

LPIN1/PPARA 通过抑制 SLC47A1 介导的神经元铁死亡缓解帕金森病模型大鼠病情进展的机制研究

曹明月¹, 王巍¹, 周美宁² (1. 大庆龙南医院 / 齐齐哈尔医学院第五附属医院检验科, 黑龙江大庆 163453; 2. 西安医学院第三附属医院神经内科, 西安 710068)

摘要: **目的** 探究脂蛋白 1 (lipin1, LPIN1) 对帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 模型大鼠病情进展的影响及其调控的可能分子机制。**方法** 采用 6-羟基多巴胺 (6-hydroxydopamine hydrobromide, 6-OHDA) 注射大鼠单侧的内侧前脑束构建 PD 大鼠模型, 并稳定转染 LPIN1 过表达腺病毒, 评估大鼠行为学变化; 检测大鼠脑组织中 Fe^{2+} 和还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量及酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 蛋白水平; HE 染色观察大鼠脑组织病理变化。构建体外 PD 细胞模型, 检测细胞中 TH, α -突触核蛋白 (α -synuclein, α -syn), LPIN1 蛋白水平及细胞活力; 转染 LPIN1 小干扰 siRNA 序列和过表达载体及过氧化物酶增殖物激活受体 A (peroxisome proliferator-activated receptor A, PPARA) 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 和过表达载体, 或用铁死亡诱导剂 Erastin 处理细胞 24 h, 后用 6-OHDA 处理细胞 48 h。检测各组细胞中 Fe^{2+} 含量、活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、GSH 和炎症因子水平以评估铁死亡; CCK-8 检测细胞增殖活力, Western blot 法检测铁死亡相关蛋白表达。通过 STRING 数据库预测 LPIN1 的互作蛋白 PPARA, 利用 Co-IP 分析进行验证; JASPAR 生物信息学网站预测 PPARA 与溶质载体蛋白家族 47 成员 A1 (solute carrier family 47 member 1, SLC47A1) 启动子的结合位点, 利用 Ch-IP 分析进行验证。**结果** 模型组大鼠皮毛悚立, 表现出身体持续震颤、动作迟缓、活动能力减弱等 PD 症状; LPIN1 组大鼠运动行为及 PD 症状较模型组改善/减轻。与假手术组相比, 模型组大鼠运动总路程缩短、平均速度降低、步长减小、总静止时间延长、步宽增宽、步态变异率增大, 差异具有统计学意义 ($t=6.816, 7.026, 26.556, 7.454, 8.503, 7.971$, 均 $P<0.05$); 模型组大鼠脑组织中 Fe^{2+} 含量升高, GSH 含量及 TH 蛋白表达降低, 差异具有统计学意义 ($t=8.305, 13.305, 7.709$, 均 $P<0.05$)。LPIN1 组大鼠行为学评估、各指标水平及脑组织病理改变较模型组明显改善/减轻。6-OHDA 呈剂量依赖性降低 PC-12 细胞活力及 TH, LPIN1 蛋白水平, 升高 α -syn 蛋白水平, 差异具有统计学意义 ($F=31.023, 7.350, 9.124, 15.841$, 均 $P<0.05$)。沉默 LPIN1 加剧了 6-OHDA 对 PC-12 细胞活力的抑制作用 ($t=2.209, P<0.05$), 过表达 LPIN1 则可抵消 6-OHDA 的作用 ($t=4.989, P<0.05$)。过表达 LPIN1 降低 IL-1 β , IL-6 分泌, 升高 SLC47A1 和 GPX4 蛋白水平, 降低 Fe^{2+} , MDA 含量和 ROS 水平, 升高 GSH 含量 ($t=3.013 \sim 11.639$, 均 $P<0.05$); Erastin 可逆转 LPIN1 过表达对铁死亡的抑制作用, 降低 PC-12 细胞活力 ($t=3.087 \sim 7.581$, 均 $P<0.05$)。LPIN1 与 PPARA 蛋白互作并促进 PPARA 表达, PPARA 与 SLC47A1 启动子结合并促进 SLC47A1 转录激活。过表达 PPARA 可抵消 LPIN1 沉默对 PC-12 细胞的影响。**结论** 过表达 LPIN1 可能通过抑制 PPARA/SLC47A1 轴介导的铁死亡, 减少神经元细胞凋亡, 进而缓解 PD 模型大鼠的病情进展。

关键词: 帕金森病; 脂蛋白 1; 过氧化物酶增殖物激活受体 A; 溶质载体蛋白家族 47 成员 A1; 铁死亡
中图分类号: R-332 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 04-063-09

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.04.012

Mechanism Study on LPIN1/PPARA Alleviating the Progression of Parkinson's Disease in Rats by Inhibiting SLC47A1-Mediated Ferroptosis of Neurons

CAO Mingyue¹, WANG Wei¹, ZHOU Meining² (1. Department of Clinical Laboratory, Daqing Longnan Hospital/ the Fifth Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Heilongjiang Daqing 163453, China; 2. Department of Neurology, the Third Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710068, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of lipin1 (LPIN1) on the progression of Parkinson's disease (PD) in rats and the possible molecular mechanism of its regulation. **Methods** The PD rat model was established by injection of 6-Hydroxydopamine hydrobromide (6-OHDA) into the medial forebrain tract of rats, and the LPIN1-overexpressing adenovirus was stably transfected to evaluate the behavioral changes of rats. The content of Fe^{2+} and Glutathione (GSH) and the protein level

