

铁死亡在肝脏疾病中的作用及治疗策略

王家琪¹, 李惠怡¹, 黄于乔², 翁琦青¹, 王桂香², 兰天^{1*}

(1. 广东药科大学中医药研究院, 广东 广州 510006; 2. 广东药科大学药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 调节性细胞死亡的发现使人类在疾病治疗领域取得了新的突破。作为近十年来新发现的一种调节性细胞死亡, 铁死亡的显著特点是细胞内铁离子的异常升高和细胞膜脂质的过氧化破损, 形态学特征为线粒体体积缩小、线粒体膜密度增高和线粒体减少或消失。铁死亡的发生机制主要与铁代谢紊乱、脂质代谢异常、氨基酸抗氧化系统失衡和氧化应激等因素相关。由于人体内储存铁离子的主要器官为肝脏, 因此深度剖析铁死亡在肝脏疾病中的作用机制非常必要。相关研究表明, 铁死亡在不同的肝脏疾病背景下扮演不同的角色, 与肝脏疾病的发生过程密切相关, 在药物性肝损伤、酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝、病毒性肝炎、肝纤维化和肝细胞癌等病变过程中都发挥着重要调控作用。本文以铁代谢紊乱、细胞膜脂质过氧化物积累、氨基酸抗氧化系统失衡、线粒体膜电位超极化及其脂质过氧化物积累和氧化应激相关转录因子等方面为切入点, 对铁死亡的调控机制、研究现状及其在肝脏相关疾病中的作用进行综述, 为铁死亡的深入研究和肝脏疾病的治疗提供新的理论基础和研究思路。

关键词: 铁死亡; 铁代谢; 氧化应激; 作用机制; 肝病; 药物治疗

中图分类号: R967 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)06-1604-10

The role and treatment strategies of ferroptosis in liver diseases

WANG Jia-qi¹, LI Hui-yi¹, HUANG Yu-qiao², WENG Qi-qing¹, WANG Gui-xiang², LAN Tian^{1*}

(1. Institute of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The discovery of regulatory cell death has led to new breakthroughs in the field of disease treatment. As a novel discovered regulatory cell death in the past decade, ferroptosis is characterized by abnormal increase of intracellular iron ions and peroxidative damage of cell membrane lipids, morphological features of mitochondrial volume reduction, increased mitochondrial membrane density, as well as mitochondria decrease or disappear. The mechanism of ferroptosis is mainly associated with factors such as iron metabolism disorder, lipid metabolism abnormality, amino acid antioxidant system imbalance and oxidative stress. Since the liver is the main organ of human body for storing iron ions, it is necessary to deeply investigate the mechanism of ferroptosis in liver diseases. Relevant studies have shown that ferroptosis plays different roles in various liver diseases and is closely related to the process of liver diseases, including drug-induced liver injury, alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic fatty liver diseases, viral hepatitis, liver fibrosis and hepatocellular carcinoma. The aim of this review is to link ferroptosis and liver diseases, concentrating on the iron metabolism disorder, accumulation of lipid peroxides in cell membranes, imbalance of amino acid antioxidant system, hyperpolarization of mitochondrial membrane potential and its accumulation of lipid peroxides, oxidative stress-related transcription factors and other aspects. This review summarizes the regulatory mechanism, current situation and the roles of ferroptosis in liver diseases, in order to provide a new theoretical basis and ideas for the in-depth study of ferroptosis and the treatment of liver diseases.

收稿日期: 2022-02-28; 修回日期: 2022-05-08.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81870420, 82070590).

*通讯作者 Tel: 13902258597, E-mail: lantian012345@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0266

Key words: ferroptosis; iron metabolism; oxidative stress; mechanism; liver disease; pharmaceutical therapy

肝脏疾病是世界范围内导致疾病和死亡的主要原因。在中国,以病毒性肝炎、非酒精性脂肪性肝病和急性肝衰竭为代表的各类肝病影响了近3亿人,同时肝癌也是中国第二大常见癌症^[1]。调节性细胞死亡在肝脏发病机制中起重要作用,铁死亡(ferroptosis)是2012年新发现的一种铁依赖性细胞死亡形式,其实质是依赖铁离子的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和脂质过氧化物积累导致的线粒体形态改变和细胞膜磷脂过氧化损伤^[2]。铁死亡的调控除了铁稳态的调节和脂质调节,还发现有许多代谢途径与铁死亡相关,如氨基酸抗氧化系统、辅酶Q10(coenzyme Q10, CoQ10)-铁死亡抑制蛋白1(ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(磷酸)[nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate), NAD(P)H]通路、三磷酸鸟苷环化水解酶1(guanosine triphosphate cyclohydrolase 1, GCH1)-四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin, BH4)-磷脂轴等。有证据显示,铁死亡可能在药物性肝损伤、酒精性肝病、非酒精性脂肪性肝病、病毒性肝炎及肝纤维化等肝脏疾病中发挥重要作用^[3]。

本文整理了铁稳态调节、铁死亡基本特点与铁死亡调控机制,并对铁死亡在不同肝脏疾病及其发展阶段的关键靶点与治疗策略进行综述,为从靶向铁死亡防治肝脏疾病提供新思路。

1 铁稳态调节

铁稳态是指机体中的铁处于不断吸收、利用、储存和循环回收的动态平衡中^[4]。对于铁稳态的调节,机体具有精密的细胞和分子调节系统。当铁进入十二指肠后,Fe³⁺被十二指肠细胞色素b还原为Fe²⁺,并通过二价金属转运蛋白1(divalent metal transporter 1, DMT1)进入十二指肠上皮细胞。当机体需要铁时,Fe²⁺通过铁转运蛋白-1(ferroportin 1, FPN1)转运出细胞,并被亚铁氧化酶氧化为Fe³⁺,最终进入循环系统^[5]。在血液中Fe³⁺与转铁蛋白(transferrin, Tf)结合,在目标细胞表面与转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1, TfR1)结合形成复合物,被细胞内吞^[6]。

肝细胞作为铁的主要储存细胞,可以吸收多种形式的铁,并对铁水平进行调节。当机体在缺铁条件下,Fe³⁺从Tf中释放并通过溶酶体还原酶转化为亚铁,亚铁通过溶酶体膜上的DMT1转运至胞质的不稳定铁池中。细胞还可以通过核受体共激活因子4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)介导的铁蛋白降解来恢复铁含量^[4]。此外,细胞内还有各种铁代谢基因,可

以通过基因转录后的调控来调节细胞内铁稳态。铁调节蛋白(iron regulatory protein, IRP)/铁反应元件(iron response element, IRE)系统通过上调DMT1和TfR1的表达,下调FPN和铁蛋白重链(ferroportin heavy chain, FTH)/铁蛋白轻链(ferroportin light chain, FTL)来增加铁的摄取,抑制铁的输出^[7]。

