

Nrf2在脊髓损伤后铁死亡的研究进展

曹静钰¹, 刘承梅^{2*}, 祁晨旭¹, 杜开颜¹, 陈蒙¹, 侯思伟²

1.河南中医药大学, 郑州 450046;

2.河南中医药大学第一附属医院, 郑州 450099

摘要: 铁死亡是脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后神经元细胞损伤的重要病理机制之一,近几年受到国内外广泛关注,但并未取得突破性进展。目前,有研究发现氧化应激在SCI病理生理过程中发挥着重要作用。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)因具有抗氧化应激作用并参与SCI后神经修复而成为研究热点,但其调控铁死亡发生发展的机制尚不明确。简要介绍了Nrf2的基础结构及其下游靶基因,总结了铁死亡的相关机制并探索了Nrf2在SCI治疗中的潜在作用,以期为进一步研究其与铁死亡在SCI发生发展中的关系和探索SCI治疗的新策略提供思路。

关键词: 脊髓损伤;铁死亡;核因子E2相关因子2;氧化应激

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2022.0178

中图分类号:R651.2

文献标志码:A

Research Progress of Nrf2 in Ferroptosis After Spinal Cord Injury

CAO Jingyu¹, LIU Chengmei^{2*}, QI Chenxu¹, DU Kaiyan¹, CHEN Meng¹, HOU Siwei²

1.Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

2.The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450099, China

Abstract: Ferroptosis is one of the important pathological mechanisms of neuronal cell injury after spinal cord injury (SCI). It has received widespread attention at home and abroad in recent years, but no effective breakthrough has been achieved. In recent years, it has been found that oxidative stress plays an important role in the pathophysiological process. Nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) has become a hot topic of research because of its anti-oxidative stress effect and involvement in neural repair after SCI, but its mechanism of regulating the development of ferroptosis is still unclear. In this paper, we briefly described the basic structure of Nrf2 and its downstream target genes, introduced the mechanism of ferroptosis and explored the potential role of Nrf2 in SCI treatment, and provided ideas for further study of its relationship with iron death in the development of SCI and explore new strategies for SCI treatment.

Key words: spinal cord injury; ferroptosis; nuclear factor E2-related factor 2; oxidative stress

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)属于中枢神经系统(central nervous system, CNS)的一种创伤性疾病,损伤发生后可导致神经组织的感觉或运动功能不可逆受损。据统计,我国每年SCI的发病率在37/100万左右,且呈日益增长的趋势^[1]。目前,临床上根据患者的损伤节段和严重程度为其提供神经保护治疗和神经再生治疗^[2],但临床疗效有限且相关并发症的发生率很高。因此,SCI临床治疗的重

点在于帮助患者恢复神经功能,提高生存质量。

铁死亡(ferroptosis)是由铁过载引发的一种可调节的细胞死亡方式,参与SCI后神经元细胞的氧化损伤,破坏氧化还原稳态^[3]。因此,如何激活抗氧化系统成为改善SCI预后的潜在策略。SCI发生后微血管破裂导致大量的血细胞和血红蛋白被破坏和降解,出现出血、溶血和损伤区域铁离子水平急剧增加^[4-5]。而后者损害神经元,导致

收稿日期:2022-11-03; 接受日期:2023-01-06

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(22A360011)。

联系方式:曹静钰 E-mail: caojingyu97@163.com; *通信作者 刘承梅 E-mail: lcm0428@163.com

细胞内铁代谢紊乱、过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和氧化应激(oxidative stress, OS)产物出现并破坏细胞功能,进而引起饱和脂肪酸增加。最后,由于铁和脂质过饱和,脂质过氧化物的产量突然增加,导致铁死亡的发生^[6]。

核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是细胞内源性抗氧化防御系统中的关键调节因子,控制着抗氧化和亲电应激基因的表达,同时也是维持细胞代谢、氧化还原和蛋白稳态平衡的关键转录因子,可诱导大量细胞保护和解毒基因的表达^[7]。因此,Nrf2可能通过抗氧化作用来调控铁死亡以改善SCI后的神经功能障碍。本文从氧化应激的角度,探讨上述病理因素信号转导的发生机制,以期对SCI的治疗提供新思路。

1 Nrf2 信号通路概述

1.1 Nrf2 信号通路的结构基础

Nrf2是真核生物中一个重要的抗氧化转录因子,由核因子 NFE2L2(erythroid-derived 2-like 2)

