

铁死亡调控机制与NAFLD

祝文婕, 赵戈贇, 张雪纯, 马欣雨, 徐敬娅, 李宝龙*

(黑龙江中医药大学药物安全性评价中心, 哈尔滨 150040)

摘要: 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是常见的脂代谢异常引起的肝脏病变, 主要是由于各种致病因素引起肝细胞内脂肪的过度堆积, 目前尚无特效治疗药物。铁死亡是一种依赖于铁并由磷脂过氧化驱动的调节性细胞死亡形式。本文回顾并总结了铁死亡的发现、产生途径及防御机制, 探讨了其与NAFLD的关系, 并阐述了其主要调控因子的相关研究。本文旨在为从铁死亡机制方面治疗和预防NAFLD提供理论基础, 为研发NAFLD治疗药物提供新的参考靶点和策略。

关键词: 铁死亡; 脂质过氧化; 非酒精性脂肪性肝病

Lipid peroxidation in ferroptosis and relationship with nonalcoholic fatty liver disease

ZHU Wenjie, ZHAO Yize, ZHANG Xuechun, MA Xinyu, XU Jingya, LI Baolong*

(Center for Safety Evaluation of Drugs, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common liver disease with abnormal lipid metabolism, which is mainly caused by excessive accumulation of fat in hepatocytes by various pathogenic factors. At present, there is no specific drug for the treatment of the disease. Ferroptosis is a form of regulatory cell death driven by phospholipid peroxidation. By reviewing the discovery, occurrence and pathway of ferroptosis, this paper discusses the relationship between ferroptosis and NAFLD, and expounds the related research on major regulatory factors, which provides some basic theories for the treatment and prevention of NAFLD from the mechanism of ferroptosis, which is to provide new reference targets and strategies for the development of NAFLD therapeutic drugs.

Key Words: ferroptosis; lipid peroxidation; non-alcoholic fatty liver disease

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是目前世界上最为常见的以肝脏脂肪变性为主要特征的慢性肝脏疾病。肝脏脂质代谢异常大多是由于脂质过量堆积导致肝细胞功能障碍。肝脏脂肪堆积主要是脂质合成及代谢的失衡导致的, 主要包括: 血液循环中的脂质摄取增加、肝脏新生脂肪生成增加、补偿性脂肪酸氧

化减弱损害脂质以及作为极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)组成部分的脂类代谢异常^[1,2]。代谢功能障碍、肥胖和相关的营养失衡可能会改变肠道微生物群, 进而通过激活先天和获得性免疫反应加剧肝脏和全身炎症。这些未解决的外源性和内源性信号共同加剧了肝损伤的发展^[3]。其中, 肝脏能量代谢的失衡会导致肝脏中甘

收稿日期: 2022-09-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573135); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12541763)

第一作者: E-mail: zhuwj202110@163.com

*通信作者: E-mail: lbl73@163.com

油三酯的累积, 所以NAFLD广泛存在于肥胖者和脂肪营养不良者中。脂肪组织的缺乏使肝脏储存过多的脂肪酸, 从而导致严重的胰岛素抵抗。胰岛素通过直接和间接机制调节肝脏糖脂代谢影响NAFLD的发展。相关遗传学认为由脂肪组织基因表达的特定变化引起的脂肪功能障碍在肝脏脂肪变性中发挥重要作用。此外, 肠道菌群可能通过能量摄取改变和微生物多样性减少、支链和芳香族氨基酸水平增加、微生物代谢产物以及微生物内毒素增加等机制促进NAFLD的炎症发展^[4]。非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)即为NAFLD病理过程改变的进展型, 严重情况下可最终发展为肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。NAFLD的发病率和死亡率逐年升高, 并呈年轻化趋势, 它正在迅速成为全球最常见的慢性肝病之一, 为患者及社会医疗领域带来沉重的负担。

尽管对NAFLD的研究付出了巨大努力, 已发现NAFLD的发生发展与炎症^[5]、氧化应激^[6]、内质网应激^[7]、肥胖和胰岛素抵抗^[8,9]等诸多因素有关, 但其潜在机制仍难以确定。肝细胞死亡被认为是各种肝损伤的中枢机制。除凋亡和坏死等典型的细胞死亡方式外, 自噬、细胞焦亡和程序性坏死等细胞死亡方式都广泛存在于肝细胞死亡过程中。其中, 细胞凋亡是由膜受体或细胞内刺激启动并激活效应半胱氨酸酶3和半胱氨酸酶7执行的, 而自噬的发生伴随着凋亡和坏死。有研究认为, 自噬发挥细胞保护功能缓解NAFLD和NASH的发生发展^[10]。近年来, 铁死亡在肝脏疾病领域迅速受到重视, 成为研究热点, 由于肝脏最易受到氧化损伤, 铁的过量积聚成为大多数肝病的主要特征。相关研究表明, NAFLD与铁死亡脂质过氧化机制密切相关, 因此, 铁死亡可作为NAFLD防治的重要靶向^[11]。亦有研究证实, NAFLD肝中出现铁死亡关键蛋白表达水平上调, 脂质过氧化物含量升高, 且铁死亡抑制剂可有效抑制铁死亡并减轻NAFLD。多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)发生脂质过氧化反应产生大量脂质过氧化物(lipid peroxidation, LPO)的现象是铁死亡发生的关键原因, 这一现象可能同时存在于NAFLD的炎症、纤维化及肝硬化甚至于肝癌过程

