

本文引文格式:郭建宏,罗菲,窦玉玉,等.基于Keap1-Nrf2-ARE途径探讨铁皮石斛多糖抗矽肺纤维化的机制[J].右江民族医学院学报,2023,45(3):367-372,383.

【论著与临床报道】

基于 Keap1-Nrf2-ARE 途径探讨铁皮石斛多糖抗矽肺纤维化的机制

郭建宏¹,罗菲¹,窦玉玉¹,王谨莹¹,张旭清¹,唐汉庆²

(1. 右江民族医学院研究生学院,广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院基础医学院,广西 百色 533000)

摘要:目的 观察铁皮石斛多糖(DOP)通过 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路抗矽肺纤维化的效果,探讨其可能的机制。方法 将60只BALB/c小鼠按随机数字表法随机分为对照组、模型组、吡非尼酮(PFD)组、DOP低剂量组、DOP中剂量组、DOP高剂量组。除对照组外,其余组小鼠采用口咽法滴入50.0 mg/mL SiO₂混悬液200 μL造模,之后等待4周。第5周开始PFD组每日灌胃吡非尼酮,DOP低剂量组(125 mg/kg)、DOP中剂量组(250 mg/kg)、DOP高剂量组(500 mg/kg)每日分别灌胃对应剂量的DOP,对照组和模型组则每日灌胃等量的生理盐水,连续给药4周后进行相关检测。HE和天狼星红染色检测小鼠肺组织的病理变化和纤维化程度;ELISA检测肺组织TGF-β1的含量;qRT-PCR检测肺组织Nrf2、Keap1 mRNA表达;Western Blot检测肺组织Nrf2、Keap1蛋白表达。结果 与对照组相比,模型组小鼠肺组织TGF-β1含量明显升高,肺组织炎性细胞浸润明显,大量胶原纤维沉积;肺组织Nrf2、Keap1 mRNA及相应的蛋白表达均呈上升趋势。与模型组相比,4个给药组小鼠肺组织炎性细胞浸润及纤维化程度均有不同程度的改善;肺组织Nrf2、Keap1 mRNA及相应的蛋白表达水平均有不同程度的降低。结论 DOP可以通过下调Keap1-Nrf2-ARE信号通路上的相关分子的表达水平,从而有效改善矽肺纤维化。

关键词:矽肺;铁皮石斛多糖;肺纤维化;Keap1-Nrf2-ARE通路

中图分类号:R563.13

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2023)03-0367-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.03.001

Exploring the mechanism of *Dendrobium officinale* polysaccharide against silicosis fibrosis based on Keap1-Nrf2-ARE pathway

Guo Jianhong¹, Luo Fei¹, Dou Yuyu¹, Wang Jinying¹, Zhang Xuqing¹, Tang Hanqing²

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000,

Guangxi, China; 2. School of Basic Medicine, Youjiang Medical

University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of *Dendrobium officinale* polysaccharide (DOP) on silicosis fibrosis through the Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway and explore its underlying mechanism. **Methods** Sixty BALB/c mice were randomly assigned to control group, model group, pirfenidone (PFD) group, low-dose DOP group, medium-dose DOP group, and high-dose DOP group using a random number table. Except for the control group, the mice in the other groups were orally administered with 200 μL of 50.0 mg/mL SiO₂ suspension to induce silicosis fibrosis. Starting from the fifth week, the PFD group received daily oral administration of pirfenidone, while the low-dose (125 mg/kg), medium-dose (250 mg/kg), and high-dose (500 mg/kg) DOP groups received corresponding doses of DOP. The control and model groups were administered equal amounts of normal saline daily. After four weeks of treatment, lung tissue samples were collected for analysis. Pathological changes and fibrosis degree were assessed using HE and Sirius red staining. The content of TGF-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81760759)

第一作者简介:郭建宏(1996-),女,在读硕士研究生,研究方向:呼吸系统常见疾病基础研究,E-mail:1172676678@qq.com

通讯作者简介:唐汉庆(1976-),男,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:呼吸系统常见疾病基础研究,E-mail:phd-tanghanqing@163.com

$\beta 1$ in lung tissue was measured by ELISA. The mRNA expression levels of Nrf2 and Keap1 in lung tissue were determined by qRT-PCR, and the protein expressions of Nrf2 and Keap1 were examined using Western Blotting. **Results** Compared to the control group, the model group exhibited significantly increased TGF- $\beta 1$ content, noticeable inflammatory cell infiltration, and extensive collagen fiber deposition in the lung tissue. The mRNA and protein expressions of Nrf2 and Keap1 were up-regulated. In contrast, the administration groups showed varying degrees of improvement in inflammatory cell infiltration and fibrosis. Additionally, the expression levels of Nrf2, Keap1 mRNA, and corresponding proteins in the lung tissue were reduced to varying degrees compared to the model group. **Conclusion** DOP effectively improves silicosis fibrosis by down-regulating the expression of relevant molecules in the Keap1-Nrf2-ARE signaling pathway.

