

芝麻素通过 P53/SLC7A11/GPX4 轴诱导三阴性乳腺癌细胞铁死亡

朱明美¹, 于宛鹭¹, 徐红月¹, 崔新华¹, 彭丹萍², 于 录¹

(¹ 吉林大学动物医学学院人畜共患传染病重症诊治全国重点实验室, 长春 130062;

² 吉林大学第一医院感染科, 长春 130062)

摘要 **目的** 探讨芝麻素诱导三阴性乳腺癌(TNBC)细胞 4T1 发生铁死亡作用及其可能机制。**方法** 通过分子对接分析芝麻素与谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)和 P53 的结合能,以小鼠 TNBC 细胞 4T1 为模型,将不同浓度的芝麻素作用于 4T1 细胞,通过细胞计数试剂盒 8(CCK-8)检测芝麻素对细胞的活力影响;Transwell 实验检测芝麻素对细胞迁移和侵袭的影响;试剂盒检测细胞内 Fe^{2+} 、丙二醛(MDA)和还原型谷胱甘肽(GSH)的含量;2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)探针检测细胞内活性氧(ROS)的含量;实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)和免疫印迹(Western blot)实验分别在 mRNA 和蛋白水平检测 GPX4、SLC7A11 和 P53 的表达量。**结果** 芝麻素与 GPX4、SLC7A11 和 P53 的结合能分别为 -21.46、-21.67 和 -27.03 kJ/mol;相较于对照组,不同浓度芝麻素组 4T1 细胞的活力逐渐降低($P < 0.001$),并且 20、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的芝麻素组 4T1 细胞的迁移和侵袭能力逐渐降低(均 $P < 0.001$);相较于对照组,20、40 和 80 $\mu\text{mol/L}$ 的芝麻素组 4T1 细胞内 Fe^{2+} 、MDA 和 ROS 的含量增加,GSH 的含量减少;相较于对照组,芝麻素处理组 4T1 细胞内 GPX4 和 SLC7A11 的 mRNA 和蛋白表达降低,P53 的 mRNA 和蛋白表达升高(均 $P < 0.001$)。**结论** 芝麻素可能通过 P53/SLC7A11/GPX4 通路诱导 4T1 细胞发生铁死亡。

关键词 芝麻素;铁死亡;分子对接;三阴性乳腺癌;P53;SLC7A11;GPX4

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2019-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.005

乳腺癌是女性最常见的癌症,其发病率仅次于肺癌,位居全球第二。2022 年有 230 余万新发病例,占所有癌症病例的 11.6%^[1]。与其他亚型乳腺癌相比,三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)患者在术后的复发率、转移率和病死率更高^[2]。目前,TNBC 的主要治疗方法为手术、化疗和辅助治疗等,但疗效及其预后达不到理想状态^[2]。因此,开发安全、有效、副作用小和疗效好的药物具有重要意义。芝麻素是芝麻籽和芝麻油中的主要木脂素,具有多种药理学特性如抗氧化、抗癌、抗炎、抗增殖、抗高血压和抗黑色素生成作用^[3]。铁死亡是细胞死亡的一种独特形式,通过亚铁或铁介导的芬顿反应,显著提高细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平,诱导脂质过氧化,从而促进细胞死亡,诱导肿瘤细胞发生铁死亡可能是一种很有

前途的治疗癌症的方法^[4]。目前,芝麻素是否可以诱导 TNBC 细胞发生铁死亡及其机制尚不清楚。该研究探讨在芝麻素的作用下,小鼠 TNBC 细胞 4T1 是否可以发生铁死亡及其发生的可能机制,旨在为芝麻素在 TNBC 治疗中的临床应用提供理论和实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 小鼠乳腺癌细胞 4T1(货号:CL-0007)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.2 药物与试剂 芝麻素(货号:S25758)购自上海源叶生物科技有限公司;Erastin(货号:HY-15763)和 Ferrostatin-1(货号:HY-100579)购自美国 MedChemExpress 公司;青链霉素混用液(货号:P1400)购自北京索莱宝科技有限公司;RPMI-1640 培养基(货号:RNBL4085)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;胎牛血清(货号:FSP500)购自苏州依科赛生物科技股份有限公司;细胞计数试剂盒 8(cell counting kit-8, CCK-8)(货号:MF-128-01)购自北京聚合美生物科技有限公司;细胞丙二醛(malondialde-

2025-09-21 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:32473029)

作者简介:朱明美,女,硕士研究生;

于 录,男,教授,博士生导师,通信作者,E-mail:yu_lu@jlu.edu.cn

hyde, MDA)测定试剂盒(货号:A003-4-1)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)测定试剂盒(货号:A006-2-1)和ROS测定试剂盒(货号:E004-1-1)购自南京建成生物工程研究所;细胞亚铁比色法测试盒(货号:E-BC-K881-M)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;All-In-One 5 × RT MasterMix(货号:G592)和BlastaqTM 2 × qPCR MasterMix(货号:G891)购自德国 Applied Biological Materials 公司;谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)(货号:DF6701)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)(货号:DF12509)和 P53(货号:AF0879)抗体均购自江苏亲科生物研究中心有限公司。

