



铁死亡与内质网应激反应

王培娜, 刘远远, 常彦忠*

河北师范大学生命科学学院铁代谢分子生物学研究室, 石家庄 050024

* 联系人, E-mail: yzchang@hebtu.edu.cn

收稿日期: 2020-03-31; 接受日期: 2020-07-01; 网络版发表日期: 2020-09-01

国家自然科学基金(批准号: 31520103908)资助

摘要 铁死亡是2012年被发现的一种新的受调控的细胞死亡方式,其特征是铁依赖的脂质过氧化物的过度积累(可引起细胞死亡的水平)。铁代谢、脂代谢、氨基酸代谢等多种调节机制参与了铁死亡的调控。内质网是蛋白质合成、加工、修饰、转运的重要细胞器。应激状态下,未折叠、错误折叠蛋白在内质网内过度积累,即可诱发内质网应激反应。内质网应激是细胞应对外界压力的保护性机制,但持续的、恶劣的应激也能引起细胞死亡。近年来的研究表明,铁死亡与内质网应激密切相关。在癌细胞中,铁死亡诱导剂能同步激活内质网应激反应,内质网应激通路的启动则抑制铁死亡,导致癌细胞产生抗药性。在某些病理情况下,内质网应激通路的激活却加剧了铁死亡的发生。铁死亡和内质网应激之间究竟存在怎样的密切联系,成为目前认识细胞死亡命运的重要科学问题。本文综述了铁死亡的调控通路以及铁死亡与内质网应激相互联系的最新进展,以期为铁死亡相关疾病的发生机制和治疗提供重要的新参考。

关键词 铁, 铁死亡, 内质网应激, 脂质过氧化

铁死亡是一种被新发现的不同于凋亡、坏死、自噬的细胞死亡方式。细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶4等抗氧化组分功能障碍,引起铁依赖的脂质自由基过度积累,触发铁死亡现象的发生。随着研究的不断深入,人们发现,包括脂代谢、铁代谢等多种代谢途径在内的信号通路参与铁死亡的调节,铁死亡与癌症、神经退行性疾病、心血管疾病等多种重大疾病的发生发展密切相关。目前,铁死亡发生机制及其在疾病中的作用已成为研究热点。内质网(endoplasmic reticulum, ER)是维持细胞稳态的重要细胞器,参与蛋白质的折叠、组装、转运以及细胞内钙稳态的调节。在病理状态或应激条件下,如葡

萄糖缺乏、氧化应激、钙超载时会导致蛋白质折叠发生障碍,触发未折叠蛋白反应,进而导致一系列信号通路的激活来缓解内质网的压力,对机体起到保护、调节作用。然而持续的、恶劣的应激也会引起细胞死亡。最近的研究显示,内质网应激反应在细胞铁死亡中发挥重要作用。一方面,内质网应激通路在癌细胞中的激活可抑制铁死亡,参与抗药性的形成;另一方面,在某些疾病状态下,内质网应激又发挥了促进细胞铁死亡,加重疾病损伤的作用,并且内质网应激可能参与了铁死亡与凋亡的协同调节。本文对铁死亡调节机制以及铁死亡与内质网应激反应的相互关系的最新研究进展进行了综述,并提出新的观点展望,以期为全面、

引用格式: 王培娜, 刘远远, 常彦忠. 铁死亡与内质网应激反应. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 126–134

Wang P N, Liu Y Y, Chang Y Z. Ferroptosis and endoplasmic reticulum stress (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 126–134, doi: 10.1360/SSV-2020-0116

深入研究铁死亡的调控机制, 为相关疾病的诊断和治疗提供新的参考.

1 铁死亡

受调控的细胞死亡(regulated cell death, RCD)对于生物体的生长发育、代谢稳态的维持具有十分重要的作用, 当RCD调控紊乱时则会引起多种疾病, 如癌症的发生. 人们对于RCD的认识起始于经典的caspase依赖的细胞凋亡. 2012年, Dixon等人^[1]发现了一种区别于凋亡等其他RCD的细胞死亡形式, 表现为对铁而非其他金属元素具有特异的依赖性, 遂将其命名为铁死亡(ferroptosis). 与其他形式的RCD相比, 铁死亡无论在形态学、生化特征还是代谢水平都表现出显著的独特性, 具体见表1^[1,2].

1.1 铁死亡的发现及特征

肿瘤细胞中常伴有*Ras*基因突变, 小分子化合物erastin及RSL3可特异性地杀死*Ras*突变的细胞^[2,3]. Dixon等人^[1]在研究erastin及RSL3作用机制的过程中发现, 凋亡抑制剂、程序性坏死的抑制剂necrostatin-1或细胞自噬抑制剂氯喹等, 都无法缓解erastin或RSL3引起的细胞死亡; 然而, 铁螯合剂DFO, CPX, 311或亲脂的抗氧化剂维生素E、丁羟甲苯以及新合成的抗氧化剂ferrostatin-1反而能够特异性地抑制这种细胞死亡^[1,3], 表明铁依赖的脂质过氧化物积累是erastin, RSL3诱导细胞死亡的关键因素, 因此, 他们将这种死亡方式命名为铁死亡.

