

苍术醇提物对急性肺损伤大鼠铁死亡及 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路的影响

严世豪¹, 石坤^{1*}, 温佳文¹, 张金莲¹, 龚文慧¹, 辛力¹, 张文¹, 李志强²

(1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004; 2. 江西省景德镇市第二人民医院, 江西 景德镇 333000)

摘要: **目的** 探讨苍术醇提物通过抑制铁死亡对急性肺损伤 (ALI) 大鼠的改善作用。**方法** 将 50 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、Fer-1 组 (铁死亡抑制剂, 10 mg/kg) 和苍术醇提物低、高剂量组 (341.7、2 517.4 mg/kg), 每组 10 只, 灌胃给药 7 d 后, 除空白组气管滴注无菌 PBS 外, 其余各组均气管滴注 LPS (5 mg/kg) 建立 ALI 模型, 12 h 后处死大鼠, 收集肺泡灌洗液与肺组织。ELISA 法检测肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平和肺组织 Fe²⁺、Fe³⁺、MDA、4-HNE、GSH 水平和 SOD 活性; HE 染色观察肺部病理变化; 化学荧光法检测肺组织 ROS 水平; RT-qPCR、Western blot 和免疫组化法检测肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 mRNA 和蛋白表达。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高 ($P < 0.01$); 肺组织出现明显肺泡萎缩、肺泡壁增厚以及炎症浸润的情况; 肺组织 SOD 活性和 GSH 水平降低 ($P < 0.05$), ROS、MDA、4-HNE、Fe²⁺、Fe³⁺ 水平升高 ($P < 0.05$); 肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白及 mRNA 表达均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 苍术醇提物高剂量组和 Fer-1 组大鼠肺泡灌洗液 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P < 0.05$); 肺组织病理损伤情况得到改善; 肺组织 SOD 活性和 GSH 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), ROS、MDA、4-HNE、Fe²⁺、Fe³⁺ 水平降低 ($P < 0.05$); 苍术醇提物高剂量组肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白及 mRNA 表达均升高 ($P < 0.05$)。**结论** 苍术醇提物可能通过调控 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路来抑制铁死亡过程, 从而改善大鼠急性肺损伤。

关键词: 苍术; 醇提物; 急性肺损伤; 铁死亡; 炎症因子; 氧化应激; Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)02-0416-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.009

Effects of ethanolic extract of *Atractylodes Rhizoma* on ferroptosis and Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway in rats with acute lung injury

YAN Shi-hao¹, SHI Kun^{1*}, WEN Jia-wen¹, ZHANG Jin-lian¹, GONG Wen-hui¹, XIN Li¹, ZHANG Wen¹, LI Zhi-qiang²

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. The Second People's Hospital of Jingdezhen, Jingdezhen 333000, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the ameliorative effect of ethanolic extract of *Atractylodes Rhizoma* on acute lung injury (ALI) rats by inhibiting ferroptosis. **METHODS** Fifty male SD rats were randomly divided into blank group, model group, low-dose and high-dose groups of ethanolic extract of *Atractylodes Rhizoma* (341.7 and 2 517.4 mg/kg) and Fer-1 group (ferroptosis inhibitor, 10 mg/kg), with 10 rats in each group. After 7 days of intragastric administration, the ALI model was established by intratracheal instillation of LPS (5 mg/kg) except for sterile PBS in blank group. The rats were sacrificed 12 hours later, and the alveolar lavage fluid and lung tissue were collected. The levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in alveolar lavage fluid and the levels of Fe²⁺, Fe³⁺, MDA, 4-HNE, GSH and SOD activity in lung tissue were detected by ELISA; HE staining was used to observe the pathological changes of lung; ROS levels in lung tissue were detected by chemical fluorescence method; RT-qPCR, Western blot and immunohistochemistry were used to detect the mRNA and protein expressions of Nrf2, SLC7A11

收稿日期: 2025-02-06

基金项目: 江西省中医药管理局科技计划项目 (2024A0153); 江西中医药大学博士科研启动基金 (2024BSZR053)

作者简介: 严世豪, 男, 硕士在读, 从事中药炮制及药理机制研究。E-mail: 1097973577@qq.com

*通信作者: 石坤, 男, 博士, 副教授, 从事中药炮制及药理机制研究。E-mail: s1062033640@163.com

and GPX4 in lung tissue. **RESULTS** Compared with the blank group, the levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in the alveolar lavage fluid of the model group were increased ($P < 0.01$); the lung tissue showed obvious alveolar atrophy, alveolar wall thickening and inflammatory infiltration; the SOD activity and GSH level in lung tissue decreased ($P < 0.05$), while the levels of ROS, MDA, 4-HNE, Fe²⁺, Fe³⁺ increased ($P < 0.05$); the protein and mRNA expressions of Nrf2, SLC7A11, GPX4 in lung tissue were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the levels of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in alveolar lavage fluid of rats in the high-dose ethanolic extract of *Atractylodis Rhizoma* group and Fer-1 group were decreased ($P < 0.05$); the pathological injury of lung tissue was improved; SOD activity and GSH level in lung tissue increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while ROS, MDA, 4-HNE, Fe²⁺, Fe³⁺ levels decreased ($P < 0.05$); the protein and mRNA expressions of Nrf2, SLC7A11, GPX4 in lung tissue of high-dose ethanolic extract of *Atractylodis Rhizoma* group were increased ($P < 0.05$). **CONCLUSION** The ethanolic extract of *Atractylodis Rhizoma* may inhibit the process of ferroptosis by regulating the Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway, thereby improving acute lung injury in rats.

