

铁死亡与肿瘤放射治疗的研究进展

李泓钰 刘燕婷 余东升

中山大学附属口腔医院, 光华口腔医学院, 广东省口腔重点实验室, 广州 510055

通信作者: 余东升, Email: yudsh@mail.sysu.edu.cn



余东升

【摘要】 铁死亡是一种依赖铁过载及细胞内活性氧诱导脂质过氧化代谢失调引起的新型细胞死亡形式。铁死亡过程中伴有活性氧成分不仅能够直接杀伤肿瘤细胞, 还可以改善肿瘤微环境, 克服乏氧肿瘤细胞引起的放疗抵抗, 增强放疗敏感性。因此, 调节放疗过程中细胞调节性铁死亡, 为肿瘤放射治疗和辐射防护提供了一种

潜在的新策略。本文通过系统的文献回顾, 介绍铁死亡的发生机制, 分析铁死亡在放疗增敏、放疗抵抗和放疗辐射损伤中的最新研究进展, 进一步展望铁死亡在放疗增敏、辐射损伤防护及放射免疫联合治疗中的应用和研究前景, 有助于研究者更好地了解铁死亡在肿瘤放射治疗中的关键作用。

【关键词】 铁死亡; 放射治疗法; 辐射损伤; 肿瘤

基金项目: 国家自然科学基金(82073378); 广东省自然科学基金(2021A1515012399)

引用著录格式: 李泓钰, 刘燕婷, 余东升. 铁死亡与肿瘤放射治疗的研究进展[JOL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2021, 15(6): 325-332.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.06.001

Research progress of ferroptosis and its research prospects in tumor radiotherapy

Li Hongyu, Liu Yanting, Yu Dongsheng

Hospital of Stomatology, Guanghua School of Stomatology, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Stomatology, Guangzhou 510055, China

Corresponding author: Yu Dongsheng, Email: yudsh@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Radioresistance and radiation damage are the difficult problem that need to be solved urgently in cancer radiotherapy. Ferroptosis is a novel type of cell death induced by iron overload and lipid peroxidation metabolic imbalance caused by the enhancement of intracellular reactive oxygen species (ROS). ROS induced by ferroptosis can not only lead to cellular damage directly, but also improve the hypoxic microenvironment of tumors and sensitize radiotherapy.

Ferroptosis plays an important role in inhibiting tumor proliferation and enhancing radiosensitivity, providing a potential new strategy for improving efficacy of radiotherapy. Here, we reviewed the research progress of ferroptosis and made a prospect of its application in radiotherapy.

【Key words】 Ferroptosis; Radiotherapy; Radiation damage; Neoplasms

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (82073378); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2021A1515012399)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2021.06.001

放射治疗是恶性肿瘤的重要治疗手段之一, 但肿瘤细胞的放疗敏感性低或放疗过程中产生的放疗抵抗性常导致临床放疗效果差甚至失败, 同时放疗过程对周围正常组织的损害也常给患者带来严重的并发症。凋亡一般被认为是放疗引起细胞死亡的主要途径, 但除了凋亡外, 其他死亡形式如铁死亡(ferroptosis)、坏死性凋亡和自噬等也被发现参与放疗引起的细胞死亡^[1-3]。铁死亡是新近发现的一种依赖于铁离子调控细胞死亡的类型, 在形态、生化和遗传学上与凋亡、自噬和坏死不同^[4]。铁死亡在多种疾病的发展中起着关键作用, 包括癌症、神经系统疾病和缺血性损伤等^[5]。值得注意的是, 近年来有学者相继发现铁死亡参与放疗诱导细胞死亡的重要机制^[2-3], 提示了通过调控和干预肿瘤细胞铁死亡, 增强放疗敏感性及防护辐射损伤的新策略。本文通过系统的文献回顾, 介绍铁死亡的概念及发生机制, 着重分析铁死亡在放疗增敏的作用机制, 以及铁死亡在辐射抵抗和辐射损伤中研究进展, 展望铁死亡在放疗增敏、辐射损伤防护及放射联合治疗中的应用和研究前景, 帮助研究者更全面地了解铁死亡在肿瘤放射治疗的重要作用。

