



诱导三阴性乳腺癌发生铁死亡的化合物*

王鑫蝶^{1,2)} 丰大利¹⁾ 崔祥²⁾ 周素²⁾ 张鹏飞³⁾ 高志强³⁾ 邹黎黎^{2)**} 王君^{1,4)**}⁽¹⁾ 三峡大学附属第二人民医院&宜昌市第二人民医院, 湖北省老年胃肠癌精准防治临床医学研究中心&癌防办, 宜昌 443003;⁽²⁾ 三峡大学基础医学院, 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室&宜昌市感染与炎症损伤重点实验室, 宜昌 443002;⁽³⁾ 三峡大学附属夷陵医院&宜昌市夷陵人民医院内分泌科, 宜昌 443100;⁽⁴⁾ 三峡大学, 国家中医药管理局中药药理科研三级实验室, 宜昌 443002)

摘要 铁死亡是近十余年发现并定义的一种程序性细胞死亡方式, 主要由铁依赖的脂质过氧化诱导产生。研究表明, 铁死亡参与了免疫调控、生长发育与衰老以及肿瘤抑制等多种生理功能, 其在肿瘤生物学中的作用受到广泛关注。乳腺癌是最常见的女性肿瘤之一, 其异质性高且遗传背景复杂。其中三阴性乳腺癌是一种特殊类型的乳腺癌, 缺乏传统乳腺癌治疗靶点, 对现有化疗药物易产生耐药性, 进展转移后治愈率低, 急需寻找新型靶点或开发新药物。随着促进乳腺肿瘤铁死亡的相关研究增多, 铁死亡作为乳腺癌治疗策略受到关注。已有研究发现, 一些化合物和天然产物可诱导三阴性乳腺癌细胞铁死亡, 抑制肿瘤增殖, 并增强放疗敏感性, 改善化疗耐药。本文对诱导癌细胞发生铁死亡的化合物和天然产物及其作用机制进行归纳和综述, 旨在推动三阴性乳腺癌肿瘤铁死亡机制的研究, 并为设计开发用于三阴性乳腺癌治疗的先导化合物提供参考。

关键词 铁死亡, 三阴性乳腺癌, 先导化合物, 中草药提取物, 谷氨酸-胱氨酸反向转运体

中图分类号 R736.3, R966

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0344

CSTR: 32369.14.pibb.20240344

乳腺癌是女性最为常见的肿瘤之一, 严重威胁女性健康, 在2022年全球新发2 000万癌症病例中占比排名第二^[1]。在中国, 乳腺癌发病率也呈现明显的上升趋势。根据中国肿瘤登记中心数据, 每年约有30万新发乳腺癌病例被确诊, 2022年在女性中发病率仅次于肺癌, 为51/100 000^[2]。目前针对乳腺癌的治疗手段仍具有一定的局限性, 化疗耐药和高复发率的问题亟待解决^[3]。特别值得注意的是, 在各类乳腺癌分类中, 三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)因高侵袭性、高复发率、易转移等特点成为“乳腺癌之王”, 目前仍缺少规范有效的治疗方案。异质性、缺少明确靶点使得化疗仍是三阴性乳腺癌的首要治疗手段, 传统的内分泌治疗与现有的靶向治疗对大部分患者效果欠佳。因此寻找新的有效靶点、开发新型靶向治疗药物尤为重要。

铁死亡是一种新型的细胞死亡途径, 不同于其他的细胞死亡方式, 而是以铁过载的脂质过氧化及活性氧类(reactive oxygen species, ROS)生成为主要特征^[4]。近年来, 研究者对铁死亡在肿瘤中

的发生发展关注颇多^[5], 不同类型肿瘤如胰腺癌^[6]、肝癌^[7]、肾癌^[8]、乳腺癌细胞^[5]等均能被诱导发生铁死亡。除直接作用于肿瘤细胞外, 研究还发现, 铁死亡能显著提高放疗的敏感性, 并且铁死亡诱导剂与化疗药物联用还可有效逆转肿瘤细胞化疗耐药。

目前研究发现, 作为新的乳腺肿瘤治疗潜在靶点, 铁死亡的激活不仅能够抑制乳腺癌细胞增殖, 改善化疗耐药, 增强放疗敏感性及抑制癌细胞的转移。在乳腺癌各类亚型中, TNBC对铁死亡尤为敏感, 其谷氨酸盐(glutamate, Gln)高代谢这一特性为铁死亡的发生及发展提供了机会^[9]。随着对铁死亡研究的持续深入, 其机制不断被完善, 靶向药物与治疗方法也随之产生, 成为治疗肿瘤的新方

* 国家自然科学基金(81903105), 湖北省老年胃肠癌精准防治临床医学研究中心开放基金(2024EGC-07, 2024EGC-08)和三峡大学国家中医药管理局中药药理科研三级实验室2023年度开放基金(2023PTCM07)资助项目。

** 通讯联系人。

王君 Tel: 0717-6735890, E-mail: wangjfox@ctgu.edu.cn

邹黎黎 Tel: 0717-6397590, E-mail: zoulili@ctgu.edu.cn

收稿日期: 2024-07-26, 接受日期: 2024-11-05

向。因此,应用化合物诱导细胞发生铁死亡逐渐成为TNBC治疗的新型策略。本文首先介绍铁死亡的相关代谢途径,然后分类介绍诱导TNBC细胞发生铁死亡的相关化合物,探讨与总结其优势、临床转化及未来的挑战与发展方向,希望为TNBC药物开发与临床研究提供新的思路。

1 铁死亡的发生途径

调节性细胞死亡(regulated cell death, RCD)是生命过程中一类重要生理病理过程,迄今发现并命名的RCD包括凋亡、焦亡、程序性坏死、铁死亡等。相较于细胞意外死亡(accidental cell death),RCD是一类受到严格调控的细胞死亡方式^[10]。其中,铁死亡是Stockwell等于2008年发现,Dixon等于2012年命名的RCD新类型^[5]。与自噬、凋亡、坏死、焦亡和其他形式RCD不同,细胞发生铁死亡时,形态学上主要表现为线粒体体积缩小,膜密度增加,线粒体嵴减少或消失,细胞膜保持完整,细胞核形态大小正常,但染色质缺乏凝集^[11]。生化上,胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)耗竭、谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)活性降低、线粒体膜电位降低^[12]。铁死亡受多基因调控,且与细胞内铁稳态和脂类过氧化代谢密切相关^[13]。

目前发现两种方式可诱导细胞铁死亡,其一是通过System X_c⁻-胱氨酸-GPX4通路抑制GPX4的活性,其二是通过调控铁代谢,导致Fe³⁺积累和细胞内铁过载^[14]。二者最终诱导细胞脂质过氧化产生,从而使细胞发生铁死亡。

1.1 System X_c⁻-胱氨酸-GPX4通路

System X_c⁻是一种细胞表面氨基酸反向转运蛋白,由溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)重组蛋白与溶质载体家族3成员2(solute carrier family 3 member 2, SLC3A2)重组蛋白连接组成。它的作用是将胞内谷氨酸(glutamate, Glu)和胞外胱氨酸(cystine)进行交换^[15],参与GSH的合成。GPX4可清除细胞内的过氧化物,将胞内有毒的脂质氢过氧化物(lipid hydroperoxide, LOOH)还原为无毒的脂质醇(左旋羟基)^[16-17],抑制细胞铁死亡,并维持膜脂质双层的稳态^[18],GSH可辅助GPX4催化过氧化物。

核转录因子红系2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是一种转录因

子,在正常情况下与Kelch样ECH关联蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)结合,而Keap1作为一种传感器,能够感知到细胞内的氧化应激水平^[19-20]。当细胞遭受氧化损伤时,Keap1对Nrf2的抑制作用减弱,允许Nrf2从细胞质转移到细胞核,激活下游抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)的基因表达,包括血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1),HO-1参与分解血红素为胆绿素、二氧化碳和铁离子。通过促进血红素的分解,HO-1不仅可以减少细胞内自由基的产生,减轻氧化应激,还可通过调节细胞内的铁水平来影响铁死亡的过程^[21-22]。此外,p53可以下调SLC7A11的表达,从而减少细胞内胱氨酸的摄取,降低GSH水平,促进铁死亡^[23-24]。

硒半胱氨酸作为GPX4的关键活性成分,其插入依赖于硒半胱氨酸tRNA的成熟。此过程需要异戊烯焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate, IPP)的参与^[25-26]。甲羟戊酸(mevalonate, MVA)途径中的关键酶3-羟基3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)催化羟甲基戊二酰辅酶A(hydroxy methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA)转化为甲羟戊酸,进而生成IPP和二甲基丙烯焦磷酸(dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP),参与辅酶Q10等生物分子的生成^[27]。

