DOI:10.16016/j.2097-0927.202203063

镉通过诱导自噬促进肾小管上皮细胞铁死亡的研究

李 敏[1,2],杨 前[1,2],刘亚轩[1,2,3],皮会丰[4,5],刁 波[1,2] 430000 湖北 武汉,中部战区总医院基础医学实验室[1];430000 湖北 武汉,中枢神经系统肿瘤发生与干预湖北省重点实验室[2];510515 广东 广州,南方医科大学,广州[3];4000384 重庆,陆军军医大学军事预防医学系军队劳动卫生学教研室[4];4000384 重庆,电磁辐射医学防护教育部重点实验室[5]

[摘要] **目的** 研究铁自噬诱导的铁死亡在镉(cadmium, Cd)暴露致肾小管上皮细胞毒性中的作用。**方法** 采用 HK-2 细胞构建镉暴露模型,观察 $CdCl_2$ 处理后细胞铁死亡、自噬、铁自噬及细胞毒性的影响。同时抑制铁死亡、自噬及铁自噬并观察其对细胞毒性的影响。**结果** 镉以剂量依赖性方式诱导肾小管上皮细胞铁死亡,铁死亡标志物长链脂酰 CoA 合成酶(Acyl-CoA synthetase long chain family member 4, ACSL4)水平升高,谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)水平降低;脂质过氧化作用抑制剂 ferrastatin-1(Fer-1)和铁离子螯合剂去铁胺(deferroamine, DFO)可减轻 Cd 诱导的肾小管上皮细胞死亡;镉诱导肾小管上皮细胞自噬,自噬小体数量增加,自噬标志物 LC3B-Ⅱ表达增加;抑制自噬减轻镉诱导的肾小管上皮细胞铁死亡;此外,镉诱导肾小管上皮细胞铁自噬,铁自噬标志物核受体共同活化子 4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)表达增加,铁自噬底物铁蛋白重链多肽 1(ferritin heavy chain 1, FTH)表达降低;NCOA4 敲除抑制了镉诱导的储铁蛋白降解及细胞死亡。**结论** 铁自噬介导的铁死亡参与了镉诱导的肾小管上皮细胞死亡。

[关键词] 氯化镉;肾毒性;铁死亡;铁自噬;自噬

[中图法分类号] R322.61; R329.25; R818.03 [文献标志码] A

Cadmium promotes ferroptosis in renal tubular epithelial cells by inducing autophagy

LI Min[1,2], YANG Qian[1,2], LIU Yaxuan[1,2,3], PI Huifeng[4,5], DIAO Bo[1,2] [1]Basic Medical Laboratory, General Hospital of Central Theater Command, Wuhan, Hubei Province, 430000; [2]Hubei Key Laboratory of Central Nervous System Oncogenesis and Intervention, Wuhan, Hubei Province, 430000; [3]Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510515; [4]Department of Occupational Health, College of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038; [5]Key Laboratory of Electromagnetic Radiation Protection of Ministry of Education, Chongqing, 400384, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the role of ferritinophagy-mediated ferroptosis in renal tubular epithelial cytotoxicity induced by cadmium (Cd) exposure. **Methods** HK-2 cells were used to construct Cd exposed cell model, and the effects of Cd on ferroptosis, autophagy, ferritinophagy and cytotoxicity were observed. Meanwhile, the effects of inhibition of ferroptosis, autophagy and ferritinophagy on Cd cytotoxicity were evaluated. **Results** Cd induced ferroptosis in renal tubular epithelial cells in a dose-dependent manner, and the level of acyl-CoA synthetase long chain family member 4 (ACSL4) was increased and that of glutathione peroxidase 4 (GPX4) was decreased. Treatment of lipid peroxidation inhibitor ferrastatin-1 (Fer-1) and iron chelating agent deferroamine (DFO) attenuated Cd-induced death in renal tubular epithelial cells. Cd induced renal tubular epithelial cell autophagy, increased the number of autophagosomes, and enhanced the expression of autophagy marker LC3B-Ⅱ. Inhibition of autophagy alleviated Cd-induced ferroptosis in renal tubular epithelial cells. In addition, Cd induced ferritinophagy in renal tubular epithelial cells, and the expression of ferritinophagy marker nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4) was elevated,

[基金项目] 国家自然科学基金(81703267);湖北省自然科学基金(2020CFB223)

[通信作者] 刁 波,E-mail: dpitao@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

while the expression of ferritin heavy chain 1 (FTH), substrate of ferritinophagy, was decreased. NCOA4 knockdown inhibited Cd-induced ferritin degradation and cell death. **Conclusion** Ferritinophagy-mediated ferroptosis is involved in Cd-induced renal tubular epithelial cell death.

