

非编码 RNA 调控铁死亡在肝细胞癌中作用的研究进展

李林林¹(综述),郝丹丹^{2*},王玉敏³(审校)

(1.赤峰学院附属医院检验科,内蒙古赤峰 024000;2.赤峰学院医学部基础医学院生理学教研室,内蒙古赤峰 024000;
3.航天中心医院,北京大学航天临床医学院呼吸与危重症医学科,北京 100049)

[摘要] 铁死亡是一种铁依赖介导的脂质过氧化诱导的调节细胞死亡形式,与肿瘤发生密切相关。越来越多证据表明,非编码 RNA(noncoding RNAs, ncRNA)能够调节肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的铁死亡,进而参与 HCC 恶性生物学表型。本文我们总结了铁死亡相关的 ncRNA 与肝癌进展之间的关系。本文将有助于我们理解 ncRNA 在肝细胞铁死亡和肝细胞癌进展中的作用,并可能为未来探索新的肝细胞癌诊断和治疗生物标志物提供新的思路。

[关键词] 肝肿瘤;铁死亡;RNA,未翻译 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.02.012

[中图分类号] R735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2024)02-0191-05

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌,是一种病死率极高的消化系统恶性肿瘤,全球发病率位居所有恶性肿瘤的前5位、病死率位列前3位^[1]。中国是肝癌的高发区,发病率与病死率均位居世界首位,发病率呈逐年上升趋势^[2]。HCC 发生发展机制仍有待于深入研究。尽管最近在治疗等方面取得了一些进展,肝癌的预后仍然很差^[3]。2020年肝癌死亡例数为830 180例,在癌症相关死亡例数中排名第3^[1]。尽管在治疗病毒性肝炎(HCC的最大病因)方面取得了显著进展,但随着脂肪性肝炎发病率的增加,肝细胞癌的发病率和病死率仍在增加。然而,肝癌复杂的病理生理学限制了有效诊断和治疗干预的发展,促使人们全面了解肝癌的发生机制^[4]。铁死亡可通过介导耐药、放疗抵抗和调控免疫治疗抑制参与 HCC^[5-10]。非编码 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)通过调节铁死亡,在 HCC 的发生和发展中起着重要作用^[11-13]。因此,阐明 ncRNAs 对铁死亡的调控作用有助于加深铁死亡在 HCC 中的作用

的理解。本文首先简要介绍了铁死亡,然后重点介绍了 ncRNAs 调节铁死亡参与 HCC 的分子机制最新进展,进而从 ncRNA 角度阐述铁死亡参与 HCC 提供理解和思路,并可能为未来探索新的肝细胞癌诊断和治疗生物标志物提供新的思路。

1 铁死亡

铁死亡是2012年提出的一种由铁依赖性、脂质过氧化引起的调节性细胞死亡形式^[14]。生物化学上,细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)的耗尽和谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)的活性失活导致细胞铁死亡,因为 GPX4 催化的还原反应不能消除过量产生的脂质过氧化物^[15]。铁死亡的关键特征包括膜脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO)、细胞内铁稳态失衡和抗氧化防御体系的丧失^[5-6]。铁死亡的发生需要两个关键启动信号,即抑制抗氧化系统溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)/谷胱甘肽 GSH/GPX4 通路受到抑制和游离铁的积累(图1)。在铁死亡过程中,多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)极易发生过氧化,从而破坏脂质双层,破坏膜功能。将 PUFA 掺入细胞磷脂(尤其是磷脂酰乙醇胺)需要参与脂肪酸合成的特定酶即酯酰辅酶 A 合成酶长链家族成员4(Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)的作用。ACSL4 使 PUFA 酯化生成 PUFA-CoA, 随后通过溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶3

[收稿日期]2023-03-02

[基金项目]内蒙古自然科学基金(2022MS08032);北京市海淀区卫生健康发展科研培育计划(HP2021-19-50701);航天中心医院院级课题(YN202104);中国航天科工集团课题(2020-LCYL-009)

[作者简介]李林林(1981-),男,内蒙古赤峰人,赤峰学院附属医院副主任检验技师,医学硕士,从事肿瘤生物标志物研究。

* 通信作者。E-mail: hdd2011yx@163.com

(lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)将 PUFA-CoA 掺入磷脂膜。铁死亡的最后一步是脂质过氧化或其二级产物(如 4-HNE 和 MDA)直接或间接诱导血浆或细胞器膜上的孔隙形成,最终引发细胞死亡(图 1)。

