

# 铁死亡机制在肝细胞癌中的研究进展

马文豪<sup>1,2</sup>, 周 瀛<sup>2</sup>

<sup>1</sup>青海大学研究生院, 青海 西宁

<sup>2</sup>青海大学附属医院肝胆胰外科, 青海 西宁

收稿日期: 2023年11月27日; 录用日期: 2023年12月21日; 发布日期: 2023年12月27日

## 摘 要

铁死亡是指通过铁过载产生活性氧, 使脂质、核酸和蛋白质受到损坏最终导致细胞程序性死亡的过程, 作为一种新型的调节性细胞死亡(RCD)模式, 近年来受到许多关注。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界范围内的预后相对较差的恶性肿瘤之一, 我国又是肝癌高发国。近年来有研究发现HCC细胞与正常细胞存在更多的生理性差异, 并且发现这些差异都是参与铁死亡的关键调控因素, 可见铁死亡过程是影响HCC的发生与发展的重要因素。本文汇总近年来铁死亡发生机制及其在HCC中的作用研究进展, 并发散思维, 试图为HCC的治疗探索新的干预靶点。

## 关键词

铁死亡, 肝细胞癌, 铁离子代谢, 脂质代谢, 氨基酸代谢, 过氧化, LYRM4

# Research Progress on the Mechanism of Ferroptosis in Hepatocellular Carcinoma

Wenhao Ma<sup>1,2</sup>, Ying Zhou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

<sup>2</sup>Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, The Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Nov. 27<sup>th</sup>, 2023; accepted: Dec. 21<sup>st</sup>, 2023; published: Dec. 27<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Ferroptosis is a newly identified iron dependent regulatory cell death (RCD) mode, relies on reactive oxygen species produced by iron overload to damage lipids, nucleic acids, and proteins, resulting in programmed cell death. Hepatocellular carcinoma (HCC) is recognized as one of the most malignant tumors with high degree of malignancy and relatively poor prognosis. Recent studies have found that intracellular iron metabolism disorder, lipid peroxide accumulation, and amino

acid antioxidant system imbalance are all physiological differences between HCC cells and normal cells, and these differences are key regulatory factors of iron death, so iron death plays an important role in the occurrence and development of HCC. This article reviews the mechanism of iron death and its role in HCC, in an attempt to explore new intervention targets for the treatment of HCC.

## Keywords

Ferroptosis, Hepatocellular Carcinoma, Iron Metabolism, Lipid Metabolism, Aminoacid Metabolism, Peroxidation, LYRM4

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. 铁死亡的发现及研究现状

### 1.1. 铁死亡的发现

铁死亡(ferroptosis)机制的发现最早可以追溯到 2003 年, 有研究者发现 NSC146109 对 RAS 突变的肿瘤细胞有选择性致死作用。后来又有研究者进一步通过高通量小分子筛选, 鉴定出了铁死亡诱导剂 RAS 合成致死分子 3 (RAS-selective lethal small molecule 3, RSL3)和 RSL5 [1]。2012 年有研究者首次提出“铁依赖性调节细胞死亡形式”这一描述来定义铁死亡, 指出细胞内脂质活性氧(eactive oxygen species, ROS)的过度积累和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)的铁依赖性消耗和过度失活是铁死亡的特征, 认为这是一种新型的细胞死亡形式, 与传统的细胞凋亡、坏死等概念在生化学、形态学及遗传学方面均不同。该机制与细胞内 ROS 水平增高密切相关, 并且可被铁螯合剂在一定程度上阻断[2]。至此, 人们将这种铁依赖性、非凋亡形式的调节性细胞死亡称为“铁死亡” [3]。

### 1.2. 铁死亡的研究现状

作为一种新发现的细胞死亡形式, 10 余年来铁死亡的生物学过程、介导途径、调控机制、免疫学特征、诱导剂与抑制剂等方面均已取得长足发展。然而其详细的信号通路和关键的转录调控因子仍然有待进一步探索。除此之外, 因为铁死亡机制在癌症的治疗方面有很大的潜在机遇, 所以在肿瘤细胞的转移、自噬和耐药等方面的进一步机制研究成为了近年来的热门方向[4]。

