

活性氧在肿瘤中的调控作用

张仙宏, 马海军*, 李乐*

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

摘要: 活性氧(reactive oxygen species, ROS)是一类具有较高活性的分子, 是重要的信号通路相关调节因子, 在体内稳态、代谢、生长和分化中具有重要作用。ROS具有致癌性, 能充当细胞信号级联反应中的第二信使, 诱导和维持癌细胞的致癌表型, 并能通过诱导DNA损伤和促进肿瘤细胞的增殖、生存及其迁移来维持癌症的发生发展。然而, 毒性水平的ROS却能够通过诱导细胞发生凋亡或铁死亡过程来抑制肿瘤细胞的生长。这意味着维持细胞内ROS的水平和氧化还原稳态对肿瘤的生长极其重要。因此, 靶向ROS的抗氧化剂和促氧化剂对于癌症的预防和治疗具有广阔的应用前景。本综述概述了细胞内ROS的产生过程和抗氧化还原系统的组成, 分析了细胞内ROS水平对于肿瘤的双重调控作用, 最后总结了癌细胞为适应ROS所进行的氧化还原物质的代谢重编程过程以及靶向ROS的氧化剂对肿瘤预防和治疗的研究进展。期望该工作能为深入研究ROS在调控肿瘤方面的作用机制及设计肿瘤治疗相关的靶向药物提供新的思路。

关键词: 活性氧; 抗氧化还原系统; 促癌作用; 抑癌作用; 肿瘤发生发展; 肿瘤治疗

Role of ROS in tumor development and progression

ZHANG Xianhong, MA Haijun*, LI Le*

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

Abstract: Reactive oxygen species (ROS) is a class of molecules with high activity, which are important signaling pathway related regulators and play an important role in homeostasis, metabolism, growth and differentiation *in vivo*. ROS are tumorigenic and act as second messengers in cell signaling cascades to induce and maintain the oncogenic phenotype of cancer cells. ROS maintain cancer by inducing DNA damage and promoting tumor cell proliferation, survival, migration occurrence and development. However, toxic levels of ROS can inhibit tumor cell growth by inducing apoptosis and ferroptosis. This means that maintaining intracellular ROS levels and redox homeostasis is extremely important for tumor growth. Therefore, ROS-targeting antioxidants and prooxidants have broad application prospects for cancer prevention and treatment. This review first provides an overview around the generation of intracellular ROS and the antioxidant-reduction system, and then analyzes the dual regulatory effects of intracellular ROS levels on tumors. Finally, the metabolic reprogramming process of redox substances by cancer cells to adapt to ROS and the research progress of ROS-targeting oxidants for tumor prevention and treatment are summarized. It is expected that this work can provide new ideas for in-depth study of the mechanism of ROS in regulating tumors and the design

收稿日期: 2022-05-19

基金项目: 第五届中国科协青年人才托举工程项目(2019QNRC001); 中央引导地方科技发展专项基础研究项目(2021FRD05024)

第一作者: E-mail: zhangxianhong96@163.com

*通信作者: 李乐, E-mail: leli@nxu.edu.cn; 马海军, E-mail: mahj@nxu.edu.cn

of related tumor therapeutic drugs targeting ROS.

Key Words: reactive oxygen species; antioxidant redox system; tumor-promoting effect; tumor-suppressing effect; tumorigenesis; tumor therapy

活性氧(reactive oxygen species, ROS)由真核细胞通过有氧代谢产生, 是细胞呼吸的副产物, 具有高反应性, 在人类生理和病理过程中具有至关重要的作用^[1]。ROS包括自由基(如超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟基自由基($\cdot OH$)、单线态氧(1O_2)、臭氧(O_3)和非自由基(如 H_2O_2)、脂质过氧化物、蛋白质过氧化物以及核酸中形成的过氧化物。其中, H_2O_2 的反应性比大多数ROS低, 能参与细胞代谢调节和应激反应, 并支持细胞适应不断变化的环境和压力^[2]。

适量的ROS有助于控制正常细胞的增殖和分化, 如果细胞内ROS水平过高则可能损害脂质、蛋白质和DNA。因而, 严格调控ROS的生理水平对于细胞的“命运”至关重要。其中, 生理活性氧浓度的平衡是正常细胞存活必需的, 而异常ROS的积累会通过启动生理信号网络的病理转化, 诱导正常细胞发生恶性转化。并且ROS的过度积累会导致细胞的抗氧化防御系统失控, 这一过程与包括癌症在内的多种疾病密切相关^[3]。值得注意的是, 在癌症形成的不同阶段, ROS的水平对于肿瘤细胞的生长和死亡具有双重调控作用。一方面, 高水平的ROS能通过激活肿瘤细胞生长相关信号通路、抑制肿瘤相关基因的功能和诱导致癌突变等途径来促进癌症的发生发展; 另一方面, 肿瘤细胞中毒性水平的ROS能通过增加氧化应激和诱导肿瘤细胞死亡来发挥抗肿瘤作用^[4]。这意味着尽管ROS在调控细胞功能方面较复杂, 但通过清除异常升高的ROS来预防早期肿瘤的形成, 或通过促进癌细胞中ROS的产生来特异性杀死癌细胞是具有前景的抗癌治疗策略。因此, 更好地了解ROS在肿瘤发生中的调控功能及其复杂机制对于癌症的预防和治疗至关重要。

1 ROS的产生和调控

1.1 ROS的产生

外源性环境的刺激和内源性的代谢均可导致细胞产生ROS。其中, 外源性的刺激主要包括空气

污染物、金属和辐射。如致癌重金属砷可通过芬顿反应增加ROS的水平, 并参与多种恶性肿瘤的发生发展^[5]。紫外线辐射也可以增加细胞的ROS, 并阻碍过氧化氢酶清除过氧化氢, 从而增加晒伤和皮肤癌^[6]。而电离辐射则通过引起细胞内线粒体代谢紊乱来刺激ROS的生成, 从而促进癌细胞的生存和转移^[7]。

在细胞中, 线粒体电子传递链(electron transport chain, ETC)是腺嘌呤核苷三磷酸的主要来源^[8]。然而, 在氧化磷酸化和能量转导过程中, 大约1%~2%的分子氧会获得从ETC泄漏的电子, 从而产生超氧化物^[9]。其中, 一些超氧化物通过位于线粒体外膜的线粒体通透性转换孔被释放到细胞质中^[10]。其他的大部分超氧化物则会被线粒体基质或膜间隙中的超氧化物歧化酶歧化为 H_2O_2 ^[11]。除线粒体外, ROS还通过环氧合酶、NADPH氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases, NOXs)、黄嘌呤氧化酶和脂氧合酶以及铁催化的芬顿反应不断生成^[12]。其中, NOXs被认为是产生ROS的主要酶家族, 其衍生的高水平ROS已被证明与许多常见癌症的转化和进展有关^[13]。与之类似的是, 通过抑制ETC或NOXs活性来降低癌细胞中的 H_2O_2 水平, 确实可以降低肿瘤的发生^[14,15]。这些研究表明, 内源性和外源性来源的ROS都与肿瘤的发生发展密切相关。

