



새로운 non-apoptotic 세포사멸: ferroptosis

우선민, 권택규

계명대학교 의과대학 면역학교실

Novel non-apoptotic cell death: ferroptosis

Seon Min Woo, Taeg Kyu Kwon

Department of Immunology, School of Medicine, Keimyung University, Daegu, Korea

Ferroptosis is a newly recognized type of cell death that results from iron-dependent lipid peroxidation and is different from other types of cell death, such as apoptosis, necrosis, and autophagic cell death. This type of cell death is characterized by mitochondrial shrinkage with an increased mitochondrial membrane density and outer mitochondrial membrane rupture. Ferroptosis can be induced by a loss of activity of system X_c^- and the inhibition of glutathione peroxidase 4, followed by the accumulation of lipid reactive oxygen species (ROS). In addition, inactivation of the mevalonate and transsulfuration pathways is involved in the induction of ferroptosis. Moreover, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and p53 promote ferroptosis by increasing ROS production, while heat shock protein beta-1 and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 inhibit ferroptosis by reducing iron uptake. This article outlines the molecular mechanisms and signaling pathways of ferroptosis regulation, and explains the roles of ferroptosis in human disease.

Keywords: Ferroptosis; Non-apoptotic cell death; Iron-dependent cell death; Reactive oxygen species

서론

Ferroptosis는 최근에 발견된 세포사멸(cell death)의 한 종류로, 철(iron) 매개의 지질 과산화(lipid peroxidation)에 의해 유도되는(regulated) 세포사멸이다[1]. 철은 산소 수송과 DNA 생합성 및 ATP 합성에 관여하는 인자로 세포 생존에 매우 중요한 역할을 한다[2,3]. 철은 체내 포화지방산의 지질 과산화를 유도하며, 미토콘드리아에서 ATP 합성과 함께 활성 산소(reactive oxygen species)를 생성한다[4]. 이 과정에서 활성

산소가 과하게 생성되면 산화적 스트레스(oxidative stress)가 증가하고 세포사멸이 일어나는데, 이를 ferroptosis라 한다[5]. 최초의 ferroptosis 유도제로는 Ras가 돌연변이 형태로 존재하는 암세포에서 세포사멸을 유도하는 erastin이 발견되었고[6], 이후 저분자 물질 스크리닝 기법을 통하여 non-apoptotic 세포사멸을 유도하는 Ras-selective lethal small molecule 3 (RSL3)가 발견되었다[7].

세포사멸은 크게 세포 괴사(necrosis)와 프로그램화된 세포사멸(programed cell death)로 분류할 수 있다. Necrosis는 물리적 손상이나 과도한 활성산소에 노출 시 유도된다. Necrosis는 능동적인 활동보다는 수동적으로 일어나는 세포사멸의 형태이다. 괴사는 형태학적으로 핵의 분절과 미토콘드리아의 팽창(swelling)이 나타나고, 세포막의 항상성(membrane integrity)이 감소하며 세포막이 터진다. Necrosis가 일어나면 세포의 내용물이 유출되므로 염증반응을 야기하는 것이 특징

Received: October 30, 2017, Revised: November 23, 2017
Accepted: November 30, 2017

Corresponding Author: Taeg Kyu Kwon, Department of Immunology, School of Medicine, Keimyung University, 1095 Dalgubeoldaero, Dalseo-Gu, Daegu 41931, Korea
Tel: +82-53-580-3882, Fax: +82-53-580-3795
E-mail: kwontk@dsme.or.kr

Copyright © 2017 Yeungnam University College of Medicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이다[8]. Programed cell death는 caspase의 활성화 유무에 따라 caspase 의존적인 세포예정사멸(apoptosis)과 caspase 비의존적인 non-apoptotic 세포사멸로 분류할 수 있다(Table 1). 이러한 non-apoptotic 세포사멸에는 프로그램화된 세포 괴사(necroptosis)와 ferroptosis가 존재한다. 형태학적 특징으로는 apoptosis는 염색사 응축(chromatin condensation)과 DNA의 분절, 원형질막의 blebbing이 일어나고, necroptosis는 necrosis와 유사하게 플라즈마 막 파열을 통한 세포막의 항상성의 감소 및 세포 소기관의 팽창이 나타나지만 핵의 분절은 나타나지 않는다[9,10]. 반면, ferroptosis는 핵의 응축은 나타나지 않으며, 미토콘드리아의 크기가 수축하고 미토콘드리아의 외막 파열이 일어난다[1,11]. 생화학적 특징으로는 apoptosis는 caspase를 활성화시키고 미토콘드리아의 막 투과성(mitochondria membrane permeability)을 증가시키며, necroptosis는 receptor-interacting protein kinase 1과 3, mixed lineage kinase domain-like의 활성화를 유도한다. 반면, ferroptosis는

세포 내 철의 양이 증가하고 지질 과산화의 축적이 나타난다.

