DOI:10.16016/j.2097-0927.202409076

维生素D3通过激活Nrf2抑制氮芥诱导角质形成细胞铁死亡的作用研究

董训虎[1],刘浩银[1],葛 维[1],陈明亮[1,2] 陆军军医大学(第三军医大学):[1]军事预防医学系防化医学教研室,[2]创伤与化学中毒全国重点实验室,重庆

[摘要] **目的** 探索铁死亡在维生素D3(vitamin D3,VD3)改善氮芥(nitrogen mustard,NM)诱导角质形成细胞(HaCaT)毒性损伤中的作用及机制。**方法** 采用梯度浓度NM(5、10、20和50 μmol/L)单独或联合铁死亡抑制剂ferrostatin-1或liproxstatin-1(10 μmol/L)、核因子-E2相关因子2(nuclear factor E2 related factor 2,Nrf2)特异性激动剂tBHQ(10 μmol/L)、VD3(10 nmol/L)处理HaCaT细胞。共培养24 h后,分别检测细胞增殖活力、细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)和脂质过氧化物(malondialdehyde, MDA)含量,以及Nrf2、xCT和GPX4等蛋白的表达水平。**结果** NM以浓度依赖性方式抑制HaCaT细胞增殖活力,当NM浓度为20 μmol/L时,细胞增殖活力下降至约55%($P<0.05$)。铁死亡抑制剂能够减轻NM诱导的HaCaT细胞毒性损伤($P<0.05$)。此外,激活Nrf2可显著抑制NM对HaCaT细胞铁死亡的诱导效应,表现为细胞内GSH水平的恢复和MDA含量的降低($P<0.05$)。同时,VD3能够靶向激活Nrf2信号通路,上调xCT和GPX4蛋白的表达,从而有效抑制HaCaT细胞的铁死亡,并缓解NM诱导的细胞毒性。**结论** VD3通过激活Nrf2抑制HaCaT细胞铁死亡,进而改善NM诱导的细胞毒性损伤。

[关键词] 氮芥;维生素D3;核因子-E2相关因子2;角质形成细胞;铁死亡
[中图法分类号] R963;R977.24;R9964 [文献标志码] A

Vitamin D3 inhibits nitrogen mustard-induced keratinocyte ferroptosis by activating Nrf2

DONG Xunhu[1], LIU Haoyin[1], GE Wei[1], CHEN Mingliang[1,2] [1]Department of Chemical Defense, [2]State Key Laboratory of Trauma and Chemical Poisoning, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the role and mechanism of ferroptosis in vitamin D3 (VD3) improving the cytotoxicity of keratinocytes (HaCaT cells) induced by nitrogen mustard (NM). **Methods** HaCaT cells were treated with gradient concentrations of NM (5, 10, 20, and 50 μmol/L) alone or in combination with ferroptosis inhibitor ferrostatin-1 or liproxstatin-1 (10 μmol/L), Nrf2-specific agonist tBHQ (10 μmol/L), and VD3 (10 nmol/L), respectively. After co-culture for 24 h, cell viability was assessed, and the intracellular contents of glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) were measured. Additionally, the expression levels of Nrf2, xCT, and GPX4 were detected. **Results** NM exerted inhibitory effect on the proliferation of HaCaT cells in a dose-dependent manner, and the cell viability was reduced to approximately 55% at an NM concentration of 20 μmol/L ($P<0.05$). Ferroptosis inhibitors significantly mitigated the cytotoxic damage induced by NM in HaCaT cells ($P<0.05$), but activation of nuclear factor E2 related factor 2

[基金项目] 创伤与化学中毒全国重点实验室开放基金项目(SKL0202407)
[通信作者] 陈明亮,E-mail:chenmingliang1987@163.com

2097-0927/Copyright © 2025,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
引用格式:董训虎,刘浩银,葛维,等. 维生素D3通过激活Nrf2抑制氮芥诱导角质形成细胞铁死亡的作用研究[J]. 陆军军医大学学报,2025,47(07):674-680. DOI:10.16016/j.2097-0927.202409076.
Citation:DONG X H,LIU H Y,GE W,*et al*. Vitamin D3 inhibits nitrogen mustard-induced keratinocyte ferroptosis by activating Nrf2[J]. J Army Med Univ,2025,47(07):674-680. DOI:10.16016/j.2097-0927.202409076.

(Nrf2) markedly attenuated NM-induced ferroptosis, as indicated by the restoration of intracellular GSH level and the decrease in MDA content ($P<0.05$). VD3 specifically targeted the Nrf2 signaling pathway, upregulated the expression of xCT and GPX4 protein, thereby inhibiting ferroptosis and reducing NM-induced cytotoxicity in HaCaT cells. **Conclusion** VD3 mitigates NM-induced cytotoxicity in HaCaT cells by inhibiting ferroptosis *via* Nrf2 activation.

