



尿素循环关键酶在肿瘤中的作用和机制

魏萌萌, 乔瑞, 张洁, 张仙宏, 俞嘉鑫, 李乐*

宁夏大学生命科学学院, 西部特色资源保护与利用教育部重点实验室, 银川 750021

* 联系人, E-mail: leli@nxu.edu.cn

收稿日期: 2021-11-12; 接受日期: 2022-03-18; 网络版发表日期: 2022-06-09

国家自然科学基金(批准号: 32100625)和第五届中国科协青年人才托举工程项目(批准号: 2019QNRC001)资助

摘要 尿素循环是将机体代谢产生的氨经过一系列酶促反应生成尿素的过程, 对于维持体内氨基酸水平及氨稳态有着重要的作用. 完整的尿素循环几乎只在肝脏中进行, 因此癌症中的尿素循环通常处于失调状态, 肿瘤细胞可以通过调节尿素循环酶的表达来适应环境和调控生物合成, 同时尿素循环失调会暴露出癌症的短板, 了解尿素循环在癌症中的演变可以用于癌症的诊断和治疗. 本文主要介绍尿素循环酶在不同肿瘤中的差异性调控, 了解尿素循环在肿瘤细胞中的重编程, 总结了尿素循环和肿瘤微环境、肿瘤治疗之间的关系.

关键词 尿素循环, 代谢重编程, 肿瘤微环境

尿素循环(urea cycle, UC), 又称为鸟氨酸循环(ornithine cycle), 由Hans Krebs和Kurt Henseleit在1932年发现, 是人类完整发现的第一个代谢循环过程. 完整的UC过程绝大多数在肝脏中进行, 少部分在肾脏中进行, 其主要功能是将有毒的氨经过一系列生化反应转化成无毒的尿素排出体外. 据研究表明, UC处理了85%~95%的氨, 为体内的氨解毒提供了巨大的贡献^[1].

UC一部分发生在线粒体内, 一部分发生在细胞质内(图1). 当氨从肠、肌肉、脑等组织通过血液运送到肝脏时UC开始进行^[2]. 氨首先和 HCO_3^- 在 Mg^{2+} , ATP及N-乙酰谷氨酸(N-acetyl-L-glutamate, NAG)的存在下, 经氨基甲酰磷酸合成酶1(carbamoyl phosphate synthase 1, CPS1)生成氨基甲酰磷酸, 这是UC中的第一个限速反应. 接下来氨基甲酰磷酸和鸟氨酸在鸟氨酸转氨甲酰酶(ornithine transcarbamylase, OTC)的催

化下生成瓜氨酸. 以上两步在肝细胞的线粒体中进行, 生成的瓜氨酸通过鸟氨酸转运体1(mitochondrial ornithine transporter 1, ORNT1, 又称SLC25A15)转运出线粒体到达细胞质基质. 在细胞质基质中, 谷氨酸和草酰乙酸在转氨酶的作用下生成天冬氨酸和 α 酮戊二酸. 转运出的瓜氨酸和天冬氨酸在精氨琥珀酸合酶(argininosuccinate synthetase 1, ASS1)催化下消耗ATP生成精氨琥珀酸, 这是UC的第二个限速反应. 随后, 精氨琥珀酸又在精氨琥珀酸裂解酶(argininosuccinate lyase, ASL)的作用下裂解成精氨酸和延胡索酸, 精氨酸在精氨酸酶(arginase, ARG)的催化下水解产生尿素和鸟氨酸. 鸟氨酸又经ORNT1从细胞质基质转运到线粒体中进行下一轮的循环. 产生的尿素跟随血液流经肾脏后, 被肾脏滤过、重吸收和分泌后形成终尿排出体外.

引用格式: 魏萌萌, 乔瑞, 张洁, 等. 尿素循环关键酶在肿瘤中的作用和机制. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 347–358

Wei M M, Qiao R, Zhang J, et al. The roles and mechanisms of urea cycle enzymes in tumor (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 347–358, doi: 10.1360/SSV-2021-0436

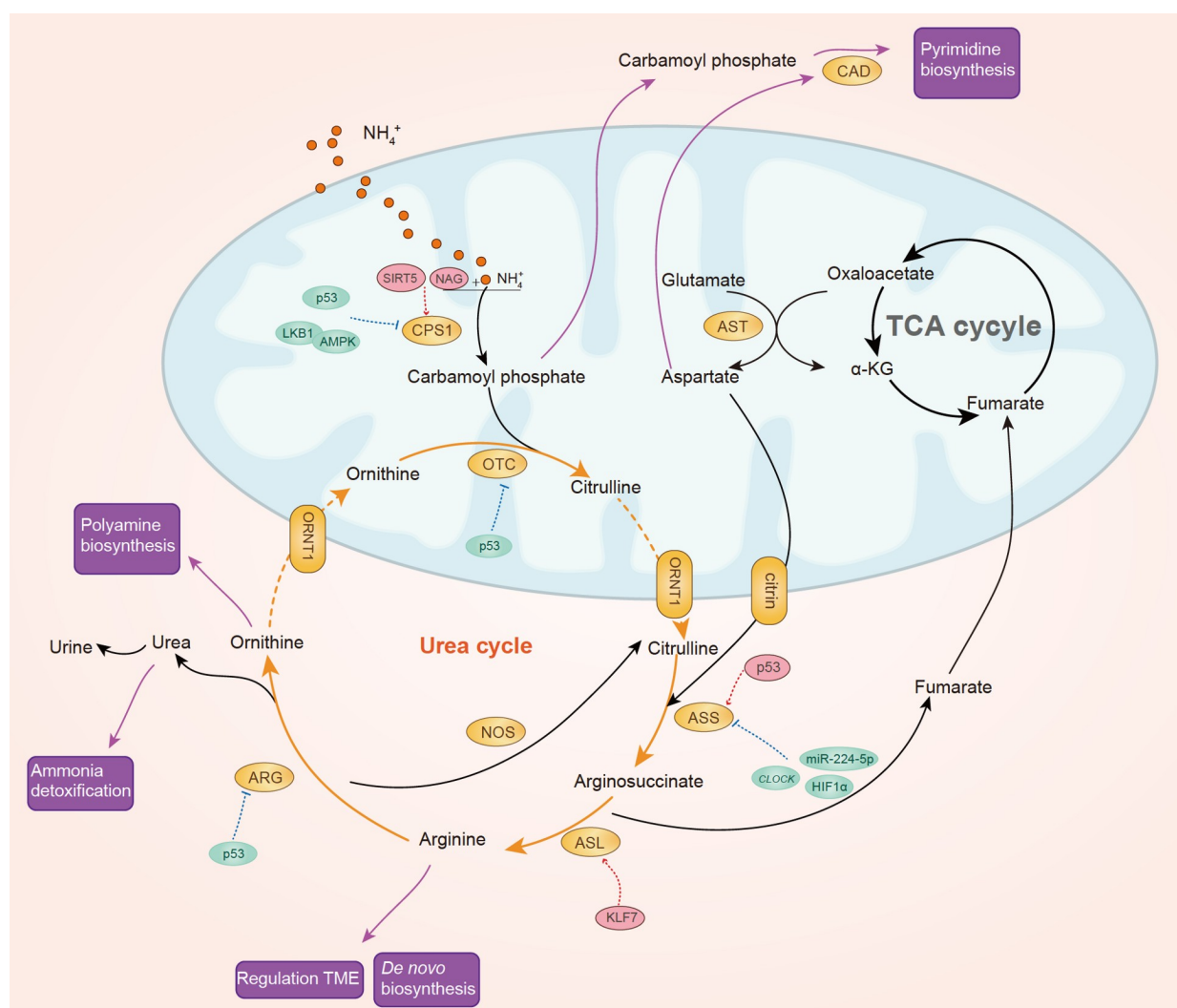


图1 尿素循环及相关代谢通路. 细胞内产生的氨由尿素循环产生尿素并排出体外, 在此过程中富马酸进入TCA循环, 草酰乙酸和 α -KG通过AST生成天冬氨酸补充尿素循环. 其中橙色箭头和方块表示UC及UC酶, 黑色箭头表示UC相关的其他代谢通路, 紫色箭头及方块表示UC代谢产物的功能, 红色虚线及蓝色虚线表示上调或下调某蛋白. citrin: 天冬氨酸/谷氨酸载体转运体; NOS: 一氧化氮合酶; AST: 谷草转氨酶

