DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250221.001
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250221.0915.002

RSL3通过p38MAPK信号通路诱导子宫内膜癌细胞铁死亡的研究

陈秀丽[1],金彦斌[1],蔡俊宏[2],符兰燕[1],梁晓晨[1],包 珊[1]✉
(海南医科大学附属海南医院/海南省人民医院1.妇科,2.中心实验室,海南 海口 570311)

[摘要] **目的**:探讨p38 MAPK在铁死亡诱导剂RSL3诱导子宫内膜癌HEC-1-A细胞铁死亡中的作用。**方法**:RSL3干预HEC-1-A细胞后,CCK-8法检测细胞增殖抑制率;平板克隆形成实验检测细胞克隆形成率;细胞划痕实验、Transwell实验和流式细胞术分别检测细胞迁移、侵袭能力和细胞凋亡率;透射电镜观察细胞线粒体结构变化;Western blot检测RSL3单独或联合铁死亡抑制剂Fer-1、p38MAPK抑制剂(SB203580)干预细胞前后GPX4、SLC7A11、p38MAPK和p-p38MAPK蛋白的表达。**结果**:RSL3干预HEC-1-A细胞,可抑制细胞增殖、克隆、迁移和侵袭能力,促进细胞凋亡($P<0.05$);透射电镜显示RSL3使细胞线粒体体积明显皱缩变小,膜密度增高,嵴减少;Western blot结果显示RSL3干预细胞后铁死亡相关蛋白GPX4、SLC7A11表达明显下降,p-p38MAPK蛋白表达水平增加,而p38MAPK蛋白表达无明显变化;Fer-1和RSL3联合处理在蛋白水平上可逆转RSL3对GPX4、SLC7A11表达下调的作用;SB203580与RSL3联合处理与RSL3单独处理相比,p-p38MAPK蛋白表达下降,而GPX4、SLC7A11蛋白表达升高($P<0.05$)。**结论**:RSL3可通过激活p38MAPK信号通路诱导子宫内膜癌HEC-1-A细胞发生铁死亡,抑制细胞增殖,促进细胞凋亡。

[关键词] 子宫内膜癌;铁死亡;RSL3;p38MAPK
[中图分类号] R737.33 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2026)01-0037-08

The study of RSL3 induced ferroptosis of endometrial carcinoma cells through p38MAPK signaling pathway

CHEN Xiuli[1], JIN Yanbin[1], CAI Junhong[2], FU Lanyan[1], LIANG Xiaochen[1], BAO Shan[1]✉
(*1. Department of Gynaecology, 2. Central Laboratory, Hainan Hospital Affiliated to Hainan Medical University/Hainan General Hospital, Haikou* 570311, *China*)

[*Foundation Project*]:*This study was supported by the National Natural Science Foundation of China Project* (82160549)
[*Author*]:*CHEN Xiuli, E-mail*:825341169@qq.com.
[*Correspondence to*]:*BAO Shan, Doctoral Supervisor, Professor, Chief Physician, E-mail*: *baoshan3@hainmc.edu.cn.*
Received: 2024-10-29 *Revised*: 2024-12-25 *JHMU*, 2026;32(1):37-44

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To investigate the role of p38MAPK in ferroptosis by ferroptosis inducer RSL3 in endometrial carcinoma HEC-1-A cells. **Methods**: Following treatment with the ferroptosis inducer RSL3, the proliferation inhibition rate of HEC-1-A cells was measured using the CCK-8 assay. The colony-formation ability was assessed by plate clone formation assay. Cell migration, invasion, and apoptosis were evaluated *via* wound healing assay, Transwell experiments, and flow cytometry, respectively. Mitochondrial ultrastructural changes were observed under transmission electron microscopy. Western blot was performed to detect the expression of GPX4, SLC7A11, p38MAPK, and p-p38MAPK proteins following treatment with RSL3 alone or in combination with the ferroptosis inhibitor Ferrostatin-1 (Fer-1) or the p38MAPK inhibitor (SB203580). **Results**: RSL3 could inhibit the proliferation, colony formation, migration and invasion and promote cell apoptosis of HEC-1-A cells ($P<0.05$). Transmission electron microscopy showed that RSL3 significantly shrunk the volume of mitochondria, increased the density of membrane, and reduced the cristoid. Western blot results showed that the expressions of ferroptosis-related proteins GPX4 and SLC7A11 were sig-

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82160549)
[作者简介] 陈秀丽,E-mail:825341169@qq.com。
[通讯作者] 包珊,博士生导师,教授,主任医师,E-mail:baoshan3@hainmc.edu.cn。
[收稿日期] 2024-10-29 [修回日期] 2024-12-25 网络出版时间:2025-02-21 11:51:44

nificantly decreased after RSL3 intervention, and the expression of p-p38MAPK protein was increased, while the expression of p38MAPK protein was not significantly changed. The combination of Fer-1 and RSL3 can reverse the down-regulation effect of RSL3 on GPX4 and SLC7A11 expression at protein level; Compared to RSL3, the combination of SB203580 and RSL3 significantly decreased the protein expression of p-p38 and increased the protein expression of GPX4 and SLC7A11 ($P<0.05$). **Conclusion**: RSL3 can induce ferroptosis, inhibit cells proliferation and promote apoptosis in HEC-1-A cells by activating p38MAPK signaling pathway.