通过下调System X_c⁻或靶向p53下调SLC7A11的表达,降低GSH水平,通过抑制GPX4活性或表达,降低其清除脂质过氧化物的能力^[28-31],或通过抑制Nrf2,阻止Nrf2从细胞质转移到细胞核,减少抗氧化基因(如HO-1)的表达,引起氧化应激和铁积累,均可增加脂质过氧化物的积累,导致铁死亡发生。与此同时,抑制MVA途径中的HMGCR,减少IPP的生成,影响硒半胱氨酸tRNA的成熟,降低GPX4的活性,也可导致脂质过氧化物的积累,ROS升高,从而诱发铁死亡^[11]。例如,糖原合成酶激酶3β(glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β)是一种广泛表达的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可通过调节Nrf2来破坏细胞的抗氧化防御。有研究表明,GSK-3β在TNBC细胞系MDA-MB-231与MDA-MB-468中低表达,而Nrf2在低GSK-3β表达的乳腺癌组织中高表达。沉默GSK-3β可通过上调GPX4和下调花生四烯酸15脂氧合酶(arachidonic acid 15-lipoxygenase, Alox15)减少

ROS和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的产生, 阻断Erastin诱导的铁死亡。GSK-3 β 的过表达则增强了Erastin触发的铁死亡, 增加了ROS和MDA的产生, 并抑制了体内乳腺癌异种移植模型中Erastin诱导的肿瘤生长^[32]。调节GSK-3 β /NRF2之间的平衡是一种很有前途的治疗方法, 并且可能是增强Erastin诱导的乳腺癌铁死亡效果的重要靶点。

1.2 铁代谢

铁代谢通路在铁死亡过程中起着关键作用, 通过调控铁的摄取、储存、释放和利用, 影响细胞内脂质过氧化物的积累。转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)负责结合和内吞转铁蛋白(transferrin)-铁复合物, 可将Fe³⁺从胞外转运至细胞核内, 完成铁的摄取, 并在金属还原酶前列腺六跨膜上皮抗原3(six transmembrane epithelial antigen of the prostate 3, STEAP3)的作用下, 将Fe³⁺还原为Fe²⁺; 二价金属离子转运蛋白1(divalent metal transporter 1, DMT1)是一种质子依赖性金属离子转运体, 可介导Fe²⁺从核内释放到细胞质中的不稳定铁池中^[33]; 铁蛋白(Ferritin)

是一种铁储存蛋白, 可以结合和储存铁, 在铁缺乏的情况下, Ferritin可通过自噬途径被降解, 进行铁的释放。多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)可维持细胞膜流动性^[34], 脂氧合酶(lipoxygenase, LOXs)是一种铁依赖的酶, 能加速PUFAs氧化, 致大量PUFAs积累^[35], Fe²⁺则能使PUFAs氧化成羟基, 从而引起大量的PUFAs氧化, 诱导细胞发生铁死亡^[36]。

通过调控铁代谢通路, 如靶向TfR、STEAP3、DMT1或调节铁蛋白的表达, 增加细胞内铁的摄取和释放, 促进多PUFAs的氧化, 均可导致细胞发生铁死亡。例如, Holo-lactoferrin (Holo-Lf)作为一种天然铁饱和乳铁蛋白, 具有优越的抗癌性能, 可作为TfR的潜在配体^[37]。Holo-Lf作用于TNBC细胞系MDA-MB-231, 可积累致命的ROS和脂质过氧化终产物MDA, 铁蛋白和转铁蛋白表达增加, 导致胞内总铁含量增加, 诱发铁死亡。此外, Holo-Lf还可增强TNBC对放疗的敏感性, 促进辐射诱导的DNA损伤, 对肿瘤起抑制作用^[38](图1)。

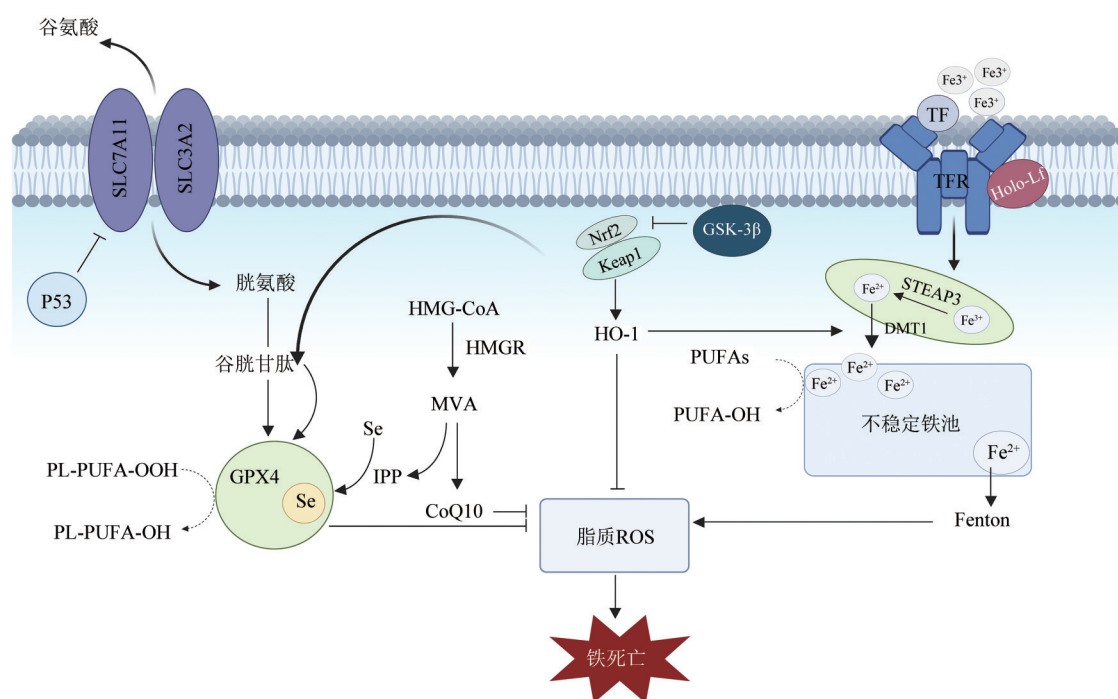


Fig. 1 Schematic diagram of the mechanism of ferroptosis

图1 铁死亡发生机制示意图

System X_c⁻: 谷氨酸-胱氨酸反向转运体; HMGR: 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase); CoQ10: 还原型辅酶Q10; PUFA-OH: 多不饱和脂肪酸羟基化物 (polyunsaturated fatty acid hydroperoxide); PL-PUFA-OOH: 磷脂多不饱和脂肪酸过氧化氢酯 (phospholipid polyunsaturated fatty acid hydroperoxides); PL-PUFA-OH: 磷脂多不饱和脂肪酸羟基化物 (phospholipid polyunsaturated fatty acid hydroperoxides); Holo-Lf: 天然铁饱和乳铁蛋白 (Holo-lactoferrin)。

2 铁死亡与乳腺癌

乳腺癌是一种源于乳腺上皮的恶性肿瘤, 是全球女性中最常见的癌症之一^[39]。作为一种高度异质性的肿瘤, 需要个体化的综合治疗。乳腺癌的治疗包括手术、放疗、内分泌治疗、化疗、靶向治疗等。目前许多病人对化疗、放疗、手术等传统治疗手段有一定的耐受性, 治疗效果并不理想, 因此必须寻求新的治疗靶点和方式。近年来研究表明, 铁死亡的激活可以抑制多种肿瘤细胞的生长和浸润^[6-8], 故而诱导乳腺癌细胞铁死亡可能成为一种新型治疗方法。

谷氨酰胺代谢能为细胞增殖提供必需的核酸、GSH 和氨基酸, 是肿瘤细胞的重要营养物质。TNBC 的特征是谷氨酰胺酶高表达, 从而使 Gln 代谢增高^[40], 而铁死亡 System X_c⁻-胱氨酸-GPX4 途径的代谢基础为其在 TNBC 的发生发展提供了机会。

2.1 诱导TNBC细胞发生铁死亡的单体化合物

2.1.1 柳氮磺胺吡啶

美国食品和药物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准的柳氮磺胺吡啶 (sulfasalazine, SAS) (图 2) 不仅可治疗克罗恩病, 还可抑制 System X_c⁻诱发的肿瘤细胞的铁死

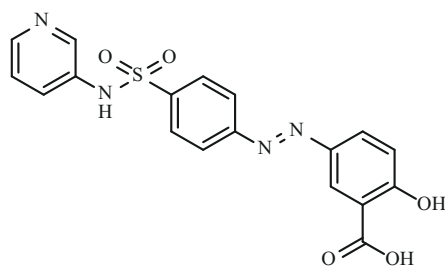


Fig. 2 Chemical structure of sulfasalazine

图2 柳氮磺胺吡啶化学结构式

亡^[41]。研究发现, SAS 通过降低 GSH 水平显著减弱 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 的氧化应激抗性, 导致明显的铁死亡, 充足的二价铁供应对 SAS 诱导的铁死亡有着关键作用^[42], TNBC 高表达转铁蛋白的特性^[43], 使得铁代谢成为 SAS 诱导 TNBC 发生铁死亡的另一途径。此外, SAS 通过减少原发肿瘤中的总 GSH 来抑制肿瘤生长和转移进展, 发挥对 TNBC 高抗癌活性, 且体内无明显肝损伤^[44]。该研究首次提出 TNBC 细胞已经发展出由 SLC7A11 介导的强大的 ROS 防御系统的观点, 为 TNBC 的治疗提供了新思路。

