

铁死亡机制与中医药干预脑卒中后神经细胞铁死亡的研究进展

徐寒莹¹, 张艺缤¹, 张冬梅², 卢靖², 张影², 吴雷¹, 兰天野^{2*}, 王健^{2*}
(1. 长春中医药大学, 长春 130117; 2. 长春中医药大学附属医院, 长春 130021)

[摘要] 脑卒中是一种常见的脑血管疾病,具有高发病率、高致死率、高致残率的特点。神经细胞是组成中枢神经系统的基本单位,卒中发病时神经细胞会出现不同程度的损伤或细胞死亡现象。卒中后的神经细胞损伤也是导致患者神经功能障碍、影响其预后与生存质量的关键原因。因此,减轻卒中后的神经细胞损伤程度,延缓其细胞死亡进程有利于降低卒中幸存者的神经功能损伤水平,改善其预后效果,进而降低卒中致死、致残率。铁死亡是近年来被广泛关注的新型细胞死亡形式,已有研究证实卒中后的神经细胞存在铁死亡现象。作为一种可调节的细胞死亡形式,干预铁死亡可以实现对神经细胞损伤程度与死亡进程的调节。已有研究表明抑制铁死亡可以起到神经保护性作用。中医药具有多途径、多靶点的治疗优势,已被广泛应用于卒中的全疾病链条,并取得了较好的临床效果。以中医药调节铁死亡作为切入点可能是未来卒中治疗的新方向。该文简要阐述铁死亡机制,探讨中医药干预神经细胞铁死亡的研究现状,为进一步提升卒中的中医疗效提供参考。

[关键词] 铁死亡; 脑卒中; 中医药; 脑出血; 脑梗死

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)20-0232-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221105

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220329.1827.007.html>

[网络出版日期] 2022-03-30 10:01

Mechanism of Ferroptosis and Traditional Chinese Medicine Intervention on Neuronal Cell Ferroptosis After Stroke: A Review

XU Hanying¹, ZHANG Yibin¹, ZHANG Dongmei², LU Jing², ZHANG Ying²,
WU Lei¹, LAN Tianye^{2*}, WANG Jian^{2*}

(1. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, China)

[Abstract] Stroke is a common cerebrovascular disease, characterized by high incidence, mortality and disability rate. Neuronal cells, the basic unit of the central nervous system, can be injured to varying degrees when stroke occurs. Neuronal cell injury after stroke is also the key cause leading to neurological dysfunction, affecting the prognosis and quality of life of patients. Therefore, reducing the neuronal cell injury and delaying the process of cell death are effective to decrease the nerve function injury in stroke patients and improve their prognosis, thus lowering the death and disability rate of stroke. Ferroptosis is a new form of cell death that has been widely concerned in recent years. Several studies have confirmed that there is ferroptosis in neuronal cells after stroke. Since ferroptosis is an adjustable form, its intervention can help regulate the injury and death of neuronal cells. Studies have shown that inhibiting ferroptosis plays a role in protecting neuronal cells. Traditional

[收稿日期] 2022-02-11

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82474317);国家重点研发计划项目(2019YFC1709902);国家中医药管理局项目(2019XZZX-NB005);吉林省科技发展计划项目(20210303004SF);吉林省自然科学基金项目(20200201542JC)

[第一作者] 徐寒莹,在读博士,从事中医药防治脑血管疾病研究,E-mail:421006829@qq.com

[通信作者] *王健,博士,主任医师,从事中医药防治脑血管疾病研究,E-mail:jian-w222@163.com;

*兰天野,博士,副主任医师,从事中医药防治脑血管疾病研究,E-mail:lantianye-x@163.com

Chinese medicine (TCM), with the multi-channel and multi-target treatment advantages, has been widely used in the whole stroke and has achieved good clinical efficacy. It might be a new direction taking TCM regulation of ferroptosis as the entry point for stroke treatment in the future. This review revealed the mechanism of ferroptosis, discussed the research status of TCM in intervening in neuronal cell ferroptosis, and provided reference for further improving the efficacy of TCM in stroke.

[Keywords] Ferroptosis; stroke; traditional Chinese medicine; intracerebral hemorrhage; ischemic stroke

脑卒中(下文简称“卒中”)是全球范围内导致死亡与残疾的第二位病因。据统计,1990~2019年期间,全球卒中死亡人数增加了43%,因卒中导致的疾病伤残调整寿命年增加了32%^[1]。卒中发病时神经细胞大量死亡是卒中致死、致残的关键原因。针对卒中后神经细胞死亡进行调节与干预,对于减轻患者的神经功能损伤程度、改善长期预后具有重要意义。近年来,铁死亡作为一种新型细胞死亡形式受到医学领域的广泛关注。自2012年DIXON等^[2]学者正式提出“铁死亡”概念,大批国内外学者对此开展研究。已有研究表明,铁螯合剂通过抑制铁死亡显著改善神经细胞损伤程度^[2-3]。中医药具有多途径、多靶点的优势,中医药调节铁死亡已成为拓展卒中治疗策略的重要突破点。基于整体观角度,中医药可以调整卒中患者阴阳失衡,气血失调的病理状态,基于微观视角,中医药通过干预铁死亡核心分子的上下游环节可以实现对受损神经细胞空间构象与功能障碍的调节。现有研究已围绕卒中后神经细胞出现的铁沉积、氧化应激、内质网应激、线粒体功能障碍等角度开展了大量中医药抗铁死亡的作用机制研究^[4-5]。本文简述铁死亡机制,总结归纳中医调节卒中后神经细胞损伤的研究现状与困境,为进一步提升卒中的中医疗效提供参考。