KEY WORDS: *Atractylodis Rhizoma*; ethanolic extract; acute lung injury; ferroptosis; inflammatory factors; oxidative stress; Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 作为临床常见的肺部疾病, 以肺泡水肿、炎性浸润和肺泡通透性增加为特征^[1-2]。目前有关 ALI 的治疗手段主要包括机械通气治疗、药物治疗等^[3-4], 具有不同程度的副作用及费用昂贵等问题, 因此, 急需寻求疗效好、副作用低的药物。ALI 发病机制复杂, 涉及细胞死亡、氧化应激等多个方面^[5]。其中, 铁死亡作为一种新型细胞死亡方式, 其标志是脂质过氧化和铁离子超载^[6]。当细胞内铁离子超载, 通过芬顿反应产生 ROS, 促进脂质的过氧化, 最终诱发铁死亡, 而 Nrf2 作为关键的抗氧化靶点, 可以通过激活其下游蛋白 GPX4 和 SLC7A11 的表达来减轻氧化应激反应。大量研究表明, 铁死亡与 ALI 的发生和发展密切相关^[7-9]。

中医认为“肺失宣降, 肺不主气”是 ALI 的病机基础^[10], 而“痰湿瘀闭”是 ALI 加重的因素^[11], 故常采用“化痰利湿”的治疗策略。苍术为燥湿健脾要药, 能够燥湿而宣化痰饮, 也常用于治疗肺病^[12-13]。现代药理研究表明, 其具有抗炎、抗氧化作用^[14-15]。课题组前期研究证明, 苍术可促进 Nrf2 表达改善氧化应激^[16], 但苍术能否通过 Nrf2 调控铁死亡改善 ALI, 还需进一步的研究。因此, 本研究基于 Nrf2/SLC7A11/GPX4 轴深入探究苍术调节铁死亡改善 ALI 的作用, 以期苍术临床的合理应用提供依据。

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级雄性健康 SD 大鼠 50 只, 6 周龄, 体质量 (180 \pm 20) g, 购自江西中医药大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK

(赣) 2023-0001, 实验动物使用许可证号 SYXK (赣) 2022-0002], 饲养于温度 (23 \pm 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 50% ~ 70%, 12 h/12 h 昼夜交替的实验环境, 自由饮食、饮水。本实验经江西中医药大学实验动物伦理审查委员会批准 (伦理审查批号 20240411001)。

1.2 药物与试剂 苍术 (批号 202108322) 购自湖北天济中药饮片有限公司, 经江西中医药大学葛菲教授鉴定为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 的干燥根茎。铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 (Fer-1, 批号 SML0583) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.3 试剂 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ELISA 检测试剂盒 (货号 RK00029、RK00009、RK00020) 均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司; MDA、SOD、GSH 检测试剂盒、脂多糖 (LPS)、羊抗兔 IgG-HRP、羊抗鼠 IgG-HRP、ECL Plus 超敏发光液 (货号为 BC0025、BC0175、BC1175、L8880、SE134、SE131、PE0010) 均购自北京索莱宝有限公司; Fe²⁺、ROS 试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 E-BC-K028-M、E-BC-F005、E-BC-K318-M) 均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; TRIzol 裂解液 (货号 R0016) 购自上海碧云天生物科技股份有限公司; RIPA 裂解液 (货号 G2002) 购自武汉赛维尔生物科技股份有限公司; 通用型 PCR 检测试剂盒、两步法 RT-PCR 选用试剂盒 (货号 Q711-02/03、R223-01) 均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; β -actin、Nrf2 抗体 (货号 3700S、20733T) 均购自美国 Cell Signaling Technology 公

司; SLC7A11、GPX4 抗体 (货号 ab307601、ab252833) 均购自英国 Abcam 公司。

1.4 仪器 CPA225D 十万分之一电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); Legend Micro 17R 高速低温离心机、BG-gdsAUTO (130) 凝胶成像系统 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); DYY-6C 电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); Tanon-5200 型显影仪 (上海天能科技有限公司); FLX800T 酶标仪 (美国 BioTek 公司); W IX-miniPRO4 型垂直电泳槽、W IX-miniBLOT 型转印槽 [韦克斯科技 (北京) 有限公司]; CFX CONNECT 型实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 仪 (美国 Bio-Rad 公司); KZ-III-F 低温高速组织研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); SCIENTZ-12N 冷冻干燥机 (宁波新芝生物科技股份有限公司)。

