

郭焕荣,王静,赵自刚,等.铁死亡及其在实验性急性肺损伤中的作用[J].中国比较医学杂志,2024,34(8):99-106.
Guo HR, Wang J, Zhao ZG, et al. Ferroptosis and its role during experimental acute lung injury [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34 (8): 99-106.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.08.012

铁死亡及其在实验性急性肺损伤中的作用

郭焕荣¹,王 静^{1,2},赵自刚^{1,3},牛春雨^{1,3*}

(1.河北北方学院基础医学院/微循环研究所,河北 张家口 075000;2.河北医科大学基础医学院,石家庄 050017;3.河北省急危重症发病机制及干预重点实验室,河北 张家口 075000)

【摘要】 作为一种非凋亡性细胞死亡方式,铁死亡的特征是铁依赖性脂质过氧化物积累引起的膜脂质过氧化、线粒体萎缩等,在形态和生化特性上与其他细胞程序性死亡不同。铁死亡受多种代谢通路调控,参与了失血性休克、缺血再灌注、脓毒症、放射等引起的急性肺损伤。本文综述了铁死亡的主要调控机制及其在多种动物模型急性肺损伤发病机制中的作用,以期防治急性肺损伤提供新的策略。

【关键词】 铁死亡;谷胱甘肽过氧化物酶 4;脂质过氧化;急性肺损伤

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 08-0099-08

Ferroptosis and its role during experimental acute lung injury

GUO Huanrong¹, WANG Jing^{1,2}, ZHAO Zigang^{1,3}, NIU Chunyu^{1,3*}

(1. School of Basic Medical Sciences/Institute of Microcirculation, Hebei North College, Zhangjiakou 075000, China.

2. School of Basic Medical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017. 3. Hebei Key Laboratory of Acute and Critical Disease Pathogenesis and Intervention, Zhangjiakou 075000)

【Abstract】 Ferroptosis is a non-apoptotic mode of cell death characterized by iron-dependent lipid-peroxide-accumulation-induced membrane lipid peroxidation and mitochondrial atrophy. It differs from other programmed cell deaths in its morphological and biochemical properties. Ferroptosis is regulated by a variety of metabolic pathways that are involved in the acute lung injury induced by hemorrhagic shock, ischemia-reperfusion, sepsis, and radiation. This article reviews the main regulatory mechanisms of ferroptosis and its role in the pathogenesis of acute lung injury in various animal models with the aim of providing new strategies for the prevention and treatment of acute lung injury.

【Keywords】 ferroptosis; glutathione peroxidase 4; lipid peroxidation; acute lung injury

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

2012 年,Dixon 等^[1]认识到一种新型细胞死亡方式——铁死亡,特征是铁依赖性脂质过氧化,受细胞内信号通路的严密调节,与许多疾病的发生发展有关。急性肺损伤(acute lung injury,ALI)发病率和死亡率较高,发病机制与炎症反应失控、氧化应激、细胞凋亡和缺氧有关。在 ALI 发生过程中,致病

因素导致活性氧(reactive oxygen species,ROS)累积和蛋白酶释放,增加肺通透性,引起肺水肿与呼吸窘迫;鉴于铁死亡与脂质过氧化的关系,提示铁死亡参与了 ALI 的发生发展^[2],但详细机制仍不完全清楚。因此,深入研究铁死亡在 ALI 中的作用与机制,明晰二者关系,对于治疗 ALI 有积极意义。本文

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(82270524)。

【作者简介】 郭焕荣(1998—),女,硕士研究生,研究方向:急危重症的病理生理学研究。E-mail:2213607342@qq.com

【通信作者】 牛春雨(1967—),男,博士,教授,博士生导师,研究方向:急危重症的病理生理学研究。E-mail:ncylxf@126.com

综述近年来铁死亡及其在失血性休克(hemorrhagic shock, HS)、缺血再灌注(ischemic reperfusion, I/R)损伤、脓毒症等急危重症引起 ALI 中的作用与部分机制,以期防治 ALI 提供新的视角。

1 铁死亡

1.1 铁死亡的发现和提出

铁死亡相关关键膜蛋白系统 Xc⁻ (cystine/glutamate antiporter system, System Xc⁻) 早在 20 世纪 80 年代就已经发现;2003 年 Dolma 等^[3]从 23 550 种化合物中筛选出对 Ras 基因突变细胞具有致命作用的新分子 erastin,用荧光显微镜监测 erastin 处理的致瘤细胞的细胞核,发现没有出现凋亡的典型核变和染色质边缘化,由此推测 erastin 诱导的细胞死亡是非凋亡的,此外还观察到 erastin 的致死作用一旦出现,是迅速且不可逆的。2008 年, Yang 等^[4]鉴定合成了对 Ras 突变肿瘤细胞具有一定程度致死性的两种新型化合物,并将其命名为 Ras 选择性致死小分子(Ras-selective lethal small molecule, RSL)3 和 RSL5,发现二者诱导的细胞死亡不能被半胱天冬酶抑制剂阻止,却可以被铁螯合剂甲磺酸去铁胺(deferoxamine mesylate, DFOM)和抗氧化剂维生素 E 抑制。在此基础上, Dixon 等^[1]观察到用 erastin 处理的 Ras 突变肿瘤细胞唯一特征是涉及到线粒体的缩小和膜密度增加,与铁代谢的异常及脂质过氧化的累积密切相关;随后的研究认识到这是一种铁依赖的、非凋亡类型的细胞死亡方式,并将这种死亡方式正式命名为“铁死亡”。2015 年 Dixon 等^[5]筛选出酰辅酶 A 合成酶长链家族成员 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) 与铁死亡的发生密切相关,前者与多不饱和脂肪酸合成有关,后者与脂质重塑相关。

