

铁死亡关键信号通路在脑缺血中的作用机制及其中药防治研究

汤杨熠

浙江中医药大学，浙江杭州

摘要：在我国，脑缺血是导致成年人死亡、残疾的首位病因。脑缺血涉及多个病理机制，如氧化应激、炎症反应、铁死亡等。其中铁死亡是一种铁依赖性的程序性细胞死亡方式，与缺血性脑损伤密切相关，通过铁代谢障碍、脂质过氧化多种途径参与脑缺血的发生发展。近年来，对铁死亡的研究中发现中药可利用铁死亡相关的信号通路来改善铁代谢，减轻脑缺血损伤，保护神经细胞。中药治疗具有多靶点、多通路、多层次、不良反应少的特点，已成为当前研究脑缺血治疗的新兴热点。

关键词：铁死亡；中药治疗；脑缺血；铁死亡关键信号通路

Mechanisms of Ferroptosis Signaling Pathways in Cerebral Ischemia and Their Modulation by Traditional Chinese Medicine

Yangyi Tang

Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, Zhejiang

Abstract: In China, cerebral ischemia is the leading cause of death and disability in adults. Cerebral ischemia involves multiple pathological mechanisms, such as oxidative stress, inflammatory response, ferroptosis, etc. Iron-dependent programmed cell death is closely related to ischemic brain injury, and participates in the occurrence and development of cerebral ischemia through various pathways such as iron metabolism disorders and lipid peroxidation. In recent years, research on ferroptosis has found that traditional Chinese medicine can utilize signaling pathways related to ferroptosis to improve iron metabolism, alleviate cerebral ischemic injury, and protect nerve cells. Traditional Chinese medicine treatment has the characteristics of multi-target, multi-pathway, multi-level, and few adverse reactions, and has become an emerging hotspot in the current research of cerebral ischemia treatment.

Keywords: Ferroptosis; Traditional Chinese medicine treatment; Cerebral ischemia; Key signaling pathways of ferroptosis

* 作者简介：汤杨熠（2004-），女，汉族，浙江省诸暨市人，本科在读。

1 引言

脑缺血是脑内血流不足以满足大脑正常代谢需求形成的病理生理状态，会导致局部脑组织缺氧、缺血性坏死，引发一系列神经功能缺损症状，如肢体偏瘫、言语障碍、意识模糊等。随着全球人口老龄化进程加快，脑缺血发病率逐年上升。2021年全球疾病负担研究显示，2021年全球新发卒中病例为1190万，其中缺血性卒中占比最大，为780万，占比65.3%[1]。缺血性脑卒中占全部脑卒中的70%~80%，具有高致残、高致死的特点。脑缺血的作用机制复杂，其防治研究取得显著进展，但脑缺血的治疗仍面临诸多挑战，给患者家庭和社会带来沉重负担，因此积极治疗脑缺血对于降低我国心脑血管疾病的发病率和死亡率有重要意义。

脑血管狭窄或阻塞是引发脑缺血的重要原因。动脉粥样硬化斑块的形成可导致血管管腔狭窄，斑块破裂时形成的血栓会加重血管阻塞，导致组织供血、灌注异常，引发脑缺血。血小板异常聚集等血液的成分改变会促使血栓形成；血液黏稠度会随着脂质成分的升高而增加，使红细胞变形能力下降，增加血栓形成风险；同时某些血液系统疾病如真性红细胞增多症等也会增加脑缺血发病风险。此外，血管痉挛也会造成脑缺血，尤其在蛛网膜下腔出血时较常见。当机体突发血压降低、心输出量减少时，脑组织会因灌注不足发生脑缺血。因而严重的心律失常、心力衰竭等心功能受损状态常引起脑缺血的发生。

2 脑缺血的病理机制

2.1 氧化应激

脑组织缺血激活氧化应激反应。研究表明，氧化应激生成的过量活性氧（ROS）具有很强的氧化能力，能对核酸、糖类等造成不可逆转的损伤[2]。抗氧化酶系统如超氧化物歧化酶（SOD）等通过清除ROS可以阻止其氧化损伤作用，但在脑缺血时活性降低，无法进行有效清除。ROS产生的速率远大于其被酶系统清除的速率，打破了脑组织内的氧化与抗氧化平衡，加剧氧化应激损伤。同时，MAPK等细胞内信号通路可因大量ROS产生而激活，加剧细

