

本文引用: 陈海燕, 潘薇, 刘仲豪, 周淑菁, 阳波, 李丹, 付成效. 雷公藤甲素抑制 KLF4/SLC7A11/GPX4 通路促进铁死亡诱导肾毒性的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(2): 248-258.

## 雷公藤甲素抑制 KLF4/SLC7A11/GPX4 通路促进铁死亡诱导肾毒性的机制研究

陈海燕<sup>1</sup>, 潘薇<sup>3</sup>, 刘仲豪<sup>3</sup>, 周淑菁<sup>3</sup>, 阳波<sup>2</sup>, 李丹<sup>2</sup>, 付成效<sup>2,3\*</sup>

1. 南华大学附属第二医院, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第一医院, 湖南 衡阳 421001;

3. 南华大学衡阳医学院, 湖南 衡阳 421001

**〔摘要〕** **目的** 基于体内和体外实验, 探讨雷公藤甲素通过诱导铁死亡介导肾毒性的作用, 并阐明其分子机制。 **方法** 随机将 18 只小鼠分为对照组(CON 组)、雷公藤甲素低剂量组(LTP 组)和雷公藤甲素高剂量组(HTP 组), 每组 6 只。CON 组、LTP 组和 HTP 组分别腹腔注射含 1% DMSO 的生理盐水、0.2 mg·kg<sup>-1</sup> 雷公藤甲素和 0.4 mg·kg<sup>-1</sup> 雷公藤甲素, 持续 14 d。体外培养人肾小管上皮细胞(HK-2), 予以雷公藤甲素、Fer-1 和 APTO-253 干预, 将其分为雷公藤甲素 0 nmol/L 组(TP 0 nmol/L 组, 无药物处理)、雷公藤甲素 40 nmol/L 组(TP 40 nmol/L 组, 40 nmol/L 雷公藤甲素处理 24 h)、雷公藤甲素 80 nmol/L 组(TP 80 nmol/L 组, 80 nmol/L 雷公藤甲素处理 24 h)和雷公藤甲素 160 nmol/L 组(TP 160 nmol/L 组, 160 nmol/L 雷公藤甲素处理 24 h)、对照组(CON 组, 无药物处理)、雷公藤甲素组(TP 组, 80 nmol/L 雷公藤甲素处理 24 h)、Fer-1 组(2 μmol/L Fer-1 处理 24 h)、Fer-1+雷公藤甲素组(Fer-1+TP 组, 2 μmol/L Fer-1 处理 2 h 后再加入 80 nmol/L 雷公藤甲素处理 24 h)、APTO-253 组(1 μmol/L APTO-253 处理 24 h)、APTO-253+雷公藤甲素组(APTO-253+TP 组, 1 μmol/L APTO-253 处理 24 h 后再加入 80 nmol/L 雷公藤甲素处理 24 h)。第 14 天雷公藤甲素处理后, 所有动物称量体质量; 采用 MTT 法检测 HK-2 细胞活力; 生化试剂盒检测小鼠血清中尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)含量及肾组织中谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)、Fe<sup>2+</sup>水平; HE 染色观察小鼠肾组织病理变化; 透射电镜观察小鼠肾组织线粒体变化; DCFH-DA 探针检测 HK-2 细胞 ROS 水平; Western blot 检测小鼠肾组织中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、Krüppel 样因子 4(KLF4)、溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)蛋白的表达水平。 **结果** 与 CON 组相比, LTP 组和 HTP 组小鼠体质量、肾组织 GSH 水平、肾组织 KLF4、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 血清 BUN 和 Cr 含量、肾组织 NGAL 蛋白表达水平、肾组织 ROS、MDA 和 Fe<sup>2+</sup>水平均升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。与 LTP 组相比, HTP 组小鼠体质量、肾组织 KLF4、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ ), 血清 Cr 含量、肾组织 NGAL 蛋白表达水平、肾组织 ROS、MDA 和 Fe<sup>2+</sup>水平均升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。与 TP 0 nmol/L 组相比, TP 40、80、160 nmol/L 组 ROS 荧光强度增强, GSH 水平降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), MDA 水平升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); TP 80、160 nmol/L 组 Fe<sup>2+</sup>水平升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), KLF4、SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); TP 40 nmol/L 组 KLF4 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ )。与 TP 40 nmol/L 组相比, TP 80、160 nmol/L 组 ROS 荧光强度增强, GSH 水平降低( $P<0.05$ ), Fe<sup>2+</sup>水平升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); TP 160 nmol/L 组 MDA 水平增加( $P<0.01$ ), KLF4、SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ ); TP 80 nmol/L 组、SLC7A11/GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ )。与 TP 80 nmol/L 组相比, TP 160 nmol/L 组 ROS 荧光强度增强, GSH 水平降低( $P<0.05$ ), MDA 水平和 Fe<sup>2+</sup>水平均升高( $P<0.05$ ), KLF4、SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ )。与 CON 组相比, TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.01$ ), ROS 荧光强度增强, MDA 和 Fe<sup>2+</sup>水平均升高( $P<0.01$ ); 与 TP 组相比, Fer-1+TP 组和 APTO-253+TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均升高( $P<0.05$ ), ROS 荧光强度减弱, MDA 水平降低( $P<0.05$ ); Fer-1+TP 组 Fe<sup>2+</sup>水平降低( $P<0.05$ )。 **结论** 雷公藤甲素通过下调 KLF4 抑制下游 SLC7A11 与 GPX4 的表达, 进而诱导肾小管上皮细胞发生铁死亡, 这是其引发肾毒性的关键分子机制。

**〔关键词〕** 雷公藤甲素; 肾毒性; 铁死亡; Krüppel 样因子 4; SLC7A11/GPX4 信号通路

**〔中图分类号〕** R285.5

**〔文献标志码〕** A

**〔文章编号〕** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.02.005

**〔收稿日期〕** 2025-10-31

**〔基金项目〕** 湖南省自然科学基金项目(2025JJ80131); 湖南省卫生健康委员会课题项目(W20243168)。

**〔通信作者〕** \* 付成效, 男, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: paulfex@126.com。

## Mechanism of triptolide in inhibiting KLF4/SLC7A11/GPX4 pathway to promote ferroptosis-induced nephrotoxicity

CHEN Haiyan<sup>1</sup>, PAN Wei<sup>3</sup>, LIU Zhonghao<sup>3</sup>, ZHOU Shujing<sup>3</sup>, YANG Bo<sup>2</sup>, LI Dan<sup>2</sup>, FU Chengxiao<sup>2,3\*</sup>

1. The Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. The First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

