

基于氧化应激-铁死亡途径探讨莫诺昔改善顺铂致肝毒性的作用机制

刘中良¹, 李航婷², 许珂², 任祥雨², 杨最素^{2*}, 田义洲^{1*}

1. 舟山市中医院, 浙江 舟山 316000

2. 浙江海洋大学食品与药学院, 浙江 舟山 316022

摘要: 目的 探讨莫诺昔对顺铂诱导肝毒性的保护作用及其分子机制。方法 C57BL/6J 小鼠 ip 顺铂诱导建立肝毒性模型, 给予莫诺昔干预 4 周后, 测定血清肝功能指标; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察肝组织病理变化; 普鲁士蓝染色检测肝组织内铁累积水平; ELISA 法测定血清中炎症因子水平及肝脏丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和相关抗氧化酶活性; Western blotting 和免疫组化法测定肝脏中核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 和血红素加氧酶-1 (heme oxygenase 1, HO-1) 以及谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 等铁死亡相关蛋白表达。体外采用顺铂诱导建立 AML12 细胞损伤模型, 给予莫诺昔、铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 (Fer-1) 和铁死亡诱导剂 erastin 诱导细胞, 考察莫诺昔对 AML12 细胞铁死亡的影响。观察细胞形态, 并用 DCFH-DA 荧光探针检测细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平; 采用 JC-1 染色检测细胞线粒体膜电位变化; 采用吖啶橙/溴化乙啶 (acridine orange/ethidium bromide, AO/EB) 染色检测细胞死亡情况; 采用免疫荧光法检测细胞 GPX4 和 Nrf2 蛋白的表达情况。结果 莫诺昔能够显著改善顺铂诱导的小鼠肝功能障碍, 降低血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活力及总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 降低肝脏中白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、IL-6、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 提高谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 等抗氧化酶的活力并降低 MDA 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。莫诺昔显著改善了顺铂诱导的肝毒性模型小鼠的肝索排列紊乱和肝细胞质空泡化, 恢复部分细胞发生的坏死, 并减少炎症细胞的大量浸润。在分子机制水平, 莫诺昔通过调控 GPX4 蛋白表达抑制铁死亡 ($P < 0.01$), 上调 Nrf2 和 HO-1 的表达减轻氧化应激损伤 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 从而抑制顺铂诱导的肝损伤。体外实验结果与体内实验结果一致, 莫诺昔显著缓解了顺铂诱导的 AML12 细胞氧化应激和铁死亡。结论 莫诺昔通过调控 Nrf2/HO-1 轴和上调 GPX4 蛋白表达来抑制肝脏发生氧化应激及铁死亡, 从而减轻顺铂诱导的肝毒性。

关键词: 莫诺昔; 顺铂; 肝毒性; 铁死亡; Nrf2/HO-1 轴; 氧化应激

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2025)23 - 8597 - 14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.012

Mechanism of morroniside in ameliorating cisplatin-induced hepatotoxicity based on oxidative stress and ferroptosis pathway

LIU Zhongliang¹, LI Hangting², XU Ke², REN Xiangyu², YANG Zuisu², TIAN Yizhou¹

1. Zhoushan Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhoushan 316000, China

2. Food and Pharmacy College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect and underlying molecular mechanisms of morroniside on cisplatin-induced hepatotoxicity. **Methods** The liver toxicity model of C57BL/6J mice was established by intraperitoneal injection of cisplatin. After four weeks of morroniside intervention treatment, the serum liver function indicators were measured. Hematoxylin-eosin (HE) stainin was used to observe liver histopathological changes; Iron accumulation in liver tissue was assessed by Prussian blue staining; Levels of inflammatory cytokine in serum were detected by ELISA; Malondialdehyde (MDA) content and activities of antioxidant enzymes

收稿日期: 2025-09-06

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目 (2024ZF183); 浙江省教育厅科研项目 (Y202354033)

作者简介: 刘中良, 男, 主任中医师, 硕士生导师, 从事中药抗肿瘤的临床与研究。E-mail: liuzhong_liang_427@163.com

*通信作者: 杨最素, 女, 教授, 硕士生导师, 从事海洋药物资源研究与开发、药理学研究。E-mail: yzs@zjou.edu.cn

田义洲, 男, 主任中医师, 从事中药抗肿瘤研究的临床与研究。E-mail: zszytz@163.com

in liver tissues were also determined. Western blotting and immunohistochemistry were used to detect the expressions of ferroptosis-related proteins including nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1) and glutathione peroxidase 4 (GPX4) in liver tissues. The AML12 cell injury model was established *in vitro* by cisplatin induction. Morroniside, ferroptosis inhibitor ferrostatin-1 (Fer-1), and ferroptosis inducer erastin were administered to induce cells, and the effect of morroniside on ferroptosis in AML12 cells was investigated. Cell morphology was observed; Intracellular reactive oxygen species (ROS) level was detected using DCFH-DA fluorescent probe; The changes of mitochondrial membrane potential were assessed using JC-1 staining; Cell death was evaluated using acridine orange/ethidium bromide (AO/EB) staining; Immunofluorescence staining was used to detect GPX4 and Nrf2 expressions. **Results** Morroniside significantly improved cisplatin-induced liver dysfunction in mice by reducing levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and total bilirubin (TBIL) in serum ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), lowering levels of interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in liver tissue ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), enhancing the activities of antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GSH-Px), and decreasing MDA level ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Morroniside also significantly improved the disordered arrangement of hepatic cords and vacuolation of hepatic cytoplasm in mice with cisplatin-induced hepatotoxicity, restored necrosis in some cells, and reduced the massive infiltration of inflammatory cells. At the molecular level, morroniside inhibited ferroptosis by regulating GPX4 expression ($P < 0.01$), and attenuated oxidative stress by up-regulating Nrf2 and HO-1 expressions ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), thereby inhibiting cisplatin-induced liver injury. The results of *in vitro* experiments were consistent with those of *in vivo* experiments, morroniside significantly relieved cisplatin-induced oxidative stress and ferroptosis in AML12 cells. **Conclusion** Morroniside alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity by suppressing oxidative stress and ferroptosis through the regulation of the Nrf2/HO-1 axis and up-regulation of GPX4 expression.

Key words: morroniside; cisplatin; hepatotoxicity; ferroptosis; Nrf2/HO-1 axis; oxidative stress

肝脏是重要的代谢和解毒器官，易受酒精、药物及病毒侵害^[1]。顺铂虽具有抗肿瘤作用，但其大剂量化疗或低剂量重复给药后患者的耳毒性、肾毒性、肝毒性等不良反应频发，大大限制了顺铂在临床上的广泛应用^[2]。肝毒性的发生可能是因为顺铂在肝内蓄积，引发炎症与氧化应激等不良反应，导致肝功能损伤^[3]。肝毒性在组织学上表现为肝索紊乱、局部性炎性病变和坏死；血清指标表现为天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase, AST）、丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase, ALT）活性及血清胆红素等水平升高，进而出现黄疸等肝功能不良的症状^[4]。目前，顺铂的耳毒性和肾毒性已进入动物和临床研究阶段，但肝毒性尚未引起足够重视，值得进行探究。

脂质过氧化和铁死亡在药物性肝损伤模型中起着核心作用^[5]。Yamada 等^[6]发现给予小鼠高浓度（10 mmol/L）对乙酰氨基酚时，铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 (Fer-1) 可显著减轻血清 ALT、AST 活性的升高与组织坏死，并抑制脂质过氧化标志物积聚，明显减轻肝细胞损伤。而顺铂进入体内结合谷胱甘肽后形成共轭物，导致谷胱甘肽耗竭及活性氧（reactive oxygen species, ROS）积累，谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase, GSH-Px）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）等抗氧化酶体系功能受损，细胞内发生明显的氧化应激^[7]。

氧化应激条件下，机体通过核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) / 血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 轴调控细胞铁代谢、减少游离铁积累，从而抑制铁死亡的发生^[8]。但为了防止过度的抗氧化反应，肿瘤蛋白 53 (tumor protein 53, p53) 可通过促进 Nrf2 的降解来对其活性进行负反馈调节^[9]。研究发现，通过激活溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 等因子能够抑制细胞铁死亡，从而缓解酒精过量触发的肝损伤^[10]。因此靶向铁死亡相关机制为肝损伤的预防和治疗提供了新的潜在策略。

中医学认为，顺铂毒性易耗气伤阴，致机体元气大衰，形成脾湿中阻、肾阴亏虚的证候，肝失濡养（肝肾同源），肝络受损^[11]，中医药在临幊上治疗肝损伤也取得了一定的研究进展。莫诺昔是从山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 中提取的环烯醚萜类化合物，具有抗炎、抗氧化等活性^[12]。研究表明，莫诺昔通过提高 Nrf2、HO-1 蛋白表达，减轻氧化应激以保护雷公藤甲素诱导的肝细胞凋亡^[13]。但目前莫诺昔对顺铂肝毒性的作用机制尚无研究报道。因此，本研究通过体内外实验阐明莫诺昔是否通过减轻氧化应激和干预铁死亡相关通路来改善顺铂诱导的肝损伤。

1 材料

1.1 动物与细胞

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 60 只, 6 周龄, 购自杭州启真实验动物科技有限公司, 生产许可证号 SCXK(浙)2019-0005。小鼠饲养在浙江海洋大学实验动物房 SPF 屏障系统中, 饲养期间自由饮食与饮水。动物实验经浙江海洋大学实验动物伦理委员会批准(批准号 2023109)。

小鼠正常肝细胞 AML12(批号 CL-0602)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 药品与试剂

