

• 综述 •

细胞铁死亡在肝纤维化进展中的作用机制

郑媛媛 赵晨露 赵文霞

【摘要】 肝纤维化的发病机制是慢性肝损伤刺激肝星状细胞活化，引起细胞外基质过度沉积。铁死亡是近年来受到关注的一种新型细胞死亡方式，表现为铁依赖性活性氧产生，导致细胞膜发生致命性脂质过氧化。研究表明细胞铁死亡与肝纤维化密切相关。该文从构成肝脏微环境的肝星状细胞、肝细胞、库普弗细胞和肝窦内皮细胞这 4 个方面综述细胞铁死亡在肝纤维化进展中的作用机制，为肝纤维化的临床治疗提供思路。

【关键词】 铁死亡；肝纤维化；肝星状细胞；肝细胞；库普弗细胞；肝窦内皮细胞

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-534X. 2024. 03. 002

肝纤维化是由慢性肝损伤引起的病理结果，其全球发病率为 4.5%~9.0%^[1]。肝纤维化的早期症状隐匿，若不治疗可进展为肝硬化甚至肝细胞癌，而肝细胞癌的病死率达 3.5%^[2]。临床研究发现早期肝纤维化可逆，因此早期干预是治疗的关键环节^[3]。铁死亡是一种铁依赖性的、区别于细胞凋亡的新型细胞程序性死亡方式，研究表明其参与了肝纤维化进展^[4]。肝纤维化的中心环节在于肝星状细胞（HSC）活化，肝脏其他细胞也对 HSC 活化产生了影响^[5-7]。在肝损伤的病理状态下，铁死亡影响了多种肝细胞，加速了肝纤维化进程，本文综述了其中的作用机制，以期对肝纤维化的早期治疗提供参考。

1 细胞铁死亡概述

铁死亡是一种铁依赖性脂质过氧化引起的调控性细胞死亡方式，在形态学上不同于传统的细胞凋亡、自噬，其表现为细胞膜增厚断裂、线粒体缩小、线粒体嵴减少或消失^[8]。在细胞铁死亡过程中，过量 Fe^{2+} 与 H_2O_2 发生芬顿反应（一种由 Fe^{2+} 介导的氧化应激反应），产生大量活性氧（ROS），进而促进脂质过氧化，影响细胞膜的流动性、通透性、理化性质及多条信号通路^[9]，从而引发细胞铁死亡。细胞铁死亡的发生涉及铁代谢途径、谷

胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4）依赖性信号通路及脂质过氧化链式反应。

1.1 铁代谢途径

在生理状态下，人体内部分 Fe^{3+} 与转铁蛋白（TRF）结合，通过转铁蛋白受体 1（TFR1）进入细胞，被还原成 Fe^{2+} 储存在铁蛋白中^[10]。在细胞内仍有小部分未与铁蛋白结合的 Fe^{2+} ，称为不稳定铁池（LIP），LIP 中不稳定的 Fe^{2+} 是参与芬顿反应的重要铁来源^[11]。在病理状态下，若铁蛋白发生自噬降解，或是 LIP 中不稳定的 Fe^{2+} 释放，都会增加细胞内铁储存并引发铁死亡^[11-12]。

1.2 GPX4 依赖性信号通路

GPX4 利用谷胱甘肽（GSH）清除 ROS、将芬顿反应产生的脂质过氧化物（LPO）转化为无毒的脂质醇，以避免脂质过氧化。GSH 的生成需要由跨膜转运蛋白 SLC7A11 和 SLC3A2 组成胱氨酸/谷氨酸转运受体（System Xc）参与，该受体在排出谷氨酸的同时，将与 GSH 生成的相关胱氨酸转运到细胞内。研究发现，抑制 System Xc 及 SLC7A11 均可诱导细胞铁死亡，其间接增加了细胞内 ROS 的累积，导致细胞抗氧化能力减弱，促进铁死亡发生^[13-14]。

1.3 多不饱和脂肪酸代谢

芬顿反应产物可诱导细胞膜上多不饱和脂肪酸（PUFA）发生脂质过氧化，这是细胞铁死亡的重要特征。PUFA 先经酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4（ACSL4）转化为 PUFA-酰基辅酶 A（CoA），