目前研究显示,铁死亡的发生与以下三个因素密切相关^[15-16]:①脂质过氧化物的过度产生:Fe²⁺又可以与 NADPH 氧化酶激活产生的过氧化氢通过芬顿反应产生脂质过氧化物的前体羟自由基。②细胞内二价铁离子(Fe²⁺)的升高:铁在铁死亡中起着核心作用。与运输和结合铁相关的转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TfR1)的增加以及铁蛋白和铁转运蛋白(transferrin, Tf)的减少均会导致 Fe²⁺的增加从而诱发铁死亡。③脂质过氧化损伤修复机制的抑制:GPX4 和胱氨酸/谷氨酸逆向转运体(system Xc⁻)对铁死亡过程中脂质过氧化损伤的修复具有重要的作用。system Xc⁻是细胞膜上的一种氨基酸转运体,由 SLC7A11(又叫 xCT)和 SLC3A22 组成,它负责细胞胱氨酸的输入和谷氨酸的输出,导致 GSH 的合成。xCT 可将细胞外的胱

氨酸转运到细胞内与谷氨酸合成 GSH,进而 GPX4 利用产生的 GSH 将脂质过氧化物还原为相应的醇或水,对抗细胞的氧化应激完成脂质过氧化的修复。铁死亡激活剂 erastin 或 RSL3 可以通过抑制 xCT 中 GPX4 活性,最终导致细胞铁死亡。

2 ncRNA 调控铁死亡在 HCC 发病中作用

ncRNAs 是无蛋白编码功能的一类功能性转录本,其可分为两大类:即小于 200 个核苷酸的 small ncRNAs 和大于 200 核苷酸的 long ncRNAs^[17]。ncRNAs 作为调节分子在转录水平、翻译水平和翻译后水平改变基因表达,介导一系列细胞过程,如染色质重塑、转录以及转录后修饰等^[17]。因此,某些 ncRNAs 能够作为癌基因或肿瘤抑制因子发挥作用。在肿瘤中发挥重要作用的主要调节性 ncRNAs 包括小 RNA (microRNAs, miRNAs)、长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, LncRNAs)以及环状 RNAs (circular RNAs, circRNAs)。越来越多的研究表明,ncRNAs 通过调节铁死亡,在 HCC 的发生和发展中起着重要作用(图 1)。

