

文章编号: 1001-6325(2023)03-0486-04

短篇综述

铁死亡在蛛网膜下腔出血早期脑损伤发病机制中作用的研究进展

曲大鹏¹, 孙会艳², 李强^{3*}, 王洪权⁴

赤峰学院附属医院 1. 急诊科; 3. 神经内科, 内蒙古自治区赤峰 024005; 2 赤峰学院 医学部, 内蒙古自治区赤峰 024000;
4. 航天中心医院/北京大学 航天临床医学院 神经内科, 北京 100049

摘要:蛛网膜下腔出血(SAH)导致铁死亡,表现为铁代谢失调、脂质过氧化增加和谷胱甘肽/谷胱甘肽过氧化物酶4(GSH/GPX4)的抑制。铁死亡介导SAH后72小时内早期脑损伤(EBI-SAH)进而导致SAH预后不良。通过药物靶向抑制铁死亡能够减轻EBI-SAH,为未来治疗EBI-SAH提供了新的靶点。

关键词:蛛网膜下腔出血;早期脑损伤;铁死亡;铁死亡抑制剂

中图分类号:R743.3 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2023.03.486

Recent progress of the role of ferroptosis in the pathogenesis of early brain injury after subarachnoid hemorrhage

QU Dapeng¹, SUN Huiyan², LI Qiang^{3*}, WANG Hongquan⁴

1. Department of Emergency Medicine; 3. Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Chifeng University, Chifeng 024005;
2. Health Science Center, Chifeng University, Chifeng 024000; 4. Department of Neurology, Aerospace Center Hospital,
Aerospace School of Clinical Medicine, Peking University, Beijing 100049, China

Abstract: Subarachnoid hemorrhage (SAH) leads to ferroptosis with clinical evidence like iron metabolism deregulation, increased lipid peroxidation (LPO) and the inhibition of glutathione/glutathione peroxidases 4 (GSH/GPX4). Ferroptosis mediated early brain injury (EBI) may occur in the 72-hour period following SAH (EBI-SAH) leads to the poor prognosis of SAH. Pharmacological targeting at ferroptosis mitigate EBI-SAH, provides a new target for future treatment and prevention of EBI-SAH through targeting at ferroptosis.

Key words: subarachnoid hemorrhage; early brain injury; ferroptosis; ferroptosis inhibitor

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)是一种神经系统急症,其特征是脑周围充满脑脊液的空间出血^[1]。SAH后通过多种病理生理机制导致脑组织不可逆损坏。SAH也与较高的医疗并发症发生率和40%~50%的病死率有关。与其他卒中患者相比,SAH更影响年轻人。尽管每年仅占

所有卒中的3%,但SAH卒中是导致过早死亡的主要原因,占65岁之前所有卒中相关潜在寿命损失的27%^[2-3]。此外,幸存者经常经历长期的功能残疾或认知障碍。动脉瘤性SAH仍然是致残率和致死率极高的卒中,并造成巨大的医疗和经济负担。

SAH发生后血红蛋白裂解物释放铁,介导铁代

收稿日期:2022-06-28 修回日期:2022-11-30

基金项目:国家自然科学基金(81260196);内蒙古自然科学基金(2020MS08175, 2021MS08131, 2021LHMS08024);内蒙古自治区高校科研项目(NJZY19218);航天中心医院院级基金(YN202104)

*通信作者(corresponding author):liqiang1980_1981@126.com

谢失调、脂质过氧化增加和谷胱甘肽/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione/glutathione peroxidase 4, GSH/GPX4) 的抑制,即导致铁死亡 (ferroptosis) 发生,从而导致早期脑损伤 (early brain injury-SAH, EBI-SAH),导致神经元的不可逆损伤和 SAH 预后不良^[4]。近年在细胞和动物模型中研究显示,靶向抑制铁死亡可以有效地防治 EBI-SAH。因此,本文系统总结了铁死亡参与 EBI-SAH 的病理机制的最新进展,总结了药物靶向抑制铁死亡能够防治 EBI-SAH 的最新进展,为 SAH 的治疗和预防提供了有价值的信息。