1.1.3 仪器 BioTek 型酶标仪购自美国伯腾仪器有限公司;IX71 型倒置荧光显微镜、BX53 型正置荧光显微镜购自日本奥林巴斯公司;QuantStudio 1 型实时荧光定量逆转录 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR) 仪购自美国 ABI 公司;UVP Chemstudio 型多功能成像仪购自德国耶拿公司。

1.2 方法

1.2.1 分子对接 在 pubchem 上下载芝麻素的 3D 结构, RCSB PDB 数据库中下载 GPX4、SLC7A11 和 P53 的蛋白结构。用 AutoDock 进行分子对接,再用 pymol 和 Lig Plus 进行可视化操作。

1.2.2 细胞培养 向细胞中加入含有 10% 的 FBS + 1% 的青链霉素混合液的 RPMI-1640 培养基,置于 37 °C、5% CO₂ 和适宜湿度的培养箱中培养,培养 2 ~ 3 d 即可用胰酶消化传代,取对数期生长状态良好的细胞用于后续实验。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞活性 细胞按 3×10^4 /mL 制备细胞悬液,按每孔 100 μL 接种至 96 孔板,待细胞贴壁后,用不同浓度的芝麻素(0、5、10、20、40、80 μmol/L)处理细胞,作用 24 h,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂后继续培养 2 h,用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。

1.2.4 Transwell 法检测细胞迁移、侵袭

1.2.4.1 细胞迁移检测 向下室加入 600 μL 含有不同浓度的芝麻素(20、40、80 μmol/L)、20% FBS 及 1% 青链霉素的培养基,向上室中加入 200 μL 用无血清培养基重悬的细胞悬液,将上室放入下室中。作用 24 h 后,弃掉小室中培养基,用多聚甲醛固定细胞 30 min,弃甲醛,再加入结晶紫作用 15 min 后, PBS 清洗 3 次,用棉签擦除小室,显微镜下观察并计

数。

1.2.4.2 细胞侵袭检测 将基质胶用无血清的培养基按 1 : 8 稀释,按 60 μL/孔将稀释后的基质胶铺到小室中 37 °C 等待 60 min,弃去多余液体,加入 100 μL 无血清培养基水化 30 min,后续步骤同迁移。

1.2.5 Fe²⁺ 含量的测定 将用药物处理 24 h 后的细胞用胰酶消化后离心收集,重悬后计数,取 1×10^7 个细胞置于离心管离心用于后续实验。根据说明书进行操作,每管加入 0.5 mL 的试剂 1,混匀后置于冰上裂解 10 min,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液备用。将上清液与不同浓度的标准品按 80 μL/孔加入酶标板中,分别在对照孔及测定孔/标准孔中加入 80 μL 的试剂 2 及试剂 3,轻轻振荡酶标板使其混匀,37 °C 孵育 10 min 后,于 593 nm 处测定各孔的吸光度。

1.2.6 MDA 含量的测定 将用药物处理 24 h 后的细胞弃去培养基,用细胞刮刮下置入离心管中离心收集,根据说明书操作,每管加入 0.5 mL 的试剂 5,混匀 2 min。用超声破碎后取 0.1 mL 于离心管中,加入 1 mL 工作液(工作液按试剂 1 : 试剂 2 : 试剂 3 = 0.2 : 3 : 1 配置),混匀后 95 °C 以上水浴 40 min,取出后流水冷却,4 000 r/min 离心 10 min,吸取 250 μL 上清液加入酶标板中,于 530 nm 处测定各孔的吸光度。

1.2.7 GSH 含量的测定 将用药物处理 24 h 后的细胞弃去培养基,用细胞刮刮下置入离心管中离心收集,每管加入 0.5 mL 的 PBS,用超声破碎后取 0.1 mL 于离心管中,再加入 0.1 mL 的试剂 1 混匀,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液备用。分别在空白孔、标准孔和测定孔中加入 100 μL 的试剂 1、20 μmol/L GSH 的标准液和上清液,每孔加入 25 μL 试剂 3 和 100 μL 的试剂 2,轻轻震荡酶标板使其混匀,室温静置 5 min,于 405 nm 处测定各孔的吸光度。

1.2.8 ROS 的测定 将细胞用药物处理 24 h 后,弃去培养基,用 PBS 清洗 2 遍,用无血清培养基稀释 DCFH-DA 探针(终浓度为 10 μmol/L),将含有 DCFH-DA 探针的培养基加入孔板中,于 37 °C 孵育 30 min,用倒置荧光显微镜观察荧光强度。

1.2.9 RT-qPCR 将细胞用药物处理 24 h 后,利用 TRIzol 提取总 RNA,分光光度计测量 RNA 浓度。根据说明书,加入 4 μL All-In-One 5 × RT Master-Mix,1 ng 总 RNA,用无酶水补足至 20 μL,37 °C、15

min,60 ℃、10 min,95 ℃、3 min 合成 cDNA 模版。加入 Blastaq™2 × qPCR MasterMix、引物和 cDNA,用无酶水补足至 20 μL 进行 RT-qPCR 反应。引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列
Tab.1 RT-qPCR primer sequences

