

虫草素通过Nrf2/HO-1通路抑制铁死亡延缓AKI向CKD转化的作用机制研究^Δ

白梦琦^{1*}, 李俊虎^{2,3,4,5}, 赵志波^{2,3,4,5}, 周晓霜^{2,3,4,5,6#} (1. 山西中医药大学第三临床学院, 山西 晋中 030619; 2. 山西省人民医院肾内科, 太原 030012; 3. 山西医科大学第五临床医学院肾内科, 太原 030012; 4. 山西省人民医院肾脏病大数据中心, 太原 030012; 5. 肾脏病山西省重点实验室, 太原 030012; 6. 山西医科大学教育部慢性肾脏病医药基础研究创新中心, 太原 030001)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)11-1428-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.11.08



摘要 **目的** 研究虫草素延缓急性肾损伤(AKI)向慢性肾脏病(CKD)(以下简称“AKI-CKD”)转化的作用机制。**方法** 采用网络药理学和生物信息学分析并预测虫草素延缓AKI-CKD的信号通路及其与铁死亡途径的关系。采用细胞实验对预测结果进行验证:将人肾小管上皮细胞HK-2分为空白组、虫草素组、模型组、H₂O₂+虫草素组,除空白组和虫草素组外,其余各组加入150 μmol/L H₂O₂处理72 h以诱导细胞持续性氧化应激损伤;虫草素(40 μmol/L)干预72 h后,检测细胞中谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、长链脂酰辅酶A合成酶4(ACSL4)、核转录因子红系2相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶1(HO-1)蛋白和mRNA表达水平。另在H₂O₂+虫草素的基础上引入Nrf2抑制剂ML385以验证Nrf2/HO-1通路的作用。**结果** 网络药理学及生物信息学分析结果显示,虫草素与AKI-CKD及铁死亡相关的交集基因有42个,其中38个被注释为铁死亡相关基因;HO-1与Nrf2可能是虫草素抑制铁死亡的重要靶点,虫草素与Nrf2、HO-1蛋白的结合能分别为-8.5、-6.7 kcal/mol。细胞实验结果显示,与模型组比较,H₂O₂+虫草素组细胞中GPX4、Nrf2、HO-1蛋白和mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$),ACSL4蛋白和mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$);加入Nrf2抑制剂ML385后,虫草素对上述蛋白和mRNA的作用被显著逆转($P<0.05$)。**结论** 虫草素可通过激活Nrf2/HO-1通路抑制铁死亡,减轻肾小管上皮细胞持续性氧化应激损伤,延缓AKI-CKD进展。

关键词 虫草素;急性肾损伤;慢性肾脏病;Nrf2/HO-1通路;铁死亡;网络药理学;生物信息学

Study on the mechanism of cordycepin inhibiting ferroptosis via the Nrf2/HO-1 pathway to delay the transformation from AKI to CKD

BAI Mengqi¹, LI Junhu^{2,3,4,5}, ZHAO Zhibo^{2,3,4,5}, ZHOU Xiaoshuang^{2,3,4,5,6} (1. The Third Clinical College, Shanxi University of Chinese Medicine, Shanxi Jinzhong 030619, China; 2. Dept. of Nephrology, Shanxi Provincial People's Hospital, Taiyuan 030012, China; 3. Dept. of Nephrology, the Fifth Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China; 4. Big Data Center for Kidney Diseases, Shanxi Provincial People's Hospital, Taiyuan 030012, China; 5. Shanxi Province Key Laboratory of Kidney Diseases, Taiyuan 030012, China; 6. Medicinal Basic Research Innovation Center of Chronic Kidney Disease, Ministry of Education, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the mechanism of cordycepin in delaying the transformation from acute kidney injury (AKI) to chronic kidney disease (CKD) (short for “AKI-CKD”). **METHODS** Network pharmacology and bioinformatics were used to analyze and predict the signaling pathways of cordycepin in delaying AKI-CKD progression and its relationship with the ferroptosis pathway. Cell experiments were performed to verify the predicted results. Human renal tubular epithelial HK-2 cells were divided into blank group, cordycepin group, model group, and H₂O₂+cordycepin group. Except for the blank group and cordycepin group, all other groups were treated with 150 μmol/L H₂O₂ for 72 h to induce persistent oxidative stress injury in cells. After 72 h of cordycepin (40 μmol/L) intervention, the protein and mRNA expression levels of glutathione peroxidase 4 (GPX4), long-chain acyl-CoA synthetase 4 (ACSL4), nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), and heme oxygenase-1 (HO-1) in cells were detected. Furthermore, the Nrf2 inhibitor ML385 was added on the basis of H₂O₂+cordycepin to verify the role of the Nrf2/HO-1 pathway. **RESULTS** Network pharmacology and bioinformatics analysis showed that there were 42 overlapping genes related to AKI-CKD and ferroptosis that interact with cordycepin ferroptosis, among which 38 were annotated as ferroptosis-related genes. HO-1 and Nrf2 might be important targets for cordycepin to inhibit ferroptosis. The binding

