

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.18.009

ALOX15 调控 GPX4 介导铁死亡抑制胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭*

邹和琴¹, 何娟², 范冶^{1△}

1. 湖南省第二人民医院/湖南省脑科医院病理科, 湖南长沙 410007; 2. 湖南省长沙市第四医院/长沙市中西医结合医院超声诊断科, 湖南长沙 430006

摘要:目的 探讨花生四烯酸 15-脂氧合酶(ALOX15)调控谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)介导铁死亡对胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响。方法 培养不同胶质瘤细胞(A172、U87、LN229)和正常胶质细胞(HA1800),采用荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)和蛋白质印迹法检测不同细胞中 ALOX15 mRNA 及蛋白的表达,并将 ALOX15 mRNA 及蛋白表达最低的细胞分为对照组(正常培养,不进行任何处理)、ALOX15 组(pcDNA-ALOX15 转染细胞)、ALOX15+GPX4 组(pcDNA-ALOX15、pcDNA-GPX4 转染细胞)。采用 CCK-8 实验、划痕实验、Transwell 小室实验分别检测细胞增殖、迁移和侵袭能力,采用 DCFH-DA 荧光探针检测细胞中活性氧(ROS)水平,采用 qRT-PCR 和蛋白质印迹法检测铁死亡相关蛋白[GPX4、长链酯酰辅酶 A 合成酶 4(ACSL4)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 1(NOX1)、环氧化酶 2(COX2)]表达。结果 与正常胶质细胞 HA1800 比较,胶质瘤细胞 A172、U87、LN229 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达均降低($P<0.05$);与胶质瘤细胞 A172 比较,胶质瘤细胞 U87 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达降低($P<0.05$)。与胶质瘤细胞 U87 比较,胶质瘤细胞 LN229 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达升高($P<0.05$)。其中 U87 细胞 ALOX15 mRNA 及蛋白表达最低,后续实验用 U87 细胞完成。与对照组比较,ALOX15 组 ALOX15 mRNA 及蛋白表达明显升高($P<0.05$),细胞增殖率、迁移率和侵袭率明显降低($P<0.05$)。与对照组比较,ALOX15 组细胞中 ROS 水平,ACSL4、NOX1、COX2 mRNA 及蛋白表达明显升高($P<0.05$),GPX4 mRNA 及蛋白表达明显降低($P<0.05$)。与 ALOX15 组比较,ALOX15+GPX4 组 GPX4 mRNA 及蛋白表达、细胞增殖率、迁移率和侵袭率明显升高($P<0.05$),ROS 水平,ACSL4、NOX1、COX2 mRNA 及蛋白表达明显降低($P<0.05$)。结论 ALOX15 过表达可抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移与侵袭能力,可能通过抑制 GPX4 表达,诱导细胞铁死亡。

关键词:花生四烯酸 15-脂氧合酶; 谷胱甘肽过氧化物酶 4; 长链酯酰辅酶 A 合成酶 4; 铁死亡; 胶质瘤

中图法分类号:R739.43;R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)18-2498-06

ALOX15 regulates GPX4-mediated ferroptosis to suppress proliferation, migration and invasion in glioma cells*

ZOU Heqin¹, HE Juan², FAN Ye^{1△}

1. Department of Pathology, Hunan Provincial Second People's Hospital/Hunan Provincial Brain Hospital, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Department of Ultrasound Diagnosis, Changsha Fourth Hospital/Changsha Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Changsha, Hunan 430006, China

Abstract: Objective To investigate the effect of arachidonic acid 15-lipoxygenase (ALOX15) regulating glutathione peroxidase 4 (GPX4)-mediated ferroptosis on the proliferation, migration and invasion of glioma cells. **Methods** Glioma cell (A172, U87, LN229) and normal human astrocytes (HA1800) were cultured. ALOX15 mRNA and protein expression were detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and Western blot. The cell line with the lowest ALOX15 mRNA and protein expression was divided into three groups: control group (normal culture without treatment), ALOX15 group (transfected with pcDNA-ALOX15), ALOX15+GPX4 group (co-transfected with pcDNA-ALOX15 and pcDNA-GPX4). Cell proliferation was measured by CCK-8 assay, migration by scratch assay, and invasion by Transwell chamber assay. Intracellular