## 2. 铁死亡相关机制

### 2.1. 铁死亡生物学过程

目前研究发现, 铁死亡主要与人体中的铁、脂质、氨基酸和谷胱甘肽代谢有关[5]。

#### 2.1.1. 铁代谢

有流行病学证据显示摄取铁占比过高的人群肝细胞癌发病的风险增加。生理情况下人体摄入  $Fe^{3+}$ 后会在肠道内经铁还原酶还原成为  $Fe^{2+}$ 便于吸收, 进入小肠上皮细胞(IEC)后膜铁转运蛋白 1 (FPN1)会把  $Fe^{2+}$ 转运毛细至血管中, 并在血管中再次转化为  $Fe^{3+}$ , 与转铁蛋白(TF)嵌合成复合物完成运输, 到达目的地后细胞膜外侧的转铁蛋白受体 1 (TFR1)与  $TF-Fe^{3+}$ 结合以摄取铁[6]。在细胞内铁离子含量过多或抗氧化

能力不足时,  $\text{Fe}^{2+}$ 会发生芬顿反应(Fenton 反应), 该反应会使脂质过氧化物(Lipidperoxide, L-OOH), 产出大量的羟自由基(OH $\cdot$ ), 羟自由基可以介导氧化应激反应, 进一步大量产生 ROS, ROS 一旦大量累积, 若不能及时清除, 就会氧化损伤 DNA、蛋白质和细胞膜, 最终引发细胞铁死亡[7]。

### 2.1.2. 脂质代谢

有研究显[8]不饱和脂肪酸(PUFAs)水平是铁死亡调控的重要一环, 脂肪酸合成过程中的许多调控因子同时也都是铁死亡的调控因子。磷脂胆碱酰基转移酶 3 (LPCAT3)及酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (ACSL4)是氧化细胞膜磷脂质的生成的中间一环, 在这个环节中, 花生四烯酸(AA)被 ACSL4 激活合成 PUFAs。在缺乏 CoA 的情况下, 脂质过氧化反应的底物会大量减少, 铁死亡的进程将被延缓。磷脂酰乙醇胺(Pes)与 PUFAs 相关, 是铁死亡过程中的一个重要的反应底物。另外有研究显示, 抑制 ACSL4、LPCAT3、15-LOX 均抑制铁死亡。

### 2.1.3. 氨基酸和谷胱甘肽代谢

人体细胞中有一种重要的抗氧化系统, 胱氨酸/谷氨酸转运体(system Xc $^{-}$ )。GPX4 与还原型谷胱甘肽共同发挥作用, 使  $\text{H}_2\text{O}_2$  和 L-OOH 反应生成水和醇类, 可以抑制自由基的生成, 通过这种方法进一步抑制 ROS 的生成。可以预想到, system Xc $^{-}$ 及 GPX4 可能会成为铁死亡调控机制中的重要靶点[9]。

## 2.2. 铁死亡的诱导剂与抑制剂

铁死亡的诱导剂包括间接抑制 GPX4 的 system Xc $^{-}$ 抑制剂, 如 Erastin、Sulfasalazine、Sorafenib 和 L-glutamate, 直接抑制 GPX4 的 RSL3、ML162 (molecular libraries 162)、altretamine 和 FIN56 等, 以及铁死亡抑制蛋白 1 (FSP1)。铁死亡抑制剂包括抑制 ROS 的 ferrostatin-1 (Fer-1), 抑制 Fenton 反应的去铁胺(deferoxamine, DFO), 激活 system Xc $^{-}$ 的  $\beta$ -巯基乙醇和细胞内铁螯合剂环匹罗司。除了上述诱导剂与抑制剂, 酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (ACSL4)、溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (LPCAT3)、LOXs 等也在铁死亡的过程中催化 PUFAs 发生双加氧反应, 参与了 GPX4 失活诱导的铁死亡[10]。