Genes	Sequences (5'-3')
GPX4	F: GCAATGAGGCAAACTGACG R: CCCTTGGGCTGGACTTTCA
SLC7A11	F: GTCATCGGATCAGGCATCTT R: CATAGGACAGGGCTCCAAAA
P53	F: TGGAAAGACTCCAGTGGAAC R: TCTTCTGTACGGCGGTCTCT
β-actin	F: AAGGCCAACCCTGAAAAGAT R: GTGGTACGACCAGAGGCATAC

1.2.10 Western blot 将用药物处理 24 h 后的细胞用细胞刮刮下置入离心管中离心收集,加入裂解

液,混匀后冰上裂解 10 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液备用。用 BCA 法进行蛋白定量。制样后跑电泳,转膜,封闭,一抗 4 ℃ 孵育过夜, TBST 清洗,二抗室温孵育 2 h,TBST 清洗后显影。

1.3 统计学处理 使用 Graphpad Pism 9.5 进行数据分析,连续变量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间显著性差异分析采用 *t* 检验,多组间显著性差异分析采用 ANOVA 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 分子对接结果 AutoDock 对接结果显示,芝麻素与 GPX4、SLC7A11 和 P53 的结合能分别为 -21.46、-21.67 和 -27.03 kJ/mol,说明芝麻素与 GPX4、SLC7A11 和 P53 具有较好的结合活性。芝麻素与 GPX4、SLC7A11 和 P53 的可视化对接结果如图 1 所示。

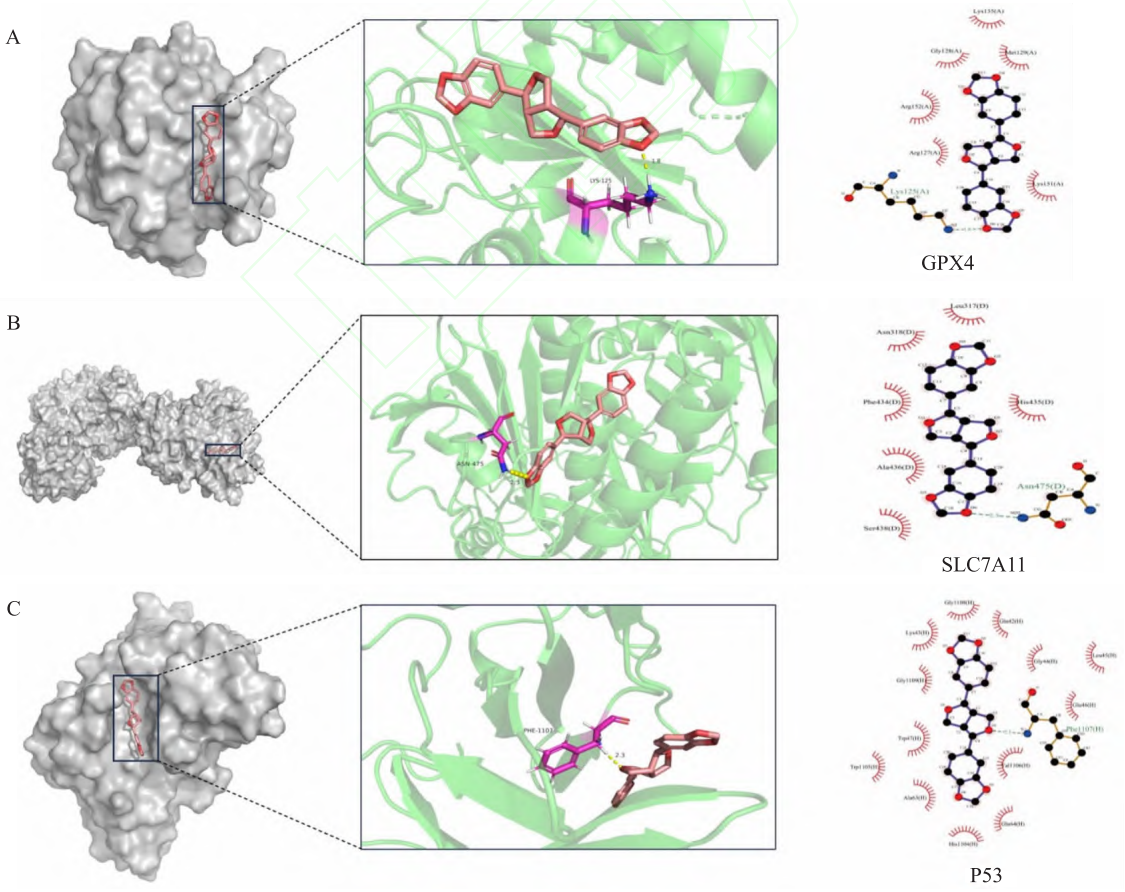


图 1 芝麻素与 GPX4、SLC7A11 和 P53 的分子对接结果

Fig.1 Molecular docking results of sesamin with GPX4, SLC7A11 and P53

A: GPX4 docking results; B: SLC7A11 docking results; C: P53 docking results; The left figure illustrated the binding position of sesamin within the protein cavity pocket; The middle figure illustrated the hydrogen bond interactions between sesamin and key amino acid residues of the protein; The right figure illustrated the interaction network of sesamin with the protein's amino acid residues.

