

铁死亡在口腔疾病中的研究进展

傅豫 何薇 黄兰

重庆医科大学附属口腔医院正畸科 口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室
重庆市高校市级口腔生物医学工程重点实验室 重庆 401147

[摘要] 铁死亡是一种可调控的，具有铁依赖性的，由脂质过氧化驱动细胞死亡形式，是一种重要的细胞死亡形式，在多种疾病中发挥着重要作用。目前铁死亡在癌症、缺血/再灌注损伤疾病、各类神经退行性疾病等方面的研究取得了一定的成果，在口腔疾病中的作用也越来越受关注。铁死亡是口腔癌的新兴治疗靶点。许多炎症损伤疾病与铁死亡相关，牙周炎作为一种慢性炎症性疾病，与铁死亡的发生过程可能存在一定的相关性。本文就目前铁死亡与口腔疾病的相关研究及发现进行综述，旨在为探索口腔疾病的发病机制和诊疗提供参考。

[关键词] 铁死亡；口腔疾病；口腔癌；牙周炎；肿瘤治疗

[中图分类号] R782.4 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/gjkq.2024006



开放科学（资源服务）
标识码（OSID）

Ferroptosis and its implication in oral diseases

Fu Yu, He Wei, Huang Lan

Dept. of Orthodontics, Stomatological Hospital of Chongqing Medical University & Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences & Chongqing Municipal Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Higher Education, Chongqing 401147, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China (82170989); Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2022NSCQ-MSX0794)

Correspondence: Huang Lan, Email: lanhuang@hospital.cqmu.edu.cn

[Abstract] Ferroptosis is a regulated, iron-dependent form of cell death driven by lipid peroxidation and plays an important role in a variety of diseases. It has been studied in cancer, ischemia/reperfusion injury diseases, and neurodegenerative diseases. As an important form of cell death, ferroptosis has received increasing attention in oral disease research. Some advances have been achieved in related studies. Ferroptosis has become an emerging therapeutic target for oral cancer and has been associated with many inflammatory injury diseases. As a chronic inflammatory disease, periodontitis may have some correlation with ferroptosis. This work reviews current findings on ferroptosis to provide a reference for the mechanism, diagnosis, and treatment of related oral diseases.

[Key words] ferroptosis; oral disease; oral cancer; periodontitis; cancer therapy

铁死亡（ferroptosis）是一种铁依赖性的，由

脂质过氧化诱导的，由核受体共激活因子4（nuclear receptor coactivator 4, NCOA4）促进^[1]的非凋亡性细胞死亡方式。铁死亡于2012年^[2]被正式提出，至今已被发现在多种疾病中发挥着重要作用。铁死亡在癌症、缺血/再灌注损伤疾病、各类神经退行性疾病等方面的研究已取得了一定的成果^[3]。近些年来，学者们在铁死亡和口腔各类疾病（如口腔癌、牙周炎、唾液腺功能障碍等）的关系的

[收稿日期] 2023-04-23; [修回日期] 2023-08-30

[基金项目] 国家自然科学基金（82170989）；重庆市自然科学基金（CSTB2022NSCQ-MSX0794）

[作者简介] 傅豫，硕士，Email: 2022120653@stu.cqmu.edu.cn

[通信作者] 黄兰，主任医师，博士，Email: lanhuang@hospital.cqmu.edu.cn

研究中,也取得了一定的进展^[4]。

本文简述了铁死亡的特征和调控机制,重点就铁死亡与口腔疾病相关的研究及发现进行综述,旨在为相关口腔疾病的机制和诊疗研究提供参考。

1 铁死亡概述

1.1 铁死亡的特征

在人和动物组织样本中,铁依赖性脂质过氧化标记物的存在可用于判定是否存在铁死亡。在细胞培养中,可以通过测试铁螯合剂和亲脂性抗氧化剂是否抑制细胞死亡来评估铁死亡的存在^[5]。

铁死亡时,铁过量积聚,通过芬顿反应,产生过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),促使细胞膜脂质过氧化的发生^[6]。同时,细胞发生形态学改变,包括细胞质膜破裂,线粒体皱缩且膜密度增加,线粒体嵴很少或没有,线粒体外膜破裂等。

从机制上来讲,铁死亡并不等同于广义的活性氧的积聚。铁死亡通常涉及特定脂质的氧化,而非活性氧的普遍积聚。特定脂质,如多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)的过氧化可促进铁死亡的发生,然而另外一些脂质,如单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)^[7],会抑制铁死亡的发生。此外,铁的积累并不等同于铁死亡。铁以两种氧化态Fe(II)、Fe(III)存在于细胞中。铁的氧化态对于其促进铁死亡的能力很重要。Fe(II)以不稳定铁池(labile iron pool, LIP)的形式存在于细胞中,与包括谷胱甘肽(glutathione, GSH)在内的低相对分子质量化合物结合,促进铁死亡的发生;而Fe(III)除了在脂氧化酶的活性位点作为酶的活性形式存在以外,通常是惰性的并储存在铁蛋白中。确定铁的氧化还原状态以及是否在给定情况下特异性促进铁死亡非常重要^[5]。

