

唐徽案,敖广宇,陈民,等. 铁过载相关动物模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(4): 114-127.

Tang HA, Ao GY, Chen M, et al. Research advances in iron overload and related animal models [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(4): 114-127.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.04.012

铁过载相关动物模型研究进展

唐徽案,敖广宇,陈民,张宇娇,陈泽君*

(成都中医药大学附属中西医结合医院肾内科,成都 610016)

【摘要】 铁是机体所必需的微量元素,对 DNA 合成、呼吸和氧运输等细胞核心过程至关重要。机体铁稳态由铁的协调吸收、利用、储存和循环来调节。铁缺乏和铁过载都可能导致病理变化;后者通过芬顿反应诱导高活性羟自由基发生脂质过氧化或 DNA 突变,在严重情况下可能引发铁依赖性细胞死亡。目前已知铁过载对脑、肝、脾、心脏、卵巢、肾等多个器官均会造成不容忽视的损害。但遗憾的是人们对调节铁稳态以应对铁过载的确切机制知之甚少。为了研究上述确切机制,学者们针对人类铁过载相关疾病的不同病理和生理特征探索开发了一系列动物模型。选择恰当动物模型,对于准确模拟人类铁过载相关疾病的病理生理状态至关重要。对铁过载相关动物模型的最新文献做一综述,旨在为铁过载相关疾病动物模型的开发及选用提供参考。

【关键词】 铁过载;动物模型;综述

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 04-0114-14

Research advances in iron overload and related animal models

TANG Huian, AO Guangyu, CHEN Min, ZHANG Yujiao, CHEN Zejun*

(Department of Kidney, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine of Integrated
TCM & Western Medicine Hospital, Chengdu 610016, China)

【Abstract】 Iron is an essential trace element for the human body and is critical for vital cellular processes, such as DNA synthesis, respiration, and oxygen transport. The body maintains iron homeostasis through a coordinated balance of absorption, utilization, storage, and distribution. Both iron deficiency and excess can lead to pathologies, with the latter triggering lipid peroxidation and DNA mutations via the Fenton reaction, potentially causing iron-induced cell death in severe cases. Although iron overload can inflict severe damage on multiple organs, including the brain, liver, spleen, heart, ovaries, and kidneys, the mechanisms that regulate iron homeostasis in response to overload are not fully understood. Various animal models have been developed to help elucidate these mechanisms, each reflecting different aspects of iron overload relevant to human diseases, and selection of the most appropriate animal model is needed for the accurate simulation of the pathological and physiological states associated with human iron overload-related diseases. This review synthesizes recent literature on animal models pertinent to iron overload, to offer insights to support the development and analysis of models for diseases related to iron overload.

【基金项目】 成都高新医学会科研专项基金(202302)。

【作者简介】 唐徽案(1998—),女,在读硕士研究生,住院医师,研究方向:维持性血液透析机体炎症状态干预。

E-mail:717154314@qq.com

【通信作者】 陈泽君(1973—),女,博士,主任医师,研究方向:慢性肾脏病。E-mail:jjbb77777@163.com

【Keywords】 iron overload; animal model; review

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

铁是机体必需的微量元素,在参与氧代谢、电子传递,以及 DNA、RNA 合成相关酶的活性环节等方面发挥着重要作用。然而,铁水平需要严格平衡,以避免铁缺乏或过载的病理后果。铁过载(iron overload, IOL)是指体内具有氧化还原活性和可螯合的非转铁蛋白结合铁浓度升高至 $1 \sim 20 \mu\text{mol/L}$ ^[1]。IOL 的调控基因表达和翻译后蛋白质修饰深刻影响各种细胞信号通路,改变细胞的活力、形态、发育、功能、周期甚至死亡^[2-3]。铁死亡是一种不受调控基因调控,而是与氧化应激相关的铁依赖性细胞死亡,其特征是脂质过氧化作用增加和抗氧化剂耗竭,铁蛋白降解释放铁,从而引发铁死亡^[4]。

IOL 常因某些遗传性或获得性病理因素破坏细胞铁稳态诱发,这些疾病多与血色素沉着症相关。遗传性血色素沉着症(hereditary hemochromatosis, HH)常涉及调节铁稳态的基因编码突变、铁调素或铁转运蛋白生物合成的基因突变,病理特征是肠道铁吸收增加以及各种器官与组织中铁进行性积累。地中海贫血和镰状细胞病等血红蛋白病或慢性肾病的继发性或获得性 IOL 通常以贫血为特征,常由输血、外源性补充铁剂治疗所致。IOL 不仅会增加上述疾病的发病率和死亡率,同时也在糖尿病相关并发症、阿尔茨海默病、肝纤维化等慢性疾病中扮演重要角色。临床常建议通过静脉切开术或铁螯合剂来预防或控制全高铁水平的毒性^[5]。不容乐观的是,静脉切开术一时难以被患者及家属接受,而有超过 10% 接受铁螯合剂治疗的患者会出现严重的不良反应^[6],静脉切开术与现有药物治疗限制了依从性和治疗效果。

然而 IOL 状态相关的病理生理学机制以及 IOL 如何促进疾病的发生发展尚未被完全阐明,因此针对铁过载及铁死亡开发并建立临床前 IOL 模型的需求一直存在。本文基于 PubMed 数据库进行铁过载相关文献检索,重点对铁过载相关疾病的动物模型做一总结梳理,旨在为构建和观察铁过载相关疾病模型提供一定参考。

1 铁生成及代谢

在人体铁代谢的复杂网络中,巨噬细胞通过吞噬衰老的红细胞,发挥着铁回收的关键作用^[7]。这些细胞内的铁主要以 Fe^{2+} 的形式储存于铁蛋白中,部分铁通过铁蛋白输出后,经由肝的铜蓝蛋白催化氧化为 Fe^{3+} 。随后,这些 Fe^{3+} 通过转铁蛋白(transferrin, Tf)的介导,被运输至骨髓,参与红细胞的生成过程。饮食中摄入的铁,即非血红素铁,通过十二指肠上皮细胞刷状边缘的铁还原酶,如细胞色素 B 等,将 Fe^{3+} 还原成铁转运蛋白(ferroportin, Fpn)摄取和随后吸收所需的 Fe^{2+} 。这一还原过程对于 Fpn 的摄取至关重要,进而由二价金属转运蛋白 1(divalent metal transporter-1, DMT1)介导跨肠上皮细胞顶膜转运回收^[8]。转铁蛋白的铁结合位点约 20%~45% 被 Fe^{3+} 占据^[9],通过与其受体(transferrin receptor 1, TfR1)的特异性结合,触发内吞作用,实现铁的有效细胞内输送^[10]。在 Tf 饱和状态下,非转铁蛋白途径通过 DMT1 和 Fpn 的协同作用,促进铁的摄取。*HFE* 基因通过与 TfR1 的竞争性结合来调节铁代谢。铁调素(hepcidin)在维持全身铁稳态中扮演核心角色,其主要功能是调节十二指肠上皮细胞的铁输出,以及网状内皮巨噬细胞和肝细胞的铁释放^[11]。铁调素的转录受到骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMP)/SMAD 信号通路和 IL-6/JAK/STAT3 信号通路的双重调控。前者控制铁调素对铁的反应,后者驱动铁调素对炎症的应答^[12]。BMP 受体与铁调素调节蛋白(hemojuvelin, HJV)在 BMP-SMAD 信号通路中协同作用,对铁调素的表达及全身铁稳态的维持发挥至关重要的影响。NEO 蛋白作为与 HJV 相互作用的支架蛋白,通过与 BMP 配体的不同结构域结合,参与铁调素的调控机制。BMP 与 BMP 受体结合后,触发调节性 SMAD(R-SMAD)的磷酸化,进而与共配体 SMAD4 形成复合物,转位至细胞核,与铁调素基因启动子区域的 BMP 响应元件结合激活铁调素的转录。

2 IOL 动物模型

2.1 IOL 相关基因突变动物模型

基因工程技术的开展与世界范围内大量近交品系小鼠的广泛运用为了解单个基因的功能创造了新的机会。通过对特定组织中的特定基因进行的条件性基因敲除成为探讨铁过载相关基因突变的重要工具。

2.1.1 HH 相关动物模型

HH 与内源性铁过载密切相关,目前已经发现 4 种人类常见类型的 HH(1 型、2A 型、2B 型和 3 型、4 型 HH)依次是由 *HFE* 基因、*HJV* 基因、*HAMP* 基因和 *TFR2* 基因、*SLC40A1* (*FPN1*) 的突变引起^[13]。不同 HH 表型的铁过载生成机制存在差异。1 型、2 型和 3 型 HH 因巨噬细胞及肠道上皮细胞铁吸收与释放功能受损,无法上调铁调素,引发肝和其他实质组织中出现铁过载,常伴随转铁蛋白的饱和度异常升高、血清铁蛋白(ferritin, Ft)的增加,是 HH 发生最常见的原因。4 型 HH 是由于编码铁输出蛋白 *FPN1* 的基因突变,导致铁调素的生成不足,引起铁吸收增加, Tf 饱和度下降,导致全身和组织铁过载。

