

胡颖, 哈尔滨工业大学生命科学与技术学院院长聘教授, 博士生导师。任中国细胞生物学学会理事、黑龙江省细胞生物学学会常务理事、中国细胞生物学学会肿瘤细胞分会委员。一直从事肿瘤学基础研究工作, 先后主持国家自然科学基金委杰出青年科学基金、原创探索计划项目、面上项目等; 在肿瘤细胞耐受多种应激压力, 发生耐药和转移的机制研究方面取得一系列成果, 以通讯作者身份在 *Cancer Cell*、*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*、*PLoS Biology*、*Cell Death & Differentiation* 等国际学术期刊上发表数篇论文, 并获得1项国家发明专利。

氧化还原稳态调控机制与肿瘤治疗

刘皓 胡颖*

(哈尔滨工业大学, 生命科学与技术学院, 哈尔滨 150000)

摘要 肿瘤往往处于高氧化状态, 随着研究的不断深入, 人们逐渐发现细胞内氧化还原状态与肿瘤的关系高度复杂, 其促瘤和抑瘤效应均有报道。明确氧化还原稳态调控机制, 有望为精准靶向该机制, 提高肿瘤治疗效果带来新的契机。该文将对氧化还原稳态调控机制及其在肿瘤治疗中应用的最新进展作一综述。

关键词 氧化应激; 活性氧; 氧化还原稳态; 肿瘤治疗

Regulation Mechanisms of Redox Homeostasis and Cancer Therapy

LIU Hao, HU Ying*

(School of Life Science and Technology, Harbin Institute of Technology, Harbin 150000, China)

Abstract Cancers are often in a high oxidation state. With the deepening of research, it is gradually found that the relationship between intracellular redox status and cancer is complex, and both of its pro-tumor and anti-tumor effects have been reported. Clarifying the regulation mechanism of redox homeostasis is expected to bring new opportunities for precisely targeting this mechanism and improve the effect of cancer therapy. In this review, the latest progress in the regulation mechanism of redox homeostasis and its application in cancer therapy will be reviewed.

Keywords oxidative stress; reactive oxygen species; redox homeostasis; cancer therapy

肿瘤在发生和发展过程中不可避免地受到各种应激因素的影响, 为适应应激状态, 肿瘤细胞进化出多种耐受机制, 这是保证其生存的前提, 也是产生治疗

耐受和转移等难治性恶性表型的主要动力。氧化应激是肿瘤的常见应激状态, 指体内氧化与抗氧化作用失衡, 且倾向于氧化, 进而导致氧化信号调控机制异

收稿日期: 2022-01-25

接受日期: 2022-03-10

国家自然科学基金面上项目(批准号: 31871389)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0451-86403992, E-mail: huying@hit.edu.cn

Received: January 25, 2022

Accepted: March 10, 2022

This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (Grant No.31871389)

*Corresponding author. Tel: +86-451-86403992, E-mail: huying@hit.edu.cn

常及大分子氧化损伤的一种应激状态。活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高是导致细胞氧化应激的主要因素。ROS在细胞内作用机制复杂:低水平的ROS作为第二信使,在细胞增殖、分化和生存等多种正常细胞活动中发挥关键调控作用;而过度累积的ROS则会作用于脂质、蛋白质以及核酸等大分子,影响蛋白功能,造成脂质过氧化和DNA、RNA损伤,发挥促进肿瘤等多种疾病发生和发展的作用;ROS水平如果不断累积,一旦超过死亡阈值,则会通过促进细胞衰老、细胞凋亡(apoptosis)、铁死亡(ferroptosis)等生物学进程的发生,进而发挥其抑瘤效应。然而,肿瘤细胞可在高ROS条件下建立稳态平衡,并充分利用ROS来促进肿瘤细胞增殖和转移。与此同时,肿瘤细胞在高ROS条件下也可激活多种抗氧化机制来抑制ROS过度积累造成的氧化损伤和细胞死亡,以达到最优适应状态。近年来,氧化应激在肿瘤发生、发展和治疗中的作用得到越来越广泛的关注;然而,抗氧化或促氧化策略在肿瘤治疗和预防中的作用却仍存在争议,深入理解氧化还原稳态的分子机制将为肿瘤的理性治疗提供重要的指导。本文聚焦肿瘤中氧化应激的调控和作用机制,及其在肿瘤治疗中的应用展开综述。

1 ROS的来源

ROS是介导肿瘤细胞氧化应激的重要分子,主要包括超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)以及羟基自由基($\cdot OH$),其来源可被笼统地划分为内源性和外源性两条途径^[1-3](图1)。线粒体是细胞内ROS的主要来源,在线粒体氧化磷酸化过程中,线粒体内膜呼吸链复合物(主要是复合物I和III)将电子传递给氧气(O_2),使得一部分 O_2 被还原成 $O_2^{\cdot-}$ 。少

量 $O_2^{\cdot-}$ 可通过线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)被释放出线粒体,而大量 $O_2^{\cdot-}$ 则在线粒体SOD的作用下被还原成 H_2O_2 ,后者再自由扩散出线粒体,发挥信号转导或氧化损伤的作用^[4-6]。内质网中进行的蛋白质折叠加工过程以及过氧化物酶体中过氧化物酶的活化也可以促进ROS的产生^[4,7]。除此之外,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases, NOXs)等产生的ROS也是细胞质中内源性ROS的重要来源之一^[6,8]。肿瘤发生过程中,癌基因的异常激活或抑癌基因的失活,以及代谢酶的突变等均可通过调控上述途径导致细胞内ROS水平升高^[1,9]。而微生物、寄生虫感染、电离辐射、化学污染、空气污染、低氧、药物治疗等因素则是诱导ROS产生的主要外源因素^[10-11]。例如,低氧是实体肿瘤的重要微环境特征之一。低氧应激可以改变细胞内电子传递链的蛋白质组成、线粒体功能等,促进ROS的产生^[12-13]。又如,放疗作为目前广谱性最高的肿瘤治疗策略,诱导高剂量ROS介导的氧化应激是其发挥杀害杀伤效应的重要机制^[14-15]。

2 氧化还原稳态调控机制

由于癌基因的异常激活、抑癌基因的失活以及微环境低氧引起的代谢重编程等因素的影响,肿瘤细胞内ROS水平一般高于正常组织。为了避免高氧化应激引起的细胞死亡,肿瘤细胞激活一系列可降低细胞毒性的抗氧化防御机制,实现高氧化应激状态下的稳态平衡和细胞生存^[3,6,16-17](图1)。

