

急性缺血性脑卒中中铁死亡发生的机制

李浩秀¹, 毕虹¹, 李伟荣^{2*}

(¹山西医科大学附属第九临床医学院神经内科, 太原 030012; ²山西省心血管病医院神经内科, 太原 030024)

摘要: 铁死亡是一种新型的细胞死亡方式。急性缺血性脑卒中发生后机体通过影响神经系统铁代谢、脂质代谢、氨基酸代谢导致细胞质中铁、脂质过氧化物以及活性氧的过度积累, 从而诱发铁死亡。本文主要综述了急性缺血性脑卒中后神经细胞发生铁死亡的三大代谢途径和缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)、BTB和CNC同源1(BTB and CNC homology 1, BACH1)、肿瘤抑制基因 p53、核受体共激活因子4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)、激活转录因子3(activating transcription factor 3, ATF3)等调节分子以及调节分子所调控的下游机制的相关变化特点, 通过剖析铁死亡在缺血性脑卒中中发生、发展的可能机制, 为有效治疗缺血性脑卒中和改善病人预后提供参考。

关键词: 铁死亡; 缺血性卒中; 铁代谢; 脂质过氧化; 氨基酸代谢

The mechanism of ferroptosis in ischemic stroke

LI Haoxiu¹, BI Meng¹, LI Weirong^{2*}

(¹The Ninth Clinical Medical College Affiliated to Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China;

²Department of Neurology, Shanxi Cardiovascular Hospital, Taiyuan 030024, China)

Abstract: Ferroptosis is a new type of cell death mode. After acute ischemic stroke, the body causes excessive accumulation of iron, lipid peroxides and reactive oxygen species in the cytoplasm by affecting iron metabolism, lipid metabolism and amino acid metabolism in the nervous system, thus inducing ferroptosis. This paper mainly reviews the three metabolism-related pathways of ferroptosis in nerve cells after acute ischemic stroke, the regulatory molecules such as hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α), BTB and CNC homology 1 (BACH1), tumor suppressor gene p53, nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4) and activating transcription factor 3 (ATF3), and the related changes in the downstream mechanism regulated by the regulatory molecules. This work was aimed to provide reference for the effective treatment of ischemic stroke and improve the prognosis of patients by analyzing the possible mechanism of ferroptosis in the occurrence and development of ischemic stroke.

Key Words: ferroptosis; ischemic stroke; iron metabolism; lipid peroxidation; amino acid metabolism

急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)是由永久性或暂时性脑动脉闭塞导致神经功能障碍的一种疾病^[1]。有研究表明, 铁死亡(ferroptosis)在脑卒中的进展中起着至关重要的作

用, 通过调节铁死亡可以干预动物模型中的中风过程并改善神经系统不良结局^[2]。这表明铁死亡是治疗中风的新的潜在靶点。因此, 系统阐明缺血性脑卒中中铁死亡的分子机制, 寻找铁死亡的关键

收稿日期: 2022-09-06

基金项目: 山西省重点科研项目(2021XM14)

第一作者: E-mail: 1943746385@qq.com

*通信作者: E-mail: weironglee@163.com

信号通路, 对缺血性脑卒中的临床治疗具有重要意义。

1 铁死亡概述

铁死亡这个概念是2012年由Dixon等^[3]提出的, 它是一种独特的程序性细胞死亡方式。铁死亡的主要特征是细胞内铁、脂质过氧化物以及活性氧(reactive oxygen species, ROS)的致命积累^[4], 产生过量氧自由基严重地破坏了细胞膜, 间接允许更多的氧化发生^[5], 最终导致细胞死亡。有研究提出, 在AIS缺血/再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)的条件下, 大脑抗氧化能力下降, 脑损伤区域铁大量增加, 导致铁过载, 最终发生细胞死亡, 该研究还发现, IRI中神经元的损伤可以通过铁死亡抑制剂(liproxstatin-1和ferrostatin-1)减轻, 这提示铁死亡可能直接参与脑IRI过程^[6]。AIS后调控发生铁死亡的因子众多, 如缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1, HIF-1 α)、BTB和CNC同源性1(BTB and CNC homology 1, BACH1)、p53、核受体共激活因子4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)、激活转录因子3(activating transcription factor 3, ATF3)等, 它们可以参与调控铁死亡三大代谢, 影响AIS发展及预后(图1)。近年来, 在AIS病理过程中铁死亡的潜在作用越来越受关注, 通过抑制铁死亡的发生可以逆转缺血性损伤^[7-9], 改善AIS预后。

2 缺血性脑卒中中铁代谢与铁死亡

铁在脑组织中含丰富, 其作为重要的辅助因子参与氧气运输、氧化磷酸化、髓鞘生成、神经递质合成和代谢。大脑的非活性铁(Fe^{3+})通过转铁蛋白-转铁蛋白受体1(transferrin-transferrin receptor 1, TF-TFR1)通路, 穿过细胞膜后释放到细胞质。随后, 通过STEAP3将 Fe^{3+} 转化为游离铁(Fe^{2+})。 Fe^{2+} 通过DMT1从内体转运并通过FPN输出。细胞内的 Fe^{2+} 可以储存在铁蛋白或LIP中, 后者参与脂质ROS的产生。

