

암세포 대사의 이해와 갑상선암

울산대학교 의과대학 서울아산병원 내분비내과

김원구, 김원배

Understanding of Cancer Cell Metabolism and Thyroid Cancer

Won Gu Kim and Won Bae Kim

Department of Internal Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Metabolic reprogramming of cancer cell is one of essential hallmarks of cancer. Otto Warburg first demonstrated that cancer cells utilized more glucose and enhanced glycolytic pathway in the presence of oxygen in 1926. Scientific observations of basic and clinical research in several decades supported that cancer-specific metabolism can be an emerging target for treatment of cancer. Metabolic reprogramming is regulated by both oncogenic signaling and tumor suppressor genes associated with critical signaling pathways in metabolism. These changes provided energy, substrates for cell growth and proliferation, favoring microenvironment, and important for redox balancing for cancer cells. Recent advance of several tools for evaluation comprehensive metabolic profiles of cancer cells provided us to identification of metabolic Achilles' heel of cancers including thyroid cancer. This approach can be a useful strategy for advance in treatment of cancer patients.

Key Words: Cancer, Metabolism, Metabolome, Warburg effect

서론

갑상선암의 대부분을 차지하고 있는 분화갑상선암은 수술적 절제, 방사성요오드 치료 및 갑상선호르몬 투여에 의한 갑상선자극호르몬 억제제를 통해서 치료되고 있으며, 전반적인 예후는 양호한 편으로 알려져 있다.¹⁾ 하지만, 약 7-23%의 환자에서 원격전이가 발견되며 이들 중 약 3분의 2정도에서는 방사성요오드 치료에 반응이 없는 난치성 갑상선암이 된다.^{2,3)} 이러한 환자들의 평균 생존 기간은 2-3년 정도로 매우 예후가 나쁘다.⁴⁾ 최근에는 난치성 갑상선암 환자들을 대상으로 한 표적치료제가 개발되어 임상연구가 시작되었으며 현재까지 sorafenib과 lenvatinib에 대한 3상 연구 결과가 보고되었다. 위약군에 비해서 sorafenib은 약 5개월

정도, lenvatinib의 경우에는 약 14.7개월 정도 갑상선암의 진행을 추가적으로 억제하는 효과를 보였다.^{5,6)}

지난 10여 년 동안 암 치료에 있어서 가장 큰 변화는 새롭게 개발된 분자 표적 치료제의 임상적인 적용이지만, 그럼에도 불구하고 진행성, 전이성 암에 대한 치료 효과가 장기적으로 개선되지는 못했다.⁷⁾ 이러한 결과는 암세포 유전자의 불안정성에 의해서 암의 특정신호 전달 경로가 불활성화되더라도 이에 대해서 적응하고 저항성을 가지게 되는 현상을 통해서 일정 부분 설명할 수 있다.^{8,9)} 따라서, 암세포 증식에 필수적이면서도 중복되지 않는 프로세스를 억제하는 것이 암 치료의 효과를 개선하기 위한 유망한 전략이며, 이러한 면에서 암세포의 대사적인 특이성은 암 치료의 중요한 표적이 될 가능성이 높다.^{10,11)} 현재 암세포의 해당 작용(glycolysis)을 표적으로 한 silybin, lonidamine, 2-deoxyglucose,

Received May 16, 2015 / Revised June 26, 2015 / Accepted June 26, 2015

Correspondence: Won Bae Kim, MD, PhD, Department of Internal Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea

Tel: 82-2-3010-3913, Fax: 82-2-3010-6962, E-mail: kimwb@amc.seoul.kr

Copyright © 2015, the Korean Thyroid Association. All rights reserved.