基因编码,属于碱性亮氨酸拉链(cap-n-collar/basic leucine zipper, CNC-bZip)转录因子家族,能够识别抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)^[5]。如图1所示,其特征在于Cap"n"collar结构,其中包含7个作用各不相同的保守结构域(Neh1~Neh7)(Nrf2-ECH homology, Neh):Neh1包含1个亮氨酸拉链结构 b-Zip,与细胞核中小 Maf 蛋白相结合,并识别抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)序列,启动抗氧化因子和解毒基因的转录,这对维持 Nrf2 的稳定至关重要;Neh2有2个结合位点(ETGE 基序和 DLG 基序),主要负责结合 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(Keap1)—Nrf2 的负调节因子,含有许多半胱氨酸残基,在 Nrf2 泛素化和蛋白酶体介导的降解中发挥重要作用;Neh3位于 Nrf2 的 C 端,主要负责维持 Nrf2 蛋白稳定性和转录活性;Neh4 和 Neh5 位于 Neh1 与 Neh2 之间,是2个独立的反式激活结构域,主要参与 Nrf2 下游靶基因 ARE 的转录;Neh6 是一个富含丝氨酸的结构域,调控 Keap1 依赖的负性调节;Neh7 与维甲酸 X 受体 α 结合后抑制 Nrf2 基因的转录^[8]。

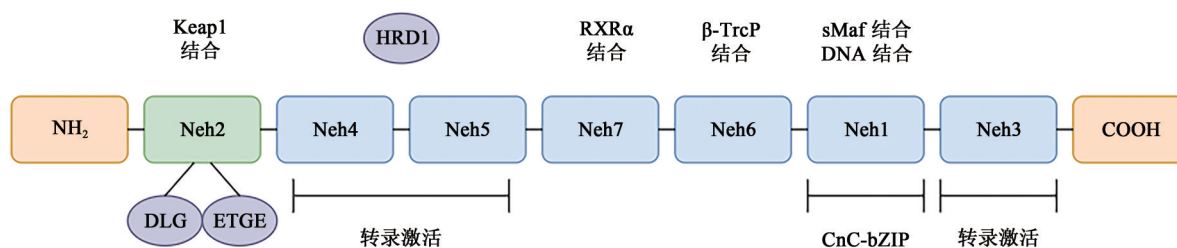


图1 Nrf2 结构域及其功能

Fig. 1 Structural domains of Nrf2 and their functions

1.2 Nrf2 信号通路调控的下游靶蛋白

Nrf2调节数百个基因,其中许多基因直接或间接参与调控铁死亡,包括谷胱甘肽(glutathione, GSH)调节基因、铁代谢相关基因、调控脂质代谢基因以及线粒体功能基因^[9-11],这是 Nrf2 能够调控铁死亡的关键因素。

2种铁死亡诱导剂 RSL3 和 erastin 分别通过抑制谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPx4)和胱氨酸/谷氨酸反转运体(system Xc⁻)启动铁死亡,这2种物质都是 Nrf2 的下游靶点^[12]。GPx4 作为 Nrf2 的真正靶基因^[13-14],是一种磷脂氢过氧化物酶,负责维持细胞的代谢、氧化还原和蛋

白质平衡,可以将 GSH 通过脂质过氧化物还原为活性较低的醇形式^[15]。胱氨酸通过 System Xc⁻ 导入细胞,然后被氧化成半胱氨酸并用于 GSH 合成,从而应对脂质过氧化,这是预防细胞铁死亡的重要抗氧化途径。Nrf2 可以调节线粒体抗氧化,与线粒体物理结合能够监测线粒体功能变化。Nrf2 通过与过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1(peroxisome proliferator-activated receptor-coactivator-1, PGC-1)相互作用,调节线粒体动力学(包括生物发生^[16-18]),通过 P62、PINK1/Parkin 机制调节线粒体自噬。敲除小鼠 Nrf2 基因,线粒体功能受损;反之, Nrf2 基因的激活可以增强线粒

体功能和对压力源的抵抗力^[19]。此外,Keap1作为Nrf2的负调节因子,在正常条件下通过泛素化抑制Nrf2表达,维持Nrf2稳定性。但在氧化应激条件下,Keap1与Nrf2解离并促使其转移到细胞核中识别ARE,启动抗氧化表达。Nrf2下游转录因子血红素加氧酶-1(HO-1)是一种抗氧化酶,可通过抑制ROS的产生来防止细胞内的氧化应激,从而抑制铁死亡^[20]。