1.2 铁死亡的特点

铁死亡特征是细胞内脂质过氧化物(lipid peroxidation, LPO)积累和氧化还原失衡,与凋亡、自噬、坏死性凋亡等非坏死性细胞死亡方式类型在形态学、遗传学和生物化学等方面有较大差异。铁死亡的形态学主要特征是细胞膜与线粒体的形态学异常;细胞膜异常以断裂和出泡为主,线粒体异常以膜密度增加、嵴数量减少或消失为主,细胞核形态变化不明显;生化特点表现为 ROS 和铁离子积

累、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)激活、半胱氨酸摄取和谷胱甘肽(glutathione, GSH)耗竭、花生四烯酸(arachidonic acid, AA)等介质的释放^[6];分子层面表现为环氧合酶 2(cyclooxygenase 2, Cox2)、ACSL4、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶 1 表达上调,谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)、溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)、铁蛋白表达下调。最新研究结果鉴定出重组过氧化还原酶 3(recombinant peroxiredoxin 3, PRDX3)通过抑制胱氨酸摄取刺激铁死亡,特异性存在于铁死亡细胞中,故将高氧化的 PRDX3 作为标记物来识别体内/体外的铁死亡细胞;铁死亡发生时, PRDX3 水平上调^[7]。

1.3 铁死亡的发生机制

1.3.1 铁代谢与铁死亡

铁是 LPO 积累和铁死亡发生所必需的。铁代谢主要包括铁转移和储存,机体通过复杂的调控网络维持铁摄入、存储和流出的动态平衡^[8]。为了维持细胞铁水平并避免过量的 Fe²⁺蓄积,转运和储存蛋白受到严格调节。循环 Fe³⁺通过转铁蛋白受体 1(transferrin receptor, TFR1)导入细胞,在还原酶作用下还原为 Fe²⁺;Fe²⁺通过二价金属离子转运体 1 介导,从核内体进入细胞质,分散在不稳定的铁池(labile iron pool, LIP);多余的 Fe²⁺被位于细胞膜的铁转运蛋白(ferroportin, FPN)转运到细胞外,以此保持细胞铁稳态。由于铁是各种代谢酶的辅助因子,故少量 Fe²⁺用于维持生理条件下的新陈代谢;又由于铁还具有氧化还原性,故细胞内过量的 Fe²⁺通过芬顿反应或铁依赖性氧化酶,促进 ROS 产生和累积,导致细胞发生氧化应激损伤,最终引起铁死亡。血液循环中, Fe²⁺与 FPN 结合,形成转铁蛋白结合铁(transferrin bound iron, TBI);此外,还有少量铁不与 FPN 结合,即非转铁蛋白结合铁(non-transferrin bound iron, NTBI)。病理情况下, NTBI 增多被认为也会诱导氧化自由基产生并有细胞毒性作用,从而间接导致铁死亡^[9]。

铁调节途径通过多种机制增加细胞中不稳定的铁,引起铁死亡。正常情况下,体内和细胞中的铁水平高低,影响着铁调节蛋白(iron regulatory protein, IRP)与靶基因 mRNA 上的铁反应元件(iron responsive element, IRE)的结合,进而通过调控铁代

谢相关基因表达,维持铁稳态。在正常细胞中,IRP1 活性由 Fe-S 簇控制,当细胞铁含量低时,IRP1 不与 Fe-S 簇结合,而通过与多种 mRNA 分子结合并改变相应蛋白质的合成来增加细胞铁含量;当细胞铁含量高时,二者结合,抑制 IRP1 与 mRNA 结合来降低铁浓度。然而,由于 Fe-S 簇极易受到过氧化物的影响,过氧化物消耗 Fe-S 簇,IRP1 仍然会促进细胞铁的增加^[10]。可见,铁代谢稳态调节也是调控铁死亡的潜在靶点。