2 方法

2.1 苍术醇提物制备 根据 2020 版《中国药典》规定, 临床上苍术给药量为 3~9 g, 通过人与鼠用药换算系数计算出大鼠给药剂量为 925.5 mg/kg, 根据实验室前期关于苍术的研究和预实验结果, 设低剂量组给药剂量为 925.5 mg/kg, 高剂量组给药剂量为 7 404 mg/kg, Ferrostain-1 (Fer-1) 组给药剂量为 10 mg/kg^[17]。

取生苍术饮片 100 g, 粉碎后过三号筛, 置于 2 000 mL 的烧杯中, 加入 10 倍量 80% 乙醇, 浸泡过夜, 次日超声提取, 每次 2 h, 共提取 3 次, 合并所有的提取液, 用旋转蒸发仪进行浓缩, 采用低温真空干燥机冷冻干燥, 于 -20 ℃ 保存, 得率为 34.0%。根据醇提物的得率, 换算得到最终低、高剂量组给药剂量分别为 341.7、2 517.4 mg/kg。

2.2 分组、造模及给药 将 50 只大鼠随机分为空白组、模型组、Fer-1 组 (10 mg/kg) 和苍术醇提物低、高剂量组 (341.7、2 517.4 mg/kg), 每组 10 只, 适应性喂养 1 周后, 除空白组和模型组灌胃给予生理盐水外, 其余各组均灌胃给予相对应的药物 7 d。末次给药 2 h 后, 除空白组气管滴注无菌 PBS 外, 其余各组均气管滴注 LPS (5 mg/kg) 建立急性肺损伤模型, 12 h 后处死大鼠^[18]。

2.3 样本采集 大鼠处死后结扎右肺, 然后对左肺进行肺泡灌洗, 取 6 mL 生理盐水分 3 次注入左肺, 反复冲洗并回收 3 次灌洗液, 使回收率达 90%, 将肺泡灌洗液在 4 ℃、3 000 r/min 条件下离心 5 min, 吸取上清液, 分装至 EP 管中, 置于 -80 ℃ 冰箱保存备用。剩余肺组织置于 -80 ℃ 中保

存备用。

2.4 HE 染色观察肺组织病理形态 取各组大鼠右肺中叶, 置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 用乙醇梯度脱水处理, 脱水后浸蜡, 使用包埋机包埋, 切片机切薄片, 脱蜡处理后分别使用苏木精和伊红进行细胞核和细胞质的染色, 于光学显微镜下观察肺组织结构变化。

2.5 肺泡灌洗液中炎症因子水平检测 取肺泡灌洗液上清液, 根据 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

2.6 肺组织 Fe²⁺、Fe³⁺、MDA、4-HNE、GSH 水平和 SOD 活性检测 称取肺组织 30 mg, 将肺组织剪碎, 加入 9 倍量 PBS, 在低温研磨仪中进行研磨, 将匀浆液于 5 000 r/min 下离心 5~10 min, 取上清液, 按试剂盒说明书进行检测。

2.7 肺组织中 ROS 水平检测 取肺新鲜组织, 在离体 2 h 内制备未经固定的新鲜冰冻切片, 厚度 10 μ m, 于 -20 ℃ 下避光保存, 冰冻切片按照 ROS 检测试剂盒说明书步骤操作, 依次进行清洗工作液清洗片、染色工作液染色、37 ℃ 温箱避光孵育、移除染色液、PBS 洗片、甘油封片, 在荧光显微镜下定性对比 ROS 荧光强度。

2.8 RT-qPCR 法检测肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11*、*GPX4* mRNA 表达 取 30 mg 肺组织样本, 加入 TRIzol 试剂充分裂解, 再加入 200 μ L 氯仿, 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液再加入等量异丙醇振荡混匀, 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min, 弃去上清液, 加入 1 mL 75% 乙醇, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 室温挥干, 加入 DEPC 水溶解^[16]。之后根据一步法逆转录试剂及扩增试剂盒说明书操作。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	长度/bp
<i>β-actin</i>	正向 CACGATCGAGGGGCGGACTCATC	240
	反向 TAAAGACCTCTATGCCAACACAGT	
<i>Nrf2</i>	正向 ACCTAAAGCACAGCCAACA	347
	反向 TCTTCCCTCTCTGCGTAT	
<i>SLC7A11</i>	正向 AATACGGAGCCTTCCAGGAG	86
	反向 CTCCAGGGGCACTCAGTTAG	
<i>GPX4</i>	正向 ATTCCCGAGCCTTTCAACC	182
	反向 ACGCAACCCCTGTACTTATCC	

2.9 免疫组化法检测肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11*、*GPX4* 蛋白表达 取各组大鼠右肺中叶组织切片, 脱石蜡后, 进行抗原修复和内源性过氧化物酶阻

断,采用血清进行封闭处理,之后分别加相应的一抗(1:1 000)和二抗(1:5 000)共孵育,染色后在光学显微镜下进行观察。

2.10 Western blot 法检测肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白表达 称取肺组织适量,加入含有磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液,在低温研磨仪中研磨至没有明显的固体组织,离心后取上清液,用双喹啉酸(BCA)试剂盒测定蛋白质浓度。选择 10% SDS-PAGE 凝胶进行电泳分离,湿转法转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜中,用含有 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液封闭 2 h,用 TBST 溶液洗涤 3 次,加入一抗于 4 ℃ 冰箱中孵育过夜。次日,用 TBST 溶液洗涤 3 次,加入二抗室温孵育 2 h,用 TBST 溶液洗涤 3 次后,与 ECL 化学发光检测试剂结合进行目的蛋白的检测,最后使用 Image J 软件进行灰度