1 铁死亡的概念与特征

铁死亡是一种以铁依赖性的广泛脂质过氧化为主要特征的调节性细胞死亡形式,在细胞形态、生化特征、遗传学等方面与其他细胞死亡形式存在差异。在形态学方面,铁死亡表现为线粒体结构改变,包括线粒体浓缩变小、体嵴减少或缺失、膜密度增加、线粒体外膜破裂。在生化特征方面,主要表现为具有抗氧化性的谷胱甘肽(GSH)合成减少或耗竭过多,膜脂修复酶谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)活性下降,氧化还原反应失衡,导致过量毒性脂质过氧化物沉积,铁离子在该过程中起到了重要介导作用。在遗传学方面,铁死亡是由多个效应

分子协同参与的信号级联反应,其过程中受氧化应激、铁代谢、脂代谢等多种代谢途径调控。目前对于铁死亡相关调控基因的探究主要围绕铁稳态调节与氧化应激展开。ZHOU等^[6]基于文献建立了第一个人工整理的铁死亡数据库——FerrDb数据库,截止目前可查询到铁死亡相关基因259个,与铁死亡相关的疾病95种,可见铁死亡机制的复杂性及与多种疾病的关联性。

2 铁死亡的启动与调节

2.1 铁代谢调节 细胞铁代谢是一个复杂过程,铁代谢紊乱会影响细胞正常代谢进而导致疾病产生。铁离子是铁死亡发生的必备要素^[7],其在铁死亡中的具体作用机制仍待探明。当前文献报道主要围绕铁能通过参与脂质降解、介导铁依赖性氧化酶系、催化自由基等途径加速氧化反应来阐释铁的独特作用^[7-8]。

2.1.1 细胞铁代谢 细胞内铁含量变化取决于铁的摄取、储存与外流。转铁蛋白(Tf)负责铁的摄取运输。Tf摄取胞外的 Fe^{3+} 后与转铁蛋白受体1(TfR1)结合,经内吞作用进入细胞^[9]。在酸性环境中 Fe^{3+} 与Tf解离, Fe^{3+} 被金属还原酶3还原为 Fe^{2+} 由二价金属离子转运体(DMT1)运输至细胞质^[10],Tf-TfR1复合体继续循环至细胞膜表面等待新一轮循环。铁进入细胞后被线粒体利用,多余铁储存于铁蛋白,或流入细胞内铁池。胞内铁代谢主要受铁反应元件-铁调节蛋白系统调节。铁反应元件(IRE)是mRNA非翻译区(UTR)中的结构,受铁水平调节,可以与铁调节蛋白(IRP)识别后相结合。IRP含有的两个关键蛋白IRP-1、IRP-2是重要的铁调节因子,在缺铁、缺氧环境下可被激活进而调节mRNA翻译^[11]。胞内铁水平高时,IRP与Tf、铁蛋白等基因的5'UTR的IRE结合抑制其基因翻译,对铁吸收的介导作用减弱。胞内铁水平低时,IRP与TfR1、DMT1等基因的3'UTR的IRE结合可减少TfR1降解,上调DMT1基因表达,对铁吸收的介导作用增强^[12]。衰老的红细胞被吞噬降解后释放出大量

血红素,由血红素加氧酶-1(HO-1)分解出 Fe^{2+} ,再由负责转运的膜铁转运蛋白(FPN)将 Fe^{2+} 转出胞外。

2.1.2 铁死亡过程中的铁的作用 在铁死亡过程中,铁扮演了催化氧自由基生成,启动脂质过氧化链式传播的关键角色。在电子转移过程中,氧气接受电子形成过氧化氢(H_2O_2), Fe^{2+} 与 H_2O_2 通过芬顿(Fenton)反应产生高反应性的羟基自由基,并与磷脂细胞膜上的多不饱和脂肪酸(PUFA)协同启动脂质过氧化。实验研究表明,急性铁过载可引起大鼠脑内氧化应激反应,并伴随脂质过氧化和GSH耗竭^[13]。YAN等^[14]研究表明,在细胞色素P450氧化还原酶(POR)以磷脂为底物催化的过氧化反应中, Fe^{3+} 、氧气与还原型辅酶Ⅱ(NADPH)是必需的,随着 Fe^{3+} 和NADPH浓度提高,脂质过氧化物生成增加,而其他过渡金属并未产生此催化作用,进一步阐释了铁在脂质过氧化环节中的不可替代作用。氧化还原反应很大程度上决定了超载铁的毒性, Fe^{2+} 与过氧化基团不受控制的氧化反应及产生的有害产物对细胞膜的完整性与稳定性造成威胁^[15],然而这种情况可以被铁螯合剂抑制或被GSH/GPX4适当清除^[16-17]。目前,对于铁诱导铁死亡的具体机制仍在探索,但可明确的是铁过载对于铁死亡的发生是至关重要的。

2.2 谷胱甘肽过氧化物酶(GPXs)4调节 GPXs是一种过氧化物分解酶。GPX4是GPXs家族的重要成员,与GSH协同作用可以在复杂脂质环境中分解脂质过氧化物^[18]。GPX4是多个独立小分子诱导铁死亡共同机制途径,当其活性受到抑制可导致下游的脂质过氧化结局^[19]。

2.2.1 抑制胱氨酸谷氨酸转运受体(System xc-)/GSH/GPX4诱导铁死亡 System xc-是细胞内重要的抗氧化体系,该受体上的两个亚基(SLC7A11与SLC3A2)可介导细胞内的谷氨酸与细胞外的胱氨酸进行交换,胱氨酸进入细胞内被还原为半胱氨酸用以合成GSH,抑制System xc-会降低GSH水平,影响GPX4发挥功能,这一过程被看作是铁死亡级联反应中的上游事件。GPX4以GSH作为辅因子可将脂质过氧化物还原为水或相应的醇,这一“解毒”过程可以有效抑制脂质过氧化反应传播^[20]。铁死亡诱导剂Erastin就是通过抑制System xc-来减少胱氨酸摄取,耗竭GSH,间接抑制GPX4活性,降低了细胞抗氧化能力^[21-22],引起脂质过氧化物快速堆积。

