doi：10.7499/j.issn.1008-8830.2605083

论著·实验研究

藤黄酸经MAPK途径对脂多糖诱导急性肺损伤的保护作用及机制研究

王乐[1] 温航卫[2] 禹莉莎[1] 邓玎玎[3] 于旭东[1] 刘瑾[2]

（1.邵阳学院普爱医学院，湖南邵阳 422000；2.邵阳学院附属第一医院新生儿科，湖南邵阳 422000；
3.邵阳学院附属第一医院呼吸与危重症医学科，湖南邵阳 422000）

［摘要］**目的** 探讨藤黄酸（gambogic acid, GA）对脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）诱导急性肺损伤（acute lung injury, ALI）的保护作用及机制。**方法** 建立LPS诱导的ICR小鼠ALI模型及人支气管上皮细胞系BEAS-2B细胞模型，分为对照组、LPS组、GA（低、中、高）剂量组及地塞米松组。采用苏木精-伊红染色评估小鼠肺组织的病理损伤程度并进行评分，检测肺指数。采用MTS法检测GA与地塞米松对细胞活力的影响，苏木精-伊红染色观察BEAS-2B细胞的形态变化。采用联合转录组测序与分子对接技术预测GA的潜在作用靶点与通路。采用蛋白质印迹法检测细胞模型和动物模型中的肿瘤坏死因子-α、白细胞介素（interleukin, IL）-6、IL-1β、凋亡调节蛋白Bcl-2相关X蛋白、B细胞淋巴瘤-2的表达水平，以及MAPK途径关键蛋白p38、胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase, ERK）、c-Jun氨基端激酶（c-Jun N-terminal kinase, JNK）的磷酸化程度。**结果** 与LPS组相比，GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组小鼠肺损伤评分、肺指数降低（$P<0.05$），BEAS-2B细胞结构损伤减轻。在细胞模型和小鼠模型中，与LPS组相比，GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组肿瘤坏死因子-α、IL-6、IL-1β等促炎因子表达降低（$P<0.05$）。各组BEAS-2B细胞活力比较，差异无统计学意义（$P>0.05$）。转录组学结果提示，GA可能通过调节MAPK途径干预ALI。分子对接结果显示，GA可与p38、JNK及ERK蛋白稳定结合。细胞模型和小鼠模型实验均表明，GA中剂量组和GA高剂量组可抑制LPS诱导的p38、ERK及JNK磷酸化激活（$P<0.05$），并抑制LPS诱导的Bcl-2相关X蛋白/B细胞淋巴瘤-2比值增加（$P<0.05$）。**结论** GA可减轻LPS诱导的ALI，其机制可能与抑制MAPK途径，发挥抗炎及抗凋亡效应有关。

［中国当代儿科杂志，2026，28（9）：1134-1142］

［关键词］急性肺损伤；藤黄酸；MAPK途径；人支气管上皮细胞系BEAS-2B；小鼠

Gambogic acid protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury via the MAPK signaling pathway

WANG Le, WEN Hang-Wei, YU Li-Sha, DENG Ding-Ding, YU Xu-Dong, LIU Jin. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital of Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000, China (Liu J, Email: 19293220@qq.com)

Abstract: Objective To investigate the protective effects and mechanisms of gambogic acid (GA) against lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury (ALI). **Methods** An *in vivo* ALI model was established in ICR mice by LPS administration, and an *in vitro* model was established in LPS-stimulated BEAS-2B human bronchial epithelial cells. Mice were divided into control, LPS, GA (low, medium, and high doses), and dexamethasone groups. BEAS-2B cells were stimulated with LPS alone or co-treated with GA (low, medium, or high dose) or dexamethasone. Lung histopathology was evaluated by hematoxylin-eosin staining and scored, and the lung index was measured. *In vitro*,

［收稿日期］2026-05-15；［接受日期］2026-08-03

［基金项目］湖南省自然科学基金（2024JJ9604）；邵阳市科学技术局科技计划项目（2025PT4063）；邵阳学院横向科研项目（2024HX210）。

［作者简介］王乐，女，硕士，副教授。

［通信作者］刘瑾，女，主任医师。Email：19293220@qq.com。

cell viability was assessed by MTS assay, and morphological changes were observed by hematoxylin-eosin staining. Transcriptome sequencing combined with molecular docking was used to predict potential targets and pathways of GA. In cells and mice, Western blotting was used to detect tumor necrosis factor-α, interleukin (IL)-6, IL-1β, the expression of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2-associated X protein (Bax), and the phosphorylation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway proteins [p38, extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun N-terminal kinase (JNK)]. **Results** Compared with the LPS group, the GA medium- and high-dose groups and the dexamethasone group showed reduced lung injury scores and lung index (P<0.05), and alleviated structural damage in BEAS-2B cells. In both models, these groups exhibited decreased expression of TNF-α, IL-6, and IL-1β relative to the LPS group (P<0.05). There was no significant difference in BEAS-2B cell viability among groups (P>0.05). Transcriptomic analysis suggested that GA may attenuate ALI by modulating the MAPK pathway. Molecular docking analysis indicated stable binding of GA to p38, JNK, and ERK. In both models, medium- and high-dose GA inhibited LPS-induced phosphorylation of p38, ERK, and JNK (P<0.05) and suppressed the LPS-induced increase in the Bax/Bcl-2 ratio (P<0.05). **Conclusions** GA attenuates LPS-induced ALI, possibly by inhibiting the MAPK pathway and exerting anti-inflammatory and anti-apoptotic effects.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2026, 28(9): 1134-1142]

Key words: Acute lung injury; Gambogic acid; MAPK signaling pathway; BEAS-2B human bronchial epithelial cell; Mouse

急性肺损伤（acute lung injury, ALI）是以弥漫性肺泡损伤和失控炎症反应为特征的危重综合征，是急性呼吸衰竭的重要致死原因[1]。其病理核心涵盖肺泡–毛细血管屏障破坏及细胞因子风暴介导的氧化应激[2-3]。作为急性呼吸窘迫综合征的早期阶段，ALI病情进展迅速，一旦发生，病死率可达30%~45%[4-5]。因此，预防ALI的发生具有重要的临床意义。

