

肝细胞癌中的铁死亡与氧化应激

李雅琪, 徐弘庭, 赵维坚, 肖向茜, 韩梦洋, 王晓丽, 盛望*

北京工业大学环境与生命学部药物研究所, 北京

收稿日期: 2023年2月27日; 录用日期: 2023年7月4日; 发布日期: 2023年7月12日

摘要

肝细胞癌(Hepatic Cellular Carcinoma, HCC)是全球发病率较高的癌症之一且其死亡率在全球每年持续增加约2%~3%。氧化应激(Oxidative Stress, OS)是指当生物体细胞在遭遇外界刺激时, 机体细胞内部产生大量超氧化物, 如单线态氧($1O_2$)、过氧化氢(H_2O_2), 超氧阴离子(O_2^-)等, 这些物质致机体细胞内氧化与抗氧化作用失衡, 最终导致细胞和组织的损伤。氧化应激被认为是恶性肿瘤的起因之一。铁死亡(Ferroptosis)是近年发现的一种铁依赖性的新型细胞程序性死亡方式。本文主要阐述了肝细胞癌中氧化应激对铁死亡的影响的相关研究进展。

关键词

肝细胞癌, 氧化应激, 活性氧, 铁死亡

Ferroptosis and Oxidative Stress in Hepatic Cellular Carcinoma

Yaqi Li, Hongting Xu, Weijian Zhao, Xiangqian Xiao, Mengyang Han, Xiaoli Wang, Wang Sheng*

Institute of Pharmacology, Faculty of Environment and Life, Beijing University of Technology, Beijing

Received: Feb. 27th, 2023; accepted: Jul. 4th, 2023; published: Jul. 12th, 2023

Abstract

Hepatic cellular carcinoma (HCC) is one of the most prevalent cancers worldwide, whose mortality rate continues to increase by about 2%~3% per year. Oxidative stress (OS) refers to the production of a large amount of superoxide inside the body when the organism cells are exposed to external stimuli, such as singlet oxygen ($1O_2$), hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide anions (O_2^-),

*通讯作者。

etc. These substances cause the imbalance of oxidation and antioxidant in the body's cells, and eventually lead to damage to cells and tissues. Oxidative stress is thus considered to be one of the major causes of malignant tumors. Ferroptosis is a novel form of iron-dependent programmed cell death discovered in recent years. This article mainly describes the research progress on the effects of oxidative stress on ferroptosis in hepatocellular carcinoma.

Keywords

Hepatic Cellular Carcinoma, Oxidative Stress, Active Oxygen, Ferroptosis

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肝细胞癌(Hepatic Cellular Carcinoma, HCC)是较为常见的一种恶性肿瘤性疾病,且死亡率、复发率都相对较高。其5年生存率为18%,仅次于胰腺癌[1]。根据世界卫生组织的估计,近年来肝癌的发病率持续增加,预计2030年与HCC相关的年死亡人数将达到100万[2]。为了肝癌的防治,国内外的诸多学者对其发病机制展开了深入研究。尽管随着许多年来对HCC临床治疗研究的逐步发展,已有许多药物如索拉非尼、仑伐替尼,曲美木单抗,普利特单抗等被用于临床一线治疗药物(表1)[3],例如Bru等人[4]在两项III期研究索拉非尼对HCC评估随机方案中发现,与安慰剂相比,索拉菲尼可显著延长不可切除的HCC患者的总生存期(Overall Survival, OS);Kudo等人[5]研究表明,在随机对照实验中,仑伐替尼对比索拉菲尼在OS方面(13.6月 vs 12.3月)不相上下,无进展生存期(Progress Free Survival, PFS)(7.3月 vs 3.6月)、进展时间(Time to Progression, TTP)(7.4月 vs 3.7月)和客观缓解率(Overall Response Rate, ORR)(40.6% vs 12.4%)有所改善。但暂时没有靶向铁死亡临床实验。而靶向氧化应激与活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)的药物仅有临床I期阶段的Darinaparsin和临床III期阶段的Doxorubicin liposomal,暂未有上市药物,因此仍有更多的靶向药物需要被发掘。

Table 1. Targeted HCC drugs and action targets (including marketed and clinical trials)

表 1. 靶向 HCC 药物及作用靶点(包括已经上市及临床试验)

作用靶点	靶向药物
CTLA-4	曲美木单抗、伊匹木单抗、NC-392、BMS-986249 等
PD-1	普利特单抗、斯鲁利单抗、派安普利单抗、卡瑞利珠单抗等
PD-L1	舒格利单抗、恩沃利单抗、阿替利珠单抗等
VEGF	贝伐珠单抗
VEGFR	盐酸安罗替尼、甲磺酸仑伐替尼、雷莫西尤单抗、瑞戈非尼等
TIGIT	阿昔替尼
c-Met	卡马替尼、伯瑞替尼
ROS	Darinaparsin、Doxorubicin liposomal
多靶点	索拉菲尼、卡度尼利单抗等

