DOI:10.16016/j.2097-0927.202211125

DACT3 激活 BMP4/Smad 信号通路促进胶质瘤细胞铁死亡

郑 立[1,2],邓 枚[1,2],王利亚[2],张继勤[3],岳建和[2],韩国强[2],彭 硕[2],刘 健[2],尹 浩[1,2],谭 赢[2] 563000 贵州 遵义,遵义医科大学研究生院[1];550002 贵阳,贵州省人民医院:神经外科[2],麻醉科[3]

[摘要] **目的** 探究基因 DACT3 促进神经胶质瘤细胞(U251、U118)铁死亡的分子机制。**方法** 培养人 U251、U118 胶质瘤细胞,慢病毒转染构建稳定过表达 DACT3 的细胞后,qRT-PCR 和 Western blot 检测转染效率。上述细胞分成 3 组:Ctrl 组(对照组)、DACT3 组(过表达 DACT3 细胞组)和 DACT3+ferrostatin-1 组(过表达 DACT3+铁死亡抑制剂)。采用 CCK-8 检测细胞生存率,铁离子、MDA、谷胱甘肽(glutatione,GSH)检测试剂盒测定细胞铁离子、MDA、GSH 含量,Western blot 检测 GPX4、SLC7A11、TFR1 表达。进一步将上述细胞分为以下 3 组:Ctrl 组(对照组)、DACT3 组(过表达 DACT3 细胞组)和 DACT3+siBMP4 组(过表达 DACT3+敲低 BMP4 组),再次利用 CCK-8 检测细胞生存率,铁离子、MDA、GSH 检测试剂盒测定细胞铁离子、MDA、GSH 含量,Western blot 检测 GPX4、SLC7A11、TFR1、BMP4、p-Smad 表达。**结果** DACT3 组中 DACT3 mRNA 和蛋白表达均显著高于 Ctrl 组;与 Ctrl 组比较,DACT3 组细胞生存率明显下降,铁离子、MDA 含量显著升高,GSH 含量明显下降,GPX4、SLC7A11 表达显著下降,TFR1、p-Smad、BMP4 表达明显升高,差异均具有统计学意义($P<0.05$);DACT3+ferrostatin-1 组、DACT3+siBMP4 组均能一定程度抵消 DACT3 导致的上述指标的变化,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** DACT3 可以促进 U251、U118 胶质瘤细胞铁死亡,其机制与 BMP4/SMAD 信号通路激活有关。

[关键词] DACT3;胶质瘤;铁死亡;BMP4/SMAD 信号通路
[中图法分类号] R394.3;R73-362;R730.264 [文献标志码] A

DACT3 promotes ferroptosis of glioma cells through activating BMP4/Smad signaling pathway

ZHENG Li[1,2], DENG Mei[1,2], WANG Liya[2], ZHANG Jiqin[3], YUE Jianhe[2], HAN Guoqiang[2], PENG Shuo[2], LIU Jian[2], YIN Hao[1,2], TAN Ying[2] [1]Graduate School of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou Province, 563000; [2]Department of Neurosurgery, [3]Department of Anesthesiology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou Province, 550002, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the molecular mechanism of DACT3 promoting ferroptosis in human glioma cell lines U251 and U118. **Methods** Glioma U251 and U118 cells were transfected with lentiviral vector carrying DACT3 to establish a cell line with stable over-expression of DACT3, which was verified for the efficiency of transfection by real-time PCR and Western blotting. Then the above cells were divided into control group (Ctrl group), DACT3 overexpression group (DACT3 group) and DACT3 overexpression+ferroptosis inhibitor group (DACT3+ferrostatin-1 group). CCK-8 assay was applied to detect the cell survival rate, and iron ion, malondialdehyde (MDA) and glutatione (GSH) reagent kits were employed to determine the contents of iron ion, MDA and GSH in the cells. Western blotting was applied to measure the protein levels of GPX4, SLC7A11, TFR1, BMP4, and p-Smad. The above cells were further

[基金项目] 国家自然科学基金地区科学基金(81960454,81960344);贵州省科学技术厅科学技术基金(黔科合基础[2020]1Z066)
[通信作者] 谭 赢,E-mail:tanying@gz5055.com
尹 浩,E-mail:yinhao@gz5055.com

2097-0927/Copyright © 2023, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

divided into Ctrl group, DACT3 group and DACT3 + siBMP4 group (knockdown of BMP4). Above experiments were performed again for cell survival rate, contents of iron ion, MDA and GSH, and protein levels of above proteins. **Results** The expression of DACT3 at mRNA and protein levels was significantly higher in the DACT3 group than the Ctrl group. The DACT3 group had significantly reduced cell survival rate, increased contents of iron ions and MDA but decreased content of GSH, down-regulation of GPX4 and SLC7A11 and up-regulation of TFR1, p-Smad and BMP4 when compared with the Ctrl group ($P<0.05$). However, ferrostatin-1 treatment and knockdown of BMP4 reversed the changes of the above indicators caused by DACT3 to a certain extent, with statistical significances ($P<0.05$). **Conclusion** DACT3 promotes the ferroptosis of glioma U251 and U118 cells, which may be associated with the activation of BMP4/Smad signaling pathway.

