

- signalpathway[J]. J Pharm Res (Pharmaceutical Research), 2019, 33(1): 49-52.
- [16] Ciftel S, Suleyman B, Mammadov R, et al. Adverse effects of metamisole on heart, lung, liver, kidney, and stomach in rats[J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2024, 25(1): 55.
- [17] 蒋伟业, 王舜禹, 周雨静, 等. 棕榈油酸防治非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版), 2025, 35(3): 212-216.
- [18] 田辉, 寇娟. 桑白皮的炮制历史沿革、药理作用及临床应用研究进展[J]. 江苏中医药, 2025, 57(2): 81-84.
- [19] 李蕊, 曾扬, 张葵. 桑白皮的药理作用及其治疗老年病的临床应用[J]. 老年医学与保健, 2021, 27(6): 1339-1342.
- [20] 谭金枚, 郭爱莉, 戚本玲, 等. 基于IGF-1R/ β -catenin信号通路探讨桑白皮总黄酮对2型糖尿病大鼠肾损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(8): 2013-2017.
- [21] 黎玉华, 温金华, 周健, 等. 桑皮苷的药理作用研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6): 749-752.
- [22] 蒋海生, 王佳丽. 桑白皮的药理作用及临床应用研究进展[J]. 中药与临床, 2021, 12(2): 79-82.
- [23] Park HJ, Park SH. Root Bark of Morus Alba L. Induced p53-Independent Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells by Suppression of STAT3 Activity[J]. Nutr Cancer, 2022, 74(5): 1837-1848.

(收稿日期: 2025-06-18)

HNRNPA1通过下调SLC7A11-GPX4轴促进胃癌MKN74细胞铁死亡

晋雨婷, 李欣*

(承德医学院基础医学院, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 探讨异质性核糖核蛋白A1(HNRNPA1)在胃癌MKN74细胞铁死亡中的作用及机制。**方法** 通过生物信息学分析TCGA数据库HNRNPA1与铁死亡相关基因的表达相关性;采用比色法检测细胞内亚铁离子(Fe^{2+})水平;采用DCFH-DA荧光探针法检测细胞内活性氧(ROS)水平;CCK-8法测定细胞活力;Western blot法检测谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、溶质载体家族7成员11(SLC7A11)蛋白表达水平,并通过Ferrostatin-1(Fer-1)进行铁死亡抑制实验。**结果** 生信分析显示HNRNPA1在胃癌组织中高表达,并与SLC7A11呈正相关;敲低HNRNPA1可显著增加MKN74细胞 Fe^{2+} 积累和ROS水平,降低细胞活力,同时下调SLC7A11与GPX4蛋白表达,Fer-1处理可部分逆转上述表型。**结论** HNRNPA1敲低可通过下调SLC7A11-GPX4轴,促进细胞 Fe^{2+} 积累和ROS水平升高,从而触发铁死亡。本研究揭示HNRNPA1在胃癌MKN74细胞铁死亡中的调控作用,为靶向HNRNPA1的新型治疗策略提供实验依据。

关键词: HNRNPA1;胃癌;铁死亡;SLC7A11;GPX4

中图分类号: R735.2

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2026)03-0191-06

HNRNPA1 promotes ferroptosis in human gastric cancer MKN74 cells via downregulation of the SLC7A11-GPX4 axis

JIN Yuting, LI Xin*

(Basic Medical College, Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role and underlying mechanism of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 (HNRNPA1) in ferroptosis of human gastric cancer MKN74 cells. **Methods** Bioinformatic analysis was performed to assess the correlation between HNRNPA1 and ferroptosis-related genes in TCGA gastric cancer dataset. Intracellular Fe^{2+} levels