[**Key words**] Endometrial carcinoma; Ferroptosis; RSL3; p38MAPK

子宫内膜癌(endometrial carcinoma,EC)是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一,发病机制尚未明确,虽然早期患者预后良好,但是晚期、复发或远处转移的患者预后不容乐观[1],因此,迫切需要探索其发病机制和有效治疗靶点。铁死亡是一种新型的依赖于铁的细胞程序性死亡方式,可调控肿瘤细胞的存活及增殖过程,诱导肿瘤细胞发生铁死亡是肿瘤治疗的研究热点[2]。本课题组前期研究表明,沉默PTPN18可以抑制子宫内膜癌KLE细胞的增殖,其主要机制是通过靶向p-p38/GPX4/xCT轴诱导子宫内膜癌细胞铁死亡[3]。Ras选择性致死小分子3(Ras-selective lethal small molecule 3,RSL3)是一种典型的铁死亡诱导剂,可通过抑制谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)活性,增加细胞内脂质过氧化物水平而触发铁死亡[4]。目前关于子宫内膜癌细胞铁死亡的机制研究尚少。因此本研究旨在探讨RSL3诱导子宫内膜癌HEC-1-A细胞发生铁死亡后对细胞增殖、克隆、迁移、侵袭和凋亡生物学行为的影响,以及p38MAPK信号通路是否参与其中的调控,为子宫内膜癌的靶向治疗提供更多的思路和理论依据。

1　材料与方法

1.1　细胞、药物与试剂

细胞:HEC-1-A细胞,购于武汉普诺赛公司。

药物与试剂:铁死亡诱导剂RSL3(规格:每瓶5 mg,纯度:99.90%,批号:HY-100218A)、铁死亡抑制剂Ferrostatin-1(Fer-1)(规格:每瓶5 mg,纯度:99.96%,批号:HY-100579)、p38MAPK抑制剂(SB203580)(规格:每瓶5 mg,纯度:99.96%,批号:HY-10256),购自美国MCE公司;CCK-8试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒、电镜固定液购自武汉塞维尔公司;PE Annexin V凋亡检测试剂盒购自美国BD公司;鼠抗人GPX4抗体、兔抗人SLC7A11抗体、鼠抗人p38 MAPK抗体、兔抗人p-p38 MAPK抗体、兔抗人GAPDH抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;特超敏ECL化学发光试剂盒、羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗购自上海碧云天公司。

仪器:倒置光学显微镜,日本Olympus公司产品;透射电子显微镜,日本日立公司产品;蛋白电泳仪,美国Bio-Rad公司产品;流式细胞分析仪,美国BD公司;多功能酶标仪,美国Thermo公司产品;全自动化学发光图像分析仪,上海天能公司产品。

1.2　实验方法

1.2.1　细胞培养　将子宫内膜癌HEC-1-A细胞置于含有10%FBS和1%青霉素-链霉素的DMEM培养基中,接着放在37 ℃和5%CO_2培养箱中进行培养,每天都要注意观察细胞的形态和密度,并且每2天更换1次培养基,当细胞生长处于对数期时可进行实验。

1.2.2　药物处理与分组　使用不同浓度(0、0.1、0.5、1、2、4、8 μmol/L)的RSL3溶液(DMSO溶液溶解,再用完全培养基稀释)处理细胞24、48、72 h,CCK-8法测定增殖抑制率和半抑制浓度(IC_{50}),并选择接近48 h IC_{50}的RSL3浓度进行后续实验。将细胞分为实验组及对照组,分别进行克隆形成实验、划痕实验、侵袭实验、流式细胞术和透射电镜,实验组细胞予4 μmol/L的RSL3溶液处理,对照组细胞使用等体积的完全培养基处理。Western blot法按以下进行分组:RSL3组(4 μmol/L RSL3)、Fer-1组(1.25 μmol/L Fer-1)、RSL3+Fer-1组(4 μmol/L RSL3和1.25 μmol/L Fer-1共同处理)、SB203580组(2.5 μmol/L SB203580)、RSL3+SB203580组(4 μmol/L RSL3和2.5 μmol/L SB203580共同处理)、对照组(等体积的完全培养基),每组分别加入等体积药物溶液培养48 h。

1.2.3　CCK-8法测定细胞增殖抑制率　HEC-1-A细胞以1×10^4个/孔接种于96孔板,置于恒温培养箱中进行培养,等到细胞完全贴壁之后,按"1.2.2"方案加入不同浓度RSL3溶液分别培养24、48、72 h,取出96孔板,向各孔加入10 μL CCK-8溶液,继续培养2 h,酶标仪测定96孔板各孔在450 nm波长处的吸光度(OD)值,根据公式计算出各时间段细胞的增殖抑制率和半抑制浓度(IC_{50})。

