

铁死亡及其在心血管疾病中的作用

张静 赵外荣 施雯婷 周忠焱 陈昕琳

【摘要】 铁死亡是近年发现的一种细胞程序性死亡方式,以铁依赖性脂质活性氧增多为主要特点,与铁代谢异常及脂质过氧化等密切相关,其细胞死亡特征不同于传统的坏死、凋亡、自噬等细胞死亡形式,形态学上主要表现为线粒体缩小,细胞膜密度增大,但细胞核形态不变。该文介绍谷氨酸-胱氨酸转运受阻、氧化应激、铁代谢异常、脂质过氧化与铁死亡的关系,及铁死亡对心血管疾病(包括心肌梗死和动脉粥样硬化)的影响。

【关键词】 铁死亡;铁代谢异常;脂质过氧化;心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.06.006

铁死亡(ferroptosis)是一种新型细胞程序性死亡方式,是由于细胞内铁依赖性脂质活性氧(ROS)积聚过多而发生的一种可调节性细胞死亡形式^[1]。铁死亡的调节与众多机体生理过程密切相关,包括氨基酸、铁和多不饱和脂肪酸代谢等,且参与多种疾病如肿瘤、组织缺血再灌注损伤、急性肾功能衰竭和神经病变等的发生与发展^[2]。铁死亡已成为药物设计和研发的重要靶点。研究表明,通过设计特定小分子物质能有效调节细胞脂质过氧化,使铁死亡成为一个可控过程^[3]。铁死亡与心血管疾病也有着密切关系,本文介绍铁死亡的发生机制及其在心血管疾病中的作用。

1 铁死亡的发生机制

铁死亡的发生涉及谷氨酸-胱氨酸转运受阻、氧化应激、铁代谢异常和脂质过氧化等多种途径。这些病理过程均会产生过量的脂质 ROS,超出机体的还原代谢能力,最终导致细胞发生铁死亡(见图 1)。

1.1 谷氨酸-胱氨酸转运受阻

谷氨酸-胱氨酸转运体由溶质转运蛋白家族 3 成员 2 (SLC3A2) 和溶质载体家族 7 成员 11 (SLC7A11) 组成,广泛存在于磷脂双分子中,正常情况下细胞外胱氨酸与胞内谷氨酸在谷氨酸-胱氨酸

转运体的作用下有序地进行转运交换^[4-5]。胱氨酸进入细胞内转换为半胱氨酸(Cys),参与谷胱甘肽(GSH)的合成,GSH 作为细胞内重要的抗氧化剂和自由基清除剂,能及时有效地清除细胞内过多的 ROS。GSH 是谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)4 发挥抗氧化功能所必需的辅助因子^[6],当谷氨酸-胱氨酸转运体转运受阻时,胱氨酸无法进入细胞内,胞内 Cys 含量减少,相应的 GSH 合成也随之减少,使得 GPX4 的活性缺失,清除脂质 ROS 的能力下降,脂质 ROS 堆积,加剧了细胞铁死亡的发生。

1.2 氧化应激

氧化应激是动脉粥样硬化、心肌梗死、心律失常等心血管疾病的重要病理特征,核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/血红素加氧酶-1(HO-1)轴是调节氧化应激反应的关键信号通路^[7]。Nrf2 增加谷氨酸-胱氨酸转运体的转运,增强 GPX4 的还原能力,抑制细胞铁死亡的发生。研究发现,在大鼠缺血再灌注模型中,激活 Nrf2/抗氧化反应元件(ARE)信号通路,上调超氧化物歧化酶(SOD)和 GPX 等抗氧化酶水平,能有效改善大鼠心脏功能,清除 ROS 等有害物质,减少心肌细胞铁死亡,减少心肌梗死面积^[8-9]。Nrf2 是脂质过氧化的关键缓解因素,HO-1、NQO1、MRP 等 Nrf2 靶基因能介导细胞的氧化应激反应和铁代谢过程,调节谷氨酸-胱氨酸转运体和 GPX4,在铁死亡中发挥关键作用^[10]。因此,氧化应激在铁死亡中有重要作用,而激活 Nrf2 信号通路是抑制铁死亡的重要途径。