[**Key words**] cadmium chloride; nephrotoxicity; ferroptosis; ferrotinophagy; autophagy

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81703267) and the Natural Science Foundation of Hubei Province (2020CFB223).
Corresponding author: DIAO Bo, E-mail: dpitao@163.com

重金属元素镉(Cadmium, Cd)是一种毒性非常大的工业和环境污染物。由于其在工业中的广泛应用,致使含镉粉尘、废水、废渣对环境造成严重污染,再经空气、饮水和食品等途径进入人体,危害身体健康[1]。研究表明,肾脏是 Cd 积累和滞留的主要器官。由于 Cd 在肾脏中的半衰期长达 30 年,肾功能不全可能是 Cd 引起毒性损害甚至死亡的最大危险因素[2]。研究表明,肾小管上皮细胞是镉毒性的主要靶点[3]。各种形式的细胞死亡,包括由氧化应激介导的细胞凋亡、坏死和坏死性凋亡,都与镉诱导的肾小管损伤有关[4]。然而,其他类型的氧化性细胞死亡是否参与镉诱导的肾小管损伤尚不清楚。

铁死亡是一种以铁离子依赖为特征的非凋亡性细胞死亡,其本质是细胞内脂质氧化物的代谢障碍,进而在铁离子的催化下异常代谢,产生大量脂质 ROS,攻击生物大分子,触发细胞死亡[5]。抗氧化系统功能抑制和线粒体功能损伤是铁死亡脂质过氧化发生的重要原因。谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)和长链脂酰 CoA 合成酶(Acyl-CoA Synthetase Long chain family member 4, ACSL4)是铁死亡的关键调节因子,也是其标记物。铁死亡受铁代谢的严格调控。储铁蛋白(Ferritin)是细胞内主要的铁储存蛋白复合物,由铁蛋白轻链 1(ferritin light polypeptide 1, FLT)和铁蛋白重链 1 (ferritin heavy polypeptide 1, FTH) 组成。铁死亡与许多疾病有关,包括组织损伤、癌症、感染和阿尔茨海默病[6]。然而,铁死亡在 Cd 诱导的肾小管上皮细胞死亡中的作用尚不清楚。

自噬是一种依赖溶酶体的降解途径,通过吞噬和降解清除受损的细胞内成分,参与 Cd 诱导的细胞毒性和细胞死亡。自噬关键因子如 ATG5、ATG7 和 ATG16L1 的敲除可抑制癌细胞中的铁死亡[7]。自噬的另一个核心效应分子 BECN,可直接与 SLC7A11 结合来诱导 GSH 耗竭和铁死亡[8]。据报道,某些形式的自噬通过影响铁积累、脂质过氧化和抗氧化蛋白质的降解来促进铁死亡[9]。特别是铁自噬(ferritinophagy),一种选择性自噬,可通过溶酶体降解储铁蛋白,增加细胞内铁离子水平促进铁死亡[10]。该过程由核受体共激活因子 4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)介导,NCOA4 选择性地结合自噬小体中的 FTH1 并将其递送到溶酶体中,从而导致铁释放[11]。抑制自噬调节蛋白如 ATG7 或铁自噬特异性受体 NCOA4 的表达,可抑制铁死亡;而过表达 NCOA4 则可促进细胞铁死亡。然而,在 Cd 诱导的肾小管损伤中,铁自噬介导的铁死亡是否发挥重要作用仍然未知。基于以上分析,本研究采用 HK-2 细胞构建镉暴露模型,研究铁自噬诱导的铁死亡在 Cd 暴露致肾小管上皮细胞毒性中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和处理

HK-2 细胞购买自武汉大学细胞库,用含 10%胎牛血清(PAN 公司)的 MEM 培养基(hyclone 公司)进行培养。氯化镉及其他抑制剂购自 Sigma-Aldrich 公司。为了证实铁死亡的作用,细胞用 4 μmol/L 脂质过氧化作用抑制剂 ferrastatin-1(Fer-1)或 12.5 μmol/L 铁离子螯合剂去铁胺(deferroamine, DFO)预处理 2 h。为了研究自噬-溶酶体途径对 Cd 引起的铁死亡的作用,用 1 mmol/L 自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-Methyladenine, 3-MA)或 5 μmol/L 溶酶体抑制剂氯喹(Chloroquine, CQ)预处理细胞 2 h。对照细胞用溶剂处理。对于所有实验,在指定的预处理后再添加 24 μmol/L Cd 处理 24 h。

1.2 细胞活力检测

细胞于染毒结束后,用 CCK8 试剂(购自东京同仁公司)检测其细胞活力以评价镉暴露对 HK-2 细胞的毒性。简单地说,用不同浓度的镉(0、12、24 和 36 μmol/L)处理细胞 24 h。对于其他处理,按照上述方法处理细胞,并根据制造商的说明在 24 μmol/L Cd 处理 24 h 后进行评估。