2.2 芝麻素对4T1细胞活力的影响 通过CCK-8法探究芝麻素对4T1细胞活力的影响,用不同浓度的芝麻素(0、5、10、20、40和80 $\mu\text{mol/L}$)作用4T1细胞24 h,结果如图2A所示,随着芝麻素浓度的升高,4T1细胞的活力呈下降趋势。说明芝麻素对4T1细胞活力的抑制作用呈浓度依赖性($F = 250.8$, $P < 0.001$),其作用4T1细胞的 IC_{50} 为59.96 $\mu\text{mol/L}$,故选取20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 用作后续实验。

2.3 芝麻素对4T1细胞迁移和侵袭的影响 通过Transwell法检测芝麻素对4T1细胞迁移和侵袭的影响,结果见图2B、C,20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 的芝麻素处理后,4T1细胞的迁移和侵袭能力逐渐降低($F = 31.49$, $P < 0.001$; $F = 48.09$, $P < 0.001$)。说明芝麻素具有较好的抑制4T1细胞迁移和侵袭的作用,且对迁移和侵袭的抑制作用呈浓度依赖性。

2.4 芝麻素对4T1细胞内 Fe^{2+} 、MDA、GSH和ROS含量的影响 通过检测细胞内 Fe^{2+} 、MDA、GSH和ROS的含量,结果如图3,与对照组相比,芝麻素处理组与铁死亡诱导剂组4T1细胞内 Fe^{2+} 、MDA和ROS的含量升高($F = 40.12$, $P < 0.001$; $F = 104.6$, $P < 0.001$; $F = 84.9$, $P < 0.001$),GSH的含量降低($F = 24.97$, $P < 0.001$),且随着芝麻素浓度的升高,这种影响逐渐加强。相较于40 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻

素组,芝麻素与铁死亡抑制剂共处理组4T1细胞内 Fe^{2+} 、MDA和ROS的含量降低($t = 5.81$, $P < 0.01$; $t = 5.37$, $P < 0.01$; $t = 8.61$, $P < 0.001$),GSH的含量升高($t = 9.82$, $P < 0.001$)。说明在芝麻素的作用下,4T1细胞发生了铁死亡。

2.5 芝麻素对4T1细胞内P53、SLC7A11和GPX4表达水平的影响 通过RT-qPCR和Western blot分别在mRNA和蛋白水平检测GPX4、SLC7A11和P53的表达水平。结果如图4,从RT-qPCR结果看出,相较于对照组,20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 芝麻素组4T1细胞内GPX4和SLC7A11的mRNA表达逐渐降低, ($F = 282.0$, $P < 0.001$; $F = 323.4$, $P < 0.001$),P53的mRNA表达逐渐升高($F = 175.5$, $P < 0.001$)。从Western blot结果看出,相较于对照组,20、40和80 $\mu\text{mol/L}$ 的芝麻素组4T1细胞内GPX4和SLC7A11的蛋白表达逐渐降低, ($F = 31.93$, $P < 0.001$; $F = 12.74$, $P < 0.01$),P53的蛋白表达逐渐升高($F = 12.73$, $P < 0.01$)。说明芝麻素可能通过P53/SLC7A11/GPX4通路诱导4T1细胞发生铁死亡。

3 讨论

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,在过去的30~40年中其发病率呈上升趋势^[1]。TNBC