1.3 铁代谢异常(铁过载)

铁是人体重要的必需微量元素,正常人体内 2 分子三价铁离子(Fe^{3+})结合 1 分子转铁蛋白(Tf)形成

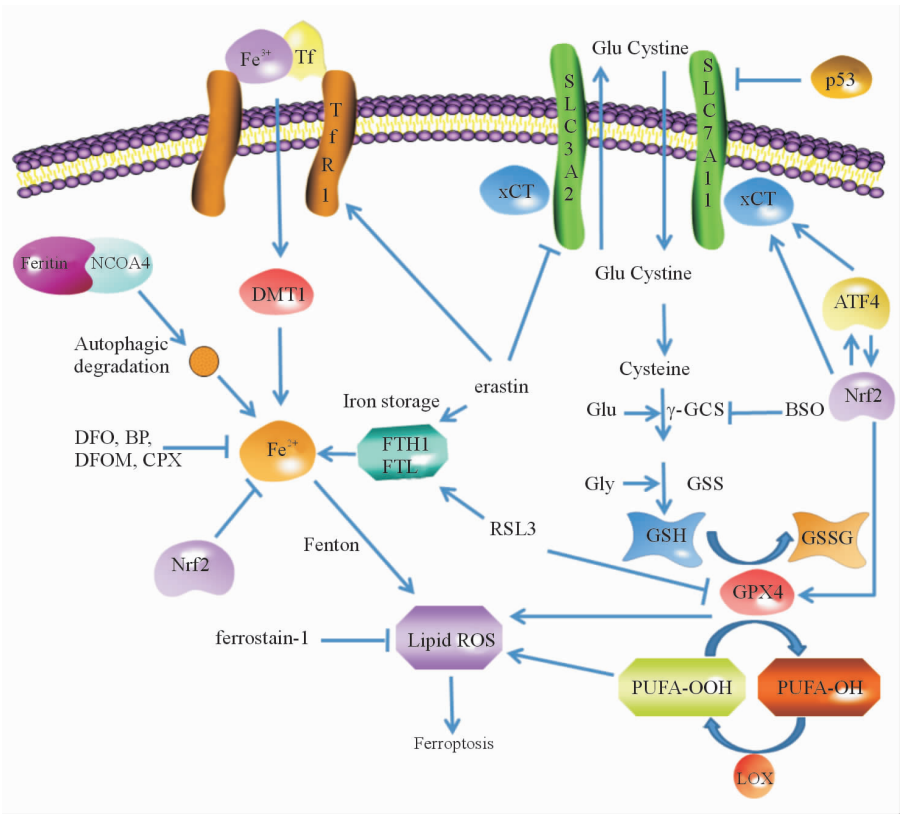
基金项目:徐汇区卫生和计划生育委员会重要疾病联合攻关项目(XHLHGG201803);上海市中医药事业发展三年行动计划[Zy-(2018-2020)-FWTX-8001];中医药文化背景下的医养结合示范工程建设(A1-N19205010302);上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划项目(GWIV-28)

作者单位:上海中医药大学附属龙华医院心内科

通信作者:陈昕琳,E-mail:heal7374@163.com

复合物,细胞膜表面的转铁蛋白受体 1(TfR1)将 Fe^{3+} 转运到细胞中,细胞内还原酶将 Fe^{3+} 还原为二价铁离子(Fe^{2+}),此过程受到铁蛋白和铁调素等多种调节蛋白的影响^[11-12]。铁死亡诱导剂爱拉斯汀(erastin)和 RAS 合成致死物 3(RSL3)通过上调 TfR1 的表达,增加对铁的摄取,同时下调铁蛋白重链 1(FTH1)和铁蛋白轻链(FTL)的表达,减少铁的储存,使大量游离铁释放^[13]。机体铁代谢平衡破坏会引起一系列疾

