·论著·

银杏黄酮苷介导NR4A2/p53/Bax通路调控自噬抑制心肌细胞凋亡

李涵[1,2],魏东升[1,2],曹慧敏[1,2],吴欣悦[1,2],韩叶蕾[1,2],张哲[1,2,3]
(辽宁中医药大学 1.第一临床学院,沈阳 110847; 2.中医脏象理论及应用教育部重点实验室,沈阳 110847; 3.附属医院痰瘀论治血脉病国家中医药管理局重点研究室,沈阳 110032)

摘要 目的 探讨银杏黄酮苷减轻H9c2细胞损伤的作用机制。**方法** 将H9c2细胞分为5组:对照组、脂多糖(LPS)组、LPS+3-甲基腺嘌呤(3-MA,自噬抑制剂)组、LPS+银杏黄酮苷组和LPS+3-MA+银杏黄酮苷组。采用CCK-8法及细胞毒性检测法检测细胞活力以及细胞毒性,免疫荧光染色检测LC3表达,细胞自噬染色(MDC)检测各组心肌细胞自噬小体形成情况,流式细胞术检测细胞凋亡率,实时定量PCR检测NR4A2/p53/Bax通路表达,Western blotting检测NR4A2、p53、Bax、LC3、Beclin-1、p62、cleaved caspase-3以及Bcl-2蛋白表达。**结果** 与LPS组相比,银杏黄酮苷显著升高LC3荧光水平和MDC荧光强度,降低细胞凋亡率,上调*NR4A2* mRNA和蛋白表达,下调*p53*、*Bax* mRNA和蛋白表达,提高了LC3、Beclin-1和Bcl-2蛋白表达,同时也降低了p62、cleaved caspase-3蛋白表达($P<0.05$);3-MA自噬抑制剂的干预进一步验证银杏黄酮苷通过调控自噬,对LPS诱导的H9c2细胞凋亡具有保护作用。**结论** 银杏黄酮苷通过调控NR4A2/p53/Bax通路增强自噬通量,减轻LPS诱导的H9c2细胞凋亡,从而缓解心肌细胞损伤。

关键词 银杏黄酮苷; H9c2细胞; 自噬; 细胞凋亡
中图分类号 R285.5 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2025)04-0295-06
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250409.1651.020
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.04.002

Ginkgetin mediates the NR4A2/p53/Bax pathway to regulate autophagy and inhibit cardiomyocyte apoptosis

LI Han[1,2], WEI Dongsheng[1,2], CAO Huimin[1,2], WU Xinyue[1,2], HAN Yelei[1,2], ZHANG Zhe[1,2,3]
(1. The First Clinical College, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 2. Key Laboratory of TCM Viscera-State Theory and Applications, Ministry of Education, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 3. Key Research Laboratory of Blood Vessel Diseases Treated by Resolving Phlegm and Blood Stasis, Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

Abstract Objective To investigate the mechanism by which ginkgetin attenuates H9c2 cells injury. **Methods** H9c2 cells were divided into five groups: control, lipopolysaccharide (LPS), LPS+3-methyladenine (3-MA, an autophagy inhibitor), LPS+ginkgetin, and LPS+3-MA+ginkgetin. Cell viability and cytotoxicity were assessed using the cell CCK-8 and lactate dehydrogenase assays, respectively. Immunofluorescence staining for LC3, monodansylcadaverine staining for autophagosomes, and flow cytometry were used to measure apoptosis rates. Quantitative real-time PCR was performed to measure the expression of NR4A2/p53/Bax pathway. Western blotting was used to detect the expression of NR4A2, p53, Bax, LC3, Beclin-1, p62, cleaved caspase-3, and Bcl-2 proteins. **Results** Compared to the LPS group, ginkgetin significantly increased LC3 fluorescence levels and monodansylcadaverine fluorescence intensity, decreased apoptosis, upregulated *NR4A2*, downregulated *p53* and *Bax*, increased LC3, Beclin-1, and Bcl-2 proteins, and decreased p62 and cleaved caspase-3 ($P<0.05$). The autophagic inhibitor, 3-MA, confirmed that ginkgetin protected H9c2 cells from LPS-induced apoptosis via autophagy regulation. **Conclusion** Ginkgetin mitigated cardiomyocyte injury by enhancing autophagic flux and alleviating LPS-induced H9c2 cells apoptosis by modulating the NR4A2/p53/Bax pathway.

