

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.10.004

MiR-210 在黑素瘤细胞铁死亡中的作用和机制研究 *

王潇玉^{1,2} 田阳子¹ 吴振杰^{1,3} 郭森¹ 王思佳^{1,4} 郭伟楠^{1Δ}

(1 第四军医大学西京皮肤医院 陕西 西安 710032; 2 第四军医大学基础医学院 陕西 西安 710032;

3 广西医科大学附属肿瘤医院骨软组织外科 广西 南宁 530021; 4 南方医科大学南方医院皮肤科 广东 广州 510515)

摘要 目的:探讨 miR-210 在黑素瘤细胞铁死亡中的作用及其可能调控机制。**方法:**通过 qRT-PCR 实验检测 0.5 μ M 铁死亡诱导剂 RSL3 刺激前后黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 中 miR-210 的表达水平变化情况;在 0.5 μ M 铁死亡诱导剂 RSL3 刺激的同时,给予 antagomiR-210 处理抑制黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 中 miR-210 的表达后,通过 CCK8 法检测细胞存活水平,通过流式细胞术检测细胞内 lipid ROS 水平;在此基础上,通过生物信息学分析、qRT-PCR 实验、免疫印迹实验和萤光素酶报告实验明确 miR-210 对靶分子 TFRC 的调控作用;在 0.5 μ M 铁死亡诱导剂 RSL3 刺激的条件下,给予 antagomiR-210 处理抑制 miR-210 的表达,同时使用 siRNA 沉默 TFRC 的表达水平,通过 CCK8 法检测细胞存活水平。**结果:**1)在 0.5 μ M RSL3 刺激后,黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 中 miR-210 的表达水平显著升高;2)在 0.5 μ M RSL3 刺激后,抑制 miR-210 的表达可加剧黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 的死亡,同时显著增加细胞内 lipid ROS 水平;3)miR-210 可直接结合 TFRC mRNA 的 3'UTR 区域,过表达 miR-210 可以显著抑制 TFRC 的转录和蛋白表达;4)在 0.5 μ M RSL3 刺激的条件下,沉默 TFRC 的表达可以显著逆转抑制 miR-210 对黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 铁死亡的促进作用。**结论:**miR-210 是黑素瘤细胞铁死亡的重要抑制因子,且是通过靶向调控 TFRC 实现的。

关键词:miR-210;TFRC;黑素瘤;铁死亡

中图分类号:R-33;R739.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)10-1818-06

The Investigation on the Role of MiR-210 in Ferroptosis and the Underlying Mechanism in Melanoma*

WANG Xiao-yu^{1,2}, TIAN Yang-zi¹, WU Zhen-jie^{1,3}, GUO Sen¹, WANG Si-jia^{1,4}, GUO Wei-nan^{1Δ}

(1 Department of Dermatology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Bone and Soft Tissue Surgery, Guangxi Medical University Cancer Hospital, Nanning, Guangxi 530021, China;

4 Department of Dermatology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510515, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role and possible underlying mechanism of miR-210 in the regulation of ferroptosis in melanoma. **Methods:** qRT-PCR assay was used to detect the level of miR-210 in A2058 and 451Lu melanoma cell lines before and after the stimulation with 0.5 μ M ferroptosis inducer RSL3. After the stimulation with 0.5 μ M ferroptosis inducer RSL3, antagomiR-210 was used to obtain the knockdown of miR-210 level in A2058 and 451Lu melanoma cell lines, and cell survival was detected by CCK8 assay, as well as lipid ROS detected by flow cytometry analysis. On this basis, bioinformatics analysis, qRT-PCR assay, immunoblotting assay and luciferase report assay were used to clarify the regulatory mechanism of TFRC by miR-210. After the stimulation with 0.5 μ M ferroptosis inducer RSL3, siRNA transfection was used to obtain the knockdown of TFRC expression in A2058 and 451Lu melanoma cells with the pre-treatment with antagomiR-210 that could suppress miR-210 level, and cell survival was then detected by CCK8 assay. **Results:** 1) MiR-210 was increased significantly in both A2058 and 451Lu melanoma cell lines after the stimulation with 0.5 μ M ferroptosis inducer RSL3. 2) Under the stimulation with 0.5 μ M ferroptosis inducer RSL3, the knockdown of miR-210 could significantly attenuate cell survival of A2058 and 451Lu melanoma cell lines, with the level of intracellular lipid ROS profoundly increased. 3) MiR-210 could directly bind to the 3'UTR region of TFRC mRNA. The overexpression of miR-210 could significantly suppress the expression of TFRC at both mRNA and protein levels in both A2058 and 451Lu melanoma cell lines. 4) The knockdown of TFRC could reverse the effect of silencing miR-210 on ferroptosis in both A2058 and 451Lu melanoma cell lines. **Conclusions:** MiR-210 is a crucial suppressor of ferroptosis in melanoma. MiR-210 inhibited melanoma cell ferroptosis via the suppression of its novel target TFRC.

