

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002701

ApoE^{-/-} 高脂模型小鼠肝脏转录组铁死亡潜在分子网络互作的初步探讨

张 新¹, 陈文娜²

(辽宁中医药大学 1. 研究生学院; 2. 教学实验中心, 沈阳 110000)

【摘要】目的:对 ApoE^{-/-} 高脂模型小鼠肝脏中铁死亡相关差异基因的生物过程和信号通路进行分析, 构建肝脏内铁死亡的分子调控网络, 从转录水平揭示高脂血症的发病机制。**方法:**C57BL/6J 小鼠 7 只作为空白对照组, ApoE^{-/-}小鼠 7 只作为模型组, 对照组和模型组分别给予普通饲料和高脂饲料, 16 周后检测小鼠的甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL-C)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL-C)血清水平, 并对肝脏取材进行 HE 染色及转录组分析。应用 Graph-Pad Prism 8.0.2 软件分析铁死亡相关差异基因分布情况, 通过 STRING11.0 平台构建蛋白-蛋白相互作用网络模型, DAVID 数据库进行 GO 生物功能富集和 KEGG 通路富集, Cytoscape 的 ClueGO 插件对铁死亡相关差异基因的功能及代谢通路进行可视化分析。**结果:**与对照组 TG (1.19 ± 0.09)、TC (2.31 ± 0.15)、LDL-C (0.29 ± 0.05)、HDL-C (1.68 ± 0.06) 相比, 模型组 TG (1.75 ± 0.08)、TC (38.80 ± 4.03)、LDL-C (36.27 ± 3.80) 水平明显升高 ($P=0.000, 0.000, 0.000$), HDL-C (1.26 ± 0.05) 水平明显降低 ($P=0.000$)。HE 染色结果表明, 模型组与对照组相比肝细胞肿胀变性明显且伴有大量脂肪空泡。肝脏转录组分析筛选出 3 个铁死亡差异基因铁反应元件结合蛋白 2(iron-responsive element-binding protein 2, IREB2)、铁蛋白轻链(ferritin light chain, FTL)、铁蛋白重链(ferritin heavy chain, FTH1), PPI 网络分析并在肝脏差异基因中校对, 共筛选出铁死亡相关差异基因 23 个, 差异基因中上调基因 6 个, 下调基因 20 个。网络关系分析表明, 铁死亡相关差异基因蛋白相互关联并彼此调节。利用 DAVID 数据库共筛选出 36 个生物过程和 5 条信号通路参与铁死亡。**结论:**揭示肝脏组织中铁死亡可以通过多进程、多通路对高脂血症进行调控, 同时高脂可促进铁死亡的发生, 为从转录水平揭示高脂血症的发病机制提供了参考依据。

【关键词】ApoE^{-/-}小鼠; 铁死亡; 肝脏转录组; 高脂血症**【中图分类号】**R392**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-06-13

Preliminary study on the potential molecular net work interaction of ferroptosis in liver transcriptome of ApoE^{-/-} hyperlipidemic mice

Zhang Xin¹, Chen Wenna²

(1. Postgraduate School; 2. Teaching and Research Center, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine)

【Abstract】Objective: To analyze the biological processes and signal pathways of differential genes related to ferroptosis in the liver of ApoE^{-/-} hyperlipidemic mice, to construct a molecular regulatory network of liver ferroptosis, and to reveal the pathogenesis of hyperlipidemia at the transcriptional level. **Methods:** This study selected 7 C57BL/6J mice as control group and 7 ApoE^{-/-} mice as model group. The control group and model group were fed with normal diet and high-fat diet respectively. After 16 weeks, the serum levels of triglyceride (TG), cholesterol (TC), low-density lipoprotein (LDL-C) and high-density lipoprotein (HDL-C) were detected, and the liver samples were analyzed by HE staining and transcriptome analysis. The distribution of ferroptosis-related differential genes was analyzed by Graph-Pad Prism 8.0.2 software. The protein-protein interaction network model was constructed by STRING11.0 platform. GO biological function enrichment and KEGG pathway enrichment were carried out in DAVID database. The ClueGO plug-in of Cytoscape was used to visually analyze the function and metabolic pathway of ferroptosis-related differential genes. **Results:** Compared with the control group, TG (1.19 ± 0.09), TC (2.31 ± 0.15), LDL-C (0.29 ± 0.05), HDL-C (1.68 ± 0.06), the levels of TG (1.75 ± 0.08), TC (38.80 ± 4.03), LDL-C (36.27 ± 3.80) in the model group significantly increased ($P=0.000, 0.000, 0.000$), and the level of HDL-C (1.26 ± 0.05) significantly decreased ($P=0.000$). The results of HE staining showed that compared with the control group, the swelling and degeneration of hepatocytes in the model group was obvious and accompanied by a large number of fat vacuoles. Three differential

genes of ferroptosis, IREB2 (iron-responsive element-binding protein 2), FTL (ferritin light chain), and FTH1 (ferritin heavy chain 1), were screened by liver transcriptome analysis and calibrated in liver differential genes by PPI network analysis. A total of 23 ferroptosis related genes were screened, including 6 up-regulated genes and 20 down-regulated genes. Network

