

本文引用:张玉婷,谢小娟,王彩云,张梦露. 灵芝酸 A 通过激活 Nrf2/GPX4 信号通路减轻七氟烷诱导的 HT22 细胞铁死亡[J]. 湖南中医药大学学报,2022,42(7): 1064-1069.

灵芝酸 A 通过激活 Nrf2/GPX4 信号通路减轻七氟烷诱导的 HT22 细胞铁死亡

张玉婷,谢小娟*,王彩云,张梦露

(河南科技大学第一附属医院/河南科技大学临床医学院,河南 洛阳 471003)

[摘要] **目的** 研究灵芝酸 A(ganoderic acid A, GAA)对七氟烷诱导的 HT22 细胞铁死亡的影响和机制。**方法** 采用 CCK-8 法检测不同浓度 GAA 对 HT22 细胞的增殖活性,筛选出合适的 GAA 处理浓度。将 HT22 细胞分成对照组、七氟烷诱导组(Sev 组)、GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ 组、GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组。对照组细胞按照常规方法处理;其他组均利用七氟烷进行诱导处理,同时不同浓度 GAA 组给予相应浓度的 GAA 干预。采用 Western blot 检测氧化应激相关因子(Nrf2、GPX4)与铁死亡相关因子(ACSL4、SLC7A11)的蛋白表达。利用相应的试剂盒检测 Fe^{2+} 、ROS、MDA、GSH、4-HNE 等因子的含量。**结果** 根据 CCK-8 实验结果,选择对 HT22 细胞增殖活性无影响的 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ GAA 进行后续研究。与对照组比较,Sev 组的 HT22 细胞存活率降低($P<0.05$),Nrf2、GPX4、ACSL4、SLC7A11 蛋白表达减少($P<0.05$), Fe^{2+} 、ROS、MDA、4-HNE 含量升高($P<0.05$),GSH 含量降低($P<0.05$)。与 Sev 组比较,随着 GAA 处理浓度的升高,HT22 细胞存活率显著升高($P<0.05$),Nrf2、GPX4、ACSL4、SLC7A11 蛋白表达增多($P<0.05$), Fe^{2+} 、ROS、MDA、4-HNE 含量降低($P<0.05$),GSH 含量升高($P<0.05$)。**结论** GAA 通过激活 Nrf2/GPX4 信号通路减轻七氟烷诱导的 HT22 细胞铁死亡,从而发挥神经保护作用。GAA 可作为治疗七氟烷麻醉神经损伤的潜在药物。

[关键词] 灵芝酸 A;七氟烷;铁死亡;神经损伤;Nrf2/GPX4 信号通路;HT22 细胞

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.07.002

Ganoderic acid A reduces sevoflurane-induced ferroptosis of HT22 cells through activating the Nrf2/GPX4 signaling pathway

ZHANG Yuting, XIE Xiaojuan*, WANG Caiyun, ZHANG Menglu

(The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, College of Clinical Medicine of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect and mechanism of ganoderic acid A (GAA) on the ferroptosis of HT22 cells induced by sevoflurane. **Methods** The proliferation activity of HT22 cells was detected by CCK-8 assay to select the appropriate concentration. HT22 cells were divided into control group, Sev group, and GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ group, GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ group and GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ group. Cells in the control group were treated with conventional methods. The other groups were treated with sevoflurane induction, and the GAA groups with different concentrations were given corresponding concentrations of GAA intervention. Western blot was used to detect the protein expression of oxidative stress related factors (Nrf2, GPX4) and ferroptosis related factors (ACSL4, SLC7A11). The content of Fe^{2+} , ROS, MDA, GSH, 4-HNE was detected by using the corresponding

