

漆黄素激活 SIRT1/Nrf2 信号通路改善急性呼吸窘迫综合征大鼠铁死亡的研究

任秋月, 胡春燕, 旷媛媛

成都医学院第三附属医院 急诊科, 四川 成都 611730

摘要: **目的** 探究漆黄素通过激活沉默信息调节因子 1 (SIRT1)/核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 信号通路对急性呼吸窘迫综合征大鼠铁死亡的影响。**方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组以及漆黄素 1、2、4 mg/kg 组和漆黄素 (4 mg/kg) + SIRT1 抑制剂 (10 mg/kg EX-527) 组, 每组各 14 只。漆黄素、SIRT1 抑制剂于造模前 30 min ip 给药, 对照组、模型组 ip 给予等量生理盐水。除对照组外, 其余各组大鼠均采用气管内滴注脂多糖法建立急性呼吸窘迫综合征模型。检测支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中炎症因子白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平; 测定肺组织湿/干质量比 (W/D); HE 染色观察肺组织病理改变; 检测肺组织中铁死亡相关指标活性氧 (ROS)、铁、谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 水平; 免疫印迹法检测肺组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 漆黄素各剂量组 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平降低, 肺组织 W/D 比值降低, 肺组织中 ROS、铁、MDA 水平降低, GSH 水平升高, 肺组织中 SIRT1、核 Nrf2 蛋白水平升高 ($P < 0.05$), 且 4 mg/kg 漆黄素干预的改善效果更显著; 在 4 mg/kg 漆黄素干预的基础上增加 SIRT1 抑制剂后, 漆黄素的改善作用被削弱。**结论** 漆黄素对脂多糖诱导的急性呼吸窘迫综合征有保护作用, 能够改善铁死亡, 可能是通过激活 SIRT1/Nrf2 信号通路实现的。

关键词: 漆黄素; 急性呼吸窘迫综合征; 沉默信息调节因子 1/核因子 E2 相关因子 2 信号通路; 白细胞介素-6; 铁死亡

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1674 - 5515(2023)07 - 1584 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.07.005

Fisetin ameliorates ferroptosis in rats with acute respiratory distress syndrome by activating SIRT1/Nrf2 signaling pathway

REN Qiu-yue, HU Chun-yan, KUANG Yuan-yuan

Department of Emergency, The 3rd Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 611730, China

Abstract: Objective To investigate the influence of fisetin on ferroptosis in rats with acute respiratory distress syndrome (ARDS) by activating the silent information regulation 1 (SIRT1)/nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into control group, model group, fisetin (1, 2, and 4 mg/kg) groups, and 4 mg/kg fisetin + SIRT1 inhibitor (10 mg/kg EX-527) group, each group had 14 rats. Fisetin and SIRT1 inhibitor were ip administered with 30 min before modeling, and the control group and model group were ip administered with the same amount of normal saline. Except the control group, the rats in other groups were used to establish the ARDS model by intratracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS). Levels of inflammatory factor IL-6 and TNF- α in BALF were detected. The wet/dry mass ratio (W/D) of lung tissue was measured. Pathological changes in lung tissue treated by HE staining were observed. The levels of reactive oxygen species (ROS), iron, GSH, and MDA in lung tissue were measured. The expression of SIRT1/Nrf2 signaling pathway related proteins in lung tissue were detected by Western blotting method. **Results** Compared with the model group, the levels of IL-6 and TNF- α in the BALF of fisetin groups were decreased, the W/D ratio in lung tissue were decreases, the levels of ROS, iron, and MDA in lung tissue were decreased, while GSH levels were increased, and the levels of SIRT1 and nuclear Nrf2 proteins in lung tissue were increased ($P < 0.05$). Moreover, the improvement effect of 4 mg/kg fisetin intervention was more obvious. After the addition of SIRT1 inhibitor on the basis of 4 mg/kg fisetin intervention, the improvement effect of 4 mg/kg fisetin was weakened. **Conclusion** Fisetin has protection on LPS induced ARDS and can improve ferroptosis, which may be achieved by activating SIRT1/Nrf2 signaling pathway.