当机体铁超载时,肝细胞能迅速通过膜上的溶质载体家族39成员14(solute carrier family 39 member 14, SLC39A14)摄取非转铁蛋白结合铁(non-transferrin-bound iron, NTBI),将过量的铁储存在铁蛋白中^[8]。在铁过量的细胞中,NCOA4与E3泛素连接酶HERC2结合并被蛋白酶体降解。IRP/IRE系统下调DMT1和TfR1的表达,上调FPN和FTH/FTL的表达。铁调素的表达也被骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)-SMAD信号通路和炎症介导的白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)-转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)信号通路的信号所调节,从而减少铁吸收^[7]。这些研究说明,铁代谢在各个水平受到严密调控。

2 铁死亡基本特点

铁死亡是一种铁依赖性细胞死亡形式,这种细胞死亡的特征与已知的细胞死亡特征不同,未见细胞核形态改变、DNA断裂和半胱天冬酶(cysteiny aspartate specific proteinase, caspase)激活,并且caspase抑制剂不能逆转这一过程,其主要特征是细胞内脂质过氧化物积累和氧化还原失衡^[9]。与其他细胞死亡模式相比,铁死亡还表现出特殊的形态学和生物化学特征。在形态学上,铁死亡的细胞出现小线粒体、线粒体膜密度增高、线粒体嵴减少或消失及线粒体外膜破裂等特点,并且出现缺乏染色质凝集、细胞质和细胞器肿胀,以及质膜破裂等情况^[10]。在生化特性上,铁死亡有铁和活性氧超载、腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)的激活、System X_c⁻的抑制、胱氨酸摄取的减少、谷胱甘肽(glutathione, GSH)的耗竭和花生四烯酸等介质的释放等特点^[11]。铁死亡与细胞凋亡、细胞自噬和细胞焦亡等细胞死亡方式的特点及其区别见表1^[12-16]。

3 铁死亡调控机制

与目前已知的3种细胞死亡方式不同(表1),铁死亡的突出特点是细胞膜的破裂,但铁死亡细胞的细胞膜破裂并不同于坏死性凋亡和焦亡等,它不依赖于膜穿孔蛋白,而主要由多不饱和脂肪酸(polyunsaturated

Table 1 Comparison of four types of cell death

Type of cell death	Cytomorphological feature	Biochemical characteristics	Reference
Ferroptosis	Plasma membrane rupture, mitochondrial volume decrease, mitochondrial cristae reduced or disappear, nucleus of normal size, no chromatin condensation	1. Iron and reactive oxygen species overload 2. Activation of AMPK 3. Inhibition of the System X _c ⁻ and reduction of cystine uptake 4. Glutathione depletion	[12]
Apoptosis	Cell shrinkage, chromatin condensation, apoptotic body, and cytoskeleton disintegration, with the most significant changes in the nucleus, no change in mitochondrial structure	1. DNA fragmentation 2. Multiple protease control 3. Cytoplasmic Ca ²⁺ continues to rise 4. Changes in pH	[13]
Autophagy	Organelles such as Golgi and endoplasmic reticulum expand, cytoplasm is amorphous, nucleus is fragmented and pyknotic, a large number of phagocytic vesicles are formed, cytoplasmic membrane loses specialization, and cell membrane blebbing may occur	1. LC3-I is converted to LC3-II 2. Changes in the expression of autophagy substrates such as p62	[14]
Pyroptosis	Cells are swollen and swollen with many bubble-like protrusions; pyroptotic body, pores or ruptures in cell membranes, and the contents flow out	1. Formation of the inflammasome 2. Activation of caspase and gasdermin 3. The release of a large number of pro-inflammatory factors	[15, 16]

fatty acid, PUFA) 的铁依赖性过氧化引起^[17]。铁死亡由 3 个特征定义: 铁离子代谢紊乱、含有 PUFA 的磷脂氧化及谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 修复脂质过氧化物能力的丧失^[18]。铁死亡的具体机制十分复杂, 涉及铁离子代谢、脂质代谢、氨基酸代谢和能量应激等多个方面。铁死亡的发生是各种通路相互交错与共同调控的结果, 目前对铁死亡的作用机制仍未完全了解, 还处于探索阶段。

3.1 铁离子代谢紊乱引起铁死亡 铁介导的芬顿反应所引起的脂质过氧化是铁死亡的标志性特征。铁稳态的失衡会在各种疾病中引发细胞铁死亡。细胞色素 P450 还原酶 (cytochrome P450 reductase, POR) 和细胞色素 B5 还原酶 (cytochrome B5 reductase 1, CYB5R1) 将电子从 NAD(P)H (一种还原型辅酶) 转移到氧气, 从而产生过氧化氢, 过氧化氢与二价铁反应产生羟自由基和三价铁 (芬顿反应), 羟自由基使细胞膜上脂质的多不饱和脂肪酸链发生过氧化, 造成膜上脂质的氧化破损和泄漏, 从而破坏膜的完整性, 导致铁死亡^[17]。因此, 铁离子水平与铁死亡密切相关。

细胞表面转铁蛋白受体是调节铁离子水平的关键^[19]。NTBI 通过 SLC39A14 等金属转运蛋白进入肝细胞, 增加的铁也可直接诱导铁死亡^[7]。此外, 沉默铁代谢调控因子如铁反应元件结合蛋白 2 (iron responsive element binding protein 2, IREB2) 也会降低细胞对铁死亡的敏感性。因此, 铁稳态的调节是防止铁死亡发生的关键因素。

3.2 细胞膜脂质过氧化物积累导致铁死亡 脂质氧化酶分为 3 类: 环氧化酶 (cyclooxygenases, COXs)、

细胞色素 p450 (cytochrome p450, CYPs) 和脂氧合酶 (lipoxygenases, LOXs), 其中 LOXs 对铁死亡尤为重要^[20]。LOXs 是一类含非血红素铁的双加氧酶, 在正常状态下, 可通过催化膜脂 PUFA 的双加氧反应生成脂肪酸过氧化物, 而 GPX4 可将脂质过氧化物转化为无毒的脂质醇, 预防铁死亡的发生^[21]。PUFA 对脂质过氧化高度敏感, 多种 PUFA 可能参与铁死亡途径^[22]。溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3) 和长链脂酰辅酶 A 合成酶 4 (long-chain acyl-CoA synthetase 4, ACSL4) 均为脂质代谢调节剂, 它们可以通过促进胞膜中氧化磷脂的积累来抑制 GPX4 进而引起铁死亡。因此, ACSL4 和 LPCAT3 的缺失可能是通过限制对氧化敏感的脂肪酸在膜上的积累来抑制铁死亡的^[23]。不过 ACSL4 的缺失可以显著抵抗 GPX4 缺失引起的铁死亡。相比之下, 敲除 LPCAT3 抑制铁死亡的效果不如敲除 ACSL4, 表明它们中间可能存在补偿机制^[24]。