2.1 酶性和非酶性抗氧化体系

酶性和非酶性抗氧化物在清除自由基、维持

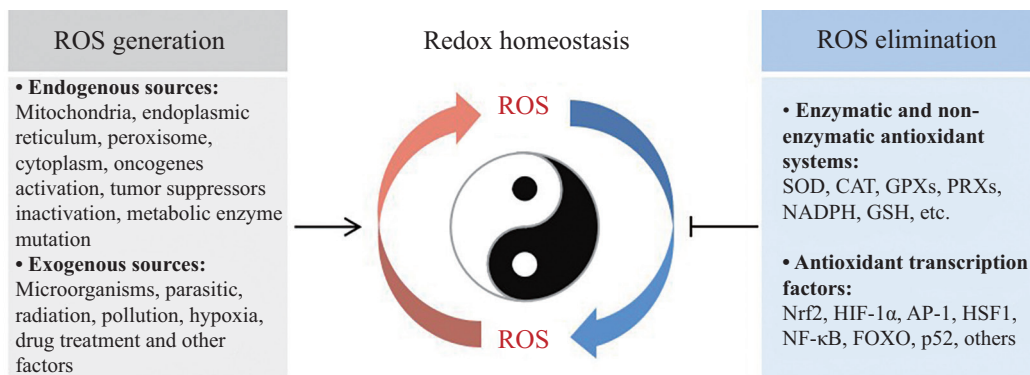


图1 ROS的来源与消耗

Fig.1 Source and consumption of ROS

氧化还原稳态中发挥关键作用。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)可催化超氧阴离子自由基歧化为过氧化氢和氧气,是抗氧化反应体系的重要代谢酶。不同亚型的SOD可定位于线粒体、细胞膜或细胞外,发挥依赖于细胞定位的抗氧化功能^[16]。谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidases, GPXs)和过氧化物氧还蛋白(peroxiredoxin, PRX)具有催化H₂O₂分解的能力。除此之外,肿瘤细胞中的过氧化氢酶(catalase, CAT)可在过氧化物酶体中直接将过氧化氢还原成水^[1]。NADPH和谷胱甘肽(glutathione, GSH)等则是细胞内非酶性抗氧化防御体系的重要成员。研究表明,NADPH是细胞内多条代谢通路的重要产物,是GPXs和PRXs发挥作用后所产生的氧化型谷胱甘肽和硫氧还蛋白(thioredoxin, Trx)恢复至还原状态所必需的电子供体^[6]。在急性氧化应激刺激下,细胞往往通过代谢重编程促进NADPH的产生来放大抗氧化反应。

2.2 核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)

Nrf2由NFE2L2(NFE2-like bZIP transcription factor 2)基因编码,是具有抗氧化功能的核心转录因子,可通过调控上述氧化还原代谢酶基因的表达发挥作用^[18-19]。Nrf2在肺癌、大肠癌、肾癌等多种肿瘤组织中处于高度活化状态。动物实验和细胞实验研究表明,多个肿瘤驱动基因(*Ras*、*Raf*、*Myc*)可转录激活Nrf2,而后者产生的抗氧化反应对这些驱动基因导致的肿瘤发生过程发挥关键调控作用^[20-23]。然而,Nrf2蛋白半衰期很短(约为20分钟);因此,其在细胞内的活性维持主要依赖于蛋白稳定性的升高。在非应激状态下,Keap1(Kelch-like ECH associated protein 1)可在细胞质中捕获Nrf2,促进Nrf2的蛋白酶体途径降解,这一机制是调控Nrf2蛋白稳定性的主要机制。在氧化应激状态下,ROS通过修饰Keap1分子中的半胱氨酸残基,导致Keap1和Nrf2的结合构象改变,进而阻碍Nrf2的降解。细胞质中结合Nrf2的Keap1饱和后,新合成的Nrf2可转运至细胞核,与抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合,调控抗氧化基因的转录,维持细胞氧化还原稳态^[24]。肺癌中Nrf2/Keap1基因的突变率较高,这是导致Nrf2活化的分子基础。此外,p62、p21及DPP3等蛋白可通过影响Nrf2与Keap1蛋白互作的方式,抑制Nrf2蛋白的降解,激活Nrf2在营养缺乏及氧化应

激等条件下的抗氧化反应^[25-26]。我们的研究则发现,肾癌中癌基因*iASPP*(inhibitor of apoptosis stimulating protein of p53)的异常高表达与Nrf2的蛋白水平呈正相关,进一步的机制研究发现*iASPP*与Nrf2竞争性结合Keap1,抑制Keap1介导的Nrf2降解^[27]。该机制可独立于应激状态,提示癌基因的活化可通过调控Nrf2蛋白稳定性的方式使细胞获得先天的高抗氧化能力,为肿瘤细胞生存,及凋亡耐受和化疗耐药奠定基础^[27]。

2.3 其他具有抗氧化功能的转录因子

除Nrf2外,细胞内多个转录因子可在高氧化应激状态下活化,进而影响细胞氧化还原稳态和细胞命运。如低氧条件下肿瘤细胞线粒体产生过量的ROS,过量的ROS通过作用于低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)上游抑制因子PHD,发挥稳定抑制HIF-1 α 蛋白降解的作用。稳定并活化的HIF-1 α 可以调控*GSH*抗氧化基因以及乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, *LDH*)基因等糖代谢关键酶基因的表达,通过抑制三羧酸循环促进乳酸的生成,以负反馈的方式减少低氧条件下线粒体内ROS的产生,进而维持肿瘤细胞的氧化还原稳态^[28-29]。此外,活化蛋白1(activator protein-1, AP-1)、热休克因子1(heat shock factor 1, HSF1)、叉头框蛋白O(forkhead box O, FOXO)、p53及核因子kappaB(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)等转录因子均可在氧化应激状态下活化,进而发挥调控氧化还原反应的作用^[1]。

3 ROS——肿瘤中的“双刃剑”

ROS可作用于生物大分子,引起DNA损伤,促进癌基因的活化和抑癌基因的失活,是重要的促癌因素。然而,大量数据显示,抗氧化是维持肿瘤细胞在高氧化应激状态下的稳态平衡,促进肿瘤发生和发展不可或缺的关键环节^[1,6]。可见,ROS在肿瘤中发挥“双刃剑”的作用(图2),如何合理地利用抗氧化或促氧化机制预防肿瘤的发生,抑制肿瘤的生长和转移是该领域所面临的关键问题。

