

铁死亡在骨关节炎中潜在作用的研究新进展

刘洪江^{1*}, 崔泳^{1,2#}

¹新疆医科大学第五临床医学院, 新疆 乌鲁木齐

²新疆医科大学第五附属医院骨科中心, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年9月13日; 录用日期: 2023年10月8日; 发布日期: 2023年10月16日

摘要

近年来铁死亡在不同疾病领域中开辟新的平台, 发现它在不同疾病的发生进展过程中有着重要意义。骨关节炎(osteoarthritis, OA)最早的病理改变常见于关节软骨表面, 软骨细胞(软骨中存在的唯一细胞类型)发生凋亡或者死亡是其主要特征。铁死亡作为一种新型细胞死亡形式, 由铁依赖性脂质过氧化导致, 在骨关节炎软骨细胞调节性死亡中起关键作用。本文将汇总近年来关于铁死亡的研究最新进展, 旨在探究铁死亡在骨关节炎中的潜在作用, 可能有助于更好地针对性地进行适当的治疗, 以帮助减轻症状并改善功能。

关键词

骨关节炎, 软骨细胞, 铁死亡

Recent Advances in the Study of Ferroptosis' Potential Role in Osteoarthritis

Hongjiang Liu^{1*}, Yong Cui^{1,2#}

¹The Fifth Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

²Department of Orthopedics, The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Sep. 13th, 2023; accepted: Oct. 8th, 2023; published: Oct. 16th, 2023

Abstract

In recent years, ferroptosis has emerged as a new platform in various disease domains, revealing its significant role in the progression of different diseases. The earliest pathological changes in

*第一作者。

#通讯作者。

osteoarthritis (OA) are commonly found on the surface of articular cartilage. Apoptosis or death of chondrocytes, the only type of cell present in cartilage, is a major characteristic. Ferroptosis, a new form of cell death caused by iron-dependent lipid peroxidation, plays a crucial role in the regulated death of chondrocytes in osteoarthritis. This article will summarize the latest research advancements on ferroptosis with the aim of exploring its potential role in osteoarthritis. Such understanding may aid in more targeted and appropriate treatments to help alleviate symptoms and improve function.

Keywords

Osteoarthritis, Chondrocytes, Ferroptosis

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是最常见的退行性关节疾病,影响全球超过500亿人,导致疼痛,残疾和功能丧失,预防和早期治疗对于减轻日益加重的OA负担至关重要[1][2]。在OA病理生理学中发现,软骨细胞及基质的退变,导致结构和功能的丧失,伴有软骨的修复及骨的重新塑形。疼痛是OA的主要标志,迄今为止还没有发现有效治疗OA及其相关疼痛的方法,慢性的病程导致生活质量下降,在世界范围内非常普遍,具有巨大的症状和经济负担[3]。目前对于骨关节炎的治疗目的是缓解疼痛,改善或恢复关节功能,提高患者生活质量。有研究表明,不仅在成年动物,在人类关节软骨中,随着年龄的变化伴随着软骨细胞的减少,基质成分的降解也在增加,并且软骨细胞凋亡已经在体内和体外得到证实[4]。2012年,Dixon首次提出了铁死亡的概念,铁死亡是一种以脂质活性氧(ROS)积累为特征的铁依赖性非凋亡细胞死亡模式。在形态学、生化和遗传学上与细胞凋亡、各种形式的坏死和自噬不同[5]。研究表明,铁死亡在调节骨相关细胞的存活中起着至关重要的作用,软骨细胞铁死亡有助于骨关节炎的进展[6][7]。本文旨在探究铁死亡在骨关节炎中的潜在作用,可能有助于更好地针对性地进行适当的治疗,以帮助减轻症状并改善功能。

