

铁死亡在非酒精性脂肪性肝炎发生发展中作用的研究进展

梁通, 宋丽娟, 王昀*

(中国药科大学药物科学研究所, 江苏 南京 211198)

[摘要] 铁死亡是铁依赖性的脂质过氧化物致死性堆积诱发的细胞死亡。胞内铁超载以及大量活性氧 (ROS) 积蓄催化细胞膜上高表达的不饱和脂肪酸过氧化, 从而诱导细胞死亡。自噬、凋亡等细胞程序化死亡在非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 的发生发展中发挥关键作用。有研究发现铁死亡直接参与单纯性脂肪肝发展到 NASH 的进程, 抑制铁死亡, 几乎可以完全抑制 NASH 发生。通过对铁死亡是否参与 NASH 的进展进行综述, 以期对 NASH 机制研究与临床治疗提供新的参考。

[关键词] 铁死亡; 活性氧; 非酒精性脂肪性肝炎

[中图分类号] R575.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2021) 09-0715-08

Research Progress on the Role of Ferroptosis in the Development of Non-alcoholic Steatohepatitis

LIANG Tong, SONG Lijuan, WANG Yun

(Institute of Pharmaceutical Sciences, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] Ferroptosis refers to cell death induced by lethal accumulation of iron-dependent lipid peroxides. Intracellular iron overload and accumulation of a large amount of reactive oxygen species (ROS) catalyze the peroxidation of unsaturated fatty acids highly expressed on the cell membrane, thereby inducing cell death. Programmed cell death such as autophagy and apoptosis plays an important role in the occurrence and progression of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Research findings show that ferroptosis is directly involved in the development from simple fatty liver to NASH, inhibiting ferroptosis and almost completely inhibiting the occurrence of NASH. This review focuses on whether iron death is involved in the progression of NASH, which is expected to provide new reference for the mechanism research and clinical treatment of NASH.

[Key words] ferroptosis; reactive oxygen species; nonalcoholic steatohepatitis

2003年, 研究人员意外发现小分子化合物 erastin 靶向细胞的电压依赖性银离子通道 2/3 (voltage dependent anion-selective channel, VDAC2/3) 以非凋亡死亡形式选择性杀伤肿瘤细胞, 这是铁死亡首次进入科研人员的视线^[1]。直到2018年细胞死亡命名委员会 (Nomenclature Committee Cell Death, NCCD) 正式将铁死亡定义为新型细胞死亡, 即胞内微环境扰动, 铁依赖性的细胞程序化死亡^[2]。通过电镜观察细胞肿胀、线粒体凝缩外膜破裂和嵴减少等超微结构变化, 是判断铁死亡发生的金标准^[3]。细胞死亡后向微环境中释放大量的脂质过氧化物产物, 如丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 和 4-羟基壬烯酸 (4-hydroxynonenal, 4-HNE), 显著增强肝氧

化应激态^[4]。

普遍认为脂肪变性、铁超载、氧化应激和线粒体功能失调等是促进非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 发生发展的重要原因。目前 NAFLD 向非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 的转化机制不明, 针对 NASH 的特效治疗药物尚未上市。临床治疗 NASH 采用运动减肥, 并辅用吡格列酮、维生素 E 等药物缓解 NASH 病理表征, 但不能完全逆转患者 NASH 表型^[5], NASH 治疗亟待发现新的靶点。2019年日本 Minoru Tanaka 研究小组在胆碱缺乏同时补充乙硫氨酸的 NASH 模型小鼠身上发现, 铁死亡是脂肪肝中最先发生的细胞死亡形式, 特异性抑制肝细胞铁死亡, 肝组织炎症几乎被完全抑制^[6]。NASH 患者临床检测结果显示血清铁蛋白和肝铁过载现象普遍存在^[7], 而铁超载被认为是铁死亡发生的生化特征; 同时, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS)

接受日期: 2021-04-21

* 通信作者: 王昀, 博士;

研究方向: 肝肠毒方向;

Tel: 13770723227; E-mail: 337487539@qq.com

相关的氧化应激也是 NASH 发生发展的重要参与者, 胞内的脂质代谢失衡导致 ROS 大量积蓄, 是判断铁死亡发生的重要表征^[8]。NASH 临床表现出铁死亡相关的生化特征, 提示铁死亡可能是临床患者 NAFLD-NASH 转化的重要参与者。

1 铁死亡

铁在胞质内大量积蓄, 并通过芬顿反应(Fenton)生成非酶介导的亲脂性 ROS, 是铁死亡发生的必需途径。使用铁螯合剂和亲脂性抗氧化剂, 分别从缓解细胞内铁超载压力及抑制细胞内 ROS 积蓄 2 个方面来缓解铁死亡^[9]。迄今为止, 通过电镜观察线粒体结构超微结构变化依旧是判断铁死亡发生的唯一标准, 尚未发现铁死亡特异性生物标志物^[3]。