[**Key words**] nitrogen mustard; vitamin D3; nuclear factor E2 related factor 2; keratinocytes; ferroptosis

Supported by the Open Project of State Key Laboratory of Trauma and Chemical Poisoning (SKL0202407). Corresponding author: CHEN Mingliang, E-mail: chenmingliang1987@163.com

氮芥(nitrogen mustard,NM)是一种细胞毒性强且作用持久的糜烂性毒剂,其结构和功能与芥子气类似。皮肤是NM主要的中毒靶器官之一,表现为难以愈合的糜烂性创面,目前缺乏特效的抗毒剂[1]。然而,NM引起的皮肤损伤的确切机制尚未阐明。铁死亡是一种新发现的细胞程序性死亡方式,由铁依赖的脂质过氧化物累积引起,与凋亡、焦亡和自噬等细胞死亡方式不同。其核心特征是不稳定铁离子的增加和脂质过氧化,超微病理表现为线粒体缩小、线粒体嵴消失、双层膜密度增加及外层线粒体膜破裂[2]。高通量筛选发现,铁死亡抑制剂ferrostatin-1(Fer-1)和liproxstatin-1(Lip-1)通过减少脂质过氧化物蓄积,降低不稳定铁离子含量,发挥抑制铁死亡的作用[3-4]。研究表明,氧化应激持续存在可催化二价铁生成并诱导ROS大量积累,是多种皮肤损伤和疾病进展的关键机制[5]。铁死亡已被证明参与黑色素瘤和其他皮肤肿瘤的发生和转移,以及牛皮癣[6]、系统性红斑狼疮[7]、紫外线暴露[8]引起的皮肤炎症和老化等疾病的发生、发展。然而,铁死亡在NM诱导的皮肤损伤中的作用尚不清楚。维生素D3(vitamin D3,VD3)具有抗炎、抗氧化、维持机体氧化还原平衡等作用。研究发现,VD3可通过激活核因子-E2相关因子2(nuclear factor E2 related factor 2,Nrf2)/谷胱甘肽过氧化酶4(glutathione peroxidase 4,GPX4)信号通路抑制成骨细胞铁死亡而改善年龄相关性骨质疏松症[9]。同时也证实,VD3靶向调控Nrf2/GPX4信号通路及NF-κB-铁调素轴,抑制斑马鱼肝细胞铁死亡[10]。课题组前期研究发现,VD3能够显著抑制NM诱导的ROS生成、促进皮肤损伤愈合[11]。然而,铁死亡及其调控机制在VD3改善NM诱导皮肤损伤中的作用,尚缺乏相关报道。本研究通过体外构建皮肤角质形成细胞(HaCaT)染毒模型,利用铁死亡抑制剂及VD3干预等实验方法,以期对上述问题进行初步解析和探讨。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

人皮肤角质形成细胞(HaCaT)购自中国科学院上海细胞所;兔抗人Nrf2抗体(16396-1-AP)、兔抗人SLC7A11/xCT抗体(26864-1-AP)、兔抗人GPX4抗体(30388-1-AP)和鼠抗人β-actin抗体(66009-1)购自武汉三鹰生物技术公司;VD3(HY-10002)、tBHQ(HY-100489)、Fer-1(HY-100579)和Lip-1(HY-12726)购自MCE生物公司;GSH检测试剂盒(S0053)和MDA检测试剂盒(S0131S)购自碧云天生物公司;ECL化学发光液、PVDF膜购自Merck Millipore公司。

1.2 细胞处理

HaCaT细胞使用RPMI-1640培养基(含10%胎牛血清)常规传代培养。实验分组及处理如下:NM组用梯度浓度(5、10、20和50 μmol/L)NM处理24 h;NM+Fer-1组用10 μmol/L Fer-1处理1 h[12]后,加入20 μmol/L NM继续处理24 h;NM+Lip-1组用10 μmol/L Lip-1处理1 h后,加入20 μmol/L NM继续处理24 h;NM+tBHQ组:用10 μmol/L tBHQ处理1 h后,加入20 μmol/L NM继续处理24 h;NM+VD3组用10 nmol/L VD3处理1 h后,加入20 μmol/L NM继续处理24 h;NM+Fer-1+VD3组联合用10 nmol/L VD3和10 μmol/L Fer-1处理1 h后,加入20 μmol/L NM继续处理24 h;NM+tBHQ+VD3组联合用10 nmol/L VD3和10 μmol/L tBHQ处理1 h后,加入20 μmol/L NM继续处理24 h;tBHQ组加入10 μmol/L tBHQ处理24 h;对照组常规培养。

1.3 细胞增殖活力测定

应用CCK-8检测试剂盒检测细胞增殖活力。当HaCaT细胞生长至85%融合度时,接种于96孔板(细胞密度1.5×10^4个/孔)中培养24 h。各实验分组加入处理因素后,按照指定时间每孔避光加入CCK-8溶液20 μL并混匀,继续培养1.5 h后,用酶标仪检测450 nm处的光密度值D(450)。以空白对照组细胞增殖活力

为参照,计算其他各组细胞的相对增殖活力。

1.4 谷胱甘肽检测

利用GSH检测试剂盒测定细胞GSH含量。按照1.2部分所述实验分组依次处理细胞,离心(4 ℃,10 000×*g*,15 min)、收集细胞上清液。依次将样品或标准品(100 μL/孔)加入96孔板,参照GSH检测试剂盒说明书操作。检测412 nm处各孔吸光度值,并计算样本中GSH含量。