[**Key words**] DACT3; glioma; ferroptosis; BMP4/Smad signal pathway

Supported by the Regional Program of National Natural Science Foundation of China (81960454) and the Sci & Tech Foundation of Guizhou Provincial Department of Science and Technology (2020-1Z066). Corresponding author: TAN Ying, E-mail: tanying@gz5055.com; YIN Hao, E-mail: yinhao@gz5055.com

胶质瘤(gliomas)是最常见的中枢神经系统恶性肿瘤,其中胶质母细胞瘤(glioblastomas, GBM)的发病率最高[1]。近年来,尽管治疗方法不断改进,但大多数患者仍在诊断后 2 年内死亡[2]。GBM 对多种联合治疗具有高度耐药性,胶质瘤患者的平均生存时间较短[3-4]。根据中国胶质瘤基因组图谱,胶质瘤患者的中位生存时间仅为 14.4 个月[5]。因此,为 GBM 患者寻找有效的治疗策略是一个亟待解决的问题。

铁死亡是一种由脂质过氧化物致死积累介导的铁依赖性调节细胞死亡[6]。除了谷胱甘肽依赖性脂质过氧化物还原系统的破坏导致脂质基 ROS 的积累能够促进铁死亡的发生外,还可以通过破坏系统 Xc-胱氨酸/谷氨酸反转运蛋白或谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)的功能来触发[7-8]。肿瘤细胞铁含量高,对铁死亡诱导剂具有高度敏感性[9-10]。因此,调控癌细胞铁死亡被认为是一种极富前景的肿瘤治疗手段。

β-环连蛋白抑制基因(dishevelled-binding antagonist of β-catenin, DACT)是近年来发现的一类信号通路调控分子,其中 DACT3 在血液系统恶性肿瘤、肺癌中起抑癌基因作用[11-12]。本课题组长期致力于 DACT 家族基因在胶质瘤治疗中的作用及机制研究,已证实 DACT2 可作为一个新的肿瘤抑制基因参与胶质瘤的发生发展[13]。而最新研究发现诱导 DACT3 过表达可抑制胶质瘤细胞的生长[14],但可能的作用机制及调控机制尚不清楚。

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)超家族中的一个亚家族成员之一,在胶质瘤细胞恶性生物学行为中扮演重要作用[15]。而 BMPs 发挥效应依赖于经典的 BMP/Smad 信号通路[16]。有研究显示 BMP4 作为 BMP 家族蛋白的一种,在胶质瘤细胞中发挥抑癌基因作用[17-18]。而 DACT3 是否通过 BMP4/Smad 信号通路调控胶质瘤细胞铁死亡,尚不清楚。

本研究通过构建稳定过表达 DACT3 的胶质瘤细胞,探究 DACT3 对细胞增殖的影响及与铁死亡的关系,并进一步深入探究可能的调控机制,以找寻胶质瘤治疗的新靶点,为胶质瘤的治疗提供新的可能方向。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人胶质瘤细胞 U251、U118 均购自中国科学院上海细胞库;FBS、青霉素/链霉素、DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司,铁抑制剂 ferrostatin-1 购自上海 Selleck 公司;嘌呤霉素、新霉素购自美国 Sigma 公司;CCK-8 试剂盒、RIPA 蛋白裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、MDA 检测试剂盒、谷胱甘肽(glutatione, GSH)检测试剂盒购自上海碧云天公司;铁离子检测试剂盒购自安徽 Biovision 公司;RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒和定量聚合酶链反应试剂盒购自日本 TaKaRa 公司;DACT3 抗体购自美国 Santa 公司;GAPDH、GPX4、SLC7A11、TFR1、BMP4、p-Smad、Smad 抗体购自美国 Abcam 公司,二抗 HRP 标记山羊抗兔 IgG 购自北京中衫金桥公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 U251、U118 细胞采用含 10% FBS、1%青霉素/链霉素混合液的 DMEM 培养基,置于 37 ℃、5%CO_2 的恒温孵箱中培养,当细胞融合率达到 80%左右时进行传代和细胞实验。

1.2.2 细胞转染 取对数生长期细胞,将细胞接种在 6 孔板中,5×10^4 个/孔,加入 2 mL 培养基继续培养,达 30%细胞密度时进行慢病毒转染,转染完成后

继续培养 12 h,然后吸出转染液,每孔加入培养基 2 mL 培养 48 h,嘌呤霉素筛选细胞(若共转染则嘌呤霉素和新霉素同时使用),继续培养 1 周后收集细胞传代完成后续实验;取已成功构建稳定过表达 DACT3 的细胞,采用 Opti-MEM 培养基稀释后 siRNA 和 Lipofectamine3000 等体积混合,吹匀后室温静置 5 min,将混合好的脂质体-siRNA 复合体加入待转染细胞,轻轻摇匀后 37 ℃细胞培养箱培养 2~4 d 进行相关实验。siBMP4 序列:5′-CGGATCTTTACCGGCTTCAGT-3′。

