苦参素对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠的改善作用及机制Δ

李新雨*，楚尧娟，豆萌萌，马　睿，黎思露，朱　琳#（郑州大学第一附属医院药学部，郑州　450052）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）10-1177-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.10.05

摘　要　目的　探讨苦参素能否通过调控铁死亡途径发挥对实验性自身免疫性脑脊髓炎（EAE）小鼠的改善作用。**方法**　将30只雌性C57BL/6小鼠随机分为正常组、模型组、苦参素组，每组10只。模型组和苦参素组小鼠以含灭活结核分枝杆菌和MOG35-55的抗原乳剂诱导复制EAE模型。苦参素组小鼠自免疫后第7天开始腹腔注射苦参素注射液（50 mg/kg），正常组和模型组小鼠腹腔注射等体积生理盐水，每天1次至免疫后第18天。记录各组小鼠的神经功能学评分，以苏木精-伊红染色法和勒克斯光蓝染色法分别观察脊髓组织炎症细胞浸润和髓鞘脱失情况，以定量逆转录聚合酶链反应法和Western blot法分别检测其转铁蛋白受体1（TFR1）、核受体共激活因子4（NCOA4）、膜铁转运辅助蛋白（Heph）mRNA和胱氨酸-谷氨酸反向转运体（xCT）、谷胱甘肽过氧化物酶4（GPx4）蛋白的表达情况。**结果**　与正常组比较，模型组小鼠的累计神经功能学评分显著升高（$P<0.01$），脊髓组织内炎症细胞浸润和髓鞘脱失现象明显，相关评分均显著升高（$P<0.01$），髓鞘组织中TFR1、NCOA4 mRNA的表达均显著上调，Heph mRNA和xCT、GPx4蛋白的表达均显著下调（$P<0.05$或$P<0.01$）。与模型组比较，苦参素组小鼠上述指标均显著改善（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　苦参素对EAE小鼠有一定的改善作用，且这种作用可能与调节铁死亡中的铁代谢途径和xCT/GPx4通路有关。

关键词　苦参素；实验性自身免疫性脑脊髓炎；铁代谢；胱氨酸-谷氨酸反向转运体/谷胱甘肽过氧化物酶4通路；小鼠

Improvement effect and mechanism of matrine on experimental autoimmune encephalomyelitis mice

LI Xinyu, CHU Yaojuan, DOU Mengmeng, MA Rui, LI Silu, ZHU Lin (Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate whether matrine exerts improvement effect on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mice by regulating ferroptosis pathway. **METHODS** Totally 30 female C57BL/6 mice were randomly assigned into normal group, model group and matrine group, with 10 mice in each group. Model group and matrine group were given antigen emulsion containing inactivated *Mycobacterium tuberculosis* and MOG35-55 to induce EAE model. Matrine group was injected with Matrine injection (50 mg/kg) intraperitoneally since the 7th day after immunization; normal group and model group were given constant volume of normal saline intraperitoneally, once a day, since 18th day after immunization. The neurofunctional score of mice was recorded, and hematoxylin and eosin staining and Luxol fast blue staining were used to observe inflammatory cell infiltration and demyelination in spinal cord tissue. The quantitative reverse transcription PCR and Western blot assay were performed to determine the mRNA expressions of transferrin receptor 1 (TFR1), nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4) and hephaestin (Heph), and the protein expressions of system Xc^- (xCT) and glutathione peroxidase 4 (GPx4). **RESULTS** Compared with normal group, accumulative neurofunctional score was significantly increased in model group ($P<0.01$); inflammatory cell infiltration and demyelination were obvious in spinal cord tissue, and related scores were increased significantly ($P<0.01$). The mRNA expressions of TFR1 and NCOA4 in myelin tissue were up-regulated significantly, while the mRNA expression of Heph and the protein expressions of xCT and GPx4 were down-regulated significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, above indexes of matrine group were all improved significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** Matrine can improve EAE mice, the mechanism of which may be associated with regulating iron metabolism pathway and xCT/GPx4 pathway in ferroptosis.

