

铁死亡调控机制及其在帕金森病中的研究进展

赵 喆, 鲍秀琦, 张 丹*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

摘要: 铁死亡是一种新型的细胞程序性死亡方式, 其形态、生化特征及作用机制均不同于凋亡、自噬、坏死、焦亡等已知的细胞死亡形式。铁死亡的调控机制主要涉及铁代谢、氨基酸代谢及脂质代谢。已有研究发现铁死亡在神经、肿瘤、缺血再灌注损伤等疾病的发生发展中起关键作用。帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是中枢神经系统最常见的神经退行性疾病之一, 其病因及发病机制尚未阐明。近期研究发现, PD 患者中脑处具有高铁、低还原型谷胱甘肽及高过氧化脂质等特点, 提示 PD 发病机制与铁死亡密切相关。在 PD 中, 一些铁死亡抑制剂表现出缓解疾病的能力, 其中一种铁离子螯合剂已进入临床试验阶段。本文系统总结铁死亡的主要调控机制并梳理其与 PD 的联系, 为治疗 PD 提供新的潜在靶点。

关键词: 铁死亡; 帕金森病; 铁代谢; 还原型谷胱甘肽; 脂质过氧化

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)03-0399-08

Mechanisms of ferroptosis and its involvement in Parkinson's disease

ZHAO Zhe, BAO Xiu-qi, ZHANG Dan*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, State Key Laboratory of Natural Products and Functions, Beijing 100050, China)

Abstract: Ferroptosis is a novel type of regulated cell death with morphology, biochemistry and mechanisms differing from traditional cell death types such as apoptosis, necrosis and pyroptosis. The regulatory mechanisms of ferroptosis mainly involve iron metabolism, amino acid metabolism and lipid metabolism. It has been found that ferroptosis plays a key role in the pathogenesis of diseases including neurodegenerative diseases, malignant tumors and ischemic reperfusion injury. Parkinson's disease (PD) is one of the most common neurodegenerative diseases and its etiology and pathogenesis remains unclear. Recent studies revealed that ferroptosis might be involved in the pathogenesis of PD, as evidenced by high iron content, depletion of reduced form of glutathione and elevated levels of lipid peroxides detectable in the midbrain of PD patients. Both *in vitro* and *in vivo* models of PD have shown that some ferroptosis inhibitors have the ability of attenuating the symptoms and one iron chelator is undergoing a clinic trial. We here summarize the mechanisms of ferroptosis and its association with PD, in an effort to suggest potential novel targets for therapies of PD.

Key words: ferroptosis; Parkinson's disease; iron metabolism; reduced glutathione; lipid peroxidation

铁死亡 (ferroptosis) 是一种铁依赖性的细胞程序性死亡, 由 Dixon 等^[1]于 2012 年首次提出, 该种新型的

细胞死亡形式与铁代谢异常及脂质过氧化等密切相关, 其作用分子、效应形态及生化特征等方面与凋亡、自噬、坏死、焦亡等其他细胞死亡方式有所不同。近年来, 不断有研究指出铁死亡同多种神经退行性疾病间存在密切关联, 尤其是铁死亡相关机制, 如铁离子代谢失衡^[2-4]、氧化应激^[5,6]及谷氨酸代谢异常^[7-10]等, 与帕金

收稿日期: 2018-10-24; 修回日期: 2018-12-09.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81630097, 81773718); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程资助项目 (2016-I2M-3-011).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165178, E-mail: danzhang@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0966

森病 (Parkinson's disease, PD) 的病理特征存在较多共性, 故铁死亡可能在 PD 的发生发展中起重要作用, 是该病临床治疗中的一个潜在靶点。本综述将在介绍铁死亡的基础上, 重点总结梳理 PD 与铁死亡的关联, 为 PD 药物研究提供新思路。

1 铁死亡

Dixon 等^[1]发现, erastin、RAS 选择性致死小分子 3 (RAS-selective lethal small molecule 3, RSL3) 等试剂可特异性诱导细胞发生新型程序性死亡, 细胞经该类诱导剂处理后, 线粒体缩小且线粒体嵴消失, 其生化特征也发生一系列变化, 如细胞膜脂质过氧化物积累、还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH) 耗竭等。凋亡、坏死等其他细胞程序性死亡抑制剂不可抑制由 erastin、RSL3 诱导的细胞死亡, 但一些铁螯合剂却可逆转该类细胞死亡的发生, 由于这种新型细胞程序性死亡形式与铁代谢密切相关, 故称之为铁死亡^[11]。

1.1 铁死亡特点

铁死亡在生化特征、起始事件、关键基因及相关疾病等方面均不同于凋亡、自噬、坏死、焦亡等其他细胞死亡方式, 其区别总结为表 1^[11-13]。在形态学方面, 发生铁死亡的细胞出现细胞膜增厚及线粒体缩小等坏死样改变^[1]; 细胞凋亡表现为核固缩, 细胞膜内陷形成凋亡小体^[11]; 自噬时可见具有典型双层膜结构的自噬囊泡; 细胞坏死则表现为胞质及细胞器肿胀、胞膜破裂以及线粒体结构破坏^[14]; 细胞焦亡时出现细胞膜穿孔并肿胀, 以及特殊形式的染色质凝集^[15]。尽管细胞坏死和铁死亡在电镜下形态难以鉴别, 但两者的生化特征