1.2 铁死亡的调控机制

目前已经确定的有以下4种广泛的铁死亡诱导机制^[5]: 1) 谷氨酸/胱氨酸反向转运体(glutamate/cystine transporter, 又称System X_c⁻)的抑制; 2) 谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)的抑制/降解/失活; 3) 还原型辅酶Q10(coenzyme Q10, CoQ10)的消耗; 4) 通过过氧化物、铁或PUFA过载诱导脂质过氧化。

System X_c⁻由溶质载体家族成员SLC7A11(suppresses solute carrier family 7 member 11, 又称xCT)和SLC3A2(suppresses solute carrier family 3 member 2)两个基因编码。多线证据表明, System X_c⁻的抑制是诱导铁死亡的潜在机制之一。其一,这种反转运蛋白的多个结构上不同的小分子抑制剂,例如Erastin、柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SSZ)和谷氨酸(glutamate, Glu),可以抑制System X_c⁻并由此诱导铁死亡。其二,胱氨酸耗竭去除了System X_c⁻的细胞外底物,也可以诱导铁死亡。其三,基因失活或小分子介导的GPX4抑制或降解会在许多细胞类型中诱导铁死亡。通过甲羟戊酸途径(mevalonate pathway, MVA)抑制CoQ10的生物合成或使CoQ10还原酶失活,在不存在GPX4的环境中可以诱导铁死亡。最后,还可以通过过量的铁、PUFAs或过氧化物[例如tBOOH(tert-butyl hydroperoxide)或FINO2(1,2-dioxolane)]处理来诱导铁死亡。与其他细胞死亡机制相比,上述这4种机制都具有诱导铁死亡的特异性,因为它们的致死作用主要或完全被铁死亡特异性抑制剂抑制,并且其他类型细胞死亡的标志物没有被激活。

有3个关键控制点可以有效和选择性地抑制铁死亡。首先,铁死亡的过程是由特定脂质的过氧化驱动的,直接阻断这一过氧化过程是关键的控制点。铁抑素-1(ferrostatin-1, Fer-1)和利普司他丁(liproxstatin)作为自由基捕获剂可抑制脂质过氧化而抑制铁死亡^[8]。其次,过氧化脂质底物的生成和辅酶A合成酶长链家族成员4[Acyl-coenzyme A (CoA) synthetase long-chain family member 4, ACSL4]是另一个控制点。最后,控制铁的可利用性是第3个控制点。去铁胺(deferoxamine)^[9]可通过减少细胞内铁从而抑制铁死亡。

2 铁死亡与口腔疾病的关系

目前,铁死亡已成为了口腔癌的一种新兴治疗靶点。诱导铁死亡的药物可能有助于杀死耐药性癌细胞和治疗晚期癌症^[4]。此外,铁死亡与牙周炎^[10]的发生进展,及女性由绝经引起的下颌腺功能失调^[11]也有一定的关联。

2.1 铁死亡与口腔癌

铁死亡作为一种新型的程序性细胞死亡方式,在包括口腔癌在内的癌症治疗中起着至关重要的

作用。在许多情况下,铁死亡诱导剂可能是有益的,例如用于治疗传染病和纤维化。目前研究最充分的是应用铁死亡诱导剂消除各种类型的癌细胞。铁死亡诱导剂,例如GPX4抑制剂和System X_c抑制剂,已经显现出一定的治疗前景^[5]。

研究表明^[4],对治疗抵抗的癌细胞更易受引起铁死亡的药物的影响。铁死亡有助于扼杀或阻止口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)细胞的增殖活动^[12]。铁死亡诱导剂或抗铁死亡抑制剂可帮助诱导OSCC细胞的铁死亡。对药理学和铁死亡相关基因的进一步研究有助于发现更优的口腔癌治疗方式^[4]。口腔颌面部恶性肿瘤是头颈部较常见的恶性肿瘤之一,其病理类型可分为鳞状细胞癌(squamous cell carcinoma, SCC)、腺源性癌瘤等,其中SCC占口腔癌的80%,部位以舌、颊、口底、牙龈、腭等多见。

2.1.1 与铁死亡相关的药物治疗 顺铂一直被认为是治疗包括OSCC在内的各种癌症的一线药物,但其临床耐药性和对各种器官的不良作用是治疗OSCC患者的主要障碍,最终导致治疗失败和存活率降低^[12]。目前,在许多癌症治疗中,铁死亡成为克服临床耐药性的靶向目标。有研究^[13]发现,暴露于顺铂环境中时,对顺铂抵抗的OSCC细胞相较于对照组OSCC细胞,呈现出更低的ROS和脂质过氧化水平及更高的GSH水平,而鼠尾草酸可通过诱导铁死亡的发生使顺铂耐药细胞对顺铂重新敏感,这涉及Nrf2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2)/HO-1(heme oxygenase-1)/xCT途径的失活。该研究提示这种治疗方法可以克服OSCC的化学疗法抵抗,是一种有潜力的治疗方法。

奎诺司他(quisinostat)是一种具有抗肿瘤活性的组蛋白去乙酰化酶抑制剂。有研究^[14]评估奎诺司他对舌鳞状细胞癌(tongue squamous cell carcinoma, TSCC)细胞体外和体内生存能力的影响,结果显示:奎诺司他能明显抑制TSCC细胞的生存能力、生长和迁移;同时透射电子显微镜检测显示,经奎诺司他处理的TSCC细胞组出现线粒体皱缩、膜密度增加、线粒体嵴减少或消失,表明发生了铁死亡。进一步研究发现:奎诺司他可通过激活GPX4和p53蛋白相关信号通路增加TSCC细胞内ROS水平进而诱导TSCC细胞的铁死亡。同时,奎诺司他也诱导TSCC细胞凋亡、焦亡。基于这些发现,奎诺司他可能是一种治疗TSCC的潜在药物。

