

## 铁死亡调控肝纤维化中的作用机制研究进展

陈浩<sup>1,2</sup>, 李小枫<sup>3,4</sup>, 王华<sup>5\*</sup>

(1. 安徽医科大学第一附属医院药剂科, 安徽 合肥 230022; 2. 国家中医药管理局中药化学三级实验室, 安徽 合肥 230022; 3. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032; 4. 安徽医科大学炎症免疫性疾病安徽省实验室, 安徽 合肥 230032; 5. 安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科, 安徽 合肥 230022)

**摘要:** 肝纤维化是多种慢性肝病发展为肝硬化和肝癌所必须经历的共同病理过程。肝纤维化在发生、发展过程中受到多种细胞因子以及信号通路的调控。近年来, 大量研究表明铁死亡 (ferroptosis) 与肝纤维化密切相关, 与正常肝脏相比, 发生纤维化的肝脏内铁离子水平和脂质过氧化程度显著增加。因此, 铁死亡可能是肝纤维化疾病诊断、预防和治疗的潜在靶标。本文就近年来关于铁死亡在肝纤维化中的作用进行综述, 以期对肝纤维化的治疗提供新的思路。

**关键词:** 铁死亡; 肝星状细胞; 肝纤维化; 铁离子; 脂质过氧化

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)11-2916-07

## Research progress on the mechanism of ferroptosis in regulating liver fibrosis

CHEN Hao<sup>1,2</sup>, LI Xiao-feng<sup>3,4</sup>, WANG Hua<sup>5\*</sup>

(1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China; 2. The Grade 3 Pharmaceutical Chemistry Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230022, China; 3. School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 4. Inflammation and Immune Mediated Disease Laboratory of Anhui Province, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 5. Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China)

**Abstract:** Liver fibrosis is a common pathological process that many chronic liver diseases must undergo to develop into cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Liver fibrosis is regulated by a variety of cytokines and signal pathways during its occurrence and development. In recent years, a large number of studies showed that ferroptosis is closely related to liver fibrosis. Compared with normal liver, the levels of irons and lipid peroxidation in the liver with fibrosis are significantly increased. Therefore, ferroptosis may be a potential target for the diagnosis, prevention, and treatment of liver fibrosis. This review summarizes the role of ferroptosis in liver fibrosis, thus to provide new ideas for the treatment of liver fibrosis.

**Key words:** ferroptosis; hepatic stellate cell; liver fibrosis; iron; lipid peroxidation

肝纤维化是各种慢性损伤疾病导致的持续病理性损伤-修复而形成的一种疾病, 常由病毒感染、长期饮酒、代谢紊乱以及自身免疫性疾病等引起, 严重甚至可

能发展为肝硬化、肝癌<sup>[1,2]</sup>。因此, 如何有效防治及逆转肝纤维化成为当今世界医学难题之一。目前研究表明, 肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 活化是疾病发生发展的核心事件, 当肝脏受到损伤刺激时, 静息的HSC会被激活, 持续增殖并分泌大量细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 同时还释放多种炎症因子

收稿日期: 2021-06-28; 修回日期: 2021-07-30.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81770588).

\*通讯作者 Tel: 86-551-65161056, E-mail: wanghua@ahmu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0959

和趋化因子影响肝细胞、枯否细胞等,进一步加剧肝脏病理状态<sup>[3,4]</sup>。因此,靶向抑制HSC活化已经成为改善以及治疗肝纤维化的关键手段。近年大量研究显示,与正常的肝脏相比,发生纤维化后的肝脏内铁离子和脂质过氧化程度明显增多,提示铁死亡可能参与肝纤维化的发展进程<sup>[5]</sup>。

铁死亡是一种由铁依赖性脂质过氧化介导的一种细胞死亡方式<sup>[6,7]</sup>。现已证实多种细胞因子、信号通路及药物影响铁死亡的发生,参与肝纤维化的发展进程。本文就近年关于这方面的研究进展,总结了铁死亡在肝纤维化中的重要作用,以为肝纤维化的治疗提供新的思路 and 理论依据。

## 1 铁死亡概述

2012年,哥伦比亚大学Dr. Brent R. Stockwell团队<sup>[6]</sup>提出铁死亡是一种铁依赖性的、不同于细胞凋亡和细胞自噬的新型细胞程序性死亡方式。这种由铁依赖性磷脂过氧化作用驱动的独特细胞死亡方式受多种细胞代谢途径的调节,包括氧化还原稳态、铁离子水平、线粒体活性、氨基酸、脂质和糖的代谢,以及与疾病相关的各种信号通路<sup>[8]</sup>。许多器官损伤和退行性病变均是由铁死亡引起的。此外,对治疗有抵抗力的癌细胞,尤其是那些处于间质状态并易于转移的细胞,更容易出现铁死亡<sup>[9-11]</sup>。因此,铁死亡在治疗耐药性癌症、缺血性器官损伤和与脂质过氧化相关疾病方面具有巨大潜力。铁死亡的本质是谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的耗竭,谷胱甘肽过氧化物酶4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 活性下降,脂质过氧化物不能通过GPX4催化的谷胱甘肽还原酶反应代谢,从而破坏细胞膜的完整性,导致细胞死亡<sup>[12]</sup>。铁死亡在发生过程中有以下特点:① 大量的铁离子的累积通过芬顿反应产生大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 促进脂质过氧化,同时还可能会出现一些调控铁稳态和脂质代谢等方面的基因发生变化<sup>[7]</sup>;② 在细胞结构上,表现为线粒体缩小、膜皱缩及线粒体嵴减少或消失,而细胞核形态未有明显变化<sup>[6]</sup>。