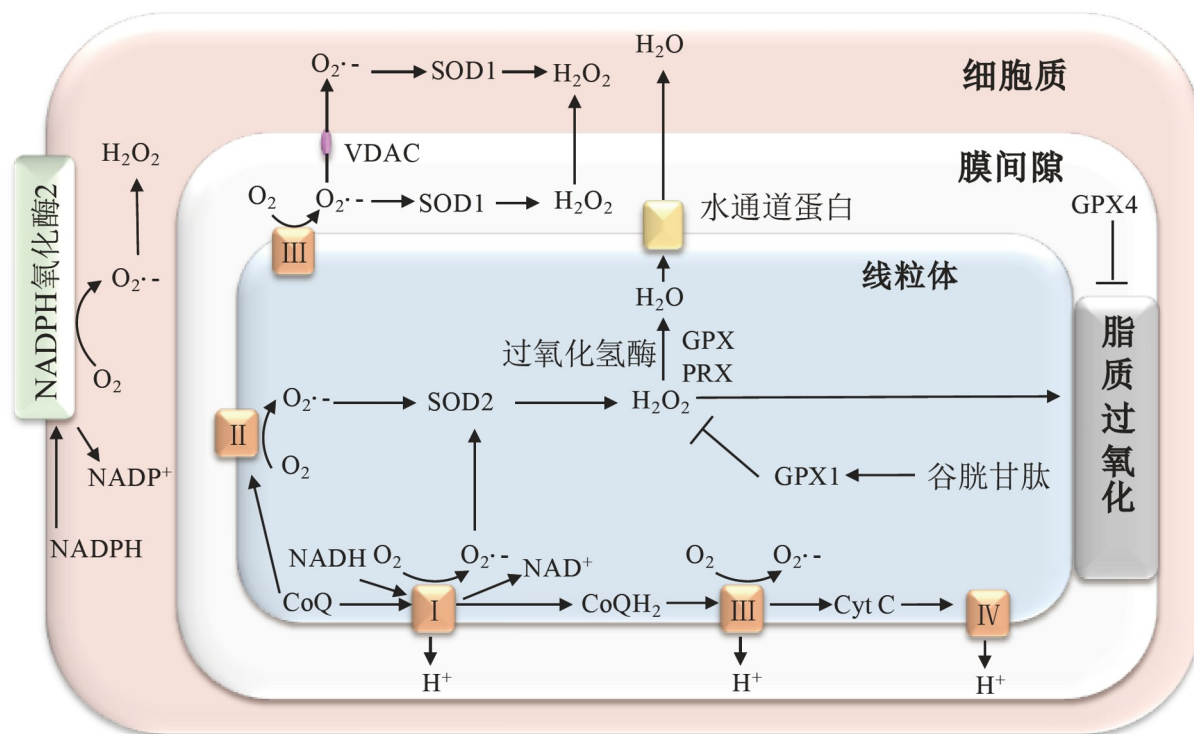
除线粒体外, 过氧化物酶体不仅能参与 H_2O_2 的代谢, 还能参与脂肪酸氧化、氨基酸和乙醛酸代谢以及脂质化合物的合成, 并伴随ROS的产生^[16]。研究发现, 通过抑制过氧化氢酶活性来扰乱人成纤维细胞中的过氧化物酶体功能会增加线粒体ROS水平, 同时降低线粒体内膜电位^[17]。这意味着过氧化物酶体和线粒体之间可能存在某种通讯来平衡细胞内的ROS水平。当过氧化物酶体的丰度和活性改变时, 会诱导癌症的发生^[18]。ROS也可通过内质网(endoplasmic reticulum, ER)应激产生, 其中蛋白质二硫键异构酶-内质网氧化还原素-1、谷胱甘肽(GSH)/谷胱甘肽二硫化物(Glutathione

oxidized, GSSG)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶4等都参与了ER应激和ROS的产生^[19]。值得注意的是,研究发现,ER应激相关因子葡萄糖调节蛋白78和CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白与膀胱癌细胞中核因子E2相关因子2(nuclear factor E2 related factor 2, NRF2)通路介导的氧化应激表达增加相关^[20]。与之类似的是,ROS介导的内质网应激相关因子蛋白激酶R样内质网调节激酶表达在乳腺癌细胞中下调,并抑制ROS诱导的ER应激,从而导致癌细胞发生凋亡^[21]。这些研究不仅揭示了ROS来源于包括线粒体、过氧化物酶体和ER等在内的多种细胞器,也进一步表明了这些细胞器的功能紊乱与ROS的相关性对于肿瘤发生发展的重要调控作用。

1.2 ROS水平的调控

如果ROS过量产生、积累,正常细胞会受到不可逆转的损害。因此,要及时对过剩的ROS进行分解和消除,以维持机体的氧化还原稳态。为了控制ROS的水平,细胞拥有多种抗氧化系统(图1)。其中,线粒体具有高效的抗氧化系统,能够为机

体内ROS水平的稳定发挥重要作用。线粒体的抗氧化系统包括预防性抗氧化系统和线粒体拦截系统^[22],在预防性抗氧化系统中,主要发挥作用的是线粒体铁蛋白,其作用是隔离 Fe^{2+} ,从而防止芬顿反应诱导羟基生成^[23];而在拦截系统中,发挥主要作用的是线粒体抗氧化酶,如锰依赖性超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)及硫氧还蛋白还原酶^[24]等。超氧化物歧化酶可将 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 ^[25],然后通过过氧化氢酶、过氧化物还原蛋白和GPXs将 H_2O_2 转化为 H_2O ^[26]。其中,过氧化物还原蛋白和GPXs催化反应的辅助因子分别是硫氧还蛋白还原酶和GSH。GSH是细胞内最丰富的内源性抗氧化剂,可作为自由基清除剂。为了发挥抗氧化功能,GSH被氧化成GSSG,而GPX则充当催化剂加速过氧化物及 H_2O_2 的分解^[27]。细胞内GSH的再生依赖NADPH作为电子供体^[28]。因此,NADPH对于这些抗氧化防御机制的活性至关重要。值得注意的是,NADPH是细胞内主要的氢供体和还原性物质,其中细胞质中的NADPH主要由6-磷酸葡萄糖脱氢酶(6-phosphoglucose dehydrogenase, G6PD)和6-磷酸葡



GPX: 谷胱甘肽过氧化物酶; PRX: 过氧化物酶; SOD: 超氧化物歧化酶; CoQ: 泛醌; Cyt C: 细胞色素C; VDAC: 电压依赖阴离子通道

图1 ROS的产生和控制

葡萄糖脱氢酶通过戊糖磷酸途径(pentose-phosphate pathway, PPP)产生^[29]。

除上述的细胞内抗氧化酶系统外, NRF2是一种细胞内转录因子, 可通过控制抗氧化基因的表达来保护细胞免受氧化应激的损伤^[30]。研究发现, 当NRF2蛋白定位于细胞核时, 会与抗氧化反应元件结合, 并激活酶促抗氧化剂如过氧化氢酶、过氧化物还原蛋白和GPX以及参与GSH代谢酶的转录^[31]。并且, 活化的NRF2会转录激活PPP和单碳代谢途径中的关键酶来增加NADPH的产生, 从而降低细胞内ROS的水平^[32,33]。综上, 表明NRF2是细胞抗氧化防御系统的主要调节器。

2 ROS在正常细胞中的作用

正常细胞在进行代谢活动时会产生ROS, 当其水平处于细胞抗氧化防御系统的可控范围内时, 细胞可以通过内源性合成的胆红素、 α -硫辛酸、褪黑素和谷胱甘肽, 以及外源性衍生的维生素E、维生素C等抗氧化剂将剩余ROS进行清除^[34]。如上所述, 除了这些直接清除ROS的抗氧化剂外, 正常细胞还拥有间接作用的抗氧化系统, 这些系统不仅可以限制ROS的形成, 还能将细胞产生的ROS解毒成其他的代谢物。其中, GSH在对抗ROS的过程中发挥核心作用, 而NADPH则负责将GSH维持在还原状态^[35]。

相较于病理水平的过量ROS, 生理水平的ROS对于正常细胞的功能极其重要。研究发现, ROS可以作为信号分子来调节免疫反应和细胞自噬等过程^[36]。并在细胞的基因激活、细胞生长和细胞内化学反应的调节方面起着至关重要的作用^[37]。例如, ROS不仅参与抗氧化基因表达的调节, 还与细胞内的关键信号分子如促分裂原活化蛋白激酶、磷脂酰肌醇3(phosphatidylinositol 3, PI3)激酶、磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homologue, PTEN)以及蛋白酪氨酸磷酸酶等发生相互作用, 从而在包括增殖和存活在内的多个细胞过程中启动信号传导^[38]。有研究也进一步证实, 线粒体ROS的产生对于控制细胞生理功能、压力反应、机体稳态、健康和长寿至关重要^[39]。这些研究表明, 生理水平的ROS对于正常细