3.1 ROS的促癌效应

3.1.1 ROS促进基因组不稳定性 基因突变是肿瘤发生的重要分子基础。ROS可直接作用于DNA双螺旋中的氢键,促进DNA双链解螺旋和双链断裂,使得内部碱基基团充分暴露于ROS,进而促进DNA

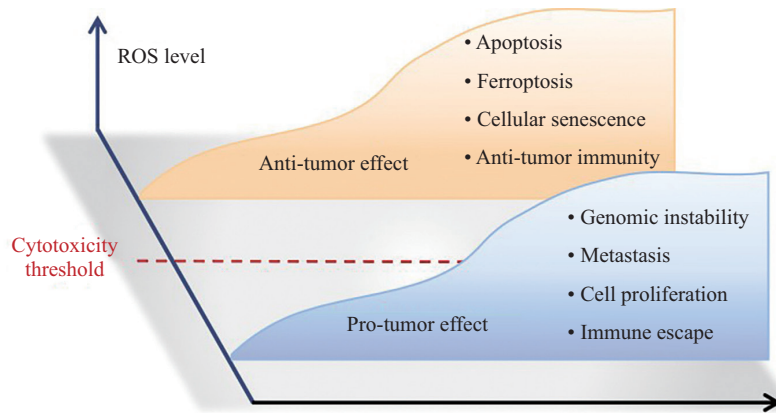


图2 氧化应激的“双刃剑”效应

Fig.2 The “double-edged sword” effect of oxidative stress

碱基氧化修饰,造成核内碱基错配、缺失、插入突变,以及染色体易位等^[14]。与其他碱基相比,鸟嘌呤的氧化电位较低,更易被ROS攻击,其氧化产物8-oxo-dG会导致碱基错配,常被作为DNA氧化损伤的标志物^[30]。ROS也可以通过靶向抑制DNA损伤修复系统中的关键信号分子,如ATM(ataxia telangiectasia mutated)、ATR(ataxia telangiectasia and Rad3-related)、细胞周期检测点激酶1(checkpoint kinase 1, CHK1)、细胞周期检测点激酶2(checkpoint kinase 2, CHK2),以及DNA损伤修复所需的关键酶,如人类8-羟基鸟嘌呤DNA糖苷酶(human oxoguanine DNA glycosylase 1, hOGG1)、BRCA2(breast cancer gene 2, early onset)等,抑制DNA损伤修复,增加基因突变的累积,导致基因组的不稳定性进一步升高^[10-11]。

线粒体DNA(mtDNA)比核内DNA更易发生氧化损伤,其原因可能是mtDNA缺乏保护,其所在位置易暴露于高剂量的ROS^[31]。mtDNA主要为线粒体呼吸链相关基因,mtDNA突变可直接影响线粒体内氧化磷酸化和电子传递等过程,促进ROS的产生,发挥促瘤效应^[10]。

3.1.2 ROS促进肿瘤细胞增殖 肿瘤细胞内ROS可作为第二信使调控细胞增殖相关信号通路。PTP1B、PTPN2以及PTEN等磷酸酶含有半胱氨酸活性位点,可被ROS氧化失活,进而激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外调节激酶1/2(ERK1/2),PI3K/AKT和NF- κ B等信号通路,促进肿瘤细胞增殖^[32]。有研究发现,胰岛素促进神经母细胞胶质瘤中NOXs的表达,而后者以ROS依赖的方式导致抑癌基因PTEN的失活以及PI3K/AKT信号通路的激活^[33]。在乳腺癌细

胞中,雌激素代谢产生的ROS通过激活ERK1/2信号通路促进细胞增殖^[34]。另有研究表明,乳腺癌细胞中MICAL1(molecule interacting with CasL 1)通过提高ROS水平,调控PI3K/AKT/ERK信号通路,维持细胞周期蛋白D(Cyclin D)的表达,进而促进乳腺癌细胞的增殖^[35]。因此,肿瘤细胞可利用非致死剂量的ROS,进而导致不可控的细胞增殖。

3.1.3 ROS促进肿瘤细胞转移 肿瘤转移是一个多步骤的复杂过程,是造成患者不良预后和治疗失败的主要原因。研究表明,ROS可参与调控上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、细胞迁移、肿瘤血管生成(angiogenesis)以及失巢凋亡(anoikis)等多个肿瘤转移相关步骤,对肿瘤细胞的转移(metastasis)发挥复杂调控作用^[36]。

ROS可激活多种转录因子,促进肿瘤转移相关生物学过程。转化生长因子- β (TGF- β)和Wnt信号通路也可在氧化应激条件下活化,并通过SMAD或 β -连环蛋白(β -catenin)发挥促进EMT的作用^[37-38]。如前所述,氧化应激条件下,NF- κ B、HIF-1 α 、Nrf2、COX-2及FOXO等转录因子活化,不仅可以调控氧化还原稳态,也具有调控EMT进程的作用^[11]。此外,ROS可通过激活MAPK及AP-1等因子,促进下游金属基质蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和丝氨酸蛋白酶活化,而后者具有促进细胞外基质降解的重要作用^[39]。肿瘤的过度增殖以及血管生成的相对不足会导致肿瘤低氧微环境。低氧情况下HIF-1 α 的活化可促进血管内皮生成因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,导致实体瘤血管生成,该作用不仅可缓解低氧应激,也可为肿瘤细胞

运输氧气、营养物质, 以及提供转移所需的血道途径^[40]。

除了促进转移外, 也有证据表明, 氧化应激是肿瘤转移的阻碍因素。肿瘤细胞进入血管是转移发生的主要路径之一, 实体瘤细胞常受到低氧胁迫, 当其进入血液后, 就会暴露在远高于原发部位氧气浓度的环境内, 这极大地激发了肿瘤细胞氧化应激, 导致细胞死亡, 阻碍转移进程^[1]。ROS对转移的调控效应可能对肿瘤转移步骤、微环境特征及肿瘤类型具有很高的依赖性; 如何精准靶向氧化应激调控的肿瘤转移, 有效控制转移是所面临的重要挑战。

3.1.4 ROS促进肿瘤细胞免疫逃逸 免疫逃逸与肿瘤的发生、发展和预后密切相关。近年来, 旨在靶向T细胞、巨噬细胞(macrophage)以及自然杀伤细胞(natural killer cell, NK cell)的肿瘤免疫治疗研究备受关注, 并极大地激发了学者们探索肿瘤相关免疫细胞生物学功能与效应的兴趣。T细胞是杀伤肿瘤细胞的主要效应细胞, 其活性与氧化应激状态密切相关。研究表明, ROS可通过降低CD3 ζ 链的表达能力而影响T细胞的分化与发育^[41]。ROS还可通过促进凋亡诱导因子的释放, 促进T细胞死亡, 造成肿瘤细胞免疫逃逸^[42]。最近也有研究发现, NK细胞活性亦受到氧化应激的调控, 线粒体内ROS的增加介导肝脏中NK细胞的凋亡, 降低其杀伤效应, 促进肝癌的转移^[43]。另外, 实体瘤内存在大量的肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)。M1型TAMs具有抑制肿瘤的效应, 而M2型TAMs则发挥截然相反的促瘤效应。已有研究表明, ROS可显著促进巨噬细胞向M2型极化。这可能是由于ROS激活PI3K/AKT信号通路, 促进巨噬细胞集落刺激因子(CSF-1/M-CSF)的表达和分泌所致^[44]。可见, 氧化应激与肿瘤免疫逃逸密切相关, 靶向氧化还原稳态或肿瘤免疫治疗有望逆转免疫耐受, 提高肿瘤免疫治疗的效果。

3.2 ROS的抑瘤效应

如上所述, ROS对肿瘤发生与发展具有重要的推动作用; 基于此, 增强肿瘤细胞的抗氧化能力可抑制肿瘤的发生和发展。然而, 多年的研究发现, 抗氧化治疗策略并未表现出预期的良好抑瘤效果, 在某些状况下反而加速了肿瘤发展进程, 提示ROS可能还具有抑瘤效应^[1]。

3.2.1 ROS促进肿瘤细胞凋亡 细胞凋亡是调控

机体正常生长发育, 清除受损细胞的程序性死亡方式。研究发现, 细胞凋亡是氧化应激诱导细胞死亡的主要方式, 可被笼统地分为: 线粒体介导的细胞凋亡、内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ER stress)介导的细胞凋亡以及p53介导的细胞凋亡。