HFE 基因突变的 IOL 程度较轻,其中 C282Y 替换占 *HFE* 突变的 90%^[14]。*Hju*^{-/-} 由于铁调素严重失活,其脾、肝和十二指肠中的 Fpn 高表达,会产生严重的 IOL。KATSAROU 等^[15]认为 *Hju*^{-/-} 小鼠的铁转运蛋白表达受铁调素依赖性和铁调素非依赖性机制的铁调节,并且十二指肠 DMT1 因膳食铁的摄入受到调节,未来可能成为 IOL 药理学靶点。*Tfr2* 突变(*Tfr2*^{mut})小鼠模型导致迟发型 IOL,并且在铁饱和的情况下仍会长期从膳食中吸收铁,临床多用来研究 Y250X 突变同源的 3 型 HH^[16]。

2.1.2 骨形态发生蛋白相关铁过载动物模型

内源性 BMP6、BMP2 的缺失也会导致血清铁调素水平低,引发铁过载。由于 BMP2 能替代 BMP6 激活 BMP RSMAD 磷酸化的功能,所以 BMP6 的铁过载程度轻微。*Bmp6* KO 小鼠常在肝、心脏和胰腺组织 IOL 明显^[17]。PAUK 等^[18]选用 129Sv/C57 背景的 3 月龄以及 10 月龄的 *Bmp* KO 小鼠观察 IOL 与胰腺以及葡萄糖稳态的关系,发现 *Bmp6* 优先在外分泌胰腺部位进行铁沉

积。*Bmp1* 型受体 *Alk2* 突变会导致中度 IOL,伴随肝门管周围铁积累,而肝细胞特异性 *Alk3* 缺乏会导致严重铁超载,伴随肝小叶中心铁积累和铁调素水平更明显的降低。特异性 *Alk2/3* 缺陷小鼠的铁过载表型则比 *Alk3* 缺陷小鼠更为严重^[19]。

2.1.3 地中海贫血相关铁过载动物模型

Th3/+小鼠基于杂合性中 β -次要基因和 β -主要基因的缺失产生,与中间型 β -地中海贫血患者的疾病表型相当。铁代谢紊乱表现为铁调素减少,转铁蛋白功能障碍,肠道铁吸收增加,以血浆中非转铁蛋白结合铁(non-transferrin bound iron, NTBI)为主的全身性铁过载。LIU 等^[20]选用 Th3/+小鼠模型通过非靶向脂质组学方法论证 IOL 下磷脂稳态的破坏可能是铁诱导性心肌病发生的潜在机制。

2.1.4 阿尔茨海默病相关铁过载动物模型

Attractin(*Atrn*)基因自发突变的大鼠(LEW zi/zi 大鼠)是由 zitter(*zi/zi*)大鼠(Sprague Dawley 杂交种)在 Lewis 背景下回交而来,其外周血浆铁通过非内皮血脑屏障系统(脉络血管丛)进入中枢神经系统,可与临床中观察到的老年患者铁沉积模式相转化运用^[21]。

2.1.5 非经典 *HAMP* 调控因子相关铁过载动物模型

近年来,非经典 *HAMP* 调控因子(特别是表观遗传调控因子)也愈发受到学者们的关注,表观遗传变化的调节剂被认为可以调节铁代谢。例如,组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAC)是与 SMAD 4 竞争性结合的 *HAMP* 表达抑制剂。肝中选择性缺乏 *Hdac3* 表达的小鼠(*Hdac3*-cKO 小鼠)通过 *Hdac3*^{fl/fl} 小鼠与 Alb-Cre+ 转基因小鼠杂交所得,MENG 等^[22]证实 *Hdac3* 缺失通过介导 Hippo-YAP 轴降低肝 *Hamp* mRNA 导致肝 IOL, *Hdac3* 对维持全身铁稳态和抑制铁死亡具有重要作用。

通过外显子组测序已将甘油磷酸 O-酰基转移酶(GNPAT p. D519G)基因确定为 HH 中 IOL 的遗传修饰因子。临床上,即使没有 *HFE* 突变的 GNPAT 多态性受试者也表现出血清铁调素降低及血清铁水平、转铁蛋白饱和度升高,意味着 GNPAT p. D519G 多态性与 *HFE* 突变的 HH 患者更严重的 IOL 有关。RISHI 等^[23]选用 C57BL/6J

× CD1.129 混合背景下的杂合 *Gnpat* 缺陷 (*Gnpat*^{+/-}) 雄性小鼠与 C57BL/6J 背景下的纯合 *Hfe* 敲除 (*Hfe*^{-/-}) 雌性小鼠交配产出具有 *Hfe*^{+/-}/*Gnpat*^{+/-} 小鼠,进行同窝繁殖培育所得的 *Gnpat*^{+/-} 小鼠。与 AN 等^[24]的研究结论相反的是,RISHI

等^[23]的研究结果表明喂食高铁饮食的 *Gnpat*^{+/-} 小鼠的 *Hamp* mRNA 表达呈降低趋势,血清铁水平和转铁蛋白饱和度呈升高趋势,在动物模型中重现了接受铁耐受性测试的 GNPAT 多态性女性的观察结果(表 1)。

表 1 铁过载相关基因突变动物模型
Table 1 Animal models of gene mutations related to iron overload

品系 Species-strian	造模方法 Modeling method	饲料 Ration	评价指标 Assessment criteria	结局 Outcomes
<i>Hdac3</i> -L 基因敲除小鼠 ^[22] <i>Hdac3</i> -L KO mice	<i>Hdac3</i> ^{flox/flox} 与 <i>Alb</i> -Cre ⁺ 小鼠 (Cre-loxP 系统) <i>Hdac3</i> ^{flox/flox} - <i>Alb</i> -Cre ⁺ mice crossbreeding	50 ppm	肝铁、血清铁浓度 ↑, 铁调素 ↓, 铁转运蛋白 (十二指肠、脾) ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓ LIC、SIC ↑, hepcidin ↓, Fpn (duodenum、spleen) ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓	铁死亡, 肝肿大, 肝纤维化 Ferroptosis, hepatomegaly, hepatic fibrosis
YAP K342M 小鼠 ^[22] YAP K342M mice	敲低 YAP 蛋白 (shRNA 敲低, RNA 干扰) Knockdown of YAP protein (shRNA-mediated knockdown, RNA interference)	NA	血清铁浓度 ↑, 铁调素 ↓, 铁转运蛋白 (十二指肠、脾) ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓ SIC ↑ hepcidin ↓, Fpn (duodenum, spleen) ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓	肝体积增大, 铁中毒 Hepatomegaly, iron toxicity
Th3/+ C57BL/6J 杂合雄性小鼠 ^[20] Th3/+ C57BL/6J male mice	杂交育种 Hybridization	NA	肝铁浓度、铁蛋白、非转铁蛋白结合铁 ↑, 铁调素 ↓ LIC, FER, NTBI ↑, hepcidin ↓	β-地中海贫血, 心肌病, 糖代谢缺陷, 脂代谢紊乱 β-thalassemia, cardiomyopathy, disorders of carbohydrate metabolism, disorders of lipid metabolism
LEWzi/zi 大鼠 ^[21] LEWzi/zi rat	SD 中 zitter (zi/zi) 基因型+Lewis 近交系大鼠 (回交) Zitter (zi/zi) genotype in Sprague-Dawley (SD) rats crossed with Lewis inbred rats (backcrossed)	NA	血清铁浓度、乳酸脱氢酶 ↑, 铁转运蛋白 (脉络丛) ↓, 脑部、肾铁沉积, 脉络丛铁阳性 SIC, LDH ↑, Fpn (choroid plexus) ↓, iron deposition in the brain and kidneys ↑, iron-positive staining in the choroid plexus	血管内溶血, 炎症性脱髓鞘疾病 Intravascular hemolysis, inflammatory demyelinating disease, multiple sclerosis
Y245X 突变小鼠 ^[16] Y245X knock-in mice	<i>Hbb</i> ^{th3/+} + <i>Tfr2</i> ^{Y245X/Y245X} (C57BL/6J 背景下回交) <i>Hbb</i> ^{th3/+} + <i>Tfr2</i> ^{Y245X/Y245X} (backcrossed on a C57BL/6J background)	380 ppm	铁调素 ↓ Hepcidin ↓	遗传性血色素沉着症, 脾肿大 HH, splenomegaly
C57BL/6 <i>Hju</i> ^{-/-} 小鼠 ^[15] C57BL/6 <i>Hju</i> ^{-/-} mice	基因敲除 Gene knockout	75~100 ppm	肝铁浓度、二价金属转运蛋白 1 ↑, 铁蛋白 (脾 ↓, 肝 ↑), 铁调素 ↓, 铁转运蛋白 (十二指肠、肝、脾 ↑), <i>Hamp</i> mRNA ↓ LIC, DMT1 ↑, FER (spleen ↓, liver ↑), hepcidin ↓, Fpn (duodenum, spleen, liver ↑), <i>Hamp</i> mRNA ↓	遗传性血色素沉着症 HH