2.2.2 直接抑制GPX4活性诱导铁死亡 RSL3同样是一种铁死亡诱导剂。抗氧化剂与铁螯合剂均

可以抑制Erastin、RSL3诱导的细胞死亡,两者对细胞的致死作用均具备铁依赖性与氧化依赖性,但在诱导机制上存在差异。RSL3诱导的细胞死亡不会被胱天蛋白酶抑制剂所阻断,其诱导过程中对GSH浓度并未产生影响^[21]。RSL3可以与GPX4上活性位点上的半胱氨酸共价结合进而实现对GPX4活性的直接抑制^[19]。

2.3 其他形式的铁死亡调节 随着研究不断深入,研究者探索出其他独立于GPX4的铁死亡调控机制,着力构建新的细胞防御体系,例如铁死亡抑制蛋白-1、核因子 E_2 相关因子2(Nrf2)、P53基因等。在此简述其中具有代表性的通路及因子的作用机制。

2.3.1 NADPH/铁死亡抑制蛋白1(FSP1)/辅酶Q10(CoQ10)信号通路 2019年,德国与美国的研究组首次鉴定出一种与细胞凋亡诱导因子(AIF)同源结构的线粒体凋亡诱导因子2(AIFM2),并发现AIFM2在细胞中的过表达能显著保护细胞免受铁死亡诱导因子的影响,证实了其对铁死亡的抑制作用,并将AIFM2更名为FSP1^[22-23]。在保留GPX4功能的前提下,FSP1缺失也会导致脂质过氧化增强^[23]。FSP1对铁死亡的抑制主要由CoQ10介导。CoQ10是亲脂性的抗氧化物,FSP1通过NADPH催化CoQ10还原为泛醇,捕获脂质过氧化物并将其还原。NADPH/FSP1/CoQ10也被视作是独立且平行于GSH/GPX4的铁死亡抑制通路。

2.3.2 肿瘤抑制因子P53 P53是一种抑癌基因,参与介导多种关键细胞基因的转录调控。2015年,顾伟团队发现P53可能通过抑制System xc-上的SLC7A11,减少胱氨酸摄取,降低GPX4活性,进而诱导肿瘤细胞铁死亡^[24]。除SLC7A11之外,许多P53的其他靶基因同样具备促进铁死亡的作用,其诱导途径多与加速GSH水解、PUFA过氧化相关^[25]。此外,高水平的活性氧(ROS)也会触发P53介导铁死亡,并在敲除GPX4后仍使细胞表现出较高的过氧化水平。P53并不是直接诱导细胞铁死亡,其主要通过参与相关靶基因的调节而发挥作用,在部分细胞系中反而起到对铁死亡的负向调节作用^[25]。

2.4 铁死亡中的脂质过氧化驱动 铁死亡的膜损伤主要是由脂质过氧化造成的。酯化的PUFAs是膜磷脂的重要组成成分,被证实最易受氧化损伤。PUFAs可是自动氧化或经特定酶催化。自动氧化过程中,氧自由基上的羟基(OH-)从PUFA上剥夺氢,形成以碳为中心的磷脂自由基团(PL-),氧化后

形成磷脂过氧化自由基(PLOO·),再从另一个PUFA上再次夺取氢最终形成磷脂氢过氧化物(PLOOH)和一个新的PL·,进而引发链式过氧化反应^[20]。在此过程中Fe²⁺通过Fenton反应为脂质过氧化提供OH·。此外,PLOOH在Fe²⁺作用下可转化成烷氧基原子(LO·)与临近PUFA开启新的过氧化反应^[26]。近年来,研究者致力于探究脂质过氧化的催化酶。研究表明,脂氧合酶(LOXs)、细胞色素P450氧化还原酶(POR)、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)等酶系可驱动脂质过氧化反应介导铁死亡。LOXs是一类以PUFAs为底物的含铁酶,在PLOOH生成过程中发挥氧化作用,即便在GSH耗竭环境下这种氧化作用仍然存在^[27]。POR则是通过为下游受体提供电子,去除PUFAs中的氢或还原铁离子的方式启动脂质过氧化^[20]。ACSL4主要是通过催化PUFAs酯化,塑造脂质成分,进而增加细胞铁死亡敏感性^[28]。广泛的脂质过氧化及PUFAs耗竭的恶性连锁反应改变了细胞膜的稳定性,具有毒性的脂质过氧化物引起蛋白质等分子失活是铁死亡的直接驱动因素。

3 脑卒中后的神经细胞铁死亡

神经细胞是组成神经系统的基本单位。铁死亡作为非典型的致死形式对神经细胞的打击是致命性的,但其具备的可调节性却为研究者干预细胞死亡程序提供了可能性。卒中包括出血性和缺血性两种类型,脑血管病变是卒中的解剖学基础。对于缺血性卒中而言,脑血管闭塞导致局部脑组织的糖氧急剧消耗是造成神经细胞损伤的主要原因^[29],静脉溶栓治疗可在短时间内挽救缺血半暗带,但后续的再灌注却为病灶区域带来更严重的ROS、炎症反应负担。对于出血性卒中而言,血管破裂后血液外流直接造成脑组织不可逆的机械性损伤,后续的血肿扩大、局灶炎症、离子代谢紊乱、毒性物质聚集等也是加速神经细胞死亡的重要原因。现已证实,铁死亡介导卒中后的神经细胞死亡^[30],然而铁死亡的复杂机制以及多条存在交互作用的信号通路也为明确其具体作用机制造成难度。