**[Abstract] Objective** To investigate the role of triptolide-induced nephrotoxicity mediated through ferroptosis and to elucidate its molecular mechanisms, based on both in vivo and in vitro experiments. **Methods** Eighteen mice were randomly divided into control group (CON group), low-dose triptolide group (LTP group), and high-dose triptolide group (HTP group), with six mice in each group. The CON, LTP, and HTP groups were intraperitoneally injected with saline containing 1% DMSO, 0.2 mg·kg<sup>-1</sup> triptolide, and 0.4 mg·kg<sup>-1</sup> triptolide, respectively, for 14 consecutive days. Human renal tubular epithelial cells (HK-2) were cultured in vitro and treated with triptolide, Fer-1, and APTO-253. They were divided into 0 nmo/L triptolide group (TP 0 nmo/L group, without drug treatment), 40 nmo/L triptolide group (TP 40 nmo/L group, treated with 40 nmo/L concentration of triptolide for 24 h), 80 nmo/L triptolide group (TP 80 nmo/L group, treated with 80 nmo/L concentration of triptolide for 24 h), 160 nmo/L triptolide group (TP 160 nmo/L group, treated with 160 nmo/L concentration of triptolide for 24 h), control group (CON group, without drug treatment), triptolide group (TP group, treated with 80 nmo/L concentration of triptolide for 24 h), Fer-1 group (treated with 2 μmo/L concentration of Fer-1 for 24 h), Fer-1+triptolide group (Fer-1+TP group, treated with 2 μmo/L concentration of Fer-1 for 2 h and followed by 80 nmo/L triptolide for 24 h), APTO-253 group (treated with 1 μmo/L concentration of APTO-253 for 24 h), and APTO-253+triptolide group (APTO-253+TP group, treated with 1 μmo/L concentration of APTO-253 for 24 h and followed by 80 nmo/L triptolide for 24 h). On the 14th day after triptolide treatment, the body mass of all animals was measured. HK-2 Cell viability was assessed using the MTT assay. Levels of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) in mouse serum, as well as levels of glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), and Fe<sup>2+</sup> in renal tissue, were measured using biochemical assay kits. Renal histopathological changes in mice were observed by HE staining. Mitochondrial alterations in mouse renal tissue were examined by transmission electron microscopy. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels in HK-2 cells were determined using the DCFH-DA probe. The protein expression levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), Krüppel-like factor 4 (KLF4), solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), and glutathione peroxidase 4 (GPX4) in mouse renal tissue were determined by Western blot. **Results** Compared with the CON group, the body mass, renal GSH levels, and the protein expression levels of KLF4, SLC7A11, and GPX4 in renal tissues of mice decreased in both the LTP and HTP groups ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Serum BUN and Cr levels, renal NGAL protein expression, and renal levels of ROS, MDA, and Fe<sup>2+</sup> were increased ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Compared with the LTP group, the HTP group showed reduced body mass and renal protein expression levels of KLF4, SLC7A11, and GPX4 ( $P<0.05$ ), while serum Cr levels, renal NGAL protein expression, and renal levels of ROS, MDA, and Fe<sup>2+</sup> were elevated ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Compared with the TP 0 nmo/L group, the TP 40, 80, and 160 nmo/L groups exhibited enhanced ROS fluorescence intensity, decreased GSH levels ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and increased MDA levels ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). The TP 80 and 160 nmo/L groups also showed increased Fe<sup>2+</sup> levels ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ) and decreased protein expression levels of KLF4, SLC7A11, and GPX4 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). The TP 40 nmo/L group showed decreased KLF4 protein expression ( $P<0.05$ ). Compared with the TP 40 nmo/L group, the TP 80 and 160 nmo/L groups demonstrated enhanced ROS fluorescence intensity, decreased GSH levels ( $P<0.05$ ), and increased Fe<sup>2+</sup> levels ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). The TP 160 nmo/L group also showed increased MDA levels ( $P<0.01$ ) and decreased protein expression levels of KLF4, SLC7A11, and GPX4 ( $P<0.05$ ), while the TP 80 nmo/L group showed decreased protein expression levels of SLC7A11 and GPX4 ( $P<0.05$ ). Compared with the TP 80 nmo/L group, the TP 160 nmo/L group showed enhanced ROS fluorescence intensity, decreased GSH levels ( $P<0.05$ ), increased MDA and Fe<sup>2+</sup> levels ( $P<0.05$ ), and decreased protein expression levels of KLF4, SLC7A11, and GPX4 ( $P<0.05$ ). Compared with the CON group, the TP group showed reduced cell viability, GSH levels, as well as SLC7A11 and GPX4

protein expression levels ( $P<0.01$ ), along with enhanced ROS fluorescence intensity and increased MDA and  $Fe^{2+}$  levels ( $P<0.01$ ). Compared with the TP group, both the Fer-1+TP and APTO-253+TP groups exhibited increased cell viability, GSH levels, SLC7A11 and GPX4 protein expression levels ( $P<0.05$ ), as well as reduced ROS fluorescence intensity and decreased MDA levels ( $P<0.05$ ). The Fer-1+TP group also showed reduced  $Fe^{2+}$  levels ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Triptolide induces ferroptosis in renal tubular epithelial cells by downregulating KLF4, which subsequently suppresses the expression of its downstream targets SLC7A11 and GPX4. This mechanism represents a key molecular pathway underlying triptolide-induced nephrotoxicity.

[**Keywords**] triptolide; nephrotoxicity; ferroptosis; Krüppel-like factor 4; SLC7A11/GPX4 signaling pathway

雷公藤甲素是传统中药雷公藤的主要活性及毒性成分之一,属于环氧二萜内酯化合物,其在肿瘤、炎症、自身免疫性疾病及肾脏相关疾病中表现出显著疗效<sup>[1-3]</sup>。然而,雷公藤甲素的多器官毒性(尤其是肾毒性)仍是其临床应用的主要挑战,其具体机制尚未完全阐明<sup>[4-6]</sup>。铁死亡是一种独特的调节性细胞死亡形式,其特征是铁依赖性脂质过氧化,涉及铁积累、谷胱甘肽(glutathione, GSH)耗竭、活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成增加等过程,受氧化还原稳态、线粒体功能和脂质代谢等多种细胞代谢途径调控<sup>[7-8]</sup>。铁死亡在药物诱导的器官毒性中起关键作用,并被报道为多种天然药物成分诱导肾毒性的潜在机制<sup>[9-11]</sup>。溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)信号通路是铁死亡中的主要抗氧化机制<sup>[12]</sup>,抑制 SLC7A11 会导致 GSH 耗竭和 GPX4 失活,引发脂质过氧化物积累及后续铁死亡<sup>[13]</sup>。Krüppel 样因子是一类 DNA 结合转录因子家族,包含 17 个成员,其羧基末端具有高度保守的  $C_2H_2$  锌指 DNA 结合结构域<sup>[14]</sup>。其中, Krüppel 样因子 4(krüppel like factor 4, KLF4) 近期被发现在肾脏保护中发挥关键作用,可能成为肾毒性的潜在治疗靶点<sup>[15-16]</sup>。KLF4 上调可抑制铁死亡,从而减轻器官损伤<sup>[17]</sup>,并且敲低 KLF4 可显著下调细胞中 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平<sup>[18]</sup>。目前,已有文献指出, KLF4 可能是雷公藤甲素的潜在靶点<sup>[19]</sup>。因此,本研究提出假设, KLF4 可能通过 SLC7A11/GPX4 信号通路促进铁死亡,从而介导雷公藤甲素肾毒性。

## 1 材料

### 1.1 实验动物与细胞

BALB/c 小鼠, 雄性, 18~22 g, 6~8 周, 购买于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[许可证号: SCXK(湘)2019-0004]。在温度 22~24 °C, 湿度 50%~55%,

光照 12 h/黑暗 12 h 交替循环的屏障系统内进行适应性喂养 1 周。喂养和使用动物的所有程序均已获得南华大学动物伦理委员会的批准(伦理批准号: USC2023XS072)。人肾小管上皮细胞(HK-2)购自上海盖宁生物技术公司(批号: CM-H507)。

