

## 去铁酮对脑缺血再灌注大鼠海马区 铁跨膜转运蛋白表达的影响

廖君, 黄娟, 石咏梅, 余清平, 吴万丰, 王国佐, 葛金文

(湖南中医药大学中西医结合心脑血管防治湖南省重点实验室, 湖南省长沙市 410208)

[关键词] 去铁酮; 脑缺血再灌注; 铁跨膜转运蛋白; 铁代谢失衡

[摘要] **目的** 研究大鼠脑缺血再灌注后去铁酮(DFP)对铁跨膜转运蛋白包括铁跨膜转入蛋白和铁跨膜转出蛋白表达的影响。**方法** 将 48 只大鼠随机分为假手术组、脑缺血再灌注组(I/R 组)和去铁酮(DFP)+脑缺血再灌注组(DFP+I/R 组)。各组大鼠术前 1 h 预处理灌胃, 再行大脑中动脉线栓法脑缺血再灌注模型制备术, 术后连续灌胃给药 2 天。术后 72 h 采用 Longa 神经行为学评分标准记录大鼠活动; 普鲁士蓝染色检测海马区铁聚集情况; Western blot 检测各组大鼠海马组织铁跨膜转运蛋白的表达, 包括铁跨膜转入蛋白: 转铁蛋白受体(TFR)和二价金属离子转运体 1(DMT1); 铁跨膜转出蛋白: 膜铁转运蛋白(Fpn)、膜铁转运辅助蛋白(Heph)、人类猫白血病毒 C 亚类病毒受体(FLVCR)和乳腺癌抵抗蛋白(BCRP)。**结果** 与 I/R 组比较, DFP+I/R 组神经行为学评分显著下降( $P < 0.01$ ), 神经元内铁聚集颗粒明显减少, TFR 和 DMT1 蛋白表达明显减少( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), Heph、FLVCR 和 BCRP 蛋白表达明显增加( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论** 去铁酮可以下调铁跨膜转入蛋白 TFR 和 DMT1 的表达, 上调铁跨膜转出蛋白 Heph、FLVCR 和 BCRP 的表达, 促进血红素铁和非血红素铁外排, 降低脑铁沉积, 从而减轻脑缺血再灌注后神经损伤, 改善疾病预后。

[中图分类号] R363.1

[文献标识码] A

### Effect of deferiprone on expression of iron transmembrane transport protein in hippocampus of cerebral ischemia-reperfusion rats

LIAO Jun, HUANG Juan, SHI Yong-Mei, YU Qing-Ping, WU Wan-Feng, WANG Guo-Zuo, GE Jin-Wen

(Key Laboratory of Hunan Province for Integrated Traditional Chinese and Western Medicine on Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral Diseases, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[KEY WORDS] Deferiprone; Cerebral ischemia-reperfusion; Iron transmembrane transport protein; Iron metabolism imbalance

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of deferiprone (DFP) on expressions of iron transmembrane transport proteins concluding iron influx and efflux system in the hippocampus of cerebral ischemia-reperfusion rats. **Methods** The rats ( $n=48$ ) were randomly divided into sham operation group, cerebral ischemia-reperfusion group (I/R group) and DFP+I/R group. All rats were pretreated by intragastric administration (ig) 1 h before the middle cerebral artery occlusion method for preparing cerebral ischemia-reperfusion model. After the operation, continuous ig administration was performed for days. After cerebral ischemia-reperfusion for 72 hours, the behavioral activity of rat was recorded by Longa's neurobehavioral score standard. Iron accumulation in the hippocampus was measured by DAB-intensified Perl's histochemical staining. Western blot was used to detect the expressions of iron transmembrane transport protein in hippocampus of rats in each group, including iron importin: transferrin receptor (TFR) and divalent metal ion transporter 1 (DMT1), iron exportin: ferroportin (Fpn), hephaestin (Heph), feline leukemia virus subgroup C receptor (FLVCR) and breast cancer

[收稿日期] 2017-10-23

[修回日期] 2018-02-11

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81774174 和 81774033); 国家自然科学基金青年项目(81303078); 湖南省科技厅重点项目(2014SK2007); 湖南省教育厅优秀博士学位论文获得者科研项目(YB2016B030); 湖南省研究生科研创新项目(CX2015B331)