胞的信号传导和生理功能的维持极其重要。

3 ROS在癌细胞中的双重作用

当正常细胞的抗氧化防御系统不足以清除细胞内的ROS, 或不能提供对氧化应激的保护时, ROS可能会导致正常细胞发生癌变。有趣的是, 在肿瘤细胞中, ROS是其代谢表型的重要决定因素, 并能通过剂量依赖性的方式调控肿瘤的生长。一般来说, 在肿瘤发生发展的初期阶段, 低水平的活性氧能够参与肿瘤细胞的信号传导, 并有利于肿瘤细胞的增殖、生长、侵袭和转移。而在肿瘤发生发展的后期, 癌细胞内积累的高水平ROS会导致细胞周期停滞甚至死亡^[40,41]。但是, 由于ROS的浓度以及在癌细胞中的不同分布情况, 使其对癌细胞的形成以及癌细胞的调控具有双重作用。因此, 癌细胞必须优化细胞ROS水平以维持肿瘤进展。

3.1 ROS的致癌作用

3.1.1 ROS诱导癌症的发生

如前所述, 一旦ROS的水平超过正常细胞抗氧化防御系统所能承受的范围, 就具有致癌性, 能通过诱导正常细胞DNA的损伤和基因组的不稳定性来发生致癌转化^[42]。其中, 环境致癌物、线粒体ETC或NADPH氧化酶产生的过量ROS会导致包括脱嘌呤和脱嘧啶、单链和双链DNA断裂、碱基修饰和DNA-蛋白质交联在内的DNA损伤^[43]。而DNA损伤的积累会影响遗传信息的翻译, 导致遗传物质发生改变, 从而诱导正常细胞发生癌变^[44]。值得注意的是, 线粒体对于正常细胞和肿瘤细胞的能量代谢、细胞凋亡调节和细胞信号传导是必不可少的。但是, 当线粒体产生的ROS过量时, 会通过诱导基因组的不稳定性、改变基因的表达或参与细胞的信号传递来促进正常细胞的癌变。研究发现, 线粒体拥有自己的基因组, 即线粒体DNA, 其比核基因组更容易受ROS的影响, 也更容易发生突变^[45]。而发生突变的线粒体DNA与多种类型的癌症发生密切相关^[46]。此外, 在癌症发生的早期阶段, 氧化损伤引起的线粒体和DNA的突变将导致线粒体ROS的进一步产生, 从而形成线粒体、ROS、基因组不稳定性 and 癌症发生发展之间的“恶性循环”^[34]。

3.1.2 ROS促进肿瘤细胞增殖

肿瘤细胞内,低至中等水平的ROS可以在细胞信号级联反应中充当第二信使,并诱导和维持癌细胞的致癌表型。例如, H_2O_2 处理会导致肿瘤细胞内的PTEN失活^[47],由于PTEN是PI3K和蛋白激酶B(protein kinase, AKT)的负调节因子^[48], H_2O_2 导致的PTEN失活会过度激活PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路,从而促进肿瘤的增殖^[49]。与之类似的是,用胰岛素刺激神经母细胞瘤NOX产生的过量ROS会导致PTEN的氧化失活和PI3K/AKT的磷酸化激活^[50]。其他的研究也发现,癌细胞中增加的ROS会通过削弱丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸酶的活性,从而以细胞特异性的方式增强MAPK/细胞外信号调节激酶信号通路的级联反应,刺激肿瘤细胞的增殖和存活^[51]。这些研究均表明,ROS能够充当癌细胞内的第二信号分子并促进肿瘤的增殖。

3.1.3 ROS促进肿瘤的转移

越来越多的研究逐渐揭示了ROS在促进肿瘤转移方面的重要功能。转移涉及癌细胞从原发性肿瘤扩散到周围组织和远处器官,是患者发病和死亡的主要原因^[52]。研究发现,ROS在癌细胞的迁移和侵袭中起重要作用。例如,转化生长因子- β 1通过ROS依赖性的机制调节尿激酶型纤溶酶原激活剂和基质金属蛋白酶9来促进肿瘤细胞的迁移和侵袭^[53]。而ROS会通过诱导Rho家族鸟苷三磷酸酶依赖性细胞骨架重排、促进基质金属蛋白酶依赖性细胞外基质蛋白降解和加速缺氧诱导因子依赖性血管生成来促进肿瘤的转移^[54]。这意味着ROS对肿瘤的转移具有重要的调控作用。

3.2 ROS的抑癌作用

ROS在肿瘤的发生发展过程中具有不同的调控功能,与ROS的促肿瘤作用相比,氧化损伤的增加和ROS依赖的死亡信号的增强也可以有效地阻止肿瘤发生。表现为ROS的积累超过肿瘤细胞的临界点时,它们在增殖和侵袭中的致癌作用会通过诱导调节性细胞死亡程序的发生来转变为抗肿瘤作用,主要包括诱导肿瘤细胞发生凋亡和铁死亡过程(图2)。此外,在癌症的治疗过程中,毒性水平的ROS可以增加肿瘤治疗药物的基因毒性作用,并

