

白凤菜总黄酮经 Nrf2/HO-1 通路调控铁死亡抑制结肠癌的作用机制

蔡阳艳¹, 刘慧丽¹, 林燕燕², 章涛^{3*}

1. 漳州卫生职业学院 医学技术学院 转化医学检测应用技术协同创新中心, 福建 漳州 363000

2. 漳州卫生职业学院 基础医学院, 福建 漳州 363000

3. 福建医科大学 基础医学院, 福建 福州 350122

摘要: **目的** 探究白凤菜总黄酮通过调控核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/血红素加氧酶-1 (HO-1) 信号通路诱导铁死亡, 从而抑制结肠癌 HT29 细胞生长。**方法** 采用 CCK-8、流式细胞术检测白凤菜总黄酮对 HT29 细胞增殖、凋亡与周期的影响; 通过铁代谢指标检测、RT-qPCR 与 Western blotting 分析铁死亡相关基因与蛋白表达。**结果** 随着白凤菜总黄酮浓度的升高, HT29 细胞的增殖抑制率逐渐增加, 诱导细胞早期和晚期凋亡率显著升高, 并引起细胞周期阻滞 ($P < 0.05$ 、 0.001)。白凤菜总黄酮可以显著提升细胞内活性氧 (ROS)、亚铁离子、丙二醛 (MDA) 水平, 降低谷胱甘肽 (GSH) 含量 ($P < 0.01$ 、 0.001); 上调 HT29 细胞中 *NFE2L2*、*HMOX1*、*ACSL4*、*TF*、*TFRC* mRNA 表达, 下调谷胱甘肽过氧化物酶 4 (*GPX4*) mRNA 表达 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。白凤菜总黄酮可上调铁死亡相关蛋白 Nrf2、HO-1、TF 的表达, 下调 GPX4 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.001)。**结论** 白凤菜总黄酮可通过调控 Nrf2/HO-1 通路诱导铁死亡, 从而抑制结肠癌 HT29 细胞增殖并促进凋亡。

关键词: 白凤菜总黄酮; 结肠癌; 铁死亡; 核因子 E2 相关因子 2/血红素加氧酶-1 信号通路

中图分类号: R285.5; R286.4 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)04-0881-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.04.002

Mechanism of total flavonoids from *Gynura formosana* inhibiting colon cancer by regulating ferroptosis via the Nrf2/HO-1 pathway

CAI Yangyan¹, LIU Huili¹, LIN Yanyan², ZHANG Tao³

1. Department of Medical Technology, Collaborative Innovation Center for Translation Medical Testing and Application Technology
Zhangzhou, Zhangzhou Health Vocational College, Zhangzhou 363000, China

2. School of Basic Medical Sciences, Zhangzhou Health Vocational College, Zhangzhou 363000, China

3. School of Basic Medical Sciences, Fujian Medical University, Fuzhou 350122, China

Abstract: Objective To investigate total flavonoids from *Gynura formosana* inhibit the growth of colon cancer HT29 cells by inducing ferroptosis through the regulation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway. **Methods** Effects of total flavonoids from *Gynura formosana* on the proliferation, apoptosis, and cycle of HT29 cells were assessed using CCK-8 and flow cytometry. Detection of iron metabolism indicators, RT-qPCR, and Western blotting analysis were performed to evaluate the expression of genes and proteins associated with ferroptosis. **Results** As the total flavonoid concentration of *Gynura formosana* increased, the proliferation inhibition rate of HT29 cells gradually increased, and the rates of early and late apoptosis of the cells significantly increased, causing cell cycle arrest ($P < 0.05$, 0.001). The total flavonoids of *Gynura formosana* can significantly increase the levels of ROS, ferrous ions, and MDA in cells, while reducing the content of GSH ($P < 0.01$, 0.001), and up-regulate the mRNA expressions of *NFE2L2*, *HMOX1*, *ACSL4*, *TF*, and *TFRC* in HT29 cells, and down-regulate the mRNA expression of *GPX4* ($P < 0.05$, 0.01 , 0.001). The total flavonoids of *Gynura formosana* can up-regulate the expressions of iron death-related proteins Nrf2, HO-1, and TF, and down-regulate the protein expression of GPX4 ($P < 0.05$, 0.001). **Conclusion** Total flavonoids of *Gynura formosana* can inhibit the proliferation and promote the apoptosis of colon cancer HT29 cells by inducing ferroptosis through the regulation of the Nrf2/HO-1 pathway.

