

## 蛇菰多糖通过SLC7A11/GPX4通路减轻细胞铁死亡 改善大鼠实验性肝损伤

贾琛琛<sup>1,2,3</sup>, 岳蓉<sup>1,2,3</sup>, 曾楚华<sup>1,3</sup>, 李俸琴<sup>3</sup>, 唐璐<sup>3</sup>, 王凤杰<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室(湖北民族大学), 湖北恩施 445000;  
2. 湖北民族大学附属民大医院, 湖北恩施 445000; 3. 湖北民族大学医学部, 湖北恩施 445000)

**摘要:** 蛇菰多糖 (polysaccharide of *Balanophora involucrata* Hook. f., BPS) 是土家族药筒鞘蛇菰的主要活性成分之一, 前期已证实具有保肝护肝作用。本研究旨在深入探讨 BPS 对实验性肝损伤的保护作用机制, 可能与影响溶质载体家族 7 成员 11/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (solute carrier family 7 member 11/glutathione peroxidase 4, SLC7A11/GPX4) 通路减轻肝细胞铁死亡有关。本实验方案经湖北民族大学实验动物伦理委员会审查, 符合实验动物福利与伦理原则。实验采用一次性腹腔注射 *D*-氨基半乳糖溶液 (*D*-galactosamine, *D*-GalN, 800 mg·kg<sup>-1</sup>) 建立急性肝损伤模型, 根据前期研究给予 200 mg·kg<sup>-1</sup> BPS 溶液灌胃干预, 以铁死亡抑制剂去铁胺 (desferrioxamine, DFO) 为对照。结果表明, BPS 干预可明显降低大鼠血清谷草转氨酶 (aspartate amino transferase, AST) 和谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平, 降低肝组织内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平和 Fe<sup>2+</sup> 含量, 降低脂质过氧化产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal, 4-HNE) 和脂质过氧化物 (lipid peroxide, LPO) 水平, 提高还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 水平, 同时减少肝内铁超载, 伴肝组织内 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达增加, 表明 BPS 可能通过影响 SLC7A11/GPX4 通路减轻肝细胞铁死亡, 进而改善肝损伤。本研究为民族药筒鞘蛇菰用于辅助治疗肝损伤提供实验依据。

**关键词:** 筒鞘蛇菰; 实验性肝损伤; 溶质载体家族 7 成员 11; 谷胱甘肽过氧化物酶 4; 铁死亡

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)09-2694-06

## Polysaccharide of *Balanophora involucrata* Hook. f. attenuates cell ferroptosis in rats with experimental liver injury through SLC7A11/GPX4 pathway

JIA Chen-chen<sup>1,2,3</sup>, YUE Rong<sup>1,2,3</sup>, ZENG Chu-hua<sup>1,3</sup>, LI Feng-qin<sup>3</sup>, TANG Lu<sup>3</sup>, WANG Feng-jie<sup>1,2,3\*</sup>

(1. Hubei Provincial Key Laboratory of Occurrence and Intervention of Rheumatic Diseases (Hubei Minzu University), Enshi 445000, China; 2. Minda Hospital of Hubei Minzu University, Enshi 445000, China; 3. Medical School, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China)

**Abstract:** Polysaccharide of *Balanophora involucrata* Hook. f. (BPS), the major component of *Balanophora involucrata* Hook. f., was confirmed the protective effect on liver injury in our previous study. This research aimed to investigate the protective mechanism of BPS on experimental liver injury by attenuating cell ferroptosis through modulating solute carrier family 7 member 11/glutathione peroxidase 4 (SLC7A11/GPX4) pathway. The animal experiment was approved by the Experimental Animal Ethical Committee of Hubei Minzu University and all rats

收稿日期: 2023-01-17; 修回日期: 2023-03-17.

基金项目: 湖北省卫生健康委员会中医药科研项目 (ZY2021M033); 风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室开放基金项目 (PT022214); 湖北省高校大学生创新训练项目 (S202210517022).