본 보고에서는 기존에 알려진 세포사멸과 다른 새로운 형태의 세포사멸인 ferroptosis의 조절 기전과 신호전달경로 및 다양한 질병에서의 역할에 대해 기술하고자 한다.

본 론

1. Ferroptosis 유도 기전

Ferroptosis는 system X_c^- 의 비활성화와 glutathione peroxidase 4 (GPX4)를 억제할 수 있는 두 부류의 저분자 물질에 의해 유도된다(Fig. 1). Class I에 속하는 ferroptosis 유도제는 erastin, sulfasalazine (SAS), buthionine sulfoximine (BSO), sorafenib이 존재하며, 이는 system X_c^- 의 비활성화를 통하여 세포 내 환원형 glutathione인 GSH의 양을 줄인다. Class II에 속하는 ferroptosis 유도제인 RSL3, ML-162, ferroptosis-

Table. 1. The morphological features, regulators, and inducers of ferroptosis, necrosis, necroptosis, apoptosis, and autophagy

Cell death	Caspase dependency	Morphological feature	Biochemical feature	Regulator	Inducer
Necrosis	Independent	Swelling of cell, loss of membrane integrity, lysis of cell, disintegrate of nucleus	Inflammatory response ATP depletion	-	Hypoxia, severe physical damage, excess ROS
Apoptosis	Dependent	Chromatin condensation, nuclear fragmentation, plasma membrane blebbing	Activation of caspases, mitochondria membrane permeability	Pro-apoptotic: Bax, Bak, Bim, Noxa Anti-apoptotic: Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1, IAP family	TRAIL, FasL, DNA damage, oxidative stress
Ferroptosis	Independent	Outer mitochondrial membrane rupture, Shrunken mitochondria	Accumulation of iron and lipid ROS, inhibition of system X_c^- , depletion of GSH	Positive: VDAC, p53, CARS, NOX Negative: GPX4, SLC7A11, HSPB1, Nrf2	Class I: erastin, SAS, BSO, sorafenib Class II: RSL3, DPIs, FIN56 Other: artemisinin derivatives, cisplatin
Necroptosis	Independent	Swelling of organelle, plasma membrane rupture	Activation of RIP3 and MLKL, PARylation, PARP1 hyper-activation	RIP1, RIP3, MLKL	TNF plus zVAD
Autophagy	Independent/dependent	Formation of autophagic vacuoles, accumulation of autophagosome	LC3 II conversion	ATG5, ATG7, Beclin1, SQSTM1/p62	Metformin, rapamycin, mTORC1/2 inhibitor

ROS, reactive oxygen species; GSH, glutathione; VDAC, voltage-dependent anion channel; NOX, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; GPX4, glutathione peroxidase 4; SLC7A11, solute carrier family 7 member 11; HSPB1, heat shock protein beta-1; Nrf-2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2; SAS, sulfasalazine; BSO, buthionine sulfoximine; RSL3, ras-selective lethal small molecule 3; FIN56, ferroptosis-inducing agents 56; ATP, adenosine triphosphate; Bax, BCL2 associated X; Bak, BCL2 antagonist/killer; Bim, BCL2 like 11; Bcl-2, B-cell lymphoma 2; Bcl-xL, B-cell lymphoma-extra large; Mcl-1, myeloid cell leukemia-1, IAP, Inhibitor of apoptosis; TRAIL, TNF-related apoptosis-inducing ligand; RIP3, receptor-interacting protein kinase 3; MLKL, mixed lineage kinase domain-like; PARylation, protein poly ADP-ribosylation; PARP1, poly (ADP-ribose) polymerase 1; RIP1, receptor-interacting protein kinase 1; TNF, tumor necrosis factor; LC3, Microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3; ATG, autophagy related protein; mTORC, mammalian target of rapamycin complex.

inducing agents (FINs)는 직접적으로 GPX4의 발현을 억제하고 세포 내 지질 과산화의 축적을 유도한다.

1) System X_c⁻ 억제를 통한 ferroptosis 유도

System X_c⁻는 시스틴-글루탐산염 교환 수송체(cystine-glutamate exchange transporter)로 SLC7A11 (xCT)과 SLC3A2 (CD98hc)가 heterodimer 상태로 세포 막에 존재하며, 산화환원 항상성(redox homeostasis)을 유지하는데 중요한 역할을 한다[1]. System X_c⁻는 세포 내의 glutamate를 세포 밖으로 내보내고 세포 밖의 cystine을 세포 안으로 유입하며, 유입된 cystine은 cysteine으로 전환되어 GSH 합성에 사용된다[12]. Cysteine에 의한 GSH의 생성과 유지는 산화적 스트레스에 의해 야기되는 세포의 손상을 막는다[13]. Ferroptosis 유도제인 erastin과 SAS는 system X_c⁻의 기능을 억제함으로써 glutathione의 양을 줄이고 활성산소가 축적되어 ferroptosis가

