

· 综 述 ·

细胞铁死亡与胶质瘤

袁凡恩 综述 陈谦学 审校

【关键词】 胶质瘤;细胞铁死亡;细胞程序性死亡

【文章编号】 1009-153X(2019)02-0122-03 【文献标志码】 A 【中国图书资料分类号】 R 739.41

胶质母细胞瘤是成人中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤,即使采用手术联合术后行同步放疗及替莫唑胺化疗为辅的综合治疗,胶质母细胞瘤的中位生存期仍然只有 14.6 个月,5 年生存率只有 4%~5%^[1]。寻找胶质母细胞瘤有效的治疗方法有赖于对其分子机制的进一步研究。细胞程序性死亡参与调节细胞内稳态、增殖、免疫调节等重要生物学过程^[2]。细胞程序性死亡的失控可能与胶质瘤的恶性进展存在密切的关系。而除了研究较多的经典细胞凋亡外,细胞铁死亡越来越多引起关注。本文阐述细胞铁死亡的分子机制及其在胶质瘤中的作用。

1 细胞铁死亡概述

细胞铁死亡最早由 Stockwell 实验室在 2012 年首先报道的一种新的细胞程序性死亡方式^[3],他们发现,化合物 Erastin 能以铁依赖性蓄积细胞内脂质过氧化物从而导致细胞死亡^[4]。细胞铁死亡可以被亲脂性抗氧化剂、脂质过氧化抑制剂、铁螯合剂、多不饱和脂肪酸的耗竭所抑制,伴随着胱氨酸内流、谷胱甘肽耗竭及谷胱甘肽过氧化物酶 4 的激活。根据最初的研究报道,发生铁死亡的细胞在形态、生化水平及基因水平显著不同于细胞凋亡、坏死性凋亡及自噬性死亡。正在发生铁死亡的细胞并不表现出双层膜结构(细胞自噬)、破裂的细胞膜(细胞坏死)及染色质浓缩(细胞凋亡)这些特点,反而表现出线粒体变小、线粒体膜密度增大等特点^[3]。

2 细胞铁死亡的调控机制

2.1 铁代谢 最初发现铁代谢参与铁死亡过程是因

为铁螯合剂去铁胺可以阻断 Erastin 诱导的细胞毒性作用^[5]。铁调控蛋白 2 可结合铁蛋白和铁转运蛋白 5'-UTR 端的铁反应序列从而抑制其 mRNA 的翻译,铁蛋白和铁转运蛋白的耗竭导致细胞铁的蓄积,诱导细胞发生铁死亡^[3]。过量的铁负荷可以通过芬顿反应产生活性氧,从而促进细胞铁死亡。三价铁离子通过与转铁蛋白结合从而成为循环铁在人体内代谢。三价铁通过细胞膜上的转铁蛋白受体进入细胞内并定位于核内体,被还原成二价铁,最终在二价金属离子转运体的介导下释放到细胞质内。细胞质内的过量的铁离子被储存于由铁蛋白重链 FTH1 和铁蛋白轻链 FTL 构成的铁蛋白复合体中;铁的转出则是由一种铁离子转运泵介导^[6]。铁在细胞内的转入、转出、存储等过程都可以影响细胞铁死亡过程。

转铁蛋白和转铁蛋白受体 1 作为介导铁从细胞外转运到细胞内的关键蛋白,正向调控细胞铁死亡过程^[6]。使用铁螯合剂可以抑制 Erastin 诱导的细胞铁死亡,而增加铁来源则可以促进 Erastin 诱导的细胞铁死亡^[3,7]。较之于对铁死亡敏感的细胞,对铁死亡不敏感细胞的 FTH1 和 FTL 的表达量显著升高^[7]。研究表明,自噬能够促进铁蛋白 FTL 和 FTH1 的降解,从而增高细胞内铁含量,导致细胞铁死亡^[7,8]。热休克蛋白 HSPB1 可以通过抑制转铁蛋白受体 1 的循环代谢,从而降低细胞内铁含量,最终使得细胞对铁死亡的敏感性减弱;CISD1 可以增加线粒体内铁摄取和脂质氧化,从而增强细胞对铁死亡的敏感性^[9]。

2.2 氨基酸代谢 氨基酸代谢与细胞铁死亡调节密切相关。

谷氨酸盐和谷氨酰胺是细胞铁死亡的重要正向调控者^[6]:谷氨酸盐通过逆向转运体 Xc-以 1:1 的比例与胱氨酸发生交换,高浓度的谷氨酸盐能够抑制胱氨酸/谷氨酸逆向转运体 Xc-从而诱导细胞铁死亡^[3]。谷氨酰胺的降解为三羧酸循环和许多生物合成过程(如脂质生物合成)提供原材料。在谷氨酰胺缺乏、谷氨酰胺分解作用受到抑制等情况下,细胞

