

GPX4 表达促进铁死亡参与子宫内膜癌恶性行为的机制

董晓霞, 陈淑贤

(石家庄妇幼保健院妇一科, 河北 石家庄 050000)

[摘要] 目的 探讨谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 表达促进铁死亡参与子宫内膜癌 (endometrial carcinoma, EC) 恶性行为的机制。方法 通过定量实时聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR)、蛋白印迹和免疫组化 (immunohistochemistry, IHC) 测定 EC 组织中 GPX4 的表达。培养 KLE 细胞, 分为 shNC 组 ($n=6$) 和 shGPX4 组 ($n=6$), Transwell、克隆形成测定和流式细胞研究 GPX4 对 EC 细胞增殖、迁移、细胞凋亡的影响。检测细胞内 Fe^{2+} 、活性氧 (reactive oxygen Species, ROS) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平, JC 染色检测线粒体膜电位 (mitochondrial membrane Potential, MMP), GPX4 酶活性试剂盒检测酶活性, ELISA 法检测脂质过氧化物 4-羟基壬烯醛 (4-Hydroxynonenal, 4-HNE) 含量, 蛋白印迹检测铁死亡关键蛋白酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-coa synthetase long chain family member 4, ACSL4) 和溶质载体家族 7 成员 11 (solute Carrier family 7 member 11, SLC7A11) 的表达; 建立裸鼠 EC 异种移植肿瘤模型, 分为 shNC 组 ($n=6$) 和 shGPX4 组 ($n=6$), 通过检测其重量体积、重量、 Fe^{2+} 和 MDA 水平评价 GPX4 敲低在体内的效果。结果 GPX4 在 EC 组织及细胞系中高表达 [EC 组织 GPX4 mRNA: (118.1 ± 6.92) vs 癌旁 (62.72 ± 5.20), $t=15.68$, $P<0.001$, Cohen's $d=8.62$]; 与 shNC 组相比, shGPX4 组 KLE 细胞增殖 (克隆数: 0.37 ± 0.05 vs 0.89 ± 0.07 , $t=14.94$, $P<0.001$)、迁移能力显著降低, 凋亡率升高 [(61.64 ± 7.03)% vs (12.60 ± 2.48)%, $t=16.12$, $P<0.001$], 细胞内 Fe^{2+} 、脂质 ROS、MDA、4-HNE 水平升高, GSH 及 GPX4 酶活性降低, MMP 破坏, ACSL4 表达上调、SLC7A11 下调 ($P<0.001$); 裸鼠模型中, shGPX4 组肿瘤体积 [(0.36 ± 0.07) vs (0.87 ± 0.12) cm^3 , $t=9.07$, $P<0.001$]、重量显著减小, 肿瘤组织铁含量及 MDA 水平升高 ($P<0.001$)。结论 研究表明 GPX4 沉默能诱导铁死亡的发生, 进而降低子宫内膜癌细胞的增殖和侵袭。

[关键词] GPX4; 铁死亡; 子宫内膜癌; 恶性行为

[中图分类号] R737.33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2026)07-0037-09

Study on the Mechanism by Which GPX4 Expression Promotes Ferroptosis and Participates in Malignant Behavior of Endometrial Carcinoma

DONG Xiaoxia, CHEN Shuxian

(Department of Gynecology 1, Shijiazhuang Maternal and Child Health Hospital,
Shijiazhuang Hebei 050000, China)

[Abstract] Objective To investigate the mechanism by which Glutathione Peroxidase 4 (GPX4) expression promotes ferroptosis and participates in the malignant behavior of Endometrial Carcinoma (EC). **Methods** The expression of GPX4 in EC tissues was determined by quantitative real-time PCR (qPCR), Western blot, and immunohistochemistry (IHC). KLE cells were cultured and divided into an shNC group ($n=6$) and an shGPX4 group ($n=6$). The effects of GPX4 on EC cell proliferation, migration, and apoptosis were investigated using Transwell assay, colony formation assay, and flow cytometry. Intracellular Fe^{2+} , reactive oxygen species (ROS), and malondialdehyde (MDA) levels were detected. Mitochondrial membrane potential (MMP) was

[收稿日期] 2025-07-30

[基金项目] 河北省医学科学研究基金(20241583)

[作者简介] 董晓霞(1985~), 女, 河北邢台人, 医学学士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤研究工作。

measured by JC-1 staining. GPX4 enzyme activity was assessed with a commercial kit. The content of lipid peroxide 4-hydroxynonenal (4-HNE) was determined by ELISA; and the expression of key ferroptosis-related proteins, Acyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4 (ACSL4) and Solute Carrier Family 7 Member 11 (SLC7A11), was analyzed by Western blot. An EC xenograft tumor model in nude mice was established and divided into an shNC group ($n = 6$) and an shGPX4 group ($n = 6$). The in vivo effect of GPX4 knockdown was evaluated by measuring tumor volume, weight, and levels of Fe^{2+} and MDA. **Results** GPX4 was highly expressed in EC tissues and cell lines (GPX4 mRNA in EC tissues: 118.1 ± 6.92 vs. 62.72 ± 5.20 in adjacent normal tissues, $t = 15.68$, $P < 0.001$, Cohen's $d=8.62$). Compared with the shNC group, the shGPX4 group showed significantly decreased KLE cell proliferation (colony number: 0.37 ± 0.05 vs. 0.89 ± 0.07 , $t = 14.94$, $P < 0.001$) and migration capacity, along with an increased apoptosis rate ($61.64 \pm 7.03\%$ vs. $12.60 \pm 2.48\%$, $t = 16.12$, $P < 0.001$). Additionally, in the shGPX4 group, intracellular levels of Fe^{2+} , lipid ROS, MDA, and 4-HNE were increased; GSH level and GPX4 enzyme activity were decreased; MMP was impaired; and the expression of ACSL4 was up-regulated while that of SLC7A11 was down-regulated (all $P < 0.001$). In the nude mouse model, the shGPX4 group showed significantly reduced tumor volume (0.36 ± 0.07 vs. $0.87 \pm 0.12 \text{ cm}^3$, $t = 9.07$, $P < 0.001$) and weight, along with increased iron content and MDA levels in tumor tissues (both $P < 0.001$). **Conclusion** The study demonstrates that GPX4 silencing can significantly induce ferroptosis, thereby reducing the proliferation and invasion of endometrial cancer cells.