1.2.4　平板克隆形成实验检测细胞克隆形成能力　HEC-1-A细胞以200个/孔接种于6孔板内,放入培养箱中培养至细胞贴壁后,弃掉旧培养基,实验组

加入4 μmol/L的RSL3溶液，对照组加入等体积的完全培养基，培养1～2周，期间每隔3 d观察细胞形态并换液，直到观察到6孔板长出肉眼可见的细胞团块时终止培养，使用PBS清洗细胞2～3次，加入4%多聚甲醛2 mL固定15 min，PBS清洗1次后加入1%结晶紫染液2 mL进行20 min染色，在自来水中洗去残留的结晶紫染液，待其完全晾干后进行拍照，肉眼直接计数菌落数。

1.2.5 细胞划痕试验检测细胞迁移能力 HEC-1-A细胞以1×10^6个/孔接种于6孔板并培养至细胞生长密度达到90%以上时，用200 μL枪头在每孔底部垂直于板背的横线每隔一定距离划一条线，每个孔共划3道线。PBS洗涤3次，洗掉被划下来的细胞，实验组加入4 μmol/L的RSL3溶液（无血清培养基），对照组加入等体积的无血清培养基，光学显微镜分别观察0 h和培养24 h的划痕情况并拍照记录。使用ImageJ软件测量细胞的划痕宽度，计算细胞迁移率。

1.2.6 Transwell实验检测细胞侵袭能力 在每个Transwell小室的上室面用60 μL Matrigel胶均匀铺板，然后将其放入37 ℃恒温培养箱中孵育过夜，使其凝结成薄膜。用无血清的培养基将提前按照分组处理的细胞（实验组加入4 μmol/L的RSL3溶液，对照组加入等体积的完全培养基培养细胞48 h）消化重悬，将其密度调整为5×10^5个/mL。将所有小室依次放入24孔板，在下室内加入600 μL含10%FBS的培养基，上室加入200 μL细胞悬浮液，置于培养箱中培养24 h，取出24孔板，在废液桶上方用PBS清洗小室2次，采用棉签把小室上层的细胞和基质擦掉，用600 μL 4%多聚甲醛固定20 min，PBS清洗干净后加入600 μL 0.1%结晶紫染液染色15～20 min，清水洗干净，用棉签擦净小室上侧的染料，风干后用显微镜在高倍镜下观察，随机选取5个视野拍摄并计数，取平均值。

1.2.7 流式细胞术检测细胞凋亡 将细胞按照实验组加入4 μmol/L的RSL3溶液，对照组加入等体积的完全培养基培养24 h后，收集细胞，加入300 μL 1×Binding Buffer缓冲液重悬细胞并用200目滤网过滤，弃上清再次加入缓冲液重悬细胞，加入5 μL PE Annexin V与5 μL7-ADD，充分混匀后室温下避光孵育15 min，流式细胞仪上机检测细胞凋亡情况，按照公式：细胞凋亡率＝早期细胞凋亡率＋晚期细胞凋亡率，计算出各组细胞凋亡率。

1.2.8 蛋白质免疫印记（Western blot）法检测蛋白表达 按“1.2.2”方案中的分组进行干预细胞48 h后，在冰上收集细胞，加入RIPA裂解液提取总蛋白，BCA试剂盒测定蛋白浓度，用10% SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白，转膜封闭后加入一抗试剂p-p38（1∶2 000），GAPDH、SLC7A11、p38（1∶3 000），GPX4（1∶3 500）4 ℃孵育过夜。次日早上孵育对应种属的二抗（1∶3 000）1 h，加入ECL化学发光液显影，采用ImageJ软件分析目的蛋白与内参蛋白的灰度值，并进行归一化处理。

1.2.9 透射电镜观察细胞线粒体结构变化 将细胞按照实验组加入4 μmol/L的RSL3溶液，对照组加入等体积的完全培养基培养24 h后，收集细胞样品，在4 ℃条件下以1 200 r/min的转速离心10 min，可看到绿豆大小的细胞沉淀，弃上清液，加入适量电镜固定液，室温下避光固定2 h后放入4 ℃冰箱过夜。后期处理及拍摄由武汉赛维尔公司提供技术支持，包括1%四氧化锇固定2 h，丙酮逐级脱水和环氧树脂包埋，超薄切片及铀-铅双重染色法染色后在透射电子显微镜下观察细胞线粒体的微观形态和结构变化。

1.3 统计学处理

采用SPSS 26.0软件对实验数据进行统计，用ImageJ软件对图像进行分析，用Graphpad Prism 8.0制作出最终的成果图，每个实验重复3次，计量资料用平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间数据的比较用t检验，多组间用单因素方差分析。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RSL3对HEC-1-A细胞增殖的影响

