

## 甘草多糖通过调控 Nrf2 信号通路改善顺铂诱导的急性肾损伤

左振宇<sup>1,2</sup>, 高焕芝<sup>1</sup>, 化敏<sup>2</sup>, 武毅<sup>3</sup>, 徐东川<sup>2</sup>, 李蒙<sup>2</sup>, 周蒙<sup>4\*</sup>, 周倩<sup>2\*</sup>

1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355

2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

3. 云南农业大学动物医学院, 云南 昆明 650201

4. 山东大学齐鲁第二医院 药学部, 山东 济南 250033

**摘要:** 目的 探讨甘草多糖 (*Glycyrrhiza polysaccharide*, GCP) 对顺铂诱导的急性肾损伤 (cisplatin-induced acute kidney injury, CI-AKI) 模型大鼠和人肾小管上皮细胞 HK-2 损伤模型的保护作用及作用机制。方法 设置对照组、单纯 GCP 高剂量 (100 mg/kg) 组、模型组和 GCP 低、高剂量 (50、100 mg/kg) 组。ip 顺铂建立大鼠 CI-AKI 模型, 给予 GCP 干预后, 测定血清肌酐 (serum creatinine, SCr)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、炎症因子及肾组织还原性谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、亚铁离子 ( $Fe^{2+}$ ) 水平; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 和过碘酸雪夫 (periodic acid-schiff, PAS) 染色观察肾脏病理形态; TUNEL 法观察肾组织细胞凋亡情况; Western blotting 测定肾组织中肾损伤分子-1 (kidney injury molecule-1, KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)、B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、剪切型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cleaved cysteine-aspartate protease-3, cleaved Caspase-3)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)、核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸醌脱氢酶 1 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate quinone oxidoreductase 1, NQO1)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)、铁蛋白重链 1 (ferritin heavy chain 1, FTH1)、铁蛋白轻链 (ferritin light chain, FTL) 蛋白表达。顺铂处理 HK-2 细胞建立肾小管损伤模型, 设置对照组、模型组、GCP (800  $\mu$ g/mL) 组、GCP+Nrf2 抑制剂 ML385 (2  $\mu$ mol/L) 组, 并通过测定细胞活力、活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、 $Fe^{2+}$  水平、Nrf2 核转位情况以及 Bcl-2、Bax、Nrf2、NQO1、HO-1、GPX4、SLC7A11、ACSL4 蛋白表达, 进一步明确 Nrf2 在 GCP 干预 CI-AKI 中的确切作用。结果 GCP 可显著降低 CI-AKI 模型大鼠 SCr、BUN 水平 ( $P < 0.001$ ), 减轻顺铂引起的肾脏病理损伤、恢复肾小管形态, 降低 KIM-1 和 NGAL 的蛋白表达 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ); 降低 CI-AKI 大鼠血清中炎症因子水平 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 抑制炎症反应; 上调 Bcl-2/Bax 比值 ( $P < 0.05$ ), 下调 cleaved Caspase-3 的蛋白表达 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 减轻肾小管上皮细胞凋亡。GCP 在体内外中能够诱导 Keap1 与 Nrf2 解离, 促进 Nrf2 核转位 ( $P < 0.01$ ), 上调下游蛋白 HO-1、NQO1、GPX4、SLC7A11 表达 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 提高 GSH 活性同时下调 ACSL4 表达 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 降低 ROS、MDA 和  $Fe^{2+}$  含量 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), 改善 CI-AKI 模型大鼠脂质过氧化水平、降低铁沉积, 抑制铁死亡, 而 ML385 可逆转上述保护作用 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ )。结论 GCP 能够改善 CI-AKI, 该保护作用可能通过激活 Nrf2 信号通路抑制肾脏细胞铁死亡发挥作用。

**关键词:** 急性肾损伤; 甘草多糖; Nrf2 信号通路; 氧化应激; 铁死亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)24-9003-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.24.013

## *Glycyrrhiza polysaccharide improves cisplatin-induced acute kidney injury by regulating Nrf2 signaling pathway*

ZUO Zhenyu<sup>1,2</sup>, GAO Huanzhi<sup>1</sup>, HUA Min<sup>2</sup>, WU Yi<sup>3</sup>, XU Dongchuan<sup>2</sup>, LI Meng<sup>2</sup>, ZHOU Meng<sup>4</sup>, ZHOU Qian<sup>2</sup>

1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

收稿日期: 2025-09-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82374132); 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2023LZY001)

作者简介: 左振宇 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质和作用机制研究。E-mail: a13031749703@163.com

\*通信作者: 周倩 (1982—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为中药药效物质和作用机制研究。E-mail: zhouqian0126@126.com

周蒙 (1989—), 男, 博士, 副主任药师, 研究方向为中药药效物质和作用机制研究。E-mail: zhoumeng006@163.com

2. Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China
3. College of Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China
4. Department of Pharmacy, The Second Qilu Hospital, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan 250033, China

**Abstract: Objective** To investigate the protective effect and mechanism of *Glycyrrhiza* polysaccharide (GCP) on cisplatin-induced acute kidney injury (CI-AKI) in model rats and human tubular epithelial cell HK-2 injury model. **Methods** Control group, GCP high-dose (100 mg/kg) alone group, model group, GCP low-and high-dose (50, 100 mg/kg) groups were set up. A rat CI-AKI model was established via intraperitoneal injection (ip) of cisplatin. After GCP intervention, levels of creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), inflammatory factors in serum, and glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), ferrous ion ( $\text{Fe}^{2+}$ ) in renal tissue were measured; Hematoxylin-eosin staining (HE) and periodic acid-Schiff (PAS) staining were used to observe the pathological morphology of kidneys; TUNEL method was used to observe the apoptosis of renal tissue cells; Western blotting was used to measure expressions of kidney injury molecule-1 (KIM-1), neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), cleaved cysteine aspartate protease-3 (cleaved Caspase-3), Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1), nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2), nicotinamide adenine dinucleotide phosphate quinone dehydrogenase 1 (NQO1), heme oxygenase-1 (HO-1), glutathione peroxidase 4 (GPX4), solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), acyl-CoA synthase long-chain family member 4 (ACSL4), ferritin heavy chain 1 (FTH1) and ferritin light chain (FTL) protein in renal tissue. A renal tubular injury model was established by treating HK-2 cells with cisplatin. Control group, model group, GCP (800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) group, and GCP + Nrf2 inhibitor ML385 (2  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ) group were set up. Cell viability, reactive oxygen species (ROS),  $\text{Fe}^{2+}$  levels, Nrf2 nuclear translocation, and protein expressions of Bcl-2, Bax, Nrf2, NQO1, HO-1, GPX4, SLC7A11 and ACSL4 were measured to further clarify the exact effect of Nrf2 in GCP intervention in CI-AKI. **Results** GCP significantly reduced the levels of SCr and BUN in CI-AKI model rats ( $P < 0.001$ ), alleviated cisplatin-induced renal pathological damage, restored renal tubular morphology, reduced the protein expressions of KIM-1 and NGAL ( $P < 0.01, 0.001$ ), reduced the levels of inflammatory factors in serum of CI-AKI rats ( $P < 0.01, 0.001$ ), inhibited the inflammatory response, up-regulated Bcl-2/Bax ratio ( $P < 0.05$ ), down-regulated protein expression of cleaved Caspase-3 ( $P < 0.01, 0.001$ ), alleviated apoptosis in renal tubular epithelial cells. GCP induced the dissociation of Keap1 and Nrf2 *in vitro* and *in vivo*, promoted Nrf2 nuclear translocation ( $P < 0.01$ ), up-regulated the expressions of downstream proteins HO-1, NQO1, GPX4 and SLC7A11 ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), increased GSH activity while down-regulated ACSL4 expression ( $P < 0.05, 0.01$ ), reduced ROS, MDA and  $\text{Fe}^{2+}$  levels ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ), improved lipid peroxidation levels, reduced iron deposition, and inhibited ferroptosis in CI-AKI model rats, while ML385 could reverse the above protective effects ( $P < 0.05, 0.01, 0.001$ ). **Conclusion** GCP could improve CI-AKI, and this protective effect may be achieved by activating the Nrf2 signaling pathway to inhibit ferroptosis in renal cells.

