

# 亚细胞区室氧化还原状态的调控及其对细胞的影响

储慧玲 闫琼宇 易静 杨洁\*

(上海交通大学医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海肿瘤微环境和炎症重点实验室, 上海 200025)

**摘要** 细胞氧化还原状态(redox status)或氧化还原势能(redox potential)是细胞重要的生理指标之一, 它的稳态影响细胞的功能活动和生命活动。氧化还原状态主要指细胞的活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平, 受活性氧生成系统与清除系统共同调控, 同时也能够对下游大分子、亚细胞区室及细胞增殖、分化和凋亡等产生影响。虽然对分子及细胞水平的氧化还原调控及其对细胞整体的影响研究相对较多, 但对细胞器自身或亚细胞区室水平的关注不多, 这些变化在细胞整体应激应答中的贡献也不清楚。该文简介细胞内主要的ROS生成系统与清除系统, 并对目前各亚细胞区室的氧化还原状态及其调控的研究和认识进行主要综述, 以期能够深入而全面地理解细胞的氧化还原调控及其影响。

**关键词** ROS生成系统; ROS清除系统; 氧化还原状态; 亚细胞区室

## Redox Regulation of Subcellular Compartments and Impacts on Cells

Chu Huiling, Yan Qiongyu, Yi Jing, Yang Jie\*

(Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, Shanghai Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Inflammation, Institutes of Medical Sciences, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract** Redox status or redox potential is one of the most important and fundamental cellular physical signs and its homeostasis affects cell function and cell life. Redox status refers to the level of reactive oxygen species (ROS) which is coordinated regulated by both of the generation system and scavenging system and in turn regulates downstream molecules, organelles and cells, such as cell proliferation, differentiation and apoptosis. So far, the redox regulation and its effects as a whole have been reported. However, only few studies showed the redox alterations and regulators of organelles or subcellular compartments, its impact on the structure and function of them, eventually the contributions to the overall response to the stress. After summarizing the general intracellular ROS generation system and ROS scavenging system, this review focuses on the specific redox regulator system in subcellular compartments and the consequences of redox changes, which will give rise to an in-depth and comprehensive understanding of the cellular redox regulation and its impacts.

**Keywords** ROS generation system; ROS scavenging system; redox potential; subcellular compartments

细胞氧化还原状态(redox status)或氧化还原势能(redox potential)主要指细胞的活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平, 是细胞重要的生理指标

之一, 它的稳态影响细胞的功能活动及生命活动。活性氧(ROS)是指一类含活性氧原子的化学物质, 具有极度活跃的电子传递能力<sup>[1]</sup>。研究已表明, ROS能

收稿日期: 2015-01-29 接受日期: 2015-04-09

上海市浦江人才计划(批准号: 2013D024)、国家自然科学基金(批准号: 31230037)和国家重点基础研究计划(973计划)(批准号: 2013CB910902)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 021-63846590, E-mail: yangjieyj@shsmu.edu.cn

Received: January 29, 2015 Accepted: April 9, 2015

This work was supported by Shanghai Pujiang Program (Grant No.2013D024), National Natural Science Foundation of China (Grant No.31230037) and the National Basic Research Program of China (973 Program) (Grant No.2013CB910902)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-63846590, E-mail: yangjieyj@shsmu.edu.cn

网络出版时间: 2015-06-01 14:37

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150601.1437.002.html>

够发挥调控和毒性双重作用,既对胞内的脂质、蛋白质和核酸具有强氧化作用,适量ROS又参与细胞多种信号转导调控过程<sup>[2-3]</sup>,是细胞的“双刃剑”。

对细胞ROS的研究已有两百多年的历史,一方面集中于它的调控系统,另一方面关注它的功能和影响。研究首先发现了一系列负责ROS生成和清除的分子,分别称为ROS生成系统和ROS清除系统<sup>[4]</sup>。目前,该调控系统在细胞整体水平研究较多,但在亚细胞区室水平研究并不深入<sup>[5-6]</sup>。ROS对细胞的影响包括氧化修饰大分子、影响细胞生存、增殖、衰老等,也大都为分子水平及细胞整体水平,较少关注亚细胞区室改变。现本文对细胞内主要的ROS生成系统与清除系统进行简介,同时对目前各亚细胞区室的氧化还原状态及其调控的研究发现进行综述。通过总结亚细胞区室的ROS调控系统、该系统对自身结构和功能的影响以及对细胞整体的影响,期望能够深入全面地理解细胞氧化还原调控及其调控的生物学意义。

## 1 细胞的氧化还原状态及调控

ROS是氧的单电子还原产物,包括自由基状态的超氧阴离子(superoxide anion,  $O_2^{\cdot-}$ )、羟基自由基(hydroxyl radical,  $OH^{\cdot}$ )、过氧化物(hydroperoxides,  $RO_2$ )、烷氧基(alcoxyl radicals,  $RO^{\cdot}$ )、过氧羟基(peroxyl radicals,  $HO_2^{\cdot}$ ),也包括非自由基状态的过氧化氢(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )、次氯酸(hypochlorous acids,  $HOCl$ )、单线态氧(singlet oxygen,  $O_2$ )、过氧亚硝基(peroxynitrite,  $ONOO^-$ )等<sup>[7]</sup>。ROS的作用与其半衰期、扩散距离和是否能够跨膜有关。非自由基状态的ROS可自由通过脂膜,而自由基状态的ROS则需借助离子通道。各类ROS的半衰期如表1所示<sup>[8-11]</sup>。

细胞内ROS的产生与清除是一个动态平衡的过程,现就ROS生成系统和清除系统简介如下。

表1 不同ROS物质的半衰期

Table 1 Half-life time of reactive oxygen species

活性氧 Reactive oxygen species	半衰期(秒) Half-life time (s)	参考文献 Reference
$HO_2^{\cdot}$	~10	[9]
$ONOO^-$	~1	[10]
$H_2O_2/RO_2/HOCl$	$10^{-5}\sim 10^{-3}$	[11]
$O_2^{\cdot-}/O_2/RO^{\cdot}$	~ $10^{-6}$	[8]
$OH^{\cdot}$	$10^{-9}\sim 10^{-6}$	[9]

## 1.1 ROS生成系统

ROS生成系统可通过多种途径将 $O_2$ 单电子还原为ROS,主要有NADPH氧化酶、线粒体呼吸链和黄嘌呤氧化还原酶等,我们对其结构、功能及调节分别进行阐述(图1)。

**1.1.1 NADPH氧化酶** NADPH氧化酶(NADPH oxidase, NOX)是一个主要定位于膜上的氧化酶复合物家族,因其催化亚基的差异而形成七个不同的异构体,每个异构体有一核心催化亚基和五个以上的调节亚基<sup>[12-13]</sup>。调节亚基负责调节催化亚基的组装成熟、活化及在膜上的空间特异性表达<sup>[14]</sup>。催化亚基为多次跨膜蛋白,并有NADPH结合位点,催化NADPH的电子直接转移到 $O_2$ ,其中NOX4催化产生 $H_2O_2$ ,其他酶催化生成 $O_2^{\cdot-}$ <sup>[7,15]</sup>。吞噬细胞的NOX以快速爆发的方式产生ROS,非吞噬细胞则以持续而缓慢的方式产生胞内ROS<sup>[7]</sup>。研究报道,在NOX的活化上,血管紧张素II作用于血管内皮细胞,PI3K信号通路可通过调节NOX的催化亚基磷酸化使胞内ROS升高,调节血管内皮细胞的生长、炎症反应及其在血管收缩中的作用<sup>[16-17]</sup>。