[收稿日期]2021-12-30

[第一作者]张玉婷,女,硕士,研究方向:术后认知功能障碍的临床治疗和预防。

[通信作者]* 谢小娟,女,博士,副教授,E-mail:13693818030@163.com。

concentration detection kits. **Results** According to the results of CCK-8 experiment, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$ GAA which had no effect on the proliferation activity of HT22 cells were selected for follow-up study. Compared with control group, HT22 cells survival rate decreased ($P<0.05$), Nrf2, GPX4, ACSL4, SLC7A11 protein expression decreased ($P<0.05$), Fe^{2+} level and ROS, MDA, 4-HNE content increased ($P<0.05$), and GSH content decreased in Sev group ($P<0.05$). Compared with Sev group, with the increase of CAA concentration, the survival rate of HT22 cells was increased ($P<0.05$), the protein expression of Nrf2, Gpx4, ACSL4, SLC7A11 increased ($P<0.05$), Fe^{2+} level and ROS, MDA, 4-HNE content decreased ($P<0.05$), and the content of GSH increased ($P<0.05$). **Conclusion** GAA plays a neuroprotective role by activating Nrf2/GPX4 signaling pathway to reduce sevoflurane-induced ferroptosis in HT22 cells. GAA has great potential as a therapeutic agent for sevoflurane anesthetic nerve injury.

[**Keywords**] ganoderic acid A; sevoflurane; ferroptosis; nerve injury; Nrf2/GPX4 signaling pathway; HT22 cells

七氟烷是临床上常见的挥发性麻醉药,具有麻醉效果好、性质稳定等优点,但七氟烷可引起神经障碍,影响认知功能^[1]。麻醉相关认知障碍常发生在老年患者手术之后,这种现象称为术后认知功能障碍,60岁以上老年患者出现术后认知功能障碍的比例约为25%^[2]。有研究^[3]发现,七氟烷能够诱导神经细胞铁死亡,这可能是七氟烷损伤神经的机制之一。寻找减轻七氟烷造成神经损伤的有效方法是临床麻醉研究中的难点之一。灵芝是十分珍贵的药用真菌,灵芝酸A(ganoderic acid A, GAA)是从灵芝中分离出来的三萜类活性成分,有解毒、镇静、止痛、保肝、抗肿瘤等作用^[4]。另外,GAA还具有降低胆固醇、调节免疫等作用^[5]。有研究^[6]发现,GAA可改善氯化锂-匹鲁卡品诱导的癫痫大鼠海马神经元损伤,对癫痫神经元损伤有改善功效。此外,GAA可以减弱A β 25-35诱导的HT22细胞活力降低、细胞凋亡和衰老^[7]。与此同时,GAA也可以通过刺激 β 肾上腺素能受体在体外保护神经细胞免受NO诱导的应激损伤^[8]。因此,推测GAA可能对于神经细胞具有保护作用,使其免受外界不良刺激引发的应激反应。与此同时,细胞铁死亡与氧化应激又具有密切的联系^[9],核转录因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-related factor 2, Nrf2)具有抗氧化应激的作用,Nrf2可诱导谷胱甘肽过氧化物酶4(phospholipid glutathione peroxidase 4, GPX4)表达、抵抗氧化应激,进而减少铁死亡,神经认知功能障碍与Nrf2/GPX4信号通路调控的神经元细胞铁死亡有关^[10]。目前,对GAA影响七氟烷诱导的神经细胞铁死亡的作用和机制尚不清楚。本研究探讨GAA对七氟烷诱导的小鼠海马神经元HT22细胞铁死亡的影响和作用机制,为七氟烷麻醉神经损伤的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 细胞

小鼠海马神经元 HT22 细胞(CL-0697)购自武汉普诺赛生命科技有限公司,使用含有10%胎牛血清的DMEM培养液培养细胞,置于含有5% CO_2 的37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养。

1.2 主要试剂和仪器

Fe^{2+} 检测试剂盒(E1042-100),购自北京普利莱基因技术有限公司;兔抗GPX4抗体,购自美国Gene-Tex公司;谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒,购自北京索莱宝科技有限公司;Lipofectamine 2000,购自美国英杰生命技术有限公司;4-羟基壬烯醛(4-hydroxy-2E-nonenal, 4-HNE,批号:ab238538)检测试剂盒,购自美国Abcam公司;兔抗Nrf2抗体(批号:sc-365949),购自美国Santa Cruz Biotechnology公司;兔抗酯酰辅酶A合成酶长链家族成员4(Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4,批号:22401-1-AP)抗体,购自美国Proteintech公司;兔抗溶质载体家族成员7成员11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11,批号:A13685)抗体,购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;GAA纯度 $\geq 98\%$,购自上海源叶生物科技有限公司;七氟烷(生产批号:201008,国药准字H20070172),购自上海恒瑞医药有限公司。细胞恒温培养箱购自美国赛默飞世尔科技有限公司。

