

铁死亡的发生机制及其在急性肺损伤的研究进展

王 倩 明婷倩 吴晓静

摘 要 铁死亡是近年来发现的一种铁依赖性脂质过氧化积累的细胞程序性死亡。与其他细胞死亡方式不同,铁死亡具有独特的形态特征和发生机制。近年来,对铁死亡的研究取得了很大进展。研究发现,铁死亡与急性肺损伤(acute lung injury, ALI)密切相关,ALI 具有很高的发生率和致死率,而治疗手段效果有限。本文主要从铁代谢、脂质代谢、氨基酸和谷胱甘肽代谢和其他途径总结铁死亡的发生机制,阐述其在 ALI 中的研究进展,为防治 ALI 寻找新方向。

关键词 铁死亡 急性肺损伤 铁代谢 谷胱甘肽 脂质过氧化物

中图分类号 R33

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.06.036

细胞死亡在促进器官发育和维持组织与细胞稳态上起着重要作用。细胞死亡分为意外性细胞死亡和程序性细胞死亡^[1]。程序性细胞死亡主要分为凋亡形式和非凋亡性形式。铁死亡是近年来发现的一种不同于坏死性凋亡、自噬的细胞程序性死亡,以铁依赖的脂质过氧化物(lipid peroxides, LPO)积累为特征^[2]。

多种疾病的发生、发展与铁死亡有关,如退行性疾病(阿尔茨海默病、亨廷顿舞蹈症和帕金森病)、癌症、脑卒中、脑出血、外伤性脑损伤、缺血再灌注损伤等^[3]。氧化应激产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)在急性肺损伤(acute lung injury, ALI)进展中占据重要的地位,铁死亡会导致 LPO 堆积,说明铁死亡可能与 ALI 密切相关^[4]。近年来研究确定了铁死亡在 ALI 中发挥的作用,但鲜有相关综述发表,本文总结铁死亡在 ALI 中的研究进展,进一步阐明急性肺损伤的发病机制,为潜在的治疗靶点提供理论依据。

一、铁死亡的发生机制

1. 铁死亡的定义:铁死亡是由铁依赖性 LPO 积累所导致的细胞死亡。铁死亡细胞表现出典型的坏死形态,如质膜的破坏和细胞内容物的释放,特别是损伤相关分子模式,其线粒体萎缩,线粒体嵴减少或消失,线粒体膜密度增加,虽然细胞核形态正常且保持完整,但染色质未见凝集状态,电镜下可观察到细胞内线粒体变小、膜密度增高^[2]。发生机制主要为

具有氧化还原能力的 Fe^{2+} 堆积,多不饱和脂肪酸氧化,消除过氧化物能力受损^[5]。

2. 影响铁死亡的代谢过程

(1) 铁代谢:铁螯合剂的使用可降低 ROS,抑制铁死亡,铁的存在是铁死亡执行所必须的^[2]。在循环中,转铁蛋白(transferrin, Trf)与三价铁(Fe^{3+})结合,以可溶、无毒的形式输送到骨髓和其他组织。在生理 pH 值下,TRF 与 Fe^{3+} 高亲和力结合,由细胞膜表面的转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TFR1)介导摄取。Trf 与 TFR1 结合后被内化,其中 Fe^{3+} 被还原成 Fe^{2+} ,通过二价金属离子转运体 1 释放到胞质中,可存储于铁蛋白中或借助于膜上铁转运蛋白泵出。若细胞 Fe^{2+} 过载, Fe^{2+} 可通过芬顿反应产生大量 ROS,导致 LPO 累积,诱导铁死亡发生^[6]。因此,调控铁的输出、储存和循环转运均可影响铁死亡的敏感度。

(2) 脂质代谢:生物体中常见的 ROS 类型有超氧化物、羟基自由基、过氧化氢和 LPO,但不是所有的 ROS 都会诱导铁死亡,使用亲脂抗氧化 1(liproxstain-1, LIP-1)可抗铁死亡,证实了 LPO 是导致铁死亡的主要原因^[6]。病理状态下,LPO 可通过多种途径产生。除芬顿反应外,花生酰磷脂和肾上腺酰磷脂在酰基辅酶 a 合成酶长链家族成员 4(acyl-coa synthetase long-chain family member 4, ACSL4)、溶血卵磷脂酰基转移酶和 15-脂氧合酶的催化下产生 LPO。LPO 攻击多不饱和脂肪酸,在脂氧合酶作用下扩大氧化反应,造成损伤^[7]。Doll 等^[8]使用抗铁死亡细胞的全基因组 CRISPR 基因筛选和微阵列分析发现,ACSL4 是铁死亡重要的执行成分,ACSL4 使细胞膜上富含多不饱和 $\omega 6$ 脂肪酸,药物 Thiazolidinedione 抑制 ACSL4