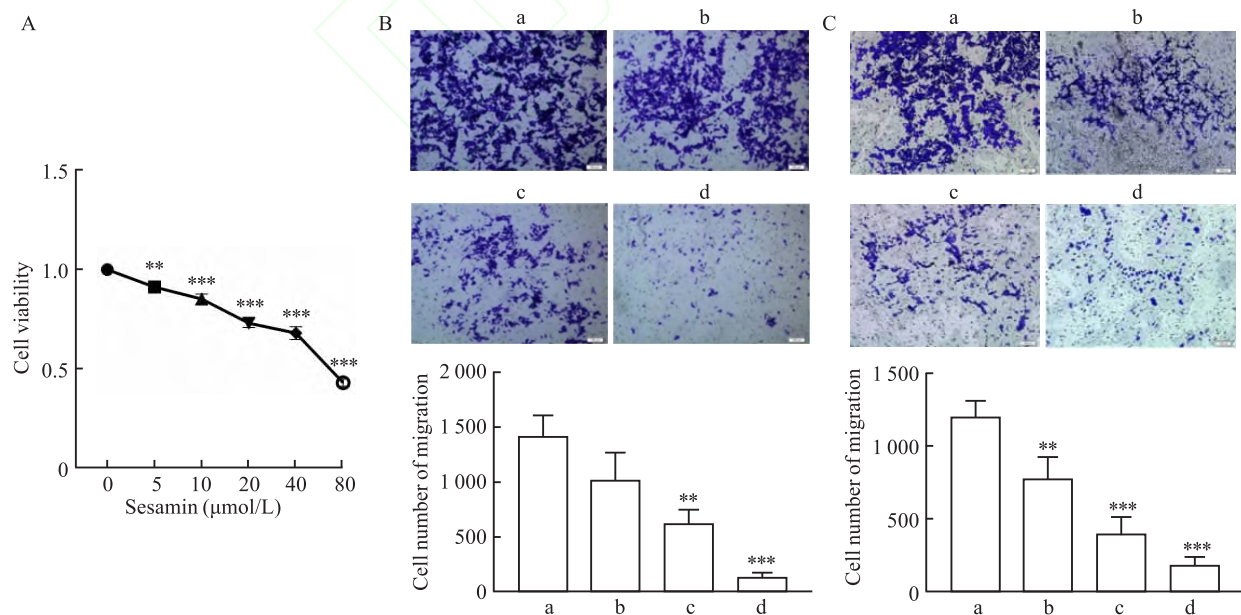


图2 芝麻素对4T1细胞活力、迁移、侵袭的影响

Fig. 2 The effects of sesamin on the viability, migration, and invasion of 4T1 cells

A: The effects of sesamin on the viability of 4T1 cells; B: The effects of sesamin on the migration of 4T1 cells $\times 100$; C: The effects of sesamin on the invasion of 4T1 cells; a: control group; b: 20 $\mu\text{mol/L}$ sesamin group; c: 40 $\mu\text{mol/L}$ sesamin group; d: 80 $\mu\text{mol/L}$ sesamin group; compared with the control group; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group.