[作者简介] 廖君, 博士, 副教授, 研究方向为心脑血管疾病的中西医结合防治, E-mail 为 84085006@qq.com。通讯作者葛金文, 博士, 教授, 研究方向为心脑血管疾病的中西医结合防治, E-mail 为 40831556@qq.com。

resistance protein (BCRP). **Results** Compared with I/R group, the Longa's neurobehavioral score was significantly decreased ( $P<0.01$ ), the number of aggregated iron particles was reduced, the protein expressions of TFR and DMT1 were significantly decreased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), and the protein expressions of Heph, FLCVR and BCRP were up-regulated ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), in the DFP+I/R group. **Conclusions** Deferiprone can reduce the expressions of iron importin TFR and DMT1, increase the expressions of iron exportin Heph, FLVCR and BCRP, promote the efflux of heme iron and non-heme iron and reduce brain iron deposition. Thus it can decrease nerve damage after cerebral ischemia-reperfusion and improve the disease prognosis.

缺血性脑卒中死亡率和致残率高,有效的溶栓再灌注治疗可修复损伤,恢复神经功能,而有时缺血后再灌注,会加重组织、器官的损伤,即脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)。CIRI 严重危害人类健康,其机制复杂,如氧自由基、炎性损伤、细胞凋亡等<sup>[1-2]</sup>。铁离子与中枢神经内氧运输、氧化磷酸化、髓鞘生成及神经递质的合成密切相关,前期研究中,我们提出铁代谢紊乱是脑缺血损伤的机制之一<sup>[3]</sup>。脑缺血再灌注后发生了铁沉积,游离铁过多可以促发脑缺血后氧化应激损伤<sup>[4]</sup>。铁螯合疗法是目前用于降低输血后铁过载的有效方法,去铁酮(deferiprone, DFP)是临床上常用的一种铁螯合剂<sup>[5]</sup>。本研究拟探讨铁超载作为 CIRI 的新机制及去铁酮通过干预铁跨膜转运蛋白调节脑缺血再灌注后铁代谢的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物

Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠 48 只,体重 250~280 g, SPF 级,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2013-0004,适应性饲养 7 天,湿度为 45%~65%,温度为 25℃,让大鼠自由饮水、进食。

### 1.2 主要仪器与试剂

石蜡切片机(Reichert Histo STAT 公司);光学显微镜(Olympus 公司);凝胶成像分析系统、电泳槽(BIO-RAD 公司)。转铁蛋白受体(transferrin receptor, TFR)多克隆抗体(批号 10084-2-AP, Proteintech 公司);抗膜铁转运蛋白(ferroportin, Fpn)多克隆抗体(批号 ab85370, Abcam 公司);抗膜铁转运辅助蛋白(hephaestin, Heph)多克隆抗体(批号 SC-49969S)、抗猫白血病 C 亚类病毒受体(feline leukemia virus subgroup C receptor, FLVCR)多克隆抗体(批号 SC-390100)(Santa Cruz 公司);抗二价金属离子转运体 1(divalent metal ion transporter 1, DMT1)多克隆抗体(批号 bs-3577R, 北京博奥森公

司);抗乳腺癌抵抗蛋白(breast cancer resistance protein, BCRP)多克隆抗体(批号 BA3746, 博士德公司);亚铁氰化钾(分析纯, 国药集团);去铁酮(加拿大奥贝泰制药有限公司)。线栓(2636 A4, 北京西浓公司)。

### 1.3 实验分组及给药方法

将 48 只大鼠随机分为 3 组:(1)假手术组(Sham 组):0.9%氯化钠溶液灌胃;(2)模型组,或脑缺血再灌注组(I/R 组):0.9%氯化钠溶液灌胃;(3)去铁酮+脑缺血再灌注组(DFP+I/R 组):125 mg/kg DFP 灌胃。每组 16 只。药物剂量按参考文献<sup>[6]</sup>计算,每只大鼠于术前 1 h 灌胃 1 次,术后连续灌胃 2 天,1 次/天,术后第 3 天处死,取材。