© This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

TLN-232, dichloroacetate, CPI-613과 같은 약제들에 대한 1-2상 임상연구들이 진행되었으며, isocitrate dehydrogenase (IDH)에 대한 억제제로서 AG-120, AG-221과 같은 약제들에 대한 임상연구가 진행 중이다.¹²⁾

Warburg 효과와 암세포의 대사적 변화

1920년대에 Otto Warburg는 높은 산소 농도에도 불구하고 암세포에서 산화적 인산화(oxidative phosphorylation)에 의한 adenosine triphosphate (ATP) 생성보다는 해당작용에 의한 ATP의 생산과 젖산(lactate)의 생성을 선호하고 있다는 사실을 처음으로 발표하였다.¹³⁻¹⁵⁾ 또한, 암세포는 산화반응에 필요한 탄소 대부분을 당 섭취의 증가를 통해서 얻고 있음을 확인하였다. 이러한 암세포 특이적인 대사적인 이상은 여러 종류의 암에서 확인되었으며, 임상적으로는 암세포의 당 섭취 증가 현상을 활용한 fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) 검사를 통해서 널리 활용되고 있다.¹⁶⁾ 암세포의 이러한 특성은 처음에는 암세포에 있는 미토콘드리아에 장애가 있어서 일어나는 현상으로 이해되었다. 하지만 그 후 연구들을 통해 암세포들이 미토콘드리아를 통해서 ATP를 생성할 수 있음이 밝혀졌고, 미토콘드리아를 통한 산화적 인산화의 여부와 관련 없이 암세포에서 해당작용이 빠른 속도로 일어나고 젖산의 생성이 증가되어 있음이 확인되었다.^{17,18)}

암세포가 당 섭취를 증가시키면서, ATP 생성에 있어서 비효율적인 해당반응을 통해서 젖산을 생성하는 것은 이러한 대사적인 특성이 암세포의 성장과 증식에 있어서는 유리한 몇 가지 이유가 있기 때문이다.¹⁹⁾ 첫째, 호기성 해당반응(aerobic glycolysis)을 활용하는 암세포는 조직 내 산소 농도의 변화에 비교적 잘 적응하고 살아갈 수 있도록 도와줄 수 있다. 반면, 산화적 인산화를 통해서 ATP를 생성하는 세포는 조직 내 산소 농도의 변화에 취약할 수밖에 없다.²⁰⁾ 둘째, 암세포는 호기성 해당작용의 중간산물들을 다양한 대사에 활용할 수 있다는 이점을 가지고 있다.²¹⁾ 예를 들어 glucose 6-phosphate (G6P)는 glycogen이나 ribose 5-phosphate의 합성에 이용할 수 있고, pyruvate는 alanine이나 malate 합성에 활용될 수 있다. 셋째, 암세포는 세포의 항산화 방어기전에 있어서 중요한 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)를 생산할 때 당이 펜토스 인산 경로(pentose phosphate pathway, PPP)를 통해서 대사되는 경로를 활용한다.²¹⁾ 이렇게 생산된 NADPH는 지방산의 합성에도 활용될 수 있다. 넷째, 호기성 해당

