

张桂洪,唐旭东.铁死亡与免疫细胞关系的研究进展[J].中国比较医学杂志,2023,33(3):90-97.

Zhang GH, Tang XD. Research progress on the relationship between ferroptosis and immune cells [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(3): 90-97.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.03.012

铁死亡与免疫细胞关系的研究进展

张桂洪^{1,2,3},唐旭东^{1,2,3*}

(1.广东医科大学生物化学与分子生物学研究所,广东 湛江 524023;2.广东医科大学抗肿瘤活性物质研发协同创新中心,广东 湛江 524023;3.广东医科大学医学技术学院,广东 东莞 523808)

【摘要】 铁死亡(Ferroptosis)是一种铁依赖的新型细胞程序性死亡方式,其特征是活性氧(reactive oxygen species, ROS)和脂质过氧化的过量蓄积。铁死亡在免疫调节方面作用的研究越来越多,而免疫细胞是机体免疫系统最重要的一环,本文阐述铁死亡与免疫细胞关系的研究进展,首先阐明铁死亡核心靶点谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, Gpx4)在各种免疫细胞增殖和免疫反应中的作用,其次总结细胞发生铁死亡能释放包括损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)等多种分子,这些分子能影响免疫细胞的分化与功能,进而影响疾病的发生和进展。同时,免疫细胞分泌免疫因子或其代谢物也能影响细胞铁死亡的发生。最后,我们对未来的研究进行了简要的总结和展望,这将有助于指导疾病治疗方向。

【关键词】 铁死亡;免疫细胞;谷胱甘肽过氧化物酶4;损伤相关的分子模式

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 03-0090-08

Research progress on the relationship between ferroptosis and immune cells

ZHANG Guihong^{1,2,3}, TANG Xudong^{1,2,3*}

(1. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China.
2. Collaborative Innovation Center for Antitumor Active Substance Research and Development, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023. 3. School of Medical Technology, Guangdong Medical University, Dongguan 523808)

【Abstract】 Ferroptosis is novel iron-dependent programmed cell death characterized by excessive accumulation of reactive oxygen species and lipid peroxidation. In recent years, an increasing number of studies have focused on the roles of immunomodulation in ferroptosis. Immune cells are the most important part of the immune system. This review discusses the current research progress on the relationship between ferroptosis and immune cells. The role of glutathione peroxidase 4 (Gpx4) in immune cell proliferation and the immune response is summarized. Ferroptosis releases various molecules including damage-associated molecular patterns, which influences the differentiation and function of immune cells and thereby affects disease progression. Moreover, immune factors or their metabolites secreted by immune cells affect the occurrence of ferroptosis. This review concludes with a brief summary and outlook for future research, which may be helpful to guide the direction of disease treatment.

【Keywords】 ferroptosis; immune cells; glutathione peroxidase 4; damage-associated molecular patterns

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

铁死亡(ferroptosis)是一种铁依赖性的活性氧(reactive oxygen species, ROS)上调的新型细胞程序性死亡方式,区别于细胞凋亡、细胞坏死、细胞自噬等其他的细胞程序性死亡^[1]。铁死亡的主要机制

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(81372511);广东省基础与应用基础研究基金(2019A1515011081,2023A1515010103);广东省普通高校特色创新类项目(自然科学)(2022KTSCX048)。

【作者简介】张桂洪(1997—),男,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤药理。E-mail:1583712716@qq.com

【通信作者】唐旭东(1968—),女,博士,教授,硕士生导师,研究方向:铁死亡机制、天然药物抗肿瘤药理机制的研究。

E-mail:tangxudong2599@126.com

是在 Fe^{2+} 或酯氧合酶的作用下,催化细胞膜上高表达的不饱和脂肪酸,发生脂质过氧化,从而诱导细胞死亡,因此细胞的铁稳态、多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 的代谢和氧化以及抗氧化系统是影响铁死亡最主要的因素,涉及一系列的蛋白分子调控,如控制铁稳态的转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TFR) 、溶质载体家族 40 成员 1 (solute carrier family 40 member 1, SLC40A1) 又叫膜铁转运蛋白 (ferroportin, FPN), 以及存储铁作用的铁蛋白 (ferritin) 等,影响多不饱和脂肪酸代谢与氧化的乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACC)、长链酯酰辅酶 A 合成酶 4 (acyl-CoA synthetase long chain family member 4, ACSL4)、溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3) 和脂氧合酶 (lipoxygenases, LOX) 等,以及抗氧化系统最重要的谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, Gpx4), 可以直接将磷脂过氧化氢还原为羟基磷脂^[2]。

在形态上,铁死亡会导致细胞线粒体比正常细胞线粒体小、膜密度增高、嵴减少,但是细胞核完整^[1]。铁死亡与人类疾病息息相关,铁死亡参与肿瘤发展、退行性疾病、缺血性灌注等疾病^[3]。本文阐述铁死亡在免疫细胞中的研究进展,免疫细胞有巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等。此综述就 Gpx4 对免疫细胞的作用以及免疫细胞与铁死亡的相互作用展开论述,揭示铁死亡与免疫细胞的关系。

