

DOI: 10.13376/j.cbls/2023100

文章编号: 1004-0374(2023)07-0894-09

# 长链酰基辅酶A合成酶4的生物学及病理学功能研究进展

万根萌<sup>1</sup>, 杨 旻<sup>1,2</sup>, 李梦焕<sup>1</sup>, 马迁鹤<sup>3</sup>, 衣雪洁<sup>1,4\*</sup>

(1 沈阳体育学院运动健康学院, 沈阳 110102; 2 上海体育大学运动健康学院, 上海 200438;

3 辽宁师范大学体育学院, 大连 116029; 4 沈阳体育学院体育社会科学研究中心, 沈阳 110102)

**摘要:**长链酰基辅酶A合成酶4 (long-chain acyl-CoA synthetase 4, ACSL4) 是多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 代谢的重要催化酶, 广泛存在于合成类固醇的组织中。以往研究报道 ACSL4 功能多聚焦于调节脂代谢。近期研究表明 ACSL4 与机体胰岛素分泌、骨骼肌蛋白质代谢及机体炎症反应等多种生物学过程密切相关, 且 ACSL4 可能通过介导铁死亡调控癌症和缺血性脑卒中及急性肾损伤的发生发展。此外, ACSL4 在非酒精性脂肪肝肝病及肝癌中表达失调, 并通过上调 mTOR 磷酸化或 c-Myc 进而促进肝细胞增殖, 提示 ACSL4 可能是多种疾病的治疗靶点。本文主要对 ACSL4 的生理及病理作用进行综述, 以期对相关研究和治疗提供理论依据。

**关键词:** ACSL4; 代谢; 炎症; 神经系统; 非酒精性脂肪肝; 癌症

**中图分类号:** Q493.9 **文献标志码:** A

## Advances in biological and pathological functions of long-chain acyl-CoA synthetase 4

WAN Gen-Meng<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>1,2</sup>, LI Meng-Huan<sup>1</sup>, MA Qian-He<sup>3</sup>, YI Xue-Jie<sup>1,4\*</sup>

(1 College of Exercise and Health, Shenyang Sport University, Shenyang 110102, China; 2 School of Exercise and Health, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China; 3 School of Physical Education, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China; 4 Sports Social Science Research Center, Shenyang Sport University, Shenyang 110102, China)

**Abstract:** ACSL4 (long-chain acyl-CoA synthetase 4) is an important catalase for polyunsaturated fatty acid (PUFA) metabolism and is widely found in tissues where steroids are synthesized. Previous studies on ACSL4 mostly focused on its roles in regulating lipid metabolism. However, it has shown recently that ACSL4 is closely related to various biological processes, such as insulin secretion, skeletal muscle protein metabolism and inflammatory response of the body, and ACSL4 may regulate the development of cancer, ischemic stroke and acute kidney injury by mediating ferroptosis. In addition, ACSL4 is dysregulated in nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma, and promotes hepatocyte proliferation by upregulating mTOR phosphorylation or c-Myc, suggesting that ACSL4 may be a therapeutic target for a variety of diseases. In this paper, we mainly review the newly reported physiological and pathological roles of ACSL4, aiming to provide theoretical basis for related research and treatment of diseases.

**Key words:** ACSL4; metabolism; inflammation; nervous system; nonalcoholic fatty liver; cancer

哺乳动物体内关键的脂肪代谢酶长链酰基辅酶A合成酶 (long-chain acyl-CoA synthetase, ACSL) 能将游离长链脂肪酸转化为酰基辅酶A酯, 并在脂肪酸的合成代谢和分解代谢中起重要作用<sup>[1]</sup>。ACSL家族共包括5种亚型 (ACSL1、ACSL3、ACSL4、ACSL5和ACSL6), 各亚型 mRNA 表达水平具有组

织特异性<sup>[2]</sup>, 如: *ACSL1* 在白色脂肪和肝脏中表达相对较高<sup>[3]</sup>; *ACSL3* 在脑、骨骼肌和睾丸中含量较

收稿日期: 2023-03-24; 修回日期: 2023-05-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(12072202)

\*通信作者: E-mail: Yixuejie8387@163.com

高<sup>[4]</sup>; *ACSL5* 在肝脏、十二指肠黏膜及棕色脂肪组织中表达程度更高<sup>[5]</sup>; *ACSL6* 主要在脑和骨骼肌中表达<sup>[4]</sup>; 而 *ACSL4* 主要分布于卵巢、睾丸和脑等器官中类固醇分泌较多的组织, 以 12~20 个碳的多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 为底物<sup>[6-7]</sup>。

1997 年, Kang 等<sup>[8]</sup> 首次发现主要以花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 为底物的新型酰基辅酶 A 合成酶并命名为 *ACSL4*。2015 年, Dixon 等<sup>[9]</sup> 的研究表明, *ACSL4* 可能新的细胞死亡形式——铁死亡中发挥重要作用。随着研究的发展和深入, 多篇文章报道 *ACSL4* 可有效调节铁死亡及治疗癌症, 使其成为研究焦点。先前的研究多聚焦于 *ACSL4* 对脂代谢的调节, 但近年研究表明, *ACSL4* 还能有效调节胰岛素分泌、骨骼肌蛋白质代谢、神经系统发育和机体炎症反应<sup>[10-13]</sup>。

