

文章编号 1006-8147(2023)06-0575-07

论 著

Erastin 和 BIBR1532 联合应用对胃癌细胞增殖的影响

杨秋慧,郝名英,刘思琪,黄欣宇,耿鑫

(天津医科大学基础医学院生物化学与分子生物学系,天津 300070)

摘要 目的:探究 Erastin 和 BIBR1532(端粒酶抑制剂)联合应用对胃癌细胞增殖的影响。方法:使用 TIMER2.0、GEPIA2.0 数据库比较胃癌组织和相应的正常胃黏膜组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)基因的表达水平,并通过 GEPIA2.0 预测 GPX4 是否影响胃癌患者的生存和预后。利用 STRING 数据库构建 GPX4 蛋白相互作用网络。10、20 $\mu\text{mol/L}$ Erastin 干扰 GPX4 表达,通过 Western 印迹及 TRAP(端粒酶活性测定)实验检测 TERT 蛋白表达量以及端粒酶活性的变化。应用 CCK8 增殖实验、克隆形成实验检测细胞活力。结果:TIMER2.0 和 GEPIA2.0 数据库检索结果显示胃癌组织中的 GPX4 表达水平明显高于正常组织,高水平的 GPX4 与胃癌患者不良预后相关($P<0.05$)。STRING 蛋白相互作用网络分析显示,GPX4 蛋白相互作用网络包括 TERT、SLC7A11、PINX1、HSP90AA1、DKC1、SLC3A2、SMARCA4、PIF1、CTNNB1、WRAP53、SMG6、RUVBL1。10、20 $\mu\text{mol/L}$ Erastin 干扰 GPX4 蛋白表达后,TRAP 实验结果显示细胞端粒酶活性明显降低($t=34.29$ 、 14.28 ,均 $P<0.001$),Western 印迹结果显示 TERT 蛋白表达量明显降低($t=3.599$ 、 8.144 ,均 $P<0.05$)。CCK8 和克隆形成实验结果显示细胞生长增殖能力降低($t=8.662$ 、 27.88 ,均 $P<0.001$)。10 $\mu\text{mol/L}$ Erastin 与 75 $\mu\text{mol/L}$ BIBR1532 联合使用导致胃癌细胞端粒酶活性和 TERT 蛋白表达量进一步降低($t=9.931$ 、 4.918 ,均 $P<0.01$),导致细胞增殖能力降低更明显($t=4.157$ 、 25.46 ,均 $P<0.05$)。结论:GPX4 在胃癌组织中高表达,Erastin 和 BIBR1532 联合使用在干扰 GPX4 表达的同时,细胞内端粒酶活性和 TERT 蛋白表达量进一步降低,抑制胃癌细胞增殖。

关键词 GPX4;胃癌;铁死亡;端粒酶

中图分类号 R735.2

文献标志码 A

Effects of the combination of Erastin and BIBR1532 on the proliferation of gastric cancer cells

YANG Qiu-hui, HAO Ming-ying, LIU Si-qi, HUANG Xin-yu, GENG Xin

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To explore the effects of the combination of Erastin and BIBR1532(telomerase inhibitor) on the proliferation of gastric cancer cells. **Methods:** Relevant data from TIMER2.0 and GEPIA2.0 databases regarding glutathione peroxidase(GPX4)gene expression level in gastric cancer samples and corresponding normal gastric mucosal samples were analyzed. GEPIA 2.0 was used to predict whether GPX4 affects the survival and prognosis of gastric cancer(GC) patients. The GPX4 protein interaction network was constructed using STRING database. GPX4 expression was interfered with 10,20 $\mu\text{mol/L}$ Erastin,the changes of TERT protein expression and telomerase activity were detected by Western blotting and TRAP (telomerase activity assay) experiments. Cell viability was detected through CCK8 proliferation and clone formation experiments. **Results:** The results of TIMER2.0 and GEPIA2.0 databases showed that GPX4 expression level in GC tissues was significantly higher than that in normal tissues,and high GPX4 level was associated with poor prognosis in GC patients($P<0.05$). The analysis of STRING protein interaction network showed that GPX4 protein interaction network included TERT,SLC7A11,PINX1,HSP90AA1,DKC1,SLC3A2,SMARCA4,PIF1,CTNNB1,WRAP53,SMG6 and RUVBL1. The results of TRAP experiment showed that telomerase activity significantly decreased after GPX4 expression was interfered with 10,20 $\mu\text{mol/L}$ Erastin ($t=34.29$, 14.28 , both $P<0.001$). Western blotting results showed that TERT protein expression level was significantly decreased ($t=3.599$, 8.144 , both $P<0.05$).The results of CCK8 and clone formation experiments showed a decrease in cell growth and proliferation ($t=8.662$, 27.88 , both $P<0.001$).The combined treatment of 10 $\mu\text{mol/L}$ Erastin and 75 $\mu\text{mol/L}$ BIBR1532 reduced the telomerase activity and the expression of TERT protein in GC cells($t=9.931$, 4.918 , both $P<0.01$),resulting in a more significant decrease in cell proliferation ($t=4.157$, 25.46 , both $P<0.05$). **Conclusion:** GPX4 is highly expressed in GC tissues. The combination of Erastin and BIBR1532 further reduces intracellular telomerase activity and TERT protein expression after interfering with GPX4 expression, ultimately inhibiting the proliferation of GC cells.

