

盐酸戊乙奎醚抑制亚铁肌红蛋白诱导的人近端肾小管上皮细胞铁死亡

罗莎莎 陈 莉 王东伟 谭红保

摘要 目的 探讨盐酸戊乙奎醚(penehyclidine hydrochloride, PHC)对亚铁肌红蛋白诱导人近端肾小管上皮(human renal cortex proximal tubule epithelial, HK2)细胞铁死亡的作用及其机制。**方法** 采用6mg/ml亚铁肌红蛋白处理HK2细胞建立横纹肌溶解(rhabdomyolysis, RM)致急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)细胞模型。加入PHC与亚铁肌红蛋白共同孵育HK2细胞,然后使用铁抑素-1(Fer-1,铁死亡抑制剂)和Erastin(铁死亡诱导剂)作为实验干预。CCK8法检测细胞活性,试剂盒法检测亚铁离子(Fe^{2+})和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平,流式细胞术检测脂质活性氧(reactive oxygen species, ROS)和线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)水平,实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)和Western bolt法检测GPX4的蛋白和mRNA表达水平。**结果** PHC处理显著增加了细胞活性,同时降低了 Fe^{2+} 、ROS和MDA水平,增加了MMP水平。与PHC单独处理比较,加入Fer-1后可以进一步增加细胞活性,下调 Fe^{2+} 水平,降低ROS和MDA水平,升高MMP水平。而加入Erastin后,结果刚好相反。此外,从机制上讲,PHC处理上调了SLC7A11和GPX4水平。**结论** PHC可以通过抑制铁死亡保护HK2细胞免受亚铁肌红蛋白损伤,这可能与SLC7A11/GPX4通路有关。

关键词 横纹肌溶解 急性肾损伤 铁死亡 盐酸戊乙奎醚 SLC7A11/GPX4通路

中图分类号 R692

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2024.04.018

Penehyclidine Hydrochloride Inhibits Ferrous Myoglobin Induced Ferroptosis of Human Renal Cortex Proximal Tubule Epithelial Cells. LUO

Shasha, CHEN Li, WANG Dongwei, et al. Department of Anesthesiology, The Fourth Hospital of Changsha, Hunan 410006, China

Abstract Objective To explore the role and mechanism of penehyclidine hydrochloride (PHC) on ferroptosis induced by ferrous myoglobin in human renal cortex proximal tubule epithelial (HK2) cells. **Methods** HK2 cells were treated with 6mg/ml ferrous myoglobin to establish rhabdomyolysis (RM) induced acute kidney injury (AKI) cell models. PHC and ferrous myoglobin were added to incubate the cells. The ferrostatin-1 (Fer-1, ferroptosis inhibitor) and Erastin (ferroptosis inducer) were then employed as experimental interventions. The cell activity was determined by CCK-8 method, and the level of Fe^{2+} and MDA were detected by assay kits, the level of lipid reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential (MMP) were detected by flow cytometry. The protein and mRNA expression levels of GPX4 were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western bolt (WB). **Results** PHC treatment significantly increased the cell activity, decreased the levels of Fe^{2+} , ROS, MDA, and increased the level of MMP. Compared with PHC alone treatment, the addition of Fer-1 increased cell activity further, down-regulated the level of Fe^{2+} , decreased the levels of ROS and MDA, and increased the level of MMP. After adding Erastin, the results were be opposed. In addition, PHC treatment mechanistically up-regulated the levels of SLC7A11 and GPX4. **Conclusion** PHC can protect HK2 cells from ferromyoglobin damage by inhibiting ferroptosis, which may be related to the SLC7A11/GPX4 pathway.

Key words Rhabdomyolysis; Acute kidney injury; Ferroptosis; Penehyclidine hydrochloride; SLC7A11/GPX4 pathway

横纹肌溶解综合征(rhabdomyolysis, RM)指由于各种原因造成的横纹肌溶解与崩坏,使得细胞内容物

进入外周血,从而对组织器官造成损害的临床症状^[1]。急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是RM最严重的并发症之一^[2]。据报道, RM致AKI的发生率为10%~55%,病死率高达80%^[3]。铁死亡是一种铁依赖性的脂质过氧化引发的新型细胞死亡方式^[4]。有研究表明,铁死亡与RM致AKI密切相关。Adedoyin等^[5]发现铁死亡抑制剂的使用可以减少氧化应激,增强肾小管细胞活性。同时, Song等^[6]研究