일어나며[14], 이 세포사멸은 항산화제(antioxidant)와 iron chelator에 의해 억제된다[1,15]. 또한, glutamate-cysteine ligase의 기능을 저해하는 BSO는 GSH의 합성을 직접적으로 억제하여 ferroptosis를 유도한다[16]. 뿐만 아니라, 다중 인산화 효소 저해제(multi-kinase inhibitor)로 알려진 sorafenib은 다양한 암세포에서 system X_c⁻의 억제제로 작용하여 non-apoptotic 세포사멸을 유도하고, iron chelator 뿐만 아니라, 친유성 항산화제(lipophilic antioxidant)인 vitamin E에 의해 ferroptosis가 억제된다[17-19].

Glutamate는 ferroptosis를 조절하는 중요한 조절 인자로 [20], 중추신경계에서 glutamate receptor의 활성화를 통하여 세포 내 칼슘 유입(calcium influx)을 유도하고, system X_c⁻의 억제를 통해 glutamate 매개의 신경독성(neurotoxicity)을 일으킨다[12,21]. 이는 calcium chelator가 아닌 iron chelator에 의해 억제되기 때문에[22,23], glutamate에 의해 유도되는 신

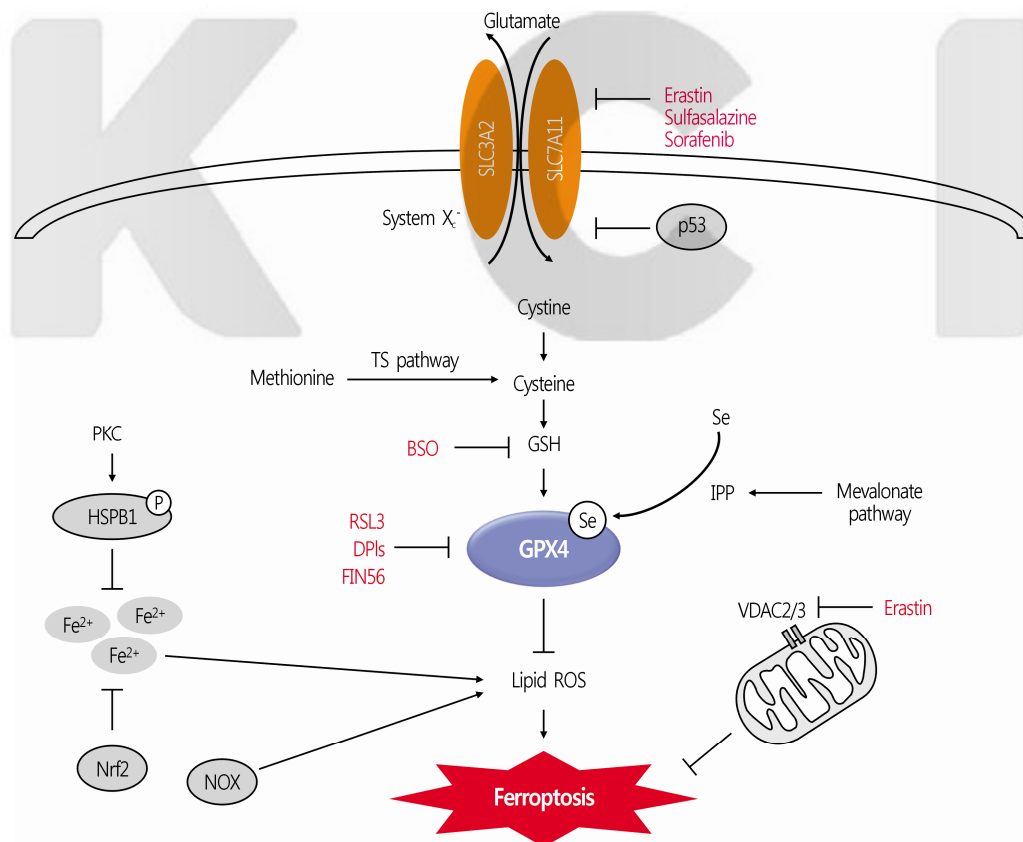


Fig. 1. Signaling pathways of ferroptosis. SLC7A11, solute carrier family 7 member 11; SLC3A2, solute carrier family 3 member 2; TS, transsulfuration; GSH, glutathione; GPX4, glutathione peroxidase 4; ROS, reactive oxygen species; VDAC, voltage-dependent anion channel; PKC, protein kinase C; HSPB1, heat shock protein beta-1; Nrf-2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2; NOX, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase; IPP, isopentenyl pyrophosphate; BSO, buthionine sulfoximine; RSL3, ras-selective lethal small molecule 3; FIN56, ferroptosis-inducing agents 56.

경독성은 system X_c^- 의 억제를 통해 유도되는 ferroptosis임을 알 수 있다[24].