及调控机制不尽相同。坏死细胞中可见线粒体通透性转换孔 (permeability transition pore complex, PTPC) 打开^[11], 发生铁死亡的细胞往往伴随 GSH 缺乏及过氧化脂质增多; 细胞坏死依赖于亲环素 D (cyclophilin D, CYPD) 的调节, 而铁死亡的调控与铁代谢、氨基酸代谢和脂质代谢密切相关。

1.2 铁死亡调控机制

研究发现铁死亡的调控机制完全不同于其他细胞死亡方式, 大致可分为铁代谢、氨基酸代谢、脂质代谢 3 个部分。

1.2.1 铁代谢 铁代谢中的铁离子转运、存储、结合及解离相关蛋白对铁死亡途径起一定的调节作用。这些蛋白包括铁反应元件结合蛋白 2 (iron responsive element binding protein 2, IREB2)、转铁蛋白 (transferrin, Tf)、转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TfR)、核受体辅激活蛋白 4 (nuclear receptor coactivator 4, NCOA4) 及二价金属转运体 1 (divalent metal transporter 1, DMT1) 等。这些蛋白的表达异常或功能失调可能使铁离子因代谢失衡而浓度升高, 过多的铁积聚于组织会导致铁相关活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 增多、过氧化脂质聚集, 进而导致铁死亡的发生。转铁蛋白与转铁蛋白受体结合后可将细胞外的铁转运至细胞内, 促进铁死亡的发生; 反之, TfR1 表达降低可抑制 erastin 的敏感性; 清除培养基中的 Tf 则会抑制细胞铁死亡的发生^[16,17]。研究表明, 降低 IREB2 表达会诱导与铁摄入、转运、结合相关的蛋白表达增多, 如: TfR、铁硫簇组装酶 (iron-sulfur cluster assembly enzyme)、铁蛋白重链多

Table 1 Features of different kinds of cell death. GSH: Reduced glutathione; RSL3: RAS-selective lethal small molecule 3; GPX4: Glutathione peroxidase 4; SLC7A11: Solute carrier family 7 member 11; DFO: Deferoxamine; DNA: Deoxyribonucleic acid; ROS: Reactive oxygen species; Bcl-2: B-cell lymphoma 2; Z-VAD-FMK: Z-Val-Ala-Asp (OMe) fluoromethylketone; p62: Nucleoporin 62; ER: Endoplasmic reticulum; LC3: Microtubule-associated proteins light chain 3; ATG: Autophagy-related genes; PI3K: Phosphatidylinositol 3-kinase; PTPC: Permeability transition pore complex; Ca²⁺: Calcium ion; CYPD: Cyclophilin D; LPS: Lipopolysaccharides; GSDMD: Gasdermin D; Z-YVAD-FMK: Z-Tyr-Val-Ala-Asp (OMe) fluoromethylketone

Type	Biochemical feature	Activation condition	Key gene	Inhibitor	Relevant disease
Ferroptosis	Iron metabolism	Erastin	GPX4	Ferrostatin-1	Neurodegenerative diseases
	GSH deficiency	RSL3	SLC7A11	Liproxstatin-1	Cancer
	Lipid peroxidation			DFO	Ischemia-reperfusion injury
Apoptosis	DNA fragmentation	Intrinsic: DNA damage; ROS overload	Intrinsic: Caspase-3; Bcl-2	Caspase family inhibitor Z-VAD-FMK	Cancer
	Caspase activation	Extrinsic: death receptor activation	Extrinsic: Fas; caspase-8		Viral infection
Autophagy	Increased lysosomal activity	Nutritional deficiency	LC3	PI3K inhibitor	Cancer
	P62 degradation	ER stress	ATG genes		Parkinson disease
Necrosis	Opening of PTPC	Severe oxidative stress	CYPD	Cyclosporin A	Infection
		Cytosolic Ca ²⁺ overload		Sangliferin A	Toxins, trauma
Pyroptosis	Inflammatory caspase activation	LPS	Caspase-1	Caspase-1 inhibitor Z-YVAD-FMK	Infection
			GSDMD		Inflammation

肽 1 (ferritin heavy chain 1)、铁蛋白轻链 (ferritin light chain) 等。这些铁代谢相关蛋白的表达升高可以通过降低细胞内游离铁离子含量使得细胞对 erastin 不敏感。若干扰 IREB2 的负向调控因子的表达, 则会产生相反的效应^[1]。此外, Mancias 等^[18-20]通过蛋白质组学研究发现关键蛋白——NCOA4, 该蛋白可选择性识别铁蛋白 (ferritin), 并将其引导至自噬小体内, 通过溶酶体作用释放出游离铁离子, 这种过程被称为铁自噬 (ferritinophagy), 干扰 NCOA4 的表达可以显著地抑制铁蛋白的降解及铁死亡的发生。有研究报道, 其他一些影响铁代谢的蛋白表达也参与铁死亡的调控, 如热休克蛋白 $\beta 1$ (heat shock protein beta1, HSPB1)^[21]、CDGSH 铁硫域 1 (CDGSH iron sulfur domain 1, CISD1)^[22]等可以抑制铁死亡的发生。在肿瘤细胞中, 由蛋白激酶 C 介导的 HSPB1 磷酸化激活可以减少铁含量从而避免细胞发生铁死亡; 位于线粒体外膜的 CISD1 则通过抑制线粒体摄入铁离子而保护细胞。综上, 铁代谢途径是铁死亡调控机制的重要组成部分之一, 其相关基因可能成为调控铁死亡的潜在靶点 (图 1)。

