

去铁酮对弓形虫慢性感染小鼠肝损伤中铁代谢紊乱的治疗作用

刘敏^{1,2,3},高南南^{1,2,3},王崇^{1,2,3},蔡亦红^{1,2,3}

摘要 目的 观察弓形虫慢性感染小鼠服用去铁酮(DFP)后,肝脏中铁及其他金属元素和炎症因子 γ 干扰素(IFN- γ)的变化情况,探讨DFP治疗弓形虫慢性感染所致肝损伤的疗效。**方法** 将6周龄的雌性C57BL/6小鼠随机分为4组:control组、control+DFP组、TgCtWh6组、TgCtWh6+DFP组,每组6只,control组无菌灌胃PBS;TgCtWh6+DFP组每日灌胃50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DFP,TgCtWh6组灌胃20个弓形虫包囊,TgCtWh6+DFP组灌胃20个弓形虫包囊且每日灌胃50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DFP,饲养45 d后处死小鼠并取其肝脏组织。采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)检测小鼠肝脏组织中Fe及其他金属元素含量;采用实时荧光定量PCR技术(qRT-PCR)和Western blot分别检测小鼠肝脏组织中IFN- γ 、铁蛋白重链(Fth)mRNA的表达水平和蛋白水平。**结果** 慢性弓形虫感染的小鼠肝脏中铁、锰和锌的组织留存水平增高,在服用DFP后其肝脏中铁元素含量明显下调($P < 0.01$),与TgCtWh6组相比,TgCtWh6+DFP组在服用DFP后肝脏中Fth含量下调($P < 0.01$),铁代谢紊乱得到了有效改善,同时肝脏中IFN- γ 含量明显下调($P < 0.01$),肝脏的炎症反应也有所减轻。**结论** DFP可以有效改善小鼠弓形虫感染后肝脏中的铁代谢紊乱及减轻肝脏的炎症性损伤。

关键词 去铁酮;铁代谢;肝损伤;铁蛋白;弓形虫感染

中图分类号 R 382.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)07-1094-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.07.006

刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)是一种能在绝大多数温血动物中传播的专性胞内寄生虫^[1]。免疫力正常的人群感染弓形虫后,一般不会出现明显

的临床症状,但是在免疫力受损个体,如艾滋病患者^[2]等,潜伏的虫体会被再次激活,从而引起弓形虫病,甚至致命。铁(Fe)是人体必须的微量元素,其主要储存在肝脏中。既往研究表明铁是宿主与病原体相互作用的关键调节剂之一^[3],如细菌必须从宿主体内摄取铁才能完成自身的增殖而引起疾病^[4]。本课题组前期研究^[5]表明,弓形虫感染可影响小鼠体内诸多器官中多种金属元素的组织留存,但是肝脏中铁元素的改变在弓形虫肝病中的研究尚未见报道。1,2-二甲基-3-羟基-4-酮(deferione,DFP)是美国EMA和FDA批准使用的药物,被广泛应用于治疗铁过载及其相关疾病。有研究^[6]表明,DFP对输血性铁过载和去除心脏中铁过载都有很好的疗效。此外,DFP、去铁胺等铁螯合剂能从疟原虫寄生的细胞中降低铁含量来抑制虫体的生长^[7]。

铁蛋白是体内广泛存在的铁贮存蛋白,是由不同比例的24个肽亚基组成的纳米笼构成,在铁代谢中起重要作用。 γ 干扰素(γ interferon,IFN- γ)是由肝巨噬细胞分泌并位于肝窦内表面的细胞因子,其负责诱导肝脏损伤,引起炎症反应^[8]。该研究利用我国优势基因虫株Chinese1型弱毒株TgCtWh6构建弓形虫慢性感染模型,检测小鼠肝脏中多种元素组织留存情况,观察DFP对弓形虫慢性感染小鼠肝脏铁代谢的影响,探讨弓形虫感染导致肝损伤的机制。