1.5 脂质氧化物检测

利用MDA检测试剂盒测定细胞MDA含量。细胞培养结束后,参照MDA检测试剂盒说明书操作收集细胞上清液并于532 nm处检测各孔吸光度值,计算样本中MDA含量。

1.6 蛋白表达检测

收集细胞,分别提取细胞核/质蛋白或总蛋白。蛋白(40 μg/孔)变性后进行SDS-PAGE凝胶电泳;湿性转印至PVDF膜后,5 %脱脂奶粉室温封闭2 h;加入Nrf2、xCT和GPX4抗体稀释液(1∶1 000),4 ℃过夜孵育;TBST洗膜后,加入二抗稀释液(1∶2 000),室温孵育2 h;再次洗膜后,加入ECL化学发光液;采用VILBER FUSION FX7成像系统曝光成像。

1.7 统计学分析

计量资料用$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 20.0统计软件对数据进行单因素方差分析,$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

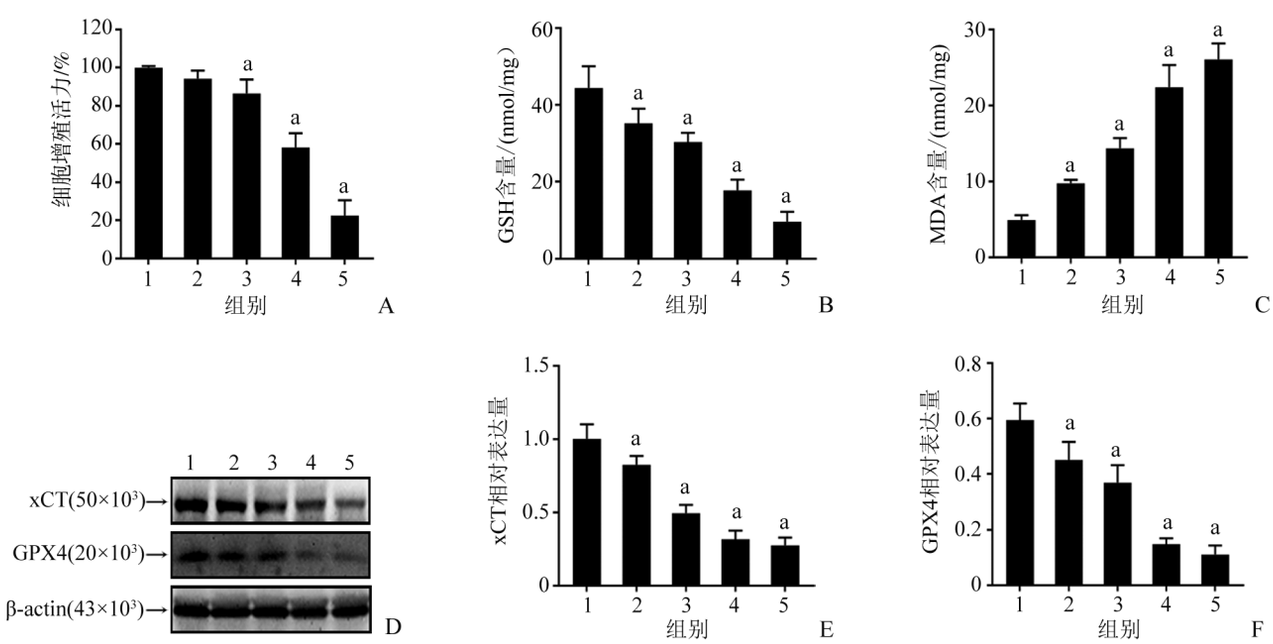
2 结果

2.1 NM诱导HaCaT细胞铁死亡

如图1A所示,NM对HaCaT细胞的增殖活力具有浓度依赖性的抑制作用。与对照组相比,当NM浓度达到20 μmol/L时,细胞的增殖活力显著下降至约55%。为了探究铁死亡在NM诱导的HaCaT细胞毒性损伤中的作用机制,本研究检测了GSH、MDA等细胞脂质过氧化标志物的含量,以及铁死亡核心蛋白xCT和GPX4的表达水平。如图1B~C所示,随着NM浓度的增加,细胞内的GSH含量显著降低($P<0.05$),而MDA含量显著增加($P<0.05$)。Western blot检测结果发现,xCT和GPX4蛋白的表达水平在NM作用下被显著抑制(图1D~F)。此外,利用铁死亡抑制剂对细胞进行预处理后,能够显著逆转NM引起的HaCaT细胞毒性损伤($P<0.05$,图2)。上述结果表明,NM通过诱导HaCaT细胞发生铁死亡,进而引发细胞毒性损伤。

2.2 Nrf2在NM诱导HaCaT细胞铁死亡中的作用

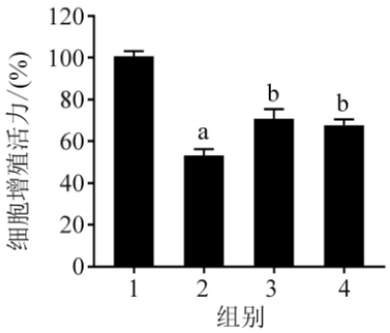
与对照组相比,20 μmol/L NM显著降低了细胞核和细胞质中Nrf2的表达水平($P<0.05$,图3)。利用Nrf2特异性激动剂tBHQ预处理后,显著逆转了NM诱



