

本文引文格式:张倩,白恒宇,杨祥,等.青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制研究[J].右江民族医学院学报,2025,47(1):23-31.

【论著与临床报道】

青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制研究

张倩¹,白恒宇¹,杨祥²,高俪原²,徐秀泉¹

(1. 亳州学院,安徽 亳州 236800;

2. 江苏省张家港市中医医院,江苏 张家港 215600)

摘要:目的 利用网络药理学和分子对接技术,从铁死亡角度探讨青黛治疗颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)的分子机制,揭示新的治疗靶点。方法 利用 TCMSP、PubChem 和 SwissTargetPrediction 数据库筛选青黛的活性成分和作用靶点。利用 GeneCards 和 OMIM 数据库,获取与 TBI 相关的靶点。使用 Venny 2.1 软件对青黛活性成分靶点和 TBI 靶点取交集。利用 Cytoscape 3.10.0 软件构建“青黛-活性成分-作用靶点”网络。将交集靶点导入 STRING 平台构建靶点间的蛋白相互作用(PPI)网络。利用 Metascape 数据库进行 GO 和 KEGG 分析。运用 GeneCards 和 FerrDb 数据库获得铁死亡基因靶点,利用 STRING、Metascape 数据库和 Cytoscape 3.10.0 软件对青黛活性成分、铁死亡、TBI 三者综合分析,并通过 AutoDockTools 1.5.7 软件和 PyMOL 软件进行分子对接验证。结果 青黛活性成分 9 个,对应靶点 254 个,TBI 靶点 1 969 个,交集靶点 109 个。铁死亡靶点 1 225 个,三者交集靶点 32 个。PPI 网络分析发现氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、表皮生长因子受体(EGFR)、原癌基因(SRC)、人类表皮生长因子受体 2(ERBB2)、聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1(PARP1)等 5 个靶点是青黛调控铁死亡治疗 TBI 的主要靶点。分子对接结果表明靶点 PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1 与青黛的活性成分有较好的结合性。结论 青黛可能通过调控铁死亡治疗颅脑损伤。

关键词:网络药理学;分子对接;青黛;铁死亡;颅脑损伤

中图分类号:R651 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2025)01-0023-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.004

Study on the mechanism of indigo naturalis regulating ferroptosis for the treatment of traumatic brain injury

ZHANG Qian¹, BAI Hengyu¹, YANG Xiang², GAO Liyuan², XU Xiuquan¹

(1. Bozhou University, Bozhou 236800, Anhui, China; 2. Zhangjiagang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangsu Province, Zhangjiagang 215600, Jiangsu, China)

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of indigo naturalis in the treatment of traumatic brain injury (TBI) from the perspective of ferroptosis using network pharmacology and molecular docking techniques, and to reveal new therapeutic targets. **Methods** The active ingredients and targets of indigo naturalis were screened using the TCMSP, PubChem, and SwissTargetPrediction databases. Targets related to TBI were obtained from the GeneCards and OMIM databases. The intersection of indigo naturalis active ingredient targets and TBI targets was obtained using Venny 2.1 software. The “indigo naturalis-active ingredient-target” network was constructed using Cytoscape 3.10.0 software. The intersection targets were imported into the STRING platform to construct a protein-protein interaction (PPI) network among these targets. GO and KEGG analyses were performed using the Metascape database. Ferroptosis gene targets were obtained from the GeneCards and FerrDb databases. Comprehensive analysis of indigo naturalis active ingredients, ferroptosis, and TBI was performed using the STRING, Metascape databases, and Cytoscape 3.10.0 software, and molec-

基金项目:国家自然科学基金项目(82204929);安徽省高等学校自然科学基金重大项目(2023AH040316)

第一作者:张倩,硕士,研究方向:心脑血管药理学,E-mail:17855355879@163.com

通讯作者:徐秀泉,博士,副教授,研究方向:中药材中微量成分研究,E-mail:xxq781026@ujns.edu.cn

ular docking validation was conducted using AutoDockTools 1.5.7 software and PyMOL software. **Results** Nine active ingredients of indigo naturalis were identified, corresponding to 254 targets, while 1 969 targets were associated with TBI, with 109 targets in the intersection. There were 1 225 ferroptosis targets, and 32 targets were common to all three categories. PPI network analysis revealed that peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), epidermal growth factor receptor (EGFR), proto-oncogene (SRC), human epidermal growth factor receptor 2 (ERBB2), and poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) were the main targets in the treatment of TBI via ferroptosis regulation by indigo naturalis. The results of molecular docking showed that the targets PPARG, EGFR, SRC, ERBB2, and PARP1 had good binding affinity with the active ingredients of indigo naturalis. **Conclusion** Indigo naturalis may treat TBI by regulating ferroptosis.

Key words: network pharmacology; molecular docking; indigo naturalis; ferroptosis; traumatic brain injury

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是指外力冲击导致脑组织受损的情况,是一种常见且严重的损伤疾病。TBI可分为局部损伤和弥漫性损伤两类。局部损伤影响特定区域的神经组织和脑血管,可能导致神经纤维断裂和细胞死亡;弥漫性损伤则涉及更广泛的脑部受损。近年来,交通事故的增加使 TBI 发生率上升。由于 TBI 治疗难度大、费用高,且患者往往有后遗症,因此 TBI 在我国损伤类疾病中具有较高的死亡率和致残率^[1-4]。青黛(indigo naturalis),一种深蓝色的干粉或发酵产品,源自爵床科的马蓝、蓼科的蓼蓝及十字花科的菘蓝等植物的叶或茎叶^[5]。青黛在古印度被用作原始染料,传入中国后常被用于画眉,后发现其具有显著的清热解毒、凉血消斑以及泻火定惊等功效^[6]。现代药理学研究发现,青黛具有抗炎、抗氧化、抗菌、免疫调节等活性^[7]。目前治疗 TBI 的手段有手术和药物治疗,抗氧化类中药治疗方法被证明能降低死亡率,具有一定治疗作用及减少并发症^[8]。而青黛中的靛玉红、 β -谷甾醇等成分具有抗氧化、抗炎、抗病毒等作用^[9]。铁死亡是一种新发现的细胞死亡方式,其核心在于铁依赖的脂质过氧化。在 Fe^{2+} 或脂氧合酶的作用下,细胞膜上的不饱和脂肪酸发生过氧化,最终导致细胞死亡^[10]。青黛的活性成分靛玉红、 β -谷甾醇等可以调控核心酶谷胱甘肽过氧化物酶 4,增加细胞内的活性氧(ROS)水平,降低脂质过氧化从而抑制铁死亡的发生^[11]。网络药理学是一门基于系统生物学和信息技术的学科。通过多化合物协同作用和药物再利用,精简了药物发现的过程,大大加快了临床转化的速度^[12]。本研究基于网络药理学分析对青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的作用机制进行探讨,并利用分子对接技术验证,以期为后续青黛治疗颅脑损伤的体内外研究提供思路。