1.2.2 氨基酸代谢 铁死亡氨基酸代谢机制的核心是 GSH。由于 GSH 在谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 的催化作用下可将具有潜在毒性的过氧化脂类 (lipid peroxides, L-OOH) 还原成无毒的脂醇 (lipid alcohol, L-OH)^[23], 故 GSH 是避免细胞发生铁死亡的重要保护性代谢物。在此过程中, GPX4 为关键酶, 以 GSH 作为还原剂, 促进过氧化脂类的还原反应, 阻止铁死亡发生。直接靶向 GPX4 的抑制剂, 如 (1S,3R)-RSL3 和 ML162 可以导致过氧化脂类的累积而诱发铁死亡^[24,25]。

GSH 由半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸分两步合成^[26]。该合成过程的效率受到底物半胱氨酸浓度的限制, 故胱氨酸-谷氨酸反转运系统 x_c^- 是另一关键调控因素^[1]。该转运体由溶质载体蛋白家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 和溶质载体蛋白家族 3 成员 2 (solute carrier family 3 member 2) 两个亚基构成, 可以 1:1 地将谷氨酸转运至胞外, 同时将胞外胱氨酸转运至胞内^[27]。Erastin 是一种靶向 x_c^- 系统的铁死亡诱导剂, 通过抑制半胱氨酸的摄入而减少 GSH 的合成, 使得 L-OOH 积聚诱导细胞发生铁死亡^[1]。

因此, GPX4 和 x_c^- 系统是调节铁死亡氨基酸代谢途径的关键蛋白, 可能成为调控铁死亡的重要靶点 (图 1)。

1.2.3 脂质代谢 铁死亡与脂质代谢途径密切相关, 多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 是其中最关键的分子^[28]。PUFA 参与组成细胞膜的脂质

双分子层结构, 是细胞膜具有流动性和变形性的分子基础^[29], 但其所含的碳碳双键具有不稳定性, 易成为脂质过氧化反应的靶点, 为铁死亡的执行提供物质基础^[28]。Kagan 等^[30]基于脂质组学的研究指出, 铁死亡中最关键的两种构成脑磷脂 (phosphatidylethanolamines, PEs) 的 PUFA, 分别是花生四烯酸和肾上腺酸, 并指出催化铁死亡特异 PUFA 的合成及过氧化的关键酶对于铁死亡十分重要。

Dixon 等^[31]在 2015 年通过单倍体细胞株筛选的方法找到在铁死亡通路中起重要作用的两种酶: 合成 PUFA 的酰基辅酶 A 合成酶长链 4 (acyl-CoA synthetase long chain family member 4, ACSL4) 及与脂质重塑相关的溶血卵磷脂酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)。敲除细胞中这两个基因可降低 PUFA 的合成, 使得铁死亡的执行被抑制^[30,32,33]; 相反, 当有足够的花生四烯酸或其他 PUFA 存在时, 铁死亡诱导剂会使细胞产生较多的过氧化脂质, 促进铁死亡的发生^[28]。两部分实验共同证明了 PUFA 是铁死亡过程中脂质过氧化的重要靶点。此外有研究表明, PUFA 是神经元膜结构的重要组成部分^[29], 在胎儿发育过程中缺乏 PUFA 会影响神经发育, 患有神经退行性疾病的老年人补充 PUFA 可逆转神经的退化^[34]。这些证据均提示, 无论是在生理发育状态下还是病理条件下, 铁死亡的发生机制或许都与 PUFA 相关, 这可能是未来该领域研究的方向之一。除 PUFA 外, 一类含铁蛋白, 脂氧合酶 (lipoxygenases, LOXs) 可以介导铁死亡过程中对多不饱和脂肪酸的过氧化^[28,30]。LOXs 减少也会同样抑制由 erastin 诱导的铁死亡。

综上, 脂质过氧化很可能是铁死亡的执行位点, 过氧化的磷脂可以分解成活性物质进而募集相关分子, 诱导杀伤作用。因此, 脂质代谢在铁死亡发生机制中起着重要作用 (图 1)。

2 帕金森病

2.1 帕金森病概况

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是中枢神经系统常见的退行性疾病, 其病理特征为中脑黑质 (substantia, SN) 区域多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元退行性死亡伴纹状体区域 DA 含量下降^[35]。目前我国 PD 的发病率较高且不断上升, 但由于 PD 的病因及发病机制复杂, 目前研究尚未阐明, 故无延缓或逆转疾病进程的药物。

