

长梗冬青苷抑制铁死亡缓解阿霉素诱导小鼠心肌损伤的作用机制

谢晓芸^{1,2}, 苏倩^{1,2}, 宁玉洁^{1,2}, 刘璟钰^{1,2}, 廖莲婷^{1,2}, 杨世林^{1,2}, 苑仁玮坤^{1,2*}, 高红伟^{1*}

1. 广西中医药大学中医药壮瑶医药研究院, 广西 南宁 530020

2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530020

摘要: 目的 探讨长梗冬青苷 (pedunculoside, PE) 对阿霉素 (doxorubicin, DOX) 诱导的心肌损伤的保护作用及机制。方法 体外采用 DOX 刺激 AC16 心肌细胞构建铁死亡模型, 体内通过 ip DOX 诱导小鼠心肌损伤模型。给予 PE 或铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 (Fer-1) 干预后, 采用 MTT 法检测细胞活力; 流式细胞术检测细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平; 免疫荧光法检测细胞 ROS、脂质过氧化物和 Fe^{2+} 水平; 分子对接检测 PE 与酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、膜铁转运蛋白 1 (ferroportin 1, FPN1)、铁蛋白重链 1 (ferritin heavy chain 1, FTH1)、铁蛋白 (ferritin) 的结合能力; 试剂盒检测细胞和心脏组织内丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 水平; Western blotting 检测细胞和心脏组织内 ACSL4、PTGS2、FPN1、ferritin、FTH1 和铁蛋白轻链 (ferritin light chain, FTL) 的表达水平; 超声心动仪检测小鼠心脏功能; 血常规检测全血中性粒细胞、淋巴细胞和红细胞的水平; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE)、Masson 染色观察心脏组织的病理变化; qRT-PCR 检测心脏组织中 PTGS2、利钠肽 B (natriuretic peptide B, Nppb)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的 mRNA 表达水平。结果 与模型组比较, PE 能抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞内 ROS 水平、脂质过氧化物和 Fe^{2+} 水平的升高 ($P < 0.001$), 降低 AC16 细胞和心脏组织中 MDA 水平 ($P < 0.001$)。分子对接结果显示, PE 与 ACSL4、PTGS2、FPN1、ferritin、FTH1 蛋白有较稳定的结合能力。Western blotting 结果显示, PE 能抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞和心脏组织中 ACSL4、PTGS2 蛋白表达的升高和 FPN1、FTH1、FTL、ferritin 蛋白表达的降低 ($P < 0.05$ 、 0.001)。此外, PE 能够改善 DOX 诱导的心肌损伤模型小鼠的心脏功能 ($P < 0.01$ 、 0.001), 抑制中性粒细胞百分比、中性粒细胞数量、红细胞数量的升高和淋巴细胞百分比的降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), 缓解心脏组织的病理损伤, 下调 PTGS2、Nppb、IL-1 β 的 mRNA 表达水平 ($P < 0.001$), 抑制心脏炎症反应。结论 PE 能够改善 DOX 诱导的 AC16 细胞铁死亡, 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤有保护作用, 其机制可能是通过抑制铁死亡缓解心肌损伤。

关键词: 长梗冬青苷; 阿霉素; 铁死亡; 炎症; 心肌损伤

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)17-6220-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.17.012

Mechanism of pedunculoside in ameliorating doxorubicin-induced myocardial injury in mice via inhibition of ferroptosis

XIE Xiaoyun^{1, 2}, SU Qian^{1, 2}, NING Yujie^{1, 2}, LIU Jingyu^{1, 2}, LIAO Lianting^{1, 2}, YANG Shilin^{1, 2}, YUAN Renyikun^{1, 2}, GAO Hongwei¹

1. Institute of Traditional Chinese Medicine and Zhuang-Yao Ethnic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

2. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

Abstract: Objective To investigate the cardioprotective effect and mechanism of pedunculoside (PE) on doxorubicin (DOX)-induced myocardial injury. **Methods** An ferroptosis model was constructed by stimulating AC16 cardiomyocytes with DOX *in vitro*, and a

收稿日期: 2025-04-24

基金项目: “带土移植”人才引育计划 (桂科 AA23026010); 广西青年岐黄学者培育项目 (GXQH202408); 中青年教师科研基础能力提升项目 (2023JJBJ140603)

作者简介: 谢晓芸 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: xiexiaoyun6@126.com

*通信作者: 苑仁玮坤 (1990—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事中药抗肿瘤与免疫药理学机制研究。E-mail: yryk0808@163.com

高红伟 (1986—), 男, 博士, 研究员, 主要从事中药抗炎与免疫机制研究。E-mail: gaohongwei06@126.com

mouse myocardial injury model was induced by ip DOX *in vivo*. After intervention with PE or ferrostatin-1 (Fer-1), cell viability was detected using MTT assay; Flow cytometry was used to detect intracellular reactive oxygen species (ROS) level; Immunofluorescence assay was used to detect the levels of ROS, lipid peroxides, and Fe^{2+} in cells; Molecular docking was used to detect the binding ability of PE to acyl CoA synthase long chain family member 4 (ACSL4), prostaglandin endoperoxide synthase 2 (PTGS2), ferroportin 1 (FPN1), ferritin heavy chain 1 (FTH1) and ferritin; The reagent kit was used to detect the level of malondialdehyde (MDA) in cells and cardiac tissues; Western blotting was used to detect the expression levels of ACSL4, PTGS2, FPN1, ferritin, FTH1 and ferritin light chain (FTL) in cells and cardiac tissues; The cardiac function of mice was detected using echocardiography; Blood routine examination was used to detect the levels of neutrophils, lymphocytes and red blood cells in whole blood; Hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining were used to observe the pathological changes in cardiac tissue; qRT-PCR was used to detect the mRNA expression levels of *PTGS2*, natriuretic peptide B (*Nppb*) and interleukin- 1β (*IL-1\beta*) in cardiac tissue. **Results** Compared with model group, PE could inhibit the increase of ROS, lipid peroxides and Fe^{2+} levels induced by DOX in AC16 cells ($P < 0.001$), and reduce MDA level in AC16 cells and heart tissue ($P < 0.001$). The molecular docking results showed that PE had a relatively stable binding ability with ACSL4, PTGS2, FPN1, ferritin and FTH1 proteins. Western blotting results showed that PE could inhibit the increase in ACSL4 and PTGS2 protein expressions and the decrease in FPN1, FTH1, FTL and ferritin protein expressions induced by DOX in AC16 cells and heart tissue ($P < 0.05, 0.001$). In addition, PE could improve the cardiac function of DOX-induced myocardial injury model mice ($P < 0.01, 0.001$), inhibit the increase of neutrophil percentage, neutrophil count, red blood cell count, and decrease of lymphocyte percentage ($P < 0.01, 0.001$), alleviate pathological damage to cardiac tissue, down-regulate the mRNA expression levels of *PTGS2*, *Nppb* and *IL-1\beta* ($P < 0.001$), and inhibit cardiac inflammatory response. **Conclusion** PE could improve DOX-induced ferroptosis in AC16 cells and has a protective effect on DOX-induced myocardial injury in mice. Its mechanism may be to alleviate myocardial injury by inhibiting ferroptosis.