1.2.3 细胞分组处理 ①对照组(Ctrl),U251、U118 细胞不作任何处理;②DACT3 组,稳定过表达 DACT3 的 U251、U118 细胞;③DACT3+siBMP4 组,抑制 BMP4 基因表达的 DACT3 过表达细胞;④DACT3+ferrostatin-1 组,加入铁死亡抑制剂 ferrostatin-1(10 μmol/L)的 DACT3 过表达细胞。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测慢病毒感染后细胞中 DACT3 mRNA 的表达水平 取对数期细胞,用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,然后用反转录试剂盒合成 cDNA,随后用实时荧光定量 PCR 检测 DACT3 mRNA 表达水平。DACT3 基因的上游引物序列为 5′-GGAGAATCGCCTGCCTTCAG-3′,下游引物序列为 5′-CGCGTGGGAAGCTTTGATTT-3′,扩增片段为 168 bp;内参照 GADPH 基因的上游引物序列为 5′-ACATCAAGAAGGTGGTGAAG-3′,下游引物序列为 5′- ATACCAGGAAATGAGCTTGA-3′,扩增片段为 173 bp。PCR 反应条件:95 ℃变性 30 s;95 ℃ 15 s, 60 ℃ 45 s,共 40 个循环。以 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 值表示 DACT3 mRNA 的相对表达水平。

1.2.5 CCK-8 检测细胞生存率 收集各组细胞,按照 1×10^5 个/孔接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,然后加入 10 μL CCK-8 溶液和 100 μL 培养基,在 37 ℃培养箱中孵育 4 h 后,用酶标仪在 450 nm 波长处检测光密度值[D(450)]。细胞生存率=[实验组 D(450)值-空白组 D(450)值]/[对照组 D(450)值-空白组D(450)值]。

1.2.6 蛋白免疫印迹检测细胞中相关蛋白表达 收集各组细胞,根据说明书提取细胞总蛋白。BCA 法检测蛋白质浓度。将各组蛋白于 10%SDS-PAGE 凝胶中电泳,电泳完成后将蛋白转移至 PVDF 膜,37 ℃封闭 1 h, 一抗孵育过夜;TBST 漂洗 3 次后,孵育二抗 1 h;TBST 洗膜 3 次后用超敏 ECL 试剂发光显色,采集图像。

1.2.7 铁离子浓度测定 取各组胶质瘤细胞,经 0.25%胰酶消化沉淀,加入 4 倍体积的铁测定缓冲液,4 ℃,11 000 r/min 离心 10 min,离心后吸取上清待测。取 50 μL 样品与 50 μL 铁测定缓冲液一起加入 96 孔板,共 100 μL /孔。每孔加入 5 μL 铁离子分析缓冲液,室温孵育 30 min 后向每孔加入 100 μL 铁离子探针试剂,避光处理后室温下孵育 60 min。使用酶标仪测量 593 nm 光谱下的光密度值。

1.2.8 MDA 含量测定 取各组胶质瘤细胞(约 10^6 个),加入 100 μL 细胞裂解液,冰板上裂解 10 min,裂解物在 4 ℃、12 000 r/min 下离心 30 min,将上清液转移到 1.5 mL EP 管中,BCA 法测定蛋白浓度,用 RIPA 将样品浓度调整为一致,最后用 MDA 检测试剂盒测定 MDA 含量(DACT3+ferrostatin-1 组应提前将胶质瘤细胞预敷 ferrostatin 1 h)。最后用酶标仪测量 532 nm 光谱下光密度值。

1.2.9 GSH 含量测定 收集各组胶质瘤细胞,PBS 洗涤 1 次后离心,吸尽上清后,加入 3 倍于细胞沉淀的蛋白去除试剂 S 缓冲溶液,充分涡旋震荡后,利用液氮和 37 ℃水浴对样品进行 2 次快速的冻融,然后在 4 ℃下 11 000 r/min 离心 10 min,最后取上清液用 GSH 检测试剂盒测定谷胱甘肽的含量(DACT3+ferrostatin-1 组应提前将胶质瘤细胞预敷 1 h)。最后用酶标仪测量 412 nm 光谱下光密度值。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 19.0 统计软件分析,组间差异比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DACT3 的转染效率

建立稳定过表达 DACT3 的 U251、U118 胶质瘤细胞系后,Western blot 检测各组细胞 DACT3 表达水平,结果提示:DACT3 组 DACT3 表达明显高于 Ctrl 组,差异有统计学意义($P<0.05$, 图 1A), qRT-PCR 检测各组细胞 DACT3 表达情况,结果提示:DACT3 组 mRNA 水平较对照组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 1B)。

2.2 DACT3 过表达促进胶质瘤细胞铁死亡, 抑制增殖

如图 2A 所示,DACT3 组胶质瘤细胞 GSH 含量较 Ctrl 组明显减低,而 DACT3 组铁离子浓度(图 2B)和 MDA 含量(图 2C)比 Ctrl 组显著升高;CCK-8 检测结果显示:DACT3 组胶质瘤细胞生存率明显低于 Ctrl 组(图 2D);Western blot 检测结果显示:过表达 DACT3 可以明显降低铁死亡信号通路的关键蛋白 GPX4 及 SLC7A11 表达,提高 TFR1 表达水平(图 2E~H),差异均有统计学意义($P<0.05$)。值得注意的是,以上结果均显示 ferrostatin-1(DACT3+ferrostatin-1 组)可以显著抵消上述改变($P<0.05$)。