Figure 1 Urea cycle and related metabolic pathways. Intracellular ammonia produces urea through the urea cycle and is excreted in the urine. Fumarate enters the TCA cycle during this process, and AST replenishes the urea cycle by generating aspartate from oxaloacetate and α -KG. The orange arrows and squares indicate UC and UC enzymes, the black arrows indicate other UC-related metabolic pathways, the purple arrows and squares indicate the functions of UC metabolites, and the red dashed lines and blue dotted lines indicate up- or down-regulation of a protein. citrin: aspartate/glutamate carrier transporter; NOS: nitric oxide synthase; AST: glutamate aminotransferase

完成一轮UC需要两个线粒体酶、三个细胞质基质酶以及两个线粒体转运蛋白的参与, 消耗了三分子的ATP, 最终将氨转化为尿素. 尿素中的两个N原子分别由氨和天冬氨酸提供, 而C原子来自 HCO_3^- . 天冬氨酸作为N的供体进入UC, 随后以延胡索酸的形式脱离UC, 延胡索酸进入三羧酸循环生成草酰乙酸, 又可以

通过转氨酶进一步补充天冬氨酸(图1). UC不仅能使氨和 HCO_3^- 合成为尿素解除氨的毒性, 而且能使其与三羧酸循环、NO循环、多胺代谢等代谢通路联系起来, 还是含氮化合物的代谢枢纽. UC对于机体具有重要的作用和意义, 任何一个酶的异常都会导致疾病的产生, 严重时甚至会导致死亡.

1 尿素循环酶的研究进展

1.1 氨基甲酰胺合成酶1

CPS1是UC中的第一个限速酶,催化氨生成氨基磷酸,主要表达于肠上皮细胞和肝细胞.在CPS1缺陷型肝脏人源化小鼠模型中的CPS1活性降低80%,氯化铵的清除率显著降低,且伴有谷氨酰胺和谷氨酸水平升高^[3].但是在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中CPS1的表达受到抑制,有数据表明,14.8%的肝细胞癌的免疫组化中CPS1的表达很低^[4],另一方面,培养的CHO, Huh7, Huh7.5, lh86和HepG2这几种肝癌细胞中也均未检测到CPS1表达^[5,6].对于CPS1低表达的一种解释是,CPS1基因的转录起始位点附近存在两个CpG二核苷酸结构,该结构在正常原代肝细胞(Hu676和Hu786)中表现出低甲基化水平,而在肝肿瘤细胞(Huh7和LH86)中发现被高度甲基化,并且发现这两个CpG二核苷酸的甲基化会抑制CPS1的启动子活性,从而降低了CPS1的表达水平^[6].此外,体内CPS1的活性受到NAG的绝对调节.当NAG水平高时,CPS1处于活化状态,具有较高的活性,而NAG水平低时,CPS1的活性较低,降低了UC水平^[7].因此,NAG的存在是激活CPS1进行UC的必要条件.

沉默调节蛋白5(sirtuins 5, SIRT5)是NAD依赖性脱乙酰酶,控制代谢稳态,并在衰老/新陈代谢和多种疾病中具有作用.先前的研究发现,CPS1在多个赖氨酸残基处被乙酰化,SIRT5可以NAD依赖性方式使CPS1脱乙酰化,并且这种脱乙酰化提高了CPS1的酶促活性^[8].接着发现了SIRT5缺失小鼠中CPS1的琥珀酰化水平增加^[9].而近期研究又发现,在高戊二酰化状态下,CPS1活性降低,SIRT5介导的脱戊二酰化作用可以使CPS1升高^[10].总之,SIRT5特殊的化学性质对于CPS1的调控具有重要意义.

p53是最常见的抑癌基因,且频繁发生突变,p53通过抑制CPS1等多个UC基因的表达使得肿瘤细胞对氨的解毒能力下降,使氨在肿瘤细胞内发生积累,进而有效抑制了肿瘤细胞增殖^[11].而除了UC外,CPS1还可以催化嘧啶与精氨酸的生物合成.癌基因KRAS和抑癌基因STK11编码的肝激酶B(liver kinase B1, LKB1),在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中经常发生突变.KRAS/LKB1双突变肺癌细胞(简称KL细胞)中检测到CPS1的高表达,LKB1通过AMPK抑制CPS1

转录,进而导致细胞内嘌呤、嘧啶的比例失调,从而抑制肿瘤的生长^[12].

1.2 鸟氨酸转氨甲酰酶

OTC在尿素合成过程中主要催化鸟氨酸与氨基甲酰磷酸形成瓜氨酸,在肝脏和肠黏膜中都有表达.多项研究表明,由OTC缺乏引起的氨累积会导致慢性肝损伤^[13,14].成熟的OTC有322个氨基酸,全酶是三聚体结构,每个亚基都包含一个结合氨基甲酰磷酸的N末端结构域和一个结合L-鸟氨酸的C末端结构域.活性位点位于结构域之间的缝隙中^[15].OTC基因位于Xp21.1带内X染色体上,因此OTC缺乏症是X染色体连锁的半显性疾病,是导致高氨血症中最常见的遗传缺陷病,占据了UC缺陷症约1/2的数量.引起OTC缺乏症的常见原因是由于OTC基因的突变,在人类基因突变数据库(Human Gene Mutation Database, HGMD)2020年8月更新的版本中显示,和OTC缺乏症相关的OTC基因突变共有538种,其中28.81%是功能缺失突变,57.06%的突变导致了蛋白质错误翻译,11.52%影响了OTC的剪接位点,1.49%影响了OTC的启动子,0.74%与起始密码子缺失有关,0.37%与终止密码子的丢失有关^[16].

1.3 精氨酸琥珀酸合酶

ASS1在UC中催化瓜氨酸和天冬氨酸的缩合形成精氨酸琥珀酸,是UC中的第二个限速酶,在人体内普遍存在,受到体内各方面的影响.肝ASS1受皮质醇、胰岛素、生长激素和胰高血糖素等激素调节^[17].但是,ASS1在多种肿瘤细胞内表达下降,如骨肉瘤^[18]、黑色素瘤^[19]、肝癌^[20]、乳腺癌^[21]、非小细胞肺癌等^[22].研究表明,ASS1的低表达是由于ASS1的甲基化引起的,ASS1通过抑制肝细胞癌STAT3途径抑制癌细胞的侵袭,因此抑制ASS1会促进肿瘤细胞的侵袭和迁移^[23].另一方面,在酸性或低氧环境中的癌细胞会通过缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF1 α)和miR-224-5p下调ASS1的表达,使ASS1缺陷的癌细胞在酸性环境中具有生存优势^[19].另外,精氨酸的合成和UC受昼夜节律中的CLOCK基因的调节,在生物钟基因BMAL1的促进下,CLOCK有节律地将ASS1的K165和K176位点乙酰化,从而抑制了ASS1的酶活性,使精氨酸和尿素的产生发生有节律的振荡^[24].