作者介绍: 张 新, Email: 2821426723@qq.com,

研究方向: 中西医结合基础免疫。

通信作者: 陈文娜, Email: chenwn1992@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81874372)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201112.1729.008.html>

(2020-11-13)

relationship analysis showed that ferroptosis-related differential gene proteins were interrelated and regulated with each other. Through DAVID database, 36 biological processes and 5 signaling pathways participating in ferroptosis were screened out. **Conclusion:** It is revealed that ferroptosis in liver tissue can regulate hyperlipidemia through multi-processes and multi-pathways, and high fat can promote the occurrence of ferroptosis, which provides a reference basis for revealing the pathogenesis of hyperlipidemia at the transcriptional level.

[Key words] ApoE^{-/-} mice; ferroptosis; liver transcriptome; hyperlipidemia

高脂血症是一种临床常见的体内脂质代谢紊乱性疾病,主要表现为血清脂蛋白和脂质水平升高,是多种心脑血管疾病的高危因素,一直以来高脂血症严重危害人类健康。据统计,我国血脂异常人数已高达 1.6 亿人,患病率为 20% 左右^[1]。肝脏是脂质代谢最重要的器官,在维持机体脂质代谢稳态方面起着关键作用。肝脏脂质代谢障碍是导致高脂血症发生的重要病因之一。因此,了解高脂血症在肝脏中的发病机制并给予治疗至关重要。

铁死亡是新近发现的一种死亡方式。与坏死、凋亡等传统死亡形式不同,其主要特征是谷胱甘肽过氧化物酶 4 活性丧失及脂质活性氧大量累积所致的一种细胞死亡形式,其发生和多种信号通路及分子表达调控密切相关。其中,铁代谢、氨基酸代谢和脂质过氧化是最核心的调控机制^[2]。近几年的研究发现,脂质代谢性疾病与铁死亡密切相关,脂质代谢紊乱导致脂质过氧化可能是引起铁死亡发生所必要的条件之一^[3]。因此,探明肝脏内铁死亡的调控机制对揭示高脂血症的发病机制具有十分重要的指导意义。目前对于铁死亡的信号通路及生物学调控的研究尚不深入,肝脏内铁死亡调控高脂血症的相关机制尚不清楚。

本研究通过检测 ApoE^{-/-} 高脂小鼠的甘油三酯 (triglyceride, TG)、胆固醇 (cholesterol, TC)、低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL-C)、高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL-C) 血清水平,并对肝脏取材进行 HE 染色及转录组分析,应用 GraphPad Prime 8.0.2 软件分析铁死亡相关差异基因分布情况,通过 STRING11.0 平台构建蛋白-蛋白相互作用网络模型,DAVID 数据库进行 GO 生物功能富集和 KEGG 通路富集,Cytoscape 的 ClueGO 插件分别对铁死亡相关差异基因的功能及代谢通路进行可视化分析,以期揭示在肝脏中铁死亡对高脂血症的分子调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 SPF 级 8 周龄野生型 C57BL/6J 小鼠和 ApoE^{-/-}

小鼠各 10 只,雄性,体质量 18~22 g,均购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号 SCXK(京)2012-0001,由辽宁中医药大学实验动物中心在全封闭 SPF 级状态下饲养,饲养期间保证动物自由进食与饮水。

1.1.2 仪器 AU5800 全自动生化分析仪购自美国贝克曼库尔特公司,TC 检测试剂盒、TG 检测试剂盒、LDL-C 检测试剂盒、HDL-C 检测试剂盒均购自四川迈克生物科技股份有限公司,石蜡切片机(RM2235)、组织包埋机(EG 1150H)、烘片机(HI1220)、摊片机(HI1210)均购自德国 Leica 公司,高速冷冻离心机(预冷 Fresco 17)、常温离心机(Pico21)购自美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 方法

1.2.1 ApoE^{-/-} 高脂血症小鼠模型的构建 取健康雄性 C57BL/6J 小鼠 10 只作为空白对照组,ApoE^{-/-} 小鼠 10 只作为模型组,对照组和模型组分别给予普通饲料和高脂饲料 16 周,眶静脉采血至 EP 管内用于血脂水平检测。取其肝脏组织分为 2 份,一份置于 4% 多聚甲醛中固定,石蜡包埋;一份直接放入液氮速冻,用于后续肝脏转录组分析。