### 1.2 主要实验试剂

雷公藤甲素(批号: T2179, 美国 Targetmol 公司); Fer-1(批号: T6500, 美国 Targetmol 公司); APTO-253(批号: T10352, 美国 Targetmol 公司); GSH、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、 $Fe^{2+}$ 检测试剂盒、膜再生液(批号: BC1175、BC0025、BC5415、SW3020, 北京索莱宝科技有限公司); ROS 检测试剂盒(批号: C1300-1, 北京普利莱基因技术有限公司); ECL 发光液(批号: P1050, 北京普利莱基因技术有限公司); 10%制胶盒(批号: PG112, 上海雅酶生物医药科技有限公司); BCA 蛋白定量试剂盒(批号: KTD3010-CN, 亚科因生物技术有限公司); 苯甲基磺酰氟(批号: P0100, 北京索莱宝科技有限公司); 加强型 RIPA 裂解液(批号: C1053+, 北京普利莱基因技术有限公司); 5×蛋白上样缓冲液(批号: SL1170, 北京酷来搏科技有限公司); 蛋白分子标准品(批号: 26616, 美国赛默飞世尔科技公司); 尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)试剂盒(批号: C013-1-1、C011-2-1, 南京建成生物工程研究所有限公司); KLF4 抗体(批号: 11880-1-AP, 武汉三鹰生物技术有限公司); SLC7A11 抗体(批号: TD12509S, 上海艾比玛特生物医药有限公司); GPX4 抗体(批号: 52455S, 美国 CST 公司);  $\beta$ -actin 抗体(批号: 4970S, 美国 CST 公司); 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: ab63929, 美国 Abcam 公司); MTT 细胞增殖与毒性检测试剂盒(批号: C0009S, 上海碧云天生物技术有限公司)。

### 1.3 主要实验仪器

生物安全柜(型号:LA2-S G4,新加坡艺思高公司);细胞恒温培养箱(型号:3111GP,美国赛默飞世尔科技公司);透射电子显微镜(型号:JEM-F200,日本JEOL公司);电泳仪、转膜仪(型号:VE-586、VE-180C,上海天能生命科学有限公司);精密电子天平(型号:XPR204S/AC,上海梅特勒-托利多仪器有限公司);超纯水仪(型号:SCSJ-II-20L,山东智鑫医疗科技有限公司);高速冷冻离心机(型号:Allegra 64R,美国贝克曼库尔特有限公司);摇床(型号:NSP-300,泰州诺米医疗科技有限公司);数据超声波清洗器(型号:KQ-1500DE,昆山市超声仪器有限公司);光学显微镜(型号:Nikon L200D,日本Nikon公司);组织匀浆机(型号:Tisslyser-24L,上海净信实业发展有限公司);化学发光成像系统(型号:Mini-Chemi610,北京赛智创业科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 小鼠造模与分组

在适应饲养1周后,将18只BALB/c小鼠随机分为对照组(CON组)、雷公藤甲素低剂量组(LTP组)和雷公藤甲素高剂量组(HTP组),每组6只。雷公藤甲素粉末溶解于DMSO制成储备液,避光分装保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ ,使用时用生理盐水稀释至指定浓度。CON组、LTP组和HTP组分别腹腔注射含0.1% DMSO的生理盐水、 $0.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雷公藤甲素和 $0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 雷公藤甲素,持续14 d<sup>[5]</sup>。第14天雷公藤甲素处理后,所有动物称量体质量,随后腹腔注射氯胺酮( $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和甲苯噻嗪( $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )混合物麻醉处死,收集血清及肾组织。

### 2.2 细胞培养

HK-2细胞培养于含10%胎牛血清、 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青霉素和 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素的DMEM/F-12(1:1)培养基中。细胞在 $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 的湿润培养箱中培养,准备后续实验。

### 2.3 细胞分组及处理

雷公藤甲素粉末溶解于DMSO制成储备液,避光分装保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ ,使用时用新鲜培养基稀释至指定浓度。培养好的HK-2细胞用0、5、10、20、40、80、160、320、640、1 280、2 560 nmol/L的雷公藤甲素处理,使用MTT筛选出适宜处理浓度。将HK-2细胞分为4组:雷公藤甲素0 nmol/L组(TP 0 nmol/L组,无

药物处理)、雷公藤甲素40 nmol/L组(TP 40 nmol/L组,40 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)、雷公藤甲素80 nmol/L组(TP 80 nmol/L组,80 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)和雷公藤甲素160 nmol/L组(TP 160 nmol/L组,160 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)<sup>[20]</sup>。由于TP 80 nmol/L组显示出了显著肾毒性,且相比于TP 160 nmol/L组细胞状态更好,故该浓度适宜用于进一步探索机制。我们随后使用该浓度继续刺激细胞24 h进行后续实验。

使用DMSO溶解铁死亡抑制剂Fer-1粉末,得到2 mmol/L的Fer-1母液, $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 疏水性微孔滤膜过滤,分装保存于 $-20^{\circ}\text{C}$ ,使用时用新鲜培养基稀释至 $2\text{ }\mu\text{mol/L}$ 处理细胞<sup>[21]</sup>。将HK-2细胞分为4组:对照组(CON组,无药物处理)、雷公藤甲素组(TP组,80 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)、Fer-1组( $2\text{ }\mu\text{mol/L}$  Fer-1处理24 h)、Fer-1+雷公藤甲素组(Fer-1+TP组, $2\text{ }\mu\text{mol/L}$  Fer-1处理2 h后再加入80 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)。

使用DMSO溶解KLF4诱导剂APTO-253粉末,得到8 mmol/L的APTO-253母液,使用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 疏水性微孔滤膜过滤,分装保存于 $-20^{\circ}\text{C}$ 。配制成0、0.0625、0.125、0.25、0.5、1、2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ 的APTO-253,处理HK-2细胞24 h;配制成 $1\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的APTO-253,分别处理HK-2细胞0、3、6、12、24 h,筛选出APTO-253的适宜处理浓度及时间。将HK-2细胞分为4组:对照组(CON组,无药物处理)、雷公藤甲素组(TP组,80 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)、APTO-253组( $1\text{ }\mu\text{mol/L}$  APTO-253处理24 h)、APTO-253+雷公藤甲素组(APTO-253+TP组, $1\text{ }\mu\text{mol/L}$  APTO-253处理24 h后再加入80 nmol/L雷公藤甲素处理24 h)。

### 2.4 MTT法检测HK-2细胞活力

将HK-2细胞接种于96孔板。用雷公藤甲素处理后,每孔加入 $20\text{ }\mu\text{L}$  MTT溶液( $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ),孵育4 h。弃去培养基,加入DMSO( $150\text{ }\mu\text{L/孔}$ ),室温振荡10 min。使用分光光度计在490 nm波长处测量各孔吸光度。每组设3个复孔,并设空白对照组和阴性对照组。

### 2.5 生化试剂盒检测小鼠血清BUN和Cr含量

采用生化试剂盒测定小鼠血清中BUN与Cr的含量。严格按照试剂盒说明书操作处理,使用分光光度计在546 nm波长下测定各反应体系的吸光度

值。最后,根据标准品浓度和对应的吸光度值,计算样本中 BUN 和 Cr 的含量。

## 2.6 HE 染色观察小鼠肾组织病理变化

将固定后的肾组织常规乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、连续 4  $\mu\text{m}$  厚切片。在苏木精染色液中染色 3~5 min,用纯水冲洗残留染色液。经分化和返蓝处理后,切片在伊红染色液中染色 5 min。洗去浮色后,切片脱水至透明,风干后用中性树胶封片。最后,在正置光学显微镜下观察小鼠肾脏组织病理变化。

## 2.7 透射电镜观察小鼠肾组织线粒体变化

取固定后的小鼠肾组织,经戊二醛及锇酸双重固定、梯度乙醇或丙酮脱水、环氧树脂渗透与包埋。使用超薄切片机将包埋块切成 60~80 nm 超薄切片,捞取至载网后,经醋酸铀和柠檬酸铅双染色。干燥后,于透射电镜(加速电压通常为 60~100 kV)下观察肾小管上皮细胞线粒体的形态、膜结构及嵴的完整性,并采集图像进行分析。

