

木蝴蝶苷 A 对肝细胞癌细胞侵袭增殖的抑制作用及机制^{*}

王大勇 匡晓睿 余志丹

(西藏大学附属阜康医院, 西藏 拉萨 850000)

【摘要】 目的 探讨木蝴蝶苷 A(OA)抑制肝细胞癌(HCC)细胞恶性行为的作用机制。**方法** 购入 HCC 细胞系 Hep3B、MHCC97-L, 设置 OA 梯度浓度(0、30、60、90、120 μ M 组), 通过 CCK-8 检测细胞活力确定 OA 对 HCC 细胞的半抑制浓度(IC₅₀), 随后采取 IC₅₀ 进行后续实验, 将细胞分为对照组(Control 组)与 OA 处理组(OA 组), 采取试剂盒检测铁死亡相关指标二价铁离子(Fe^{2+})含量、脂质活性氧(Lipid-ROS)含量、还原型谷胱甘肽(GSH)、活性氧脂质过氧化产物丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)活性, 使用 Tri-Carb[®] 液体闪烁分析仪检测胱氨酸摄取水平。在添加 OA 的 HCC 细胞中同时转染 pcDNA3.1-TXNDC5(OA+oe-TXNDC5 组), 以 pcDNA3.1-NC 为对照(OA+oe-NC 组)检测过表达硫氧还蛋白结构域蛋白 5(TXNDC5)对 OA 诱导 HCC 细胞铁死亡的影响。**结果** OA 呈一定浓度依赖抑制 HCC 细胞 MHCC97-L 与 Hep3B 活力, 对 Hep3B 半抑制浓度为 30 μ M。OA 处理 Hep3B 细胞使得 Fe^{2+} 含量显著上升, 抑制胱氨酸摄取, Lipid-ROS 含量显著增加, 升高 MDA 水平, 降低 GSH 含量、SOD 活性, 诱导 Hep3B 细胞铁死亡。过表达 TXNDC5 可部分逆转 OA 对细胞铁死亡的诱导作用。**结论** OA 通过下调 TXNDC5 诱导 HCC 细胞铁死亡由此抑制 HCC 细胞恶性行为。

【关键词】 肝细胞癌; 木蝴蝶苷 A; 增殖; 侵袭; 铁死亡; TXNDC5

【中图分类号】 R735.7; R446.6 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.07.007

Inhibitory effect of oroxin A on invasion and proliferation of hepatocellular carcinoma cells and its mechanism

WANG Dayong, KUANG Xiaorui, YU Zhidan

(Fukang Hospital Affiliated to Xizang University, Lhasa 850000, China)

【Abstract】 Objective The aim of this study was to investigate the mechanism of action of oroxin A in inhibiting the malignant behavior of hepatocellular carcinoma cells. **Methods** The hepatoma cell lines Hep3B and MHCC97-L were purchased. We set gradient concentration of oroxin A(0, 30, 60, 90, 120 μ M), and the semi-inhibitory concentration (IC₅₀) of oroxin A on hepatoma cells was determined by CCK-8 assay of cell viability. IC₅₀ concentration was subsequently taken for subsequent experiments. The cells were grouped as Control and OA. Kits were taken to detect iron death-related indexes Fe^{2+} content, lipid reactive oxygen species (Lipid-ROS) content, glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) activity, and cystine uptake levels using the Tri-Carb Liquid Scintillation Analyzer. We transfected pcDNA3.1-TXNDC5 into HCC cells induced by oroxin A (OA+oe-TXNDC5), with pcDNA3.1-NC as control (OA+oe-NC). The effect of overexpression of TXNDC5 on ferroptosis in HCC cells induced by oroxin A was examined. **Results** A concentration-dependent inhibition of hepatocellular carcinoma cell MHCC97-L and Hep3B viability was observed. The semi-inhibitory concentration of Hep3B was 30 μ M. Treatment of Hep3B cells with oroxin A resulted in a significant increase in Fe^{2+} content, inhibition of cystine uptake, significant increase in Lipid-ROS content and MDA level, decrease in GSH content and SOD activity, which mean a induction of ferroptosis in Hep3B cells. Overexpression of TXNDC5 partially reversed the induction of ferroptosis by Oroxin A. **Conclusion** Oroxin A induced ferroptosis in HCC cells by downregulating TXNDC5, thereby inhibiting the malignant behavior of hepatocellular carcinoma cells.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Oroxin A; Proliferation; Invasion; Ferroptosis; TXNDC5