Key word: pedunculoside; doxorubicin; ferroptosis; inflammation; myocardial damage

阿霉素 (doxorubicin, DOX) 是一种有效的化疗药物, 用于治疗实体瘤如卵巢癌、乳腺癌和胃肠道癌等, 但 DOX 存在过敏反应、心脏损伤、脱发、骨髓抑制、呕吐和膀胱刺激等不良反应^[1]。其中心脏毒性是 DOX 最主要的不良反应, 可导致心脏损伤, 引发心力衰竭, 严重时危及生命。目前临床上用于 DOX 心脏保护性药物有右丙亚胺、血管紧张素转换酶抑制剂 (angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ACEI)、二甲双胍等, 但这些药物有可能引发癌症患者继发性恶性肿瘤、干咳和头晕等不良反应^[2-5]。

研究表明, DOX 诱导的心肌损伤与铁死亡息息相关^[6-8]。铁死亡 (ferroptosis) 是一种铁依赖性的细胞死亡形式, 由细胞膜上脂质过氧化物的毒性积聚引发^[9]。铁依赖性的脂质过氧化物积累是铁死亡的主要特征^[10]。脂质代谢、氧化还原稳态维持及铁代谢平衡调节是铁死亡的主要调节途径^[11]。在脂质代谢途径中, 酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4) 是一种参与磷脂代谢的酶, 能催化多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 生成脂质过氧化物, 脂质过氧化物能降解为丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 等有毒物质, 破坏细胞结

构, 导致细胞铁死亡^[12]。在铁代谢途径中, 铁蛋白 (ferritin) 是一种由铁蛋白轻链 (ferritin light chain, FTL) 和铁蛋白重链 (ferritin heavy chain, FTH) 组成的铁储存蛋白复合物^[13-14]。其主要功能是储存过量的铁或在铁短缺的情况下作为铁的来源^[15]。膜铁转运蛋白 1 (ferroportin 1, FPN1) 是一种非血红素细胞铁输出蛋白, 它有助于铁从铁储存细胞输出到血液中以维持体内铁稳态^[16]。研究表明, 降低 ACSL4 活性和增加 FTH1 活性可缓解 DOX 诱导的细胞死亡, 治疗 DOX 诱导的心脏毒性^[17]。增加或降低 ACSL4 的活性会影响脂质过氧化物的积累, 影响细胞对铁死亡的敏感性^[18-19]。通过调控细胞内铁代谢稳态, 如促进铁蛋白介导的铁储存或增强 FPN1 介导的铁输出, 可有效降低细胞内游离铁水平, 抑制细胞铁死亡^[20]。

救必应 *Ilex rotunda* Thunb. 具有清热解毒、利湿止痛等功效^[21]。研究表明, 救必应具有抗结肠炎作用, 其水提物对急性化学性肝损伤有保护作用^[22-23]。长梗冬青苷 (pedunculoside, PE) 是从救必应干燥的树皮中提取出的新型五环三萜类皂苷类化合物, 是救必应的指标性成分^[24], 结构式见图 1, 具有治疗心脑血管疾病、调血脂、抗炎等作用^[25-28]。研究表明, PE 对心脏肥大和心肌缺血再灌注损伤具有

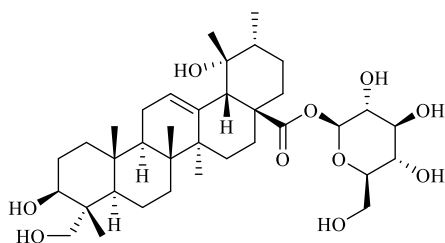


图 1 PE 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of PE

改善作用^[29-30]。PE 可抑制心肌细胞和原代成纤维细胞样滑膜细胞中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎细胞因子的产生^[25,31]。此外, PE 可调控脂肪的生成和脂肪酸 β 氧化治疗大鼠高脂血症^[27]。但目前 PE 在 DOX 诱导的心肌损伤和铁死亡方面的研究尚未明确。本研究从体内外实验探索 PE 通过抑制铁死亡治疗 DOX 诱导的心肌损伤的具体机制, 为临床针对性防治 DOX 的心脏毒性提供新的思路。

1 材料

1.1 动物与细胞

72 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 8 周龄, 体质量 22~25 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物许可证号 SCXK 京 2021-0006。动物饲养于室温 22~25 $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 45%~55%、12 h 昼夜循环照明的环境中, 自由进食饮水。动物实验经广西中医药大学伦理委员会批准 (批准号 DW20250113-SY02)。

AC16 人心肌细胞 (货号 STCC13101) 购自中国武汉梓杉生物技术有限公司

1.2 药品与试剂

PE (质量分数 $\geq 98\%$) 购自中国成都普什生物科技有限公司; DOX (批号 HY-15142)、DCFH₂-DA 探针 (批号 HY-126793)、凋亡抑制剂 Z-VAD-FMK (批号 HY-16658B)、坏死性凋亡抑制剂 necrostatin-1 (Nec-1, 批号 HY-15760) 购自美国 MCE 公司; 铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 (Fer-1, 批号 SML0583) 购自美国 Sigma 公司; 胎牛血清 (批号 2364724)、青链霉素 (批号 01118)、DMEM 培养基 (批号 8123117)、0.25% 胰酶-EDTA (批号 2666516) 购自美国 Gibco 公司; MDA 测定试剂盒 (批号 A003-1-2) 购自南京建成生物工程研究所; C11-BODIPY 探针 (批号 GC40165) 购自美国 GlpBio 公司; FerroOrange 探针 (批号 F374) 购自日本株式会社

同仁化学研究所; ACSL4 抗体 (批号 DF12141)、FTH1 抗体 (批号 DF6278) 购自 Affinity 公司; FPN1 抗体 (批号 C1223)、FTL 抗体 (批号 J0621) 购自美国 SANTA 公司; ferritin 抗体 (批号 ET1610-78) 购自华安生物公司; 前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 抗体 (批号 4842S)、HRP 标记的 IgG 二抗 (批号 7074P2) 购自美国 CST 公司。

1.3 仪器

BC-5000Vet 型 Mindray 血常规检测仪 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司); ME204E 型 1/10000 精密天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); BX53 型病理图像分析仪 (日本 Olympus 公司); Cytation 5 型细胞成像酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); XSPVET 型小动物超声成像系统 [万东百胜 (苏州) 医疗科技有限公司]。

2 方法

2.1 体外实验

2.1.1 细胞培养 AC16 细胞用含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 培养基, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养。

2.1.2 细胞活力检测 AC16 细胞以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板, 培养过夜, 加入不同浓度 (0.25、0.50、1.00、2.00、4.00 $\mu\text{mol/L}$) 的 DOX 作用 24 h, MTT 法检测细胞活力; 加入 PE (5、10、20 $\mu\text{mol/L}$) 预孵育 6 h, 再加入 DOX (2 $\mu\text{mol/L}$) 诱导 24 h, MTT 法检测细胞活力; 加入 Z-VAD-FMK (10 $\mu\text{mol/L}$)、Fer-1 (10 $\mu\text{mol/L}$) 和 Nec-1 (20 $\mu\text{mol/L}$) 预孵育 6 h, 再加入 DOX (2 $\mu\text{mol/L}$) 诱导 24 h, MTT 法检测细胞活力。

2.1.3 MDA 水平检测 AC16 细胞以 6×10^4 个/孔接种于 12 孔板中, 培养过夜, 加入 PE (5 $\mu\text{mol/L}$)、Fer-1 (10 $\mu\text{mol/L}$) 预孵育 6 h, 再加入 DOX (2 $\mu\text{mol/L}$) 诱导 24 h, 收集细胞, 加入裂解液后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 按试剂盒说明书测定 MDA 水平。

2.1.4 流式细胞术检测活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平 AC16 细胞以 6×10^4 个/孔接种于 12 孔板中, 培养过夜, 加入 PE (5 $\mu\text{mol/L}$)、Fer-1 (10 $\mu\text{mol/L}$) 预孵育 4 h, 再加入 DOX (2 $\mu\text{mol/L}$) 诱导 12 h, 弃去培养基, DCFH₂-DA 探针 (10 mmol/L) 与 DMEM 培养基按 1:1 000 的比例混合均匀后加入细胞中, 避光孵育 0.5 h, 加入 100

