DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.03.017

芒柄花素通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制氧糖剥夺/复氧诱导的 HT22 细胞铁死亡

陈靓[1],唐梅[2],王文秀[2],张敏[2],曹丽平[2],何前松[1,2]
(1.贵州中医药大学第一临床医学院,贵州 贵阳 550001;2.贵州中医药大学第一附属医院,贵州 贵阳 550001)

摘要:目的 旨在揭示芒柄花素(Formononetin,FMN)是否通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制氧糖剥夺/复氧诱导的 HT22 细胞发生铁死亡。方法 构建 HT22 细胞氧-糖剥夺/再氧合(Oxygen-glucose deprivation/reoxygenation,OGD/R)损伤模型,将 HT22 细胞分为空白对照组(CON)、芒柄花素组(FMN)、模型组(OGD/R)、模型+芒柄花素组(OGD/R+FMN)、模型+ML385(Nrf2 抑制剂)组(OGD/R+ML385)、模型+RSL3(GPX4 抑制剂)组(OGD/R+RSL3);采用 CCK-8 法检测细胞活力;DCFH-DA 探针检测细胞内 ROS 水平;TUNEL 染色和流式细胞仪检测细胞凋亡;比色法检测细胞内 Fe^{2+} 含量;Western blot 检测 Nrf2 和 GPX4 的蛋白表达水平。结果 与 CON 组相比,OGD/R 组中细胞增殖活性显著降低,Fe^{2+} 含量、ROS 水平和细胞凋亡比例显著增高,Nrf2 和 GPX4 的蛋白表达显著降低($P>0.05$);与 OGD/R 组相比,OGD/R+FMN 组细胞增殖活性显著增加($P<0.05$),Fe^{2+} 含量、ROS 水平和细胞凋亡比例显著下降,Nrf2 和 GPX4 蛋白表达量显著上升;与 OGD/R 组相比,OGD/R+ML385 组和 OGD/R+RSL3 组的细胞增殖活性均显著降低($P<0.05$),Fe^{2+} 含量、ROS 水平和细胞凋亡比例显著上升,OGD/R+ML835 组中 Nrf2 蛋白表达量显著降低($P<0.05$),OGD/R+RSL3 组中 GPX4 蛋白表达量显著降低($P<0.05$)。结论 芒柄花素可能通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制氧糖剥夺/复氧诱导的 HT22 细胞铁死亡。

关键词:芒柄花素;Nrf2/GPX4 通路;铁死亡
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)03-0089-07

Formononetin Inhibits Ferroptosis Induced by Oxygen Glucose Deprivation/Reoxygenation in HT22 Cells by Activating Nrf2/GPX4 Pathway

CHEN Liang[1],TANG Mei[2],WANG Wenxiu[2],ZHANG Min[2],CAO Liping[2],HE Qiansong[1,2]
(1. The First Clinical College of Medicine,Guizhou University of Traditional Chinese Medicine,Guiyang 550001,Guizhou,China;
2. The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine,Guiyang 550001,Guizhou,China)

Abstract:*Objective* To reveal whether Formononetin(FMN) inhibits ferroptosis in HT22 cells induced by oxygen glucose deprivation/reoxygenation by activating the nuclear factor erythroid 2-related factor 2(Nrf2)/Glutathione peroxidase 4(GPX4)? pathway. *Methods* HT22 cells were subjected to oxygen-glucose deprivation/reoxygenation(OGD/R) damage to create an in vitro model,and HT22 cells were divided into control group(CON),FMN group(FMN),model group(OGD/R),model+FMN group(OGD/R+FMN),model+ML385 group(OGD/R+ML385),model+RSL3 group(OGD/R+RSL3). The CCK-8 method was used to detect the cell viability. DCFH-DA probe was used to detect the level of intracellular ROS. TUNEL staining and flow cytometry were used to detect the apoptosis. The colorimetric method was used to detect Fe^{2+} content in cells. Western blot was used to detect the protein expression levels of Nrf2 and GPX4. *Results* Compared with those in the CON group,the cell proliferation activity in the OGD/R group was significantly reduced,the Fe^{2+} content,ROS level and apoptosis ratio were significantly increased,and the protein expressions of Nrf2 and GPX4 were significantly decreased($P>0.05$). Compared with the OGD/R group,the OGD/R+FMN group had significantly increased cell proliferation activity($P<0.05$),Fe^{2+} content,ROS level and apoptosis ratio significantly decreased and the expressions of Nrf2 and GPX4 proteins increased significantly. Compared with those of the OGD/R group,the cell proliferative activity of the OGD/R+ML385 group and the OGD/R+RSL3 group was significantly

基金项目:国家自然科学基金项目(82160850);贵州省科技基金项目(黔科合基础〔2020〕1Z071)
作者简介:陈靓(1999-),女,重庆人,硕士在读,研究方向:中医药防治脑血管疾病。
通讯作者:何前松(1979-),男(仡佬族),贵州道真人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中医药防治脑血管疾病。E-mail:hqs0820@126.com。

decreased($P<0.05$), the Fe^{2+} content, ROS level and apoptosis ratio were significantly increased, the expression of Nrf2 protein in the OGD/R + ML835 group was significantly decreased($P<0.05$), and the expression of GPX4 protein in the OGD/R + RSL3 group was significantly decreased($P<0.05$). *Conclusion* FMN may inhibit ferroptosis induced by oxygen glucose deprivation/reoxygenation by activating the Nrf2/GPX4 pathway.

