

本文引文格式: 欧阳怡佩, 黄艳, 郑凯, 等. 黄根多糖激活 Nrf2 对博来霉素致小鼠肺纤维化的保护作用[J]. 右江民族医学院学报, 2024, 46(4): 336-342.

【论著与临床报道】

黄根多糖激活 Nrf2 对博来霉素致小鼠肺纤维化的保护作用

欧阳怡佩, 黄艳, 郑凯, 姚鸿飞, 黄世稳

(右江民族医学院基础医学院, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨黄根多糖(polysaccharide of *Prismatomeria tetrandra*, PSPT)是否通过激活 Nrf2 发挥抗肺纤维化(Pulmonary fibrosis, PF)作用。方法 通过气管内滴注博来霉素(Bleomycin, BLM)创建小鼠肺纤维化模型, 随机分为对照组, BLM组, PSPT低、中、高(40 mg/kg、100 mg/kg、250 mg/kg)剂量组, 吡非尼酮(Pirfenidone, PFD)组(200 mg/kg), 分别根据小鼠体重灌胃给药或等量的生理盐水, 给药28 d后取肺组织标本, H&E、Masson染色检测肺纤维化程度; 碱水解法测定肺组织中羟脯氨酸(HYP)水平; RT-qPCR及免疫荧光法检测肺组织中 Nrf2 的 mRNA 及蛋白表达水平。结果 与对照组比较, 模型组肺组织损伤及纤维化显著。与模型组比较, PSPT各剂量组及 PFD组炎症反应及纤维化影响有所减轻; 各给药组 HYP水平显著降低($P < 0.001$); PSPT中、高剂量组 Nrf2 的 mRNA水平明显升高($P < 0.01$); PSPT高剂量组 Nrf2 转录因子蛋白水平显著提高($P < 0.001$)。结论 PSPT可能通过激活 Nrf2 表达来保护细胞免受氧化损伤, 从而促进 Nrf2 在细胞核内的积累, 增加抗氧化酶活性, 进而通过 Nrf2 抑制氧化应激而发挥抗肺纤维化作用。

关键词:肺纤维化; 博来霉素; 黄根多糖

中图分类号: R563.13

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2024)04-0336-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2024.04.009

Protective effect of polysaccharide of *Prismatomeria tetrandra* in activating Nrf2 against bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice

OUYANG Yipei, HUANG Yan, ZHENG Kai, YAO Hongfei, HUANG Shiwen

(School of Basic Medical Sciences, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate whether polysaccharide of *Prismatomeria tetrandra* (PSPT) exerts an anti-pulmonary fibrosis (PF) effect by activating nuclear factor erythrocyte 2-related factor 2 (Nrf2). **Methods** A mouse lung fibrosis model was established by intratracheal instillation of bleomycin (BLM). The mice were randomly divided into a control group, a BLM model group, low (40 mg/kg), medium (100 mg/kg) and high (250 mg/kg) dose PSPT groups, and a pirfenidone (PFD) group (200 mg/kg) which were administered by gavage according to the body weights of the mice, or by an equal amount of physiological saline, respectively. Lung tissue specimens were collected after 28 days of drug administration, and H&E and Masson staining were used to detect the degree of lung fibrosis. hydroxyproline (HYP) level in lung tissue was determined by alkaline hydrolysis method, while RT-qPCR and immunofluorescence methods were employed to detect the mRNA and protein expression levels of Nrf2 in lung tissue, respectively. **Results** When compared with the control group, lung tissue damage and fibrosis were significant in the model group. In contrast, the inflammatory re-

基金项目: 广西壮族自治区研究生教育创新计划项目(YCSW2023504)

第一作者: 欧阳怡佩, 在读硕士研究生, 研究方向: 黄根多糖抗肺纤维化, E-mail: yipeiyouyang@163.com

通讯作者: 黄世稳, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 组织炎症与纤维化, E-mail: shi.wen.huang@163.com

sponse and fibrosis were attenuated in all PSPT dose groups and the PFD group compared to the model group. Additionally, the HYP level was significantly decreased in each treatment group ($P < 0.001$). The mRNA levels of Nrf2 were significantly increased in the middle and high-dose PSPT groups ($P < 0.01$), while the protein level of the Nrf2 transcription factor was significantly elevated in the high-dose PSPT group ($P < 0.001$). **Conclusion** PSPT may protect cells from oxidative damage by activating Nrf2 expression, thus promoting the accumulation of Nrf2 in the nucleus and increasing antioxidant enzyme activity. Consequently, PSPT exerts an anti-PF effect by inhibiting oxidative stress through Nrf2 pathway.