### 1.4 动物造模

改良线栓法复制大鼠大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型<sup>[7]</sup>。用 10%水合氯醛(3.5 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,线栓从右侧颈总动脉经颈内动脉插入大脑中动脉起始部,从颈总动脉分叉处开始算距离,插入深度在 18 mm 左右,阻塞大脑中动脉 2 h 后拔出线栓;假手术组仅分离血管,不插入线栓。用神经行为学评分法评价模型是否成功。

### 1.5 神经行为学评分

缺血再灌注后 72 h 进行评分,采用 Longa 等<sup>[8]</sup>制定的 5 级 4 分制评分标准。

### 1.6 普鲁士蓝染色

将大鼠于术后第 3 天断头取材,取脑组织,放入 4%多聚甲醛固定 3 天后,进行石蜡包埋;石蜡切片常规脱水后放入 PBS 中冲洗 5 min,然后放入新鲜配制的 7%亚铁氰化钾溶液(含 3% HCl)中 30 min, PBS 冲洗 5 min×3 次,再放入含 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的甲醇溶液 20 min, PBS 冲洗 5 min×3 次, DAB 加强显色,用自来水终止显色后,酒精梯度脱水,二甲苯透明,苏木素复染,自来水冲洗,中性树胶封片;高倍镜下观察海马区,含棕黄色颗粒的为阳性细胞。

### 1.7 Western blot 检测

大鼠海马组织中 TFR、Fpn、Heph、DMT1、

FLVCR 和 BCRP 蛋白的表达采用 Western blot 法检测。大鼠麻醉后断头,于冰盒中迅速取出右侧海马,参照说明书,提取蛋白且测定含量;将加热变性的蛋白进行 SDS-PAGE 电泳分离,转膜,封闭液封闭 1 h;分别加兔抗大鼠 TFR 抗体(1:500)、兔抗大鼠 Fpn 抗体(1:500)、羊抗大鼠 Heph 抗体(1:200)、兔抗大鼠 DMT1 抗体(1:200)、兔抗大鼠 FLVCR 抗体(1:200)、兔抗大鼠 BCRP 抗体(1:200)和小鼠抗大鼠  $\beta$ -actin 抗体(1:1000)溶液,混合,4℃摇床过夜;TBST 洗膜 3 次,再分别加羊抗兔二抗(1:2000)、驴抗山羊二抗(1:3000)和羊抗小鼠二抗(1:2000),37℃孵育 1 h;TBST 洗膜 3 次,TBS 洗膜 1 次,滴加 ECL 发光液;用凝胶成像系统扫描,用图像分析软件测定目的条带的累积光密度,目的条带与  $\beta$ -actin 条带的累积光密度比值作为目的蛋白相对表达量。

## 1.8 统计学处理

用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,其中神经行为学评分用均数表示,多组间比较用 Kruskal-Wallis H 检验,多组间比较有差异时,再用 Mann-Whitney U 检验。其余多组间比较用单因素方差分析,方差齐者用 LSD 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

## 2.1 去铁酮对脑缺血再灌注大鼠神经行为学评分的影响

脑缺血再灌注 72 h 后,假手术组神经行为学评分为 0 分,I/R 组神经行为学评分较假手术组显著升高( $P<0.01$ ),DFP+I/R 组神经行为学评分较 I/R 组明显降低( $P<0.01$ ;图 1)。

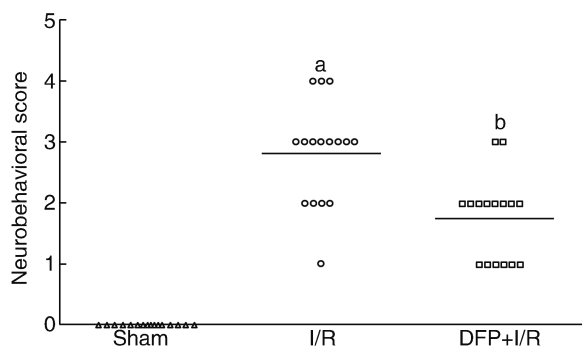


图 1. 去铁酮对 I/R 大鼠神经行为学评分的影响 ( $n=16$ )

a 为  $P<0.01$ ,与 Sham 组比较;b 为  $P<0.01$ ,与 I/R 组比较。

**Figure 1. Effect of DFP on neurobehavioral score of cerebral ischemia-reperfusion rats ( $n = 16$ )**

## 2.2 去铁酮对 I/R 大鼠海马 CA2 区细胞内铁聚集的影响

脑缺血再灌注 72 h 后,用 DAB 增强普鲁士蓝染色法检测大鼠海马 CA2 区铁含量,与假手术组比较,I/R 组海马 CA2 区含铁聚集颗粒细胞数明显增加,与 I/R 组比较,DFP+I/R 组含铁聚集颗粒细胞数减少(图 2)。