2.2 帕金森病发病机制

PD 发病机制至今尚未研究明确, 但广泛认为遗传因素、氧化应激及免疫炎症等均可能参与 PD 多巴胺能神经元的变性死亡过程。在遗传方面, 研究发现 α -突

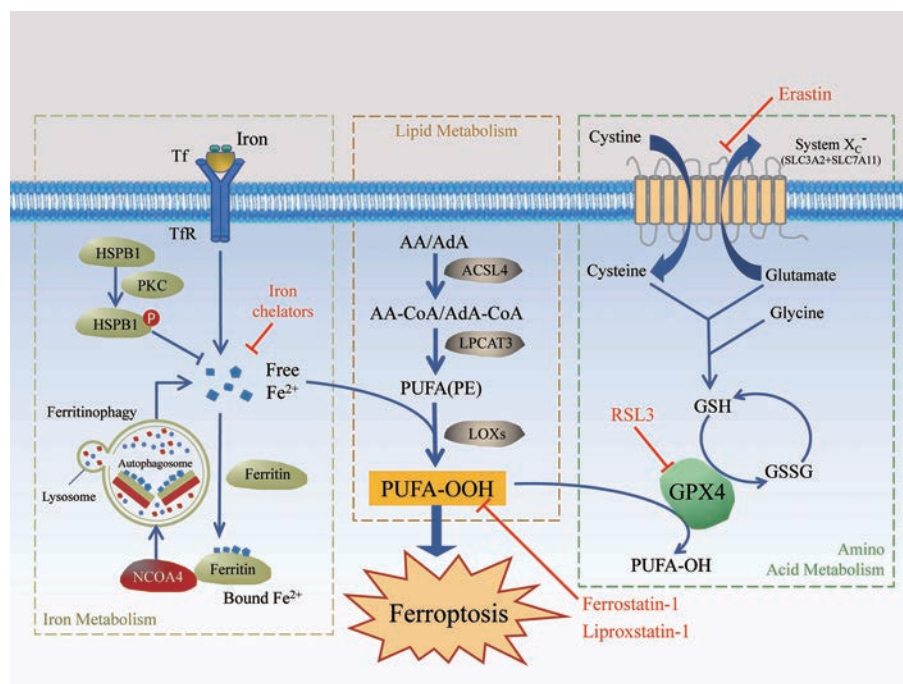


Figure 1 Ferroptosis is mainly regulated by iron metabolism, amino acid metabolism, and lipid metabolism. 1) Lipid metabolism: iron-dependent lipid peroxides (L-OOH) that execute ferroptosis come from peroxidation of PE containing AA and AdA, which is catalyzed by LOXs. 2) Iron metabolism: the expression and efficiency of Tf and TfR can influence the intake of iron. Iron bound with ferritin can be set free by NCOA4-mediated ferritinophagy, which causes the accumulation of free ferrous ion. Increased free iron leads to the peroxidation of specific PUFAs. However, HSPB1 can regulate this process negatively by lowering intracellular iron. 3) Amino acid metabolism: imported by system x_c^- , cystine is reduced to synthesize GSH which is used to deplete L-OOH via GPX4. Main inducers and inhibitors of ferroptosis are shown in red. Erastin and RSL3 induce ferroptosis by inhibiting system x_c^- and GPX4, respectively. Through binding and attenuating the extra iron ions, chelators suppress this event. Ferrostatin-1 and liproxstatin-1 are antioxidants with high activity of inhibiting ferroptosis by eliminating the lipid peroxides. Tf: Transferrin; TfR: Transferrin receptor; SLC3A2: Solute carrier family 3 member 2; AA: Arachidonic acid; AdA: Adrenic acid; PKC: Protein kinase C; HSPB1: Heat shock protein beta1; ACSL4: Acyl-CoA synthetase long chain family member 4; LPCAT3: Lysophosphatidylcholine acyltransferase 3; NCOA4: Nuclear receptor coactivator 4; Fe^{2+} : Ferrous ion; PUFA: Polyunsaturated fatty acid; PE: Phosphatidylethanolamine; LOXs: Lipoxygenases; GSH: Reduced glutathione; GSSG: Glutathione disulfide; GPX4: Glutathione peroxidase 4

触核蛋白 (α -synuclein)、parkin、UCH-L1、DJ-1、LRRK2 等基因的突变与家族遗传性帕金森病发病相关^[36,37]。在氧化应激方面,多巴胺氧化、 α -synuclein 累积及线粒体呼吸链功能障碍均可引起 PD 发生^[38-40]。在免疫炎症方面,黑质区可检测到炎症激活且脂多糖可应用于构建动物模型^[41-43]。此外,环境因素、年龄老化等因素也在 PD 发病中占有重要地位。

3 铁死亡与帕金森病

随着对 PD 及铁死亡机制研究的不断深入,越来越多证据表明,PD 发病与铁死亡机制间存在密切联系。本部分系统梳理铁死亡在 PD 中的可能作用机制,为发现治疗 PD 的潜在靶点提供新思路。

3.1 铁代谢失调是联系 PD 及铁死亡的纽带

铁离子是人体所必需的离子,生理状态下通过机

体对铁离子的摄取、转运、转化及排出而维持其在体内的正常水平。一旦游离铁离子富集,细胞会产生过多的 ROS,引起铁死亡发生,因而对于 PD 患者,铁离子含量升高可能是其发病原因之一。

流行病学研究提示,铁摄入及环境中铁含量均是 PD 发病的重要危险因素。环境中铁含量越丰富,PD 的患病风险越高^[44]。2017年, Jiang 等^[45]报道, PD 患者脑内黑质部位的铁含量较正常人明显升高,而脑组织其余部分正常。Devos 等^[46]报道的一项铁离子螯合剂 deferiprone (DFP) 的临床研究表明,驱铁治疗可以通过降低患者体内的铁含量而缓解早期 PD 患者的运动症状。此外,有研究发现在 PD 动物模型中 VK-28 和 M30 等多种能透过血脑屏障的铁螯合剂对模型小鼠有明显的保护作用^[47],进一步证明了铁含量与 PD 发病的相关性。

