

基于 Nrf2/GPX4 铁死亡途径探讨甘露清瘟方对急性肺损伤大鼠的保护作用

李江涛¹, 李争², 李翔鹏¹, 梁倩倩¹, 廖春燕², 李风森^{1,2*}

(1. 新疆医科大学第四临床医学院, 新疆 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学附属中医医院, 新疆国家中医临床研究基地, 新疆呼吸病研究重点实验室, 新疆呼吸系统疾病临床医学研究中心, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: 目的 探讨甘露清瘟方对急性肺损伤大鼠的保护作用。方法 将大鼠随机分为正常组、模型组、地塞米松组和甘露清瘟方低、中、高剂量组 (0.9、1.8、3.6 g/kg)。正常组、模型组灌胃给予生理盐水, 其余组灌胃给予相应药物, 每天 1 次, 连续给药 3 d。第 4 天, 除正常组气管滴注无菌 PBS 外, 其余组气管滴注 LPS 建立急性肺损伤炎症模型, 24 h 后收集血清及肺组织, ELISA 法检测大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平, HE 染色观察肺组织病理变化, 生化法检测肺组织 Fe $^{2+}$ 、MDA、GSH 水平, Western blot、RT-qPCR 法检测肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白和 mRNA 表达。结果 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平、肺组织病理损伤评分、Fe $^{2+}$ 、MDA 水平升高 ($P < 0.05$), 肺组织 GSH 水平、Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白和 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$) ; 与模型组比较, 甘露清瘟方中、高剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平、肺组织病理损伤评分、Fe $^{2+}$ 、MDA 水平降低 ($P < 0.05$), 肺组织 GSH 水平、Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白和 mRNA 表达均升高 ($P < 0.05$)。结论 甘露清瘟方可通过改善大鼠体内炎症反应及氧化应激, 保护 LPS 诱导的急性肺损伤, 其作用机制可能与激活 Nrf2/GPX4 信号通路、抑制铁死亡有关。

关键词: 甘露清瘟方; 急性肺损伤; 核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2); 谷胱甘肽过氧化物 4 (GPX4); 铁死亡

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)02-0596-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.039

急性肺损伤 (ALI) 是以肺水肿、肺上皮损伤和急性发作为特征的急重症, 进而发展成急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)^[1]。在机械通气的支持下, 急性肺损伤病死率为 35%~46%^[2], 严重肺部感染是其常见发病原因之一。新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的全球大流行期间, 与之相关的 ARDS 死亡率高达 61.5%^[3]。近年研究表明, 铁死亡与 ALI 有较为密切的关系^[4-5], 谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 以及核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 被认为是 ALI 中铁死亡相关的关键调节因子^[6-8]。甘露清瘟方是李风森教授的多年临床经验方, 具有清热解毒、利湿化痰功效。在多年的肺部感染相关疾病临床治疗和观察中, 本课题组发现其能降低 COVID-19 患者肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、白介素 (IL)-6 等炎症因子水平, 但其作用途径及机制仍不清楚。本研究建立脂多糖 (LPS) 诱导的 ALI 大鼠模型, 观察不同剂量的甘露清瘟方干预对 ALI 大鼠相关指标变化的

影响, 并基于 Nrf2/GPX4 铁死亡途径探讨甘露清瘟方对 ALI 大鼠的保护作用, 以期为其临床治疗感染所致的 ALI 提供依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只, 6~8 周龄, 体质量 180~200 g, 购自新疆医科大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (新) 2018-0002], 飼养于该中心的动物房内 [实验动物使用许可证号 SYXK (新) 2018-0003]。本研究经新疆医科大学动物实验中心伦理委员会批准 (伦理号 IACUC-JT-202300831-52)。

1.2 药物 甘露清瘟方组方药材茵陈、黄芩、青蒿、石菖蒲、藿香、白豆蔻、连翘、射干、伊贝母、法半夏、陈皮、燬桃仁, 由新疆医科大学附属中医医院 (新疆维吾尔自治区中医医院, 以下或简称新疆中医医院) 药学部提供, 经李茜主任中药师鉴定为正品。醋酸地塞米松片 (批号

收稿日期: 2024-08-02

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发专项 (2021B03003-2); 新疆维吾尔自治区重大科技专项 (2022A03006-1); 新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项 (WJWY-202413); 新疆维吾尔自治区研究生创新项目 (XJ2024G164)