1.2 铁死亡发生的机制

(1) 铁代谢与铁死亡. 铁是生物体必不可少的微量元素, 在生命活动中发挥重要的功能. 铁代谢稳态在机体内受到精确调控. 细胞铁的摄取主要由转铁蛋白(transferrin, Tf)及转铁蛋白受体(transferrin receptor1, Tfr1)介导. 生理条件下, 细胞外的铁与Tf结合, 而Tf可与位于细胞膜表面的Tfr1结合, 由铁、Tf、Tfr1形成的复合体, 经胞吞作用进入细胞内, 之后在氢泵的作用下, 内吞小体内酸度升高, 铁与Tf解离, 在二价金属离子转运体1(divalent metal transporter 1, DMT1)的作用下, 跨过内吞小体膜进入胞质内. 进入胞质的铁即形成自由铁池(labile iron pool, LIP), LIP中的铁可以进入

线粒体或直接在胞质中被利用, 也可以被铁储存蛋白ferritin储存起来, 或者被膜铁转运蛋白1(ferroportin 1, FPN1)转运至细胞外. 细胞内铁超载是引起铁死亡的重要原因. 有研究表明, 高铁饮食可增加肝脏铁死亡的风险^[4,5], 过表达线粒体铁蛋白使LIP降低, 则可缓解erastin诱导的铁死亡^[6]. Tf及Tfr1介导的铁摄取途径参与了铁死亡的发生, 抑制Tfr1的表达能有效降低erastin诱导的铁死亡, 向细胞培养基中加入含铁的其他形式的可利用铁, 则会加重erastin的作用^[7]. 最新的研究也证实, Tfr1可能是铁死亡的特异性标志物^[8]. 对Tfr1有调控作用的分子, 也参与了铁死亡调控, 比如HSPB1通过抑制Tfr1, 减少细胞对铁的吸收, 抑制铁死亡^[9]. 在细胞水平上, 铁蛋白自噬通过增加铁水平促进铁死亡的发生^[10]. Wang研究组^[11]最新的研究发现, 心肌细胞特异性敲除Ferritin-H(FtH)显著加重了高铁处理引起的心脏损伤和心肌细胞铁死亡. C1SD1(CDGS iron sulfur domain 1)通过抑制线粒体铁的摄取缓解铁死亡^[12]. 尽管铁代谢失衡是否是铁死亡的起始因素目前尚未确定, 但毋庸置疑的是, 铁死亡必须有铁的参与才能发生, 且铁水平的高低直接决定了铁死亡的进程.

(2) 脂代谢与铁死亡. 研究表明, 铁依赖的脂类自由基过度积累是引起铁死亡的关键环节, 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)易发生脂质过氧化反应, 是造成铁死亡中脂类自由基积累的关键分子^[13]. 正常情况下, 细胞内的PUFA是脂代谢的重要底物, 但当这些PUFA被酯化形成磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)后, 再经氧化反应, 就成为了导致细胞走向铁死亡的关键信号^[14]. 研究发现, 多不饱和脂肪酸, 如花生四烯酸(arachidonic acid, AA)以及二十二碳四烯酸(adrenic acid, AdA), 可在酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)的催化作用下, 转化为AA-CoA或AdA-CoA, 之后这些产物又经溶血磷脂酰胆碱转移酶3(lyso-phosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)的催化, 经酯化反应形成PE-AA和PE-AdA. 随后, 这些PE-AA或者PE-AdA又被脂氧合酶(lipoxygenases, LOXs)或细胞色素P450氧化还原酶(cytochrome P450 oxidoreductase, POR)氧化成有害的脂质过氧化产物——PE-AA-OOH和PE-AdA-OOH, 当这些过氧化产物积累过多时, 就会导致铁死亡^[14-16].

表 1 铁死亡与凋亡、程序性坏死及自噬的主要区别

Table 1 The main differences between ferroptosis and other regulated cell death

细胞死亡类型	主要形态特征	生化特征	主要调节分子	抑制剂
凋亡(apoptosis)	细胞体积缩小, 质膜完整, 核染色质凝集、边移, 形成凋亡小体	Caspase家族激活, DNA片段化, 线粒体膜电位消失	P53, Bax, Bak caspase3, Bcl-2, Bcl-XL等	Caspase抑制剂
程序性坏死(necroptosis)	质膜破裂, 胞质、细胞器肿胀、染色质轻度凝集	ATP显著减少, MLKL、RIP1、RIP3显著激活, PARP1活化	RIP1, RIP3, MLKL	Necrostatin(Nec-1) Necrosulfonamide
铁死亡(ferroptosis)	线粒体缩小, 线粒体膜密度增大、线粒体嵴退化、消失, 染色质不凝集	铁、L-ROS聚积; GPX4/GSH减少, NADPH氧化增加, 线粒体膜电位消失	ACSL4, ptgs2, TfR1, P53, GPX4, FSP1, SLC7A11, HSPB1, Nrf2等	亲脂性的抗氧化剂, 如Ferrostatin-1、维生素E; 铁螯合剂: DFO, CPX等
自噬(autophagy)	细胞膜无影响, 双层膜自噬泡在胞内聚积, 核染色质不凝集	LC3-I转化为LC3-II	ATG5, ATG7及ATG家族其他成员, Beclin I	3-MA等

值得注意的是, LOX是含铁酶, 新发现的POR在发挥作用时也依赖于亚铁离子的电子传递作用, 因此这两种分子可能是铁代谢与脂代谢相互影响的桥梁, 同时也是铁参与铁死亡的重要原因。