1.3.2 脂质代谢与铁死亡

多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 作为细胞膜的组成部分,可调节多种生物功能。但由于有较弱的 C-H 键存在于双烯丙基位置,导致 PUFA 易被氧化,故细胞膜上的 PUFA 易成为脂质过氧化损伤的主要结构^[11]。普遍认为,PUFA 双烯丙基位置的过氧化是促进铁死亡发生的关键环节^[12]。由于 PUFA 是脂质过氧化过程中的底物,故其多少含量与所处位置与内脂质过氧化程度密切相关。ACSL4 激活后,在 LPCAT3 参与下,游离 PUFA 与膜磷脂结合形成 PUFA-PE^[13],PUFA-PE 在脂氧合酶介导的酶促反应下,形成 LPO^[12]。此外,补充 AA 或其他形式的 PUFA,也会使大量 PUFA 氧化和脂肪酸自由基的产生,当 LPO 累积超过阈值就会引起质膜损伤,导致铁死亡。

1.3.3 氨基酸代谢与铁死亡

细胞膜的胱氨酸/谷氨酸逆向转运体系统 Xc-,以 1:1 的比例使胱氨酸逆向转运至细胞内、并将谷氨酸排出细胞^[14]。系统 Xc-亦可将胱氨酸还原为半胱氨酸,后者参与 GSH 合成,GPX4 使 GSH 催化 LPO 还原成无毒的相应的醇。GPX4 是一种多功能蛋白,与谷胱甘肽过氧化物酶家族 (GPXs) 其他成员相比,缺乏二聚化界面,以单体形式存在。以自由形式或与磷脂、脂蛋白复合的形式还原过氧化脂质,从而降低脂质过氧化^[11]。GSH 是 GPX4 发挥作用的必要辅助因子,通过抑制系统 Xc- (例如调控 SLC7A11 的表达) 阻碍 GSH 的吸收,导致 GPX4 活性降低,细胞抗过氧化能力降低,脂质活性氧堆积,引起细胞的氧化性死亡,触发铁死亡。

1.3.4 与铁死亡发生相关信号分子的作用

除前述铁代谢、脂质代谢、氨基酸代谢参与铁死亡的发生外,铁死亡抑制蛋白 1 (ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)、p53、核转录因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2,

Nrf2) 等信号分子在不同程度上通过调节相关代谢进程,参与了铁死亡的发生机制。

FSP1 位于细胞质膜上,通过其 N 端肉豆蔻酰化基序发挥抗铁死亡作用。豆蔻酰化的 FSP1 可以发挥氧化还原酶的作用,通过使用消耗 NADPH 的还原反应将辅酶 Q (coenzyme Q, CoQ) 10 还原为 CoQH2,CoQ 的还原形式能够捕获脂质过氧化自由基并阻止 LPO 的扩散或通过维生素 E 间接抑制后续铁死亡^[15]。此外,FSP1 通过降低 CoQ10 促进亲脂性自由基捕获抗氧化剂 (radical trapping antioxidant,RTA) 生成,RTA 发挥抗氧化作用从而有效阻止 LPO 过量累积,抑制铁死亡发生。随后发现,似乎 GPX4 和 FSP1 至少在某种程度上都与甲羟戊酸 (mevalonic acid, MVA) 途径相交:异戊烯基二磷酸 (isopentenyl pyrophosphate, IPP) 稳定了硒代半胱氨酸特异性 tRNA,这是合成包括 GPX4 在内的硒酶所必需的,并且 CoQ10 作为 MVA 途径的最终代谢物之一,也是 FSP1 的主要底物。因此通过抑制 MVA 途径降低 IPP 水平,可以阻碍硒代半胱氨酸 tRNA 成熟,进一步抑制 GPX4 合成和 FSP1 的抗铁死亡作用,引起铁死亡^[16]。可见,FSP1 参与铁死亡的机制与调节脂质代谢、氨基酸代谢有关。

作为一种人类肿瘤抑制基因,p53 通过对多种蛋白的转录调控或相互作用,影响氨基酸代谢、脂质代谢和 ROS 等多种代谢途径,诱导肿瘤细胞铁死亡,抑制肿瘤细胞的生长增殖,发挥抗肿瘤作用^[17]。①p53 通过氨基酸代谢途径调控癌细胞铁死亡:p53 通过抑制 SLC7A11 阻断上游胱氨酸的摄取,导致细胞内半胱氨酸合成减少,使下游 GSH 合成减少,诱导癌细胞的 GSH 耗竭和铁死亡,从而抑制肿瘤生长^[18]。同时,谷氨酰胺酶 2 (glutamatase 2, GLS2) 参与谷氨酰胺分解的第一步,将谷氨酰胺转化为 GSH 的组成成分谷氨酸,谷氨酸通过三羧酸循环参与线粒体生物能量的调节^[19],p53 与 GLS2 基因的启动子区域的功能性 p53-DNA 结合元件相结合,增强线粒体呼吸功能,促进 ATP 产生,催化谷氨酸的大规模生产,抑制系统 Xc 活性,并通过阻断上游胱氨酸摄取来诱导癌细胞铁死亡^[20]。②p53 通过脂质代谢途径调控铁死亡:p53 以激活亚精胺/精胺 N1-乙酰转移酶 1 (多胺分解代谢的限速酶) 的方式增加 AA-15-脂加氧酶的活性和表达水平,提高 LPO 水平,进而诱导癌细胞铁死亡^[21]。