莫诺昔(批号 B20872, 质量分数 $\geqslant 98\%$)购自上海源叶生物科技有限公司; 顺铂(批号 QE1202)购自合肥千盛生物科技有限公司; 氨磷汀(批号 BD61657)购自上海毕得医药科技股份有限公司; 铁死亡抑制剂 Fer-1(批号 GC10380)、铁死亡诱导剂 erastin(批号 GC16630)购自上海宏叶生物科技有限公司; ALT 检测试剂盒(批号 C009-3-2)、AST 检测试剂盒(批号 C010-2-1)、胆碱酯酶(cholinesterase, CHE)检测试剂盒(批号 C019-2-1)、白蛋白(albumin, ALB)检测试剂盒(批号 A028-2-1)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)检测试剂盒(批号 C019-1-1)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)检测试剂盒(批号 C019-2-1)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -glutamyl transferase, γ -GT)检测试剂盒(批号 C017-2-1)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(批号 A003-1-2)、SOD 检测试剂盒(批号 A001-3-2)、过氧化氢酶(catalase, CAT)检测试剂盒(批号 A007-1-1)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)检测试剂盒(批号 A015-2-1)、GSH-Px 检测试剂盒(批号 A006-2-1)均购自南京建成生物工程研究所; 白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)ELISA 试剂盒(批号 E-MSEL-M001)、IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 E-MSEL-M003)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒(批号 E-MSEL-M002)均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; GPX4 抗体(批号 67763-1-Ig)、铁蛋白轻链(ferritin light chain, FTL)抗体(批号 10727-1-AP)、SLC7A11 抗体(批号 26864-1-AP)、p53 抗体(批号 10442-1-AP)、Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(Kelch-like ECH-associating protein 1, Keap1)抗体(批号 10503-2-AP)、Nrf2 抗体(批号 16396-1-AP)、HO-1 抗体(批号 10701-

1-AP)、NAD(P)H 酰氧化还原酶 1[NAD(P)H dehydrogenase quinone 1, NQO1]抗体(批号 11451-1-AP)、谷氨酰半胱氨酸合成酶调节亚基(glutamate-cysteine ligase modifier subunit, GCLM)抗体(批号 14241-1-AP)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 60004-1-Ig)均购自武汉三鹰生物技术有限公司; p62 抗体(批号 AF0279)、JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒(批号 C2006)、ROS 检测试剂盒(批号 S0033S)、柠檬酸抗原修复液(批号 P0081)、DAB 显色试剂盒(批号 P0202)均购自上海碧云天生物技术有限公司; 核受体共激活因子 4(nuclear receptor coactivator 4, NCOA4)抗体(批号 abs147274)、驴抗兔 IgG-AF594 荧光抗体(批号 abs20021)、驴抗鼠 IgG-AF488 荧光抗体(批号 abs20014)均购自上海爱必信生物科技公司; HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(批号 HKS23303)、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体(批号 HKS23301)均购自杭州浩克生物科技有限公司; 吖啶橙-溴化乙啶(acridine orange/ethidium bromide, AO/EB)双染色试剂盒(批号 CA1140)、高效 RIPA 裂解液(批号 R0010)、牛血清白蛋白(批号 A8020)、亚铁离子(Fe^{2+})试剂盒(批号 BC5415)均购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 仪器

Mini Sub Cell 型电泳系统、Spectra Max 型多功能酶标仪(美国 Bio-Rad 公司); CX31 型光学显微镜、CKX41 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司); FORMA991 型-80 °C超低温冰箱、Foema3111 型37 °C恒温CO₂培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); CF16RX II型高速低温离心机(日本日立公司); YD-335-HJ 型切片机(益迪医疗设备有限公司); Fluor Chem FC3 型化学发光成像分析系统(美国 Protein Simple 公司); SK-0180-S 型回旋平板振荡器(美国赛洛捷克 Scilogex 公司); Axio Imager A2 型荧光显微镜(德国卡尔蔡司公司)。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 动物分组、顺铂诱导肝毒性模型的构建与给药 60 只 C57BL/6J 小鼠适应性饲养 7 d 后, 随机分为对照组、模型组、氨磷汀(10 mg/kg)组和莫诺昔低、高剂量(10、20 mg/kg)组, 每组 12 只。除对照组外, 其余各组小鼠每隔 7 d 于下午 ip 顺铂

(7 mg/kg) 共 4 次以诱导肝损伤模型^[14]。在造模的基础上, 各给药组小鼠每天上午 ip 氨磷汀或 ig 莫诺昔, 对照组和模型组 ig 等体积的蒸馏水。第 5 周实验结束时, 小鼠禁食不禁水 12 h, 称定质量, 麻醉后眼球取血, 静置 1 h 后, 于 4 °C、1 400×g 离心 10 min, 收集上层血清, 于 -80 °C 冰箱保存, 后续用于生化分析。颈椎脱臼法处死小鼠, 取肝脏组织, 肝脏左叶用 4% 多聚甲醛固定, 剩余肝脏储存在 -80 °C 以用于进一步实验。

2.1.2 血清肝功能指标的检测 取小鼠血清, 按说明书进行操作, 采用多功能酶标仪测定血清中 ALT、AST、γ-GT、CHE 活性及 ALB、TBIL、DBIL 水平。

2.1.3 肝脏苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 将固定后的肝脏, 常规脱水后石蜡包埋, 切成 5 μm 厚的切片。脱蜡至水后进行 HE 染色, 于光学显微镜下观察并拍照。

2.1.4 肝脏 MDA 水平及抗氧化酶活性的检测 取小鼠肝脏组织, 加入 9 倍量的 PBS 溶液, 冰上研磨制备肝脏组织匀浆, 按照试剂盒说明书检测肝脏组织 MDA 水平及抗氧化酶 SOD、GSH-Px、CAT 和 T-AOC 活性。

2.1.5 肝脏炎症因子水平的检测 取小鼠肝脏组织, 加入 9 倍量的 RIPA 裂解液, 冰上研磨制备 10% 肝脏组织匀浆, 离心取上清。按照 ELISA 试剂盒说明书检测肝脏组织炎症因子 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 的水平。

2.1.6 肝脏普鲁士蓝染色和 Fe²⁺水平的检测 取肝脏组织石蜡切片, 常规脱蜡至水, 按照普鲁士蓝染色试剂盒说明书进行染色, 于光学显微镜观察并拍照。按“2.1.5”项下方法制备肝脏组织匀浆, 离心取上清, 按照试剂盒说明书检测肝脏组织 Fe²⁺水平。

2.1.7 免疫组化检测肝脏组织 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达 取肝脏组织石蜡切片, 脱蜡至水, 3% H₂O₂ 室温处理 10 min, 加入 1× 柠檬酸钠抗原修复液煮沸 30 min, 5% 牛血清白蛋白封闭 30 min, 滴加多克隆抗体 Nrf2 (1:200) 和单克隆抗体 HO-1 (1:200), 4 °C 孵育过夜; 滴加相应二抗 (1:1 000), 室温孵育 1 h, 采用 DAB 试剂盒染色 5~10 min, 苏木素染色 3 min, 封片后于光学显微镜下观察蛋白表达, 并采用 Image J 软件对 Nrf2 和 HO-1 的阳性表达进行分析。

2.1.8 Western blotting 检测肝脏组织 Nrf2/GPX4 信

号通路相关蛋白的表达 取肝脏组织, 加入 RIPA 裂解液提取蛋白, 蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于 5% 脱脂牛乳中室温封闭 1 h, 分别加入 GAPDH (1:50 000)、GPX4 (1:3 000)、FTL (1:3 000)、SLC7A11 (1:1 000)、p53 (1:10 000)、Keap1 (1:5 000)、NCOA4 (1:1 000)、Nrf2 (1:3 000)、HO-1 (1:3 000)、NQO1 (1:4 000)、GCLM (1:3 000)、p62 (1:1 000) 抗体, 4 °C 孵育过夜; 次日, 加入相应二抗, 室温孵育 1 h, 采用化学发光成像分析系统检测蛋白表达情况。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞活力的测定 将 AML12 细胞接种于 96 孔板中, 随后分别给予不同浓度的莫诺昔 (0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 μmol/L)、顺铂 (0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 μmol/L)、erastin (0.01、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、20.00、50.00 μmol/L) 或 Fer-1 (0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 μmol/L) 处理 24 h。处理结束后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 1 h。随后采用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (A) 值, 以评估细胞活力。

2.2.2 细胞分组与给药 取对数生长期的 AML12 细胞, 以 5×10³ 个/孔接种于 96 孔板, 培养过夜。设置对照组、顺铂组 (2 μmol/L 顺铂)、铁死亡诱导组 (1 μmol/L erastin)、顺铂治疗组 (2 μmol/L 顺铂 + 5 μmol/L 莫诺昔)、铁死亡抑制组 (2 μmol/L 顺铂 + 5 μmol/L Fer-1)、铁死亡治疗组 (1 μmol/L erastin + 5 μmol/L 莫诺昔)。细胞用顺铂预处理 6 h 建立模型, 随后再给予莫诺昔、erastin 或 Fer-1 干预 24 h, 进行后续检测。

2.2.3 ROS 与线粒体膜电位的测定 按照 JC-1 染色试剂盒说明书操作, 检测细胞中 ROS 水平, 并测定线粒体膜电位的变化。

2.2.4 细胞抗氧化和 Fe²⁺水平的检测 收集细胞上清, 按照试剂盒说明书检测 CAT、T-AOC、GSH-Px、SOD 活性及 MDA、Fe²⁺水平。

2.2.5 细胞炎症因子水平的检测 收集细胞, 加入含有 1% 蛋白酶抑制剂的细胞裂解液 50 μL, 冰上裂解 30 min, 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 采用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 按照试剂盒说明书检测 IL-6、IL-1β、TNF-α 水平。