2. 铁死亡的概述

曾经认为,哺乳动物细胞中几乎所有受调控的细胞死亡都是由半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase)依赖性凋亡的激活引起的[5]。然而Dolma等人通过荧光显微镜监测并对比化合物喜树碱(CPT)和爱拉斯汀(Erastin)在致瘤BJ-TERT/LT/ST/RASV12细胞中诱导的细胞死亡类型,发现erastin诱导的细胞死亡是非凋亡形式的[8]。在2012年铁死亡概念首次被提出。这是一种独特的新型细胞死亡方式,一种铁依赖性非凋亡程序性细胞死亡,由铁依赖性磷脂过氧化驱动,并受多种细胞代谢途径(包括氧化还原稳态、铁代谢、线粒体活性、氨基酸、脂质和糖代谢)和各种与疾病相关的信号途径的调节[9]。Yagoda等人通过erastin处理细胞后,显示细胞凋亡的核形态特征没有变化;然而,电子显微镜成像揭示了线粒体形态的变化即线粒体萎缩、线粒体脊减少甚至消失、膜密度增加、细胞核形态正常,但缺乏染色质凝集[10]。发现活性氧、铁离子聚集,激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)系统,胱氨酸摄取减少、谷胱甘肽耗竭,抑制胱氨酸/谷氨酸反向转运蛋白(系统Xc⁻),在细胞的抗氧化防御中产生空白,最终导致铁依赖性氧化死亡[5];erastin诱导的铁死亡受核糖体L8(RPL8)、铁反应元件结合蛋白

(IREB2)、ATP 合成酶 F0 复合体亚基 C3 (ATP5G3)、三四肽重复结构域 35 (TTC35)、柠檬酸合成酶(CS)、酰基辅酶 A 合成酶家族成员 2 (ACSF2)调节, 由一个独立的遗传网络所调控[5]。历经 10 年, 大量研究表明铁死亡与脑卒中[11]、前列腺癌[12]、肝癌[13]等许多疾病的发生发展有着密切的联系, 起重要的调节作用, 已成为相关疾病治疗和预后改善研究的重点和热点[14] [15] [16]。

3. 铁死亡的机制

3.1. GPX4

GPX4 是一种独特的利用硒的谷胱甘肽过氧化物酶, 可以特异性地保护细胞膜中的脂质免受氧化损伤[17]。最初由一种小分子 Erastin 诱导产生了新型细胞死亡形式, 它通过抑制胱氨酸输入导致谷胱甘肽过度消耗、磷脂过氧化物酶和 GPX4 失活[18]。Yang 等人在体内异种移植小鼠研究中诱导铁死亡, 从中我们可了解到 GPX4 在铁死亡的调节过程中占中枢性地位[19]。在铁死亡过程中, 谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4)利用还原型谷胱甘肽(GSH)将磷脂氢过氧化物转化为脂质醇, 并抑制铁死亡[20]。铁抑素-1 (Ferrostatin-1)是一种通过高通量筛选小分子文库分离的合成化合物, 从脂质氢过氧化物中清除了亚铁产生的起始烷氧基自由基[21]。有实验证明 Ferrostatin-1 可以挽救 GPX4 表达, 降低细胞内活性氧(ROS)和脂质 ROS 水平。Yao 等[7]使用 Ferrostatin-1 来验证白细胞介素-1 Beta (IL-1 β)和柠檬酸铁铵(FAC)处理的软骨细胞中(当用 IL-1 β 或 FAC 处理时, ROS 和脂质 ROS 都在软骨细胞中积累)是否存在铁死亡。通过关节内注射携带 GPX4 特异性短发夹 RNA (shRNA)的腺相关病毒(AAV), 确定了 GPX4 如何在体内影响 OA 的发病机制和进展(但并非所有细胞死亡都受到 Fer-1 的抑制) [15], 具有一定的局限性。另外 GPX4 对细胞外基质降解有影响, 在 GPX4 下调后通过 MAPK/NF- κ B 途径被激活, 以促进细胞外基质(ECM)降解, 加速 OA 的发展。Yao 等[22]使用白细胞介素-1 β (IL-1 β)模拟炎症反应。表现为促进基质金属蛋白酶 13 (MMP13)的表达, 抑制软骨细胞中 II 型胶原(II 型胶原)的表达, 然后它破坏了软骨细胞基质的稳态。因此脂质 ROS 非依赖的方式可诱导 MMP13 的表达, 从而促进骨关节炎的病程进展。

综上, 在铁死亡的发生发展的过程中, GPX4 作为关键的调节因子, 缓解抗氧化系统对于关节软骨的损伤有一定的意义。同时, 在 OA 疾病的防治的研究上有一定的帮助。