1 铁死亡

铁死亡是 2012 年提出的一种由铁依赖性、脂质过氧化引起的调节性细胞死亡形式。铁死亡的关键特征包括膜脂质过氧化 (lipid peroxidation, LPO)、细胞内铁稳态失衡和抗氧化防御体系的丧失。铁死亡的发生需要两个关键启动信号,即抑制抗氧化系统溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)/谷胱甘肽 (glutathione, GSH)/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 通路受到抑制和游离铁的积累^[5]。在铁死亡过程中,多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 极易发生过氧化,从而破坏脂质双层,破坏膜功能。将 PUFA 掺入细胞磷脂 (尤其是磷脂酰乙醇胺) 需要参与脂肪酸合成的特定酶即酯酰辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4) 的作用。ACSL4 使 PUFA 酯化生成 PUFA-CoA, 随后通过溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 (lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3) 将 PUFA-CoA 掺入磷脂膜。铁死亡的最后一步是脂质过氧化或其二级产物 (如 4-HNE 和 MDA) 直接或间接诱导血浆或细胞器膜上的孔隙形成,最终引发细胞死亡。

2 铁死亡与蛛网膜下腔出血早期脑损伤 (EBI-SAH)

2.1 铁死亡在 EBI-SAH 发病中的作用

利用 SAH 大鼠动物模型和细胞模型阐明了铁死亡在 EBI-SAH 中的作用,同时发现抑制铁死亡能够抑制 EBI-SAH^[6],这一研究开启了铁死亡在

EBI-SAH 发病机制中的作用。目前研究表明铁稳态失调、氧化还原稳态失衡和脂质过氧化途径增强参与 EBI-SAH 发病机制。

2.1.1 铁稳态失调参与 EBI-SAH 发病机制: 在 SAH 大鼠模型中,铁稳态失调,SAH 后皮质中的铁含量增加^[6]。SAH 后皮质中的铁含量增加^[7-10]。稳态失调可能与铁转运异常和铁自噬 (ferritinophagy) 相关。SAH 大鼠中,铁调素可以通过二价金属离子转运体 (divalent metal transporter 1, DMT1) 信号激活来调节铁代谢并促进铁死亡的发生,介导 EBI-SAH^[11]。铁调素 (hepcidin) 通过与膜铁转运蛋白 (ferroportin1, Fpn1) 结合来抑制铁离子输出,铁离子被隔离在细胞中。依布硒啉 (ebselen) 是具抗氧化和抗炎作用的一种有机硒化合物,能够抑制 DMT1 进而抑制 SAH 大鼠的铁积累和脂质过氧化,从而减轻 SAH 大鼠的铁死亡和 EBI^[11]。铁调素抑制剂肝素可下调铁调素和 DMT1 的表达,增加 Fpn1,抑制铁死亡和 EBI-SAH。而铁调素激活剂抑瘤素 (moncostatin M, OSM) 增加了铁调素和 DMT1 的表达,降低了 FPN1,加重铁死亡和 EBI-SAH,综上所述在 SAH 中,铁调素可能介导脑内铁稳态失调。

铁蛋白的选择性自噬降解被称为铁自噬,铁自噬参与 EBI-SAH 的发病机制^[12]。铁蛋白沉积对维持铁稳态至关重要,而过量的铁蛋白沉积则会导致铁超载和铁死亡。而 ATG5 基因敲除抑制自噬后可以降低细胞内铁水平和 LPO,提高铁死亡保护蛋白的表达,从而缓解 SAH 诱导的细胞死亡。另外,抑制自噬还减弱了 SAH 预后指标,如脑水肿、血脑屏障通透性和神经功能缺损,这一发现提示 SAH 通过激活铁蛋白吞噬引发神经元性铁死亡,还表明调节铁吞噬和维持铁稳态可以为预防 SAH 早期脑损伤提供线索^[12]。