1.1 铁超载促进铁死亡发生

维持细胞正常生命活动的前提是必须保证胞内铁离子浓度稳态。当发生铁代谢紊乱时, 常导致 Fe^{2+} 在细胞内大量积蓄, 诱发铁死亡。细胞通过转铁蛋白/转铁蛋白受体系统将胞外非血红素铁导入细胞, 沉默转铁蛋白基因有效缓解细胞内铁超载, 显著抑制细胞铁死亡^[10]。前列腺上皮跨膜蛋白 3 (six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 3, STEAP3) 是金属还原酶家族 STEAP 一员, 具有亚铁还原酶活性, 可将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 。敲除 STEAP 3 基因可显著减少胞内 Fe^{2+} 积蓄, 抑制肝细胞铁死亡, 改善肝移植患者愈后^[11]; 游离 Fe^{2+} 以含水氧化铁纳米颗粒的形式安全稳定的储存在铁蛋白 (ferritin light, FT) 内, 是机体维持细胞内铁离子氧化还原动态平衡的重要策略^[12]; 高尔基体空泡蛋白分选蛋白 (vacuolar protein-sorting protein, VPS) 转运系统调控 FT 靶向转移到溶酶体, 扰乱 VPS 系统, 使得 Fe^{2+} 在胞内大量积蓄, H_2O_2 在 Fe^{2+} 存在下生成羟基自由基具有强氧化能力, 开启链式反应, 在细胞内实现非酶促脂质过氧化反应生成 ROS, 细胞铁死亡敏感性升高^[13-14]。

1.2 活性氧积蓄驱动铁死亡发生

铁死亡被认为是一种脂质氢过氧化物积累驱动的细胞死亡模式^[15]。肾上腺皮质癌细胞系 NCI-H295R 在正常培养时自发铁死亡, 需要额外补充

转铁蛋白和硒元素抑制自发铁死亡现象。但用加入了转铁蛋白等添加剂, 且富含多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 的培养基培养时, NCI-H295R 仍会自发铁死亡。通过外源性给予单不饱和脂肪酸 (monounsaturated fatty acid, MUFA) 替代 PUFA 与膜磷脂结合, 膜内 ROS 的积蓄被抑制, 细胞表现出抗铁死亡表型^[16-17]。这些研究结果表明铁死亡发生过程中 PUFA 参与的膜磷脂酰化, 是铁死亡发生的必要环节。

长链脂酰辅酶 A 合成酶 4 (long chain acyl-coa synthetase 4, ACSL4) 是 PUFA 过氧化上游代谢酶, 并在 NASH 患者中显著高表达^[18]。ACSL4 激活 PUFA 生成乙酰化多不饱和脂肪酸 (acetylated polyunsaturated fatty acid, PUFA-CoA)。PUFA-CoA 在溶血卵磷脂酰基转移酶 3 (recombinant lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3) 等代谢酶的作用下掺入细胞膜, 与膜磷脂结合生成含有 PUFA 的磷脂分子, 掺有 PUFA 的磷脂分子被胞质内 O_2 、ROS 等氧化物以非酶氧化方式生成脂质氢过氧化物 (lipid hydroperoxide, LOOH), Fe^{2+} 通过 Fenton 反应催化脂质活性氧 (lipid reactive oxygen species, L-ROS) 生成, 是铁死亡发生的必需驱动力^[19-20]。高表达 ACSL4, 加速 PUFA 代谢, 导致脂质过氧化物 (lipid peroxide, LPO) 积蓄诱发铁死亡^[21-22]。

NASH 理论上 NAFLD 向肝细胞癌发展的初始阶段, 随着肝组织中脂质过度积蓄, 造成脂毒性继而引发炎症, 约 20% 的 NAFLD 患者会进展为 NASH, 继而恶化为肝硬化甚至肝癌。随着经济发展, 人们的物质生活水平不断丰富, 该病的发病率呈上升趋势。而 1980 年 Ludwig 等^[23]对 NAFLD 的定义为“没有大量酒精摄入时出现的脂肪性肝病”, 极易在患者对自己病症判断时造成误导, 因此, 2020 年国际专家组建议以代谢相关脂肪性肝病 (metabolic associated fatty liver disease, MAFLD) 取代现有命名 NAFLD^[24]。MAFLD 是一类慢性肝病的统称, 包括单纯性脂肪肝、NASH、肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌。MAFLD 近年来患病率逐年上升, 2020 年全球有近 10 亿人患病, 对社会医疗和经济造成了剧