KEYWORDS　matrine; experimental autoimmune encephalomyelitis; iron metabolism; xCT/GPx4 pathway; mice

多发性硬化症（multiple sclerosis，MS）是一种以中枢神经系统（central nervous system，CNS）脱髓鞘病变为主要特点的自身免疫性神经退行性疾病。铁死亡是一种区别于凋亡、坏死、自噬的铁依赖性细胞程序性死亡方式，其实质是铁依赖性脂质活性氧堆积，使得细胞内氧化还原失衡，从而导致细胞死亡[1]。已有研究发现，铁死亡能够介导MS少突胶质细胞脱髓鞘，其中铁代谢紊

Δ**基金项目**　国家自然科学基金资助项目（No.31870334）；河南省医学科技攻关计划项目（No.SBGJ202102087）；河南省重点研发与推广专项（科技攻关）项目（No.222102310346）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：临床药学、药理学。E-mail：lxy2936@163.com

＃**通信作者**　主任药师，硕士生导师，博士。研究方向：中枢神经系统疾病与免疫药理。E-mail：zhulin66zhulin@163.com

乱和胱氨酸-谷氨酸反向转运体（system Xc^-，xCT）/谷胱甘肽过氧化物酶4（glutathione peroxidase 4，GPx4）通路失调是引起铁死亡的关键因素[2]。正常生理状态下，摄取铁离子的转铁蛋白受体1（transferrin receptor 1，TFR1）、介导铁自噬的核受体共激活因子4（nuclear receptor coactivator 4，NCOA4）和促进铁离子外排的膜铁转运辅助蛋白（hephaestin，Heph）共同维持了少突胶质细胞的铁稳态；而当MS发生时，铁稳态失衡导致铁蓄积，使得脂质活性氧大量产生，从而造成细胞铁死亡，最终诱导轴突脱髓鞘[3]。有研究指出，xCT和GPx4协同作用，将细胞外的胱氨酸转运至细胞内以合成抗氧剂谷胱甘肽（glutathione，GSH），后者可清除脂质过氧化物，抑制铁死亡[4]。最近有研究发现，在MS患者大脑和实验性自身免疫性脑脊髓炎（experimental autoimmune encephalomyelitis，EAE）模型（该模型与MS的病理特征非常相似，是经典的动物模型）小鼠脊髓神经元中，GPx4 mRNA和蛋白的表达量均有所下降[5]。

苦参素是从豆科植物苦参和苦豆子中提取出来的一种喹嗪啶类生物碱，具有抗氧化、抗炎、免疫调节等作用。考虑到铁依赖性的脂质过氧化反应可能是导致少突胶质细胞髓鞘脱失的原因[2]，本课题组前期研究发现，苦参素对少突胶质细胞具有保护作用，能促进其髓鞘再生，并可降低EAE小鼠CNS中的谷氨酸浓度，解除高浓度谷氨酸对xCT的抑制作用[5-7]。基于此，本研究拟进一步探讨苦参素能否通过维持铁稳态和调控xCT/GPx4通路来发挥对EAE小鼠的改善作用，旨在为MS的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有CMaxPlus型酶标仪（美国Molecular Devices公司），ND-ONE-型超微量分光光度计、QuantStudio 5™型荧光定量聚合酶链反应（PCR）仪（美国Thermo Fisher Scientific公司），Amersham Imager 600型超灵敏多功能成像系统（美国GE公司），BX53型荧光显微镜（日本Olympus公司），Eclipse C1型正置显微镜（日本Nikon公司）等。