반응을 통해서 생성된 젖산은 암세포의 주변 환경을 구성하는 중요한 요소이며 암의 침윤성이나 면역 회피에 있어서도 중요한 역할을 한다.²²⁻²⁴⁾

암세포에서 Glutamine 대사의 중요성

Glutamine은 에너지 형성, 산화 환원의 항상성, 고분자 합성에 중요한 역할을 하는 영양소이며, 암세포의 신호전달에도 참여하는 것으로 알려져 있다.²⁵⁾ Warburg 효과만큼 강조되고 있지 않지만, glutamine은 여러 종류의 암세포의 필수적인 생체 에너지의 원료이며, 동화작용의 기본물질로서 암세포는 당과 함께 glutamine을 탄소의 중요한 원료로 사용하고 있다.¹⁸⁾ Glutamine은 glutaminase에 의해서 glutamate가 되는데 이는 세포 내의 중요한 항산화 물질인 glutathione의 전구체이며, 비필수 아미노산의 아미노기의 원료가 되어 고분자물질의 합성에 이용된다. Glutamate는 tricarboxylic acid (TCA) 회로의 중간 대사산물인 α -ketoglutarate (α -KG)의 주된 원료가 되며, 단백질과 유전자의 조작에 관여한다. Glutamine에서 α -KG를 통한 TCA 회로의 대사변화에는 몇 가지 목적이 있다.²⁵⁾ 이를 통해서 주된 에너지의 원천이 되는 전자전달계(electron transport chain)와 산화적 인산화를 위한 환원의 균형(reducing equivalents)을 유지하고,²⁶⁾ 보급대사의 영양소(anaplerotic nutrient)로 이용되어 TCA 회로에서 동화 과정에 이용되는 중간 대사산물의 공급을 유지할 수 있게 한다.²⁷⁾ 또한, glutamine의 산화는 NADPH를 생산하는 malic enzyme에 탄소를 공급하여 산화-환원 항상성을 유지하는 데도 도움을 준다.²⁵⁾ 암세포에 있어서 glutamine 대사의 변화는 에너지 대사 및 산화-환원 반응뿐만 아니라 암세포의 지속적인 증식과 관련된 여러 가지 신호전달체계를 지속적으로 활성화하는 데 기여하기도 하고, 세포 노화 과정과 세포 사멸을 억제하는 방향으로 작용하여 암의 진행과 악화에 영향을 끼칠 수 있다.

종양 형성 신호전달(Oncogenic Signaling)과 종양 억제 유전자에 의한 대사 변화

암 발생과 관련된 유전자 돌연변이나 후성 유전학적인 변화로 인한 종양 형성 신호전달에 의해서 세포의 성장과 증식을 촉진하는 대사적인 변화가 유발될 수 있다. 대표적인 예는 phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)에 의한 AKT의 활성화이며, 이는 세포 내로 당 섭취를

증가시키고, hexokinase의 활성화와 미토콘드리아로의 이동을 촉진하여 해당작용으로의 흐름을 증가시킨다.²⁸⁾ Mammalian target of rapamycin (mTOR)과 hypoxia-inducible factor (HIF)도 해당작용과 관련된 효소들의 활성화에 기여한다.²⁹⁾ 종양 형성과 관련되는 Myc의 발현 정도는 전사 프로그램의 조절을 통해서 glutamine의 분해를 촉진하는 것과 연관되기도 하며, 해당작용을 조절하는 중요한 효소인 pyruvate kinase (PK) 유전자의 선택적 접합(alternative splicing)을 조절하여 배아아형(embryonic isoform)인 PKM2의 발현을 증가시키기도 한다.^{30,31)}

종양억제 유전자에 의한 신호전달도 암의 대사에 영향을 미친다. TP53은 cytochrome c oxidase 2의 발현을 통해서 미토콘드리아의 활성을 조절하는데, TP53 유전자의 손실은 Warburg 효과에 의한 대사의 변화를 초래할 수 있다.³²⁾ TP53은 TP53 inducing glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR)의 발현을 조절하여 해당작용에 관여하는데, TIGAR의 발현이 증가하면 해당작용이 억제되고 G6P가 PPP를 통해서 더 많이 활용되어 핵산의 생산에 필요한 ribose와 NADPH의 합성을 돕게 된다.³³⁾ 최근에는 TP53의 종양억제 유전자로서의 역할에 있어서 대사조절의 중요성이 필수적인 것으로 여겨지고 있다.³⁴⁾

암세포에서 대사 관련 효소의 유전적 변화

해당작용, TCA 경로 및 전자전달계 등과 같은 대사 경로에 작용하는 효소의 유전적인 변화는 암세포의 대사에 있어서 중요한 변화를 유발할 수 있다. 가장 대표적인 예는 신경교종(glioma)과 급성 골수성 백혈병에서 발견된 IDH1과 IDH2 유전자의 돌연변이이다. IDH1과 IDH2는 각각 세포질과 미토콘드리아에 존재하는 단독이량체 효소(homodimeric enzyme)로 isocitrate를 α -KG로 변환시키면서 이산화탄소, nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 및 NADPH를 생성하는 역할을 한다.³⁵⁾ IDH1과 IDH2의 유전자 돌연변이가 생기게 되면 α -KG는 2-hydroxy-glutarate (2-HG)로 대사되게 되는데 이는 histone demethylase들의 활성화에 영향을 미쳐서 특정한 유전자 메틸화와 관련되어 후성유전학적 조절에 관여하며, methylcytosine을 5-hydroxymethylcytosine으로 대사시키는 TET 효소의 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다.³⁵⁾