作者简介:晋雨婷(1998—),女,硕士研究生在读,研究方向:消化道肿瘤。

*通信作者:李欣(1971—),女,博士,教授,研究方向:消化道肿瘤;E-mail:593691301@qq.com。

were measured by colorimetric assay, and ROS levels were measured using DCFH-DA fluorescent probe and fluorescence microscopy. Cell viability was determined by CCK-8 assay, and protein expression of SLC7A11 and GPX4 was detected by Western blot. Ferrostatin-1 (Fer-1) was used to inhibit ferroptosis and assess rescue effects. **Results** Bioinformatic analysis indicated that HNRNPA1 was highly expressed in gastric cancer tissues and positively correlated with SLC7A11. Knockdown of HNRNPA1 significantly increased intracellular Fe^{2+} accumulation and ROS levels, reduced cell viability, and downregulated SLC7A11 and GPX4 expression, while Fer-1 treatment partially reversed these effects. **Conclusion** HNRNPA1 knockdown promotes ferroptosis in MKN74 cells by downregulating the SLC7A11-GPX4 axis, leading to Fe^{2+} accumulation and ROS elevation. This study elucidates the regulatory role of HNRNPA1 in gastric cancer MKN74 cells ferroptosis and provides experimental evidence for potential HNRNPA1-targeted therapeutic strategies.

Key words: HNRNPA1; gastric cancer; ferroptosis; SLC7A11; GPX4

胃癌是全球常见的消化道恶性肿瘤之一,在我国发病率和病死率均居前列^[1-2]。尽管手术、化疗及靶向治疗方法不断发展,但胃癌患者总体预后仍不理想,5年生存率不足30%,且化疗耐药是导致治疗失败的主要原因。因此,探索新的治疗靶点和策略具有重要临床意义。

近年来,程序性细胞死亡在肿瘤治疗中的作用受到广泛关注。铁死亡是一种依赖铁离子、由脂质过氧化物积累引起的新型细胞死亡方式^[3],不同于凋亡、坏死或自噬,不受Caspase或坏死抑制剂影响,但可被铁螯合剂(如去铁胺)或脂质过氧化抑制剂(如Ferrostatin-1)阻断^[4]。铁死亡在抑制胃癌细胞生长、增强化疗敏感性中具有潜在应用价值,其关键负调控因子包括SLC7A11和GPX4^[5]。

异质性核糖核蛋白A1(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, HNRNPA1)是一类广泛表达的RNA结合蛋白,参与mRNA剪接、稳定性调控及核质转运^[6]。HNRNPA1在卵巢癌、膀胱癌、肝癌等多种恶性肿瘤中高表达,并通过调控靶基因促进细胞增殖、侵袭和转移^[7-9]。然而,HNRNPA1在胃癌中的表达模式及其对铁死亡的调控作用尚不明确。

本研究通过生物信息学分析发现,HNRNPA1在胃癌组织中高表达,并与铁死亡负调控因子SLC7A11表达呈正相关。为明确HNRNPA1在胃癌细胞铁死亡中的作用,本研究以人胃癌MKN74细胞为研究对象,探讨敲低HNRNPA1对铁死亡的影响及其对SLC7A11/GPX4信号通路的调控作用,为胃癌分子靶向治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养与试剂

人胃癌MKN74细胞购自中国科学院细胞库,使用RPMI 1640培养基(含10%胎牛血清,Gibco)在37℃、

5% CO_2 条件下培养。主要试剂包括:HNRNPA1 siRNA (GenePharma)、阴性对照-siRNA(NC, GenePharma)、Lipofectamine 3000转染试剂(Invitrogen)、Ferrostatin-1(Fer-1, Sigma)、亚铁离子检测试剂盒(Solarbio)、ROS荧光检测试剂盒(碧云天)、CCK-8(Dojindo)、抗体(SLC7A11、GPX4、 β -actin, ABclonal)。

1.2 实验分组与处理

细胞按照实验需求分为以下组别。Blank组:未转染处理组;NC组:阴性对照siRNA转染组;si-A1组:HNRNPA1 siRNA转染组;si-A1 + Fer-1组:HNRNPA1 siRNA转染后添加Ferrostatin-1(2 μM , 24 h)。转染使用Lipofectamine 3000按说明书操作,于对应处理时间后进行各项实验。Fer-1处理于转染后同时加入培养液中。

1.3 生物信息学分析

使用TCGA胃癌(STAD)数据库和GEPIA2平台分析HNRNPA1表达水平及其与铁死亡相关因子SLC7A11、GPX4的相关性。Kaplan-Meier生存分析评估高低表达组的总体生存差异,并计算Pearson相关系数。