* 基金项目:湖南中医药大学学院联合基金项目(2024XYLH224)。

作者简介:邹和琴,女,主治医师,主要从事胶质瘤转移、侵袭的相关机制研究。△ 通信作者,E-mail:522769328@qq.com。

引用格式:邹和琴,何娟,范冶. ALOX15 调控 GPX4 介导铁死亡抑制胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 检验医学与临床, 2025, 22(18):

reactive oxygen species (ROS) level was detected using DCFH-DA fluorescent probe. Ferroptosis-related proteins-glutathione peroxidase 4 (GPX4), long-chain acyl-CoA synthetase 4 (ACSL4), NADPH oxidase 1 (NOX1) and cyclooxygenase-2 (COX2) were analyzed using qRT-PCR and Western blot. **Results** ALOX15 mRNA and protein expression were lower in glioma cells A172, U87, and LN229 than in normal human astrocytes HA1800 ($P < 0.05$); compared with glioma cells A172, ALOX15 mRNA and protein were lower in glioma cells U87 ($P < 0.05$); compared with glioma cells U87, ALOX15 mRNA and protein were higher in glioma cells LN229 ($P < 0.05$). U87 cells showed the lowest ALOX15 mRNA and protein levels, and were therefore used for subsequent experiments. Compared with the control group, ALOX15 mRNA and protein expression was higher in the ALOX15 group ($P < 0.05$), while cell proliferation, migration and invasion rates were decreased ($P < 0.05$). Compared with the control group, ROS level, ACSL4, NOX1 and COX2 mRNA and protein expression was higher in ALOX15 group ($P < 0.05$), while GPX4 mRNA and protein expression was lower ($P < 0.05$). Compared with the ALOX15 group, GPX4 mRNA and protein expression was higher in the ALOX15+GPX4 group ($P < 0.05$), proliferation, migration and invasion rates were increased ($P < 0.05$), while ROS level, ACSL4, NOX1 and COX2 mRNA and protein expression were lower ($P < 0.05$). **Conclusion** Overexpression of ALOX15 suppresses the proliferation, migration, and invasion of glioma cells, possibly by down-regulating GPX4 and thereby inducing ferroptosis.

Key words: arachidonic acid 15-lipoxygenase; glutathione peroxidase 4; long-chain acyl-CoA synthetase 4; ferroptosis; glioma

胶质瘤是一种恶性程度极高的中枢神经系统肿瘤,其在成人中发病率较高,严重威胁人们生命健康^[1]。长期以来,临床常用手术切除治疗该病,但多数患者就诊时已进入晚期,且胶质瘤具有极强的侵袭性,容易发生远处转移,手术切除难度大,且放化疗效果不佳,整体生存率低^[2]。因此,寻找新的治疗靶点和方法,提高胶质瘤的治疗效果,成为当前研究的迫切需求。近年来,铁死亡作为一种新型细胞死亡方式,逐渐成为肿瘤治疗领域的研究热点^[3]。铁死亡的发生与脂质过氧化的失控密切相关,而谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)是调控铁死亡的关键分子,其功能异常或表达下调会导致脂质过氧化物积累,进而诱发铁死亡^[4]。花生四烯酸 15-脂氧合酶(ALOX15)是一种脂肪氧化酶,在多种肿瘤中表达异常,并与肿瘤的恶性程度、侵袭能力和预后密切相关^[5-6]。此外,ALOX15 能够催化、促进氧合产物的生成,进一步引发脂质过氧化反应,最终加剧铁死亡的发生^[7]。ALOX15 与 GPX4 在铁死亡的调控中可能存在相互作用,共同影响脂质过氧化的平衡状态。然而,ALOX15 是否能调节胶质瘤的铁死亡进程及其对胶质瘤迁移、侵袭和转移的影响尚未可知。基于此,本研究拟设计体外细胞实验,从 GPX4 介导铁死亡角度探讨 ALOX15 对胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响,为临床上针对胶质瘤的治疗提供潜在治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验材料 胶质瘤细胞 A172、U87、LN229 和人正常胶质细胞 HA1800 购自中国科学院上海细胞库。ALOX15 高表达载体(pcDNA-ALOX15)、GPX4 高表达载体(pcDNA-GPX4)、ALOX15、GPX4、长链酯酰辅酶 A 合成酶 4(ACSL4)、还原型烟酰胺腺嘌呤