续表1

品系 Species-strian	造模方法 Modeling method	饲料 Ration	评价指标 Assessment criteria	结局 Outcomes
<i>Bmp2</i> KO 雄性小鼠 ^[17] <i>Bmp2</i> KO male mice	<i>Bmp2</i> ^{fl/fl} ; <i>Bmp6</i> ^{wt/wt} ; Tek-Cre+小鼠 (Tek-Cre+, 基因 floxed) <i>Bmp2</i> ^{fl/fl} ; <i>Bmp6</i> ^{wt/wt} ; Tek-Cre + mice (Tek-Cre+, floxed genes)	2~380 ppm	肝铁、血清铁浓度 ↑, 脾铁沉积 ↓, 胰腺、心脏铁沉积 ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓ LIC, SIC ↑, splenic iron deposition ↓, pancreatic/cardiac iron deposition ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓	遗传性血色素沉着症 HH
<i>Bmp6</i> KO 雄性小鼠 ^[17] <i>Bmp6</i> KO male mice	<i>Bmp2</i> ^{wt/wt} ; <i>Bmp6</i> ^{fl/fl} ; Tek-Cre+小鼠 (Tek-Cre+, 基因 floxed) <i>Bmp2</i> ^{wt/wt} ; <i>Bmp6</i> ^{fl/fl} ; Tek-Cre + mice (Tek-Cre+, floxed genes)	2~380 ppm	肝铁、血清铁浓度 ↑, 脾铁沉积 ↓, 胰腺、心脏铁沉积 ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓ LIC, SIC ↑, splenic iron deposition ↓, pancreatic/ cardiac iron deposition ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓	遗传血色素沉着症 HH
Ecs <i>Bmp6</i> cKO 雄性小鼠 ^[25] Ecs <i>Bmp6</i> cKO male mice	<i>Bmp6</i> ^{fl/fl} ; Tek-Cre+ (Cre-loxP 系统) <i>Bmp6</i> ^{fl/fl} ; Tek-Cre + (Cre-loxp system)	380 ppm	肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓, 脾铁沉积 ↓, 胰腺、心脏铁沉积 ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓ LIC, SIC, Tf ↑, hepcidin ↓, splenic iron deposition ↓, pancreatic/cardiac iron deposition ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓	遗传血色素沉着症 HH
<i>Smad1/5</i> KO 小鼠 ^[26] <i>Smad1/5</i> KO mice	C57BL/6J; 129S5/SvEvBrd 品系 <i>Smad1/5</i> ^{fl/fl} 与 Cre 转基因小鼠交配(Cre-loxP 系统) Crossing: <i>Smad1/5</i> ^{fl/fl} (C57BL/6J; 129S5/SvEvBrd) × Cre transgenic mice (Cre-loxP system)	380 ppm	肝铁、血清铁浓度 ↑, 转铁蛋白 ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓ LIC, SIC, Tf ↑, <i>Hamp</i> mRNA ↓	严重肝铁过载 Severe iron overload in the liver
<i>Hfe</i> KO 小鼠 ^[17] <i>Hfe</i> KO mice	<i>Hfe</i> ^{-/-} ; <i>Bmp2</i> ^{fl/fl} ; (Tek-Cre+, 全身性敲除) <i>Hfe</i> ^{-/-} ; <i>Bmp2</i> ^{fl/fl} ; (Tek-Cre +, systemic knockout)	NA	肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓ LIC, SIC, Tf ↑, hepcidin ↓	遗传性血色素沉着症 HH
<i>Bmp2+Hfe</i> KO 小鼠 <i>Bmp2+Hfe</i> KO mice ^[17]	<i>Hfe</i> ^{-/-} ; <i>Bmp2</i> ^{fl/fl} ; (Tek-Cre+, 全身性敲除) <i>Hfe</i> ^{-/-} ; <i>Bmp2</i> ^{fl/fl} ; (Tek-Cre +, systemic knockout)	NA	肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓, 脾铁沉积 ↓, 胰腺、心脏铁沉积 ↑ LIC, SIC, Tf ↑, hepcidin ↓, splenic iron deposition ↓, pancreatic/cardiac iron deposition ↑	遗传性血色素沉着症 HH
<i>Gnpat</i> ^{+/-} 雄性小鼠 ^[23] <i>Gnpat</i> ^{+/-} male mice	C57BL/6J <i>Hfe</i> ^{-/-} 雌 鼠 与 CD1. 129 <i>Gnpat</i> ^{+/-} 雄鼠杂交获得 <i>Hfe</i> ^{+/-} / <i>Gnpat</i> ^{+/-} 型 <i>Hfe</i> ^{-/-} ; <i>Gnpat</i> ^{+/-} mice were generated by crossing C57BL/6J <i>Hfe</i> ^{-/-} females with CD1. 129 <i>Gnpat</i> ^{+/-} males	NA	肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓, <i>Bmp6</i> 、 <i>Smad7</i> mRNA、 <i>Hamp</i> ↓ LIC, SIC, Tf ↑, hepcidin ↓, splenic iron deposition ↓, <i>Bmp6</i> / <i>Smad7</i> mRNA, <i>Hamp</i> ↓	影响铁稳态 Disruption of iron homeostasis

续表1

品系 Species-strian	造模方法 Modeling method	饲料 Ration	评价指标 Assessment criteria	结局 Outcomes
C57BL/6 <i>Hfe</i> ^{-/-} 小鼠 ^[27] C57BL/6 <i>Hfe</i> ^{-/-} mice	同源重组, ES 细胞与胚胎融合 Homologous recombination, embryonic stem cells and embryo fusion	270 ppm	肝铁、血清铁浓度, 铁调素 ↓, 转铁蛋白受体 1、Hamp1 及 Hamp2 mRNA ↑, Slc40a1 ↓ LIC, SIC ↑, hepcidin ↓, Tfr1, Hamp1/Hamp2 mRNA ↑, Slc40a1 ↓	IOL
AKR <i>Hfe</i> ^{-/-} 小鼠 AKR <i>Hfe</i> ^{-/-} mice ^[27]	同源重组, ES 细胞与胚胎融合 Homologous recombination, embryonic stem cells and embryo fusion	270 ppm	肝铁浓度 ↑, 铁调素 ↓, 转铁蛋白受体 1、Hamp1/2、Slc40a1 mRNA ↓ LIC ↑, hepcidin ↓, Tfr1, Hamp1/Hamp2, Slc40a1 mRNA ↓	IOL
<i>Hfe</i> H67D/H67D 小鼠 ^[28] <i>Hfe</i> H67D/H67D mice	同源重组 Homologous recombination	200 ppm	肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓ LIC, SIC, Tf ↑, hepcidin ↓	遗传性血色素沉着症 HH
C294Y/H67D 小鼠 ^[28] C294Y/H67D mice	同源重组 Homologous recombination	200 ppm	肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓ LIC, SIC, Tf ↑, hepcidin ↓	遗传性血色素沉着症 HH
C57BL/6 <i>Hfe</i> ^{-/-} 小鼠 ^[29] C57BL/6 <i>Hfe</i> ^{-/-} mice	NA	25 150 ppm, 2 weeks	肝铁、血清铁浓度、铁蛋白、铁转运蛋白 ↑, 铁调素、转铁蛋白受体 1 ↓, 铁调素受体 2 ↑ LIC, SIC, FER, Fpn ↑, hepcidin, Tfr1 ↓, Mfm2 ↑	线粒体受损 Mitochondrial damage
<i>Hju</i> ^{-/-} 雄性小鼠 ^[30] <i>Hju</i> ^{-/-} male mice	129S6/SvEvTac + C57BL/6 混合背景 (基因靶向敲除+Cre/loxP) 129S6/SvEvTac + C57BL/6 mixed background (Gene-targeted knockout +Cre/loxP)	226 ppm	肝铁、血清铁浓度、铁蛋白、转铁蛋白 ↑, 铁调素 ↓, Bmp6 mRNA ↑, 胰腺及心脏铁沉积 ↑, 脾铁沉积 ↓ LIC, SIC, FER, Tf ↑, hepcidin ↓, Bmp6 mRNA ↑, pancreatic/cardiac iron deposition ↑, splenic iron deposition ↓	线粒体受损 Mitochondrial damage
<i>Hepc</i> ^{Δtotal} 雄性小鼠 ^[31] <i>Hepc</i> ^{Δtotal} male mice	<i>Hamp1</i> ^{lox/lox} 小鼠与表达 Cre 重组酶的转基因系 (E2a-Cre) 交配 (基因靶向+Cre/loxP) <i>Hamp1</i> ^{lox/lox} × E2a-Cre mice (Gene targeting+Cre/loxP)	NA	肝铁、血清铁浓度 ↑, 铁蛋白 ↓, 铁转运蛋白 (脾、十二指肠) ↑, 胰腺铁沉积 ↑, 十二指肠细胞色素 B、二价金属转运蛋白 1 ↑ LIC, SIC ↑, FER ↓, Fpn (spleen and duodenum) ↑, pancreatic iron deposition ↑, DCYTB, DMT1 ↑	心肌功能障碍 Myocardial dysfunction
<i>Hepc</i> ^{Δliver} 小鼠 ^[31] <i>Hepc</i> ^{Δliver} mice	<i>Hamp1</i> ^{lox/lox} 小鼠与表达肝细胞特异性 Alb-Cre 重组酶小鼠交配 (基因靶向+Cre/loxP) <i>Hamp1</i> ^{lox/lox} × Alb-Cre (hepatocyte-specific) mice (Gene targeting + Cre/loxP)	NA	肝铁、血清铁浓度 ↑, 铁蛋白 ↓, 铁转运蛋白 (脾、十二指肠) ↑, 胰腺铁沉积 ↑, 十二指肠细胞色素 B、二价金属转运蛋白 1 ↑ LIC, SIC ↑, FER ↓, Fpn (spleen and duodenum) ↑, pancreatic iron deposition ↑, DCYTB, DMT1 ↑	严重肝铁过载 Severe iron overload in the liver