目前关于调控铁死亡的通路研究主要集中在谷氨酸/胱氨酸转运体 (cystine/glutamate antiporter system Xc<sup>-</sup>)、GPX4及铁代谢等方面。① System Xc<sup>-</sup>是细胞表面的异二聚体,主要功能是置换细胞内谷氨酸与细胞外胱氨酸,因此,靶向抑制system Xc<sup>-</sup>会导致细胞内胱氨酸吸收减少 (GSH合成前体),从而使GSH合成减少,毒性脂质活性氧ROS过度堆积,促进脂质过氧化,诱导细胞死亡<sup>[13]</sup>;② GPX4是清除脂氧自由基必需的酶,通过辅因子GSH,它可以将毒性脂质过氧化物转化为无毒脂醇,而一旦GPX4活性降低或者失去活性,会产生大量多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids,

PUFA) 氧化和脂肪酸自由基,导致细胞死亡<sup>[14,15]</sup>;③ 铁代谢:铁参与细胞多种生理过程,如氧转运、线粒体呼吸、DNA复制和细胞信号传导。虽然铁含量丰富,但其生物利用度有限,因为它主要以三价铁 (Fe<sup>3+</sup>) 离子的形式存在,在生理酸碱度下不溶于水溶液。铁可以同时形成三价铁和二价铁离子,因此能够作为过渡金属在氧化还原反应中提供或接受电子<sup>[16,17]</sup>。然而,当细胞内存在过量的游离Fe<sup>2+</sup>离子时,可能会通过芬顿反应形成羟基自由基,导致过量的氧化应激和脂质过氧化。正常情况下,细胞内铁由一个精确的调节系统维持,细胞外铁由转铁蛋白及其载体蛋白导入,一旦进入细胞内,输入的铁可以作为铁蛋白储存或通过铁转运蛋白输出到循环中<sup>[18]</sup>,通过增加铁的输出或减少铁的输出来增加可变铁池 (labile iron pool, LIP),从而增加氧化损伤和随后铁死亡的敏感性<sup>[19]</sup>。

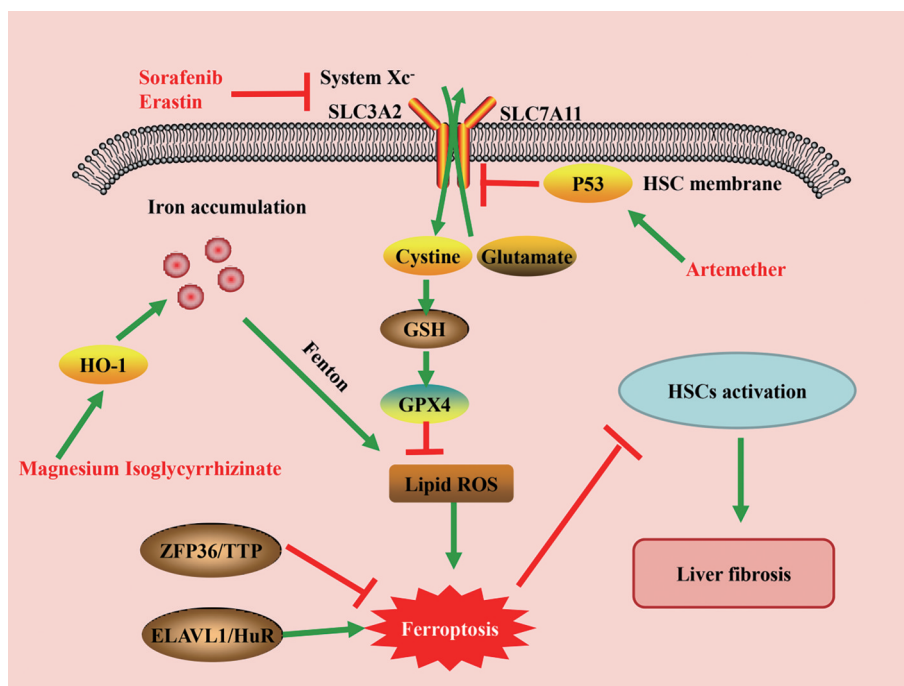
除了细胞中LIPs的数量,与铁代谢相关的基因也影响铁死亡。核受体共激活子4是一种货物受体,介导铁蛋白向自噬体的转运,进行溶酶体依赖性降解和铁释放,导致大量铁的积累,促进铁死亡的发生<sup>[20]</sup>。铁反应元件结合蛋白2 (iron response element binding protein 2, IREB2) 通过铁反应元件-铁反应蛋白系统编码铁代谢的主要调节因子,包括转铁蛋白、转铁蛋白受体和铁蛋白,沉默IREB2显著抑制爱拉斯汀 (erastin) 介导的铁死亡<sup>[6,21]</sup>。血红素氧合酶1 (heme oxygenase 1, HO-1) 是一种对血红素降解为亚铁、一氧化碳和胆绿素进行催化的酶,其活性过高会增加LIPs并随后引发铁死亡<sup>[22,23]</sup>。然而,适度上调HO-1可以通过其抗氧化活性保护细胞<sup>[24]</sup>。