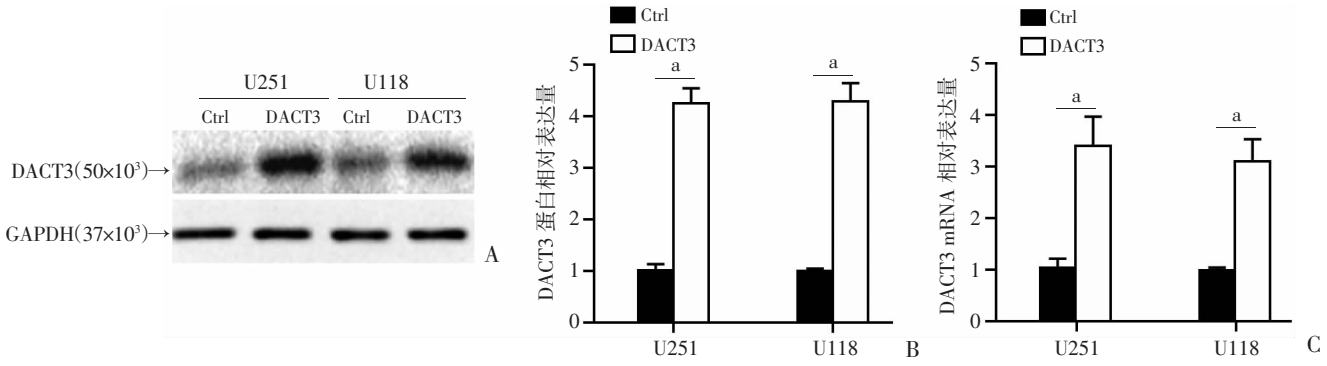


图 1 Western blot(A)和 qRT-PCR 检测慢病毒感染后人神经胶质瘤 U251、U118 细胞中 DACT3 蛋白(B)和 mRNA(C)表达水平

