

DOI: 10.13376/j.cblls/2019141

文章编号: 1004-0374(2019)11-1148-10

## 铁代谢紊乱与肝癌的研究进展

张银银<sup>1</sup>, 王冬尧<sup>2</sup>, 沈 慧<sup>1</sup>, 汤雨潇<sup>1\*</sup>

(1 海军军医大学海军医学系营养与食品卫生学教研室, 上海 200433;

2 海军军医大学药理学系药物分析学教研室, 上海 200433)

**摘要:** 铁元素是许多含铁酶及含血红素酶活性的关键因子, 在细胞增殖、代谢、解毒等过程中扮演着重要角色。铁进出细胞及其发挥生物学作用均涉及二价铁和三价铁之间的转换, 过量的铁催化产生活性氧(ROS), 造成DNA损伤、脂质过氧化、蛋白质变性, 导致致突变、致癌效应。机体内过多的铁主要储存在肝细胞, 越来越多的证据表明, 肝铁过负荷是原发性肝癌的危险因素。现从铁过负荷与肝癌发生的关系、肝癌发生过程中铁含量及铁代谢的变化及作用、铁作为靶点在肝癌治疗中的应用3个方面的研究进展进行综述。

**关键词:** 铁代谢; 肝细胞肝癌; 铁过负荷; 铁缺乏

**中图分类号:** R735.7      **文献标志码:** A

## Research progress on iron metabolism disorder and liver cancer

ZHANG Yin-Yin<sup>1</sup>, WANG Dong-Yao<sup>2</sup>, SHEN Hui<sup>1</sup>, TANG Yu-Xiao<sup>1\*</sup>

(1 Department of Nutrition and Food Hygiene, Faculty of Naval Medicine, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 2 Department of Pharmaceutical Analysis, Department of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Iron is a key factor for the activities of iron-containing enzymes and heme-containing enzyme, playing important roles in cell proliferation, metabolism, and detoxification. The transport of iron and its participation in the enzyme activities are involved in the conversion between Fe<sup>2+</sup> and Fe<sup>3+</sup>, which could induce the reactive oxygen species (ROS) if excess, causing DNA damage, lipid peroxidation and protein denaturation, leading to mutagenesis and carcinogenesis. The excess iron is mainly stored in the hepatocytes. Increasing evidences show that hepatic iron overload is an independent risk factor for primary hepatocellular carcinoma. Thus, the present review focused the following three aspects: the relationship between iron-overload and hepatocarcinoma, the alterations of iron metabolism and its effects during the development of hepatocarcinoma, and the treatment of hepatocarcinoma targeting iron-related molecules.

**Key words:** iron metabolism; hepatocellular carcinoma; iron overload; iron deficiency

铁元素在哺乳动物生长发育中至关重要。作为铁的主要储存和代谢器官, 肝脏感受机体铁状况并维持铁的动态平衡。在正常情况下, 铁以Fe<sup>2+</sup>形式与铁蛋白(ferritin)结合, 储存在肝细胞内。细胞外铁主要以Fe<sup>3+</sup>形式与转铁蛋白(transferrin, Tf)结合进行运输。肝脏分泌铁调素(hepcidin)调节铁代谢, 铁调素可与排铁蛋白(ferroportin)结合使其降解, 影响铁在小肠的吸收及在肝细胞内的释放<sup>[1]</sup>。因此,

铁过负荷最先累及肝脏。越来越多的证据表明, 铁过负荷可协同其他肝癌危险因素或独立诱导肝细胞肝癌发生。

肝癌作为全球第四大致死癌症, 每年的新发病

收稿日期: 2019-08-14; 修回日期: 2019-10-10

基金项目: 上海市自然科学基金项目(19ZR1469700);

上海市扬帆计划(19YF1459400)

\*通信作者: E-mail: tangyuxiao@smmu.edu.cn

例数超过 84 万。我国肝癌的新发病例数和死亡人数占全世界总数 50% 以上, 严重威胁着我国居民的身体健 康<sup>[2]</sup>。遗憾的是, 现有肝癌治疗手段, 如局部放疗、切除术、肝移植以及对不适宜手术患者介入治疗和化疗, 均无法治愈肝癌。肝癌的高转移率、高复发率, 已让其成为世界范围内严重的健康问题。肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 在原发性肝脏癌症中最为常见, 占 90% 左右<sup>[3]</sup>。研究表明, 肝铁过负荷在肝细胞肝癌的发生、发展中起到重要作用。本文将从铁元素的角度出发, 简要综述铁代谢紊乱与肝细胞肝癌的研究进展。

## 1 肝铁过负荷诱导原发性肝癌发生

机体铁含量超过安全限值导致储存铁的铁蛋白变性, 铁离子释放至肝细胞胞质。过量的铁对肝脏的危害首先在遗传性血色素沉着患者和非洲膳食铁过负荷人群中被发现。近来, 人们发现多种慢性肝脏疾病以及一些代谢性疾病, 如糖尿病、肥胖等, 也会造成肝铁过负荷<sup>[4]</sup>。随着研究的进展, 越来越多的证据表明, 铁过负荷是不依赖于任何因素的原发性肝癌独立危险因素。

### 1.1 人群资料研究

遗传性血色素沉着病是由于多种铁稳态相关蛋白突变引起的异质性铁超载疾病。70%~95% 的血色素沉着患者是由于 HFE 基因 C282Y 位点发生同源异构突变<sup>[5]</sup>, 造成细胞膜上 HFE 蛋白表达减少, 细胞感知铁的能力降低, 铁调素合成减少或铁调素-排铁蛋白结合减少<sup>[6]</sup>, 肠铁吸收增加并不断蓄积在肝细胞, 导致肝铁过载。遗传性血色素沉着病患者肝细胞肝癌发生率在 8%~10%<sup>[6-8]</sup>。一项纳入 230 例遗传性血色素沉着病患者, 及 230 例非铁相关慢性肝病患者的队列研究表明, 血色素沉着患者处于患癌高危状态, 发生肝细胞肝癌的相对危险度是非铁相关慢性肝病的 1.8 倍, 发生其他恶性肿瘤的相对危险度也是 1.8 倍, 但在调整嗜酒、吸烟和癌症家族史等因素后, 相对危险度上升至 1.9 倍<sup>[6]</sup>。Fracanzani 等<sup>[7]</sup> 研究显示, HFE 基因突变和非 HFE 基因突变的血色素沉着患者, 有同样的铁过负荷和相似的临床病史, 说明血色素沉着患者肝细胞肝癌或其他肝病发生, 与导致铁过负荷的遗传背景无关, 而与铁过负荷关系密切。

非洲南部和中部的农村地区超过 2/3 的成年男性饮用铁桶盛装的自制啤酒, 致 15% 的人口铁过负荷<sup>[9]</sup>, 其负荷量与遗传性血色素沉着症患者肝铁