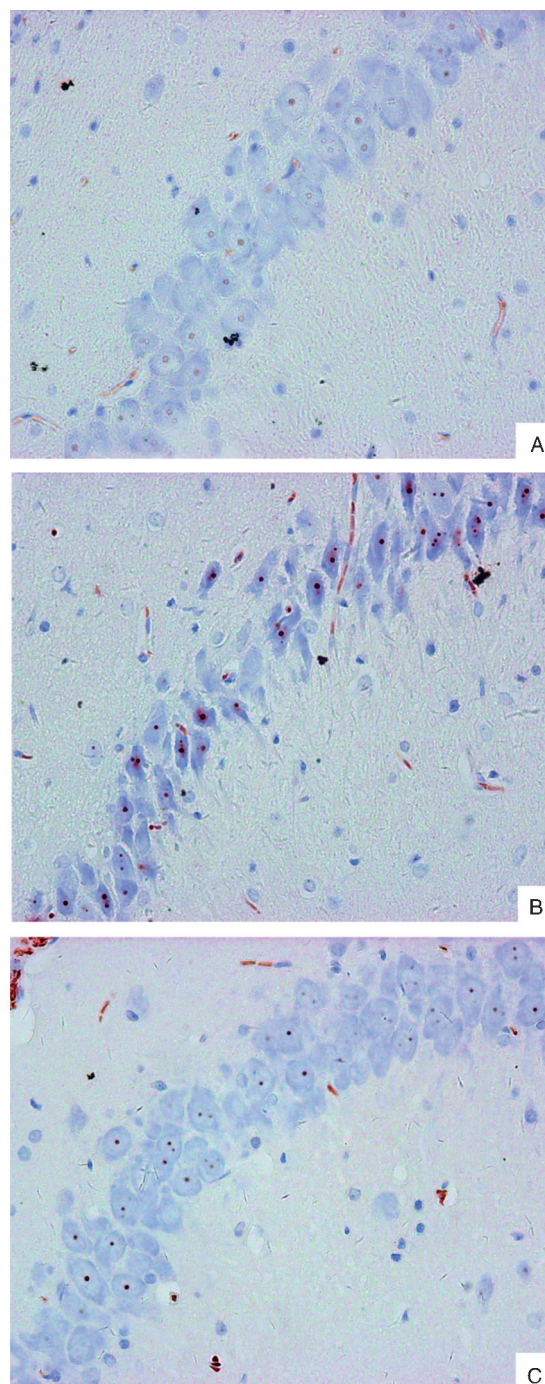


图 2. 去铁酮对 I/R 大鼠海马 CA2 区细胞内铁聚集的影响 (400×) A 为 Sham 组, B 为 I/R 组, C 为 DFP+I/R 组。

**Figure 2. Effect of DFP on intracellular iron accumulation in hippocampal CA2 area of cerebral ischemia-reperfusion rats ( 400×)**



### 2.3 去铁酮对 I/R 大鼠海马区转入蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示,与假手术组比较,脑缺血再灌注后 72 h(I/R 组)海马区 TFR 蛋白的表达增加( $P>0.05$ );与 I/R 组比较,DFP+I/R 组大鼠海马区 TFR 蛋白表达降低( $P<0.05$ )。与假手术组比较,I/R 组大鼠海马区 DMT1 蛋白表达增加( $P>0.05$ );与 I/R 组比较,DFP+I/R 组海马区 DMT1 蛋白表达显著降低( $P<0.01$ )(图 3、图 4)。