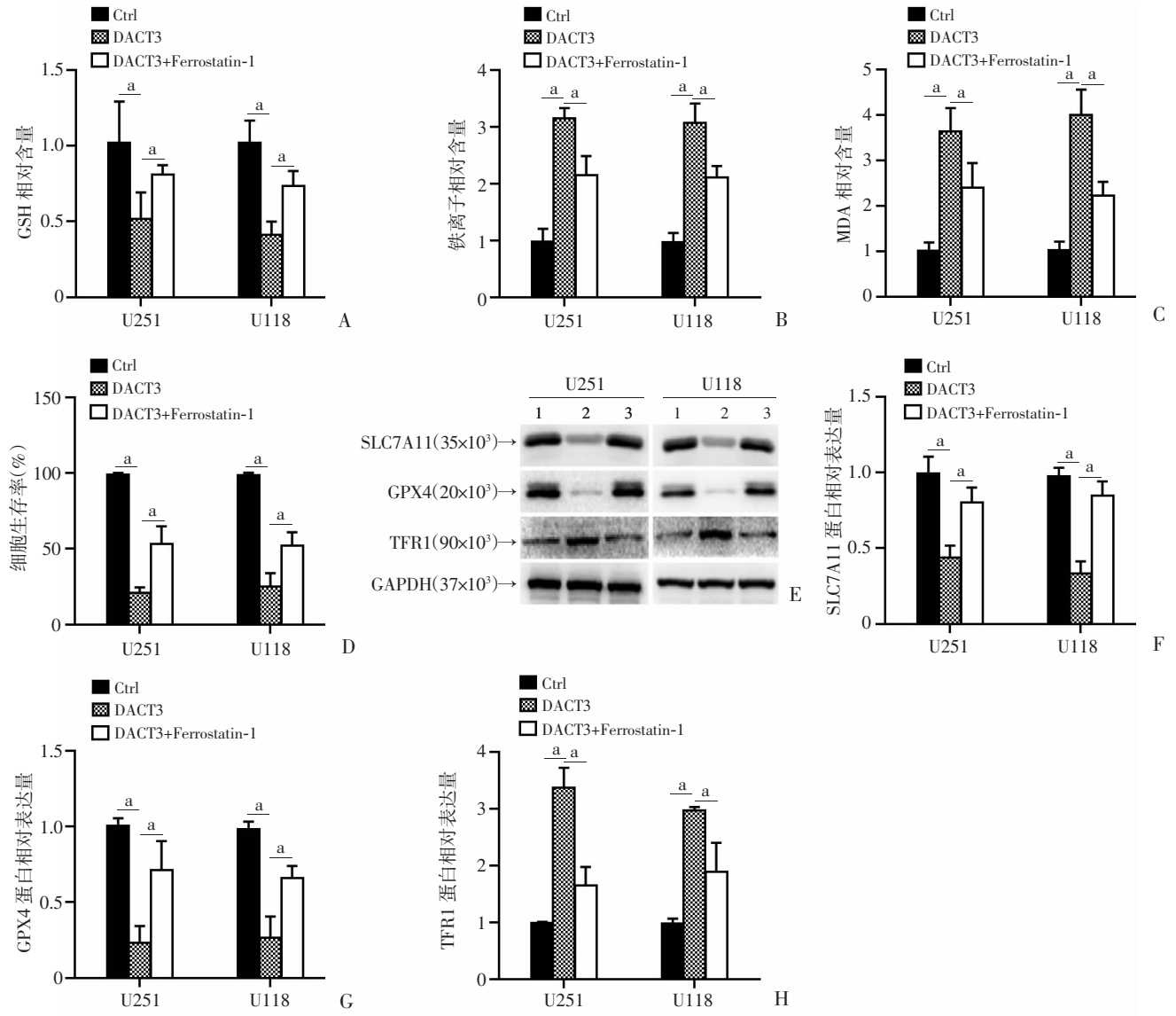
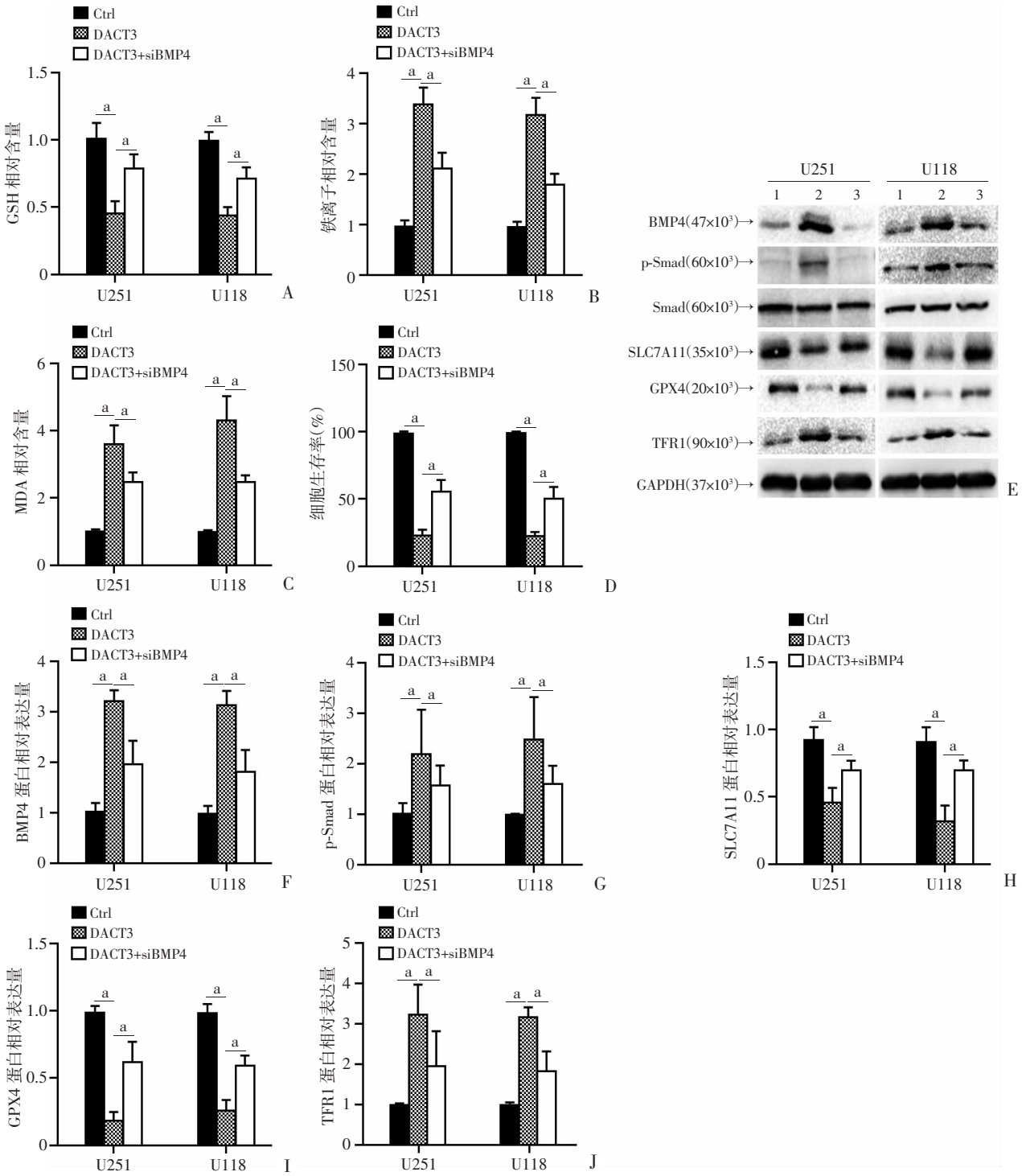


图 2 U251、U118 细胞中 GSH 含量(A)、铁离子含量(B)、MDA 含量(C)、细胞生存率(D)及 SLC7A11、GPX4、TFR1 表达水平(E~H)