1.3 细胞内铁离子的检测

细胞内 Fe^{2+} 的积累可通过比色法使用铁离子含量试剂盒(Abcam 公司)监测。HK-2 细胞(1×10^7 细胞)在 6 倍细胞体积的铁测定缓冲液中快速均质化,并在 16 000×g 下 4 ℃离心 10 min 去除不溶性物质。将 50 μL 样品加入 96 孔板中,后用分析缓冲液将体积增加至 100 μL。然后分别添加 5 μL 铁测定缓冲液或铁还原剂,分别用于 Fe^{2+} 或总铁的测量。混合后,在 25 ℃避光孵育 30 min 后,向每个孔中加入 100 μL 铁探针,并在 25 ℃避光孵育。最后,在 593 nm 处测量吸光度,并使用标准曲线计算铁浓度。

1.4 脂质过氧化水平

脂质过氧化水平可通过检测氧化应激标记物丙二

醛(Malondialdehyde, MDA)水平量化。HK-2 细胞(1×10^6 细胞)在冰上用 300 μL 含有 3 μL BHT 的 MDA 裂解缓冲液匀浆,并以 13 000×*g* 离心 10 min 以去除不溶性物质。然后根据制造商的说明(碧云天公司)使用脂质过氧化(MDA)测定试剂盒测量 MDA 含量。

1.5　免疫印迹分析

常规提取细胞蛋白并进行免疫印迹分析,通过 10%或 12% SDS-PAGE 分离样品后转印到 PVDF 膜上。封闭后与一抗,包括 FTH(1∶2 000,NOVUS 公司)、GPX4(1∶1 000,三鹰生物公司)、ACTB(1∶5 000,Sigma-Aldrich 公司)、LC3B-Ⅱ(1∶1 000,Sigma-Aldrich 公司)、NCOA4(ARA70,1∶1,赛默飞公司)和 ACSL4(1∶1 000,赛默飞公司)4 ℃过夜孵育,将膜在 TBST 中洗涤后与二抗(1∶1000;碧云天公司)在室温下再孵育 1 h。蛋白条带用 BeyoECL Star (碧云天公司) 显影。使用 Image J 软件对条带进行密度分析。所有数据代表至少 3 个独立实验。

1.6　透射电镜

HK-2 细胞收集离心后,用 2.5%戊二醛在 4 ℃下固定 2 h,然后用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline,PBS)洗涤 3 次。然后,将细胞用 1%锇酸固定 2 h,并用 PBS 洗涤 3 次。随后,将细胞用 1%四氧化锇固定并通过酒精梯度脱水后嵌入树脂中。再用乙酸铀和柠檬酸铅双重染色后,使用透射电子显微镜(HT7800,日立)检测样品。

1.7　siRNA 转染

根据厂家的说明书,细胞使用 Opti-MEM® Ⅰ无血清培养基(gibco 公司)与 Lipofectamine™ 2000 转染试剂(赛默飞公司)转染 si RNA 以干扰相应的分子。简单来说,分别将 siRNA 和 5 μL Lipofectamine™ 2000 用 250 μL Opti-MEM 稀释后室温孵育 5 min。随后将两种溶液混合后再室温孵育 20 min 后加入培养板中,并用不含抗生素的培养基加至 2 mL。孵育 7 h 后,更换培养基后孵育 16~24 h 后用于实验。

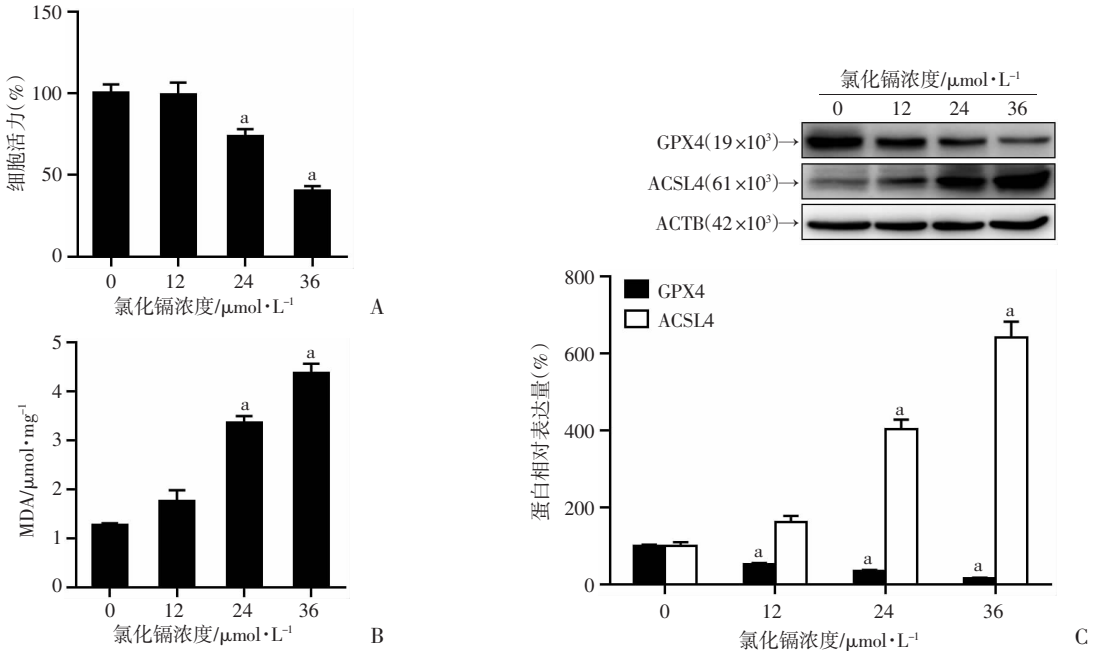
1.8　统计分析

所有实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,实验数据均 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间比较采用方差分析,两两比较采用 post-hoc Tukey 检验。零假设在 0.05 水平拒绝。

