

本文引用: 江小红, 库 雄, 魏从兵. 基于 Nrf2/GPX4 介导的铁死亡探讨异荭草素对非小细胞肺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(3): 445-452.

基于 Nrf2/GPX4 介导的铁死亡探讨异荭草素对非小细胞肺癌细胞增殖和凋亡的影响

江小红¹, 库 雄², 魏从兵^{1*}

1.中国地质大学(武汉)医院,湖北 武汉 430070;2.武汉科技大学,湖北 武汉 430070

[摘要] **目的** 基于核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)信号通路,探究异荭草素(ISO)对非小细胞肺癌(NSCLC)细胞恶性生物学表型的影响。**方法** 以人 NSCLC 细胞 HCC827 为研究对象,实验分为对照组、异荭草素+oe-NC 组、异荭草素+oe-Nrf2 组、oe-Nrf2 组、oe-NC 组。MTT 检测细胞活力,Edu 实验检测细胞增殖,流式细胞术检测细胞凋亡及脂质过氧化水平,试剂盒检测细胞中丙二醛(MDA)、铁、还原型谷胱甘肽(GSH)/氧化型谷胱甘肽(GSSG)水平,Western blot 检测细胞中 Nrf2(细胞核)、GPX4、前列腺素过氧化物合酶 2(PTGS2)及溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)蛋白的表达水平,免疫荧光实验检测 Nrf2 核转位情况。**结果** 相对于 oe-NC 组,异荭草素+oe-NC 组 Edu 阳性细胞数减少($P<0.05$),细胞凋亡率增加($P<0.05$),细胞中的脂质过氧化、MDA、铁水平升高($P<0.05$),细胞中的 GSH/GSSG 水平降低($P<0.05$),细胞中的 Nrf2(细胞核)、GPX4、SLC7A11 蛋白的表达下调($P<0.05$),PTGS2 蛋白的表达上调($P<0.05$),Nrf2 核转位减少;相对于异荭草素+oe-NC 组,异荭草素+oe-Nrf2 组 Edu 阳性细胞数增加($P<0.05$),细胞凋亡率降低($P<0.05$),细胞中的脂质过氧化、MDA、铁水平降低($P<0.05$),细胞中的 GSH/GSSG 水平升高($P<0.05$),细胞中的 Nrf2(细胞核)、GPX4、SLC7A11 蛋白的表达水平上调($P<0.05$),PTGS2 蛋白的表达水平下调($P<0.05$),Nrf2 核转位增加。**结论** ISO 能够抑制非小细胞肺癌细胞的增殖,并促进其凋亡,所涉及机制可能与抑制 Nrf2/GPX4 信号通路来诱导铁死亡有关。

[关键词] 非小细胞肺癌;异荭草素;Nrf2/GPX4;铁死亡;增殖;凋亡

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.03.008

Effects of isoorientin on proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer cells based on Nrf2/GPX4-mediated ferroptosis

JIANG Xiaohong¹, KU Xiong², WEI Congbing^{1*}

1. Hospital of China University of Geosciences (Wuhan), Wuhan, Hubei 430070, China; 2. Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430070, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of isoorientin (ISO) on the malignant biological phenotypes of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells based on the nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/glutathione peroxidase 4 (GPX4) signaling pathway. **Methods** Human NSCLC cells HCC827 were used as the research object. Control group, ISO+oe-NC group, ISO+oe-

[收稿日期]2024-12-21

[基金项目]湖北省中医药管理局中医药科研项目(ZY2023F053);武汉市中医药科研项目(WZ24Q13)。

[通信作者]* 魏从兵,男,副主任医师,E-mail: 1076846313@qq.com。

Nrf2 group, oe-Nrf2 group, and oe-NC group were divided in the experiment. Cell viability was measured by MTT assay, cell proliferation was checked by Edu assay, cell apoptosis and lipid peroxidation levels were identified by flow cytometry, levels of malondialdehyde (MDA), iron, reduced glutathione (GSH)/oxidized glutathione (GSSG) in cells were measured by kits, expression levels of Nrf2 (nuclear), GPX4, prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), and solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11) proteins in cells were measured by Western blot, and Nrf2 nuclear translocation was examined by immunofluorescence assay.

Results Compared with the oe-NC group, the isoorientin+oe-NC group had significantly decreased number of Edu-positive cells ($P<0.05$), significantly higher apoptosis rate ($P<0.05$), the significantly higher levels of lipid peroxidation, MDA, and iron in cells ($P<0.05$), the significantly lower GSH/GSSG level in cells ($P<0.05$), the significantly reduced expression of Nrf2 (nuclear), GPX4, and SLC7A11 proteins in cells ($P<0.05$), the significantly up-regulated PTGS2 protein expression level ($P<0.05$), and reduced Nrf2 nuclear translocation; compared with the ISO+oe-NC group, the ISO+oe-Nrf2 group showed significantly increased Edu positive cells ($P<0.05$), the significantly decreased apoptosis rate ($P<0.05$), the significantly decreased levels of lipid peroxidation, MDA, and iron in cells ($P<0.05$), the significantly increased GSH/GSSG level in cells ($P<0.05$), the significantly up-regulated expression of Nrf2 (nuclear), GPX4, and SLC7A11 proteins in cells ($P<0.05$), the significantly down-regulated expression of PTGS2 protein ($P<0.05$), and increased Nrf2 nuclear translocation.