**Key words:** acute kidney injury; *Glycyrrhiza* polysaccharide; Nrf2 signaling pathway; oxidative stress; ferroptosis

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是一种以肾排泄功能迅速下降、氮代谢物积累、尿量减少、代谢性酸中毒以及钾和磷浓度升高为特征的综合征<sup>[1]</sup>。缺血再灌注<sup>[2]</sup>、肾毒性药物<sup>[3]</sup>、脓毒症<sup>[4]</sup>等均是导致 AKI 的主要原因,其中由顺铂等药物造成的肾损伤是引起患者发生 AKI 的第 2 大原因<sup>[5-6]</sup>。目前临床上对于顺铂肾毒性仍缺少有效的干预方法,虽然氨磷汀、*N*-乙酰半胱氨酸等药物对化疗引起的肾损伤具有一定的预防性保护作用,但临床应用受到生物利用度低、肾脏蓄积低等缺点的限制<sup>[7]</sup>。因此寻找新药物、新方法减少顺铂肾毒性的发生,更充分地发挥顺铂在治疗肿瘤中的优势,是目前亟待解决的关键问题。

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.或光果甘草 *G. glabra*

*L.* 的干燥根茎。传统中医药理论认为甘草具有补中益气、健脾益肾的功效,有“解百草毒”的传统美誉<sup>[8-9]</sup>。现代研究表明甘草提取物或其单体成分对庆大霉素<sup>[10]</sup>、脂多糖<sup>[11]</sup>等多种药物诱导的 AKI 具有明确治疗作用。课题组前期研究结果表明,甘草水煎液对顺铂诱导的急性肾损伤 (cisplatin-induced acute kidney injury, CI-AKI) 也具有较好的保护作用,可显著降低 CI-AKI 模型大鼠血清肌酐 (serum creatinine, SCr)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 水平及肾脏指数,保护大鼠肾小管上皮细胞免受顺铂肾毒性损伤<sup>[12]</sup>。甘草多糖 (*Glycyrrhiza* polysaccharide, GCP) 作为甘草的主要成分之一,具有抗氧化、抗炎、免疫调节、抗肿瘤等多种生物学活性<sup>[13-14]</sup>。有研究表明,GCP 能够通过调控核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2,

Nrf2) 信号通路, 抑制妊娠期暴露于代森锰锌的仔鼠肾脏细胞铁死亡, 进而改善肾损伤<sup>[15]</sup>, 但 GCP 对 CI-AKI 是否具有保护作用尚未见相关研究。铁死亡是一种由铁依赖性脂质过氧化引起的新型细胞死亡方式, 研究证实抑制铁死亡可显著改善人肾小管上皮细胞的病理损伤<sup>[16]</sup>, 而 Nrf2 可通过调节氧化应激和脂质过氧化来改善铁死亡, 进而发挥对 CI-AKI 模型肾功能的保护作用<sup>[17]</sup>。基于此, 本研究拟通过体内外实验探讨 GCP 调控 Nrf2 信号通路对肾脏细胞铁死亡的影响, 研究 GCP 对 CI-AKI 的保护作用及作用机制, 以期对中药治疗 AKI 提供参考, 为甘草的肾脏保护作用提供一定的科学依据。

## 1 材料

### 1.1 动物与细胞

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 180~220 g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司, 生产许可证号 SYXK (鲁) 2023 0004。动物饲养于山东省中医药研究院, 温度 (23±2) °C, 相对湿度 (55±5) %, 光暗循环为 12h/12h。动物实验经山东省中医药研究院伦理委员会批准 (批准号 SDZYY20230317004)。

人肾小管上皮细胞 HK-2 (批号 CL-0109) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.2 药品与试剂

GCP (质量分数 >95%, 批号 CY230901) 购自陕西慈缘生物技术有限公司; 顺铂、Nrf2 抑制剂 ML385 (批号分别为 447790、281591) 购自美国 MedChem Express 公司; 胎牛血清、DMEM/F12 培养基 (批号分别为 2440101、6125426) 购自美国 Gibco 公司; SCr 试剂盒、BUN 试剂盒 (批号分别为 20240701、20240905) 购自南京建成生物工程研究所; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色试剂盒、过碘酸雪夫 (periodic acid-schiff, PAS) 染色试剂盒、还原性谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 试剂盒、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒、青链霉素混合液 (批号分别为 20240706、20240725、2501006001、2501009002、2500020003) 购自北京索莱宝科技有限公司; 一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒、增强型 CCK-8 试剂盒、活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 检测试剂盒、DAPI 染色液 (批号分别为 C1090、101623240430、A147250113、C1006) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 大鼠白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 检测试剂盒、IL-6 检测试剂盒、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis

factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 检测试剂盒、亚铁离子比色法试剂盒 (批号分别为 WK06XZD89426、WK04P4TJ8779、WK050LN29547、WWW07P2L65350) 购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司; FerroOrange 亚铁离子荧光探针 (批号 1101X250086) 购自上海懋康生物科技有限公司; Omni-Easy™ 即用型 BCA 蛋白定量试剂盒、蛋白酶抑制剂混合液、ECL 显影液 (批号分别为 03942450、01881300、039321000) 购自上海雅酶生物医药科技有限公司; 蛋白质常规相对分子质量标记 (1×10<sup>4</sup>~1.8×10<sup>5</sup>, 批号 3073761) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 肾损伤分子-1 (kidney injury molecule-1, KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 抗体 (批号分别为 BA3537、PB9609) 购自武汉博士德生物工程有限公司; B 淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、Nrf2、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸醌脱氢酶 1 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate quinone oxidoreductase 1, NQO1)、Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)、铁蛋白轻链 (ferritin light chain, FTL)、 $\beta$ -actin、Lamin B1、HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (批号分别为 00168658、10024976、23006151、10017439、10016784、10017389、10026631、00139404、00168405、10004156、10026670、20001472、20000486) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; 剪切型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cleaved cysteine-aspartate protease-3, cleaved Caspase-3)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)、铁蛋白重链 1 (ferritin heavy chain 1, FTH1) 抗体 (批号分别为 22、12、8) 购自美国 CST 公司。

### 1.3 仪器

HP30 型自动组织脱水机 (达科为深圳医疗设备有限公司); BM450A 型包埋机 (常州派斯杰医疗设备有限公司); 531CM-Y43 型轮转式切片机 (德国 Leica 公司); SWE-3D 型研磨仪 (武汉塞维尔生

物科技有限公司); xMark 型多功能酶标仪(美国 Bio-Rad 公司); 5430R 型台式冷冻型高速离心机(德国 Eppendorf 公司); Eclipse Ti 型激光共聚焦显微镜(日本 Nikon 公司); Tanon5200 型全自动化学发光图像分析仪(上海天能科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、造模及给药

40 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组、单纯 GCP 高剂量(100 mg/kg)组、模型组、GCP 低剂量(50 mg/kg)组、GCP 高剂量(100 mg/kg)组, 每组 8 只。根据前期预实验结果和文献确定给药剂量, 单纯 GCP 高剂量组、GCP 低剂量组、GCP 高剂量组 ig GCP, 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 1 次/d, 连续给药 10 d。给药第 7 天, 模型组、GCP 低剂量组、GCP 高剂量组采用一次性 ip 8 mg/kg 顺铂诱导 AKI 大鼠模型, 对照组和单纯 GCP 高剂量组 ip 等体积的生理盐水。