(3) GSH, GPX4, FPS1与铁死亡. 生理条件下, 细胞内的氧化反应与抗氧化反应处于平衡状态, 当氧化还原平衡系统被破坏时就会造成自由基的聚积, 易触发铁死亡^[17]. 研究表明, erastin通过抑制胱氨酸谷氨酸逆向转运体system x_c^- 的功能, 引起铁死亡^[1,18]. System x_c^- 由两个跨膜蛋白SLC7A11和SLC3A2组成^[19], 它介导胞外胱氨酸与胞内谷氨酸的交换, 将胱氨酸运至胞内, 使谷氨酸排至胞外. 当system x_c^- 功能被抑制时, 会直接导致胱氨酸摄取不足^[1,18]. GSH是细胞内重要的抗氧化组分, 也是清除脂质自由基的主力军, 而胱氨酸是合成GSH的主要原料之一. 因此, 胱氨酸摄取不足将会直接导致GSH合成障碍, 胞内抗氧化能力下降, 进而引起脂类自由基累积, 触发铁死亡. 然而, erastin这一作用机制却并不适用于RSL3引起的铁死亡. RSL3处理不影响胱氨酸的摄取, GSH含量也无明显减少^[20]. 化学蛋白质组学研究发现, RSL3可直接与含硒蛋白谷胱甘肽过氧化物酶4(selenoprotein glutathione peroxidase, GPX4)相互作用, RNA干扰抑制GPX4表达可直接诱发铁死亡, 而过表达GPX4则会逆转RSL3引起的铁死亡^[20]. GPX4是一种GSH依赖的抗氧化酶, 与GSH联合作用清除脂类自由基^[21]. 因此, 当GPX4减少或功能受抑制时, 也会导致脂类自由基在胞内迅速聚积, 最终引起铁死亡. 最近, Conrad研究组^[22]与Olzmann研究组^[23]筛选出了独立于GPX4系统的新的铁死

亡调节因子——FSP1(ferroptosis suppressor protein 1). N端豆蔻酰化修饰的FSP1, 通过还原CoQ10来阻止脂质过氧化, 从而抑制铁死亡. 在肺癌细胞中, GPX4受到抑制后, FSP1的存在可继续维持肺癌细胞的生长. 因此, FSP1是独立于GPX4之外的另一个重要的酶催化系统, 对于铁死亡的调节具有重要作用.

(4) 参与铁死亡的其他途径. 从目前的研究来看, 铁死亡是由于细胞内抗氧化与氧化平衡紊乱, 造成铁依赖的脂类自由基过度积累引起的, 除了铁、脂代谢、GSH/GPX4、FSP1对铁死亡的直接作用外, 任何其他影响该过程的代谢途径, 都可能参与或者调节铁死亡的发生. 谷氨酰胺的代谢产物 α -酮戊二酸是脂肪酸合成过程中的重要参与者. 研究表明, 促进谷氨酰胺的分解可显著加重铁死亡, 而抑制谷氨酰胺的合成或抑制谷氨酰胺分解为 α -酮戊二酸, 则可显著缓解铁死亡^[1,7]. NADPH也是细胞内重要的脂质过氧化物的还原剂, NADPH含量的多少可作为铁死亡的生物标记^[24]. GPX4包含一个硒代半胱氨酸活性位点, 因此硒元素是GPX4合成的必要成分, 补充硒元素可显著提高细胞对铁死亡的抵抗能力, 相反硒不足则会加重铁死亡^[25]. NRF2(nuclear factor E2-related factor 2, NRF2)可调节众多抗氧化基因、磷酸化酶类以及铁储存蛋白ferritin的表达. 影响谷胱甘肽合成的重要分子SLC7A11, GCLC, GSS等也都是NRF2的靶基因. 因此, NRF2对于抑制铁死亡具有重要作用^[26]. 随着对铁死亡研究的逐渐深入, 越来越多的代谢过程包含在铁死亡的形成机制中, 更多的关键分子、调节通路有待进一步发现, 这些相关事件之间的联系及调控也有待深入

研究讨论.

2 内质网应激反应

内质网是真核细胞中维持细胞稳态的重要细胞器,参与蛋白质的合成、折叠、组装及转运,还与胞内钙离子稳态及胆固醇合成等密切相关^[27].生理条件下,ER腔内的分子伴侣帮助新合成的蛋白质进行翻译后修饰、折叠并形成正确的三维构象以发挥生物学功能^[28].在内质网质量控制系统的精确调控下,只有正确折叠的蛋白质才能离开内质网,未正确折叠的蛋白质通过蛋白酶体、溶酶体和自噬途径降解^[29].在应激条件下,如低氧、葡萄糖缺乏、钙平衡失调、氧化应激、炎症等,会影响蛋白质的加工过程,使未折叠或错误折叠的蛋白在ER中积累,发生未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),进而引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ER stress)^[30].UPR是细胞应对应激状态的适应性反应,同时也是细胞的内源性保护机制.UPR的激活使应激信号由ER传递到细胞核中,最终通过减少蛋白合成、促进蛋白正确折叠、加快错误折叠及未折叠蛋白降解等途径恢复内质网稳态,但当应激刺激持续产生或应激加剧时,ER stress也会引起细胞死亡^[31].介导内质网应激的通路主要有三条,分别是IRE1(inositol requiring enzyme 1)、ATF6(activating transcription factor 6)、PERK(PKR-like eukaryotic initiation factor 2a kinase)^[27].在正常生理情况下,这三种内质网跨膜蛋白分别与分子伴侣BiP/HSPA5/GRP78(chaperone protein 78 kD glucose-regulated protein)结合,活性受到抑制,但当UPR发生时,HSPA5与之分离,三种蛋白被激活并启动响应.