Key words: silicosis; *Dendrobium officinale* polysaccharide; pulmonary fibrosis; Keap1-Nrf2-ARE pathway

矽肺(silicosis)又称硅肺,是工业化发展过程中衍生出的一种流行范围较广的职业病^[1],目前无法治愈,严重危害公众健康^[2]。矽肺被认为是一种不可逆的慢性进行性疾病,是由于含游离二氧化硅的粉尘通过呼吸道进入到人体肺部,募集并活化各种炎症细胞引起炎症因子释放,继而引起成纤维细胞增生、胶原纤维形成,正常肺组织被破坏,最终导致肺功能改变^[3]。近年来,由于工业化进程的发展,矽肺的发病率一直在上升,特别是在发展中国家。中国有着最大的矽肺患者人群,每年全国因矽肺导致的损失难以计数^[4]。矽肺的发病机制复杂,包括多种炎性细胞因子和免疫蛋白参与的免疫炎症反应^[5],氧化应激在矽肺的发病机制中发挥了重要作用^[6]。目前针对矽肺纤维化的诊断方法比较单一^[7]、治疗效果也不理想,主要以提高患者的生活质量、减轻患者痛苦、延缓矽肺纤维化的进展和延长寿命为主,因此,迫切需要寻找新的可以有效缓解矽肺纤维化的药物。

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)是兰科植物的干燥茎,具有增强免疫力、抗氧化、调节糖脂代谢、控制血压和抑制细菌的药理作用,多年来在中国和一些亚洲国家被用作中药材治疗疾病^[8-9]。铁皮石斛含有多糖、生物碱、氨基酸及微量元素等多种对人体健康有益的药理成分。铁皮石斛多糖(*Dendrobium officinale* polysaccharide, DOP)是从石斛茎中分离出来的,是铁皮石斛的主要活性物质成分,具有多种药理作用,例如抗氧化、抗衰老,提高免疫力等^[10-11]。本研究通过建立 SiO₂ 诱导的小鼠矽肺纤维化模型,从抗氧化的角度出发,观察和探讨 DOP 通过 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路改善矽肺纤维化的作用效果及其机制,为其临床应用进一步提供基础研究的相关依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠 60 只,8 周龄,体重 16~22 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0014,动物质量合格证号:430726220100008635。小鼠购入后在右江民族医学院 SPF 级动物实验中心饲养。小鼠

在检疫室适应性喂养 1 周后,将其转移至温度 20~25 ℃、相对湿度 40%~65% 的环境中继续喂养,小鼠自由进食、饮水。实验得到了右江民族医学院伦理委员会审批和许可。

1.2 实验药物与试剂 DOP(批号:No. 521B021, UV \geq 85%),北京索莱宝科技有限公司;PFD(批号:C2020021),上海阿拉丁科技有限公司;SiO₂(批号:10217484,质量分数 99.9%,粒径 1 μ m),美国 Alfa Aesar 公司;RNA 提取试剂盒(批号:06421KD1),杭州爱思进生物技术公司;HE 染色试剂盒(批号:No. 20221215)和改良天狼星红染色试剂盒(批号:No. 20221125)购自北京索莱宝科技有限公司;碧云天 BeyoRT™ II cDNA 第一链合成试剂盒(逆转录)(RNase H-)(批号:No. 061621211126)购自上海碧云天生物技术有限公司;实时荧光定量 PCR 检测试剂盒(批号:H9001120)购自上海翊圣生物技术有限公司;无酶无菌水(批号:No. 20220607)、甘氨酸(No. 918W064)、三(羟甲基)氨基甲烷(TRIS)(批号:916P071)、十二烷基硫酸钠(SDS)(批号:1019Y032)、20 \times TBST 缓冲液(批号 No. 20221214)、1 \times PBS 缓冲液(批号:No. 20200605)购自北京索莱宝科技有限公司;0.1 mL PCR 八联管(批号:PLW3D221128A)购自无锡国盛生物工程股份有限公司;RIPA 组织快速裂解液(批号:01671170)、100 \times 蛋白酶抑制剂(批号:P0100-1)、10%聚丙烯酰胺(PAGE)凝胶快速制备试剂盒(批号:03522600)及 Omini-ECL™ 超灵敏化学发光检测试剂盒(批号:01421960),均购自上海雅酶生物医药科技有限公司;转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$, 批号:W73RP1N34R)ELISA 检测试剂盒,购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司;实验用引物 Nrf2、Keap1、GAPDH mRNA 引物购自上海捷瑞生物工程有限公司;NC 膜(孔径 0.45 μ m)购自美国 Millipore 公司;内参抗体 GAPDH(批号:00092829)、一抗 Nrf2(批号:00108395)、Keap1(批号:00108125)抗体和山羊抗兔 IgG-HRP 二抗(批号:20000483),均购自武汉三鹰生