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(2020JJ8039);湖南省长沙市自然科学基金资助项目(Kq2202485)

作者单位:410006 长沙市第四医院麻醉科(罗莎莎、王东伟、谭红保);410007 长沙,湖南省脑科医院(湖南省第二人民医院)肾内科(陈莉)

通信作者:谭红保,电子信箱:tan13755160707@qq.com

发现,在 RM 致 AKI 小鼠模型中,抑制铁死亡可以明显改善小鼠肾功能。但是相关研究仍处于初步探索阶段。因此,在 RM 致 AKI 中,寻找合适的抗铁死亡药物,了解其具体的发病机制是目前的研究方向。

盐酸戊乙奎醚 (penhyclidine hydrochloride, PHC) 是我国军事科学院研制的新型抗胆碱药。已有研究表明,在各种原因所导致的急性肾损伤中,PHC 均具有保护作用^[7,8]。本课题组前期研究也发现,PHC 可以降低小鼠肾脏和肺中的超氧化物歧化酶和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平,具有抗脂质过氧化物的特性^[9,10]。SySystem X^{c-} 是一种嵌于细胞膜表面的逆转运体蛋白,其中发挥主要作用的是溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7a member 11, SLC7A11) 亚基,它可以通过促进谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的合成,增加谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPX4) 的表达,减轻脂质过氧化水平,从而抑制铁死亡^[11]。

但 PHC 能否通过 SLC7A11/GPX4 途径抑制铁死亡,从而减轻 RM 致 AKI 目前尚无报道。因此本研究采用亚铁肌红蛋白诱导人近端肾小管上皮 (human renal cortex proximal tubule epithelial, HK2) 细胞建立 RM 致 AKI 模型。研究 PHC 对 HK2 细胞铁死亡的影响及其机制,为 RM 致 AKI 提供新的治疗方向。

材料与amp;方法

1. 材料与试剂:HK2 细胞由中国科学院细胞库 (上海) 提供;肌红蛋白、抗坏血酸、Fer-1、Erastin、Fe²⁺、MDA 检测试剂盒均购自美国 Sigma 公司;PHC 购自成都力斯特制药有限公司;CCK8 购自北京全式金生物技术有限公司;DMEM/F12 培养基均购自美国 BioRed 公司;JC-1、ROS 检测试剂盒、RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司;胎牛血清购自美国 Gibco 公司;反转录试剂盒购自美国 Thermo 公司;PCR 试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司。

2. 细胞培养与分组:将 HK2 细胞置于 37℃、含 5% CO₂ 的培养箱中,用含 10% 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM/F12 培养基培养。当细胞进入对数生长期后分为对照组、8h 和 24h 的 FeG 组、PHC 组、Fer 组和 Era 组。对照组细胞用常规培养。FeG 组细胞用 6mg/ml 亚铁肌红蛋白处理 8h 或 24h。PHC 组细胞用 6mg/ml 亚铁肌红蛋白预处理 4h,然后再加入 0.1μmol/L PHC 共处理 4h 或 20h。Fer 组细胞用 6mg/ml 亚铁肌红蛋白和 10μmol/L Fer-1 预处理

4h,然后再加入 0.1μmol/L PHC 共处理 4h 或 20h。Era 组细胞用 6mg/ml 亚铁肌红蛋白和 10μmol/L Erastin 预处理 4h,然后再加入 0.1μmol/L PHC 共处理 4h 或 20h。

3. 亚铁肌红蛋白的配置:参照 Sun 等^[12] 的实验,将 6mg/ml 的肌红蛋白溶液和 0.352mg/ml 的抗坏血酸溶液混合配置 6mg/ml 亚铁肌红蛋白溶液。摇匀后室温静置 1h,当溶液的颜色由棕色变成微红色,表明高铁肌红蛋白被完全还原为亚铁肌红蛋白。用 0.22μmol/L 滤器过滤。

4. CCK8 检测细胞活性:取对数生长期 HK2 细胞接种于 96 孔板,密度为 4000 个细胞/孔,每组细胞在检测时间点时,将 1/10 的 CCK8 溶液加入每个孔洞中,在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 1.5h。用酶联免疫法测量各孔在 450nm 处的 A 值,并用公式检测细胞活性:(各组 A 值 - 空白组 A 值)/(对照组 A 值 - 空白组 A 值)。