细胞内铁过载是引发铁死亡的关键因素。AIS后神经元细胞发生铁过载的可能机制如下: (1)在急性缺血条件下, 小胶质细胞受到缺血刺激过度活化, 导致血脑屏障(blood brain barrier, BBB)被

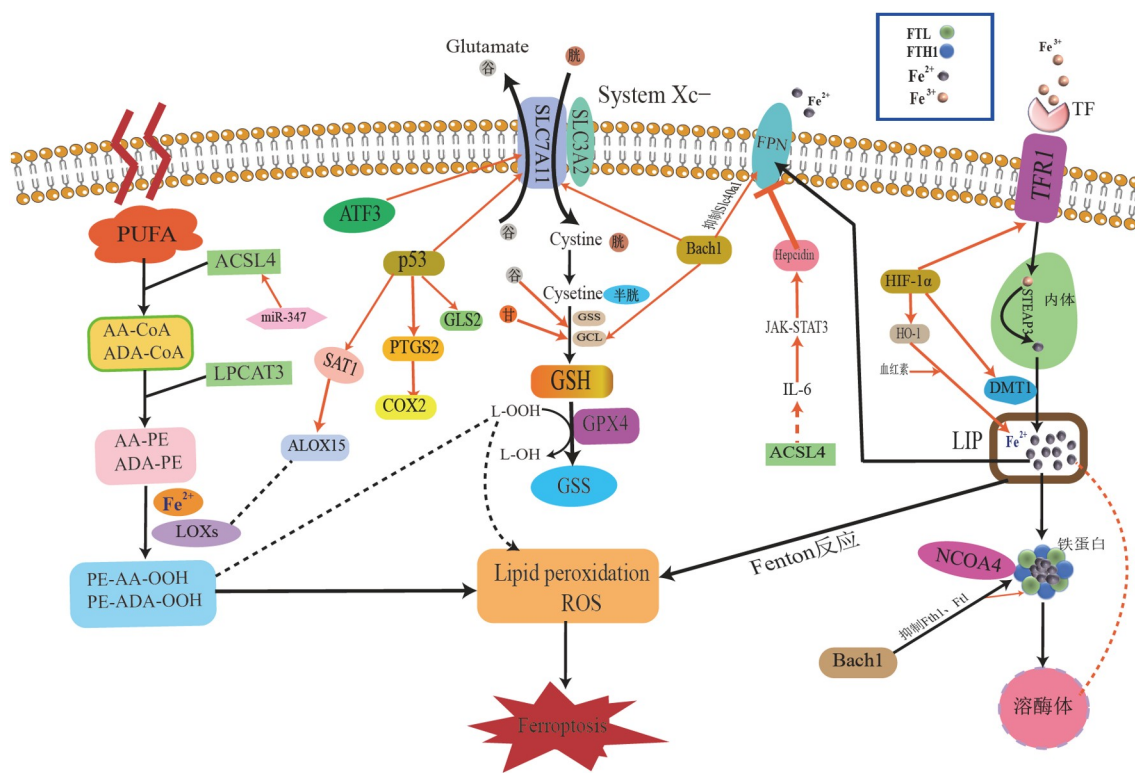
破坏^[10], 进入细胞内的铁增多; (2)细胞内铁的摄取能力增强: TFR1和DMT1表达水平上调^[11]; (3)铁的外排能力减弱: FPN的表达水平下调; (4)大脑缺血后通过抑制tau的表达导致神经元细胞内铁积累, tau是一种可以促进神经元铁流出的蛋白质^[12]。上述过程的发生加剧了铁在神经元细胞中的积累, 细胞内过多的 Fe^{2+} 既可以通过芬顿反应产生ROS^[13], 又参与合成脂氧合酶进而催化脂质过氧化反应^[14], 导致铁死亡的发生。调控铁代谢的因子有HIF-1 α 、BACH1、NCOA4、铁调素(hepcidin)等。AIS后这些因子的表达增加通过调控相关通路最终导致细胞内铁过载。

2.1 HIF-1 α 调控铁代谢影响铁死亡

TFR1是一种铁载体蛋白, 负责内化转铁蛋白结合的铁^[15], 其在维持脑中铁的稳态和调节铁死亡中起重要作用。当大脑缺血缺氧时, HIF-1 α 的表达增加, 其可促进Hmox1转录以及TFR1、DMT-1的表达^[16,17]。Hmox1基因编码生成应激诱导酶HO-1, HO-1可以降解血红素产生 Fe^{2+} , 以增加LIP的 Fe^{2+} 含量继而增加细胞发生铁死亡的敏感性^[18,19]。HIF-1 α 介导的TFR1、DMT-1表达增加可能是大脑IRI铁过载的另一个重要因素, 大脑缺血时兴奋性毒性会增加TF-TFR1介导的内吞作用, 即有大量的转铁蛋白运载铁进入内体, 更多的铁被释放到酸性内体腔中, 在氧气和葡萄糖剥夺条件下神经元中的DMT-1水平增加一倍, 而DMT-1的增加将促进内体排出更多的铁到神经元细胞质基质^[20]。上述研究结果表明, TFR1、DMT-1、HO-1表达的调节及其相关的TF-TFR1内吞途径是影响细胞内铁过载的重要事件。