物技术有限公司; QuickBlock™ Western 一抗稀释液和二抗稀释液(批号: P0258)、5× SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(批号: P0015L)、蛋白快速封闭液(批号: P0252)、BCA 蛋白测定试剂盒(批号: 120720210319), 均购自上海碧云天生物技术公司。

1.3 主要仪器 Arcadia(H+C)型包埋机、半自动轮转式切片机, 徕卡显微系统(上海)贸易有限公司; Light Cycler 96 型 qRT-PCR 仪, 瑞士罗氏有限公司; TriStar LB941 酶标仪, 世联博研(北京)科技有限公司; ME204E 型电子天平, 上海梅特勒-托利多仪器有限公司; Powerpac Hc 电泳系统电源, 伯乐有限公司; WIX-miniPRO4 迷你垂直电泳槽、WIX 迷你垂直转印槽, 北京韦克斯科技有限公司。

1.4 分组、造模及样本采集 小鼠在检疫室适应性喂养 1 周后, 将 60 只雄性 BALB/c 小鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、PFD 组、DOP 低剂量组、DOP 中剂量组、DOP 高剂量组, 每组 10 只。除对照组外, 其余 5 组小鼠采用口咽法滴入 50.0 mg/mL SiO₂ 混悬液 200 μL 来建立矽肺纤维化小鼠动物模型^[12], 之后等待 4 周。具体操作方法如下: 麻醉前称量小鼠体重, 根据小鼠体重给予相应量戊巴比妥钠进行腹腔注射。麻醉成功之后, 将小鼠的颊切牙悬挂在皮筋上, 一位操作者用手捏住小鼠鼻孔, 强迫其口式呼吸; 另外一位操作者用镊子向外下方拉出小鼠的舌头, 然后用移液枪吸取已经配制好混匀的 SiO₂ 混悬液 200 μL, 沿着小鼠咽后部缓慢滴入, 小鼠通过口式呼吸将混悬液吸入肺中, 在滴注过程肺部会有湿啰音出现, 意味着液体进入肺组织, 这时要密切注意小鼠的呼吸, 防止在此过程中发生窒息导致死亡, 对照组以同样的方式滴入等量生理盐水。之后正常饲养 4 周, 从第 5 周开始, DOP 低剂量组、中剂量组、高剂量组分别按 125 mg/kg、250 mg/kg、500 mg/kg 剂量灌胃, PFD 组按 200 mg/kg 灌胃给予吡非尼酮(pirfenidone, PFD), 对照组和模型组则分别按体重给予相应量的生理盐水灌胃, 每日 1 次, 连续灌胃给药 4 周。4 周之后取材, 小鼠腹腔注射戊巴比妥钠, 用镊子摘除小鼠一侧眼球进行眼球取血, 立即收集血清备用; 处死小鼠后, 将小鼠左上肺放入组织固定液进行固定, 固定 24 h 后进行脱水、包埋, 制成蜡块备用。将其余部分的肺组织清洗干净分别放入组织冻存管中, 并做好标记, 储存于超低温冷冻冰箱中备用。

1.5 HE 染色、天狼星红染色观察小鼠肺组织病理变化 小鼠左上肺制备成蜡块后切片, 65 °C 烤片 2 h; 二甲苯脱蜡, 乙醇梯度脱水, 之后按照 HE 染色、天狼星红染色试剂盒说明书进行操作, 最后在正置显微镜下采图, 观察及分析小鼠肺组织的病理形态学变化及胶原纤维沉积情况。

1.6 ELISA 法检测肺组织中 TGF-β1 的含量 取适量肺组织, 按照组织和生理盐水 1:9 的比例加入生理盐水, 进行研磨制备组织匀浆, 离心取上清液。严格按照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作, 检测并计算肺组织中 TGF-β1 的含量。

1.7 qRT-PCR 法检测肺组织 Nrf2、Keap1 mRNA 表达 取适量小鼠左下肺组织(40 mg 左右)于 1.5 mL 无酶 EP 管中, 严格按照 AxyPrep 总 RNA 小量制备试剂盒说明书提取 RNA, 随后用紫外分光光度计测定总 RNA 的浓度和纯度。接着将提取出来的 RNA 严格按照碧云天 BeyoRT™ II cDNA 第一链合成试剂盒(逆转录)将 RNA 逆转录成 cDNA, 反应条件: 42 °C、60 min, 80 °C、10 min。然后配置 20 μL 反应体系, 采用两步法进行扩增, 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成, 引物序列见表 1。以逆转录的 cDNA 为模板, 通过 Light Cycler RT-PCR 仪进行 PCR 扩增反应, 反应条件: 预变性 95 °C、5 min; 变性 95 °C、10 s, 退火、延伸 60 °C、30 s, 共循环 40 次; 以 GAPDH 为内参, 采用 2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因的相对表达量。

表 1 引物序列

引物名称	引物序列(5'→3')
GAPDH	正向: GGTGTCTCTCTGCGACTTCA
	反向: TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC
Nrf2	正向: ACTGGCTTCACGTGGATATGG
	反向: CCAGTTCTGCTTCCACTCCTC
Keap1	正向: TGCTCAACCGCTTGCTGTATGC
	反向: TCATCCGCCACTCATTCCTCTCTG