作者简介: 曹明月 (1981-), 女, 学士, 主管技师, 研究方向: 免疫临床基础检验技术, E-mail: 8099783@qq.com。

通讯作者: 周美宁 (1977-), 女, 学士, 副主任医师, 研究方向: 脑血管疾病, 帕金森疾病, E-mail: 349053938@qq.com。

of tyrosine hydroxylase (TH) in rat brain were detected, and HE staining was used to observe the pathological changes in rat brains. The PD cell model was constructed in vitro, and TH, α -synuclein (α -syn), LPIN1 protein levels and cell viability were detected. LPIN1 small interfering siRNA sequence and overexpression vector and peroxisome proliferator-activated receptor (PPARA) small interfering (siRNA) and overexpression vector were transfected, or ferroptosis inducer erastin was used to treat cell for 24 h, then cells were treated with 6-OHDA for 48h. The levels of Fe^{2+} , reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), GSH and inflammatory factors in cells were detected to evaluate ferroptosis. Cell viability was detected with CCK-8, and the expressions of ferroptosis related proteins were detected with Western blot. The interacting protein PPARA of LPIN1 was predicted by STRING database and verified by Co-IP analysis. The binding site of PPARA to the promoter of solute carrier family 47 member 1 (SLC47A1) was predicted by JASPAR bioinformatics and verified by Ch-IP analysis. **Results** The fur of the rats in the model group was frightened, and PD symptoms such as continuous tremor, slow movement and weakened activity were shown. The motor behavior and PD symptoms of LPIN1 group were improved/alleviated compared with the model group. Compared with the sham operation group, the total distance of the model group was shortened, the average speed was reduced, and the step length was reduced, while the total resting time was prolonged, the step width was widened, and the gait variation rate was increased, and the differences were significant ($t=4.470 \sim 26.556$, all $P<0.05$). Compared with sham operation group, Fe^{2+} content in brain tissue of model group was increased, while GSH content and TH protein expression were decreased, with significance differences ($t=8.305, 13.305, 7.709$, all $P<0.05$). Compared with the model group, the behavioral evaluation, the level of indexes and the pathological changes of brain tissue in LPIN1 group were improved/alleviated. In addition, 6-OHDA decreased PC-12 cell viability, reduced the levels of TH and LPIN1 protein, and increased the level of α -syn protein in a dose-dependent manner, and the differences were significant ($F=31.023, 7.350, 9.124, 15.841$, all $P<0.05$). Silencing LPIN1 intensified the inhibitory effect of 6-OHDA on the viability of PC-12 cells ($t=2.209$, $P<0.05$), and overexpression of LPIN1 could counteract the effect of 6-OHDA. Overexpression of Lpin1 decreased the secretion of IL-1 β and IL-6, increased the protein levels of SLC47A1 and GPX4, decreased the levels of Fe^{2+} , MDA and ROS, and increased GSH content ($t=3.013 \sim 11.639$, all $P<0.05$). Erastin reversed the inhibitory effect of Lpin1 overexpression on ferroptosis, and reduced the viability of PC-12 cells ($t=3.087 \sim 7.581$, all $P<0.05$). LPIN1 interacted with PPARA protein and promoted PPARA expression, while PPARA bound to SLC47A1 promoter and promoted SLC47A1 transcriptional activation. Overexpression of PPARA counteracted the effect of Lpin1 silencing on PC-12 cells. **Conclusion** Overexpression of LPIN1 may reduce neuronal cell apoptosis by inhibiting ferroptosis mediated by PPARA/SLC47A1 axis, thus alleviating the progression of PD model rats.

Keywords: Parkinson's disease; LPIN1; PPARA; SLC47A1; ferroptosis

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是第二常见的慢性神经退行性疾病, 其特征是黑质中路易体的形成和多巴胺能神经元的丧失^[1-4]。目前, 药物只能改善 PD 症状, 尚无治愈的方法^[5], 因此迫切需要开发新的靶点来改善 PD 治疗和诊断。铁死亡 (ferroptosis) 在神经退行性疾病的发病机制中起着重要作用^[6]。铁对于细胞增殖和存活至关重要, 铁的过度积累会增加多巴胺的氧化, 导致 PD 中多巴胺能神经元的损失^[7]。铁死亡是一种与细胞死亡相关的铁依赖性脂质过氧化过程, 它与谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 活性的降低和膜脂上活性氧的积累有关^[8]。然而, PD 中铁死亡的潜在机制尚未完全阐明。脂蛋白 1 (lipin1, LPIN1) 被认为是影响体内脂质代谢的关键基因。生物信息学分析表明 LPIN1 可能为 PD 中铁死亡相关生物标志物^[9]。相关研究也报道, LPIN1 可以将磷脂酸 (phosphatidic acid, PA) 转化为甘油二酯 (diacylglycerol, DAG), 在维持正常的周围神经传导功能中起重要作用^[10-11]。LPIN1 表达下调会加剧

神经元异常, 促进糖尿病周围神经病变发生, 在坐骨神经异常中发挥神经保护作用^[12-13]。基于研究报道 LPIN1 与 PD 铁死亡相关及其在神经系统中发挥重要作用, 本研究通过构建 PD 动物和细胞模型, 探究了 LPIN1 对 PD 进展的影响以及潜在的调节机制, 期望为 PD 诊断和治疗开发新的生物靶标。

1 材料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 实验动物: 60 只 8 周龄雄性 SD 大鼠, 体重 250 ± 20 g, 由西安交通大学实验动物中心提供, 饲养在 12h 明暗交替环境下, 温度 20℃, 湿度 60% 左右。动物程序按照美国国立卫生研究院出版的《实验动物护理和使用指南》进行, 并在本院伦理委员会批准后执行。

1.1.2 实验细胞: PC-12 细胞由中国科学院干细胞库提供, 在含 10g/dl 胎牛血清的 RPMI 1640 (100 U/ml 青霉素-链霉素) 培养液中 37℃ 培养, 每 48 h 更换一次培养液, 待细胞生长密度达到 70% 以上时传代培养。实验均在具备完成条件且标准规范的

实验室完成。

1.2 主要试剂与仪器 TRIzol 试剂, PrimeScript RT Master Mix 试剂盒(美国 Invitrogen 公司); 胎牛血清(美国 Thermo Fisher 公司); 铁死亡诱导剂 Erastin(美国 AbMole 公司); CCK-8 试剂盒, Fe^{2+} 测定试剂盒(美国 BioVision 公司); 还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH), 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及活性氧(reactive oxygen species, ROS)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所); HE 染色试剂盒(北京 Solarbio 公司); LPIN1, 过氧化物酶增殖物激活受体 A(peroxisome proliferator activated receptor A, PPARA), GPX4, SLC47A1 一抗(英国 Abcam 公司); OE-LPIN1, si-LPIN1, OE-PPARA, si-PPARA, si-NC(广州锐博生物科技有限公司); LPIN1 腺病毒载体及阴性对照(vector)(上海 GenePharma 公司); ABI Prism®7500 荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司); 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 动物实验方法

1.3.1.1 实验动物分组及 PD 模型构建: 将 60 只实验大鼠随机分为假手术组($n=20$)和造模组($n=40$), 造模组注射 25 μg 的 6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine hydrobromide, 6-OHDA)溶液到大鼠单侧的内侧前脑束以建立 PD 大鼠模型^[14], 末次注射 12h 后, 密切观察大鼠行为运动, 以出现运动能力减弱、行动迟缓、身体持续震颤、尾僵直等症状, 即判定为造模成功。造模成功后将造模组随机均分为模型组和 LPIN1 组, 每组 20 只, LPIN1 组通过颅骨上的转孔分别将空载体和 LPIN1 过表达腺病毒载体注射入大鼠大脑中, 模型组和假手术组用等体积含 0.2g/dl 抗坏血酸的 PBS 溶液处理。所有大鼠饲养 28 天后进行行为学评价, 然后麻醉处死, 取尾静脉血液样本, 分离脑组织进行分析。

1.3.1.2 实验大鼠行为学评估: ①旷场实验: 将大鼠放在装有摄像头的 90 cm \times 90 cm \times 30 cm 大小的旷场装置中 10 min, 待大鼠适应环境后打开摄像机, 将大鼠放在装置内边缘区域任意固定位置, 追踪记录大鼠自动运行轨迹, 连续记录 5 min, 得到大鼠运动总路程、总静止时间及平均速度, 评价其运动能力; ②步态分析: 在大鼠前肢涂抹红色染料, 后肢涂抹蓝色染料, 然后引导大鼠沿 10 cm 宽, 50 cm 长的封闭跑道(跑道上垫相应宽度白纸)从一端跑向另一端, 选择连续且清晰的 3 个趾印, 测量计算大鼠步宽、步长及平均步态变异率。