1.2 主要药品与试剂

苦参素注射液（批号1902012A1，规格2 mL∶0.2 g）购自郑州卓峰制药有限公司；完全弗氏佐剂（批号F5881）购自美国Sigma公司；髓鞘少突胶质细胞糖蛋白片段MOG35-55（纯度98.19%）由南京金斯瑞生物科技有限公司合成；灭活结核分枝杆菌（批号231141）购自美国BD公司；百日咳毒素（批号LIST181）购自美国LTST Labs公司；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、勒克斯光蓝（Luxol fast blue，LFB）髓鞘染色液（批号分别为G1120、G3240）均购自北京索莱宝科技有限公司；逆转录试剂盒（批号RR047A）购自日本Takara公司；SYBR荧光定量PCR试剂盒（批号11202ES08）购自翌圣生物科技（上海）股份有限公司；超敏ECL发光试剂盒（批号WBKLS0100）购自美国Millipore公司；BCA蛋白定量试剂盒（批号PA101-01）购自北京博迈德基因技术有限公司；兔源xCT抗体（批号ab175186）购自英国Abcam公司；鼠源GPx4单克隆抗体、鼠源β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体（批号分别为67763-1-Ig、66009-1-Ig）均购自武汉三鹰生物技术有限公司；生物素标记的羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）二抗、生物素标记的羊抗小鼠IgG二抗（批号分别为GB23303、GB23301）均购自武汉塞维尔生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF级雌性C57BL/6小鼠，8～10周龄，体质量（20±2）g，购自郑州大学实验动物中心，动物生产许可证号为SCXK（豫）2020-0008。所有小鼠均饲养于郑州大学实验动物中心SPF级动物房内。动物实验程序经郑州大学实验动物管理和使用委员会审查批准，批准号为2019-KY-142。

2 方法

2.1 小鼠分组、造模与给药

将30只雌性C57BL/6小鼠随机分为正常组、模型组、苦参素组，每组10只。将灭活结核分枝杆菌100 mg置于完全弗氏佐剂10 mL中，待完全溶解后用等体积的2 mg/mL MOG35-55溶液吹打，制成油包水抗原乳剂。除正常组外，其余各组小鼠均于3个不同部位皮下注射上述油包水抗原乳剂200 μL进行免疫，并在免疫当天和第2天腹腔注射百日咳毒素200 ng，以复制EAE模型（若实验期间小鼠神经功能学评分≥1分即为模型复制成功[6]）。苦参素组小鼠从免疫后第7天开始腹腔注射苦参素注射液50 mg/kg[7]，每天1次至免疫后第18天；正常组和模型组小鼠腹腔注射等体积生理盐水，每天1次至免疫后第18天。

2.2 小鼠神经功能学评分

实验期间（免疫当天至免疫后第18天），每天由2名实验人员按照双盲原则以5分评分法对小鼠进行神经功能学评分，具体标准如下：尾部无力，记1分；后肢无力，记2分；后肢瘫痪，记3分；四肢瘫痪，记4分；濒死或死亡，记5分[8]。记录各组小鼠的累计神经功能学评分（即各组小鼠单日神经功能学评分的总和）。

2.3 取材

末次给药后，对各组小鼠实施安乐死并灌注生理盐水，迅速分离脊髓。取腰椎膨大处脊髓组织，用4%多聚甲醛溶液固定48 h，常规石蜡包埋后切片（厚度5 μm），用于组织学评估；剩余脊髓组织剥除脊膜，放入冻存管中经液氮速冻后置于－80 ℃冰箱中保存，用于相关指标检测。

2.4 小鼠脊髓组织形态学观察

取“2.3”项下固定的脊髓组织，采用HE染色法观察炎症细胞浸润情况，并按如下标准进行评分：未见炎症细胞，记0分；发现少量散在炎症细胞，记1分；发现大量炎症细胞聚集呈袖套样，记2分；大量血管袖带病变，记3分[6]。采用LFB染色法观察髓鞘脱失情况，并按如下标准进行评分：无髓鞘脱失，记0分；罕见脱髓鞘，记1分；少量脱髓鞘，记2分；大范围脱髓鞘，记3分[9]。每只小鼠取3个组织切片进行评分，取平均值。

2.5 小鼠脊髓组织中铁死亡生物标志物mRNA表达水平检测

采用定量逆转录聚合酶链反应（qRT-PCR）法进行检测。取“2.3”项下冻存的脊髓组织适量，加入Trizol试剂1 mL，充分研匀后提取总RNA并测定其浓度。取总RNA 1 μg，逆转录合成cDNA，然后以此cDNA为模板进行PCR扩增。反应体系（20 μL）包括：cDNA模板2 μL，10 μmol/L上、下游引物各0.5 μL，SYBR Green试剂10 μL，超纯水7 μL。反应条件如下：95 ℃预变性2 min；95 ℃变性6 s，60 ℃退火/延伸34 s，共循环45次。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）为内参，以正常组为标准，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算TFR1、NCOA4、Heph mRNA的相对表达量。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司设计并合成，引物序列及扩增产物长度见表1。