## 2 铁死亡与肝纤维化

肝纤维化的主要病理特征是肝脏内HSC的活化与ECM过度沉积,汇管区大量纤维结缔组织异常增生,进而破坏肝脏正常结构以及生理功能。因此,抑制HSC的活化及增殖,诱导HSC死亡是治疗肝纤维化的有效方法。近年来,铁死亡在肝纤维化发展进程中的作用引起了众多学者的关注,逐渐成为肝纤维化领域的研究热点。大量研究表明,HSC中储存有大量的铁离子,铁死亡可以通过调控HSC内铁离子含量以及脂质过氧化程度等影响肝纤维化的发展进程,因此靶向HSC铁死亡可能成为治疗肝纤维化的新策略<sup>[5]</sup> (图1)。本文接下来将重点阐述铁死亡在肝纤维化中的作用及分子机制。

### 2.1 RNA结合蛋白ZFP36/TTP和ELAVL1/HuR调控铁死亡

Sui等<sup>[25]</sup>研究发现在大鼠肝纤维化模型中,异甘草酸镁可诱导HO-1上调,促进铁和脂质过氧化物的积累,从而促进HSC铁死亡的发生;而通过铁死亡抑制剂ferrostatin-1或沉默HO-1则消除了异甘草酸



**Figure 1** Related regulatory pathways of ferroptosis in liver fibrosis. System Xc<sup>-</sup>: Cystine/glutamate antiporter system Xc<sup>-</sup>; SLC3A2: Solute carrier family 3 member 2; SLC7A11: Solute carrier family 7 member 11; HSC: Hepatic stellate cells; GSH: Glutathione; HO-1: Heme oxygenase 1; GPX4: Glutathione peroxidase 4; ROS: Reactive oxygen species; ZFP36/TTP: ZFP36 ring finger protein 36; ELAVL1/HuR: ELAV like RNA binding protein 1

镁的抗纤维化作用。锌指蛋白 36 (ZFP36 ring finger protein 36, ZFP36/TTP) 和胚胎致死性异常视觉样蛋白 1 (ELAV like RNA binding protein 1, ELAVL1/HuR) 在调控 HSC 铁死亡中发挥重要作用, 下调 ZFP36 和上调 ELAVL1 可以促进索拉非尼 (sorafenib)/erastin 介导的 HSC 铁死亡, 减轻小鼠肝纤维化, 进一步机制研究发现 ZFP36/ELAVL1 可能与下游靶基因结合, 影响其 mRNA 稳定性, 从而调控 HSC 中储铁蛋白自噬, 释放出铁离子, 继而通过芬顿反应产生大量 ROS, 促进 HSC 铁死亡<sup>[26,27]</sup>。

## 2.2 BRD7-P53-SLC25A28 轴和 Trf 调控铁死亡

Zhang 等<sup>[28]</sup> 研究也发现溴含蛋白质 7 (bromodomain containing protein 7, BRD7)-P53-溶质载体家族 25 成员 28 (solute carrier family 25 member 28, SLC25A28) 轴在调节 HSC 铁死亡中扮演重要角色。研究发现采用 CRISPR/cas9 介导的 BRD7 敲除可减少 HSC 铁死亡, 而特异性 BRD7 质粒介导的 BRD7 过表达可促进 HSC 铁死亡, 进一步研究发现 BRD7 表达升高可通过直接与 P53 N-末端转激活域结合促进 P53 线粒体转位, 从而与下游 SLC25A28 相互作用形成复合物来介导铁死亡的发生。另一项研究也报道了肝脏转铁蛋白 (transferrin, Trf) 通过调控铁死亡可以抑制肝脏纤维化的发生。研究者发现小鼠肝细胞特异性敲除 Trf 表现为肝脏