TCA 경로와 관련된 효소인 fumarate hydratase (FH)

와 succinate dehydrogenase (SDH)의 유전자 돌연변이는 암세포에 fumarate와 succinate의 축적을 유발한다.¹⁸⁾ SDH는 전자전달계의 2형 복합체(complex II)의 구성 요소로서 미토콘드리아의 기능 저하를 유발하여 SDH의 소단위의 돌연변이는 유전성 부신경절종(paraganglioma)과 갈색세포종(pheochromocytoma)과 관련되어 있다.³⁶⁾ FH는 미토콘드리아에서 fumarate가 malate로 대사되는 데 필요한 효소로서 자궁과 피부의 평활근종(leiomyoma)과 유두상 신장암과 관련되어 있다.³⁷⁾

암 조직과 세포의 대사체(Metabolome) 분석

최근 암 연구는 세포와 조직의 생물학적 시스템에 대한 포괄적이면서도 기능적인 면을 탐색하고 있으며, 이는 유전체(genome), 전사체(transcriptome), 단백질체(proteome)뿐만 아니라 대사체에 대한 분석을 포함하고 있다. 대사체에 대한 포괄적인 분석은 대사산물의 미묘한 농도 변화를 감지할 수 있어서, 암의 표현형과 가장 근접해 있으면서 생물학적인 변화를 가장 잘 반영할 수 있는 방법이다.³⁸⁾ 최근에는 핵 자기공명분광분석(nuclear magnetic resonance spectroscopy)의 발달과 가스 크로마토그래피(gas chromatography, GC), 액체 크로마토그래피(liquid chromatography, LC) 및 모세관 전기영동(capillary electrophoresis)과 결합된 형태의 질량분석법(mass spectrometry, MS)의 발전을 통해서 다양한 형태의 대사물질을 정량할 수 있게 되었다.³⁹⁾ 대사체 분석은 이러한 방법들을 다양하게 활용하여 암세포와 정상 세포에서 해당작용, PPP, TCA 경로, 핵산과 단백질의 생합성, 지방 및 인지질의 변화, 산화-환원 스트레스와 같은 중요한 대사 경로를 비교 분석하여 바이오마커와 치료 표적을 발굴하는 데 활용되고 있다.

대사체에 대한 분석 방법에는 지문 분석(fingerprinting), 족문 분석(footprinting), 프로파일링(profiling), 유량 분석(flux analysis), 표적 분석(target analysis) 등의 다양한 접근법이 있다.³⁹⁾ 대사 지문 분석은 연구 중인 시스템 내에서 측정 가능한 모든 대사산물을 표적화하지 않고 검출하는 방법으로 바이오마커 발굴을 위한 포괄적인 선별 검사로서 이용할 수 있는 방법이다.^{39,40)} 족문 분석은 시험관 내에서 주로 사용되는 방법으로 세포 주위의 환경에서 대사산물을 측정하여 대사 교환에 대한 정보를 제공할 수 있는 방법이다. 프로파일링은 아미노산과 같은 특정한 대사물질의 농도를 측정할 수 있는 가장 간단한 선별검사 방법이다.³⁹⁾ 유량 분석은 등