2.1 IRE1通路

IRE1是一种内质网I型跨膜蛋白,具有蛋白激酶和内切核糖核酸酶活性.哺乳动物细胞中存在两种IRE1同系物,即IRE1 α 和IRE1 β ,其中IRE1 α 广泛表达,而IRE1 β 只在胃肠道和肺上皮细胞表达^[32,33].在应激条件下,IRE1 α 与HSPA5解离,随后发生寡聚化和自磷酸化而被激活.活化的IRE1 α 可剪切下游X盒结合蛋白1(X-box-binding protein1, XBP1)mRNA的26个核苷酸内含子.剪切后的mRNA被翻译成一种功能性转录因子剪切因子XBP1s^[34].XBP1s靶向调控一系列与蛋白

质折叠、成熟和清除相关基因的转录,包括ERdj4、蛋白质二硫化物异构酶(protein disulfide isomerase-P5, PDI-P5)、核糖体相关膜蛋白4(ribosome-associated membrane protein 4, RAMP4)等,促进未折叠或错误折叠蛋白的正确折叠,恢复ER的功能^[35].若细胞功能恢复,IRE1重新与HSPA5结合并恢复静息状态,若应激持续产生或加剧,IRE1 α 则进一步激活.过度活化的IRE1 α 使肿瘤坏死因子受体相关因子2(tumor necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2)磷酸化并与之结合,随后caspase-12与TRAF2解离并激活,引起细胞凋亡^[36].此外,IRE1 α 与TRAF2的复合物还可将信号进一步传递给凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal-regulating kinase, ASK1),并使其下游靶分子JNK(c-Jun NH2-terminal kinase)通路激活,最终导致细胞凋亡^[37,38].

2.2 PERK通路

PERK是一种具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构域的内质网I型跨膜蛋白.与IRE1 α 类似,PERK在内质网应激期间也发生寡聚化和自磷酸化.激活的PERK使真核翻译起始因子2 α (α subunit of the eukaryotic translation initiation factor-2, eIF2 α)51位的丝氨酸磷酸化,磷酸化可抑制eIF2 α 的活性,从而抑制蛋白质的翻译,以减轻内质网内的蛋白质负荷^[39].与此同时,激活的eIF2 α 积累到一定水平时,就会选择性地上调转录因子4(activating transcription factor 4, ATF4)的表达^[40].ATF4 mRNA 5'非翻译区存在两个基因可读框,在正常情况下ATF4的翻译受到抑制,当eIF2 α 磷酸化后,核糖体可与该区域结合并启动ATF4的翻译^[41].ATF4在转录水平调控与蛋白质合成、氨基酸转运以及抗氧化等有利于细胞生存的基因的表达,如HSPA5^[42],保护细胞免于死亡.但当损伤不可逆转时,ATF4可上调促凋亡分子C/EBP同源蛋白(CCAAT/enhancer binding protein homologous protein, CHOP).CHOP通过抑制Bcl2的表达,促进活性氧自由基的产生,最终引起细胞凋亡^[43,44].

2.3 ATF6通路

ATF6是内质网II型跨膜蛋白,有ATF6 α 和ATF6 β 两种亚型.其C端位于ER腔内,N端含有碱性亮氨酸拉链的转录激活功能域^[45].内质网应激发生时,ATF6 α 与HSPA5解离,之后被转运至高尔基体,在高尔基蛋白酶

S1P和S2P的作用下, 90 kD的ATF6 α 被切割成50 kD的活性形式^[46,47]。切割后的ATF6 α 转位到细胞核中, 调节HSPA5, PDI等基因的表达, 促进蛋白质的正确折叠, 缓解内质网压力。Yoshida等人^[46]发现, ATF6也可上调XBP1 mRNA的转录, 再通过IRE1 α 的剪接作用形成XBP1s。CHOP也是受ATF6 α 调控的靶分子, 因此ATF6 α 通过CHOP也参与了ER stress介导的细胞凋亡。