一、铁死亡及其发生机制

铁死亡的概念是2012年由Stockwell教授团队最早提出, 是一种依赖铁离子过载(铁聚集)及活性氧

(reactive oxygen species, ROS)成分诱导细胞脂质过氧化代谢失调、堆积引起的调节性细胞坏死^[4]。铁死亡以线粒体变小皱缩,膜密度和厚度增加,同时细胞核中形态变化不明显为死亡特征,在形态学、生物学及基因水平上均明显不同于凋亡、自噬和焦亡等其他形式的调节性细胞死亡^[4,6]。铁死亡的发生与细胞内铁的积累、自由基的产生、脂肪酸的供应以及脂质过氧化密切相关。细胞外的 Fe^{3+} 与铁转运蛋白(transferrin, TF)结合,通过转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1, TFR1)转运进入细胞内并还原为 Fe^{2+} ^[7]。此后在细胞内二价金属转运蛋白1(divalent metal transporter 1, DMT1)和锌铁蛋白8/14(Zinc transporter 8/14, ZIP8/14)的协助下储存在细胞内的不稳定铁池(labile iron pool, LIP)中^[8-9]。 Fe^{2+} 可以通过与过氧化物发生芬顿反应,将电子转移产生具有氧化能力的自由基。当细胞内铁超载时,大量的自由基可以在酯氧合酶和铁的催化下与胞膜磷脂的多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)发生反应,产生大量的脂质过氧化物,导致细胞死亡^[10]。同时,细胞内的抗氧化应激系统主要依赖谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)来清除过量的脂质过氧化物。胱氨酸谷氨酸反向转运体(cystine/glutamate antiport),又称SystemXc-,负责将细胞内的谷氨酸转运出细胞,同时将等量的胱氨酸转运进入细胞内,当它被SystemXc-抑制剂如艾拉斯汀(Erastin)阻断时,阻碍胱氨酸进入细胞,导致合成谷胱甘肽(glutathione, GSH)所必需的半胱氨酸的含量减少和GSH的合成受阻,GSH参与GPX4水解脂质过氧化物的过程,GSH合成受阻或者GPX4的失活都可以使细胞内过量的脂质过氧化物无法被清除,导致细胞氧化损伤,诱导铁死亡的发生^[11]。因此,抑制SystemXc-、消耗GSH及失活GPX4等都是诱导铁死亡的关键节点,也由此开发出了许多铁死亡诱导剂,如:阻断SystemXc-靶点的Erastin、柳氮磺胺吡啶、索拉非尼,失活GPX4的小分子化合物RSL3、FIN56,抑制GSH合成的丁硫氨酸-亚砷亚胺(buthionine sulfoximine, BSO)等^[5]。

任何影响细胞内铁稳态、氧化与抗氧化平衡系统的通路都可以影响细胞铁死亡的发生^[12]。主要的调控机制有3个方面^[13]:(1)调节铁代谢通路:如自噬基因相关蛋白5/7(autophagy related 5, ATG5/autophagy related 7, ATG7)-核受体共激活因子4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)诱导的铁自噬;铁硫

簇生物合成酶(iron-sulfur cluster biosynthetic enzyme, NFS1)/铁硫簇组装体(iron-sulfur cluster assembly enzyme, ISCU)通过影响铁硫簇(Fe-S)的生物合成,调控铁调节蛋白(iron regulatory protein, IRP)翻译调节铁代谢相关蛋白运铁蛋白受体(transferrin receptor, TFR1)、DMT1、铁泵蛋白(ferroportin 1, FPN1)、人铁蛋白重链蛋白1(ferritin heavy chain 1, FTH1)和人铁蛋白轻链蛋白(ferritin light chain, FTL)的表达,从而影响细胞内铁离子含量诱导铁死亡;(2)调节脂质代谢:如长链脂酰辅酶A合成酶4(acyl-coA synthetase long chain family member 4, ACSL4)-溶血卵磷脂酰基转移酶3(lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)-脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)通路, p53-精胺/精胺N1-乙酰基转移酶1(spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1, SAT1)-花生四烯酸-12/15-脂氧合酶(arachidonate 12-lipoxygenase, ALOX12/arachidonate 12-lipoxygenase, ALOX15)通路,介导细胞膜中PUFA的生物合成和重塑影响铁死亡的发生;(3)抗氧化防御系统的调节:如调控GSH/GPX4的相关通路SystemXc-、甲羟戊酸通路和硫转移途径,以及不依赖于GPX4,直接参与脂质ROS消除的通路,如铁死亡抑制蛋白1(ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)-辅酶Q10通路、三磷酸鸟苷酸环化水解酶1(GTP cyclohydrolase 1, GCH1)-四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin, BH4)通路和内涵体分选复合物Ⅲ(endosomal sorting complex required for transport, ESCRT-Ⅲ)膜修复系统等。

二、铁死亡与放疗敏感性

放射治疗使用高能电离辐射(ionizing radiation, IR)产生DNA双链断裂,导致细胞周期停滞、衰老和各种细胞死亡模式^[1]。除了直接损伤DNA外,IR还可以引起间接的细胞效应。例如,IR通过分解细胞内水分子并刺激氧化酶产生活性氧簇(如羟基自由基和过氧化氢等),可能损害核酸、蛋白质和脂质,从而导致细胞损伤^[14]。放疗敏感性很大程度受耗氧水平、DNA损伤后的细胞修复能力,以及细胞分化阶段及其在细胞周期中的分布等影响^[14]。因此,针对肿瘤放射增敏的机制也主要集中在增加或诱导肿瘤细胞发生凋亡,改变细胞周期分布,增加放疗细胞内ROS以改善乏氧微环境,以及抑制细胞修复DNA损伤的能力等。细胞铁死亡过程中伴随的ROS成分不仅可以参与细胞脂质过氧化诱导细胞死亡,还可以改善细胞内的乏氧状态,体现了通过