### 2.2 样本采集

末次给药后 1 h<sup>[12]</sup>, 大鼠经异氟烷麻醉, 腹主动脉取血, 静置 0.5 h, 4 °C、3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 冻存于-80 °C 冰箱备用; 以 4 °C 生理盐水进行心脏灌流, 至肾脏变白后取肾脏, 部分肾脏生理盐水灌洗后使用多聚甲醛溶液进行固定, 用于 HE 染色和 PAS 染色, 其余组织切碎置于冻存管中-80 °C 冰箱备用。

### 2.3 肾功能检测

血清样本 4 °C 解冻, 按照试剂盒说明书检测大鼠血清中 SCr 和 BUN 水平。

### 2.4 HE 染色和 PAS 染色观察大鼠肾脏组织病理学变化

多聚甲醛固定肾脏组织, 经石蜡包埋、切片后分别进行 HE 染色和 PAS 染色, 光学显微镜下观察肾脏近端肾小管刷状缘脱落、上皮脱落、上皮水肿、炎细胞浸润、蛋白质管型及细胞管型情况。

### 2.5 大鼠血清中炎症因子水平的检测

血清样本 4 °C 解冻, 按照试剂盒说明书检测大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平。

### 2.6 TUNEL 检测大鼠肾脏组织细胞凋亡

取大鼠肾组织石蜡切片, 进行脱蜡和复水处理, 按照说明书进行 TUNEL 染色, 计算 TUNEL 阳性率。

### 2.7 大鼠肾组织 GSH、MDA 和 Fe<sup>2+</sup>水平检测

肾组织样本 4 °C 解冻, 按照试剂盒说明书检测

肾组织中 GSH、MDA 和 Fe<sup>2+</sup>的水平。

### 2.8 Western blotting 检测大鼠肾组织 KIM-1、NGAL、Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Keap1、Nrf2、NQO1、HO-1、GPX4、SLC7A11、ACSL4、FTH1、FTL 蛋白表达

肾组织样本 4 °C 解冻, 加入 RIPA 裂解液裂解后, 低温研磨离心提取蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度, 随后与 loading buffer 混合, 100 °C 加热 10 min 使蛋白变性。蛋白样品经 8% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后, 加入配制好的一抗 NGAL (1:1 000)、KIM-1 (1:1 000)、Bcl-2 (1:2 000)、Bax (1:10 000)、cleaved Caspase-3 (1:1 000)、Keap1 (1:3 000)、Nrf2 (1:4 000)、NQO1 (1:10 000)、HO-1 (1:4 000)、GPX4 (1:3 000)、SLC7A11 (1:1 000)、ACSL4 (1:6 000)、FTH1 (1:1 000)、FTL (1:5 000)、 $\beta$ -actin (1:50 000)、Lamin B1 (1:50 000), 4 °C 孵育过夜。次日, 经 TBST 洗膜后, 加入相应二抗 (1:8 000), 室温孵育 2 h。采用 ECL 法曝光成像后, 使用 Image J 软件分析条带灰度值。

### 2.9 细胞分组、造模及给药

HK-2 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。设置对照组、模型组、GCP 组、GCP+ML385 组。对照组和模型组正常培养, GCP+ML385 组培养基中加入 2  $\mu$ mol/L ML385 刺激 1 h 后, GCP 组和 GCP+ML385 组培养基中加入 800  $\mu$ g/mL GCP 刺激细胞 24 h<sup>[18]</sup>。除对照组外, 其余组加入 40  $\mu$ mol/L 顺铂继续培养 24 h。

### 2.10 CCK-8 法检测细胞活力

**2.10.1 GCP 对 HK-2 细胞活力的影响** HK-2 细胞以  $8 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板中, 当细胞贴壁生长至 80%, 分别加入 1、25、50、100、200、400、800、1 600  $\mu$ g/mL GCP 培养 24 h, 另设置对照组(加入不含 GCP 的培养基)。每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8 试剂, 于 37 °C 孵育 2 h, 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(A)值, 考察 GCP 对 HK-2 细胞的毒性。

**2.10.2 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞活力的影响** 按“2.9”项下进行分组和给药, 按“2.10.1”项下方测定细胞活力。

### 2.11 DCFH-DA 荧光探针检测细胞内 ROS 水平

无血清培养基稀释 DCFH-DA (1:1 000), 使其终浓度为 10  $\mu$ mol/L。按“2.9”项下进行分组和给药, 加入稀释后的 DCFH-DA, 于 37 °C 培养 20

min。用 HBSS 洗涤细胞 3 次，除去未进入细胞内的 DCFH-DA，激光共聚焦显微镜下观察并拍照。

**2.12 FerroOrange 染色检测细胞内 Fe<sup>2+</sup>含量**

无血清培养基稀释 FerroOrange 储存液，使其终浓度为 1 μmol/L。按“2.9”项下进行分组和给药，加入稀释后的 FerroOrange 溶液，于 37 °C 避光孵育 30 min，激光共聚焦显微镜下观察并拍照。

**2.13 免疫荧光法检测细胞内 Nrf2 核转位**

将 HK-2 细胞接种于共聚焦小皿中，按“2.9”项下进行分组和给药，加入 4%多聚甲醛于室温固定 20 min，用 0.5% TritonX-100 破膜 10 min，加入 5%牛血清白蛋白于 37 °C 封闭 1 h，加入 Nrf2 抗体稀释液，4 °C 孵育过夜。PBS 清洗 3 次，加入荧光二抗，室温避光孵育 1 h，PBS 清洗 3 次后，加入

DAPI 染色试剂，室温避光染色 10 min，于激光共聚焦显微镜下观察并拍照。

**2.14 Western blotting 检测细胞 Nrf2、NQO1、HO-1、Bcl-2、Bax、GPX4、SLC7A11、ACSL4 蛋白表达**

按“2.9”项下进行分组和给药，收集细胞，加入 RIPA 裂解液提取蛋白，按“2.8”项下方法检测 Nrf2、NQO1、HO-1、Bcl-2、Bax、GPX4、SLC7A11、ACSL4 蛋白表达。

