

综述

NOX4在恶性肿瘤中的研究进展

闫文佳¹, 卞伟², 肖虹^{3*}¹山西医科大学第一临床医学院, 太原 030000; ²山西医科大学基础医学院, 太原 030000;³山西医科大学第一医院病理科, 太原 030000)

摘要: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NADPH oxidase, NOX)是一类可以产生活性氧的跨膜蛋白, 参与多种病理生理过程。NOX家族共有7个成员, 其中NADPH氧化酶4(NADPH oxidase 4, NOX4)分布广泛且其活性取决于蛋白质表达水平, 在多种恶性肿瘤中表达异常, 参与肿瘤细胞增殖、转移、上皮间充质转化、治疗耐药等过程。本文总结了NOX4在多个系统肿瘤发生发展过程中的作用和治疗潜力, 以期为进一步研究其相关功能机制及临床应用提供理论参考。

关键词: NOX4; 恶性肿瘤; 活性氧

Research progress of NOX4 on tumor

YAN Wenjia¹, BIAN Wei², XIAO Hong^{3*}

¹The First Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China; ²Department of Basic Medicine, Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China; ³Department of Pathology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030000, China)

Abstract: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (NOX) is a kind of transmembrane proteins that can produce reactive oxygen species and participate in a variety of pathophysiological processes. There are seven members in the NOX family, among which NADPH oxidase 4 (NOX4) is widely distributed and its activity depends on the expression of proteins. Its abnormal expression in many tumors is involved in tumor cell proliferation, metastasis, epithelial mesenchymal transformation, treatment of drug resistance and so on. This paper summarizes the role and therapeutic potential of NOX4 in the development of multiple systemic tumors, in order to provide theoretical reference for further study of its related functional mechanism and clinical application.

Key Words: NADPH oxidase 4; malignant tumors; reactive oxygen species

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶4(NADPH oxidase 4, NOX4)作为多种代谢过程的调节剂, 与缺氧相关的信号传导密切相关, 其表达和功能在多种恶性肿瘤中发生改变, 肿瘤细胞代谢改变不仅能提供三磷酸腺苷为细胞反应提供能量, 还产生代谢中间体用于合成细胞必需成分从而支持细

胞增殖、迁移和侵袭。与NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)家族其他亚型不同, NOX4具有组成性活性, 在肾脏、破骨细胞、成纤维细胞和内皮细胞中高表达, 参与了包括细胞增殖、凋亡、氧化应激等在内的多种生物学过程, 通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和消除之间

收稿日期: 2023-11-30

基金项目: 山西省自然科学基金项目(202203021221186)

第一作者: E-mail: 1454073955@qq.com

*通信作者: E-mail: xiaoh9999@163.com

的平衡对致癌转化的调节和维持起着至关重要的作用^[1]。研究表明, 在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)与NOX4共同作用能够维持肿瘤中的免疫抑制性癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)表型, 导致肿瘤对免疫治疗不敏感^[2]。在多种癌症中NOX4表达水平升高与肿瘤细胞增殖、侵袭和耐药相关, 能促进肿瘤的恶性进展, 但在肝细胞癌中NOX4发挥了抑制肿瘤进展的作用。也有研究表明, NOX4的缺失会促进致癌物诱导的实体肿瘤的形成^[3,4]。但NOX4在肿瘤中发挥作用的具体分子机制尚不明确, 本文对目前NOX4在多种肿瘤中作用的研究进展进行综述, 为进一步深入研究NOX4在肿瘤中的调节机制以及在临床诊治中寻找新的分子靶点提供理论参考。

1 NOX家族的生物学功能

NOX家族成员包括NOX1、NOX2、NOX3、NOX4、NOX5、双氧化酶1(dual oxidase 1, DUOX1)和DUOX2, 它们的共同结构是具有6个高度保守的跨膜结构域和包含黄素腺嘌呤二核苷酸、NADPH结合结构域的C末端, 各成员都具有跨膜传输电子和产生ROS的能力, 但每个成员的组织分布、激活机制以及在生理和病理状态中的功能各不相同^[5]。NOX家族成员参与机体免疫防御和氧化还原信号传导的生理过程。在调控细胞生长和死亡方面, 活化的NOX通过产生ROS损伤DNA和蛋白质, 间接诱导细胞凋亡, 或直接通过诱导丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路激活促凋亡信号级联反应, 如应激活化蛋白激酶/Jun氨基末端激酶(SAPK/JNK)、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK) 1/2和p38来诱导细胞凋亡, 在某些情况下通过激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)或蛋白激酶B/凋亡信号调节激酶1(AKT/ASK1)途径发挥抗凋亡作用^[1]。当NOX表达异常引起ROS稳态失调时会影响二者参与的生理机制, 导致中枢神经系统退行性疾病、心血管疾病、代谢性疾病以及癌症等病理过程的发生, 而在肿瘤发生发展过程中异常表达