3 内质网应激反应参与铁死亡

3.1 铁死亡诱导剂触发内质网应激反应

Stockwell研究组^[18]在研究靶向抑制system x_c^- 的抗癌药物时发现, erastin或索拉菲尼处理HT1080细胞后, 在引起细胞铁死亡的同时也激活了内质网应激反应。RNA-seq分析结果表明, erastin处理引起了eIF2 α -ATF4通路显著激活, 其下游分子CHOP以及阳离子转运调控样蛋白1(cation transport regulator homolog 1, CHAC1)表达升高, 并且在erastin处理的其他13个癌细胞系中都观察到了CHAC1的上调^[18]。这些结果表明, ER stress的激活在erastin诱导的铁死亡中具有普遍性, ER stress可能参与了铁死亡的发生。与此同时, Zhu等人^[48]发现, 在胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)细胞中, 用erastin处理时, 可剂量依赖性地引起ER stress标记分子HSPA5表达升高, 而用十字孢碱诱导凋亡、雷帕霉素诱导自噬或者过氧化氢诱导坏死都不能使PDAC细胞上调HSPA5的表达。Erastin促进了PDAC细胞中PERK的磷酸化激活以及ATF4的表达, 作为ATF4的靶基因, HSPA5表达升高。RNAi (RNA interference)抑制HSPA5或敲除ATF4可显著增强erastin引起的铁死亡, 表明HSPA5在PDAC细胞中具有抑制铁死亡的作用。进一步的结果显示, HSPA5能与GPX4结合形成复合物, 抑制GPX4的降解, 细胞内抗氧化能力的提高可能是最终抑制铁死亡的关键。与之类似, 人们在双氢青蒿素诱导的胶质瘤细胞铁死亡模型中, 也观察到了PERK-ATF4-HSPA5通路的激活^[49]。此外, Savaskan研究组^[50]发现, ATF4在人脑胶质瘤中高表达, 可促进胶质瘤的增殖和血管的形成, 加剧其恶性程度。进一步的实验发现, ATF4通过转录调控使system x_c^- 表达水平升高, 从而介导胶质瘤的恶化。铁死亡诱导剂erastin、RSL3与ATF4抑制剂联合处理能促进胶质瘤细胞铁死亡, 增强治疗效果^[50]。因此, ATF4-sys-

tem x_c^- 通路可能是另一条影响铁死亡的重要途径。

由以上结果不难发现, 在多种癌细胞中, 铁死亡诱导剂处理在引起铁死亡的同时, 作为一种内在的保护机制, 内质网应激反应也被激活, 特别是PERK-ATF4通路。在ATF4的调控下, HSPA5或system x_c^- 表达升高, 增强了GSH/GPX4的抗氧化功能。内质网应激通路的激活可能是导致癌细胞产生抗药性的重要原因。因此, 铁死亡诱导剂与内质网应激抑制剂的联合使用, 可能对癌症的治疗意义重大。值得注意的是, ATF4似乎是内质网应激影响铁死亡的关键环节。ATF4在人体器官中广泛表达, 可调控与氨基酸代谢、抗氧化等相关基因的表达。有趣的是, Harding等人^[51]发现, 在小鼠成纤维细胞中敲除ATF4会引起氧化型的、铁依赖的细胞死亡, 与铁死亡的特征相似。表明ATF4的基础水平可能影响细胞对铁死亡的敏感程度, 并且ATF4可能是铁死亡通路的另一个重要调节因子。

3.2 内质网应激参与铁死亡与凋亡的协同作用

Lee研究组^[52]发现, ER stress可能是铁死亡与凋亡之间相互作用的纽带。他们的结果显示, 在人胰腺腺癌PANC-1、BxPC-3和人结肠癌HCT116细胞中, 铁死亡诱导剂erastin、青蒿琥酯(artesunate, ART)与凋亡诱导剂肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)联合处理可显著增强癌细胞的死亡。TRAIL通过与相应的死亡受体(death receptors, DRs), 如DR4和DR5结合, 启动外源性途径诱导细胞凋亡。TRAIL与DRs结合后, 使DRs发生三聚化, 并不断招募Fas相关蛋白(Fas-associated death domain, FADD), FADD的死亡效应结构域与procaspase-8结合, 形成死亡诱导信号复合物(death-inducing signaling complex, DISC), DISC进一步刺激并活化caspase-8, 再经链式激活反应最终激活caspase-3, 引起细胞凋亡^[53]。他们发现, erastin与TRAIL联合处理, 可显著增强以上细胞凋亡信号通路的激活, 但铁死亡的重要标志——脂类自由基的水平, 并未因TRAIL的作用而增加。进一步的研究发现, erastin处理使PERK-ATF4-CHOP通路激活, CHOP促进了p53上调凋亡调节因子(p53 upregulated modulator of apoptosis, PUMA)的表达。有研究表明, PUMA可激活多种促凋亡蛋白, 如Bax, 而引起线粒体功能障碍、细胞色素c释放, 最终发生细胞凋亡。在PUMA缺陷的HCT116细

胞和CHOP缺陷的小鼠胚胎成纤维细胞中, *erastin*和TRAIL的协同作用消失. 以上结果表明, 在胰腺癌细胞中, *erastin*通过影响ER stress引起了PUMA的积累, 最终加剧了TRAIL引起的细胞凋亡. *Erastin*单独处理也可引起PUMA的表达, 却并未造成细胞凋亡, 意味着铁死亡与凋亡之间可能存在拮抗或选择调节机制, 而ER stress可能是铁死亡与凋亡相互联系的桥梁, 但详细机制仍需进一步研究讨论.

