

• 实验研究 •

## 欧前胡素阻断 Noxs-ROS 通路抑制 MKN-45 及 HT-29 细胞增殖活性

雍素云<sup>1</sup>, 史先鹏<sup>1</sup>, 周楠<sup>1</sup>, 周永春<sup>2</sup>, 张雪婷<sup>3\*</sup>

1. 陕西省人民医院 药学部, 陕西 西安 710068

2. 陕西省人民医院 骨科, 陕西 西安 710068

3. 陕西省人民医院 康复医学科, 陕西 西安 710068

**摘要:**目的 探讨欧前胡素对人胃癌细胞 (MKN-45) 和人结肠癌细胞 (HT-29) 中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 (Noxs) - 活性氧 (ROS) 氧化应激通路的作用及对肿瘤细胞增殖活性的影响。方法 MKN-45 和 HT-29 细胞经过不同浓度 (3、10、30、100  $\mu\text{mol/L}$ ) 的欧前胡素及阳性对照二苯基氯化碘盐 (DPI) 处理后, 使用 CCK8 法检测细胞增殖活性, 使用 DHE 荧光探针检测细胞内 ROS 水平, 使用 Western blotting 检测细胞内 Nox1、Nox2、Nox3、Nox4、Nox5 家族蛋白表达。结果 CCK8 法结果显示, 欧前胡素可浓度相关性地抑制 MKN-45 和 HT-29 细胞增殖活性; DHE 荧光探针法结果显示, 欧前胡素干预可使 MKN-45 和 HT-29 细胞荧光强度明显减弱, ROS 水平降低; Western blotting 结果显示, 给予欧前胡素可使 MKN-45 细胞 Nox1、Nox2、Nox3、Nox4、Nox5 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 使 HT-29 细胞 Nox1、Nox2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ )。结论 欧前胡素可通过抑制 MKN-45 和 HT-29 细胞中 Noxs-ROS 通路, 诱导细胞增殖活性下降, 发挥抗肿瘤作用。

**关键词:** 欧前胡素; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶; 活性氧; 人胃癌细胞; 人结肠癌细胞

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2023)08 - 1836 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.08.005

## Imperatorin attenuates the proliferative activity of MKN-45 and HT-29 cells by inhibiting the Noxs-ROS pathway

YONG Su-yun<sup>1</sup>, SHI Xian-peng<sup>1</sup>, ZHOU Nan<sup>1</sup>, ZHOU Yong-chun<sup>2</sup>, ZHANG Xue-ting<sup>3</sup>

1. Department of Pharmacy, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China

2. Department of Orthopedics, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China

3. Department of Rehabilitation Medicine, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China

**Abstract: Objective** To explore the effect of imperatorin on the Noxs-ROS oxidative stress pathway and proliferative activity in human gastric cancer cells (MKN-45) and human colon cancer cells (HT-29). **Methods** MKN-45 and HT-29 cells were administered with different concentrations (3, 10, 30, and 100  $\mu\text{mol/L}$ ) of imperatorin and positive control diphenyl iodide salt chloride (DPI), CCK8 method was used to detect cell proliferation activity, intracellular ROS level was detected by DHE fluorescent probe, and Western blotting was used to detect the protein expressions of Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, and Nox5. **Results** CCK8 assay showed that imperatorin could concentration-dependently inhibited the proliferation activity of MKN-45 and HT-29 cells. The results of DHE fluorescent probe assay showed that imperatorin intervention could significantly reduced the fluorescence intensity and ROS level of MKN-45 and HT-29 cells. Western blotting results showed that administration of imperatorin could reduced the protein expression level of Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, and Nox5 in MKN-45, and Nox1 and Nox2 in HT-29 cells. **Conclusion** Imperatorin can inhibit the proliferative activity of MKN-45 and HT-29 cells by down-regulating of Noxs-ROS pathway, and exhibits anti-tumor effects.

**Key words:** imperatorin; Noxs; reactive oxygen species; human gastric cancer cells; human colon cancer cell

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 国家自然科学基金资助面上项目 (82172418)