Key words GPX4;gastric cancer;ferroptosis;telomerase

基金项目 天津市教委科研计划(2021ZD037)

作者简介 杨秋慧(1998-),女,硕士在读,研究方向:医学生物化学与分子生物学;通信作者:耿鑫,E-mail:gengx@tmu.edu.cn。

胃癌是常见的消化道恶性肿瘤之一, 在我国的发生率和致死率仍呈现上升趋势, 严重影响到国人的生命健康^[1-2]。手术切除是早期胃癌的主要治疗方式, 中期胃癌的治疗采用包括传统放化疗、靶向治疗和免疫治疗在内的综合治疗方法。靶向治疗联合化疗已成为晚期胃癌的一线治疗方案, 但胃癌靶向药物的选择相对有限^[3-4]。因此需要探索个性化治疗策略和更深层的分子机制来满足胃癌的治疗需求。

铁死亡是由氧化剂和抗氧化剂之间的氧化还原失衡引起的, 由产生自由基和脂质氧化产物的多种氧化还原酶的活性或表达异常驱动的一种细胞死亡形式^[5]。Erastin 可以诱导铁死亡并抑制肿瘤生长^[6]。铁死亡可通过外源性和内源性两种途径激活, 内在途径通过阻断细胞内抗氧化酶[如谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)]而被激活^[7]。GPX4 是一种在其活性位点具有硒代半胱氨酸的硒蛋白, 是铁死亡的关键调节因子^[8-9]。抑制 GPX4 会导致脂质过氧化, 并可诱导铁死亡, 从而抑制肿瘤细胞增殖^[10]。GPX4 功能的丧失导致耐药细胞发生铁死亡, 并防止小鼠肿瘤复发^[11]。由于 GPX4 在脂质过氧化过程中的关键作用, GPX4 已被确定为基于铁死亡的一个有希望的肿瘤治疗靶点^[12]。

端粒由 DNA 序列 TTAGGG/AATCCC 的串联重复序列组成, 位于真核生物线性染色体末端, 保护天然 DNA 末端不被识别为 DNA 损伤^[13]。端粒酶是一种特殊的核糖核蛋白逆转录酶, 可以维持端粒的长度和稳定性^[14]。端粒和端粒酶在各种肿瘤的异常细胞增殖、转移、干细胞维持和永生代中发挥重要作用。因此, 设计靶向端粒酶和端粒的药物具有重要意义^[15]。

本研究旨在探究 Erastin 和 BIBR1532(端粒酶抑制剂)联合应用对胃癌细胞增殖的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器 人胃腺癌细胞 BG823、DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(美国 Biological Industries 公司); SLC7A11 抗体(A2413, 武汉爱博泰克生物科技有限公司); GPX4 抗体(A1933, 武汉爱博泰克生物科技有限公司); hTERT 抗体(ab32020, 美国 abcam 公司); GAPDH 抗体(10494-1-AP, Proteintech); HRP 标记羊抗兔抗体(SA00001-2, Proteintech); HRP 标记羊抗鼠抗体(SA00001-1, Proteintech); BCA 蛋白定量试剂盒(PC0020, 北京索莱宝科技有限公司); 多聚甲醛固定液(E672002-0500, 上海生工生物); CCK8(C3007, 中国碧云天生物技术有限公司); PVDF 膜(EZWB05-ISEQ00010-1,

德国 Merck Millipore 公司); Erastin(571203-78-6)、BIBR1532(321674-73-1), 均购自美国 MCE 公司。CO₂ 恒温培养箱购自美国赛默飞公司; 酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 低温高速离心机购自德国 Eppendorf 公司; 垂直电泳系统购自美国 Biorad 公司; -80℃冰箱购自美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司; 超净工作台购自江苏通净净化设备有限公司; 纯水机购自德国 Merck Millipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 在 TIMER2.0 和 GEPIA2.0 数据库中分析 GPX4 在胃癌中的表达情况 TIMER2.0(<http://timer.cistrome.org/>)由 3 个主要部分组成: 免疫、探索和估计。免疫组件包含 4 个模块, 允许用户研究 TCGA 队列中估计的免疫浸润与基因表达、体细胞突变、体细胞拷贝数改变和临床结果之间的关联。探索组件有 4 个模块, 允许用户在 TCGA 中找到与肿瘤之间的关联^[16]。本文通过此数据库分析不同肿瘤类型中 GPX4 mRNA 表达情况, 在 Gene_DE 的选项中输入基因名 GPX4 并分析其在乳腺癌组织和正常乳腺组织中 mRNA 的表达情况。

GEPIA2.0(<http://gepia2.cancer-pku.cn/#index>)是基于 TCGA 和 GTEx 数据的基因表达谱交互式分析工具, 包括差异表达分析、图谱绘制、相关性分析、患者生存分析、相似基因检测和降维分析^[17]。本文在 GEPIA2.0 数据库中获得 GPX4 基因与正常组织的差异基因表达分析, 其中 $|\log_2FC| > 1$, $P < 0.01$ 。同时运用此数据库分析了 GPX4 mRNA 表达水平与胃癌患者预后的关系, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

