

• 综 述 •

缺血性脑卒中的铁死亡作用机制研究进展*

杨晰宸, 张四美, 寸勇丹, 周 丽, 张成才, 张彭跃, 金亚菊[△]

(云南中医药大学, 云南 昆明 650500)

摘要: 缺血性脑卒中是一种发病率和致残率都较高的疾病,但其发生机制尚不明确,治疗手段也很有限。铁死亡是一种依赖于铁的新型细胞死亡方式,近年来的研究结果表明铁死亡在缺血性脑卒中的损伤过程中介导着神经细胞的死亡,能诱发和加重脑缺血后的损伤,而抑制铁死亡会显著改善和减轻脑缺血诱发的神经功能损伤。本文综述了铁死亡的主要机制、铁死亡对缺血性脑卒中的影响,以及通过调控铁死亡改善缺血性脑卒中后损伤的研究,以期为缺血性脑卒中的临床研究和治疗提供新的方向。

关键词: 铁死亡;铁超载;脂质过氧化;缺血性脑卒中

中图分类号: R743.3

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2022)02-0097-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2022.02.022

Research Progress on the Mechanism of Ferroptosis in Ischemic Stroke

YANG Xichen, ZHANG Simei, CUN Yongdan, ZHOU Li, ZHANG Chengcai, ZHANG Pengyue, JIN Yaju

(Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Ischemic stroke is a disease with high morbidity and disability, but its mechanism is still unclear and the treatment options are limited. Ferroptosis is a new type of cell death dependent on iron. Recent studies have shown that ferroptosis mediates the death of nerve cells in the injury process of ischemic stroke, which can induce and aggravate the injury after cerebral ischemia, and inhibition of ferroptosis can significantly improve and alleviate the neurological injury induced by cerebral ischemia. In order to provide a new direction for clinical research and treatment of ischemic stroke, this article reviews the main mechanism of ferroptosis, the effect of ferroptosis on ischemic stroke, and the research on ameliorating injury after ischemic stroke by regulating ferroptosis.

KEY WORDS: ferroptosis; iron overload; lipid peroxidation; ischemic stroke

脑卒中是导致全世界人口死亡和残疾的主要原因之一,主要包括出血性脑卒中和缺血性脑卒中,其中,缺血性脑卒中约占所有卒中的 85%,是由于颈内动脉、大脑中动脉或椎/基底动脉闭塞导致的急性脑血管病,由此引发的大脑缺血、缺氧和营养物质的耗竭可能激活细胞缺血级联反应,致使细胞死亡,最终引发神经功能严重缺损^[1]。在脑缺血期间,缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)会对脑组织造成实质性损伤,这可能与氧化应激、炎症反应、线粒体功能障碍、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生增加有关,从而加重脑组织损伤^[2]。

细胞死亡途径十分复杂,常见的程序性细胞死亡方式是凋亡。但近年来研究发现,还有其他程序性死亡机制,如自噬、副凋亡、焦亡和铁死亡(ferroptosis)等^[3]。其中,铁死亡是近年来发现的一种新型细胞死亡形式,2012 年《Cell》报道了一种依赖于铁离子和 ROS 的程序性细胞死亡途径,被命名为铁死亡^[4]。研究发现,脑缺血后细胞的损伤与大脑铁稳态的紊乱和

收稿日期: 2022-01-08

* 基金项目: 国家自然科学基金(81660384); 云南省科学技术厅—云南中医药大学应用基础研究联合专项(面上项目)(202001AZ070001-030)