## 3. 肝细胞癌的分子机制研究现状

肝细胞癌是一种世界范围内流行的恶性肿瘤疾病, 我国是肝细胞癌高发国家, 肝细胞癌的早期发现与早期治疗是我国保障人民生命安全的重要举措之一[11]。肝细胞癌的发生及发展是多阶段的, 其病因与详细发病机制尚待进一步研究, 目前已明确的是该病是多基因变异及多因素共同作用的结果。大量研究表明, 肝细胞癌的发生及发展与多种基因和蛋白的异常表达有密切关系, 研究其相关分子机制对其诊断与药物治疗上具有重大意义[12]。

### 3.1. VEGF/Ang2-RTK-PI-3K-AKT-mTOR/NF- $\kappa$ B/MDM2 信号通路

有研究认为 HCC 是一种血管性肿瘤, 即肿瘤的侵袭、转移及进展很大程度上依赖肿瘤血管的形成。肝癌组织缺氧可促进 VEGF 及 Ang2 高表达, 肝癌及肝硬化患者的 VEGF 及 Ang2 水平升高可激活 RTK-PI-3K-AKT 通路, 从而导致血管生成及内皮细胞增殖、迁移[13]。

### 3.2. HGF-c-Met 信号通路

有研究发现在 c-Met 前体蛋白(pro-Met)肝癌细胞中转变为自活化体 p190MetNC 而无法转变为正常的 c-Met 蛋白(p190Met $\alpha\beta$ )。p190MetNC 可独立持续激活 PI-3K、p38-MAPK 通路以促进肝癌组织血管形成及细胞增殖、转移。HGF 刺激引起的 c-Met 通路激活增强了肝癌细胞的自我更新能力和干细胞样特征, 使细胞中的某些干细胞相关基因表达升高, 并且上调了肝癌细胞中肝癌干细胞(LCSCs)的比例[14]。

### 3.3. EGF/PDGF-RTK-Ras-Raf-MAPK

目前普遍认为 Ras/MAPK 信号转导通路对 HCC 的发展起着关键作用, 有 50%~100% HCC 患者该通路活化。

### 3.4. IL-6-JAK2-STAT3 信号通路

白细胞介素-6 (IL-6) 在肝癌组织中的高水平表达与基因 OCT4/NANOG 的高表达显著相关。IL-6 基因敲除可降低致癌剂 DEN 诱导肿瘤生成的能力。

### 3.5. Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路

有研究发现 30%~70% HCC 患者中存在  $\beta$ -catenin 细胞质内聚集及核内转移。有证据显示沉默  $\beta$ -catenin 基因可能会引起细胞周期和 cyclin B1、C 蛋白质的表达下调。

### 3.6. Hippo 信号通路

Hippo 信号通路中的关键效应因子是 YAP, Mst1/2 (蛋白激酶) 与辅助因子 Sav1 结合, 磷酸化并激活抑癌蛋白 Lats1/2。活化的 Lats1/2 再磷酸化 YAP, 磷酸化的 YAP 会滞留在细胞质。当 Hippo 信号通路受到抑制时, 非磷酸化的 YAP 能够从细胞质进入细胞核, 激活细胞增生与抗凋亡相关基因的转录。在肝脏中, YAP 能够促进 HCC 的发生和转移。

### 3.7. Hedgehog 信号通路

Hedgehog 信号通路参与早期胚胎发育时机体对称性和极性的形成。该通路生理情况下大部分时候处于静息状态, 但在 HCC 中则会出现 Hedgehog 通路异常激活。若使用 Hedgehog 阻断抗体阻断通路可以使 3 株 HCCs 细胞周期阻滞于 G0/G1 期, 并诱导肝癌细胞凋亡。

### 3.8. 磷脂酰肌醇蛋白聚糖(glypican-3, GPC-3)信号通路

GPC-3 是一种蛋白聚糖, 被认为可能通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路参与 HCC 的发展。研究表明 GPC-3 在健康人、肝硬化、肝炎患者血清中无表达或低表达, 仅在 HCC 患者血清中高表达, 有研究发现 GPC-3 增加了 SK-Hep-1 肝癌细胞的迁移及侵袭能力。可以预见, 在近年来寻找替代 AFP 的更敏感更特异的肝癌标记物趋势中 GPC-3 值得获得更多关注。