Keywords ginkgetin; H9c2 cell; autophagy; apoptosis

基金项目: 国家中医药管理局青年岐黄学者支持项目(20201A2180);辽宁省科技计划联合计划(基金)项目(2023-MSLH-191)
作者简介: 李涵(1999-),女,硕士研究生.
通信作者: 张哲,E-mail:pedtrainzhzh7676@163.com
收稿日期: 2024-07-30
网络出版时间: 2025-04-10 10:57:58

心血管疾病（cardiovascular diseases，CVD）是世界范围内人类死亡和过早死亡的主要原因[1]，我国CVD死亡比例高达40%[2]。虽然炎症浸润在CVD的发生发展中起重要作用，靶向调控上游炎症标志物可降低CVD的死亡率，但炎症标志物的低特异性及对下游心肌细胞损伤效应的不确定性，限制了抗炎药物的临床使用[3]。

免疫调控炎症浸润是国际CVD生物医学研究领域的前沿和热点。本课题组前期报道的*NR4A2*是急性心肌梗死超急性期免疫调控的关键基因[4]，在心肌细胞受损时能够调节自噬通量并靶向细胞凋亡[5]，从而减轻炎症浸润。研究[6]发现，*NR4A2*表达的上调能够抑制由p53/Bax通路介导的心肌细胞凋亡。因此，寻找能够调控NR4A2/p53/Bax通路的有效药物对于缓解心肌损伤至关重要，可以为CVD炎症浸润的治疗提供新方法。

银杏有极高的药用价值，银杏叶提取物具有抗氧化、抗炎和抗凋亡的作用。本研究基于细胞生物学，探讨银杏叶提取物的主要化合物银杏黄酮苷通过调控NR4A2/p53/Bax通路增强自噬通量，减轻脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）诱导的H9c2细胞凋亡的机制。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　主要材料：大鼠心肌细胞系H9c2购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.2　主要试剂：银杏黄酮苷购自上海源叶生物科技有限公司；LPS、自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤（3-methyladenine，3-MA）购自北京索莱宝科技有限公司；CCK-8试剂盒购自武汉普诺赛生命科技有限公司；细胞毒性/乳酸脱氢酶（lactic dehydrogenase，LDH）检测试剂盒购自上海碧云天生物技术股份有限公司；MDC检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司；细胞周期检测试剂盒购自爱必信（上海）生物科技有限公司；PCR扩增试剂盒购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；抗核受体亚家族4A组成员2（nuclear receptor subfamily 4 group A member 2，NR4A2）抗体购自美国Santa Cruz Biotechnology公司；抗肿瘤蛋白53（tumor protein 53，p53）抗体、抗Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2-associated X protein，Bax）抗体购自杭州景杰生物科技股份有限公司；cleaved caspase-3抗体购自美国Cell Signaling Technology公司；抗微管相关蛋白1轻链3（microtubule-associated protein 1 light chain 3，LC3）抗体、抗Beclin-1抗体、抗p62抗体购自江苏亲科生物研究中心有限公司；抗B淋巴细胞瘤-2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）抗体、抗β-actin抗体购自沈阳万类生物科技有限公司。

1.2　方法

1.2.1　H9c2细胞的培养及分组：H9c2细胞在含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素溶液的DMEM中培养，置于含有5% CO_2的37 ℃培养箱中。细胞分为5组：对照组、LPS组、LPS+3-MA组、LPS+银杏黄酮苷组和LPS+3-MA+银杏黄酮苷组。给药时间为24 h，3-MA在LPS处理前30 min加入培养基中。LPS、3-MA、银杏黄酮苷的给药浓度分别为10 μg/mL、10 μmol/L、75 μmol/L。