5. 试剂盒检测 Fe²⁺、MDA 含量:按照试剂盒说明书操作,分别在 593nm、532nm 处测定吸光度。绘制标准曲线,得出标准曲线计算公式,计算出 Fe²⁺ 和 MDA 含量。

6. 流式细胞仪检测 ROS 水平:按照 1:1000 的比例用无血清培养液稀释 DCFH-DA 然后加入 6 孔板,每孔加 1ml,37℃ 细胞培养箱内孵育 20min。每隔 3~5min 颠倒混匀一下,使探针和细胞充分接触。再以 PBS 洗涤 3 次后按照 FACS 仪器操作说明上机检测。

7. JC-1 染色检测 MMP 水平:在 0.5ml 的细胞培养瓶中添加 0.5ml JC-1 染色工作液,37℃ 孵育 20min。紧接着在 4℃ 下 400 × g 离心 3~4min,用 JC-1 染色缓冲液 (1 ×) 清洗两次,再加入 1ml 的 JC-1 染色缓冲液 (1 ×) 进行悬浮后根据 FACS 仪器操作说明上机检测。

8. Western blot 法:提取各组 HK2 细胞蛋白之后加入裂解液,于冰上裂解 30min,在 4℃ 和 12000r/min (离心半径:8cm) 下离心 10min。用 BCA 法测定离心后上清中蛋白浓度,并进行处理。常规上样后,迅速转膜,在室温下 5% milk - PBST 摇晃封闭 60min,再将膜与一抗 SLC7A11 (1:1000 稀释)、GPX4 (1:1000 稀释)、β-actin (1:5000 稀释) 在 4℃ 下孵育过夜。次日稀释相关二抗 (1:5000 稀释),室温孵育 60min。最后用 ECL 显影蛋白条带并导出图像,图像分析软件 Image J 对图像进行灰度分析。以 β-actin 作为内参。

9. 实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR): 提取各组细胞总 RNA 后反转录为 cDNA, 并进行 PCR 循环扩增。实时定量 PCR 的反应体系由 2 × SYBR Green I mix、cDNA、灭菌蒸馏水、Primer-R (10 μmol/L)、Primer-F (10 μmol/L) 组成。以 β-actin 作为内参, 计算公式为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。PCR 引物序列如表 1 所示。

表 1 本次实验引物序列

基因名称	引物序列 (5'→3')
GPX4	上游引物: GTAACCACTTCGGGAAGCAG
	下游引物: TGTCTGATGAGAACTGTGGA
SLC7A11	上游引物: TTGTTTTGCACCTTTGACA
	下游引物: CAACCATGAAGAGGCATGTG
β-actin	上游引物: CTGACTTCAACAGCGACACC
	下游引物: GTGGTCCAGGGTCTTACTC

10. 统计学方法: 应用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行统计分析。采用单因素方差分析进行多样本比较, 采用 *t* 检验进行两两比较, 图片用 Graph-Pad Prism 8 绘制, 流式细胞仪数据用 Flow Jo 分析, 每组实验重复 3 次, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. PHC 对 HK2 细胞活性的影响: CCK8 检测结果如图 1 所示, 不管是 8h 还是 24h, 与对照组比较,

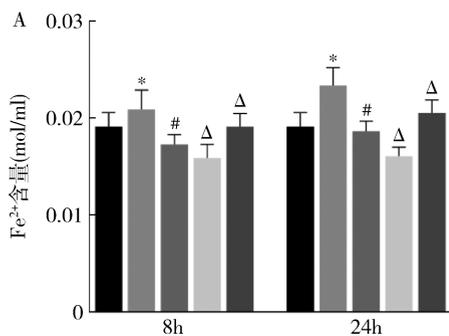


图 2 各干预组不同时间 HK2 细胞内 Fe²⁺、MDA 含量的比较

A. 各组 Fe²⁺ 含量的统计; B. 各组 MDA 含量的统计。与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FeG 组比较, # $P < 0.05$; 与 PHC 组比较, ^Δ $P < 0.05$

3. PHC 对 HK2 细胞 ROS 水平的影响: 流式细胞术检测结果如图 3 所示, 不管是 8h 还是 24h, 与对照组比较, FeG 组细胞内 ROS 水平上升, 而 PHC 处理则抑制了 FeG 组诱导的 ROS 水平升高。此外, 与 PHC 组比较, Fer-1 加入后降低了细胞内 ROS 水平, 而 Erastin 加入则升高了细胞内 ROS 水平。且各组间比