**1.1.2 线粒体呼吸链** 线粒体呼吸链(mitochondrial respiratory chain),亦称电子传递链(electron transfer chain, ETC),由内膜上的四个酶复合物I-IV(NADH-辅酶Q还原酶、琥珀酸-辅酶Q还原酶、细胞色素c还原酶、细胞色素c氧化酶)和ATP合成酶组成,完成高能电子的传递和能量转换。但在这一过程中,少量电子可能在复合物I和复合物III处过早地还原 $O_2$ ,产生 $O_2^{\cdot-}$ ,这与ATP需求减少或合成缺陷有关<sup>[7,18]</sup>。目前,线粒体电子传递链被视为细胞内ROS的主要来源之一<sup>[19]</sup>。

**1.1.3 黄嘌呤氧化还原酶** 黄嘌呤氧化还原酶(xanthine oxidoreductase, XOR)主要参与嘌呤降解的两个终端反应,将次黄嘌呤氧化成黄嘌呤,进而氧化成尿酸。黄嘌呤氧化还原酶在胞内扮演氧化或还原的角色,与其所处环境的 $O_2$ 浓度、pH值、嘌呤含量有关<sup>[20]</sup>。当黄嘌呤氧化还原酶氧化转变成黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)时,在催化嘌呤降解反应中可部分将电子传递给 $O_2$ ,最终产生 $H_2O_2$ 、 $O_2^{\cdot-}$ 等<sup>[21-22]</sup>。另外,黄嘌呤氧化还原酶通常游离在胞内,但亦可在低氧或炎症刺激下,部分分泌出膜。

## 1.2 ROS清除系统

细胞内的抗氧化系统主要有超氧化物歧化酶、

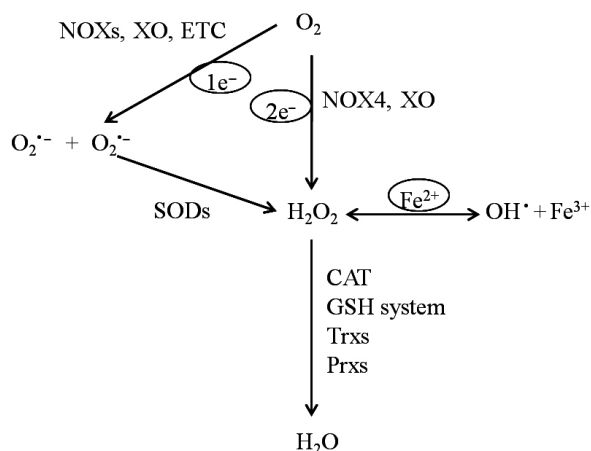


图1 哺乳动物细胞内ROS的生成与清除途径  
(根据参考文献[8]修改)

Fig.1 The main pathways of generation and scavenging of reactive oxygen species (ROS) in mammalian cells (modified from reference [8])

过氧化氢酶、谷胱甘肽系统、硫氧还蛋白系统和过氧化物氧化蛋白等(图1), 其中前两种酶可单独发挥功能, 清除主要的ROS、 $H_2O_2$ 和 $O_2^{\cdot-}$ ; 而两个系统则利用细胞主要的还原当量谷胱甘肽(glutathione, GSH)和NADPH(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate), 清除ROS并维持蛋白质的还原状态; 另外, 硫氧还蛋白(thiolredoxins, Trxs)、谷氧还蛋白(glutaredoxins, Grxs)、过氧化物氧化蛋白(peroxiredoxins, Prxs)自身被氧化从而保证其他蛋白质的还原。

1.2.1 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SODs)在细胞内普遍存在, 可结合铜、锌、锰等金属辅因子, 催化 $O_2^{\cdot-}$ 向 $H_2O_2$ 的转变<sup>[23-24]</sup>。SODs有三种异构体SOD1~3, 分别有不同的亚细胞定位<sup>[25-26]</sup>。过氧化氢酶(catalase, CAT)合成后将快速进入过氧化物酶体发挥作用, 能够催化 $H_2O_2$ 生成 $H_2O$ 和 $O_2$ , 且催化活性非常高, 效率可达 $\sim 10^7$  mol/s, 而胞质中CAT少且不成熟<sup>[27-29]</sup>。

1.2.2 谷胱甘肽系统 谷胱甘肽系统主要包含一个短肽和四个酶: 谷胱甘肽、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidases, GPxs)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferases, GSTs)及谷氧还蛋白Grxs<sup>[4,30]</sup>。该系统利用GSH和NADPH作为还原当量, 清除ROS和有机氢过氧化物, 并通过GPxs与GR完成GSH的循环利用, 同时还原蛋白质巯基(图2A)。GSH是胞内分布最广的还原当量<sup>[31]</sup>, 其还原型/氧化型比率可作为胞内氧化还原状态的主要指标之一<sup>[30]</sup>。GPxs分

为8类GPx1~8, 根据活性位点的半胱氨酸(Cysteine, Cys)不同, 定位也有差异<sup>[32]</sup>。另外, Grxs可逆地催化蛋白质的谷胱甘肽化(PrSSG, GS-ylation)与去谷胱甘肽化(Pr-SH)<sup>[30,33]</sup>, GSTs则能够催化底物与GSH的结合, 清除其活性, 同时调节GSH的量(图2A)。GSTs家族分为3个超家族, 有不同的亚细胞定位。

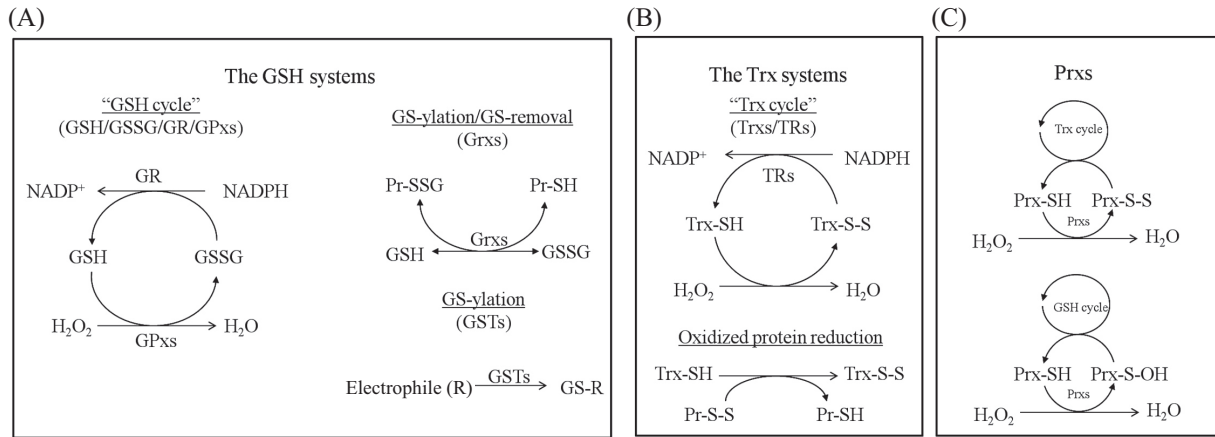
1.2.3 硫氧还蛋白系统 硫氧还蛋白系统类似谷胱甘肽系统, 包含硫氧还蛋白和硫氧还原蛋白还原酶(thioredoxin reductases, TR)<sup>[30]</sup>, 能够利用NADPH作为还原当量, 清除 $H_2O_2$ 和脂质过氧化物, 同时保持蛋白质巯基的还原态, 发挥抗氧化作用(图2B)。Trxs的活性位点含有两个Cys, 催化氧化型的蛋白质还原时, 自身的Cys氧化形成二硫键<sup>[30,34]</sup>。TR则利用NADPH, 催化氧化态Trx(Trx-S-S)还原(Trx-SH), 从而形成Trx的循环<sup>[34-35]</sup>。Trx主要有两个异构体Trx1~2, 且TR与Trxs对应TR1~2<sup>[36]</sup>, 有不同的亚细胞定位, 可能参与这些区室的抗氧化调控。Trx3/TR3很少, 在精原细胞的高尔基体略有表达<sup>[37]</sup>。