2 Nrf2与铁死亡

2.1 铁死亡

2.1.1 铁死亡的诱因及机制 铁是人体必需的营养物质之一,作为酶的辅助因子,用于氧运输、氧化磷酸化和代谢物氧化,同时参与多种关键的细胞内过程,包括DNA合成和细胞呼吸。体内研究表明,铁在继发性SCI早期发挥着非常重要的作用,可促进羟基自由基的产生,破坏生物分子^[21]。铁的运输、代谢和储存受到严格的调控,过度的不稳定Fe²⁺可以通过芬顿反应(Fenton)促进ROS的产生,导致脂质过氧化物增加。因此,无论是铁缺乏或者是铁过载均能通过复杂的机制参与SCI的发生与发展。当铁和氧之间的平衡被破坏,铁诱导的OS会引起细胞损伤,从而破坏生物活性并导致细胞死亡^[11]。因此,铁的生物利用是一个受到严格调控的过程。

铁死亡这一概念最初由Dixon等^[22]于2012年在《细胞》杂志上首次提出,这是一种可调控的铁依赖程序性细胞死亡方式,其特征表现为铁依赖性脂质氢过氧化物在短时间内积累至致死水平。细胞铁死亡的形态学、生化和遗传学特征不同于凋亡、坏死和自噬^[23],小分子erastin通过抑制System Xc⁻和耗尽GPx4(或直接使用GPx4抑制剂RSL3),最终导致线粒体衰竭,降低脂质过氧化能力不足和过度的脂质过氧化,诱导铁死亡。随着对细胞铁死亡机制的深入了解,可归纳为以下3种关键特征:①铁积累;②脂质过氧化增加;③不能有效地减少脂质过氧化物。具体来说,防止应激反应造成的系统过度损害导致了铁死亡驱动因素的启动。

2.1.2 铁死亡的调节 铁死亡的易感性受许多生物过程调控,包括氨基酸、铁和多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids,PUFAs)代谢以及GSH、

磷脂、NADPH和辅酶Q10的生物合成^[24]。因此,在体内外研究中,通常通过改变实验样品中硒、铁、维生素E、半胱氨酸、GSH和PUFAs等与铁死亡相关的关键调节剂的水平,调节氧化损伤、铁诱导ROS形成以及脂质过氧化物的积累过程,影响铁死亡的发生与发展^[25]。有研究表明,游离铁及其相关的ROS是过氧化物积累和铁死亡发生的重要启动因子和介质^[26]。

目前,使用的铁死亡诱导剂主要有4类^[27]:①System Xc⁻抑制剂(如erastin及其类似物,柳氮磺胺嘧啶、谷氨酸和索拉非尼),erastin通过抑制胱氨酸摄取从而消耗细胞GSH而触发铁死亡;②GPx4抑制剂,如RSL3、ML162,GPx4在微环境中维持脂质代谢平衡,抑制GPx4会导致脂质过氧化,从而诱导铁死亡发生;③消耗GPx4蛋白的FIN56和亲脂性抗氧化剂辅酶Q10^[28];④FINO2可间接抑制GPx4活性^[29]。

常见的铁死亡的药理和遗传抑制剂^[30-32]包括铁螯合剂、亲脂抗氧化剂、脂质过氧化抑制剂和促进PUFAs耗尽的铁死亡抑制剂,并与脂质过氧化,标记物的积累有关。已有研究报道了抑制PUFAs融入磷脂膜的脂质代谢抑制剂,如敲除ACSL4或LPCAT3、噻唑烷二酮,抑制ACSL4可减少对促进脂质过氧化过程至关重要的底物^[31]。此外,脂氧合酶(lipoxygenases, LOX)抑制剂也属于脂质过氧化抑制剂^[33]。铁代谢抑制剂和铁螯合剂(如脱氧铁胺和环吡酮)通过减少游离铁来抑制铁死亡^[34],表明抑制谷氨酰胺水解可抑制铁死亡。铁他汀类药物(ferrostatins)和利普罗司他汀(liproxostatins)抑制脂质过氧化,可能是通过自由基捕获抗氧化剂实现的。内源性的铁死亡抑制剂有GSH、NADPH、GPx4和维生素E^[35]。

2.2 Nrf2在铁死亡中的关键作用

2.2.1 抗氧化应激 氧化应激(OS)是一种铁死亡级联反应的驱动因素,当暴露于异种刺激时,ROS和内源性抗氧化防御系统之间的平衡被打破,会导致细胞氧化损伤及脂质、蛋白质和核酸的翻译后错误修饰。Nrf2是一种抗氧化敏感转录因子,可诱导抗氧化和解毒酶保护细胞免受OS。许多负责防止脂质过氧化的蛋白质和酶都是Nrf2的靶基因,其根据功能可分为铁/金属代谢、中间代谢和GSH合成/代谢3大类^[12]。