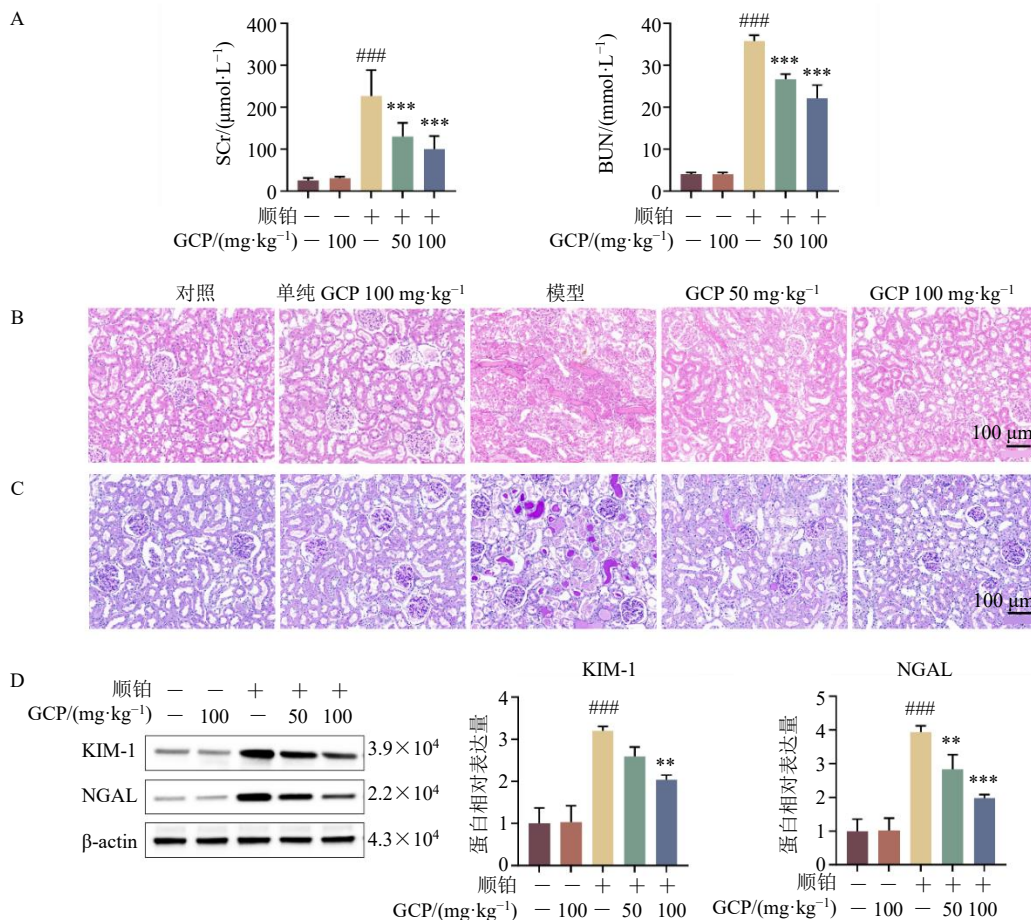
**2.15 统计学分析**

通过 GraphPad Prism 10.3 软件进行数据处理，数据以  $\bar{x} \pm s$  表示，多组间比较采用单因素方差分析。

**3 结果**

**3.1 GCP 对 CI-AKI 大鼠 SCr、BUN 水平的影响**

如图 1-A 所示，与对照组比较，模型组大鼠



A-各组大鼠血清中 SCr、BUN 水平；B、C-各组大鼠肾组织 HE 和 PAS 染色 (×200)；D-各组大鼠肾组织 KIM-1 和 NGAL 蛋白表达；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，图 2、3 同。

A-levels of Scr and BUN in serum of rats in each group; B, C-HE and PAS staining of renal tissues of rats in each group (×200); D-expressions of KIM-1 and NGAL proteins in renal tissues of rats in each group; \*P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001 vs control group; \*P<0.05 \*\*P<0.01 \*\*\*P<0.001 vs model group, same as Figs. 2, 3.

**图 1 GCP 对 CI-AKI 大鼠肾功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )**

**Fig. 1 Effect of GCP on renal function in CI-AKI rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )**

SCr、BUN 水平均显著升高 ( $P < 0.001$ )；与模型组比较，GCP 低、高剂量组大鼠 SCr、BUN 水平均显著降低 ( $P < 0.001$ )。

### 3.2 各组大鼠肾组织 HE、PAS 染色病理学形态

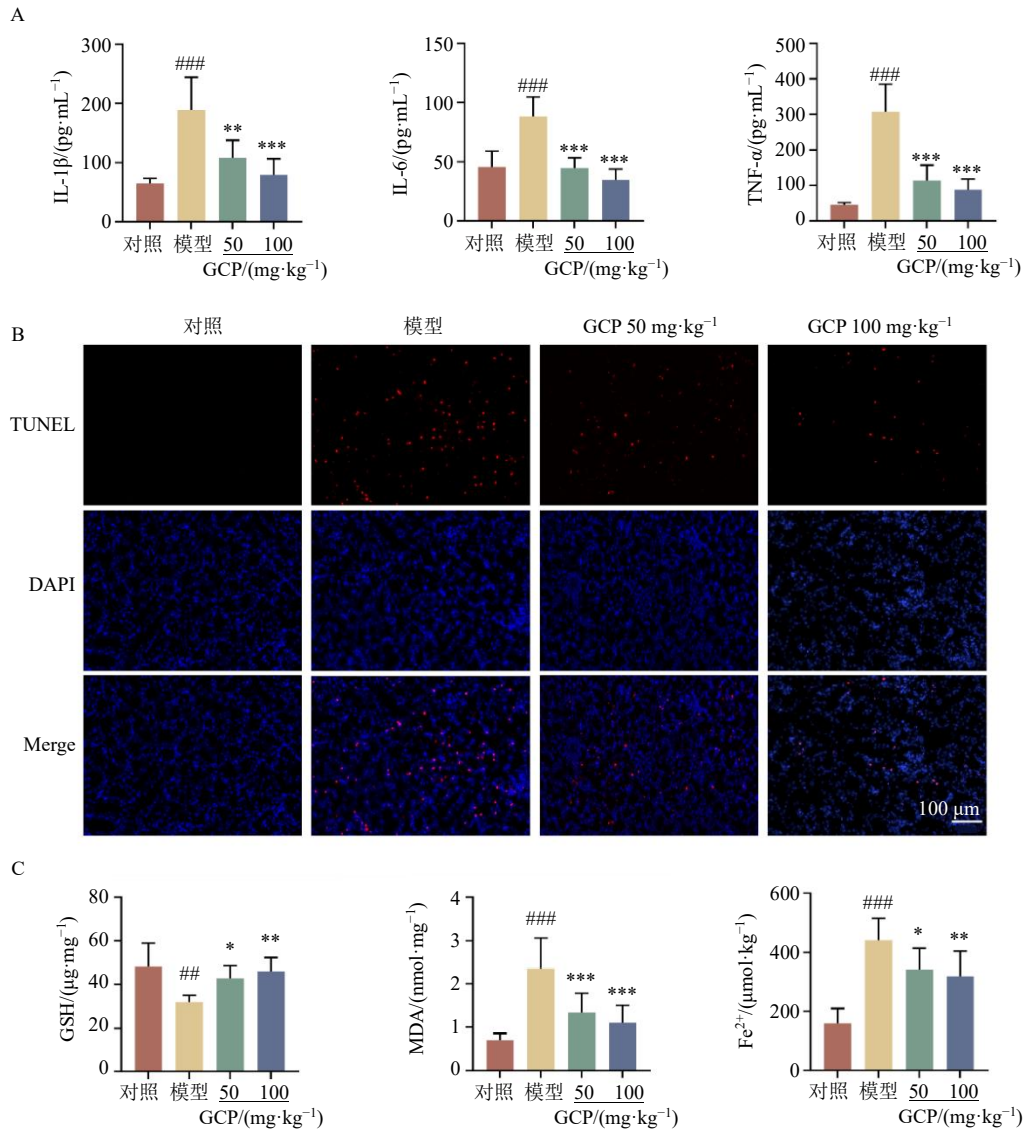
如图 1-B、C 所示，对照组肾脏组织肾小球和肾小管形态与结构正常，肾小管可观察到明显刷状缘；与对照组相比，模型组肾脏皮质组织出现刷状边界缺失、肾脏间质水肿、肾小管坏死和管型形成以及肾小管凋亡等病理损伤；与模型组相比，GCP 可改善大鼠肾脏组织病理损伤，且呈剂量相关性，表明 GCP 对 CI-AKI 大鼠具有一定的保护作用。

### 3.3 GCP 对 CI-AKI 大鼠肾组织中 KIM-1、NGAL 蛋白表达的影响

如图 1-D 所示，与对照组比较，模型组大鼠肾组织中 KIM-1、NGAL 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ )；与模型组比较，GCP 高剂量组大鼠肾组织中 KIM-1、NGAL 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )，GCP 低剂量组大鼠肾组织中 NGAL 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ )，且呈剂量相关性。

### 3.4 GCP 对 CI-AKI 大鼠血清中炎症因子水平的影响

如图 2-A 所示，与对照组比较，模型组大鼠血



A-各组大鼠血清中炎症因子水平；B-TUNEL 染色检测肾脏组织细胞凋亡 ( $\times 100$ )；C-各组大鼠肾组织 GSH、MDA 和 Fe<sup>2+</sup> 水平。

A-levels of inflammatory factors in serum of rats in each group; B-apoptosis of renal tissue cells detected by TUNEL staining ( $\times 100$ ); C-levels of GSH, MDA and Fe<sup>2+</sup> in renal tissues of rats in each group.

