

ROS在肿瘤细胞中的调控作用及相关的抗肿瘤策略

周建敏¹, 刘鑫玉¹, 刘远莉¹, 王欣欣², 周洋^{2*}

(¹哈尔滨医科大学生物化学与分子生物学教研室, 哈尔滨 150081; ²哈尔滨医科大学附属肿瘤医院, 哈尔滨 150081)

摘要: 活性氧(reactive oxygen species, ROS)是氧得到单电子的还原产物。ROS具有多种生物活性, 主要参与细胞的氧化应激、增殖与分化等。肿瘤细胞由于代谢活跃而易产生更高水平的ROS, 过量的ROS可通过诱导DNA损伤、细胞周期阻滞、自噬、凋亡和铁死亡等过程, 诱发肿瘤细胞死亡。本文讨论了ROS的产生、ROS对肿瘤细胞增殖的调控途径以及与ROS调控相关的抗肿瘤策略。

关键词: ROS; DNA损伤; 细胞周期; 自噬; 凋亡; 铁死亡

Regulation of ROS in tumor cells and related anti-tumor strategies

ZHOU Jianmin¹, LIU Xinyu¹, LIU Yuanli¹, WANG Xinxin², ZHOU Yang^{2*}

(¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Harbin Medical University, Harbin 150081, China;

²Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150081, China)

Abstract: Reactive oxygen species (ROS) is the reduction product of oxygen obtaining a single electron, which has a variety of biological activities, mainly involved in oxidative stress, proliferation and differentiation of cells. Tumor cells produce higher levels of ROS due to active metabolism, and excess ROS can induce tumor cell death by inducing DNA damage, cell cycle arrest, autophagy, apoptosis and ferroptosis and other processes. This review discusses ROS production, the regulatory pathways of ROS on tumor cell proliferation, and anti-tumor strategies related to ROS regulation.

Key Words: ROS; DNA damage; cell cycle; autophagy; apoptosis; ferroptosis

肿瘤是全球范围内导致死亡的主要原因, 每年有近2 000万新增病例和近1 000万人死于肿瘤^[1]。尽管人们进行了大量与各种肿瘤相关的工作, 并提出了许多抗肿瘤策略, 但肿瘤仍然是人类的主要致命疾病。近年来, 有关活性氧(reactive oxygen species, ROS)在肿瘤中的作用越来越受到人们的关注。ROS是细胞正常代谢过程产生的副产物, 主要是氧得到单电子的还原产物, 主要包括过氧化氢、超氧阴离子、羟基自由基^[2]。ROS具有高度的生物活性, 细胞中一系列氧化还原反应可维持其动态平衡。ROS也可作为信号分子参

与和调节肿瘤细胞的增殖、分化^[3]。ROS在肿瘤细胞中表现出“双刃剑”的活性, 即适当浓度的ROS能促进肿瘤细胞的增殖, 而过量的ROS则能够通过多种途径导致肿瘤细胞死亡^[4]。本文将从ROS的来源、ROS对肿瘤增殖的双重作用、ROS通过多种途径介导肿瘤细胞死亡以及基于ROS调控的抗肿瘤策略等方面进行综述。

1 ROS的产生

1.1 内源性ROS的产生

内源性ROS约95%来源于线粒体。线粒体的呼

收稿日期: 2022-09-30

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(联合引导LH2022H067); 中华国际医学交流基金会sky影像科研基金面上项目(Z-2014-07-2003-08); 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院海燕基金重点项目(JJZD2019-17)

第一作者: E-mail: zhoujianmin119@163.com

*通信作者: E-mail: zhouyang094@126.com

吸链(electron transport chain, ETC)是产生ROS的主要部位^[2](图1)。电子在ETC传递过程中被泄露, 漏出的电子直接传递给氧, 产生部分被还原的氧。ETC位于线粒体内膜, 由四组酶复合物组成: 复合物 I (NADH-CoQ还原酶)、复合物 II (琥珀酸-CoQ还原酶)、复合物 III (CoQ-细胞色素C还原酶)和复合物 IV (细胞色素C氧化酶), 其中, 线粒体ROS(mtROS)主要在复合物 I (20%)和复合物 III (80%)中生成^[1,2]。在复合物 I 中, 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)的电子转移到黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN), 然后通过铁硫团簇传递到泛醌, 驱动电子传递, 还原型FMN向氧直接泄露电子, 形成超氧阴离子。在复合物 III 中, 氧气与还原型泛醌相互作用, 产生超氧阴离子^[5]。由复合物 I 产生的超氧阴离子被释放到线粒体基质中, 复合物 III 产生的超氧阴离子被释放到线粒体内膜中。超氧阴离子是一种相当稳定的化合物, 但其可被超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)转化为过氧化氢。过氧化氢可以与 Fe^{2+} 发生反应, 转化成 Fe^{3+} 和羟基自由基, 这一过程称为芬顿反应^[6,7]。