非转铁蛋白结合铁蓄积, 加重高铁饮食介导的肝纤维化, 而同时特异性敲除小鼠肝细胞 Trf 和溶质载体家族 39 成员 14 (solute carrier family 39 member 14, SLC39A14) 可显著减少肝脏铁的积聚, 改善了高铁膳食或四氯化碳注射介导的肝纤维化, 这些数据表明肝转铁蛋白在维持肝功能方面发挥保护作用, 为预防铁过载诱导的肝纤维化提供了一个潜在治疗靶点<sup>[29]</sup>。

## 2.3 中药调控铁死亡

除了上述发现的调控铁死亡的靶点外, 研究也发现许多中药可以通过诱导 HSC 铁死亡治疗肝纤维化。Wang 等<sup>[30]</sup> 报道了蒿甲醚通过诱导 BRD7 表达上调, 随后介导 P53 入核, 抑制下游溶质载体家族 7 成员 11 (SLC7A11) 的表达, 从而导致 GSH 耗竭、GPX4 活性缺失和 ROS 过量, 最终诱导 HSC 发生铁死亡, 改善肝纤维化的发展。另外, 除了靶向 BRD7-P53-SLC7A11 网络调控铁死亡外, 蒿甲醚还可以通过抑制铁调控蛋白 2 泛素化降解来增加 HSC 中铁离子水平, 从而使 ROS 大量生成, 促进细胞铁死亡<sup>[31]</sup>。最新的一项研究还表明青蒿琥酯可以通过调节铁蛋白自噬介导 HSC 铁死亡减轻肝纤维化, 而溶酶体特异性抑制剂则可以消除铁蛋白自噬, 从而抑制了铁死亡和抗纤维化功能<sup>[32]</sup>。最近, Kuo 等<sup>[33]</sup> 研究也发现大黄酚可以通过提高 ROS 水平, 降低 SLC7A11 表达, 促进乙型肝炎病毒 X 蛋白介导的 HSC 铁死亡, 同时研究者还发现

大黄酚还可以调控内质网应激减轻肝纤维化,表明大黄酚可能成为治疗病毒性肝炎介导的肝纤维化的有效药物。此外,萜萘酰胺和葛根素也可以通过调控ROS水平影响铁死亡的发生<sup>[34]</sup>;麦冬皂苷D可以显著抑制麦冬皂苷D'所诱导的心肌细胞铁死亡<sup>[35]</sup>。虽然很多中药及其活性成分在铁死亡中的作用及机制尚不清楚,研究起步也较晚,但其调节靶点多、不良反应少和经济压力小的一些特点使中药在铁死亡的研究中占有重要的地位。

**2.4 P62-Keap1-Nrf2 信号通路调控铁死亡** 目前研究认为,铁死亡的最终执行机制是由于过量的脂质过氧化物累积引起质膜损伤,造成细胞铁死亡的发生<sup>[12]</sup>。因此,理解相关的信号通路或药物靶点对于依赖铁死亡治疗肝纤维化具有重要意义。Sun等<sup>[36]</sup>研究报道,沉默P62表达会增加erastin/sorafenib诱导的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞铁死亡;此外,在HCC细胞移植瘤小鼠模型以及细胞实验中发现,核因子E2-相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)敲低也表现出增强erastin/sorafenib抗HCC的作用。这些结果表明,P62-Kelch样ECH关联蛋白1(Kelch-like ECH-associating protein 1, Keap1)-Nrf2信号通路可能在铁死亡中发挥重要作用。其机制可能为:当细胞损伤或癌变时,P62通过使Keap1失活,促进Nrf2的激活及入核,入核后Nrf2与肌腱膜纤维肉瘤(muscular aponeurotic fibrosarcoma, Maf)蛋白等形成二聚体,同时结合抗氧化反应元件(anti-oxidant response element, ARE),进而调节下游醌氧化还原酶1(quinone oxidoreductase 1, NQO1)、HO-1、铁蛋白重链1(ferritin heavy chain1, FTH1)等与铁死亡相关基因的表达<sup>[36]</sup>。总之,P62-Keap1-Nrf2信号通路调控铁死亡主要是通过对其下游参与铁死亡相关基因的表达的调节。此外,Nrf2还可以通过胱硫醚酶途径促进铁死亡的重要负向调节因子金属硫蛋白1G(metallothionein 1G, MT1G)的表达,导致癌细胞对索拉非尼耐药<sup>[37]</sup>。因此,Nrf2可能是参与铁死亡及未来治疗多种肝病的重要靶点。

**2.5 P53 信号通路调控铁死亡** P53作为一种抑癌基因,能够介导细胞信号转导,调控细胞增殖、分化和凋亡等过程。最新研究显示,P53通过调节脂质合成与分解、氧化磷酸化和ROS水平参与铁死亡。Jiang等<sup>[38]</sup>发现P53通过抑制SLC7A11转录,间接导致GSH合成减少,促进了铁死亡发生。Qu等<sup>[39]</sup>也认为P53可以直接靶向亚精胺/精胺N1-乙酰转移酶1(spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1, SAT1),促进花生四烯酸15氧合酶表达,加剧脂质过氧化,诱导铁死亡。然而在结直肠肿瘤中,二肽基肽酶4(dipeptidyl peptidase 4,