1.3 细胞处理

参考文献中的方法^[11],将HT22细胞分成对照组(Control组)、七氟烷诱导组(Sev组)、GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ 组、GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组。Sev组、GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ 组、GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组、GAA-

100 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞在实验 0 h 时均给予 4% 七氟烷处理 6 h; 另外, 不同浓度 GAA 组细胞分别添加浓度 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的 GAA 干预。Control 组细胞按照常规方法培养。HT22 细胞培养在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 细胞培养液中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。

1.4 CCK-8 实验检测细胞增殖情况

HT22 细胞接种到 96 孔板内, 每个孔内添加 3000 个细胞, 分别在细胞中添加 0、25、50、100、200、400、800 $\mu\text{mol/L}$ 的 GAA, 按照“1.3”项中分组方法处理, 培养 48 h, 在七氟烷处理后, 在细胞中添加 CCK-8 溶液 10 μL , 继续孵育 3 h。检测 450 nm 处细胞的 OD 值, 计算细胞存活率。

1.5 比色法检测 Fe^{2+} 含量

HT22 细胞按照“1.3”项中分组方法处理, 收集细胞, 用 PBS 洗涤细胞 2 次, 然后用 Fe^{2+} 检测试剂盒测定 Fe^{2+} 含量, 步骤根据试剂盒说明书操作。

1.6 Western blot 检测 Nrf2、GPX4、ACSL4、SLC7A11 蛋白表达

HT22 细胞按照“1.3”项中分组方法处理, 收集细胞, 在细胞中添加含有 PMSF 的 RIPA 溶液, 放在冰上裂解 20 min。4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 $\times g$ 离心 10 min, 吸取上清液, 经过 BCA 方法检测浓度后, 在蛋白上清液中添加 5 \times Loading Buffer, 于 100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 5 min。采用 10% 分离胶、5% 浓缩胶进行电泳, 每个样品孔中添加 40 μg 蛋白样品, 在浓缩胶中采用 90 V 电压电泳, 在分离胶中采用 120 V 电压电泳。设置 110 V 电压转膜, 转膜时间为 120 min。将硝酸纤维素膜放在 5% 脱脂奶粉溶液中, 于室温下结合 2 h。然后将 NC 膜放在稀释后的一抗溶液 (1:1000 稀释) 内, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 反应过夜。最后将 NC 膜放在稀释后的二抗 (1:2000 稀释) 内, 在室温下结合 2 h。ECL 方法显色。ImageJ 扫描条带的灰度值, 设置 GAPDH 作为参照, 根据灰度值计算目的蛋白表达量。目的蛋白表达量=目的条带灰度值/GAPDH 灰度值。

1.7 DCFH-DA 法检测 ROS 的相对含量

HT22 细胞按照“1.3”中分组方法处理, 收集细胞, PBS 洗涤 2 次。添加 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 DCFH-DA, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 10 min。PBS 洗涤 2 次, 荧光显微镜下观察并拍照, 另外通过荧光酶标仪检测荧光强度,

根据荧光强度计算 ROS 相对含量。

1.8 检测细胞中 MDA、GSH、4-HNE 水平

HT22 细胞按照“1.3”项中分组方法处理, 收集细胞, 用 MDA 检测试剂盒 (可见分光光度法)、GSH 检测试剂盒 (微量法)、4-HNE 检测试剂盒 (比色法) 测定细胞中 MDA、GSH、4-HNE 含量, 步骤参照试剂盒说明书进行。

1.9 统计学分析

数据均利用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计分析, 所有数据资料运用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示, 采用单因素方差分析对组间差异进行分析, $P<0.05$ 表示差异存在统计学意义。

2 结果

2.1 GAA 对 HT22 细胞增殖的影响

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较, 200 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.01$)、400 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.001$)、800 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.001$) GAA 作用后 HT22 细胞的存活率下降。详见图 1。选择对 HT22 细胞增殖活性无影响的 25、50、100 $\mu\text{mol/L}$ GAA 进行后续实验研究。