GSH是细胞内抗氧化防御最重要的组成部

分之一,由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸分2步通过谷氨酰-半胱氨酸连接酶(glutamate-cysteine ligase, GCL)和谷胱甘肽合成酶(glutathione synthetase, GSS)合成。GPx4催化GSH依赖性的膜脂过氧化物还原为低反应性的醇型,这是防止铁死亡的重要步骤^[36]。GPx4在减轻脂质过氧化方面的重要作用使其成为关键的铁死亡抑制剂介质,而许多铁死亡诱导剂,包括RSL3,可通过抑制GPx4来激活铁死亡级联反应^[37]。Nrf2是脂质过氧化和铁死亡的有效抑制剂,同时也是其他重要抗氧化防御系统成分的重要调控因子。Nrf2靶基因不仅调控铁代谢的关键过程,还调控外来生物和反应醛的分解代谢,以及GSH合成和NADPH再生,使其成为抗铁降解反应的多方面调控器。研究表明,在细胞水平上,Nrf2的激活可增强神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞对氧化损伤的敏感性,有助于改善整个神经血管单元^[38]。因此,调控Nrf2通路、激活下游抗氧化酶和相关细胞保护蛋白对于缓解SCI后OS损伤至关重要。

2.2.2 抗神经炎症 炎症造成的神经元死亡和神经组织损伤一直是SCI中关键的病理过程^[39]。SCI后ROS的形成、细胞坏死、组织受损等均有助于激活炎症细胞,导致神经炎症。

先前有研究表明,过量铁诱导的铁死亡也可以通过一种不依赖ROS的机制促进小胶质细胞的激活,后者导致促炎细胞因子的分泌,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β),进而引发神经炎症^[40]。连翘苷B(forsythoside B, FTS·B)显著降低了iNOS、COX-2和炎症标志性介质水平,通过激活SCI后Nrf2抑制NF- κ B和p38-MAPK信号通路,有效地减轻了神经炎症和继发性神经元凋亡^[41]。Nrf2敲除小鼠的炎症损伤有所增加,神经功能障碍,可通过上调星形胶质细胞增殖的负调节因子miRNA145-5p在SCI早期诱导ARE而发挥神经保护作用^[42]。此外,星形胶质细胞是中枢神经系统中氧化稳态的关键调节因子,其发生的抗氧化反应促进神经元产生的氧化剂被及时清除。Zhao等^[43]研究发现Keap1缺失的小鼠系诱导星形胶质细胞中Nrf过度活化,与野生型小鼠相比,其髓鞘和少突胶质细胞的损失明显减少,神经炎症反应更少,运动功能明显改善。

2.2.3 防止线粒体功能障碍 线粒体是人体的

“能量工厂”,主要通过氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)产生ATP。OXPHOS过程对于神经细胞进行神经传递和维持跨膜细胞的离子梯度至关重要^[44]。因此,当线粒体功能受损时,ATP合成被破坏,ROS在神经元中的积累导致细胞死亡。Nrf2的激活可维持氧糖剥夺(oxygen and glucose deprivation, OGD)后线粒体超微结构的完整性,调节线粒体的膜电位活性、抗氧化防御和生物生成^[45-46],逆转了由OGD引起的神经元能量损失^[47]。同时,线粒体也是细胞内源性ROS的主要来源。线粒体的代谢紊乱及形态变化与炎症反应同时发生,这一过程产生的大量ROS主要由线粒体电子传递链中复合物I和III调控^[48]。

Nrf2直接或间接参与了铁死亡和线粒体的调控,是调节氧化与抗氧化平衡的重要介导体。线粒体收缩、线粒体嵴塌陷、膜电位变化和线粒体外膜破裂是细胞铁死亡最重要的形态特征^[49-50]。锌处理SCI模型小鼠后,使线粒体形态规则,空泡化较少。在机制上,锌通过上调NRF2/HO-1表达,从而增加GPx4、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和GSH的含量,降低脂质过氧化物、MDA和ROS的水平,挽救受损的线粒体,有效改善SCI,并降低炎症因子水平,而Nrf2抑制剂Brusatol具有逆转锌的作用^[51]。Nrf2上调其下游抗氧化蛋白的表达可逆转线粒体内膜的氧化损伤。最近一项研究将PINK1/Parkin介导的自噬与线粒体动力学和运动联系起来,Nrf2可以通过Nrf2/PINK1信号轴显著触发有丝分裂,进一步促进PC12细胞中PINK1和Parkin的表达,有助于线粒体功能的恢复^[21]。