铁死亡改善肿瘤细胞的辐射敏感性的可能性。但是,通过铁死亡能否影响肿瘤放疗敏感性的研究方兴未艾,仍需深入地研究和探讨。

既往研究认为,放射线至少可诱导5种类型的细胞死亡,包括坏死、凋亡、自噬、有丝分裂障碍和衰老^[1]。近年来的研究证实,铁死亡也在其中扮演了重要的角色。例如, Ye等^[15]在对HT-1080纤维肉瘤细胞的细胞培养、异种小鼠模型、患者来源的异种移植和肿瘤切片培养中,证实铁死亡诱导剂通过增强辐射对导致细胞死亡的胞浆脂质过氧化的影响而起到放射增敏剂的作用; Thermozier等^[16]发现利用3种抑制细胞死亡(铁死亡、凋亡和坏死性凋亡)的药物,可以协同缓解大剂量全身辐射的作用,提高小鼠放疗后的存活率,通过在放疗不同时间点使用不同的抑制剂,发现辐射导致的死亡途径是互相关联的,且阻断其中一种途径,可能会启动或延迟诱导另一种死亡途径。值得注意的是, Lei等^[3]的研究不仅在电子显微镜下观察到辐射诱导细胞铁死亡、自噬和坏死的形态特征,还发现铁死亡抑制剂铁抑素-1或活性氧清除剂N-乙酰-L-半胱氨酸(N-acetyl-L-cysteine, NAC)诱导放疗后细胞存活率的恢复能力甚至比凋亡抑制剂(caspase广谱抑制剂Z-VAD-FMK)和坏死凋亡抑制剂(necrostatin-1s)强。这些结果都有力地表明,铁死亡是放疗诱导细胞死亡反应的重要部分,但是铁死亡调控放疗增敏的机制尚未深入研究,依据现有的文献资料,主要归纳为通过诱导铁超载、抑制谷胱甘肽合成及促进细胞脂质过氧化等3个方面增强放射作用。

1. 铁过载与放疗增敏:铁是人类和动物体内普遍存在和必需的一种元素,参与许多细胞内的氧化还原循环过程,同时对许多酶的活性是必不可少的。但是,铁参与的氧化还原过程也有助于肿瘤诱导,可以增加肿瘤疾病发生的风险。尽管铁的积累和ROS的形成可以刺激移植胶质瘤的生长,但是 Ivanov等^[17]通过添加铁离子的饮用水联合放射治疗,可以提高胶质瘤荷瘤小鼠的抑瘤效果。进一步研究发现,长期饮用含铁水可以使肿瘤细胞对铁死亡的敏感性增加,在联合放射治疗时,诱导铁死亡协同凋亡最大程度抑制胶质瘤的生长,而添加铁螯合剂后,可能是因为阻断了放疗诱导的铁死亡,反而减弱了放疗的抑瘤效果^[18]。此外,细胞器中铁离子的含量还可以调节肿瘤细胞的辐射抵抗性。例如,使用伊曲康唑处理鼻咽癌细胞中具有干性的多细

胞球体,可增加铁调节蛋白2(iron regulatory protein 2, IRP2)和运铁蛋白受体(transferrin receptor, TFRC)的表达,降低铁蛋白的表达,使多细胞球体的溶酶体膜的通透性增加,铁浓度增加,引发铁死亡,通过减弱多细胞球体的干性,从而部分逆转了鼻咽癌多细胞球体的辐射抵抗性^[19]。在另一项研究中,在临床相关放射抵抗的细胞系中,高表达的miR-7-5p可以通过抑制铁蛋白 Mitoferrin阻碍Fe²⁺转运到线粒体中,导致细胞内羟自由基水平和芬顿反应诱导的细胞质膜氧化的发生低于无放疗抵抗的亲本细胞,最终引起辐射诱导的铁死亡,减少并产生放射抵抗性^[20]。本课题组前期通过高通量RNA测序筛选发现,在口腔鳞状细胞癌(以下简称口腔鳞癌)中CircATRNL1的表达显著降低,其发挥海绵吸附miR-23a-3p,抑制其表达增强口腔鳞癌放射敏感性^[21],进一步通过生物信息预测发现miR-23a-3p与*TfR1*和*DMT1*具有共同结合位点,通过CircATRNL1/miR-23a-3p/*TfR1*+*DMT1*轴可能调节*TfR1*和*DMT1*表达,影响肿瘤细胞摄铁、转铁能力导致铁过载,促进铁死亡,增强口腔鳞癌的放射敏感性。因此,笔者认为通过调控增加细胞内铁离子浓度造成铁过载,提高肿瘤细胞铁死亡敏感性,有望成为增强放疗敏感性的有效途径。

2. 抑制谷胱甘肽合成促进放疗敏感性:GSH和GPX4作为生物体内重要的抗氧化体系,其辐射损伤的防护作用已经被广泛研究。通过抑制SystemXc-,抑制GSH合成途径可以诱导多种癌细胞发生铁死亡,而通过诱导铁死亡可以有效促进放射线照射的肿瘤细胞死亡。大多数的放疗增敏剂和辐射防护剂缺乏肿瘤特异性, SystemXc-的轻链亚基溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, *SLC7A11*)只在少数正常组织表达且表达水平较低,而大部分的实体瘤都有较高的表达水平,同时携带*SLC7A11*失活基因位点的小鼠能够正常地发育、生育^[22]。因此,针对*SLC7A11*蛋白的铁死亡诱导剂可能特异性地增加癌细胞对辐射的敏感性,增加其死亡和抑制其增殖,减少辐射剂量和正常组织的辐射损伤。基于此,一些铁死亡诱导剂,如Erastin、柳氮磺胺吡啶和索拉非尼等,已被证实能够增加多种肿瘤的放射敏感性^[23]。Cobler等^[22]发现, Erastin或靶向失活*SLC7A11*都可以在体内外增加*SLC7A11*⁺的乳腺癌细胞对 γ 射线敏感性,而对*SLC7A11*⁻的癌细胞无影响,这一过程伴随着细胞内GSH的合成减少,