### 2.4 去铁酮对 I/R 大鼠海马区转出蛋白表达的影响

Western blot 法检测结果显示,与假手术组比较,脑缺血再灌注后 72 h(I/R 组)大鼠海马区 Heph 蛋白表达减少,但差异无统计学意义( $P>0.05$ );与 I/R 组比较,DFP+I/R 组大鼠海马区 Heph 蛋白显著增加( $P<0.01$ )。与假手术组比较,I/R 组大鼠海马区 Fpn 蛋白表达增加,与 I/R 组比较,DFP+I/R 组大鼠海马区 Fpn 蛋白表达减少,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。与假手术组比较,I/R 组大鼠海马区 FLVCR 蛋白表达减少,差异无统计学意义( $P>0.05$ );与 I/R 组比较,DFP+I/R 组大鼠海马区 FLVCR 蛋白表达显著增加( $P<0.05$ )。与假手术组比较,I/R 组大鼠海马区 BCRP 蛋白表达减少,差异无统计学意义( $P>0.05$ );与 I/R 组比较,DFP+I/R 组大鼠海马区 BCRP 蛋白显著增加( $P<0.05$ )(图 3、图 5)。

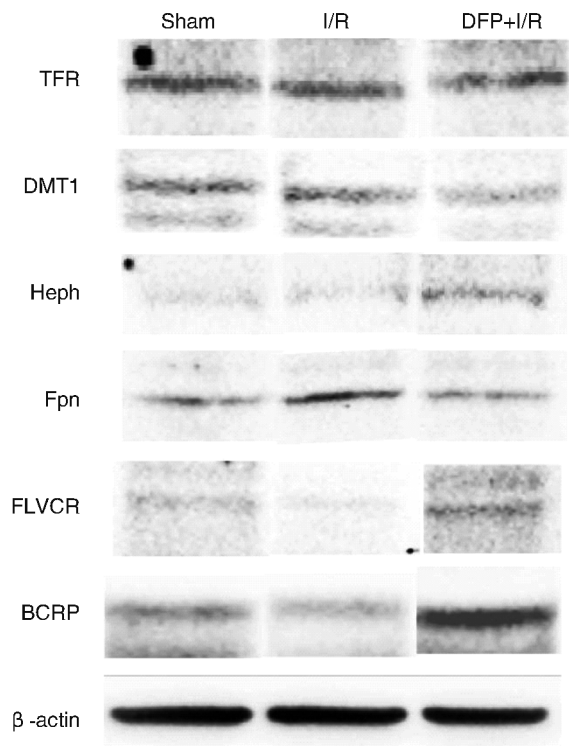


图 3. 去铁酮对 I/R 大鼠海马区铁跨膜转运蛋白的影响

Figure 3. Effect of DFP on iron transmembrane transport protein levels in hippocampal area of cerebral ischemia-reperfusion rats

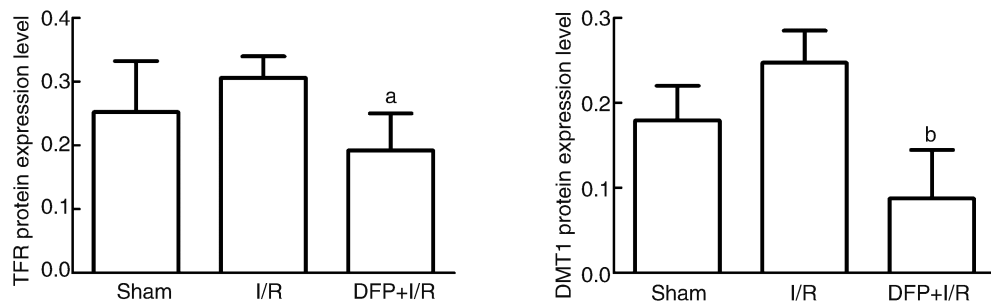


图 4. 去铁酮对 I/R 大鼠海马区铁跨膜转入蛋白表达的影响( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , b 为  $P<0.01$ , 与 I/R 组比较。

Figure 4. Effect of DFP on the expression of iron importin in hippocampal area of cerebral ischemia-reperfusion rats ( $n=5$ )