3.2. 铁稳态

铁含量的动态平衡对关节软骨健康起着积极的作用。Márcio 等[23]表征了从新生 Hfe-KO (Hfe 基因敲除小鼠模型)小鼠分离的关节软骨细胞原代培养物对高铁浓度的反应, 并将结果与 C57BL/6 野生型(wt)小鼠细胞中开发的类似实验的结果进行了比较, 得知高铁培养环境会损害软骨细胞代谢; 过量的铁或铁超负荷可诱发软骨细胞氧化应激损伤和细胞铁死亡。Medeiros 等[24]在雌性大鼠模型中发现, 骨体积分数(BV/TV)和骨小梁厚度随着骨小梁分离的增加而降低。这表明严重的缺铁会随着骨形成的减少而导致骨吸收增加。越来越多的证据表明, 铁过载和铁缺乏都会影响破骨细胞和成骨细胞的分化和活性, 破坏骨生成和吸收之间的微妙平衡, 表明维持骨骼稳态需要最佳的铁水平。许多疾病的病理状况与铁过载或代谢异常有关, 铁超负荷会导致进行性器官损伤, 并与关节炎、肝脏和心力衰竭等疾病有关[25]。在铁死亡的细胞中, 我们发现铁离子含量显著的增加, 因此铁离子的异常积累被认为是铁死亡性疾病的重要标志之一。在正常生理条件下, 铁以 Fe³⁺和 Fe²⁺的形式存在, Fe²⁺在体内被氧化为 Fe³⁺, 进而与转铁蛋白形成复合物, 在铁还原酶的作用下被还原为 Fe²⁺, 以维持铁的稳态。超量的铁可以导致芬顿反应(Fenton)或哈伯-韦斯反应(Haber-Weiss)从而产生 ROS 积累, 引发脂质过氧化, 并诱导铁死亡的发展[26]。氧化应激是铁诱导的破骨细胞功能增强和破骨细胞分化增加的根本原因[27]。当细胞铁过量时, 骨形成和骨破坏动态平衡被破坏, 而骨弱化是铁过载的常见特征之一, 表现为骨质减少、骨微结构和生物力学变化以及频繁骨折[28]。

长期服用右旋糖酐铁会导致小鼠组织铁过载和骨质疏松[29]。在原发性 OA 患者中发现了铁积累和相关的铁稳态失调。Yazar 等人[30]发现 OA 患病部位滑液中的铁水平与 OA 的严重程度呈正相关。此外, 在 OA 患者的滑膜中也发现了铁沉积[31]。Nugzar 等[32]、Kennish 等[33]发现, 发现血清铁蛋白水平随着软骨损伤的严重程度而升高。综上, 铁超载可对软骨细胞的新陈代谢产生影响导致软骨细胞异常分化或死亡促使 OA 的发生。在一定程度上维持铁稳态的平衡, 这可能是预防骨关节炎的有效手段之一。

3.3. 线粒体的功能障碍

线粒体是执行和协调细胞中各种代谢过程的必需细胞器, 线粒体功能障碍严重将影响细胞健康并导致疾病。电压依赖性阴离子通道 (voltage-dependent anion channel, VDAC)是存在于线粒体外膜上的 31 kDa 膜蛋白, 能在膜上形成亲水性通道, 调控阴离子、阳离子、ATP 以及其他代谢物进出线粒体, 在调节细胞代谢、维持胞内钙稳态, 调节细胞凋亡和坏死等过程中发挥重要功能。VDAC 主要通过影响 ATP/ADP 进出线粒体的运输来参与能量代谢。同时, VDAC 作为跨膜通道, 可以运输离子和代谢物, 并在调节铁死亡中发挥关键作用。Erastin 的直接分子靶标之一是线粒体电压依赖性阴离子通道(VDAC), 具有通过直接抑制胱氨酸/谷氨酸抗转运系统 X 来降低谷胱甘肽(GSH)水平的能力, 导致铁死亡过程中 ROS 的积累[34]。简单来说, 铁死亡的机制主要是细胞内铁积累过多引起的脂质过氧化导致的细胞功能障碍, 线粒体结构异常是其表现。关于线粒体在铁死亡中的作用的研究是广泛的, 但不是系统的。线粒体作为 ROS 的重要来源参与铁死亡仍然是目前的主流观点, 因为线粒体 ROS (mitoROS)主要由线粒体中的氧化磷酸化(OXPHOS)复合物产生。线粒体 ROS 可导致线粒体膜的脂质过氧化, 这一点得到了以下事实的支持: 在胱氨酸饥饿诱导和 Erastin 诱导的铁死亡中, 脂质 ROS 的亚细胞定位首先发生在线粒体分布中[35]。除了通过产生 ROS 促进铁死亡外, 线粒体似乎还以其他方式抑制铁死亡, 例如, 线粒体可能通过三羧酸(TCA)循环消耗谷氨酸来抵抗细胞外高谷氨酸对 Xc 系统的抑制作用, 从而参与铁死亡发生[36]。重要的是, 线粒体在铁死亡中的作用取决于环境; 如果谷胱甘肽依赖性过氧化物酶 GPX4 的活性受到抑制, 细胞就会经历独立于线粒体功能的铁死亡。尽管线粒体与 ROS 的产生和铁代谢密切相关, 但线粒体的形态学变化与铁死亡之间的因果关系尚不清楚。在胱氨酸饥饿诱导和 xCT 系统(包含重亚基 SLC3A2 和轻亚基 SLC7A11 的异二聚体, 可导入胱氨酸用于 GC 细胞中的 GSH 生物合成, 并防御氧化应激造成的损伤是包含重亚基 SLC3A2 和轻亚基 SLC7A11 的异二聚体, 可导入胱氨酸用于 GC 细胞中的 GSH 生物合成, 并防御氧化应激造成的损伤)抑制诱导的铁死亡中, 观察到线粒体断裂、线粒体 ROS 产生和线粒体膜电位(MMP)损失, 而在 GPX4 抑制剂诱导的铁死亡中没有观察到这些现象[35]。不可否认, 线粒体对于 OA 发生发展的影响, 不仅与氧化应激相关, 对于 ROS 累积也有很大程度的关联。但是线粒体在铁死亡过程中的核心作用尚不清楚, 可能需要更多的研究来探索线粒体在铁死亡中的深层机制。

