



谢丹, 教授, 博士生导师。中山大学肿瘤防治中心, 华南恶性肿瘤防治全国重点实验室项目组长(PI), 病理科副主任, 国家杰出青年基金项目获得者(2012年), 广东省“珠江学者特聘教授”(2013年), 科技部“中青年领军人才”(2014年), 国家重点研发计划项目“首席科学家”(2017年)。现任广东省抗癌协会-癌转移学会副主任委员。主要研究方向: 运用分子病理学和实验肿瘤学等相关技术, 进行结直肠癌和肝癌等多种人类消化系统肿瘤侵袭和转移分子机制及分子诊断标志物的研究。相关研究成果以第一作者或通信作者分别发表在*Lancet Oncol*、*Nat Cell Biol*、*Gut*、*J Clin Invest*、*Cell Res*、*Nat Commun*、*Signal Transduct Target Ther*、*Cancer Res*等杂志上。先后主持国家和省部级等科研课题20余项; 在肿瘤病理学领域的相关主流学术杂志上共发表SCI论著200余篇, 其中通信/共同通信作者论著100余篇, 第一/共同第一作者论著6篇, 累计影响因子(IF)超过1 000分; 获得肿瘤诊断标志物相关专利5项。

细胞应激在结直肠癌中的研究进展

徐水丹 蔡小霞 吕永瑞 王凤伟* 谢丹*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060)

摘要 结直肠癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 且发病率呈逐渐上升之势。结直肠癌突变率高、驱动基因多、分型多样、异质性强等特点, 导致其对放化疗及免疫治疗响应率低、晚期预后差。应激耐受是肿瘤细胞在发生发展过程中逐步重塑、适应环境、维持生存所共有的重要特征。揭示结直肠癌肿瘤细胞应激耐受的机制, 可为提高预防和治疗的有效率提供新策略和靶点。该文结合国内外研究进展, 对肿瘤细胞应激耐受在结直肠癌发生发展中的作用及机制进行综述。

关键词 结直肠癌; 应激耐受; 氧化应激; 复制应激; 内质网应激; 应激颗粒

Research Progress of Cellular Stress in Colorectal Cancer

XU Shuidan, CAI Xiaoxia, LÜ Yongrui, WANG Fengwei*, XIE Dan*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

Abstract CRC (colorectal cancer) is one of the most common malignant tumors in China, and its incidence rate is gradually rising. The high mutation rate, multiple driver genes, diverse subtypes, and high heterogeneity of CRC lead to low response rates to radiotherapy, chemotherapy, and immunotherapy, as well as poor prognosis in the late stage. Stress tolerance is an important characteristic of tumor cells as they gradually adapt to the micro-environment and maintain survival during the development of CRC. Revealing the mechanism of stress tolerance in

收稿日期: 2024-09-14

接受日期: 2024-12-16

国家自然科学基金面上项目(批准号: 82372620、82072608)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-87343193, E-mail: wangfengw@sysucc.org.cn; xiedan@sysucc.org.cn

Received: September 14, 2024

Accepted: December 16, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82372620, 82072608)

*Corresponding authors. Tel: +86-20-87343193, E-mail: wangfengw@sysucc.org.cn; xiedan@sysucc.org.cn

CRC tumor cells can provide new strategies and targets for improving the effectiveness of prevention and treatment. This study reviews the role and mechanism of tumor cell stress tolerance in the pathogenesis of CRC.

Keywords colorectal cancer; stress tolerance; oxidative stress; replication stress; endoplasmic reticulum stress; stress granules

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是人类最常见的恶性肿瘤之一。根据2022年全球癌症数据统计, CRC发病率在所有癌症中居于第三位, 癌症相关死亡率居于第二位^[1]。在我国, CRC发病率逐渐上升, 且发病人群呈现年轻化趋势^[2]。早期CRC预后良好, 大部分患者可手术治愈, 然而CRC的早期症状不明显, 许多患者在初诊时已出现局部淋巴转移或远处转移, 而晚期患者的5年生存率仅为14%^[3]。揭示CRC早期发生、恶性进展的机制是有效预防和治疗CRC的重要前提。众所周知, 大多数CRC(70%~90%)的发生是经历异常肠隐窝-良性腺瘤性息肉-散发性CRC的多步骤转变, 这些表型转变与特定的“APC、TP53、KRAS”标志性基因突变事件的积累相关^[4]。基因突变驱动细胞异常增生, 导致组织内氧气及各种养分缺乏, 致使异常组织细胞在致死毒性和存活的拉锯战中不断重编程, 随后一系列关键分子被重启后卷入进程以提高细胞存活率, 诱导产生适应性较强的应激耐受细胞群, 导致临床可见的癌发生。

细胞应激(cellular stress)是指当真核细胞遭受外部环境因素, 如温度、氧气、盐离子浓度、pH值、有毒化学物质等, 或胞内发生的显著改变, 如DNA损伤、泛素或错误折叠蛋白质等生物分子积累的刺激, 导致细胞的相对稳态被破坏^[5]。细胞可通过多种途径调节、耐受应激环境从而存活, 或启动死亡程序以避免受损的细胞引起疾病。目前, 越来越多的证据表明细胞应激的异常调控与结直肠癌的发生发展密切相关。常见的细胞应激包括氧化应激(oxidative stress, OS)、DNA复制应激(replication stress)、未折叠蛋白反应、应激颗粒(stress granule, SG)介导的翻译和RNA稳态调控等。

氧化应激(OS)是促氧化分子和细胞抗氧化能力之间的失衡引起的^[3]。线粒体在氧化磷酸化为细胞供能的同时, 少量氧气在呼吸链中不完全还原成超氧自由基, 是细胞内源性活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要来源。活性氧通过与生物大分子(包括蛋白质、核酸和脂质)的相互作用, 可以破坏关键

的细胞功能, 导致细胞损伤和功能失调。癌细胞中增加的活性氧可作为信使刺激细胞增殖, 或作为内源性因素导致DNA损伤, 进而促进遗传不稳定性和癌症的发展^[6]。高保真度的DNA复制对于将遗传信息完整准确地传递给子细胞至关重要。遗传毒性应激如电离辐射、DNA损伤性化疗或内源性DNA-蛋白质交联等, 导致复制叉进展改变、保真度降低甚至DNA断裂(即复制应激)^[7], 复制应激是癌前病变中基因组不稳定性的重要来源, 也是癌细胞的标志之一^[8]。蛋白质是生命活动的主要承担者, 而内质网是蛋白质处理、修饰和折叠的主要场所。尽管这些过程受到细胞的精细调控, 但多种胞内或胞外因素可能会干扰内质网的蛋白质折叠能力, 引发一种以未折叠蛋白质积累为特征的内质网应激状态。在肿瘤的发生发展过程中, 一方面肿瘤细胞处于高水平的扩增及活动状态, 另一方面肿瘤细胞在遗传、转录和代谢等多方面存在异常, 形成不利于细胞生存的微环境, 导致肿瘤细胞持续受到内质网应激的影响。应激颗粒(SG)是在各种应激如热应激、氧化应激等条件下形成的RNA和RNA结合蛋白组装体, 其动态平衡可以通过对细胞内RNA加工和蛋白质翻译的调控实现对细胞功能、命运的影响^[9]。在癌症背景下, 应激颗粒赋予肿瘤细胞生存优势, 增强癌细胞的适应性, 与肿瘤的发生发展及化疗耐药密切相关。

因此, 阐明细胞应激的分子基础对于全面认识肿瘤发生发展过程是必要的, 对细胞应激系统深入的探索将会为肿瘤治疗提供新的线索。本文从氧化应激、复制应激、内质网应激、应激颗粒等几个方面综述了肿瘤细胞应激耐受在CRC发生发展过程中的作用机制、调控机制以及在CRC治疗方面的研究进展(图1)。

1 氧化应激与CRC

氧化应激是指在生物体内与抗氧化剂相比, 产生的活性氧(ROS)、活性氮(reactive nitrogen species, RNS)等氧化剂的相对过剩, 引起细胞内氧化-还原反应速率失调, 机体中氧化系统与抗氧化系统失衡