1.2.2　CCK-8法检测：各组细胞加入含有10 μL CCK-8溶液的100 μL高糖培养液，37 ℃培养箱中避光孵育30 min，使用酶标仪测量450 nm处的吸光度。

1.2.3　细胞毒性检测：将各组细胞的上清液转移至新的96孔板中，按照说明书使用LDH试剂盒检测细胞毒性。

1.2.4　免疫荧光（immunofluorescence，IF）染色检测LC3表达变化：H9c2细胞接种于15 mm共聚焦小皿中。各组细胞破膜、封闭后滴加LC3一抗，于4 ℃孵育过夜。滴加荧光二抗37 ℃孵育1 h，DAPI染核后封片。使用激光扫描共聚焦显微镜拍照，采用ImageJ进行统计学分析。

1.2.5　MDC染色检测自噬小体形成：细胞接种于15 mm共聚焦小皿中。各组细胞用缓冲液清洗后加入MDC Stain避光染色30 min。使用激光扫描共聚焦显微镜拍照，使用ImageJ进行统计学分析。

1.2.6　流式细胞术检测细胞凋亡：收集各组细胞，按Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒说明书操作，重悬细胞后用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.7　实时定量PCR检测：使用TRIzol法提取总RNA，反转录为cDNA，以cDNA为模板定量扩增目的基因*NR4A2*、*p53*、*Bax*与内参基因*GAPDH*。引物由北京六合华大基因科技有限公司提供。引物序列见表1。

1.2.8　Western blotting检测相关蛋白表达：采用BCA法检测蛋白浓度。采用SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白

质，随后湿转至聚偏二氟乙烯膜（polyvinylidene fluoride，PVDF）。5%脱脂奶粉室温封闭，一抗（NR4A2、p53、Bax、LC3、Beclin-1、p62、cleaved caspase-3、Bcl-2、β-actin）4 ℃摇床孵育过夜。二抗室温孵育1 h后滴加ECL显色液进行蛋白质条带显示。采用ImageJ软件分析条带灰度值。

表1　引物序列

Tab.1　Primer sequences

Gene	Primer sequence（5’ – 3’）
NR4A2	Forward：CCACGTGCACTCCAATCC
	Reverse：TAGTCAGGGTTTGCCTGGAA
p53	Forward：GCCATCTACAAGAAGTCACAACAC
	Reverse：TGTCGTCCAGATACTCAGCATAC
Bax	Forward：TTGCTACAGGGTTTCATCCAG
	Reverse：TGTTGTTGTCCAGTTCATCG
GAPDH	Forward：TCTCTGCTCCTCCCTGTTCT
	Reverse：TACGGCCAAATCCGTTCACA

1.3　统计学分析

采用SPSS 27.0及GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析，数据均以$\bar{x} \pm s$表示。多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验，$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　LPS处理浓度的确定

分别采用LPS（0、2.5、5、7.5、10、12.5 μg/mL）处理细胞24 h。CCK-8法检测结果显示，与对照组相比，LPS处理后H9c2细胞活力显著降低，并且随着LPS浓度升高细胞活力逐渐下降（$P < 0.05$）；细胞毒性检测结果显示，与对照组相比，LPS处理后H9c2细胞死亡率显著升高（$P < 0.05$）。鉴于LPS浓度为10 μg/mL时细胞活力降低至（49.71 ± 3.42）%，细胞死亡率升高至（50.57 ± 2.96）%，后续实验中选择10 μg/mL作为LPS的实验浓度。

2.2　银杏黄酮苷给药浓度的确定

本课题组前期研究[7]发现，25~75 μmol/L银杏黄酮苷给药对细胞活力和细胞毒性影响无统计学意义（$P > 0.05$）。分别采用LPS以及银杏黄酮苷（25、50、75 μmol/L）作用细胞24 h。CCK-8法和细胞毒性检测结果显示，与LPS组相比，随着银杏黄酮苷给药浓度的升高，细胞活力逐渐升高、细胞死亡率逐渐下降（$P < 0.05$），后续实验中选择75 μmol/L作为银杏黄酮苷给药浓度。