\*通讯作者 Tel: 86-718-8301222, E-mail: 2020023@hbmzu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0058

had received human care in compliance with the institutional animal care guidelines. Rats were given intraperitoneal injection of (*D*-galactosamine, *D*-GalN) solution (800 mg·kg<sup>-1</sup>) one time to establish the acute liver injury model. The results showed aspartate amino transferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and 4-hydroxynonenal (4-HNE) levels in serum were decreased, and the contents of reactive oxygen species (ROS), Fe<sup>2+</sup>, malondialdehyde (MDA) and lipid peroxide (LPO) in liver tissues also decreased and glutathione (GSH) level increased after BPS administration with 200 mg·kg<sup>-1</sup>. Besides, BPS reduced iron deposition and increased the expression of SLC7A11 and GPX4 proteins in liver tissue. In conclusion, BPS ameliorated experimental liver injury by alleviating cell ferroptosis through SLC7A11/GPX4 pathway. The present study pointed to the possibility of utilizing BPS for protection against liver injury in clinic.

**Key words:** *Balanophora involucreta* Hook. f.; experimental liver injury; SLC7A11; GPX4; ferroptosis

急慢性肝损伤指各种刺激因素导致肝脏出现病理状态, 归属于中医学“胁痛”“黄疸”“积聚”等范畴, 表现为机体内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成增多, 进而出现脂质过氧化性损伤, 乃至细胞死亡。研究发现, 许多中药有效成分有保肝护肝作用, 如泽泻含三萜及多糖等活性成分, 其水醇提取物均可明显改善实验性肝损伤<sup>[1]</sup>, 且中医药在防治肝损伤方面有独特优势及明确疗效<sup>[2]</sup>。筒鞘蛇菰, 土家族四大名贵药材之一, 蛇菰科蛇菰属草本植物, 前期研究发现其提取物-蛇菰多糖 (BPS) 有抗肝损伤作用<sup>[3,4]</sup>, 深入探讨其作用机制有重要意义。

铁死亡 (ferroptosis), 一种新型程序性细胞死亡方式, 主要病理特征为 Fe<sup>2+</sup>催化的芬顿化学反应促进脂质过氧化, 引起细胞氧化损伤、破坏细胞膜致细胞死亡<sup>[5]</sup>, 已证实铁死亡与临床常见肝损伤性疾病发生密切相关。众多研究表明, 具有护肝作用的天然药物除了参与调控细胞凋亡、坏死及自噬等方式外, 还可调控细胞铁死亡, 抑制铁死亡可减轻肝损伤。然而, 筒鞘蛇菰能否通过抑制铁死亡发挥作用尚不清楚。本研究深入探讨其提取物 BPS 能否调控 SLC7A11/GPX4 通路减轻细胞铁死亡发挥作用。

## 材料与方法

**动物模型** 雄性 SPF 级 SD 大鼠 40 只, 体质量 (200 ± 20) g, 购于湖北省实验动物研究中心 [许可证号 SCXK (鄂) 2018-0018]。本实验由湖北民族大学实验动物伦理委员会审查通过。随机分为正常对照组 (Con)、肝损伤模型组 (*D*-GalN)、蛇菰多糖干预组 (BPS)、去铁胺组 (DFO), 每组 10 只。参考前期研究<sup>[3,4]</sup> 给予 BPS 组大鼠灌胃 BPS 溶液 (200 mg·kg<sup>-1</sup>), DFO 组腹腔注射 DFO 溶液 (50 mg·kg<sup>-1</sup>), *D*-GalN 组及 Con 组灌胃等量生理盐水, 每天 1 次, 连续 2 周。第 15 天时, *D*-GalN 组及 BPS 组采用一次性腹腔注射 *D*-GalN 溶液 (800 mg·kg<sup>-1</sup>) 建立急性肝损伤模型, 24 h 后处死大