表 2 各组大鼠肺泡灌洗液中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平比较 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=10)

Tab. 2 Comparison of TNF-α, IL-1β and IL-6 levels in alveolar lavage fluid of rats in each group (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	TNF-α	IL-1β	IL-6
空白组	24.97±4.38	14.24±4.42	29.61±6.65
模型组	185.35±8.34 ^{##}	117.56±6.23 ^{##}	285.56±6.01 ^{##}
苍术醇提取物低剂量组	168.49±4.68	114.79±6.76	254.27±7.05
苍术醇提取物高剂量组	66.26±9.69 [*]	61.92±3.44 [*]	48.25±2.91 [*]
Fer-1 组	66.03±7.43 [*]	58.87±6.17 [*]	57.06±6.18 [*]

注:与空白组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

3.2 苍术醇提取物对 ALI 大鼠肺组织病理结构的影响 空白组大鼠肺组织结构完整清晰,肺泡腔内无渗出物,肺间质无水肿,肺泡间隔均匀且光滑未见明显的病理变化和炎性细胞浸润。与空白组比较,模型组大鼠肺组织形态明显出现异常,肺泡壁增厚,肺泡萎缩,上皮细胞出现变性、坏死,腔内见坏死细胞及大量渗出物,病变处结构不清晰,出现

值分析^[19]。

2.11 统计学分析 通过 Graphpad Prism 8.0 软件进行处理,实验数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析,若方差齐时采用最小显著性差异法(LSD)法,方差不齐时采用 Dunnett's T3 进行分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 苍术醇提取物对 ALI 大鼠肺泡灌洗液中炎症因子水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠肺泡灌洗液中炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平均升高 ($P<0.01$);与模型组比较,苍术醇提取物高剂量组和 Fer-1 组大鼠肺泡灌洗液中 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平均降低 ($P<0.05$),说明苍术醇提取物能够有效减轻急性肺损伤大鼠的肺部炎症,见表 2。

炎性细胞浸润。给药组大鼠肺部病理结构有不同程度的好转,其中苍术醇提取物高剂量组在减轻大鼠肺部炎症浸润、降低肺泡萎缩以及增厚肺泡壁方面效果最好,病理结构跟空白组最为接近,说明苍术醇提取物能够有效改善 ALI 大鼠的肺部病理改变。结果见图 1。

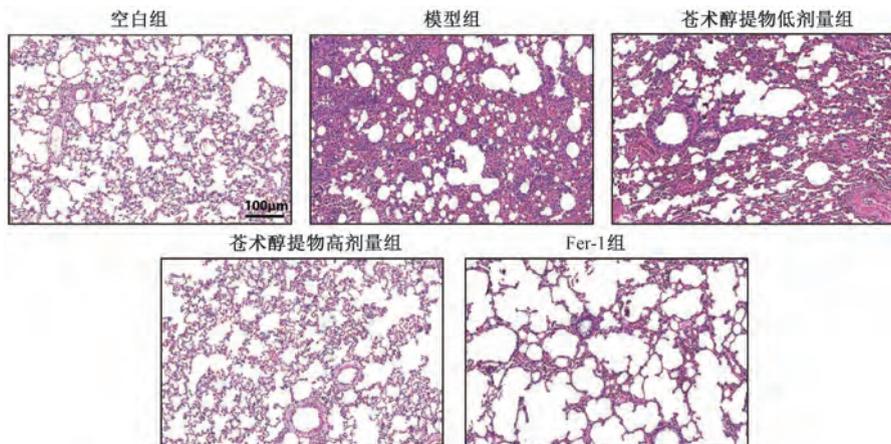


图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色 (×100)

Fig. 1 HE staining of lung tissue of rats in each group (×100)

3.3 苍术醇提取物对ALI大鼠肺组织ROS水平的影响 与空白组比较,模型组大鼠肺组织ROS水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,苍术醇提取物高剂量组和Fer-1组大鼠肺组织ROS水平降低 ($P<0.05$),提示苍术醇提取物能够减少ALI大鼠肺部ROS的积累,见表3、图2。

3.4 苍术醇提取物对ALI大鼠肺组织氧化应激反应的影响 与空白组比较,模型组大鼠肺组织4-HNE、MDA水平升高 ($P<0.05$),SOD活性和GSH水平降低 ($P<0.05$);与模型组比较,苍术醇提取物高剂量组和Fer-1组大鼠肺组织4-HNE、MDA水平降低 ($P<0.05$),SOD活性和GSH水平

升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),说明苍术醇提取物能够通过减少脂质过氧化来缓解ALI大鼠肺部的氧化应激反应,见表4。