图 2 GCP 对 CI-AKI 大鼠炎症因子、凋亡、脂质过氧化和亚铁离子的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Fig. 2 Effect of GCP on inflammatory factors, apoptosis, lipid peroxidation and ferrous ion in CI-AKI rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著升高 ( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, GCP 各剂量组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 且呈剂量相关性。表明 GCP 可减轻 CI-AKI 大鼠的炎症反应。

### 3.5 GCP 对 CI-AKI 大鼠肾脏组织细胞凋亡的影响

如图 2-B 所示, 对照组肾脏组织几乎未见 TUNEL 阳性细胞; 顺铂可引起肾脏细胞发生细胞凋亡, 表现为模型组 TUNEL 阳性细胞 (红色) 数量明显增加。GCP 各剂量组 TUNEL 阳性细胞数量均有不同程度的减少, 其中 GCP 高剂量组作用最为明显。表明 GCP 可减轻 CI-AKI 大鼠肾脏细胞凋亡程度。

### 3.6 GCP 对 CI-AKI 大鼠肾组织 GSH、MDA 和 Fe<sup>2+</sup>水平的影响

如图 2-C 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肾

组织中 MDA、Fe<sup>2+</sup>水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), GSH 水平显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, GCP 各剂量组大鼠肾组织中 MDA、Fe<sup>2+</sup>水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ), GSH 水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 且呈剂量相关性。表明 GCP 能够显著提高抗氧化酶的活性, 从而改善 CI-AKI 大鼠肾组织中的氧化应激和铁沉积。

### 3.7 GCP 对 CI-AKI 大鼠肾组织 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Keap1、Nrf2、NQO1、HO-1、GPX4、SLC7A11、ACSL4、FTH1、FTL 蛋白表达的影响

如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肾组织中 cleaved Caspase-3、Keap1、ACSL4 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), Bcl-2/Bax、核 Nrf2、NQO1、HO-1、GPX4、SLC7A11、FTH1、FTL 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ); 与

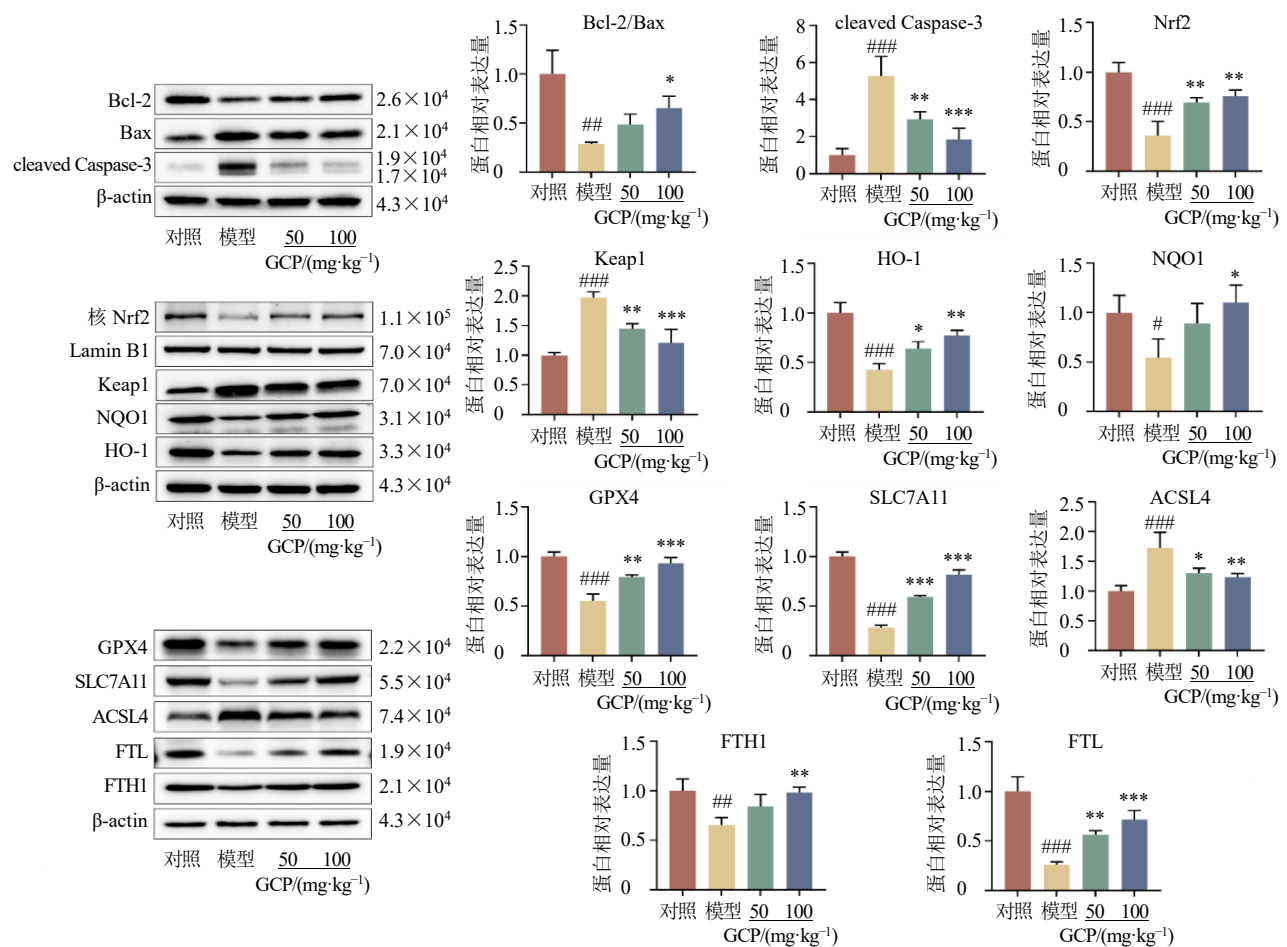


图 3 GCP 对 CI-AKI 大鼠肾组织中 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Keap1、核 Nrf2、NQO1、HO-1、GPX4、SLC7A11、ACSL4、FTH1、FTL 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