3.1 脑出血(ICH)与铁死亡 ICH是破坏性、致命性最高的卒中类型。研究显示,与缺血性卒相比,ICH患者在发病后前3个月的神经功能平均改善率更高^[31],可见神经细胞损伤的早期纠正对于ICH患者而言更为急迫。脑血管破裂后形成血肿,进而压迫周围血管的继发性破裂导致血肿占位效应扩大^[32],红细胞裂解可释放大量游离铁及毒性产

物,神经细胞内出现铁过载,这为启动铁死亡创造了先决条件。既往研究表明,ICH动物及人类术后的血肿周围存在凋亡与坏死细胞,在体外和体内模型中均观察到与铁死亡一致的细胞死亡特征^[33-34]。ICH大鼠的脑铁水平、ROS水平会在短时间内迅速上升并持续数月^[35-36]。ZHANG等^[35]发现大鼠在ICH后的24 h,脑内GPX4达到最低水平,并检测出GPX4下降主要发生在神经细胞中,此时神经细胞的抗氧化能力已明显降低。现有证据表明铁螯合剂可显著改善ICH小鼠的脑损伤^[35],并对ICH后继发性出血的有抑制作用,进一步证实了铁死亡在ICH后继发性神经细胞损伤中的潜在调节。ICH后的神经细胞铁死亡与红细胞大量裂解后铁代谢异常引发的铁超载、GPX4活性降低、ROS水平升高,进而引发的脂质过氧化反应密切相关。

3.2 缺血性卒中(IS)与铁死亡 IS是发病率最高的卒中类型,约占卒中总体的80%。静脉溶栓是目前IS急性期的有效治疗方法,但较窄的时间窗使其应用大幅受限^[37]。IS发病时供血、供氧的急剧减少使得局部脑组织代谢改变,毒性代谢产物聚集,造成氧化应激、线粒体损伤,最终导致细胞死亡。此外,闭塞的脑血管再通后仍会出现因复流而引发的再灌注损伤(RI),造成更为广泛的脑组织损伤。在RI过程中,氧自由基会跟随血液中氧气被协同输送至缺血带,导致ROS水平急剧升高,加剧氧化应激反应与血脑屏障损伤^[38]。RI病理过程极为复杂,文献报道多从炎症浸润、氧化应激、细胞凋亡等角度阐释其损伤机制^[38]。在IS与RI的病理背景下,神经细胞损伤与铁死亡关联密切^[39]。CHEN等^[40]基于FerrDb数据库^[6]对IS中铁死亡相关生物标志物和治疗化合物进行鉴定,获得10个与铁死亡相关差异表达基因,主要富集于对氧化应激、缺氧诱导因子、铁死亡、脂质和动脉粥样硬化反应。在人体与动物缺血、缺氧的脑组织区域均存在着脑铁沉积现象,脑缺血时铁调素变化导致FPN减少,TfR1上调^[41]。缺血缺氧环境提高了神经细胞敏感程度,缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、HO-1等酶类被激活并参与介导神经细胞的异常铁代谢。在IS动物的大脑皮层显示HIF-1 α 水平升高进而介导TfR1高表达^[42]。多种因素协同作用导致了此阶段的脑铁代谢失衡。血脑屏障受损也增加了局部脑组织对外周循环的铁摄取,过量的游离铁可介导ROS增加与神经细胞死亡^[43]。

4 中医药调控脑卒中后铁死亡的研究现状

目前中药、针灸、推拿等传统中医疗法已经广泛应用于卒中治疗全程。通过分析脑卒中的中医病因病机,探究铁死亡典型特征中蕴含的中医学内涵,构建神经细胞铁死亡与脑卒中病因病机的内在关联,更有利于探究中医药精准干预卒中后的铁死亡环节。

4.1 铁死亡与脑卒中的中医病机关联 脑卒中属中医“中风”范畴,其病机为气血逆乱,上犯于脑。中风的本质为脑之脉络的病变,气血运行紊乱以致脑之脉络损伤,若血溢脉外则发为出血性中风,若气血运行不畅,脑络痹阻则发为缺血性中风。中风病因可简要归结为风、火、痰、瘀、气、虚,此六种病因可独立致病也可相互影响,合而为病。在中风的病程发展中,“瘀”是引发病情在短时间内发生显著变化的关键因素。此处之“瘀”在中医理论中具有广泛含义,并不局限于“瘀血”,也包括由“瘀血”而进一步发展形成的“瘀毒”“痰瘀”“瘀热”等瘀浊实邪,这与现代医学提出的卒中后局部脑组织血液循环障碍、能量代谢异常、毒性代谢产物蓄积的观点相互印证^[44-46]。基于中医角度分析铁死亡特征可知,过量铁与脂质过氧化物沉积均为聚集于脑之脉络的瘀浊实邪。瘀浊附于脑之络脉阻碍气血正常运行,脑络因实邪阻滞出现气滞血瘀或因气血不荣而致因虚致瘀,瘀阻津停,津聚成痰,痰瘀互结,郁而化热,酿生痰热,热伤阴津,更可加重人体阴阳失衡状态,虚、热、痰均可致风,诸邪交织,互为因果。卒中早期可观察到的ROS与脑铁沉积均为瘀浊滞络的表现,此为神经细胞处于损伤的初始阶段。随着病情发展病理产物大量蓄积,在铁的催化下驱动了链式脂质过氧化反应,产生了具有毒性的脂质过氧化物,则为邪蕴成毒的表现。卒中患者以虚为本,浊毒久郁,虚实兼夹而致髓虚毒损,加剧脏腑衰惫。因此,基于卒中病机分析铁死亡的中医学内涵对中医药调节神经细胞铁死亡具有重要意义,毒性代谢产物对神经细胞的致死性作用与瘀浊实邪对脑络、脑髓的损伤机制存在共通性。在日后研究中,可深入挖掘瘀、痰、湿、毒为代表的瘀浊实邪的生物学基础,为中医药调节卒中后神经细胞铁死亡提供证据。