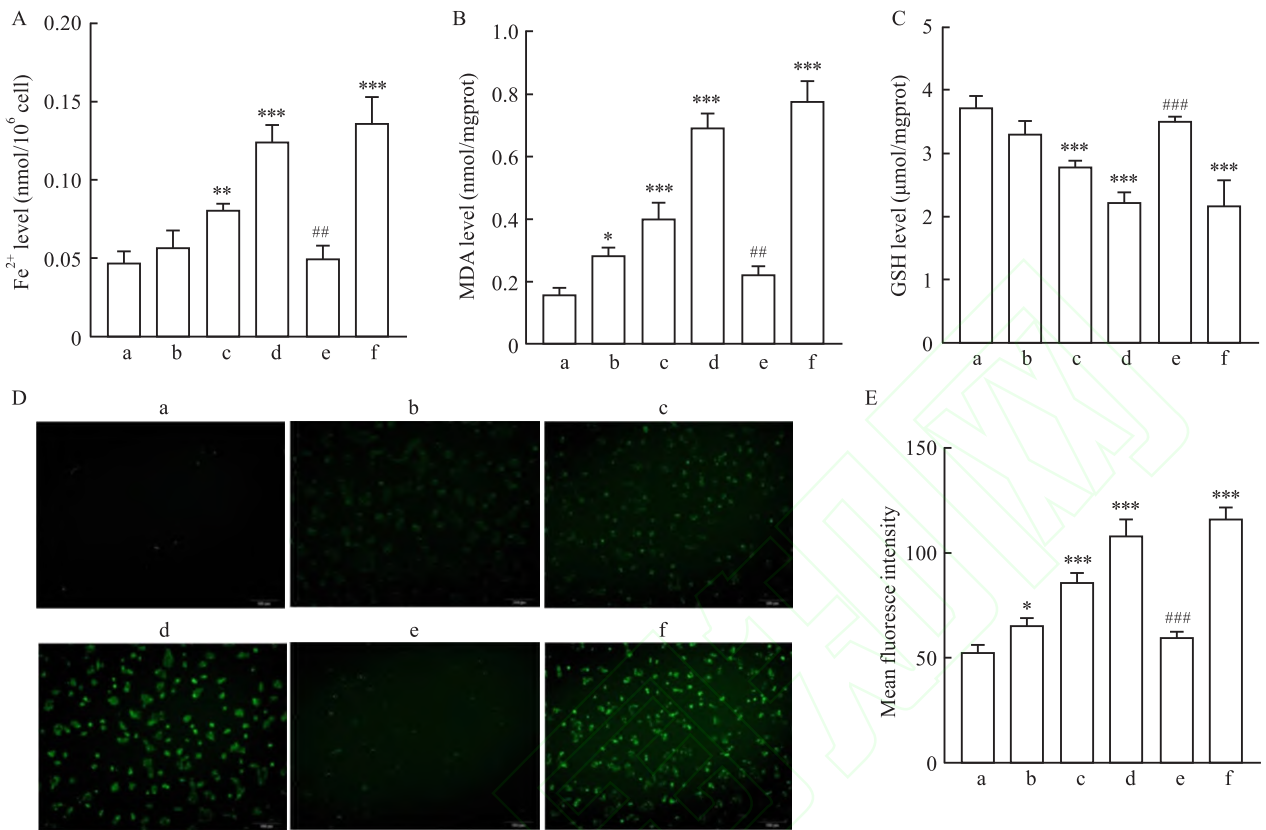


图3 芝麻素诱导4T1细胞发生铁死亡

Fig.3 Sesamin induced the ferroptosis in 4T1 cells

A: Intracellular Fe²⁺ levels; B: Intracellular MDA levels; C: Intracellular GSH levels; D: Intracellular ROS fluorescence imaging map × 100; E: The mean fluorescence intensity of ROS; a: control group; b: 20 μmol/L sesamin group; c: 40 μmol/L sesamin group; d: 80 μmol/L sesamin group; e: sesamin + ferroptosis inhibitor group; f: ferroptosis inducer group; * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, *** *P* < 0.001 vs control group; ## *P* < 0.01, ### *P* < 0.001 vs 40 μmol/L sesamin group.

是指雌激素受体、孕激素受体和人类表皮生长因子受体2的表达均为阴性^[2]。TNBC 相比于其他亚型如 Luminal A、B 型和 HER2 过表达型等侵袭性更强,局部复发和远处转移率更高,且缺乏明确的内分泌治疗及分子靶向治疗药物,预后相对更差^[5]。因此,迫切需要开发安全、有效、副作用小和疗效好的药物。中药及其天然产物在治疗疾病方面具有独特的临床优势,包括靶点多、毒副作用少、疗效强和经济负担低,已广泛用于各种疾病的治疗,也用于癌症的辅助治疗^[6]。芝麻素是芝麻籽和芝麻油中的主要木脂素,分子式为 C₂₀H₁₈O₆,其分子量为 354.36,具有抗氧化、抗炎、抗高血压、神经保护、降胆固醇、抗糖尿病、免疫调节和抗癌作用等多种药理学特性^[3]。芝麻素在肝癌、结直肠癌和宫颈癌等多种癌细胞中表现出潜在疗效,可能调节癌细胞中的多种细胞和分子事件,如细胞凋亡、自噬、细胞周期、血管生成以及 NF-κB、PI3K/Akt/mTOR 和 MAPK 等信号

通路,在抗增殖和抗侵袭作用中起着至关重要的作用^[7-8]。本研究中 CCK-8 实验提示芝麻素在 4T1 细胞中的 IC₅₀ 为 59.96 μmol/L,随着芝麻素浓度的增加,4T1 细胞的活力呈浓度依赖式下降。此外,Transwell 实验提示,随着芝麻素浓度的增加,4T1 细胞的迁移和侵袭也被显著抑制。这些结果表明芝麻素可以抑制 4T1 细胞的活力、迁移和侵袭。

铁死亡是一种受调节的细胞死亡形式,由脂质修复酶 GPX4 的活性丧失和随后的 ROS 积累而驱动^[9]。铁死亡的发生依赖于细胞内铁,并且在形态、生化和遗传学上与细胞凋亡、坏死和自噬不同,激活铁死亡可能是克服传统癌症治疗耐药性的一种潜在策略^[10]。Erastin 是一种铁死亡诱导剂,它通过抑制胱氨酸的输入,致使 GSH 耗竭和 GPX4 失活^[9]。Ferrostatin-1 (Fer-1) 是一种铁死亡抑制剂,它是一种亲脂性自由基清除剂^[11]。本研究通过检测细胞内 Fe²⁺、MDA、GSH 和 ROS 含量,结果显示,芝

