

# 子宫内膜异位症中铁死亡的研究进展

张杨<sup>1,2</sup>, 张晓芳<sup>2,3</sup>, 许岑<sup>2</sup>, 葛红山<sup>2</sup>

1.大连医科大学研究生院, 辽宁大连 116044; 2.南京医科大学附属泰州市人民医院生殖中心, 江苏泰州 225300; 3.南京医科大学研究生院, 江苏南京 211166

**[摘要]** 铁死亡是一种新发现的依赖铁的程序性细胞死亡方式, 具有高度的灵活机制, 主要表现为铁超载引发的铁代谢异常、抗氧化应激失衡和脂质代谢紊乱。越来越多的研究开始探索铁死亡在子宫内膜异位症 (endometriosis, EMT) 中的相关作用。研究发现 EMT 的发生、发展不仅有铁超载和铁死亡, 还有铁死亡抵抗, 且 EMT 可通过改变卵母细胞的微环境影响卵母细胞的质量。抑制铁死亡通路、启动并激活氧化应激保护或许可成为治疗 EMT 患者不孕的潜在方向。因此, 铁死亡可能成为今后子宫内膜异位不孕症治疗的一个新靶点。

**[关键词]** 子宫内膜异位症; 不孕症; 铁死亡; 铁超载; 铁死亡抵抗

**[中图分类号]** R711.71 **[文献标识码]** A **[DOI]** 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.19.028

子宫内膜异位症 (endometriosis, EMT) 是一种具有生长功能的子宫内膜组织出现在子宫体以外部位的疾病。EMT 的发病机制尚未完全阐明, 涉及多种因素, 包括月经逆行、免疫影响、干细胞、表观遗传因素、体腔化生、米勒管残余及淋巴管和血管播散等<sup>[1-2]</sup>。铁死亡是 2012 年提出的新型细胞死亡概念, 其过程伴随铁的积累和氧化应激, 可通过不同途径直接或间接影响谷胱甘肽过氧化物酶的活性。最新研究指出, 应将铁死亡视为一种高度灵活的、可由多科功能相关代谢产物和蛋白质共同介导的灵活机制, 而非传统组件所形成的固定通路<sup>[3]</sup>。研究表明异位病灶反复周期性出血, 在局部积累的大量游离铁可造成铁超载和铁死亡, 并通过一系列反应破坏卵巢或腹腔微环境, 造成女性不孕<sup>[4]</sup>。

## 1 铁死亡的发生机制

### 1.1 铁稳态与铁死亡

生理环境下, 胞外  $Fe^{3+}$  与转铁蛋白结合, 通过转铁蛋白受体 1 释放到胞质中, 其也可通过金属转运体 SLC39A14 介导的非转铁蛋白结合的铁摄取转运到细胞中。有学者指出转铁蛋白受体 1 可能是铁死亡的特异性标志物, 可通过调控转铁蛋白受体实现对铁死亡的调控<sup>[5]</sup>。金属还原酶 STEAP3 在内含体中将  $Fe^{3+}$  还原为  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  从转铁蛋白中释放, 并通过二价金属转运蛋白 1 或溶酶体钙离子通道输出到细胞质中, 胞内的铁主要存在于血红素、铁硫簇及铁蛋白重链/轻链 (ferritin heavy/light chain, FTH/FTL)。血红素在血红素加氧酶 1 的催化降解下释放铁蛋白, 铁蛋白通过核受体激活子 4 介导的自噬作用降解释放大量的铁。此外, 铁调素可通过抑制膜铁转运蛋

白减少细胞内铁的释放。这些过程均可增加不稳定胞内铁池, 从而触发铁死亡<sup>[6]</sup>。铁调节蛋白在铁稳态的调控中也发挥重要作用, 胞内缺铁时其可启动并激活饥饿反应, 转铁蛋白受体 1 表达上调, FTH 和铁泵蛋白表达下降, 从而增加胞内可利用铁离子数量。铁调节蛋白 2 可抑制 FTH 和铁泵蛋白的表达, 使细胞对铁死亡的敏感度增加<sup>[7]</sup>。研究发现铁硫簇的缺乏可强烈激活铁饥饿反应, 通过结合谷胱甘肽抑制剂, 触发铁死亡<sup>[8]</sup>。