氧化应激的概念最早于 1985 年被引入到氧化还原生物学和医学研究的领域中,是指细胞内氧化与还原作用失衡的一种状态[6]。当细胞发生氧化应激时,过量的 ROS 不仅能破坏细胞内氧化-还原系统平衡从而直接导致组织损伤,也会引起 DNA 损伤、突变和相关蛋白质结构改变,引起原癌基因的激活或抑癌基因的失活,细胞周期和细胞内代谢反应失控,最终导致肿瘤的形成。

铁元素作为一种金属过渡元素,在生物体细胞中几乎随处可见。作为细胞内各种组成物质的金属蛋白,它参与细胞中的关键进程,例如组织中氧气的运输,细胞呼吸中的电子传递链的组成部分等[7]。无论是铁离子还是亚铁离子,在细胞中的含量都是相对固定的。当过量的铁积累在细胞和组织中时,作为蛋白质重要金属螯合剂之一的铁首先会破坏蛋白质活性,使蛋白质活性降低或者直接失活,例如谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)和电压依赖性阴离子通道(Voltage-dependent anion channel, VDAC),两者在细胞抗氧化过程中关键作用。当 GSH-Px 和 VDAC 失活后,破坏细胞的代谢过程被破坏,氧化还原稳态的发生失衡,催化大量 ROS 分子的产生和积累,最终导致氧化应激的发生[8]。

铁死亡是 Dixon 等人提出的一种铁依赖性的新型细胞程序性死亡方式[9]。铁死亡最重要的特征之一便是细胞抗氧化系统失效后细胞膜的铁依赖性氧化破坏。肿瘤细胞相较于正常组织细胞的区别是 Warburg 效应和氧化应激的增高,具体表现为 ROS 的积累[10]。高氧化应激水平具有细胞毒性,能诱导细胞发生凋亡或其他类型死亡,而肿瘤细胞可以增加抗氧化酶表达从而适应氧化应激。肿瘤细胞中的铁死亡现象并不常见,因此诱导铁死亡可能成为治疗肿瘤细胞的方法之一[11]。本文就肝癌细胞中的氧化应激和铁死亡相关机制及研究进展进行综述,旨在为肝癌细胞的治疗提出新思路。

2. ROS 的产生与调控

ROS 是指细胞内线粒体、过氧化物酶体等细胞器产生的具有氧化性的分子,如超氧阴离子(O_2^-)、羟自由基($-OH$)和过氧化氢(H_2O_2)等。低水平的 ROS 在细胞信号转导、免疫防御中起到重要作用,例如在中性粒细胞中,ROS 分子由 NOX2 产生,并被髓过氧化物酶(Peroxidase, POD)和嗜酸性粒细胞过氧化物酶(Eosinophil Peroxidase, EPX)等过氧化物酶利用,产生次氯酸和其他氧化剂,这些氧化剂被吞噬细胞用来清除病原体[12];在肠道中的肠道益生菌有助于刺激 H_2O_2 在肠细胞中产生, H_2O_2 生成可能有助于病原体防御并促进肠细胞中的氧化还原信号传导,赋予细胞在炎症的情况下的自我保护和修复反应[13];而高水平的 ROS 会对细胞内的蛋白质, DNA 等物质造成破坏,产生更严重的后果[14],ROS 可以通过氧化核苷碱基(例如形成 8-氧代鸟嘌呤)直接诱导 DNA 损伤的发生,进而导致碱基对的改变和基因的突变[15];ROS 在细胞内的积累还可以诱导线粒体 DNA 的损伤、呼吸链的断裂和线粒体 DNA 的降解,而呼吸链同样也是 ROS 的主要细胞来源之一,这就形成正反馈调节,导致细胞内 ROS 含量不受控制的升高,产生更加严重的后果[16]。

2.1. ROS 的产生

ROS 是在内质网、线粒体和过氧化物酶体等细胞器内的各种生化反应中自然产生的,主要来源于线粒体的有氧呼吸作用,也来源于细胞中的其他酶。细胞中的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶(NOX)会催化 ROS 的产生,每消耗 1 分子 NADPH 形成 2 个超氧自由基[17]。同时,线粒体内部的氧化呼吸链的复合物也参与 ROS 的形成[18]。线粒体电子传递链复合物 I,即 NADH 脱氢酶复合物,可以催化电子从 NADH 传递给辅酶 Q(即泛醌),是线粒体中 ROS 产生的主要来源。在电子传递链中,复合物 I 催化 NADH 的电子转移到黄素单核苷酸(FMN),然后通过铁硫团簇将电子传递给泛醌。在此过程中,FMN 也会向线粒体中的 O_2 传递高能电子,最终形成 ROS [19]。