近年来，天然产物正成为新型药物研发中的重要来源，植物成分在多种疾病模型中被证明具有生物活性[6]。许多天然来源的小分子化合物，可通过抑制肺部炎症、调节免疫细胞极化、调控表观遗传修饰等作用缓解ALI[7]。藤黄酸（gambogic acid, GA）提取自传统药用树脂藤黄，属于环氧二萜内酯类化合物，作为炎症级联反应的多效调节剂，GA在多种组织损伤模型中展现出抗炎活性。研究表明，GA可通过Akt信号通路减轻脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）诱导的肺成纤维细胞凋亡[8]，也可抑制视网膜细胞中NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3炎症小体活化[9]，并且可以通过调控MAPK/核因子κB通路影响巨噬细胞极化[10]。

MAPK途径是细胞内重要的信号转导通路之一，在ALI的病理进程中发挥重要作用[11-12]。研究表明，在LPS诱导的ALI小鼠模型中，肺组织内MAPK途径级联的关键靶点p38、c-Jun氨基端激酶（c-Jun N-terminal kinase, JNK）及胞外信号调节激酶（extracellular regulated protein kinases, ERK）1/2的磷酸化水平相较于对照组显著增加，提示MAPK途径级联的激活[7, 13]。MAPK途径的持续激活可导致炎症因子蓄积，还会介导细胞凋亡的发生。因此，靶向干预MAPK途径在缓解ALI炎症损伤中具有关键作用。

尽管GA的抗炎药理特性已得到证实，但其对ALI的干预效果及相关分子机制尚未明确。本研究拟通过LPS诱导的小鼠ALI模型及人支气管上皮细胞系（BEAS-2B）模型，探讨GA减轻ALI的药效作用及分子机制，为GA的临床转化提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与细胞

8周龄雄性ICR小鼠，体重30~33 g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，动物生产许可证号为SCXK（湘）2019-0004。所有实验动物饲养于无特定病原体级动物室中，环境温度为（25±2）℃，实行12 h/12 h明暗循环，自由摄食和饮水。本研究动物实验方案经湖南普瑞玛药物研究中心有限公司实验动物伦理委员会批准，批准号为HNSE2021（5）068。人支气管上皮细胞系BEAS-2B由中南大学湘雅医学院提供。

1.2 主要试剂与仪器

GA（纯度>95%; PHL85875）、LPS（*Escherichia coli* O111: B4; L2630）、二甲基亚砜（dimethyl sulfoxide, DMSO; D8418）、地塞米松（PHR1526）均购自美国Sigma-Aldrich公司。凋亡调节蛋白B细胞淋巴瘤-2（B-cell lymphoma 2, Bcl-2; 15071）、Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2-associated

X protein, Bax; 2772）、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）-α（11948）、白细胞介素（interleukin, IL）-6（12912）、IL-1β（12242）、p38（9212）、p-p38（4511）、JNK（9252）、p-JNK（4668）、ERK1/2（9102）、p-ERK1/2（9101）等抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。DMEM 培养基（11965092）、胎牛血清（A5256701）及磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline, PBS；10010023）均购自美国 Gibco 公司。MTS 细胞增殖检测试剂（G5421）购自美国 Promega 公司。

SpectraMax i3x 多功能酶标仪购自上海美谷分子仪器有限公司；721-BR10883 凝胶成像仪购自美国 Bio-rad 公司；Ti2-E 倒置显微镜购自日本尼康公司；3111 型 CO_2 培养箱购自美国 Thermo 公司。

1.3 动物模型制备、分组及给药

将小鼠随机分为 6 组：对照组、LPS 组、GA 低剂量组（1 mg/kg）、GA 中剂量组（2.5 mg/kg）、GA 高剂量组（5 mg/kg）和地塞米松组（5 mg/kg）。除对照组外，其余各组小鼠腹腔注射 LPS（5 mg/kg）建立 ALI 模型[14]。GA 各剂量组和地塞米松组于建模前 2 h 分别腹腔注射相应剂量的 GA 或地塞米松。对照组和 LPS 组同期腹腔注射等体积 DMSO。LPS 注射 24 h 后，各组小鼠经异氟烷麻醉后处死取样。体内动物实验、体外细胞功能实验均进行 3 次独立重复实验。

1.4 肺组织样本采集及肺指数测定

小鼠处死后迅速分离完整肺组织，称重。肺指数（mg/100 g 体重）=肺湿重（mg）/小鼠每 100 g 体重。

1.5 肺组织病理学检测

将肺组织置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h，经常规脱水、石蜡包埋、切片后进行苏木精–伊红（hematoxylin-eosin staining, HE）染色。倒置显微镜下观察，并对各组肺组织损伤进行评分[12]。

1.6 转录组测序

随机选取对照组、LPS 组和 GA 高剂量组小鼠肺组织样本各 3 份，委托上海美吉生物医药科技有限公司完成 RNA 提取及转录组测序，所有数据分析在美吉云平台（cloud.majorbio.com）完成。主成分分析使用 Python 的 sklearn 库，输入数据为标准化的表达量矩阵。各组间基因差异表达筛选标准为 $P<0.05$，且上调或下调倍数>1.5 倍。聚类分析使用 R 语言 fastcluster 软件包，针对选择的基因集，以基因的相对表达水平值 log2（ratios）进行聚类，聚类热图采用 Z-score 标准化。

1.7 分子对接分析

参考文献［15］，利用 AutoDock-MGLTools 1.5.6 软件进行分子对接分析。配体和受体结构经加氢、计算电荷、能量最小化等预处理后进行对接计算。通常来说，配体与受体的结合能<–5 kcal/mol 被认为能够稳定结合。

1.8 细胞培养

BEAS-2B 细胞培养于含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 培养基中，置于 37 ℃、5% CO_2 饱和湿度的细胞培养箱中常规培养。待细胞融合度达 80%~90% 时，采用 0.25% 胰蛋白酶-乙二胺四乙酸消化细胞后传代培养。