1.4 Fe^{2+} 测定

采用比色法检测细胞内 Fe^{2+} 含量,步骤如下。根据分组处理细胞,转染后48 h收集细胞并加入提取液,低温下超声破碎,4℃、10 000×g离心10 min,取上清液。配制 Fe^{2+} 标准品(1.562 5~400 μM)作标准曲线。上清液与显色工作液混合后,37℃反应30 min。上清液OD值测定于593 nm,空白管扣除背景。根据标准曲线方程计算样品 Fe^{2+} 浓度。每组3个复孔,每次实验重复3次。

1.5 ROS检测

使用荧光法检测细胞内ROS水平变化,各组细胞处理完成后加入ROS染色液,37℃孵育30 min。荧光显微镜

拍摄3个随机视野,每视野取平均荧光强度。使用ImageJ计算每个视野的平均灰度值,三复孔取平均值,3次独立实验重复。相对荧光水平以Blank组为1进行标准化。

1.6 细胞活力检测(CCK-8)

各组细胞接种于96孔板,每孔 5×10^3 个细胞。按实验设计时间点加入10 μ L CCK-8试剂,37 $^{\circ}$ C孵育2 h。使用酶标仪测定OD 450 nm,计算细胞活力百分比。三复孔取平均值,每组实验重复3次。

1.7 Western blot

细胞裂解后提取总蛋白,通过BCA法测定样品总蛋白浓度,并确保各泳道上样量一致,根据定量结果,用上样缓冲液将所有样品蛋白浓度调整至相同浓度,使得每次上样时加入等量的总蛋白(30 μ g)。SDS-PAGE电泳分离蛋白,转膜至PVDF膜。一抗孵育,其中SLC7A11(ABclonal,A25302),用含5% BSA的TBST按1:1 000比例稀释;GPX4(ABclonal,A27995)用含5% BSA的TBST按1:2 000比例稀释; β -actin(ABclonal,AC026)用含5% BSA的TBST按1:100 000比例稀释,4 $^{\circ}$ C过夜。以TBST清洗3次,每次15 min,随后对应种属二抗室温孵育50 min,二抗稀释比例1:10 000,TBST清洗3次,每次5 min,随后进行ECL

显影,使用ImageJ定量分析蛋白表达, β -actin作为内参。各组实验重复3次。

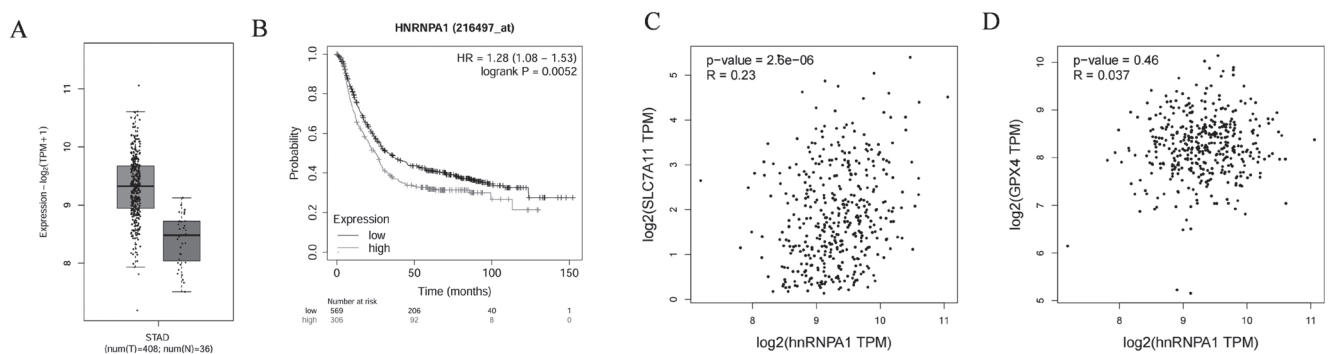
1.8 统计学分析

实验数据使用GraphPad Prism 8.0软件进行分析。所有数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两两比较使用Tukey多重比较法。 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HNRNPA1在胃癌中的表达及与铁死亡相关基因的相关性