ASS1也是一氧化氮(nitric oxide, NO)合成的限速

酶。一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)可以利用精氨酸、NADPH和氧气催化产生NO和瓜氨酸(图1), 由于ASS1催化瓜氨酸和天冬氨酸的缩合形成精氨酸琥珀酸为限速步骤, 因此ASS1有效地限制了NO的合成。精氨酸琥珀酸作为精氨酸的直接前体, 因此ASS1也是精氨酸从头合成的限速酶。p53直接促进ASS1表达, 从而导致ASS1活性增加, 进而调控精氨酸的代谢, 而精氨酸不足会进一步促进蛋白激酶B(protein kinase B, PKB, 也被称为AKT)的磷酸化^[25]。

精氨酸是细胞生长所必需的氨基酸, ASS1的表达受到抑制而导致的精氨酸合成缺陷是肿瘤细胞最常见的代谢缺陷之一^[17]。因此, 在ASS1低表达的癌症中, 肿瘤细胞会利用外源性精氨酸来弥补细胞内的精氨酸不足, 所以可以利用癌细胞对精氨酸的需求进行精氨酸剥夺治疗。从机制上讲, 在低表达ASS1的乳腺癌细胞中, 精氨酸剥夺使天冬酰胺合酶(asparagine synthetase, ASNS)过度表达^[26,27], ASNS的作用是将天冬氨酸和谷氨酰胺合成天冬酰胺, 因此在精氨酸剥夺后会导致天冬酰胺的增加和天冬氨酸的减少。一方面, 天冬氨酸是核苷酸生物合成的前体, 天冬氨酸的降低会影响核苷酸的从头合成, 导致DNA合成受损, 并且细胞周期停滞在S期^[27]。另一方面, 精氨酸剥夺会通过激活转录因子4(activating transcription factor 4, ATF4)导致细胞发生非典型的内质网应激反应, 并且由于天冬氨酸的减少, 会抑制苹果酸-天冬氨酸穿梭, 进一步降低天冬氨酸的可用性, 从而导致线粒体功能障碍^[26]。

1.4 精氨酸琥珀酸裂解酶

ASL是催化精氨酸琥珀酸裂解为精氨酸和延胡索酸的胞质酶, 是连接UC和三羧酸循环的UC酶(图1)。ASL基因位于7q11.2号染色体上, ASL由17个外显子组成。ASL蛋白主要在肝脏中表达, 但在大多数其他组织中也表达, 如成纤维细胞、肾脏、心脏、大脑、肌肉、胰腺和红细胞。ASL有4个相同亚基的同四聚体, 每个四聚体中有4个活性位点。ASL是体内唯一能够产生精氨酸的酶^[28], 并且和ASS1一起参与NO的生成。ASL在多种肿瘤中都发现表达上调。研究发现, ASL在肝癌细胞中高表达, 并且与细胞周期蛋白A2相互作用促进细胞的增殖, 同样在乳腺癌组织中也发现了ASL和细胞周期蛋白A2的相互调控的现象。并且在体外和体内实验都证明, ASL的下调抑制了乳腺癌的生长^[29]。

在胶质瘤中ASL的高表达可以促进肿瘤的生长, 并且Krüppel样因子(Krüppel like factor 7, KLF7)可以转录激活ASL并增强多胺的生物合成^[30]。最近的研究在D492M(一种具有干细胞特性的乳腺上皮细胞系)中发现, 敲低ASL而不是ASS1会抑制其生长^[31]。并且在ASL缺陷的小鼠中发现, 增强自噬因子Beclin-1可以增加尿素生成并减少由于ASL缺失积累的精氨酸琥珀酸^[32]。

和ASS1相同, ASL作为直接生成精氨酸的酶, 在精氨酸剥夺治疗肿瘤中起到重要的作用。但是由于ASL在多种肿瘤中高表达, 因此ASL高表达的肿瘤会对精氨酸剥夺疗法产生耐药性, 也是目前精氨酸剥夺疗法中亟待解决的问题之一^[17]。

1.5 精氨酸酶

ARG催化UC的最后一步, 即将精氨酸催化为尿素和鸟氨酸, 随后鸟氨酸进入线粒体继续下一个循环。ARG是一种依赖于二价阳离子的金属酶, 最近的一篇文章指出, 在ARG的催化中心具有两个不同亲和性的金属离子结合位点, 表明ARG在体内的活性可能受到Mn²⁺浓度变化的调控^[33]。

ARG在人体中有两种不同的亚型, 分别是ARG1和ARG2^[34], UC中的酶主要是ARG1, 在肝脏的细胞质基质中表达, ARG1的产物鸟氨酸不仅是UC的产物, 也是生成脯氨酸和谷氨酸的前体^[35]。另外, ARG1也是多胺的生物合成中的关键酶。多胺又称聚氨, 主要包括腐胺、精胺和亚精胺, 在机体内起着重要的调节作用, 对DNA转录, RNA翻译等重要的生理功能有着调控作用。Li等人^[11]研究表明, p53通过转录抑制CPS1, OTC和ARG1这三种UC酶, 导致UC不能继续进行, 同时伴随大量氨的累积。氨的累积会在翻译过程抑制多胺合成限速酶——鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase, ODC)的蛋白水平, 并且氨会通过E3泛素蛋白连接酶MDM2(mouse double minute 2)依赖的机制反馈激活p53。还有研究发现二甲双胍处理结直肠癌细胞后会降低CPS1, ARG1, OTC和ODC蛋白的表达^[36]。ARG2广泛表达于肝外组织的线粒体中^[37], 除了UC和多胺合成的作用之外, 还被认为参与控制NO的合成。因为ARG2的底物为精氨酸, 因此ARG2可以与NOS竞争精氨酸, 从而调节NO和鸟氨酸的水平^[38,39]。ARG2可以通过S6K1-JNK, ERK, p66Shc和p53之间相互作用导致线

粒体功能发生障碍, 从而导致血管平滑肌细胞衰老和凋亡, 导致小鼠发生动脉粥样硬化^[40]. 另一方面, 由于 ARG 可以消耗精氨酸, 因此利用这一特性抑制 ASS1, ASL 缺陷的肿瘤细胞中的精氨酸的水平, 从而达到治疗肿瘤的目的^[41].

2 尿素循环在肿瘤细胞中的重编程

在癌细胞的生长和生存过程中, 已经证明癌细胞需要重新编程其分解代谢和合成代谢, 用来获取能量以及合成生物大分子以满足其快速生长的需求. 最著名的 Warburg 效应描述了肿瘤细胞优先使用糖酵解而不是氧化磷酸化产生能量. 癌细胞最常用葡萄糖和谷氨酰胺作为支持细胞生长的碳源和氮源, 在此过程中会产生许多代谢废物^[42], 例如氨, 过量的氨会造成高血氨, 还能穿过血脑屏障对机体产生不可逆的损伤^[43]. 因此 UC 的完整性就显得至关重要, 但是每一个 UC 酶除了组成 UC 之外还担任着其他重要的功能. 在肝脏外, 肿瘤细胞会根据对 UC 中间体的需求, 调节不同的 UC 酶, 并且 UC 酶会为了适应不同肿瘤的生长而发生改变, 造成 UC 失调. UC 的失调在多种癌症中非常常见 (表 1)^[44-59].