1.9 MTS 法检测细胞活力

将 BEAS-2B 细胞以 3×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板中，分别加入低浓度（0.25 μmol/L）、中浓度（0.5 μmol/L）、高浓度（1 μmol/L）GA 和地塞米松（1 μmol/L），同时设置 DMSO 溶剂组。药物处理 24 h 后，每孔加入 20 μL MTS 试剂（5 mg/mL），37℃孵育 1 h。采用酶标仪于 490 nm 处测定各孔吸光度值，计算相对细胞活力。

1.10 细胞 HE 染色

将 BEAS-2B 细胞接种于 6 孔板，在 LPS（3 μmol/L）刺激前 2 h 分别加入低浓度、中浓度、高浓度的 GA 或地塞米松进行预处理，各组 DMSO 终浓度一致，且均<0.1%。LPS 处理后培养 24 h，再吸弃培养基，PBS 洗涤 3 次。细胞加入 4% 多聚甲醛固定 15 min，按试剂盒说明书进行 HE 染色。

1.11 蛋白质印迹法检测

肺组织蛋白：将冻存肺组织研磨后加入适量预冷 RIPA 裂解液，冰上孵育 30 min。4 ℃、13 000 r/min 离心 20 min，收集上清液。取等量蛋白样品经 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转至聚偏二氟乙烯膜，5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h，加入 Bax、Bcl-2、TNF-α、IL-1β、IL-6、p38、p-p38、ERK1/2、p-ERK1/2、JNK、p-JNK 一抗（1∶1 000），4℃摇床孵育过夜。TBST 洗膜 3 次，加入相应二抗（1∶5 000）室温孵育 1 h，TBST 洗膜 3 次后，ECL 化学发光法显影，采用 Image Lab 6.1 软件分析条带灰度值。

BEAS-2B 细胞蛋白：吸弃培养基，预冷 PBS 洗涤细胞 3 次后加入 300 μL 预冷 RIPA 裂解液，充分

涡旋混匀，置于冰上裂解 1 h。4℃、13 000 r/min 离心 15 min，收集上清液。蛋白质印迹法检测同肺组织蛋白。

1.12 统计学分析

采用SPSS 23.0统计软件进行分析。符合正态分布的计量数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析检验，组间两两比较采用 Tukey 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GA 对 LPS 诱导小鼠肺组织形态及肺指数的影响

HE染色结果显示，对照组小鼠肺组织结构完整，肺泡壁薄且排列规则，未见明显病理改变；LPS组小鼠肺组织出现大量炎症细胞浸润、肺泡腔出血、肺泡间隔增厚及肺泡塌陷，部分区域可见纤维渗出；GA各剂量组和地塞米松组可改善上述病理变化（图1）。与对照组相比，LPS组肺指数、肺组织损伤评分升高（P<0.05）；与LPS组相比，GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组小鼠肺损伤评分、肺指数降低（P<0.05）。见表1。

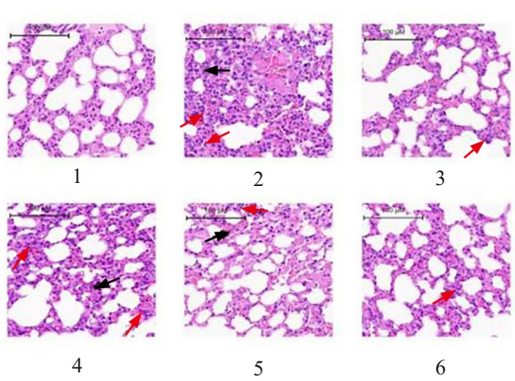


图 1 各组小鼠肺组织形态（HE 染色，倒置显微镜，×200） 1：对照组；2：LPS组；3：GA低剂量组；4：GA中剂量组；5：GA高剂量组；6：地塞米松组。对照组的肺组织结构清晰、分明，状态良好。LPS组的肺组织内可见炎性细胞浸润，组织肿胀、充血；肺泡上皮细胞增生，肺泡间隔增厚，部分肺泡萎缩塌陷。GA各剂量组和地塞米松组可以观察到病理形态的部分改善，包括肺泡形态的恢复、间隔变薄、充血状态缓解、炎性浸润减少。红色箭头所指为炎症浸润；黑色箭头所指为肺泡壁增厚。

表 1 各组小鼠肺指数及肺损伤评分比较 （$\bar{x} \pm s$，n=10）

组别	肺指数 (mg/100 g体重)	肺损伤评分
对照组	0.56 ± 0.07	1.00 ± 0.81
LPS组	0.77 ± 0.10[a]	10.00 ± 0.82[a]
GA低剂量组	0.73 ± 0.08	8.67 ± 1.70
GA中剂量组	0.64 ± 0.08[b]	7.33 ± 0.47[b]
GA高剂量组	0.63 ± 0.07[b]	5.33 ± 1.25[b]
地塞米松组	0.67 ± 0.10[b]	4.00 ± 1.63[b]
F值	7.82	26.07
P值	<0.001	<0.001

注：［LPS］脂多糖；［GA］藤黄酸。[a]与对照组相比，P<0.05；[b]与LPS组相比，P<0.05。

2.2 GA对LPS诱导小鼠肺组织炎症反应的影响

与对照组相比，LPS组小鼠肺组织中的TNF-α、IL-6、IL-1β表达升高（P<0.05）；与LPS组相比，GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组TNF-α、IL-1β表达降低，GA低剂量组、GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组IL-6表达降低（P<0.05）。见图2、表2。

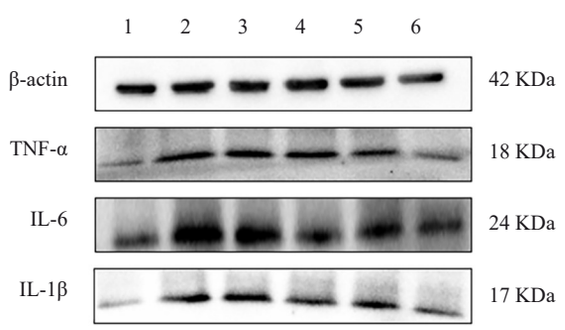


图 2 小鼠肺组织 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 蛋白表达条带 图 1：对照组；2：LPS组；3：GA低剂量组；4：GA中剂量组；5：GA高剂量组；6：地塞米松组。