通过TCGA胃癌(STAD)数据库及GEPID2平台分析发现,HNRNPA1在胃癌组织中的表达水平显著高于正常胃黏膜组织($T=408, N=36, P < 0.01$;图1A)。Kaplan-Meier生存分析显示,高表达HNRNPA1患者总体生存率显著下降(图1B),提示其可能与胃癌预后相关。Pearson相关性分析显示,HNRNPA1与铁死亡负调控因子SLC7A11呈显著正相关($r=0.42, P < 0.001$;图1C),而与GPX4相关性不显著($r=0.12, P > 0.05$;图1D),提示HNRNPA1可能通过调控SLC7A11影响细胞对铁死亡的敏感性。



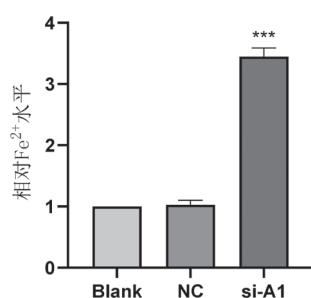
注:A. TCGA胃癌组织(STAD)中HNRNPA1表达箱线图(T:肿瘤组织,N:正常组织),样本量: $T=408, N=36$;B. Kaplan-Meier生存曲线显示高低表达HNRNPA1患者总体生存率差异;C. HNRNPA1与SLC7A11mRNA表达散点图及Pearson相关性分析($r=0.42, P < 0.001$);D. HNRNPA1与GPX4mRNA表达散点图及Pearson相关性分析($r=0.12, P > 0.05$)。

图1 HNRNPA1在胃癌中的生物信息学分析

2.2 敲低HNRNPA1促进MKN74细胞内 Fe^{2+} 积累

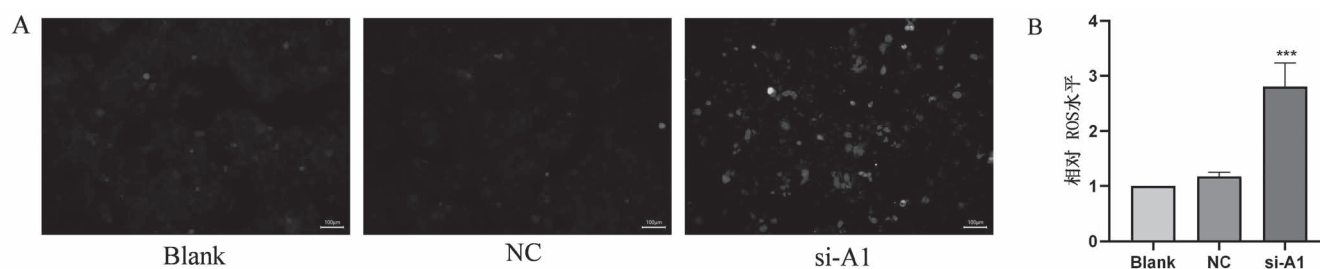
为了验证HNRNPA1是否影响细胞铁稳态,本研究采用Solarbio亚铁离子检测试剂盒测定MKN74细胞内 Fe^{2+} 含量。结果如图2所示,Blank组和NC组细胞 Fe^{2+} 浓度接近(平均值1.76~1.94 μ M, $P > 0.05$),说明阴性对照siRNA对铁

水平无显著影响。相比之下,si-A1组 Fe^{2+} 浓度显著升高至5.74~6.56 μ M,相对Blank组升高2~3倍($P < 0.001$),提示HNRNPA1敲低导致MKN74细胞内 Fe^{2+} 积累显著增加,为铁死亡发生提供条件。