Key words: pulmonary fibrosis; bleomycin; polysaccharide of *Prismatomeria tetrandra*

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是一种慢性间质性肺疾病,其典型特征是细胞外基质(ECM)的过度产生和沉积以及异常肺组织结构的重塑^[1],肺功能呈进行性破坏直至呼吸衰竭。据统计^[2],该疾病预后较差,患者的中位生存率低于 3 年,其病因目前尚不完全明确,如何防治肺纤维化一直是世界性难题。越来越多的研究表明,氧化应激(OS)在纤维化反应的启动和纤维化的进展中起着至关重要的作用^[3],核因子(红系衍生 2)类 2(Nrf2)通过诱导抗氧化和解毒酶的表达,对激活肺部的抗氧化反应至关重要^[4-5],其通过激活下游抗氧化蛋白,包括血红素加氧酶(HO-1)和醌氧化还原酶(NQO1)发挥抗纤维化作用^[5]。目前,已经有一些药物被用于治疗肺纤维化,吡非尼酮(Pirfenidone, PFD)是被批准的临床上治疗 PF 的药物,但排斥反应、并发症及治疗费用高限制了其临床应用^[6]。因此,迫切需要开发新型高效抗肺纤维化药物。

壮药黄根为茜草科植物三角瓣花[*Prismatomeria tetrandra* (Roxb.) K. Schum]的根^[7],具有利湿退黄、强壮筋骨、祛癖生新等功效。黄根片用于治疗矽肺已有数十年历史,许多研究表明黄根提取物具有抗矽肺纤维化和抗肝纤维化的作用^[8],黄根乙醇提取物制成的黄根片具有胶原交联的抑制作用,并能疏松胶原结构,对纤维化有一定的抑制作用^[9]。天然产物在药物开发中发挥着重要作用。在前期的研究中,本课题组已经初步发现,从壮药黄根中提取分离得到的黄根多糖(polysaccharide of *Prismatomeria tetrandra*, PSPT)^[7],能显著降低矽肺模型大鼠肺组织的炎症、PF 程度、肺脏指数降低、上皮 α 平滑肌肌动蛋白 mRNA、蛋白表达水平和波形纤维蛋白表达水平,而显著提升上皮性钙黏附蛋白 mRNA 水平,因此说明 PSPT 能减轻矽肺大鼠的肺脏器损伤,具有抗矽肺纤维化作用^[10]。但 PSPT 通过抗氧化途径减缓 PF 的作用机制尚不明确。因此本研究通过博来霉素(Bleomycin, BLM)诱导小鼠肺纤维化模型组织形态,以及羟脯氨酸、Nrf2 等功能学指标变化情况观测,从 Nrf2 角度探讨 PSPT 对实验性肺纤维化的保护作用机制,以期为

PSPT 的临床应用提供更多的科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 36 只,2 月龄,体重 18~22 g,由广东维通利华实验动物技术有限公司提供[SCXK(粤)2022-0063]。实验前,在室温(25 ± 2) °C,相对湿度(55 ± 5) %的条件下,标准条件下光照/暗循环 12 h,饲养 1 周。在建立 PF 模型之前,小鼠经历了至少 1 周的适应期。右江民族医学院伦理委员会(动物实验伦理审查号:2022070401)许可本次实验过程。

1.2 药物及试剂 硫酸博来霉素(CAS:9041-93-4,纯度 $\geq 98\%$),为前衍化学科技(武汉)有限公司产品;吡非尼酮(产品批号 220412,国药准字 H20193259),为北京凯因科技股份有限公司产品;H&E 测试试剂(货号:G1120)及 MASSON 测试试剂(货号:G1340)及总 RNA 提取试剂盒(货号:HS0402)为北京索莱宝科技有限公司产品;BeyoRT™ III cDNA 合成试剂盒(货号:D7168M)为上海碧云天生物技术股份有限公司产品;RT-qPCR 引物:依据 NCBI 数据库基因序列设计 PCR 引物,委托武汉金开瑞生物工程有限公司制备。

1.3 主要仪器 包埋机(型号:EG1150),德国徕卡公司、全手动轮转切片机(型号:149MULTI0C1),德国徕卡公司;LightCycler96 型 qRT-PCR 仪,瑞士罗氏有限公司;激光共聚焦(双光子)显微镜(型号:FV3000),日本奥林巴斯公司;多功能酶标仪(型号:ELX-808),德国伯托科技公司;ME204E 型电子天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.4 小鼠分组、给药处理 适应性喂养 1 周后,造模前,为确保所有小鼠的初始生理条件相同,对其体重进行了精确的测量。造模操作结束后,对各组小鼠开展日常监测工作,详细记录了它们的整体状况变化。将 36 只(体重 18~22 g)C57BL/6J 小鼠随机分为对照组和造模组,造模组气管滴注 5 mg/kg BLM,对照组同时气管滴注相应剂量的磷酸盐缓冲盐水(PBS, pH 7.4)。分别于造模第 28 天取肺组织测肺系数并 HE

和 Masson 染色,观察小鼠肺纤维化的形成。同时,随机分组法分为 6 组:对照组,BLM 组,吡非尼酮(Pirfenidone, PFD)组和 PSPT 低、中、高(40 mg/kg、100 mg/kg、250 mg/kg)剂量组,每组 6 只。PSPT 低、中、高剂量组分别根据小鼠体质量灌胃给予相应体积的药物,而对照组和模型组小鼠则每日分别按体质量给予等体积的生理盐水灌胃 1 次。每次给药时记录小鼠体重,在给药后的 28 d 时间节点取材,每组 6 只;小鼠禁食不禁饮 12 h 后,用乌拉坦麻醉脱颈处死,开胸取肺组织的右肺标本冻存于超低温冷冻冰箱,左肺用组织固定液浸泡后制成蜡块切片待检。

