 544-553. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-2211>
- [19] Commisso, C., *et al.* (2013) Macropinocytosis of Protein Is an Amino Acid Supply Route in Ras-Transformed Cells. *Nature*, **497**, 633-637. <https://doi.org/10.1038/nature12138>
- [20] Lane, A.N. and Fan, T.W. (2015) Regulation of Mammalian Nucleotide Metabolism and Biosynthesis. *Nucleic Acids Research*, **43**, 2466-2485. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv047>
- [21] GHolleran, A.L., Briscoe, D.A., Fiskum, G. and Kelleher, J.K. (1995) Glutamine Metabolism in AS-30D Hepatoma Cells. Evidence for Its Conversion into Lipids via Reductive Carboxylation. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **152**, 95-101. <https://doi.org/10.1007/BF01076071>
- [22] Gameiro, P.A., Laviolette, L.A., Kelleher, J.K., Iliopoulos, O. and Stephanopoulos, G. (2013) Cofactor Balance by Nicotinamide Nucleotide Transhydrogenase (NNT) Coordinates Reductive Carboxylation and Glucose Catabolism in the Tricarboxylic Acid (TCA) Cycle. *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 12967-12977. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.396796>
- [23] Metallo, C.M., Gameiro, P.A., Bell, E.L., Mattaini, K.R., Yang, J., Hiller, K., Jewell, C.M., Johnson, Z.R., Irvine, D.J., Guarente, L., *et al.* (2012) Reductive Glutamine Metabolism by IDH1 Mediates Lipogenesis under Hypoxia. *Nature*, **481**, 380-384. <https://doi.org/10.1038/nature10602>
- [24] Moreadith, R.W. and Lehninger, A.L. (1984) The Pathways of Glutamate and Glutamine Oxidation by Tumor Cell Mitochondria. Role of Mitochondrial NAD(P)⁺-Dependent Malic Enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, **259**, 6215-6221. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(20\)82128-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(20)82128-0)
- [25] Alberghina, L. and Gaglio, D. (2014) Redox Control of Glutamine Utilization in Cancer. *Cell Death & Disease*, **5**, e1561. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.513>
- [26] Wroblewski, F. and Ladue, J.S. (1956) Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Cardiac with Hepatic Disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **91**, 569-571. <https://doi.org/10.3181/00379727-91-22330>
- [27] Altman, B.J., Stine, Z.E. and Dang, C.V. (2016) From Krebs to Clinic: Glutamine Metabolism to Cancer Therapy. *Nature Reviews Cancer*, **16**, 619-634. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.71>
- [28] Gaglio, D., Soldati, C., Vanoni, M., Alberghina, L. and Chiaradonna, F. (2009) Glutamine Deprivation Induces Abortive S Phase Rescued by Deoxyribonucleotides in K-Ras Transformed Fibroblasts. *PLoS ONE*, **4**, e4715. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004715>
- [29] Sellers, K., *et al.* (2015) Pyruvate Carboxylase Is Critical for Non-Small-Cell Lung Cancer Proliferation. *The Journal of Clinical Investigation*, **125**, 687-698. <https://doi.org/10.1172/JCI72873>
- [30] Zhang, Y., Ren, Y.-J., Guo, L.-C., Ji, C., Hu, J., Zhang, H.-H., Xu, Q.-H., Zhu, W.-D., Ming, Z.-J., Yuan, Y.-S., *et al.* (2017) Nucleus Accumbens-Associated Protein-1 Promotes Glycolysis and Survival of Hypoxic Tumor Cells via the HDAC4-HIF-1 Axis. *Oncogene*, **36**, 4171-4181. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.51>
- [31] Warburg, O. (1956) On Respiratory Impairment in Cancer Cells. *Science*, **124**, 269-270. <https://doi.org/10.1126/science.124.3215.267>
- [32] Gameiro, P.A., Yang, J., Metelo, A.M., Perez-Carro, R., Baker, R., Wang, Z., Arreola, A., Rathmell, W.K., Olumi, A., Lopez-Larrubia, P., *et al.* (2013) *In Vivo* HIF-Mediated Reductive Carboxylation Is Regulated by Citrate Levels and Sensitizes VHL-Deficient Cells to Glutamine Deprivation. *Cell Metabolism*, **17**, 372-385. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.02.002>
- [33] Le, A., Lane, A.N., Hamaker, M., Bose, S., Gouw, A., *et al.* (2012) Glucose-Independent Glutamine Metabolism via TCA Cycling for Proliferation and Survival in B Cells. *Cell Metabolism*, **15**, 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.12.009>
- [34] Wise, D.R., Ward, P.S., Shay, J.E.S., *et al.* (2011) Hypoxia Promotes Isocitrate Dehydrogenase-Dependent Carboxylation of α -Ketoglutarate to Citrate to Support Cell Growth and Viability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 19611-19616. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117773108>

-
- [35] Sun, R.C. and Denko, N.C. (2014) Hypoxic Regulation of Glutamine Metabolism through HIF1 and SIAH2 Supports Lipid Synthesis That Is Necessary for Tumor Growth. *Cell Metabolism*, **19**, 285-292. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.11.022>
- [36] Gao, P., *et al.* (2009) c-Myc Suppression of miR-23a/b Enhances Mitochondrial Glutaminase Expression and Glutamine Metabolism. *Nature*, **458**, 762-765. <https://doi.org/10.1038/nature07823>
- [37] Wang, Y., Bai, C., Ruan, Y., *et al.* (2019) Coordinative Metabolism of Glutamine Carbon and Nitrogen in Proliferating Cancer Cells under Hypoxia. *Nature Communications*, **10**, 201. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-08033-9>
- [38] Perez-Escuredo, J., Dadhich, R.K., Dhup, S., Cacace, A., van Hee, V.F., de Saedeleer, C.J., Sboarina, M., Rodriguez, F., Fontenille, M.-J., Brisson, L., *et al.* (2016) Lactate Promotes Glutamine Uptake and Metabolism in Oxidative Cancer Cells. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, **15**, 72-83. <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1120930>
- [39] Tapper, E.B., Jiang, Z.G. and Patwardhan, V.R. (2015) Refining the Ammonia Hypothesis: A Physiology-Driven Approach to the Treatment of Hepatic Encephalopathy. *Mayo Clinic Proceedings*, **90**, 646-658. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.03.003>
- [40] Kappler, M., Pabst, U., Rot, S., Taubert, H., Wichmann, H., Schubert, J., Bache, M., Weinholdt, C., Immel, U.-D., Grosse, I., *et al.* (2017) Normoxic Accumulation of HIF1alpha Is Associated with Glutaminolysis. *Clinical Oral Investigations*, **21**, 211-224. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1780-9>
- [41] Patel, M.S. and Harris, R.A. (1995) Mammalian Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complexes: Gene Regulation and Genetic Defects. *The FASEB Journal*, **9**, 1164-1172. <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.12.7672509>
- [42] Jiang, Z.-F., *et al.* (2017) Hypoxia Promotes Mitochondrial Glutamine Metabolism through HIF1a-GDH Pathway In-human Lung Cancer Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **483**, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.01.015>