鼠, 取血及肝组织进行检测分析。

**药物与试剂** 参照文献<sup>[6]</sup>及前期研究<sup>[4,7]</sup>进行提取纯化 BPS 用于本研究。谷草转移酶 (aspartate amino transferase, AST) 试剂盒 (微板法)、谷丙转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 试剂盒 (赖氏法)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (TBA 法)、还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 试剂盒 (分光光度法) 和 ROS 检测试剂盒 (化学荧光法) 均购自南京建成生物工程研究所。Fe<sup>2+</sup> 试剂盒 (比色法)、4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal, 4-HNE) ELISA 试剂盒和脂质过氧化物 (lipid peroxide, LPO) 试剂盒购自武汉 Elabscience 公司。BCA 蛋白定量试剂盒 (批号: P0010)、*D*-GalN (批号: ST1213) 和 β-actin 抗体 (批号: AF5001) 购自上海碧云天公司。普鲁士蓝染色试剂盒 (Perls stain, 核固红法) 购自北京索莱宝科技有限公司。谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4, 批号: ab252833) 和溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11, 批号: ab175186) 抗体购自美国 Abcam 公司。DFO 购自美国 Sigma 公司。

**血清生化指标检测** 实验结束进行麻醉处死大鼠, 腹主动脉采血, 置于含有 4% 柠檬酸钠抗凝管中静置 30 min 后, 1 000 ×g 离心 25 min, 留血清分析。取肝组织, 一部分置于 10% 多聚甲醛中固定, 另一部分放 -80 度冰箱冻存储存。按照试剂盒说明书测定血清 AST、ALT 及 4-HNE 水平。

**肝组织 Fe<sup>2+</sup> 含量、ROS、MDA、LPO 及 GSH 水平检测** 取冻存肝组织, 称重后研磨制备 10% 组织匀浆, 离心后取上清液, 比色法测上清液中 Fe<sup>2+</sup> 含量; 采用 DCFH-DA 荧光探针, 在荧光酶标仪中检测 593 nm 处各孔吸光度值, 对照标准曲线计算 ROS 水平; TBA 法检测上清液中脂质过氧化产物 MDA 含量; 微板法检测 GSH 水平; ELISA 法检测 LPO 水平。均按照各试剂盒说明书操作。

**苏木素伊红 (HE) 染色观察大鼠肝脏形态** 肝组

织固定、包埋、制备石蜡切片,行常规HE染色后置显微镜下观察;每张切片随机选取5个视野、采用非酒精性脂肪性肝病活动性评分 (NAFLD activity score, NAS) 系统<sup>[8]</sup>进行统计学分析,来评估肝损伤情况。

**Perls 铁染色检测肝内铁沉积情况** 取石蜡切片,常规脱蜡后,加Perls染液(试剂A1与A2等量混合,现配现用)染色20 min,水洗,核固红试剂B染核10 min,水洗、脱水透明、封片,光镜观察肝细胞内蓝色颗粒。每张切片随机选取5个视野,用Image J软件分析普鲁士蓝染色阳性面积占整个面积的百分比。

**蛋白免疫印迹 (Western blot) 检测肝组织中 GPX4 和 SLC7A11 蛋白表达** 取冻存肝组织,冰上裂解,离心取上清,BCA法测定蛋白浓度,制备SDS-PAGE凝胶,加入蛋白样品电泳分离后转至PVDF膜,5%脱脂牛奶封闭、相应一抗(1:1 000)4 °C孵育过夜,TBST清洗,二抗(1:4 000)室温孵育2 h后加入显影液,ECL发光和Tanon 5200凝胶成像系统进行显影,采用Image J软件统计分析目标条带相对灰度值。