## 2.8 Western blot 检测小鼠肾组织 KLF4、SCL7A11、GPX4 及 NGAL 的蛋白表达水平

小鼠肾组织于 RIPA 缓冲液中冰上裂解 30 min 提取总蛋白,BCA 法定量后,取 50  $\mu\text{g}$  总蛋白进行电泳、转膜及封闭;随后与以下一抗 4  $^{\circ}\text{C}$  摇床孵育过夜:KLF4(1:1 000)、SCL7A11(1:1 000)、GPX4(1:1 000)、NGAL(1:1 000)、 $\beta$ -actin(1:1 000);次日,用 TBST 缓冲液洗涤 3 次,每次 10 min,然后加入 HRP 标记的二抗(1:5 000),37  $^{\circ}\text{C}$  下孵育 1 h,再次加入 TBST 缓冲液洗涤 3 次,每次 10 min。显影后使用 ImageJ 软件测定蛋白灰度值,计算各蛋白相对表达水平。

## 2.9 DCFH-DA 探针检测 HK-2 细胞 ROS 水平

HK-2 细胞与 10  $\mu\text{mol/L}$  DCFH-DA 按 1:1 000 比例在恒温下孵育 30 min。离心后弃上清,用 PBS 缓冲液洗涤 3 次后,使用荧光分光光度计测量荧光强度。

## 2.10 生化试剂盒检测小鼠肾组织 GSH、MDA 和 $\text{Fe}^{2+}$ 水平

取小鼠新鲜肾组织,在冰水浴条件下用组织匀浆机进行研磨。将制备好的组织样本严格按照 GSH、MDA 和  $\text{Fe}^{2+}$  生化检测试剂盒说明书进行操作,使用酶标仪测定各指标吸光度值。最后通过绘制标

准曲线,计算肾组织中 GSH、MDA 和  $\text{Fe}^{2+}$  的水平。

## 2.11 统计分析

统计分析使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行。实验数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。数据符合正态分布且方差齐,多组间比较采用 *One-way ANOVA* 分析,两两组间比较采用 *LSD* 检验;数据不符合正态分布,采用非参数检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 雷公藤甲素诱导小鼠肾毒性

与 CON 组相比,LTP 组和 HTP 组小鼠体质量均降低( $P<0.01$ ),血清 BUN 和 Cr 含量均升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。与 LTP 组相比,HTP 组小鼠体质量降低( $P<0.05$ ),血清 Cr 含量升高( $P<0.05$ )。HE 染色结果显示,CON 组小鼠肾组织形态正常,肾小管上皮细胞圆润饱满,核质比正常;LTP 组小鼠肾小管上皮细胞轻微空泡变性,细胞肿胀,细胞质染色稀疏;HTP 组小鼠表现为更广泛的肾小管排列紊乱,空泡变性,肾小管上皮细胞轻度坏死、脱落。与 CON 组相比,LTP 组和 HTP 组小鼠肾组织 NGAL 蛋白表达水平均升高( $P<0.01$ );与 LTP 组相比,HTP 组小鼠肾组织 NGAL 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ )。详见图 1。

### 3.2 雷公藤甲素加剧小鼠肾组织铁死亡

与 CON 组相比,LTP 组和 HTP 组小鼠肾组织 ROS、MDA 和  $\text{Fe}^{2+}$  水平均升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),GSH 水平降低( $P<0.01$ )。与 LTP 组相比,HTP 组小鼠肾组织 ROS、MDA 和  $\text{Fe}^{2+}$  水平均升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。透射电镜结果显示,对照组线粒体形态正常,线粒体嵴较为清晰;LTP 组和 HTP 组呈现铁死亡特征,表现为线粒体变小变圆,线粒体膜密度增加,线粒体嵴减少或缺失。详见图 2。

### 3.3 雷公藤甲素加剧 HK-2 细胞铁死亡

MTT 发现,12 h 时,与 TP 0 nmol/L 组相比,TP 160、320、640、1 280、2 560 nmol/L 组 HK-2 细胞活力均下降( $P<0.05$ , $P<0.01$ );24 h 时,与 TP 0 nmol/L 组相比,TP 40、80、160、320、640、1 280、2 560 nmol/L 组 HK-2 细胞活力均下降( $P<0.05$ , $P<0.01$ );48 h 时,与 TP 0 nmol/L 组相比,TP 5、10、20、40、80、160、320、640、1 280、2 560 nmol/L 组 HK-2 细胞活力均下降( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。综合以上结果,我们选择相对适中的浓度与时间进行下一步试验,即将雷公藤甲素浓度设定为 0、40、80 和 160 nmol/L,处理时间设定为 24 h。

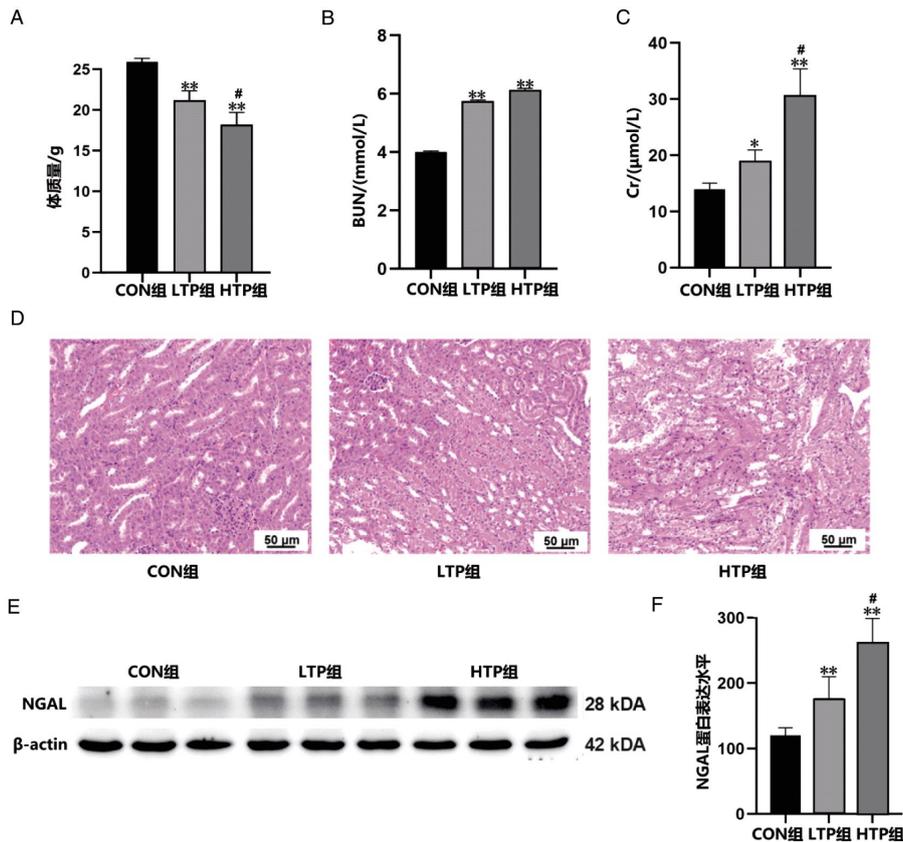


图1 雷公藤甲素对小鼠肾毒性的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Fig.1 Effects of triptolide on nephrotoxicity in mice ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

注:A.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠体重变化;B.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠血清中BUN含量;C.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠血清中Cr含量;D.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织HE染色( $\times 20$ );E.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织中NGAL蛋白表达水平。与CON组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与LTP组比较,# $P<0.05$ 。