基金项目：国家自然科学基金面上项目（81473651）

作者单位：450000 河南郑州，河南中医药大学第一附属医院肝胆脾胃科

之后由溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (LPCAT3) 酯化形成含有单个 PUFA 酰基尾的磷脂 (PL-PUFA), 最终被脂氧合酶氧化为含 PUFA 的磷脂酰乙醇胺 (PUFA-PE), 成为铁死亡的关键底物^[15-16]。ACSL4 参与 PUFA 的合成, 其可作为细胞铁死亡的标志物, 脂氧合酶家族是引发铁死亡的脂质过氧化的关键酶, 当其表达上调、铁死亡底物增多时, 均会促进铁死亡^[17-18]。

2 细胞铁死亡在肝纤维化中的作用机制

2.1 细胞铁死亡促使 HSC 活化

慢性肝损伤早期就已存在铁过载、ROS 应激引发的铁死亡, 从而加速肝纤维化进展^[19-20]。肝脏受到刺激后产生多种炎症因子, 如转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、血小板衍生生长因子 (PDGF) 等, 通过旁分泌及自分泌途径激活 HSC 转分化为肌成纤维样细胞, 表现为 HSC 激活标志物 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 表达上调, 以及促纤维化细胞因子如基质金属蛋白酶组织抑制因子 1 (TIMP1) 表达上调, 导致细胞外基质 (ECM) 生成多于降解, 从而形成瘢痕组织, 参与肝纤维化进展^[21]。研究发现, 外源性铁增加可使 HSC 表达更多的 TFR1, 以促进转运铁进入细胞内, 激活 TGF- β 1 信号转导及 Smad2 磷酸化, 从而刺激 HSC 活化^[22-23]。体内实验发现, 在慢性铁过载小鼠模型中, 铁水平升高可激活芬顿反应; 在肝纤维化区域发现 GPX4 表达下调, 导致由 ROS 介导的细胞毒性, 铁死亡诱导物通过 TGF- β 1/Smad 信号通路及 c-Jun/活化蛋白-1 (AP-1) 信号通路促进 α -SMA、胶原纤维表达, 促进 HSC 中纤维化信号转导; 该实验结果表明铁死亡是 HSC 活化和肝纤维化的激动剂^[24]。另有研究发现, 肝细胞中的 Fe^{2+} 还可通过细胞外囊泡 (EV) 排泄到邻近的 HSC 中, 导致铁分布异常及 ROS 产生, 进一步促进 HSC 活化^[25]。由此可见, 铁死亡可促使 HSC 活化, 从而加速肝纤维化进展。

2.2 细胞铁死亡加重肝脏炎症反应

HSC 活化是肝纤维化发生的关键环节, 由于细胞间存在相互作用和炎症因子的释放, 肝细胞及非实质细胞也会受到影响。肝细胞作为重要的肝实质细胞, 其与巨噬细胞共同介导机体内铁储存和运转, 以维持铁代谢平衡^[26]。研究表明, 肝脏铁过载会诱导肝细胞发生铁死亡, 并导致肝纤维化, 使用 ACSL4 抑制剂和铁死亡抑制剂能明显改善小鼠肝损伤指标, 减少免疫细胞 CD11b 浸润

和炎症因子 (如 TNF- α 、IL-6、IL-1 β) 的释放, 减轻肝脏炎症反应, 提示铁死亡是肝损伤炎症反应的触发因素^[27-28]。一项体内试验发现, 肝细胞铁死亡会触发细胞释放高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1), HMGB-1 与 Toll 样受体 (TLR) 或 Nod 样受体 (NLR) 结合可引发炎症反应并加重肝损伤, 该研究认为细胞发生铁死亡, 是肝损伤炎症反应的上游事件^[29]。另一项研究证实了脂多糖 (LPS) 可诱导肝细胞发生铁死亡, 进而加重炎症反应, 而中药青蒿烯可通过激活核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) / 血红素氧合酶-1 (HO-1) / GPX4 通路阻止铁死亡发生, 并进一步下调 NF- κ B 表达来抑制肝脏炎症反应, 减少 ROS 产生, 显著下调炎症因子 (如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) 的表达, 从而缓解铁死亡引起的肝脏炎症反应及肝纤维化^[30]。上述研究表明, 细胞铁死亡及其中间产物可通过细胞膜渗透和炎症因子释放而加重炎症反应、募集免疫细胞, 并进一步促进 HSC 活化, 从而加速肝纤维化进展^[19,31]。