细胞色素c(cytochrome c, Cyt c)松散地结合在富含不饱和脂肪酸的线粒体内膜外侧, 不能自由通过线粒体外膜; 其锚定与释放是线粒体介导细胞凋亡的关键^[45]。ROS可通过两种方式促进Cyt c的释放和细胞凋亡的发生。一方面, 线粒体是ROS产生与积累的主要细胞器。ROS在线粒体内氧化锚定Cyt c的双磷脂酰甘油, 解除锚定效应, 促进Cyt c的释放^[46]。另一方面, 释放到细胞质中的ROS通过激活JNK以及p38MAPK信号通路, 以Bax依赖的方式促进Cyt c的释放, 诱导细胞凋亡^[47]。

内质网是执行细胞中蛋白质加工与运输、脂质合成、Ca²⁺储存与释放等功能的细胞器, 具有较高的氧化状态。研究发现, ROS促进内质网腔内Ca²⁺的异常释放, 造成内质网内积累大量错误折叠蛋白或未折叠蛋白, 诱发内质网应激, 进而激活细胞内未折叠蛋白反应(unfold protein response, UPR)传感器, 促进下游CHOP(C/EBP-homologous protein)等促凋亡基因的转录, 最终造成内质网应激依赖性的细胞凋亡^[48]。

p53在约50%的肿瘤中发生突变或缺失, 是最为普遍的抑癌基因。自1979年被报道以来, 已有数以万计的文章阐述其在肿瘤细胞中的抑癌作用。值得关注的是, p53突变后不仅丧失抑癌活性, 并可获得新的促癌活性。如何逆转突变p53的功能是领域内的难题。研究发现, 萘萘酰胺(piperlongumine, PL)可通过产生过量的ROS逆转突变p53蛋白构象, 使其恢复野生状态, 诱导p53下游促凋亡靶基因的转录, 最终导致癌细胞发生凋亡^[49]。除此之外, 高剂量ROS靶向损伤DNA, 导致ATM和ATR等DNA损伤修复调节因子的激活, 进而激活p53依赖性的促凋亡功能^[50]。

3.2.2 ROS促进肿瘤细胞铁死亡 铁死亡是近年来新发现的铁依赖性的细胞程序性死亡方式, 其典型的生物学特征为铁代谢的异常、脂质过氧化物以及脂质ROS的致命性积累^[51]。谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)作为铁死亡发生过程的抗氧化代谢核心酶, 可以将具有氧化效应的磷

脂氢过氧化物(PLOOH)还原产生相应的醇(P-LOH), 以此降低细胞内氧化应激的毒性效应^[52]。谷氨酸/胱氨酸逆向转运蛋白体系(xCT)也是细胞内重要的抗氧化应激平衡者, 为合成GSH提供必要的半胱氨酸, 进而增强抗氧化防御系统, 降低ROS介导的氧化损伤^[53]。最近研究发现, FSP1/泛醌(CoQ10)系统、角鲨烯和二/四氢生物蝶呤(BH2/BH4)反应体系也可参与抑制铁死亡^[54-55]。抗氧化体系已经成为调控铁死亡发生, 及设计小分子抑制剂的重要靶标。铁死亡小分子诱导剂(如Erastin、RSL3等)对多种类型的肿瘤细胞具有较好的治疗效果, 但较大的毒性限制了其临床应用, 相信随着研究的不断深入, 低毒高效的铁死亡诱导剂有望成杀伤肿瘤的新策略。

3.2.3 ROS促进肿瘤细胞衰老 细胞衰老(cellular senescence)是指细胞失去分裂和增殖能力, 表现为永久性细胞周期阻滞。最近多项研究发现, 过度累积的ROS可通过调控p53下游细胞周期抑制因子p21的表达, 促进肿瘤细胞衰老, 进而抑制肿瘤细胞的生长与增殖^[56]。我们的研究也发现, p53抑制因子iASPP通过抑制p53下游靶基因p21和NF- κ B下游靶基因白介素-6/-8(IL-6/-8)减缓化疗药物诱导的慢性氧化应激所造成的细胞衰老进程, 导致肿瘤耐药^[57]。因此, 以ROS调控影响细胞衰老的分子机制为切入点的研究, 有望为提高肿瘤的治疗效果提供新的线索。

3.2.4 ROS促进抗肿瘤免疫 如前所述, ROS可造成免疫细胞损伤, 促进肿瘤免疫逃逸。然而, ROS也可以作为细胞内第二信使招募免疫细胞, 发挥抗肿瘤免疫活性。研究发现, 一定量的ROS对于维持癌抗原信号、促进抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)成熟及肿瘤抗原提呈等抗肿瘤免疫事件的发生具有重要作用, 进而发挥其抑瘤效应^[58]。除此之外, 低浓度的ROS对T细胞的存活、分化、增殖具有重要作用。近来有研究表明, ROS通过激活细胞内雷帕霉素靶蛋白和腺苷酸激活蛋白激酶(mTOR/AMPK), 促进下游级联信号的传递与放大, 诱导CD8⁺T细胞的激活^[59]。因此, ROS介导的氧化应激稳态与肿瘤相关免疫细胞发挥其抗肿瘤效应高度相关, 进一步深入探究氧化稳态与肿瘤相关免疫细胞的动态平衡对肿瘤临床免疫治疗的应用具有重要科学意义和临床价值。

总之, ROS在肿瘤中发挥“双刃剑”的作用, 其抑

瘤或促瘤效果与肿瘤细胞内ROS水平、肿瘤细胞自身的发生、发展阶段以及肿瘤微环境特征等因素均密切相关。靶向氧化还原稳态调控系统治疗肿瘤需要对上述因素予以综合考量。

4 靶向氧化还原稳态调控机制治疗肿瘤

4.1 促氧化治疗肿瘤

肿瘤细胞内ROS不断累积, 一旦超出其毒性阈值, 将会导致肿瘤细胞死亡。因此, 进一步提升ROS水平可达到诱导肿瘤细胞死亡的治疗效果(图3)。

4.1.1 化疗 大多数蒽环类化合物、铂类配合物、烷基化剂、喜树碱类化合物、砷剂和拓扑异构酶抑制剂等传统的化疗药物均具有氧化功能, 其临床治疗效果与短时间内产生极高的ROS密切相关^[60]。阿霉素(doxorubicin, Dox)是目前临床上最常用的广谱性化疗药物, 可治疗急性白血病、乳腺癌、前列腺癌、淋巴瘤等多种恶性肿瘤。一方面, Dox可以造成肿瘤细胞DNA双链断裂, 发生不可逆的、严重的DNA损伤所致的细胞死亡; 另一方面, Dox通过快速提升肿瘤细胞的ROS水平, 进而激活p53来诱导肿瘤细胞凋亡^[61]。5-氟尿嘧啶(5-FU)作为临床常用的化疗药物, 可通过产生高剂量ROS而用于治疗消化系统肿瘤、乳腺癌、卵巢癌、膀胱癌等多种恶性肿瘤。此外, 被誉为“万毒之王”的鹤顶红, 其主要成分为三氧化二砷(As₂O₃), 又被称为砒霜, 已被批准用于白血病的治疗, 其基本抑癌原理为三氧化二砷诱导线粒体膜电位的改变, 抑制复合体I和II, 破坏线粒体电子传递链, 促进ROS的产生, 诱导氧化应激而杀伤肿瘤细胞^[62]。顺铂(Cisplatin)是经典的恶性肿瘤化疗药物之一, 也可通过快速增加的ROS的细胞毒性效应, 抑制肿瘤的生长。其他多种化疗药物如紫杉醇(Paclitaxel)、非那替尼(Fenretinide)、博来霉素(Bleomycin)等均可以类似的ROS依赖性机制治疗肿瘤。