1.3.1.3 大鼠脑组织 Fe^{2+} , GSH 含量检测: 取大鼠脑组织约 10 mg, 加入裂解液处理提取上清液, 根据 Fe^{2+} 检测试剂盒说明书和 GSH 测定试剂盒说明书检测 Fe^{2+} 和 GSH 含量。

1.3.1.4 大鼠脑组织病理 HE 染色: 取大鼠脑组织样本, 4g/dl 多聚甲醛固定制成石蜡切片, 切片后使用 HE 染液按照试剂盒操作说明进行染色, 显微镜下观察神经元细胞及组织病理学变化。

1.3.2 细胞实验

1.3.2.1 实验细胞分组: 将 PC-12 细胞分为对照组(不做任何处理)、6-OHDA 组(仅采用 6-OHDA 处理细胞 48h)、NC siRNA 组(转染敲低 LPIN1 阴性对照载体)、si-LPIN1 组(转染敲低 LPIN1 小干扰 RNA 载体)、vector-LPIN1 组(转染 LPIN1 空载体)、OE-LPIN1 组(转染 LPIN1 过表达载体)、OE-LPIN1+Erastin 组(转染 LPIN1 过表达载体 +1 $\mu\text{g/ml}$ 铁死亡诱导剂处理)、vector-PPARA 组(转染 PPARA 空载体)、OE-PPARA 组(转染 PPARA 过表达载体)、NC siRNA+vector-PPARA 组(共转染敲低 LPIN1 阴性对照载体 +PPARA 空载体)和 si-LPIN1+OE-PPARA 组(共转染 LPIN1 小干扰 RNA 载体 +PPARA 过表达载体)。除对照组和 6-OHDA 组, 其余各组细胞在转染相应载体或 Erastin 后 24h, 再次采用 40 $\mu\text{mol/L}$ 的 6-OHDA 处理 48 h, 然后收集细胞。

1.3.2.2 qRT-PCR 分析 SLC47A1 mRNA 水平: 使用 Trizol 试剂盒提取细胞总 RNA, 测定 RNA 浓度及纯度。使用 PrimeScript RT Master Mix 试剂盒进行 RNA 逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板, 进行 PCR 扩增, 反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 进行 34 个循环。以 β -actin 作为参考, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算每个样本中目标基因的相对表达。引物序列如下: SLC47A1-(F): 5'-CTGGTGCATCATCTTACG-3', (R) 5'-CGACACACGATGGACGGAAG-3'; β -actin-(F): 5'-TACCTCATGAAGATCCTCACC-3', (R) 5'-TTT CGTGGATGCCACAGGAC-3'。

1.3.2.3 Western blot 法检测酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH), α -突触核蛋白(α -synuclein, α -syn), LPIN1, PPARA, SLC47A1, GPX4 蛋白表达: 加入 RIPA 裂解液提取 PC-12 细胞总蛋白, BCA 法测定蛋白质浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳分离 30 μg 蛋白样品并转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上, 用 5g/dl 脱脂牛奶封闭 2h, 分别加入 Anti-TH (1:1000), Anti- α -syn (1:1000), Anti-LPIN1 (1:1000), Anti-PPARA (1:1000), Anti-SLC47A1 (1:1000), GPX4 (1:1000) 一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过

夜,次日加入 HRP 偶联二抗(1:1 000),室温孵育 1h, TBST 洗膜三次,以 GAPDH 为内参,采用电化学发光(ECL)试剂盒在凝胶成像系统上进行拍照, Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

1.3.2.4 CCK-8 法检测细胞活力:将 PC-12 细胞培养融合度达 70% 左右时,分别采用 0, 20, 40, 60, 80 $\mu\text{mol/L}$ 的 6-OHDA 处理细胞,然后收集细胞,以 5×10^3 个/孔接种至 96 孔板培养 24 h,每孔加入 10 μl CCK-8 溶液,继续培养 2 h,酶标仪检测 450 nm 处吸光度(A 值)。选取 40 $\mu\text{mol/L}$ 的 6-OHDA 处理细胞,进行后续实验。

1.3.2.5 生化指标检测:提取 PC-12 细胞裂解物,按照制造商说明,分别采用对应的检测试剂盒检测细胞中 IL-6, IL-1 β , MDA, GSH, ROS 含量及细胞内 Fe^{2+} 相对水平。

1.3.2.6 免疫共沉淀(Co-IP)测定:用蛋白酶抑制剂洗涤细胞两次,并用标记缓冲液溶解。将裂解物与 Anti-LPIN1 或 Anti-PPARA 抗体孵育 2 h,后与 30 μl 蛋白 A/G 磁珠在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 12 h。经过彻底混合和洗涤,通过 Western blot 检测免疫复合物。GAPDH 用于标准化,用 Image J 软件对免疫反应条带进行定量。通过 STRING 数据库预测 LPIN1 与 PPARA 相互作用,行 Co-IP 分析验证。

1.3.2.7 染色质免疫沉淀(ChIP)测定:将 PC-12 细胞室温下与 1g/dl 甲醛交联 10 min,加入甘氨酸猝灭 5 min。随后细胞裂解物通过超声破碎生成染色质片段,用 Anti-PPARA 抗体或阴性对照 IgG 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下免疫沉淀过夜。纯化沉淀的 DNA,用 RT-qPCR 进行检测。

1.3.2.8 荧光素酶报告基因检测:运用 JASPAR

生物信息学网站(<http://jaspar.genereg.net/>)预测 PPARA 与 SLC47A1 启动子间的结合位点。合成 SLC47A1 启动子不同序列,插入 pGL3-control 荧光素酶报告载体的下游。使用 Lipofectamine 3000 将含不同 SLC47A1 启动子序列的荧光素酶宝基因载体转染进 PC-12 细胞中,转染 48 h,使用荧光素酶报告基因试剂盒检测荧光素酶活性。

1.4 统计学分析 通过 SPSS 21.0 进行数据统计分析,实验结果以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间样本两两比较采用 Student's t 检验;多组间样本比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 动物实验部分

2.1.1 一般状态及行为学评价:实验期间无大鼠死亡,建模组大鼠均成功构建 PD 模型,建模成功率 100%。假手术组大鼠皮毛光滑、行动能力正常,未见异常;模型组大鼠皮毛悚立,表现出弓背、身体持续震颤、动作迟缓、活动能力减弱等症状;LPIN1 组大鼠运动行为及上述症状较模型组有所改善/减轻。进一步评价各组大鼠行为学,见表 1。发现与假手术组相比,模型组大鼠运动总路程缩短、平均速度降低、步长减小($t=6.816, 7.026, 26.556$),而总静止时间延长、步宽增宽、步态变异率增大($t=7.454, 8.503, 7.971$),差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$);与模型组相比,LPIN1 组大鼠各指标结果均明显改善,差异具有统计学意义($t=3.845, 4.702, 3.710, 5.349, 16.333, 3.985$, 均 $P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠旷场实验和步态分析结果比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	假手术组	模型组	LPIN1 组	F	P
运动总路程(cm)	3567.52 \pm 813.24	2 236.41 \pm 576.47	2 987.34 \pm 387.96	23.356	<0.001
总静止时间(s)	55.47 \pm 10.56	79.52 \pm 11.16	64.35 \pm 8.73	28.417	<0.001
平均速度(cm/s)	11.79 \pm 2.58	7.32 \pm 1.87	9.68 \pm 1.41	24.711	<0.001
步宽(cm)	2.79 \pm 0.23	3.41 \pm 0.25	3.02 \pm 0.21	36.953	<0.001
步长(cm)	7.66 \pm 0.27	5.53 \pm 0.24	6.84 \pm 0.25	358.829	<0.001
步态变异率(%)	0.11 \pm 0.02	0.17 \pm 0.03	0.14 \pm 0.02	31.765	<0.001