2.3 细胞铁死亡诱导库普弗细胞极化

库普弗细胞 (KC) 是一种肝内巨噬细胞, 其在肝纤维化过程中可向 M1、M2 型巨噬细胞极化, 促炎 M1 型巨噬细胞主要与炎症因子释放有关, 而 M2 型巨噬细胞主要发挥抗炎作用^[32]。铁死亡可通过多条途径诱导 KC 向 M1 型巨噬细胞极化, 进而加速肝纤维化进展, 其具体机制主要包括以下 3 个方面。

肝脏为储铁器官, 当 KC 中铁储存增多, 铁稳态被破坏, 不受调控的铁输出导致铁过载, 还可为其他细胞发生铁死亡创造机会^[33-34]。实验发现, 高铁食物饲喂的小鼠形成的铁过载会导致 KC 向 M1 型巨噬细胞极化, 并导致 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子表达上调^[35]。

铁死亡细胞可募集 KC 并启动吞噬作用^[34,36], KC 上的 TLR2 受体可识别并结合铁死亡细胞表面的 SAPE-OOH, 且铁死亡细胞释放的 HMGB1 可与 KC 上的精氨酸水解酶相互作用, 从而介导细胞发生炎症反应, 促进 KC 向 M1 型巨噬细胞极化^[33]。M1 型巨噬细胞可产生较多 ROS, 上调铁调素、铁蛋白重链和轻链的表达, 下调膜转铁蛋白的表达, 从而促进细胞内游离铁累积, 形成恶性循环^[37]。

铁死亡中间产物也参与了 KC 极化过程, 铁死亡产生高水平 ROS, 通过增强 P300/CBP 组蛋白乙酰转移酶 (CBP-HAT) 活性促使 p53 乙酰化, 从而

促进 KC 极化为 M1 型巨噬细胞^[38]。ROS 还可通过蛋白酪氨酸磷酸酶 / 蛋白激酶 B (PTEN/AKT) 途径激活 NF- κ B 信号通路, 进一步促进远端 NLRP3 炎症小体组装, 引起炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 刺激的级联反应, 最终导致 KC 损伤^[39]。上述研究表明, 铁死亡可诱导 KC 极化为 M1 型巨噬细胞, 从而促进肝纤维化进展。

2.4 细胞铁死亡减少肝窦内皮细胞开窗孔

在生理状态下, 肝窦内皮细胞 (LSEC) 独特的形态和功能 (如缺乏基底膜及窗孔开放) 可使肝脏与循环进行双向运输, 允许 T 细胞穿透、延伸与肝细胞直接接触, 进行细胞间信息交换^[40-41]。研究表明, 窗孔减少或丧失不仅是肝脏衰老或损伤的标志, 而且与肝纤维化进展密切相关^[42]。研究表明, 肝脏铁过载导致细胞内线粒体氧化损伤, LSEC 的保护性反应是激活 Nrf2, Nrf2 可通过 Nrf2/MYC、Nrf2/Keap1/Bach1 途径调节骨形成蛋白 6 (BMP6) 表达, 激活邻近肝细胞中铁调素信号转导, 但未能表现出疾病缓解, 而 Nrf2 持续激活会抑制内皮细胞自噬, 内皮细胞自噬功能丧失会损伤 LSEC 特异性调节 HSC 的功能, 从而影响周围微环境, 或激活 HSC 进一步加重肝纤维化^[43-45]。铁过载可刺激肝细胞旁分泌神经生长因子 (NGF), 与 LSEC 上酪氨酸激酶受体 (TrkA) 结合, 造成 LSEC 的窗孔减少, 影响肝脏循环及代谢物排出, 从而促进肝纤维化进展^[46]。上述研究表明, 铁死亡可减少 LSEC 开窗孔, 从而促进肝纤维化进展。

3 小结

铁死亡是一种新型细胞死亡方式, 表现为铁过载、ROS 和 LPO 积累, 近年来的研究发现细胞铁死亡参与了肝纤维化进展。铁死亡在肝纤维化进程中的作用机制包括加重肝脏炎症反应、促进 KC 极化为促炎 M1 型巨噬细胞、减少 LSEC 开窗孔并刺激 HSC 活化, 从而发挥促进肝纤维化进展的作用。目前该领域的研究仍存在以下问题: (1) 肝脏作为一个较大的免疫器官, 铁死亡发生后可影响肝纤维化进展, 细胞间复杂的串扰机制仍需进一步研究揭示; (2) 铁死亡与其他细胞死亡类型如凋亡、焦亡之间有无关联, 在疾病进展中是否会相互影响, 需要进一步研究明确; (3) 目前研究发现铁死亡与肝纤维化相关, 但尚缺乏能精准预测铁死亡的标志物。今后有待进行更多铁死亡与肝纤维化相关性的研究, 以期对肝纤维化的临