4.2 中药活性成分与复方 研究者积极挖掘中药、复方中的有效活性成分,验证其对于铁代谢、脂质过氧化的调节作用。欧海亚等^[47]基于网络药理学对中药调节铁死亡的用药规律展开研究,在筛选出

的35个候选化合物中发现槲皮素、芹菜素、木犀草素等6种化合物可作用于多个铁死亡相关靶点,在15个铁死亡潜在靶点中有7种靶点对中药具有较强的敏感性。将35个化合物与中药系统药理数据库和分析平台中的中草药匹配后共获得342种药物,其中白果、枇杷叶、余甘子、葛花、槐角、麻黄根、女贞子、沙棘包含较多靶点,进而推测此8种中药对铁死亡具有较大的调节作用。基于铁死亡机制大力开发治疗卒中后脑损伤的中药相关制剂具有广阔前景。现有研究中仍以单味药的有效成分居多。多数研究主要着眼于GPX4、HIF-1等具有氧化防御作用的调节通路,增强细胞抗氧化能力,另一方面通过调节铁代谢减少细胞铁内流,弱化铁的介导作用也是重要的切入点。此外,线粒体作为细胞能量代谢的主要场所,其对铁死亡调控作用的相关研究也取得了一定进展。运用中医药实现对于线粒体功能的调节也成为干预铁死亡的关键研究方向。

目前中药活性成分在卒中后铁死亡环节的研究与应用仍较为有限(见表1)。卒中属于脑血管病范畴,在发病机制上与其他器官损伤存在密切的内在关联,借鉴中药有效成分干预其他器官损伤的研究经验对于本病而言具有深远意义。已有研究表明,大黄酚^[48]可通过调节内质网应激,减少脂质ROS积累,进而减轻急性肾损伤后的铁死亡。槲皮素^[49]可通过增加GSH,降低脂质ROS水平减轻铁死亡导致的细胞形态变化。与中药活性成分相比,对于中药复方治疗卒中后铁死亡的机制研究略显不足,当前主要围绕具有益气、活血、开窍、解毒等功效的经典方剂及自拟方展开研究(见表2)。赵冯岩等^[50]基于网络药理学发现,补阳还五汤在所有调控IS的候选靶点中占比达10.8%,经模块分析发现其对磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)的调节作用最为显著,并推测PI3K/Akt信号通路是补阳还五汤经铁死亡途径调控IS的关键机制之一。葛金文团队从多角度对于脑泰方(自拟方)展开了大量研究,并验证了该方对于ICH^[51]、IS^[52]、RI^[53]后神经细胞铁死亡均有调节作用。综上,当前对于中医药干预卒中后铁死亡的机制研究仍处于起步阶段,其对于卒中后铁死亡干预具有较大潜力亟待挖掘。

4.3 其他中医疗法 目前,针刺对于卒中后神经功能障碍的有效性及安全性已被广泛证实^[70]。研究主要集中在对于卒中急性期的炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、自噬、铁死亡的调节^[71]。在铁死亡方

表1 近5年文献报道中参与脑卒中后铁死亡调节的中药活性成分总结

Table 1 Summary of Chinese medicine active ingredients involved in regulating iron death after stroke reported in recent five years

成分名称	类型	作用机制	来源/类别	参考文献
黄芩苷	ICH	上调GPX4、SLC7A11,降低DMT1,抑制血肿周围铁转运	黄芩/黄酮类化合物	[54]
姜黄素	ICH	调节Nrf2/HO-1通路,增加GPX4水平,抑制ROS产生	姜黄、郁金等/二酮类	[55]
山豆根碱	ICH	上调GPX4和GSR共表达,降低铁和脂质过氧化水平	山豆根/异喹啉生物碱类	[56]
丹皮酚	ICH	介导HOTAIR/UPF1/ACSL4轴,HOTAIR(与肿瘤相关的长链非编码RNA)与UPF基因结合后与ACSL4结合可促进ACSL4降解	牡丹皮、徐长卿等/酚类	[57]
丹参酮II _A	ICH	降低HIF-1,调节HIF-1及其调节剂介导的PI3K/Akt和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)轴	丹参/醌类	[58]
异钩藤碱	ICH	通过miR-122-5p/P53/SLC7A11轴上调miR-122-5p、SLC7A11,抑制P53,降低脂质ROS水平	钩藤/生物碱类	[59]
白藜芦醇	ICH	上调GPX4,System xc-,增强抗氧化能力,降低脂质ROS水平	虎杖、决明等/多酚类	[60]
地黄苷A	IS	激活PI3K/Akt/Nrf2和SLC7A11/GPX4轴	地黄/环烯醚萜苷类	[61]
山柰酚	RI	激活Nrf2/SLC7A11/GPX4轴,增强抗氧化能力	山柰/黄酮类	[62]
红花黄色素	RI	抑制Fe ²⁺ 和ROS积累,逆转ACSL4、TfR1、GPX4	红花/查耳酮类	[63]
香芹酚	RI	增加GPX4表达	百里香/单萜酚类	[64]
高良姜素	RI	激活SLC7A11/GPX4轴,上调SLC7A11和GPX4	高良姜/黄酮类	[65]