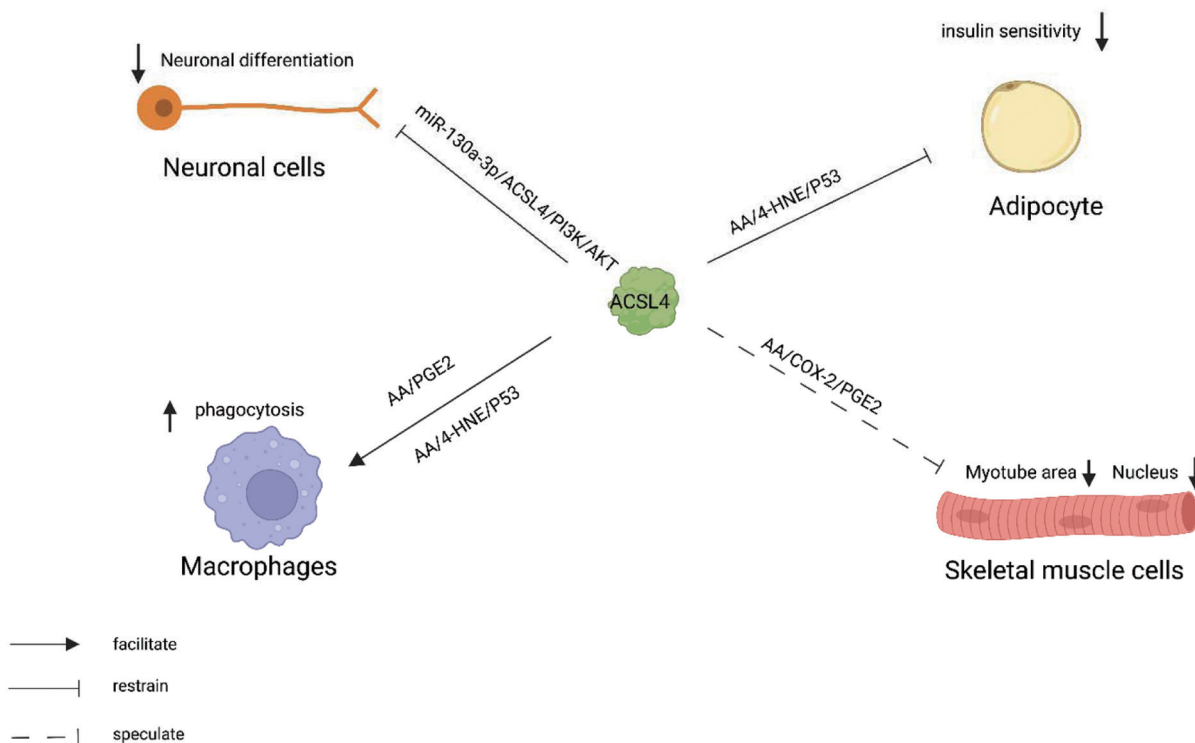
在糖代谢中, *ACSL4* 通过促进 AA 进入磷脂 (phospholipid, PL) 并产生过氧化产物 4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal, 4-HNE) 促进胰岛素抵抗<sup>[14]</sup>; 在骨骼肌生长发育过程中, *ACSL4* 通过促进 mTOR 途径的磷酸化来调节骨骼肌生成, 还可能通过将

AA 酯化为花生四烯酰辅酶 A (arachidonoyl-CoA, AA-CoA), 使其下游产物前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 分泌减少进而抑制骨骼肌发育<sup>[11, 15]</sup>; 在炎症反应中, *ACSL4* 能够抑制骨髓巨噬细胞吞噬活性并促进炎症因子释放<sup>[12]</sup>; 此外, *ACSL4* 在非酒精性脂肪肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 和肝癌以及其他多种癌症患者血清及组织中的表达较正常情况下也有所不同。并且 *ACSL4* DNA 在外周白细胞中的甲基化程度降低与 NAFLD 高度相关<sup>[12-13]</sup>。以上研究提示, *ACSL4* 可作为诊断 NAFLD 的潜在标志物, 并在肝脏代谢性疾病中发挥重要作用。因此, 本文对 *ACSL4* 在相关生理病理中的作用及作用机制 (图 1) 进行综述, 旨在为相关疾病的研究和治疗提供理论依据。

## 1 ACSL4相关生理功能

### 1.1 ACSL4调节胰岛素分泌

胰岛素作为目前已发现的机体唯一降血糖的激素, 其正常分泌对机体糖代谢的稳态至关重要。研究表明, *ACSL4* 可能通过调控特异性底物 AA 及其下游产物的合成来调节胰岛素分泌<sup>[1, 7, 14]</sup>。



*ACSL4* 可以通过 AA/4-HNE/P53 途径使脂肪细胞中胰岛素敏感性下降, 促进胰岛素抵抗; 也可通过 AA/COX-2/PGE2 途径, 抑制肌管面积及肌核数量; 还能通过 AA/PGE2 或 AA/4-HNE/P53 途径增强巨噬细胞吞噬作用, 促进机体炎症反应; 此外, *ACSL4* 受 miR-130a-3p 调节, 通过 PI3K/AKT 途径抑制神经元分化。

图1 ACSL4生理功能

特异性敲除小鼠脂肪细胞 *Acs14* 后发现, 在高脂饮食喂养条件下, 与对照组相比, 敲除小鼠空腹血糖浓度无明显变化, 但其体重和体脂水平降低, 空腹血清胰岛素水平下降、敏感性升高, 葡萄糖耐量测试显示喂食高脂饮食后 75 min 和 120 min 其血清葡萄糖和胰岛素水平也显著降低, 且从其体内分离的脂肪细胞耗氧量及全身能量消耗显著增加; 此外, 研究还发现, 脂质过氧化物 4-HNE 生成减少, P53 水平降低<sup>[14]</sup>。这可能是由于 ACSL4 可以介导 AA 进入磷脂, 从而被过氧化生成 4-HNE<sup>[16]</sup>。4-HNE 能够激活 DNA 损伤重要调节因子 P53, 而 P53 的激活能够导致脂肪细胞产生胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)<sup>[17]</sup>。

以上研究表明 ACSL4 促进胰岛素抵抗, 而近年研究发现这种调节方式可能受到 Rictor (RPTOR independent companion of MTOR complex 2) 的调节<sup>[18]</sup>。Rictor 是组成 mTORC2 的关键蛋白之一, 能够促进胰岛  $\beta$  细胞增殖进而影响胰岛素分泌<sup>[19]</sup>。研究发现 ACSL4 与 Rictor 蛋白在肝细胞的线粒体膜上共定位<sup>[20]</sup>, 且 ACSL4 作为 Rictor 下游因子受其调节<sup>[18]</sup>。在 Rictor 特异性敲除的胰岛  $\beta$  细胞 ( $\beta$ RicKO) 中 ACSL4 显著上调, 导致 MafA 蛋白 (促胰岛素分泌) 水平显著降低, 且 MafA 受活性氧负调控<sup>[18, 21]</sup>。进一步研究发现,  $\beta$ RicKO 中 ACSL4 过表达会使包括谷胱甘肽过氧化物酶 1 (glutathione peroxidase 1, GPX1) 在内的过氧化物清除剂水平降低且活性氧产生增加, 表明在缺乏 Rictor 的情况下 ACSL4 会削弱  $\beta$  细胞的抗氧化能力, 进而产生更多的活性氧来下调 MafA 蛋白水平; 而在对照组中, MafA 蛋白水平上调<sup>[18]</sup>。这提示 ACSL4 可能通过影响  $\beta$  细胞中活性氧的产生抑制 MafA 表达进而影响胰岛素分泌, 且 ACSL4 对活性氧的调控可能受到 Rictor 的影响。

综上所述, ACSL4 可能在 Rictor 的调控下通过调节 AA 及其下游产物, 如 4-HNE 的产生和利用, 来调节胰岛素分泌和胰岛素敏感性, 但其具体作用机制目前尚不明确, 还需进一步研究探讨与验证。