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2019.02.020

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(袁凡恩、陈谦学)

通讯作者:陈谦学,E-mail:chenqx666@whu.edu.cn

活性氧及脂质氧化蓄积受到抑制,从而阻止细胞铁死亡^[6]。谷氨酰胺分解作用的第一步就是谷氨酰胺到谷氨酸盐的转化,而这一过程由谷氨酰胺酶GLS1和GLS2催化。尽管GLS1和GLS2在结构上高度相似,但目前发现只有GLS2参与细胞铁死亡调控过程。GLS2是P53基因的下游靶基因,上调GLS2可以促进P53依赖的铁死亡。

2.3 脂质代谢 脂质代谢与细胞对铁死亡的敏感性密切相关。多不饱和脂肪酸的含量及定位决定细胞脂质氧化的程度,从而影响细胞铁死亡过程。游离多不饱和脂肪酸参与脂质信号通路的合成,参与膜磷脂构成,并在经过脂质氧化过程后传导铁死亡信号^[10],进而诱导细胞铁死亡。含有花生四烯酸或其延长产物的磷脂酰乙醇胺醇是重要的脂质信号分子,能够调节脂质氧化过程,诱导细胞产生铁死亡^[11]。ACSL4和LPCAT3是调控磷脂膜中多不饱和脂肪酸的合成及重构的关键酶,其缺乏可以减少脂质氧化过程中底物的含量,增强细胞对于铁死亡的抵抗作用^[10-12]。相反地,对细胞给予花生四烯酸及其他不饱和脂肪酸则可以诱导铁死亡^[13]。脂肪合酶可以介导铁死亡过程中脂质氧化^[10,13],最终诱导细胞铁死亡。

细胞铁死亡最终的执行可能是脂质氧化的直接结果:脂质过氧化物可分解为活性派生物如醛类,从而与蛋白质及核酸反应,引导细胞走向“铁死亡”。抗氧化剂维生素E可以通过抑制脂肪合酶来抑制细胞铁死亡^[14]。铁死亡调控的最终执行阶段可能是脂质氧化的直接结果。脂质过氧化物的分解衍生物(如醛类)可以直接与蛋白或者核酸反应。因此,抑制脂质氧化是抵抗铁死亡的关键。

2.4 其他调控铁死亡的信号通路 甲羟戊酸途径可以诱导辅酶Q10的合成,而辅酶Q10是线粒体呼吸链传递电子所必需,但与细胞铁死亡不相关。相反,辅酶Q10可以作为细胞膜结构上的抗氧化剂从而抑制细胞铁死亡。铁死亡诱导剂FIN56可以通过耗竭辅酶Q10来引起脂质氧化的蓄积。他汀类药物可以通过抑制甲羟戊酸途径中的关键限速酶HMG-CoA还原酶来耗竭辅酶Q10,从而诱导细胞铁死亡。

还原型辅酶II和硒的含量也可以影响细胞铁死亡敏感性。NADPH是一种细胞内用于清除脂质氧化的关键还原剂,在许多肿瘤细胞中内广泛用作细胞铁死亡的标志物之一。而硒则对于合成GPX4是必须的,因此硒的补充与耗竭可以通过调控GPX4从而来调节细胞铁死亡的敏感性。转录因子NRF2可以增强细胞对铁死亡的抵抗性。NRF2可以通过

调节AKR1C、金属结合蛋白MT-1G、抗氧化基因等的表达,从而提升细胞对铁死亡的抵抗性。

3 铁死亡与其他细胞程序性死亡的关系

细胞铁死亡与坏死性凋亡在肾缺血损伤中存在协同作用,同时抑制细胞铁死亡和坏死性凋亡可提供最大的保护作用^[15]。一些因子同时参与凋亡和铁死亡调控,例如P53。近年来,研究发现P53也可以调控细胞铁死亡,并且P53在铁死亡中的作用具有两面性:可以通过调节胱氨酸代谢来诱导细胞铁死亡^[16],也可以通过阻断DPP4活性来抑制铁死亡^[17]。

铁蛋白选择性自噬是指铁蛋白选择性自噬降解过程,从而调节铁元素储备稳态。Gao等^[18]通过RNAi技术,发现一批自噬相关基因参与调解铁死亡过程。定量蛋白质组学研究发现,核受体活化辅助因子4可以作为铁蛋白受体,调控铁蛋白的选择性自噬降解^[19]。铁蛋白在自噬溶酶体中的降解导致整合铁的释放,这部分铁被转运到细胞浆中诱发氧化应激反应。敲除自噬相关基因ATG5、ATG7或NCOA4可以抑制铁蛋白自噬性降解过程,从而抑制细胞铁死亡;过表达NCOA4则可以通过促进铁蛋白降解诱导细胞铁死亡^[20]。ELAVL1可以结合BECN1 mRNA来增加Beclin1的表达,进而促进细胞自噬活性,导致铁蛋白自噬降解,引起细胞铁死亡^[21]。这提示自噬在调控细胞铁死亡过程中的独特地位。