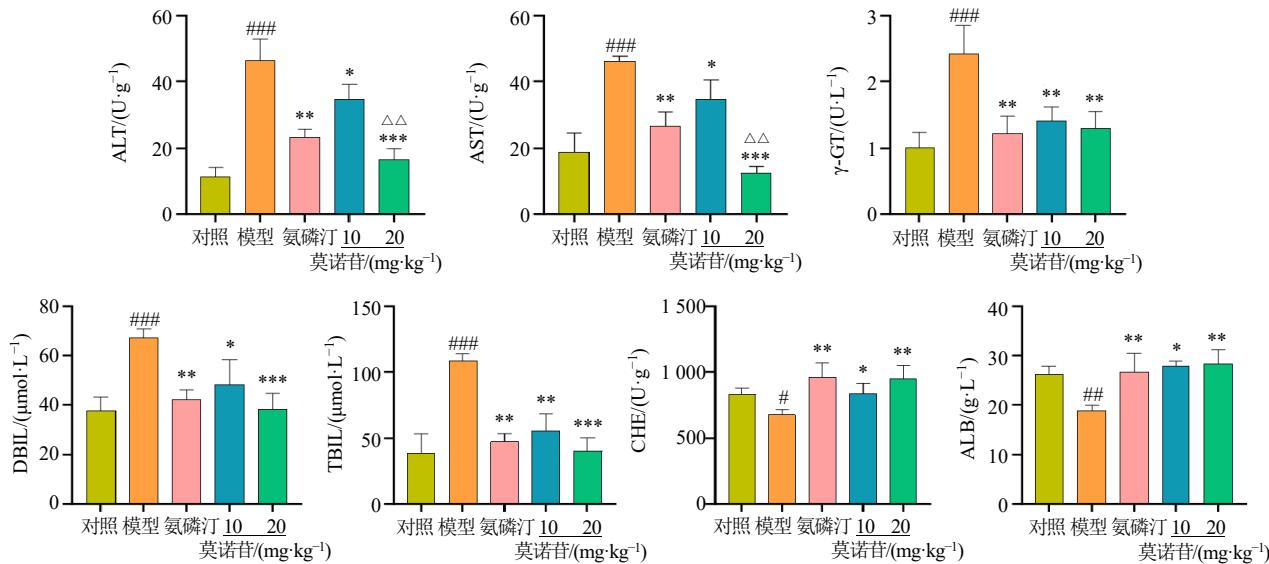
2.2.6 AO/EB 双荧光染色 采用 AO/EB 双染色试

剂盒进行细胞染色，荧光显微镜采集荧光图像，采用 Image J 软件对荧光强度进行定量分析。

2.2.7 免疫荧光检测 GPX4 和 Nrf2 蛋白表达 细胞固定、透化，加入 GPX4 (1:200) 和 Nrf2 (1:200) 一抗，4 °C 孵育过夜；加入荧光二抗，室温孵育 30 min，DAPI 染色 5 min。荧光显微镜采集免疫荧光图像，采用 Image J 软件对 GPX4 和 Nrf2 的表达进行定量分析。

2.3 统计学分析

所有实验均重复 3 次，采用 GraphPad Prism 8.3 软件对数据进行统计分析，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较用非配对 Student *t* 检验，多组间比较用单因素方差分析 (ANOVA)，进一步两两比较用 Tukey 检验。



与对照组比较：#P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001；与模型组比较：*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001；与莫诺昔低剂量组比较：△P<0.05
△△P<0.01 △△△P<0.001，图 3~5 同。

*P < 0.05 ##P < 0.01 ###P < 0.001 vs control group; *P < 0.05 **P < 0.01 ***P < 0.001 vs model group; △P < 0.05 △△P < 0.01 △△△P < 0.001 vs morroniside low-dose group, same as Figs. 3~5.

图 1 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性小鼠模型肝功能指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effect of morroniside on liver function indicators in mice with cisplatin-induced hepatotoxicity ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

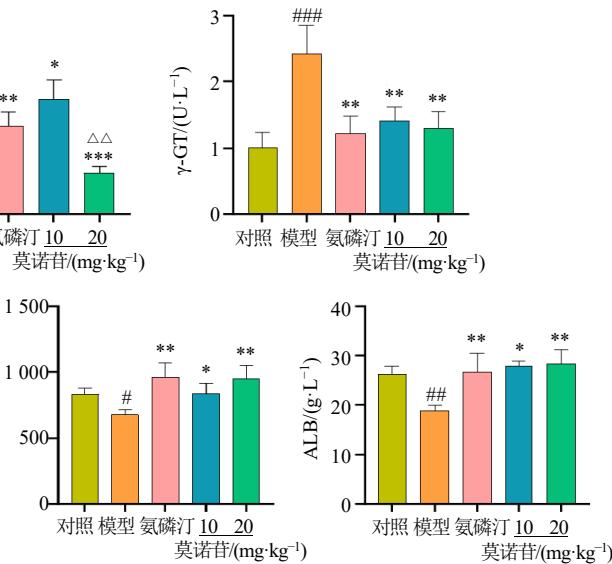
3.2 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性小鼠模型肝脏组织病理变化的影响

如图 2 所示，对照组小鼠肝小叶结构清晰，肝索和肝血窦围绕中央静脉排列。模型组则见肝索排列紊乱，细胞质出现空泡，部分细胞坏死，且伴随着明显的炎症细胞的浸润。与模型组比较，氨磷汀组小鼠肝索排列有所恢复，细胞质空泡和炎症细胞浸润减少；给予不同剂量的莫诺昔干预后，肝小叶结构接近正常，肝细胞质中的空泡明显减少，肝细

3 结果

3.1 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性小鼠模型肝功能指标的影响

肝功能指标异常通常是肝脏损伤的标志之一，二者密切相关^[15]。如图 1 所示，与对照组比较，模型组小鼠血清中 ALT、AST、γ-GT 活力及 DBIL、TBIL 水平显著升高 ($P < 0.001$)，CHE 活力及 ALB 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)；与模型组比较，各给药组小鼠血清中 ALT、AST、γ-GT 活力及 DBIL、TBIL 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)，CHE 活力及 ALB 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)，其中莫诺昔高剂量组对 ALT、AST 的改善作用显著优于莫诺昔低剂量组 ($P < 0.01$)。提示莫诺昔能有效改善顺铂诱导的肝毒性小鼠肝脏损伤。



胞坏死现象明显减轻，少见炎症细胞的浸润。提示莫诺昔一定程度上可以改善顺铂诱导的肝毒性小鼠肝脏组织结构损伤。

3.3 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性小鼠模型氧化应激和炎症反应的影响

如图 3-A 所示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏组织中 T-AOC、CAT、SOD、GSH-Px 活力显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)，MDA 水平显著升高 ($P < 0.001$)；与模型组比较，各给药组小鼠肝脏组

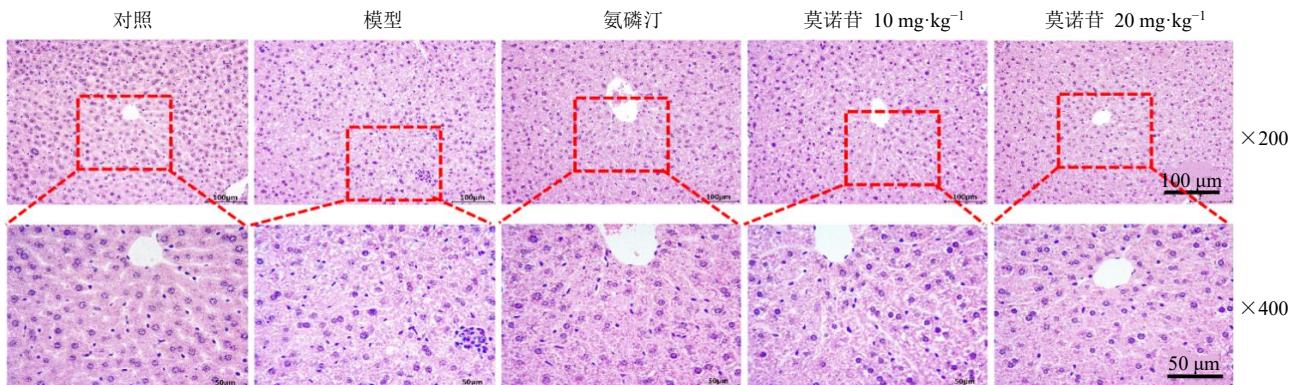
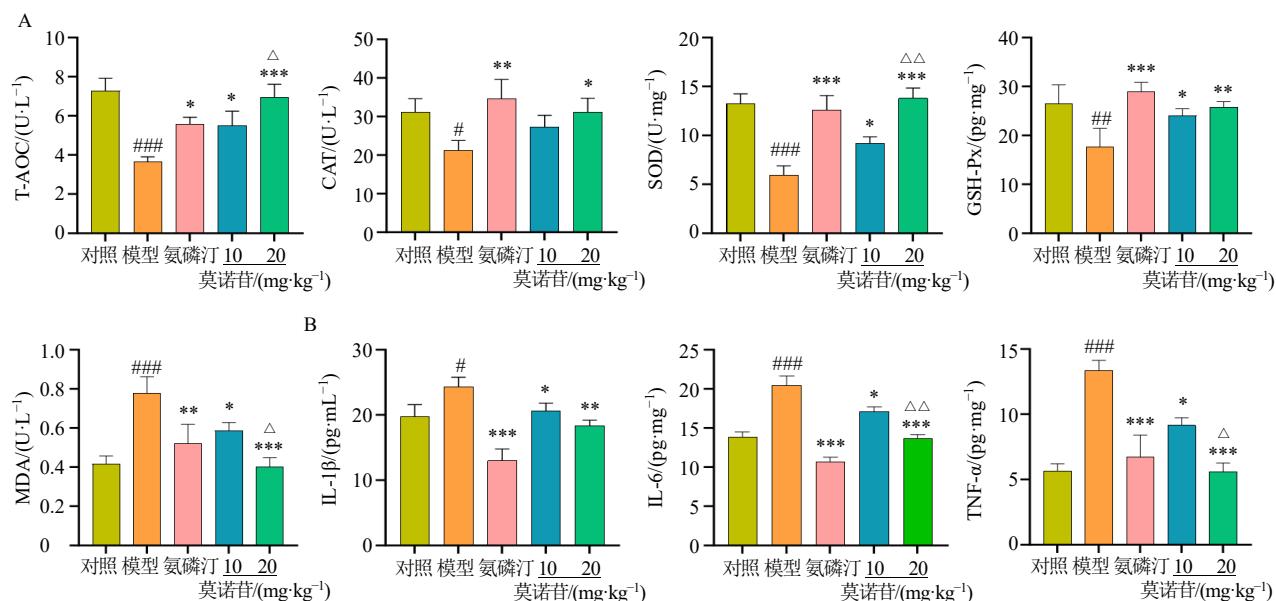