有研究^[15]在2种不同的口腔癌细胞系——FaDu(一种下咽SCC)和SAS(一种来自人类舌组织原发病变的分化不良的SCC细胞系)中测定大黄根酚(chrysophanol)对铁死亡的药理作用,结果表明:大黄根酚引起了脂质ROS的过度产生,降低了GPX4的水平,这表明大黄根酚具有通过激活铁死亡来减缓口腔癌变进展的治疗潜力。

2.1.2 与铁死亡相关的非药物治疗 有实验^[16]评估了非热等离子体对OSCC细胞的影响,特别是对细胞内催化性Fe(II)的影响。与成纤维细胞相比,非热等离子体对OSCC细胞有特殊的杀伤作用。此外,这种效果还取决于特别存在于溶酶体中的催化铁Fe(II)的数量。在非热等离子体应用后,癌细胞内发生了脂质过氧化,产生了过氧化物和线粒体超氧化物。癌细胞在非热等离子体中的死亡可以被预先应用的柠檬酸铁铵(ferric ammonium citrate, FAC)所促进,并被去铁胺(desferrioxamine, DFO)所阻止,提示这种细胞死亡与铁死亡作用有关。

有学者^[17]在细胞铁死亡的生化特征基础上提出了铁死亡促进光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)的思路,铁死亡可以通过产生ROS和芬顿反应持续供应氧气来显著提高PDT的疗效。将光敏剂Ce6和铁死亡诱导剂Erastin自组装成一种新型超分子Ce6-Erastin纳米药物,然后在体外和体内评估了其OSCC的抗肿瘤功效,结果表明:Ce6-Erastin通过诱导细胞内铁死亡的发生,使细胞内ROS过度积累,氧浓度增加,SLC7A11表达受抑制,进而导致PDT对CAL-27细胞的杀伤作用增强。这种疗法对异种移植肿瘤小鼠模型的抗肿瘤效果也令人满意。该方法利用铁死亡的特征,促进ROS产生,缓解细胞缺氧,进而明显增强PDT的抗癌作用。该研究为克服PDT在癌症治疗中因缺氧导致的疗效下降提供了一种新思路。

2.1.3 与铁死亡相关的基因靶向治疗 非编码RNA(non-coding RNAs)已被证明在影响癌细胞和铁死亡的各种基因的调节中起着关键作用^[18]。非编码RNA是产生功能性RNA分子的基因,不进行蛋白质编码。目前已经发现了多种类型的非编码RNA,包括微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)或环状RNA(circular RNA, circRNA)等。

通过短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)沉默circRNA FNDC3B(circFNDC3B)可以诱导

铁死亡^[19]。从机制上来讲, circFNDC3B能够通过靶向miR-520d-5p增加SLC7A11, 进而逆转circFNDC3B的耗竭并抑制OSCC细胞的铁死亡。此外, 在裸体小鼠中进行的致瘤性研究表明: circFNDC3B的耗竭抑制了OSCC细胞在体内的生长。综上所述可以看出, circFNDC3B减弱了OSCC细胞的铁死亡, 并通过调节miR-520d-5p/SLC7A11轴促进了OSCC的增殖生长。CircFNDC3B、miR-520d-5p和SLC7A11可能作为OSCC的潜在治疗目标。

有研究^[20]发现果蝇Zeste基因增强子的人类同源物EZH2和SLC7A11的过量表达抑制了Erastin诱导的TSCC细胞的铁死亡。MiR-125b-5p通过靶向SLC7A11来调控TSCC细胞的铁死亡。EZH2通过抑制miR-125b-5p和增强SLC7A11来抑制TSCC细胞的铁死亡。

与正常组织相比, OSCC中miR-34c-3p的表达较低。在SCC-25细胞中过量表达miR-34c-3p可以抑制细胞增殖。此外, miR34c-3p的过表达会促进SCC25细胞的铁死亡。此研究^[21]结果揭示了一种通过miR-34c-3p/SLC7A11轴上调Erastin诱导的OSCC铁死亡的新策略, 表明了对OSCC的新认识及一种对OSCC的潜在有效的治疗策略。

昼夜节律钟基因^[22]的异常表达是包括癌症在内多种疾病发生的重要因素, PER1是核心昼夜节律钟基因之一。在OSCC细胞系中及OSCC样本中, 对PER1和GPX4水平进行测定, 发现与正常组相比, OSCC组的PER1水平显著下降而GPX4水平显著升高^[22]。更高的GPX4表达水平对应更短的OSCC患者的平均生存时间。体内致瘤性实验^[22]表明: PER1的过度表达抑制了缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1 α , 促进了铁死亡, 并抑制了OSCC的生长。机制上, PER1与HIF-1 α 结合, 促进HIF-1 α 蛋白降解; 而HIF-1 α 与PER1启动子结合, 对PER1转录进行反馈抑制。该研究^[22]结果提示: 靶向PER1/HIF-1 α 的负反馈环路可能为OSCC的治疗提供一种新的策略。