[**Key words**] GPX4; Ferroptosis; Endometrial cancer; Vicious behavior

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)是妇科常见的恶性肿瘤之一,威胁着女性的健康和生命,增加了疾病风险和社会医疗负担^[1]。根据世界卫生组织国际癌症研究机构发布的 2020 年全球癌症负担最新数据,子宫内膜癌是第六大最常见的女性癌症,2020 年有 417000 例新发病例和 97000 例死亡^[2]。大多数患者可以得到早期诊断并具有良好的预后^[3]。然而,尽管目前可用的治疗选择越来越多,但晚期、低分化或特殊类型的 EC 的结局情况不是特别良好,并且早期或分化良好的子宫内膜样肿瘤也有意外复发和不良预后^[4]。因此,迫切需要探索 EC 的发病机制和有效的治疗靶点,以改善 EC 患者的预后。

铁死亡是一种新发现的程序性细胞死亡形式,它依赖于过量铁在细胞中的积累,并导致有毒脂质过氧化物 ROS 的增加^[5]。铁死亡的主要机制是,在二价铁或酯加氧酶的作用下,催化细胞膜上高度表达的不饱和脂肪酸产生脂质过氧化,诱导细胞死亡,此外,抗氧化系统:谷胱甘肽(glutathione, GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)的表达降低^[6]。GPX4 属于谷胱甘肽过氧化物酶家族,其成员催化过氧化氢、有机过氧化氢和脂质过氧化氢的还原,因此 GPX 家族保护细胞免受氧化损伤^[7]。相关研究表明 GPX4 显示出清除膜脂质过氧化氢产物的能力,这也与其独特的氨基酸序列和空间结构有关^[8]。一些研究表明,GPX4 在肿瘤组织中的表达水平

显著高于正常组织,如肾透明细胞癌、肺腺癌、前列腺癌、甲状腺癌和胃癌^[9]。据推测,GPX4 可能是一种癌基因。但 GPX4 对 EC 的潜在致癌功能以及 GPX4 与 EC 之间关联的潜在机制尚未见报道。因此,本研究主要对 GPX4 表达促进铁死亡参与子宫内膜癌恶性行为的机制进行研究。

1 材料与方法

1.1 临床标本

收集 2023 年 1 月至 2024 年 3 月在妇科手术或活检的患者 6 对 EC 和癌旁组织进行定量实时聚合酶链反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)、免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)和蛋白印迹。本研究经石家庄妇幼保健院伦理委员会批准(2022-S017)。所有患者在手术切除前均已签署书面知情同意书。

1.2 IHC 染色和评分

将样品包埋在石蜡中,并以 $4 \mu\text{m}$ 的厚度切成切片,将切片与 GPX4 抗体(Proteintech, 中国)一起孵育,GPX4 抗体在 4°C 下以 $1:3000$ 稀释过夜。第 2 天,将染色切片与二抗在室温下在黑暗中孵育 30 min,并用 DAB 溶液观察。最后,用苏木精对细胞核进行复染。使用 Motic 显微镜(Motic, 中国)对切片进行可视化和拍照。IHC 染色评分由两名对相应患者不知情的独立观察者根据染色强度(staining intensity, SI)和免疫反应细胞(positi-

tively reacting, PR) 的百分比进行评估^[10]。SI 评分从 0 到 3 计算: 0=无染色; 1=弱染色; 2=中度染色; 3=强染色。PR 评分从 1 到 4: 1=0~25%; 2=26%~50%; 3=51%~75%; 4=75%~100%。将 PR 和 SI 相乘以生成每位患者的加权评分。8~12 分定义为高表达水平, 0~7 分定义为低表达。

1.3 细胞培养、转染及分组

人子宫内膜癌细胞系 KLE、Ishikawa、RL95-2、HEC1A 及 HEC1B, 以及人原代子宫内膜上皮细胞(endometrial epithelial cells, EECs)在补充有 10% 胎牛血清(Gibco, 美国)和 1% 抗生素(青霉素和链霉素)(Boster, 中国)的 DMEM-F12 完全培养基(HyClone, 中国)中生长, 终浓度为 100 μg/mL。所有细胞均在 37℃ 下在 5% CO₂ 培养箱的潮湿气氛中生长。含有 GPX4-shRNA 和 shNC 的慢病毒载体购自 GenePharma(中国上海)。转染后 48 h, 使用 qPCR 和 WB 检测 GPX4-shRNA 干扰效应。嘌呤霉素筛选 14 d (2 μg/mL) 后获得转染 GPX4-shRNA 的稳定细胞。分为 shNC 组和 shGPX4 组。

1.4 qPCR

用 RNAiso 试剂(Takara, Japan)收获贴壁细胞, 根据制造商的说明书进行 RNA 的提取。使用逆转录试剂盒(Vazyme, China)从 RNA 中获得 cDNA。以 cDNA 为模板, 使用 SYBR Green Fast qPCR Mix (Abclonal, China) 进行实时定量 PCR。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 RNA 转录本的倍数变化, 以甘油醛 3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参。使用的引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequence

基因	引物序列 (5' → 3')
GPX4	F: GAGGCAAGACCGAAGAGAAACTAC
	R: CCGAACTGGTTACACGGGAA
GAPDH	F: GAGTCAACGGATTGTGTCGT
	R: GACAAGCTTCCCGTTCTCAG

1.5 蛋白印迹

新鲜组织或贴壁细胞首先用 PBS 洗涤 2 次, 用含有 PMSF 的 RIPA 裂解缓冲液在冰上裂解 1 h。将细胞裂解物离心并使用 BCA 蛋白检测试剂盒进行定量。在十二烷基硫酸钠(sodium lauryl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶上加载总共 30 μg 蛋白质进行电泳分离, 并转移到聚偏二氟乙烯(polyvinylidene, PVDF)膜上。在室温下与 5% 脱脂牛奶孵育 1 h 并洗涤后, 将膜与 1 抗在 4℃ 下进一步孵育过夜。加入辣根过氧化物酶偶联的二抗并

在室温下孵育 60 min, 然后用增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)捕获。

1.6 细胞迁移检测

使用 8 μm 孔径的 Transwell 腔室评估迁移, 在上腔室中使用 100 μL 无血清细胞悬液, 与 KLE (1.0 × 10⁵/孔), 下腔室含有引诱剂(FBS 含量为 20% 的培养基)。在 37℃ 下孵育 24 h 后, 将细胞用 4% 多聚甲醛固定 30 min, 并在室温下用 0.1% 紫色晶体染色 10 min。用 PBS 溶液洗涤后, 使用 CX23 奥林巴斯光学显微镜(奥林巴斯, 日本)在 100 × 放大倍率下对通过膜的细胞进行计数。

1.7 细胞增殖测定和流式细胞术(flow cytometry, FCM)分析

克隆形成测定法用于检测菌落数, 将细胞接种到孔板中(每孔 300 个细胞)并培养 14 d。将细胞用 2 mL 甲醇固定 30 min, 后用结晶紫溶液染色细胞约 30 min。使用 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒评估细胞凋亡, 使用的流式细胞仪是 ID7000 光谱细胞分析仪, 使用 FlowJo 对数据进行分析。

1.8 脂质活性氧(reactive oxygen species, ROS)测定、Fe²⁺ 和丙二醛(malondialdehyde assay, MDA)测定

收集细胞, 后离心。制备 DCFH-DA(Beyotime, China)在 37℃ 下预处理细胞 20 min。孵育后, 收集细胞并在游离血清培养基中洗涤 2 次。随后, 将细胞重悬于 PBS 中, 并通过流式细胞术分析以检测细胞内 ROS 的水平。

使用 BCA 蛋白检测试剂盒(Biosharp, China)检测细胞上清液中的蛋白质浓度, 分别用铁测定试剂盒(NJCBIO, China)和 MDA 检测试剂盒(Beyotime, China)估计 Fe²⁺ 和 MDA 水平。

1.9 线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)的评估

通过线粒体膜电位测定试剂盒(Beyotime, China)测量 MMP。JC-1 单体(绿色)可以在高 ΔΨ_m 的线粒体中形成聚集体(红色荧光), 而在低 ΔΨ_m 的线粒体中不能形成聚集体。使用共聚焦激光显微镜(Olympus, 日本)检测结果。

1.10 细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)水平检测

收集细胞, 用预冷 PBS 洗涤 2 次后, 按照 GSH 检测试剂盒(Beyotime, 中国)说明书制备细胞匀浆。将匀浆与试剂盒中的反应液混合, 37℃ 避光孵育 30 min, 使用酶标仪在 412 nm 波长处

测定吸光度值。根据标准曲线计算细胞内 GSH 含量。

1.11 GPX4 酶活性检测

取细胞匀浆, 采用 GPX4 酶活性检测试剂盒 (Abcam, 美国) 检测酶活性。按照试剂盒流程, 将细胞匀浆与含谷胱甘肽 (GSH)、过氧化氢的反应体系混合, 37℃ 孵育 15 min 后, 加入显色剂终止反应, 在 405 nm 波长处测定吸光度变化。

1.12 细胞内 4-羟基壬烯醛 (4-HNE) 含量检测 (ELISA 法)

收集两组细胞培养上清液, 离心 (10000 r/min, 4℃, 10 min) 去除沉淀。采用人 4-HNE ELISA 试剂盒 (R&D Systems, 美国), 按照说明书将上清液与抗 4-HNE 特异性抗体孵育, 加入酶标二抗后用底物显色, 在 450 nm 波长处测定吸光度, 根据标准曲线计算 4-HNE 含量。

1.13 肿瘤异种移植试验

雌性 BALB/c-nu 裸鼠 (年龄: 4~5 周) 购自中国 Charles River, 并饲养在标准的无病原体环境实验室中。将小鼠随机分为两组。将 KLE 悬浮在 100 μ L 无血清 DMEM 中, 后注射到小鼠的右侧。25 d 后, 小鼠在麻醉下进行颈椎脱位, 并测量异种植物的重量、长度和宽度。肿瘤体积 = (长度 $\times$ 宽度²)/2。将肿瘤样本部分包埋在石蜡中用于组织病理学分析。根据石家庄妇幼保健院动物护理与使用委员会批准的方案 (第 2023-S2783 号) 进行动物实验。

1.14 统计学分析

采用 SPSS21.0 统计软件进行分析, 计数资料以百分比表示, 计量资料以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 对于配对样本, 使用配对 *t* 检验; 两组比较符合正态分布且方差齐时用独立样本 *t* 检验, 否则用 Mann-Whitney U 检验; 多组比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间多重比较用 Tukey HSD 事后检验 (方差齐) 或 Dunnett's T3 检验 (方差不齐), 校正多重比较误差。两组比较报告 Cohen's *d* 值 ($d \geq 0.8$ 为大效应, $0.5 \leq d < 0.8$ 为中等效应); 多组比较报告 η^2 值 ($\eta^2 \geq 0.14$ 为大效应, $0.06 \leq \eta^2 < 0.14$ 为中等效应), 明确差异的实际影响程度。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 GPX4 在 EC 组织中高表达