协同肿瘤治疗药物提高化疗疗效和减少耐药性。

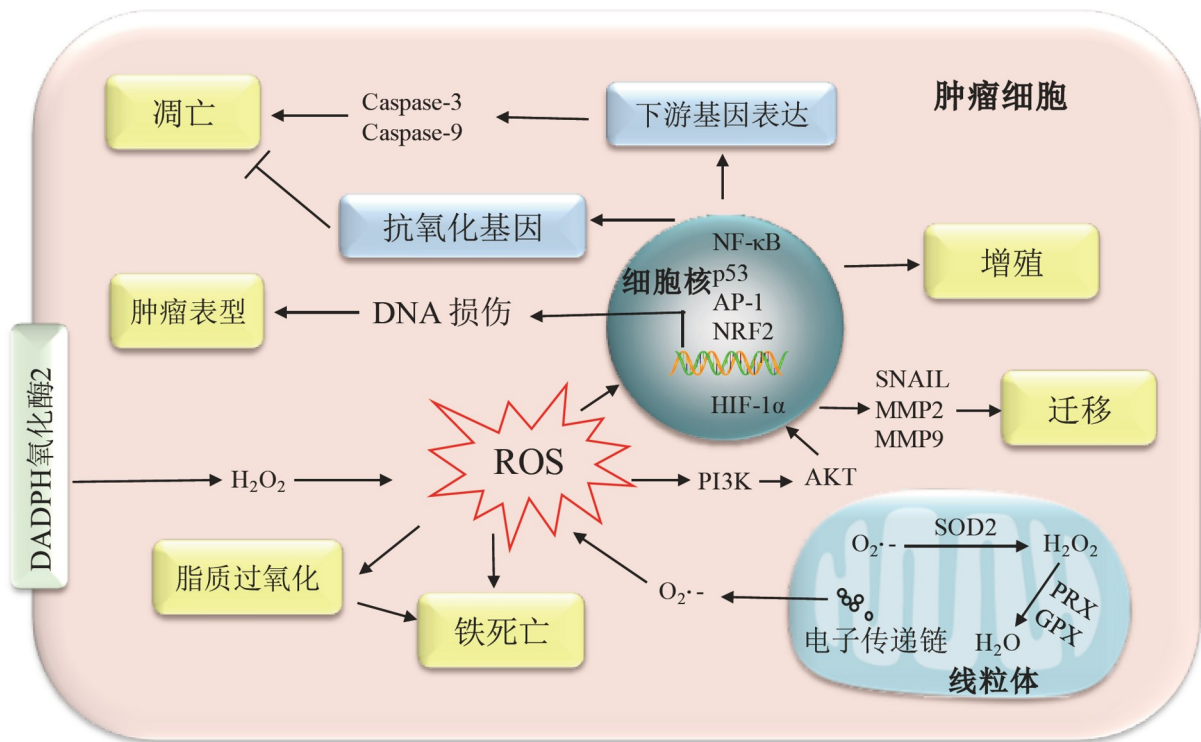
3.2.1 ROS与细胞凋亡

ROS是细胞凋亡的强效刺激剂,可激活内在线粒体途径、外在死亡受体途径和ER应激途径^[55]。其中,线粒体途径在触发细胞凋亡过程中较为关键。导致细胞发生凋亡的内源途径可以被ROS激活,其中ROS可以与线粒体蛋白的Bcl-2家族(包括控制线粒体膜通透性的凋亡相关基因*Bax*和*Bak*)相互作用诱导肿瘤细胞发生凋亡^[56]。值得注意的是,ROS刺激细胞会导致线粒体内膜的通透性和线粒体通透性转换孔发生改变,从而破坏线粒体膜电位,导致细胞色素c的释放和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(cysteine-aspartic acid protease-3, caspase-3)、caspase-6、caspase-7的激活,从而诱导肿瘤细胞发生凋亡^[57]。而外在凋亡途径是由死亡诱导配体如Fas配体和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)及其各自的Fas受体和TNF受体之间的相互作用驱动^[58,59]。其中,细胞型Fas相关死亡区域蛋白样 β 白介素-1转换酶抑制蛋白(cell fas associated death domain-like IL-1 β -converting enzyme-inhibitory protein, c-FLIP)是一种主要的抗凋亡调节剂和抗性因子,可抑制TNF- α 、Fas配体和TNF相关的凋亡诱导配体诱导的细胞凋亡^[60]。而ROS可以通过加速泛素介导的抗凋亡因子c-FLIP的蛋白酶体降解来刺激外在凋亡途径,从而诱导肿瘤细胞发生凋亡。在这个过程中,额外添加ROS的清除剂N-乙酰基-L-半胱氨酸可以有效稳定c-FLIP蛋白并抑制细胞凋亡^[61]。这进一步证明ROS是肿瘤细胞的凋亡诱导因子。

3.2.2 ROS与铁死亡

肿瘤细胞的铁死亡是一种依赖铁和ROS的调节性细胞死亡形式^[62]。铁死亡的发生不仅与肿瘤细胞内铁水平过高有关,还与高ROS水平导致的过氧化多不饱和脂肪酸的积累有关^[63]。当细胞内ROS的产生和清除之间的平衡被打破时,过量的ROS会与癌细胞膜或细胞器膜内的过氧化多不饱和脂肪酸发生“脂质过氧化”反应,并且其降解产物对癌细胞具有毒性^[64]。

研究发现,铁死亡是一种铁依赖的、非凋亡性的细胞死亡方式,而脂质过氧化是其发生的重要条件^[65]。当细胞内的铁浓度上调、抗氧化剂谷



Caspase: 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶; NF-κB: 核转录因子-κB; AP-1: 激活蛋白-1; NRF2: 核因子-红细胞相关因子2; HIF-1α: 低氧诱导因子-1α; MMP: 基质金属蛋白酶

图2 ROS对肿瘤细胞的双重调控作用

胱甘肽下调时, ROS的含量会升高并引发脂质过氧化, 进而导致肿瘤细胞发生铁死亡(图2)。铁死亡过程中的各种抗氧化系统, 尤其是胱氨酸/谷氨酸反向转运系统xCT-GSH-GPX4轴, 在防止脂质过氧化介导的铁死亡中起重要作用^[66-68]。其他的实验也证实, 使用脂质抗氧化剂Trolox、ferrostatin-1或维生素E治疗后, 可以挽救细胞的铁死亡^[69]。表明ROS诱导的脂质过氧化对于肿瘤细胞铁死亡的发生具有重要调控作用。

3.2.3 ROS与基因毒性损伤

ROS是DNA损伤的中介因子。如前所述, 在正常细胞中, ROS诱导的DNA损伤会介导细胞发生癌变; 而在肿瘤细胞的治疗过程中, 高水平的ROS能够增加基因的毒性作用。例如, 铂衍生物和吉西他滨等化学治疗剂不仅可以诱导DNA的损伤, 还可以通过上调ROS的水平来增加基因毒性作用, 从而提高肿瘤治疗效果^[70,71]。其中, 铂类药物还可通过增加线粒体ROS来提高其自身的细胞毒性作用^[72]。与之类似的是, 化疗药物阿霉素(doxorubicin, DOX)也被报道能通过增加细胞的

ROS水平来发挥肿瘤抑制功能^[73]。

除化疗外, 放射治疗也是肿瘤治疗的常见方式。其中, 电离辐射是癌症治疗中广泛使用的方式。当光束与细胞核中的DNA链相互作用时, 可通过水分子的辐解产生 $\cdot\text{OH}$, 从而间接诱导DNA发生损伤。而细胞内的抗氧化剂分子可以降低电离辐射引起的DNA损伤^[74,75], 这进一步解释了ROS对放射性DNA损伤的协同作用。此外, 更值得注意的是, 癌细胞产生的高水平ROS能氧化核苷碱基, 并直接诱导DNA发生损伤^[76]。如果癌细胞未及时修复氧化碱基, 可导致基因碱基发生突变, 进一步导致双链DNA断裂, 从而影响肿瘤细胞的生长。以上这些研究不仅表明高水平ROS在化疗和放射性治疗方面具有抑制肿瘤的协同效应功能, 还揭示了促氧化策略可以作为提高化疗疗效的辅助手段。

4 癌细胞对ROS的适应

4.1 ROS相关的癌基因改变

为了避免细胞内部达到具有潜在破坏性的

ROS水平,许多肿瘤细胞会出现基因异常改变的现象。这一现象能通过直接或间接的机制来调节癌细胞内ROS的代谢,并对肿瘤细胞的抗氧化能力和生存产生重要作用。如前所述,NRF2是细胞抗氧化防御系统的主要调节器。但是在复发性肿瘤中,NRF2的异常上调会诱导转录代谢重编程以重新建立氧化还原稳态并上调核苷酸的合成。这意味着癌细胞NRF2的异常激活会通过调节ROS的水平来促进休眠肿瘤细胞的复发^[77]。与之类似的是,致癌基因*Kras*、*Braf*和*Myc*也可以通过增加胱氨酸的运输和诱导NRF2的表达来进行ROS的解毒,并促进肿瘤的发生^[78]。并且,突变体KRAS-G12D或G12V的异位表达也会刺激NRF2的表达^[79]。表明癌基因诱导NRF2转录水平的增加可以降低毒性水平的ROS,同时ROS、KRAS和NRF2之间能通过建立控制氧化还原稳态的分子轴来参与肿瘤的发生发展。

除癌基因外,抑癌基因的突变或缺失对于肿瘤细胞调节ROS的稳态也极其关键。研究发现,肿瘤抑制因子肝激酶B1(liver kinase B1, LKB1)是腺苷一磷酸激活蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate activated protein kinase, AMPK)的关键上游激酶,其中LKB1-AMPK信号传导在调节细胞代谢、生存和增殖以响应营养和能量水平方面发挥核心作用^[80]。AMPK通过抑制乙酰辅酶A羧化酶1/2的表达来减少脂肪酸合成中NADPH的消耗,并促进NADPH稳态,从而增加能量应激期间肿瘤细胞的存活^[81]。有趣的是,在肺癌细胞中LKB1的失活会引发氧化还原失衡,导致细胞中ROS的异常积累,并赋予非小细胞肺癌极强的可塑性,从而促进肿瘤细胞的存活^[82]。除此之外,肿瘤抑制蛋白p53是另外一个关键且复杂的ROS调节因子。其可通过诱导*Puma*、*Noxa*和*Bax*这三个促凋亡靶基因的表达来介导细胞发生凋亡,从而发挥肿瘤抑制功能。而这三个靶基因的部分功能则是通过触发细胞ROS的产生来实现^[83]。然而,与许多其他肿瘤抑制因子不同,p53是人类肿瘤中最常见的突变基因,肿瘤相关的突变型p53蛋白会失去野生型p53的抑癌功能,并获得与野生型p53不同的新功能^[84]。例如,突变型p53能促进NRF2的核转位,并增强NRF2介导的抗氧化反应基因的表达,