Conclusion ISO can inhibit the proliferation of NSCLC cells and promote their apoptosis, and the mechanism involved may be related to the induction of ferroptosis by inhibiting the Nrf2/GPX4 signaling pathway.

[**Keywords**] non-small cell lung cancer; isoorientin; Nrf2/GPX4; ferroptosis; proliferation; apoptosis

肺癌是最常见的癌症之一,也是全球癌症相关死亡的主要原因,根据 GLOBOCAN 的数据,2022 年全球肺癌新发病例近 250 万,死亡人数近 180 万^[1]。肺癌分为两大组织学亚型:小细胞肺癌和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC),其中 NSCLC 约占所有病例的 85%^[2]。作为肺癌的主要组织学亚型,NSCLC 对人类健康构成了重大威胁。目前,NSCLC 的主要治疗方案包括手术切除、放疗、化疗、免疫治疗和分子靶向治疗,然而,这些方法尚无法完全满足患者的生存预期^[3]。异荛草素(isoorientin, ISO)为来源于决明子、夏枯草等中药的天然黄酮类化合物,现代药理学研究表明其具有抗肿瘤、抑炎、镇痛等功效^[4]。大量研究已证实,ISO 对肿瘤有较好的抑制作用。XU 等^[5]研究发现,ISO 能够诱导人肺癌细胞 A549 发生凋亡及细胞周期阻滞。FENG 等^[6]研究发现,ISO 能通过调控核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor-erythrocyte 2-related factor 2, Nrf2)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4) 信号通路促进铁死亡,从而逆转肺癌耐药性。KIM 等^[7]研究发现,ISO 能通过抑制 CXCR4 趋化因子受体 4 的表达来抑制乳腺癌和结肠癌细胞的侵袭。然而,ISO 抑制 NSCLC 进展的分子机制尚未完全阐明。

铁死亡是一种铁依赖性进程性细胞死亡,是一种与许多代谢途径紧密相关的新型肿瘤抑制机制^[8]。研究表明,通过诱导肺癌细胞铁死亡,能逆转肺癌化疗耐药,抑制肺癌的恶性表型^[9]。Nrf2 是调节细胞氧化还原平衡和炎症相关基因表达的主要转录因子^[10]。GPX4 在铁死亡通路中起着至关重要的作用,GPX4 失活是铁死亡的关键特征之一^[11]。相关研究发现,通过调控 Nrf2/GPX4 信号通路可以诱导 NSCLC 细胞发生铁死亡^[12]。然而,ISO 是否能够通过调控 Nrf2/GPX4 信号通路介导的铁死亡影响 NSCLC 恶性表型尚未可知。因此,本研究通过引入 Nrf2 过表达载体(over expression Nrf2, oe Nrf2),探究 ISO 是否能够通过调控 Nrf2/GPX4 信号通路调控铁死亡而抑制 NSCLC 细胞的恶性表型。

1 材料与方法

1.1 药物及试剂

ISO(上海源叶生物有限公司,批号:4261-42-1); 脂质体 lipofectamine 2000(美国 Invitrogen 公司,批号:11668019);oe Nrf2 及其过表达载体阴性对照(over expression NC, oe NC)(上海吉玛公司);MTT 试剂(批号:C0009S)、Edu 细胞增殖试剂盒(批号:

ST067)、丙二醛(malonatdehyde, MDA)测定试剂盒(批号:S0131S)均购自上海碧云天公司;GSH/GSSG测定试剂盒(批号:ab138881)、铁测定试剂盒(批号:ab83366)、Nrf2抗体(批号:ab62352)、GPX4抗体(批号:ab125066)、前列腺素过氧化物合酶2(prostaglandin peroxide synthase 2, PTGS2)抗体(批号:ab179800)、溶质载体家族7成员11(solute carrier family 7 members11, SLC7A11)抗体(批号:ab307602)均购自美国Abcam公司。倒置荧光显微镜(德国Carl Zeiss AG公司,型号:XSP-2CA);流式细胞仪(美国FC500-MCL公司,型号:CytoFLEX S);电泳及转膜装置(美国Bio-Rad公司,型号:DYY-60)。

1.2 细胞培养

人NSCLC细胞HCC827购自上海钰博生物科技有限公司,货号:CL-0094,培养于含10%胎牛血清和1%青链霉素的培养基中,置于37℃、5% CO₂的恒温培养箱。