## 1.2 ACSL4促进炎症反应

在炎症反应初期, 巨噬细胞通过调节包括类花生酸和细胞因子在内的各种介质的释放, 以及通过吞噬受损细胞和微生物等, 对炎症症状进行有效调控。含有 PUFA 的磷脂 (PL) 可增加膜的流动性, 进而促进巨噬细胞的吞噬活性<sup>[22]</sup>。Kuwata 等<sup>[12]</sup> 发现, 与野生型小鼠相比, 在 *Acs14* 敲除小鼠的骨髓巨噬

细胞 (bone marrow-derived macrophages, BMDM) 中, 饱和脂酰辅酶 A 和单不饱和脂酰辅酶 A 并未受到影响, 但长度大于 20 个碳以上的 PUFA 衍生的脂酰辅酶 A 的水平显著降低。进一步研究发现, *Acs14* 的敲除会减少 PUFA 在 PL (尤其是磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺) 中的渗入, 导致磷脂脂肪酸组成发生变化。此外, 利用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激 *Acs14* 敲除的 BMDM 会促进 AA 衍生物 PGE2 (促炎因子) 的释放<sup>[12]</sup>。以上研究提示, ACSL4 能够通过改变 PL 中 PUFA 的比例及 PGE2 的释放来影响巨噬细胞功能与活动, 进而影响机体炎症反应。

巨噬细胞炎症激活的一个重要影响因素是 PUFA 氧化产生的脂质介质<sup>[23]</sup>。为阐明 ACSL4 在巨噬细胞内对 PUFA 代谢和炎症的作用, Reeves 等<sup>[23]</sup> 特异性敲除小鼠常驻腹腔巨噬细胞 (resident peritoneal macrophages, rpMAC) *Acs14* 基因发现, 巨噬细胞 *Acs14* 缺失导致 PL 内 AA 减少 90%, 并使 AA 促炎下游产物的产生减少; 此外, 在 LPS 诱导的 *Acs14* 缺失小鼠腹膜炎期间, 其体内中性粒细胞迁移和脂质介质生成减少, 这表明 ACSL4 在介导急性炎症的过程中发挥一定的作用。此外, 如前文所述, 特异性敲除高脂饮食小鼠脂肪细胞 *Acs14* 后, 发现 PUFA 脂质过氧化产物 4-HNE 的产生显著减少, 这是由于 *Acs14* 敲除使进入 PL 中的 AA 数量减少, 进而导致过氧化产物 4-HNE 减少, 抑制了重要炎症因子 P53 的激活<sup>[16-17]</sup>。因此, *Acs14* 特异性敲除可能起到抑制炎症的作用<sup>[14]</sup>。这也与 Singh 等<sup>[1]</sup> 在敲除 *Acs14* 的高脂饮食喂养的小鼠肝脏中的发现一致。以上研究提示, 抑制 ACSL4 的表达可能是一种缓解机体炎症反应的有效方式。

## 1.3 ACSL4调节骨骼肌蛋白质合成

骨骼肌是重要的糖脂代谢组织, 其生长发育受到糖脂代谢相关通路调控, 同时炎症反应也参与了骨骼肌正常生理功能的维持<sup>[24-25]</sup>。研究表明 *Acs14* 也在骨骼肌中表达<sup>[26]</sup>, 鉴于现有研究结果, 本文推测 ACSL4 可能在骨骼肌生长发育中发挥一定作用。

脂肪酸能调节骨骼肌生长发育, 其中饱和脂肪酸通常表现为诱导或促进肌肉萎缩和蛋白质降解, 而不饱和脂肪酸的作用相反<sup>[27]</sup>。多不饱和脂肪酸 AA 可被环氧合酶 (cyclooxygenase, CoX)、细胞色素 P450 和赖氨酰氧化酶 (lysyl oxidase, LoX) 三种酶催化, 其中 CoX-2 能够将 AA 转化为 PGE2<sup>[28]</sup>。研究发现, 对小鼠骨骼肌细胞添加 AA 能够有效增加肌管的横截面积以及肌核的数量, 该作用在添加

CoX-2 抑制剂后受到抑制,且在重新恢复 CoX-2 活性后导致 PGE2 表达升高,表明 AA 能够通过 CoX-2 途径生成 PGE2 进而促进骨骼肌的生长发育<sup>[11,29]</sup>。Golej 等<sup>[30]</sup>在人动脉平滑肌细胞(SMC)中过表达 ACSL4 发现,过量 ACSL4 能够抑制 PGE2 释放,抑制 ACSL4 可使 PGE2 分泌增加。这可能是由于 ACSL4 通过将 AA 酯化为 AA-CoA,使进入 PL 和三酰基甘油的 AA 增加,游离的 AA 减少,从而导致与 CoX-2 结合的 AA 减少,进而影响 PGE2 的释放。与之相反,长期 ACSL4 抑制会导致 PGE2 释放减少,进而导致 SMC 生长不良<sup>[30]</sup>。这表明在 SMC 细胞中 ACSL4 可通过调节 AA 与 CoX-2 的结合起到调节 PGE2 的作用。同时,ACSL4 与 PEG2 也在人骨骼肌中表达<sup>[4,29]</sup>。这可能为研究 ACSL4 在骨骼肌生长发育中的作用提供新的思路。

mTOR 作为维持骨骼肌质量的关键调节剂,可通过表皮生长因子受体/胰岛素受体底物-1/磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶/蛋白激酶 B(EGFR/IRS1/PI3K/AKT) 通路激活,然后使其下游因子 p70 核糖体 S6 激酶(p70-S6 kinase, S6K)和 eIF4E 结合蛋白(4E-BP)磷酸化,进而促进蛋白质生成<sup>[27]</sup>。AMP 活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)能够通过磷酸化 Raptor(mTORC1 相关调节蛋白)及激活结节性硬化复合物 2(tuberous sclerosis complex 2, TSC2)下调 mTORC1 活性<sup>[31]</sup>。研究显示,ACSL4 可通过多种途径实现对该通路的调节。其一,ACSL4 能够直接抑制 AMPK 上 Thr172 位点的磷酸化从而抑制 TSC2 活性,增强乳腺癌细胞 mTORC1 Ser2448 位点磷酸化,并增强 S6K 磷酸化作用,进而促进蛋白质的生成<sup>[15]</sup>;其二,ACSL4 可增强 AKT 的磷酸化,进而抑制 TSC2 或直接增强 mTORC1 活性<sup>[32-33]</sup>;其三,GSK3 信号转导可通过促进 TSC1/2 活化来抑制 mTORC1<sup>[34]</sup>,而 ACSL4 的表达能够通过增强 GSK3 的磷酸化来抑制其激活,起到促进 mTORC1 表达的作用。总的来说,ACSL4 通过激活 mTORC1 信号通路进而增强蛋白质合成的作用是毋庸置疑的,但该影响在骨骼肌中是否依旧有效还不得而知,需进一步的研究加以验证。