2.1 尿素循环酶在肿瘤细胞中的重编程

代谢组学的结果显示, 与 *KRAS* 突变的 NSCLC 细胞相比, *KL* 细胞中的氮代谢发生显著改变, 同时 CPS1 的表达增强. 通过 $^{15}\text{NH}_4^+$ 培养 *KL* 细胞显示, 高表达的 CPS1 使得氮代谢从 UC 转向了嘧啶的合成, 敲低 CPS1 会导致嘧啶消耗、嘌呤积累和嘧啶/嘌呤比降低, 从而影响 DNA 聚合酶的能力, 导致 DNA 损伤^[12]. 另一方面, 天冬氨酸是 ASS1 和嘧啶合成酶复合物 CAD (carbamoyl-phosphate synthetase 2, aspartate transcarbamoylase, and dihydroorotase, 氨甲酰磷酸合酶 2、天冬氨酸转氨甲酰酶和二氢乳清酸酶复合体) 的底物, 肿瘤中低表达的 ASS1 会导致 CAD 对天冬氨酸的利用率上升, 从而增加肿瘤的嘧啶的水平^[60]. 因此, 有学者假设 UC 失调是癌症中一种普遍的和有利的代谢现象, 并且设置了一个 UC 失调分数, 通过对 TCGA 的肿瘤样本分析发现, UC 失调分数越高, CAD 的表达就越高, 癌细胞增殖标志物表达水平也越高^[61].

另外, 在 p53 缺失的肿瘤细胞中 CPS1, OTC 和

ARG1 的表达往往是增高的, 增加 UC 通量可以降低氨的累积从而促进 ODC 的表达, 使 UC 向多胺代谢的方向转移, 促进肿瘤细胞的增殖^[11]. 另一方面, ASS1 缺失的癌细胞会导致上游谷氨酰胺的增加, 这可以维持 pH 和谷胱甘肽合成. 因此, ASS1 下调有助于细胞抵抗缺氧条件的刺激. 处于酸性或缺氧环境中的癌细胞会下调 UC 酶 ASS1 的表达, 这可以为它们提供维持氧化还原和 pH 值优势, 从而提高细胞的存活率^[19]. 还有研究表明, 在缺氧条件下的癌细胞对谷氨酰胺的利用会显著升高, 培养基中氨以及尿素的产量降低, 并且嘧啶前体代谢物氨基甲酰天冬氨酸、二氢乳清酸盐和乳清酸盐发生了积累^[62]. 这表明在缺氧环境下肿瘤细胞对氨的代谢很有可能从尿素循环转向通过二氢乳清酸盐进行.

尽管认为氨的累积会影响机体的健康, 但是在 UC 不完整的肿瘤细胞中, 肿瘤细胞可以通过改变代谢相关蛋白的表达, 将其转变为可以供给肿瘤生长生存的其他物质, 从而增加肿瘤的适应性, 促进肿瘤的发生和发展.

2.2 尿素循环代谢物在肿瘤细胞中的重编程

通过 UC 过程产生五种中间产物, 分别是氨基甲酰磷酸、瓜氨酸、精氨琥珀酸、精氨酸和鸟氨酸. 氨基甲酰磷酸是细胞能量代谢的关键化合物, 除了是尿素循环的第一个代谢产物外, 还是嘧啶合成的重要底物^[63,64]. CPS1 作为氨基甲酰磷酸的合成酶, 承担了 UC 和嘧啶合成两个重要的代谢通路. 缺少氨基甲酰磷酸会直接抑制嘧啶的合成而引起 DNA 损伤^[12]. 瓜氨酸是一种非编码氨基酸, 在尿素循环中由鸟氨酸和氨甲酰磷酸催化生成, 此外, 还可以通过肽基-精氨酸脱亚胺酶 (peptidyl-arginine deiminase, PAD) 生成瓜氨酸^[65]. 最近, 一项研究提出瓜氨酸组蛋白作为癌症生物标志物, 其中 60 名患有不同恶性肿瘤的晚期患者的血清瓜氨酸组蛋白 H3 平均浓度比 50 名健康个体或 51 名未患癌症的住院重症患者增加了 3 倍^[66]. 现有技术还将瓜氨酸作为肠道功能标志物, 尤其是在对血液系统性恶性肿瘤患者的检测中^[67].

精氨酸是肿瘤体外增长所必需的氨基酸. 在癌症中经常可以观察到细胞外精氨酸的依赖性增加, 并且很多种类型的癌症也缺乏 ASS1, 使其无法合成内源性精氨酸, 因此完全依赖外源供应. 精氨酸是合成 NO、

表 1 尿素循环代谢酶在肿瘤中的调控

Table 1 Regulation of urea cycle metabolizing enzymes in tumors

名称	基因/蛋白表达	上游调节因子	下游调节因子	表达肿瘤类型	抑制肿瘤的途径	参考
CPS1	下调			肝细胞癌		[6,11,12,44]
	上调	AFB1, NTS, LKB1, KRAS, AMPK, SIRT5, IL-6	CAD, TP53, MDM2, KRT1, ALB	肺腺癌、胃癌、黑色素瘤、骨肉瘤、淋巴瘤、肺癌、胶质瘤和胶质母细胞瘤	细胞凋亡、嘧啶耗尽、DNA损伤	[2,11,12,44~47]
OTC	下调	TP53		肝脏、白血病	氨累积	[2,11]
	上调		TP53, MDM2		多胺合成、氨清除	[2,11]
ASS1	下调	HIF1 α , DNA甲基化; miR-224-5p	HIF-1 α , STAT3通路, DEPTOR, ASNS, AKT, mTOR通路	肾透明细胞癌、胶质母细胞瘤、肺癌、肝癌, 膀胱癌、卵巢癌	精氨酸饥饿、葡萄糖生成、天冬氨酸代谢、线粒体呼吸	[2,19,48~51]
	上调	SPA, CLOCK, Snail, c-MYC, ATF4, CEBP β , TP53		肝细胞腺瘤、卵巢、甲状腺、胰腺癌	嘧啶合成、减少多胺合成、氨累积	[2,22,24,52,53]
ASL	下调	DNA甲基化	PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP通路	肾透明细胞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、肝癌	天冬氨酸代谢	[2,48,54]
	上调	AR, TP53		结肠癌、肝癌、乳腺癌	多胺合成	
ARG1	下调			前列腺癌、肝癌	肿瘤免疫逃逸	[2,11,55]
	上调	AR, TP53, CB-1158	TP53, MDM2, AKT	结肠癌、肝癌、乳腺癌	自噬、肿瘤免疫、多胺合成	[2,11,56]
ARG2	下调	基因组缺失	IL-10, IL-1 β , HIF-1 α	肾癌	减少多胺合成、产生含氮代谢物	[2,57]
	上调	AR, AKT, RAS, TNF α , IL1 β		乳腺癌、胃癌、白血病、胰腺癌、前列腺癌	肿瘤免疫、多胺合成、减少氨的产生	[2,58,59]