3.3 氨基酸抗氧化系统失衡诱发铁死亡 谷氨酸-胱氨酸反向转运体 System X_c⁻ 是由溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 和溶质载体家族 3 成员 2 (solute carrier family 3 member 2, SLC3A2) 以二硫键组成的异源二聚体, 能够介导细胞内谷氨酸和细胞外胱氨酸进行 1:1 交换^[25]。由于半胱氨酸极不稳定, 几乎所有的细胞外半胱氨酸都以氧化的胱氨酸形式存在, 因此细胞外的胱氨酸通过 System X_c⁻ 转运进入细胞内^[26], 内源性半胱氨酸主要通过 GSH 或硫氧还蛋白还原酶 1 (thioredoxin reductase 1, TXNRD1) 介导胱氨酸还原生成^[27,28]。半胱氨酸通过转硫方式参

与 GSH 的合成, GSH 与活性氧反应, 从而起到细胞保护作用。半胱氨酸是合成谷胱甘肽的原料, 也是谷胱甘肽合成的限速因素。高浓度的谷氨酸可抑制 System Xc⁻, 或通过剥夺胱氨酸的摄取来达到消耗 GSH 的作用, 从而诱发铁死亡^[29]。在铁死亡诱导剂 erastin 诱导的铁死亡中, erastin 会抑制 System Xc⁻, 从而导致 GSH 无法合成, GSH 的缺失会导致谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPXs) 的失活^[30]。GPXs 属于一类硒蛋白 (又称为硒酶), 包括 GPX1、GPX2、GPX3 和 GPX4 四种^[31]。作为铁死亡的关键调节蛋白, GPX4 可以有效将脂质过氧化物转化为无毒的脂质醇, 防止细胞膜上的脂质过氧化物积累, 预防氧化应激损伤^[32]。而 GSH 作为硒酶 GPX4 的辅因子, GSH 缺失会导致 GPX4 失活, 进而失去清除脂质过氧化物的能力, 最终诱发铁死亡^[31]。而在 RSL3 (一种 GPX4 抑制剂) 诱导的铁死亡中, RSL3 通过与 GPX4 的共价键结合来抑制 GPX4 的活性, 导致脂质过氧化物的积累, 最终导致铁死亡^[33]。

3.4 线粒体 GPX4 和二氢乳清酸脱氢酶 (dihydroorotate dehydrogenase, DHODH) 抑制铁死亡 线粒体呼吸过程产生活性氧, 是活性氧的主要来源, 所以线粒体在活性氧的产生、三羧酸循环和铁代谢等方面起着综合调节作用^[7]。溶质载体家族 25 成员 39 (solute carrier family 25 member 39, SLC25A39) 是 GSH 从胞质转运至线粒体内发挥抗氧化作用和生物合成功能的重要调控组成部分^[34]。在铁死亡调节机制里, 线粒体与铁死亡的关系争议较大。早期的研究大多认为, 线粒体在铁死亡中发挥不可或缺的部分。但最近一项研究表明, 线粒体虽在 erastin 或半胱氨酸剥夺诱导的铁死亡中起关键作用, 但在抑制 GPX4 所诱导的铁死亡中并不重要^[35]。半胱氨酸剥夺可以使线粒体膜电位超极化和脂质过氧化物积累, 而抑制线粒体的三羧酸循环或电子传递链可以减轻线粒体膜电位超极化、脂质过氧化物积累, 从而减轻铁死亡, 且此过程独立于 GPX4 或 FSP1^[34]。DHODH 是嘧啶从头合成的第 4 个催化限速酶, 有研究发现 DHODH 失活会诱导广泛的线粒体脂质过氧化和铁死亡, 而补充 DHODH 的底物可以减轻因抑制 GPX4 诱导的铁死亡。DHODH 与线粒体的 GPX4 (区别于前文的胞质 GPX4) 并行运作, 将泛醌还原为泛醇 (一种具有抗铁死亡活性的自由基捕获型抗氧化剂), 由此来抑制线粒体内膜的铁死亡^[36]。此外, CDGSH 铁硫结构域 1 (CDGSH iron sulfur domain 1, CISD1) (也称为 mitoNEET) 是一种含铁的线粒体外膜蛋白, 有研究表明它可以通过改变线粒体中铁的积累来负性调节铁死亡, 抑制 CISD1 促进了铁介导的线

粒体脂质过氧化, 从而促进铁死亡诱导剂 erastin 诱导的铁死亡^[37]。

3.5 CoQ10-FSP1-NAD(P)H 通路抑制铁死亡 这是独立于 GPX4/GSH 的另一条调控铁死亡的通路。FSP1 是 GSH 非依赖性铁死亡抑制因子, 在 GPX4 缺失的细胞中, CoQ10 可通过促进 FSP1 过表达, 减少脂质过氧化物产生, 以此达到对铁死亡的抑制, 并且 FSP1 可反过来通过 NAD(P)H 催化 CoQ10 的再生。这个通路也许可以与 GPX4 和 GSH 协同抑制脂质过氧化和铁死亡^[38]。还有研究表明, ESCRT III (一种蛋白质复合体) 介导的质膜修复可以减少铁死亡过程中的脂质过氧化, 提示 FSP1-CoQ10-NAD(P)H 通路可能与 ESCRT III 可能具有互补功能^[39]。

3.6 GCH1-BH4-磷脂轴抑制铁死亡 最近有研究发现, GCH1-BH4-磷脂轴可以通过抗氧化调节抑制铁死亡。BH4 是 GCH1 的代谢衍生物, 由表达 GCH1 的细胞合成。BH4 作为自由基捕获型抗氧化剂, 通过选择性保护磷脂的消耗来发挥保护细胞免受脂质过氧化的作用, 从而抑制铁死亡^[40]。此外, BH4 还可以用于合成 CoQ10, 进而通过上述 CoQ10-FSP1-NAD(P)H 通路抑制铁死亡。这一独特的 GCH1-BH4-磷脂轴铁死亡保护机制独立于 GPX4/GSH 系统^[41]。

3.7 氧化应激相关转录因子调节铁死亡 氧化应激相关转录因子可以抑制或激活铁死亡相关基因的表达, 发挥调控铁死亡的作用。转录因子核因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 参与氧化和亲电应激反应^[42], 细胞的抗氧化和铁代谢都可以由 Nrf2 靶基因介导。在氧化应激状态下, Nrf2 从 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (Kelch like ECH associated protein 1, KEAP1) 解离并转移到细胞核, 在核内激活含有抗氧化反应元件的下游靶基因的表达, 抵御铁死亡损伤^[42,43]。Nrf2 还可以调节 System Xc⁻ 和 GPX4 这两个铁死亡关键靶点, 是铁死亡的负性调节因子^[44]。而且 Nrf2 的激活还可调节 FTH、FTL 等铁相关基因, 促进 GSH 的合成, 抑制活性氧的产生, 并促进 NAD(P)H 再生^[7]。而 p53 蛋白一方面可以通过抑制二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 来阻止铁死亡^[45]; 另一方面通过抑制 SLC7A11 基因来促进铁死亡^[46]。此外, 下调转录激活因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 的表达也可促进铁死亡^[47]。