1 材料与方法

1.1 弓形虫 我国流行的弓形虫Chinese1的优势基因型TgCtwh6虫株来自人兽共患病安徽高校省级重点实验室,通过小鼠传代保种。

1.2 实验动物 6周龄雌性C57BL/6雌鼠分为4组,每组6只,20~25 g,按照安徽医科大学《研究动物护理和使用指导原则》进行饲养,正常采食饮水。饲养的环境温度保持在20~25 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为40%~70%。

1.3 主要试剂 浓硝酸(HNO_3 ,优级纯)和30%双氧水(30% H_2O_2 ,分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司;20 mg/L 24种多元素混合外标溶液,2 $\mu\text{g}/\text{L}$

2023-06-06 接收

基金项目:安徽高校自然科学研究重点项目(编号:KJ2020A0153);安徽医科大学博士科研资助基金(编号:XJ202005);安徽医科大学基础和临床合作研究提升计划(编号:2021xkjT033)

作者单位:¹安徽医科大学公共卫生学院卫生检验与检疫,合肥 230032

²安徽医科大学病原生物学安徽省重点实验室,合肥 230032

³安徽医科大学人畜共患病安徽高校省级重点实验室,合肥 230032

作者简介:刘敏,女,硕士研究生;

蔡亦红,女,副教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: yihongcai2022@163.com

7种多元素混合内标溶液购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;实验用水为超纯水(18.25 MΩ);SteadyPure通用型RNA提取试剂盒、实时荧光定量PCR(qRT-PCR)主要试剂和蛋白标志物购自湖南艾科瑞生物工程有限公司;TRIzol、oligo(dT)磁珠、逆转录酶、dUTP Solution购自美国赛默飞公司;Western blot配胶主要试剂购自上海碧云天生物技术有限公司;BCA检测试剂盒购自山东思科捷生物技术有限公司;鼠源辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphatedehydroge-nase, GAPDH)单抗购自武汉三鹰生物技术有限公司;引物由通用生物(安徽)股份有限公司合成,内参引物GAPDH由上海生工合成,见表1。

表1 qRT-PCR反应引物

引物名称	序列(5'-3')
GAPDH	F:GTTGTCTCCTGCGACTTCA R:TGGTCCAGGTTTCTTACTCC
IFN- γ	F:ATAAGCGTCATTGAATCACACC R:TGGCAATACTCATGAATGCATC
Fth	F:CGAGATGATGTGGCTCTGAA R:GTGCACACTCCATTGCATTC

Fth:铁蛋白重链

1.4 主要仪器 Clin-CP-QMS- I 微量元素分析仪(北京毅新博创生物科技有限公司),DigiBlock 电热消解仪(ST36-iTouch)(北京莱伯泰科仪器股份有限公司),ME 104 分析天平(上海梅特勒-托利多有限公司),HK-UV-20 型纯水仪(合肥宏科科技有限公司),微量紫外分光光度计(美国赛默飞公司),LightCycler® 96 实时荧光定量 PCR 仪(瑞士罗氏公司),TBA 法(南京建成生物工程研究所有限公司),Infinite 200 PRO 多功能微孔板酶标仪(上海帝肯贸易有限公司),电泳仪(北京六一公司),凝胶成像仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.5 小鼠肝脏组织中的铁及其他金属元素的检测

将冷冻后的肝组织取出,用超纯水冲洗 2~3 次,然后用滤纸将肝脏组织表面的水分吸干,精确称取 0.05 g 的肝脏组织,用混合的消化液,体积比为硝酸:双氧水=2:1,在电热消解器中消解,再用超纯水进行定容。经 Clin-ICP-QMS- I 微量元素分析仪测定并计算铁元素及其他金属元素含量,铁元素(其他金属元素)含量=CV/m,其中 C 为样品中铁元素(其他金属元素)浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$),V 为样品定容体积(ml),m 为样品质量(g)。