多胺和肌酐等分子的多种前体, 因此精氨酸参与肿瘤细胞中多种反应, 如NO的生成、血管生成、调节肿瘤免疫等^[68]。目前, 使用精氨酸代谢酶如精氨酸酶、精氨酸脱羧酶和精氨酸脱亚胺酶(arginine deiminase, ADI)来消耗精氨酸, 从而作为ASS1低表达癌症的干预措施^[69]。除此之外, 精氨酸是可直接激活哺乳动物雷帕霉素复合物1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)靶点的三种氨基酸之一(mTORC1是一种营养感应激酶, 参与调节细胞代谢、增殖和存活)^[70]。最近研究表明, 精氨酸饥饿会诱导染色质DNA泄漏, 并且进一步激活cGAS-STING通路导致线粒体氧化磷酸化功能受损, 进而诱导ROS增强肿瘤细胞的炎症反应^[17]。对于精氨酸琥珀酸的在癌症中单独的研究目前还比较少, 先前研究证明精氨酸琥珀酸的功能可能与血管收缩^[71]和NO介导的大鼠尾骨肌松弛^[72]相关。

鸟氨酸是尿素循环的最后一步的产物, 它是一种非必需的非蛋白质氨基酸, 涉及许多代谢途径。鸟氨

酸是OTC、鸟氨酸氨基转移酶(ornithine Aminotransferase, OAT)和ODC的底物, 通过OTC, OAT和ODC, 鸟氨酸分别产生瓜氨酸、脯氨酸和多胺^[73]。并且最近的一项统计发现, 鸟氨酸水平与乳腺癌之间存在统计学上显著的负相关^[74], 高水平的鸟氨酸可能是乳腺癌的潜在保护因素。

3 尿素循环对不同类型细胞的影响

3.1 尿素循环与肿瘤微环境

肿瘤在一定水平上可以看作一个多样且复杂的小型器官, 肿瘤内部的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)近些年越来越被重视。目前肿瘤代谢在维持肿瘤的信号转导和营养需求中的关键作用已经被广泛研究, 而肿瘤代谢对TME的影响也至关重要。一方面肿瘤细胞可以与TME中的免疫细胞竞争营养物质来抑制抗肿瘤免疫^[75,76], 另一方面肿瘤发生的代谢重

编程导致的酶和代谢物的变化也可以对免疫细胞的功能造成影响^[77].

前面已经描述过, 很多肿瘤细胞中都会发生ASS1的缺失, 并且肿瘤细胞会大量消耗TME中的精氨酸, 导致TME中精氨酸缺乏, 因此抗肿瘤免疫细胞的激活势必受到抑制. 补充精氨酸可在体外刺激T细胞和NK细胞的细胞毒性和效应细胞因子的产生, 并与抗PD-L1抗体治疗相结合, 显著增强抗肿瘤免疫反应并延长患有骨肉瘤小鼠的存活时间^[78]. 肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophages, TAM)是TME中先天免疫系统的主要细胞, 参与肿瘤细胞之间复杂的交互作用. 研究表明, TAM可以通过耗尽肿瘤微环境中的L-精氨酸来抑制T细胞活性^[79], 同样也有数据表明精氨酸水平增加了CD8⁺ T细胞的存活能力及其体内抗肿瘤活性^[80,81]. TAM将ARG1分泌到TME中, ARG1将精氨酸代谢为尿素和鸟氨酸, 从而将其从TME中消耗掉, 精氨酸的消耗会抑制由抗原刺激和T细胞受体信号引起的CD3 ζ 链的重新表达. 在上皮性卵巢癌中, 细胞可以释放带有ARG1的囊泡抑制T细胞的增殖^[82]. 另外, 在头颈癌中ARG2的低表达与CD11c⁺髓样树突状细胞和FOXP3⁺ T细胞浸润呈正相关. 调节T细胞在人体组织中表达ARG2的同时会抑制mTOR途径, 用以调节炎症和增强其代谢适应性^[83].

3.2 尿素循环对其他细胞的影响

除了肿瘤细胞外, UC对体内其他不同类型的细胞之间都有或多或少的影响, 例如在非酒精性脂肪性肝炎中发现, OTC和CPS1的基因和蛋白表达以及OTC的活性可逆地降低. 还观察到OTC启动子基因的高甲基化^[84]. 并且在具有血管侵袭的HCC患者中发现CPS1, ASS1, ASL蛋白下调, 为血管侵袭对HCC的转移提供新的见解^[85]. 在干细胞研究方面, 研究人员从健康的肝组织中分离出一群称为人类肝干细胞的干细胞样细胞, 被称为HLSC. 他们发现, I型瓜氨酸血症患者HLSC分化形成的肝细胞中的ASS1的活性以及尿素的生成, 可以被正常HLSC细胞的外囊泡恢复, 这对于治疗尿素循环障碍疾病有重要意义^[86].

在免疫细胞方面, 研究人员通过小鼠感染淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)发现, 感染引起的肝细胞代谢重编程是由干扰素- α/β 受体(interferon alpha and beta receptor

subunit 1, IFNAR1)诱导的, 受感染小鼠的肝组织表现出OTC和ASS1的酶活性降低, 并且在小鼠体内出现了高血氨症. 因此在感染期间, UC被重新编程, 增加了精氨酸降解和鸟氨酸积累, 并且在使用重组聚乙二醇化人精氨酸酶1(recArg1)后减少了抗病毒CD8⁺ T细胞的数量和产生抗炎因子的能力. 证明肝脏可以快速整合来自环境的炎症信号并且调节内在的代谢, 从而给病原体带来不利的环境, 产生适应性免疫^[87]. 另外, 最新的研究表明, 在巨噬细胞中, 干扰素 γ 和脂多糖会通过STAT1刺激ASS1的转录以及ASS1的磷酸化, 从而导致瓜氨酸耗竭; 相反, 增加的瓜氨酸会直接结合JAK2激酶(Janus kinase 2, JAK2)并抑制JAK2-STAT1信号通路. 因此, 说明瓜氨酸可以作为先天免疫信号代谢物, 也说明ASS1在通过消耗细胞瓜氨酸来控制巨噬细胞活化和巨噬细胞的抗菌防御中起到的核心作用^[88].

4 尿素循环与肿瘤治疗

近些年来, 已经有越来越多的研究证明UC的异常变化对肿瘤发生发展的重要性^[11]. 因此也涌现出了大量根据UC酶和UC的代谢产物为基础的肿瘤治疗的手段.

最常见的精氨酸饥饿疗法是在ASS1缺乏的癌症中, 通过使用精氨酸代谢酶如精氨酸酶、精氨酸脱羧酶和精氨酸脱亚胺酶(arginine deiminase, ADI)来消耗精氨酸, 进而使肿瘤细胞由于缺乏精氨酸导致死亡. 并且由于精氨酸是非必需氨基酸, 在正常细胞内可以被合成, 因此临床上可以作为良好的肿瘤治疗手段^[89]. 特别是ADI-PEG20(pegylated arginine deiminase)已经经历了包括前列腺癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤等多种癌症的至少20项I/II期临床试验, 具有出色的安全性^[90-93], 并且ADI-PEG20在临床上通常会和培美曲塞和顺铂联用以达到更好的治疗效果. 从机制上讲, 根据癌症类型和细胞环境, 与ADI介导的细胞杀伤相关的机制各不相同: 一些是半胱天冬酶依赖性的细胞凋亡, 而其他则涉及不依赖于半胱天冬酶的细胞凋亡或自噬^[89,94]. 例如, 在ASS1低表达的胰腺导管腺癌细胞中, 组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylases, HDAC)抑制剂和精氨酸剥夺剂ADI-PEG20联合使用时, 会使细胞周期停滞在S期, 进而导致细胞死亡^[27]. 最近的一项研究指出尿素作为氨代谢的副产物也有可能成为

潜在的HCC的生物标志物, 并且与癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA, 一种广谱肿瘤标志物)和甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP, 诊断原发性肝癌的血清标志物)可以显著提高诊断性能, 从而更早地诊断HCC^[95].