白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)是慢性炎症过程中的代表性炎症细胞因子^[23], xCT由SLC7A11编码, 是一种协助铁死亡抵抗的关键氨基酸反向转运蛋白。实验^[23]观察到, 与正常口腔黏膜组织相比, 黏膜白斑病和头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)组织中的过氧化脂质4-羟基壬烯酸(4-hydroxynonenal, 4-HNE)和IL-6水平较高, 且与病变恶

性程度呈正相关。同时, xCT的表达与IL-6水平相关。从机制上讲, IL-6通过JAK2/STAT3(Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3)途径转录激活了xCT的表达。此外, IL-6逆转了由xCT敲除或铁死亡诱导剂Erastin所诱导的HNSCC细胞的铁死亡和生长抑制。这些研究结果提示: 在HNSCC的癌变过程中, IL-6诱导的铁死亡抵抗起着关键作用。IL-6/STAT3/xCT轴是驱动肿瘤进展的一种新机制, 有可能被用作预防和治疗肿瘤。

脂肪细胞增强子结合蛋白1(adipocyte enhancer-binding protein 1, AEBP1)是一种转录抑制剂, 参与调节如脂肪生成和炎症反应等关键生物过程。同时, AEBP1作为一种潜在的癌基因, 其过表达与肿瘤的发生和发展相关。研究^[24]发现, AEBP1在口腔癌细胞和组织中高表达。沉默AEBP1可以抑制口腔癌细胞增殖、迁移和侵袭, 并且可以增强口腔癌细胞对SSZ的敏感性, 进而促进铁死亡活动的发生。同时, 在建立的荷瘤小鼠模型中, AEBP1沉默可以抑制小鼠体内肿瘤生长, 并可增强SSZ对游离铁水平、脂质过氧化水平以及铁死亡相关基因表达水平的影响。体内、体外试验发现, 对顺铂抵抗的口腔癌细胞具有与上述相同的反应趋势。AEBP1基因沉默可能是通过激活Jun氨基末端激酶(Jun N-terminal kinase, JNK)/p38/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路来促进铁死亡活动, 进而抑制肿瘤进展。本研究提示AEBP1可能是一个新的铁死亡调节因子, 也是顺铂耐药口腔癌的一个潜在治疗靶点。

近年来与铁死亡相关的OSCC靶向治疗研究进展总结见表1。

2.1.4 与铁死亡相关的生物信息学分析 为探究铁死亡相关基因(ferroptosis-related genes, FRGs)在OSCC发生发展中的作用, 一些生物信息学分析研究初步确定了一些潜在的与预后有关的生物标志物。有研究^[25]筛选出OSCC中铁死亡相关基因并进行分析, 发现9个关键基因, 其中干扰素 γ (interferon gamma, IFNG)和表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)在OSCC组织中的表达水平与生存率显著相关($P<0.05$)。这两个基因可作为OSCC预后潜在的标志物。lncRNAs与癌症发展密切相关, 铁死亡相关lncRNAs与多种癌症的预后有关。有学者^[26]通过生物信息

学方法得到8个与OSCC预后相关的铁死亡lncRNAs, 包括 TLL11-IT1、HOTAIRM1、ZNF710-AS1、AL022323.1、LINC02454、LINC-00294、AC100861.1和LINC02081。GSH是GPX4的辅酶因子, 有研究^[27]通过探究GSH靶向铁死亡来治疗口腔癌, 确定了14个核心分子靶点, 即EGFR、PTGS2、

HIF1A、VEGFA、TFRC、SLC2A1、CAV1、CDKN2A、SLC3A2、IFNG、NOX4、DDIT4、CA9和DUSP1。这些研究为GSH在铁死亡中的靶点以及可能涉及的分子机制提供了新的见解, 表明靶向GSH可能作为治疗口腔癌的一种联合疗法, 具有一定的应用前景。