1:对照组;2:5 μmol/L NM组;3:10 μmol/L NM组;4:20 μmol/L NM组;5:50 μmol/L NM组;a:$P<0.05$,与对照组比较

A:CCK-8法检测NM对HaCaT细胞增殖活力的影响;B:NM对细胞GSH含量的影响;C:NM对细胞MDA生成的影响;D:Western blot检测xCT、GPX4蛋白的表达水平;E~F:xCT、GPX4蛋白相对表达量

图1 NM诱导HaCaT细胞铁死亡



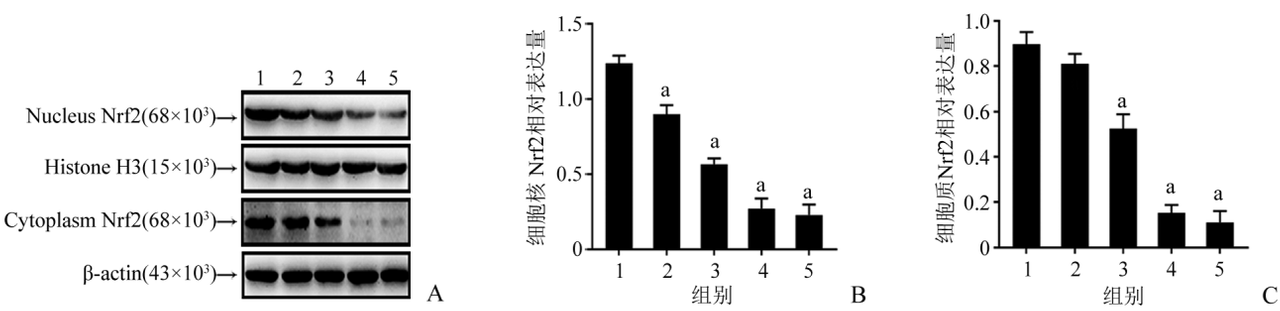
1:对照组;2:20 μmol/L NM组;3:20 μmol/L NM组+10 μmol/L Fer-1组;4:20 μmol/L NM组+10 μmol/L Lip-1组;a:P<0.05,与对照组比较;b:P<0.05,与20 μmol/LNM组比较

图2　铁死亡在NM诱导HaCaT细胞损伤中的作用

导的细胞GSH耗竭(P<0.05,图4A)和MDA生成效应(P<0.05,图4B),同时上调GPX4和xCT蛋白的表达(P<0.05,图4C~F),并有效缓解NM暴露引起的细胞损伤(P<0.05,图4G)。上述结果表明,NM通过抑制Nrf2而诱导HaCaT细胞铁死亡,最终发挥其毒性损伤效应。

2.3　VD3通过抑制铁死亡减轻NM诱导HaCaT细胞毒性损伤

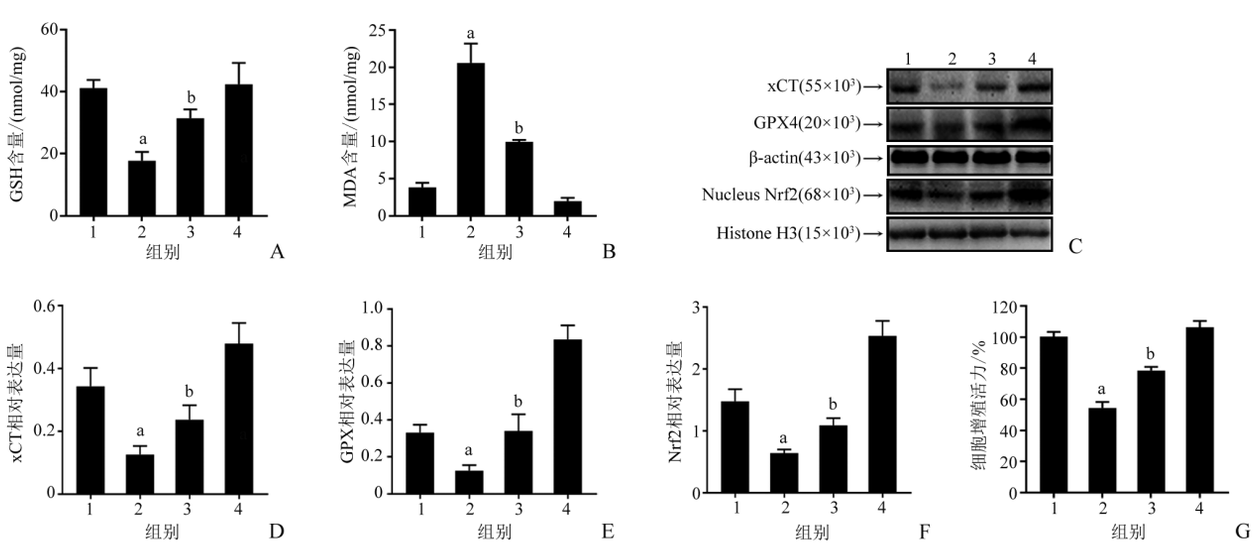
本研究进一步探索了铁死亡在VD3改善NM诱导HaCaT细胞毒性损伤中的作用。结果发现,与NM组相比,VD3能够显著增加细胞内GSH含量和GPX4、xCT等蛋白表达量,减少MDA生成;同时逆转NM对HaCaT细胞增殖活力的抑制作用(P<0.05,图5)。上述结果表明,VD3通过抑制铁死亡改善NM诱导的HaCaT细胞毒性损伤。