Keywords: Formononetin; Nrf2/GPX4 pathway; ferroptosis

脑缺血再灌注(Cerebral ischemia/reperfusion, I/R)损伤是最常见的卒中类型之一,通常会导致多种脑血管和心血管疾病,从而在世界范围内导致较高的病死率[1]。而神经细胞损伤和凋亡被认为是脑 I/R 损伤发病机制的第一步,一旦发生脑 I/R,就会导致大量氧自由基引起的氧化应激和急性炎症反应,导致细胞凋亡,从而加重缺血性脑组织损伤[2]。其中,过量的脂质过氧化积累可能导致神经元的铁依赖性铁死亡[3]。铁死亡是一种新发现的铁依赖性细胞死亡,由基于脂质的活性氧(ROS)的积累引起[4]。而谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)作为一种抗氧化防御酶,是多种细胞类型中铁死亡的关键调节因子,研究发现 GXP4 消融能诱导铁死亡并触发前脑神经元神经退行性病变[5]。而 NF-E2 相关因子 2(Nrf2)是一种抗氧化蛋白,也参与对抗氧化应激,缓解脂质过氧化和铁死亡[6]。在正常的无应激状态下,Nrf2 主要由其抑制剂 keap1 附着在细胞质中,当氧化应激时则会导致 Nrf2-keap1 复合物崩解和 Nrf2 转位到细胞核中,在那里它结合抗氧化反应元件以启动下游抗氧化基因的转录[7]。因此,寻找安全有效的药物通过 Nrf2/GPX4 通路来抑制缺血性脑卒中后铁死亡和改善生理功能成为潜在的研究靶点。

芒柄花素(FMN)是阳雀花根(植物名锦鸡儿根)的主要活性成分,属异黄酮类天然化合物,具有雌激素样作用,有植物雌激素之称,具有多种药理作用,如抗癌、抗凋亡、抗炎和抗氧化等,对脑缺血再灌注损伤具有良好的保护作用[8]。此外研究还发现 FMN 能通过抑制铁死亡缓解肾小管损伤,改善慢性肾脏病模型的肾功能[9]。然而,芒柄花素是否能通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制氧糖剥夺/复氧诱导的 HT22 细胞铁死亡,从而发挥对脑缺血的保护作用尚未见报道。本研究通过让 HT22 细胞遭受氧-葡萄糖剥夺/再氧合(OGD/R)损伤来创建体外模型,探讨 FMN 对 OGD/R 诱导 HT22 细胞损伤的影响及其与铁死亡的相关性。

1 材料与方法

1.1 细胞 小鼠海马神经元细胞系 HT22 购于武汉尚恩生物技术有限公司。

1.2 药物与试剂 芒柄花素购于成都德思特生物技术有限公司(批号:DM0011);RSL3(批号:HY-100218A)和 ML385(批号:HY-100523)购于 MCE 公司;CCK-8 试剂盒(批号:CA1210)、活性氧检测试剂盒(批号:CA1410)、Cell Meter TUNEL Apoptosis Assay Kit * Green Fluorescence *(批号:T2130)购于 Solarbio 公司;Cell Cycle Staining Kit 购于联科生物科技有限公司(批号:CCS012);Cell Ferrous Iron Colorimetric Assay Kit 购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司(批号:E-BC-K881-M);RIPA 裂解液(批号:G2002)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号:BL521A)购于武汉塞维尔生物科技有限公司;Beta-actin 单克隆抗体(批号:AC026)购于爱博泰克公司;GPX4 单克隆抗体(批号:DF6701)和 Nrf2 单克隆抗体(批号:AF0639)购于 affinity 公司;DAPI 购于赛默飞公司(批号:62248)。

1.3 仪器 酶标仪(Thermo 公司);垂直蛋白电泳仪(君意电泳公司);凝胶成像仪(Bio-01 公司);倒置显微镜(Nexcope 公司);CO_2 恒温培养箱(Bluepard 公司);Attune™ NxT 流式细胞仪(Thermo 公司);ChemiScope 6100 型化学发光成像系统和 ChemiScope Analysis 型图像采集软件(上海勤翔科学仪器有限公司)。