1.2.4 过氧化物氧化蛋白 过氧化物氧化蛋白通常含有一个保守的半胱氨酸, 完成 $H_2O_2$ /过氧化物依赖的氧化和GSH/Trxs的巯基依赖的还原, 其特点是催化效率较低, 可能在较低水平 $H_2O_2$ 中发挥清除作用。Prxs包含6个家族成员Prx1~6, 含有不同的Cys数目和亚细胞定位, 且不同Prxs分别与谷胱甘肽系统和硫氧还蛋白系统协同作用: Prx1~5与Trxs协同作用, 清除ROS( $H_2O_2$ 、有机过氧化氢、ONOO<sup>-</sup>), 而Prx6则需从GSH处得来电子<sup>[38]</sup>, 清除 $H_2O_2$ (图2C)。

值得一提的是, 芬顿反应(Fenton reaction)是利用铁离子的氧化物/抗氧化物, 可逆性地清除和生成ROS<sup>[7]</sup>, 我们将其单独列出。胞内存在大量 $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ , 二者可通过芬顿反应进行转换:  $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightleftharpoons Fe^{3+} + OH^{\cdot}$ <sup>[39]</sup>。目前的研究表明, 芬顿反应主要在线粒体、细胞外基质、细胞质基质及溶酶体等亚细胞区室中发挥功能<sup>[7]</sup>。

### 1.3 氧化还原状态和氧化应激

细胞内物质的还原能力指这些物质从氢中获得电子的能力, 即电子亲和力。将氢的能力设为0, 细胞内物质为电负性, 用Eh表示, 单位为mV。由于氧化和还原反应总是相伴, 故细胞的氧化还原状态是细胞内氧化和还原能力的平衡状态, 表示为氧化还原势能(oxidation reduction potential, ORP), 是指电子由还原物质向氧化物质传递的能力<sup>[40-42]</sup>, 目前多



A: 谷胱甘肽系统; B: 硫氧还蛋白系统(A、B根据参考文献[30]修改); C: 过氧化物氧化蛋白。

A: the GSH systems; B: the Trx systems (A,B modified from reference [30]); C: Prxs.

图2 细胞谷胱甘肽系统、硫氧还蛋白系统和过氧化物氧化蛋白

Fig.2 The GSH systems, Trx systems and Prxs in the cells

以还原当量与对应氧化形式的比值表示, 包括还原型和氧化型GSH比值GSH/GSSG<sup>[33]</sup>、NADH/NAD<sup>+</sup>、NADPH/NADP<sup>+</sup><sup>[43]</sup>、Trx-SH/Trx-S-S<sup>[34]</sup>。另外, 也可应用蛋白质探针在活细胞水平检测ORP, 如环形排列的荧光蛋白探针(circularly permuted fluorescent proteins, cpGFP)特异检测超氧化物<sup>[44]</sup>、cpYFP荧光蛋白融合OxyR的HyPer探针特异敏感地检测H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>[45]</sup>、氧化还原敏感的绿色荧光蛋白(redox-sensitive green fluorescent proteins, roGFP)反映蛋白质巯基-二硫键的转换代表ROS的总体水平<sup>[46]</sup>。由于细胞内大部分亚细胞区室由膜包被, 可测定相对独立的Eh值, 多以mV为单位<sup>[40]</sup>, 本文将主要介绍各区室的氧化还原状态及调控。

正常情况下, 细胞的ROS维持在较低水平, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>含量<0.1 mmol/L<sup>[47]</sup>, 细胞处于氧化还原平衡状态, 蛋白质也大多处于还原状态, 研究已发现大部分胞内蛋白质保持还原状态是发挥功能的前提<sup>[46]</sup>。然而, 当细胞内外环境异常造成ROS的产生增多或清除障碍时, 氧化还原状态失衡, 细胞内的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>可升高100~1 000倍, 这种应激状态称为氧化应激(oxidative stress)。过量的ROS引发一系列反应, 包括蛋白质的氧化修饰(oxidative modification)、活性改变或移位、信号转导及基因表达改变等, 统称为氧化应激(oxidative stress)应答<sup>[48-49]</sup>。轻度氧化应激可激活相应信号通路, 而重度应激则引起分子过度氧化、亚细胞区室改变及细胞不可逆损伤<sup>[2-3,49]</sup>。氧化应激时, 蛋白质的氧化修饰也成为调控其功能的重要翻译后修饰方式。

## 2 各亚细胞区室的氧化还原状态及其调控

目前, 氧化还原状态及氧化应激的研究在细胞整体水平已较多, 正逐渐深入到亚细胞区室。研究以各区室的Eh值按还原到氧化排列如下: 线粒体(-330 mV)、细胞核(-280 mV)、细胞质基质(-250 mV)、内质网(-170 mV)、细胞外基质(-150 mV)<sup>[30,50-52]</sup>, 如图3所示。对于高尔基体、溶酶体、过氧化物酶体、中心体、蛋白酶体和核糖体, 它们准确的Eh值并未测定, 但它们含有的某些物质被报道可能具有调控氧化还原状态的功能。本文将对上述有膜包被和无膜包被的细胞区室分别进行阐述。

### 2.1 有膜包被的亚细胞区室的氧化还原状态及调控

有膜包被的亚细胞区室主要有七类: 线粒体、细胞核、细胞质基质、内质网、高尔基体、溶酶体和过氧化物酶体, 细胞外基质虽不被脂膜包被, 但其氧化还原调控与细胞息息相关, 也将其列入此类。我们根据研究进展, 对各亚细胞区室特异的ROS产生和清除系统及各区室之间的调控进行综合和阐述, 同时也对各区室氧化还原状态对细胞整体的影响进行综述。

2.1.1 线粒体 线粒体(mitochondrion)是细胞内ROS的主要来源, 但也是胞内最为还原的细胞器之一, Eh值在-280 mV到-330 mV之间, 主要还原物质GSH 5 mmol/L, GSH/GSSG比约10:1<sup>[18-19,33,54-55]</sup>。线粒体ROS的主要来源是内膜上ETC的电子漏出与NOX4的催化以及穿过线粒体膜的胞质ROS<sup>[15]</sup>。线粒体内也存在大量ROS清除系统: GSH、SOD2及少量SOD1<sup>[23-24]</sup>、Trx2/TR2<sup>[34]</sup>、Prx3/4/5<sup>[47,56-57]</sup>、GSH系

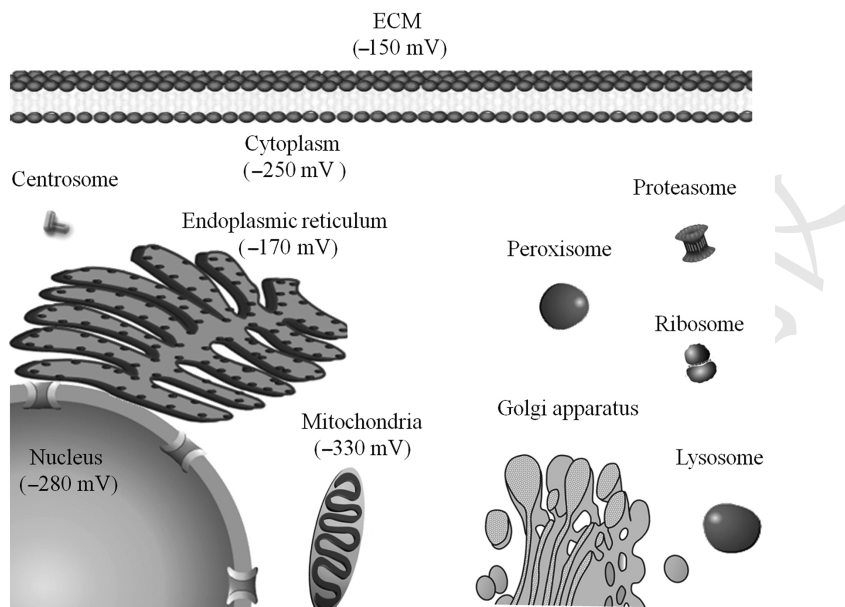


图3 细胞各亚细胞区室的氧化还原势能(根据参考文献[30,50-52]修改)