的NOX家族成员最常见的是NOX4。下文总结了NOX4在多种恶性肿瘤中的生物学作用和相关的信号通路(表1)。

2 NOX4在多个系统肿瘤中的作用及分子机制

2.1 头颈部肿瘤

2.1.1 胶质瘤

胶质瘤是最常见的颅内原发性恶性肿瘤。研究发现, 在TGF- β 1诱导的胶质母细胞瘤细胞上皮间质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)过程中存在明显的代谢变化, TGF- β 1通过Smad依赖的信号传导上调NOX4的表达并伴随ROS产生, 进而诱导HIF-1 α 的过表达和核积累, 从而导致肿瘤细胞的代谢重编程并且促进EMT过程, 当PI3K/AKT/HIF-1 α 信号通路被抑制时, TGF- β 1诱导的代谢重编程和NOX4/ROS调控的EMT被阻断^[6]。因此, TGF- β 1诱导NOX4/ROS可能是介导胶质母细胞瘤细胞EMT以及代谢重编程的主要机制之一。与正常脑组织相比, 胶质瘤标本中NOX4的表达升高, 且与临床预后差相关, NOX4诱导线粒体产生的异常线粒体活性氧刺激HIF-1 α 直接激活FOXM1的转录, 导致FOXM1表达增加, 在胶质母细胞瘤细胞中, NOX4或FOXM1的过表达会促进有氧糖酵解, 而NOX4或FOXM1的敲除则显著抑制了有氧糖酵解, NOX4-FOXM1表达的增加在有氧糖酵解中起重要作用, 抑制NOX4-FOXM1信号通路可能是治疗胶质母细胞瘤的潜在靶点^[7]。以上研究表明, NOX4参与胶质瘤细胞EMT和代谢重编程从而促进肿瘤恶性进展, NOX4不仅可以作为胶质瘤诊断的潜在生物标志物, 还可以预测胶质瘤患者的预后情况。

2.1.2 头颈部鳞状细胞癌

头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)是一组起源于口腔、咽部和喉部黏膜上皮的恶性肿瘤, 其中大部分HNSCC来源于口腔。研究发现, 特异AT序列结合蛋白2(special AT-rich sequence binding protein 2, SATB2)高水平表达的口腔鳞状细胞癌患者通常预后较差, 在体外和体内实验中发现, SATB2过表达促进细胞增殖的作用部分是通过上调NOX4的表达。增强癌细胞

表1 NOX4在部分肿瘤中的表达及生物学作用

肿瘤种类	表达情况	上游基因	信号通路	生物学功能	参考文献
胶质瘤	上调	<i>TGF-β1</i>	TGF-β1/NOX4/ROS、PI3K/AKT/HIF-1α	增殖、迁移、侵袭、EMT、代谢重编程、生长	[6]
	上调	/	NOX4/ROS/HIF-1α/FOXM1	增殖、糖酵解	[7]
头颈部鳞状细胞癌	上调	<i>SATB2</i>	/	增殖	[8]
	下调	<i>MiR-9-5p</i>	NOX4/TGF-β1	CAF转化	[9]
甲状腺癌	上调	<i>BRAF</i>	MAPK信号通路、TGF-β/Smad3通路	碘代谢、迁移、侵袭、EMT	[10]
	上调	/	MEK-ERK通路	氧化应激、侵袭、去分化	[11]
	上调	/	TGFβ1/SMAD3、ERKs、PI3K/AKT	耐药、糖酵解	[12]
乳腺癌	上调	/	ROS/YAP通路	糖酵解、增殖、迁移	[13]
	上调	<i>TGF-β</i>	TGFβ-NOX4-ROS-KRT14	侵袭	[14]
	上调	<i>TGF-β</i>	/	耐药、辐射诱导的氧化应激和纤维化	[15]
	上调	/	Nox4-Nrf2通路	生长、转移、自噬	[16]
	上调	/	NOX4/ROS/ERK/CCL21	淋巴管生成、转移	[17]
肺癌	上调	/	NOX4/ROS-AKT/MTOR	氧化应激、迁移、转移、EMT	[18]
	上调	/	PI3K/AKT通路	增殖、侵袭	[19]
	上调	/	ROS/PI3K/CCL7、IL8、CSF-1、VEGF-C	促进巨噬细胞迁移并诱导其向M2型转化	[20]
	上调	<i>TGF-β</i>	NF-κB/NOX4/ROS	EMT	[21]
食管癌	/	/	AKT/MTOR通路	增殖、生长	[22]
胃癌	上调	/	JAK/STAT信号通路	转移、EMT	[23]
	上调	<i>MeCP2</i>	NOX4/PKM2	耐药	[24]
	上调	/	GLI1	增殖、凋亡	[25]
结直肠癌	/	<i>ANGPTL4</i>	ANGPTL4/NOX4/ROS/MMPs通路	侵袭、转移	[26]
胰腺癌	上调	/	NOX4/ROS/MMP3	耐药、侵袭	[27]
胆囊癌	上调	<i>IL-6</i>	IL-6-JAK-STAT3信号通路	血管生成拟态	[28]
肝细胞癌	下调	/	Nrf2通路、MYC	代谢重编程	[3]
	/	/	EGFR/AKT/ERKs通路、TGF-β/Smad通路	凋亡	[29]