生理状态下,Nrf2 与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1

(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 结合;当氧化应激导致细胞氧化还原失衡时, Nrf2 与 Keap1 解离,并转移到细胞核中与抗氧化反应元件结合,促进靶基因转录以及抗氧化和抗炎蛋白翻译,从而保护细胞^[22]。与铁代谢和脂质过氧化相关的多个基因都受到 Nrf2 的转录调控,故通过阻断 Nrf2 降解,增加 Nrf2 水平可以促进靶基因 GPX4、谷氨酸-半胱氨酸连接酶、SLC7A11 转录,抑制细胞铁死亡。除了 GPX4 和 SLC7A11 外, FPN 以及细胞质中关键的铁储存蛋白也受 Nrf2 控制^[23-24]。因此,通过对 Nrf2 通路的药理学调控,靶向铁死亡上游调控因子是治疗铁死亡相关疾病的最佳途径之一。

综上所述,铁代谢、脂质代谢、氨基酸代谢失衡以及 FSP1、p53、Nr2 等信号分子对这些代谢途径的调节,参与了铁死亡的发生(图 1)。靶向引起铁死亡各环节的治疗措施,有利于减轻铁死亡及其引起的细胞死亡。

2 铁死亡与急性肺损伤

生理状态下,巨噬细胞的吞噬作用、转铁蛋白、呼吸道上皮表面的抗氧化分子和呼吸道纤毛排痰系统来维持肺的铁稳态。任何致病因素,一旦破坏了铁稳态,肺就会发生氧化应激损伤,引起铁死亡。

近年来,铁死亡在 HS、I/R 损伤、脓毒症等急危重症引起 ALI 中的作用受到关注。

2.1 HS 引起的 ALI

HS 后,黄嘌呤氧化物生成增加,儿茶酚胺氧化能力增强,产生大量 ROS,打破了自由基代谢平衡状态^[25]。一般来说,缺氧/缺血和线粒体功能抑制有关,Duan 等^[26]研究发现 HS 后肠上皮线粒体动力相关蛋白(dynamin-related protein 1, Drp1)被激活,出现了明显的线粒体易位,活化的 Drp1 可能通过抑制醌生物合成来破坏线粒体呼吸链,抑制线粒体谷氨酸-谷胱甘肽代谢,或阻断其他一些非线粒体依赖途径,比如酪氨酸-多巴胺代谢和维生素 E 依赖途径,导致 ROS 过度积累。进一步探究发现 Drp1 诱导的 ROS 积累参与了休克后肠道微生物组组成和肠道屏障功能的调节。休克后肠道菌群失调及含有肠源性炎症介质和有毒代谢产物的肠系膜淋巴液回流到体循环,是引起全身炎症反应失控和诱发 HS 肺损伤的关键因素^[27]。Nrf2 作为体内重要的抗炎和抗氧化因子,萝卜硫素(sulforaphane, SFN)是 Nrf2 途径的有效激活剂,Liang 等^[25]基于小鼠 HS 模型,发现 SFN 通过下调 Nrf2 途径激活的肺组织多种促炎细胞因子从而发挥抗炎作用,可显著提高肺组织干湿比,减少肺中性粒细胞浸润和降低髓过氧