Fig.3 The ORP of the subcellular compartments (modified from references [30,50-52])

统的Grx2a、Grx5、GPx1/4、GSTp<sup>[30,33]</sup>。另外, 凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)也被报道参与ETC复合物I/III的形成, 并同时竞争性抑制电子的漏出和ROS的生成<sup>[31,58-59]</sup>。在神经元中, 突变蛋白Parkin(Parkinson protein)、Pink1(PTEN-induced kinase 1)等被发现在氧化应激条件下能够移位至线粒体, 发挥抗氧化功能<sup>[60]</sup>。综上, 这些抗氧化物质可有效地清除或减少线粒体中的ROS, 维持自身稳定的氧化还原状态(图4A)。

值得注意的是, 当胞内ROS升高可能影响线粒体的功能, 继发性地使ROS进一步升高, 称为“ROS诱导的ROS产生”。氧化应激时, 线粒体三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)的相关酶被氧化、线粒体DNA被氧化造成电子传递链复合物表达下调、线粒体内膜心磷脂的氧化、内外膜上离子通道的改变等均可导致线粒体来源ROS产生增多, 最终使胞内总体ROS继发性升高<sup>[59,61-64]</sup>。

综上, 线粒体既能在生理条件下维持自身较为还原的状态; 又能在胞内ROS升高到一定程度时, 产生更多ROS, 促进细胞凋亡, 在细胞整体的氧化还原调控、应激应答及细胞凋亡中发挥复杂的作用。

2.1.2 细胞核 细胞核(nucleus)在氧化还原调控的研究中涉及较多, 且其氧化还原状态的改变调节了一系列转录因子和核蛋白的活化/失活, 影响基因表达、DNA的复制与修复、细胞增殖及染色质重构等, 从而影响细胞活动。细胞核的Eh值~-280 mV, GSH

约20 mmol/L, GSH/GSSG比为30:1~100:1<sup>[30,33,65]</sup>。目前, 细胞核膜及核内几乎无氧化酶的报道, ROS多是直接穿过核膜而来, 而细胞核特异的抗氧化酶的种类主要有: SOD1<sup>[24-25]</sup>、Trx1/TR1<sup>[30,34]</sup>、Prx1/2<sup>[66-67]</sup>、GSH系统的Grx1/2c/2b、GPx4、GSTp与GSTt<sub>1-1</sub><sup>[30,33]</sup>。另外, 研究也发现, 细胞核内的APEX1(apurinic/apyrimidinic endonuclease)和MTH1(mutT homologue)可能兼具抗氧化能力, 与氧化脱氧核苷酸的清除有关<sup>[68-70]</sup>(图4B)。

在细胞核内存在核仁(nucleolus)这个特殊区域, 故可将细胞核内部区分为两个亚区室: 核仁和核仁以外的核质(nucleoplasm), 其中核仁无膜包被, 主要负责核糖体生物合成和细胞应激应答。虽然目前研究并未注意抗氧化系统在这两个区域的不同, 但本组研究已发现氧化应激时, 核仁和核质蛋白质的氧化修饰不同, 提示这些亚区室有不同的氧化还原状态, 且可能与含有不同的抗氧化物质有关。

核蛋白受核内氧化还原状态的影响, 其自身的氧化修饰能够调节其活性、定位及与DNA的相互作用, 其中转录因子NF-κB是研究最多的氧化修饰调控核蛋白。NF-κB通常以非活化形式分布在细胞质基质中, 在炎症等多种病理条件下, ROS的升高通过多环节调节NF-κB。首先, 抑制因子IκB磷酸化降解被增强, NF-κB的p50和p65更易入核; 其次, p50和p65皆可被氧化修饰——谷胱甘肽化, 能够增加其活化和向细胞核的移位; 最后NF-κB与DNA的结合活

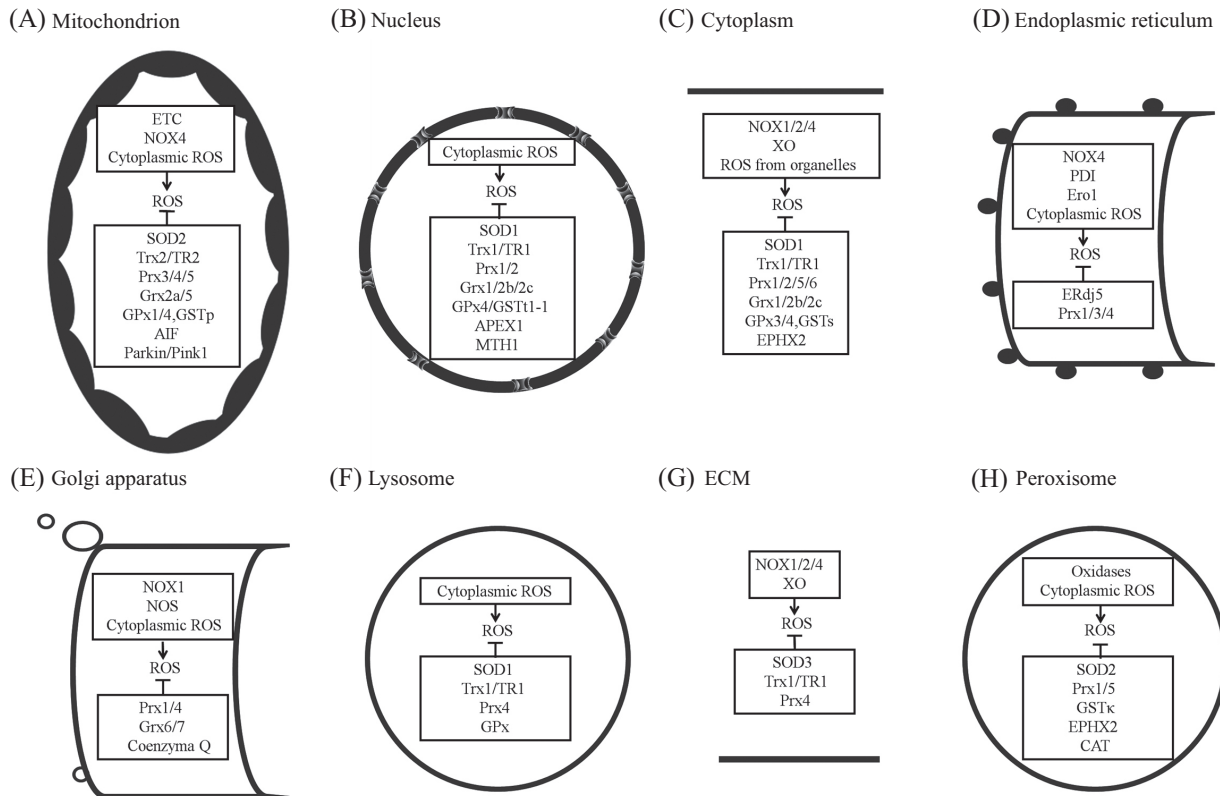


图4 膜包被的亚细胞区室的氧化还原调控系统

Fig.4 The specific redox regulation in the membrane enclosed subcellular compartments

性却因氧化修饰而下降<sup>[4]</sup>, 因而最终以复杂的整合方式调控NF- $\kappa$ B的促转录功能, 在炎症应答、细胞增殖中发挥调控功能。另外, 在疾病或衰老中, 细胞核内ROS持续升高, 生物大分子氧化, 除核蛋白氧化使基因表达等受影响外, DNA也氧化损伤, 基因组不稳定, 导致细胞功能进一步紊乱。

**2.1.3 细胞质基质** 细胞质基质(cytoplasm)是细胞主要的内环境, 富含各种酶和底物, 动态地进行物质代谢和信号传递, 也与各细胞器紧密联系, Eh值范围在-221~236 mV, GSH 1~11 mmol/L, GSH/GSSG比为30:1~100:1, 也是较为还原的环境<sup>[4,33]</sup>。

