

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research牛蒡子苷元对铜绿假单胞菌感染的
支气管上皮细胞损伤的影响Effects of Arctigenin ameliorates bronchial epithelial cell injury in *Pseudomonas aeruginosa* infection徐燕^{1a}, 王凯^{1a}, 沈萍^{1b}(1. 江南大学附属儿童医院, a. 检验科;
b. 呼吸内科, 江苏无锡 214002)XU Yan^{1a}, WANG Kai^{1a},
SHEN Ping^{1b}(1. a. Department of Clinical Laboratory;
b. Department of Respiratory Medicine,
The Affiliated Children's Hospital of
Jiangnan University, Wuxi 214002,
Jiangsu Province, China)

基金项目:江苏省卫生健康委医学科研基金资助项目(X0566)

作者简介:徐燕(1987-),女,副主任技师,主要从事临床微生物检验方面的研究

通信作者:沈萍,副主任医师

MP:15951512097

E-mail:mulansp@126.com

摘要:目的 探讨牛蒡子苷元对铜绿假单胞菌(PA)感染的支气管上皮细胞损伤的影响及其机制。**方法** 将 BEAS-2B 细胞随机分为对照组(常规培养)、PA 组(1.50×10^8 CFU $\cdot$ mL⁻¹ 的 PA 菌液感染)、PA + 低剂量组(PA 菌液联合 10.00 mmol $\cdot$ L⁻¹ 的牛蒡子苷元)、PA + 高剂量组(PA 菌液联合 20.00 mmol $\cdot$ L⁻¹ 的牛蒡子苷元)。用试剂盒法检测细胞炎性因子及谷胱甘肽(GSH)表达,用蛋白质印迹法检测谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)蛋白表达情况,用免疫荧光法检测脂质过氧化水平。**结果** 对照组、PA 组、PA + 低剂量组、PA + 高剂量组的白细胞介素(IL)-6 含量分别为(20.43 ± 2.82)、(106.28 ± 8.07)、(76.66 ± 5.73)和(50.57 ± 3.98) pg $\cdot$ mL⁻¹, GSH 含量分别为(25.95 ± 1.46)、(10.59 ± 0.60)、(13.98 ± 0.74)和(21.52 ± 2.36) ng $\cdot$ mL⁻¹, GPX4 蛋白相对表达水平分别为 0.76 ± 0.06 、 0.33 ± 0.05 、 0.46 ± 0.05 和 0.62 ± 0.06 , 脂质过氧化水平分别为(100.00 ± 4.29)%、(470.91 ± 36.33)%、(331.16 ± 27.04)% 和 (160.16 ± 18.65)%; PA 组的上述指标分别与对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$), PA + 低剂量组、PA + 高剂量组的上述指标分别与 PA 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。**结论** 牛蒡子苷元可以通过抑制 GPX4 相关铁死亡途径减轻 PA 感染的 BEAS-2B 细胞炎症反应。

关键词:牛蒡子苷元;铜绿假单胞菌;支气管上皮细胞;铁死亡;谷胱甘肽过氧化物酶 4

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.005

中图分类号:R28 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)06-0772-05

Abstract: Objective To investigate the effect of arctigenin on bronchial epithelial cell injury caused by *Pseudomonas aeruginosa* (PA) infection and its mechanism. **Methods** BEAS-2B cells were randomly divided into control group (conventional culture), PA group (1.50×10^8 CFU $\cdot$ mL⁻¹ PA infection), PA + low dose group (PA combined with 10.00 mmol $\cdot$ L⁻¹ burdock aglycone), PA + high-dose group (PA combined with 20.00 mmol $\cdot$ L⁻¹ burdock aglycone). The expression of inflammatory factors and glutathione (GSH) was detected by kit assay, glutathione peroxidase 4 (GPX4) protein was detected by Western blot assay, and lipid peroxidation levels were detected by immunofluorescence assay. **Results** The IL-6 contents of control group, PA group, PA + low dose group and PA + high dose group were (20.43 ± 2.82), (106.28 ± 8.07), (76.66 ± 5.73) and (50.57 ± 3.98) pg $\cdot$ mL⁻¹, respectively; the GSH contents were (25.95 ± 1.46), (10.59 ± 0.60),