Key words: total flavonoids of *Gynura formosana*; colon cancer; ferroptosis; Nrf2/HO-1 signaling pathway

收稿日期: 2026-02-09

基金项目: 福建省中青年教师教育科研项目 (科技类) (JAT251323); 漳州卫生职业学院院级科研项目 (ZWYZ202411)

作者简介: 蔡阳艳, 女, 硕士, 研究方向为医学检验技术。E-mail: caiyy07@163.com

*通信作者: 章涛 E-mail: zjdrzht@fjmu.edu.cn

结肠癌是全球高发的恶性肿瘤之一，发病率位居所有恶性肿瘤第 3 位^[1]。因其早期症状隐匿，超过 60% 的患者确诊时已属中晚期，显著增加了治疗难度^[2]。目前，结肠癌的标准治疗是以手术切除为核心，对于中晚期患者，需联合放化疗及靶向治疗等综合策略，其中以奥沙利铂为基础的化疗方案是重要的治疗手段之一^[3]。探索更安全、高效且耐受性良好的治疗策略，并寻找新的分子靶点以克服耐药性，已成为当前结肠癌研究的重要方向。铁死亡是一种铁依赖性的程序性细胞死亡方式，其核心特征是铁离子异常蓄积、活性氧（ROS）过度累积及脂质过氧化。核心调控因子核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）具有双重角色：一方面通过激活溶质载体家族 7 成员 11（SLC7A11）/谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4）抗氧化通路抑制铁死亡^[4]；另一方面，其诱导的血红素加氧酶-1（HO-1）表达可增加游离 Fe²⁺，通过 Fenton 反应促进 ROS 生成，并诱发铁死亡^[5]。多项研究证实，铁死亡在结肠癌的发生发展、治疗反应及预后评估中发挥关键调控作用^[6-7]，基于相关基因构建的预后模型能够有效预测生存期、侵袭转移能力及对化疗或免疫治疗的反应^[8]。这表明靶向铁死亡通路可能为结肠癌治疗提供新的突破口。白凤菜是一种药食两用植物，总黄酮是其主要的活性部位。已有研究证实，白凤菜总黄酮在肝癌、白血病、多发性骨髓瘤等肿瘤中具有抑制增殖、诱导凋亡的作用^[9-11]。基于此，本研究拟通过体外细胞实验，探讨白凤菜总黄酮是否通过调控 Nrf2/HO-1 通路诱导结肠癌细胞铁死亡，以阐明其抗结肠癌的作用机制，为靶向药物开发提供新思路。

1 材料

实验所用白凤菜采自本院药用植物园，经漳州卫生职业学院基础医学院林燕燕副教授鉴定为菊科菊三七属植物白凤菜 *Gynura formosana* Kitam.（凭证标本号 GF2025-020）。取白凤菜干燥全叶粉末，加入 70% 乙醇，加热回流提取 3 次，每次 2 h，合并提取液。将合并后的提取液经大孔吸附树脂柱纯化，以 70% 乙醇洗脱，收集洗脱液，减压浓缩，制得白凤菜总黄酮。经紫外-可见分光光度法测定质量分数为 57.37%，于 -20 °C 密封保存备用。浸膏经双蒸水溶解并依次通过 0.45、0.22 μm 滤膜滤过，获得白凤菜总黄酮样液。采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法测定白凤菜总黄酮含量为 18.5 mg/mL。实验前，样液经 0.22 μm 滤膜滤过，并用

完全培养基稀释至所需浓度。奥沙利铂（质量分数 98%，货号 S1224）粉末用灭菌水溶解，配制成 10 mmol/L 母液，实验时以完全培养基现用现稀释至所需浓度。

结肠癌 HT29 细胞株（货号 IM-H102）购自厦门逸漠生物科技有限公司；5A 培养基（货号 IMC-207）购自厦门逸漠生物科技有限公司；CCK-8 试剂盒（货号 C0009S）购自碧云天生物技术有限公司；细胞周期检测试剂盒（货号 CA1510）购自北京索莱宝科技有限公司；AnnexinV-APC/PI 凋亡检测试剂盒（货号 A6030M）购自苏州优逸兰迪生物科技有限公司；ROS 检测试剂盒（货号 S003S）购自碧云天生物技术有限公司；谷胱甘肽（GSH）检测试剂盒（货号 A006-2-1）购自中国南京建成公司；细胞亚铁离子红色荧光检测试剂盒（货号 S1070S）购自碧云天生物技术有限公司；快速转膜液（货号 WB4600）购自北京科兴生物制品有限公司；Anti-Nrf2 antibody（货号 16396-1-AP）购自武汉三鹰生物技术有限公司；抗转铁蛋白（TF）抗体（货号 17435-1-AP）购自武汉三鹰生物技术有限公司；抗 HO-1 抗体（货号 66743-1-Ig）购自武汉三鹰生物技术有限公司；抗 GPX4 抗体（货号 67763-1-Ig）购自武汉三鹰生物技术有限公司；抗 GAPDH 抗体（货号 10494-1-AP）购自武汉三鹰生物技术有限公司。

计数仪（Countstar 公司）；流式细胞仪（美国 BD 公司）；酶标仪（美国 Thermo Scientific 公司）；细胞荧光成像系统（美国 Thermo Scientific 公司）；实时荧光定量聚合酶链式反应仪（美国 Thermo Scientific 公司）；电泳仪（美国伯乐生命医学公司）；半干转仪（美国伯乐生命医学公司）；生物安全柜（美国 Thermo Scientific 公司）；二氧化碳细胞培养箱（美国 Thermo Scientific 公司）。