4.1.2 放疗 电离辐射是诱导ROS产生的重要外源性方式之一, 同时也是临床治疗肿瘤的重要手段, 即放疗。当肿瘤细胞内的水分子受到电离辐射刺激时, 发生放射性分解, 产生ROS; 同时电离辐射也可以通过促进NADPH氧化酶1(NOX1)的表达, 提升ROS的产量。当ROS生成量高于消耗量时, 损伤细胞内的脂质、核酸及蛋白质大分子, 造成肿瘤高氧化应激状态, 抑制肿瘤生长, 促进肿瘤细胞死

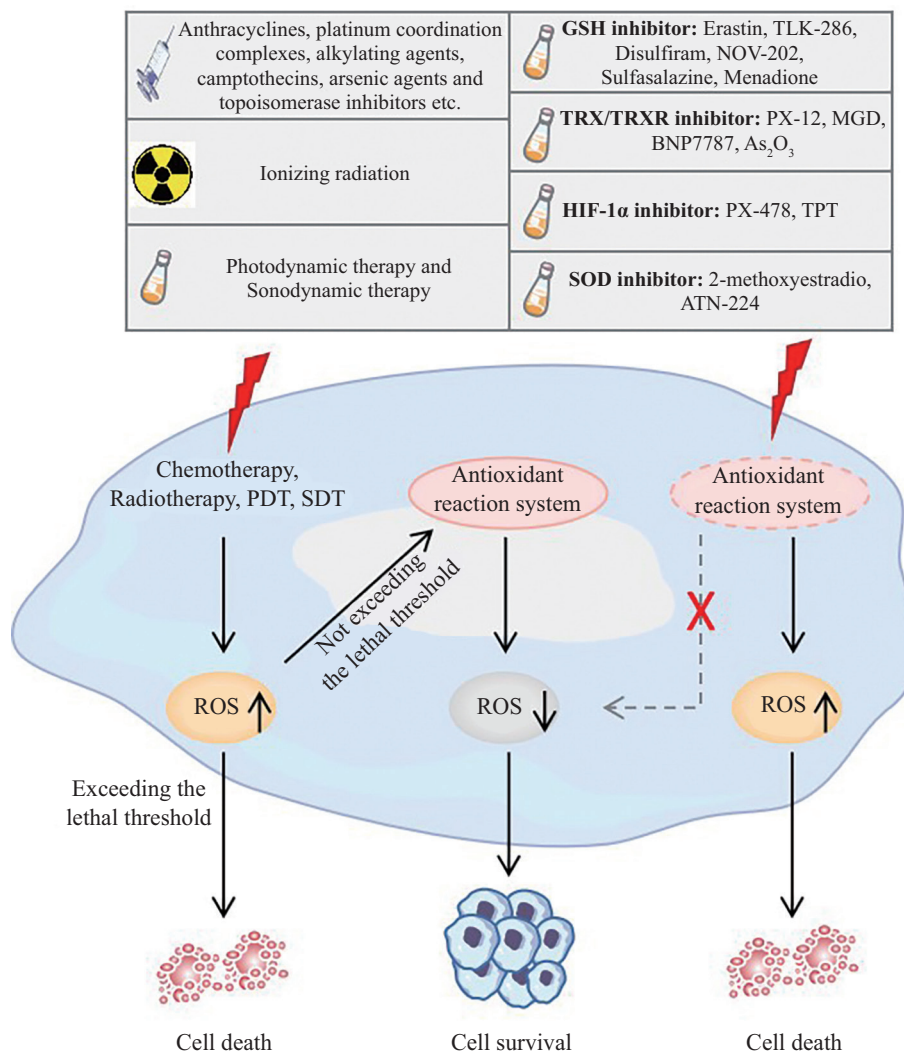


图3 靶向氧化还原稳态调控机制治疗肿瘤

Fig.3 Targeting redox homeostasis regulation mechanism for cancer therapy

亡^[14,63]。因此, 电离辐射作用于局部肿瘤组织, 可通过快速提升ROS水平, 使其超过肿瘤组织能够耐受的ROS死亡阈值, 促进肿瘤细胞死亡, 发挥显著的抑瘤效果。

4.1.3 光动力疗法与声动力疗法 光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是靶向微创治疗肿瘤的新策略。其基本原理为静脉注射或口服光敏剂后, 代谢活跃的肿瘤细胞会吸收光敏剂, 再对肿瘤患处给予激光或微波刺激, 光敏分子完成从基态跃迁至激发态的转换, 产生ROS, 直接加重肿瘤细胞氧化应激, 杀伤肿瘤细胞, 造成细胞死亡^[64]。在此原理的基础上, 又发展出了声动力疗法(sonodynamic therapy, SDT), 与PDT类似, SDT需要声敏剂作为媒介, 在肿瘤患处给予低频低强度的超声波刺激后, 肿瘤患处的声敏剂产生大量ROS, 进而杀伤肿瘤细胞^[65]。目

前, 已经有越来越多的研究开始关注这种创伤小、穿透性强、精准且高效的肿瘤治疗新方法, 有望使更多患者临床获益。

4.1.4 靶向抗氧化系统治疗肿瘤 除了促进ROS生成外, 抑制抗氧化调控体系, 也可实现提升细胞内的氧化应激状态的目的(图3)。GSH、硫氧还蛋白/硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase, TRXR)、SOD及部分抗氧化转录因子是肿瘤细胞发生抗氧化反应的核心分子; 抑制肿瘤细胞中GSH和TRX水平可提升ROS介导的氧化应激, 抑制肿瘤的生长^[16]。铁死亡诱导剂Erastin靶向抑制肿瘤细胞中GSH的合成, 通过诱导ROS的过度累积发挥抑瘤效应^[66]; 丁硫氨酸(SR)以及磺胺脒(BSO)通过靶向抑制GSH合成所需的关键限速酶GCL的活性, 抑制肿瘤细胞抗氧化反应, 诱导细胞死亡^[60]。除