含量相当<sup>[10]</sup>。但与血色素沉着患者不同的是该人群在轻度或中度铁过负荷时即出现肝纤维化和肝硬化, 而血色素沉着患者发生肝纤维化和肝硬化时往往伴有严重的肝铁过负荷<sup>[9-10]</sup>。调整混杂因素, 如慢性乙肝病毒感染、慢性丙肝病毒感染、肝硬化和黄曲霉毒素 B 暴露后, 铁过负荷的非洲南部黑人患肝细胞肝癌的相对危险度增至 10.6 倍 (95% 置信区间 1.5~76.8)<sup>[11]</sup>。

研究显示, 我国台湾省西南沿海城镇人群饮用含高浓度铁的地下水与肝癌高发相关。该地区地表水匮乏, 水产养殖过度抽取地下水导致地面严重沉降, 地下水中铁含量升高。抽取的地下水含铁量 [(1.04 ± 0.20) mg/L] 显著高于地面未沉降区域地下水 [(0.34 ± 0.05) mg/L, 饮用水中铁含量一般小于 0.3 mg/L]。沉降严重区域的居民长期大量饮用含高浓度铁的地下水, 可能是该地区肝细胞肝癌高发的原因。另外, 肝细胞肝癌的其他病因, 如慢性乙型肝炎病毒感染或黄曲霉毒素 B1 暴露也可能是肝癌恶性转化的原因<sup>[12]</sup>, 但相关调查工作还没有在该地区展开。

肝铁含量增加也可以促进非酒精性脂肪肝和非酒精性肝硬化患者的肝细胞癌变<sup>[13-14]</sup>。过量肝铁蓄积不仅与其他致肝癌因素存在协同作用, 促进肝硬化向肝癌的恶性转化, 还可直接导致肝细胞癌变, 如有肝铁蓄积表现的地中海贫血、铁粒幼细胞性贫血以及球形红细胞增多症的患者也会偶发肝细胞肝癌, 且大量血色素沉着患者并没有肝硬化而直接表现出肝细胞肝癌<sup>[15-16]</sup>。

### 1.2 铁过负荷促进肿瘤发生发展的分子机制

一般认为铁的肝毒性和促肝癌发生作用是基于芬顿反应产生的大量活性氧 (ROS), 造成 DNA 损伤、脂质过氧化和蛋白质变性, 导致肝细胞坏死、凋亡<sup>[17]</sup>。氧化应激导致细胞和细胞器膜上不饱和脂肪酸过氧化, 产生的毒性产物如丙二醛 (malondialdehyde)、4-羟基-2'-壬烯醇 (4-hydroxy-2'-nonenol) 等也会损伤细胞, 影响蛋白质合成、诱导 DNA 损伤<sup>[18]</sup>。铁也涉及脂质过氧化物 β 裂解, 产生与 DNA 交联的醛类化合物。另外, DNA 脱氧鸟苷残基可被活性氧羟基化, 生成 8-羟基-2'-脱氧鸟苷 (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine), 该物质有强致突变作用, 可使 G:C 转为 T:A、DNA 解螺旋以及链断裂。长期大量的离子铁可致肝细胞功能紊乱、肝细胞损伤、肝组织纤维化。随着纤维化不断加重逐渐发展为肝硬化乃至肝癌。除此之外, 铁造成的氧化应激耗竭机体

的抗氧化物质,也会产生致突变效应<sup>[19]</sup>。游离铁也可引起免疫系统异常,使肿瘤恶性转化逃离免疫系统的监视<sup>[20]</sup>。

肝纤维化是肝硬化的早期阶段,肝硬化是肝癌的重要病因之一,铁过负荷对肝纤维化和肝硬化的刺激机制尚不清楚。目前的解释多集中在铁氧化应激致脂质过氧化和蛋白质变性,该状态下的肝细胞对其他刺激更敏感,最终导致线粒体功能紊乱乃至凋亡<sup>[21]</sup>。凋亡的肝细胞被肝内巨噬细胞吞噬,巨噬细胞激活后合成分泌大量促炎症、促纤维化的细胞因子,包括肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 (IL-1)、白细胞介素 10 (IL-10)、干扰素 $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、转化生长因子 $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)、血小板衍生生长因子 (PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 和活性氧。过量的铁蓄积也可直接激活巨噬细胞。炎性细胞主要浸润在血色素沉着患者的门静脉及周围汇管区,与纤维化程度密切相关<sup>[21]</sup>,激活的巨噬细胞和损伤的肝实质细胞也可激活肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs),使其转化为成肌纤维样肝星状细胞 (HSC-MFs),连同其他成肌纤维细胞 (MF) 一起大量增生并合成细胞外基质以及多种生长、免疫调节因子,导致长期持续的肝纤维化、慢性炎症和血管生成<sup>[22]</sup>。Ramm 等<sup>[23]</sup>研究发现,肝星状细胞可被铁蛋白或 Tf 通过与其细胞表面高亲和力受体结合而激活,直接激活肝纤维化过程。另外,血色素沉着病患者的肝星状细胞激活程度随着肝铁含量增加而增加,该进程可通过放血疗法减轻铁负荷而逆转<sup>[24]</sup>。Wiseman 等<sup>[25]</sup>研究发现,过量的铁可阻断免疫系统清除肿瘤细胞,外源性铁会造成巨噬细胞的肿瘤杀伤活性降低,淋巴细胞增生抑制和 T 细胞亚群数量变化。

除经典氧化应激损伤机制外,铁过负荷还可以改变细胞周期、纤维化进程及凋亡等导致肝炎肝硬化以及肝癌。Brown 等<sup>[26]</sup>研究显示,喂食 6 个月右旋糖酐铁的大鼠肝脏显著增大,肝铁蓄积量超过 50 倍,肝细胞核内 S 期标志物增生,细胞核抗原 (PCNA)、细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1) 显著增多,提示肝细胞增生加强。慢性肝炎是发展为肝纤维化、肝硬化、肝癌的起始步骤,多个研究表明铁过负荷可以造成炎症趋化因子、肿瘤转化因子<sup>[27]</sup>、白介素、肿瘤坏死因子<sup>[28]</sup>等升高,导致肝脏炎症信号通路激活<sup>[7, 28]</sup>。肝铁过负荷引起肝细胞损伤也可导致表观遗传学异常。血色素沉着病患者肝组织肿瘤前结节有异常的高甲基化<sup>[29]</sup>。肿瘤抑制基因 RASSF1A、

p16-CDKN2A, 细胞周期蛋白 D2 基因表现出不同程度的甲基化状态,并在肝癌癌旁组织中也检测到这些基因甲基化状态的改变。miR-122 是包括肝脏发育、代谢、炎症和肿瘤发生等多种过程涉及的诸多信号通路中的关键调控分子,在高铁饲料喂食的小鼠肝脏中 miR-122 表达下调<sup>[28]</sup>,miR-122 敲除小鼠肝细胞肝癌发生率显著增加<sup>[30-31]</sup>。这些研究说明,铁过负荷可能通过抑制 miR-122 表达而促进肝癌发生。