烈冲击, 成为世界性公共卫生问题。令人担忧的是, 越来越多的儿童和青少年被诊断出 MAFLD, 并可能伴有与 MAFLD 密切相关的肝脏和心血管并发症甚至恶性肿瘤。NASH 是 MAFLD 中的转折点, 病情进展到 NASH 期, 普适的临床治疗手段失去效果, 当病情进展到终末期时, 高风险肝移植成为唯一治疗手段, 并且术后可能再次复发。NASH 是一个复杂的失调性疾病, 其复杂的发病机制导致 NASH 亚型的多元性, 目前临床上把病人简单分为 NASH 和非 NASH 已经不再适合 NASH 临床治疗, 这不仅要求 NASH 的临床诊断手段需要具有极高的灵敏性, 更要求广大的基础药学者们需要更多的研究来描述 NASH 疾病的全貌, 精确定义疾病的亚型。使得临床医生得到患者的诊断结果后, 可以根据不同 NASH 亚型致病因素的区别进行合理的判断, 实现精准药物治疗。

2 非酒精性脂肪性肝炎的诊断和治疗

肝组织活检是临床检测 NASH 的金标准, 以大泡性或以大泡性为主的混合型肝细胞脂肪变性为主要诊断特征^[25]。肝活检耐受性差, 容易出现肝组织出血等并发症。临床患者急需无不良反应且耐受性好的无创检测手段, 如血清生化检查、影像学检查等方法。临床使用核磁共振质子检测密度脂肪分数对肝脏脂肪含量进行定量, 使用磁共振弹性成像和瞬时弹性成像等技术对肝纤维化指数和血生化指标进行检测, 以上综合评定 NASH 进展程度的方法在临床实践中表现出替代肝活检检测 NASH 的潜力^[26]。

与飞速发展的诊断手段相比, 有关 NASH 的发病机制的研究进展缓慢。虽然有新的假说提出, 也仅仅是从“二次打击理论”认为的脂类在肝细胞的细胞质内的聚集(第 1 次打击)触发了一系列的细胞毒素事件(第 2 次打击), 导致了肝脏的炎症反应, 发展为“多次打击理论”认为的 NASH 的发生发展是多种因素共同“努力”的结果, 包括胰岛素抵抗、脂肪组织分泌的激素、营养因子、肠道菌群释放的内毒素(脂多糖)、铁沉积和氧化应激损伤等, 这些因素作用于肝实质细胞, 从而驱动 NASH 的发展^[27]。这并没有进一步阐述脂质稳

态、炎症和肝脏病变之间的潜在联系及调控机制。NASH 药物研究的靶点主要从代谢、抗炎和抗纤维化 3 个方面选取靶点。这些药物虽然针对 NASH 纤维化阶段的治疗效果优异, 能缓解 NASH 发展, 并一定程度上改善患者病症, 降低并发症的发生率, 但是仍不能实现 NASH 到健康的逆转^[28]。本文统计了通过改变生活方式以及近期靶向上述靶点治疗 NASH 的药物的临床研究现状(见表 1)。

3 铁死亡与非酒精性脂肪性肝炎

现在 NASH 的临床治疗药物多是靶向代谢、炎症或纤维化角度选取的治疗靶点, 虽然可以缓解 NASH 纤维化等部分表征, 但是无法彻底治愈 NASH, 并且用药时常伴有强烈的不良反应, 因此, 临床医生们迫切需要疗效强、不良反应弱的治疗药物治疗 NASH。而药学工作中需要做的就是为他们提供靶向性更强更有效的新型治疗靶点。2019 年 Tsurusaki 等^[6]在小鼠的胆碱缺乏同时补充乙硫氨酸的饮食模型中发现, 使用铁螯合剂 deferiprone 可以显著地缓解脂肪性肝炎发生时的临床症状和血生化指标, 几乎完全阻止肝炎的发生, 证实铁死亡是 NASH 发生发展的重要参与者。同时 Tsuchida 等^[35]在蛋氨酸胆碱缺乏饮食诱导的 NASH 小鼠模型中证实了铁死亡的发生, 给予铁死亡抑制剂后, 肝细胞内脂滴堆积减少, 肝脂肪变性显著改善。在临床表征与 NASH 患者最接近的高糖高脂模型中, 额外给予低铁饲料饲养的模型小鼠, 细胞铁死亡敏感性降低, NASH 的发展被限制^[36]。铁死亡的细胞的多种脂质过氧化产物作为预炎性物质促进 NASH 发生发展, 如大量的 ROS 引起的炎症可能是 NASH 发病机制之一, 通过罗格列酮抑制 ACSL4, 减少肝组织内氧化应激态, 缓解 NASH 发生发展^[37-40]。这些证据显示铁死亡与 NASH 的发生发展可能息息相关。

3.1 铁过载诱发铁死亡诱导非酒精性脂肪性肝炎发生发展

十二指肠肠上皮细胞经过二价金属离子转运体-1 (divalent metal-ion transporter-1, DMT1) 吸收饮食中的 Fe^{3+} , 同时将 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , 通过膜铁转运蛋白 (ferroportin, FPN) 外排进血液, 在血

液中与铁蛋白结合形成血红素铁转运到身体各处^[41]。肝门脉循环的首过效应, 使得肝脏铁暴露量远大于

其他组织, 导致肝脏结构功能病理变化, 造成肝损伤和多种并发症^[42-43]。

表 1 非酒精性脂肪性肝炎药物临床研究进展

Table 1 Progress of clinical research on drugs against non-alcoholic steatohepatitis