1.2.2 血脂检测 取材前 12 h 内小鼠禁食不禁水,取材当天 10% 水合氯醛麻醉,眶静脉采血,静置 1 h 后 3 500 r/min 离心 15 min, -20℃ 保存。全自动生化分析仪检测小鼠血清 TG、TC、HDL-C 和 LDL-C 的水平。

1.2.3 组织形态学分析 将小鼠肝脏组织置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 72 h,然后按 HE 染色常规方法进行,在染色前先对组织进行 70%~100% 的梯度酒精脱水、二甲苯透明与石蜡包埋后切片(厚度为 5 μm/张)、贴片及烤片、二甲苯脱蜡后,继续 70%~100% 的梯度酒精脱水,最后 HE 染色观察组织形态学的改变,并通过 Image-Pro Plus 6.0 软件分析^[4]。

1.2.4 转录组分析 首先使用 Trizol 提取肝脏组织样本 RNA,超微量分光光度计测定 RNA 浓度, RNA 测序采用北京源宜基因公司测序平台进行,测序前采用 Agilent 2100 生物分析仪对提取的 RNA 浓度及完整性定量验证,之后依次作 Oligo dT 富集、反转录、PCR 扩增及连接 Adaptor,达到 28S/18S ≥ 1.0, RIN ≥ 7 要求的 RNA,取 2 μg 构建文库。测定文库质量并进行测序,质量分析获得测序 Raw Reads,包括去除无效序列及序列接头、GC 含量分析,接头序列含量分析,从而得到 Clean Reads。将 RNA-seq 序列与鼠参考基因组通过生物信息学方法进行比对,鉴定和注释新转录本,分析对照组与模型组基因表达模式,根据差异倍数 (fold change, FC) 和明显水平 (P 值) 筛选铁死亡差异基因,其中阈值设置为 |log₂FC| > 1,对 P 值进行 FDR 校正后得到 Q 值, P ≤ 0.05 且 Q ≤ 0.05^[5]。对铁死亡差异基因进行 PPI 网络分析,筛选出铁死

亡相关基因并进一步在肝脏组织差异基因中校对,应用 Graph-Pad Prism 8.0.2 软件分析铁死亡相关差异基因分布情况。

1.2.5 网络构建与分析 通过 STRING11.0(<https://string-db.org/>)网站构建蛋白-蛋白相互作用网络模型,将蛋白种类设为“Mus musculus”,最低相互作用阈值设为“medium confidence”(>0.4),其他参数保持默认,获得 PPI 网络^[6]。

1.2.6 生物过程分析 生物学信息注释 DAVID 数据库是一个全套的功能注释工具,可对基因的数据集进行系统注释与分析,本研究利用 DAVID 数据库(<https://david.ncicrf.gov/>),种属设置为“Mus musculus”,通过 KEGG 通路和 GO 生物学过程对肝脏中铁死亡相关的差异基因进行分析,并采用 Cytoscape 的 ClueGO 插件对铁死亡相关的基因功能及代谢通路进一步可视化分析^[7]。

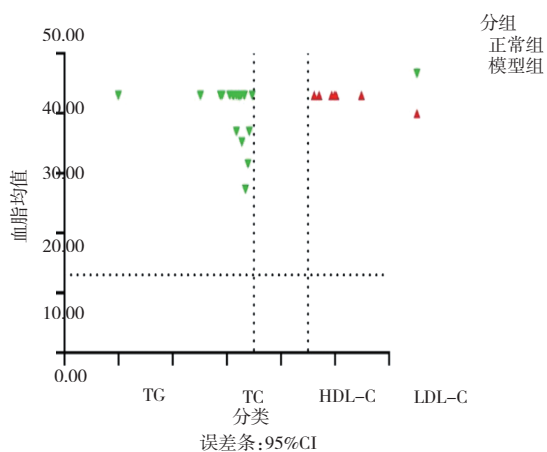
1.3 统计学处理

实验结果采用 SPSS 20.0 分析。符合正态性分布和方差齐性的数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用成组 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 血脂水平变化

与对照组 TG (1.19 ± 0.09)、TC (2.31 ± 0.15)、LDL-C (0.29 ± 0.05)、HDL-C (1.68 ± 0.06) 相比,模型组 TG (1.75 ± 0.08)、TC (38.80 ± 4.03)、LDL-C (36.27 ± 3.80) 水平明显升高 ($t=-12.11, P=0.000; t=-23.94, P=0.000; t=-25.06, P=0.000$), HDL-C (1.26 ± 0.05) 水平明显降低 ($t=14.30, P=0.000$) (图 1、表 1)。