1.4 OGD/R 损伤的 HT22 分组与模型制备 取状态良好的 HT22 细胞,随机将其分为 6 个组:空白对照组(CON)、芒柄花素组(FMN)、模型组(OGD/R)、模型 + 芒柄花素组(OGD/R + FMN)、模型 + ML385 组(OGD/R + ML385)、模型 + RSL3 组(OGD/R + RSL3)。将细胞用 PBS 洗 2 次,空白对照组不做任何处理,芒柄花素组加入 10 μm 芒柄花素,后 4 组加入 DMEM 无糖培养液,置于 95% N_2 和 5% CO_2 缺氧小室中进行氧糖剥夺培养 6 h,并把无糖培养液更换为含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养液,放置于常规培养箱中培养 12 h 进行造模。同时模型 + 芒柄花素组加入 10 μm 芒柄花素,模型 + ML385 组加入 1 μM ML385,模型 + RSL3 组加入 1 μM RSL3 处理细胞。

1.5 CCK-8 法检测各组 HT22 细胞活力 取对数生长期的细胞将密度调整到 1×10^5 cells/mL 后接入 96 孔板,按照分组每孔加不同的培养基 200 μL;37 ℃培养箱中继续分别培养 24 h后,加入 CCK8 溶液 20 μL/孔;将培养板在培养箱内孵育 2 h 后,用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

1.6 DCFH-DA 探针检测各组细胞内 ROS 水平 根据 ROS 试剂盒说明书,取对数生长期的 HT22 细胞接入 6 孔板中,给药 48 h,按照 1∶1000 的比例用无血清培养液稀释 DCFH-DA 探针,使其终浓度为 10 μmol/L,每孔加入工作液 1 mL,避光孵育 20~30 min,用无血清的培养液洗涤细胞,使用流式细胞仪检测 ROS 含量。

1.7 TUNEL 染色检测凋亡 取对数生长期的 HT22 细胞并接种于 12 孔板培养 24 h 后弃培养液,PBS 洗涤 1 次,4% 多聚甲醛固定 30 min;PBS 洗涤 1 次,加入含 0.3% Triton X-100 的 PBS,室温孵育 5 min;PBS 洗涤 2 次,将 5 μL TdT 酶与 45 μL 荧光标记液混合配制成 50 μL TUNEL 检测液,加入孔中,37 ℃避光孵育 60 min;PBS 洗涤 3 次,加入少量 DAPI 染色液,覆盖住样品,室温放置 5 min,吸除 DAPI 染色液,PBS 洗涤 3 次;封片后立即在荧光显微镜下观察。

1.8 流式细胞仪检测细胞凋亡 收集细胞后离心弃上清,PBS 洗涤后再次离心弃上清。加入 1 mL DNA Staining Solution 和 10 μL Permeabilization Solution,涡旋振荡 10 s 混匀,于室温

避光孵育30 min后在流式细胞仪上进行检测,观察各组细胞凋亡情况。

1.9 比色法检测各组细胞内 Fe^{2+} 含量 取对数生长期的HT22细胞将密度调整为 1×10^5 cells/mL进行培养,按照实验分组分别给药处理,并按照Cell Ferrous Iron Colorimetric Assay Kit试剂盒说明书进行检测,最后使用酶标仪在593 nm处检测 Fe^{2+} 含量。

1.10 Western blot检测各组Nrf2和GPX4蛋白表达 收集各组细胞提取蛋白,采用BAC试剂盒测定蛋白浓度。制备蛋白质电泳样品,经SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、5%的脱脂奶粉封闭后,加入一抗4 ℃孵育过夜,二抗室温孵育2 h,洗涤条带后滴加ECL发光液,成像系统曝光,测定条带灰度值。

1.11 数据的统计分析 使用SPSS 23.0软件进行统计分析,所有实验重复3次,结果以均数±标准差表示,多组间比较时采用单因素方差分析进行统计分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CCK-8法检测FMN对OGD/R诱导的细胞增殖活性的影响 CCK-8实验检测FMN处理后对细胞株增殖活性的影响。插页XXV图1结果显示,与CON组相比,FMN组中细胞增殖活性无显著性变化($P>0.05$),OGD/R组细胞增殖活性显著降低($P<0.05$);与OGD/R组相比,OGD/R+FMN组细胞增殖活性显著增加($P<0.05$),OGD/R+ML385组和OGD/R+RSL3组的细胞增殖活性均显著降低($P<0.05$)。

2.2 DCFH-DA探针检测FMN对OGD/R诱导的ROS含量的影响 通过DCFH-DA探针检测ROS含量,如插页XXV图2所示,与CON组相比,FMN组中ROS含量水平无显著性变化($P>0.05$),OGD/R组细胞中ROS含量显著上升($P<0.05$);与OGD/R组相比,OGD/R+FMN组中ROS含量显著下降($P<0.05$),OGD/R+ML385组和OGD/R+RSL3组中ROS含量均显著升高($P<0.05$)。