3.3 内质网应激可能促进细胞铁死亡

以上研究表明, 在铁死亡诱导剂引起的铁死亡中, 内质网应激反应, 特别是PERK-ATF4通路, 常常作为一种保护机制对铁死亡产生负反馈调控, 尤其在癌细胞中参与了耐药性的形成. 然而有报道显示, 在某些疾病情况下, 内质网应激反应促进了铁死亡的发生. Wu研究组^[54]发现, 铁死亡是溃疡性结肠炎(*ulcerative colitis*, UC)中引起结肠上皮细胞死亡的重要途径. UC病人的结肠黏膜细胞以及葡聚糖硫酸钠(*dextran sulfate sodium*, DSS)诱导的小鼠UC模型中, 都观察到了明显的铁沉积、脂类自由基积累、线粒体缩小等铁死亡特征^[54]. 与此同时, 内质网应激标记分子GRP78以及

PERK-ATF4-CHOP通路, 在UC小鼠的结肠上皮细胞中显著激活. 经PERK的抑制剂GSK414处理, 则能显著抑制DSS引起的铁死亡, 小鼠结肠上皮细胞铁水平及脂质过氧化水平明显下降. 与之类似, Park等人^[55]在研究香烟烟雾冷凝液(*cigarette smoke condensates*, WCSC)对人支气管上皮细胞的损伤时发现, WCSC处理同时激活了内质网应激PERK、IRE1 α 通路和铁死亡通路. 基因芯片结果分析显示, 内质网应激的激活促进了铁死亡的发生. 因此, 在UC或WCSC诱导的肺损伤中, 内质网应激的激活加剧了细胞的铁死亡, 但内质网应激通路调控铁死亡的机制尚不清楚, 在其他疾病条件下是否依然存在这种相互作用仍需进一步探究.

4 总结与展望

铁死亡是一种不同于凋亡的受调控的细胞死亡, 具有特异性的形态学特征和调控通路. 铁死亡的发生依赖于铁、氧、多不饱和脂肪酸. 当细胞内抗氧化能力降低、铁依赖的多不饱和脂肪酸脂质过氧化反应加剧, 造成脂类自由基积累时, 就会发生铁死亡. 尽管近年来铁死亡的研究取得了快速发展, 但仍有许多问

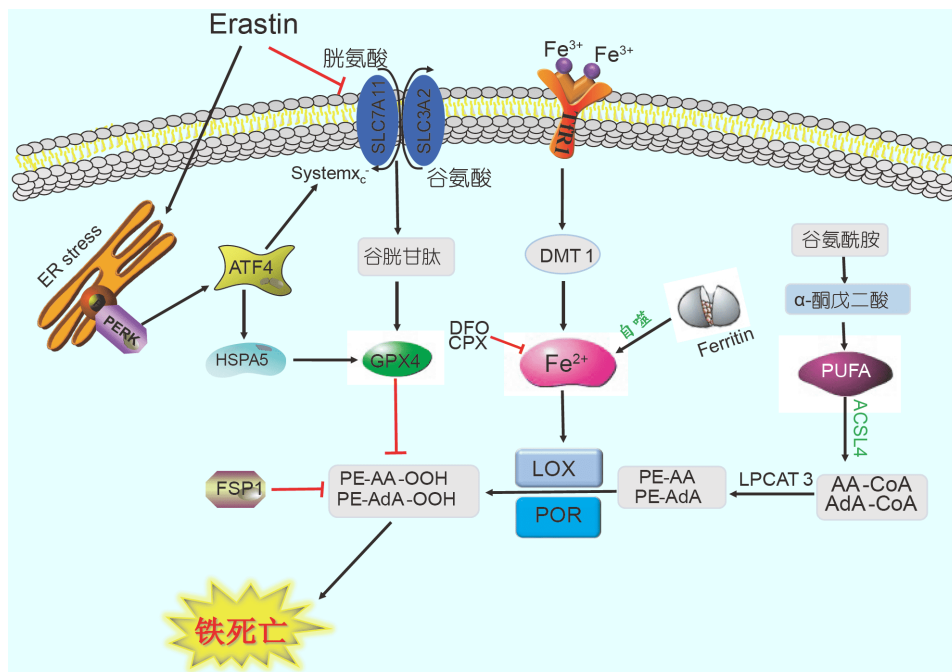


图 1 铁死亡发生的分子机制及其与内质网应激的关系

Figure 1 Molecular mechanisms of ferroptosis and the relationship with ER stress

题尚未解决, 如铁死亡发生时, 铁是如何影响脂质过氧化反应的? GSH不足会影响细胞抗氧化功能, 当GSH匮乏时细胞为什么选择了铁死亡却没启动细胞凋亡? 此外, 凋亡的发生依赖于caspase家族的激活, 铁死亡过程中是否也存在类似caspase的分子还有待确定. 新的证据表明, 在癌细胞和疾病模型中, 铁死亡与内质网应激反应密切相关(图1). 一方面, 在铁死亡诱导剂引起的癌细胞铁死亡中, 内质网应激反应同步激活, PERK-eIF2 α -ATF4通路通过上调HSPA5、system x_c⁻等分子抑制铁死亡, 参与癌细胞抗药性的形成. 另一方面, 内质网应激的激活通过CHOP-PUMA通路参

与了铁死亡与凋亡的协同作用. 此外, 在病理条件下, 内质网应激通路的激活不但没有抑制铁死亡, 反而加剧了铁死亡的发生, 表明在持续或者恶劣的疾病条件下, 内质网应激不仅能启动细胞凋亡、自噬, 还能引起铁死亡. 目前, 越来越多的研究发现, 铁死亡与多种疾病密切相关, 如神经退行性疾病、癌症、缺血再灌注损伤、心血管疾病等^[7,11,56-59], 以铁死亡作为治疗靶点具有良好的应用前景. 因此, 进一步认识铁死亡、内质网应激、细胞凋亡调节机制的关系, 对于有效攻克癌细胞的耐药性和一些难治性疾病的治疗具有重要意义.