图2 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠肝脏组织病理变化的影响

Fig. 2 Effect of morroniside on pathological changes in liver tissue of mice with cisplatin-induced hepatotoxicity

图3 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠氧化应激(A)和炎症反应(B)的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)Fig. 3 Effect of morroniside on oxidative stress (A) and inflammatory response (B) in mice with cisplatin-induced hepatotoxicity ($\bar{x} \pm s, n=12$)

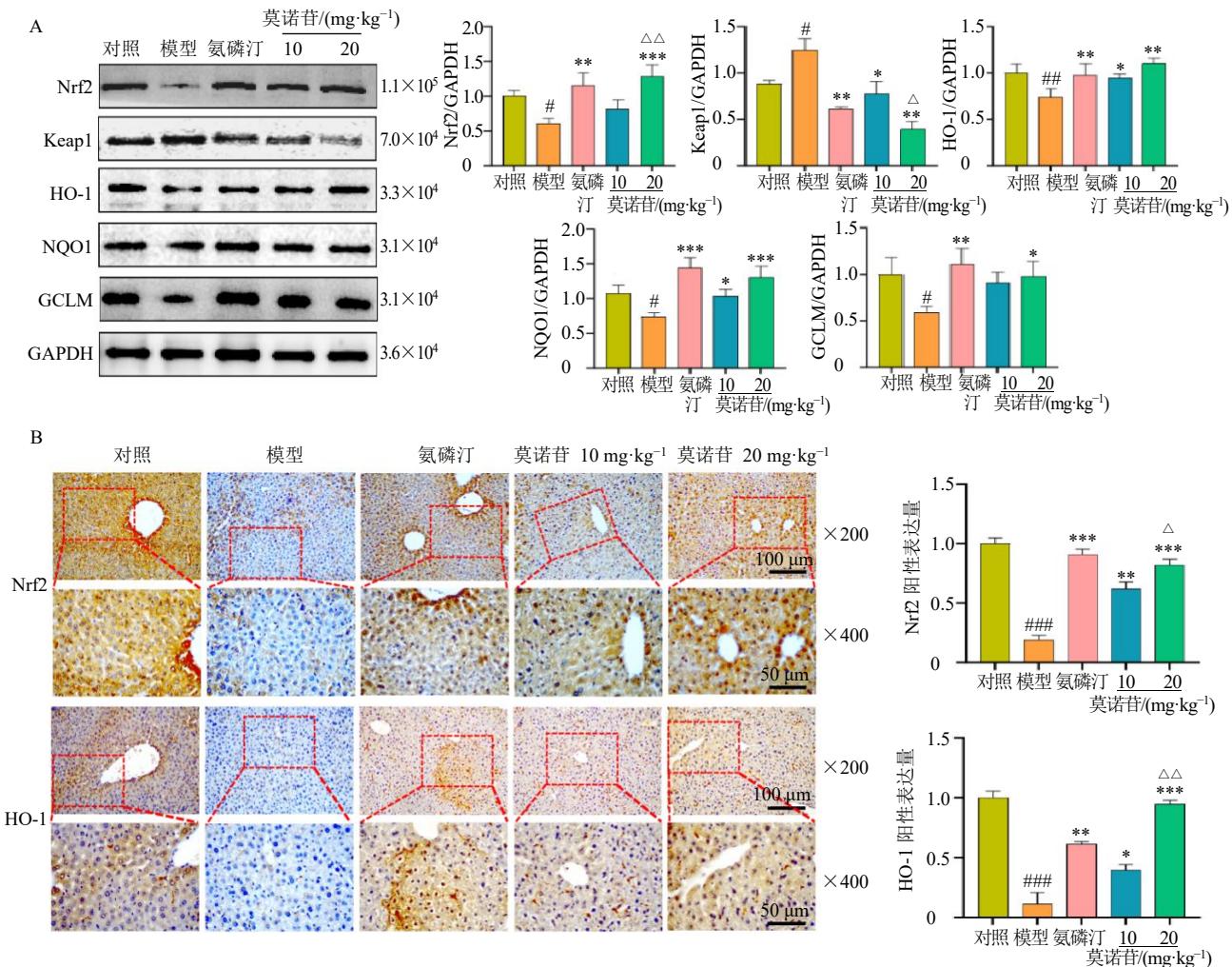
组织中 T-AOC、SOD、GSH-Px 活性显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)，MDA 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)，氨磷汀组和莫诺昔高剂量组 CAT 活性显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)；与莫诺昔低剂量组比较，莫诺昔高剂量组 T-AOC 和 SOD 活性显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)，MDA 水平显著降低 ($P<0.05$)。提示莫诺昔能够缓解顺铂诱导的肝毒性小鼠肝脏的氧化应激损伤。

如图 3-B 所示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.001)；与模型组比较，各给药组小鼠肝脏组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

0.01、 0.001)，其中莫诺昔高剂量组 IL-6、TNF- α 水平显著低于莫诺昔低剂量组 ($P<0.05$ 、 0.01)。提示莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠的炎症反应具有抑制作用。

3.4 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠肝脏组织 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达的影响

如图 4-A 所示，与对照组比较，模型组小鼠肝脏组织中 Keap1 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)，Nrf2、HO-1、NQO1、GCLM 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)；与模型组比较，各给药组小鼠肝脏组织中 Keap1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)，HO-1、NQO1 蛋白表达水平显著升高



A-Western blotting 检测 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达; B-免疫组化检测 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达。

A-expressions of Nrf2/HO-1 pathway related proteins detected by Western blotting; B-expressions of Nrf2 and HO-1 proteins detected by immunohistochemistry.

图 4 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠肝脏组织 Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 4 Effect of morroniside on Nrf2/HO-1 pathway related protein expressions in liver tissue of mice with cisplatin-induced hepatotoxicity ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 氨磷汀组和莫诺昔高剂量组 Nrf2、GCLM 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与莫诺昔低剂量组比较, 莫诺昔高剂量组 Nrf2 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$), 而 Keap1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。

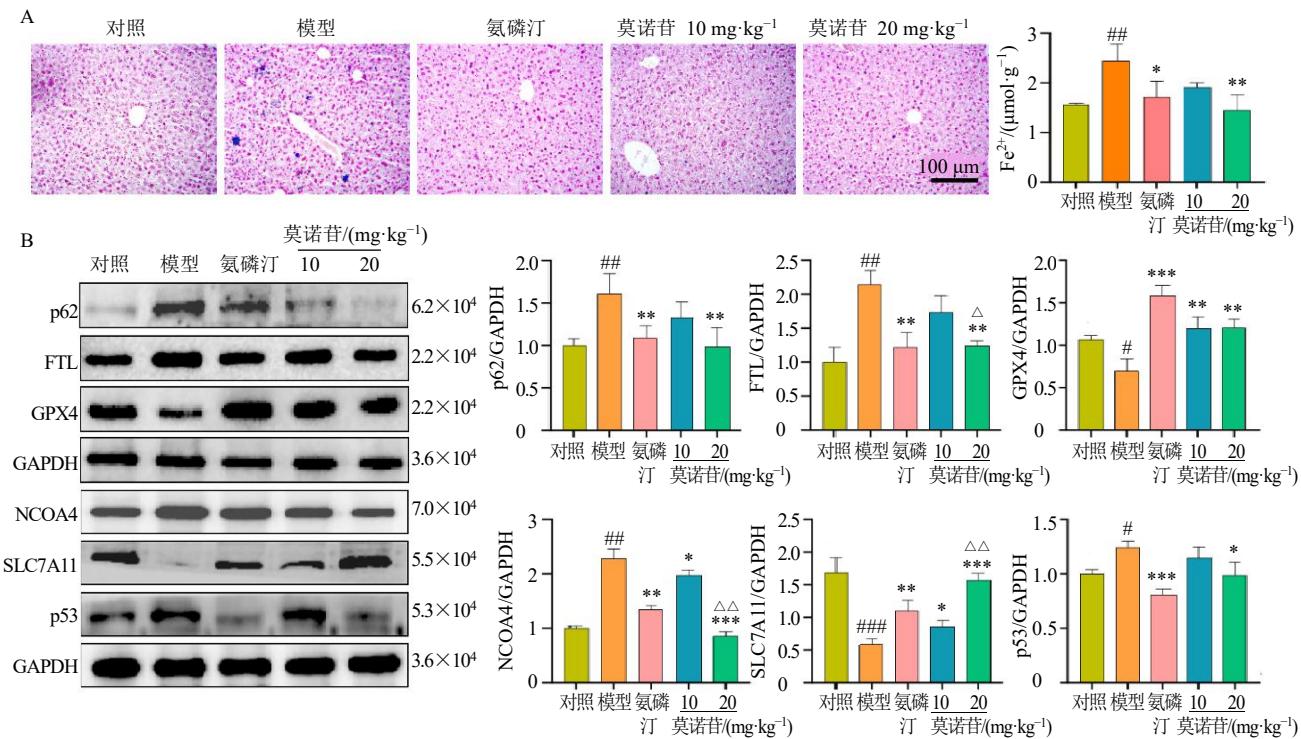
肝脏免疫组化的结果如图 4-B 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝脏组织中 Nrf2、HO-1 蛋白阳性表达显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组小鼠肝脏组织中 Nrf2、HO-1 阳性表达显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 其中莫诺昔高剂量组 Nrf2、HO-1 阳性表达水平显著高于莫诺昔低剂量组 ($P < 0.05$ 、 0.01)。提示莫诺昔可能通过调控 Nrf2/