表3 各组大鼠肺组织ROS水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.3 Comparison of ROS levels in lung tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	ROS
空白组	1.00±0.03
模型组	9.89±1.25 [#]
苍术醇提取物低剂量组	6.43±1.21
苍术醇提取物高剂量组	1.56±0.69 [*]
Fer-1组	1.63±0.43 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

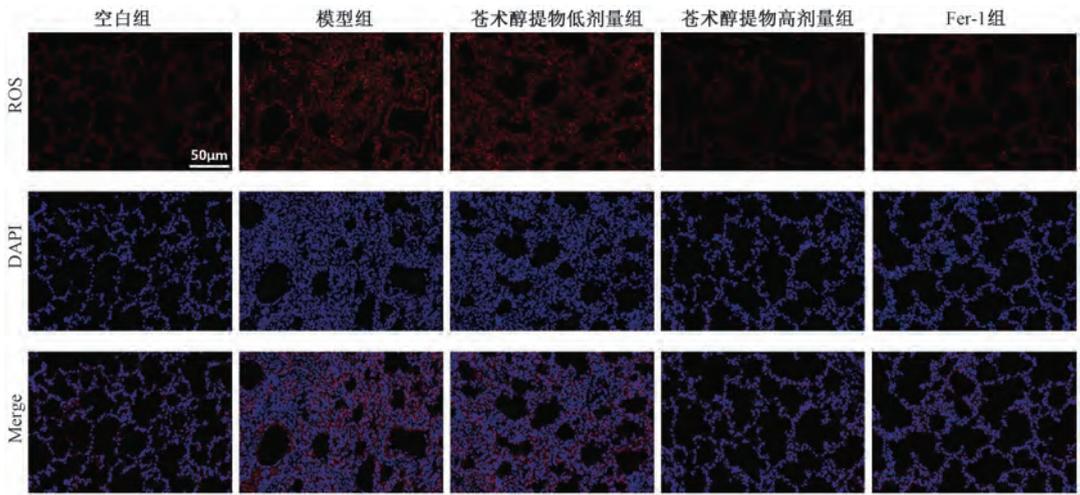


图2 各组大鼠肺组织ROS免疫荧光 ($\times 200$)

Fig.2 ROS immunofluorescence in lung tissue of rats in each group ($\times 200$)

表4 各组大鼠肺组织4-HNE、MDA、GSH水平和SOD活性比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.4 Comparison of 4-HNE, MDA, GSH levels and SOD activity in lung tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	4-HNE/(nmol·g ⁻¹)	MDA/(nmol·g ⁻¹)	GSH/(µg·g ⁻¹)	SOD/(U·g ⁻¹)
空白组	21.26±4.51	24.38±3.74	75.66±8.23	63.16±2.83
模型组	38.66±5.84 [#]	31.99±4.33 [#]	48.12±4.91 [#]	28.67±2.74 [#]
苍术醇提取物低剂量组	39.05±7.34	29.89±6.76	54.40±8.75	27.95±7.30
苍术醇提取物高剂量组	22.02±3.89 [*]	24.01±3.28 [*]	82.77±5.22 ^{**}	63.89±4.56 [*]
Fer-1组	23.69±4.09 [*]	23.69±4.09 [*]	66.90±3.50 [*]	67.35±5.89 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.5 苍术醇提取物对ALI大鼠肺组织铁累积的影响 与空白组比较,模型组大鼠肺组织Fe²⁺、Fe³⁺水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,苍术醇提取物高剂量组和Fer-1组大鼠肺组织Fe²⁺、Fe³⁺水平降低 ($P<0.05$),提示苍术改善急性肺损伤的作用机制可能与铁死亡相关,见表5。

3.6 苍术醇提取物对ALI大鼠肺组织Nrf2、SLC7A11、GPX4 mRNA表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠肺组织Nrf2、SLC7A11、GPX4 mRNA表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,

表5 各组大鼠肺组织Fe²⁺、Fe³⁺水平比较 (nmol/g, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.5 Comparison of Fe²⁺ and Fe³⁺ levels in lung tissue of rats in each group (nmol/g, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	Fe ²⁺	Fe ³⁺
空白组	0.078±0.015	0.165±0.009
模型组	0.198±0.024 [#]	0.323±0.014 [#]
苍术醇提取物低剂量组	0.178±0.015	0.259±0.013
苍术醇提取物高剂量组	0.098±0.022 [*]	0.182±0.012 [*]
Fer-1组	0.068±0.013 [*]	0.159±0.015 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

苍术醇提物高剂量组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11*、*GPX4* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), 见表 6。

表 6 各组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11*、*GPX4* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 6 Comparison of mRNA expressions of *Nrf2*, *SLC7A11* and *GPX4* in lung tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	<i>Nrf2</i>	<i>SLC7A11</i>	<i>GPX4</i>
空白组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	0.58±0.04 ^{###}	0.36±0.17 [#]	0.53±0.16 [#]
苍术醇提物低剂量组	0.62±0.06	0.64±0.16	0.65±0.08
苍术醇提物高剂量组	1.18±0.07 [*]	1.31±0.26 [*]	1.21±0.12 [*]