### 3.9. Notch 信号通路

Notch 信号通路通过 2 种机制参与肝癌细胞的转移: 1) 通过调控细胞骨架蛋白 Fascin-1 来改变肝癌细胞的骨架结构使得胞膜表面的突起增多, 增强肝癌细胞的运动能力并降低细胞的黏附性, 导致肿瘤细胞的侵袭力增强。2) 通过调控 COX-2/PGE2/Snail/E-cadherin 通路来参与肝癌细胞的迁移过程: 上皮钙黏蛋白(E-cadherin)是一种  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性跨膜糖蛋白, 是胞间黏附的主要作用蛋白。Notch 信号通路可以抑制 E-cadherin 的表达从而降低胞间黏附以增强肿瘤细胞侵袭力[15]。

## 4. 铁死亡在肝细胞癌中的研究现状

### 4.1. p62-Keap1-Nrf2 通路调节铁死亡

该通路在对 HCC 细胞铁死亡进程有着重要作用。Nrf2 是抗氧化反应的关键调节部分。在未激活时 Keap1 及 Nrf2 在细胞质中发生反应使 Nrf2 被降解。当氧化反应时, p62 会激活 Nrf2 同时抑制 Keap1, 加强铁蛋白重链 1 (FTH1) 在肝癌细胞中储存和运输  $\text{Fe}^{2+}$ , 铁死亡过程受到抑制。临床实验上已有用药物诱

导 Nrf2 激活, 同时调节 HCC 细胞的基本氧化还原状态的案例, 成功减轻了肝细胞癌对肝细胞破坏。在 HCC 治疗的探索上该通路显得尤为重要[16]。

#### 4.2. p53 信号通路调控铁死亡

p53 是最近几年来成为了肿瘤免疫治疗探索中最炙手可热的抑癌基因之一。目前已经发现该通路是通过诱发细胞凋亡来抑制 HCC 的。P53 基因可抑制二肽基-肽酶-4 (DPP4)活性来阻断铁死亡。也可通过促进细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 1A(CD-KN1A/p21)高表达来抑制铁死亡。此外, 还有实验发现 p53 基因突变的小鼠易发生癌变。

#### 4.3. 重组人 CDGSH 铁硫结构域 1 (CISD1)调控铁死亡

铁死亡过程中线粒体会发生一定的形态变化。CISD1 位于外线粒体膜的一种内含铁离子的蛋白质, 发挥负调控铁死亡的作用。而铁硫簇是 CISD1 的重要组成部分, 可以抑制线粒体摄取铁离子、抑制脂质过氧化, 通过这种方式避免铁死亡发生。其中 LYRM4 基因发挥了重要的作用。这些证实了 CISD1 可预防 HCC 患者线粒体损伤, 说明靶向抑制 CISD1 来诱导铁死亡具有可行性, 可成为治疗 HCC 新的导向。

#### 4.4. 金属硫蛋白 1(MT-1G)调控铁死亡

MT-1G 是一种新型的可监测 HCC 预后的手段。其对铁死亡为负性调控作用, 是索拉非尼的耐药靶点。该调控因子会增强肝癌细胞对索拉非尼的耐药性, 致使预后不佳。接受索拉非尼治疗的 HCC 患者血清中, 如 MT-1G 高表达, 则预示着预后较差, 总生存率降低。可以设法通过降低 MT-1G 水平以耗竭 GSH、增加脂质过氧化, 并协同索拉非尼来促进肿瘤细胞铁死亡发生, 改善预后。

#### 4.5. HCC 细胞脂质代谢调控铁死亡

ACSL4 参与的脂类合成和能量代谢也是肿瘤铁死亡进程中的重要一环, 脂质代谢紊乱失调可推进铁死亡的发展。目前认为 ACSL4 有可能成为铁蛋白酶活性检测的潜在靶点。下调对铁死亡起正调控作用的 ACSL4 因子对 Erastin 所致 HepG2 细胞的铁死亡有抑制作用, 并与之所介导 5-羟基二十碳四烯酸(5-HETE)脂肪毒性发生有关。这种脂毒性可通过脂质中间体累积引起细胞死亡及炎症反应。低密度脂蛋白二十二碳六烯酸(LDL-DHA)有抗肿瘤的效果, 这种效果也是通过铁死亡过程实现的。在 LDL-DHA 的作用下, 肝癌细胞会发生 GPX4 蛋白失活、Lipid-OOH 积聚、G-SH 耗竭等现象。LDL-DHA 还可以直接降解 GPX4, 消耗细胞中的 GSH。但是目前 LDL-DHA 介导铁死亡的详细机制尚不明确, 可能成为下一个研究热点方向。