2.1.2 二甲双胍

作为临床治疗 2 型糖尿病的一线药物, 二甲双胍 (metformin) (图 3) 具有多种生物学效应, 其中抗癌、免疫调节等功能一直受到研究者的重视^[45]。研究发现, 二甲双胍通过靶向 miR-324-3p/GPX4 轴, 使 miR-324-3p 直接与 GPX4 的 3' 非翻译区 (3'-UTR) 结合, 降低 GPX4 含量, 介导 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 铁死亡, 发挥抗癌作用^[46]。此外, 二甲双胍与 SAS 可发挥协同作用, 抑制 TNBC 细胞的增殖^[47]。

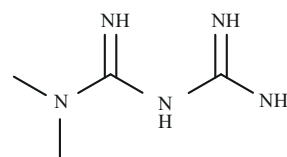


Fig. 3 Chemical structure of metformin

图3 二甲双胍化学结构式

2.1.3 西拉美辛和拉帕替尼

西拉美辛 (Siramesine) (图 4) 是一种溶酶体破坏剂, 已有研究证明其可诱导包括乳腺癌在内的

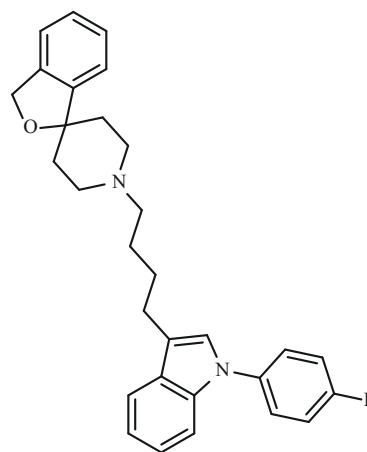


Fig. 4 Chemical structure of Siramesine

图4 西拉美辛化学结构式

多种癌细胞发生铁死亡; 拉帕替尼 (Lapatinib) (图 5) ——ErbB1 和 ErbB2 的酪氨酸激酶抑制剂, 可用于治疗 ErbB2 过表达的乳腺癌及其他癌症^[48]。研究发现, 西拉美辛和拉帕替尼联合使用, 可上调 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 细胞中转铁蛋白的表达, 增强铁的摄取, 同时下调铁蛋白的表达, 减少铁的排出, 从而使细胞内铁离子浓度显著增加, 引发芬顿反应, 产生大量 ROS, 导致细胞脂质过氧

化,最终诱导TNBC细胞的铁死亡^[49]。

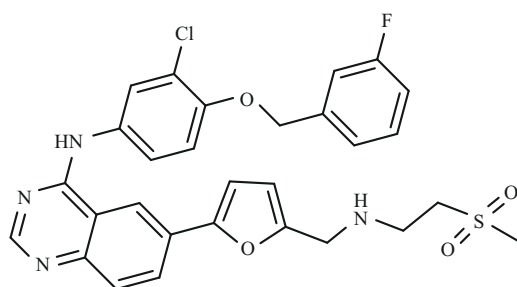


Fig. 5 Chemical structure of Lapatinib

图5 拉帕替尼化学结构式

2.1.4 辛伐他汀

辛伐他汀 (Simvastatin, SIM) (图6) 是一种小分子降胆固醇药物, 目前已有研究证明其可抑制肿瘤细胞生长^[50]。SIM通过抑制HMGCR的表达, 下调MVA途径, 减少IPP的生成, 进而影响硒半

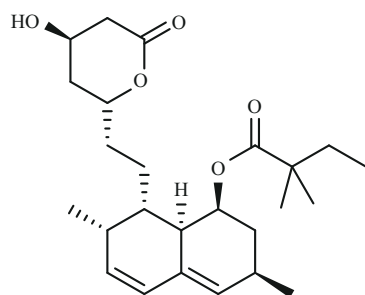


Fig. 6 Chemical structure of Simvastatin

图6 辛伐他汀化学结构式

胱氨酸tRNA的成熟和GPX4的活性, 最终导致细胞内GPX4水平下降, 脂质过氧化物积累, ROS升高, 从而诱导乳腺癌细胞铁死亡。另外将SIM装载到磁性纳米颗粒包覆的两性离子聚合物PCBMA中, 增加了铁死亡纳米药物($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PCBMA}$)的水溶性, 对TNBC细胞系MDA-MB-231表现出比非TNBC细胞系MCF-7更多的细胞毒性, 表明他汀类药物可以有效杀死TNBC。目前, Fe_3O_4 已被美国FDA证明可用于临床应用, 开发的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PCBMA}$ -SIM纳米系统在临床上对治疗TNBC具有巨大潜力^[51]。

2.1.5 DMOCPTL

DMOCPTL (dimethyl oxalyl chloride parthenolide) (图7) 是小白菊内脂 (parthenolide, PTL) 的衍生物, 有优于PTL的抗TNBC效果, 具有更好的水溶性与口服生物利用度^[52]。

DMOCPTL可以通过GPX4的泛素化诱导TNBC细胞的铁死亡和早期生长反应蛋白1 (early growth response 1, EGR1) 介导的细胞凋亡, 体内实验未观察到明显的DMOCPTL药物毒性, 并延长了小鼠的生存时间^[53]。DMOCPTL作为有前途的新型抗TNBC先导化合物值得进一步研究。

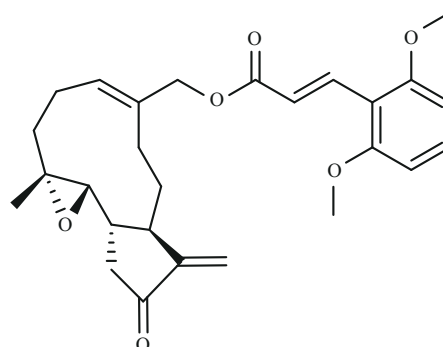


Fig. 7 Chemical structure of DMOCPTL

图7 DMOCPTL化学结构式

2.1.6 (+)-JQ1

(+)-JQ1 (图8) 是一种噻吩二氮卓类小分子抑制剂, 可竞争性抑制溴代多糖与乙酰化组蛋白的

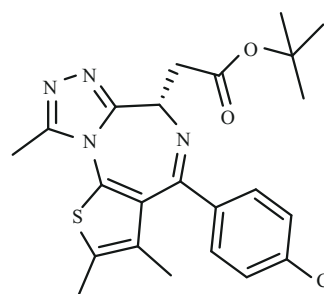


Fig. 8 Chemical structure of (+)-JQ1

图8 (+)-JQ1化学结构式

结合, 抑制BRD4的活性^[54]。BRD4蛋白属于溴代结构域和末端外结构域蛋白质家族, 在TNBC中显著富集。研究表明, (+)-JQ1能增强自噬并增加铁水平, 随后通过Fenton反应增加ROS水平, 导致TNBC细胞发生铁死亡^[55]。

2.1.7 Compound 4

研究者在开发药物的过程中, 发现了类药物的分子抗癌剂——Compound 4 (图9)。Compound 4对人乳腺癌干细胞具有选择性毒性, 人类乳腺癌细胞系和转移性小鼠乳腺癌细胞系4T1均对该化合物敏感。Compound 4是I型抑制剂, 在间充质癌症干

细胞 (concer stem cell, CSC) 中, compound 4 可以通过直接与 X_c^- 的转运蛋白结合, 阻断胱氨酸的摄取, 诱导铁死亡, 且 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 拥有与间充质 CSC 一致的对铁死亡的敏感性^[56]。目前, 新型化合物的研究正在深入, 以确定这些前景良好的类药物小分子抗 TNBC 的特定分子靶点。

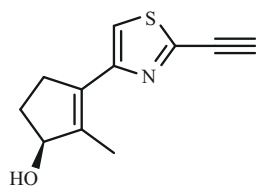


Fig. 9 Chemical structure of Compound 4

图9 Compound 4化学结构式

各类化合物通过不同靶点及通路诱导 TNBC 相关细胞发生铁死亡, 其中二甲双胍与 SAS、西拉美辛与拉帕替尼均可协同发挥更大杀伤肿瘤作用, 大部分化合物诱导乳腺癌细胞发生铁死亡的作用靶点较为明确。(药物汇总见表1)

2.2 诱导TNBC细胞发生铁死亡的中草药提取物

中药用于疾病防治已有几千年历史, 具有多组分、多靶点和多作用的特点, 其来源广泛、毒副作用小, 至今未发现明显耐药性。在防治肿瘤方面, 中药的介入不仅能够扶正的同时减轻毒性, 延长患者无进展生存期及总生存期, 并且无明显不良反应, 经济效优, 具有良好广阔的应用前景。

2.2.1 18-β-甘草次酸

18-β-甘草次酸 (18-β-glycyrrhetic acid, GA) (图10), 即甘草中的一种活性化合物, 在不同的实验系统中以不同的机制发挥广泛的抗癌生物活性, 包括肝癌^[57]、直肠癌^[58]等。在经 GA 处理后的 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 中, NADPH 氧化酶和诱生型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的表达和活性上调, ROS/活性氮类 (reactive nitrogen species, RNS) 的产生增加, SLC7A11 的表达下调, GSH 水平降低, GPX 活性被抑制, 最终诱导铁死亡发生^[59], 而铁离子螯合剂去铁胺 (deferoxamine, DFO) 和铁死亡抑制剂 Fer-1 可消除 GA 的作用。综上所述, GA 可通过激活还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶和 iNOS 促进 ROS 和 RNS 的产生,