作者简介: 李江涛 (1990—), 男, 硕士生, 研究方向为中西医结合治疗呼吸病和药物治疗学。Tel: (0991) 7771747, E-mail: 530443341@qq.com

* 通信作者: 李风森 (1963—), 男, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为中西医结合治疗呼吸病。Tel: (0991) 5506733, E-mail: fengsen602@163.com

2310252, 规格 0.75 mg/片) 购自遂成药业股份有限公司。
 1.3 试剂 LPS (货号 L2880) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 大鼠 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ELISA 试剂盒、谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA)、亚铁离子 (Fe^{2+}) 检测试剂盒 (货号 E-EL-R2856、E-EL-R0012、E-EL-R0015、E-BC-K030-M1、E-BC-K025-M、E-BC-K773-M) 购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒、总 RNA 提取试剂 (货号 BL521、BS258A) 均购自北京兰杰柯科技有限公司; 兔源一抗 Nrf2 (货号 ABS120634) 购自爱必信 (上海) 生物科技有限公司; GPX4 (货号 ab125066) 购自英国 Abcam 公司; 溶质载体家族 7 成员 11 (SLC7A11) 抗体 (货号 26864-1-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体 (货号 AF1186) 购自上海碧云天生物技术股份有限公司。

1.4 仪器 荧光定量 PCR 仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 多功能酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司。

2 方法

2.1 药物制备 取组方药材适量, 加 10 倍量水浸泡 30 min, 武火煮沸后转文火煮 30 min, 无纺布过滤, 再加 8 倍量水重复以上步骤, 合并煎液, 浓缩、烘干, 一剂药材最终获得约 20 g 干浸膏粉, 阴凉处存放或冷藏备用, 使用时用生理盐水完全溶解。地塞米松片碾碎溶于生理盐水。

2.2 分组及造模 适应性饲养后将 36 只大鼠采用随机数字表法分为正常组、模型组、地塞米松组和甘露清瘟方低、中、高剂量组, 每组 6 只^[9]。甘露清瘟方低、中、高剂量组灌胃给予 0.9、1.8、3.6 g/kg (为临床成人用量的 0.5、1、2 倍) 甘露清瘟方浸膏水溶液, 正常组、模型组灌胃给予等体积生理盐水, 地塞米松组灌胃给予地塞米松溶液 2 mg/kg, 每天 1 次, 连续 3 d。第 4 天, 除正常组外, 其余组大鼠气管内滴注 100 μ L LPS (5 mg/kg, 生理盐水稀释) 造模, 正常组滴注等体积无菌磷酸盐缓冲液 (PBS, 0.01 mol/L)。

2.3 样本收集 造模 24 h 后, 大鼠腹腔注射 20% 乌拉坦麻醉, 取腹主动脉血置于无抗凝剂的采血管中, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 即得血清样本。处死大鼠后, 迅速收集肺组织样本, 右肺中叶固定于 4% 多聚甲醛中, 其

他部位直接分装用液氮速冻, 保存于 -80 °C 冰箱。

2.4 ELISA 法检测大鼠血清炎症因子水平 取各组大鼠的血清, 严格参照试剂盒相关说明, 检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

2.5 HE 染色法观察大鼠肺组织病理学变化 取各组大鼠肺组织, 采用石蜡进行包埋、切薄片、干燥处理, 脱蜡、冲洗后使用苏木精染色 5 min 后, 经水洗、分化、返蓝、冲洗、脱水, 伊红染色 15 s, 再次脱水、干燥后用树胶封片, 于光学显微镜下观察, 采集图像, 对大鼠肺组织病理进行科学评估。根据肺泡或支气管血管中性粒细胞浸润、聚集等情况, 按病变轻重依次评为 0~4 分^[10], 0 分为肺组织基本无病变, 即最小损伤; 1 分为肺组织病变少于 25%, 即轻度损伤; 2 分为肺组织病变 25%~50%, 即中度损伤; 3 分为肺组织病变 50%~75%, 即重度损伤; 4 分为肺组织病变大于 75%, 即最大损伤。

2.6 生化法检测大鼠肺组织 Fe^{2+} 、MDA、GSH 水平 取各组大鼠肺组织, 参照相应试剂盒说明书加入提取试剂, 匀浆、离心后取上清液, 检测肺组织中 Fe^{2+} 、MDA、GSH 水平。