铁对某些信号通路的影响可能解释铁影响肿瘤细胞生长和增殖不为人知的作用机制。WNT 信号通路异常可促进多种癌症发生<sup>[32]</sup>,其终点为 $\beta$ 连环蛋白 ( $\beta$ -catenin), $\beta$ 连环蛋白增加可激活 T 细胞因子 (T cell factor, TCF)- 淋巴增强因子 (lymphoid enhancer factor, LEF) 转录复合物,引起如原癌基因 MYC 等目的基因表达。WNT 信号通路受到腺瘤性结肠息肉病蛋白 (adenomatous polyposis coli, APC)、虫漆脂蛋白 (axin)、酪蛋白激酶 1 (casein kinase 1, CK1) 和糖原合成激酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ ) 组成的摧毁复合体调控,该摧毁复合体与 $\beta$ 连环蛋白结合可使其降解。研究表明,铁对 WNT 信号通路有两种重要影响:一是铁在 APC 或 $\beta$ 连环蛋白异常表达的细胞中放大 WNT 信号通路的效应;二是铁以非 APC 依赖机制导致 E-钙黏着蛋白 (E-cadherin) 下调。APC<sup>min/+</sup> 小鼠模型是 APC 失活小肠癌症模型,该模型中高水平膳食铁可加速肿瘤生成,缺铁可减少肿瘤生成。虽然高通量基因组分析结果显示,肝癌中铁代谢基因和 WNT 信号通路相关基因均发生改变,但铁和 WNT 通路相互作用相关研究较少。目前已知肝特异性敲除 $\beta$ 连环蛋白可加重铁过负荷引起的炎症、脂肪变性、纤维化和肝脏再生结节,小鼠 3 月龄便诊断为肝细胞肝癌<sup>[33]</sup>。此外,两个独立研究小组通过高通量筛选,发现铁螯合剂 (如酰基脲类化合物、HQBA) 是 WNT 信号通路的高效抑制剂<sup>[34-35]</sup>,这也说明 WNT 信号通路对铁的依赖性,当然两者在肝癌发生发展过程中的作用还需进一步研究。

## 2 原发性肝癌中铁代谢的变化及作用

正如前文所述,铁过负荷通过多种机制直接或间接地增加肝细胞肝癌的危险性。铁作为多种生理进程的关键辅助因子,是肝癌细胞扩增繁殖必需的微量元素。肝铁过负荷不仅是肝癌的前期步骤,也会出现于多种慢性肝脏疾病<sup>[36]</sup>,理论上肝癌组织内

铁含量增高用以满足肝癌细胞旺盛的生长需求;但多个独立研究结果表明,相比癌旁组织及远处正常肝组织,肝癌组织铁含量降低<sup>[14, 37-41]</sup>。鉴于肝细胞癌变过程中铁代谢变化的特殊性,接下来将对肝癌组织中铁含量、铁代谢分子变化进行综述,并通过间接证据讨论缺铁在肝癌细胞转移过程中的作用及可能机制。

## 2.1 铁含量变化

早在1987年,上海医学院附属中山医院便发现肝癌组织铁含量下降:40例原发性肝癌患者(一例并发肝胆管癌)的正常肝组织铁染色阳性率为65%(26/40),而肝癌组织铁染色阳性率仅10%(4/40)<sup>[40]</sup>。Park等<sup>[37]</sup>对19例原发性肝癌患者肝组织进行矩阵辅助激光解吸电离质谱分析发现其铁含量下降,铁蛋白轻链(ferritin light chain, FTL)降低,而转铁蛋白受体(TfR)升高。Tan等<sup>[39]</sup>对24例肝癌患者癌组织和癌旁组织进行包含42个铁代谢分子的基因芯片筛选,结果表明,铁调素、TfR2、STEAP家族成员3(STEAP3)、铜蓝蛋白(CP)、Tf、铁调节蛋白1(IRP1)基因表达显著下降,笔者认为肝癌组织中铁调素下降反映肿瘤细胞旺盛的铁需求,但该研究仅观察到铁代谢相关分子的表达变化情况,尚不能解释铁含量下降原因。一项对41例肝癌患者手术切除的癌组织研究表明,虽然肝癌组织TfR1和TfR2均高于癌旁组织,但在25例癌旁组织中可检测出铁沉积(25/41),而癌组织中仅两例检出铁沉积(2/41),提示肝癌组织TfR升高并不会引起铁含量升高,而可能是机体缺铁的表现<sup>[38]</sup>。虽然诸多报道称,肝癌组织铁含量下降,但在其他癌症组织中铁含量却表现出一致的升高<sup>[42]</sup>。这种截然相反的结果表明,肝细胞癌变与其他细胞癌变过程中铁代谢变化不同,对其他类型肿瘤的研究结果可能在肝细胞肝癌上并不适用。

目前肝癌铁含量下降机制尚不清楚,许多研究描述肝癌组织与癌旁组织或正常组织中包括铁摄入分子、铁储存分子及铁排出分子等的变化,但其结果可能不是铁含量下降的原因,因为铁含量变化也会造成铁代谢分子表达变化,因果关系很难鉴定;但通过比较肝癌组织和缺铁条件下,铁代谢分子的变化,找出在肝癌组织中不受缺铁影响的铁代谢分子,似乎是一个可行的寻找肝癌组织中铁含量下降机制的方法。Youn等<sup>[41]</sup>通过该方法找到肝癌组织中不受铁含量调控的分子铜蓝蛋白和二价金属离子转运体1(DMT1),但他们只观察到mRNA表达变

化,蛋白质水平尚不清楚,且这两个蛋白质又是多种金属离子转运体,对铁的转运没有特异性。还有研究称,条件性敲除DMT1小鼠肝脏铁含量并不降低<sup>[43]</sup>。虽然以上结果表明,这两个基因可能不是肝癌组织铁含量下降原因,但该研究方法值得借鉴。

## 2.2 铁代谢机制变化

铁代谢过程复杂又精密,目前已知的生理情况下哺乳动物铁代谢及铁稳态调节通路,Hentze等<sup>[44]</sup>作过详细的阐释。与其他组织不同,肝脏除吸收铁外,还包括储存铁、释放铁以及合成铁稳态调节分子,如铁调素等,因而肝脏的铁代谢尤为复杂。进入肝细胞的铁主要储存在铁蛋白中。虽然肝癌组织<sup>[37, 40]</sup>和其他癌组织<sup>[45-46]</sup>均有报道称铁蛋白表达改变,但其表达变化与铁含量的相关性受到质疑<sup>[40]</sup>。铁蛋白的表达不仅受铁调节蛋白调控,同时也受其他因素调控,如铁蛋白重链可被p53<sup>[47]</sup>、NF- $\kappa$ B<sup>[48]</sup>等转录激活。