2.2. ROS 在细胞中的调控

ROS 在细胞中起到很重要的作用,低水平(正常水平)的 ROS 含量对细胞的生长、存活起到稳定作用;高水平的 ROS 会导致细胞代谢等过程发生紊乱,例如基因组不稳定,蛋白质错误折叠,进而导致细胞的癌变[20] [21] [22]。细胞中同时存在多种途径来控制 ROS 的水平,例如内皮 PAS 结构域蛋白 1 (EPAS-1) 编码的缺氧诱导因子 2 α (HIF-2 α)可通过控制抗氧化酶的表达,维持 ROS 稳态[23]。ROS 水平也可以通过降解内质网 NOX2 来控制[24]。当 ROS 过量,细胞无法继续承担 ROS 所导致的压力时,细胞走向凋亡或铁死亡等程序性死亡方式[25]。

3. 氧化应激与肝癌的相互依赖

3.1. 氧化应激与 ROS

细胞内的各种代谢反应,例如糖代谢,脂类代谢等,都是依靠反应底物通过得到或者失去电子,发生氧化还原反应来完成的,所以氧化-还原反应的稳态平衡是维持细胞正常生命活动的必要因素之一[26]。细胞内 ROS 分子会与细胞内的相关底物直接发生反应,也会作为信号分子影响细胞周期和细胞自噬等过程的发生[27]。低水平的 ROS 对维持细胞周期和正常生理活动具有稳定作用。当细胞内的 ROS 水平开始升高时,细胞会启动抗氧化过程,清除过量的 ROS 使细胞恢复氧化还原的正常稳态。如果细胞的 ROS 水平超过一定阈值时,细胞的氧化还原平衡会被打破,造成细胞的氧化应激,导致细胞内代谢反应的异常,最终有可能导致癌变的发生[28]。当可能已发生癌变的细胞或已受损的正常细胞的抗氧化过程无法及时清除 ROS 时,过量积累的 ROS 会对细胞产生毒害作用,诱导细胞走向死亡。

3.2. 氧化应激与肝细胞癌的发生

肿瘤细胞和正常组织细胞的区别之一在于,肿瘤细胞可以无限增殖。为了满足肿瘤细胞无限增殖所需要的能量,其代谢调节轴被重新改写,形成了复杂的氧化还原机制[29]。ROS 作为氧化还原反应的中间物质,由于代谢功能的异常,使得 ROS 在细胞中异常产生。通常,细胞中的 ROS 会被维持在阈值以下,这对细胞的生存是有利的[30]。当细胞代谢受到影响时,细胞的 ROS 水平稳态被打破,使细胞内部蛋白质和核苷酸的结构和功能发生改变。

例如,半胱氨酸在包括代谢相关酶类、转运蛋白家族、受体-配体结合和转录调节因子等蛋白质中非常常见[31] [32]。当细胞中的 ROS 水平升高时,半胱氨酸上的巯基(-SH)更容易被 ROS 夺取电子,从而形成二硫键,导致蛋白质空间结构破坏或蛋白质交联[33]。同时,癌细胞中 ROS 水平升高,使得组蛋白乙酰化酶活性增加,组蛋白的乙酰化水平增加,导致染色质松弛,组蛋白中松动的 DNA 更容易受到 ROS 的攻击[34]。

可靠证据表明,DNA 损伤与氧化应激有密切关系。8-羟基脱氧鸟苷(8-Hydroxy-2 Deoxyguanosine, 8-OHdG)是 ROS 攻击 DNA 分子中的鸟嘌呤碱基第 8 位碳原子而产生的一种氧化性加合物,可以诱导 DNA 子链中的 G-C 到 T-A 的转变,被认为与氧化应激诱导的 DNA 损伤有关[35] [36]。对 1995~2001 年接受肝活检的样本显示,HCC 患者中 8-OHdG 含量升高且具有统计学差异,表明氧化性 DNA 损伤可能与 HCC 发生风险相关[37]。8-氧鸟苷 DNA 糖基化酶(8-Oxoguanine DNA Glycosylase, OGG1)是参与 DNA 上 8-OHdG 修复的重要蛋白质,广泛存在于各种组织中。OGG1 基因所在的人染色体 3p25-26 区域经常在肿瘤中丢失,其功能可能与 HCC 的发生有关[38]。

3.3. 肝癌如何应对氧化应激

虽然 ROS 分子的积累对肝癌细胞有癌变的风险,但是过高水平的 ROS 在癌细胞中积累会导致细胞

毒性,造成不同类型细胞死亡[30]。癌细胞为了生存,会调整相关蛋白的表达谱使 ROS 分子水平维持在能够引起细胞死亡的阈值以下[39]。NADPH 氧化酶的过度激活被认为是氧化应激水平上升的重要因素。肝癌细胞中通过抑制 NADPH 氧化酶的表达,限制了 ROS 的过量产生,有利于 HCC 的存活[40]。6-磷酸葡萄糖酸内酯酶(6-Phosphogluconolactonase, 6-PGLS)在肝癌细胞中高表达,能激活磷酸戊糖途径,减少有氧糖代谢从而发挥抗氧化剂的作用,防止 HCC 细胞中 ROS 水平进一步升高而导致细胞死亡[41]。