PD患者体内过高的铁离子水平可能与铁代谢途径出现异常相关。有研究发现,铁代谢相关蛋白在PD患者体内出现一致的功能异常。人群遗传学研究揭示,与铁离子转运、存储、摄入途径相关的蛋白,如Tf、TfR2^[48]、血浆铜蓝蛋白(ceruloplasmin, CP)^[49]、淀粉样肽前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)^[50-52]等,其基因突变与PD发病风险相关。Tf的突变可能使神经元过多地摄取铁离子而产生神经毒性,故Tf突变后显示PD的易感性增加,而TfR2的突变却提示对PD有保护作用^[48]。此外,APP在膜上可以稳定铁离子转运蛋白,其功能丧失则会导致铁离子累积^[51]。可见这些参与维持铁离子稳态的基因失常可导致患者体内铁含量异常而诱发铁死亡的发生,最终使得患者中枢神经系统发生退行性改变。

PD典型病理特征之一为黑质神经元胞质内形成路易氏小体(Lewy's body),路易氏小体主要成分为 α -synuclein。这些沉积于PD患者脑组织的 α -synuclein也与铁离子有密切联系。首先, α -synuclein和二价铁离子及三价铁离子均有很强的结合力^[53,54],且在细胞中铁离子增多可以促进 α -synuclein聚合^[55]。同时,有研究发现 α -synuclein蛋白mRNA的5'UTR区存在铁应答元件(iron response element, IRE)^[56],PD患者脑组织中升高的铁离子可能通过结合IRE而增加该蛋白的翻译。Febbraro等^[57]用铁离子螯合剂去铁胺(deferoxamine, DFO)处理HEK293细胞,证实铁离子缺乏可以抑制 α -synuclein的表达,阻遏细胞发生PD样改变。

综上,铁离子对铁死亡的调控作用、铁含量与PD发病的相关性以及铁离子与 α -synuclein的相互作用共同提示铁含量异常可能是PD的重要病因之一。PD患者体内过高的铁离子水平可能通过诱导黑质区神经元发生铁死亡而使其退行性变,导致疾病的发生。细胞发生铁死亡后,其胞内富集的铁离子会随着细胞裂解而释放到细胞间隙中,形成高铁微环境。游离铁则易通过细胞膜铁浓度梯度差从较高浓度的胞外进入较低浓度的胞内,而造成周围神经元内铁离子累积、铁代谢紊乱,进一步引起更多的细胞发生铁死亡,这一进程在患者体内则表现出疾病的不断进展。铁螯合剂可以特异性结合游离铁离子并促进其排出,从而抑制铁死亡发生,使得逆转细胞铁死亡对机体铁代谢的影响成为可能。因此,作用于铁代谢通路而降低体内铁含量的相关药物有望成为治疗PD的新药。

3.2 铁死亡相关GSH代谢与PD发病的关系

GSH的合成及还原作用是氨基酸代谢途径调控铁死亡机制的核心,GSH含量不足将无法代谢由于氧化应激而产生的过氧化脂类。Jenner等^[58]通过比较

PD患者和正常人的脑组织,发现PD患者黑质区的GSH水平降低,而其他部位则正常。

已知胞外的谷氨酸对多巴胺能神经元具有兴奋性毒性作用,但其具体作用机制尚未阐明^[59-61]。研究发现,细胞内外的谷氨酸浓度梯度差会影响 x_c^- 系统的活性。细胞外的谷氨酸浓度过高会降低细胞内外的谷氨酸浓度差,从而抑制 x_c^- 系统的转运作用,使得胞内半胱氨酸的供应减少,从而限制GSH的合成^[1]。故胞外的高浓度谷氨酸可能通过铁死亡途径诱导细胞损伤这一发现,能部分解释神经系统内高浓度的谷氨酸对细胞产生的兴奋性毒性作用。Savaskan等^[62]发现通过RNA干扰技术降低移植至小鼠脑部脑胶质瘤中SLC7A11的表达,可减少其谷氨酸的分泌,从而延缓小鼠周围正常脑组织的神经退化。

以上这些证据均证明铁死亡途径中GSH与PD发病的关联,提示GSH缺乏可能通过诱导铁死亡的激活而使神经元出现退行性改变。故作用于GSH代谢通路而改变GSH含量的方法可能成为治疗PD的新策略。

3.3 过氧化脂质累积是联系PD和铁死亡的证据

有研究指出过氧化脂质在PD患者及PD模型研究中表现出重要作用,脂质代谢异常,特别是PUFA发生过氧化可能是铁死亡的重要执行机制之一。Dexter等^[63]通过尸检18位帕金森病患者和19位正常人,比较脑组织的过氧化脂质含量,发现PD患者黑质中过氧化脂质较对照组明显升高,且已有研究证明过氧化脂质可直接促进人脑黑质区的神经退行性改变^[64]。

另有研究指出,格列酮类药物可以通过靶向ACSL4阻滞铁死亡敏感的多不饱和磷脂的合成,从而抑制铁死亡发生^[65]。Brauer等^[66]的回顾性研究分析了临床试验中的糖尿病患者,发现使用格列酮类降糖药的患者PD发病率较低,进一步证实了ACSL4在PD发病过程中的作用。

此部分报道提示,铁死亡和PD发病的连接关键在于患者脑部紊乱的脂质代谢以及过氧化脂质的累积,故可作用于脂质代谢通路而减少过氧化脂质累积的靶点有望成为治疗PD的新靶点。

