

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.15.025

## 黄芩苷诱导肝癌细胞发生铁死亡的作用机制研究

郑秋燕<sup>1,2</sup>, 陈丽丹<sup>3</sup>, 蔡佳佳<sup>3</sup>, 孙朝晖<sup>1,3,△</sup>

1. 南方医科大学第一临床医学院, 广东广州 510515; 2. 中国人民解放军南部战区空军医院检验病理科, 广东广州 510062; 3. 中国人民解放军南部战区总医院检验科, 广东广州 510010

**摘要:**目的 探讨黄芩苷诱导肝癌 HepG-2 细胞发生铁死亡的可能机制。方法 该研究采用不同浓度 (10、20、30、40、50、60、70、80、90、100  $\mu\text{mol/L}$ ) 的黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h, 采用四甲基偶氮唑蓝比色法检测细胞活力并计算半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ )。根据  $\text{IC}_{50}$  将细胞分为对照组 (黄芩苷浓度 = 0  $\mu\text{mol/L}$ )、25  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组和 50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组, 使用谷胱甘肽 (GSH) 试剂盒测定分组后细胞内 GSH 水平; 采用 Western blot 试验检测分组后细胞内铁死亡相关蛋白胱氨酸-谷氨酸的反向转运体亚基 (xCT)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4)、二价金属转运蛋白 1 (DMT1) 表达水平; 采用 DCFH-DA 探针检测细胞内活性氧 (ROS) 水平。随后本研究测定了同时使用铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 和黄芩苷处理后的细胞活力、GSH 水平变化。采用 Pearson 相关对肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平与黄芩苷浓度的相关性进行分析。结果 肝癌 HepG-2 细胞活力随着黄芩苷作用浓度增加而明显降低。黄芩苷能减少肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平, 下调细胞中 xCT 和 GPX4 蛋白表达水平, 上调 DMT1 表达水平和升高 ROS 水平。Ferrostatin-1 可有效抑制黄芩苷诱导的细胞铁死亡, 主要表现为细胞活力和 GSH 水平恢复。Pearson 相关分析结果显示, 肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平与黄芩苷浓度呈负相关 ( $P < 0.05$ )。结论 黄芩苷可通过下调 GPX4 和 xCT 蛋白表达水平, 上调 DMT1 表达水平, 诱导 ROS 大量生成, 并导致肝癌 HepG-2 细胞铁死亡。

**关键词:** 黄芩苷; 肝癌细胞; 铁死亡; 活性氧; 作用机制; 谷胱甘肽

中图法分类号: R735.7; R961

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2024)15-2270-05

### Study on the mechanism of baicalin inducing ferroptosis in hepatocellular carcinoma cells

ZHENG Qiuyan<sup>1,2</sup>, CHEN Lidan<sup>3</sup>, CAI Jiajia<sup>3</sup>, SUN Chaohui<sup>1,3,△</sup>

1. The First Clinical Medical College of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China; 2. Department of Laboratory Pathology, Air Force Hospital, Southern Theater Command of PLA, Guangzhou, Guangdong 510062, China; 3. Department of Clinical Laboratory, General Hospital of Southern Theater Command of PLA, Guangzhou, Guangdong 510010, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the possible mechanism of ferroptosis induced by baicalin in hepatocellular carcinoma HepG-2 cells. **Methods** This research adopted the different concentrations (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 mol/L) of baicalin HepG-2 of liver cancer cells within 24 h, determined by tetramethyl azazole blue colorimetric method was used to detect the cell vitality and calculate the half inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ). According to  $\text{IC}_{50}$ , the cells were divided into control group (baicalin concentration = 0  $\mu\text{mol/L}$ ), 25  $\mu\text{mol/L}$  baicalin treatment group and 50  $\mu\text{mol/L}$  baicalin treatment group. Glutathione (GSH) level was measured by GSH kit. Western blot test was used to detect the expression levels of ferroptosis-related proteins cystine-glutamate antiporter subunit (xCT), glutathione peroxidase 4 (GPX4) and divalent metal transporter 1 (DMT1) in after each group. The intracellular reactive oxygen species (ROS) level was detected by DCFH-DA probe. The changes of cell viability and GSH level after co-treatment with baicalin and ferroptosis inhibitor Ferrostatin-1 were determined. Pearson correlation was used to analyze the correlation between the intracellular GSH level and baicalin concentration in HepG-2 cells. **Results** The viability of HepG-2 cells was significantly decreased with the increase of baicalin concentration. Baicalin could reduce the GSH level in HepG-2 cells, down-regulate the expression levels of xCT and GPX4 proteins, up-regulate the expression level of DMT1 and increase the level of ROS. Ferrostatin-1 could effectively inhibit the ferroptosis induced by baicalin, which was mainly reflected in the recovery of cell viability and GSH level. Pearson correlation analysis showed that intracellular GSH level was negatively correlated with baicalin concentration in HepG-2 cells ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Baicalin can down-regulate the protein expression levels of GPX4 and xCT and up-regulate the expression level of DMT1, induce a large amount of ROS and lead to ferroptosis in hepatocellular carcinoma HepG-