2.7 Western blot 法检测 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白表达 取各组大鼠肺组织, 加入 RIPA (含 1% PMSF) 裂解, 制备得到组织匀浆上清液, 采用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 变性后保存。取 40 μ g 蛋白样本进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入 Nrf2 (1 : 500)、GAPDH (1 : 5 000)、SLC7A11 (1 : 1 000) 一抗, 4 °C 过夜, 次日, 加二抗 (1 : 8 000) 室温下孵育 1 h, ECL 试剂显影曝光, 采用 ImageJ 软件得到条带灰度值, 分析目的蛋白相对表达量。

2.8 RT-qPCR 法检测大鼠肺组织基因 mRNA 表达 取各组大鼠肺组织, 利用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 采用试剂盒将其逆转录成 cDNA。以 cDNA 为模板, 采用两步法进行荧光定量 PCR (反应体系 20 μ L), 扩增程序为 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火/延伸 34 s, 共 40 个循环。引物由北京擎科生物科技股份有限公司设计并合成, 引物序列见表 1。以 GAPDH 作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因 mRNA 相对表达量。

表 1 引物序列

基因	正向序列	反向序列
Nrf2	5'-ATGCCCTCCTCTGCTGCCATTAG-3'	5'-ACCGTGCCTTCAGTGTGCTTC-3'
SLC7A11	5'-TCATCATCGGCACCGTCATCG-3'	5'-CTCCACAGGCAGACCAGAACAC-3'
GPX4	5'-ACCAGTTCGGGAGGCAGGAG-3'	5'-CACAGTGGGTGGGCATCGTC-3'
GAPDH	5'-ACAGAACAGGGTGGCAC-3'	5'-TTTGAGGCTGCAGCGAACCTT-3'

2.9 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9.5 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 事后多重比较采用 Tukey 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 甘露清瘟方对 ALI 大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平

的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 甘露清瘟方中、高剂量组和地塞米松组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P < 0.05$); 甘露清瘟方高剂量组与中剂量组比较, 大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平无明显差异 ($P > 0.05$), 见表 2。

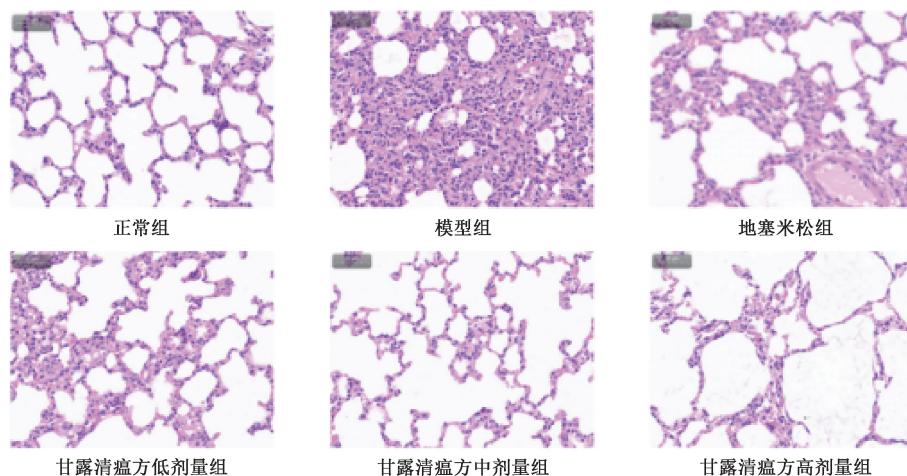
表2 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
正常组	59.41±10.46	12.34±2.12	4.18±0.05
模型组	104.70±6.69 Δ	20.45±3.03 Δ	7.40±0.44 Δ
地塞米松组	83.91±3.56 $*$	16.53±0.21 $*$	5.05±0.22 $*$
甘露清瘟方低剂量组	90.60±8.89	17.99±1.88	5.47±0.04 $*$
甘露清瘟方中剂量组	62.99±12.97 $^{*\#}$	15.32±2.29 $*$	4.88±0.47 $*$
甘露清瘟方高剂量组	62.44±11.32 $^{*\#}$	13.47±0.24 $*$	4.47±0.50 $*$

注: 与正常组比较, $\Delta P<0.05$; 与模型组比较, $* P<0.05$; 与地塞米松组比较, $^{\#}P<0.05$ 。

3.2 甘露清瘟方对 ALI 大鼠肺组织病理的影响 正常组大鼠肺组织未出现水肿和炎症浸润; 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织出现严重炎症浸润, 肺泡壁水肿明显, 肺泡松散程度较显著, 肺损伤评分升高 ($P<0.05$); 与模型组比