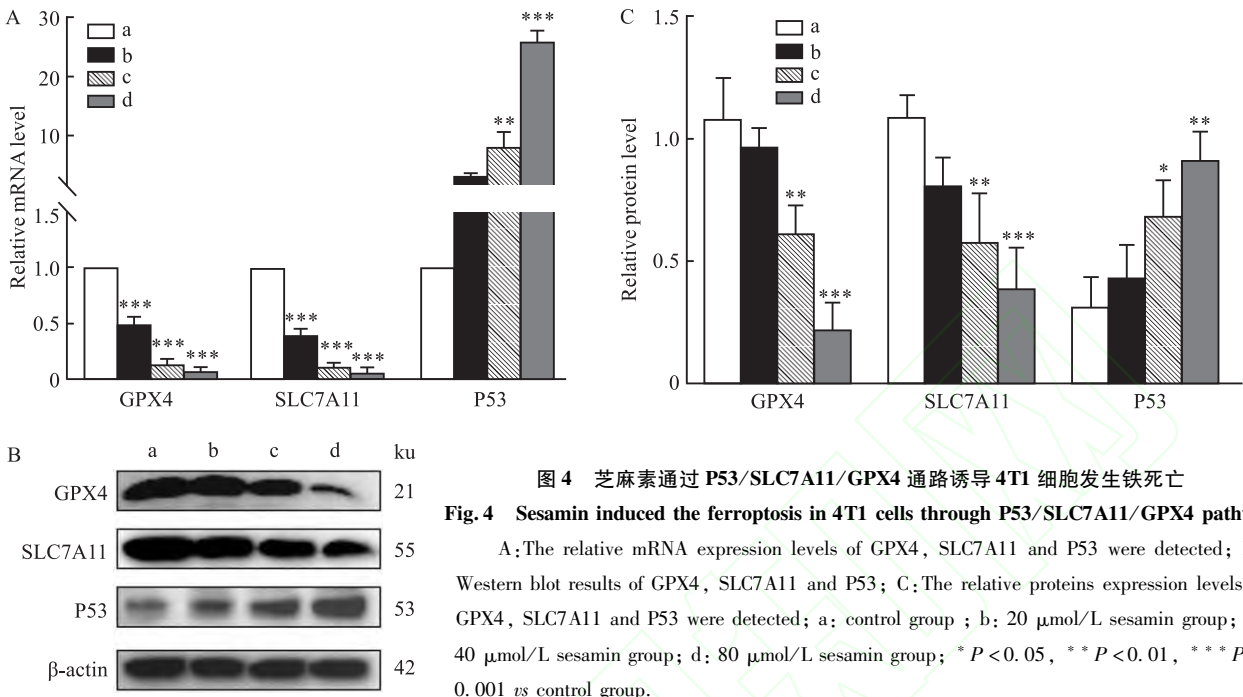


图4 芝麻素通过 P53/SLC7A11/GPX4 通路诱导 4T1 细胞发生铁死亡
Fig.4 Sesamin induced the ferroptosis in 4T1 cells through P53/SLC7A11/GPX4 pathway
A:The relative mRNA expression levels of GPX4, SLC7A11 and P53 were detected; B: Western blot results of GPX4, SLC7A11 and P53; C:The relative proteins expression levels of GPX4, SLC7A11 and P53 were detected; a: control group ; b: 20 $\mu\text{mol/L}$ sesamin group; c: 40 $\mu\text{mol/L}$ sesamin group; d: 80 $\mu\text{mol/L}$ sesamin group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group.

麻素可以增加 4T1 细胞内 Fe^{2+} 和 MDA 的含量,诱导 ROS 的积累,降低 GSH 的含量。这与加入 erastin 后的结果一致,而在芝麻素和 Fer-1 共同作用 4T1 细胞后逆转了这一结果,说明芝麻素可以诱导 4T1 细胞发生铁死亡。

GPX4 和 SLC7A11 是诱导铁死亡的关键调节因子^[12]。GPX4 的主要功能是利用 GSH 作为辅助因子来抵抗脂质过氧化,是一种关键的抗氧化过氧化物酶,利用 GSH 消除毒性磷脂氢过氧化物,从而抑制铁死亡^[13]。SLC7A11 是细胞跨膜蛋白,组成系统 Xc-的轻链,将细胞外的胱氨酸转运到细胞内,用于半胱氨酸的产生和 GSH 的生物合成,它可以通过维持细胞内 GSH 水平来对抗细胞氧化应激和抑制铁死亡^[14]。P53 可以通过抑制 SLC7A11 的表达,进而抑制胱氨酸的摄取,影响 GSH 的合成,导致 GPX4 的活性降低,从而削弱细胞抗氧化能力,使细胞对铁死亡敏感^[15]。通过分子对接,发现芝麻素与 GPX4、SLC7A11 和 P53 具有较好的结合活性,表明芝麻素具有诱导铁死亡的潜质。通过 RT-qPCR 和 Western blot 发现,在芝麻素的作用下,GPX4 和 SLC7A11 在 mRNA 和蛋白水平上表达均下调, P53 的表达被上调。表明芝麻素可能通过激活 P53/SLC7A11/GPX4 通路,促进脂质过氧化并增加 ROS 的形成水平,从而诱导 TNBC 细胞的铁死亡。

综上所述,芝麻素能够呈浓度依赖性抑制 4T1

细胞的活力、迁移和侵袭,并可能通过 P53/SLC7A11/GPX4 通路诱导 4T1 细胞发生铁死亡。该研究为芝麻素在 TNBC 治疗中的新药研发提供理论依据和实验基础,也表明芝麻素是 TNBC 的潜在治疗药物,但还需要进一步研究以促进其临床应用。

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[J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74 (3): 229 – 63. doi: 10.3322/caac.21834.

[2] Mason S. Risk prediction in early triple negative breast cancer [J]. BMJ, 2024, 387: q2088. doi: 10.1136/bmj.q2088.

[3] Dossou S S K, Xu F T, Dossa K, et al. Antioxidant lignans sesamin and sesamol in sesame (Sesamum indicum L.): a comprehensive review and future prospects[J]. J Integr Agric, 2023, 22 (1): 14 – 30. doi: 10.1016/j.jia.2022.08.097.

[4] 蒋良君, 卢先州. 沉默 circFADS2 通过 miR-152-3p/SLC7A11 信号轴诱导结肠癌细胞铁死亡[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(6): 1000-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000 – 1492. 2025.06.004.

Jiang L J, Lu X Z. Silencing circFADS2 induces ferroptosis in colorectal cancer cells through miR-152-3p/SLC7A11 signaling axis[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(6): 1000 – 8. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 – 1492. 2025.06.004.