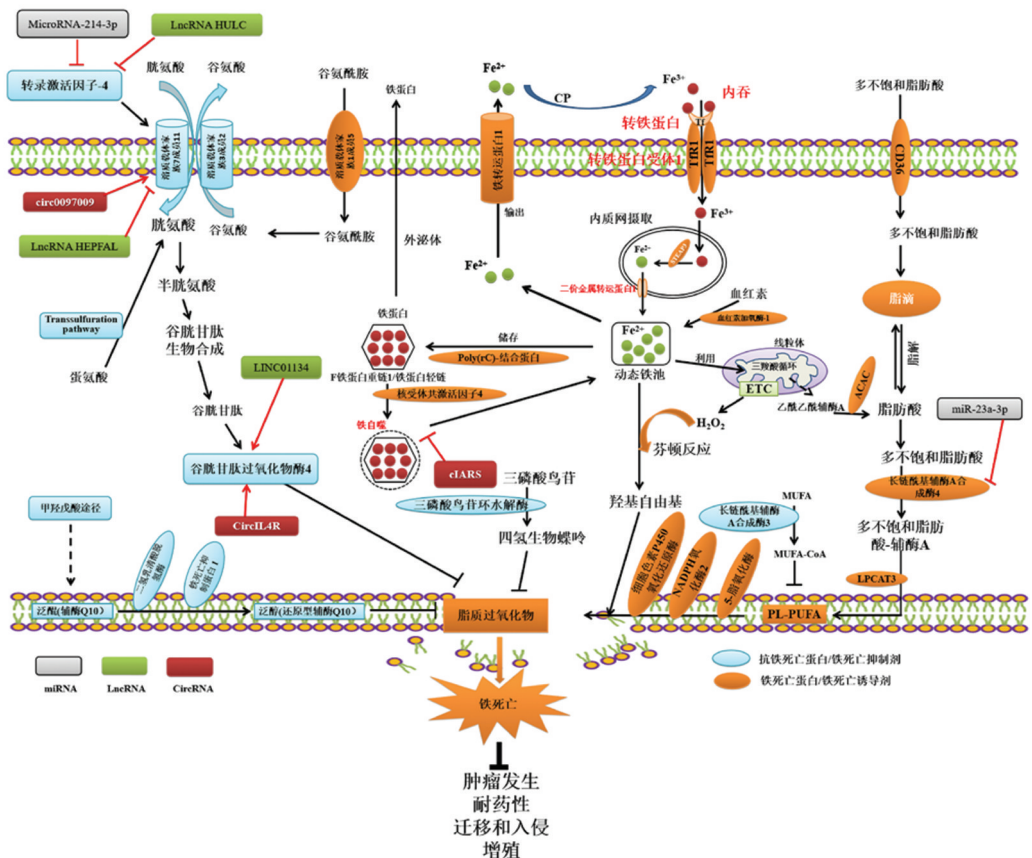


图 1 ncRNA 通过调控铁死亡在肝细胞癌中作用
2.1 miRNA 调控铁死亡参与 HCC 耐药和进展
转录因子 ETS 原癌基因 1(ETS proto-oncogene 1,

ETS1) 转录激活 miR-23a-3p, miR-23a-3p 在 HCC 中表达增高介导索拉菲尼耐药,并与不良预后相关。

索拉菲尼耐药的 HCC 细胞系中 miR-23a-3p 增加, 体内外研究显示敲低 miR-23a-3p 后增加 HCC 对索拉菲尼的敏感性。miR-23a-3p 通过靶向抑制 ACSL4 进而抑制铁死亡发生, 而 miR-23a-3p 敲低后上调 ACSL4, 增强索拉菲尼诱导的 HCC 细胞铁死亡发生。ACSL4 敲低后逆转 miR-23a-3p 敲低后上调 ACSL4, 增强索拉菲尼诱导的 HCC 细胞铁死亡发生, 表明在 HCC 中 ETS1 上调 miR-23a-3p, miR-23a-3p 通过靶向抑制 ACSL4 进而抑制铁死亡发生, 从而介导 HCC 对索拉菲尼耐药^[18]。

MicroRNA-214-3p 在肝癌发生中起调节作用。在肝癌细胞系中 miR-214 过表达增加细胞对铁死亡诱导剂 erastin 诱导细胞死亡的敏感性, 这与其增加了 erastin 诱导的丙二醛和活性氧水平、上调了 Fe²⁺ 浓度和降低 GSH 水平有关, 即表明 miR-214 增强 HCC 细胞对铁死亡的敏感性。MicroRNA-214-3p 通过抑制转录因子 4 (transcription factor 4, ATF4) 的激活, 进而诱导铁死亡发生。进一步体内移植瘤研究显示, MicroRNA-214-3p 过表达抑制了 ATF4 的表达, 进而促进 erastin 的抗肿瘤效果, 表明 MicroRNA-214-3p 在 HCC 中通过抑制 ATF4 进而诱导铁死亡, 从而增强 erastin 的抗肿瘤效果^[19]。

乙型肝炎病毒 (hepatitis B, HBV) 诱导 M1 巨噬细胞铁死亡, 而 miR-142-3p 通过抑制, 进而促进 M1 巨噬细胞铁死亡, 加速 HCC 的侵袭和迁移^[20]。HBV 阳性肝细胞癌患者来源的外泌体中 miR-142-3p 表达增加, 通过上调转铁蛋白受体 1 (transferrin receptor 1, TfR1), 下调铁蛋白重链 1 (ferritin heavy chain 1, FTH1)、GPX4 和 ATF4 诱导 M1 巨噬细胞铁死亡, 进而促进 HCC 肿瘤发生, miR-142-3p 靶向抑制 SLC3A2 促进 M1 巨噬细胞铁死亡, 进而在体内外抑制 HCC 肿瘤发生^[21]。