## 3 讨论

铁(Fe)是人体新陈代谢过程中必不可少的微量元素,是构成血红素和非血红素蛋白的辅助因子<sup>[9]</sup>。铁的细胞内外转运借助铁跨膜转运蛋白完成,包括非血红素铁转运蛋白:TFR、DMT1、Fpn 和 Heph<sup>[10-11]</sup>,及血红素铁转运蛋白:FLVCR、BCRP<sup>[12]</sup>。其中铁跨膜转入蛋白包括 TFR 和

DMT1,转出蛋白包括 Fpn、Heph、FLVCR 和 BCRP。脑铁代谢复杂,铁跨膜转运蛋白的表达与铁代谢密切相关。有研究表明血清  $Fe^{3+}$  通过 TF/TFR 内吞进入血脑屏障中毛细血管内皮细胞,酸化、离解,还原为  $Fe^{2+}$ ,再经 DMT1 转入内皮细胞质。如何通过基底膜进入脑内的分子机制尚不清楚,可能与基底膜上铁输出蛋白相关<sup>[13]</sup>。Heph 在皮质、纹状体、海马、黑质、脑干等部位均有表达<sup>[14]</sup>,Heph 具有亚铁

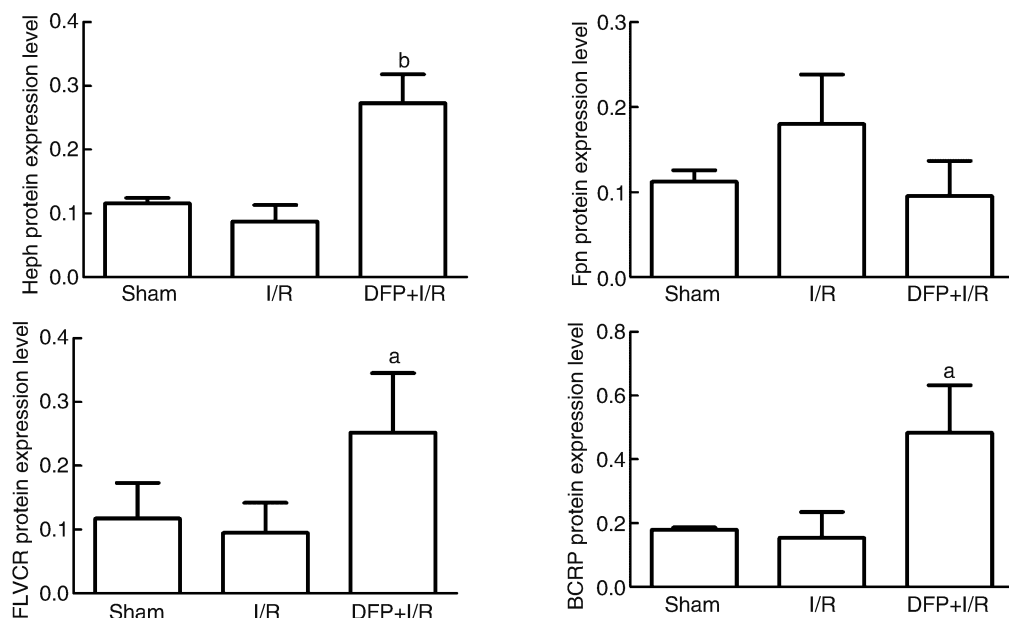


图 5. 去铁酮对 I/R 大鼠海马区铁跨膜转运蛋白表达的影响( $n=5$ ) a 为  $P<0.05$ , b 为  $P<0.01$ , 与 I/R 组比较。

Figure 5. Effect of DFP on the expression of iron exportin in hippocampal area of cerebral ischemia-reperfusion rats ( $n=5$ )