μL 胰酶消化细胞, 激发和发射波长分别为 496 nm 和 525 nm, 用流式细胞仪分析 ROS 水平。

2.1.5 免疫荧光法检测 ROS、脂质过氧化物和 Fe^{2+} 水平 AC16 细胞以 6×10^4 个/孔接种于 12 孔板中, 培养过夜, 加入 PE ($5 \mu\text{mol/L}$) 预孵育 4 h, 再加入 DOX ($2 \mu\text{mol/L}$) 诱导 12 h, 弃去培养基, 用 PBS 缓冲液清洗细胞, 分别加入 DCFH₂-DA 探针 (波长 496 nm/525 nm)、C11-BODIPY 探针 (氧化型波长 460 nm/510 nm, 还原型波长 565 nm/591 nm) 和 FerroOrange 探针 (波长 543 nm/588 nm), 避光孵育 0.5 h 后, 于荧光显微镜下观察并拍照。

2.1.6 Western blotting 检测 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、ferritin 蛋白表达 AC16 细胞以 6×10^4 个/孔接种于 12 孔板中, 培养过夜, 加入 PE (5、10、20 $\mu\text{mol/L}$) 预孵育 4 h, 再加入 DOX ($2 \mu\text{mol/L}$) 诱导 12 h, 收集细胞, 加入裂解液提取蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度, 加热使蛋白变性。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后, 分别孵育一抗和二抗, 加入 ECL 化学发光试剂, 在凝胶成像仪中成像。

2.2 分子对接

由 Uniprot 数据库下载得到蛋白 3D 结构文件, 采用 PyMOL 2.3.0 程序对蛋白结构进行验证。从 PubChem 数据库下载配体 Pedunculoside 的初始 3D 构型, 使用 OpenBabel 3.1.1 软件的 MMFF94 力场对小分子结构进行优化, 得到能量最低状态的最优分子结构。运用 AutoDock Vina 1.5.6 程序进行对接, 得到对接结合能以及对接结果文件, 并通过 PyMOL 2.3.0 对结果进行可视化。

2.3 体内实验

2.3.1 分组、造模与给药 将小鼠按体重随机分为对照组、模型组及 PE 低、中、高剂量 (12.5、25.0、50.0 mg/kg) 组和 Fer-1 (1 mg/kg) [32] 组, 每组 12 只。各给药组 ip 相应药物, 对照组和模型组 ip 生理盐水, 1 次/d, 连续给药 14 d。第 8 天, 除对照组 ip 生理盐水外, 其余小鼠 ip DOX (15 mg/kg) 诱导心肌损伤模型[33], 第 14 天取材。

2.3.2 超声心动图检测 剔除小鼠腹部毛发, 麻醉小鼠, 用小动物超声成像系统观察小鼠心脏结构和功能, 检测左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LEVF)、左心室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS)、每搏输出量 (stroke volume, SV) 等心功能指标的变化。

2.3.3 血常规分析 给药结束后, 取小鼠眼眶外周血, 在 45 μL 血液中加入 5 μL 抗凝剂, 用移液枪轻轻混匀, 用血常规检测仪对小鼠血液中的中性粒细胞、淋巴细胞红细胞水平进行检测。

2.3.4 小鼠心脏质量和胫骨长度的比值 (HW/TL) 取各组小鼠心脏组织和胫骨, 心脏称定质量, 胫骨量取长度; 分析各组小鼠的心脏质量/胫骨长度的比值。

2.3.5 心脏组织病理学观察

(1) 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色: 取各组小鼠心脏组织, 于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 后, 用 PBS 缓冲液清洗, 石蜡包埋后制作成切片, 进行 HE 染色后脱水封片, 通过病理图像分析仪观察心脏组织病理变化。

(2) Masson 染色: 取各组小鼠心脏组织石蜡切片, 进行 Masson 染色后, 脱水透明封片, 通过病理图像分析仪观察心脏组织病理变化。

2.3.6 MDA 水平检测 取各组小鼠心脏组织, 加入裂解液, 匀浆后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 按试剂盒说明书测定 MDA 水平。

2.3.7 qRT-PCR 检测心脏组织 PTGS2、利钠肽 B (natriuretic peptide B, *Nppb*)、*IL-1 β* 的 mRNA 表达 取各组小鼠心脏组织, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列 (5'-3')
<i>PTGS2</i>	F: TGCACATATGGTTACAAAAGCTGG R: TCAGGAAGCTCCTTATTTCCCTT
<i>Nppb</i>	F: GAGGTCACTCCTATCCTCTGG R: GCCATTTCTCCGACTTTTCTC
<i>IL-1β</i>	F: GAAATGCCACCTTTTGACAGTG R: TGGATGCTCTCATCAGGACAG
<i>GAPDH</i>	F: GGTTGTCTCCTGCGACTTCA R: TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC

2.3.8 Western blotting 检测心脏组织 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、FTL 蛋白表达 取各组小鼠心脏组织, 加入裂解液提取蛋白, 按“2.1.6”项下方法检测心脏组织 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、FTL 蛋白表达。

2.4 统计学分析

通过 GraphPad Prism 9 软件对实验数据进行统计分析和可视化处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 通过 Normality and Lognormality test 检验数据呈正态分