**统计学分析** 本研究的数据整理与统计分析用GraphPad Prism 8.0软件,数据用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 具有统计学意义。

## 结果

### 1 BPS降低血清ALT、AST及4-HNE水平

血清ALT和AST水平是肝功能常见指标。脂质过氧化产物4-HNE可作为治疗肝损伤的有效靶点,减少细胞内4-HNE含量可有效减轻肝细胞损伤<sup>[9]</sup>。本研究结果(图1)显示,BPS干预可明显降低大鼠血清ALT和AST水平( $P < 0.01$ ),同时降低了血清4-HNE含量,表明BPS可减轻D-GalN所致肝损伤、改善肝功能。

### 2 BPS对肝组织ROS、GSH、LPO、MDA和Fe<sup>2+</sup>含量的影响

细胞铁死亡的实质是依赖铁离子的ROS和脂质过氧化物积累导致的线粒体形态改变和细胞膜磷脂发生过氧化性损伤<sup>[10]</sup>。GSH是机体抗氧化酶GPX4重要

的辅助因子,GSH缺失会导致GPX4失活,降低清除脂质过氧化物的能力,而引起铁死亡<sup>[11]</sup>。肝内GSH水平降低亦可能是引起铁死亡的关键因素<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,BPS干预可降低肝损伤组织内产生的过量ROS和Fe<sup>2+</sup>含量、增加肝内GSH水平(图2A~C)。

LPO是一种自由基或活性氧作用于不饱和脂肪酸链后产生的含有过氧基的脂质,已被证实可以准确反映机体的脂质过氧化程度,包括MDA和4-HNE等。MDA含量变化代表着脂质过氧化作用强弱,间接反映机体细胞受自由基攻击的严重程度。结果显示,BPS降低肝组织内脂质过氧化物MDA和LPO的含量(图2D、E)。

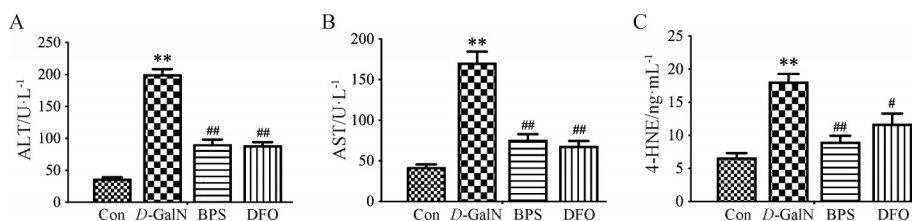
以上结果表明,BPS减轻Fe<sup>2+</sup>依赖性ROS产生及脂质过氧化性损伤,可能是通过抑制肝细胞铁死亡来发挥保护作用。

### 3 BPS减轻D-GalN诱导的肝损伤

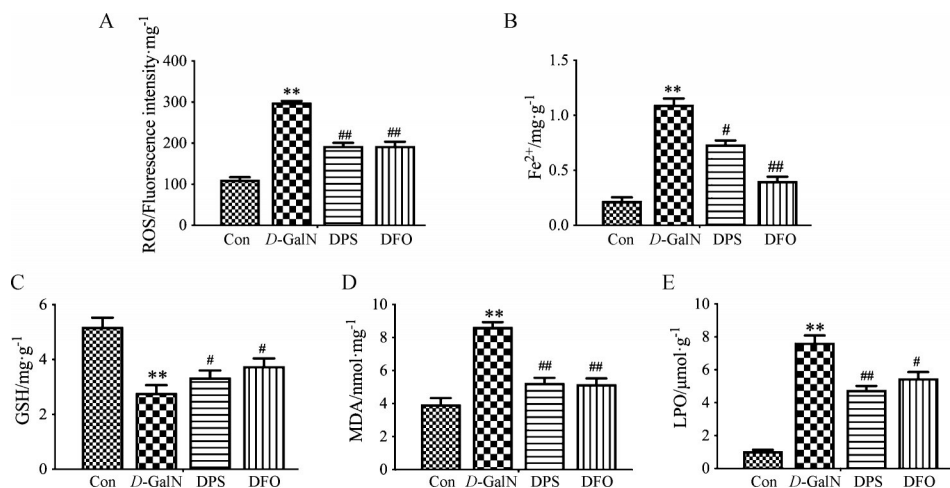
HE染色结果(图3A)显示正常大鼠肝小叶结构完整,肝细胞排列规则、细胞核圆居中,无明显细胞水肿及坏死,汇管区无炎细胞浸润。D-GalN诱导后可见肝细胞体积增大、弥漫性水肿,部分细胞呈气球样变性,另见肝内点灶状细胞坏死及炎细胞浸润,及轻度肝细胞脂肪变性,表明肝组织出现损伤。BPS干预大鼠肝细胞水肿及坏死均减轻,炎细胞数量减少。NAS评分结果(图3B)显示BPS和DFO处理均可明显减轻肝内炎症评分和肝细胞水肿评分( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),亦可降低肝细胞脂肪变性评分( $P < 0.05$ )。这些结果表明,BPS可明显改善D-GalN诱导的肝组织损伤。