研究显示 qPCR 和蛋白印迹分析 EC 肿瘤组织中 GPX4 mRNA (62.72 ± 5.20) 和蛋白的表达水平高

于正常子宫内膜 GPX4 mRNA (118.1 ± 6.92) 和蛋白, 配对 $t(5) = 15.68$, $P < 0.001$, Cohen's $d = 8.62$ 。根据 GPX4 染色强度和阳性肿瘤细胞的百分比对 GPX4 表达水平进行评分。EC 肿瘤组织中 GPX4 表达的 IHC 评分也显著高于非癌性肿瘤组织, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1A~1D。

2.2 GPX4 在子宫内膜上皮细胞及不同子宫内膜癌细胞系中的表达

测量人原代子宫内膜上皮细胞 (endometrial epithelial cells, EEC) 和几种 EC 细胞系中的 GPX4 mRNA 和蛋白质水平, 结果显示 GPX4 在 EC 细胞系中高表达, 本研究选择了 KLE 细胞系进一步研究。结果发现与 shNC 组比较, GPX4 在 KLE 细胞中的表达受到显著抑制, shRNA (shGPX4-2) 表现出较高干扰效率的, 用于后续实验, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2、表 2。

2.3 GPX4 对 EC 细胞增殖和迁移的影响

集落形成实验结果显示, 与 shNC 组相比, shGPX4 组 KLE 细胞形成的克隆数显著减少 ($P < 0.05$)。Transwell 实验表明, GPX4 敲低后, 穿过基质的细胞数量显著降低 ($P < 0.05$)。此外, 通过流式细胞术检测细胞凋亡, 发现 shGPX4 组的细胞凋亡率相较于 shNC 组显著升高 ($P < 0.05$)。见图 3、表 3。

2.4 GPX4 敲低诱导 EC 细胞铁死亡

为进一步探究 GPX4 敲低抑制肿瘤生长的作用是否与铁死亡相关, 检测了多项铁死亡特征性指标。与 shNC 组相比, shGPX4 组 KLE 细胞内 Fe^{2+} 水平、脂质 ROS 及 MDA 水平均显著升高 ($P < 0.05$)。JC-1 染色结果显示, shGPX4 组细胞中 JC-1 单体 (绿色荧光) 比例显著增加, 提示线粒体膜电位下降 ($P < 0.05$)。见图 4、表 4。

2.5 GPX4 敲低对 EC 细胞脂质过氧化物及铁死亡关键蛋白的影响

与 shNC 组相比, shGPX4 组 GSH 水平显著降低、酶活性下降, 4-HNE 表达增强 ($P < 0.05$)。免疫荧光显示 shGPX4 组 4-HNE 阳性信号的增强, 蛋白印迹显示 shGPX4 组 ACSL4 表达升高、SLC7A11 表达降低 ($P < 0.05$)。见图 5、表 5。

2.6 GPX4 敲低增强体内铁死亡活性

建立了裸鼠 EC 异种移植肿瘤模型, 与 shNC 组相比, shGPX4 组抑制了肿瘤体积和肿瘤重量, 免疫组化结果显示 shGPX4 组 GPX4 蛋白表达显著降低。与 shNC 组相比, shGPX4 组铁含量度显著增加和 MDA 水平显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 6、表 6。

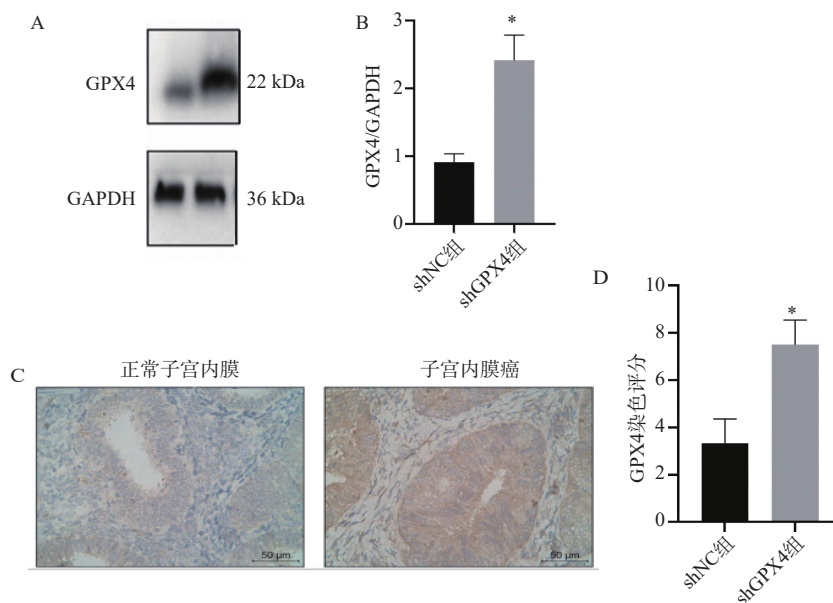


图1 GPX4 在 EC 组织中高表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 1 GPX4 is highly expressed in EC tissues ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

A: 蛋白印迹检测 GPX4 蛋白的表达; B: GPX4 蛋白表达定量结果; C: GPX4 的免疫组织化典型图片 ($\times 200$); D: GPX4 表达量统计分析; * $P < 0.05$ 。