2.3 流式细胞仪检测FMN对OGD/R诱导的细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况,如插页XXV图3所示,与CON组相比,FMN组中细胞凋亡比例无显著性变化($P>0.05$),OGD/R组细胞凋亡比例显著上升($P<0.05$);与OGD/R组相比,OGD/R+FMN组中细胞凋亡比例显著下降($P<0.05$),OGD/R+ML385组和OGD/R+RSL3组中细胞凋亡比例均显著升高($P<0.05$)。见插页XXVI图4。

2.4 TUNEL染色检测FMN对OGD/R诱导的细胞凋亡的影响 TUNEL荧光染色结果显示,与CON组比较,FMN组中细胞凋亡比例无显著性变化($P>0.05$),OGD/R组HT22细胞的凋亡数目显著增多($P<0.05$);与OGD/R组相比,OGD/R+FMN组中细胞的凋亡数目显著下降($P<0.05$),OGD/R+ML385组和OGD/R+RSL3组中细胞的凋亡数目均显著升高($P<0.05$)。

2.5 比色法检测FMN对OGD/R诱导的 Fe^{2+} 含量的影响 如插页XXVI图5所示,与CON组相比,FMN组中 Fe^{2+} 含量水平无显著性变化($P>0.05$),OGD/R组细胞中 Fe^{2+} 含量显著上升($P<0.05$);与OGD/R组相比,OGD/R+FMN组中 Fe^{2+} 含量显著下降($P<0.05$),OGD/R+ML385组和OGD/R+RSL3组中 Fe^{2+} 含量均显著升高($P<0.05$)。

2.6 Western blotting检测FMN对OGD/R诱导的Nrf2和GPX4蛋白表达的影响 通过WB检测各组细胞中Nrf2和GPX4的蛋白表达量,如插页XXVI图6所示,发现与CON组相比,FMN组中Nrf2和GPX4的蛋白表达量无显著性变化($P>0.05$),OGD/R组中的Nrf2和GPX4蛋白表达量显著降低($P<0.05$);与OGD/R组相比,OGD/R+FMN组的Nrf2和GPX4蛋白表达量显著上升($P<0.05$),OGD/R+ML835组中Nrf2蛋白表达量显著降低($P<0.05$);OGD/R+RSL3组中GPX4蛋白表达量显著降低($P<0.05$),其余均无显著性变化。

3 讨论

缺血性脑卒中是最常见的脑卒中类型,约占脑卒中总数的87%,可导致较高残疾率和病死率,严重危害人类生命健康[10]。而脑I/R损伤是缺血性脑卒中的主要病理生理机制之一。近年来研究发现许多中药及其复方对治疗脑I/R损伤有良好效果,如翻白草总黄酮[11]、大黄酸[12]和龙血素[13]等。FMN作为一种异黄酮,对治疗神经系统疾病,如创伤性脑损伤、脊髓损伤、缺血性脑卒中、脑缺血再灌注、阿尔茨海默病和神经肿瘤等具有良好疗效[14]。研究发现芒柄花素可改善大鼠脑缺血再灌注损伤[15],但其具体的机制有待探究。因此本研究通过让HT22细胞遭受OGD/R损伤来创建体外模型,深入探究FMN治疗脑I/R损伤的具体机制。

活性氧(ROS)的基础水平对于维持正常的生理功能至关重要。然而,ROS的过量产生会引起高度破坏,导致遗传毒性、脂质过氧化和蛋白质降解。氧化应激作为脑I/R损伤病理过程中的重要机制,脑I/R损伤会导致活性氧(ROS)产生过多和氧化应激加剧,研究发现下调ROS水平是对抗OGD/R诱导损伤的有效方法[16-18]。本实验中体外模型建立成功后模型组中ROS含量和细胞凋亡率显著上升,经FMN处理后ROS含量和细胞凋亡率显著下降。同样,有研究发现二氢杨梅素能通过抑制OGD/R诱导的HT22细胞的氧化应激和凋亡,发挥二氢杨梅素的神经保护作用[19]。表明FMN可通过降低ROS含量和细胞凋亡从而缓解氧化应激,发挥抗脑I/R损伤作用。

铁死亡是一种铁依赖性、过氧化驱动、非凋亡的调节性细胞死亡形式,依赖于铁和ROS,被认为是再灌注损伤的原因[20]。有研究发现铁死亡由脂质过氧化氢衍生物 Fe^{2+} 产生的烷氧基引发[21]。在本实验中模型组中 Fe^{2+} 水平显著上升,经FMN处理后 Fe^{2+} 水平显著下降。表明FMN可通过降低 Fe^{2+} 水平从而缓解细胞铁死亡。而GPX4是铁死亡的关键调节因子,在将脂质氢过氧化物转化为无毒脂质方面起着至关重要的作用,此外GPX4失活会导致脂质氢过氧化物积累,最终诱导铁死亡[22]。研究发现白藜芦可降低ROS水平,上调GPX4蛋白表达从而减少神经元OGD/R损伤后线粒体结构的破坏[23]。以及京尼平苷能通过提高GPX4的蛋白表达量激活GPX4信号通路,抑制OGD/R诱导的SH-SY5Y细胞氧化应激与铁死亡[24]。在本研究中也有相似结果,表明FMN可通过

