

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.15.030

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190428.1039.020.html>(2019-04-29)

铁死亡在肿瘤中的研究进展*

汪 洋, 宋紫烨, 徐梦菲, 何 灿 综述, 蔡红兵[△] 审校

(武汉大学中南医院妇科/湖北省肿瘤医学研究中心/肿瘤生物学行为湖北省重点实验室, 武汉 430071)

[摘要] 铁死亡是近年来发现的一种细胞死亡形式, 主要以铁依赖的脂质活性氧(ROS)产生为特点, 而脂质 ROS 的清除主要依赖于谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4), 当脂质 ROS 产生和清除失衡时, 则会导致铁死亡的发生。肿瘤细胞可调节脂质 ROS 的生成和清除, 以控制铁死亡过程。本文就铁死亡的机制及其与肿瘤的关系进行归纳总结, 期望为靶向铁死亡治疗肿瘤提供理论依据。

[关键词] 铁死亡; 铁; 脂质; 活性氧; 肿瘤

[中图法分类号] R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)15-2633-04

Advances in research on ferroptosis in tumors*

WANG Yang, SONG Ziye, XU Mengfei, HE Can, CAI Hongbing[△]

(Department of Gynecological Oncology, Zhongnan Hospital of Wuhan University/Hubei Cancer Clinical Study Center/Hubei Key Laboratory of Tumor Biological Behaviors, Wuhan, Hubei 430071, China)

[Abstract] Ferroptosis is a form of cell death discovered in recent years, mainly characterized by the production of iron-dependent lipid reactive oxygen species (ROS), and lipid ROS clearance is mainly dependent on glutathione peroxidase 4 (GPX4). When lipid ROS production and clearance are imbalance, which can lead to ferroptosis. Tumor cells control iron death processes through regulating lipid ROS production and clearance. This paper summarized the mechanism of ferroptosis and its relationship with tumors, so as to provide a theoretical basis for targeting ferroptosis to treat tumors.

[Key words] ferroptosis; iron; lipid; reactive oxygen species; neoplasms

细胞死亡是指细胞生命过程不可逆的终止, 且该过程对机体生存、发展有重要意义。常见的死亡形式有多种, 包括坏死和凋亡。以往学界认为只有凋亡才属于程序性死亡形式, 但随着研究的深入, 发现存在更多的程序性死亡形式, 包括半胱氨酸蛋白酶 1 (caspase-1) 依赖的细胞凋亡, 受体相互作用蛋白激酶 1 (receptor-interacting protein kinase 1, RIPK1) 依赖的坏死性凋亡等^[1-3]。近年来又发现了一种新的程序性死亡形式即铁死亡, 它是一种铁依赖的脂质活性氧(ROS)累积所致的细胞死亡过程, 目前认为铁死亡与多种疾病的发生、发展相关, 其中与肿瘤之间的关系密切^[4-5], 但其相关机制还有待进一步阐明, 因此铁死亡成为近年来肿瘤领域的研究热点之一。

1 铁死亡的影响因素

铁死亡由 STOCKWELL 等学者于 2012 年提出, 其在形态、生化和基因调控方面不同于凋亡、坏死和自噬等死亡形式, 特征性的形态学表现为线粒体比正常细胞小, 且膜密度增加, 外膜破裂, 但细胞核的形态

不发生改变^[4]。铁死亡中脂质 ROS 的生成依赖于细胞内铁, 而脂质 ROS 的清除主要由谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 完成。当胞内铁含量增加时, 脂质 ROS 生成增加, 若此时 GPX4 合成减少, 则使脂质 ROS 的产生和清除失衡, 导致细胞铁死亡, 故可认为铁、脂质 ROS 和 GPX4 是铁死亡的 3 个重要影响因素^[4,6]。以下从肿瘤领域出发对上述 3 个重要因素进行介绍。

1.1 肿瘤细胞内铁含量增加 铁是人体维持正常生理活动所必需的元素。研究发现铁与多种肿瘤细胞的生物学行为密切相关, 如卵巢癌细胞中铁可促进基质金属蛋白酶(MMP)和白细胞介素-6(IL-6)的合成, 二者均可促进肿瘤细胞侵袭、转移, 并且 IL-6 可促进肿瘤新生血管的形成及化学治疗抵抗, 此外, Wnt/ β -catenin 信号通路的激活也依赖于细胞内亚铁的存在^[7-10]。