续表1

品系 Species-strian	造模方法 Modeling method	饲料 Ration	评价指标 Assessment criteria	结局 Outcomes
<i>Fpn1</i> (H32R) 小鼠 ^[32]	C57BL/6J 雄 鼠 ENU 处 理 flatiron 突变,与同品系雌鼠回交 (化学诱变剂诱变)	NA	肝铁、血清铁浓度 ↑,转铁蛋白、 铁调素 ↓ LIC, SIC ↑, Tf, hepcidin ↓	遗传性血色素沉着症 HH
<i>Fpn1</i> (H32R) mice	C57BL/6J male mice treated with ENU to induce flatiron mutation, backcrossed with females of the same strain (chemical mutagenesis)			
<i>Ndst1</i> Hepatocyte cKO 小鼠 ^[33]	<i>Ndst1</i> ^{l^{tr}} Alb-Cre (CRISPR/Cas9 基因编辑)	200 ppm (1 week)	肝铁、血 清 铁 浓 度 ↑,铁 调 素、 Hamp mRNA ↓,脾铁沉积 ↑	
<i>Ndst1</i> Hepatocyte cKO mice	<i>Ndst1</i> ^{l^{tr}} Alb-Cre(CRISPR/Cas9)	~ 8300 ppm (3 weeks)	LIC, SIC ↑, hepcidin ↓, Hamp mRNA ↓, Splenic iron deposition ↑	IOL
<i>Alk3</i> KO 雌性 小鼠 ^[34]	C57BL/6; SV129 混合背景 <i>Alk3</i> ^{fl/fl} ; Alb-Cre(Alb-Cre, 基因 floxed)	380 ppm	肝铁(中央区域)、血清铁浓度,转 铁蛋白 ↑,铁调素 ↓,脾铁沉积 ↓,肾、心脏、胰腺铁沉积 ↑, <i>Alk3</i> mRNA、 <i>Tfrc</i> mRNA ↓, <i>Bmp6</i> mRNA ↑	IOL
<i>Alk3</i> KO female mice	C57BL/6; SV129 mixed background <i>Alk3</i> ^{fl/fl} ; Alb-Cre (floxed)(Alb-Cre, gene floxed)		LIC (central region of the liver), SIC, Tf ↑, splenic iron deposition ↓, kidney/pancreatic/cardiac iron deposition ↑, <i>Alk3</i> mRNA、 <i>Tfrc</i> mRNA ↓, <i>Bmp6</i> mRNA ↑	
<i>Alk2</i> KO 雌性 小鼠 ^[34]	C57BL/6; SV129 混合背景 <i>Alk2</i> ^{fl/fl} ; Alb-Cre (Alb-Cre,基因 floxed)	380 ppm	肝铁(周围门脉型)、血清铁浓度、 转铁蛋白 ↑,铁调素 ↓, <i>Alk2</i> mRNA、 <i>Tfrc</i> mRNA ↓, <i>Bmp6</i> mRNA ↑	IOL
<i>Alk2</i> KO female mice	C57BL/6; SV129 mixed background <i>Alk2</i> ^{fl/fl} ; Alb-Cre (Alb-Cre, gene floxed)		LIC (periportal pattern), SIC, Tf ↑, hepcidin ↓, <i>Alk2</i> mRNA, <i>Tfrc</i> mRNA ↓, <i>Bmp6</i> mRNA ↑	

注: ↑:增加; ↓:降低;KO:基因敲除;cKO:条件性基因敲除;NA:文中未提及;Hamp mRNA:铁调素 mRNA;DCYTB:十二指肠细胞色素 B;DMT1:二价金属转运蛋白 1;NTBI:非转铁蛋白结合铁;Slc40a1:铁转运蛋白;Bmp6 mRNA:骨形态发生蛋白 6 mRNA;Smad7 mRNA: SMAD 家族成员 7 mRNA;Alk2 mRNA:激活素受体样激酶 3 mRNA;Tfrc mRNA:转铁蛋白受体 mRNA。
Note. ↑, Increase. ↓, Decrease. KO, Knock out. cKO, Conditional knock out. NA, Not applicable. Hamp mRNA, Heparin mRNA. DCYTB, Duodenal cytochrome B. DMT1, Divalent metal-ion transporter 1. NTBI, Non-transferrin bound iron. Slc40a1, Solute carrier family 40 member 1. Bmp6 mRNA, Bone morphogenetic protein 6 mRNA. Smad7 mRNA, SMAD family member 7 mRNA. Alk2 mRNA, Activin receptor-like kinase 2 mRNA. Tfrc mRNA, Transferrin receptor mRNA.

2.2 混合实验模式诱导 IOL 动物模型

不少研究者发现 IOL 往往与多种疾病的病因和并发症有关,因此设计了不少 IOL 与其他病理模型一同诱导的混合实验模式。ALTAMURA 等^[35]将 *Fpn*^{wt/C326S} 小鼠与 2 型糖尿病、胰岛素抵抗和脂肪变性为特征的 *Lepr*^{db/db} 小鼠杂交获得 *Lepr*^{db/db}/*Fpn*^{wt/C326S} 小鼠,以此探讨 IOL 作为 2 型糖尿病患者中观察到的“二次打击”对肝和糖尿

病视网膜病变晚期并发症的影响。BAO 等^[36]将 C57BL/6 背景下的 *Fpn*-floxed (*Fpn*^{fl/fl}) 小鼠与 NEX-Cre 小鼠交配以产生条件性 *Fpn*^{fl/fl/NEXcre} 小鼠,即在大脑皮层和海马的主要神经元中遗传删除 *Fpn*,导致类似阿尔茨海默病的海马萎缩和记忆缺陷,恢复 *Fpn* 可改善 APPswe/PS1dE9 小鼠的铁死亡和记忆障碍。AKR 背景下的 *Hfe*^{-/-} 和 *Tfr2*^{mut} 小鼠杂交以生成 *Hfe*^{-/-}×*Tfr2*^{mut} 双突变 3 月

龄小鼠模型再现 IOL 所致肝损伤^[37]。MOON 等^[38]在连续 13 周对饲养 C57BL/6J 品系的 3 周龄氧化偶氮甲烷/葡聚糖硫酸钠(AOM/DSS)雄性小鼠予以 2000 ppm/kg 浓度硫酸亚铁以构建结肠炎、结直肠癌 IOL 模型,研究发现,IOL 下调 AOM/DSS 诱导的炎症基因表达,延缓了结肠肿瘤的进展,并表明实验结果与饮食 IOL 的配方、剂量有关。

CHAN 等^[39]在 9 周龄雄性 B6D2F1 小鼠给予 300 cGy 的非致死全身辐射+皮下注射 0.5 mg 地塞米松磷酸钠诱导急性髓系白血病的基础上建立接受每周腹腔注射右旋糖酐铁 37.5 mg,长达 70 周的慢性 IOL 模型,以此探讨 IOL 对急性髓系白血病的影响以及评估铁螯合剂的有效性。CHAUDHARY 等^[40]在 *Hfe*^{-/-}小鼠用链脲佐菌素诱导 2 型糖尿病,以了解 IOL 与糖尿病肾病之间的潜在联系。