1.3 细胞处理及转染

细胞转染:按照说明书利用脂质体lipofectamine 2000将oe NC、oe Nrf2、转染至HCC827细胞中^[13],转染后24 h进行转染效率验证或ISO给药处理。ISO处理:将ISO加入HCC827细胞中孵育24 h后收集细胞进行分子生物学实验测定。

1.4 检测指标

1.4.1 MTT实验 参照既往研究,用10、20、40、80、120、160、200 μmol/L梯度浓度的ISO处理HCC827细胞^[14-15]。取对数生长期的HCC827细胞接种于96孔板中,每组3个复孔,培养24 h,更换为含1% FBS的培养基同步化细胞24 h,随后进行细胞转染及给药处理,结束后每孔加入100 μL MTT溶液孵育4 h,弃去MTT溶液,避光加入DMSO溶液摇床上孵育10 min,于酶标仪中测量每孔在490 nm处的吸光度值。

1.4.2 Edu染色实验 取对数生长期的HCC827细胞接种于12孔板中,每组3个复孔,细胞转染及给药处理后按照Edu细胞增殖试剂盒说明书进行操作,最后用倒置荧光显微镜拍照并记录。

1.4.3 流式细胞术 检测细胞凋亡:取各组HCC827细胞,将10 μL Annexin V-FITC和10 μL碘化丙啶加入200 μL含有1×10⁶个细胞的PBS溶液中,在4℃的暗室中作用30 min,上流式细胞仪检测各

组细胞凋亡情况,依据公式“细胞凋亡率=凋亡细胞/总细胞×100%”计算细胞凋亡率(流式细胞分析图右上区为晚期凋亡细胞,右下区为早期凋亡细胞)。

检测脂质过氧化水平:HCC827细胞用10 μmol/L的BODIPY 581/591 C11探针处理30 min,细胞用流式细胞术进行分析。

1.4.4 细胞内铁水平及MDA、GSH/GSSG含量的测定 按铁测定试剂盒说明书,将相关试剂加入细胞中,采用酶标仪在波长593 nm处测定吸光度值。收集并裂解细胞,按照MDA测定试剂盒及GSH/GSSG测定试剂盒测定细胞裂解液中MDA、GSH/GSSG含量。

1.4.5 免疫荧光染色实验 将处于对数生长期的HCC827细胞接种于24孔板中(含细胞爬片),将细胞爬片放于24孔板中,4%多聚甲醛固定10 min,0.5% TritonX-100渗透,5% BSA室温封闭,Nrf2一抗4℃孵育过夜,二抗室温孵育1 h,DAPI染细胞核,荧光显微镜观察并拍照记录。

1.4.6 Western blot实验 用细胞质细胞核蛋白提取试剂盒提取细胞核蛋白,用RAPI组织裂解液提取细胞总蛋白,BCA法定量蛋白浓度。样品蛋白加等体积的变性液,煮沸10 min。加样、电泳、转膜、封闭2 h、一抗孵育过夜、二抗孵育1 h、显影。用Image J软件分析目标条带灰度值,以GAPDH或Lamin B为内参,根据灰度值半定量目标蛋白的表达水平。目标蛋白表达水平=目标蛋白条带灰度值/GAPDH或Lamin B蛋白条带灰度值。

1.5 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件进行数据处理,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用One-Way ANOVA分析,组间两两比较采用LSD检验。均以P<0.05表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ISO作用于肺癌细胞浓度的筛选

由MTT实验可知,ISO作用于HCC827细胞的IC₅₀浓度为101.1 μmol/L,因此,本研究选取100 μmol/L的ISO进行后续实验。详见图1。

2.2 Nrf2过表达逆转ISO诱导的铁死亡

相对于对照组,oe-NC组HCC827细胞中Nrf2

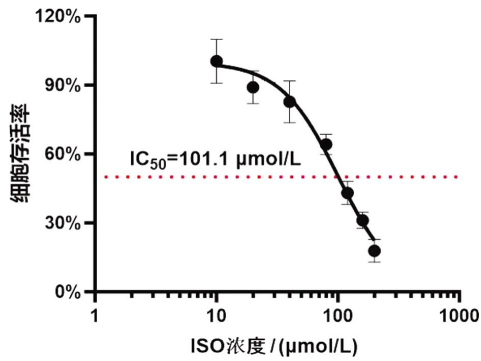


图 1 MTT 实验检测 ISO 对 HCC827 细胞活力的影响
($\bar{x}\pm s, n=3$)

Fig.1 Effects of MTT assay on cell viability of HCC827 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

(细胞核)、GPX4、PTGS2、SLC7A11 蛋白表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);相对于 oe-NC 组, oe-Nrf2 组 HCC827 细胞中 Nrf2(细胞核)、GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平上调($P<0.05$),PTGS2 蛋白表达水平下调($P<0.05$),异荭草素+oe-NC 组 HCC827 细胞中 Nrf2(细胞核)、GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平下调($P<0.05$),PTGS2 蛋白表达水平上调($P<0.05$);相对于异荭草素+oe-NC 组,异荭草素+oe-Nrf2 组 HCC827 细胞中 Nrf2(细胞核)、GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平上调($P<0.05$),PTGS2 蛋白表达水平下调($P<0.05$)。详见图 2 及表 1。