(13.98 ± 0.74) and (21.52 ± 2.36) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; GPX4 protein expression levels were 0.76 ± 0.06 , 0.33 ± 0.05 , 0.46 ± 0.05 and 0.62 ± 0.06 , respectively; the lipid peroxidation levels were (100.00 ± 4.29)%, (470.91 ± 36.33)%, (331.16 ± 27.04)% and (160.16 ± 18.65)%, respectively. The above indexes in PA group compared with control group, PA + low dose group and PA + high dose group were compared with PA group, and the differences were all statistically significant (all $P < 0.01$). **Conclusion** Arctigenin can reduce the inflammation of PA-infected BEAS-2B cells by inhibiting GPX4-related ferroptosis pathway.

Key words: arctigenin; *Pseudomonas aeruginosa*; bronchial epithelial cells; ferroptosis; glutathione peroxidase 4

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA)是常引起12岁以下儿童肺炎的最重要病原体之一,由于耐药菌株的不断形成和耐药性的不断提高,PA已成为医院获得性感染最严重的条件病原体之一^[1]。目前,临床上针对PA感染的治疗主要通过使用抗菌药物,然而不论是口服还是静脉注射抗菌药物治疗,都会导致患者潜在的并发症,包括抗菌素耐药性^[2]。牛蒡子苷元是一种从中药牛蒡子中提取的有效活性物质,具有强大的抗炎、抗病毒、免疫调节等作用^[3],可以显著抑制肺炎链球菌引起的炎症反应^[4]。有研究表明,PA可以引发人支气管上皮细胞发生铁死亡^[5-6]。本研究通过体外实验探讨牛蒡子苷元对PA感染的支气管上皮细胞炎症反应的影响及其作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 BEAS-2B人支气管上皮细胞,购自合肥万物生物科技有限公司。

菌株 铜绿假单胞菌 PAO1 标准株,购自美国ATCC公司。

药品与试剂 牛蒡子苷元,规格:每支25 mg,纯度:99.0%,批号:20240413,成都普思生物科技股份有限公司生产;氯喹(chloroquine, CQ),规格:每瓶50 mg,纯度:97%,批号:20240501,上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产;铁死亡诱导药 Erastin,规格:每瓶1 mg,纯度:98%,批号:20240325,上海源叶生物科技有限公司生产。DMEM培养基,北京百奥创新科技有限公司生产;细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8),上海西格生物科技有限公司生产;白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 、IL-10酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,均购自美国Abcam公司;谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)、胱氨酸谷氨酸反向转运蛋白(cystine glutamate reverse

transporter, xCT)一抗菌,均购自美国Abcam公司;BODIPY 581/591 C11荧光探针,购自美国MedChemExpress公司;铁离子检测试剂盒、谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。

仪器 EPOCH多功能酶标仪,美国BioTek公司产品;Revolve Generation 2荧光显微镜,美国Echo公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养^[5]

将细胞培养在DMEM培养基中,培养基中含有10%的胎牛血清,置于培养箱(37℃、5%CO₂)中培养,每隔1~2 d更换1次培养液,细胞培养融合至85%左右时进行传代。

2.2 细胞分组与处置方法

将细胞随机分为对照组、PA组、PA+低剂量组、PA+高剂量组、PA+CQ组、PA+CQ+Erastin组。对照组为常规培养的细胞;PA组用浓度为 1.50×10^8 CFU·mL⁻¹的PA菌液处理细胞12 h;PA+低剂量组和PA+高剂量组细胞分别用10.00、20.00 mmol·L⁻¹的牛蒡子苷元预处理细胞24 h后,再用PA菌液处理细胞12 h(感染复数为1);PA+CQ组细胞使用50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 自噬抑制药CQ和 1.50×10^8 CFU·mL⁻¹PA菌液共同处理细胞12 h;PA+CQ+Erastin组细胞使用10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 铁死亡诱导药、50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯喹和 1.50×10^8 CFU·mL⁻¹的PA菌液共同处理细胞12 h。