2.3　DACT3 通过激活 BMP4/Smad 信号通路促进铁死亡,抑制增殖

敲低 BMP4(DACT3+siBMP4 组)可以改善过表达 DACT3(DACT3 组)导致的 GSH 含量和细胞生存率的降低,铁离子浓度以及 MDA 含量的升高(图 3A~D,$P<0.05$)。Western blot 检测结果显示:过表达 DACT3 可以明显促进 TFR1、BMP4 及 p-Smad 的表达,抑制 GPX4 及 SLC7A11 蛋白表达;而进一步敲低 BMP4(DACT3+siBMP4 组)可以显著抵消上述改变(图 3E~J),差异均有统计学意义($P<0.05$)。



1:Ctrl;2:DACT3;3:DACT3+siBMP4;a: $P<0.05$

图 3　U251、U118 细胞中 GSH 含量(A)、铁离子含量(B)、MDA 含量(C)、细胞生存率(D)及 BMP4、p-Smad、SLC7A11、GPX4、TFR1 表达水平(E~J)

3 讨论

DACT 家族成员包括 DACT 1/2/3,DACT 基因编码的蛋白在结构上有 3 个重要结构域:N 端的亮氨酸拉链结构域、C 末端的 PDC 结合结构域以及在 N 端和 C 端均有的富含丝氨酸的结构域。亮氨酸拉链结构域参与蛋白相互作用;富含丝氨酸的结构域包含很多潜在的磷酸化位点,可能涉及蛋白自身修饰、调控等。DACT3 定位于人类染色体的 19q13.32,编码的蛋白由 610 个氨基酸残基组成,可发挥抑制恶性肿瘤作用[19-20]。如在 NSCLC 细胞中,DACT3 的表达降低了 c-Myb 的表达,从而降低了 Wnt/β-catenin 信号通路的激活,并抑制了细胞增殖和侵袭能力。在多发性骨髓瘤(multipie myeloma,MM)中,抑制组蛋白去乙酰化酶的 CKD-581,可增加 DACT3 的表达,抑制血液癌细胞的增殖。DACT3 在成人大脑中表达较高,而在胶质瘤组织中出现表达降低,且在胶质瘤细胞中 DACT3 表达量与胶质瘤细胞级别呈负相关,DACT3 表达高低影响胶质瘤患者预后,表达越高生存期越久。本课题组前期研究证实 DACT2 与胶质瘤的发生发展密切相关,有趣的是,课题组最新发现 DACT3 作为 DACT 家族成员之一,可以导致胶质瘤细胞发生铁死亡,但其机制尚未见报道,深入研究相关分子机制对胶质瘤的分子靶向治疗提供新的治疗策略。

铁死亡概念于 2012 年首次提出,这种死亡方式是由于各种途径所致细胞内脂质活性氧(L-ROS)积累,导致细胞氧化还原稳态失衡,从而促进清除肿瘤细胞[8,21]。而针对肿瘤细胞铁死亡的分子机制研究是目前肿瘤治疗的热点。GPX4 的消耗被认为是铁死亡的主要诱因,GPX4 可催化脂质过氧化还原,抑制铁死亡,而 GSH 可促进 GPX4 的生成[22];SLC7A11 是细胞膜上氨基酸逆向转运蛋白 XC-中的轻链亚基,介导胞内谷氨酸和胞外胱氨酸交换,进入细胞内的胱氨酸转化为半胱氨酸参与合成 GSH,抑制铁死亡[23];TFR1 的作用是将细胞外带有 Fe^{3+} 的转铁蛋白内吞入胞内,Fe^{3+} 经转化为 Fe^{2+} 并释放到胞质中参与 Fenton 反应(Fe^{2+} 与 H_2O_2 的氧化反应),产生 L-ROS,引起铁死亡[24];MDA 是细胞膜上甘油磷脂过氧化产生的一系列副产物之一,其含量高低可反映细胞内由芬顿反应引起的自由基反应强弱,含量越高则自由基反应越强,铁死亡过程越明显[25]。以上各种指标的异常,均可导致铁死亡的发生。本研究选用常见的 U251、U118 胶质瘤细胞作为研究对象,构建稳定过表达 DACT3 的细胞后,探究 DACT3 对细胞增殖的影响及与铁死亡的关系。结果显示 DACT3 过表达组细胞生存率较对照组明显降低,提示 DACT3 抑制胶质瘤细胞生长,同时 DACT3 显著降低胶质瘤细胞 GSH 含量,升高铁离子浓度和 MDA 含量,且明显促进铁死亡信号通路的关键蛋白 GPX4 及 SLC7A11 表达,抑制 TFR1 表达水平明显促进胶质瘤细胞铁死亡,提示 DACT3 抑制胶质瘤细胞生长可能通过促进铁死亡来完成。进一步使用铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 作用于 DACT3 过表达组,上述指标变化明显逆转,证明 DACT3 通过促进铁死亡而发挥抑制胶质瘤细胞增殖的作用。