研究发现,骨骼肌脂质代谢在高脂饮食引起的肥胖或有氧运动训练中发生明显变化<sup>[35]</sup>,ACSL4 作为调控脂质代谢的关键因子在其中的作用尚不明确。Stierwalt 等<sup>[26]</sup>对雄性小鼠进行高脂或低脂饮食喂养,同时第 4 周将小鼠分为久坐不动或进行有氧运动干预两组,并在第 12 周测量小鼠腓肠肌

中 *Acs14* 的表达情况后发现,*Acs14* 的表达程度与饮食情况无关,而与有氧运动小鼠相比久坐小鼠 *Acs14* 表达水平降低,表明 ACSL4 可能与骨骼肌生长发育负相关且受运动调节。然而,他们又对健康成年人骨骼肌进行研究,与静坐 1 h 相比,以 65% 最大摄氧量强度进行一次急性(1 h)运动训练后 15 min 和 120 min,人体骨骼肌细胞中 ACSL4 的表达水平并无明显变化<sup>[36]</sup>。猜测这可能与物种、运动强度、持续时间和运动频率有关。考虑到骨骼肌可能不是分泌 ACSL4 的主要器官,未来应该围绕分泌的主要组织和血清进行探索<sup>[26]</sup>。通过以上研究发现,ACSL4 在骨骼肌生长发育过程中可能具有一定的调节作用,但其中的具体作用机制尚不清晰。此外,ACSL4 能否通过 mTORC1 通路和运动来调节 FA 从而调控骨骼肌值得进一步探索。

#### 1.4 ACSL4 调节神经发育

Cho<sup>[37]</sup>发现 ACSL4 具有两种变体,除在大多数类固醇生成组织中广泛存在的 ACSL4v1 变体外,在大脑中还存在脑型 ACSL4v2 变体。特异性敲除小鼠胚胎干细胞脑型 *Acs14* 可导致神经分化受到抑制<sup>[37]</sup>,并且其特异性底物 AA 是大脑中最丰富的脂肪酸之一,参与维持神经系统正常的生理功能和神经元增殖分化<sup>[38-39]</sup>。这提示脑型 *ACSL4* 可能通过调控脑中的 AA 代谢进而促进神经分化。但与之相反的是,近期研究发现 *Acs14* 表达会抑制神经干细胞分化为神经元,且受 miR-130a-3p 负调控<sup>[40]</sup>。先前的报道称 PI3K 在细胞生长、分化中起重要作用,AKT 作为 PI3K 的主要下游因子能够调节神经系统发育<sup>[41]</sup>。而 PI3K 蛋白表达及 AKT 磷酸化水平在 ACSL4 过表达时降低,且这种抑制作用在 miR-130a-3p 过表达时减弱,表明 ACSL4 能在 miR-130a-3p 的调控下,通过 PI3K/AKT 通路来抑制神经元的分化<sup>[40]</sup>。

## 2 ACSL4 相关病理功能

### 2.1 ACSL4 与非酒精脂肪肝病及肝癌

ACSL4 主要在脑、肾上腺、卵巢等分泌类固醇的组织中大量表达,而在胃肠道系统(包括肝脏)含量较少。但研究发现,在 NAFLD 和肝癌患者的肝脏中,ACSL4 表达明显上调<sup>[42]</sup>。这种特异性变化提示 ACSL4 可能是 NAFLD 发生发展过程的重要生物学标志物,并对疾病起调节作用。

近年来,DNA 甲基化越来越被认为是 NAFLD 的危险因素之一,外周白细胞 DNA 低甲基化与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、乳腺癌等

疾病高度相关<sup>[43-44]</sup>。人群研究显示,与健康人相比NAFLD患者有863个CpG位点(DNA甲基化位点)甲基化产生差异,其中*ACSL4*基因表现出低甲基化,且其可作为重要标志物用于评估NAFLD发展为非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)的可能性<sup>[45]</sup>。在另一项研究中,作者又比较了NAFLD和NASH患者之间外周白细胞的DNA甲基化差异,发现包括*ACSL4*在内的6个差异甲基化CpG位点<sup>[46]</sup>,表明*ACSL4*有望成为NASH的血液标志物,在临床研究和诊断中具有潜在应用价值。

HCC是最常见、最致命的癌症之一,据报道其2020年全球相关死亡人数在全部恶性肿瘤死亡人数中排名第三<sup>[47]</sup>。脂质代谢异常是HCC发生的重要因素之一,Duan等<sup>[48]</sup>发现,抑制肝细胞中*ACSL4*表达能够增强线粒体呼吸并通过TGF- $\beta$ 1/Smad3/PGC-1 $\alpha$ 途径促进 $\beta$ 氧化,保护细胞免受过氧化物影响而死亡。值得注意的是,*ACSL4*在HCC中的表达显著高于其他肿瘤,可用于区分HCC与其他类型的肝脏癌症<sup>[49]</sup>。同时,mTOR已被证明在包括HCC在内的癌症中起关键作用<sup>[50-51]</sup>。而在HCC中,*ACSL4*能够增强mTOR磷酸化水平,激活mTOR信号转导通路,促进HCC细胞增殖并抑制其凋亡,这与上文提到的在乳腺癌中的研究结果一致<sup>[15, 52]</sup>。

Chen等<sup>[13, 53]</sup>发现当*ACSL4*敲低时,肝细胞的生长受到显著抑制,并且*ACSL4*与癌相关蛋白c-Myc的表达成正相关;进一步研究发现,*ACSL4*通过ERK/FBW7/c-Myc轴发挥作用。甾醇调节元件结合蛋白1(SREBP1)是一种参与脂肪生成的重要调节因子,且对HCC具有一定影响<sup>[54]</sup>。研究发现,在肝癌细胞中*ACSL4*能够通过上调c-Myc来实现对SREBP1的调控,并调节HCC中的脂质代谢<sup>[13]</sup>。综上,*ACSL4*可通过ERK/FBW7/c-Myc/SREBP1轴来影响HCC;此外,*ACSL4*可作为一种有效的预后标志物,并可能成为HCC的潜在治疗靶点。

Abemaciclib是一种有效的肿瘤治疗药物,目前已被批准用于乳腺癌的治疗<sup>[55]</sup>。先前研究表明,Abemaciclib通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶4/6(cyclin-dependent kinase 4/6, CDK4/6)来抑制癌细胞的无序增殖<sup>[56]</sup>。但近期研究发现Abemaciclib对NAFLD也具有良好的治疗效果。Duan等<sup>[48]</sup>发现,特异性敲除肝脏*ACSL4*可有效改善高脂饮食诱导的肝纤维化,即保护肝脏免受NAFLD的侵袭;对小鼠给与*ACSL4*抑制剂(曲格列酮、罗格列酮及吡