表 2 各组小鼠肺组织炎症因子蛋白表达水平比较

（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β
对照组	1.00 ± 0.18	1.00 ± 0.20	1.00 ± 0.15
LPS组	2.78 ± 0.31[a]	3.68 ± 0.46[a]	2.18 ± 0.22[a]
GA低剂量组	2.34 ± 0.46	2.93 ± 0.32[b]	1.92 ± 0.36
GA中剂量组	1.73 ± 0.30[b]	1.63 ± 0.42[b]	1.32 ± 0.21[b]
GA高剂量组	1.56 ± 0.13[b]	1.78 ± 0.23[b]	1.45 ± 0.18[b]
地塞米松组	1.16 ± 0.12[b]	1.57 ± 0.32[b]	1.23 ± 0.13[b]
F值	17.63	23.72	13.51
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：［LPS］脂多糖；［GA］藤黄酸；［TNF-α］肿瘤坏死因子-α；［IL］白细胞介素。[a]与对照组相比，P<0.05；[b]与LPS组相比，P<0.05。

2.3 GA对BEAS-2B细胞活力的影响

对照组（1.00 ± 0.05）、DMSO溶剂组（0.97 ± 0.02）、GA低剂量组（0.96 ± 0.03）、GA中剂量组（0.97 ± 0.02）、GA高剂量组（0.96 ± 0.05）、地塞米松组（0.96 ± 0.04）细胞活力比较，差异无统计学意义（F=0.52，P=0.769）。

2.4 GA对LPS诱导BEAS-2B细胞结构和炎症因子的影响

HE染色结果显示，LPS组BEAS-2B细胞呈现出细胞皱缩与核固缩等损伤特征，GA组和地塞米松组的上述病理改变显著改善（图3A）。与对照组相比，LPS组TNF-α、IL-6、IL-1β表达升高（P<0.05）；与LPS组相比，GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组IL-6、IL-1β表达降低，GA低剂量组、GA中剂量组、GA高剂量组、地塞米松组TNF-α表达降低（P<0.05）。见图3B、表3。

2.5 转录组测序筛选GA影响ALI的调控靶点与通路

对照组、LPS组和GA高剂量组小鼠肺组织共检测出14 790个基因（图4A）。主成分分析结果显示，3组间基因在转录水平的表达存在显著差异（图4B）。通过组间差异分析获得差异表达基因，与LPS组相比，对照组存在2 941个上调基因和2 707个下调基因，GA高剂量组有616个上调基因和307个下调基因。其中，GA共逆转166个LPS诱导的下调基因和34个LPS诱导的上调基因。京都基因和基因组数据库通路富集分析显示，LPS可能通过调控PI3K-Akt信号通路和MAPK途径等改变小鼠肺组织功能（图4C）。GA高剂量组中Ras信号通路和MAPK途径发生显著改变（图4D）。进一步筛选参与MAPK途径的差异表达基因并进行聚类分析，结果显示，GA在转录水平上显著调控*Pla2g1b*、*Gng11*、*Cacna1i*、*Pla2g4b*、*Pla2g4e*、*Rasal1*、*Calml3*、*Csf2*、*Sele*、*Vcam1*、*Csf1*、*Pak6*和*Rapgef5*等基因的表达（图4E）。

表3 各组细胞炎症因子蛋白表达水平比较 （$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β
对照组	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.24	1.00 ± 0.14
LPS组	4.58 ± 0.42[a]	5.27 ± 0.44[a]	1.67 ± 0.22[a]
GA低剂量组	2.79 ± 0.37[b]	4.56 ± 0.64	1.75 ± 0.36
GA中剂量组	2.47 ± 0.25[b]	2.25 ± 0.47[b]	1.36 ± 0.25[b]
GA高剂量组	1.47 ± 0.23[b]	1.53 ± 0.33[b]	1.20 ± 0.12[b]
地塞米松组	0.84 ± 0.36[b]	0.66 ± 0.22[b]	1.06 ± 0.24[b]
F值	60.12	62.44	5.22
P值	0.002	<0.001	0.008

注：［LPS］脂多糖；［GA］藤黄酸；［TNF-α］肿瘤坏死因子-α；［IL］白细胞介素。[a]与对照组相比，P<0.05；[b]与LPS组相比，P<0.05。

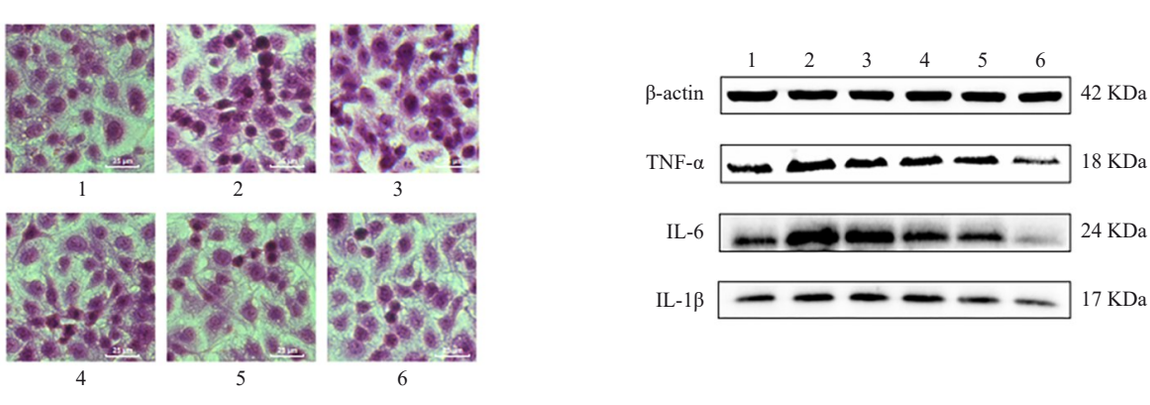


图3 GA对LPS诱导BEAS-2B细胞结构和炎症因子的影响 A：GA对各组细胞结构的影响（HE染色，倒置显微镜，×40）。对照组BEAS-2B细胞的细胞核呈典型蓝紫色，细胞形态和结构正常；LPS组细胞核呈明显核固缩现象，核体积缩小，染色质凝聚，部分细胞质中出现空泡，提示细胞出现了凋亡和炎症损伤；GA各剂量组和地塞米松组中，细胞核固缩现象得到缓解，细胞质颜色变浅，细胞形态恢复。B：BEAS-2B细胞TNF-α、IL-6、IL-1β蛋白表达条带图。1：对照组；2：LPS组；3：GA低剂量组；4：GA中剂量组；5：GA高剂量组；6：地塞米松组。