1.2.2 细胞培养及传代 BG823 细胞用含有 10% FBS 的 DMEM 培养基培养, 培养基中含 1% 青-链霉素, 置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养, 待细胞融合至 90% 左右, 用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞并传代。

1.2.3 药物配置 10 mg Erastin 溶于 1.828 mL DM-SO 中, 配制为 10 mmol/L 储存液。10 mg BIBR1532 溶于 3.02 mL DMSO 中, 配制为 10 mmol/L 储存液。细胞培养液将其稀释为实验所需浓度。

1.2.3 Western 印迹实验 取对数生长期 BG823 接种于 6 孔板, 细胞贴壁后加药处理 48 h, 将 RIPA、磷酸蛋白酶抑制剂、蛋白酶抑制剂以 100:2:1 配置裂解液, 提取细胞总蛋白。使用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。配置 12% 的分离胶, 在 12% SDS-PAGE 凝胶上电泳分离等量的蛋白质提取物, 电泳后将蛋白转印到 PVDF 膜, 在封闭缓冲液中孵育 2 h, 随后加入特异性一抗(GAPDH 1:10 000, SLC7A11 1:1 000,

GPX4 1:1 000, TERT 1:1 000), 4℃孵育过夜, TBST 漂洗 3 次, 每次 10 min, 加入二抗(1:10 000)室温孵育 2 h, TBST 漂洗 3 次使用化学发光试剂进行检测。将目的蛋白与内参的灰度比值作为蛋白的相对表达丰度。

1.2.4 CCK-8 实验 取对数生长期 BG823 细胞接种于 96 孔板, 每组设立 6 个复孔, 细胞贴壁后加药处理 48 h, 药物处理结束后更换含 10%FBS 的 DMEM 培养基。连续检测 4 d 细胞增殖情况, 每天给细胞更换新鲜的培养基 100 μ L 并加入 10 μ L CCK-8 溶液, 数箱内避光孵育 1 h, 用酶标仪检测细胞在 450 nm 处的吸光值并绘制其生长曲线。

1.2.5 克隆形成实验 取对数生长期的 BG823 细胞接种于六孔板, 细胞贴壁后加药持续培养两周, 去除培养液, PBS 清洗, 4%的多聚甲醛固定, 然后加入结晶紫染液, 常温放置 10 min, PBS 清洗后拍照, 记录实验结果。

1.2.6 端粒酶活性检测实验 每个实验组 1×10^6 个细胞, PBS 洗涤后将细胞重新悬浮在 100 μ L CHAPS 裂解液中, 冰上裂解 40 min, 4℃, 16 000 \times g, 离心 40 min, 取 1 μ L 产物用于后续 PCR。PCR 产物在 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶(加入核酸染料)上分离, 通过 UVP 成像系统观察。荧光密度通过 Image J 定量分析。

1.3 统计学处理 GraphPad Prism 9.0 进行数据分析和作图。所有实验均已重复 3 次, 数据符合正态分布, 采用 *t* 检验进行差异分析, $P < 0.05$ 为差异具有统