药物类别	药物名称	实验类型	目标人群	人数 (n)	治疗方法	治疗效果	缺点	临床试验阶段	前景	参考文献
—	非药物治疗	RCT	所有 NASH 类型	39	通过改变生活方式、营养咨询或锻炼	NAS 降低, AST、ALT 降低	临床调查缺乏标准化、缺乏长期实验数据		作为 NASH 的基础手段辅助药物治疗	[29]
FXR 激动剂	OCA	双盲、多中心、RCT	所有 NASH 类型且年龄小于 75 岁	2 480	OCA (iv) vs 安慰剂	短期各种组织特征改善, NASH 全阶段纤维化改善	IR, TC、LDL 升高	III 期	与其他类型药物联用改善肝纤维化	[30]
PPAR 激动剂	吡格列酮	双盲、多中心、RCT	NASH 并发 T2DM, 年龄小于 75 岁	176	吡格列酮口服 vs 安慰剂	NAS 降低, AST、ALT 降低, 脂肪变性减弱	体质量增加、水肿、骨折风险	IV 期	特异性第二代 PPAR- γ 激动剂研究	[31]
肝肠轴药物	NGM282	双盲、多中心、RCT	NAS > 4, 18-75 岁	250	NGM282 (iH) vs 安慰剂	NAS 降低, 脂肪含量迅速而显著降低	腹泻、腹痛、恶心	II 期	安全性研究	[32]
ASK1 抑制剂	sonometric	双盲、多中心、RCT	II~III 期 HF, 年龄小于 75 岁	72	simtuzumab 口服 vs simtuzumab (iv) vs 安慰剂	NAS 降低, LF 显著缓解, 脂肪变性减弱	头痛、恶心、鼻窦炎、肝酶升高	III 期	NASH 晚期纤维化, 联合给药治疗	[33]
CCR2/CCR5 抑制剂	cenicriviroc	双盲、多中心、RCT	NAS \geq 4, SAF I~III 期, MET \geq 1	812	CVC(iv) vs 安慰剂	NAS 改善 \geq 2, LF 改善	尿酸升高、无症状淀粉酶升高	III 期	耐药性及安全性研究	[34]

FXR: farnesoid X receptor (法尼醇 X 受体); PPAR: peroxisome proliferators-activated receptors (过氧化物酶体增殖物激活受体); ASK1: apoptosis signal regulating kinase-1 (凋亡信号调节激酶 1); CCR2/CCR5: chemokines receptors 2/5 (趋化因子受体 2/5); OCA: obeticholic acid (奥贝胆酸); RCT: randomized controlled trial (随机对照试验); NAS 评分: nonalcoholic fatty liver disease activity score (非酒精性脂肪肝活动评分); SAF: steatosis activity fibrosis (肝纤维化评分); LF: liver fibrosis (肝纤维化); MET: metabolic equivalent (代谢当量); iv: intravenous injection (静脉注射); iH: hypodermic injection (皮下注射); IR: insulin resistance (胰岛素抵抗); TC: total cholesterol (血清总胆固醇); LDL: low density lipoprotein (低密度脂蛋白); vs: versus (对照); T2DM: diabetes mellitus type 2 (2 型糖尿病); HF: hepatic fibrosis (肝纤维化); CVC: cenicriviroc (西尼韦罗); AST: glutamic oxaloacetic transaminase (谷草转氨酶); ALT: glutamic pyruvic transaminase (丙谷转氨酶); NASH: nonalcoholic steatohepatitis (非酒精性脂肪性肝炎)

注: NAS 评分为对肝脏的脂肪变性、小叶炎症和肝细胞气球样变 3 项组织学特征进行评分, 评估脂肪肝受损的严重程度, NAS > 4 的患者患有 NASH; SAF 评分为 0 为无纤维化, 1 为仅门静脉周围纤维化, 2 为窦周纤维化合并门静脉纤维化, 3 为桥连纤维化, 4 为肝硬化。

临床检测发现慢性肝病常伴有血清铁蛋白升高, 血清铁蛋白是临床检测机体铁稳态的生物标志物, 当血清中铁蛋白含量异常时, 肝脏作为负责清除血清铁蛋白的脏器超负荷运转进一步加重了肝脏损伤^[38]。间质隔室检测出铁超载的 MAFLD 患者进展为 NASH 的风险高于其他亚型^[44]。另一方面, 肝脏是机体内重要的铁库, 约占机体储存铁含量 1/3, 肝组织铁代谢失调导致大量游离铁的产生, 肝组织细胞对铁死亡的敏感性显著提升^[45]。胞内不稳定铁成分增加, 通过 Fenton 化学反应和哈伯-韦斯 (Haber-Weiss) 反应促进了高反应性自由基 (例如羟基自由基) 的形成, 诱导了长链 PUFA 的消耗, 促进轻度微泡产生和大泡脂肪变性从而诱发肝脂肪变性和炎症, 缺铁饮食和使用维生素 E 等抗氧化剂可显著缓解肝病的发生发展^[46-49]; NASH 患者组织