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81901952)

作者单位:430060 武汉大学人民医院麻醉科

通信作者:吴晓静,副教授,硕士生导师,电子信箱:wxj164@163.com

可降低铁死亡。

(3)氨基酸和谷胱甘肽代谢:谷胱甘肽(glutathione, GSH)是细胞内含量最丰富的抗氧化剂,其可保护胞内的 DNA、蛋白质、脂质等生物分子免受氧化损伤^[9]。GSH 由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸在谷氨酰半胱氨酸连接酶和谷胱甘肽合成酶催化合成,与谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)反应发挥氧化还原作用,可将有毒的脂质氢过氧化物转化成无毒的醇脂。GSH 与 GPX4 的耗竭和活性降低均可导致清除 LPO 能力降低,诱导铁死亡^[10]。细胞膜上由调节性亚基 SLC3A2 和催化亚基 SLC7A11 组成的 system xc - 也是重要的调节分子,将胱氨酸转运进细胞内,同时 1:1 泵出谷氨酸,其活性通常与其 SLC7A11 编码的轻链表达量呈正相关^[11]。抑癌基因 P53 可通过抑制催化亚基 SLC7A11 表达可诱导铁死亡^[12]。而 OTUB1 直接与 SLC7A11 相互作用并稳定其结构,相反抑制铁死亡^[13]。GSH、GPX4 和 system xc - 均是药物调节铁死亡的重要靶点。

3. 其他调节机制:GPX4 是多年来唯一被发现的负性铁死亡调节分子,而近年来研究发现,二氢乳清酸脱氢酶(dihydroorotate dehydrogenase, DHODH) 和凋亡诱导因子线粒体相关分子 2(apoptosis - inducing factor mitochondria - associated, AIFM2) 在肿瘤细胞中同样具有铁死亡保护作用,三者作用很可能平行调节脂质过氧化和铁过载,但部分肿瘤细胞即使 3 种保护分子均被抑制后,仍对铁死亡低度敏感,说明在肿瘤细胞系中还存在尚未被发现的铁死亡抑制系

统^[14,15]。

二、铁死亡与急性肺损伤的联系

急性肺损伤是非心源性的各种肺内外致病因素导致的急性、进行性缺氧性呼吸衰竭,临床治疗着重于使用激素,支气管扩张药物和机械通气缓解呼吸困难,然而病死率仍然很高,重症监护室出现 ALI 的患者,致死率可高达 35% ~ 40%,其余患者由于长期低氧可能出现脑损伤等后遗症^[16]。因此研究有效的改进方案是十分有必要的,而进一步探索急性肺损伤的研究机制为寻找有效的治疗方案指明方向。

ALI 病理生理机制是由于肺部炎性反应,毛细血管通透性增加导致的肺泡和间质性水肿,肺不张,透明膜形成^[17]。其发生机制十分复杂,炎性反应失衡、水通道蛋白调控、凝血/纤溶系统失衡、细胞凋亡、自噬、发热等参与其中^[18]。正常情况下,肺组织中巨噬细胞的吞噬作用、转铁蛋白分泌、呼吸道上皮表面的抗氧化分子和呼吸纤毛排痰系统来维持铁稳态。一旦保护机制被内源性或外源性因素破坏时,铁代谢发生紊乱后沉积影响细胞正常功能。在 ALI 患者下呼吸道可发现铁沉积,铁积累可导致炎性反应、氧化应激和线粒体功能障碍,进一步加重肺损伤程度^[19]。此外,有研究发现在 LI 患者和动物模型中肺泡上皮液中总 GSH 减少,氧化谷胱甘肽增加^[20]。总而言之,这些研究提示铁代谢、氧化应激、谷胱甘肽可能参与了 ALI 的发病机制。而如今越来越多体外研究证实 ALI 发生、发展中存在铁死亡现象(表 1、表 2)。

表 1 铁死亡与 ALI

ALI 类型	主要表现	信号分子
IIR - ALI	GPX4 表达和 GSH 含量降低,MDA 水平和脂质过氧化升高	iASPP; Nrf2/HIF - 1/TF ^[21] ; Nrf2/HO - 1 ^[22] ; Nrf2/STAT3 ^[23]
脓毒症相关 ALI	SLC7A11 和 GPX4 表达降低,MDA 和总铁含量升高	Nrf2/ARE ^[24]
RILI	大量 ROS 产生,肺泡内皮功能屏障功能破坏,Ca ²⁺ 内流增加	PIEZO; Ca ²⁺ /calpain/VE - CADHERIN ^[25] ; Nrf2 ^[26]
海水淹溺所致 ALI	GSH 表达和 SOD 活性降低,细胞内 ROS 和 MDA 水平增高,脂质过氧化升高	SOX9; TNFAIP3 - ACSL4 ^[27]