3 Nrf2与SCI后铁死亡

3.1 SCI后铁死亡

SCI是一种致残率极高的神经系统疾病,常由外伤引起,其中以骶脊髓损伤最为常见。脊髓损伤后继发的创伤性出血可引起神经元铁死亡,这是介导神经功能障碍的重要死亡模式。脊髓损伤后因过多的游离铁无法被代谢而积聚在细胞内,通过与H₂O₂发生芬顿反应产生羟基自由基和高活性的ROS,这些物质利用自身的亲电性从其他分子中获得电子导致脂质过氧化,增加谷氨酸的兴奋性毒性,最终引发铁死亡^[52]。研究证实,铁

死亡是SCI后继发性损伤的重要原因^[53],脑脊髓损伤可调节铁代谢相关蛋白,释放的NO诱导小胶质细胞活化,触发神经元铁死亡,从而导致运动功能恢复障碍。Xia等^[3]研究发现,敲低GDF15阻碍了SCI后神经元铁死亡严重化,抑制了轴突再生和脱髓鞘,加重了神经组织损失。预防SCI后运动皮质神经元的铁死亡可能是促进运动功能恢复的一种潜在策略,因此神经元铁死亡的确切机制仍需进一步研究。

3.2 Nrf2的激活与SCI后铁死亡

如前所述,SCI后游离铁的增加导致了ROS产生过多,受损区域的ROS代谢失衡从而导致氧化应激并引发神经元细胞铁死亡。已有研究表明,氧化应激在SCI的病理生理学中具有重要作用,是大鼠SCI模型中潜在的继发性损伤标志^[54]。铁死亡发生时,机体内氧化与抗氧化失衡,Nrf2在促进GSH和SOD等抗氧化剂产生的同时启动其下游抗氧化物和解毒基因的表达。因此,它可以作为涉及氧化应激和炎症的神经系统疾病(包括SCI)的治疗靶点^[55]。有研究证实,通过激活Nrf2/ARE信号通路或上调GPX4表达可抑制SCI后铁死亡,发挥其神经保护作用^[56]。同样地,也可以通过激活Nrf2/HO-1信号通路,降低丙二醛生成,提高GSH和SOD活性来保护神经细胞^[57]。此外,Nrf2在铁代谢中也发挥了重要作用。在转录阶段Nrf2可促进转铁蛋白(transferrin,Tf)和转铁蛋白受体1(transferrin receptor 1,TfR1)的结合,从而增强铁的摄入,减少细胞外游离铁的含量^[58]。在储存阶段,Nrf2可通过上调机体重要的储铁蛋白——铁蛋白来控制神经细胞外游离铁的含量^[1],铁蛋白可分为重链(H-ferritin,FTH1)和轻链(L-ferritin,FTL)^[11]。Nrf2还可调控负责铁流出细胞中铁蛋白(如SLC40A1)的转录来抑制铁死亡^[59]。综合以上证据,以Nrf2为靶点探索其抗氧化应激作用对铁死亡的抑制在SCI临床治疗中的效果将是未来潜在的研究热点。

4 展望

铁死亡的信号通路和调控机制是近几年国内外学者广泛关注的研究热点,其中围绕氧化应激及其相关的靶点和通路的研究热度不断增加,关于Nrf2及其抗氧化作用的临床应用一直是研究

的重点。在本综述中,总结了Nrf2的基础结构及其下游靶蛋白,讨论了Nrf2在铁死亡抗氧化系统中的作用,系统阐述了Nrf2与SCI、铁死亡、氧化应激三者之间的关系。SCI是目前亟待解决的一个公共卫生问题,已知铁死亡在SCI后神经元细胞的继发性损伤中发挥重要作用,其调控机制与氧化应激和抗氧化防御密切相关。Nrf2作为抗氧化防御系统的中枢调节因子,通过其抗氧化应激、抗神经炎症、抗线粒体功能障碍作用介导神经元细胞对SCI后氧化损伤的适应性反应。因此,以Nrf2抑制氧化应激可能是治疗SCI的有效干预途径,但仍有许多问题亟待解决。首先,关于SCI中铁死亡的药理学抑制研究水平有限,有必要寻找其他潜在药物来抑制SCI后铁死亡;其次,细胞中有许多不同种类的脂质,包括脂肪酸、磷脂、胆固醇、心磷脂和鞘脂等,目前尚不清楚哪种脂质在铁死亡过程中被氧化以及每种脂质在铁死亡过程中的功能;最后,神经源性膀胱(neurogenic bladder,NB)是SCI后最常见的继发性损伤,现已有研究者提出氧化应激在NB病理生理学中具有调控作用^[60]。Nrf2的抗氧化作用在SCI后NB中还未得到验证,因此,这将是后续研究的重点。