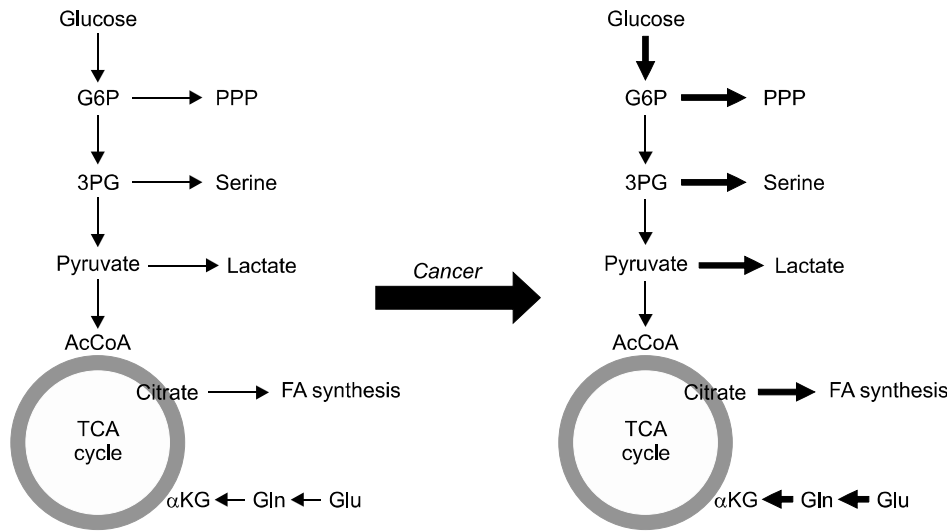


Fig. 1. Summary of changes in metabolic characteristics of cancer cells. 3PG: 3-phosphoglycerate, α KG: alpha-ketoglutarate, AcCoA: Acetyl coenzyme A, FA: fatty acids, G6P: glucose-6-phosphate, Gln: glutamine, PPP: pentose phosphate pathway. Bold arrow indicates increase of metabolic pathways in cancers.

위원소로 표지된 탄소를 이용하여 특정 경로에서 하나의 화합물을 추적하여 대사물질의 운명을 분석할 수 있는 동적인 분석 방법이다.^{39,41)} 표적 분석은 실험 조건에 따라서 변화될 수 있는 하나 또는 몇 가지 밀접하게 관련된 대사산물의 농도를 측정하여 비교하는 분석법이다.^{39,40)}

갑상선암 모델을 활용한 암세포 대사연구의 필요성은 다음의 세 가지로 요약할 수 있다. 첫째, 차세대 염기서열 분석법을 활용한 종양의 유전적인 특성에 대한 포괄적 분석에서 갑상선암은 종양의 유전자 돌연변이가 가장 적은 암 중의 하나로 밝혀져 있어서⁴²⁾ 암세포의 대사적 특성을 치료 표적으로 하는 치료법이 더 효과를 나타낼 것으로 기대된다는 점이다. 둘째, 분화갑상선암 중에서 예후가 나쁜 미분화/저분화 갑상선암의 중요한 특성은 요오드 섭취가 적어서 방사성요오드 스캔에서 발견이 안되면서 당의 섭취는 많아서 FDG-PET에서 잘 발견된다는 점이다. 마지막으로 갑상선여포암의 아형인 휘틀세포 갑상선암은 세포 내 미토콘드리아의 기능 감소와 그에 따른 해당작용의 증가가 중요한 원인으로 알려져 있어서 암세포 대사의 중요한 모델이 될 수 있다. 하지만 갑상선암에서 암세포 대사에 대한 연구는 매우 제한적이다.

본 연구자들의 예비 연구에서는 갑상선유두암, 주변 정상 갑상선조직 및 양성 갑상선결절 조직에서 LC-MS와 GC-MS를 활용하여 해당반응, TCA 경로, PPP에 대한 대사산물을 측정 분석하였다. 갑상선유두암은 정상 갑상선이나 양성 갑상선결절에 비해서 해당 경로가 활성화되면서 젖산의 생성이 증가되고, glutamine의 활용이 증가되어 있음을 확인할 수 있었다. 이는 갑상선암

에서도 암 특이적 대사체의 변화가 나타나고 있음을 시사하며, 향후 추가적인 연구를 통하여 갑상선암의 대사적인 특성을 규명하고 이를 치료 표적으로 활용할 수 있을 가능성을 제시하고 있다.

