

DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20260525.001

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/46.1089.R.20260525.1346.002>

基于SIRT1/Nrf2/HO-1介导的铁死亡探讨五味子乙素改善哮喘气道炎症的机制研究

高 鑫¹, 田春燕², 李竹英²✉

(1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨, 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨, 150040)

[摘要] **目的:** 观察五味子乙素(Schisandrin B, Sch B)对沉默信息调节因子1/核因子红细胞2相关因子2/血红素氧合酶1(silent information regulator 1/nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase 1, SIRT1/Nrf2/HO-1)信号通路介导的铁死亡的影响, 从而阐明其抑制气道炎症的分子机制。 **方法:** 采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导人气道上皮细胞构建体外炎症模型。通过细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)法检测细胞活力并筛选Sch B干预浓度。随后设置空白组、模型组、Sch B低剂量组(5 $\mu\text{mol/L}$)、Sch B高剂量组(10 $\mu\text{mol/L}$)及SIRT1激动剂组(SRT1720)。采用ELISA法检测白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8、人单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)和IL-33水平; C11-BODIPY荧光探针检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平; 透射电镜观察线粒体形态; Western blot检测GPX4、ACSL4、SIRT1、核及胞质Nrf2、HO-1蛋白表达; 试剂盒检测细胞内 Fe^{2+} 浓度及SIRT1酶活性; 免疫共沉淀检测Nrf2乙酰化水平。 **结果:** 与空白组比较, 模型组炎症因子(IL-6、IL-8、MCP-1、IL-33)释放、ROS水平、ACSL4蛋白表达、 Fe^{2+} 浓度及细胞质Nrf2蛋白表达均明显升高, GPX4、SIRT1、胞核Nrf2及HO-1蛋白表达、SIRT1酶活性均明显降低, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, Sch B干预能剂量依赖性地逆转上述指标的变化, 并降低Nrf2乙酰化水平, 差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。 **结论:** 五味子乙素可能通过激活SIRT1/Nrf2/HO-1信号通路, 抑制气道上皮细胞的铁死亡, 从而减轻哮喘气道炎症。

[关键词] 五味子乙素; 哮喘; 气道炎症; 铁死亡; SIRT1

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-5953(2026)15-1166-09

Schisandrin B alleviates asthmatic airway inflammation by inhibiting ferroptosis via the SIRT1/Nrf2/HO-1 pathway

GAO Xin¹, TIAN Chunyan², LI Zhuqing²✉

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Foundation Project]: This study was supported by the Scientific Research Project of Heilongjiang Administration of Traditional Chinese Medicine (ZHY2025-207)

[Author]: GAO Xin, E-mail: h4325059@163.com.

[Correspondence to]: LI Zhuqing, Professor, Doctoral Supervisor, E-mail: lizhuqing2024@yeah.net.

Received: 2026-01-16

Revised: 2026-05-04

JHMu, 2026;32(15):1166-1174

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Schisandrin B (Sch B) on ferroptosis, which is mediated by the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway, and to elucidate its molecular mechanism in suppressing airway inflammation. **Methods:** An in vitro inflammatory model was established by stimulating human airway epithelial cells with lipopolysaccharide (LPS). The cell via-

[基金项目] 黑龙江省中医药科研项目(ZHY2025-207)

[作者简介] 高鑫, E-mail: h4325059@163.com。

[通讯作者] 李竹英, 教授, 博士研究生导师, E-mail: lizhuqing2024@yeah.net。

[收稿日期] 2026-01-16

[修回日期] 2026-05-04

网络出版时间: 2026-05-25 14:07:41

bility was measured using the cell counting kit-8 (CCK-8) assay to determine the appropriate concentrations of Sch B for intervention. The cells were then divided into the following groups: control, model, low-dose Sch B (5 $\mu\text{mol/L}$), high-dose Sch B (10 $\mu\text{mol/L}$), and SIRT1 agonist (SRT1720) groups. The levels of interleukin (IL)-6, IL-8, MCP-1, and IL-33 were detected by ELISA. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were assessed using the C11-BODIPY fluorescent probe. Mitochondrial morphology was observed by transmission electron microscopy. The protein expression of glutathione peroxidase 4 (GPX4), acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4), SIRT1, nuclear and cytoplasmic nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), and heme oxygenase-1 (HO-1) was measured by Western blot. Intracellular Fe^{2+} concentration and SIRT1 enzyme activity were determined using commercial kits. The acetylation level of Nrf2 was examined by co-immunoprecipitation. **Results:** Compared with the control group, the model group showed significant increases in the release of inflammatory factors (IL-6, IL-8, MCP-1, and IL-33), ROS levels, ACSL4 protein expression, Fe^{2+} concentration, and cytoplasmic Nrf2 protein expression, along with significant decreases in GPX4, SIRT1, nuclear Nrf2, and HO-1 protein expression as well as SIRT1 enzyme activity, all of which were statistically significant ($P < 0.01$). Compared to the model group, Sch B treatment dose-dependently and significantly reversed the changes in the above indicators and reduced the acetylation level of Nrf2, with statistical significance ($P < 0.01$). **Conclusion:** Sch B may alleviate asthmatic airway inflammation by inhibiting ferroptosis in airway epithelial cells, which is likely mediated through the activation of the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway.