FeG 组均降低了细胞活性, 而 PHC 处理则减轻了 FeG 组诱导的细胞活性降低。此外, 与 PHC 组比较, Fer-1 加入后增强了细胞活性, 而 Erastin 加入则抑制了细胞活性。且各组间比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

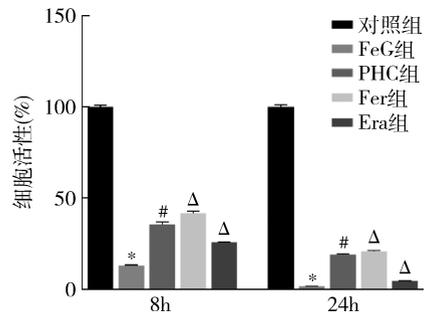
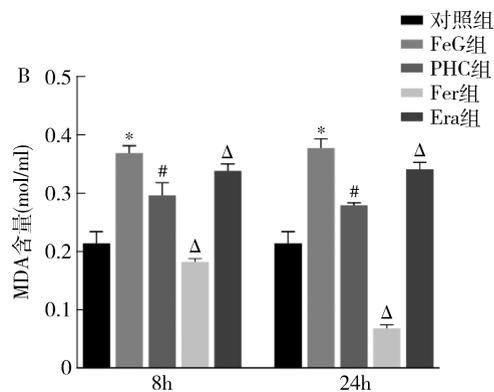


图 1 各干预组不同时间 HK2 细胞活性的比较

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FeG 组比较, # $P < 0.05$; 与 PHC 组比较, ^Δ $P < 0.05$

2. PHC 对 HK2 细胞内 Fe²⁺、MDA 含量的影响: 试剂盒检测结果如图 2 所示, 不管是 8h 还是 24h, 与对照组比较, FeG 组细胞内 Fe²⁺ (图 2A)、MDA (图 2B) 含量均升高。而 PHC 处理则抑制了 FeG 组诱导的 Fe²⁺、MDA 含量升高。此外, 与 PHC 组比较, Fer-1 加入后降低了细胞内 Fe²⁺、MDA 含量, 而 Erastin 加入则增加了细胞内 Fe²⁺、MDA 含量。且各组间比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。



较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

4. PHC 对 HK2 细胞 MMP 水平的影响: 在正常情况下, JC-1 在细胞中形成聚合物, 会发出红色荧光。当细胞去极化, JC-1 无法形成聚合物, 只能以绿色荧光单体存在, 表明线粒体膜电位降低。因此本研究采用 JC-1 染色标记 HK2 细胞内红绿荧光比值来检

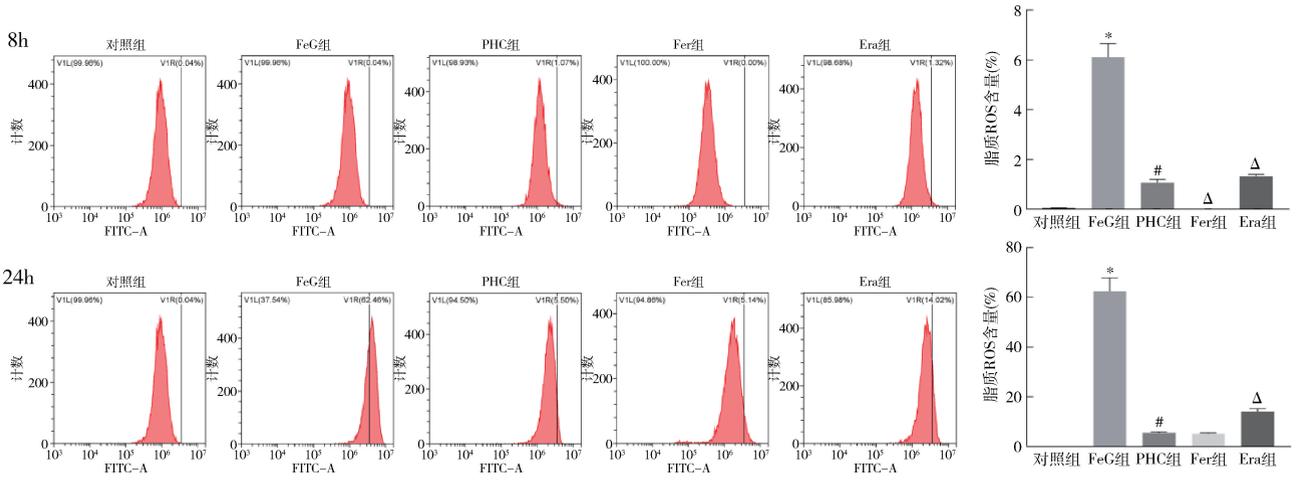


图3 各干预组不同时间 HK2 细胞 ROS 水平的比较
与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FeG 组比较, # $P < 0.05$; 与 PHC 组比较, Δ $P < 0.05$