第一作者简介: 杨晰宸(2000-),女,在读硕士研究生,研究方向:中西医结合防治脑病。

[△]通信作者: 金亚菊, E-mail: 48297442@qq.com

脂质过氧化有关,因此,可以通过改变铁代谢的方式减小脑缺血体积,改善神经功能损伤。

1 铁死亡的机制

铁死亡的发生发展与许多生物学过程密切相关,包括铁、氨基酸和多不饱和脂肪酸代谢,以及谷胱甘肽(glutathione, GSH)、磷脂、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)和辅酶 Q10(Coenzyme Q10, CoQ10)的生物合成^[5]。形态学上,铁死亡主要发生在细胞内,表现为线粒体体积减小,双层膜密度增加,线粒体嵴减少或消失,但细胞膜完整,细胞核大小正常;生化方面,细胞内 GSH 耗竭,谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)活性降低,GPX4 催化的还原反应不能代谢脂质过氧化物,Fe²⁺以类似 Fenton 反应的方式氧化脂质,产生大量 ROS,促进铁死亡^[6]。从基因上讲,铁死亡是一个由多基因调控的生物过程,主要涉及铁稳态和脂质过氧化代谢的遗传变化。一般来说,铁死亡的诱导可分为 4 个关键事件:(1)铁过载;(2)脂质过氧化;(3)胱氨酸/谷氨酸转运体(cystine/glutamate transporter, System Xc⁻)受损;(4)GSH 消耗和 GPX4 失活。这些事件形成正反馈循环,通常会促进细胞铁死亡。

1.1 铁代谢 通常,铁的来源有两种:(1)来源于食物中的铁,包括三价铁(Fe³⁺)和二价铁(Fe²⁺);(2)衰老红细胞中血红蛋白分解产生的铁。Fe²⁺在小肠黏膜上皮细胞中被氧化为 Fe³⁺,血浆中的 Fe³⁺与转铁蛋白(transferrin, TF)紧密结合形成完整的 TF,与膜蛋白转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TFR1)结合,将 Fe³⁺转运到细胞核内^[7]。随后,Fe³⁺又被铁还原酶还原为 Fe²⁺,最终 Fe²⁺通过二价金属转运体 1(divalent metal transporter 1, DMT1)进入细胞质中的不稳定铁池,发挥生理病理功能^[8]。Fe²⁺可以通过 Fenton 反应产生 ROS,应激条件下,大脑中丰富的非血红素铁可在 Fe²⁺的催化下,将线粒体氧化呼吸产物 H₂O₂ 转化为羟自由基,发挥非酶性脂质过氧化作用,从而引起膜脂质过氧化和线粒体损伤,导致脑水肿和大脑功能损害等。此外,Fe²⁺也是脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)催化亚基的重要组成部分,可以催化脂质过氧化,这两种机制都可引发铁死亡。过量的 Fe²⁺通过细胞膜上的铁转运蛋白 1(ferroportin 1, FPN1)运出细胞,使细胞

内的 Fe²⁺浓度保持在正常范围内,细胞外的 Fe²⁺则被储存在铁蛋白(ferroprotein, FT)中,以防止羟自由基和 ROS 的形成^[9]。因此,可以通过调节铁的输出、储存和流动来调控铁死亡。

1.2 脂质代谢 细胞对铁死亡的敏感性与脂质代谢密切相关。多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)易发生脂质过氧化反应,其含量和定位决定了细胞脂质过氧化的程度,是铁死亡所必需的物质^[10]。研究表明,磷脂酰乙醇胺能与花生四烯酸或肾上腺素结合,是促使细胞发生氧化和铁死亡的关键磷脂^[11]。例如,酰基 CoA 合成酶长链家族成员 4(long-chain acyl-CoA synthetase 4, ACSL4)和溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3 这两种酶参与细胞膜上含多不饱和脂肪酸的磷脂(polyunsaturated fatty acid-phosphatidyl ethanolamine, PUFA-PE)的生物合成和重塑,这些基因表达产物的缺失会消耗脂质过氧化的底物,从而增强细胞对铁死亡的抵抗力。许多酶的底物,如脂氧合酶(lipoxygenase, LOXs)可以介导铁依赖的脂质过氧化,并且有研究发现,游离 PUFAs 是 LOXs 的首选底物^[12]。因此,铁死亡的发生可能是脂质过氧化的直接结果。