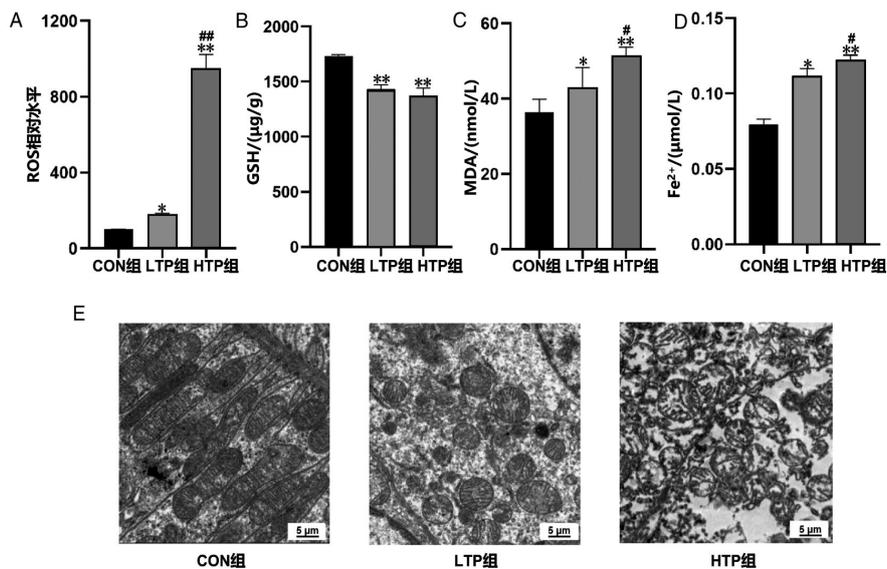


图2 雷公藤甲素对小鼠肾组织铁死亡的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Fig.2 Effects of triptolide on renal ferroptosis in mice ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

注:A.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织ROS相对水平;B.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织GSH水平;C.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织MDA水平;D.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织Fe<sup>2+</sup>水平;E.不同剂量雷公藤甲素处理后小鼠肾组织线粒体变化( $\times 1500$ )。与CON组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与LTP组比较,# $P<0.05$ ,## $P<0.01$ 。

与 TP 0 nmol/L 组相比,TP 40、80、160 nmol/L 组 ROS 荧光强度增强,GSH 水平降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ ),MDA 水平升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ );TP 80、160 nmol/L 组  $Fe^{2+}$  水平升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。与 TP 40 nmol/L 组相比,TP 80、160 nmol/L 组 ROS 荧光强度增强,GSH 水平降低( $P<0.05$ ), $Fe^{2+}$  水平升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ );TP 160 nmol/L 组 MDA 水平升高( $P<0.01$ )。与 TP 80 nmol/L 组相比,TP 160 nmol/L 组 ROS 荧光强度增强,GSH 水平降低( $P<0.05$ ),MDA 和  $Fe^{2+}$  水平均升高( $P<0.05$ )。详见图 3。

### 3.4 雷公藤甲素在体内外抑制 KLF4、SLC7A11 和 GPX4 蛋白的表达

在小鼠中,与 CON 组相比,LTP 组和 HTP 组小鼠肾组织中 KLF4、SLC7A11、GPX4 的蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与 LTP 组相比,HTP 组小鼠肾组织中 KLF4、SLC7A11、GPX4 的蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ )。在细胞中,与 TP 0 nmol/L 组相比,TP 40 nmol/L 组中 KLF4 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ ),TP 80、160 nmol/L 组中 KLF4、SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ , $P<0.01$ );与 TP 40 nmol/L 组相比,TP 80 nmol/L 组 SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ ),TP 160 nmol/L 组 KLF4、

SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ )。与 TP 80 nmol/L 组相比,TP 160 nmol/L 组 KLF4、SLC7A11、GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.05$ )。详见图 4。

### 3.5 Fer-1 验证铁死亡是雷公藤甲素诱导肾毒性的关键途径

使用铁死亡抑制剂 Fer-1 进行进一步实验验证。与 CON 组相比,TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均降低( $P<0.01$ ),ROS 荧光强度增强,MDA 和  $Fe^{2+}$  水平均升高( $P<0.01$ );与 TP 组相比,Fer-1+TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均升高( $P<0.05$ ),ROS 荧光强度减弱,MDA 和  $Fe^{2+}$  水平均降低( $P<0.05$ );与 Fer-1 组相比,Fer-1+TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均下降( $P<0.05$ ), $Fe^{2+}$  水平增加( $P<0.05$ )。详见图 5。

### 3.6 雷公藤甲素通过抑制 KLF4/SLC7A11/GPX4 信号通路诱导铁死亡

最后使用 KLF4 诱导剂 APTO-253 验证 KLF4/SLC7A11/GPX4 信号通路的关键作用。2、4、8  $\mu\text{mol/L}$  的 APTO-253 会导致 HK-2 细胞活力下降( $P<0.05$ , $P<0.01$ );0.5、1  $\mu\text{mol/L}$  的 APTO-253 可增加 KLF4 的蛋白表达水平( $P<0.05$ , $P<0.01$ );同时,1  $\mu\text{mol/L}$

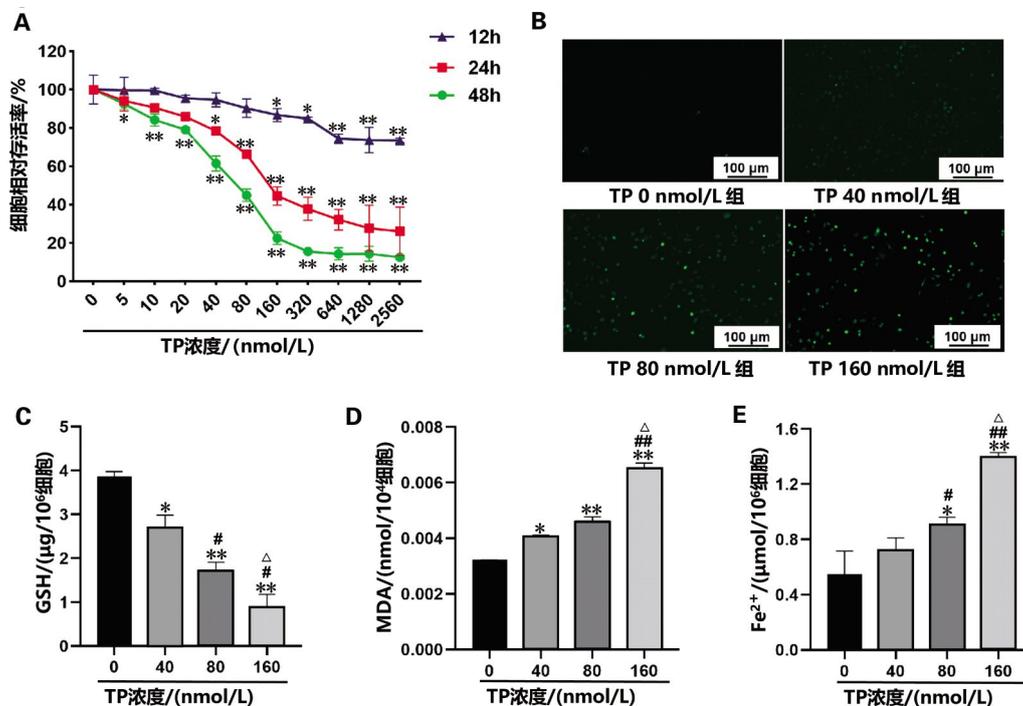


图 3 雷公藤甲素对 HK-2 细胞铁死亡的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

Fig.3 Effects of triptolide on ferroptosis in HK-2 cells ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