基金项目: 西藏自治区科技计划项目(XZ201901-GB-111)

引用本文: 王大勇, 匡晓睿, 余志丹. 木蝴蝶苷 A 对肝细胞癌细胞侵袭增殖的抑制作用及机制 [J]. 西部医学, 2023, 35(7): 976-981. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2023.07.007

肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是常见的原发性肝癌,在全球范围内的发病率呈上升趋势^[1]。它是全世界癌症相关死亡的主要原因之一,尤其是在中国^[2]。由慢性乙型肝炎或丙型肝炎引起的肝硬化是主要的危险因素,并占 HCC 病例的大多数^[3]。最近的治疗策略包括局部消融、基于导管的局部区域治疗、治愈性切除、化疗、免疫检查点抑制剂,这取决于肿瘤的特征和 HCC 的不同阶段^[4]。尽管目前在该领域已经取得了一定成就,但是由于肿瘤的复发和转移、耐药性高的副作用,HCC 患者的预后仍然很差^[5]。因此,深入研究 HCC 的发生机制,发掘新的潜在靶点,对 HCC 的临床治疗具有重要意义。木蝴蝶苷 A(Oroxin A, OA)也称木蝴蝶苷 A-7-O-葡萄糖,是从传统中草药紫薇科木蝴蝶 *Oroxylum indicum* (L.) Kurz(原名: *Oroxylum flavum* Rehder; Bignoniaceae)分离出的活性类黄酮成分^[6]。木蝴蝶已经在中国、印度和其他东南亚国家安全使用了几个世纪^[7],被用来治疗咳嗽、咽炎、百日咳、支气管炎、癌症等疾病^[8]。铁死亡由氧化应激和脂质过氧化驱动,并以活性氧(ROS)积累为特征^[9],其关键因素是 Fe^{2+} 的积累和脂质过氧化,铁螯合剂和亲脂性抗氧化剂可以抑制这种情况^[10]。但国内外有关 OA 通过铁死亡抑制 HCC 细胞恶性行为的研究鲜有报道,本研究旨在探究 OA 对 HCC 细胞恶性行为的影响机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 人 HCC 细胞株(Hep3B、MHCC97-L)细胞均购自美国典型培养物保藏中心(ATCC, Manassas, VA, USA)。高糖 DMEM 和 10% FBS 购自 Gibco(Carlsbad, CA, USA)。硫氧还蛋白结构域蛋白 5(TXNDC5)过表达载体(pcDNA3.1-TXNDC5)和匹配的对照(pcDNA3.1-NC),均由 Ribobio Co., Ltd. (Guangzhou, China) 合成。Lipofectamine 2000 购自 Promega(Madison, WI, USA)。OA 购自 Selleck(Houston, USA)。Cell Counting Kit-8 购自 MedChem Express(Monmouth Junction, NJ, USA)。显微镜购自 Leica(DM4000B, Wetzlar, German)。transwell 室购自 Corning(NY, USA)。Matrigel 购自 Becton-Dickinson(Bedford, Massachusetts)。铁测定试剂盒购自 Abcam(Cambridge, MA, USA)。2',7'-二氯荧光素二乙酸酯购自(DCFH-DA, Sigma, St. Louis, MO, USA)。ACS Calibur 流式细胞仪购自 Beckman Coulter(CytoFLEX S, USA)。还原型谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒(BC1170),带有 WST-8 的总超氧化物歧化酶检测试剂盒(BC0175),脂质过氧化 MDA 检测试剂盒(BC0020)均购自 So-

larbio Life Science Co., Ltd (Guangzhou, China)。Trizol 试剂及逆转录试剂盒购自 Thermo Fisher, (Waltham, MA, USA)。SYBR Green qRT-PCR Mix 购自 Takara(Shiga, Japan)。含有 [^{14}C] 胱氨酸及 Tri-Carb® 液体闪烁分析仪(Model 4810TR)购自 PerkinElmer(Waltham, MA, USA)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人 HCC 细胞株(Hep3B、MHCC97-L)细胞均维持在高糖 DMEM 培养基中,并添加 10% FBS、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青霉素和 100 U/mL 链霉素,培养环境维持在 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 。