相对于对照组,oe-NC 组 HCC827 细胞中脂质过氧化、MDA、铁、GSH/GSSG 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);相对于 oe-NC 组,oe-Nrf2 组 HCC827 细胞中脂质过氧化、MDA、铁水平降低($P<0.05$),GSH/GSSG 水平升高($P<0.05$),异荭草素+oe-NC 组 HCC827 细胞中脂质过氧化、MDA、铁水平升高($P<0.05$),GSH/GSSG 水平降低($P<0.05$);相对于异荭草素+oe-NC 组,异荭草素+oe-Nrf2 组 HCC827 细胞中

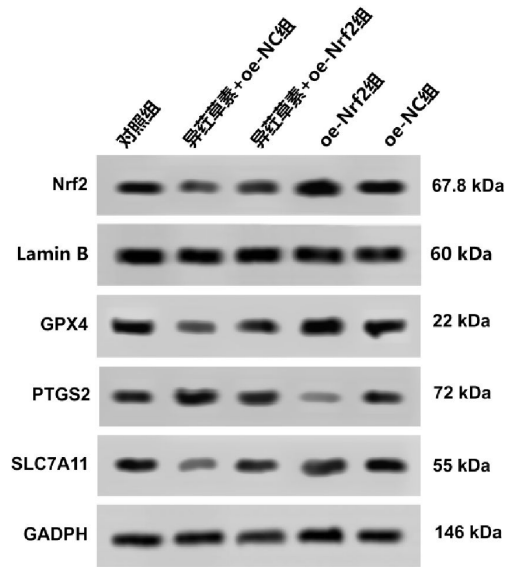


图 2 Western blot 实验检测各组细胞中 Nrf2/GPX4 信号通路相关基因蛋白的表达

Fig.2 The expression of Nrf2/GPX4 signaling pathway-related gene proteins in each group measured by Western blot assay

表 1 各组细胞中 Nrf2/GPX4 信号通路相关基因蛋白表达比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Comparison of protein expression of genes related to Nrf2/GPX4 signaling pathway among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	Nrf2(细胞核)	GPX4	PTGS2	SLC7A11
对照组	0.96±0.08	1.07±0.07	0.71±0.05	0.76±0.06
异荭草素+oe-NC 组	0.47±0.03*	0.51±0.04*	1.15±0.11*	0.31±0.03*
异荭草素+oe-Nrf2 组	0.85±0.06 [#]	0.86±0.06 [#]	0.82±0.07 [#]	0.58±0.06 [#]
oe-Nrf2 组	1.42±0.12*	1.30±0.09*	0.37±0.05*	1.26±0.10*
oe-NC 组	0.98±0.06	1.04±0.10	0.69±0.05	0.79±0.09

注:与 oe-NC 组相比,* $P<0.05$;与异荭草素+oe-NC 组相比,[#] $P<0.05$ 。

脂质过氧化、MDA、铁水平降低($P<0.05$),GSH/GSSG 水平升高($P<0.05$)。详见表 2。

表 2 各组 HCC827 细胞中脂质过氧化、MDA、铁、GSH/GSSG 水平比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Comparison of lipid peroxidation, MDA, iron, GSH/GSSG levels in HCC827 cells among different groups ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	脂质过氧化/荧光强度	MDA/(μmol/mg)	铁/%	GSH/GSSG/%
对照组	15.27±1.18	0.14±0.01	100.00±0.00	100.00±0.00
异荭草素+oe-NC	56.52±4.65*	0.38±0.04*	155.51±10.56*	37.74±3.15*
异荭草素+oe-Nrf2	34.62±2.42 [#]	0.20±0.02 [#]	127.41±11.42 [#]	86.09±6.12 [#]
oe-Nrf2	8.05±0.71*	0.09±0.01*	71.63±5.07*	143.61±7.10*
oe-NC	15.06±1.06	0.13±0.02	102.62±8.14	101.57±9.95
F 值	192.147	75.404	44.820	110.182
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 oe-NC 组相比,* $P<0.05$;与异荭草素+oe-NC 组相比,[#] $P<0.05$ 。