1.5 观察小鼠一般情况和称量体重 需每日定期查看小鼠饮食和饮水次数,行为运动是否有异常及呼吸情况,每日称量并记录各组小鼠体重。

1.6 测定小鼠肺系数 迅速剥离小鼠肺组织,用冰冷的等渗盐水冲洗,用吸水纸吸去表面水分,然后立即称体重。肺系数计算如式:肺系数=(肺湿重量/小鼠的重量)。

1.7 检测肺组织羟脯氨酸 每组取 30 mg 肺组织冰上解冻,在冷生理盐水中均质。所有样本均离心(3 000 r/min, 4 °C) 20 min,取上清液,用碱水解法进行后续操作。

1.8 观测小鼠肺组织形态学改变 左肺组织经生理盐水漂洗后立即装入包埋盒,4%多聚甲醛固定,充分经流水冲洗后,梯度酒精脱水;石蜡包埋后的标本放置冷凝台,切片厚度为 5 μm,置于 45 °C 温水展片后玻片贴片,60 °C 烤片 3 h;制备好后脱蜡脱水,甩干水珠,石蜡切片备用于 HE 和 Masson 染色实验,正置显微镜观察。

1.9 RT-qPCR 法检测肺组织 *Nrf2* mRNA 表达 称取 30 mg 左右小鼠肺组织,用电动研磨器充分研磨组织,提取并测总 RNA 浓度。采用 BeyoRT™ III cDNA 合成试剂盒和实时荧光定量 PCR 检测试剂盒进行检测,在 Light Cycler 96 软件查看 *Nrf2* mRNA 扩增情况,导出 CT 值计算相对量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法,分别计算每个基因 3 个复孔的平均 CT 值,引物序列,见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

引物名称	序列(5'→3')
<i>Nrf2</i>	F:TCCATTTACGGAGACCCA R:TCACGCATAGGAGCACTG
GAPDH	F:GGTTGTCTCCTGCGACTTCA R:TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC

1.10 免疫荧光染色激光共聚焦显微镜下观察 *Nrf2*

蛋白表达 用二甲苯和梯度乙醇脱蜡,用磷酸盐缓冲盐水(每次 3 min)洗涤 3 次,并用 10%胎牛血清在 37 °C 下孵育 30 min,再滴加 *Nrf2* 抗体(一抗体系为:PBS+*Nrf2* 一抗,浓度为 1:200),4 °C 孵育过夜。PBS 洗 3 次每次 5 min,二抗避光染色,PBS 再次充分洗涤后,用即用型 DAPI 试剂染核。最后各组图片的荧光密度值用激光共聚焦显微镜和 ImageJ 软件观察并分析。

1.11 统计学方法 所有实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,运用 GraphPad Prism 9.0 统计学软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),多个组别之间的多重比较采用 Tukey 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般情况观察 对照组小鼠饮食和饮水次数、行为运动及呼吸情况均正常。BLM 组小鼠呼吸频率明显加快,可听到清晰的湿啰音和水泡音。在实验中,经过乌拉坦麻醉并苏醒后的小鼠在接受气管滴注 BLM 后,其动作变得迟钝,四肢出现无力状况,口鼻区域呈现紫绀。随着时间的进展,这些小鼠的摄食量大幅减少,体重持续降低,显示了疾病进程的恶化。但在进行了为期 1 周的灌胃给药治疗后,PFD 组和 PSPT 中、高组与 BLM 组相比,小鼠的呼吸开始变得平稳,摄食量也有所回升。BLM 组及 PSPT 低剂量组小鼠体重下降,而对照组和 PSPT 各剂量组小鼠体重有增加趋势。与对照组比,BLM 组小鼠体重下降($P < 0.01$);与 BLM 组相比,给药 28d PSPT 低剂量组小鼠的肺系数虽有降低趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);PSPT 中、高剂量组和 PFD 组小鼠体重均有升高($P < 0.05$),见表 2 和图 1。

表 2 不同剂量组 PSPT 对小鼠体重的影响 ($n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	给药 28 d 体重/g
对照组	—	22.83±1.63
BLM 组	—	16.83±1.53 ^a
PFD 组	200	20.82±2.40 ^b
PSPT 低剂量组	40	18.25±1.87
PSPT 中剂量组	100	20.28±2.09 ^b
PSPT 高剂量组	250	20.80±1.92 ^b

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

2.2 PSPT 对 PF 小鼠组织病理形态的影响 在 PF 模型构建后的第 28 天,收集了小鼠的肺组织样本。由图 1 可见小鼠肺部的解剖外观变化,对照组小鼠肺组织在肉眼显得相当平滑且质地细腻,整体呈现出一种健康的粉红色光泽。而模型组小鼠组织表面则有明

