

## 铁死亡在新生儿急性肺损伤中作用机制的研究进展

楚晓云, 蔡成\*

上海市儿童医院 上海交通大学医学院附属儿童医院 新生儿科, 上海 200062

**摘要:** 急性肺损伤是新生儿中常见的一种危急重症, 铁死亡作为一种新型细胞程序性死亡形式, 可通过调节铁稳态、氨基酸代谢和脂质过氧化反应参与急性肺损伤的进程。深入研究铁死亡在急性肺损伤中的作用机制可为其防治提供新思路。

**关键词:** 铁死亡; 铁稳态; 氨基酸代谢; 脂质过氧化; 新生儿急性肺损伤

中图分类号: R725.6 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.06.1008

## Research progress on the mechanism of ferroptosis in neonatal acute lung injury

CHU Xiaoyun, CAI Cheng\*

Department of Neonatology, Shanghai Children's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200062, China

**Abstract:** Acute lung injury is a common critical illness in neonates. Ferroptosis, a novel form of programmed cell death, plays an important role in the process of acute lung injury by regulating iron homeostasis, metabolism of amino acid and lipid peroxidation. In-depth study of the mechanism of ferroptosis in acute lung injury may provide new ideas for its prevention and treatment.

**Key words:** ferroptosis; iron homeostasis; metabolism of amino acid; lipid peroxidation; acute lung injury in neonate

新生儿急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是由多种因素引起的新生儿肺部弥漫性损伤, 以进行性低氧血症和呼吸窘迫为主要临床表现, 严重威胁新生儿生命安全。ALI的发病机制错综复杂, 主要包括氧化应激、炎症反应、自噬及坏死性凋亡等<sup>[1-4]</sup>, 但确切机制尚未完全阐明, 临床上亦无有效的防治措施。铁死亡是近年来发现的一种铁离子依赖性的、以脂质活性氧(reactive oxygen species, ROS)过量蓄积为特征的细胞调控性死亡形式。现越来越多证据表明, 铁死亡在ALI的进程中发挥重要作用<sup>[5-7]</sup>。本文综述了铁死亡在ALI中作用机制的研

究进展, 以进一步阐明ALI的发病机制, 并为其防治提供新靶点。

### 1 铁死亡的概述

2003年发现小分子化合物erastin对RAS突变的肿瘤细胞具有选择致死性, 与经典凋亡途径不同, 此过程无caspase酶的活化、caspase底物的裂解, 也没有细胞核形态的变化<sup>[8]</sup>, 且能被铁螯合剂和亲脂性抗氧化剂所抑制<sup>[9]</sup>。2012年首次将这种细胞调控性死亡形式命名为铁死亡<sup>[10]</sup>。与凋亡、坏死和自噬均不同, 铁死亡的主要形态学表现为线粒体皱缩、

收稿日期: 2022-06-10 修回日期: 2022-10-13

基金项目: 上海市儿童医院院级课题国家自然科学基金基金培育专项(2020YGGZQ01)

\* 通信作者 (corresponding author): caicheng2004@163.com

膜密度增加及嵴减少<sup>[10]</sup>;在生化水平上,铁死亡主要表现为细胞内  $\text{Fe}^{2+}$  过量蓄积、GSH 耗竭、GPX4 活性下降及膜脂质的过氧化反应<sup>[10-11]</sup>;在遗传学上,铁死亡涉及多种基因的表达异常,尤其是铁调节相关基因<sup>[10]</sup>。铁死亡的调控机制错综复杂,主要包括铁稳态失调、氨基酸抗氧化系统失衡及脂质过氧化反应等。