Key words: fisetin; acute respiratory distress syndrome; SIRT1/Nrf2 signaling pathway; IL-6; ferroptosis

收稿日期: 2023-05-04

基金项目: 四川省卫生健康科研课题普及项目 (19PJ1182)

作者简介: 任秋月 (1985—), 女, 重庆人, 主治医师, 本科, 研究方向为呼吸急诊。E-mail: 13808020209@163.com

急性呼吸窘迫综合征是导致呼吸衰竭的主要原因,其病理特征是由于促炎和氧化途径的激活,引发快速而强烈的炎症反应,导致炎性细胞的积累、肺间质水肿和肺泡上皮损伤,随后肺细胞外基质重塑^[1]。急性呼吸窘迫综合征的发病率和死亡率均较高,据报道,全球每年有 300 多万病例和 7.5 万死亡病例^[2]。以往认为急性呼吸窘迫综合征的发病机制局限于氧化应激、细胞凋亡、炎症、缺氧^[3],最近的研究表明,铁死亡亦参与了急性呼吸窘迫综合征发展,抑制铁死亡可有效缓解病情^[4]。铁死亡是一种新的细胞调控死亡形式,其特征是铁依赖的脂质过氧化物的积累,而形态学、生物学明显不同于凋亡、坏死、自噬和其他形式的细胞死亡^[5]。铁死亡过程涉及众多信号通路调控,其中沉默信息调节因子 1 (SIRT1)/核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 信号通路被认为是关键性信号通路之一,激活该通路可减轻脂质过氧化反应,进而抑制铁死亡^[6]。漆黄素是一种类黄酮类化合物,常见于植物和各种水果蔬菜中,如烟树、葡萄、苹果、草莓、柿子、黄瓜和洋葱等,具有广泛的药理作用,包括抗炎、抗氧化、抗癌、神经保护等^[7]。有研究报道,漆黄素对脂多糖诱导的急性呼吸窘迫综合征有保护作用,能够明显减轻肺损伤^[8]。因此,本研究采用气管内滴注脂多糖法建立急性呼吸窘迫综合征模型,观察漆黄素对急性呼吸窘迫综合征大鼠铁死亡的影响,探究 SIRT1/Nrf2 信号通路作为其作用机制的可能性。

1 材料与动物

1.1 试剂与仪器

脂多糖(质量分数 $\geq 98\%$,货号 A2313,北京康瑞纳生物科技公司);漆黄素(质量分数 $> 98\%$,货号 T2879,南京赛泓瑞生物科技有限公司);SIRT1 抑制剂(EX-527,质量分数 $\geq 98\%$,货号 E7034, Sigma-Aldrich 公司);白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) ELISA 检测试剂盒(货号 E-EL-R0015c、E-EL-R2856c, Elabscience 公司);DHE 荧光探针检测试剂盒(货号 HR8685-UAR,北京百奥莱博科技有限公司);铁检测试剂盒(货号 ab83366, Abcam 公司);谷胱甘肽(GSH)检测试剂盒、丙二醛(MDA)检测试剂盒、HE 染色试剂盒、RIPA 裂解液、核蛋白抽提试剂盒、BCA 试剂盒(货号 S0052、S0131S、C0105S、P0013B、P0028、P0012S,上海碧云天生物技术有限公司);兔源一抗 anti- β -actin、anti-SIRT1、anti-Nrf2、anti-Histone H3、

山羊源二抗(货号 ab115777、ab189494、ab92946、ab176842、ab6721, Abcam 公司)。

Nikon E100 光学显微镜(上海普赫生物科技有限公司);Thermo LS-O410 烘箱(上海辅泽商贸有限公司);Thermo Multiskan FC 酶标仪(北京昊诺斯科技有限公司);HS-B7126-B 型石蜡包埋机、HS-S7120-A 型石蜡切片机购自沈阳恒松科技有限公司。