不同浓度RSL3分别作用于HEC-1-A细胞24、48、72 h，表现为以浓度和时间依赖的方式抑制细胞增殖，差异具有统计学意义（$P<0.001$）（图1、表1）。使用Graphad Prism 8.0软件计算出24、48、72 h 3个时间段的IC_{50}，分别为4.52、3.31、2.37 μmol/L。选择接近48 h IC_{50}的RSL3浓度，即4 μmol/L进行后续实验。

2.2 RSL3对HEC-1-A细胞克隆形成能力的影响

对照组和RSL3组细胞克隆率分别为（53.33±5.3）%和（22.83±1.26）%，RSL3组与对照组相比，差异具有统计学意义（$P<0.001$）（图2、表2），表明RSL3明显抑制HEC-1-A细胞克隆形成能力。

2.3 RSL3对HEC-1-A细胞迁移能力的影响

对照组和RSL3组细胞迁移率分别为（43.87±1.9）%和（17.63±0.98）%，RSL3组与对照组相比，差异具有统计学意义（$P<0.001$）（图3、表3），表明RSL3明显抑制HEC-1-A细胞迁移能力。

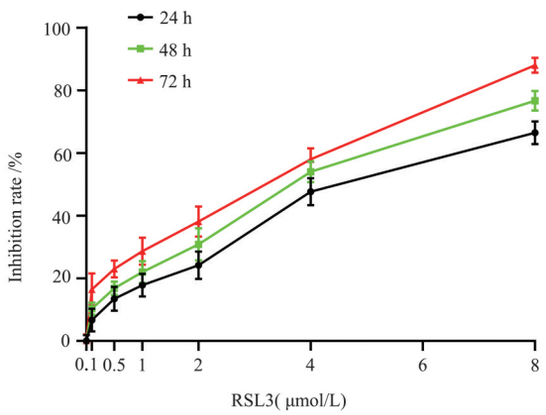


图1　不同浓度RSL3对HEC-1-A细胞增殖抑制率的影响

Fig 1　proliferation inhibition rate of HEC-1-A cells treated with different concentrations of RSL3

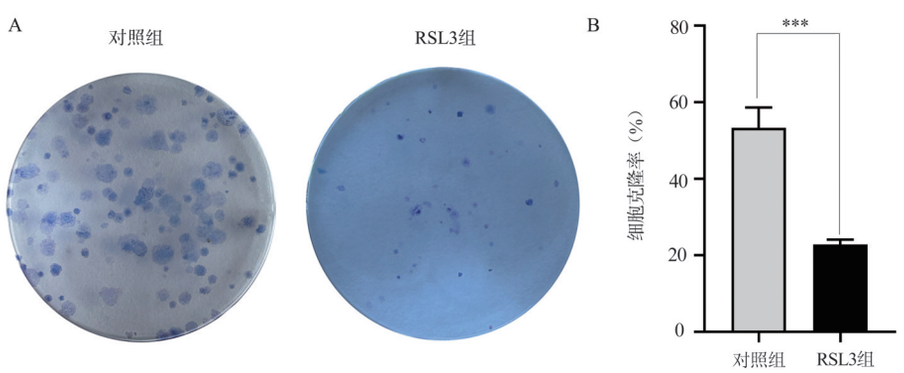
表1　不同浓度RSL3对HEC-1-A细胞增殖抑制率的比较(%,n=6,$\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Comparision of proliferation inhibition rate of HEC-1-A cells treated with different concentrations of RSL3 (%,n=6,$\bar{x}\pm s$)

RSL3浓度(μmol/L)	24 h	48 h	72 h
0	0.00±1.90	−0.17±3.06	0.17±1.94
0.1	6.67±3.61	10.33±1.97	16.50±5.13
0.5	13.50±3.83	16.83±2.14	23.00±2.68
1	17.83±3.60	22.00±3.52	28.67±4.32
2	24.17±4.36	30.83±5.12	38.17±4.79
4	46.68±4.32	54.00±3.29	58.00±3.46
8	66.50±3.62	76.67±3.14	88.00±2.37
F	248.966	389.704	368.477
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.4　RSL3对HEC-1-A细胞侵袭能力的影响

对照组和RSL3组Transwell小室下方细胞数量分别为(236.33±37.75)、(155.67±28.73)个,RSL3组与对照组相比,差异具有统计学意义(P<0.05)(图4、表4),表明RSL3抑制HEC-1-A细胞侵袭能力。



与对照组相比,$^{***}P$<0.001

图2　RSL3抑制HEC-1-A细胞克隆的形成

Fig 2　RSL3 inhibited colony formation of HEC-1-A cells

表2　RSL3对HEC-1-A细胞克隆形成能力的影响(%,n=3,$\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Effect of RSL3 on colony formation in HEC-1-A(%,n=3,$\bar{x}\pm s$)