Key words: miR-210; TFRC; Melanoma; Ferroptosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R739.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)10-1818-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81902791; 81625020)

作者简介:王潇玉(2001-),女,本科生,主要研究方向:黑素瘤发病机制,E-mail:2416588362@qq.com

Δ 通讯作者:郭伟楠(1992-),男,博士,主治医师,主要研究方向:黑素瘤发病机制,E-mail:745149236@qq.com,电话:18700916853

(收稿日期:2020-10-23 接受日期:2020-11-18)

前言

黑素瘤是黑素细胞恶性转化所致的皮肤肿瘤,致死率高^[1]。近年来,针对 BRAF 等突变基因的靶向药物和针对 CTLA-4、PD-1/PD-L1 等免疫检查点的药物已成为治疗的重要选择^[2],但分别存在获得性耐药和治疗反应率低的问题^[3]。因此,非常有必要进一步探索用于治疗黑素瘤的新药物新方法。

细胞铁死亡是以铁过载和脂质活性氧异常堆积为主要特点的一种新的细胞死亡方式^[4,5]。众多研究证实,诱导细胞铁死亡有望成为治疗包括黑素瘤在内的多种肿瘤的新方法^[6-8]。细胞铁死亡发生的过程受到众多分子的精确调控^[9],其中 microRNA 的调控作用受到越来越多的关注。Luo 和 Zhang 等报道发现 miR-137 和 miR-9 分别通过靶向 SLC1A5 和 GOT 抑制细胞内脂质过氧化物堆积和铁死亡^[10,11],提示 microRNA 在黑素瘤铁死亡中的重要作用。MiR-210 是一个与缺氧、能量应激、细胞损伤紧密关联的 microRNA^[12-14],广泛参与多种肿瘤的发生发展过程^[15,16]。然而,miR-210 是否参与调控黑素瘤铁死亡尚不清楚,其机制也亟待阐明。

1 材料和方法

1.1 主要细胞、试剂和仪器

1.1.1 黑素瘤细胞系 人黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 购于美国 ATCC 细胞库,我室常规液氮冻存保种。

1.1.2 实验试剂 委托上海吉玛制药技术有限公司合成 antagomiR-210、miR-210 mimic 和 si-TRFC,以及相应的 antagomiR-NC、miR-NC mimic 和 si-NC,种属均为人。AntagomiR-210 序列为:UCAGCCGCGUCACACGCACAG。miR-210 mimic 序列为:sense CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA,anti-sense AGCCGCGUCACACGCACAGUU。Si-TRFC 序列为:5'-AACTTCAAGGTTTCTGCCAGC-3'。RSL3、ferrostatin-1 购自美国 Selleck 公司;C11 BODIPY 581/591 购自美国 GlpBio 生物科技公司;CCK8 试剂购自上海七海复泰生物科技有限公司;双荧光素酶报告基因检测系统试剂盒购自美国 Promega 公司。胎牛血清购自美国 Gibco 生命科技公司;细胞转染试剂 Lipo3000 购自美国 Invitrogen 公司;DMEM/F12 培养基、RPMI 培养基均购自美国 Hyclone 公司。TFRC 和 GAPDH 抗体购自美国 proteintech 公司(TFRC 抗体货号 10084-2-AP;GAPDH 抗体货号 60004-1-Ig)。

1.1.3 实验仪器 免疫印迹蛋白电泳仪、免疫印迹蛋白转膜仪(湿型)、免疫印迹凝胶成像系统均购自美国 Bio-Rad 公司;荧光定量 PCR 检测系统购自美国 Bio-Rad 公司;Cytomics FC500 数字化流式细胞分析仪购自美国 Beckmen 公司。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 细胞培养 A2058 细胞系使用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基,451Lu 细胞系使用含 10% 胎牛血清的 RPMI 培养基。

1.2.2 药物处理 RSL3 工作液(浓度 0.5 μ M)使用 RSL3 储存液(浓度 1 mM)5 μ L 和 10 mL 培养基进行混合配置。Ferrostatin-1 工作液(浓度 10 μ M)使用 Ferrostatin-1 储存液(浓度 10 mM)10 μ L 和 10 mL 培养基进行混合配置。

1.2.3 RNA 提取和 qRT-PCR 实验 使用 Trizol 试剂(Invitrogen)分离总 RNA 并将其逆转录为单链 cDNA。在此基础上,qRT-PCR 实验依据日本 Takara 公司 SYBR® Premix Ex Taq™ II 试剂盒说明书进行操作。分析所获得的扩增和熔融曲线以确保 PCR 产物的特异性,使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法将阈值循环值用于计算转录水平的倍数变化,且均以 actin 基因的转录水平进行标准化。