DPP4)与P53作用,抑制其与胞质中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶1结合,减少ROS生成,从而延缓铁死亡的发生<sup>[40]</sup>。因此,P53对铁死亡的不同调节作用可能与疾病微环境有关,具体机制仍需进一步探究。

**2.6 Rb 信号通路与放疗调控铁死亡** Louandre等<sup>[41]</sup>研究发现在HCC细胞中视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma, Rb)表达水平经sorafenib处理后明显降低,且细胞死亡率是未处理组的2~3倍,随后研究采用HCC细胞移植瘤小鼠模型以及在Huh7细胞沉默Rb的体外实验中,进一步证明了sorafenib可以增加线粒体ROS产生,促进HCC细胞铁死亡,而Rb活性缺失也会进一步促进线粒体ROS的积聚,加剧铁死亡,但其具体的分子机制仍需进一步探究。另一方面,放射疗法是癌症治疗的基石,它通过靶向递送电离辐射来杀伤癌细胞。最新研究显示,放疗与铁死亡之间存在紧密关系。机制上,放疗主要通过产生过量的ROS来诱导脂质过氧化;同时上调酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)的表达以促进多不饱和脂肪酸磷脂(polyunsaturated fatty acids-phospholipids, PUFA-PLs)的生物合成以及导致GSH耗竭来促进铁死亡<sup>[42]</sup>。总之,这些发现可能为依赖铁死亡为靶点治疗肝纤维化提供新的方向。

### 3 铁死亡诱导剂、抑制剂与肝纤维化

**3.1 靶向system Xc<sup>-</sup>诱导铁死亡** 除了对铁死亡机制相关方面的研究,对铁死亡诱导剂的研究也在持续进行中。目前已发现多种铁死亡诱导剂,它们可以通过不同的作用靶点和信号通路参与铁死亡的发生,在治疗肝纤维化及与铁死亡相关的多种疾病方面具有潜在的临床价值(表1)<sup>[6,8,14,25,31-33,43-50]</sup>。目前已发现的铁死亡诱导剂主要是通过靶向system Xc<sup>-</sup>、GSH、GPX4以及铁离子和ROS实现诱导铁死亡,其中erastin是最早确定的一种特异性铁死亡诱导剂,可靶向抑制system Xc<sup>-</sup>的活性,影响GSH的合成,促进多种细胞发生铁死亡<sup>[6]</sup>。然而,水溶性差且代谢不稳定的特点限制了其体内应用,研究者随后对其结构进行改造将哌嗪基引入erastin得到哌嗪erastin后,显著改善了水溶性和稳定性,且诱导铁死亡的作用强度与erastin相似<sup>[15]</sup>。柳氮磺吡啶和sorafenib已被美国FDA批准作为铁死亡诱导剂在临床广泛使用,且取得了较好的治疗效果<sup>[43]</sup>。

**3.2 靶向铁离子和ROS诱导铁死亡** 另外也有研究显示,青蒿素和青蒿萜萘酰胺等多种中药可以通过提高ROS含量,从而影响铁代谢来诱导铁死亡,发挥抗肝癌的作用,且毒性较低,是非常有前景的药物<sup>[44]</sup>。FINO2是一类具有1,2-二氧戊烷结构的plakinic酸D衍生物,可通过发生类芬顿反应、间接失活GPX4以及

**Table 1** Ferroptosis inducers, inhibitors, and their mechanisms. DPI: Diphenyleneiodonium chloride; RSL3: RAS selective lethal 3; ML162: Specific ferroptosis inducer; FIN56: Ferritin inducing compound 56; SRS16-86: Specific ferroptosis inhibitor; ACSL4: Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4

Target	Reagent	Mechanism	Reference
<b>Inducers</b>			
System Xc <sup>-</sup> and GSH	Erastin, piperazine erastin, chrysophanol, sorafenib, piperlongumine, cisplatin, DPI2, buthinonine sulfoximine (BSO), sulfasalazine	Inhibit system Xc <sup>-</sup> , cause GSH depletion	[6,14,33,43-46]
GPX4	RSL3, ML162, FIN56, DPI compounds 7, 10, 12, 13, 17, 18, 19	Inhibition of GPX4 leads to accumulation of lipid peroxidation	[14]
ROS and iron accumulation	Artesunate, chrysophanol artemether dihydroartemisinin, magnesium isoglycyrrhizinate	Fe <sup>2+</sup> is oxidized to promote cellular ROS and leads to lipid peroxidation	[25,31-33]
<b>Inhibitors</b>			
Iron accumulation	Curcumin, baicalein	Suppress accumulation of iron	[47,48]
Lipid peroxidation	Ferostatin-1, liproxstatin-1, baicalein, vitamin E, SRS16-86, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA)	Prevent lipid peroxidation	[6,8,14,48,49]
ACSL4	Troglitazone	Inhibit the activity of ACSL4	[50]