^Δ **基金项目** 国家自然科学基金项目(No.82300846);中央引导地方科技发展资金项目(No.YDZJSX2025B007)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向:中西医结合防治肾脏疾病。
E-mail: baimengqi@stu.sxcm.edu.cn

通信作者 主任医师,教授,博士生导师。研究方向:中西医结合防治肾脏疾病。E-mail: xiaoshuangzhou66@163.com

energies of cordycepin with Nrf2 and HO-1 proteins were -8.5 and -6.7 kcal/mol, respectively. Cell experiments showed that compared with the model group, the protein and mRNA expression levels of GPX4, Nrf2 and HO-1 were significantly increased ($P<0.05$), while the protein and mRNA expression levels of ACSL4 were significantly decreased ($P<0.05$) in the H_2O_2 +cordycepin group. After the addition of the Nrf2 inhibitor ML385, the effects of cordycepin on the above proteins and mRNA were significantly reversed ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Cordycepin can inhibit ferroptosis by activating the Nrf2/HO-1 pathway, reduce persistent oxidative stress injury of renal tubular epithelial cells, and delay the progression of AKI-CKD.

KEYWORDS cordycepin; acute kidney injury; chronic kidney disease; Nrf2/HO-1 pathway; ferroptosis; network pharmacology; bioinformatics

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)向慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的转化(以下简称“AKI-CKD”)是决定患者远期预后的关键病理进程,严重者可进展至终末期肾病^[1]。目前,临床缺乏阻断该进程的特异性手段,仅能依靠肾脏替代治疗缓解病情,因此探索其关键驱动机制并寻找有效干预靶点,具有重要的临床价值。

在 AKI-CKD 过程中,持续性氧化应激作为 AKI 后病情迁延的关键诱因,可导致肾小管上皮细胞持续受损并丢失,进而引发肾间质纤维化,而肾间质纤维化正是 AKI-CKD 过程的典型病理特征^[2-4]。铁死亡是一种依赖铁离子、由脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡方式,也是氧化应激致病的主要途径;持续性氧化应激产生的过量活性氧可直接攻击细胞膜脂质,引发脂质过氧化链式反应^[5]。当氧化应激负荷过重时,肾小管上皮细胞的铁死亡途径被异常激活,表现为谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)表达水平降低、长链脂酰辅酶 A 合成酶 4 (long-chain acyl-CoA synthetase 4, ACSL4)表达水平升高;两者又进一步推动脂质过氧化反应,导致脂质过氧化物大量堆积,同时释放促纤维化因子,从而加重肾间质纤维化,促进 AKI-CKD^[6-7]。因此,靶向抑制铁死亡有望成为阻断 AKI-CKD 的潜在策略。核转录因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)是机体对抗氧化应激的核心信号通路, Nrf2 激活后可启动 HO-1 转录,通过增强抗氧化能力、降解血红素并促进铁离子外排,协同减轻脂质过氧化负荷,间接保护 GPX4 功能,并有助于恢复 GPX4/ACSL4 平衡^[8]。由此可知, Nrf2/HO-1 通路可能是调控铁死亡、阻断 AKI-CKD 的重要靶点。

虫草素是从冬虫夏草中提取的天然活性成分,具抗炎、抗氧化、抗纤维化及肾脏保护等药理活性^[9]。目前,虫草素在肾脏疾病中的研究多集中于急性或单一模型^[10-11],尚未有相关研究探讨虫草素对 AKI-CKD 过程的影响。鉴于 Nrf2/HO-1 通路在抑制铁死亡及减轻肾损伤中的关键作用,笔者提出假设:虫草素可能通过激活 Nrf2/HO-1 通路,调控 GPX4/ACSL4 平衡,抑制铁死亡,从而延缓 AKI-CKD。基于此,本研究利用网络药理学和生物信息学分析并预测虫草素延缓 AKI-CKD 的潜在

靶点,并通过体外实验进行系统验证,以期虫草素治疗肾脏疾病提供新的理论依据。

1 虫草素延缓 AKI-CKD 的作用靶点及机制预测

1.1 虫草素的靶点预测

通过 BATMAN(<http://bionet.ncpsb.org/>)、CTD(<https://www.ctdbase.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)数据库,以“cordycepin”为关键词筛选虫草素潜在靶点。结果显示,在上述 3 个数据库中分别获得 82、773、85 个靶点,合并去重后共得到 459 个虫草素靶点。