2 cells.

**Key words:** baicalin; hepatocellular carcinoma cell; ferroptosis; reactive oxygen species; mechanism of action; glutathione

原发性肝癌在亚洲国家的发病率最高,并且是第五大常见癌症,也是癌症死亡的第二大原因<sup>[1]</sup>。目前,肝癌的主要治疗方法有手术治疗和化疗等,但是手术治疗不易彻底清除肝癌细胞<sup>[2]</sup>,化疗对多表达耐药基因的肝癌细胞疗效不佳<sup>[3]</sup>。因此,寻找新的有效治疗肝癌的药物迫在眉睫。铁死亡作为一种不同于凋亡或自噬的新型细胞程序性死亡形式,其主要机制是多不饱和脂肪酸过氧化所致活性氧的积累<sup>[4]</sup>,多表现为细胞内谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)活性下降、谷胱甘肽(GSH)耗竭、脂质活性氧累积和活性氧(ROS)水平升高等<sup>[5]</sup>。黄芩苷作为一种从黄芩中提取的天然黄酮类化合物,被报道可以通过诱导肿瘤细胞产生大量 ROS 并降低细胞内 GSH 水平来发挥其抗肿瘤作用<sup>[6-7]</sup>。目前黄芩苷可以诱导肝癌细胞发生铁死亡少有报道,本研究旨在探讨黄芩苷诱导肝癌 HepG-2 细胞发生铁死亡的可能机制。

## 1 资料与方法

**1.1 试剂** 人肝癌细胞株 HepG-2 购自武汉普诺赛生命科技有限公司;黄芩苷(批号 572667)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT)比色法试剂盒(批号: C009S)、GSH 检测试剂盒(批号: S0052)、ROS 试剂盒(批号: S0033C)均购自上海碧云天有限公司;兔抗 GAPDH 多克隆抗体(批号: 5174T, 1:10 000)、兔抗 DMT1 多克隆抗体(批号: 115083S, 1:1 000)、兔抗谷氨酸的反向转运体亚基(xCT)多克隆抗体(批号: 12691S, 1:1 000)、兔抗 GPX4 多克隆抗体(批号: 59735S, 1:1 000)、山羊抗兔 IgG 二抗(批号: 7074S, 1:5 000)均购自美国 CST 公司;Ferrostatin-1(批号: S81461, 1:2 000)购自上海源叶公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养和 MTT 比色法检测细胞活力** 肝癌 HepG-2 细胞培养于 10% 胎牛血清、1% 青-链霉素的 1640 培养基中,放入 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,约间隔 2 d 更换一次培养基,待细胞密度达到 80% 以上进行传代或种板处理。取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞以每孔  $7 \times 10^3$  的密度接种于 96 孔板中,分为不同浓度黄芩苷培养液处理、不加药物处理及只有培养基(消除背景)的细胞,分别设置 5 个复孔。接种后次日更换不同浓度的黄芩苷培养液继续培养不同浓度黄芩苷培养液处理的细胞 24 h。24 h 后在各孔加入 10  $\mu$ L MTT,避光孵育 4 h 后,各孔加入 140  $\mu$ L 二甲基亚砷进行振荡混匀,通过酶标仪检测 490 nm 波长的吸光度,参考文献[8]的方法,采用 MTT 比色法检测获得细胞活力数据,使用 SPSS 软件计算黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 时的半数

抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值。

**1.2.2 细胞内 GSH 水平检测** 取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞接种于 6 孔板中,待细胞贴壁且生长密度达到 80% 以上时,更换黄芩苷培养液处理 24 h,处理结束后收集细胞并加入按 GSH 水平检测按照试剂盒说明书配置的检测试剂。通过酶标仪检测标本在 412 nm 波长的吸光度,计算各组相对 GSH 水平并统计作图。

**1.2.3 细胞内 ROS 水平检测** 取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞接种于 6 孔板中,待细胞贴壁且生长密度达到 80% 以上时,更换黄芩苷培养液处理 24 h,处理结束后收集细胞并用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次。各组加入用无血清 1640 配置好的 2,7-二氯荧光素二乙酸酯探针后在 37℃ 培养箱避光孵育 30 min,孵育期间每 5 min 振荡一次,孵育结束后离心细胞并弃上清液,用 PBS 洗涤 3 次,洗涤完后用 PBS 重悬细胞并放置在冰上待测,最后通过流式上机检测各组 ROS 水平。

**1.2.4 Western blot 试验检测相关蛋白表达水平** 取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞接种于 6 孔板中,待细胞贴壁且生长密度达到 80% 以上时,更换黄芩苷培养液处理 24 h,处理结束后弃上清液,用预冷 PBS 清洗 3 次,加入细胞组织快速裂解液冰上裂解细胞并提取蛋白。用凝胶电泳分离目的蛋白,200 mA 恒定电流转膜,5% 脱脂牛奶封闭 2 h,加入稀释好的一抗于 4℃ 摇床孵育过夜。次日回收一抗,用三羟甲基氨基甲烷缓冲液(TBST)清洗条带 3 次,加入二抗室温孵育 1 h,孵育完后用 TBST 清洗条带 3 次,最后加入电化学发光液进行显影。蛋白灰度值采用 Image J 软件进行分析。

**1.2.5 检测不同水平铁死亡抑制剂联合黄芩苷对细胞活力的影响** 取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞接种于 96 孔板中,待细胞贴壁且生长密度达到 80% 以上时,将 40  $\mu$ mol/L 的黄芩苷和设置了不同水平(0、2、5、10  $\mu$ mol/L)的 Ferrostatin-1 进行分组联合给药,给药处理 24 h 后采用 MTT 法检测细胞活力,检测步骤同上。选择最合适的 Ferrostatin-1 水平进行下一步恢复实验。

**1.2.6 检测铁死亡抑制剂对细胞功能的恢复** 取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞接种于 6 孔板中,待细胞贴壁且生长密度达到 80% 以上时,采用 5  $\mu$ mol/L 的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu$ mol/L 黄芩苷同时进行处理 24 h。处理结束后检测各组 GSH、ROS 和铁死亡相关蛋白表达水平,检测步骤同上。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表

示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。采用 Pearson 相关对肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平与黄芩苷浓度的相关性进行分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 黄芩苷对肝癌 HepG-2 细胞活力的影响** MTT 比色法 3 次独立实验结果显示,不同浓度(10、20、40、60、80、100  $\mu\text{mol/L}$ )黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,随着黄芩苷药物浓度增加,肝癌 HepG-2 细胞活力相对减少,见图 1。黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 时的  $\text{IC}_{50}$  值为 48.25  $\mu\text{mol/L}$ ,设定  $\text{IC}_{50}$  附近的 50  $\mu\text{mol/L}$  作为 50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组,1/2  $\text{IC}_{50}$  的 25  $\mu\text{mol/L}$  作为 25  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组,0  $\mu\text{mol/L}$  的黄芩苷作为对照组进行实验。