## 2 铁死亡在新生儿 ALI 发病学中的作用

新生儿 ALI 是临床上常见的一种危急重症,其主要病理改变为肺泡毛细血管通透性增加、炎性细胞浸润及肺泡上皮细胞损伤,常由非心源性的肺内和肺外因素引起,但确切发病机制尚未完全阐明。目前已知铁稳态失调、胱氨酸/谷氨酸反向转运体 (system  $\text{Xc}^-$ ) 功能障碍和脂质过氧化反应是铁死亡的主要特征<sup>[10-11]</sup>,同时这些代谢异常在 ALI 的发病机制中也占据重要地位<sup>[6,12]</sup>。各种致病因素引起的肺泡上皮细胞中  $\text{Fe}^{2+}$  蓄积,可通过 Fenton 反应催化产生大量氧自由基,并进一步将多不饱和脂肪酸等膜脂氧化成脂质过氧化物,从而破坏细胞生物膜的结构和功能,诱发铁死亡并导致 ALI<sup>[13]</sup>。谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 为铁死亡的核心调控蛋白,可通过降解  $\text{H}_2\text{O}_2$  及脂质 ROS 阻断脂质过氧化链式反应,避免细胞发生氧化性损伤。谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 为体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂,同时也是 GPX4 活化过程中必需的辅助因子<sup>[14]</sup>。system  $\text{Xc}^-$  功能障碍可引起半胱氨酸剥夺, GSH 合成减少,进一步导致依赖 GSH 的 GPX4 失活,最终引起脂质过氧化水平的增加,诱导铁死亡及 ALI 的发生<sup>[15]</sup>。

### 2.1 高氧肺损伤

氧气吸入是危重新生儿救治过程中必不可少的组成部分,但持续高氧暴露可导致机体产生大量高活性氧及自由基,从而干扰细胞代谢,抑制蛋白酶和 DNA 合成,造成广泛的细胞和组织损伤。在新生大鼠高氧肺损伤模型中可以观察到肺泡 II 型上皮细胞发生线粒体萎缩、膜结构破裂和嵴的减少等形态异常。同时,存在铁超负荷、与维持铁稳态相关的转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TFRC)、铁蛋白重链 (ferritin heavy chain, FHC) 和铁蛋白轻链 (ferritin light chain, FLC) 的表达增加、铁死亡核心调控蛋白

GPX4 及其辅助因子 GSH 的表达下降<sup>[5,16]</sup>,表明铁死亡可通过调节铁稳态和抑制 GPX4 及 GSH 的活性参与高氧肺损伤的进程。而铁死亡抑制剂去铁胺可通过减少黄嘌呤氧化酶及增加谷胱甘肽还原酶的表达抑制氧化应激反应从而减轻高氧肺损伤,更是印证了这一观点。Nrf2 作为机体抗氧化应激反应的核心转录因子,可在高氧暴露下上调铁死亡相关下游靶基因 *GSH*、*HO-1* 和 *NADPH* 的表达发挥肺保护作用,还可通过直接或间接调控 GPX4 和细胞内游离铁含量及线粒体功能从而调控铁死亡。因此,可以此为切入点进一步探索高氧肺损伤的防治策略。

### 2.2 脓毒症相关 ALI

脓毒症是由感染引起的全身性炎性反应,发病率高且预后差,可引起机体免疫系统的过度激活,促炎细胞因子、集落刺激因子及趋化因子的过度释放,引发细胞因子风暴,从而导致肺微血管通透性增加、肺水肿和肺不张等病理改变。在脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 ALI 小鼠支气管上皮细胞中存在铁超负荷、脂质氧化的主要终产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 表达增加、GPX4 和 SLC7A11 的表达下降,ferrostatin-1 可通过抑制上述改变有效缓解 LPS 诱导的 ALI<sup>[6]</sup>,提示铁死亡参与了脓毒症相关 ALI 的进程。多项研究表明 Nrf2 可通过调节铁代谢、氨基酸代谢及脂质过氧化反应相关靶基因的转录,在 LPS 诱导的 ALI 中发挥保护作用<sup>[14,17-18]</sup>。此外,铁死亡也通过铁超载及氨基酸抗氧化系统的失衡参与了 SARS-CoV-2 导致的 COVID-19<sup>[19]</sup>,铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 和 liproxstatin-1 已被证实可有效缓解冠状病毒感染导致的鼠 ALI<sup>[20]</sup>。