PI3K: 磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3 kinase); HIF-1α: 缺氧诱导因子1α(hypoxia-inducible factor 1α); FOXM1: 叉头盒蛋白M1(forkhead box protein M1); KRT14: 角蛋白14(keratin 14); Nrf2: 核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2); GLI1: 胶质瘤相关癌基因同源物1(glioma-associated oncogene homolog 1); ANGPTL4: 血管生成素样蛋白4(angiopoietin-like protein 4); MMP: 基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein); EGFR: 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)

的迁移和侵袭能力实现的, *NOX4*下调可诱导细胞周期停滞在G₁/S检查点, 有效抑制肿瘤的发生^[8]。

人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)是HNSCC的重要危险因素, HPV阳性HNSCC患者生存率较高可能与其独特的TME有关。有研究分析了111例临床样本组织和公开测序数据, 发现在HPV阳性HNSCC中CAF浸润较少, HPV阳性HNSCC细胞来源的外泌体miR-9-5p通过降低*NOX4*的表达和细胞内ROS水平抑制TGF-β信号介导的成纤维细胞表型转化, 与HPV阳性HNSCC患者良好的预后有关^[9]。因此, 抑制*NOX4*可能是治疗

HNSCC的有效措施, 低表达的*NOX4*与HPV阳性的HNSCC中CAF浸润较少有关, 通过对相关机制的进一步研究有望改善患者的预后。

2.1.3 甲状腺癌

甲状腺癌是一种常见的头颈部恶性肿瘤, 包括多种组织学亚型, 其中甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)在临床中最为常见。在人和鼠*BRAF*^{V600E}突变甲状腺肿瘤中*NOX4*表达水平升高, 并与肿瘤分化呈负相关, 可能与肿瘤患者的不良预后有关; *NOX4*通过甲状腺癌细胞中的TGF-β-Smad3依赖性途径被*BRAF*^{V600E}上调, 而这种作用

在乳腺癌细胞中被野生型 $p53$ 强烈抵消, 在不同类型肿瘤中的NOX4的生物学作用受到不同因素的调控, 其中的分子机制有待进一步研究^[10,11]。*BRAF*和*RAS*癌基因可上调NOX4表达, NOX4衍生的ROS介导*RAS*诱导的DNA损伤和衰老以及*BRAF*诱导的钠碘转运体抑制, 形成的恶性循环与甲状腺癌患者放射性碘治疗耐药有关; TCGA数据库的甲状腺肿瘤NOX4的表达与甲状腺分化分数呈负相关, 在多种亚型的恶性甲状腺肿瘤中检测到的NOX4蛋白表达明显高于在正常甲状腺组织中检测到的, 这些发现表明参与甲状腺分化的基因可能被NOX4来源的ROS调控的机制沉默^[11]。NOX4在血清饥饿条件下通过ROS在PTC细胞中对仑伐替尼诱导的糖酵解有支持作用, 表明PTC细胞依赖NOX4或NOX4衍生的ROS来应对复杂多变的TME; 甲状腺癌细胞株在血清剥夺条件下过表达NOX4, 敲除NOX4会降低细胞活力, 增加细胞凋亡, 延长细胞周期中的G₁期, 并调节饥饿细胞中能量相关代谢物的水平。抑制NOX4可增加仑伐替尼耐药PTC细胞和异种移植物的凋亡, 表明NOX4或NOX4衍生的ROS是耐药PTC的潜在治疗靶点^[12]。以上研究结果表明, NOX4与甲状腺癌的分化程度、不良预后以及耐药相关, 目前对NOX4在TME中的作用了解尚不完整, 但可以推测PTC细胞需要NOX4产生的ROS和糖酵解提供能量, 开发与NOX4相关的新药或副作用更小的药物组合并提高抗肿瘤活性是未来进一步研究的可行方向。

2.2 乳腺癌

NOX4可以激活ROS/YAP通路影响乳腺癌糖酵解, 进一步促进乳腺癌细胞的增殖和迁移^[13]。有研究者开发了一种新的乳腺癌类器官与自体基质细胞共培养模型, 该模型中癌细胞释放TGF- β 诱导基质细胞中NOX4的表达, 增强类器官的侵袭能力和KRT14的表达, 抑制NOX4时会降低乳腺癌的侵袭性和KRT14的表达, 揭示了NOX4在乳腺癌基质细胞和癌细胞之间的动态分子相互作用和肿瘤侵袭中扮演的关键角色, 但还需要在动物模型中进行进一步的验证^[14]。放疗诱导的纤维化引起的放射耐药是乳腺癌治疗的主要临床障碍, 因为它通常会导致癌症复发、治疗失败和患者死亡。Vactosertib是一种口服的小分子激活素受体样激酶