表 1 OSCC靶向治疗有关的铁死亡研究

Tab 1 Researches of ferroptosis in OSCC targeted therapy

干预/靶向基因	OSCC细胞系/组织样本	相关表现	参考文献
鼠尾草酸、Nrf2/HO-1/xCT途径	SCC9-DDP和CAL27-DDP细胞(顺铂抵抗细胞)	用鼠尾草酸处理顺铂耐药的OSCC细胞会降低GSH水平, 增加ROS和脂质过氧化水平; 这种作用可被liproxstatin-1逆转	[13]
奎诺司他(quisinostat)	CAL-27和TCA-8113细胞	细胞的线粒体缩小且萎缩, 线粒体嵴减少甚至缺失, 线粒体膜密度增加, 细胞内ROS水平增加, GPX4下调	[14]
大黄根酚(chrysophanol)	FaDu和SAS细胞	ROS积聚, GPX4水平降低	[15]
非热等离子体(non-thermal plasma)	SAS和Ca9-22细胞	细胞内发生了脂质过氧化, 细胞内ROS水平、线粒体内ROS水平升高; 非热等离子体所致的癌细胞死亡可被事先应用的FAC所促进, 并被DFO所抑制	[16]
PDT加Ce6-Erastin	CAL-27细胞	细胞内ROS过度积聚, 氧浓度增加, SLC7A11表达受到抑制	[17]
circFNDC3B、miR-520d-5p	32份OSCC样本, CAL27和SCC15细胞系	通过shRNA沉默circFNDC3B可以抑制GPX4和SLC7A11的表达, 增强OSCC细胞中的ROS、铁和Fe(II)水平; CircFNDC3B敲除加强了Erastin诱导的对OSCC细胞的生长抑制作用	[19]
EZH2、SLC7A11、MiR-125b-5p	20份TSCC样本, SCC9和CAL27细胞系	EZH2和SLC7A11过量表达抑制了Erastin诱导的TSCC细胞的铁死亡, 伴丙二醛水平和Fe(II)水平降低	[20]
miR-34c-3p	43份OSCC样本, SCC-25和CAL27细胞	miR34c-3p过表达使细胞中的ROS、丙二醛、Fe(II)水平上升, GSH和GPX4水平降低, 且可被Fer-1抑制	[21]
PER1	OSCC, SCC15和CAL27细胞系	过表达PER1, GPX4、SLC7A11和GSH水平降低, 运铁蛋白受体、丙二醛、ROS和Fe(II)水平升高, 线粒体皱缩, 膜密度增加, 线粒体嵴减少; 沉默PER1, GPX4、SLC7A11和GSH水平升高, 运铁蛋白受体、丙二醛、ROS和Fe(II)水平降低, 线粒体无明显形态学改变	[22]
IL-6/STAT3/xCT	129份HNSCC样本, 12份黏膜白斑病样本, HN4和CAL27细胞	沉默xCT, 细胞线粒体皱缩, 线粒体嵴减少; 细胞内Fe(II)增多, 脂质过氧化水平增加, GSH水平降低	[23]
AEBP1	CAL27, SCC15和CAR(顺铂耐药细胞)细胞系	沉默AEBP1增强了由SSZ诱导的细胞内ROS、游离铁、丙二醛表达水平升高, FTH1、GPX4和SLC7A11表达水平降低, 环氧合酶2表达水平升高	[24]

有研究^[28]通过主成分分析(principal component analysis, PCA)算法确定了一个铁死亡特异性基因表达特征, 即铁死亡模式评分(ferroptosis patterns score, FPscore), 以评估个体肿瘤的铁死亡调节模式。OSCC患者的高FPscore与良好的预后、与铁死亡相关的免疫激活表型、对化学疗法

和免疫疗法的潜在敏感性有关。这对具有不同铁死亡调节模式的个体肿瘤的综合评估提供了新的解释机制, 可能与OSCC的联合疗法的应用具有临床相关性。

这些研究深入分析了OSCC中铁死亡相关基因表达, 为构建可靠、准确的OSCC临床风险预后模

型提供了基础;同时在OSCC临床综合治疗、预后评估等方面提供了新的思路。

2.2 铁死亡与牙周炎

许多炎症损伤疾病已被证明与铁死亡相关。牙周炎是一种由牙周环境中生物膜的生态失调引发的慢性感染性疾病^[29],由长期存在的慢性牙龈炎向深部牙周组织发展,导致牙周支持组织的炎症和破坏,如牙周袋形成、进行性附着丧失和牙槽骨吸收,最终可导致牙松动和被拔除。

牙龈卟啉单胞菌是引起牙周病的重要致病菌,并影响多种全身系统疾病^[30],如癌症、心血管疾病、糖尿病、类风湿性关节炎和阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等。牙龈卟啉单胞菌外膜囊泡(outer membrane vesicles, OMV)^[31]可穿过血脑屏障,并可通过增加神经炎症、斑块/缠结形成和铁稳态失调而加速AD特异性神经病理学改变,从而诱导铁死亡,最终导致神经元死亡和神经退行性病变的发生。

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种代谢性肝病,最终可导致肝硬化和肝细胞癌。牙龈卟啉单胞菌参与了NAFLD的发生、发展。有研究^[30]建立牙龈卟啉单胞菌口服给药动物模型,发现在所有口服该菌的小鼠中观察到NAFLD及牙周炎的发生,肠道微生物群和代谢产物发生了变化。在口服牙龈卟啉单胞菌小鼠的肝脏中可观察到铁死亡相关指标的变化。体外研究中,在与牙龈卟啉单胞菌上清液共培养的肝细胞中观察到铁死亡指标的变化,并且该变化可被铁死亡抑制剂Fer-1所逆转。此外,牙龈卟啉单胞菌可在体内触发肝脏和脾脏中Th17/Treg比例的失衡。这些发现表明口服牙龈卟啉单胞菌可直接诱导小鼠的NAFLD,其机制可能在于紊乱的微生物代谢诱导的Th17/Treg失衡而发生肝细胞的铁死亡活动。牙龈卟啉单胞菌影响铁死亡的分子机制仍待进一步研究,但改善牙周环境可以作为预防NAFLD的一种新的治疗策略。

牙龈卟啉单胞菌还可以产生多种毒力因子,其分泌的脂多糖(lipopolysaccharide-*Porphyromonas gingivalis*, LPS-PG)是一种细菌内毒素^[32],可激活独特的信号传导通路并触发不同的免疫应答。LPS-PG还激活中性粒细胞的促炎和抗菌反应,在牙周病的发生、发展中起重要作用。有研究^[33]发现:LPS-PG可引起细胞线粒体功能障碍,细胞内ROS积聚和氧化应激反应,推测LPS-PG可