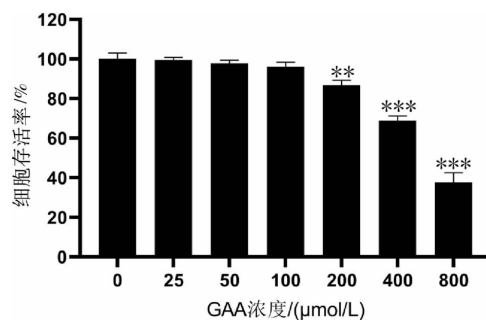


图 1 不同浓度的 GAA 处理后的 HT22 细胞存活率

注: 与 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

2.2 GAA 改善七氟烷诱导的 HT22 细胞增殖活性降低和铁死亡

与 Control 组比较, Sev 组 HT22 细胞存活率下降, Fe^{2+} 水平升高, 并且细胞中 ACSL4、SLC7A11 蛋白表达减少 ($P<0.001$); 与 Sev 组比较, GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.05$)、GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.001$)、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.001$) 的 HT22 细胞存活率升高。与 Sev 组比较, GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.01$)、GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.001$)、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.001$) 的 HT22 细胞 Fe^{2+} 水平降低。与 Sev 组比较, GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.001$)、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.001$) 的 HT22 细胞中 ACSL4、SLC7A11 蛋白表达增多。详见图 2。

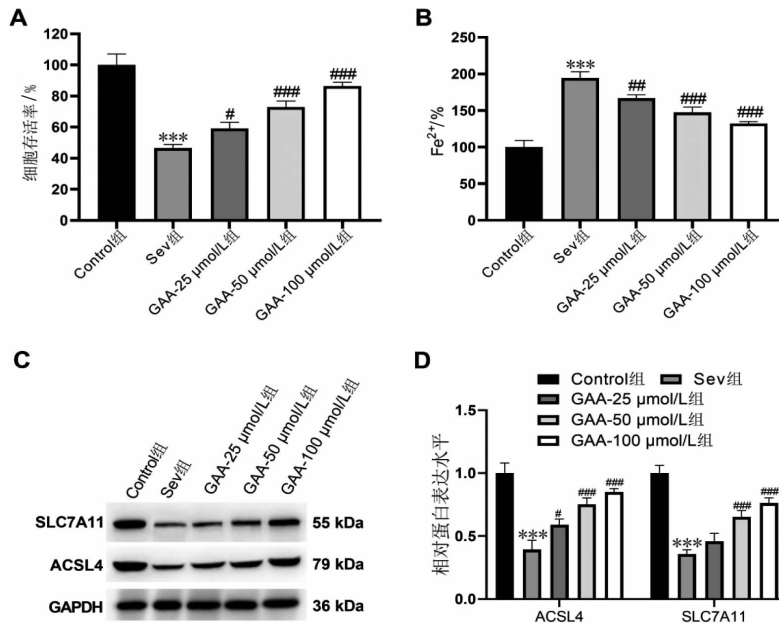


图2 GAA对七氟烷诱导的HT22细胞增殖和铁死亡的影响

注:A.各组细胞存活率比较;B.各组细胞中Fe²⁺水平比较;C.ACSL4、SLC7A11蛋白表达条带图;D.ACSL4、SLC7A11蛋白表达量比较;与Control组比较,*** $P < 0.001$;与Sev组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$ 。

2.3 GAA降低七氟烷诱导的HT22细胞氧化应激
与Control组比较,Sev组HT22细胞中ROS、MDA、4-HNE含量升高($P < 0.001$),而GSH含量降低($P < 0.001$);与Sev组比较,GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组的HT22细胞中ROS、MDA、4-HNE含量降低($P < 0.001$),而GSH含量升高($P < 0.001$)。详见图3。

2.4 GAA激活七氟烷诱导的HT22细胞中Nrf2/GPX4信号通路
与Control组比较,Sev组HT22细胞中Nrf2、GPX4蛋白表达减少($P < 0.001$);与Sev组比较,GAA-25 $\mu\text{mol/L}$ 组($P < 0.05$)、GAA-50 $\mu\text{mol/L}$ 组($P < 0.001$)、GAA-100 $\mu\text{mol/L}$ 组($P < 0.001$)的HT22细胞中Nrf2、GPX4信号通路。详见图4。