1.2 AKI-CKD 的靶点预测

以“acute kidney injury-chronic kidney disease”为关键词,通过 GeneCards、OMIM (<https://www.omim.org/>)数据库筛选疾病靶点。结果显示,在上述 2 个数据库中分别获得 398、831 个靶点,合并去重后共得到 843 个 AKI-CKD 靶点。

1.3 铁死亡的靶点预测

以“ferroptosis”为关键词,通过 GeneCards 数据库筛选铁死亡靶点。结果显示,共获得 1 866 个铁死亡靶点。

1.4 PPI 网络构建

利用 Venny 网站 (<https://bioinfo.cnb.csic.es/>)对虫草素、AKI-CKD 及铁死亡靶点取交集。结果显示,共获得 42 个交集基因,包括 *IL-6* (白细胞介素 6, interleukin-6)、*TNF* (肿瘤坏死因子, tumor necrosis factor)、*HO-1*、*Nrf2* 等。进一步将交集基因上传至 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>),设置物种为人、置信度 >0.9 ,获得含 42 个节点、480 条边的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI)网络;经 CytoScape 3.9.1 软件及 Centiscape 插件分析,分别获取每个节点的 Degree、Closeness、Betweenness 等中心性指标,并以各项中心性指标的平均值作为筛选阈值,最终筛选出 16 个核心靶点,包括 *IL-6*、*TNF*、*HO-1* 等,具体结果见图 1。

1.5 GO 和 KEGG 富集分析

将“1.4”项下 42 个交集基因导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)进行基因本体 (gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析。GO 分析结果显示,交集基因主要参与炎症反应、氧化应激调控等生物学过程。KEGG 分析结果(图 2)显示,交集基因主要参与脂质与动脉粥样硬化 (lipid and atherosclerosis)、PI3K/Akt (磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B, phosphati-

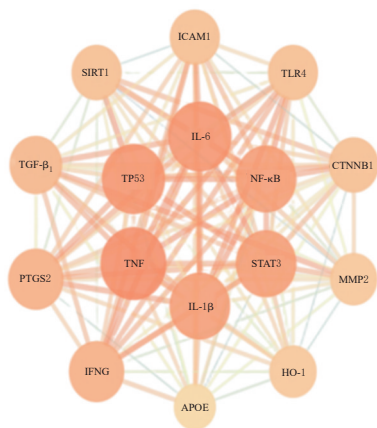


图1 核心靶点图

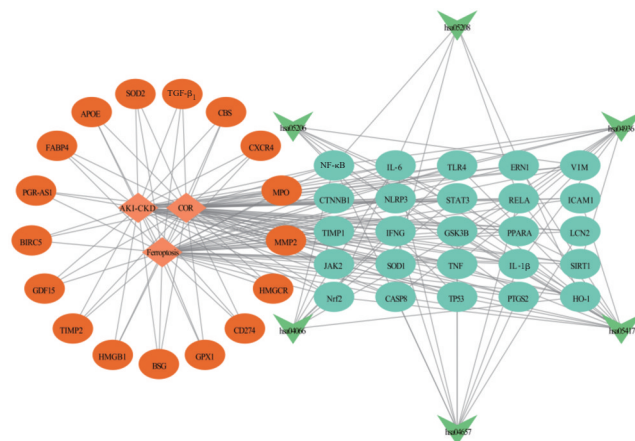


图3 药物-靶点-通路网络图

dylinositol 3-kinase/protein kinase B)、NF- κ B(核因子 κ B,nuclear factor- κ B)、HIF-1(缺氧诱导因子1,hypoxia-inducible factor-1)等信号通路。虽然交集基因未直接富集到铁死亡通路,但上述通路已被证实为调控铁死亡上游的经典信号通路^[12-15],这提示虫草素可能作用于铁死亡的上游通路。