细胞周期蛋白及细胞周期蛋白依赖激酶(Cyclin-Dependent Protein Kinases, CDKs)是调节细胞周期的稳定性的关键蛋白。有研究报道指出,HCC 临床患者中有超过 70%和 80%的 CDK1 和 CDK2 处于异常的激活状态[42]。在正常组织细胞中,细胞周期蛋白的活性受到细胞周期特异性转录因子和相关蛋白酶的严格控制。CDKs 受到 CDK 抑制因子(CDK inhibitor, CKI)的负调控影响,使得细胞周期维持在正常水平[43]。目前,针对肝癌细胞中 CDK 与氧化应激之间具体发生机制的研究甚少,二者之间的关系仍不完全明确。仅有 Gu 等人[44]的研究表明,肝癌细胞降低乙酰化酶动力蛋白 3 (Dynamin-3, DN3)的表达,从而维持肿瘤细胞内较高的 ROS 水平,由此增加 CDK1 和 CDK2/4 的活性,有利于其生存。

4. 氧化应激诱导的肝细胞癌的铁死亡

4.1. 铁死亡概念的提出

在 2001~2003 年间,Stockwell 及同事发现了一种新的化合物“Erastin”,可以彻底杀死 RAS 细胞,认为其诱导了细胞凋亡,但是并没有发现凋亡的明显特征,例如含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(Cysteiny l aspartate specific proteinase, Caspase)的活化、Caspase 底物的切割等,不过 Erastin 导致的细胞死亡可以被铁螯合剂抑制。而后又发现了具有相同能力的小分子化合物 RSL3。Stockwell 团队意识到这可能是一种新的非凋亡类型的程序性细胞死亡,终于在 2012 年提出了铁死亡的概念[9] [45] [46]。铁死亡(Ferroptosis)是一种新发现的细胞死亡类型,与传统的细胞凋亡和坏死不同的是,在细胞死亡过程中通常伴有大量的铁积累和脂质过氧化[8]。

4.2. 氧化应激和铁死亡的关系

目前的观点认为,铁死亡的发生与铁元素、氨基酸和脂质代谢有关,而氧化应激会使体内 ROS 含量升高,导致代谢发生异常,因此氧化应激与铁死亡之间存在密切联系。铁死亡主要受到几种途径的调节,这些调节方式都有氧化应激发生和 ROS 的稳态失衡的影子。下文我们主要描述了肝癌细胞铁死亡的不同途径与氧化应激的关系。

4.2.1. 半胱氨酸代谢与谷胱甘肽过氧化物酶-4

胱氨酸/谷氨酸反向转运体(System Xc-)是体内重要的抗氧化系统,它由轻链 SLC7A11(xCT)和重链 SLC3A2(4F2hc)组成,是合成谷胱甘肽(glutathione, r-glutamyl cysteinyl + glycine, GSH)的原料。Erastin 作用于 System Xc-,抑制半胱氨酸的摄入,减少 GSH 合成[47]。

GSH 是细胞中最重要、最丰富的活性氧清除剂。在 GSH-Px 催化下,GSH 可将有毒性的脂质过氧化物还原为无毒性的脂肪醇,在细胞抗氧化防御中起着重要作用。GPX4 是细胞中一种能够特异性催化还原型 GSH 转化为氧化型谷胱甘肽(GssG)的酶,同时催化有毒的脂质过氧化物转化为无毒类脂醇[48]。此过程可以防止形成铁(Fe^{2+})依赖性有毒脂质 ROS。近期也有研究表明,过表达 GPX4 基因可以缓解由鼠李糖引起的 HCC 的铁死亡[49],而抑制其活性则促进了 HepG2 细胞中 ROS 水平上升,诱导了铁死亡的发生[50]。

4.2.2. 铁元素代谢

铁作为细胞内不可或缺的一种元素,在体内扮演重要的角色,具有重要的生理功能。铁离子作为很

多酶类的金属活性中心,其对于线粒体内的电子传递链及与 ROS 相关的多种代谢酶至关重要。细胞内铁元素的稳态主要受到二价金属离子转运体 1 (Divalentmetal-iontransporter-1, DMT1)和膜蛋白转铁蛋白受体(Transferrin receptor, TFRC)影响。TFRC 通过网格蛋白依赖性内吞作用,介导细胞对铁的摄取,铁通过内体膜上的 DMT1 进入细胞质[51] [52]。在肝癌中对 TFRC 和 DMT1 研究较少,但在乳腺癌中已经有实验证明,柳氮磺吡啶(SAS)可以上调 ROS 水平,同时上调 TFRC 和 DMT1 表达量,诱导乳腺癌细胞的铁死亡[53]。