2.3 外源性 IOL 动物模型

由于人体存在限制肠道铁吸收的保护机制以及通常不会暴露于高浓度的铁,因此正常情况下发生过量摄入膳食铁而导致的 IOL 的情况并不常见。然而多次输血以及补充铁剂的情况除外。在婴儿群体中,已报道的急性铁中毒剂量为 20 mg/kg 体重(mg/kg BW),此剂量水平足以引起局部反应。然而,当摄入量低于 60 mg/kg BW 时,通常不会观察到全身性的影响。在儿童和成人人群中,致死剂量的铁摄入分别约为 200~300 mg/kg BW 和 1400 mg/kg BW^[41]。在动物实验中,通常使用极高水平的铁补充诱导铁过载。典型的铁浓度各不相同,但累积可高达 2%~3%(20 000~30 000 ppm)。

2.3.1 全转铁蛋白(transferrin-bound iron, Holo-Tf)

ZHANG 等^[42]通过向 C57BL/6 小鼠腹膜内注射 10 mg 的 Holo-Tf 建立急性血清铁过载小鼠模型,即血清铁浓度在 2 h 内显著增长 4 倍,Hamp mRNA 浓度 4 h 达到峰值,而作为血清铁过载和肝铁过载的标志物,Tfr2 和 FTH1 也相应增加。结果显示 Holo-Tf 增强肝细胞对 BMP6 的敏感性,并表示 E3 泛素蛋白连接酶 SMURF1 可以通过增加血清铁过载时肝细胞对 BMP 的反应性来特异性调节 BMP/SMAD 途径。

2.3.2 柠檬酸铁胺

如前文所述,IOL 常会诱发氧化应激、炎症和线粒体功能破坏,从而导致神经元死亡,是神经退行性疾病的发病机制之一^[43]。LI 等^[43]在 8 周龄 C57BL/6 小鼠的双侧海马体上注射浓度为 0.5、1、2 $\mu\text{g}/\text{d}$,并且连续注射 1 周的柠檬酸铁铵(ferric ammonium citrate, FAC),以此构建小鼠海马 IOL 模型,研究表明 IOL 对海马体神经元的损伤可能归因于铁诱导下前蛋白转化酶 furin 的下调以及脑源性神经营养因子(BDNF)的减少。成年野生型斑马鱼通过鳃膜和肠道黏膜在浓度为 $4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的柠檬酸铁铵水中进行铁吸收,短暂的 60 h 巡游后即可在构建大脑 IOL 模型,其小胶质细胞增殖减缓、线粒体膜电位明显受损,细胞 IOL 表现为 FPN1 和 DMT1 水平增加。CAROTA 等^[6]通过该模型验证 α -硫辛酸作为铁螯合剂具有较低的不良反应,通过 NRF2/HO-1 通路激活发挥抗氧化作用,有机会干预脑损伤所致的 IOL 损害发生。

2.3.3 柠檬酸铁

柠檬酸铁是一种无钙、铁基磷酸盐结合剂,除作为食品添加剂以外,还是用于慢性肾病补钙降磷治疗的口服铁补充剂。HUANG 等^[44]对 9 月龄 C57BL/6 小鼠长达 16 周的灌胃柠檬酸铁(333.3 mg/(kg · d),换算为成人剂量约为 2585.9 mg,小于说明书最大推荐量 4800 mg/d)构建慢性脑 IOL 模型,发现其肝、心脏、肾、大脑有明显 IOL 现象,并发现小鼠认知、行为功能障碍,可作为潜在帕金森病动物模型。

2.3.4 二茂铁剂

β -地中海贫血成年小鼠在 4 个月含 2 g/kg 二茂铁剂的饲料喂养下构建慢性高铁饮食干预下的 IOL 模型,SRIPETCHWANDEE 等^[45]将此模型用于探讨 β -地中海贫血外源性 IOL 所致的神认知功能障碍,发生机制可能是通过 T 型钙通道有关,并验证该 IOL 模型伴有神经胶质过度活化、线粒体功能和动力学变化、脑细胞凋亡和阿尔茨海默病样病理等特征。

2.3.5 次氨基三乙酸铁(ferric nitriloacetic acid, Fe-NTA)

Fe-NTA 常用于诱导氧化应激相关疾病模型,多经肠道吸收。单次腹膜内注射 10 mg Fe/kg 次

氨基三乙酸铁后血清铁浓度在 1 h 后达到峰值,还会增加肝脂质过氧化和血清肝损伤标志物的释放,在 24 h 后铁浓度回落至未治疗水平,最初用于建立胰腺内分泌细胞受损引发糖尿病的铁过载动物模型。随后人们发现选用近 90% 的 Wistar 雄性大鼠经多次注射后可在在谷胱甘肽循环强氧化刺激下引发肾 IOL 以及铁死亡,并促使肾近端小管中 Cdkn2a/3b 失活诱发肾细胞癌^[46]。

2. 3. 6 右旋糖酐铁(iron dextran, Fe Dex)

Fe Dex 是继发性 IOL 动物模型最常见的铁剂,并且常采取腹腔内注射的方式进行造模。腹腔注射右旋糖酐铁引起的急性 IOL 会对大鼠下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴产生毒性作用^[47]。SHU 等^[48]采取给 2 月龄的野生型小鼠每周 5 d 腹腔注射 300 μL 的 10 mg Fe Dex 2~4 周构建全身 IOL 动物模型。FIDELIS 等^[49]通过对 3 月龄的雄性 Wistar 大鼠每周 5 d、总计两周的腹腔注射 200 mg/(kg·d) 右旋糖酐铁,以此用于评估阻断血管紧张素 AT1 受体减轻 IOL 血管损伤的有效性。QIN 等^[50]通过每周 1 次,连续 8 周对成年雌性 C57BL/6J 小鼠腹腔注射浓度分别为 0.1 g/kg

(LF 组)、0.5 g/kg(MF 组)、1.0 g/kg(HF 组)的右旋糖酐铁构建慢性浓度依赖性 IOL 模型,探讨不同梯度铁水平情况下 IOL 对内分泌和卵巢生殖功能的影响,研究表示 IOL 可能通过破坏卵巢类固醇生成、干扰卵巢微环境和抑制 Wnt 信号传导来损害卵巢功能,HF 组小鼠不孕及难产的比例显著增加,子代铁稳态失衡。

WU 等^[51]通过对雌性 6~8 周龄的 BALB/c 小鼠进行长达 10 周、每周 200 mg 的右旋糖酐铁腹腔内注射,以此模拟再生障碍性贫血并合并 IOL 的动物模型。ÁVILA 等^[52]通过腹腔内注射 100 mg/(kg·d),每周 5 d,共计 4 周的右旋糖酐铁铁剂补充,以此建立慢性 IOL 小鼠模型,探究有氧运动对 IOL 心肌病变的保护因素。JENSEN 等^[53]通过长达 15 个月对雌性哥廷根小猪在臀部进行肌注右旋糖酐铁(每周 7~125 mg/kg)或经长时间地(7~21 个月)口服右旋糖酐铁(每周 5.0~140 mg/kg)构建慢性 IOL 模型,以此探讨心脏核磁 T2* 技术在 IOL 条件下估计心脏铁的有效性,并发现该模型可用来模拟由输血性 IOL 造成的心脏损害(表 2)。

表 2 外源性铁过载动物模型
Table 2 Animal model of exogenous iron overload

品系 Species-strian	铁剂 Iron formulations	造模方法 Modeling method	评价指标 Evaluation indicators	结局 Outcome
C57BL/6 雄性小鼠 ^[42] C57BL/6 male mice	2 mg/mL Holo-Tf 细胞 2 mg/mL Holo-Tf cell	单次腹腔注射 10 mg Holo-Tf (外源性诱导,急性 IOL) Single intraperitoneal injection of 10 mg Holo-Tf (exogenous induction, acute IOL)	血清铁浓度、Hamp mRNA、转铁蛋白受体 2、铁蛋白重链 1、SMAD1 ↑, SMURF1 ↓ SIC, Hamp mRNA, TFR2, FTH1 SMAD1 ↑, SMURF1 ↓	IOL
Wistar 大鼠 ^[54] Wistar rat	次氨基三乙酸铁 Fe-NTA	腹腔注射,剂量依次为:2 mg Fe/kg BW/d(3 周), 6 mg Fe/kg BW/d(3 周), 10 mg Fe/kg BW/d(2 个月) (药物诱导) Intraperitoneal injection at doses of: 2 mg Fe/kg BW/day (3 weeks), 6 mg Fe/kg BW/day (3 weeks), 10 mg Fe/kg BW/day (2 months) (drug induction)	肝铁浓度、转铁蛋白 ↑ LIC, Tf ↑	糖尿病、IOL、胰岛功能障碍 Diabetes mellitus, iron overload, islet dysfunction
C57BL/6 雄性小鼠 ^[42] C57BL/6 male mice	2% 羰基铁 2% carbonyl iron	喂养口服 2% 羰基铁(1 周), 随后喂食低铁饮食(2~6 ppm 铁)2 d (药物诱导) Oral administration of 2% carbonyl iron (1 week), followed by a low-iron diet (2~6 ppm iron) for 2 days (drug induction)	肝铁浓度、铁蛋白重链 1、Hamp mRNA、Bmp6 mRNA、磷酸化的 SMAD1 和 SMAD5 蛋白 ↑ LIC, FTH1, Hamp mRNA, Bmp6 mRNA, pSMAD1/5 ↑	肝铁过载 Hepatic iron overload