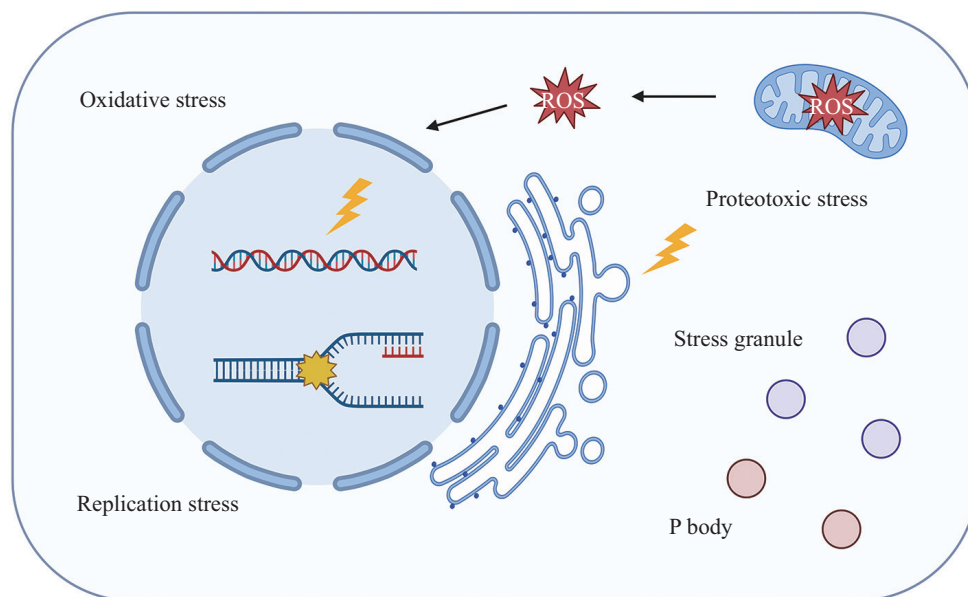


图1 结直肠癌中的细胞应激

Fig.1 Cellular stress in colorectal cancer

的状态^[10]。这种失衡状态可能会引起组织的损伤,造成的氧化应激损伤,也被认为是神经退行性疾病、心血管疾病、糖尿病以及癌症的重要发病因素^[11]。结直肠癌的发病机制是一个复杂的、多步骤的过程,由长期炎症、暴露于感染因子及其他应激条件引起^[12]。氧化应激损伤可通过多种机制促进肿瘤的发生和发展。一方面,它能增加突变率并激活致癌途径^[13]。另一方面,促炎细胞因子也会引发氧化应激,从而增加黏膜通透性并损害肠上皮的再生潜力,同时,低水平的ROS引起的氧化应激效应可激活核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B),促进肿瘤形成^[14]。免疫细胞也会产生大量ROS,进而引起结肠上皮细胞DNA的损伤。这种损伤可导致癌基因突变或抑癌基因失活,以及基因组不稳定性的出现,最终促进细胞过度增殖、癌变^[15]。

ROS和RNS可以通过直接或间接的方式引起DNA的氧化损伤,导致基因突变和基因的不稳定性,是导致癌细胞形成的关键因素。氧化应激产生的大量OH $\cdot$ 自由基可以与DNA上的碳原子和羟基上的氢原子反应,导致脱氧核糖分解,引起DNA链的断裂。研究表明,DNA氧化损伤水平在结直肠癌前病变的上皮中已明显升高,氧化应激反应增强与CRC的早期发生和恶性进展密切相关^[16]。因此,参与DNA氧化损伤的基因表达或功能异常很可能与CRC发生密切相关。小片段的DNA损伤主要由碱基

切除修复(base excision repair, BER)途径完成^[17],而BER途径的第一步即AP位点的产生是由DNA糖基化酶来催化介导的^[18-19]。LINDAHL等^[20]于1974年首次在大肠杆菌中发现了DNA糖基化酶,并因其在BER通路中的开创性工作而获得2015年的诺贝尔化学奖。既往研究表明,缺少DNA糖基化酶(Nth和Nei)的大肠杆菌突变率显著增高且对过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)及辐照更为敏感^[21-22]。人基因组中有三个Nei的同源基因,即NEIL(endonuclease VIII-like protein)家族成员NEIL1、NEIL2、NEIL3^[18,23-24]。我们课题组前期发现DNA糖基化酶NEIL1是Trunc-APC下游的响应氧化应激的功能蛋白,但NEIL1不依赖于其DNA糖基化酶活性,直接以转录调控方式促进CRC发生的机制,提示氧化损伤修复分子功能的多面性^[25]。

另外,ROS(主要包括OH $\cdot$ 、HOCl、NO $\cdot$ 、ONOO $\cdot$ 、ONOOH和NO₂ $\cdot$)具有很高的反应活性,可以引起脂质、核酸及蛋白质的氧化修饰,如硫醇氧化、羟基化、硝基化等^[26]。这些修饰会使蛋白质的结构和生物学功能发生改变,引起细胞功能的变化或对信号转导通路的调节,进而促进癌症的发展。脂质过氧化是氧化应激的主要特征,脂质作为内质网膜、线粒体膜等各种生物膜的重要组分,其过氧化使细胞膜结构受损、膜受体功能失调,还会产生剧毒的醛、酮、羟基醛和环氧化合物^[27-30]。在

克罗恩病和溃疡性结肠炎患者体内检测到乙烷、甲烷和戊烷的水平升高^[31]。脂质过氧化最终产生丙二醛(malondialdehyde, MDA), 其与DNA反应形成MDA-DNA复合物, 具有促突变特性, 可在人类肿瘤中诱导癌基因激活或抑癌基因突变^[32-33]。蛋白质的羰基化修饰也是氧化损伤的重要标志, 在溃疡性结肠炎患者中也能检测到羰基化蛋白水平的升高^[34]。ROS、RNS和金属离子作为脂质和核酸的氧化产物参与蛋白质的氧化, 其中含硫原子的氨基酸(如甲硫氨酸、半胱氨酸)组成的蛋白质容易被氧化。甲硫氨酸氧化产生甲硫氨酸亚砷, 半胱氨酸氧化产生二硫化物。羟基自由基激活肽键, 形成碳自由基与氧反应, 产生烷基过氧自由基、烷基过氧化物及烷基自由基, 进一步氧化多肽链上的其他残基, 导致蛋白质结构受到破坏, 生物学功能逐渐丧失^[35]。

同时氧化应激还可直接参与细胞信号转导, ROS调节多种细胞信号通路, 影响细胞增殖、分化和迁移。氧化应激可以直接导致肠道损伤, 研究发现肠道损伤与Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)/NF- κ B信号通路激活相关, 伴随核因子 κ B激酶亚基 ϵ 抑制因子(inhibitor of nuclear factor- κ B kinase subunit epsilon, IKKi)的表达上调, 促进NF- κ B p65亚基在536位丝氨酸磷酸化, 并激活NF- κ B, 使其入核以调节基因表达^[36]。肠道炎症反应也与氧化应激有明显相关性, 氧化应激下的肠上皮细胞会表现出增强的炎症反应, 引起更多促炎因子的产生^[37], 研究发现氧化应激下, 肠上皮细胞产生IL-4和IL-6, 且核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)和IL-17D的水平也均上调且呈正相关, 氧化应激诱导肠道炎症反应中Nrf2/IL-17D轴独立于正常生理条件下Nrf2-Kelch样ECH相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)通路发挥作用, 引起剧烈的炎症反应^[38-39]。氧化应激产生的过量ROS还可以诱导细胞凋亡和细胞自噬, 凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal-regulating kinase 1, ASK1)-MAPK级联反应是氧化应激诱导细胞凋亡的关键途径, 研究发现ROS可催化ASK1磷酸化, 激活下游c-Jun N末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)/p38 MAPK通路, 从而参与细胞增殖、分化、转化和死亡^[40]。