细胞质基质的氧化还原调控系统非常丰富, ROS产生主要由细胞膜上的NOX1/2/4<sup>[51]</sup>、胞质内大量黄嘌呤氧化酶催化和线粒体的释放<sup>[22]</sup>, 而抗氧化物质主要有SOD1<sup>[24-25]</sup>、Trx1/TR1、Prx1/2/5/6<sup>[38,56,66-67]</sup>、GSH系统的Grx1/2b/2c、GPx3/4和绝大多数GSTs<sup>[30,33]</sup>。环氧(化)物酶2(epoxide hydrolase 2, EPHX2)也被报道能够催化脂肪酸衍生环氧化物转换, 具有抗氧化的作用<sup>[71]</sup>(图4C)。研究发现, 在EGF/PDGF等生长因子刺激时, 细胞膜上的NOX同时激活, 故靠近质

膜区域的胞质ROS升高, 这与很多研究发现的各种外界刺激都会造成细胞内ROS升高类似<sup>[48-49]</sup>。重要的发现是质膜上的抗氧化物Prx1和Prx2的不同应答和效应, Prx2自身形成高氧化(hyperoxidation)失活, 而Prx1因磷酸化失活, 最终使靠近细胞膜处ROS剧烈升高, 信号转导增强。这种现象在皮肤伤口愈合的动态变化中发生, 研究虽未检测ROS水平, 但分析了Prxs与Trxs或Grxs在不同程度ROS中的不同作用, 提示了氧化应激及其精细调控的生理学意义<sup>[47]</sup>。除了区域性地活化信号通路, 细胞质基质中的氧化还原状态也能够调节细胞骨架的重组<sup>[72]</sup>和代谢反应<sup>[3]</sup>等。

**2.1.4 内质网** 内质网(endoplasmic reticulum, ER)的氧化还原状态是细胞中最为氧化的, 其Eh范围-170~-185 mV, GSH约4.5 mmol/L, GSH:GSSG比为1:1~3:1<sup>[33,53,73]</sup>。内质网膜上的NOX4负责ROS的产生, 而GSH和抗氧化酶种类不多, 主要有ERdj5(endoplasmic reticulum-localized DnaJ)和Prx1/3/4<sup>[33,47,56-57,66-67]</sup>(图4D)。

内质网是细胞内的膜性细胞器, 主要负责蛋白合成与折叠, 其中二硫键形成的氧化折叠与其氧

化环境密切相关, 蛋白二硫键异构酶家族(protein disulfide isomerases, PDI)与Ero1(ER oxidoreductin 1)是负责此功能的主要酶类<sup>[33]</sup>。PDI家族成员PDI、ERp57、ERp44、ERp27以及还原物质ERdj5皆有类Trx的催化活性。Ero1是PDI的氧化酶, 每形成一分子二硫键, 消耗一分子氧, 并产生一分子 $H_2O_2$ <sup>[74]</sup>。氧化后的PDI能够催化内质网新合成蛋白质的巯基转换为二硫键<sup>[74-76]</sup>。ERdj5作为一个还原酶, 在还原错误折叠蛋白的二硫键时, 亦与PDI家族成员形成氧化还原调节分子对, 催化ROS的清除<sup>[76]</sup>。

细胞ROS升高对内质网功能有直接影响, 同时, 内质网应答也间接导致ROS的继续升高。ROS直接干扰内质网蛋白质的氧化折叠, 诱发未折叠蛋白质反应(unfolding protein response, UPR)和内质网应激(ER stress)。另一方面, ROS的升高导致内质网膜上的钙离子通道改变, 内质网钙离子流失、胞内钙离子升高, 既引起内质网腔内诸多钙依赖的分子伴侣(如PDI、Ero1)功能失调和蛋白质错误折叠, 又能够激活自噬(autophagy)信号通路。同时, 钙离子异常也活化细胞膜上的NOX<sup>[74-75,77]</sup>, 介导线粒体ROS的升高<sup>[63-64]</sup>。

**2.1.5 高尔基体、溶酶体及细胞外基质** 高尔基体是细胞的分选运输系统, 胞内脂类、蛋白质等在这里被加工修饰和分选, 参与生物合成-分泌途径, 经过加工修饰的蛋白质最终经小泡运输到溶酶体(lysosome)、细胞膜及细胞外, 同时高尔基体与内质网的结构和功能也紧密联系, 提示上述细胞区室可能具有类似的氧化还原调控系统。

目前, 高尔基体、溶酶体和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的氧化还原调控已有报道。高尔基体膜上的NOX1催化产生ROS, 另外, 高尔基体膜上的一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)在氧化应激下发生解耦联, 也产生大量 $O_2^{\cdot-}$ <sup>[78-79]</sup>, 而GSH、Grx6/7和Prx1负责清除ROS<sup>[33]</sup>, 少量辅酶Q抑制脂质过氧化<sup>[80]</sup>。溶酶体的ROS主要来自胞质, 是否也存在膜上的NOX并不清楚, 清除系统则包括SOD1<sup>[24-25]</sup>、Trx1/TR1和少量GPx<sup>[32,57]</sup>。细胞外基质的ROS主要由质膜的NOX催化产生<sup>[13,15]</sup>, 在低氧或炎症刺激下分泌的XO也可催化产生ROS<sup>[21-22]</sup>, 而SOD3<sup>[24,26]</sup>、Trx1/TR1、GSH负责捕获和清除ROS<sup>[33]</sup>。在上述3个区室中同时都有抗氧化的Prx4, 也与内质网类似<sup>[57]</sup>(图4E~图4G)。另外, 细胞外基质是目前已测定Eh的

区室中最为氧化的, Eh值为-140~150 mV, GSH低至 $1.5 \mu\text{mol/L}$ , GSH/GSSG比为2:1~7:1<sup>[33]</sup>。

虽然高尔基体和溶酶体的ROS升高对细胞器自身的影响尚不清楚, 但细胞整体氧化应激对上述两个细胞器的影响已有研究报道。首先, ROS升高后高尔基体可下调内质网释放的 $Ca^{2+}$ , 减少 $Mn^{2+}$ 摄入, 从而抑制SOD等抗氧化酶的活性, 间接影响细胞整体抗氧化作用<sup>[81]</sup>。过高的ROS也可诱导高尔基体相关的微管蛋白降解; 激活高尔基体内的Caspase 2; 与内质网应激综合作用, 最终导致高尔基体破碎, 发生“高尔基体应激”<sup>[82]</sup>。其次, ROS可使溶酶体 $Fe^{2+}$ 大量富集及自身芬顿反应产生的 $OH^{\cdot}$ 等, 都会导致溶酶体膜的通透性(lysosomal membrane permeabilization, LMP)改变, 铁离子与众多水解酶易泄漏入胞质, 造成不同程度的细胞损伤, 尤其是线粒体, 也使线粒体通透性(mitochondria membrane permeabilization, MMP)增加。细胞存活与否一方面看LMP与MMP的损伤程度, 另一方面也依赖于各细胞器的综合作用<sup>[39,83]</sup>。

细胞外基质中的ROS既影响细胞外行为, 也影响细胞内ROS水平和细胞活动。研究发现, 细胞外基质的ROS升高能够促进糖胺聚糖降解并抑制细胞膜上整合素的表达, 导致肿瘤发生上皮间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)和远处转移<sup>[84-85]</sup>。质膜NOX活化后, 细胞外 $H_2O_2$ 水平迅速升高, 大量 $H_2O_2$ 可直接穿过脂膜使胞内ROS也升高, 造成氧化应激<sup>[47]</sup>。