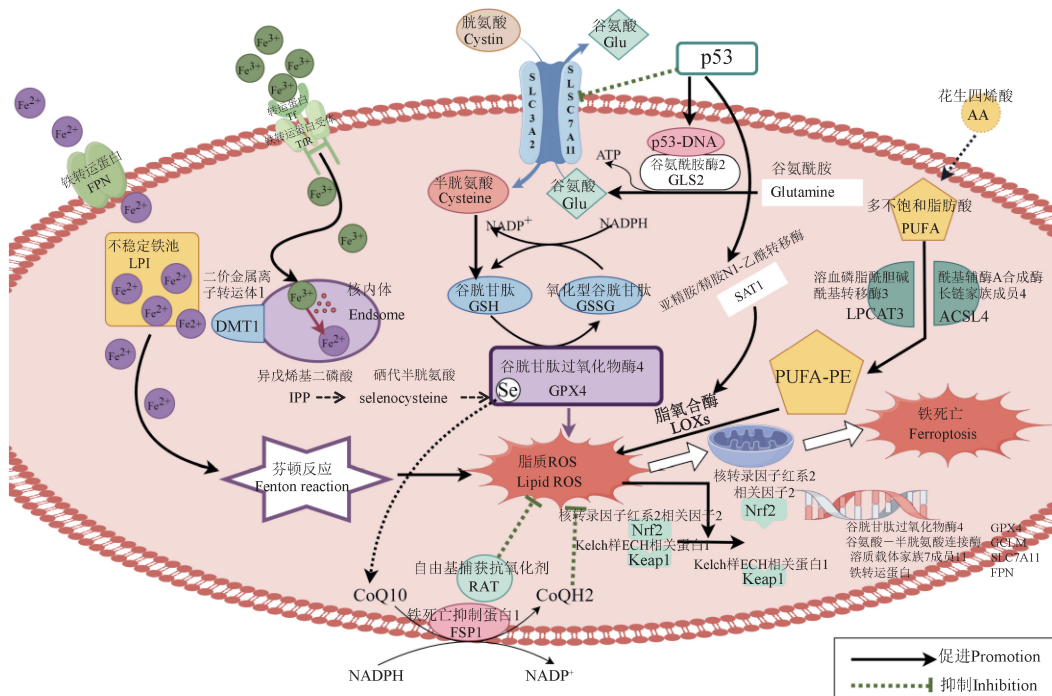


图 1 铁死亡的发生机制
Figure 1 Mechanisms of ferroptosis

化物酶水平,缓解 ALI,而 Nrf2 作为铁死亡过程中的关键调节因子,也可通过调节脂质过氧化相关基因来缓解肺损伤,因此,铁死亡可能间接参与 HS 肺损伤的发生发展。此外,Wang 等^[28]通过生物信息学分析鉴定了 ALI 中与铁死亡相关的关键基因,并证实 HS 小鼠肺组织铁死亡相关分子 GPX4、ACSL4 和 SLC7A11 出现显著变化。这些结果进一步证实了 HS 后肺损伤与铁死亡的相关性,但更多的证据仍需进一步探索。

2.2 I/R 引起的 ALI

肺 I/R 损伤是一类具有高致死率的无菌性肺部损害疾病,尽管现在手术管理和免疫抑制取得了很大的进步,但是在肺移植、心肺复苏、体外循环和肺栓塞等情况下还是会时常发生。肺 I/R 本质上是一种快速而复杂的炎症反应,包括内皮和上皮损伤/功能障碍,炎症细胞、炎性因子和 DAMPs 的释放以及 ROS 等因素作用下造成的不可逆肺组织损伤^[29]。在肺 I/R 的过程中,ACSL4 表达和丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量显著增加,铁死亡保护蛋白 GPX4 表达随时间依赖性降低,且 I/R 导致总 GSH、PaO₂ 显著降低;铁死亡抑制剂利普司他丁-1(liproxstatin-1,Lip-1)预处理,降低了 MDA 和炎性因子水平,消除了肺 I/R 损伤对气体交换的影响,缺氧复氧(hypoxia/reoxygenation,H/R)处理的肺上皮细胞乳酸脱氢酶活性升高、细胞活力下降,敲除 ACSL4 基因恢复细胞活力,有效减少细胞脂质 ROS 积累,降低细胞对 H/R 的敏感性^[30]。也有研究发现,铁死亡发生于再灌注期,随着再灌注时间延长,ACSL4、铁和 MDA 水平逐渐升高,GPX4 水平降低,但随着缺血期延长,并未发现铁死亡指数的显著变化,说明铁死亡的发生与缺血时间有关^[31]。

铁死亡除参与肺 I/R 损伤外,亦在远离肺的组织损伤,譬如腹部损伤、感染和手术诱导肠 I/R 引起 ALI 中发挥作用^[32]。在肠 I/R 诱导 ALI 的小鼠铁死亡增加,并且随着 I/R 持续时间的增加,GSH 消耗,MDA 和 Fe²⁺ 的百分比也随之增加,特异性铁死亡抑制剂铁抑素-1(ferrostatin-1,Fer-1)处理逆转了上述变化,也显著减轻了肺上皮细胞损伤和肺通透性^[33-34]。Dong 等^[35]通过实验证明 I/R 组小鼠 II 型肺泡上皮细胞中出现与铁死亡相关的特征性线粒体形态变化—线粒体较小,嵴减少,同时铁死亡因子的表达增加,而抗铁死亡因子的表达减少,表明上皮可能在 I/R 期间经历铁死亡。通过尾静脉注射

Fe 和 Fer-1,发现 Fer-1 减轻改善小鼠肺水肿、抑制脂质过氧化,增加上皮细胞活力,减轻肺损伤;而 Fe 可以逆转上述变化,作为铁死亡的负调节因子,通过 ROS-Nrf2 途径调节 SLC7A11 转录^[36];此外,激活 Nrf2 后能够上调多种 ROS 解毒酶,例如血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1,HO-1)^[37],敲低 Nrf2 可以显著降低 SLC7A11 和 HO-1 蛋白表达水平,促进 LPO 积累,说明 Nrf2 可能通过调节 SLC7A11 和 HO-1 表达来发挥其抗铁死亡作用。

总体来看,铁死亡参与了肺 I/R 以及肺外 I/R 因素引起 ALI 的发病过程;以铁死亡为核心和靶点,深入研究铁死亡在肺 I/R 损伤中的详细机制,有助于针对肺 I/R 损伤实施有效干预措施,提供有效预防策略。