格列酮)和Abemaciclib干预后,Abemaciclib干预组表现出更好的*ACSL4*抑制效果,且肝脏脂肪变性及NAFLD的发展也受到明显的抑制。这提示抑制*ACSL4*表达或其蛋白活性可作为治疗NAFLD的潜在方法与手段,且Abemaciclib可作为*ACSL4*新型抑制剂用于后续研究。值得注意的是,对肝癌细胞同时应用Lenvatinib(肝癌抑制剂)与Abemaciclib可显著提高Lenvatinib的抗肿瘤效果<sup>[57]</sup>。但遗憾的是,目前未见Lenvatinib调控*ACSL4*的相关报道,因此Abemaciclib与Lenvatinib是通过介导新的通路协同调节*ACSL4*,还是通过共同抑制*ACSL4*发挥调控作用目前尚不明确,需通过动物模型和细胞实验加以验证。

## 2.2 *ACSL4*与其他癌症

*ACSL4*不但在肝癌中表达升高,在其他多种癌症中表达量也发生变化<sup>[58]</sup>。异常的细胞增殖是肿瘤的显著特征之一,在此过程中形成的肿瘤细胞需要更多的脂肪酸来构成细胞膜<sup>[59]</sup>。铁死亡是2012年发现的一种由脂质氢过氧化物(lipid hydroperoxide, LPO)积累和铁代谢异常引起的程序性细胞死亡形式<sup>[60-61]</sup>。AA和肾上腺素(adrenoyl, ADA)的磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)是诱导细胞铁死亡的关键磷脂<sup>[62]</sup>。*ACSL4*能够通过改变细胞的脂质组成来决定铁死亡的敏感性,并优先选择AA和ADA作为底物<sup>[63]</sup>。研究表明,铁死亡可能是机体的一种适应性过程,有利于抑制癌症发展<sup>[64]</sup>。而*ACSL4*对以AA为主的多不饱和脂肪酸代谢的调节及其在铁死亡中发挥的促进作用提示,*ACSL4*可能通过以上两种途径影响癌症的发生发展。现有证据表明,*ACSL4*在不同癌症中的作用是不同的。如在乳腺癌中,*ACSL4*表达升高并通过增加细胞对外源性PUFA的摄取来促进肿瘤侵袭<sup>[65-66]</sup>;在前列腺癌中,*ACSL4*上调,并通过p-AKT、赖氨酸特异性去甲基酶1(lysine specific demethylase 1, LSD1)以及 $\beta$ -catenin等途径促进细胞增殖<sup>[67]</sup>。但与之相反的是,在肺癌中,*ACSL4*表达减少,这是由于*ACSL4*能够通过诱导铁死亡进而抑制肿瘤细胞存活<sup>[68]</sup>;在胰腺癌中,*ACSL4*受高表达的线粒体蛋白酪氨酸磷酸酶1(protein tyrosine phosphatase 1, PTPMT1)负向调节并抑制铁死亡,从而促进胰腺癌的发展<sup>[69]</sup>。铁死亡对于索拉菲尼(Sorafenib)的肿瘤治疗效果至关重要<sup>[70]</sup>。研究发现,在肝癌细胞中沉默*ACSL4*会抑制Sorafenib诱导的活性氧产生,并表现出对Sorafenib的抗药性,削弱治疗效果<sup>[71]</sup>。此外,肝

癌组织中 ACSL4 高表达的患者对 Sorafenib 的治疗表现出更积极的疗效<sup>[68]</sup>。

免疫疗法作为癌症治疗手段, 与化学疗法及直接将癌细胞杀死的药物疗法不同, 其通过激活或增强免疫系统功能杀死癌细胞<sup>[72]</sup>。以往研究显示, 肿瘤免疫疗法与铁死亡高度相关<sup>[73]</sup>, 这提示 ACSL4 可能通过介导铁死亡对免疫疗法产生一定影响。Zhang 等<sup>[74]</sup>发现, PKC $\beta$  II 能够直接磷酸化 ACSL4 Thr238 位点, 促进 ACSL4 二聚化(有利于 ACSL4 激活), 并诱导铁死亡; 随后在异种肿瘤移植小鼠中点突变 ACSL4 Thr328, 发现与对照组相比, ACSL4 Thr328 突变小鼠肿瘤生长被抑制, 并且敲除 PKC $\beta$  II 的异种肿瘤移植小鼠也表现出相同结果。这提示 PKC $\beta$  II /ACSL4 通路, 尤其是对 ACSL4 Thr328 位点的磷酸化, 可通过诱导铁死亡提升免疫治疗效果, 为癌症治疗提供了新的思路。

根据以上研究结果推测, ACSL4 在癌症发生发展过程中具有双重调节作用: 一方面, ACSL4 可通过促进肿瘤细胞脂肪酸代谢诱导癌症的发生; 另一方面, ACSL4 能够促进肿瘤细胞铁死亡进而抑制癌症的发生。对于一些已被证明可通过铁死亡途径治疗癌症的相关药物来说, ACSL4 在某些肿瘤中的高表达或许能够增强癌变组织对这些药物的敏感性, 进而提高治疗效果。值得注意的是, 虽然 ACSL4 能够催化 PUFA 过氧化从而诱导铁死亡, 但 ACSL4 对于铁死亡的发生是必要但不充分的。因为铁死亡的发生不仅需要过氧化物的产生积累, 还需要抗氧化机制被抑制<sup>[75]</sup>。因此, ACSL4 在不同癌症中调控功能的差异性可能与不同组织的 ACSL4 表达情况及抗氧化能力的差异有关。

### 2.3 ACSL4与缺血性脑卒中

近期研究发现, ACSL4 促进缺血性脑卒中, 这种促进作用可能是通过诱导神经细胞铁死亡并介导神经炎症引起的<sup>[76-77]</sup>。Cui 等<sup>[77]</sup>发现, 在神经细胞中过表达或敲除 ACSL4 可分别加剧或抑制神经细胞缺血后损伤; 此外, ACSL4 过表达可降低神经细胞活力, 使细胞内过氧化物含量升高, 同时可清除脂质过氧化产物的谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 表达降低, 这意味着 ACSL4 对缺血性中风的调节可能是通过促进铁死亡进而诱导神经炎症介导的<sup>[77]</sup>。研究表明, 在神经细胞中, ACSL4 可能与凝血酶相互协调促进铁死亡<sup>[78]</sup>。凝血酶因其在刺激纤维蛋白产生及凝血方面的作用, 被认为是缺血性脑卒中的治疗靶标之一<sup>[79]</sup>。