1.8 Western Blot 法检测肺组织中 Nrf2、Keap1 蛋白表达 称量小鼠肺组织 50 mg 左右, 剪碎后置于 1.5 mL EP 管中, 按照 1:10 的比例加入组织蛋白裂解液, 再按照 10:1 的比例加入 PMSF 蛋白酶抑制剂, 然后用匀浆器匀浆, 匀浆完成后将 EP 管放于冰上使其继续充分裂解 30 min。低温离心机 12 000 g 离心 10 min, 收集上清液, 采用 BCA 蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。取 50 μg 蛋白进行后续电泳, 将蛋白体系配好放入沸水中煮 10 min, 蛋白质变性完后冷却至室温再置于 -80 °C 冰箱中保存用于后续实验。向配好的胶第一个孔中加入 3 μL 的 Marker 后, 将蛋白样本按对照组、模型组、PFD 组、DOP 低剂量组、DOP 中剂量组、DOP 高剂量组顺序从左往右依次上样, 每个泳道加入 10 μL 样本, 接通电源后先 80 V 30 min 跑上层胶、再 120 V 60 min 跑下层胶进行电泳, 待蛋白预染 Marker 的最下方条带接近玻璃板底部时停止电泳。剪好 NC 膜, 按照白色板—纤维垫—三层转印滤纸—NC 膜—凝胶—三层转印滤纸—纤维垫—黑色板顺序依次放好, 夹紧板后放入转膜槽内, 黑色板的一面

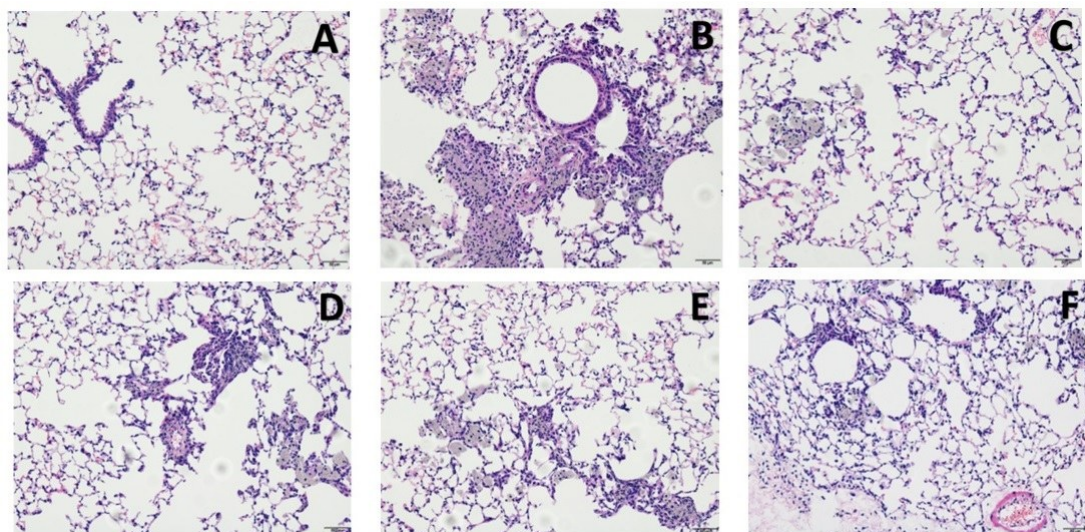
对应黑色负极,在转膜槽中倒满转膜液开始转膜,300 mA 转膜 60 min。5%脱脂奶粉封闭 2 h 后,按照 Nrf2(1:2 000)、Keap1(1:8 000)和 GAPDH(1:20 000)配制一抗摇床孵育过夜(一般孵育 16~18 h), $1\times$ TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。加入山羊抗兔 IgG-HRP 二抗(1:8 000),室温下孵育 90 min, $1\times$ TBST 洗膜 3 次。将显影液两种液体 1:1 混合,混匀后滴加于 NC 膜上,反应数分钟后即可出现目的条带。用 ImageJ 图像软件分析所得蛋白条带的灰度值。

1.9 统计学方法 用 SPSS 23.0 对数据进行分析。计量资料数据以($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