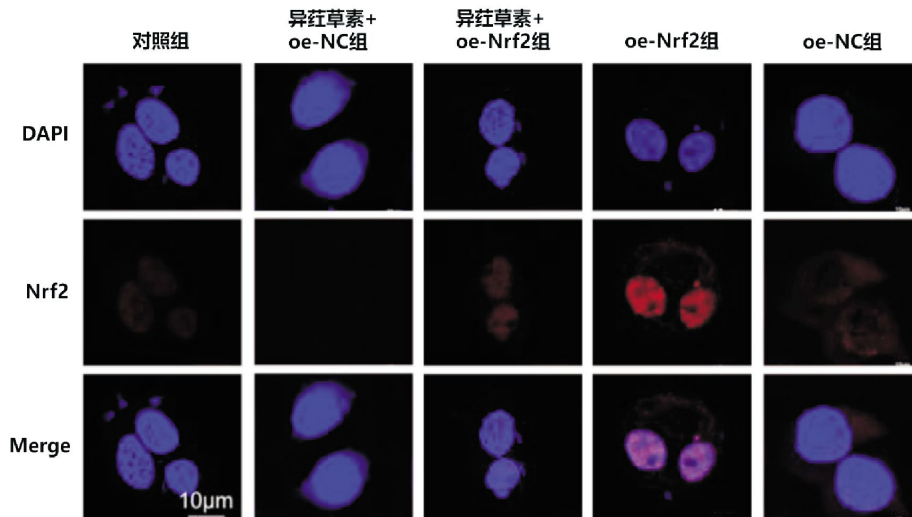


图3 免疫荧光实验检测各组细胞 Nrf2 的核转位情况

Fig.3 Nuclear translocation of Nrf2 in each group of cells measured by immunofluorescence assay

注:蓝色为细胞核显色;红色为目标蛋白 Nrf2 显色。

2.3 Nrf2 过表达逆转 ISO 对 Nrf2 核转位的影响

相对于对照组,oe-NC 组 HCC827 细胞 Nrf2 荧光强度无变化;相对于 oe-NC 组,oe-Nrf2 组 HCC827 细胞 Nrf2 荧光强度增强,而异荭草素+oe-NC 组 HCC827 细胞 Nrf2 荧光强度减弱;相对于异荭草素+oe-NC 组,异荭草素+oe-Nrf2 组 HCC827 细胞 Nrf2 荧光强度增强。详见图 3。

2.4 Nrf2 过表达逆转 ISO 对细胞增殖的影响

相对于对照组,oe-NC 组 HCC827 细胞的 Edu 阳性细胞数比较差异无统计学意义($P>0.05$);相对于 oe-NC 组,oe-Nrf2 组 HCC827 细胞的 Edu 阳性细胞数显著增加($P<0.05$),异荭草素+oe-NC 组的 Edu 阳性细胞数显著减少($P<0.05$);相对于异荭草素+oe-NC 组,异荭草素+oe-Nrf2 组 HCC827 细胞的 Edu 阳性细胞数显著增加($P<0.05$)。详见表 3 及图 4。

表 3 各组细胞中 Edu 阳性细胞数占比比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Comparison of the proportion of Edu positive cells among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	Edu 阳性细胞数占比/%
对照组	100.00±0.00
异荭草素+oe-NC 组	36.84±4.42*
异荭草素+oe-Nrf2 组	62.09±5.63 [#]
oe-Nrf2 组	172.17±12.69*
oe-NC 组	92.36±7.83
F 值	142.914
P 值	<0.001

注:与 oe-NC 组相比,* $P<0.05$;与异荭草素+oe-NC 组相比,[#] $P<0.05$ 。

2.5 Nrf2 过表达逆转 ISO 对细胞凋亡的影响

相对于对照组,oe-NC 组 HCC827 细胞的凋亡率比较差异无统计学意义($P>0.05$);相对于 oe-NC 组,oe-Nrf2 组 HCC827 细胞的凋亡率显著降低($P<0.05$),而异荭草素+oe-NC 组细胞的凋亡率显著升高($P<0.05$);相对于异荭草素+oe-NC 组,异荭草素+oe-Nrf2 组 HCC827 细胞的凋亡率显著降低($P<0.05$)。详见表 4 及图 5。

表 4 各组细胞凋亡率的比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Comparison of apoptosis rates among different groups of cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	凋亡率/%
对照组	13.85±2.05
异荭草素+oe-NC 组	45.96±5.63*
异荭草素+oe-Nrf2 组	26.84±3.71 [#]
oe-Nrf2 组	7.08±1.85*
oe-NC 组	13.49±2.14
F 值	62.261
P 值	<0.001

注:与 oe-NC 组相比,* $P<0.05$;与异荭草素+oe-NC 组相比,[#] $P<0.05$ 。

3 讨论

NSCLC 包括肺腺癌、肺鳞状细胞癌和大细胞癌,由于其易复发和易转移的特点,NSCLC 患者的预后并不理想^[16]。ISO 属于天然的黄酮类物质,广泛存在于藜麦、莲子、葛根等植物中,具有抗癌、抗炎、止痛等药理作用^[17]。目前,相关研究已发现 ISO 能够