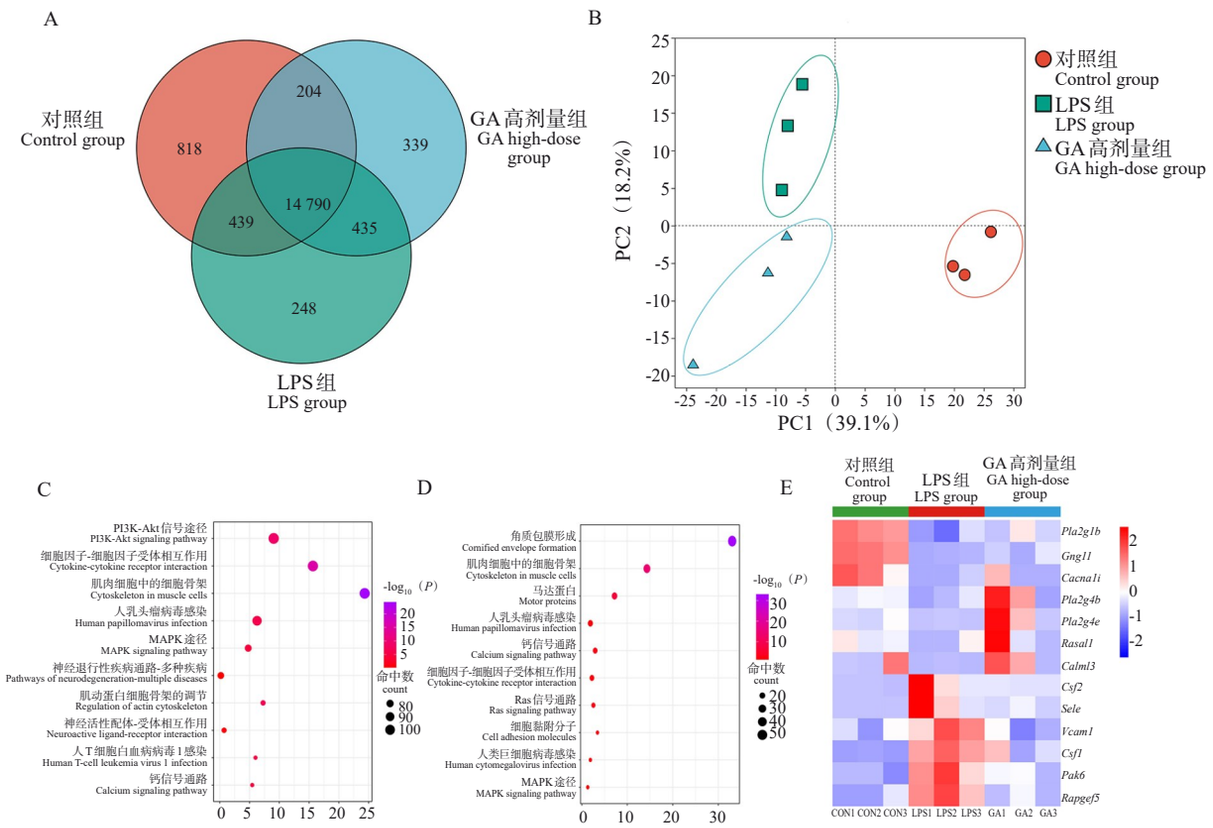


图4　GA调控ALI诱导的肺组织转录组变化　A：各组小鼠肺组织转录组学表达基因的韦恩分析。B：各组小鼠肺组织转录组学的主成分分析。圆点为对照组样本，正方形为LPS组样本，三角形为GA高剂量组样本。各点距离越近，表明样本间相似度越大。C~D：转录组学的京都基因和基因组数据库通路富集分析，C为对照组与LPS组比较，D为LPS组与GA高剂量组比较。横坐标为富集因子，纵坐标为京都基因和基因组数据库通路，图中点的大小表示相应通路中富集的基因数量，颜色深浅表示显著性水平高低。E：参与MAPK途径基因的聚类热图。红色表示呈上调趋势，蓝色表示呈下调趋势，颜色深浅与数值大小（–2~2）呈正相关，数值为样本中基因表达量与该基因平均水平的比值。

2.6　GA与MAPK途径靶点的分子对接结合能力分析

GA与p38蛋白对接的结合能为–6.63 kcal/mol，与JNK和ERK蛋白对接的结合能分别为–5.22 kcal/mol和–5.24 kcal/mol，结果进行可视化处理，见图5。

2.7　GA对LPS诱导小鼠肺组织MAPK途径及凋亡的影响

与对照组相比，LPS组小鼠肺组织中p38、ERK1/2和JNK的磷酸化程度升高（P<0.05）；与LPS组相比，GA中剂量组和GA高剂量组的上述蛋白磷酸化程度降低（P<0.05）。LPS组Bax/Bcl-2比值显著增加（P<0.05），GA干预可显著逆转Bax/Bcl-2的失衡状态（P<0.05）。见图6、表4。

2.8　GA对LPS诱导BEAS-2B细胞MAPK途径及凋亡的影响

与对照组相比，LPS组BEAS-2B细胞中p38、ERK1/2和JNK的磷酸化程度升高（P<0.05）；与LPS组相比，GA中剂量组、GA高剂量组的上述蛋白磷酸化程度降低（P<0.05）。LPS组Bax/Bcl-2比值显著增加（P<0.05），GA干预可使其显著降低（P<0.05）。见图7、表5。