参考文献

- [1] 陈星月,陈栋,陈春慧,等.中国创伤性脊髓损伤流行病学和疾病经济负担的系统评价[J].中国循证医学杂志,2018,18(2): 143-150.
- [2] KARSY M, HAWRYLUK G. Modern medical management of spinal cord injury[J/OL]. Curr. Neurol. Neurosci. Rep., 2019, 19(9): 65[2022-12-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31363857>.
- [3] XIA M, ZHANG Q, ZHANG Y, et al. Growth differentiation factor 15 regulates oxidative stress-dependent ferroptosis post spinal cord injury by stabilizing the p62-Keap1-Nrf2 signaling pathway[J/OL]. Front. Aging Neurosci., 2022, 14: 905115 [2022-12-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35860670>.
- [4] YU Q, JIANG X, LIU X, et al. Glutathione-modified macrophage-derived cell membranes encapsulated metformin nanogels for the treatment of spinal cord injury[J/OL]. Biomater. Adv., 2022, 133: 112668[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35074238>.
- [5] SYKIOTIS G P, BOHMANN D. Stress-activated cap'n'collar transcription factors in aging and human disease[J/OL]. Sci. Signal., 2010, 3(112): re3[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20215646>.
- [6] ZHANG Y, KHAN S, LIU Y, et al. Modes of brain cell death following intracerebral hemorrhage[J/OL]. Front. Cell Neurosci., 2022, 16: 799753[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35185473>.