作者简介: 雍素云, 硕士, 研究方向为药理学。E-mail: 363586692@qq.com

\*通信作者: 张雪婷 E-mail: 760069232@qq.com

氧化应激参与癌症发展的所有阶段<sup>[1]</sup>, 活性氧 (ROS) 在恶性肿瘤前期过程中起着重要的致病作用。一方面, 组织中产生的 ROS 可以在相对较短的时间内被生长因子诱导, 如表皮生长因子 (EGF) 和血小板衍生生长因子 (PDGF); 另一方面, 炎症细胞因子, 如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的持续激活, 通常需要大量的 ROS 的产生来支持<sup>[2-3]</sup>。细胞内的 ROS 主要由烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 氧化酶 (Noxs) 产生。Noxs 作为电子供体催化 NADPH 产生 O<sub>2</sub>, 继而产生 ROS。Noxs 家族有 Nox1-5、双氧化酶 1 (DUOX1) 和 DUOX2。Noxs 蛋白本身几乎没有催化活性, 需要与多种调节亚基结合形成稳定的复合物才能发挥催化作用, 包括 p22Phox、p47Phox (异构体 Noxo1)、p67Phox (异构体 Noxa1) 和 p40Phox<sup>[4-5]</sup>。不同细胞中 Noxs 的分布及功能也是不同的<sup>[6]</sup>。大肠腺瘤性息肉使个体易患结肠腺癌。Nox1 已被证明在高分化结肠腺瘤中过表达<sup>[7]</sup>。除结直肠癌中 Nox1 和 DUOX2 的上调以及胰腺癌中 DUOX2 的上调外, 还有大量证据支持几种人体实体瘤中 Nox4 mRNA 表达增强, 与未受累的邻近胃组织相比, 胃腺瘤中 Nox1 和 Nox4 显著增加<sup>[8]</sup>。

欧前胡素属于呋喃香豆素类化合物, 主要来源于白芷、当归、名党参、水芹、福参、防风、羌活、蛇床子等, 其中在白芷中含量较丰富<sup>[9]</sup>。研究表明, 欧前胡素具有抗炎、抗高血压、抗过敏及抗肿瘤等作用<sup>[10-11]</sup>。近年来, 关于欧前胡素影响药物代谢酶活性, 影响心血管和神经系统等多种药理作用的研究逐渐增多, 针对其药理作用的研究领域不断拓宽。因此, 欧前胡素具有广泛的药理作用以及巨大的新药开发潜力。前期研究中, 欧前胡素通过降低胞内 ROS 水平发挥抗炎、抗高血压等作用<sup>[12]</sup>。近期研究报道, 欧前胡素可以减少 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的 HepG2 细胞的细胞死亡, 并减弱了 ROS 的形成, 但没有显示出细胞毒性, 这表明其可能通过 ROS 清除活性对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导氧化损伤具有细胞保护作用, 降低癌细胞的扩展<sup>[13]</sup>。然而欧前胡素对其他肿瘤细胞胞内 ROS 及 Noxs 不同亚型的影响作用仍不清楚, 本研究通过欧前胡素对胃癌及结肠癌细胞的 ROS 及 Noxs 影响作用, 揭示其抗肿瘤作用新机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞

人胃癌细胞 MKN-45 购自武汉华尔纳生物科技

有限公司; 人结肠癌细胞 HT-29 购自北京北纳创联生物技术研究院。

### 1.2 试剂与仪器

欧前胡素 (批号 HY-N0285, 质量分数 98%) 购自美国 MCE 公司; 二苯基氯化碘盐 (DPI, 批号 HY-100965) 购自美国 MCE 公司; 二甲基亚砜 (DMSO, 批号 D8371) 购自北京索莱宝科技有限公司; 二氢乙锭 (DHE, 批号 S0063) 购自碧云天生物技术有限公司; 兔多抗 Nox1 (批号 DF8684) 购自 Affinity Biosciences Pty Ltd.; 兔单抗 Nox2 (批号 ab129068) 购自 Abcam 公司; 兔多抗 Nox3 (批号 A3677) 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司; 兔多抗 Nox4 (批号 DF6924)、兔多抗 Nox5 (批号 DF4219) 购自 Affinity Biosciences Pty Ltd.; HRP 标记羊抗兔二抗 (批号 BA1055) 购自武汉博士德生物工程有限公司。

显影定影试剂盒购自天津市汉中摄影材料厂; CCK8 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; DMEM 培养基、1640 培养基、MEM 均购自武汉普诺赛生命科技有限公司; 胎牛血清购自依科赛生物科技 (太仓) 有限公司; 氨苄西林购自阿拉丁公司; 硫酸链霉素购自阿拉丁公司; 胰蛋白酶-EDTA 消化液 (0.25%) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司; RIPA 强效组织裂解液购自碧云天生物技术有限公司; BCA 蛋白检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; PVDF 膜购自美国 Millipore 公司。