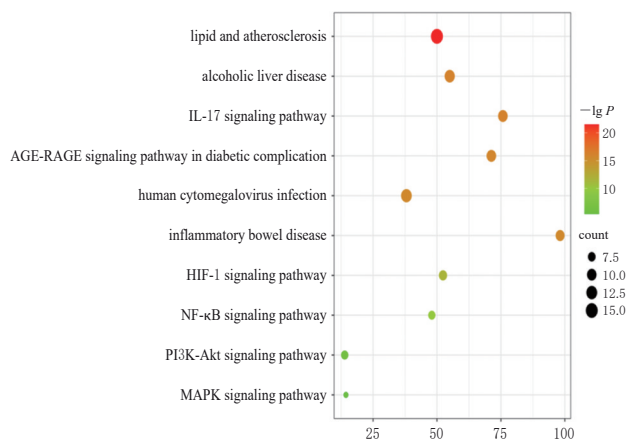


图2 KEGG富集分析图

1.6 药物-靶点-通路网络分析

采用CytoScape 3.9.1软件筛选Nrf2、HO-1相关信号通路,并构建药物-靶点-通路网络,结果(图3)显示,HO-1关联化学致癌-活性氧通路(hsa05208)、HIF-1通路(hsa04066)及癌症中微小RNA通路(hsa05206);Nrf2关联化学致癌-活性氧通路(hsa05208)、脂质与动脉粥样硬化通路(hsa05417)。其中,化学致癌-活性氧通路为二者共有通路,该通路的核心功能是诱导活性氧生成,而过量活性氧是触发铁死亡的关键上游信号^[16]。因此,HO-1和Nrf2可能是虫草素抑制铁死亡的重要靶点。

1.7 铁死亡相关基因功能分析

为弥补KEGG富集分析未能覆盖铁死亡核心通路的局限,笔者将“1.4”项下42个交集基因与FerrDb数据库(<http://www.zhounan.org/>)及GeneCards数据库中铁死亡的驱动、抑制、标志基因进行比对。结果显示,共有38个交集基因被注释为铁死亡相关基因,与驱动、抑制、

标志基因分别重叠23、17、5个;其中核心靶点HO-1被同时归类为铁死亡的驱动、抑制及标志基因,Nrf2被归类为铁死亡抑制基因。

1.8 分子对接验证

从PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)获取虫草素SDF配体文件,从RCSB PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)获取Nrf2(PDB ID: 2FLU)、HO-1(PDB ID: 1N45)蛋白受体文件;采用AutoDock软件处理受体,再利用AutoDock Vina软件进行分子对接。结果显示,虫草素与Nrf2、HO-1蛋白的结合能分别为-8.5、-6.7 kcal/mol(1 kcal $\approx$ 4.184 kJ),均低于-5.0 kcal/mol,表明虫草素可与Nrf2、HO-1蛋白稳定结合。

综上可知,网络药理学和生物信息学分析结果为“虫草素靶向Nrf2/HO-1通路,调控铁死亡,延缓AKI-CKD”的假说提供了支撑。基于此,笔者进一步采用细胞实验对该预测结果进行验证。

2 虫草素延缓AKI-CKD机制的细胞实验验证

2.1 材料

2.1.1 主要仪器

Epoch型多功能酶标仪购自美国BioTek公司;NIM-100型倒置显微镜购自济南千司生物技术有限公司;371气套型二氧化碳细胞培养箱购自美国Thermo Fisher Scientific公司;Mini-PROTEAN Tetra小型垂直电泳仪、CFX96 Touch型实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪购自美国Bio-Rad公司。

2.1.2 主要药品与试剂

虫草素、Nrf2抑制剂ML385(批号分别为HY-NO262、HY-100523,纯度均大于99.00%)购自美国MCE公司;优级胎牛血清(批号20230605)购自赛澳美细胞技术(北京)有限公司;MEM培养基、CCK-8试剂盒、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G(货号分别为PYG0029、AR1160、BA1054)购自武汉博士德生物工程有限公司;兔抗GPX4抗体(批号ET1706-45)购自杭州华安生物技术有限公司;兔抗ACSL4抗体(批号F1153)购自美国Selleck公司;兔抗Nrf2抗体(批号80593-1-

RR)购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗HO-1抗体(批号R24541)购自成都正能生物技术有限公司; β -肌动蛋白(β -actin)抗体(批号AC050)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

2.1.3 细胞

人肾小管上皮细胞HK-2(货号CL-0109)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

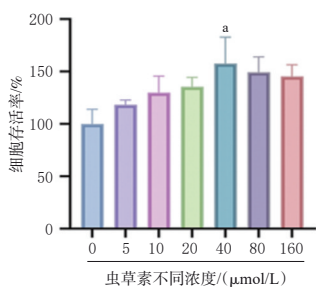
2.2 方法

2.2.1 细胞培养

将HK-2细胞培养于含10%胎牛血清及100 U/mL青霉素的MEM培养基中,置于37℃、5%CO₂培养箱中培养;待细胞融合度为80%~90%时,弃去培养基,以磷酸盐缓冲液清洗2遍后,用0.25%EDTA-胰蛋白酶消化,再接种至培养板中,待贴壁后用于后续实验。