注: 与空白组比较, ^{###} $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

3.7 苍术醇提物对 ALI 大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11* 和 *GPX4* 蛋白表达的影响 Western blot 检测结果显示, 与空白组比较, 模型组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11*、*GPX4* 蛋白表达降低 ($P < 0.05$);

与模型组比较, 苍术醇提物高剂量组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11*、*GPX4* 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 见表 7、图 3。免疫组化检测结果与 Western blot 检测结果一致, 见表 8、图 4。

表 7 各组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11* 和 *GPX4* 蛋白表达比较 (Western blot, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Tab. 7 Comparison of protein expressions of *Nrf2*, *SLC7A11* and *GPX4* in lung tissue of rats in each group (Western blot, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	<i>Nrf2</i> /β-actin	<i>SLC7A11</i> /β-actin	<i>GPX4</i> /β-actin
空白组	0.84±0.02	0.72±0.12	0.81±0.05
模型组	0.43±0.04 [#]	0.36±0.17 [#]	0.53±0.16 [#]
苍术醇提物低剂量组	0.52±0.06	0.44±0.06	0.62±0.08
苍术醇提物高剂量组	0.78±0.07 [*]	0.69±0.26 [*]	0.71±0.12 [*]

注: 与空白组比较, [#] $P < 0.05$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

表 8 各组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11* 和 *GPX4* 蛋白表达比较 (免疫组化, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Tab. 8 Comparison of protein expressions of *Nrf2*, *SLC7A11* and *GPX4* in lung tissue of rats in each group (immunohistochemistry, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	<i>Nrf2</i>	<i>SLC7A11</i>	<i>GPX4</i>
空白组	1.00±0.02	1.00±0.02	1.00±0.03
模型组	0.23±0.06 [#]	0.30±0.07 [#]	0.33±0.06 [#]
苍术醇提物低剂量组	0.52±0.06	0.64±0.06	0.62±0.08
苍术醇提物高剂量组	0.89±0.07 [*]	0.94±0.06 [*]	0.92±0.02 [*]

注: 与空白组比较, [#] $P < 0.05$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

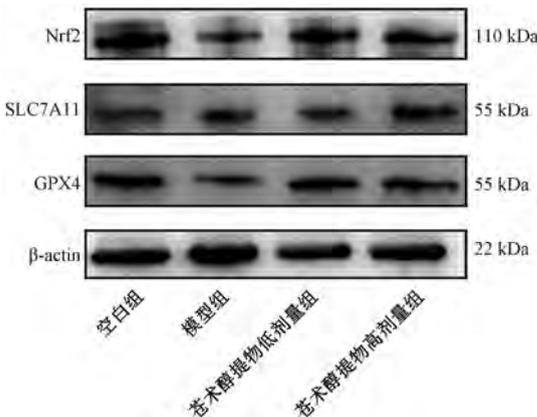


图 3 各组大鼠肺组织 *Nrf2*、*SLC7A11* 和 *GPX4* 蛋白条带图

Fig. 3 Protein bands of *Nrf2*, *SLC7A11* and *GPX4* in lung tissue of rats in each group

4 讨论

ALI 是一种由多种致病因素所导致的肺泡上皮细胞和毛细血管内皮细胞受损的综合征, 伴随着病情进一步发展会转变为急性呼吸窘迫 (ARDS), 引起多器官衰竭从而危及生命^[20]。研究表明, 过度炎症反应是 ALI 的核心发病机制, 脂多糖 (LPS) 等刺激引发炎症细胞肺部浸润, 释放促炎介质导致血管通透性增加和上皮损伤^[21-22]。本研究发现, ALI 大鼠肺部存在严重炎症浸润和结构破坏, 而苍术醇提物干预可下调炎症因子水平, 改善肺部病理损伤。

现代医学研究表明, 氧化应激与铁死亡作为重要的病理过程与 ALI 发生和发展密切相关^[23], 并且两者之间相互影响会进一步导致 ALI 的恶

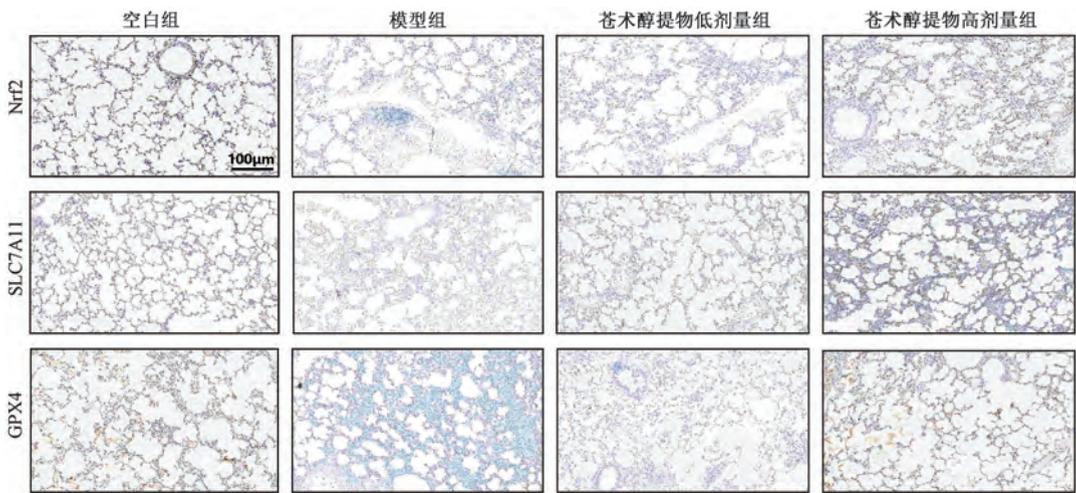


图 4 各组大鼠肺组织 Nrf2、SLC7A11 和 GPX4 蛋白免疫组化染色 (×100)