细胞培养皿、细胞培养瓶购自美国康宁 CORNING 公司; 电子天平购自上海博通公司; 96 孔培养板购自奈斯生物科技有限公司; 电泳系统购自美国 Bio-Rad 公司; 转膜系统购自美国 Bio-Rad 公司; 微量移液器购自 ThermoFisher 公司; 超净工作台购自苏州集团安泰空气技术有限公司; 低速离心机购自湖南可成仪器设备有限公司; 电热恒温培养箱购自日本 ASONE 公司; FlexStation 3 多功能酶标仪购自 Molecular Devices 公司; CO<sub>2</sub> 恒温培养箱购自日本 SANYO 公司; 倒置显微镜购自日本 Nikon 公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 受试物配制** 欧前胡素及 DPI 用 DMSO 配制成 50 mg/mL 母液, -20 °C 温度保存备用。使用时, 用对应培养基稀释到所需浓度。

**1.3.2 细胞处理** MKN-45 及 HT-29 细胞置于含

10% FBS、100 μg 青霉素 - 链霉素双抗溶液和高糖 DMEM 培养基中, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜, 细胞密度达到 80% 时按 1:3 比例对细胞进行传代, 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

**1.3.3 CCK8 法检测细胞增殖活性** 取处于对数生长期, 生长状态良好的 MKN-45、HT-29 细胞, 分为对照组 (加入新鲜等体积培养基) 及欧前胡素 3、10、30、100 μmol/L 组, 用 0.25% 胰蛋白酶溶液消化 MKN-45、HT-29 细胞制成单细胞悬液, 以 5 × 10<sup>3</sup> 个/孔接入 96 孔板; 另设空白组细胞在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜 (在细胞孔周围孔内加入 100 μL 无菌 PBS)。每种药物及浓度均设 3 个复孔, 吸弃各孔培养基, 各组细胞依次加入不同浓度欧前胡素培养 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK8, 37 °C 培养 2 h, 酶标仪测定 450 nm 波长处的各孔吸光度 (A<sub>450</sub>), 实验重复 6 次, 计算细胞增殖率。

$$\text{细胞增殖率} = (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

**1.3.4 胞内 ROS 水平检测** 取培养好的 MKN-45、HT-29 细胞分别分为 3 组, 即对照组 (加入新鲜等体积培养基)、欧前胡素组 (加入欧前胡素 100 μmol/L 干预 24 h) [14]、阳性对照 (DPI) 组 (加入 DPI 0.05 μmol/L 干预 24 h)。用 1640 完全培养基调整细胞密度到 2.5 × 10<sup>5</sup>/mL, 接入 6 孔板, 每孔 2 mL 细胞悬液, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养过夜。欧前胡素 100 μmol/L 及 DPI 0.05 μmol/L 孵育 24 h, 孵育完毕后, 使用 PBS 漂洗 3 次, 加入 20 mL DHE 荧光探针染料工作液孵育 1 h, 于荧光显微镜下观察并采集图像, 使用 Image Pro-plus 软件计算每组胞内 ROS 水平, 实验重复 9 次。

**1.3.5 Noxs 相关蛋白表达检测** 分组同 1.3.4 项下, 欧前胡素及 DPI 干预 24 h 后, 弃掉培养液, 加入蛋白提取液 (PMSF 与 RIPA 比例为 1:100) 冰上裂解, 离心后使用 BCA 法提取总蛋白, 定量后的样品上样, 每孔上样量为 20 μL, 电泳并转膜后封闭 2 h, 加入一抗, 4 °C 冰箱孵育过夜, 一抗抗体分别为 GAPDH (1:1000)、Nox1 (1:1000)、Nox2 (1:5000)、Nox3 (1:1000)、Nox4 (1:1000), 次日 TBST 洗膜 3 次后, 根据一抗加入二抗, 使用 HRP 标记二抗 (1:10000 稀释), 室温摇床孵育 2 h。使用 TBST 洗膜 3 次后, 将 ECL 试剂盒中 A 液与 B 液按 1:1 比例混匀, 将工作液均匀滴加于膜上反应, 于凝胶成像仪器下显色, 胶片扫描后, 用 BandScan 分析胶片灰度值, 实验重复 9 次。

## 1.4 统计学方法

运用 Graphpad Prism 9.0 软件作图并分析, 各组数据之间差异采用单因素方差分析 (ANOVA) 处理, 分析结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

### 2.1 欧前胡素对 MKN-45 及 HT-29 细胞增殖活性的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 欧前胡素组 MKN-45 及 HT-29 细胞增殖活性均下降, 且呈浓度相关性; 30、100 μmol/L 欧前胡素可使 MKN-45 细胞增殖率呈极显著性下降 ( $P < 0.001$ ); 10、30、100 μmol/L 欧前胡素可使 HT-29 细胞增殖率呈极显著性下降 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。