2.2 BACH1调控铁代谢相关基因影响铁死亡

BACH1主要通过抑制细胞内两种抗铁死亡机制来加速铁死亡的发生: 不稳定铁螯合系统和GSH合成途径。前者的机制可以简单描述为: BACH1通过抑制铁蛋白基因(*Fth1*和*Ftl*)和铁转运蛋白基因(*Slc40a1*)的转录来促进铁死亡^[21], 即减少铁的储存和外排, 从而间接增加细胞内铁的浓度。研究发现, 在伴有严重脑梗死大脑中动脉闭塞/再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)小鼠的脑组织中BACH1的表达显著上调, 其水平随MCAO/R时间的增加而增



铁代谢相关调控机制：NCOA4介导铁蛋白自噬，HIF-1 α 、BACH1、铁调素(Hepcidin)影响铁代谢关键因子的表达，对游离铁含量产生影响，引发芬顿反应(Fenton reaction)。脂质代谢相关调控机制：酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)、溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶3(lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)、脂氧合酶(lipoxygenases, LOXs)等表达增加，诱导发生脂质过氧化。氨基酸代谢相关调控机制：溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)表达受抑制，谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成受限，谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)含量下降，最终导致脂质过氧化物的过度积累。多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)；磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)；花生四烯酸15-脂氧合酶(arachidonate 15-lipoxygenase, ALOX15)；亚精胺/精胺N1-乙酰转移酶1(spermidine/spermine N1-acetyltransferase 1, SAT1)；前列腺素内过氧化物合成酶2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)；环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX2)；谷氨酰胺酶2(glutaminase 2, GLS2)；花生四烯酸(arachidonic acid, AA)；肾上腺素酸(adrenic acid, AdA)；脂质氢过氧化物(lipid hydroperoxide, L-OOH)；磷脂氢(hospholipids-H, L-OH)；溶质载体家族3成员2(solute carrier family 3 member 2, SLC3A2)；谷氨酸-半胱氨酸连接酶(glutathione-cysteine ligase, GCL)；谷胱甘肽合成酶(glutathione synthetase, GSS)；氧化谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG)；转铁蛋白(transferrin, TF)；转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1, TFR1)；二价金属转运蛋白1(divalent metal transporter 1, DMT1)；前列腺六跨膜上皮抗原3(prostate six transmembrane epithelial antigen 3, STEAP3)；不稳定铁池(labile iron pool, LIP)；铁转运蛋白(ferroportin, FPN)；血红素加氧酶-1(hemeoxygenase-1, HO-1)；铁蛋白重链(ferritin heavy chain 1, FTH1)；铁蛋白轻链(ferritin light chain, FTL)；白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)；

图1 铁死亡三大代谢调控途径

加，而BACH1的下调降低了MCAO/R小鼠的氧化应激，缓解了MCAO/R小鼠脑再灌注损伤，减少了MCAO/R小鼠的梗死面积^[22]。这些研究表明，BACH1可能参与调控AIS后铁死亡的发生。

2.3 NCOA4介导的铁蛋白自噬影响铁死亡

铁蛋白由FTH1和FTL组成，能够螯合铁，具有铁储存能力，其在细胞中起着重要的抗氧化作用，防止芬顿反应产生ROS并保护细胞免受氧化应激损伤^[23]。血清铁蛋白水平对缺血性脑卒中的严重程度具有预测价值^[24]。有研究表明，血清铁蛋

白水平与缺血性脑卒中患者预后有关，其血清铁蛋白水平越高，神经功能恢复越差，血清铁蛋白水平越低，预后越好^[25,26]。有研究发现，缺血性脑卒中后及时降低血清铁蛋白水平可以改善卒中后不良功能结局以及减少病死率^[25]。

NCOA4被确定为铁蛋白自噬的选择性货物受体^[27]。铁蛋白自噬具体过程为NCOA4与铁蛋白结合并将其递送至溶酶体后降解，释放大量铁导致细胞内铁水平升高，进而催化发生芬顿反应，导致ROS积累^[28]，引发铁死亡。研究发现，在短暂性

大脑中动脉闭塞小鼠模型中,受损神经元中的泛素特异性肽酶14(ubiquitin specific peptidase 14, USP14)通过去泛素化过程上调NCOA4蛋白的表达,进一步诱导铁蛋白的过度降解,导致神经元中铁浓度显著增加;该研究还发现,USP14抑制剂通过降低NCOA4蛋白水平减少铁蛋白自噬发生进而减少铁积累,从而保护大脑免受再灌注损伤^[29]。此研究揭示了NCOA4介导的铁蛋白自噬可在急性缺血性卒中早期阶段参与调控铁死亡,为AIS的治疗提供了一种新颖而有效的靶点。

2.4 铁调素通过调节FPN影响铁死亡

铁调素正在成为大脑铁稳态的一个新的重要因素^[30]。它可导致脑缺血后铁超负荷,参与调节铁过载。大脑急性缺血后炎症因子IL-6表达增多,其可通过JAK-STAT3通路上调铁调素的表达^[31]。铁调素通过与FPN结合,抑制FPN活性并促进降解,减少铁的外排^[32],引起铁过载和氧化应激损伤。