研究报道肿瘤细胞中的铁含量增加^[8], 其机制主要包括: (1) 铁调节蛋白 (iron regulatory protein,

IRP)通过结合铁蛋白和铁转运蛋白 mRNA 5' UTR 上的铁反应元件(iron-response elements, IREs), 阻断二者的翻译, 从而抑制细胞内铁的储存和流出; 它也可以结合转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TFR1) mRNA 3' UTR 上的 IREs, 稳定 mRNA, 增加 TFR1 的翻译, 从而增加铁的流入, 使细胞内铁含量增加^[8]。(2) 缺氧诱导因子 1(hypoxia inducible factor 1, HIF1)对肿瘤细胞适应低氧环境非常重要。HIF1 可诱导 TFR1 的表达, 使细胞摄铁增加^[11-12]。HIF1 也可诱导血红素加氧酶 1 的表达, 即可通过降解血红素来释放铁离子, 使细胞内铁循环利用增加^[12]。(3) RAS 基因是肿瘤中常常突变的致癌基因, 它既可通过上调 TFR1 增加铁的摄入, 也可通过下调铁蛋白重链 1 和铁蛋白轻链减少铁的储存^[13], 以此增加细胞内铁池含量。(4) 此外, 肿瘤微环境中的 M2 型巨噬细胞的铁蛋白含量降低, 但铁转运蛋白的表达较高, 使铁输出增加, 从而为肿瘤细胞提供铁, 促进肿瘤细胞生长^[14]。

通过上述机制, 增加了肿瘤细胞中铁含量, 细胞内铁含量增加虽可促进肿瘤生长, 但同时也可增加肿瘤细胞发生铁死亡的风险。

1.2 脂质 ROS 生成 研究表明, 铁死亡过程可被脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)抑制剂和还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶(NADPH oxidase, NOX)抑制剂抑制, 说明这两类酶参与铁死亡过程^[4,15]。肿瘤细胞中 LOX 表达增加, 而 NOX 属于专门生成 ROS 的酶家族^[16-17]。目前发现包含花生四烯酸(arachidonic, AA)或肾上腺酸(adrenic acid, AdA)的磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamines, PE)是铁死亡中脂质氧化的首选底物, 而且过氧氢-PE(hydroperoxy-phosphatidylethanolamines, OOH-PE)目前被认为是发生铁死亡的信号^[18-19]。

正常情况下, 15-LOX 一般以多不饱和脂肪酸为底物, 但在铁死亡中, 它可与磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1(PEBP1)结合形成复合物, 然后以多不饱和 PE 为底物, 从而产生 OOH-PE。因为 PEBP1 可与游离的 AA 结合, 减少游离 AA 成为 15-LOX 底物的可能, 而且该复合物还可直接与已经结合到细胞膜上的磷脂的多不饱和脂肪酸尾发生反应^[18]。酰基辅酶合成酶长链家族成员 4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)的缺乏可导致 AA-PE 或 AdA-PE 含量减少, 这表明 ACSL4 可通过改变细胞内脂质组分来增加细胞对铁死亡的易感性^[19]。目前发现氧化的 AA-PE 和 AdA-PE 片段可存在于内质网中^[20], 但其具体的作用目前还不得而知。铁死亡中脂质 ROS 的产生依赖于细胞内铁, 因为使用铁清除剂可以阻断 ROS 的生成, 但其介导生成 ROS 的机制还未明了, 目前有报道称, ROS 的产生可来自铁介导的 Fenton 反应^[4,20], 但需要进一步探索。

1.3 调节 GPX4 合成 通过对上述内容的描述, 认识到导致铁死亡的两大重要因素在肿瘤细胞中的含量都增加。目前研究发现, GPX4 是肿瘤细胞逃避铁死亡的一个关键酶, 是唯一可清除 OOH-磷脂类的酶, 它可将有毒的 OOH-PE 转变为无毒的羟基代谢物, 从而阻止肿瘤细胞发生铁死亡^[18]。

GPX4 是一种硒代半胱氨酸酶, 其合成过程需要胱氨酸-谷氨酸逆转录体(system c), 它将合成原料胱氨酸转运到细胞内, 再经谷胱甘肽-半胱氨酸连接酶合成 GPX4。system c 由 SLC3A2 和 SLC7A11 两部分组成, 可摄入胱氨酸而排出谷氨酸, 其中 SLC7A11 是一个 12 次跨膜蛋白, SLC3A2(CD98)是它的结合蛋白^[21]。在多种肿瘤中 SLC7A11 高表达, 增加胱氨酸的摄入, 以此来增加细胞内 GPX4 的合成, 即可减少细胞内氧化应激, 避免发生铁死亡, 从而促进肿瘤生长^[22]。那么肿瘤细胞如何调节 GPX4 合成, 分析如下。