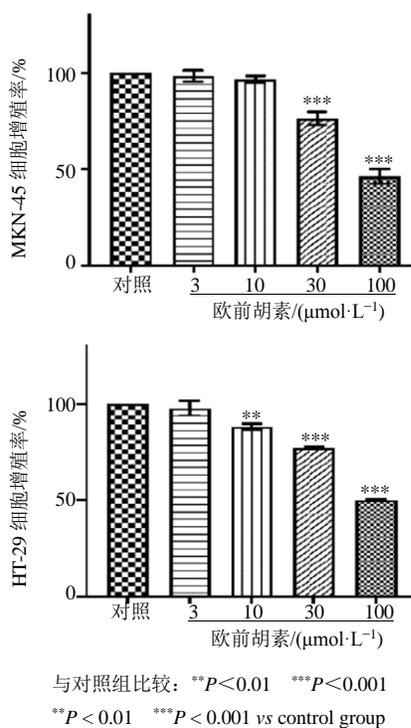


图 1 欧前胡素对 MKN-45 及 HT-29 细胞增殖活性的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 1 Imperatorin inhibited the proliferative activity of MKN-45 and HT-29 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

### 2.2 欧前胡素对 MKN-45 及 HT-29 细胞胞内 ROS 水平的影响

如图 2、3 所示, 与对照组比较, 欧前胡素组 MKN-45 及 HT-29 细胞胞内 ROS 水平均显著下降 ( $P < 0.05$ ), DPI 组也可使 MKN-45 及 HT-29 细胞 ROS 水平显著下降 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。

### 2.3 欧前胡素对 MKN-45 及 HT-29 细胞 Noxs 蛋白表达水平的影响

如图 4、5 所示, 与对照组比较, 欧前胡素组

MKN-45 细胞 Nox1、Nox2、Nox3、Nox4、Nox5 蛋白表达水平均显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001); 欧前胡素组 HT-29 细胞 Nox1 和 Nox2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01), 但对 Nox3、Nox4、Nox5 蛋白表达水平虽有降低趋势, 但无统计意义。

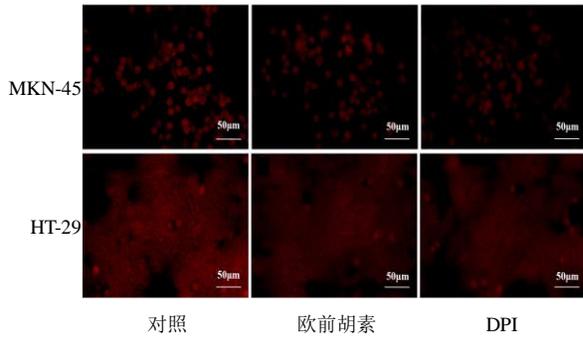
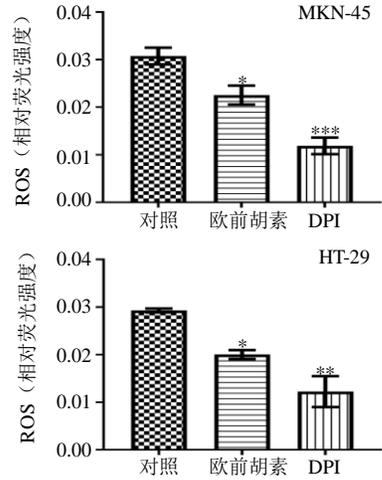
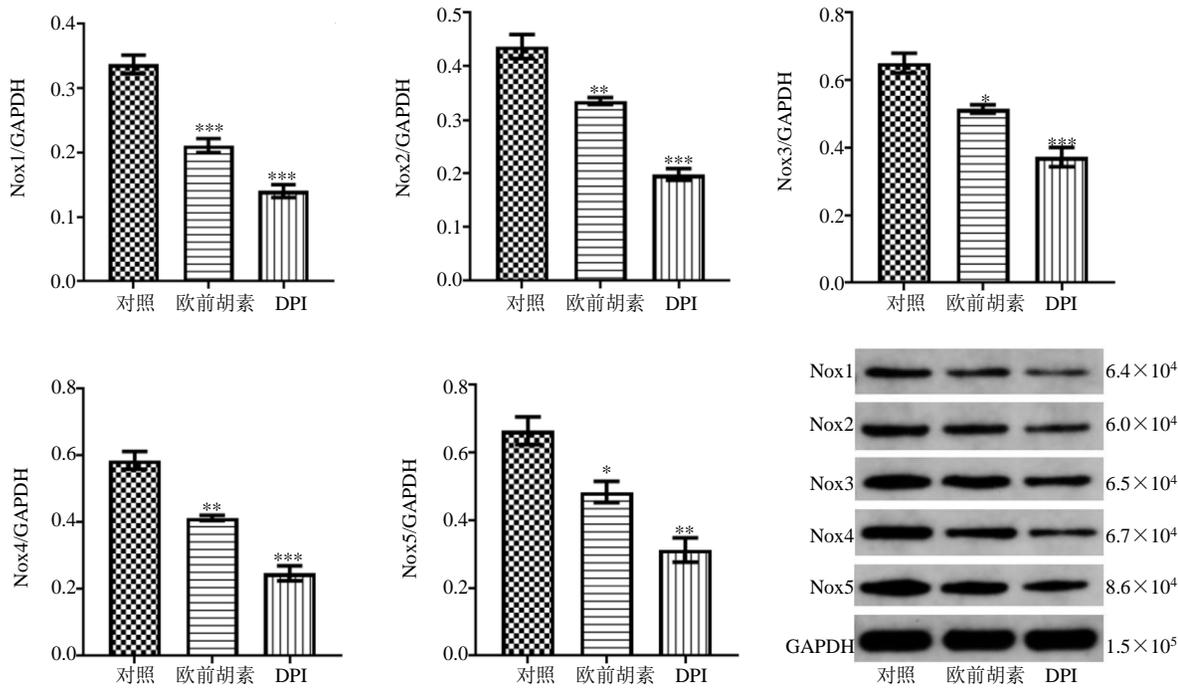