此外, Telcyta(TLK-286)、双硫仑(Disulfiram)、NOV-002、柳氮磺吡啶(Sulfasalazine)及甲萘醌(Menadione)等药物均通过靶向抑制GSH抗氧化体系而治疗肿瘤^[67-70]。TRX对清除细胞中H₂O₂, 维持细胞氧化稳态具有重要作用。TRX/TRXR抑制剂PX-12通过抑制硫氧还蛋白的氧化还原活性, 诱导ROS的积累而抑制肿瘤的生长^[71]。MGD是靶向TRXR和核糖核酸还原酶的特异性抑制剂, 可上调肿瘤细胞内ROS水平, 且可与放疗协同作用, 促进肿瘤细胞死亡^[72]。Dimesna(BNP7787)可靶向TRX和GRX, 抑制肿瘤细胞抗氧化反应治疗肿瘤。化疗药物三氧化二砷不仅可以提升ROS的产生量, 还可靶向抑制TRXR和GRX介导的抗氧化防御体系^[62]。SOD是细胞内执行抗氧化功能的重要成分, 靶向抑制SOD也是诱导肿瘤氧化应激, 促进肿瘤死亡的重要策略。如2-甲氧基雌二醇(2-methoxyestradiol)及四硫代钼酸盐(ATN-224)可通过抑制SOD的活性, 诱导肿瘤细胞氧化稳态失衡来治疗肿瘤^[16]。HIF-1 α 也是介导抗氧化应激的重要转录因子, 靶向抑制HIF-1 α 可显著抑制多种肿瘤的恶性增殖。PX-478和拓扑替康(Topotecan, TPT)分别通过抑制HIF-1 α 的转录活性和蛋白翻译, 而抑制HIF-1 α 信号通路, 进而达到治疗肿瘤的效果^[73-74]。

4.2 抗氧化治疗肿瘤

基于低于死亡阈值ROS的促瘤效应, 抑制ROS也成为抑制肿瘤的潜在治疗策略。膳食中的维生素C、维生素E以及 β -胡萝卜素以及经典的最常见的抗氧化治疗药物N-乙酰半胱氨酸(NAC)等成分被摄入机体进入细胞后, 可清除过量的自由基, 降低肿瘤细胞氧化应激, 维持肿瘤细胞氧化稳态^[16,75]。然而, 这种抗氧化治疗肿瘤的方法目前颇具争议, 褒贬不一。一方面, 有研究发现, ROS水平的降低会造成细胞存活和增殖能力的降低, 代谢适应能力的下降, 及DNA损伤和基因组不稳定性水平的降低^[1]。另一方面, 有研究发现抗氧化剂的使用可缩短晚期肿瘤患者的生存时间, 表明抗氧化剂具有促瘤效应^[1]。因此, 抗氧化剂对肿瘤进程的影响是高度复杂的, 深入研究抗氧化治疗的促瘤和抑瘤效应的矛盾机制, 对精准治疗肿瘤及延长患者生存时间具有重要意义。

4.3 肿瘤免疫治疗

近年来, 肿瘤免疫疗法在黑色素瘤、非小细胞肺癌、膀胱癌、血液肿瘤等多种恶性肿瘤的临床应

用中不断涌出振奋人心的结果, 已经成为目前最具前景的治疗手段之一, 主要包括免疫检查点阻断疗法、过继性免疫疗法、溶瘤病毒疗法等^[76]。然而, 不同的肿瘤患者, 或者患有同一类型肿瘤的不同患者对免疫治疗的反应性差异较大, 其背后机制尚有待明确。

研究显示, 肿瘤免疫治疗效果与ROS介导的氧化应激高度相关。例如, 在T细胞中共表达过氧化氢酶和肿瘤特异性嵌合抗原受体, 可抑制T细胞内ROS的产生而增强T细胞对肿瘤细胞的清除功能, 抑制ROS可有效逆转嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)免疫疗法治疗不佳的情况^[77]。近来也有研究发现, 人工合成的ZnS@BSA纳米颗粒可通过抑制细胞内起抗氧化作用的过氧化氢酶来促进ROS的累积, 进而激活细胞内环鸟苷酸腺苷酸合成酶/干扰素基因刺激因子(cGAS/STING)介导的固有免疫通路, 促进免疫杀伤效应^[78]。因此, 抑制或促进ROS均可能提高肿瘤免疫治疗效果, 权衡氧化应激与免疫治疗的利与弊, 将为靶向肿瘤免疫治疗提供新的见解和契机。

4.4 氧化还原稳态与肿瘤耐药

尽管近年来分子靶向治疗与免疫治疗在临床上应用得如火如荼, 但由于其所适用的肿瘤患者人群有限, 且价格昂贵, 广谱化疗和放疗仍是肿瘤临床治疗中不可或缺的重要策略。然而, 耐药性(drug resistance)的发生是肿瘤治疗的壁垒。

在氧化应激下, Keap1分子中的半胱氨酸残基被ROS修饰, 阻碍了抗氧化核心转录因子Nrf2的泛素化降解, Nrf2转位至细胞核, 激活NQO1、HMOX1、FTH1等抗氧化基因的转录, 进而激活下游一系列抗氧化反应^[24]。Nrf2的激活与肿瘤细胞适应高氧化状态和抵抗多种抗肿瘤药物的杀伤效应密切相关。也有研究发现, Nrf2可以促进GSH的合成和利用, 以此降低化疗药物的杀伤效果^[79]。我们的研究发现, 肾癌中Nrf2的高表达与其原发型耐药特征密切相关, 抑制Nrf2的表达可有效提高肾癌细胞和移植瘤组织对5-FU的敏感性^[27]。这些结果提示, 抑制Nrf2相关抗氧化机制有望逆转肿瘤耐药。然而, Nrf2等转录因子在细胞内除调控抗氧化反应外, 也广泛参与多种关键生物学功能的调控。因此, 靶向Nrf2的治疗可能产生严重的副作用, 肿瘤特异性靶向抑制剂的研制和开发是目前面临的重大挑战。

除此之外, 细胞内直接参与抗氧化的代谢酶体系如 GSH、TRX 等, 以及肿瘤代谢重编程, 均可促进肿瘤抵抗凋亡, 导致多种化疗药物的治疗耐受^[80-81]。因此, 基于肿瘤细胞氧化还原稳态的靶向治疗可克服治疗耐药, 并提升肿瘤治疗效果。

5 总结与展望

综上所述, 氧化应激作为一种损伤“元凶”, 可直接靶向细胞内生物大分子, 表现出其促瘤与抑瘤的双重效应。调控肿瘤细胞的氧化还原稳态, 可显著影响肿瘤的治疗效果, 是一种具有潜力的临床治疗策略。然而, 氧化应激调控肿瘤细胞命运是高度复杂的, 与肿瘤的类型、肿瘤的发病进程等因素密切相关。如何精准把控氧化应激的抑瘤效应, 避免促瘤效应, 仍是后续研究的关键。多数促氧化剂无法有效区分正常细胞和肿瘤细胞, 这无疑增加了药物对机体的毒副作用并极易诱导耐药性的发生。抗氧化剂对肿瘤进程的影响颇具争议, 基于抑制氧化应激的抗氧化疗法也未能表现出预期的治疗结果。今后, 以肿瘤细胞氧化还原稳态为治疗靶点, 进一步探究氧化还原稳态与增殖、凋亡、衰老等生物学进程的关系, 将对肿瘤的治疗具有重要意义。随着生物信息学、组学、单细胞测序等大数据分析相关学科、生物显微成像及生物探针等技术在基础与临床医学领域的不断应用, 我们可进一步分析氧化应激的时空特异性, 进而发现和研发更多的氧化稳态治疗靶点, 以促进基于氧化稳态的肿瘤创新治疗策略的开发, 寻找更多高效、可行且精准的治疗方案。

参考文献 (References)