1.6 qRT-PCR 检测小鼠肝脏中 Fth 和 IFN- γ 相对浓度 根据 RNA 提取试剂盒的方法,从小鼠肝组织中提取 RNA,利用微量紫外分光光度计测量 RNA 的浓度,然后将合成的 cDNA 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,将其余 RNA 于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。10 μl 逆转录体系:5 \times Evo M-MLV RT Master Mix 2 μl ,依据 RNA 浓度添加 RNA(500 ng 总 RNA),无酶水补足至 10 μl ;反应条件:37 $^{\circ}\text{C}$ 15 min,85 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,4 $^{\circ}\text{C}$ 。10 μl qRT-PCR 反应体系:2 \times SYBR Green Pro Taq HS Premix 5 μl ,cDNA 模板 2 μl ,Premix F 0.3 μl ,Premix R 0.3 μl ,无酶水补足至 10 μl ;反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min 预变性,95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,共 40 次循环。基于内参基因 GAPDH 分析 PCR 结果,并通过 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算基因相对表达水平。

1.7 Western blot 检测小鼠肝脏中 Fth 和 IFN- γ 相对浓度 取小鼠约 50 g 肝脏组织,加入 RIPA 裂解缓冲液提取总蛋白,通过 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。将蛋白煮沸变性后用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)对 4 组小鼠肝组织进行测定,然后用标准程序转移到硝酸纤维素膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 1.5 h,封闭完成后用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下与兔源 IFN- γ 或 Fth(稀释 1 000 倍)孵育过夜后,用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。在室温条件下孵育二抗 1.5 h(1:10 000 稀释),再用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,最后用凝胶成像仪成像,其结果采用 ImageJ 1.8.0 软件对 Western blot 进行分析。

1.8 统计学处理 采用 GraphPad Prism 6.02 软件进行统计分析,多组间比较采用单因素方差分析,两两间比较采用 LSD 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肝脏组织中 Fe^{2+} 含量 经 ICP-MS 检测发现,4 组小鼠肝脏中 Fe^{2+} 含量差异有统计学意义($F = 13.22, P < 0.05$)。与 control 组相比,control + DFP 组小鼠肝脏组织中 Fe^{2+} 含量明显上调($P < 0.05$),control 组与 TgCtwh6 组相比,发现 TgCtwh6 组小鼠肝脏中 Fe^{2+} 含量明显上调($P < 0.05$)。经 DFP 治疗后,TgCtwh6 + DFP 组肝脏中的 Fe^{2+} 含量与 TgCtwh6 组相比显著降低($P < 0.05$),见图 1A。

2.2 小鼠肝脏组织中多种金属元素含量 通过 ICP-MS 检测发现,4 组小鼠肝脏组织中的 Al、Cu、Mn、Zn、Mg 五种金属元素,除了 Zn 和 Mn 元素在

TgCtwh6 组有所上调以外 ($P < 0.05$), 其余组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1B。

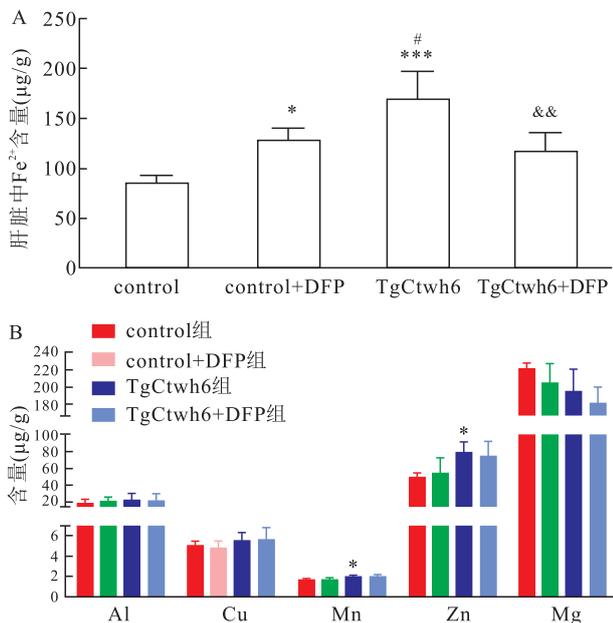


图1 肝脏中各种金属元素含量水平

A: ICP-MS 检测肝脏组织中 Fe²⁺ 含量; B: ICP-MS 检测肝脏组织中 Al、Cu、Mn、Zn、Mg 的含量; 与 control 组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$; 与 control + DFP 组比较: # $P < 0.05$; 与 TgCtwh6 组比较: && $P < 0.01$