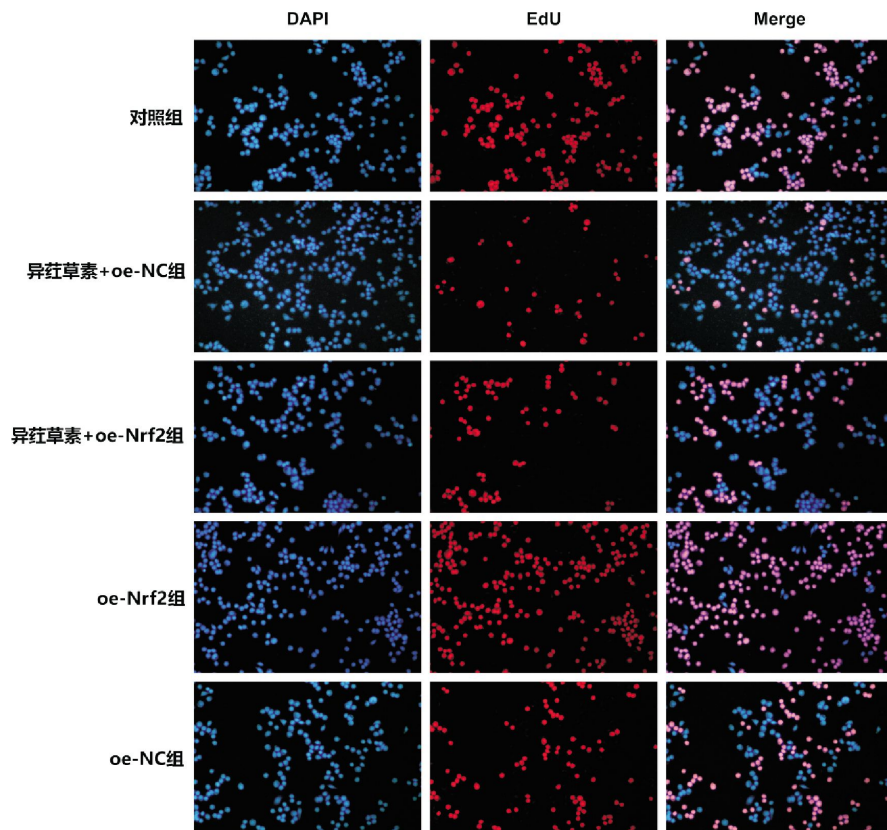


图 4 Edu 染色实验检测各组 HCC827 细胞的增殖情况

Fig.4 Proliferation of HCC827 cells in each group measured by Edu staining assay

注:蓝色为细胞核显色;红色为 Edu 阳性细胞显色。

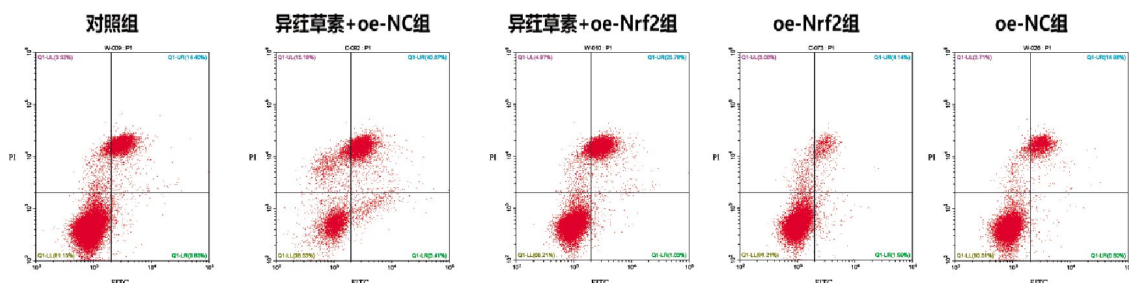


图 5 流式细胞术检测各组 HCC827 细胞的凋亡情况

Fig.5 Apoptosis of HCC827 cells in each group measured by flow cytometry

通过促进肺癌细胞凋亡及细胞周期阻滞,并抑制其迁移而发挥抗癌作用^[5,18]。然而,ISO 治疗肺癌的报道较少,其作用效果及分子机制仍需进一步探究。首先,本研究通过 MTT 实验发现 ISO 对 NSCLC 细胞有较高的细胞毒性,其作用于 HCC827 细胞的 IC₅₀ 浓度为 101.1 μmol/L。其次,本研究发现,ISO 能够显著抑制 NSCLC 细胞的增殖并促进其凋亡,表明 ISO 能有效抑制 NSCLC 细胞的恶性表型。上述研究提示,ISO 可能对 NSCLC 有良好的抗肿瘤作用。

铁死亡是一种独特的程序性细胞死亡类型,于 2012 年被首次记录,由细胞内铁超载引起的 ROS

和脂质过氧化所驱动^[19]。研究表明,通过促进铁死亡可以抑制非小细胞肺癌病理进程。OUYANG 等^[20]研究发现,苦参-蒲公英汤通过诱导铁死亡和调节肿瘤免疫微环境抑制 NSCLC。XU 等^[21]研究发现,Cir cPOLA2 使非小细胞肺癌细胞对铁死亡敏感,并通过 Merlin-YAP 信号通路抑制肿瘤发生。LIN 等^[22]研究发现,富硒多金属硝酸盐通过诱导 NSCLC 铁死亡和凋亡发挥抗肿瘤效应。脂质构成质膜和线粒体膜的主要成分,脂质过氧化是铁死亡的关键因素^[23]。MDA 是膜脂过氧化反应的产物,是氧化应激的重要指标之一^[24]。此外,GSH 和 GSSG 的比值经常被用来确定