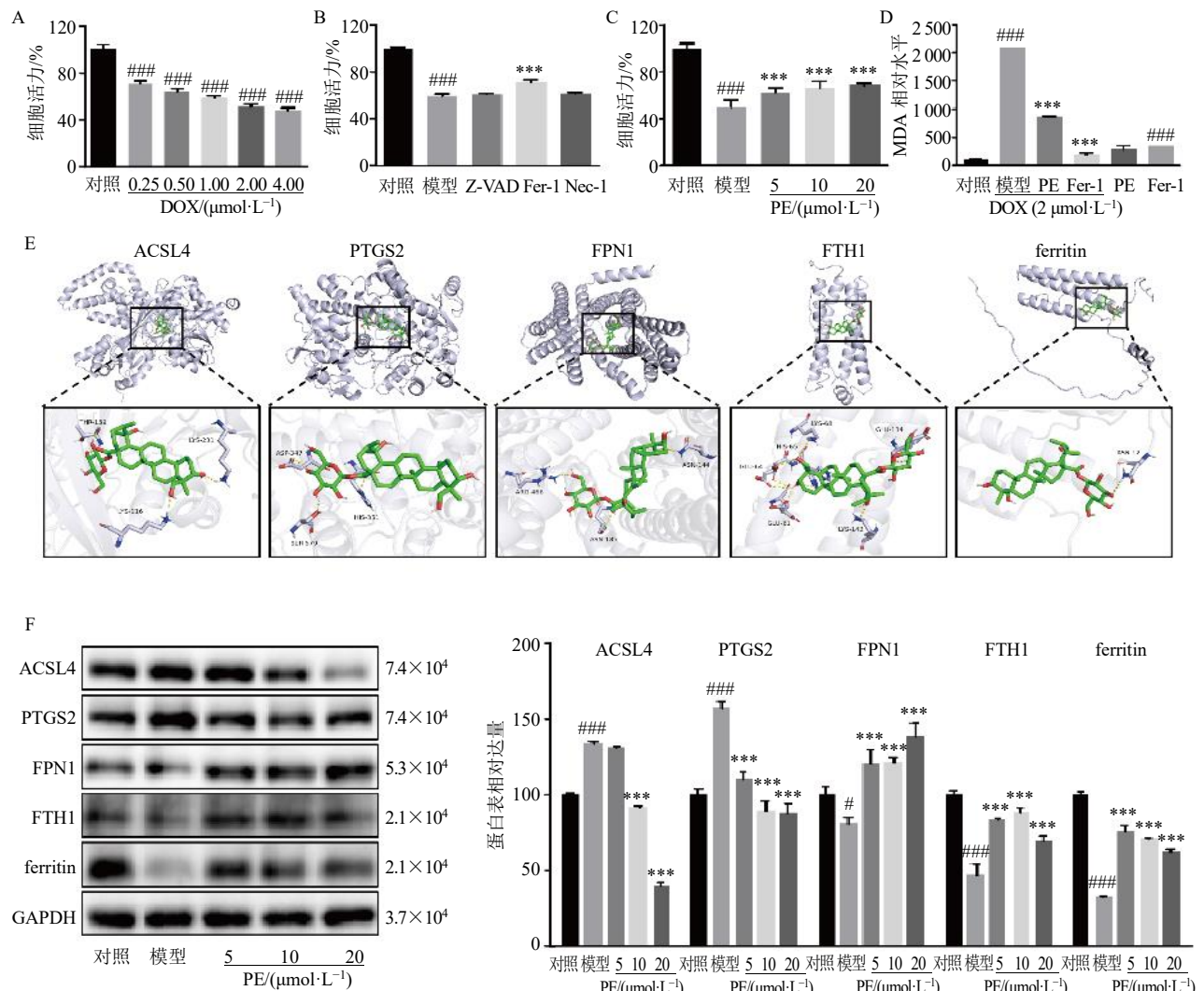
布后,通过单因素方差分析(One-way ANOVA)进行多组间数据比较。

3 结果

3.1 PE 抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞铁死亡

通过 MTT 检测 PE 对 DOX 诱导的细胞活力的影响。如图 2-A 所示,0.25~4.00 $\mu\text{mol/L}$ DOX 对 AC16 细胞均具有细胞毒性($P<0.001$),选取 2 $\mu\text{mol/L}$ DOX 诱导 AC16 细胞死亡进行后续实验。如图 2-B 所示,铁死亡抑制剂 Fer-1 可以显著抑制 DOX 诱导的细胞死亡($P<0.001$),而凋亡抑制剂

Z-VAD-FMK 和坏死性凋亡抑制剂 Nec-1 对 DOX 诱导的细胞死亡没有影响,说明 DOX 诱导的 AC16 细胞死亡方式为铁死亡。如图 2-C 所示,PE (5、10、20 $\mu\text{mol/L}$) 能够显著抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞死亡($P<0.001$)。细胞铁死亡过程中,脂质过氧化物水平显著升高,MDA 是脂质过氧化反应产生的天然产物之一,其含量与铁死亡呈正相关^[34]。如图 2-D 所示,DOX 诱导的 AC16 细胞内 MDA 水平显著升高($P<0.001$),给予 PE 和 Fer-1 干预后显著抑制 MDA 水平($P<0.001$)。



A~C-MTT 法检测 AC16 细胞活力; D-PE 和 Fer-1 对 DOX 诱导的 AC16 细胞 MDA 水平的影响; E-分子对接检测 PE 与 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、ferritin 蛋白的结合能力; F-Western blotting 检测 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、ferritin 蛋白表达水平; 与对照组比较: # $P<0.05$ ### $P<0.01$ #### $P<0.001$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$, 下图同。

A~C-viability of AC16 cells detected by MTT method; B-effects of PE and Fer-1 on MDA level in DOX-induced AC16 cells; E-binding ability of PE to ACSL4, PTGS2, FPN1, FTH1 and ferritin proteins detected by molecular docking; F-expression levels of ACSL4, PTGS2, FPN1, FTH1 and ferritin proteins detected by Western blotting; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ ### $P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group, same as below figures.

图 2 PE 对 DOX 诱导的 AC16 细胞铁死亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of PE on ferroptosis in DOX-induced AC16 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

通过分子对接检测 PE 与铁死亡脂质代谢和铁代谢相关的蛋白 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1 和 ferritin 的结合能力。如图 2-E 所示, PE 与 ACSL4 (Lys116/Thr159/Lys231)、PTGS2 (Asp347/His351/Ser579)、FPN1 (Asn144/Asn185/Arg466)、FTH1 (Glu61/Glu64/His65/Lys68/Glu134/Lys143) 和 ferritin (Asn12) 等氢键有稳定的相互作用, 结合能分别为-8.2、-8.9、-8.9、-7.6、-7.6 kcal/mol (1 kcal/mol = 4.182 kJ/mol), 说明 PE 与 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1 和 ferritin 蛋白有稳定的结合作用。采用 Western blotting 检测 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1 和 ferritin 蛋白表达, 对分子对接结果进行验证。如图 2-F 所示, 10、20 $\mu\text{mol/L}$ 的 PE 显著抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞内 ACSL4、PTGS2 蛋白表达的升高和 FPN1、FTH1、ferritin 蛋白表达的下降 ($P < 0.001$), 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 PE 显著抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞内 PTGS2 蛋白表达的升高和 FPN1、FTH1、ferritin 蛋白表达的下降 ($P < 0.001$), 表明 PE 能够通过调控 ACSL4、PTGS2、FPN1、

FTH1 和 ferritin 蛋白表达抑制铁死亡。

3.2 PE 对 DOX 诱导的 AC16 细胞内 ROS、脂质过氧化物和 Fe^{2+} 水平的影响

细胞铁死亡过程中, 细胞内脂质过氧化物和 Fe^{2+} 的过量积累, 导致铁依赖性脂质过氧化损伤。采用流式细胞术和免疫荧光法检测细胞内 ROS、脂质过氧化物和 Fe^{2+} 水平。如图 3-A 所示, DOX 诱导的 AC16 细胞内 ROS 水平显著升高 ($P < 0.001$), 给予 PE 和 Fer-1 干预后均能显著抑制细胞内 ROS 水平 ($P < 0.001$)。如图 3-B 所示, 模型组荧光强度增加, PE 组荧光强度降低, 表明 PE 能显著抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞内 ROS 的积累。采用 FerroOrange 探针检测细胞内 Fe^{2+} 水平, 如图 3-C 所示, 模型组细胞内 Fe^{2+} 水平升高 (红色荧光强度增加), PE 组 Fe^{2+} 水平降低 (红色荧光强度减弱), 表明 PE 能显著抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞内 Fe^{2+} 水平。细胞内的脂质未被氧化时 (还原态) 主要为红色荧光, 被氧化后 (氧化态) 主要为绿色荧光。如图 3-D 所示, 模型组细胞内绿色荧光强度增加, 红