临床前和临床研究已经确定氧化应激是促进

结直肠癌发展的主要机制。结直肠癌的发生发展是一个多步骤的过程, 由健康的肠道细胞转化为异常的肠道细胞, 仅单个突变不足以诱导癌变, 至少需要DNA与蛋白质的直接氧化引起突变, 进一步通过氧自由基调控转录因子Nrf2和NF- κ B干预炎症反应和致癌作用^[41-43]。研究显示Nrf2的过度表达可以促进结直肠肿瘤的生长, 其异常激活或积累与结直肠癌的恶性进展、化疗耐药以及预后不良相关^[44-45]。因此对Nrf2的直接抑制或激活Keap1(可使Nrf2蛋白泛素化, 促进其蛋白酶体降解, 调节其蛋白水平)能有效抑制氧化应激, 从而达到对CRC的预防和治疗作用^[41]。NF- κ B在炎症过程中起核心作用, 其激活导致产生促炎细胞因子(如TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)、趋化因子(如MCP-1、MIP-1、IL-8)、炎症介质(如COX-2)及黏附分子(ICAM-1、VCAM-1)等, 可对肠上皮细胞长期刺激, 驱动慢性炎症的发生以及促使致癌作用的启动^[46-49]。

对于结直肠癌癌前病变, 检测氧化应激对细胞及生物大分子的初期损害程度对早癌筛查非常重要, 目前许多研究正试图从组织、尿液、血液等样本中寻找合适的标志物诊断氧化应激对结直肠细胞的损伤程度以及患者所处的疾病阶段。研究发现CRC患者尿液中的晚期氧化蛋白产物(advanced oxidation protein product, aOPP)、H₂O₂和MDA, 血液中过氧化物酶和MDA水平显著升高, 这些指标可用于CRC的诊断以及评估肿瘤浸润深度、是否存在淋巴结转移^[50]。除了氧化损伤产物外, 细胞的抗氧化系统也被广泛研究。抗氧化酶系统是针对ROS的主要细胞保护机制, 其中包括过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、抗氧化蛋白(peroxiredoxins, Prxs)^[51-52], 这些抗氧化蛋白可作为结直肠癌患者的诊断及治疗效果的预测指标^[50]。

总之, 氧化应激在癌症的发生和发展中扮演着复杂的角色, 既可以直接损伤DNA和细胞结构, 也可以通过影响细胞信号转导和免疫应答来间接促进癌症的发展。研究氧化应激与癌症的关系有助于开发新的治疗策略, 针对ROS和相关的生物途径进行治疗。协同致死(synthetic lethality)是指A或B单独突变不会导致细胞死亡, 但是A和B两个基因同时突变则会造成细胞死亡^[53], 基于此制定的靶向治疗策略目前已逐步应用于临床, 针对氧化应激的研究为开发用于预防肿瘤发生与治疗癌症的药物提供了希望

和思路。课题组研究结果发现靶向NEIL1与NF- κ B抑制剂联合治疗也显示出对肿瘤生长的协同抑制效应^[25]。另外针对关键的抗氧化蛋白也是治疗结直肠癌的潜在靶点之一,如靶向SLC7A11、GCLC、GPX4、TXN和TXNRD,可能成为新兴的诱导癌细胞氧化性细胞死亡的方法^[54]。

2 复制应激与CRC

哺乳动物细胞在每次分裂时,都必须准确地复制数十亿个核苷酸,以配合细胞周期。若DNA复制出现错误,可能导致突变或复制受阻,进而引发染色体的断裂、重排和错误分离。任何导致高水平DNA损伤的情况,包括内源性和外源性的遗传毒性应激,都可能干扰DNA复制并阻碍其进程,这种现象被称为复制应激。细胞针对复制应激采用多种机制进行处理,例如叉反转、重启动、模板切换和跨损伤DNA复制(translesion DNA synthesis, TLS)等,因环境的不同而有所变化^[55-56]。

结直肠癌细胞激活各种DNA损伤耐受性(DNA damage tolerance, DDT)途径以确保复制叉的顺利进行,而不同DDT机制的调控则成为肿瘤形成和癌症治疗反应的决定因素^[57]。复制应激导致的DNA损伤和修复失调在结直肠癌发展中扮演重要角色。DNA损伤修复途径的异常可能导致基因突变累积、染色体异常,促进结直肠癌的发生和发展。与正常组织相比,在DNA复制和损伤修复过程中发挥着重要作用的瓣状核酸内切酶1(flap endonuclease 1, FEN1)在结直肠癌组织中的表达水平较高,并与DNA复制通路的表达活性正相关,FEN1基因中单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点(rs4246215)与结直肠癌易感性相关,rs4246215 G>T变异与结直肠癌风险降低相关^[58]。在自发性结肠癌小鼠和活性缺陷的小鼠模型中,FEN1功能缺陷导致了基因组不稳定和复制应激,增加了腺瘤的发生率和癌症的易感性^[59-61]。林奇综合征(Lynch syndrome)是由错配修复基因MSH2和MLH1的杂合突变引起的遗传性非息肉病性结直肠癌,是临床上常见的与复制应激相关的人类癌症易感综合征^[62]。研究表明,染色体不稳定性(chromosome instability, CIN)结直肠癌细胞的复制叉受损和DNA复制应激增强,PIGN、MEX3C和ZNF516等CIN抑制基因常常丧失,导致DNA复制应激、结构染色体异常和染色体错误

分离^[63]。

复制应激影响细胞周期,推动肿瘤细胞的增殖和转移,促进结直肠癌发展。PILLAIRE等^[64]发现在结直肠癌中,TLS聚合酶的基因表达、DNA复制的启动、S期信号转导和复制叉的保护均显著失调,这些失调与患者生存率差显著相关,提示可能存在一种“DNA复制特征”,可作为新的预后标志物来源。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)在赖氨酸164位点被E3连接酶RAD18单泛素化,介导TLS聚合酶的DNA募集,体外实验中靶向RAD18已被证明可以增强耐药结直肠癌细胞对化疗的敏感性^[65-66]。

ATR激酶协调不同的细胞通路来应对复制应激,包括强制执行S/G₂检查点、调节细胞内dNTP水平和启动起源等^[67]。基于ATR在维持复制叉稳定性和执行适当细胞检查点反应中的作用,抑制ATR激酶及其下游CHK1底物已成为改善结直肠癌化疗反应的相关策略。在结直肠癌中,肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)作为驱动疾病发生发展、复发和治疗耐药性产生的一类肿瘤细胞亚群,表现出异质性的DNA复制应激,以ATR-CHK1通路为主的复制应激响应(replication stress response, RSR)在结直肠癌原发性CSC中有效,PARP1、MRE11和RAD51表达上调协同参与基因的保护和调节DNA复制的速度,为在CRC中使用不同的复制应激响应抑制剂(replication stress response inhibitor, RSRi)组合进行生物标记物驱动的临床试验提供了一定的理论依据^[68]。

最近的研究探索了复制叉扰动、炎症信号和癌症免疫治疗反应之间的联系。研究发现,在复制应激下,STING炎症信号被上调,这表明复制应激可能导致DNA片段从细胞核释放到胞质中,进而激活cGAS-STING通路^[69-70]。进一步的研究显示,停滞的复制叉和微核是这些DNA片段的来源^[71]。cGAS-STING的上调导致干扰素样反应的增强,促使T细胞的启动和招募,从而提高免疫治疗的疗效。这表明利用STING诱导的复制应激和免疫检查点阻断的组合治疗是一种在结直肠癌中极具前景的治疗策略。