3.4 PD发病中铁死亡机制的体外证据

铁死亡不仅在回顾性研究与PD相关,最新的体外模型实验亦直接证明了铁死亡在PD发病中的重要作用。多巴胺能神经元的退化是PD发病的重要机制^[35]。2016年,法国的一个研究团队^[67]报道人源多巴胺能神经元细胞系LUHMES细胞展现出对铁死亡诱导剂的高度敏感性。在铁死亡诱导剂erastin作用下,细胞系出现GSH降低等特异性铁死亡特征。

LUHMES 细胞所出现的这种损伤无法被凋亡或自噬抑制剂所逆转,但铁死亡抑制剂,包括铁离子螯合剂和 Fer-1 等,可以特异性抑制这种死亡。进一步的研究发现,PD 模型中的蛋白激酶 $C\alpha$ (protein kinase $C\alpha$, PKC α) 及丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase) 通路的激活是铁死亡发生的可能机制之一。同时,该团队在对比正常人和 PD 患者脑组织中铁死亡相关基因表达量时,发现仅有黑质区的 GPX4 和 SLC7A11 表现出明显差异。该项研究直接并严谨地证明,铁死亡可部分解释 PD 患者黑质区出现多巴胺能神经元退行性改变的机制。

随着研究不断深入,研究者有望发现更多的铁死亡相关调控蛋白,从而研究并确定可以用于治疗 PD 疾病的新靶点。

4 铁死亡调控机制相关的 PD 治疗药物

PD 的发生可能是由多巴胺能神经元铁死亡异常亢进引起的,那么针对铁死亡相关调控机制并抑制其发生的药物均有望成为治疗 PD 的新药。现有一种铁离子螯合剂 DFP,已进入临床试验阶段^[46]。尽管其他铁螯合剂(如 DFO、VK-28、M30 等)在体外实验或动物模型中也表现出对铁死亡的阻断作用^[1,47],但目前仅有 DFP 可以进入临床试验,这可能与 DFP 可以穿过血脑屏障有关。该试验通过比较安慰剂组和早期使用低剂量 DFP 组的 PD 患者发现,DFP 的使用可以明显缓解患者的运动障碍,且具有较高的安全性。鉴于其显著的临床效果,该药已在欧洲开展多中心 II 期临床试验,主要用于评估 DFP 是否可以缓解进展中 PD 患者的运动症状。

此外,作用于脂质过氧化的铁死亡抑制剂也不断涌现^[68],包括脂氧合酶 (LOXs) 抑制剂^[69]、ferrostatin-1 和 liproxstatin-1^[70]、维生素 E^[30] 及 ACSL4 抑制剂格列酮类药物^[33,65]等。其中, zileuton、ferrostatin-1 等小分子可抑制神经细胞或 PD 动物模型中铁死亡的发生^[67,69],但尚未有临床验证。格列酮类药物也仅在回顾性研究中展现出与 PD 的关联,尚未有前瞻性临床试验证明其对 PD 的治疗作用。作用于铁代谢的铁螯合剂可结合游离铁离子,促进其排出而降低体内铁含量,进而对铁代谢产生影响,但针对脂质过氧化过程的抑制剂对铁代谢没有显著影响。

虽然铁死亡抑制剂较多,但很多还未在 PD 相关模型中得到验证,且仅有极少部分药物可以转化到临床阶段。通过 DFP 的研发经验可以发现,这些铁死亡小分子抑制剂能通过血脑屏障可能是其对 PD 有缓解作用的前提之一。

5 结语与展望

随着对铁死亡在生理发育、肿瘤、缺血再灌注损伤等其他研究领域的不断深入,该通路涉及的蛋白分子、调控机制也将不断被丰富,这些基因或将成为潜在抗帕金森病的药物靶点。除对铁死亡调控机制的进一步完善,这种新型的细胞死亡方式对机体的铁代谢、氨基酸代谢及脂质代谢甚至他们稳态的影响,都值得研究者进一步探究。

本文所总结的铁死亡与 PD 的紧密联系提示,两者的研究发展是相辅相成的。在 PD 相关模型中研究铁死亡,一方面,可以丰富 PD 中多巴胺能神经元退行性病变的可能机制,为逆转这一过程提供相关靶点;另一方面,可能发现更多调控铁死亡的基因和机制,为铁死亡本身调控机制的深入研究添砖加瓦。铁自噬是近期发现的细胞内产生游离铁的重要途径之一,该途径的激活可通过产生过量的游离铁离子而促进铁死亡的发生。关于铁自噬与 PD 发病的相关性,仍需大量研究验证。类似于铁自噬,目前较多已知的铁死亡相关靶点尚未在 PD 模型中得到直接验证,故铁死亡在 PD 中的作用机制仍需完善。在 PD 背景下研究铁死亡的发生及其作用机制应该是近几年相关领域研究的重点与热点,且对 PD 中铁死亡机制的进一步探索,将对阿尔兹海默病、亨廷顿氏病等其他神经退行性疾病的预防和治疗起到启发作用。

References

- [1] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149: 1060-1072.
- [2] Rinaldi DE, Corradi GR, Cuesta LM, et al. The Parkinson-associated human P5B-ATPase ATP13A2 protects against the iron-induced cytotoxicity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1848: 1646-1655.
- [3] Trinh K, Moore K, Wes PD, et al. Induction of the phase II detoxification pathway suppresses neuron loss in Drosophila models of Parkinson's disease [J]. *J Neurosci*, 2008, 28: 465-472.
- [4] Liddell JR, Obando D, Liu J, et al. Lipophilic adamantyl- or deferasirox-based conjugates of desferrioxamine B have enhanced neuroprotective capacity: implications for Parkinson disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 60: 147-156.
- [5] Brenner S. Parkinson's disease may be due to failure of melanin in the substantia nigra to produce molecular hydrogen from dissociation of water, to protect the brain from oxidative stress [J]. *Med Hypotheses*, 2014, 82: 503.
- [6] Gao HM, Zhou H, Hong JS. NADPH oxidases: novel therapeutic targets for neurodegenerative diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33: 295-303.