研究发现, ARG1在TME中同样发挥着重要作用^[96], 通过局部注射nor-NOHA(N ω -hydroxy-nor-arginine) 抑制ARG1后再和PD-1抑制剂nivolumab的联合治疗后, 会降低皮肤鳞状细胞癌的生长^[97]. 另外, 研究指出一种生物小分子CB-1158可以抑制ARG1, 并且可以通过阻断精氨酸消耗来回补T细胞增殖的抑制^[98]. 现在已经将CB-1158与anti-PD-1联合使用(Clinical-Trials.gov Identifier: NCT02903914), 用来激活免疫系统用以对抗癌症. 目前关于靶向尿素循环酶成熟的治疗方案仍然比较少, 在这方面仍然有很长的路要走.

5 总结

肿瘤为了应对不同的环境压力以及生长的物质需求, 会对整个肿瘤体系进行精密的调整和变化, 这些变化给肿瘤带来了更大的适应潜力, 也使得治疗肿瘤变得更加复杂. 对于UC酶来说, 不同组织来源, 肿瘤不同生长阶段乃至肿瘤内部的不同细胞类型中都有不同的表达和调控, 这些调控的集合造成了相关代谢途径的动态变化, 给予了肿瘤独特的生长路线, 使肿瘤能利用多种代谢物来促进其生长. 另外, UC中间体提供了癌症增长、增殖和存活所必需的底物; 而癌细胞如果面临这些代谢物的短缺, 势必会增加它们依赖外部氮源的可能性, 暴露出肿瘤的脆弱面, 可以通过肿瘤代谢重编程的特点去挖掘肿瘤变化过程中的薄弱部分, 从而达到治疗肿瘤的目的.

参考文献

- 1 Hoffer L J. Human protein and amino acid requirements. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2016, 40: 460–474
- 2 Hajaj E, Sciacovelli M, Frezza C, et al. The context-specific roles of urea cycle enzymes in tumorigenesis. *Mol Cell*, 2021, 81: 3749–3759
- 3 Srinivasan R C, Zabulica M, Hammarstedt C, et al. A liver-humanized mouse model of carbamoyl phosphate synthetase 1-deficiency. *Jrnl Inher Metab Disea*, 2019, 42: 1054–1063
- 4 Ridder D A, Schindeldecker M, Weinmann A, et al. Key enzymes in pyrimidine synthesis, CAD and CPS1, predict prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancers*, 2021, 13: 744
- 5 Butler S L, Dong H, Cardona D, et al. The antigen for Hep Par 1 antibody is the urea cycle enzyme carbamoyl phosphate synthetase 1. *Lab Invest*, 2008, 88: 78–88
- 6 Liu H, Dong H, Robertson K, et al. DNA methylation suppresses expression of the urea cycle enzyme carbamoyl phosphate synthetase 1 (CPS1) in human hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol*, 2011, 178: 652–661
- 7 de Cima S, Polo L M, Díez-Fernández C, et al. Structure of human carbamoyl phosphate synthetase: deciphering the on/off switch of human ureagenesis. *Sci Rep*, 2015, 5: 16950
- 8 Nakagawa T, Guarente L. Urea cycle regulation by mitochondrial sirtuin, SIRT5. *Aging*, 2009, 1: 578–581
- 9 Du J, Zhou Y, Su X, et al. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase. *Science*, 2011, 334: 806–809
- 10 Tan M, Peng C, Anderson K A, et al. Lysine glutarylation is a protein posttranslational modification regulated by SIRT5. *Cell Metab*, 2014, 19: 605–617
- 11 Li L, Mao Y, Zhao L, et al. p53 regulation of ammonia metabolism through urea cycle controls polyamine biosynthesis. *Nature*, 2019, 567: 253–256
- 12 Çeliktas M, Tanaka I, Chandra Tripathi S, et al. Role of CPS1 in cell growth, metabolism, and prognosis in LKB1-inactivated lung adenocarcinoma. *JNCI J Natl Cancer Inst*, 2017, 109: djw231
- 13 Wang L, Bell P, Morizono H, et al. AAV gene therapy corrects OTC deficiency and prevents liver fibrosis in aged OTC-knock out heterozygous mice. *Mol Genet Metab*, 2017, 120: 299–305
- 14 Sugahara G, Yamasaki C, Yanagi A, et al. Humanized liver mouse model with transplanted human hepatocytes from patients with ornithine transcarbamylase deficiency. *Jrnl Inher Metab Disea*, 2021, 44: 618–628
- 15 Shi D, Morizono H, Ha Y, et al. 1.85-Å Resolution crystal structure of human ornithine transcarbamoylase complexed with *N*-phosphonacetyl-L-ornithine. *J Biol Chem*, 1998, 273: 34247–34254