较, 甘露清瘟方各剂量组及地塞米松组大鼠肺组织炎症浸润减轻, 肺损伤评分降低 ($P<0.05$), 中、高剂量效果较佳, 见图 1、表 3。

图1 各组大鼠肺组织病理学变化 (HE, $\times 200$)表3 各组大鼠肺损伤评分比较 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	肺损伤评分/分
正常组	0.15±0.03
模型组	3.60±0.38 Δ
地塞米松组	1.82±0.13 $*$
甘露清瘟方低剂量组	2.13±0.25 $*$
甘露清瘟方中剂量组	1.67±0.24 $*$
甘露清瘟方高剂量组	1.21±0.18 $*$

注: 与正常组比较, $\Delta P<0.05$; 与模型组比较, $* P<0.05$ 。

表4 各组 ALI 大鼠肺组织 Fe $^{2+}$ 、MDA、GSH 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	Fe $^{2+}$ /(nmol·g $^{-1}$)	MDA/(nmol·mg prot $^{-1}$)	GSH/(nmol·mg prot $^{-1}$)
正常组	120.20±5.95	3.48±0.32	6.34±0.61
模型组	162.10±9.13 Δ	7.51±0.64 Δ	2.53±0.28 Δ
地塞米松组	127.60±3.80 $*$	3.95±0.30 $*$	3.83±0.14 $*$
甘露清瘟方低剂量组	127.60±9.75 $*$	5.06±0.42 $^{*\#}$	3.37±0.18 $*$
甘露清瘟方中剂量组	127.80±8.27 $*$	4.17±0.21 $*$	5.68±0.10 $^{*\#}$
甘露清瘟方高剂量组	121.2±12.46 $*$	3.52±0.21 $*$	5.98±0.83 $^{*\#}$

注: 与正常组比较, $\Delta P<0.05$; 与模型组比较, $* P<0.05$; 与地塞米松组比较, $^{\#}P<0.05$ 。

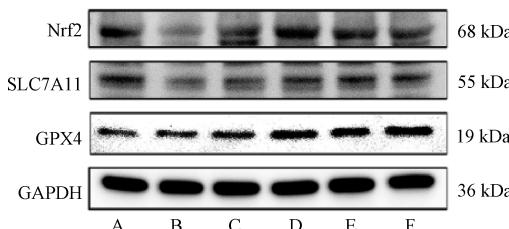
SCL7A11、GPX4 蛋白表达降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 甘露清瘟方各剂量组及地塞米松组大鼠肺组织 Nrf2、SCL7A11、GPX4 蛋白表达升高 ($P<0.05$), 见图 2、表 5。

3.5 甘露清瘟方对 ALI 大鼠肺组织 Nrf2、SCL7A11、GPX4

3.3 甘露清瘟方对 ALI 大鼠肺组织 Fe $^{2+}$ 、MDA、GSH 水平的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织 MDA、Fe $^{2+}$ 水平升高 ($P<0.05$), GSH 水平降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 甘露清瘟方各剂量组及地塞米松组大鼠肺组织 GSH 水平升高 ($P<0.05$), Fe $^{2+}$ 、MDA 水平降低 ($P<0.05$), 中、高剂量效果较佳, 见表 4。

3.4 甘露清瘟方对 ALI 大鼠肺组织 Nrf2、SCL7A11、GPX4 蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织 Nrf2、

mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织 Nrf2、SCL7A11、GPX4 mRNA 表达降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 甘露清瘟方中、高剂量组大鼠肺组织 Nrf2、SCL7A11、GPX4 mRNA 表达升高 ($P<0.05$), 见表 6。



注: A 为正常组, B 为模型组, C 为地塞米松组, D~F 为甘露清瘟方低、中、高剂量组。

图2 各组大鼠肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白条带

表5 各组大鼠肺组织 Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

组别	Nrf2	SLC7A11	GPX4
正常组	0.81±0.08	0.79±0.01	0.82±0.04
模型组	0.32±0.04 [△]	0.51±0.02 [△]	0.44±0.10 [△]
地塞米松组	0.69±0.07 [*]	0.70±0.06 [*]	0.71±0.03 [*]
甘露清瘟方低剂量组	0.75±0.13 [*]	0.82±0.05 [*]	0.81±0.04 ^{*#}
甘露清瘟方中剂量组	0.71±0.03 [*]	0.71±0.08 [*]	0.70±0.04 [*]
甘露清瘟方高剂量组	0.70±0.05 [*]	0.80±0.16 [*]	0.84±0.05 ^{*#}