BMP4/Smad 信号通路参与多种肿瘤的发生发展,既往有研究证实 BMP4 在胶质瘤中发挥抑癌基因的作用[17-18]。BMP4 通过增加 p-Smad 水平,抑制胶质瘤细胞恶性生物学行为。而最新研究发现 BMP/Smad 信号通路在铁稳态调节中起到重要作用[26-27]。肝脏是机体调节全身铁稳态的最重要器官,通过分泌铁调素(hepcidin,HAMP)来实现,HAMP 是一种多肽类激素,通过与铁转运蛋白(ferroportin,FPN)结合以调节 FPN 的表达,而 FPN 是目前已知的体内唯一的将铁由细胞内转运至血浆的物质。当循环铁浓度波动时,肝细胞通过 BMP/SMAD 途径感知并调节铁调素表达。由肝脏内皮细胞分泌的受铁水平调节的 BMP 和其受体血幼蛋白(HJV)一起激活 BMP 丝氨酸苏氨酸激酶受体-(BMPR-)Ⅰ/Ⅱ复合物,BMPR Ⅱ促进下游 BMP 介质 SMAD 的磷酸化,磷酸化后的 SMAD 作为活性转录复合物进入细胞核,与 BMP 反应元件结合,然后激活 HAMP 的转录。而 DACT3 是否通过调节 BMP/Smad 信号轴促进铁死亡的发生,目前未见研究报道。因此,本研究检测了细胞中 BMP4、p-Smad 表达水平,结果发现 DACT3 组与对照组相比,胶质瘤细胞生存率显著降低,铁死亡被促进,BMP4、p-Smad 表达水平明显升高,提示 DACT3 可能通过影响 BMP4/Smad 信号通路来促进铁死亡。而进一步敲低 BMP4 后,发现过表达 DACT3 抑制细胞生长促进铁死亡的效果被明显逆转,说明 BMP/Smad 信号通路是作为基因 DACT3 的下游通路来调控细胞铁死亡。

综上,本研究发现过表达 DACT3 可通过激活 BMP4/Smad 信号通路促进细胞铁死亡,最终抑制胶质瘤细胞增殖。因此,DACT3 可作为胶质瘤分子治疗的潜在靶点。但本研究仅仅通过体外细胞实验来探究基

因 DACT3 抑制胶质瘤细胞生长的作用机制及调控机制,尚缺乏系统的体内实验研究,另外关于 DACT3 通过何种分子机制来精准调控 BMP4/Smad 信号通路尚不明确,下一步还将结合动物实验来进一步验证及探寻详细分子机制,以期为胶质瘤治疗提供参考思路及理论依据。

参考文献:

[1] YUAN B Y, WANG G Q, TANG X, *et al*. Immunotherapy of glioblastoma: recent advances and future prospects[J]. Hum Vaccines Immunother, 2022, 18(5): 2055417. DOI: 10.1080/21645515.2022.2055417.

[2] TROIKE K M, ACANDA DE LA ROCHA A M, ALBAN T J, *et al*. The translocator protein (TSPO) genetic polymorphism A147T is associated with worse survival in male glioblastoma patients[J]. Cancers, 2021, 13(18): 4525. DOI: 10.3390/cancers13184525.

[3] SALAMI R, SALAMI M, MAFI A, *et al*. Circular RNAs and glioblastoma multiforme: focus on molecular mechanisms[J]. Cell Commun Signal, 2022, 20(1): 1-17. DOI: 10.1186/s12964-021-00809-9.

[4] WU W, KLOCKOW J L, ZHANG M, *et al*. Glioblastoma multiforme (GBM): an overview of current therapies and mechanisms of resistance[J]. Pharmacol Res, 2021, 171: 105780. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105780.

[5] ZHAO Z, ZHANG K N, WANG Q W, *et al*. Chinese glioma genome atlas (CGGA): a comprehensive resource with functional genomic data from Chinese glioma patients[J]. Genom Proteom Bioinform, 2021, 19(1): 1-12. DOI: 10.1016/j.gpb.2020.10.005.

[6] LUO Y J, HUANG Q M, HE B, *et al*. Regulation of ferroptosis by non-coding RNAs in the development and treatment of cancer (Review)[J]. Oncol Rep, 2020, 45(1): 29-48. DOI: 10.3892/or.2020.7836.

[7] LI J, CAO F, YIN H L, *et al*. Ferroptosis: past, present and future[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 88. DOI: 10.1038/s41419-020-2298-2.

[8] WANG H, LIU C, ZHAO Y X, *et al*. Mitochondria regulation in ferroptosis[J]. Eur J Cell Biol, 2020, 99(1): 151058. DOI: 10.1016/j.ejcb.2019.151058.

[9] WANG W M, GREEN M, CHOI J E, *et al*. $CD8^+$ T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy[J]. Nature, 2019, 569(7755): 270-274. DOI: 10.1038/s41586-019-1170-y.

[10] LANG X T, GREEN M D, WANG W M, *et al*. Radiotherapy and immunotherapy promote tumoral lipid oxidation and ferroptosis *via* synergistic repression of SLC7A11[J]. Cancer Discov, 2019, 9(12): 1673-1685. DOI: 10.1158/2159-8290.cd-19-0338.