铁调素是肝脏合成分泌的小分子多肽,与排铁蛋白组成铁调素-排铁蛋白轴,在铁稳态调节过程中起重要作用<sup>[1]</sup>。排铁蛋白是哺乳动物细胞已知的具有排铁作用的唯一通道,它在细胞表面的表达受到循环肽激素铁调素的调控。当细胞内和循环中铁含量升高,通过骨形态蛋白(BMP)介导的信号通路诱导肝细胞合成铁调素,随后释放入血。铁调素-排铁蛋白轴突变可导致异常铁蓄积和遗传性血色沉着病<sup>[49]</sup>。Udali等<sup>[50]</sup>发现铁调素在肝癌组织中表达下降,可能与其DNA启动子区甲基化有关。Abd Elmonem等<sup>[51]</sup>发现,与正常组织相比,慢性丙肝中铁调素mRNA表达下降,肝细胞肝癌组织中则更低,提示在肝癌进展中铁调素表达具有铁含量依赖性。He等<sup>[52]</sup>发现在肝癌组织中铁调素的转录因子BMP6下降,可能是铁调素表达下降的原因之一。与铁元素相同,铁调素在肝癌组织中表达下降,在其他癌组织中却更多的表现为升高,包括肾癌<sup>[46, 53]</sup>、肺癌<sup>[54]</sup>、结肠直肠癌<sup>[45]</sup>等。有研究报道,作为铁调素作用靶点,排铁蛋白在肝癌组织中表达升高<sup>[39]</sup>,但也有研究报道,排铁蛋白在肝癌组织和非肝癌组织表达无明显差异<sup>[55]</sup>。铁调素降低和排铁蛋白升高可能是肝癌组织缺铁的原因,当然这两种变化也可能是肝细胞在缺铁时即表现为铁调素下降、排铁蛋白升高,其中的因果关系无法定论。有意思的是,在乳腺癌细胞系<sup>[56]</sup>和人乳腺癌组织<sup>[57]</sup>中,排铁蛋白表达下调,下调的排铁蛋白与体外培养乳腺癌细胞系中铁含量增加有关,也与体内移植瘤生长增加

有关<sup>[57]</sup>。同一篇文献中4个独立队列近800人的研究表明,排铁蛋白下降与预后差也有关系<sup>[57]</sup>。综上所述,铁调素-排铁蛋白轴在肝癌组织表现为铁调素下降、排铁蛋白升高,而在其他癌组织更多地表现为铁调素升高、排铁蛋白下降,铁调素-排铁蛋白轴的变化可能是肝癌组织铁含量下降而其他癌组织铁含量升高的原因,但需进一步研究证实。

STEAP3是一种细胞膜定位与TfR高度一致的跨膜铁氧还原酶。Tf结合的 $\text{Fe}^{3+}$ 释放,需要经STEAP3还原成 $\text{Fe}^{2+}$ ,经DMT1进入细胞。STEAP3在肝癌组织中表达下降,同时DMT1表达也下降<sup>[41]</sup>。而在膀胱癌中STEAP3表达升高<sup>[58]</sup>,在结肠直肠癌中DMT1表达也同样升高<sup>[59]</sup>,这似乎是肝癌组织铁含量下降而其他肿瘤组织铁含量升高的原因。但矛盾的是,STEAP3敲除<sup>[60]</sup>和DMT1敲除<sup>[43]</sup>小鼠肝铁含量并没有下降甚至升高,可能是正常情况下,这两个基因敲除并不会造成缺铁,或者肝癌缺铁并非这两个蛋白质表达下调而是由其他原因造成。

另有研究观察到脂质运载蛋白2(lipocalin 2)对铁代谢机制的调控作用,也值得进一步探索。

### 2.3 铁在肝细胞肝癌转移中的作用

肿瘤的恶性程度取决于转移性,超过90%的肿瘤患者死于肿瘤转移<sup>[61]</sup>。肿瘤细胞转移中缺铁的作用也受到关注。体内外研究结果表明,缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)信号通路在肿瘤转移中发挥重要作用,铁可调控缺氧控制中核HIF $\alpha$ 的表达而发挥重要作用<sup>[62]</sup>。HIF $\alpha$ 家族有3个成员:HIF1 $\alpha$ 、HIF2 $\alpha$ 和HIF3 $\alpha$ ,与HIF1 $\beta$ 形成同源异构体。HIF1 $\alpha$ 亚基受脯氨酰羟化酶(PDH)转录后调控,而PDH是铁、2-酮戊二酸和氧依赖修饰HIF1 $\alpha$ 的酶,这种修饰会导致HIF1 $\alpha$ 降解。PDH发挥活性需要铁,所以在缺铁条件下,HIF1 $\alpha$ 因降解阻滞而表达升高。这与肝癌组织中铁含量下降,HIF1 $\alpha$ 升高表现一致。Zhang等<sup>[63]</sup>研究表明,肝癌组织在缺氧-炎症微环境下,HIF1 $\alpha$ 信号通路可通过巨噬细胞促进肝癌细胞上皮间质转化(EMT)。Kai等<sup>[64]</sup>通过人群调查和动物移植瘤模型发现,HIF-1 $\alpha$ /miR-210/HIF-3 $\alpha$ /TIMP2调节反馈环路在细胞外基质降解和肝癌转移过程发挥重要作用。Guo等<sup>[65]</sup>认为HIFs-MiR-33a-Twsit1轴调控肝癌细胞EMT,在肝癌细胞侵袭中发挥作用。HIF诱导肝癌细胞EMT不仅会增加肝癌细胞本身的侵袭性,还可诱导免疫抑制的肿瘤微环境,促进肝癌转移<sup>[66]</sup>。HIF1 $\alpha$ 还可调控血管内皮生长因子(VEGF)转录起

到促血管生成作用,促进肝癌生长和转移灶存活<sup>[67]</sup>。缺氧诱导HIF1 $\alpha$ 介导BCL9表达改变,也会影响人肝癌组织中WNT/ $\beta$ 连环蛋白信号通路活性<sup>[68]</sup>。除直接影响肿瘤进展和恶性程度,HIF1 $\alpha$ 信号通路还可加快非酒精性肝硬化向肝癌发展的速度<sup>[69]</sup>。已有多项研究发现HIF1 $\alpha$ 失活或干扰其表达显著抑制肝癌的生长、进展以及肝癌细胞的侵袭性<sup>[70-71]</sup>。除HIF1 $\alpha$ ,HIF2 $\alpha$ 也影响肝癌细胞EMT<sup>[72]</sup>、血管生成<sup>[73]</sup>和肝癌细胞干细胞特性<sup>[74]</sup>,促进肝癌细胞侵袭转移。大量的研究报道,HIF与肝癌的诱导、生长、进展、恶化和预后等多个进程密切相关。虽然缺铁可以稳定HIF,提高其活性,但目前针对缺铁条件下,HIF活性升高对肝癌细胞、肝癌组织作用的研究较少。就肝癌组织铁含量下降的现象而言,缺铁是否通过HIF信号通路对肝癌进展产生促进作用,具有重要的研究意义和实际价值。