2 方法

2.1 结肠癌 HT29 细胞株培养

将 HT29 细胞置于含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-硫酸链霉素的 McCoy's 5A 完全培养基中培养。细胞培养于 37 °C、5% CO₂ 的恒温加湿培养箱中，待贴壁生长至培养皿底部面积约 80% 时，按 1:2 比例进行传代。常规传代 2~3 次后，选取处于对数生长期的 HT29 细胞用于后续实验。

2.2 CCK8 细胞增殖实验

将对数生长期细胞用 PBS 清洗后胰酶消化，完全培养基终止并重悬，计数后按每孔 1×10⁴ 个细胞

的密度接种至 96 孔板, 每组设 3 个复孔, 贴壁培养 24 h。细胞贴壁后, 将白凤菜总黄酮与奥沙利铂进行梯度稀释, 白凤菜总黄酮的浓度梯度设置为 500、250、125、62.5、31.25、15.625、7.812 5、3.906 25、1.953 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 奥沙利铂的浓度梯度为 20 000、10 000、5 000、2 500、1 250、625、312.5、156.25、78.125 nmol/L , 同时设置加入等体积溶剂的对照组和不加细胞的空白组, 每组 3 个复孔。每孔加药 10 μL 后, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中继续培养 48、72 h。各时间点结束后, 每孔加入 10 μL CCK8 试剂, 避光孵育 1~2 h, 用酶标仪测定 450 nm 处吸光度并记录吸光度 (A) 值。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 流式细胞术检测细胞凋亡

收集对数生长期 HT29 细胞, 调整密度后接种于 6 孔板培养 24 h。分别用白凤菜总黄酮 56、168 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 处理细胞 24 h, 同时设置对照组和奥沙利铂组, 其中对照组加入等体积溶剂处理 24 h, 奥沙利铂组加入 740 nmol/L 奥沙利铂处理细胞 24 h。消化收集细胞, 用 PBS 洗涤后以 1 \times Binding Buffer 重悬。取 100 μL 细胞悬液, 加入 Annexin V-APC 和 PI 染液避光孵育 15 min。用流式细胞仪进行细胞凋亡率分析。

2.4 流式细胞术检测细胞周期

将 HT29 细胞以 1 $\times 10^5$ 个/孔接种, 培养 24 h 后, 按照 2.3 项下进行细胞分组和处理。用不含 EDTA 的胰酶消化收集细胞, PBS 洗涤后, 用 70% 乙醇 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定 24 h。固定后细胞经 PBS 洗涤, 加入 PI 染色液 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min。最后用流式细胞仪在 488 nm 激发光下检测红色荧光与光散射, 分析细胞周期。

2.5 ROS 水平检测

将 HT29 细胞以 4 $\times 10^5$ 个/孔接种于 6 孔板培

养。细胞贴壁后按照 2.3 项下进行细胞分组和处理。避光条件下, 用无血清培养基洗涤细胞, 加入 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ DCFH-DA 探针工作液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 20 min。孵育结束后洗去多余探针, 消化收集细胞, PBS 重悬后立即使用流式细胞仪检测细胞内 ROS 水平。

2.6 细胞内亚铁离子水平检测

将 HT29 细胞以 4 $\times 10^3$ 个/孔接种于 96 孔板培养。贴壁后按照 2.3 项下进行细胞分组和处理。干预结束后, 吸弃培养基并用 PBS 洗涤 1 次。每孔加入 100 μL RhoNox-6 染色液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min。孵育结束后, 无需洗涤, 直接使用多功能荧光酶标仪进行检测。

2.7 细胞内 GSH 水平检测

将 20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ GSH 标准品工作液备用。将 HT29 细胞接种于 6 孔板 (1 $\times 10^6$ 个细胞/ mL) 培养 24 h, 贴壁后按照 2.3 项下方法进行细胞的分组和处理。用 PBS 洗涤并刮取收集, 超声裂解, 离心取上清, 用酶标仪于 405 nm 波长检测 A 值, 计算各组 GSH 水平。

2.8 细胞内丙二醛 (MDA) 水平检测

将 HT29 细胞接种于 6 孔板 (1 $\times 10^6$ 个细胞/ mL) 培养 24 h, 贴壁后按照 2.3 项下进行细胞分组和处理。检测细胞中 MDA 含量。

2.9 RT-qPCR 实验

取各组样品加入 RNAiso Plus 裂解, 匀浆后静置离心取上清。加入氯仿离心分离, 取上清加异丙醇沉淀 RNA, 乙醇洗涤干燥后溶解。测定浓度、电泳检测质量。按试剂盒步骤去除基因组 DNA 并进行反转录合成 cDNA。使用 SYBR Green 法进行 qPCR, 以内参 GAPDH 标准化, 按 2 $^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因相对表达量, 数据用 GraphPad Prism 8 进行单因素方差分析, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物名称	上游引物序列	下游引物序列
<i>GAPDH</i>	GGAGCGAGATCCCTCCAAAT	GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG
<i>NFE2L2</i>	TCCAGTCAGAAACCAGTGGAT	GAATGTCTGCGCCAAAAGCTG
<i>HMOX1</i>	AAGACTGCGTTCCTGCTCAAC	AAAGCCCTACAGCAACTGTCTG
<i>ACSL4</i>	CATCCCTGGAGCAGATACTCT	TCACTTAGGATTTCCCTGGTCC
<i>TF</i>	GTGTGCAGTGTCTGGAGCAT	CATCGGATGGAATGACGCTTT
<i>TFRC</i>	GGCTACTTGGGCTATTGTAAAGG	CAGTTTCTCCGACAACCTTCTCT
<i>GPX4</i>	GAGGCAAGACCGAAGTAAACTAC	CCGAAGTGGTTACACGGGAA