[5] Waks A G, Winer E P. Breast cancer treatment: a review[J]. JAMA, 2019, 321(3): 288 – 300. doi: 10.1001/jama.2018.19323.

[6] Yao C L, Zhang J Q, Li J Y, et al. Traditional Chinese medicine

- (TCM) as a source of new anticancer drugs[J]. Nat Prod Rep, 2021, 38(9): 1618–33. doi: 10.1039/D0NP00057D.
- [7] Majdalawieh A F, Yousef S M, Abu-Yousef I A, et al. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of sesamin: Mechanisms of action and future directions[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(18): 5081–112. doi: 10.1080/10408398.2021.1881438.
- [8] Mottaghi S, Abbaszadeh H. A comprehensive mechanistic insight into the dietary and estrogenic lignans, arctigenin and sesamin as potential anticarcinogenic and anticancer agents. Current status, challenges, and future perspectives[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(26): 7301–18. doi: 10.1080/10408398.2021.1913568.
- [9] Tang D, Kroemer G. Ferroptosis[J]. Curr Biol, 2020, 30(21): R1292–7. doi: 10.1016/j.cub.2020.09.068.
- [10] Zhao L, Zhou X, Xie F, et al. Ferroptosis in cancer and cancer immunotherapy[J]. Cancer Commun (Lond), 2022, 42(2): 88–116. doi: 10.1002/cac2.12250.
- [11] Miotto G, Rossetto M, Di Paolo M L, et al. Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1[J]. Redox Biol, 2020, 28: 101328. doi: 10.1016/j.redox.2019.101328.
- [12] Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: Molecular mechanisms and health implications[J]. Cell Res, 2021, 31(2): 107–25. doi: 10.1038/s41422-020-00441-1.
- [13] Xie Y, Kang R, Klionsky D J, et al. GPX4 in cell death, autophagy, and disease[J]. Autophagy, 2023, 19(10): 2621–38. doi: 10.1080/15548627.2023.2218764.
- [14] Lee J, Roh J L. SLC7A11 as a gateway of metabolic perturbation and ferroptosis vulnerability in cancer[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(12): 2444. doi: 10.3390/antiox11122444.
- [15] Liu Y, Gu W. p53 in ferroptosis regulation: The new weapon for the old guardian[J]. Cell Death Differ, 2022, 29(5): 895–910. doi: 10.1038/s41418-022-00943-y.

Sesamin induced ferroptosis in triple negative breast cancer cells through P53/SLC7A11/GPX4 pathway

Zhu Mingmei¹, Yu Wanlu¹, Xu Hongyue¹, Cui Xinhua¹, Peng Danping², Yu Lu¹

(¹National Key Laboratory of Severe Diagnosis and Treatment of Zoonotic Infectious Diseases, College of Animal Medicine, Jilin University, Changchun 130062; ²Dept of Infectious Diseases, First Hospital of Jilin University, Changchun 130062)

Abstract Objective To investigate the ferroptosis induced by sesamin in triple-negative breast cancer (TNBC) 4T1 cells and its underlying mechanism. **Methods** The binding energy of sesamin with glutathione peroxidase 4 (GPX4), solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), and P53 was analyzed by molecular docking. Mouse TNBC cell line 4T1 was used as a model. Different concentrations of sesamin were administered to 4T1 cells. The effect of sesamin on cell viability was assessed using the cell counting kit 8 (CCK-8). Transwell assay was used to evaluate the effect of sesamin on cell migration and invasion. The contents of Fe^{2+} , malondialdehyde (MDA), and reduced glutathione (GSH) in the cells were measured using kits. 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) probe was employed to detect the content of reactive oxygen species (ROS) in cells. Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blot were performed to evaluate the expression of GPX4, SLC7A11, and P53 at mRNA and protein levels. **Results** The binding energies of sesamin with GPX4, SLC7A11 and P53 were -21.46 , -21.67 , and -27.03 kJ/mol, respectively. Compared with the control group, the viability of 4T1 cells in different concentrations of sesamin groups decreased gradually ($P < 0.001$), and the migration and invasion ability of 4T1 cells in 20, 40, and 80 $\mu\text{mol/L}$ sesamin groups decreased gradually (all $P < 0.001$). Compared with the control group, the contents of Fe^{2+} , MDA, and ROS in 4T1 cells of 20, 40, and 80 $\mu\text{mol/L}$ sesamin groups increased, and the content of GSH decreased. Compared with the control group, the mRNA and protein expression of GPX4 and SLC7A11 in 4T1 cells in the sesamin treatment group decreased, and the mRNA and protein expression of P53 increased (all $P < 0.001$). **Conclusion** Sesamin may induce the ferroptosis in 4T1 cells through P53/SLC7A11/GPX4 pathway.

Key words sesamin; ferroptosis; molecular docking; triple negative breast cancer; P53; SLC7A11; GPX4

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 32473029)

Corresponding author Yu Lu, E-mail: yu_lu@jlu.edu.cn