2.3 CCK-8实验检测细胞存活率^[6]

调整BEAS-2B细胞密度并接种于96孔板中,每孔约8 000个,培养箱培养贴壁后更换培养液,然后根据“2.2”中的描述分组进行药物处理,处理结束后,每孔加入CCK-8试剂10 μL ,用培养箱孵育2.5 h后用酶标仪在450 nm下检测光密度值,并计算细胞存活率。细胞存活率(%)=(实验组光密度值-空白组光密度值)/(对照组光密度值-空白组光密度值)×100%。

2.4 ELISA 法检测细胞炎性因子表达水平^[6]

将 BEAS-2B 细胞接种在培养皿中(每皿接种 2×10^5 个细胞),培养 24 h 后根据“2.2”中的描述分组进行药物处理,收集处理后的各组细胞,在 4°C 下以 $1\,000 \times g$ 离心 15 min,收集上清液,并将细胞保存于 -80°C 冰箱备用,然后严格根据试剂盒操作步骤,用酶标仪进行检测光密度值,并根据标准曲线分别计算炎性因子(IL-6、IL-8、TNF- α 、IL-1 β 、IL-10)的表达水平。

2.5 蛋白质印迹法检测相关蛋白水平^[7]

收集各组细胞,用放射免疫沉淀分析裂解后离心提取总蛋白,用二喹啉甲酸法测定提取的总蛋白浓度,然后取适量蛋白样品进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,结束后转至聚偏二氟乙烯膜,并在室温下封闭 120 min,洗膜后添加 GPX4、xCT 一抗稀释液置于摇床孵育过夜(4°C),次日清洗膜并加入二抗稀释液(1:5 000)孵育 120 min,显影后成像、分析灰度值。

2.6 免疫荧光法检测脂质过氧化水平^[7]

将细胞均匀的接种在 6 孔板中,培养贴壁后根据“2.2”中的分组方法进行药物处理,并对 BODIPY581/591C11 荧光探针进行稀释,分组处理后,加入 BODIPY581/591C11 染色剂,在避光条件下处理 30 min,清洗后,在遮光条件下用 DAPI 进行核染 5 min,充分清洗后用荧光显微镜观察各组样品中荧光反应的差异(氧化的 BODIPY581/591C11 被标记为绿色,未氧化的 BODIPY581/591C11 被标记为红色)。

2.7 试剂盒法检测 GSH 及 Fe^{2+} 水平^[8]

BEAS-2B 细胞根据“2.2”中的分组描述进行药物处理后收集细胞,然后加入放射免疫沉淀分析裂解细胞,以 $300 \times g$ 离心 15 min,收集上清液蛋白,然后用二喹啉甲酸法测定提取的总蛋白浓度,其余的上清液严格根据生化试剂盒步骤进行操作,检测 GSH 及 Fe^{2+} 水平。

2.8 细胞免疫荧光法检测 GPX4 表达情况^[9]

将收集的 BEAS-2B 细胞接种在 4 孔板中,培养箱培养 24 h,根据“2.2”中的分组描述进行药物处理,分组处理后用 4% 多聚甲醛进行固定 30 min,清洗后加入 5% 的 Triton X-100 工作液对细胞作用 10 min,然后加入牛血清白蛋白封闭液(2.00%)封闭 60 min,用 GPX4 一抗试剂孵育过夜(4°C),清洗后,加入荧光二抗室温下避光孵育 60 min,DAPI 复染 5 min 后封片,用荧光显微镜观察、拍照。

3 统计学处理

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用 $LSD-t$ 检验。

结 果

1 牛蒡子苷元对 PA 诱导的 BEAS-2B 细胞存活率的影响

对照组常规培养,PA 组用 $1.50 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 PA 菌液处理细胞 12 h,PA + 低剂量组、PA + 高剂量组细胞分别用 10.00、20.00 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ 的牛蒡子苷元预处理细胞 24 h 后再用 PA 菌液处理细胞 12 h。