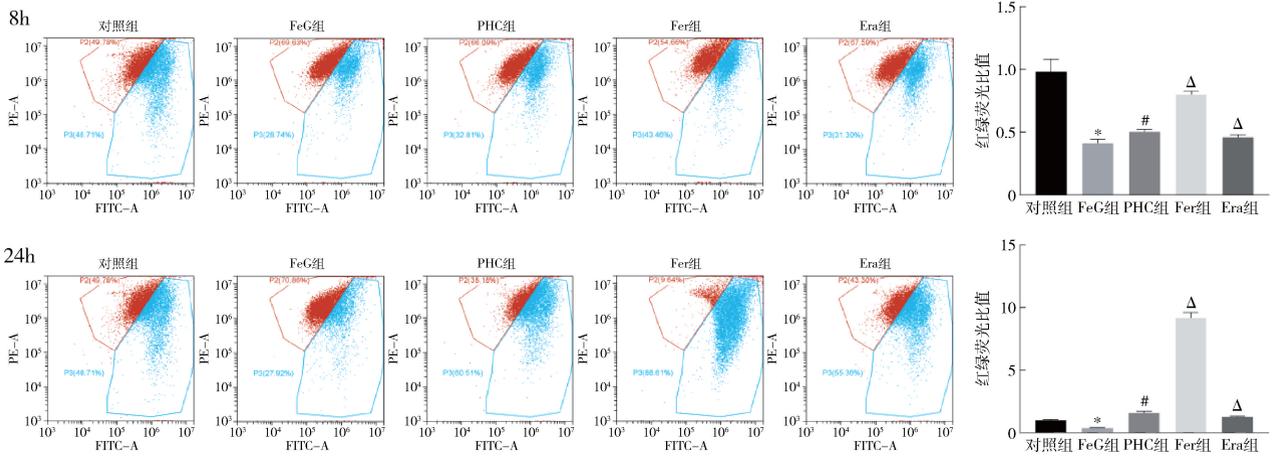


图4 各干预组不同时间 HK2 细胞 MMP 水平的比较
与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FeG 组比较, # $P < 0.05$; 与 PHC 组比较, Δ $P < 0.05$

测 MMP 的变化,如图 4 所示,不管是 8h 还是 24h,与对照组比较,FeG 组细胞内红绿荧光比值下降,而 PHC 处理则抑制了 FeG 组诱导的红绿荧光比值下降。提示亚铁肌红蛋白诱导会降低 MMP,而 PHC 处理后 MMP 上升。此外,与 PHC 组比较,Fer - 1 加入后升高了细胞内 MMP 水平,而 Erastin 加入则降低了细胞内 MMP 水平。且各组间比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

5. PHC 对 GPX4、SLC7A11 的蛋白和 mRNA 表达的影响:通过 Western blot 法和 RT - qPCR 检测 GPX4、SLC7A11 的蛋白(图 5 中 A ~ C)和 mRNA(图 5 中 D、E)表达水平,结果如图 5 所示。不管是 8h 还是 24h,与 FeG 组比较,PHC 组 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平升高 ($P < 0.05$),而 Fer 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

同时发现,与对照组比较,Fer 组 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平增加,此外,与 PHC 组比较,Erastin 加入后进一步上调了 GPX4 和 SLC7A11 的表达水平 ($P < 0.05$)。

讨 论

胡乃元等^[13]研究表明,PHC 预处理可减轻大鼠体内由失血休克引起的急性肺损伤。赵维等^[14]报道,PHC 可能通过抑制氧化应激减轻大鼠肾脏损伤。本研究主要探讨 PHC 能否抑制亚铁肌红蛋白诱导的 HK2 细胞发生铁死亡。通过 CCK8 法检测细胞活性,结果表明 PHC 可以增加细胞活性。这与赵维等的研究相一致。为了证明 PHC 抑制的是铁死亡,而不是其他的细胞死亡方式,笔者还对铁死亡的相关指标进行了检测。本研究发现,PHC 可以抑制铁积