EMT是肿瘤侵袭和转移的重要过程,表现为细胞极性丧失,黏附性下降,E-钙黏着蛋白下降和运动性增加,同时上皮细胞的特征,如形态特征和分子特征也向间质细胞转化,波形蛋白(vimentin)和N-钙黏蛋白表达增加,迁移和侵袭能力增加,这些都导致癌细胞转移<sup>[75]</sup>。HIF1/ $\beta$ 连环蛋白复合体加强缺氧诱导的EMT,HIF1 $\alpha$ 转录活性增强,加速在缺氧条件下肝细胞肝癌EMT<sup>[76]</sup>。作为一种重要的黏附分子,膜上E-钙黏着蛋白表达下降是EMT重要标志<sup>[77]</sup>。同时,EMT过程中波形蛋白升高也是EMT标志之一。但铁对E-钙黏着蛋白和波形蛋白的作用尚存在争议:Naito等<sup>[78]</sup>在大鼠慢性肾病模型中发现口服铁螯合剂去铁斯若(deferasirox, DFX)使E-钙黏着蛋白基因表达升高,而波形蛋白基因表达下降。Zhang等<sup>[79]</sup>报道DFX在结肠癌细胞中使E-钙黏着蛋白表达下降,波形蛋白、N-钙黏着蛋白表达升高;而Nishitani等<sup>[80]</sup>报道在食管鳞状细胞癌细胞系中,DFX降低N-钙黏着蛋白的表达从而抑制EMT;另外,Chen等<sup>[81]</sup>报道铁螯合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)和Dp44mT,通过维持结肠癌细胞膜上E-钙黏着蛋白和 $\beta$ 连环蛋白,抑制TGF $\beta$ 诱导的EMT,其可能机制是铁螯合剂上调抑癌基因N-Myc下游调节基因1(NDRG1)。NDRG1是转移抑制蛋白,能够通过维持E-钙黏着蛋白和 $\beta$ 连环蛋白的细胞膜定位而抑制EMT。有研究指出铁螯合剂可通过HIF1 $\alpha$ 依赖性和非HIF1 $\alpha$ 依赖性两种途径使NDRG1上调<sup>[82]</sup>,但这与HIF1 $\alpha$ 上调促进肿瘤转移相矛盾<sup>[61]</sup>,且有研究发现在肺癌

细胞系 DMS53 的裸鼠移植瘤中, 铁螯合剂 Dp44mT 和 Triapine 虽然可以上调 NDRG1 的表达, 但在该小鼠肝组织中这两种铁螯合剂却抑制 NDRG1 表达<sup>[83]</sup>。这些在不同细胞、组织上截然相反的结果, 提示铁缺乏对肿瘤细胞的作用并不统一, 对特定的肿瘤细胞有特定的作用, 作用机制也不尽相同。Salis 等<sup>[84]</sup>注意到这个问题, 并重点关注缺铁对 NDRG1 的不同作用, 认为 NDRG1 的转录本不同, 使得不同肿瘤细胞中铁螯合剂表现出不同作用。他们发现, 在人乳腺癌细胞系 MCF-7 中, 铁螯合剂 DFO 和 PHEN 导致 NDRG1 的 2 型转录本增多 (NDRG1 mRNA Variant 2) 并表现出抗增殖效应和细胞毒性, 而在人肝癌细胞系 HepG2 中, 这两种铁螯合剂导致 1 型转录本增多 (NDRG1 mRNA Variant 1) 并促进该细胞系增生。目前在肝细胞中, 关于不同铁状态下 NDRG1 的表达及下游靶效应的研究较少, 同时, 缺铁在肝癌细胞迁移侵袭中的作用研究也较少, 至今人们对缺铁在肝癌进展中的作用所知甚少。

### 3 铁作为肝癌治疗靶点的应用

现有关于原发性肝癌的治疗手段均无法治愈肝癌。早期患者采取联合治疗尚能取得一定效果, 5 年生存率达 70%<sup>[85]</sup>; 无法手术治疗的中期患者经导管动脉栓塞术介入治疗后中位生存时间约 26 个月<sup>[86]</sup>; 晚期患者采取化疗手段只能将生存时间由 7 个月提高至 10 个月左右<sup>[87]</sup>, 肝癌给人类健康带来了极大威胁。临床上已有以铁过负荷为靶点的治疗方法, 多种铁螯合剂已被用于临床前期试验或已经开展临床治疗<sup>[88]</sup>。铁螯合剂是天然或人工合成的小分子物质, 与铁有高度亲和力, 可以与之结合限制铁的生物活性。铁螯合剂 ICL670 (25  $\mu\text{mol/L}$ )、CP20 (150  $\mu\text{mol/L}$ ) 可抑制 HUH7 细胞增殖 (-50%) 和 DNA 复制 (-90%)<sup>[89]</sup>。DFO 增强干扰素  $\gamma$  对肝癌细胞的抗增殖作用<sup>[90]</sup>。铁螯合剂缩氨基硫脲-24 (TSC24) 可引起细胞周期阻滞和凋亡, 抑制肝癌细胞系和人源移植肝肿瘤的生长<sup>[91]</sup>。另外, 三(4-甲基-1-吡唑基)硼氢化钾 [potassium tris (4-methyl-1-pyrazolyl) borohydride, KTp4-Me]<sup>[92]</sup>、DFX<sup>[93]</sup> 等铁螯合剂也可以通过抑制肝癌细胞增殖而限制肝癌进展。铁剥夺还会影响多个下游分子, 包括 HIF、VEGF、p21、细胞周期蛋白 D1 和 NDRG1 等<sup>[94]</sup>。

虽然铁螯合剂在体外实验及动物实验中表现出抗肿瘤效应, 但在肝癌患者体内临床试验效果却不甚理想。10 位中晚期肝癌患者的临床试验发现, 动

脉灌注铁螯合剂 DFO 后, 仅有 2 位患者出现良性反应, 3 位患者病情稳定, 剩余 5 位患者病情却进一步进展<sup>[95]</sup>。有研究显示 DFX 具有体外抗肝癌细胞增生及抑制 *N*-亚硝基二乙胺 (DEN) 诱导小鼠肝癌的能力, 但同时招募的 6 位中晚期肝癌患者进行 DFX 治疗 28 d 的结果表明, 5 位坚持完成治疗疗程的患者中仅 1 位患者病情稳定, 剩余 4 位患者病情恶化, 6 位中晚期肝癌患者的一年生存率仅 17%<sup>[93]</sup>。虽然铁螯合剂在体内治疗肝癌效果较差, 甚至可能加速肝癌进展, 但也有研究发现, 铁螯合剂可加强化疗药物索拉菲尼 (sorafenib) 治疗肝癌的效果<sup>[96]</sup>和防止产生不良副作用<sup>[97]</sup>。有些天然化合物如中药提取物也有螯合铁的能力, 与人工合成化合物相比具有良好的安全性, 作为化疗预防措施为肿瘤治疗提供新的可能。如姜黄素具有预防肿瘤作用, 并且该作用在某种程度上依赖于其螯合铁的能力<sup>[98]</sup>。如前文所述, 由于肝癌患者病因复杂, 发病机制多样, 肝癌患者肝癌组织铁含量明显的下降<sup>[14, 37-41]</sup>。这种下降是机体抵抗肝癌的反应或者肝癌细胞本身表现尚不清楚, 其下降对肝癌细胞的作用也有待研究, 因此铁螯合剂疗法在临床的应用及普及, 还有待进一步考究。

此外, Daniels 等<sup>[99]</sup>研究发现, TfR1 可作为良好的药物进入肿瘤细胞。这可能由于包括肝癌在内的几乎所有癌组织 TfR 都高表达, 所以对 Tf 有较高的转运能力。临床上与 Tf 结合的多种药物已经开发并使用, 如 Tf 聚合的化疗药物: Tf-doxorubicin、Tf-cisplatin 和 Tf-chlorambucil; Tf 聚合的细胞毒素: Tf-ricin A chain 和 Tf-diphtheria toxin; Tf 聚合的微胶粒 (micelles)、Tf 聚合的树枝状聚合物 (dendrimers) 以及 Tf 聚合的其他携带抗肿瘤核酸的大分子等<sup>[99]</sup>。