从而促进高ROS水平下癌细胞的存活^[85]。以上这些研究表明,肿瘤细胞内癌基因或抑癌基因的改变可以通过信号通路参与ROS的调控,并帮助肿瘤细胞适应高水平ROS下的生存。

4.2 限制ROS的过度积累

如上所述,ROS的增加既可以促进肿瘤细胞致癌表型的获得,也可以通过激发肿瘤细胞的死亡敏感性来限制肿瘤的发展。因此,癌细胞为满足自身的发生发展需要,会相应地发展多种抗氧化机制来限制细胞内ROS的过度积累。这不仅有利于癌细胞稳态的建立,还能创造利于肿瘤细胞生长的肿瘤微环境。一些控制ROS稳态的机制已被证明在肿瘤的发生发展过程中发挥重要作用,且大量的研究表明,癌症的发展依赖于GSH和NADPH的中枢ROS调节系统^[86]。

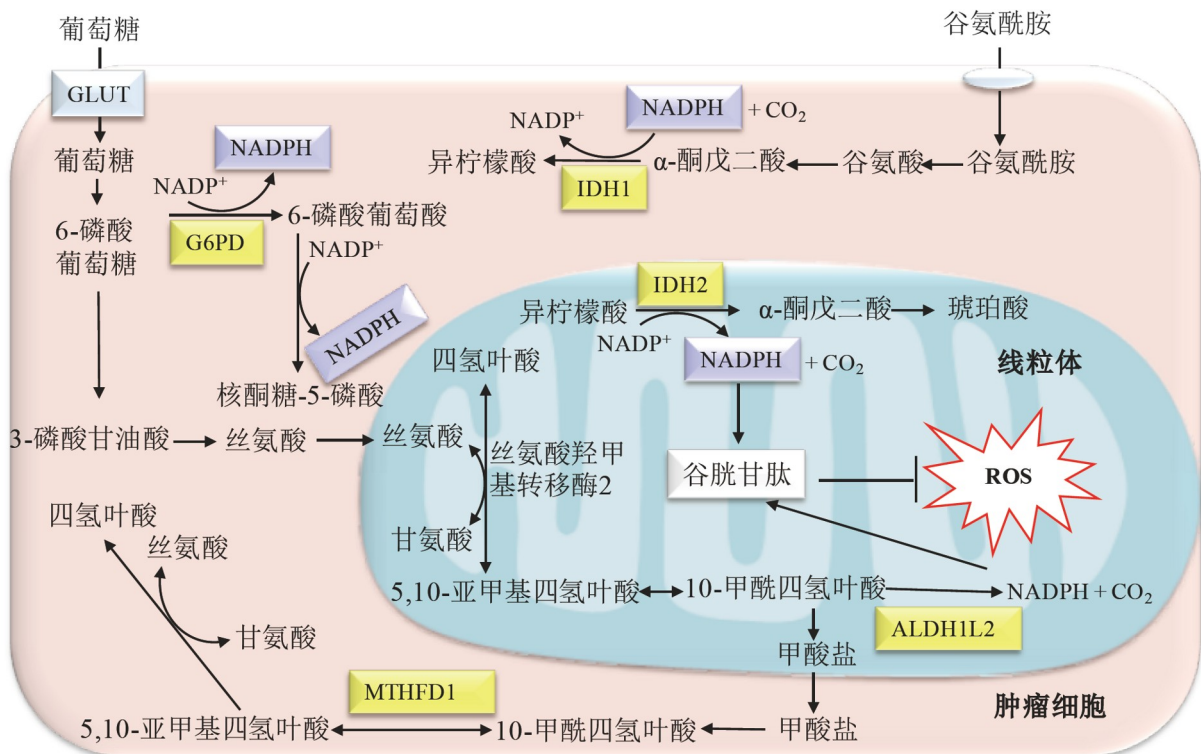
GSH是肿瘤细胞抗氧化能力的重要组成部分,癌细胞可以通过从头合成途径和NADPH依赖的GSSG再生来维持GSH的水平,从而维持自身的存活^[87]。有研究发现,GSH在限制DNA损伤和维持肿瘤中蛋白质稳态方面具有重要作用^[88,89]。因此,肿瘤细胞为维持利于其增殖的细胞氧化还原稳态,需要依赖GSH的还原功能来清除增殖和代谢过程中产生的过量ROS。当肿瘤细胞处于高ROS水平状态时,对GSH的缺乏非常敏感^[27];如果降低肿瘤细胞中的GSH水平可提高癌细胞内的ROS水平,从而增强基于ROS的肿瘤治疗效果^[90]。与之类似的研究表明,GSH介导的ROS解毒作用与肿瘤的顺铂耐药有关^[91,92],如果降低癌细胞中的GSH水平则可以成功提高顺铂的治疗效果^[93]。此外,癌细胞还可以通过代谢重编程的方式来上调GSH在细胞内的含量,从而维持自身的增殖。例如,致癌PI3K信号通路可刺激乳腺癌细胞产生GSH来促进自身的增殖^[94];致癌基因*c-Myc*高表达的肿瘤细胞会通过调节氨基酸转运蛋白的表达增加谷氨酰胺摄取量,从而利用谷氨酰胺合成更多的GSH以供自身利用^[95]。与之类似的是,溶质载体家族3成员1的高表达会加速半胱氨酸的摄取和还原性谷胱甘肽的积累,导致活性氧减少,从而促进乳腺癌肿瘤的发生^[96]。这些研究表明,肿瘤细胞能通过调控ROS来维持细胞内的氧化稳态,从而维持自身的发生发展。

值得注意的是, NADPH不仅是癌细胞内过氧化物酶和GPX依赖的抗氧化途径所需的辅助因子, 也是还原性物质GSH通过GSSG再生所依赖的物质(图3)。由于NADPH在细胞合成代谢反应和氧化还原平衡的维持方面扮演重要角色, 癌细胞会通过增加NADPH的水平来保护自身免受ROS的影响^[97]。这表现在肿瘤细胞内代谢NADPH的信号通路或代谢酶会发生适应性改变来调节NADPH的稳态并增强自身的抗氧化能力^[98]。癌细胞内NADPH的一个主要来源是PPP途径, 其中G6PD既是PPP途径的关键限速酶, 也是肿瘤代谢重编程和氧化还原信号的枢纽。研究发现, G6PD具有潜在的致癌活性, 在细胞增殖、存活和应激反应中起关键作用; 肿瘤细胞通过代谢重编程对G6PD的异常激活会改变细胞内的NADPH水平, 从而激活细胞抗氧化应激的能力^[99]。其他研究也进一步证实G6PD的表达与多种类型癌症的发生发展密切相关^[100]。值得一提的是, 有研究发现, 肿瘤抑制因子p53的结构同源物TAP73可以通过转录激活G6PD的表达来增强肿瘤的抗氧化防御能力, 从而促进癌细胞的增殖。与之类似的是, 我们之前的研究也表明,

TAP73可以转录激活磷酸果糖激酶-1的表达来增强肿瘤细胞的抗氧化防御能力^[101]。这进一步强调了肿瘤细胞对ROS的适应能力是其增殖的关键^[102]。

5 靶向ROS的肿瘤治疗

ROS的积累是正常细胞早期转化为肿瘤细胞的起始因素之一。因此, 适当应用抗氧化剂可以减轻正常细胞的氧化应激负担, 从而防止正常细胞发生癌变。例如, 外源摄入包括类黄酮、维生素C和类胡萝卜素等抗氧化剂, 可以预防肺癌的发生^[103]。此外, 应用抗氧化植物化学物质也可预防肿瘤发生。动物模型实验证实, 姜黄中所含的姜黄素能通过激活kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1/NRF2/抗氧化反应元件通路来诱导抗氧化酶基因的表达, 从而预防化学诱导的自发性肿瘤发生^[104]。值得注意的是, 传统的化疗会诱发正常细胞产生ROS并产生严重的副作用。本课题组之前的研究发现, 通过设计固-液反应合成富勒烯醇能够作为ROS清除剂起化疗保护作用^[105]。同时, 氨基酸修饰和肌肽修饰的富勒烯材料可显著减少细胞内ROS的产生, 并增加受氧化损伤细胞的细胞活力, 从