HO-1 轴来缓解顺铂诱导的肝毒性模型小鼠氧化应激损伤。

3.5 莫诺昔对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠肝脏铁含量及铁死亡通路相关蛋白表达的影响

如图 5-A 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝脏组织中普鲁士蓝染色蓝色沉积明显增多, 并伴随 Fe²⁺含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氨磷汀组和莫诺昔高剂量组小鼠肝脏组织中蓝色沉积明显降低, 并伴随 Fe²⁺含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

如图 5-B 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠肝脏组织中 p62、FTL、NCOA4、p53 蛋白表达水平显



A-普鲁士蓝染色 ($\times 200$) 和 Fe^{2+} 试剂盒检测肝脏内铁含量; B-Western blotting 检测铁死亡信号通路相关蛋白表达。

A-iron content in liver by Prussian blue staining ($\times 200$) and Fe^{2+} kit; B-ferroptosis signaling pathway related protein expressions detected by Western blotting.

图 5 莫诺苷对顺铂诱导的肝毒性模型小鼠肝脏组织铁死亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Fig. 5 Effect of morroniside on ferroptosis in liver tissue of mice with cisplatin-induced hepatotoxicity ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), GPX4 和 SLC7A11 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.001); 与模型组比较, 各给药组小鼠肝脏中 NCOA4 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), GPX4 和 SLC7A11 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 氨磷汀组和莫诺苷高剂量组 p62、FTL、p53 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与莫诺苷低剂量组比较, 莫诺苷高剂量组 FTL、NCOA4 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), SLC7A11 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。提示莫诺苷可能通过调控 GPX4/SLC7A11 通路来缓解顺铂诱导的肝毒性模型小鼠肝脏铁死亡。

3.6 莫诺苷对 AML12 细胞损伤模型细胞活力的影响

如图 6-A 所示, 不同浓度的莫诺苷、顺铂、铁死亡诱导剂 erastin 和铁死亡抑制剂 Fer-1 对 AML12 细胞活力的影响不同。与对照组比较, $0.1 \sim 20.0 \mu\text{mol/L}$ 的莫诺苷和 $0.1 \sim 10.0 \mu\text{mol/L}$ 的 Fer-1 对细胞无明显影响, $50.0 \sim 100.0 \mu\text{mol/L}$ 的莫诺苷和 $20.0 \sim 100.0 \mu\text{mol/L}$ 的 Fer-1 可使 AML12 细胞活力降低 ($P < 0.05$), 但细胞活力仍高于 80%, 提示莫

诺苷和 Fer-1 安全用药浓度范围较广; 与对照组比较, $2.0 \sim 50.0 \mu\text{mol/L}$ 的顺铂和 $0.50 \sim 50.00 \mu\text{mol/L}$ 的 erastin 显著降低 AML12 细胞活力 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 其中浓度高于 $2 \mu\text{mol/L}$ 的顺铂和高于 $1 \mu\text{mol/L}$ 的 erastin 会使细胞活力低于 80%。因此, 选择 $2 \mu\text{mol/L}$ 顺铂和 $1 \mu\text{mol/L}$ erastin 用于后续建立细胞损伤模型。

如图 6-B 所示, 与对照组比较, 随着莫诺苷浓度升高, 莫诺苷对 $2 \mu\text{mol/L}$ 顺铂和 $1 \mu\text{mol/L}$ erastin 导致的细胞活力下降的恢复作用先显著增强 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 随后显著减弱 ($P < 0.01$ 、 0.001), 其中 $5 \mu\text{mol/L}$ 莫诺苷对 $2 \mu\text{mol/L}$ 顺铂和 $1 \mu\text{mol/L}$ erastin 导致的细胞活力下降的恢复效果最接近对照组; 与对照组比较, 随着 Fer-1 浓度升高, 莫诺苷对 $2 \mu\text{mol/L}$ 顺铂导致的细胞活力下降的恢复作用先显著增强 ($P < 0.05$ 、 0.01), 随后显著减弱 ($P < 0.01$ 、 0.001), 其中 $5 \mu\text{mol/L}$ Fer-1 对 $2 \mu\text{mol/L}$ 顺铂导致的细胞活力下降的恢复效果最接近对照组。提示可用 $5 \mu\text{mol/L}$ 莫诺苷和 Fer-1 对 $2 \mu\text{mol/L}$ 顺铂和 $1 \mu\text{mol/L}$ erastin 导致的细胞损伤进行保护。

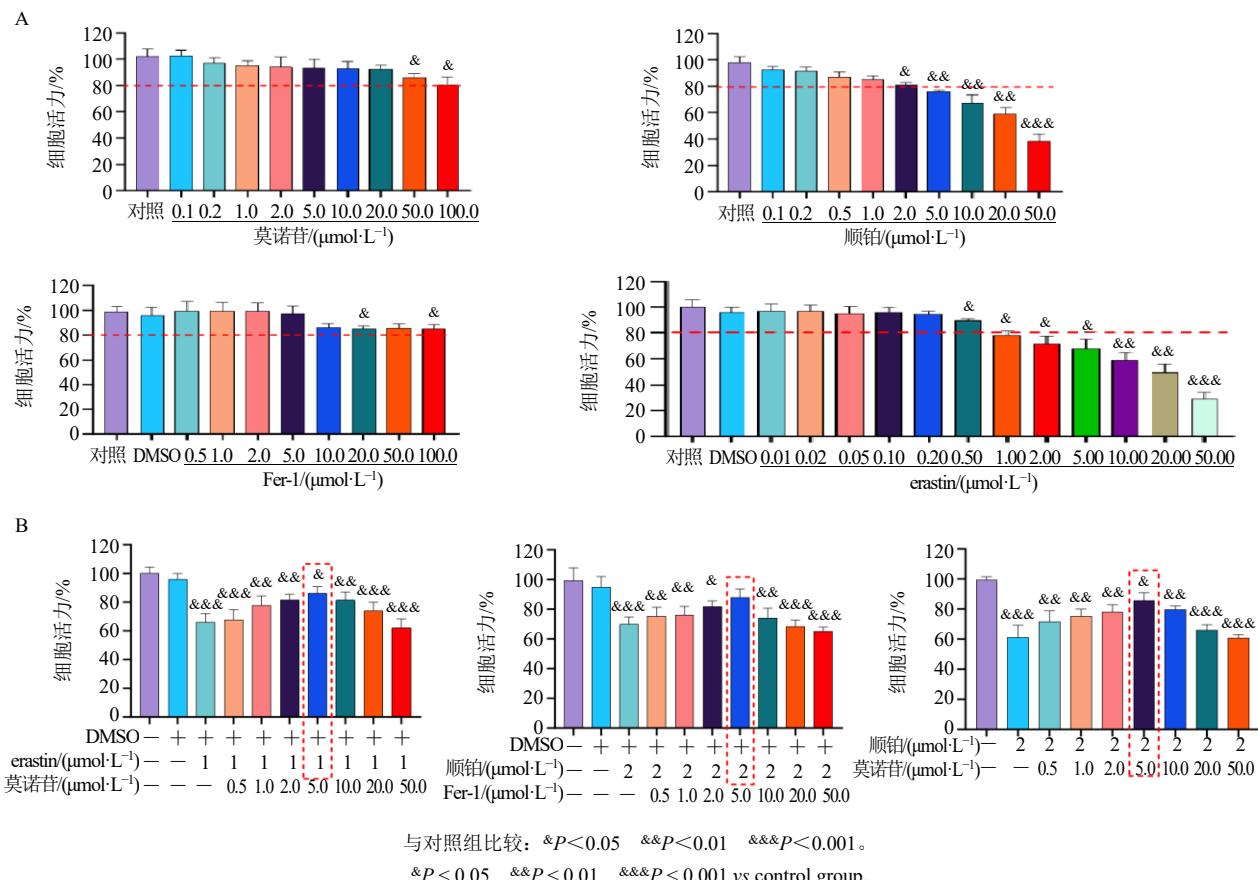


图 6 不同浓度的莫诺昔、顺铂、erastin、Fer-1 对 AML12 细胞活力的影响 (A) 和不同浓度的莫诺昔、Fer-1 对顺铂、erastin 诱导的细胞损伤的作用 (B) ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

Fig. 6 Effects of different concentrations of morroniside, cisplatin, erastin, Fer-1 on viability of AML12 cells (A) and effects of different concentrations of morroniside and Fer-1 on cisplatin and erastin-induced cell damage (B) ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

3.7 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型细胞形态和 ROS 水平的影响

如图 7 所示, 与对照组比较, 顺铂组和 erastin 组视野下均可见贴壁 AML12 细胞明显较少, 漂浮的死细胞较多, 并伴随 ROS 荧光强度增强; 与顺铂组比较, 顺铂+莫诺昔组和顺铂+Fer-1 组贴壁细胞

数量较多, 死细胞数量较少, ROS 荧光强度明显减弱; 与 erastin 组比较, erastin+莫诺昔组可见贴壁细胞明显较多, 死细胞数量较少, ROS 荧光强度明显减弱。提示莫诺昔能够改善顺铂和 erastin 诱导的细胞内 ROS 累积, 并在一定程度上改善细胞损伤, 提高细胞存活率; 同时 Fer-1 能够改善顺铂诱导的