2.3 小鼠肝脏组织中 Fth mRNA 相对表达量 通过 qRT-PCR 检测发现, 4 组小鼠肝脏组织中 Fth mRNA 表达差异有统计学意义 ($F = 74.70, P < 0.05$)。与 control 组相比, control + DFP 组小鼠肝脏组织中 Fth mRNA 含量无明显变化 ($P > 0.05$)。control 组与 TgCtwh6 组相比小鼠肝脏组织中 Fth mRNA 含量上调 ($P < 0.05$)。在使用 DFP 后, 与感染组相比, Fth mRNA 的表达无明显变化 ($P > 0.05$)。见图 2。

2.4 小鼠肝脏组织中 IFN-γ 相对表达量 qRT-PCR 检测发现, 4 组小鼠肝脏组织中 IFN-γ 相对表达量差异有统计学意义 ($F = 368.5, P < 0.05$)。与 control 组相比, control + DFP 组小鼠肝脏组织中 IFN-γ 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。TgCtwh6 感染后, 小鼠肝脏组织中 IFN-γ 含量上调 ($P < 0.05$), TgCtwh6 组与 TgCtwh6 + DFP 组相比小鼠肝脏组织中 IFN-γ 含量下调 ($P < 0.05$), 见图 2。

2.5 小鼠肝脏组织中 Fth 蛋白检测结果 4 组小鼠的 Fth 蛋白相对表达量差异有统计学意义 ($F = 18.3, P < 0.05$)。Western blot 检测发现 control 组

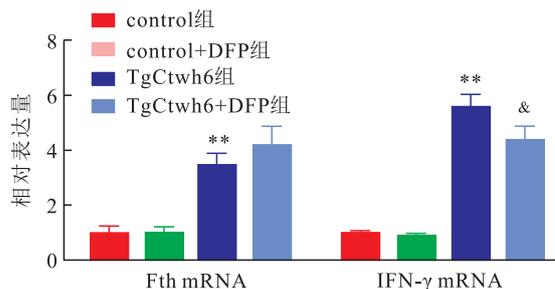


图2 四组小鼠肝脏中 Fth、IFN-γ mRNA 相对表达量

与 control 组比较: ** $P < 0.01$; 与 TgCtwh6 组比较: & $P < 0.05$

和 control + DFP 组 Fth 蛋白含量相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与 control 组相比, TgCtwh6 组 Fth 蛋白含量明显上调 ($P < 0.05$), 应用 DFP 后, TgCtwh6 + DFP 组的小鼠肝脏中 Fth 蛋白含量明显下调 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.6 小鼠肝脏组织中 IFN-γ 的检测结果 4 组小鼠 IFN-γ 的相对表达量差异有统计学意义 ($F = 142.3, P < 0.05$)。Western blot 检测显示, control 组和 control + DFP 组相比, IFN-γ 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 TgCtwh6 组与 control 组相比 IFN-γ 含量明显上调 ($P < 0.05$), 与 TgCtwh6 组相比, TgCtwh6 + DFP 组的小鼠肝脏中 IFN-γ 含量明显下调 ($P < 0.05$), 见图 3。