能作为铁死亡活动的一种重要影响因素在牙周疾病中发挥作用。

有研究^[34]发现:经过LPS-PG处理的牙周膜干细胞可检测到铁死亡相关指标的变化。过氧化还原酶6(Peroxiredoxin 6, PRDX6)作为一种抗氧化酶,可对LPS-PG诱导的人牙龈成纤维细胞(human gingival fibroblasts, HGFs)炎症反应和铁死亡起保护作用。抑制PRDX6的磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)酶活性可减轻HGFs中的炎症反应和铁死亡。Nrf2信号通路是一条经典的与氧化应激相关的信号通路,在HGFs中调节PRDX6表达,并发挥保护作用。这项研究为基于PRDX6和铁死亡的牙周炎发生发展机制提供了新的解释。

另有学者^[32]在牙周炎大鼠的牙龈组织中观察到铁死亡活动,同时发现LPS-PG可以诱发的HGFs的铁死亡活动。经LPS-PG处理的HGFs细胞内铁死亡相关指标可以发生变化,包括线粒体形态变化和ROS积聚等。这些细胞内由LPS-PG诱发的改变可被铁死亡抑制剂Fer-1所减弱。

lncRNAs是一种新型的竞争性内源性RNA(competitive endogenous RNA, ceRNA)调节子,在慢性周期性炎症的发生、发展中起重要作用。LINC00616是一种新型lncRNA,可在种植体周围炎和牙周炎患者中通过微阵列分析识别出来。研究^[35]发现:经过LPS-PG处理的牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)中检测到铁死亡相关指标的变化。进一步研究^[35]发现:lncRNA LINC00616在LPS-PG处理的PDLSCs中及牙周炎患者的牙周膜组织中表达上调,抑制LINC00616可以促进细胞活力并抑制PDLSCs中的铁死亡活动。MiR-370被证实可靶向LINC00616,抑制MiR-370从而逆转LINC00616下调带来的PDLSCs对细胞活力及铁死亡活动的影响^[35]。LINC00616作为ceRNA,可以通过MiR-370/运铁蛋白受体轴促进PDLSCs铁死亡^[35]。因此,敲低LINC00616可能是一个有前景的通过调控铁死亡活动的牙周炎的治疗方向。

除此之外,多种牙周致病菌(牙龈卟啉单胞菌、具核梭杆菌、福赛斯坦纳菌、中间普氏菌)可产生大量短链不饱和脂肪酸^[36],如琥珀酸、乳酸、乙酸、丁酸。有研究^[37]发现:丁酸盐可诱导牙周膜成纤维细胞的多种细胞死亡形式,且细胞死亡可被铁死亡抑制剂逆转,其机制在于丁酸盐可诱导牙周膜成纤维细胞的由NCOA4介导的铁

自噬和铁死亡活动的发生, 细胞内发生了铁的积聚、ROS的生成、谷胱甘肽的耗竭和脂质过氧化活动。

为进一步探索牙周炎与铁死亡的关系, 有学者^[38]通过生物信息学分析FRGs在牙周炎中的表达, 进而深入探究牙周炎的发病机制。该研究^[38]通过差异表达分析鉴定了7个DE-FRGs (differentially expressed FRGs), 包括IL1B、XBP1、MMP13、ALOX15B、ENPP2、SLC2A3、RGS4。IL1B、XBP1和MMP13在蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络中相互作用, 在获得DE-miRNA和预测miRNA之间的交集后, 该研究建立了包含IL1B、hasmiR-185、hasmiR-204、hasmiR-211、hasmiR-4306和28个lncRNA的ceRNA网络。

牙周炎与2型糖尿病 (diabetes mellitus type 2) 之间存在双向关系。有研究^[39]鉴定出67个串扰基因和两个主要信号通路, 免疫炎症通路和晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体 (advanced glycation end products-receptor for advanced glycation endproducts, AGE-RAGE) 信号通路, 经过分析发现铁死亡指标是2型糖尿病牙周炎发病机制和治疗的重要指标。IL-1b、IL-6、NFE2L2和ALOX5是其中的核心基因。该研究共筛选出13个潜在药物, 其中紫锥菊 (echinacea) 和异丁司特 (ibudilast) 有优先开发的價值。该研究有助于更深入地了解牙周炎和2型糖尿病的共同发病机制, 并为铁死亡在疾病中的作用提供了新的见解。

研究^[39]表明: 不同程度的铁代谢紊乱和脂质过氧化物的积聚等具有铁死亡特征的表现都在牙周炎中有所体现, 而对铁死亡的调控可以影响牙周炎的进程。牙周炎和铁诱导的细胞死亡在铁超载、脂质过氧化、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路、p53通路、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 通路等环节有许多类似的指标变化, 表明这两个过程之间可能存在一定的相关性。铁死亡与牙周炎之间的具体机制、相关通路和关键执行分子尚未确定^[10], 还需要在此方面进一步研究与探索。牙龈卟啉单胞菌及其产物作为牙周炎及多种全身系统疾病的重要危险因素, 与铁死亡的发生存在一定的关联性, 未来可作为进一步研究的方向。生物信息学分析可为研究牙周炎与铁死亡的联系及探究牙周炎的发病机制提供新的