内源性ROS的另一个来源是还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶^[8]。NADPH氧化酶可以起到电子传递链的作用, 将电子从NADPH(H^+)转移到FAD(flavin adenine dinucleotide), 形成 NADP^+ 和 FADH_2 , 经过亚铁血

红素与氧结合形成超氧阴离子, 后者迅速转化为过氧化氢和羟基自由基^[9,10]。此外, 少量的内源性ROS通过细胞中的黄嘌呤氧化酶、环氧酶、脂肪氧化酶、一氧化氮合酶、血红素氧化酶、过氧化物酶等催化的反应产生^[11]。

1.2 外源性ROS的产生

多种外部因素诱导外源性ROS的产生, 包括电离辐射(X射线、 γ 射线)、组织缺氧、细菌感染、烟草烟雾和环境污染等^[12]。外源性X射线照射时, 水分子在极短时间内, 可以电离为羟基自由基、电子和氢离子, 部分活性物质还会进一步与水分子相互作用, 生成超氧阴离子和过氧化氢, 这些ROS通过破坏生物大分子(DNA、蛋白质和脂质等)结构, 诱导细胞死亡^[13]。传统的X线照射治疗肿瘤就是基于这个原理。快速分裂的肿瘤细胞因无法生成足够多的血管, 导致细胞缺氧, 进而激活缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF), 增加肿瘤细胞内NADPH氧化酶4的表达, 促进ROS的生成^[14,15]。细菌感染细胞后, 可以改变宿主细胞的线粒体形态, 导致线粒体破碎, 这些碎裂的小线粒体能产生更高水平的ROS^[16]。烟草烟雾中含有超过4000种化学物质, 其中一些亲脂性成分会诱导肺上皮细胞产生ROS, 导致机体抗氧化防御系统的失衡, 增加了患肺癌的风险^[17]。

2 ROS在肿瘤细胞中的双重作用

与正常细胞比较, 肿瘤细胞产生高水平的

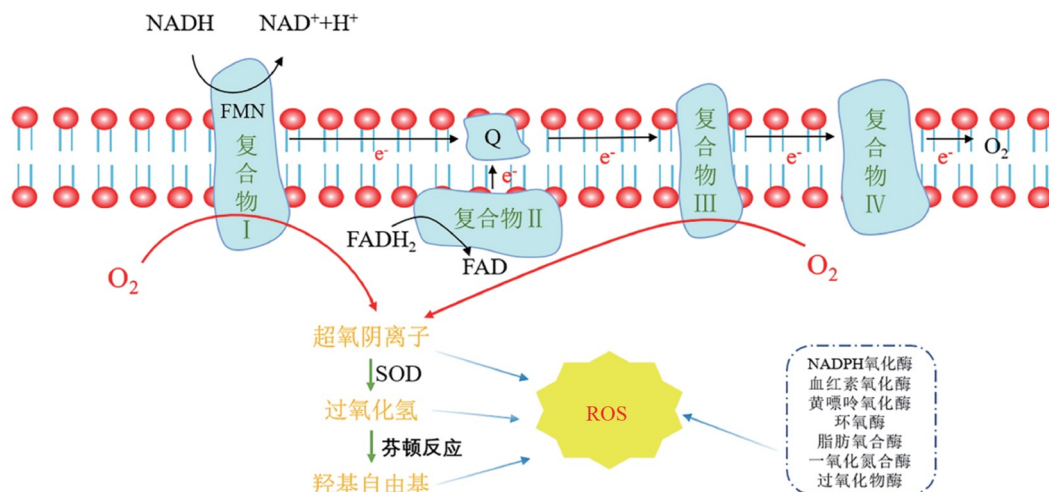


图1 内源性ROS的产生过程

ROS^[2]。一般来说,在低浓度时(通常为亚微摩尔),ROS加速正常细胞的增殖。在中等浓度时(<10 μmol),ROS可以增强肿瘤细胞的增殖、分化能力^[18]。例如,在黑色素瘤小鼠模型中,用N-乙酰半胱氨酸处理后,显著提高了肿瘤细胞的活性,促进了肿瘤的生长,其机制是通过减少ROS进而减少DNA损伤,最终减少DNA损伤诱导的细胞死亡^[19]。在更高浓度时(10~30 μmol),过量的ROS引发肿瘤细胞氧化应激,导致肿瘤细胞内抗氧化体系失衡,最终引起蛋白质、脂质、DNA等生物大分子的损伤,诱发肿瘤细胞的凋亡^[2,12,20]。有研究报道,在卵巢癌C13和SKOV3细胞系中,克拉霉素和顺铂协同作用,通过增强线粒体功能,产生高浓度的ROS促进卵巢癌细胞凋亡^[21]。