图 2 欧前胡素对 MKN-45 和 HT-29 细胞胞内 ROS 荧光染色图  
Fig. 2 Fluorescence staining images of imperatorin effected on the ROS level of MKN-45 and HT-29 cells



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$   
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group

图 3 欧前胡素对 MKN-45 及 HT-29 细胞胞内 ROS 水平的抑制作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )  
Fig. 3 Imperatorin inhibited the ROS level of MKN-45 and HT-29 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$   
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs control group

图 4 欧前胡素对 MKN-45 细胞 Noxs 蛋白表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

Fig. 4 Imperatorin inhibited the Noxs protein expression level of MKN-45 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

### 3 讨论

在大多数细胞和组织中, Nox-依赖性 ROS 的产生与生物信号和病理生理功能有关<sup>[15]</sup>, 例如心

管<sup>[16-17]</sup>、神经退行性<sup>[18-19]</sup>、癌症<sup>[20-21]</sup>和代谢性疾病等<sup>[22-23]</sup>。这是由于氧化应激与癌症细胞的细胞代谢密切相关。此外, 氧化还原平衡的改变和被认为是

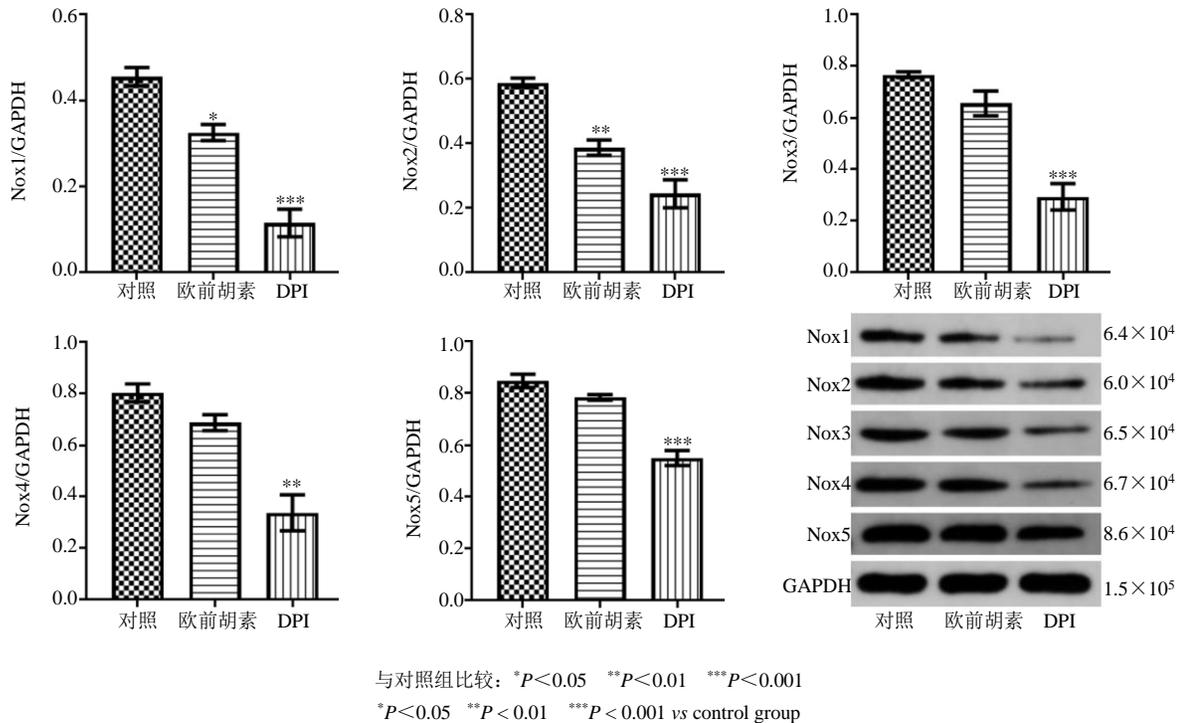


图 5 欧前胡素对 HT-29 细胞 Noxs 蛋白表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )  
Fig. 5 Imperatorin inhibited the Noxs protein expression level of HT-29 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