切片显示炎症相关巨噬细胞聚集处是从门脉三叉向周围区域扩散, 分布模式与肝铁沉积模式相似^[50]。高胆固醇饮食 (high cholesterol-containing diet, HFCD) NASH 模型小鼠中铁调素 mRNA 转录水平显著升高, 大量肝细胞 FPN 降解, 细胞铁含量过载, 肝细胞铁死亡敏感性显著升高^[51-52], 铁超载刺激脂滴形成导致肝脂肪变性、巨噬细胞 M1 活化、促进肝纤维化、促进 NASH 发展^[53-54]。

3.2 活性氧所致的铁死亡诱导非酒精性脂肪性肝炎发生发展

将 PUFA 的氧化物掺入磷脂中是铁死亡的核心步骤, 储存有大量脂滴的肝细胞, 受到外界刺激引起代谢异常, 铁死亡敏感性升高^[20,55], 研究证明铁死亡是脂肪变性的结果之一。细胞死亡后向外界环境中释放出大量的脂质过氧化产物, 促进炎症发展。

过氧化次级产物 MDA 和 4-HNE 参与 NASH 发生发展的所有阶段, 是 NASH 多种组织学特征的“始作俑者”^[56]。

肝细胞脂滴内沉积大量 PUFA 激活肝细胞线粒体应激, 破坏线粒体呼吸链功能, 直接导致线粒体产生大量 ROS^[57], 同时触发相邻线粒体 ROS 产生与释放, 不同空间位置的线粒体, 通过特殊的 ROS 介导的信号传输网络相互串扰激活, 使得细胞内的氧化还原失衡的信号在这些网络中传播放大, 加速细胞内 ROS 积蓄, 从而细胞对铁死亡敏感性升高^[40,58]。细胞死亡后释放出大量的 ROS, 改变肝细胞生存环境, 进一步促进细胞发生铁死亡、凋亡或自噬, 从而促进炎症和肝纤维化的发生发展^[59]。

3.3 其他

NASH 患者 ACSL4 蛋白表达水平显著升高, ACSL4 优先选择将花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 酰基化, 促进 AA 与膜磷脂结合形成花生四烯酸酰化的膜磷脂分子, 细胞对铁死亡敏感性升高^[25]。敲除 ACSL4 基因后, 细胞对铁死亡诱导剂的敏感性显著降低, 缓解肝损伤^[60]。

蒿甲醚通过促进肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 的铁和脂质过氧化物的积累触发铁死亡发挥抗纤维化作用, 给予比酚类抗氧化剂铁抑素-1 (ferrostatin-1, Fer-1) 抑制铁死亡后, 蒿甲醚就丧失抗纤维化作用^[61]; 索拉菲尼在治疗晚期肝癌时, 上调胚胎期致死异常视觉果蝇样 1/Hu 抗原 R (embryonic lethal abnormal vision drosophila-like 1/ Hu antigen R, ELAVL1/HuR) 表达和下调 ZFP36 表达, 从而增强 HSC 对铁死亡的敏感性, 促进 HSC 铁死亡, 并抑制 HSC 活化, 减轻肝纤维化^[62-63]。

肝细胞铁死亡后释放出大量铁离子, 巨噬细胞

回收大量铁离子后, 胞内铁积累会促进巨噬细胞向促炎症方向极化、以及通过 Toll 样受体 4 (toll like receptor4, TLR4) / β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TRIF) 通路促进肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎因子的表达。此外, 铁元素还被报道可以调控巨噬细胞内的三羧酸循环 (TCA), 进而调控细胞因子的产生^[64]; 扰乱肝驻留巨噬细胞对炎症区域调节能力, 大量促炎因子释放到外周血内, 并募集大量免疫细胞到受损区域, 铁过载也会提升 T 细胞内 ROS 水平, 造成 DNA 损伤、降低 T 细胞响应能力。在分子机制上, 铁离子可以在转录后调控层面调控细胞因子的产生、可能通过 Tet 蛋白负调控 DNA 甲基化、通过细胞色素的氧化还原过程调控 T 细胞线粒体功能^[65], 进一步促进炎症发生发展。

4 结语与展望

NAFLD 是世界上许多地方引起慢性肝病的主要原因, 2020 年我国一般人群中患病率为 29.81%^[66]。迄今为止, 中国市场上尚无药物被批准用于临床治疗 NASH^[33], 临床主流治疗手段是调节性饮食运动与药物辅助治疗相结合, 但是由于安慰剂效应和患者个体性差异等原因, 目前缺少确切的实验数据证明运动及饮食疗效的优秀和稳定^[33]。