1.2.2 细胞转染及分组 将 Hep3B 细胞共分为以下 4 组:Control 组(正常培养的无任何处理 HCC 细胞系 Hep3B),OA+Hep3B 组(30 μM OA 添加至 Hep3B 细胞培养 72 h),OA+oe-TXNDC5 组(pcDNA3.1-TXNDC5 转染 Hep3B 细胞后添加 30 μM OA 培养 72 h),OA+oe-NC 组(pcDNA3.1-NC 转染 Hep3B 细胞后添加 30 μM OA 培养 72 h)。

1.2.3 CCK-8 检测细胞活力 将制备好的细胞悬液(10^5 个细胞,100 μL)按说明书加入 96 孔板,培养 24 h。加入待测物质后,再孵育 12 h。最后,将细胞加入 CCK-8 溶液,室温培养 4 h,在 450 nm 波长下检测光密度(OD)值。

1.2.4 集落形成试验 将细胞以 300 个细胞/孔的浓度接种在 6 孔板中,并孵育 2 周以形成集落。孵育后,用福尔马林固定细胞并用结晶紫溶液染色以观察斑块。在显微镜下计数细胞集落形成数并通过 ImageJ 软件进行分析。

1.2.5 细胞迁移、侵袭测定 细胞迁移测定在 24 孔 transwell 室中进行,该室包含 8 μm 孔径聚碳酸酯膜过滤器,预涂有 100 μg Matrigel 用于侵袭测定。将细胞接种在上室中并在不含 FBS 的 500 μL RPMI 1640 培养基中孵育,而将含有 10% FBS 的 500 μL 培养基置于下室中。将板在 5% CO_2 中孵育 24 h,37 $^{\circ}\text{C}$ 加湿培养箱。用棉签去除过滤器上侧的细胞。接下来,将下侧的细胞固定在 4% 甲醛中,并在室温下用 PBS 中的 1% 结晶紫染色 5 min。使用倒置显微镜对五个随机选择的视野进行计数。

1.2.6 二价铁离子(Fe^{2+})含量的测定 铁测定试剂盒用于测量 Fe^{2+} 含量。收集 HCC 细胞,将 5 μL 检测缓冲液和 100 μL 铁探针依次加入待测样品中,充分混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 检测。室温避光孵育 60 min,在 593 nm 处检测 OD 值。

1.2.7 脂质活性氧(Lipid reactive oxygen species, Lipid-ROS)水平 细胞内 Lipid-ROS 水平的变化是

通过测量细胞可渗透的 DCFH-DA 到荧光分光光度计的氧化转化实现^[11]。将细胞置于 6 cm 培养皿中 (1×10^6 个细胞/孔) 并使其附着过夜。随后, 用 D-Hank's 溶液洗涤细胞, 并在 37 °C 下用 DCFH-DA 孵育 20 min。然后通过 FACSCalibur 流式细胞仪在 488 nm 的激发波长和 535 nm 的发射波长下检测 20 000 个细胞的 DCF 荧光分布。

1.2.8 还原型谷胱甘肽 (GSH)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、活性氧脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 含量的测定 参照使用说明, 使用 GSH 检测试剂盒检测 GSH 含量, 使用带有 WST-8 的总 SOD 检测试剂盒测量 SOD 活性。使用脂质过氧化 MDA 检测试剂盒测量 MDA 含量。

1.2.9 qRT-PCR 检测 用 Trizol 试剂分离总 RNA。然后用 ThermoFisher 公司的逆转录试剂盒对总 RNA 进行逆转录。根据制造商的协议, 使用 SYBR Green qRT-PCR Mix 对 cDNA 进行 qRT-PCR。以 GAPDH 作为内参, 通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算其相对表达量^[12]。正向和反向引物显示如下: TXNDC5 (F: 5'-TCACTGAGGGAGTACGTGGA-3', R: 5'-AGCAGTGCAGTCTACTTCGG-3'); GAPDH (F: 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3', R: 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3')。