直接氧化 PUFA 的作用诱导细胞铁死亡, 且其在铁水平高的肿瘤细胞中作用更强<sup>[51]</sup>。

**3.3 靶向 GSH 诱导铁死亡** 丁胱亚磺酰亚胺通过抑制 GSH 合成限速酶-谷氨酰半胱氨酸连接酶 (glutamate-cysteine ligase, GCL), 降低 GSH 水平和 GPX4 活性来促进脂质过氧化, 进而诱导多种癌细胞发生铁死亡<sup>[15,45]</sup>。顺铂可与 GSH 直接结合形成 Pt (铂)-GSH 复合物, 导致 GSH 和 GXP4 失活, 从而促进铁死亡。研究者进一步使用顺铂与 erastin 联合作用于人肺癌细胞和人结肠癌细胞后发现, 联合用药呈现出显著的协同抗肿瘤效应<sup>[46]</sup>。此外, 人工合成化合物 DPI2 (diphenyleneiodonium chloride 2) 也与上述药物作用机制相似, 通过消耗细胞中 GSH 来诱导铁死亡<sup>[14]</sup>。

**3.4 靶向铁离子和 ROS 抑制铁死亡** 铁死亡抑制剂主要通过减少游离铁和 ROS、抑制脂质产生或脂质过氧化物酶活性等途径发挥作用 (表 1)。姜黄素可作为铁螯合剂减少铁积累, 从而抑制 erastin 诱导的细胞铁死亡<sup>[47]</sup>, 同时也在横纹肌溶解诱导的急性肾损伤小鼠模型中表现出铁死亡抑制作用<sup>[52]</sup>。Ferrostatin-1 是一种特异性铁死亡抑制剂, 它一方面通过抑制脂质 ROS 蓄积, 保护 erastin 或 RAS 选择性致死化合物 (RAS selective lethal compound, RSL) 诱导的铁死亡<sup>[6]</sup>; 同时还可以下调前列腺素内过氧化物合成酶 2 表达及上调 GPX4 和 Nrf2 蛋白表达, 降低 ROS 水平和脂质过氧化作用, 保护细胞免受氧化毒性和铁死亡<sup>[53]</sup>。

**3.5 靶向脂质过氧化抑制铁死亡** 糙米提取物可以通过抑制铁死亡来改善 GPX4 失活导致的脂质过氧化和细胞毒性<sup>[34]</sup>; 黄芩苷也可以通过抑制脂质过氧化, 减少游离铁蓄积而抑制铁死亡, 且其抑制作用明显优于一些典型的铁死亡抑制剂<sup>[48]</sup>。其他抑制剂如维生素 E、二丁基羟基甲苯和叔丁基羟基茴香醚等通过阻止

脂质过氧化抑制铁死亡的发生<sup>[49]</sup>。

**3.6 靶向 ACSL4 抑制铁死亡** 噻唑烷二酮类药物罗格列酮、吡格列酮和曲格列酮等可特异性抑制 ACSL4 表达, 从而保护细胞免受 RSL3 诱导的铁死亡和脂质过氧化, 但其具体机制目前尚不清楚。其中, 曲格列酮虽抑制 ACSL4 的效应较低, 但可能由于其 6-色原烷醇结构而具有固有的抗氧化活性, 是噻唑烷二酮类药物中抑制铁死亡作用最强的<sup>[50]</sup>。除了传统的药物参与铁死亡的调控, 最新的研究显示, 多种纳米材料也可以通过影响 ROS、GSH 水平以及芬顿反应程度等作用, 协同所负载的药物调控铁死亡<sup>[54]</sup>。因此, 探索铁死亡诱导剂和抑制剂的作用机制及开发新的靶向铁死亡药物对于治疗肝纤维化具有重要意义。

#### 4 总结与展望

铁死亡是一种由脂质修复酶 GPX4 活性的缺失和随后脂质氧化驱动的一种细胞死亡形式。最新研究还显示铁死亡除了可以通过调控铁代谢和脂质过氧化作用影响疾病的发生与发展, 还可以作为辅助因子参与免疫细胞内 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 信号通路的调控、线粒体氧化呼吸链的传递、转录后调控以及表观遗传、抵抗病原体感染、调节炎症等多种生理作用<sup>[55-57]</sup>。因此靶向抑制铁死亡对于保护由脂质过氧化、炎症浸润和免疫原性介导的多种肝损伤具有重要作用, 而促进铁死亡可用于治疗肝癌和肝纤维化等肝脏疾病。目前, 尽管关于铁死亡在肝纤维化进程中的分子机制和信号通路的研究日益增多, 但仍然存在许多问题。如 ① 参与铁死亡导致的最终细胞死亡的确切分子事件尚不完全清楚。目前大都认为是过氧化磷脂损害了膜的完整性。然而, 最近的一项研究发现, 含有两个 PUFA 尾的磷脂是驱动铁死亡的重要因素, 这表明脂质交联可能是铁死亡时膜损伤的一个方面<sup>[58]</sup>。