- [7] Ahmed I, Bose SK, Pavese N, et al. Glutamate NMDA receptor dysregulation in Parkinson's disease with dyskinesias [J]. *Brain*, 2011, 134: 979-986.
- [8] Amalric M. Targeting metabotropic glutamate receptors (mGluRs) in Parkinson's disease [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 20: 29-34.
- [9] Buchanan RJ, Gjini K, Darrow D, et al. Glutamate and GABA concentration changes in the globus pallidus internus of Parkinson's patients during performance of implicit and declarative memory tasks: a report of two subjects [J]. *Neurosci Lett*, 2015, 589: 73-78.
- [10] Chotibut T, Davis RW, Arnold JC, et al. Ceftriaxone increases glutamate uptake and reduces striatal tyrosine hydroxylase loss in 6-OHDA Parkinson's model [J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 49: 1282-1292.
- [11] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018 [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25: 486-541.
- [12] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16: 3-11.
- [13] Yu HM, Wang M, Mao ZF, et al. The prospects of ferroptosis in the pathogenesis of liver disease [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 1783-1790.
- [14] Trump BF, Berezsky IK, Chang SH, et al. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis [J]. *Toxicol Pathol*, 1997, 25: 82-88.
- [15] Jorgensen I, Miao EA. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens [J]. *Immunol Rev*, 2015, 265: 130-142.
- [16] 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: 234-245.
- [17] Gao M, Monian P, Quadri N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis [J]. *Mol Cell*, 2015, 59: 298-308.
- [18] Mancias JD, Wang X, Gygi SP, et al. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy [J]. *Nature*, 2014, 509: 105-109.
- [19] Gao M, Monian P, Pan Q, et al. Ferroptosis is an autophagic cell death process [J]. *Cell Res*, 2016, 26: 1021-1032.
- [20] Hou W, Xie Y, Song X, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin [J]. *Autophagy*, 2016, 12: 1425-1428.
- [21] Sun X, Ou Z, Xie M, et al. HSPB1 as a novel regulator of ferroptotic cancer cell death [J]. *Oncogene*, 2015, 34: 5617-5625.
- [22] Yuan H, Li X, Zhang X, et al. CISD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478: 838-844.
- [23] Ursini F, Maiorino M, Valente M, et al. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1982, 710: 197-211.
- [24] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156: 317-331.
- [25] Viswanathan VS, Ryan MJ, Dhruv HD, et al. Dependency of a therapy-resistant state of cancer cells on a lipid peroxidase pathway [J]. *Nature*, 2017, 547: 453-457.
- [26] 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: 273-285.
- [27] 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]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 11455-11458.
- [28] Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: E4966-E4975.
- [29] Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, et al. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane [J]. *Neurobiol Aging*, 2002, 23: 843-853.
- [30] Kagan VE, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 81-90.
- [31] Dixon SJ, Winter GE, Musavi LS, et al. Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death [J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10: 1604-1609.
- [32] Yuan H, Li X, Zhang X, et al. Identification of ACSL4 as a biomarker and contributor of ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478: 1338-1343.
- [33] Doll S, Proneth B, Tyurina YY, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 91-98.
- [34] Janssen CI, Kiliaan AJ. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration [J]. *Prog Lipid Res*, 2014, 53: 1-17.
- [35] Zucca FA, Segura-Aguilar J, Ferrari E, et al. Interactions of iron, dopamine and neuromelanin pathways in brain aging and Parkinson's disease [J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 155: 96-119.
- [36] Hernandez DG, Reed X, Singleton AB. Genetics in Parkinson disease: Mendelian *versus* non-Mendelian inheritance [J]. *J Neurochem*, 2016, 139 Suppl 1: 59-74.
- [37] Mastrangelo L. The genetics of Parkinson disease [J]. *Adv Genet*, 2017, 98: 43-62.
- [38] Yan MH, Wang X, Zhu X. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 62: 90-101.
- [39] Yin F, Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial energy metabolism and redox signaling in brain aging and neurodegeneration [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20: 353-371.
- [40] Burbulla LF, Song P, Mazzulli JR, et al. Dopamine oxidation mediates mitochondrial and lysosomal dysfunction in Parkinson's