1.3 氨基酸和谷胱甘肽的代谢 System Xc⁻是一种广泛分布于磷脂双分子层中的氨基酸反转运体,是细胞抗氧化系统中重要的一部分,是由溶质载体家族 3 成员 2(solute carrier family 3 member 2, SLC3A2)和溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)两个亚基组成的异源二聚体。其中,SLC7A11 是 System Xc⁻的轻链,它以 1:1 的比例将谷氨酸运输出细胞,并将胱氨酸交换到细胞内。胱氨酸是合成 GSH 所必需的, GSH 参与许多生物学过程,如清除 ROS,其清除 ROS 的生物学功能对铁死亡至关重要^[13]。由于 GSH 的耗竭,细胞无法减少 Fe²⁺发生 Fenton 反应和其他过氧化反应产生的 ROS,从而对铁死亡更加敏感。GSH 还可以作为 GPX4 的辅助因子来减少 ROS, GPX4 能将 GSH 转化为氧化型谷胱甘肽(glutathione disulfide, GSSG),通过催化具有细胞毒性的脂质过氧化物(lipid hydroperoxides, L-OOH)还原为相应的醇(lipid alcohols, L-OH)来保护细胞免受氧化应激的伤害,进而阻止脂质过氧化的连锁反应。抑制 GSH 合成和诱导 GSH 耗尽是最终导致细胞铁死亡的常见途径,经典

的铁死亡诱导剂 erastin 也可以通过抑制 System Xc⁻ 对胱氨酸的吸收来诱导 GSH 的耗竭,间接降低细胞的抗氧化能力,导致脂质 ROS 积累,最终发生氧化损伤和铁死亡。同样,SLC7A11 的下调可导致细胞内胱氨酸水平下降,进而导致 GSH 的消耗和 GPX4 活性的抑制,最终激活铁死亡^[14]。此外,谷氨酸也是铁死亡的重要调控因子,细胞外高浓度的谷氨酸会抑制 System Xc⁻ 并诱导铁死亡,因此神经系统中的谷氨酸积聚到较高浓度时具有毒性作用。由此可见, System Xc⁻ 功能异常是诱发细胞铁死亡的重要机制之一,抑制 System Xc⁻ 或者直接抑制 GPX4 活性均可导致细胞发生铁死亡。

2 铁死亡参与缺血性脑卒中的发病机制

2.1 缺血性脑卒中引起铁超载 研究发现,大脑不同区域的铁含量存在显著差异,纹状体的铁含量较高,海马和皮层的铁含量中等,脑桥和髓质的铁含量较低。在生理条件下,大脑能在血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的保护下免受铁含量波动的影响,但在缺血性脑卒中后,大脑微血管内皮细胞通透性异常增加会严重损害 BBB,使大量铁进入脑实质引发铁超载,从而使大脑基底神经节、皮层下白质区、丘脑和脑室周围铁含量增加,并且在短暂性全脑缺血后能观察到受损海马区的 TFR 和铁水平升高^[15]。其次,脑缺血缺氧损伤后大脑发生缺氧级联反应,铁蛋白和铁之间的亲和力降低,导致脑中产生大量游离铁,游离铁的累积具有神经毒性作用,包括谷氨酸兴奋毒性、脂质过氧化和激发炎症反应等,这一过程由酸中毒、超氧化物、儿茶酚胺和一氧化氮诱导。事实上,在缺血-再灌注后 1 h,铁积聚到缺血区域附近的大脑毛细血管内皮细胞中,在中风后 24 h 观察到神经元细胞 TF 水平升高,提示 TF 在神经元中积累^[16]。

此外,还发现两种途径会引发缺血脑组织中的铁超载,其一是缺血导致白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)表达增加,IL-6 通过酪氨酸蛋白激酶/信号转导和转录激活因子 3 (Janus protein tyrosine protein kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3, JAK/STAT3)途径增加铁调素(hepcidin, Hpc)的表达,导致 FPN1 含量减少,从而减少铁的释放,最终引发细胞内铁超载^[17]。其二是脑缺血后缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)的上调增