参考文献

- 1 Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 2012, 149: 1060–1072
- 2 Dolma S, Lessnick S L, Hahn W C, et al. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell*, 2003, 3: 285–296
- 3 Yang W S, Stockwell B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol*, 2008, 15: 234–245
- 4 Wang H, An P, Xie E, et al. Characterization of ferroptosis in murine models of hemochromatosis. *Hepatology*, 2017, 66: 449–465
- 5 Yu Y, Jiang L, Wang H, et al. Hepatic transferrin plays a role in systemic iron homeostasis and liver ferroptosis. *Blood*, 2020, 136: 726–739
- 6 Wang Y Q, Chang S Y, Wu Q, et al. The protective role of mitochondrial ferritin on erastin-induced ferroptosis. *Front Aging Neurosci*, 2016, 8
- 7 Gao M, Monian P, Quadri N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis. *Mol Cell*, 2015, 59: 298–308
- 8 Feng H, Schorpp K, Jin J, et al. Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker. *Cell Rep*, 2020, 30: 3411–3423.e7
- 9 Sun X, Ou Z, Xie M, et al. HSPB1 as a novel regulator of ferroptotic cancer cell death. *Oncogene*, 2015, 34: 5617–5625
- 10 Gao M, Monian P, Pan Q, et al. Ferroptosis is an autophagic cell death process. *Cell Res*, 2016, 26: 1021–1032
- 11 Fang X, Cai Z, Wang H, et al. Loss of cardiac ferritin H facilitates cardiomyopathy via Slc7a11-mediated ferroptosis. *Circ Res*, 2020, 127: 486–501
- 12 Yuan H, Li X, Zhang X, et al. C1SD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478: 838–844
- 13 Yang W S, Kim K J, Gaschler M M, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E4966–E4975
- 14 Kagan V E, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 81–90
- 15 Doll S, Proneth B, Tyurina Y Y, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 91–98
- 16 Zou Y, Li H, Graham E T, et al. Cytochrome P450 oxidoreductase contributes to phospholipid peroxidation in ferroptosis. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 302–309
- 17 Imam M U, Zhang S, Ma J, et al. Antioxidants mediate both iron homeostasis and oxidative stress. *Nutrients*, 2017, 9: 671
- 18 Dixon S J, Patel D N, Welsch M, et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis. *eLife*, 2014, 3: e02523
- 19 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 Biol Chem*, 1999, 274: 11455–11458
- 20 Yang W S, SriRamaratnam R, Welsch M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 2014, 156: 317–331
- 21 Seiler A, Schneider M, Förster H, et al. Glutathione peroxidase 4 senses and translates oxidative stress into 12/15-lipoxygenase dependent- and

- AIF-mediated cell death. *Cell Metab*, 2008, 8: 237–248
- 22 Doll S, Freitas F P, Shah R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*, 2019, 575: 693–698
 - 23 Bersuker K, Hendricks J M, Li Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*, 2019, 575: 688–692
 - 24 Shimada K, Hayano M, Pagano N C, et al. Cell-line selectivity improves the predictive power of pharmacogenomic analyses and helps identify NADPH as biomarker for ferroptosis sensitivity. *Cell Chem Biol*, 2016, 23: 225–235
 - 25 Cardoso B R, Hare D J, Bush A I, et al. Glutathione peroxidase 4: a new player in neurodegeneration? *Mol Psychiatry*, 2017, 22: 328–335
 - 26 Stockwell B R, Friedmann Angeli J P, Bayir H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease. *Cell*, 2017, 171: 273–285
 - 27 Iurlaro R, Muñoz-Pinedo C. Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *FEBS J*, 2016, 283: 2640–2652
 - 28 Ellgaard L, Helenius A. ER quality control: towards an understanding at the molecular level. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13: 431–437
 - 29 McGuigan M B, Louca C, Duncan H F. Clinical decision-making after endodontic instrument fracture. *Br Dent J*, 2013, 214: 395–400
 - 30 Herrmann A G, Deighton R F, Le Bihan T, et al. Adaptive changes in the neuronal proteome: mitochondrial energy production, endoplasmic reticulum stress, and ribosomal dysfunction in the cellular response to metabolic stress. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33: 673–683
 - 31 Cybulsky A V. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13: 681–696
 - 32 Tirasophon W, Welihinda A A, Kaufman R J. A stress response pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus requires a novel bifunctional protein kinase/endoribonuclease (Ire1p) in mammalian cells. *Genes Dev*, 1998, 12: 1812–1824
 - 33 Wang X Z, Harding H P, Zhang Y, et al. Cloning of mammalian Ire1 reveals diversity in the ER stress responses. *EMBO J*, 1998, 17: 5708–5717
 - 34 Shen X, Ellis R E, Lee K, et al. Complementary signaling pathways regulate the unfolded protein response and are required for *C. elegans* development. *Cell*, 2001, 107: 893–903
 - 35 Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*, 2011, 334: 1081–1086
 - 36 Tanoue T, Nishida E. Docking interactions in the mitogen-activated protein kinase cascades. *Pharmacol Ther*, 2002, 93: 193–202
 - 37 Urano F, Wang X Z, Bertolotti A, et al. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science*, 2000, 287: 664–666
 - 38 Matsuzawa A, Nishitoh H, Tobiume K, et al. Physiological roles of ASK1-mediated signal transduction in oxidative stress- and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis: advanced findings from ASK1 knockout mice. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4: 415–425
 - 39 Harding H P, Zhang Y, Ron D. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature*, 1999, 397: 271–274
 - 40 Wek R C, Jiang H Y, Anthony T G. Coping with stress: eIF2 kinases and translational control. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34: 7–11
 - 41 Vattam K M, Wek R C. Reinitiation involving upstream ORFs regulates ATF4 mRNA translation in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 11269–11274
 - 42 Mamady H, Storey K B. Coping with the stress: expression of ATF4, ATF6, and downstream targets in organs of hibernating ground squirrels. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 477: 77–85
 - 43 Tajiri S, Oyadomari S, Yano S, et al. Ischemia-induced neuronal cell death is mediated by the endoplasmic reticulum stress pathway involving CHOP. *Cell Death Differ*, 2004, 11: 403–415
 - 44 Oida Y, Shimazawa M, Imaizumi K, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in the neuronal death induced by transient forebrain ischemia in gerbil. *Neuroscience*, 2008, 151: 111–119
 - 45 Haze K, Yoshida H, Yanagi H, et al. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell*, 1999, 10: 3787–3799
 - 46 Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, et al. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell*, 2001, 107: 881–891
 - 47 Shen J, Prywes R. Dependence of site-2 protease cleavage of ATF6 on prior site-1 protease digestion is determined by the size of the luminal domain of ATF6. *J Biol Chem*, 2004, 279: 43046–43051
 - 48 Zhu S, Zhang Q, Sun X, et al. HSPA5 regulates ferroptotic cell death in cancer cells. *Cancer Res*, 2017, 77: 2064–2077
 - 49 Chen Y, Mi Y, Zhang X, et al. Dihydroartemisinin-induced unfolded protein response feedback attenuates ferroptosis via PERK/ATF4/HSPA5 pathway in glioma cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38: 402