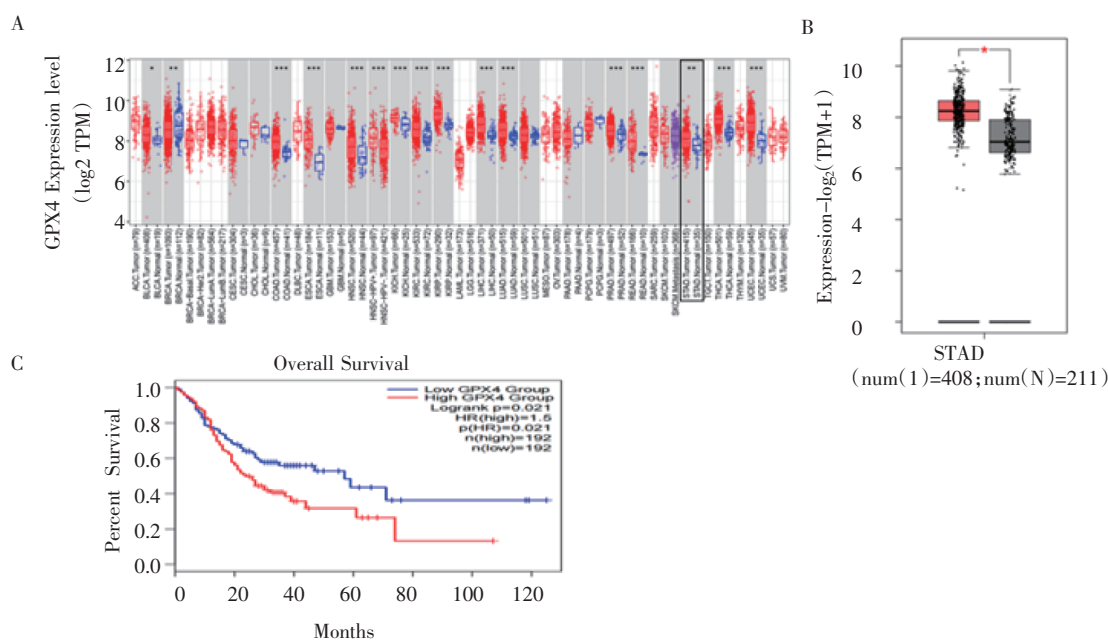
计学意义。

2 结果

2.1 GPX4 是胃癌的致癌基因 本研究在 TIMER2.0 数据库中比较 GPX4 mRNA 在胃癌组织($n=415$)和正常胃黏膜组织($n=35$)的差异表达, 结果显示 GPX4 在胃癌组织中的表达明显高于正常胃黏膜组织($P < 0.01$) (图 1A)。同时也通过 GEPIA2.0 数据库比较了胃癌组织和相应的正常胃黏膜组织中 GPX4 mRNA 的表达差异, 胃癌组织($n=408$)中 GPX4 mRNA 明显高于正常胃黏膜组织($n=211$) (图 1B)。GEPIA2.0 数据库分析结果表明 GPX4 高表达的胃癌患者生存时间缩短($HR=1.5, P=0.021$) (图 1C)。

2.2 GPX4 直接结合蛋白的预测分析 STRING 蛋白相互作用网络分析显示, GPX4 蛋白相互作用网络包括 TERT, SLC7A11, PINX1, HSP90AA1, DKC1, SLC3A2, SMARCA4, PIF1, CTNNB1, WRAP53, SMG6, RUVBL1 (图 2)。

2.3 Erastin 对 GPX4、端粒酶活性及 TERT 蛋白表达量的影响 Western 印迹实验结果显示, 与对照组相比, 10、20 μ mol/L Erastin 处理后 BG823 细胞内 SLC7A11、GPX4 蛋白表达量均明显降低($t=7.435, 6.832, 7.329, 7.117$, 均 $P < 0.01$), TERT 蛋白表达量也出现降低($t=3.599, 8.144$, 均 $P < 0.05$), 见图 3A。TRAP 实验结果显示, 与对照组相比, 10、20 μ mol/L Erastin 处理后细胞内端粒酶活性降低($t=34.29, 14.28$, 均 $P < 0.001$), 见图 3B。



注:A:TIMER2.0 数据库中分析 GPX4 mRNA 胃癌组织和正常胃黏膜组织中的表达情况(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$); B:GEPIA2.0 数据库中分析 GPX4 mRNA 胃癌组织和正常胃黏膜组织中的表达情况($\log_2 FC > 1, P < 0.01$); C:GEPIA2.0 数据库中 GPX4 mRNA 表达水平与总人群总生存期

图1 GPX4是胃癌的致癌基因

Fig 1 GPX4 is a oncogenic gene in GC

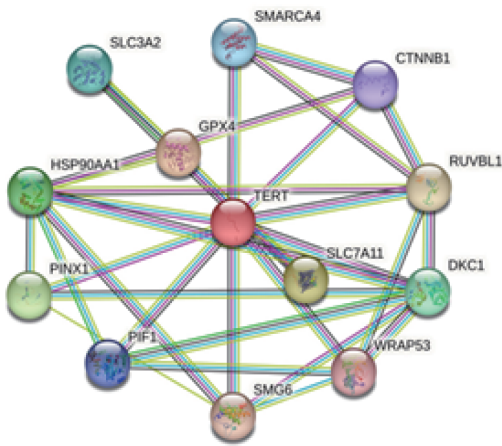
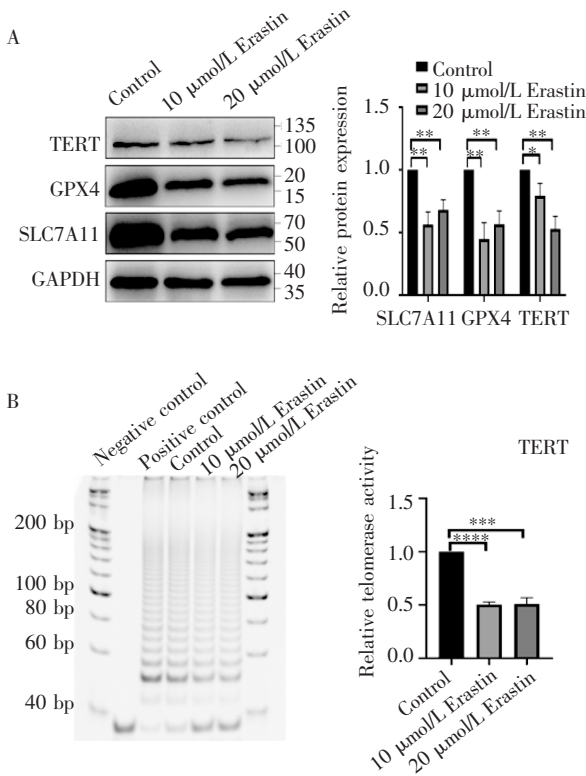