注:A.不同剂量雷公藤甲素处理后对 HK-2 细胞活力的影响;B.不同剂量雷公藤甲素处理后对 HK-2 细胞内 ROS 荧光强度的影响( $\times 10$ );C.不同剂量雷公藤甲素处理后对 HK-2 细胞 GSH 水平的影响;D.不同剂量雷公藤甲素处理后对 HK-2 细胞 MDA 水平的影响;E.不同剂量雷公藤甲素处理后对 HK-2 细胞  $Fe^{2+}$  水平的影响。与 TP 0 nmol/L 组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与 TP 40 nmol/L 组比较,# $P<0.05$ ,## $P<0.01$ ;与 TP 80 nmol/L 组比较, $\Delta P<0.05$ 。

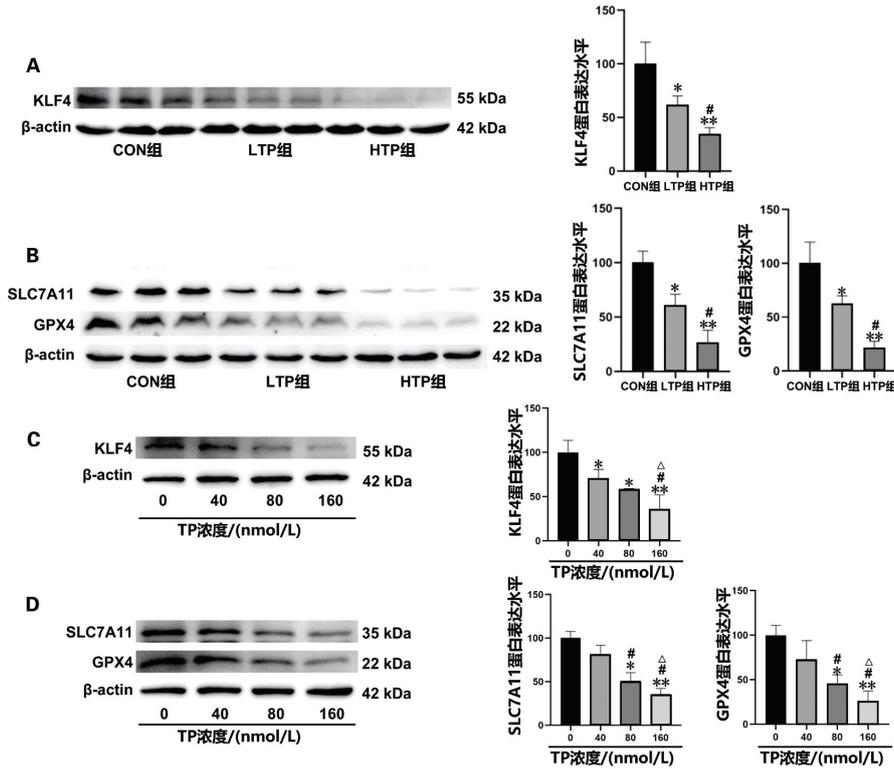


图4 雷公藤甲素对体内外 KLF4、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

**Fig.4** Effects of triptolide on protein expression levels of KLF4, SLC7A11, and GPX4 in vivo and in vitro ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )  
 注:A.不同浓度雷公藤甲素处理后小鼠肾组织中 KLF4 的蛋白表达水平;B.不同浓度雷公藤甲素处理后小鼠肾组织中 SLC7A11 和 GPX4 的蛋白表达水平;C.不同浓度雷公藤甲素处理后 HK-2 细胞的 KLF4 蛋白表达水平;D.不同浓度雷公藤甲素处理后 HK-2 细胞的 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平。与 CON 组或 TP 0 nmol/L 组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与 LTP 组或 TP 40 nmol/L 组比较,\* $P<0.05$ ;与 TP 80 nmol/L 组比较, $\Delta P<0.05$ 。

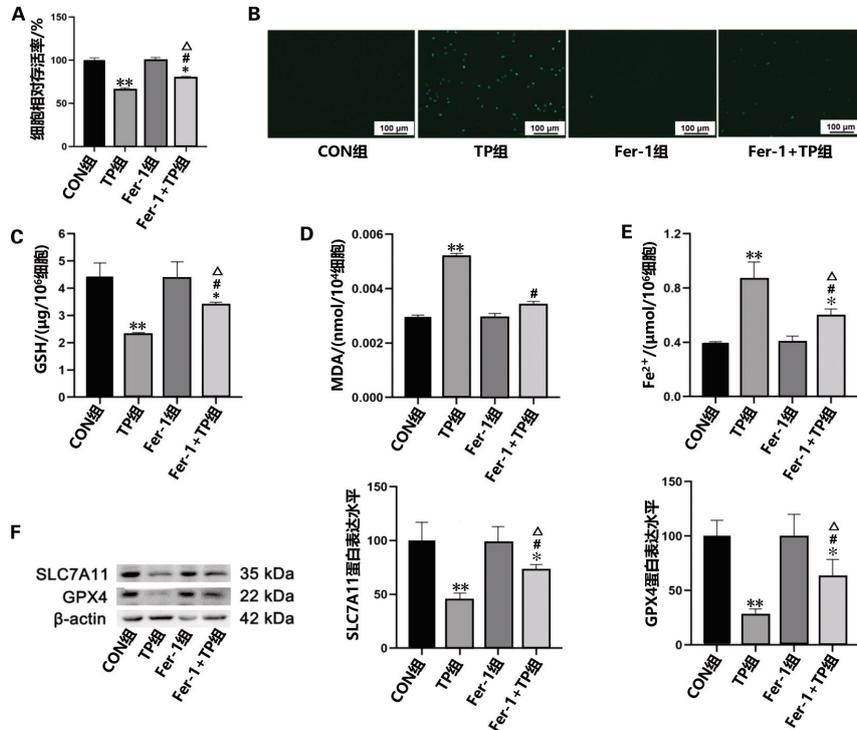


图5 Fer-1 对雷公藤甲素诱导 HK-2 细胞铁死亡的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

**Fig.5** Effects of Fer-1 on triptolide-induced ferroptosis in HK-2 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )  
 注:A.各组细胞的活力比较;B.各组细胞的 ROS 荧光强度比较( $\times 10$ );C.各组细胞的 GSH 水平比较;D.各组细胞的 MDA 水平比较;E.各组细胞的  $Fe^{2+}$  水平比较;F.各组细胞的 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平比较。与 CON 组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与 TP 组相比,\* $P<0.05$ ;与 Fer-1 组相比, $\Delta P<0.05$ 。

的 APTO-253 以时间依赖性方式诱导 KLF4 的蛋白表达 ( $P<0.05, P<0.01$ )。因此, 选择  $1 \mu\text{mol/L}$  APTO-253 预处理 24 h 用于后续实验, 以阐明 KLF4 在雷公藤甲素肾毒性中的作用。与 CON 组相比, TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均降低 ( $P<0.01$ ), ROS 荧光强度增强, MDA 和  $\text{Fe}^{2+}$  水平均升高 ( $P<0.01$ ); 与 TP 组比较,

APTO-253+TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均升高 ( $P<0.05$ ), ROS 荧光强度减弱, MDA 水平降低 ( $P<0.05$ ); 与 APTO-253 组相比, APTO-253+TP 组细胞活力、GSH 水平、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平均下降 ( $P<0.05, P<0.01$ ), MDA 和  $\text{Fe}^{2+}$  水平均升高 ( $P<0.05, P<0.01$ )。详见图 6。