表 2 铁死亡抑制剂与 ALI

药物	靶向	ALI 类型
ferrostatin - 1	GPX4、SLC7A11	IIR - ALI ^[21] 、脓毒症相关性 ALI ^[28] ; 海水淹溺所致 ALI ^[26]
liproxstatin - 1	脂质过氧化	IIR - ALI ^[29] 、RILI ^[30]
罗格列酮	ACSL4	IIR - ALI ^[29]
iASPP	Nrf2/HIF - 1/TF	IIR - ALI ^[21]
GSMTX4	PIEZO1	RILI ^[25]
七氟烷	HO - 1	脓毒症相关 ALI ^[31]
人参环氧炔醇	KEAP1 - Nrf2 - HO - 1	脓毒症相关 ALI ^[32]

1. IR - ALI: 远离肺组织的损伤如腹部损伤、感染、手术导致的肠缺血再灌注 (intestinal ischemia/re-perfusion, IIR) 可造成 ALI^[33]。Xu 等^[29]在 IIR - ALI 小鼠模型中, 肺组织组织铁含量和脂质过氧化积累, 再灌注过程中关键蛋白 (GPX4 和 ACSL4) 的表达发生改变。此外, 缺血前给予 ACSL4 抑制剂罗格列酮可减轻肺组织铁死亡损伤, 与 ACSL4 基因敲除对肺上皮细胞的保护作用一致, ACSL4 是重要的铁死亡调控基因。Li 等^[21]研究发现, 在 IIR - ALI 中 p53 抑制因子 iASPP 通过介导 Nrf2/HIF - 1/TF 发挥抗铁死亡的保护作用, 降低肺组织水肿、肺不张、坏死、肺泡和间质炎症。p53 在其他疾病模型中对铁死亡起着关键性作用, 而 iASPP 是否通过调节 p53 起作用还不得而知, 有待于进一步研究。而 IIR - ALI 中抗氧化分子 Nrf2 调控下游 HO - 1 和 STAT3 磷酸化表达, 抑制铁死亡从而降低组织损伤但是到目前为止, IIR 诱导 ALI 的发病机制尚未完全阐明, 也没有特异性药物^[22, 23]。

2. RILI: 放射诱导肺损伤 (radiation - induced lung injury, RILI) 是胸部恶性肿瘤放疗后出现的重要并发症, 其发生率为 16.7% ~ 50.3%, 增加了肿瘤患者的病死率和致残率^[34]。放射造成大量 ROS 产生被认为是引起 RILI 的重要机制, 小鼠经放射处理后肺组织铁死亡表现加重, 但是 LIP - 1 可逆转铁死亡现象。除此之外, RILI 中肺泡内皮细胞铁死亡会影响其屏障功能, 其机械敏感度钙离子通道 PIEZO1 表达增加, 钙内流增加和钙蛋白酶活性增加, 使用其特异性抑制剂 GSMTX4 后, 铁死亡程度得到缓解^[25]。PIEZO1 通过 Ca^{2+} /calpain/VE - CADHERIN 途径调节铁死亡, 铁死亡与 Ca^{2+} 超载相关, 但机制还有待于进一步深入研究。PIEZO1 是未来治疗放射性肺损伤的新靶点。

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 是一种典型的内源性抗氧化酶, 可直接灭活 ROS, 临床使用 SOD 及其类似物已被证明可以保护肺免受辐射损伤。由于稳定性差、细胞摄取低、免疫原性高、体内循环少等特点, 天然 SOD 作为治疗药物应用临床极为受限。基因工程技术将 SOD 封装进线性肽 ARA290 - HBc 组成仿生纳米反应器, 提高了 ARA290 肽的稳定性和肺滞留, 进一步研究证实了可防止辐射诱导的肺泡上皮细胞凋亡、铁死亡、氧化应激^[34]。虽然 SOD@ARA29 - HBc 应用于临床的可行性还需更广泛的实验验证, 但不可否认生物