1 材料与方法

1.1 青黛活性成分及靶点的筛选 使用中药系统药理学数据库及分析平台 TCMSP(<https://old.tcmsp-e.com/>),以“青黛”为关键词检索其化学成分。根据药物在体内的动态变化,设定青黛活性成分的筛选条件

为口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 。接着在 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中搜索活性成分的 SMILE name,并导入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>)中,获取单个靶点与基因名。

1.2 颅脑损伤相关靶点的收集及交集基因的获取 将“Traumatic Brain Injury”作为关键词在 OMIM(<http://www.omim.org/>)数据库与 Genecards(<https://www.genecards.org/>)数据库检索疾病靶点信息。使用 Venny 2.1(<http://bioinfogp.cnb.cu/tools/venny/index.html>)将二者靶点取交,二者共同的靶点即为青黛治疗 TBI 的潜在靶点。

1.3 “青黛—活性成分—作用靶点”网络构建 利用 Cytoscape V3.10.0 软件构建“青黛—活性成分—作用靶点”的网络图。

1.4 PPI 网络分析 将上述收集到的交集基因输入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),并限定筛选种类为“Homo sapiens”,获得 PPI 网络图。将 PPI 网络数据导入 Cytoscape V3.10.0 软件,对数据进行筛选并进行可视化处理。

1.5 GO 和 KEGG 基因富集分析 将青黛活性成分与 TBI 相关基因的交集靶点导入 Metascape(<https://metascape.org/>)数据库,获得基因本体(Gene Ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)途径通路富集分析结果。然后,将这些结果导入微生信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)绘制富集分析图。

1.6 铁死亡调控基因获取及与青黛、TBI 三者靶点综合分析 以“ferroptosis”为关键词在 GeneCards 和 FerrDb 数据库(<http://www.zhounan.org/ferrdb/>)筛选铁死亡相关靶点。利用 Venny 2.1 把青黛与 TBI 的交集靶点与铁死亡的靶点取交,获得三者的共同靶点。将上述的公共靶点导入到 STRING 数据库,限定筛选条件为人类种类,得到 PPI 网络图。将公共靶点

基因输入 Metascape 数据库,得到 GO 功能和 KEGG 通路富集结果,并导入 Venny 2.1 平台获得 GO 和 KEGG 富集图。

1.7 分子对接 在 TCMSP 数据库获取青黛活性成分的 InChIKey,并输入 PubChem 数据库获得其二维结构。使用 Chem3D 将其转换为优化后的三维结构,作为分子对接的配体。然后,在 UniProt (<https://www.uniprot.org/>)数据库中获取人类核心靶点的蛋白 ID,并在 PDB(<https://www.rcsb.org/>)数据库中

找到相应的三维结构,作为分子对接的受体。使用 AutoDockTools-1.5.7 软件对受体进行加氢和去水处理后进行分子对接,最终用 PyMOL 软件进行可视化。

2 结果

2.1 青黛有效成分及靶点的筛选 在 TCMSP 数据库中搜索得到青黛的 9 个活性成分,将 9 个有效成分输入 SwissTargetPrediction 数据库得到靶点 366 个,将重复、无效靶点去除后得到 254 个靶点。将青黛 9 个有效活性成分编号为 QD1~QD9,见表 1。

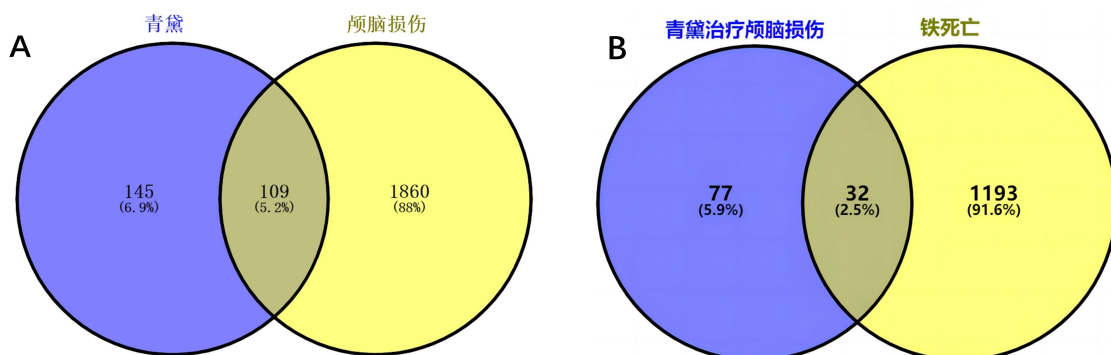
表 1 青黛活性成分信息

编号	MOL ID	化合物名称	OB%	DL
QD1	MOL011100	bisindigotin(双靛蓝素)	41.66	0.39
QD2	MOL011105	indican(靛苷)	34.9	0.23
QD3	MOL011332	10h-indolo,[3,2-b],quinoline	54.57	0.22
QD4	MOL011335	Isoindigo(异靛蓝)	94.3	0.26
QD5	MOL001781	Indigo(靛蓝)	38.2	0.26
QD6	MOL001810	6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b]quinazolin-12-one(青黛酮)	45.28	0.89
QD7	MOL002309	Indirubin(靛玉红)	48.59	0.26
QD8	MOL000358	beta-sitosterol(β -谷甾醇)	36.91	0.75
QD9	MOL002322	Isovitexin(异牡荆素)	31.29	0.72