同时推迟了DNA损伤信号,增加了基因组的不稳定性,在经历了几轮有丝分裂后产生高度异常的核内容物,加强了细胞的死亡。在对宫颈癌和肺癌的荷瘤小鼠的研究中,Erastin同样可以通过耗竭肿瘤细胞内抗氧化剂GSH或抑制GPX4的活性和表达引起铁死亡,发挥放疗增敏的作用^[24-25]。笔者认为,通过SLC7A11靶点抑制GSH/GPX4途径协同放疗诱导细胞铁死亡可能具有一定的应用前景,当这类铁死亡诱导剂作为一种放疗增敏剂时,除了放射线本身的效应,肿瘤细胞内还可以通过其他更多途径产生更多的ROS。这种作用是否会导致细胞内ROS的快速增加,从而加重细胞的过氧化和死亡,值得进一步探索。此外,细胞内GSH/GPX4稳态的维持可能存在其他机制,因此针对其他影响此途径诱导铁死亡和增强放射敏感性的机制研究为研究者提供了广阔的研究空间。

3. 脂质过氧化与放疗敏感性:γ射线和X线一般通过羟基自由基中间体来损害生物分子,PUFA在铁死亡时被氧化,由于它们能够通过将自由基稳定结合在双烯丙基位置,因此对羟基自由基损伤非常敏感,是暴露在高剂量辐射下最容易受到破坏的脂质物种^[26]。当磷脂-多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids-phospholipid, PUFA-PL)过氧化超过细胞抗氧化防御系统,如谷胱甘肽磷脂过氧化物酶的抗氧化能力时,就会诱发铁死亡。Lang等^[2]报道,放疗主要是通过免疫治疗激活的CD8⁺T细胞的干扰素γ(interferon-gamma, IFN-γ)和放疗后激活的共济失调性毛细血管扩张突变基因(ataxia-telangiectasia mutated gene, ATM)诱导的信号转导与转录激活子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)信号联合靶向SLC7A11,调节半胱氨酸摄取,促进肿瘤脂质过氧化损伤,介导肿瘤细胞的铁死亡。Lei等^[3]则认为,IR至少通过2条平行途径诱导脂质过氧化:(1)诱导ROS促进脂质过氧化,ROS可以去除PUFA中的电子,形成脂肪酸自由基(fatty-acid radicals, PUFA[•]),随后与分子氧迅速反应生成脂质过氧化氢自由基(lipid peroxy radicals, PUFA-OO[•]),通过芬顿反应从其他分子中提取氢,最终形成脂质过氧化氢(lipid hydroperoxides, PUFA-OOH);(2)IR可以通过诱导ACSL4的表达,增加了PUFA-PL的生物合成,与ROS一起驱动脂质过氧化和铁死亡的发生,但是IR是如何诱导ACSL4的表达尚不清楚。随后, Ye等^[15]通过脂肪组学分析发现,辐射后HT-

1080人纤维肉瘤细胞PUFA的磷脂过氧化副产物溶血磷脂显著增加,与铁死亡诱导剂咪唑酮艾拉斯汀(imidazole ketone erastin, IKE)联合作用可以产生更强的效果,通过在细胞培养、异种荷瘤小鼠研究、患者来源的异种移植和肿瘤切片培养进一步说明,铁死亡诱导剂可通过增强辐射对胞浆脂质过氧化的影响诱导细胞死亡而起到放射增敏剂的作用,并产生溶血磷脂作为副产品,但是其确切机制尚不明确。辐射可能也会影响其他铁死亡相关基因,这些基因可能在不同的情况下共同导致放射介导的铁死亡,这些需要进一步研究^[2-3,15]。这些研究将IR与脂质过氧化和铁死亡联系在一起,但是IR调控细胞脂质过氧化过程的具体形式和机制仍非常不明确,笔者认为通过代谢组学、转录组学等多组学的研究方法可以进一步帮助我们了解和探索脂肪酸在放疗引起的铁死亡中所扮演的角色与作用。