病,主要机制为细胞内 Fe^{2+} 增多时,机体会通过芬顿(Fenton)反应产生大量对细胞有较强毒性的羟自由基及大量 ROS,从而破坏细胞蛋白质、脂质和 DNA,对细胞和组织造成损伤^[14]。同时,铁也是脂质过氧化和铁死亡过程中所必须的元素。因此,铁过载会加剧铁死亡的发生,铁代谢异常是细胞铁死亡过程的重要表现。



注:SLC3A2 为溶质转运蛋白家族 3 成员 2;SLC7A11 为溶质载体家族 7 成员 11;System Xc-为谷氨酸-胱氨酸转运体;Tf 为转铁蛋白;Cysteine 为半胱氨酸;TfR1 为转铁蛋白受体 1;Cystine 为胱氨酸;Glu 为谷氨酸; γ -GCS 为 γ -谷氨酰半胱氨酸转氨酶;Gly 为甘氨酸;BSO 为丁硫氨酸亚砷胺;GSS 为谷胱甘肽合成酶;GSH 为谷胱甘肽;GSSG 为氧化型谷胱甘肽;Nrf2 为核因子 E2 相关因子 2;GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4;PUFA-OOH 为多不饱和脂肪酸的氢过氧化物;PUFA-OH 为多不饱和脂肪酸的氢氧化物;LOX 为脂氧合酶;erastin 为爱拉斯汀(铁死亡诱导剂);RSL3 为 RAS 合成致死物 3(铁死亡诱导剂);DMT1 为金属离子转运体 1;Fenton 为芬顿反应;Ferritin 为铁蛋白;NCOA4 为核受体辅激活因子 4;DFO 为去铁胺;BP 为一种新型铁离子螯合剂;DFOM 为去铁敏;CPX 为一种铁离子螯合剂;FTH1 为铁蛋白重链 1;FTL 为铁蛋白轻链;ferrostatin-1 为一种铁死亡抑制剂;Lipid ROS 为脂质活性氧

图 1 铁死亡发生的机制

1.4 脂质过氧化

脂质过氧化是 ROS 氧化生物膜的过程,在机体的新陈代谢中起着重要作用。过量的 ROS 与细胞膜的磷脂、酶和膜受体相关的多不饱和脂肪酸的侧链及核酸等大分子物质发生脂质过氧化反应形成脂质过氧化产物(LPO),使细胞膜的流动性和通透性发生改变,最终导致细胞结构和功能的改变^[15]。铁死亡的发生主要是由于脂质修复酶 GPX4 的失活

引起脂质过氧化物的积累,从而驱动细胞死亡,由此可见,脂质过氧化与细胞铁死亡有着密切联系。Doll 等^[16]通过敲除细胞长链脂酰辅酶 A 合成酶 4 (ACSL4)基因,发现细胞铁死亡受到明显抑制,表明 ACSL4 通过氧化细胞膜磷脂驱动铁死亡。随着研究的不断深入,亚油酸和花生四烯酸等多不饱和脂肪酸(PUFA)的过氧化作用被证明是铁死亡的主要影响因素,其表现出对铁死亡的高度敏感性,并

能进一步加剧细胞铁死亡^[17]。因此,脂质过氧化反应能驱动细胞发生铁死亡。

2 铁死亡与其他程序性死亡方式的关系

铁死亡与其他程序性死亡如自噬、凋亡等既有区别,又有着密切联系。铁死亡在细胞形态上的改变主要为线粒体膜密度增加和线粒体收缩,而自噬以双层膜自噬空泡的形成,凋亡以染色质凝集、凋亡小体的形成为主要标志。

2.1 铁死亡与自噬

铁死亡与自噬相互协同。铁死亡诱导剂和抑制剂均能够影响细胞自噬的发生。而自噬能诱导 Tfr1 的表达,同时铁蛋白在自噬溶酶体内可部分降解,释放铁离子,过多的铁离子被运输回胞质,引起氧化应激反应,导致细胞发生铁死亡^[18-20]。铁死亡与自噬过程存在分子间的相互作用,铁死亡激动剂会触发自噬过度激活,导致自噬小体的积聚,从而诱导细胞发生铁死亡,其中核受体辅激活因子 4 (NCOA4)介导的自噬能促进铁蛋白吞噬从而加速铁死亡的发生^[21]。