2.1.2 各组大鼠脑组织 Fe^{2+} , GSH 含量及 TH 蛋白水平比较:见表 2。与假手术组相比,模型组大鼠 Fe^{2+} 含量明显升高, GSH 含量和 TH 蛋白水平明显降低,差异具有统计学意义($t=8.305, 13.305,$

7.709, 均 $P < 0.05$);与模型组相比, LPIN1 组大鼠 Fe^{2+} , GSH 含量及 TH 蛋白水平明显得到改善,差异具有统计学意义($t=5.423, 7.369, 7.092$, 均 $P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠脑组织 Fe^{2+} , GSH 含量及 TH 蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	假手术组	模型组	LPIN1 组	F	P
$\text{Fe}^{2+}(\mu\text{mol/g})$	8.56 \pm 2.34	18.79 \pm 5.03	12.11 \pm 3.84	35.560	<0.001
GSH(ng/ml)	12.26 \pm 2.30	6.41 \pm 0.57	9.02 \pm 0.43	88.852	<0.001
TH 蛋白	1.02 \pm 0.02	0.52 \pm 0.23	0.98 \pm 0.27	36.704	<0.001

2.1.3 各组大鼠脑组织病理变化：见图1。HE染色显示，假手术组大鼠脑组织中神经元细胞排列整齐、形态清晰完整，未见炎性细胞浸润及细胞坏死发生；模型组大鼠脑组织见神经元细胞排列稀疏、

数量减少、形态结构模糊，出现细胞坏死及大量炎性细胞浸润；LPIN1组大鼠脑组织中神经元细胞数量相较模型组有所增加，细胞排列相对整齐、形态趋于正常，细胞损伤明显改善。

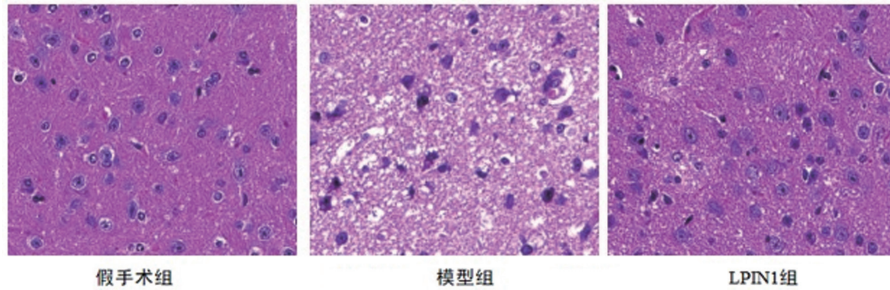


图1 HE染色观察各组大鼠脑组织病理变化(×400)

2.2 细胞实验部分

2.2.1 LPIN1在6-OHDA诱导的PC-12细胞中表达下调：见表3。CCK-8法检测显示，6-OHDA对PC-12细胞活力的抑制作用呈浓度依赖性，40 μmol/L即可显著抑制PC-12细胞活力($F=31.023$,

$P<0.05$)，故后续采用40 μmol/L浓度6-OHDA进行研究。同时发现，随着6-OHDA处理浓度的升高，PC-12细胞中TH和LPIN1蛋白呈剂量依赖性逐渐降低，α-syn蛋白呈剂量依赖性逐渐升高($F=7.350 \sim 15.481$ ，均 $P<0.05$)。

表3 不同浓度6-OHDA处理对PC-12细胞中TH, α-syn, LPIN1蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	6-OHDA 浓度 (μmol/L)					F	P
	0	20	40	60	80		
细胞活力	1.52 ± 0.16	1.45 ± 0.12	1.03 ± 0.11 ^a	0.78 ± 0.08 ^a	0.64 ± 0.06 ^a	31.023	<0.001
TH 蛋白	1.01 ± 0.02	0.72 ± 0.20	0.55 ± 0.21 ^a	0.42 ± 0.16 ^a	0.39 ± 0.15 ^a	7.350	0.005
α-syn 蛋白	1.00 ± 0.01	1.71 ± 0.22 ^a	1.94 ± 0.26 ^a	2.14 ± 0.30 ^a	2.38 ± 0.24 ^a	15.841	<0.001
LPIN1 蛋白	1.01 ± 0.01	0.70 ± 0.18 ^a	0.48 ± 0.15 ^a	0.41 ± 0.20 ^a	0.36 ± 0.15 ^a	9.124	0.002

注：^a与0 μmol/L相比， $t_{\text{细胞活力}}=5.385, 8.132, 9.671$ ； $t_{\text{TH 蛋白}}=3.460, 4.437, 4.663$ ， $t_{\alpha\text{-syn 蛋白}}=3.786, 5.013, 6.080, 7.360$ ； $t_{\text{LPIN1 蛋白}}=2.477, 4.234, 4.794, 5.193$ ，均 $P<0.05$ 。

2.2.2 沉默或过表达LPIN1对6-OHDA诱导的PC-12细胞的影响：见表4。Western blot检测显示，沉默LPIN1组细胞中LPIN1蛋白表达明显降低，过表达LPIN1组细胞中LPIN1蛋白表达明显升高，差异具有统计学意义($t=4.424 \sim 18.259$ ，均 $P<0.05$)，说明沉默或过表达LPIN1细胞系构

建成功。同时检测发现，6-OHDA处理显著抑制了PC-12细胞活力和TH蛋白表达($t=5.630, 5.509$)，沉默LPIN1加剧了6-OHDA的抑制作用($t=2.209, 2.344$)，过表达LPIN1则逆转了6-OHDA的抑制作用($t=4.989, 5.040$)，差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。

表4 沉默或过表达LPIN1对6-OHDA诱导的PC-12细胞活力及TH蛋白的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组	6-OHDA 组	NC siRNA 组	si-LPIN1 组	Vector-LPIN1 组	OE-LPIN1 组	F	P
LPIN1 蛋白	1.00 ± 0.01	0.48 ± 0.15 ^a	0.98 ± 0.17 ^b	0.43 ± 0.14 ^a	1.01 ± 0.02	3.27 ± 0.26 ^{bc}	142.875	<0.001
细胞活力	1.52 ± 0.23	0.73 ± 0.19 ^a	0.71 ± 0.17 ^a	0.42 ± 0.10 ^{ab}	0.74 ± 0.18 ^a	1.43 ± 0.13 ^{bc}	19.962	<0.001
TH 蛋白表达	1.00 ± 0.01	0.53 ± 0.12 ^a	0.50 ± 0.10 ^a	0.33 ± 0.08 ^{ab}	0.55 ± 0.11 ^a	0.96 ± 0.15 ^{bc}	20.212	<0.001