降低 GSH 和 GPX 活性, 从而加剧脂质过氧化并触发 TNBC 细胞的铁死亡。

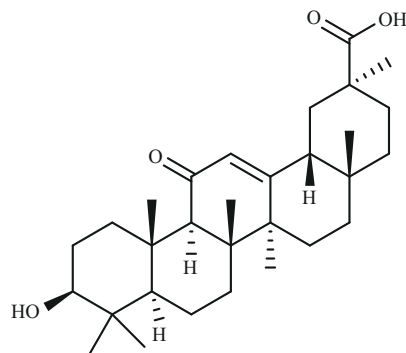


Fig. 10 Chemical structure of 18-β-glycyrrhetic acid

图10 18-β-甘草次酸化学结构式

2.2.2 舒肝宁注射液

舒肝宁注射液 (Shuganning injection, SGNI) 是根据 1800 年前张仲景主编的《伤寒论》中记载的经典方剂茵陈蒿汤重新配制而成, 由多种草药提取物组成, 包括灵芝、板蓝根、栀子、青蒿和黄酮苷黄芩苷。Wang 等^[60]研究发现, SGNI 可以通过诱导细胞氧化应激, 并以 HO-1 依赖性方式促进细胞内不稳定铁池 (labile iron pool, LIP) 的积累导致细胞铁死亡, 选择性地抑制 TNBC 细胞的增殖。中药注射剂是一种独特的剂型, 不良反应远高于常规注射剂, 但 SGNI 作为中药注射剂, 已在临床上应用多年, 总体安全性已经得到证明^[61]。

2.2.3 姜黄素

姜黄素 (curcumin, CUR) (图11) 属于多酚类物质的一个化学类别, 除了对炎症、代谢综合

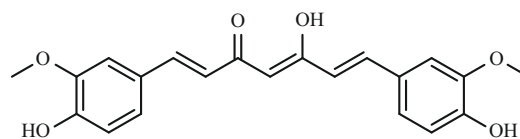


Fig. 11 Chemical structure of curcumin

图11 姜黄素化学结构式

征、肝病、肥胖症、神经退行性疾病等慢性疾病具有良好的治疗效果外, 还可以在多种癌症中抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡^[62]。Cao 等^[63]研究表明, 姜黄素通过增加脂质 ROS 水平、脂质过氧化终产物 MDA 积聚和细胞内 Fe^{2+} 水平, 促进溶质载体家族 1 成员 5 (solute carrier family 1 member 5, SLC1A5) 介导的 TNBC 细胞系 MDA-MB-453 和非 TNBC 细胞

系 MCF-7 铁死亡。此外, 姜黄素还可以通过上调 HO-1 水平促进 TNBC 细胞发生铁死亡^[64]。

2.2.4 二氢异丹参酮I

二氢异丹参酮 I (dihydroisotanshinone I, DT) (图 12) 是丹参中的一种纯化合物, 可通过凋亡或铁死亡等作用方式使前列腺癌^[65]、肺癌^[66-67]、头颈部鳞状细胞癌^[68]以及结肠癌^[69]细胞生长受到抑制。DT 可通过抑制 GPX4 的蛋白质表达, 促进脂质过氧化诱导铁死亡, 抑制包括 TNBC 细胞系 MDA-MB-453 和非 TNBC 细胞系 MCF-7 的增殖^[70], 表明 DT 是未来乳腺癌治疗的新型候选药物之一。

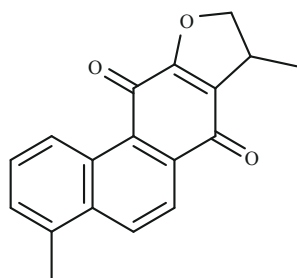


Fig. 12 Chemical structure of dihydroisotanshinone I

图12 二氢异丹参酮I化学结构式

2.2.5 隐丹参酮

隐丹参酮 (cryptotanshinone, CTS) (图 13) 是一种醌类化合物, 已被广泛证明具有显著的抗肿瘤活性。CTS 对同系原位 TNBC 模型小鼠的肿瘤生长具有良好的抑制作用, 并且可以通过铁死亡同时抑制肿瘤细胞和肿瘤微环境中的免疫抑制性中性粒细胞; CTS 作用于 TNBC 细胞系 4T1-Luc 与原发性 G-MDSC 细胞, 显著提高胞内总铁和 ROS 含量, 透射电镜观察到相应的铁死亡形态学特征: 线粒体变小、膜密度增高、线粒体嵴减少, 并且 CTS 的这种促细胞死亡作用可以被 Fer-1、DFO 中和, 说明 CTS 在体外可通过调节铁代谢促进乳腺癌细胞铁死亡。铁重链蛋白 (ferritin heavy chain, FTH) 是参与铁死亡的经典蛋白质, 具有铁氧化酶活性, 可将胞质中的 Fe^{2+} 转化为 Fe^{3+} 并存储在铁蛋白中, 铁蛋白的铁清除能力可防止铁介导的脂质过氧化, 抑制铁死亡。基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因和基因组数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析显示, FTH 与 CTS 具有较好的结合力, CTS 与原发性 G-MDSC 和 4T1-Luc 细胞中的 FTH 蛋白结合后使得蛋白质更易被分子伴侣 (chaperones) 水解, 进而导致细胞

铁死亡的发生^[71]。因此, 隐丹参酮可通过诱导铁死亡促进 TNBC 细胞的死亡。

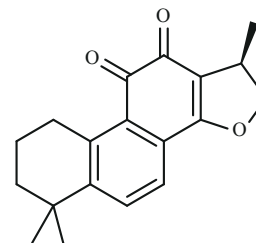


Fig. 13 Chemical structure of cryptotanshinone

图13 隐丹参酮化学结构式

2.2.6 重楼皂甙III

重楼多叶根瘤体作为一种抗癌中药, 已被证实其对多种癌症具有抗增殖作用, 根瘤的主要活性成分 (如总皂苷、多叶苷 I、多叶素 II、多叶素 VI 和多叶素 VII) 在肝癌^[72]、肺癌^[73]以及乳腺癌^[74]等多种癌症中显示出很强的抗肿瘤活性。重楼皂甙 III (polyphyllin III) (图 14) 是从重楼多叶根瘤体中提取的主要皂苷, 主要通过 ACSL4 介导的脂质过氧化物升高和铁死亡, 对 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 发挥其增殖抑制作用; 重楼皂甙 III 治疗可诱导 Kruppel 样因子 4 (Kruppel-like factor4, KLF4) 介导的 SLC7A11 保护性上调, SLC7A11 是

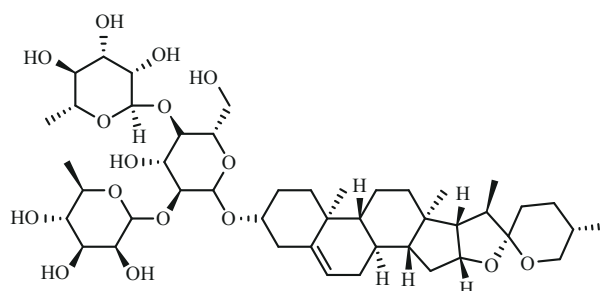


Fig. 14 Chemical structure of polyphyllin III

图14 重楼皂甙III化学结构式

铁死亡的负调节因子。铁死亡诱导剂 SAS 处理或 siRNA 敲除 KLF4 可通过下调 SLC7A11 和促进铁死亡增强重楼皂甙 III 对 TNBC 的增殖抑制作用, 此为首次观察到 KLF4 介导的 SLC7A11 上调在铁死亡进展过程中起负反馈作用, 这可能有助于 TNBC 治疗中的耐药性^[75]。

大多数中草药在体外细胞水平上的验证较为充分, 涵盖的细胞系包括但不限于 TNBC 细胞系 MDA-MB-231, 并且其半数抑制浓度 (IC_{50}) 已明

确界定。此外, 这些中草药的体内实验数据也提供了有力支持, 例如CTS就在多个药物浓度下进行了验证。然而, 多数中草药存在水溶性不佳的问题, 通常表现为脂溶性, 并且所需的治疗浓度较高。(药物汇总见表1)

2.3 诱导TNBC细胞发生铁死亡的药物递送系统

纳米颗粒等作为载体与药物结合以提高药物的吸收效率已成为常用方式。其中, 外泌体作为一种高效药物载体, 越来越受到重视。

Erastin是一种小分子治疗药物, 作为经典的铁死亡诱导剂, 可以不同方式诱导铁死亡的发生。Erastin不仅可直接与电压依赖性阴离子通道2 (voltage-dependent anion channel 2, VDAC2) 结合诱导脂质ROS (L-ROS) 的产生, 还可与SLC7A5相结合, 抑制System L的活力和胱氨酸的摄取, 间接诱导铁死亡。对于乳腺癌细胞来说, Erastin可通过耗尽GSH与GPX4的降解, 降低细胞的抗氧化能力, 导致毒性L-ROS积累, 诱导乳腺癌细胞铁死亡。此外, Erastin还可能通过激活p53间接抑制System Xc⁻, 导致铁死亡^[76]。尽管Erastin具有抑制作用, 但其水溶性差和代谢不稳定的特性限制了其在体内的应用。研究者开发了一种带叶酸 (folic acid, FA) 标记的载有Erastin的外泌体 (erastin@FA-exo), 用于靶向FA过表达的乳腺癌细胞。经Erastin@FA-exo处理的TNBC细胞系MDA-MB-231, 胞内GSH耗竭、ROS积累, GPX4表达被抑制, 半胱氨酸双加氧酶1 (cysteine dioxygenase type 1, CDO1) 的表达上调, 且线粒体膜电位明显降低, 肿瘤的瓦尔堡效应被抑制, 肿瘤细胞中氧自由基生成增多, 最终导致铁死亡发生^[77]。这不仅为Erastin的临床转化提供可能性, 还有望为TNBC的临床治疗提供新选择。