Fig. 4 Immunohistochemical staining of Nrf2, SLC7A11 and GPX4 proteins in lung tissue of rats in each group (×100)

化^[24-25]。氧化应激是指机体活性氧自由基和活性氮自由基产生过多,超出了氧化物的清除能力,从而引起组织损伤^[26]。有研究表明,LPS可诱导炎症细胞在肺部聚集和过度活化,从而产生大量的ROS并诱导氧化应激^[27]。4-HNE和MDA作为脂质过氧化的终产物,是反应机体氧化应激程度的重要参数。GSH和SOD是生物体内重要的抗氧化剂,是维持机体抗氧化的关键因素。本研究结果显示,ALI大鼠肺组织ROS、4-HNE和MDA水平升高,GSH水平和SOD活性降低,而苍术醇提取物可逆转这些变化,表明其可通过抑制氧化应激缓解ALI。

铁死亡是一种铁依赖性的独特细胞死亡方式,以铁离子超载和脂质过氧化为特征^[28]。当铁代谢失衡时,过量亚铁离子通过Fenton反应产生活性氧,导致细胞死亡。研究表明,细胞内铁离子超载以及抗氧化系统(谷胱甘肽系统)的失衡都会导致脂质过氧化物的产生,进而引发铁死亡,加重急性肺损伤的发展^[29-30]。本研究发现,ALI大鼠肺部铁离子累积增加,而苍术醇提取物能够抑制铁离子积累,减少其在肺部的聚集,结合前面研究结果,提示苍术醇提取物改善ALI的作用可能与调节铁死亡有关。

Fer-1是一种选择性铁死亡抑制剂,通过直接抑制脂氧合酶活性和清除脂质过氧化物发挥作用,是研究铁死亡通路的理想药物,对铁死亡属于直接分子干预;而Nrf2则作为转录因子上调抗氧化及铁代谢相关基因表达,属于间接转录调控途径。前者直接靶向铁死亡过程中的脂质过氧化反应环节,后者通过系统性增强细胞抗氧化能力和调控铁稳态来间接阻断铁死亡的发生。研究表明,Nrf2与氧

化应激的发生密切相关^[31]。在受到外部的刺激后,Nrf2会转位到细胞核,调节多种下游抗氧化蛋白和酶的表达,如GPX4、SLC7A11等,从而抑制氧化应激反应^[32]。GPX4是一种硒依赖性抗氧化酶,在GSH的辅助下,催化脂质氢过氧化物(如PLOOH)还原为无害的脂质醇(PLOH),同时生成氧化型谷胱甘肽(GSSG),对铁死亡具有负性调控作用。SLC7A11作为一种胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白,它可以通过介导GSH合成,帮助机体抵抗氧化应激反应,抑制铁死亡。本研究发现,ALI大鼠肺组织中Nrf2、GPX4和SLC7A11表达降低,苍术醇提取物干预后三者表达升高,说明苍术醇提取物通过激活Nrf2/SLC7A11/GPX4通路抑制铁死亡。

综上所述,苍术醇提取物通过抗炎、抗氧化及调控铁死亡多途径改善ALI,核心机制为激活Nrf2通路,上调SLC7A11和GPX4表达,减轻脂质过氧化与铁超载。

利益冲突: 本文不存在任何利益冲突。

参考文献:

[1] Xiong L, Liu Y, Wang Y, et al. The protective effect of *Lonicera japonica* Thunb. against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice: modulation of inflammation, oxidative stress, and ferroptosis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 331: 118333.

[2] Wu Y, He S, Zhang Y, et al. Sophoricoside ameliorates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-induced acute lung injury by inhibiting Bach1/Akt pathway[J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155846.

[3] Wu H, Wu L, Yu W, et al. *Veronica linariifolia* subsp. *dilatata* ameliorates LPS-induced acute lung injury by attenuating