注:OB%为口服生物利用度,DL为药物相似性。

2.2 青黛与颅脑损伤交集靶点的筛选 在 OMIM 数据库与 Genecards 数据库中共得到 3 030 个 TBI 靶点,去除重复项和 Relevance score 值低的基因靶点后得到 1 969 个靶点。将青黛活性成分靶点和 TBI 靶点导入 Venny 在线工具分析,共 109 个交集靶点(见图

1A)。以“ferroptosis”为关键词,在 GeneCards 和 FerrDb 数据库中筛选铁死亡靶点,合并、去除重复项共得 1 225 个靶点,并将这 1 225 个铁死亡靶点和青黛、TBI 的共同靶点导入 Venny 在线工具分析,获得 32 个共同靶点(见图 1B)。



注:A为青黛与颅脑损伤交集靶点韦恩图;B为青黛、铁死亡与颅脑损伤交集靶点韦恩图。

图 1 青黛活性成分靶点、颅脑损伤及铁死亡靶点韦恩图

2.3 “青黛—活性成分—靶点”网络构建 利用 Cytoscape V3.10.0 软件构建了“青黛—活性成分—靶点”网络图(见图 2)。在网络图中,位于中心位置的代表青黛,周围的节点则分别代表青黛的有效活性成分,而椭圆形则表示这些活性成分所共同指向的交集靶点。边线则清晰地展示了青黛活性成分与这些交集靶点之间的相互作用和关联。

2.4 PPI 网络构建 将青黛活性成分靶点和 TBI 疾

病的基因靶点交集基因靶点输入 STRING 数据库中,获得 PPI 网络图,共 109 个节点、877 条边。将 PPI 网络中的数据输入到 Cytoscape V3.10.0 中,用 CytoNCA 插件进行筛选,得到 Closeness 值为 0.004523, Betweenness 值为 117.981651, Degree 值为 16.091743。然后以这 3 个数值为标准,筛选出 10 个数值最大的靶点为 GAPDH、CASP3、SRC、PPARG、MMP9、ESR1、SIRT1、GSK3B、HSPA5、MAPK1(见图 3)。