3.8 其他方面对铁死亡的调节 除此之外, 铁死亡的调控机制还涉及其他许多方面。如能量应激方面, AMPK 的活性增加可提高细胞对铁死亡的抵抗力, 而 AMPK 失活使细胞对铁死亡敏感, 提示 AMPK 介导的能量应激信号可调控铁死亡^[11]。另有研究发现, 细胞密度在

一定程度上影响铁死亡。钙黏蛋白 E (E-cadherin, ECAD) 是上皮细胞中细胞间相互联系的重要调节因子, 相邻细胞可以通过 ECAD 相互影响, 激活细胞内神经纤维蛋白 2 (neurofibromin 2, NF2) 基因和 Hippo 信号通路可抑制转录共激活因子 Yes 相关蛋白 (yes-associated protein, YAP), 进而抑制 ACSL4 和 TFR1 的上调, 从而抑制铁死亡, 提示细胞密度增高可增强对铁死亡的抵抗能力^[48]。调节铁死亡相关信号通路见图 1^[49]。

4 铁死亡在肝脏疾病中的作用及治疗策略

研究发现, 在肝脏疾病的不同发展阶段, 均存在铁代谢紊乱、氨基酸抗氧化系统失衡和脂质过氧化物积累等铁死亡特征^[10], 提示铁死亡对于肝脏疾病的发生发展具有重要的调控作用。在此, 本文介绍铁死亡与药物性肝损伤、酒精性肝病、非酒精性脂肪肝、病毒性

肝炎、肝纤维化和肝细胞癌等肝病之间的关联, 为探究铁死亡在肝脏疾病中的作用和治疗肝脏疾病提供理论基础和治疗策略。

4.1 药物性肝损伤 药物性肝损伤是指由各类药物及其代谢产物等诱发肝细胞损伤坏死、肝酶异常及引起相关临床表现的疾病。对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 过量引起的肝损伤是最常见的一类药物性肝损伤, 也是导致药物性急性肝衰竭的主要原因^[50]。据报道, 过量 APAP 会导致细胞内 GSH 水平显著下降, 这是诱导铁死亡的关键因素^[51]。当 APAP 过量时, 一部分 APAP 在肝脏 CYP 的作用下进行代谢, 转化为具有肝细胞毒性的中间代谢产物 *N*-乙酰基-对苯醌亚胺 (*N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine, NAPQI), NAPQI 可与 GSH 结合生成无毒性复合体排出体外, 导致肝细胞中

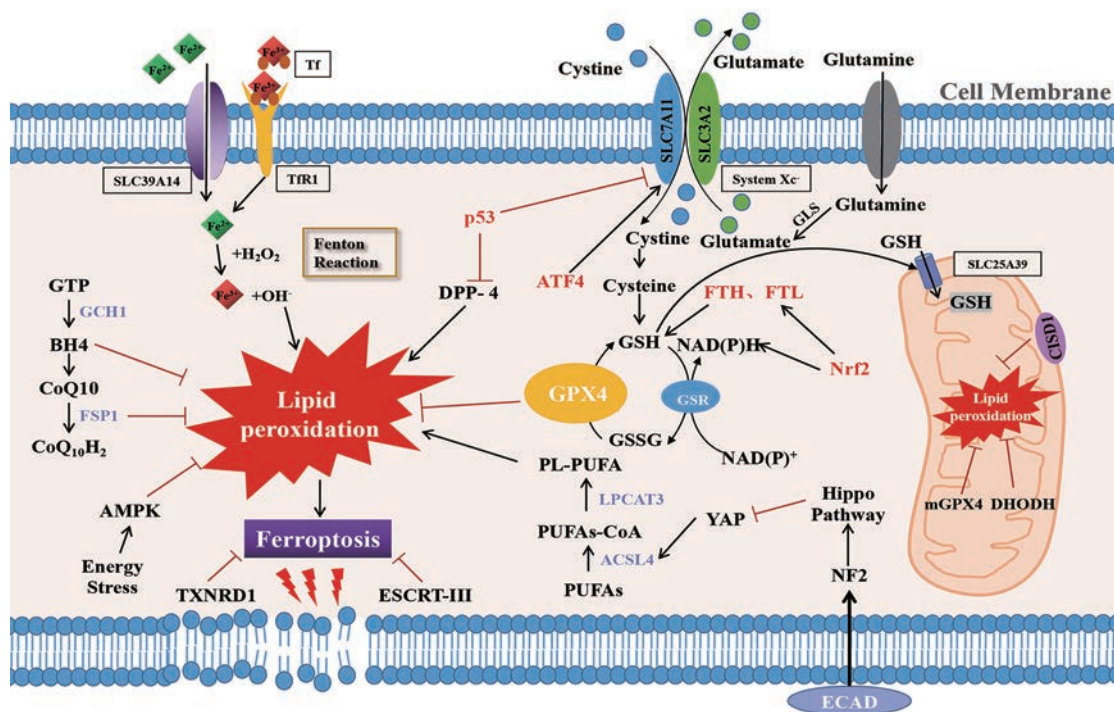


Figure 1 Signaling pathways involved in ferroptosis regulation^[49]. SLC39A14: Solute carrier family 39 member 14; Tf: Transferrin; TfR1: Transferrin receptor 1; GTP: Guanosine triphosphate; GCH1: Guanosine triphosphate cyclohydrolase 1; BH4: Tetrahydrobiopterin; CoQ10: Coenzyme Q10; FSP1: Ferroptosis suppressor protein 1; CoQ₁₀H₂: Ubiquinol; DDP-4: Dipeptidyl peptidase-4; ATF4: Activating transcription factor 4; SLC7A11: Solute carrier family 7 member 11; SLC3A2: Solute carrier family 3 member 2; System Xc⁻: Cystine/glutamate antiporter system Xc⁻; GLS: Glutaminase; GSH: Glutathione; GSR: Glutathione reductase; GPX4: Glutathione peroxidase 4; GSSG: Oxidized glutathione; Nrf2: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2; FTH: Ferritin heavy chain; FTL: Ferritin light chain; NAD(P)H: Nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate); SLC25A39: Solute carrier family 25 member 39; CISD1: CDGSH iron sulfur domain 1; mGPX4: Mitochondrial glutathione peroxidase 4; DHODH: Dihydroorotate dehydrogenase; ECAD: E-cadherin; NF2: Neurofibromin 2; YAP: Yes-associated protein; PUFA: Polyunsaturated fatty acid; ACSL4: Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4; LPCAT3: Lysophosphatidyl choline acyltransferase 3; TXNRD1: Thioredoxin reductase 1; ESCRT-III: Endosomal sorting complex required for transport III