对照组、PA 组、PA + 低剂量组和 PA + 高剂量组的细胞存活率分别为 $(100.00 \pm 5.30)\%$ 、 $(53.38 \pm 5.91)\%$ 、 $(67.40 \pm 9.52)\%$ 和 $(79.86 \pm 7.32)\%$ 。PA 组与对照组相比,细胞存活率显著降低($P < 0.01$);PA + 低剂量组、PA + 高剂量组的细胞存活率均较 PA 组明显升高(均 $P < 0.01$);PA + 高剂量组的细胞存活率较 PA + 低剂量组明显升高($P < 0.01$)。

2 牛蒡子苷元对 PA 感染的 BEAS-2B 细胞炎症反应的影响

PA 组与对照组相比,IL-6、IL-8、TNF- α 和 IL-1 β 水平均显著升高,IL-10 水平显著降低(均 $P < 0.01$);PA + 低剂量组、PA + 高剂量组分别与 PA 组比较,IL-6、IL-8、TNF- α 和 IL-1 β 水平均显著下降(均 $P < 0.01$),IL-10 水平显著升高(均 $P < 0.01$);PA + 高剂量组与 PA + 低剂量组比较,IL-6、IL-8、TNF- α 和 IL-1 β 水平均显著下降(均 $P < 0.01$),IL-10 水平显著升高($P < 0.01$),见表 1。

3 牛蒡子苷元对 PA 感染的 BEAS-2B 细胞 GPX4/GSH 系统的影响

PA 组与对照组比较,GPX4、xCT 蛋白相对表达水平及 GSH 水平均显著降低(均 $P < 0.01$);PA + 低剂量组、PA + 高剂量组分别与 PA 组比较,GPX4、xCT 蛋白相对表达水平及 GSH 水平均显著升高(均 $P < 0.01$);PA + 高剂量组与 PA + 低剂量组比较,GPX4、xCT 蛋白相对表达水平及 GSH 水平均显著升高(均 $P < 0.01$),见表 2。

4 牛蒡子苷元对 PA 感染的 BEAS-2B 细胞脂质过氧化水平及 Fe^{2+} 水平的影响

对照组、PA 组、PA + 低剂量组和 PA + 高剂量组的脂质过氧化水平分别为 $(100.00 \pm 4.29)\%$ 、 $(470.91 \pm 36.33)\%$ 、 $(331.16 \pm 27.04)\%$ 和

表 1 各组细胞炎症因子表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of the expression levels of inflammatory cytokines in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	IL-6 (pg · mL ⁻¹)	IL-8 (pg · mL ⁻¹)	TNF-α (pg · mL ⁻¹)	IL-1β (pg · mL ⁻¹)	IL-10 (pg · mL ⁻¹)
Control	10	20.43 ± 2.82	10.22 ± 1.11	57.84 ± 4.55	41.92 ± 5.82	502.19 ± 43.87
PA	10	106.28 ± 8.07 ^{**}	67.53 ± 8.26 ^{**}	241.48 ± 26.72 ^{**}	90.46 ± 6.56 ^{**}	413.51 ± 34.88 ^{**}
PA + low - dose	10	76.66 ± 5.73 ^{##}	53.10 ± 6.29 ^{##}	211.84 ± 19.03 ^{##}	68.98 ± 5.50 ^{##}	457.64 ± 23.21 ^{##}
PA + high - dose	10	50.57 ± 3.98 ^{##&&}	35.46 ± 5.17 ^{##&&}	165.75 ± 10.07 ^{##&&}	56.23 ± 4.65 ^{##&&}	500.97 ± 27.87 ^{##&&}

Control group: Conventional culture; *Pseudomonas aeruginosa* (PA) group: 1.50×10^8 CFU · mL⁻¹ PA infection; PA + low dose group: PA combined with 10.00 mmol · L⁻¹ burdock aglycone; PA + high - dose group: PA combined with 20.00 mmol · L⁻¹ burdock aglycone; IL: Interleukin; TNF-α: Tumor necrosis factor-α; Compared with control group, ^{**}*P* < 0.01; Compared with PA group, ^{##}*P* < 0.01; Compared with PA + low - dose group, ^{&&}*P* < 0.01.