注:与空白组比较,高脂组 TG、TC、HDL-C、LDL-C 均 $P=0.000$

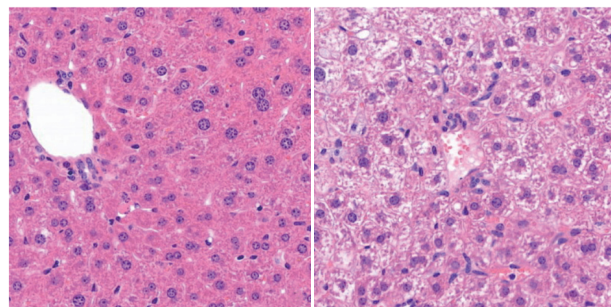
图 1 各组小鼠血脂水平的比较

表 1 各组血脂水平的平均值 ($\bar{x} \pm s; \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
对照组	1.19 ± 0.09	2.31 ± 0.15	0.29 ± 0.05	1.68 ± 0.06
模型组	1.75 ± 0.08	38.80 ± 4.03	36.27 ± 3.80	1.26 ± 0.05
t 值	-12.11	-23.94	-25.06	14.30
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.2 肝脏组织形态学改变

HE 染色结果显示,空白组小鼠肝脏形态结构正常,肝细胞排列整齐,大小一致且核仁清晰易见(图 2A);高脂组小鼠肝细胞排列紊乱且变性肿胀,肝细胞内脂肪浸润,胞浆内充满大量脂肪空泡(图 2B)。



A. 正常组

B. 高脂组

图 2 各组小鼠肝脏组织的形态学结果 (HE, 200 $\times$)

2.3 差异基因分析

高脂饮食 16 周后,模型组与对照组作肝脏组织差异基因表达分析。结果表明,其中铁死亡差异表达基因有 3 个,包括 *IREB2*、*FTH1* 和 *FTL*。对铁死亡差异基因进行 PPI 网络分析,筛选出铁死亡相关基因并进一步在肝脏组织差异基因中校对,共得到差异明显基因 23 个。其中差异基因中上调基因 6 个 (*IREB2*、*PCSK9*、*HSPA8*、*LDLR*、*FADS1*、*FASN*),下调基因 20 个 (*ABCG8*、*CD36*、*ITGB2*、*FCGR3A*、*VAV1*、*SLC11A1*、*PRKCD*、*FTL*、*HMOX1*、*ABCG5*、*FTH1*、*CXCL16*、*PPBP*、*LTF*、*CCL5*、*MIF*、*CD74*、*GRN*、*CTSD*、*ANXA2*) (图 3、表 2)。

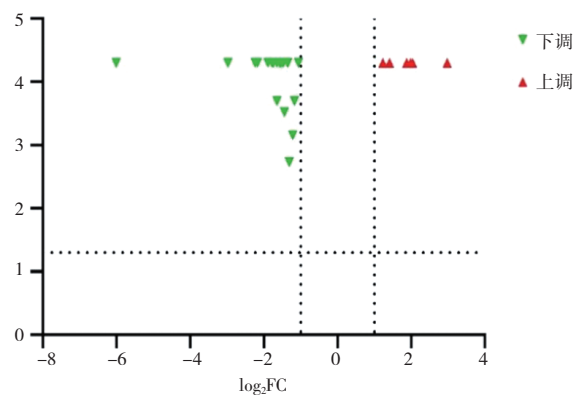


图 3 差异基因表达火山图

2.4 网络构建与分析

通过 string 网站,对上述差异基因蛋白进行相互关系分析,共获得节点 26 个,边数 63 条,平均节点度 4.85,平均局部聚类系数 0.534, PPI 富集 P 值 $<1.0 \times 10^{-16}$ (图 4)。蛋白相互关系分析说明与铁死亡相关的差异基因蛋白相互关联并彼此调节,其中重要的调节靶点(节点数 ≥ 5)包括 *CD74*、*FTH1*、*FTL*、*ITGB2*、*LDLR*、*PCSK9*、*ABCG8*、*ANXA2*、*CCL5*、*CTSD*、*PPBP*、*FASN*、*HSPA8*、*ABCG5*。