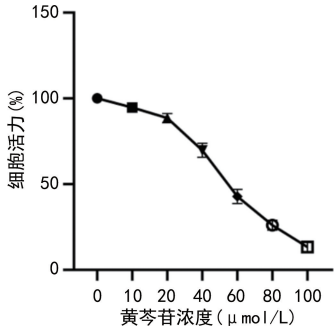


图 1 黄芩苷对肝癌 HepG-2 细胞活力的影响

**2.2 黄芩苷对肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平的影响** 用 25、50  $\mu\text{mol/L}$  的黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,对照组 GSH 水平为  $(0.92\pm0.57)\text{U/mL}$ , 25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 GSH 水平分别为  $(0.63\pm0.72)\text{U/mL}$ 、 $(0.35\pm0.66)\text{U/mL}$ ,随着黄芩苷药物浓度增加,肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平逐渐降低,25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 GSH 水平与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ ),肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平与黄芩苷浓度呈负相关 ( $P<0.05$ )。

**2.3 黄芩苷对肝癌 HepG-2 细胞内 ROS 水平的影响** 用 25、50  $\mu\text{mol/L}$  的黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,对照组 ROS 水平为  $2.38\pm0.12$ , 25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 ROS 水平分别为  $39.85\pm2.48$ 、 $85.36\pm2.31$ ,随着黄芩苷药物浓度增加,肝癌 HepG-2 细胞内 ROS 水平逐渐增加,25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 ROS 水平与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

**2.4 黄芩苷对肝癌 HepG-2 细胞内铁死亡相关蛋白的影响** Western blot 试验结果显示,用 25、50  $\mu\text{mol/L}$  的黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,对照组、25  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 xCT 蛋白灰度值分别为  $1.01\pm0.15$ 、 $0.73\pm0.11$ 、 $0.54\pm0.16$ ,25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 xCT 蛋白灰度值与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ );对照组、25  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组、50  $\mu\text{mol/L}$

黄芩苷处理组 GPX4 蛋白灰度值分别为  $0.98\pm0.23$ 、 $0.81\pm0.27$ 、 $0.46\pm0.12$ ,25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 GPX4 蛋白灰度值与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ );对照组、25  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 DMT1 蛋白灰度值分别为  $0.99\pm0.14$ 、 $1.53\pm1.23$ 、 $1.82\pm0.47$ ,25、50  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理组 DMT1 蛋白灰度值与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。黄芩苷在下调肝癌 HepG-2 细胞中 xCT 和 GPX4 蛋白表达水平的同时还上调了 DMT1 表达水平(图 2)。

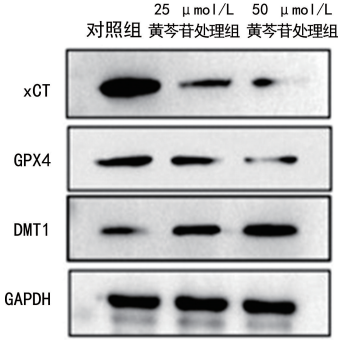


图 2 黄芩苷对肝癌 HepG-2 细胞中铁死亡相关蛋白的影响

**2.5 Ferrostatin-1 对肝癌 HepG-2 细胞的活力恢复** MTT 比色法检测结果显示,2、5、10  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 联合 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,对照组细胞活力值为  $(98.47\pm0.14)\%$ ,40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷单独处理组细胞活力值为  $(39.17\pm3.48)\%$ ,2  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组细胞活力值为  $(58.38\pm5.52)\%$ ,5  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组细胞活力值为  $(73.36\pm4.26)\%$ ,10  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组细胞活力值为  $(82.26\pm3.17)\%$ ,40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷单独处理组细胞活力值与对照组比较,差异有统计学意义 ( $P<0.05$ );2、5  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组细胞活力值与对照组比较,差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ );10  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组细胞活力值与对照组比较,差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。2、5、10  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 对降低肝癌 HepG-2 细胞活力均有一定恢复效果,且 Ferrostatin-1 对肝癌 HepG-2 细胞活力恢复能力具有浓度依赖性。

**2.6 Ferrostatin-1 抑制肝癌 HepG-2 细胞铁死亡的细胞变化** 5  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 联合 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,对照组 GSH 水平为  $(0.98\pm0.12)\text{U/mL}$ ,40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷单独处理组 GSH 水平为  $(0.38\pm0.79)\text{U/mL}$ ,5  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组 GSH 水平为  $(0.65\pm0.68)\text{U/mL}$ ,40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷单独处理组和 5  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和