基于TA-Fe (II) 的铁质供应纳米载体, 通过配位驱动组装将青蒿素 (Artemisinin, ART) 包裹在沸石咪唑酸盐框架8 (zeolitic imidazolate framework-8, ZIF) 纳米颗粒上, 以增强铁死亡。纳米载体可溶解在弱酸性微环境中, 释放ART和Fe (II), 进而导致TNBC细胞系MDA-MB-231胞内高水平的ROS和MDA, 伴随GSH和GPX4的降低, 从而在体外和体内产生强大的肿瘤生长抑制和抗癌功效。这项工作提供了一种新的方法来提高铁纳米药物的效力, 并为TNBC治疗提供了新的方向^[78]。

负载于NLC/H (D+F+S) NPs (nanostructured lipid carriers/heparin (DOX+Ferrocene+Stabilizer))

中的阿霉素 (doxorubicin, DOX) 和二茂铁 (ferrocene, Fc) 有效降低了基质金属蛋白酶9 (matrix metalloproteinase-9, MMP) 的表达, MMP在肿瘤的侵袭和转移中起着重要作用, 此外, NLC/H (D+F+S) NPs提高了4T1细胞内ROS水平, 激活了铁死亡通路, 增强的ROS还诱导了凋亡通路, 协同用于肿瘤治疗。Fc是一种稳定的金属有机络合物, 在生理条件下可产生ROS; DOX是一种高效的广谱抗肿瘤药物, 它不仅可以通过抑制DNA复制诱导肿瘤细胞死亡, 还可以通过激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, NOX) 产生H₂O₂。H₂O₂是Fenton反应的底物, 充足的H₂O₂有利于Fenton反应的进行。Fc可以通过激活乳腺癌细胞内铁死亡通路来增强DOX的治疗效果。NLC/H (D+F+S) NPs通过DOX和Fc高效触发4T1细胞内铁死亡机制, 并联合转化生长因子β (transforming growth factor-β, TGF-β) 受体抑制剂SB431542调节肿瘤微环境^[79]。

一种基于Fe²⁺的金属-有机骨架 (metal-organic frameworks, MOF), 可将Fe²⁺输送到癌细胞, 从而触发Fenton反应并产生过量的ROS。MOF会在酸性环境中自行降解并释放Fe²⁺, 同时在中性条件下保持稳定性。众所周知, 肿瘤微环境是微酸性的, 因此可以通过获得透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 包裹的基于亚铁离子的金属有机骨架纳米颗粒 (HA@MOFNPs) 实现Fe²⁺的局部输送, 诱导明显的Fe²⁺介导的4T1细胞铁死亡^[80]。纳米级MOF规避了负荷药物的潜在不良反应, 并在体内实验中被证明具有生物相容性, 提供了一种可应用于临床TNBC治疗的新颖铁死亡策略。

偶氮苯复合抑制素A4 (Azobenzene Combretastatin A4, Azo-CA4) 被装载在上转换纳米载体中, 该载体可以将近红外 (near infrared, NIR) 光转换为紫外光以激活Azo-CA4。经照射后, 载Azo-CA4纳米载体通过凋亡和铁死亡显著降低TNBC细胞系MDA-MB-231的活力, 该过程主要依赖紫外线诱导的Fe³⁺到Fe²⁺的减少与脂质过氧化物的发生。Azo-CA4的发现为TNBC提供了治疗机会^[81]。

越来越多新型药物载体的出现, 提高了药物的吸收率, 拓宽了药物的临床转化范畴, 但大部分药物载体的体外实验细胞系较单一, 细胞毒性实验或体内实验缺乏, 有待丰富体外实验细胞系的种类并确定毒性, 并开展体内水平验证 (药物汇总见表1)。

Table 1 Summary of compounds that induce ferroptosis in TNBC cells
表1 诱导TNBC细胞发生铁死亡的化合物汇总

名称	可溶性	靶点	体外实验		体内实验		药物研发阶段	参考文献
			细胞系	IC ₅₀	作用浓度	动物模型		
柳氮磺胺吡啶 (SAS)	DMSO	抑制SLC7A11、耗竭GSH、铁代谢	MDA-MB-231	0.59 mmol/L	0.2、0.4、1 mmol/L	MDA-MB-231荷瘤小鼠皮下移植	临床前阶段	[42] [44]
			MDA-MB-436	3.63 mmol/L	-	肿瘤模型		
			MDA-MB-468	0.73 mmol/L	-	肿瘤模型		
			MCF-7	1.59 mmol/L	-	肿瘤模型		
二甲双胍 (Metformin)	DMSO	调节miR-324-3p/GPX4轴、下调SLC7A11表达	MDA-MB-231	-	0~50 mmol/L	T47D荷瘤无胸腺小鼠原位移植	临床前阶段 NCT01650506	[46]
			MCF-7	-	-	肿瘤模型		
			T47D	-	-	肿瘤模型		
西拉美辛+拉帕替尼 (Siramesine+Lapatinib)	DMSO	调控铁代谢	MDA-MB-231	-	10 μmol/L Siramesine+ 0.5 μmol/L Lapatinib	-	实验室阶段	[49]
			MCF-7	-	-	-		
			SKBR3	-	-	-		
			ZR-75-1	-	-	-		
辛伐他汀 (SIM)	-	下调MVA途径、失活GPX4	MDA-MB-231	-	50、100 mg/L	MDA-MB-231荷瘤小鼠皮下移植	临床前阶段	[51]
			MCF-7	-	-	肿瘤模型		
DMOCPTL	PBS	GPX4泛素化	MDA-MB-231	(0.34±0.13) μmol/L	0.05~10 μmol/L	4T1荷瘤裸鼠原位乳腺瘤模型	临床前阶段	[53]
			SUM159	-	1~10 μmol/L	肿瘤模型		
			4T1	-	0.05~0.25 μmol/L	肿瘤模型		
(+)JQ1	DMSO	抑制BRD4活性、增强自噬铁水平	MDA-MB-231	-	10 μmol/L	A549荷瘤裸鼠异种移植模型	临床前阶段	[55]
			CSC	-	25、50、100 μmol/L	-		
			MDA-MB-231	-	0.1~10 μmol/L	-		
化合物4 (Compound 4)	DMSO	结合Xc ⁻ 转运蛋白、阻断胱氨酸摄取	MDA-MB-468	-	0.1~10 μmol/L	-	临床前阶段	[56]
			4T1	-	1~100 μmol/L	-		
			MDA-MB-231	-	10、20、40 μmol/L	-		
18-β-甘草酸 (GA)	DMSO	激活NADPH氧化酶和iNOS、促进ROS和IRNS的产生	MDA-MB-231	24 h: (59.46±6.18) μmol/L 48 h: (38.95±5.86) μmol/L 72 h: (7.99±3.52) μmol/L	-	-	实验室阶段	[59]

续表1

名称	可溶性	靶点	体外实验			体内实验		药物研发阶段	参考文献
			细胞系	IC_{50}	作用浓度	动物模型	作用浓度		
Erastin@FA-exo	-	耗竭GSH、下调GPX4、上调CDO1、降低线粒体膜电位	MCF-7	24 h: 3.89 μ mol/L	-				
				48 h: 1.76 μ mol/L					
				72 h: 0.8 μ mol/L					
			T47D	24 h: 9.85 μ mol/L	-				
				48 h: 5.89 μ mol/L					
				72 h: 3.83 μ mol/L					
			HS578T	24 h: 2.59 μ mol/L	-				
				48 h: 2.32 μ mol/L					
				72 h: 1.99 μ mol/L					
			HBL-100	24 h: 7.74 μ mol/L	-				
				48 h: 9.29 μ mol/L					
				72 h: 11.3 μ mol/L					
TA-Fe(II)/ART@ZIF	-	上调MDA、下调GSH和GPX4	MDA-MB-231	-	10 μ mol/L	-	-	实验室阶段	[77]
			MDA-MB-231	-	12.5~100 mg/L	MDA-MB-231荷瘤裸鼠皮下异种移植肿瘤模型	100 mg/(kg•3d)	临床前阶段	[78]
			4T1	-	0.1~4.0 mg/L (DOX浓度)	4T1/3T3荷瘤小鼠皮下转移模型	DOX浓度: 2.5 mg/(kg•周), 3周	临床前阶段	[79]
			4T1	(9.01±0.95) mg/L	15 mg/L	4T1荷瘤小鼠皮下移植肿瘤模型	20 mg/kg, 2周	临床前阶段	[80]
HA@MOFNPs	水	输送Fe ²⁺ 诱发Fenton反应	MDA-MB-231	(9.7±1.8) μ mol/L	1.02 g/L	MDA-MB-231载瘤异种移植裸鼠模型	5 mg/kg	临床前阶段	[81]