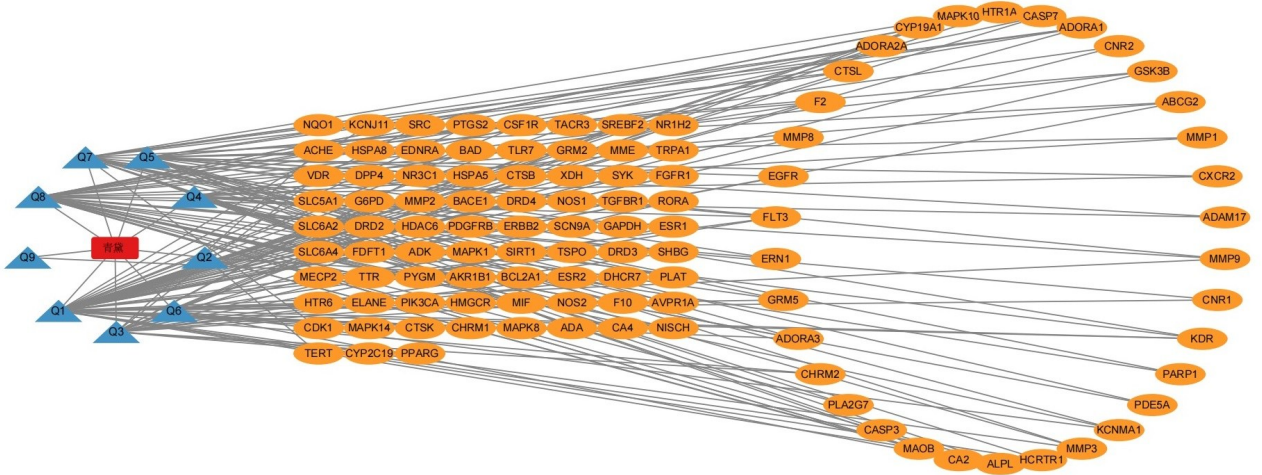


图 2 “青黛—活性成分—靶点”网络图

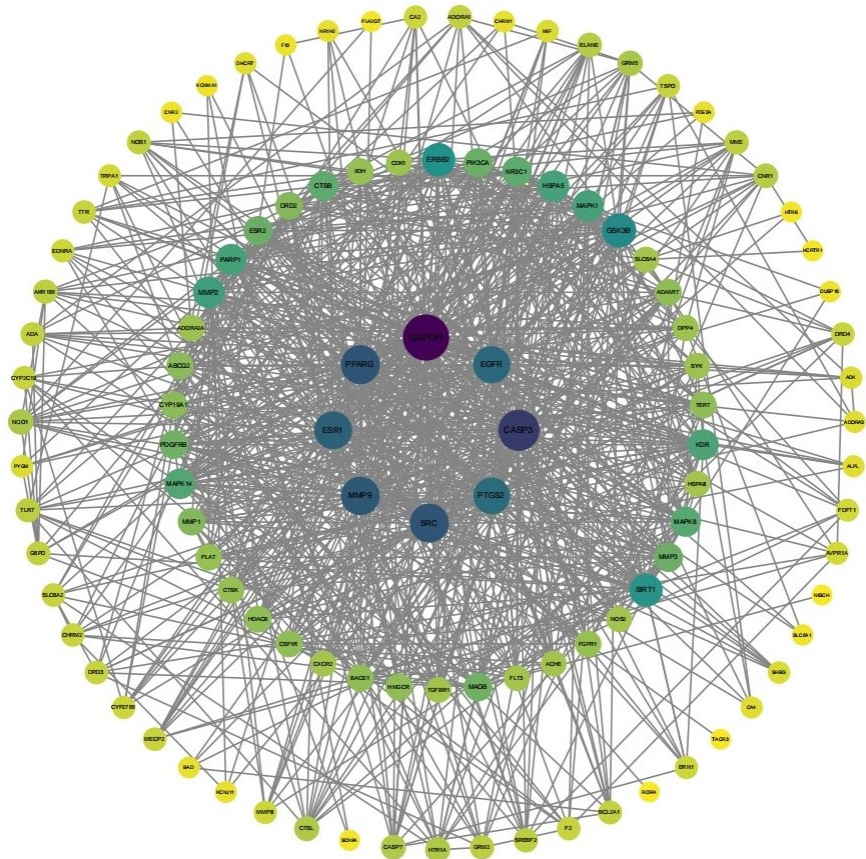
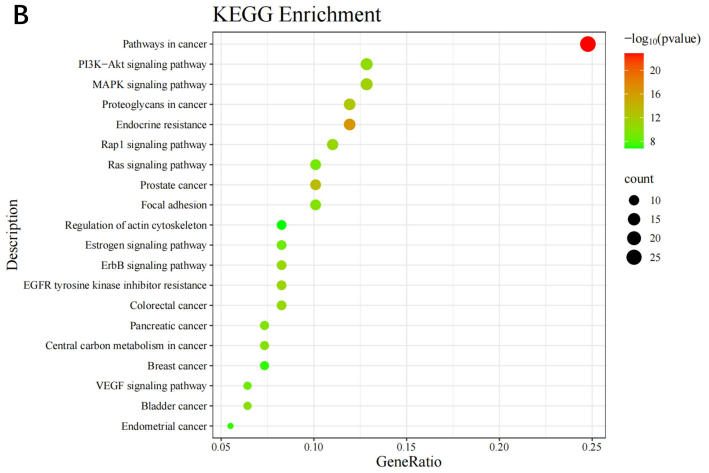
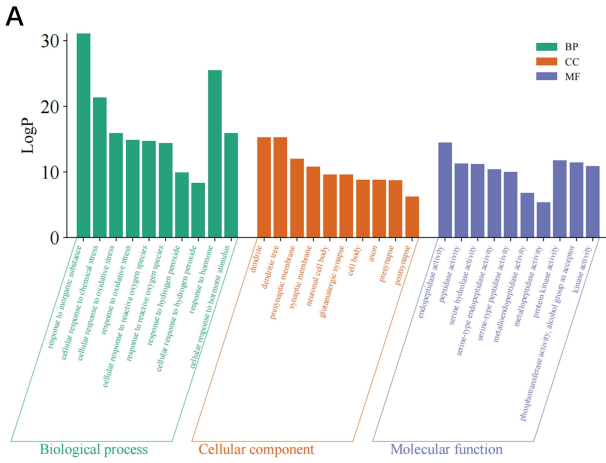


图 3 青黛治疗颅脑损伤作用基因靶点 PPI 网络图

2.5 GO 和 KEGG 富集分析 将青黛活性成分靶点与 TBI 靶点的交集靶点导入 Metascape 数据库, 获得 GO 生物和 KEGG 通路富集分析结果。将上述富集结果导入微生信, 并设 x 轴为 FDR, y 轴为 Term, 生成 GO 柱状图 (见图 4A) 和 KEGG 气泡图 (见图 4B)。GO 分别从生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular

function, MF) 3 个层面进行分析。其结果显示, MF 包括细胞对蛋白激酶活性、肽链内切酶活性和酶活性等的作用; CC 分析表明, 靶点主要分布在树突和突触前膜等; BP 包括对无机物质的反应、对激素的反应和细胞对化学压力的反应。KEGG 结果显示, 青黛治疗颅脑损伤的通路主要包括 PI3K-Akt 信号通路、VEGF 信号通路、MAPK 信号通路等。



注:A为GO富集分析;B为KEGG通路富集分析。

图4 GO功能、KEGG通路富集分析

2.6 铁死亡基因获取及与青黛、TBI三者靶点综合分析 将 32 个青黛调控铁死亡治疗 TBI 的作用靶点输入 STRING 数据库,限定筛选种类为“Homo sapiens”,获得 PPI 网络图和数据,将数据导入 Cytoscape V3.10.0 软件中进行筛选,获得数值前十的靶点为 PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1、ESR1、SIRT1、GSK3B、HSPA5、MAPK1(见图 5)。在 Metascape 数据库输入这 32 个基因靶点,进行 GO 生物富集和 KEGG 通路富集分析,然后将结果的前 20 名数据输入微生信平台,绘制 GO 富集柱状图(见图 6A)和 KEGG 通路富集分析的气泡图(见图 6B)。GO 结果显示, MF 包括细胞对蛋白激酶活性、核受体结合和磷酸转移酶活性等;CC 分析表明,靶点主要分布在受体复合物、黏着斑和细胞基质结等;BP 包括对激素的反应、酶联受体蛋白信号通路和生长因子反应等。KEGG 富集分析得到 MAPK、PI3K-Akt 等信号通路。