1.2.4 Western blot 实验 胰蛋白酶常规消化细胞后离心,弃去上清后加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液于冰上裂解 10 min,之后在 4℃ 12000 rpm 的条件下离心 15 min 后,所得上清即获得细胞内总蛋白。蛋白用 BCA 法进行浓度检测,随后加入上样缓冲液于沸水中煮 5 min,待自然冷却后用加样器加入凝胶中进行电泳。蛋白在凝胶中经过电泳充分分离后转印至 PVDF 膜,之后将 PVDF 膜用 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h,置于用 5% 脱脂牛奶稀释好的一抗中在 4℃ 进行孵育过夜。PBST 洗膜三次,每次 10 min,二抗常温下孵育 2 h,结束后用 PBST 洗 3 次,每次 10 min,最后滴加 ECL 发光液对结果进行检测。

1.2.5 SiRNA 和 miRNA mimic 转染 取状态良好的对数期细胞,以 2.5×10^5 个/孔均匀铺 6 孔板,常规培养,镜下观察发现 70% 融合时可进行转染,配置转染体系:六孔板每孔转染体系为 500 μ L 无血清培养基,分为两个 EP 管配置,每管 250 μ L。向第一管中滴加 5 μ L Lipo3000,小心吹匀;向第二管内滴加 5 μ L SiRNA 或者 50 μ L miRNA mimic,小心吹匀,室温静置 5 min 后,再将 2 管中液体轻柔混合,室温静置 5 min,向六孔板中小心滴加混匀的转染体系,置于 CO₂ 孵箱中 37℃ 继续常规培养。

1.2.6 CCK8 法检测细胞活力 将接受过相应处理的细胞以 5×10^3 个/孔接种到 96 孔板中,在培养 24 小时后,给予每孔加入 10 μ L 的 CCK8 检测试剂,在 37℃ 孵箱中孵育 2 小时后通过 Bio-Rad 全自动酶标仪检测 450 nm 处吸光度以获得细胞活力数值。

1.2.7 生物信息学分析预测 miR-210 靶点 使用多种靶基因预测软件,包括 miRanda(<http://www.microrna.org>),TargetScan(<http://www.targetscan.org>)和 PICTAR5(<http://pictar.mdc-berlin.de/>)来预测 miR-210 的潜在靶基因。

1.2.8 流式细胞术检测细胞内 lipid ROS 将六孔板中的培养基替换为 2 mL 含有 5 μ L BODIPY-C11 的培养基后于 37℃ 培养箱中孵育 20 分钟。常规胰酶消化收集细胞于 15 mL 离心管, PBS 洗涤两次后重悬于 500 μ L PBS 中,其后通过流式细胞仪进行检测。

1.2.9 荧光素酶报告实验 黑素瘤细胞在经过相应质粒转染 48 小时后,荧光素酶报告实验按照美国 Promega 公司的双荧光素酶报告基因检测系统(Dual-Luciferase Reporter Assay System)试剂盒说明进行^[18]。

1.3 统计方法

采用 SPSS 14.0 软件进行统计分析,实验均需独立重复至少 3 次,定量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组均数比较采用独立样本 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RSL3 刺激促进黑素瘤细胞中 miR-210 表达水平升高

我们分别给予 2 株黑素瘤细胞系 A2058 和 451Lu 0.5 μ M 铁死亡诱导剂 RSL3 处理,同时给予铁死亡特异性阻断剂 ferrostatin-1 明确 RSL3 诱导铁死亡的效果,通过 qRT-PCR 实验检测 RSL3 处理前后 miR-210 表达水平变化情况。结果显示, RSL3 处理后, A2058 和 451Lu 的细胞活力受到明显抑制,而铁

死亡特异性抑制剂 ferrostatin-1 共处理可显著逆转该效应 (** $P<0.001$),说明 RSL3 可以有效诱导黑素瘤细胞铁死亡 (见图 1A)。进一步发现, RSL3 刺激后, A2058 和 451Lu 细胞中 miR-210 的表达水平显著升高 (** $P<0.001$) (见图 1B)。

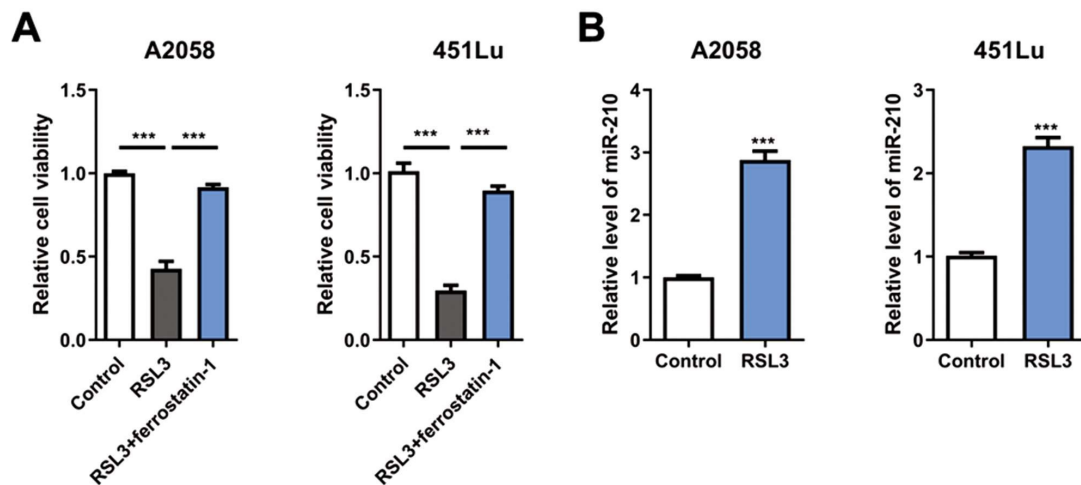


图 1 铁死亡诱导剂 RSL3 刺激后黑素瘤细胞中 miR-210 的表达水平 (** $P<0.001$)