### 1.2 抗氧化系统与铁死亡

过量铁积累触发芬顿反应, 进而产生一系列氧自由基, 这便需要大量的抗氧化物阻止细胞损伤。与多条铁稳态调节途径对应的是多条抗氧化代谢途径, 目前 x-CT-还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) - 谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 信号通路作为铁死亡保护系统的明星通路, 与铁死亡的关系最为明确。Huang 等<sup>[9]</sup>研究 EMT 患者与健康女性的巴氏涂片抗氧化酶系发现, GPX4 通路可能参与 EMT 的发病机制。x-CT 由特异性底物轻链亚基溶质载体家族 7 成员 11 和溶质载体家族 3 成员 2 组成, 是一种广泛分布于磷脂双层膜  $Na^+$  依赖的胱氨酸-谷氨酸交换转运蛋白, 其可将胞外胱氨酸转入, 将胞内谷氨酸转出。GSH 是重要的抗氧化因子, 而胱氨酸是 GSH 的原料之一。GPX4 作为胞内最重要的脂质抗过氧化酶, 是一种以硒为中心的铁功能抑制剂, 其可抑制局部膜的脂质过氧化, 将有毒的多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 磷脂氢过氧化物转化为无毒的 PUFA 磷脂醇<sup>[3]</sup>。铁死亡诱导剂 Erastin 可与转运蛋白系统 x-CT 结合从而诱导铁死亡<sup>[10]</sup>。此外, 辅酶 Q10 和褪黑素作为体

通信作者: 葛红山, 电子信箱: dafeng76@126.com

内强大的抗氧化剂，辅酶 Q10 可通过铁死亡相关通路抑制铁死亡，褪黑素可通过直接或间接作用减轻氧化损伤和铁死亡<sup>[11-13]</sup>。

### 1.3 脂质代谢与铁死亡

特定膜脂的过氧化作用驱动铁死亡的最终进展，故而脂质过氧化物是铁死亡的核心产物之一<sup>[14]</sup>。铁死亡研究初期，有学者认为游离 PUFA 似乎是铁死亡的驱动因素，但后续研究发现 PUFA 并不是铁死亡的驱动因素，而是需要活化 PUFA 并将其掺入膜脂中生成过氧化物。而研究某些特定脂质及促进其生成和掺入细胞膜的酶则成为铁死亡十年的研究方向<sup>[15]</sup>。研究发现花生四烯酸和肾上腺酸这两种不饱和脂肪酸与铁死亡关系最为密切，而酯酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 (long-chain acyl-CoA synthetase family member, ACSL) 4 和脂质重塑相关的赖氨酰磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3) 正是可将不饱和脂肪酸转化成脂质过氧化物的物质<sup>[16]</sup>。丙二醛是生物膜上不饱和脂肪酸过氧化反应的最终产物，其积累可引发生物大分子交联聚合，造成胞膜不可逆性损伤，进而导致细胞死亡<sup>[14]</sup>。ACSL4 在铁死亡中发挥正反馈执行作用。研究发现 ACSL4 的缺乏及 LPCAT3 的敲除均可显著提高细胞对铁死亡的抗性<sup>[17]</sup>。ACSL 酶系的其他成员也可调控铁死亡，ACSL1 通过与共轭亚麻酸结合促进铁死亡，ACSL3 通过与单不饱和脂肪酸结合抵抗铁死亡。此外，脂肪酸活化为 CoA 酯可能是铁死亡的关键调控步骤<sup>[15]</sup>。

## 2 EMT 铁死亡

### 2.1 EMT 盆腔环境铁超载

EMT 的铁代谢失衡问题备受关注。先前研究指出，EMT 患者的腹腔液、内异症病灶、卵泡液、腹膜及巨噬细胞内中都存在铁超载<sup>[18]</sup>。Xu 等<sup>[19]</sup>研究发现，血清铁蛋白水平和转铁蛋白饱和度与 EMT 呈正相关，且 EMT 病变组织巨噬细胞中磷酸化铁蛋白相关基因显著上调。铁过载不仅可导致内膜下组织的炎症加剧，进而加重疼痛；还可影响卵巢储备功能，使得卵泡颗粒细胞凋亡和氧化应激增加，进而影响卵子的质量和数量，引发不孕；更可干扰子宫内膜的正常生长和修复，导致其对受精卵的着床能力下降<sup>[4]</sup>。

### 2.2 异位内膜铁死亡抵抗

过度暴露于铁超载环境下的异位子宫内膜 (ectopic endometrium, ECEM) 细胞仍能生长增殖，且与正常子宫内膜细胞相比，其具有更高的存活能力、更强的抗凋亡能力和更高的铁代谢能力。此外，