2.2.2 虫草素干预浓度筛选

将HK-2细胞以每孔8 000个接种于96孔板,常规培养至贴壁后,加入150 μ mol/L H₂O₂处理细胞72 h(以模拟肾小管上皮细胞的持续性氧化应激损伤状态);然后分别加入不同浓度[0(对照孔)、5、10、20、40、80、160 μ mol/L]虫草素继续干预72 h(每个浓度平行设置6个复孔,另设不含细胞不含药物的空白孔)。培养结束后,各孔加入CCK-8工作液孵育60 min,再于450 nm波长下测定吸光度(optical density, OD)值,并计算细胞存活率[细胞存活率=(给药孔OD值-空白孔OD值)/(对照孔OD值-空白孔OD值)×100%]。本研究所有实验数据均采用GraphPad Prism软件进行统计学分析,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用LSD-*t*检验,所有实验均独立重复3次,检验水准 $\alpha=0.05$ 。结果(图4)显示,经40 μ mol/L虫草素干预后,HK-2细胞活力显著提高($P<0.01$),这表明该虫草素浓度对H₂O₂诱导的持续性损伤具有明显的保护作用。



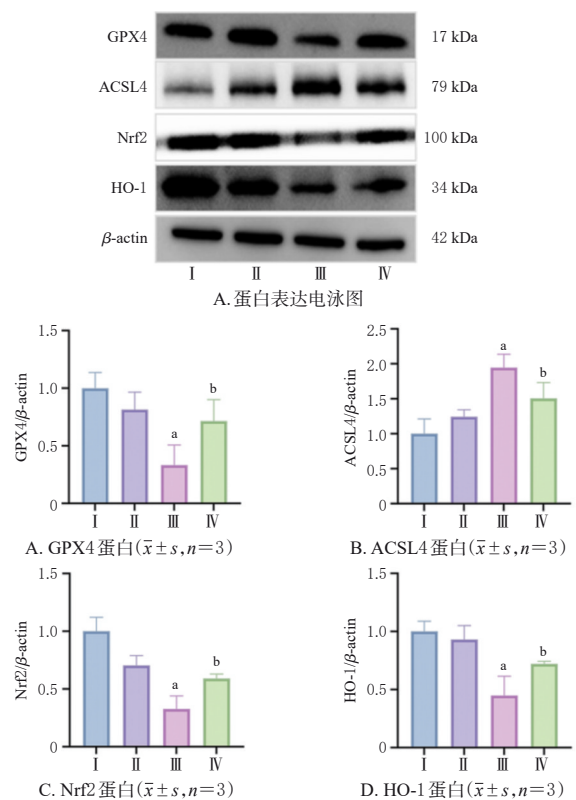
a:与虫草素0 μ mol/L组相比, $P<0.01$ 。

图4 不同浓度虫草素对HK-2细胞损伤的干预作用($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.2.3 虫草素对Nrf2/HO-1通路和铁死亡的调控作用考察

(1)蛋白层面考察。将HK-2细胞以 5×10^5 个/瓶接种于T25培养瓶,常规培养至贴壁后,分为空白组、虫草素组、模型组、H₂O₂+虫草素组。除空白组和虫草素组外,其余各组均加入150 μ mol/L H₂O₂处理72 h以诱导细胞持续性氧化应激损伤,虫草素组和H₂O₂+虫草素组加入40 μ mol/L虫草素继续干预72 h,收集细胞。取各组细

胞适量,加入含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的细胞裂解液进行裂解,同时辅以超声破碎以提高裂解效率;以12 000 r/min离心10 min,取上清液,采用BCA试剂盒测定蛋白浓度;取适量蛋白样品与上样缓冲液混合后,置于100℃金属浴中变性处理10 min,随后进行SDS-PAGE分离。电泳结束后,将蛋白转印至PVDF膜上,采用5%脱脂牛奶封闭60 min;再加入GPX4、ACSL4、Nrf2、HO-1、 β -actin一抗(稀释度分别为1:10 000、1:10 000、1:1 000、1:1 000、1:5 000),于4℃条件下孵育12 h;次日,使用TBST缓冲液洗涤4次,每次5 min,随后加入二抗,于室温条件下孵育1 h;采用ECL化学发光系统进行显影,再采用Image J软件分析灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。结果(图5)显示,与空白组比较,虫草素组细胞中GPX4、ACSL4、Nrf2、HO-1蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);模型组细胞中GPX4、Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$),ACSL4蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,H₂O₂+虫草素组细胞中GPX4、Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$),ACSL4蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。