铁死亡作为一种脂质过氧化依赖性细胞死亡, 细胞死亡后释放出大量的脂质过氧化物, 从这些化学物质角度分析可以解释许多临床 NASH 患者病理性的组织学结构。并且 NASH 患者检测出的铁超载状态以及与脂质过氧化物表征, 与肝炎发展密不可分。进一步对铁死亡机制进行深入研究, 有望为发现新的 NASH 治疗靶点提供新的研究方向。

[参考文献]

- [1] Dolma S, Lessnick S L, Hahn W C, *et al.* Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells[J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(3): 285-296.
- [2] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S A, *et al.* Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3): 486-541.
- [3] Angeli J P F, Schneider M, Proneth B, *et al.* Inactivation of the ferroptosis regulator GPX4 triggers acute renal failure in mice[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(12): 1180-1191.
- [4] Mao L H, Zhao T M, Song Y, *et al.* The emerging role of ferroptosis in non-cancer liver diseases: hype or increasing hope?[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7): 518-531.

- [5] Stefan N. New pharmacological treatment options for nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Internist (Berl)*, 2020, 61(7): 759–765.
- [6] Tsurusaki S, Tsuchiya Y C, 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): 449–463.
- [7] Marmur J, Beshara S, Eggertsen G, *et al.* Hepcidin levels correlate to liver iron content, but not steatohepatitis, in non-alcoholic fatty liver disease[J/OL]. *BMC Gastroenterology*, 2018, 18(1): 78[2021-03-20]. <https://bmcgastroenterol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12876-018-0804-0>.
- [8] Day C P, James O F. Steatohepatitis: a tale of two “Hits”[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842–845.
- [9] Stockwell B R, Friedmann A J P, Bayir H, *et al.* Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273–285.
- [10] Gao M H, Monian P, Quadri N, *et al.* Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis[J]. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 298–308.
- [11] Guo W Z, Fang H B, Cao S L, *et al.* Six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 3 deficiency in hepatocytes protects the liver against ischemia-reperfusion injury by suppressing transforming growth factor- β -activated kinase 1[J]. *Hepatology*, 2020, 71(3): 1037–1054.
- [12] Moreira A C, Mesquita G, Gomes M S. Ferritin: an inflammatory player keeping iron at the core of pathogen-host interactions[J/OL]. *Microorganisms*, 2020, 8(4): 589[2021-03-20]. <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/4/589>. DOI: 10.3390/microorganisms8040589.
- [13] Hirayama T, Inden M, Tsuboi H, *et al.* A golgi-targeting fluorescent probe for labile Fe(II) to reveal an abnormal cellular iron distribution induced by dysfunction of VPS35[J]. *Chem Sci*, 2018, 10(5): 1514–1521.
- [14] Golberg L, Martin L E, Leigh J. Biochemical changes in the tissues of animals injected with iron. 4. the nature of acid-phosphatase activity[J]. *Biochem J*, 1962, 85(1): 56–67.
- [15] Narayanan D, Madsen K S, Kalinyak J E, *et al.* Interpretation of positron emission mammography: feature Analysis and rates of malignancy[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2011, 196(4): 956–970.
- [16] Belavgeni A, Bornstein S R, Von M A, *et al.* Exquisite sensitivity of adrenocortical carcinomas to induction of ferroptosis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(44): 22269–22274.
- [17] Magtanong L, Ko P J, To M, *et al.* Exogenous monounsaturated fatty acids promote a ferroptosis-resistant cell state[J]. *Cell Chem Biol*, 2019, 26(3): 420–432.
- [18] Doll S, Proneth B, Tyurina Y Y, *et al.* ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91–98.
- [19] Basit F, Van O L M, Schöckel L, *et al.* Mitochondrial complex I inhibition triggers a mitophagy-dependent ROS increase leading to necroptosis and ferroptosis in melanoma cells[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(3): e2716[2021-03-20]. <https://www.nature.com/articles/cddis2017133>. DOI: 10.1038/cddis.2017.133.
- [20] Seebacher F, Zeigerer A, Kory N, *et al.* Hepatic lipid droplet homeostasis and fatty liver disease[J/OL]. *Semin Cell Dev Biol*, 2020, 108: 72–81[2021-03-20]. <https://doi.org/10.1016/j.semedb.2020.04.011>.
- [21] Doll S, Proneth B, Tyurina Y Y, *et al.* ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91–98.
- [22] Feng H Z, Stockwell B R. Unsolved mysteries: how does lipid peroxidation cause ferroptosis?[J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(5): e2006203[2021-03-20]. <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.2006203>.
- [23] Ludwig J, Viggiano T R, McGill D B, *et al.* Nonalcoholic steatohepatitis: mayo clinic experiences with a hitherto unnamed disease[J]. *Mayo Clin Proc*, 1980, 55(7): 434–438.
- [24] Eslam M, Sanyal A J, George J, *et al.* MAFLD: a consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7): 1999–2014.
- [25] Schuster S, Cabrera D, Arrese M, *et al.* Triggering and resolution of inflammation in NASH[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(6): 349–364.
- [26] Imajo K, Kessoku T, Honda Y, *et al.* Magnetic resonance imaging more accurately classifies steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease than transient elastography[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(3): 626–637.
- [27] Borrelli A, Bonelli P, Tuccillo F M, *et al.* Role of gut microbiota and oxidative stress in the progression of non-alcoholic fatty liver disease to hepatocarcinoma: current and innovative therapeutic approaches[J/OL]. *Redox Biol*, 2018, 15: 467–479[2021-03-20].