2.3　免疫荧光染色检测LC3染色结果

与对照组相比，LPS组LC3荧光斑点增多、荧光强度明显升高（$P < 0.05$）；与LPS组相比，LPS+3-MA组荧光斑点减少、荧光强度显著降低（$P < 0.05$），LPS+银杏黄酮苷组荧光斑点增多、荧光强度明显升高（$P < 0.05$）；与LPS+3-MA组相比，LPS+3-MA+银杏黄酮苷组荧光斑点增多、荧光强度明显升高（$P < 0.05$）。见图1、表2。

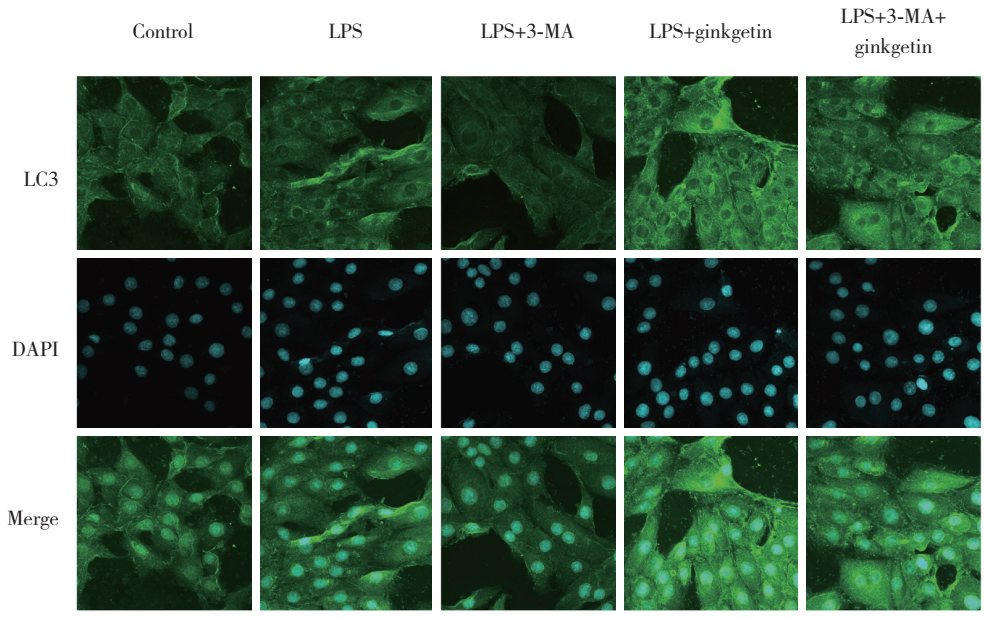


图1　各组H9c2细胞LC3免疫荧光染色 × 600

Fig.1　LC3 immunofluorescence staining of H9c2 cells in various groups × 600

表2　各组H9c2细胞LC3免疫荧光染色、MDC荧光染色以及流式细胞术检测结果（$\bar{x} \pm s$，%，$n = 3$）

Tab.2　LC3 immunofluorescence staining，MDC fluorescence staining，and flow cytometry analysis results in H9c2 cells of various groups（$\bar{x} \pm s$，%，$n = 3$）

Group	LC3 level	Autophagosome level	Apoptosis rate
Control	0.35 ± 0.14	0.29 ± 0.06	14.61 ± 1.96
LPS	2.22 ± 0.27[1)]	2.26 ± 0.21[1)]	32.68 ± 1.60[1)]
LPS+3-MA	0.02 ± 0.01[2)]	0.02 ± 0.01[2)]	41.02 ± 2.00[2)]
LPS+ginkgetin	12.50 ± 0.93[2)]	9.89 ± 0.99[2)]	19.98 ± 1.69[2)]
LPS+3-MA+ginkgetin	7.25 ± 1.00[3)]	5.42 ± 0.45[3)]	24.73 ± 1.95[3)]

1）$P < 0.05$ vs. control group；2）$P < 0.05$ vs. LPS group；3）$P < 0.05$ vs. LPS+3-MA group.