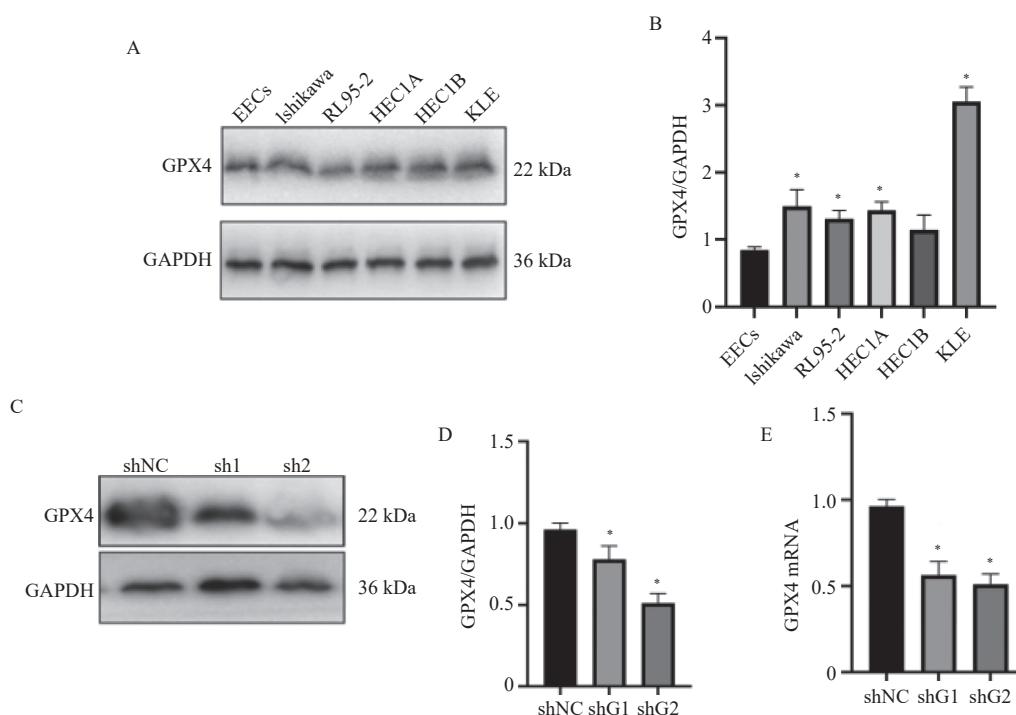


图2 GPX4 在子宫内膜上皮细胞及不同子宫内膜癌细胞系中的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 2 Expression of GPX4 in endometrial epithelial cells and different endometrial cancer cell lines ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

A: 蛋白印迹检测 ACSL4 表达和 SLC7A11 表达; B: ACSL4 蛋白表达定量结果; C: SLC7A11 表达; D: 蛋白印迹分析 GPX4 蛋白的表达; E: qPCR 检测 GPX4 表达。* $P < 0.05$ 。

3 讨论

EC 的发病率和死亡率逐年增加, 但仍然没有针对晚期和复发性 EC 的有效治疗方法, 越来越

多的研究表明, 人工引入铁死亡被认为是对传统疗法耐药的癌症的一种有前途的治疗方法^[3]。铁死亡被认为是一种铁依赖性氧化细胞死亡, 这可能是由 GPX4 失活驱动的。此外, 铁死亡可以通

表 2 GPX4 在子宫内膜上皮细胞及不同子宫内膜癌细胞系中的表达 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Expression of GPX4 in endometrial epithelial cells and different endometrial cancer cell lines ($\bar{x} \pm s$)

分组	GPX4 mRNA
EECs	1.09 ± 0.07
Ishikawa	5.05 ± 0.59*
RL95-2	6.54 ± 0.61*
HEC1A	6.98 ± 1.32*
HEC1B	7.59 ± 1.32*
KLE	8.41 ± 1.34*
F	32.72
P	<0.001*
η^2	0.84

多组比较, One-way ANOVA, 事后检验Tukey HSD, * $P < 0.05$ 。

过细胞内高 Fe^{2+} 水平和低 GSH 水平以及一系列氧化应激来评估, 铁死亡过程在子宫内膜癌中受到异常调节, 铁死亡激活剂可诱导 EC 细胞死亡^[11]。本研究发现 GPX4 的表达在 EC 中上调。抑制 GPX4 表达可以降低 EC 细胞增殖和迁移的速率, 增加细胞凋亡率。敲低 GPX4 诱导更高的 Fe^{2+} 、MDA 和 ROS 水平, 降低 MMP, 从而激活铁死亡。这些研究表明了 GPX4 作为 EC 肿瘤发展和抑制铁死亡的新靶点的基本作用。

在子宫内膜癌的研究领域, GPX4 的表达水平与肿瘤的恶性行为密切相关。通过 CRISPR/Cas9 基因编辑技术敲低 GPX4, 研究观察到子宫内膜癌细胞的增殖能力显著下降, 细胞周期停滞在 G1 期, 这表明 GPX4 对于细胞周期的调控具有重要作用^[12-13]。细胞凋亡和铁死亡标志物的表达水平升高, 提示敲低 GPX4 可能通过促进铁死亡来抑制肿瘤细胞的生长。例如, 在一项研究中,