注:与Blank组比较,*** $P < 0.001$ 。

图2 HNRNPA1敲低增加MKN74细胞内 Fe^{2+} 水平



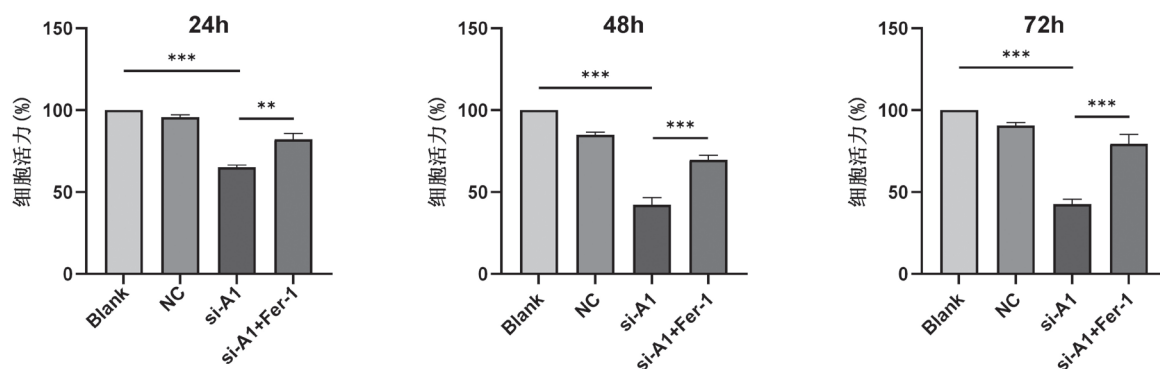
注:A. Blank组、NC组及si-A1组MKN74细胞内ROS荧光强度变化;B. 各组相对ROS水平;*** $P < 0.001$ 。

图3 HNRNPA1敲低增加MKN74细胞内ROS水平

2.4 敲低HNRNPA1降低MKN74细胞活力

通过CCK-8检测各组MKN74细胞在转染24、48、72 h的增殖活力。结果显示,Blank组和NC组细胞活力无显著变化($P > 0.05$),说明阴性对照siRNA对细胞增殖无影响(图4)。与Blank组相比,si-A1组细胞活力显著下降,24、48、72 h相对活力分别下降15%、30%和45%($P < 0.001$),提

示HNRNPA1敲低显著抑制MKN74细胞增殖。添加Fer-1后,si-A1+Fer-1组细胞活力部分恢复,相对活力较si-A1组增加20%~25%,提示Fer-1可部分逆转HNRNPA1敲低诱导的细胞死亡,支持该死亡表型依赖铁死亡机制。



注:与Blank组相比,si-A1组细胞活力显著降低,*** $P < 0.001$;与si-A1组相比,si-A1+Fer-1组细胞活力显著升高,24 h时,** $P < 0.01$;48 h和72 h时,*** $P < 0.001$ 。

图4 HNRNPA1敲低降低MKN74细胞活力并可被Fer-1部分逆转

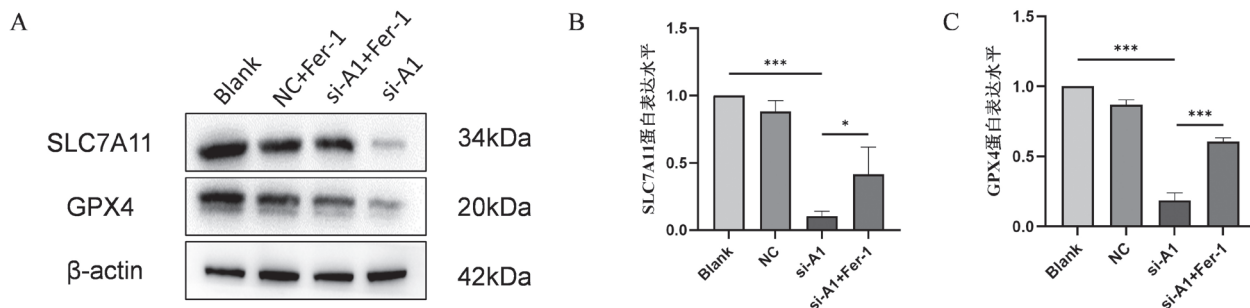
2.5 敲低HNRNPA1降低MKN74细胞SLC7A11和GPX4蛋白表达

为探讨HNRNPA1调控铁死亡的分子机制,本研究通过Western blot检测MKN74细胞中关键铁死亡调控蛋

白SLC7A11和GPX4的表达(图5)。结果显示,si-A1组SLC7A11和GPX4蛋白表达显著下降,相比Blank组平均减少50%~60%($P < 0.001$),提示HNRNPA1敲低可能通过下