表 2 各组细胞谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、胱氨酸谷氨酸反向转运蛋白(xCT)和谷胱甘肽(GSH)水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of glutathione peroxidase 4 (GPX4), cystine glutamate reverse transporter (xCT) and glutathione (GSH) levels in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	GPX4 protein	xCT protein	GSH (ng · mL ⁻¹)
Control	0.76 ± 0.06	0.64 ± 0.09	25.95 ± 1.46
PA	0.33 ± 0.05 ^{**}	0.27 ± 0.04 ^{**}	10.59 ± 0.60 ^{**}
PA + low - dose	0.46 ± 0.05 ^{##}	0.45 ± 0.05 ^{##}	13.98 ± 0.74 ^{##}
PA + high - dose	0.62 ± 0.06 ^{##&&}	0.61 ± 0.08 ^{##&&}	21.52 ± 2.36 ^{##&&}

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with control group, ^{**}*P* < 0.01; Compared with PA group, ^{##}*P* < 0.01; Compared with PA + low - dose group, ^{&&}*P* < 0.01.

(160.16 ± 18.65)% , Fe²⁺ 水平分别为(4.60 ± 0.54)、(28.34 ± 3.15)、(21.33 ± 2.26)和(13.93 ± 1.13) μmol · g prot⁻¹; PA 组与对照组比较, 脂质过氧化水平及 Fe²⁺ 含量均显著增加(均 *P* < 0.01); PA + 低剂量组和 PA + 高剂量组分别与 PA 组比较, 脂质过氧化水平及 Fe²⁺ 含量均显著下降(均 *P* < 0.01); PA + 高剂量组与 PA + 低剂量组比较, 脂质过氧化水平及 Fe²⁺ 含量均显著下降(均 *P* < 0.01), 见表 3。

5 PA 通过自噬途径降解 Gpx4 的表达

PA + CQ 组细胞用 50 μmol · L⁻¹ 自噬抑制药 CQ

表 3 各组细胞脂质过氧化水平及 Fe²⁺ 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of lipid peroxidation levels and Fe²⁺ levels in all groups($\bar{x} \pm s$)

Group	Lipid peroxidation (%)	Fe ²⁺ (μmol · g prot ⁻¹)
Control	100.00 ± 4.29	4.60 ± 0.54
PA	470.91 ± 36.33 ^{**}	28.34 ± 3.15 ^{**}
PA + low - dose	331.16 ± 27.04 ^{##}	21.33 ± 2.26 ^{##}
PA + high - dose	160.16 ± 18.65 ^{##&&}	13.93 ± 1.13 ^{##&&}

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with control group, ^{**}*P* < 0.01; Compared with PA group, ^{##}*P* < 0.01; Compared with PA + low - dose group, ^{&&}*P* < 0.05, ^{&&}*P* < 0.01.

和 1.50×10^8 CFU · mL⁻¹ PA 菌液共同处理细胞 12 h, PA + CQ + Erastin 组细胞用 10 μmol · L⁻¹ 铁死亡诱导药、50 μmol · L⁻¹ 的氯喹和 1.50×10^8 CFU · mL⁻¹ 的 PA 菌液共同处理细胞 12 h。

对照组、PA 组、PA + CQ 组和 PA + CQ + Erastin 组的 GPX4 蛋白相对表达水平分别为 0.79 ± 0.09、0.32 ± 0.07、0.66 ± 0.09 和 0.56 ± 0.06, GPX4 荧光强度分别为 (3 100.85 ± 227.39)、(1 208.46 ± 88.54)、(1 779.95 ± 116.05) 和 (1 364.71 ± 103.65) a. u.; PA 组与对照组比较, GPX4 蛋白相对表达水平荧光强度均显著降低(均 *P* < 0.01); PA + CQ 组与 PA 组比较, GAP4 蛋白相对表达水平荧光强度均显著升高(均 *P* < 0.01); PA + CQ + Erastin 组与 PA + CQ 组比较, GPX4 蛋白相对表达水平荧光强度均显著下降(均 *P* < 0.01)。结果见图 1。