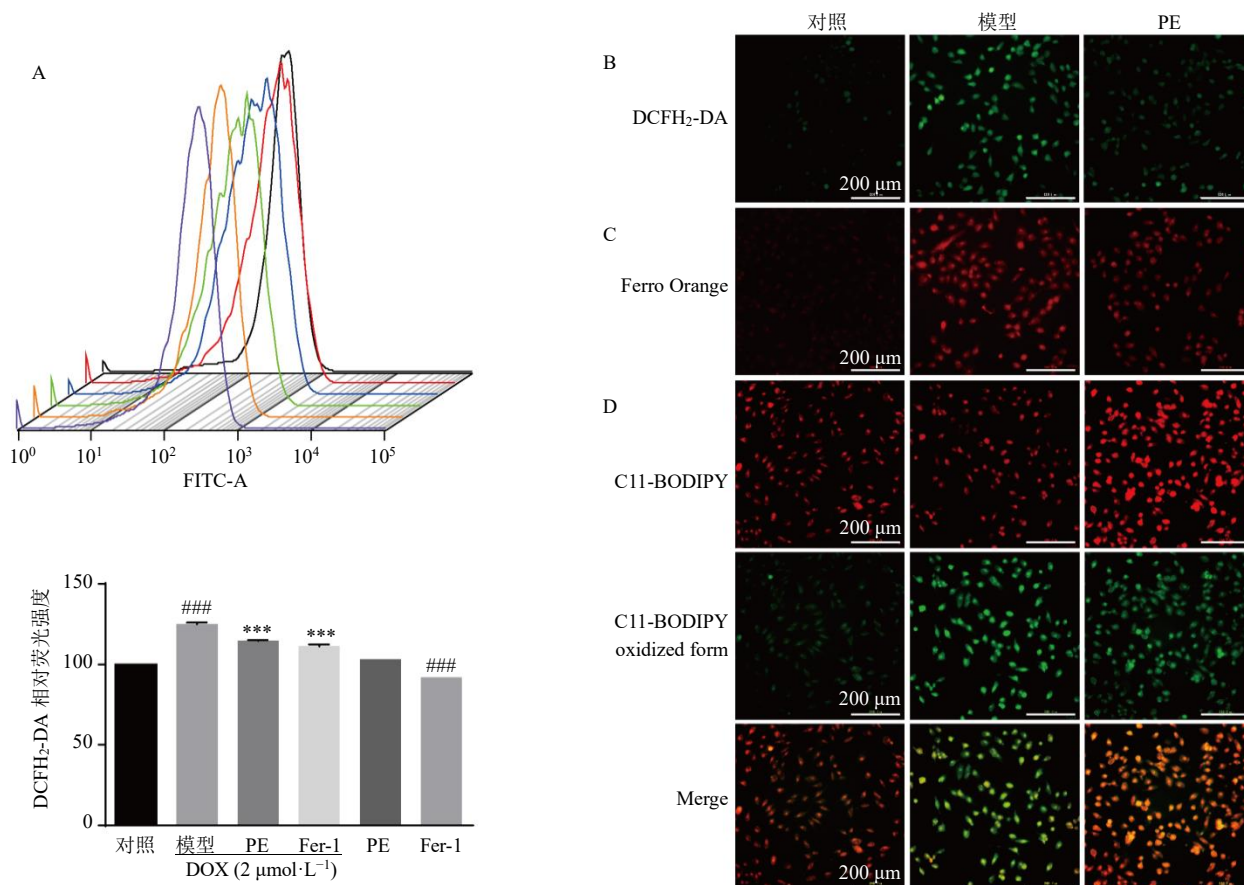


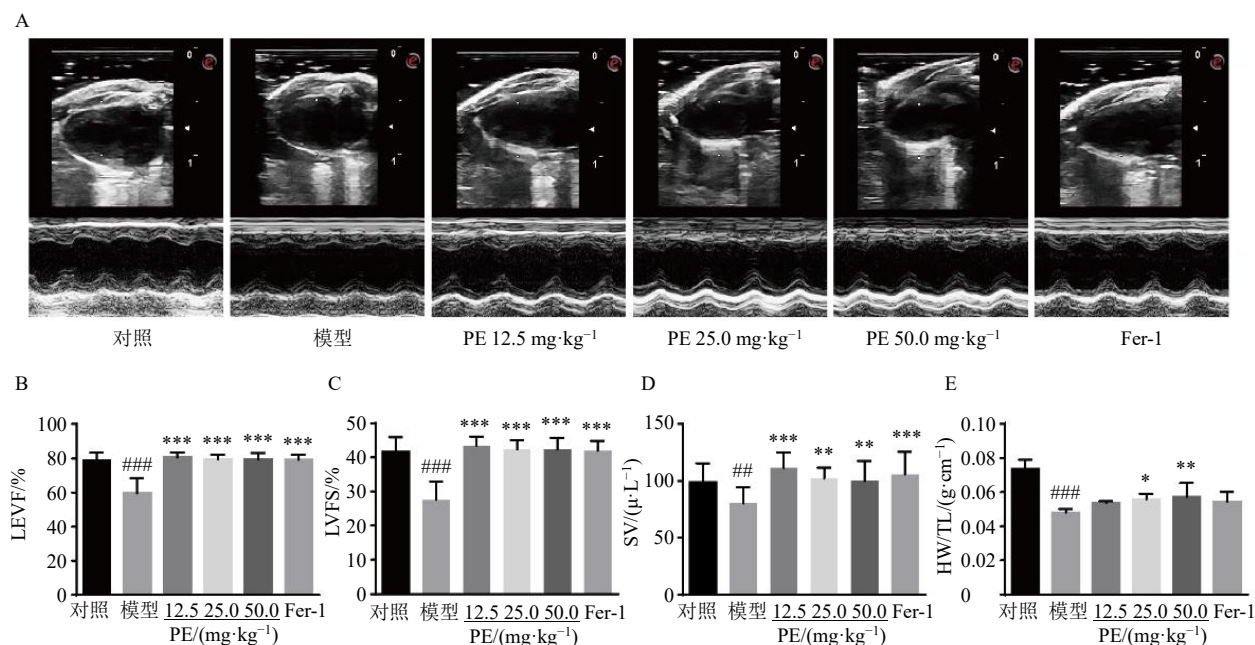
图 3 PE 对 DOX 诱导的 AC16 细胞内 ROS (A、B)、脂质过氧化物 (C) 和 Fe^{2+} 水平 (D) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3, \times 20$)
Fig. 3 Effect of PE on ROS (A, B), lipid peroxides (C) and Fe^{2+} levels (D) in DOX-induced AC16 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3, \times 20$)

色荧光强度降低; PE 组绿色荧光强度降低, 红色荧光强度增加, 表明 DOX 诱导后细胞内脂质过氧化物水平升高, 而 PE 能够抑制 DOX 诱导的脂质过氧化物的升高。以上结果表明, PE 具有显著的抗氧化能力, 能够抑制 DOX 诱导后脂质过氧化物和 Fe^{2+} 水平的升高, 进一步证明 PE 能够抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞铁死亡。

3.3 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤模型心脏收缩功能的影响

为评估 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤的治疗效果, 通过 ip DOX 构建小鼠心肌损伤模型, 采用超声心动图检测心功能参数变化。如图 4-A~D

所示, 超声心动图分析表明, DOX 诱导小鼠 LEVF、LVFS 和 SV 显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), 小鼠心脏心肌收缩能力减弱, 左心室功能损伤; 与模型组比较, 给予 PE 和 Fer-1 干预后 LEVF、LVFS 和 SV 均显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 表明 PE 和 Fer-1 能够缓解 DOX 诱导后小鼠心脏左心室收缩功能损伤。如图 4-E 所示, 与对照组比较, DOX 诱导的小鼠心脏重量和胫骨长度的比值 (HW/TL) 显著降低 ($P < 0.001$), 表明小鼠心脏收缩功能受损; 与模型组比较, PE 中、高剂量组 HW/TL 显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 小鼠心脏收缩功能得到改善。以上结果说明 PE 能改善 DOX 诱导的心脏功能损伤。



A-小动物成像系统检测各组心脏的结构和功能; B~D-各组 LEVF、LVFS、SV 的变化; E-各组 HW/TL 的变化。

A-structure and function of heart in each group examined by small animal imaging system; B—D-changes in LEVF, LVFS and SV in each group; E-changes in HW/TL in each group.