2.10 Western blotting 实验

将 HT29 细胞以 1×10^6 个/mL 接种于 6 孔板, 培养 24 h 后, 按照 2.3 项下进行细胞分组和处理。弃培养基, 用预冷 PBS 洗涤细胞, 消化离心后加入 RIPA 裂解液裂解, 离心取上清获得总蛋白。用 BCA 法测定蛋白浓度, 调整至统一浓度后与 Loading Buffer 混合, $95\text{ }^\circ\text{C}$ 加热变性。制备 SDS-PAGE 凝胶, 上样后进行电泳。随后将蛋白转至 PVDF 膜, 用 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h。加入一抗 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗涤后加入二抗室温孵育 1~2 h, 再次洗涤。最后滴加显影液进行化学发光检测, 使用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.11 统计学方法

采用 Graphpad Prism9.0 软件对所有数据进行了统计分析, 计量资料实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞增殖的影响

结果显示, 随着白凤菜总黄酮浓度的升高, HT29 细胞的增殖抑制率逐渐增加, 表明白凤菜总黄酮可显著抑制细胞增殖。白凤菜总黄酮处理 48、

72 h 的 IC_{50} 值分别为 112.20、35.27 $\mu\text{g/mL}$; 奥沙利铂处理 48、72 h 的 IC_{50} 值分别为 740.7、862.7 nmol/L, 见图 1。基于上述 IC_{50} 结果, 后续实验分别选用 56、168 $\mu\text{g/mL}$ 白凤菜总黄酮和 740 nmol/L 的奥沙利铂作为处理浓度。

3.2 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞凋亡的影响

采用 Annexin V-APC/PI 双染法检测细胞凋亡情况, 结果显示, 与对照组相比, 白凤菜总黄酮组 HT29 细胞的早期凋亡率和晚期凋亡率均显著升高 ($P < 0.05$ 、0.001), 见图 2。以上结果表明, 白凤菜总黄酮可在体外诱导结肠癌 HT29 细胞发生凋亡。

3.3 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞细胞周期的影响

采用 PI 染色法和流式细胞术分析白凤菜总黄酮对于结肠癌细胞 HT29 细胞周期的影响。结果如图 3、表 2 所示, 与对照组相比, 白凤菜总黄酮 168 $\mu\text{g/mL}$ 组 G_0/G_1 期细胞比例显著减低, G_2/M 期比例显著升高 ($P < 0.001$); 白凤菜总黄酮 56 $\mu\text{g/mL}$ 组 G_0/G_1 期细胞比例减少, 同时 S 期细胞的比例增加 ($P < 0.001$)。上述结果表明, 白凤菜总黄酮可诱导结肠癌细胞细胞周期阻滞。

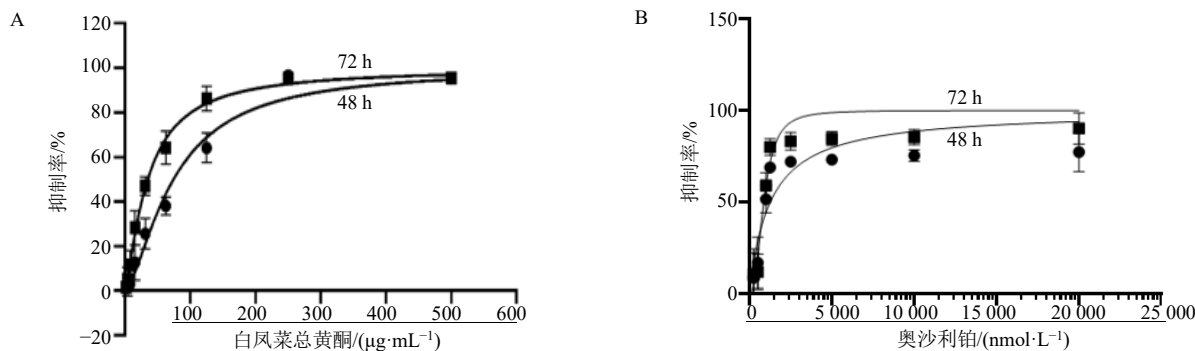
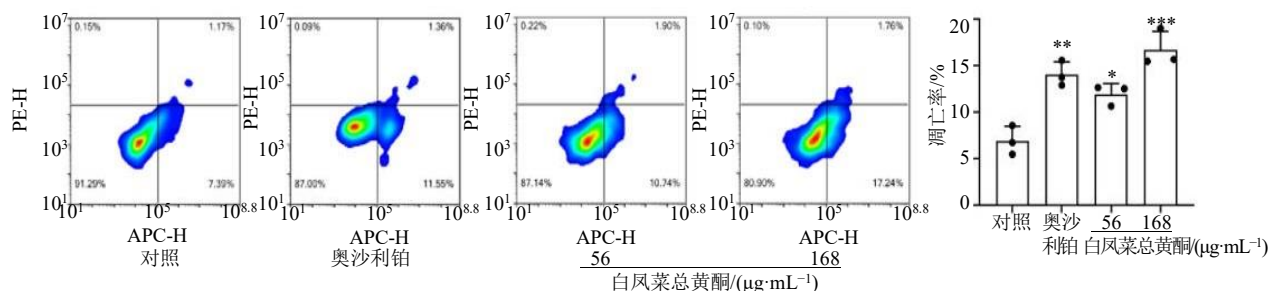