### 4 BPS减轻肝组织内铁沉积

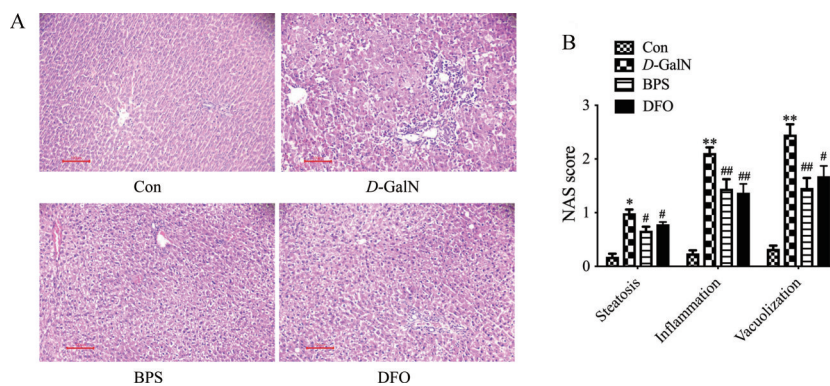
Perls染色可直接显示肝细胞内铁沉积情况,本研究结果如图4所示,正常大鼠肝内无明显蓝色颗粒,表明肝组织内无铁沉积。D-GalN损伤后大鼠肝内可见较多深蓝色颗粒,且与Con组相比,蓝染阳性面积的百分比明显增加( $P < 0.01$ ),表明肝损伤后细胞内出现铁超载。与D-GalN组相比,BPS和DFO组肝细胞内蓝染颗粒百分比均明显降低( $P < 0.01$ ),表明BPS和DFO干预均可明显降低肝细胞内铁超载,进而减轻肝细胞铁死亡。



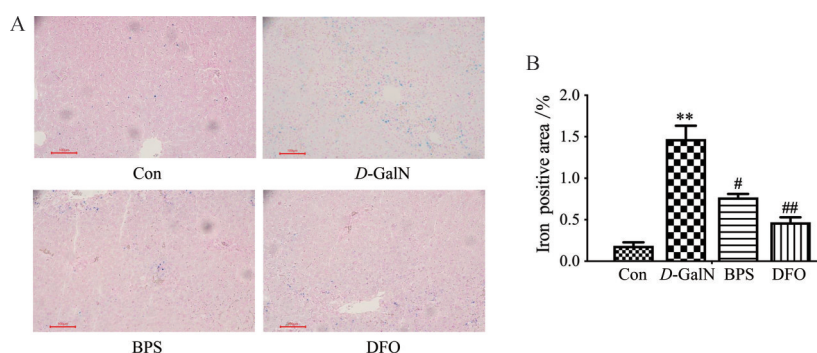
**Figure 1** Effects of BPS on the levels of ALT, AST and 4-HNE in serum.  $n = 10$ ,  $\bar{x} \pm s$ . A: ALT; B: AST; C: 4-HNE. \*\* $P < 0.01$  vs the Con group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs the D-GalN group. BPS: Polysaccharide of *Balanophora involucreta* Hook. f.; AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; 4-HNE: 4-Hydroxynonenal; D-GalN: D-Galactosamine; DFO: Desferrioxamine