1.2.10 胱氨酸摄取试验 将细胞接种在 12 孔的培养皿中, 并在培养皿中孵育一夜。为了测量胱氨酸摄取, 将培养基替换为含有 [14 C] 胱氨酸 (0.04 μ Ci) 的新

鲜 DMEM (含 200 M 胱氨酸), 然后将板孵育指定的时间, 用冷 PBS 快速冲洗细胞两次, 终止摄取, 并在 0.1 mM NaOH 中溶解。在有淬灭曲线的情况下, 使用 Tri-Carb® 液体闪烁分析仪测量放射性 (DPM)。

1.3 统计学分析 所有数据均采用 SPSS 21.0 软件进行分析处理, 计量资料采用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间数据采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用 One-way analysis of variance 分析, 事后检验采用 Tukey's multiple comparisons test。细胞实验重复三次, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OA 抑制 HCC 细胞恶性行为 采取 CCK-8 法检测 OA 对 HCC 细胞生长的影响, 使用不同浓度的 OA 培养 HCC 细胞系 Hep3B、MHCC97-L 细胞。图 1A 显示, OA 以浓度依赖的方式有效抑制 HCC 细胞的增殖, 而 60 μ M 与 120 μ M OA 对 HCC 细胞活性的抑制效果无显著差异。并且 OA 对 Hep3B 细胞活力抑制效果优于 MHCC97-L 细胞。根据细胞活力曲线推算出的 OA 对 Hep3B 细胞 IC₅₀ (50% 抑制浓度) 值约为 30 μ M (图 1A, $P = 0.0008$), 因此选择 30 μ M OA 用于后续研究。Hep3B 细胞用 0 和 30 μ M OA 处理 72 h, OA 能够显著减少菌落数 (图 1B, $P < 0.0017$)。除此之外, transwell 实验结果说明 OA 还可抑制 Hep3B 细胞的迁移和侵袭能力 (图 1C, $P = 0.004$, $P = 0.005$), 以上结果表明 OA 抑制 HCC 细胞恶性行为。

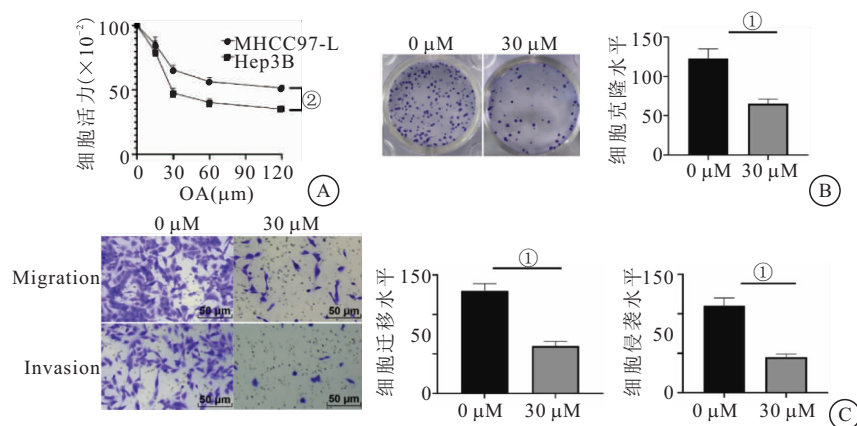


图 1 OA 抑制 HCC 细胞恶性行为

Figure 1 Inhibition of malignant behavior of hepatocellular carcinoma cells by oroxin A

注: A. CCK-8 法检测细胞活力; B. 菌落集成实验检测菌落数; C. transwell 实验检测细胞迁移、侵袭能力。细胞实验重复 3 次。两组比较, ① $P < 0.01$; ② $P < 0.001$ 。

2.2 OA 诱导 HCC 细胞铁死亡 铁死亡是一种铁依赖性的细胞死亡形式^[13]。通过试剂盒检测细胞中的铁含量, 结果显示, 与 Control 组 HCC 细胞相比, OA 组细胞铁含量显著上升 (图 2A, $P = 0.0015$)。为了确