1.2 实验动物

6~8 周龄 SPF 级 SD 大鼠,雌性,体质量 220~240 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证号 SYXK(京)2019-0022。适应性喂养 5 d 后进行实验,喂养环境:湿度 45%~55%,温度 22~26 °C,12 h 光/暗交替模式,自由摄食、进水。本研究经成都医学院第三附属医院动物伦理委员会审核批准,审批号 20210905。

2 方法

2.1 分组和模型制备

将 84 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组以及漆黄素 1、2、4 mg/kg 组^[8]和漆黄素(4 mg/kg)+SIRT1 抑制剂(10 mg/kg EX-527)组^[9],每组各 14 只。漆黄素、SIRT1 抑制剂于造模前 30 min ip 给药,对照组、模型组 ip 给予等量生理盐水。

参考姚草原等^[10]方法,除对照组外,其余各组大鼠均采用气管内滴注脂多糖法建立模型。将大鼠麻醉后暴露气管,向气管内滴注 3 mg/kg 脂多糖 100 μ L,对照组滴注等量生理盐水,随后翻转大鼠,使脂多糖均匀分布于肺中。若大鼠出现呼吸急促、少动、精神萎靡等症状,则表明模型制备成功。相应各组大鼠均造模成功。脂多糖留置 6 h 后处死大鼠、采集样本。

2.2 检测支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子水平

每组随机选取 7 只大鼠,常规取 BALF,离心收集上清,利用 ELISA 试剂盒测定上清中 IL-6、TNF- α 水平,依据说明书操作。

2.3 测定肺组织湿/干质量(W/D)比值

取 BALF 之后,取整个肺组织称定质量,为湿质量,然后将其放入 60 °C 烘箱中脱水,24 h 后再次称定质量为干质量,计算 W/D 比值。

2.4 HE 染色观察肺组织病理改变

将每组剩余 7 只大鼠处死之后直接取右下肺组织,置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h,随后脱水、石蜡

包埋，制作 4 μm 厚的切片，烤干后进行常规 HE 染色，于光学显微镜下观察肺组织病理改变。将左肺组织、剩余的右肺组织保存于 -80 °C 备用。

2.5 检测肺组织中铁死亡相关指标水平

取保存的左肺组织，剪碎后进行匀浆，离心收集上清，利用 DHE 荧光探针检测试剂盒、铁检测试剂盒、GSH 检测试剂盒、MDA 检测试剂盒分别测定上清中 ROS、铁、GSH、MDA 水平，根据说明书操作。

2.6 免疫印迹法检测肺组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达情况

取保存的右肺组织，使用 RIPA 裂解液提取总蛋白或利用核蛋白抽提试剂盒提取核蛋白，BCA 法测定其浓度，随后变性处理，经凝胶电泳、转印、封闭后孵育兔源一抗 anti-β-actin、anti-SIRT1、anti-Nrf2、anti-histone H3，而后孵育山羊源二抗，最后滴加 ECL 发光液，置于凝胶成像分析仪中拍照，利用 Image J 软件进行灰度分析。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较行单因素方差分析，进一步两两比较行 SNK-*q* 检验。

3 结果

3.1 漆黄素对 BALF 中炎症因子的影响

与对照组比较，模型组 BALF 中 IL-6、TNF-α 水平升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，漆黄素各剂量组 BALF 中 IL-6、TNF-α 水平降低，且漆黄素 4 mg/kg 组低于 1、2 mg/kg 组 ($P < 0.05$)；与漆黄素 4 mg/kg 组比较，漆黄素 4 mg/kg + SIRT1 抑制剂组 BALF 中 IL-6、TNF-α 水平均升高 ($P < 0.05$)，见表 1。

3.2 漆黄素对肺组织 W/D 比值和病理改变的影响

与对照组比较，模型组肺组织 W/D 比值升高 ($P < 0.05$)，同时发生明显病理改变，包括肺结构破坏、肺泡间隔增厚、炎性细胞浸润、肺间质和肺泡水肿等；经各剂量漆黄素干预后，肺组织 W/D 比值降低 ($P < 0.05$)，上述病理改变减轻，且 4 mg/kg 漆黄素干预后减轻更明显；在 4 mg/kg 漆黄素干预的基础上增加 SIRT1 抑制剂干预后，4 mg/kg 漆黄素的改善作用被削弱。见图 1、表 2。