注：^a与对照组相比， $t=4.183, 4.585; 5.630, 5.773, 7.839, 5.559; 5.509, 5.861, 7.854, 5.275$ ，均 $P<0.05$ ；^b与6-OHDA组相比， $t=4.022, 22.442; 2.209, 4.989; 2.344, 5.040$ ，均 $P<0.05$ ；^c与vector-LPIN1组相比， $t=18.179, 4.917, 4.806$ ，均 $P<0.05$ 。

2.2.3 过表达LPIN1抑制6-OHDA诱导的神经元细胞铁死亡：见表5。结果显示，6-OHDA处理显著增加了PC-12细胞中IL-1β和IL-6分泌，抑制了SLC47A1和GPX4蛋白表达，差异具有统计学意义($t=4.428 \sim 7.569$ ，均 $P<0.05$)；过表达LPIN1逆转了6-OHDA的诱导作用($t=4.883 \sim 11.639$ ，均 $P<0.05$)；铁死亡诱导剂Erastin可抵消LPIN1过表达的作用($t=4.350 \sim 6.739$ ，均 $P<0.05$)。

此外，6-OHDA处理显著增加了Fe²⁺，MDA，ROS含量，抑制了GSH含量及PC-12细胞活力($t=4.208 \sim 9.437$ ，均 $P<0.05$)；过表达LPIN1同样逆转了6-OHDA的诱导作用($t=3.013 \sim 9.107$ ，均 $P<0.05$)，Erastin能够抵消过表达LPIN1的作用($t=3.087 \sim 7.581$ ，均 $P<0.05$)，见表6。过表达LPIN1可能通过抑制6-OHDA诱导的铁死亡，促进PC-12细胞增殖。

表 5 各组细胞中 IL-1 β , IL-6 分泌及 SLC47A1, GPX4 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组	6-OHDA 组	vector-LPIN1 组	OE-LPIN1 组	OE-LPIN1+Erastin 组	F	P
IL-1 β (pg/ml)	112.34 \pm 13.26	187.32 \pm 17.14 ^a	187.32 \pm 19.43 ^a	123.12 \pm 12.20 ^{bc}	179.50 \pm 16.26 ^d	16.160	<0.001
IL-6 (pg/ml)	63.25 \pm 10.27	131.52 \pm 11.24 ^a	132.61 \pm 11.59 ^a	78.57 \pm 10.46 ^{bc}	139.35 \pm 11.60 ^d	30.761	<0.001
SLC47A1 蛋白	1.02 \pm 0.02	0.30 \pm 0.17 ^a	0.34 \pm 0.15 ^a	2.15 \pm 0.32 ^{bc}	1.23 \pm 0.21 ^d	43.515	<0.001
GPX4 蛋白	1.01 \pm 0.01	0.35 \pm 0.15 ^a	0.32 \pm 0.13 ^a	1.98 \pm 0.26 ^{bc}	1.15 \pm 0.20 ^d	47.434	<0.001

注: ^a 与对照组相比, $t=5.784, 5.742; 7.569, 7.690; 4.428, 4.182; 4.648, 4.860$, 均 $P<0.05$; ^b 与 6-OHDA 组相比, $t=4.952, 53.871; 11.377, 11.480$, 均 $P<0.05$; ^c 与 vector-LPIN1 组相比, $t=4.910, 5.992, 11.131, 11.691$, 均 $P<0.05$; ^d 与 OE-LPIN1 组相比, $t=4.349, 6.739, 5.658, 5.282$, 均 $P<0.05$ 。

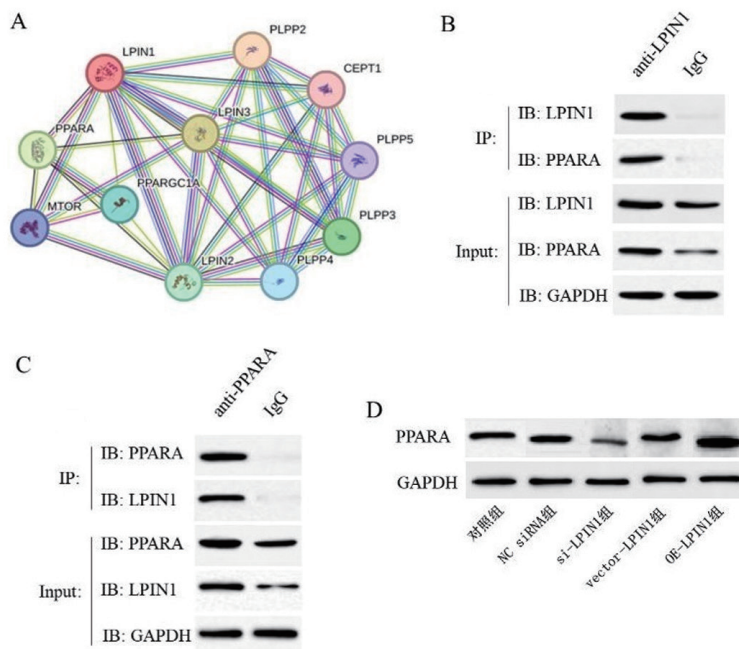
表 6 各组细胞中 Fe²⁺, MDA, GSH, OS 含量及细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组	6-OHDA 组	vector-LPIN1 组	OE-LPIN1 组	OE-LPIN1+Erastin 组	F	P
Fe ²⁺ (μ mol/L)	2.21 \pm 0.84	6.19 \pm 1.23 ^a	6.13 \pm 1.26 ^a	3.34 \pm 1.09 ^{bc}	6.26 \pm 1.31 ^{ad}	8.198	0.003
GSH (nmol/mg)	113.45 \pm 13.46	48.67 \pm 9.75 ^a	49.52 \pm 10.02 ^a	106.54 \pm 12.48 ^{bc}	55.13 \pm 11.30 ^{ad}	23.917	<0.001
MDA (nmol/mg)	5.12 \pm 1.25	12.14 \pm 2.13 ^a	12.03 \pm 2.06 ^a	6.87 \pm 1.62 ^{bc}	14.79 \pm 2.17 ^{ad}	13.806	<0.001
ROS (%)	102.14 \pm 6.74	197.69 \pm 15.61 ^a	195.97 \pm 14.73 ^a	105.48 \pm 10.25 ^{bc}	182.24 \pm 12.56 ^{ad}	46.211	<0.001
细胞活力	1.52 \pm 0.23	0.73 \pm 0.19 ^a	0.74 \pm 0.18 ^a	1.43 \pm 0.26 ^{bc}	0.96 \pm 0.15 ^{ad}	10.080	<0.001

注: ^a 与对照组相比, $t=4.208, 4.144, 4.282; 6.905, 6.815, 6.217; 4.573, 4.501, 6.299; 9.437, 9.267, 7.911; 4.704, 4.645, 3.335$, 均 $P<0.05$; ^b 与 6-OHDA 组相比, $t=3.013, 6.169, 3.433, 9.107, 4.168$, 均 $P<0.05$; ^c 与 vector-LPIN1 组相比, $t=2.950, 6.078, 3.361, 8.937, 4.109$, 均 $P<0.05$; ^d 与 OE-LPIN1 组相比, $t=3.087, 5.480, 5.159, 7.581, 2.799$, 均 $P<0.05$ 。