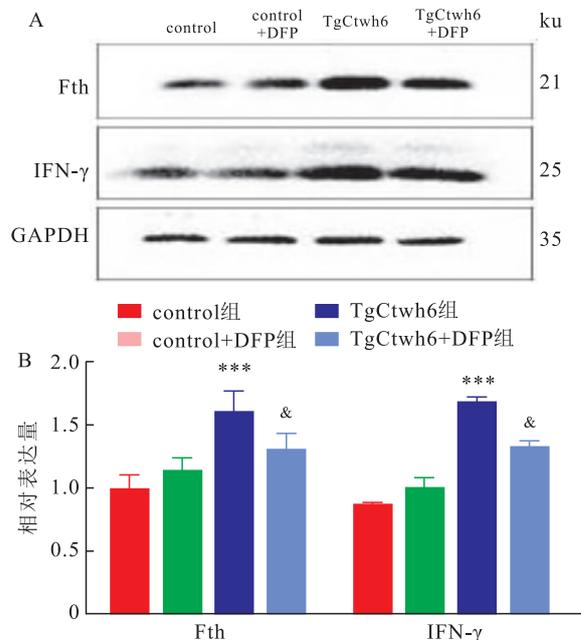


图3 Western blot 检测 4 组小鼠肝细胞中 Fth、IFN-γ 蛋白表达水平

A: 4 组小鼠肝脏中 Fth、IFN-γ 蛋白表达水平; B: A 的量化图; 与 control 组比较: *** $P < 0.001$; 与 TgCtwh6 组比较: & $P < 0.05$

3 讨论

肝脏在铁代谢中发挥重要作用,它不仅是铁元素的主要储存场所,也参与铁运输和铁稳态调节的复杂分子体系^[9]。弓形虫可以在肝细胞中寄生,造成肝脏受损,影响肝组织中微量元素的稳定,干扰机体蛋白质及酶的合成以及相关的生化反应^[10]。健康小鼠体内的铁代谢与储存处于一个平衡状态,在服用 DFP 后肝脏中铁元素含量上升,推测可能是由于 DFP 与 Fe^{3+} 具有亲和力,其结合形成的复合物在广泛的 pH 值范围内稳定,能快速通过细胞膜而清除细胞内的铁,再通过尿液排出^[11]。由于 DFP 螯合了肝脏中一部分游离的 Fe^{3+} ,影响了健康小鼠肝脏内铁的平衡,促使肝脏进一步加快对铁的吸收,造成肝脏中铁元素含量上升,但其具体机制仍然需要进一步研究。弓形虫寄生于机体内,为满足自身生长繁殖,就必须从宿主体内摄取微量金属元素,宿主自身细胞为清除虫体也会影响微量金属元素的含量,寄生虫与宿主之间的相互作用势必会打破原有的微量金属元素平衡^[12]。弓形虫感染后小鼠肝脏组织中铁元素含量上升,造成铁代谢紊乱。对感染小鼠给予 DFP 治疗后,肝脏组织中铁元素含量显著下降。提示 DFP 可有助于改善弓形虫感染所导致的铁紊乱。

肝脏内可贮存和代谢部分铁,铁水平变化可影响肝脏损伤的发生和发展,因此肝脏中铁蛋白水平可以很好地反映肝脏的损伤程度。铁蛋白的肽亚基包括 Fth 和铁蛋白轻链(ferritin light chain, Ftl)两种类型,并且 Fth 中的含铁量高于 Ftl^[13]。相关研究表明 Fth 水平与肝脏多种疾病的发生和发展呈正相关^[14],同时, Fth 还具有铁氧化酶活性^[15],可以将 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} ,将多余的铁储存在纳米铁蛋白中,阻止铁过量造成的器官损伤^[16]。因此课题组检测 Fth 蛋白用于衡量实验中各组小鼠的肝脏对铁的吸收能力,以此来评估小鼠的肝脏损伤程度。本研究显示,弓形虫慢性感染可以上调小鼠肝组织中 Fth 蛋白表达水平,但经 DFP 治疗后促进了肝脏组织铁的排泄,使肝脏组织中铁蛋白含量下调。

弓形虫可导致肝脏炎症和脂质过氧化^[17],机体受到弓形虫感染后免疫细胞被激活释放炎症因子如 $\text{IFN-}\gamma$ 。有研究^[18]表明, $\text{IFN-}\gamma$ 能够激活肝内皮细胞的 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号途径,诱导肝细胞凋亡,上调炎症基因表达,损害肝脏细胞。本研究显示,经过 DFP 治疗后的小鼠可以下调肝组织中 $\text{IFN-}\gamma$ 的表达水平。

既往研究^[19]显示,使用 DFP 干预后可减轻非酒精性脂肪肝病小鼠肝脏的炎症因子含量,进而改善非酒精性脂肪肝病。由此可知 DFP 可有效缓解肝脏的炎症反应,减少炎症因子的产生。