图 1 白凤菜总黄酮 (A) 和奥沙利铂 (B) 对结肠癌细胞增殖抑制率的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 1 Effect of total flavonoids of *Gynura formosana* (A) and oxaliplatin (B) on the proliferation inhibition rate of colon cancer cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 2 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effect of total flavonoids of *Gynura formosana* on apoptosis of colon cancer cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

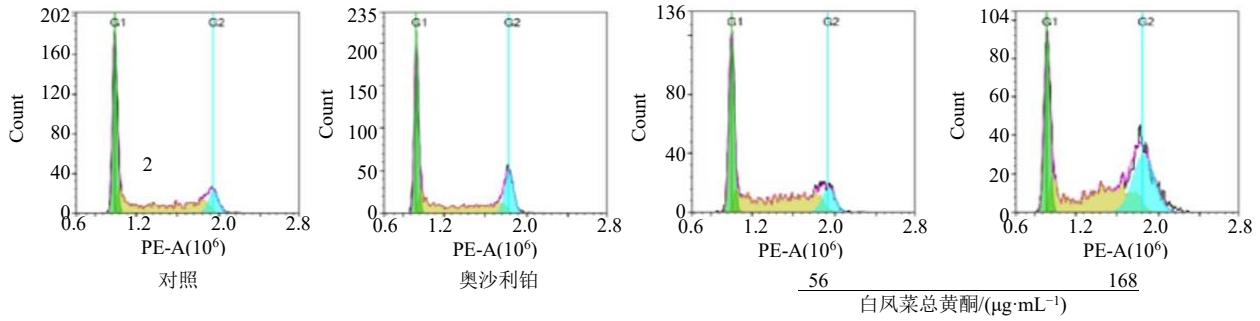


图 3 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞细胞周期阻滞的影响

Fig. 3 Effect of total flavonoids of *Gynura formosana* on the cell cycle arrest of colon cancer cells

表 2 结肠癌 HT29 细胞周期变化 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Changes in cell cycle of colon cancer HT29 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照	—	46.66 ± 1.98	42.39 ± 1.37	10.54 ± 1.67
奥沙利铂	740 nmol·L ⁻¹	42.46 ± 1.00	37.57 ± 0.63	19.41 ± 1.80**
白凤菜总黄酮	56 μg·mL ⁻¹	35.80 ± 3.63***	52.96 ± 4.27***	10.95 ± 1.80
	168 μg·mL ⁻¹	26.37 ± 2.28***	39.74 ± 0.99	33.77 ± 1.37***

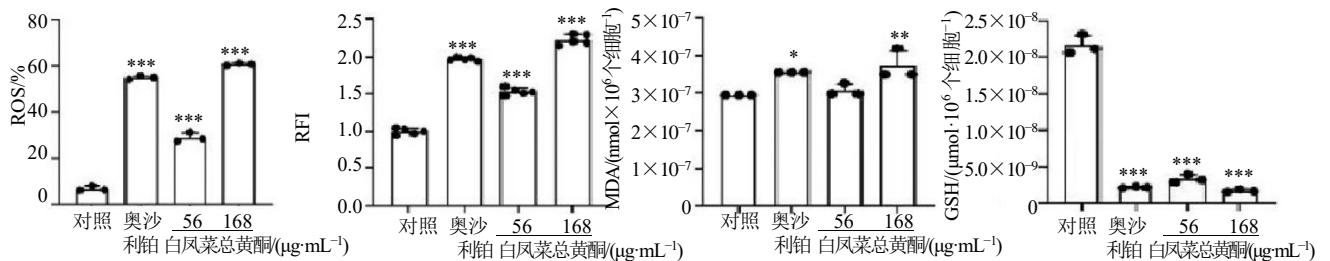
与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

3.4 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞铁代谢紊乱与氧化应激的影响

与对照组相比,白凤菜总黄酮 56、168 μg/mL 组 HT29 细胞内 ROS 水平、亚铁离子相对荧光强度

(RFI) 显著升高, GSH 水平降低 ($P < 0.001$); 白凤菜总黄酮 168 μg/mL 组 MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$), 见图 4。提示白凤菜总黄酮可能通过打破细胞内氧化还原平衡, 诱导铁死亡发生。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$.