定 Lipid-ROS 是否在 OA 的细胞死亡中起关键作用, 使用氧化敏感荧光探针 DCFH-DA 测量了细胞内 Lipid-ROS 水平, 荧光检测结果显示, OA 处理的细胞内 Lipid-ROS 水平显著上升, 高于 Control 组 HCC 细

胞(图 2B, $P=0.0032$),说明 OA 诱导 Hep3B 细胞发生氧化应激。随后采取试剂盒对细胞的 GSH、MDA、SOD 水平进行检测,结果显示 OA 升高细胞 MDA 水

平,降低 GSH 含量、SOD 活性(图 2C,均 $P<0.001$)。上述结果暗示铁死亡现象受到促进。以上现象有力表明 OA 有效诱导 HCC 细胞铁死亡。

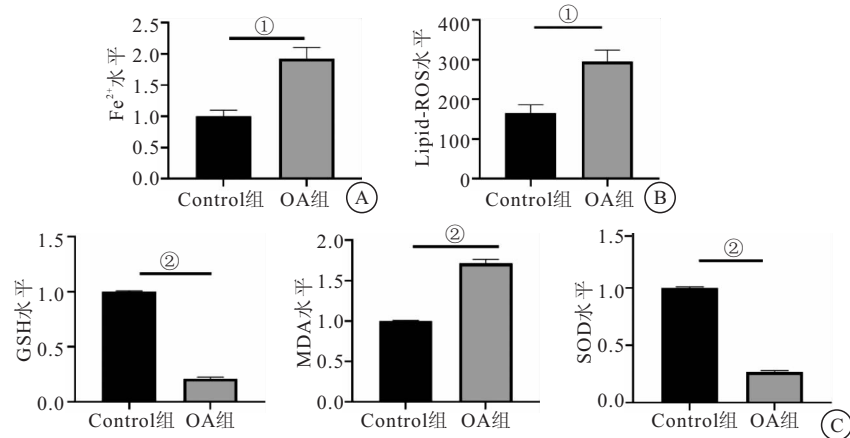


图 2 OA 诱导 HCC 细胞铁死亡

Figure 2 Ferroptosis was induced by oxorixin A in hepatocellular carcinoma cells

注:A:试剂盒检测铁含量;B:荧光探针 DCFH-DA 测量细胞内 Lipid-ROS 水平;C:试剂盒检测 GSH、MDA 含量、SOD 活性。细胞实验重复 3 次,两组比较,① $P<0.01$;② $P<0.001$ 。

2.3 过表达 TXNDC5 可部分逆转 OA 对细胞铁死亡的诱导作用 为了进一步探究 OA 在 HCC 细胞铁死亡中的分子作用机制,本研究留意到 TXNDC5 曾被报道在多种癌细胞中高表达^[14]。本研究通过 qRT-PCR 观察到添加 OA 的 HCC 细胞 TXNDC5 的表达水平被降低,而使用 pcDNA3.1-TXNDC5 转染并添加 30 μ M OA 的 HCC 细胞中 TXNDC5 表达显著升高(图 3A,均 $P=0.003$),表明转染成功。随后进一步

观察各处理组 HCC 细胞铁死亡相关指标的变化,结果显示,与 OA+pcDNA3.1-NC 组相比,在 HCC 细胞中过表达 TXNDC5 能够使得细胞中铁含量显著下降(图 3B, $P=0.007$),Lipid-ROS 含量显著下降(图 3C, $P=0.008$)。GSH 含量、SOD 活性显著上升,MDA 含量显著下降(图 3D,均 $P<0.001$)。以上结果说明,过表达 TXNDC5 可部分逆转 OA 对细胞铁死亡的诱导作用。