1 Gpx4 对免疫细胞的作用

1.1 Gpx4 对 T 细胞的作用

铁死亡靶点 Gpx4 对维持细胞抗氧化稳态具有核心作用,了解 Gpx4 在免疫细胞中的作用能更好地认识免疫细胞发生铁死亡的潜在因素。血细胞主要来源于骨髓,骨髓中的多能造血干细胞 (包括髓样干细胞和淋巴样干细胞) 分化为各系造血祖细胞,从而定向发育为各系原始细胞,各系原始细胞在不同条件和场所下进一步发育成各种成熟的血细胞。淋巴样干细胞经血液循环进入胸腺,在胸腺中完成 T 细胞的发育成熟,随后 T 细胞被释放出来接受抗原刺激增殖分化。Matsushita 等^[4]探究 Gpx4 对 T 细胞外周增殖的影响,建立淋巴减少驱动增殖小鼠模型,将野生型和 Gpx4 敲除型 T 细胞过继到小鼠模型中,野生型供体细胞移植后 T 细胞正常增

殖,而 Gpx4 缺陷型 CD4^+ 和 CD8^+ T 细胞在转移后 7 d 迅速丢失并经历铁死亡,显示出 Gpx4 对 CD4^+ 和 CD8^+ T 细胞增殖存活的内在作用。外周 T 细胞稳态维持依赖于胸腺输出的 T 细胞和外周 T 细胞的自我增殖^[5],对于 T 细胞外周稳态的维持,T 细胞在静止状态下生存需要自我 MHC/肽识别提供一个阈值信号,以及一些细胞激活类因子,在某些与淋巴细胞减少症有关的条件下这种信号作用可能变得明显,这种自我 MHC/肽识别提供了一个增殖诱导信号,并导致 T 细胞的增殖和效应细胞的产生^[6],此外 ROS 作为 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 信号转导中的第二信使对增殖和效应功能的产生非常重要^[7]。有研究报道,在不同强度的抗 CD3/CD28 刺激下培养的 CD4^+ T 细胞中,脂质 ROS 和细胞膜 ROS 的水平是紧密相关的,并且不同类型的 TCR 和共刺激信号之间所诱导的脂质过氧化和铁死亡的敏感性也有差异^[8]。因此,Gpx4 在 T 细胞 TCR 反应中至关重要,其可保护 T 细胞免受铁死亡。并且缺乏 Gpx4 的 CD8^+ T 和 CD4^+ T 细胞接受病毒或寄生虫感染刺激后均未能增殖,并经历了铁死亡。

有趣的是,缺乏 Gpx4 不影响记忆表型的 CD4^+ 和 CD8^+ T 细胞外周稳态和次级 T 细胞反应^[4],这或许跟效应细胞和记忆细胞不同的代谢活动有关,效应细胞在能量利用上以有氧糖酵解方式,而记忆细胞依靠氧化磷酸化,与效应细胞相比,记忆细胞具有更大的线粒体备用呼吸能力,产生更少的超氧化物^[9]。此外,Wang 等^[10]对长期维持记忆性 CD4^+ T 细胞池的机制展开研究,发现雷帕霉素复合物 2 (mammalian target of rapamycin complex 2, mTORC2) 的丝氨酸/苏氨酸激酶复合物靶点对病毒特异性记忆 CD4^+ T 细胞的长期维持至关重要,机制上 mTORC2-AKT-GSK3 β 轴可能保持线粒体膜上电压依赖性阴离子通道的开放状态,维持线粒体正常的 ROS 水平,同时该轴可以上调核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid2-related factor 2, Nrf2) 的表达,Nrf2 可以上调 Gpx4 的表达^[11]。

Gpx4 缺失却不影响调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 的增殖,可能与 Tregs 自身的硫氧还蛋白-1 的产生增加,增强对氧化应激的耐受性有关^[4,12],表明不同 T 细胞亚群生存对 Gpx4 要求不同。Tregs 是一类控制体内自身免疫反应性的 T 细胞亚群,Tregs 是 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+$ 的 T 细胞,能在

具有持续性氧化应激的肿瘤微环境中生存,并且 Tregs 在肿瘤内细胞的比例升高往往与各种癌症患者的不良预后和低生存率相关,对 Tregs 的 Gpx4 特异性敲除,损害了 Tregs 肿瘤内的存活,增加 T 细胞肿瘤中的浸润,并增强了抗肿瘤免疫反应,显示出 Gpx4 维持了瘤内 Tregs 的生存和免疫抑制功能,以促进肿瘤免疫逃避^[13];滤泡辅助性 T 细胞(follicular helper T cell, Tfh)参与生发中心形成和 B 细胞分化,Tfh 在生发中心与 B 细胞相互作用时经常接受到 TCR、CD28 和 PD-1 信号,引起 Tfh 中细胞和脂质 ROS 升高,并使 Tfh 的铁死亡敏感性增加,敲除 Gpx4 会导致 Tfh 铁死亡和生发中心反应的丧失^[8]。

综上所述,T 细胞的 TCR 反应参与 T 细胞增殖、免疫反应等各种生理功能,ROS 与 TCR 反应密切相关,ROS 对 T 细胞的生理功能有着重要的作用,而 Gpx4 对 T 细胞过多的 ROS 引起的氧化应激起着重要的保护作用,Gpx4 缺失下 T 细胞容易遭受铁死亡。T 细胞的增殖、T 细胞初级免疫反应、Tfh 参与生发中心反应需要 Gpx 保护免受铁死亡,而 Treg 增殖、记忆 T 细胞外周稳态和次级 T 细胞反应对 Gpx4 的需求不是必不可少的,不同的 T 细胞亚群对 Gpx4 的依赖不一样,可能跟某些 T 细胞亚群自身的代谢活动或不同的抗氧化机制有关。