GSH的严重耗竭。此时,过多的NAPQI与肝细胞中含有半胱氨酸基团的蛋白分子结合(主要是线粒体蛋白),形成APAP蛋白加合物,导致肝细胞线粒体氧化应激和功能障碍,最终引发肝细胞损伤^[52]。

在药物性肝损伤的治疗策略方面,研究发现在APAP处理小鼠原代肝细胞的情况下,ferrostatin-1(一种铁死亡抑制剂)处理可提高对APAP诱导的小鼠原代肝细胞损伤的抵抗力^[53]。在APAP诱导的小鼠肝衰竭模型中,铁死亡抑制剂可有效抑制过量APAP引起的小鼠死亡^[54],并且ferrostatin-1发挥作用与NAPQI的代谢途径无关^[5]。另一项研究发现,黄皮叶中的一种生物碱黄皮酰胺[(+)-clausenamide, (+)-CLA],一方面通过增加肝细胞中GPX4的含量,消耗药物性肝损伤中产生的过量活性氧,从而抑制肝细胞铁死亡;另一方面,还可以通过抑制Nrf2泛素化从而增加Nrf2的稳定性,进而激活Keap1-Nrf2通路,防止药物诱导的肝细胞铁死亡^[55]。综上,黄皮酰胺通过增加GPX4和阻断Nrf2泛素化,从而抑制肝细胞的铁死亡并减轻APAP诱导的急性肝损伤,这为研究者通过抑制铁死亡来治疗药物性肝损伤提供了新思路 and 潜在候选药物。

4.2 酒精性肝病 酒精性肝病是由于长期过量酒精摄入导致的肝脏疾病,以肝脏脂肪变性、脂肪性肝炎和肝纤维化为特征,会进一步发展为肝硬化甚至肝癌^[12]。有研究发现在酒精性肝病发展过程中,大量的Fe²⁺积累在肝脏中,并且伴有血清铁和铁蛋白水平增高^[56]。其主要机制可能与酒精降低铁调素的表达,进而增加十二指肠DMT1和FPN表达,从而增加铁的吸收相关^[57]。此外,在乙醇喂养的小鼠肝脏中还发现有NAD(P)H的减少和SLC7A11被抑制^[58]。这说明酒精性肝病与铁死亡密切相关。脂肪特异性lipin-1是一种Mg²⁺依赖性磷脂酸磷酸酶,有研究显示酒精介导的lipin-1过表达可以加速铁积累,促进脂质过氧化,并且减少GSH和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH),导致肝细胞铁死亡,揭示了酒精引起肝细胞铁死亡损伤的潜在机制^[59]。在酒精性肝病的治疗方面,已经有研究证明铁死亡抑制剂(ferrostatin-1)可以减轻小鼠的酒精性肝损伤^[56]。此外,经乙醇喂养后,与野生型小鼠相比,长寿基因(sirtuin 1, SIRT1)肠道特异性敲除小鼠肝脏炎症浸润与肝损伤显著减轻,提示肠道SIRT1缺乏可通过纠正铁代谢功能障碍、提高GSH含量和减轻脂质过氧化,发挥肝保护作用^[60]。这为研究者未来通过抑制肝细胞铁死亡来治疗酒精性肝病提供新的方案和策略。

4.3 非酒精性脂肪肝 非酒精性脂肪肝正在成为我国的主要慢性肝病,其病理机制复杂,目前尚无特效药

物。近年来研究发现铁与非酒精性脂肪肝之间存在密切关联^[61]。从喂食富含胆固醇的高脂肪饮食的兔子身上分离出来的红细胞,明显表现出外化的磷脂酰丝氨酸[一种吞噬信号(eat-me signal)],并且经常被库普弗细胞(Kupffer cell)(一种位于肝脏内的巨噬细胞)吞噬,导致来自血红蛋白的铁在肝脏中积累,使肝脏细胞发生铁死亡,最终发展为非酒精性脂肪性肝炎^[62]。此外,在铁死亡中,线粒体尺寸减小并随着嵴减少和外膜破裂而浓缩,这一过程的特点是脂质过氧化物的积累,而使用去铁胺等铁螯合剂和ferrostatin-1等铁死亡抑制剂可以改善脂质过氧化^[63]。相关研究显示,对铁死亡通路的调控可以成为治疗非酒精性脂肪肝的新策略。在饮食诱导的脂肪性肝炎的小鼠模型中,用铁螯合剂(如去铁胺)治疗可以减少细胞的死亡,表明与喂食正常饮食的小鼠相比,喂食缺乏胆碱、补充乙硫氨酸的饮食的小鼠肝脏中的铁死亡途径被激活^[64]。铁死亡抑制剂(ferrostatin-1和liproxstatin-1)减轻了蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine and choline deficiency, MCD)饮食引起的小鼠肝脂肪变性、肝损伤和纤维化^[65]。抗氧化剂Trolox和铁螯合剂(去铁胺)抑制了补充乙硫氨酸喂养的小鼠肝脏中的细胞铁死亡、免疫细胞浸润和炎症细胞因子表达^[66],而其他特异性坏死性凋亡抑制剂(necrostatin-1)无法阻止细胞铁死亡。此外,用铁死亡诱导剂RSL3对MCD喂养的小鼠进行处理,小鼠肝脏GPX4表达水平降低,肝脏脂肪变性加重。而用GPX4激活剂亚硒酸钠治疗MCD喂养的小鼠后,小鼠肝脏GPX4增加,伴随着非酒精性脂肪性肝炎相关病理损伤显著减轻^[67],这些都说明了抑制铁死亡是防治非酒精性脂肪肝的重要策略。

4.4 病毒性肝炎 病毒性肝炎长期发展会损伤肝脏代谢机制,严重时可能造成肝癌。有研究表明,慢性丙型肝炎病毒感染会诱导肝细胞铁超载^[3];而在慢性乙型肝炎病毒感染的情况下,GPX4是维持肝细胞存活与正常功能的关键靶点。大黄酚逆转慢性乙肝病毒感染导致的肝细胞受损(肝纤维化)可能与此有关^[68]。此外,可以使用针对宿主细胞的铁死亡抑制剂来治疗病毒性肝炎。如使用靶向ACSL4的罗格列酮、抑制花生四烯酸脂氧合酶(arachidonic acid lipoygenase, ALOXs)的Zileuton(5-脂氧合酶抑制剂)、抗氧化的 α 生育酚(一种维生素E衍生物)及去铁胺(一种铁螯合剂)来抑制铁死亡,起到保护宿主细胞的作用^[7]。但在临床应用方面,通过铁死亡诱导剂来靶向治疗病毒性肝炎还未见相关新药研究。目前,对病毒性肝炎和铁死亡之间相关研究较少,其与铁死亡相关的具体治疗策略还需要进一步探索。