[11] KIM S J, KIM S, CHOI Y J, *et al*. CKD-581 downregulates Wnt/β-catenin pathway by DACT3 induction in hematologic malignancy[J]. Biomol Ther (Seoul), 2022, 30(5): 435-446. DOI: 10.4062/biomolther.2022.022.

[12] ZHAO H Y, YANG L H, HAN Y, *et al*. DACT3 inhibits the malignant phenotype of non-small cell lung cancer through downregulation of c-Myb[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2017, 10(12): 11580-11587.

[13] TAN Y, LI Q M, HUANG N, *et al*. Upregulation of DACT2 suppresses proliferation and enhances apoptosis of glioma cell *via* inactivation of YAP signaling pathway[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(8): e2981. DOI: 10.1038/cddis.2017.385.

[14] GENG L Y, XU J J, ZHU Y H, *et al*. Targeting miR-9 in glioma stem cell-derived extracellular vesicles: a novel diagnostic and therapeutic biomarker[J]. Transl Oncol, 2022, 22: 101451. DOI: 10.1016/j.tranon.2022.101451.

[15] HART C G, KARIMI-ABDOLREZAEE S. Bone morphogenetic proteins: new insights into their roles and mechanisms in CNS development, pathology and repair[J]. Exp Neurol, 2020, 334: 113455. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113455.

[16] ZHAO Q, DONG D D, CHU H H, *et al*. lncRNA CDKN2A-AS1 facilitates tumorigenesis and progression of epithelial ovarian cancer *via* modulating the SOSTDC1-mediated BMP-SMAD signaling pathway[J]. Cell Cycle, 2021, 20(12): 1147-1162. DOI: 10.1080/15384101.2021.1924947.

[17] NAYAK S, MAHENTHIRAN A, YANG Y Y, *et al*. Bone morphogenetic protein 4 targeting glioma stem-like cells for malignant glioma treatment: latest advances and implications for clinical application[J]. Cancers, 2020, 12(2): 516. DOI: 10.3390/cancers12020516.

[18] DALMO E, JOHANSSON P, NIKLASSON M, *et al*. Growth-inhibitory activity of bone morphogenetic protein 4 in human glioblastoma cell lines is heterogeneous and dependent on reduced SOX2 expression[J]. Mol Cancer Res, 2020, 18(7): 981-991. DOI: 10.1158/1541-7786.mcr-19-0638.

[19] 吴娟, 吴勇军, 李智, 等. 肿瘤中 Dapper 蛋白家族表观遗传调控的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2019, 24(12): 1434-1440. DOI: 10.12092/j.issn.1009-

2501.2019.12.017.
WU J, WU Y J, LI Z, *et al*. Epigenetic regulation of Dapper family proteins in cancer[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2019, 24(12): 1434-1440. DOI: 10.12092/j.issn.1009-2501.2019.12.017.

[20] ZENG Y, ZHANG J Q, YUE J H, *et al*. The role of DACT family members in tumorigenesis and tumor progression[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(11): 4532-4544. DOI: 10.7150/ijbs.70784.

[21] BATTAGLIA A M, CHIRILLO R, AVERSA I, *et al*. Ferroptosis and cancer: mitochondria meet the "iron maiden" cell death[J]. Cells, 2020, 9(6): 1505. DOI: 10.3390/cells9061505.

[22] 程峰, 张庸, 王祥, 等. 谷胱甘肽过氧化物酶GPX4在铁死亡中的作用与机制研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(7): 1254-1258. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2021.07.033.
CHENG F, ZHANG Y, WANG X, *et al*. Research progress on the role and mechanism of GPX4 in ferroptosis[J]. J Mod Oncol, 2021, 29(7): 1254-1258. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2021.07.033.

[23] LIU J, ZHANG C, WANG J M, *et al*. The regulation of ferroptosis by tumor suppressor p53 and its pathway[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8387. DOI: 10.3390/ijms21218387.

[24] 芦山. ATF3介导铁和过氧化氢积累在马钱子碱诱导胶质瘤铁死亡的作用及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.
LU S. ATF3 contributes to brucine-triggered glioma cell ferroptosis *via* promotion of hydrogen peroxide and iron[D]. Changchun: Jilin University, 2021.

[25] LI R R, YIN B, ZENG D Y, *et al*. A novobiocin derivative, XN4, triggers ferroptosis in gastric cancer cells via the activation of NOX4[J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 1449-1457. DOI: 10.1080/13880209.2022.2099431.

[26] LI Y K, HUANG X L, WANG J J, *et al*. Regulation of iron homeostasis and related diseases[J]. Mediat Inflamm, 2020, 2020: 1-11. DOI: 10.1155/2020/6062094.

[27] YANG L, WANG H, YANG X, *et al*. Auranofin mitigates systemic iron overload and induces ferroptosis *via* distinct mechanisms[J]. Sig Transduct Target Ther, 2020, 5: 138. DOI: 10.1038/s41392-020-00253-0.

(**收稿**:2022-11-17;**修回**:2023-01-03)

(编辑 吴培红)