之中^[12]。本文从铁死亡的产生和调控方面进行回顾, 并对铁死亡脂质过氧化机制与NAFLD的关系进行阐述。

1 铁死亡

铁死亡是一种新型的铁依赖性细胞死亡形式, 以铁蓄积和脂质过氧化为主要特征, 具有不同于其他细胞死亡方式的形态、生化和遗传特征。其中, 超微结构显示, 区分铁死亡与细胞凋亡、坏死和自噬等的关键形态学特征是: 细胞膜破裂和出泡, 胞内线粒体较正常变小, 线粒体嵴减少或消失及其膜密度增加, 染色后颜色加深等。同时, 胞核结构完整但缺乏染色质凝集^[13,14]。

“铁死亡”这一术语的正式提出最早报道于2012年发表在*Cell*的一篇文献^[14], 该文详细研究了小分子化合物Erastin诱导细胞死亡的具体机制, 表明Erastin触发了一种独特的依赖铁的非凋亡性细胞死亡形式。Dixon等^[14]将这一现象称之为“铁死亡”。然而, 追溯到更久远的一些研究发现, 这种特殊的细胞死亡形式已经被观察到。20世纪中叶, 在神经细胞的新陈代谢研究中发现了一种由氧化应激诱导的程序性细胞死亡途径, 称为氧化性死亡^[15]; 20世纪50年代和60年代, Harry Eagle发现缺少半胱氨酸会导致细胞死亡, 且还有研究发现合成内源性半胱氨酸会使细胞抑制这种细胞死亡方式^[16]。通过铁死亡相关的实验研究, 目前对其产生途径和防御机制已有较深入的了解。

1.1 铁死亡的产生

脂质过氧化产生的LPO是诱导铁死亡的关键因素, 反应底物通常为PUFAs。PUFAs中的碳-碳双键和碳-氢键在酰基辅酶A合成酶长链4(acylCoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)的参与下生成PUFAs-CoA, 然后被溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶3(lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)酯化进入膜磷脂中形成底物PUFAs-PL, 因此确认ACSL4为铁死亡的标志物^[17]。自由基与磷脂中PUFAs-PL二烯丙基上的氢结合形成以碳为中心的磷脂自由基(PL·), 之后与氧分子反应生成磷脂过氧化氢自由基(PL-OO·), 再从其他PUFAs中提取氢从而形成过氧化脂质(PL-OOH)和脂质自由基(PL·), 如此循环。而Fe²⁺的过量存在会

通过芬顿反应催化PL-OOH还原为PL-O·, 进一步促进非酶自由基链式反应, 最终破坏细胞膜的完整性诱导铁死亡的发生^[18]。不仅如此, Fe²⁺还可以作为脂氧合酶LOXs的辅助因子, 催化PUFAs过氧化的酶过程发生^[19], 但因其复杂过程仍需详细探索、完善。

LPO的产生非常复杂, 大部分存在于质膜中, 但许多亚细胞结构也会存在脂质过氧化, 如在线粒体、内质网和溶酶体等之中的信号传递也可能是铁死亡的调节因素^[20]。线粒体进行三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TAC)和电子传输链(electron transport chain, ETC)活动产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS), 通过靶向多不饱和脂肪酸双键启动脂质过氧化反应产生LPO, 诱导细胞铁死亡^[21]。内质网中含有大量脂类物质, 由未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)引起的内质网应激可能与铁死亡有一定相关性^[22], 但其具体机制尚不明确。而溶酶体中ROS可能参与铁死亡已经由SRS显微镜观察到铁抑制素存在于溶酶体中这一现象证实, 但通过减少溶酶体效应程度提高铁死亡抑制剂的效力来看, 溶酶体对铁死亡的抑制作用并不是关键因素^[23]。因此, 可能需要研究更多溶酶体在铁死亡中的作用来评估溶酶体ROS与细胞死亡之间的关系^[20]。

脂质过氧化物中丙二醛(malondialdehyde, MDA)和4-羟基壬烯醛(4-hydroxynonenal, 4-HNE)的含量最多, 且大多实验研究指标的检测以MDA为主^[24,25]。Riegman等^[26]研究发现, 发生铁死亡的细胞在破裂之前会发生膨胀现象, 推测可能是由于质膜上的纳米孔打开引起的, 且在相邻细胞之间以波状模式传播。这表明细胞破裂后会扩散因子释放, 加速其他相邻细胞的死亡。但这一过程仍需进一步实验证明。

1.2 调控铁死亡防御机制

目前, 有三种途径通过截获中间产物抑制脂质过氧化从而防御细胞的铁死亡: 谷胱甘肽途径(GSH-GPX4)、泛醌途径(NADPH-FSP1-CoQ10)和四氢生物蝶呤途径(GCH1-BH4)^[27]。