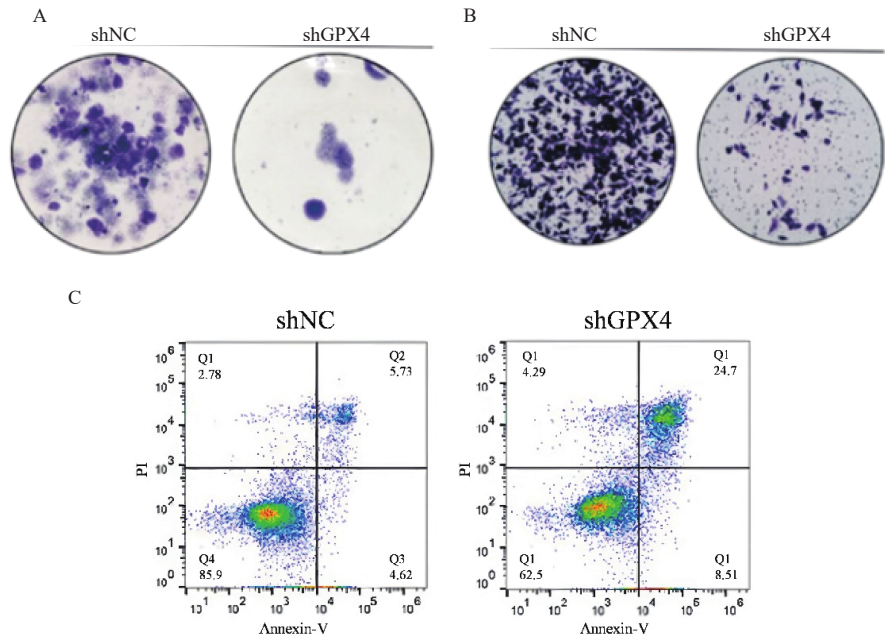


图 3 GPX4 对 EC 细胞增殖和迁移的影响 ($\times 400$)

Fig. 3 Effects of GPX4 on the proliferation and migration of EC cells ($\times 400$)

A: 集落形成试验检测细胞增殖; B: transwell 试验测定细胞迁移能力; C: 流式细胞仪分析细胞凋亡。

表 3 GPX4 对 EC 细胞增殖和迁移的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effects of GPX4 on EC cell proliferation and migration ($\bar{x} \pm s$)

项目	shNC组($n=6$)	shGPX4组($n=6$)	t	P	df	Cohen's d
克隆的相对(折叠)数	0.89 ± 0.07	0.37 ± 0.05	14.94	<0.001*	10	8.21
细胞的相对(折叠)数	0.99 ± 0.07	0.33 ± 0.06	16.72	<0.001*	10	9.24
细胞凋亡率(%)	12.60 ± 2.48	61.64 ± 7.03	16.12	<0.001*	10	8.91

独立样本 t 检验, * $P < 0.05$ 。

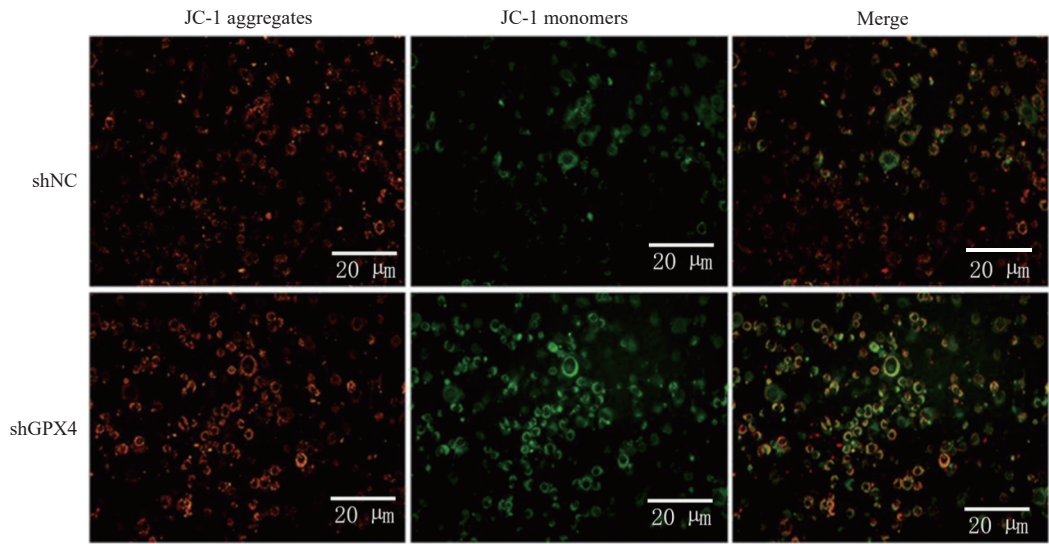


图 4 GPX4 敲低诱导 EC 细胞铁死亡 (×400)
Fig. 4 GPX4 knockdown induces ferroptosis in EC cells (×400)
JC-1 染色检测 MMP。

表 4 GPX4 敲低诱导 EC 细胞铁死亡 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 4 GPX4 knockdown induces ferroptosis in EC cells ($\bar{x} \pm s$)

项目	shNC组(<i>n</i> =6)	shGPX4组(<i>n</i> =6)	<i>t</i>	<i>P</i>	df	Cohen's d
细胞内亚铁水平(uM/g)	9.77 ± 1.04	17.46 ± 1.64	9.68	<0.001*	10	5.34
脂质 ROS 水平	1.33 ± 0.11	2.04 ± 0.19	8.15	<0.001*	10	4.51
MDA 水平(nmol/mg)	3.33 ± 1.03	8.17 ± 1.17	7.59	<0.001*	10	4.19