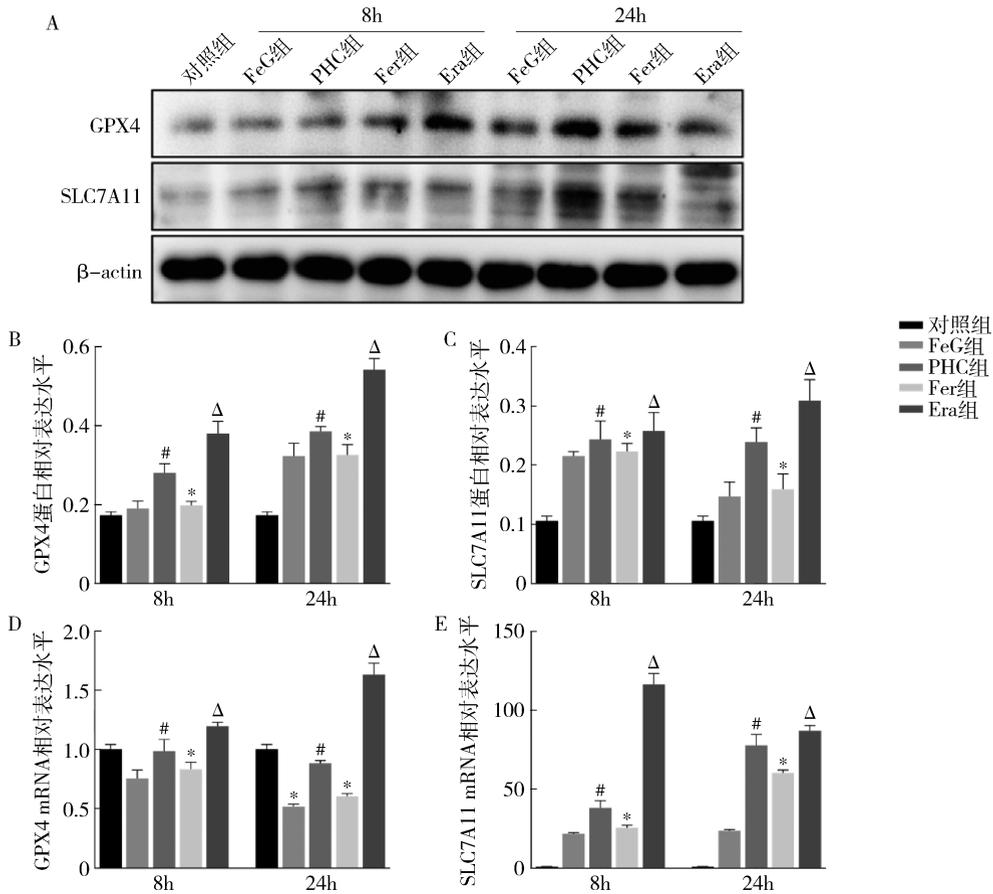


图 5 各干预组不同时间 HK2 细胞 GPX4、SLC7A11 的表达水平的比较

A. Image Lab 蛋白印迹曝光图; B、C. 各组 GPX4、SLC7A11 的蛋白表达统计; D、E. 各组 GPX4、SLC7A11 的 mRNA 表达统计。

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 FeG 组比较, # $P < 0.05$; 与 PHC 组比较, $\Delta P < 0.05$

累,减少氧化应激(包括 ROS 和 MDA),同时升高线粒体膜电位。线粒体去极化,膜电位降低会导致线粒体功能障碍。研究表明,线粒体功能障碍也是细胞氧化损伤的结果,这与抑制铁死亡的作用相一致^[15]。这些发现表明 PHC 直接抑制了 HK2 细胞发生铁死亡。