2.2 LncRNA 调控铁死亡参与 HCC 发生发展

LncRNA HEPFAL 在肝癌组织中的表达减少, 其通过降低 SLC7A11 表达, 增加脂质活性氧和铁的水平来促进铁死亡发生。同时 lncRNA HEPFAL 增加了 erastin 诱导 HCC 细胞对铁死亡的敏感性, 这可能与 mTORC1 有关, 并且 lncRNA HEPFAL 可以促进 SLC7A11 的泛素化并降低 SLC7A1 蛋白的稳定性, 从而导致表达降低。表明, LncRNA HEPFAL 在 HCC 中通过促进 SLC7A11 泛素化降解, 进而诱导 HCC 铁死亡, 发挥其对肿瘤的抑制作用^[22]。

LINC01134 在 HCC 中表达增加进而促进肿瘤

发生, 并与不良临床预后相关。LINC01134 敲低后升高 HCC 细胞内 ROS、脂质 ROS、MDA 水平和降低 GSH/GSSG, 进而增强对奥沙利铂 (Oxaliplatin) 的化疗敏感性, 表明敲低 LINC01134 通过诱导铁死亡增加化疗敏感性^[23]。机制研究发现, LINC01134 可以促进 Nrf2 募集到 GPX4 启动子区, 从而对 GPX4 进行转录调控, 从抑制铁死亡发生。因此在 HCC 中 LINC01134 作为癌基因, 通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡发生, 进而促进肿瘤发生^[23]。

在 HCC 中, LncRNA NEAT1 能够通过诱导肌醇加氧酶 (myo-inositol oxygenase, MIOX) 的表达, 促进 HCC 对铁死亡诱导剂 erastin 和 RSL3 的敏感性, 从而增强它们的抗肿瘤效果^[24]。铁死亡诱导剂 erastin 和 RSL3 通过促进 p53 与 NEAT1 启动子的结合来增加 LncRNA NEAT1 的表达。诱导的 LncRNA NEAT1 通过竞争性结合 miR-362-3p 促进肌醇加氧酶 MIOX 的表达。MIOX 是一种非血红素铁蛋白, MIOX 的上调促进了 ROS 的产生, 减少了烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 和 GSH, 导致细胞抗氧化能力下降。MIOX 增加了 ROS 的产生, 降低了细胞内 NADPH 和 GSH 的水平, 导致了 erastin 和 RSL3 诱导的铁死亡增强。LncRNA NEAT1 过表达促进铁死亡, 提高了 erastin 和 RSL3 的抗肿瘤活性。总之, LncRNA NEAT1 通过调节 miR-362-3p 和 MIOX 在铁死亡。因此, 诱导铁死亡可能是 LncRNA NEAT1 高表达的 HCC 患者的一种有前途的治疗策略^[24]。

LncRNA HULC 在 HCC 中高表达, 作为癌基因促进肿瘤发生^[25]。敲低 LncRNA HULC 增加 HCC 细胞中的铁死亡和氧化应激。LncRNA HULC 作为 miR-3200-5p 的 ceRNA 发挥作用, 并且 miR-3200-5p 通过靶向 ATF4 调节铁死亡, 从而抑制 HCC 细胞内的增殖和转移, 表明下调 LncRNA HULC 能够通过靶向 miR-3200-5p/ATF4 轴来诱导 HCC 细胞铁死亡, 抑制肿瘤进展^[25]。

在 HCC 中 LncRNA GABPB1-AS1 表达增高, LncRNA-GABPB1-AS1 与 GABPB1 mRNA 形成 RNA 双链, 然后抑制 GABPB1 翻译, 导致 PRDX5 表达减少, 最终导致铁死亡^[26]。Erastin 上调 lncRNA GABPB1-AS1, lncRNA GABPB1-AS1 通过阻断 GA 结合蛋白转录因子 $\beta 1$ (GA binding protein transcription factor subunit beta 1,

GABPB1)翻译下调 GABPB1 蛋白水平,从而导致编码过氧化物酶原 5(peroxiredoxin-5, PRDX5)过氧化物酶的基因下调,并最终抑制细胞抗氧化能力。GABPB1 的高表达水平与 HCC 患者的不良预后相关,而 HCC 患者的高 GABPB1-AS1 水平与总体生存率的提高相关。总之,这些数据证明了 GABPB1 及其反义 lncRNA GABPB1-AS1 在 erastin 诱导的铁细胞凋亡中的机制联系,并将 GABPB1 和 GABPB1-AS1 确立为 HCC 有吸引力的治疗靶点。