3 ROS通过多种途径介导肿瘤细胞死亡

3.1 ROS与DNA损伤

ROS可以引起DNA损伤。在生物体中,DNA主要分布在细胞核内,部分分布在线粒体中。其中,线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)对ETC产生的ROS更敏感^[22]。ROS与DNA损伤的关系表现在两方面:第一,DNA损伤能促进ROS生成。例如:mtDNA的损伤使其在编码NADH亚单位6(ND6)时基因发生改变,这一变化导致复合体I活性缺乏,漏出的电子增多,进而产生过量的ROS^[4]。在高级别浆液性卵巢癌(HGSC)OVCAR-3细胞中,顺铂通过诱导DNA损伤,增强了转录因子PGC1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ co-activator-1 α)和TFAM(transcription factor A, mitochondrial)的活性,进而刺激线粒体产生高水平的mtROS,最终导致卵巢癌细胞的凋亡^[23]。第二,ROS能促进DNA损伤。ROS可以攻击碱基上的双键,导致开环反应;也可以破坏磷酸核糖骨架,导致肿瘤细胞死亡^[4]。有研究报道,ROS通过氧化核苷碱基(如形成8-氧鸟嘌呤)导致DNA损伤,如果不修复,可导致G-T或G-A颠换,从而诱发蛋白质合成错误,甚至诱导细胞发生癌变^[24]。由此可见:DNA损伤可导致过量的ROS产生,而过量的ROS又会导致DNA断裂损伤。如果添加外源性ROS诱导剂诱发DNA损伤,能否实现“DNA损伤-ROS过量生成-DNA损伤”的正反馈信

号,进而加速肿瘤细胞的凋亡?这一设想有待进一步的实验证实。

3.2 ROS与细胞周期

ROS通过多种机制调控肿瘤细胞周期。首先,ROS通过调节细胞周期蛋白的表达来抑制肿瘤细胞的增殖。异鼠李素(isorhamnetin)可提高人肝癌Hep3B细胞内ROS的水平,刺激p21表达,p21与Cdk2(cyclin dependent kinase 2)和Cdc2(cell division control protein 2)结合形成复合物,将细胞周期阻滞在G₂/M期,抑制人肝癌细胞的增殖^[25]。其次,ROS可以通过调控细胞周期调节分子的磷酸化,进而调节细胞周期^[26,27]。Cdc25B是细胞周期蛋白的调节因子。有研究表明,LGH00031(Cdc25B抑制剂)在HeLa细胞中通过促进ROS的生成,导致细胞周期蛋白依赖性激酶1(cyclin-dependent kinase 1, CDK1)磷酸化,激活细胞周期蛋白B1(cyclin B1),延缓了G₂/M期,进而阻碍细胞周期进展,最终导致乳腺癌细胞死亡^[28]。此外,ROS可以通过调控生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)介导的信号通路,诱导细胞周期停滞。研究表明,在CD(clerodane diterpenes)处理膀胱癌T24细胞后,观察到ROS生成增加,后者可通过抑制EGFR的表达,导致AKT介导的信号通路失活,进而抑制细胞周期,诱发膀胱癌细胞的死亡^[29]。

3.3 ROS与自噬

自噬是细胞将自身的细胞成分和受损的细胞器包被进入囊泡,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物的自我消化过程^[12]。ROS水平和肿瘤细胞自噬存在相互调控的关系。一是高水平的ROS诱导自噬的发生^[30]。有研究报道,在非小细胞肺癌A549细胞中,镉(Cd)诱导细胞产生高水平的ROS,进而激活ROS依赖性糖原合酶激酶-3 β 信号通路,上调半胱氨酸蛋白酶Atg4 (autophagy protein 4)的表达,促进LC3相关自噬体的形成,导致自噬的发生^[31];人骨肉瘤SJSA和HOS细胞经过新橙皮苷(Neohesperidin)处理后,产生高水平的ROS,诱导JNK和c-Jun的磷酸化,进而激活JNK信号通路,促进LC3-II的积累和Beclin-1的表达上调,导致人骨肉瘤细胞发生自噬而死亡^[32]。二是由于线粒体损伤导致的自噬能够影响ROS水平^[30]。攀登鱼藤异黄酮(warangalone)激活线

粒体通道,持续释放ROS,导致线粒体的破坏并进一步释放ROS到细胞中,触发PINK1/Parkin介导的线粒体自噬和凋亡,进而减少ROS的产生,抑制了乳腺癌MDA-MB-231细胞的增殖^[33]。由此可见,肿瘤细胞中的ROS与自噬存在着复杂的双向调控作用,其具体调控机制有待深入研究。

3.4 ROS与凋亡

肿瘤细胞中过量的ROS能诱导不同凋亡途径的发生。一方面,ROS可以诱导线粒体介导的caspase级联凋亡途径,即内源性细胞凋亡途径^[21]。过量的ROS启动细胞内源性凋亡,促使细胞色素C从线粒体膜间隙释放到胞质中,细胞色素C形成凋亡小体,激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-9(caspase-9),然后激活caspase-3、caspase-6和caspase-7,导致细胞蛋白裂解,引起细胞死亡^[34]。有研究报道,土木香内酯(alantolactone)刺激人乳腺癌MDA-MB-231细胞产生大量ROS,诱发线粒体介导的caspase级联凋亡途径,基质金属蛋白酶9表达下降,Bax/Bcl-2的比例上调,细胞色素C释放至胞质,进而激活caspase-9、caspase-3及其下游底物PARP,引起肿瘤细胞凋亡^[35]。维生素K2对人膀胱癌T24细胞的抗癌作用是通过刺激肿瘤细胞产生大量的ROS,激活JNK/p38信号通路,进而诱发线粒体介导的内源性凋亡^[36]。另一方面,过量的ROS