图2 STRING 数据库分析 GPX4 蛋白相互作用网络

Fig 2 The GPX4 protein interaction network was analyzed by STRING database



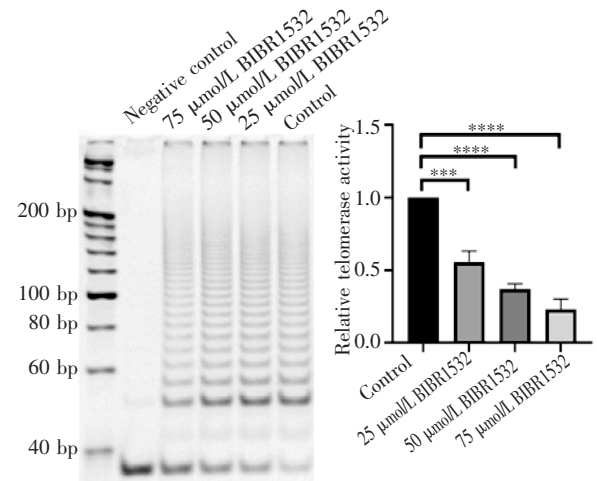
注:A:Western 印迹检测 Erastin 处理后 BG823 细胞内 SLC7A11、GPX4、TERT 的蛋白水平; B:TRAP 实验检测 Erastin 处理后 BG823 细胞内端粒酶活性; Control: 对照组; Erastin: 铁死亡诱导剂; SLC7A11: SLC 家族氨基酸转运蛋白; TERT: 端粒酶逆转录酶; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; **** $P<0.0001$

图3 Erastin 处理后细胞 GPX4、TERT 蛋白表达量及端粒酶活性的变化情况

Fig 3 GPX4, TERT protein expression and telomerase activity of cells after Erastin treatment

2.4 Erastin 及 BIBR1532 对端粒酶活性及 TERT 蛋白表达量的影响 TRAP 实验结果显示,与对照组相比,20、50、75 μmol/L BIBR1532 处理细胞 48 h 后

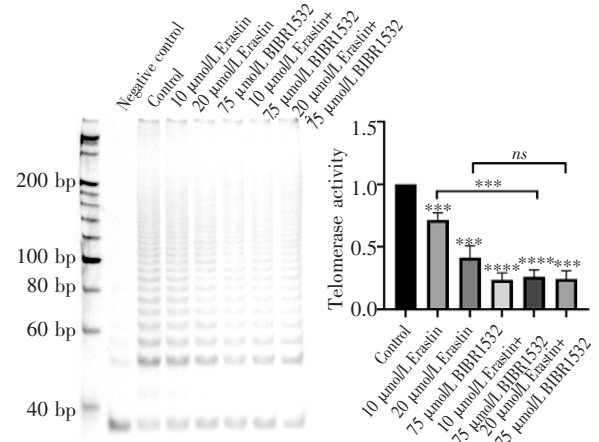
粒酶活性均降低($t=10.03$ 、 29.79 、 18.86 , 均 $P<0.001$), 见图 4, 其中 75 μmol/L BIBR1532 对端粒酶活性抑制能力最强, 75 μmol/L BIBR1532 与 10、20 μmol/L Erastin 联合使用后端粒酶活性降低更明显($t=9.931$, $P<0.001$; $t=2.543$, ns), 见图 5。Western 印迹结果显示, 与对照组相比, 10、20 μmol/L Erastin 及 75 μmol/L BIBR1532 处理后 TERT 蛋白表达量均降低($t=3.745$ 、 6.592 、 8.248 , 均 $P<0.05$), Erastin 和 BIBR1532 联合处理细胞后 TERT 蛋白表达量降低更明显($t=4.918$ 、 4.483 , 均 $P<0.05$), 见图 6。



注: BIBR1532: 端粒酶抑制剂; telomerase activity: 端粒酶活性; *** $P<0.001$; **** $P<0.0001$

图4 BIBR1532 处理后 BG823 细胞内端粒酶活性

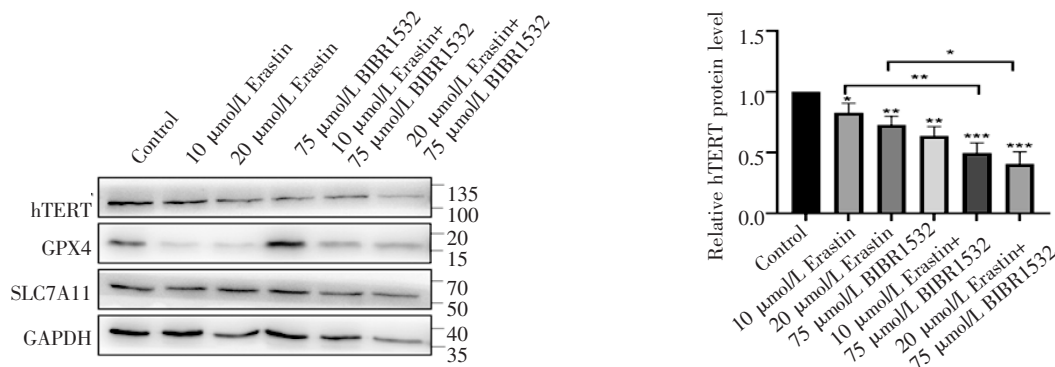
Fig 4 Telomerase activity of BG823 cells after BIBR1532 treatment