I:空白组;II:虫草素组;III:模型组;IV:H₂O₂+虫草素组;a:与空白组相比, $P<0.05$;b:与模型组相比, $P<0.05$ 。

图5 虫草素对细胞中Nrf2/HO-1通路和铁死亡相关蛋白表达的影响

(2)基因层面考察。同“2.2.3(1)”项下方法分组、造模、干预及培养,收集细胞;采用柱式提取法分离细胞总RNA并逆转录生成cDNA,再以cDNA为模板进行PCR

扩增。PCR扩增条件为95℃预变性30 s;95℃变性5 s,60℃退火延伸30 s,40个循环。以 β -actin基因为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。GPX4、ACSL4、Nrf2、HO-1的引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成,具体引物序列及扩增产物长度见表1。结果(图6)显示,与空白组比较,虫草素组细胞中GPX4、ACSL4、Nrf2、HO-1 mRNA表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);模型组细胞中GPX4、Nrf2、HO-1 mRNA表达水平显著降低($P<0.05$),ACSL4 mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较, H_2O_2 +虫草素组细胞中GPX4、Nrf2、HO-1 mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$),ACSL4 mRNA表达水平显著降低($P<0.05$)。

表1 引物序列及扩增产物长度

基因名称	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
GPX4	上游:CCAGTGAGGCAAGACCGAAGT	118
	下游:TGGCTCTGCTTCCGAAGT	
ACSL4	上游:TTTTCGAGCTTCCGAGTG	23
	下游:GCCGACAATAAGTACGCAATG	
Nrf2	上游:CCTTCAGCAGCATCTCTCCA	82
	下游:TCTGTGTGACTGTGGCATCTG	
HO-1	上游:GCTAGCCTGGTGAAGATACT	67
	下游:TGGGGGCCAGTATGCATT	
β -actin	上游:TCATCACTATTGGCAACGAGCGGT	79
	下游:GTGTTGGCATAGAGGTCTTTACG	

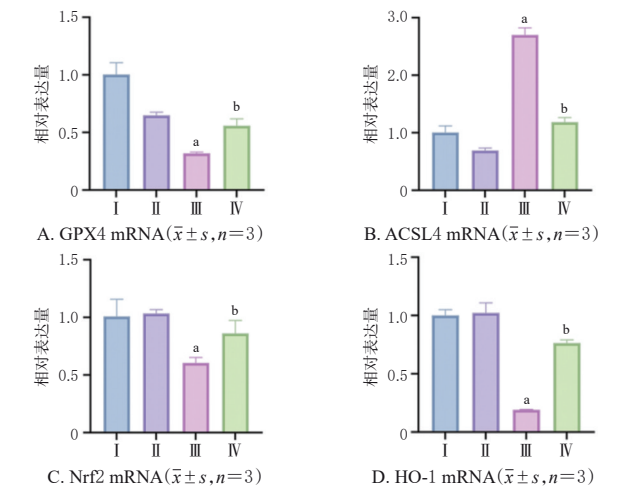


图6 虫草素对细胞中Nrf2/HO-1通路和铁死亡相关mRNA表达的影响

2.2.4 虫草素对Nrf2/HO-1通路和铁死亡的调控机制验证

将HK-2细胞以 5×10^5 个/瓶接种于T25培养瓶,常规培养至贴壁后,分为 H_2O_2 +虫草素组、 H_2O_2 +虫草素+ML385(Nrf2抑制剂)组,两组均加入150 μ mol/L H_2O_2 处理72 h以诱导持续性氧化应激损伤,再均加入40 μ mol/L 虫草素(H_2O_2 +虫草素+ML385组同时加入1 μ mol/L ML385)继续干预72 h,收集细胞。同“2.2.3”项下方法检测各组细胞中GPX4、ACSL4、Nrf2、HO-1蛋白和mRNA表达水平。结果(图7)显示,与 H_2O_2 +虫草素

组相比, H_2O_2 +虫草素+ML385组细胞中GPX4、Nrf2、HO-1蛋白和mRNA表达水平均显著降低($P<0.05$),ACSL4蛋白和mRNA表达水平均显著升高($P<0.05$)。