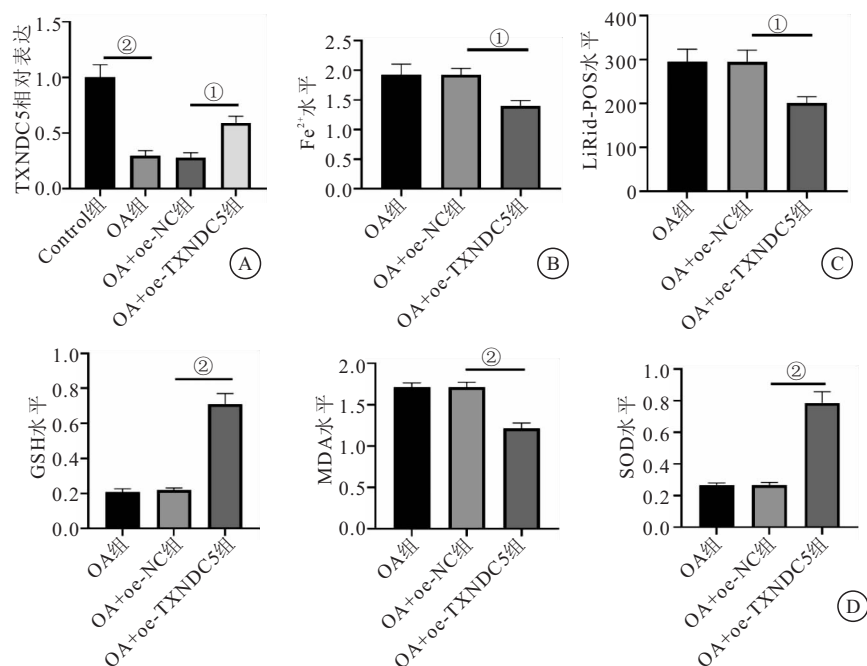


图 3 过表达 TXNDC5 可部分逆转 OA 对细胞铁死亡的诱导作用

Figure 3 Overexpression of TXNDC5 partially reversed the induction of ferroptosis in cells by oxorixin A

注:A:qRT-PCR 检测 TXNDC5 在不同处理组的表达;B:试剂盒检测铁含量;C:荧光探针 DCFH-DA 测量细胞内 Lipid-ROS 水平;D:试剂盒检测 GSH、MDA 含量、SOD 活性。细胞实验重复 3 次,两组比较,① $P<0.01$;② $P<0.001$ 。

2.4 OA 介导 TXNDC5 抑制胱氨酸摄取促进 HCC 细胞铁死亡 胱氨酸是谷胱甘肽生物合成的主要前体^[15]。与 GSH 变化一致,本研究观察到添加 OA 显著抑制 HCC 细胞胱氨酸摄取(图 4,均 $P < 0.001$),而过表达 TXNDC5 则部分逆转 HCC 细胞中 OA 对胱氨酸摄取的抑制作用(图 4,均 $P = 0.0029$)。这表明 OA 介导 TXNDC5 进而抑制胱氨酸摄取来促进 HCC 细胞铁死亡。

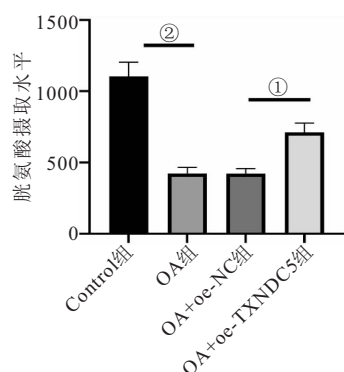


图 4 OA 介导 TXNDC5 抑制胱氨酸摄取促进 HCC 细胞铁死亡

Figure 4 Oroxin A promoted ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells by inhibiting cystine uptake mediating TXNDC5

注:在指定细胞中测量胱氨酸摄取水平(DPM;每分钟分解次数)。细胞实验重复 3 次,两组比较,① $P < 0.01$;② $P < 0.001$ 。

3 讨论

尽管近几十年来,人们在探索治疗 HCC 的方法方面做出了相当大的努力,但由于毒性和耐药性的存在^[16],临床上还缺乏治疗晚期和转移性 HCC 的有效药物^[17]。OA 作为一种黄酮苷,已被证明具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和免疫调节功能^[18]。一项毒性研究表明,小鼠对 OA 的最大耐受剂量超过 500 mg/kg^[19],表明 OA 毒性低且副作用少,因此 OA 被认为是一种良好的低毒性候选药物。在本研究中,OA 被证明对 HCC 细胞增殖、迁移和侵袭一系列恶性行为具有抑制作用。