表2 近五年文献报道中参与脑卒中后铁死亡调节的中药复方/制剂总结

Table 2 Summary of Chinese herbal compounds/preparations involved in regulation of iron death after stroke reported in recent five years

复方名称	类型	作用机制	主要组成	复方功效	参考文献
醒脑静注射液	ICH	上调System xc-、GPX4、Nrf2及其启动的HO-1等抗氧化分子	麝香、冰片等	开窍醒脑、凉血行气、活血化痰、清热解毒	[66]
安脑平冲方	ICH	下调Tf和TfR,减少Fe ²⁺ 内流,调节System xc-/GPX4轴	生龙骨、生牡蛎、川牛膝、白蒺藜、钩藤、泽泻、牡丹皮、梔子、黄芩、白芍、生大黄、甘草	平冲降逆、疏肝理气、宁血安脑	[67]
脑泰方	ICH	下调铁代谢蛋白(TfR、Tf),提高GPX4、GSH,减少脑铁沉积,减轻过氧化损伤	黄芪、川芎、僵蚕、地龙	益气活血	[51]
	IS	调节TfR1/DMT1、SLC7A11/GPX4轴,下调TfR1和DMT1,降低ROS与铁沉积			[52]
	RI	Kelch样ECH相关蛋白1(Keap1)-Nrf2-抗氧化反应原件(ARE)轴被激活,促进HO-1生成,上调Heph基因表达,促进铁外排			[53]
补阳还五汤	IS	通过调节PI3K-Akt-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)轴减轻氧化损伤。具体机制可能与MAPK、PI3K/Akt信号通路相关	黄芪、当归尾、赤芍、地龙、川芎、红花、桃仁	补气活血通经活络	[68]
复方通络汤	IS	激活Sonic Hedgehog信号通路,抑制内质网应激诱导的铁死亡	何首乌、黄精、海藻、僵蚕、鬼箭羽、天麻、水蛭	滋补肝肾化痰散瘀	[69]

面,研究者围绕铁代谢调节、抗氧化、线粒体能量代谢等角度展开研究,为针刺调节铁死亡储备证据。研究表明^[72],头针治疗可降低ICH大鼠脑内的丙二醛水平与铁浓度,增加线粒体外膜直径,并推测头针可触发抗氧化途径自噬蛋白P62/Keap1/Nrf2,上调铁蛋白重链多肽1(FTH1)和GPX4水平,进而减轻ICH后铁死亡引起的过氧化损伤。KONG等^[73]研究表明百会穴透刺曲鬓穴可能通过下调miR-23a-3p减轻ICH后神经细胞铁死亡。此外,有文献报道称艾灸可以抑制铁死亡进而减轻多巴胺神经元的损伤,这提示艾灸治疗也许是神经细胞抗铁死

亡的一条新型路径^[74]。

5 小结

铁死亡在神经细胞死亡中的介导作用提示了其对于卒中预后的重要调节作用。中医药涵盖单味药、复方、针刺、灸法等多重组成部分,是一片科学研究的蓝海。基于目前的文献发表情况,对于中医药调节卒中后铁死亡的研究多局限在中药、复方有效成分以及针刺治疗,且研究类型多以动物实验为主,缺乏大规模、长期随访的临床研究验证,而其他中医药特色适宜技术潜在的调节作用更是处于未知。在未来的研究中,中医药研究者应继续对铁

死亡相关的信号传导通路进行梳理与总结,探究卒中病理过程中与铁死亡相关的信号调节机制,进一步开展与卒中后铁死亡相关基因表达的鉴定,深入挖掘传统中药单体活性成分、复方以及针刺、艾灸、推拿等其他中医适宜干预技术中的关键靶点环节,为中医药治疗脑卒中提供崭新思路与有效策略。

[参考文献]

- [1] GBD 2019 STROKE COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795-820.
- [2] 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): 1060-1072.
- [3] WU J, JIAN J, CAO Y, et al. Iron overload contributes to general anaesthesia-induced neurotoxicity and cognitive deficits [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 110-122.
- [4] 杨漾, 钟园园, 苏畅, 等. 基于阴阳理论探讨中医药干预铁死亡的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(11): 227-237.
- [5] 林鹏展, 田菲, 张林, 等. 中医药干预铁死亡机制的研究进展 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(2): 318-322.
- [6] ZHOU N, BAO J. FerrDb: A manually curated resource for regulators and markers of ferroptosis and ferroptosis-disease associations [J]. *Database (Oxford)*, 2020, doi: 10.1093/database/baaa021.
- [7] LIANG C, ZHANG X, YANG M, et al. Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy [J]. *Adv Mater*, 2019, 31(51): e1904197.
- [8] CHENG Z, LI Y. What is responsible for the initiating chemistry of iron-mediated lipid peroxidation: An update [J]. *Chem Rev*, 2007, 107(3): 748-766.
- [9] CHENG Y, ZAK O, AISEN P, et al. Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex [J]. *Cell*, 2004, 116(4): 565-576.
- [10] OHGAMI R S, CAMPAGNA D R, GREER E L, et al. Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(11): 1264-1269.
- [11] MACKENZIE E L, IWASAKI K, TSUJI Y. Intracellular iron transport and storage: From molecular mechanisms to health implications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(6): 997-1030.
- [12] YOSHINAGA M, NAKATSUKA Y, VANDENBON A, et al. Regnase-1 maintains iron homeostasis via the degradation of transferrin receptor 1 and prolyl-hydroxylase-domain-containing protein 3 mRNAs [J]. *Cell Rep*, 2017, 19(8): 1614-1630.
- [13] PILONI N E, VARGAS R, FERNÁNDEZ V, et al. Effects of acute iron overload on Nrf2-related glutathione metabolism in rat brain [J]. *Biometals*, 2021, 34(5): 1017-1027.
- [14] YAN B, AI Y, SUN Q, et al. Membrane damage during ferroptosis is caused by oxidation of phospholipids catalyzed by the oxidoreductases POR and CYB5R1 [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(2): 355-369.
- [15] GALARIS D, BARBOUTI A, PANTOPOULOS K. Iron homeostasis and oxidative stress: An intimate relationship [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(12): 118535.
- [16] LIN L, WANG S, DENG H, et al. Endogenous labile iron pool-mediated free radical generation for cancer chemodynamic therapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(36): 15320-15330.
- [17] ZHOU B, ZHANG J Y, LIU X S, et al. Tom20 senses iron-activated ROS signaling to promote melanoma cell pyroptosis [J]. *Cell Res*, 2018, 28(12): 1171-1185.
- [18] BRIGELIUS-FLOHÉ R, MAIORINO M. Glutathione peroxidases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(5): 3289-3303.
- [19] YANG W S, SRIRAMARATNAM R, WELSCH M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156(1-2): 317-331.
- [20] JIANG X, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282.
- [21] YANG W S, STOCKWELL B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells [J]. *Chem Biol*, 2008, 15(3): 234-245.
- [22] DOLL S, FREITAS F P, SHAH R, et al. FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-698.
- [23] 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.
- [24] JIANG L, KON N, LI T, et al. Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520(7545): 57-62.
- [25] 张丽媛, 李芙蓉, 王超, 等. p53对铁死亡的调节作用