요약 및 결론

기존의 연구들을 통해서 밝혀진 암세포 대사 변화의 특징을 정상 세포와 비교한다면 Fig. 1과 같이 요약할 수 있다. 즉, 세포 내로 당 섭취의 증가, 해당 경로 활성화를 통한 젖산의 생성 증가, glutamine의 섭취와 활용 증가, 해당 경로의 중간 대사산물을 통한 PPP와 serine 합성의 증가, 미토콘드리아에서 citrate가 증가되고 그로 인한 acetyl coenzyme A의 증가 및 그에 따른 지방산 합성의 증가 등으로 요약할 수 있다. 이러한 변화는 세포의 구성에 필요한 에너지와 다분자 물질의 생성, 암세포 주변 미세 환경의 변화, 산화-환원의 균형을 위한 것이라고 생각된다. 갑상선암에서도 이러한 변화가 확인되며, 이는 향후 난치성 갑상선암 치료에 있어서 중요한 표적이 될 수 있음을 시사한다.

중심 단어: 갑상선암, 대사, 대사체, 와르버그 효과.

References

- 1) American Thyroid Association (ATA) Guidelines Taskforce on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer, Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, et al. Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2009;19(11):1167-214.

- 2) Shoup M, Stojadinovic A, Nissan A, Ghossein RA, Freedman S, Brennan MF, et al. Prognostic indicators of outcomes in patients with distant metastases from differentiated thyroid carcinoma. *J Am Coll Surg* 2003;197(2):191-7.
- 3) Schlumberger M, Brose M, Elisei R, Leboulleux S, Luster M, Pitoia F, et al. Definition and management of radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014;2(5):356-8.
- 4) Durante C, Haddy N, Baudin E, Leboulleux S, Hartl D, Travagli JP, et al. Long-term outcome of 444 patients with distant metastases from papillary and follicular thyroid carcinoma: benefits and limits of radioiodine therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(8):2892-9.
- 5) Brose MS, Nutting CM, Jarzab B, Elisei R, Siena S, Bastholt L, et al. Sorafenib in radioactive iodine-refractory, locally advanced or metastatic differentiated thyroid cancer: a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet* 2014;384(9940):319-28.
- 6) Schlumberger M, Tahara M, Wirth LJ, Robinson B, Brose MS, Elisei R, et al. Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer. *N Engl J Med* 2015;372(7):621-30.
- 7) Fojo T, Parkinson DR. Biologically targeted cancer therapy and marginal benefits: are we making too much of too little or are we achieving too little by giving too much? *Clin Cancer Res* 2010;16(24):5972-80.
- 8) Bock C, Lengauer T. Computational epigenetics. *Bioinformatics* 2008;24(1):1-10.
- 9) Gillies RJ, Verduzco D, Gatenby RA. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. *Nat Rev Cancer* 2012;12(7):487-93.
- 10) Stincone A, Prigione A, Cramer T, Wamelink MM, Campbell K, Cheung E, et al. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2014 [Epub ahead of print].
- 11) Vander Heiden MG. Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens. *Nat Rev Drug Discov* 2011;10(9):671-84.
- 12) Sborov DW, Haverkos BM, Harris PJ. Investigational cancer drugs targeting cell metabolism in clinical development. *Expert Opin Investig Drugs* 2015;24(1):79-94.
- 13) Warburg O, Wind F, Negelein E. The Metabolism of Tumors in the Body. *J Gen Physiol* 1927;8(6):519-30.
- 14) Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science* 1956;123(3191):309-14.
- 15) Warburg O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 1956;124(3215):269-70.
- 16) Mankoff DA, Eary JF, Link JM, Muzi M, Rajendran JG, Spence AM, et al. Tumor-specific positron emission tomography imaging in patients: [18F] fluorodeoxyglucose and beyond. *Clin Cancer Res* 2007;13(12):3460-9.
- 17) Weinhouse S. The Warburg hypothesis fifty years later. *Z Krebsforsch Klin Onkol Cancer Res Clin Oncol* 1976;87(2):115-26.
- 18) Jang M, Kim SS, Lee J. Cancer cell metabolism: implications for therapeutic targets. *Exp Mol Med* 2013;45:e45.
- 19) Kroemer G, Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell* 2008;13(6):472-82.