注: 与正常组比较, [△]P<0.05; 与模型组比较, ^{*}P<0.05; 与地塞米松组比较, [#]P<0.05。

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

组别	Nrf2	SLC7A11	GPX4
正常组	1.03±0.24	1.04±0.27	1.01±0.10
模型组	0.38±0.12 [△]	0.38±0.13 [△]	0.46±0.11 [△]
地塞米松组	0.70±0.15 [*]	0.76±0.31	0.80±0.18 [*]
甘露清瘟方低剂量组	0.52±0.10	0.63±0.24	0.65±0.06 [*]
甘露清瘟方中剂量组	0.75±0.15 [*]	0.80±0.11 [*]	0.77±0.09 [*]
甘露清瘟方高剂量组	0.95±0.18 [*]	0.89±0.17 [*]	0.86±0.03 [*]

注: 与正常组比较, [△]P<0.05; 与模型组比较, ^{*}P<0.05。

LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分, 是一种内毒素, 它进入肺内能够诱导炎性细胞浸润及炎症因子释放, 可用于建立 ALI 或肺炎动物模型。炎症反应失控、氧化-抗氧化系统失衡被认为与感染所致 ALI 的发生发展有关^[18]。肺内感染后, 活性氧大量生成、GSH 水平受到抑制, 脂质过氧化反应产物 MDA 水平升高, 导致 ALI^[19-21]。本研究于大鼠气管内滴注 LPS 建立 ALI 模型, 发现模型组大鼠血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平、肺组织 MDA 水平升高, GSH 水平降低, 且模型组大鼠肺组织病理变化评分也表现为最大损伤, 提示大鼠 ALI 模型建立成功。而甘露清瘟方干预后, 大鼠血清 IL-1β、IL-6 水平、肺组织 MDA、GSH 水平均得到改善, 提示甘露清瘟方可能通过抑制炎症反应和氧化应激水平对大鼠 ALI 起到保护作用, 其病理变化评分结果亦能印证, 且中、高剂量效果较佳。

铁死亡被证实与炎症反应、氧化应激也密切相关, 近年研究发现, 铁死亡在肺部感染和 ALI 等呼吸系统疾病中有着重要作用^[5,22]。GPX4 可利用 GSH 将脂质过氧化物转化无害的脂醇, 对铁死亡产生负调控。GSH 在体内的合成与胞膜上 SLC7A11 有着直接关系。Nrf2 是由 NFE2L2 基因编码的转录因子, 参与调控 GSH、铁代谢和脂质过氧化, 进而影响细胞铁死亡。SLC7A11 和 GPX4 是铁死亡的中枢因子, 均可受到 Nrf2 的调节^[23]。本研究发现, 模型组大鼠肺

4 讨论

中医学认为, ALI 由各种肺内外致病因素作用而发生, 如热、毒、瘀、痰、湿等。依据临床症状, ALI 可归属于“暴喘”范畴。肺部感染所致的 ALI 常常还伴随“温病”, 中医往往用主“清热解毒、祛痰化瘀”之方剂来治疗^[11-12]。甘露清瘟方是新疆名中医李风森教授治疗呼吸道感染疾病多年临床经验的凝练总结, 方中黄芩、桃仁、半夏、连翘、陈皮等中药为治疗 ALI 的高频中药, 其所含成分已被证明可通过抑制炎症及氧化应激减轻肺损伤^[13-17]。

注: 与正常组比较, [△]P<0.05; 与模型组比较, ^{*}P<0.05; 与地塞米松组比较, [#]P<0.05。

组织中 Fe²⁺、MDA 水平升高, Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白及 mRNA 表达下降, 表明 LPS 诱导的 ALI 大鼠肺内可能发生铁死亡。而甘露清瘟方干预后, 大鼠肺组织 Fe²⁺、MDA 水平降低, Nrf2、SLC7A11、GPX4 蛋白及 mRNA 表达升高, 提示甘露清瘟方可能通过激活 Nrf2, 上调 SLC7A11、GPX4 表达, 发挥抑制铁死亡的作用。

综上所述, 甘露清瘟方可减轻大鼠炎症反应及氧化应激水平, 对 ALI 大鼠具有保护作用, 其作用机制可能与调控 Nrf2/GPX4 铁死亡途径有关。本课题组将对甘露清瘟方进一步开展物质基础及分子机制研究, 为甘露清瘟方的临床应用与转化奠定理论基础。

参考文献:

- [1] Bellani G, Laffey J G, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 788-800.
- [2] Mowery N T, Terzian W T H, Nelson A C. Acute lung injury[J]. *Curr Probl Surg*, 2020, 57(5): 100777.
- [3] Wu C M, Chen X Y, Cai Y P, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with Coronavirus Disease 2019 pneumonia in Wuhan, China[J]. *JAMA Intern Med*, 2020, 180(7): 934-943.