癌症的标志，并与恶性进展和药物治疗耐药性有关。因此，针对 ROS 与肿瘤相关联的研究将有一定的临床意义。本研究发现具有抗肿瘤活性的天然化合物欧前胡素，在抑制胃癌 MKN-45 细胞及结肠癌 HT-29 细胞的增殖率的同时，可以降低胞内的 ROS 水平，这说明其抗肿瘤作用可能与 ROS 相关。

代谢和微环境相关改变产生的高活性氧水平有助于调节癌症细胞代谢<sup>[24]</sup>，而 Noxs 酶在这一过程中起着关键作用。基于通用抗氧化分子在人体试验中的应用的广泛治疗引起了人们的广泛关注，但仍缺乏选择性靶向氧化途径的特定药理学策略<sup>[25]</sup>。因此，由于 Nox 同源物主要由增强的表达和/或激活机制调节，因此调节 Nox 表达及其活性被认为是新的有前途的治疗方法。一些 Nox 成员在不同的癌症模型中被发现失调，其中 Nox1、Nox2、Nox4 是表达最频繁的成员。

Nox1 亚型在多种组织中表达<sup>[26]</sup>，但在结肠、前列腺和血管细胞中占主导地位<sup>[27]</sup>，其表达可由多种条件诱导。然而，Nox1 的异常激活和/或表达通过细胞代谢的放松调节参与了越来越多的疾病，包括动脉粥样硬化、高血压、炎症和癌症<sup>[26]</sup>。Nox1 在一些肿瘤中上调，并作为癌基因发挥作用<sup>[28-29]</sup>。这种上调对糖酵解升高至关重要，并在线粒体功能障碍

的癌症细胞中提供额外的 NAD<sup>+</sup><sup>[29-31]</sup>。在因致癌 Ras 激活或 p53 缺失而导致线粒体功能受损的癌症细胞和原发性胰腺癌组织中也观察到 Nox1 上调。Nox1 功能的阻断选择性地损害具有线粒体功能障碍的癌症细胞，导致细胞糖酵解减少，细胞活力丧失，并抑制体内癌症生长，这表明 Nox1 是癌症治疗的潜在新靶点<sup>[28]</sup>。Nox2 衍生的 ROS 产生增强是氧化微环境的原因，该微环境对肿瘤发生、肿瘤进展、细胞增殖<sup>[32]</sup>和细胞代谢<sup>[33]</sup>产生深刻影响。Nox2 依赖的 ROS 生成诱导低氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) 的激活，从而刺激 HIF 相关的癌症事件<sup>[32]</sup>。迄今为止，已观察到 Nox4 参与多种恶性肿瘤，包括肺癌、肾细胞癌、结直肠癌、胃癌。Nox4 衍生的 ROS 在几种组织和细胞类型的不同病理生理过程中控制与细胞增殖、迁移、存活、转化、细胞代谢和代谢重编程有关的各种细胞过程。与 Nox2 类似，Nox4 衍生的 ROS 参与 HIF $\alpha$  的激活。在胶质母细胞瘤中，异常的 Nox4 依赖性 ROS 生成通过介导 HIF1 $\alpha$  稳定来影响叉头框蛋白 M1 (FOXO1) 的调节。转化生长因子  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) 介导 Nox4 上调，进而促进 ROS 的产生、生长、存活、缺氧和胶质母细胞瘤的血管生成。在人神经母细胞瘤 SHSY5Y 细胞中也观察到 Nox4 依赖性 HIF $\alpha$  的稳定，其中 Nox4 的表

达在缺氧条件下上调。在 Nox4 敲除的癌症细胞中, HIF1 $\alpha$  靶向基因 (如编码葡萄糖转运蛋白的 SLC2A1) 的表达被阻止, 从而支持 Nox4 介导的代谢重编程的相关作用<sup>[34]</sup>。