**Figure 2** Effects of BPS on the contents of ROS (A), Fe<sup>2+</sup> (B), GSH (C), MDA (D) and LPO (E) in liver tissues.  $n = 10, \bar{x} \pm s$ . \*\* $P < 0.01$  vs the Con group; # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$  vs the D-GalN group. ROS: Reactive oxygen species; MDA: Malondialdehyde; LPO: Lipid peroxide; GSH: Glutathione



**Figure 3** BPS ameliorated liver injury. A: Representative liver histology by HE staining; B: NAS score.  $n = 10, \bar{x} \pm s$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs the Con group; # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$  vs the D-GalN group. Original magnification, 200×. Scale bar = 100 μm

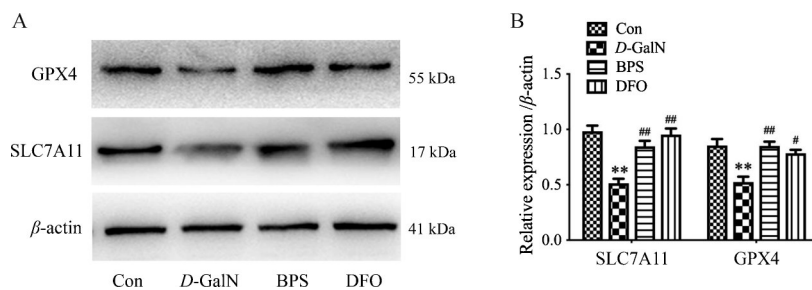


**Figure 4** BPS reduced iron deposition in liver tissue. A: Perls staining; B: Quantitative results corresponding to Perls staining.  $n = 10, \bar{x} \pm s$ . \*\* $P < 0.01$  vs the Con group; # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$  vs the D-GalN group. Original magnification, 200×. Scale bar = 100 μm

## 5 BPS 增加肝组织 GPX4 和 SLC7A11 蛋白表达

前期研究发现 BPS 干预大鼠实验性肝损伤后, 明显增加肝组织内转录因子核因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 表达<sup>[7]</sup>, 细胞抗氧化和铁代谢均可能由 Nrf2 靶基因介导。而且 Nrf2 可调节 SLC7A11 和 GPX4 两个铁死亡的关键

靶点, 是铁死亡的负性调节因子<sup>[13]</sup>。因此本研究采用 Western blot 检测铁死亡相关蛋白的表达, 结果显示 BPS 和 DFO 干预后, 大鼠肝脏组织中 GPX4 和 SLC7A11 蛋白表达水平均升高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 表明 BPS 可能通过 Nrf2 调控 SLC7A11/GPX4 通路而减轻肝细胞铁死亡 (图 5)。



**Figure 5** BPS increased GPX4 and SLC7A11 expression. A: Expression of GPX4 and SLC7A11 protein was detected in liver tissue by Western blot; B: The protein gray scale analysis of GPX4 and SLC7A11 by Image J.  $n = 5$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \*\* $P < 0.01$  vs the Con group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs the D-GalN group. GPX4: Glutathione peroxidase 4; SLC7A11: Solute carrier family 7 member 11

## 讨论

我国药用植物及天然产物防治肝病已有悠久历史,前期通过网络药理学及动物体内实验分析筒鞘蛇菰治疗肝损伤的分子机制,发现其具有提高抗氧化酶活性作用,且可通过调控 Nrf2 通路减轻氧化应激损伤<sup>[7]</sup>。已报道多种中药成分可通过靶向 Nrf2 通路调控氧化应激反应发挥护肝作用,如人参皂苷 Rg1、丹酚酸 B 等<sup>[14,15]</sup>。Nrf2-氧化应激通路为调控细胞铁死亡经典信号通路,然而,筒鞘蛇菰抗肝损伤作用是否与调控肝细胞铁死亡有关,尚不清楚。基于前期基础,本研究选用有效剂量为  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  BPS 溶液进行灌胃实验,深入探讨其作用机制有重要意义。