表 2 差异基因分析

序号	基因	log ₂ FC	P 值	Q 值
1	<i>IREB2</i>	1.22675	5.00E-05	0.002073
2	<i>FTH1</i>	-1.06507	5.00E-05	0.002073
3	<i>FTL</i>	-1.168	0.0002	0.006962
4	<i>CD74</i>	-1.34818	5.00E-05	0.002073
5	<i>HMOX1</i>	-2.23353	5.00E-05	0.002073
6	<i>ABCG8</i>	-1.74099	5.00E-05	0.002073
7	<i>SLC11A1</i>	-1.47207	5.00E-05	0.002073
8	<i>PCSK9</i>	2.97841	5.00E-05	0.002073
9	<i>HSPA8</i>	2.03376	5.00E-05	0.002073
10	<i>GRN</i>	-2.97465	5.00E-05	0.001367
11	<i>PPBP</i>	-1.51651	5.00E-05	0.002073
12	<i>CCL5</i>	-1.64359	0.0002	0.006962
13	<i>ABCG8</i>	-1.64648	5.00E-05	0.002073
14	<i>MIF</i>	-1.56941	5.00E-05	0.002073
15	<i>VAV1</i>	-1.21462	0.0007	0.019928
16	<i>LDLR</i>	1.98547	5.00E-05	0.002073
17	<i>ANXA2</i>	-1.89004	5.00E-05	0.002073
18	<i>LTF</i>	-6.00891	5.00E-05	0.001367
19	<i>ITGB2</i>	-1.35368	5.00E-05	0.002073
20	<i>CXCL16</i>	-1.31035	0.00185	0.044162
21	<i>PRKCD</i>	-1.44434	0.0003	0.009843
22	<i>FCGR3A</i>	-1.77703	5.00E-05	0.002073
23	<i>CTSD</i>	-1.55447	5.00E-05	0.002073
24	<i>FADS1</i>	1.40671	5.00E-05	0.002073
25	<i>FASN</i>	1.87482	5.00E-05	0.002073
26	<i>CD36</i>	-2.17604	5.00E-05	0.002073