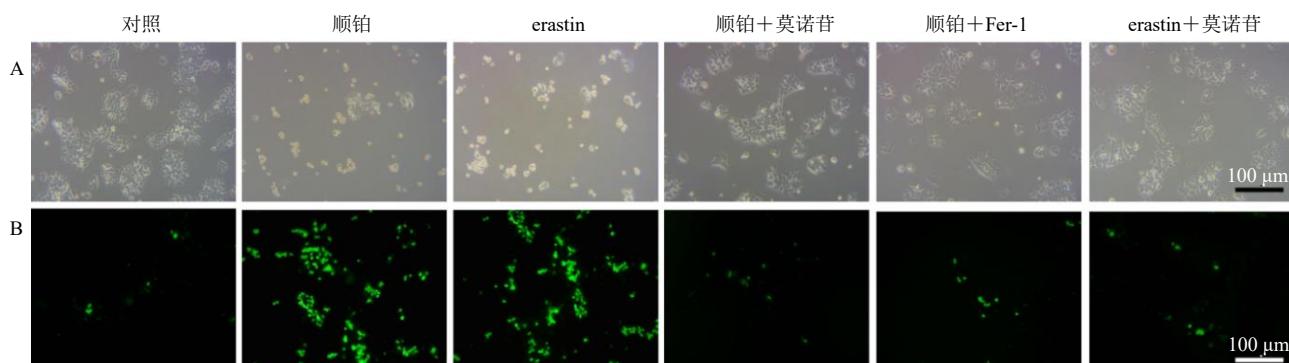


图 7 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型细胞形态 (A) 和 ROS 水平 (B) 的影响 ($\times 200$)

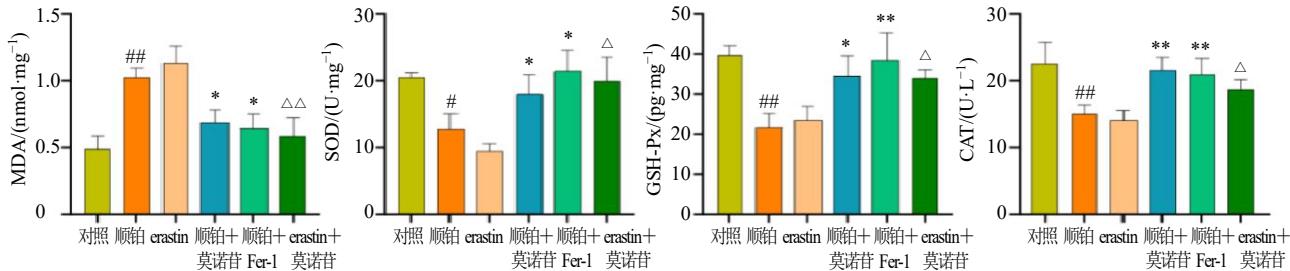
Fig. 7 Effect of morroniside on cell morphology (A) and ROS level (B) in AML12 cell injury model ($\times 200$)

细胞内 ROS 累积和细胞损伤,与莫诺昔效果一致。

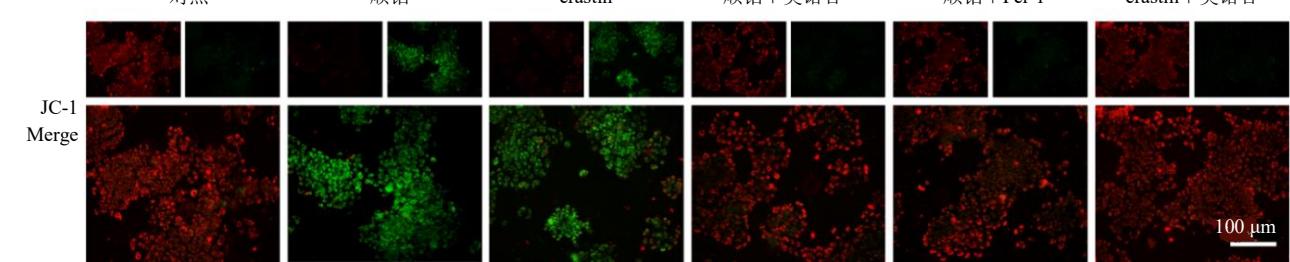
3.8 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型抗氧化水平和线粒体膜电位的影响

如图 8-A 所示,与对照组比较,顺铂组和 erastin 组抗氧化指标 SOD、CAT、GSH-Px 的活性显著降低($P<0.05$ 、 0.01),MDA 水平显著升高($P<0.01$);与顺铂组比较,顺铂+莫诺昔组和顺铂+Fer-1 组抗氧化指标的活性显著升高($P<0.05$ 、 0.01),MDA 水平显著降低($P<0.05$);与 erastin 组比较,erastin+莫诺昔组抗氧化指标的活性显著升高($P<0.05$),

A



B



与对照组比较: $^*P<0.05$ $^{##}P<0.01$; 与顺铂组比较: $^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$; 与 erastin 组比较: $^{\triangle}P<0.05$ $^{\triangle\triangle}P<0.01$ $^{\triangle\triangle\triangle}P<0.001$, 图 9、10 同。

$^*P<0.05$ $^{##}P<0.01$ vs control group; $^*P<0.05$ $^{**}P<0.01$ vs cisplatin group; $^{\triangle}P<0.05$ $^{\triangle\triangle}P<0.01$ $^{\triangle\triangle\triangle}P<0.001$ vs erastin group, same as Figs.

9, 10.

图 8 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型抗氧化水平 (A) 和线粒体膜电位 (B, $\times 200$) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 8 Effect of morroniside on antioxidant level (A) and mitochondrial membrane potential (B, $\times 200$) in AML12 cell injury model ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

的细胞氧化应激损伤。

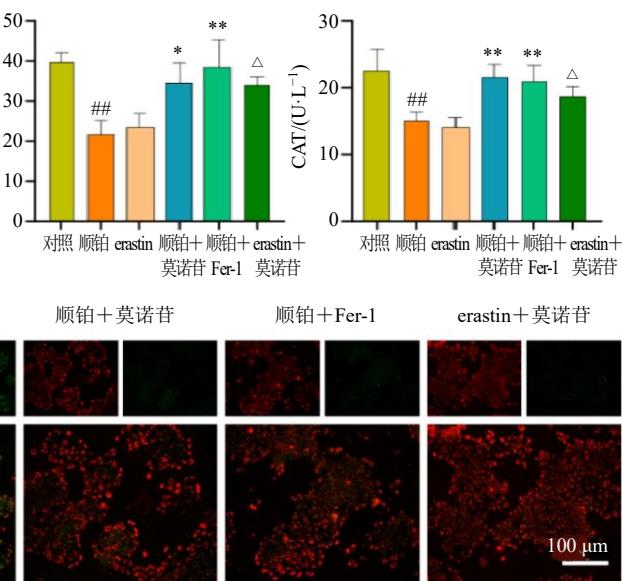
3.9 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型炎症因子、 Fe^{2+} 水平以及细胞死亡的影响

如图 9-A 所示,与对照组比较,顺铂组和 erastin 组炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 Fe^{2+} 水平显著升高($P<0.05$ 、 0.01);与顺铂组比较,顺铂+莫诺昔组和顺铂+Fer-1 组炎症因子和 Fe^{2+} 水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01);与 erastin 组比较,erastin+莫诺昔组炎症因子和 Fe^{2+} 水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。

如图 9-B 所示,与对照组比较,顺铂组和 erastin 组细胞受损死亡,仅溴化乙锭能穿透受损细胞膜与

MDA 水平显著降低($P<0.01$)。

如图 8-B 所示,与对照组比较,顺铂组和 erastin 组细胞表现出明显的线粒体膜电位下降,线粒体中 JC-1 以单体形式存在,绿色荧光增强;与顺铂组比较,顺铂+莫诺昔组和顺铂+Fer-1 组线粒体膜电位恢复,JC-1 以聚合物形式存在,橙红色荧光增强;与 erastin 组比较,erastin+莫诺昔组线粒体膜电位升高,与其他给药组效果一致。提示莫诺昔能够升高顺铂和 erastin 诱导的细胞抗氧化酶活力降低和线粒体膜电位降低,同时 Fer-1 也能够改善顺铂诱导



核 DNA 结合, 橙红色荧光增强;与顺铂组比较,顺铂+莫诺昔组和顺铂+Fer-1 组细胞恢复活力,吖啶橙能够穿透健康细胞的细胞膜与细胞核内的 DNA 结合,绿色荧光增强;与 erastin 组比较,erastin+莫诺昔组细胞活力也有所恢复,与其他给药组效果一致。提示莫诺昔能够改善顺铂和 erastin 诱导的细胞死亡和炎症反应,并降低受损细胞的 Fe^{2+} 水平,同时 Fer-1 也具有相似的效果。

3.10 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达的影响

如图 10 所示,与对照组比较,顺铂组和 erastin 组细胞内 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达水平均显著降低