二核苷酸磷酸氧化酶 1(NOX1)、环氧化酶 2(COX2)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物购自苏州吉玛基因公司。Lipofectamine 3000 转染试剂盒购自美国 Invitrogen 公司,CCK-8 试剂盒购自北京百奥莱博科技公司,Transwell 小室、基质胶购自美国 BD 公司,DCFH-DA 荧光探针购自上海东仁化学科技公司,TRIzol 试剂购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,反转录试剂盒、荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,放射免疫沉淀法裂解液(RIPA)、二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天公司,ALOX15、GPX4、ACSL4、NOX1、COX2、 β -肌动蛋白(β -actin)蛋白一抗购自美国 Abcam 公司。本研究已通过湖南省第二人民医院医学伦理委员会审批(审批号:伦审 2024 研第 149 号)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 配制含有 10% 胎牛血清+1% 青霉素/链霉素的 DMEM 培养液,37 °C、5% CO₂ 条件下培养细胞,隔天更换培养液,细胞密度生长至 80% 时添加胰蛋白酶,进行传代培养,取生长状态良好的细胞进行后续实验。

1.2.2 细胞转染 将细胞以 5×10^4 /孔接种于 6 孔板,细胞密度生长至 60% 时,按 Lipofectamine 3000 转染试剂盒说明书进行细胞转染,培养 48 h 后验证转染率。

1.2.3 细胞分组 (1)培养不同胶质瘤细胞(A172、U87、LN229)和正常胶质细胞(HA1800),观察 ALOX15 mRNA 及蛋白表达情况,选择 ALOX15 mRNA 及蛋白表达最低的细胞进行后续实验。(2)将上述 ALOX15 mRNA 及蛋白表达最低的细胞分为对照组、ALOX15 组、ALOX15+GPX4 组。其中对照组

正常培养,不作任何处理;ALOX15 组用 pcDNA-ALOX15 转染细胞;ALOX15 + GPX4 组用 pcDNA-ALOX15、pcDNA-GPX4 转染细胞。每组均设置 5 个复孔检测相关指标。

1.2.4 qRT-PCR 检测 ALOX15、GPX4、ACSL4、NOX1、COX2 mRNA 表达水平 收集各组细胞,添

加 TRIzol 试剂提取总 RNA,反转录合成 cDNA 模板链,然后进行 qRT-PCR 扩增。基因引物序列见表 1。反应条件:95 ℃ 1 min,95 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,共 42 个循环。根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相关基因 mRNA 相对表达量。

表 1 基因引物序列

基因	引物序列
ALOX15	正向:5'-ACTGAAATCGGGCTGCAAGGG-3'
	反向:5'-GGGGTGATGGGGCTGAAATAA-3'
GPX4	正向:5'-GGGCTACAACGTCAAATTCG-3'
	反向:5'-TCCACTTGATGGCATTTC-3'
ACSL4	正向:5'-ATGGCGGCTACGACGAGTTC-3'
	反向:5'-TCAGGGCTGGTGGTGATGTT-3'
NOX1	正向:5'-CGGGTACCTGAAGTTGCAGTGAAGGGAGATC-3'
	反向:5'-GCCTCGAGGGTTTGGAGCCCTTCTAGGC-3'
COX2	正向:5'-TTCAAATGAGATTGTGGGAAAAT-3'
	反向:5'-AGATCATCTCTGCCTGAGTATCTT-3'
内参 GAPDH	正向:5'-ACATCAAGAAGGTGGTGAAG-3'
	反向:5'-ATACCAGGAAATGAGCTTGA-3'