4. 铁死亡与 OA 的关联

骨关节炎(OA)是一种慢性退行性关节疾病, 其特征是关节软骨进行性丧失和软骨下骨重塑[37]。软骨细胞在炎症和铁过载条件下发生铁死亡, 在体内有助于骨关节炎的进展, 并促进 MMP13 的表达, 同时抑制体外培养的软骨细胞中 II 型胶原的表达[38]; Lin 等通过比较 lncRNA-微阵列和 RNA 文库构建/lncRNA-seq 的结果, 阐明了 HIF-1 α /lncRNA-PMAN 抑制铁死亡的发生。发现缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)通过脂质氧化、ROS 积累和铁死亡调节因子增强细胞死亡[39]; Torretta 等在研究小鼠骨髓来源的巨噬细胞(BMDM)与琥珀酸二乙酯孵育时, 表明甘露糖主要通过降低巨噬细胞中琥珀酸丰度来损害 Toll 样受体 4-配体脂多糖(LPS)诱导的 HIF-1 α 活化; 揭示了 D-甘露糖先前未被认识到的通过抑制 HIF-1 α 诱导的铁死亡来减轻 OA 进展的作用[40]; Zhou 等在采用体内前交叉韧带横断(ACLT)诱导的 OA 小鼠模型和白细胞

介素-1 β (IL-1 β)暴露诱导的 OA 微环境中软骨细胞的体外研究中, 发现 HIF-2 α 通过创造软骨细胞的铁死亡敏感性细胞状态来介导骨关节炎软骨变性[41]; Yao 等人发现, 特异性铁死亡诱导剂 erastin 下调了软骨细胞中与 OA 协调的 II 型胶原(II 型胶原)的表达, 而铁染色素-1 可以通过消除脂质 ROS 来改善这一现象[7]; 在 erastin 处理的软骨细胞中, 不仅铁死亡, II 型胶原的产生也减少, MMP13 的表达增加, ROS 积累, 这进一步表明铁死亡促进了软骨细胞中 OA 样的变化, 即炎症、氧化应激和基质破坏。GPx4 通过 MAPK/NF- κ B 信号通路调节铁死亡或氧化应激和 ECM 降解, 以减轻骨关节炎的进展[18]。Sheng 等人还发现, 通过抑制 IL-6 调节的 miR-10a-5p 诱导的炎症可以通过细胞氧化应激和铁稳态失衡促进软骨细胞的铁死亡[42]。Yao 等人使用 IL-1 β 模拟炎症, 使用 FAC 模拟软骨细胞中的铁过载状态[7]。在这两种软骨细胞中, ROS 和脂质 ROS 的积累, 以及 GPX4、SLC7A11、ACSL4、P53 和 NRF2ARE 等铁死亡蛋白的变化, 都可以促进铁死亡的发生, 而铁蛋白抑制素-1 (FER-1, 一种铁死亡抑制剂)可以抑制这种作用[43]。综上, 铁死亡在一定程度上与骨关节炎(OA)发病机制关联, 抑制铁死亡的发生, 能够延缓 OA 的进展。