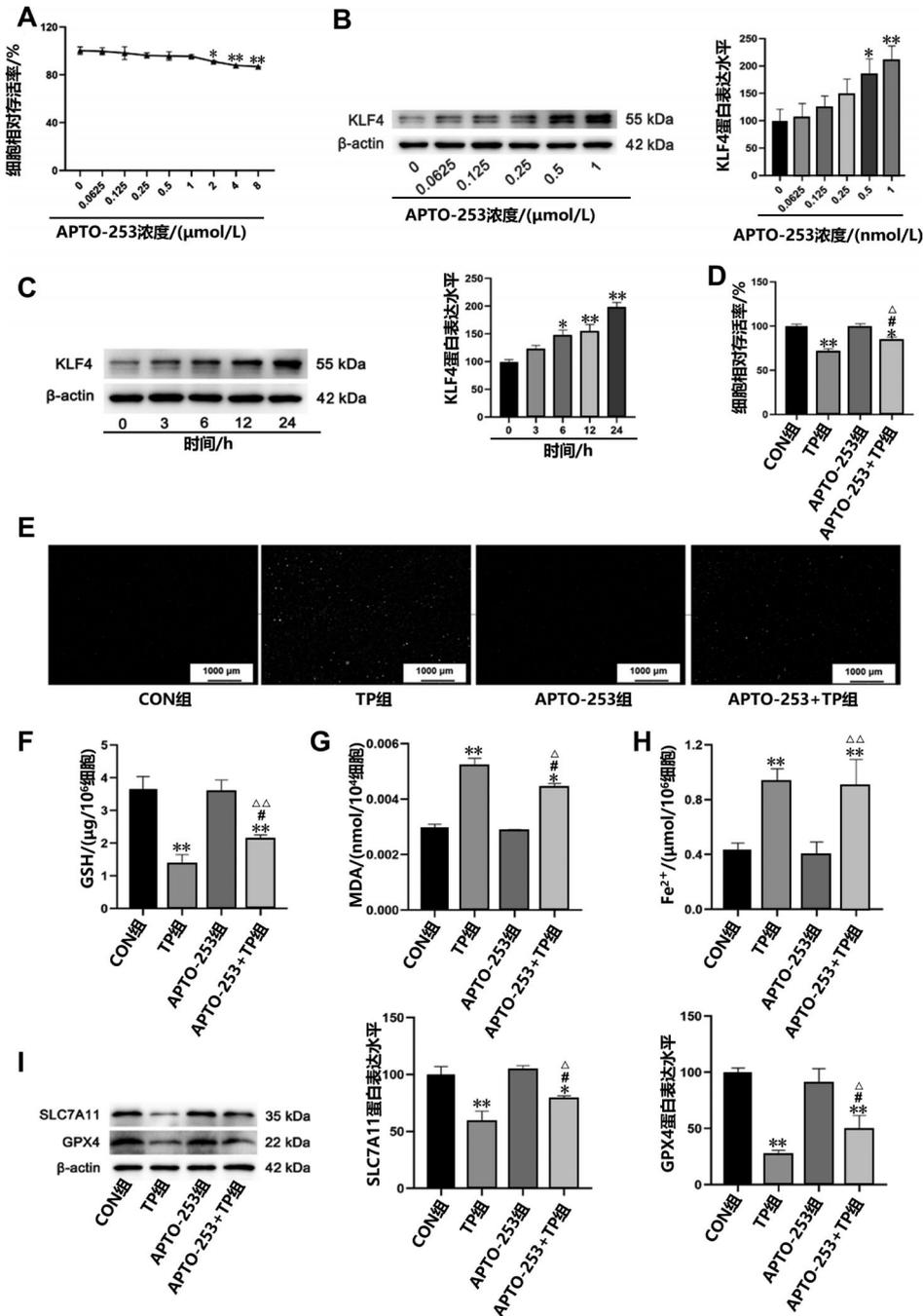


图 6 APTO-253 对雷公藤甲素诱导 HK-2 细胞铁死亡的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Fig.6 Effects of APTO-253 on triptolide-induced ferroptosis in HK-2 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

注: A. 不同浓度 APTO-253 对 HK-2 细胞活力的影响; B. 不同浓度 APTO-253 对 KLF4 蛋白表达水平的影响; C.  $1 \mu\text{mol/L}$  APTO-253 处理不同时长对 KLF4 蛋白表达水平的影响; D. 各组细胞的活力比较; E. 各组细胞的 ROS 荧光强度比较 ( $\times 10$ ); F. 各组细胞的 GSH 水平比较; G. 各组细胞的 MDA 水平比较; H. 各组细胞的  $\text{Fe}^{2+}$  水平比较; I. 各组细胞的 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平比较。与  $0 \mu\text{mol/L}$  APTO-253,  $0 \text{ h}$  APTO-253 或 CON 组比较,  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ; 与 TP 组比较,  $\#P<0.05$ ; 与 APTO-253 组比较,  $\Delta P<0.05$ ,  $\Delta\Delta P<0.01$ 。

## 4 讨论

铁死亡在多种药物诱导肾毒性中的关键作用已被广泛报道<sup>[22-24]</sup>。既往研究发现,通过调控 AKT/mTOR 信号通路可抑制铁死亡减轻雷公藤甲素肾毒性,表明铁死亡可能是肾毒性保护的潜在靶点<sup>[25]</sup>。本研究通过 HK-2 细胞模型发现雷公藤甲素导致 ROS 荧光强度增强,MDA 和  $Fe^{2+}$  水平升高,GSH 水平降低。此外,雷公藤甲素可降低小鼠体质量、升高血清 BUN 和 Cr 含量、诱导肾组织病理改变及肾小管损伤标志物 NGAL 蛋白表达水平上调。雷公藤甲素干预可引起小鼠肾组织出现线粒体嵴减少或缺失等典型铁死亡特征,这从形态学层面证实了铁死亡是雷公藤甲素诱导肾毒性的关键机制之一。

铁死亡受精密调控网络支配,该网络整合氧化与抗氧化系统,统筹铁、脂质及氨基酸代谢,并涉及自噬和泛素-蛋白酶体降解等途径,这些途径通过直接或间接的方式调控铁死亡发生<sup>[26-27]</sup>。多项研究已提示,SLC7A11/GPX4 通路是铁死亡的重要调控环节,也是多种天然药物毒性效应的关键介导机制<sup>[28-30]</sup>。近期一项研究指出,SLC7A11/GPX4 通路在雷公藤甲素诱导的心脏毒性中也发挥了关键作用<sup>[31]</sup>。YOSHIDA 等<sup>[19]</sup>研究提示,雷公藤甲素可能与 KLF4 存在相互作用;并且后续研究证实,敲低 KLF4 能直接导致 SLC7A11 与 GPX4 蛋白水平的下调<sup>[28]</sup>。这提示 KLF4 或许是 SLC7A11/GPX4 通路的上游调控因子。鉴于 KLF4 本身已被报道对肾脏具有潜在的保护作用<sup>[32]</sup>,故本研究推测雷公藤甲素很可能通过抑制 KLF4,进而干扰其下游的 SLC7A11/GPX4 信号轴,从而诱发铁死亡与肾毒性。进一步通过实验显示,雷公藤甲素在体内外均可降低 KLF4、SLC7A11 和 GPX4 蛋白的表达水平,而 KLF4 诱导剂 APTO-253 预处理可逆转雷公藤甲素对细胞活力、ROS、GSH 和 MDA 水平的影响。此外,APTO-253 同样逆转了雷公藤甲素对 SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平的影响,表明 KLF4 与 SLC7A11/GPX4 通路存在调控关系。Fer-1 也通过 SLC7A11/GPX4 通路逆转铁死亡减轻雷公藤甲素肾毒性。但雷公藤甲素对  $Fe^{2+}$  水平的升高作用未被 APTO-253 逆转,这提示雷公藤甲素调控铁死亡可能存在其他途径,需要进一步探索。