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 4 白凤菜总黄酮对结肠癌细胞铁代谢紊乱与氧化应激的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of total flavonoids of *Gynura formosana* on iron metabolism disorder and oxidative stress in colon cancer cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.5 白凤菜总黄酮对 NFE2L2/HMOX1 信号通路及铁死亡执行基因表达的影响

与对照组比较,白凤菜总黄酮组 HT29 细胞中 NFE2L2、HMOX1、ACSL4、TF、TFRC mRNA 表达显著升高, GPX4 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 见图 5。白凤菜总黄酮可能通过激活 NFE2L2/HMOX1 信号轴协同诱发铁死亡, 最终导致 HT29 细胞死亡。

3.6 白凤菜总黄酮对 Nrf2/HO-1 信号通路介导铁死亡的影响

与对照组相比,白凤菜总黄酮 HT29 细胞中 Nrf2、HO-1、TF 的蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$), 而细胞内 GPX4 的表达水平下调 ($P < 0.05$ 、0.001), 见图 6。结合前期研究中观察到的铁死亡现象, 表明白凤菜总黄酮激活的 Nrf2/HO-1 通路可能通过上调 HO-1 表达, 促进血红素分解, 从而扩大

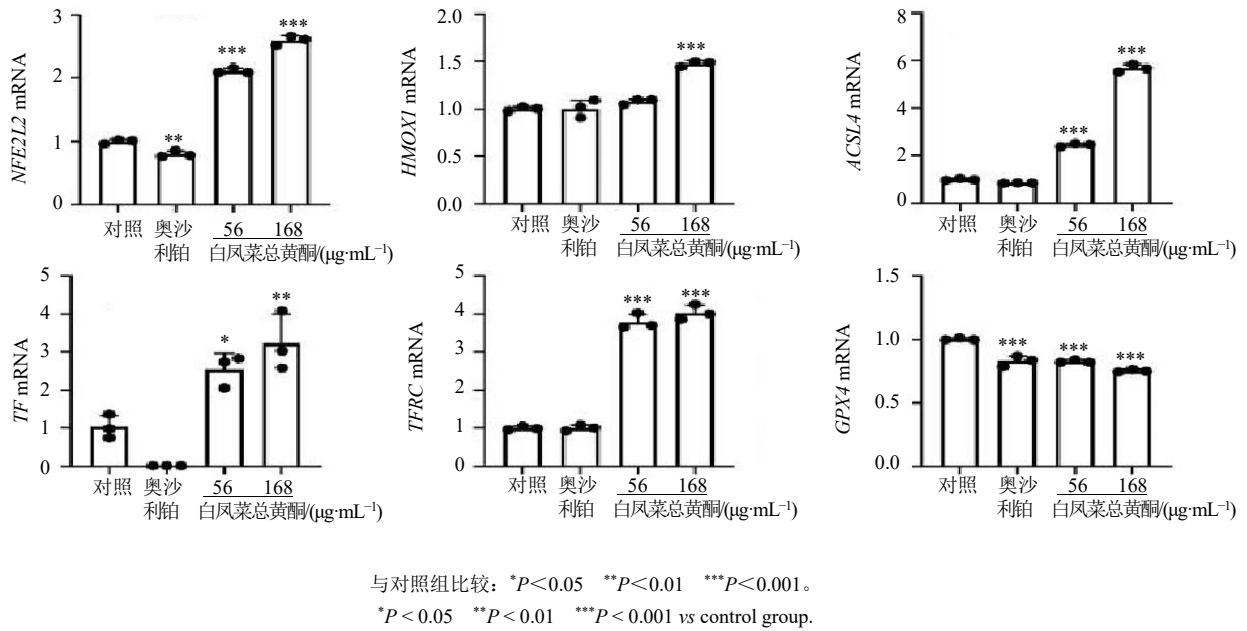


图 5 白凤菜总黄酮对 NFE2L2/HMOX1 信号通路及铁死亡执行基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of total flavonoids of *Gynura formosana* on the NFE2L2/HMOX1 signaling pathway and the expression of ferroptosis execution genes ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