5. 总结与展望

2012 年铁死亡被发现以来, 作为一种新型的细胞死亡形式, 成为许多研究人员的聚焦热点。各种各样的研究表明, 在不同的肌肉骨骼系统疾病的过程中, 铁死亡可能扮演着关键的角色, 有着不可替代的作用。干扰或者调控铁死亡的发生发展, 极大可能改善相关疾病的发生发展, 得到不同程度的缓解。目前对铁死亡的认识并不充分, 有片面的存在。就铁死亡的分子机制而言, 铁过载和 ROS 是铁死亡信号通路中的重要因素, 除 Fenton 反应外, 该过程的其他潜在分子机制以及介导 ROS 在线粒体中积累的其他机制仍需进一步研究。铁死亡目前没有明确的评判标准, 产生机制涉及广泛, 发生机制繁杂多样, 有大量待解决的关键问题需要去探索。跟随研究和技术的步伐, 靶向铁死亡治疗方式可能作为一个创新的切入点, 在肌肉骨骼系统疾病的非手术治疗和早期干预治疗中起到关键作用。

总之, 作为一种新描述的细胞死亡类型, 铁死亡与 OA 密切相关, 可能在 OA 的发生和发展中发挥重要作用。铁死亡性关节炎的调节机制和有效的铁死亡调节方法亟待探索, 为 OA 的预防和治疗提供理论依据。

参考文献

- [1] Hunter, D.J., March, L. and Chew, M. (2020) Osteoarthritis in 2020 and Beyond: A Lancet Commission. *The Lancet (London, England)*, **396**, 1711-1712. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32230-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32230-3)
- [2] Long, H., Liu, Q., Yin, H., et al. (2022) Prevalence Trends of Site-Specific Osteoarthritis from 1990 to 2019: Findings from the Global Burden of Disease Study 2019. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)*, **74**, 1172-1183. <https://doi.org/10.1002/art.42089>
- [3] Neogi, T. (2013) The Epidemiology and Impact of Pain in Osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, **21**, 1145-1153. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2013.03.018>
- [4] Adams, C.S. and Horton, W.E. (1998) Chondrocyte Apoptosis Increases with Age in the Articular Cartilage of Adult Animals. *The Anatomical Record*, **250**, 418-425. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199804\)250:4<418::AID-AR4>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199804)250:4<418::AID-AR4>3.0.CO;2-T)
- [5] Dixon, S.J., Lemberg, K.M., Lampsrecht, M.R., et al. (2012) Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell*, **149**, 1060-1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- [6] Chang, S., Tang, M., Zhang, B., et al. (2022) Ferroptosis in Inflammatory Arthritis: A Promising Future. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 955069. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.955069>
- [7] Yao, X., Sun, K., Yu, S., et al. (2021) Chondrocyte Ferroptosis Contribute to the Progression of Osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Translation*, **27**, 33-43. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2020.09.006>
- [8] Dolma, S., Lessnick, L.S., Hahn, C.W., et al. (2003) Identification of Genotype-Selective Antitumor Agents Using Synthetic Lethal Chemical Screening in Engineered Human Tumor Cells. *Cancer Cell*, **3**, 285-296. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(03\)00050-3](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(03)00050-3)