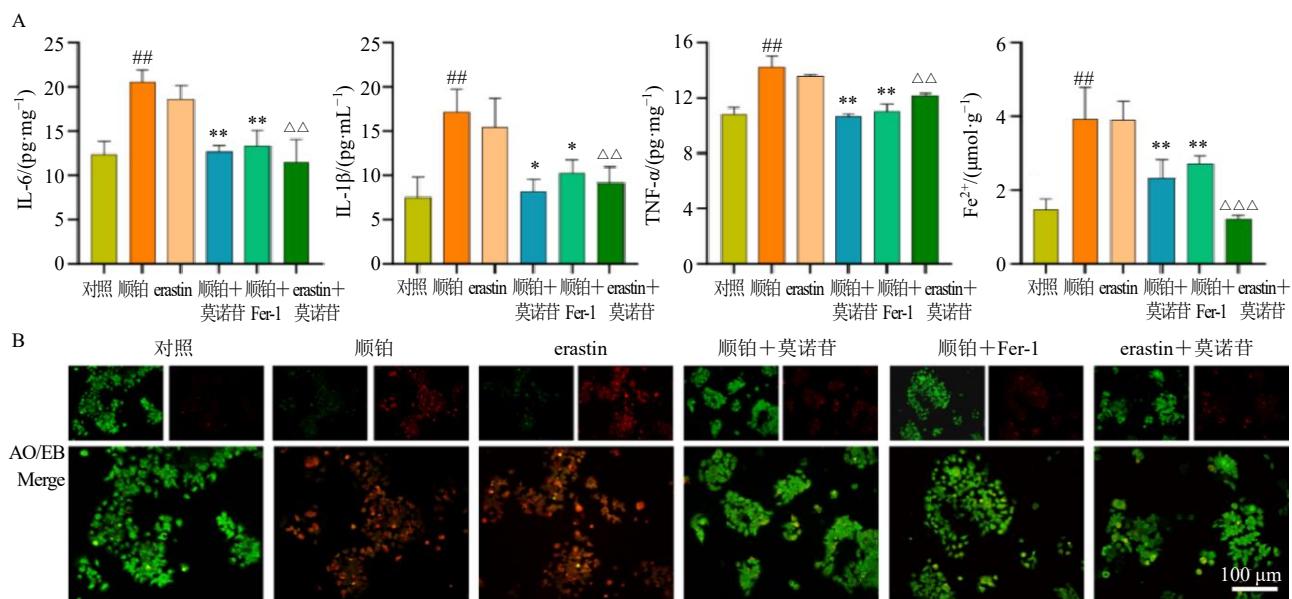


图 9 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型炎症因子、Fe²⁺水平 (A) 以及细胞死亡 (B, $\times 200$) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 9 Effect of morroniside on inflammatory cytokines, Fe²⁺ levels (A) and cell death (B, $\times 200$) in AML12 cell injury model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

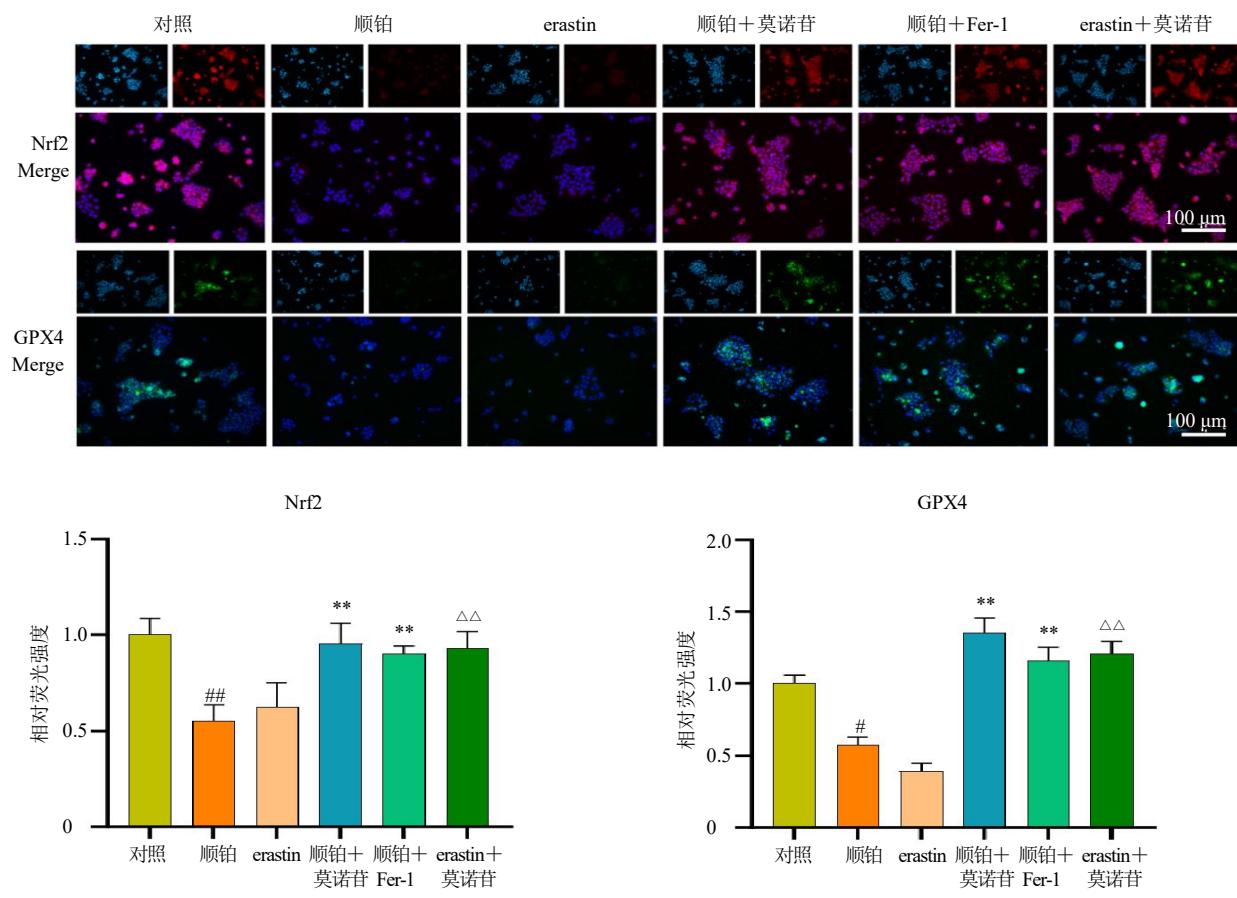


图 10 莫诺昔对 AML12 细胞损伤模型 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达的影响 ($\times 200; \bar{x} \pm s, n = 6$)
Fig. 10 Effect of morroniside on Nrf2 and GPX4 protein expressions in AML12 cell injury model ($\times 200; \bar{x} \pm s, n = 6$)

($P<0.05$ 、 0.01)；与顺铂组比较，顺铂+莫诺昔组和顺铂+Fer-1组 Nrf2 和 GPX4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$)；与 erastin 组比较，erastin+莫诺昔组细胞蛋白表达水平变化与顺铂给药组趋势一致 ($P<0.01$)。提示莫诺昔通过升高细胞内 Nrf2 和 GPX4 水平来缓解顺铂和 erastin 诱导的细胞铁死亡，同时 Fer-1 也能够改善顺铂诱导的细胞氧化应激损伤和铁死亡。

4 讨论

顺铂是一种小分子，能够轻易穿透细胞膜并进入细胞核，改变 DNA 结构。尽管顺铂诱导肝毒性的病理生理机制尚未被充分阐明，但氧化应激^[16]和铁死亡^[17]是肝损伤的重要诱导因素。研究表明，顺铂会使肝组织中脂质过氧化标志物 MDA 水平升高，并减少肝组织中抗氧化标志物谷胱甘肽水平降低^[18]。在氧化应激状态下，通常存在 ROS 过度生成或抗氧化系统功能受损的情况。研究发现单次注射 10 mg/kg 的顺铂诱导肝毒性，血清肝功能指标 (ALT、AST、ALP) 显著升高，肝细胞水肿、坏死、炎症细胞浸润，促炎因子水平显著上升^[19]。

中药在顺铂所致的肝损伤保护中具有独特的优势，如灵芝天然提取物在大鼠顺铂模型中可以降低 ALT、AST 活力及 TBIL 水平，抑制高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1)、TNF- α 等炎症因子表达，同时升高谷胱甘肽水平和 SOD 活性，改善肝脏组织结构损伤^[20]。而山茱萸中的天然提取物莫诺昔具有抗氧化活性，能够清除自由基，具有潜在的肾脏保护作用^[21]。但莫诺昔在改善顺铂诱导的肝毒性方面的具体作用尚未有明确报道。本研究通过体内外实验探讨了莫诺昔对顺铂诱导小鼠肝损伤和 AML12 细胞毒性的影响，并在分子水平上阐明了其可能的保护作用机制。体内研究结果表明，莫诺昔对顺铂诱导的小鼠肝损伤具有显著的改善作用，具体表现为肝功能相关指标如 ALT、AST、 γ -GT、DBIL 和 TBIL 显著下降，CHE 和 ALB 水平明显升高；小鼠肝脏组织结构恢复，肝小叶结构清晰，细胞质空泡和炎症细胞浸润显著减少；炎症因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的水平明显降低。在抗氧化水平上，因顺铂对含巯基化合物具有较高亲和力，尤其谷胱甘肽这一关键抗氧化分子在与顺铂结合后被耗竭，削弱了机体的抗氧化防御功能^[22]。谷胱甘肽的减少促使 ROS 积聚，进而加剧氧化损伤；同时，脂质过氧化产物如 MDA

的持续积累亦进一步加重细胞损伤^[23]。本研究发现，模型组小鼠表现为 MDA 水平升高，抗氧化酶 (SOD、GSH-Px、CAT) 活性降低，与既往报道一致。莫诺昔干预显著降低了 ROS 生成和 MDA 水平，同时恢复了抗氧化酶活性，这些结果在 AML12 细胞模型中亦得到了验证。

转录因子 Nrf2 在调节抗氧化基因表达和抵御氧化应激方面发挥重要作用。Okkay 等^[24]发现顺铂显著抑制肝脏 Nrf2/HO-1 表达，而熊果苷干预后恢复 Nrf2/HO-1 水平，同时改善 ALT、AST 等肝功能，抑制炎症及凋亡通路。本研究中，模型组小鼠肝脏组织 Nrf2 及其下游蛋白 (如 HO-1、NQO1、GCLM) 表达下调，而 Nrf2 抑制因子 Keap1 表达上调。莫诺昔干预后显著逆转了上述蛋白表达变化，表明莫诺昔可通过激活 Nrf2 通路缓解氧化应激导致的肝损伤。