在本研究中, TgCtwh6 组与 control 组相比,其肝脏细胞中 Fth mRNA 含量明显上调,但 Western blot 结果显示,与 TgCtwh6 组相比, TgCtwh6 + DFP 组 Fth 蛋白含量明显下调,其肝脏细胞中铁元素含量也减少,造成这种情况的原因可能是:① 过量的铁在合成 Fth 蛋白过程中被排出。细胞中铁含量过高会刺激 Fth mRNA 部分翻译^[20],但由于 TgCtwh6 组小鼠在服用 DFP 后促进了肝脏中铁排泄,使得 TgCtwh6 + DFP 组与 TgCtwh6 组相比细胞中铁含量明显减少,这也相应导致了 TgCtwh6 + DFP 组的 Fth 蛋白合成量下调,但由于只是翻译部分的 Fth mRNA,因此 TgCtwh6 组和 TgCtwh6 + DFP 组两组的 Fth mRNA 无明显变化。② 细胞中的炎症因子对 Fth mRNA 的转录具有刺激作用^[21],炎症因子诱导转录 Fth 蛋白,相关研究^[22]表明炎症可以影响 Fth mRNA 的翻译的,因此使 Fth 蛋白的合成量也发生改变。本次实验检测 TgCtwh6 + DFP 组小鼠肝脏中 $\text{IFN-}\gamma$ 的含量,其与 TgCtwh6 组相比明显下调,且 $\text{IFN-}\gamma$ 等炎症因子可以影响 Fth mRNA 的翻译^[19], TgCtwh6 + DFP 组在服用 DFP 后减轻了肝脏细胞的炎症反应,导致肝脏细胞分泌的 $\text{IFN-}\gamma$ 含量减少,因此对 Fth mRNA 的刺激转录作用减轻,使部分细胞进入翻译沉默,这也导致了 TgCtwh6 + DFP 组与 TgCtwh6 组相比 Fth mRNA 含量无明显变化但 Fth 蛋白的合成减少,这与课题组用 Western blot 检测肝脏细胞中的 Fth 蛋白结果吻合。

参考文献

- [1] Sibley L D, Khan A, Ajioka J W, et al. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2009, 364(1530): 2749 - 61.
- [2] 叶俊生. 器官移植与寄生虫感染[J]. 器官移植, 2022, 13(4): 440 - 7.
- [3] 王艳玲, 蔡亦红. 我国弓形虫 Chinese1 优势虫株感染小鼠后不同组织生物金属元素留存测定[J/OL]. 中国动物传染病学报. <https://doi.org/10.19958/j.cnki.cn31-2031/s.20220124.001>.
- [4] 许荟, 陈曦, 金炜, 等. 缺铁性贫血对全血细胞影响的临床研究进展[J]. 吉林医学, 2020, 42(2): 412 - 4.
- [5] Skaar E P. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts[J]. PLoS Pathog, 2010, 6(8): e1000949.
- [6] Huynh C, Andrews N W. Iron acquisition within host cells and the pathogenicity of *Leishmania* [J]. Cell Microbiol, 2008, 10(2):