迄今为止,铁死亡被认为是一种调节细胞死亡的形式^[20],其在 HCC 发生和免疫调节中显示功能性作用。最近的研究报道了铁死亡与抗肿瘤免疫之间的直接串联,肿瘤浸润淋巴细胞介导的铁死亡可以有效地提高免疫检查点抑制剂的疗效,癌细胞中的铁超载被认为是通过刺激 ROS 积累和增加癌细胞对铁死亡的敏感性来促进 HCC 治疗中免疫检查点的阻断^[21]。本研究显示 OA 处理的细胞内铁含量及 Lipid-ROS 水平显著上升,这意味着 HCC 细胞发生氧化应激;且 OA 提高 HCC 细胞 MDA 水平,降低 GSH 含量、SOD 活性,表明 HCC 细胞铁死亡被 OA 促进。

TXNDC5 是蛋白质二硫键异构酶(PDI)家族的

成员^[22],TXNDC5 被发现以来,被报道在多种疾病中异常表达,其中,癌症和类风湿性关节炎(RA)的研究最为广泛^[14]。本研究中,发现 OA 降低 TXNDC5 的表达而促进细胞铁死亡。Zang 等^[23]发现 TXNDC5 在 HCC 高表达,miR-1296-5p 通过靶向 TXNDC5 在 HCC 发挥促肿瘤作用;Lu 等^[24]验证 Circ_0078710 通过 miR-431-5p 上调 TXNDC5 促进 HCC 的发展。同样,Yu 等^[25]发现 TXNDC5 在 HCC 中高表达,并且 TXNDC5 过表达在 HCC 细胞的恶性行为中起催化作用。

4 结论

OA 抑制 HCC 细胞恶性行为,其机制通过上调 TXNDC5 促进 HCC 细胞铁死亡途径实现。表明 OA 抑制 HCC 进展有巨大潜力,为今后 HCC 的治疗提供了理论基础。

【参考文献】

- [1] 张游侠,严其康,陈玉然,等. MiRNA-34a 靶向 bcl-2 对肝癌细胞 HepG2 的生长和迁移能力的影响[J]. 西部医学,2022,34(11): 1613-1616,1623.
- [2] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, *et al.* Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [3] PETRUZZIELLO A. Epidemiology of hepatitis b virus (HBV) and hepatitis c virus (HCV) related hepatocellular carcinoma [J]. Open Virol J, 2018, 12: 26-32.
- [4] SERPER M, TADDEI T H, MEHTA R, *et al.* Association of provider specialty and multidisciplinary care with hepatocellular carcinoma treatment and mortality[J]. Gastroenterology, 2017, 152(8): 1954-1964.
- [5] RINGELHAN M, PFISTER D, OCONNOR T, *et al.* The immunology of hepatocellular carcinoma[J]. Nat Immunol, 2018, 19(3): 222-232.
- [6] PEI T, YAN M, LI T, *et al.* Characterization of UDP-glycosyltransferase family members reveals how major flavonoid glycoside accumulates in the roots of *Scutellaria baicalensis* [J]. BMC Genomics, 2022, 23(1): 169.
- [7] DINDA B, SILSARMA I, DINDA M, *et al.* Oroxylum indicum (L.) Kurz, an important Asian traditional medicine: From traditional uses to scientific data for its commercial exploitation[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 161: 255-278.
- [8] 茅一民. 中药活性成分木蝴蝶苷 a 抑制肺腺癌细胞增殖的机制研究[D]. 杭州:浙江大学,2016.
- [9] LI J, CAO F, YIN H L, *et al.* Ferroptosis: Past, present and future[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 88.
- [10] MOU Y, WANG J, WU J, *et al.* Ferroptosis, a new form of cell death: Opportunities and challenges in cancer[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 34.
- [11] CHEN Q, YU S, ZHANG K, *et al.* Exogenous H₂S inhibits autophagy in unilateral ureteral obstruction mouse renal tubule cells by regulating the ROS-AMPK signaling pathway[J]. Cell