氧化还原状态,为评估氧化应激的重要指标^[25]。PTGS2能促进氧化应激状态,从而增强铁死亡^[26]。SLC7A11是一种跨膜胱氨酸谷氨酸转运蛋白,在铁死亡中起中心负调节作用,临床数据显示,SLC7A11在各种类型的人类癌症中过表达,SLC7A11水平越高,患者的总生存率越低^[27]。本研究发现,ISO能够促进非小细胞肺癌细胞中脂质过氧化、MDA、铁、PTGS2的水平,抑制GSH/GSSG、SLC7A11水平,表明ISO能够促进NSCLC细胞的铁死亡。

Nrf2作为一种转录因子,能从细胞质转位到细胞核调控几乎所有与铁死亡相关基因的转录,包括GPX4和SLC7A11^[28]。相关研究报道,ISO能够通过调控Nrf2信号影响疾病进展。TAN等^[29]研究发现,ISO可通过调节Nrf2/HO-1信号通路抑制脂多糖诱导的小胶质细胞活化,发挥神经保护作用;CAO等^[30]研究发现,ISO通过上调OPG分子和调控Nrf2/ARE信号通路,改善绝经后大鼠的骨质疏松症。此外,通过调控Nrf2/GPX4信号通路能影响癌症病理进展。袁育珺等^[31]研究发现,中药毓玉红衍生物E804可能通过抑制Nrf2/GPX4信号通路,抑制非小细胞肺癌的增殖及迁移,并促进其凋亡。胡玲等^[32]研究发现,熊果酸能够通过抑制Nrf2/GPX4信号通路,诱导肝癌细胞发生铁死亡。首先,本研究发现ISO能够显著抑制非小细胞肺癌细胞中Nrf2(细胞核)、GPX4的表达及Nrf2核转位,表明ISO能够抑制非小细胞肺癌细胞中的Nrf2/GPX4信号通路。其次,本研究引入了Nrf2过表达载体(oe Nrf2),发现过表达Nrf2能够显著逆转ISO对非小细胞肺癌细胞中Nrf2/GPX4信号通路、铁死亡相关指标及增殖、凋亡的影响,表明ISO能够通过抑制Nrf2/GPX4信号通路促进铁死亡而抑制非小细胞肺癌细胞的恶性表型。

综上所述,ISO能够抑制非小细胞肺癌细胞的增殖,并促进其凋亡,所涉及机制可能与抑制Nrf2/GPX4信号通路来诱导铁死亡有关。

参考文献

[1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA*, 2024, 74(3): 229–263.

[2] QIU H, JIN B M, WANG Z F, et al. MEN1 deficiency leads to neuroendocrine differentiation of lung cancer and disrupts the DNA damage response[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1009.

[3] HIRSCH F R, SCAGLIOTTI G V, MULSHINE J L, et al. Lung cancer: Current therapies and new targeted treatments[J]. *The Lancet*, 2017, 389(10066): 299–311.

[4] 朱子贵, 孟文, 贺承建, 等. 异荭草素缓解CLP诱导的脓毒症小鼠急性肺功能损伤[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(13): 1585–1589.

[5] XU W T, SHEN G N, LI T Z, et al. Isoorientin induces the apoptosis and cell cycle arrest of A549 human lung cancer cells via the ROS-regulated MAPK, STAT3 and NF- κ B signaling pathways[J]. *International Journal of Oncology*, 2020, 57(2): 550–561.

[6] FENG S L, LI Y T, HUANG H H, et al. Isoorientin reverses lung cancer drug resistance by promoting ferroptosis via the SIRT6/Nrf2/GPX4 signaling pathway[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2023, 954: 175853.

[7] KIM B, PARK B. Isoorientin suppresses invasion of breast and colon cancer cells by inhibition of CXC chemokine receptor 4 expression[J]. *Biomolecules & Therapeutics*, 2024, 32(6): 759–766.

[8] SU Z Y, LIU Y Q, WANG L, et al. Regulation of SLC7A11 as an unconventional checkpoint in tumorigenesis through ferroptosis[J]. *Genes & Diseases*, 2025, 12(1): 101254.

[9] WANG Y M, HU J, FLEISHMAN J S, et al. Inducing ferroptosis by traditional medicines: A novel approach to reverse chemoresistance in lung cancer[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2024, 15: 1290183.

[10] CAZALLA E, CUADRADO A, GARCÍA-YAGÜE Á J. Role of the transcription factor NRF2 in maintaining the integrity of the Blood-Brain Barrier[J]. *Fluids and Barriers of the CNS*, 2024, 21(1): 93.

[11] LI X Y, LI Y R, XIE A W, et al. A potent and selective anti-glutathione peroxidase 4 nanobody as a ferroptosis inducer[J]. *Chemical Science*, 2024, 15(46): 19420–19431.