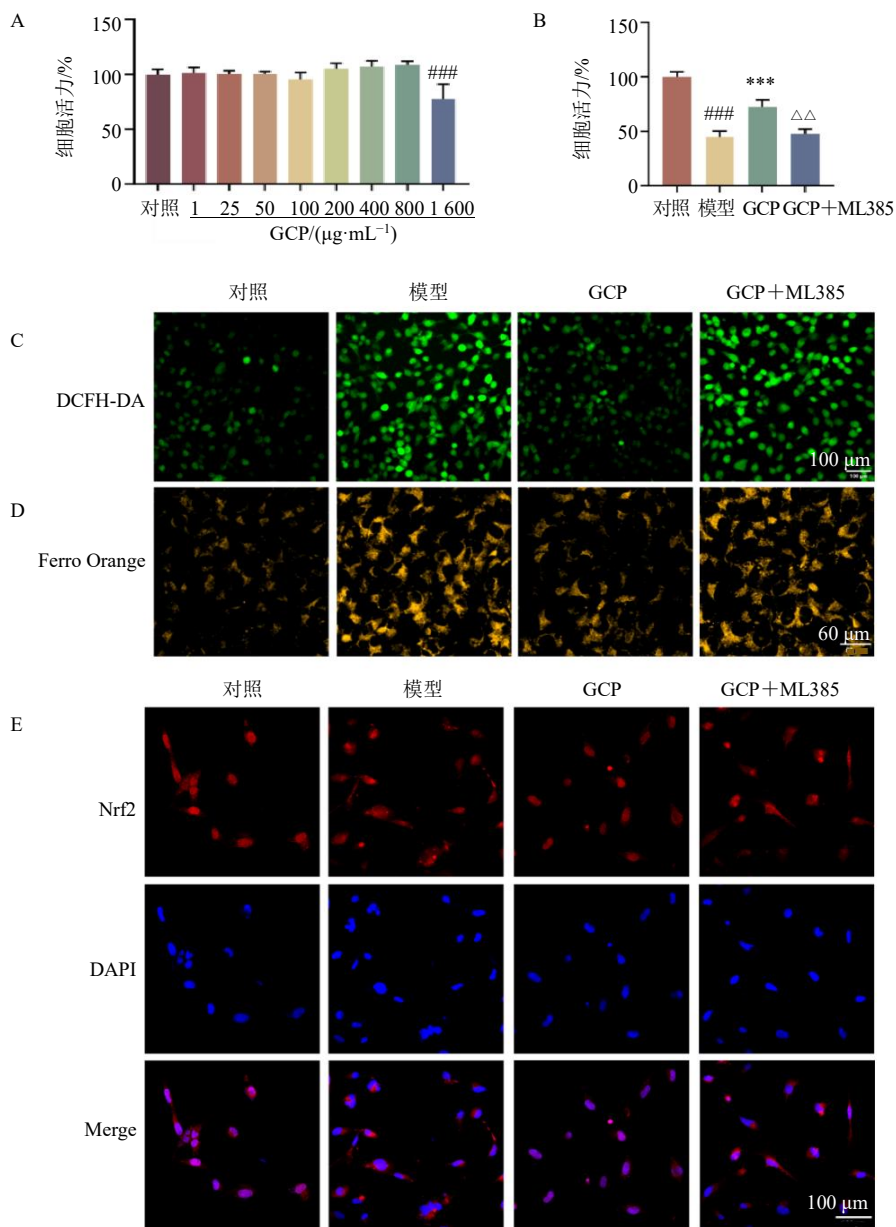
Fig. 3 Effect of GCP on protein expressions of Bcl-2, Bax, cleaved Caspase-3, Keap1, nuclear Nrf2, NQO1, HO-1, GPX4, SLC7A11, ACSL4, FTH1 and FTL in renal tissue of CI-AKI rats ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

模型组比较, GCP 各剂量组大鼠肾组织中 cleaved Caspase-3、Keap1、ACSL4 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001), 核 Nrf2、HO-1、GPX4、SLC7A11、FTL 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、0.01、0.001), GCP 高剂量组 Bcl-2/Bax、核 Nrf2、

NQO1、FTH1 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ 、0.01), 且呈剂量相关性。

### 3.8 GCP 对 HK-2 细胞活力的影响

如图 4-A 所示, 1 600  $\mu\text{g/mL}$  GCP 处理 HK-2 细胞 24 h 后, 细胞活力显著下降 ( $P < 0.001$ ), 而



A-不同质量浓度的 GCP 对 HK-2 细胞活力的影响; B-GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞活力的影响; C-DCFH-DA 染色检测 ROS 水平 ( $\times 20$ ); D-Ferro Orange 染色检测  $\text{Fe}^{2+}$  含量 ( $\times 80$ ); E-免疫荧光检测 Nrf2 核转位 ( $\times 30$ ); 与对照组比较: ### $P < 0.001$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 GCP 组比较:  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$   $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ , 图 5 同。

A-effect of different concentrations of GCP on viability of HK-2 cells; B-effect of GCP on viability of cisplatin-induced HK-2 cells; C-ROS level detected by DCFH-DA staining ( $\times 20$ ); D- $\text{Fe}^{2+}$  content detected by Ferro Orange staining ( $\times 80$ ); E-Nrf2 nuclear translocation detected by immunofluorescence ( $\times 30$ ); ### $P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group;  $\Delta P < 0.05$   $\Delta\Delta P < 0.01$   $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$  vs GCP group, same as Fig. 5.

图 4 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞活力、ROS、 $\text{Fe}^{2+}$  水平和 Nrf2 核转位的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 4 Effect of GCP on viability, ROS,  $\text{Fe}^{2+}$  levels and Nrf2 nuclear translocation in cisplatin-induced HK-2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



1~800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  GCP 处理 HK-2 细胞 24 h 后, 细胞活力无明显变化。因此, 选取 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  GCP 用于后续实验。如图 4-B 所示, 与对照组比较, 模型组细胞活力显著下降 ( $P < 0.001$ ); 与模型组比较, GCP 组细胞活力显著上升 ( $P < 0.001$ ); 与 GCP 组比较, GCP+ML385 组细胞活力显著下降 ( $P < 0.01$ )。

### 3.9 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞 ROS 水平的影响

如图 4-C 所示, 与对照组比较, 模型组细胞 ROS 荧光强度显著上升; 与模型组比较, GCP 组细胞 ROS 荧光强度显著下降; 与 GCP 组比较, GCP+ML385 组细胞 ROS 荧光强度显著上升。

### 3.10 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞 $\text{Fe}^{2+}$ 水平的影响

如图 4-D 所示, 与对照组比较, 模型组细胞  $\text{Fe}^{2+}$

含量显著上升; 与模型组比较, GCP 组细胞  $\text{Fe}^{2+}$  含量显著下降; 与 GCP 组比较, GCP+ML385 组细胞  $\text{Fe}^{2+}$  含量显著上升。

### 3.11 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞 Nrf2 核转位的影响

如图 4-E 所示, 与对照组比较, 模型组细胞核 Nrf2 荧光强度明显下降; 与模型组相比, GCP 组细胞核 Nrf2 荧光强度明显上升; 与 GCP 组比较, GCP+ML385 组细胞核 Nrf2 荧光强度明显下降。

### 3.12 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞 Nrf2 信号通路相关蛋白表达的影响

如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组细胞 ACSL4 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.001$ ), 核 Nrf2、