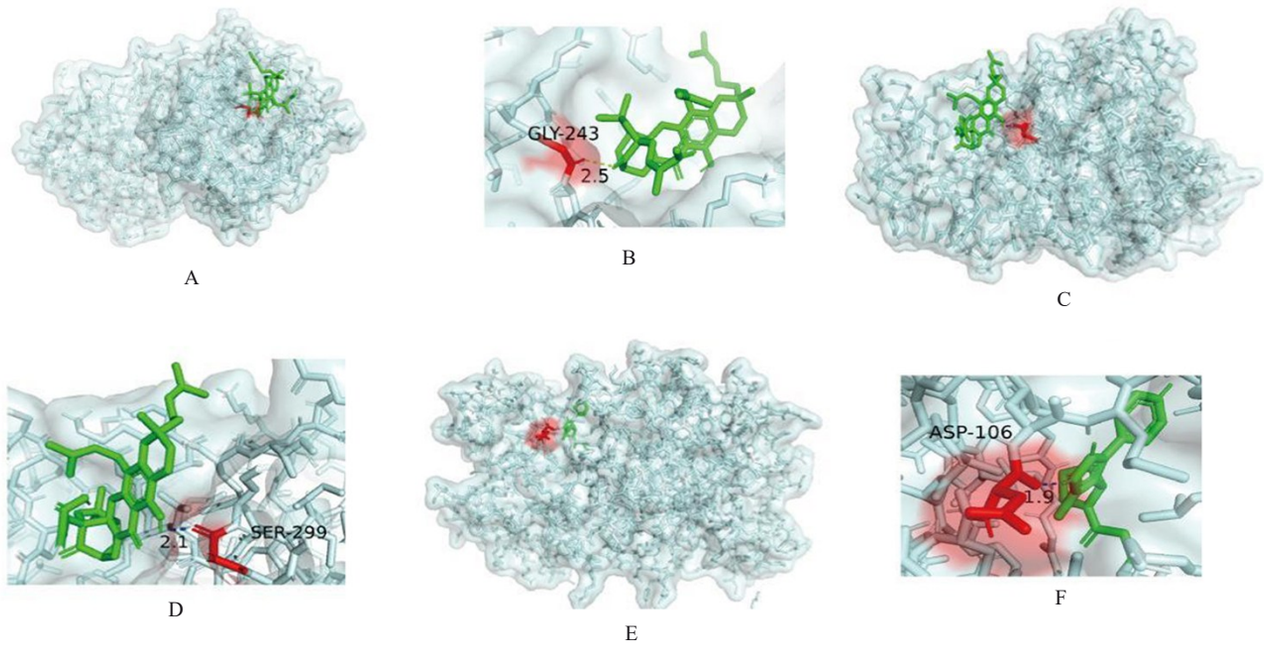


图5　GA与MAPK途径关键靶点的分子对接图　A~B：GA与p38的对接结果。C~D：GA与JNK的对接结果。E~F：GA与ERK的对接结果。绿色结构代表藤黄酸，红色结构为藤黄酸与该蛋白可能的作用位点。

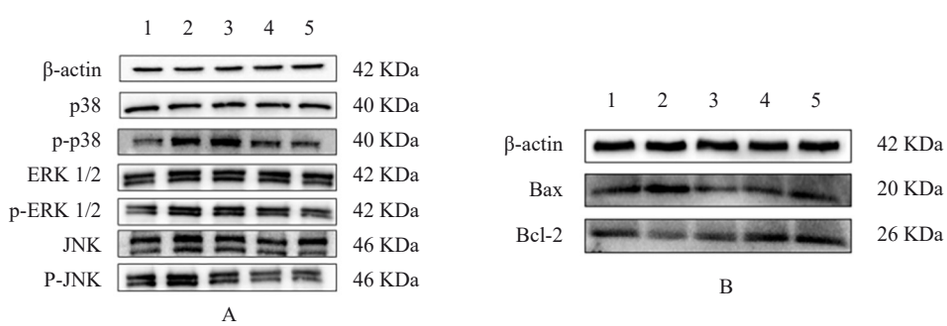


图6　蛋白质印迹法检测肺组织中MAPK途径及凋亡蛋白表达条带图　A：p38、ERK1/2、JNK及其磷酸化水平的表达。B：Bax与Bcl-2的表达。1：对照组；2：LPS组；3：GA低剂量组；4：GA中剂量组；5：GA高剂量组。

表4　各组小鼠肺部MAPK途径及凋亡蛋白表达水平　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	p-p38/p38	p-ERK1/2/ERK1/2	p-JNK/JNK	Bax/Bcl-2
对照组	1.00 ± 0.23	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.25
LPS组	2.73 ± 0.33[a]	1.84 ± 0.26[a]	2.18 ± 0.24[a]	2.32 ± 0.12[a]
GA低剂量组	2.58 ± 0.27	1.62 ± 0.15[b]	1.63 ± 0.24[b]	1.63 ± 0.34[b]
GA中剂量组	1.53 ± 0.31[b]	1.42 ± 0.17[b]	1.24 ± 0.19[b]	1.48 ± 0.17[b]
GA高剂量组	1.23 ± 0.29[b]	1.18 ± 0.21[b]	1.32 ± 0.22[b]	1.24 ± 0.20[b]
F值	21.08	9.33	13.21	14.58
P值	<0.001	0.002	<0.001	<0.001

注：［LPS］脂多糖；［GA］藤黄酸；［p-p38］磷酸化p38；［ERK1/2］细胞外信号调节激酶1/2；［p-ERK1/2］磷酸化细胞外信号调节激酶1/2；［JNK］c-Jun氨基端激酶；［p-JNK］磷酸化c-Jun氨基端激酶；［Bax］Bcl-2相关X蛋白；［Bcl-2］B细胞淋巴瘤-2。[a]与对照组相比，P<0.05；[b]与LPS组相比，P<0.05。