40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组 GSH 水平与对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。相对于 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷单独处理组,5  $\mu\text{mol/L}$  的 Ferrostatin-1 和 40  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷联合处理组 GSH 水平明显升高。

### 3 讨 论

有研究表明,铁死亡参与了多种肝病的病理和生理过程<sup>[9-11]</sup>。与凋亡或自噬这些典型的细胞死亡方式不同,铁死亡是一种铁依赖形式的程序性细胞死亡方式,其发生的主要机制是不饱和脂肪酸过氧化导致细胞内脂质 ROS 积累,从而诱导细胞死亡<sup>[12]</sup>。目前,有研究发现一些中药提取物可以诱导肝癌细胞铁死亡,如从黄花蒿中提取的二氢青蒿素被报道可以通过诱导细胞发生铁死亡抑制肝癌细胞生长<sup>[13]</sup>;从丹参酮中分离提取出的隐丹参酮被报道可以抑制 GPX4 和 xCT 表达使肝癌 HepG2 细胞中 ROS 累积,导致细胞发生铁死亡<sup>[14]</sup>。黄芩苷作为一种提取自中药黄芩的黄酮类化合物,其被报道可以通过抑制骨肉瘤细胞中 GSH 与氧化 GSH 比例诱导细胞铁死亡<sup>[15]</sup>。但是,关于黄芩苷是否可以诱导肝癌细胞铁死亡的报道较少见。

本研究采用不同浓度的黄芩苷作用于肝癌 HepG-2 细胞株 24 h,MTT 法检测结果表明,黄芩苷可明显抑制肝癌 HepG-2 细胞活力,且抑制作用与药物剂量有依赖关系。80、90、100  $\mu\text{mol/L}$  黄芩苷作用于肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后,与对照组细胞活力比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),说明黄芩苷达到一定浓度后,再增加药物剂量时,抑制细胞活力作用不明显。ROS 检测发现,黄芩苷能增加肝癌 HepG-2 细胞内 ROS 水平。GSH 检测发现,黄芩苷能减少肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平,且肝癌 HepG-2 细胞内 GSH 水平与黄芩苷浓度呈负相关,而 GSH 水平下降是铁死亡的表现之一<sup>[16]</sup>,提示黄芩苷可能诱导肝癌 HepG-2 细胞铁死亡。本研究通过 Western blot 试验检测黄芩苷处理肝癌 HepG-2 细胞 24 h 后结果显示,黄芩苷可下调细胞中 xCT 和 GPX4 蛋白表达水平,上调 DMT1 蛋白表达水平。有研究表明,铁死亡表现为 GSH 水平和 GPX4 活性降低,以及 ROS 水平升高<sup>[17-18]</sup>。xCT 是细胞内 GSH 的合成来源,xCT 表达下调会导致 GSH 合成不足,从而导致细胞铁死亡发生<sup>[19]</sup>。GPX4 是铁死亡的核心调控蛋白,GPX4 活性降低,脂质过氧化物会借助金属(如铁)引发催化反应,最终引起细胞死亡<sup>[20]</sup>。DMT1 作为铁代谢中唯一向胞内转运铁的蛋白,与细胞内铁水平密切相关<sup>[21]</sup>。黄芩苷可能是通过抑制肝癌 HepG-2 细胞内 xCT 的功能,降低了细胞内 GSH 的合成,破坏细胞抗氧化体系的同时抑制 GPX4 清除脂质过氧化物的功能,导致细胞内铁代谢紊乱及大量脂质 ROS 堆积,而引起肝癌 HepG-2 细胞铁死亡,而铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 在一定程度上可以逆转这些现象。