加了 TFR1 的表达,由于 TF-TFR1 通路是神经元吸收铁的必要途径,因此 TFR1 表达增加促进了神经元对铁的摄取。由此可见,缺血性脑卒中发生后脑内铁超载介导的铁死亡是神经细胞损伤和 I/R 相关细胞死亡的关键因素。

2.2 缺血性脑卒中引起脂质过氧化 脑缺血后 ROS 累积介导的氧化应激及脂质过氧化等多种病理反应是触发细胞铁死亡的关键驱动力^[18]。ROS 的产生机制复杂,涉及线粒体呼吸链氧化磷酸化的中断、无氧糖酵解、Ca²⁺ 内流和一氧化氮合酶的激活。在缺血损伤的脑组织中,由于 ROS 含量升高导致的氧化应激反应包括氧自由基的过度生成、抗氧化酶的失活和抗氧化剂的消耗,并最终发生脂质和蛋白质过氧化、细胞核 DNA 和 RNA 损伤及细胞死亡。缺血性脑卒中后细胞对氧化应激的敏感性增加,大脑需要不断地生成大量三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)来维持基础代谢活动和神经元稳态。与身体其他器官相比,缺血条件下大脑会积累更多有害的线粒体代谢产物,且 ATP 的生成受到阻碍。此外,由于神经元膜富含 PUFAs,缺血性脑损伤后很容易被氧化,在大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠中也发现其神经元的抗氧化酶活性明显降低,脂质过氧化程度增强,而抑制 PUFAs 可以减轻脑损伤后脂质过氧化介导的铁死亡^[19]。

缺氧诱导因子脯氨酸羟化酶(hypoxia-inducible factor proline hydroxylase, HIF-PHD)被认为是抗氧化的靶点,靶向 HIF-PHD 氧传感途径可抑制铁死亡,从而促进缺血性脑卒中后的神经功能恢复^[20],减少永久性或局灶性脑缺血引起的神经元损伤,并在临床上作为神经保护剂作用于即将发生缺血或氧化的神经元,如 HIF-PHD 的抑制剂二甲氧基甘氨酸能显著减少脑缺血后 24 h 的梗死体积并改善肢体功能,还改善了永久性或短暂性 MCAO 大鼠模型 24 h 后局部的脑血流量^[21]。

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是细胞抗氧化防御系统中的重要调节因子,缺血性脑卒中氧化应激后产生的过量 ROS 能诱导 Nrf2 的表达,进而促进 GSH 和 GPX4 的表达,从而增强细胞的抗氧化功能,还能增加铁蛋白重链 1 (ferritin heavy chain 1, FTH1) 和 FPN1 的表

达,且通过储存或排出游离铁来减少细胞中铁的积累,从而抑制细胞铁死亡^[22-23]。同时,Nrf2 的表达水平取决于细胞对铁死亡的敏感性,增强 Nrf2 的表达可抑制脑缺血后神经细胞的铁死亡,适当激活 Nrf2 可促进神经功能的恢复。由此可知,脂质过氧化是缺血性脑卒中中铁死亡的主要机制,因此,抗氧化治疗可以显著减轻脑缺血损伤^[24]。