4.2.3. 多不饱和脂肪酸(PUFAs)代谢

多不饱和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acid, PUFAs)指含有两个或两个以上双键,碳链长度为 18~22 个碳原子的直链脂肪酸,因此其更容易发生脂质过氧化。已有研究显示,脂氧合酶(Lipoxygenases, LOXs)可以促进 PUFAs 的过氧化,过氧化 PUFAs 的积累是导致铁死亡发生的原因之一,因此减少 LOXs 表达可以改善由 Erastin 诱导的铁死亡[54]。在肝癌中的研究显示,PUFAs 可以通过抑制 β -连环蛋白(β -catenin)和环氧合酶-2 (COX-2)抑制 HCC 增殖[55]。COX-2 是一种诱导酶,在组织损伤、炎症等情况下表达显著增强,也是铁死亡发生的重要标志之一。 β -catenin 在细胞核内充当转录因子,当经典 Wnt 信号通路被激活时,其下游蛋白激酶的磷酸化作用阻止了 β -Catenin 的泛素化降解,引起了 β -catenin 的积累。随后,胞浆中积累的 β -Catenin 进入细胞核,结合 TCF/LEF 转录因子家族,启动下游靶基因的转录。近期有研究指出,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路后,上调转录因子 TCF4 的表达,通过 β -catenin/TCF4 转录复合体促进 GPX4 的转录,能够抑制胃癌细胞中的脂质过氧化水平,且抑制铁死亡的发生[24]。但至今仍没有研究能提供肝癌中的 β -catenin 与诱发肿瘤细胞铁死亡之间存在关联的直接证据。

4.2.4. 核因子 - 红细胞 2-相关因子-2 (NRF2)信号通路

Kelch 样 ECH 相关蛋白-1 (Keap-1)-核因子 - 红细胞 2-相关因子 2 (NRF2)途径是氧化应激诱导的铁死亡的重要途径之一,该信号通路可以减少细胞对于铁元素的吸收,减少 ROS 的产生,同时增强相关抗氧化基因的转录,从而达到抑制铁死亡的效果[56] [57] [58]。在正常生理状态下,Keap1 与 NRF2 结合并降解 NRF2。当 ROS 的稳态被破坏后,Keap1 末端的敏感半胱氨酸被 ROS 夺取电子,使其构象发生改变,与 NRF2 解离。解离后的 NRF2 无法被降解,从而转移到细胞核中,促进抗氧化基因的表达。p62 基因作为 NRF2 下游靶标,被激活后在细胞内聚集,可以与 NRF2 竞争性结合 Keap1,导致 NRF2 进入细胞核,形成正反馈调节,进一步促进抗氧化基因表达。根据 Feng X [59]等人的报道,细胞周期相关蛋白调节基因 P15RS 可以抑制 p62 蛋白的泛素化,未泛素化 p62 与 NRF2 竞争结合 Keap1,从而阻止 Keap1 介导的 NRF2 降解,导致 NRF2 信号通路激活并使 NRF2 稳定下来,发挥其抗氧化作用。这种调节有助于 HCC 细胞适应一定的氧化应激水平,对抗过多的胞内 ROS,防止细胞铁死亡,进一步促进了肝癌的发展。

4.2.5. p53 蛋白

作为肿瘤研究领域中最重要蛋白之一,p53 已经给我们带来了太多惊喜。在肝癌患者中,有大约 50%肿瘤细胞中发现了 TP53 基因缺失[60]。近期研究表明,TP53 基因与铁死亡也有千丝万缕的联系。p53 蛋白能够在 mRNA 水平上抑制基因 SLC7A11 的表达,从而抑制 System Xc-,使细胞抗氧化能力减弱,脂质 ROS 含量升高,引起细胞铁死亡[61]。最新的研究结果显示,抑制肝细胞癌变中的 p53 的磷酸化,可以减少肝癌细胞的铁死亡,使得肝癌细胞更容易存活[62]。

5. 总结与展望

ROS 是生物体内的氧正常代谢产生的天然副产物,并在细胞信号转导和维持细胞周期的稳定性中发

挥重要作用。在正常细胞中,少量的 ROS 将会被抗氧化酶(超氧化物歧化酶、GPX 等)和抗氧化物(GSH、胆红素、维生素等)清理,这是细胞天然的抗氧化机制。当抗氧化酶和抗氧化物无法及时清理 ROS 时,细胞向氧化应激状态发展,ROS 就会攻击核酸、蛋白质、脂质等,并造成损伤。同时该状态也是诱发细胞癌变的关键阶段。癌变后的细胞将通过调整代谢、NADPH 生成和抗氧化转录因子的活性等方式以维持细胞存活。如果 ROS 水平持续升高,已癌变或未癌变的细胞都将走向多种程序性死亡。铁死亡作为一种新型的程序性细胞死亡方式,已经成为当今研究的热点之一。如今随着科研工作者的研究不断深入,多种癌症中氧化应激发生发展机制和铁死亡的关系正逐渐被人们揭示,对细胞氧化应激反应的认识也更加深刻。未来,寻找更多能够引起肿瘤细胞更高水平氧化应激的关键靶点及探究其密切相关的信号通路的具体机制,可能成为肝细胞癌中通过诱发癌细胞铁死亡来抑制肿瘤发展的重要研究方向。