调SLC7A11-GPX4轴增强细胞对铁死亡的敏感性。在si-A1+Fer-1组中,SLC7A11和GPX4蛋白表达较si-A1组部分恢复,相对表达量提高20%~25%,提示Fer-1可部分阻断

HNRNPA1敲低诱导的铁死亡效应,进一步验证细胞死亡依赖铁死亡途径。NC组与Blank组蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。



注:A. si-A1及Fer-1对MKN74细胞中SLC7A11、GPX4蛋白表达水平影响;B. 各组SLC7A11蛋白相对表达量柱状图;C. 各组GPX4蛋白相对表达量柱状图; * $P<0.05$; *** $P<0.001$ 。

图5 敲低HNRNPA1降低MKN74细胞SLC7A11和GPX4蛋白表达且Fer-1部分逆转

3 讨论

在胃癌细胞中,铁稳态、脂质代谢及抗氧化防御系统的变化是调控铁死亡敏感性的关键因素。除了经典的system Xc-/GSH/GPX4通路外,最新研究表明^[10-12],线粒体代谢、脂肪酸氧化途径和并行抗性机制(如FSP1/CoQ10轴)等因素也参与铁死亡的调控,这拓宽了对铁死亡机制的理解,并为肿瘤治疗提供了新的潜在靶点和策略选择。现有研究还指出,肿瘤细胞在应对氧化应激过程中通过激活不同抗氧化防御通路来抵抗铁死亡,这一适应性机制在某些恶性肿瘤的耐药性形成中起重要作用。因此,深入解析铁死亡的多层次调控网络,对优化肿瘤治疗策略具有重要意义^[13-14]。

本研究通过生信分析、 Fe^{2+} 含量测定、ROS活性检测、CCK-8细胞活力实验及Western blot技术系统性探讨了HNRNPA1在胃癌MKN74细胞铁死亡中的作用。生信分析显示,HNRNPA1在胃癌组织中的表达显著高于正常组织,并与铁死亡负调控因子SLC7A11呈显著正相关,而与GPX4相关性不显著,提示HNRNPA1可能通过影响SLC7A11控制铁死亡敏感性。实验进一步表明,敲低HNRNPA1可显著增加MKN74细胞内 Fe^{2+} 积累与ROS水平,同时导致细胞活力下降,伴随SLC7A11和GPX4蛋白表达显著下调,而Fer-1的处理可部分逆转这些表型。这些结果共同提示,HNRNPA1敲低通过下调SLC7A11-GPX4轴扰动铁稳态与抗氧化防御,从而促进铁死亡的

发生。

在机制层面,SLC7A11是system Xc-反向转运体中的关键亚基,通过介导胱氨酸进入细胞并促进GSH合成,维持细胞内氧化还原稳态。SLC7A11的功能失调不仅降低胞内GSH水平,还会削弱对脂质过氧化物的清除能力,使细胞对铁死亡更加敏感;已有研究指出^[15],SLC7A11在多个癌种中作为铁死亡的调节枢纽,参与连接代谢扰动和铁死亡易感性。而GPX4是GSH依赖的脂质过氧化物清除酶,其表达或活性下降会导致脂质过氧化物在细胞膜中积累,引发致命性氧化损伤。GPX4失活被认为是铁死亡发生的核心机制之一,且其抑制可显著增加铁死亡发生的概率,从而影响细胞存活^[16]。在包括肿瘤细胞在内的多种细胞模型中,靶向抑制SLC7A11-GPX4通路能够增强铁死亡敏感性、抑制细胞增殖并提高对化疗药物的反应性,表明SLC7A11-GPX4通路在肿瘤治疗中具有潜在的靶向价值^[17]。本研究结果与这些机制性发现相一致,支持了HNRNPA1在胃癌细胞中不仅参与增殖调控,还可能通过影响SLC7A11-GPX4轴调节铁死亡水平,从而影响肿瘤细胞的生存与死亡。本研究表明,HNRNPA1敲低可通过下调SLC7A11-GPX4轴,破坏细胞铁稳态和抗氧化防御,导致MKN74细胞 Fe^{2+} 积累及ROS上升,从而触发铁死亡。实验结果显示,敲低HNRNPA1降低了细胞活力,并伴随SLC7A11和GPX4蛋白表达下调;Fer-1处理能够部分