一般认为自噬是一种保护性的生理过程,能吞噬细胞在受到饥饿、缺氧等应激状态下产生的代谢产物,保护细胞免受这些有害代谢产物的影响。铁自噬也有着类似的特点,是一种通过自噬性降解铁蛋白从而释放铁的过程,尤其在红细胞生成及存活中起到重要的作用。在病理状态下,铁自噬调节失控,继而转向铁死亡过程。因此,深入研究铁死亡与凋亡、自噬等其他程序性死亡的联系和调控机制,对全面地了解细胞死亡的发生发展过程有重要意义。

4 胶质瘤与细胞铁死亡

目前,胶质瘤与细胞铁死亡的相关研究较少。激活胶质母细胞瘤的NRF2通路可以通过上调胱氨酸/谷氨酸逆向转运体Xc,从而抑制铁死亡。转录激活因子4可以增强胱氨酸/谷氨酸逆向转运体Xc的转录,从而抑制胶质母细胞瘤细胞的铁死亡^[22]。沉默胱氨酸/谷氨酸逆向转运体Xc,可以增强胶质瘤细胞对化疗药替莫唑胺的敏感性^[23]。土槿皮乙酸通过激活NOX4、抑制Xc,诱导胶质母细胞瘤细胞发生铁

死亡^[24]。Liu 等^[25]发现铁死亡诱导剂 Erastin 与替莫唑胺联合使用可以通过抑制胱氨酸/谷氨酸逆向转运体 xCT, 增强替莫唑胺的杀伤胶质母细胞瘤细胞的作用。

综上所述, 铁死亡作为一种细胞程序性死亡方式, 与铁介导氧化应激、细胞代谢、自噬等关系密切。铁死亡在胶质瘤发生发展中起重要作用, 但相关机制尚不清楚。深入研究铁死亡在胶质瘤中作用和机制能更好地了解胶质瘤的发病机制, 从而帮助寻找胶质瘤综合治疗的新靶点。

【参考文献】

- [1] Morgan LL. The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review [J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(4): 623-624.
- [2] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- [3] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al*. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [4] Stockwell BR, Friedmann AJ, Bayir H, *et al*. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [5] Xie Y, Hou W, Song X, *et al*. Ferroptosis: process and function [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 369-379.
- [6] Gao M, Monian P, Quadri N, *et al*. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis [J]. *Mol Cell*, 2015, 59: 298-308.
- [7] Dowdle WE, Nyfeler B, Nagel J, *et al*. Selective VPS34 inhibitor blocks autophagy and uncovers a role for NCOA4 in ferritin degradation and iron homeostasis in vivo [J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(11): 1069-1079.
- [8] Mancias JD, Wang X, Gygi SP, *et al*. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy [J]. *Nature*, 2014, 509(7498): 105-109.
- [9] Yuan H, Li X, Zhang X, *et al*. C1SD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(2): 838-844.
- [10] Kagan VE, Mao G, Qu F, *et al*. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 81-90.
- [11] Doll S, Proneth B, Tyurina YY, *et al*. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91-98.
- [12] Yuan H, Li X, Zhang X, *et al*. C1SD1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(2): 838-844.
- [13] Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, *et al*. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(34): E4966-E4975.
- [14] Kagan VE, Mao G, Qu F, *et al*. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 81-90.
- [15] Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, *et al*. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(47): 16836-16841.
- [16] Jiang L, Kon N, Li T, *et al*. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520(7545): 57-62.
- [17] Xie Y, Zhu S, Song X, *et al*. The tumor suppressor p53 limits ferroptosis by blocking DPP4 activity [J]. *Cell Rep*, 2017, 20(7): 1692-1704.
- [18] Gao M, Monian P, Pan Q, *et al*. Ferroptosis is an autophagic cell death process [J]. *Cell Res*, 2016, 26(9): 1021-1032.
- [19] Mancias JD, Wang X, Gygi SP, *et al*. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy [J]. *Nature*, 2014, 509(7498): 105-109.
- [20] Hou W, Xie Y, Song X, *et al*. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin [J]. *Autophagy*, 2016, 12(8): 1425-1428.
- [21] 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, 2018: 1-21.
- [22] 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(40): 5593-5608.
- [23] Sehm T, Rauh M, Wiendieck K, *et al*. Temozolomide toxicity operates in a xCT/SLC7a11 dependent manner and is fostered by ferroptosis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 74630-74647.
- [24] 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.
- [25] Chen L, Li X, Liu L, *et al*. Erastin sensitizes glioblastoma cells to temozolomide by restraining xCT and cystathionine-gamma-lyase function [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(3): 1465-1474.