- [1] HAYES J D, DINKOVA-KOSTOVA A T, TEW K D. Oxidative stress in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2020, 38(2): 167-97.
- [2] SCHIEBER M, CHANDEL N S. ROS function in redox signaling and oxidative stress [J]. *Curr Biol*, 2014, 24(10): R453-62.
- [3] HARRIS I S, DENICOLA G M. The complex interplay between antioxidants and ROS in cancer [J]. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(6): 440-51.
- [4] FORRESTER S J, KIKUCHI D S, HERNANDES M S, et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling [J]. *Circ Res*, 2018, 122(6): 877-902.
- [5] HANDY D E, LOSCALZO J. Redox regulation of mitochondrial function [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 16(11): 1323-67.
- [6] SIES H, JONES D P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(7): 363-83.
- [7] GRIENGLING K K, CAMARGO L L, RIOS F J, et al. Oxidative stress and hypertension [J]. *Circ Res*, 2021, 128(7): 993-1020.
- [8] SUN Y, LU Y, SAREDY J, et al. ROS systems are a new integrated network for sensing homeostasis and alarming stresses in organelle metabolic processes [J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101696.
- [9] MOSCA L, ILARI A, FAZI F, et al. Taxanes in cancer treatment: activity, chemoresistance and its overcoming [J]. *Drug Resist Updat*, 2021, 54: 100742.
- [10] KLAUNIG J E. Oxidative stress and cancer [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(40): 4771-8.
- [11] HUANG R, CHEN H, LIANG J, et al. Dual role of reactive oxygen species and their application in cancer therapy [J]. *J Cancer*, 2021, 12(18): 5543-61.
- [12] KIM Y W, BYZOVA T V. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease [J]. *Blood*, 2014, 123(5): 625-31.
- [13] BELAIDI E, MORAND J, GRAS E, et al. Targeting the ROS-HIF-1-endothelin axis as a therapeutic approach for the treatment of obstructive sleep apnea-related cardiovascular complications [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 168: 1-11.
- [14] SRINIVAS U S, TAN B W Q, VELLAYAPPAN B A, et al. ROS and the DNA damage response in cancer [J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101084.
- [15] HUANG G, PAN S T. ROS-mediated therapeutic strategy in chemo-/radiotherapy of head and neck cancer [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 5047987.
- [16] FORMAN H J, ZHANG H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(9): 689-709.
- [17] SHADEL G S, HORVATH T L. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis [J]. *Cell*, 2015, 163(3): 560-9.
- [18] ROJO DE LA VEGA M, CHAPMAN E, ZHANG D D. NRF2 and the hallmarks of cancer [J]. *Cancer Cell*, 2018, 34(1): 21-43.
- [19] CUADRADO A, MANDA G, HASSAN A, et al. Transcription factor NRF2 as a therapeutic target for chronic diseases: a systems medicine approach [J]. *Pharmacol Rev*, 2018, 70(2): 348-83.
- [20] HAYES A J, SKOURAS C, HAUGK B, et al. Keap1-Nrf2 signalling in pancreatic cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 65: 288-99.
- [21] LIM J K M, LEPRIVIER G. The impact of oncogenic RAS on redox balance and implications for cancer development [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12): 955.
- [22] CHEN H H, CHANG H H, CHANG J Y, et al. Enhanced B-Raf-mediated NRF2 gene transcription and HATs-mediated NRF2 protein acetylation contributes to ABCC1-mediated chemoresistance and glutathione-mediated survival in acquired topoisomerase II poison-resistant cancer cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 113: 505-18.
- [23] TANG Y C, HSIAO J R, JIANG S S, et al. c-MYC-directed NRF2 drives malignant progression of head and neck cancer via glucose-6-phosphate dehydrogenase and transketolase activation [J]. *Theranostics*, 2021, 11(11): 5232-47.
- [24] YAMAMOTO M, KENSLER T W, MOTOHASHI H. The KEAP1-NRF2 system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis [J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(3): 1169-203.
- [25] KAGEYAMA S, GUDMUNDSSON S R. p62/SQSTM1-droplet serves as a platform for autophagosome formation and anti-

- oxidative stress response [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 16.
- [26] HAN D, GU X, GAO J, et al. Chlorogenic acid promotes the Nrf2/HO-1 anti-oxidative pathway by activating p21(Waf1/Cip1) to resist dexamethasone-induced apoptosis in osteoblastic cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 137: 1-12.
- [27] GE W, ZHAO K, WANG X, et al. iASPP is an antioxidative factor and drives cancer growth and drug resistance by competing with Nrf2 for Keap1 binding [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(5): 561-73.e6.
- [28] SAMANTA D, SEMENZA G L. Maintenance of redox homeostasis by hypoxia-inducible factors [J]. *Redox Biol*, 2017, 13: 331-5.
- [29] STEGEN S, VAN GASTEL N, EELEN G, et al. HIF-1 α promotes glutamine-mediated redox homeostasis and glycogen-dependent bioenergetics to support postimplantation bone cell survival [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(2): 265-79.
- [30] QING X, SHI D, LÜ X, et al. Prognostic significance of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in solid tumors: a meta-analysis [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 997.
- [31] BRANDON M, BALDI P, WALLACE D C. Mitochondrial mutations in cancer [J]. *Oncogene*, 2006, 25(34): 4647-62.
- [32] WANG Y, QI H, LIU Y, et al. The double-edged roles of ROS in cancer prevention and therapy [J]. *Theranostics*, 2021, 11(10): 4839-57.
- [33] CALVO-OCHOA E, S NCHEZ-ALEGR A K, G MEZ-INCL N 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 [J]. *Neurochem Int*, 2017, 110: 75-83.
- [34] REDDY K B, GLAROS S. Inhibition of the MAP kinase activity suppresses estrogen-induced breast tumor growth both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Oncol*, 2007, 30(4): 971-5.
- [35] DENG W, WANG Y, ZHAO S, et al. MICAL1 facilitates breast cancer cell proliferation via ROS-sensitive ERK/cyclin D pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(6): 3108-18.
- [36] CHANG C H, PAUKLIN S. ROS and TGF β : from pancreatic tumour growth to metastasis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 152.
- [37] JIANG J, WANG K, CHEN Y, et al. Redox regulation in tumor cell epithelial-mesenchymal transition: molecular basis and therapeutic strategy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2017, 2: 17036.
- [38] DONGRE A, WEINBERG R A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(2): 69-84.
- [39] SOSA V, MOLIN T, SOMOZA R, et al. Oxidative stress and cancer: an overview [J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(1): 376-90.
- [40] SEMENZA G L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine [J]. *Cell*, 2012, 148(3): 399-408.
- [41] KONO K, SALAZAR-ONFRAY F, PETERSSON M, et al. Hydrogen peroxide secreted by tumor-derived macrophages downmodulates signal-transducing zeta molecules and inhibits tumor-specific T cell-and natural killer cell-mediated cytotoxicity [J]. *Eur J Immunol*, 1996, 26(6): 1308-13.
- [42] AKHIANI A A, WERLENIUS O, AURELIUS J, et al. Role of the ERK pathway for oxidant-induced parthanatos in human lymphocytes [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89646.
- [43] HARMON C, ROBINSON M W, HAND F, et al. Lactate-mediated acidification of tumor microenvironment induces apoptosis of liver-resident NK cells in colorectal liver metastasis [J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(2): 335-46.
- [44] 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 [J]. *Redox Biol*, 2019, 22: 101116.
- [45] BABBITT S E, SUTHERLAND M C, SAN FRANCISCO B, et al. Mitochondrial cytochrome c biogenesis: no longer an enigma [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(8): 446-55.
- [46] KORYTOWSKI W, BASOVA L V, PILAT A, et al. Permeabilization of the mitochondrial outer membrane by Bax/truncated Bid (tBid) proteins as sensitized by cardiolipin hydroperoxide translocation: mechanistic implications for the intrinsic pathway of oxidative apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(30): 26334-43.
- [47] WANG H, JIANG D, LIU J, et al. Compound K induces apoptosis of bladder cancer T24 cells via reactive oxygen species-mediated p38 MAPK pathway [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28(8): 607-14.
- [48] O'MALLEY J, KUMAR R, INIGO J, et al. Mitochondrial stress response and cancer [J]. *Trends Cancer*, 2020, 6(8): 688-701.
- [49] BASAK D, PUNGANURU S R, SRIVENUGOPAL K S. Piperlongumine exerts cytotoxic effects against cancer cells with mutant p53 proteins at least in part by restoring the biological functions of the tumor suppressor [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(4): 1426-36.
- [50] HONG M, LI J, LI S, et al. Acetylshikonin sensitizes hepatocellular carcinoma cells to apoptosis through ROS-mediated caspase activation [J]. *Cells*, 2019, 8(11): 1466.
- [51] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-72.
- [52] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 165-76.
- [53] TANG D, CHEN X, KANG R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications [J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-25.
- [54] DOLL S, FREITAS F P, SHAH R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-8.
- [55] JIANG X, STOCKWELL B R. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-82.
- [56] ZHANG W, HUANG C, SUN A, et al. Hydrogen alleviates cellular senescence via regulation of ROS/p53/p21 pathway in bone marrow-derived mesenchymal stem cells *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1126-34.
- [57] LI H, ZHANG W, ZHAO K, et al. A previously identified apoptosis inhibitor iASPP confers resistance to chemotherapeutic drugs by suppressing senescence in cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(12): 4049-63.
- [58] SARMIENTO-SALINAS F L, PEREZ-GONZALEZ A, ACOSTA-CASIQUE A, et al. Reactive oxygen species: Role in carcinogenesis, cancer cell signaling and tumor progression [J]. *Life Sci*, 2021, 284: 119942.
- [59] CHAMOTO K, CHOWDHURY P S, KUMAR A, et al. Mitochondrial activation chemicals synergize with surface receptor