ECEM 细胞中的铁离子量更高，ECEM 细胞中铁代谢相关基因的表达也与正常子宫内膜细胞不同，如铁调素、转铁蛋白受体 2 等基因的表达均较高。此外，ECEM 病变囊壁内层的线粒体出现萎缩、膜密度增加和线粒体嵴减少的现象，而 ECEM 病变囊壁外层未见明显改变。这种不同的表现提示 ECEM 可能存在铁死亡的不同抗性，并进一步导致异位病变<sup>[20]</sup>。长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 在调节 EMT 的发育和进展中发挥重要作用。Wan 等<sup>[21]</sup>研究发现，lncRNA ADAMTS9-AS1 通过调节微 RNA-6516-5p/GPX4 信号通路，促进 GPX4 的表达，进而促进子宫内膜损伤的抗氧化和铁死亡抵抗。Zhou 等<sup>[22]</sup>研究发现，子宫内膜腺肌症和 EMT 的子宫内膜基质细胞中铁过载可能与细胞的增殖抑制有关，可通过多腺苷二磷酸核糖聚合酶 1/沉默信息调节因子 1 信号激活保护性自噬，减轻铁超载导致的生长抑制。Li 等<sup>[23]</sup>研究发现在正常内膜到异位内膜的发育过程中，铁死亡相关基因变化不断增加，提示 EMT 的子宫内膜原位和异位与铁死亡抵抗基因改变有关。

### 2.3 EMT 血管生成与铁死亡

EMT 被称为不死的肿瘤，其生物学行为具有组织侵袭和血管生成能力，在生理上依赖于巨噬细胞的激活，血管生成是 EMT 形成和生长的先决条件。EMT 患者的血清、腹水和子宫内膜中可检测到炎症因子和血管生成因子。在 ECEM 病变中血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和白细胞介素 (interleukin, IL) -8 高表达可诱导血管内皮细胞增生<sup>[24]</sup>。此外，在体外培养的子宫颈内膜基质细胞中添加 IL-1 $\beta$  或肿瘤坏死因子- $\alpha$  和  $\gamma$  干扰素可促进大量中性粒细胞中激活肽 78 和 IL-8 的释放<sup>[25]</sup>。IL-1 可减少细胞凋亡，并诱导 EMT 组织中 IL-6 和 IL-8 的分泌，导致 EMT 增生增加。现已证实子宫异位内膜中存在铁死亡，囊液和铁诱导的铁死亡可上调 IL-8 和 VEGF 在急性髓系白血病细胞系 THP-1 中的表达。Yi 等<sup>[26]</sup>研究发现巨噬细胞中的包囊液和铁诱导的铁死亡可触发血管生成。在 ECEM 基质细胞中铁死亡与铁死亡抵抗同时存在，共同参与 EMT 进展，这可为 EMT 的治疗提供新的思路，平衡好铁死亡和铁死亡抵抗可控制 EMT 的侵袭行为。

### 2.4 EMT 脂质代谢与铁死亡

EMT 的本质是炎症，脂质代谢失衡是细胞对炎症的反应，炎症是血管损伤发生和维持及动脉粥样硬化发生发展的主要机制。EMT 患者中存在较高的血脂异常率，与正常女性相比，其动脉的僵硬度和内皮功能障碍增加，EMT 可能与动脉粥样硬化性心

血管疾病之间存在遗传联系<sup>[27-28]</sup>。EMT 基质细胞中活性氧、丙二醛、低密度脂蛋白及胆固醇增加,表明甲羟戊酸胆固醇合成途径在 EMT 中非常活跃。辅酶 Q10 作为甲羟戊酸的衍生物有强大的抗氧化作用;甲羟戊酸途径的中间体异戊烯基焦磷酸通过影响将硒掺入 GPX4 等硒蛋白的过程,促进 GPX4 表达,进而保护细胞。鉴于甲羟戊酸途径在铁死亡中的保护作用,血脂异常患者可通过甲羟戊酸途径活跃保护异位子宫内膜细胞,减轻铁死亡的应激反应。近年来,他汀类药物在 EMT 中的研究和应用越来越多,其通过抑制甲羟戊酸途径关键酶发挥作用,亲脂类他汀可抑制人子宫内膜基质细胞的生长并降低侵袭性,还可降低微血管内皮功能损害的发生风险<sup>[27,29-30]</sup>。