可以启动跨膜死亡受体介导的外源性细胞凋亡途径^[1]。跨膜死亡受体包括Fas(Fas-associated protein with death domain)、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF),其配体为TRAIL(tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand)。二者结合后可以形成死亡诱导信号复合物DISC(death-inducing signaling complex),触发caspase-8和caspase-10激活,从而导致caspase表达增加并触发凋亡^[2]。水飞蓟素(silibinin)通过诱导人肺癌A549细胞产生过量的ROS,诱导CHOP信号通路表达上调,激活DR5(recombinant death receptor 5)进而促进TRAIL的表达,引发A549细胞的外源性凋亡^[37]。综上所述,ROS可以通过调控内源性凋亡途径或者外源性凋亡途径诱导肿瘤细胞的凋亡。

3.5 ROS与铁死亡

铁死亡是一种铁依赖性的细胞程序性死亡方式,主要由细胞内过多的铁参与芬顿反应,产生高活性的羟基自由基,攻击细胞膜,产生脂质ROS,诱导细胞死亡^[38]。有报道称,二甲双胍可以增加乳腺癌T47D细胞内的 Fe^{2+} 水平,后者通过芬顿反应促进脂质ROS的生成,诱导铁死亡的发生,最终抑制乳腺癌细胞的生长^[39]。人肺癌H460和H1299细胞经过毛兰素(erianin)处理,靶向钙调蛋

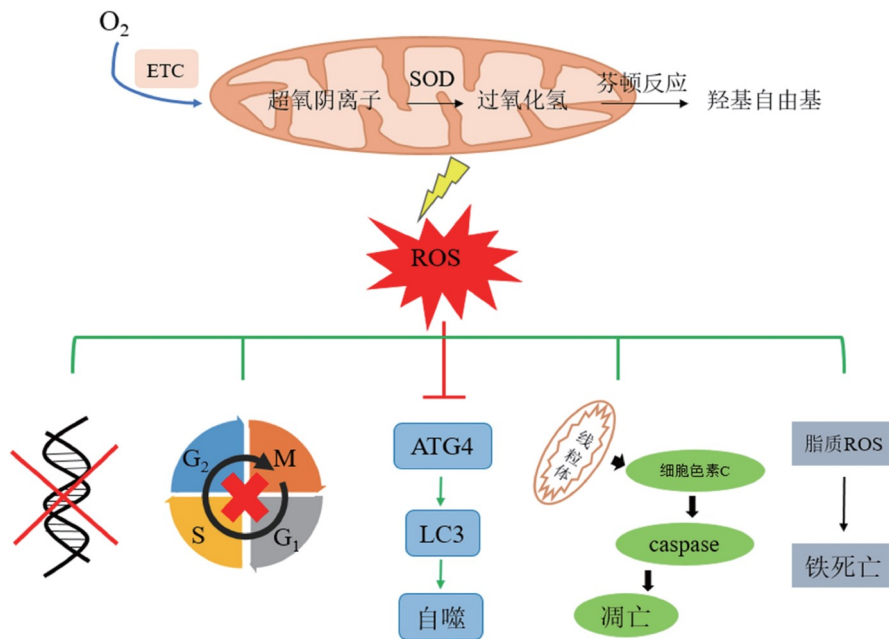


图2 ROS通过多种途径介导肿瘤细胞死亡

白(calmodulin, CaM), 激活 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 信号通路, 后者导致ROS产生增加和 Fe^{2+} 水平升高, 促进脂质ROS的产生, 进而诱发铁死亡导致肺癌细胞死亡^[40]。因此, 脂质ROS的大量累积是诱导铁死亡最关键的上游事件。

4 基于ROS的抗肿瘤策略

4.1 改变肿瘤细胞氧化还原平衡的治疗策略

由于肿瘤细胞中ROS的水平很高, 可以通过影响氧化还原平衡发挥抗肿瘤作用^[8]。基于ROS水平的抗肿瘤手段可分为两种: 一是促进肿瘤细胞中ROS的过量生成^[41]。例如, 百里香酚(thymol)处理人肺癌细胞A549 24 h后观察到SOD活性急剧下降, 导致肿瘤细胞内ROS水平增加, 破坏细胞膜, 产生脂质ROS, 诱发铁死亡, 最终导致A549细胞死亡^[42]。利用ROS天然诱导剂阿兰托内酯(alantolactone)与奥沙利铂联合应用于人结直肠癌HCT116和RKO细胞, 结果发现, 阿兰托内酯通过直接提高两种结直肠癌细胞内的ROS水平, 促进奥沙利铂对其凋亡的诱导作用^[43]。有报道, 在p53突变的食管鳞状细胞癌中, ROS天然调节剂APR-246与5-氟尿嘧啶联合应用时, 激活ROS-TAp73-Noxa信号通路, 发挥抗肿瘤作用, 并且改善5-氟尿嘧啶耐药现状^[44]。二是抑制肿瘤细胞中