未来的跨学科研究将继续为复制应激反应机制、DNA损伤修复信号和肿瘤微环境之间复杂的相互作用提供信息,从而更好地预测和改善疗效。

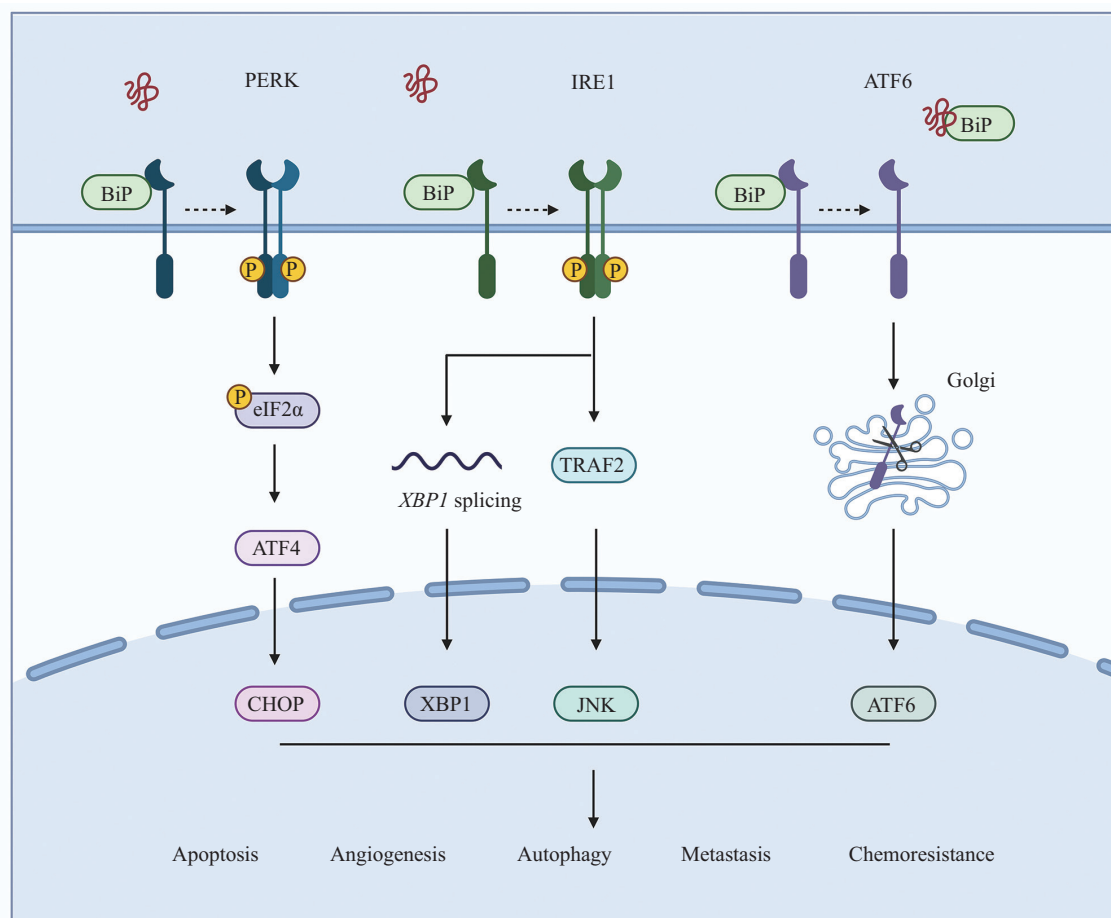


图2 结直肠癌中的内质网应激

Fig.2 Endoplasmic reticulum stress in colorectal cancer

3 内质网应激与CRC

蛋白质稳态是细胞维持生命活动的基础,蛋白质稳态的失衡会导致代谢、心血管、神经退行性等方面的疾病以及肿瘤等^[72]。内质网不仅能调控蛋白的修饰和加工(如糖基化、羟基化、二硫键形成等),也是蛋白质分泌转运途径中行使质量监控的重要场所。在一定环境压力下,内质网内未折叠和错误折叠蛋白及 Ca^{2+} 积聚引起的应激反应被称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)^[73],又称非折叠蛋白质反应(unfolded protein response, UPR),是细胞调节蛋白质稳态的重要生理过程(图2)。UPR包括:调节基因表达、抑制蛋白质合成和细胞命运决定,以满足细胞的需求。

内质网上驻留三种跨膜蛋白传感器:PRKR样内质网激酶(protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、肌醇所需酶1α(inositol-requiring enzyme 1α, IRE1α)和激活转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)。在正常情况下,

分子伴侣结合免疫球蛋白(binding immunoglobulin protein, BiP)与这些传感器结合以抑制它们的活性。然而,在内质网应激感受到内质网压力时,由于BiP能够以更高的亲和力结合错误折叠的蛋白质,三种传感器蛋白与内质网腔内分子伴侣BiP解离,从而分别激活下游信号通路。PERK是一种丝氨酸苏氨酸激酶,有一个腔内应力感应结构域,内质网应激时,PERK通过自磷酸激活,进而磷酸化真核生物翻译起始因子2α(eukaryotic initiation factor 2α, eIF2α),导致细胞整体蛋白质翻译能力减弱。然而,磷酸化的eIF2α会选择性促进激活转录因子4(activating transcription factor 4, ATF4)的翻译,诱导UPR效应蛋白C/EBPα同源蛋白(C/EBP-homologous protein, CHOP)的表达。在病理条件下,持续的CHOP表达通过多种机制触发细胞凋亡,包括下调抗凋亡因子B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)和诱导由

CHOP转录靶点Ero1 α 触发的钙介导的细胞凋亡途径^[74]。IRE1 α 与BiP解离后,通过自磷酸化激活,活化的IRE1 α 通过其核酸内切酶结构域剪切X-box结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)的mRNA。剪切的XBP1是一种转录因子,可以调控多种UPR相关靶基因的转录表达,以减轻内质网负荷^[75]。IRE1 α 的其他功能可能与触发细胞凋亡有关,在激活后,IRE1 α 结合接头蛋白TNF受体相关因子2(TNF receptor associated factor 2, TRAF2),然后通过ASK1促进JNK的激活,引发凋亡^[76]。当内质网应激发生时,ATF6会被转运到高尔基体复合体,并被复合体的蛋白酶切割,由此产生的转录因子会入核,促进内质网分子伴侣如BiP/Grp78的表达^[77-78]。

UPR通过磷酸化eIF2 α 使细胞整体的转录水平下降,同时选择性地使应激相关蛋白(如ATF4、XBP1s)表达水平增加,通过促进mRNA降解,抑制蛋白合成,增强蛋白折叠能力等方式恢复内质网稳态,促进细胞存活^[79-81]。同时,长期的未缓解的UPR则会通过CHOP/Bcl-2等途径诱导细胞凋亡^[74]。UPR在实体瘤中也发挥着复杂的双向调控作用。肿瘤的发生发展过程中常常会面对由生长速度过快而带来的缺氧和低营养物质等问题,多项研究发现,肿瘤细胞可以通过激活UPR来抵抗不良环境,从而维持存活。例如PERK/eIF2 α 通路能通过诱导谷胱甘肽的合成并且调控ROS的产生从而保护缺氧细胞^[82]。但同时,PERK抑制HIF1 α 的从头合成,从而使肿瘤细胞对缺氧应激更加敏感^[83]。此外,UPR信号也参与了其他癌症相关事件,包括血管生成、基因组不稳定性、转移和免疫调节等^[84]。在使用抗肿瘤药物的条件下,UPR信号能够诱发细胞发生保护性自噬^[85],从而促进肿瘤细胞的耐药。ATF6 α 可以通过调节相关基因的表达参与肝癌的恶性进展^[86]。而在K-ras(G12V)诱导肺癌小鼠模型中敲除CHOP时,肿瘤的发生率显著增加^[84,87],说明CHOP作为UPR下游的一个重要的效应分子发挥着抑制肿瘤发生和促进细胞凋亡的抗肿瘤作用。综上,一方面UPR途径可通过介导细胞耐受各种不良应激的能力增强发挥促癌的作用;另一方面,也可以抑制肿瘤的发生。但其具体的机制还很不清楚。

研究表明UPR与结直肠癌的发生发展密切相关^[88]。BiP蛋白在包括结直肠癌在内的多种实体肿瘤中高表达,研究证实它在肿瘤中具有双重特征,

一方面,可以通过诱导休眠等机制抑制肿瘤早期发展^[89-90],另一方面,在肿瘤进展晚期,当癌细胞暴露于过度的内质网应激时,BiP通过其促生存和促转移的功能促进肿瘤进展^[91-92]。肿瘤细胞表面的BiP传递细胞膜信号通路,从而调控细胞的增殖、凋亡和肿瘤免疫^[93-94]。此外,BiP可调节VEGF的表达和分泌,在肿瘤血管生成中起着至关重要的作用。BiP是CRC早期诊断和预后的生物标志物,这归因于其可诱导VEGF调节^[95-96]。BiP是CRC早期诊断和预后的生物标志物,并且能够降低结直肠癌细胞对化疗的敏感性^[97]。IRE1 α 在结直肠癌血管生成中至关重要,被认为是控制血管生成的开关和癌症发展的潜在治疗靶点^[98]。XBP1作为结直肠癌侵袭转移的生物标志物,它的过表达会加速肠癌细胞侵袭,而抑制XBP1表达会降低VEGFR2的水平^[99]。UPR分支PERK-eIF2 α -ATF4信号通路会增加癌细胞对缺氧应激的耐受性,并介导上调VEGF-A的表达^[100]。因此,可设计针对该通路遗传和药理学处理来治疗CRC。抑制PERK-Nrf2-ARE和PERK-Nrf2-Keap1通路也可能成为CRC治疗的新策略。此外,PERK和ATF6都可以被激活来触发CHOP^[101],这可能是一种很有前景的CRC治疗策略。在持续内质网应激下,内质网腔内触发超氧化,导致H₂O₂渗漏到细胞质中,诱导ROS,ROS也可以作为CRC治疗的一个靶点^[102]。研究发现:高水平的ATF6与CRC患者无病生存时间缩短有关,且结肠中ATF6的持续激活会促进肠道生物失调和微生物依赖的肿瘤发生^[103];在溃疡性结肠炎和非溃疡性结肠炎相关的CRC中,ATF6在发生典型癌前病变的病灶中表达水平升高,ATF6的表达上调可以作为溃疡性结肠炎相关结直肠癌癌前不典型病变的标志物^[104]。