纳米技术具有巨大的治疗前景。

3. 脓毒症相关 ALI: 脓毒症继发于严重创伤、感染与手术后, 进展后可发展为休克和多器官功能障碍综合征, 肺脏是极易累及的器官之一。龙伟等^[35]研究发现, 在盲肠结扎穿孔模型中, 与假手术组比较, 手术组肺损伤程度增高, 铁死亡指标升高, 且指标依赖时间和穿刺孔数变化, 说明小鼠脓毒症相关 ALI 恶化进展可能有铁死亡参与。之后, Liu 等^[28]使用铁死亡的抑制剂 ferrostatin - 1 进一步说明铁死亡参与 LPS - ALI 进展, Nrf2/ARE 信号通路可能调节铁死亡参与 LPS 诱导的 ALI^[24]。常用麻醉药七氟烷对其存在保护作用, 近年来研究发现, 其保护作用部分是通过抑制铁死亡实现的, 但具体机制仍有待后续研究, 用于临床的实际可行性还有待研究^[31]; 而在中药方面, Li 等^[32]从人参的根中分离了人参环氧炔醇, 发现其通过上调 KEAP1 - Nrf2 - HO - 1 通路水平显著抑制铁死亡, 改善肺损伤。综上所述, 铁死亡可能是脓毒症相关 ALI 的潜在治疗靶点, 铁死亡抑制剂具有治疗潜力。

4. 海水淹溺所致 ALI: 溺水是造成意外伤害死亡的主要原因之一, 而 ALI 是溺水最常见的并发症之一。SOX9 可通过上调 TNFAIP3 - ACSL4 通路促进海水淹溺性急性肺损伤中肺上皮细胞铁死亡^[27]。除此之外 Nrf2 也具有保护作用, 但尚未研究表明有特异性的药物可缓解铁死亡^[26]。

四、展 望

铁死亡是一种铁依赖性脂质过氧化积累的细胞程序性死亡。近年来细胞铁死亡的机制逐渐被扩展完善, 独立于 GPX 的抑制系统 FSP1 和 DHODH 的发现是个重大突破, 这为未来铁死亡的研究提供新思路出了新问题: ① FSP1 和 DHODH 在非肿瘤细胞系中是否有铁死亡抑制作用; ② FSP1 和 DHODH 是否调控其他疾病铁死亡发生; ③ 铁死亡低敏感度肿瘤还存在其他未被发现的铁死亡抑制形式。

2019 年发现铁死亡参与 ALI, 抑制铁死亡可在 ALI 中起到肺脏损伤保护的作用。ALI 中对于铁死亡的研究还处于起步阶段, 铁代谢、脂质代谢、氨基酸和谷胱甘肽代谢、和其他代谢途径对铁死亡的调节机制需要进一步探索。中药有效成分人参环氧炔醇可在小鼠模型上通过抑制铁死亡缓解 ALI 肺脏损伤程度, 但是否能应用于临床还需要更深入研究, 使用纳米技术可改善药物可用性、靶向作用, 在 ALI 治疗上应用具有独特优势, 未来可能成为研制防治 ALI 药物的热门方法。