1.2.5 蛋白质印迹法检测 ALOX15、GPX4、ACSL4、NOX1、COX2 蛋白表达 收集各组细胞,添加 RIPA 提取总蛋白,BCA 法测定标本浓度,各组定量取 50 μg 蛋白上样 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶,110 V 电泳分离蛋白,再采用湿转法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,室温下封闭 2 h。分别添加 ALOX15(1 : 1 000)、GPX4(1 : 1 000)、ACSL4(1 : 1 000)、NOX1(1 : 1 500)、COX2(1 : 1 500)和 β-actin 蛋白一抗(1 : 1 000),4 ℃ 温育过夜;洗膜后,添加相应蛋白二抗(1 : 5 000),室温温育 1 h,再次洗膜后滴加发光试剂显色,应用凝胶成像系统采集蛋白条带图像,用 Image J 软件测定条带灰度值,以目的蛋白与内参 β-actin 灰度值比表示目的蛋白的相对表达量。

1.2.6 CCK-8 检测细胞增殖情况 将各组细胞以 1×10^5 /孔接种于 96 孔板,并设置空白组(仅添加培养液,无细胞),培养 24 h 后加入含有 10% CCK-8 试剂的培养液,继续培养 4 h,取出培养板放入酶标仪检测,记录 450 nm 波长处吸光度(A),计算细胞增殖率。细胞增殖率 = $(A_{\text{实验孔}} - A_{\text{空白孔}}) / (A_{\text{对照孔}} - A_{\text{空白孔}}) \times 100\%$ 。

1.2.7 划痕实验检测细胞迁移情况 将各组细胞以 5×10^4 /孔接种于 6 孔板,培养 24 h 后,用 1 mL 移液器吸头垂直于孔板底部划线,并记录划痕宽度(0 h),继续培养 24 h 后再次拍照记录划痕宽度(24 h),计算细胞迁移率。细胞迁移率 = $(0 \text{ h 宽度} - 24 \text{ h 宽度}) / 0$

h 宽度 $\times 100\%$ 。

1.2.8 Transwell 小室实验检测细胞侵袭情况 预先用基质胶包被的 Transwell 小室将细胞接种至上室,下室中添加含有 20% 胎牛血清的培养液,培养 24 h 后取出小室,拭去未穿过膜的细胞,固定于 4% 多聚甲醛溶液中 30 min,再用结晶紫染色 10 min,光镜下观察穿膜细胞数,计算细胞侵袭率。细胞侵袭率 = 穿膜细胞数 / 接种细胞总数 $\times 100\%$ 。

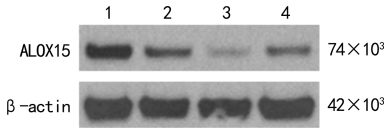
1.2.9 DCFH-DA 荧光探针检测细胞内活性氧(ROS)水平 将各组细胞以 5×10^4 /孔接种于 6 孔板,培养 24 h 后,加入 1 : 1 000 含有 DCFH-DA 荧光探针的无血清培养液,避光下温育 30 min,再用不含血清的培养液洗涤细胞 3 次,最后用荧光分光光度法检测各孔荧光值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 软件处理、分析数据。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同胶质瘤细胞与正常胶质细胞中 ALOX15 mRNA 及蛋白比较 与正常胶质细胞 HA1800 比较,胶质瘤细胞 A172、U87、LN229 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达降低($P < 0.05$)。与胶质瘤细胞 A172 比较,胶质瘤细胞 U87 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达降低($P < 0.05$)。与胶质瘤细胞 U87 比较,

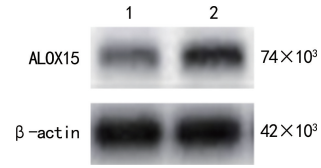
胶质瘤细胞 LN229 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达升高($P < 0.05$)。U87 细胞 ALOX15 mRNA 及蛋白表达最低,因此,后续实验用 U87 细胞完成。见图 1、表 2。