2　结果

2.1　Cd 以剂量依赖性方式诱导肾小管上皮细胞铁死亡

不同浓度 Cd 暴露后,24 μmol/LCd 在 24 h 诱导细胞死亡,而 36 μmol/LCd 导致几乎一半的细胞死亡(图 1A),差异有显著统计学意义($P<0.01$)。相应的,Cd 处理导致 HK-2 细胞中 MDA 含量以剂量依赖性方式增加(图 1B),差异有显著统计学意义($P<0.01$)。免疫印迹结果显示,与对照组相比,Cd 处理下调 GPX4 蛋白水平,上调 ACSL4 蛋白水平(图 1C),差异有显著统计学意义($P<0.01$)。这些结果提示 Cd 诱导肾小管上皮细胞铁死亡。



a:$P<0.01$,与 0 μmol/L 比较

A:细胞活力;B:MDA 含量;C:代表性免疫印迹条带及半定量分析

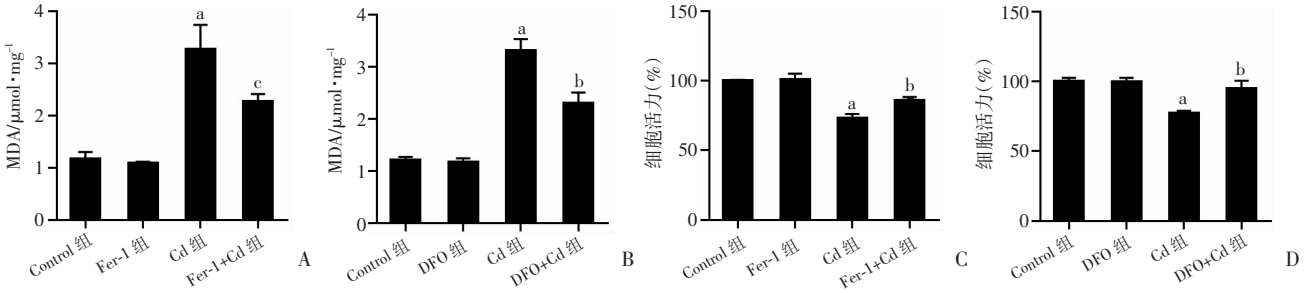
图 1　Cd 对 HK-2 细胞铁死亡的影响

2.2　抑制铁死亡可减轻 Cd 诱导的肾小管上皮细胞死亡

为了进一步验证铁死亡在镉诱导的细胞死亡中的作用,我们研究了抑制铁死亡是否可以预防 Cd 诱导的肾小管上皮细胞死亡。与 Cd 组相比,Fer-1 和 DFO 均可抑制 Cd 处理的 HK-2 细胞中 MDA 的升高(图 2A, B);显著减轻了 Cd 诱导的 HK-2 细胞死亡(图 2C, 2D),差异具有统计学意义($P<0.05$)。表明铁死亡是 Cd 诱导的 HK-2 细胞死亡的一种重要形式。