2.4　MDC染色检测自噬小体结果

与对照组相比，LPS组自噬小体明显增多（$P < 0.05$）；与LPS组相比，LPS+3-MA组自噬小体显著降低（$P < 0.05$），LPS+银杏黄酮苷组自噬小体明显增多（$P < 0.05$）；与LPS+3-MA组相比，LPS+3-MA+银杏黄酮苷组明显逆转3-MA所诱导的自噬抑制，自噬小体表达明显升高（$P < 0.05$）。见表2、图2。

2.5　流式细胞术检测细胞凋亡结果

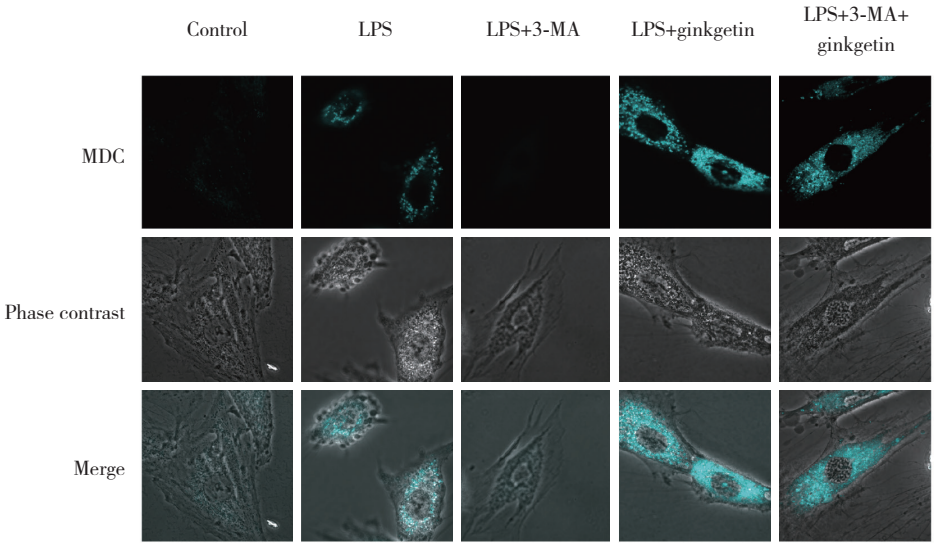
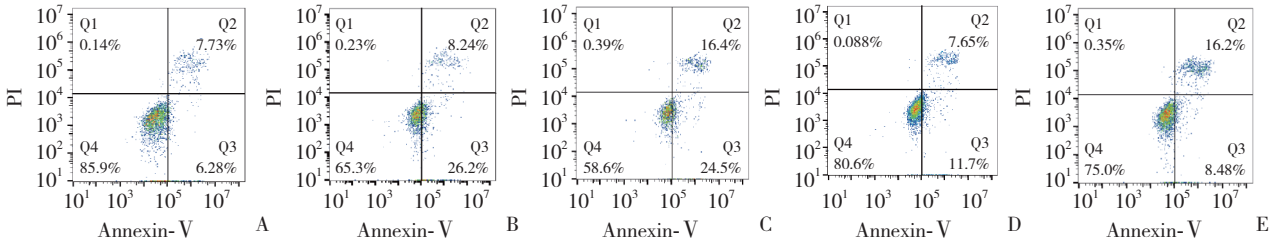


图2　各组H9c2细胞MDC荧光染色 × 1 200

Fig.2　MDC fluorescent staining of H9c2 cells in various groups × 1 200

与对照组相比，LPS组细胞凋亡率明显升高（$P < 0.05$）；与LPS组相比，LPS+3-MA组细胞凋亡率显著升高（$P < 0.05$），LPS+银杏黄酮苷组细胞凋亡率显著降低（$P < 0.05$）；与LPS+3-MA组相比，LPS+3-MA+银杏黄酮苷组明显逆转3-MA所诱导的细胞凋亡，细胞凋亡率显著降低（$P < 0.05$）。见表2、图3。



A，control group；B，LPS group；C，LPS+3-MA group；D，LPS+ginkgetin group；E，LPS+3-MA+ginkgetin group.