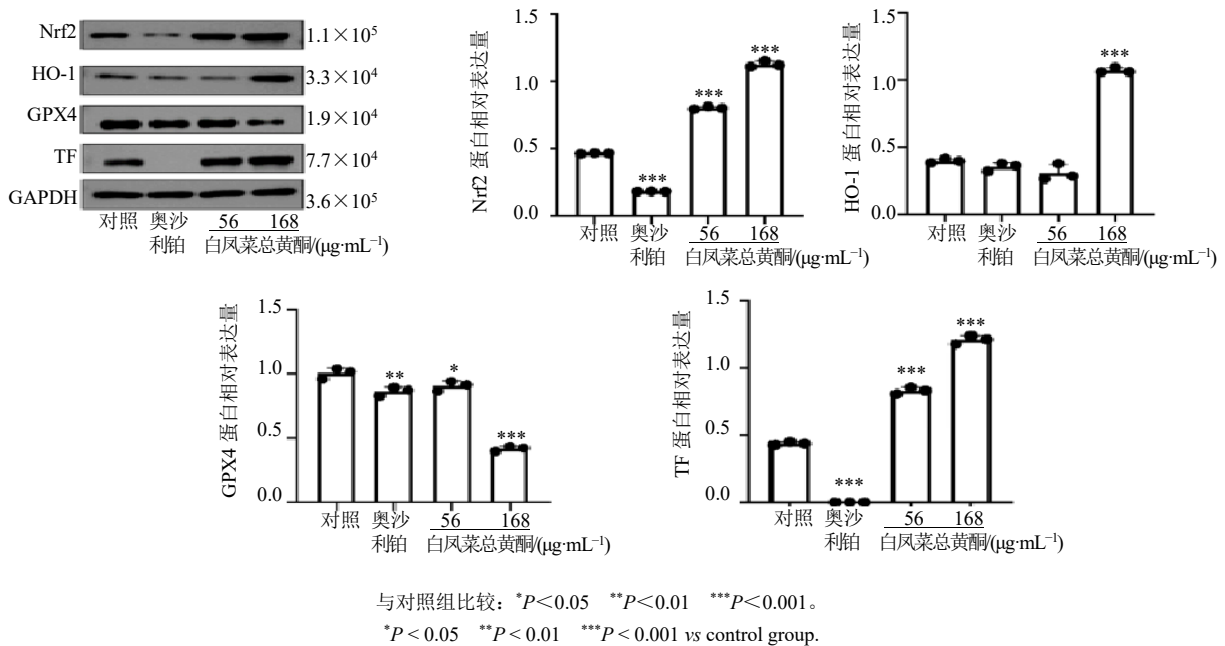


图 6 Western blotting 检测各组 HT29 细胞中 Nrf2、HO-1、GPX4、TF 蛋白的表达情况 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Western blotting was used to detect the expression levels of Nrf2, HO-1, GPX4, and TF proteins in HT29 cells from each groups ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

细胞内游离铁池，游离铁的累积进而加剧脂质过氧化，最终诱发铁死亡。

4 讨论

本研究探讨了白凤菜总黄酮通过调控铁死亡信号通路对 HT29 细胞增殖、凋亡、细胞周期及铁

死亡相关指标的影响。本研究首先评估了白凤菜总黄酮对结直肠癌细胞 HT29 的增殖抑制作用。结果显示，白凤菜总黄酮可以抑制 HT29 细胞增殖，IC₅₀ 值为 112.20、35.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，基于此，后续实验设定白凤菜总黄酮给药浓度为 56、168 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，以奥沙

利铂 740 nmol/L 作为阳性对照。结果显示, 白凤菜总黄酮可显著诱导 HT29 细胞早期和晚期凋亡率升高, 并引起细胞周期阻滞。机制上, 白凤菜总黄酮激活铁死亡信号通路, 显著提升细胞内 ROS、亚铁离子及 MDA 水平, 降低 GSH 含量; 白凤菜总黄酮能显著上调 HT29 细胞中 *NFE2L2*、*HMOX1*、*ACSL4*、*TF*、*TFRC* mRNA 表达, 下调 *GPX4* mRNA 表达; 蛋白水平上, 白凤菜总黄酮可上调铁死亡相关蛋白 Nrf2、HO-1、TF 的表达, 下调 GPX4 蛋白表达。本研究阐明白凤菜总黄酮能够通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路、扰乱铁代谢与氧化还原稳态, 从而诱导 HT29 细胞发生铁死亡。

HO-1 是一种锚定于内质网的酶, 催化血红素降解为具有促氧化作用的二价铁、一氧化碳以及具有抗氧化功能的胆绿素^[12]。该酶具有对氧化应激、缺氧及炎症等刺激的快速应答特性, 已被证实在抗氧化及抑制细胞凋亡发挥作用^[13-14]。然而, HO-1 持续高表达会促进 TF、TFR1 及铁蛋白重链的过度表达, 同时抑制细胞铁外排功能, 导致细胞内铁蓄积和脂质过氧化加剧, 最终引发铁死亡^[15-16]。研究表明, Nrf2 信号通路在致癌作用中虽能赋予癌细胞生存优势, 但在特定情境下其过度激活亦可驱动有害的细胞进程^[17-18]。Nrf2 易位至细胞核后, 会转录激活包括 HO-1 在内的多种基因^[19-20]。HO-1 的高水平表达可作为铁死亡的重要正调控因子, 从而使其成为介导铁死亡诱导等有害作用的重要效应分子。如 Kwon 等^[21]发现埃特纳桦树提取物能浓度相关性地增加细胞脂质氢过氧化物水平, 其促氧化微环境通过高表达 HO-1 介导了铁死亡; Chang 等^[22]发现 HO-1 能加速 HT-1080 纤维肉瘤细胞中 Erastin 诱导的铁死亡, 并介导 BAY11-7085 在乳腺癌细胞中的铁死亡效应; Wei 等^[23]研究发现, tagitinin C 通过 Nrf2/HO-1 特异性激活诱导 HCT116 等结肠癌细胞铁死亡。Ji 等^[24]研究证实七叶苷可通过激活 Nrf2-HO-1 信号通路促进结肠癌细胞发生凋亡和铁死亡。综上, 白凤菜总黄酮可通过调控 Nrf2/HO-1 通路诱导铁死亡, 从而抑制结肠癌 HT29 细胞增殖并促进凋亡。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Yue Y Z, Su L L, Wang Y H, *et al.* Banxia Xiexin Decoction inhibits colitis-associated colorectal cancer development by modulating STAT3 signaling and gut

microbiota [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(2): 380-391.