- 及潜在应用[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(12): 2299-2304.
- [26] HASSANNIA B, VANDENABEELE P, VANDEN BERGHE T. Targeting ferroptosis to iron out cancer [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(6): 830-849.
- [27] YANG W S, KIM K J, GASCHLER M M, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(34): E4966-4975.
- [28] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13(1): 91-98.
- [29] JIN Y, ZHUANG Y, LIU M, et al. Inhibiting ferroptosis: A novel approach for stroke therapeutics [J]. *Drug Discov Today*, 2021, 26(4): 916-930.
- [30] LI J, CAO F, YIN H L, et al. Ferroptosis: Past, present and future [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88.
- [31] BHALLA A, WANG Y, RUDD A, et al. Differences in outcome and predictors between ischemic and intracerebral hemorrhage: The South London Stroke Register [J]. *Stroke*, 2013, 44(8): 2174-2181.
- [32] SCHLUNK F, GREENBERG S M. The pathophysiology of intracerebral hemorrhage formation and expansion [J]. *Transl Stroke Res*, 2015, 6(4): 257-263.
- [33] HICKENBOTTOM S L, GROTTA J C, STRONG R, et al. Nuclear factor-kappaB and cell death after experimental intracerebral hemorrhage in rats [J]. *Stroke*, 1999, 30(11): 2472-2477.
- [34] ZILLE M, KARUPPAGOUNDER S S, CHEN Y, et al. Neuronal death after hemorrhagic stroke *in vitro* and *in vivo* shares features of ferroptosis and necroptosis [J]. *Stroke*, 2017, 48(4): 1033-1043.
- [35] ZHANG Z, WU Y, YUAN S, et al. Glutathione peroxidase 4 participates in secondary brain injury through mediating ferroptosis in a rat model of intracerebral hemorrhage [J]. *Brain Res*, 2018, 1701: 112-125.
- [36] AURIAT A M, SILASI G, WEI Z, et al. Ferric iron chelation lowers brain iron levels after intracerebral hemorrhage in rats but does not improve outcome [J]. *Exp Neurol*, 2012, 234(1): 136-143.
- [37] SAVER J L, GOYAL M, BONAFE A, et al. Stent-retriever thrombectomy after intravenous t-PA vs. t-PA alone in stroke [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(24): 2285-2295.
- [38] MA J, LI M, ZHANG M, et al. Protection of multiple ischemic organs by controlled reperfusion [J]. *Brain Circ*, 2021, 7(4): 241-246.
- [39] YAN H F, TUO Q Z, YIN Q Z, et al. The pathological role of ferroptosis in ischemia/reperfusion-related injury [J]. *Zool Res*, 2020, 41(3): 220-230.
- [40] CHEN G, LI L, TAO H. Bioinformatics identification of ferroptosis-related biomarkers and therapeutic compounds in ischemic stroke [J]. *Front Neurol*, 2021, 12: 745240.
- [41] BU Z Q, YU H Y, WANG J, et al. Emerging role of ferroptosis in the pathogenesis of ischemic stroke: A new therapeutic target? [J]. *ASN Neuro*, 2021, 13: 17590914211037505.
- [42] DING H, YAN C Z, SHI H, et al. Hepcidin is involved in iron regulation in the ischemic brain [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25324.
- [43] PARK U J, LEE Y A, WON S M, et al. Blood-derived iron mediates free radical production and neuronal death in the hippocampal CA1 area following transient forebrain ischemia in rat [J]. *Acta Neuropathol*, 2011, 121(4): 459-473.
- [44] LU J, HUANG Q, ZHANG D, et al. The protective effect of didang tang against alc3-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 cells through the activation of SIRT1-mediated Akt/Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 466.
- [45] HUANG Q, LAN T, LU J, et al. DiDang tang inhibits endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis induced by oxygen glucose deprivation and intracerebral hemorrhage through blockade of the GRP78-IRE1/PERK pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1423.
- [46] REN J, ZHOU X, WANG J, et al. Poxue Huayu and Tianjing Busui Decoction for cerebral hemorrhage: Upregulation of neurotrophic factor expression [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(22): 2039-2049.
- [47] 欧海亚, 叶小鹏, 李舒, 等. 基于网络药理学及数据挖掘探讨中药调节铁死亡的用药规律研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(18): 2317-2324.
- [48] LIN C H, TSENG H F, HSIEH P C, et al. Nephroprotective role of chrysophanol in hypoxia/reoxygenation-induced renal cell damage via apoptosis, ER stress, and ferroptosis [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(9): 1283.
- [49] WANG Y, QUAN F, CAO Q, et al. Quercetin alleviates acute kidney injury by inhibiting ferroptosis [J]. *J Adv Res*, 2021, 28: 231-243.
- [50] 赵冯岩, 杨浩瀚, 朱炎贞, 等. 基于网络药理学从铁死亡途径研究补阳还五汤调控缺血性脑卒中的作用机制 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(7): 1065-1072.