值得注意的是,氧化应激也会导致坏死和细胞凋亡^[16]。在目前的研究中,铁死亡仍缺乏特异性的检测方法。因此为了证明 PHC 主要抑制 HK2 细胞发生铁死亡,笔者使用了 Fer-1 和 Erastin。他们是特异性的铁死亡诱导剂和铁死亡抑制剂,可以抑制或诱导铁死亡,但不能抑制或诱导凋亡、坏死^[17]。Wan 等^[18]使用 Fer-1 和 Erastin 来证明黄芩素可以抑制铁死亡。本研究结果发现, Fer-1 可以增强 PHC 对 HK2 细胞的保护作用,而 Erastin 可以减轻 PHC 对 HK2 细胞铁死亡的保护作用。提示 PHC 与铁死亡抑制剂 Fer-1 的作用一致,与铁死亡诱导剂 Erastin 的作用相反。从正反两方面进一步证明了 PHC 对 HK2

细胞铁死亡的抑制作用。

GPX4 是铁死亡的主要调节器,而 GSH 是 GPX4 的重要辅助因子。SLC7A11 是 SySystem X^{c-} 中关键的亚基,在 GSH 的生物合成中起着重要作用。通过促进 GSH 的合成,SLC7A11 可以恢复下游 GPX4 信号的表达,减少 ROS 的产生,从而抑制铁死亡^[19]。因此,铁死亡的调节主要依赖于 SLC7A11 和 GPX4 的表达。本研究发现 PHC 减轻了亚铁肌红蛋白处理后 SLC7A11、GPX4 的蛋白和 mRNA 水平的下降。已有研究表明, Fer-1 通过促进 SLC7A11 摄取 GSH,从而增强 GPX4 活性,抑制铁死亡^[20]。Wei 等^[21]研究发现,SLC7A11/GPX4 通路参与 Fer-1 的抗铁死亡作用。本研究表明,在与 Fer-1 联合处理的细胞中, Fer-1 和亚铁肌红蛋白同时加入直接抑制了铁死亡,再加入 PHC 后蛋白和 mRNA 表达无明显变化,说明了 PHC 与 Fer-1 的抗铁死亡作用通路一致。而 Erastin 增强细胞铁死亡后,与 PHC 单独处理比较,蛋白和 mRNA 表达水平增强。从反面进一步说明了

PHC 与 Fer - 1 的抗铁死亡作用通路一致。

综上所述,本研究发现 PHC 可以减少细胞内的铁蓄积和脂质过氧化,从而调节 HK2 细胞的增殖,抑制 HK2 细胞发生铁死亡。他的保护机制与 Fer - 1 一致,可能是通过 SLC7A11/GPX4 途径发挥抗铁死亡作用。尽管本研究尚未完全阐明 PHC 保护 HK2 细胞免受亚铁肌红蛋白损伤的确切分子机制,但为 RM 致 AKI 的防治提供一定的理论依据。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- 1 Stahl K, Rastelli E, Schoser B. A systematic review on the definition of rhabdomyolysis[J]. *J Neurol*, 2020, 267(4): 877 - 882
- 2 Zhu D C, Li W Y, Zhang J W, *et al.* Rhabdomyolysis - associated acute kidney injury: clinical characteristics and intensive care unit transfer analysis[J]. *Intern Med J*, 2022, 52(7): 1251 - 1257
- 3 Cabral B, Edding SN, Portocarrero JP, *et al.* Rhabdomyolysis[J]. *Dis Mon*, 2020, 66(8): 1010 - 1015
- 4 王倩, 明婷倩, 吴晓静. 铁死亡的发生机制及其在急性肺损伤的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2022, 51(6): 173 - 176
- 5 Adedoyin O, Boddu R, Traylor A, *et al.* Heme oxygenase - 1 mitigates ferroptosis in renal proximal tubule cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(5): F702 - F714
- 6 Song SJ, Kim SM, Lee SH, *et al.* Rhabdomyolysis - induced AKI was ameliorated in NLRP3 KO mice via alleviation of mitochondrial lipid peroxidation in renal tubular cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22): 8564
- 7 陈莉, 谭红保, 龙立红, 等. 盐酸戊乙奎醚对横纹肌溶解所致急性肾损伤炎症因子影响[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2020, 21(2): 133 - 135
- 8 Kang Y, Li Y, Wen H, *et al.* Prevention of renal ischemia and reperfusion injury by penhexylidene hydrochloride through autophagy activation[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(5): 2182 - 2192
- 9 Tan HB, Zhao Q, Chen L. Penhexylidene hydrochloride suppresses inflammation response and reduces podocyte injury in diabetic nephropathy by targeting fibrinogen - like protein 2[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 107: 108680
- 10 Wang Y, Lin D, Tan H, *et al.* Penhexylidene hydrochloride preconditioning provides pulmonary and systemic protection in a rat model of

lung ischaemia reperfusion injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 839: 1 - 11