显呈现磨砂颗粒状及其颜色暗沉(箭头所指),肺体积有肉眼上的增大。与对照组相比,其余组别小鼠的肺组织表面呈现不同程度的磨砂感,且色泽略微偏白;PFD组及PSPT各剂量组病变程度比模型组要轻得多。这一结果表明,无论是PSPT及PFD的治疗干预,均能有效地缓解由BLM所引发的小鼠肺组织损伤。HE染色及分析,见图2。对照组小鼠可以清楚地观察到支气管和肺泡结构保持完整,上皮细胞呈健康的湿润状态,且肺组织未见炎性细胞浸润。模型组小鼠肺组织则呈现出截然不同的景象,其肺组织结构明显紊乱,肺泡结构几乎消失,肺泡间隔显著增厚,并出现明显的血管充血;更为严重的是,可见大量红细胞和炎细胞呈弥漫性渗出和浸润,导致肺组织实变和纤维化,甚至出现肺大泡的严重病理表现。PFD组及PSPT各剂量组小鼠的肺泡间隔增厚程度明显减轻,

肺泡内渗出物也显著减少,黏膜下及肺间质可见少量炎性细胞浸润,病理损伤较模型组有明显改善。可发现,小鼠肺组织损伤程度经PSPT及PFD灌胃治疗后明显降低。Masson染色及分析,见图3。对照组小鼠观察到胶原沉积主要局限于支气管周围,且沉积量较少,这表明小鼠肺组织中的胶原分泌保持在较低水平。BLM组气管内、小鼠肺组织内胶原沉积情况发生了明显变化,且呈现大量弥漫性分布,提示BLM刺激能够显著促进小鼠肺组织中胶原的分泌,从而加速纤维化的进程。结果表明,BLM诱导的小鼠PF明显加重。PFD组及PSPT中、高剂量组小鼠肺组织中,胶原沉积呈现出更为散在且程度较轻的分布。与BLM组比较,PSPT干预能明显减弱胶原沉积,展现出较明显的抗纤维化效果。这些结果表明,PSPT可能通过阻止病理改变和减少胶原沉积来延缓PF的进展。

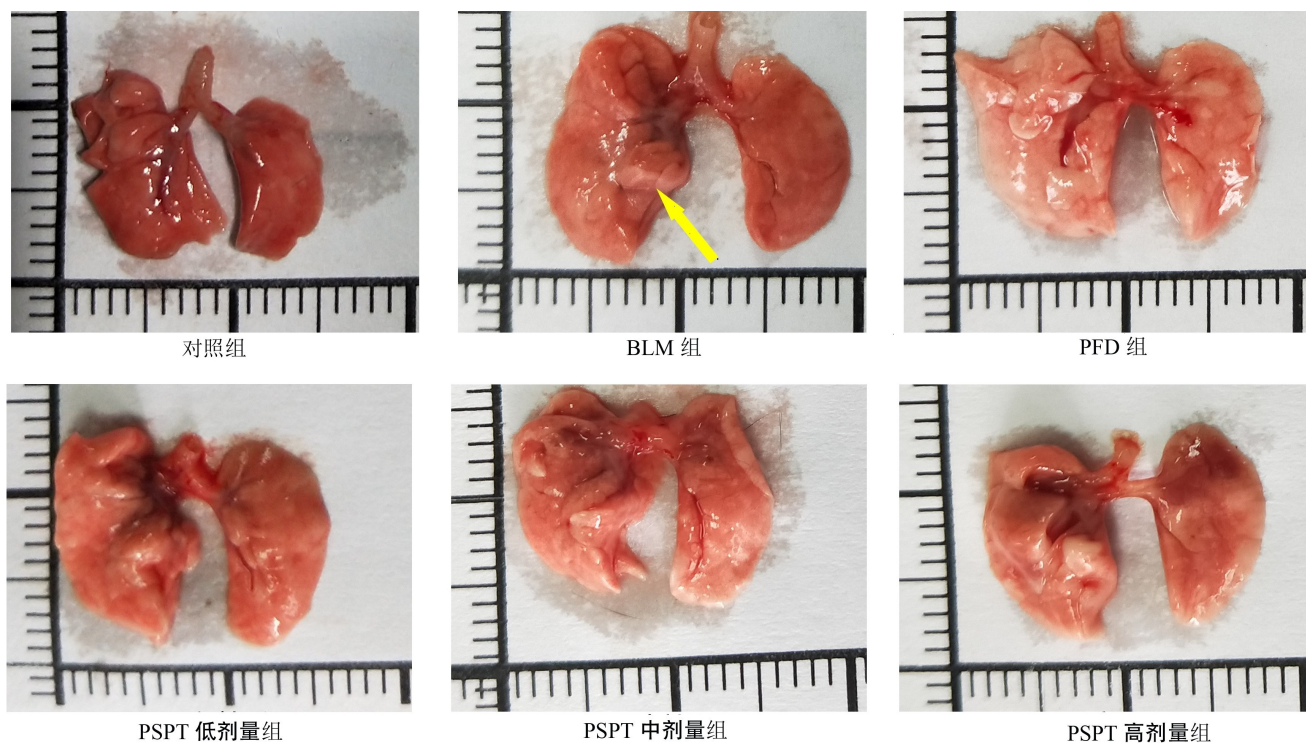
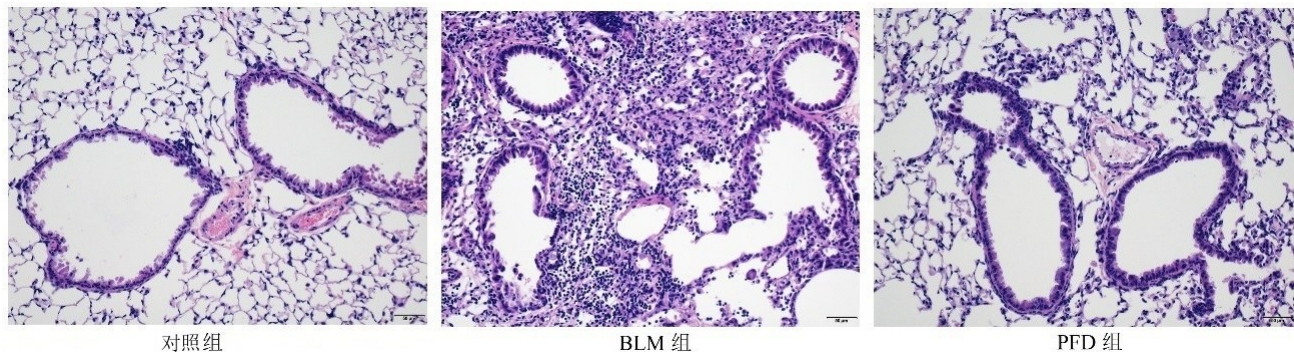