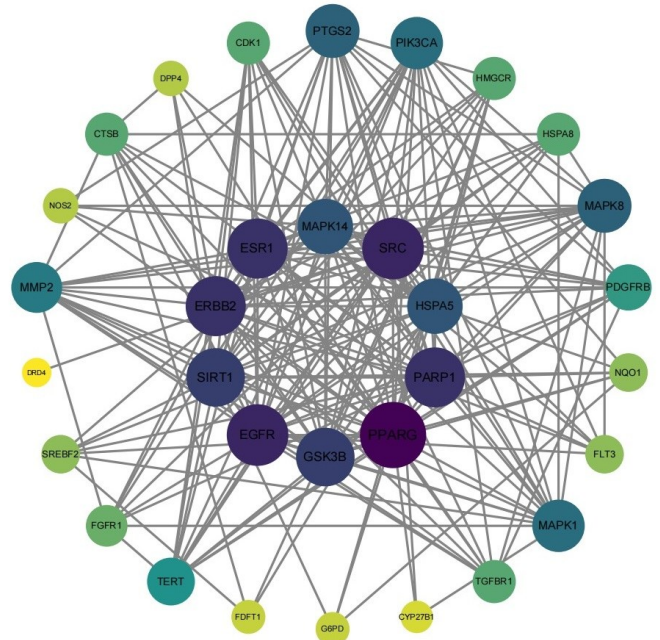
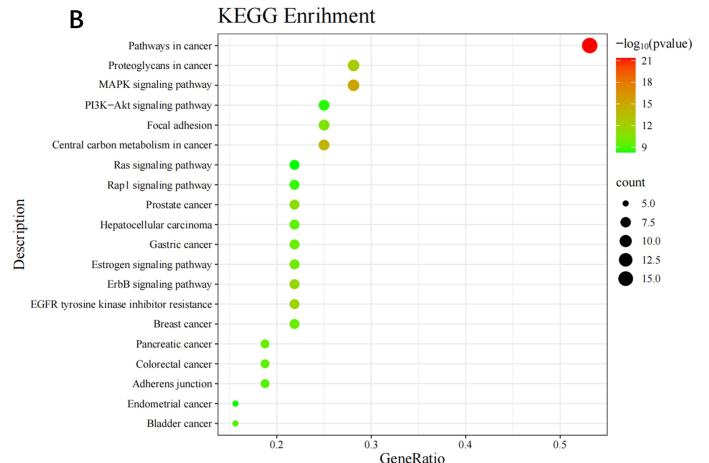
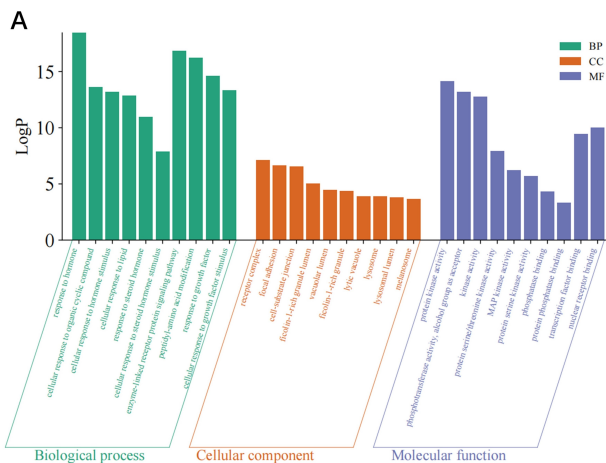