- [9] Lei, T., Qian, H., Lei, P., *et al.* (2021) Ferroptosis-Related Gene Signature Associates with Immunity and Predicts Prognosis Accurately in Patients with Osteosarcoma. *Cancer Science*, **112**, 4785-4798. <https://doi.org/10.1111/cas.15131>
- [10] Yagoda, N., von Rechenberg, M., Zaganjor, E., *et al.* (2007) RAS-RAF-MEK-Dependent Oxidative Cell Death Involving Voltage-Dependent Anion Channels. *Nature*, **447**, 865-869. <https://doi.org/10.1038/nature05859>
- [11] 张婧, 孙辉, 朱礼军, 等. 大鼠缺血性脑卒中早期 miR-27a 表达与铁死亡的关系[J]. 天津医药, 2022, 50(6): 595-600.
- [12] 王君君, 李坚. 槲皮素通过抑制溶质载体家族 7 成员 11 表达诱导前列腺癌细胞铁死亡的临床研究[J]. 中国性科学, 2022, 31(9): 42-46.
- [13] 杨浩, 刘之谦, 毕涛, 等. PTBP1 对肝癌细胞铁死亡的影响和机制研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2022, 25(2): 85-89.
- [14] Zhang, J., Wang, X., Guan, B., *et al.* (2022) Qing-Xin-Jie-Yu Granule Inhibits Ferroptosis and Stabilizes Atherosclerotic Plaques by Regulating the GPX4/xCT Signaling Pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, **301**, Article ID: 115852. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115852>
- [15] Bao, Z., Liu, Y., Chen, B., *et al.* (2021) Prokineticin-2 Prevents Neuronal Cell Deaths in a Model of Traumatic Brain Injury. *Nature Communications*, **12**, Article No. 4420. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24469-y>
- [16] Ju, L., Shi, Y. and Liu, G. (2022) Identification and Validation of a Ferroptosis-Related lncRNA Signature to Robustly Predict the Prognosis, Immune Microenvironment, and Immunotherapy Efficiency in Patients with Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *PeerJ*, **10**, E14506. <https://doi.org/10.7717/peerj.14506>
- [17] Zhang, Y., Swanda, R.V., *et al.* (2021) mTORC1 Couples Cyst(e)ine Availability with GPX4 Protein Synthesis and Ferroptosis Regulation. *Nature Communications*, **12**, Article No. 1589. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21841-w>
- [18] Bao, Z., Hua, L., Ye, Y., *et al.* (2021) MEF2C Silencing Downregulates NF2 and E-Cadherin and Enhances Erastin-Induced Ferroptosis in Meningioma. *Neuro-Oncology*, **23**, 2014-2027. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab114>
- [19] Yang, W.S., SriRamaratnam, R., Welsch, M.E., *et al.* (2014) Regulation of Ferroptotic Cancer Cell Death by GPX4. *Cell*, **156**, 317-331. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>
- [20] Lee, H., Zandkarimi, F., Zhang, Y., *et al.* (2020) Energy-Stress-Mediated AMPK Activation Inhibits Ferroptosis. *Nature Cell Biology*, **22**, 225-234. <https://doi.org/10.1038/s41556-020-0461-8>
- [21] Miotto, G., Rossetto, M., Di Paolo, M.L., *et al.* (2019) Insight into the Mechanism of Ferroptosis Inhibition by Ferrosstatin-1. *Redox Biology*, **28**, Article ID: 101328. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101328>
- [22] Miao, Y., Chen, Y., Xue, F., *et al.* (2022) Contribution of Ferroptosis and GPX4's Dual Functions to Osteoarthritis Progression. *EBioMedicine*, **76**, Article ID: 103847. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103847>
- [23] Simão, M., Gavaia, P.J., Camacho, A., *et al.* (2019) Intracellular Iron Uptake Is Favored in Hfe-KO Mouse Primary Chondrocytes Mimicking an Osteoarthritis-Related Phenotype. *BioFactors*, **45**, 583-597. <https://doi.org/10.1002/biof.1520>
- [24] Parelman, M., Stoecker, B., Baker, A., *et al.* (2006) Iron Restriction Negatively Affects Bone in Female Rats and Mineralization of hFOB Osteoblast Cells. *Experimental Biology and Medicine*, **231**, 378-386. <https://doi.org/10.1177/153537020623100403>
- [25] Ma, S., Dubin, A.E., Zhang, Y., *et al.* (2021) A Role of PIEZO1 in Iron Metabolism in Mice and Humans. *Cell*, **184**, 969-982. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.024>
- [26] Aron, A.T., Loehr, M.O., Bogena, J., *et al.* (2016) An Endoperoxide Reactivity-Based FRET Probe for Ratiometric Fluorescence Imaging of Labile Iron Pools in Living Cells. *Journal of the American Chemical Society*, **138**, 14338-14346. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b08016>
- [27] Wang, X., *et al.* (2015) Iron Overload Increases Osteoclastogenesis and Aggravates the Effects of Ovariectomy on Bone Mass. *Journal of Endocrinology*, **226**, 121-134. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0657>
- [28] Ge, W., Jie, J., Yao, J., *et al.* (2022) Advanced Glycation end Products Promote Osteoporosis by Inducing Ferroptosis in Osteoblasts. *Molecular Medicine Reports*, **25**, Article No. 140. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12656>
- [29] Tsay, J., Yang, Z., Ross, F.P., *et al.* (2010) Bone Loss Caused by Iron Overload in a Murine Model: Importance of Oxidative Stress. *Blood*, **116**, 2582-2589. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-260083>
- [30] Ni, S., Yuan, Y., Qian, Z., *et al.* (2021) Hypoxia Inhibits RANKL-Induced Ferritinophagy and Protects Osteoclasts from Ferroptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, **169**, 271-282. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.04.027>
- [31] Qu, X., Sun, Z., Wang, Y. and Ong, H. (2021) Zoledronic Acid Promotes Osteoclasts Ferroptosis by Inhibiting FBXO9-Mediated p53 Ubiquitination and Degradation. *PeerJ*, **9**, e12510. <https://doi.org/10.7717/peerj.12510>