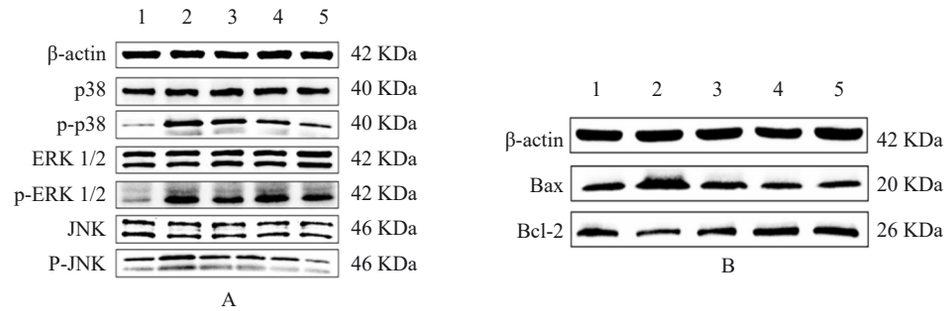


图7　蛋白质印迹法检测BEAS-2B细胞MAPK途径及凋亡蛋白表达条带图　A：p38、ERK1/2与JNK及其磷酸化水平的表达。B：Bax与Bcl-2的表达。1：对照组；2：LPS组；3：GA低剂量组；4：GA中剂量组；5：GA高剂量组。

表5　各组细胞MAPK途径及凋亡蛋白表达水平　（$\bar{x} \pm s$，n=3）

组别	p-p38/p38	p-ERK1/2/ERK1/2	p-JNK/JNK	Bax/Bcl-2
对照组	1.00 ± 0.16	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.22	1.00 ± 0.14
LPS组	2.36 ± 0.23[a]	3.36 ± 0.22[a]	2.29 ± 0.19[a]	2.93 ± 0.42[a]
GA低剂量组	1.84 ± 0.19	1.94 ± 0.32[b]	1.43 ± 0.32[b]	2.12 ± 0.27[b]
GA中剂量组	1.52 ± 0.30[b]	2.24 ± 0.39[b]	1.38 ± 0.25[b]	1.35 ± 0.23[b]
GA高剂量组	1.24 ± 0.14[b]	1.45 ± 0.26[b]	1.12 ± 0.12[b]	1.07 ± 0.29[b]
F值	18.31	30.49	15.10	22.39
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：［LPS］脂多糖；［GA］藤黄酸；［p-p38］磷酸化p38；［p-ERK1/2］磷酸化细胞外信号调节激酶1/2；［ERK1/2］细胞外信号调节激酶1/2；［p-JNK］磷酸化c-Jun氨基端激酶；［JNK］c-Jun氨基端激酶；［Bcl-2］B细胞淋巴瘤-2；［Bax］Bcl-2相关X蛋白。[a]与对照组相比，P<0.05；[b]与LPS组相比，P<0.05。

3　讨论

肺部炎症引发的呼吸衰竭是临床面临的重大挑战，ALI病情凶险且缺乏特效疗法[3, 14]。开发安全高效的天然产物已成为ALI药物研发的重要方向。LPS刺激可破坏肺泡–毛细血管屏障，诱发强烈的氧化应激与炎症级联反应，进而介导ALI的发生[2]。本研究发现，GA预处理可降低LPS诱导ALI小鼠的肺组织损伤评分与肺指数，并改善BEAS-2B细胞的形态损伤，提示GA可减轻LPS导致的肺部损伤与肺水肿。

GA在多种病理模型中均显示具有抗炎活性。2 μmol/L GA可使高糖/棕榈酸诱导损伤的ARPE-19细胞中TNF-α、IL-1β的表达下调约50%[9]；0.3 μmol/L GA可阻断巨噬细胞中LPS诱发的炎症级联反应[10]。本研究的细胞实验和动物实验表明，GA可抑制LPS诱导的TNF-α、IL-1β及IL-6等促炎因子的过度表达，提示GA可通过调控炎症信号级联反应发挥肺保护作用。

为进一步明确GA影响ALI的潜在作用机制，本研究在转录组学测序分析结果中发现，MAPK途径可能是GA作用的关键分子机制。MAPK途径主要涉及ERK、JNK和p38级联，其介导多种生理过程。细胞受LPS刺激后，胞内MAPK途径被激活，进而介导炎症信号转导[16]。既往研究显示，抑制MAPK途径可有效减轻ALI的病理进展[17]。本研究的分子对接结果显示，GA能与p38、JNK和ERK蛋白稳定结合，提示三者均为GA作用的潜在分子靶点。细胞实验和动物实验进一步表明，GA可抑制LPS诱导的p38、JNK和ERK1/2磷酸化程度，提示GA可通过抑制MAPK途径的过度激活，从而减轻肺部炎症反应与组织损伤。

MAPK途径的过度激活还参与细胞凋亡的调控。研究发现，抑制肺组织LPS诱导的MAPK和核因子κB的磷酸化水平可减轻细胞凋亡[18]。活化的MAPK可下调抗凋亡蛋白Bcl-2、上调促凋亡蛋白Bax，打破Bax/Bcl-2比值平衡，进而触发线粒体依赖性凋亡途径[19]。肺上皮、血管内皮细胞大量凋亡会严重破坏肺泡屏障的完整性，加重渗出与水肿，促进ALI恶化。本研究发现，GA可逆转LPS诱导的Bax/Bcl-2比值失衡，提示GA可通过抑制MAPK途径调控上皮细胞凋亡。

综上所述，GA可减轻LPS诱导的ALI，其机制与抑制MAPK途径、减轻炎症反应与凋亡效应有关。但目前研究仅限于基础实验，其临床转化的安全性与治疗价值尚待验证。未来的研究可深入探讨GA对ALI的治疗效果，并通过通路阻断实验验证GA与MAPK途径的直接因果调控关系，以进

一步推动其临床转化与应用。

作者贡献声明：王乐、刘瑾、温航卫共同负责课题思路构建与实验方案设计；王乐、禹莉莎、于旭东负责开展实验；邓玎玎负责数据收集与整理；刘瑾负责指导论文撰写和审核。

利益冲突声明：所有作者均声明不存在利益冲突。

［参　考　文　献］

[1] Qiao X, Yin J, Zheng Z, et al. Endothelial cell dynamics in sepsis-induced acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: pathogenesis and therapeutic implications[J]. Cell Commun Signal, 2024, 22(1): 241. PMID: 38664775. PMCID: PMC11046830. DOI: 10.1186/s12964-024-01620-y.