胞损伤。

2.2 炎症反应

脑缺血可迅速引发炎症反应。缺血损伤使磷脂酶如磷脂酶A2和磷脂酶C被过度激活，释放游离脂肪酸，最终产生自由基、血管活性物质和炎性物质等。磷脂酶A2可促进血小板活化因子（PAF）的形成，介导炎症细胞与内皮细胞的黏附以及血小板活化、释放多种炎症因子和DAMPs如肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）、白细胞介素-1 β （IL-1 β ）等，继而促进白细胞黏附、迁移至缺血脑组织，诱导Toll样受体（TLRs）激活免疫应答，加重炎症反应。同时，炎症反应还可激活补体系统，形成膜攻击复合物，导致细胞溶解和组织损伤。

2.3 细胞自噬

脑缺血时细胞自噬被激活，自噬体的形成增加。在缺糖、缺氧等外界条件刺激下，细胞质中待降解成分被隔离成双膜囊泡而形成自噬体，随后自噬体与溶酶体融合产生单膜自噬溶酶体，被溶酶体水解酶降解[3]，为细胞提供能量。其中自噬相关蛋白LC3和beclin-1是自噬反应中2种标志蛋白，在调节自噬过程中发挥关键作用。脑缺血时，自噬被过度激活，导致细胞质内大量受损成分降解，引发细胞死亡。

2.4 铁死亡

脑缺血时，细胞内铁离子代谢紊乱，铁过载现象明显。而过量铁离子易诱发芬顿反应，产生大量ROS。在细胞学方面，铁死亡后细胞内线粒体明显皱缩，线粒体膜密度增加，线粒体嵴消失，线粒体外膜破裂[4]。同时，脑缺血引起的脂质过氧化增加，会破坏细胞膜的完整性。谷胱甘肽过氧化物酶4（GPX4）是一种重要的抗氧化酶，可抑制脂质过氧化，在脑缺血时其活性降低，促进铁死亡发生，加重脑损伤。

3 铁死亡在脑缺血中的作用

3.1 铁代谢障碍

铁代谢信号通路已被证明参与铁死亡的调控[5]。

经肠道吸收、红细胞降解形成的 Fe^{2+} 可被铜蓝蛋白氧化为 Fe^{3+} ，细胞外的 Fe^{3+} 在转铁蛋白（TF）转运系统或SLC39A14通道的帮助下运至细胞内，还原为 Fe^{2+} 。还原后的 Fe^{2+} 优先形成铁结合复合物，其余 Fe^{2+} 在细胞内积累形成不稳定铁池[6]。过量铁积累易诱发芬顿反应，引起大量的ROS伴随着膜脂质过氧化，进一步诱导铁死亡。

脑缺血后，铁的代谢失调在激活铁死亡中具有重要的意义。有研究发现，脑缺血后的铁过载加剧了脑细胞死亡，而阻断铁过载则表现出保护的效果[7]。在脑缺血的大脑中，白细胞介素-6（IL-6）含量上升，并通过JAK/STAT3通路增强铁调素表达、减少FPN1，进而减少铁的释放，导致神经元的铁积累和铁过载。此外，在脑缺血后，缺氧诱导因子1- α （HIF-1 α ）上调，使铁代谢信号转导加强，增加TFR1等相关基因表达[8]，通过增加对铁的摄取加剧了铁过载。

3.2 脂质过氧化损伤

不受控的脂质过氧化是铁死亡的重要特征之一，也是铁死亡的直接触发因素。有研究发现，脑缺血患者体内的胞浆型磷脂酶A2（cPLA2 α ）呈现高表达，并随着损伤程度和梗死面积的增加而增加[9]，证明体内凝血酶的上调可以促进cPLA2 α 激活[10]。脑组织富含多不饱和脂肪酸（PUFA），尤其是花生四烯酸（AA）。AA在PLA2 α 催化下水解膜磷脂后释放，是导致ROS和脂质过氧化物产生的关键原因[11]。此外，患者体内的ACSL4、LOX的高表达也参与到脂质过氧化损伤的过程中。

3.3 氨基酸代谢异常

脑缺血后的谷氨酸兴奋性毒性被描述为铁死亡，并且可以被铁死亡抑制剂ferrostatin-1有效抑制[12]。脑缺血发生时，突触间隙中的谷氨酸会大量释放并与谷氨酸受体NMDAR结合，而谷氨酸受体的长期激活会引发神经毒性，导致神经元功能丧失和细胞死亡。此外，谷氨酸还通过NMDA-NO-Dexras1-PAP7-DMT1信号通路加强钙内流和铁的