1.2 Gpx4 对 B 细胞的作用

B 细胞在骨髓中发育成熟,此时是 B 细胞抗原非依赖期,随后离开骨髓进入血液,经历了过渡 1B 细胞和过渡 2B 细胞转化到达脾脏或淋巴结,过渡 2B 细胞在小鼠中转变为滤泡 B 细胞、边缘区 B 细胞,B1 细胞转变发生在骨髓中。滤泡 B 细胞抗体产生是 T 细胞依赖的,而 B1 和边缘区 B 细胞对血源性抗原的反应很快,抗体产生是 T 细胞非依赖性^[14]。Muri 等^[15]研究不同亚型的 B 细胞在 Gpx4 缺失下的生存情况,滤泡 B 细胞在 Tfh 的帮助下进行生发中心反应,产生高亲和力的抗体反应,滤泡 B 细胞在缺乏 Gpx4 情况下,发育、稳态增殖、生发中心反应和抗体反应中没有受到影响,而 Gpx4 在 B1 和边缘区 B 细胞的发育、稳态维持以及对肺炎链球菌的抗体反应中是必不可少的,可能是因为 B1 和边缘区 B 细胞跟滤泡 B 细胞有着不同的代谢过程,B1 和边缘区 B 细胞大量吸收脂肪酸以维持代谢功能,而过多的脂肪酸在 Gpx4 缺失下容易遭受过氧化,更容易发生细胞铁死亡^[15]。

1.3 Gpx4 对巨噬细胞的作用

组织驻留巨噬细胞可以从骨髓释放的单核细

胞分化而来,也可以在胚胎发育过程中生成,Piattini 等^[16]对小鼠髓系免疫细胞亚群的 Gpx4 进行敲除,小鼠体内的组织驻留巨噬细胞在肺部、腹膜、脾和骨髓(可被认为是 M0 状态)的发展和稳态不受影响。对缺失 Gpx4 的巨噬细胞进行诱导,IL-4 诱导 M2 型巨噬细胞活化严重影响了细胞的氧化还原平衡,并经历了铁死亡。而 M1 型巨噬细胞中却没有,它们能够维持细胞的生存和微生物抗感染功能,脂多糖/IFN γ 刺激不仅可以使 M0 激活转化为 M1,还可以让 Gpx4 缺陷的巨噬细胞上调诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达,iNOS 上调可诱导 NO 表达增加,NO 赋予细胞抵抗铁死亡能力。

综上,Gpx4 对免疫细胞的增殖和免疫细胞的功能有着重要的保护作用,但在某些免疫细胞亚群则不那么依赖 Gpx4 的保护,这可能与它们的能量代谢活动和抗氧化机制有关;此外敲除调节性 T 细胞的 Gpx4 能抑制肿瘤,补硒能增强 Tfh 存活并能提高免疫能力,因此 Gpx4 在免疫细胞中可能可作为疾病的治疗靶点。

2 铁死亡影响免疫细胞功能

2.1 铁死亡释放损伤相关分子模式影响免疫细胞功能

铁死亡可能作为免疫原性细胞死亡一种形式,免疫原性细胞死亡是由应激压力驱动,可以诱导针对死亡细胞抗原的适应性免疫,不仅细胞死亡相关抗原能激活免疫反应,同时免疫原性细胞死亡伴随大量不同的铁死亡释放损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)释放,主要包括暴露在细胞表面的钙网蛋白(calreticulin, CRT)、肿瘤细胞向外界分泌的高迁移率族蛋白 1(high mobility group protein 1, HMGB1)、细胞释放的腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)分子以及热休克蛋白(HSP70、HSP90)等,这些 DAMPs 能与抗原呈递细胞模式识别受体结合,启动一系列的细胞因子产生,激活免疫反应^[17]。Efimova 等^[18]对铁死亡的免疫原性展开了探索,以完整膜为特征的早期铁死亡细胞比晚期铁死亡细胞具有更强的免疫原性,ATP 和 HMGB1 是铁死亡参与免疫原性细胞死亡的最具特征的损伤相关分子模式。早期铁死亡细胞表达第一个“吃我”信号——CRT 与树突状细胞上的 LRP1 受体结合能促进小鼠骨髓来源树突

状细胞的表型成熟,并在免疫能力强的小鼠中引发类似疫苗的效果,提示铁死亡可能作为肿瘤免疫治疗。通过用 ATP 的 2',3'-二醛衍生物阻断细胞中嘌呤能受体 P_2X_7 来调节细胞外 ATP 功能的策略,削弱了抗原呈递细胞的招募和抗肿瘤免疫反应。这些 DAMPs 驱动针对癌细胞的免疫反应,并且 DAMPs 主要在铁死亡早期释放。