- [4] Wang X D, Zhang C H, 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.
- [5] Liu X, Zhang J Q, Xie W. The role of ferroptosis in acute lung injury [J]. *Mol Cell Biochem*, 2022, 477(5): 1453-1461.
- [6] Yang W S, Sriramaratnam R, Welsch M E, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156(1-2): 317-331.
- [7] 赵丽娜, 葛国岚, 李 靖, 等. 蛇床子素通过 Nrf2-Gpx4 铁死亡途径对肺炎支原体肺炎大鼠肺损伤的改善作用 [J]. 中成药, 2023, 45(1): 48-54.
- [8] Zhang Z X, Fu C L, Liu J L, et al. Hypermethylation of the Nrf2 promoter induces ferroptosis by inhibiting the Nrf2-GPx4 axis in COPD [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2021, 16: 3347-3362.
- [9] 王 庆. 黄芩清肺汤化学成分分析及对急性肺损伤大鼠的保护作用研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2024.
- [10] 黄小强, 李宣宣, 吴水生, 等. 泽泻三萜对小鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. 中成药, 2022, 44(9): 2979-2984.
- [11] 苏景深, 刘恩顺, 赵鑫民. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中医药治疗研究进展 [J]. 吉林中医药, 2019, 39(5): 696-700.
- [12] 童晓萍, 王维亮, 何德平. 肺部感染所致急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中医病因病机特点及从肠论治理论探讨 [J]. 新中医, 2016, 48(8): 1-3.
- [13] 李玉娟, 贾元萍, 张誉腾, 等. 基于文献的中医药治疗急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征用药规律研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(12): 1756-1761.
- [14] Wang J, Xue X Y, Zhao X T, et al. Forsythiaside A alleviates acute lung injury by inhibiting inflammation and epithelial barrier damages in lung and colon through PPAR- γ /RXR- α complex [J]. *J Adv Res*, 2024, 60: 183-200.
- [15] 夏金婵, 从人愿, 袁 静, 等. 黄芩苷通过 p38 MAPK/NLRP3 通路对脂多糖诱导大鼠急性肺损伤的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(2): 79-86.
- [16] Jin H, Zhao Y, Yao Y L, et al. Intratracheal administration of stem cell membrane-cloaked naringin-loaded biomimetic nanoparticles promotes resolution of acute lung injury [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(3): 282.
- [17] Cao W F, Guo X R, Li X Y, et al. Commentary on: Activation of Nrf2 signalling pathway by tectoridin protects against ferroptosis in particulate matter-induced lung injury [J]. *Br J Pharmacol*, 2024, 181(15): 2697-2698.
- [18] Wu X M, Hussain M, Syed S K, et al. Verapamil attenuates oxidative stress and inflammatory responses in cigarette smoke (CS)-induced murine models of acute lung injury and CSE-stimulated RAW 264.7 macrophages via inhibiting the NF- κ B pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149: 112783.
- [19] Wu B, Xu M M, Fan C, et al. STING inhibitor ameliorates LPS-induced ALI by preventing vascular endothelial cells-mediated immune cells chemotaxis and adhesion [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(8): 2055-2066.
- [20] Chen D L, Chen C J, Xiao X, et al. TNF- α induces neutrophil apoptosis delay and promotes intestinal ischemia-reperfusion-induced lung injury through activating JNK/FoxO3a pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8302831.
- [21] Matthay M A, Zemans R L, Zimmerman G A, et al. Acute respiratory distress syndrome [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 18.
- [22] Pu Z C, Shen C Z, Zhang W W, et al. Avenanthramide C from oats protects pyroptosis through dependent ROS-induced mitochondrial damage by PI3K ubiquitination and phosphorylation in pediatric pneumonia [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(7): 2339-2353.
- [23] Dong H, Qiang Z Z, Chai D 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.