- [7] TONELLI C, CHIO I I C, TUVESON D A. Transcriptional regulation by Nrf2[J]. *Antioxid. Redox Signal.*, 2018, 29(17): 1727-1745.
- [8] 李玲瑶,张智媛,范征.以Nrf2为靶点治疗神经退行性疾病的研究进展[J].*脑与神经疾病杂志*,2020,28(1):48-53.
- [9] SASAKI H, SATO H, KURIYAMA-MATSUMURA K, *et al.* Electrophile response element-mediated induction of the cystine/glutamate exchange transporter gene expression[J]. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277(47): 44765-44771.
- [10] WU K C, CUI J Y, KLAASSEN C D. Beneficial role of Nrf2 in regulating NADPH generation and consumption[J]. *Toxicol. Sci.*, 2011, 123(2): 590-600.
- [11] KERINS M J, OOI A. The roles of NRF2 in modulating cellular iron homeostasis[J]. *Antioxid. Redox Signal.*, 2018, 29(17): 1756-1773.
- [12] DODSON M, CASTRO-PORTUGUEZ R, ZHANG D D. NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis[J/OL]. *Redox Biol.*, 23: 101107[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30692038>.
- [13] ISHII T, ITOH K, TAKAHASHI S, *et al.* Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages[J]. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275(21): 16023-16029.
- [14] OSBURN W O, WAKABAYASHI N, MISRA V, *et al.* Nrf2 regulates an adaptive response protecting against oxidative damage following diquat-mediated formation of superoxide anion[J]. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2006, 454(1): 7-15.
- [15] 金童,陈斌.铁死亡与肾脏疾病相关性的研究进展[J].*生物技术进展*,2022,12(1):68-74.
- [16] PIANTADOSI C A, CARRAWAY M S, BABIKER A, *et al.* Heme oxygenase-1 regulates cardiac mitochondrial biogenesis via Nrf2-mediated transcriptional control of nuclear respiratory factor-1[J]. *Circ. Res.*, 2008, 103(11): 1232-1240.
- [17] MERRY T L, RISTOW M. Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (NFE2L2, Nrf2) mediates exercise-induced mitochondrial biogenesis and the anti-oxidant response in mice[J]. *J. Physiol.*, 2016, 594(18): 5195-5207.
- [18] DINKOVA-KOSTOVA A T, ABRAMOV A Y. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function[J]. *Free Radic. Biol. Med.*, 2015, 88(PtB): 179-188.
- [19] EAST D A, FAGIANI F, CROSBY J, *et al.* PMI: a $\Delta\Psi_m$ independent pharmacological regulator of mitophagy[J]. *Chem. Biol.*, 2014, 21(11): 1585-1596.
- [20] SUN Y, HE L, WANG T, *et al.* Activation of p62-Keap1-Nrf2 pathway protects 6-hydroxydopamine-induced ferroptosis in dopaminergic cells[J]. *Mol. Neurobiol.*, 2020, 57(11): 4628-4641.
- [21] MAO Y, DU J, CHEN X, *et al.* Maltol promotes mitophagy and inhibits oxidative stress via the Nrf2/PINK1/Parkin pathway after spinal cord injury[J/OL]. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2022, 2022: 1337630[2022-09-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35154562>.
- [22] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, *et al.* Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*. 2012, 149(5): 1060-1072.
- [23] WEI N, LU T, YANG L, *et al.* Lipoxin A4 protects primary spinal cord neurons from Erastin-induced ferroptosis by activating the Akt/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *FEBS Open Bio.*, 2021, 11(8): 2118-2126.
- [24] 杜开颜,祁晨旭,曹静钰,等.铁死亡参与脊髓损伤调控的研究进展[J].*生物技术进展*,2022,12(6):869-874.
- [25] STOCKWELL B R, FRIEDMANN A J P, BAYIR H, *et al.* Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism[J]. *Redox Biol.*, 2017, 17(2): 273-285.
- [26] GAO M, MONIAN P, QUADRI N, *et al.* Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis[J]. *Mol. Cell*, 2015, 59(2): 298-308.
- [27] YANG W S, KIM K J, GASCHLER M M, *et al.* Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis[J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2016, 113(34): 4966-4975.
- [28] SHIMADA K, SKOUTA R, KAPLAN A, *et al.* Global survey of cell death mechanisms reveals metabolic regulation of ferroptosis[J]. *Nat. Chem. Biol.*, 2016, 12(7): 497-503.
- [29] ABRAMS R P, CARROLL W L, WOERPEL K A. Five-membered ring peroxide selectively initiates ferroptosis in cancer cells[J]. *ACS Chem. Biol.*, 2016, 11(5): 1305-1312.
- [30] YAN H F, ZOU T, TUO Q Z, *et al.* Ferroptosis: mechanisms and links with diseases[J/OL]. *Signal Transduct. Target Ther.*, 2021, 6(1): 49[2022-09-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33536413>.
- [31] DOLL S, PRONETH B, TYURINA Y Y, *et al.* ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. *Nat. Chem. Biol.*, 2017, 13(1): 91-98.
- [32] CONRAD M, ANGELI J P, VANDENABEELE P, *et al.* Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities[J]. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2016, 15(5): 348-366.
- [33] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: death by lipid peroxidation[J]. *Trends Cell Biol.*, 2016, 26(3): 165-176.
- [34] YANG W S, STOCKWELL B R. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells[J]. *Chem. Biol.*, 2008, 15(3): 234-245.
- [35] ANGELI J P F, SHAH R, PRATT D A, *et al.* Ferroptosis inhibition: mechanisms and opportunities[J]. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2017, 38(5): 489-498.
- [36] ANANDHAN A, DODSON M, SCHMIDLIN C J, *et al.* Breakdown of an ironclad defense system: the critical role of NRF2 in mediating ferroptosis[J]. *Cell Chem. Biol.*, 2020, 27(4): 436-447.
- [37] SEIBT T M, PRONETH B, CONRAD M. Role of GPX4 in ferroptosis and its pharmacological implication[J]. *Free Radic. Biol. Med.*, 2019, 133: 144-152.
- [38] ZHAO X, ARONOWSKI J. Nrf2 to pre-condition the brain against injury caused by products of hemolysis after ICH[J]. *Transl. Stroke Res.*, 2013, 4(1): 71-75.
- [39] HAQUE A, DAS A, SAMANTARAY S, *et al.* Premarin reduces neurodegeneration and promotes improvement of function in an animal model of spinal cord injury[J/OL]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23(4): 2384[2022-09-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35216504>.