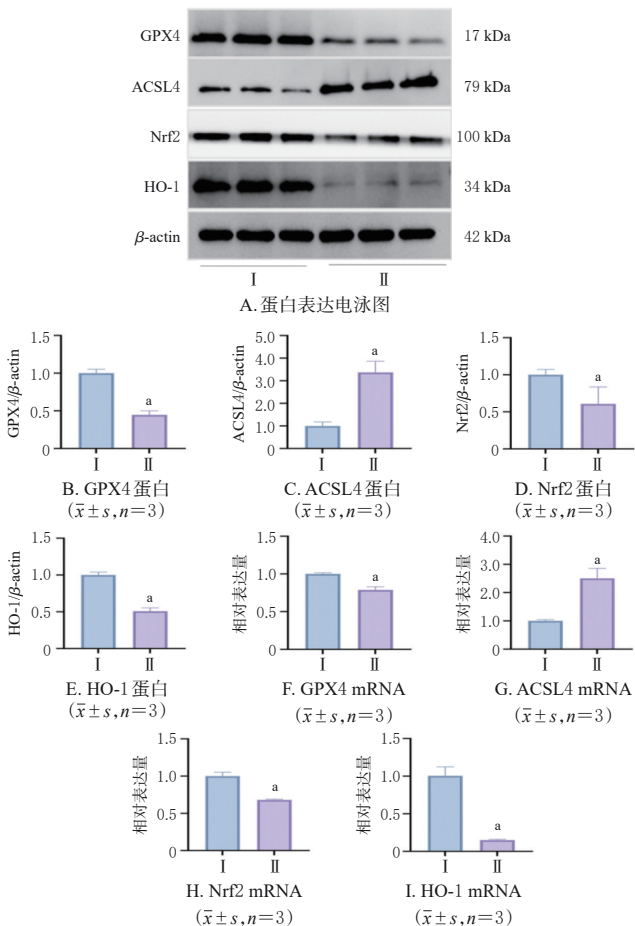


图7 加入Nrf2抑制剂后虫草素对细胞中Nrf2/HO-1通路和铁死亡相关蛋白及mRNA表达的影响

3 讨论

AKI-CKD是终末期肾病的重要诱因,现已成为全球性公共卫生难题,其造成的死亡已超过乳腺癌、心力衰竭及糖尿病等疾病^[17]。中医药凭借多靶点、低毒性等优势,在延缓AKI-CKD方面展现出独特潜力^[18]。研究发现,含冬虫夏草成分的药物(如百令胶囊)用于肾脏疾病的治疗,可延缓AKI-CKD、减轻炎症、减少蛋白尿^[19],但其活性成分虫草素在延缓AKI-CKD方面的具体作用机制尚不明确。

本研究前期查阅相关文献^[6-8,11],提出“虫草素可能通过激活Nrf2/HO-1通路,调控GPX4/ACSL4平衡,抑制铁死亡,从而延缓AKI-CKD”的假设,再采用网络药理学和生物信息学分析方法,预测了虫草素延缓AKI-CKD的潜在靶点。网络药理学分析结果显示,虫草素与AKI-CKD及铁死亡的共同靶点中,HO-1为核心靶点,Nrf2为交集基因。进一步的KEGG富集分析结果显示,交集基因主要参与PI3K/Akt、NF- κ B、HIF-1等信号通路;虽然

该项结果并未直接富集到铁死亡通路,但是笔者进一步借助FerrDb数据库对交集基因进行分析发现,38个基因与铁死亡相关,其中HO-1被同时归类为铁死亡的驱动、抑制及标志基因,Nrf2被归类为铁死亡抑制基因,这提示HO-1和Nrf2是调控铁死亡过程的核心靶点。另外,在“药物-靶点-通路”网络中,HO-1、Nrf2占据关键节点,与多条氧化应激及AKI-CKD相关通路相连;且虫草素与Nrf2和HO-1蛋白均具有稳定的结合能力。这为上述假设提供了支撑。

H₂O₂作为外源性活性氧供体,可模拟AKI后持续性氧化应激损伤状态,诱导脂质过氧化蓄积并激活铁死亡^[20]。因此,本研究以H₂O₂诱导细胞损伤。细胞验证实验结果显示,与空白组比较,模型组细胞中GPX4蛋白和mRNA表达下调、ACSL4蛋白和mRNA表达上调,提示细胞发生了铁死亡。经虫草素干预后,细胞中GPX4蛋白表达上调、ACSL4蛋白和mRNA表达下调,同时Nrf2、HO-1蛋白和mRNA表达均显著上调。进一步使用Nrf2抑制剂ML385干预后,细胞中Nrf2、HO-1蛋白和mRNA表达均显著下调,虫草素对GPX4蛋白的上调作用及对ACSL4蛋白的下调作用被显著逆转。上述结果表明,虫草素发挥调控铁死亡延缓AKI-CKD的作用,依赖于其对Nrf2/HO-1通路的激活。

综上所述,虫草素可通过激活Nrf2/HO-1通路抑制铁死亡,减轻肾小管上皮细胞持续性氧化应激损伤,延缓AKI-CKD进展。然而,本研究仍存在以下不足:(1)网络药理学受数据库覆盖范围限制,可能遗漏部分重要靶点;(2)未设置铁死亡抑制剂组进行对照,也未设置Nrf2基因沉默或过表达组进行反向验证;(3)缺少动物模型进行验证。后续本课题组将整合转录组学技术,利用Nrf2基因干预模型和铁死亡抑制剂进行双向验证,并建立AKI-CKD动物模型以进一步评估虫草素的整体药效。

参考文献

[1] 陈晓媚,马圆媛,聂静,等. 急性肾损伤向慢性肾脏病转化中肾小管上皮细胞损伤修复机制的研究进展[J]. 首都医科大学学报,2022,43(5):720-727.