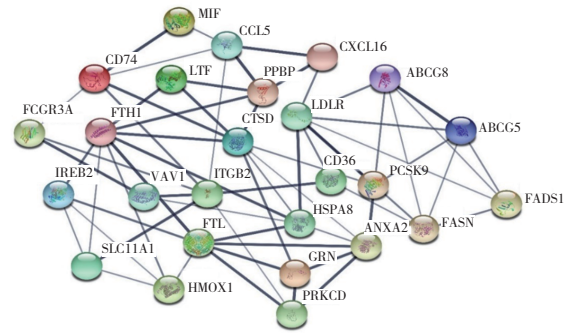


图 4 差异基因 PPI 网络

2.5 GO 富集和 KEGG 通路富集分析

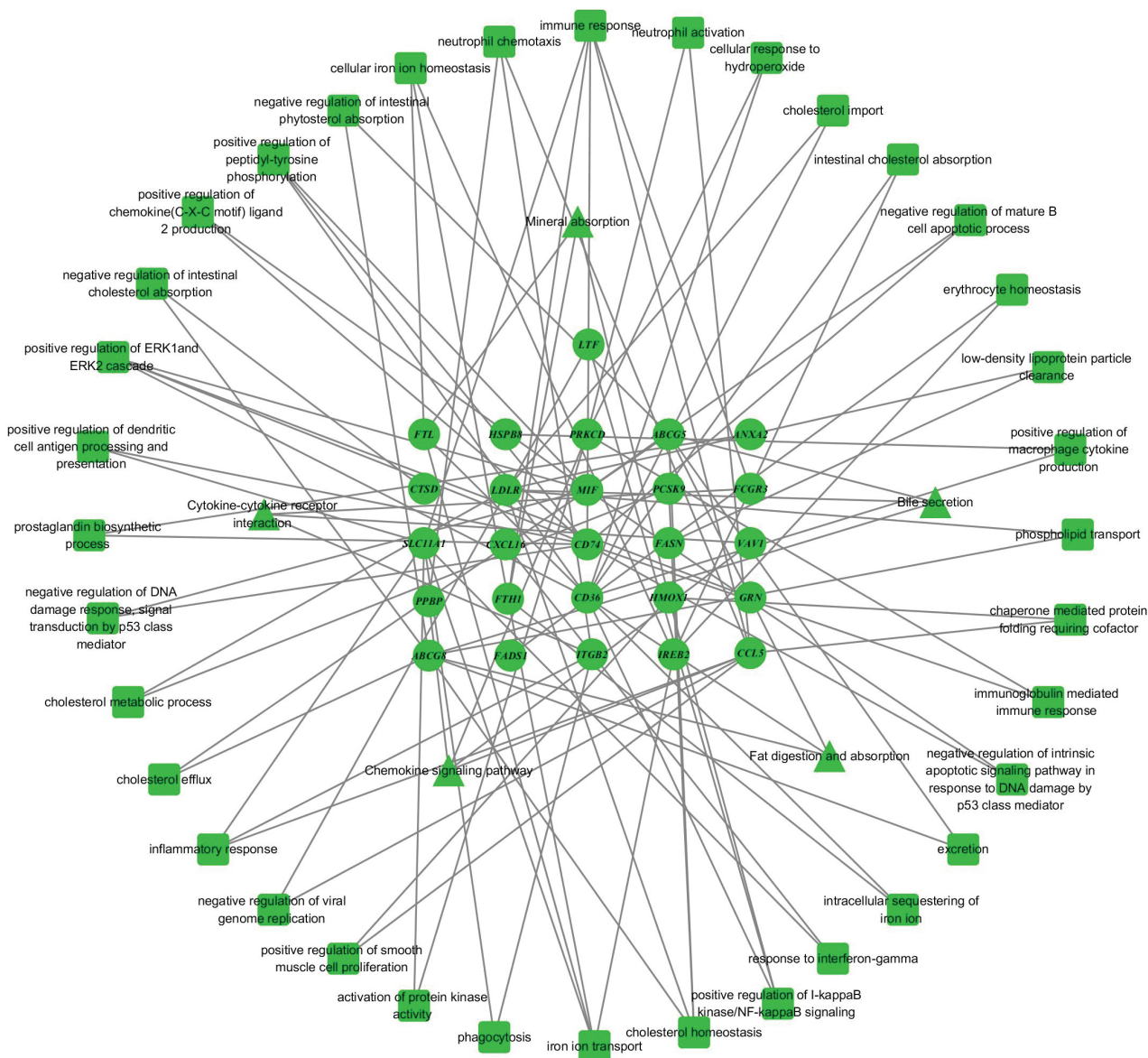
利用 DAVID 数据库对与铁死亡相关的肝脏差异表达基因进行功能和信号通路富集,富集到“生物进程(BP)”类别词条 41 条,其中 $P \leq 0.05$ 的生物进程共有 36 条(表 3)。结果表明,铁死亡与多种生物进程相关,主要包括铁离子转运、细胞内铁离子转运、胆固醇稳态、免疫应答、ERK1 和 ERK2 级联的正向调节、细胞铁离子稳态等,可见多个基因功能与铁死亡的发生发展关系密切。富集到“信号通路”5 条,其中 $P \leq 0.05$ 通路有 4 条(表 4)。其中脂肪消化和吸收、矿物质吸收、趋化因子信号通路、胆汁分泌可能直接或间接参与铁死亡过程,说明可铁死亡通过氧化应激、铁代谢、炎症反应、胆汁代谢等多条信号通路对高脂血症发挥调控作用(图 5)。

表 3 BP 富集结果

类别	生物进程	基因数量	基因比例/%	P 值
GOTERM_BP_DIRECT	iron ion transport	4	0.104575	1.42E-06
GOTERM_BP_DIRECT	cholesterol homeostasis	4	0.104575	6.49E-05
GOTERM_BP_DIRECT	immune response	5	0.130719	1.95E-04
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of ERK1 and ERK2 cascade	4	0.104575	9.07E-04
GOTERM_BP_DIRECT	cellular iron ion homeostasis	3	0.078431	0.001112
GOTERM_BP_DIRECT	neutrophil chemotaxis	3	0.078431	0.002175
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of peptidyl-tyrosine phosphorylation	3	0.078431	0.00295
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of intestinal phytoesterol absorption	2	0.052288	0.003324
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of intestinal cholesterol absorption	2	0.052288	0.003324
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of chemokine (C-X-C motif) ligand 2 production	2	0.052288	0.004983
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of dendritic cell antigen processing and presentation	2	0.052288	0.006638
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of mature B cell apoptotic process	2	0.052288	0.006638
GOTERM_BP_DIRECT	cellular response to hydroperoxide	2	0.052288	0.006638
GOTERM_BP_DIRECT	cholesterol import	2	0.052288	0.006638
GOTERM_BP_DIRECT	intestinal cholesterol absorption	2	0.052288	0.006638
GOTERM_BP_DIRECT	neutrophil activation	2	0.052288	0.008291
GOTERM_BP_DIRECT	erythrocyte homeostasis	2	0.052288	0.009942
GOTERM_BP_DIRECT	low-density lipoprotein particle clearance	2	0.052288	0.011589
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of macrophage cytokine production	2	0.052288	0.011589
GOTERM_BP_DIRECT	phospholipid transport	2	0.052288	0.013234
GOTERM_BP_DIRECT	chaperone mediated protein folding requiring cofactor	2	0.052288	0.013234
GOTERM_BP_DIRECT	immunoglobulin mediated immune response	2	0.052288	0.014877
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage by p53 class mediator	2	0.052288	0.014877
GOTERM_BP_DIRECT	excretion	2	0.052288	0.014877
GOTERM_BP_DIRECT	intracellular sequestering of iron ion	2	0.052288	0.014877
GOTERM_BP_DIRECT	response to interferon-gamma	2	0.052288	0.016517
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappa B signaling	3	0.078431	0.017488
GOTERM_BP_DIRECT	prostaglandin biosynthetic process	2	0.052288	0.019789
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator	2	0.052288	0.019789
GOTERM_BP_DIRECT	activation of protein kinase activity	2	0.052288	0.026302
GOTERM_BP_DIRECT	phagocytosis	2	0.052288	0.029544
GOTERM_BP_DIRECT	positive regulation of smooth muscle cell proliferation	2	0.052288	0.03116
GOTERM_BP_DIRECT	negative regulation of viral genome replication	2	0.052288	0.032775
GOTERM_BP_DIRECT	inflammatory response	3	0.078431	0.034774
GOTERM_BP_DIRECT	cholesterol efflux	2	0.052288	0.035995
GOTERM_BP_DIRECT	cholesterol metabolic process	2	0.052288	0.044003