### 2.3 缺血/再灌注肺损伤

缺血/再灌注肺损伤是由于严重创伤、心肺复苏、休克及重大手术等引起的肺脏缺血后重新恢复血流时引起的损伤。除损伤肺微血管床外,还可导致肺泡血管内皮通透性增加,肺血管内炎性介质和炎性细胞的外渗,最终导致呼吸衰竭。在大鼠肠道缺血/再灌注肺损伤模型中存在 MDA 表达增加和 GSH 表达下降。Ferrostatin-1 可通过增加 GPX4 和 GSH 的表达,抑制脂质过氧化反应减轻肠缺血再灌注相关 ALI<sup>[7]</sup>。Nrf2 可通过上调 GPX4 和 HO-1 的

表达以及稳定线粒体功能有效缓解肺缺血/再灌注损伤<sup>[21]</sup>。p53 凋亡刺激蛋白抑制剂 (inhibitor of apoptosis stimulating protein of p53, iASPP) 是 p53 家族中唯一凋亡刺激蛋白抑制剂, 可通过激活 Nrf2/HIF-1/TF 信号通路调节铁代谢和脂质过氧化反应有效抑制肠缺血/再灌注诱导的铁死亡并减轻其肺损伤作用<sup>[22]</sup>。以上研究表明, 铁死亡可通过铁超载及脂质过氧化参与缺血/再灌注肺损伤的进程, 而 Nrf2 和 p53 可能为其潜在的治疗靶点。

## 2.4 其他因素导致的 ALI

放射性治疗是一种用于治疗胸部恶性肿瘤的常规疗法, 但放疗可损伤肺上皮细胞和血管内皮细胞, 同时可刺激炎症因子大量释放产生炎症反应, 最终导致 ALI 的发生。在大鼠放射性肺损伤模型中存在 GPX4 表达下降, Liproxstatin-1 可通过上调 GPX4 的表达, 降低 ROS 及炎症因子的水平减轻辐射诱导的 ALI<sup>[23]</sup>。油酸可引起肺泡毛细血管通透性增加和肺间质水肿, 引发 ALI。在油酸诱

导的 ALI 小鼠模型中存在铁超负荷, MDA 表达升高, 铁蛋白、GPX4 及 GSH 表达下降<sup>[15]</sup>。溺水会损伤肺泡上皮细胞, 进而导致缺氧、出血以及炎症反应。在海水淹溺性小鼠 ALI 模型中存在脂质 ROS 和 MDA 表达增加, GSH 和 SOD 活性下降, ferrostatin-1 可减少胞内 ROS 产生和脂质 ROS 积累, 增加 GSH 表达和 SOD 活性缓解肺损伤。Nrf2 可促进 FHC 和 GPX4 表达并稳定线粒体膜电位, 从而缓解海水淹溺所致的 ALI<sup>[24]</sup>。

## 3 问题与展望

综上所述, 铁死亡作为一种新型细胞死亡形式参与了上述 ALI 的进程, 但确切机制尚未阐明。虽然目前研究大多集中在动物和细胞水平, 对于临床疗效的评价少之又少, 但目前基于铁死亡为靶点对动物模型 ALI 的干预是确切有效的。通过对铁死亡信号通路及其调控因子的进一步探索, 铁死亡调节剂有望成为 ALI 治疗的新靶向药物。