肿瘤是机体内源性和外源性因素共同参与所致的一类疾病, 并被认为是多种基因突变累积的结果, 如癌基因、抑癌基因和 DNA 修复基因等^[23]。研究表明, 上述基因可参与细胞铁死亡过程。P53 作为抑癌基因, 它可通过增强亚精胺/精胺 N1-乙酰转移酶 1(SAT1)的表达来增加 ROS 的生成, 也可通过结合 ALC7A11 启动子上的位点来抑制 ALC7A11 的表达从而减少 GPX4 的合成, 共同促进肿瘤细胞铁死亡; 但它也可直接抑制二肽基肽酶 4(dipeptidyl peptidase 4, DPP4)活性, 削弱其与 NOX1 的结合, 减少 ROS 的生成或通过诱导细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A(CDKN1A)/p21、谷氨酰胺酶 2(glutaminase 2, GLS2)的表达来增加谷胱甘肽的合成, 促进对脂质过氧化物的清除从而抑制铁死亡^[24-25]。在肿瘤中 P53 往往发生突变, 研究发现, 当 P53 发生乙酰化缺陷的突变时, 它仍充分保留抑制 ALC7A11 表达的能力^[25], 但突变后的 P53 对其他靶点的作用目前还不清楚。转录因子 P63 属于 P53 家族, 它具有抑癌和致癌两种亚型, $\Delta Np63\alpha$ 是 P63 的致癌亚型, 可促进谷胱甘肽的合成, 增强肿瘤细胞抗氧化能力, 且此效应不受 P53 的影响^[26], 而作为抑癌基因亚型的 TAp63, 既可通过调节 GLS2 来发挥抗氧化功能, 也可增加 ROS 的产生发挥促氧化功能^[27]。另外, 核因子相关因子 2(NF-E2-related factor 2, NRF2)/Kelch-like ECH 相关蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)系统是机体的一个氧化还原敏感的转录系统。正常情况下, 即细胞不存在氧化应激时, NRF2 与 Keap1 结合, 并不断被泛素酶降解; 但当细胞存在氧化应激或者 Keap1 泛素化连接酶突变时, Keap1 构象发生改变, NRF2 不被降解而转移到核内与抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)结合, 促进抗氧化相关基因的转录与翻译, 其中包含了增加 system c 的

表达,从而增加细胞内 GPX4 的含量,降低细胞内 ROS 水平^[28-29]。RAS 作为致癌基因,可通过 RAS-RAF-MEK-ERK-JUN-NRF2 通路增加 NRF2 的转录及其与 ARE 的结合活性,从而提高 NRF2 的抗氧化能力^[30]。但有研究发现,mTORC2 作为多种肿瘤的生长因子受体信号通路,可以使 ALC7A11 上的第 26 位丝氨酸磷酸化,使其失活,减少胱氨酸的摄入,随之减少 GPX4 的合成^[31]。由此可见,肿瘤细胞调节铁死亡的过程错综复杂,还有待进一步研究。

2 铁死亡与肿瘤的关系

随着研究的深入,目前发现铁死亡参与机体多种疾病的发生、发展,如帕金森、哮喘和肿瘤等^[5,18,32],本文主要概括铁死亡与肿瘤之间的关系。研究表明,铁死亡可抑制肿瘤生长,但仅限于细胞实验和动物实验^[33]。目前已经有一些药物表现出有致肿瘤细胞铁死亡的能力。

2.1 肝癌 索拉菲尼是一种针对晚期肝癌的药物,可诱导肝癌细胞发生氧化应激,从而促进肿瘤细胞发生铁死亡^[34];氟哌啶醇为 σ_1 受体 (sigma 1 receptor, S1R) 的拮抗剂,而 S1R 在肝脏中的含量丰富,且与氧化应激有关,给予氟哌啶醇可增加肝癌细胞系对 erastin 和索拉菲尼诱导铁死亡的敏感性,通过增加细胞内亚铁含量和脂质 ROS 的产生,以及促进 GSH 的消耗^[35];低密度脂蛋白二十二碳六烯酸纳米分子可通过铁死亡途径来杀伤肝癌细胞^[36]。