首先, GPX4途径是最常见的防御系统之一, 主要依赖于Xc⁻转运蛋白系统、谷胱甘肽(glutathione, GSH)的合成以及GPX4活性作用的发

挥。Xc⁻系统将细胞外的胱氨酸和胞内的谷氨酸等量转运, 进入细胞的胱氨酸则会被GSH或硫氧还蛋白还原酶还原为半胱氨酸促进GSH的合成, 进而干扰脂质过氧化反应, 阻止细胞铁死亡的发生。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是防御机制途径内重要基因的上游调节因子, 可靶向识别Xc⁻系统的轻链亚基SLC7A11^[28]。研究发现, 药物可能通过激活Nrf2启动GPX4防御机制调控铁死亡来缓解疾病的发生和发展。如李二稳等^[29]研究发现, 泽泻汤可能通过激活Nrf2抑制肝细胞铁死亡, 改善高脂饮食(high-fat diet, HFD)诱导的C57BL/6J模型小鼠的NAFLD, 这也为其他药物靶向Nrf2治疗NAFLD提供了研究方向。

其次, 铁死亡抑制蛋白1(ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)是最新发现的一种强有效的阻止细胞发生铁死亡的抑制因子, FSP1途径对铁死亡的抑制作用平行于GPX4途径, 它不依赖于GSH发挥抑制作用, 而是通过调控辅酶Q10(coenzyme Q10, CoQ10)抑制铁死亡的发生^[30]。被肉豆蔻酰化的FSP1靶向质膜, CoQ10通过FSP1的帮助将NAD(P)H中的还原等价物穿梭到脂质双层中^[31], 介导脂滴(lipid droplets, LDs)中亲脂性的自由基捕获抗氧化剂(radical trapping antioxidant, RTA)的调节, 维持长时间储存在体内的脂质质量, 防止脂质过氧化诱导铁死亡的发生^[32]。Chen等^[33]证实了FSP1在CD11b+Kupffer细胞中表达, 虽然肝巨噬细胞只占肝细胞总数的一小部分, 但细胞中过氧化物酶体增殖物激活受体Pparb/d的缺失明显改变了肝脏的表型特征, 并且培育了一种研究青少年NAFLD的FSP1 cre-Pparb/d^{-/-}模型小鼠, 为研究泛醌途径中影响NAFLD发展的相关因子提供了实验基础。

目前, 对BH4途径的研究相对较少, BH4作为抗氧化系统的组成部分参与了一氧化氮、神经递质和芳香氨基酸的代谢过程, 而GTP环化水解酶1(GTP cyclohydrolase 1, GCH1)是BH4合成的限速酶, GCH1的过度表达可以选择性抑制一些PUFAs过氧化。因此, 可以通过GCH1-BH4途径抑制铁死亡的发生^[34]。Kraft等^[35]通过筛选全基因组发现, GCH1-BH4-磷脂系统是抑制铁死亡的主要调节因子, 激活该途径可以增加抗氧化剂BH4的产生, 且

可以使CoQ10含量升高, 协同FSP1途径发挥作用。除此之外, 还有转硫途径、甲羟戊酸途径以及DHODH-CoQH2途径等抗氧化系统也参与了铁死亡的调节^[34], 而具体机制及作用需进一步研究明确。

2 铁死亡与NAFLD的关系

肝脏是脂肪代谢的重要器官。作为脂质平衡的中心调节器, 肝脏主要负责协调脂肪酸的合成并将其输出重新分配至其他组织^[36]。同时, 肝脏还维持着体内铁稳态, 是储存过量铁并合成铁调素(hepcidin, Hpc)的主要器官。当机体能量的摄入和消耗不平衡时, 亦或是脂肪细胞凋亡导致储存能量功能异常时, 肝脏内最易发生异位脂肪积累导致肝脏脂肪变性, 进而影响全身代谢紊乱^[37], 而铁代谢的紊乱则与NAFLD患者肥胖和胰岛素抵抗的典型特征存在相关性^[38]。

目前, 关于NAFLD的发展过程, 医学界普遍认可的一种理论是“二次打击学说”。其一是由胰岛素抵抗引起的肝脏脂肪变性, 这与脂肪再生和脂肪酸代谢异常有关, 所以减少肝脂质积累抑制肝脂肪变性成为改善NAFLD的关键步骤之一^[39]; 其二则是在一次打击的基础上产生过多的ROS, 介导氧化应激使线粒体功能障碍, 从而发生脂质过氧化反应^[40]。有学者用蛋氨酸和胆碱缺乏饲料(methionine and choline deficient L-amino acid diet, MCD)诱导的NAFLD小鼠和砷诱导的NASH大鼠研究了有效促进和抑制铁死亡的相关因子, 揭示了铁死亡在NAFLD疾病发展中的重要作用^[41,42]。在NAFLD中, 肝脏损伤和疾病发展主要与铁超载和氧化应激两种因素触发的脂质过氧化反应有关。

2.1 铁超载

铁是维持人体生命的必需微量元素之一, 参与机体内氧的储存和运输、线粒体的呼吸作用、DNA复制以及细胞间信号传递等多种细胞活动过程^[43]。生理条件下, Fe^{3+} 与转铁蛋白和转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1, Tfr1)结合进入细胞后, 以 Fe^{3+} -铁蛋白络合物的形式储存, 肝脏内合成的Hpc则通过控制铁蛋白对维持体内铁的动态平衡起着关键的调节作用。铁代谢异常主要分为铁过