2) GPX4 발현 억제를 통한 ferroptosis 유도

RSL3에 의해 유도되는 non-apoptotic 세포사멸은 erastin과 유사하게 Fe 매개의 활성산소의 증가를 통하여 일어난다[7]. 하지만 RSL3는 system X_c^- 의 기능과 세포 내 GSH의 양을 조절하지 않기 때문에, RSL3에 의한 ferroptosis는 erastin과 다른 조절 기전의 관련성이 제시되었다[1,14]. 이후, 프로테오믹스 기법(proteomics analysis)을 통하여 RSL3의 타겟 단백질로 GPX4가 발견되었고, RSL3는 GPX4와 직접적으로 결합하여 효소 활성도를 억제하고 세포사멸을 유도한다[14]. GPX4는 세포 내 존재하는 항산화 효소로, 인지질 히드로과산화물(phospholipid hydroperoxide)을 직접적으로 억제한다[25,26]. 따라서, RSL3는 GSH의 양을 조절하지 않지만 GPX4의 비활성화를 통하여 세포 내 지질 과산화를 축적시키고 ferroptosis를 유도한다[14]. 뿐만 아니라, ML-162도 직접적으로 GPX4의 활성을 감소시키며[27], 저분자 물질인 FIN56 또한, 번역 후 조절(post-translational regulation)을 통하여 GPX4의 발현을 억제함으로써 활성산소 매개의 non-apoptotic 세포사멸을 유도한다[28]. 다양한 GPX4 억제제에 의해 유도되는 ferroptosis는 iron chelator, MEK 억제제, 항산화제에 의해 억제된다[14]. GSH는 GPX4를 활성화시키는 필수적인 보조인자(cofactor)로 알려져 있다[29]. 따라서, Class I에 속하는 ferroptosis 유도제인 erastin과 BSO는 GSH의 결핍을 통하여 간접적으로 GPX4의 활성화를 억제하고 지질 과산화를 증가시켜 ferroptosis를 유도한다[14].

3) 다른 기전을 통한 ferroptosis 유도

Erastin의 또 다른 분자적 타겟 중 하나로 미토콘드리아의 voltage-dependent anion channel (VDAC)이 알려져 있다[15,30]. VDAC은 미토콘드리아 외막 단백질로, 미토콘드리아와 세포질 사이의 이온이나 대사 산물들을 수송하는 막 통로(transmembrane channel)의 역할을 한다[31,32]. Erastin은 VDAC2/3와 직접적으로 결합하여 미토콘드리아의 막 투과성의 변형을 초래하고 NADH의 산화를 억제하며[15], 리포솜 안으로 NADH의 투과력을 증가시킨다[33]. 결과적으로, erastin은 미토콘드리아의 손상(mitochondrial dysfunction)과 산화제의 유출을 야기하여 non-apoptotic 세포사멸인 ferroptosis를 유도한다[15].

종양억제유전자(tumor suppressor)인 p53의 활성화는 sys-

tem X_c^- 의 구성요소인 SLC7A11의 발현을 억제하고, cystine의 흡수를 지연시킴으로써 ferroptosis를 유도한다[34]. 또한, p53은 세포 내 활성산소의 양을 증가시켜 ferroptosis에 대한 민감성을 높일 수 있다[34,35].

2. Ferroptosis의 신호전달경로

1) 메발론산 경로(mevalonate pathway)

GPX4는 활성부위에 selenocysteine을 가진 셀레늄 단백질(selenoprotein)로, 지질합성경로 중 메발론산 경로에 의해 조절된다[36,37]. Selenocysteine의 유전적 코드는 UGA로 종결 코돈(stop codon)과 동일하며, 번역 과정(translational machinery)을 통하여 단백질 내에 selenocysteine이 삽입되면 기존의 stop codon이 제대로 기능을 하지 못하므로 GPX4를 활성화시킨다[38]. Selenocysteine transfer ribonucleic acid (tRNA)는 메발론산 경로에서 중요한 요소 중 하나로, selenocysteine의 유전적 코드를 복호화(decoding) 할 수 있다. Selenocysteine tRNA는 tRNA isopentenyl transferase를 이용하여 특정 아데닌 위치로 isopentenyl pyrophosphate의 이동을 촉매함으로써 단백질에 selenocysteine을 삽입하는 isopentenylation을 유도한다[39]. 따라서, GPX4의 생합성을 유도하는 메발론산 경로를 억제할 경우, selenocysteine tRNA의 비활성화를 통하여 GPX4의 생합성을 저해함으로써 ferroptosis를 유도할 수 있다[39,40].