铁过载已被确定为大脑缺血后氧化应激的主要来源^[33]。细胞内游离铁的增加与缺血性脑卒中后神经损伤程度呈正相关^[34],直接影响到大脑神经功能的恢复。在再灌注的早期阶段,它还会增加出血转化的风险,增强脂质过氧化,从而增加不良结局发生的可能性^[35]。铁死亡抑制剂liproxstatin-1和ferrostatin-1可以通过抑制铁死亡减轻MCAO小鼠神经功能障碍及脑梗死体积^[12]。由此可见,缺血性脑卒中发生后脑内铁过载介导的铁死亡是神经细胞损伤和IRI相关细胞死亡的关键因素。

3 缺血性脑卒中脂质代谢与铁死亡

铁死亡核心过程为细胞质中脂质过氧化物的过度积累。大脑含有丰富的多不饱和脂肪酸,其容易通过酶促(例如脂氧合酶介导)和非酶促(例如铁依赖性芬顿化学介导)反应催化生成更多的脂质过氧化物^[36]。脑缺血期间,由于能量不足,细胞膜上存在快速的ATP损失和不受控制的离子泄漏,导致膜去极化和谷氨酸等神经递质的释放,谷氨酸的过度释放及其受体的刺激导致磷脂酶的活化^[37,38],磷脂被水解,AA释放增加。ACSL4催化多不饱和脂肪酸,如AA或AdA形成AA/AdA-

CoA,随后,AA/AdA-CoA可被LPCAT3酯化为AA/AdA-PE^[39]。AA/AdA-PE被LOXs通过酶促或非酶促脂质过氧化反应转化为有害的PE-AA-OOH或PE-ADA-OOH^[40],最终形成大量脂质过氧化物,导致膜完整性的破坏和铁死亡的发生^[41],从而导致神经功能受损以及神经递质和神经元电生理学的变化。

3.1 miR-347通过调控ACSL4表达影响铁死亡

ACSL4在脑组织中广泛表达,是一种新发现的缺血相关蛋白质,其作为脑缺血后miR-347的潜在靶标,在MCAO小鼠脑缺血后随miR-347过度表达而上调,诱导神经元死亡^[42]。已有研究证明,ACSL4促进了小胶质细胞的促炎细胞因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6和白介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)产生^[43]。小胶质细胞是缺血后脑组织炎症的主要贡献者,中风后炎症反应的发生可进一步加重脑损伤,严重影响AIS预后。有研究提出,凝血酶在急性脑缺血再灌注后上调,凝血酶通过不影响细胞内Fe²⁺的水平促进花生四烯酸动员,随后由ACSL4催化酯化刺激铁死亡信号转导,导致神经元细胞发生铁死亡^[44],故可猜想抗凝血酶治疗可能通过抑制铁死亡的发生对中风后再灌注有益。Cui等^[43]发现,ACSL4表达在缺血性脑卒中早期受到抑制,这种抑制是由HIF-1 α 诱导的,而ACSL4的过表达加重了缺血性脑损伤,主要通过增强脂质过氧化促进神经元死亡。此外,该研究还证明,敲低ACSL4可抑制小胶质细胞中促炎细胞因子的产生。Doll等^[45]研究发现,靶向抑制ACSL4可以缓解铁死亡引起的细胞和组织损伤。最近的一些研究证实了他们的研究结果,研究指出,使用ACSL4的抑制剂罗格列酮可显著改善脑卒中72 h后的神经功能并减少脑梗死体积,重要的是,抑制ACSL4可以显著减缓MCAO后GPX4的下降、减少铁积累,从而减轻神经元氧化应激损伤,保护了脑功能^[2]。这些研究将ACSL4确定为神经元死亡和神经炎症的新型调节因子,ACSL4表达的干预可能为缺血性卒中提供潜在的治疗靶点。

3.2 p53可能激活SAT1-ALOX15轴触发神经元发生铁死亡加重脑IRI

有研究提出,脑缺血缺氧后p53基因表达增

加^[46]。p53通过增强SAT1的表达来诱导铁死亡的发生^[47]。在ROS应激下SAT1可诱导细胞发生脂质过氧化和铁死亡,敲除SAT1可显著抑制应激下p53引起的铁死亡^[48]。还有研究表明,SAT1诱导ALOX15表达,ALOX15是一种负责花生四烯酸过氧化的脂氧合酶^[48]。有研究在短暂大脑中动脉闭塞和再灌注(tMCAO/R)的小鼠模型中发现,SAT1表达增加,而通过敲低SAT1可以减轻再灌注诱导的脑损伤,甚至降低皮质铁含量和减少活性氧生成,与此同时,该研究还发现,抑制ALOX15的表达可减少SAT1诱导的神经元损伤和铁死亡的发生^[49]。