表1 引物序列及扩增产物长度

目标基因	引物序列（5′→3′）	扩增产物长度/bp
GAPDH	上游：GGTTGTCTCCTGCGACTTCA	100
	下游：TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC	
TFR1	上游：TAGGCCGCGGGTTCGAG	118
	下游：TGCTACAAGGGAGTACCCCGA	
NCOA4	上游：AACACTGCCGACTGGGTTTT	105
	下游：AGCTGCATACAGGCAAAGAGA	
Heph	上游：GCTGAGGGTCCTAAGGAATGGATA	103
	下游：GCCCACAGTACTTTGAGAAACAGG	

2.6 小鼠脊髓组织中xCT、GPx4蛋白表达水平检测

采用Western blot法进行检测。取“2.3”项下冻存的脊髓组织适量，加入RIPA裂解液250 μL，研磨，于4 ℃下以13 000 r/min离心5 min，重复3次，取上清液，采用BCA法测定蛋白浓度。蛋白经适量蛋白上样缓冲液稀释后，于金属浴中煮沸10 min变性；取变性蛋白适量，进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜，以5%脱脂奶粉封闭1.5 h，加入xCT、GPx4、β-actin一抗（稀释度分别为1∶5 000、1∶5 000、1∶10 000），于4 ℃孵育过夜；用TBST洗涤7 min×3次，加入相应二抗（稀释度均为1∶5 000），室温孵育1 h；用ECL发光液显影曝光，再使用凝胶成像系统成像。采用Image J软件分析蛋白条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白（β-actin）条带灰度值的比值表示目的蛋白的表达水平。

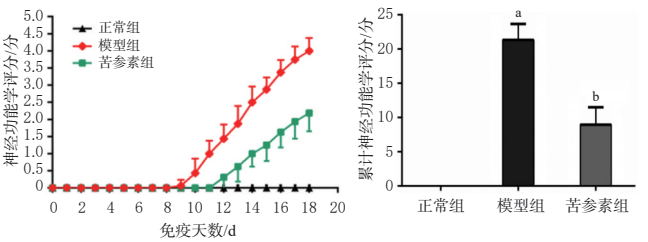
2.7 统计学方法

使用GraphPad Prism 9.0软件进行数据分析并作图。数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 苦参素对小鼠神经功能学评分的影响

与正常组比较，模型组小鼠实验期间的单日神经功能学评分呈上升趋势，其累计神经功能学评分显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，苦参素组小鼠的单日神经功能学评分均有所降低，其累计神经功能学评分显著降低（$P<0.01$）。结果见图1。



A. 神经功能学评分　　B. 累计神经功能学评分

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$

图1 各组小鼠神经功能学评分比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

3.2 苦参素对小鼠脊髓组织形态学的影响

正常组小鼠的脊髓组织无炎症细胞浸润，髓鞘完整；模型组小鼠的脊髓组织可见大量炎症细胞浸润和髓鞘脱失现象，炎症细胞浸润和髓鞘脱失评分均较正常组显著升高（$P<0.01$）；苦参素组小鼠脊髓组织的上述症状均明显改善，炎症细胞浸润和髓鞘脱失评分均较模型组显著降低（$P<0.01$）。结果见表2、图2。

表2 各组小鼠脊髓组织形态学相关评分比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	平均炎症细胞浸润评分/分	平均髓鞘脱失评分/分
正常组	0	0
模型组	3.31 ± 0.46^{a}	3.44 ± 0.50^{a}
苦参素组	1.25 ± 0.38^{b}	1.28 ± 0.37^{b}