组别	细胞克隆率(%)
对照组	53.33±5.30
RSL3组	22.83±1.26
t	9.699
P	<0.001

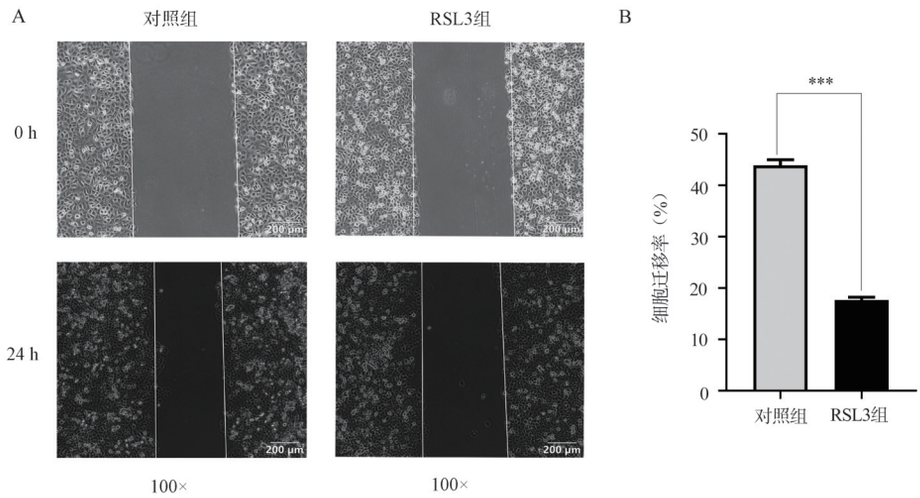
2.5　RSL3对HEC-1-A细胞凋亡的影响

RSL3组的细胞凋亡率为(6.10±0.97)%,与对照组(1.98±0.16)%相比,差异具有统计学意义(P<0.05)(图5、表5),表明RSL3促进HEC-1-A细胞凋亡。

2.6　RSL3对HEC-1-A细胞线粒体微结构的影响

透射电镜结果显示,对照组细胞线粒体结构正常,嵴完整;RSL3组细胞线粒体明显皱缩变小,膜密度增高,嵴断裂、减少(图6)。

2.7　RSL3对HEC-1-A细胞铁死亡相关蛋白



与对照组相比，***$P<0.001$

图3　RSL3抑制HEC-1-A细胞迁移（100×）

Fig 3　RSL3 inhibited migration of HEC-1-A cells（100×）

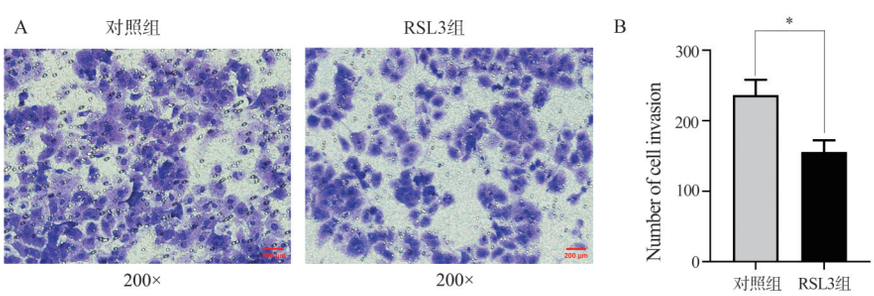
表3　RSL3对HEC-1-A细胞迁移能力的影响（%，n=3，$\bar{x}\pm s$）

Table 3　Effect of RSL3 on migration in HEC-1-A（%，n=3，$\bar{x}\pm s$）

组别	细胞迁移率
对照组	43.87±1.90
RSL3组	17.63±0.98
t	21.068
P	<0.001

GPX4、SLC7A11表达水平的影响

Western blot结果显示，与对照组相比，RSL3组GPX4、SLC7A11蛋白表达水平明显下降，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与RSL3单独干预相比，Fer-1与RSL3联合可逆转RSL3诱导的GPX4、SLC7A11下调作用，差异具有统计学意义（$P<0.05$）（图7、表6）。上述结果表明，RSL3可以诱导HEC-1-A细胞铁死亡。



与对照组相比，*$P<0.05$

图4　RSL3抑制HEC-1-A细胞侵袭（200×）

Fig 4　RSL3 inhibited invasion of HEC-1-A cell（200×）

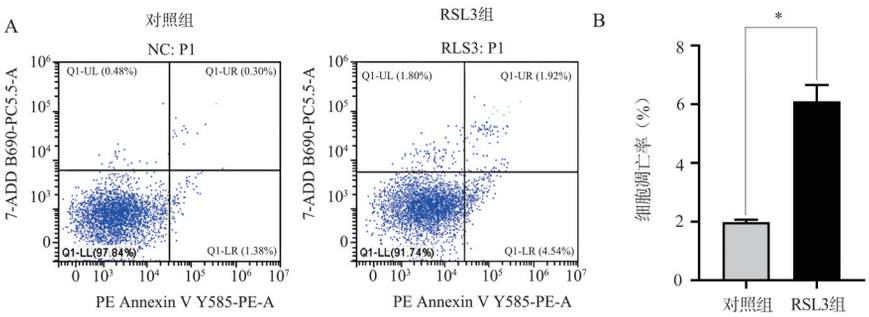
表4　RSL3对HEC-1-A细胞侵袭能力的影响（个，n=3，$\bar{x}\pm s$）