### 3 铁死亡与 EMT 合并不孕症的研究

EMT 不孕症的主要原因是卵泡发育不良和卵母细胞质量下降,EMT 患者腹水和卵泡液中铁超载是导致异位组织增生和卵母细胞损伤的重要因素,且在卵泡液中可观察到丙二醛和活性氧水平升高,超氧化物歧化酶水平降低,卵母细胞周围微环境发生改变,从而影响卵母细胞的发育和成熟<sup>[31]</sup>。研究显示,EMT 卵泡液干预人颗粒细胞系后,细胞衰老和铁死亡信号通路异常,这与铁死亡相关的自噬相关基因表达上调有关。EMT 卵泡液处理后,颗粒细胞中铁、活性氧、脂质过氧化物、丙二醛水平升高,线粒体缩短并变小<sup>[32]</sup>。卵巢型 EMT 患者较非卵巢型 EMT 患者的卵母细胞质量差。靠近卵巢型 EMT 病变部位的卵泡相较正常人表现出更高的总铁水平及更低的获卵率。铁螯合剂甲磺酸和维生素 E 可通过影响颗粒细胞分泌的外泌体改善 EMT 合并铁超载小鼠的不孕症,说明铁螯合剂和维生素 E 对 EMT 不孕症患者有潜在治疗作用<sup>[4]</sup>。N-乙酰半胱氨酸在铁死亡中起重要的保护作用,不仅可降低血清糖类抗原 125 水平,还可改善 EMT 相关的疼痛并缩小巧克力囊肿的大小<sup>[33]</sup>;并可改善 EMT 患者的生育能力<sup>[34]</sup>。Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)作为颗粒细胞增殖和分化的关键因子,其正常表达和激活对卵泡发育和成功繁殖至关重要。YAP1 因此被视作治疗与异常颗粒细胞功能相关的生育力低下的有前途的靶点<sup>[35]</sup>。转化生长因子- $\beta$  信号和铁过载可通过 YAP 在胞外基质发挥协同作用,动态卵泡铁稳态与 YAP 相互作用,其过度激活会显著增大卵巢储备损失的风险,并可增强卵泡对过量铁的敏感度<sup>[22,33]</sup>。此外,化癥解毒方通过 IL-6 和铁调素通路减少体内铁超载降低卵母细胞的氧化应激水平,并提高 EMT 不孕症患者的卵母细胞成熟率<sup>[36]</sup>。黄芩素作为一种天然的铁

死亡抑制剂,不仅可促进 GPX4 表达,还可减轻铁死亡介导的对巨噬细胞吞噬的抑制<sup>[26]</sup>。铁死亡抵抗是 EMT 细胞得以生存繁殖的可能原因,因此可通过诱导铁死亡发生或阻断细胞对铁死亡的抵抗进行治疗。他汀类药物被报道具有治疗 EMT 的潜能,铁死亡诱导剂索拉非尼可克服甲羟戊酸途径对细胞的铁死亡保护,抑制 EMT 细胞的生长、迁移能力,降低其血管生成的潜能<sup>[37]</sup>。目前已明确子宫内膜干细胞参与 EMT 的发病机制,并与复发性生殖失败有关。研究显示子宫内膜间充质干细胞注射治疗具有保护作用,这可能是通过炎症损伤减少和颗粒细胞群对干细胞的反应,从而支持卵泡发育和类固醇激素的产生<sup>[38]</sup>。干细胞疗法可成为 EMT 的治疗选择。

### 4 小结与展望

EMT 中铁死亡与铁死亡抵抗并存。鉴于铁死亡对卵母细胞微环境的不良影响,研究如何抑制铁死亡通路、启动激活氧化应激保护或许可成为治疗 EMT 不孕症的潜在方向。针对此现象,EMT 的未来靶向药物可能存在两个分支:一个分支是铁死亡诱导剂,通过诱导铁死亡从而清除体内异位的子宫内膜细胞,减少 EMT 带来的负面影响;另一分支是铁死亡抑制剂,通过清除和减少铁死亡引起的氧化应激产物和脂质代谢紊乱发挥作用,降低铁超载对正常细胞的损害。将铁死亡的发生与 EMT 的形成相关联不仅可增加人们对 EMT 分子和细胞机制的了解,也为其临床诊治提供新思路。未来,单一或联合不同的铁死亡诱导剂、铁死亡抑制剂、抗氧化剂可能是治疗 EMT 及其相关性不孕症的新路径。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] VERCELLINI P, VIGANÒ P, BANDINI V, et al. Association of endometriosis and adenomyosis with pregnancy and infertility[J]. *Fertil Steril*, 2023, 119(5): 727-740.
- [2] HORNE A W, MISSMER S A. Pathophysiology, diagnosis, and management of endometriosis[J]. *BMJ*, 2022, 379: e070750.
- [3] DIXON S J, PRATT D A. Ferroptosis: A flexible constellation of related biochemical mechanisms[J]. *Mol Cell*, 2023, 83(7): 1030-1042.
- [4] NI Z, LI Y, SONG D, et al. Iron-overloaded follicular fluid increases the risk of endometriosis-related infertility by triggering granulosa cell ferroptosis and oocyte dysmaturity[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 579.