- 16 Couchet M, Breuillard C, Corne C, et al. Ornithine transcarbamylase—from structure to metabolism: an update. *Front Physiol*, 2021, 12: 748249
- 17 Delage B, Fennell D A, Nicholson L, et al. Arginine deprivation and argininosuccinate synthetase expression in the treatment of cancer. *Int J Cancer*, 2010, 126: 2762–2772
- 18 Kobayashi E, Masuda M, Nakayama R, et al. Reduced argininosuccinate synthetase is a predictive biomarker for the development of pulmonary metastasis in patients with osteosarcoma. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9: 535–544
- 19 Silberman A, Goldman O, Boukobza Assayag O, et al. Acid-induced downregulation of ASS1 contributes to the maintenance of intracellular pH in cancer. *Cancer Res*, 2019, 79: 518–533
- 20 Ensor C M, Holtsberg F W, Bomalaski J S, et al. Pegylated arginine deiminase (ADI-SS PEG_{20,000 mw}) inhibits human melanomas and hepatocellular carcinomas *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res*, 2002, 62: 5443–5450
- 21 Szlosarek P W, Grimshaw M J, Wilbanks G D, et al. Aberrant regulation of argininosuccinate synthetase by TNF- α in human epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer*, 2007, 121: 6–11
- 22 Sala M, Gonzales D, Leste-Lasserre T, et al. ASS1 overexpression: a hallmark of sonic hedgehog hepatocellular adenomas; recommendations for clinical practice. *Hepatol Commun*, 2020, 4: 809–824
- 23 Du D, Liu C, Qin M, et al. Metabolic dysregulation and emerging therapeutical targets for hepatocellular carcinoma. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12: 558–580
- 24 Lin R, Mo Y, Zha H, et al. CLOCK acetylates ASS1 to drive circadian rhythm of ureagenesis. *Mol Cell*, 2017, 68: 198–209.e6
- 25 Miyamoto T, Lo P H Y, Saichi N, et al. Argininosuccinate synthase 1 is an intrinsic Akt repressor transactivated by p53. *Sci Adv*, 2017, 3: e1603204
- 26 Cheng C T, Qi Y, Wang Y C, et al. Arginine starvation kills tumor cells through aspartate exhaustion and mitochondrial dysfunction. *Commun Biol*, 2018, 1: 178
- 27 Kim S S, Xu S, Cui J, et al. Histone deacetylase inhibition is synthetically lethal with arginine deprivation in pancreatic cancers with low argininosuccinate synthetase 1 expression. *Theranostics*, 2020, 10: 829–840
- 28 Nagamani S C S, Erez A, Lee B. Argininosuccinate lyase deficiency. *Genet Med*, 2012, 14: 501–507
- 29 Huang H L, Chen W C, Hsu H P, et al. Argininosuccinate lyase is a potential therapeutic target in breast cancer. *Oncol Rep*, 2015, 34: 3131–3139
- 30 Guan F, Kang Z, Zhang J T, et al. KLF7 promotes polyamine biosynthesis and glioma development through transcriptionally activating ASL. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 514: 51–57
- 31 Karvelsson S T, Wang Q, Hilmarsdottir B, et al. Argininosuccinate lyase is a metabolic vulnerability in breast development and cancer. *NPJ Syst Biol Appl*, 2021, 7: 36
- 32 Soria L R, Gurung S, De Sabbata G, et al. Beclin-1-mediated activation of autophagy improves proximal and distal urea cycle disorders. *EMBO Mol Med*, 2021, 13: e13158
- 33 Uribe E, Reyes M B, Martínez I, et al. Functional analysis of the Mn²⁺ requirement in the catalysis of ureohydrolases arginase and agmatinase—a historical perspective. *J Inorg Biochem*, 2020, 202: 110812
- 34 Jenkinson C P, Grody W W, Cederbaum S D. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol Part B Biochem Mol Biol*, 1996, 114: 107–132
- 35 Sivashanmugam M, J. J, V. U, et al. Ornithine and its role in metabolic diseases: an appraisal. *Biomed pharmacother*, 2017, 86: 185–194
- 36 Zhang T, Hu L, Tang J F, et al. Metformin inhibits the urea cycle and reduces putrescine generation in colorectal cancer cell lines. *Molecules*, 2021, 26: 1990
- 37 Adeva M M, Souto G, Blanco N, et al. Ammonium metabolism in humans. *Metabolism*, 2012, 61: 1495–1511
- 38 Santhanam L, Christianson D W, Nyhan D, et al. Arginase and vascular aging. *J Appl Physiol*, 2008, 105: 1632–1642
- 39 Mahdi A, Kõvamees O, Pernow J. Improvement in endothelial function in cardiovascular disease—is arginase the target? *Int J Cardiol*, 2020, 301: 207–214
- 40 Xiong Y, Yu Y, Montani J P, et al. Arginase-II induces vascular smooth muscle cell senescence and apoptosis through p66Shc and p53 independently of its L-arginine ureahydrolase activity: implications for atherosclerotic plaque vulnerability. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2: e000096
- 41 Kumari N, Bansal S. Arginine depriving enzymes: applications as emerging therapeutics in cancer treatment. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2021, 88: 565–594
- 42 Sun L, Suo C, Li S T, et al. Metabolic reprogramming for cancer cells and their microenvironment: beyond the Warburg effect. *Biochim Biophys*

- Acta, 2018, 1870: 51–66
- 43 Matoori S, Leroux J C. Recent advances in the treatment of hyperammonemia. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 90: 55–68
- 44 Kim J, Hu Z, Cai L, et al. CPS1 maintains pyrimidine pools and DNA synthesis in KRAS/LKB1-mutant lung cancer cells. *Nature*, 2017, 546: 168–172
- 45 Yang C, Fu R, Zhuang Z, et al. Studies on the biological functions of CPS1 in AFB1 induced hepatocarcinogenesis. *Gene*, 2016, 591: 255–261
- 46 Wu G, Zhao Z, Yan Y, et al. CPS1 expression and its prognostic significance in lung adenocarcinoma. *Ann Transl Med*, 2020, 8: 341
- 47 Yue J, Dai Q, Hao S, et al. Suppression of the NTS-CPS1 regulatory axis by AFF1 in lung adenocarcinoma cells. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100319
- 48 Khare S, Kim L C, Lobel G, et al. ASS1 and ASL suppress growth in clear cell renal cell carcinoma via altered nitrogen metabolism. *Cancer Metab*, 2021, 9: 40
- 49 Tsai W B, Long Y, Chang J T, et al. Chromatin remodeling system p300-HDAC2-Sin3A is involved in arginine starvation-induced HIF-1 α degradation at the ASS1 promoter for ASS1 derepression. *Sci Rep*, 2017, 7: 10814
- 50 Tao X, Zuo Q, Ruan H, et al. Argininosuccinate synthase 1 suppresses cancer cell invasion by inhibiting STAT3 pathway in hepatocellular carcinoma. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2019, 51: 263–276
- 51 Ohshima K, Nojima S, Tahara S, et al. Argininosuccinate synthase 1-deficiency enhances the cell sensitivity to arginine through decreased DEPTOR expression in endometrial cancer. *Sci Rep*, 2017, 7: 45504
- 52 Jia H, Yang Y, Li M, et al. Snail enhances arginine synthesis by inhibiting ubiquitination-mediated degradation of ASS1. *EMBO Rep*, 2021, 22: e51780
- 53 Zou Z, Hu X, Luo T, et al. Naturally-occurring spinosyn A and its derivatives function as argininosuccinate synthase activator and tumor inhibitor. *Nat Commun*, 2021, 12: 2263
- 54 Kim S, Lee M, Song Y, et al. Argininosuccinate synthase 1 suppresses tumor progression through activation of PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP axis in hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40: 127
- 55 Ming Z, Zou Z, Cai K, et al. ARG1 functions as a tumor suppressor in breast cancer. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2020, 52: 1257–1264
- 56 Poillet-Perez L, Xie X, Zhan L, et al. Autophagy maintains tumour growth through circulating arginine. *Nature*, 2018, 563: 569–573
- 57 Dowling J K, Afzal R, Gearing L J, et al. Mitochondrial arginase-2 is essential for IL-10 metabolic reprogramming of inflammatory macrophages. *Nat Commun*, 2021, 12: 1460
- 58 Martí i Líndez A A, Dunand-Sauthier I, Conti M, et al. Mitochondrial arginase-2 is a cell-autonomous regulator of CD8⁺ T cell function and antitumor efficacy. *JCI Insight*, 2019, 4: e132975
- 59 Fultang L, Gamble L D, Gneo L, et al. Macrophage-derived IL1 β and TNF α regulate arginine metabolism in neuroblastoma. *Cancer Res*, 2019, 79: 611–624
- 60 Rabinovich S, Adler L, Yizhak K, et al. Diversion of aspartate in ASS1-deficient tumours fosters *de novo* pyrimidine synthesis. *Nature*, 2015, 527: 379–383
- 61 Lee J S, Adler L, Karathia H, et al. Urea cycle dysregulation generates clinically relevant genomic and biochemical signatures. *Cell*, 2018, 174: 1559–1570.e22
- 62 Wang Y, Bai C, Ruan Y, et al. Coordinative metabolism of glutamine carbon and nitrogen in proliferating cancer cells under hypoxia. *Nat Commun*, 2019, 10: 201
- 63 Ter-Ovanesian L M P, Rigaud B, Mezzetti A, et al. Carbamoyl phosphate and its substitutes for the uracil synthesis in origins of life scenarios. *Sci Rep*, 2021, 11: 19356
- 64 Cooper A J L, Mora S N, Cruz N F, et al. Cerebral ammonia metabolism in hyperammonemic rats. *J Neurochem*, 1985, 44: 1716–1723
- 65 Yuzhalin A E. Citrullination in cancer. *Cancer Res*, 2019, 79: 1274–1284
- 66 Thålin C, Lundström S, Seignez C, et al. Citrullinated histone H3 as a novel prognostic blood marker in patients with advanced cancer. *PLoS ONE*, 2018, 13: e0191231
- 67 Dekker I M, Bruggink H, van der Meij B S, et al. State of the art: the role of citrulline as biomarker in patients with chemotherapy- or graft-versus-host-disease-induced mucositis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2021, 24: 416–427
- 68 Albaugh V L, Pinzon-Guzman C, Barbul A. Arginine-dual roles as an onconutrient and immunonutrient. *J Surg Oncol*, 2017, 115: 273–280
- 69 Zou S, Wang X, Liu P, et al. Arginine metabolism and deprivation in cancer therapy. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109210
- 70 Chantranupong L, Scaria S M, Saxton R A, et al. The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway. *Cell*, 2016, 165: 153–164