Fig.1 The expression level of miR-210 in melanoma cells after the stimulation with ferroptosis inducer RSL3 (** $P<0.001$)

2.2 抑制 miR-210 表达加剧 RSL3 刺激诱导的黑素瘤细胞铁死亡

为了进一步研究 miR-210 在黑素瘤细胞铁死亡中的调控作用,在 RSL3 刺激的同时,给予 antagomiR-210 处理,通过 CCK8 法检测细胞存活水平、通过流式细胞术检测细胞内 lipid ROS 水平,结果显示,与 RSL3+antagomiR-NC 组相比,

RSL3+antagomiR-210 组细胞活力进一步降低, lipid ROS 水平进一步升高 (** $P<0.001$) (见图 2A-B)。该部分结果表明 miR-210 是黑素瘤细胞铁死亡的内源性保护分子,抑制 miR-210 的表达可以增加黑素瘤细胞对铁死亡诱导剂的敏感性。

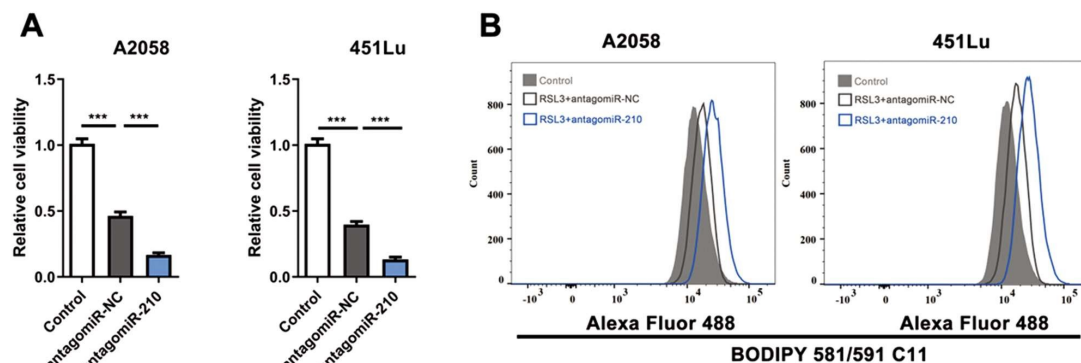


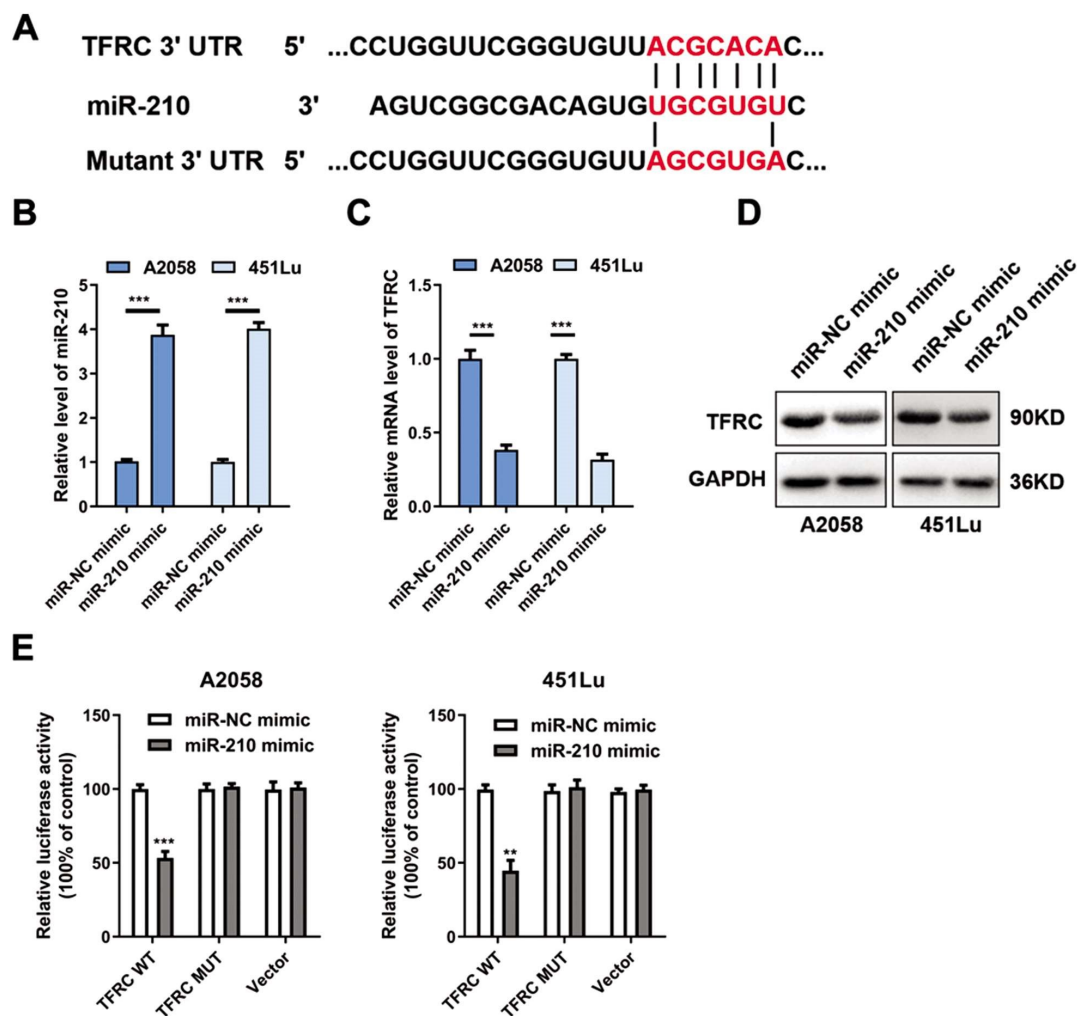
图 2 抑制 miR-210 表达后促进 RSL3 刺激下黑素瘤细胞铁死亡和细胞内 lipid ROS 水平升高 (** $P<0.001$)