3.3 漆黄素对肺组织中铁死亡相关指标的影响

与对照组比较，模型组的肺组织中 ROS、铁、MDA 水平升高，GSH 水平降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，各剂量漆黄素组肺组织中 ROS、铁、

表 1 漆黄素对急性呼吸窘迫综合征大鼠 BALF 中炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 Effect of fisetin on levels of inflammatory factors in BALF in acute respiratory distress syndrome rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-6/(pg mL ⁻¹)	TNF-α/(pg mL ⁻¹)
对照	—	21.73 ± 4.62	38.24 ± 6.19
模型	—	175.82 ± 13.59*	293.71 ± 18.45*
漆黄素	1	132.43 ± 11.26 [#]	235.62 ± 15.37 [#]
	2	93.15 ± 8.73 ^{#&}	164.45 ± 11.26 ^{#&}
	4	51.94 ± 7.32 ^{#&@}	82.19 ± 8.63 ^{#&@}
漆黄素 + SIRT1 抑制剂	4 + 10	112.58 ± 11.63 [▲]	190.43 ± 16.22 [▲]

与对照组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：[#] $P < 0.05$ ；与漆黄素 1 mg·kg⁻¹ 组比较：[&] $P < 0.05$ ；与漆黄素 2 mg·kg⁻¹ 组比较：[@] $P < 0.05$ ；与漆黄素 4 mg·kg⁻¹ 组比较：[▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs fisetin 1 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs fisetin 2 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P < 0.05$ vs fisetin 4 mg·kg⁻¹ group

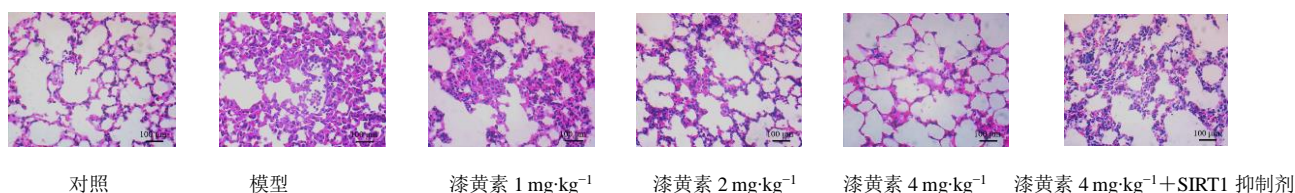


图 1 各组肺组织病理改变 (HE, ×100)

Fig. 1 Pathological changes of lung tissues in each group (HE, ×100)

表 2 漆黄素对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织 W/D 比值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)Table 2 Effect of fisetin on W/D ratio of lung tissues in acute respiratory distress syndrome rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肺组织 W/D 比值
对照	—	3.51 ± 0.37
模型	—	6.02 ± 0.58*
漆黄素	1	5.24 ± 0.49 [#]
	2	4.46 ± 0.42 ^{#&}
	4	3.62 ± 0.39 ^{#&@}
漆黄素 + SIRT1 抑制剂	4 + 10	4.93 ± 0.51 [▲]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与漆黄素 1 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$; 与漆黄素 2 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$; 与漆黄素 4 mg·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs fisetin 1 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs fisetin 2 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P < 0.05$ vs fisetin 4 mg·kg⁻¹ group