床治疗提供新思路。

参考文献

- 1 Del Campo JA, Gallego P, Grande L. Role of inflammatory response in liver diseases: Therapeutic strategies[J]. *World J Hepatol*, 2018, 10(1): 1-7.
- 2 Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, et al. Burden of liver diseases in the world[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1): 151-171.
- 3 Smith A, Baumgartner K, Bositis C. Cirrhosis: Diagnosis and management[J]. *Am Fam physician*, 2019, 100(12): 759-770.
- 4 Wu A, Feng B, Yu J, et al. Fibroblast growth factor 21 attenuates iron overload-induced liver injury and fibrosis by inhibiting ferroptosis[J]. *Redox biol*, 2021, 46: 102131.
- 5 Chen T, Shi Z, Zhao Y, et al. LncRNA Airn maintains LSEC differentiation to alleviate liver fibrosis via the KLF2-eNOS-sGC pathway[J]. *BMC Med*, 2022, 20(1): 335.
- 6 Tada Y, Kasai K, Makiuchi N, et al. Roles of macrophages in advanced liver fibrosis, identified using a newly established mouse model of diet-induced non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 13251.
- 7 Wijayasiri P, Astbury S, Kaye P, et al. Role of hepatocyte senescence in the activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis progression[J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2221.
- 8 Li J, Cao F, Yin HL, et al. Ferroptosis: past, present and future[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88.
- 9 Zhang Y, Li M, Guo Y, et al. The organelle-specific regulations and epigenetic regulators in ferroptosis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 905501.
- 10 Sangkhue V, Nemeth E. Regulation of the iron homeostatic hormone hepcidin[J]. *Adv Nutr*, 2017, 8(1): 126-136.
- 11 Han S, Lin F, Qi Y, et al. HO-1 contributes to luteolin-triggered ferroptosis in clear cell renal cell carcinoma via increasing the labile iron pool and promoting lipid peroxidation[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 3846217.
- 12 Hou W, Xie Y, Song X, et al. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin[J]. *Autophagy*, 2016, 12(8): 1425-1428.
- 13 Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- 14 Zhang L, Hou N, Chen B, et al. Post-translational modifications of p53 in ferroptosis: novel pharmacological targets for cancer therapy[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 908772.
- 15 Panov AV, Dikalov SI. Cardiolipin, perhydroxyl radicals, and lipid peroxidation in mitochondrial dysfunctions and aging[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 1323028.
- 16 Cui S, Simmons G Jr, Vale G, et al. FAF1 blocks ferroptosis by inhibiting peroxidation of polyunsaturated fatty acids[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(17): e2107189119.
- 17 Lee JY, Nam M, Son HY, et al. Polyunsaturated fatty acid biosynthesis pathway determines ferroptosis sensitivity in gastric cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(51): 32433-32442.