- [5] FENG H, SCHORPP K, JIN J, et al. Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(10): 3411–3423.
- [6] HAN C, LIU Y, DAI R, et al. Ferroptosis and its potential role in human diseases[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 239.
- [7] GAMMELLA E, RECALCATI S, RYBINSKA I, et al. Iron-induced damage in cardiomyopathy: Oxidative-dependent and independent mechanisms[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 230182.
- [8] ALVAREZ S W, SVIDERSKIY V O, TERZI E M, et al. NFS1 undergoes positive selection in lung tumours and protects cells from ferroptosis[J]. *Nature*, 2017, 551(7682): 639–643.
- [9] HUANG Y Y, WU C H, LIU C H, et al. Association between the genetic variants of glutathione peroxidase 4 and severity of endometriosis[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(14): 5089.
- [10] YAN R, XIE E, LI Y, et al. The structure of erastin-bound xCT-4F2hc complex reveals molecular mechanisms underlying erastin-induced ferroptosis[J]. *Cell Res*, 2022, 32(7): 687–690.
- [11] BERSUKER K, HENDRICKS J M, LI Z, et al. The CoQ oxidoreductase FSP1 acts parallel to GPX4 to inhibit ferroptosis[J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 688–692.
- [12] SUN X, SUN P, ZHEN D, et al. Melatonin alleviates doxorubicin-induced mitochondrial oxidative damage and ferroptosis in cardiomyocytes by regulating YAP expression[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2022, 437: 115902.
- [13] SUN K, ZHI Y, REN W, et al. The mitochondrial regulation in ferroptosis signaling pathway and its potential strategies for cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 169: 115892.
- [14] CHEN X, LI J, KANG R, et al. Ferroptosis: Machinery and regulation[J]. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2054–2081.
- [15] STOCKWELL B R. Ferroptosis turns 10: Emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. *Cell*, 2022, 185(14): 2401–2421.
- [16] KAGAN V E, MAO G, QU F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis[J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 81–90.
- [17] LIU J, KANG R, TANG D. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis[J]. *FEBS J*, 2022, 289(22): 7038–7050.
- [18] IMANAKA S, MARUYAMA S, KIMURA M, et al. Relationship between cyst fluid concentrations of iron and severity of dysmenorrhea in patients with ovarian endometrioma[J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2021, 86(1–2): 185–192.
- [19] XU G, CHEN L, LI Q. Association of iron metabolism markers, socioeconomic and lifestyle factors with endometriosis: A cross-sectional study[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2023, 78: 127175.
- [20] LI G, LIN Y, ZHANG Y, et al. Endometrial stromal cell ferroptosis promotes angiogenesis in endometriosis[J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 29.
- [21] WAN Y, GU C, KONG J, et al. Long noncoding RNA ADAMTS9-AS1 represses ferroptosis of endometrial stromal cells by regulating the miR-6516-5p/GPX4 axis in endometriosis[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 2618.
- [22] ZHOU Y, ZHAO X, ZHANG L, et al. Iron overload inhibits cell proliferation and promotes autophagy via PARP1/SIRT1 signaling in endometriosis and adenomyosis[J]. *Toxicology*, 2022, 465: 153050.
- [23] LI B, DUAN H, WANG S, et al. Ferroptosis resistance mechanisms in endometriosis for diagnostic model establishment[J]. *Reprod Biomed Online*, 2021, 43(1): 127–138.
- [24] CHANG K K, LIU L B, JIN L P, et al. NME1 suppression of endometrial stromal cells promotes angiogenesis in the endometriotic milieu via stimulating the secretion of IL-8 and VEGF[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(10): 2030–2038.
- [25] BERSINGER N A, GÜNTHER T A R, MCKINNON B, et al. Dose-response effect of interleukin (IL)-1 $\beta$ , tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , and interferon- $\gamma$  on the in vitro production of epithelial neutrophil activating peptide-78 (ENA-78), IL-8, and IL-6 by human endometrial stromal cells[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2011, 283(6): 1291–1296.
- [26] YI Z H, LI S Q, KE J Y, et al. Baicalein relieves ferroptosis-mediated phagocytosis inhibition of macrophages in ovarian endometriosis[J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2022, 44(12): 6189–6204.
- [27] SOKALSKA A, HAWKINS A B, YAMAGUCHI T, et al. Lipophilic statins inhibit growth and reduce invasiveness of human endometrial stromal cells[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2019, 36(3): 535–541.
- [28] TASKIN O, RIKHRAJ K, TAN J, et al. Link between endometriosis, atherosclerotic cardiovascular disease, and the health of women midlife[J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2019, 26(5): 781–784.

(下转第 131 页)