图 4 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤模型心脏收缩功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Fig. 4 Effect of PE on cardiac contractile function in mice with DOX-induced myocardial injury model ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

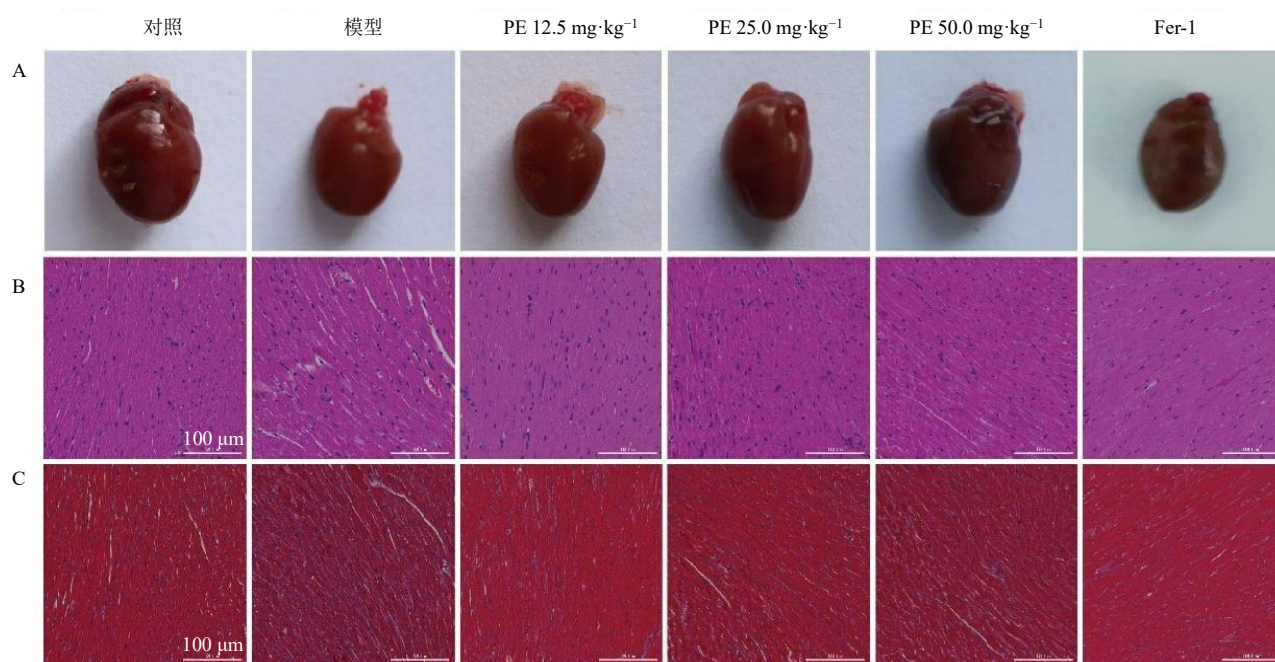
3.4 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤模型心肌损伤的影响

如图 5-A 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠心脏变小, 给予 PE 和 Fer-1 干预后能够抑制小鼠心脏变小。心脏大小主要受心脏收缩功能的影响, 说明 DOX 诱导小鼠心脏收缩功能障碍, 而 PE 和 Fer-1 治疗能改善小鼠心脏收缩功能障碍。采用组织染色评估小鼠的心肌损伤, 心脏组织 HE 和 Masson 染色结果 (图 5-B、C) 显示, 对照组小鼠心肌细胞结构完整, 未见纤维化或中性粒细胞聚集。模型组表

现出明显的心肌损伤, 包括肌纤维断裂、大量炎症细胞浸润和胶原纤维增多。PE 和 Fer-1 干预后均能有效缓解心脏收缩功能障碍导致的心脏变小、炎症反应导致的心脏纤维化和胶原纤维沉积, 表明 PE 对 DOX 诱导的心肌损伤具有保护作用。

3.5 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤模型血液中性粒细胞、淋巴细胞和红细胞水平的影响

DOX 诱导会导致小鼠心功能受损和炎症反应。血液中红细胞数量能反映 DOX 诱导后小鼠心功能, 中性粒细胞百分比、淋巴细胞数量和淋巴细胞百分



A-各组小鼠心脏形态；B、C-各组小鼠心脏组织 HE 和 Masson 染色 ($\times 40$)。

A-cardiac morphology of mice in each group; B, C-HE and Masson staining of heart tissues of mice in each group ($\times 40$).

图 5 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤模型心肌损伤的影响

Fig. 5 Effect of PE on myocardial injury of mice with DOX-induced myocardial injury model

比能反映 DOX 诱导后小鼠的炎症反应。通过检测小鼠血液中红细胞、中性粒细胞和淋巴细胞的变化，初步考察小鼠心功能变化和炎症反应。如图 6 所示，与对照组比较，模型组中性粒细胞百分比、红细胞数量显著升高 ($P < 0.001$)，淋巴细胞百分比显著降低 ($P < 0.001$)，说明小鼠心功能损伤且有急性炎症反应；与模型组比较，各给药组中性粒细胞百分比和中性粒细胞数量显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)，淋巴细胞百分比显著升高 ($P < 0.001$)，PE 中、高剂量组和 Fer-1 组红细胞数量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.001)，表明 PE 能抑制 DOX 诱导的心功能降低和炎症反应。

3.6 PE 通过抑制铁死亡缓解 DOX 诱导的小鼠心肌损伤

为进一步验证 PE 是否通过抑制铁死亡改善 DOX 诱导的小鼠心肌损伤，采用 Western blotting 检测小鼠心脏组织中 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1 和 FTL 蛋白表达水平。如图 7-A 所示，与模型组比较，PE 能显著抑制 DOX 诱导后 ACSL4、PTGS2 蛋白表达的升高和 FPN1、FTH1、FTL 蛋白表达的降低 ($P < 0.05$ 、 0.001)。此外，PE 能抑制 DOX 诱导的小鼠心脏组织中 MDA 水平的增加 ($P < 0.001$ ，图 7-B)。PTGS2 和 Nppb 是 DOX 诱导的心肌损伤的标志性检测物，IL-1 β 是炎症反应的标志性炎症