2.3 缺血性脑卒中后的氨基酸代谢 缺血性脑卒中后细胞外谷氨酸的过度积累是导致缺血半暗带神经细胞死亡的主要原因,其通过抑制 System Xc-来抑制细胞对胱氨酸的摄取,进而产生氧化毒性作用,还可以通过消耗 GSH,引发细胞死亡。因此,细胞外高浓度的谷氨酸可能成为铁死亡的触发因素^[25]。研究发现,GPX4 和 GSH 是重要的铁死亡内源性抑制剂,也是细胞内氨基酸代谢的重要调节剂。GPX4 通过激活 NF- κ B 通路和减弱花生四烯酸(arachidonic acid, AA)氧化来抑制铁死亡和炎症反应,同时减少 ROS 的产生,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^[26]。由于 GPX4 具有一个硒代半胱氨酸活性位点,因此硒是 GPX4 生物合成所必需的微量元素,补充硒的含量能增强细胞对铁死亡的抵抗性,这可能是通过激活转录因子 TFAP2c 和 Sp1 来调节 GPX4 的含量和活性,从而抑制细胞铁死亡来实现的。通过腹腔注射含硒肽驱动 GPX4 表达增高能抑制 ROS 的形成和细胞死亡,减少局灶性脑缺血后的梗死体积,并改善受损的神经功能^[27]。另一种经典的铁死亡诱导剂 RAS 选择性致死小分子 3(RAS-selective lethal 3, RSL3)是一种以不可逆的方式抑制 GPX4 活性的化合物,其通过降低 GPX4 的表达水平,从而降低细胞的抗氧化能力并积累 ROS,导致铁死亡^[28]。此外,促进 GSH 生成也有利于改善缺血性脑损伤,依达拉奉作为一种临床批准的治疗急性缺血性脑卒中的药物,可用于治疗铁死亡引发的疾病,尤其是胱氨酸缺乏症^[29]。因此,增强 GPX4 表达和 GSH 合成可抑制铁死亡从而减轻脑缺血后的神经功能受损。此外,ACSL4 在脑组织中广泛表达,并且脑缺血期间 miRNA-347 的表达增加会上调 ACSL4 的水平,从而介导神经元铁死亡。敲除 ACSL4 之后可以保护小鼠免受脑缺血的影响^[30]。ACSL4 抑制剂罗格列酮可通过减轻细胞铁死亡,保护 MCAO 大

鼠的神经元,减轻缺血后的脑组织损伤^[31]。由此可见,通过调节氨基酸代谢进而抑制铁死亡在缺血性脑卒中后的神经功能损伤及修复中起着至关重要的作用。

3 铁死亡作为治疗缺血性脑卒中的新靶点

近年来,通过调控细胞铁死亡来干预缺血性脑卒中的发生发展已成为病因学研究和治疗的热点之一。研究发现,铁死亡抑制剂可以减轻啮齿类动物脑缺血后的细胞损伤。对 MCAO 大鼠鼻内给予铁死亡抑制剂 ferrostatin-1(Fer-1)或 liproxstatin-1(Lip-1)治疗后,发现其梗死面积减小,神经功能缺损明显减轻^[32]。此外,采用铁螯合剂联吡啶治疗可显著减缓脑缺血梗死后脑水肿的发展,在脑梗死后 24 小时,通过比重法测量局部脑水肿来评估治疗效果,结果显示脑梗死区的含水量减少约 2.5%^[33]。研究发现,去铁胺可作为神经保护剂以减少 MCAO 大鼠的脑缺血梗死体积,防止线粒体中氧自由基过量,改善神经功能,减轻脑缺血后损伤^[34]。Tau 基因敲除的大鼠在脑中动脉梗死后其细胞的铁死亡受到了抑制,梗死面积有所减小,运动和认知功能障碍等也得到了改善,从而减轻了脑 I/R 损伤^[35]。