Fig.2 Inhibition of miR-210 level promoted ferroptosis of melanoma cells and increased intracellular lipid ROS under RSL3 stimulation (** $P<0.001$)

2.3 miR-210 靶向抑制转铁蛋白受体 TFRC

为了探讨 miR-210 调控黑素瘤细胞铁死亡的具体机制,通过 miRanda, PICTAR5, Targetscan 等网站进行生物信息学分析,发现转铁蛋白受体 TFRC mRNA 的 3'UTR 区域存在 miR-210 的结合序列 (图 3A),提示 TFRC 可能是 miR-210 的潜在靶基因。既往报道显示, TFRC 表达水平升高可以促进肿瘤细胞铁死亡的发生^[9],因此我们推测 miR-210 可能通过靶向调控 TFRC 抑制黑素瘤细胞铁死亡。给予黑素瘤细胞 miR-NC mimic 或者 miR-210 mimic 处理,通过 qRT-PCR 检测 miR-210 的表达水平,通过 qRT-PCR 和免疫印迹实验检测 TFRC 的表达水平,结果显示,与 miR-NC mimic 组相比, miR-210 mimic

组 miR-210 的水平显著升高, TFRC 的 mRNA 和蛋白表达水平显著降低 (** $P<0.001$) (见图 3B-D)。在前期生信分析提示 TFRC 的 mRNA 3'UTR 区域可以与 miR-210 直接结合的基础上,我们构建了 TFRC 的 mRNA 3'UTR 区域突变 (TFRC MUT) 的荧光素酶报告质粒和含有 TFRC 正常 mRNA 3'UTR 序列的荧光素酶报告质粒 (TFRC WT) (见图 3A)。通过荧光素酶报告实验发现,与 miR-NC 组相比, miR-210 mimic 可以显著抑制 TFRC WT 的荧光素酶活性,而对于 TFRC MUT 的荧光素酶活性则无明显抑制作用 (见图 3E)。该部分结果表明, miR-210 可以直接靶向 TFRC 的 mRNA 抑制其蛋白表达。

图3 miR-210 直接靶向 TFRC 抑制其蛋白表达 (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)Fig. 3 miR-210 directly targeted TFRC to suppress its protein level (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

2.4 沉默 TFRC 可以显著逆转抑制 miR-210 对黑素瘤细胞铁死亡的促进作用

为了明确 miR-210 是否通过靶向 TFRC 在黑素瘤铁死亡中发挥调控作用,在 RSL3 刺激下,在给予 A2058 和 451Lu 细胞 antagomiR-210 处理的同时,转染 si-NC 或者 si-TFRC 以沉默 TFRC 的表达水平,通过免疫印迹实验检测 TFRC 的表达水平证实其干涉效果(见图 4A),通过 CCK8 法检测细胞存活水平,结果显示,antagomiR-210 处理可以加剧 RSL3 刺激导致的黑素瘤细胞死亡,而同时沉默 TFRC 可以部分逆转在 RSL3 刺激下抑制 miR-210 对黑素瘤细胞铁死亡的促进作用(见图 4B)。