Tuo 等<sup>[78]</sup>最近发现, 在脑卒中期间, 凝血酶首先增加胞质钙以激活磷脂酶 cPLA2 $\alpha$  (cytosolic phospholipase A2 $\alpha$ ), 并通过磷酸化 cPLA2 $\alpha$  促使生物膜上的 AA 释放, 增加游离 AA 浓度; 这些 AA 被 ACSL4 捕获催化并生成铁死亡关键因子 PE, 诱发铁死亡, 促进脑卒中的发展。该研究表明, 抑制凝血酶-ACSL4 轴可能是改善铁死亡引起的脑卒中的有效方法。

神经炎症是指神经组织受内源性 & 外源性刺激引起的炎症<sup>[80]</sup>。最新研究表明, 神经炎症参与缺血性脑卒中的发生, ACSL4 促进缺血诱导的炎症细胞因子的产生, 并在神经炎症的进展中发挥重要作用<sup>[77, 81]</sup>。Zhou 等<sup>[81]</sup>发现, 在 LPS 刺激的小胶质细胞炎症中, ACSL4 表达升高, 敲除 ACSL4 可抑制核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 信号通路的激活, 并减少 LPS 刺激时促炎因子的产生, 同时小胶质细胞中铁死亡相关指标并未产生变化; 这表明在小胶质细胞炎症中, ACSL4 通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通路而非铁死亡促进炎症因子的表达。进一步研究发现, 在 ACSL4 敲除的小胶质细胞中, 转录调节因子退变样蛋白 4 (vestigial like family member 4, VGLL4) 表达增加, 沉默 VGLL4 会使肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 等炎症因子水平升高; 与单独敲除 ACSL4 相比, 同时敲除 VGLL4 和 ACSL4 后 NF- $\kappa$ B 磷酸化得到了部分恢复<sup>[81]</sup>。以上研究提示, 在小胶质细胞中, ACSL4 可能在 LPS 的刺激下通过抑制 VGLL4 表达, 从而激活 NF- $\kappa$ B 并促进炎症因子的产生, 最终加剧缺血性脑卒中。

### 2.4 ACSL4与急性肾损伤

急性肾损伤与细胞凋亡、坏死和自噬有关。研究表明, 铁死亡是导致急性肾损伤的潜在途径<sup>[82]</sup>。Wang 等<sup>[83]</sup>发现肾小管细胞 ACSL4 敲除可抑制肾脏缺血再灌注时铁死亡标志物及炎症因子的产生, 表明 ACSL4 能够通过促进铁死亡并诱导炎症促进急性肾损伤的进展。这提示抑制 ACSL4 活性可能为治疗缺血再灌注导致的急性肾损伤提供新思路。

microRNAs (miRNAs) 作为一种小型非编码 RNA, 通过与其各自的 mRNA 靶点结合发挥作用<sup>[84]</sup>。miRNAs 在缺血再灌注引起的急性肾损伤中发挥重要作用, 其中 miR-20a-5p 在此过程中表达显著上调<sup>[85]</sup>。Shi 等<sup>[86]</sup>发现抑制 miR-20a-5p 会加重铁死亡诱导剂诱导的铁死亡, 并通过对比生物信息学数据库发现了 miR-20a-5p 的靶基因 ACSL4; 进一步实验发现,

miR-20a-5p 通过结合 *ACSL4* mRNA 的 3'UTR 来靶向负调控 *ASCL4*; 此外, 早期生长反应因子 1 (early growth response-1, EGR1) 能够结合 miR-20a-5p 启动子并调节其表达<sup>[86]</sup>。由此推测, EGR1/miR-20a-5p/*ACSL4* 途径可能是急性肾损伤的潜在治疗靶点。

### 3 总结与展望

本文综述了 *ACSL4* 在胰岛素分泌、骨骼肌蛋白质代谢、机体炎症反应以及神经系统发育过程中的生物学作用, 及其在非酒精性脂肪肝病和肝癌、其他癌症、缺血性脑卒中和急性肾损伤发生发展过程中的作用。值得注意的是, *ACSL4* 主要通过催化 AA 调节机体功能, 对其他底物的报道较少, 这提示 *ACSL4* 对其他底物的催化及其生物学功能可能是未来重点研究方向, 需要进一步探索, 进而为抑制 *ACSL4* 的病理学功能提供临床前基础和重要参考。

#### [参 考 文 献]

- [1] Singh AB, Kan CFK, Kraemer FB, et al. Liver-specific knockdown of long-chain acyl-CoA synthetase 4 reveals its key role in VLDL-TG metabolism and phospholipid synthesis in mice fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2019, 316: E880-94
- [2] Hou J, Jiang C, Wen X, et al. *ACSL4* as a potential target and biomarker for anticancer: from molecular mechanisms to clinical therapeutics. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 949863
- [3] Ellis JM, Li LO, Wu PC, et al. Adipose acyl-CoA synthetase-1 directs fatty acids toward  $\beta$ -oxidation and is required for cold thermogenesis. *Cell Metab*, 2010, 12: 53-64
- [4] Teodoro BG, Sampaio IH, Bomfim LH, et al. Long-chain acyl-CoA synthetase 6 regulates lipid synthesis and mitochondrial oxidative capacity in human and rat skeletal muscle. *J Physiol*, 2017, 595: 677-93
- [5] Mashek DG, Li LO, Coleman RA. Rat long-chain acyl-CoA synthetase mRNA, protein, and activity vary in tissue distribution and in response to diet. *J Lipid Res*, 2006, 47: 2004-10
- [6] Soupene E, Kuypers FA. Mammalian long-chain acyl-CoA synthetases. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2008, 233: 507-21
- [7] Ansari IH, Longacre MJ, Stoker SW, et al. Characterization of acyl-CoA synthetase isoforms in pancreatic beta cells: gene silencing shows participation of *ACSL3* and *ACSL4* in insulin secretion. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 618: 32-43
- [8] Kang MJ, Fujino T, Sasano H, et al. A novel arachidonate-preferring acyl-CoA synthetase is present in steroidogenic cells of the rat adrenal, ovary, and testis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94: 2880-4
- [9] Dixon SJ, Winter GE, Musavi LS, et al. Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death. *ACS Chem Biol*, 2015, 10: 1604-9
- [10] Klett EL, Chen S, Edin ML, et al. Diminished acyl-CoA synthetase isoform 4 activity in INS 832/13 cells reduces cellular epoxyeicosatrienoic acid levels and results in impaired glucose-stimulated insulin secretion. *J Biol Chem*, 2013, 288: 21618-29
- [11] Leng X, Jiang H. Effects of arachidonic acid and its major prostaglandin derivatives on bovine myoblast proliferation, differentiation, and fusion. *Domest Anim Endocrinol*, 2019, 67: 28-36
- [12] Kuwata H, Nakatani E, Shimbara-Matsubayashi S, et al. Long-chain acyl-CoA synthetase 4 participates in the formation of highly unsaturated fatty acid-containing phospholipids in murine macrophages. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864: 1606-18
- [13] Chen J, Ding C, Chen Y, et al. *ACSL4* reprograms fatty acid metabolism in hepatocellular carcinoma via c-Myc/SREBP1 pathway. *Cancer Lett*, 2021, 502: 154-65
- [14] Killion EA, Reeves AR, El Azzouny MA, et al. A role for long-chain acyl-CoA synthetase-4 (*ACSL4*) in diet-induced phospholipid remodeling and obesity-associated adipocyte dysfunction. *Mol Metab*, 2018, 9: 43-56
- [15] Orlando UD, Castillo AF, Dattilo MA, et al. Acyl-CoA synthetase-4, a new regulator of mTOR and a potential therapeutic target for enhanced estrogen receptor function in receptor-positive and -negative breast cancer. *Oncotarget*, 2015, 6: 42632-50
- [16] Hauck AK, Bernlohr DA. Oxidative stress and lipotoxicity. *J Lipid Res*, 2016, 57: 1976-86
- [17] Singhal SS, Singh SP, Singhal P, et al. Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4-hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 289: 361-70
- [18] Cui C, Li T, Xie Y, et al. Enhancing *Acsl4* in absence of mTORC2/Rictor drove  $\beta$ -cell dedifferentiation via inhibiting FoxO1 and promoting ROS production. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867: 166261
- [19] Zhao D, Jiang M, Zhang X, et al. The role of RICTOR amplification in targeted therapy and drug resistance. *Mol Med*, 2020, 26: 20
- [20] López-Crisosto C, Bravo-Sagua R, Rodríguez-Peña M, et al. ER-to-mitochondria miscommunication and metabolic diseases. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852: 2096-105
- [21] Guo S, Dai C, Guo M, et al. Inactivation of specific  $\beta$  cell transcription factors in type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 2013, 123: 3305-16
- [22] Calder PC, Bond JA, Harvey DJ, et al. Uptake and incorporation of saturated and unsaturated fatty acids into macrophage lipids and their effect upon macrophage adhesion and phagocytosis. *Biochem J*, 1990, 269: 807-14
- [23] Reeves AR, Sansbury BE, Pan M, et al. Myeloid-specific deficiency of long-chain acyl CoA synthetase 4 reduces inflammation by remodeling phospholipids and reducing production of arachidonic acid-derived proinflammatory lipid mediators. *J Immunol*, 2021, 207: 2744-53
- [24] Park MJ, Choi KM. Interplay of skeletal muscle and