注: Erastin: 铁死亡诱导剂; BIBR1532: 端粒酶抑制剂; telomerase activity: 端粒酶活性; *** $P<0.001$; **** $P<0.0001$; ns: 无意义

图5 Erastin 和 BIBR1532 联合使用后 BG823 细胞内端粒酶活性

Fig 5 Telomerase activity of BG823 cells after Erastin and BIBR1532 treatment



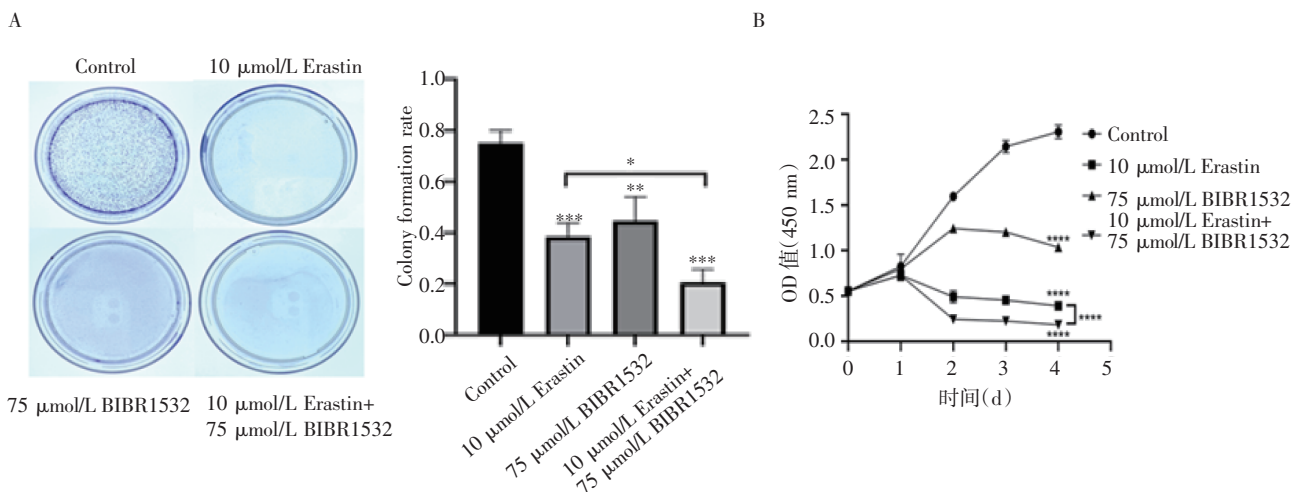
注: Erastin: 铁死亡诱导剂; BIBR1532: 端粒酶抑制剂; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

图6 Erastin 及 BIBR1532 处理后 BG823 细胞内 hTERT 蛋白表达情况

Fig 6 hTERT protein expression of BG823 cells after Erastin and BIBR1532 treatment

2.5 Erastin 与 BIBR1532 联合使用对细胞生长增殖能力的影响 克隆形成实验和 CCK8 实验结果显示, 与对照组相比, 10 $\mu\text{mol/L}$ Erastin 和 75 $\mu\text{mol/L}$ BIBR1532

处理后细胞生长增殖能力减弱($t=8.662, 4.943, 27.88, 18.95, P<0.01$)。两种药物联合使用后细胞增殖能力进一步减弱($t=4.157, 25.46, P<0.05$), 见图 7。



注: A: 克隆形成实验检测 Erastin、BIBR1532 处理后 BG823 细胞增殖情况; B: CCK8 实验检测 Erastin、BIBR1532 处理后 BG823 细胞增殖情况; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; **** $P<0.0001$

图7 Erastin 及 BIBR1532 处理后各组细胞生长增殖情况

Fig 7 Growth and proliferation of cells in each group after treatment with Erastin and BIBR1532

3 讨论

晚期胃癌患者可以明显受益于化疗, 包括阿霉素、铂类药物、5-氟尿嘧啶、长春新碱、紫杉醇以及靶向治疗药物。然而, 原发性耐药或获得性耐药最终会导致胃癌患者治疗失败和不良愈后^[18-20]。因此, 迫切需要开发有效的胃癌治疗方法。本研究证实 GPX4 在胃癌组织中高表达, 并与胃癌患者不良预后相关, 提示 GPX4 可能是胃癌的致癌基因。已有研究报道 GPX4 在肿瘤中的表达增加与肿瘤的发生和转移显著相关^[21]。弥漫性大 B 细胞淋巴瘤和肾细胞癌特别容易受到 GPX4 调节的铁死亡的影响。早期的研究发现耐药肿瘤细胞具有 GPX4 依赖性, GPX4 功能的丧失导致耐药细胞铁死亡^[11]。