氧化酶活性,与 Fpn 共同调节铁释放<sup>[15]</sup>。Fpn 在铁细胞外排中发挥重要的作用,增加它的表达能减少神经元的缺氧损伤<sup>[16]</sup>。FLVCR 和 BCRP 作为血红素铁输出蛋白<sup>[17]</sup>,在缺氧状况下,FLVCR 能保护细胞和组织不受游离血红素的损伤<sup>[12]</sup>,BCRP 能代谢过量的卟啉和血红素,维持细胞内环境稳态<sup>[18]</sup>。脑铁超载可通过氧化损伤或是神经毒性等机理使神经损伤加重,造成细胞铁死亡<sup>[19]</sup>。研究发现脑缺血后 1~3 h 再灌注,出现的铁超载增加了神经元缺血损伤<sup>[20]</sup>。有研究者提出铁跨膜转运蛋白作为铁代谢状况的反应参数<sup>[21]</sup>,以及通过调节铁跨膜转运蛋白干预铁代谢,有利于治疗各种疾病中因铁超载导致的细胞损伤<sup>[22]</sup>。我们前期研究表明,铁跨膜转运蛋白在脑缺血后铁代谢调节中发挥重要的作用<sup>[23]</sup>。因此,药物干预如能靶向性调节铁跨膜转运蛋白,减少神经元内铁聚集,则能为脑缺血再灌注临床应用提供重要依据。

针对铁代谢失衡导致的组织损伤的治疗, Cao 等<sup>[24]</sup>报道紫杉醇可以通过诱导血红素加酶 1 的表达,减少缺血再灌注活性氧导致的细胞损伤。肌醇六磷酸可减少铁超载小鼠氧化应激和肝损伤<sup>[25]</sup>。本研究用药选择去铁酮,它作为铁离子螯合剂,临床中能有效治疗血液系统疾病<sup>[26]</sup>。已有实验证明去铁酮降低了铁超载小鼠体内的氧化应激、高血压及血管功能障碍<sup>[27]</sup>。去铁酮能降低脑出血后铁蛋白、转铁蛋白和 TFR<sup>[28]</sup>,能促进突触修复,改善神经

损伤和认知功能<sup>[29]</sup>。本研究中发现,脑缺血再灌注后大鼠海马区神经元中铁颗粒聚集,大鼠表现出明显的神经功能损伤体征。去铁酮治疗后, Western blot 结果显示铁跨膜转运蛋白 TFR 和 DMT1 表达减少,转出蛋白 Heph、BCRP 和 FLVCR 表达增加,神经元内铁颗粒聚集减少,神经行为学评分降低,神经功能损伤有所改善。由此我们推测,减少铁跨膜转运蛋白 TFR 和 DMT1 的表达,增加 Heph、BCRP 和 FLVCR 的表达,抑制神经元内铁聚集及促进铁外排,调节铁代谢,可能是去铁酮保护脑缺血再灌注后神经元的新机制。但去铁酮对何种蛋白的调节起主导作用及调节转入蛋白、转出蛋白的具体机制如何?是我们下一步研究的内容。

#### [参考文献]

- [1] Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, et al. Oxidative stress and antioxidant defense[J]. WAO Journal, 2012, 5(1): 9-19.
- [2] Bonaventura A, Liberale L, Vecchié A, et al. Update on inflammatory biomarkers and treatments in ischemic stroke [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12): 1 967.
- [3] Liao J, Xia X, Wang GZ, et al. Naotaiyang extract treatment results in increased ferroportin expression in the hippocampus of rats subjected to cerebral ischemia[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(6): 4 047-052.
- [4] Ding H, Yan CZ, Shi H, et al. Hephidin is involved in iron regulation in the ischemic brain[J]. PLoS One, 2011,