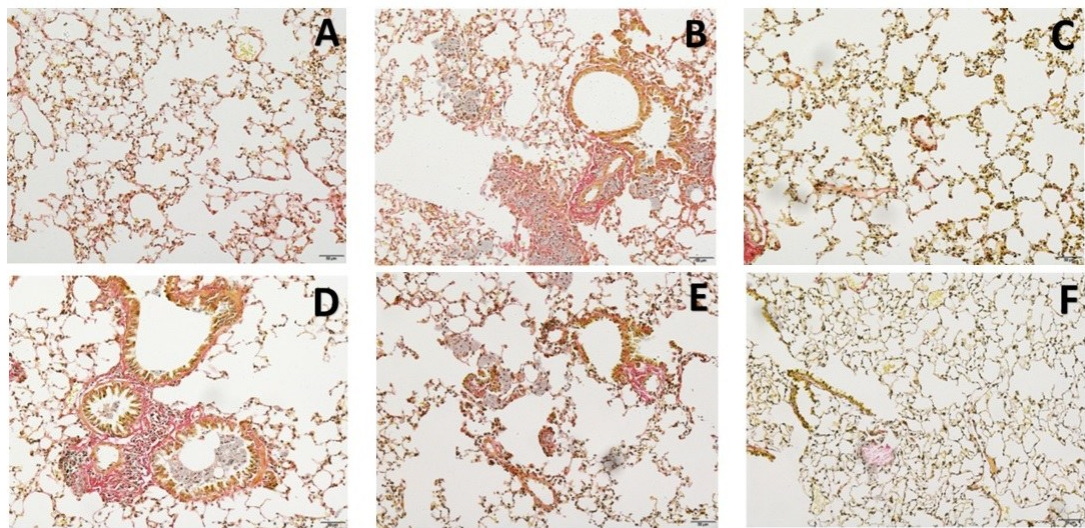
2.1 DOP 对矽肺纤维化小鼠肺组织病理变化的影响

HE 染色结果见图 1。对照组小鼠肺组织肺泡结构完整,未见血管充血及炎细胞浸润。给药 28 d,与对照组相比,模型组小鼠肺组织结构破坏严重,肺泡间隔增宽甚至消失,有大量炎性细胞浸润和矽肺结节。与模型组相比,PFD 组和 DOP 各剂量组小鼠肺组织破坏有很大改善,肺泡结构清晰且较完整,黏膜下及肺间质可见少量炎性细胞浸润和矽肺结节,病理损伤程度较模型组有明显改善。天狼星红染色结果见图 2。对照组小鼠肺间质未见呈红色的胶原纤维分布。给药 28 d,与对照组相比,模型组小鼠肺组织正常结构消失,镜下发现有大量红色胶原纤维沉积。与模型组相比,PFD 组和 DOP 各剂量组的小鼠肺组织结构较为完整,镜下可见少量红色胶原纤维沉积,胶原纤维沉积明显少于模型组,纤维化程度有所改善。



注:A.对照组;B.模型组;C.PFD组;D.DOP低剂量组;E.DOP中剂量组;F.DOP高剂量组。

图1 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织病理学形态的影响(HE染色, $\times 200$)



注:A.对照组;B.模型组;C.PFD组;D.DOP低剂量组;E.DOP中剂量组;F.DOP高剂量组。

图2 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织胶原纤维的影响(天狼星红染色, $\times 200$)

2.2 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织TGF- β 1含量的影响 给药28 d,与对照组相比,模型组小鼠肺组织TGF- β 1含量升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组相比,DOP低、中、高剂量组小鼠肺组织TGF- β 1含量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表2。

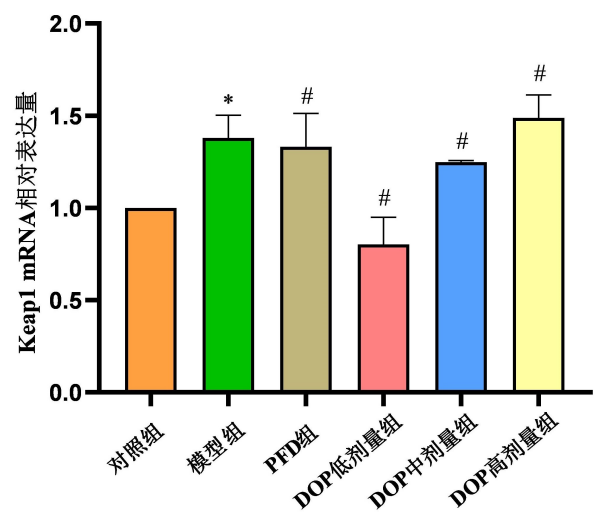
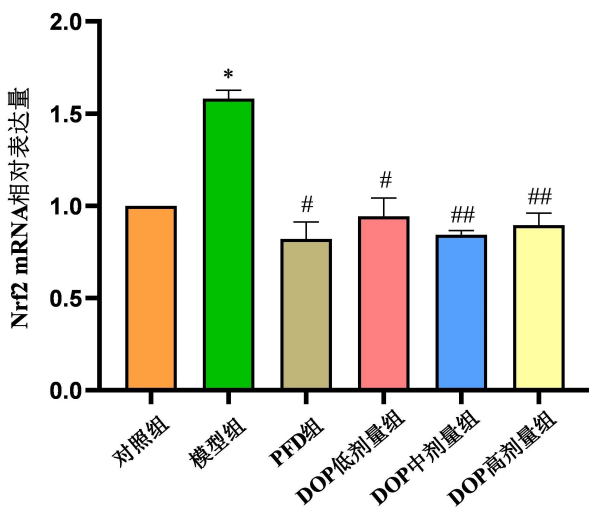
2.3 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织Nrf2、Keap1 mRNA表达的影响 给药28 d,与对照组相比,模型组小鼠肺组织Nrf2、Keap1 mRNA表达显著上调,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,PFD组和DOP各剂量组小鼠肺组织Nrf2、Keap1 mRNA表达水平均有不同程度的降低,差异均有统计学意义(P