**2.1.6 过氧化物酶体** 过氧化物酶体(peroxisome)富含各种氧化酶类, 是胞内代谢活跃的细胞器之一, 产生大量 $H_2O_2$ , 也含有丰富的过氧化氢酶CAT。

过氧化物酶体中的氧化酶主要有氨基酸氧化酶、L-羟羧酸氧化酶和多胺氧化酶等, 这些酶利用氧分子催化底物氧化时, 也会持续产生副产物ROS<sup>[86]</sup>。过氧化物酶体的抗氧化系统主要为SOD2<sup>[24]</sup>、Prx1/5<sup>[56,66-67]</sup>、GSH/GSSG体系<sup>[33]</sup>、EPHX2<sup>[71]</sup>和CAT<sup>[27-28]</sup>。其中, CAT具有水解过氧化氢和过氧化物酶的双重特性: 一方面催化两个分子的 $H_2O_2$ 生成 $H_2O$ 和 $O_2$ , 清除ROS; 另一方面利用 $H_2O_2$ 氧化各种底物使其失去毒性, 并把 $H_2O_2$ 还原成水<sup>[27-28]</sup>(图4H)。

## 2.2 无膜包被的各亚细胞区室的氧化还原状态及调控

中心体、蛋白酶体和核糖体这三个无膜包被的

亚细胞区室在细胞中行使着各自的功能, 它们的氧化还原状态受细胞质基质的直接影响, 但自身可能也存在着特异性的调控系统, 它们的功能也因细胞整体氧化还原状态的改变而发生变化。

**2.2.1 中心体** 中心体(centrosome)是哺乳细胞重要的微管组织中心, 参与微管网络结构的组织、纺锤体的组装等一系列生物过程<sup>[87]</sup>。中心体的氧化还原调控报道较少, 研究只初步发现抗氧化物质Prx1的可能调控机制。研究发现, 当细胞处于G<sub>2</sub>/M期时, 胞内ROS较其他周期阶段升高<sup>[48]</sup>, 但中心体周围的Prx1因活化的Cdk1而磷酸化并失活, 使局部H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>不能清除, Cdc14B因而活化, 细胞得以进入分裂期, 提示Prx1磷酸化失活是细胞分裂周期进行的重要调控机制<sup>[88]</sup>。也有研究报道, 细胞进入有丝分裂时, 过氧化物酶体会聚拢在中心体处, 推测其可能对中心体处的氧化还原状态产生影响, 可能有利于有丝分裂的进行<sup>[89]</sup>。

**2.2.2 蛋白酶体和核糖体** 蛋白酶体(proteasome)和核糖体(ribosome)分别负责蛋白质的降解和合成, 共同完成蛋白质的质量控制, 虽特异调控它们的氧化还原系统并未发现, 但研究提示了可能的线索。另外, 细胞氧化应激对蛋白酶体和核糖体的影响也被关注。氧化应激时蛋白酶体的开关 $\alpha$ 环易发生氧化修饰, 20S蛋白酶体因而打开, 清除氧化修饰蛋白质的功能增强<sup>[90-91]</sup>; 核糖体也出现因18S rRNA和28S rRNA不同程度的降解造成的功能下降<sup>[92]</sup>。类Prxs的抗氧化酶Tsa1/Tsa2定位于低等真核生物的核糖体中, 但在哺乳动物中尚未发现<sup>[93-94]</sup>。在肿瘤中过度表达的ORAOV1(oral cancer overexpressed 1)也在低等真核生物中具有清除核糖体处ROS的功能<sup>[95]</sup>, 提示其在肿瘤细胞中可能有同样功能。

### 3 结语与展望

细胞内外ROS升高是细胞在各种应激条件下的共同应激反应<sup>[48-49]</sup>, 也是肿瘤细胞的特性之一<sup>[96]</sup>。这种变化及其对细胞结构、功能的影响已受到关注, 对其研究也初步细化到亚细胞水平。亚细胞区室的氧化还原状态是受到精细调控的, 且能够显著影响自身功能, 同时各区室之间也相互调控和整合, 最终共同完成细胞整体水平的应激应答。另外, 细胞周期各阶段氧化还原状态不同能调控中心体局部的状态, 并因此推动细胞周期<sup>[6]</sup>。在逐渐深入的

研究中, 仍应回答的科学问题是: (1)各亚细胞区室有哪些特异性氧化还原调控系统? (2)在轻度或重度氧化应激条件下, 各亚细胞区室如何分别应答? (3)各亚细胞区室的改变如何影响细胞整体的功能和生命活动?

### 参考文献 (References)

- 1 Wang T, Gu J, Wu PF, Wang F, Xiong Z, Yang YJ, *et al.* Protection by tetrahydroxystilbene glucoside against cerebral ischemia: Involvement of JNK, SIRT1, and NF-kappaB pathways and inhibition of intracellular ROS/RNS generation. *Free Radic Biol Med* 2009; 47(3): 229-40.
- 2 Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87(10): 840-4.
- 3 D'Autreaux B, Toledano MB. ROS as signalling molecules: Mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(10): 813-24.
- 4 Lukosz M, Jakob S, Buchner N, Zschauer TC, Altschmied J, Haendeler J. Nuclear redox signaling. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12(6): 713-42.
- 5 Banhegyi G, Mandl J, Csala M. Redox-based endoplasmic reticulum dysfunction in neurological diseases. *J Neurochem* 2008; 107(1): 20-34.
- 6 Qu D, Rashidian J, Mount MP, Aleyasin H, Parsanejad M, Lira A, *et al.* Role of Cdk5-mediated phosphorylation of Prx2 in MPTP toxicity and Parkinson's disease. *Neuron* 2007; 55(1): 37-52.
- 7 Rodino-Janeiro BK, Paradela-Dobarro B, Castineiras-Landeira MI, Raposeiras-Roubin S, Gonzalez-Juanatey JR, Alvarez E. Current status of NADPH oxidase research in cardiovascular pharmacology. *Vasc Health Risk Manag* 2013; 9: 401-28.
- 8 Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004; 52: 794-804.
- 9 Pryor WA. Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetimes, and reactions. *Annu Rev Physiol* 1986; 48: 657-67.
- 10 Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87(1): 315-424.
- 11 Giorgio M, Trinei M, Migliaccio E, Pelicci PG. Hydrogen peroxide: A metabolic by-product or a common mediator of ageing signals? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(9): 722-8.
- 12 Holmstrom KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(6): 411-21.
- 13 Carvalho DP, Dupuy C. Role of the NADPH oxidases DUOX and NOX4 in thyroid oxidative stress. *Eur Thyroid J* 2013; 2(3): 160-7.
- 14 Babior BM. NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol* 2004; 16(1): 42-7.
- 15 Lambeth JD, Kawahara T, Diebold B. Regulation of Nox and Duox enzymatic activity and expression. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(3): 319-31.
- 16 Hoyal CR, Gutierrez A, Young BM, Catz SD, Lin JH, Tschlis PN, *et al.* Modulation of p47PHOX activity by site-specific phosphorylation: Akt-dependent activation of the NADPH oxidase.



- Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100(9): 5130-5.
- 17 Nguyen Dinh Cat A, Montezano AC, Burger D, Touyz RM. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(10): 1110-20.
- 18 Degli EM, McLennan H. Mitochondria and cells produce reactive oxygen species in virtual anaerobiosis: Relevance to ceramide-induced apoptosis. *FEBS Lett* 1998; 430(3): 338-42.
- 19 Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* 2009; 417(1): 1-13.
- 20 Kushiyama A, Okubo H, Sakoda H, Kikuchi T, Fujishiro M, Sato H, *et al.* Xanthine oxidoreductase is involved in macrophage foam cell formation and atherosclerosis development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(2): 291-8.
- 21 Kuwabara Y, Nishino T, Okamoto K, Matsumura T, Eger BT, Pai EF, *et al.* Unique amino acids cluster for switching from the dehydrogenase to oxidase form of xanthine oxidoreductase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(14): 8170-5.
- 22 Cantu-Medellin N, Kelley EE. Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation: A process in critical need of reevaluation. *Redox Biol* 2013; 1(1): 353-8.
- 23 Karnati S, Luers G, Pfreimer S, Baumgart-Vogt E. Mammalian SOD2 is exclusively located in mitochondria and not present in peroxisomes. *Histochem Cell Biol* 2013; 140(2): 105-17.
- 24 Liou W, Chang LY, Geuze HJ, Strous GJ, Crapo JD, Slot JW. Distribution of CuZn superoxide dismutase in rat liver. *Free Radic Biol Med* 1993; 14(2): 201-7.
- 25 Tainer JA, Getzoff ED, Richardson JS, Richardson DC. Structure and mechanism of copper, zinc superoxide dismutase. *Nature* 1983; 306(5940): 284-7.
- 26 Dong X, Li D, Liu H, Zhao Y. SOD3 and eNOS genotypes are associated with SOD activity and NO. *Exp Ther Med* 2014; 8(1): 328-34.
- 27 Sullivan-Gunn MJ, Lewandowski PA. Elevated hydrogen peroxide and decreased catalase and glutathione peroxidase protection are associated with aging sarcopenia. *BMC Geriatr* 2013; 13: 104.
- 28 Goyal MM, Basak A. Human catalase: Looking for complete identity. *Protein Cell* 2010; 1(10): 888-97.
- 29 Whittaker JW. Non-heme manganese catalase—the ‘other’ catalase. *Arch Biochem Biophys* 2012; 525(2): 111-20.
- 30 Go YM, Jones DP. Redox control systems in the nucleus: Mechanisms and functions. *Antioxid Redox Signal* 2010; 13(4): 489-509.
- 31 Chowdhury AA, Chaudhuri J, Biswas N, Manna A, Chatterjee S, Mahato SK, *et al.* Synergistic apoptosis of CML cells by buthionine sulfoximine and hydroxychavicol correlates with activation of AIF and GSH-ROS-JNK-ERK-iNOS pathway. *PLoS One* 2013; 8(9): e73672.
- 32 Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehab O, Guigo R, *et al.* Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science* 2003; 300(5624): 1439-43.
- 33 Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: Assay and biological significance. *Methods Enzymol* 2002; 348: 93-112.
- 34 Watson WH, Pohl J, Montfort WR, Stuchlik O, Reed MS, Powis G, *et al.* Redox potential of human thioredoxin 1 and identification of a second dithiol/disulfide motif. *J Biol Chem* 2003; 278(35): 33408-15.
- 35 Ren X, Bjornstedt M, Shen B, Ericson ML, Holmgren A. Mutagenesis of structural half-cystine residues in human thioredoxin and effects on the regulation of activity by selenodiglutathione. *Biochemistry* 1993; 32(37): 9701-8.
- 36 Sadek CM, Jimenez A, Damdimopoulos AE, Kieselbach T, Nord M, Gustafsson JA, *et al.* Characterization of human thioredoxin-like 2. A novel microtubule-binding thioredoxin expressed predominantly in the cilia of lung airway epithelium and spermatid manchette and axoneme. *J Biol Chem* 2003; 278(15): 13133-42.
- 37 Urig S, Becker K. On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy. *Semin Cancer Biol* 2006; 16(6): 452-65.
- 38 Manevich Y, Fisher AB. Peroxiredoxin 6, a 1-Cys peroxiredoxin, functions in antioxidant defense and lung phospholipid metabolism. *Free Radic Biol Med* 2005; 38(11): 1422-32.
- 39 Heid ME, Keyel PA, Kamga C, Shiva S, Watkins SC, Salter RD. Mitochondrial reactive oxygen species induces NLRP3-dependent lysosomal damage and inflammasome activation. *J Immunol* 2013; 191(10): 5230-8.
- 40 Sogomonian D, Akopian K, Trchunian A. PH and oxidation-reduction potential change of environment during a growth of lactic acid bacteria: Effects of oxidizers and reducers. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 2011; 47(1): 33-8.
- 41 Jang A, Lee KK, Bishop PL, Kim IS, Ahn CH. Development of polymer lab-on-a-chip (LOC) for oxidation-reduction potential (ORP) measurement. *Water Sci Technol* 2011; 63(10): 2309-15.
- 42 Li K, Wang Y, Zhang Z, Liu D. Effects of oxidation reduction potential in the bypass micro-aerobic sludge zone on sludge reduction for a modified oxic-settling-anaerobic process. *Water Sci Technol* 2014; 69(10): 2139-46.
- 43 Rocheleau JV, Head WS, Piston DW. Quantitative NAD(P)H/flavoprotein autofluorescence imaging reveals metabolic mechanisms of pancreatic islet pyruvate response. *J Biol Chem* 2004; 279(30): 31780-7.
- 44 Wang W, Fang H, Groom L, Cheng A, Zhang W, Liu J, *et al.* Superoxide flashes in single mitochondria. *Cell* 2008; 134(2): 279-90.
- 45 Belousov VV, Fradkov AF, Lukyanov KA, Staroverov DB, Shakhbazov KS, Terskikh AV, *et al.* Genetically encoded fluorescent indicator for intracellular hydrogen peroxide. *Nat Methods* 2006; 3(4): 281-6.
- 46 Dooley CT, Dore TM, Hanson GT, Jackson WC, Remington SJ, Tsien RY. Imaging dynamic redox changes in mammalian cells with green fluorescent protein indicators. *J Biol Chem* 2004; 279(21): 22284-93.
- 47 Woo HA, Yim SH, Shin DH, Kang D, Yu DY, Rhee SG. Inactivation of peroxiredoxin I by phosphorylation allows localized H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation for cell signaling. *Cell* 2010; 140(4): 517-28.
- 48 Stone JR, Yang S. Hydrogen peroxide: A signaling messenger. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8(3/4): 243-70.
- 49 Gao L, Mann GE. Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: A double-edged sword in redox signalling. *Cardiovasc Res* 2009; 82(1): 9-20.
- 50 Hansen JM, Go YM, Jones DP. Nuclear and mitochondrial compartmentation of oxidative stress and redox signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006; 46: 215-34.
- 51 Hansen JM, Zhang H, Jones DP. Mitochondrial thioredoxin-2 has