2.3 CircRNA 调控铁死亡参与 HCC 发生和耐药

circ0097009 在 HCC 癌组织和细胞系中高表达,敲低 circ0097009 抑制 HCC 细胞增殖和侵袭,进一步发现 circ0097009 通过虹吸抑制 miR-1261 而上调 SLC7A11 从而抑制铁死亡发生,促进 HCC 发生^[27]。CircIL4R 在 HCC 组织和细胞中异常过表达,CircIL4R 敲低后铁死亡增加,抑制 HCC 细胞增殖。CircIL4R 可直接海绵虹吸抑制 miR-541-3p, miR-541-3p 抑制可减轻 CircIL4 R 敲低对 HCC 细胞的影响。CircIL4R 作为 miR-541-3p 海绵调节其靶点 GPX4。GPX4 上调减轻了 miR-541-3p 诱导的肿瘤抑制和铁死亡。表明,CircIL4R 通过虹吸抑制 miR541-3p 而上调 GPX4 从而抑制铁死亡发生,促进 HCC 发生^[28]。Hsa_circ_0008367(cIARS)在索拉非尼治疗后 HCC 细胞中表达最高,敲低 cIARS 后显著抑制细胞对索拉非尼或 Erastin 的敏感性。cIARS 与 RNA 结合蛋白 ALKBH5 相互作用,后者是 HCC 自噬的负调节因子。ALKBH5 沉默介导的 BCL-2/BECN1 复合物的解离被干扰 cIARS 有效阻断。此外,ALKBH5 下调显著地抑制干扰 cIARS 引起的铁死亡、自噬和铁自噬。总之,cIARS 通过抑制 ALKBH5 介导的自噬抑制,积极调节索拉非尼诱导的铁死亡^[29]。

3 问题与展望

ncRNA 在 HCC 的多个过程中扮演着重要角色,参与 HCC 的发生发展。近年来 ncRNA 在调控铁死亡进而在调控肿瘤恶性生物学中发挥着重要作用。从本文可以看出 ncRNA 可以调控铁死亡多个靶点进而参与 HCC 的发生发展和耐药等。然而对于 ncRNA 在 HCC 中调控铁死亡的研究目前处于起步阶段,探索其他 ncRNA 在 HCC 中调控铁死亡仍值得深入探索。因此,深入研究其他 ncRNA 在调控 HCC 中铁死亡进程也是未来的重要研究方向,值得我们进一步深入关注。另外部分 ncRNA 通过铁死亡介导耐药等调控 HCC 恶性生物学作

用,那么能否实现 ncRNA 的靶向输运在肿瘤部位精准积聚实现对肿瘤的抑制作用,值得思考。

[参考文献]

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209–249.
- [2] Sun HC, Zhou J, Wang Z, et al. Chinese expert consensus on conversion therapy for hepatocellular carcinoma (2021 edition)[J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2022, 11(2): 227–252.
- [3] 翟来慧, 陆海波. 晚期原发性肝细胞癌的药物治疗[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(2): 326–329.
- [4] Alqahtani A, Khan Z, Alloghbi A, et al. Hepatocellular carcinoma: molecular mechanisms and targeted therapies[J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(9): 526.
- [5] Yuan J, Lv T, Yang J, et al. HDLBP-stabilized lncFAL inhibits ferroptosis vulnerability by diminishing Trim69-dependent FSP1 degradation in hepatocellular carcinoma[J]. Redox Biol, 2022, 58: 102546.
- [6] Hu X, He Y, Han Z, et al. PNO1 inhibits autophagy-mediated ferroptosis by GSH metabolic reprogramming in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(11): 1010.
- [7] Du X, Qi Z, Xu J, et al. Loss of GABARAPL1 confers ferroptosis resistance to cancer stem-like cells in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Oncol, 2022, 16(20): 3703–3719.
- [8] Chen Q, Zheng W, Guan J, et al. SOCS2-enhanced ubiquitination of SLC7A11 promotes ferroptosis and radiosensitization in hepatocellular carcinoma[J]. Cell Death Differ, 2023, 30(1): 137–151.
- [9] Casini A, Leone S, Vaccaro R, et al. The emerging role of ferroptosis in liver cancers[J]. Life (Basel), 2022, 12(12):
- [10] Ajoalabady A, Tang D, Kroemer G, et al. Ferroptosis in hepatocellular carcinoma: mechanisms and targeted therapy [J]. Br J Cancer, 2023, 128(2): 190–205.
- [11] Balihodzic A, Prinz F, Dengler MA, et al. Non-coding RNAs and ferroptosis: potential implications for cancer therapy[J]. Cell Death Differ, 2022, 29(6): 1094–1106.
- [12] Hsieh PL, Chao SC, Chu PM, et al. Regulation of ferroptosis by non-coding RNAs in head and neck cancers[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3142.
- [13] Zuo YB, Zhang YF, Zhang R, et al. Ferroptosis in cancer progression: role of noncoding RNAs[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(5): 1829–1843.
- [14] Wang Y, Wu X, Ren Z, et al. Overcoming cancer chemotherapy resistance by the induction of ferroptosis[J]. Drug Resist Updat, 2023, 66: 100916.
- [15] Yu Y, Yan Y, Niu F, et al. Ferroptosis: a cell death connecting oxidative stress, inflammation and cardiovascular diseases[J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 193.
- [16] Zheng K, Dong Y, Yang R, et al. Regulation of ferroptosis by