< 0.05 或 $P < 0.01$)。见图3。

表2 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织TGF- β 1含量的影响

组别	n	TGF- β 1/(ng·mL ⁻¹)
对照组	3	2.064±0.053
模型组	3	5.722±0.170 ^a
PFD组	3	1.652±0.165 ^b
DOP低剂量组	3	2.045±0.148 ^b
DOP中剂量组	3	3.830±0.126 ^b
DOP高剂量组	3	4.227±0.223 ^b

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与对照组比较,a: $P < 0.01$;与模型组比较,b: $P < 0.01$ 。



注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图3 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织Nrf2、Keap1 mRNA表达的影响

2.4 DOP对矽肺纤维化小鼠肺组织Nrf2、Keap1蛋白表达的影响 与对照组相比,模型组小鼠肺组织Nrf2、Keap1蛋白相对表达量显著升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组相比,PFD组和DOP各剂量组小鼠肺组织Nrf2、Keap1蛋白表达水平均有不同程度的降低,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图4、表3。

表3 各组小鼠肺组织Nrf2、Keap1蛋白的表达情况

组别	n	Nrf2/GAPDH	Keap1/GAPDH
对照组	3	0.917±0.191	0.974±0.079
模型组	3	1.707±0.084 ^a	1.208±0.061 ^a
PFD组	3	1.197±0.081 ^c	0.969±0.108 ^c
DOP低剂量组	3	0.845±0.025 ^c	1.300±0.065
DOP中剂量组	3	1.036±0.085 ^c	1.060±0.099 ^b
DOP高剂量组	3	1.213±0.075 ^c	0.997±0.053 ^c

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与对照组比较,a: $P < 0.01$;与模型组比较,b: $P < 0.05$,c: $P < 0.01$ 。

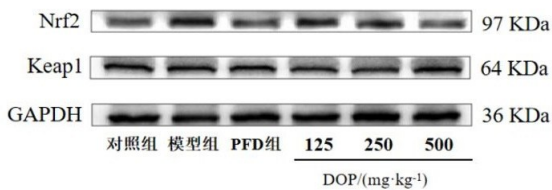


图4 给药28 d各组小鼠肺组织蛋白电泳图

3 讨论

矽肺是一种由于某些工作需要,长期吸入粉尘等导致肺部发生纤维化的慢性进行性疾病,其中主要指

长期吸入SiO₂颗粒引起巨噬细胞损伤和肺组织脂质过氧化,肺部发生炎症反应和纤维化,严重危害劳动者的身体健康^[13-14]。由于严重的空气污染和不完善的职业安全法规,矽肺是发展中国家持续存在的公共卫生问题^[15]。而矽肺的发病过程比较隐匿,工作中缺乏细节以及肺部疾病进展缓慢导致大多数人没有注意到粉尘暴露的严重后果,使得无法早期诊断和有效治疗^[16]。大容量全肺灌洗通常用于早期矽肺,以改善胸

闷、胸痛、呼吸短促和其他相关症状。美国食品和药物管理局(FDA)批准的用于特发性肺纤维化的药物——吡非尼酮和宁替达尼已在矽肺模型中得到充分有效的证明^[17]。尽管有一小部分患者可能接受肺移植,但存在供体较少,且肺移植后的长期生存预后较差。

近年来有研究表明^[18],中药对矽肺的进展起到了一定的缓解作用,因为它们可以减少与二氧化硅引起的炎症、纤维化和氧化应激相关的变化。临床试验表明,使用中药治疗后,患者的肺功能、生活质量和运动能力得到了显著改善。铁皮石斛作为一种传统中草药已经在许多亚洲国家被广泛应用于治疗疾病,药用历史悠久^[19-20]。铁皮石斛多糖是从铁皮石斛的新鲜或干燥茎中提取出来的活性成分,有研究表明,铁皮石斛多糖具有抑制肿瘤、免疫调节、降血糖、抗炎、抗氧化、抗衰老等作用。

Keap1-Nrf2-ARE 是体内重要的抗氧化通路,在肺纤维化的发病机制中起着重要作用。该通路是调节细胞内抗氧化物表达的关键因子,具有抗氧化、抗炎等作用^[21]。氧化应激诱导 Nrf2 激活,Nrf2 已被证实参与保护因氧化应激受损的细胞。已经有研究证明,Nrf2 信号的激活减轻了肺损伤并延缓了肺纤维化的进展,抗氧化剂的补充似乎能够调节纤维化的可塑性程度和严重程度^[22]。