2.3　Cd 诱导肾小管上皮细胞自噬

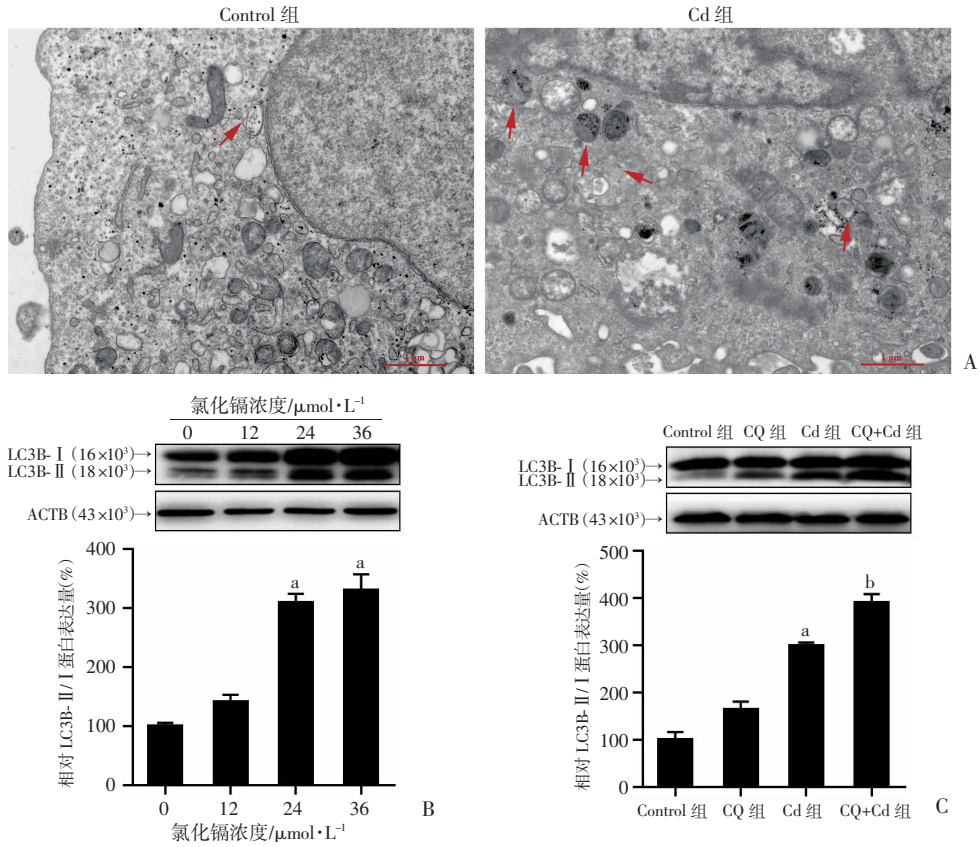
TEM 结果表明,Cd 处理增加了 HK-2 中自噬小体的数量(图 3A)。免疫印迹分析结果表明, Cd 暴露上调自噬标志物 LC3B-Ⅱ的蛋白质水平(图 3B),与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.01$)。由于 LC3B-Ⅱ的积累可能表明自噬激活或溶酶体降解受损,我们进行了基于自噬性降解的自噬流评价,即在有和没有自噬抑制剂的情况下检测 LC3B-Ⅱ 蛋白水平。与 Cd 组相比,免疫印迹分析结果显示,CQ 预处理进一步增加了 Cd 处理的 HK-2 细胞中的 LC3B-Ⅱ 蛋白水平(图 3C),差异有显著统计学意义($P<0.01$),表明 Cd 暴露激活了肾小管上皮细胞中的自噬。



a:$P<0.01$,与 Control 组比较;b:$P<0.05$,与 Cd 组比较;c:$P<0.01$,与 Cd 组比较

A、B:MAD 含量;C、D:细胞活力

图 2　抑制铁死亡对 HK-2 细胞的影响



A:代表性透射电镜图,红色箭头表示自噬小体,比例尺:1 μm;B , C:代表性免疫印迹条带及半定量分析　a:$P<0.01$,与 Control 比较; b:$P<0.01$,与 Cd 组比较

图 3　Cd 对 HK-2 细胞自噬的影响

2.4 Cd 诱导的肾小管上皮细胞铁死亡需要自噬激活

为了阐明自噬与 Cd 诱导的铁死亡之间的关系,应用自噬药理抑制剂 3-MA 抑制 HK-2 中的自噬。与 Cd 组相比,3-MA 预处理显著减轻了 Cd 诱导的铁过载(图 4A)($P<0.01$),抑制 Cd 暴露诱导的 MDA(图 4B)升高($P<0.01$),以及减少 Cd 诱导的细胞死亡(图 4C)($P<0.05$),差异具有统计学意义。此外,与 Cd 组相比,ATG7 敲除减轻 HK-2 细胞中 Cd 诱导的铁过载(图 4D)和 MDA 积累(图 4E),差异具有统计学意义($P<0.01$)。此外,CCK-8 分析显示 ATG7 敲除显著减弱了 Cd 诱导的 HK-2 细胞死亡(图 4F)($P<0.05$)。这些数据表明,Cd 诱导的肾小管上皮细胞铁死亡需要自噬激活。