### 4 结论

本文从铁过负荷、铁缺乏两方面综述铁与肝癌的研究进展。铁元素涉及细胞生理进程的方方面面, 包括氧的运输、细胞氧化呼吸、生长发育、物质代谢乃至细胞死亡都离不开铁的参与<sup>[44]</sup>。各种原因造成的肝铁过负荷与肝癌发生、发展密切相关, 其中的作用机制也被多方探究。比较经典的机制如过量铁造成的氧化应激, 以及随之而来的各种致突变效应。近期有研究报道, 铁过负荷诱导肝细胞癌变的新机制, 如原癌基因激活及抑癌基因失活等。但奇怪的是, 在铁过负荷及非铁过负荷导致的肝癌中, 癌组织铁含量均表现为明显下降, 这种现象与理论

推断有两点明显的矛盾：一是铁过负荷造成肝癌，理论上肝癌组织应该有更高的铁含量；二是癌细胞生长旺盛，对铁的需求较大，铁含量应该增加，肝癌组织高表达的 TFR1 也反应这点。目前虽然发现肝癌组织铁含量下降这一现象，但其机制及原因至今仍无强有力的解释，铁含量下降对肝癌的影响也是一团迷雾。由于铁是细胞增殖必需的元素，铁剥夺似乎是限制肝癌生长行之有效的方法，在体外实验及动物模型中也证明了这一点，但在肝癌患者的体内试验结果却不甚理想。种种迹象表明缺铁会通过 HIF、VEGF、EMT、免疫调节等机制促进肿瘤细胞侵袭转移，但目前尚无直接证据表明缺铁会造成肝癌细胞转移能力增强。

虽然铁与肝癌发生发展的关系已有诸多研究，但还有更多的未知等待人们去探索，特别是在肝癌的进展及治疗方面。研究肝癌发展过程中铁含量下降的原因及铁含量下降对肝癌细胞的作用，可能是一个尚未受到重视的预防、治疗和改善肝癌预后的突破点。

#### [参 考 文 献]

- [1] Wang CY, Babitt JL. Liver iron sensing and body iron homeostasis. *Blood*, 2019, 133: 18-29
- [2] Paul KC, Chuang YH, Cockburn M, et al. Organophosphate pesticide exposure and differential genome-wide DNA methylation. *Sci Total Environ*, 2018, 645: 1135-43
- [3] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65: 87-108
- [4] Fernández-Real JM, Manco M. Effects of iron overload on chronic metabolic diseases. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014, 2: 513-26
- [5] Powell LW, Yapp TR. Hemochromatosis. *Clin Liver Dis*, 2000, 4: 211-28
- [6] Fracanzani AL, Conte D, Fraquelli M, et al. Increased cancer risk in a cohort of 230 patients with hereditary hemochromatosis in comparison to matched control patients with non-iron-related chronic liver disease. *Hepatology*, 2001, 33: 647-51
- [7] Fracanzani AL, Piperno A, Valenti L, et al. Hemochromatosis in Italy in the last 30 years: role of genetic and acquired factors. *Hepatology*, 2010, 51: 501-10
- [8] Brissot P, Pietrangelo A, Adams PC, et al. Haemochromatosis. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 18016
- [9] Friedman BM, Baynes RD, Bothwell TH, et al. Dietary iron overload in southern African rural blacks. *S Afr Med J*, 1990, 78: 301-5
- [10] Bothwell TH, Lsaacson C. Siderosis in the bantu. a comparison of incidence in males and females. *Br Med J*, 1962, 1: 522-4
- [11] Mandishona E, MacPhail AP, Gordeuk VR, et al. Dietary iron overload as a risk factor for hepatocellular carcinoma in Black Africans. *Hepatology*, 1998, 27: 1563-6
- [12] Ming L, Thorgeirsson SS, Gail MH, et al. Dominant role of hepatitis B virus and cofactor role of aflatoxin in hepatocarcinogenesis in Qidong, China. *Hepatology*, 2002, 36: 1214-20
- [13] Sorrentino P, D'Angelo S, Ferbo U, et al. Liver iron excess in patients with hepatocellular carcinoma developed on non-alcoholic steato-hepatitis. *J Hepatol*, 2009, 50: 351-7
- [14] Jungst C, Cheng B, Gehrke R, et al. Oxidative damage is increased in human liver tissue adjacent to hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2004, 39: 1663-72
- [15] Blanc JF, De Ledinghen V, Bernard PH, et al. Increased incidence of HFE C282Y mutations in patients with iron overload and hepatocellular carcinoma developed in non-cirrhotic liver. *J Hepatol*, 2000, 32: 805-11
- [16] Bralet MP, Regimbeau JM, Pineau P, et al. Hepatocellular carcinoma occurring in nonfibrotic liver: epidemiologic and histopathologic analysis of 80 French cases. *Hepatology*, 2000, 32: 200-4
- [17] Pietrangelo A. Mechanisms of iron hepatotoxicity. *J Hepatol*, 2016, 65: 226-7
- [18] Hassannia B, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Targeting ferroptosis to iron out cancer. *Cancer Cell*, 2019, 35: 830-49
- [19] Haddow JE, Palomaki GE, McClain M, et al. Hereditary haemochromatosis and hepatocellular carcinoma in males: a strategy for estimating the potential for primary prevention. *J Med Screen*, 2003, 10: 11-3
- [20] Harhaj L, Vuckovic O, Miljkovic D, et al. Iron down-regulates macrophage anti-tumour activity by blocking nitric oxide production. *Clin Exp Immunol*, 2004, 137: 109-16
- [21] Bridle KR, Crawford DH, Fletcher LM, et al. Evidence for a sub-morphological inflammatory process in the liver in haemochromatosis. *J Hepatol*, 2003, 38: 426-33
- [22] Zhang M, Wang FL, Zhu JY, et al. Liver myofibroblasts regulate the phenotype and function of monocytes through soluble factors in cirrhosis. *Exp Ther Med*, 2013, 5: 143-9
- [23] Ramm GA, Ruddell RG, Subramaniam VN. Identification of ferritin receptors: their role in iron homeostasis, hepatic injury, and inflammation. *Gastroenterology*, 2009, 137: 1849-51
- [24] Falize L, Guillygomarc'h A, Perrin M, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology*, 2006, 44: 472-7
- [25] Wiseman DH, May A, Jolles S, et al. A novel syndrome of congenital sideroblastic anemia, B-cell immunodeficiency, periodic fevers, and developmental delay (SIFD). *Blood*, 2013, 122: 112-23
- [26] Brown KE, Mathahs MM, Broadhurst KA, et al. Chronic iron overload stimulates hepatocyte proliferation and cyclin D1 expression in rodent liver. *Transl Res*, 2006, 148: 55-62
- [27] Finianos A, Matar CF, Taher A. Hepatocellular carcinoma in  $\beta$ -thalassemia patients: review of the literature with molecular insight into liver carcinogenesis. *Int J Mol Sci*,