表 4 KEGG 通路富集分析结果

类别	通路	基因数量	基因比例 /%	<i>P</i> 值
KEGG_PATHWAY	Fat digestion and absorption	3	0.078431	0.003973
KEGG_PATHWAY	Mineral absorption	3	0.078431	0.004176
KEGG_PATHWAY	Chemokine signaling pathway	4	0.104575	0.008536
KEGG_PATHWAY	Bile secretion	3	0.078431	0.011714
KEGG_PATHWAY	Cytokine-cytokine receptor interaction	3	0.078431	0.082573



注:不同的三角和方块代表不同的通路和生物学过程,圆形代表基因,边代表相互作用

图 5 铁死亡相关基因的 GO 和 KEGG 分析

3 讨 论

高脂血症是体内脂代谢障碍所致的一种以甘油三酯、胆固醇等血脂水平异常增高为特征的疾病。近些年随着我国经济水平的提高,人们生活节奏的加快以及饮食结构的变化,高脂血症的发病率逐年

攀升。肝脏脂质代谢异常是高脂血症的重要诱因, Hassannia B 等^[8]研究发现,当外源因素介入时,细胞内脂代谢失衡,还原相关脂质基因下调或氧化相关脂质基因上调都将诱导细胞发生铁死亡。因此,通过铁死亡途径调控肝脏脂代谢平衡为防治高脂血症提供了一个新的视角。

铁死亡是依赖铁离子及活性氧诱导脂质过氧化导致的调节性细胞坏死,最近被 Brent R. Stockwell 实验室在 2012 年定义的一种新的非凋亡性调节性细胞死亡形式,其在形态学、生物学及基因水平上均明显不同于其他形式的细胞死亡^[9]。Tsurusaki S 等^[10]发现,铁死亡抑制剂罗格列酮和去铁螯合剂去铁酮可以联合改善高脂所致的脂肪肝,减少肝细胞死亡,抑制炎症细胞因子的基因表达及炎症细胞浸润。Kim SH 等^[11]发现,铁摄入过量可以通过加速糖基化和降解血清脂蛋白加剧斑马鱼的高脂血症和动脉粥样硬化的发生发展。Kapralov AA 等^[12]发现,铁死亡的发生会引起不饱和脂肪酸升高,大量不饱和脂肪酸所致的脂质代谢紊乱会加速高脂血症的发生发展。这些结果与本文的预测结果一致,提示铁死亡可能通过炎症反应、铁代谢、脂质代谢等通路对高脂血症发挥调控作用。同时,本研究发现模型组小鼠 TG、TC、LDL-C 水平升高, HDL-C 水平下降。同时, HE 染色结果显示模型组肝细胞肿胀变性,可见大量脂肪空泡,该结果可能与肝细胞铁死亡所引起的脂质代谢紊乱密切相关。此外, IREB2 是铁代谢的主要转录因子,靶向缺失 IREB2 基因的小鼠过表达铁蛋白^[13]。铁蛋白包括 FTL 和 FTH1,是一种储铁蛋白复合体,可调控储存的铁离子。细胞外的 Fe^{3+} 可被转铁蛋白受体运输至细胞内,剩余的铁则存储于铁蛋白内。FTL 和 FTH1 水平降低导致体内游离铁水平升高,过量的游离铁会引起脂质代谢紊乱导致活性氧水平升高促进铁死亡发生^[14-16]。本研究结果表明,模型组 IREB2 基因上调, FTL、FTH1 基因下调,提示高脂水平会促进细胞铁死亡的发生,下一步将进行细胞实验加以验证。