- [51] 曾劲松. 基于铁死亡研究脑出血后继发性脑损伤病理机制及脑泰方的干预作用[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2020.
- [52] LAN B, GE J W, CHENG S W, et al. Extract of Naotaifang, a compound Chinese herbal medicine, protects neuron ferroptosis induced by acute cerebral ischemia in rats [J]. *J Integr Med*, 2020, 18 (4) : 344-350.
- [53] 黄娟. 基于Nrf2/ARE通路探讨膜铁转运辅助蛋白调节大鼠脑I/R后铁代谢机制及脑泰方干预研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2017.
- [54] ZHENG B, ZHOU X, PANG L, et al. Baicalin suppresses autophagy-dependent ferroptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 7794-7804.
- [55] YANG C, HAN M, LI R, et al. Curcumin nanoparticles inhibiting ferroptosis for the enhanced treatment of intracerebral hemorrhage [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 8049-8065.
- [56] PENG C, FU X, WANG K, et al. Dauricine alleviated secondary brain injury after intracerebral hemorrhage by upregulating GPX4 expression and inhibiting ferroptosis of nerve cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 914: 174461.
- [57] JIN Z L, GAO W Y, LIAO S J, et al. Paeonol inhibits the progression of intracerebral haemorrhage by mediating the HOTAIR/UPF1/ACSL4 axis [J]. *ASN Neuro*, 2021, 13: 17590914211010647.
- [58] ZHOU Z Y, ZHAO W R, XIAO Y, et al. Mechanism study of the protective effects of sodium tanshinone II A sulfonate against atorvastatin-induced cerebral hemorrhage in zebrafish: Transcriptome analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 551745.
- [59] ZHAO H, LI X, YANG L, et al. Isorhynchophylline relieves ferroptosis-induced nerve damage after intracerebral hemorrhage via miR-122-5p/TP53/SLC7A11 pathway [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(8) : 1981-1994.
- [60] 余仁夏, 张潘, 何晓英. 白藜芦醇对脑出血大鼠铁死亡的影响[J]. *四川医学*, 2021, 42(3): 254-259.
- [61] FU C, WU Y, LIU S, et al. Rehmannioside A improves cognitive impairment and alleviates ferroptosis via activating PI3K/AKT/Nrf2 and SLC7A11/GPX4 signaling pathway after ischemia [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 289: 115021.
- [62] YUAN Y, ZHAI Y, CHEN J, et al. Kaempferol ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal ferroptosis by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7) : 923-936.
- [63] GUO H, ZHU L, TANG P, et al. Carthamin yellow improves cerebral ischemia-reperfusion injury by attenuating inflammation and ferroptosis in rats [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(4): 1.
- [64] GUAN X, LI X, YANG X, et al. The neuroprotective effects of carvacrol on ischemia/reperfusion-induced hippocampal neuronal impairment by ferroptosis mitigation [J]. *Life Sci*, 2019, 235: 116795.
- [65] GUAN X, LI Z, ZHU S, et al. Galangin attenuated cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibition of ferroptosis through activating the SLC7A11/GPX4 axis in gerbils [J]. *Life Sci*, 2021, 264: 118660.
- [66] 周玉嘉. 基于GPX4通路调控铁死亡探讨活血解毒法治疗脑出血火毒证机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2021.
- [67] 蔡昱哲. 探讨安脑平冲方对大鼠脑出血后SXC-/GPX4通路的影响[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2021.
- [68] 赵冯岩, 杨浩瀚, 朱炎贞, 等. 基于网络药理学从铁死亡途径研究补阳还五汤调控缺血性脑卒中的作用机制 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(7) : 1065-1072.
- [69] HUI Z, WANG S, LI J, et al. Compound Tongluo decoction inhibits endoplasmic reticulum stress-induced ferroptosis and promoted angiogenesis by activating the Sonic Hedgehog pathway in cerebral infarction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114634.
- [70] WANG M, JIA M, ZHANG X Y, et al. Systematic review and Meta-analysis of efficacy and safety of acupuncture therapy on hypertensive intracerebral hemorrhage [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2021, 46 (18): 4644-4653.
- [71] 姚嘉永, 邹伟. 针刺治疗脑出血机制的研究进展 [J]. *针刺研究*, 2022, 47(1): 88-94.
- [72] LI M Y, DAI X H, YU X P, et al. Scalp acupuncture protects against neuronal ferroptosis by activating the p62-Keap1-Nrf2 pathway in rat models of intracranial haemorrhage [J]. *J Mol Neurosci*, 2022, 72(1) : 82-96.
- [73] KONG Y, LI S, ZHANG M, et al. Acupuncture ameliorates neuronal cell death, inflammation, and ferroptosis and downregulated miR-23a-3p after intracerebral hemorrhage in rats [J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(9): 1863-1875.
- [74] HUANG Z, SI W, LI X, et al. Moxibustion protects dopaminergic neurons in parkinson's disease through anti-ferroptosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, doi: 10. 1155/2021/6668249.

[责任编辑 周冰冰]