独立样本*t*检验,**P*<0.05。

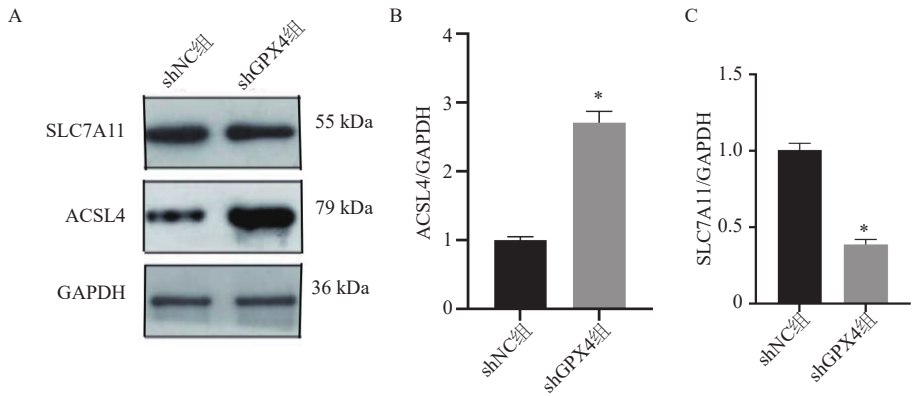


图 5 GPX4 敲低对 EC 细胞脂质过氧化物及铁死亡关键蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)
Fig. 5 Effects of GPX4 knockdown on lipid peroxides and key ferroptosis proteins in EC Cells ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

A: 蛋白印迹检测 ACSL4 表达和 SLC7A11 表达; B: ACSL4 蛋白表达定量结果; C: SLC7A11 蛋白表达定量结果; **P*<0.05。

敲低 GPX4 后, 铁死亡相关蛋白如 FTH1 和 FTL 的表达量增加, 这与铁代谢紊乱和细胞内铁离子积累有关, 从而触发了铁死亡过程^[14]。GPX4 作为铁死亡的关键调节因子, 在其他类型癌症中的作用研究揭示了其在肿瘤发生、发展中的复杂角色。例如, 在前列腺癌的研究中, GPX4 的过表达与肿瘤的侵袭性和转移能力增强有关, 提示

GPX4 可能成为前列腺癌治疗的新靶点^[15]。本研究结果发现 GPX4 的表达在 EC 中上调, 抑制 GPX4 表达可以降低 EC 细胞增殖和迁移的速率, 增加细胞凋亡率。

研究显示, GPX4 在子宫内膜癌细胞中的过表达可能与铁死亡的抑制有关, 而铁死亡作为一种非凋亡性的细胞死亡方式, 已被证实与多种癌

表 5 GPX4 敲低对 EC 细胞脂质过氧化物及铁死亡关键蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Effects of GPX4 knockdown on lipid peroxide and expression of key ferroptosis proteins in EC cells ($\bar{x} \pm s$)

项目	shNC组(n=6)	shGPX4组(n=6)	t	P	df	Cohen's d
细胞内 GSH 水平(nmol/mg prot)	28.64 ± 3.12	12.37 ± 2.05	11.82	<0.001*	10	6.53
GPX4 酶活性(U/mg prot)	15.26 ± 1.89	5.73 ± 1.08	10.95	<0.001*	10	6.06
4-HNE(ng/mL)	18.25 ± 2.31	56.78 ± 4.92	16.03	<0.001*	10	8.86

独立样本t检验,*P<0.05。

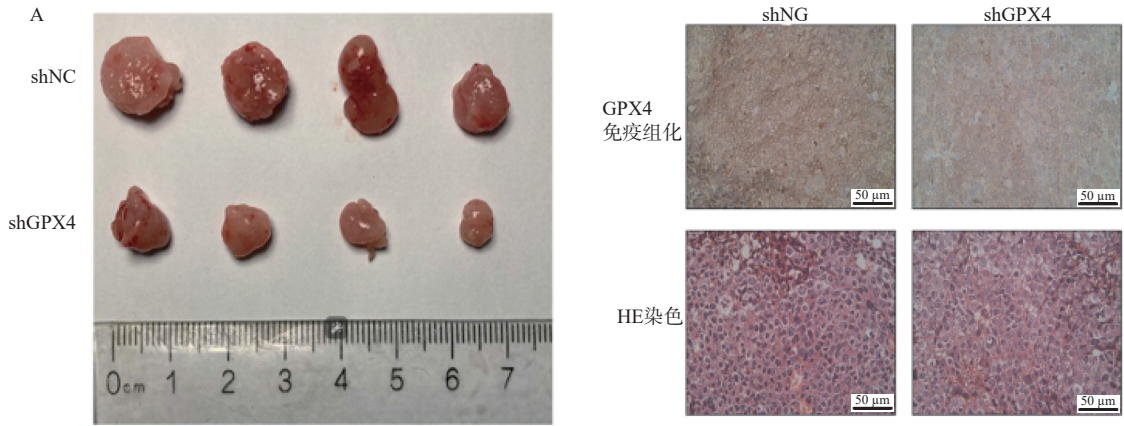


图 6 GPX4 敲低增强体内铁死亡活性

Fig. 6 GPX4 knockdown enhances ferroptosis activity in vivo

A: BALB/c 裸鼠的异种移植肿瘤图像, 每组 4 个肿瘤图片; B: 异种移植肿瘤中 GPX4 表达的免疫组织化学和 HE 染色 ($\times 400$)。

表 6 GPX4 敲低增强体内铁死亡活性 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 GPX4 knockdown enhances ferroptosis activity in vivo ($\bar{x} \pm s$)

项目	shNC组(n=6)	shGPX4组(n=6)	t	P	df	Cohen's d
肿瘤体积(cm^3)	0.87 ± 0.12	0.36 ± 0.07	9.07	<0.001*	10	5.01
肿瘤重量(g)	0.73 ± 0.07	0.32 ± 0.06	10.53	<0.001*	10	5.81
细胞铁含量($\mu\text{mol/g prot}$)	4.02 ± 0.80	7.89 ± 1.75	4.94	<0.001*	10	2.73
MDA 水平(nmol/mg)	23.35 ± 3.71	42.02 ± 5.78	6.67	<0.001*	10	3.68