1:对照组;2:5 μmol/L NM组;3:10 μmol/L NM组;4:20 μmol/L NM组;5:50 μmol/L NM组;a:P<0.05,与对照组比较

A:Western blot检测细胞核/质中Nrf2蛋白的表达水平;B~C:细胞核和细胞质中Nrf2蛋白相对表达量

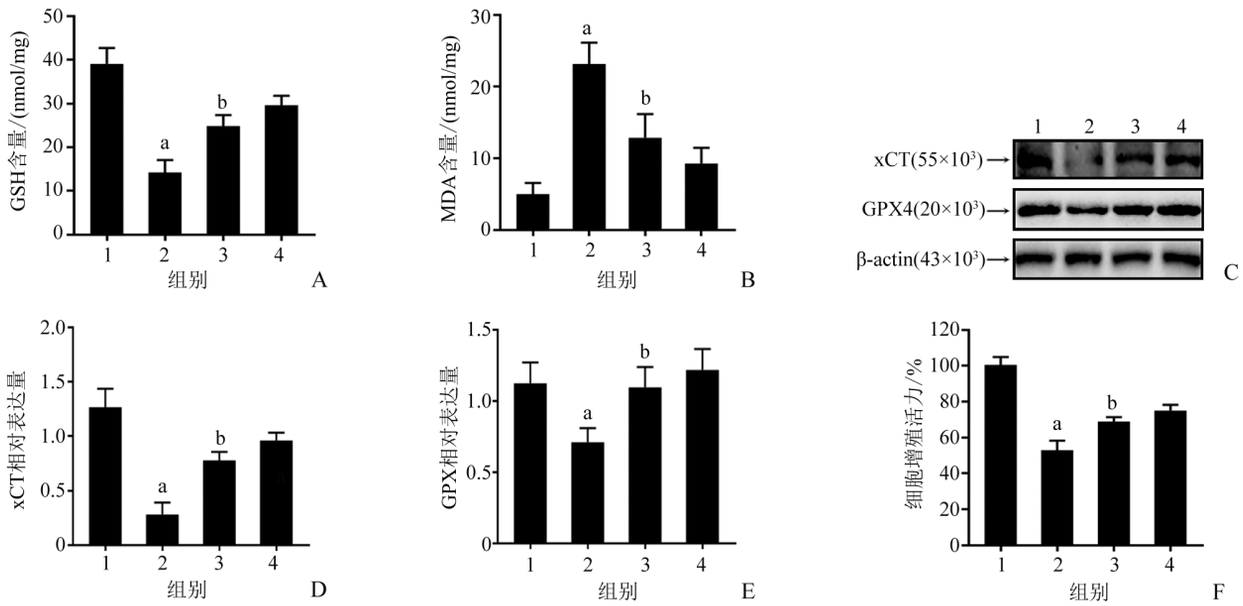
图3　不同浓度NM对HaCaT细胞Nrf2蛋白表达的影响



1:对照组;2:20 μmol/L NM组;3:20 μmol/L NM组+10 μmol/L tBHQ组;4:10 μmol/L tBHQ组;a:P<0.05,与对照组比较;b:P<0.05,与NM组比较

A:细胞内GSH含量检测;B:细胞内MDA含量检测;C:Western blot检测细胞核Nrf2、xCT和GPX4蛋白的表达水平;D~F:细胞核xCT、GPX4和Nrf2蛋白相对表达量;G:细胞增殖活力检测

图4　Nrf2在NM诱导HaCaT细胞铁死亡中的作用



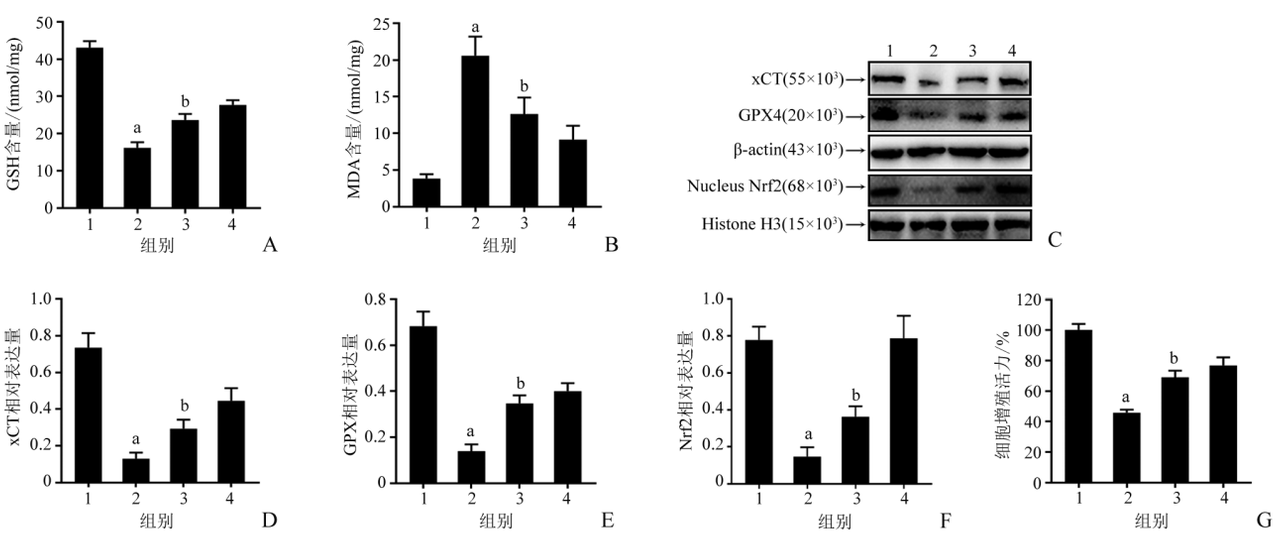
1:对照组;2:20 μmol/L NM组;3:20 μmol/L NM组+10 nmol/LVD3组;4:20 μmol/L NM组+10 nmol/LVD3+10 μmol/L Fer-1组;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与NM组比较