注:1 为胶质细胞 HA1800;2 为胶质瘤细胞 A172;3 为胶质瘤细胞 U87;4 为胶质瘤细胞 LN229。

图 1 不同脑胶质细胞中 ALOX15 蛋白表达

表达分别为 1.00 ± 0.16 、 2.17 ± 0.28 , ALOX15 蛋白表达分别为 0.24 ± 0.06 、 0.73 ± 0.17 ;与对照组比较, ALOX15 组 ALOX15 mRNA 及蛋白表达明显升高($P < 0.05$)。见图 2。



注:1 为对照组;2 为 ALOX15 组。

图 2 对照组、ALOX15 组细胞中 ALOX15 蛋白表达

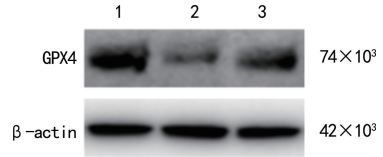
表 2 不同脑胶质细胞中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

细胞	n	mRNA	蛋白
胶质细胞 HA1800	5	1.00 ± 0.14	0.58 ± 0.09
胶质瘤细胞 A172	5	$0.72 \pm 0.11^*$	$0.33 \pm 0.08^*$
胶质瘤细胞 U87	5	$0.42 \pm 0.09^{* \#}$	$0.09 \pm 0.03^{* \#}$
胶质瘤细胞 LN229	5	$0.67 \pm 0.11^{* \Delta}$	$0.29 \pm 0.07^{* \Delta}$
F		21.795	39.893
P		< 0.001	< 0.001

注:与胶质细胞 HA1800 比较, * $P < 0.05$;与胶质瘤细胞 A172 比较, # $P < 0.05$;与胶质瘤细胞 U87 比较, $\Delta P < 0.05$ 。

2.2 对照组、ALOX15 组 ALOX15 mRNA 及蛋白表达比较 对照组和 ALOX15 组 ALOX15 mRNA

2.3 对照组、ALOX15 组、ALOX15 + GPX4 组 GPX4 mRNA、蛋白表达,U87 细胞增殖率,迁移率和侵袭率比较 与对照组比较, ALOX15 组 GPX4 mRNA、蛋白表达,以及细胞增殖率、迁移率、侵袭率明显降低($P < 0.05$);与 ALOX15 组比较, ALOX15 + GPX4 组 GPX4 mRNA、蛋白表达,以及细胞增殖率、迁移率、侵袭率明显升高($P < 0.05$)。见图 3、表 3。



注:1 为对照组;2 为 ALOX15 组;3 为 ALOX15+GPX4 组。

图 3 对照组、ALOX15 组、ALOX15+GPX4 组细胞中 GPX4 蛋白表达

表 3 对照组、ALOX15 组、ALOX15+GPX4 组 GPX4 mRNA、蛋白表达,以及 U87 细胞增殖率、迁移率、侵袭率比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	GPX4		细胞增殖率 (%)	细胞迁移率 (%)	细胞侵袭率 (%)
		mRNA	蛋白			
对照组	5	1.00 ± 0.14	1.31 ± 0.24	100.00 ± 0.00	64.15 ± 6.48	65.26 ± 8.51
ALOX15 组	5	$0.39 \pm 0.06^*$	$0.46 \pm 0.07^*$	$38.25 \pm 5.11^*$	$30.69 \pm 6.05^*$	$34.61 \pm 7.42^*$
ALOX15+GPX4 组	5	$0.91 \pm 0.11^{\#}$	$1.12 \pm 0.18^{\#}$	$86.17 \pm 6.72^{\#}$	$56.27 \pm 7.34^{\#}$	$58.93 \pm 7.85^{\#}$
F		46.076	31.459	221.012	34.650	20.769
P		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与 ALOX15 组比较, # $P < 0.05$ 。

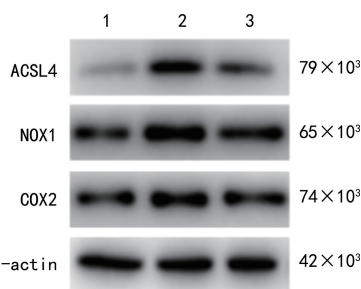
2.4 对照组、ALOX15 组、ALOX15 + GPX4 组铁死亡指标比较 与对照组比较, ALOX15 组 ROS 水平,以及 ACSL4、NOX1、COX2 mRNA 及蛋白表达明显