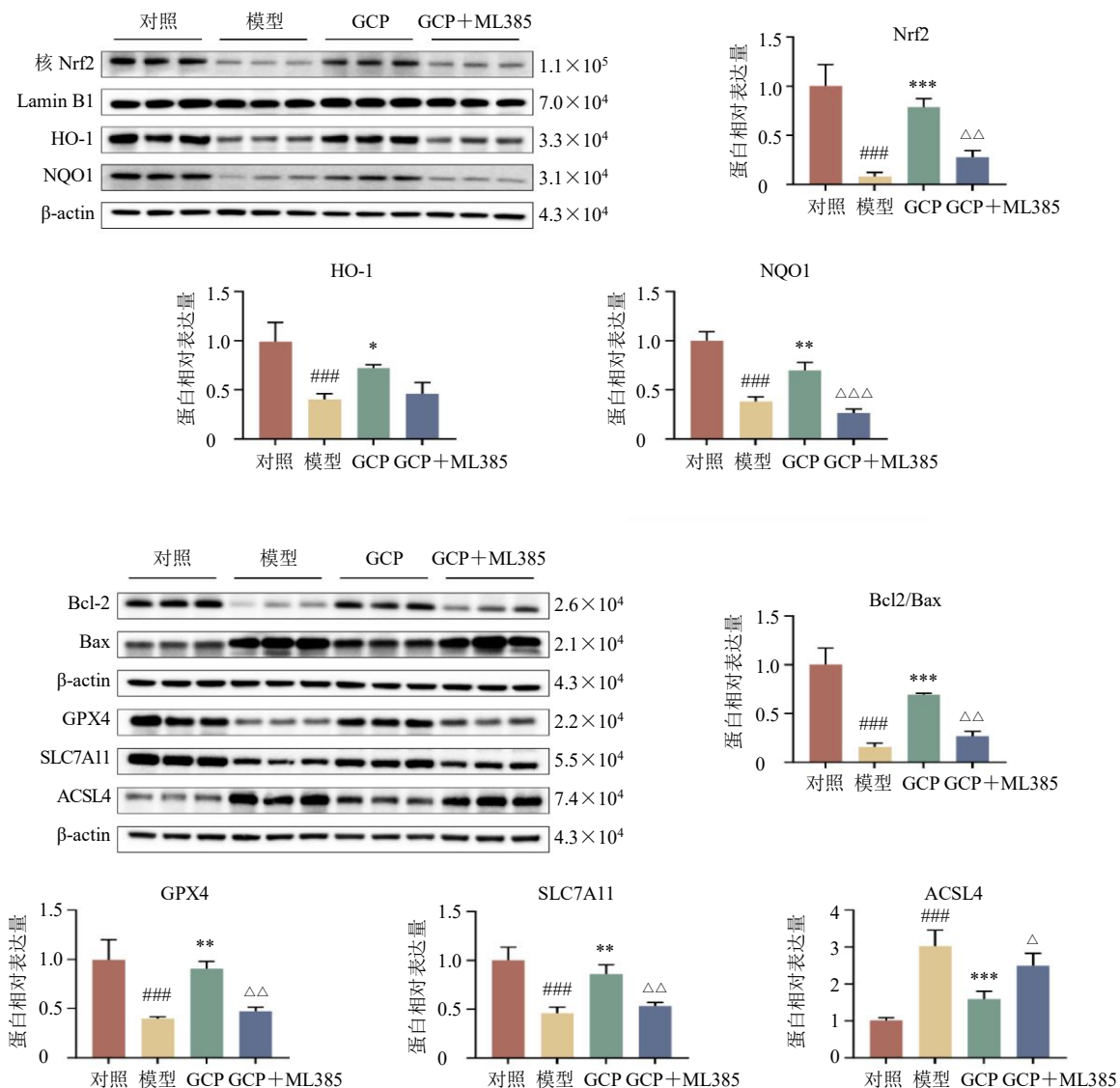


图 5 GCP 对顺铂诱导的 HK-2 细胞 Nrf2 信号通路相关蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 5 Effect of GCP on expressions of Nrf2 signaling pathway-related proteins in cisplatin-induced HK-2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

NQO1、HO-1、Bcl-2/Bax、GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平显著降低( $P<0.001$ );与模型组比较,GCP 组细胞 ACSL4 蛋白表达水平显著降低( $P<0.001$ ),核 Nrf2、NQO1、HO-1、Bcl2/Bax、GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ );与 GCP 组比较,GCP+ML385 组细胞 ACSL4 蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ ),核 Nrf2、NQO1、Bcl-2/Bax、GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平显著降低( $P<0.01$ 、 $0.001$ )。

#### 4 讨论

从中医学角度,顺铂毒性属于“药毒”范畴,表现为多系统毒性损害或功能异常,应以扶正解毒、调理脏腑功能为主要治则治法。甘草为传统补虚中药,调和脏腑与解毒功效是其独特之处,能够缓解毒性药物引起的毒性反应<sup>[19-20]</sup>。课题组前期研究已经证实甘草水煎液对 CI-AKI 具有良好的保护作用,而 GCP 作为甘草中重要的水溶性活性多糖,可能是甘草发挥保护作用的重要药效物质基础。因此本研究围绕 GCP 开展了系统研究。

顺铂可通过诱导细胞代谢异常、破坏氧化还原平衡,显著增加 ROS 的生成,进而诱发氧化应激和炎症反应,最终导致脂质过氧化依赖性铁死亡的发生<sup>[21]</sup>。肾脏作为一个高血流量、高代谢率的器官,特别容易受到 ROS 的影响,其过量产生则是导致几乎所有肾脏疾病发生和发展的核心环节<sup>[22-24]</sup>。因此,抑制 ROS 的产生和脂质过氧化依赖性铁死亡是防治 CI-AKI 的关键。本研究发现,GCP 能显著降低顺铂诱导后 ROS 水平的升高,下调 Bax、cleaved Caspase-3 蛋白表达,上调 Bcl-2 蛋白表达,降低大鼠肾组织 TUNEL 阳性细胞数和炎症因子水平,表明 GCP 具有抗炎、抗凋亡作用。此外,GCP 能显著减少顺铂诱导后脂质过氧化和亚铁离子的积累,抑制肾脏细胞的铁死亡,进而改善 CI-AKI。

铁死亡是一种铁依赖性的新型程序性细胞死亡方式。其主要特征是铁离子累积和脂质过氧化的大量生成,导致细胞膜系统发生氧化性损伤最终破裂<sup>[25]</sup>。Nrf2 是参与氧化应激的关键调节因子,当细胞处于氧化应激条件下时,Nrf2 与 Keap1 分离并移位到细胞核中,启动抗氧化酶的转录,通过结合启动子区域中的抗氧化反应元件调节 HO-1 和 NQO1 的表达,并直接调节与铁死亡密切相关的靶标如 GPX4、SLC7A11 和 ACSL4,从而有效提高细胞对铁死亡过程中产生的氧化应激的应对能力<sup>[26-28]</sup>。

Nrf2 还能上调细胞内储存铁离子的元件 FTH1 和 FTL 的表达,增强细胞对铁离子的储存能力从而降低铁离子浓度来抵抗铁死亡<sup>[29]</sup>。GPX4 是抑制铁死亡的关键蛋白,可以清除细胞内大量积累的脂质过氧化物并维持细胞膜的稳定性来对抗铁死亡,而 SLC7A11 是 Xc<sup>-</sup>系统的核心组成部分,可通过影响 GSH 的生物合成,从而有效遏制脂质过氧化这一铁死亡的核心执行环节。ACSL4 是铁死亡通路上的一个核心执行酶,它通过将特定的多不饱和脂肪酸“装载”到细胞膜上,加速细胞脂质过氧化、破坏细胞膜完整性,促进细胞铁死亡<sup>[30-32]</sup>。本研究发现 GCP 能显著抑制顺铂诱导后大鼠肾脏组织及 HK-2 细胞中 Keap1、ACSL4 蛋白表达的升高和 Nrf2、HO-1、NQO1、GPX4、SLC7A11、FTH1、FTL 蛋白表达的下降。在 GCP 干预的同时给予 Nrf2 抑制剂 ML385,发现 ML385 能够干扰 GCP 对顺铂诱导 HK-2 细胞损伤的积极影响,其细胞内 ROS 和 Fe<sup>2+</sup> 含量较 GCP 组显著上升。进一步证明 Nrf2 在 GCP 减轻铁死亡改善 CI-AKI 中的确切作用。

Nrf2 作为治疗 CI-AKI 的关键药物靶点,现有研究表明多个中药活性成分通过该通路实现对 CI-AKI 的保护作用,如芦荟大黄素可通过激活 Nrf2 信号通路抑制铁死亡改善 CI-AKI 小鼠的肾脏功能<sup>[33]</sup>,姜黄素可通过调控 Nrf2 信号通路,减轻 CI-AKI 大鼠的细胞凋亡与氧化应激反应,实现肾脏保护效应<sup>[34]</sup>。然而单体成分在安全性方面往往存在一定局限,已有研究报道姜黄素在高剂量下可能引起胃肠道刺激<sup>[35]</sup>,芦荟大黄素则存在潜在的肝损伤风险<sup>[36]</sup>。相比之下,多糖安全性通常优于活性单体,现有研究中尚未见 GCP 在有效剂量下的器官毒性。也进一步提示 GCP 可作为化疗诱导 AKI 的潜在治疗药物,具有较高的开发价值,有望成为“一药多效”的肾脏保护剂,尤其适用于铁死亡相关的复杂病理状态。后续研究需结合临床转化医学手段,深入探索其临床应用潜力,推动这一传统中药成分向现代精准治疗药物的跨越。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Ostermann M, Lumlertgul N, Jeong R, *et al.* Acute kidney injury [J]. *Lancet*, 2025, 405(10474): 241-256.
- [2] Zhang M, Liu Q, Meng H, *et al.* Ischemia-reperfusion injury: Molecular mechanisms and therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 12.