5抑制剂, 能有效抑制辐射诱导的氧化应激产生、纤维化和肿瘤干细胞发展, 降低放射诱导乳腺癌细胞中NOX4的表达, 从而缓解乳腺癌治疗过程中的放射耐药问题^[15]。与正常的乳腺成纤维细胞相比, 从人类乳腺肿瘤中分离出来的CAF中NOX4 mRNA表达显著上调, 通过NOX4/Nrf2氧化还原信号通路促进CAF的自噬和存活, 在乳腺癌细胞的肿瘤发生和转移中发挥作用; 肿瘤间质中Nox4的缺失及其靶向抑制剂GKT137831可抑制小鼠植入的乳腺癌细胞系的原位肿瘤生长和转移^[16]。NOX4高表达与乳腺癌患者较高的组织学分级和淋巴结转移等预后不良指标相关, 乳腺癌组织中NOX4可能通过ROS/ERK/趋化因子配体21通路促进肿瘤周围淋巴管生成, 将肿瘤细胞募集到淋巴管从而发生淋巴结转移和远处转移, NOX4可能是乳腺癌的潜在治疗靶点^[17]。综上所述, NOX4不仅促进乳腺癌细胞增殖、侵袭, 还促进肿瘤周围淋巴管形成和肿瘤转移, 研制新型药物降低肿瘤组织中NOX4水平可使放射耐药患者获益, NOX4可在乳腺癌诊断、预后和治疗方面作为潜在生物标志物。

2.3 肺癌

肺癌是人类癌症相关死亡的主要原因, 包括肺癌和肺鳞状细胞癌的非小细胞癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌的85%^[30]。有研究显示, NOX4 mRNA和蛋白质表达在NSCLC患者的肺组织和支气管肺泡灌洗液中显著上调^[31], 且NOX4表达与NSCLC患者不良预后密切相关^[18,19]。Zhang等^[20]证明了NSCLC细胞中的NOX4通过ROS/PI3K/Akt信号通路刺激各种细胞因子的产生从而促进巨噬细胞的迁移并诱导巨噬细胞向M2型肿瘤相关巨噬细胞极化, 从而促进体内和体外NSCLC细胞增殖。另一项研究证实, A549细胞系NF- κ B的失活可以通过抑制NOX4表达和ROS产生来抑制TGF- β 诱导的EMT过程, 证明TGF- β 通过NF- κ B/NOX4/ROS信号通路介导EMT过程, NOX4作为该过程的关键参与者可能是肺癌转移的潜在治疗靶点^[21]。CAF是构成肿瘤基质的主要组成部分, 在肺鳞状细胞癌中, 阻断吡啶胺2,3-双加氧酶1和NOX4活性可通过减少CAF诱导的骨髓来源的免疫抑制细胞中ROS的产生来恢复CD8⁺ T细胞增殖, 这一发现为逆转CAF介导的免疫抑制微环境提供了潜在治

疗途径^[32]。很少有药物能够有效缓解NSCLC转移, 防己诺林碱是一种小分子药物, 通过直接特异地靶向NOX4减少细胞质ROS和抑制Akt-mTOR信号通路来逆转NSCLC细胞的EMT, 抑制肿瘤细胞侵袭和迁移, 是一种潜在的新型治疗剂^[18]。NOX4参与EMT过程和CAF介导的免疫抑制, 在TME中发挥关键作用, 为肺癌的免疫疗法提供了新的思路。

2.4 消化系统肿瘤

2.4.1 食管癌

接受根治性食管切除术的食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)患者中, NOX4高表达患者的无病生存期和总生存期比NOX4低表达的患者更短, 并且NOX4是影响ESCC患者预后的独立危险因素, 在ESCC细胞系中抑制NOX4与AKT/mTOR通路表达降低和肿瘤细胞生长抑制有关^[22]。NOX4可作为ESCC独立的预后因子, 未来进一步对分子机制进行研究可能为ESCC的诊断和治疗提供新思路。

2.4.2 胃癌

根据结直肠癌、胃癌、胰腺癌等消化系统肿瘤的临床及数据库研究, NOX4的表达与肿瘤患者的预后及生存有显著相关性^[23]。铁死亡是一种与肿瘤发生发展有关的新细胞程序性死亡方式, 有研究通过对公共数据库和临床样本进行系统分析, 构建铁死亡相关基因的胃腺癌预后模型, NOX4在预后模型中是关键基因。该模型与胃腺癌患者总生存期、临床特征、肿瘤突变负荷和TME显著相关^[33,34]。包含NOX4的基于免疫相关基因的胃癌免疫预后模型和胃癌坏死性凋亡相关基因预后评分系统对评估胃癌患者的预后和免疫治疗效果具有预测价值, 因此NOX4与模型中其他基因的组合有望成为胃癌患者预后和个性化治疗的可靠生物标志物^[35,36]。由于线粒体的功能障碍和失调与癌症有关, 研究者构建了包括NOX4在内的线粒体相关基因的胃腺癌预后风险评分模型, 发现该模型与胃腺癌患者的TME和免疫细胞浸润高度相关, 同时该模型可能有助于筛查胃腺癌患者的治疗药物, 为患者提供更敏感有效的治疗方案^[37]。甲基化CpG结合蛋白2(methyl-CpG-binding protein 2, MeCP2)在5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)耐