- endothelial cell barrier dysfunction *via* EGFR/Akt/ZO-1 pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117545.
- [4] Jiang J, Huang K, Xu S, *et al.* Targeting NOX4 alleviates sepsis-induced acute lung injury *via* attenuation of redox-sensitive activation of CaMKII/ERK1/2/MLCK and endothelial cell barrier dysfunction[J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101638.
- [5] Li J, Ma W, Li G. Research progress on the pathogenesis of acute lung injury (ALI) [J]. *Medicinal Plant*, 2024, 15(4): 122-128.
- [6] Zhang X, Hu Y, Wang B, *et al.* Ferroptosis: iron-mediated cell death linked to disease pathogenesis[J]. *J Biomed Res*, 2024, 38(5): 413-435.
- [7] Ding R, Zhong S Y, Deng L Y, *et al.* Fucoxanthin prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting ferroptosis *via* Nrf2/STAT3 and glutathione pathways[J]. *Am J Chin Med*, 2024, 52(6): 1773-1794.
- [8] 郭焕荣, 王 静, 赵自刚, 等. 铁死亡及其在实验性急性肺损伤中的作用[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(8): 99-106.
- [9] 史阳琳, 杨建雅, 常晴晴, 等. 铁死亡在脓毒症急性肺损伤中的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(6): 127-134.
- [10] 卢 悦, 张平平, 王东强, 等. 急性肺损伤中医病因病机的探讨[J]. 中国中医急症, 2020, 29(2): 280-282.
- [11] 孙德阳, 杨 洋, 梁 群. 中医药治疗脓毒症急性肺损伤的研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(5): 1108-1110.
- [12] 黄 茂, 陈申达, 张立山. 苍麻丸治疗肺系疾病解析——附验案4则[J]. 江苏中医药, 2021, 53(7): 65-68.
- [13] 卢有亮, 黄斯琪, 刘树生. 运用复方苍术方治疗慢性阻塞性肺疾病论证“肺与大肠相表里”理论[J]. 中医临床研究, 2022, 14(20): 78-80.
- [14] 王 倩. 苍术化学成分药理作用研究进展[J]. 生物化工, 2023, 9(1): 158-162.
- [15] 李科迪, 曹章净, 敖 慧. 苍术化学成分及药理作用研究进展[J]. 成都中医药大学学报, 2024, 47(6): 73-80.
- [16] Shi K, Xiao Y X, Dong Y, *et al.* Protective effects of *Atractylodis lancea Rhizoma* on lipopolysaccharide-induced acute lung injury *via* TLR4/NF- κ B and Keap1/Nrf2 signaling pathways *in vitro* and *in vivo*[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16134.
- [17] Kun S, Yan W, Yangxin X, *et al.* Therapeutic effects and mechanism of *Atractylodis Rhizoma* in acute lung injury: investigation based on an Integrated approach[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1181951.
- [18] Shi K, Xiao Y, Qu M, *et al.* Atractylodin modulates ASAH3L to improve galactose metabolism and inflammation to alleviate acute lung injury[J]. *iScience*, 2024, 27(10): 110751.
- [19] 瞿领航. 基于“菌群-代谢-炎症”研究麸炒苍术防治结肠炎增效机理[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- [20] 左婉翌, 田发念, 柯 佳, 等. 中医药调控 NF- κ B 治疗急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征机制及研究进展[J]. 中医学报(英文), 2024, 4(3): 93-105.
- [21] 林 斌, 李金鹏, 陈 红, 等. 炎症信号通路在急性肺损伤中的作用及中医药干预研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2023, 37(11): 81-85.
- [22] 孟佳磊, 马宇慧, 李芸峰, 等. 中医药干预核因子- κ B 信号通路治疗急性肺损伤的研究进展[J]. 中国中医急症, 2023, 32(5): 925-928.
- [23] 薛燕红, 杨秀芬. 脓毒症急性肺损伤的发病机制及治疗进展[J]. 河北医科大学学报, 2024, 45(4): 406-412.
- [24] 刘萌萌, 孔德钦, 陈 影, 等. 氧化应激在多种因素所致急性肺损伤中的作用研究进展[J]. 空军军医大学学报, 2025, 46(11): 1569-1572.
- [25] Wen Y, Liu Y, Liu W, *et al.* Ferroptosis: a potential target for acute lung injury[J]. *Inflamm Res*, 2024, 73(10): 1615-1629.
- [26] 吴炜景, 刘晨楠, 蔡泓艺. 氧化应激与急性肺损伤的关系及研究进展[J]. 中外医学研究, 2022, 20(33): 177-181.
- [27] 程 浩, 宋立成, 韩志海. 氧化应激在急性肺损伤中作用的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2018, 38(11): 866-870.
- [28] 孔维轩, 杨鹏杰, 朱赅赅, 等. 急性肺损伤中铁死亡的研究进展[J]. 中国现代医生, 2023, 61(16): 138-142.
- [29] Wang Y, Zhao Z, Xiao Z. The emerging roles of ferroptosis in pathophysiology and treatment of acute lung injury[J]. *J Inflamm Res*, 2023, 16: 4073-4085.
- [30] 顾晓凌, 吴冠楠, 宋 勇. 核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 与铁死亡在脓毒症相关急性肺损伤中的研究进展[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2024, 17(2): 324-328.
- [31] Zhang M, Wang J, Liu R, *et al.* The role of Keap1-Nrf2 signaling pathway in the treatment of respiratory diseases and the research progress on targeted drugs[J]. *Heliyon*, 2024, 10(18): e37326.
- [32] Liang W, Ren Y, Wang Y, *et al.* Xiao-Ban-Xia Decoction alleviates chemotherapy-induced nausea and vomiting by inhibiting ferroptosis *via* activation of the Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway[J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2024, 8(12): e2400323.