在人类的淋巴组织、睾丸和血管中已经检测到 Nox5 的表达<sup>[35]</sup>。研究表明, Nox5 有助于血管和肾脏病理<sup>[36]</sup>。最近的一项研究表明, Nox5 在兔中对动脉粥样硬化具有潜在的保护作用<sup>[37]</sup>。Nox3 分布在内耳中, 它对耳蜗的形成至关重要, 前庭中的碳酸钙晶体负责检测线性加速度、重力和听觉<sup>[38]</sup>。此外, DUOX1 和 DUOX2 在甲状腺中表达, 对甲状腺激素合成至关重要<sup>[39]</sup>。但考虑到安全性和效益, 应该尽量避免对 DUOX1 和 DUOX2 的药理抑制, 以避免甲状腺功能减退和肠炎症<sup>[40]</sup>。因此, 本研究深入探索了欧前胡素对 2 种癌细胞 MKN-45 及 HT-29 的不同 Noxs 亚型的影响。

本研究中, 欧前胡素可以降低 MKN-45 细胞中 5 种 Noxs, 但是对不同 Noxs 的抑制程度稍有不同, 其中对 Nox1 的抑制作用最强 ( $P < 0.001$ ), 对 Nox2 及 Nox4 的抑制作用强于对 Nox3 及 Nox5 的作用。在 HT-29 细胞中, 欧前胡素可以明显降低 Nox1 及 Nox2 蛋白表达水平 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 对 Nox3、Nox4、Nox5 蛋白表达水平有降低趋势, 但无统计学意义。这说明欧前胡素对不同 Noxs 的影响存在差异性, 可能对 Nox1 及 Nox2 的作用相对较强, 与其抗肿瘤作用存在相关性。

综上所述, 欧前胡素抗肿瘤作用可能与阻断 Noxs-ROS 信号通路有关, 新作用机制的发现为抗肿瘤提供了新的治疗思路。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Lim S D, Sun C, Lambeth J D, *et al.* Increased Nox1 and hydrogen peroxide in prostate cancer [J]. *Prostate*, 2005, 62(2): 200-207.
- [2] Weinberg F, Hamanaka R, Wheaton W W, *et al.* Mitochondrial metabolism and ROS generation are essential for Kras-mediated tumorigenicity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(19): 8788-8793.
- [3] Mo W, Liu S, Zhao X, *et al.* ROS Scavenging nanozyme modulates immunosuppression for sensitized cancer immunotherapy [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 8: e2300191.
- [4] Gianni D, Taulet N, Zhang H, *et al.* A novel and specific NADPH oxidase-1 (Nox1) small-molecule inhibitor blocks

the formation of functional invadopodia in human colon cancer cells [J]. *ACS Chem Biol*, 2010, 5(10): 981-993.

- [5] Koç A, Kuyruklyildiz U, Gazi M, *et al.* The effects of sugammadex on gastric ischemia-reperfusion injury in rats: Biochemical and histopathological evaluation [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2023, 42(1): 67-75.
- [6] Yamamoto Y, Negoro T, Tada R, *et al.* Surface phenotype changes and increased response to oxidative stress in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup> T cells [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(6): 616.
- [7] Szanto I, Rubbia-Brandt L, Kiss P, *et al.* Expression of Nox1, a superoxide-generating NADPH oxidase, in colon cancer and inflammatory bowel disease [J]. *J Pathol*, 2005, 207(2): 164-176.
- [8] Du S, Miao J, Zhu Z, *et al.* NADPH oxidase 4 regulates anoikis resistance of gastric cancer cells through the generation of reactive oxygen species and the induction of EGFR [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 948.
- [9] 伍冠一, 陈佳好, 徐小丽, 等. 欧前胡素的中药源与药理作用研究进展 [J]. *中医药导报*, 2017, 23(20): 54-56.
- [10] 程果, 徐国兵. 香豆素类化合物的药理作用研究进展 [J]. *中成药*, 2013, 35(6): 1288-1291.
- [11] 咸哲民, 姜京植, 赵雨喆, 等. 欧前胡素通过 Nrf2/HO-1 抗氧化途径对哮喘模型小鼠气道炎症的影响 [J]. *中草药*, 2018, 49(19): 4596-4601.
- [12] Cao Y J, He X, Wang N, *et al.* Effects of imperatorin, the active component from *Radix Angelicae* (Baizhi), on the blood pressure and oxidative stress in 2K,1C hypertensive rats [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(12): 1048-1054.
- [13] Luo K W, Sun J G, Chan J Y, *et al.* Anticancer effects of imperatorin isolated from *Angelica dahurica*: Induction of apoptosis in HepG2 cells through both death-receptor-and mitochondria-mediated pathways [J]. *Chemotherapy*, 2011, 57(6): 449-459.
- [14] Deng M, Xie L, Zhong L, *et al.* Imperatorin: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 879: 173124.
- [15] Begum R, Thota S, Abdulkadir A, *et al.* NADPH oxidase family proteins: Signaling dynamics to disease management [J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(6): 660-686.
- [16] Caso V M, Manzo V, Cimmino T P, *et al.* Regulation of inflammation and oxidative stress by formyl peptide receptors in cardiovascular disease progression [J]. *Life*, 2021, 11(3): 243.
- [17] Sylvester A L, Zhang D X, Ran S, *et al.* Inhibiting NADPH oxidases to target vascular and other pathologies: An update on recent experimental and clinical studies [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(6): 823.
- [18] Ganguly U, Kaur U, Chakrabarti S S, *et al.* Oxidative stress,