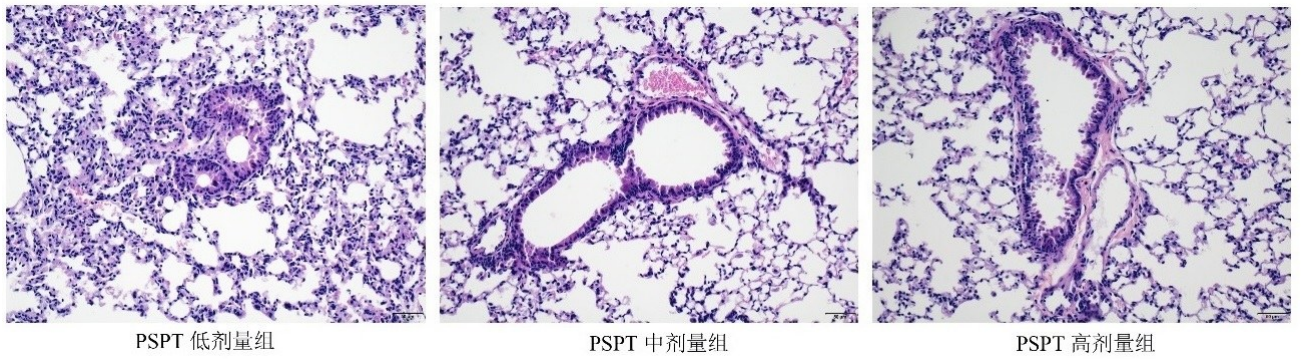
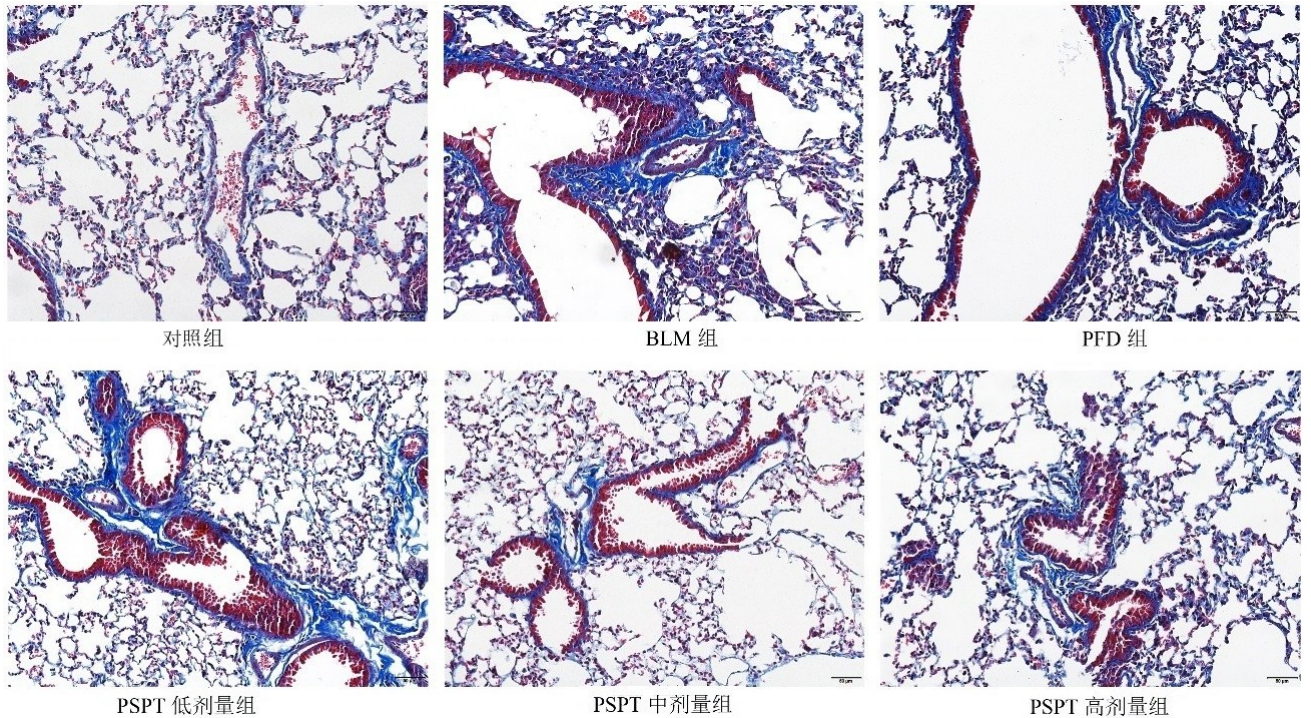
图1 小鼠各组肺组织解剖图