- [32] Yazar, M., Sarban, S., Kocyigit, A. and Isikan, U.E. (2005) Synovial Fluid and Plasma Selenium, Copper, Zinc, and Iron Concentrations in Patients with Rheumatoid Arthritis and Osteoarthritis. *Biological Trace Element Research*, **106**, 123-132. <https://doi.org/10.1385/BTER:106:2:123>
- [33] Jing, X., Du, T., Li, T., *et al.* (2021) The Detrimental Effect of Iron on OA Chondrocytes: Importance of Pro-Inflammatory Cytokines Induced Iron Influx and Oxidative Stress. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **25**, 5671-5680. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16581>
- [34] Dixon, S.J., Patel, D.N., Welsch, M., *et al.* (2014) Pharmacological Inhibition of Cystine-Glutamate Exchange Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Ferroptosis. *eLife*, **3**, e02523. <https://doi.org/10.7554/eLife.02523>
- [35] Neitemeier, S., Jelinek, A., Laino, V., *et al.* (2017) BID Links Ferroptosis to Mitochondrial Cell Death Pathways. *Redox Biology*, **12**, 558-570. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.007>
- [36] Gao, M., Yi, J., Zhu, J., *et al.* (2018) Role of Mitochondria in Ferroptosis. *Molecular Cell*, **73**, 354-363. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.10.042>
- [37] Jing, X., Lin, J., Du, T., *et al.* (2021) Iron Overload Is Associated with Accelerated Progression of Osteoarthritis: The Role of DMT1 Mediated Iron Homeostasis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article ID: 594509. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.594509>
- [38] Knäuper, V., Cowell, S., Smith, B., *et al.* (1997) The Role of the C-terminal Domain of Human Collagenase-3 (MMP-13) in the Activation of Procollagenase-3, Substrate Specificity, and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase Interaction. *Journal of Biological Chemistry*, **272**, 7608-7616. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.12.7608>
- [39] Lin, Z., Song, J., Gao, Y., *et al.* (2022) Hypoxia-Induced HIF-1 α /lncRNA-PMAN Inhibits Ferroptosis by Promoting the Cytoplasmic Translocation of ELAVL1 in Peritoneal Dissemination from Gastric Cancer. *Redox Biology*, **52**, Article ID: 102312. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102402>
- [40] Torretta, S., Scagliola, A., Ricci, L., *et al.* (2020) D-Mannose Suppresses Macrophage IL-1 β Production. *Nature Communications*, **11**, Article No. 6343. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20164-6>
- [41] Zhou, X., Zheng, Y., Sun, W., *et al.* (2021) D-Mannose Alleviates Osteoarthritis Progression by Inhibiting Chondrocyte Ferroptosis in a HIF-2 α -Dependent Manner. *Cell Proliferation*, **54**, e13134. <https://doi.org/10.1111/cpr.13134>
- [42] Sheng, B., Li, X., Zhou, L., *et al.* (2020) Targeting miR-10a-5p/IL-6R Axis for Reducing IL-6-Induced Cartilage Cell Ferroptosis. *Experimental and Molecular Pathology*, **118**, Article ID: 104570. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2020.104570>
- [43] Liu, P., Feng, Y., Li, H., *et al.* (2020) Ferrostatin-1 Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury via Inhibiting Ferroptosis. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **25**, Article No. 10. <https://doi.org/10.1186/s11658-020-00205-0>