Tab 4　Effect of RSL3 on invasion in HEC-1-A（number，n=3，$\bar{x}\pm s$）

组别	Numbers of cell invasion
对照组	236.33±37.75
RSL3组	155.67±28.73
t	2.945
P	0.042

2.8　p38MAPK抑制剂减少RSL3诱导HEC-1-A细胞铁死亡的作用

RSL3处理后p38MAPK蛋白表达水平与对照组无明显差异，而其磷酸化蛋白p-p38MAPK的表达水平明显增加，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；与RSL3处理组相比，RSL3联合SB203580处理组p-p38蛋白表达下降，GPX4、SLC7A11蛋白表达水



与对照组相比，$^{*}P<0.05$

图5　RSL3促进HEC-1-A细胞凋亡

Fig 5　RSL3 promoted apoptosis of HEC-1-A cells

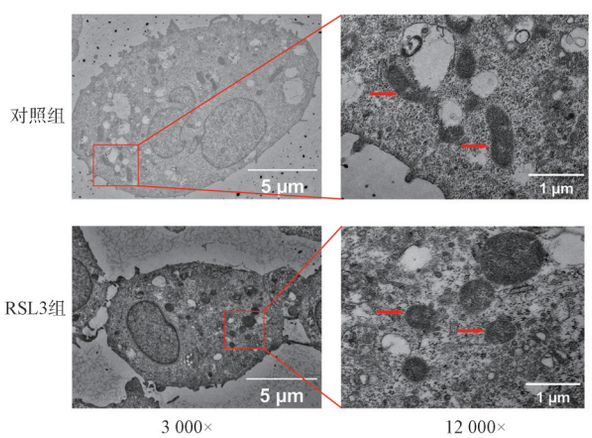


图6　透射电子显微镜下观察各组细胞线粒体超微结构（红色箭头示线粒体）

Fig 6　Observation of mitochondrial ultrastructure in each group of cells under transmission electron microscopy（The red arrows show mitochondria）

表5　RSL3对HEC-1-A细胞凋亡能力的影响（%，n=3，$\bar{x}\pm s$）

Table 5　Effect of RSL3 on apoptosis in HEC-1-A（%，n=3，$\bar{x}\pm s$）

组别	细胞凋亡率
对照组	1.98±0.16
RSL3组	6.10±0.97
t	7.282
P	0.016

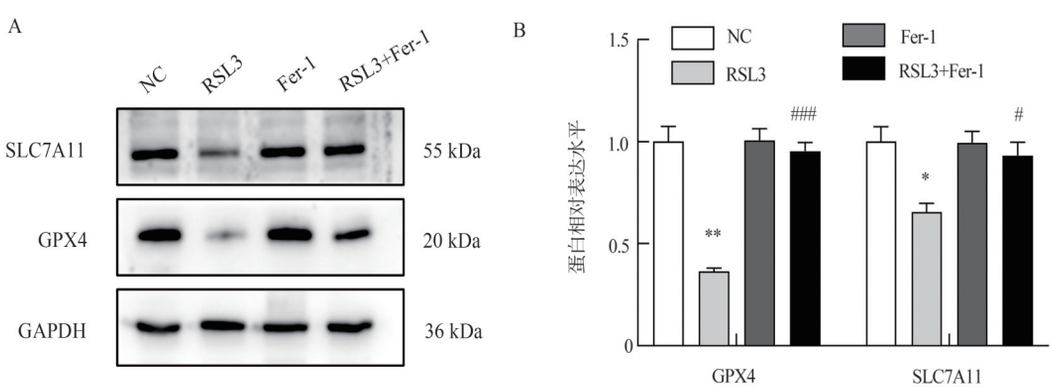
表6　各组HEC-1-A细胞中GPX4、SLC7A11蛋白表达比较（n=3，$\bar{x}\pm s$）

Tab 6　Comparision of protein expressions of GPX4、SLC7A11 in HEC-1-A cells of each group（n=3，$\bar{x}\pm s$）

组别	GPX4	SLC7A11
对照组	1.00±0.13	1.00±0.13
RSL3组	$0.36\pm0.03^{**}$	$0.65\pm0.08^{*}$
Fer-1组	1.01±0.10	0.99±0.10
RSL3+Fer-1组	$0.95\pm0.07^{\#\#\#}$	$0.93\pm0.11^{\#}$

注：与对照组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与RSL3组相比，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#\#}P<0.001$。