载(或铁超载)和铁缺乏两大类。 Fe^{3+} 被溶酶体中的金属还原酶STEAP3还原为 Fe^{2+} 后, 通过二价金属转运体1(divalent metal transporter 1, DMT1)释放到不稳定铁池(labile iron pool, LIP)。除此之外, 核受体辅激活蛋白4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)介导的铁蛋白自噬会使 Fe^{3+} -铁蛋白络合物分解并以 Fe^{2+} 的形式释放到LIP中^[44]。由此, 细胞内大量 Fe^{2+} 的产生参与了PUFAs转化为脂质过氧化物的过程, 随后诱导细胞铁死亡, 加重脂肪肝、糖尿病和胰岛素抵抗等疾病。

肝细胞在肝脏铁稳态中发挥着重要作用, 由Kupffer细胞清除的含铁肝细胞外小泡(extracellular vesicles, EVs)分泌增加介导的肝细胞缺铁和肝星状细胞铁超载会导致NAFLD和NASH的发生发展, 而阻断肝细胞EV分泌或EV铁转运可恢复肝脏内的铁平衡, 并缓解NAFLD/NASH相关的肝脏脂肪变性和肝纤维化^[45]。Folgueras等^[38]证实了缺乏铁调素抑制因子matriptase-2可以减轻高脂饮食小鼠的肥胖, 促进脂肪分解, 改善糖耐量和胰岛素敏感性, 阻止肝脏脂肪变性的发展。当对其进行抗凝血素治疗时, 肝脏杀菌素上调的阻断和铁水平的恢复使*Tmprss6*^{-/-}小鼠的肥胖抵抗表型发生逆转。这表明Hpc通过控制铁蛋白调节体内铁稳态, 与脂肪组织功能对肝脂肪变性起保护作用具有一定相关性。

2.2 氧化应激

氧化应激是体内氧化和抗氧化作用的失衡状态, 体内产生大量的自由基导致氧化作用强于抗氧化作用。铁的大量蓄积会使ROS的生成增加, 从而诱导氧化应激, 而氧化应激相关转录因子可以抑制或激活铁死亡相关基因表达, 从而发挥调控铁死亡的作用^[46]。氧化应激是NAFLD肝损伤的重要机制之一, 不仅外环境中的物理和化学因素对ROS的产生有影响, 内环境中线粒体、内质网和过氧化物的生理病理过程都影响着ROS的含量。大量ROS产生后靶向多不饱和脂肪酸双键, 发生脂质过氧化反应, 从而形成可以诱导铁死亡的脂质过氧化物, 使肝细胞损伤加重^[47]。Jiang等^[48]研究证实, 线粒体活性氧在NASH的铁死亡中发挥作用, 且槲皮素借此作用减少肝细胞的脂质过氧化、脂肪堆积、铁超载及炎症等, 并抑制铁死亡, 从而

对NAFLD具有防御作用。总之,氧化应激和铁超载均可诱导脂质过氧化进程,甚至协同作用加重细胞损伤程度,使NAFLD由单纯性肝脏脂肪变性向炎症及纤维化发展。

3 铁死亡与NAFLD主要调控因子的相关性研究

3.1 抗氧化调控因子

3.1.1 Nrf2

Nrf2可以与核因子结合激活下游转录,具有调节抗氧化酶和解毒酶表达的作用。Nrf2作为一种模块化蛋白有七个Nrf2-ECH同源结构域(Neh1-7),且每个结构域都有不同的功能。因此,其调控的过程范围极为广泛:不仅调节抗氧化系统成分的转录,参与内外源物的I、II相解毒以及促进NADPH再生和血红素的代谢;还参与自噬、代谢和未折叠蛋白反应等细胞过程^[49]。在氧化应激反应中,kelch样ECH关联蛋白1(kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)激活Nrf2转移到细胞核后识别抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)并激活抗氧化基因如*SLC7A11*,促进抗氧化蛋白的表达,如血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)、GSH、GPX4等一些与铁死亡抗氧化途径相关的调控因子^[27,40,50]。有学者研究发现,Nrf2被铁诱导的线粒体靶向氧化剂激活,并驱动肝窦内皮细胞中骨形态发生蛋白6(bone morphogenetic protein 6, Bmp6)的表达,增加了邻近肝细胞中Hepc的合成^[51]。在*Nrf2*基因敲除的小鼠中,Bmp6-Hepc对口服和非肠道铁的反应受到损害,导致铁蓄积和肝脏损伤加重,而Nrf2的药理激活刺激了Bmp6-Hepc轴,改善了血色病中的铁稳态并抵消了 β -地中海贫血症中铁蛋白对Bmp6的抑制。Nrf2将细胞对铁毒性的敏感性与全身铁稳态和抗氧化反应的控制联系起来。这可能成为铁相关疾病的治疗靶点。

Schwartz等^[52]利用散发性结直肠癌的遗传小鼠模型和结直肠癌的同基因模型证明了结直肠癌靶向Hepc是决定肿瘤数量、大小和负担的必要因素,结直肠癌通过异位表达调节肝脏中Hepc抑制局部铁的致癌现象,利用HIF-2 α 过表达DMT1同时增加肠腔铁的摄取,并通过激活自分泌/旁分泌