- [2] Cao M M, Li H, Sun D Q, *et al.* Cancer burden of major cancers in China: A need for sustainable actions [J]. *Cancer Commun*, 2020, 40(5): 205-210.
- [3] Li Y M, Gan Y Q, Liu J X, *et al.* Downregulation of MEIS1 mediated by ELFN1-AS1/EZH2/DNMT3a axis promotes tumorigenesis and oxaliplatin resistance in colorectal cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 87.
- [4] Yuan Y, Zhai Y, Chen J 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] Shen H H, Wang C J, Zhang X Y, *et al.* HIF1A-induced heme oxygenase 1 promotes the survival of decidual stromal cells against excess heme-mediated oxidative stress [J]. *Reproduction*, 2021, 163(1): 33-43.
- [6] Shao Y F, Jia H T, Huang L, *et al.* An original ferroptosis-related gene signature effectively predicts the prognosis and clinical status for colorectal cancer patients [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 711776.
- [7] Shi C L, Xie Y J, Li X Y, *et al.* Identification of ferroptosis-related genes signature predicting the efficiency of invasion and metastasis ability in colon adenocarcinoma [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 815104.
- [8] Xiang R S, Fu J C, Ge Y H, *et al.* Identification of subtypes and a prognostic gene signature in colon cancer using cell differentiation trajectories [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 705537.
- [9] 林燕燕, 许新恒, 黄仲庆, 等. 白凤菜总黄酮对肝癌 HepG2 细胞生长、增殖和凋亡的影响 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2019, 58(1): 48-55.
- [10] 刘慧丽, 阙文忠, 林燕燕, 等. 白凤菜总黄酮对急性髓系白血病 Kasumi-1 细胞株增殖和凋亡的影响 [J]. 沈阳医学院学报, 2020, 22(4): 299-303.
- [11] 刘慧丽, 阙文忠, 林燕燕, 等. 白凤菜总黄酮对多发性骨髓瘤 U266 细胞增殖和凋亡影响 [J]. 滨州医学院学报, 2020, 43(4): 256-259.
- [12] Chiang S K, Chen S E, Chang L C. The role of HO-1 and its crosstalk with oxidative stress in cancer cell survival [J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2401.
- [13] Akram M, Syed A S, Kim K A, *et al.* Heme oxygenase 1-mediated novel anti-inflammatory activities of *Salvia plebeia* and its active components [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174: 322-330.
- [14] Chiang S K, Chen S E, Chang L C. A dual role of heme oxygenase-1 in cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 20(1): 39.
- [15] Sui M, Jiang X F, Chen J, *et al.* Magnesium isoglycyrrhizinate ameliorates liver fibrosis and hepatic

- stellate cell activation by regulating ferroptosis signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 125-133.
- [16] Li X Y, Xu H L, Zhao X Y, *et al*. Ferroptosis contributing to cardiomyocyte injury induced by silica nanoparticles via miR-125b-2-3p/HO-1 signaling [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2024, 21(1): 17.
- [17] Adinolfi S, Patinen T, Deen A J, *et al*. The KEAP1-NRF2 pathway: Targets for therapy and role in cancer [J]. *Redox Biol*, 2023, 63: 102726.
- [18] Chen C, He J Y, Cai J J, *et al*. Wedelolide A induces ferroptosis and apoptosis in gastric cancer via keap1/Nrf2 modulation and ROS generation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2026, 243: 117519.
- [19] Ge M, Yao W F, Yuan D D, *et al*. Brg1-mediated Nrf2/HO-1 pathway activation alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(6): e2841.
- [20] Park C, Cha H J, Song K S, *et al*. Nrf2-mediated activation of HO-1 is required in the blocking effect of compound K, a ginseng saponin metabolite, against oxidative stress damage in ARPE-19 human retinal pigment epithelial cells [J]. *J Ginseng Res*, 2023, 47(2): 311-318.
- [21] Kwon M Y, Park E, Lee S J, *et al*. Heme oxygenase-1 accelerates erastin-induced ferroptotic cell death [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 24393-24403.
- [22] Chang L C, Chiang S K, Chen S E, *et al*. Heme oxygenase-1 mediates BAY 11-7085 induced ferroptosis [J]. *Cancer Lett*, 2018, 416: 124-37.
- [23] Wei R R, Zhao Y Q, Wang J, *et al*. Tagitinin C induces ferroptosis through PERK-Nrf2-HO-1 signaling pathway in colorectal cancer cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(11): 2703-2717.
- [24] Ji X K, Chen Z P, Lin W F, *et al*. Esculin induces endoplasmic reticulum stress and drives apoptosis and ferroptosis in colorectal cancer via PERK regulating eIF2 α /CHOP and Nrf2/HO-1 cascades [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 328: 118139.

[责任编辑 高源]