三、铁死亡与放疗抵抗性

放疗是癌症治疗的有力手段,但是放疗抵抗仍然是导致放疗失败的主要原因,了解放疗抵抗的机制可以提高放射治疗癌症的效率。铁死亡在肿瘤放疗抵抗中的作用机制目前仅有少量的研究结果,其机制主要有:(1)通过控制细胞铁离子含量:mir-7-5p在临床相关的放疗抵抗细胞中高表达,它主要通过下调mitoferrin减少线粒体内Fe²⁺,抑制铁死亡,控制mir-7-5p的表达可以导致更有效的放射治疗^[20]。另一项研究则发现,伊曲康唑通过可以将铁离子隔离在溶酶体中,通过铁浓度和脂质过氧化产物氧含量增加,GSH水平降低,触发铁死亡,引起鼻咽癌多细胞球干细胞性的衰减,并减轻放射抵抗性^[19]。(2)通过干扰线粒体功能:2-硝基咪唑类药物可以通过诱导脑胶质瘤干细胞(glioma stem cell, GSC)线粒体复合体I、II活性降低,还原性烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)/烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)比值升高,琥珀酸蓄积引起线粒体功能障碍和ROS积聚,还通过上调GSC中前列腺6次跨膜上皮抗原3(metalloreductase sixtransmembrane epithelial antigen of prostate 3, STEAP3)和血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HMOX1)的表达,还原和动员铁蛋白中的Fe²⁺,导致铁死亡和缺氧性GSC生态位的减少,从而使体内和体外缺氧区GSC对电离辐射敏感^[27]。(3)铁死亡抑制蛋白的适应性反应:Lei等^[3]发现,IR不仅可以诱导铁死亡的发生,还会导致

SLC7A11 和 *GPX4* 的适应性表达,减轻了 IR 诱导的脂质过氧化和人前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, *PTGS2*) 的表达,促进放疗期间癌细胞的存活,以铁死亡抑制的方式促进了辐射抵抗。综上所述,通过诱导肿瘤干细胞和临床放疗抵抗肿瘤细胞铁死亡可以有效解决放疗期间或放疗后的辐射抵抗,提高放疗效果,减少术后复发,进一步提示了铁死亡作为放疗增敏靶点的潜力。

四、铁死亡在放射防护和放射联合治疗中的新应用

1. 铁死亡在放射线辐射损伤防护的作用:随着容积旋转调强技术、立体定向放射治疗技术等精准放疗技术的发展,放疗可以最大程度地减少肿瘤周围正常组织的照射剂量,降低正常组织器官并发症的发生率和治疗不良反应。但是放射线对患者或医务人员无意间接触放射线所造成的器官或组织辐射损伤仍不容忽视。放射增敏的研究不仅要提高肿瘤细胞对放射线的敏感性,还要尽量地减少辐射范围内正常组织的放射线敏感性。但是,目前可用于放射治疗的防护药物或方法仍相对较少,亟需进一步开发放疗增敏和辐射防护的药物。

针对放射线诱导的死亡途径的抑制,都可能成为对放射性损伤防护的重要途径,其中铁死亡这种新型的死亡途径逐渐引起关注,并且已经对造血系统、肠、肺和脑等组织的辐射防护有了初步的探索。(1)造血系统:Thermozier 等^[16]通过单独或联合应用凋亡抑制剂(JP4-039)、坏死性凋亡抑制剂(necrostatin-1)及铁死亡抑制剂(花生四烯酸-15-脂加氧酶 ALOX15 抑制剂黄芩素),可以有效地提高全身辐射照射(total-body irradiation, TBI)后小鼠的存活率,缓解了骨髓、回肠、肺和血浆的辐射损伤,降低了这些组织中促炎和应激反应蛋白的水平。同时,在不同时间点给予不同死亡途径的抑制剂,可以促使诱导的死亡转向另外一条途径,在凋亡、坏死性凋亡和铁死亡之间转换。国内的学者也发现,大剂量的全身照射可通过增加骨髓单核细胞脂质过氧化和铁含量水平,消耗 ACSL4、ALOX15、GPX4 和 GSH,诱导铁死亡的发生,但全身照射所致的骨髓铁死亡的发生不会引起早期的促炎反应^[28]。铁死亡抑制剂 Ferostatin-1 可以通过降低 GPX4 和 ACSL4 的水平,减轻放射性铁死亡的脂质过氧化作用,增加了大剂量全身照射后小鼠外周血中的红细胞、白细胞、淋