Hepc介导的铁孔蛋白降解来减少铁的输出。Yan等^[53]研究姜黄素对NAFLD小鼠内源胆汁酸及外源物代谢的影响时,发现Nrf2/FXR/LXR α 通路可能对NAFLD小鼠内外源代谢具有协同调节作用,而LXR α 可能是防治的新靶点,可有效逆转脂肪肝状态下细胞色素P3A和P7A的表达,而 α 受体拮抗剂GGPP可减弱此效应。Li等^[54]发现,橙皮素的抗氧化及抗炎作用依赖Nrf2途径减少ROS的过量产生,并在HFD诱导的NAFLD大鼠模型中,证实了可以通过激活PI3K/AKT-Nrf2调控途径减轻肝脏脂肪变性、氧化应激、炎细胞浸润和纤维化。莱菔硫烷等天然化学预防药物可激活Nrf2调控下游基因表达,与组织细胞类型无关。因此,Nrf2可作为主要的激活因子调控下游因子的表达,改善NAFLD的发生和发展,进一步达到药物靶向缓解并治疗NAFLD的目的。

3.1.2 Xc⁻系统

细胞膜上具有胱氨酸/谷氨酸转运体,即Xc⁻系统。SLC7A11是其中一个轻链亚基,对脂质ROS的代谢起重要作用。研究发现,p53可通过下调SLC7A11的表达对铁死亡中脂质ROS代谢发挥作用^[55]。Song等^[56]通过实验证实了BECN1与SLC7A11结合可以直接阻断Xc⁻系统的活性,表明SLC7A11是这一转运体的核心成分,并发挥着关键作用。作为Nrf2的激活靶点,可以加快胱氨酸和谷氨酸的转运过程,促进GSH的合成,加强抗氧化系统的防御作用,从而达到抑制铁死亡的目的。p53、BAP1和INF- γ 抑制Xc⁻系统诱导铁死亡的发生可以作用于抑制肿瘤细胞。Liu等^[57]用生化纯化的方法确定了泛素水解酶是调节SLC7A11稳定性的关键因素,并在CD44介导的癌症的铁死亡中发挥了重要作用。

3.1.3 GSH

GSH是哺乳动物细胞中的主要抗氧化剂,由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸共同组成,同时也是GPX4的辅助因子^[30],而GSH耗竭会破坏细胞内氧化还原的动态平衡,细胞抗氧化能力下降,导致ROS的累积^[58],对GSH的直接和间接抑制都会加重细胞铁死亡的发生。半胱氨酸是合成GSH的主要成分,在肝细胞同时缺乏硫氧还蛋白还原酶和谷胱甘肽还原酶时,转硫途径可通过转化膳食蛋氨

酸促进半胱氨酸的产生, 而抑制转硫途径相关酶的表达时, 肿瘤细胞对铁死亡的敏感性增强, 从而延缓肿瘤的生长^[59]。因此, 在代谢综合征的研究中, 往往将GSH作为氧化应激水平的评估指标^[60], 在铁死亡诱导的NAFLD药物治疗研究中, GSH也作为主要代表性指标进行检测。

3.1.4 GPX4

磷脂过氧化物酶GPX4是第一个被发现的抑制铁死亡的含硒蛋白, 主要存在于胞质和线粒体中, 具有清除脂质过氧化氢的作用, 依赖GSH将有氧的脂氢氧化物转化为相应的无毒脂醇, 形成了应对脂质过氧化反应的防御机制, 在铁死亡的调节中起着至关重要的作用^[50]。而直接或间接抑制GPX4的活性都会诱发铁死亡的发生, 如抑制Xc⁻系统会导致GSH的合成减少从而使GPX4失活, 而RSL3等可以直接抑制其活性。

Qi等^[61]首先用铁死亡诱导剂RSL3处理MCD饲料诱导的NAFLD小鼠, 结果发现, 肝组织中GPX4的表达减少, 脂氧合酶和细胞凋亡诱导因子表达增加, 随后用GPX4激活剂亚硝酸钠处理小鼠使GPX4含量增加且NASH程度减轻, 表明铁死亡中GPX4的调节影响肝细胞的改变, 可能在NASH发生发展中起重要作用。那么, NASH作为NAFLD的下一步进展型, 对GPX4进行相关调节可能会在这之前控制NAFLD炎症的发展。Yang等^[62]依据环状RNA对NAFLD发挥作用, 从而推测研究了hsa_circ_0048179在NAFLD体外模型中的作用及机制, 发现油酸/棕榈酸处理的HepG2细胞中GPX4水平降低, 并伴随着ROS含量的增加以及线粒体嵴的损伤, 而hsa_circ_0048179可显著上调GPX4的表达, 减轻脂质积聚, 且可能与miR-188-3p的竞争性抑制有关, 因此, GPX4可能成为治疗脂肪变性的新药物靶点。

3.1.5 FSP1

FSP1最初被认为是线粒体促凋亡蛋白AIF/AIFM1的同源诱导因子AIFM2, 但随后被报道, 其缺乏线粒体的N末端靶向序列, 不存在于线粒体中, 同时也不具备促进细胞凋亡作用, 后被Bersuker等^[32]重新命名为FSP1, 并阐述了其细胞功能。除此之外, 此团队在先前的研究中发现了LDs和质膜上存在FSP1^[63], 可清除有害脂质氢过氧化