- <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.01.009>.
- [28] Van K S, Coyle D, Cooper C, *et al*. Transient elastography for the diagnosis of liver fibrosis: a systematic review of economic evaluations[J]. *Liver Int*, 2017, 37(6): 851–861.
- [29] Glass O, Filozof C, Nouredin M, *et al*. Standardisation of diet and exercise in clinical trials of NAFLD-NASH: recommendations from the liver forum[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(3): 680–693.
- [30] Ratziu V, Sanyal A J, Loomba R, *et al*. Regenerate: design of a pivotal, randomised, phase 3 study evaluating the safety and efficacy of obeticholic acid in patients with fibrosis due to nonalcoholic steatohepatitis[J/OL]. *Contemp Clin Trials*, 2019, 84: 105803[2021-03-20]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1551-7144\(19\)30128-4](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1551-7144(19)30128-4). DOI: 10.1016/j.cct.2019.06.017.
- [31] Bril F, Kalavalapalli S, Clark V C, *et al*. Response to pioglitazone in patients with nonalcoholic steatohepatitis with vs without type 2 diabetes[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(4): 558–566.
- [32] Harrison S A, Rinella M E, Abdelmalek M F, *et al*. NGM282 for treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial[J]. *Lancet*, 2018, 391(10126): 1174–1185.
- [33] Loomba R, Lawitz E, Mantry P S, *et al*. The ASK1 inhibitor selonsertib in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, phase 2 trial[J]. *Hepatology*, 2018, 67(2): 549–559.
- [34] Li X Y, Wang T X, Huang X M, *et al*. Targeting ferroptosis alleviates methionine-choline deficient (MCD)-diet induced NASH by suppressing liver lipotoxicity[J]. *Liver Int*, 2020, 40(6): 1378–1394.
- [35] Tsuchida T, Lee Y A, Fujiwara N, *et al*. Corrigendum to “A simple diet- and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer”[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(4): 385–395.
- [36] Wei S, Qiu T M, Wang N N, *et al*. Ferroptosis mediated by the interaction between MFN2 and IREa promotes arsenic-induced nonalcoholic steatohepatitis[J/OL]. *Environ Res*, 2020, 188: 109824[2021-03-20]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013-9351\(20\)30719-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013-9351(20)30719-2). DOI: 10.1016/j.envres.2020.109824.
- [37] Yang Z D, Wu J, Li X X, *et al*. Association between dietary iron intake and the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study[J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(43): e17613[2021-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6824640/>. DOI: 10.1097/MD.00000000000017613.
- [38] Eder S K, Feldman A, Strebinger G, *et al*. Mesenchymal iron deposition is associated with adverse long-term outcome in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Liver Int*, 2020, 40(8): 1872–1882.
- [39] Zelber-Sagi S, Ivancovsky-Wajcman D, Fliss-Isakov N, *et al*. Serum malondialdehyde is associated with non-alcoholic fatty liver and related liver damage differentially in men and women[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(7): 578–593.
- [40] Piperno A, Pelucchi S, Mariani R. Inherited iron overload disorders[J/OL]. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5: 25[2021-03-20]. <https://tgh.amegroups.com/article/view/5608/html>. DOI: 10.21037/tgh.2019.11.15.
- [41] Wang J, Pantopoulos K. Regulation of cellular iron metabolism[J]. *Biochem J*, 2011, 434(3): 365–381.
- [42] Brammer J E. Dual PI3K blockade: PTCL’s achilles heel?[J]. *Blood*, 2018, 131(8): 839–840.
- [43] Murphree C R, Nguyen N N, Raghunathan V, *et al*. Diagnosis and management of hereditary haemochromatosis[J]. *Vox Sang*, 2020, 115(4): 255–262.
- [44] Eder S K, Feldman A, Strebinger G, *et al*. Mesenchymal iron deposition is associated with adverse long-term outcome in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Liver Int*, 2020, 40(8): 1872–1882.
- [45] Wang S H, Luo J, Zhang Z H, *et al*. Iron and magnetic new research direction of the ferroptosis-based cancer therapy[J]. *Am J Cancer Res*, 2018, 8(10): 1933–1946.
- [46] Pai A B. Iron oxide nanoparticle formulations for supplementation[J/OL]. *Met Ions Life Sci*, 2019, 19: 157–180[2021-03-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30855107/>. DOI: 10.1515/9783110527872-012.
- [47] Valenzuela R, Rincón-Cervera M Á, Echeverría F, *et al*. Iron-induced pro-oxidant and pro-lipogenic responses in relation to impaired synthesis and accretion of long-chain polyunsaturated fatty acids in rat hepatic and extrahepatic tissues[J/OL]. *Nutrition*, 2018, 45: 49–58[2021-03-20]. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.07.007>.
- [48] Qi J, Kim J W, Zhou Z, *et al*. Ferroptosis Affects the progression of nonalcoholic steatohepatitis via the modulation of lipid peroxidation-mediated cell death in mice [J]. *Am J Pathol*, 2020, 190(1):68–81.
- [49] Protchenko O, Baratz E, Jadhav S, *et al*. Iron chaperone poly rC binding protein 1 protects mouse liver from lipid peroxidation and