续表2

品系 Species-strian	铁剂 Iron formulations	造模方法 Modeling method	评价指标 Evaluation indicators	结局 Outcome
Wistar 雄 性 大鼠 ^[55] Wistar male rat	聚麦芽糖铁 Iron polymaltose	单次腹腔注射 45 mg/kg BW STZ 诱导糖尿病模型,随后管饲聚麦芽糖铁 3 mg Fe/kg BW/d (12 周) (药物诱导) Single intraperitoneal injection of 45 mg/kg BW STZ to induce diabetes, followed by oral gavage of polymaltose iron at 3 mg Fe/kg BW/day (12 weeks) (drug induction)	铁调素 ↓, 转铁蛋白受体 ↓, 二价金属转运蛋白 1 (肾) ↓ Hepcidin ↓, Tfr ↑, DMT1 (kidney) ↓	糖尿病性肾病 Diabetic nephropathy
野 生 型 斑 马鱼 ^[6] wild-type zebrafish	柠檬酸铁铵 FAC	置于含有 400 μmol/L 的柠檬酸铁铵的鱼箱里巡游 60 h (药物诱导, 急性 IOL) Placed in a fish tank containing 400 μmol/L ferric ammonium citrate for 60 h (drug induction, acute iron overload)	hmox1b, sod1, ptgs1 ↑, 小胶质细胞 ↓, 二价金属转运蛋白 1, Fpn mRNA ↑ hmox1b, sod1, ptgs1 ↑, microglial cell ↓, DMT1, Fpn mRNA ↑	脑铁沉积 Brain iron deposition
C57BL/6 雄 性 小鼠 ^[44] C57BL/6 male mice	柠檬酸铁 Ferric citrate	灌胃 2.5 mg Fe/d (16 周) (药物干预铁代谢诱导, 慢性 IOL) Oral gavage of 2.5 mg Fe/d (16 weeks) (drug intervention for iron metabolism induction, chronic IOL)	黑质和脑基底神经节铁沉积, 肝铁、血清铁浓度、转铁蛋白受体 1、铁转运蛋白 ↑ Substantia nigra and basal ganglia iron accumulation, LIC, SIC, Tfr1, Fpn ↑	帕金森病 Parkinson's disease
C57BL/6 小鼠 ^[1] C57BL/6 mice	右旋糖酐铁 Fe Dex	腹腔注射: 100 mg/(kg · d), 连续 5 d (药物诱导, 急性 IOL) Intraperitoneal injection: 100 mg/(kg · d) for 5 consecutive days (drug induction, acute IOL)	血清铁浓度、总铁结合力 ↑ SIC, TIBC ↑	高脂血症 Hyperlipidemia
C57BL/6J 雌 性小鼠 ^[50] C57BL/6J female mice	右旋糖酐铁 Fe Dex	腹膜注射: 1.0 g/kg, 每周 1 次, 持续 8 周 (慢性 IOL) Intraperitoneal injection: 1.0 g/kg, once weekly for 8 weeks (chronic IOL)	肝铁、血清铁浓度 ↑, 转铁蛋白受体 mRNA ↓, Slc40a1 mRNA、促卵泡激素 ↑ LIC, SIC ↑, Tfrc mRNA ↓, Ftl1, Slc40a1 mRNA, FSH ↑	不孕及难产, 卵巢功能受损 Infertility and difficult labor, ovarian function impairment
Wistar 雄 性 大鼠 ^[56] Wistar male rat	葡聚糖肝素酸复合物 Dextran heparin complex	腹腔注射 IDHC 100 mg/kg, 隔日 1 次, 连续 8 次 (药物诱导) Intraperitoneal injection of IDHC (100 mg/kg), every other day, for a total of 8 administrations (drug induction)	肝铁、血清铁浓度 ↑, Hamp、铁蛋白轻链 1、Slc40a1、转铁蛋白受体、铁调节蛋白 1、铁调节蛋白 2 ↓, 氧化型谷胱甘肽、Hmox1 ↑ LIC, SIC ↑, Hamp, Ftl, Slc40a1, Trfc, IRP1, IRP2 ↓, GSSG, Hmox1 ↑	胆汁分泌减少、代谢异常肠病综合征 Reduced bile secretion, metabolic abnormal enteropathy syndrome
哥 廷 根 迷 你 雌猪 ^[57] Gottingen miniature female pig	右旋糖酐铁 Fe Dex	右旋糖酐铁, 5.0 ~ 140 mg Fe/kg 体重, 每周 1 次肌肉注射, 持续 14 个月 (药物诱导) Iron dextran, 5.0 ~ 140 mg Fe/kg body weight, intramuscular injection once weekly for 14 months (drug induction)	心脏铁沉积 Cardiac iron deposition	心脏铁沉积 Cardiac iron deposition

续表2

品系 Species-strian	铁剂 Iron formulations	造模方法 Modeling method	评价指标 Evaluation indicators	结局 Outcome
C57BL/6 小鼠 ^[43] C57BL/6 mice	柠檬酸铁铵 FAC	通过立体定向技术将 1 μL 的柠檬酸铁铵注射至海马体中(药物诱导) Injection of 1 μL of ferric ammonium citrate into the hippocampus via stereotactic technique (drug induction)	铁蛋白轻链、铁蛋白重链 ↑, 转铁蛋白受体 1 ↓ FTL, FTH ↑ Tfri ↓	海马神经损伤 Hippocampal neural injury
Wistar 大鼠 ^[41] Wistar rat	蔗糖铁氢氧化物 SFOH	实验 24 h 以前通过静脉注射给予 15 mg/kg 的铁羧甲基麦芽糖诱导 IOL,随后每天口服管喂蔗糖铁氢氧化物 40 mg Fe/kg BW(13 周)(药物诱导) 24 h prior, IOL was induced by intravenous injection of 15 mg/kg iron carboxymaltose, followed by daily oral gavage of 40 mg Fe/kg BW sucrose iron hydroxide for 13 weeks (drug induction)	脾铁沉积(与雌性相比) ↑, 肝铁浓度 ↓、血清铁浓度 ↑(与硫酸亚铁相比) Spleen iron deposition (compared to female rat) ↑, LIC ↓, SIC ↑ (compared to ferrous sulfate)	IOL
Wistar 大鼠 ^[41] Wistar rat	硫酸亚铁 Ferrous sulfate	实验 24 h 以前通过静脉注射给予 15 mg/kg 的铁羧甲基麦芽糖诱导 IOL,随后每天口服管喂硫酸亚铁 40 mg Fe/kg BW(13 周)(药物诱导) 24 h prior, IOL was induced by intravenous injection of 15 mg/kg iron carboxymaltose, followed by daily oral gavage of 40 mg Fe/kg BW ferrous sulfate for 13 weeks (drug induction)	肝铁浓度 ↑ ↑(与雄性相比), 脾铁沉积(与雌性相比) LIC ↑ ↑ (compared to male rat), spleen iron deposition (compared to female rat)	IOL

注:Ho-If;全转铁蛋白;Hamp mRNA:编码铁调素的信使 RNA;TFR2:转铁蛋白受体 2;FTH:铁蛋白重链;FTL:铁蛋白轻链;SMAD1: SMAD 家族成员 1;SMURF1;SMAD 特异性 E3 泛素蛋白连接酶 1;DMT1:二价金属转运蛋白 1;hmox1b:血红素加氧酶 1 的同工酶;sod1:超氧化物歧化酶 1;ptsg1:前列腺素内过氧化物合酶 1;Tfrc:转铁蛋白受体;IRP:铁调节蛋白;Slc40a1:铁转运蛋白;FSH:促卵泡激素;GSSG:氧化型谷胱甘肽。

Note. Ho-If, Holo-transferrin. Hamp mRNA, Hecpidin mRNA. TFR2, Transferrin receptor 2. FTH, Ferritin heavy chain. FTL, Ferritin light chain. SMAD1, SMAD family member 1. SMURF1, SMAD Ubiquitination regulatory factor 1. DMT1, Divalent metal transporter 1. hmox1b, Heme oxygenase 1b. sod1, Superoxide dismutase 1. ptsg1, Prostaglandin-endoperoxide synthase 1. Tfrc, Transferrin receptor. IRP, Iron regulatory protein. Slc40a1, Solute carrier family 40 member 1. FSH, Follicle stimulating hormone. GSSG, Oxidized glutathione.