铁是机体必需微量元素,对维持机体健康至关重要,细胞内铁离子过量会致 ROS 生成与清除紊乱,GPX4 抗氧化清除能力减弱,进而引起细胞死亡,这种死亡方式被称为铁死亡<sup>[10]</sup>。Nrf2 作为氧化应激经典通路,有报道 Nrf2 激动剂萝卜硫素通过调控 SLC7A11 和 GPX4 抑制肝组织铁死亡而减轻小鼠脓毒症肝损伤<sup>[16]</sup>。Nrf2 激活后与其抑制蛋白 Keap1 解离活化,进入细胞核,启动其下游靶基因如 SOD、GPX4、SLC7A11 和 HO-1 等表达<sup>[17,18]</sup>,进而通过活化细胞膜上 SLC7A11 而促进胱氨酸转运,增强 GSH 的合成和恢复 GPX4 的活性;生理条件下,SLC7A11 可将胱氨酸转运至细胞内参与清除过多的 ROS,并促进 GSH 合成,降低脂质过氧化产物聚集,从而阻止铁死亡<sup>[10]</sup>。GPX4 是一种 GSH 依赖性酶,是铁死亡氨基酸代谢中的重要调控靶点,选择性催化脂质过氧化物,抑制或 GPX4 缺失直接导致脂质过氧化物积累而激活铁死亡。GSH 是 GPX4 发挥作用的必要因子,GSH 合成直接影响 GPX4 的活性;而且 GSH 合成又受 SLC7A11 的调控。因此,铁稳态失衡、脂质过氧化及 SLC7A11/GSH/GPX4 轴失衡是铁死亡发生的重要标志<sup>[19]</sup>。

脂质过氧化反应是细胞膜上多不饱和脂肪酸与羟基自由基或脂氧合酶反应生成 MDA 和 4-HNE 等脂质

过氧化物的过程。本研究结果发现,损伤大鼠肝内 ROS 和  $\text{Fe}^{2+}$  水平升高, $\text{Fe}^{2+}$  可通过芬顿反应催化产生过量 ROS,进而促进脂质发生过氧化反应,表现为 4-HNE、MDA 和 LPO 水平增加,表明 D-GalN 引起大鼠肝脏出现抗氧化能力下降及脂质过氧化性损伤,而 BPS 可明显降低肝内 ROS 和  $\text{Fe}^{2+}$  水平,进而减轻肝损伤,表明 BPS 可减轻铁离子依赖性的脂质过氧化产物的积累,发挥抑制铁死亡作用。总之,本研究发现 BPS 可提高实验性肝损伤大鼠肝组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达,增加 GSH 水平,减少脂质过氧化物的生成及肝内铁沉积,改善肝功能,表明 BPS 抗肝损伤作用与提高抗氧化能力及减轻肝细胞铁死亡有关,且可通过影响 SLC7A11/GPX4 通路来发挥作用,然而其抑制铁死亡的分子机制有待探讨。

综上所述,在中医药防治肝病研究方面,深入研究药物调控不同细胞死亡方式之间的关系对联合用药及更好发挥药效有所帮助。且与经典铁死亡抑制剂相比,中药活性成分参与调节铁死亡,具有价廉、来源广及疗效可靠等优势,进一步发掘调控铁死亡的天然药物具有重要价值。本研究可为临床应用民族药筒鞘蛇菰辅助治疗肝损伤提供实验依据。