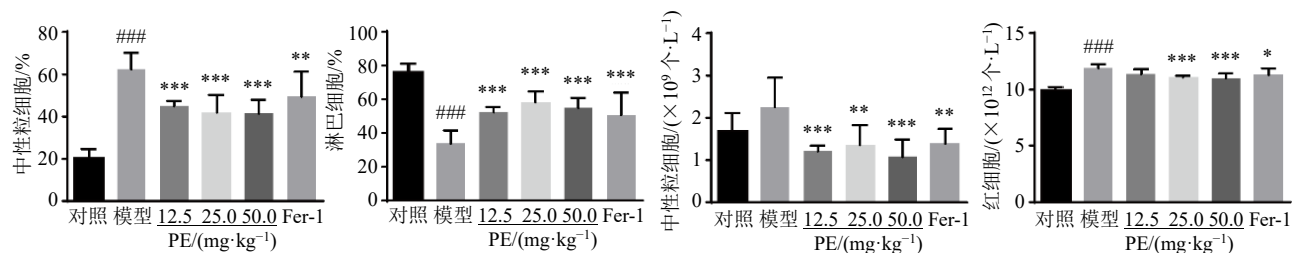
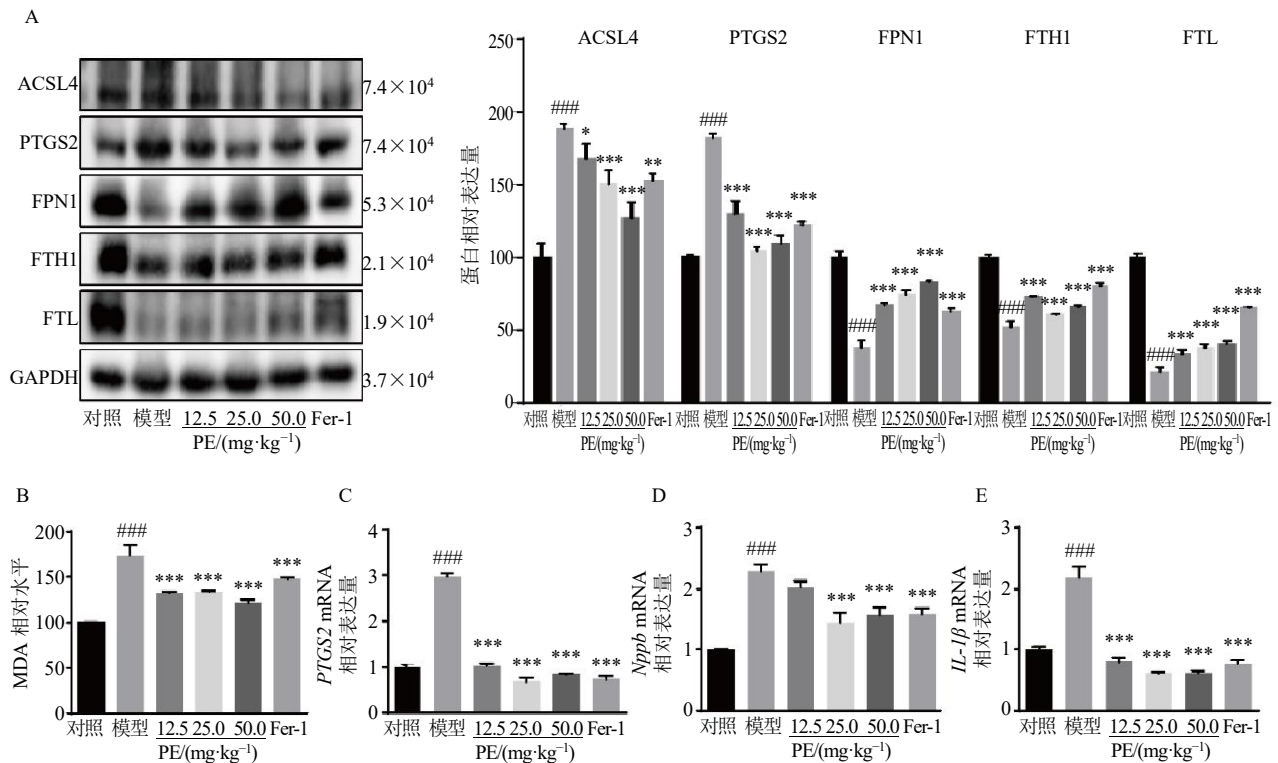


图 6 PE 对 DOX 诱导的小鼠心肌损伤模型血液中中性粒细胞、淋巴细胞和红细胞水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 6 Effect of PE on levels of neutrophils, lymphocytes and red blood cells in blood of mice with DOX-induced myocardial injury model ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)



A-各组小鼠心脏组织中铁死亡相关蛋白表达; B-各组小鼠心脏组织中 MDA 水平; C~E-各组小鼠心脏组织中 *PTGS2*、*Nppb* 和 *IL-1β* mRNA 的表达。

A-expression of ferroptosis related proteins in heart tissues of mice in each group; B-MDA level in heart tissues of mice in each group; C—E-mRNA expressions of *PTGS2*, *Nppb* and *IL-1β* in heart tissues of mice in each group.

图 7 PE 通过抑制铁死亡缓解 DOX 诱导的小鼠心肌损伤 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 PE alleviates DOX-induced myocardial injury in mice by inhibiting ferroptosis ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

因子。qRT-PCR 结果 (图 7-C~E) 显示, 与模型组比较, 各给药组小鼠心脏组织中 *PTGS2* 和 *IL-1β* 的 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.001$), PE 中、高剂量组和 Fer-1 组 *Nppb* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.001$), 表明 PE 能抑制 DOX 诱导的心肌损伤和炎症反应。以上结果表明, PE 可通过抑制铁死亡减轻 DOX 诱导的小鼠心肌损伤及炎症反应。

4 讨论

DOX 因其在肉瘤、血液癌等多种癌症方面的显著疗效而被广泛用于化疗。但 DOX 表现出严重的不良反应, 尤其是致命的心脏毒性严重限制了其在临床上的应用范围^[35-36]。DOX 可通过增强细胞内氧摄取, 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^[37-38]。此外, ROS 不仅直接参与氧化损伤过程, 还可通过亚硝酸根阴离子活化核酶聚合酶, 影响心肌收缩功能^[39]。因此, 抑制 ROS 的产生和脂质过氧化依赖性铁死亡是防治 DOX 心脏毒性的关键。本

研究发现, PE 能显著降低 DOX 诱导后 ROS 和 MDA 水平的升高, 下调 DOX 诱导后心脏组织中 *PTGS2*、*IL-1β* 以及 *Nppb* 的 mRNA 表达水平, 缓解心肌损伤和炎症反应, 表明 PE 具有抗氧化和抗炎作用。

铁死亡是近年来备受关注的新型细胞调节性死亡形式, 具有独特的铁离子依赖性、线粒体超微结构破坏性和脂质过氧化损伤性^[11]。在铁死亡过程中, 脂质代谢途径关键酶 ACSL4 的表达水平显著上调, 促进脂质过氧化物的异常积累, 最终导致细胞膜结构损伤和脂质过氧化损伤^[19,40]。与此同时, 铁代谢相关蛋白 ferritin、FTH1、FTL 和 FPN1 的表达水平明显下调, 这不仅抑制了细胞内铁的储存能力, 还阻碍了铁的输出, 导致细胞铁代谢紊乱^[41-42]。研究表明, 多种中药单体可通过调控铁死亡改善 DOX 诱导的心肌损伤。原苏木苷 A 通过双重机制发挥心肌保护作用: 一方面抑制 ACSL4 蛋白表达以减少脂质过氧化, 另一方面上调 FTH1 蛋白表达以增强铁自噬调控, 从而有效抑制心肌细胞铁死亡, 显著

减轻 DOX 所致的心肌损伤并改善心功能^[17]。艾地苯醌则通过上调铁死亡抑制蛋白 1 (ferroptosis-suppressor-protein 1, FSP1) 及铁储存相关蛋白 FTH1、FTL 的表达, 显著抑制心肌细胞铁死亡, 进而缓解 DOX 诱导的心脏毒性^[33]。本研究发现, PE 能抑制 DOX 诱导的 AC16 细胞铁死亡。PE 与 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、ferritin 蛋白有较稳定的结合。PE 能显著抑制 DOX 诱导后 AC16 细胞和小鼠心脏组织中 ACSL4、PTGS2 蛋白表达的升高和 FPN1、FTL、FTH1、ferritin 蛋白表达的下降。此外, PE 能抑制 DOX 诱导后脂质过氧化物和 Fe²⁺ 水平的升高。表明 PE 能通过与 ACSL4、PTGS2、FPN1、FTH1、ferritin 结合, 调控 DOX 诱导的心肌细胞铁死亡。