基金项目

国家自然科学基金(31770999)。

参考文献

- [1] Jemal, A., Ward, E.M., *et al.* (2017) Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2014. Featuring Survival. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **109**, djx030. <https://doi.org/10.1093/jnci/djx030>
- [2] Villanueva, A. (2019) Hepatocellular Carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, **380**, 1450-1462. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1713263>
- [3] Chen, Z., Xie, H., Hu, M., *et al.* (2020) Recent Progress in Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *American Journal of Cancer Research*, **10**, 2993-3036.
- [4] Bruix, J., Cheng, A.L., Meinhardt, G., *et al.* (2017) Prognostic Factors and Predictors of Sorafenib Benefit in Patients with Hepatocellular Carcinoma: Analysis of Two-Phase III Studies. *Journal of Hepatology*, **67**, 999-1008. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.06.026>
- [5] Kudo, M., Finn, R.S., Qin, S., *et al.* (2018) Lenvatinib versus Sorafenib in First-Line Treatment of Patients with Unresectable Hepatocellular Carcinoma: A Randomized Phase 3 Non-Inferiority Trial. *The Lancet*, **391**, 1163-1173. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30207-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30207-1)
- [6] Wang, Y., Zheng, L., Shang, W., *et al.* (2022) Wnt/ β -Catenin Signaling Confers Ferroptosis Resistance by Targeting GPX4 in Gastric Cancer. *Cell Death and Differentiation*, **29**, 2190-2202. <https://doi.org/10.1038/s41418-022-01008-w>
- [7] Morales, M. and Xue, X. (2021) Targeting Iron Metabolism in Cancer Therapy. *Theranostics*, **11**, 8412-8429. <https://doi.org/10.7150/thno.59092>
- [8] Li, J., Cao, F., Yin, H.L., *et al.* (2020) Ferroptosis: Past, Present and Future. *Cell Death & Disease*, **11**, Article No. 88. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2298-2>
- [9] Dixon, S.J., Lemberg, K.M., Lamprecht, M.R., *et al.* (2012) Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell*, **149**, 1060-1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- [10] Cairns, R.A., Harris, I.S. and Mak, T.W. (2011) Regulation of Cancer Cell Metabolism. *Nature Reviews Cancer*, **11**, 85-95. <https://doi.org/10.1038/nrc2981>
- [11] Diehn, M., Cho, R.W., Lobo, N.A., *et al.* (2009) Association of Reactive Oxygen Species Levels and Radio-Resistance in Cancer Stem Cells. *Nature*, **458**, 780-783. <https://doi.org/10.1038/nature07733>
- [12] Kenny, E.F., Herzig, A., Krüger, R., *et al.* (2017) Diverse Stimuli Engage Different Neutrophil Extracellular Trap Pathways. *eLife*, **6**, e24437. <https://doi.org/10.7554/eLife.24437>
- [13] Jones, R.M. and Neish, A.S. (2017) Redox Signaling Mediated by the Gut Microbiota. *Free Radical Biology & Medicine*, **105**, 41-47. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.495>
- [14] Nathan, C. and Cunningham-Bussel, A. (2013) Beyond Oxidative Stress: An Immunologist's Guide to Reactive Oxygen Species. *Nature Reviews Immunology*, **13**, 349-361. <https://doi.org/10.1038/nri3423>
- [15] Salehi, F., Behboudi, H., Kavooosi, G. and Ardestani, S.K. (2018) Oxidative DNA Damage Induced by ROS-Modulating Agents with the Ability to Target DNA: A Comparison of the Biological Characteristics of Citrus Pectin and Apple Pectin. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 13902. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32308-2>