3 讨论

细胞铁死亡是以铁过载和脂质过氧化物过度堆积为主要特点的细胞死亡方式。越来越多的研究证实通过特定药物或者刺激诱导细胞发生铁死亡是治疗肿瘤的有效途径。临床常用药物柳氮磺吡啶、索拉菲尼等可以通过抑制游离胱氨酸摄取和谷胱甘肽合成诱导肿瘤细胞铁死亡的发生^[20];PD-1 单抗治疗可通过激活浸润 CD8⁺T 细胞促进 IFN- γ 分泌诱导肿瘤细胞脂质过氧化物堆积和铁死亡^[7];此外,放疗可以通过抑制胱氨酸谷氨酸转运受体的表达水平加剧免疫疗法诱导的肿瘤细胞铁死亡^[8]。

值得注意的是,基于诱导铁死亡的原理开发出的多种纳米颗粒在小鼠模型中具有确切的治疗肿瘤的效果,并且显示出和传统化疗药物联合治疗的优势,具有非常广阔的应用前景^[21]。因此,进一步探讨黑素瘤细胞铁死亡的分子调控机制并据此寻找特异性诱导铁死亡治疗黑素瘤的新靶点具有重要意义。

MiRNAs 是一类长度约 21~25 个核苷酸的内源性非编码小 RNA 分子,其表达异常可通过影响细胞铁死亡参与多种疾病的发生发展。Xiao 等发现,在创伤性脑损伤过程中,miR-212-5p 的表达水平显著下降,通过解除对于 Ptg2 表达的抑制作用,促进了神经元铁死亡的发生和创伤性脑损伤的发展^[22];Ding 等通过转录组测序的方法发现,在肾脏缺血再灌注损伤中,miR-182-5p 和 miR-378a-3p 的表达水平异常升高,通过抑制 GPX4 和 SLC7A11 的表达,加剧了肾脏的损伤和疾病的进展^[23]。此外,miR-424-5p 可通过靶向调控 ACSL4 介导铁死亡抵抗从而在卵巢癌中发挥抑癌功能^[24]。在黑素瘤中,miR-137 和 miR-9 分别可以通过靶向 SLC1A5 和 GOT1 影响细胞铁死亡的发生^[11,12],提示特异性调控铁死亡相关 miRNAs 作为黑素瘤治疗靶点的潜在价值,然而是否存在其他 miRNAs 参与调控黑素瘤细胞铁死亡尚不清楚。既往的报道显示,在缺氧、葡萄糖饥饿、病毒感染等应激条件下,miR-210 的表达水平可以被显著诱导^[12-14],与之对应,我们发现铁死亡诱导剂同样可以显著促进

miR-210 的表达,进一步提示其是应激压力敏感的 microRNA。在此基础上,我们首次证实 miR-210 是铁死亡发生过程中的促生存分子,丰富和完善了铁死亡的 microRNA 调控网络。值得注意的是,在骨肉瘤、口腔癌和胰腺癌中 miR-210 分别通过激活细胞自噬、Akt 和 NF- κ B 信号发挥促癌作用^[25-27];而在喉癌和胶质瘤中,miR-210 则可以抑制肿瘤细胞的侵袭和迁移^[28,29],提

示 miR-210 在不同肿瘤中的作用具有异质性。我们的研究发现,在黑素瘤中 miR-210 通过靶向 TRFC 抑制铁死亡,支持其在应激条件下作为促癌因子的重要作用。因此,在使用铁死亡诱导剂的同时联合抑制 miR-210 的表达水平有望成为治疗黑素瘤的全新策略。