ALOX15又名12/15-LOX,为方便理解,本文统一名称为ALOX15,是脂质过氧化中的关键酶^[50]。Baicalein通过抑制ALOX15介导的脂质过氧化发挥抗铁死亡作用,从而对创伤后癫痫发作产生神经保护作用;此外,在缺血性中风后还观察到,神经元和内皮细胞中ALOX15增加,导致神经元细胞死亡和血脑屏障破坏^[51,52]。在脑缺血小鼠模型中的研究发现,血管系统以及皮层和海马体神经元中的ALOX15以时间依赖性方式增加,基因敲除或使用ALOX15的抑制剂LOXBlock-1可以减少神经元损伤并改善神经系统结局^[53],上述研究结果表明,ALOX15通过介导脂质过氧化在脑缺血后铁死亡发生中起重要作用,它的抑制剂可能是减轻脑缺血损伤的新型治疗方法。同时,引发了一个思考:AIS后SAT1-ALOX15轴的激活加重脑IRI是否主要由p53介导,这值得学者进一步的研究。

4 缺血性脑卒中氨基酸代谢与铁死亡

System Xc⁻是一种钠非依赖性反转运蛋白,由轻链亚基SLC7A11和重链亚基SLC3A2组成。胱氨酸和谷氨酸以1:1的比例通过System Xc⁻在细胞内外进行交换^[4]。细胞外胱氨酸通过SLC7A11导入细胞,继而被还原成半胱氨酸,然后在GCL和GSS催化下产生GSH。GSH是一种有效的抗氧化剂,存在还原型(GSH)和氧化型(GSSG)两种形式,可增强GPX4的抗脂质过氧化活性,GPX4被认为是铁死亡的关键调节剂^[54,55]。GPX4可以催化GSH变为GSSG,正常情况下,GSH占大多数,GPX4以GSH为底物与脂质过氧化物反应起到抗氧化作

用,减少脂质过氧化和铁死亡的发生,保护细胞免受损伤,因此对细胞生长、增殖和新陈代谢至关重要。

4.1 通过抑制SLC7A11诱导铁死亡

谷氨酸诱导的神经毒性是缺血性卒中发生后介导神经元死亡的重要机制。细胞外过量的谷氨酸通过抑制System Xc⁻轻链亚基SLC7A11的活性减少胱氨酸的吸收,影响GSH的合成。这导致细胞抗氧化能力降低,脂质过氧化物、ROS积累,最终发生氧化损伤和铁死亡。此外,BACH1、ATF3、p53等也可以通过抑制SLC7A11的表达减少神经元对胱氨酸的摄取,导致GSH合成减少,增加细胞发生铁死亡的敏感性。

4.1.1 BACH1抑制SLC7A11、GCL基因的表达影响铁死亡

SLC7A11、GCL被认为对铁死亡的发生具有抑制作用^[4]。BACH1可通过抑制SLC7A11、GCL基因的表达减少GSH合成,从而诱导发生铁死亡^[6]。总的来说,AIS后,BACH1通过抑制铁代谢、氨基酸代谢相关基因的表达促进铁死亡发生,故抑制BACH1的表达和BACH1调控的通路或许是AIS治疗的一个新靶点。

4.1.2 ATF3抑制SLC7A11的表达影响铁死亡

ATF3可被DNA损伤、氧化应激和细胞损伤等迅速诱导表达。急性缺氧时,NO通过介导JNK途径使内皮细胞中ATF3表达迅速增加^[56]。增加的ATF3可以通过与SLC7A11启动子结合,以p53非依赖性方式抑制SLC7A11表达^[57],从而使细胞内GSH合成减少,增加了铁死亡发生的敏感性。

4.1.3 p53抑制SLC7A11的表达影响铁死亡

脑缺血缺氧后p53表达增加,其可下调SLC7A11的表达,具体表现为p53可以与SLC7A11基因的启动子区域结合并抑制其转录表达^[58]。赖氨酸120上的组蛋白H2B(monoubiquitination of histone H2B on lysine 120, H2Bub1)是一种表观遗传标记,可激活SLC7A11表达,但p53可以降低H2Bub1在SLC7A11基因调控区域的占用率,从而抑制SLC7A11的表达^[59]。

除了SLC7A11之外,有研究还发现了几个p53靶因子在铁死亡中发挥作用,这些靶因子可能参与调控AIS后铁死亡发生,包括GLS2、PTGS2和

SAT1^[60]。p53可以通过增强SAT1和GLS2的表达来增强铁死亡发生的敏感性^[47]。GLS2介导谷氨酰胺分解产生谷氨酸, 敲低*GLS2*基因可以抑制铁死亡发生^[61], 说明其可能通过代谢机制引发铁死亡。一项关于AIS铁死亡生物标志物研究提出, PTGS2是缺血性中风的潜在诊断生物标志物^[62]。PTGS2是体内前列腺素合成初始步骤中的关键酶, 通过调节关键膜磷脂的水平来调节细胞对铁死亡的敏感性。还有研究表明, PTGS2的表达增加是p53依赖性的, 与铁死亡的发生直接相关^[55]。上述研究表明, AIS后随着p53的表达增加, 可能通过调控脂质代谢、氨基酸代谢最终诱导铁死亡的发生, 故可假设靶向抑制p53及其调控的靶基因的表达在AIS后可能会改善神经系统不良结局。