在这种情况下,可能是交联脂质限制了膜成分的流动性,导致一些与膜相关的重要功能失效,导致细胞死亡。当然,也存在其他可能性,如氧化的PUFA-PLs分解成反应性亲电试剂,然后破坏其他大分子。② 精确的铁死亡体内特异标志物仍不确定。目前研究认为铁离子和脂质过氧化水平增加是铁死亡发生的必要条件,两者缺一不可<sup>[6,7]</sup>。另外,转铁蛋白受体表达的增加也可以作为铁死亡另一个潜在标志<sup>[59]</sup>。因此,随着研究的深入,在未来确定铁死亡精确的体内生物标记物,对于理解这种细胞死亡模式的生理功能和治疗潜力至关重要,同时也能临床诊断和治疗疾病提供重要依据。③ 能否实现靶向铁死亡治疗肝纤维化的临床研究尚未见报道。因此,研究者希望未来铁死亡的具体执行机制会被进一步阐明,这将为肝纤维化以及多种肝病的治疗提供重要依据,同时希望开发出特异性更强的铁死亡诱导剂或抑制剂用于临床治疗相关疾病。总之,靶向铁死亡可能是治疗肝纤维化的新方向。

**作者贡献:** 陈浩负责文献检索及论文撰写;李小枫负责论文语句修改;王华指导论文选题、设计及质量把控。

**利益冲突:** 所有作者声明无任何利益冲突。

## References

- [1] Cohen-Naftaly M, Friedman SL. Current status of novel antifibrotic therapies in patients with chronic liver disease [J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2011, 4: 391-417.
- [2] Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 425-456.
- [3] Tacke F, Trautwein C. Mechanisms of liver fibrosis resolution [J]. *J Hepatol*, 2015, 63: 1038-1039.
- [4] Cortes E, Lachowski D, Rice A, et al. Retinoic acid receptor beta is downregulated in hepatocellular carcinoma and cirrhosis and its expression inhibits myosin driven activation and durotaxis in hepatic stellate cells [J]. *Hepatology*, 2019, 69: 785-802.
- [5] Anderson ER, Shah YM. Iron homeostasis in the liver [J]. *Compr Physiol*, 2013, 3: 315-330.
- [6] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149: 1060-1072.
- [7] 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.
- [8] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22: 266-282.
- [9] 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.
- [10] Hangauer MJ, Viswanathan VS, Ryan MJ, et al. Drug-tolerant persister cancer cells are vulnerable to GPX4 inhibition [J]. *Nature*, 2017, 551: 247-250.
- [11] Tsoi J, Robert L, Paraiso K, et al. Multi-stage differentiation defines melanoma subtypes with differential vulnerability to drug-induced iron-dependent oxidative stress [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33: 890-904.
- [12] Yang WS, Stockwell BR. Ferroptosis: death by lipid peroxidation [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26: 165-176.
- [13] Cao JY, Dixon SJ. Mechanisms of ferroptosis [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73: 2195-2209.
- [14] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156: 317-331.
- [15] Yu HT, Guo PG, Xie XZ, et al. Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumourous diseases [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21: 648-657.
- [16] Andrews NC, Schmidt PJ. Iron homeostasis [J]. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69: 69-85.
- [17] Verbon EH, Trapet PL, Stringlis IA, et al. Iron and immunity [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2017, 55: 355-375.
- [18] Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, et al. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism [J]. *Cell*, 2010, 142: 24-38.
- [19] 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.
- [20] Hou W, Xie Y, Song X, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin [J]. *Autophagy*, 2016, 12: 1425-1428.
- [21] Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, et al. Regulators of iron homeostasis: new players in metabolism, cell death, and disease [J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41: 274-286.
- [22] Chang LC, Chiang SK, Chen SE, et al. Heme oxygenase-1 mediates BAY 11-7085 induced ferroptosis [J]. *Cancer Lett*, 2018, 416: 124-137.
- [23] Hassannia B, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Targeting ferroptosis to iron out cancer [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35: 830-849.
- [24] Suttner DM, Dennerly PA. Reversal of HO-1 related cytoprotection with increased expression is due to reactive iron [J]. *FASEB J*, 1999, 13: 1800-1809.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] Yu Y, Jiang L, Wang H, et al. Hepatic transferrin plays a role in systemic iron homeostasis and liver ferroptosis [J]. *Blood*, 2020, 136: 726-739.
- [30] 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.
- [31] Li Y, Jin C, Shen M, et al. Iron regulatory protein 2 is required for artemether-mediated anti-hepatic fibrosis through ferroptosis pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 845-859.
- [32] Kong Z, Liu R, Cheng Y. Artesunate alleviates liver fibrosis by regulating ferroptosis signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2043-2053.