综上, 本研究发现 PE 能够显著缓解 DOX 诱导的心脏毒性, 并通过抑制心肌细胞铁死亡和减轻心脏炎症反应发挥心脏保护作用。PE 通过 ACSL4 和 FPN1/ferritin 信号通路调控细胞铁死亡, 在 DOX 诱导的心肌损伤治疗领域展现出潜在的应用价值。但除脂质代谢和铁代谢途径外, PE 能否通过其他途径发挥铁死亡保护作用仍需后续实验进一步阐明。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sheibani M, Azizi Y, Shayan M, *et al.* Doxorubicin-induced cardiotoxicity: An overview on pre-clinical therapeutic approaches [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2022, 22(4): 292-310.
- [2] Sepe D M, Ginsberg J P, Balis F M. Dexrazoxane as a cardioprotectant in children receiving anthracyclines [J]. *Oncologist*, 2010, 15(11): 1220-1226.
- [3] Borghi C, Bacchelli S, Degli Esposti D, *et al.* A review of the angiotensin-converting enzyme inhibitor, zofenopril, in the treatment of cardiovascular diseases [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2004, 5(9): 1965-1977.
- [4] Hiona A, Lee A S, Nagendran J, *et al.* Pretreatment with angiotensin-converting enzyme inhibitor improves doxorubicin-induced cardiomyopathy via preservation of mitochondrial function [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 142(2): 396-403.
- [5] Fan X, Zhong H J, Zhao B B, *et al.* Metformin prolonged the survival of diffuse large B-cell lymphoma and grade 3b follicular lymphoma patients responding to first-line treatment with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone: A prospective phase II clinical trial [J]. *Transl Cancer Res*, 2018, 7(4): 1044-1053.
- [6] 田欣, 姬林娟, 高旺, 等. 中医药介导的铁死亡在阿霉素所致心脏毒性中的作用机制 [J]. *生命的化学*, 2024, 44(5): 884-889.
- [7] Hou K, Shen J L, Yan J R, *et al.* Loss of TRIM21 alleviates cardiotoxicity by suppressing ferroptosis induced by the chemotherapeutic agent doxorubicin [J]. *EBio Medicine*, 2021, 69: 103456.
- [8] He H, Wang L, Qiao Y, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate pretreatment alleviates doxorubicin-induced ferroptosis and cardiotoxicity by upregulating AMPK α 2 and activating adaptive autophagy [J]. *Redox Biol*, 2021, 48: 102185.
- [9] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, *et al.* Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [10] Tang D L, Chen X, Kang R, *et al.* Ferroptosis: Molecular mechanisms and health implications [J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 107-125.
- [11] Qiu B Y, Zandkarimi F, Bezjian C T, *et al.* Phospholipids with two polyunsaturated fatty acyl tails promote ferroptosis [J]. *Cell*, 2024, 187(5): 1177-1190.
- [12] Jia B W, Li J, Song Y T, *et al.* ACSL4-mediated ferroptosis and its potential role in central nervous system diseases and injuries [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12): 10021.
- [13] Zhang J L, Cheng D F, He J Y, *et al.* Cargo loading within ferritin nanocages in preparation for tumor-targeted delivery [J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(10): 4878-4896.
- [14] Zang J C, Chen H, Zhao G H, *et al.* Ferritin cage for encapsulation and delivery of bioactive nutrients: From structure, property to applications [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(17): 3673-3683.
- [15] Santana-Codina N, Gikandi A, Mancias J D. The role of NCOA4-mediated ferritinophagy in ferroptosis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1301: 41-57.
- [16] Zheng J S, Conrad M. The metabolic underpinnings of ferroptosis [J]. *Cell Metab*, 2020, 32(6): 920-937.
- [17] Cui J X, Chen Y J, Yang Q N, *et al.* Protosappanin A protects DOX-induced myocardial injury and cardiac dysfunction by targeting ACSL4/FTH1 axis-dependent ferroptosis [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(34): e2310227.
- [18] Yuan H, Li X M, Zhang X Y, *et al.* Identification of ACSL4 as a biomarker and contributor of ferroptosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 478(3): 1338-1343.
- [19] Zhang H L, Hu B X, Li Z L, *et al.* PKC β II phosphorylates ACSL4 to amplify lipid peroxidation to induce ferroptosis [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(1): 88-98.
- [20] Chen X, Li J B, Kang R, *et al.* Ferroptosis: Machinery and regulation [J]. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2054-2081.

- [21] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 312.
- [22] 李瑶, 张萌萌, 王娟, 等. 救必应对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎相关肠纤维化的保护作用 [J]. 中成药, 2024, 46(9): 3110-3114.
- [23] 陈壮, 肖刚. 救必应对小鼠急性化学性肝损伤的保护作用 [J]. 中国医药导报, 2012, 9(26): 15-16.
- [24] 李超生, 张婷, 李林国, 等. 高效液相色谱法测定救必应药材中具栖冬青苷的含量 [J]. 特产研究, 2007, 29(4): 45-47.
- [25] Lu Y B, Meng J Q, Zhu D W, *et al.* Pedunculoside inhibits cardiomyocyte inflammatory biomarkers via Nrf2/HO-1 pathway in high glucose-induced H9c2 cells and diabetic cardiomyopathy model rats [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2025, 44: 9603271251322186.
- [26] Liu K J, Li G F, Guo W J, *et al.* The protective effect and mechanism of pedunculoside on DSS (dextran sulfate sodium) induced ulcerative colitis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 107017.
- [27] Liu C, Shen Y J, Tu Q B, *et al.* Pedunculoside, a novel triterpene saponin extracted from *Ilex rotunda*, ameliorates high-fat diet induced hyperlipidemia in rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101: 608-616.
- [28] 王爱萍. miR-29a/STAT3 促进结肠炎-癌发展机制及长梗冬青苷的干预作用研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [29] Pan A, Shi A Q, Chen H H, *et al.* Targeting *GATA6* with pedunculoside inhibits fetal gene expression to attenuate pathological cardiac hypertrophy [J]. *Phytomedicine*, 2025, 140: 156603.
- [30] Yang A, Zhang Q, Song Y, *et al.* Study on protective effect of pedunculoside on acute myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. 2021, 37(4): 484-489.
- [31] Ma X, Chen G, Wang J, *et al.* Pedunculoside attenuates pathological phenotypes of fibroblast-like synoviocytes and protects against collagen-induced arthritis [J]. *Scand J Rheumatol*, 2019, 48(5): 383-392.
- [32] Huang G Q, Cai Y W, Ren M H, *et al.* Salidroside sensitizes triple-negative breast cancer to ferroptosis by SCD1-mediated lipogenesis and NCOA4-mediated ferritinophagy [J]. *J Adv Res*, 2024, doi: 10.1016/j.jare.2024.09.027.
- [33] Qiu H L, Huang S H, Liu Y T, *et al.* Idebenone alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity by stabilizing FSP1 to inhibit ferroptosis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(6): 2581-2597.
- [34] Yan B, Ai Y W, Sun Q, *et al.* Membrane damage during ferroptosis is caused by oxidation of phospholipids catalyzed by the oxidoreductases POR and CYB5R1 [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(2): 355-369.
- [35] Zamorano J L, Lancellotti P, Muñoz D R, *et al.* 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The task force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(36): 2768-2801.
- [36] Shi S X, Chen Y, Luo Z J, *et al.* Role of oxidative stress and inflammation-related signaling pathways in doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 61.
- [37] Kuzu M, Kandemir F M, Yildirim S, *et al.* Morin attenuates doxorubicin-induced heart and brain damage by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 443-453.
- [38] Fang X X, Wang H, Han D, *et al.* Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(7): 2672-2680.
- [39] Marek-Iannucci S, Ozdemir A B, Moreira D, *et al.* Autophagy-mitophagy induction attenuates cardiovascular inflammation in a murine model of Kawasaki disease vasculitis [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(18): e151981.
- [40] 黄伟, 李倩, 朱继田. 基于Nrf2/GPX4通路研究枸杞多糖对缺氧/复氧诱导的心肌细胞铁死亡的影响 [J]. 中草药, 2025, 56(10): 3568-3576.
- [41] Oh S J, Shin Y Y, Ahn J S, *et al.* TGFβ2-driven ferritin degradation and subsequent ferroptosis underlie salivary gland dysfunction in postmenopausal conditions [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(47): e2400660.
- [42] Battaglia A M, Sacco A, Giorgio E, *et al.* Expulsion of iron-rich ferritin via CD63-mediated exosome drives ferroptosis resistance in ovarian cancer cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2025, 13: 1532097.

[责任编辑 李亚楠]