内质网应激是肿瘤细胞通过多重调节减轻内质网内蛋白质负荷,恢复蛋白稳态的一种应激耐受机制;而高强度或持续蛋白质稳态失衡可造成细胞死亡。因此,靶向内质网应激关键分子是潜在的抗肿瘤策略。但内质网应激在CRC发生过程中的作用及由哪些关键分子介导均不清楚。我们课题组前期通过综合分析CRC公共数据库及文献中内质网应激相关的CRISPR-Cas9文库筛选,鉴定了介导CRC细胞耐受内质网应激的关键分子KLF16,揭示了KLF16通过调控核仁稳态及选择性翻译、增强内质网自噬、调控未折叠蛋白反应、帮助细胞耐受内质

网应激毒性, 从而促进CRC发生的新机制^[105]。

4 应激颗粒与CRC

应激颗粒(SG)是细胞响应压力(例如低氧、营养缺乏、氧化应激等)而在胞质中产生的分子凝聚体。肿瘤细胞通过产生SG来保护成熟mRNA并适应应激条件。SG中的蛋白质和RNA分子可以通过弱的多价相互作用产生相分离和渗滤, 驱动凝聚体快速、动态的装配。通常认为eIF2 α 的磷酸化阻止eIF2 α /GTP/tRNA_i起始复合物的形成从而使mRNA从多聚核糖体解离。除了经典的eIF2 α 磷酸化途径外, 还存在一些非经典方式可以触发SG的形成。例如, 某些化合物可以通过阻断eIF4A与RNA的结合能力(如马嘌呤醇), 或诱导eIF4A结合到RNA上并耗尽eIF4F复合物中的eIF4A(如rocaglates和Pateamine A)来促使SG的形成^[106]。而SG解体的机制在很大程度上仍是未知的。有研究表示由冷休克导致eIF2 α 磷酸化而缓慢形成的SG, 在细胞升温时迅速解体(5~10 min), eIF2 α 去磷酸化形成多聚核糖体, 几小时后恢复正常的翻译状态。在这种情况下, SG的解体似乎是由于mRNP的解凝而产生的^[107]。除此之外, 分子伴侣和自噬也与之相关, 比如热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)可以阻止SG中错误折叠蛋白质的积累, 从而促进SG解体^[108]。

越来越多的证据表明, SG在结直肠癌发生和化疗耐药中发挥重要介导作用。氧化低密度脂蛋白或高脂肪饮食是促进SG形成的因素^[109]。肿瘤前状态中SG组分的早期改变(如炎症性肠病)也可能允许恶变细胞存活并积累导致肿瘤发生。除了肿瘤微环境中存在的应激条件外, 特定分子(如G3BP1、TIA1、TIAR)的过表达亦促进SG的组装。在溃疡性结肠炎中就发现了这些分子表达水平的改变, 提示SG的形成可能是由于结直肠癌发生的早期改变而发生的^[110]。在SG的形成过程中, 几种RNA结合蛋白与靶标mRNA的结合调节SG的稳定性和/或翻译水平。其中, 富含腺苷酸-尿苷酸元件结合蛋白(adenosine-uridine-rich binding protein, AUBP)是基因表达的关键转录后调节因子, 其通过与mRNA转录本3'UTR(3' untranslated region)结合并促进其向P小体或SG募集。这种异常的转录后调节促进癌基因蛋白(如c-myc)和促炎介质(如COX-2)的过表达,

沉默肿瘤抑制因子(如P53)的表达^[111]。在RNA水平对SG形成的影响主要是通过与其SG蛋白的相互作用来实现的。例如, RNA增强TIA-1的自结合和相分离能力, 而SG在过表达TIA-1细胞中的自发组装依赖于其RNA识别基序。同样, G3BP1的RNA结合缺陷突变体在RNA存在下不再凝聚, 并且不能介导SG组装^[112]。本课题组前期研究发现, MEX3A/circMPP6复合物促进P小体组装和靶基因mRNA降解, 进而促进肿瘤细胞自噬、诱导应激耐受从而促CRC发生。该研究首次发现了circRNA直接参与P小体组装、调控RNA降解效率、增强肿瘤细胞的应激耐受能力、促进CRC发生发展的新机制^[113]。

蛋白翻译后修饰(protein post-translational modification, PTM)作为有效的分子开关, 通过影响蛋白质的丰度、物理相互作用、定位或活性来调节各种蛋白质性质。已有文献报道PTM调节SG的组装/拆卸和蛋白质组成。PARP5A/12/13/14/15和PARG调节了SG定位; 抑制了PAR化延迟SG组装, 而具有增强的PAR化的细胞在应激恢复期间表现出了较慢的SG分解^[114]。磷酸化修饰也参与其中: PAK1对FMR1和FXR1的磷酸化也调节了SG的定位, SRPK介导的CIRBP磷酸化抑制了SG的相分离和募集^[115]。RNA修饰如m⁶A修饰可以促进RNA的核输出, 从而增加SG募集的底物库。相对于总细胞mRNA, SG转录组高度富集m⁶A修饰的mRNA, m⁶A修饰的程度与分配至SG之间具有很强的相关性。TRMT6/61A的敲除使亚砷酸盐诱导的SG形成受损以及热休克后细胞活力降低。从机制上讲, m¹A甲基化可能促进转录物在应激下从可翻译mRNA库中移除并在应激解除后返回该库^[116]。

研究发现: SG能通过隔离凋亡调节蛋白, 阻止其与其他因子的相互作用; 且肿瘤治疗中存在的肿瘤细胞抗凋亡现象与SG相关。因此, SG在肿瘤中可能是潜在的治疗靶点和预测指标。评估结直肠癌活检组织中SG的核心分子表达可能预测患者对化疗的反应。如肿瘤浸润淋巴细胞中TIA-1的存在提示结直肠癌患者生存预后良好。抑制SG形成可能会使肿瘤对化疗重新敏感^[117]。各种小分子已被证明可以减少CRC细胞中SGs组分, 如白藜芦醇或EGCG靶向G3BP1的表达量^[118-119]。同样地, 肽GAP161可以有效地降低G3BP活性, 通过诱导细胞凋亡和使细胞对顺铂诱导的细胞凋亡重新敏感来显著抑制结肠

癌细胞增殖^[120]。

5 总结与展望

细胞应激是一把双刃剑。在癌前病变或肿瘤早期,细胞应激通过改变遗传物质,调控原癌基因和抑癌基因,从而促进癌变,此时抗细胞应激具有预防癌症发生的可能。然而,在进展期或晚期肿瘤中,过度的细胞应激往往导致肿瘤细胞的死亡,此时诱导肿瘤细胞发生细胞应激成为一种重要的抗肿瘤策略。