- PD-1 blockade for T cell-dependent antitumor activity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(5): E761-E70.
- [60] POPRAC P, JOMOVA K, SIMUNKOVA M, et al. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(7): 592-607.
- [61] MIZUTANI H, TADA-OIKAWA S, HIRAKU Y, et al. Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide [J]. *Life Sci*, 2005, 76(13): 1439-53.
- [62] LU J, CHEW E H, HOLMGREN A. Targeting thioredoxin reductase is a basis for cancer therapy by arsenic trioxide [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(30): 12288-93.
- [63] LEE S Y, JEONG E K, JU M K, et al. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 10.
- [64] ZHAO X, LIU J, FAN J, et al. Recent progress in photosensitizers for overcoming the challenges of photodynamic therapy: from molecular design to application [J]. *Chem Soc Rev*, 2021, 50(6): 4185-219.
- [65] ZHANG Y, ZHANG X, YANG H. Advanced biotechnology-assisted precise sonodynamic therapy [J]. *Chem Soc Rev*, 2021, 50(20): 11227-48.
- [66] WANG L, LIU Y, DU T, et al. ATF3 promotes erastin-induced ferroptosis by suppressing system Xc [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(2): 662-75.
- [67] TOWNSEND D M, FINDLAY V L, TEW K D. Glutathione S-transferases as regulators of kinase pathways and anticancer drug targets [J]. *Methods Enzymol*, 2005, 401: 287-307.
- [68] LLUIS J M, COLELL A, GARCÍA-RUIZ C, et al. Acetaldehyde impairs mitochondrial glutathione transport in HepG2 cells through endoplasmic reticulum stress [J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(3): 708-24.
- [69] UYS J D, MANEVICH Y, DEVANE L C, et al. Preclinical pharmacokinetic analysis of NOV-002, a glutathione disulfide mimetic [J]. *Biomed Pharmacother*, 2010, 64(7): 493-8.
- [70] FLOROS K V, CAI J, JACOB S, et al. MYCN-amplified neuroblastoma is addicted to iron and vulnerable to inhibition of the system Xc-/glutathione axis [J]. *Cancer Res*, 2021, 81(7): 1896-908.
- [71] DAL PIAZ F, BRACA A, BELISARIO M A, et al. Thioredoxin system modulation by plant and fungal secondary metabolites [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(5): 479-94.
- [72] HASHEMY S I, UNGERSTEDT J S, ZAHEDI AVVAL F, et al. Motexafin gadolinium, a tumor-selective drug targeting thioredoxin reductase and ribonucleotide reductase [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(16): 10691-7.
- [73] LI H, LIANG J, WANG J, et al. Mex3a promotes oncogenesis through the RAPI/MAPK signaling pathway in colorectal cancer and is inhibited by hsa-miR-6887-3p [J]. *Cancer Commun*, 2021, 41(6): 472-91.
- [74] JIANG Y, ZHOU Y, PENG G, et al. Topotecan prevents hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension and inhibits hypoxia-inducible factor-1 α and TRPC channels [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 104: 161-70.
- [75] ATHREYA K, XAVIER M F. Antioxidants in the treatment of cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2017, 69(8): 1099-104.
- [76] MERIC-BERNSTAM F, LARKIN J, TABERNERO J, et al. Enhancing anti-tumour efficacy with immunotherapy combinations [J]. *Lancet*, 2021, 397(10278): 1010-22.
- [77] LIGTENBERG M A, MOUGIAKAKOS D, MUKHOPADHYAY M, et al. Coexpressed catalase protects chimeric antigen receptor-redirectioned T cells as well as bystander cells from oxidative stress-induced loss of antitumor activity [J]. *J Immunol*, 2016, 196(2): 759-66.
- [78] CEN D, GE Q, XIE C, et al. ZnS@BSA nanoclusters potentiate efficacy of cancer immunotherapy [J]. *Adv Mater*, 2021, doi: 10.1002/adma.202104037.
- [79] LIEN E C, LYSSIOTIS C A, JUVEKAR A, et al. Glutathione biosynthesis is a metabolic vulnerability in PI(3)K/Akt-driven breast cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(5): 572-8.
- [80] BANSAL A, SIMON M C. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(7): 2291-8.
- [81] PRANZINI E, PARDELLA E, PAOLI P, et al. Metabolic reprogramming in anticancer drug resistance: a focus on amino acids [J]. *Trends Cancer*, 2021, 7(8): 682-99.