巴细胞和单核细胞的数量,使其成为一种潜在的辐射缓释剂^[28]。意外辐射引起的骨髓型急性放射病,也可引起骨髓出血并造成铁积蓄,γ射线照射引起的铁积蓄通过诱导粒-巨噬造血祖细胞的铁死亡,引起小鼠外周血中白细胞和淋巴细胞的数量减少,通过降低铁介导的 ROS 和铁含量抑制铁死亡可以提高受辐射小鼠的存活率^[29]。(2)消化系统:Xie 等^[30]在绿茶衍生物中发现,表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG)不仅可以改善大剂量 TBI 暴露小鼠小肠中诱发的细胞凋亡和 DNA 损伤,还降低了小肠细胞中 ROS 的水平引起的氧化应激,并激活了转录因子核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2)入核,上调抗氧化蛋白 HMOX1,同时激活 SLC7A11、GPX4 这两个铁死亡相关蛋白的表达,抑制辐射诱导的铁死亡发生,改善放射性肠损伤。(3)呼吸系统:放射性肺损伤(radiation-induced lung injury, RILI)是胸部放射治疗严重且危及生命的并发症,引发铁死亡的重要因素是 ROS 的堆积,而这也是引起 RILI 的主要原因,提示铁死亡抑制剂可能是治疗 RILI 的有效方法。急性 RILI 和放射性肺纤维化(radiation-induced lung fibrosis, RILF)中肺组织中 GPX4 表达下降,铁死亡抑制剂可以恢复其表达水平,急性 RILI 经铁死亡抑制剂治疗后,炎症级联反应被抑制,肺组织 ROS 水平和血清炎症细胞因子[肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素(IL)-6、IL-10、转化生长因子β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)]水平均显著降低^[31-32]。在 RILF 模型中,铁死亡抑制剂 Liproxstatin-1 可以通过激活 NRF2 通路,上调 HMOX1 和 NAD(P)H:醌氧化还原酶 1[NAD(P)H quinone dehydrogenase 1, NQO1]的水平,减轻了 ROS 的损伤,下调 TGF-β1,从而减弱小鼠的 RILF^[32]。(4)神经系统:脑肿瘤在放射治疗半年后,可能会出现以认知功能障碍为主的放射性脑损伤症状,国内学者也观察到放疗前对海马神经元细胞进行维生素 E 处理,可以减轻细胞的氧化应激反应程度,减少脂质过氧化物的生产,并降低细胞内铁离子浓度,进而抑制放射诱导的铁死亡发生,对放射后脑组织的保护发挥重要作用^[33]。因此,笔者认为通过降低细胞内 ROS 水平的升高,减少脂质过氧化物的产生,阻断或减少放疗后铁死亡的发生,从而减轻细胞的辐射损伤,为辐射防护性提供了新的思路。

2. 放射治疗和免疫治疗协同诱导铁死亡:将

统的肿瘤治疗手段与肿瘤免疫治疗有效地结合运用,是当今肿瘤学面临的重要挑战和机遇。放射治疗和免疫治疗都需要 CD8⁺ T 细胞的参与,但是 CD8⁺ T 细胞是否可以通过促进铁死亡的方式改变细胞放疗敏感性的仍不明朗。Wang 等^[34]首次发现,免疫治疗可以通过激活 CD8⁺ 细胞,释放 IFN- γ 来下调溶质载体家族 3 成员 2 (solute carrier family 3 member 2, SLC3A2) 和 SLC7A11 的表达,导致细胞内胱氨酸的摄取减少并增强肿瘤细胞脂质过氧化的程度,诱导铁死亡发生从而增强免疫治疗的疗效。Lang 等^[2]进一步研究发现,免疫治疗可以通过促进肿瘤铁死亡增强肿瘤细胞放疗敏感性,其机制与 Wang 等^[34]的研究类似,通过免疫治疗如程序性死亡受体-配体 1 (programmed cell death-Ligand 1, PD-L1) 和抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA4) 激活的 CD8⁺ T 细胞的 IFN- γ , 通过 STAT 通路和放疗激活的 ATM 通路,协同抑制 SLC7A11 的表达,增加细胞脂质过氧化损伤,介导肿瘤细胞铁死亡。此外, Wan 等^[35]利用恶性胸腔积液小鼠模型,证明了辐射诱导的旁观者效应主要是由辐射后肿瘤细胞释放的微粒 (irradiated tumor cell-released microparticles, RT-MPS) 介导的,这些微粒被肿瘤细胞摄取时,主要通过铁死亡导致免疫原性细胞死亡,使细胞更容易受到巨噬细胞的攻击。同时,笔者前期研究也发现铁死亡相关基因与肿瘤的免疫功能关系密切,在由 10 个铁死亡相关基因构建的口腔鳞癌预后模型中,高风险组患者较差的预后可能与免疫状态失调相关^[36]。因此,笔者认为铁死亡可以作为适应性免疫和放射治疗之间的一个新的交叉点,使铁死亡诱导剂拥有成为一种新型的放疗和免疫治疗的增敏剂的巨大潜力。

五、展望

在过去的 5 年内,铁死亡受到了研究者的广泛关注和追逐。针对铁死亡的研究逐渐从对铁死亡发生、调控机制的研究,转变为对其在多种疾病模型背景下的生物学功能的研究,再到重点关注其与传统肿瘤治疗手段的结合及转化医学的应用研究。针对放疗抵抗的研究,目前主要集中于对放疗后细胞抵抗凋亡导致的放疗耐受,因此,通过研究放疗后细胞的非凋亡死亡方式,如铁死亡、坏死性凋亡、自噬等,可另辟蹊径增强放疗敏感性,改变放疗抵抗或减少放疗损伤。铁死亡在放疗增敏、辐射