平增加，差异有统计学意义（$P<0.05$），而p38蛋白表达无统计学意义（$P>0.05$）（图8、表7），表明

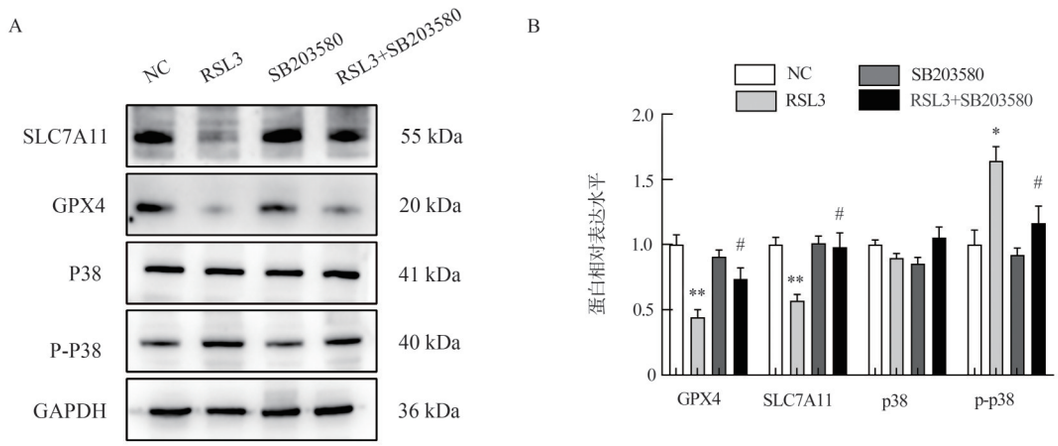


与对照组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与RSL3组相比，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#\#}P<0.001$

图7　Western blot检测HEC-1-A细胞中GPX4、SLC7A11蛋白表达

Fig 7　Western blot analysis of GPX4，SL7A11 protein expression in HEC-1-A cells

SB203580可减少RSL3诱导HEC-1-A细胞铁死亡的作用，p38MAPK信号通路参与了RSL3诱导的铁死亡。



与对照组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与RSL3组相比，$^{\#}P<0.05$

图8 Western blot检测HEC-1-A细胞中GPX4、SLC7A11、p38MAPK和p-p38MAPK蛋白表达

Fig 8 Western blot analysis of GPX4、SL7A11、p38MAPK and p-p38MAPK protein expression in HEC-1-A cells

表7 各组HEC-1-A细胞中GPX4、SLC7A11、p38和p-p38蛋白表达比较（n=3，$\bar{x}\pm s$）

Tab 7 Comparision of protein expressions of GPX4、SLC7A11、p38MAPK and p-p38MAPK in HEC-1-A cells of each group（n=3，$\bar{x}\pm s$）

组别	GPX4	SLC7A11	p38	p-p38
对照组	1.00±0.13	1.00±0.98	1.00±0.06	1.00±0.20
RSL3组	0.44±0.10**	0.57±0.09**	0.90±0.06	1.64±0.19*
SB203580组	0.91±0.09	1.01±0.10	0.85±0.09	0.92±0.10
RSL3+SB203580组	0.74±0.15$^{\#}$	0.98±0.19$^{\#}$	1.05±0.15	1.16±0.23$^{\#}$

注：与对照组相比，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与RSL3组相比，$^{\#}P<0.05$。

3 讨论

子宫内膜癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一，发病机制尚不明确，其治疗以手术为主，虽然大多数早期患者经手术治疗后5年生存率增高，但晚期、复发或转移的患者治疗效果并不理想[5]。因此，寻找新的治疗靶点或药物治疗策略提高子宫内膜癌治疗效果极为迫切。

研究发现铁死亡与肿瘤性疾病关系密切，诱导铁死亡能有效地阻止肿瘤的进展，这可能是一种新的抗癌策略[2]。仑伐替尼用于治疗晚期肝细胞癌，Iseda等[6]发现仑伐替尼可通过靶向成纤维细胞生长因子受体4（fibroblast growth factor receptor 4，FGFR4），抑制System XC－和GPX4，从而导致过量活性氧（ROS）积累，诱发铁死亡。铁死亡涉及子宫内膜癌的发生、转移、复发、治疗和预后等各个方面[7]，但其具体的调控机制研究甚少。RSL3含有氯乙酰胺部分，可与GPX4上的亲核氨基酸残基反应并使GPX4失活，从而诱导铁死亡[4]。然而，关于铁死亡发生、发展的机制尚不明确。本研究结果显示，RSL3抑制HEC-1-A细胞增殖、克隆形成、迁移及侵袭，同时还可促进癌细胞凋亡，抑制铁死亡相关蛋白GPX4、SLC7A11蛋白表达。通过透射电镜观察线粒体微结构变化，发现经过RSL3处理的细胞线粒体明显皱缩变小，膜密度增高，嵴断裂，符合铁死亡细胞形态学改变。Fer-1是一种抗氧化剂，可减少脂质过氧化并抑制铁死亡[8]。本研究发现Fer-1可以逆转RSL3对GPX4、SLC7A11蛋白表达下调的作用。由此得出结论：RSL3可以诱导子宫内膜癌HEC-1-A细胞发生铁死亡。

丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）信号通路是整合细胞外信号的关键信号中枢，可调控细胞增殖、存活、分化、衰老以及耐药性[9]。p38是MAPK家族的重要成员之一，Kong等[10]研究发现激活p38MAPK信号通路可促进子宫内膜癌Ishikawa细胞凋亡，抑制细胞增殖。在结直肠癌中p38MAPK通路表现出了抗癌特性，刺甘草查尔酮（Ech）是甘

草的主要成分，可通过激活JNK/p38 MAPK信号通路诱导结肠癌细胞凋亡[11]。p38MAPK信号通路亦参与铁死亡的调控[12,13]。本研究观察到，RSL3处理HEC-1-A细胞后，细胞中p38MAPK蛋白磷酸化水平明显增加，提示RSL3可激活p38MAPK信号通路，进一步研究发现p38MAPK抑制剂（SB203580）处理能够逆转RSL3对HEC-1-A细胞的作用，这表明RSL3可通过激活p38MAPK信号通路诱导HEC-1-A细胞铁死亡，为子宫内膜癌的治疗提供新思路。

癌症治疗中的常用方法是靶向细胞死亡过程，铁死亡也被认为在抗癌治疗中起着重要作用，具有很大的优势和潜力。本文初步探讨了RSL3通过激活p38MAPK信号通路诱导HEC-1-A细胞铁死亡，发挥抗癌作用，但仍有不足之处，后期课题组将进行以下研究：(1)RSL3联合p38MAPK诱导剂干预HEC-1-A细胞并观察对细胞生长及铁死亡相关机制的影响。(2)进一步验证诱导HEC-1-A细胞发生铁死亡后，p38MAPK通路下游相关基因的变化及其机制。(3)开展裸鼠移植瘤模型实验，进行体内验证RSL3对HEC-1-A细胞生长及p38MAPK通路的影响。今后课题组的研究将继续深入对上述问题的探索，为EC的治疗提供一定的理论依据。

综上所述，本研究提示RSL3可通过激活p38 MAPK信号通路诱导子宫内膜癌HEC-1-A细胞铁死亡，抑制细胞增殖，促进细胞凋亡。

作者贡献度说明：

陈秀丽：负责研究的构思与设计，研究的实施，撰写论文；金彦斌：研究思路并负责部分研究的实施，指导论文的撰写及修改；符兰燕、梁晓晨：收集、整理数据及统计分析；包珊、蔡俊宏：负责文章的质量控制与审查，同时对实验设计进行指导，对文章整体负责。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1　Xu T, Ding H, Chen J, et al. Research progress of DNA methylation in endometrial cancer [J]. Biomolecules, 2022, 12(7): 938.

2　Zhao L, Zhou X, Xie F, et al. Ferroptosis in cancer and cancer immunotherapy [J]. Cancer Commun (Lond), 2022, 42(2): 88-116.

3　Wang H, Peng S, Cai J, et al. Silencing of PTPN18 induced ferroptosis in endometrial cancer cells through p-P38-mediated GPX4/xCT down-regulation [J]. Cancer Manag Res, 2021, 13: 1757-1765.

4　Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(34): E4966-74995.

5　Vitale SG, Valenti G, Gulino FA, et al. Surgical treatment of high stage endometrical cancer: Current perspectives [J]. Updates Surg, 2016, 68(2): 149-154.

6　Iseda N, Itoh S, Toshida K, et al. Ferroptosis is induced by lenvatinib through fibroblast growth factor receptor-4 inhibition in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Sci, 2022, 113(7): 2272-2287.

7　Wu J, Zhang L, Wu S, et al. Ferroptosis: Opportunities and challenges in treating endometrial cancer [J]. Front Mol Biosci, 2022, 9: 929832.

8　Miotto G, Rossetto M, Di Paolo ML, et al. Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1 [J]. Redox Biol, 2020, 28: 101328.

9　Braicu C, Buse M, Busuioc C, et al. A comprehensive review on MAPK: A promising therapeutic target in cancer [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(10): 1618.

10　Kong X, Li M, Shao K, et al. Progesterone induces cell apoptosis *via* the CACNA2D3/Ca^{2+}/p38 MAPK pathway in endometrial cancer [J]. Oncol Rep, 2020, 43(1): 121-132.

11　Kwak AW, Lee JY, Lee SO, et al. Echinatin induces reactive oxygen species-mediated apoptosis *via* JNK/p38 MAPK signaling pathway in colorectal cancer cells [J]. Phytother Res, 2023, 37(2): 563-577.

12　Li W, Fu H, Fang L, et al. Andrographolide induced ferroptosis in multiple myeloma cells by regulating the P38/Nrf2/HO-1 pathway [J]. Arch Biochem Biophys, 2023, 742: 109622.

13　Lin Y, Shen X, Ke Y, et al. Activation of osteoblast ferroptosis *via* the METTL3/ASK1-p38 signaling pathway in high glucose and high fat (HGHF)-induced diabetic bone loss [J]. FASEB J, 2022, 36(3): e22147.

[本文编辑] 朱 昊