2.2 铁死亡与凋亡

内质网应激介导的蛋白激酶 R 样内质网激酶 (PERK)-真核细胞起始因子 2 α (EIF2 α)-激活转录因子 4 (ATF4)-C/EBP 同源蛋白 (CHOP)-p53 上调凋亡调控因子 (PUMA)途径参与了铁死亡和细胞凋亡过程^[22]。p53 作为肿瘤抑制因子,可以调控细胞的生物学过程和各种代谢途径,促进 ROS 的生成,诱导细胞凋亡或铁死亡^[23]。铁死亡诱导剂 erastin 与肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TRAIL)之间具有协同作用,研究发现 erastin 通过 CHOP 诱导内质网应激,促进 p53 上调凋亡调节剂 PUMA 的表达,在缺乏 PUMA 的人结直肠癌 HCT116 细胞和缺乏 CHOP 的小鼠胚胎成纤维细胞中,erastin 与 TRAIL 的协同作用被消除,而在缺乏 p53 的 HCT116 细胞中,erastin 与 TRAIL 的协同作用仍存在,表明 p53 独立的 CHOP/PUMA 轴参与了细胞铁死亡过程^[24]。因此,在一定程度上细胞凋亡参与了铁死亡的发生。

3 铁死亡对心血管疾病的影响

研究表明,铁死亡参与了心血管疾病的发生发展,特别是在心肌梗死和动脉粥样硬化中发挥着重要作用(见图 2)。

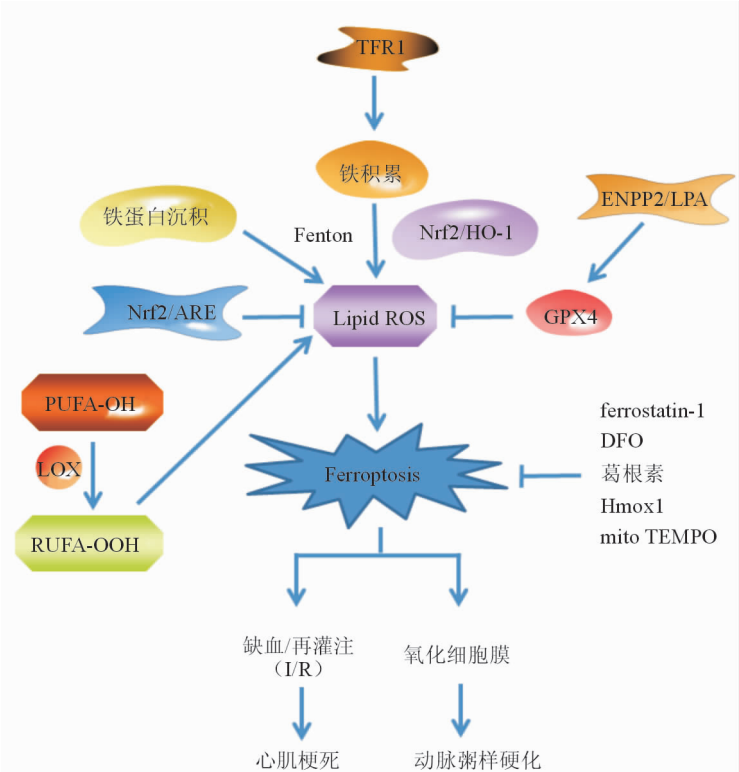
3.1 心肌梗死

心肌梗死是临床中常见且危险性较高的心血管疾病,其发病呈现年轻化趋势^[25]。经皮冠状动脉介入术等治疗手段可使缺血心肌组织在短时间内恢复血供,但同时也产生再灌注损伤,影响患者缺血/再灌注 (I/R)后心脏结构和功能的恢复^[26]。因此,减少 I/R 引起的心肌细胞损伤成为心肌梗死治疗及预后的关键。