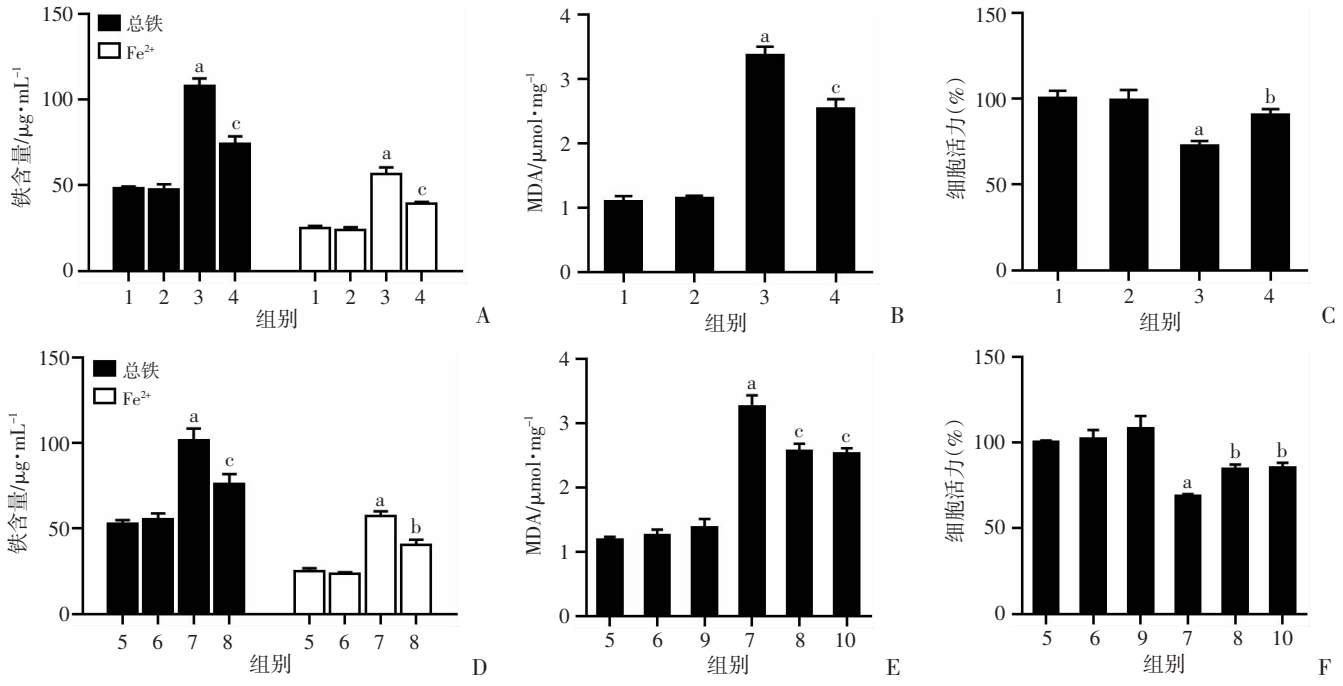
2.5 NCOA4 介导的储铁蛋白降解对于 Cd 诱导的肾小管上皮细胞铁死亡至关重要

已经证明,储铁蛋白的自噬降解(即铁自噬)可以促进铁死亡,而 NCOA4 是一种选择性的货物受体,可介导溶酶体中的储铁蛋白降解[11]。因此,我们研究了 NCOA4 介导的储铁蛋白降解是否与 Cd 诱导的上皮细胞铁死亡有关。免疫印迹分析结果显示,与对照组相比,Cd 暴露导致 HK-2 细胞中 NCOA4 的表达显著升高($P<0.01$),FTH 表达显著下降($P<0.05$)(图 5A)。与 Cd 组相比,3-MA 抑制自噬显著降低了 NCOA4 的表达水平,增加了 FTH 的表达水平(图 5B),差异具有统计学意义($P<0.01$)。此外,与 Cd 组相比,NCOA4 敲除显著抑制了 Cd 诱导的 HK-2 细胞中的储铁蛋白降解(图 5C)($P<0.01$),减轻 Cd 诱导的 MDA 上调(图 4E)($P<0.01$)和细胞死亡(图 4F)($P<0.05$)。总之,这些结果表明 NCOA4 介导的储铁蛋白自噬依赖性降解,这对于 Cd 诱导的肾小管上皮细胞铁死亡至关重要。

3 讨论

随着工农业的快速发展,镉暴露严重威胁人类健康。肾功能衰竭是镉引起的最重要疾病之一,肾小管细胞被认为是镉致肾损伤的主要部位[3]。研究表明,低至 2.5 mg/kg 和 2.5 μmol/L 的 Cd 可分别在体内和体外诱导肾损伤[12]。鉴于多种类型的细胞死亡与 Cd 诱导的毒性有关[13],研究 Cd 诱导的肾小管细胞的细胞死亡机制可以帮助我们了解 Cd 诱导的肾脏疾病的发病机制,并为其防治提供潜在的策略。

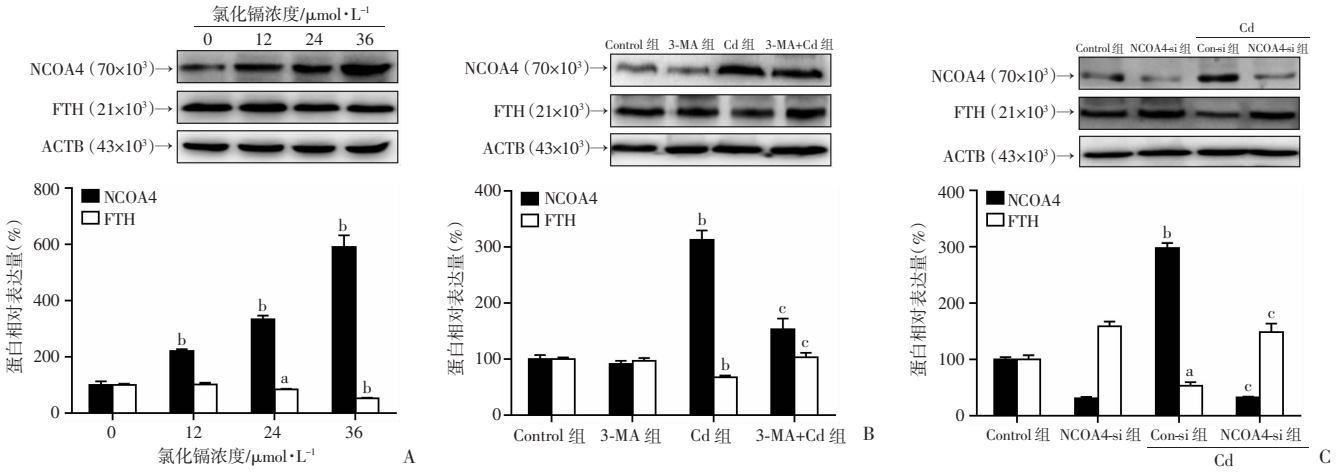
在这里,我们发现铁死亡是 Cd 诱导的肾小管上皮细胞毒性的一种新机制,并发现铁自噬介导的储铁蛋白降解促进镉诱导的铁死亡。铁死亡是新近发现的以铁依赖性脂质过氧化为特征的细胞死亡,与许多疾病过程有关[14-16]。之前的研究表明,砷暴露通过破坏