- neuroinflammation, and NADPH oxidase: Implications in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 7086512.
- [19] Russo R, Cattaneo F, Lippiello P, *et al*. Motor coordination and synaptic plasticity deficits are associated with increased cerebellar activity of NADPH oxidase, CAMKII, and PKC at preplaque stage in the TgCRND8 mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 68: 123-133.
- [20] Romo-González M, Ijurko C, Hernández-Hernández Á. Reactive oxygen species and metabolism in leukemia: A dangerous liaison [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 889875.
- [21] Szanto I. NADPH oxidase 4 (Nox4) in cancer: Linking redox signals to oncogenic metabolic adaptation [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2702.
- [22] Nascè A, Gariani K, Jornayvaz F R, *et al*. NADPH oxidases connecting fatty liver disease, insulin resistance and type 2 diabetes: Current knowledge and therapeutic outlook [J]. *Antioxidants*, 2022, 11(6): 1131.
- [23] Elumalai S, Karunakaran U, Moon J S, *et al*. NADPH oxidase (Nox) targeting in diabetes: A special emphasis on pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1573.
- [24] Panieri E, Santoro M M. ROS homeostasis and metabolism: A dangerous liason in cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(6): e2253.
- [25] Chen Z, Tian R, She Z, *et al*. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 152: 116-141.
- [26] Bedard K, Krause K H. The Nox family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology [J]. *Physiol Rev*, 2007, 87(1): 245-313.
- [27] Krause K H. Tissue distribution and putative physiological function of Nox family NADPH oxidases [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2004, 57(5): S28-S29.
- [28] Lu W, Hu Y, Chen G, *et al*. Novel role of Nox in supporting aerobic glycolysis in cancer cells with mitochondrial dysfunction and as a potential target for cancer therapy [J]. *PLoS Biol*, 2012, 10(5): e1001326.
- [29] de Faria C C, Fortunato R S. The role of dual oxidases in physiology and cancer [J]. *Genet Mol Biol*, 2020, 43(1): e20190096.
- [30] Barton M, Meyer M R, Prossnitz E R. Nox1 downregulators: A new class of therapeutics [J]. *Steroids*, 2019, 152: 108494.
- [31] Wang H P, Chen W J, Shen J M, *et al*. Attenuating glucose metabolism by *Fbxw7* promotes taxol sensitivity of colon cancer cells through downregulating NADPH oxidase 1 (Nox1) [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(10): 886.
- [32] Grauers Wiktorin H, Aydin E, Hellstrand K, *et al*. Nox2-derived reactive oxygen species in cancer [J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2020, 2020: 7095902.
- [33] Griffiths H R, Gao D, Pararasa C. Redox regulation in metabolic programming and inflammation [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 50-57.
- [34] Tang P, Dang H, Huang J, *et al*. NADPH oxidase Nox4 is a glycolytic regulator through mROS-HIF1 $\alpha$  axis in thyroid carcinomas [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 15897.
- [35] Paffenholz R, Bergstrom R A, Pasutto F, *et al*. Vestibular defects in head-tilt mice result from mutations in Nox3, encoding an NADPH oxidase [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(5): 486-491.
- [36] Kiss P J, Knisz J, Zhang Y, *et al*. Inactivation of NADPH oxidase organizer 1 results in severe imbalance [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(2): 208-213.
- [37] Moreno J C, Bikker H, Kempers M J, *et al*. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(2): 95-102.
- [38] Hayes P, Dhillon S, O'Neill K, *et al*. Defects in NADPH oxidase genes Nox1 and DUOX2 in very early onset inflammatory bowel disease [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(5): 489-502.
- [39] Mimura C, Tachihara M, Kusuhara S, *et al*. Complete response in a patient with lung cancer suffering from three pembrolizumab-induced immune-related adverse events including retinal vasculitis [J]. *Respirol Case Rep*, 2021, 9(4): e00730.
- [40] Lichter J, Silva E S M, Peter N, *et al*. Skin sensitization to fragrance hydroperoxides: Interplay between dendritic cells, keratinocytes and free radicals [J]. *Br J Dermatol*, 2021, 184(6): 1143-1152.

[责任编辑 高源]