4.5 肝纤维化 肝脏纤维化是多种病因所致的慢性肝脏损伤后发生的肝内结缔组织异常增生性疾病。在肝纤维化治疗策略方面,铁死亡可能具有两面性:一方面,抑制肝脏正常肝细胞的铁死亡可以减轻肝纤维化。用高铁饮食喂养小鼠会增加它们对铁死亡引起的肝纤维化的易感性,而铁死亡抑制剂(ferrostatin-1)可有效逆转。此外,肝转铁蛋白也在维持肝脏正常功能方面发挥保护作用,可能成为治疗铁死亡导致的肝纤维化的关键靶点。给肝细胞 Trf (编码转铁蛋白的基因) 特异性敲除的小鼠喂食高铁饮食后使用铁死亡抑制剂(ferrostatin-1)可以有效改善其肝纤维化。并且在肝细胞 Trf 特异性敲除小鼠中抑制 SLC39A14 的表达可以显著减少肝脏中铁的积累,从而减轻高铁饮食诱导的肝纤维化^[69];另一方面,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化在肝纤维化的发病机制中起着至关重要的作用。当肝脏因炎症等疾病受损时,HSCs被激活,从静止状态的HSCs转变为肌成纤维细胞^[70]。因此,抑制HSCs的活化是防治肝纤维化的关键,促进HSCs的铁死亡有助于改善肝纤维化^[71]。异甘草酸镁(MgIG)显著抑制了HSCs的活化,并且通过促进铁和脂质过氧化物的积累使HSCs呈现出铁死亡的形态特征。血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)处于MgIG诱导的HSCs铁死亡的上游位置,这可能为通过促进HSCs铁死亡来治疗肝脏纤维化提供重要靶点^[72]。此外,还有研究发现RNA结合蛋白ELAVL1/HuR和ZFP36/TTP在诱导HSCs铁死亡中发挥着重要作用,也可以成为治疗铁死亡导致的肝纤维化的潜在靶点^[71,73]。除此之外,还有多种关于诱导HSCs铁死亡的通路及相关药物,如溶质载体家族25成员28(solute carrier family 25 member 28, SLC25A28)与p53联合诱导HSCs铁死亡^[74,75];青蒿琥酯通过铁自噬介导HSCs铁和过氧化物积累,抗氧化能力降低,从而促进HSCs铁死亡^[76];蒿甲醚可以通过上调溴含蛋白质7(bromodomain containing protein 7, BRD7)的表达,随即抑制SLC7A11的表达,从而导致GSH耗竭、GPX4活性丧失和ROS过量,最终诱导HSCs发生铁死亡^[77]。以上研究表明,抑制肝细胞铁死亡或促进HSCs铁死亡均有望成为治疗肝纤维化的有效治疗策略。

4.6 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) HCC是最常见的肝癌类型,与正常细胞相比,HCC细胞中大鼠肉瘤蛋白的过表达使细胞内铁水平升高,细胞对铁死亡更加敏感,提示肝细胞铁死亡在HCC的治疗和发展中发挥着重要作用^[2,9]。在HCC的发展过程中,铁死亡与p62-Keap1-Nrf2抗氧化通路密切相关,p62可以通过促进Keap1的降解,激活Nrf2转入核内,进而调

节铁和ROS代谢相关基因的表达,抑制铁死亡的发生;p62还可以促进NAD(P)H还原醌氧化还原酶1[NAD(P)H quinone oxidoreductase 1, NQO1]、HO-1和FTH的转录表达,抑制铁死亡过程^[78,79]。

作为HCC晚期常用治疗药物索拉非尼,其通过抑制SLC7A11从而诱导癌细胞铁死亡,作用机制主要集中在p62-Keap1-Nrf2抗氧化信号通路,但Nrf2的激活表达可以减少索拉非尼在HCC细胞中诱导的GSH耗损,抑制癌细胞铁死亡,导致癌细胞对索拉非尼产生耐药性^[80]。此外,还有研究发现HCC与铁死亡的其他相关机制,如低密度脂蛋白-二十二碳六烯酸(low density lipoprotein-docosahexaenoic acid, LDL-DHA)可以选择性减少肝癌细胞的生长^[81];氟哌啶醇(一种抗精神病药物)能够通过影响Nrf2、HO-1和GPX4等促进肝癌细胞铁死亡,并且能够以相对低的剂量促进索拉非尼诱导的细胞死亡^[82]。富含乳酸的HCC细胞对RSL3和erastin诱导的铁死亡损伤可以表现出一定的耐受性。乳酸摄取可以促进HCC细胞中ATP的产生,使AMPK失活,从而抑制铁死亡,因此抑制乳酸摄取可以成为肝细胞癌的潜在治疗靶点^[83]。非酒精性脂肪性肝炎相关的肝硬化合并HCC患者的肝细胞铁积累比非合并HCC患者更严重,这表明非酒精性脂肪性肝炎相关肝硬化患者的HCC发展与肝脏铁超载有关^[84]。因此,细胞铁死亡在肝细胞癌的治疗方法策略方面具有重要意义。

5 总结与展望

2022年是发现铁死亡的十周年,但人们对铁死亡的探究尚处于起步阶段。铁死亡在治疗肝脏疾病时具有两面性,一方面在正常细胞中抑制铁死亡可以防治肝脏疾病的发生;另一方面,在某些异常细胞中促进铁死亡可以有助于减缓肝脏疾病的进程。目前,对铁死亡与肝脏疾病的研究更多仍停留于理论层面,还有一些尚需解决的问题,如①铁死亡发生发展的完整机制尚未研究透彻;②肝脏疾病中铁死亡的直接治疗靶点仍需进一步探索;③靶向肝脏疾病铁死亡的药物的安全性与有效性尚未得到明确验证。

未来对于铁死亡的研究,应当从多角度、多层次和多因素入手,系统观察铁死亡的早期、中期和末期全程变化与肝病转归的关联性,并将细胞内外环境等纳入观察指标,实现动态化观测体系,建立完善的肝病铁死亡疾病发生机制和药效靶点,从而为肝脏疾病的防治提供新的思路和策略。