方法。

2.3 铁死亡与其他口腔疾病

有研究^[11]发现: 女性由绝经引起的下颌下腺功能失调可能和铁死亡相关。卵巢切除术后的大鼠, 其下颌下腺组织存在脂质沉积及线粒体形态学改变, 并可进一步观察到脂质过氧化活动及铁离子积聚, 这些改变引起了炎症细胞因子增多及下颌下腺组织内纤维化增多, 并最终引起唾液腺功能失调^[11]。同时在绝经后女性的下颌下腺组织中, 观察到了和铁死亡有关的特征表现。

此外, 经代谢物注释和途径富集分析^[40], 牙源性角化囊肿术前术后样本及邻近口腔黏膜样本与周围正常黏膜相比, 均可检测到铁死亡活动。还有实验^[41]发现: 在低氧条件下, 牙髓间充质干细胞不稳定铁池和铁自噬活动增强, 并且检测到其细胞增殖活动, 但未检测到铁死亡相关指标变化。

3 小结与展望

铁死亡作为细胞程序性死亡的一种, 与各类口腔疾病的关系尚不明确, 目前仍在探索中。铁死亡作为OSCC的新兴治疗靶点, 在克服化学疗法抵抗、确定治疗靶向、追踪治疗预后等方面发挥着重要作用, 具有较明朗的发展前景。目前的证据表明: 牙周炎和铁死亡的发生可能存在一定的关联性, 在牙周炎实验模型中检测到铁死亡的发生, 这为牙周炎的治疗及预防提供了新的思路。女性由绝经引起的下颌下腺功能失调也被发现和铁死亡相关。铁死亡是否在其他唾液腺疾病、黏膜疾病、根尖周疾病等口腔疾病中发挥作用, 仍需进一步探究。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

4 参考文献

- [1] Gao MH, Monian P, Pan QH, et al. Ferroptosis is an autophagic cell death process[J]. *Cell Res*, 2016, 26(9): 1021-1032.
- [2] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [3] Yan HF, Zou T, Tuo QZ, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases[J]. *Signal Transduct*

- Target Ther, 2021, 6(1): 49.
- [4] Balachander K, Paramasivam A. Ferroptosis: an emerging therapeutic target for oral cancer[J]. Oral Oncol, 2022, 131: 105970.
- [5] Stockwell BR. Ferroptosis turns 10: emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. Cell, 2022, 185(14): 2401-2421.
- [6] Tang DL, Chen X, Kang R, et al. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications[J]. Cell Res, 2021, 31(2): 107-125.
- [7] Magtanong L, Ko PJ, To M, et al. Exogenous mono-unsaturated fatty acids promote a ferroptosis-resistant cell state[J]. Cell Chem Biol, 2019, 26(3): 420-432.e9.
- [8] Zilka O, Shah R, Li B, et al. On the mechanism of cytoprotection by ferrostatin-1 and liproxstatin-1 and the role of lipid peroxidation in ferroptotic cell death[J]. ACS Cent Sci, 2017, 3(3): 232-243.
- [9] Guo C, Wang T, Zheng W, et al. Intranasal deferoxamine reverses iron-induced memory deficits and inhibits amyloidogenic APP processing in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. Neurobiol Aging, 2013, 34(2): 562-575.
- [10] Chen KX, Ma SY, Deng JW, et al. Ferroptosis: a new development trend in periodontitis[J]. Cells, 2022, 11(21): 3349.
- [11] Kwon HK, Kim JM, Shin SC, et al. The mechanism of submandibular gland dysfunction after menopause may be associated with the ferroptosis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(21): 21376-21390.
- [12] 谢章弘, 华清泉. 铁死亡在头颈部鳞状细胞癌中的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(4): 282-287. Xie ZH, Hua QQ. Research progress of ferroptosis in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Cancer Res Prev Treat, 2022, 49(4): 282-287.
- [13] Han L, Li L, Wu G. Induction of ferroptosis by carnosic acid-mediated inactivation of Nrf2/HO-1 potentiates cisplatin responsiveness in OSCC cells[J]. Mol Cell Probes, 2022, 64: 101821.
- [14] Wang XH, Liu K, Gong HM, et al. Death by histone deacetylase inhibitor quisinostat in tongue squamous cell carcinoma via apoptosis, pyroptosis, and ferroptosis[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2021, 410: 115363.
- [15] Ya-Hsuan L, Valeria C, Chun-Yen H, et al. Promotion of ferroptosis in oral cancer cell lines by chryso-phanol[J]. Curr Top Nutraceutical Res, 2020, 18(3): 273-276.
- [16] Sato K, Shi L, Ito F, et al. Non-thermal plasma specifically kills oral squamous cell carcinoma cells in a catalytic Fe(II)-dependent manner[J]. J Clin Biochem Nutr, 2019, 65(1): 8-15.
- [17] Zhu T, Shi LL, Yu CY, et al. Ferroptosis promotes photodynamic therapy: supramolecular photosensitizer-inducer nanodrug for enhanced cancer treatment[J]. Theranostics, 2019, 9(11): 3293-3307.
- [18] Hsieh PL, Chao SC, Chu PM, et al. Regulation of ferroptosis by non-coding RNAs in head and neck cancers[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3142.
- [19] Yang J, Cao XH, Luan KF, et al. Circular RNA FNDC3B protects oral squamous cell carcinoma cells from ferroptosis and contributes to the malignant progression by regulating miR-520d-5p/SLC7A-11 axis[J]. Front Oncol, 2021, 11: 672724.
- [20] Yu Y, MohamedAl-Sharani H, Zhang B. EZH2-mediated SLC7A11 upregulation via miR-125b-5p represses ferroptosis of TSCC[J]. Oral Dis, 2023, 29(3): 880-891.
- [21] Sun K, Ren WH, Li SM, et al. MiR-34c-3p upregulates erastin-induced ferroptosis to inhibit proliferation in oral squamous cell carcinomas by targeting SLC7A11[J]. Pathol Res Pract, 2022, 231: 153778.
- [22] Yang YX, Tang H, Zheng JW, et al. The PER1/HIF-1alpha negative feedback loop promotes ferroptosis and inhibits tumor progression in oral squamous cell carcinoma[J]. Transl Oncol, 2022, 18: 101360.
- [23] Li MY, Jin SF, Zhang ZY, et al. Interleukin-6 facilitates tumor progression by inducing ferroptosis resistance in head and neck squamous cell carcinoma [J]. Cancer Lett, 2022, 527: 28-40.
- [24] Zhou QW, Wang XQ, Zhang YX, et al. Inhibition of AEBP1 predisposes cisplatin-resistant oral cancer cells to ferroptosis[J]. BMC Oral Health, 2022, 22(1): 478.
- [25] 晏子钦, 魏明波, 程波. 基于铁死亡相关基因的口腔鳞状细胞癌的生物信息学分析[J]. 临床口腔医学杂志, 2022, 38(1): 19-22.