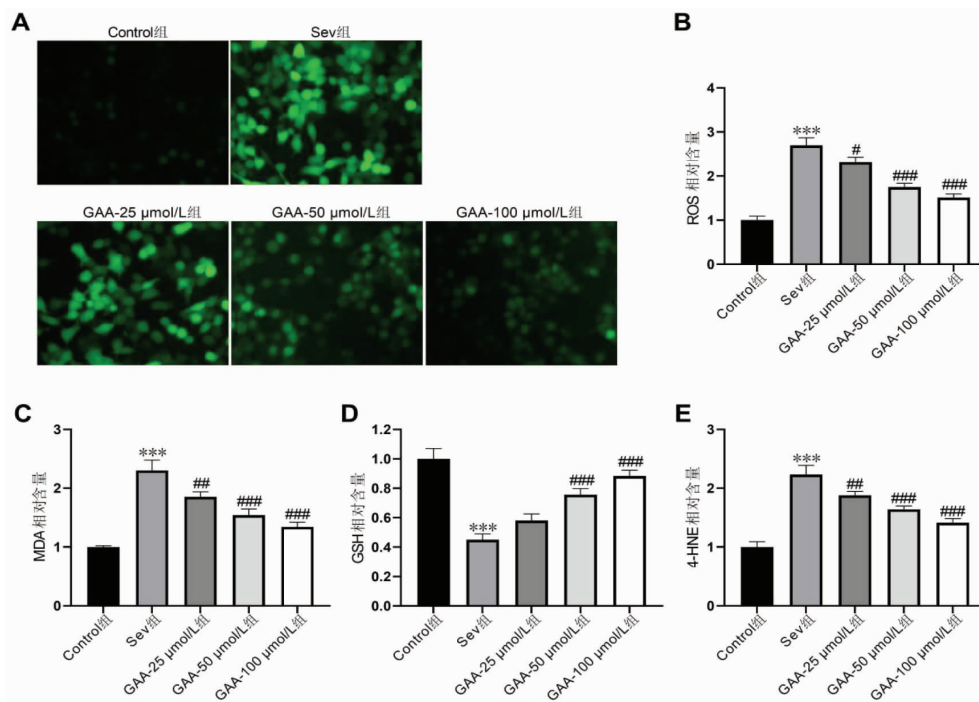


图3 GAA对七氟烷诱导的HT22细胞氧化应激的影响

注:A.DCFH-DA法检测ROS结果;B.细胞中ROS相对含量比较;C.细胞中MDA相对含量比较;D.细胞中GSH相对含量比较;E.细胞中4-HNE相对含量比较;与Control组比较,*** $P < 0.001$;与Sev组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$ 。

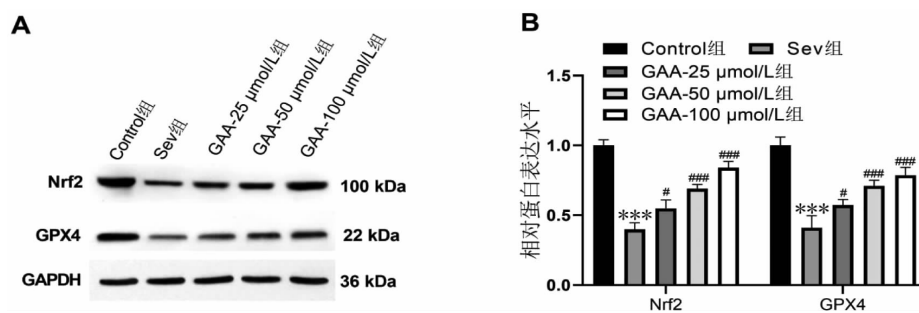


图4 GAA对七氟烷诱导的HT22细胞中Nrf2/GPX4信号通路相关蛋白表达的影响

注:A.Nrf2、GPX4蛋白表达条带图;B.Nrf2、GPX4蛋白表达量比较;与Control组比较,*** $P<0.05$;与Sev组比较,# $P<0.05$,### $P<0.001$ 。