物等。Shimada等^[64]利用铁死亡诱导剂进行实验研究, 确定了CoQ10是FSP1的主要底物, 当GSH缺乏以及GPX4活性降低时, FSP1通过调控CoQ10还原的泛醌作为亲脂性自由基, 捕获抗氧化剂直接减少自由基或间接重复利用 α -生育酚, 其具体机制尚不清晰。

除FSP1外, 目前研究较少的BH4途径也可通过将苯丙氨酸转为酪氨酸, 促进CoQ10的合成从而发挥抗氧化作用^[58]。研究表明, 其主要通路GCH1/BH4受到抑制时, 通过激活铁蛋白自噬促进了Erastin诱导的铁死亡^[65], 其中具体参与通路的相关因子还需深入研究。

3.2 铁代谢调控因子

3.2.1 Tfr1

铁进入机体后被转铁蛋白/转铁蛋白受体1复合体结合吸收。有研究发现, 复合体之间的作用会被抗转铁蛋白受体1的抗体抵消, 这可能使Tfr1成为改善NAFLD中铁死亡的潜在靶点^[66]。

3.2.2 铁蛋白

身体中过量的铁会储存在铁蛋白中, 铁蛋白自噬会将Fe³⁺释放出来, 随后被转化为Fe²⁺, 到LIP参与细胞铁死亡过程。因此, 可通过抑制铁蛋白自噬治疗铁死亡相关慢性肝病NAFLD的进展^[44]。报告显示, 一种与调节脂质稳态相关的五肽蛋白prominin2由铁死亡应激诱导表达, 促进含铁蛋白的多泡体(multivesicular body, MVBs)和外体的形成, 将铁从细胞中转运出从而抑制铁死亡, 表明prominin2-MVB/外体-铁蛋白途径对铁稳态、细胞内转运和癌症有一定意义^[67]。所以, 如何从铁代谢这一方向抑制铁死亡引发肝脏脂肪变性仍有待研究。

4 总结与展望

目前, 铁死亡机制对人类健康影响的研究主要集中于肿瘤方面, 基于这一机制, 发现许多抗肿瘤药物新的作用靶点。总结近期铁死亡的产生途径和防御机制相关研究, 发现越来越多的证据表明NAFLD中脂质积累、肝脂肪变性、炎细胞浸润、纤维化及线粒体损伤等病理过程与铁死亡有一定关联。铁过载和氧化应激诱导的脂质过氧化可能介导NAFLD的进展过程, 而主要的抗氧化机

制和铁代谢调控因子可能成为相关研究的潜在靶点。其中,靶向激活Nrf2后,可以识别SLC7A11加快Xc⁻系统转运胱氨酸和谷氨酸,促进GSH的合成。GSH作为人体内最重要的内源性抗氧化剂,能辅助抑制铁死亡的含硒蛋白GPX4的表达,抑制脂质过氧化并阻止铁死亡的发生。本实验室对中药靶向Nrf2激活TGF-Smad通路、Nrf2-keap1以及自噬通路治疗NAFLD的实验都有深入研究,并取得一定成果^[68]。因此,Nrf2/GSH/GPX4这一主要抗氧化通路作为基于铁死亡机制治疗NAFLD的可能作用靶点,成为本实验室进一步的研究方向,以期为继续研制NAFLD药物提供新的参考策略。