2.3 脓毒症肺损伤

脓毒症引起多个脏器功能障碍,临床上最常见为呼吸系统功能障碍,主要表现为呼吸窘迫和进行性低氧血症,易发展为 ALI,发病率及致死率较高^[38]。在脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)诱导 ALI 模型上,发现随着 LPS 暴露时间的延长,肺上皮细胞中 ROS 水平和 Fe²⁺ 水平增加,GPX4 蛋白表达逐渐降低;用不同浓度 Fer-1 处理肺上皮细胞后,细胞活力显著增加,细胞凋亡率、ROS 水平和 Fe²⁺ 水平显著降低^[39]。盲肠结扎穿孔引起大鼠脓毒症后,肺组织出现明显炎症反应以及损伤;Fer-1 预处理,减轻了大鼠肺损伤程度,表现在肺泡破裂明显减少,肺水肿减轻,肺泡壁厚度变薄,炎症细胞浸润减少,炎症反应减轻,明显提高动物存活率^[40]。这些研究表明,铁死亡参与了脓毒症 ALI 的发病过程。多种治疗药物通过抑制铁死亡发挥了良好的抗脓毒症肺损伤作用^[41-42]。

中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps,NETs)在 ALI 以及炎症反应失控中的作用受到关注。干扰 NETs 驱动基因肽酰精氨酸脱羧酶 4(peptidylarginine deiminase 4,PAD4)、NETs 组分抑制剂西维司他在破坏 NETs 形成的同时,抑制了 LPS 引起小鼠肺和内皮细胞的铁死亡,改善了肺血管通透性与内皮屏障,西维司他亦可提高小鼠存活率,该作用与保护内皮多糖包被有关^[43]。LPS 在引起小鼠肺泡上皮细胞(MLE12 细胞)铁死亡的同时,也提高了内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)标志蛋白葡萄糖调节蛋白 78、活化转录因子 4 和 C/EBP 同源蛋白的表达,激活内质网自噬相关受

体序列相似性家族 134 成员 B 可显著降低 LPS 引起的铁死亡与 ERS, 亦减轻了脓毒症小鼠肺损伤^[44]。LPS 增加了小鼠肺组织干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 表达, 引起了铁死亡, STING 敲除减轻了 LPS 引起的肺部炎症和上皮细胞损伤、铁死亡, 提高了转录活化因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 的磷酸化表达; 铁死亡诱导剂逆转了 STING 敲除引起的炎症缓解与铁死亡减少, STAT3 抑制剂增加了 STING 敲除后的铁死亡, 说明 STING 通过 STAT3 参与 LPS 引起的肺铁死亡^[45]。与肺 I/R 损伤中的铁死亡相一致, Nrf2 缺失亦加重了脓毒症 ALI 的程度, GSH、GSH/氧化型谷胱甘肽 (oxidized glutathione, GSSG) 比值和 MDA 水平出现负向变化, 4-衣康酸辛酯 (4-octyl itaconate, 4-OI) 减轻肺损伤、抗脂质过氧化的作用失效^[23], 说明 4-OI 抗铁死亡作用依赖 Nrf2。这些研究表明, NETs 释放、ERS 以及 STING-STAT3、Nrf2 等信号参与了脓毒症肺损伤铁死亡的发生机制。

2.4 油酸诱导的急性肺损伤

过量油酸 (oleic acid, OA) 或外源给予 OA 可引起 ALI。研究发现, OA 对肺内皮细胞有直接毒性, 引起细胞坏死, 诱发毛细血管充血和间质/肺泡内水肿, 也可通过调控抗/促凋亡蛋白表达, 增强 ROS 产生, 诱导线粒体去极化和凋亡^[46]; 在 OA 致小鼠 ALI 模型上, 肺组织含水量增加, 肺泡通透性增加, 电镜观察到 II 型肺泡上皮细胞存在线粒体收缩和线粒体膜破裂的现象; OA 引起铁浓度在肺组织显著增加、GSH 消耗和 MDA 积累, 肺组织 GPX4 和 Ft 蛋白表达水平下调^[47], 这些结果均提示铁死亡在 OA 诱导 ALI 的发病机制中发挥潜在作用。

2.5 急性放射性肺损伤

放射性肺损伤 (radiation-induced lung injury, RILI) 是指正常肺组织被放射线损伤所引起的无菌性炎症。在小鼠急性 RILI 实验中, 随着照射时间延长, 肺 ROS 水平增加更为明显, 肺中存在胶原蛋白沉积, 同时 GPX4 蛋白和 mRNA 水平显著下调^[48-49]; Lip-1 治疗降低了 RILI 小鼠 ROS 含量、炎症细胞因子水平, 提高了 GPX4、Nrf2 表达, Nrf2 信号传导激活又可以下调 TGF- β 1, 并减轻包括 RILI 在内的纤维化疾病^[50]。这些研究加深了我们对 RILI 铁死亡的理解, 亦为研究新的防治 RILI 的措施提供了借鉴。