3 讨论

七氟烷作为临床十分常见的吸入性麻醉药,其可以诱导认知损害^[12]。研究^[3]表明,七氟烷处理后的神经细胞增殖活性降低,铁死亡增多,这可能是七氟烷造成神经功能障碍的关键因素之一。铁死亡的发生常常伴随ROS含量增多、铁离子水平升高、脂质过氧化异常等现象,铁死亡是细胞死亡的方式之一,在神经系统损伤、肿瘤、肾损伤等相关疾病中存在^[13]。铁死亡时,细胞内游离了大量的 Fe^{2+} , Fe^{2+} 具有极强的氧化作用,其可以与过氧化氢作用,产生羟基自由基,诱导脂质过氧化,MDA、4-HNE是脂质发生过氧化后的产物^[14]。ACSL4在脂肪酸代谢中发挥作用,可促进长链不饱和脂肪酸活化,ACSL4缺失时,可导致长链不饱和脂肪酸被氧化,诱导铁死亡^[15]。本研究显示,七氟烷处理后的HT22细胞增殖活性下降,细胞中 Fe^{2+} 增多,ACSL4、SLC7A11蛋白表达减少,这提示七氟烷诱导神经细胞铁死亡,与之前的研究报道一致^[15],表明铁死亡可能是七氟烷神经损伤的关键因素之一。七氟烷诱导HT22细胞增殖活性降低和铁死亡,而GAA能够提高HT22细胞增殖活性并减少铁死亡。GAA处理能够减弱七氟烷对细胞活性和 Fe^{2+} 水平的影响,并且能够促进ACSL4、SLC7A11蛋白表达。这些实验结果表明GAA可能通过抑制七氟烷神经细胞铁死亡发挥神经保护作用,GAA可能是治疗七氟烷麻醉造成的神经损伤的潜在药物。

各种原因导致的过度氧化应激是神经功能损伤的主要诱因之一。在氧化应激条件下,神经细胞内ROS水平增加,大量的ROS可促进细胞内膜脂质和蛋白质发生过氧化,进而导致神经元氧化损伤^[16]。

GSH是人体内重要的抗氧化物,其可以清除ROS,将过氧化氢还原为 H_2O ,修复生物膜,抵抗铁死亡^[17]。另外,GSH耗竭还可以诱导GPX4活性降低,而GPX4是铁死亡和抗氧化反应的中心调控因子,GPX4异常被认为是细胞铁死亡的必要条件^[18]。GSH的合成受到半胱氨酸浓度影响,半胱氨酸含量不足时,能够阻断GSH的合成,而SLC7A11是半胱氨酸蛋白转运系统的重要组成部分^[19]。本研究结果显示,七氟烷处理后的HT22细胞ROS、MDA、4-HNE含量升高,GSH含量降低,表明七氟烷导致HT22神经细胞出现氧化损伤。同时,GAA处理可降低细胞中ROS、MDA、4-HNE水平,并且能够提高GSH含量,这说明GAA有抗七氟烷诱导的HT22细胞氧化应激的作用。

Nrf2是氧化应激的关键调控因子,其一方面可促进GPX4表达,一方面又可以诱导GSH合成,进而抑制铁死亡^[20]。Nrf2/GPX4信号是氧化应激、铁死亡的重要参与者^[21]。Nrf2和GPX4在脓毒症相关认知障碍中发挥作用,Nrf2/GPX4信号信号通路可能通过诱导海马神经元细胞铁死亡影响神经功能^[10]。本实验进一步说明,Nrf2/GPX4信号参与七氟烷神经损伤,七氟烷神经损伤可能与Nrf2/GPX4信号通路抑制有关。GAA促进Nrf2、GPX4蛋白表达,说明GAA可能是通过激活Nrf2/GPX4信号通路,抑制七氟烷诱导的HT22细胞铁死亡,进而发挥神经保护作用。

综上所述,GAA可减轻七氟烷诱导的HT22细胞铁死亡,作用机制与激活Nrf2/GPX4信号通路有关,GAA可能是改善七氟烷麻醉神经损伤的治疗药物。本实验结果为七氟烷麻醉神经损伤的治疗提