- Yan ZQ, Wei MB, Cheng B. Bioinformatics analysis of oral squamous cell carcinoma based on the expression of ferroptosis-related genes[J]. *J Clin Stomatol*, 2022, 38(1): 19-22.
- [26] 吴莹莹, 孙越, 邹燕梅, 等. 筛选影响口腔鳞状细胞癌预后的铁死亡相关 lncRNAs 并构建预后风险模型[J]. *临床口腔医学杂志*, 2021, 37(9): 535-538.
- Wu YY, Sun Y, Zou YM, et al. Screening ferroptosis-related lncRNAs that affect the prognosis of oral squamous cell carcinoma and constructing a prognostic risk model[J]. *J Clin Stomatol*, 2021, 37(9): 535-538.
- [27] Huang C, Zhan L. Network pharmacology identifies therapeutic targets and the mechanisms of glutathione action in ferroptosis occurring in oral cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 851540.
- [28] Gu WC, Kim M, Wang L, et al. Multi-omics analysis of ferroptosis regulation patterns and characterization of tumor microenvironment in patients with oral squamous cell carcinoma[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(13): 3476-3492.
- [29] Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: framework and proposal of a new classification and case definition[J]. *J Clin Periodontol*, 2018, 45(Suppl 20): S149-S161.
- [30] Yao C, Lan DM, Li X, et al. *Porphyromonas gingivalis* is a risk factor for the development of nonalcoholic fatty liver disease via ferroptosis[J]. *Microbes Infect*, 2023, 25(1/2): 105040.
- [31] Liu SX, Butler CA, Ayton S, et al. *Porphyromonas gingivalis* and the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2023: 1-11.
- [32] Qiao SW, Li BS, Cai Q, et al. Involvement of ferroptosis in *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-stimulated periodontitis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oral Dis*, 2023, 29(8): 3571-3582.
- [33] Bullon P, Cordero MD, Quiles JL, et al. Mitochondrial dysfunction promoted by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide as a possible link between cardiovascular disease and periodontitis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(10): 1336-1343.
- [34] Yang WY, Meng X, Wang YR, et al. PRDX6 alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation and ferroptosis in periodontitis[J]. *Acta Odontol Scand*, 2022, 80(7): 535-546.
- [35] Wang HW, Qiao XT, Zhang C, et al. Long non-coding RNA LINC00616 promotes ferroptosis of periodontal ligament stem cells via the microRNA-370/transferrin receptor axis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(5): 13070-13081.
- [36] Lu R, Meng H, Gao X, et al. Effect of non-surgical periodontal treatment on short chain fatty acid levels in gingival crevicular fluid of patients with generalized aggressive periodontitis[J]. *J Periodontal Res*, 2014, 49(5): 574-583.
- [37] Zhao YH, Li J, Guo W, et al. Periodontitis-level butyrate-induced ferroptosis in periodontal ligament fibroblasts by activation of ferritinophagy[J]. *Cell Death Discov*, 2020, 6(1): 119.
- [38] Zhang CR, Xue PX, Ke JG, et al. Development of ferroptosis-associated ceRNA network in periodontitis[J]. *Int Dent J*, 2023, 73(2): 186-194.
- [39] Pan SY, Hu B, Sun JC, et al. Identification of cross-talk pathways and ferroptosis-related genes in periodontitis and type 2 diabetes mellitus by bioinformatics analysis and experimental validation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1015491.
- [40] Leite-Lima F, Bastos VC, Vitória JG, et al. Unveiling metabolic changes in marsupialized odontogenic keratocyst: a pilot study[J]. *Oral Dis*, 2022, 28(8): 2219-2229.
- [41] Zhou H, Zhou YL, Mao JA, et al. NCOA4-mediated ferritinophagy is involved in ionizing radiation-induced ferroptosis of intestinal epithelial cells[J]. *Redox Biol*, 2022, 55: 102413.

(本文编辑 吴爱华)