结直肠癌的发生和进展是一个复杂的多步骤过程,涉及多种细胞应激反应和分子机制。近年来的研究揭示了细胞应激在结直肠癌的发生、进展和治疗抵抗中发挥的重要作用。细胞应激的主要类型包括氧化应激、内质网应激、复制应激和应激颗粒等,这些机制交互作用,共同影响结直肠癌细胞的生物学特性。氧化应激是由于活性氧浓度过高导致的氧化还原失衡,可能引发DNA损伤及蛋白质变性,并与慢性炎症密切相关,持续的氧化应激能够促进结直肠癌细胞的增殖与存活,因此,靶向氧化应激的策略可能改善结直肠癌的治疗效果。内质网应激由蛋白质合成和折叠障碍引起,通过激活未折叠蛋白反应以恢复稳态,但过度的内质网应激则可能导致细胞凋亡,并影响肿瘤的侵袭性和转移能力,这为结直肠癌治疗提供了新的研究方向。此外,复制应激也是细胞应激的重要组成部分,DNA复制过程中任何错误或阻碍都可能导致复制应激。由于快速增殖分裂的特点,肿瘤细胞常常面临更高的复制应激,其生存更加依赖对复制应激的调控能力,因此靶向肿瘤细胞应对复制应激的机制是有吸引力的治疗策略。最后,应激颗粒是细胞在面对各种应激(如氧化应激、缺氧和化疗)时形成的小细胞质核糖核蛋白聚集体。应激颗粒的作用是保护mRNA免于降解,确保在应激环境下蛋白质的合成。应激颗粒对于癌细胞的存活和耐药性都有着重要作用。研究表明,应激颗粒的形成和清除受到多种蛋白质的严格调控,阻碍应激颗粒的形成可以使癌细胞对化疗药物重新敏感,从而提高治疗效果。例如,抑制应激颗粒的形成可以通过增加癌细胞对DNA损伤药物的敏感性,从而增强化疗效果。

尽管已有研究揭示细胞应激在结直肠癌中的重要作用,但仍存在多项未解决的问题和研究空白。例如,不同类型的细胞应激之间相互作用的机制尚

不明确,这可能影响结直肠癌细胞的生物学行为。此外,细胞应激反应在不同患者中的个体差异亟需关注,以便为个性化治疗提供依据。肿瘤微环境对细胞应激的调控作用同样值得深入研究,微环境中的炎症因子、免疫细胞及细胞外基质如何影响细胞应激将揭示结直肠癌复杂的生物学特性。

综上,细胞应激在结直肠癌的发生发展中扮演重要角色,未来我们可以通过以下三个方面寻找关于治疗结直肠癌的契机。一是进一步揭示各类细胞应激反应在结直肠癌中的具体机制,特别是关键分子和信号通路的作用。二是探索如何有效阻断或调控这些应激反应,以提高治疗效果。三是开发出针对这些应激反应的新型药物或治疗方法。抑制关键应激通路中的分子靶点,阻止肿瘤细胞对应激毒性的耐受,从而抑制肿瘤生长和转移。此外,针对氧化应激、复制应激和内质网应激相关的分子机制,设计新的化疗药物或联合治疗策略,也是一条值得探索的途径。随着这些研究的不断深入,细胞应激反应在结直肠癌中的具体机制将逐渐揭示,为临床治疗提供更多科学依据和新的治疗策略。

参考文献 (References)

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-63.
- [2] MESSERSMITH W A. NCCN guidelines updates: management of metastatic colorectal cancer [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17(5): 599-601.
- [3] MENA S, ORTEGA A, ESTRELA J M. Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis [J]. *Mutat Res*, 2009, 674(1/2): 36-44.
- [4] FEARON E R, VOGELSTEIN B. A genetic model for colorectal tumorigenesis [J]. *Cell*, 1990, 61(5): 759-67.
- [5] GALLUZZI L, YAMAZAKI T, KROEMER G. Linking cellular stress responses to systemic homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(11): 731-45.
- [6] HEGDE M L, IZUMI T, MITRA S. Oxidized base damage and single-strand break repair in mammalian genomes: role of disordered regions and posttranslational modifications in early enzymes [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2012, 110: 123-53.
- [7] ZEMAN M K, CIMPRICH K A. Causes and consequences of replication stress [J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(1): 2-9.
- [8] BURRELL R A, MCGRANAHAN N, BARTEK J, et al. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution [J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 338-45.
- [9] PROTTER D S W, PARKER R. Principles and properties of stress granules [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(9): 668-79.
- [10] WINTERBOURN C C. Reconciling the chemistry and biology

- of reactive oxygen species [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(5): 278-86.
- [11] SIES H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine [J]. *Redox Biol*, 2015, 4: 180-3.
- [12] LEVI F, PASCHE C, LA VECCHIA C, et al. Food groups and colorectal cancer risk [J]. *Br J Cancer*, 1999, 79(7/8): 1283-7.
- [13] MOLONEY J N, COTTER T G. ROS signalling in the biology of cancer [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2018, 80: 50-64.
- [14] AHMAD R, SORRELL M F, BATRA S K, et al. Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(2): 307-17.
- [15] GUINA T, BIASI F, CALFAPIETRA S, et al. Inflammatory and redox reactions in colorectal carcinogenesis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015, 1340: 95-103.
- [16] TUDEK B, SPEINA E. Oxidatively damaged DNA and its repair in colon carcinogenesis [J]. *Mutat Res*, 2012, 736(1/2): 82-92.
- [17] KURAOKA I, BENDER C, ROMIEU A, et al. Removal of oxygen free-radical-induced 5',8-purine cyclodeoxynucleosides from DNA by the nucleotide excision-repair pathway in human cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(8): 3832-7.
- [18] HAZRA T K, IZUMI T, BOLDOGH I, et al. Identification and characterization of a human DNA glycosylase for repair of modified bases in oxidatively damaged DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(6): 3523-8.
- [19] WIEDERHOLD L, LEPPARD J B, KEDAR P, et al. AP endonuclease-independent DNA base excision repair in human cells [J]. *Mol Cell*, 2004, 15(2): 209-20.
- [20] LINDAHL T. An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(9): 3649-53.
- [21] JIANG D, HATAHET Z, BLAISDELL J O, et al. *Escherichia coli* endonuclease VIII: cloning, sequencing, and overexpression of the nei structural gene and characterization of nei and nei nth mutants [J]. *J Bacteriol*, 1997, 179(11): 3773-82.
- [22] SAITO Y, URAKI F, NAKAJIMA S, et al. Characterization of endonuclease III (nth) and endonuclease VIII (nei) mutants of *Escherichia coli* K-12 [J]. *J Bacteriol*, 1997, 179(11): 3783-5.
- [23] BANDARU V, SUNKARA S, WALLACE S S, et al. A novel human DNA glycosylase that removes oxidative DNA damage and is homologous to *Escherichia coli* endonuclease VIII [J]. *DNA Repair*, 2002, 1(7): 517-29.
- [24] HAZRA T K, KOW Y W, HATAHET Z, et al. Identification and characterization of a novel human DNA glycosylase for repair of cytosine-derived lesions [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(34): 30417-20.
- [25] CAO J H, CAO C H, LIN J L, et al. NEIL1 drives the initiation of colorectal cancer through transcriptional regulation of COL17A1 [J]. *Cell Rep*, 2024, 43(1): 113654.
- [26] HALLIWELL B. Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(1): 13-33.
- [27] MERIGHI A, LOSSI L. Endoplasmic reticulum stress signaling and neuronal cell death [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15186.
- [28] MONCADA S, PALMER R M, HIGGS E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 1991, 43(2): 109-42.
- [29] ANGELOVA P R, ESTERAS N, ABRAMOV A Y. Mitochondria and lipid peroxidation in the mechanism of neurodegeneration: Finding ways for prevention [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(2): 770-84.
- [30] XIAO M, ZHONG H, XIA L, et al. Pathophysiology of mitochondrial lipid oxidation: role of 4-hydroxynonenal (4-HNE) and other bioactive lipids in mitochondria [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 111: 316-27.
- [31] GANDHI A, SHAH A, JONES M P, et al. Methane positive small intestinal bacterial overgrowth in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1933313.
- [32] MARNETT L J. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde [J]. *Mutat Res*, 1999, 424(1/2): 83-95.
- [33] AYALA A, MUÑOZ M F, ARGÜELLES S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 360438.
- [34] LUSHCHAK V I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification [J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 224: 164-75.
- [35] SCHÖNEICH C. Thiyl radical reactions in the chemical degradation of pharmaceutical proteins [J]. *Molecules*, 2019, 24(23): 4357.
- [36] CHOU H C, CHEN C M. Neonatal hyperoxia disrupts the intestinal barrier and impairs intestinal function in rats [J]. *Exp Mol Pathol*, 2017, 102(3): 415-21.
- [37] ZHAO M, TANG S, XIN J, et al. Reactive oxygen species induce injury of the intestinal epithelium during hyperoxia [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 322-30.
- [38] LIU X, LI T, LIU Y, et al. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 potentiates the generation of inflammatory cytokines by intestinal epithelial cells during hyperoxia by inducing the expression of interleukin 17D [J]. *Toxicology*, 2021, 457: 152820.
- [39] LIU X, ZHANG D, CAI Q, et al. Involvement of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in neonatal intestinal interleukin-17D expression in hyperoxia [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(4): 1423-32.
- [40] ZHOU J, LI X Y, LIU Y J, et al. Full-coverage regulations of autophagy by ROS: from induction to maturation [J]. *Autophagy*, 2022, 18(6): 1240-55.
- [41] HE F, ANTONUCCI L, KARIN M. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(4): 405-16.
- [42] HE F, ANTONUCCI L, YAMACHIKA S, et al. NRF2 activates growth factor genes and downstream AKT signaling to induce mouse and human hepatomegaly [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(6): 1182-95.
- [43] HE F, RU X, WEN T. NRF2, a transcription factor for stress response and beyond [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13): 4777.
- [44] POUREMAMALI F, POUREMAMALI A, DADASHPOUR M, et al. An update of Nrf2 activators and inhibitors in cancer prevention/promotion [J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 100.
- [45] TORRENTE L, SANCHEZ C, MORENO R, et al. Crosstalk between NRF2 and HIPK2 shapes cytoprotective responses [J]. *Oncogene*, 2017, 36(44): 6204-12.
- [46] HUANG Y, YE Z, MA T, et al. Carbon monoxide (CO) modulates hydrogen peroxide H₂O₂-mediated cellular dysfunction by