3 总结与展望

基因编辑技术的发展极大地促进了铁过载动物模型的精确构建。特别是携带 *Hfe*、*Hjv*、*Hamp*、*Tfr2* 和 *Slc40a1* 基因突变的模型,在模拟人类铁过载病理状态中显示出高度的相关性,为 HH 铁代谢紊乱研究提供了关键工具。IOL 与其他病理模型共同诱导的混合实验模式,涉及对多种疾病和病理状态的综合模拟,这些模型越来越贴近临床实际需求,为研究铁代谢紊乱及其对不同器官功能影响提供了更为精确的实验平台。

IOL 作为一种临床现象,并非孤立发生,而是与多种疾病及病理过程紧密相关。科研人员通

过建立动物模型模拟铁质在心脏、肝、肾、下丘脑等关键器官的沉积,深入探究了 IOL 引发的心肌损害、脑神经损伤、氧化应激、糖脂代谢紊乱以及肝肾损伤等病理变化。这些研究成果为深入理解 IOL 及铁死亡的病理机制、开发新的治疗方法提供了宝贵的实验基础。

在构建 IOL 动物模型时,原发性模型利用 CRISPR/Cas9 和 Cre/loxP 技术模拟铁代谢基因突变。CRISPR/Cas9 以其高效率 and 精确性在基因编辑中占主导地位,而 Cre/loxP 则因其时空特异性在转基因模型构建中被广泛采用。尽管如此,CRISPR/Cas9 存在脱靶风险,Cre/loxP 可能引发细胞毒性和特异性不足。通过改造 Cas9 蛋白、

优化 gRNA 设计、调控 Cas9 表达量以及选择适宜的启动子和增强子,可以有效减少这些技术在模型构建中的局限性,增强模型的准确性和可靠性。

继发性 IOL 模型主要通过高铁饮食诱导和药物干预铁代谢来模拟由继发性因素引起的铁代谢紊乱。小鼠因遗传和生物学特性与人类相近,常被用作 IOL 研究的模型。然而,小鼠模型与人体 IOL 存在差异,铁相关参数受遗传背景、性别、年龄等因素影响,如 C57BL/6J 小鼠脾中铁含量高于 C57BL/6N^[58]。小鼠在基础代谢率、抗氧化应激能力、粪便排铁等方面具有生理性优势,增加了研究 IOL 终末期疾病表现的难度。此外,继发性 IOL 模型还受铁剂种类、剂型、性激素、炎症、给药途径、剂量等因素的影响。口服铁剂是常用的慢性依赖性 IOL 模型,但铁化合物的理化特性和吸收机制以及体内环境导致铁吸收存在差异^[59]。因此,构建模型时必须综合考虑这些因素,以更准确地模拟患者体内生理状态,推断结果并解释人类疾病的病理生理学及其临床意义。需建立统一规范的综合评价体系,以确保模型的特异性和可重复性。

小鼠作为 IOL 模型虽然应用广泛,但并不能完全模拟人类的 IOL 状况。因此,研究者开始转向家兔、斑马鱼、恒河猴和猪等中型至大型实验动物,更好地满足研究 IOL 多种病理特征的需求。特别是猪,作为杂食性动物,其对血红素铁和非血红素铁的吸收能力与人类相似,加之其生理结构和功能与人类高度一致,使其成为研究人类 IOL 的理想模型之一。正如前文所提及,有研究者已经采用猪模型来研究慢性 IOL 对心肌的损害。尽管体外细胞实验在本文中未被详细讨论,它们在铁代谢研究和 IOL 模型构建中扮演着不可或缺的角色。体外细胞实验能够揭示临床和动物模型难以直接观察到的发病机制,为 IOL 的干预措施提供创新思路。

参考文献:

- [1] TANG Y, WANG D, ZHANG H, et al. Rapid responses of adipocytes to iron overload increase serum TG level by decreasing adiponectin [J]. J Cell Physiol, 2021, 236(11): 7544–7553.
- [2] CHEN X, KANG R, KROEMER G, et al. Organelle-specific regulation of ferroptosis [J]. Cell Death Differ, 2021, 28(10): 2843–2856.
- [3] SUNG H K, MURUGATHASAN M, ABDUL-SATER A A, et al. Autophagy deficiency exacerbates iron overload induced reactive oxygen species production and apoptotic cell death in skeletal muscle cells [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(4): 252.
- [4] GUO J, DUAN L, HE X, et al. A combined model of human iPSC-derived liver organoids and hepatocytes reveals ferroptosis in DGUOK mutant mtDNA depletion syndrome [J]. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(10): 2004680.
- [5] LIU W, WU Y, WEI H, et al. Lactate administration improves laboratory parameters in murine models of iron overload [J]. Blood, 2024, 143(11): 1045–1049.
- [6] CAROTA G, DISTEFANO A, SPAMPINATO M, et al. Neuroprotective role of α -lipoic acid in iron-overload-mediated toxicity and inflammation in *in vitro* and *in vivo* models [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(8): 1596.
- [7] 黄一羚, 罗嘉强, 彭鹏. 脑铁沉积动物模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(8): 1102–1106.
- [7] HUANG Y L, LUO J Q, PENG P. Research progress on animal models of brain iron deposition [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(8): 1102–1106.
- [8] EMÍLIA D, MONTEIRO JESSYCA D C, SUZANA F, et al. Can iron and polyunsaturated fatty acid supplementation induce ferroptosis? [J]. Cell Physiol Biochem, 2023, 57(S1): 24–41.
- [9] GANZ T, NEMETH E, RIVELLA S, et al. TMPRSS6 as a therapeutic target for disorders of erythropoiesis and iron homeostasis [J]. Adv Ther, 2023, 40(4): 1317–1333.
- [10] KANG Y, ZHU R, LI S, et al. Erythropoietin inhibits ferroptosis and ameliorates neurological function after spinal cord injury [J]. Neural Regen Res, 2023, 18(4): 881–888.
- [11] PINYOPORNPANISH K, TANTIWORAWIT A, LEERAPUN A, et al. Secondary iron overload and the liver: a comprehensive review [J]. J Clin Transl Hepatol, 2023, 11(4): 932–941.
- [12] MO M, PAN L, DENG L, et al. Iron overload induces hepatic ferroptosis and insulin resistance by inhibiting the Jak2/stat3/slc7a11 signaling pathway [J]. Cell Biochem Biophys, 2024, 82(3): 2079–2094.
- [13] WANG X, GARRICK M D, COLLINS J F. Animal models of normal and disturbed iron and copper metabolism [J]. J Nutr, 2019, 149(12): 2085–2100.
- [14] RENASSIA C, LOUIS S, CUVELLIER S, et al. Neutrophils from hereditary hemochromatosis patients are protected from iron excess and are primed [J]. Blood Adv, 2020, 4(16): 3853–3863.