3 总结与展望

机体抗氧化功能抑制或失活, 细胞氧化还原平衡稳态破坏, 胞内有毒脂质代谢产物蓄积, 均引起细胞铁稳态失衡, 引起铁死亡。在多种类型 ALI 的发展进程中都有铁死亡的发生, 存在特征性铁浓度增加、GSH 消耗和 ROS 累积, 导致肺泡损伤严重, 进一步影响肺换气功能; 而使用铁死亡抑制剂或铁螯合剂能够有效逆转各种因素引发的肺泡上皮屏障功能障碍, 抑制铁死亡减轻 ALI。尽管在理解铁死亡调控机制方面取得了相当大的进展, 但是目前我们只知道干预铁死亡过程可能有助于预防和治疗 ALI, 至于铁死亡促进 ALI 的详细机制仍需继续探索; 同时, 目前对铁死亡与 ALI 的相关研究只停留在动物模型和/或体外研究阶段, 且在动物实验中使用铁死亡抑制剂时, 为了在靶组织中达到有意义的药效学反应, 还需进一步确定合适的试剂配方和给药途径。此外, 铁死亡抑制剂的确切剂量和副作用在很大程度上也仍未知。因此, 我们需要对 ALI 与铁死亡之间的关系进行更全面、更深入的研究, 并以此为基础, 靶向铁死亡开发防治 ALI 新的药物, 也为决策临床防治 ALI, 提供更多治疗措施。

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 [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [2] 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.
- [3] 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 [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(3): 285-296.
- [4] YANG W S, STOCKWELL B R. 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.
- [5] DIXON S J, WINTER G E, MUSAVI L S, et al. Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death [J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10(7): 1604-1609.
- [6] YU S, JIA J, ZHENG J, et al. Recent progress of ferroptosis in lung diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 789517.
- [7] CUI S, GHAI A, DENG Y, et al. Identification of hyperoxidized PRDX3 as a ferroptosis marker reveals ferroptotic damage in

- chronic liver diseases [J]. *Mol Cell*, 2023, 83 (21): 3931–3939.
- [8] ANDREWS N C, SCHMIDT P J. Iron homeostasis [J]. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69: 69–85.
- [9] BRISSOT P, ROPERT M, LAN C L, et al. Non-transferrin bound iron; a key role in iron overload and iron toxicity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(3): 403–410.
- [10] STOCKWELL B R, JIANG X. The chemistry and biology of ferroptosis [J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27(4): 365–375.
- [11] YAN H F, ZOU T, TUO Q Z, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 49.
- [12] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 165–176.
- [13] D' HERDE K, KRYSKO D V. Ferroptosis: Oxidized PEs trigger death [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 4–5.
- [14] WAN C, LI S, WEN L, et al. Damage of oxidative stress on mitochondria during microspores development in Honglian CMS line of rice [J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26(3): 373–382.
- [15] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266–282.
- [16] 马明和, 刘川川. 铁死亡与急性肝损伤研究进展 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2023, 30(12): 1501–1506.
- MA M H, LIU C C. Progress of relationship between ferroptosis and acute liver injury [J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2023, 30(12): 1501–1506.
- [17] LIU J, ZHANG C, WANG J, et al. The regulation of ferroptosis by tumor suppressor p53 and its pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 8387.
- [18] JIANG L, KON N, LI T, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520 (7545): 57–62.
- [19] SUZUKI S, TANAKA T, POYUROVSKY M V, et al. Phosphate-activated glutaminase (GLS2), a p53-inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(16): 7461–7466.
- [20] TANG D, CHEN X, KANG R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications [J]. *Cell Res*, 2021, 31 (2): 107–125.
- [21] OU Y, WANG S J, LI D, et al. Activation of SAT1 engages polyamine metabolism with p53-mediated ferroptotic responses [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113 (44): E6806–E6812.
- [22] LIU S, PI J, ZHANG Q. Signal amplification in the KEAP1-NRF2-ARE antioxidant response pathway [J]. *Redox Biol*, 2022, 54: 102389.
- [23] CHU X, LI L, YAN W, et al. 4-octyl itaconate prevents free fatty acid-induced lipid metabolism disorder through activating Nrf2-AMPK signaling pathway in hepatocytes [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5180242.
- [24] KERINS M J, OOI A. The roles of NRF2 in modulating cellular iron homeostasis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(17): 1756–1773.
- [25] LIANG W, GREVEN J, FRAGOULIS A, et al. Sulforaphane-dependent up-regulation of NRF2 activity alleviates both systemic inflammatory response and lung injury after hemorrhagic shock/resuscitation in mice [J]. *Shock*, 2022, 57(2): 221–229.
- [26] DUAN C, KUANG L, XIANG X, et al. Activated Drp1-mediated mitochondrial ROS influence the gut microbiome and intestinal barrier after hemorrhagic shock [J]. *Aging*, 2020, 12 (2): 1397–1416.
- [27] DEITCH E A. Gut lymph and lymphatics: a source of factors leading to organ injury and dysfunction [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1207(Suppl 1): E103–E111.
- [28] WANG J, YUE X Q, LI Y T, et al. Analysis and identification of ferroptosis-related gene signature for acute lung injury [J]. *Shock*, 2024, 61(5): 728–739.
- [29] FERRARI R S, ANDRADE C F. Oxidative stress and lung ischemia-reperfusion injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 590987.
- [30] 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.
- [31] TANG L J, LUO X J, TU H, et al. Ferroptosis occurs in phase of reperfusion but not ischemia in rat heart following ischemia or ischemia/reperfusion [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2021, 394(2): 401–410.
- [32] MURA M, ANDRADE C F, 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.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] 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*, 2020, 12(13): 12943–12959.
- [36] SUN X, OU Z, CHEN R, et al. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Hepatology*, 2016, 63(1): 173–184.
- [37] ABDALKADER M, LAMPINEN R, KANNINEN K M, et al. Targeting Nrf2 to suppress ferroptosis and mitochondrial dysfunction in neurodegeneration [J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 466.
- [38] TAO H, LI N, ZHANG Z, et al. Erlotinib protects LPS-induced acute lung injury in mice by inhibiting EGFR/TLR4 signaling pathway [J]. *Shock*, 2019, 51(1): 131–138.
- [39] 柳红英, 丁璐, 王卉, 等. GPX4 m6A 修饰在脓毒症诱导急性肺损伤小鼠肺上皮细胞铁死亡过程中的调控作用 [J]. *中*