此外,Guan 等^[36]发现,高良姜素可通过增加 SLC-7A11 和 GPX4 的表达来抑制铁死亡,从而提高沙鼠 I/R 损伤后的学习和记忆能力,提示高良姜素对脑 I/R 损伤的保护作用可能是通过抑制铁死亡来实现的。Guo 等^[37]研究发现经红花黄素处理后的 MCAO 大鼠脑缺血细胞中的 Fe^{2+} 及 ROS 的积累减少,ACSL4 表达降低,GPX4 和 FTH1 表达增加,从而抑制神经元的铁死亡,而过表达的 FTH1 还可抑制 ROS 积累和 GSH 消耗。Xue 等^[38]发现香芹酚可通过增加 GPX4 的表达来保护沙鼠的海马神经元免受 I/R 损伤。饶政清等^[39]发现由黄芪、川芎、地龙和僵蚕组成的中药复方脑泰方,能通过上调 HSF1/HSPB1 通路,抑制 TFR1 的表达来减少神经元对铁的吸收,并通过上调 FTH1 的表达来增加铁蛋白对铁的存储,从而增强神经细胞的抗氧化能力和抑制神经细胞铁死亡。Li 等^[40]发现,电针干预 MCAO 大鼠的百会、水沟、双侧三阴交和双侧内关穴可以保护缺血性脑组织中的线粒体,显著提高 GPX4 和 SOD 的活性以及 GSH 的水平,减少丙二醛(MDA)含量和铁的积累,增加 FTH1 的水平并降低 TF 和 TFR1 的水平,可见电针能通过调节氧化应激

和铁相关蛋白来抑制铁死亡,从而在MCAO大鼠中对损伤的神经细胞提供保护。所有这些结果表明缺血性脑卒中可导致细胞发生铁死亡,通过抑制铁超载、降低ROS积累及减少脂质过氧化等方法抑制铁死亡可为缺血性脑卒中的治疗提供新的思路。

4 总结与展望

综上所述,铁死亡作为一种新的调节性细胞死亡形式,与铁代谢、脂质代谢、氨基酸代谢以及其他代谢途径密切相关,并且铁死亡在缺血性脑卒中的发生发展中发挥着重要作用。在缺血性脑卒中的发病过程中细胞发生铁死亡,而抑制铁死亡对细胞具有保护作用。但铁死亡介导细胞损伤的调控机制有待进一步研究。铁死亡的启动、信号转导、对细胞损伤的特异性方面的研究也尚不全面。此外,目前对缺血性脑卒中中铁介导的神经毒性作用的临床研究相对较少。因此,对铁死亡在缺血性脑卒中方面的分子机制开展深入研究,有望为未来相关神经系统疾病的靶向治疗提供新的理论依据。

参考文献:

- [1] LI P, STETLER R A, LEAK R K, et al. Oxidative stress and DNA damage after cerebral ischemia: Potential therapeutic targets to repair the genome and improve stroke recovery[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 134(Pt B): 208–217.
- [2] YANG C, HAWKINS K E, DORE S, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood–brain barrier damage in ischemic stroke[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316(2): C135–C153.
- [3] KHOSHNAME S E, WINLOW W, FARZANEH M, et al. Pathogenic mechanisms following ischemic stroke[J]. *Neurol Sci*, 2017, 38(7): 1167–1186.
- [4] 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.
- [5] XIE Y, HOU W, SONG X, et al. Ferroptosis: process and function[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 369–379.
- [6] FRIEDMANN A J, SCHNEIDER M, PRONETH B, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice[J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(12): 1180–1191.
- [7] SLIWINSKA A, LUTY J, ALEKSANDROWICZ–WRONA E, et al. Iron status and dietary iron intake in vegetarians[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2018, 27(10): 1383–1389.
- [8] KNUTSON M D. Non–transferrin–bound iron transporters[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 101–111.
- [9] GASCHLER M M, STOCKWELL B R. Lipid peroxidation in cell death[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(3): 419–425.
- [10] 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–E4975.
- [11] 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.
- [12] KUHN H, BANTHIYA S, VAN LEYEN K. Mammalian lipoxygenases and their biological relevance[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1851(4): 308–330.
- [13] LU S C. Regulation of glutathione synthesis[J]. *Mol Aspects Med*, 2009, 30(1–2): 42–59.
- [14] 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.
- [15] TUO Q Z, LEI P, JACKMAN K A, et al. Tau–mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(11): 1520–1530.
- [16] DEGREEGORIO–ROCASOLANO N, MARTI–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[J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 143–158.
- [17] 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.
- [18] REN J X, SUN X, YAN X L, et al. Ferroptosis in neurological diseases[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 218.
- [19] CONRAD M, PRATT D A. The chemical basis of ferroptosis[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(12): 1137–1147.
- [20] SIDDIQ A, AYOUB I A, CHAVEZ J C, et al. Hypoxia–inducible factor prolyl 4–hydroxylase inhibition. A target for neuroprotection in the central nervous system[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(50): 41732–41743.
- [21] NAGEL S, PAPADAKIS M, CHEN R, et al. Neuroprotection by dimethylxalylglycine following permanent and