- 293 – 300.
- [7] Belmont A, Kwiatkowski J L. Deferiprone for the treatment of transfusional iron overload in thalassemia[J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, 10(6):493 – 503.
- [8] 王傲然, 李晓玲, 门秋爽, 等. 血清铁蛋白与肝脏疾病研究进展[J]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2020, 12(4):34 – 7.
- [9] 李晶媛, 李树臣, 杨维良. TNF- α 诱导肝细胞凋亡机制的回顾与展望[J]. *世界华人消化杂志*, 2007, 15(6):606 – 11.
- [10] 沈继龙, 余 莉. 我国弓形虫病流行概况及防治基础研究进展[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2019, 31(1):71 – 6.
- [11] 毕春雨. 去铁酮[J]. *中国药物化学杂志*, 2012, 22(2):174.
- [12] Ravi V, Madhankumar A B, Abraham T, et al. Liposomal delivery of ferritin heavy chain1 (FTH1) siRNA in patient xenograft derived glioblastoma initiating cells suggests different sensitivities to radiation and distinct survival mechanisms [J]. *PLoS One*, 2019, 14(9):e0221952.
- [13] Wang Z, Gao H, Zhang Y, et al. Functional ferritin nanoparticles for biomedical applications[J]. *Front Chem Sci Eng*, 2017, 11(4):633 – 46.
- [14] Chen P, De Meulenaere E, Deheyn D D, et al. Iron redox pathway revealed in ferritin *via* electron transfer analysis [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):4033.
- [15] Li J Y, Paragas N, Ned R M, et al. Scara5 is a ferritin receptor mediating non-transferrin iron delivery[J]. *Dev Cell*, 2009, 16(1):35 – 46.
- [16] 胡婉晔. 铁蛋白重链 FTH 通过维持肝癌细胞铁稳态特异性抵抗铁死亡的研究[D]. 蚌埠:蚌埠医院, 2022.
- [17] Peng J L, Lin X C, Lin H C, et al. Up-regulated TLR2 and TLR4 expressions in liver and spleen during acute murine *T. gondii* infection[J]. *Parasitol Res*, 2016, 115(12):4681 – 6.
- [18] Wang J Y, Liu P. Abnormal immunity and gene mutation in patients with severe hepatitis-B[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(9):2009 – 11.
- [19] Daba A, Koromilas A E, Pantopoulos K. Alternative ferritin mRNA translation *via* internal initiation[J]. *RNA*, 2012, 18(3):547 – 56.
- [20] Torti F M, Torti S V. Regulation of ferritin genes and protein[J]. *Blood*, 2002, 99(10):3505 – 16.
- [21] Torti S V, Kwak E L, Miller S C, et al. The molecular cloning and characterization of murine ferritin heavy chain, a tumor necrosis factor-inducible gene[J]. *J Biol Chem*, 1988, 263:12638 – 44.
- [22] Wei Y, Miller S C, Tsuji Y, et al. Interleukin 1 induces ferritin heavy chain in human muscle cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 169(1):289 – 96.

Therapeutic effect of deferone on iron metabolism disorders in liver injury of chronic infected *Toxoplasma gondii*

Liu Min^{1,2,3}, Gao Nannan^{1,2,3}, Wang Chong^{1,2,3}, Cai Yihong^{1,2,3}

¹Dept of Health Inspection and Quarantine, Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of Pathogen Biology and Provincial Laboratories of Pathogen Biology and Zoonoses, Hefei 230032;

³Anhui Provincial Laboratory of Zoonoses of High Institutions, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the changes of iron and other metal elements and inflammatory factor γ interferon (IFN- γ) in the liver after taking deferiprone (DFP) in mice with chronic infection of *Toxoplasma gondii*, and to investigate the efficacy of DFP in the treatment of liver injury caused by chronic infection of *Toxoplasma gondii*.

Methods 6-week-old female C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: control group, control + DFP group, TgCtWh6 group, TgCtWh6 + DFP group, with 6 mice in each group, and sterile gavage PBS in control group. Daily gavage was 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DFP in TgCtWh6 + DFP group, 20 toxoplasma cysts in TgCtWh6 group, 20 toxoplasmosis cysts in TgCtWh6 + DFP group, 20 toxoplasmosis cysts with daily gavage of 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DFP, and mice were sacrificed and liver tissues were taken after 45 days. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used to detect the content of iron and other metal elements in mouse liver tissues. Real-time PCR (qRT-PCR) and Western blot were used to detect the mRNA levels and protein levels of IFN- γ and ferritin heavy chain (Fth) in mouse liver tissues, respectively. **Results** Compared with the TgCtWh6 group, the Fth content in the liver ($P < 0.01$) was significantly reduced in the liver of the TgCtWh6 + DFP group after taking DFP, the iron metabolism disorder was effectively improved, the IFN- γ content in the liver was significantly lowered ($P < 0.01$), and the inflammatory response of the liver was also reduced. **Conclusion** DFP can effectively improve iron metabolism disorders in the liver after infection with *Toxoplasma gondii* and reduce inflammatory damage in the liver.

Key words deferone; iron metabolism; liver damage; ferritin; *Toxoplasma* infection