作者贡献:王家琪负责主要内容的撰写、文章图片绘制和文献检索及整理;李惠怡负责文章审阅修改;黄于乔负责文章引言及表格内容撰写;翁琦青负责文章思路及框架的提

出和修改;王桂香负责文献检索及整理;兰天负责综述选题、稿件修改校正等工作。

利益冲突: 本文作者均声明无利益冲突。

References

- [1] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China [J]. *Hepatology*, 2014, 60: 2099-2108.
- [2] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149: 1060-1072.
- [3] Macías-Rodríguez RU, Inzaugarat ME, Ruiz-Margáin A, et al. Reclassifying hepatic cell death during liver damage: ferroptosis—a novel form of non-apoptotic cell death? [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 1651.
- [4] Wang L, Wang ZQ, Yu L, et al. Research progress of iron metabolism and iron homeostasis imbalance [J]. *Pub Health Prev Med (公共卫生与预防医学)*, 2022, 33: 1-5.
- [5] Le NT, Richardson DR. Ferroportin1: a new iron export molecule? [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2002, 34: 103-108.
- [6] Wang CY, Knutson MD. Hepatocyte divalent metal-ion transporter-1 is dispensable for hepatic iron accumulation and non-transferrin-bound iron uptake in mice [J]. *Hepatology*, 2013, 58: 788-798.
- [7] Chen J, Li X, Ge C, et al. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29: 467-480.
- [8] Jenkitkasemwong S, Wang CY, Coffey R, et al. SLC39A14 is required for the development of hepatocellular iron overload in murine models of hereditary hemochromatosis [J]. *Cell Metab*, 2015, 22: 138-150.
- [9] Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, et al. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3: 285-296.
- [10] Li J, Cao F, Yin HL, et al. Ferroptosis: past, present and future [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 88.
- [11] Lee H, Zandkarimi F, Zhang Y, et al. Energy-stress-mediated AMPK activation inhibits ferroptosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22: 225-234.
- [12] Chen S, Zhu JY, Zang X, et al. The emerging role of ferroptosis in liver diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 801365.
- [13] He F, Wan J, Chu S, et al. Toxic mechanism on phenanthrene-triggered cell apoptosis, genotoxicity, immunotoxicity and activity changes of immunity protein in *Eisenia fetida*: Combined analysis at cellular and molecular levels [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 819: 153167.
- [14] Chen X, Lin S, Lin Y, et al. BRAF-activated WT1 contributes to cancer growth and regulates autophagy and apoptosis in papillary thyroid carcinoma [J]. *J Transl Med*, 2022, 20: 79.
- [15] Huang Y, Tan F, Zhuo Y, et al. Hypoxia-preconditioned olfactory mucosa mesenchymal stem cells abolish cerebral ischemia/reperfusion-induced pyroptosis and apoptotic death of microglial cells by activating HIF-1 α [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12: 10931-10950.
- [16] 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.
- [17] Yan B, Ai Y, Sun Q, et al. Membrane damage during ferroptosis is caused by oxidation of phospholipids catalyzed by the oxidoreductases POR and CYB5R1 [J]. *Mol Cell*, 2021, 81: 355-369.e10.
- [18] Sharma A, Flora SJS. Positive and negative regulation of ferroptosis and its role in maintaining metabolic and redox homeostasis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9074206.
- [19] Gao M, Monian P, Quadri N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis [J]. *Mol Cell*, 2015, 59: 298-308.
- [20] Feng H, Stockwell BR. Unsolved mysteries: How does lipid peroxidation cause ferroptosis? [J]. *PLoS Biol*, 2018, 16: e2006203.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] Dixon SJ, Winter GE, Musavi LS, et al. Human haploid cell genetics reveals roles for lipid metabolism genes in nonapoptotic cell death [J]. *ACS Chemical Biology*, 2015, 10: 1604-1609.
- [24] 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.
- [25] Ji X, Qian J, Rahman S, et al. xCT (SLC7A11)-mediated metabolic reprogramming promotes non-small cell lung cancer progression [J]. *Oncogene*, 2018, 37: 5007-5019.
- [26] Han D, Sen CK, Roy S, et al. Protection against glutamate-induced cytotoxicity in C6 glial cells by thiol antioxidants [J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: R1771-R1778.
- [27] Mandal PK, Seiler A, Perisic T, et al. System x(c)- and thioredoxin reductase 1 cooperatively rescue glutathione deficiency [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 22244-22253.
- [28] Yang L, Wang H, Yang X, et al. Auranofin mitigates systemic iron overload and induces ferroptosis *via* distinct mechanisms [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5: 138.
- [29] Sun Y, Zheng Y, Wang C, et al. Glutathione depletion induces ferroptosis, autophagy, and premature cell senescence in retinal pigment epithelial cells [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 753.
- [30] Hassannia B, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Targeting ferroptosis to iron out cancer [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35: 830-849.
- [31] Ingold I, Berndt C, Schmitt S, et al. Selenium utilization by GPX4 is required to prevent hydrogen peroxide-induced ferroptosis [J]. *Cell*, 2018, 172: 409-422.e21.