- adipose tissue: sarcopenic obesity. *Metabolism*, 2023, 144: 155577
- [25] Tidball JG. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17: 165-178
- [26] Stierwalt HD, Ehrlicher SE, Robinson MM, et al. Diet and exercise training influence skeletal muscle long-chain acyl-CoA synthetases. *Med Sci Sports Exerc*, 2020, 52: 569-76
- [27] Lipina C, Hundal HS. Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2017, 8: 190-201
- [28] Brash AR. Arachidonic acid as a bioactive molecule. *J Clin Invest*, 2001, 107: 1339-45
- [29] Markworth JF, Cameron-Smith D. Arachidonic acid supplementation enhances *in vitro* skeletal muscle cell growth via a COX-2-dependent pathway. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 304: C56-67
- [30] Golej DL, Askari B, Kramer F, et al. Long-chain acyl-CoA synthetase 4 modulates prostaglandin E<sub>2</sub> release from human arterial smooth muscle cells. *J Lipid Res*, 2011, 52: 782-93
- [31] Ranek MJ, Kokkonen-Simon KM, Chen A, et al. PKG1-modified TSC2 regulates mTORC1 activity to counter adverse cardiac stress. *Nature*, 2019, 566: 264-9
- [32] Nnah IC, Wang B, Saqceca C, et al. TFEB-driven endocytosis coordinates mTORC1 signaling and autophagy. *Autophagy*, 2019, 15: 151-64
- [33] Hinz N, Jücker M. Distinct functions of AKT isoforms in breast cancer: a comprehensive review. *Cell Commun Signal*, 2019, 17: 154
- [34] Inoki K, Ouyang H, Zhu T, et al. TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell*, 2006, 126: 955-68
- [35] Newsom SA, Miller BF, Hamilton KL, et al. Long-term rates of mitochondrial protein synthesis are increased in mouse skeletal muscle with high-fat feeding regardless of insulin-sensitizing treatment. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2017, 313: E552-62
- [36] Stierwalt HD, Ehrlicher SE, Robinson MM, et al. Skeletal muscle ACSL isoforms relate to measures of fat metabolism in humans. *Med Sci Sports Exerc*, 2021, 53: 624-32
- [37] Cho YY. A novel role of brain-type ACS4 isotype in neuronal differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 419: 505-10
- [38] Sambra V, Echeverria F, Valenzuela A, et al. Docosahexaenoic and arachidonic acids as neuroprotective nutrients throughout the life cycle. *Nutrients*, 2021, 13: 986
- [39] Shimbara-Matsubayashi S, Kuwata H, Tanaka N, et al. Analysis on the substrate specificity of recombinant human acyl-CoA synthetase ACSL4 variants. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42: 850-5
- [40] Li W, Shan BQ, Zhao HY, et al. MiR-130a-3p regulates neural stem cell differentiation *in vitro* by targeting Acs14. *J Cell Mol Med*, 2022, 26: 2717-27
- [41] Xu F, Na L, Li Y, et al. Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. *Cell Biosci*, 2020, 10: 54
- [42] Sen P, Kan CFK, Singh AB, et al. Identification of p115 as a novel ACSL4 interacting protein and its role in regulating ACSL4 degradation. *J Proteomics*, 2020, 229: 103926
- [43] Wu HC, Wang Q, Yang HI, et al. Global DNA methylation levels in white blood cells as a biomarker for hepatocellular carcinoma risk: a nested case-control study. *Carcinogenesis*, 2012, 33: 1340-5
- [44] Hyun J, Jung Y. DNA methylation in nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 8138
- [45] Zhang RN, Pan Q, Zheng RD, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation in human peripheral leukocytes identifies potential biomarkers of nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Med*, 2018, 42: 443-52
- [46] Wu J, Zhang R, Shen F, et al. Altered DNA methylation sites in peripheral blood leukocytes from patients with simple steatosis and nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6946-67
- [47] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71: 209-49
- [48] Duan J, Wang Z, Duan R, et al. Therapeutic targeting of hepatic ACSL4 ameliorates NASH in mice. *Hepatology*, 2022, 75: 140-53
- [49] Ndiaye H, Liu JY, Hall A, et al. Immunohistochemical staining reveals differential expression of ACSL3 and ACSL4 in hepatocellular carcinoma and hepatic gastrointestinal metastases. *Biosci Rep*, 2020, 40: BSR20200219
- [50] Calvisi DF, Wang C, Ho C, et al. Increased lipogenesis, induced by AKT-mTORC1-RPS6 signaling, promotes development of human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 2011, 140: 1071-83
- [51] Luo YH, Tang W, Zhang X, et al. Promising significance of the association of miR-204-5p expression with clinicopathological features of hepatocellular carcinoma. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96: e7545
- [52] Wang J, Wang Z, Yuan J, et al. The positive feedback between ACSL4 expression and O-GlcNAcylation contributes to the growth and survival of hepatocellular carcinoma. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 7786-800
- [53] Chen J, Ding C, Chen Y, et al. ACSL4 promotes hepatocellular carcinoma progression via c-Myc stability mediated by ERK/FBW7/c-Myc axis. *Oncogenesis*, 2020, 9: 42
- [54] Li C, Yang W, Zhang J, et al. SREBP-1 has a prognostic role and contributes to invasion and metastasis in human hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 7124-38
- [55] Spring LM, Wander SA, Andre F, et al. Cyclin-dependent kinase 4 and 6 inhibitors for hormone receptor-positive breast cancer: past, present, and future. *Lancet*, 2020, 395: 817-27
- [56] Braal CL, Jongbloed EM, Wilting SM, et al. Inhibiting