- [15] KATSAROU A, GKOUVATSOS K, FILLEBEEN C, et al. Tissue-specific regulation of ferroportin in wild-type and *hju^{-/-}* mice following dietary iron manipulations [J]. *Hepatol Commun*, 2021, 5(12): 2139–2150.
- [16] SCHMIDT P J, FITZGERALD K, BUTLER J S, et al. Global loss of Tfr2 with concomitant induced iron deficiency greatly ameliorates the phenotype of a murine thalassemia intermedia model [J]. *Am J Hematol*, 2021, 96(2): 251–257.
- [17] XIAO X, DEV S, CANALI S, et al. Endothelial bone morphogenetic protein 2 (Bmp2) knockout exacerbates hemochromatosis in homeostatic iron regulator (hfe) knockout mice but not Bmp6 knockout mice [J]. *Hepatology*, 2020, 72(2): 642–655.
- [18] PAUK M, KUFNER V, RUMENOVIC V, et al. Iron overload in aging *Bmp6^{-/-}* mice induces exocrine pancreatic injury and fibrosis due to acinar cell loss [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(4): 60.
- [19] TRAEGER L, GALLITZ I, SEKHRI R, et al. ALK3 undergoes ligand-independent homodimerization and BMP-induced heterodimerization with ALK2 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 127–137.
- [20] LIU Y, FILLEBEEN C, FOREST A, et al. Perturbations in lipid metabolism and gut microbiota composition precede cardiac dysfunction in a mouse model of thalassemia [J]. *FASEB J*, 2023, 37(12): e23257.
- [21] WIMMER I, SCHARLER C, KADOWAKI T, et al. Iron accumulation in the choroid plexus, ependymal cells and CNS parenchyma in a rat strain with low-grade haemolysis of fragile macrocytic red blood cells [J]. *Brain Pathol*, 2021, 31(2): 333–345.
- [22] MENG H, YU Y, XIE E, et al. Hepatic HDAC3 regulates systemic iron homeostasis and ferroptosis *via* the hippo signaling pathway [J]. *Research (Wash D C)*, 2023, 6: 0281.
- [23] RISHI G, SECONDES E S, ASPLETT K, et al. Dysregulated hepcidin response to dietary iron in male mice with reduced *Gnpat* expression [J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(8): BSR20201508.
- [24] AN P, WANG J, WANG H, et al. *Gnpat* does not play an essential role in systemic iron homeostasis in murine model [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(7): 4118–4126.
- [25] CANALI S, ZUMBRENNEN-BULLOUGH K B, CORE A B, et al. Endothelial cells produce bone morphogenetic protein 6 required for iron homeostasis in mice [J]. *Blood*, 2017, 129(4): 405–414.
- [26] WANG C Y, CORE A B, CANALI S, et al. *Smad1/5* is required for erythropoietin-mediated suppression of hepcidin in mice [J]. *Blood*, 2017, 130(1): 73–83.
- [27] LEE S M, LOGUINOV A, FLEMING R E, et al. Effects of strain and age on hepatic gene expression profiles in murine models of HFE-associated hereditary hemochromatosis [J]. *Genes Nutr*, 2015, 10(1): 443.
- [28] TOMATSU S, ORII K O, FLEMING R E, et al. Contribution of the H63D mutation in HFE to murine hereditary hemochromatosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(26): 15788–15793.
- [29] FISCHER C, VOLANI C, KOMLÓDI T, et al. Dietary iron overload and *Hfe^{-/-}* related hemochromatosis alter hepatic mitochondrial function [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(11): 1818.
- [30] GKOUVATSOS K, WAGNER J, PAPANIKOLAOU G, et al. Conditional disruption of mouse HFE2 gene: maintenance of systemic iron homeostasis requires hepatic but not skeletal muscle hemojuvelin [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1800–1807.
- [31] ZUMERLE S, MATHIEU J R R, DELGA S, et al. Targeted disruption of hepcidin in the liver recapitulates the hemochromatotic phenotype [J]. *Blood*, 2014, 123(23): 3646–3650.
- [32] ZOHNI E, DE DOMENICO I, POLLOCK A, et al. The flatiron mutation in mouse ferroportin acts as a dominant negative to cause ferroportin disease [J]. *Blood*, 2007, 109(10): 4174–4180.
- [33] POLI M, ANOWER-E-KHUDA F, ASPERTI M, et al. Hepatic heparan sulfate is a master regulator of hepcidin expression and iron homeostasis in human hepatocytes and mice [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(36): 13292–13303.
- [34] STEINBICKER A U, BARTNIKAS T B, LOHMEYER L K, et al. Perturbation of hepcidin expression by BMP type I receptor deletion induces iron overload in mice [J]. *Blood*, 2011, 118(15): 4224–4230.
- [35] ALTAMURA S, MÜDDER K, SCHLOTTERER A, et al. Iron aggravates hepatic insulin resistance in the absence of inflammation in a novel *db/db* mouse model with iron overload [J]. *Mol Metab*, 2021, 51: 101235.
- [36] BAO W D, PANG P, ZHOU X T, et al. Loss of ferroportin induces memory impairment by promoting ferroptosis in Alzheimer's disease [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(5): 1548–1562.
- [37] DELIMA R D, CHUA A C G, TIRNITZ-PARKER J E E, et al. Disruption of hemochromatosis protein and transferrin receptor 2 causes iron-induced liver injury in mice [J]. *Hepatology*, 2012, 56(2): 585–593.
- [38] MOON S, KIM M, KIM Y, et al. Supplementation with high or low iron reduces colitis severity in an AOM/DSS mouse model [J]. *Nutrients*, 2022, 14(10): 2033.
- [39] CHAN L S A, GU L C, WELLS R A. The effects of

- secondary iron overload and iron chelation on a radiation-induced acute myeloid leukemia mouse model [J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 509.
- [40] CHAUDHARY K, CHILAKALA A, ANANTH S, et al. Renal iron accelerates the progression of diabetic nephropathy in the HFE gene knockout mouse model of iron overload [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2019, 317(2): F512–F517.
- [41] FLOEGE J, FUNK F, KETTELER M, et al. Iron kinetics following treatment with sucroferric oxyhydroxide or ferric citrate in healthy rats and models of anaemia, iron overload or inflammation [J]. Nephrol Dial Transplant, 2020, 35(6): 946–954.
- [42] ZHANG N, YANG P, LI Y, et al. Serum iron overload activates the SMAD pathway and hepcidin expression of hepatocytes via SMURF1 [J]. J Clin Transl Hepatol, 2024, 12(3): 227–235.
- [43] LI J, DING Y, ZHANG J, et al. Iron overload suppresses hippocampal neurogenesis in adult mice: Implication for iron dysregulation-linked neurological diseases [J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30(2): e14394.
- [44] HUANG C, MA W, LUO Q, et al. Iron overload resulting from the chronic oral administration of ferric citrate induces Parkinsonism phenotypes in middle-aged mice [J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(21): 9846–9861.
- [45] SRIPETCHWANDEE J, KHAMSEKAEW J, SVAITI S, et al. Deferiprone and efonidipine mitigated iron-overload induced neurotoxicity in wild-type and thalassemic mice [J]. Life Sci, 2019, 239: 116878.
- [46] OKAZAKI Y. The role of ferric nitrilotriacetate in renal carcinogenesis and cell death: from animal models to clinical implications [J]. Cancers (Basel), 2022, 14(6): 1495.
- [47] TALAULIKAR V S, BAJORIA R, EHIDIAMHEN A J, et al. A 10-year longitudinal study of evaluation of ovarian reserve in women with transfusion-dependent beta thalassaemia major [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2019, 238: 38–43.
- [48] SHU W, BAUMANN B H, SONG Y, et al. Iron accumulates in retinal vascular endothelial cells but has minimal retinal penetration after IP iron dextran injection in mice [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(13): 4378–4387.
- [49] FIDELIS H G, MAGESKI J G A, GOES S C E, et al. Blockade of angiotensin AT₁ receptors prevents arterial remodelling and stiffening in iron-overloaded rats [J]. Br J Pharmacol, 2020, 177(5): 1119–1130.
- [50] QIN X, LIANG D, HU M, et al. Chronic overload of concentration-dependent iron exerts different effects on ovarian function in C57BL/6J mice [J]. Biol Reprod, 2021, 104(6): 1347–1359.
- [51] WU D, WEN X, XU L, et al. Iron chelation effect of curcumin and baicalein on aplastic *Anemia* mouse model with iron overload [J]. Iran J Basic Med Sci, 2019, 22(6): 660–668.
- [52] ÁVILA R A, ROSSI E M, DE CARVALHO G M, et al. Moderate-intensity aerobic training reduces cardiac damage attributable to experimental iron overload in rats [J]. Exp Physiol, 2021, 106(8): 1772–1784.
- [53] JENSEN P D, NIELSEN A H, SIMONSEN C W, et al. *In vivo* calibration of the T2* cardiovascular magnetic resonance method at 1.5 T for estimation of cardiac iron in a minipig model of transfusional iron overload [J]. J Cardiovasc Magn Reson, 2021, 23(1): 27.
- [54] AWAI M, NARASAKI M, YAMANOI Y, et al. Induction of diabetes in animals by parenteral administration of ferric nitrilotriacetate. A model of experimental hemochromatosis [J]. Am J Pathol, 1979, 95(3): 663–673.
- [55] LÓPEZ M, QUINTERO-MACÍAS L, HUERTA M, et al. Capsaicin decreases kidney iron deposits and increases hepcidin levels in diabetic rats with iron overload: a preliminary study [J]. Molecules, 2022, 27(22): 7764.
- [56] PRASNICKA A, LASTUVKOVA H, ALAEI FARADONBEH F, et al. Iron overload reduces synthesis and elimination of bile acids in rat liver [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 9780.
- [57] JENSEN P D, NIELSEN A H, SIMONSEN C W, et al. Biopsy-based optimization and calibration of a signal-intensity-ratio-based MRI method (1.5 Tesla) in a dextran-iron loaded mini-pig model, enabling estimation of very high liver iron concentrations [J]. MAGMA, 2022, 35(5): 843–859.
- [58] MARQUES O, NEVES J, HORVAT N K, et al. Iron-related parameters are altered between C57BL/6N and C57BL/6J *Mus musculus* wild-type substrains [J]. Hemasphere, 2019, 3(6): e304.
- [59] RÍOS-SILVA M, CÁRDENAS Y, ORTEGA-MACÍAS A G, et al. Animal models of kidney iron overload and ferroptosis: a review of the literature [J]. BioMetals, 2023, 36(6): 1173–1187.

[收稿日期]2024-09-03