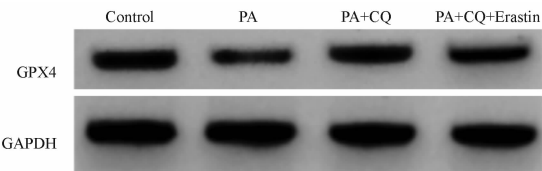


图 1 以蛋白质印迹实验检测细胞 GPX4 蛋白相对表达水平

Figure 1 Relative expression levels of GPX4 protein detected by Western bolt assay

PA + CQ group: 50 μmol · L⁻¹ autophagy inhibitor chloroquine and 1.50×10^8 CFU · mL⁻¹ PA bacterial solution for 12 h; PA + CQ + Erastin group: 10 μmol · L⁻¹ ferroptosis inducer, 50 μmol · L⁻¹ chloroquine and 1.50×10^8 CFU · mL⁻¹ PA bacterial solution for 12 h.

讨 论

牛蒡子在中药中是常用的药物, 具有宣肺透疹、解毒利咽、疏散风热的功效, 常被用于治疗咳多痰饮、丹毒疮腮等病症。根据现代药理学研究, 牛蒡子具有抗病毒、抗炎、免疫调节等功效^[10-11]。牛蒡子苷元作

为牛蒡子的主要活性成分,其对脂多糖诱导的急性肺炎具有显著抗炎作用^[12]。研究表明,牛蒡子苷元对PA具有有效的抗菌和抗病毒特性^[13],这提示牛蒡子苷元有潜力作为传统抗菌药物的有效补充,用于治疗严重的PA感染。呼吸道上皮是通过产生物理屏障并释放抗菌肽以及趋化介质来提供针对呼吸道病原体的第一道防线^[14]。本研究中初步通过体外培养支气管上皮细胞BEAS-2B探究牛蒡子苷元对PA感染肺炎的作用,结果发现,在PA感染后,BEAS-2B细胞存活率明显降低。此外,本研究还观察到,经牛蒡子苷元处理后,PA感染的促炎因子IL-6、IL-8、TNF- α 、IL-1 β 的分泌明显受到抑制,且抗炎因子IL-10的分泌明显增加,这提示牛蒡子苷元对PA感染的BEAS-2B细胞炎症损伤具有一定的改善作用。

铁死亡是一种氧化还原驱动的受调节细胞死亡程序。研究表明,铁死亡在细菌感染引起的宿主细胞损伤中发挥致病作用^[15-16]。GSH依赖性硒酶GPX4是宿主的抗铁死亡防御系统,GPX4的失活可导致细胞内发生脂质过氧化反应,进一步抑制GSH的生成,最终诱导铁死亡^[17-18]。xCT是xCT⁻系统中的一个特异性轻链亚基,其可将GSH合成所需的胱氨酸从胞外转运至胞内,用以合成GSH^[19]。本研究观察到在PA感染后,BEAS-2B细胞中GPX4、xCT、GSH水平降低,而脂质过氧化水平及Fe²⁺含量上调。这提示PA可以导致BEAS-2B细胞GPX4/GSH防御系统失活,过氧化水平升高,从而产生铁死亡,导致BEAS-2B损伤。周雯等^[6]研究证实,PA可以介导铁死亡途径诱导支气管上皮细胞损伤,与本研究结果一致。而经牛蒡子苷元处理后,可以明显改善PA诱导的铁死亡相关指标的改变,表明牛蒡子苷元可通过抑制铁死亡改善PA导致的BEAS-2B损伤。

本研究将BEAS-2B细胞与PA和自噬抑制药CQ共同孵育后发现,PA诱导的GPX4蛋白降解可被CQ挽救,而CQ的这一作用又被铁死亡诱导药Erastin削弱,这提示自噬的过度激活可能参与了PA诱导的铁死亡,这进一步揭示牛蒡子苷元可能通过调控自噬依赖性铁死亡来缓解PA诱导的GPX4防御功能降低。