- bioactive phytochemicals; Implications for medical nutritional therapy[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 168: 105580.
- [17] Bolton EM, Tuzova AV, Walsh AL, et al. Noncoding RNAs in prostate cancer; the long and the short of it[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(1): 35–43.
- [18] Lu Y, Chan YT, Tan HY, et al. Epigenetic regulation of ferroptosis via ETS1/miR-23a-3p/ACSL4 axis mediates sorafenib resistance in human hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 3.
- [19] Bai T, Liang R, Zhu R, et al. MicroRNA-214-3p enhances erastin-induced ferroptosis by targeting ATF4 in hepatoma cells[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(7/8): 5637–5648.
- [20] Hu Z, Yin Y, Jiang J, et al. Exosomal miR-142-3p secreted by hepatitis B virus (HBV)-hepatocellular carcinoma (HCC) cells promotes ferroptosis of M1-type macrophages through SLC3A2 and the mechanism of HCC progression [J]. *J Gastrointest Oncol*, 2022, 13(2): 754–767.
- [21] Hu Z, Zhang H, Liu W, et al. Mechanism of HBV-positive liver cancer cell exosomal miR-142-3p by inducing ferroptosis of M1 macrophages to promote liver cancer progression[J]. *Transl Cancer Res*, 2022, 11(5): 1173–1187.
- [22] Zhang B, Bao W, Zhang S, et al. LncRNA HEPFAL accelerates ferroptosis in hepatocellular carcinoma by regulating SLC7A11 ubiquitination[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(8): 734.
- [23] Kang X, Huo Y, Jia S, et al. Silenced LINC01134 enhances oxaliplatin sensitivity by facilitating ferroptosis through GPX4 in hepatocarcinoma[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 939605.
- [24] Zhang Y, Luo M, Cui X, et al. Long noncoding RNA NEAT1 promotes ferroptosis by modulating the miR-362-3p/MIOX axis as a ceRNA[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(9): 1850–1863.
- [25] Guan L, Wang F, Wang M, et al. Downregulation of HULC Induces Ferroptosis in Hepatocellular Carcinoma via Targeting of the miR-3200-5p/ATF4 Axis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9613095.
- [26] Qi W, Li Z, Xia L, et al. LncRNA GABPB1-AS1 and GABPB1 regulate oxidative stress during erastin-induced ferroptosis in HepG2 hepatocellular carcinoma cells[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 16185.
- [27] Lyu N, Zeng Y, Kong Y, et al. Ferroptosis is involved in the progression of hepatocellular carcinoma through the circ0097009/miR-1261/SLC7A11 axis[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(8): 675.
- [28] Xu Q, Zhou L, Yang G, et al. CircIL4R facilitates the tumorigenesis and inhibits ferroptosis in hepatocellular carcinoma by regulating the miR-541-3p/GPX4 axis[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(11): 2344–2356.
- [29] Liu Z, Wang Q, Wang X, et al. Circular RNA cIARS regulates ferroptosis in HCC cells through interacting with RNA binding protein ALKBH5[J]. *Cell Death Discov*, 2020, 6: 72.

(本文编辑:刘斯静)