- [32] Flohé L, Toppo S, Cozza G, et al. A comparison of thiol peroxidase mechanisms [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15: 763-780.
- [33] Cheng F, Zhang Y, Wang X, et al. Research progress on the role and mechanism of GPX4 in ferroptosis [J]. *Modern Oncol (现代肿瘤医学)*, 2021, 29: 1254-1258.
- [34] Wang Y, Yen FS, Zhu XG, et al. SLC25A39 is necessary for mitochondrial glutathione import in mammalian cells [J]. *Nature*, 2021, 599: 136-140.
- [35] Gao M, Yi J, Zhu J, et al. Role of mitochondria in ferroptosis [J]. *Mol Cell*, 2019, 73: 354-363.e3.
- [36] Mao C, Liu X, Zhang Y, et al. DHODH-mediated ferroptosis defence is a targetable vulnerability in cancer [J]. *Nature*, 2021, 593: 586-590.
- [37] 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.
- [38] Doll S, Freitas FP, Shah R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor [J]. *Nature*, 2019, 575: 693-698.
- [39] Dai E, Meng L, Kang R, et al. ESCRT-III-dependent membrane repair blocks ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 522: 415-421.
- [40] Soula M, Weber RA, Zilka O, et al. Metabolic determinants of cancer cell sensitivity to canonical ferroptosis inducers [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16: 1351-1360.
- [41] Kraft VaN, Bezjian CT, Pfeiffer S, et al. GTP cyclohydrolase 1/tetrahydrobiopterin counteract ferroptosis through lipid remodeling [J]. *ACS Cent Sci*, 2020, 6: 41-53.
- [42] Kerins MJ, Ooi A. The Roles of Nrf2 in modulating cellular iron homeostasis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29: 1756-1773.
- [43] Suzuki T, Motohashi H, Yamamoto M. Toward clinical application of the Keap1-Nrf2 pathway [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34: 340-346.
- [44] Dodson M, Castro-Portuguez R, Zhang DD. Nrf2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2019, 23: 101107.
- [45] Xie Y, Zhu S, Song X, et al. The tumor suppressor p53 limits ferroptosis by blocking DPP4 activity [J]. *Cell Rep*, 2017, 20: 1692-1704.
- [46] Jiang L, Kon N, Li T, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520: 57-62.
- [47] Chen D, Fan Z, Rauh M, et al. ATF4 promotes angiogenesis and neuronal cell death and confers ferroptosis in a xCT-dependent manner [J]. *Oncogene*, 2017, 36: 5593-5608.
- [48] Wu J, Minikes AM, Gao M, et al. Intercellular interaction dictates cancer cell ferroptosis via NF2-YAP signalling [J]. *Nature*, 2019, 572: 402-406.
- [49] Hadian K, Stockwell BR. Snapshot: ferroptosis [J]. *Cell*, 2020, 181: 1188-1188.e1.
- [50] Capelletti MM, Manceau H, Puy H, et al. Ferroptosis in liver diseases: an overview [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 4908.
- [51] Lane DJ, Merlot AM, Huang ML, et al. Cellular iron uptake, trafficking and metabolism: key molecules and mechanisms and their roles in disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853: 1130-1144.
- [52] Cai X, Cai H, Wang J, et al. Molecular pathogenesis of acetaminophen-induced liver injury and its treatment options [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2022, 23: 265-285.
- [53] Xu S, He Y, Lin L, et al. The emerging role of ferroptosis in intestinal disease [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12: 289.
- [54] Shojaie L, Iorga A, Dara L. Cell death in liver diseases: a review [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 9682.
- [55] Wang M, Liu CY, Wang T, et al. (+)-Clausenamide protects against drug-induced liver injury by inhibiting hepatocyte ferroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 781.
- [56] Suzuki Y, Saito H, Suzuki M, et al. Up-regulation of transferrin receptor expression in hepatocytes by habitual alcohol drinking is implicated in hepatic iron overload in alcoholic liver disease [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2002, 26: 26s-31s.
- [57] Harrison-Findik DD, Schafer D, Klein E, et al. Alcohol metabolism-mediated oxidative stress down-regulates hepcidin transcription and leads to increased duodenal iron transporter expression [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 22974-22982.
- [58] Liu CY, Wang M, Yu HM, et al. Ferroptosis is involved in alcohol-induced cell death *in vivo* and *in vitro* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2020, 84: 1621-1628.
- [59] Gautheron J, Gores GJ, Rodrigues CMP. Lytic cell death in metabolic liver disease [J]. *J Hepatol*, 2020, 73: 394-408.
- [60] Zhou Z, Ye TJ, Decaro E, et al. Intestinal SIRT1 deficiency protects mice from ethanol-induced liver injury by mitigating ferroptosis [J]. *Am J Pathol*, 2020, 190: 82-92.
- [61] Bozzini C, Girelli D, Olivieri O, et al. Prevalence of body iron excess in the metabolic syndrome [J]. *Diabetes Care*, 2005, 28: 2061-2063.
- [62] Otagawa K, Kinoshita K, Fujii H, et al. Erythrophagocytosis by liver macrophages (Kupffer cells) promotes oxidative stress, inflammation, and fibrosis in a rabbit model of steatohepatitis: implications for the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170: 967-980.
- [63] Xie Y, Hou W, Song X, et al. Ferroptosis: process and function [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23: 369-379.
- [64] Tsurusaki S, Tsuchiya Y, Koumura T, et al. Hepatic ferroptosis plays an important role as the trigger for initiating inflammation in nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 449.
- [65] Li X, Wang TX, Huang X, et al. Targeting ferroptosis alleviates methionine-choline deficient (MCD)-diet induced NASH by suppressing liver lipotoxicity [J]. *Liver Int*, 2020, 40: 1378-1394.
- [66] Mao L, Zhao T, Song Y, et al. The emerging role of ferroptosis in non-cancer liver diseases: hype or increasing hope? [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11: 518.
- [67] 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 [J]. *Am J Pathol*, 2020, 190: 68-81.
- [68] Kuo CY, Chiu V, Hsieh PC, et al. Chrysophanol attenuates hepatitis B virus X protein-induced hepatic stellate cell fibrosis by regulating endoplasmic reticulum stress and ferroptosis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 144: 172-182.
- [69] Yu YY, Jiang L, Wang H, et al. Hepatic transferrin plays a role in systemic iron homeostasis and liver ferroptosis [J]. *Blood*, 2020, 136: 726-739.
- [70] Du XS, Li HD, Yang XJ, et al. Wogonin attenuates liver fibrosis *via* regulating hepatic stellate cell activation and apoptosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105671.
- [71] Zhang Z, Yao Z, Wang L, et al. Activation of ferritinophagy is required for the RNA-binding protein ELAVL1/HuR to regulate ferroptosis in hepatic stellate cells [J]. *Autophagy*, 2018, 14: 2083-2103.
- [72] Sui M, Jiang X, Chen J, et al. Magnesium isoglycyrrhizinate ameliorates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation by regulating ferroptosis signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 125-133.
- [73] Zhang Z, Guo M, Li Y, et al. RNA-binding protein ZFP36/TTP protects against ferroptosis by regulating autophagy signaling pathway in hepatic stellate cells [J]. *Autophagy*, 2020, 16: 1482-1505.
- [74] Zhang Z, Guo M, Shen M, et al. The BRD7-P53-SLC25A28 axis regulates ferroptosis in hepatic stellate cells [J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101619.
- [75] Wang L, Zhang Z, Li M, et al. P53-dependent induction of ferroptosis is required for artemether to alleviate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis and hepatic stellate cell activation [J]. *IUBMB Life*, 2019, 71: 45-56.
- [76] Kong Z, Liu R, Cheng Y. Artesunate alleviates liver fibrosis by regulating ferroptosis signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2043-2053.
- [77] Chen H, Li XF, Wang H. Research progress on the mechanism of ferroptosis in regulating liver fibrosis [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 2916-2922.
- [78] Louandre C, Ezzoukhry Z, Godin C, et al. Iron-dependent cell death of hepatocellular carcinoma cells exposed to sorafenib [J]. *Int J Cancer*, 2013, 133: 1732-1742.
- [79] Lachiaier E, Louandre C, Godin C, et al. Sorafenib induces ferroptosis in human cancer cell lines originating from different solid tumors [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34: 6417-6422.
- [80] 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: 173-184.
- [81] Ou W, Mulik RS, Anwar A, et al. Low-density lipoprotein docosahexaenoic acid nanoparticles induce ferroptotic cell death in hepatocellular carcinoma [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112: 597-607.
- [82] Bai T, Wang S, Zhao Y, et al. Haloperidol, a sigma receptor 1 antagonist, promotes ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491: 919-925.
- [83] Zhao Y, Li M, Yao X, et al. HCAR1/MCT1 regulates tumor ferroptosis through the lactate-mediated AMPK-SCD1 activity and its therapeutic implications [J]. *Cell Rep*, 2020, 33: 108487.
- [84] Sorrentino P, D'angelo S, Ferbo U, et al. Liver iron excess in patients with hepatocellular carcinoma developed on non-alcoholic steatohepatitis [J]. *J Hepatol*, 2009, 50: 351-357.