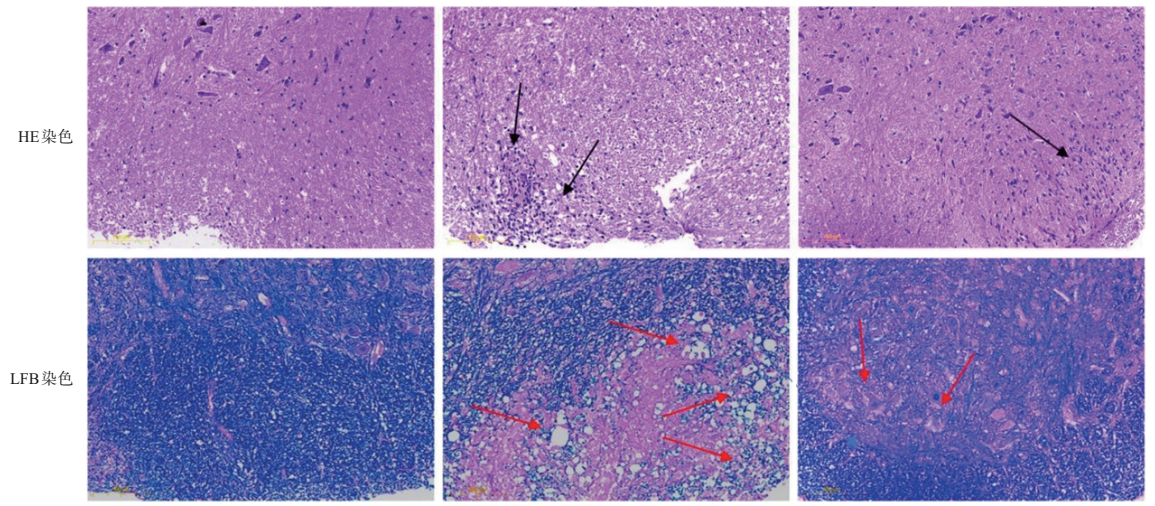
a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$

3.3 苦参素对小鼠脊髓组织中铁死亡标志物mRNA表达的影响

与正常组比较，模型组小鼠脊髓组织中TFR1、NCOA4 mRNA的相对表达量均显著升高，Heph mRNA的相对表达量显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型组比较，苦参素组小鼠脊髓组织中TFR1、NCOA4 mRNA的相对表达量均显著降低，Heph mRNA的相对表达量显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见表3。

3.4 苦参素对小鼠脊髓组织中xCT、GPx4蛋白表达的影响

与正常组比较，模型组小鼠脊髓组织中xCT、GPx4蛋白的表达水平均显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，苦参素组小鼠脊髓组织中上述蛋白的表达水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见图3、表4。



黑色箭头：炎症细胞浸润；红色箭头：髓鞘脱失

图2　各组小鼠脊髓组织HE和LFB染色显微图（×200）

表3　各组小鼠脊髓组织中TFR1、NCOA4、Heph mRNA相对表达量比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	TFR1 mRNA	NCOA4 mRNA	Heph mRNA
正常组	1.00±0.08	1.01±0.13	1.00±0.06
模型组	2.18±0.05[a]	2.18±0.15[b]	0.35±0.05[a]
苦参素组	1.14±0.08[c]	1.52±0.09[d]	0.81±0.07[d]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与正常组比较，$P<0.05$；c：与模型组比较，$P<0.01$；d：与模型组比较，$P<0.05$

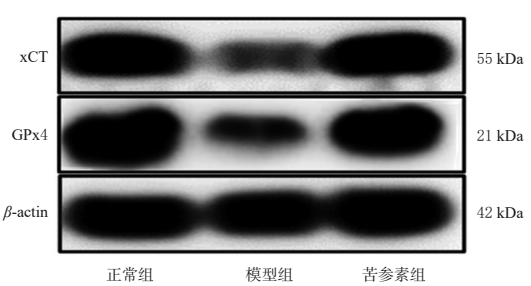


图3　各组小鼠脊髓组织中xCT、GPx4蛋白表达的电泳图

表4　各组小鼠脊髓组织中xCT、GPx4蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	xCT	GPx4
正常组	1.12±0.15	0.96±0.08
模型组	0.57±0.07[a]	0.36±0.09[a]
苦参素组	0.94±0.03[b]	0.81±0.16[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