图5 青黛通过调控铁死亡治疗颅脑损伤的靶点 PPI 网络图



注:A为铁死亡GO富集分析柱状图;B为铁死亡KEGG通路富集分子气泡图。

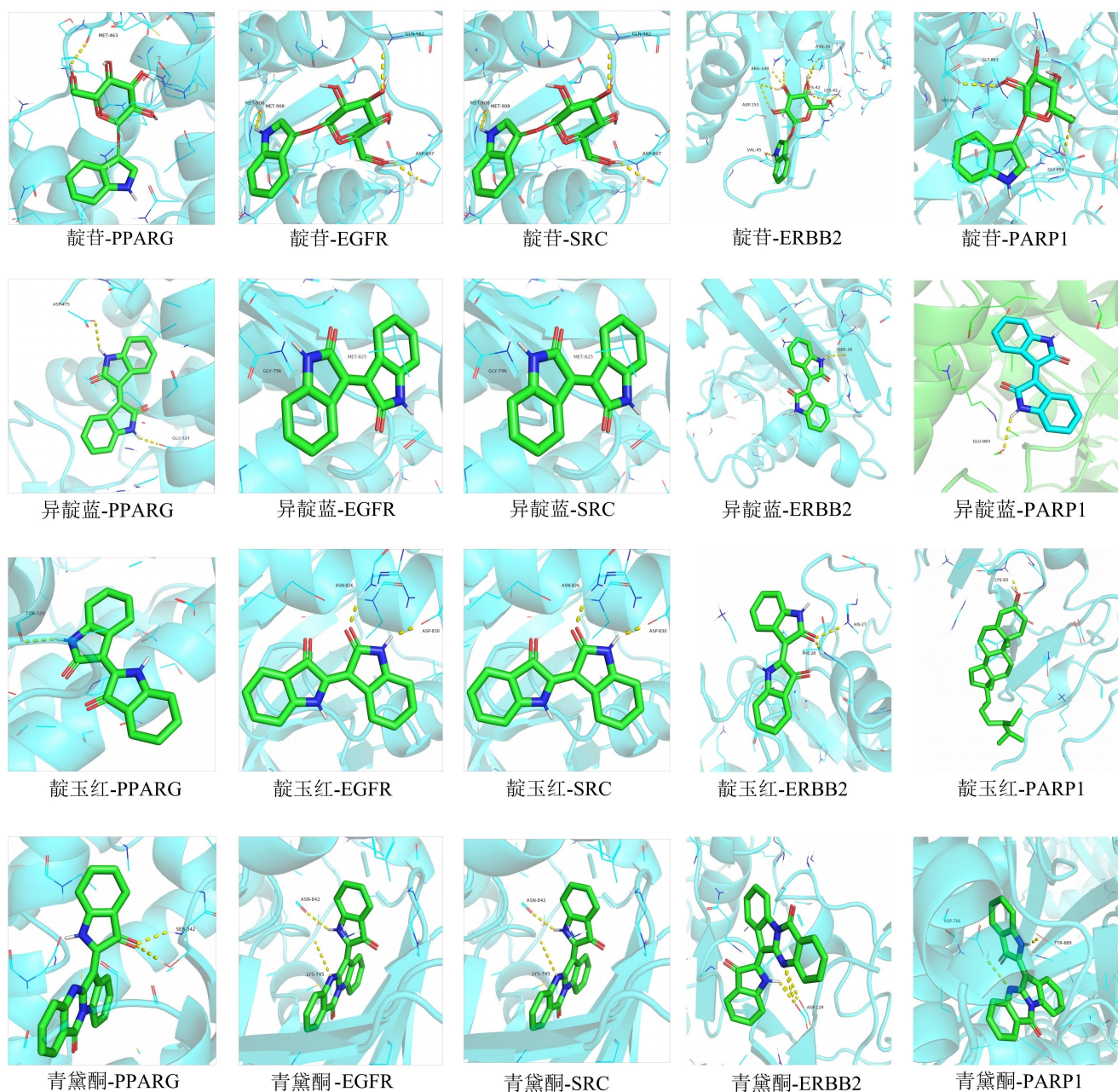
图6 铁死亡GO功能、KEGG通路富集分析

2.7 分子对接 分子对接可以验证青黛在调控铁死亡治疗颅脑损伤中的作用。结合能是评估青黛活性成分与其靶点形成稳定构象的重要指标,结合能越低,构象越稳定。在分子对接中,选用铁死亡、青黛和 TBI 公共靶点的 23 个交集靶点中的前 5 个(PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1)作为受体。配体则选用青黛有效成分中异靛蓝(Isoindigo)、靛玉红(indirubin)、青黛酮(6-(3-oxoindolin-2-ylidene)indolo[2,1-b]quinazolin-12-one)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol)和靛苷(indican)。将配体和受体整理后使用 AutoDockTools-1.5.7 软件进行分子对接,对接结果显示 72% 的成分

和靶点对应的结合能 < -7 kcal/mol,有 24% 的成分结合能 < -9 kcal/mol(见表 2),该结果证实了上述分析结果的准确性。使用 PyMOL 软件对结合能 < -5 kcal/mol 的结果进行可视化处理(见图 7)。

表 2 分子对接结合能 单位:kcal/mol

活性化合物	PPARG	EGFR	SRC	ERBB2	PARP1
靛苷	-6.4	-5.1	-6.2	-5.2	-7.8
异靛蓝	-8.5	-7.4	-9.1	-8.2	-7.9
靛玉红	-7.5	-6.1	-8.2	-6.9	-6.8
青黛酮	-10.9	-10.7	-10.1	-7.5	-9.2
β -谷甾醇	-8.2	-7.0	-8.0	-7.7	-9.0



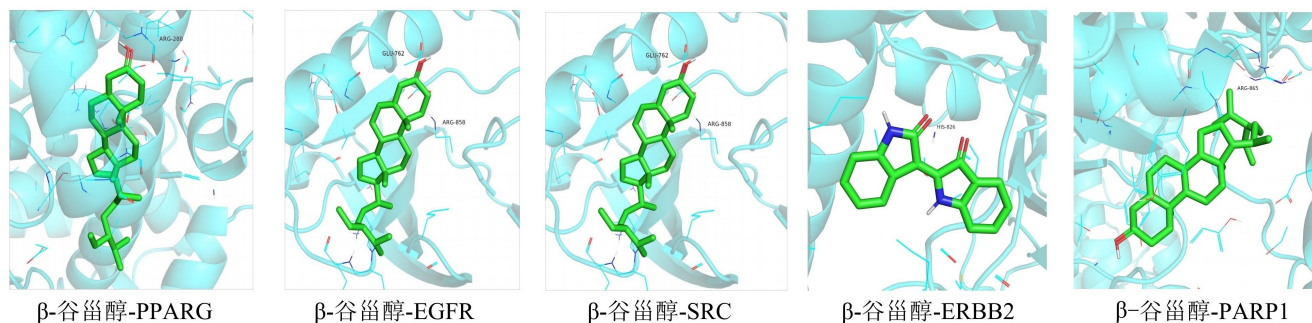


图 7 分子对接可视化

3 讨论

铁死亡作为一种新兴的程序性细胞死亡方式,近年来收到越来越多的关注。铁是人体最重要的微量元素之一,在新陈代谢中起着重要作用。已知铁缺乏和铁超载都会引起多种疾病,包括过量的亚铁离子促进脂质过氧化,产生脂质活性氧(ROS),诱导铁死亡^[13-14]。有研究表明^[15-16],铁死亡在多种疾病中起重要作用,包括肿瘤、中风、颅脑损伤、冷应激、急性肾衰竭和神经变性。TBI是由头部受击或震动引起的神经功能损伤,临床表现多种多样,增加了开发能够有效改善患者短期和长期生活质量的治疗方法的难度。因此,目前高达2%的人口生活在先前的创伤性脑损伤后果中^[17]。TBI由机械引起的损伤涉及细胞死亡、水肿、氧化应激、铁积累、内质网应激、炎症和免疫反应等复杂的级联反应^[18]。近年来的研究表明,铁死亡与TBI后的神经损伤及其复杂的病理生理过程密切相关。靶向铁死亡具有潜在的治疗价值,因为铁死亡通路在TBI后被激活并参与神经细胞死亡^[19]。网络药理学通过综合分析多个数据库,以中药药效理论为基础,合理组合中药成分,确定治疗方案,这与中药“多成分、多靶点、多作用趋势”的理论一致^[20]。本研究将网络药理学方法与分子对接相结合,分析青黛治疗TBI中铁死亡相关靶点的分子机制。