独立样本t检验,*P<0.05。

症的发展和预后紧密相关^[16]。通过铁死亡的调控, GPX4 能够影响细胞内铁代谢和脂质过氧化, 进而影响细胞的增殖和侵袭能力, 细胞铁死亡主要是由于细胞内脂质过氧化升高破坏了线粒体膜密度, 以及铁代谢过程中致命的 ROS 积累引起的^[17]。而在子宫内膜癌的治疗领域, 铁死亡作为一种新兴的细胞死亡方式, 为癌症治疗提供了新的视角, 铁死亡的生物化学机制涉及铁离子的积累和脂质过氧化的失控, 这为开发针对铁代谢的治疗策略提供了理论基础, 例如, 通过调节铁离子的摄取和释放, 可以影响癌细胞内铁的稳态, 从而诱导铁死亡^[18-19]。在 GPX4 的研究中, 发现其在抑制铁死亡中扮演关键角色, 针对 GPX4 的抑制剂可能成为治疗子宫内膜癌的有效手段。本

研究结果表明 GPX4 敲低细胞内 Fe^{2+} 水平、ROS 水平、MDA 水平升高、细胞内 GSH 水平显著降低、GPX4 酶活性下降, 而脂质过氧化特异性产物 4-HNE 含量显著升高、ACSL4 表达上调和 SLC7A11 表达下调, 这一结果明确了 GPX4 在 EC 细胞铁死亡调控中的核心作用。表明 GPX4 通过抑制铁死亡并促进子宫内膜癌进展, 有望成为治疗 EC 的新方向。

本研究存在一定局限性。首先, 临床标本仅纳入 6 对 EC 及癌旁组织, 样本量较小且未覆盖所有病理类型与临床分期, 可能导致结果存在偏倚, 难以完全代表 EC 患者整体情况; 其次, 体外实验仅选用 KLE 一种 EC 细胞系, 未在其他细胞系中验证结果, 结论的细胞普适性有待进一步

确认;此外,本研究未深入探索 GPX4 调控 EC 细胞铁死亡的下流具体分子通路,后续需扩大样本量、增加细胞系验证并挖掘下游机制,以完善研究结论的可靠性与深度。

综上所述,本研究揭示了 GPX4 是 EC 中铁死亡的关键调控因子,其沉默可通过“GSH-脂质过氧化”通路抑制 EC 恶性行为,为 EC 治疗提供新靶点。这一发现不仅加深了笔者对铁死亡在子宫内膜癌中作用机制的理解,而且为子宫内膜癌的治疗提供了新的靶点。

[参考文献]

- [1] Crosbie E J, Kitson S J, McAlpine J N, et al. Endometrial cancer[J]. *Lancet*, 2022, 399(10333): 1412–1428.
- [2] Nees L K, Heublein S, Steinmacher S, et al. Endometrial hyperplasia as a risk factor of endometrial cancer[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2022, 306(2): 407–421.
- [3] Bogani G, Monk B J, Powell M A, et al. Adding immunotherapy to first-line treatment of advanced and metastatic endometrial cancer[J]. *Ann Oncol*, 2024, 35(5): 414–428.
- [4] Tronconi F, Nero C, Giudice E, et al. Advanced and recurrent endometrial cancer: State of the art and future perspectives[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2022, 180: 103851.
- [5] Liu J, Kang R, Tang D. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis[J]. *Febs J*, 2022, 289(22): 7038–7050.
- [6] Li P, Jiang M, Li K, et al. Glutathione peroxidase 4-regulated neutrophil ferroptosis induces systemic autoimmunity[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(9): 1107–1117.
- [7] Xie Y, Kang R, Klionsky D J, et al. GPX4 in cell death, autophagy, and disease[J]. *Autophagy*, 2023, 19(10): 2621–2638.
- [8] Sekhar K R, Hanna D N, Cyr S, et al. Glutathione peroxidase 4 inhibition induces ferroptosis and mTOR pathway suppression in thyroid cancer[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 19396.
- [9] Xue Q, Yan D, Chen X, et al. Copper-dependent autophagic degradation of GPX4 drives ferroptosis[J]. *Autophagy*, 2023, 19(7): 1982–1996.
- [10] Allred D C. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis[J]. *Mod Pathol*, 1998, 11(2): 155–168.
- [11] Liang D, Feng Y, Zandkarimi F, et al. Ferroptosis surveillance independent of GPX4 and differentially regulated by sex hormones[J]. *Cell*, 2023, 186(13): 2748–2764. e22.
- [12] Žalytė E. Ferroptosis, metabolic rewiring, and endometrial cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 25(1): 75.
- [13] 陈茜, 陈梅. 过表达 SALL4 促进人宫颈癌细胞系的迁移和侵袭 [J]. 河北医科大学学报, 2025, 46(10): 1160–1167.
- [14] 王金红, 郝丹丹, 王玉敏. 非编码 RNA 调控铁死亡介导肺癌耐药研究进展 [J]. 河北医科大学学报, 2025, 46(7): 792–795.
- [15] Cheng L, He Q, Liu B, et al. SGK2 promotes prostate cancer metastasis by inhibiting ferroptosis via upregulating GPX4[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(1): 74.
- [16] 虞晶晶, 穆丹, 朱庆丰. 铁死亡研究进展与恶性肿瘤治疗 [J]. 河北医科大学学报, 2022, 43(3): 363–367.
- [17] Liu Y, Wan Y, Jiang Y, et al. GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment[J]. *Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer*, 2023, 1878(3): 188890.
- [18] Wang Z, Shu W, Zhao R, et al. Sodium butyrate induces ferroptosis in endometrial cancer cells via the RBM3/SLC7A11 axis[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(7–8): 1168–1183.
- [19] 刘茜, 曹钰洁, 李建英. 铁死亡在肺纤维化中作用机制的研究进展 [J]. 河北医科大学学报, 2024, 45(4): 413–417.