- 2018, 19: 226-9
- [28] Li M, Tang Y, Wu L, et al. The hepatocyte-specific HNF4 $\alpha$ /miR-122 pathway contributes to iron overload-mediated hepatic inflammation. *Blood*, 2017, 130: 1041-51
- [29] Lehmann U, Wingen LU, Brakensiek K, et al. Epigenetic defects of hepatocellular carcinoma are already found in non-neoplastic liver cells from patients with hereditary haemochromatosis. *Hum Mol Genet*, 2007, 16: 1335-42
- [30] Luna JM, Barajas JM, Teng KY, et al. Argonaute CLIP defines a deregulated miR-122-bound transcriptome that correlates with patient survival in human liver cancer. *Mol Cell*, 2017, 67: 400-10
- [31] Valdmanis PN, Kim HK, Chu K, et al. miR-122 removal in the liver activates imprinted microRNAs and enables more effective microRNA-mediated gene repression. *Nat Commun*, 2018, 9: 5321
- [32] Galluzzi L, Spranger S, Fuchs E, et al. WNT signaling in cancer immunosurveillance. *Trends Cell Biol*, 2019, 29: 44-65
- [33] Preziosi ME, Singh S, Valore EV, et al. Mice lacking liver-specific  $\beta$ -catenin develop steatohepatitis and fibrosis after iron overload. *J Hepatol*, 2017, 67: 360-9
- [34] Song S, Christova T, Perusini S, et al. Wnt inhibitor screen reveals iron dependence of  $\beta$ -catenin signaling in cancers. *Cancer Res*, 2011, 71: 7628-39
- [35] Coombs GS, Schmitt AA, Canning CA, et al. Modulation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and proliferation by a ferrous iron chelator with therapeutic efficacy in genetically engineered mouse models of cancer. *Oncogene*, 2012, 31: 213-25
- [36] Milic S, Mikolasevic I, Orlic L, et al. The role of iron and iron overload in chronic liver disease. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 2144-51
- [37] Park KS, Kim H, Kim NG, et al. Proteomic analysis and molecular characterization of tissue ferritin light chain in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2002, 35: 1459-66
- [38] Sakurai K, Sohda T, Ueda S, et al. Immunohistochemical demonstration of transferrin receptor 1 and 2 in human hepatocellular carcinoma tissue. *Hepatogastroenterology*, 2014, 61: 426-30
- [39] Tan MG, Kumarasinghe MP, Wang SM, et al. Modulation of iron-regulatory genes in human hepatocellular carcinoma and its physiological consequences. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2009, 234: 693-702
- [40] Zhou XD, DeTolla L, Custer RP, et al. Iron, ferritin, hepatitis B surface and core antigens in the livers of Chinese patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1987, 59: 1430-7
- [41] Youn P, Kim S, Ahn JH, et al. Regulation of iron metabolism-related genes in diethylnitrosamine-induced mouse liver tumors. *Toxicol Lett*, 2009, 184: 151-8
- [42] Chen Y, Fan Z, Yang Y, et al. Iron metabolism and its contribution to cancer (review). *Int J Oncol*, 2019, 54: 1143-54
- [43] Wang CY, Knutson MD. Hepatocyte divalent metal-ion transporter-1 is dispensable for hepatic iron accumulation and non-transferrin-bound iron uptake in mice. *Hepatology*, 2013, 58: 788-98
- [44] Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, et al. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell*, 2010, 142: 24-38
- [45] Phillips E, Horniblow RD, Poole V, et al. A potential role for hepcidin in obesity-driven colorectal tumourigenesis. *Oncol Rep*, 2018, 39: 392-400
- [46] Min HK, Sung SA, Oh YK, et al. Hepcidin, iron indices and bone mineral metabolism in non-dialysis chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2018, doi: 10.1093/ndt/gfy235
- [47] Biamonte F, Battaglia AM, Zolea F, et al. Ferritin heavy subunit enhances apoptosis of non-small cell lung cancer cells through modulation of miR-125b/p53 axis. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 1174
- [48] Wang X, Chen B, Sun J, et al. Iron-induced oxidative stress stimulates osteoclast differentiation via NF- $\kappa$ B signaling pathway in mouse model. *Metabolism*, 2018, 83: 167-76
- [49] Liu J, Liu W, Liu Y, et al. New thiazolidinones reduce iron overload in mouse models of hereditary hemochromatosis and  $\beta$ -thalassemia. *Haematologica*, 2019, 104: 1768-81
- [50] Udali S, Castagna A, Corbella M, et al. Hepcidin and DNA promoter methylation in hepatocellular carcinoma. *Eur J Clin Invest*, 2018, 48: e12870
- [51] Abd Elmonem E, Tharwa el-S, Farag MA, et al. Hepcidin mRNA level as a parameter of disease progression in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2009, 21: 333-42
- [52] He Y, Cui Y, Xu B, et al. Hypermethylation leads to bone morphogenetic protein 6 downregulation in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*, 2014, 9: e87994
- [53] Min HK, Sung SA, Oh YK, et al. Hepcidin, iron indices and bone mineral metabolism in non-dialysis chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2018: 1-8
- [54] Yang J, Xu T, Gomez DR, et al. Nomograms incorporating genetic variants in BMP/Smad4/Hamp pathway to predict disease outcomes after definitive radiotherapy for non-small cell lung cancer. *Cancer Med*, 2018, 7: 2247-55
- [55] Kijima H, Sawada T, Tomosugi N, et al. Expression of hepcidin mRNA is uniformly suppressed in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*, 2008, 8: 167
- [56] Jiang XP, Elliott RL, Head JF. Manipulation of iron transporter genes results in the suppression of human and mouse mammary adenocarcinomas. *Anticancer Res*, 2010, 30: 759-65
- [57] Pinnix ZK, Miller LD, Wang W, et al. Ferroportin and iron regulation in breast cancer progression and prognosis. *Sci Transl Med*, 2010, 2: 43-56
- [58] Kim SH, Ho JN, Jin H, et al. Upregulated expression of BCL2, MCM7, and CCNE1 indicate cisplatin-resistance in the set of two human bladder cancer cell lines: T24 cisplatin sensitive and T24R2 cisplatin resistant bladder cancer cell lines. *Investig Clin Urol*, 2016, 57: 63-72
- [59] Brookes MJ, Hughes S, Turner FE, et al. Modulation of iron transport proteins in human colorectal carcinogenesis. *Gut*, 2006, 55: 1449-60