逆转这一表型,进一步证明该细胞死亡依赖铁死亡。这些结果提示HNRNPA1是胃癌细胞铁死亡的上游调控因子,可能成为探索铁死亡调控机制及开发靶向治疗策略的潜在靶点。

本研究仍存在一定局限:仅使用MKN74单一细胞系,尚缺乏其他细胞系及体内动物模型的进一步验证;未系统评估脂质ROS和下游ferroptosis通路的全貌;HNRNPA1对SLC7A11/GPX4的直接调控机制尚不明确,需通过RNA-binding蛋白作用位点或3'-UTR调控实验进一步验证。未来可在多细胞系、动物模型中重复验证这些发现,并结合分子机制和临床样本分析以评估其治疗潜力。

综上所述,本研究表明HNRNPA1敲低可通过下调SLC7A11-GPX4轴,促进胃癌MKN74细胞Fe²⁺积累和ROS积聚,从而触发铁死亡。这不仅加深了对HNRNPA1在肿瘤生物学中的理解,也为基于铁死亡的新型胃癌治疗策略提供了理论与实验基础。

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] Chen Y, Jia K, Xie Y, et al. The current landscape of gastric cancer and gastroesophageal junction cancer diagnosis and treatment in China: a comprehensive nationwide cohort analysis[J]. J Hematol Oncol, 2025, 18(1): 42-56.
- [3] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [4] Li J, Cao F, Yin H liang, et al. Ferroptosis: past, present and future[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 88-100.
- [5] Chen F, Kang R, Tang D, et al. Ferroptosis: principles and significance in health and disease[J]. J Hematol Oncol, 2024, 17(1): 41-81.
- [6] Feng J, Zhou J, Lin Y, et al. hnRNP A1 in RNA metabolism

regulation and as a potential therapeutic target[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 986409.

- [7] Chen Y, Liu J, Wang W, et al. High expression of hnRNP A1 promotes cell invasion by inducing EMT in gastric cancer[J]. *Oncol Rep*, 2018; 1-9.
- [8] Jiang C, Xu D, Feng H, et al. hnRNP A1 promotes the metastasis and proliferation of gastric cancer cells through WISP2-guided wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Discov Oncol*, 2024, 15(1): 465.
- [9] Wang JM, Liu N, Wei XJ, et al. Regulation of AUF1 alternative splicing by hnRNP A1 and SRSF2 modulate the sensitivity of ovarian cancer cells to cisplatin[J]. *Cell Oncol*, 2024, 47(6): 2349-2366.
- [10] Ding X, Cui L, Mi Y, et al. Ferroptosis in cancer: revealing the multifaceted functions of mitochondria[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2025, 82(1): 277-297.
- [11] Zhou Q, Meng Y, Li D, et al. Ferroptosis in cancer: from molecular mechanisms to therapeutic strategies[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 55-84.
- [12] Zhu WW, Liu Y, Yu Z, et al. SLC7A11-mediated cell death mechanism in cancer: a comparative study of disulfidoptosis and ferroptosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2025, 13: 1559423.
- [13] Chen H, Wang C, Liu Z, et al. Ferroptosis and its multifaceted role in cancer: mechanisms and therapeutic approach[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(8): 1504.
- [14] Cui K, Wang K, Huang Z. Ferroptosis and the tumor microenvironment[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 315-331.
- [15] Lee J, Roh JL. SLC7A11 as a gateway of metabolic perturbation and ferroptosis vulnerability in cancer[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(12): 2444.
- [16] 李瑞杰. 铁死亡的分子机制及其对膀胱癌的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2024, 49(2): 286-295.
- [17] Qiao Y, Su M, Zhao H, et al. Targeting FTO induces colorectal cancer ferroptotic cell death by decreasing SLC7A11/GPX4 expression[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2024, 43(1): 108-125.

(收稿日期:2026-01-07)

(基础医学栏目编辑:张明溪)