铁死亡的主要特征是细胞内铁和 ROS 水平升高。铁代谢异常导致铁过量积聚，通过 Fenton 反应产生 ROS，激活脂氧合酶，促进脂质过氧化^[25]。细胞对铁死亡的敏感性受铁代谢相关蛋白表达水平的影响。FTL 作为铁稳态的关键调控因子，其水平反映细胞内铁储存量，是细胞铁过载的标志物之一^[26]。除铁储存功能外，FTL 水平还可影响铁死亡敏感性。FTL 通过铁蛋白自噬与 NCOA4 相互作用，将储存铁释放至细胞内^[27]，但在氧化应激或化疗环境下，NCOA4 的识别功能可能遭到破坏，NCOA4 的负反馈机制可能失效。Song 等^[28]研究发现，FTL 高表达会增加细胞内铁水平并增强对铁死亡的敏感性。此外，自噬适配蛋白 p62 也通过调节铁蛋白降解参与铁代谢，进而影响铁释放和积聚。本研究发现，莫诺昔改善了顺铂诱导的细胞内 ROS 累积，顺铂诱导的小鼠肝组织中 p62 表达升高，导致铁蛋白降解、游离铁增加，从而促使 FTL 水平升高。顺铂诱导 NCOA4 水平升高，可能是由于顺铂破坏了 NCOA4 的识别功能。但在铁死亡条件下，尽管 FTL 表达上升，其抗氧化能力可能不足以抵御铁过载和脂质过氧化。

除了铁代谢通路外，以 GPX4 为核心的抗氧化通路是防止铁死亡的关键机制^[29]。GPX4 和 SLC7A11 在铁死亡调控中发挥关键作用。SLC7A11 通过调节细胞内半胱氨酸摄取，间接促进谷胱甘肽合成，从而增强 GPX4 活性^[30]。GPX4 活性受到抑制时，会导致脂质过氧化物的积累，触发铁死亡。

此外, p53 蛋白可抑制 SLC7A11 表达, 破坏铁稳态, 诱导铁过载和氧化应激, 进而加速铁死亡^[31]。已有研究表明, 铁死亡诱导剂 erastin 主要通过抑制 Xc⁻ 系统(半胱氨酸/谷氨酸反向转运系统)发挥作用, 其直接作用靶点即为 SLC7A11 功能亚基^[32]。本研究发现, 顺铂处理后小鼠肝组织中出现铁积聚和铁离子水平的升高, GPX4 和 SLC7A11 蛋白的表达下降, 而 p53 水平升高, 说明顺铂通过调控 p53/SLC7A11/GPX4 通路破坏抗氧化防御系统, 诱导铁死亡。但莫诺昔干预后上调了肝组织中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白的表达, 提示其可能通过增强 SLC7A11 和 GPX4 表达、降低脂质过氧化水平、恢复抗氧化系统, 从而抑制铁死亡。此外, 在 AML12 细胞中使用 erastin 诱导铁死亡模型, 通过莫诺昔和 Fer-1 的干预进一步验证了莫诺昔通过 GPX4 抗氧化通路抑制铁死亡、缓解顺铂肝毒性的作用。

综上, 莫诺昔对顺铂致肝脏毒性的改善作用主要归因于其抑制氧化应激和铁死亡, 这一作用通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路以及调控 GPX4/SLC7A11 轴实现, 这 2 个通路均在细胞内铁稳态维持中起关键作用。因此, 莫诺昔有潜力作为治疗药物用于改善肝功能、减轻顺铂诱导的肝毒性。未来的研究可进一步探讨莫诺昔在顺铂诱导的肝损伤中的剂量相关性效应, 以深入理解其潜在的保护机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭飞宇, 王多伟. 肝纤维化发生机制及相关治疗药物研究进展 [J]. 药学进展, 2024, 48(11): 838-848.
- [2] Tan W J T, Vlajkovic S M. Molecular characteristics of cisplatin-induced ototoxicity and therapeutic interventions [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16545.
- [3] Gong S H, Feng Y L, Zeng Y N, et al. Gut microbiota accelerates cisplatin-induced acute liver injury associated with robust inflammation and oxidative stress in mice [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 147.
- [4] Gazwi H S S, Zaki A H, Abd Allah N A R, et al. Mitigation of cisplatin-induced hepatotoxicity by *Salvia officinalis*: Attenuation of oxidative damage and inflammation in rats [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 222: 62-71.
- [5] Chen J Y, Li X P, Ge C D, et al. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3): 467-480.
- [6] Yamada N, Karasawa T, Takahashi M. Role of ferroptosis in acetaminophen-induced hepatotoxicity [J]. *Arch Toxicol*, 2020, 94(5): 1769-1770.
- [7] Jiang H, Zuo J, Li B W, et al. Drug-induced oxidative stress in cancer treatments: Angel or devil? [J]. *Redox Biol*, 2023, 63: 102754.
- [8] Wu Z L, Zhu Y R, Liu W C, et al. Ferroptosis in liver disease: Natural active compounds and therapeutic implications [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(3): 352.
- [9] Liu Y Q, Gu W. p53 in ferroptosis regulation: The new weapon for the old guardian [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(5): 895-910.
- [10] Liu C Y, Wang M, Yu H M, et al. Ferroptosis is involved in alcohol-induced cell death *in vivo* and *in vitro* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2020, 84(8): 1621-1628.
- [11] 王碧莹. 敦煌古方大补脾汤对顺铂致小鼠肝肾毒性的保护作用研究 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2020.
- [12] Li B, Lei S S, Xiong S, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of morroniside: A review [J]. *Nat Prod Commun*, 2019, 14(6): 1934578X19856526.
- [13] 周玉燕, 孙玉, 李萍, 等. 莫诺昔通过抗氧化应激保护雷公藤甲素所致肝细胞凋亡 [J]. 南方医科大学学报, 2018, 38(8): 949-955.
- [14] Arjumand W, Sultana S. Glycyrrhetic acid: A phytochemical with a protective role against cisplatin-induced genotoxicity and nephrotoxicity [J]. *Life Sci*, 2011, 89(13/14): 422-429.
- [15] 刘佳. 山茱萸对抗结核药物性肝损伤小鼠的保护作用及机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [16] Luo L F, Mo G H, Huang D Q. Ferroptosis in hepatic ischemia-reperfusion injury: Regulatory mechanisms and new methods for therapy (Review) [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(3): 225.
- [17] Zhu L J, Luo S N, Zhu Y, et al. The emerging role of ferroptosis in various chronic liver diseases: Opportunity or challenge [J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 381-389.
- [18] El-Shitany N A E, Abbas A T, Ali S S, et al. Nanoparticles ellagic acid protects against cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its cytotoxic activity [J]. *International J Pharmacology*, 2019, 15(4): 465-477.
- [19] Taghizadeh F, Hosseiniemehr S J, Zargari M, et al. Alleviation of cisplatin-induced hepatotoxicity by gliclazide: Involvement of oxidative stress and Caspase-3 activity [J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2021, 9(3): e00788.
- [20] Hassan H M, Al-Wahaibi L H, Elmorsy M A, et al. Suppression of cisplatin-induced hepatic injury in rats through alarmin high-mobility group box-1 pathway by *Ganoderma lucidum*: Theoretical and experimental study [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 2335-2353.
- [21] 姜晓杰, 熊阳昆, 龚名洋, 等. 莫诺昔调控谷胱甘肽过

- 氧化酶 4 介导的铁死亡改善果糖饮食小鼠肾损伤 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2375-2384.
- [22] Katanić Stanković J S, Selaković D, Rosić G. Oxidative damage as a fundament of systemic toxicities induced by cisplatin—the crucial limitation or potential therapeutic target? [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14574.
- [23] Zhai C Y, Lonergan S M, Huff-Lonergan E J, et al. Lipid peroxidation products influence calpain-1 functionality *in vitro* by covalent binding [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(20): 7836-7846.
- [24] Okkay I F, Famurewa A, Bayram C, et al. Arbutin abrogates cisplatin-induced hepatotoxicity via upregulating Nrf2/HO-1 and suppressing genotoxicity, NF-κB/iNOS/TNF-α and caspase-3/Bax/Bcl2 signaling pathways in rats [J]. *Toxicol Res*, 2024, 13(3): tfae075.
- [25] Subburayan K, Thayyullathil F, Pallichankandy S, et al. Superoxide-mediated ferroptosis in human cancer cells induced by sodium selenite [J]. *Transl Oncol*, 2020, 13(11): 100843.
- [26] Zhang N, Yu X Q, Xie J X, et al. New insights into the role of ferritin in iron homeostasis and neurodegenerative diseases [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(6): 2812-2823.
- [27] Liu H B, Shen L Q, Gong X Y, et al. Mechanistic insights into the iron-sulfur cluster-dependent interaction of the autophagy receptor NCOA4 with the E3 ligase HERC2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2025, 122(30): e2510269122.
- [28] Song Z Y, Li Z Y, Pan T, et al. Protopanaxadiol prevents cisplatin-induced acute kidney injury by regulating ferroptosis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2024, 76(7): 884-896.
- [29] Xu L, Liu Y E, Chen X, et al. Ferroptosis in life: To be or not to be [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 159: 114241.
- [30] Dasgupta S, Gan B Y. Ferroptosis vulnerability in MYCN-driven neuroblastomas [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(8): e963.
- [31] Fujii J, Homma T, Kobayashi S. Ferroptosis caused by cysteine insufficiency and oxidative insult [J]. *Free Radic Res*, 2020, 54(11/12): 969-980.
- [32] Zheng J S, Sato M, Mishima E, et al. Sorafenib fails to trigger ferroptosis across a wide range of cancer cell lines [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(7): 698.

[责任编辑 李亚楠]