提高 GPX4 的蛋白表达从而缓解细胞铁死亡。此外 RSL3 是一种 GPX4 的抑制剂,可降低 GPX4 的表达,在本实验中 RSL3 处理后也显著下调了 GPX4 蛋白水平。Nrf2 是一种重要的抗氧化转录因子,可调节 GPX4 的表达[25]。ML385 作为 Nrf2 的一种特异性抑制剂,本实验中 ML385 处理后也显著下调了 Nrf2 蛋白水平。此外本研究中 FMN 处理后 Nrf2 蛋白表达显著提高同样。同样,右美托咪定也能通过以及恢复 I/R 诱导的 Nrf2 表达抑制,减少 Fe^{2+} 和 ROS 水平,显著改善 OGD/R 诱导的细胞铁死亡,同时还发现 ML385 显著抑制右美托咪定促进的 Nrf2 核聚集与 Gpx4 蛋白表达,阻碍了右美托咪定的疗效[26]。这均与本研究相同,表明 FMN 可通过提高 Nrf2 的蛋白表达从而缓解细胞铁死亡,而 ML385 具有促进 OGD/R 诱导的细胞铁死亡作用。

4 结论

综上所述,本研究发现 FMN 可抑制 OGD/R 诱导的 HT22 细胞铁死亡,导致细胞增殖活性显著增加,Fe^{2+} 含量、ROS 水平和细胞凋亡比例明显降低,其作用机制可能与激活 Nrf2/GPX4 信号通路有关。

参考文献

[1] SURINKAEW P, SAWADDIRUK P, APAIJAI N, et al. Role of microglia under cardiac and cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury [J]. Metab Brain Dis, 2018,33:1019 - 1030.

[2] YU Q, DAI H, JIANG Y, et al. Sevoflurane alleviates oxygen - glucose deprivation/reoxygenation - induced injury in HT22 cells through regulation of the PI3K/AKT/GSK3β signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2021,21(4):376.

[3] WEI X, YI X, ZHU X H, et al. Posttranslational Modifications in Ferroptosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020,2020:8832043.

[4] YUAN Y, ZHAI Y, CHEN J, et al. Kaempferol ameliorates oxygen - glucose deprivation/reoxygenation - induced neuronal ferroptosis by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis[J]. Biomolecules, 2021,11(7):923.

[5] HAMBRIGHT W S, FONSECA R S, CHEN L, et al. Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration[J]. Redox Biol, 2017,12:8 - 17.

[6] 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.

[7] LIU W, CHEN Y H, MENG J, et al. Ablation of caspase - 1 protects against TBI - induced pyroptosis in vitro and in vivo[J]. J Neuroinflammation, 2018,15:48.

[8] LUO J, CAI Y, WEI D, et al. Formononetin alleviates cerebral ischemia - reperfusion injury in rats by targeting the PARP - 1/PARG/Iduna signaling pathway[J]. Brain Res, 2024,1829:148845.

[9] ZHU B, NI Y, GONG Y, et al. Formononetin ameliorates ferroptosis - associated fibrosis in renal tubular epithelial cells and in mice with chronic kidney disease by suppressing the Smad3/ATF3/SLC7A11 signaling[J]. Life Sci, 2023,315:121331.

[10] LI C, SUN G, CHEN B, et al. Nuclear receptor coactivator 4 - mediated ferritinophagy contributes to cerebral ischemia - induced ferroptosis in ischemic stroke [J]. Pharmacol Res, 2021, 174:105933.

[11] 刘文泊,许本善,王德厚,等. 翻白草总黄酮对小鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志,2012,32(22):4965 - 4966.

[12] LIU H, ZHANG T A, ZHANG W Y, et al. Rhein attenuates cerebral ischemia - reperfusion injury via inhibition of ferroptosis through NRF2/SLC7A11/GPX4 pathway [J]. Exp Neurol, 2023, 369:114541.

[13] LI R, JIA H, SI M, et al. Loureirin B protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through modulating M1/M2 microglial polarization via STAT6 / NF - kappaB signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2023,953:175860.

[14] MA X, WANG J. Formononetin: A Pathway to Protect Neurons [J]. Front Integr Neurosci, 2022,16:908378.

[15] 王婷,关茗元,李朵璐,等. 基于脂质组学技术探究芒柄花素对脑缺血再灌注损伤大鼠磷脂代谢通路的影响[J]. 中药药理与临床,2022,38(2):53 - 58.

[16] YE N, ZHANG N J, ZHANG Y, et al. Cul4a as a new interaction protein of PARP1 inhibits oxidative stress - induced H9c2 cell apoptosis[J]. Oxid Med Cellular Longevity, 2019,2019:4273261.

[17] BUGGER H, PFEIL K. Mitochondrial ROS in myocardial ischemia reperfusion and remodeling[J]. Biochimica et biophysica Acta, 2020,1866:165768.