升高($P < 0.05$);与 ALOX15 组比较, ALOX15 + GPX4 组 ROS 水平,以及 ACSL4、NOX1、COX2 mRNA 及蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。见表 4、图 4。

表 4 对照组、ALOX15 组、ALOX15+GPX4 组铁死亡指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ROS	ACSL4		NOX1		COX2	
			mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
ALOX15 组	5	$1.93 \pm 0.17^*$	$1.75 \pm 0.18^*$	$0.48 \pm 0.07^*$	$1.91 \pm 0.20^*$	$1.03 \pm 0.13^*$	$2.21 \pm 0.24^*$	0.91 ± 0.09
ALOX15+GPX4 组	5	$1.32 \pm 0.14^{\#}$	$1.24 \pm 0.11^{\#}$	$0.27 \pm 0.04^{\#}$	$1.40 \pm 0.16^{\#}$	$0.73 \pm 0.15^{\#}$	$1.57 \pm 0.19^{\#}$	$0.70 \pm 0.07^{\#}$
F		57.239	35.839	48.041	35.420	26.453	51.952	56.032
P		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与 ALOX15 组比较, # $P < 0.05$ 。



注:1为对照组;2为 ALOX15 组;3为 ALOX15+GPX4 组。

图4 对照组、ALOX15 组、ALOX15+GPX4 组铁死亡相关蛋白表达

3 讨论

胶质瘤根据组织形态学,可分为星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤和胶质母细胞瘤,其中胶质母细胞瘤是最具侵袭性的亚型,该型患者治疗效果极差,5年生存率不足10%^[8]。流行病学研究结果显示,电离辐射、农药暴露和病毒感染等均被认为是胶质瘤发病的危险因素,但具体发病机制尚不清楚^[9]。铁死亡是一种非细胞凋亡、铁离子依赖的细胞死亡方式,以细胞内 ROS 堆积和脂质过氧化为主要特征^[10]。相关研究显示,诱导铁死亡可抑制肿瘤生长,克服传统药物治疗的耐药性,还可增强肿瘤免疫治疗效果^[11-12]。但有研究显示,胶质瘤细胞所处的肿瘤微环境中抗氧化物质水平显著高于正常组织,可清除铁死亡生成的 ROS^[13]。而且,胱氨酸/谷氨酸反向转运体系统失调也是帮助胶质瘤细胞逃避铁死亡的主要途径^[14]。

ALOX15 是脂氧合酶家族的重要成员,大量研究表明,其在调控细胞铁死亡中扮演重要角色,可能作为调控细胞铁死亡的有效治疗靶标:MA 等^[15]研究发现,ALOX15 可催化多不饱和脂肪酸的过氧化反应,进而加剧缺血再灌注导致的心肌损伤;ZHAO 等^[16]研究发现,ALOX15 通过诱导神经元细胞铁死亡进一步加剧了由再灌注引发的脑损伤。在肿瘤细胞方面,SHINTOKU 等^[17]报道,抑制 ALOX15 会减少铁死亡诱导剂引发的铁死亡。最近,WANG 等^[18]在急性髓系白血病异种移植瘤动物模型中发现,促进 ALOX15 表达可诱导细胞铁死亡,从而抑制体内急性髓系白血病细胞的生长。尽管上述研究指出 ALOX15 对促进癌细胞铁死亡和抑制癌细胞具有积极作用,但目前关于其与胶质瘤细胞铁死亡的关系尚缺乏研究报道。本研究结果显示,与正常胶质细胞 HA1800 比较,胶质瘤细胞 A172、U87、LN229 中 ALOX15 mRNA 及蛋白表达降低;而 ALOX15 过表达后,细胞增殖率、迁移率和侵袭率明显降低,表明 ALOX15 可能作为肿瘤抑制因子,具有抑制胶质瘤细胞 U87 增殖、迁移和侵袭的作用。