2) 황 전환경로(transsulfuration pathway)

포유류 세포에서 황을 가진 단백질은 매우 중요한 역할을 한다. Methionine은 황을 포함한 아미노산으로 인체에 필수 요소이며, 오직 음식으로만 섭취할 수 있다. 이러한 methionine은 황 전환경로를 통하여 homocysteine과 cystathionine을 거쳐 최종적으로 cysteine으로 전환된다[41]. Cysteine은 비필수 아미노산(nonessential amino acid)으로 황 전환경로를 통하여 생성되고, 대부분이 GSH 합성에 사용된다. GSH는 세포 내의 산화-환원 작용의 균형을 유지하는 중요한 인자로 GPX4를 조절함으로써 세포 내 지질 과산화가 축적되는 것을 막는다[14]. 시스테인의 흡수 기전(uptake mechanism)이 제대로 작동하지 못할 때, 황 전환경로를 통하여 methionine으로 cysteine을 합성하고 GSH의 축적을 통해 세포 생존에 관여한다. Cysteinyl-tRNA synthetase의 감소를 통한 황 전환경로의 활성화는 system X_c^- 억제제인 erastin에 의해 유도되는 ferroptosis에 대한 저항성을 나타낸다[42]. 따라서, 황 전환

경로는 ferroptosis의 조절인자로 해당 경로가 비활성화된 상태에서 Class I에 속하는 ferroptosis 유도제에 의해 cysteine의 생성이 억제될 때 암세포의 치사율을 증진할 수 있다.

3) HSF1-HSPB1 경로

Heat shock protein (HSP)은 세포의 골격 구조뿐만 아니라, 비정상적으로 접힌 단백질(folded protein)의 안정화를 조절한다[43,44]. Heat shock factor (HSF)은 HSP의 발현을 조절할 수 있는 전사인자로[45], HSF1 매개의 HSPB1의 발현 조절은 세포 내 철과 활성산소의 양을 증가시켜 erastin에 의한 ferroptosis를 유도한다[46]. 반면에, protein kinase C 매개의 HSPB1의 인산화는 세포 골격 의존적인 철의 흡수(iron uptake)와 활성산소를 억제하여 ferroptosis를 막는다[46].

4) 이 외 ferroptosis의 신호전달경로

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 산화효소(NADPH oxidase, NOX)는 plasma 막에 존재하는 효소 복합체로, NADPH로부터 전자를 이동시켜 superoxide를 생성한다. NOX에 의해 생성된 superoxide는 자발적으로 과산화수소를 형성하고, 결국 세포 내 활성산소를 증가시킨다. 이전 보고에 따르면, NOX1 억제제인 diphenyleneiodonium과 GKT137831은 erastin에 의해 유도되는 ferroptosis를 억제한다고 알려져 있다[1].

Nuclear factor erythroid 2-related factor (Nrf2)는 항산화제 반응에 관여하는 전사인자로, 최근에 철 항상성(iron homeostasis)을 조절한다고 보고되었다[47]. 간암세포에서 GSH 억제제인 erastin과 BSO, sorafenib에 의해 Nrf2 단백질의 안정화가 유도되는데, 이는 p62가 Keap1과 결합함으로써 Nrf2가 Keap1으로부터 유리되어 핵으로 이동하여 전사 인자의 기능을 한다[48]. 핵 내로 이동한 Nrf2는 항산화 관련 유전자인 heme oxygenase-1 (HO-1)과 철 대사 단백질인 ferritin heavy polypeptide 1의 발현을 증가시킨다. p62와 Nrf2의 발현 억제는 erastin과 sorafenib에 의한 ferroptosis를 더 빠르게 증진시키며, 이를 통하여 Nrf2의 활성화는 ferroptosis에 대한 저항성을 나타낼 수 있다[48].

HO-1은 세포 내 Fe 조절에 중요한 효소로써, 지질 과산화를 증가시켜 ferroptosis를 유도한다[49]. 간암세포에서 Nrf2 발현 증가에 따른 HO-1의 활성화는 erastin에 의한 ferroptosis를 억제하는 반면[48], 섬유육종에서 erastin에 의한 HO-1의 발현증가는 ferroptosis를 유도한다[49]. 이를 통하여, HO-1의 활성화는 세포 유형에 따라 ferroptosis를 다르게 조절한

다는 것을 알 수 있다.

3. Ferroptosis와 다양한 질병간의 상관관계

최근 많은 연구에서 ferroptosis와 다양한 질병간의 상관관계에 대해 보고하였다. Huntington's disease은 *Huntingtin* 유전자에 CAG 반복서열이 비정상적으로 증가되어 나타나는 신경퇴행성질환으로[50], 이는 기능적으로 glutamate에 의한 독성효과가 나타나고 glutathione 매개의 산화-환원 반응을 조절한다[51]. 뇌실주위 백질연화증(periventricular leukomalacia)은 뇌의 혈류 감소로 인한 산소 결핍이 뇌실 주변의 백질을 괴사시키는 질병으로, 환자의 뇌 조직에서 지질 과산화의 부산물인 malondialdehyde이 확인되었고, 이는 glutathione 결핍에 의한 ferroptosis에 민감성이 나타난다고 보고되었다[52,53]. 진통해열제 성분인 acetaminophen을 과다 복용하게 되면 간부전(liver failure)이 일어나는데, 이는 1차 간장 세포(primary liver cell)의 ferroptosis를 유도한다[54]. 또한, 동물모델에서 허혈 재관류(ischemia/reperfusion)에 의한 ferroptosis의 증가는 간의 손상을 일으킨다[55,56].