对照组

BLM组

PFD组

图 2 小鼠肺组织各实验组 HE 染色变化($\times 200$)图 3 小鼠肺组织各实验组 Masson 染色变化($\times 200$)

2.3 PSPT 对小鼠肺系数的影响 由表 3 可见,与对照组比,测定的 BLM 组小鼠第 28 天肺系数显著升高 ($P < 0.001$)。与 BLM 组比,PFD 组及 PSPT 低剂量组小鼠第 28 天肺系数明显降低 ($P < 0.01$);PSPT 中、高剂量组小鼠第 28 天肺系数显著降低 ($P < 0.001$)。

2.4 小鼠肺组织各实验组羟脯氨酸值变化 由表 4 可见,BLM 组较对照组小鼠肺组织的羟脯氨酸含量有显著上升 ($P < 0.001$);与 BLM 组比,PFD 组及 PSPT 各剂量组羟脯氨酸值含量均呈现出了显著下降趋势 ($P < 0.001$)。

表 4 小鼠肺组织各实验组羟脯氨酸值变化 ($n=3$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肺系数/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
对照组	—	5.99 ± 0.24
BLM 组	—	8.41 ± 1.12^a
PFD 组	200	6.73 ± 0.76^b
PSPT 低剂量组	40	6.71 ± 0.43^b
PSPT 中剂量组	100	6.18 ± 0.42^c
PSPT 高剂量组	250	6.51 ± 0.63^c

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。②与对照组比,a: $P < 0.001$;与 BLM 组比,b: $P < 0.01$;c: $P < 0.001$ 。

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	HYP/($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照组	—	0.46 ± 0.012
BLM 组	—	0.98 ± 0.014^a
PFD 组	200	0.52 ± 0.018^b
PSPT 低剂量组	40	0.78 ± 0.007^b
PSPT 中剂量组	100	0.52 ± 0.018^b
PSPT 高剂量组	250	0.54 ± 0.025^b

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。②与对照组比,a: $P < 0.001$;与 BLM 组比,b: $P < 0.001$ 。

2.5 PSPT对PF小鼠肺组织 *Nrf2* mRNA 表达的影响 由表5可见,与对照组比较,BLM组小鼠肺组织的 *Nrf2* mRNA 表达显著下调 ($P < 0.001$);与BLM组比较,PSPT中、高剂量组小鼠肺组织的 *Nrf2* mRNA 表达均明显上调 ($P < 0.01$);PFD组肺组织的 *Nrf2* mRNA 表达显著上调 ($P < 0.001$)。

2.6 免疫荧光染色检测肺纤维化小鼠肺组织 Nrf2 蛋白表达水平 由图4和表6可见,结果显示:相较于对照组,BLM组小鼠肺组织的 Nrf2 蛋白表达水平对比对照组显著降低 ($P < 0.001$);PSPT高剂量组及PFD组小鼠肺组织的 Nrf2 相较于BLM组表达量显著升高 ($P < 0.001$)。

表5 PSPT对PF小鼠肺组织 *Nrf2* mRNA 的影响 ($n = 3$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	相对表达量
对照组	—	1.00 ± 0.00
BLM组	—	0.30 ± 0.09 ^a
PFD组	200	0.79 ± 0.04 ^c
PSPT低剂量组	40	0.40 ± 0.04
PSPT中剂量组	100	0.47 ± 0.01 ^b
PSPT高剂量组	250	0.50 ± 0.05 ^b

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。②与对照组比,a: $P < 0.001$;与BLM组比,b: $P < 0.01$;c: $P < 0.001$ 。