**作者贡献:** 贾琛琛负责撰写及修改论文;岳蓉负责数据采集与分析;李俸琴和唐璐负责动物实验及指标检测;曾楚华负责动物实验设计;王凤杰负责课题指导及实施。

**利益冲突:** 所有作者认可本研究无相关利益冲突。

## References

- Jiang KY, Ye XL, Xiong F, et al. The protective effects and mechanism of Alismatis Rhizoma extracts against senecionine-induced acute liver injury in mice [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2021, 56: 823-830.
- Beyoğlu D, Idle JR. Metabolomic insights into the mode of action of natural products in the treatment of liver disease [J]. Biochem Pharmacol, 2020, 180: 114171.
- Zhang T, Xie Y, Chen Y, et al. Protective effect of the polysaccha-

- ride from *Balanophora involucrate* HK. *f* on liver injury induced by *D*-galactose in rats and its mechanism [J]. *Chin J Appl Physiol* (中国应用生理学杂志), 2021, 37: 276-280.
- [4] Xie Y, Chen Y, Xia DY, et al. *Balanophora* polysaccharide decreases the expression of BDNF and TrkB in liver tissues of rat with experimental liver injury [J]. *Basic Clin Med* (基础医学与临床), 2022, 42: 62-67.
- [5] Stockwell BR, Jiang X, Gu W. Emerging mechanisms and disease relevance of ferroptosis [J]. *Trends Cell Biol*, 2020, 30: 478-490.
- [6] Xiao L, He YM, Peng F, et al. Experimental study on improvement of alcoholic liver disease by polysaccharides from *Balanophora henryi* through targeting miR-122a [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2020, 45: 4692-4698.
- [7] Zhu YQ, Wang Y, Wang FJ, et al. Effect and mechanism of *Balanophora involucrate* Hook. *f*. polysaccharide on liver injury based on network pharmacology and molecular docking and its experimental verification *in vivo* [J]. *World Sci Technol* (世界科学技术-中医药现代化), 2022, 24: 3465-3476.
- [8] Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2005, 41: 1313-1321.
- [9] Qian QY, Ying N, Yang Z, et al. Mechanisms of tanshinone IIA in reducing 4-HNE-induced hepatocyte damage by activating PPAR $\alpha$  [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2019, 44: 1862-1868.
- [10] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149: 1060-1072.
- [11] Ingold I, Berndt C, Schmitt S, et al. Selenium utilization by GPX4 is required to prevent hydroperoxide-induced ferroptosis [J]. *Cell*, 2018, 172: 409-422.e21.
- [12] Lane DJ, Merlot AM, Huang ML, et al. Cellular iron uptake, trafficking and metabolism: key molecules and mechanisms and their roles in disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853: 1130-1144.
- [13] Dodson M, Castro-Portuguez R, Zhang DD. Nrf2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2019, 23: 101107.
- [14] Ye XL, Jiang KY, Yang L, et al. The protective effect of salviolic acid B against senecionine-induced hepatotoxicity in mice [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2021, 56: 1079-1085.
- [15] Li JP, Gao Y, Chu SF, et al. Nrf2 pathway activation contributes to anti-fibrosis effects of ginsenoside Rg1 in a rat model of alcohol- and CCl $_4$ -induced hepatic fibrosis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2014, 35: 1031-1044.
- [16] Wei JY, Zhang Q, Li LQ, et al. Nrf2 agonist sulforaphane attenuates liver injury in septic mice by inhibiting ferroptosis [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2022, 38: 608-615.
- [17] Kerins MJ, Ooi A. The roles of Nrf2 in modulating cellular iron homeostasis [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29: 1756-1773.
- [18] Zhang J, Liu L, Li F, et al. Treatment with catalpol protects against cisplatin-induced renal injury through Nrf2 and NF- $\kappa$ B signaling pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20: 3025-3032.
- [19] Mai H, Matsuoka M, Kumagai T, et al. Lipid peroxidation dependent cell death regulated by GPX4 and ferroptosis [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2017, 403: 143-170.