A:细胞内GSH含量检测;B:细胞内MDA含量检测;C:Western blot检测NM对细胞核xCT和GPX4蛋白表达的影响;D~E:细胞核xCT和GPX4蛋白相对表达量;F:细胞增殖活力检测

图5 VD3通过抑制铁死亡改善NM诱导的HaCaT细胞损伤

2.4 Nrf2介导的铁死亡在VD3改善NM诱导HaCaT细胞毒性损伤中的作用

如图6所示,NM处理能够降低细胞内GSH含量和GPX4、xCT和Nrf2等蛋白的表达($P<0.05$),同时促进MDA生成($P<0.05$);VD3干预后,能部分逆转NM对上述指标的诱导作用($P<0.05$);同时,Nrf2激动剂tBHQ联合VD3能够协同抑制NM诱导HaCaT细胞铁死亡($P<0.05$)。以上结果表明,VD3通过激活Nrf2而有效抑制HaCaT细胞铁死亡,缓解NM诱导的细胞毒性损伤。



1:对照组;2:20 μmol/L NM组;3:20 μmol/L NM组+10 nmol/LVD3组;4:20 μmol/L NM组+10 nmol/LVD3+10 μmol/L tBHQ组;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与NM组比较

A:细胞内GSH含量检测;B:细胞内MDA含量检测;C:Western blot检测细胞核Nrf2、xCT和GPX4蛋白表达;D~F:细胞核xCT、GPX4和Nrf2蛋白相对表达量;G:细胞增殖活力检测

图6 VD3通过激活Nrf2抑制NM诱导的HaCaT细胞铁死亡

3 讨论

高浓度NM接触皮肤后可迅速渗透,引起暴露部位皮肤红肿、起疱、溃烂和病程迁延,属于难愈性皮肤损伤。近年来,围绕NM致皮肤损伤作用开展了众多研究,但其机制尚未阐明,限制了特效防治药物的研发和应用。因此,探索NM暴露引起的皮肤损伤的确切机制,对于靶向开发NM特效抗毒药物、改善防治策略具有重要的科学价值和现实意义。

自DIXON等[13]在2012年首次报道细胞铁死亡途径以来,铁死亡的调控机制及在健康与疾病中的作用受到广泛关注。研究证实,铁死亡参与多种疾病包括肿瘤、炎症性疾病、脑卒中、缺血性心脏病和肝肾损伤的发生、发展过程[14-18]。新近研究发现,黑色素瘤细胞通过抑制过氧化物合成,降低对铁离子超载介导的铁死亡敏感性,形成药物抵抗[19]。紫外线皮肤暴露后可引起脂质过氧化介导坏死性皮炎,抑制铁死亡信号靶点可有效预防和改善紫外线诱导的皮肤损伤[8]。皮肤缺血/再灌注损伤诱发铁死亡促进细胞死亡、血管功能障碍、炎性细胞浸润和氧化应激,导致皮肤褥疮形成[20]。上述研究表明,铁死亡是皮肤疾病发生、发展的关键环节。脂质过氧化是体内氧化还原体系破坏的特征性表现,也是铁死亡级联反应的关键启动因子。目前认为,NM暴露后会导致小鼠皮肤细胞GSH耗竭和脂质过氧化[21]。在本研究中,NM染毒导致HaCaT细胞内GSH含量降低及脂质过氧化物蓄积,GPX4、xCT等铁死亡标志性蛋白表达水平显著下降,利用特异性铁死亡抑制剂Fer-1干预可显著改善NM诱导细胞毒性损伤效应。上述研究结果表明,铁死亡在NM诱导皮肤角质形成细胞毒性损伤中发挥重要作用。