药的胃癌细胞中表达上调, MeCP2通过结合NOX4的启动子区域的特定序列促进其转录并激活NOX4/PKM2通路使胃癌细胞对5-FU产生耐药性, 沉默NOX4可以提高胃癌细胞对5-FU的敏感性, 这可能是克服胃癌耐药性的治疗策略^[24]。GLI1是Hedgehog信号通路的一个转录因子, NOX4通过生成ROS随后激活GLI1在胃癌细胞生长和凋亡中发挥重要作用, 因此靶向NOX4可能是一种有潜力的抑制胃癌细胞增殖的治疗策略^[25]。目前研究多基于机器学习水平进行, NOX4与胃癌患者的临床病理特征之间的关系需要大样本的临床病例研究进行验证, 以确保上述模型能应用于临床实践; 在胃癌中NOX4与铁死亡、坏死性凋亡以及线粒体功能障碍的相互作用机制需要进一步研究。

2.4.3 结直肠癌

NOX4与铁死亡和肿瘤免疫相关, 可能是与结直肠癌发生、预后相关的生物标志物和免疫治疗的潜在靶点^[38]。在结直肠癌组织中, 通过抑制NOX4可以逆转CAF表型以促进CD8⁺ T细胞浸润, 克服CAF介导的免疫抑制, 恢复肿瘤对免疫治疗的敏感性^[2]。结直肠癌的恶性进展与脂代谢紊乱高度相关, 游离脂肪酸处理的结直肠癌细胞中NOX4、ANGPTL4表达增加, NOX4通过诱导MMP-1和MMP-9促进结直肠癌细胞的侵袭能力, 抑制ANGPTL4、NOX4或抗氧化剂治疗可显著抑制循环脂肪酸促进的肿瘤细胞外渗和肿瘤细胞在肺部的转移播散, 表明ANGPTL4/NOX4轴对血脂异常相关的肿瘤转移至关重要^[26]。靶向ANGPTL4和NOX4能否在临床减少结直肠癌患者的复发以及治疗血脂异常相关结直肠癌转移是未来研究的可行方向。

2.4.4 胰腺癌和胆囊癌

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDA)患者常合并糖尿病, 主要表现为血糖水平升高, MMP-3的表达与PDA患者的高血糖状态和PDA细胞耐吉西他滨相关, NOX4介导的ROS是MMP-3的上游信号因子, 高糖环境通过NOX4/ROS/MMP-3信号通路诱导PDA细胞吉西他滨耐药和肿瘤侵袭, 抑制NOX4可有效抑制PDA细胞侵袭并提高其对吉西他滨的敏感性^[27], NOX4抑制剂是否可以使合并糖尿病的PDA患者在临床

上获益仍然需要研究证实。NOX4的高表达与胆囊癌患者的肿瘤侵袭性和预后不良相关, 胆囊癌相关成纤维细胞(gallbladder cancer-associated fibroblasts, GCAF)在体外诱导胆囊癌细胞增殖、侵袭、迁移和成管, 在体内可能通过旁分泌白细胞介素-6介导的酪氨酸激酶/信号转导和转录激活因子3信号通路上调NOX4, 促进异种移植血管生成拟态(vasculogenic mimicry, VM)形成和肿瘤生长, NOX4作为VM形成的关键基因在胆囊癌组织及其间质中高表达, 以上研究结果可为胆囊癌的诊断、预后及抗VM的靶向治疗提供新的思路和方法^[28]。