- disease [J]. *Science*, 2017, 357: 1255-1261.
- [41] Sherer TB, Betarbet R, Kim JH, et al. Selective microglial activation in the rat rotenone model of Parkinson's disease [J]. *Neurosci Lett*, 2003, 341: 87-90.
- [42] Brodacki B, Staszewski J, Toczyłowska B, et al. Serum interleukin (IL-2, IL-10, IL-6, IL-4), TNF α , and INF γ concentrations are elevated in patients with atypical and idiopathic parkinsonism [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 441: 158-162.
- [43] Zheng YP, Zang CX, Wang L, et al. Lipopolysaccharide potentiates dopaminergic neuronal dysfunction in α -synuclein transgenic mice [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 729-736.
- [44] Powers KM, Smith-Weller T, Franklin GM, et al. Dietary fats, cholesterol and iron as risk factors for Parkinson's disease [J]. *Parkinsonism Relat Disord*, 2009, 15: 47-52.
- [45] Jiang H, Wang J, Rogers J, et al. Brain iron metabolism dysfunction in Parkinson's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 3078-3101.
- [46] Devos D, Moreau C, Devedjian JC, et al. Targeting chelatable iron as a therapeutic modality in Parkinson's disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21: 195-210.
- [47] Bar-Am O, Amit T, Kupersmidt L, et al. Neuroprotective and neurorestorative activities of a novel iron chelator-brain selective monoamine oxidase-A/moamine oxidase-B inhibitor in animal models of Parkinson's disease and aging [J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36: 1529-1542.
- [48] Rhodes SL, Buchanan DD, Ahmed I, et al. Pooled analysis of iron-related genes in Parkinson's disease: association with transferrin [J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 62: 172-178.
- [49] Osaki S, Johnson DA, Frieden E. The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum [J]. *J Biol Chem*, 1966, 241: 2746-2751.
- [50] Duce JA, Tsatsanis A, Cater MA, et al. Iron-export ferroxidase activity of beta-amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease [J]. *Cell*, 2010, 142: 857-867.
- [51] Lei P, Ayton S, Finkelstein DI, et al. Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export [J]. *Nat Med*, 2012, 18: 291-295.
- [52] Ayton S, Lei P, Hare DJ, et al. Parkinson's disease iron deposition caused by nitric oxide-induced loss of beta-amyloid precursor protein [J]. *J Neurosci*, 2015, 35: 3591-3597.
- [53] Golts N, Snyder H, Frasier M, et al. Magnesium inhibits spontaneous and iron-induced aggregation of alpha-synuclein [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 16116-16123.
- [54] Peng Y, Wang C, Xu HH, et al. Binding of alpha-synuclein with Fe(III) and with Fe(II) and biological implications of the resultant complexes [J]. *J Inorg Biochem*, 2010, 104: 365-370.
- [55] Ostrerova-Golts N, Petrucelli L, Hardy J, et al. The A53T alpha-synuclein mutation increases iron-dependent aggregation and toxicity [J]. *J Neurosci*, 2000, 20: 6048-6054.
- [56] Friedlich AL, Tanzi RE, Rogers JT. The 5'-untranslated region of Parkinson's disease alpha-synuclein messenger RNA contains a predicted iron responsive element [J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12: 222-223.
- [57] Febbraro F, Giorgi M, Caldarola S, et al. alpha-Synuclein expression is modulated at the translational level by iron [J]. *Neuroreport*, 2012, 23: 576-580.
- [58] Jenner P, Dexter DT, Sian J, et al. Oxidative stress as a cause of nigral cell death in Parkinson's disease and incidental Lewy body disease. The Royal Kings and Queens Parkinson's Disease Research Group [J]. *Ann Neurol*, 1992, 32 Suppl: S82-S87.
- [59] Van Laar VS, Roy N, Liu A, et al. Glutamate excitotoxicity in neurons triggers mitochondrial and endoplasmic reticulum accumulation of Parkin, and, in the presence of N-acetyl cysteine, mitophagy [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 74: 180-193.
- [60] Song H, Kim W, Kim SH, et al. VPK3-mediated nuclear localization of HSP70 prevents glutamate excitotoxicity-induced apoptosis and A β accumulation *via* enhancement of ERK phosphatase VHR activity [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38452.
- [61] Zhang Y, He X, Meng X, et al. Regulation of glutamate transporter trafficking by Nedd4-2 in a Parkinson's disease model [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2574.
- [62] Savaskan NE, Heckel A, Hahnen E, et al. Small interfering RNA-mediated xCT silencing in gliomas inhibits neurodegeneration and alleviates brain edema [J]. *Nat Med*, 2008, 14: 629-632.
- [63] Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, et al. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease [J]. *J Neurochem*, 1989, 52: 381-389.
- [64] Dexter D, Carter C, Agid F, et al. Lipid peroxidation as cause of nigral cell death in Parkinson's disease [J]. *Lancet*, 1986, 2: 639-640.
- [65] Kim JH, Lewin TM, Coleman RA. Expression and characterization of recombinant rat Acyl-CoA synthetases 1, 4, and 5. Selective inhibition by triacsin C and thiazolidinediones [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 24667-24673.
- [66] Brauer R, Bhaskaran K, Chaturvedi N, et al. Glitazone treatment and incidence of Parkinson's disease among people with diabetes: a retrospective cohort study [J]. *PLoS Med*, 2015, 12: e1001854.
- [67] Do Van B, Gouel F, Jonneaux A, et al. Ferroptosis, a newly characterized form of cell death in Parkinson's disease that is regulated by PKC [J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 94: 169-178.
- [68] JPF Angeli, Shah R, Pratt DA, et al. Ferroptosis inhibition: mechanisms and opportunities [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38: 489-498.
- [69] Liu Y, Wang W, Li Y, et al. The 5-lipoxygenase inhibitor zileuton confers neuroprotection against glutamate oxidative damage by inhibiting ferroptosis [J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38: 1234-1239.
- [70] Zilka O, Shah R, Li B, et al. On the mechanism of cytoprotection by ferrostatin-1 and liproxstatin-1 and the role of lipid peroxidation in ferroptotic cell death [J]. *ACS Cent Sci*, 2017, 3: 232-243.