参考文献

- [1] Kasper P, Martin A, Lang S, et al. NAFLD and cardiovascular diseases: a clinical review. *Clin Res Cardiol*, 2021, 110(7): 921-937
- [2] Gjorgjieva M, Sobolewski C, Dolicka D, et al. MiRNAs and NAFLD: from pathophysiology to therapy. *Gut*, 2019, 68(11): 2065-2079
- [3] Tilg H, Adolph TE, Dudek M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease: the interplay between metabolism, microbes and immunity. *Nat Metab*, 2021, 3(12): 1596-1607
- [4] Loomba R, Friedman SL, Shulman GI. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell*, 2021, 184(10): 2537-2564
- [5] Cobbina E, Akhlaghi F. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)-pathogenesis, classification, and effect on drug metabolizing enzymes and transporters. *Drug Metab Rev*, 2017, 49(2): 197-211
- [6] Farzanegi P, Dana A, Ebrahimpoor Z, et al. Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): roles of oxidative stress and inflammation. *Eur J Sport Sci*, 2019, 19(7): 994-1003
- [7] Lachkar F, Papaioannou A, Ferré P, et al. Stress du réticulum endoplasmique et stéatopathies métaboliques. *Biologie Aujourd'hui*, 2020, 214(1-2): 15-23
- [8] Lau LHS, Wong SH. Microbiota, obesity and NAFLD. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1061: 111-125
- [9] Watt MJ, Miotto PM, De Nardo W, et al. The liver as an endocrine organ—linking NAFLD and insulin resistance. *Endocrine Rev*, 2019, 40(5): 1367-1393
- [10] Eguchi A, Wree A, Feldstein AE. Biomarkers of liver cell death. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 1063-1074
- [11] Gautheron J, Gores GJ, Rodrigues CMP. Lytic cell death in metabolic liver disease. *J Hepatol*, 2020, 73(2): 394-408
- [12] 吴晗, 于淼, 肖诚, 等. 铁过载及铁死亡与代谢相关脂肪性肝病的研究进展. *中华糖尿病杂志*, 2021, 13(8): 836-840
- [13] 黄江姗, 晏馥霞. 铁死亡及其与细胞适应性调节的关系研究进展. *医学综述*, 2022, 28(12): 2326-2331
- [14] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072
- [15] Shirlee Tan BSP, David Schubert BSP, Pamela Maher BSP. Oxytosis: a novel form of programmed cell death. *Curr Top Med Chem*, 2001, 1(6): 497-506
- [16] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282
- [17] 李佳明, 韩雅琪, 吴桐, 等. 铁死亡脂质过氧化机制及其与阿尔茨海默病的联系. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(6): 1142-1147
- [18] Wang S, Liu Z, Geng J, et al. An overview of ferroptosis in non-alcoholic fatty liver disease. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113374
- [19] Li D, Li Y. The interaction between ferroptosis and lipid metabolism in cancer. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 108
- [20] Feng H, Stockwell BR. Unsolved mysteries: how does lipid peroxidation cause ferroptosis? *PLoS Biol*, 2018, 16(5): e2006203
- [21] Chen J, Li X, Ge C, et al. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3): 467-480
- [22] Kagan VE, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 81-90
- [23] Gaschler MM, Hu F, Feng H, et al. Determination of the subcellular localization and mechanism of action of ferrostatins in suppressing ferroptosis. *ACS Chem Biol*, 2018, 13(4): 1013-1020
- [24] 张新, 陈文娜, 宋囡, 等. 丹莪片通过铁死亡途径减轻非酒精性脂肪性肝病模型小鼠肝脏氧化损伤. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(12): 2180-2188
- [25] 岳亚光, 檀薇薇, 王文川, 等. 二甲双胍经Nrf2-Gpx4通路抑制铁死亡并减轻非酒精性脂肪性肝病大鼠的肝损伤. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(10): 1848-1857
- [26] Riegman M, Sagie L, Galed C, et al. Ferroptosis occurs through an osmotic mechanism and propagates independently of cell rupture. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(9): 1042-1048
- [27] Stockwell BR, Jiang X, Gu W. Emerging mechanisms and disease relevance of ferroptosis. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(6): 478-490
- [28] Fan Z, Wirth AK, Chen D, et al. Nrf2-Keap1 pathway