1:Control 组;2:3-MA 组;3:Cd 组;4:3-MA+Cd 组;5:Con-si 组;6:ATG7-si 组;7:Con-si+Cd 组;8:ATG7-si+Cd 组;9:NCOA4-si 组;10:NCOA4-si+Cd 组;a:$P<0.01$,与 Control 组比较;b:$P<0.05$,与 Cd 组比较;c:$P<0.01$,与 Cd 组比较

A, D:铁离子浓度;B, E:MAD 含量;C, F:细胞活力

图 4 抑制自噬对 HK-2 细胞铁死亡的影响



a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与 Control 组比较;c:$P<0.01$,与 Cd 组比较

A, B, C:代表性免疫印迹条带及半定量分析

图 5 储铁蛋白自噬降解的影响

胰腺功能和神经细胞的铁稳态而导致铁死亡[17]。氧化锌纳米颗粒诱导的血管内皮细胞死亡也与铁死亡有关[18],这表明铁死亡在毒性损伤中的重要作用。越来越多的证据表明,镉暴露会扰乱脂质代谢[19],促进 ROS 的过度产生,增加脂质过氧化[20],并扰乱铁稳态[21]。我们的研究结果表明,镉暴露以剂量依赖的方式诱导铁死亡,Fer-1 抑制脂质过氧化减轻了镉诱导的细胞死亡。这一观察结果支持铁依赖性脂质过氧化或铁死亡在镉诱导的肾小管上皮细胞毒性中的重要作用。

最近的研究表明自噬与铁死亡调节有关[22]。我们的结果表明,Cd 诱导自噬激活,以及铁死亡是自噬细胞死亡的一种形式,因为 3-MA 或敲除 ATG7 抑制自噬,均导致 Cd 暴露后细胞游离铁、脂质过氧化和细胞死亡降低。我们还证明 Cd 诱导的 HK-2 铁死亡需要储铁蛋白,因为 NCOA4 敲除表现出与 3-MA 处理和 ATG7 敲除相似的作用。尽管 NCOA4 介导的铁自噬在 2014 年首次被报道,但铁自噬在各种病理生理过程中的许多作用都得到了阐明。例如,铁自噬是红细胞生成和铁死亡介导的肝纤维化所必需的[10],并促进肿瘤细胞铁死亡[23]。我们的研究扩展了铁自噬的作用范围,以参与重金属 Cd 诱导的肾小管上皮细胞功能障碍。

总之,我们报道了 Cd 暴露以剂量依赖性方式诱导肾小管上皮细胞铁死亡,这与自噬激活密切相关,并且自噬在细胞死亡过程中发挥了促死亡作用。最重要的是,镉暴露导致储铁蛋白的自噬降解,即铁自噬,导致铁过载、脂质过氧化,并最终导致铁死亡。Cd 暴露诱导的坏死、细胞凋亡和自噬已被认为是控制细胞命运的毒理机制。我们的研究扩展了这一概念,并提出铁自噬介导的铁死亡是一种由 Cd 诱导的新型细胞死亡形式,为进一步开发镉肾脏毒性防治药物提供理论支持。

参考文献:

[1] 陈梦妍, 谢佳, 田丽, 等. ZKSCAN3 介导的自噬在急性镉暴露肝毒性中的作用[J]. 局解手术学杂志, 2020, 29(12): 944-9. DOI: 10.11659/jjssx.05E0200169
CHEN M Y, XIE J, TIAN L, *et al*. Effect of ZKSCAN3 mediated autophagy in acute cadmium exposure-induced liver injury[J]. J Reg Anat Oper Surg, 2020, 29(12): 944-949. DOI: 10.11659/jjssx.05E0200169

[2] JAIN R B. Cadmium and kidney function: Concentrations, variabilities, and associations across various stages of glomerular function [J]. Environ Pollut, 2020, 256: 113361. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.113361.