2.2.4 LPIN1 与 PPARA 相互作用, 并促进其表达: 研究通过 STRING 数据库预测发现, LPIN1 可能与 PPARA 相互作用, 见图 2A。行 Co-IP 分析显示, Anti-LPIN1 抗体下拉的复合物中不仅有 LPIN1 蛋白, 还有 PPARA 蛋白, 见图 2B; Anti-PPARA 抗体不仅下拉了 PPARA 蛋白, 还下拉了 LPIN1 蛋白, 见图 2C。此外还发现, si-LPIN1 组细胞中 PPARA

蛋白表达 (0.39 ± 0.12) 较对照组 (1.01 ± 0.02) 和 NC siRNA 组 (0.98 ± 0.16) 显著降低 ($F=27.230$, $P<0.001$); OE-LPIN1 组细胞中 PPARA 蛋白表达 (3.05 ± 0.31) 较对照组 (1.01 ± 0.02) 和 vector-LPIN1 组 (1.00 ± 0.01) 显著升高 ($F=129.879$, $P<0.001$), 见图 2D。LPIN1 通过与 PPARA 蛋白相互作用促进 PPARA 表达。



A. LPIN1 和 PPARA 之间相互作用示意图; B-C. Co-IP 测定 LPIN1 与 PPARA 的相互作用; D. Western blot 检测各组细胞中 PPARA 蛋白表达。

图 2 LPIN1 通过与 PPARA 蛋白相结合促进 PPARA 表达

2.2.5 过表达 PPARA 逆转 LPIN1 沉默对神经元细胞铁死亡的诱导作用: 见表 7, 表 8。结果显示, 沉默 LPIN1 降低了 LPIN1, PPARA, SLC47A1 和 GPX4 蛋白表达 ($t=4.019 \sim 10.194$, 均 $P<0.05$), 过

表达 PPARA 可促进各蛋白表达 ($t=12.825 \sim 16.708$, 均 $P<0.05$), 但对 LPIN1 蛋白表达无影响。此外发现, 沉默 LPIN1 可升高 Fe^{2+} 和 MDA 含量, 降低 GSH 含量和 PC-12 细胞活力 ($t=2.837 \sim 8.710$, 均 $P<0.05$); 过表达 PPARA 可以逆转沉默 LPIN1 对 PC-12 细胞铁死亡的诱导作用 ($t=6.285 \sim 12.571$, 均 $P<0.05$)。

表 7 各组细胞中 LPIN1, PPARA, SLC47A1, GPX4 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)						
项目	NC siRNA+vector-PPARA 组	si-LPIN1 组	OE-PPARA 组	si-LPIN1+ OE-PPARA 组	F	P
LPIN1 蛋白	1.01 ± 0.11	0.33 ± 0.11 ^a	1.00 ± 0.01 ^b	0.35 ± 0.12 ^{ac}	66.288	<0.001
PPARA 蛋白	1.00 ± 0.01	0.49 ± 0.12 ^a	3.12 ± 0.25 ^{ab}	1.34 ± 0.14 ^{abc}	162.297	<0.001
SLC47A1 蛋白	1.00 ± 0.01	0.36 ± 0.10 ^a	2.57 ± 0.23 ^{ab}	1.45 ± 0.13 ^{abc}	130.208	<0.001
GPX4 蛋白	1.01 ± 0.01	0.31 ± 0.08 ^a	2.26 ± 0.19 ^{ab}	1.24 ± 0.12 ^{abc}	137.074	<0.001

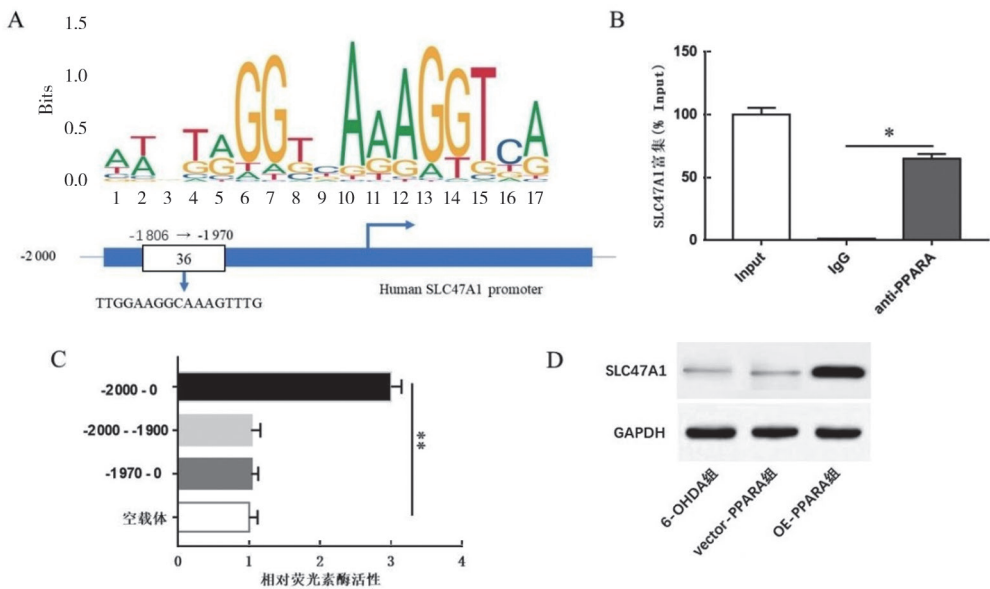
注: ^aNC siRNA+vector-PPARA 组相比, $t=8.467, 8.218; 4.019, 16.708, 2.680; 5.546, 13.605, 3.900; 7.182, 12.825, 2.360$, 均 $P<0.05$; ^b与 si-LPIN1 组相比, $t=8.342; 20.727, 6.699; 19.151, 9.466; 20.007, 9.542$, 均 $P<0.05$; ^c与 OE-PPARA 组相比, $t=8.093, 14.028, 9.706, 10.465$, 均 $P<0.05$ 。

表 8 各组细胞中 Fe^{2+} , MDA, GSH 含量及细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s$)						
项目	NC siRNA+vector-PPARA 组	si-LPIN1 组	OE-PPARA 组	si-LPIN1+ OE-PPARA 组	F	P
$Fe^{2+}(\mu mol/L)$	6.35 ± 1.02	13.42 ± 2.35 ^a	4.87 ± 1.23 ^{ab}	7.96 ± 1.74 ^{abc}	15.061	0.001
MDA(nmol/mg)	12.54 ± 1.62	23.12 ± 1.36 ^a	7.85 ± 1.30 ^{ab}	15.67 ± 1.64 ^{abc}	55.746	<0.001
GSH(nmol/mg)	49.12 ± 9.76	25.06 ± 7.88 ^a	112.03 ± 11.54 ^{ab}	59.74 ± 10.23 ^{abc}	40.868	<0.001
细胞活力	0.70 ± 0.11	0.41 ± 0.09 ^a	1.51 ± 0.16 ^{ab}	0.88 ± 0.13 ^{abc}	41.474	<0.001