- CDK4/6 in breast cancer with palbociclib, ribociclib, and abemaciclib: similarities and differences. *Drugs*, 2021, 81: 317-31
- [57] Digiacoimo G, Fumarola C, La Monica S, et al. CDK4/6 inhibitors improve the anti-tumor efficacy of lenvatinib in hepatocarcinoma cells. *Front Oncol*, 2022, 12: 942341
- [58] Rossi Sebastiano M, Konstantinidou G. Targeting long chain acyl-CoA synthetases for cancer therapy. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 3624
- [59] Wang B, Wu L, Chen J, et al. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6: 94
- [60] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 2012, 149: 1060-72
- [61] Yang WS, Stockwell BR. Ferroptosis: death by lipid peroxidation. *Trends Cell Biol*, 2016, 26: 165-76
- [62] Kagan VE, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 81-90
- [63] Doll S, Proneth B, Tyurina YY, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 91-8
- [64] Dixon SJ. Ferroptosis: bug or feature? *Immunol Rev*, 2017, 277: 150-7
- [65] Dinarvand N, Khanahmad H, Hakimian SM, et al. Evaluation of long-chain acyl-coenzyme A synthetase 4 (ACSL4) expression in human breast cancer. *Res Pharm Sci*, 2020, 15: 48-56
- [66] Belkaid A, Ouellette RJ, Surette ME. 17 $\beta$ -estradiol-induced ACSL4 protein expression promotes an invasive phenotype in estrogen receptor positive mammary carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 2017, 38: 402-10
- [67] Castillo AF, Orlando UD, Maloberti PM, et al. New inhibitor targeting Acyl-CoA synthetase 4 reduces breast and prostate tumor growth, therapeutic resistance and steroidogenesis. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 2893-910
- [68] Zhang Y, Li S, Li F, et al. High-fat diet impairs ferroptosis and promotes cancer invasiveness via downregulating tumor suppressor ACSL4 in lung adenocarcinoma. *Biol Direct*, 2021, 16: 10
- [69] Huang XD, Xiao FJ, Guo YT, et al. Protein tyrosine phosphatase 1 protects human pancreatic cancer from erastin-induced ferroptosis. *Asian J Surg*, 2022, 45: 2214-23
- [70] Gao R, Kalathur RKR, Coto-Llerena M, et al. YAP/TAZ and ATF4 drive resistance to Sorafenib in hepatocellular carcinoma by preventing ferroptosis. *EMBO Mol Med*, 2021, 13: e14351
- [71] Feng J, Lu PZ, Zhu GZ, et al. ACSL4 is a predictive biomarker of sorafenib sensitivity in hepatocellular carcinoma. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42: 160-70
- [72] Riley RS, June CH, Langer R, et al. Delivery technologies for cancer immunotherapy. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18: 175-96
- [73] Zhang C, Liu X, Jin S, et al. Ferroptosis in cancer therapy: a novel approach to reversing drug resistance. *Mol Cancer*, 2022, 21: 47
- [74] Zhang HL, Hu BX, Li ZL, et al. PKC $\beta$ II phosphorylates ACSL4 to amplify lipid peroxidation to induce ferroptosis. *Nat Cell Biol*, 2022, 24: 88-98
- [75] Gan B. ACSL4, PUFA, and ferroptosis: new arsenal in anti-tumor immunity. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7: 128
- [76] Tuo QZ, Lei P, Jackman KA, et al. Tau-mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke. *Mol Psychiatry*, 2017, 22: 1520-30
- [77] Cui Y, Zhang Y, Zhao X, et al. ACSL4 exacerbates ischemic stroke by promoting ferroptosis-induced brain injury and neuroinflammation. *Brain Behav Immun*, 2021, 93: 312-21
- [78] Tuo QZ, Liu Y, Xiang Z, et al. Thrombin induces ACSL4-dependent ferroptosis during cerebral ischemia/reperfusion. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7: 59
- [79] Donovan FM, Pike CJ, Cotman CW, et al. Thrombin induces apoptosis in cultured neurons and astrocytes via a pathway requiring tyrosine kinase and RhoA activities. *J Neurosci*, 1997, 17: 5316-26
- [80] Woodburn SC, Bollinger JL, Wohleb ES. The semantics of microglia activation: neuroinflammation, homeostasis, and stress. *J Neuroinflammation*, 2021, 18: 258
- [81] Zhou X, Zhao R, Lv M, et al. ACSL4 promotes microglia-mediated neuroinflammation by regulating lipid metabolism and VGLL4 expression. *Brain Behav Immun*, 2023, 109: 331-43
- [82] Müller T, Dewitz C, Schmitz J, et al. Necroptosis and ferroptosis are alternative cell death pathways that operate in acute kidney failure. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74: 3631-45
- [83] Wang Y, Zhang M, Bi R, et al. ACSL4 deficiency confers protection against ferroptosis-mediated acute kidney injury. *Redox Biol*, 2022, 51: 102262
- [84] O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, et al. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 402
- [85] Wilflingseder J, Regele H, Perco P, et al. miRNA profiling discriminates types of rejection and injury in human renal allografts. *Transplantation*, 2013, 95: 835-41
- [86] Shi L, Song Z, Li Y, et al. MiR-20a-5p alleviates kidney ischemia/reperfusion injury by targeting ACSL4-dependent ferroptosis. *Am J Transplant*, 2023, 23: 11-25