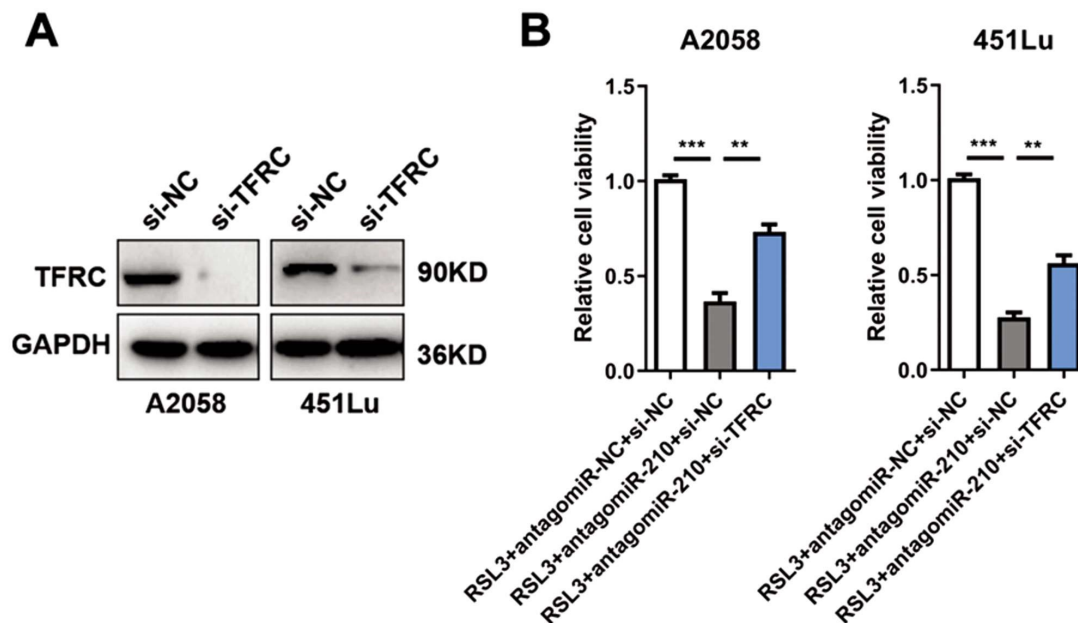


图4 沉默 TRFC 可以部分回复抑制 miR-210 对黑素瘤细胞铁死亡的促进作用 (** $P<0.01$, *** $P<0.001$)

Fig.4 The knockdown of TRFC can partially reverse the effect of miR-210 inhibition on ferroptosis in melanoma (** $P<0.01$, *** $P<0.001$)

TRFC 基因编码的转铁蛋白受体是转铁蛋白-铁复合物摄入细胞所必须,对于维持细胞内铁离子的含量具有重要作用。最新研究表明,TRFC 的表达水平升高可以通过诱发细胞内铁离子超载促进铁死亡的发生,参与心肌缺血/再灌注损伤、脑缺血损伤和肿瘤等疾病的发展^[30-32],且可作为铁死亡的特异性标志物^[32]。然而,TRFC 在黑素瘤细胞铁死亡中的作用及其上游调控机制尚不清楚。既往报道显示,microRNA 调控是影响 TRFC 表达水平的重要模式,miR-214、miR-107、miR-148、miR-320 均是可以与 TRFC mRNA 直接结合并抑制其表达的 microRNAs^[33-36]。我们的研究以 microRNA 为切入点,首次发现 TRFC 是 miR-210 的直接靶分子,通过荧光素酶报告实验证实 miR-210 可以直接与 TRFC mRNA 的 3'UTR 区域直接结合,进一步明确了 miR-210 可以通过靶向 TRFC 抑制黑素瘤细胞铁死亡的重要功能,拓展了 TRFC 的 microRNA 分子调控网络,而 miR-214、miR107 等 TRFC 相关 microRNA 是否同样可以参与调控细胞铁死亡仍待进一步研究。此外,miRNA 往往可以靶向调控多个下游基因,同时影响细胞的多个生物学活动。我们的结果显示,抑制 miR-210 表达可以显著加剧铁死亡诱导过程中脂质过氧化物的产生,提示其不仅通过 TRFC 调控细胞的铁离子代谢,还可能参与调控细胞的氧化应激反应。在对子宫内

影响。

综上所述,我们的研究发现,miR-210 在黑素瘤细胞铁死亡发生时表达水平显著升高,而抑制 miR-210 表达可通过解除对于其靶分子 TRFC 的抑制作用加剧黑素瘤细胞铁死亡。因此,联合抑制 miR-210 有望成为通过诱导铁死亡治疗黑素瘤的全新联合治疗策略。

参考文献(References)

- [1] 高天文. 黑素瘤治疗现状及进展 [C]. 2018 全国中西医结合皮肤病学术年会论文汇编, 2018: 1
- [2] Lo JA, Fisher DE. The melanoma revolution: from UV carcinogenesis to a new era in therapeutics[J]. Science, 2014, 346(6212): 945-949
- [3] Schandendorf D, van Akkooi ACJ, Berking C, et al. Melanoma [J]. Lancet, 2018, 392(10151): 971-984
- [4] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149 (5): 1060-1072
- [5] Gao M, Monian P, Pan Q, et al. Ferroptosis is an autophagic cell death process[J]. Cell Res, 2016, 26(9): 1021-1032
- [6] Wu Y, Yu C, Luo M, et al. Ferroptosis in Cancer Treatment: Another Way to Rome[J]. Front Oncol, 2020, 10: 571127
- [7] Lang X, Green MD, Wang W, et al. Radiotherapy and Immunotherapy Promote Tumoral Lipid Oxidation and Ferroptosis via Synergistic Repression of SLC7A11[J]. Cancer Discov, 2019, 9(12): 1673-1685
- [8] Wang W, Green M, Choi JE, et al. CD8⁺T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy [J]. Nature, 2019, 569 (7755):