表 3 漆黄素对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中铁死亡相关指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)Table 3 Effect of fisetin on ferroptosis-related indicators in lung tissues in acute respiratory distress syndrome rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ROS 相对含量/%	铁/(nmol mg ⁻¹)	GSH/(nmol mg ⁻¹)	MDA/(nmol mg ⁻¹)
对照	—	1.05 ± 0.12	0.46 ± 0.08	1.51 ± 0.16	8.65 ± 1.23
模型	—	3.48 ± 0.35*	2.75 ± 0.26*	0.39 ± 0.07*	21.42 ± 2.79*
漆黄素	1	2.93 ± 0.27 [#]	2.14 ± 0.21 [#]	0.78 ± 0.09 [#]	18.06 ± 2.18 [#]
	2	2.18 ± 0.21 ^{#&}	1.52 ± 0.13 ^{#&}	1.18 ± 0.12 ^{#&}	14.31 ± 1.62 ^{#&}
	4	1.32 ± 0.16 ^{#&@}	0.81 ± 0.10 ^{#&@}	1.42 ± 0.11 ^{#&@}	10.52 ± 1.46 ^{#&@}
漆黄素 + SIRT1 抑制剂	4 + 10	2.46 ± 0.23 [▲]	2.27 ± 0.19 [▲]	0.94 ± 0.09 [▲]	16.24 ± 2.15 [▲]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与漆黄素 1 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$; 与漆黄素 2 mg·kg⁻¹ 组比较: [@] $P < 0.05$; 与漆黄素 4 mg·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs fisetin 1 mg·kg⁻¹ group; [@] $P < 0.05$ vs fisetin 2 mg·kg⁻¹ group; [▲] $P < 0.05$ vs fisetin 4 mg·kg⁻¹ group

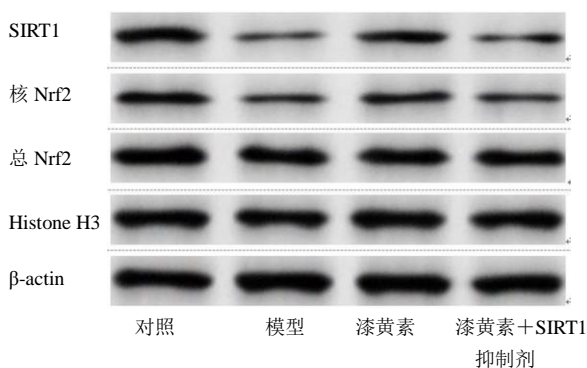


图 2 各组肺组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平

Fig. 2 SIRT1/Nrf2 signaling pathway-related protein expression levels in lung tissues of each group

MDA 水平降低, GSH 水平升高, 且 4 mg/kg 漆黄素组干预效果优于 1、2 mg/kg 漆黄素组 ($P < 0.05$); 与 4 mg/kg 漆黄素组比较, 4 mg/kg 漆黄素 + SIRT1 抑制剂组肺组织中 ROS、铁、MDA 水平升高, GSH 水平降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.4 漆黄素对肺组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平的影响

4 mg/kg 漆黄素对铁死亡相关指标的改善效果最佳, 故选取 4 mg/kg 漆黄素探究其作用机制。与对照组比较, 模型组肺组织中 SIRT1、核 Nrf2 蛋白水平降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 4 mg/kg 漆黄素组肺组织中 SIRT1、核 Nrf2 蛋白水平升高 ($P < 0.05$); 与 4 mg/kg 漆黄素组相比较, 4 mg/kg 漆黄素 + SIRT1 抑制剂组肺组织中 SIRT1、核 Nrf2 蛋白水平降低 ($P < 0.05$)。见图 2、表 4。

4 讨论

急性呼吸窘迫综合征是急性肺损伤的一种严重形式, 可由感染、创伤、缺血再灌注等多种因素导致, 其中由革兰阴性菌主要成分脂多糖引发的感染是最常见的致病因素。急性呼吸窘迫综合征常伴有弥漫性肺泡炎症或肺泡间质水肿综合征, 严重时可能导致呼吸衰竭、休克、器官功能障碍综合征, 甚至死亡^[11]。本研究中, 脂多糖诱导的急性呼吸窘迫综合征大鼠 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平升高, 肺组织 W/D 比值升高且发生明显病理改变, 表明急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织存在水肿、炎性损伤。

越来越多的证据表明, 铁死亡在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的病理过程中发挥重要作用, 如

表 4 漆黄素对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)
 Table 4 Effect of fisetin on expression levels of SIRT1/Nrf2 signaling pathway-related proteins in lung tissues in acute respiratory distress syndrome rats ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SIRT1/β-actin	核 Nrf2/总 Nrf2
对照	—	0.73 ± 0.09	0.46 ± 0.07
模型	—	0.18 ± 0.04*	0.13 ± 0.04*
漆黄素	4	0.62 ± 0.08 [#]	0.35 ± 0.07 [#]
漆黄素 + SIRT1 抑制剂	4 + 10	0.29 ± 0.06 [▲]	0.17 ± 0.05 [▲]