많은 연구를 통하여 다양한 암세포의 성장 억제와 사멸 유도에 ferroptosis의 역할을 확인하였으며, 그 중에서도 신장 암세포와 거대B세포림프종이 ferroptosis 유도제에 대한 민감도가 높다[14]. 신장암세포는 다른 암세포보다 세포 내 철의 함유량이 높아 ferroptosis에 의한 세포사멸에 민감성이 나타나는데[57], erastin 뿐만 아니라, system X_c⁻의 기능을 억제할 수 있는 sorafenib과 artemisinin 유도체에 의해 ferroptosis가 일어난다[58-60]. 거대B세포림프종의 경우, 황 전환경로의 결함으로 인하여 cysteine 합성이 제대로 일어나지 않기 때문에 system X_c⁻ 경로를 억제할 수 있는 ferroptosis 유도제에 대한 민감성이 높게 나타난다[61,62]. 이중이식모델에서도 erastin과 RSL3에 의해 종양 성장이 억제되며[14,46], erastin은 단독 처리 외에도 temozolomide나 cisplatin, doxorubicin과 같은 항암제와 병합 처리시 뛰어난 항암효과를 보인다[63-65]. 많은 암세포에서 ferroptosis에 대한 민감성이 나타나지만, 암의 재발이나 진행, 치료에 있어서 ferroptosis의 역할에 대한 연구는 미흡하다.

결론

Ferroptosis는 최근에 발견된 조절 세포사멸의 한 형태로, 직간접적으로 철 대사와 지질 과산화를 타겟으로 한 다양한 조절인자를 통하여 일어난다(Fig. 1). 이러한 조절인자는 fe-

roptosis 뿐만 아니라, 세포예정사멸이나 세포괴사와 같은 다른 형태의 세포사멸에도 영향을 끼친다(Table 1). 따라서, ferroptosis에 의한 세포사멸 유도 연구에 있어서 철 의존적인 활성산소의 생성과 철 대사작용에 관여하는 특정 조절인자를 밝히는 것이 중요하다. 그 중에서 GPX4는 ferroptosis가 유도되는 과정에서 매우 중요한 핵심 분자로, 지질 과산화를 조절하는 GPX4의 억제는 ferroptosis 매개의 세포사멸을 증진하는 중요한 타겟이다. 비록 ferroptosis가 다양한 질병에 관련되어 있지만, 종양질환에 있어서 ferroptosis의 역할에 대한 연구는 미흡하다. 따라서, 암세포에서 ferroptosis의 활성도를 선택적으로 조절할 수 있는 유전자형을 찾아 이에 따른 기전을 밝히고 ferroptosis의 역할을 이해하는 것이 암의 진단과 치료에 있어 새로운 기회를 제시할 수 있다. 더 나아가, ferroptosis 매개의 암세포 사멸은 다양한 종양질환을 치료하는 새로운 전략이 될 것으로 생각한다.

ACKNOWLEDGEMENT

본 연구 결과물은 대한민국 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 연구되었음(2014R1A5A2010008).