[12] CAI S N, DING Z W, LIU X Y, et al. Trabectedin induces ferroptosis via regulation of HIF-1 α /IRP1/TFRI and Keap1/Nrf2/GPX4 axis in non-small cell lung cancer cells[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2023, 369: 110262.

[13] HUANG R, CHU D W, SHI J D, et al. Shikonin suppresses proliferation of osteosarcoma cells by inducing ferroptosis through promoting Nrf2 ubiquitination and inhibiting the xCT/GPX4 regulatory axis[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2024, 15: 1490759.

[14] 王喻, 庞兴华, 田一鸣, 等. 基于核因子相关因子2/血红素

- 加氧酶-1 信号通路探讨异荜草素对乳腺癌细胞恶性生物学行为的影响[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(16): 3021-3026.
- [15] 袁 莉. 异荜草素对 HepG2 人肝癌细胞凋亡和自噬的作用及机制研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2014.
- [16] KONG W C, FENG X G, YU Z Y, et al. USP8-mediated PTK7 promotes PIK3CB-related pathway to accelerate the malignant progression of non-small cell lung cancer[J]. *Thoracic Cancer*, 2025, 16(1): e15485.
- [17] 闫科润, 沈 玥, 李 宁, 等. 异荜草素调控糖尿病的作用机制研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(22): 338-344.
- [18] HUANG H K, LEE S Y, HUANG S F, et al. Isoorientin decreases cell migration via decreasing functional activity and molecular expression of proton-linked monocarboxylate transporters in human lung cancer cells[J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2020, 48(1): 201-222.
- [19] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: Mechanisms, biology and role in disease[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2021, 22(4): 266-282.
- [20] OUYANG X H, WANG J B, QIU X Y, et al. Sophora alopecuroides-Taraxacum decoction (STD) inhibits non-small cell lung cancer via inducing ferroptosis and modulating tumor immune microenvironment[J]. *Heliyon*, 2024, 10(20): e39564.
- [21] XU K Y, WEI G X, QI W H, et al. CircPOLA2 sensitizes non-small cell lung cancer cells to ferroptosis and suppresses tumorigenesis via the Merlin-YAP signaling pathway[J]. *iScience*, 2024, 27(9): 110832.
- [22] LIN J W, ZHOU Y, XIAO H P, et al. Antitumor effects of a Sb-rich polyoxometalate on non-small-cell lung cancer by inducing ferroptosis and apoptosis[J]. *Chemical Science*, 2024, 15(37): 15367-15376.
- [23] LIANG D G, MINIKES A M, JIANG X J. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling[J]. *Molecular Cell*, 2022, 82(12): 2215-2227.
- [24] AL-SHAMMARI W B, ABDULKREEM AL-HUQUIL A, AL-SHAMMERY K, et al. Alleviation of drought stress damages by melatonin and *Bacillus thuringiensis* associated with adjusting photosynthetic efficiency, antioxidative system, and anatomical structure of *Glycine max* (L.) [J]. *Heliyon*, 2024, 10(14): e34754.
- [25] BYUN K A, LEE S Y, OH S, et al. Fermented fish collagen attenuates melanogenesis via decreasing UV-induced oxidative stress[J]. *Marine Drugs*, 2024, 22(9): 421.
- [26] JIANG Y, JIANG Z T, ZHAO G, et al. LCN2 depletion aggravates sepsis-induced liver injury by regulating PTGS2-dependent ferroptosis[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2024, 21(14): 2770-2780.
- [27] LIN W Y, WANG C Q, LIU G P, et al. SLC7A11/xCT in cancer: Biological functions and therapeutic implications[J]. *American Journal of Cancer Research*, 2020, 10(10): 3106-3126.
- [28] ZHENG Q, XING J H, LI X Z, et al. PRDM16 suppresses ferroptosis to protect against sepsis-associated acute kidney injury by targeting the NRF2/GPX4 axis[J]. *Redox Biology*, 2024, 78: 103417.
- [29] TAN X Q, CAO M D, ZHAO Y J, et al. Neuroprotection of isorientin against microglia activation induced by lipopolysaccharide via regulating GSK3 β , NF- κ B and Nrf2/HO-1 pathways[J]. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2024, 46(6): 741-750.
- [30] CAO Z L, LIU W, BI B J, et al. Isoorientin ameliorates osteoporosis and oxidative stress in postmenopausal rats [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2022, 60(1): 2219-2228.
- [31] 袁育珺, 曹华华, 赵 敏, 等. 基于 Nrf2-HO-1/GPX4 信号轴探讨中药璇玉红衍生物 E804 抑制肺癌 A549 细胞增殖和迁移的作用机制[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(2): 331-335, 343.
- [32] 胡 玲, 杨晓松. 熊果酸联合索拉非尼通过抑制 Nrf2/HO-1/GPX4 信号通路诱导肝癌细胞铁死亡[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2024, 38(6): 472-476.

(本文编辑 苏 维)