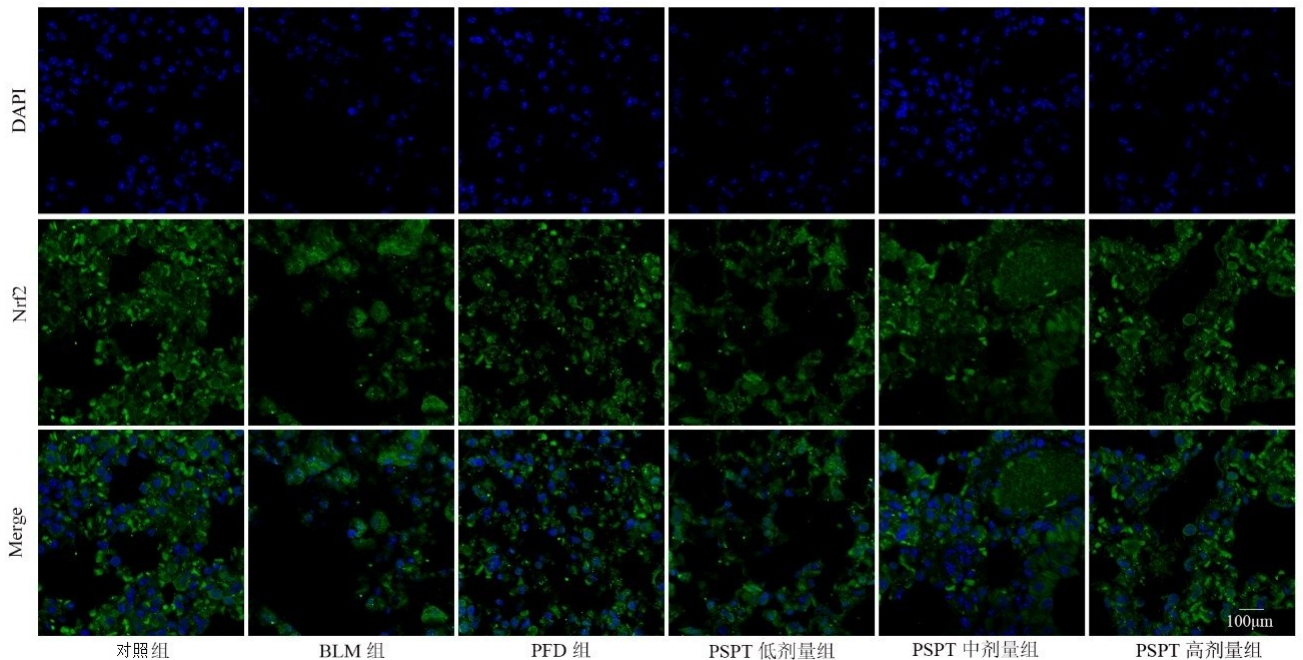


图4 免疫荧光检测小鼠肺组织 Nrf2 蛋白表达($\times 100$)

表6 免疫荧光染色检测各实验组小鼠肺组织中 Nrf2 的表达量差异 ($n = 3$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	相对表达量
对照组	—	0.98 ± 0.01
BLM组	—	0.76 ± 0.03 ^a
PFD组	200	0.91 ± 0.04 ^d
PSPT低剂量组	40	0.85 ± 0.01 ^b
PSPT中剂量组	100	0.86 ± 0.01 ^c
PSPT高剂量组	250	0.92 ± 0.04 ^d

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示。②与对照组比,a: $P < 0.001$;与BLM组比,b: $P < 0.05$;c: $P < 0.01$;d: $P < 0.001$ 。

3 讨论

PF作为一个错综复杂的病理过程,其演变不仅受到外在风险因素的独立影响,更可能与机体内在因素产生复杂的交互作用,逐渐走向进行性和不可逆的疾

病阶段。因此建立与人类PF病理变化高度相似的小鼠模型对于疾病机制的研究和潜在治疗策略的开发至关重要。

当前,PF的具体机制尚未完全明晰,但已有研究表明,氧化应激、免疫损伤、过度修复、自噬和细胞凋亡等可能参与其中^[11]。近年来,来自植物、真菌和海洋生物的生物活性多糖越来越受到人们的关注,它们被认为是一种抗氧化剂补充剂和潜在的有价值的氧化应激治疗或预防方法^[12]。作为一种来源于天然植物的生物活性多糖,本课题组研究发现单独使用PSPT对小鼠肺没有明显的病理损伤,包括肺组织炎症细胞浸润、部分肺泡壁增厚、增宽等情况均未出现,这为后续的实验探索提供了重要依据。

在过去的研究表明氧化应激诱导的氧化/抗氧化失衡对肺纤维化的形成和进展至关重要。过多的ROS会对DNA、蛋白质、膜脂等功能性生物大分子造

成氧化损伤,并介导多种凋亡通路,诱导细胞凋亡,最终导致疾病(如癌症、纤维化、高血压)的发生^[13]。在这个过程中,氧化还原敏感的 AMPKs 与 ROS 生成和细胞凋亡存在密切关联,而转录因子 Nrf2 作为抗氧化应激的关键调节因子,同样扮演了重要角色^[14]。本研究结果揭示了在 BLM 诱导的 PF 模型中,Nrf2 信号通路可能遭遇了抑制或功能损伤;而 PSPT 和 PFD 可能激活小鼠肺组织的 Nrf2 蛋白表达,从而在某种程度上抵消 BLM 诱导 PF 造成的损伤。此发现指向一个可能性:PSPT 可通过激活 Nrf2 保护小鼠肺组织免受氧化应激的侵害。