2.1.2 氧化还原稳态失衡参与 EBI-SAH 发病机制: SAH 发生后,SLC7A11/GSH/GPX4 抗氧化通路受到抑制,进而介导 EBI-SAH。SAH 后神经元中 SLC7A11^[13-14] 和 GPX4 表达降低^[7-8, 10, 13, 15-17],同时存在 GSH 的耗竭^[7-8, 10, 15]。内源性 GPX4 主要表达于神经元,在实验性 SAH 后 24 h 其表达降低^[18]。在体内和体外实验性 SAH 模型中,GPX4 的过度表达显著降低脂质过氧化和细胞死亡,GPX4 的过度表达改善了 SAH 后 24 h 的脑水肿和神经功能缺

损,因此,GPX4 表达的降低可能在 SAH 后早期脑损伤的铁死亡中起重要作用,GPX4 的过度表达在 SAH 后具有神经保护作用^[18]。

2.1.3 脂质过氧化途径增强与 EBI-SAH:由于脑内存在大量 PUFA,神经元可能更容易受到 ROS 攻击,导致脂质过氧化发生,而后者反过来又促进产生更多 ROS,形成恶性循环。SAH 模型中脂质过氧化生成增加^[6-7,9,12,14-16]。在自体血注入大鼠裂孔前池建立大鼠 SAH 模型中的研究发现,大鼠脑组织中 ACSL4 水平显著升高,使用小干扰 RNA 抑制 ACSL4 的表达可减轻 SAH 后的炎症反应、血脑屏障(BBB)损伤、氧化应激、脑水肿、行为和认知缺陷,并增加存活神经元的数量,表明 ACSL4 介导 EBI-SAH^[19]。而铁死亡抑制剂 Fer-1 和利普罗他汀-1(liproxstatin-1)治疗也获得了类似的效果,这些发现表明,ACSL4 介导 EBI-SAH 的发病机制,而同时也为旨在缓解 EBI-SAH 的潜在治疗提供理论基础^[19]。综上所述,铁死亡参与 EBI-SAH 的发病机制,SAH 后主要通过 GPX4 活性降低、ACSL4 活性升高和铁蛋白吞噬介导神经元铁死亡,促进 EBI-SAH 的发生。

2.2 抑制铁死亡对 EBI-SAH 的治疗作用

伴随铁死亡参与 EBI-SAH 发病机制研究的伊始,对药物抑制铁死亡防治 EBI-SAH 进行了有益探索^[7]。铁死亡抑制剂 Fer-1 能够通过降低体外模型中铁含量、降低脂质过氧化物生成进而减弱 EBI-SAH,表明抑制剂铁死亡对 EBI-SAH 具有神经保护作用^[6]。Fer-1 治疗可增加 SLC7A11 和 GPX4,减轻 SAH 损伤相关的分子和炎症细胞因子,抑制铁死亡减轻了血脑屏障损伤、脑水肿、行为缺陷和神经元损伤。更重要的是,p53 抑制剂 pifithrin- α 能显著阻断皮层 SAH 诱导的铁死亡,这表明 SAH 后铁死亡加重 EBI 部分依赖于 p53,抑制铁死亡可能是 EBI 的有效治疗靶点^[14]。铁死亡的特异性抑制剂利普罗他汀-1 可通过抑制脂质 ROS 产生和减血红蛋白诱导的铁沉积来防止神经元死亡,从而改善 EBI-SAH^[13]。

同时对具有铁死亡抑制剂特性的化合物在治疗 EBI-SAH 方面做出了一定探索。中药黄芩苷(baicalin)能够降低 SAH 大鼠脑组织中的 Fe^{2+} 、丙二醛和 ROS 水平,抑制大鼠脑组织中的 beclin1、LC3-II 和 LC3-I 蛋白水平,进而抑制铁死亡,进而改善 EBI-SAH 的发生^[8]。白细胞增生药千金藤素