- targeting mitochondria in rabbit lens epithelial cells [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 169: 68-78.
- [47] PARFENOVA H, LEFFLER C W, BASUROY S, et al. Antioxidant roles of heme oxygenase, carbon monoxide, and bilirubin in cerebral circulation during seizures [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(6): 1024-34.
- [48] BLACKWELL T S, CHRISTMAN J W. The role of nuclear factor-kappa B in cytokine gene regulation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 17(1): 3-9.
- [49] ALZOGHAIBI M A. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(39): 6540-7.
- [50] ZIŃCZUK J, MACIEJCZYK M, ZARĘBA K, et al. Antioxidant barrier, redox status, and oxidative damage to biomolecules in patients with colorectal cancer. Can malondialdehyde and catalase be markers of colorectal cancer advancement [J]? *Biomolecules*, 2019, 9(10): 637.
- [51] MEMON A A, CHANG J W, OH B R, et al. Identification of differentially expressed proteins during human urinary bladder cancer progression [J]. *Cancer Detect Prev*, 2005, 29(3): 249-55.
- [52] WU X Y, FU Z X, WANG X H. Peroxiredoxins in colorectal neoplasms [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25(10): 1297-303.
- [53] ASHWORTH A, LORD C J, REIS-FILHO J S. Genetic interactions in cancer progression and treatment [J]. *Cell*, 2011, 145(1): 30-8.
- [54] AN X, YU W, LIU J, et al. Oxidative cell death in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(8): 556.
- [55] GAILLARD H, GARCÍA-MUSE T, AGUILERA A. Replication stress and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(5): 276-89.
- [56] SAXENA S, ZOU L. Hallmarks of DNA replication stress [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(12): 2298-314.
- [57] CYBULLA E, VINDIGNI A. Leveraging the replication stress response to optimize cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(1): 6-24.
- [58] WANG S, CHEN S, LI H, et al. Causal genetic regulation of DNA replication on immune microenvironment in colorectal tumorigenesis: evidenced by an integrated approach of trans-omics and GWAS [J]. *J Biomed Res*, 2023, 38(1): 37-50.
- [59] KUCHERLAPATI M, YANG K, KURAGUCHI M, et al. Haploinsufficiency of Flap endonuclease (Fen1) leads to rapid tumor progression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(15): 9924-9.
- [60] ZHENG L, DAI H, ZHOU M, et al. Fen1 mutations result in autoimmunity, chronic inflammation and cancers [J]. *Nat Med*, 2007, 13(7): 812-9.
- [61] LARSEN E, KLEPPA L, MEZA T J, et al. Early-onset lymphoma and extensive embryonic apoptosis in two domain-specific Fen1 mice mutants [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4571-9.
- [62] ABILDGAARD A B, NIELSEN S V, BERNSTEIN I, et al. Lynch syndrome, molecular mechanisms and variant classification [J]. *Br J Cancer*, 2023, 128(5): 726-34.
- [63] BURRELL R A, MCCLELLAND S E, ENDESFELDER D, et al. Replication stress links structural and numerical cancer chromosomal instability [J]. *Nature*, 2013, 494(7438): 492-6.
- [64] PILLAIRES M J, SELVES J, GORDIEN K, et al. A 'DNA replication' signature of progression and negative outcome in colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2010, 29(6): 876-87.
- [65] LIU R L, DONG Y, DENG Y Z, et al. Tumor suppressor miR-145 reverses drug resistance by directly targeting DNA damage-related gene RAD18 in colorectal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(7): 5011-9.
- [66] LOU J, YANG Y, GU Q, et al. Rad18 mediates specific mutational signatures and shapes the genomic landscape of carcinogen-induced tumors *in vivo* [J]. *NAR Cancer*, 2021, 3(1): zcaa037.
- [67] MUTREJA K, KRIETSCH J, HESS J, et al. ATR-mediated global fork slowing and reversal assist fork traverse and prevent chromosomal breakage at DNA interstrand cross-links [J]. *Cell Rep*, 2018, 24(10): 2629-42,45.
- [68] MANIC G, MUSELLA M, CORRADI F, et al. Control of replication stress and mitosis in colorectal cancer stem cells through the interplay of PARP1, MRE11 and RAD51 [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(7): 2060-82.
- [69] COQUEL F, SILVA M J, TÉCHER H, et al. SAMHD1 acts at stalled replication forks to prevent interferon induction [J]. *Nature*, 2018, 557(7703): 57-61.
- [70] KREIENKAMP R, GRAZIANO S, COLL-BONFILL N, et al. A cell-intrinsic interferon-like response links replication stress to cellular aging caused by progerin [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(8): 2006-15.
- [71] HARDING S M, BENCI J L, IRIANTO J, et al. Mitotic progression following DNA damage enables pattern recognition within micronuclei [J]. *Nature*, 2017, 548(7668): 466-70.
- [72] BALCH W E, MORIMOTO R I, DILLIN A, et al. Adapting proteostasis for disease intervention [J]. *Science*, 2008, 319(5865): 916-9.
- [73] OZCAN L, TABAS I. Role of endoplasmic reticulum stress in metabolic disease and other disorders [J]. *Annu Rev Med*, 2012, 63: 317-28.
- [74] TABAS I, RON D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(3): 184-90.
- [75] HOLLIEN J, WEISSMAN J S. Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response [J]. *Science*, 2006, 313(5783): 104-7.
- [76] URANO F, WANG X, BERTOLOTTI A, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1 [J]. *Science*, 2000, 287(5453): 664-6.
- [77] RUTKOWSKI D T, KAUFMAN R J. A trip to the ER: coping with stress [J]. *Trends Cell Biol*, 2004, 14(1): 20-8.
- [78] RON D, WALTER P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(7): 519-29.
- [79] SENFT D, RONAI Z A. UPR, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(3): 141-8.
- [80] SONG S, TAN J, MIAO Y, et al. Crosstalk of ER stress-mediated autophagy and ER-phagy: involvement of UPR and the core autophagy machinery [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(5): 3867-74.
- [81] SANTAMARÍA P G, MAZÓN M J, ERASO P, et al. UPR: an upstream signal to emt induction in cancer [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(5).
- [82] ROUSCHOP K M, DUBOIS L J, KEULERS T G, et al. PERK/eIF2 α signaling protects therapy resistant hypoxic cells through induction of glutathione synthesis and protection against ROS [J]. *Proc*