大量研究表明,Nrf2/Keap-1 可保护肺上皮细胞免受氧化应激诱导的死亡,并参与细胞生长和存活过程。在氧化应激信号的刺激下,Nrf2 迅速从 Keap-1 分离并转移到细胞核中。Nrf2 与小肌筋膜性纤维肉瘤蛋白结合形成异源二聚体,然后再与抗氧化反应元件(ARE)结合,增加 ARE 介导的靶基因表达,导致 II 期酶/抗氧化基因转录激活,维持细胞内氧化还原平衡^[15]。本研究结果进一步证实了 PSPT 通过激活 Nrf2 的表达来保护细胞免受氧化损伤,从而促进 Nrf2 在细胞核内的积累发挥抗氧化作用。因此,PSPT 可以通过 Nrf2 减弱 BLM 诱导的小鼠 PF,有效保护肺组织。相较于小型化学药物,PSPT 等大分子多糖具有活性高、毒性低、副作用少等特点,可作为预防 PF 及其他纤维化相关疾病的天然潜在候选预防药物。然而,Nrf2 的下游通路如 NQO1、HO-1 等同样在抗氧化应激中发挥着关键作用,其具体的辅助作用机制及与 PSPT 的相互作用仍有待进一步深入研究。

综上所述,本研究不仅揭示了 PSPT 在预防 PF 中的潜在作用,更为后续的机制研究和药物开发提供了新的方向和思路。

4 结论

本课题组目前研究结果表明,PSPT 对 BLM 诱导小鼠 PF 具有保护作用,并能减轻 BLM 刺激小鼠 PF。其保护作用表现为无体重进行性降低,降低肺系数,减少炎症细胞浸润和胶原沉积,抑制 PF 的形成,其主要机制可能与 Nrf2 介导的肺抗氧化能力的增强有关,PSPT 可能的分子机制为通过激活 Nrf2 途径发挥抗氧化作用。这些研究证明了从壮药黄根提取的 PSPT 可能是治疗 PF 的有效和有前途的化合物,但本研究也有一些局限性。为了进一步证实 Nrf2 介导的保护作用,在后续的工作中,还需要利用细胞和分子生物学技术来进一步评估其详细的分子机制。

参考文献:

[1] YANG J T, PAN X, WANG L, et al. Alveolar cells under

mechanical stressed niche: critical contributors to pulmonary fibrosis[J]. *Mol Med*, 2020, 26(1): 95.

- [2] RAGHU G, COLLARD H R, EGAN J J, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(6): 788-824.
- [3] HIRAWAT R, JAIN N, ASLAM SAIFI M, et al. Lung fibrosis: post-COVID-19 complications and evidences[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 116: 109418.
- [4] CHANG X, LIU C, HAN Y M, et al. Efficient transfected liposomes co-loaded with pNrf2 and pirfenidone improves safe delivery for enhanced pulmonary fibrosis reversion[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2023, 32: 415-431.
- [5] HUAI B, DING J Y. Atractylenolide III attenuates bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis and oxidative stress in rat model via Nrf2/NQO1/HO-1 pathway activation[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42(5): 436-444.
- [6] MARGARITOPoulos G A, TRACHALAKI A, WELLS A U, et al. Pirfenidone improves survival in IPF: results from a real-life study[J]. *BMC Pulm Med*, 2018, 18(1): 177.
- [7] 陆青兰, 陆海峰, 黄世稳, 等. 壮药黄根中多糖含量的测定[J]. *右江民族医学院学报*, 2018, 40(5): 405-408.
- [8] 唐梦华, 吴玉强. 治疗肝纤维化瑶药复方黄根方的研究进展[J]. *大众科技*, 2019, 21(9): 62-64.
- [9] 何飞, 覃佩莉, 黄若干, 等. 黄根片对急性肝损伤和肝纤维化作用的研究[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(2): 157-161.
- [10] 陆青兰, 黄世稳, 韦雪平, 等. 黄根多糖对大鼠矽肺纤维化的作用[J]. *中草药*, 2020, 51(4): 1031-1036.
- [11] KSEIBATI M O, SHARAWY M H, SALEM H A. Chrysin mitigates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats through regulating inflammation, oxidative stress, and hypoxia[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 89(Pt A): 107011.
- [12] HASSAN A I, SAMIR A, YOUSSEF H F, et al. Effects of silver nanoparticles-polysaccharide on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2021, 73(11): 1503-1512.
- [13] WANG L N, ZHANG Y X, SONG Z M, et al. Ginsenosides: a potential natural medicine to protect the lungs from lung cancer and inflammatory lung disease[J]. *Food Funct*, 2023, 14(20): 9137-9166.
- [14] SUN X L, WANG X, ZHAO Z Y, et al. Paeoniflorin accelerates foot wound healing in diabetic rats through activating the Nrf2 pathway[J]. *Acta Histochem*, 2020, 122(8): 151649.
- [15] LAN Y J, CHENG M H, JI H M, et al. Melatonin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via activating NRF2 and inhibiting galectin-3 expression[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(5): 1029-1037.

收稿日期: 2024-05-17; 修回日期: 2024-05-28