加粗显示为三阴性乳腺癌细胞系。SLC7A11: 溶质载体家族7成员11; BRD4: 溴结构域结合蛋白4 (bromodomain-containing protein 4); ACSL4: 长链脂酰辅酶A合成酶4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4); MDA: 丙二醛 (malondialdehyde); DOX: 阿霉素 (doxorubicin); Fc: 二茂铁 (ferrocene); Fenton: 芬顿反应。

3 总结与展望

乳腺癌的发生率持续上升, 已成为育龄女性面临的一项重大健康挑战。其中, TNBC对靶向治疗和激素抑制反应不佳, 化疗仍然是其主要的临床治疗策略。因此, 迫切需要为TNBC患者开发新的治疗方案。近年来, 铁死亡作为一种新型的细胞死亡方式, 因其在肿瘤治疗中的潜在应用而受到广泛关注。随着研究的深入, 铁死亡在越来越多肿瘤研究中的作用机制被阐明。在乳腺癌治疗中, 铁死亡诱导剂可通过System X_c-胱氨酸-GPX4通路或调控不稳定铁水平诱导TNBC细胞发生铁死亡。本文所述这些先导化合物的作用靶点较明确, 它们可针对TNBC的某些特征, 如高表达的SLC7A11和转铁蛋白, 以及依赖于GPX4的抗氧化防御系统, 有效地诱导细胞铁死亡。此外, SAS与二甲双胍, 西拉美辛与拉帕替尼还可协同发挥杀伤肿瘤作用。尽管这些化合物的靶点已基本明确, 但其对正常细胞的毒性大多尚未确定, 且缺乏足够的体内实验数据说明其疗效与安全性, 临床转化仍处于起步阶段。本文所述各类中草药皆可通过铁死亡相关代谢途径诱导TNBC细胞铁死亡, 展现了天然产物在肿瘤治疗中的潜力。其中, SGNI作为中药注射剂, 虽然已经在临床应用多年, 但仍存在不良反应风险, 中药注射剂中的活性化合物通常具有优异的类药性, 如良好的溶解度和生物利用度, 因此可从SGNI中将活性成分鉴定出来, 并开发为针对TNBC的新药。再者, 大部分中草药皆表现为脂溶性, 水溶性较差, 若与药物递送载体配合, 可望实现可溶性的改善。鉴于中国丰富的中草药资源, 发掘并开发靶向铁死亡天然产物具有广阔的前景。经典的铁死亡诱导剂Erastin由于其水溶性差和潜在的肾毒性, 尚未能在临床上得到应用, 然而纳米载体技术的发展为这类化合物的应用提供了可能。纳米医学作为一种新兴的治疗手段, 具有良好的生物相容性和低免疫原性, 不仅改善了药物的毒理学特性, 还扩展了药物的应用范围。然而, 大部分药物载体作用的细胞系较为单一, 部分缺乏细胞毒性数据, 仍需开展多细胞系水平的验证, 确认其对细胞的毒性。目前, 药物载体大都处在实验室研究阶段, 走向临床转化仍存在许多挑战, 包括体内实验结果与临床应用之间的差异、纳米递送系统的优化设计以及大规模生产技术的完善等。目前, 各类铁死亡诱导剂在TNBC治疗方面的潜力已经得到了初

步证明, 期待在未来的研究中, 能够看到更多铁死亡在TNBS及其他肿瘤中的应用。

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. *CA Cancer J Clin*, 2024, **74**(3): 229-263
- [2] 郑荣寿, 陈茹, 韩冰峰, 等. 2022年中国恶性肿瘤流行情况分析. *中华肿瘤杂志*, 2024, **46**(3): 221-231
Zheng R S, Chen R, Han B F, *et al.* *Chin J Oncol*, 2024, **46**(3): 221-231
- [3] Nolan E, Lindeman G J, Visvader J E. Deciphering breast cancer: from biology to the clinic. *Cell*, 2023, **186**(8): 1708-1728
- [4] Li S, Huang Y. Ferroptosis: an iron-dependent cell death form linking metabolism, diseases, immune cell and targeted therapy. *Clin Transl Oncol*, 2022, **24**(1): 1-12
- [5] Stockwell B R. Ferroptosis turns 10: Emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications. *Cell*, 2022, **185**(14): 2401-2421
- [6] 刘斌, 钱道海. 铁死亡在胰腺癌中的作用研究及进展. *中国普通外科杂志*, 2023, **32**(3): 434-440
Liu B, Qian D H. *China J Gen Surg*, 2023, **32**(3): 434-440
- [7] 刘湘慧, 斯韬, 梁婷, 等. 铁死亡发生机制及其在肝细胞癌中的作用研究进展. *陕西医学杂志*, 2023, **52**(3): 354-357
Liu X H, Si T, Liang T, *et al.* *Shaanxi Med J*, 2023, **52**(3): 354-357
- [8] 陈逸凡, 吕蔡. 铁死亡及其在肾癌中的研究进展. *临床泌尿外科杂志*, 2022, **37**(6): 474-477, 482
Chen Y F, Lv C. *J Clin Urol*, 2022, **37**(6): 474-477, 482
- [9] Li J, He D, Li S, *et al.* Ferroptosis: the emerging player in remodeling triple-negative breast cancer. *Front Immunol*, 2023, **14**: 1284057
- [10] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S A, *et al.* Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*, 2018, **25**(3): 486-541
- [11] Dixon S J, Olzmann J A. The cell biology of ferroptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, **25**(6): 424-442
- [12] Yang F, Xiao Y, Ding J H, *et al.* Ferroptosis heterogeneity in triple-negative breast cancer reveals an innovative immunotherapy combination strategy. *Cell Metab*, 2023, **35**(1): 84-100.e8
- [13] Liang D, Minikes A M, Jiang X. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling. *Mol Cell*, 2022, **82**(12): 2215-2227
- [14] Sui S, Xu S, Pang D. Emerging role of ferroptosis in breast cancer: new dawn for overcoming tumor progression. *Pharmacol Ther*, 2022, **232**: 107992
- [15] Li F J, Long H Z, Zhou Z W, *et al.* System X(c) (-)/GSH/GPX4 axis: an important antioxidant system for the ferroptosis in drug-resistant solid tumor therapy. *Front Pharmacol*, 2022, **13**: 910292
- [16] Liu Y, Wan Y, Jiang Y, *et al.* GPX4: the hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, **1878**(3): 188890