- 6(4): 471-488.
- [5] Mobarra N, Shanaki M, Ehteram H, et al. A review on iron chelators in treatment of iron overload syndromes[J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2016, 10(4): 239-247.
  - [6] 黄娟, 廖君, 彭熙炜, 等. 脑泰方对脑缺血/再灌注大鼠海马区 Nrf2、HO-1 和膜铁转运辅助蛋白表达的影响[J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(10): 1467-472.
  - [7] 龚哲, 张晓旋, 李红红, 等. 羟基红花黄素 A 对脑缺血再灌注后缺血半暗带自噬活性的调节作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(3): 449-454.
  - [8] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
  - [9] Salvador GA. Iron in neuronal function and dysfunction[J]. *Biofactors*, 2010, 36(2): 103-110.
  - [10] Hadzhieva M, Kirches E, Mawrin C. Review: Iron metabolism and the role of iron in neurodegenerative disorders[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2014, 40(3): 240-257.
  - [11] Rishi G, Wallace DF, Subramaniam VN. Hfeidin: Regulation of the master iron regulator[J]. *Biosci Rep*, 2015, 35(3): e00192.
  - [12] Khan AA, Quigley JG. Heme and FLVCR-related transporter families SLC48 and SLC49[J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(2-3): 669-682.
  - [13] Burkhart A, Skj rring T, Johnsen KB, et al. Expression of iron-related proteins at the neurovascular unit supports reduction and reoxidation of iron for transport through the blood-brain barrier[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(10): 7237-253.
  - [14] Jiang R, Hua C, Wan Y, et al. Hephaestin and ceruloplasmin play distinct but interrelated roles in iron homeostasis in mouse brain[J]. *J Nutr*, 2015, 145(5): 1003-009.
  - [15] De Domenico I, Ward DMV, di Patti MCB, et al. Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPI-ceruloplasmin[J]. *EMBO J*, 2007, 26(12): 2823-831.
  - [16] Du F, Fan M, Gong Q, et al. Effects of hypoxic preconditioning on the expression of iron influx and efflux proteins in primary neuron culture[J]. *Neurochem Int*, 2012, 60(4): 335-343.
  - [17] 廖君, 陈懿, 夏兴, 等. 大鼠脑缺血后海马 CA2 区 FLVCR 和 BCRP 的表达及益气活血法干预[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(11): 1091-096.
  - [18] Latundedada GO, Laftah AH, Masaratana P, et al. Expression of ABCG2 (BCRP) in mouse models with enhanced erythropoiesis[J]. *Front Pharmacol*, 2014, 5: 135.
  - [19] 康传杰, 张相彤, 马威. 细胞铁死亡发生与调控机制的研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(3): 567-571.
  - [20] Garc a-Y benes I, Sobrado M, Moraga A, et al. Iron overload, measured as serum ferritin, increases brain damage induced by focal ischemia and early reperfusion[J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(8): 1364-369.
  - [21] Mittal S, Agarwal P, Wakhlu A, et al. Anaemia in systemic lupus erythematosus based on iron studies and soluble transferrin receptor levels[J]. *J Clin Diagn Res*, 2016, 10(6): EC08-EC11.
  - [22] Enculescu M, Metzendorf C, Sparla R, et al. Modelling systemic iron regulation during dietary iron overload and acute inflammation: Role of hepcidin-independent mechanisms[J]. *PLoS Comput Biol*, 2017, 13(1): e1005322.
  - [23] 廖君, 杨梅, 石咏梅, 等. 益气活血中药脑泰方对脑缺血后海马 CA2 区铁跨膜转运蛋白表达的调节作用[J]. *世界中医药*, 2016, 11(4): 592-596.
  - [24] Cao H, Wang Y, Wang Q, et al. Taxol prevents myocardial ischemia-reperfusion injury by inducing JNK-mediated HO-1 expression[J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(3): 555-560.
  - [25] Bhowmik A, Ojha D, Goswami D, et al. Inositol hexaphosphoric acid (phytic acid), a nutraceuticals, attenuates iron-induced oxidative stress and alleviates liver injury in iron overloaded mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 87: 443-450.
  - [26] Bayanzay K, Alzoebe L. Reducing the iron burden and improving survival in transfusion-dependent thalassemia patients: current perspectives[J]. *J Blood Med*, 2016, 7(1): 159-169.
  - [27] Sangartit W, Pakdeechote P, Kukongviriyapan V, et al. Tetrahydrocurcumin in combination with deferiprone attenuates hypertension, vascular dysfunction, baroreflex dysfunction, and oxidative stress in iron-overloaded mice[J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 87: 199-208.
  - [28] 尹永锋, 王改青, 陈艳丽. 去铁酮对大鼠脑出血后三价铁转运体及神经功能的影响[J]. *中风与神经疾病*, 2014, 31(2): 130-132.
  - [29] Sripetchwandee J, Wongjaikam S, Krintratun W, et al. A combination of an iron chelator with an antioxidant effectively diminishes the dendritic loss, tau-hyperphosphorylation, amyloid-  accumulation and brain mitochondrial dynamic disruption in rats with chronic iron-overload[J]. *Neuroscience*, 2016, 332: 191-202.
- (此文编辑 曾学清)