摄取[8]。

System xc-的表达上调或许也是脑缺血患者铁死亡的原因。System Xc-是一种氨基酸抗转运蛋白，广泛分布在磷脂双层中。在体外研究发现，氧糖剥夺后，xCT的表达上调与HIF-1 α 的结合有关[13]。相反，N-乙酰半胱氨酸和头孢曲松对xCT表达的下调显著减少了IS损伤。实验发现，xCT上调导致非突触谷氨酸释放，进而激活谷氨酸受体，诱导神经兴奋性毒性，弱化System xc-的抗氧化保护，加剧铁死亡[14]。

4 铁死亡关键信号通路

4.1 AMPK/Nrf2/GPX4信号通路

AMP活化蛋白激酶（AMPK）是一种调节生物能量代谢的关键分子，广泛表达于各类能量代谢细胞。它在缺血时表达增加，并在能量代谢障碍时被激活。与之相关的，在脑缺血中发挥相互作用的是Beclin1，该类物质则在再灌注时表达增加[15]。近年研究表明，Beclin1在AMPK的介导下，可减少氨基酸转运蛋白生成，降低System xc-的活性，诱导铁死亡的发生[16]。核因子E2相关因子2（Nrf2）是细胞抗氧化反应的关键调节因子，控制抵消氧化和亲电应激的基因表达。GPX4是一种谷胱甘肽过氧化物酶，可将脂质过氧化物还原为相应的醇，减轻铁死亡。生理状态下，Nrf2可通过上调GPX4等铁死亡抑制相关蛋白的表达，减少细胞内铁沉积与脂质过氧化反应，降低丙二醛（MDA）的浓度，从而抑制铁死亡复杂的信号串扰提供神经保护。但在缺血环境中，Nrf2通路会因氧化应激过载、炎症因子激活等多重机制受到抑制，无法上调GPX4，导致脂质过氧化物清除能力下降、MDA浓度升高，进而引发铁死亡[17]。

4.2 p53/SLC7A11/GPX4通路

p53是重要的肿瘤抑制基因，能与DNA特异结合，在细胞周期停滞、衰老、细胞死亡等方面发挥巨大作用。近年来，更多研究证实p53是铁死亡的关键调节因子[18]。SLC7A11是一种胱氨酸转运蛋白，是System xc-的组成部分，可介导胞外胱氨酸转

移至胞质中,并将其转化为半胱氨酸。SLC7A11可通过促进谷胱甘肽(GSH)合成为GPX4提供底物,抑制铁死亡[19]。而p53则直接靶向SLC7A11启动子中的反应元件,并抑制其表达,发生级联反应[20],促使铁死亡发生。

4.3 PI3K/AKT信号通路

磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)属于脂质激酶家族,其特征是它们能够磷酸化质膜肌醇磷脂中的肌醇环3'-OH基团。蛋白激酶B(AKT)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可通过多种细胞机制间接调节肿瘤抑制蛋白p53。PI3K/AKT通路是一种重要的细胞内信号通路,该通路通常在细胞外信号的刺激下被激活[21],例如缺氧[22]。有研究表明,该通路激活后可影响参与铁死亡的多种分子和组分,例如NRF2、GPX4、SLC7A11、铁和脂质代谢调节因子等[21]。

5 脑缺血的中药防治

5.1 中药单体

黄芪甲苷IV是黄芪的主要活性成分,可通过抗氧化、抗炎和抗细胞凋亡等多种机制发挥抗CIRI作用。体外SH-SY5Y细胞氧糖剥夺/复氧研究发现[26],黄芪甲苷IV能够激活P62/Keap1/Nrf2通路,上调P62、Nrf2表达,提高细胞活力和GSH水平,降低铁、ROS和脂质过氧化水平,从而抑制铁死亡,减轻CIRI。三七总皂苷(PNS)是从三七根茎部提取的一种活性成分,可通过抑制血小板聚集增加脑血流量。研究发现PNS能够降低铁、MDA以及促炎因子IL-1 β 、TNF- α 等含量,促进GSH和GPX4表达,表明PNS可能通过抑制铁死亡和免疫炎症反应发挥抗CIRI作用[27]。

川芎嗪(TMP)是从川芎根部提取的一种生物碱,具有改善微循环、抗氧化应激和抗CIRI等多种作用。研究发现,给予MCAO模型大鼠川芎嗪50mg/kg腹腔注射,可降低大鼠的大脑梗死率,减少MDA、炎症因子水平,提高钙离子腺苷三磷酸酶及SOD活性,降低氧化应激水平,清除ROS,调节铁代谢,减轻CIRI[28]。延胡索乙素(dl-THP)是一种