- [60] Zhang F, Tao Y, Zhang Z, et al. Metalloreductase Steap3 coordinates the regulation of iron homeostasis and inflammatory responses. *Haematologica*, 2012: 1826-35
- [61] Rankin EB, Giaccia AJ. Hypoxic control of metastasis. *Science*, 2016, 352: 175-80
- [62] Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1 $\alpha$  and HIF2 $\alpha$ : sibling rivalry in hypoxic tumour growth and progression. *Nat Rev Cancer*, 2011, 12: 9-22
- [63] Zhang J, Zhang Q, Lou Y, et al. HIF-1 $\alpha$ /IL-1 $\beta$  signaling enhances hepatoma epithelial-mesenchymal transition via macrophages in a hypoxic-inflammatory microenvironment. *Hepatology*, 2017: 1872-89
- [64] Kai AK, Chan LK, Lo RC, et al. Down-regulation of TIMP2 by HIF-1 $\alpha$ /miR-210/HIF-3 $\alpha$  regulatory feedback circuit enhances cancer metastasis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2016, 64: 473-87
- [65] Guo XF, Wang AY, Liu J. HIFs-MiR-33a-Twist1 axis can regulate invasiveness of hepatocellular cancer cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20: 3011-6
- [66] Ye LY, Chen W, Bai XL, et al. Hypoxia-induced epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma induces an immunosuppressive tumor microenvironment to promote metastasis. *Cancer Res*, 2016, 76: 818-30
- [67] Hu Z, Dong N, Lu D, et al. A positive feedback loop between ROS and Mxi1-0 promotes hypoxia-induced VEGF expression in human hepatocellular carcinoma cells. *Cell Signal*, 2017, 31: 79-86
- [68] Xu W, Zhou W, Cheng M, et al. Hypoxia activates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by regulating the expression of BCL9 in human hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 2017, 7: 40446
- [69] Ambade A, Satishchandran A, Saha B, et al. Hepatocellular carcinoma is accelerated by NASH involving M2 macrophage polarization mediated by hif-1 $\alpha$  induced IL-10. *Oncoimmunology*, 2016, 5: e1221557
- [70] Ni JY, Xu LF, Wang WD, et al. Transarterial embolization combined with RNA interference targeting hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  for hepatocellular carcinoma: a preliminary study of rat model. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143: 199-207
- [71] Lee JH, Hur W, Hong SW, et al. ELK3 promotes the migration and invasion of liver cancer stem cells by targeting HIF-1 $\alpha$ . *Oncol Rep*, 2017, 37: 813-22
- [72] Zheng X, Zhang Y, Liu Y, et al. HIF-2 $\alpha$  activated lncRNA NEAT1 promotes hepatocellular carcinoma cell invasion and metastasis by affecting the epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Biochem*, 2018, 119: 3247-56
- [73] Wu L, Zhang YS, Ye ML, et al. Overexpression and correlation of HIF-2 $\alpha$ , VEGFA and EphA2 in residual hepatocellular carcinoma following high-intensity focused ultrasound treatment: implications for tumor recurrence and progression. *Exp Ther Med*, 2017, 13: 3529-34
- [74] Wang X, Dong J, Jia L, et al. HIF-2-dependent expression of stem cell factor promotes metastasis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2017, 393: 113-24
- [75] Zhang W, Jiang B, Guo Z, et al. Four-and-a-half LIM protein 2 promotes invasive potential and epithelial-mesenchymal transition in colon cancer. *Carcinogenesis*, 2010, 31: 1220-9
- [76] Zhang Q, Bai X, Chen W, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling enhances hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via crosstalk with hif-1 signaling. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 962-73
- [77] Jiang J, Tang YL, Liang XH. EMT: a new vision of hypoxia promoting cancer progression. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11: 714-23
- [78] Naito Y, Fujii A, Sawada H, et al. Association between renal iron accumulation and renal interstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease. *Hypertens Res*, 2015, 38: 463-70
- [79] Zhang W, Wu Y, Yan Q, et al. Deferoxamine enhances cell migration and invasion through promotion of HIF-1 $\alpha$  expression and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer. *Oncol Rep*, 2014, 31: 111-6
- [80] Nishitani S, Noma K, Ohara T, et al. Iron depletion-induced downregulation of N-cadherin expression inhibits invasive malignant phenotypes in human esophageal cancer. *Int J Oncol*, 2016, 49: 1351-9
- [81] Chen Z, Zhang D, Yue F, et al. The iron chelators Dp44mT and DFO inhibit TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition via up-regulation of N-Myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1). *J Biol Chem*, 2012, 287: 17016-28
- [82] Le NT, Richardson DR. Iron chelators with high antiproliferative activity up-regulate the expression of a growth inhibitory and metastasis suppressor gene: a link between iron metabolism and proliferation. *Blood*, 2004, 104: 2967-75
- [83] Whitnall M, Howard J, Ponka P, et al. A class of iron chelators with a wide spectrum of potent antitumor activity that overcomes resistance to chemotherapeutics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 14901-6
- [84] Salis O, Bedir A, Kilinc V, et al. The anticancer effects of desferrioxamine on human breast adenocarcinoma and hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Biomark*, 2014, 14: 419-26
- [85] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*, 2011, 53: 1020-2
- [86] Kudo M, Han G, Finn RS, et al. Brivanib as adjuvant therapy to transarterial chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma: a randomized phase III trial. *Hepatology*, 2014, 60: 1697-707
- [87] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2008, 359: 378-90
- [88] Torti SV, Torti FM. Iron and cancer: more ore to be mined. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13: 342-55
- [89] Lescoat G, Chantrel-Groussard K, Padeloup N, et al. Antiproliferative and apoptotic effects in rat and human hepatoma cell cultures of the orally active iron chelator ICL670 compared to CP20: a possible relationship with polyamine metabolism. *Cell Prolif*, 2007, 40: 755-67
- [90] Okada T, Sawada T, Kubota K. Deferoxamine enhances anti-proliferative effect of interferon- $\gamma$  against hepatocellular

- carcinoma cells. *Cancer Lett*, 2007, 248: 24-31
- [91] Ba Q, Hao M, Huang H, et al. Iron deprivation suppresses hepatocellular carcinoma growth in experimental studies. *Clin Cancer Res*, 2011, 17: 7625-33
- [92] Jin H, Xu Z, Li D, et al. Antiproliferative activity and therapeutic implications of potassium tris (4-methyl-1-pyrazolyl) borohydride in hepatocellular carcinoma. *Chem Biol Interact*, 2014, 213: 69-76
- [93] Saeki I, Yamamoto N, Yamasaki T, et al. Effects of an oral iron chelator, deferasirox, on advanced hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2016, 22: 8967-77
- [94] Fischer-Fodor E, Miklasova N, Berindan-Neagoe I, et al. Iron, inflammation and invasion of cancer cells. *Clujul Med*, 2015, 88: 272-7
- [95] Yamasaki T, Terai S, Sakaida I. Deferoxamine for advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2011, 365: 576-8
- [96] Urano S, Ohara T, Noma K, et al. Iron depletion enhances the effect of sorafenib in hepatocarcinoma. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17: 648-56
- [97] Yamamoto N, Yamasaki T, Takami T, et al. Deferasirox, an oral iron chelator, prevents hepatocarcinogenesis and adverse effects of sorafenib. *J Clin Biochem Nutr*, 2016, 58: 202-9
- [98] Jiao Y, Wilkinson Jt, Di X, et al. Curcumin, a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent, is a biologically active iron chelator. *Blood*, 2009, 113: 462-9
- [99] Daniels TR, Bernabeu E, Rodriguez JA, et al. The transferrin receptor and the targeted delivery of therapeutic agents against cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820: 291-317