GLUT: 葡萄糖转运体; G6PD: 6-磷酸葡萄糖脱氢酶; IDH: 异柠檬酸脱氢酶; ALDH1L2: 醛脱氢酶家族1; MTHFD1: 亚甲基四氢叶酸脱氢酶1

图3 肿瘤细胞对ROS的适应

而保护正常细胞免受氧化应激的影响^[106,107]。而有研究又进一步证实,亲水性富勒烯衍生物能通过其表面电荷增强正常细胞的抗氧化能力^[108]。这些研究表明,以ROS为靶点设计的抗氧化材料在细胞的保护和肿瘤预防方面具有广泛的应用前景。

如前所述,毒性水平的ROS能够诱导肿瘤细胞发生凋亡和铁死亡,因而促氧化剂能够诱导癌细胞发生过度氧化应激并导致细胞发生ROS依赖性的死亡。例如,在白血病细胞中,DOX可活化细胞内的NOX来诱导H₂O₂生成,并引发氧化性的DNA损伤和半胱天冬酶依赖性的细胞凋亡,从而控制癌细胞的增殖。针对这一特异性,研究者通过开发负载DOX的纳米颗粒来进行纳米催化治疗,发现该疗法不仅能够导致癌细胞中H₂O₂的含量增多,还能通过材料中释放的Cu²⁺离子与细胞内的GSH发生氧化还原反应,导致GSH耗尽,从而抑制肿瘤细胞的生长^[109]。与之类似的是,顺铂是另一种经典的抗癌药物,在人结肠癌HCT116细胞中,顺铂能够依赖p53相关的ROS积累和下游p38 MAPK的激活来诱导细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤活性^[110]。此外,在放射性化疗中,增加肿瘤细胞中的ROS水平可以显著提高效率并减少辐射剂量,从而减少对正常细胞的非选择性杀伤。例如,研究者开发了一种基于纳米金-二氧化钛的纳米放疗增敏剂,该增敏剂通过触发ROS积累、线粒体通透性转变、细胞色素c氧化酶的释放和半胱天冬酶依赖性细胞凋亡的“多米诺效应”来靶向线粒体以实现有效的放射治疗^[111]。这些研究不仅揭示了药物诱导毒性水平的ROS能够有效治疗癌症,还进一步表明以ROS作为肿瘤的治疗靶点具有广泛的应用前景。

6 总结与展望

ROS的升高有助于诱导癌细胞发生DNA损伤并获得代谢适应和耐药性,从而维持肿瘤细胞的持续增殖和生存,而毒性水平的ROS则通过诱导细胞发生凋亡和铁死亡来抑制肿瘤细胞的生长。这意味着不同水平的ROS对肿瘤细胞的生存具有不同的影响。因此,在整个肿瘤的发生发展过程中,癌细胞需要发展各种抗氧化还原机制或代谢重编程的方式去维持ROS的水平,并确保ROS水平被限

制在一个允许增殖、同时避免自身死亡的动态范围。此外,癌细胞需要适应ROS的产生,表现为肿瘤细胞在增殖过程中会出现合成GSH和NADPH等还原性物质的代谢途径、代谢酶和代谢信号通路出现异常的情况。这些适应性改变对于肿瘤细胞的抗氧化能力和增殖极其重要。

ROS对细胞的调控是一个复杂且动态的过程,表现在生理水平的ROS在正常细胞中可作为重要的信号分子参与细胞生理功能,而过量的ROS持续存在则会诱导正常细胞发生癌变。此外,在肿瘤发生的早期阶段,ROS的升高有助于癌细胞获得持续增殖和生存的能力,而在肿瘤发展的后期阶段,由于过高的营养需求和异常增殖的代谢紊乱,会出现ROS积累过度并超出癌细胞所能修复的范围,因此,毒性水平的ROS会通过诱导细胞凋亡或协同基因毒性损伤来抑制肿瘤细胞的生长。表明肿瘤细胞为了满足自身的异常增殖需求,发展了相应的ROS代谢适应机制,可通过代谢重编程的方式修复和适应ROS的产生及影响,而一旦过量的ROS超过其自身的适应和修复范围,则会限制肿瘤细胞的生长。这进一步解释了肿瘤发展初期阶段,适量的ROS可通过诱导DNA损伤支持癌细胞的代谢适应;而随着肿瘤的恶化,过量积累的ROS诱导DNA损伤的程度超出了癌细胞为满足基础生理代谢的DNA修复范围,因而可协同化疗和放疗药物的基因毒性损伤抑制肿瘤生长。因此,需要深入了解ROS对肿瘤细胞的调控机制,为肿瘤的治疗提供理论支撑。目前,通过使用抗氧化剂抑制前致癌信号通路来预防正常细胞的癌变,或通过促氧化剂增强活性氧导致肿瘤细胞的死亡,是以ROS为靶点治疗肿瘤的两种常见方法。然而,尽管将ROS提升到细胞毒性水平具有杀灭癌细胞的潜力,这种策略与传统的化疗和放疗方案一样不可避免地会诱发全身毒性。因此,需要深入探讨ROS在肿瘤发展中的产生来源及其调控机制,为在肿瘤发展的合适阶段利用抗氧化剂和促氧化剂提供依据。更重要的是,肿瘤细胞为适应ROS出现的代谢途径或代谢酶的异常现象,能够为设计靶向ROS及其相关代谢途径的肿瘤治疗药物提供新的思路。总体而言,以ROS作为肿瘤治疗的切入点具有广泛的应用前景。

参考文献

- [1] Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(7): 363-383
- [2] Perillo B, Di Donato M, Pezone A, et al. ROS in cancer therapy: the bright side of the moon. *Exp Mol Med*, 2020, 52(2): 192-203
- [3] Harris IS, DeNicola GM. The complex interplay between antioxidants and ROS in cancer. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(6): 440-451
- [4] Wang Y, Qi H, Liu Y, et al. The double-edged roles of ROS in cancer prevention and therapy. *Theranostics*, 2021, 11(10): 4839-4857
- [5] Wang G, Zhang T, Sun W, et al. Arsenic sulfide induces apoptosis and autophagy through the activation of ROS/JNK and suppression of Akt/mTOR signaling pathways in osteosarcoma. *Free Radical Biol Med*, 2017, 106: 24-37
- [6] De Jager TL, Cockrell AE, Du Plessis SS. Ultraviolet light induced generation of reactive oxygen species. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 996: 15-23
- [7] Lee SY, Jeong EK, Ju MK, et al. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 10
- [8] Paggio A, Checchetto V, Campo A, et al. Identification of an ATP-sensitive potassium channel in mitochondria. *Nature*, 2019, 572(7771): 609-613
- [9] Raimondi V, Ciccarese F, Ciminale V. Oncogenic pathways and the electron transport chain: a danger ROS liaison. *Br J Cancer*, 2020, 122(2): 168-181
- [10] Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*, 1999, 341(2): 233-249
- [11] Rhee SG. H_2O_2 , a Necessary evil for cell signaling. *Science*, 2006, 312(5782): 1882-1883
- [12] Rahim Pouran S, Abdul Raman AA, Wan Daud WMA. Review on the application of modified iron oxides as heterogeneous catalysts in fenton reactions. *J Cleaner Production*, 2014, 64: 24-35
- [13] Block K, Gorin Y. Aiding and abetting roles of NOX oxidases in cellular transformation. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(9): 627-637
- [14] Konaté MM, Antony S, Doroshow JH. Inhibiting the activity of NADPH oxidase in cancer. *Antioxid Redox Signal*, 2020, 33(6): 435-454
- [15] Kong H, Reczek CR, McElroy GS, et al. Metabolic determinants of cellular fitness dependent on mitochondrial reactive oxygen species. *Sci Adv*, 2020, 6(45): eabb7272
- [16] He A, Dean JM, Lodhi IJ. Peroxisomes as cellular adaptors to metabolic and environmental stress. *Trends Cell Biol*, 2021, 31(8): 656-670
- [17] Walton PA, Pizzitelli M. Effects of peroxisomal catalase inhibition on mitochondrial function. *Front Physiol*, 2012, 3: 108
- [18] Frederiks WM, Bosch KS, Hoebe KA, et al. Renal cell carcinoma and oxidative stress: the lack of peroxisomes. *Acta Histochem*, 2010, 112(4): 364-371
- [19] Zeeshan HMA, Lee GH, Kim HR, et al. Endoplasmic reticulum stress and associated ROS. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 327
- [20] Jo GH, Kim GY, Kim WJ, et al. Sulforaphane induces apoptosis in T24 human urinary bladder cancer cells through a reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway: the involvement of endoplasmic reticulum stress and the Nrf2 signaling pathway. *Int J Oncol*, 2014, 45(4): 1497-1506
- [21] Bobrovnikova-Marjon E, Grigoriadou C, Pytel D, et al. PERK promotes cancer cell proliferation and tumor growth by limiting oxidative DNA damage. *Oncogene*, 2010, 29(27): 3881-3895
- [22] Napolitano G, Fasciolo G, Venditti P. Mitochondrial management of reactive oxygen species. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(11): 1824
- [23] Drysdale J, Arosio P, Invernizzi R, et al. Mitochondrial ferritin: a new player in iron metabolism. *Blood Cells Mol Dis*, 2002, 29(3): 376-383
- [24] Holmgren A, Lu J. Thioredoxin and thioredoxin reductase: current research with special reference to human disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(1): 120-124
- [25] Nguyen NH, Tran GB, Nguyen CT. Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases. *J Mol Med (Berl)*, 2020, 98(1): 59-69
- [26] D'Autréaux B, Toledano MB. ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(10): 813-824
- [27] Niu B, Liao K, Zhou Y, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy. *Biomaterials*, 2021, 277: 121110
- [28] Couto N, Wood J, Barber J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biol Med*, 2016, 95: 27-42
- [29] Cho ES, Cha YH, Kim HS, et al. The pentose phosphate pathway as a potential target for cancer therapy. *Biomolecules Ther (Seoul)*, 2018, 26(1): 29-38