本研究结果表明 DOP 具有抗矽肺纤维化的作用,其机制与下调信号通路中 Nrf2 和 Keap1 表达水平以及降低促纤维化因子 TGF- β 1 水平有关。SiO₂ 诱导的矽肺纤维化模型小鼠的肺组织 TGF- β 1 水平明显升高,说明 SiO₂ 进入肺部后刺激巨噬细胞吞噬,巨噬细胞产生了大量的细胞因子,包括促炎因子、促纤维化因子等。其中促纤维化因子 TGF- β 1 进一步作用于下游的成纤维细胞等效应细胞,促进胶原的分泌增多,致使细胞外基质沉积,最终引起肺纤维化。同时,模型组小鼠肺组织 Nrf2 和 Keap1 表达上调,提示机体发生了氧化与抗氧化失衡的病理状态,Nrf2 与 Keap1 解离,进而转位进入细胞核并与 ARE 结合,启动下游多种抗氧化基因的表达并发挥抗氧化作用。而在 DOP 干预后,TGF- β 1 水平降低,说明 DOP 可以抑制 TGF- β 1 的产生,从而减少胶原纤维沉积,减缓肺纤维化进程。同时,Nrf2 和 Keap1 表达降低,提示 DOP 通过下调 Nrf2 和 Keap1,有效地增强了机体的抗氧化反应,在一定程度上减轻了肺损伤和肺纤维化的进展,为矽肺纤维化的防治提供了新的研究思路。同时,DOP 对矽肺的炎症反应以及对机体氧化与抗氧化平衡是否具有调节作用,以及是否通过增强一些抗氧化酶的表达达到清除过氧化物的代谢产物,从而达到抗氧化作用进而抑制矽肺纤维化等问题,后续将继续进行深入探究。

参考文献:

- [1] 毕会阳,高俊玲,赵曼曼,等. 转染过表达 miR-101 的 BM-SCs 对大鼠矽肺纤维化的抑制作用[J]. 免疫学杂志, 2021,37(7):584-589.
- [2] PANG J L, QI X M, LUO Y, et al. Multi-omics study of silicosis reveals the potential therapeutic targets PGD2 and TXA2[J]. Theranostics, 2021,11(5):2381-2394.
- [3] 张莹,黄明,陆丰荣,等. 骨髓间充质干细胞输注频次对矽肺大鼠肺纤维化的影响[J]. 中国组织工程研究, 2023,27(19):2980-2985.
- [4] 冯菲菲. 丹参酮 II A 对矽肺肺损伤及纤维化的保护作用及机制研究[D]. 济南:山东大学, 2020.
- [5] 张红香,张素华. 矽肺患者血清中活性维生素 D 和 CC16 水平及意义[J]. 工业卫生与职业病, 2023,49(1):10-13.
- [6] 杜玉苗,杨立群. 干扰素- β 对 SiO₂ 诱导 THP-1、A549 和 BEAS-2B 细胞内细胞因子及纤维化基因变化的影响[J]. 毒理学杂志, 2018,32(1):67-70.
- [7] 顾沛,徐以菊,叶子,等. 血浆 IL-11 与矽肺患病风险的关联性研究[J]. 工业卫生与职业病, 2023,49(1):5-9.
- [8] JIA N, WANG J J, LIU J M, et al. DcTT8, a bHLH transcription factor, regulates anthocyanin biosynthesis in *Dendrobium candidum* [J]. Plant Physiol Biochem, 2021, 162:603-612.
- [9] LI Q X, CHEN J, LI Y J, et al. Effect of polysaccharide of dendrobium candidum on proliferation and apoptosis of human corneal epithelial cells in high glucose[J]. Medicine (Baltimore), 2017,96(32):e7773.
- [10] 寇战利,陈社论,刘冰林,等. 铁皮石斛多糖对糖尿病大鼠脂代谢异常的改善作用及机制[J]. 广州中医药大学学报, 2021,38(11):2462-2468.
- [11] LIU Y G, YANG L L, ZHANG Y, et al. Dendrobium officinale polysaccharide ameliorates diabetic hepatic glucose metabolism via glucagon-mediated signaling pathways and modifying liver-glycogen structure[J]. J Ethnopharmacol, 2020,248:112308.
- [12] 窦玉玉,陆青兰,郭建宏,等. 铁皮石斛多糖影响 Notch 信号通路相关分子改善矽肺纤维化的研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2022,43(1):9-18.
- [13] LIU X Y, WANG J, DOU P Y, et al. The ameliorative effects of arctiin and arctigenin on the oxidative injury of lung induced by silica via TLR-4/NLRP3/TGF- β signaling pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021:5598980.
- [14] 罗怡然,吴蓓丽,居越,等. 铁皮石斛多糖通过抑制 TGF- β 1/Smad2/3 通路对抗二氧化硅致肺损伤作用[J]. 中药材, 2022,45(12):2993-2998.
- [15] CUI J, HE H, XU H, et al. The regulatory effect of pulmonary lymphatic drainage on silicosis fibrosis[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2022,241:113758.