ROS的清除^[41]。谷胱甘肽(glutathione, GSH)是抗氧化系统中主要的抗氧化剂, 可通过氧化反应转变为氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG), 进而清除ROS^[45]。有报道, 在人肺癌A549细胞中, CYT-Rx20(β -硝基苯乙烯衍生物)导致GSH耗竭和GSH/GSSG比值显著降低, 抑制了肿瘤细胞中ROS的清除, 导致肺癌细胞死亡^[46]。磺胺柳氮磺(SAS)特异性抑制半胱氨酸/谷氨酸反转蛋白, 可减少细胞中GSH的合成。在胶质瘤A172细胞中, SAS结合放疗抗肿瘤时, 二者协同作用导致ROS的生成增加, DNA双链断裂, 最终促进胶质瘤A172细胞的凋亡^[47]。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是抗氧化系统重要的转录因子, 通过调控下游基因发挥抗氧化作用。在人肺癌H1299细胞中, Nrf2抑制剂降低了肿瘤细胞中ROS的消耗, 而6-OA(6-O-angeloylenolin)刺激肿瘤细胞产生高水平的ROS, 二者联合应用时协同增强肿瘤细胞内ROS水平, 导致肺癌细胞凋亡^[48]。

4.2 新兴纳米材料治疗策略

近年来, 由于纳米技术的快速发展, 大量具有独特ROS调节特性的纳米材料被开发, 用于抗肿瘤治疗。这类纳米材料抗肿瘤的基本原理是基于芬顿和类芬顿的化学反应, 参与芬顿和类芬顿反