ROS 是铁死亡的关键介质,其积累可引发脂质过

氧化,这是铁死亡的一个标志。ACSL4 参与含多不饱和脂肪酸磷脂的生成,这些磷脂是脂质过氧化的底物;ACSL4 表达增加,意味着有更多的底物可供利用,进而促进脂质过氧化反应,加速铁死亡进程。NOX1 可产生活性氧,通过增加细胞内 ROS 水平,间接促进铁死亡过程。COX2 也是铁死亡的标志物,其水平与铁死亡的发生和发展关系密切,抑制 COX2 表达可有效抑制铁死亡的发生。本研究进一步观察 ALOX15 过表达对 U87 细胞铁死亡的影响,发现 ALOX15 过表达使 U87 细胞向铁死亡发展,细胞中 ROS 水平,以及 ACSL4、NOX1、COX2 mRNA 和蛋白表达明显升高,GPX4 mRNA 和蛋白表达明显降低。上述结果说明 ALOX15 过表达可促进 U87 细胞铁死亡。不同于细胞凋亡、坏死、自噬等过程,铁死亡涉及不同生物途径。GPX4 属于谷胱甘肽过氧化物酶家族,通过利用谷胱甘肽作为还原剂,将有害的脂质过氧化物还原为相应的无毒脂质醇^[19]。正常细胞中,GPX4 可有效清除脂质过氧化物;当 GPX4 活性受到抑制或表达下降时,细胞内脂质过氧化物无法被及时清除,就会触发铁死亡过程^[20]。本研究中,增加 GPX4 表达可部分逆转 ALOX15 对 U87 细胞的抑制作用,提示 ALOX15 可能通过抑制 GPX4 表达,诱导细胞铁死亡,从而抑制 U87 细胞增殖、迁移与侵袭。

综上所述,ALOX15 过表达可抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移与侵袭能力,可能通过抑制 GPX4 表达,诱导细胞铁死亡。

参考文献

- [1] SCHAFF L R, MELLINGHOFF I K. Glioblastoma and other primary brain malignancies in adults: a review[J]. JAMA, 2023, 329(7): 574-587.
- [2] 郭社卫,甄英伟,林发. 基于 CGGA 数据库构建的列线图模型预测胶质母细胞瘤患者预后分析[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2024, 18(5): 15-21.
- [3] ZHANG C, LIU X Y, JIN S D, et al. Ferroptosis in cancer therapy: a novel approach to reversing drug resistance[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 47.
- [4] LI H, SUN Y, YAO Y, et al. USP8-governed GPX4 homeostasis orchestrates ferroptosis and cancer immunotherapy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2024, 121(16): e2315541121.
- [5] LEE J, YOU J H, ROH J L. Poly(rC)-binding protein 1 represses ferritinophagy-mediated ferroptosis in head and neck cancer[J]. Redox Biol, 2022, 51: 102276.
- [6] MA J M, GUO Z M, YANG X F, et al. Exploration of various roles of hypoxia genes in osteosarcoma[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 18293.
- [7] CAI W, LIU L, SHI X, et al. Alox15/15-HpETE aggra-