- 11 Ursini F, Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: the role of GSH and GPx4[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 152: 175 - 185
- 12 Sun T, Liu Q, Wang Y, *et al.* MBD2 mediates renal cell apoptosis via activation of Tox4 during rhabdomyolysis - induced acute kidney injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(10): 4562 - 4571
- 13 胡乃元, 欧阳华, 徐巧精, 等. 盐酸戊乙奎醚预处理对失血性休克致急性肺损伤大鼠肺组织保护作用及对炎症因子的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(1): 124 - 128
- 14 Zhao W, Huang X, Zhang L, *et al.* Penhexylidene hydrochloride pretreatment ameliorates rhabdomyolysis - induced AKI by activating the Nrf2/HO - 1 pathway and alleviating endoplasmic reticulum stress in rats[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): 151 - 158
- 15 Rizwan H, Pal S, Sabnam S, *et al.* High glucose augments ROS generation regulates mitochondrial dysfunction and apoptosis via stress signaling cascades in keratinocytes[J]. *Life Sci*, 2020, 241: 117 - 148
- 16 Wang Z, Sun R, Wang G, *et al.* SIRT3 - mediated deacetylation of PRDX3 alleviates mitochondrial oxidative damage and apoptosis induced by intestinal ischemia/reperfusion injury[J]. *Redox Biol*, 2020, 28: 101 - 343
- 17 Liu M, Fan Y, Li D, *et al.* Ferroptosis inducer erastin sensitizes NSCLC cells to celastrol through activation of the ROS - mitochondrial fission - mitophagy axis[J]. *Mol Oncol*, 2021, 15(8): 2084 - 2105
- 18 Wan Y, Shen K, Yu H, *et al.* Baicalein limits osteoarthritis development by inhibiting chondrocyte ferroptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 196: 108 - 120
- 19 Yang J, Zhou Y, Xie S, *et al.* Metformin induces Ferroptosis by inhibiting UFMylation of SLC7A11 in breast cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 206
- 20 Li Y, Cao Y, Xiao J, *et al.* Inhibitor of apoptosis - stimulating protein of p53 inhibits ferroptosis and alleviates intestinal ischemia/reperfusion - induced acute lung injury[J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(9): 2635 - 2650
- 21 Wei X, Zhang B, Wei F, *et al.* Gegen Qinlian pills alleviate carrageenan - induced thrombosis in mice model by regulating the HMGB1/NF - kappaB/NLRP3 signaling[J]. *Phytomedicine*, 2022, 100: 154083

(收稿日期: 2023 - 03 - 21)

(修回日期: 2023 - 04 - 10)

(接第 100 页)

- 12 Coquaz - Garoudet M, Ploin D, Pouyau R, *et al.* Malignant pertussis in infants: factors associated with mortality in a multicenter cohort study[J]. *Ann Intensive Care*, 2021, 11(1): 70
- 13 吴小英, 甘川. 婴幼儿重症百日咳死亡相关因素分析[J]. *临床儿科杂志*, 2020, 38(6): 432 - 437
- 14 Kiedrzyński T, Bissielo A, Suryaprakash M, *et al.* Whooping cough—where are we now? A review[J]. *N Z Med J*, 2015, 128(1416): 21 - 27
- 15 胡云鹤, 刘泉波. 儿童百日咳 247 例临床特点及重症百日咳危险因素分析[J]. *中华儿科杂志*, 2015, 53(9): 684 - 689
- 16 Bechini A, Tiscione E, Boccalini S, *et al.* Acellular pertussis vaccine

use in risk groups (adolescents, pregnant women, newborns and health care workers): a review of evidences and recommendations[J]. *Vaccine*, 2012, 30(35): 5179 - 5190

- 17 Fry NK, Campbell H, Amirthalingam G. JMM Profile: bordetella pertussis and whooping cough (pertussis): still a significant cause of infant morbidity and mortality, but vaccine - preventable[J]. *J Med Microbiol*, 2021, 70(10): 001442
- 18 Damron FH, Barbier M, Dubey P, *et al.* Overcoming waning immunity in pertussis vaccines: workshop of the national institute of allergy and infectious diseases[J]. *J Immunol*, 2020, 205(4): 877 - 882

(收稿日期: 2023 - 10 - 17)

(修回日期: 2023 - 11 - 07)