图3　各组H9c2细胞流式细胞术检测结果

Fig.3　Flow cytometry analysis of H9c2 cells in various groups

2.6　实时定量PCR检测各组*NR4A2*、*p53*、*Bax* mRNA表达情况

与对照组相比，LPS组*NR4A2*、*p53*、*Bax* mRNA表达明显升高($P<0.05$)；与LPS组相比，LPS+3-MA组*NR4A2*表达明显降低，*p53*、*Bax*表达显著升高($P<0.05$)；与LPS组相比，LPS+银杏黄酮苷组*NR4A2*表达明显升高，*p53*、*Bax*表达显著降低($P<0.05$)；与LPS+3-MA组相比，LPS+3-MA+银杏黄酮苷组*NR4A2*表达明显升高，*p53*、*Bax*表达显著降低($P<0.05$)。见表3。

2.7　Western blotting检测各组相关蛋白表达情况

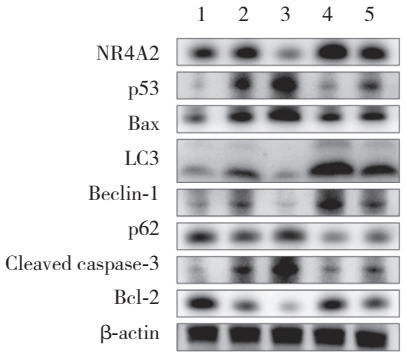
表3　实时定量PCR检测各组*NR4A2*、*p53*、*Bax* mRNA表达情况 ($\bar{x}\pm s$，$n=3$)

Tab.3　Quantitative real-time PCR analysis of *NR4A2*，*p53*，and *Bax* mRNA expression in each group ($\bar{x}\pm s$，$n=3$)

Group	*NR4A2*	*p53*	*Bax*
Control	1.03 ± 0.02	1.01 ± 0.01	1.01 ± 0.02
LPS	1.32 ± 0.07[1)]	1.65 ± 0.11[1)]	1.53 ± 0.06[1)]
LPS+3-MA	0.75 ± 0.07[2)]	1.92 ± 0.05[2)]	2.19 ± 0.08[2)]
LPS+ginkgetin	1.78 ± 0.08[2)]	1.22 ± 0.03[2)]	1.16 ± 0.06[2)]
LPS+3-MA+ginkgetin	1.53 ± 0.07[3)]	1.46 ± 0.06[3)]	1.38 ± 0.03[3)]

1) $P<0.05$ vs. control group; 2) $P<0.05$ vs. LPS group; 3) $P<0.05$ vs. LPS+3-MA group.

与对照组相比，LPS组NR4A2、p53、Bax、LC3、Beclin-1、cleaved caspase-3蛋白表达明显升高，p62、Bcl-2表达显著降低($P<0.05$)；与LPS组相比，LPS+3-MA组NR4A2、LC3、Beclin-1、Bcl-2蛋白表达明显降低，p53、Bax、p62、cleaved caspase-3蛋白表达明显升高($P<0.05$)；与LPS组相比，LPS+银杏黄酮苷组NR4A2、LC3、Beclin-1、Bcl-2蛋白表达明显升高，p53、Bax、p62、cleaved caspase-3蛋白表达明显降低($P<0.05$)；与LPS+3-MA组相比，LPS+3-MA+银杏黄酮苷组NR4A2、LC3、Beclin-1、Bcl-2蛋白表达明显升高，p53、Bax、p62、cleaved caspase-3蛋白表达明显降低($P<0.05$)。见图4、表4。



1, control group; 2, LPS group; 3, LPS+3-MA group; 4, LPS+ginkgetin group; 5, LPS+3-MA+ginkgetin group.