- 270-274
- [9] Conrad M, Kagan VE, Bayir H, et al. Regulation of lipid peroxidation and ferroptosis in diverse species [J]. *Genes Dev*, 2018, 32(9-10): 602-619
- [10] Luo M, Wu L, Zhang K, et al. miR-137 regulates ferroptosis by targeting glutamine transporter SLC1A5 in melanoma [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(8): 1457-1472
- [11] Zhang K, Wu L, Zhang P, et al. miR-9 regulates ferroptosis by targeting glutamic-oxaloacetic transaminase GOT1 in melanoma [J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(11): 1566-1576
- [12] Wang P, Yan Q, Liao B, et al. The HIF1 α /HIF2 α -miR210-3p network regulates glioblastoma cell proliferation, dedifferentiation and chemoresistance through EGF under hypoxic conditions [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 992
- [13] Ma M, Ma C, Li P, et al. Low glucose enhanced metformin's inhibitory effect on pancreatic cancer cells by suppressing glycolysis and inducing energy stress via up-regulation of miR-210-5p [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(17): 2168-2181
- [14] You X, Qu Y, Zhang Y, et al. Mir-331-3p Inhibits PRRSV-2 Replication and Lung Injury by Targeting PRRSV-2 ORF1b and Porcine TNF- α [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 547144
- [15] Du Y, Wei N, Ma R, et al. A miR-210-3p regulon that controls the Warburg effect by modulating HIF-1 α and p53 activity in triple-negative breast cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9): 731
- [16] Wang L, Song Y, Wang H, et al. MiR-210-3p-EphrinA3-PI3K/AKT axis regulates the progression of oral cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(7): 4011-4022
- [17] Shi Q, Zhang W, Guo S, et al. Oxidative stress-induced overexpression of miR-25: the mechanism underlying the degeneration of melanocytes in vitiligo[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 496-508
- [18] Park E, Chung SW. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(11): 822
- [19] Conrad M, Lorenz SM, Proneth B. Targeting Ferroptosis: New Hope for As-Yet-Incurable Diseases [J]. *Trends Mol Med*, 2020, S1471-4914(20): 30215-X
- [20] Hassannia B, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Targeting Ferroptosis to Iron Out Cancer[J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(6): 830-849
- [21] Xiao X, Jiang Y, Liang W, et al. miR-212-5p attenuates ferroptotic neuronal death after traumatic brain injury by targeting Ptg2[J]. *Mol Brain*, 2019, 12(1): 78
- [22] Ding C, Ding X, Zheng J, et al. miR-182-5p and miR-378a-3p regulate ferroptosis in I/R-induced renal injury [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(10): 929
- [23] Ma LL, Liang L, Zhou D, et al. Tumor suppressor miR-424-5p abrogates ferroptosis in ovarian cancer through targeting ACSL4 [J]. *Neoplasia*, 2020, 200707N705
- [24] Tang LJ, Zhou YJ, Xiong XM, et al. Ubiquitin-specific protease 7 promotes ferroptosis via activation of the p53/TfR1 pathway in the rat hearts after ischemia/reperfusion [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, S0891-5849(20): 31581-1
- [25] Liu W, Jiang DD, Gong FY, et al. MiR-210-5p promotes epithelial-mesenchymal transition by inhibiting PIK3R5 thereby activating oncogenic autophagy in osteosarcoma cells [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 93
- [26] Wang L, Song Y, Wang H, et al. MiR-210-3p-EphrinA3-PI3K/AKT axis regulates the progression of oral cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(7): 4011-4022
- [27] Ni J, Zhou S, Yuan WB, et al. Mechanism of miR-210 involved in epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer cells under hypoxia [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2019, 39(5-6): 399-406
- [28] Hu WQ, Dong N, Huang JQ, et al. Long non-coding RNA PCAT1 promotes cell migration and invasion in human laryngeal cancer by sponging miR-210-3p[J]. *J BUON*, 2019, 24(6): 2429-2434
- [29] Liu SY, Jiang T, Zhong YJ, et al. miR-210 inhibits cell migration and invasion by targeting the brain-derived neurotrophic factor in glioblastoma[J]. *J Cell Biochem*, 2019. doi: 10.1002/jcb.28414
- [30] Lan B, Ge JW, Cheng SW, et al. Extract of Naotaifang, a compound Chinese herbal medicine, protects neuron ferroptosis induced by acute cerebral ischemia in rats[J]. *J Integr Med*, 2020, 18(4): 344-350
- [31] Ma S, Henson ES, Chen Y, et al. Ferroptosis is induced following siramesine and lapatinib treatment of breast cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(7): e2307
- [32] Feng H, Schorpp K, Jin J, et al. Transferrin Receptor Is a Specific Ferroptosis Marker[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(10): 3411-3423
- [33] Lu J, Xu F, Lu H. LncRNA PVT1 regulates ferroptosis through miR-214-mediated TFR1 and p53[J]. *Life Sci*, 2020, 260: 118305
- [34] Fu YX, Lin LW, Xia LG. MiR-107 function as a tumor suppressor gene in colorectal cancer by targeting transferrin receptor 1 [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 31
- [35] Babu K, Muckenthaler M. MiR-148a regulates expression of the transferrin receptor 1 in hepatocellular carcinoma [J]. *Sci Rep*, 9(1): 1518
- [36] Schaar D, Medina D, Moore D, et al. MiR-320 targets transferrin receptor 1 (CD71) and inhibits cell proliferation[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(2): 245-255
- [37] Dai YD, Lin X, Xu WZ, et al. MiR-210-3p protects endometriotic cells from oxidative stress-induced cell cycle arrest by targeting BARD1[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 144