Liu 等^[19]用香烟烟雾提取物处理的人支气管上皮细胞共培养的 THP 诱导巨噬细胞中,香烟烟雾导致细胞内核受体共激活因子 4 (nuclear receptor coactivator 4, NCOA4) 升高。NCOA4 是一种介导铁蛋白吞噬的受体,对铁蛋白的选择性自噬非常重要,NCOA4 增加铁蛋白降解,游离 Fe 增多介导芬顿反应,进而诱导人支气管上皮样细胞铁死亡^[20],NCOA4 增加还会增高 M2/M1 的巨噬细胞比率和基质金属蛋白酶水平,这是都是肺气肿诱导因素。但是 NCOA4 上调导致铁死亡如何诱导巨噬细胞极化机制的直接证据作者并没有证明,但是在实验中支气管灌洗液中发现 DAMPs (包括 IL-33 和 HMGB-1) 显著增加,IL-33 可促进 M2 极化,而 HMGB-1 可以通过高级糖基化终产物受体途径 (advanced glycation end-products receptor, AGER) 促进 M1 极化,或许可能还有其他 DAMPs 参与巨噬细胞的极化。Wen 等^[21]对铁死亡细胞 HMGB1 释放机制进行了研究,HMGB1 是一种可以由铁死亡细胞以自噬依赖方式释放的 DAMPs,机制上自噬介导的组蛋白脱乙酰酶 HDAC 抑制促进 HMGB1 乙酰化,导致铁死亡时 HMGB1 释放,HMGB1 通过 AGER 途径引起巨噬细胞炎症反应释放 TNF,抗 HMGB1 中和抗体或 AGER 耗竭削弱了铁死亡细胞诱导的巨噬细胞的炎症反应。此外有一项研究表明 HMGB1 可以通过 RAS-JNK/p38 途径上调环加氧酶 2 和转铁蛋白表达,从而促进 erastin 诱导的铁死亡^[22];Liu 等^[23]对 Gpx4 敲除小鼠并且用 cerulein 诱导急性胰腺炎中,运用抗体芯片分析检测细胞铁死亡相关 DAMPs 释放,发现一种核心蛋白聚糖 (decorin, DCN) 在铁死亡早期阶段被释放。机制上 DCN 早期分泌跟自噬介导的蛋白质分泌途径有关,通过溶酶体外渗介导早期铁死亡细胞中的 DCN 释放,晚期可通过受损的质膜释放,释放后的 DCN 与巨噬细胞上的 AGER 结合促进巨噬细胞向 M1 极化,以 NF- κ B/NF- κ B 依赖的方式触发促炎细胞因子 TNF、IL-6 等产生,这些因子加重了急性胰腺炎,使用抗 DCN 抗体或抗

AGER 抗体可以保护 Gpx4 敲除小鼠免受 cerulein 诱导的胰腺炎的影响。铁死亡释放的 DAMPs 还可以通过其他细胞识别间接影响免疫细胞,心脏移植后的缺血再灌注损伤诱导心肌炎症的细胞和分子机制尚不清楚,Li 等^[24]发现缺血再灌注期间中性粒细胞在血管移动速度减慢并粘附到血管壁上,机制上,心脏移植后细胞铁死亡会触发最初的炎症反应释放 DAMPs,DAMPs 与血管内皮 TLR4 受体结合通过 Trif 介导的信号传导刺激 I 型干扰素的产生来促进中性粒细胞向受损心脏的募集。需要进一步研究确定心脏移植后缺血再灌注期间铁死亡诱导的炎症的主要参与者和执行者。

综上,细胞发生铁死亡释放 DAMPs 与凋亡不同,早期铁死亡免疫原性比晚期更强,细胞铁死亡能释放多种 DAMPs,CRT、ATP 能促进抗原呈递细胞成熟与招募,HMGB1、DCN、IL-33 能诱导巨噬细胞极化。另外 DAMPs 还可以刺激血管内皮产生干扰素招募中性粒细胞。

2.2 铁死亡释放其他分子影响免疫细胞功能

铁死亡的标志是含多不饱和脂肪酸过氧化,尤其是花生四烯酸或肾上腺酸上的磷脂酰乙醇胺过氧化累积^[25],铁死亡的过氧化脂质可能与免疫系统相互作用,Luo 等^[26]发现铁死亡细胞可以被吞噬细胞吞噬,发现铁死亡细胞膜上广泛存在的过氧化磷脂酰乙醇胺,特别是 SAPE-OOH (1-stearoyl-2-15-HpETE-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine) 是促进吞噬清除的主要信号,机制上巨噬细胞 TLR2 受体是识别 SAPE-OOH 促进巨噬细胞吞噬。他们观察到铁死亡细胞早期开始被吞噬的时候,质膜上没有出现凋亡相关的典型“吃我”信号——磷脂酰丝氨酸和过氧化磷脂酰丝氨酸^[27]。

Ma 等^[28]通过构建金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和鸡伤寒沙门氏菌感染巨噬细胞模型,向受感染的巨噬细胞加入铁死亡诱导剂,发现铁死亡诱导剂可帮助巨噬细胞对抗细胞内的细菌。机制上,在细菌感染初期细胞通过激活 Nrf2/HO-1 和 ferritin/NCOA4 两种铁代谢途径增加细胞内亚铁含量,Nrf2 是一种核转录相关蛋白,可以进入细胞核上调 HO-1,HO-1 可以将血红素代谢为胆绿素,铁和 CO^[29]。另外还通过抑制细胞内铁向胞外运输功能的膜铁转运蛋白来维持细胞内亚铁水平,同时感染早期巨噬细胞 Gpx4 表达增强,保护巨噬细胞免受铁死亡,重要的是细胞内增加的亚铁可被铁转运蛋白转运

至含有细菌的囊泡中,并在囊泡内诱导细菌发生铁死亡。然而在感染晚期(12 h 后),巨噬细胞内铁死亡反应逐渐停止,感染 24 h 后各种铁死亡标志恢复正常水平,但鸡伤寒沙门氏菌在胞内很难被杀死。

KRAS^{G12D} 突变是胰腺癌最常见的突变类型,Dai 等^[30]发现氧化应激诱导癌细胞自噬依赖性铁死亡,导致 KRAS^{G12D} 被包装入外泌体释放,然后被巨噬细胞通过 AGER 依赖的机制摄取,AGER 介导 STAT3 激活导致脂肪酸氧化,长链脂肪酸裂解为乙酰 CoA 使巨噬细胞转变为 M2 样促肿瘤表型。阻断 KRAS^{G12D} 的释放和摄取能抑制巨噬细胞介导的体内胰腺肿瘤生长。此外巨噬细胞中 Kras^{G12D} 的表达水平与胰腺癌患者的低生存率相关,提供了一种新的 KRAS 靶向抗癌策略。