[18] YANG T S, WANG Q Y, QU Y Y, et al. Punicalin alleviates OGD/R - triggered cell injury via TGF - β - mediated oxidative stress and cell cycle in neuroblastoma cells SH - SY5Y[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021,2021:6671282.

[19] XIE J, ZHANG T, LI P, et al. Dihydromyricetin attenuates cerebral ischemia reperfusion injury by inhibiting SPHK1/mTOR signaling and targeting ferroptosis[J]. Drug Des Devel Ther, 2022,16: 3071 - 3085.

[20] LI X, MA N, XU J, et al. Targeting ferroptosis: pathological mechanism and treatment of ischemia - reperfusion injury[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021,2021:1587922.

[21] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: the role of GSH and GPx4[J]. Free Radic Biol Med, 2020,152:175 - 185.

[22] GASCHLER M M, ANDIA A A, LIU H, et al. FINO2 initiates ferroptosis through GPX4 inactivation and iron oxidation[J]. Chem Biol, 2018,14:507 - 515.

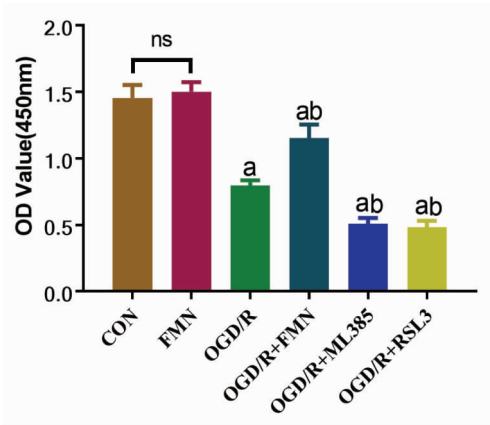
[23] ZHU H, HUANG J, CHEN Y, et al. Resveratrol pretreatment protects neurons from oxygen - glucose deprivation/reoxygenation and ischemic injury through inhibiting ferroptosis[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2022,86(6):704 - 716.

[24] 熊波,李航,文远超,等. 京尼平苷通过调控 SLC7A11/GPX4 对氧糖剥夺/复氧损伤 SH - SY5Y 细胞的影响[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化,2024,26(3):837 - 843.

[25] ZHANG Y, WEI H, WANG M, et al. Dexmedetomidine alleviates ferroptosis following hepatic ischemia - reperfusion injury by upregulating Nrf2/GPx4 - dependent antioxidant responses [J]. Biomed Pharmacother, 2023,169:115915.

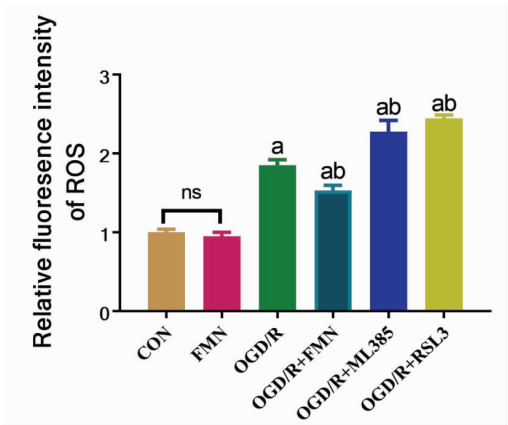
芒柄花素通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制氧糖剥夺/复氧诱导的 HT22 细胞铁死亡

(正文见 89 - 92 页)