- [40] KO C J, GAO S L, LIN T K, *et al.* Ferroptosis as a major factor and therapeutic target for neuroinflammation in Parkinson's disease[J/OL]. *Biomedicines*, 2021, 9(11): 1679[2022-09-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34829907>.
- [41] XIA M, ZHANG Y, WU H, *et al.* Forsythoside B attenuates neuro-inflammation and neuronal apoptosis by inhibition of NF- κ B and p38-MAPK signaling pathways through activating Nrf2 post spinal cord injury[J/OL]. *Int. Immunopharmacol.*, 2022, 111: 109120[2022-09-16]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35944463>.
- [42] EBRAHIMI N, GASTERICH N, BEHRENS V, *et al.* Neuroprotective effect of the Nrf2/ARE/miRNA145-5p signaling pathway in the early phase of spinal cord injury[J/OL]. *Life Sci.*, 2022, 304: 120726[2022-9-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35750202>.
- [43] ZHAO W, GASTERICH N, CLARNER T, *et al.* Astrocytic Nrf2 expression protects spinal cord from oxidative stress following spinal cord injury in a male mouse model[J/OL]. *J. Neuroinflamm.*, 2022, 19(1): 134[2022-09-18]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35668451>.
- [44] NUNNARI J, SUOMALAINEN A. Mitochondria: in sickness and in health[J]. *Cell*, 2012, 148(6): 1145-1159.
- [45] HAYES J D, DINKOVA-KOSTOVA A T. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism[J]. *Trends Biochem. Sci.*, 2014, 39(4): 199-218.
- [46] KANG T C. Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and mitochondrial dynamics/mitophagy in neurological diseases[J/OL]. *Antioxidants(Basel)*, 2020, 9(7): 617[2022-09-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32679689>.
- [47] WANG J, ZHANG W, LV C, *et al.* A novel biscoumarin compound ameliorates cerebral ischemia reperfusion-induced mitochondrial oxidative injury via Nrf2/Keap1/ARE signaling[J/OL]. *Neuropharmacology*, 2020, 167: 107918[2022-09-22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31874170>.
- [48] TAKEDA H, YAMAGUCHI T, YANO H, *et al.* Microglial metabolic disturbances and neuroinflammation in cerebral infarction[J]. *J. Pharmacol. Sci.*, 2021, 145(1): 130-139.
- [49] VANDEN B T, LINKERMANN A, JOUAN-LANHOUE S, *et al.* Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways[J]. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2014, 15(2): 135-147.
- [50] HEINE K B, HOOD W R. Mitochondrial behaviour, morphology, and animal performance[J]. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 2020, 95(3): 730-737.
- [51] GE M H, TIAN H, MAO L, *et al.* Zinc attenuates ferroptosis and promotes functional recovery in contusion spinal cord injury by activating Nrf2/GPX4 defense pathway[J]. *CNS Neurosci. Ther.*, 2021, 27(9): 1023-1040.
- [52] CHEN Y, LIU S, LI J, *et al.* The latest view on the mechanism of ferroptosis and its research progress in spinal cord injury[J/OL]. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 2020, 2020: 6375938[2022-12-24]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32908634>.
- [53] FENG Z, MIN L, CHEN H, *et al.* Iron overload in the motor cortex induces neuronal ferroptosis following spinal cord injury[J/OL]. *Redox Biol.*, 2021, 43: 101984[2022-09-27]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33933882>.
- [54] JIA Z, ZHU H, LI J, *et al.* Oxidative stress in spinal cord injury and antioxidant-based intervention[J]. *Spinal Cord*, 2012, 50(4): 264-274.
- [55] MAO L, WANG H D, WANG X L, *et al.* Disruption of Nrf2 exacerbated the damage after spinal cord injury in mice[J]. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 2012, 72(1): 189-198.
- [56] YAN N, XU Z, QU C, *et al.* Dimethyl fumarate improves cognitive deficits in chronic cerebral hypoperfusion rats by alleviating inflammation, oxidative stress, and ferroptosis via NRF2/ARE/NF- κ B signal pathway[J/OL]. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, 98: 107844[2022-10-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34153667>.
- [57] 张振.Nrf2/HO-1 信号通路在人参皂苷 Rg1 作用于脊髓损伤中的机制研究[D]. 湖北十堰:湖北医药学院,2022.
- [58] FENG H, SCHORPP K, JIN J, *et al.* Transferrin receptor is a specific ferroptosis marker[J]. *Cell Rep.*, 2020, 30(10): 3411-3423.
- [59] HARADA N, KANAYAMA M, MARUYAMA A, *et al.* Nrf2 regulates ferroportin 1-mediated iron efflux and counteracts lipopolysaccharide-induced ferroportin 1 mRNA suppression in macrophages[J]. *Arch Biochem. Biophys.*, 2011, 508(1): 101-109.
- [60] 郭淑慧,杨晔,江杨洋,等. 神经源性膀胱 miRNA-mRNA 调控网络的筛选与验证[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(20): 3143-3150.