图4　Western blotting检测各组相关蛋白表达

Fig.4　Western blotting analysis of the related protein expression in each group

表4　各组NR4A2、p53、Bax、LC3、Beclin-1、p62、cleaved caspase-3、Bcl-2蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$，$n=3$)

Tab.4　Protein expression levels of NR4A2，p53，Bax，LC3，Beclin-1，p62，cleaved caspase-3，and Bcl-2 in various groups ($\bar{x}\pm s$，$n=3$)

Group	NR4A2	p53	Bax	LC3	Beclin-1	p62	Cleaved caspase-3	Bcl-2
Control	1.02 ± 0.02	1.02 ± 0.03	0.99 ± 0.04	1.01 ± 0.08	1.02 ± 0.07	1.03 ± 0.06	1.03 ± 0.06	1.03 ± 0.06
LPS	1.25 ± 0.04[1)]	7.54 ± 0.32[1)]	1.85 ± 0.09[1)]	2.38 ± 0.16[1)]	1.71 ± 0.03[1)]	0.81 ± 0.06[1)]	0.81 ± 0.06[1)]	0.49 ± 0.04[1)]
LPS+3-MA	0.55 ± 0.10[2)]	10.31 ± 0.71[2)]	2.72 ± 1.34[2)]	0.58 ± 0.09[2)]	0.45 ± 0.05[2)]	1.24 ± 0.10[2)]	1.24 ± 0.10[2)]	0.15 ± 0.03[2)]
LPS+ginkgetin	1.83 ± 0.09[2)]	2.07 ± 0.59[2)]	1.54 ± 0.08[2)]	5.41 ± 0.46[2)]	2.64 ± 0.07[2)]	0.45 ± 0.10[2)]	0.45 ± 0.10[2)]	0.88 ± 0.06[2)]
LPS+3-MA+ginkgetin	1.45 ± 0.08[3)]	6.15 ± 0.22[3)]	1.78 ± 0.08[3)]	3.69 ± 0.20[3)]	1.84 ± 0.12[3)]	0.70 ± 0.06[3)]	0.70 ± 0.06[3)]	0.60 ± 0.06[3)]

1) $P<0.05$ vs. control group; 2) $P<0.05$ vs. LPS group; 3) $P<0.05$ vs. LPS+3-MA group.

3　讨论

银杏叶具有良好的抗炎和免疫调节作用，在周围血管疾病及神经系统疾病治疗中广泛应用[8]，但其有关心肌细胞损伤的影响和相关机制仍有待探究。本研究采用LPS模拟炎症浸润诱导心肌细胞损伤模型，探讨银杏黄酮苷对心肌细胞损伤的疗效和作用机制。

在CVD中，适应性自噬可降解受损的细胞组分以回收营养物质和代谢物。Beclin-1在自噬起始和成核过程中充当蛋白组合支架，标志着自噬流的启动[9]。自噬启动之后，p62与自噬体膜表面LC3-Ⅱ结合，并在自噬–溶酶体内发生降解[10]。自噬的激活可靶向细胞凋亡保护心肌细胞免受内源无菌性炎症浸润的影响[11]。caspase级联反应为细胞凋亡执行的重要程序，由抗凋亡因子Bcl-2和促凋亡因子Bax共同调节启动[12]。本研究中LPS组细胞活力下降、LDH漏出增加，细胞损伤后自噬被阻断，细胞凋亡被过度诱导。银杏黄酮苷给药后自噬小体、LC3、Beclin-1和Bcl-2表达升高，细胞凋亡率下降，p62、cleaved caspase 3表达下调。提示银杏黄酮苷能有效提高自噬通量，抑制细胞凋亡，从而对细胞损伤发挥治疗功效。除此之外，3-MA的干预进一步验证了银杏黄酮苷对心肌细胞的保护作用。

自噬是一种原始免疫机制，可以通过免疫细胞的效应输出调节炎症浸润[13]。*NR4A2*是免疫调控的关键基因，可通过调节自噬通量保护受损心肌[4]。*p53*是*NR4A2*常见的下游因子[14]，可诱导细胞凋亡响应DNA损伤[15]。本研究中LPS组*NR4A2*、*p53*以及*Bax*的mRNA和蛋白表达显著升高，这是LPS处理后导致心肌细胞损伤，进而同时激活自噬和凋亡2种细胞死亡机制。银杏黄酮苷给药后，*NR4A2*表达上调，而*p53*以及*Bax*表达下调，表明银杏黄酮苷通过介导NR4A2/p53/Bax途径缓解心肌细胞损伤。

综上所述，银杏黄酮苷通过调控NR4A2/p53/Bax通路增强自噬通量，减轻LPS诱导的H9c2细胞凋亡，从而缓解心肌细胞损伤。银杏黄酮苷具有减轻炎症浸润和心肌细胞损伤的治疗潜力，为CVD急性炎症期的治疗提供了新方法，同时也提示临床工作者，在应对人类多种疾病的急性炎症期时，可以基于自噬探索新的免疫疗法。

参考文献：

[1] GAIDAI O，CAO Y，LOGINOV S. Global cardiovascular diseases death rate prediction [J]. Curr Probl Cardiol，2023，48（5）：101622. DOI：10.1016/j.cpcardiol.2023.101622.