与对照组比较: *P < 0.05; 与模型组比较: [#]P < 0.05; 与漆黄素 4 mg·kg⁻¹ 组比较: [▲]P < 0.05
^{*}P < 0.05 vs control group; [#]P < 0.05 vs model group; [▲]P < 0.05 vs fisetin 4 mg·kg⁻¹ group

Li 等^[12]、Dong 等^[13]报道铁死亡参与肠缺血/再灌注诱导的急性肺损伤;此外,还有研究发现,抑制铁死亡能够减轻海水溺水或脂多糖诱导的急性肺损伤^[14-15]。铁死亡是一种铁相关的程序性细胞死亡,不同于其他类型的细胞死亡,如凋亡、坏死和自噬等,其机制主要涉及细胞内铁超载和 ROS 积累导致的脂质过氧化,从而产生大量脂质过氧化产物 MDA,此外,抗氧化物如 GSH 表达量的降低也是导致铁死亡的重要机制^[16-17]。本研究结果显示,与对照组比较,急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中 ROS、铁、MDA 水平升高,GSH 水平降低,表明急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中发生了铁死亡,抑制铁死亡可为急性呼吸窘迫综合征的治疗提供一种有前景的策略。

目前急性呼吸窘迫综合征的治疗仅限于支持性措施,直接针对急性呼吸窘迫综合征病理生理的治疗手段较少,对急性呼吸窘迫综合征不良预后改善效果不理想^[2]。漆黄素是一种黄酮类化合物,已被研究证实具有强抗炎、抗氧化活性。Hada 等^[18]报道漆黄素能够抑制脂多糖诱导的巨噬细胞炎症反应;Jiang 等^[19]报道漆黄素可减轻子宫内膜炎小鼠的氧化应激和炎症反应。此外,Feng 等^[8]报道漆黄素能够抑制脂多糖诱导的急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征大鼠 BALF 中炎症因子释放,减轻肺组织损伤。本研究结果显示,急性呼吸窘迫综合征大鼠经 1、2、4 mg/kg 漆黄素干预后,其 BALF 中 IL-6、TNF-α 水平降低,肺组织 W/D 比值降低、病理改变减轻,且肺组织中 ROS、铁、MDA 水平降低,GSH 水平升高,且 4 mg/kg 漆黄素干预改善更显著,表明漆黄素对脂多糖诱导的急性呼吸窘迫综合征有保护作用,能够改善铁死亡,且 4 mg/kg 漆黄素效果更佳,故选取 4 mg/kg 漆黄素探究其作用机制。

在调控铁死亡的众多信号通路中,SIRT1/Nrf2

信号通路越来越受到研究者的重视。SIRT1 是一种去乙酰化酶,与细胞代谢、衰老、凋亡、炎症和氧化应激等生物学过程密切相关,其功能的发挥在很大程度上依赖于活化 Nrf2,通过促使 Nrf2 从细胞质移位至细胞核大量累积,进而激活核内相关蛋白的表达而发挥作用。已有大量研究表明,激活 SIRT1/Nrf2 信号通路能够减少 ROS 的产生、激活抗氧化物的产生,从而减轻铁死亡^[20-21]。本研究结果显示,经 4 mg/kg 漆黄素干预后,急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织中 SIRT1、核 Nrf2 蛋白水平升高,提示漆黄素改善急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织铁死亡的活性可能与激活 SIRT1/Nrf2 信号通路有关。在 4 mg/kg 漆黄素干预的基础上增加 SIRT1 抑制剂干预,结果发现,漆黄素对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺组织铁死亡的改善作用被削弱,表明 SIRT1/Nrf2 信号通路可能是漆黄素的作用机制。