- transient focal cerebral ischemia in rats[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31(1):132-143.
- [22] YANG X, PARK S H, CHANG H C, et al. Sirtuin 2 regulates cellular iron homeostasis via deacetylation of transcription factor NRF2[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(4):1505-1516.
- [23] KERINS M J, OOI A. The roles of NRF2 in modulating cellular iron homeostasis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(17):1756-1773.
- [24] WU C, ZHAO W, YU J, et al. Induction of ferroptosis and mitochondrial dysfunction by oxidative stress in PC12 cells[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):574-584.
- [25] GAO M, MONIAN P, QUADRI N, et al. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis[J]. *Mol Cell*, 2015, 59(2):298-308.
- [26] LAN B, GE J W, CHENG S W, et al. Extract of Naotai-fang, a compound Chinese herbal medicine, protects neuron ferroptosis induced by acute cerebral ischemia in rats[J]. *J Integr Med*, 2020, 18(4):344-350.
- [27] ALIM I, CAULFIELD J T, CHEN Y, et al. Selenium drives a transcriptional adaptive program to block ferroptosis and treat stroke[J]. *Cell*, 2019, 177(5):1262-1279.
- [28] 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.
- [29] HOMMA T, KOBAYASHI S, SATO H, et al. Edaravone, a free radical scavenger, protects against ferroptotic cell death in vitro[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 384(1):111592.
- [30] GUBERN C, CAMOS S, BALLESTEROS I, et al. miRNA expression is modulated over time after focal ischaemia: up-regulation of miR-347 promotes neuronal apoptosis[J]. *FEBS J*, 2013, 280(23):6233-6246.
- [31] SAYAN-OZACMAK H, OZACMAK V H, BARUT F, et al. Rosiglitazone treatment reduces hippocampal neuronal damage possibly through alleviating oxidative stress in chronic cerebral hypoperfusion[J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(3):287-290.
- [32] 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[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15:632354.
- [33] OUBIDAR M, BOQUILLON M, MARIE C, et al. Ischemia-induced brain iron delocalization: effect of iron chelators[J]. *Free Radic Biol Med*, 1994, 16(6):861-867.
- [34] ABDUL Y, LI W, WARD R, et al. Deferoxamine treatment prevents post-stroke vasoregression and neurovascular unit remodeling leading to improved functional outcomes in type 2 male diabetic rats: Role of endothelial ferroptosis[J]. *Transl Stroke Res*, 2021, 12(4):615-630.
- [35] TUO Q Z, LEI P, JACKMAN K A, et al. Tau-mediated iron export prevents ferroptotic damage after ischemic stroke[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(11):1520-1530.
- [36] 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.
- [37] GUO H, ZHU L, TANG P, et al. Carthamin yellow improves cerebral ischemiareperfusion injury by attenuating inflammation and ferroptosis in rats[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(4):52-61.
- [38] 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.
- [39] 饶政清, 梅志刚, 葛金文, 等. 脑泰方调控细胞铁转运抑制铁死亡保护脑卒中缺血损伤的机制研究[J]. *中草药*, 2021, 52(21):6552-6560.
- [40] LI G, LI X, DONG J, et al. Electroacupuncture ameliorates cerebral ischemic injury by inhibiting ferroptosis[J]. *Front Neurol*, 2021, 12:619043.