- promotes cell proliferation and diminishes ferroptosis. *Oncogenesis*, 2017, 6(8): e371
- [29] 李二稳, 高改, 王梦瑶, 等. 泽泻汤抑制肝细胞铁死亡改善非酒精性脂肪性肝病的作用机制. *中医学报*, 2022, 37(6): 1243-1253
- [30] Zhang H, Zhang E, Hu H. Role of ferroptosis in non-alcoholic fatty liver disease and its implications for therapeutic strategies. *Biomedicines*, 2021, 9(11): 1660
- [31] Doll S, Freitas FP, Shah R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-698
- [32] Bersuker K, Hendricks JM, Li Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis. *Nature*, 2019, 575(7784): 688-692
- [33] Chen J, Zhuang Y, Sng MK, et al. The potential of the FSP1^{cre}-Pparb/d/ mouse model for studying juvenile NAFLD. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5115
- [34] Liu M, Kong XY, Yao Y, et al. The critical role and molecular mechanisms of ferroptosis in antioxidant systems: a narrative review. *Ann Transl Med*, 2022, 10(6): 368
- [35] Kraft VAN, Bezjian CT, Pfeiffer S, et al. GTP cyclohydrolase 1/tetrahydrobiopterin counteract ferroptosis through lipid remodeling. *ACS Cent Sci*, 2020, 6(1): 41-53
- [36] Ipsen DH, Lykkesfeldt J, Tveden-Nyborg P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(18): 3313-3327
- [37] Byrne CD. Ectopic fat, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease. *Proc Nutr Soc*, 2013, 72(4): 412-419
- [38] Folgueras AR, Freitas-Rodríguez S, Ramsay AJ, et al. Matriptase-2 deficiency protects from obesity by modulating iron homeostasis. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1350
- [39] 张文霞, 吴惠妃, 杨静, 等. 鳄嘴花对代谢相关脂肪性肝病小鼠TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(5): 593-598
- [40] Gao G, Xie Z, Li EW, et al. Dehydroabietic acid improves nonalcoholic fatty liver disease through activating the Keap1/Nrf2-ARE signaling pathway to reduce ferroptosis. *J Nat Med*, 2021, 75(3): 540-552
- [41] Li X, Wang TX, Huang X, et al. Targeting ferroptosis alleviates methionine-choline deficient (MCD)-diet induced NASH by suppressing liver lipotoxicity. *Liver Int*, 2020, 40(6): 1378-1394
- [42] Wei S, Qiu T, Wang N, et al. Ferroptosis mediated by the interaction between Mfn2 and IREα promotes arsenic-induced nonalcoholic steatohepatitis. *Environ Res*, 2020, 188: 109824
- [43] Kim KM, Cho SS, Ki SH. Emerging roles of ferroptosis in liver pathophysiology. *Arch Pharm Res*, 2020, 43(10): 985-996
- [44] Jia M, Zhang H, Qin Q, et al. Ferroptosis as a new therapeutic opportunity for nonviral liver disease. *Eur J Pharmacol*, 2021, 908: 174319
- [45] Gao H, Jin Z, Bandyopadhyay G, et al. Aberrant iron distribution via hepatocyte-stellate cell axis drives liver lipogenesis and fibrosis. *Cell Metab*, 2022, 34(8): 1201-1213
- [46] 王家琪, 李惠怡, 黄于乔, 等. 铁死亡在肝脏疾病中的作用及治疗策略. *药科学报*, 2022, 57(6): 1604-1613
- [47] 曾胜澜, 王娜, 张荣臻, 等. 代谢相关脂肪性肝病的治疗研究进展. *中西医结合肝病杂志*, 2022, 32(3): 285-288
- [48] Jiang JJ, Zhang GF, Zheng JY, et al. Targeting mitochondrial ROS-mediated ferroptosis by quercetin alleviates high-fat diet-induced hepatic lipotoxicity. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 876550
- [49] Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by Nrf2. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(17): 1727-1745
- [50] Wu J, Wang Y, Jiang R, et al. Ferroptosis in liver disease: new insights into disease mechanisms. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 276
- [51] Lim PJ, Duarte TL, Arezes J, et al. Nrf2 controls iron homeostasis in haemochromatosis and thalassaemia via Bmp6 and hepcidin. *Nat Metab*, 2019, 1(5): 519-531
- [52] Schwartz AJ, Goyert JW, Solanki S, et al. Hepcidin sequesters iron to sustain nucleotide metabolism and mitochondrial function in colorectal cancer epithelial cells. *Nat Metab*, 2021, 3(7): 969-982
- [53] Yan C, Zhang Y, Zhang X, et al. Curcumin regulates endogenous and exogenous metabolism via Nrf2-FXR-LXR pathway in NAFLD mice. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105: 274-281
- [54] Li J, Wang T, Liu P, et al. Hesperetin ameliorates hepatic oxidative stress and inflammation via the PI3K/AKT-Nrf2-ARE pathway in oleic acid-induced HepG2 cells and a rat model of high-fat diet-induced NAFLD. *Food Funct*, 2021, 12(9): 3898-3918
- [55] 马志红, 廉猛, 苏才丽, 等. 铁死亡与肿瘤的研究进展. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(11): 1247-1251
- [56] Song X, Zhu S, Chen P, et al. AMPK-mediated BECN1 phosphorylation promotes ferroptosis by directly blocking system Xc⁻ activity. *Curr Biol*, 2018, 28(15): 2388-2399
- [57] Liu T, Jiang L, Tavana O, et al. The deubiquitylase OTUB1 mediates ferroptosis via stabilization of SLC7A11. *Cancer Res*, 2019, 79(8): 1913-1924
- [58] Niu B, Liao K, Zhou Y, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: enhanced ROS-based therapy,

- ferroptosis, and chemotherapy. [Biomaterials](#), 2021, 277: 121110
- [59] Zheng J, Conrad M. The metabolic underpinnings of ferroptosis. [Cell Metab](#), 2020, 32(6): 920-937
- [60] Goutzourelas N, Orfanou M, Charizanis I, et al. GSH levels affect weight loss in individuals with metabolic syndrome and obesity following dietary therapy. [Exp Ther Med](#), 2018, 16(2): 635
- [61] Qi J, Kim JW, Zhou Z, et al. Ferroptosis affects the progression of nonalcoholic steatohepatitis via the modulation of lipid peroxidation-mediated cell death in mice. [Am J Pathol](#), 2020, 190(1): 68-81
- [62] Yang W, Zhao J, Zhao Y, et al. Hsa_circ_0048179 attenuates free fatty acid-induced steatosis via hsa_circ_0048179/miR-188-3p/GPX4 signaling. [Aging](#), 2020, 12(23): 23996-24008
- [63] Bersuker K, Peterson CWH, To M, et al. A proximity labeling strategy provides insights into the composition and dynamics of lipid droplet proteomes. [Dev Cell](#), 2018, 44(1): 97-112
- [64] Shimada K, Hayano M, Pagano NC, 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(2): 225-235
- [65] Hu Q, Wei W, Wu D, et al. Blockade of GCH1/BH4 axis activates ferritinophagy to mitigate the resistance of colorectal cancer to erastin-induced ferroptosis. [Front Cell Dev Biol](#), 2022, 10: 810327
- [66] Kawabata H. Transferrin and transferrin receptors update. [Free Radical Biol Med](#), 2019, 133: 46-54
- [67] Brown CW, Amante JJ, Chhoy P, et al. Prominin2 drives ferroptosis resistance by stimulating iron export. [Dev Cell](#), 2019, 51(5): 575-586
- [68] Lei P, Tian S, Teng C, et al. Sulforaphane improves lipid metabolism by enhancing mitochondrial function and biogenesis *in vivo* and *in vitro*. [Mol Nutr Food Res](#), 2019, 63(4): 1800795