细胞铁死亡能释放多种分子影响免疫细胞的分化、吞噬、杀菌和其他免疫反应,进而影响相关疾病的进展,因此相关分子和其激活相关通路可能成为疾病治疗靶点。

3 免疫细胞影响铁死亡

3.1 CD8⁺T 细胞影响铁死亡

Wang 等^[31]发现肿瘤免疫治疗过程中活化的 CD8⁺T 细胞能够增强肿瘤细胞内铁死亡特异的脂质过氧化水平,阻断肿瘤细胞内的铁死亡通路后,肿瘤细胞失去了对免疫治疗的敏感性。进一步的研究发现,CD8⁺T 细胞释放的 IFN- γ 通过 JAK-STAT1 通路下调肿瘤细胞表面溶质载体家族 3 成员 2(Solute Carrier Family 3 Member 2, SLC3 A2)和溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7 A11)的表达,SLC3 A2 和 SLC7 A11 是谷氨酸-胱氨酸逆向转运系统 X_c⁻的两个亚单位,损害了肿瘤细胞对胱氨酸的摄取,进而增强脂质过氧化和肿瘤细胞的铁死亡。Liao 等^[32]进一步发现 CD8⁺T 细胞释放 IFN- γ 还能和花生四烯酸的协同作用可在不同种肿瘤细胞系中有效诱导细胞铁死亡。在肿瘤免疫治疗中激活的 CD8⁺T 细胞释放的 IFN- γ 还可以通过 STAT1-IRF1 信号通路上调肿瘤细胞 ACSL4 的表达,通过靶向磷脂质谱分析发现,花生四烯酸通过 ACSL4 依赖方式优先整合到含有 C16 和 C18 酰基链的磷脂中,棕榈烯酸和油酸是血液中两种常见的 C16 和 C18 脂肪酸,油酸能增强肿瘤细胞中花生四烯酸-d5-结合的 PE 和 PC 的脂质种类,LPCAT3 和 LOX 分别参与花生四烯酸并入膜上

的磷脂和这些磷脂的氧化^[33],促进 IFN- γ 和花生四烯酸诱导的 ACSL4 依赖性肿瘤性铁死亡。肿瘤免疫治疗中 CD8⁺T 细胞调控铁死亡揭示铁死亡通路可以通过 T 细胞来调控,免疫系统可以通过癌细胞铁死亡抑制肿瘤的发生。

IFN- γ 主要由 T 细胞、NK 细胞和 NK T 细胞产生,是一种多效性细胞因子,功能丰富,IFN- γ 虽然可以杀伤肿瘤细胞,但是 IFN- γ 也可以促进肿瘤休眠、编辑肿瘤细胞免疫抑制导致肿瘤逃逸和复发^[34]。近期发现 IFN- γ 可以下调 SLC3 A2、SLC7 A11 和上调 ACSL4 促进肿瘤细胞铁死亡,因此诱导肿瘤细胞铁死亡敏感增加可能促进肿瘤免疫治疗疗效。

3.2 巨噬细胞影响铁死亡

巨噬细胞可以释放多种分子影响铁死亡。Kapralov 等^[35]发现 M1 型巨噬细胞比 M0 和 M2 有着更强的铁死亡抵抗性,研究发现 M1 巨噬细胞中诱导型一氧化氮合酶(iNOS 或 NOS2)含量高,能产生更多的 NO,NO 能抑制 15-脂氧合酶,这种抵抗铁死亡强度媲美 Gpx4,另外 NO 具有膜扩散性,能赋予分布 M1 巨噬细胞周围的细胞抵抗铁死亡能力,铜绿假单胞菌利用释放囊泡中脂氧合酶 15 将宿主花生四烯醇磷脂酰乙醇胺氧化为亲铁过氧化物 15-花生四烯醇基磷脂酰乙醇胺来触发上皮细胞中的铁过氧化物死亡,同时通过激活溶酶体伴侣介导的自噬来降解宿主 Gpx4。利用共培养模型证实 M1 型巨噬细胞释放 NO 远距离保护上皮细胞受铜绿假单胞菌触发的铁死亡^[36-37],NO 对上皮细胞铁死亡的抑制是通过扩散到 15-脂氧合酶亚型 2 催化部位抑制磷脂过氧化实现的;脂肪组织巨噬细胞分泌外泌体中的 miR-140-5p 能够靶向心肌细胞 SLC7 A11,从而抑制还原型谷胱甘肽合成诱导心肌细胞铁死亡,为在肥胖诱导的心脏损伤中提供了一种新的治疗策略^[38];衣康酸盐是由顺乌头酸脱羧酶合成的代谢物,在脂多糖激活巨噬细胞过程中,通过将乌头酸从三羧酸循环中转移而产生。在巨噬细胞中,4-辛基衣康酸盐(4-Octyl, 4-OI)(内源性衣康酸盐的细胞通透性衍生物),可通过抑制 Nrf2 降解途径并促进靶基因的转录,包括 SLC7 A11、谷氨酸半胱氨酸连接酶和 Gpx4,减轻脓毒症诱导的急性肺损伤^[39]。同时衣康酸还能激活 NOCA4 介导的铁蛋白沉积,从而通过铁蛋白自噬降解诱导 Nrf2 缺失的细胞系铁死亡^[40];Wu 等^[41]观察接受肝门阻断的肝切