从延胡索中提取的生物碱,具有抗肿瘤、抗氧化等作用。研究发现,dl-THP可显著增加细胞内SOD及GSH-PX活性,抑制一氧化氮和MDA生成,从而发挥抗氧化的作用[29]。

5.2 中药复方制剂

补阳还五汤由黄芪、当归、川芎、地龙、赤芍、桃仁及红花组成,有活血化瘀之效。研究发现,补阳还五汤可降低MCAO模型大鼠脑组织内铁及MDA水平,增加GSH水平,上调GPX4表达,表明其具有抑制铁死亡、减轻CIRI的作用[30]。此外,基于网络药理学探讨补阳还五汤干预铁死亡机制研究发现,其抑制铁死亡机制可能与调控MAPK、Ras、PI3K-Akt等信号通路及HSP90AA1、EGFR、GRB2的3个关键靶点相关。这些关键靶点多来源于黄芪、红花、桃仁、赤芍4味药[31]。

温阳复元方由白附片、黄芪、党参、石菖蒲、淫羊藿、田三七组成,有温阳益气、活血化瘀之效,用于治疗脑卒中的元阳亏虚证。研究发现温阳复元方可明显降低脑缺血患者铁含量、转铁蛋白受体1(TFR-1)表达,GSH和铁调蛋白水平,改善铁代谢、抑制铁死亡、保护脑神经[32]。也有研究表明温阳复元方是通过激活miRNA-137/线粒体铁死亡通路来抑制铁死亡[33]。

丹红注射液由丹参和红花配伍而成,采用科学配比方法制成复方注射液,广泛应用于心脑血管疾病治疗。研究表明丹红注射液能够缓解大鼠的神经功能损伤,减小脑梗死范围,改善大脑皮质神经元病变以及增加新生血管数量[34]。此外,研究发现丹红注射液可减少炎症因子释放,提高SOD活力,降低过氧化氢酶含量,表明其或许是通过清除发生CIRI的大鼠脑内的过量自由基,抑制炎症因子的方式来保护脑组织[35]。

6 未来展望

铁死亡参与CIRI病理过程,是脑神经细胞损伤和死亡的主要原因之一。铁死亡途径涉及多条关键信号通路,如AMPK/Nrf2/GPX4、p53/SLC7A11/GPX4、PI3K/AKT信号通路,均为抗氧化系统的组

成部分。中药对铁死亡的调节有重要意义，其具有多靶点、多成分、多层次的优良特性，并凭此借助多条铁死亡通路机制对脑缺血再灌注损伤发挥保护作用，为临床治疗提供了新思路和新方向。