- a key role in determining tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced reactive oxygen species generation, NF- $\kappa$ B activation, and apoptosis. *Toxicol Sci* 2006; 91(2): 643-50.
- 52 Jones DP. Extracellular redox state: Refining the definition of oxidative stress in aging. *Rejuvenation Res* 2006; 9(2): 169-81.
- 53 Mailloux RJ, Jin X, Willmore WG. Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. *Redox Biol* 2013; 2: 123-39.
- 54 Bolanos JP, Moro MA, Lizasoain I, Almeida A. Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: Therapeutic implications. *Adv Drug Deliv Rev* 2009; 61(14): 1299-315.
- 55 Lowes DA, Galley HF. Mitochondrial protection by the thioredoxin-2 and glutathione systems in an *in vitro* endothelial model of sepsis. *Biochem J* 2011; 436(1): 123-32.
- 56 Seo MS, Kang SW, Kim K, Baines IC, Lee TH, Rhee SG. Identification of a new type of mammalian peroxiredoxin that forms an intramolecular disulfide as a reaction intermediate. *J Biol Chem* 2000; 275(27): 20346-54.
- 57 Wood ZA, Schroder E, Robin HJ, Poole LB. Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem Sci* 2003; 28(1): 32-40.
- 58 Joza N, Pospisilik JA, Hangen E, Hanada T, Modjtahedi N, Penninger JM, *et al.* AIF: Not just an apoptosis-inducing factor. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1171: 2-11.
- 59 Chiang SF, Huang CY, Lin TY, Chiou SH, Chow KC. An alternative import pathway of AIF to the mitochondria. *Int J Mol Med* 2012; 29(3): 365-72.
- 60 Berndt N, Holzthutter HG, Bulik S. Implications of enzyme deficiencies on mitochondrial energy metabolism and reactive oxygen species formation of neurons involved in rotenone-induced Parkinson's disease: A model-based analysis. *FEBS J* 2013; 280(20): 5080-93.
- 61 Starkov AA. The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1147: 37-52.
- 62 Orrenius S, Zhivotovsky B. Cardiolipin oxidation sets cytochrome c free. *Nat Chem Biol* 2005; 1(4): 188-9.
- 63 Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: A new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med* 2000; 192(7): 1001-14.
- 64 Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev* 2014; 94(3): 909-50.
- 65 Markovic J, Borrás C, Ortega A, Sastre J, Vina J, Pallardo FV. Glutathione is recruited into the nucleus in early phases of cell proliferation. *J Biol Chem* 2007; 282(28): 20416-24.
- 66 Higuchi M, Kato T, Chen M, Yako H, Yoshida S, Kanno N, *et al.* Temporospatial gene expression of Prx1 and Prx2 is involved in morphogenesis of cranial placode-derived tissues through epithelio-mesenchymal interaction during rat embryogenesis. *Cell Tissue Res* 2013; 353(1): 27-40.
- 67 Doufexi AE, Mina M. Signaling pathways regulating the expression of Prx1 and Prx2 in the chick mandibular mesenchyme. *Dev Dyn* 2008; 237(11): 3115-27.
- 68 Luo M, Delaplane S, Jiang A, Reed A, He Y, Fishel M, *et al.* Role of the multifunctional DNA repair and redox signaling protein Apel/Ref-1 in cancer and endothelial cells: Small-molecule inhibition of the redox function of Apel. *Antioxid Redox Signal* 2008; 10(11): 1853-67.
- 69 Saumaa S, Tover A, Tark M, Tegova R, Kivisaar M. Oxidative DNA damage defense systems in avoidance of stationary-phase mutagenesis in *Pseudomonas putida*. *J Bacteriol* 2007; 189(15): 5504-14.
- 70 Gad H, Koolmeister T, Jemth AS, Eshtad S, Jacques SA, Strom CE, *et al.* MTH1 inhibition eradicates cancer by preventing sanitation of the dNTP pool. *Nature* 2014; 508(7495): 215-21.
- 71 Summerer S, Hanano A, Utsumi S, Arand M, Schuber F, Blee E. Stereochemical features of the hydrolysis of 9, 10-epoxystearic acid catalysed by plant and mammalian epoxide hydrolases. *Biochem J* 2002; 366(Pt 2): 471-80.
- 72 Stanley A, Thompson K, Hynes A, Brakebusch C, Quondamatteo F. NADPH oxidase complex-derived reactive oxygen species, the actin cytoskeleton, and Rho GTPases in cell migration. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20(13): 2026-42.
- 73 Wu MM, Llopis J, Adams S, McCaffery JM, Kulomaa MS, Machen TE, *et al.* Organelle pH studies using targeted avidin and fluorescein-biotin. *Chem Biol* 2000; 7(3): 197-209.
- 74 Kersteen EA, Raines RT. Catalysis of protein folding by protein disulfide isomerase and small-molecule mimics. *Antioxid Redox Signal* 2003; 5(4): 413-24.
- 75 Yang X, Xu H, Hao Y, Zhao L, Cai X, Tian J, *et al.* Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1 $\alpha$  mediates hepatic endoplasmic reticulum stress in homocysteine-induced atherosclerosis. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2014; 46(10): 902-10.
- 76 Kadokura H, Saito M, Tsuru A, Hosoda A, Iwakaki T, Inaba K, *et al.* Identification of the redox partners of ERdj5/JPD1, a PDI family member, from an animal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 440(2): 245-50.
- 77 Cunnea PM, Miranda-Vizueta A, Bertoli G, Simmen T, Dandimopoulos AE, Hermann S, *et al.* ERdj5, an endoplasmic reticulum (ER)-resident protein containing DnaJ and thioredoxin domains, is expressed in secretory cells or following ER stress. *J Biol Chem* 2003; 278(2): 1059-66.
- 78 Tominaga K, Kawahara T, Sano T, Toida K, Kuwano Y, Sasaki H, *et al.* Evidence for cancer-associated expression of NADPH oxidase 1 (Nox1)-based oxidase system in the human stomach. *Free Radic Biol Med* 2007; 43(12): 1627-38.
- 79 Sangwung P, Greco TM, Wang Y, Ischiropoulos H, Sessa WC, Iwakaki Y. Proteomic identification of S-nitrosylated Golgi proteins: New insights into endothelial cell regulation by eNOS-derived NO. *PLoS One* 2012; 7(2): e31564.
- 80 Soballe B, Poole RK. Ubiquinone limits oxidative stress in *Escherichia coli*. *Microbiology* 2000; 146(Pt 4): 787-96.
- 81 Wuytack F, Raeymaekers L, Missiaen L. Molecular physiology of the SERCA and SPCA pumps. *Cell Calcium* 2002; 32(5/6): 279-305.
- 82 Jiang Z, Hu Z, Zeng L, Lu W, Zhang H, Li T, *et al.* The role of the Golgi apparatus in oxidative stress: Is this organelle less significant than mitochondria? *Free Radic Biol Med* 2011; 50(8): 907-17.
- 83 Zhang X, Lemasters JJ. Translocation of iron from lysosomes to mitochondria during ischemia predisposes to injury after reperfusion in rat hepatocytes. *Free Radic Biol Med* 2013; 63: 243-53.

- 84 Nikitovic D, Corsini E, Kouretas D, Tsatsakis A, Tzanakakis G. ROS-major mediators of extracellular matrix remodeling during tumor progression. *Food Chem Toxicol* 2013; 61: 178-86.
- 85 Ren YH, Liu KJ, Wang M, Yu YN, Yang K, Chen Q, *et al.* DeSUMOylation of FOXC2 by SENP3 promotes the epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells. *Oncotarget* 2014; 5(16): 7093-104.
- 86 Fransén M, Nordgren M, Wang B, Apanasets O. Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822(9): 1363-73.
- 87 何润生, 滕俊琳, 陈建国. 中心体复制及调控机制研究进展. *中国细胞生物学报*(He Runsheng, Teng Junlin, Chen Jianguo. CentROSOME duplication and regulation. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2012; 34(12): 1187-96.
- 88 Lim JM, Kang D, Rhee SG. Local accumulation of hydrogen peroxide in CentROSOME at the G<sub>2</sub> to M transition through peroxiredoxin1 phosphorylation by Cdk1 is required for mitotic entry. *Free Radical Bio Med* 2011; 51Supplement (0): S15.
- 89 Kredel S, Oswald F, Nienhaus K, Deuschle K, Rocker C, Wolff M, *et al.* mRuby, a bright monomeric red fluorescent protein for labeling of subcellular structures. *PLoS One* 2009; 4(2): e4391.
- 90 Demasi M, Netto LE, Silva GM, Hand A, de Oliveira CL, Bicev RN, *et al.* Redox regulation of the proteasome via S-glutathionylation. *Redox Biol* 2013; 2: 44-51.
- 91 Petersen A, Carlsson T, Karlsson JO, Zetterberg M. The proteasome and intracellular redox status: Implications for apoptotic regulation in lens epithelial cells. *Curr Eye Res* 2007; 32(10): 871-82.
- 92 Martinet W, de Meyer GR, Herman AG, Kockx MM. Reactive oxygen species induce RNA damage in human atherosclerosis. *Eur J Clin Invest* 2004; 34(5): 323-7.
- 93 Sideri TC, Stojanovski K, Tuite MF, Grant CM. Ribosome-associated peroxiredoxins suppress oxidative stress-induced de novo formation of the *PSI*<sup>Δ</sup> prion in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(14): 6394-9.
- 94 Rand JD, Grant CM. The thioredoxin system protects ribosomes against stress-induced aggregation. *Mol Biol Cell* 2006; 17(1): 387-401.
- 95 Zhai C, Li Y, Mascarenhas C, Lin Q, Li K, Vyrides I, *et al.* The function of ORAOV1/LTO1, a gene that is overexpressed frequently in cancer: Essential roles in the function and biogenesis of the ribosome. *Oncogene* 2014; 33(4): 484-94.
- 96 Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat* 2004; 7(2): 97-110.