国病理生理杂志, 2022, 38(9): 1659-1666.

LIU H Y, DING L, WANG H, et al. Regulatory role of GPX4 m6A modification in ferroptosis of lung epithelial cells in mice with sepsis-induced acute lung injury [J]. Chin J Pathophysiol, 2022, 38(9): 1659-1666.

[40] 刘奕言, 张紫森, 包代琴, 等. 抑制周细胞铁死亡对脓毒症大鼠肺血管屏障功能的保护作用 [J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(20): 2037-2047.

LIU Y Y, ZHANG Z S, BAO D Q, et al. Protective effects of inhibiting pericyte ferroptosis on pulmonary vascular barrier function in septic rats [J]. J. Army Med. Univ, 2022, 44(20): 2037-2047.

[41] XU Z, LI J, ZHOU K, et al. Exocarpium Citri Grandis ameliorates LPS-induced acute lung injury by suppressing inflammation, NLRP3 inflammasome, and ferroptosis [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 329: 118162.

[42] LI Z, YU Y, BU Y, et al. QiShenYiQi pills preserve endothelial barrier integrity to mitigate sepsis-induced acute lung injury by inhibiting ferroptosis [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 322: 117610.

[43] FEI Y, HUANG X, NING F, et al. NETs induce ferroptosis of endothelial cells in LPS-ALI through SDC-1/HS and downstream pathways [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 175: 116621.

[44] 金子琦, 唐波, 吴章宏, 等. 脓毒症相关肺损伤中内质网应激诱导的铁死亡机制研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(3): 491-499.

JIN Z Q, TANG B, WU Z H, et al. Mechanism of iron death induced by endoplasmic reticulum stress in sepsis-related lung injury [J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(3): 491-499.

[45] GU Y, LV L, JIN J, et al. STING mediates LPS-induced acute lung injury by regulating ferroptosis [J]. Exp Cell Res, 2024, 438(2): 114039.

[46] GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE C F, SILVA A R, BURTH P, et al. Acute respiratory distress syndrome: role of oleic acid-triggered lung injury and inflammation [J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 260465.

[47] 周航, 李凤, 牛建一, 等. 铁死亡参与油酸诱导的小鼠急性肺损伤 [J]. 生理学报, 2019, 71(5): 689-697.

ZHOU H, LI F, NIU J Y, et al. Ferroptosis was involved in the oleic acid-induced acute lung injury in mice [J]. Acta Physiol Sin, 2019, 71(5): 689-697.

[48] LI X, ZHUANG X, QIAO T. Role of ferroptosis in the process of acute radiation-induced lung injury in mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 519(2): 240-245.

[49] LI X, DUAN L, YUAN S, et al. Ferroptosis inhibitor alleviates Radiation-induced lung fibrosis (RILF) via down-regulation of TGF-β1 [J]. J Inflamm, 2019, 16: 11.

[50] BIAN C, QIN W J, ZHANG C Y, et al. Thalidomide (THD) alleviates radiation induced lung fibrosis (RILF) via down-regulation of TGF-β/Smad3 signaling pathway in an Nrf2-dependent manner [J]. Free Radic Biol Med, 2018, 129: 446-453.

[收稿日期]2024-05-15