参考文献

- [1] 秦莉花,黄娟,李晟,等.脑卒中流行病学及与性激素的相关性[J].中国老年学杂志.2018,38(20):5099-103.
- [2] SUN S, CHEN X, GAO Y, et al. Mn-SOD Upregulation by Electroacupuncture Attenuates Ischemic Oxidative Damage via CB1R-Mediated STAT3 Phosphorylation [J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 53(1): 331-43.
- [3] GAO L, JIANG T, GUO J, et al. Inhibition of Autophagy Contributes to Ischemic Postconditioning-Induced Neuroprotection against Focal Cerebral Ischemia in Rats [J]. *Plos One*, 2012, 7(9): e46092.
- [4] ANGELI JPF, SHAH R, PRATT DA, et al. Ferroptosis Inhibition: Mechanisms and Opportunities [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2017, 38(5): 489-98.
- [5] BOGDAN AR, MIYAZAWA M, HASHIMOTO K, et al. Regulators of Iron Homeostasis: New Players in Metabolism, Cell Death and Disease [J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(3): 274-86.
- [6] LI J, CAO F, YIN HL, et al. Ferroptosis: past, present and future [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88.
- [7] TUO QZ, LEI P, JACKMAN KA, et al. Tau-mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(11): 1520-30.
- [8] SHE X, LAN B, TIAN H, et al. Cross Talk Between Ferroptosis and Cerebral Ischemia [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 776.
- [9] LIU X. Changes and significance of serum CXCL-16, GDF-15, PLA-2 levels in patients with cerebral infarction [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(5): 5617-22.
- [10] TUO QZ, LIU Y, XIANG Z, et al. Thrombin induces ACSL4-dependent ferroptosis during cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 59.
- [11] MURALIKRISHNA ADIBHATLA R, HATCHER JF. Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in cerebral ischemia [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2006, 40(3): 376-87.
- [12] DIXON SJ, LEMBERG KM, LAMPRECHT MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-72.
- [13] HSIEH C H, LIN YJ, CHEN WL, et al. HIF-1 α triggers long-lasting glutamate excitotoxicity via system x(c)⁻ in cerebral ischaemia-reperfusion [J]. *J Pathol*, 2017, 241(3): 337-49.
- [14] LEWERENZ J, HEWETT SJ, HUANG Y, et al. The cystine/glutamate antiporter system x(c)⁻ in health and disease: from molecular mechanisms to novel therapeutic opportunities [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(5): 522-55.
- [15] SHI B, MA M, ZHENG Y, et al. mTOR and Beclin1: Two key autophagy-related molecules and their roles in myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12562-8.
- [16] 叶宇恒,钱玲玲,王如兴,等.心肌缺血再灌注损伤中铁死亡的调控机制研究进展[J].心血管病学进展.2023,44(05):416-9.
- [17] LI C, WU Z, XUE H, et al. Ferroptosis contributes to hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats: Role of the SIRT1/Nrf2/GPx4 signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2022, 28(12): 2268-80.
- [18] LIU Y, GU W. p53 in ferroptosis regulation: the new weapon for the old guardian [J]. *Cell Death and Differentiation*, 2022, 29(5): 895-910.
- [19] 王成毅,蔡粤芳,宁振求,等.壮通饮通过Nrf2-SCL7A11/xCT-Gpx4通路调控铁死亡改善脑缺血再灌注损伤[J].中山大学学报(医学科学版),2024,45(4):539-48.
- [20] XU R, WANG W, ZHANG W. Ferroptosis and the bidirectional regulatory factor p53 [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 197.
- [21] SU H, PENG C, LIU Y. Regulation of ferroptosis by PI3K/Akt signaling pathway: a promising therapeutic axis in cancer [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1372330.
- [22] KILIC-EREN M, BOYLU T, TABOR V. Targeting PI3K/Akt represses Hypoxia inducible factor-1 α activation and sensitizes Rhabdomyosarcoma and Ewing's sarcoma cells for apoptosis [J]. *Cancer Cell Int*, 2013, 13: 36.
- [23] LI M, LI J, WU H, et al. Baicalein ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ferroptosis via regulating GPX4/ACSL4/ACSL3 axis [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2022, 366: 110137.

- [24]余松祚.黄酮类药物干预程序性细胞死亡在缓解脑缺血再灌注损伤中的研究进展[J].医学信息.2023,36(02):171-5.
- [25]GAO J, MA C, XIA D, et al. Icariside II preconditioning evokes robust neuroprotection against ischaemic stroke, by targeting Nrf2 and the OXPHOS/NF- κ B/ferroptosis pathway [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2023, 180(3): 308-29.
- [26]WANG L, LIU C, WANG L, et al. Astragaloside IV mitigates cerebral ischaemia-reperfusion injury via inhibition of P62/Keap1/Nrf2 pathway-mediated ferroptosis [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2023, 944: 175516.
- [27]WANG LL, LIU WP, TANG B, et al. Panax notoginseng saponins attenuate cerebral ischemia reperfusion injury in rats by inhibiting ferroptosis and inflammation [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2022, 03: 296-300.
- [28]GE L, ZHANG J, XU M, et al. Effect of tetramethylpyrazine on oxidative stress, Ca²⁺-ATP activity and inflammatory factors after cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2021, 05: 517-520.
- [29]GAN CC, WANG QME, CHEN G, et al. Study of the Protective Effect of Tetrahydropalmatine on the Injury of Suckling Rat Hippocampal Neurons due to Hypoxia and Sugar Deficiency [J]. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy*, 2019, 19: 14-18.
- [30]蔡国英,刘均广,叶佳蓓,等.补阳还五汤增强GPX4表达抑制铁死亡减轻脑缺血再灌注损伤[J].承德医学院学报.2024,41(01):10-4.
- [31]赵冯岩,杨浩澜,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(07):1065-72.
- [32]向军军,李丽琴,李建铮,等.基于铁死亡探讨温阳复元方对脑缺血再灌注损伤大鼠神经损伤的保护机制[J].中药新药与临床药理.2023,34(12):1649-57.
- [33]邓秋媚,吴林,袁莉,等.温阳复元方通过调控miRNA-137/线粒体铁死亡通路保护大鼠脑缺血再灌注损伤机制研究[J].辽宁中医药大学学报.2024,26(02):31-6.
- [34]郭荷娜,康蓓,赵婧钰,等.丹红注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠皮质区新生微血管的影响研究[J].实用心脑血管病杂志.2020,28(02):69-73.
- [35]柳挺.丹红注射液对小鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].中医临床研究.2018,10(23):5-6.