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

ORCID

Seon Min Woo, <https://orcid.org/0000-0003-4963-9895>

Taeg Kyu Kwon, <https://orcid.org/0000-0003-1204-2059>

REFERENCES

- Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell* 2012;149:1060-72.
- Bogdan AR, Miyazawa M, Hashimoto K, Tsuji Y. Regulators of iron homeostasis: new players in metabolism, cell death, and disease. *Trends Biochem Sci* 2016;41:274-86.
- Manz DH, Blanchette NL, Paul BT, Torti FM, Torti SV. Iron and cancer: recent insights. *Ann N Y Acad Sci* 2016;1368:149-61.
- Pratt DA, Tallman KA, Porter NA. Free radical oxidation of polyunsaturated lipids: new mechanistic insights and the development of peroxyl radical clocks. *Acc Chem Res* 2011;44:458-67.
- Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal* 2012;24:981-90.
- Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, Stockwell BR. Identification of genotype-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells. *Cancer Cell* 2003;3:285-96.
- Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells. *Chem Biol* 2008;15:234-45.
- Leist M, Jäätelä M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:589-98.
- Saraste A, Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* 2000;45:528-37.
- Yu X, Deng Q, Bode AM, Dong Z, Cao Y. The role of necroptosis, an alternative form of cell death, in cancer therapy. *Expert Rev Anticancer Ther* 2013;13:883-93.
- Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X, et al. Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ* 2016;23:369-79.
- Bridges RJ, Natale NR, Patel SA. System X_c⁻ cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS. *Br J Pharmacol* 2012;165:20-34.
- Bannai S, Tsukeda H, Okumura H. Effect of antioxidants on cultured human diploid fibroblasts exposed to cystine-free medium. *Biochem Biophys Res Commun* 1977;74:1582-8.
- Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell* 2014;156:317-31.
- Yagoda N, von Rechenberg M, Zaganjori E, Bauer AJ, Yang WS, Fridman DJ, et al. RAS-RAF-MEK-dependent oxidative cell death involving voltage-dependent anion channels. *Nature* 2007;447:864-8.
- Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:3289-303.
- Dixon SJ, Patel DN, Welsch M, Skouta R, Lee ED, Hayano M, et al. Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis. *Elife* 2014;3:e02523.
- Lachiaier E, Louandre C, Godin C, Saidak Z, Baert M, Diouf M, et al. Sorafenib induces ferroptosis in human cancer cell lines originating from different solid tumors. *Anticancer Res* 2014;34:6417-22.
- Louandre C, Ezzoukhy Z, Godin C, Barbare JC, Mazière JC, Chauffert B, et al. Iron-dependent cell death of hepatocellular carcinoma cells exposed to sorafenib. *Int J Cancer* 2013;133:1732-42.
- Gao M, Monian P, Quadri N, Ramasamy R, Jiang X. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis. *Mol Cell* 2015;59:298-308.
- Mehta A, Prabhakar M, Kumar P, Deshmukh R, Sharma PL.

- Excitotoxicity: bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *Eur J Pharmacol* 2013;698:6-18.
22. Wolpaw AJ, Shimada K, Skouta R, Welsch ME, Akavia UD, Pe'er D, et al. Modulatory profiling identifies mechanisms of small molecule-induced cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:E771-80.
23. Tan S, Schubert D, Maher P. Oxytosis: a novel form of programmed cell death. *Curr Top Med Chem* 2001;1:497-506.
24. Dixon SJ, Stockwell BR. The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nat Chem Biol* 2014;10:9-17.
25. Ursini F, Maiorino M, Valente M, Ferri L, Gregolin C. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta* 1982;710:197-211.
26. Thomas JP, Geiger PG, Maiorino M, Ursini F, Girotti AW. Enzymatic reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides in artificial bilayers and lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1990;1045:252-60.
27. Weöwer M, Bittker JA, Lewis TA, Shimada K, Yang WS, MacPherson L, et al. Development of small-molecule probes that selectively kill cells induced to express mutant RAS. *Bioorg Med Chem Lett* 2012;22:1822-6.
28. Shimada K, Skouta R, Kaplan A, Yang WS, Hayano M, Dixon SJ, et al. Global survey of cell death mechanisms reveals metabolic regulation of ferroptosis. *Nat Chem Biol* 2016;12:497-503.
29. Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohé R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D, et al. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol* 1995;252:38-53.
30. Maldonado EN, Sheldon KL, DeHart DN, Patnaik J, Manevich Y, Townsend DM, et al. Voltage-dependent anion channels modulate mitochondrial metabolism in cancer cells: regulation by free tubulin and erastin. *J Biol Chem* 2013;288:11920-9.
31. Craigen WJ, Graham BH. Genetic strategies for dissecting mammalian and *Drosophila* voltage-dependent anion channel functions. *J Bioenerg Biomembr* 2008;40:207-12.
32. Graham BH, Craigen WJ. Genetic approaches to analyzing mitochondrial outer membrane permeability. *Curr Top Dev Biol* 2004;59:87-118.
33. Bauer AJ, Gieschler S, Lemberg KM, McDermott AE, Stockwell BR. Functional model of metabolite gating by human voltage-dependent anion channel 2. *Biochemistry* 2011;50:3408-10.
34. Jiang L, Kon N, Li T, Wang SJ, Su T, Hibshoosh H, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression. *Nature* 2015;520:57-62.
35. Jiang L, Hickman JH, Wang SJ, Gu W. Dynamic roles of p53-mediated metabolic activities in ROS-induced stress responses. *Cell Cycle* 2015;14:2881-5.
36. Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 2001;4:593-9.
37. Yant LJ, Ran Q, Rao L, Van Remmen H, Shibatani T, Belter JG, et al. The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. *Free Radic Biol Med* 2003;34:496-502.
38. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehetab O, Guigó R, et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science* 2003;300:1439-43.
39. Warner GJ, Berry MJ, Moustafa ME, Carlson BA, Hatfield DL, Faust JR. Inhibition of selenoprotein synthesis by selenocysteine tRNA[Ser]Sec lacking isopentenyladenosine. *J Biol Chem* 2000;275:28110-9.
40. Yang WS, Stockwell BR. Ferroptosis: death by lipid peroxidation. *Trends Cell Biol* 2016;26:165-76.
41. McBean GJ. The transsulfuration pathway: a source of cysteine for glutathione in astrocytes. *Amino Acids* 2012;42:199-205.
42. Hayano M, Yang WS, Corn CK, Pagano NC, Stockwell BR. Loss of cysteinyl-tRNA synthetase (CARS) induces the transsulfuration pathway and inhibits ferroptosis induced by cysteine deprivation. *Cell Death Differ* 2016;23:270-8.
43. Carver JA, Rekas A, Thorn DC, Wilson MR. Small heat-shock proteins and clusterin: intra- and extracellular molecular chaperones with a common mechanism of action and function? *IUBMB Life* 2003;55:661-8.
44. Jakob U, Gaestel M, Engel K, Buchner J. Small heat shock proteins are molecular chaperones. *J Biol Chem* 1993;268:1517-20.
45. Wu C. Heat shock transcription factors: structure and regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1995;11:441-69.
46. Sun X, Ou Z, Xie M, Kang R, Fan Y, Niu X, et al. HSPB1 as a novel regulator of ferroptotic cancer cell death. *Oncogene* 2015;34:5617-25.
47. Kerins MJ, Ooi A. The roles of NRF2 in modulating cellular iron homeostasis. *Antioxid Redox Signal* 2017 [Epub ahead of print].
48. Sun X, Ou Z, Chen R, Niu X, Chen D, Kang R, et al. Activation of the p62-Keap1-NRF2 pathway protects against ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 2016; 63:173-84.
49. Kwon MY, Park E, Lee SJ, Chung SW. Heme oxygenase-1 accelerates erastin-induced ferroptotic cell death. *Oncotarget* 2015;6:24393-403.
50. Ross CA, Tabrizi SJ. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol* 2011;10:83-98.
51. Johnson WM, Wilson-Delfosse AL, Mieyal JJ. Dysregulation of glutathione homeostasis in neurodegenerative diseases. *Nutrients* 2012;4:1399-440.
52. Inder T, Mocatta T, Darlow B, Spencer C, Volpe JJ, Winterbourn C. Elevated free radical products in the cerebrospinal fluid of VLBW infants with cerebral white matter injury. *Pediatr Res* 2002;52:213-8.
53. Back SA, Gan X, Li Y, Rosenberg PA, Volpe JJ. Maturation-dependent vulnerability of oligodendrocytes to oxidative stress-induced death caused by glutathione depletion. *J Neurosci* 1998;18:6241-53.
54. Lőrincz T, Jemnitz K, Kardon T, Mandl J, Szarka A. Ferroptosis is involved in acetaminophen induced cell death. *Pathol Oncol Res* 2015;21:1115-21.

55. Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol* 2014;16:1180-91.
56. Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, Mulay SR, Dewitz C, De Zen F, et al. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:16836-41.
57. Tickoo SK, Amin MB, Zarbo RJ. Colloidal iron staining in renal epithelial neoplasms, including chromophobe renal cell carcinoma: emphasis on technique and patterns of staining. *Am J Surg Pathol* 1998;22:419-24.
58. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, et al. Discovery and development of sorafenib: a multi-kinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5:835-44.
59. Ooko E, Saeed ME, Kadioglu O, Sarvi S, Colak M, Elmasaoudi K, et al. Artemisinin derivatives induce iron-dependent cell death (ferroptosis) in tumor cells. *Phytomedicine* 2015;22:1045-54.
60. Eling N, Reuter L, Hazin J, Hamacher-Brady A, Brady NR. Identification of artesunate as a specific activator of ferroptosis in pancreatic cancer cells. *Oncoscience* 2015;2:517-32.
61. Iglehart JK, York RM, Modest AP, Lazarus H, Livingston DM. Cystine requirement of continuous human lymphoid cell lines of normal and leukemic origin. *J Biol Chem* 1977;252:7184-91.
62. Gout PW, Buckley AR, Simms CR, Bruchovsky N. Sulfasalazine, a potent suppressor of lymphoma growth by inhibition of the x(c)-cystine transporter: a new action for an old drug. *Leukemia* 2001;15:1633-40.
63. Chen L, Li X, Liu L, Yu B, Xue Y, Liu Y. Erastin sensitizes glioblastoma cells to temozolomide by restraining xCT and cystathionine- γ -lyase function. *Oncol Rep* 2015;33:1465-74.
64. Yamaguchi H, Hsu JL, Chen CT, Wang YN, Hsu MC, Chang SS, et al. Caspase-independent cell death is involved in the negative effect of EGF receptor inhibitors on cisplatin in non-small cell lung cancer cells. *Clin Cancer Res* 2013;19:845-54.
65. Yu Y, Xie Y, Cao L, Yang L, Yang M, Lotze MT, et al. The ferroptosis inducer erastin enhances sensitivity of acute myeloid leukemia cells to chemotherapeutic agents. *Mol Cell Oncol* 2015;2:e1054549.

K C I