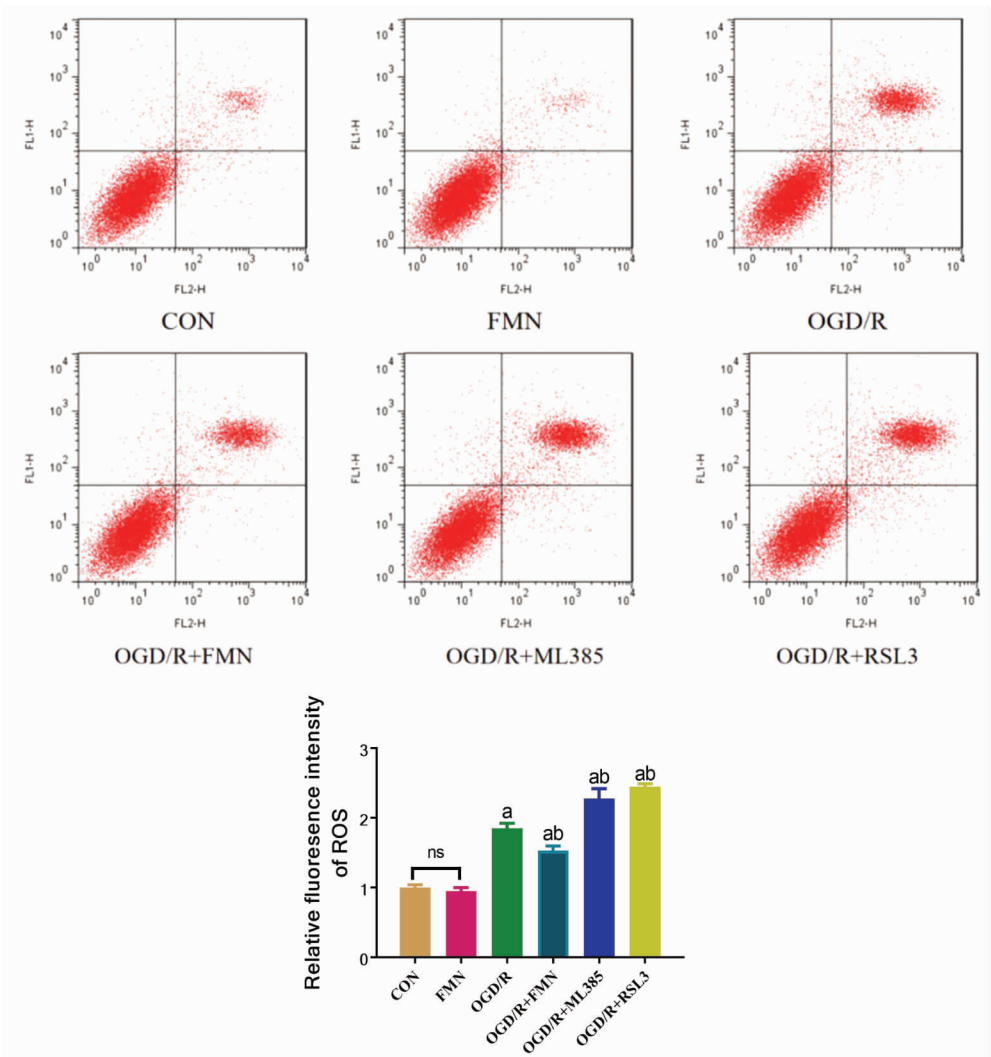
注:a 表示与 FMN 组比较;b 表示与 OGD/R 组比较。

图 1 FMN 对 OGD/R 诱导的细胞增殖活性的影响



注:a 表示与 FMN 组比较;b 表示与 OGD/R 组比较。

图 2 FMN 对 OGD/R 诱导的 ROS 含量的影响



注:a 表示与 FMN 组比较;b 表示与 OGD/R 组比较。

图 3 FMN 对 OGD/R 诱导的细胞凋亡的影响

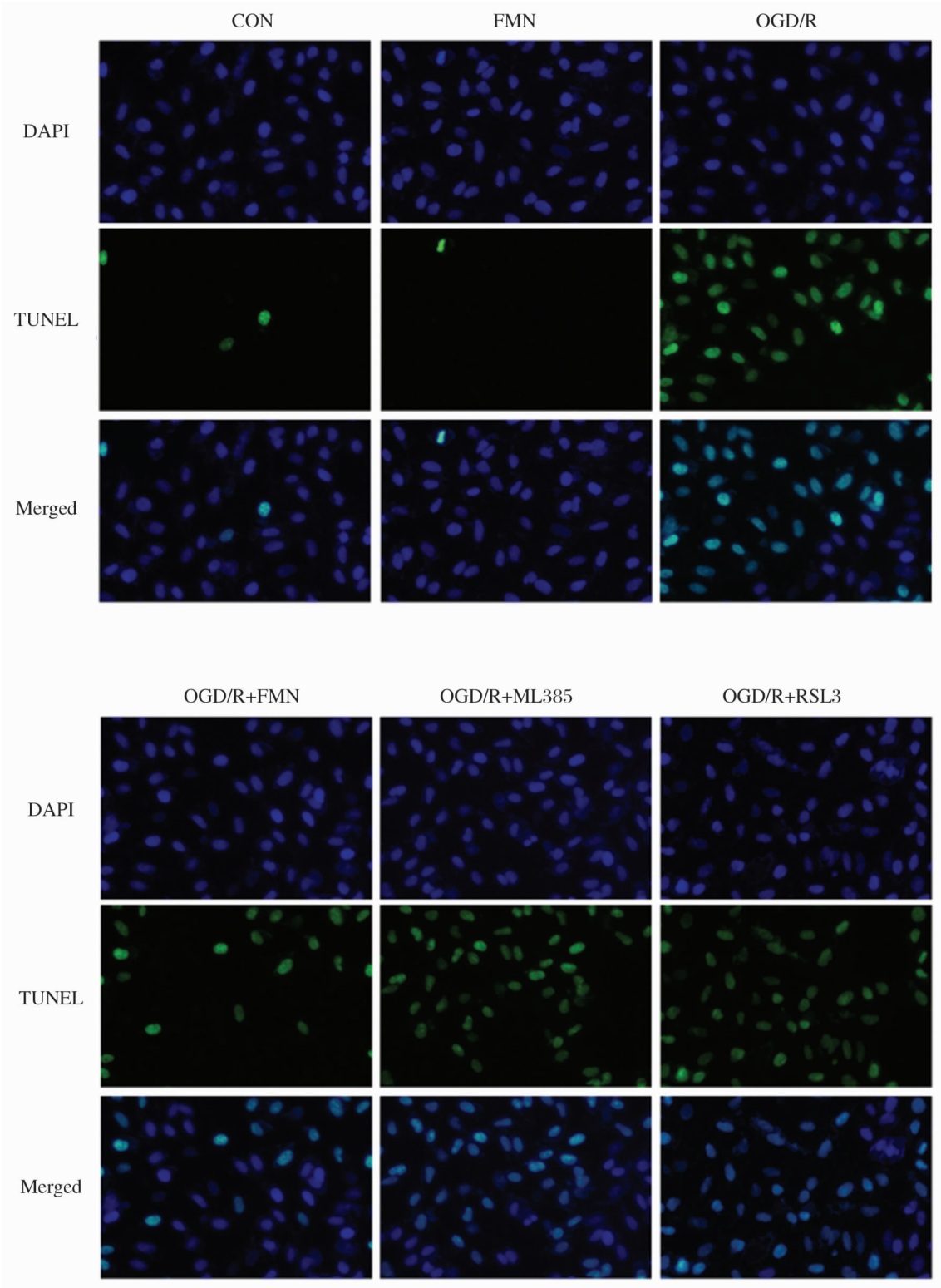