抵抗、辐射损伤防护中的研究成果给肿瘤患者带来更强的信心和期望。

铁死亡在放射治疗中的作用的基础研究和临床转化还存在许多未知,值得我们进一步去探索和挑战。笔者认为主要有几个方面:(1)放疗相关的铁死亡生物标志物的确定:不同遗传背景的肿瘤细胞和肿瘤异质性,导致了肿瘤细胞或个体对铁死亡的敏感性不同,寻找一个对放疗引起铁死亡的敏感个体化生物标志物显得尤为重要。例如组织标本中 4-HNE 强阳性的患者似乎对放疗的反应更加敏感,同时也有更高的生存率^[3],但是其应用价值仍需进一步检验和探索。(2)针对铁死亡重要靶点的放疗增敏剂的研究:SLC7A11 和 GPX4 都是铁死亡发生过程中的重要蛋白,GPX4 基因的缺失可能会引起小鼠发生致命的发育缺陷,而 SLC7A11 缺陷的小鼠发育正常^[37],提示了 SLC7A11 作为一个放疗增敏潜在靶点的前景,同时由于正常组织和肿瘤组织表达 SLC7A11 的差异,使得铁死亡诱导剂可以在诱导肿瘤细胞发生铁死亡的同时而对正常组织不产生作用。笔者认为铁死亡将成为放疗增敏和肿瘤抑制的新靶点,通过针对 SLC7A11 靶点的铁死亡诱导剂联合放疗的治疗方案可能成为一种有效的联合治疗方案。此外,通过调控非编码 RNA、表观遗传修饰、转录因子等,调控铁死亡相关蛋白的表达,通过提高胞内铁离子浓度导致铁过载,促进肿瘤细胞发生铁死亡,同时利用铁过载诱发的芬顿反应和放疗辐射引起组织 ROS 堆积,进一步协同激发铁死亡,改善放疗过程中肿瘤微环境的乏氧状态,增加放疗的敏感性。将最新基因治疗技术与传统放疗有机结合,通过改善放疗过程中的肿瘤微环境和细胞的生物功能与生物效应,可为探索放疗增敏治疗提供新策略和研究方向。(3)放射治疗结合免疫治疗:铁死亡可作为放射治疗和免疫治疗的一个新交叉点,通过进一步研究铁死亡对免疫系统和免疫细胞功能的短期和长期的影响,结合放疗的免疫调节机制,进一步开发出新的具有铁死亡诱导作用的免疫调节药,实现放疗联合免疫治疗的新型肿瘤治疗方案。

总之,我们正处于铁死亡研究的最好时代,相信随着铁死亡在放射治疗中作用的基础研究的深入,铁死亡诱导剂作为放疗增敏剂或铁死亡抑制剂作为辐射保护剂应用到临床中将指日可待。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Baidoo KE, Yong K, Brechbiel MW. Molecular pathways: Targeted alpha-particle radiation therapy [J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(3):530-537. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-12-0298.
- [2] Lang X, Green MD, Wang W, et al. Radiotherapy and immunotherapy promote tumoral lipid oxidation and ferroptosis via synergistic repression of SLC7A11 [J]. Cancer Discov, 2019, 9(12):1673-1685. DOI:10.1158/2159-8290.Cd-19-0338.
- [3] Lei G, Zhang Y, Koppula P, et al. The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression [J]. Cell Res, 2020, 30(2):146-162. DOI:10.1038/s41422-019-0263-3.
- [4] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149(5):1060-1072. DOI:10.1016/j.cell.2012.03.042.
- [5] Tang D, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: Molecular mechanisms and health implications [J]. Cell Res, 2021, 31(2):107-125. DOI:10.1038/s41422-020-00441-1.
- [6] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. Cell, 2017, 171(2):273-285. DOI:10.1016/j.cell.2017.09.021.
- [7] Masaldan S, Clatworthy SAS, Gamell C, et al. Iron accumulation in senescent cells is coupled with impaired ferritinophagy and inhibition of ferroptosis [J]. Redox Biol, 2018, 14:100-115. DOI:10.1016/j.redox.2017.08.015.
- [8] Picard V, Govoni G, Jafar N, et al. Nramp 2 (DCT1/DMT1) expressed at the plasma membrane transports iron and other divalent cations into a calcein-accessible cytoplasmic pool [J]. J Biol Chem, 2000, 275(46):35738-35745. DOI:10.1074/jbc.M005387200.
- [9] Sterling J, Guttha S, Song Y, et al. Iron importers Zip8 and Zip14 are expressed in retina and regulated by retinal iron levels [J]. Exp Eye Res, 2017, 155:15-23. DOI:10.1016/j.exer.2016.12.008.
- [10] 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. DOI:10.1038/nchembio.2239.
- [11] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. Cell, 2014, 156(1/2):317-331. DOI:10.1016/j.cell.2013.12.010.
- [12] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4):266-282. DOI:10.1038/s41580-020-00324-8.
- [13] Chen X, Kang R, Kroemer G, et al. Broadening horizons: The role of ferroptosis in cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(5):280-296. DOI:10.1038/s41571-020-00462-0.
- [14] Azzam EI, Jay-Gerin JP, Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury [J]. Cancer Lett, 2012, 327(1/2):48-60. DOI:10.1016/j.canlet.2011.12.012.
- [15] Ye LF, Chaudhary KR, Zandkarimi F, et al. Radiation-induced lipid peroxidation triggers ferroptosis and synergizes with ferroptosis inducers [J]. ACS Chem Biol, 2020, 15(2):469-484. DOI:10.1021/acscchembio.9b00939.
- [16] Thermoziere S, Hou W, Zhang X, et al. Anti-ferroptosis drug enhances total-body irradiation mitigation by drugs that block apoptosis and necroptosis [J]. Radiat Res, 2020, 193(5):435-450. DOI:10.1667/rr15486.1.
- [17] Ivanov SD, Semenov AL, Mikhelson VM, et al. Effects of iron ion additional introduction in radiation therapy of tumor-bearing animals [J]. Radiat Biol Radioecol, 2013, 53(3):296-303. DOI:10.7868/s0869803113030065.
- [18] Ivanov SD, Semenov AL, Kovan'ko EG, et al. Effects of iron ions and iron chelation on the efficiency of experimental radiotherapy of animals with gliomas [J]. Bull Exp Biol Med, 2015, 158(6):800-803. DOI:10.1007/s10517-015-2865-1.
- [19] Xu Y, Wang Q, Li X, et al. Itraconazole attenuates the stemness of nasopharyngeal carcinoma cells via triggering ferroptosis [J]. Environ Toxicol, 2020, 36(2):257-266. DOI:10.1002/tox.23031.
- [20] Tomita K, Fukumoto M, Itoh K, et al. MiR-7-5p is a key factor that controls radioresistance via intracellular Fe²⁺ content in clinically relevant radioresistant cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 518(4):712-718. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.117.
- [21] Chen G, Li Y, He Y, et al. Upregulation of circular RNA circATRNL1 to sensitize oral squamous cell carcinoma to irradiation [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 19:961-973. DOI:10.1016/j.omtn.2019.12.031.
- [22] Cobler L, Zhang H, Suri P, et al. xCT inhibition sensitizes tumors to γ -radiation via glutathione reduction [J]. Oncotarget, 2018, 9(64):32280-32297. DOI:10.18632/oncotarget.25794.
- [23] Zhao Y, Li Y, Zhang R, et al. The role of erastin in ferroptosis and its prospects in cancer therapy [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13:5429-5441. DOI:10.2147/OTT.S254995.
- [24] Shibata Y, Yasui H, Higashikawa K, et al. Erastin, a ferroptosis-inducing agent, sensitized cancer cells to X-ray irradiation via glutathione starvation *in vitro* and *in vivo* [J]. PLoS One, 2019, 14(12):e0225931. DOI:10.1371/journal.pone.0225931.
- [25] Pan X, Lin Z, Jiang D, et al. Erastin decreases radioresistance of NSCLC cells partially by inducing GPX4-mediated ferroptosis [J]. Oncol Lett, 2019, 17(3):3001-3008. DOI:10.3892/ol.2019.9888.
- [26] Hammer CT, Wills ED. The effect of ionizing radiation on the fatty acid composition of natural fats and on lipid peroxide formation [J]. Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med, 1979, 35(4):323-332. DOI:10.1080/09553007914550391.
- [27] Koike N, Kota R, Naito Y, et al. 2-Nitroimidazoles induce mitochondrial stress and ferroptosis in glioma stem cells residing in a hypoxic niche [J]. Commun Biol, 2020, 3(1):450. DOI:10.1038/s42003-020-01165-z.