GSH是内源性抗氧化系统的重要组成部分,胱氨酸/谷氨酸反向转运体是细胞内合成GSH的关键蛋白复合体,特异性铁死亡诱导剂erastin通过抑制该系统致使GSH合成障碍诱导细胞铁死亡[13]。同时,GSH也是GPX4蛋白酶活化的辅助因子,GSH含量降低及GPX4功能障碍导致细胞内过氧化物的堆积,进而破坏细胞膜脂质双分子层结构,引发细胞膜损伤和铁死亡[22]。目前研究表明,Nrf2通过靶向转录调控xCT和GPX4蛋白表达,降低脂质过氧化物的生成并阻断铁死亡级联反应的进展。既往发现,Nrf2通过抑制细胞铁死亡改善皮肤光老化[23]、促进皮瓣存活[24]和伤口修复[25],表明Nrf2介导的细胞铁死亡在皮肤损伤修复进程中发挥重要作用。本研究利用Western blot检测了NM染毒对细胞核内Nrf2的影响,结果发现,NM能够显著抑制Nrf2的表达和核异位,进一步利用Nrf2特异性激动剂tBHQ干预能够显著逆转NM对HaCaT细胞GSH生成、GPX4和xCT蛋白表达的抑制效应,同时减轻细胞毒性损伤。上述结果表明,靶向抑制Nrf2是NM诱导角质形成细胞铁死亡的关键机制,恢复Nrf2功能有望成为改善NM致细胞毒性损伤的重要途径。

VD3是维持人体健康的必需营养素。研究发现,VD3不仅在皮肤中合成和代谢,还能调节表皮的增殖和分化,在多种皮肤损伤和疾病的修复与治疗中发挥重要的作用。既往少量研究发现,VD3可通过抑制炎症反应、降低氧自由基生成等机制改善NM诱导皮肤损伤,但具体机制还有待进一步解析。LI等[26]发现VD3通过激活Nrf/HO-1信号通路,有效防止海马神经元铁死亡并改善认知障碍;敲低Nrf2或添加GPX4抑制剂(RSL3)可促进骨细胞铁死亡并阻断了VD3对D-半乳糖诱导的年龄相关性骨质疏松症和衰老的保护作用[9]。本研究发现,VD3能够显著降低NM对HaCaT细胞脂质过氧化物的生成,增加GSH含量,并上调GPX4和xCT蛋白表达水平,具有显著的保护效应。上述结果提示,Nrf2介导的铁死亡是VD3改善NM诱导HaCaT细胞毒性损伤的重要机制。课题组前期研究发现,通过腹腔注射方式外源性补充50 ng VD3能够显著促进NM诱导小鼠背部皮肤创面的修复进程[11],目前正积极开展Nrf2介导的铁死亡在VD3改善皮肤损伤中的作用机制体内研究。

综上所述,NM通过抑制Nrf2表达,促进GSH耗竭和脂质过氧化物生成,诱导角质形成细胞铁死亡。VD3靶向激活Nrf2抑制NM诱导的细胞铁死亡,最终减轻细胞毒性作用。该研究成果对于进一步理解NM毒性作用及更新防治对策具有重要的科学意义和潜在的转化价值。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] 叶枫, 赵远鹏, 程晋, 等. Fra-1在氮芥皮肤损伤愈合中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(20): 1820-1825. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201804202.
YE F, ZHAO Y P, CHENG J, *et al*. Expression and significance of Fra-1 in healing of nitrogen mustard-induced skin wound in mice[J]. J Third Mil Med Univ, 2018, 40(20): 1820-1825. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201804202.

[2] ANANDHAN A, DODSON M, SCHMIDLIN C J, *et al*. Breakdown of an ironclad defense system: the critical role of NRF2 in mediating ferroptosis[J]. Cell Chem Biol, 2020, 27(4): 436-447. DOI:10.1016/j.chembiol.2020.03.011.

[3] MIOTTO G, ROSSETTO M, DI PAOLO M L, *et al*. Insight into the mechanism of ferroptosis inhibition by ferrostatin-1[J]. Redox Biol, 2020, 28: 101328. DOI: 10.1016/j.