注: ^a与 NC siRNA+vector-PPARA 组相比, $t=5.476, 2.921, 2.622; 8.710, 3.861, 2.577; 2.965, 7.752, 1.309; 2.837, 7.924, 2.734$, 均 $P<0.05$; ^b与 si-LPIN1 组相比, $t=7.397, 3.455; 12.571, 6.133; 10.716, 4.273; 10.761, 5.576$, 均 $P<0.05$; ^c与 OE-PPARA 组相比, $t=3.943, 6.438, 6.443, 5.185$, 均 $P<0.05$ 。

2.2.6 PPARA 与 SLC47A1 调控关系验证: JASPAR 生物信息学网站 (<http://jaspar.genereg.net/>) 分析发现, PPARA 与 SLC47A1 启动子之间存在潜在的结合位点, 见图 3A。Ch-IP 分析发现, SLC47A1 在 Anti-PPARA 抗体下拉的复合物中显著富集, 见图 3B。荧光素酶报告基因分析发现, 与转染空载体的细胞相比, 含 PPARA 结合位点的 SLC47A1 启动子序列载体的荧光素酶活性显著升高, 见图 3C。

与此同时, OE-PPARA 组细胞中 SLC47A1 蛋白 (2.33 ± 0.38) 和 mRNA (2.33 ± 0.38) 表达水平明显高于 6-OHDA 组 ($0.30 \pm 0.17, 0.30 \pm 0.17$) 和 vector-PPARA 组 ($0.32 \pm 0.14, 0.32 \pm 0.14$), 差异有统计学意义 ($F=63.463, 63.463, P<0.05$), 见图 3D。PPARA 作为转录因子与 SLC47A1 启动子结合, 促进其转录激活。



A. JASPAR 生物信息学网站预测 PPARA 和 SLC47A1 启动子之间结合位点; B. Ch-IP 分析 PPARA 与 SLC47A1 启动子的结合; C. 荧光素酶报告基因分析验证 PPARA 与 SLC47A1 启动子的结合; D. Western blot 检测各组细胞中 SLC47A1 蛋白表达。

图 3 PPARA 与 SLC47A1 启动子结合, 促进 SLC47A1 转录激活

3 讨论

PD 是中枢神经系统最常见的神经退行性疾病之一^[2], 目前 PD 病因和发病机制尚未知。最近研究表明, 脑中铁含量升高, 谷胱甘肽含量降低, 脂质过氧化增加与 PD 发病和铁死亡有关^[15]。铁死亡是由多种因素引起的程序性细胞死亡形式, 铁、脂和氨基酸的代谢是调节铁死亡的主要途径, 可被 GPX4 和 SLC7A11 对抗^[16]。在不同疾病中, 铁死亡可由多种调控分子调节, 如 GPX4, ACS4, SLC7A11, SLC47A1 和 TFR1^[16-17]。研究还表明, 小分子如去铁氧胺和 Fer-1 也可以挽救铁死亡^[17]。几种螯合剂治疗已经显示出很强的缓解 PD 的能力, 可防止 PD 中的神经退行性变^[15]。因此, 进一步研究 PD 中铁死亡的主要调控机制, 可能为 PD 治疗提供潜在的靶点。

目前由 6-OHDA 建立的黑质纹状体多巴胺能神经元破坏经典模型普遍用于 PD 运动和生化功能障碍的研究^[18]。研究报道, LPIN1 作为 PD 铁死亡的生物标志物, 其低表达与 PD 患者预后不良相关^[9]。TH 是促进多巴胺合成的重要酶, 其活性或水平降低直接影响多巴胺合成, 是 PD 早期发病的重要指征^[19]。本研究通过建立 PD 大鼠模型发现, PD 大鼠脑组织中 Fe^{2+} 含量升高, GSH 及 TH 蛋白水平降低; 病理观察也表明 PD 模型大鼠脑组织神经元细胞数量减少、形态结构模糊, 出现细胞坏死及大量炎性细胞浸润, 表明多巴胺能神经元细胞受损严重。给予转染稳定 LPIN1 过表达腺病毒进行干预后, 大鼠一般症状减轻, 行为学运动能力明显改善, Fe^{2+} 及 TH 水平明显改善, 多巴胺能神经元细胞受损明显减轻, 提示 LPIN1 过表达能够抑制铁死亡, 减轻神经元细胞凋亡, 延缓 PD 进展。进一步通过构建体外 PD 细胞模型, 发现 TH, LPIN1, α -syn 蛋白呈 6-OHDA 剂量依赖性逐渐降低/升高, 表明 LPIN1 异常低表达可以抑制铁死亡, 这与已有报道相一致^[20-21]。其次发现沉默 LPIN1 加剧了 6-OHDA 对 PC-12 细胞活力的抑制作用, 过表达 LPIN1 抵消了 6-OHDA 的抑制作用; 过表达 LPIN1 抑制 6-OHDA 诱导的神经元细胞铁死亡。研究报道, 细胞中 α -syn 聚集可诱发铁浓度升高, 其与 Fe^{2+} 直接结合, 一方面过表达 α -syn 可增加细胞内铁水平, 一方面铁超负荷可引起 α -syn 升高, 降低铁负荷能够减少 PD 小鼠多巴胺能神经元异常丢失^[22]。GSH 合成受阻是诱发铁死亡的关键, SLC47A1 在 GSH 合成中发挥重要作用^[23-24]。

GPX4 作为调控铁死亡的重要因子通过提供还原后的脂质醇, 可避免脂质过氧化物堆积环境中铁过载暴露, 可发挥抗铁死亡作用^[23]。PD 中铁超载、

GSH 表达异常及脂质过氧化程度增高都是触发铁死亡的主要因素^[15]。本研究提示 PD 过程中脂质过氧化和铁过载激活了铁死亡途径, 诱导铁死亡发生。给予铁死亡诱导剂 Erastin 刺激后, 抵消了 LPIN1 对 PC-12 细胞的保护作用。Erastin 作为一种经典的铁死亡诱导剂, 可以通过直接降低 GSH 活性来诱导铁死亡, 加速 PC-12 细胞中 ROS 的积累^[25-26]。以上结果表明, LPIN1 过表达可以抑制 PD 铁死亡, 然其如何调节 PD 中铁死亡的具体机制尚不确定, 需要进一步探索。

研究通过生物信息学软件预测验证发现, LPIN1 与 PPARA 存在相互作用, 沉默 LPIN1 通过诱导铁死亡抑制 PC-12 细胞活力, 过表达 PPARA 可逆转 LPIN1 沉默对细胞的影响。这一发现与 PPARA 在 PD 中的报道相一致^[27]。同时研究还发现, PPARA 与 SLC47A1 启动子结合并促进 SLC47A1 转录激活。一篇关于单核 RNA 测序分析的报道显示, SLC47A1 在 PD 小鼠的多巴胺能神经元中显著下调^[28]。SLC47A1 作为脂质重塑的调节剂抑制铁死亡发生^[24]。这与本研究结果一致, SLC47A1 在 6-OHDA 处理的 PC-12 细胞中显著下调。本研究证实了 LPIN1 参与 PD 发生进展的潜在作用机制, 为 PD 研究及治疗提供了新的靶点。然而本研究也存在一定不足, 虽然基于细胞实验证实了 LPIN1/PPARA/SLC47A1 轴的作用, 但具体调节机制仍需体内实验进一步探究阐明。