- [17] Zhang W, Liu Y, Liao Y, *et al.* GPX4, ferroptosis, and diseases. *Biomed Pharmacother*, 2024, **174**: 116512
- [18] Eaton J K, Furst L, Ruberto R A, *et al.* Selective covalent targeting of GPX4 using masked nitrile-oxide electrophiles. *Nat Chem Biol*, 2020, **16**(5): 497-506
- [19] Zimta A A, Cenariu D, Irimie A, *et al.* The role of Nrf2 activity in cancer development and progression. *Cancers*, 2019, **11**(11): 1755
- [20] Fan Z, Wirth A K, Chen D, *et al.* Nrf2-Keap1 pathway promotes cell proliferation and diminishes ferroptosis. *Oncogenesis*, 2017, **6**(8): e371
- [21] 徐一月, 赵少荣, 刘晶晶, 等. 细胞铁死亡调控机制及其在乳腺癌治疗中的意义. *国际肿瘤学杂志*, 2020, **47**(6): 372-376
Xu Y Y, Zhao S R, Liu J J, *et al.* *J Int Oncol*, 2020, **47**(6): 372-376
- [22] Sun X, Ou Z, Chen R, *et al.* Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology*, 2016, **63**(1): 173-184
- [23] Yang Y, Ma Y, Li Q, *et al.* STAT6 inhibits ferroptosis and alleviates acute lung injury via regulating P53/SLC7A11 pathway. *Cell Death Dis*, 2022, **13**(6): 530
- [24] Lei M, Zhang Y L, Huang F Y, *et al.* Gankyrin inhibits ferroptosis through the p53/SLC7A11/GPX4 axis in triple-negative breast cancer cells. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 21916
- [25] Zhang Y, Romero H, Salinas G, *et al.* Dynamic evolution of selenocysteine utilization in bacteria: a balance between selenoprotein loss and evolution of selenocysteine from redox active cysteine residues. *Genome Biol*, 2006, **7**(10): R94
- [26] Kryukov G V, Castellano S, Novoselov S V, *et al.* Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 2003, **300**(5624): 1439-1443
- [27] Bathaie S Z, Ashrafi M, Azizian M, *et al.* Mevalonate pathway and human cancers. *Curr Mol Pharmacol*, 2017, **10**(2): 77-85
- [28] Lee J, Roh J L. Targeting GPX4 in human cancer: implications of ferroptosis induction for tackling cancer resilience. *Cancer Lett*, 2023, **559**: 216119
- [29] Hayano M, Yang W S, Corn C K, *et al.* Loss of cysteinyl-tRNA synthetase (CARS) induces the transsulfuration pathway and inhibits ferroptosis induced by cystine deprivation. *Cell Death Differ*, 2016, **23**(2): 270-278
- [30] Xu T, Ding W, Ji X, *et al.* Molecular mechanisms of ferroptosis and its role in cancer therapy. *J Cell Mol Med*, 2019, **23**(8): 4900-4912
- [31] Sui X, Zhang R, Liu S, *et al.* RSL3 drives ferroptosis through GPX4 inactivation and ROS production in colorectal cancer. *Front Pharmacol*, 2018, **9**: 1371
- [32] Wu X, Liu C, Li Z, *et al.* Regulation of GSK3 β /Nrf2 signaling pathway modulated erastin-induced ferroptosis in breast cancer. *Mol Cell Biochem*, 2020, **473**(1/2): 217-228
- [33] Pasquadibisceglie A, Bonaccorsi di Patti M C, Musci G, *et al.* Membrane transporters involved in iron trafficking: physiological and pathological aspects. *Biomolecules*, 2023, **13**(8): 1172
- [34] Dyall S C, Balas L, Bazan N G, *et al.* Polyunsaturated fatty acids and fatty acid-derived lipid mediators: recent advances in the understanding of their biosynthesis, structures, and functions. *Prog Lipid Res*, 2022, **86**: 101165
- [35] Maheshwari S. Ferroptosis signaling pathways: Alzheimer's disease. *Horm Metab Res*, 2023, **55**(12): 819-826
- [36] Xin S, Schick J A. PUFAs dictate the balance of power in ferroptosis. *Cell Calcium*, 2023, **110**: 102703
- [37] Rodriguez-Ochoa N, Cortes-Reynosa P, Rodriguez-Rojas K, *et al.* Bovine holo-lactoferrin inhibits migration and invasion in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Mol Biol Rep*, 2023, **50**(1): 193-201
- [38] Zhang Z, Lu M, Chen C, *et al.* Holo-lactoferrin: the link between ferroptosis and radiotherapy in triple-negative breast cancer. *Theranostics*, 2021, **11**(7): 3167-3182
- [39] Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern. *Br J Radiol*, 2022, **95**(1130): 20211033
- [40] Li S, Zeng H, Fan J, *et al.* Glutamine metabolism in breast cancer and possible therapeutic targets. *Biochem Pharmacol*, 2023, **210**: 115464
- [41] Alcoreza O, Tewari B P, Bouslog A, *et al.* Sulfasalazine decreases mouse cortical hyperexcitability. *Epilepsia*, 2019, **60**(7): 1365-1377
- [42] Chen X, Yu C, Kang R, *et al.* Iron metabolism in ferroptosis. *Front Cell Dev Biol*, 2020, **8**: 590226
- [43] Jhaveri M S, Rait A S, Chung K N, *et al.* Antisense oligonucleotides targeted to the human alpha folate receptor inhibit breast cancer cell growth and sensitize the cells to doxorubicin treatment. *Mol Cancer Ther*, 2004, **3**(12): 1505-1512
- [44] Takatani-Nakase T, Ikushima C, Sakitani M, *et al.* Regulatory network of ferroptosis and autophagy by targeting oxidative stress defense using sulfasalazine in triple-negative breast cancer. *Life Sci*, 2024, **339**: 122411
- [45] Dong Y, Qi Y, Jiang H, *et al.* The development and benefits of metformin in various diseases. *Front Med*, 2023, **17**(3): 388-431
- [46] Hou Y, Cai S, Yu S, *et al.* Metformin induces ferroptosis by targeting miR-324-3p/GPX4 axis in breast cancer. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2021, **53**(3): 333-341
- [47] Yang J, Zhou Y, Xie S, *et al.* Metformin induces ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, **40**(1): 206
- [48] Ma S, Henson E S, Chen Y, *et al.* Ferroptosis is induced following siramesine and lapatinib treatment of breast cancer cells. *Cell Death Dis*, 2016, **7**(7): e2307
- [49] Ma S, Dielschneider R F, Henson E S, *et al.* Ferroptosis and autophagy induced cell death occur independently after siramesine and lapatinib treatment in breast cancer cells. *PLoS One*, 2017, **12**(8): e0182921
- [50] Xie W, Peng M, Liu Y, *et al.* Simvastatin induces pyroptosis via ROS/caspase-1/GSDMD pathway in colon cancer. *Cell Commun Signal*, 2023, **21**(1): 329
- [51] Yao X, Xie R, Cao Y, *et al.* Simvastatin induced ferroptosis for triple-negative breast cancer therapy. *J Nanobiotechnology*, 2021, **19**(1): 311
- [52] Guzman M L, Rossi R M, Neelakantan S, *et al.* An orally bioavailable parthenolide analog selectively eradicates acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood*, 2007, **110**(13): 4427-4435

- [53] Ding Y, Chen X, Liu C, *et al.* Identification of a small molecule as inducer of ferroptosis and apoptosis through ubiquitination of GPX4 in triple negative breast cancer cells. *J Hematol Oncol*, 2021, **14**(1): 19
- [54] Verma N, Vinik Y, Saroha A, *et al.* Synthetic lethal combination targeting BET uncovered intrinsic susceptibility of TNBC to ferroptosis. *Sci Adv*, 2020, **6**(34): eaba8968
- [55] Sui S, Zhang J, Xu S, *et al.* Ferritinophagy is required for the induction of ferroptosis by the bromodomain protein BRD4 inhibitor (+)-JQ1 in cancer cells. *Cell Death Dis*, 2019, **10**(5): 331
- [56] Taylor W R, Fedorka S R, Gad I, *et al.* Small-molecule ferroptotic agents with potential to selectively target cancer stem cells. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 5926
- [57] Sang L, Li J, Zhang F, *et al.* Glycyrrhetic acid modified chlorambucil prodrug for hepatocellular carcinoma treatment based on DNA replication and tumor microenvironment. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2022, **220**: 112864
- [58] 孙伟, 白剑, 李凤岩, 等. 甘草次酸对大肠癌 LoVo 细胞增殖和侵袭的影响. *中国应用生理学杂志*, 2022, **38**(1): 37-40
Sun W, Bai J, Li F Y, *et al.* *Chin J Appl Physiol*, 2022, **38**(1): 37-40
- [59] Wen Y, Chen H, Zhang L, *et al.* Glycyrrhetic acid induces oxidative/nitrative stress and drives ferroptosis through activating NADPH oxidases and iNOS, and depriving glutathione in triple-negative breast cancer cells. *Free Radic Biol Med*, 2021, **173**: 41-51
- [60] Du J, Wang L, Huang X, *et al.* Shuganning injection, a traditional Chinese patent medicine, induces ferroptosis and suppresses tumor growth in triple-negative breast cancer cells. *Phytomedicine*, 2021, **85**: 153551
- [61] Li H, Wang S, Yue Z, *et al.* Traditional Chinese herbal injection: current status and future perspectives. *Fitoterapia*, 2018, **129**: 249-256
- [62] Wang W, Li M, Wang L, *et al.* Curcumin in cancer therapy: exploring molecular mechanisms and overcoming clinical challenges. *Cancer Lett*, 2023, **570**: 216332
- [63] Cao X, Li Y, Wang Y, *et al.* Curcumin suppresses tumorigenesis by ferroptosis in breast cancer. *PLoS One*, 2022, **17**(1): e0261370
- [64] Li R, Zhang J, Zhou Y, *et al.* Transcriptome investigation and *in vitro* verification of curcumin-induced HO-1 as a feature of ferroptosis in breast cancer cells. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, **2020**: 3469840
- [65] Wu C Y, Yang Y H, Lin Y Y, *et al.* Anti-cancer effect of Danshen and dihydroisotanshinone I on prostate cancer: targeting the crosstalk between macrophages and cancer cells *via* inhibition of the STAT3/CCL2 signaling pathway. *Oncotarget*, 2017, **8**(25): 40246-40263
- [66] Wu C Y, Yang Y H, Lin Y S, *et al.* Dihydroisotanshinone I induced ferroptosis and apoptosis of lung cancer cells. *Biomedicine Pharmacother*, 2021, **139**: 111585
- [67] Wu C Y, Cherng J Y, Yang Y H, *et al.* Danshen improves survival of patients with advanced lung cancer and targeting the relationship between macrophages and lung cancer cells. *Oncotarget*, 2017, **8**(53): 90925-90947
- [68] Hsu C M, Yang M Y, Tsai M S, *et al.* Dihydroisotanshinone I as a treatment option for head and neck squamous cell carcinomas. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(16): 8881
- [69] Lin Y Y, Lee I Y, Huang W S, *et al.* Danshen improves survival of patients with colon cancer and dihydroisotanshinone I inhibit the proliferation of colon cancer cells *via* apoptosis and skp2 signaling pathway. *J Ethnopharmacol*, 2017, **209**: 305-316
- [70] Lin Y S, Shen Y C, Wu C Y, *et al.* Danshen improves survival of patients with breast cancer and dihydroisotanshinone I induces ferroptosis and apoptosis of breast cancer cells. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 1226
- [71] 闫莉. 隐丹参酮通过铁死亡抑制三阴性乳腺癌的机制研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2021
Yan L. Mechanism of Cryptotanshinone Inhibiting Triple Negative Breast Cancer Through Iron Death [D]. Shanghai: Naval Medical University, 2021
- [72] Yang R, Gao W, Wang Z, *et al.* Polyphyllin I induced ferroptosis to suppress the progression of hepatocellular carcinoma through activation of the mitochondrial dysfunction *via* Nrf2/HO-1/GPX4 axis. *Phytomedicine*, 2024, **122**: 155135
- [73] Que Z, Luo B, Yu P, *et al.* Polyphyllin VII induces CTC anoikis to inhibit lung cancer metastasis through EGFR pathway regulation. *Int J Biol Sci*, 2023, **19**(16): 5204-5217
- [74] Du S G, Zhang H M, Ji Y X, *et al.* Polyphyllin VII promotes apoptosis in breast cancer by inhibiting MAPK/ERK signaling pathway through downregulation of SOS1. *Am J Chin Med*, 2024, **52**(3): 885-904
- [75] Liang C, Zhang X, Yang M, *et al.* Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy. *Adv Mater*, 2019, **31**(51): e1904197
- [76] Zhao Y, Li Y, Zhang R, *et al.* The role of erastin in ferroptosis and its prospects in cancer therapy. *Onco Targets Ther*, 2020, **13**: 5429-5441
- [77] Yu M, Gai C, Li Z, *et al.* Targeted exosome-encapsulated erastin induced ferroptosis in triple negative breast cancer cells. *Cancer Sci*, 2019, **110**(10): 3173-3182
- [78] Li Z, Wu X, Wang W, *et al.* Fe(II) and tannic acid-cloaked MOF as carrier of artemisinin for supply of ferrous ions to enhance treatment of triple-negative breast cancer. *Nanoscale Res Lett*, 2021, **16**(1): 37
- [79] Zhang J, Yang J, Zuo T, *et al.* Heparanase-driven sequential released nanoparticles for ferroptosis and tumor microenvironment modulations synergism in breast cancer therapy. *Biomaterials*, 2021, **266**: 120429
- [80] Xu X, Chen Y, Zhang Y, *et al.* Highly stable and biocompatible hyaluronic acid-rehabilitated nanoscale MOF-Fe²⁺ induced ferroptosis in breast cancer cells. *J Mater Chem B*, 2020, **8**: 9129-9138
- [81] Zhu J, Dai P, Liu F, *et al.* Upconverting nanocarriers enable triggered microtubule inhibition and concurrent ferroptosis induction for selective treatment of triple-negative breast cancer. *Nano Lett*, 2020, **20**(9): 6235-6245