除术患者和接受肝缺血再灌注损伤的小鼠,发现巨噬细胞胞外陷阱 (macrophage extracellular traps, METs) 和铁死亡均增加,为了阐明 METs 在缺血再灌注损伤肝细胞铁死亡中的作用,使用巨噬细胞接受缺氧/复氧并与肝细胞共培养模型,缺氧/复氧后巨噬细胞的 METs 释放增加并且肝细胞发生了铁死亡,使用 Cl-amidine (一种 METs 抑制剂) 能扭转上述变化。

肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 是直接影响肿瘤细胞生长、新生血管生成和免疫抑制的肿瘤微环境的主要组成部分,有研究发现 TAM 分泌的 TGF- β 1 通过调节 SMAD3 诱导三阴乳腺癌中肝白血病因子 (hepatic leukemia factor, HLF) 的表达,HLF 反式激活 γ -谷氨酰转移酶 1 (gamma-glutamyltransferase 1, GGT1), GGT1 催化细胞外谷胱甘肽分解从而为细胞内谷胱甘肽的生成提供半胱氨酸, Gpx4 活性增强,增强肿瘤细胞铁死亡抵抗能力,反过来,乳腺癌细胞产生的 IL-6 激活 JAK2/STAT3 轴,诱导 TAMs 分泌 TGF- β 1,从而构成一个前馈回路,最终促进恶性肿瘤的进展^[42];但是另外有研究发现 TGF- β 1 通过 Smad3 激活抑制谷氨酸-胱氨酸逆向转运系统 X_c⁻表达,增强了具有早期 TGF- β 1 基因标记的 PLC/PRF/5、Huh7、Huh6 和 Hep G2 细胞中脂质过氧化水平,但在具有晚期 TGF- β 1 基因标记的细胞中却没有^[43]。

综上,不同类型巨噬细胞能产生各种分子影响铁死亡,包括 NO、外泌体、衣康酸盐、TGF- β 1 等。

3.3 中性粒细胞影响铁死亡

糖尿病加重脑内出血性卒中机制不清楚,在链脲佐菌素诱导的糖尿病高血糖小鼠脑出血性卒中模型中,高糖不仅增加中性粒细胞浸润,而且使中性粒细胞的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 活性受损, PPAR γ 编码的乳铁蛋白 (lactoferrin, Ltf) 转录减少, Ltf 通过受体进入细胞内能降低细胞内 Fe 浓度, Ltf 分泌减少会导致神经元细胞内 Fe 浓度升高,进而加重神经元细胞铁死亡^[44]。补充 Ltf 或抑制神经元铁死亡对改善急性糖尿病脑出血预后提供一个途径,但是高糖是如何使过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 活性受损的机制有待阐明;肿瘤坏死程度与多形性胶质母细胞瘤患者生存率呈负相关,然而,驱动肿瘤坏死的性质和机制仍不清楚, Yee 等^[45]使用 PDZ 结合基序驱动的

胶质母细胞瘤小鼠模型研究了中性粒细胞在多形性胶质母细胞瘤坏死中的作用,胶质母细胞瘤特点是肿瘤细胞坏死,而肿瘤细胞坏死产物 DAMPs 等因子促进中性粒细胞浸润,尤其是发生新坏死交界区域,这些被招募的中性粒细胞通过直接细胞接触或紧密接触将髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 转移到肿瘤细胞内诱导肿瘤细胞脂质过氧化,促进肿瘤细胞发生铁死亡。在肿瘤早期进展过程中发生的某些肿瘤损伤将中性粒细胞招募到组织损伤部位,中性粒细胞能引起肿瘤细胞铁死亡,从而导致正反馈回路,肿瘤细胞铁死亡放大胶质母细胞瘤坏死的发展。

4 结语和展望

近年来众多文献已经开始研究铁死亡与免疫细胞的关系 (见图 1),展示了铁死亡在疾病中的两面性。然而有些问题仍有待进一步研究:(1) 不同免疫细胞对 Gpx4 需求不一样,缺乏 Gpx4 导致某些免疫细胞铁死亡的具体机制还有待阐明,探究不同免疫细胞的能量代谢活动以及独立于 Gpx4 的抗氧化机制十分重要^[46],其有利于相关疾病治疗的指导。(2) 细胞铁死亡早期的免疫原性为什么比晚期强,而凋亡和坏死细胞死亡早期阶段和晚期阶段都有较强的免疫原性^[47-48],铁死亡晚期阶段缺乏免疫原性仍然难以理解的,人们一直认为细胞破裂后炎症性物质大量释放,挑战了当前关于细胞死亡后期细胞高免疫原性潜力的概念,细胞铁死亡在免疫原性方面的分子机制有待阐明。(3) 巨噬细胞释放的 TGF- β 1、CD8⁺T 细胞释放的 IFN- γ 等能够影响细胞铁死亡,以后更多免疫因子可以参与铁死亡研究,此外,对不同种类细菌研究其铁死亡敏感性将会很有趣。(4) METs 如何导致细胞铁死亡机制有待研究, MET 是指直径为 15~17 nm、带有球状结构的纤维,这些球状结构包括组蛋白 H2、H3 和 H4、弹性蛋白酶、骨髓过氧化物酶、乳铁蛋白和胶质酶等^[49],前面提到中性粒细胞的髓过氧化物酶 MPO 能导致细胞铁死亡, MPO 是否是 METs 导致细胞铁死亡的主要物质有待证实,另外 MPO 通过细胞膜进入肿瘤细胞的机制还有待研究。(5) 探索铁死亡与免疫细胞的影响机制,这些分子机制可能用于未来疾病靶点治疗或诊断,如开发基于铁死亡细胞疫苗的癌症免疫治疗,开发针对 DAMPs 的抑制剂以及相关纳米材料药物等。