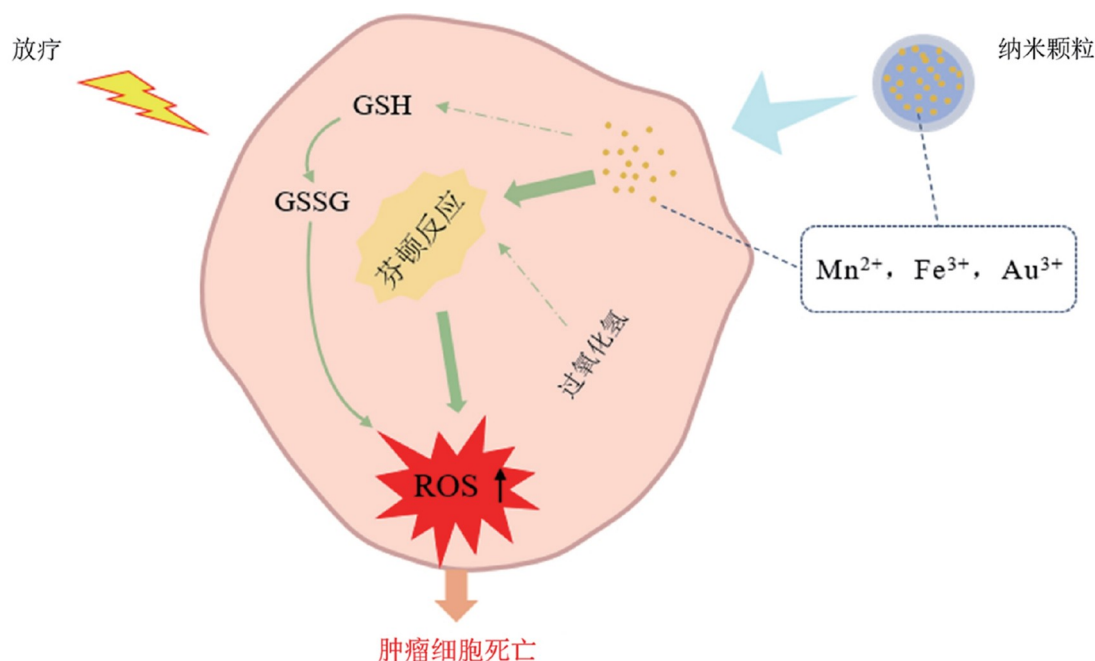


图3 纳米材料抗肿瘤策略

应的纳米材料主要是铁基, 还有其他金属基纳米粒子(包括 Mn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Ti^{3+})^[49](图3)。在肿瘤细胞中, Fe^{2+} 与过氧化氢反应, 生成 Fe^{3+} 、氢氧根和羟基自由基, 后者可以通过调控肿瘤细胞内源性或外源性凋亡途径诱导其凋亡。例如, 在人乳腺癌MCF-7细胞中, Fe_3O_4 纳米材料与肿瘤细胞共同培养时, Fe^{2+} 通过芬顿反应消耗肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的过氧化氢, 产生高活性的羟基自由基, 显著杀伤肿瘤细胞^[50]。 Mn^{2+} 可以通过类芬顿反应参与诱导肿瘤细胞凋亡。 MnO_2 在TME中快速分解为 Mn^{2+} , 在生理环境 HCO_3^- 作用下通过类芬顿反应产生高活性的羟基自由基, 进而诱导肿瘤细胞凋亡。此外, MnO_2 还可以将TME中高表达的GSH转变为GSSG, 从而降低GSH对超氧阴离子的清除作用, 进一步提高ROS水平, 诱发肿瘤细胞凋亡^[51]。研究表明, 在宫颈癌的治疗中, 由牛血清白蛋白(albumin from bovine serum, BSA)包裹的 MnO_2 纳米复合材料BSA- MnO_2 通过静脉注射后, 在肿瘤细胞中显著积累, 产生高活性的ROS, 从而引起肿瘤细胞的凋亡^[52]。

除金属基单独使用, 还有许多纳米药物通过偶联其他成分发挥多重抗肿瘤作用。已有研究报道, GSH耗尽药物 β -Lapachone被装载到含 Fe^{3+} 的纳米颗粒(nanoparticles, NPs)中, 协同增加ROS水平, 导致人肺癌A549细胞发生凋亡^[53]。X射线和NCs(Au@Se-R/A NCs)联合处理培养黑色素瘤A375细胞时, 诱导ROS过量产生, 协同激活AKT、p53和DNA损伤介导的相关信号通路, 从而促进A375细胞的死亡^[54]。有研究人员利用金属铋(Bi)原子序数大的特性, 发现将其作为辐射增敏剂能增加肿瘤细胞的局部X线辐射剂量。因此, 采用含铋的纳米颗粒 $\text{Bi}_2\text{Se}_3\text{-MnO}_2$, 结合放疗治疗乳腺癌, 显著提高了X射线在乳腺癌4T1细胞中的沉积, 刺激产生更高水平的ROS, 达到了促进4T1细胞凋亡的目的^[55]。此外, 元素金(Au)通过生物合成的花生形金纳米颗粒在可见光(near infrared, NIR)照射下, 破坏氧化还原平衡, 产生高水平的ROS杀死肿瘤细胞。有研究表明, 在卵巢癌SKOV-3细胞中注射花生形金纳米颗粒(AuPNPs)后经过NIR照射, 干扰了GSSG-GSH平衡, 导致GSH的显著消耗, 产生过量的ROS, 触发细胞凋亡和自噬, 降低了卵巢癌细胞

的增殖能力^[56]。可见, 目前此方向的研究热点仍主要集中在整合不同成分纳米材料的多种特性(如光学、电学、催化化学等)方面, 以更大程度上提高肿瘤细胞摄取率和降低正常细胞毒性, 为临床实践转化做好临床前准备。

5 讨论

近年来, 基于ROS水平的抗肿瘤研究引起了越来越多关注, 但仍有很多问题需要考虑。首先, ROS水平在肿瘤细胞中具有双重作用, 然而其生理作用随浓度、持续时间及作用的肿瘤细胞的变化而改变^[57]。但是, ROS发挥不同作用的具体浓度范围尚无明确报道, 未来需要进一步明确ROS杀伤肿瘤细胞的浓度范围, 并且验证这一浓度范围对正常细胞的增殖有无影响, 为其临床应用提供理论依据。其次, 尽管ROS和自噬之间存在复杂的双向调控关系已经确定, 但仍有许多未解之谜。例如, 细胞如何调控自噬机制以响应不同水平的ROS^[58]? 再次, 有关ROS调控肿瘤细胞周期的研究中, 仅报道了蛋白质(半胱氨酸)和DNA(8-氧代鸟嘌呤)发生了氧化损伤, 还需进一步探究ROS在细胞周期各种信号途径中的潜在影响以明确其作用机制^[27]。此外, 有研究表明, 耐药癌细胞清除ROS的能力明显大于正常细胞^[11], 这也是化疗药物发生耐药和肿瘤复发的原因, 因此, 基于ROS的肿瘤耐药机制值得深入研究以解决临床肿瘤耐药这一棘手问题。最后, 随着新型纳米药物研发热度的不断攀升, 基于ROS调控的纳米药物的研究越来越多, 纳米材料联合传统抗肿瘤治疗的作用机制并未完全明晰, 通过纳米材料生物学和物理学双重特性同时达到治疗和监测的目的, 未来有望在肿瘤疗效的预测、评估、以及机制探索中发挥更大的作用。

参考文献

- [1] Nakamura H, Takada K. Reactive oxygen species in cancer: current findings and future directions. *Cancer Sci*, 2021, 112(10): 3945-3952
- [2] Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 80: 50-64
- [3] Cui Q, Wen S, Huang P. Targeting cancer cell mitochondria as a therapeutic approach: recent updates. *Future Medicinal Chem*, 2017, 9(9): 929-949