[2] Xia J, Li J, Deng M, et al. Diosmetin alleviates acute lung injury caused by lipopolysaccharide by targeting barrier function[J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(4): 2037-2047. PMID: 37074600. PMCID: PMC10113986. DOI: 10.1007/s10787-023-01228-7.

[3] Osorio-Valencia S, Zhou B. Roles of macrophages and endothelial cells and their crosstalk in acute lung injury[J]. Biomedicines, 2024, 12(3): 632. PMID: 38540245. PMCID: PMC10968255. DOI: 10.3390/biomedicines12030632.

[4] Millar MW, Fazal F, Rahman A. Therapeutic targeting of NF-κB in acute lung injury: a double-edged sword[J]. Cells, 2022, 11 (20): 3317. PMID: 36291185. PMCID: PMC9601210. DOI: 10.3390/cells11203317.

[5] Deng H, Zhu L, Zhang Y, et al. Differential lung protective capacity of exosomes derived from human adipose tissue, bone marrow, and umbilical cord mesenchymal stem cells in sepsis-induced acute lung injury[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 7837837. PMID: 35265265. PMCID: PMC8898768. DOI: 10.1155/2022/7837837.

[6] Wang Y, Cao X, Ma J, et al. Unveiling the longevity potential of natural phytochemicals: a comprehensive review of active ingredients in dietary plants and herbs[J]. J Agric Food Chem, 2024, 72(45): 24908-24927. PMID: 39480905. PMCID: PMC11565747.DOI: 10.1021/acs.jafc.4c07756.

[7] Chen X, Wang W, Zhang H, et al. Plant-derived natural compounds for the treatment of acute lung injury: a systematic review of their anti-inflammatory effects in animal models[J]. Int Immunopharmacol, 2025, 146: 113807. PMID: 39681064. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.113807.

[8] Gao X, Dai J, Li G, et al. Gambogic acid protects LPS-induced apoptosis and inflammation in a cell model of neonatal pneumonia through the regulation of TrkA/Akt signaling pathway[J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2021, 22(1): 28. PMID: 33971977. PMCID: PMC8112032. DOI: 10.1186/s40360-021-00496-9.

[9] Chen J, Li L, Zhou Y, et al. Gambogic acid ameliorates high glucose- and palmitic acid-induced inflammatory response in ARPE-19 cells via activating Nrf2 signaling pathway: *ex vivo*[J]. Cell Stress Chaperones, 2021, 26(2): 367-375. PMID: 33245515. PMCID: PMC7925800. DOI: 10.1007/s12192-020-01182-1.

[10] Ren J, Li L, Wang Y, et al. Gambogic acid induces heme oxygenase-1 through Nrf2 signaling pathway and inhibits NF-κB and MAPK activation to reduce inflammation in LPS-activated RAW264.7 cells[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109: 555-562. PMID: 30399591. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.10.112.

[11] Saleem S. Targeting MAPK signaling: a promising approach for treating inflammatory lung disease[J]. Pathol Res Pract, 2024, 254: 155122. PMID: 38246034. DOI: 10.1016/j.prp.2024.155122.

[12] Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 44(5): 725-738. PMID: 21531958. PMCID: PMC7328339. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0210ST.

[13] Zhou M, Meng L, He Q, et al. Valsartan attenuates LPS-induced ALI by modulating NF- κB and MAPK pathways[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1321095. PMID: 38288441. PMCID: PMC10822936. DOI: 10.3389/fphar.2024.1321095.

[14] Li D, Li F, Zhou Y, et al. Role and mechanism of sialic acid in alleviating acute lung injury through in vivo and in vitro models [J]. Foods, 2024, 13(18): 2984. PMID: 39335912. PMCID: PMC11431537. DOI: 10.3390/foods13182984.

[15] Yang F, Chu Z, Wu Q, et al. A peptide from yak ameliorates hypoxia-induced kidney injury by inhibiting inflammation and apoptosis via Nrf2 pathway[J]. Food Biosci, 2024, 60: 104407. DOI: 10.1016/j.fbio.2024.104407.

[16] Huang J, Liu J, Chang G, et al. Glutamine supplementation attenuates the inflammation caused by LPS-induced acute lung injury in mice by regulating the TLR4/MAPK signaling pathway [J]. Inflammation, 2021, 44(6): 2180-2192. PMID: 34160729. DOI: 10.1007/s10753-021-01491-2.

[17] Hong H, Lou S, Zheng F, et al. Hydnocarpin D attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via MAPK/NF-κB and Keap1/Nrf2/HO-1 pathway[J]. Phytomedicine, 2022, 101: 154143. PMID: 35537248. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.154143.

[18] Guo Y, Zhang H, Lv Z, et al. Up-regulated CD38 by daphnetin alleviates lipopolysaccharide-induced lung injury via inhibiting MAPK/NF-κB/NLRP3 pathway[J]. Cell Commun Signal, 2023, 21(1): 66. PMID: 36998049. PMCID: PMC10061746. DOI: 10.1186/s12964-023-01041-3.

[19] Gao J, Zhao F, Yi S, et al. Protective role of crocin against sepsis-induced injury in the liver, kidney and lungs via inhibition of p38 MAPK/NF- κB and Bax/Bcl-2 signalling pathways[J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 543-552. PMID: 35225146. PMCID: PMC8890572. DOI: 10.1080/13880209.2022.2042328.

（本文编辑：王颖）

（©《中国当代儿科杂志》编辑部，开放获取CC BY-NC-ND 4.0协议）
（© Editorial Office of *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*. OA under CC BY-NC-ND 4.0 license）