- vates myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting cardiomyocyte ferroptosis[J]. *Circulation*, 2023, 147(19):1444-1460.
- [8] WEI R, ZHOU J, BUI B, et al. Glioma actively orchestrate a self-advantageous extracellular matrix to promote recurrence and progression [J]. *BMC Cancer*, 2024, 24(1):974.
- [9] MIGUEL L G, MEDINA P V, CURTO S B, et al. Epidemiology, diagnostic strategies, and therapeutic Advances in diffuse midline glioma[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(16):5261.
- [10] POPE L E, DIXON S J. Regulation of ferroptosis by lipid metabolism[J]. *Trends Cell Biol*, 2023, 33(12):1077-1087.
- [11] LI D B, WANG Y H, DONG C, et al. CST1 inhibits ferroptosis and promotes gastric cancer metastasis by regulating GPX4 protein stability via OTUB1[J]. *Oncogene*, 2023, 42(2):83-98.
- [12] YANG F, XIAO Y, DING J H, et al. Ferroptosis heterogeneity in triple-negative breast cancer reveals an innovative immunotherapy combination strategy [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(1):84-100.
- [13] YANG Y C, ZHU Y, SUN S J, et al. ROS regulation in gliomas: implications for treatment strategies[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1259797.
- [14] 蒋希忠, 乔诗宇, 姜瞳, 等. 靶向铁死亡增强胶质母细胞瘤的辐射敏感性[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2024, 51(6):1284-1291.
- [15] MA X H, LIU J, LIU C Y, et al. ALOX15-launched PUFA-phospholipids peroxidation increases the susceptibility of ferroptosis in ischemia-induced myocardial damage [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1):288.
- [16] ZHAO J, WU Y, LIANG S S, et al. Activation of SSAT1/ALOX15 axis aggravates cerebral ischemia/reperfusion injury via triggering neuronal ferroptosis [J]. *Neuroscience*, 2022, 485:78-90.
- [17] SHINTOKU R, TAKIGAWA Y, YAMADA K, et al. Lipoxigenase-mediated generation of lipid peroxides enhances ferroptosis induced by erastin and RSL3[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(11):2187-2194.
- [18] WANG D, WANG F, ZHANG H, et al. Circadian clock protein Bmal1 accelerates acute myeloid leukemia by inhibiting ferroptosis through the EBF3/ALOX15 axis[J]. *Cancer Sci*, 2023, 114(8):3446-3460.
- [19] XIE Y C, KANG R, KLIONSKY D J, et al. GPX4 in cell death, autophagy, and disease [J]. *Autophagy*, 2023, 19(10):2621-2638.
- [20] ZHANG W, DAI J, HOU G, et al. SMURF2 predisposes cancer cell toward ferroptosis in GPX4-independent manners by promoting GSTP1 degradation [J]. *Mol Cell*, 2023, 83(23):4352-4369.

(收稿日期:2024-12-15 修回日期:2025-04-06)

(上接第 2497 页)

- Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路抑制氧糖剥夺/复氧诱导的心肌细胞铁死亡[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2024, 22(2):267-273.
- [18] 王青青, 张莉芬, 马金苗, 等. 附黄汤通过调控 Nrf2/GPX4 介导的铁死亡对心力衰竭大鼠心肌纤维化的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(3):789-797.
- [19] XIE L, ZHAO Z, XIA H, et al. A novel tsRNA-5008a promotes ferroptosis in cardiomyocytes that causes atrial structural remodeling predisposed to atrial fibrillation [J]. *Exp Cell Res*, 2024, 435(2):113923.
- [20] LIU D S, YANG M, YAO Y J, et al. Cardiac fibroblasts promote ferroptosis in atrial fibrillation by secreting exo-miR-23a-3p targeting SLC7A11[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:3961495.
- [21] LIU D, LI Y, ZHAO Q. Effects of inflammatory cell death caused by catheter ablation on atrial fibrillation [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 8(16):3491-3508.
- [22] SANDEEP B, DING W, HUANG X, et al. Mechanism and prevention of atrial remodeling and their related genes in cardiovascular disorders[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2023, 48(2):101514.
- [23] XING Y, XIE S Y, SHI W K, et al. Targeting interleukin-21 inhibits stress overload-induced cardiac remodelling via the TIMP4/MMP9 signalling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 940:175482.
- [24] LI Y Z, FANG G J, CAO W, et al. Ezh2 inhibits replicative senescence of atrial fibroblasts through promotion of H3K27me3 in the promoter regions of CDKN2a and Timp4 genes[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15:4693-4708.
- [25] YE Q, LIU Q, MA X, et al. MicroRNA-146b-5p promotes atrial fibrosis in atrial fibrillation by repressing TIMP4 [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(22):10543-10553.
- [26] 杨正凯, 时星宇, 刘梓瑞, 等. 心房颤动患者诊断到消融时间与术后复发的相关性研究 [J]. *临床心血管病杂志*, 2024, 40(4):340-345.
- [27] 杜瑞娟, 魏庆民, 樊延明, 等. CHADS2-VASC 评分与阵发性心房颤动射频消融术后复发的关联分析 [J]. *中华全科医师杂志*, 2024, 23(1):52-56.

(收稿日期:2024-12-25 修回日期:2025-05-28)