目前对铁死亡的形态学、生物学、机制通路已经初步了解,但铁死亡过程受到多种机制及信号通路的精密调控,铁死亡与疾病的发生有何种联系,是否会和其他细胞的死亡方式联合介导疾病的发展还不清楚。因此,进一步对铁死亡在不同疾病类型中的作用机制进行深入研究,对寻找相应疾病的治疗靶点及靶向治疗药物的研发具有重要意义。

参 考 文 献

[1] 李剑虹,王丽敏,李镒冲,等. 2010 年我国成年人血脂异常流行特点[J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(5): 414-418.
Li JH, Wang LM, Li YC, et al. Epidemiologic characteristics of dyslipidemia in Chinese adults in 2010[J]. Chin J Prev Med, 2012, 46(5): 414-418.

[2] 程 淇,易晓芳. 铁死亡在肿瘤耐药中作用的研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(2): 148-153.
Cheng Q, Yi XF. Research progress on ferroptosis in drug resistance of tumor[J]. China Oncol, 2020, 30(2): 148-153.
[3] Gao MH, Monian P, Pan QH, et al. Ferroptosis is an autophagic cell death process[J]. Cell Res, 2016, 26(9): 1021-1032.
[4] 吴 瑶,宋 囡,贾连群,等. 丹参酮 II A 对 ApoE^{-/-}小鼠肝脏脂质沉积及铁死亡相关蛋白表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(7): 1261-1268.
Wu Y, Song N, Jia LQ, et al. Effect of tanshinone II A on liver lipid deposition and ferroptosis-related protein expression in ApoE^{-/-} mice[J]. Chin J Pathophysiol, 2020, 36(7): 1261-1268.
[5] 解 静,曾寰宇,段胜常,等. 基于高通量转录组测序的辣木叶粉对小鼠肝脏差异表达基因的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2018, 33(3): 456-467.
Xie J, Zeng HY, Duan SC, et al. Effect of *Moringa oleifera* on mice liver transcriptome based on high-throughput RNA-seq technology[J]. J Yunnan Agric Univ Nat Sci, 2018, 33(3): 456-467.
[6] 马菲菲. 绞股蓝总皂苷治疗小鼠高脂血症过程中对肝脏免疫相关基因转录水平的调控研究[D]. 遵义:遵义医科大学, 2019.
Ma FF. Regulation of hepatic immune-related genes in hyperlipidemia mice treated with gypenosides[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2019.
[7] 陈文娜,朱爱松,丛培玮,等. 基于网络药理学的二陈汤治疗冠心病分子机制研究[J]. 中草药, 2019, 50(2): 441-448.
Chen WN, Zhu AS, Cong PW, et al. Molecular mechanism of Erchen Decoction in treatment of coronary heart disease based on network pharmacology[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(2): 441-448.
[8] Hassannia B, Vandenabeele P, Vanden Berghe T. Targeting ferroptosis to iron out cancer[J]. Cancer Cell, 2019, 35(6): 830-849.
[9] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.
[10] Tsurusaki S, Tsuchiya Y, Koumura T, et al. Hepatic ferroptosis plays an important role as the trigger for initiating inflammation in non-alcoholic steatohepatitis[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(6): 449.
[11] Kim SH, Yadav D, Kim SJ, et al. High consumption of iron exacerbates hyperlipidemia, atherosclerosis, and female sterility in zebrafish via acceleration of glycation and degradation of serum lipoproteins[J]. Nutrients, 2017, 9(7): 690.
[12] Kapralov AA, Yang Q, Dar HH, et al. Redox lipid reprogramming commands susceptibility of macrophages and microglia to ferroptotic death[J]. Nat Chem Biol, 2020, 16(3): 278-290.
[13] Ghosh MC, Zhang DL, Rouault TA. Iron misregulation and neurodegenerative disease in mouse models that lack iron regulatory proteins[J]. Neurobiol Dis, 2015, 81: 66-75.
[14] Masaldan S, Bush AI, Devos D, et al. Striking while the iron is hot: iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 133: 221-233.
[15] Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, et al. Regulators of iron homeostasis: new players in metabolism, cell death, and disease[J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(3): 274-286.
[16] Imam MU, Zhang SS, Ma JF, et al. Antioxidants mediate both iron homeostasis and oxidative stress[J]. Nutrients, 2017, 9(7): 671.

(责任编辑:唐秋姗)