- 20) Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature* 2006;441(7092):437-43.
- 21) Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004;4(11):891-9.
- 22) Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Harris AL, Sivridis E. Comparison of metabolic pathways between cancer cells and stromal cells in colorectal carcinomas: a metabolic survival role for tumor-associated stroma. *Cancer Res* 2006;66(2):632-7.
- 23) Swietach P, Vaughan-Jones RD, Harris AL. Regulation of tumor pH and the role of carbonic anhydrase 9. *Cancer Metastasis Rev* 2007;26(2):299-310.
- 24) Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, Meidenbauer N, Ammer J, Edinger M, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood* 2007;109(9):3812-9.
- 25) Hensley CT, Wasti AT, DeBerardinis RJ. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *J Clin Invest* 2013;123(9):3678-84.
- 26) Reitzer LJ, Wice BM, Kennell D. Evidence that glutamine, not sugar, is the major energy source for cultured HeLa cells. *J Biol Chem* 1979;254(8):2669-76.
- 27) DeBerardinis RJ, Mancuso A, Daikhin E, Nissim I, Yudkoff M, Wehrli S, et al. Beyond aerobic glycolysis: transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(49):19345-50.
- 28) Schulze A, Harris AL. How cancer metabolism is tuned for proliferation and vulnerable to disruption. *Nature* 2012;491(7424):364-73.
- 29) Cairns RA, Harris IS, Mak TW. Regulation of cancer cell metabolism. *Nat Rev Cancer* 2011;11(2):85-95.
- 30) Wise DR, DeBerardinis RJ, Mancuso A, Sayed N, Zhang XY, Pfeiffer HK, et al. Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(48):18782-7.
- 31) David CJ, Chen M, Assanah M, Canoll P, Manley JL. HnRNP proteins controlled by c-Myc deregulate pyruvate kinase mRNA splicing in cancer. *Nature* 2010;463(7279):364-8.
- 32) Matoba S, Kang JG, Patino WD, Wragg A, Boehm M, Gavrilova O, et al. p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 2006;312(5780):1650-3.
- 33) Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MN, Nakano K, Bartrons R, et al. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* 2006;126(1):107-20.
- 34) Li T, Kon N, Jiang L, Tan M, Ludwig T, Zhao Y, et al. Tumor suppression in the absence of p53-mediated cell-cycle arrest, apoptosis, and senescence. *Cell* 2012;149(6):1269-83.
- 35) Munoz-Pinedo C, El Mjiyad N, Ricci JE. Cancer metabolism: current perspectives and future directions. *Cell Death Dis* 2012;3:e248.
- 36) Vicha A, Taieb D, Pacak K. Current views on cell metabolism in SDHx-related pheochromocytoma and paraganglioma. *Endocr Relat Cancer* 2014;21(3):R261-77.
- 37) Tomlinson IP, Alam NA, Rowan AJ, Barclay E, Jaeger EE, Kelsell D, et al. Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat Genet* 2002;30(4):406-10.
- 38) Dunn WB. Current trends and future requirements for the mass spectrometric investigation of microbial, mammalian and plant

- metabolomes. Phys Biol* 2008;5(1):011001.
- 39) Armitage EG, Barbas C. *Metabolomics in cancer biomarker discovery: current trends and future perspectives. J Pharm Biomed Anal* 2014;87:1-11.
 - 40) Patti GJ, Yanes O, Siuzdak G. *Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13(4): 263-9.
 - 41) You L, Zhang B, Tang YJ. *Application of stable isotope-assisted metabolomics for cell metabolism studies. Metabolites* 2014; 4(2):142-65.
 - 42) Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, Kryukov GV, Cibulskis K, Sivachenko A, *et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. Nature* 2013; 499(7457):214-8.