- Physiol Biochem, 2018, 49(6): 2200-2213.
- [12] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [13] KOPPULA P, ZHANG Y, ZHUANG L, *et al.* Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer[J]. Cancer Commun (Lond), 2018, 38(1): 12.
- [14] WANG X, LI H, CHANG X. The role and mechanism of TXNDC5 in diseases[J]. Eur J Med Res, 2022, 27(1): 145.
- [15] LIM J C, DONALDSON P J. Focus on molecules: The cystine/glutamate exchanger (System x(c)(-)) [J]. Exp Eye Res, 2011, 92(3): 162-163.
- [16] 林智才, 陈燕丽, 苏小清, 等. Hsp90 抑制剂减弱肝癌耐药细胞株对索拉非尼诱导铁死亡的耐受性[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(21): 3862-3868.
- [17] CHENG C W, TSE E. Targeting PIN1 as a therapeutic approach for hepatocellular carcinoma[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 7: 369.
- [18] HE J, DU L, BAO M, *et al.* Oroxin a inhibits breast cancer cell growth by inducing robust endoplasmic reticulum stress and senescence[J]. Anticancer Drugs, 2016, 27(3): 204-215.
- [19] SUN W, SANG Y, ZHANG B, *et al.* Synergistic effects of acarbose and an Oroxylum indicum seed extract in streptozotocin and high-fat-diet induced prediabetic mice[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 87: 160-170.
- [20] 黄成丽, 林芳荣, 李根, 等. 青蒿素衍生物 dha/arts 诱导肾癌细胞系 786-0 发生铁死亡的机制[J]. 西部医学, 2022, 34(2): 178-184.
- [21] ALU A, HAN X, MA X, *et al.* The role of lysosome in regulated necrosis[J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(10): 1880-1903.
- [22] SULLIVAN D C, HUMINIECKI L, MOORE J W, *et al.* EndoPDI, a novel protein-disulfide isomerase-like protein that is preferentially expressed in endothelial cells acts as a stress survival factor[J]. J Biol Chem, 2003, 278(47): 47079-47088.
- [23] ZANG H, LI Y, ZHANG X, *et al.* Circ_0000517 Contributes to Hepatocellular Carcinoma Progression by Upregulating TXNDC5 via Sponging miR-1296-5p[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 3457-3468.
- [24] LU H, GAO L, LV J. Circ_0078710 promotes the development of liver cancer by upregulating TXNDC5 via miR-431-5p[J]. Ann Hepatol, 2022, 27(1): 100551.
- [25] YU J, YANG M, ZHOU B, *et al.* CircRNA-104718 acts as competing endogenous RNA and promotes hepatocellular carcinoma progression through microRNA-218-5p/TXNDC5 signaling pathway[J]. Clin Sci (Lond), 2019, 133(13): 1487-1503.
- (收稿日期: 2022-11-14; 修回日期: 2023-04-10; 编辑: 刘灵敏)

(上接第 975 页)

- [18] 许博闻, 何佳, 高文博, 等. 血管内皮细胞条件培养基对肝癌细胞上皮-间质转化的影响[J]. 生物医学工程学杂志, 2020, 37(3): 442-449.
- [19] LI Y, ZHANG X, ZHENG Q, *et al.* YAP1 inhibition in HUVECs is associated with released exosomes and increased hepatocarcinoma invasion and metastasis[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 21: 86-97.
- [20] YU A S, MCCARTHY K M, FRANCIS S A, *et al.* Knock-down of occludin expression leads to diverse phenotypic alterations in epithelial cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2005, 288(6): C1231-C1241.
- [21] ZHU H, LU J, WANG X, *et al.* Upregulated ZO-1 correlates with favorable survival of gastrointestinal stromal tumor[J]. Med Oncol, 2013, 30(3): 631.
- [22] YU H, HUANG X, MA Y, *et al.* Interleukin-8 regulates endothelial permeability by down-regulation of tight junction but not dependent on integrins induced focal adhesions[J]. Int J Biol Sci, 2013, 9(9): 966-979.
- [23] WROBLEWSKI L E, SHEN L, OGDEN S, *et al.* Helicobacter pylori dysregulation of gastric epithelial tight junctions by urease-mediated myosin II activation[J]. Gastroenterology, 2009, 136(1): 236-246.
- [24] BOVY N, BLOMME B, FRÈRES P, *et al.* Endothelial exosomes contribute to the antitumor response during breast cancer neoadjuvant chemotherapy via microRNA transfer[J]. Oncotarget, 2015, 6(12): 10253-10266.
- (收稿日期: 2022-07-13; 修回日期: 2023-06-12; 编辑: 刘灵敏)