(cepharanthine, CEP)能够通过抑制铁死亡,进而改善 EBI-SAH 的发生,CEP 通过抑制 15-脂氧合酶-1(15-lipoxygenase-1, ALOX15)介导的小胶质细胞和内皮细胞铁死亡减轻小鼠 EBI-SAH^[20]。褪黑素(melatonin)能够促进 GPX4 的表达、降低 ROS 和铁的含量减轻 SAH 大鼠皮层中氧化应激反应,进而减轻皮层神经细胞铁死亡,从而抑制 EBI-SAH^[9]。依布硒啉(ebselen)能够通过降低 DMT1、促进 GPX4 表达降低细胞内铁沉积和脂质过氧化,从而以抑制 EBI-SAH,改善 SAH 预后^[10]。黄芪甲苷(astragaloside IV)能够上调 SLC7A11/GPX4、降低铁和抑制脂质过氧化进而抑制 EBI-SAH^[7]。葛根素(puerarin)能够上调 Nrf2/GPX4 通路、降低脂质过氧化水平和降低脑内铁含量,进而抑制 EBI-SAH,改善 SAH 大鼠神经功能缺损^[15]。诱导型一氧化氮合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)抑制剂 L-NIL 能够通过诱导诱导 M1 型小胶质细胞铁死亡、减少神经炎症反应从而抑制 EBI-SAH,改善 SAH 预后和结局^[21]。白藜芦醇(resveratrol)通过上调 GPX4 和铁死亡抑制蛋白 1(ferroptosis suppressor protein 1, FSP1)抑制 SAH 介导的铁死亡,进而减弱小鼠 EBI-SAH^[17]。蛋白激酶 R, PKR)抑制剂 C16 通过上调 GPX4 和铁蛋白重链(ferritin heavy polypeptide 1, FTH1),抑制脂质过氧化和铁聚集,进而抑制 SAH 介导的铁死亡,抑制大鼠 EBI-SAH,改善 SAH 预后^[16]。综上所述,药物通过抑制铁死亡能在体内外实验模型中抑制 EBI-SAH,进而改善 SAH 预后。

3 问题和展望

综上所述,目前对铁死亡在 SAH 中的作用学者们进行了初步探索,目前研究表明铁死亡参与 EBI-SAH 的发病机制。然而目前铁死亡在 EBI-SAH 中的致病作用研究尚处于起步阶段,例如其他抗氧化通路,如 GTP 环水解酶-1/四氢生物蝶呤通路是否参与 EBI-SAH 的病理机制目前仍不清楚,这可能是未来的重要研究方向。另外,介导脂质过氧化的 ROS 来源目前在 SAH 中的作用尚不全面,如细胞色素 P450 氧化还原酶(cytochrome P450 oxidoreductase, POR)在 EBI-SAH 进程中的作用目前尚不清楚。此外,药物靶向铁死亡对 EBI-SAH 治疗的探索方面目前处于起步阶段,方兴未艾,而且大对数研究只是通过体内外

SAH 模型简单探讨抑制铁死亡对 EBI-SAH 的效应观察,缺乏足够深度的机制探讨。综上所述,铁死亡参与EBI-SAH的发病机制,通过药物靶向抑制铁死亡具

有防治 EBI-SAH 的作用。未来继续深入研究铁死亡在 EBI-SAH 中的作用机制和针对抗铁死亡治疗 EBI-SAH 的药物值得深入探索。

参考文献:

- [1] 张敏,邢丹丹,康文越,等.七氟醚减轻蛛网膜下腔出血大鼠早期脑损伤[J].基础医学与临床,2022,42:1206-1212.
- [2] Krishnamurthi RV, Ikeda T, Feigin VL. Global, regional and country-specific burden of ischaemic stroke, intracerebral haemorrhage and subarachnoid haemorrhage: a systematic analysis of the global burden of disease study 2017 [J]. Neuroepidemiology, 2020,54:171-179.
- [3] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480 687 adults [J]. Circulation, 2017,135:759-771.
- [4] Lin F, Li R, Tu WJ, et al. An update on antioxidative stress therapy research for early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. Front Aging Neurosci, 2021,13:772036. doi: 10.3389/fnagi.2021.772036.
- [5] 徐娟,李晔.铁死亡在阿尔茨海默病中作用的研究进展[J].基础医学与临床,2022,42:1129-1133.
- [6] Li Y, Liu Y, Wu P, et al. Inhibition of ferroptosis alleviates early brain injury after subarachnoid hemorrhage *in vitro* and *in vivo* via reduction of lipid peroxidation [J]. Cell Mol Neurobiol, 2021,41:263-278.
- [7] Liu Z, Zhou Z, Ai P, et al. Astragaloside IV attenuates ferroptosis after subarachnoid hemorrhage via Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. Front Pharmacol, 2022,13:924826. doi: 10.3389/fphar.2022.924826.
- [8] Zheng B, Zhou X, Pang L, et al. Baicalin suppresses autophagy-dependent ferroptosis in early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. Bioengineered, 2021,12:7794-7804.
- [9] 雷伟,郝广志,邹正,等.褪黑素抑制早期蛛网膜下腔出血大鼠皮层神经细胞铁死亡[J].神经解剖学杂志,2021,37:454-458.
- [10] 张红霞,蒋登志,车旭东,等.依布罗林减轻DMT1诱导的铁死亡在实验性大鼠蛛网膜下腔出血中的研究[J].第三军医大学学报,2017,39:1618-1624.
- [11] Zhang H, Ostrowski R, Jiang D, et al. Hepcidin promoted ferroptosis through iron metabolism which is associated with DMT1 signaling activation in early brain injury following subarachnoid hemorrhage [J]. Oxid Med Cell Longev, 2021,2021:9800794. doi: 10.1155/2021/9800794.
- [12] Liang Y, Deng Y, Zhao J, et al. Ferritinophagy is involved in experimental subarachnoid hemorrhage-induced neuronal ferroptosis [J]. Neurochem Res, 2022,47:692-700.
- [13] Cao Y, Li Y, He C, et al. Selective ferroptosis inhibitor liproxstatin-1 attenuates neurological deficits and neuroinflammation after subarachnoid hemorrhage [J]. Neurosci Bull, 2021,37:535-549.
- [14] Kuang H, Wang T, Liu L, et al. Treatment of early brain injury after subarachnoid hemorrhage in the rat model by inhibiting p53-induced ferroptosis [J]. Neurosci Lett, 2021,762:136134. doi: 10.1016/j.neulet.2021.136134.
- [15] Huang Y, Wu H, Hu Y, et al. Puerarin attenuates oxidative stress and ferroptosis via AMPK/PGC1 α /Nrf2 pathway after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. Antioxidants (Basel), 2022,11:1259. doi: 10.3390/antiox11071259.
- [16] Lei J, Song S, Chen Z, et al. The protective mechanism of protein kinase R to inhibit neuronal ferroptosis in cerebral injury from subarachnoid hemorrhage [J]. Brain Behav, 2022,12:e2722. doi: 10.1002/brb3.2722.
- [17] Yuan B, Zhao XD, Shen JD, et al. Activation of SIRT1 alleviates ferroptosis in the early brain injury after subarachnoid hemorrhage [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022,2022:9069825. doi: 10.1155/2022/9069825.
- [18] Gao SQ, Liu JQ, Han YL, et al. Neuroprotective role of glutathione peroxidase 4 in experimental subarachnoid hemorrhage models [J]. Life Sci, 2020,257:118050. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118050.
- [19] Qu XF, Liang TY, Wu DG, et al. Acyl-CoA synthetase long chain family member 4 plays detrimental role in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats by inducing ferroptosis [J]. CNS Neurosci Ther, 2021,27:449-463.
- [20] Gao S, Zhou L, Lu J, et al. Cepharanthine attenuates early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice via inhibiting 15-lipoxygenase-1-mediated microglia and endothelial cell ferroptosis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022,2022:4295208. doi: 10.1155/2022/4295208.
- [21] Qu W, Cheng Y, Peng W, et al. Targeting iNOS alleviates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage via promoting ferroptosis of M1 microglia and reducing neuroinflammation [J]. Mol Neurobiol, 2022,59:3124-3139.