铁死亡是心肌细胞死亡的重要形式^[27]。研究表明,核苷酸焦磷酸酶 2 抗体 (ENPP2)/溶血磷脂酸 (LPA)通过调节 GPX4、ACSL4 和 Nrf2 的表达以及增强丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (Akt)信号来保护心肌细胞免受铁死亡诱导剂 erastin 诱导的细胞死亡^[28]。为评估 I/R 后心脏中的铁积累水平,Baba 等^[29]通过心脏冠状动脉左前降支结扎制备小鼠 I/R 损伤模型,发现 I/R 损伤 30 min 后铁蛋白沿心肌瘢痕区积聚,铁积累诱导心肌细胞死亡,该过程可能主要受 Tfr1 调节。Fang 等^[30]研究发现,通过铁死亡抑制剂 ferrostatin-1、铁螯合剂去铁胺 (DFO)、线粒体靶向抗氧化剂 mitoTEMPO、血红素加氧酶 1 (HO-1)以及低铁饮食等措施能有效防治铁死亡介导的心脏损伤,这为心肌病及心肌梗死等心脏疾病提供了新的预防及治疗思路。

3.2 动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病,血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞等参与其病理生理过程^[31]。动脉粥样硬化与体内铁水平的变化密切相关,铁过载可促进氧化应激、脂质过氧化等病理过程,增加斑块的不稳定性,脂质过氧化、斑块内出血和铁沉积是晚期动脉粥样硬化斑块的重要特征,这间接说明铁死亡可能参与动脉粥样硬化的发展^[32]。铁死亡的关键酶 GPX4 活性丧失,可导致大量脂质过氧化物积累,驱动铁死亡,进一步影响动脉粥样硬化的进展^[33]。铁螯合剂的使用能够有效缩小动脉粥样硬化斑块的面积,稳定斑块,减缓动脉粥样硬化的进展^[34]。这些研究都提示铁过载及脂质过氧化在动脉粥样硬化的发生发展中起重要作用,铁死亡与动脉粥样硬化密切相关。因此,清除过量的铁及减少 ROS 的产生可能是今后治疗和预防动脉粥样硬化的新策略。



注: Hmox1 (HO-1) 为血红素加氧酶 1; ARE 为抗氧化反应元件; mitoTEMPO 为一种线粒体靶向超氧化物歧化酶; ENPP2/LPA 为核苷酸焦磷酸酶 2 抗体/溶血磷脂酸

图 2 铁死亡引起心血管疾病

4 小结

铁死亡导致心血管疾病的主要机制是谷氨酸-胱氨酸转运受阻、铁过载、氧化应激和脂质过氧化反应, 阻断这些环节, 能有效防治心肌梗死、动脉粥样硬化及其他继发性心血管疾病的发生。随着基础研究不断深入, 铁死亡在心血管疾病中的作用机制也会不断完善。铁死亡抑制剂、抗氧化剂、铁螯合剂等有望为心血管疾病治疗带来新的希望。

参考文献

[1] 李博文, 王志维. 铁死亡是一种新的调节性细胞死亡形式[J]. 基础医学与临床, 2019, 39(2):247-251.

[2] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease[J]. Cell, 2017, 171(2):273-285.

[3] Conrad M, Pratt DA. The chemical basis of ferroptosis[J]. Nat Chem Biol, 2019, 15(12):1137-1147.

[4] Bi J, Yang S, Li L, et al. Metadherin enhances vulnerability of cancer cells to ferroptosis[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(10):682.

[5] 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.

[6] Latunde-Dada GO. Ferroptosis: role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy[J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj,

2017, 1861(8):1893-1900.

[7] 王甜甜, 陈淳媛, 杨雷, 等. Nrf2/HO-1 信号轴在氧化应激性疾病中的机制[J]. 中南大学学报(医学版), 2019, 44(1):74-80.

[8] Krajka-Kuzniak V, Paluszczak J, Baer-Dubowska W. The Nrf2-ARE signaling pathway: an update on its regulation and possible role in cancer prevention and treatment [J]. Pharmacol Rep, 2017, 69(3):393-402.