供了思路,为研究七氟烷麻醉神经损伤机制奠定了基础。后续将继续探讨 GAA 抗七氟烷麻醉神经损伤的具体分子靶向机制。

参考文献

- [1] KONISHI Y, EVERED L A, SCOTT D A, et al. Postoperative cognitive dysfunction after sevoflurane or propofol general anaesthesia in combination with spinal anaesthesia for hip arthroplasty[J]. *Anaesthesia and Intensive Care*, 2018, 46(6): 596-600.
- [2] ZHOU X, LU D H, LI W D, et al. Sevoflurane affects oxidative stress and alters apoptosis status in children and cultured neural stem cells[J]. *Neurotoxicity Research*, 2018, 33(4): 790-800.
- [3] CHENG L, ZHU X D, LIU Y, et al. ACSL4 contributes to sevoflurane-induced ferroptotic neuronal death in SH-SY5Y cells via the 5' AMP-activated protein kinase/mammalian target of rapamycin pathway[J]. *Annals of Translational Medicine*, 2021, 9(18): 1454.
- [4] 邢康康,刘 艳,贺宗毅,等.灵芝酸研究进展[J]. *食用菌学报*, 2017,24(3):96-103.
- [5] 张菲菲,刘如明.灵芝酸的药物代谢动力学研究进展[J]. *中国中药杂志*,2019,44(5):905-911.
- [6] 王丽欣,刘 蕾,刘君星,等.灵芝酸对锂-匹鲁卡品致痫大鼠海马神经元的保护作用[J]. *中国老年学杂志*,2015,35(7):1907-1909.
- [7] SHEN S H, WANG X M, LV H, et al. PADI4 mediates autophagy and participates in the role of ganoderic acid A monomers in delaying the senescence of Alzheimer's cells through the Akt/mTOR pathway [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2021, 85(8): 1818-1829.
- [8] YU Z R, JIA W H, LIU C, et al. Ganoderic acid A protects neural cells against NO stress injury in vitro via stimulating β adrenergic receptors[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2020, 41(4): 516-522.
- [9] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation[J]. *Trends in Cell Biology*, 2016,26(3): 165-176.
- [10] 姚 鹏,陈 勇,李依玲,等.海马神经细胞铁死亡通过 Nrf2/GPX4 信号通路导致脓毒症相关性脑病大鼠认知功能障碍[J]. *中华危重病急救医学*,2019(11):1389-1394.
- [11] LIU H C, WANG J, YAN R R, et al. microRNA-204-5p mediates sevoflurane-induced cytotoxicity in HT22 cells by targeting brain-derived neurotrophic factor[J]. *Histology and Histopathology*, 2020, 35(11):1353-1361.
- [12] 郭丽丽,姜艳华,田阿勇.七氟醚与丙泊酚对经皮肾镜取石术后肾功能及认知功能的影响[J]. *中国医科大学学报*,2019,48(5):414-416,424.
- [13] GLEITZE S, PAULA-LIMA A, NÚÑEZ M T, et al. The calcium-iron connection in ferroptosis-mediated neuronal death[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2021, 175: 28-41.
- [14] TANG H M, CHEUNG P C K. Gallic acid triggers iron-dependent cell death with apoptotic, ferroptotic, and necroptotic features[J]. *Toxins*, 2019, 11(9): 492.
- [15] MA S X, SUN L Y, WU W H, et al. USP22 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via the SIRT1-p53/SLC7A11-dependent inhibition of ferroptosis-induced cardiomyocyte death[J]. *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 551318.
- [16] DIXON S J, STOCKWELL B R. The role of iron and reactive oxygen species in cell death[J]. *Nature Chemical Biology*, 2014, 10(1): 9-17.
- [17] 宣文婷,杨泽勇,季雅茹,等.p53抑制铁死亡抵抗 HT22 细胞谷氨酸神经毒性[J]. *中国药理学通报*,2019,35(5):654-660.
- [18] 余 旭,唐文静,唐 标.铁死亡与脑卒中的神经损伤[J]. *中国生物化学与分子生物学报*,2020,36(7):756-765.
- [19] 徐丽程,田霖丽,刘 鸣.铁死亡的代谢关联机制及其在肿瘤免疫治疗中的作用研究进展[J]. *中国肿瘤临床*,2021,48(1):40-44.
- [20] SONG X H, LONG D X. Nrf2 and ferroptosis: A new research direction for neurodegenerative diseases[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, 14: 267.
- [21] SHIN D, KIM E H, LEE J, et al. Nrf2 inhibition reverses resistance to GPX4 inhibitor-induced ferroptosis in head and neck cancer[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2018, 129: 454-462.

(本文编辑 苏 维)