4　讨论

EAE的病理机制主要是免疫细胞异常激活后释放的炎症因子穿过血脑屏障进入CNS，诱发炎症级联反应，进而导致弥散性髓鞘脱失和轴索损伤[10]。以往关于苦参素作用于EAE的相关研究主要集中在免疫细胞异常激活引起的炎症反应、血脑屏障的完整性和髓鞘再生等方面[5-7]。由于EAE的发病过程复杂，虽然既往研究能够说明苦参素具有促进受损轴突修复和髓鞘再生的作用，但关于引起髓鞘受损的具体机制尚不清楚。本课题组在已有文献的基础上，从MS的典型病理特征髓鞘脱失出发，以铁依赖性的脂质过氧化为立足点，结合苦参素促髓鞘再生的作用，推测该成分可能通过抑制铁死亡来发挥对EAE小鼠的改善作用。

铁死亡最显著的特征为铁依赖性脂质过氧化物堆积，主要由铁代谢途径、xCT/GPx4通路异常所致，同时也受其他通路的共同调控[4]。铁代谢主要包括铁摄取、铁储存、铁外排、铁自噬。其中，摄入铁的TFR1是铁死亡所必需的因子，其可将Fe^{3+}转运至细胞核内体中；Fe^{3+}在核内体中可被进一步还原成Fe^{2+}，过量的Fe^{2+}从核内体释放到胞质内的不稳定铁池中，通过Fenton反应产生高反应性羟基自由基，最终催化生成脂质过氧化物[11]。在多种CNS疾病中，TFR1的异常升高会破坏铁稳态，导致脂质活性氧的堆积而引起神经元损伤[12]。铁自噬是由NCOA4介导将细胞内铁蛋白转运到自噬溶酶体中降解并释放出游离铁以供机体使用的过程，在多种CNS疾病中，NCOA4的过度激活可增加铁蛋白的降解并促进铁死亡[13]。Heph是一种亚铁氧化物酶，在促进铁外流、维持神经元铁稳态的过程中发挥重要作用，该类酶及其活性的缺失会影响铁外流并导致少突胶质细胞铁蓄积[14]。本研究结果显示，与正常组比较，模型组小鼠脊髓组织中TFR1、NCOA4 mRNA的相对表达量均显著升高，Heph mRNA的相对表达量显著降低，表明EAE小鼠体内存在由铁代谢紊乱引起的铁死亡现象；而给予苦参素后，上述指标均明显逆转，提示苦参素对EAE小鼠的改善作用可能与该成分对铁代谢途径的调节有关。

铁死亡的另一个重要特征是缺乏足够水平的抗氧化剂GSH，以致不能及时清除有毒的脂质过氧化物[4]。GSH的合成途径包含2个关键分子，即xCT和GPx4。其中，xCT是一种氨基酸反转运蛋白，可介导细胞外的

胱氨酸和细胞内的谷氨酸穿过细胞质膜进行交换，随后胱氨酸通过一系列的酶促反应迅速还原为半胱氨酸，用于合成抗氧化剂GSH[15－16]。GPx4是细胞内的一种含硒抗氧化酶，其以GSH为底物，可特异性地将生物膜中的过氧化磷脂还原为相应的醇类，对下调有毒脂质氢过氧化物的含量至关重要；此外，GPx4在神经元铁死亡中起关键作用，其缺失会导致铁死亡[17]。有研究指出，上调xCT、GPx4的表达能减轻脂质过氧化反应；相反，xCT阻断剂可有效抑制胱氨酸摄取，导致细胞缺乏抗氧化防御并引发铁死亡[18－19]。可见，xCT与GPx4协同作用，可通过维持抗氧化剂GSH的有效水平而减少细胞内的脂质过氧化。本研究结果显示，与正常组比较，模型组小鼠脊髓组织中xCT、GPx4蛋白的表达水平均显著降低，提示模型组小鼠体内存在抗氧化剂不足而致铁死亡的现象；而给予苦参素后，小鼠脊髓组织中上述蛋白的表达水平均显著升高，表明苦参素对EAE小鼠的保护作用可能与通过干预xCT/GPx4通路来提高机体抗氧化水平有关。

综上所述，苦参素对EAE小鼠的改善作用可能与调节铁死亡中的铁代谢途径和xCT/GPx4通路有关，以铁死亡为靶点的药物研发可能成为MS相关研究的新方向。

参考文献

[1] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-282.