- [28] Zhang X, Tian M, Li X, et al. Hematopoietic protection and mechanisms of ferrostatin - 1 on hematopoietic acute radiation syndrome of mice [J]. *Int J Radiat Biol*, 2021, 97(4): 464-473. DOI:10.1080/09553002.2021.1876956.
- [29] Zhang X, Xing X, Liu H, et al. Ionizing radiation induces ferroptosis in granulocyte - macrophage hematopoietic progenitor cells of murine bone marrow [J]. *Int J Radiat Biol*, 2020, 96(5): 584-595. DOI:10.1080/09553002.2020.1708993.
- [30] Xie LW, Cai S, Zhao TS, et al. Green tea derivative (-)-epigallocatechin - 3 - gallate (EGCG) confers protection against ionizing radiation-induced intestinal epithelial cell death both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 161: 175-186. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.012.
- [31] 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(2): 240-245. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.08.165.
- [32] Li X, Duan L, Yuan S, et al. Ferroptosis inhibitor alleviates radiation - induced lung fibrosis (RILF) via down - regulation of TGF - β 1 [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2019, 16: 11. DOI: 10.1186/s12950-019-0216-0.
- [33] 任陈, 李旋子, 杜莎莎. 维生素E通过抑制铁坏死减少放射性神经损伤[J]. *南方医科大学报*, 2020, 40(8): 1097-1102. DOI: 10.12122/j.issn.1673-4254.2020.08.05.
- [34] Wang W, Green M, Choi JE, et al. CD8⁺ T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 270-274. DOI: 10.1038/s41586-019-1170-y.
- [35] Wan C, Sun Y, Tian Y, et al. Irradiated tumor cell - derived microparticles mediate tumor eradication via cell killing and immune reprogramming [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(13): eaay9789. DOI: 10.1126/sciadv.aay9789.
- [36] Li H, Zhang X, Yi C, et al. Ferroptosis-related gene signature predicts the prognosis in oral squamous cell carcinoma patients [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 835. DOI: 10.1186/s12885-021-08478-0.
- [37] Sato H, Shiiya A, Kimata M, et al. Redox imbalance in cystine/ glutamate transporter-deficient mice [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 37423-37429. DOI: 10.1074/jbc.M506439200.

(收稿日期:2021-02-08)

(本文编辑:王嫚)