- [3] Liu H, Zou J H, Li X T, *et al.* Drug delivery for platinum therapeutics [J]. *J Control Release*, 2025, 380: 503-523.
- [4] White K C, Serpa-Neto A, Hurford R, *et al.* Sepsis-associated acute kidney injury in the intensive care unit: Incidence, patient characteristics, timing, trajectory, treatment, and associated outcomes. A multicenter, observational study [J]. *Intensive Care Med*, 2023, 49(9): 1079-1089.
- [5] Volarevic V, Djokovic B, Jankovic M G, *et al.* Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity: A balance on the knife edge between renoprotection and tumor toxicity [J]. *J Biomed Sci*, 2019, 26(1): 25.
- [6] Xie Y H, Wang L, Li M L, *et al.* Role of myo-inositol in acute kidney injury induced by cisplatin [J]. *Toxicology*, 2023, 499: 153653.
- [7] Fang C Y, Lou D Y, Zhou L Q, *et al.* Natural products: Potential treatments for cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(12): 1951-1969.
- [8] Wang X Y, Zhang H, Chen L L, *et al.* Liquorice, a unique “guide drug” of traditional Chinese medicine: A review of its role in drug interactions [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(3): 781-790.
- [9] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展 [J]. *中草药*, 2021, 52(8): 2438-2448.
- [10] Aksoy N, Dogan Y, Iriadam M, *et al.* Protective and therapeutic effects of licorice in rats with acute tubular necrosis [J]. *J Ren Nutr*, 2012, 22(3): 336-343.
- [11] Hu J, Liu J. Licochalcone A attenuates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by inhibiting NF- $\kappa$ B activation [J]. *Inflammation*, 2016, 39(2): 569-574.
- [12] 孙娜, 化敏, 杨青, 等. 基于代谢组学的甘草及其蜜炙品改善顺铂致大鼠急性肾损伤的作用机制研究 [J]. *药学报*, 2023, 58(7): 1761-1769.
- [13] Song W D, Wang Y Y, Li G C, *et al.* Modulating the gut microbiota is involved in the effect of low-molecular-weight *Glycyrrhiza* polysaccharide on immune function [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(2): 2276814.
- [14] Yang Y J, Yu M L, Mo Y L, *et al.* Metal-ion-binding properties of *Glycyrrhiza* polysaccharide extracted from Licorice: Structural characterization and potential application in drug delivery [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 346: 122658.
- [15] 张林超. 代森锰锌对小鼠的毒性损伤及中药多糖对其缓解作用研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2021.
- [16] Bayır H, Dixon S J, Tyurina Y Y, *et al.* Ferroptotic mechanisms and therapeutic targeting of iron metabolism and lipid peroxidation in the kidney [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(5): 315-336.
- [17] Hu J Q, Gu W J, Ma N, *et al.* Leonurine alleviates ferroptosis in cisplatin-induced acute kidney injury by activating the Nrf2 signalling pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179(15): 3991-4009.
- [18] Chen X Y, Yang Z, Liao M J, *et al.* *Ginkgo* flavone aglycone ameliorates atherosclerosis via inhibiting endothelial pyroptosis by activating the Nrf2 pathway [J]. *Phytother Res*, 2024, 38(11): 5458-5473.
- [19] Zhang M, Wang C, Cai H L, *et al.* Licorice extracts attenuate nephrotoxicity induced by brucine through suppression of mitochondria apoptotic pathway and STAT3 activation [J]. *Curr Med Sci*, 2019, 39(6): 890-898.
- [20] Chauhan P, Sharma H, Kumar U, *et al.* Protective effects of *Glycyrrhiza glabra* supplementation against methotrexate-induced hepato-renal damage in rats: An experimental approach [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 263: 113209.
- [21] Mirzaei S, Hushmandi K, Zabolian A, *et al.* Elucidating role of reactive oxygen species (ROS) in cisplatin chemotherapy: A focus on molecular pathways and possible therapeutic strategies [J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2382.
- [22] Kishi S, Nagasu H, Kidokoro K, *et al.* Oxidative stress and the role of redox signalling in chronic kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20(2): 101-119.
- [23] He Y, Peng E J, Ba X Z, *et al.* ROS responsive cerium oxide biomimetic nanoparticles alleviates calcium oxalate crystals induced kidney injury via suppressing oxidative stress and M1 macrophage polarization [J]. *Small*, 2025, 21(3): e2405417.
- [24] 白晶雪, 雷根平, 王婷, 等. 基于铁死亡探讨中医药干预肾脏疾病作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(18): 6393-6401.
- [25] 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.
- [26] 罗美美, 朱星宇, 胡乐涛, 等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路的中药有效成分缓解肝损伤研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(7): 1638-1644.
- [27] Wang J Y, Zhuang H W, Yang X C, *et al.* Exploring the mechanism of ferroptosis induction by sappanone A in cancer: Insights into the mitochondrial dysfunction mediated by NRF2/xCT/GPX4 axis [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(13): 5145-5161.
- [28] 张梦, 萧闵, 蔡婷, 等. 三七皂苷 R<sub>1</sub> 调控 Nrf2 介导的铁死亡途径改善 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠动脉粥样硬化 [J]. *中草*

- 药, 2024, 55(15): 5135-5144.
- [29] Chen Y, Zhang J Q, Tian Y, *et al.* Iron accumulation in ovarian microenvironment damages the local redox balance and oocyte quality in aging mice [J]. *Redox Biol*, 2024, 73: 103195.
- [30] Liu J, Kang R, Tang D L. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis [J]. *FEBS J*, 2022, 289(22): 7038-7050.
- [31] Zheng J S, Conrad M. Ferroptosis: When metabolism meets cell death [J]. *Physiol Rev*, 2025, 105(2): 651-706.
- [32] 董佩, 袁普卫, 康武林, 等. 铁死亡相关肌肉骨骼系统疾病的概述及中医药干预进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(21): 7202-7212.
- [33] Dai Q F, Xiang Y, Qiang R R, *et al.* Aloe-emodin mitigates cisplatin-induced acute kidney injury by Nrf2-mediated ferroptosis regulation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2025, 241: 104-116.
- [34] El-Gohary R M, Ghalwash A A, Awad M M, *et al.* Novel insights into the augmented effect of curcumin and liraglutide in ameliorating cisplatin-induced nephrotoxicity in rats: Effects on oxidative stress, inflammation, apoptosis and pyroptosis via GSK-3 $\beta$  [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2023, 749: 109801.
- [35] Cai Y, Huang C M, Zhou M Y, *et al.* Role of curcumin in the treatment of acute kidney injury: Research challenges and opportunities [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154306.
- [36] Luo H M, Ji X Y, Zhang M Y, *et al.* Aloe-emodin: Progress in pharmacological activity, safety, and pharmaceutical formulation applications [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2024, 24(19): 1784-1798.

[责任编辑 李亚楠]