(下转第 383 页)

参考文献:

- [1] NAMPOOTHIRI M, RAMALINGAYYA G V, KUTTY N G, et al. Insulin combined with glucose improves spatial learning and memory in aluminum chloride-induced dementia in rats[J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2017, 36(2):159-169.
- [2] LUKASZ B, RYBAKOWSKA I M, KRAKOWIAK A, et al. The health effects of environmental and occupational exposure to aluminum[J]. *Med Pr*, 2020, 71(1):79-88.
- [3] BOLGER-MUNRO M, CHOI K, CHEUNG F, et al. The Wdr1-LIMK-cofilin axis controls b cell antigen receptor-induced actin remodeling and signaling at the immune synapse[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:649433.
- [4] 乔乔, 夏佳蕊, 张立丰. 铝神经毒性机制研究进展[J]. *解剖学杂志*, 2019, 42(5):505-508.
- [5] CAI N N, GENG Q, JIANG Y, et al. Schisandrin A and B affect the proliferation and differentiation of neural stem cells[J]. *J Chem Neuroanat*, 2022, 119:102058.
- [6] HU X L, GUO C, HOU J Q, et al. Stereoisomers of schisandrin B are potent ATP Competitive GSK-3 β inhibitors with neuroprotective effects against Alzheimer's disease: stereochemistry and biological activity[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(2):996-1007.
- [7] 李秋营, 杨艳旭, 张太强, 等. 实验性大鼠铝中毒模型建立[J]. *山西医药杂志*, 2002, 31(2):113-115.
- [8] 刘佳喜, 张立丰. 铝的毒性作用研究进展[J]. *现代预防医学*, 2021, 48(5):806-809, 871.
- [9] 刘佳喜, 张立丰. 铝诱导神经细胞程序性死亡的研究进展[J]. *中华神经医学杂志*, 2020, 19(6):627-631.
- [10] RILEY J S, BOCK F J. Voices from beyond the grave: the impact of apoptosis on the microenvironment[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2022, 1869(11):119341.
- [11] KHODAVIRDIPOUR A, PIRI M, JABBARI S, et al. Apoptosis detection methods in diagnosis of cancer and their potential role in treatment: advantages and disadvantages; a review[J]. *J Gastrointest Cancer*, 2021, 52(2):422-430.
- [12] DEY M, SINGH R K. Neurotoxic effects of aluminium exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease[J]. *Pharmacol Rep*, 2022, 74(3):439-450.
- [13] ZHANG Y N, GUO T M, DING Y, et al. Taurine and deferiprone against Al-linked apoptosis in rat hippocampus[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2023, 76:127113.
- [14] RAHIMZADEH M R, RAHIMZADEH M R, KAZEMI S, et al. Aluminum poisoning with emphasis on its mechanism and treatment of intoxication[J]. *Emerg Med Int*, 2022, 2022:1480553.
- [15] 张译敏, 廖秀玲, 王雪妮, 等. 五味子乙素抗炎作用研究进展[J]. *中成药*, 2022, 44(10):3244-3248.
- [16] 李佳芮, 聂文博, 张佳悦, 等. 五味子乙素对阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力及神经细胞凋亡的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(14):3390-3394.

收稿日期:2023-02-10;修回日期:2023-03-18

(上接第 372 页)

- [16] LI T, YANG X, XU H, et al. Early identification, accurate diagnosis, and treatment of silicosis[J]. *Can Respir J*, 2022, 2022:3769134.
- [17] CAO Z J, LIU Y, ZHANG Z, et al. Pirfenidone ameliorates silica-induced lung inflammation and fibrosis in mice by inhibiting the secretion of interleukin-17A[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(4):908-918.
- [18] ADAMCAKOVA J, MOKRA D. Herbal compounds in the treatment of pulmonary silicosis[J]. *Physiol Res*, 2021, 70(S3):S275-S287.
- [19] LIANG Y H, LIU G R, XIE L N, et al. *Dendrobium candidum* polysaccharide reduce atopic dermatitis symptoms and modulate gut microbiota in DNFB-induced AD-like mice[J]. *Front Physiol*, 2022, 13:976421.
- [20] 刘雪, 吴婷婷, 沈鸿涛, 等. 铁石石斛多糖对脑缺血一再灌损伤模型大鼠预后的影响[J]. *黑龙江医药科学*, 2019, 42(6):40-44, 48.
- [21] 石海珩, 张艳梅, 龚丽娜. 妊娠糖尿病产妇 Nrf2、HO-1 表达水平与巨大儿发生的相关性分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2023, 31(1):8-14.
- [22] FENG F, CHENG P, ZHANG H N, et al. The protective role of tanshinone IIA in silicosis rat model via TGF- β 1/smad signaling suppression, NOX4 inhibition and Nrf2/ARE signaling activation[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:4275-4290.

收稿日期:2023-02-01;修回日期:2023-03-20