4.2 通过抑制GPX4诱导铁死亡

正常情况下, GPX4起抗氧化作用, 减少脂质过氧化和铁死亡发生。在MCAO大鼠中, 低水平的GPX4可诱导铁死亡, 而高水平的GPX4可改善脑损伤^[11]。研究提出, 缺血性脑卒中后GPX4蛋白表达减少、活性降低, ACSL4和COX2蛋白表达增加, 最终导致铁死亡发生^[2]。在SAT1下调后, GPX4和SLC7A11在TBH处理的神经元中的表达均增强^[49]。基于前文对SAT1的描述, 故猜测, SAT1在AIS后的促铁死亡作用可能与脂质过氧化、GPX4消耗和SLC7A11下调有关。GPX4具有一个硒代半胱氨酸活性位点, 硒是GPX4生物合成所必需的微量元素。有研究表明, 硒通过激活转录因子促进了GPX4的表达, 这有效抑制了铁死亡的发生和谷氨酸兴奋性毒性, 从而减少了小鼠的缺血性脑损伤^[63]。除此之外, Guan等^[64]提出, 香芹酚可以通过增强GPX4的表达来抑制铁死亡, 从而挽救再灌注诱导的海马神经元损伤。由此可见, GPX4在铁死亡的发生中起着非常重要的作用。但目前侧重于研究GPX4和GSH直接对AIS的影响, 对其上游调控机制的研究有限。因此, 了解与铁死亡相关的氨基酸代谢相关机制对改善缺血性卒中预后具有很大的帮助。

5 总结与展望

AIS后铁死亡的发生与三个关键事件相关。(1)铁代谢异常: AIS后, HIF-1 α 通过影响铁代谢关键

因子TFR1、DMT-1、HO-1的表达导致细胞发生铁过载; 铁蛋白的增加提示预后不佳, NCOA4可以介导铁蛋白自噬以增加LIP中Fe²⁺, 引发铁过载。(2)脂质代谢紊乱: 脂质过氧化物的积累; ACSL4的表达增加诱导发生脂质过氧化, 进一步加剧脂质过氧化物在细胞内的积累, 它还可以调控炎症因子影响铁代谢造成铁过载。(3)氨基酸代谢障碍: SLC7A11的抑制、GSH合成受限、GPX4表达降低; 随着p53的表达增加, 可能通过抑制SLC7A11及增加下游因子SAT1、PTGS2、GLS2的表达, 使细胞对铁死亡的敏感性增加; ATF3通过与SLC7A11启动子结合并以p53非依赖性方式抑制SLC7A11表达; BACH1通过抑制铁代谢相关基因*Fth1*、*Ftl*、*Slc40a1*的转录和氨基酸代谢中*SLC7A11*、*GCL*基因的表达, 引发铁过载并导致GSH合成受限以及GPX4活性降低。上述过程的发生使铁、脂质过氧化物以及活性氧在细胞内过度积累, 产生过量的氧自由基破坏细胞膜, 进而允许更多的氧化反应发生, 最终导致细胞发生铁死亡, 影响AIS发展及预后。既往研究证实AIS后脑损伤机制与炎症反应、氧自由基释放、兴奋氨基酸毒性、钙超载、细胞线粒体肿胀等有关, 本文主要是在诱导铁死亡发生的三大代谢途径的基础上进一步介绍了相关调节因子所调控的机制在AIS发展中的作用, 同时, 本文基于铁死亡相关研究汇总, 得出异常代谢机制可能是AIS后脑损伤的机制之一, 为理解中风后脑损伤机制提供了不同的思路, 也为AIS的治疗提供了参考。目前, 对于AIS后神经细胞发生铁死亡的研究局限性有以下5个方面。(1)AIS后神经细胞发生铁死亡的最主要机制尚不清晰, 这还需要进行大量的基础及临床研究去探寻证实。(2)目前关于AIS后发生铁死亡的研究成果大多来自动物小鼠实验, 缺乏临床相关证据。(3)目前对铁死亡生物标志物的研究有限, 若能发现敏感的生物标志物这将对AIS的治疗及预后具有重要的意义。(4)铁死亡可以与氨基酸毒性、炎症、自噬和细胞氧化应激等病理机制相互串扰、相互作用, 加重中风后脑损伤, 这些过程共同决定了AIS发展和预后, 这提示涉及多种机制的联合治疗可能会阻断中风后的病理级联和串扰, 但缺乏大量的临床研究以及缺少对具体机制的阐

述。(5)近年来,在许多关于AIS危险因素(如动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、吸烟、饮酒、高血脂等)的研究中发现有铁死亡的参与,但目前在这方面的研究还处于起步阶段,需要进一步的研究。因此,为更深入了解铁死亡发生的具体机制及在人体上发生发展的规律,需进行大量的基础和临床研究,从而制定最佳治疗方案,以有效调节铁死亡的发生并将其应用于AIS的临床治疗。