参考文献

- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, *et al.* Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(3): 486–541
- Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al.* Ferroptosis: an iron – dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149(5): 1060–1072
- Stockwell BR, Friedmann AJ, Bayir H, *et al.* Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox Biology, and disease [J]. Cell, 2017, 171(2): 273–285
- Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjor E, *et al.* RAS – RAF – MEK – dependent oxidative cell death involving voltage – dependent anion channels[J]. Nature, 2007, 447(7146): 864–868
- Feng H, Schorpp K, Jin J, *et al.* Transferrin receptor Is a specific ferroptosis marker[J]. Cell Rep, 2020, 30(10): 3411–3423
- Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis[J]. Chem Rev, 2011, 111(10): 5944–5972
- Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, *et al.* Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(34): E4966–E4975
- Doll S, Proneth B, Tyurina YY, *et al.* ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. Nat Chem Biol, 2017, 13(1): 91–98
- Jones DP. Redefining oxidative stress[J]. Antioxid Redox Signal, 2006, 8(9–10): 1865–1879
- Yang WS, Sriramaratnam R, Welsch ME, *et al.* Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. Cell, 2014, 156(1–2): 317–331
- Sato H, Tamba M, Ishii T, *et al.* Cloning and expression of a plasma membrane cystine/glutamate exchange transporter composed of two distinct proteins [J]. J Biol Chem, 1999, 274(17): 11455–11458
- Jiang L, Kon N, Li T, *et al.* Ferroptosis as a p53 – mediated activity during tumour suppression[J]. Nature, 2015, 520(7545): 57–62
- Liu T, Jiang L, Tavana O, *et al.* The deubiquitylase OTUB1 mediates ferroptosis via stabilization of SLC7A11 [J]. Cancer Res, 2019, 79(8): 1913–1924
- Mao C, Liu X, Zhang Y, *et al.* DHODH – mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer[J]. Nature, 2021, 593(7860): 586–590
- Doll S, Freitas FP, Shah R, *et al.* FSP1 is a glutathione – independent ferroptosis suppressor[J]. Nature, 2019, 575(7784): 693–698
- Gao P, Zhao Z, Zhang C, *et al.* The therapeutic effects of traditional Chinese medicine Fusu agent in LPS – induced acute lung injury model rats [J]. Drug Design, Development and Therapy, 2018, 12: 3867–3878
- Herold S, Gabrielli NM, Vadasz I. Novel concepts of acute lung injury and alveolar – capillary barrier dysfunction[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 305(10): L665–L681
- Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, *et al.* Acute respiratory distress syndrome [J]. Nature reviews. Disease Primers, 2019, 5(1): 18
- Ghio AJ, Carter JD, Richards JH, *et al.* Iron and iron – related proteins in the lower respiratory tract of patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Crit Care Med, 2003, 31(2): 395–400
- Britt RDJ, Velten M, Locy ML, *et al.* The thioredoxin reductase – 1 inhibitor aurothioglucose attenuates lung injury and improves survival in a murine model of acute respiratory distress syndrome[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2014, 20(17): 2681–2691
- Li Y, Cao Y, Xiao J, *et al.* Inhibitor of apoptosis – stimulating protein of p53 inhibits ferroptosis and alleviates intestinal ischemia/reperfusion – induced acute lung injury[J]. Cell Death Differ, 2020, 27(9): 2635–2650
- Dong H, Qiang Z, Chai D, *et al.* Nrf2 inhibits ferroptosis and protects against acute lung injury due to intestinal ischemia reperfusion via regulating SLC7A11 and HO – 1 [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(13): 12943–12959
- Qiang Z, Dong H, Xia Y, *et al.* Nrf2 and STAT3 Alleviates Ferroptosis – mediated IIR – ALI by regulating SLC7A11 [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 5146982
- Yu J, Shi J, Gong L, *et al.* Role of Nrf2/ARE pathway in protective effect of electroacupuncture against endotoxic shock – induced acute lung injury in rabbits[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104924
- Guo X, Zhang H, Huang J, *et al.* PIEZO1 ion channel mediates ionizing radiation – induced pulmonary endothelial cell [J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2021, 8: 725274
- Qiu YB, Wan BB, Liu G, *et al.* Nrf2 protects against seawater drowning – induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis[J]. Respir Res, 2020, 21(1): 232
- 凌新宇. SOX9 通过 TNFAIP3 – ACSL4 通路促进海水淹溺性急性肺损伤中肺上皮细胞铁死亡的机制研究[D]. 上海: 海军军医大学, 2021
- Liu P, Feng Y, Li H, *et al.* Ferrostatin – 1 alleviates lipopolysaccharide – induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis [J]. Cell Mol Biol Lett, 2020, 25: 10
- Xu Y, Li X, Cheng Y, *et al.* Inhibition of ACSL4 attenuates ferroptotic damage after pulmonary ischemia – reperfusion [J]. FASEB J, 2020, 34(12): 16262–16275
- Li X, Zhuang X, Qiao T. Role of ferroptosis in the process of acute radiation – induced lung injury in mice[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 519(2): 240–245
- Liu X, Wang L, Xing Q, *et al.* Sevoflurane inhibits ferroptosis: a new mechanism to explain its protective role against lipopolysaccharide – induced acute lung injury[J]. Life Sci, 2021, 275: 119391
- Li J, Lu K, Sun F, *et al.* Panaxydol attenuates ferroptosis against LPS – induced acute lung injury in mice by Keap1 – Nrf2/HO – 1 pathway[J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 96
- Mura M, Andrade CF, Han B, *et al.* Intestinal ischemia – reperfusion – induced acute lung injury and oncotic cell death in multiple organs [J]. Shock, 2007, 28(2): 227–238
- Liu T, Yang Q, Zheng H, *et al.* Multifaceted roles of a bioengineered nanoreactor in repressing radiation – induced [J]. Biomaterials, 2021, 277: 121103
- 龙伟, 徐丽华, 成燕, 等. 铁死亡参与小鼠脓毒血症相关急性肺损伤的形成[J]. 西南国防医药, 2020, 30(8): 725–728

(收稿日期: 2022 – 01 – 17)

(修回日期: 2022 – 02 – 10)