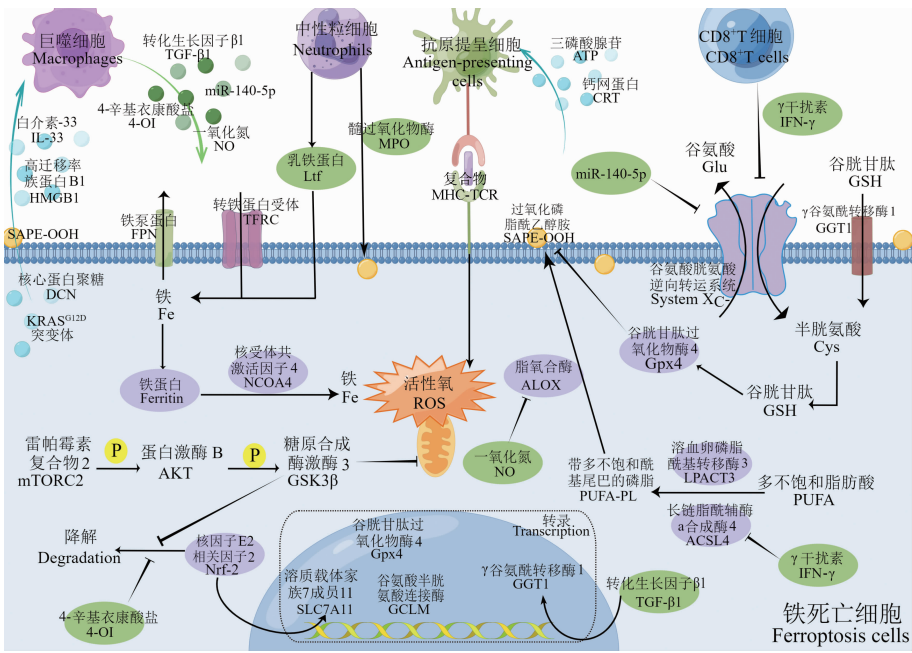


图 1 铁死亡与免疫细胞的关系总结

Figure 1 Summary of the relationship between ferroptosis and immune cells

参考文献：

[1] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.

[2] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. Cell, 2014, 156(1-2): 317-331.

[3] Qiu Y, Cao Y, Cao W, et al. The application of ferroptosis in diseases [J]. Pharmacol Res, 2020, 159: 104919.

[4] Matsushita M, Freigang S, Schneider C, et al. T cell lipid peroxidation induces ferroptosis and prevents immunity to infection [J]. J Exp Med, 2015, 212(4): 555-568.

[5] Hogan T, Gossel G, Yates AJ, et al. Temporal fate mapping reveals age-linked heterogeneity in naive T lymphocytes in mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(50): E6917-E6926.

[6] Dessalles R, Pan Y, Xia M, et al. How naive T-cell clone counts are shaped by heterogeneous thymic output and homeostatic proliferation [J]. Front Immunol, 2022, 12: 735135.

[7] Yue T, Zhan X, Zhang D, et al. SLFN₂ protection of tRNAs from stress-induced cleavage is essential for T cell-mediated immunity [J]. Science, 2021, 372(6543): eaba4220.

[8] Yao Y, Chen Z, Zhang H, et al. Selenium-GPX4 axis protects follicular helper T cells from ferroptosis [J]. Nat Immunol, 2021, 22(9): 1127-1139.

[9] van der Windt CJ, Everts B, Chang CH, et al. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8⁺ T cell memory development [J]. Immunity, 2012, 36(1): 68-78.

[10] Wang Y, Tian Q, Hao Y, et al. The kinase complex mTORC2

promotes the longevity of virus-specific memory CD4⁺ T cells by preventing ferroptosis [J]. Nat Immunol, 2022, 23(2): 303-317.

[11] 罗娟, 楼迪栋, 肖巧巧, 等. 橙皮素通过 Nrf2/HO-1 信号通路对非酒精性脂肪肝体外模型氧化应激的保护作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(6): 1-6.

[12] Mougiakakos D, Johansson CC, Jitschin R, et al. Increased thioredoxin-1 production in human naturally occurring regulatory T cells confers enhanced tolerance to oxidative stress [J]. Blood, 2011, 117(3): 857-861.

[13] Togashi Y, Shitara K, Nishikawa H. Regulatory T cells in cancer immunosuppression-implications for anticancer therapy [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(6): 356-371.

[14] Baumgarth N. B-1 cell heterogeneity and the regulation of natural and antigen-induced IgM production [J]. Front Immunol, 2016, 7: 324.

[15] Muri J, Thut H, Bornkamm GW, et al. B1 and marginal zone B cells but not follicular B2 cells require Gpx4 to prevent lipid peroxidation and ferroptosis [J]. Cell Rep, 2019, 29(9): 2731-2744.

[16] Piattini F, Matsushita M, Muri J, et al. Differential sensitivity of inflammatory macrophages and alternatively activated macrophages to ferroptosis [J]. Eur J Immunol, 2021, 51(10): 2417-2429.

[17] Murao A, Aziz M, Wang H, et al. Release mechanisms of major DAMPs [J]. Apoptosis, 2021, 26(3/4): 152-162.

[18] Efimova I, Catanzaro E, van der Meeren L, et al. Vaccination with early ferroptotic cancer cells induces efficient antitumor immunity [J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(2): e001369.