[2] THE WCOTROCHADIC. Report on cardiovascular health and diseases in China 2022：an updated summary [J]. Biomed Environ Sci，2023，36（8）：669-701. DOI：10.3967/bes2023.106.

[3] HENEIN MY，VANCHERI S，LONGO G，et al. The role of inflammation in cardiovascular disease [J]. Int J Mol Sci，2022，23（21）：12906. DOI：10.3390/ijms232112906.

[4] WEI DS，QI JJ，WANG YX，et al. NR4A2 may be a potential diagnostic biomarker for myocardial infarction：a comprehensive bioinformatics analysis and experimental validation [J]. Front Immunol，2022，13：1061800. DOI：10.3389/fimmu.2022.1061800.

[5] YU YF，LI ZL，CAI YQ，et al. Vascular endothelial cell-derived exosomal sphingosylphosphorylcholine attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury through NR4A2-mediated mitophagy [J]. Int J Mol Sci，2024，25（6）：3305. DOI：10.3390/ijms25063305.

[6] LIU HH，LIU PP，SHI XX，et al. NR4A2 protects cardiomyocytes against myocardial infarction injury by promoting autophagy [J]. Cell Death Discov，2018，4：27. DOI：10.2147/jjr.s491535.

[7] LI H，WEI DS，CAO HM，et al. Bioinformatics-based exploration of the ability of Ginkgetin to alleviate the senescence of cardiomyocytes after myocardial infarction of its cardioprotective effects [J]. J Inflamm Res，2025，18：301-323. DOI：10.2147/jir.s491535.

[8] LI YN，SHENG Y，LIU JY，et al. Hair-growth promoting effect and anti-inflammatory mechanism of Ginkgo biloba polysaccharides [J]. Carbohydr Polym，2022，278：118811. DOI：10.1016/j.carbpol.2021.118811.

[9] KAUR S，CHANGOTRA H. The beclin 1 interactome：modification and roles in the pathology of autophagy-related disorders [J]. Biochimie，2020，175：34-49. DOI：10.1016/j.biochi.2020.04.025.

[10] FILOMENI G，DE ZIO D，CECCONI F. Oxidative stress and autophagy：the clash between damage and metabolic needs [J]. Cell Death Differ，2015，22（3）：377-388. DOI：10.1038/cdd.2014.150.

[11] PRERNA K，DUBEY VK. Beclin1-mediated interplay between autophagy and apoptosis：new understanding [J]. Int J Biol Macromol，2022，204：258-273. DOI：10.1016/j.ijbiomac.2022.02.005.

[12] LIU PF，HU YC，KANG BH，et al. Expression levels of cleaved caspase-3 and caspase-3 in tumorigenesis and prognosis of oral tongue squamous cell carcinoma [J]. PLoS One，2017，12（7）：e0180620. DOI：10.1371/journal.pone.0180620.

[13] DERETIC V. Autophagy in inflammation，infection，and immunometabolism [J]. Immunity，2021，54（3）：437-453. DOI：10.1016/j.immuni.2021.01.018.

[14] BEARD JA，TENGA A，HILLS J，et al. The orphan nuclear receptor NR4A2 is part of a p53-microRNA-34 network [J]. Sci Rep，2016，6：25108. DOI：10.1038/srep25108.

[15] MACLELLAN WR，SCHNEIDER MD. Death by design. Programmed cell death in cardiovascular biology and disease [J]. Circ Res，1997，81（2）：137-144. DOI：10.1161/01.res.81.2.137.

（编辑　于　溪）