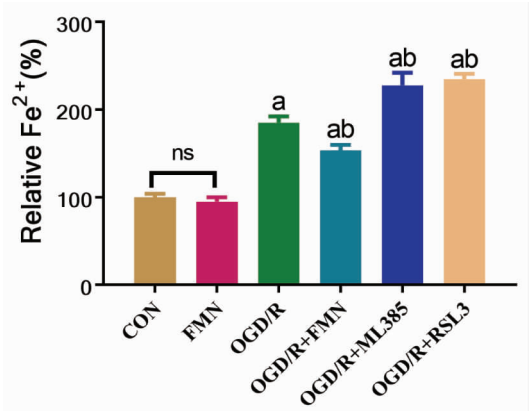
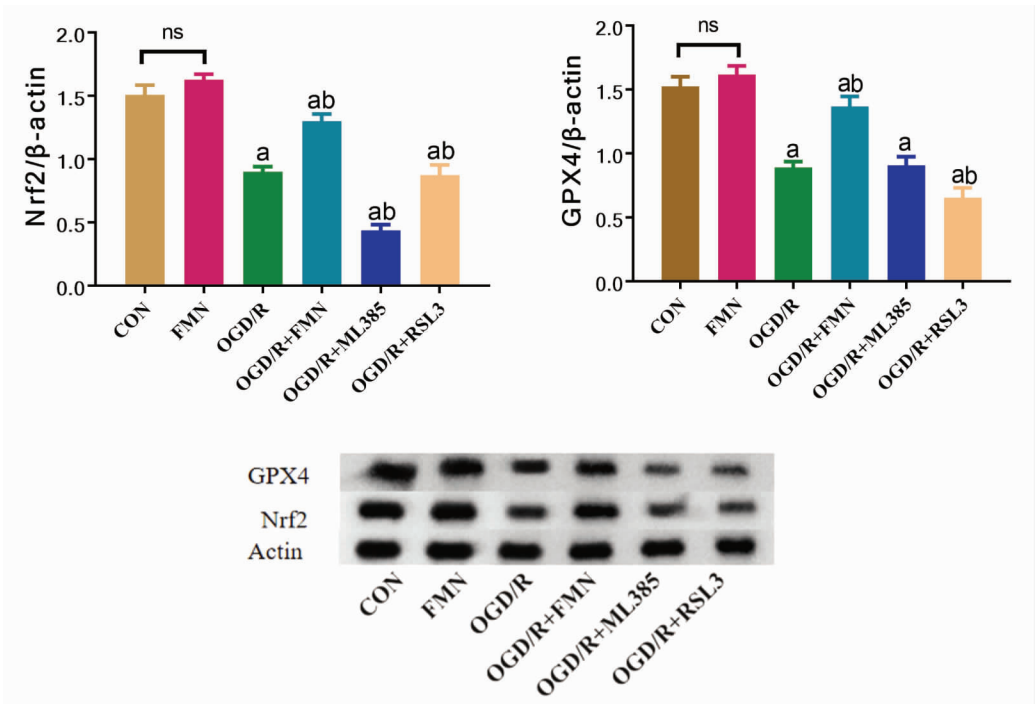


图 4　FMN 对 OGD/R 诱导的细胞凋亡的影响



注：a 表示与 FMN 组比较；b 表示与 OGD/R 组比较。

图 5　FMN 对 OGD/R 诱导的 Fe^{2+} 含量的影响



注：a 表示与 FMN 组比较；b 表示与 OGD/R 组比较。

图 6　FMN 对 OGD/R 诱导的 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达的影响