### 5. 总结与展望

铁死亡作为新发现的细胞死亡形式, 近年来成为一个火热的研究方向。目前在其机制方面已经有了基本的研究, 但在临床转化方面尚未有明朗的局势, 在与凋亡、坏死、自噬等其他细胞死亡形式和铁死亡的分子转换机制方面亟需进一步的探索我们发现铁死亡既可以被一些方法诱导, 也可以被一些手段监测, 这提示我们可能在临床上利用铁死亡来诊断、监测 HCC, 因此对铁死亡在 HCC 中的作用进行深度研究和总结对研究 HCC 的新型治疗靶点与策略具有重大意义。针对该领域的深入研究有助于我们从一种新的方向理解 HCC 发病机制, 并为临床利用铁死亡调控治疗 HCC 提供潜在可能性[17]。

### 参考文献

- [1] Macías-Rodríguez, R.U., *et al.* (2020) Reclassifying Hepatic Cell Death during Liver Damage: Ferroptosis—A Novel

- Form of Non-Apoptotic Cell Death? *International Journal of Molecular Sciences*, **21**.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21051651>
- [2] Hernandez-Segura, A., Nehme, J., and Demaria, M. (2018) Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends in Cell Biology*, **28**, 436-453. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.001>
- [3] Dixon, S.J., *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>
- [4] 陈晨, 程卓安, 王存, 等. 铁死亡调控在肝脏疾病治疗中的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2023, 43(3): 365-373.
- [5] 林镛, 张衍, 颜耿杰, 等. 铁死亡治疗肝脏疾病的新机会[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2023, 32(3): 337-343.
- [6] 胡善林, 莫钦国, 罗建芳, 等. 铁死亡在肿瘤中的研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版), 2020, 30(2): 116-120.
- [7] Shimada, K., *et al.* (2016) Global Survey of Cell death Mechanisms Reveals Metabolic Regulation of Ferroptosis. *Nature Chemical Biology*, **12**, 497-503. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2079>
- [8] 刘湘慧, 斯韬, 梁婷, 等. 铁死亡发生机制及其在肝细胞癌中的作用研究进展[J]. 陕西医学杂志, 2023, 52(3): 354-357.
- [9] 贺明, 魏倩, 张颖婷. 铁死亡相关机制与其在肝脏相关疾病中作用的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(11): 1519-1523.
- [10] Bupathi, M., *et al.* (2014) Angiopoietin 2 as a Therapeutic Target in Hepatocellular Carcinoma Treatment: Current Perspectives. *OncoTargets and Therapy*, **7**, 1927-1932. <https://doi.org/10.2147/OTT.S46457>
- [11] 李婕, 章赞杰, 夏景林. 2023 年第 1 版 NCCN 肝细胞癌临床实践指南更新解读[J]. 实用肿瘤杂志, 2023, 38(5): 408-415.
- [12] 孟弘婧, 吴垒, 董胜利. 肝细胞癌分子机制及靶向抑制剂研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2017, 11(2): 297-301.
- [13] Yagoda, N., *et al.* (2007) RAS-RAF-MEK-Dependent Oxidative Cell Death Involving Voltage-Dependent Anion Channels. *Nature*, **447**, 864-868. <https://doi.org/10.1038/nature05859>
- [14] 付艳君, 白纪红, 梁志清, 等. Erastin 诱导细胞铁死亡的研究进展[J]. 微创医学, 2020, 15(4): 485-488.
- [15] 李运淇, 严文静, 王雯. 铁死亡与肝脏疾病[J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(6): 660-663.
- [16] 刘静, 刘文天. 铁死亡在消化系统肿瘤中的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38(3): 331-333.
- [17] 高明, 项和平. 原发性肝细胞癌相关分子机制的研究现状及其进展[J]. 实用癌症杂志, 2015, 30(10): 1578-1580.