## 参考文献:

- [1] Kerchberger VE, Bastarache JA, Shaver CM, *et al.* Haptoglobin-2 variant increases susceptibility to acute respiratory distress syndrome during sepsis[J]. *JCI Insight*, 2019, 21: e131206. doi: 10.1172/jci.insight.131206.
- [2] 刘秀洁, 王新雨, 宋正阳, 等. 细胞自噬在大鼠 II 型肺泡上皮细胞低氧/复氧损伤中的作用[J]. *基础医学与临床*, 2021, 41:1440-1445.
- [3] Zhu P, Wang J, Du W, *et al.* NR4A1 promotes LPS-induced acute lung injury through inhibition of opa1-mediated mitochondrial fusion and activation of PGAM5-related necroptosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:6638244. doi:10.1155/2022/6638244.
- [4] Kong M, Wei D, Li X, *et al.* The dynamic changes in autophagy activity and its role in lung injury after deep hypothermic circulatory arrest[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 4: 1113-1127.
- [5] Chou HC, Chen CM. Hyperoxia induces ferroptosis and impairs lung development in neonatal mice[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11: 641. doi: 10.3390/antiox11040641.
- [6] Liu P, Feng Y, Li H, *et al.* Ferrostatin-1 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2020, 25:10. doi: 10.1186/s11658-020-00205-0.
- [7] Dong H, Qiang Z, Chai D, *et al.* Nrf2 inhibits ferroptosis and protects against acute lung injury due to intestinal ischemia reperfusion via regulating SLC7A11 and HO-1[J]. *Aging*, 2020, 12:12943-12959.
- [8] 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.
- [9] 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, 3:234-245.
- [10] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al.* Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 5:1060-1072.

- [11] Yang WS, Sriramaratnam R, Welsch ME, *et al.* Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156:317-331.
- [12] Britt RD, Velten M, Locy ML, *et al.* The thioredoxin reductase-1 inhibitor aurothioglucose attenuates lung injury and improves survival in a murine model of acute respiratory distress syndrome [J]. *Antioxid Redox Sign*, 2014, 17:2681-2691.
- [13] Qiang Z, Dong H, Xia Y, *et al.* Nrf2 and STAT3 alleviates ferroptosis-mediated IIR-ALI by regulating SLC7A11 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020; 5146982. doi: 10.1155/2020/5146982.
- [14] Jiang L, Hickman JH, Wang SJ, *et al.* Dynamic roles of p53-mediated metabolic activities in ROS-induced stress responses [J]. *Cell Cycle*, 2015, 18:2881-2885.
- [15] Zhou H, Li F, Niu JY, *et al.* Ferroptosis was involved in the oleic acid-induced acute lung injury in mice [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2019, 71:689-697.
- [16] Jia D, Zheng J, Zhou Y, *et al.* Ferroptosis is involved in hyperoxic lung injury in neonatal rats [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14:5393-5401.
- [17] Li J, Deng SH, Li J, *et al.* Obacunone alleviates ferroptosis during lipopolysaccharide-induced acute lung injury by upregulating Nrf2-dependent antioxidant responses [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27:29. doi: 10.1186/s11658-022-00318-8.
- [18] He R, Liu B, Xiong R, *et al.* Itaconate inhibits ferroptosis of macrophage via Nrf2 pathways against sepsis-induced acute lung injury [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8:43. doi: 10.1038/s41420-021-00807-3.
- [19] Wang Y, Huang J, Sun Y, *et al.* SARS-CoV-2 suppresses mRNA expression of selenoproteins associated with ferroptosis, endoplasmic reticulum stress and DNA synthesis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 153:112286. doi: 10.1016/j.fct.2021.112286.
- [20] Xia H, Zhang Z, You F. Inhibiting ACSL1-related ferroptosis restrains murine coronavirus infection [J]. *Viruses*, 2021, 13:2383. doi: 10.3390/v13122383.
- [21] Wang Y, Dong Z, Zhang Z, *et al.* Postconditioning with irisin attenuates lung ischemia/reperfusion injury by suppressing ferroptosis via induction of the Nrf2/HO-1 signal axis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 9911167. doi: 10.1155/2022/9911167.
- [22] Li Y, Cao Y, Xiao J, *et al.* Inhibitor of apoptosis-stimulating protein of p53 inhibits ferroptosis and alleviates intestinal ischemia/reperfusion-induced acute lung injury [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27:2635-2650.
- [23] Li X, Zhuang X, Qiao T. Role of ferroptosis in the process of acute radiation-induced lung injury in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519:240-245.
- [24] Qiu YB, Wan BB, Liu G, *et al.* Nrf2 protects against seawater drowning-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis [J]. *Respir Res*, 2020, 21:232. doi: 10.1186/s12931-020-01500-2.