[19] Liu J, Zhang Z, Yang Y, et al. NCOA4-mediated ferroptosis in bronchial epithelial cells promotes macrophage M2 polarization in

- COPD emphysema [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2022, 17: 667–681.
- [20] Hou W, Xie Y, Song X, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin [J]. *Autophagy*, 2016, 12(8): 1425–1428.
- [21] Wen Q, Liu J, Kang R, et al. The release and activity of HMGB1 in ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 510(2): 278–283.
- [22] Ye F, Chai W, Xie M, et al. HMGB1 regulates erastin-induced ferroptosis via RAS-JNK/p38 signaling in HL-60/NRAS^{Q61L} cells [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(4): 730–739.
- [23] Liu J, Zhu S, Zeng L, et al. DCN released from ferroptotic cells ignites AGER-dependent immune responses [J]. *Autophagy*, 2022, 18(9): 2036–2049.
- [24] Li W, Feng G, Gauthier JM, et al. Ferroptotic cell death and TLR4/Trif signaling initiate neutrophil recruitment after heart transplantation [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(6): 2293–2304.
- [25] 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.
- [26] Luo X, Gong HB, Gao HY, et al. Oxygenated phosphatidylethanolamine navigates phagocytosis of ferroptotic cells by interacting with TLR2 [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(6): 1971–1989.
- [27] Tyurin VA, Balasubramanian K, Winnica D, et al. Oxidatively modified phosphatidylserines on the surface of apoptotic cells are essential phagocytic ‘eat-me’ signals; cleavage and inhibition of phagocytosis by Lp-PLA2 [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(5): 825–835.
- [28] Ma R, Fang L, Chen L, et al. Ferroptotic stress promotes macrophages against intracellular bacteria [J]. *Theranostics*, 2022, 12(5): 2266–2289.
- [29] Kweider N, Wruck CJ, Rath W. New insights into the pathogenesis of preeclampsia-the role of Nrf2 activators and their potential therapeutic impact [J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2013, 73(12): 1236–1240.
- [30] Dai E, Han L, Liu J, et al. Autophagy-dependent ferroptosis drives tumor-associated macrophage polarization via release and uptake of oncogenic KRAS protein [J]. *Autophagy*, 2020, 16(11): 2069–2083.
- [31] Wang W, Green M, Choi JE, et al. CD8⁺ T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 270–274.
- [32] Liao P, Wang W, Wang W, et al. CD8⁺ T cells and fatty acids orchestrate tumor ferroptosis and immunity via ACSL4 [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(4): 365–378.
- [33] Shintoku R, Takigawa Y, Yamada K, et al. Lipoxigenase-mediated generation of lipid peroxides enhances ferroptosis induced by erastin and RSL3 [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(11): 2187–2194.
- [34] Aqbi HF, Wallace M, Sappal S, et al. IFN- γ orchestrates tumor elimination, tumor dormancy, tumor escape, and progression [J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 22: 1002.
- [35] Kapralov AA, Yang Q, Dar HH, et al. Redox lipid reprogramming commands susceptibility of macrophages and microglia to ferroptotic death [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(3): 278–290.
- [36] Dar HH, Anthonymuthu TS, Ponomareva LA, et al. A new thiol-independent mechanism of epithelial host defense against *Pseudomonas aeruginosa*: iNOS/NO⁻ sabotage of theft-ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2021, 45: 102045.
- [37] Mikulska-Ruminska K, Anthonymuthu TS, Levkina A, et al. NO⁻ represses the oxygenation of arachidonoyl PE by 15LOX/PEBP1: mechanism and role in ferroptosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(10): 5253.
- [38] Zhao X, Si L, Bian J, et al. Adipose tissue macrophage-derived exosomes induce ferroptosis via glutathione synthesis inhibition by targeting SLC7A11 in obesity-induced cardiac injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 182: 232–245.
- [39] He R, Liu B, Xiong R, et al. Itaconate inhibits ferroptosis of macrophage via Nrf2 pathways against sepsis-induced acute lung injury [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 43.
- [40] Qu C, Dai E, Lai T, et al. Itaconic acid induces ferroptosis by activating ferritinophagy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 583: 56–62.
- [41] Wu S, Yang J, Sun G, et al. Macrophage extracellular traps aggravate iron overload-related liver ischaemia/reperfusion injury [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(18): 3783–3796.
- [42] Li H, Yang P, Wang J, et al. HLF regulates ferroptosis, development and chemoresistance of triple-negative breast cancer by activating tumor cell-macrophage crosstalk [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 2.
- [43] Kim DH, Kim WD, Kim SK, et al. TGF- β 1-mediated repression of SLC7A11 drives vulnerability to GPX4 inhibition in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 406.
- [44] Xiao Z, Shen D, Lan T, et al. Reduction of lactoferrin aggravates neuronal ferroptosis after intracerebral hemorrhagic stroke in hyperglycemic mice [J]. *Redox Biol*, 2022, 50: 102256.
- [45] Yee PP, Wei Y, Kim SY, et al. Neutrophil-induced ferroptosis promotes tumor necrosis in glioblastoma progression [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5424.
- [46] Peng HY, Lucavs J, Ballard D, et al. Metabolic reprogramming and reactive oxygen species in T cell immunity [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 652687.
- [47] Liu J, Hong M, Li Y, et al. Programmed cell death tunes tumor immunity [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 847345.
- [48] Kalus P, De Munck J, Vanbellingen S, et al. Oncolytic *Herpes simplex* virus type 1 induces immunogenic cell death resulting in maturation of BDCA-1⁺ myeloid dendritic cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4865.
- [49] Weng W, Hu Z, Pan Y. Macrophage extracellular traps: current opinions and the state of research regarding various diseases [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 7050807.