综上所述,漆黄素对脂多糖诱导的急性呼吸窘迫综合征有保护作用,能够改善铁死亡,可能是通过激活 SIRT1/Nrf2 信号通路而实现,因此希望本研究能为漆黄素成为治疗急性呼吸窘迫综合征的候选药物提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Mart M F, Ware L B. The long-lasting effects of the acute respiratory distress syndrome [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2020, 14(6): 577-586.
 [2] Fan E, Brodie D, Slutsky A S. Acute respiratory distress syndrome: Advances in diagnosis and treatment [J]. *JAMA*, 2018, 319(7): 698-710.
 [3] Kaku S, Nguyen C D, Htet N N, et al. Acute respiratory distress syndrome: Etiology, pathogenesis, and summary on management [J]. *J Intensive Care Med*, 2020, 35(8): 723-737.
 [4] Qu M, Zhang H, Chen Z, et al. The role of ferroptosis in

- acute respiratory distress syndrome [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8(7): 651552.
- [5] Li J, Cao F, Yin H L, *et al.* Ferroptosis: Past, present and future [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 88-100.
- [6] Zhang Q Y, Yang X, Peng M, *et al.* Post-treatment with irisin attenuates acute kidney injury in sepsis mice through anti-ferroptosis via the SIRT1/Nrf2 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(17): 857067.
- [7] 叶冰洁, 刘明鑫, 李威, 等. 非瑟酮的药理作用研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2018, 15(23): 22-25.
- [8] Feng G, Jiang Z Y, Sun B, *et al.* Fisetin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via tlr4-mediated NF- κ B signaling pathway in rats [J]. *Inflammation*, 2016, 39(1): 148-157.
- [9] 古春青, 张运克, 杨广华, 等. 虾青素预处理通过调控 Sirt1/miR-134 信号通路改善脑缺血再灌注大鼠认知功能 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(9): 1620-1627.
- [10] 姚草原, 罗华. 红景天苷对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺损伤的保护作用研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(7): 782-784.
- [11] Zhang L, Ge S, He W, *et al.* Ghrelin protects against lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome through the PI3K/AKT pathway [J]. *J Biol Chem*, 2021, 297(3): 101111.
- [12] Li Y, Cao Y, Xiao J, *et al.* Inhibitor of apoptosis-stimulating protein of p53 inhibits ferroptosis and alleviates intestinal ischemia/reperfusion-induced acute lung injury [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(9): 2635-2650.
- [13] Dong H, Qiang Z, Chai D, *et al.* Nrf2 inhibits ferroptosis and protects against acute lung injury due to intestinal ischemia reperfusion via regulating SLC7A11 and HO-1 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(13): 12943-12959.
- [14] Qiu Y B, Wan B B, Liu G, *et al.* Nrf2 protects against seawater drowning-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis [J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 232-247.
- [15] Liu P, Feng Y, Li H, *et al.* Ferrostatin-1 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2020, 25(27): 10-23.
- [16] Chen X, Li J, Kang R, *et al.* Ferroptosis: Machinery and regulation [J]. *Autophagy*, 2021, 17(9): 2054-2081.
- [17] Wang X, Zhang C, Zou N, *et al.* Lipocalin-2 silencing suppresses inflammation and oxidative stress of acute respiratory distress syndrome by ferroptosis via inhibition of MAPK/ERK pathway in neonatal mice [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 508-520.
- [18] Hada Y, Uchida H A, Wada J. Fisetin attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in macrophage [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5570885.
- [19] Jiang K, Yang J, Xue G, *et al.* Fisetin ameliorates the inflammation and oxidative stress in lipopolysaccharide-induced endometritis [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14(5): 2963-2978.
- [20] Li D, Liu X, Pi W, *et al.* Fisetin attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy *in vivo* and *in vitro* by inhibiting ferroptosis through SIRT1/Nrf2 signaling pathway activation [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12(22): 808480.
- [21] Tang X, Li X, Zhang D, *et al.* Astragaloside-IV alleviates high glucose-induced ferroptosis in retinal pigment epithelial cells by disrupting the expression of miR-138-5p/Sirt1/Nrf2 [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(4): 8240-8254.

[责任编辑 解学星]