参考文献

- [1] Meng J, Zhang J, Fang J, et al. Dynamic inflammatory changes of the neurovascular units after ischemic stroke. *Brain Res Bull*, 2022, 190: 140-151
- [2] Chen J, Yang L, Geng L, et al. Inhibition of acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 facilitates neurological recovery after stroke by regulation ferroptosis. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 632354
- [3] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072
- [4] Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285
- [5] Agmon E, Solon J, Bassereau P, et al. Modeling the effects of lipid peroxidation during ferroptosis on membrane properties. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5155
- [6] Yan HF, Tuo QZ, Yin QZ, et al. The pathological role of ferroptosis in ischemia/reperfusion-related injury. *Zoological Res*, 2020, 41(3): 220-230
- [7] Li J, Cao F, Yin HL, et al. Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88
- [8] Yan HF, Zou T, Tuo QZ, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Sig Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 49
- [9] Yao MY, Liu T, Zhang L, et al. Role of ferroptosis in neurological diseases. *Neurosci Lett*, 2021, 747: 135614
- [10] Yang C, Hawkins KE, Doré S, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic stroke. *Am J Physiol-Cell Physiol*, 2019, 316(2): C135-C153
- [11] Lan B, Ge JW, Cheng SW, et al. Extract of Naotaifang, a compound Chinese herbal medicine, protects neuron ferroptosis induced by acute cerebral ischemia in rats. *J Integrative Med*, 2020, 18(4): 344-350
- [12] Tuo QZ, Lei P, Jackman KA, et al. Tau-mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(11): 1520-1530
- [13] Winterbourn CC. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicol Lett*, 1995, 82-83: 969-974
- [14] Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(3): 419-425
- [15] Tang LJ, Zhou YJ, Xiong XM, et al. Ubiquitin-specific protease 7 promotes ferroptosis via activation of the p53/TfR1 pathway in the rat hearts after ischemia/reperfusion. *Free Radical Biol Med*, 2021, 162: 339-352
- [16] Dunn LL, Kong SMY, Tumanov S, et al. Hmx1 (heme oxygenase-1) protects against ischemia-mediated injury via stabilization of HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1): 317
- [17] Yang L, Wang D, Wang XT, et al. The roles of hypoxia-inducible factor-1 and iron regulatory protein 1 in iron uptake induced by acute hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 507(1-4): 128-135
- [18] Rochette L, Zeller M, Cottin Y, et al. Redox functions of heme oxygenase-1 and biliverdin reductase in diabetes. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29(2): 74-85
- [19] Chang LC, Chiang SK, Chen SE, et al. Heme oxygenase-1 mediates BAY 11-7085 induced ferroptosis. *Cancer Lett*, 2018, 416: 124-137
- [20] DeGregorio-Rocasolano N, Martí-Sistac O, Ponce J, et al. Iron-loaded transferrin (Tf) is detrimental whereas iron-free Tf confers protection against brain ischemia by modifying blood Tf saturation and subsequent neuronal damage. *Redox Biol*, 2018, 15: 143-158
- [21] Nishizawa H, Matsumoto M, Shindo T, et al. Ferroptosis is controlled by the coordinated transcriptional regulation of glutathione and labile iron metabolism by the transcription factor BACH1. *J Biol Chem*, 2020, 295(1): 69-82
- [22] Yu S, Zhai J, Yu J, et al. Downregulation of BACH1 protects AGAINST cerebral ischemia/reperfusion injury through the functions of HO-1 and NQO1. *Neuroscience*, 2020, 436: 154-166
- [23] Arosio P, Elia L, Poli M. Ferritin, cellular iron storage and regulation. *IUBMB Life*, 2017, 69(6): 414-422
- [24] Wijeratne T, Sales C, Karimi L, et al. Acute ischemic stroke in COVID-19: a case-based systematic review. *Front Neurol*, 2020, 11: 1031
- [25] Krishnamoorthy S, Singh G, Jose K J, et al. Biomarkers in the prediction of hemorrhagic transformation in acute stroke: a systematic review and meta-analysis. *Cerebrovasc Dis*, 2022, 51(2): 235-247
- [26] Bhatia R, Pedapati R, Komakula S, et al. Stroke in coronavirus disease 2019: a systematic review. *J Stroke*, 2020, 22(3): 324-335
- [27] Santana-Codina N, Gikandi A, Mancias JD. The role of