通过数据库的检索,筛选出青黛的9个有效活性成分,最终得到青黛治疗颅脑损伤的重要活性成分靛玉红、 β -谷甾醇、异靛蓝、青黛酮。并筛选了5个与铁死亡相关的颅脑损伤中心基因:PPARG、EGFR、SRC、ERBB2和PARP1,作为青黛调控铁死亡治疗颅脑损伤的核心靶点。AHMADIAN M等^[21]的研究发现过氧化物酶体增殖体激活受体 γ (PPARG)是一种配体激活的转录因子,它决定了人类疾病中的脂质代谢,对铁死亡和免疫耐受至关重要。PPARG的不同下游靶基因分别介导铁死亡和细胞凋亡^[22]。表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是上皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)在细胞增殖和信号转导中的受体。EGFR信号通路在细胞生

长、增殖和分化等生理过程中起着关键作用^[23]。SUN H等^[24]发现抑制EGFR可加速软骨细胞铁死亡和ECM降解,而加入铁抑制素-1可逆转这一过程,表明EGFR在调节软骨细胞铁死亡中发挥关键作用。CIR-OTTI C等^[25]的研究表明,类固醇受体共激活剂(SRC)维持NRF2在细胞核中的定位,从而促进与氧化应激反应和铁死亡相关的NRF2靶基因的表达,激活SRC依赖的NRF2有助于抑制铁死亡。WANG C等^[26]研究发现Cdc25A通过PKM2的去磷酸化提高ErbB2水平,抑制宫颈癌细胞中依赖自噬的铁死亡,ErbB2可以作为宫颈癌治疗的靶点。同时,靛玉红抑制Src/Stat3信号通路,减少恶性胰腺癌细胞凋亡^[27],抑制EGFR的激活和EGF诱导的表皮角质细胞CDC25B基因的表达^[28]。研究发现 β -谷甾醇可通过增加PPARG的表达增强胰岛素抵抗,保护心肌细胞免受损伤,预防高血脂症^[29]。PPARG、EGFR和SRC等靶点可能与TBI的铁死亡发生发展相关,而靛玉红和 β -谷甾醇等可能抑制这些基因在TBI的表达来发挥治疗作用。KEGG富集分析结果显示,MAPK信号通路在TBI的铁死亡中至关重要。MAPK家族是一组丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可以在广泛的炎症反应中介导一系列酶促反应^[30]。有研究表明,在小胶质细胞中,NLRP3炎性小体持续释放促炎细胞因子(IL-1 β 和IL-18),能够过度激活MAPK通路中p38丝裂原活化蛋白激酶(p38/MAPK)的表达,导致损伤脑中多种促炎细胞因子的持续释放,并在TBI后导致长期认知和情绪障碍^[31]。在新生大鼠缺氧缺血模型中,TLR4-p38 MAPK通路被激活,促进促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6和IL-18的产生,同时降低谷胱甘肽过氧化物酶(GPX4)的表达,导致神经炎症和铁死亡^[32]。分子对接结果显示,青黛活性成分靛玉红、异靛蓝、 β -谷甾醇、青黛酮、靛苷与PPARG、EGFR、SRC、ERBB2、PARP1这5个核心靶点的结合能均 < -5 kcal/mol,这种结合不仅体现了青黛成分与靶点之间的高亲和力,还预示了其潜在的药理活性。靛玉红具有抗炎、抗癌和神经保护作用,已在多种实验模型中显示出对神经系统的保护作用

用^[33]。研究表明^[34],靛玉红能够通过抑制炎症因子和减轻氧化应激反应来促进脑损伤的修复。 β -谷甾醇是植物甾醇类化合物,可发挥抗炎及促进修复的作用治疗颅脑损伤^[35]。有研究发现^[36], β -谷甾醇可有效减轻 TBI 后的继发性损伤,其机制可能与抑制铁死亡途径介导的氧化应激和脂质代谢紊乱有关。LIU L 等^[37]研究发现靛苷显著减轻了神经细胞的氧化损伤,降低了炎症反应,改善了细胞存活率。此外,靛苷还通过调控抗氧化酶的表达和抑制脂质过氧化,减轻了由自由基引发的神经损伤。

综上所述,本研究鉴定出 5 个与铁死亡相关的颅脑损伤关键基因:PPARG、EGFR、SRC、ERBB2 和 PARP1;通过分子对接预测,发现青黛的异靛蓝、靛玉红、青黛酮和靛苷高度靶向这 5 个基因;基于网络药理学研究,为探索颅脑损伤的分子机制提供了新方向,揭示了潜在的治疗靶点。然而,由于中药成分的多样性和复杂的作用机制,单靠网络药理学预测存在局限性,还需进一步的体内外实验验证。

参考文献:

[1] LU Y J, JARRAHI A, MOORE N, et al. Inflammaging, cellular senescence, and cognitive aging after traumatic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2023, 180:106090.

[2] ZHAO Z A, YAN L L, WEN J, et al. Cellular and molecular mechanisms in vascular repair after traumatic brain injury: a narrative review [J]. *Burns Trauma*, 2023, 11: tkad033.

[3] TAHERI S, KARACA Z, MEHMETBEYOGLU E, et al. The role of apoptosis and autophagy in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis after traumatic brain injury (TBI)[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24):15699.

[4] ZHU X L, CHENG J, YU J T, et al. Nicotinamide mononucleotides alleviated neurological impairment via anti-neuroinflammation in traumatic brain injury[J]. *Int J Med Sci*, 2023, 20(3):307-317.

[5] ZHANG Q H, XIE J, LI G F, et al. Psoriasis treatment using indigo naturalis: progress and strategy[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 297:115522.

[6] YANG Q Y, ZHANG T, HE Y N, et al. From natural dye to herbal medicine: a systematic review of chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications of indigo naturalis[J]. *Chin Med*, 2020, 15(1):127.

[7] YANG Q Y, MA L L, ZHANG C, et al. Exploring the mechanism of indigo naturalis in the treatment of ulcerative colitis based on TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway and gut microbiota[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 674416.