[9] 黄新宇, 刘永林. 白藜芦醇激活 Nrf2/ARE 信号通路降低心肌缺血再灌注损伤大鼠炎症和氧化应激[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(6):1516-1520.

[10] Dodson M, Castro-Portuguez R, Zhang DD, et al. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis[J]. Redox Biol, 2019, 23:101107.

[11] 李坪芬, 王渠源. 铁死亡调控机制及其在卵巢癌中的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2019, 46(4):458-461.

[12] Lei P, Bai T, Sun Y. Mechanisms of ferroptosis and relations with regulated cell death: a review[J]. Front Physiol, 2019, 10:139.

[13] Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells [J]. Chem Biol, 2008, 15(3):234-245.

[14] Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, et al. Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease[J]. Arch Toxicol, 2016, 90(1):1-37.

- [15] Jana T, Tzveta S, Zlatina N, et al. Effect of endurance training on diurnal rhythms of superoxide dismutase activity, glutathione and lipid peroxidation in plasma of pinealectomized rats[J]. *Neurosci Lett*, 2020, 716:134637.
- [16] 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.
- [17] Kagan VE, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1):81-90.
- [18] Kang R, Tang D. Autophagy and ferroptosis—what’s the connection? [J]. *Curr Pathobiol Rep*, 2017, 5(2):153-159.
- [19] Ma S, Dielschneider RF, Henson ES, et al. Ferroptosis and autophagy induced cell death occur independently after siramesine and lapatinib treatment in breast cancer cells[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8):e0182921.
- [20] Park E, Chung SW. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (11):822.
- [21] Zhou B, Liu J, Kang R, et al. Ferroptosis is a type of autophagy-dependent cell death [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 66:89-100.
- [22] Lee YS, Lee DH, Choudry HA, et al. Ferroptosis-induced endoplasmic reticulum stress: cross-talk between ferroptosis and apoptosis [J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16 (7): 1073-1076.
- [23] Mao C, Wang X, Liu Y, et al. A G3BP1-interacting lncRNA promotes ferroptosis and apoptosis in cancer via nuclear sequestration of p53 [J]. *Cancer Res*, 2018, 78 (13): 3484-3496.
- [24] Hong SH, Lee DH, Lee YS, et al. Molecular crosstalk between ferroptosis and apoptosis: emerging role of ER stress-induced p53-independent PUMA expression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(70):115164-115178..
- [25] Gulati R, Behfar A, Narula J, et al. Acute myocardial infarction in young individuals[J]. *Mayo Clin Proc*, 2020, 95 (1):136-156.
- [26] 彭军. 铁坏死: 缺血/再灌注后心肌细胞死亡的一种新方式 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(8):757-760.
- [27] 李文远, 夏中元, 李维, 等. 铁死亡在心肌缺血再灌注损伤中作用研究进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2019, 33 (6):607-610.
- [28] Bai YT, Chang R, Wang H, et al. ENPP2 protects cardiomyocytes from erastin-induced ferroptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499(1):44-51.
- [29] Baba Y, Hiqa JK, Shimada BK, et al. Protective effects of the mechanistic target of rapamycin against excess iron and ferroptosis in cardiomyocytes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 314(3):H659-H668.
- [30] Fang X, Wang H, Han D, et al. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(7):2672-2680.
- [31] Rao C, Liu B, Huang D, et al. Nucleophosmin contributes to vascular inflammation and endothelial dysfunction in atherosclerosis progression[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, Dec 25. [Epub ahead of print].
- [32] Martinet W, Coornaert I, Puylaert P, et al. Macrophage death as a pharmacological target in atherosclerosis[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:306.
- [33] Feng H, Stockwell BR. Unsolved mysteries: How does lipid peroxidation cause ferroptosis? [J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(5): e2006203.
- [34] Sung KC, Kang SM, Cho EJ, et al. Ferritin is independently associated with the presence of coronary artery calcium in 12,033 men[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32 (10):2525-2530.

(收稿:2020-04-02 修回:2020-09-01)

(本文编辑:胡晓静)