2.2 胶质瘤 土荆皮乙酸 B (pseudolaric acid B, PAB) 在动物和细胞实验中表现出有抑制胶质瘤细胞生长的功能,因为它可增加细胞内亚铁的含量,并且细胞内铁可调节 NOX4 的表达,从而增加细胞内过氧化氢和脂质 ROS 的生成;PAB 还可通过活化 P53,从而抑制 SLC7A11 的功能,减少细胞内 GPX4 的含量,导致脂质 ROS 在细胞中累积,最终使胶质瘤细胞发生铁死亡^[37]。

2.3 其他肿瘤 青蒿素是一种抗疟疾的药物,但也有抗肿瘤的作用,它可促进 ROS 产生,用青蒿素处理卵巢癌细胞系可致细胞死亡,但该过程可被铁死亡特异性抑制剂 ferrostatin-1 所抑制,表明青蒿素的抗癌特性部分是通过诱导肿瘤细胞铁死亡而发挥作用的^[33]。有研究用青蒿素衍生物处理 60 种癌症细胞系时发现,青蒿素衍生物可改变铁相关基因,导致细胞铁死亡^[38]。二氢青蒿素 (dihydroartemisinin, DHA) 是青蒿素的衍生物和活性代谢物,用它处理头颈部鳞状细胞癌细胞系可通过增加细胞内脂质 ROS 的产生及减少 GPX4 的含量,诱导肿瘤细胞铁死亡^[39]。

3 小结

铁死亡是近年来发现的一种新的细胞死亡形式,而与铁死亡关系密切的 3 个重要因素,即细胞内铁、脂质 ROS 和 GPX4,都与肿瘤的发生、发展相关,因此可以推断出肿瘤与铁死亡之间的关系紧密^[15,40-41]。

但目前关于铁死亡过程的研究还存在许多问题有待被解决,如细胞内铁依赖何种途径生成脂质 ROS,除了 GPX4 清除脂质 ROS,是否还存在清除能力更强大的酶等。此外,随着有关铁死亡与肿瘤关系的研究开展越来越多,认识到肿瘤细胞调节铁死亡的过程相当复杂,仅从常见的原癌和抑癌基因着手分析,便可看出其在不同的肿瘤细胞中作用机制并不一致。为了更加全面地了解肿瘤细胞调节铁死亡这一庞大的网络体系,需要对铁死亡做更多更加深入的研究以揭示其相关机制,为靶向铁死亡治疗肿瘤提供更充足的证据。

参考文献

- [1] YE J, ZHANG R, WU F, et al. Non-apoptotic cell death in malignant tumor cells and natural compounds[J]. *Cancer Lett*, 2018, 420: 210-227.
- [2] SHI J, GAO W, SHAO F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245-254.
- [3] ZAMARAEV A V, KOPEINA G S, BUCHBINDER J H, et al. Caspase-2 is a negative regulator of necroptosis[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 102: 101-108.
- [4] DIXON S J, LEMBERG K M, STOCKWELL B R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [5] GUINEY S J, ADLARD P A, BUSH A I, et al. Ferroptosis and cell death mechanisms in Parkinson's disease[J]. *Neurochem Int*, 2017, 104: 34-48.
- [6] YANG W S, SRIRAMARATNAM R, WELSCH M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4[J]. *Cell*, 2014, 156(1/2): 317-331.
- [7] BASULI D, TESFAY L, DENG Z, et al. Iron addiction: a novel therapeutic target in ovarian cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(29): 4089-4099.
- [8] TORTI S V, TORTI F M. Iron and cancer: more ore to be mined[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(5): 342-355.
- [9] GYAMFI J, EOM M, KOO J S, et al. Multifaceted roles of interleukin-6 in adipocyte-breast cancer cell interaction[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(2): 275-285.
- [10] LI J, HE K, LIU P, et al. Iron participated in breast cancer chemoresistance by reinforcing IL-6 paracrine loop[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 475(2): 154-160.
- [11] SAMANTA D, SEMENZA G L. Metabolic adaptation of cancer and immune cells mediated by hypoxia-inducible factors[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2018, 1870(1): 15-22.
- [12] HIROTA K. An intimate crosstalk between Iron homeostasis and Oxygen metabolism regulated by the hypoxia-inducible factors (HIFs)[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 118-129.
- [13] YANG W S, STOCKWELL B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, non-

- apoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells[J]. *Chem Biol*, 2008, 15(3):234-245.
- [14] SOARES M P, HAMZA I. Macrophages and iron metabolism[J]. *Immunity*, 2016, 44(3):492-504.
- [15] HANGAUER M J, VISWANATHAN V S, RYAN M J, et al. Drug-tolerant persister cancer cells are vulnerable to GPX4 inhibition[J]. *Nature*, 2017, 551(7679):247-250.
- [16] WEN Z, LIU H, LI M, et al. Increased metabolites of 5-lipoxygenase from hypoxic ovarian cancer cells promote tumor-associated macrophage infiltration[J]. *Oncogene*, 2015, 34(10):1241-1252.
- [17] LAMBETH J D, NEISH A S. Nox enzymes and new thinking on reactive Oxygen: a double-edged sword revisited[J]. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9:119-145.
- [18] WENZEL S E, TYURINA Y Y, ZHAO J, et al. PEBP1 wards ferroptosis by enabling lipoxygenase Generation of lipid death signals[J]. *Cell*, 2017, 171(3):628-641.
- [19] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1):91-98.
- [20] D' HERDE K, KRYSKO D V. Ferroptosis: oxidized PEs trigger death[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1):4-5.
- [21] KOBAYASHI S, HAMASHIMA S, HOMMA T, et al. Cystine/glutamate transporter, system xc⁻, is involved in nitric oxide production in mouse peritoneal macrophages[J]. *Nitric Oxide*, 2018, 78:32-40.
- [22] LUO M, WU L, ZHANG K, et al. miR-137 regulates ferroptosis by targeting glutamine transporter SLC1A5 in melanoma[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(8):1457-1472.
- [23] 曾益新. 肿瘤学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1999:27.
- [24] KANG R, KROEMER G, TANG D L. The tumor suppressor protein p53 and the ferroptosis network[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133:162-168.
- [25] TARANGELO A, MAGTANONG L, BIEGING-ROLETT K T, et al. p53 suppresses metabolic Stress-Induced ferroptosis in cancer cells[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(3):569-575.
- [26] CANDI E, SMIRNOV A, PANATTA E, et al. Metabolic pathways regulated by p63 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(3, SI):440-444.
- [27] WANG G X, TU H C, DONG Y, et al. ΔNp63 inhibits oxidative stress-induced cell death, including ferroptosis, and cooperates with the BCL-2 family to promote clonogenic survival[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(10):2926-2936.
- [28] TOYOKUNI S, ITO F, YAMASHITA K, et al. Iron and thiol redox signaling in cancer: An exquisite balance to escape ferroptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108:610-626.
- [29] FAN Z, WIRTH A K, CHEN D, et al. Nrf2-Keap1 pathway promotes cell proliferation and diminishes ferroptosis [J]. *Oncogenesis*, 2017, 6(8):e371.
- [30] DENICOLA G M, KARRETH F A, HUMPTON T J, et al. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2011, 475(7354):106-109.
- [31] GU Y, ALBUQUERQUE C P, BRAAS D, et al. mTORC2 regulates amino acid metabolism in cancer by phosphorylation of the cystine-glutamate antiporter xCT[J]. *Mol Cell*, 2017, 67(1):128-138.
- [32] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease[J]. *Cell*, 2017, 171(2):273-285.
- [33] GREENSHIELDS A L, SHEPHERD T G, HOSKIN D W. Contribution of reactive Oxygen species to ovarian cancer cell growth arrest and killing by the anti-malarial drug artesunate[J]. *Mol Carcinog*, 2017, 56(1):75-93.
- [34] LANGE M, ABHARI B A, HINRICHS T M, et al. Identification of a novel oxidative stress induced cell death by Sorafenib and oleanolic acid in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 118:9-17.
- [35] 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(4):919-925.
- [36] OU W, MULIK R S, ANWAR A, et al. Low-density lipoprotein docosahexaenoic acid nanoparticles kill liver cancer cells by ferroptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 112:597-607.
- [37] WANG Z, DING Y, WANG X, et al. Pseudolaric acid B triggers ferroptosis in glioma cells via activation of Nox4 and inhibition of xCT[J]. *Cancer Lett*, 2018, 428:21-33.
- [38] OOKO E, SAEED M E, KADIOGLU O, et al. Artemisinin derivatives induce iron-dependent cell death (ferroptosis) in tumor cells [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(11):1045-1054.
- [39] LIN R, ZHANG Z, CHEN L, et al. Dihydroartemisinin (DHA) induces ferroptosis and causes cell cycle arrest in head and neck carcinoma cells[J]. *Cancer Lett*, 2016, 381(1):165-175.
- [40] RECZEK C R, CHANDEL N S. ROS promotes cancer cell survival through Calcium signaling[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(6):949-951.
- [41] RECALCATI S, GAMMELLA E, CAIRO G. Dysregulation of Iron metabolism in cancer stem cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133:216-220.