- [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] Jeek P, Hlavatá L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(12): 2478-2503
- [6] Sabharwal SS, Schumacker PT. Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel? *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(11): 709-721
- [7] Renaudin X. Reactive oxygen species and DNA damage response in cancer. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2021, 364: 139-161
- [8] Chio IIC, Tuveson DA. ROS in cancer: the burning question. *Trends Mol Med*, 2017, 23(5): 411-429
- [9] Moldogazieva NT, Mokhosoev IM, Mel'nikova TI, et al. Dual character of reactive oxygen, nitrogen, and halogen species: endogenous sources, interconversions and neutralization. *Biochem Moscow*, 2020, 85(S1): 56-78
- [10] Magnani F, Mattevi A. Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases. *Curr Opin Struct Biol*, 2019, 59: 91-97
- [11] Cui Q, Wang JQ, Assaraf YG, et al. Modulating ROS to overcome multidrug resistance in cancer. *Drug Resistance Updates*, 2018, 41: 1-25
- [12] Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Interactions between reactive oxygen species and autophagy. *Biochim Biophys Acta*, 2021, 1868(8): 119041
- [13] Zou Z, Chang H, Li H, et al. Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy. *Apoptosis*, 2017, 22(11): 1321-1335
- [14] 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
- [15] Korbecki J, Simiska D, Gssowska-Dobrowolska M, et al. Chronic and cycling hypoxia: drivers of cancer chronic inflammation through HIF-1 and NF- κ B activation: a review of the molecular mechanisms. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10701
- [16] Khan S, Raj D, Jaiswal K, et al. Modulation of host mitochondrial dynamics during bacterial infection. *Mitochondrion*, 2020, 53: 140-149
- [17] van der Toorn M, Rezayat D, Kauffman HF, et al. Lipid-soluble components in cigarette smoke induce mitochondrial production of reactive oxygen species in lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 297(1): L109-L114
- [18] Kong H, Chandel NS. Regulation of redox balance in cancer and T cells. *J Biol Chem*, 2018, 293(20): 7499-7507
- [19] Wang J, Liu N, Jiang H, et al. Reactive oxygen species in anticancer immunity: a double-edged sword. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9: 784612
- [20] Dewaele M, Maes H, Agostinis P. ROS-mediated mechanisms of autophagy stimulation and their relevance in cancer therapy. *Autophagy*, 2010, 6(7): 838-854
- [21] Zhou B, Xia M, Wang B, et al. Clarithromycin synergizes with cisplatin to inhibit ovarian cancer growth *in vitro* and *in vivo*. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 107
- [22] Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, et al. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science*, 2008, 320(5876): 661-664
- [23] Kleih M, Böpple K, Dong M, et al. Direct impact of cisplatin on mitochondria induces ROS production that dictates cell fate of ovarian cancer cells. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 851
- [24] Srinivas US, Tan BWQ, Vellayappan BA, et al. ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biol*, 2019, 25: 101084
- [25] Choi YH. Isorhamnetin induces ROS-dependent cycle arrest at G₂/M phase and apoptosis in human hepatocarcinoma Hep3B cells. *Gen Physiol Biophys*, 2019, 38(6): 473-484
- [26] Verbon EH, Post JA, Boonstra J. The influence of reactive oxygen species on cell cycle progression in mammalian cells. *Gene*, 2012, 511(1): 1-6
- [27] Patterson JC, Joughin BA, van de Kooij B, et al. ROS and oxidative stress are elevated in mitosis during asynchronous cell cycle progression and are exacerbated by mitotic arrest. *Cell Syst*, 2019, 8(2): 163-167.e2
- [28] Zhou Y, Feng X, Wang L, et al. LGH00031, a novel orthoquinonoid inhibitor of cell division cycle 25B, inhibits human cancer cells via ROS generation. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(9): 1359-1368
- [29] Chen YC, Wang PY, Huang BM, et al. 16-Hydroxycyclo-octa-3,13-Dien-15,16-Olide induces apoptosis in human bladder cancer cells through cell cycle arrest, mitochondria ROS overproduction, and inactivation of egfr-related signalling pathways. *Molecules*, 2020, 25(17): 3958
- [30] Li L, Tan J, Miao Y, et al. ROS and autophagy: interactions and molecular regulatory mechanisms. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(5): 615-621
- [31] Lv W, Sui L, Yan X, et al. ROS-dependent Atg4 upregulation mediated autophagy plays an important role in Cd-induced proliferation and invasion in A549 cells. *Chemico Biol Interactions*, 2018, 279: 136-144
- [32] Wang S, Li Z, Liu W, et al. Neohesperidin induces cell cycle arrest, apoptosis, and autophagy via the ROS/JNK signaling pathway in human osteosarcoma cells. *Am J Chin Med*, 2021, 49(5): 1251-1274
- [33] Mao L, Liu H, Zhang R, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy inhibits warangalone-induced mitochondrial