- 71 Gold M E, Wood K S, Buga G M, et al. L-arginine causes whereas L-argininosuccinic acid inhibits endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989, 161: 536–543
- 72 Rand M J, Li C G. Effects of argininosuccinic acid on nitric oxide-mediated relaxations in rat aorta and anococcygeus muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1992, 19: 331–334
- 73 Zhang Y, Zhang T T, Gao L, et al. Downregulation of MTAP promotes tumor growth and metastasis by regulating ODC activity in breast cancer. 2022, 18: 3034–3047
- 74 Zhang J, Tao B, Chong Y, et al. Ornithine and breast cancer: a matched case-control study. *Sci Rep*, 2020, 10: 15502
- 75 Sukumar M, Roychoudhuri R, Restifo N P. Nutrient competition: a new axis of tumor immunosuppression. *Cell*, 2015, 162: 1206–1208
- 76 Reinfeld B I, Madden M Z, Wolf M M, et al. Cell-programmed nutrient partitioning in the tumour microenvironment. *Nature*, 2021, 593: 282–288
- 77 Xia L, Oyang L, Lin J, et al. The cancer metabolic reprogramming and immune response. *Mol Cancer*, 2021, 20: 28
- 78 Davel L E, Jasnis M A, de la Torre E, et al. Arginine metabolic pathways involved in the modulation of tumor-induced angiogenesis by macrophages. *FEBS Lett*, 2002, 532: 216–220
- 79 Noy R, Pollard J W. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity*, 2014, 41: 49–61
- 80 Geiger R, Rieckmann J C, Wolf T, et al. L-arginine modulates T cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity. *Cell*, 2016, 167: 829–842.e13
- 81 Mondanelli G, Ugel S, Grohmann U, et al. The immune regulation in cancer by the amino acid metabolizing enzymes ARG and IDO. *Curr Opin Pharmacol*, 2017, 35: 30–39
- 82 Czystowska-Kuzmicz M, Sosnowska A, Nowis D, et al. Small extracellular vesicles containing arginase-1 suppress T-cell responses and promote tumor growth in ovarian carcinoma. *Nat Commun*, 2019, 10: 3000
- 83 Lowe M M, Boothby I, Clancy S, et al. Regulatory T cells use arginase 2 to enhance their metabolic fitness in tissues. *JCI Insight*, 2019, 4: e129756
- 84 De Chiara F, Heebøll S, Marrone G, et al. Urea cycle dysregulation in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*, 2018, 69: 905–915
- 85 Cao Y, Ding W W, Zhang J Z, et al. Significant down-regulation of urea cycle generates clinically relevant proteomic signature in hepatocellular carcinoma patients with macrovascular invasion. *J Proteome Res*, 2019, 18: 2032–2044
- 86 Herrera Sanchez M B, Previdi S, Bruno S, et al. Extracellular vesicles from human liver stem cells restore argininosuccinate synthase deficiency. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 176
- 87 Lercher A, Bhattacharya A, Popa A M, et al. Type I interferon signaling disrupts the hepatic urea cycle and alters systemic metabolism to suppress T cell function. *Immunity*, 2019, 51: 1074–1087.e9
- 88 Mao Y, Shi D, Li G, et al. Citrulline depletion by ASS1 is required for proinflammatory macrophage activation and immune responses. *Mol Cell*, 2022, 82: 527–541.e7
- 89 Riess C, Shokraie F, Classen C F, et al. Arginine-depleting enzymes-an increasingly recognized treatment strategy for therapy-refractory malignancies. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51: 854–870
- 90 Hall P E, Lewis R, Syed N, et al. A phase I study of pegylated arginine deiminase (pegargiminase), cisplatin, and pemetrexed in argininosuccinate synthetase 1-deficient recurrent high-grade glioma. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 2708–2716
- 91 Szlosarek P W, Phillips M M, Pavlyk I, et al. Expansion phase I study of pegargiminase plus pemetrexed and cisplatin in patients with argininosuccinate synthetase 1-deficient mesothelioma: safety, efficacy, and resistance mechanisms. *JTO Clin Res Rep*, 2020, 1: 100093
- 92 Szlosarek P W, Wimalasingham A G, Phillips M M, et al. Phase I, pharmacogenomic, dose-expansion study of pegargiminase plus pemetrexed and cisplatin in patients with ASS1-deficient non-squamous non-small cell lung cancer. *Cancer Med*, 2021, 10: 6642–6652
- 93 Yao S, Janku F, Subbiah V, et al. Phase I trial of ADI-PEG20 plus cisplatin in patients with pretreated metastatic melanoma or other advanced solid malignancies. *Br J Cancer*, 2021, 124: 1533–1539
- 94 Kim R H, Coates J M, Bowles T L, et al. Arginine deiminase as a novel therapy for prostate cancer induces autophagy and caspase-independent apoptosis. *Cancer Res*, 2009, 69: 700–708
- 95 Bai C, Wang H, Dong D, et al. Urea as a by-product of ammonia metabolism can be a potential serum biomarker of hepatocellular carcinoma. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 650748
- 96 Pham T N, Liagre B, Girard-Thernier C, et al. Research of novel anticancer agents targeting arginase inhibition. *Drug Discov Today*, 2018, 23: 871–878

- 97 Mittal A, Wang M, Vidyarthi A, et al. Topical arginase inhibition decreases growth of cutaneous squamous cell carcinoma. [Sci Rep](#), 2021, 11: 10731
- 98 Steggerda S M, Bennett M K, Chen J, et al. Inhibition of arginase by CB-1158 blocks myeloid cell-mediated immune suppression in the tumor microenvironment. [J Immunother Cancer](#), 2017, 5: 101

The roles and mechanisms of urea cycle enzymes in tumor

WEI MengMeng, QIAO Rui, ZHANG Jie, ZHANG XianHong, YU JiaXin & LI Le

*Key Lab of Ministry of Education for Protection and Utilization of Special Biological Resources in Western China,
School of Life Sciences, Yinchuan 750021, China*

The urea cycle (UC) is the production of urea from ammonia, a metabolic waste product, through a series of enzymatic reactions. It plays an important role in maintaining amino acid levels and ammonia homeostasis. The complete UC process takes place almost exclusively in the liver. While the UC is dysregulated in cancer, tumor cells adapt to their environment and regulate biosynthesis by regulating the expression of urea cycle enzymes. Meanwhile, the shortcomings of tumor are exposed by the dysregulation of the UC. Understanding the evolvability of the UC pathway in cancer provides the basis for cancer diagnosis and treatment. Here we review the differential regulation of UC enzymes in tumorigenesis and the reprogramming of UC in tumor cells. Also, this review summarizes the relationship between UC and tumor microenvironment and cancer therapy.

urea cycle, metabolic reprogramming, tumor microenvironment

doi: [10.1360/SSV-2021-0436](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0436)