2.4.5 肝细胞癌

MYC介导的线粒体动力学改变导致细胞氧化代谢增加, 葡萄糖和脂肪酸的利用率提高以及整体能量容量和ATP水平的提高, 在肿瘤形成过程中发挥了重要作用。研究发现, NOX4通过负调控MYC在肝细胞癌进展中调节氧化还原和代谢稳态, 扮演抑制肿瘤发展的角色; 当NOX4在肿瘤细胞中缺失时, 会诱导肿瘤细胞以Nrf2/MYC依赖的方式代谢重编程, 促进肝细胞癌的进展^[3]。这一研究结果表明, NOX4可作为肝细胞癌的保护性因素。在肝癌细胞中, TGF- β 可发挥促凋亡和抗凋亡双重作用, 在其诱导促凋亡过程中NOX4的上调是不可缺少的环节。网格蛋白在肝肿瘤发生过程中表达增加并且能够导致肝细胞对TGF- β 的反应失衡, 从而使TGF- β 表现出致癌作用, 这是由于网格蛋白在EGFR抗凋亡通路中发挥作用从而抑制NOX4表达实现的。网格蛋白高表达的肝癌患者总生存期更低, 这些结果表明, 网格蛋白可使TGF- β 的功能倾向于抗凋亡并且提示不良预后^[29]。在肝细胞癌的治疗方面, 有研究发现, 吡柔比星通过AMPK-mTOR-ULK1信号轴激活肝癌细胞的自噬, NOX4抑制剂二苯基氯化碘盐(diphenyleneiodonium chloride, DPI)诱导癌细胞线粒体呼吸和糖酵解代谢同时下调, 吡柔比星与DPI联合治疗能在不引起全身毒性的情况下促进肿瘤细胞凋亡, 提高体内抗肿瘤疗效, 因此自噬激活剂吡柔比星和NOX4抑制剂DPI的联合应用可能是治疗肝细胞癌的一种途径^[39]。而低表达NOX4的肝细胞癌患者可以用靶向线粒体代谢的药物或 β -肾上腺素能阻滞剂治疗, 靶

向线粒体氧化磷酸化和血管生成从而抑制肿瘤生长^[40]。其他肿瘤中NOX4高表达与肿瘤侵袭性及预后不良有关, 其在肝细胞癌中的促凋亡抑制肿瘤作用值得进一步研究, 更深入地探究其作用的分子机制, 能为肝癌患者的治疗提供新的方向。

3 NOX4在肿瘤治疗中的作用

富含CAF的肿瘤对阻断程序性死亡受体-1/程序性死亡受体-配体1通路的免疫疗法的反应并不理想, CAF通过特异性地从肿瘤实质中排除CD8⁺ T细胞使其聚集于肿瘤周围间质来促进对不同免疫疗法的耐药性, 通过抑制NOX4可以逆转CAF表型以促进CD8⁺ T细胞向肿瘤实质中心渗透, 重塑肿瘤免疫微环境使肿瘤组织对免疫疗法敏感^[41]。

由于经典化学药物治疗和放射治疗在肿瘤患者中应用的局限性, 中药有效成分用于治疗恶性肿瘤的研究备受关注, 穿心莲内酯是中药穿心莲的主要活性成分, 能够降低细胞内ROS生成和NOX4表达, 提高抗氧化超氧化物歧化酶2表达, 对氧化应激有抑制作用, 并且能通过抑制TGF- β 1激活的Smad2/3和Erk1/2信号通路来减弱TGF β 1诱导的NSCLC细胞的EMT过程^[42]。番茄红素可以下调小鼠肺癌异种移植模型中NOX4的表达, 抑制NOX4活性和MAPK通路; 具有激酶抑制特性的索拉菲尼可以直接抑制MAPK通路, 二者联用协同抑制MAPK信号通路, 通过激活转移抑制基因23-H1、金属蛋白酶抑制剂1和金属蛋白酶抑制剂2表达, 降低MMP-2和MMP-9活性, 抑制小鼠肺癌异种移植模型的肿瘤转移, 二者对肿瘤原位生长的抑制也具有叠加效应。因此, 番茄红素有可能作为索拉菲尼治疗癌症的辅助药物^[43]。上述中药成分均可通过与NOX4相关的信号通路发挥抗肿瘤作用, 未来的研究可以探索是否通过其他信号通路发挥抗肿瘤作用并开发更多种新型抗肿瘤药物。

4 小结与展望

本文通过对NOX4在恶性肿瘤中的生物学作用、分子机制及其在肿瘤治疗中的作用等方面进行系统综述, 发现NOX4在不同癌症中通过多种途径调节肿瘤进展, 主要参与肿瘤细胞增殖、代谢重编程、EMT和耐药等生物学过程。此外, NOX4

在多种癌症中表达上调与患者的不良预后相关,如胶质瘤、乳腺癌、肺癌、食管癌,然而在肝细胞癌中NOX4低表达的患者显示出更差的预后,这一现象可能与肿瘤的异质性和临床样本的选择有关。目前,NOX4在部分肿瘤中的研究主要依靠公共数据库,研究结果有待进一步探索和验证,而且NOX4在不同肿瘤中的促肿瘤和抑制肿瘤作用涉及的分子机制仍未完全阐明,未来需要更深入的分子机制研究和大规模的临床研究揭示NOX4在肿瘤诊断、治疗以及预后方面的作用。NOX4诱导ROS促进癌症进展与化疗耐药,在一定限度内保护癌细胞免于凋亡,然而暴露在极高的ROS水平下会直接导致癌细胞DNA损伤,从而导致细胞凋亡,可导致肿瘤细胞凋亡和抗凋亡的双重抑制^[44]。NOX4抑制剂和中医药有效成分在肿瘤治疗方面的研究为肿瘤化疗耐药这一难题提供了新的解决思路,NOX4可能是一些特定癌症的一种潜在的预后标志物和治疗靶点,靶向NOX4的抗肿瘤活性已在多种癌症类型中进行了验证,但仍需要更深入的探索,在临床试验中评估新型NOX4抑制剂在不同癌症类型中的治疗效果。