- [16] Shokolenko, I., Venediktova, N., Bochkareva, A., Wilson, G.L. and Alexeyev, M.F. (2009) Oxidative Stress Induces Degradation of Mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Research*, **37**, 2539-2548. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp100>
- [17] Chocry, M. and Leloup, L. (2020) The NADPH Oxidase Family and Its Inhibitors. *Antioxidants & Redox Signaling*, **33**, 332-353. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7915>
- [18] Li, R., Jia, Z. and Trush, M.A. (2016) Defining ROS in Biology and Medicine. *Reactive Oxygen Species*, **1**, 9-21. <https://doi.org/10.20455/ros.2016.803>
- [19] Zorov, D.B., Juhaszova, M. and Sollott, S.J. (2014) Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews*, **94**, 909-950. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>
- [20] Kang, S.W., Lee, S. and Lee, E.K. (2015) ROS and Energy Metabolism in Cancer Cells: Alliance for Fast Growth. *Archives of Pharmacal Research*, **38**, 338-345. <https://doi.org/10.1007/s12272-015-0550-6>
- [21] Valko, M., Leibfriz, D., Moncol, J., et al. (2007) Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39**, 44-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- [22] He, L., He, T., Farrar, S., et al. (2017) Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **44**, 532-553. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- [23] Scortegagna, M., Ding, K., Oktay, Y., et al. (2003) Multiple Organ Pathology, Metabolic Abnormalities and Impaired Homeostasis of Reactive Oxygen Species in Epas1^{-/-} Mice. *Nature Genetics*, **35**, 331-340. <https://doi.org/10.1038/ng1266>
- [24] Leavy, O. (2014) Inflammation: Regulating ROS. *Nature Reviews Immunology*, **14**, Article No. 357. <https://doi.org/10.1038/nri3685>
- [25] Park, E. and Chung, S.W. (2019) ROS-Mediated Autophagy Increases Intracellular Iron Levels and Ferroptosis by Ferritin and Transferrin Receptor Regulation. *Cell Death & Disease*, **10**, Article No. 822. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2064-5>
- [26] Moloney, J.N. and Cotter, T.G. (2018) ROS Signaling in the Biology of Cancer. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **80**, 50-64. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.05.023>
- [27] Fan, X.X., Pan, H.D., Li, Y., et al. (2018) Novel Therapeutic Strategy for Cancer and Autoimmune Conditions: Modulating Cell Metabolism and Redox Capacity. *Pharmacology & Therapeutics*, **191**, 148-161. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.06.010>
- [28] 武一凡, 卢娜. 基于细胞氧化还原平衡的抗肿瘤新靶点及其药物的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019(30): 3.
- [29] Wang, K., Jiang, J., Lei, Y., et al. (2019) Targeting Metabolic-Redox Circuits for Cancer Therapy. *Trends in Biochemical Sciences*, **44**, 401-414. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2019.01.001>
- [30] Trachootham, D., Alexandre, J. and Huang, P. (2009) Targeting Cancer Cells by ROS-Mediated Mechanisms: A Radical Therapeutic Approach? *Nature Reviews Drug Discovery*, **8**, 579-591. <https://doi.org/10.1038/nrd2803>
- [31] Marinho, H.S., Real, C., Cyrne, L., Soares, H. and Antunes, F. (2014) Hydrogen Peroxide Sensing, Signaling and Regulation of Transcription Factors. *Redox Biology*, **2**, 535-562. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.02.006>
- [32] Jones, D.P. (2008) Radical-Free Biology of Oxidative Stress. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **295**, C849-C868. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00283.2008>
- [33] Zhang, W., Xiao, S. and Ahn, D.U. (2013) Protein Oxidation: Basic Principles and Implications for Meat Quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **53**, 1191-1201. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.577540>
- [34] Mohsin, A., Haneef, K., Ilyas, A., Zarina, S. and Hashim, Z. (2021) Oxidative Stress Induced Cell Cycle Arrest: Potential Role of PRX-2 and GSTP-1 as Therapeutic Targets in Hepatocellular Carcinoma. *Protein and Peptide Letters*, **28**, 1323-1329. <https://doi.org/10.2174/0929866528666211105105953>
- [35] Maki, A., Kono, H., Gupta, M., et al. (2007) Predictive Power of Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammation in Patients with Hepatitis C Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Annals of Surgical Oncology*, **14**, 1182-1190. <https://doi.org/10.1245/s10434-006-9049-1>
- [36] Halliwell, B. (2000) Why and How Should We Measure Oxidative Damage in Nutritional Studies? How Far Could You Come? *American Journal of Clinical Nutrition*, **72**, 1082-1087. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.5.1082>
- [37] Tanaka, H., Fujita, N., Sugimoto, R., et al. (2008) Hepatic Oxidative DNA Damage Is Associated with Increased Risk for Hepatocellular Carcinoma in Chronic Hepatitis C. *British Journal of Cancer*, **98**, 580-586. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604204>
- [38] Lee, Y.K., Youn, H.G., Wang, H.J. and Yoon, G. (2013) Decreased Mitochondrial OGG1 Expression Is Linked to Mitochondrial Defects and Delayed Hepatoma Cell Growth. *Molecules and Cells*, **35**, 489-497. <https://doi.org/10.1007/s10059-013-2343-4>