- [30] Deshmukh P, Unni S, Krishnappa G, et al. The Keap1-Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. *Biophys Rev*, 2017, 9(1): 41-56
- [31] Liu Y, Lang F, Yang C. NRF2 in human neoplasm: cancer biology and potential therapeutic target. *Pharmacol Ther*, 2021, 217: 107664
- [32] Mitsuishi Y, Taguchi K, Kawatani Y, et al. Nrf2 redirects glucose and glutamine into anabolic pathways in metabolic reprogramming. *Cancer Cell*, 2012, 22(1): 66-79
- [33] DeNicola GM, Chen PH, Mullarky E, et al. NRF2 regulates serine biosynthesis in non-small cell lung cancer. *Nat Genet*, 2015, 47(12): 1475-1481
- [34] Klaunig JE. Oxidative stress and cancer. *Curr Pharm Des*, 2019, 24(40): 4771-4778
- [35] Liu T, Sun L, Zhang Y, et al. Imbalanced GSH/ROS and sequential cell death. *J Biochem Mol Tox*, 2022, 36(1): e22942
- [36] Dan Dunn J, Alvarez LA, Zhang X, et al. Reactive oxygen species and mitochondria: a nexus of cellular homeostasis. *Redox Biol*, 2015, 6: 472-485
- [37] Sen CK. Cellular thiols and redox-regulated signal transduction. *Curr Top Cell Regul*, 2000, 36: 1-30
- [38] Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal*, 2012, 24(5): 981-990
- [39] Shadel GS, Horvath TL. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell*, 2015, 163(3): 560-569
- [40] Rodic S, Vincent MD. Reactive oxygen species (ROS) are a key determinant of cancer's metabolic phenotype. *Int J Cancer*, 2018, 142(3): 440-448
- [41] Aykin-Burns N, Ahmad IM, Zhu Y, et al. Increased levels of superoxide and H₂O₂ mediate the differential susceptibility of cancer cells versus normal cells to glucose deprivation. *Biochem J*, 2009, 418(1): 29-37
- [42] Renaudin X. Reactive oxygen species and DNA damage response in cancer. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2021, 364: 139-161
- [43] Barnes RP, Fouquerel E, Opresko PL. The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis. *Mech Ageing Dev*, 2019, 177: 37-45
- [44] Kotsantis P, Petermann E, Boulton SJ. Mechanisms of oncogene-induced replication stress: jigsaw falling into place. *Cancer Discovery*, 2018, 8(5): 537-555
- [45] Penta JS, Johnson FM, Wachsmann JT, et al. Mitochondrial DNA in human malignancy. *Mutat Res*, 2001, 488(2): 119-133
- [46] Wallace DC. Mitochondria and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(10): 685-698
- [47] Lee SR, Yang KS, Kwon J, et al. Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H₂O₂. *J Biol Chem*, 2002, 277(23): 20336-20342
- [48] Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Molina MÁ, et al. PTEN and PI3K/AKT in non-small-cell lung cancer. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(16): 1843-1862
- [49] Satooka H, Hara-Chikuma M. Aquaporin-3 controls breast cancer cell migration by regulating hydrogen peroxide transport and its downstream cell signaling. *Mol Cell Biol*, 2016, 36(7): 1206-1218
- [50] Calvo-Ochoa E, Sánchez-Alegría K, Gómez-Inclán C, et al. Palmitic acid stimulates energy metabolism and inhibits insulin/PI3K/AKT signaling in differentiated human neuroblastoma cells: the role of mTOR activation and mitochondrial ROS production. *NeuroChem Int*, 2017, 110: 75-83
- [51] Su X, Shen Z, Yang Q, et al. Vitamin C kills thyroid cancer cells through ROS-dependent inhibition of MAPK/ERK and PI3K/AKT pathways via distinct mechanisms. *Theranostics*, 2019, 9(15): 4461-4473
- [52] Fares J, Fares MY, Khachfe HH, et al. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 28
- [53] Liao Z, Chua D, Tan NS. Reactive oxygen species: a volatile driver of field cancerization and metastasis. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 65
- [54] Pani G, Galeotti T, Chiarugi P. Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(2): 351-378
- [55] Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(12): 2977-2992
- [56] Elkin ER, Harris SM, Loch-Caruso R. Trichloroethylene metabolite S-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine induces lipid peroxidation-associated apoptosis via the intrinsic and extrinsic apoptosis pathways in a first-trimester placental cell line. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 338: 30-42
- [57] Orrenius S, Gogvadze V, Zhivotovsky B. Calcium and mitochondria in the regulation of cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 460(1): 72-81
- [58] Meynier S, Rieux-Laucat F. FAS and RAS related apoptosis defects: from autoimmunity to leukemia. *Immunol Rev*, 2019, 287(1): 50-61
- [59] Minchenko OH, Tsymbal DO, Minchenko DO, et al. The role of the TNF receptors and apoptosis inducing ligands in tumor growth. *Ukr Biochem J*, 2016, 88(5): 18-37
- [60] Safa AR. c-FLIP, a master anti-apoptotic regulator. *Exp Oncol*, 2012, 34(3): 176-184
- [61] Wilkie-Grantham RP, Matsuzawa SI, Reed JC. Novel