综上所述, LPIN1 可能通过抑制 PPARA/SLC47A1 轴介导的铁死亡减少神经元细胞凋亡, 从而抑制 PD 进展。

参考文献:

- [1] COSTA H N, ESTEVES A R, EMPADINHAS N, et al. Parkinson's disease: a multisystem disorder[J]. *Neuroscience Bulletin*, 2023, 39(1): 113-124.
- [2] YE Hui, ROBAK L A, YU Meigen, et al. Genetics and pathogenesis of Parkinson's syndrome [J]. *Annual Review of Pathology*, 2023, 18: 95-121.
- [3] SCHALKAMP A K, PEALL K J, HARRISON N A, et al. Wearable movement-tracking data identify Parkinson's disease years before clinical diagnosis[J]. *Nature Medicine*, 2023, 29(8): 2048-2056.
- [4] LEITE SILVA A B R, GONÇALVES DE OLIVEIRA R W, DIÓGENES G P, et al. Premotor, nonmotor and motor symptoms of Parkinson's disease: a new clinical state of the art [J]. *Ageing Research Reviews*, 2023, 84: 101834.
- [5] VISEUX F J F, DELVAL A, SIMONEAU M, et al. Pain and Parkinson's disease: current mechanism and management updates[J]. *European Journal of Pain* (London, England), 2023, 27(5): 553-567.

- [6] DING Xüshen, GAO Li, HAN Zheng, et al. Ferroptosis in Parkinson's disease: molecular mechanisms and therapeutic potential[J]. Ageing Research Reviews, 2023, 91: 102077.
- [7] CHU Jie, LI Jingwen, SUN Lin, et al. The role of cellular defense systems of ferroptosis in Parkinson's disease and Alzheimer's disease[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(18): 14108.
- [8] 王杰, 吴蔚. 铁死亡与神经系统疾病[J]. 中国医药科学, 2023, 13(22): 26-29, 34
WANG Jie, WU Wei. Ferroptosis and nervous system disease [J]. China Medicine and Pharmacy, 2019, 13(22): 26-29, 34.
- [9] XING Na, DONG Ziyue, WU Qiaoli, et al. Identification of ferroptosis related biomarkers and immune infiltration in Parkinson's disease by integrated bioinformatic analysis [J]. BMC Medical Genomics, 2023, 16(1): 55.
- [10] LUTKEWITTE A J, FINCK B N. Regulation of signaling and metabolism by lipin-mediated phosphatidic acid phosphohydrolase activity[J]. Biomolecules, 2020, 10(10): 1386.
- [11] JAMA A, ALSHUDUKHI A A, BURKE S, et al. Lipin1 plays complementary roles in myofibre stability and regeneration in dystrophic muscles [J]. Journal of Physiology, 2023, 601(5): 961-978.
- [12] WANG Meijian, XIE Min, YU Shuyan, et al. Lipin1 alleviates autophagy disorder in sciatic nerve and improves diabetic peripheral neuropathy[J]. Molecular Neurobiology, 2021, 58(11): 6049-6061.
- [13] HAN Jiang, PU Cuixia, XIAO Qiuxia, et al. MiRNA-124-3p targeting of LPIN1 attenuates inflammation and apoptosis in aged male rats cardiopulmonary bypass model of perioperative neurocognitive disorders [J]. Experimental Gerontology, 2021, 155: 111578.
- [14] HUANG Zifeng, HAN Jiajun, WU Peipei, et al. Sorting nexin 5 plays an important role in promoting ferroptosis in Parkinson's disease[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, 2022: 5463134.
- [15] MAHONEY-SÁNCHEZ L, BOUCHAOUI H, AYTON S, et al. Ferroptosis and its potential role in the physiopathology of Parkinson's disease[J]. Progress in Neurobiology, 2021, 196: 101890.
- [16] LIU Jiao, KANG Rui, TANG Daolin. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis[J]. FEBS Journal, 2022, 289(22): 7038-7050.
- [17] ZHOU Borong, LIU Jiao, KANG Rui, et al. Ferroptosis is a type of autophagy-dependent cell death [J]. Seminars in Cancer Biology, 2020, 66: 89-100.
- [18] KOSTRZEWA R M. Neonatal 6-hydroxydopamine lesioning of rats and dopaminergic neurotoxicity: proposed animal model of Parkinson's disease[J]. Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996), 2022, 129(5/6): 445-461.
- [19] YASUHARA T. Neurobiology research in Parkinson's disease [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3):793.
- [20] MUHAMMAD F, LIU Yan, WANG Ningbo, et al. Neuroprotective effects of cannabidiol on dopaminergic neurodegeneration and α -synuclein accumulation in *C. elegans* models of Parkinson's disease [J]. Neurotoxicology, 2022, 93: 128-139.
- [21] SALARAMOLI S, JOSHAGHANI H R, HOSSEINI M, et al. Therapeutic effects of selenium on alpha-synuclein accumulation in substantia nigra pars compacta in a rat model of Parkinson's disease: behavioral and biochemical outcomes[J]. Biological Trace Element Research, 2024, 202(3): 1115-1125.
- [22] 白雪, 董巧云, 赵丽, 等. 帕金森病患者血清 miR-7 和 α -Syn 表达水平与认知功能障碍的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(4): 78-82.
BAI Xue, DONG Qiaoyun, ZHAO Li, et al. Correlation between serum miR-7 and α -Syn expression levels and cognitive impairment in patients with Parkinson's disease [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(4): 78-82.
- [23] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: the role of GSH and GPx4 [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2020, 152: 175-185.
- [24] LIN Zhi, LIU Jiao, LONG Fei, et al. The lipid flippase SLC47A1 blocks metabolic vulnerability to ferroptosis[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 7965.
- [25] XIE Y, HOU W, SONG X, et al. Ferroptosis: process and function[J]. Cell Death and Differentiation, 2016, 23(3): 369-379.
- [26] COSTA I, BARBOSA D J, BENFEITO S, et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases [J]. Pharmacology Therapeutics, 2023, 244: 108373.
- [27] PÉREZ-SEGURA I, SANTIAGO-BALMAEDA A, RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ L D, et al. PPARs and their neuroprotective effects in Parkinson's disease: a novel therapeutic approach in α -Synucleinopathy?[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(4): 3264.
- [28] KAMBEY P A, LIU Wenya, WU Jiao, et al. Single-nuclei RNA sequencing uncovers heterogenous transcriptional signatures in Parkinson's disease associated with nuclear receptor-related factor 1 defect [J]. Neural Regeneration Research, 2023, 18(9): 2037-2046.

收稿日期: 2023-12-11

修回日期: 2024-05-28