redox.2019.101328.
[4] ZILKA O, SHAH R, LI B, *et al*. On the mechanism of cytoprotection by ferrostatin-1 and liproxstatin-1 and the role of lipid peroxidation in ferroptotic cell death[J]. ACS Cent Sci, 2017, 3(3): 232-243. DOI:10.1021/acscentsci.7b00028.
[5] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2021, 22(4): 266-282. DOI: 10.1038/s41580-020-00324-8.
[6] SUN H Y, MENG Y, YAO L, *et al*. Ubiquitin-specific protease 22 controls melanoma metastasis and vulnerability to ferroptosis through targeting SIRT1/PTEN/PI3K signaling[J]. MedComm, 2024, 5(8): e684. DOI:10.1002/mco2.684.
[7] WU Y Y, TSAI H I, ZHU H M, *et al*. CX-5461 ameliorates disease in lupus-prone mice by triggering B-cell ferroptosis *via* p53-SLC7A11-ALOX12 pathway[J]. Free Radic Biol Med, 2024, 223: 325-340. DOI: 10.1016/j. freeradbiomed. 2024.08.003.
[8] WEI Q, HE F X, RAO J Y, *et al*. Targeting non-classical autophagy-dependent ferroptosis and the subsequent HMGB1/TfR1 feedback loop accounts for alleviating solar dermatitis by senkyunolide I[J]. Free Radic Biol Med, 2024, 223: 263-280. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2024.08.004.
[9] XU P C, LIN B F, DENG X H, *et al*. VDR activation attenuates osteoblastic ferroptosis and senescence by stimulating the Nrf2/GPX4 pathway in age-related osteoporosis[J]. Free Radic Biol Med, 2022, 193(Pt 2): 720-735. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.013.
[10] CHENG K, HUANG Y Q, WANG C F. 1, 25(OH)$_2$D$_3$ inhibited ferroptosis in zebrafish liver cells (ZFL) by regulating Keap1-Nrf2-GPx4 and NF-κB-hepcidin axis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(21): 11334. DOI: 10.3390/ijms222111334.
[11] DONG X H, HE Y, YE F, *et al*. Vitamin D3 ameliorates nitrogen mustard-induced cutaneous inflammation by inactivating the NLRP3 inflammasome through the SIRT3-SOD2-mtROS signaling pathway[J]. Clin Transl Med, 2021, 11(2): e312. DOI:10.1002/ctm2.312.
[12] ZHANG S Y, WANG D, DING Y W, *et al*. Inhibition of calpain reduces oxidative stress and attenuates pyroptosis and ferroptosis in *Clostridium perfringens* Beta-1 toxin-induced macrophages[J]. Microbiol Res, 2024, 289: 127916. DOI:10.1016/j.micres.2024.127916.
[13] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, *et al*. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072. DOI:10.1016/j.cell.2012.03.042.
[14] BENJAMIN E J, BLAHA M J, CHIUVE S E, *et al*. Heart disease and stroke statistics-2017 update: a report from the American heart association[J]. Circulation, 2017, 135(10): e146-e603. DOI:10.1161/CIR.0000000000000485.
[15] ROGERS J T, XIA N, WONG A, *et al*. Targeting the iron-response elements of the mRNAs for the Alzheimer's amyloid precursor protein and ferritin to treat acute lead and manganese neurotoxicity[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(4): 994. DOI:10.3390/ijms20040994.
[16] MASALDAN S, BUSH A I, DEVOS D, *et al*. Striking while the iron is hot: iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration[J]. Free Radic Biol Med, 2019, 133: 221-233. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.033.
[17] CHEN Y, LIU Y, LAN T, *et al*. Quantitative profiling of protein carbonylations in ferroptosis by an aniline-derived probe[J]. J Am Chem Soc, 2018, 140(13): 4712-4720. DOI:10.1021/jacs.8b01462.
[18] EATON J K, FURST L, RUBERTO R A, *et al*. Selective covalent targeting of GPX4 using masked nitrile-oxide electrophiles[J]. Nat Chem Biol, 2020, 16(5): 497-506. DOI:10.1038/s41589-020-0501-5.
[19] ZENG Y L, LIU L Y, MA T Z, *et al*. Iridium (III) photosensitizers induce simultaneous pyroptosis and ferroptosis for multi-network synergistic tumor immunotherapy[J]. Angew Chem Int Ed, 2024, 63(49): e202410803. DOI:10.1002/anie.202410803.
[20] ISHIKAWA M, UCHIYAMA A, KOSAKA K, *et al*. Exposure to volatile ferroptosis inhibitor, TEMPO, reduced cutaneous ischemia-reperfusion injury progression to pressure ulcer formation in a mouse model[J]. J Dermatol Sci, 2024, 115(3): 130-140. DOI: 10.1016/j. jdermsci. 2024.07.005.
[21] PINO M A, BILLACK B. Reduction of vesicant toxicity by butylated hydroxyanisole in A-431 skin cells[J]. Cutan Ocul Toxicol, 2008, 27(3): 161-172. DOI: 10.1080/15569520802092070.
[22] DODSON M, CASTRO-PORTUGUEZ R, ZHANG D D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis[J]. Redox Biol, 2019, 23: 101107. DOI: 10.1016/j.redox.2019.101107.
[23] ZHANG J J, QIN Y H, ZHANG J, *et al*. Needle-free injection of metformin ameliorates skin photoaging through inhibition of ferroptosis and oxidative stress[J]. Discov Med, 2024, 36(184): 1080-1090. DOI: 10.24976/Discov. Med.202436184.100.
[24] YU G X, CHEN Y J, YANG N N, *et al*. Apoptotic bodies derived from fibroblast-like cells in subcutaneous connective tissue inhibit ferroptosis in ischaemic flaps *via* the miR-339-5p/KEAP1/Nrf2 axis[J]. Adv Sci, 2024, 11(24): e2307238. DOI:10.1002/advs.202307238.
[25] TELORACK M, MEYER M, INGOLD I, *et al*. A glutathione-Nrf2-thioredoxin cross-talk ensures keratinocyte survival and efficient wound repair[J]. PLoS Genet, 2016, 12(1): e1005800. DOI:10.1371/journal.pgen.1005800.
[26] LI J X, CAO Y, XU J, *et al*. Vitamin D improves cognitive impairment and alleviates ferroptosis *via* the Nrf2 signaling pathway in aging mice[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(20): 15315. DOI:10.3390/ijms242015315.

(收稿:2024-09-12;修回:2025-02-20)
(编辑 邓强庭)