尽管本研究为雷公藤甲素肾毒性的潜在靶点提

供了新线索,但存在以下局限。首先,研究仅通过 KLF4 诱导剂 APTO-253 初步评估了 KLF4 的作用,未来需进一步构建 KLF4 过表达或敲低细胞模型,以精准验证其关键性;其次,研究在动物水平进行了雷公藤甲素诱导肾损伤和铁死亡的病理评估及表型分析,但未使用 KLF4 诱导剂和铁死亡抑制剂验证 KLF4/SLC7A11/GPX4 信号通路诱导铁死亡介导雷公藤甲素肾毒性的作用。后续研究中,本团队将进一步解决上述问题。

综上所述,本研究发现 KLF4/SLC7A11/GPX4 通路可能与雷公藤甲素肾毒性的产生紧密相关,这一发现为未来 KLF4 作为治疗和预防雷公藤甲素肾毒性的关键靶点提供了理论和实验依据。

## 参考文献

- [1] ZHANG Y Q, MAO X, LI W J, et al. Tripterygium wilfordii: An inspiring resource for rheumatoid arthritis treatment[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2021, 41(3): 1337-1374.
- [2] 周逸麒, 彭琳, 张宇辰, 等. 雷公藤甲素结构优化及生物活性研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2024, 59(19): 1795-1806.
- [3] GAO J, ZHANG Y F, LIU X H, et al. Triptolide: Pharmacological spectrum, biosynthesis, chemical synthesis and derivatives[J]. *Theranostics*, 2021, 11(15): 7199-7221.
- [4] RAO J Q, PENG T, LI N, et al. Nephrotoxicity induced by natural compounds from herbal medicines: a challenge for clinical application[J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2022, 52(9): 757-778.
- [5] LU J, ZHANG Y, DONG H Y, et al. New mechanism of nephrotoxicity of triptolide: Oxidative stress promotes cGAS-STING signaling pathway[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2022, 188: 26-34.
- [6] 白雪, 谭天阳. 雷公藤生殖及肝肾毒理机制研究进展[J]. *中国药物警戒*, 2024, 21(10): 1192-1199.
- [7] ZHENG J S, CONRAD M. The metabolic underpinnings of ferroptosis[J]. *Cell Metabolism*, 2020, 32(6): 920-937.
- [8] WANG H M, SUN J J, LUO Y S, et al. The role of ferroptosis in acute kidney injury: The preemptive mode of cell death and the bridging effect[J]. *Renal Failure*, 2025, 47(1): 2536732.
- [9] YARMOHAMMADI F, HAYES A W, KARIMI G. The role of ferroptosis in organ toxicity[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2021, 40(12\_suppl): S851-S860.
- [10] 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 Radical Biology and Medicine*, 2025, 241: 104–116.
- [11] LIU Y, WANG J Y. Ferroptosis, a rising force against renal fibrosis[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022: 7686956.
- [12] CHEN X, YU C H, KANG R, et al. Cellular degradation systems in ferroptosis[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2021, 28(4): 1135–1148.
- [13] YE Y Z, CHEN A, LI L, et al. Repression of the antiporter SLC7A11/glutathione/glutathione peroxidase 4 axis drives ferroptosis of vascular smooth muscle cells to facilitate vascular calcification[J]. *Kidney International*, 2022, 102(6): 1259–1275.
- [14] ZENG L D, ZHU Y M, MORENO C S, et al. New insights into KLFs and SOXs in cancer pathogenesis, stemness, and therapy[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2023, 90: 29–44.
- [15] HE Z H, HE J, XIE K P. KLF4 transcription factor in tumorigenesis[J]. *Cell Death Discovery*, 2023, 9: 118–131.
- [16] LIU L S, CHEN F X, LIU K, et al. The KLF4/Galectin-3 cascade is a key determinant of tubular cell death and acute kidney injury[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2025, 21(13): 5802–5820.
- [17] ZHU H Y, DUAN Y N, YANG Y J, et al. Sodium aescinate induces renal toxicity by promoting Nrf2/GPX4-mediated ferroptosis[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2024, 391: 110892.
- [18] DAN Z Y, SHI X R, SHU C L, et al. 4-amino-2-trifluoromethyl-phenyl retinate alleviates lipopolysaccharide-induced acute myocardial injury through activation of the KLF4/p62 axis[J]. *Cellular Signalling*, 2024, 114: 111001.
- [19] YOSHIDA T, YAMASHITA M, HORIMAI C, et al. Smooth muscle-selective nuclear factor- $\kappa$ B inhibition reduces phosphate-induced arterial medial calcification in mice with chronic kidney disease[J]. *Journal of the American Heart Association*, 2017, 6(11): e007248.
- [20] 王春强, 云阳, 梁马丹, 等. 雷公藤甲素诱导自噬促进人肾小管上皮 HK-2 细胞凋亡[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(11): 2133–2140.
- [21] DENG H F, YUE L X, WANG N N, et al. Mitochondrial iron overload-mediated inhibition of Nrf2-HO-1/GPX4 assisted ALI-induced nephrotoxicity[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 11: 624529.
- [22] MARTÍN-SANCHEZ D, RUIZ-ANDRES O, POVEDA J, et al. Ferroptosis, but not necroptosis, is important in nephrotoxic folic acid-induced AKI[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2017, 28(1): 218–229.
- [23] QIU C W, CHEN B, ZHU H F, et al. Gastrodin alleviates cisplatin nephrotoxicity by inhibiting ferroptosis via the SIRT1/FOXO3A/GPX4 signaling pathway[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2024, 319(Pt 3): 117282.
- [24] ZHANG S, CAO S, ZHOU H, et al. Realgar-induced nephrotoxicity via ferroptosis in mice[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2022, 42(11): 1843–1853.
- [25] WU X H, WANG J M, LI B Y, et al. Chlorogenic acid, rutin, and quercetin from *Lysimachia christinae* alleviate triptolide-induced multi-organ injury in vivo by modulating immunity and AKT/mTOR signal pathway to inhibit ferroptosis and apoptosis[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2023, 467: 116479.
- [26] CHEN X, LI J B, KANG R, et al. Ferroptosis: Machinery and regulation[J]. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2054–2081.
- [27] 林鹏展, 田菲, 张林, 等. 中医药干预铁死亡机制的研究进展[J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(2): 318–322.
- [28] YUAN Y, ZHAI Y Y, CHEN J J, et al. Kaempferol ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal ferroptosis by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 923–937.
- [29] FU C, WU Y F, LIU S J, et al. Rehmannioside A improves cognitive impairment and alleviates ferroptosis via activating PI3K/AKT/Nrf2 and SLC7A11/GPX4 signaling pathway after ischemia[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 289: 115021.
- [30] LI Q J, PENG F, YAN X Y, et al. Inhibition of SLC7A11-GPX4 signal pathway is involved in aconitine-induced ferroptosis in vivo and in vitro[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 303: 116029.
- [31] LIU X, CHEN C, HAN D, et al. SLC7A11/GPX4 inactivation-mediated ferroptosis contributes to the pathogenesis of triptolide-induced cardiotoxicity[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 2022(1): 3192607.
- [32] CAO Y W, XIONG J L, GUAN X P, et al. Paeoniflorin suppresses kidney inflammation by regulating macrophage polarization via KLF4-mediated mitophagy[J]. *Phytomedicine*, 2023, 116: 154901.

(本文编辑 陈晨)