参考文献

- [1] Vermot A, Petit-Härtlein I, Smith SME, et al. NADPH oxidases (NOX): an overview from discovery, molecular mechanisms to physiology and pathology. *Antioxidants*, 2021, 10(6): 890
- [2] Ford K, Hanley CJ, Mellone M, et al. NOX4 inhibition potentiates immunotherapy by overcoming cancer-associated fibroblast-mediated CD8 T-cell exclusion from tumors. *Cancer Res*, 2020, 80(9): 1846-1860
- [3] Peñuelas-Haro I, Espinosa-Sotelo R, Crosas-Molist E, et al. The NADPH oxidase NOX4 regulates redox and metabolic homeostasis preventing HCC progression. *Hepatology*, 2023, 78(2): 416-433
- [4] Helfinger V, Freiherr von Gall F, Henke N, et al. Genetic deletion of Nox4 enhances cancerogen-induced formation of solid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(11): e2020152118
- [5] Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*, 2007, 87(1): 245-313
- [6] Su X, Yang Y, Guo C, et al. NOX4-Derived ROS mediates TGF- β 1-induced metabolic reprogramming during epithelial-mesenchymal transition through the PI3K/AKT/HIF-1 α pathway in glioblastoma. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 5549047
- [7] Su X, Yang Y, Yang Q, et al. NOX4-derived ROS-induced overexpression of FOXM1 regulates aerobic glycolysis in glioblastoma. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 1181
- [8] Gao J, Meng Y, Ge X, et al. SATB2 overexpression promotes oral squamous cell carcinoma progression by up-regulating NOX4. *Cell Signal*, 2021, 82: 109968
- [9] Wang B, Zhang S, Tong F, et al. HPV⁺ HNSCC-derived exosomal miR-9-5p inhibits TGF- β signaling-mediated fibroblast phenotypic transformation through NOX4. *Cancer Sci*, 2022, 113(4): 1475-1487
- [10] Ameziane El Hassani R, Buffet C, Leboulleux S, et al. Oxidative stress in thyroid carcinomas: biological and clinical significance. *Endocr Relat Cancer*, 2019, 26(3): R131-R143
- [11] Muzza M, Pogliaghi G, Colombo C, et al. Oxidative stress correlates with more aggressive features in thyroid cancer. *Cancers*, 2022, 14(23): 5857
- [12] Tang P, Sheng J, Peng X, et al. Targeting NOX4 disrupts the resistance of papillary thyroid carcinoma to chemotherapeutic drugs and lenvatinib. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 177
- [13] Zhang Z, Luan Q, Hao W, et al. NOX4-derived ROS regulates aerobic glycolysis of breast cancer through YAP pathway. *J Cancer*, 2023, 14(13): 2562-2573
- [14] Hanley CJ, Henriët E, Sirka OK, et al. Tumor-resident stromal cells promote breast cancer invasion through regulation of the basal phenotype. *Mol Cancer Res*, 2020, 18(11): 1615-1622
- [15] Park J, Choi J, Cho I, et al. Radiotherapy-induced oxidative stress and fibrosis in breast cancer are suppressed by vactosertib, a novel, orally bioavailable TGF- β /ALK5 inhibitor. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 16104
- [16] Mir S, Golden BDO, Griess BJ, et al. Upregulation of Nox4 induces a pro-survival Nrf2 response in cancer-associated fibroblasts that promotes tumorigenesis and metastasis, in part via Birc5 induction. *Breast Cancer Res*, 2022, 24(1): 48
- [17] Wang X, Liu Z, Sun J, et al. Inhibition of NADPH oxidase 4 attenuates lymphangiogenesis and tumor metastasis in breast cancer. *FASEB J*, 2021, 35(4): e21531
- [18] Chen B, Song Y, Zhan Y, et al. Fangchinoline inhibits non-small cell lung cancer metastasis by reversing epithelial-mesenchymal transition and suppressing the cytosolic ROS-related Akt-mTOR signaling pathway. *Cancer Lett*, 2022, 543: 215783
- [19] Zhang C, Lan T, Hou J, et al. NOX4 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation and metastasis through