综上所述,黄芩苷通过抑制 GPX4 和 xCT 表达使肝癌 HepG-2 细胞中 ROS 累积,导致细胞发生铁死亡,对于肝癌治疗具有重要临床意义,因为铁死亡途径可能提供一种不同于传统化疗或靶向治疗的新策略。从临床转化角度来看,未来有可能基于黄芩苷诱导肝癌细胞铁死亡的作用机制针对特定类型的肝癌患者开发出个体化治疗方案;其次,黄芩苷的应用不仅限于肝癌治疗,还可以用于其他与铁相关的疾病,比如铁代谢紊乱、贫血等,黄芩苷可作为一种新的治疗药物,为患者提供更加有效和安全的 treatment 手段。鉴于黄芩苷的肝脏保护作用,它可能用于高风险人群的预防干预,通过调节铁代谢和抗氧化应激状态,阻止肝细胞向恶性转变。此外,应开展大规模的临床试验以验证黄芩苷单独或与其他药物联合使用时在人体内诱导肝癌细胞铁死亡的安全性和有效性,这是推进其临床应用的关键步骤。总之,黄芩苷诱导肝癌细胞铁死亡这一发现为肝癌治疗提供了新的思路 and 潜在治疗手段,但实际临床应用前还需经过严格的临床前研究及临床试验阶段来评估其安全性和治疗效果。

### 参考文献

- [1] ZHANG C H, CHENG Y F, ZHANG S, et al. Changing epidemiology of hepatocellular carcinoma in Asia[J]. *Liver Int*, 2022, 42(9): 2029-2041.
- [2] MAKI H, HASEGAWA K. Advances in the surgical treatment of liver cancer[J]. *Biosci Trends*, 2022, 16(3): 178-188.
- [3] GUO J H, ZHAO J, FU W, et al. Immune evasion and drug resistance mediated by USP22 in cancer: novel targets and mechanisms[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 918314.
- [4] ZHAO L, ZHOU X X, XIE F, et al. Ferroptosis in cancer and cancer immunotherapy[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(2): 88-116.
- [5] CHEN X, LI J B, KANG R, et al. Ferroptosis: machinery and regulation[J]. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2054-2081.
- [6] HU Z H, GUAN Y R, HU W Y, et al. An overview of pharmacological activities of baicalin and its aglycone baicalein: new insights into molecular mechanisms and signaling pathways[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2022, 25(1): 14-26.
- [7] YUAN J W, KHAN S U, YAN J F, et al. Baicalin enhances the efficacy of 5-Fluorouracil in gastric cancer by promoting ROS-mediated ferroptosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164: 114986.
- [8] 赵斌, 葛金芳, 朱娟娟, 等. 小议在 MTT 法测细胞增殖抑制率中 IC<sub>50</sub> 的计算方法[J]. *安徽医药*, 2007, 11(9): 834-836.
- [9] TONG J, LAN X T, ZHANG Z, et al. Ferroptosis inhibitor liproxstatin-1 alleviates metabolic dysfunction-associated fatty liver disease in mice: potential involvement of PANoptosis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(5): 1014-1028.
- [10] CHEN J Y, LI X P, GE C D, et al. The multifaceted role of ferroptosis in liver disease[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(3): 467-480.

[7] DAI T G,RAN H B, QIU Y X, et al. Fatal complications in a patient with severe multi-space infections in the oral and maxillofacial head and neck regions:a case report[J]. World J Clin Cases,2019,7(23):4150-4156.

[8] 王冰,刘宁宁,龚忠诚. 封闭负压引流治疗严重的口腔颌面部间隙感染的临床分析[J]. 口腔医学研究,2020,36(2):152-157.

[9] KUMARI S, MOHANTY S, SHARMA P, et al. Is the routine practice of antibiotic prescription and microbial culture and antibiotic sensitivity testing justified in primary maxillofacial space infection patients? A prospective, randomized clinical study[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2018,46(3):446-452.

[10] QIU Y, LI Y F, GAO B J, et al. Therapeutic efficacy of vacuum sealing drainage-assisted irrigation in patients with severe multiple-space infections in the oral, maxillofacial, and cervical regions[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2019,47(5):837-841.

[11] 高燕飞,张敏,刘振丽,等. 口腔颌面部间隙感染病原菌分布及耐药性分析[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(9):1072-1076.

[12] 史振怡,胡敏,陈昌盛. 143 例口腔颌面部间隙感染特征分析[J]. 中国病原生物学杂志,2023,18(6):705-708.

[13] GOPINATHAN G, FOYLE D, LUAN X H, et al. The Wnt antagonist SFRP1: a key regulator of periodontal mineral homeostasis[J]. Stem Cells Dev, 2019,28(15):1004-1014.