[2] JHELUM P, SANTOS-NOGUEIRA E, TEO W, et al. Ferroptosis mediates cuprizone-induced loss of oligodendrocytes and demyelination[J]. J Neurosci, 2020, 40(48): 9327-9341.

[3] DAVID S, JHELUM P, RYAN F, et al. Dysregulation of iron homeostasis in the central nervous system and the role of ferroptosis in neurodegenerative disorders[J]. Antioxid Redox Signal, 2022, 37(1/2/3): 150-170.

[4] LI J, CAO F, YIN H L, et al. Ferroptosis: past, present and future[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 88.

[5] HU C L, NYDES M, SHANLEY K L, et al. Reduced expression of the ferroptosis inhibitor glutathione peroxidase-4 in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neurochem, 2019, 148(3): 426-439.

[6] DOU M M, ZHOU X L, LI L F, et al. Illumination of molecular pathways in multiple sclerosis lesions and the immune mechanism of matrine treatment in EAE, a mouse model of MS[J]. Front Immunol, 2021, 12: 640778.

[7] MA R, CHU Y J, DOU M M, et al. Matrine inhibits the Wnt3a/β-catenin/TCF7L2 signaling pathway in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neuroimmunol, 2022, 367: 577876.

[8] CHU Y J, MA W D, THOME R, et al. Matrine inhibits CNS autoimmunity through an IFN-β-dependent mechanism[J]. Front Immunol, 2020, 11: 569530.

[9] CHU Y J, JING Y L, ZHAO X Y, et al. Modulation of the HMGB1/TLR4/NF-κB signaling pathway in the CNS by matrine in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. J Neuroimmunol, 2021, 352: 577480.

[10] 赵培源，陈少昀，刘喜红，等. 多发性硬化实验动物模型的研究与应用进展[J]. 中国实验动物学报，2020，28(3)：405-409.

[11] PARK E, CHUNG S W. ROS-mediated autophagy increases intracellular iron levels and ferroptosis by ferritin and transferrin receptor regulation[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(11): 822.

[12] FILLEBEEN C, CHARLEBOIS E, WAGNER J, et al. Transferrin receptor 1 controls systemic iron homeostasis by fine-tuning hepcidin expression to hepatocellular iron load[J]. Blood, 2019, 133(4): 344-355.

[13] 米海潮，史敏，崔芳. 铁自噬与铁死亡及其相关疾病[J]. 中国生物化学与分子生物学报，2022，38(9)：1133-1140.

[14] JI C Y, STEIMLE B L, BAILEY D K, et al. The ferroxidase hephaestin but not amyloid precursor protein is required for ferroportin-supported iron efflux in primary hippocampal neurons[J]. Cell Mol Neurobiol, 2018, 38(4): 941-954.

[15] 张亮，廖勇群，夏秦川，等. 铁死亡调控信号通路以及在相关疾病中的研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学，2022，27(2)：227-234.

[16] 唐珍，王含彦，郭冬梅. 胱氨酸/谷氨酸反向转运体的研究进展[J]. 川北医学院学报，2021，36(11)：1536-1540.

[17] 张新月，刘晨萌，马瑜徽，等. TXNIP/Trx-1/GPX4通路促进新生大鼠缺氧缺血后海马神经元铁死亡的作用机制[J]. 中国当代儿科杂志，2022，24(9)：1053-1060.

[18] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease[J]. Cell, 2017, 171(2): 273-285.

[19] SONG X X, ZHU S, CHEN P, et al. AMPK-mediated BECN1 phosphorylation promotes ferroptosis by directly blocking system x_c^- activity[J]. Curr Biol, 2018, 28(15): 2388-2399.e5.

（收稿日期：2022-09-20　修回日期：2023-03-24）

（编辑：张元媛）