- 18 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.
- 19 Yu Y, Jiang L, Wang H, et al. Hepatic transferrin plays a role in systemic iron homeostasis and liver ferroptosis[J]. *Blood*, 2020, 136(6): 726-739.
- 20 Song XY, Liu PC, Liu WW, et al. Silibinin inhibits ethanol- or acetaldehyde-induced ferroptosis in liver cell lines[J]. *Toxicol In Vitro*, 2022, 82: 105388.
- 21 Ramani K, Mavila N, Abeynayake A, et al. Targeting A-kinase anchoring protein 12 phosphorylation in hepatic stellate cells regulates liver injury and fibrosis in mouse models[J]. *Elife*, 2022, 11: e78430.
- 22 Mehta KJ, Coombes JD, Briones-Orta M, et al. Iron enhances hepatic fibrogenesis and activates transforming growth factor- β signaling in murine hepatic stellate cells[J]. *Am J Med Sci*, 2018, 355(2): 183-190.
- 23 Chen H, Zhao W, Yan X, et al. Overexpression of hepcidin alleviates steatohepatitis and fibrosis in a diet-induced nonalcoholic steatohepatitis[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2022, 10(4): 577-588.
- 24 Cho SS, Yang JH, Lee JH, et al. Ferroptosis contribute to hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 193(Pt 2): 620-637.
- 25 Gao H, Jin Z, Bandyopadhyay G, et al. Aberrant iron distribution via hepatocyte-stellate cell axis drives liver lipogenesis and fibrosis[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(8): 1201-1213. e5.
- 26 Vogt AS, Arsiwala T, Mohsen M, et al. On iron metabolism and its regulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4591.
- 27 Wang H, An P, Xie E, et al. Characterization of ferroptosis in murine models of hemochromatosis[J]. *Hepatology*, 2017, 66(2): 449-465.
- 28 Tsurusaki S, Tsuchiya Y, Koumura T, et al. Hepatic ferroptosis plays an important role as the trigger for initiating inflammation in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(6): 449.
- 29 Yamada N, Karasawa T, Wakiya T, et al. Iron overload as a risk factor for hepatic ischemia-reperfusion injury in liver transplantation: Potential role of ferroptosis[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(6): 1606-1618.
- 30 Zhao C, Xiao C, Feng S, et al. Artemisitene alters LPS-induced oxidative stress, inflammation and ferroptosis in liver through Nrf2/HO-1 and NF- κ B pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1177542.
- 31 Gautheron J, Gores GJ, Rodrigues CMP. Lytic cell death in metabolic liver disease[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(2): 394-408.
- 32 Li W, Chang N, Li L. Heterogeneity and function of kupffer cells in liver injury[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 940867.
- 33 Yang Y, Wang Y, Guo L, et al. Interaction between macrophages and ferroptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4): 355.
- 34 Zhang Z, Zhang F, Guo X, et al. Ferroportin1 in hepatocytes and macrophages is required for the efficient mobilization of body iron stores in mice[J]. *Hepatology*, 2012, 56(3): 961-971.
- 35 Handa P, Thomas S, Morgan-Stevenson V, et al. Iron alters macrophage polarization status and leads to steatohepatitis and fibrogenesis[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(5): 1015-1026.
- 36 Yuan Y, Chen Y, Peng T, et al. Mitochondrial ROS-induced lysosomal dysfunction impairs autophagic flux and contributes to M1 macrophage polarization in a diabetic condition[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(15): 1759-1777.
- 37 Marques L, Negre-Salvayre A, Costa L, et al. Iron gene expression profile in atherogenic Mox macrophages[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(6): 1137-1146.
- 38 Zhou Y, Que KT, Zhang Z, et al. Iron overloaded polarizes macrophage to proinflammation phenotype through ROS/acetyl-p53 pathway[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(8): 4012-4022.
- 39 Huang F, Zhao JL, Wang L, et al. miR-148a-3p mediates notch signaling to promote the differentiation and M1 activation of macrophages[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1327.
- 40 陈柳莹, 陆伦根. 肝脏病理性血管改建在肝纤维化中的作用 [J]. 国际消化病杂志, 2019, 39(3): 162-165, 169.
- 41 Zapotoczny B, Szafranska K, Kus E, et al. Tracking fenestrae dynamics in live murine liver sinusoidal Endothelial Cells[J]. *Hepatology*, 2019, 69(2): 876-888.
- 42 Hunt NJ, Lockwood GP, Warren A, et al. Manipulating fenestrations in young and old liver sinusoidal endothelial cells[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2019, 316(1): G144-G154.
- 43 Lim PJ, Duarte TL, Arezes J, et al. Nrf2 controls iron homeostasis in haemochromatosis and thalassaemia via Bmp6 and hepcidin[J]. *Nat Metab*, 2019, 1(5): 519-531.
- 44 Ruat M, Chavarria L, Campreciós G, et al. Impaired endothelial autophagy promotes liver fibrosis by aggravating the oxidative stress response during acute liver injury[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(3): 458-469.
- 45 Colucci S, Altamura S, Marques O, et al. Iron-dependent BMP6 regulation in liver sinusoidal endothelial cells is instructed by hepatocyte-derived secretory signals[J]. *Hemasphere*, 2022, 6(10): e773.
- 46 Addo L, Tanaka H, Yamamoto M, et al. Hepatic nerve growth factor induced by iron overload triggers defenestration in liver sinusoidal endothelial cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(1): 175-183.

(收稿日期 : 2023-05-30)

(本文编辑 : 林磊)