- [33] 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.
- [34] Xu WH, Li CH, Jiang TL. Ferroptosis pathway and its intervention regulated by Chinese materia medica [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2018, 43: 4019-4026.
- [35] Lin Y, Yang CQ, Lian WY, et al. Ophiopogonin D interferes with ferroptosis to reduce the damage of cardiomyocytes induced by ophiopogonin D' [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 2241-2247.
- [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: 173-184.
- [37] Sun X, Niu X, Chen R, et al. Metallothionein-1G facilitates sorafenib resistance through inhibition of ferroptosis [J]. *Hepatology*, 2016, 64: 488-500.
- [38] Jiang L, Kon N, Li T, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520: 57-62.
- [39] Qu Y, Wang SJ, 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: E6806-E6812.
- [40] Xie YC, Zhu S, Song XX, et al. The tumor suppressor p53 limits ferroptosis by blocking DPP4 activity [J]. *Cell Rep*, 2017, 20: 1692-1704.
- [41] Louandre C, Marcq I, Bouhhal H, et al. The retinoblastoma (Rb) protein regulates ferroptosis induced by sorafenib in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2015, 356: 971-977.
- [42] Lei G, Mao C, Yan Y, et al. Ferroptosis, radiotherapy, and combination therapeutic strategies [J]. *Protein Cell*, 2021. DOI: 10.1007/s13238-021-00841-y.
- [43] Sleire L, Skeie BS, Netland IA, et al. Drug repurposing: sulfasalazine sensitizes gliomas to gamma knife radiosurgery by blocking cystine uptake through system Xc<sup>-</sup>, leading to glutathione depletion [J]. *Oncogene*, 2015, 34: 5951-5959.
- [44] Ooko E, Saeed ME, Kadioglu O, et al. Artemisinin derivatives induce iron-dependent cell death (ferroptosis) in tumor cells [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22: 1045-1054.
- [45] Nishizawa S, Araki H, Ishikawa Y, et al. Low tumor glutathione level as a sensitivity marker for glutamate-cysteine ligase inhibitors [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15: 8735-8743.
- [46] Guo J, Xu B, Han Q, et al. Ferroptosis: a novel anti tumor action for cisplatin [J]. *Cancer Res Treat*, 2018, 50: 445-460.
- [47] Kose T, Vera-Aviles M, Sharp PA, et al. Cucucumin and (-)-epigallocatechin 3 gallate protect murine min6 pancreatic beta cells against iron toxicity and erastin induced ferroptosis [J]. *Pharmaceuticals*, 2019, 12: 26.
- [48] Xie Y, Song X, Sun X, et al. Identification of baicalein as a ferroptosis inhibitor by natural product library screening [J]. *Biochen Biophys Res Commun*, 2016, 473: 775-780.
- [49] Kim KM, Cho SS, Ki SH. Emerging roles of ferroptosis in liver pathophysiology [J]. *Arch Pharm Res*, 2020, 43: 985-996.
- [50] 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.
- [51] Abrams RP, Carroll WL, Woerpel KA. Five-membered ring peroxide selectively initiates ferroptosis in cancer cells [J]. *ACS Chem Biol*, 2016, 11: 1305-1312.
- [52] Guerrero-Hue M, Garcia-Caballero C, Palomino-Antolin A, et al. Curcumin reduces renal damage associated with rhabdomyolysis by decreasing ferroptosis-mediated cell death [J]. *FASEB J*, 2019, 33: 8961-8975.
- [53] Chu J, Liu CX, Song R, et al. Ferrostatin-1 protects HT-22 cells from oxidative toxicity [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15: 528-536.
- [54] Li CQ, Tang HX, Zhang Y, et al. Construction and anti-tumor research progress of ferroptosis-inducing nanomedicine [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 2099-2109.
- [55] Nairz M, Schleicher U, Schroll A, et al. Nitric oxide-mediated regulation of ferroportin-1 controls macrophage iron homeostasis and immune function in Salmonella infection [J]. *J Exp Med*, 2013, 210: 855-873.
- [56] Wang Z, Yin W, Zhu L, et al. Iron drives T helper cell pathogenicity by promoting RNA binding protein PCBP1 mediated proinflammatory cytokine production [J]. *Immunity*, 2018, 49: 80-92.
- [57] Proneth B, Conrad M. Ferroptosis and necroinflammation, a yet poorly explored link [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26: 14-24.
- [58] 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.
- [59] Feng HZ, Schorpp K, Jin J, et al. Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker [J]. *Cell Rep*, 2020, 30: 3411-3423.e7.