- NCOA4-mediated ferritinophagy in ferroptosis. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1301: 41-57
- [28] Zhou B, Liu J, Kang R, et al. Ferroptosis is a type of autophagy-dependent cell death. *Semin Cancer Biol*, 2020, 66: 89-100
- [29] Li C, Sun G, Chen B, et al. Nuclear receptor coactivator 4-mediated ferritinophagy contributes to cerebral ischemia-induced ferroptosis in ischemic stroke. *Pharmacol Res*, 2021, 174: 105933
- [30] Vela D. Hepcidin, an emerging and important player in brain iron homeostasis. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 25
- [31] Kanamori Y, Murakami M, Sugiyama M, et al. Hepcidin and IL-1 β . *Vitam Horm*, 2019, 110: 143-156
- [32] Link C, Knopf JD, Marques O, et al. The role of cellular iron deficiency in controlling iron export. *Biochim Biophys Acta*, 2021, 1865(3): 129829
- [33] Carbonell T, Rama R. Iron, oxidative stress and early neurological deterioration in ischemic stroke. *Curr Med Chem*, 2007, 14(8): 857-874
- [34] Zhang Y, Lu X, Tai B, et al. Ferroptosis and its multifaceted roles in cerebral stroke. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 615372
- [35] García-Yébenes I, García-Culebras A, Peña-Martínez C, et al. Iron overload exacerbates the risk of hemorrhagic transformation after tPA (tissue-type plasminogen activator) administration in thromboembolic stroke mice. *Stroke*, 2018, 49(9): 2163-2172
- [36] Skouta R, Dixon SJ, Wang J, et al. Ferrostatins inhibit oxidative lipid damage and cell death in diverse disease models. *J Am Chem Soc*, 2014, 136(12): 4551-4556
- [37] Phillis JW, O'Regan MH. The role of phospholipases, cyclooxygenases, and lipoxygenases in cerebral ischemic/traumatic injuries. *Crit Rev Neurobiol*, 2003, 15(1): 61-90
- [38] Kaplan-Arabaci O, Acari A, Ciftci P, et al. Glutamate scavenging as a neuroreparative strategy in ischemic stroke. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 866738
- [39] Latunde-Dada GO. Ferroptosis: role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1861(8): 1893-1900
- [40] Liang D, Minikes AM, Jiang X. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling. *Mol Cell*, 2022, 82(12): 2215-2227
- [41] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282
- [42] Gubern C, Camós S, Ballesteros I, et al. miRNA expression is modulated over time after focal ischaemia: up-regulation of miR-347 promotes neuronal apoptosis. *FEBS J*, 2013, 280(23): 6233-6246
- [43] Cui Y, Zhang Y, Zhao X, et al. ACSL4 exacerbates ischemic stroke by promoting ferroptosis-induced brain injury and neuroinflammation. *Brain Behav Immun*, 2021, 93: 312-321
- [44] Tuo QZ, Liu Y, Xiang Z, et al. Thrombin induces ACSL4-dependent ferroptosis during cerebral ischemia/reperfusion. *Sig Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 59
- [45] Doll S, Proneth B, Tyurina YY, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91-98
- [46] 张梅, 李平. 黄芪、川芎及其配伍对脑缺血后凋亡相关基因表达影响的实验研究. *中国中医基础医学杂志*, 2002(7): 16-17
- [47] Kang R, Kroemer G, Tang D. The tumor suppressor protein p53 and the ferroptosis network. *Free Radical Biol Med*, 2019, 133: 162-168
- [48] Ou Y, Wang SJ, Li D, et al. Activation of SAT1 engages polyamine metabolism with p53-mediated ferroptotic responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(44): E6806-E6812
- [49] Zhao J, Wu Y, Liang S, et al. Activation of SSAT1/ALOX15 axis aggravates cerebral ischemia/reperfusion injury via triggering neuronal ferroptosis. *Neuroscience*, 2022, 485: 78-90
- [50] Singh NK, Rao GN. Emerging role of 12/15-Lipoxygenase (ALOX15) in human pathologies. *Prog Lipid Res*, 2019, 73: 28-45
- [51] Li Q, Li QQ, Jia JN, et al. Baicalein exerts neuroprotective effects in FeCl₃-induced posttraumatic epileptic seizures via suppressing ferroptosis. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 638
- [52] Jin G, Arai K, Murata Y, et al. Protecting against cerebrovascular injury. *Stroke*, 2008, 39(9): 2538-2543
- [53] Yigitkanli K, Zheng Y, Pekcec A, et al. Increased 12/15-lipoxygenase leads to widespread brain injury following global cerebral ischemia. *Transl Stroke Res*, 2017, 8(2): 194-202
- [54] Yuan Y, Zhai Y, Chen J, et al. Kaempferol ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal ferroptosis by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 Axis. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 923
- [55] Ursini F, Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: the role of GSH and GPx4. *Free Radical Biol Med*, 2020, 152: 175-185
- [56] Chen SC, Liu YC, Shyu KG, et al. Acute hypoxia to endothelial cells induces activating transcription factor 3 (ATF3) expression that is mediated via nitric oxide. *Atherosclerosis*, 2008, 201(2): 281-288
- [57] Wang L, Liu Y, Du T, et al. ATF3 promotes erastin-induced ferroptosis by suppressing system Xc⁻. *Cell Death Differ*, 2020, 27(2): 662-675

- [58] Jiang L, Kon N, Li T, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression. *Nature*, 2015, 520 (7545): 57-62
- [59] Wang Y, Yang L, Zhang X, et al. Epigenetic regulation of ferroptosis by H2B monoubiquitination and p53. *EMBO Rep*, 2019, 20(7): e47563
- [60] Gnanapradeepan K, Basu S, Barnoud T, et al. The p53 tumor suppressor in the control of metabolism and ferroptosis. *Front Endocrinol*, 2018, 9: 124
- [61] Gao M, Monian P, Quadri N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 298-308
- [62] Chen G, Li L, Tao H. Bioinformatics identification of ferroptosis-related biomarkers and therapeutic compounds in ischemic stroke. *Front Neurol*, 2021, 12: 745240
- [63] Alim I, Caulfield JT, Chen Y, et al. Selenium drives a transcriptional adaptive program to block ferroptosis and treat stroke. *Cell*, 2019, 177(5): 1262-1279.e25
- [64] Guan X, Li X, Yang X, et al. The neuroprotective effects of carvacrol on ischemia/reperfusion-induced hippocampal neuronal impairment by ferroptosis mitigation. *Life Sci*, 2019, 235: 116795