[8] DAVIS C K, VEMUGANTI R. Antioxidant therapies in traumatic brain injury [J]. *Neurochem Int*, 2022, 152:

105255.

[9] LIN Y K, CHEN H W, YANG S H, et al. Protective effect of indigo naturalis extract against oxidative stress in cultured human keratinocytes[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(3):893-896.

[10] JIANG X J, STOCKWELL B R, CONRAD M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4):266-282.

[11] YOKOTE A, IMAZU N, UMENO J, et al. Ferroptosis in the colon epithelial cells as a therapeutic target for ulcerative colitis[J]. *J Gastroenterol*, 2023, 58(9):868-882.

[12] NOGALES C, MAMDOUH Z M, LIST M, et al. Network pharmacology: curing causal mechanisms instead of treating symptoms[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2):136-150.

[13] DIXON S J, OLZMANN J A. The cell biology of ferroptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(6):424-442.

[14] LIU J, KANG R, TANG D L. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis[J]. *FEBS J*, 2022, 289(22):7038-7050.

[15] ZHANG Y D, LAN J, ZHAO D X, et al. Netrin-1 upregulates GPX4 and prevents ferroptosis after traumatic brain injury via the UNC5B/Nrf2 signaling pathway[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2023, 29(1):216-227.

[16] CHENG H, WANG P F, WANG N, et al. Neuroprotection of NRF2 against ferroptosis after traumatic brain injury in mice[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(3):731.

[17] LU Y J, JARRAHI A, MOORE N, et al. Inflammaging, cellular senescence, and cognitive aging after traumatic brain injury[J]. *Neurobiol Dis*, 2023, 180:106090.

[18] XIE B S, WANG Y Q, LIN Y, et al. Inhibition of ferroptosis attenuates tissue damage and improves long-term outcomes after traumatic brain injury in mice[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25(4):465-475.

[19] LIU Y, ZHAO Z R, GUO J Q, et al. Anacardic acid improves neurological deficits in traumatic brain injury by anti-ferroptosis and anti-inflammation[J]. *Exp Neurol*, 2023, 370:114568.

[20] NOGALES C, MAMDOUH Z M, LIST M, et al. Network pharmacology: curing causal mechanisms instead of treating symptoms[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2):136-150.

[21] AHMADIAN M, SUH J M, HAH N, et al. PPAR γ signaling and metabolism: the good, the bad and the future [J]. *Nat Med*, 2013, 19(5):557-566.

[22] HAN L, BAI L L, QU C J, et al. PPARG-mediated ferroptosis in dendritic cells limits antitumor immunity[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 576:33-39.

[23] LEE, C K, WU, Y L, DING P N, et al. Impact of specific epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations and clinical characteristics on outcomes after treatment with

- EGFR tyrosine kinase inhibitors versus chemotherapy in EGFR-mutant lung cancer; a meta-analysis [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(17): 1958-1965.
- [24] SUN H, PENG G X, CHEN K H, et al. Identification of EGFR as an essential regulator in chondrocytes ferroptosis of osteoarthritis using bioinformatics, in vivo, and in vitro study[J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19975.
- [25] CIROTTI C, TADDEI I, CONTADINI C, et al. NRF2 connects Src tyrosine kinase to ferroptosis resistance in glioblastoma [J]. *Life Sci Alliance*, 2023, 7(1): e202302205.
- [26] WANG C, ZENG J, LI L J, et al. Cdc25A inhibits autophagy-mediated ferroptosis by upregulating ErbB2 through PKM2 dephosphorylation in cervical cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11): 1055.
- [27] NAM S, WEN W, SCHROEDER A, et al. Dual inhibition of Janus and Src family kinases by novel indirubin derivative blocks constitutively-activated Stat3 signaling associated with apoptosis of human pancreatic cancer cells [J]. *Mol Oncol*, 2013, 7(3): 369-378.
- [28] HSIEH W L, LIN Y K, TSAI CN, et al. Indirubin, an acting component of indigo naturalis, inhibits EGFR activation and EGF-induced CDC25B gene expression in epidermal keratinocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2012, 67(2): 140-146.
- [29] LIN F X, XU L H, HUANG M Z, et al. β -sitosterol protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via targeting PPAR γ /NF- κ B signalling [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 2679409.
- [30] CHEN Y, FANG Z M, YI X, et al. The interaction between ferroptosis and inflammatory signaling pathways [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(3): 205.
- [31] KODALI M, MADHU L N, REGER R L, et al. Intranasally administered human MSC-derived extracellular vesicles inhibit NLRP3-p38/MAPK signaling after TBI and prevent chronic brain dysfunction [J]. *Brain Behav Immun*, 2023, 108: 118-134.
- [32] ZHU K Y, ZHU X, SUN S H, et al. Inhibition of TLR4 prevents hippocampal hypoxic-ischemic injury by regulating ferroptosis in neonatal rats [J]. *Exp Neurol*, 2021, 345: 113828.
- [33] LAI J L, LIU Y H, LIU C, et al. Indirubin inhibits lps-induced inflammation via TLR4 abrogation mediated by the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 1-12.
- [34] WANG C, YANG P, WANG J, et al. Evidence and potential mechanism of action of indigo naturalis and its active components in the treatment of psoriasis [J]. *Ann Med*, 2024, 56(1): 2329261.
- [35] TANG X, YAN T, WANG S, et al. Treatment with β -sitosterol ameliorates the effects of cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing cholesterol overload, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(3): 642-649.
- [36] 杜俊凯, 关红, 李治延, 等. β -谷甾醇对创伤性脑损伤大鼠的保护作用及对铁死亡-脂质代谢途径的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2024, 24(1): 38-45.
- [37] HAUPT M, GERNER S T, BÄHR M, et al. Neuroprotective strategies for ischemic stroke-future perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4334.

收稿日期: 2024-07-29; 修回日期: 2024-09-19

(本文编辑 覃黎黎)