- apoptosis in breast cancer cells. *Aging*, 2021, 13(9): 12955-12972
- [34] Kuczler MD, Olseen AM, Pienta KJ, et al. ROS-induced cell cycle arrest as a mechanism of resistance in polyan euploid cancer cells (PACCs). *Prog Biophys Mol Biol*, 2021, 165: 3-7
- [35] Cui L, Bu W, Song J, et al. Apoptosis induction by alantolactone in breast cancer MDA-MB-231 cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrion-dependent pathway. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(3): 299-313
- [36] Duan F, Yu Y, Guan R, et al. Vitamin K2 induces mitochondria-related apoptosis in human bladder cancer cells via ROS and JNK/p38 MAPK signal pathways. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161886
- [37] Dilshara MG, Jayasooriya RGPT, Molagoda IMN, et al. Silibinin sensitizes TRAIL-mediated apoptosis by upregulating DR5 through ROS-induced endoplasmic reticulum stress-Ca²⁺-CaMKII-Sp1 pathway. *Oncotarget*, 2018, 9(12): 10324-10342
- [38] Su LJ, Zhang JH, Gomez H, et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 1-13
- [39] Yang J, Zhou Y, Xie S, et al. Metformin induces ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 206
- [40] Chen P, Wu Q, Feng J, et al. Erianin, a novel dibenzyl compound in Dendrobium extract, inhibits lung cancer cell growth and migration via calcium/calmodulin-dependent ferroptosis. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 51
- [41] Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(12): 931-947
- [42] Balan DJ, Rajavel T, Das M, et al. Thymol induces mitochondrial pathway-mediated apoptosis via ROS generation, macromolecular damage and SOD diminution in A549 cells. *Pharmacol Rep*, 2021, 73(1): 240-254
- [43] Cao P, Xia Y, He W, et al. Enhancement of oxaliplatin-induced colon cancer cell apoptosis by alantolactone, a natural product inducer of ROS. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(8): 1676-1684
- [44] Kobayashi T, Makino T, Yamashita K, et al. APR-246 induces apoptosis and enhances chemo-sensitivity via activation of ROS and Tap73-Noxa signal in oesophageal squamous cell cancer with TP53 missense mutation. *Br J Cancer*, 2021, 125(11): 1523-1532
- [45] 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
- [46] Tsai CH, Hsieh PW, Lee YC, et al. 3'-Hydroxy-4'-methoxy- β -methyl- β -nitrostyrene inhibits tumor growth through ROS generation and GSH depletion in lung cancer cells. *Life Sci*, 2017, 172: 19-26
- [47] Sleire L, Skeie BS, Netland IA, et al. Drug repurposing: sulfasalazine sensitizes gliomas to gamma knife radiosurgery by blocking cystine uptake through system Xc, leading to glutathione depletion. *Oncogene*, 2015, 34(49): 5951-5959
- [48] Wang Y, Yu RY, Zhang J, et al. Inhibition of Nrf2 enhances the anticancer effect of 6-O-angeloylenolin in lung adenocarcinoma. *Biochem Pharmacol*, 2017, 129: 43-53
- [49] Xin J, Deng C, Aras O, et al. Chemodynamic nanomaterials for cancer theranostics. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 192
- [50] Mamat M, Wang X, Wu L, et al. CaO₂/Fe₃O₄ nanocomposites for oxygen-independent generation of radicals and cancer therapy. *Colloids Surfs B-Biointerfaces*, 2021, 204: 111803
- [51] Yang G, Ji J, Liu Z. Multifunctional MnO₂ nanoparticles for tumor microenvironment modulation and cancer therapy. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*, 2021, 13(6): 1-15
- [52] Zhang L, Chen Q, Zou X, et al. Intelligent protein-coated bismuth sulfide and manganese oxide nanocomposites obtained by biomineralization for multimodal imaging-guided enhanced tumor therapy. *J Mater Chem B*, 2019, 7(34): 5170-5181
- [53] Chen Q, Zhou J, Chen Z, et al. Tumor-specific expansion of oxidative stress by glutathione depletion and use of a fenton nanoagent for enhanced chemodynamic therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(34): 30551-30565
- [54] Chang Y, He L, Li Z, et al. Designing core-shell gold and selenium nanocomposites for cancer radiochemotherapy. *ACS Nano*, 2017, 11(5): 4848-4858
- [55] Yao Y, Li P, He J, et al. Albumin-templated Bi₂Se₃-MnO₂ nanocomposites with promoted catalase-Like activity for enhanced radiotherapy of cancer. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(24): 28650-28661
- [56] Piktet E, Ociowska I, Suprewicz, et al. ROS-mediated apoptosis and autophagy in ovarian cancer cells treated with peanut-shaped gold nanoparticles. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1993-2011
- [57] Cheung EC, Vousden KH. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(5): 280-297
- [58] Zhou J, Li XY, Liu YJ, et al. Full-coverage regulations of autophagy by ROS: from induction to maturation. *Autophagy*, 2022, 18(6): 1240-1255