铁死亡是一种铁依赖性的调节性细胞死亡, 由脂质过氧化物的积累引起, 抗氧化酶 GPX4 有助于清除毒性脂质过氧化物, 抑制 GPX4 可以促进铁死亡发生^[22]。氧化还原环境的改变使肿瘤细胞更容易发生铁死亡, 因此肿瘤细胞更容易依赖 GPX4^[23-24]。Erastin 是一种经典的铁死亡激动剂, 通过抑制系统 Xc- 的功能, 从而导致 GSH 耗竭和 GPX4 失活, 最终引起铁死亡^[25]。本研究证实了 Erastin 可以抑制胃癌细胞中 GPX4 表达, 诱导铁死亡发生, 使胃癌细胞增殖能力减弱。Erastin 诱导的铁死亡涉及一系列独特的形态学、生物化学和遗传特征, 与凋亡、坏死和自噬不同^[26]。研究报道抑制半胱氨酸的摄入和 GPX4 失活都会导致脂质过氧化物增多, 从而造成细胞死亡^[27]。另有研究

表明丹参酮ⅡA引发的胃癌细胞铁死亡为胃癌干预提供了新证据^[28]。诱导铁死亡可能有助于发现新的肿瘤治疗策略^[29]。

端粒是真核细胞染色体末端TTAGGG核苷酸的串联重复序列。它们能够保持染色体完整性和基因组稳定性^[13]。端粒缩短会导致细胞衰老或凋亡^[30-31]。由于染色体端粒缩短,绕过细胞凋亡的持续细胞分裂可能导致基因组不稳定和肿瘤发生^[32]。端粒酶是一种RNA依赖性DNA聚合酶,通过在染色体末端添加TTAGGG延长端粒^[33]。由于TERT基因催化亚基受到严格的转录抑制,故大多数正常人体细胞缺乏端粒酶活性。然而在高达90%的人类恶性肿瘤中观察到TERT表达和端粒酶激活,TERT由于在肿瘤发生过程中的关键作用以及在肿瘤细胞中的普遍特异性表达而成为理想的抗癌靶点^[15]。越来越多的证据表明TERT参与细胞氧化还原代谢的调节,但TERT和铁死亡之间的联系机制尚未可知。研究表明在小鼠肺上皮细胞中TERT通过SLC7A11调节铁死亡^[34]。STRING数据库预测结果显示GPX4可能与TERT存在相互作用。Erastin在抑制GPX4表达造成胃癌细胞铁死亡的过程中,会抑制端粒酶活性和TERT蛋白表达量,但其具体作用机制还有待探究。BIBR1532是一种非核苷酸小分子化合物,通过与TERT活性位点非竞争性结合选择性抑制端粒酶活性^[35]。临床前研究表明,BIBR1532在体内和体外均可促进肿瘤细胞生长停滞并增加细胞化学敏感性^[36-37]。本研究发现BIBR1532降低胃癌细胞端粒酶活性、TERT蛋白表达量以及胃癌细胞增殖能力。有研究表明BIBR1532会诱导乳腺癌细胞G2期阻滞,从而促进细胞凋亡^[36]。因此笔者认为端粒酶活性降低、TERT蛋白表达量下调可能降低了胃癌细胞增殖能力。与单独使用Erastin相比,Erastin和BIBR1532联合应用使得胃癌细胞端粒酶活性和表达量进一步降低,导致胃癌细胞生长增殖能力进一步降低。

综上所述,GPX4在胃癌组织中高表达,Erastin抑制胃癌细胞GPX4表达的同时会降低端粒酶活性和TERT蛋白表达量,导致细胞生长增殖能力减弱。联合使用Erastin和端粒酶抑制剂BIBR1532,会导致胃癌细胞端粒酶活性和TERT蛋白表达量进一步降低,细胞生长增殖进一步被抑制。

参考文献:

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [3] BOLLSCHEWEILER E, BERLTH F, BALTIN C, et al. Treatment of early gastric cancer in the western world[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(19):5672-5678.
- [4] WANG Y, ZHANG L, YANG Y, et al. Progress of gastric cancer surgery in the era of precision medicine[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(4):1041-1049.
- [5] TANG D, CHEN X, KANG R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. *Cell Res*, 2021, 31(2):107-125.
- [6] CHEN X, KANG R, KROEMER G, et al. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(5):280-296.
- [7] TANG D, KROEMER G. Ferroptosis[J]. *Curr Biol*, 2020, 30(21):R1292-R1297.
- [8] FRIEDMANN ANGELI J P, CONRAD M. Selenium and GPX4, a vital symbiosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 127:153-159.
- [9] FORCINA G C, DIXON S J. GPX4 at the crossroads of lipid homeostasis and ferroptosis[J]. *Proteomics*, 2019, 19(18):e1800311.
- [10] IMAI H, MATSUOKA M, KUMAGAI T, et al. Lipid peroxidation-dependent cell death regulated by GPX4 and ferroptosis[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2017, 403:143-170.
- [11] HANGAUER M J, VISWANATHAN V S, RYAN M J, et al. Drug-tolerant persister cancer cells are vulnerable to GPX4 inhibition[J]. *Nature*, 2017, 551(7679):247-250.
- [12] ZHANG W, JIANG B, LIU Y, et al. Bufotalin induces ferroptosis in non-small cell lung cancer cells by facilitating the ubiquitination and degradation of GPX4[J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 180:75-84.
- [13] CHEN L, ZHANG C, MA W, et al. METTL3-mediated m6A modification stabilizes TERRA and maintains telomere stability[J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(20):11619-11634.
- [14] YU Z, JIANG F, HU C, et al. Functionalized nanoprobe for in situ detection of telomerase[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2021, 57(31):3736-3748.
- [15] CHEN X, TANG W-J, SHI J B, et al. Therapeutic strategies for targeting telomerase in cancer[J]. *Med Res Rev*, 2020, 40(2):532-585.
- [16] LI T, FAN J, WANG B, et al. TIMER: a web server for comprehensive analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(21):e108-e110.
- [17] TANG Z, LI C, KANG B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1):W98-W102.
- [18] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, et al. Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2020, 396(10251):635-648.
- [19] ARAI H, NAKAJIMA T E. Recent developments of systemic chemotherapy for gastric cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(5):1100.
- [20] WEI L, SUN J, ZHANG N, et al. Noncoding RNAs in gastric cancer: implications for drug resistance[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):62.
- [21] WANG Y, ZHENG L, SHANG W, et al. Wnt/beta-catenin signaling confers ferroptosis resistance by targeting GPX4 in gastric cancer[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(11):2190-2202.
- [22] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4):266-282.
- [23] FRIEDMANN ANGELI J P, SCHNEIDER M, PRONETH B, et al.

- Inactivation of the ferroptosis regulator GPX4 triggers acute renal failure in mice[J]. Nat Cell Bio, 2014, 16(12): 1180–1191.
- [24] ZOU Y, PALTE M J, DEIK A A, et al. A GPX4-dependent cancer cell state underlies the clear-cell morphology and confers sensitivity to ferroptosis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1617.
- [25] SU Y, ZHAO B, ZHOU L, et al. Ferroptosis, a novel pharmacological mechanism of anti-cancer drugs[J]. Cancer Lett, 2020, 483: 127–136.
- [26] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149(5): 1060–1072.
- [27] ZHANG H, DENG T, LIU R, et al. CAF secreted miR-522 suppresses ferroptosis and promotes acquired chemo-resistance in gastric cancer[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 43.
- [28] GUAN Z, CHEN J, LI X, et al. Tanshinone IIA induces ferroptosis in gastric cancer cells through p53-mediated SLC7A11 down-regulation[J]. Biosci Rep, 2020, 40(8): BSR20201807.
- [29] LIANG C, ZHANG X, YANG M, et al. Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy[J]. Adv Mater, 2019, 31(51): e1904197.
- [30] DEMANELIS K, JASMINE F, CHEN L S, et al. Determinants of telomere length across human tissues[J]. Science(New York, NY), 2020, 369(6509): eaaz6876.
- [31] LIN J, EPEL E. Stress and telomere shortening: Insights from cellular mechanisms[J]. Ageing Res Rev, 2022, 73: 101507.
- [32] JÄGER K, MENSCH J, GRIMMIG M E, et al. A conserved long-distance telomeric silencing mechanism suppresses mTOR signaling in aging human fibroblasts[J]. Sci Adv, 2022, 8(33): eabk2814.
- [33] WANG Y, SUŠAC L, FEIGON J. Structural biology of telomerase[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2019, 11(12): a032383.
- [34] DONG H, XIA Y, JIN S, et al. Nrf2 attenuates ferroptosis-mediated IIR-ALI by modulating TERT and SLC7A11[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(11): 1027.
- [35] LIU B, HE Y, WANG Y, et al. Structure of active human telomerase with telomere shelterin protein TPP1[J]. Nature, 2022, 604(7906): 578–583.
- [36] PARSCHE D, BRASSAT U, BRÜMMENDORF T H, et al. Consequences of telomerase inhibition by BIBR1532 on proliferation and chemosensitivity of chondrosarcoma cell lines[J]. Cancer Invest, 2008, 26(6): 590–596.
- [37] LIU W, YIN Y, WANG J, et al. Kras mutations increase telomerase activity and targeting telomerase is a promising therapeutic strategy for Kras-mutant NSCLC[J]. Oncotarget, 2017, 8(1): 179–190.
- (2023-04-19 收稿)

·读者·作者·编者·

《天津医科大学学报》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号: 按 GB/T 3558.1–2009《统计学词汇及符号》的有关规定, 统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计: 应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究), 实验设计(应告知具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等), 临床试验设计(应告知属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等); 主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明, 尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述: 用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料, 用 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于 20, 要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选择合适的统计学分析方法, 不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的, 选用合适的统计学分析方法, 不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析; 对具有重复实验数据检验回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达: 应写明所用统计学方法的具体名称(如: 成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等), 统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等); 在用不等式表示 P 值的情况下, 一般情况下选用 $P>0.05$ 、 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 3 种表达方式, 无须再细分为 $P<0.001$ 或 $P<0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 应再给出 95% 可信区间。

本刊编辑部