[3] FUJIKI K, INAMURA H, SUGAYA T, *et al*. Blockade of ALK4/5 signaling suppresses cadmium- and erastin-induced cell death in renal proximal tubular epithelial cells via distinct signaling mechanisms[J]. Cell Death Differ, 2019, 26(11): 2371-2385. DOI: 10.1038/s41418-019-0307-8.

[4] 陈宇翔. 镉暴露致肾损伤机制及其防治的研究[J]. 健康必读,2020,(33): 22.
CHEN Y X. Study on the mechanism of renal injury caused by cadmium exposure and its prevention and treatment[J]. Health Must Read, 2020, (33): 22.

[5] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, *et al*. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-72. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.042.

[6] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI 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. DOI: 10.1016/j.cell.2017.09.021.

[7] GAO M, MONIAN P, PAN Q, *et al*. Ferroptosis is an autophagic cell death process[J]. Cell Res, 2016, 26(9): 1021-32. DOI: 10.1038/cr.2016.95.

[8] SONG X, ZHU S, CHEN P, *et al*. AMPK-mediated BECN1 phosphorylation promotes ferroptosis by directly blocking system Xc(-) activity[J]. Curr Biol, 2018, 28(15): 2388-99 e5. DOI: 10.1016/j.cub.2018.05.094.

[9] BAI Y, MENG L, HAN L, *et al*. Lipid storage and lipophagy regulates ferroptosis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(4): 997-1003. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.12.039.

[10] MANCIAS J D, PONTANO VAITES L, NISSIM S, *et al*. Ferritinophagy via NCOA4 is required for erythropoiesis and is regulated by iron dependent HERC2-mediated proteolysis[J]. Elife, 2015, 4. DOI: 10.7554/eLife.10308.

[11] MANCIAS J D, WANG X, GYGI S P, *et al*. Quantitative proteomics identifies NCOA4 as the cargo receptor mediating ferritinophagy[J]. Nature, 2014, 509(7498): 105-109. DOI: 10.1038/nature13148.

[12] THEVENOD F. Nephrotoxicity and the proximal tubule. Insights from cadmium[J]. Nephron Physiol, 2003, 93(4): 87-93. DOI: 10.1159/000070241.

[13] THEVENOD F, LEE W K. Live and let die: roles of autophagy in cadmium nephrotoxicity[J]. Toxics, 2015, 3(2): 130-151. DOI: 10.3390/toxics3020130.

[14] WU D, CHEN L. Ferroptosis: a novel cell death form will be a promising therapy target for diseases[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2015, 47(10): 857-859. DOI: 10.1093/abbs/gmv086.

[15] XIE Y, HOU W, SONG X, *et al*. Ferroptosis: process and function[J]. Cell Death Differ, 2016, 23(3): 369-379. DOI: 10.1038/cdd.2015.158.

[16] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation[J]. Trends Cell Biol, 2016, 26(3): 165-176. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.10.014.

[17] WEI S, QIU T, YAO X, *et al*. Arsenic induces pancreatic dysfunction and ferroptosis *via* mitochondrial ROS-autophagy-lysosomal pathway[J]. J Hazard Mater, 2020, 384: 121390. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.121390.

[18] QIN X, ZHANG J, WANG B, *et al*. Ferritinophagy is involved in the zinc oxide nanoparticles-induced ferroptosis of vascular endothelial cells[J]. Autophagy, 2021, 17(12): 4266-4285. DOI: 10.1080/15548627.2021.1911016.

[19] HONG H, XU J, HE H, *et al*. Cadmium perturbed metabolomic signature in pancreatic beta cells correlates with disturbed metabolite profile in human urine[J]. Environ Int, 2022, 161: 107139. DOI: 10.1016/j.envint.2022.107139.

[20] SARDAR R, AHMED S, AKBAR M, *et al*. Alleviation of cadmium phytotoxicity in triacontanol treated Coriandrum sativum L. by modulation of physiochemical attributes, oxidative stress biomarkers and antioxidative system[J]. Chemosphere, 2022, 295: 133924. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.133924.

[21] JACKSON T W, BAARS O, BELCHER S M. Gestational Cd exposure in the CD-1 mouse sex-specifically disrupts essential metal ion homeostasis[J]. Toxicol Sci, 2022. DOI: 10.1093/toxsci/kfac027.

[22] HOU W, XIE Y, SONG X, *et al*. Autophagy promotes ferroptosis by degradation of ferritin[J]. Autophagy, 2016, 12(8): 1425-1428. DOI: 10.1080/15548627.2016.1187366.

[23] DAI E, HAN L, LIU J, *et al*. Autophagy-dependent ferroptosis drives tumor-associated macrophage polarization *via* release and uptake of oncogenic KRAS protein[J]. Autophagy, 2020, 16(11): 2069-2083. DOI: 10.1080/15548627.2020.1714209.

(收稿:2022-03-08;修回:2022-04-27)

(编辑 邓强庭)