- Natl Acad Sci USA, 2013, 110(12): 4622-7.
- [83] IVANOVA I G, PARK C V, YEMM A I, et al. PERK/eIF2 α signaling inhibits HIF-induced gene expression during the unfolded protein response via YB1-dependent regulation of HIF1 α translation [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(8): 3878-90.
- [84] CLARKE H J, CHAMBERS J E, LINIKER E, et al. Endoplasmic reticulum stress in malignancy [J]. Cancer Cell, 2014, 25(5): 563-73.
- [85] WANG J, QI Q, ZHOU W, et al. Inhibition of glioma growth by flavokawain B is mediated through endoplasmic reticulum stress induced autophagy [J]. Autophagy, 2018, 14(11): 2007-22.
- [86] ARAI M, KONDOH N, IMAZEKI N, et al. Transformation-associated gene regulation by ATF6 α during hepatocarcinogenesis [J]. FEBS Lett, 2006, 580(1): 184-90.
- [87] HUBER A L, LEBEAU J, GUILLAUMOT P, et al. p58(IPK)-mediated attenuation of the proapoptotic PERK-CHOP pathway allows malignant progression upon low glucose [J]. Mol Cell, 2013, 49(6): 1049-59.
- [88] HUANG J, PAN H, WANG J, et al. Unfolded protein response in colorectal cancer [J]. Cell Biosci, 2021, 11(1): 26.
- [89] ARAP M A, LAHDENRANTA J, MINTZ P J, et al. Cell surface expression of the stress response chaperone GRP78 enables tumor targeting by circulating ligands [J]. Cancer Cell, 2004, 6(3): 275-84.
- [90] DENOYELLE C, ABOU-RJAILY G, BEZROOKOVE V, et al. Anti-oncogenic role of the endoplasmic reticulum differentially activated by mutations in the MAPK pathway [J]. Nat Cell Biol, 2006, 8(10): 1053-63.
- [91] DONG D, NI M, LI J, et al. Critical role of the stress chaperone GRP78/BiP in tumor proliferation, survival, and tumor angiogenesis in transgene-induced mammary tumor development [J]. Cancer Res, 2008, 68(2): 498-505.
- [92] DONG D, STAPLETON C, LUO B, et al. A critical role for GRP78/BiP in the tumor microenvironment for neovascularization during tumor growth and metastasis [J]. Cancer Res, 2011, 71(8): 2848-57.
- [93] LUO B, LEE A S. The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies [J]. Oncogene, 2013, 32(7): 805-18.
- [94] COOK K L, SOTO-PANTOJA D R, CLARKE P A, et al. Endoplasmic reticulum stress protein grp78 modulates lipid metabolism to control drug sensitivity and antitumor immunity in breast cancer [J]. Cancer Res, 2016, 76(19): 5657-70.
- [95] GONZALEZ-GRONOW M, SELIM M A, PAPALAS J, et al. GRP78: a multifunctional receptor on the cell surface [J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(9): 2299-306.
- [96] LI Z, LI Z. Glucose regulated protein 78: a critical link between tumor microenvironment and cancer hallmarks [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1826(1): 13-22.
- [97] THORNTON M, ASLAM M A, TWEEDLE E M, et al. The unfolded protein response regulator GRP78 is a novel predictive biomarker in colorectal cancer [J]. Int J Cancer, 2013, 133(6): 1408-18.
- [98] CHALMERS F, MOGRE S, SON J, et al. The multiple roles of the unfolded protein response regulator IRE1 α in cancer [J]. Mol Carcinog, 2019, 58(9): 1623-30.
- [99] MHAIDAT N M, ALZOUBI K H, ABUSHBAK A. X-box binding protein 1 (XBP-1) enhances colorectal cancer cell invasion [J]. J Chemother, 2015, 27(3): 167-73.
- [100] BI M, NACZKI C, KORITZINSKY M, et al. ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth [J]. EMBO J, 2005, 24(19): 3470-81.
- [101] YOKOUCHI M, HIRAMATSU N, HAYAKAWA K, et al. Involvement of selective reactive oxygen species upstream of proapoptotic branches of unfolded protein response [J]. J Biol Chem, 2008, 283(7): 4252-60.
- [102] PELICCI P G, DALTON P, GIORGIO M. The other face of ROS: a driver of stem cell expansion in colorectal cancer [J]. Cell Stem Cell, 2013, 12(6): 635-6.
- [103] COLEMAN O I, LOBNER E M, BIERWIRTH S, et al. Activated ATF6 induces intestinal dysbiosis and innate immune response to promote colorectal tumorigenesis [J]. Gastroenterology, 2018, 155(5): 1539-52, e12.
- [104] HANAOKA M, ISHIKAWA T, ISHIGURO M, et al. Expression of ATF6 as a marker of pre-cancerous atypical change in ulcerative colitis-associated colorectal cancer: a potential role in the management of dysplasia [J]. J Gastroenterol, 2018, 53(5): 631-41.
- [105] MA X D, XU S D, HAO S H, et al. KLF16 enhances stress tolerance of colorectal carcinomas by modulating nucleolar homeostasis and translational reprogramming [J]. Mol Ther, 2022, 30(8): 2828-43.
- [106] PANAS M D, IVANOV P, ANDERSON P. Mechanistic insights into mammalian stress granule dynamics [J]. J Cell Biol, 2016, 215(3): 313-23.
- [107] HOFMANN S, CHERKASOVA V, BANKHEAD P, et al. Translation suppression promotes stress granule formation and cell survival in response to cold shock [J]. Mol Biol Cell, 2012, 23(19): 3786-800.
- [108] GANASSI M, MATEJU D, BIGI I, et al. A surveillance function of the HSPB8-BAG3-HSP70 chaperone complex ensures stress granule integrity and dynamism [J]. Mol Cell, 2016, 63(5): 796-810.
- [109] BAI Y, DONG Z, SHANG Q, et al. Pdcd4 is involved in the formation of stress granule in response to oxidized low-density lipoprotein or high-fat diet [J]. PLoS One, 2016, 11(7): e0159568.
- [110] MAHBOUBI H, STOCHAJ U. Cytoplasmic stress granules: dynamic modulators of cell signaling and disease [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(4): 884-95.
- [111] CHA H J, LEE H H, CHAE S W, et al. Tristetraprolin downregulates the expression of both VEGF and COX-2 in human colon cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2011, 58(107/108): 790-5.
- [112] LOUGHLIN F E, WEST D L, GUNZBURG M J, et al. Tandem RNA binding sites induce self-association of the stress granule marker protein TIA-1 [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(5): 2403-17.
- [113] CHEN R X, XU S D, DENG M H, et al. Mex-3 RNA binding family member A (MEX3A)/circMPP6 complex promotes colorectal cancer progression by inhibiting autophagy [J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 80.
- [114] LEUNG A K, VYAS S, ROOD J E, et al. Poly(ADP-ribose) regulates stress responses and microRNA activity in the cytoplasm [J]. Mol Cell, 2011, 42(4): 489-99.
- [115] COURCHET J, BUCHET-POYAU K, POTEMSKI A, et al. In-

- teraction with 14-3-3 adaptors regulates the sorting of hMex-3B RNA-binding protein to distinct classes of RNA granules [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(46): 32131-42.
- [116] ALRIQUET M, CALLONI G, MARTÍNEZ-LIMÓN A, et al. The protective role of m¹A during stress-induced granulation [J]. *J Mol Cell Biol*, 2021, 12(11): 870-80.
- [117] CHIOU G Y, YANG T W, HUANG C C, et al. Musashi-1 promotes a cancer stem cell lineage and chemoresistance in colorectal cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2172.
- [118] OI N, YUAN J, MALAKHOVA M, et al. Resveratrol induces apoptosis by directly targeting Ras-GTPase-activating protein SH3 domain-binding protein 1 [J]. *Oncogene*, 2015, 34(20): 2660-71.
- [119] SHIM J H, SU Z Y, CHAE J I, et al. Epigallocatechin gallate suppresses lung cancer cell growth through Ras-GTPase-activating protein SH3 domain-binding protein 1 [J]. *Cancer Prev Res*, 2010, 3(5): 670-9.
- [120] ZHANG H, ZHANG S, HE H, et al. GAP161 targets and down-regulates G3BP to suppress cell growth and potentiate cisplatin-mediated cytotoxicity to colon carcinoma HCT116 cells [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(10): 1848-56.