- steatosis[J]. *Hepatology*, 2021, 73(3): 1176–1193.
- [50] Yamauchi A, Kamiyoshi A, Sakurai T, *et al.* Development of a mouse iron overload-induced liver injury model and evaluation of the beneficial effects of placenta extract on iron metabolism[J/OL]. *Heliyon*, 2019, 5(5): e01637[2021-03-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6515419/>. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01637.
- [51] Higuchi T, Moriyama M, Fukushima A, *et al.* Association of mRNA expression of iron metabolism-associated genes and progression of non-alcoholic steatohepatitis in rats[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(40): 26183–26194.
- [52] Geng N, Shi B J, Li S L, *et al.* Knockdown of ferroportin accelerates erastin-induced ferroptosis in neuroblastoma cells[J]. *Eur Rev Med Pharm Sci*, 2018, 22(12): 3826–3836.
- [53] Ahmed U, Latham P S, Oates P S. Interactions between hepatic iron and lipid metabolism with possible relevance to steatohepatitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(34): 4651–4658.
- [54] 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.
- [55] Turchi R, Tortolici F, Guidobaldi G, *et al.* Frataxin deficiency induces lipid accumulation and affects thermogenesis in brown adipose tissue[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(1): 51–73.
- [56] 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.
- [57] Wang J, He W P, Tsai P J, *et al.* Mutual interaction between endoplasmic reticulum and mitochondria in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 72–91.
- [58] Bertero E, Maack C. Calcium signaling and reactive oxygen species in mitochondria[J]. *Circ Res*, 2018, 122(10): 1460–1478.
- [59] Zhang Y, Shen W, Zhang P, *et al.* GSH-triggered release of sulfur dioxide gas to regulate redox balance for enhanced photodynamic therapy[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2020, 56(42): 5645–5648.
- [60] Chen L Da, Wu R H, Huang Y Z, *et al.* The role of ferroptosis in chronic intermittent hypoxia-induced liver injury in rats[J]. *Sleep Breath*, 2020, 24(4): 1767–1773.
- [61] Wang L, Zhang Z L, Li M M, Wang F X, *et al.* P53-dependent induction of ferroptosis is required for artemether to alleviate carbon tetrachloride-induced liver fibrosis and hepatic stellate cell activation[J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(1): 45–56.
- [62] Zhang Z L, Yao Z, Wang L, *et al.* Activation of ferritinophagy is required for the RNA-binding protein ELAVL1/HuR to regulate ferroptosis in hepatic stellate cells[J]. *Autophagy*, 2018, 14(12): 2083–2103.
- [63] Zhang Z L, Guo M, Li Y J, *et al.* RNA-binding protein ZFP36/TTP protects against ferroptosis by regulating autophagy signaling pathway in hepatic stellate cells[J]. *Autophagy*, 2020, 16(8): 1482–1505.
- [64] Pereira M, Chen T D, Buang N, *et al.* Acute iron deprivation reprograms human macrophage metabolism and reduces inflammation *in vivo*[J]. *Cell Rep*, 2019, 28(2): 498–511.
- [65] Wang Z Z, Yin W J, Zhu L Z, *et al.* Iron drives T helper cell pathogenicity by promoting RNA-binding protein PCBP1-mediated proinflammatory cytokine production[J]. *Immunity*, 2018, 49(1): 80–92.
- [66] Lonardo A, Suzuki A. Sexual dimorphism of NAFLD in adults. Focus on clinical aspects and implications for practice and translational research[J/OL]. *J Clin Med*, 2020, 9(5): 1278[2021-03-20]. <https://doi.org/10.3390/jcm9051278>.



【专家介绍】王昀：女，博士。现任中国药科大学新药安全评价研究中心项目负责人，江苏省毒理学会理事，中国毒理学会中药毒理专委会青年委员，江苏省毒理学会青委会、基础研究分委会委员，长期从事药物药理毒理研究工作。工作以来，共计承担完成安全性评价或毒理学实验 61 项，承担并完成江苏省自然科学基金青年项目 1 项，国家自然科学基金青年项目 1 项，参与 2 项国家“重大新药创制”项目及多项国家自然科学基金面上项目。