The Ferroptosis-inducing Compounds in Triple Negative Breast Cancer*

WANG Xin-Die^{1,2)}, FENG Da-Li¹⁾, CUI Xiang²⁾, ZHOU Su²⁾, ZHANG Peng-Fei³⁾,
GAO Zhi-Qiang³⁾, ZOU Li-Li^{2)**}, WANG Jun^{1,4)**}

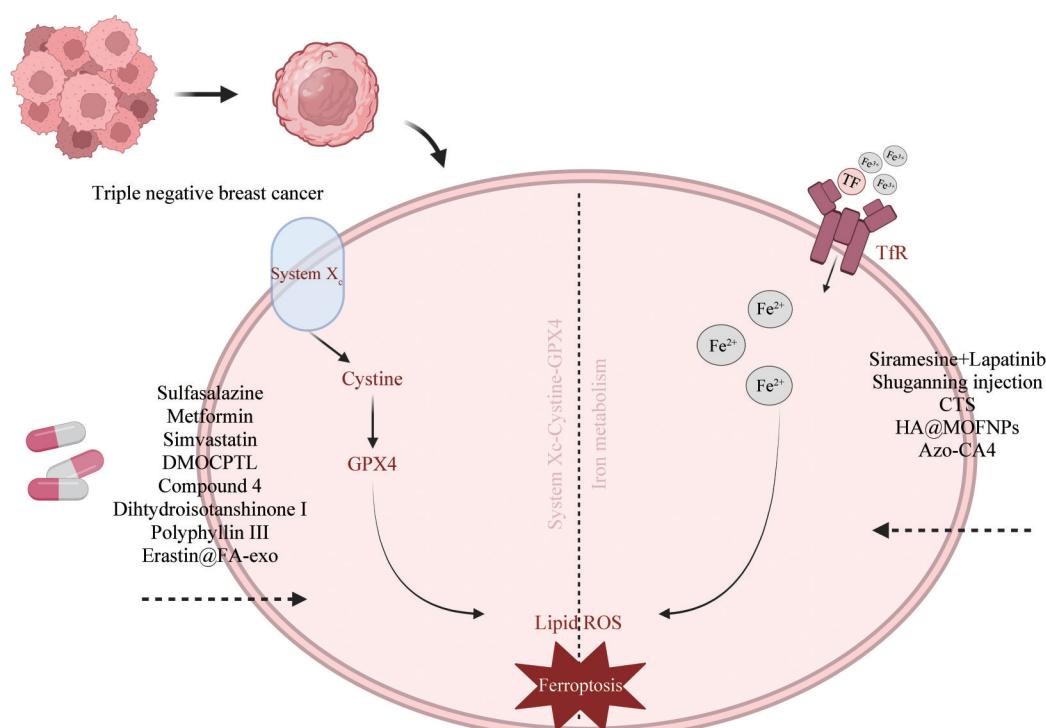
¹⁾Hubei Provincial Clinical Research Center for Precise Prevention and Treatment of Gastrointestinal Cancer in the Elderly & Cancer Prevention Office,
The Second People's Hospital of China Three Gorges University & The Second People's Hospital of Yichang, Yichang 443003, China;

²⁾Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy at Three Gorges University & Yichang Key Laboratory of Infection and Inflammation,
College of Basic Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

³⁾Department of Endocrinology, Affiliated Yiling Hospital of China Three Gorges University & Yiling People's Hospital, Yichang 443100, China;

⁴⁾Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine,
China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Graphical abstract



* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81903105), Open Fund of Hubei Provincial Clinical Research Center for Precise Prevention and Treatment of Gastrointestinal Cancer in the Elderly (2024EGC-07, 2024EGC-08), and Open Fund of Three Gorges University of Third-grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine (2023PTCM07).

** Corresponding author.

WANG Jun. Tel: 86-717-6735890, E-mail: wangjfox@ctgu.edu.cn

ZOU Li-Li. Tel: 86-717-6397590, E-mail: zoulili@ctgu.edu.cn

Received: July 26, 2024 Accepted: November 5, 2024

Abstract Ferroptosis, a programmed cell death modality discovered and defined in the last decade, is primarily induced by iron-dependent lipid peroxidation. At present, it has been found that ferroptosis is involved in various physiological functions such as immune regulation, growth and development, aging, and tumor suppression. Especially its role in tumor biology has attracted extensive attention and research. Breast cancer is one of the most common female tumors, characterized by high heterogeneity and complex genetic background. Triple negative breast cancer (TNBC) is a special type of breast cancer, which lacks conventional breast cancer treatment targets and is prone to drug resistance to existing chemotherapy drugs and has a low cure rate after progression and metastasis. There is an urgent need to find new targets or develop new drugs. With the increase of studies on promoting ferroptosis in breast cancer, it has gradually attracted attention as a treatment strategy for breast cancer. Some studies have found that certain compounds and natural products can act on TNBC, promote their ferroptosis, inhibit cancer cells proliferation, enhance sensitivity to radiotherapy, and improve resistance to chemotherapy drugs. To promote the study of ferroptosis in TNBC, this article summarized and reviewed the compounds and natural products that induce ferroptosis in TNBC and their mechanisms of action. We started with the exploration of the pathways of ferroptosis, with particular attention to the System X_c^- -cystine-GPX4 pathway and iron metabolism. Then, a series of compounds, including sulfasalazine (SAS), metformin, and statins, were described in terms of how they interact with cells to deplete glutathione (GSH), thereby inhibiting the activity of glutathione peroxidase 4 (GPX4) and preventing the production of lipid peroxidases. The disruption of the cellular defense against oxidative stress ultimately results in the death of TNBC cells. We have also our focus to the realm of natural products, exploring the therapeutic potential of traditional Chinese medicine extracts for TNBC. These herbal extracts exhibit multi-target effects and good safety, and have shown promising capabilities in inducing ferroptosis in TNBC cells. We believe that further exploration and characterization of these natural compounds could lead to the development of a new generation of cancer therapeutics. In addition to traditional chemotherapy, we discussed the role of drug delivery systems in enhancing the efficacy and reducing the toxicity of ferroptosis inducers. Nanoparticles such as exosomes and metal-organic frameworks (MOFs) can improve the solubility and bioavailability of these compounds, thereby expanding their therapeutic potential while minimizing systemic side effects. Although preclinical data on ferroptosis inducers are relatively robust, their translation into clinical practice remains in its early stages. We also emphasize the urgent need for more in-depth and comprehensive research to understand the complex mechanisms of ferroptosis in TNBC. This is crucial for the rational design and development of clinical trials, as well as for leveraging ferroptosis to improve patient outcomes. Hoping the above summarize and review could provide references for the research and development of lead compounds for the treatment for TNBC.

Key words ferroptosis, triple-negative breast cancer, lead compounds, traditional Chinese medicine extracts, system X_c^-

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0344

CSTR: 32369.14.pibb.20240344