- phosphorylation and ubiquitination sites regulate reactive oxygen species-dependent degradation of anti-apoptotic c-FLIP protein. *J Biol Chem*, 2013, 288(18): 12777-12790
- [62] Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125
- [63] Chen X, Li J, Kang R, et al. Ferroptosis: machinery and regulation. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2054-2081
- [64] Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(3): 419-425
- [65] Li J, Cao F, Yin HL, et al. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88
- [66] Chen X, Yu C, Kang R, et al. Cellular degradation systems in ferroptosis. *Cell Death Differ*, 2021, 28(4): 1135-1148
- [67] Liu J, Xia X, Huang P. xCT: a critical molecule that links cancer metabolism to redox signaling. *Mol Ther*, 2020, 28(11): 2358-2366
- [68] Koppula P, Zhuang L, Gan B. Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy. *Protein Cell*, 2021, 12(8): 599-620
- [69] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072
- [70] Santos NAG, Catão CS, Martins NM, et al. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Arch Toxicol*, 2007, 81(7): 495-504
- [71] Ju HQ, Gocho T, Aguilar M, et al. Mechanisms of overcoming intrinsic resistance to gemcitabine in pancreatic ductal adenocarcinoma through the redox modulation. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(3): 788-798
- [72] Yang Z, Schumaker LM, Egorin MJ, et al. Cisplatin preferentially binds mitochondrial DNA and voltage-dependent anion channel protein in the mitochondrial membrane of head and neck squamous cell carcinoma: possible role in apoptosis. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(19): 5817-5825
- [73] Marullo R, Werner E, Degtyareva N, et al. Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81162
- [74] Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol*, 1994, 65(1): 27-33
- [75] Patwardhan RS, Sharma D, Checker R, et al. Spatio-temporal changes in glutathione and thioredoxin redox couples during ionizing radiation-induced oxidative stress regulate tumor radio-resistance. *Free Radical Res*, 2015, 49(10): 1218-1232
- [76] Salehi F, Behboudi H, Kavousi G, et al. Oxidative DNA damage induced by ROS-modulating agents with the ability to target DNA: a comparison of the biological characteristics of citrus pectin and apple pectin. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13902
- [77] Fox DB, Garcia NMG, McKinney BJ, et al. NRF2 activation promotes the recurrence of dormant tumour cells through regulation of redox and nucleotide metabolism. *Nat Metab*, 2020, 2(4): 318-334
- [78] DeNicola GM, Karreth FA, Humpton TJ, et al. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis. *Nature*, 2011, 475(7354): 106-109
- [79] Ferino A, Rapozzi V, Xodo LE. The ROS-KRAS-Nrf2 axis in the control of the redox homeostasis and the intersection with survival-apoptosis pathways: implications for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B*, 2020, 202: 111672
- [80] Shackelford DB, Shaw RJ. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(8): 563-575
- [81] Jeon SM, Chandel NS, Hay N. AMPK regulates NADPH homeostasis to promote tumour cell survival during energy stress. *Nature*, 2012, 485(7400): 661-665
- [82] Li F, Han X, Li F, et al. LKB1 inactivation elicits a redox imbalance to modulate non-small cell lung cancer plasticity and therapeutic response. *Cancer Cell*, 2015, 27(5): 698-711
- [83] He H, Zang LH, Feng YS, et al. Physalin A induces apoptosis via p53-Noxa-mediated ROS generation, and autophagy plays a protective role against apoptosis through p38-NF- κ B survival pathway in A375-S2 cells. *J EthnoPharmacol*, 2013, 148(2): 544-555
- [84] Oren M, Rotter V. Mutant p53 gain-of-function in cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives Biol*, 2010, 2(2): a001107
- [85] Lisek K, Campaner E, Ciani Y, et al. Mutant p53 tunes the NRF2-dependent antioxidant response to support survival of cancer cells. *Oncotarget*, 2018, 9(29): 20508-20523
- [86] Cheung EC, Vousden KH. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(5): 280-297
- [87] Asantewaa G, Harris IS. Glutathione and its precursors in cancer. *Curr Opin Biotechnol*, 2021, 68: 292-299

- [88] Luo M, Shang L, Brooks MD, et al. Targeting breast cancer stem cell state equilibrium through modulation of redox signaling. *Cell Metab*, 2018, 28(1): 69-86.e6
- [89] Harris IS, Endress JE, Coloff JL, et al. Deubiquitinases maintain protein homeostasis and survival of cancer cells upon glutathione depletion. *Cell Metab*, 2019, 29(5): 1166-1181.e6
- [90] Fan H, Yan G, Zhao Z, et al. A smart photosensitizer-manganese dioxide nanosystem for enhanced photodynamic therapy by reducing glutathione levels in cancer cells. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55(18): 5477-5482
- [91] Godwin AK, Meister A, O'Dwyer PJ, et al. High resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines is associated with marked increase of glutathione synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(7): 3070-3074
- [92] Shueng PW, Yu LY, Chiu HC, et al. Early phago-/endosomal escape of platinum drugs via ROS-responsive micelles for dual cancer chemo/immunotherapy. *Biomaterials*, 2021, 276: 121012
- [93] Xu Y, Han X, Li Y, et al. Sulforaphane mediates glutathione depletion via polymeric nanoparticles to restore cisplatin chemosensitivity. *ACS Nano*, 2019, 13(11): 13445-13455
- [94] Lien EC, Lyssiotis CA, Juvekar A, et al. Glutathione biosynthesis is a metabolic vulnerability in PI(3)K/AKT-driven breast cancer. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(5): 572-578
- [95] Xu X, Li J, Sun X, et al. Tumor suppressor NDRG2 inhibits glycolysis and glutaminolysis in colorectal cancer cells by repressing c-Myc expression. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 26161-26176
- [96] Jiang Y, Cao Y, Wang Y, et al. Cysteine transporter SLC3A1 promotes breast cancer tumorigenesis. *Theranostics*, 2017, 7(4): 1036-1046
- [97] Rather GM, Pramono AA, Szekely Z, et al. In cancer, all roads lead to NADPH. *Pharmacol Ther*, 2021, 226: 107864
- [98] Ju HQ, Lin JF, Tian T, et al. NADPH homeostasis in cancer: functions, mechanisms and therapeutic implications. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 231
- [99] Yang HC, Stern A, Chiu DTY. G6PD: A hub for metabolic reprogramming and redox signaling in cancer. *BioMed J*, 2021, 44(3): 285-292
- [100] Ghergurovich JM, Esposito M, Chen Z, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase is not essential for k-ras-driven tumor growth or metastasis. *Cancer Res*, 2020, 80(18): 3820-3829
- [101] Li L, Li L, Li W, et al. TAp73-induced phosphofructokinase-1 transcription promotes the Warburg effect and enhances cell proliferation. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4683
- [102] Du W, Jiang P, Mancuso A, et al. TAp73 enhances the pentose phosphate pathway and supports cell proliferation. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(8): 991-1000
- [103] Dastmalchi N, Baradaran B, Latifi-Navid S, et al. Antioxidants with two faces toward cancer. *Life Sci*, 2020, 258: 118186
- [104] Patel SS, Acharya A, Ray RS, et al. Cellular and molecular mechanisms of curcumin in prevention and treatment of disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(6): 887-939
- [105] Zhou Y, Li J, Ma H, et al. Biocompatible [60]/[70] fullereneols: potent defense against oxidative injury induced by reduplicative chemotherapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(41): 35539-35547
- [106] Yu T, Zhen M, Li J, et al. Anti-apoptosis effect of amino acid modified gadofullerene via a mitochondria mediated pathway. *Dalton Trans*, 2019, 48(22): 7884-7890
- [107] Ma H, Zhao J, Meng H, et al. Carnosine-modified fullerene as a highly enhanced ROS scavenger for mitigating acute oxidative stress. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(14): 16104-16113
- [108] Ma H, Zhang X, Yang Y, et al. Cellular uptake, organelle enrichment, and *in vitro* antioxidation of fullerene derivatives, mediated by surface charge. *Langmuir*, 2021, 37(8): 2740-2748
- [109] Fu LH, Wan Y, Qi C, et al. Nanocatalytic theranostics with glutathione depletion and enhanced reactive oxygen species generation for efficient cancer therapy. *Adv Mater*, 2021, 33(7): 2006892
- [110] Bragado P, Armesilla A, Silva A, et al. Apoptosis by cisplatin requires p53 mediated p38 α MAPK activation through ROS generation. *Apoptosis*, 2007, 12(9): 1733-1742
- [111] Chen Y, Li N, Wang J, et al. Enhancement of mitochondrial ROS accumulation and radiotherapeutic efficacy using a Gd-doped titania nanosensitizer. *Theranostics*, 2019, 9(1): 167-178