- positive feedback regulation of PI3K/Akt signaling. *Oncotarget*, 2014, 5(12): 4392-4405
- [20] Zhang J, Li H, Wu Q, et al. Tumoral NOX4 recruits M2 tumor-associated macrophages via ROS/PI3K signaling-dependent various cytokine production to promote NSCLC growth. *Redox Biol*, 2019, 22: 101116
- [21] Ma M, Shi F, Zhai R, et al. TGF- β promote epithelial-mesenchymal transition via NF- κ B/NOX4/ROS signal pathway in lung cancer cells. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(3): 2365-2375
- [22] Chen YH, Lu HI, Lo CM, et al. NOX4 overexpression is a poor prognostic factor in patients undergoing curative esophagectomy for esophageal squamous cell carcinoma. *Surgery*, 2020, 167(3): 620-627
- [23] Tang CT, Gao YJ, Ge ZZ. NOX4, a new genetic target for anti-cancer therapy in digestive system cancer. *J Digest Dis*, 2018, 19(10): 578-585
- [24] Qin Y, Ma X, Guo C, et al. MeCP2 confers 5-fluorouracil resistance in gastric cancer via upregulating the NOX4/PKM2 pathway. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 86
- [25] Tang CT, Lin XL, Wu S, et al. NOX4-driven ROS formation regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer cells through the GLI1 pathway. *Cell Signal*, 2018, 46: 52-63
- [26] Shen CJ, Chang KY, Lin BW, et al. Oleic acid-induced NOX4 is dependent on ANGPTL4 expression to promote human colorectal cancer metastasis. *Theranostics*, 2020, 10(16): 7083-7099
- [27] Deng J, Guo Y, Hu X, et al. High glucose promotes pancreatic ductal adenocarcinoma gemcitabine resistance and invasion through modulating ROS/MMP-3 signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 1-19
- [28] Pan MS, Wang H, Ansari KH, et al. Gallbladder cancer-associated fibroblasts promote vasculogenic mimicry formation and tumor growth in gallbladder cancer via upregulating the expression of NOX4, a poor prognosis factor, through IL-6-JAK-STAT3 signal pathway. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 234
- [29] Caballero-Díaz D, Bertran E, Peñuelas-Haro I, et al. Clathrin switches transforming growth factor- β role to pro-tumorigenic in liver cancer. *J Hepatol*, 2020, 72(1): 125-134
- [30] Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature*, 2018, 553(7689): 446-454
- [31] Bakhtiyari N, Sharifi A, Aftabi Y, et al. Association between NOX4 and Nrf2 genes in non-small-cell lung carcinoma: a case-control study. *Rep Biochem Mol Biol*, 2021, 10(2): 327-333
- [32] Xiang H, Ramil CP, Hai J, et al. Cancer-associated fibroblasts promote immunosuppression by inducing ROS-generating monocytic MDSCs in lung squamous cell carcinoma. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(4): 436-450
- [33] Shao Y, Jia H, Li S, et al. Comprehensive analysis of ferroptosis-related markers for the clinical and biological value in gastric cancer. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1-29
- [34] Xiao R, Wang S, Guo J, et al. Ferroptosis-related gene NOX4, CHAC1 and HIF1A are valid biomarkers for stomach adenocarcinoma. *J Cell Mol Medi*, 2022, 26(4): 1183-1193
- [35] Li Y, He X, Fan L, et al. Identification of a novel immune prognostic model in gastric cancer. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23(4): 846-855
- [36] Xia Y, Zhang R, Wang M, et al. Development and validation of a necroptosis-related gene prognostic score to predict prognosis and efficiency of immunotherapy in gastric cancer. *Front Immunol*, 2022, 13: 977338
- [37] Chang J, Wu H, Wu J, et al. Constructing a novel mitochondrial-related gene signature for evaluating the tumor immune microenvironment and predicting survival in stomach adenocarcinoma. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 191
- [38] Yang X, Yu Y, Wang Z, et al. NOX4 has the potential to be a biomarker associated with colon cancer ferroptosis and immune infiltration based on bioinformatics analysis. *Front Oncol*, 2022, 12: 968043
- [39] Yin X, Zhang J, Zhao W, et al. Combined Levotetrahdropalmitine and diphenyleneodonium chloride enhances antitumor activity in hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Res*, 2022, 179: 106219
- [40] Vasan K, Werner M, Chandel NS. Mitochondrial metabolism as a target for cancer therapy. *Cell Metab*, 2020, 32(3): 341-352
- [41] Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, et al. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature*, 2018, 554(7693): 544-548
- [42] Li J, Liu J, Yue W, et al. Andrographolide attenuates epithelial-mesenchymal transition induced by TGF- β 1 in alveolar epithelial cells. *J Cell Mol Medi*, 2020, 24(18): 10501-10511
- [43] Chan YP, Chuang CH, Lee I, et al. Lycopene in combination with sorafenib additively inhibits tumor metastasis in mice xenografted with Lewis lung carcinoma cells. *Front Nutr*, 2022, 9: 886988
- [44] He Z, Xu Q, Newland B, et al. Reactive oxygen species (ROS): utilizing injectable antioxidative hydrogels and ROS-producing therapies to manage the double-edged sword. *J Mater Chem B*, 2021, 9(32): 6326-6346