- 50 Chen D, Fan Z, Rauh M, et al. ATF4 promotes angiogenesis and neuronal cell death and confers ferroptosis in a xCT-dependent manner. [Oncogene](#), 2017, 36: 5593–5608
- 51 Harding H P, Zhang Y, Zeng H, et al. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. [Mol Cell](#), 2003, 11: 619–633
- 52 Hong S H, Lee D H, Lee Y S, et al. Molecular crosstalk between ferroptosis and apoptosis: emerging role of ER stress-induced p53-independent PUMA expression. [Oncotarget](#), 2017, 8: 115164
- 53 Ganten T M, Haas T L, Sykora J, et al. Enhanced caspase-8 recruitment to and activation at the DISC is critical for sensitisation of human hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis by chemotherapeutic drugs. [Cell Death Differ](#), 2004, 11: S86–S96
- 54 Xu M, Tao J, Yang Y, et al. Ferroptosis involves in intestinal epithelial cell death in ulcerative colitis. [Cell Death Dis](#), 2020, 11: 86
- 55 Park E J, Park Y J, Lee S J, et al. Whole cigarette smoke condensates induce ferroptosis in human bronchial epithelial cells. [Toxicol Lett](#), 2019, 303: 55–66
- 56 Friedmann Angeli J P, Schneider M, Proneth B, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. [Nat Cell Biol](#), 2014, 16: 1180–1191
- 57 Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, et al. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2014, 111: 16836–16841
- 58 Tuo Q Z, Lei P, Jackman K A, et al. Tau-mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke. [Mol Psychiatry](#), 2017, 22: 1520–1530
- 59 Fang X, Wang H, Han D, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2019, 116: 2672–2680

Ferroptosis and endoplasmic reticulum stress

WANG PeiNa, LIU YuanYuan & CHANG YanZhong

The Laboratory of Iron Metabolism, College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China

Ferroptosis is a newly identified form of regulated cell death (RCD) in 2012, which is characterized by the iron-dependent accumulation of lipid hydroperoxides to lethal levels. The initiation of ferroptosis is tightly linked with numerous essential biological processes, including iron, lipid, amino acid dysregulation. The endoplasmic reticulum (ER) is a dynamic intracellular organelle, which plays an essential role in synthesis, folding, modification and transport of proteins. Under stress conditions, increased levels of unfolded or misfolded proteins within the ER lumen trigger a condition referred to as “ER stress”. The initial ER stress can protect cell for its survival, but prolonged or severe stress can lead to cell death. Recent studies reveal that ER stress is closely related to the process of ferroptosis. In cancer cells, the ferroptotic agents can induce ER stress and subsequently the ER stress pathways negatively regulate the activation of ferroptosis and result in drug resistance. However, under pathological process, ER stress promotes the activation of ferroptosis. The interconnections between ferroptosis and ER stress have become an important scientific topic in understanding the mechanisms of cell fate decision. This review summarized the regulatory networks of ferroptosis and the relationship between ferroptosis and ER stress. We expected to provide new insights and references for ferroptosis research and the therapeutic strategy of ferroptosis associated diseases.

iron, ferroptosis, endoplasmic reticulum stress, lipid peroxidation

doi: [10.1360/SSV-2020-0116](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0116)