[14] 周碧,王文鹏,周敏,等. Wnt 通路中卷曲蛋白 4 和分泌型卷曲相关蛋白 1 在儿童急性淋巴细胞白血病中的表达[J]. 医学研究杂志,2020,49(5):141-144.

[15] KASASHIMA H, DURAN A, MARTINEZ-ORDOÑEZ A, et al. Stromal SOX2 upregulation promotes tumorigenesis through the generation of a SFRP1/2-Expressing cancer-associated fibroblast population [J]. Dev Cell, 2021,56(1):95-110.

[16] BLEY I A, ZWICK A, HANS M C, et al. DKK1 inhibits canonical Wnt signaling in human papillomavirus-positive penile cancer cells[J]. Transl Oncol,2022,15(1):101267.

[17] 陈曦,孙延芳, NXUMALO W. Dickkopfs 分泌蛋白调控肿瘤细胞机制[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2020,43(2):253-261.

[18] CHAE W J, BOTHWELL A L M. Dickkopf1: an immunomodulatory ligand and Wnt antagonist in pathological inflammation[J]. Differentiation,2019,108:33-39.

[19] CHAKRABORTY B, MUKHOPADHYAY D, ROYCHO-WDHURY A, et al. Differential Wnt- $\beta$ -catenin pathway activation in HPV positive and negative oral epithelium is transmitted during head and neck tumorigenesis: clinical implications[J]. Med Microbiol Immunol,2021,210(1):49-63.

[20] BAO J, YANG Y, XIA M, et al. Wnt signaling: an attractive target for periodontitis treatment[J]. Biomed Pharmacother,2021,133(1):1-13.

[21] 郭洪. 口腔颌面部间隙感染病原菌分布特点、耐药性情况及感染的相关危险因素分析[J]. 罕少疾病杂志,2023,30(1):32-33.

(收稿日期:2023-10-10 修回日期:2024-05-08)

(上接第 2273 页)

[11] WANG S D, LIU Z J, GENG J F, et al. An overview of ferroptosis in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Biomed Pharmacother,2022,153:113374.

[12] LIU Y, WANG J Y. Ferroptosis, a rising force against renal fibrosis [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 7686956.

[13] 李艳纯,周怡,王鑫,等. 二氢青蒿素通过诱导铁死亡抑制肝癌细胞生长[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2019,35(12):1361-1366.

[14] 刘金丽,佟雷,罗烨,等. 隐丹参酮可能具有诱导人肝癌 HepG2 细胞铁死亡的作用[J]. 中国医学科学院学报, 2021,43(3):366-370.

[15] WEN R J, DONG X, ZHUANG H W, et al. Baicalin induces ferroptosis in osteosarcomas through a novel Nrf2/xCT/GPX4 regulatory axis [J]. Phytomedicine, 2023, 116:154881.

[16] ASCHNER M, SKALNY A V, MARTINS A C, et al. Ferroptosis as a mechanism of non-ferrous metal toxicity [J]. Arch Toxicol,2022,96(9):2391-2417.

[17] ZHENG D D, LIU J, PIAO H L, et al. ROS-triggered endothelial cell death mechanisms: focus on pyroptosis, parthanatos, and ferroptosis [J]. Front Immunol, 2022, 13:1039241.

[18] SHA W X, HU F, XI Y, et al. Mechanism of ferroptosis and its role in type 2 diabetes mellitus [J]. J Diabetes Res,2021,2021:9999612.

[19] KOPPULA P, ZHUANG L, GAN B Y. Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy [J]. Protein Cell, 2021, 12(8):599-620.

[20] XIE Y C, KANG R, KLIONSKY D J, et al. GPX4 in cell death, autophagy, and disease [J]. Autophagy, 2023, 19(10):2621-2638.

[21] TAN Q, ZHANG X Q, LI S X, et al. DMT1 differentially regulates mitochondrial complex activities to reduce glutathione loss and mitigate ferroptosis[J]. Free Radic Biol Med,2023,207:32-44.

(收稿日期:2023-10-15 修回日期:2024-04-12)