本研究提示:牛蒡子苷元可以通过调控GPX4降解来抑制铁死亡,减轻PA诱导的支气管上皮细胞炎症反应,可能与调节自噬依赖性铁死亡途径相关。

参考文献:

- [1] CHEN J, CHEN Y, HU P, et al. Risk assessment of infected children with *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia by combining host and pathogen predictors [J/OL]. *Infect Genet Evol*, 2018, 57: 82—87. 2017 - 11 - 13 [2024 - 10 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29146549/>.
- [2] BASSETTI M, VENAE A, CROXATTO A, et al. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections [J/OL]. *Drugs Context*, 2018, 7:212527. 2018 - 05 - 29 [2024 - 10 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29872449/>.
- [3] 王哲, 王佳贺. 牛蒡子苷元药理作用的研究进展[J]. 中国医药导报, 2018, 15(32): 50—53.
- [4] 冷晓雪, 李柏新. 牛蒡子苷元抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路对肺炎链球菌脑膜炎大鼠神经元凋亡的影响[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(10): 1150—1154, 1159.
- [5] DAR H H, TYURINA Y Y, MIKULSKA - RUMINSKA K, et al. *Pseudomonas aeruginosa* utilizes host polyunsaturated phosphatidylethanolamines to trigger theft - ferroptosis in bronchial epithelium [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(10): 4639—4653.
- [6] 周雯, 何一帆, 赵伊敏, 等. 铜绿假单胞菌感染支气管上皮细胞诱导铁死亡及丁酸钠的免疫调控作用[J]. 温州医科大学学报, 2024, 54(7): 554—562.
- [7] 由广强. AMPK 介导的自噬在马钱子碱诱导肝细胞癌铁死亡中的作用及机制研究[D]. 吉林 长春: 吉林大学, 2023.
- [8] 廖太阳, 马振源, 邢润麟, 等. 膝痹宁 II 方对膝关节软骨细胞铁死亡及 Nrf2/GPX4 信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(10): 5182—5188.
- [9] 颜丽珊, 张超, 邱新宇, 等. 前列闭尔通栓对脂多糖诱导的前列腺炎细胞模型的影响及作用机制研究[J]. 世界中医药, 2023, 18(23): 3334—3341.
- [10] 邢耀莹, 王姿杨, 何海, 等. 传统中药牛蒡子的研究现状与发展趋势分析[J]. 山西中医药大学学报, 2023, 24(1): 28—37, 56.
- [11] 张小倩, 王苏贵, 季家乐, 等. 牛蒡子中牛蒡苷的研究进展[J]. 文山学院学报, 2023, 36(2): 6—13.
- [12] 朱紫陌, 崔白梅, 聂发龙, 等. 牛蒡子苷元抑制炎症反应和修复鼻上皮屏障减轻急性肺损伤[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(8): 1298—1306, 1287.
- [13] KOSHAK A E, ELFAKY M A, ABDALLAH H M, et al. Arctigenin from Burdock root exhibits potent antibacterial and anti - virulence properties against *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2024, 34(8): 1642—1652.
- [14] WHITSETT J A, ALENGHAT T. Respiratory epithelial cells orchestrate pulmonary innate immunity [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(1): 27—35.
- [15] 乐林芝, 马涛, 代禹美, 等. 铁死亡在感染性疾病中的作用研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(7): 175—180.
- [16] 朱菊香. METTL3 通过调控 GPX4 对结核菌感染中巨噬细胞铁死亡的影响及机制研究[D]. 江西 南昌: 南昌大学, 2024.
- [17] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 [J/OL]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 152: 175—185. 2020 - 03 - 09 [2024 - 10 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32165281/>.
- [18] 刘娇阳. 肺炎链球菌抑制 XCT/GPX4/GSH 信号轴促进巨噬细胞炎症因子表达的机制研究[D]. 贵州 遵义: 遵义医科大学, 2022.
- [19] TU H, TANG L J, LUO X J, et al. Insights into the novel function of system Xc - in regulated cell death [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(3): 1650—1662. (收稿日期 2024 - 10 - 23)