[2] LIU B C, TANG T T, LV L L. Renal fibrosis: mechanisms and therapies[M]. Singapore: Springer Singapore, 2019: 233-252.

[3] BAKER M L, CANTLEY L G. Adding insult to injury: the spectrum of tubulointerstitial responses in acute kidney injury[J]. J Clin Invest, 2025, 135(6): e188358.

[4] FONTECHA-BARRIUSO M, LOPEZ-DIAZ A M, GUERRERO-MAUVECIN J, et al. Tubular mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and progression of chronic kidney disease[J]. Antioxidants, 2022, 11(7): 1356.

[5] SU L J, ZHANG J H, GOMEZ H, et al. Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019(1): 5080843.

[6] ZHANG D L, CHIU C L, WEN R, et al. FTO inhibition attenuates renal fibrosis by downregulating ferroptosis activator ACSL4 and profibrotic factor TGFBI[J]. iScience, 2025, 28(10): 113515.

[7] LYU G N, LIAO H, LI R S. Ferroptosis and renal fibrosis: mechanistic insights and emerging therapeutic targets[J]. Ren Fail, 2025, 47(1): 2498629.

[8] HUANG J Y, YU H N. The role of the Nrf2 pathway in inhibiting ferroptosis in kidney disease and its future prospects[J]. Pathol Res Pract, 2025, 272: 156084.

[9] TULI H S, SANDHU S S, SHARMA A K. Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to cordycepin[J]. 3 Biotech, 2014, 4(1): 1-12.

[10] 岳琳,徐草梅,钱敏燕,等. 虫草素通过抑制氧化应激与铁死亡减轻庆大霉素诱导的肾损伤[J]. 中国药理学通报, 2025, 41(1): 65-70.

[11] WU B, WANG J, YAN X H, et al. Cordycepin ameliorates diabetic nephropathy injury by activating the SLC7A11/GPX4 pathway[J]. J Diabetes Investig, 2025, 16(6): 992-1000.

[12] WU X Z, PAN J X, YU J J, et al. Didang decoction improves mitochondrial function and lipid metabolism via the HIF-1 signaling pathway to treat atherosclerosis and hyperlipidemia[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 308: 116289.

[13] SU H, PENG C, LIU Y. Regulation of ferroptosis by PI3K/Akt signaling pathway: a promising therapeutic axis in cancer[J]. Front Cell Dev Biol, 2024, 12: 1372330.

[14] WANG Z Y, DI Y Q, YE L L, et al. NANS suppresses NF-κB signaling to promote ferroptosis by perturbing iron homeostasis[J]. Cell Rep, 2025, 44(5): 115701.

[15] ZHAO X X, WANG Q, JIN J Y, et al. The key regulator of ferroptosis: HIF-1α and its complex roles and treatment strategies in related diseases[J]. Life Sci, 2026, 397: 124442.

[16] WANG B X Q, WANG Y, ZHANG J, et al. ROS-induced lipid peroxidation modulates cell death outcome: mechanisms behind apoptosis, autophagy, and ferroptosis[J]. Arch Toxicol, 2023, 97(6): 1439-1451.

[17] KOH E S, CHUNG S. Recent update on acute kidney injury-to-chronic kidney disease transition[J]. Yonsei Med J, 2024, 65(5): 247.

[18] 黄思雨,王希茜,陈冠廷,等. 中医药调控内质网应激防治急性肾损伤、肾间质纤维化、糖尿病肾病研究进展[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(22): 6227-6233.

[19] 孙林成,宋明爱,李建锋,等. 百令胶囊联合肾衰宁片治疗慢性肾功能衰竭患者的临床疗效及对肾纤维化及微炎症状态的影响[J]. 中国合理用药探索, 2024, 21(6): 7-13.

[20] LIU Y, ZHOU L, LV C H, et al. PGE2 pathway mediates oxidative stress-induced ferroptosis in renal tubular epithelial cells[J]. FEBS J, 2023, 290(2): 533-549.

(收稿日期:2025-12-24 修回日期:2026-05-15)
(本文责编:唐晓莲)