- [39] Gorrini, C., Harris, I.S. and Mak, T.W. (2013) Modulation of Oxidative Stress as an Anticancer Strategy. *Nature Reviews Drug Discovery*, **12**, 931-947. <https://doi.org/10.1038/nrd4002>
- [40] Dou, C., Xu, Q., Liu, J., et al. (2019) SHMT1 Inhibits the Metastasis of HCC by Repressing NOX1-Mediated ROS Production. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **38**, Article No. 70. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1067-5>
- [41] Li, C., Chen, J., Li, Y., et al. (2021) 6-Phosphogluconolactonase Promotes Hepatocellular Carcinogenesis by Activating Pentose Phosphate Pathway. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **9**, Article 753196. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.753196>
- [42] Li, K.K., Ng, I.O., Fan, S.T., et al. (2002) Activation of Cyclin-Dependent Kinases CDC2 and CDK2 in Hepatocellular Carcinoma. *Liver International*, **22**, 259-268. <https://doi.org/10.1046/j.0106-9543.2002.01629.x>
- [43] Suski, J.M., Braun, M., Strmiska, V. and Sicinski, P. (2021) Targeting Cell-Cycle Machinery in Cancer. *Cancer Cell*, **39**, 759-778. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.03.010>
- [44] Gu, C., Yao, J. and Sun, P. (2017) Dynamin 3 Suppresses Growth and Induces Apoptosis of Hepatocellular Carcinoma Cells by Activating Inducible Nitric Oxide Synthase Production. *Oncology Letters*, **13**, 4776-4784. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6057>
- [45] Dolma, S., Lessnick, S.L., Hahn, W.C. and Stockwell, B.R. (2003) Identification of Genotype-Selective Antitumor Agents Using Synthetic Lethal Chemical Screening in Engineered Human Tumor Cells. *Cancer Cell*, **3**, 285-296. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00050-3](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00050-3)
- [46] Yang, W.S. and Stockwell, B.R. (2008) Synthetic Lethal Screening Identifies Compounds Activating Iron-Dependent, Nonapoptotic Cell Death in Oncogenic-RAS-Harboring Cancer Cells. *Chemistry & Biology*, **15**, 234-245. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2008.02.010>
- [47] Tu, H., Tang, L.J., Luo, X.J., et al. (2021) Insights into the Novel Function of System Xc- in Regulated Cell Death. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **25**, 1650-1662.
- [48] Forcina, G.C. and Dixon, S.J. (2019) GPX4 at the Crossroads of Lipid Homeostasis and Ferroptosis. *Proteomics*, **19**, e1800311. <https://doi.org/10.1002/pmic.201800311>
- [49] Mei, F., Liu, Y. and Zheng, S. (2022) Rhamnazin Inhibits Hepatocellular Carcinoma Cell Aggressiveness *in vitro* via Glutathione Peroxidase 4-Dependent Ferroptosis. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **258**, 111-120. <https://doi.org/10.1620/tjem.2022.1061>
- [50] Jin, M., Shi, C., Li, T., et al. (2020) Solasonine Promotes Ferroptosis of Hepatoma Carcinoma Cells via Glutathione Peroxidase 4-Induced Destruction of the Glutathione Redox System. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **129**, Article ID: 110282. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110282>
- [51] Yanatori, I. and Kishi, F. (2019) DMT1 and Iron Transport. *Free Radical Biology and Medicine*, **133**, 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.020>
- [52] Gammella, E., Buratti, P., Cairo, G. and Recalcati, S. (2017) The Transferrin Receptor: The Cellular Iron Gate. *Metalomics*, **9**, 1367-1375. <https://doi.org/10.1039/C7MT00143F>
- [53] Yu, H., Yang, C., Jian, L., et al. (2019) Sulfasalazine Induced Ferroptosis in Breast Cancer Cells Is Reduced by the Inhibitory Effect of Estrogen Receptor on the Transferrin Receptor. *Oncology Reports*, **42**, 826-838. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7189>
- [54] Yang, W.S., Kim, K.J., Gaschler, M.M., et al. (2016) Peroxidation of Polyunsaturated Fatty Acids by Lipoxygenases Drives Ferroptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**, E4966-E4975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1603244113>
- [55] Lim, K., Han, C., Dai, Y., Shen, M. and Wu, T. (2009) ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids Inhibit Hepatocellular Carcinoma Cell Growth through Blocking β -Catenin and Cyclooxygenase-2. *Molecular Cancer Therapeutics*, **8**, 3046-3055. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-09-0551>
- [56] Sun, X.F., Ou, Z.H., Chen, R.C., et al. (2016) Activation of the p62-Keap1-NRF2 Pathway Protects against Ferroptosis in Hepatocellular Carcinoma Cells. *Hepatology*, **63**, 173-184. <https://doi.org/10.1002/hep.28251>
- [57] Ghareghomi, S., Habibi-Rezaei, M., Arese, M., Saso, L. and Moosavi-Movahedi, A.A. (2022) Nrf2 Modulation in Breast Cancer. *Biomedicines*, **10**, Article 2668. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10102668>
- [58] Li, Y., Chen, L., Gao, Y., Zou, X.N. and Wei, F.X. (2022) Oxidative Stress and Intervertebral Disc Degeneration: Pathophysiology, Signaling Pathway, and Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2022**, Article ID: 1984742. <https://doi.org/10.1155/2022/1984742>
- [59] Feng, X., Jiang, T., Yang, C., et al. (2021) RPRD1A Stabilizes NRF2 and Aggravates HCC Progression through Competing with p62 for TRIM21 Binding. *Cell Death & Disease*, **13**, Article No. 6. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-04447-4>

- [60] Aning, O.A. and Cheok, C.F. (2019) Drugging in the Absence of p53. *Journal of Molecular Cell Biology*, **11**, 255-264. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz012>
- [61] Venkatesh, D., O'brien, N.A., Zandkarimi, F., *et al.* (2020) MDM2 and MDMX Promote Ferroptosis by PPAR α -Mediated Lipid Remodeling. *Genes & Development*, **34**, 526-543. <https://doi.org/10.1101/gad.334219.119>
- [62] Zhang, X., Zheng, Q., Yue, X., *et al.* (2022) ZNF498 Promotes Hepatocellular Carcinogenesis by Suppressing p53-Mediated Apoptosis and Ferroptosis via the Attenuation of p53 Ser46 Phosphorylation. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **41**, Article No. 79. <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02288-3>