[Key words] Schisandrin B; Asthma; Airway inflammation; Ferroptosis; SIRT1

支气管哮喘是一种以慢性气道炎症、气道高反应性及可逆性气流受限为特征的异质性疾病,临床表现为反复发作的喘息、气急、胸闷或咳嗽,严重影响患者生活质量^[1]。气道上皮细胞作为气道屏障的重要组成部分,在哮喘炎症的启动和持续中扮演关键角色^[2,3]。因此,探索调控气道上皮细胞损伤与炎症反应的关键分子机制,对寻找哮喘治疗新靶点具有重要意义。

近年来,程序性细胞死亡在呼吸系统疾病中的作用备受关注。铁死亡作为一种铁离子依赖性、以脂质过氧化物大量蓄积为核心特征的调节性细胞死亡方式,因其与氧化应激、炎症反应高度关联,逐渐成为哮喘研究的热点^[4,5]。已有研究证实,在尘螨诱导的哮喘模型中,气道上皮细胞存在铁蓄积和脂质过氧化,抑制铁死亡可显著减轻气道炎症反应,提示铁死亡可能是哮喘气道炎症发生、发展的重要调控机制^[6]。

五味子乙素(Schisandrin B, Sch B)是五味子科植物五味子中提取的主要活性成分,属于双环二萜内酯类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗细胞凋亡及调控细胞死亡等多种药理活性^[7]。沉默信息调节因子1/核因子红细胞2相关因子2/血红素氧合酶1(silent information regulator 1/nuclear factor erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase 1, SIRT1/Nrf2/HO-1)信号通路是调控细胞氧化应激、炎症反应及程序性死亡的关键通路,已被证实参与哮喘的发病机制^[8]。此外,SIRT1还被证实可通过去乙酰化修饰Nrf2,促进其核转位,增强HO-1转录活性,进而抑制铁死亡^[9]。基于此,本研究通过观察Sch B对SIRT1/Nrf2/HO-1信号通路介导的气道上皮细胞

铁死亡的影响,从而明确Sch B在哮喘治疗中的作用及分子机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

人气道上皮细胞系16HBE(human bronchial epithelial cell line 16HBE, 16HBE)购于南京珞宁生物科技有限公司。细胞复苏后,接种于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素及100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的杜氏改良伊格尔培养基/营养混合物F12(Dulbecco's modified Eagle medium/F12, DMEM/F12)培养基中,置于37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 恒温培养箱中培养,每日观察细胞形态。当细胞融合度达到80%~90%时,采用0.25%胰蛋白酶消化传代,选取对数生长期、形态均一的细胞用于后续实验。

1.2 试剂

Sch B($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7$,分子量:432.51,纯度 $\geq 98\%$)购自美国Sigma-Aldrich公司(货号为HY-N0320),用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解配制成10 $\mu\text{mol/L}$ 母液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,实验时用培养基稀释至所需浓度。DMEM/F12培养基(货号SH30023.01)购于美国HyClone公司。胎牛血清(货号10099-141)购于美国Gibco公司。ECL化学发光显色试剂盒(货号WBKLS0100)购于美国Millipore公司。青霉素-链霉素溶液(货号为C0222)、亚铁离子检测试剂盒(货号为S1068S)和细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒(货号为P0027)购自上海碧云天生物技术公司。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)和细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)均购于北京索莱宝科技有限公司(货号为L8880和CA1210)。SRT1720(货号为HY-10532)

购于美国 MedChemExpress 公司。人白细胞介素 (interleukin, IL)-6、IL-8、人单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 和 IL-33 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒和 SIRT1 酶活性检测试剂盒均购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司 (货号分别为 E-EL-H6156、E-EL-H6008、E-EL-H6005、E-EL-H2402 和 E-BC-F056)。BODIPYTM 581/591 C11 荧光探针 (货号为 D3861) 和二喹啉甲酸 (Bicinchoninic acid, BCA) 蛋白检测试剂盒 (货号为 23250) 购于美国 Thermo Fisher Scientific 公司。谷胱甘肽过氧化物酶 4 (Glutathione peroxidase 4, GPX4) 抗体 (货号为 ab125066) 和 Nrf2 抗体 (货号为 ab62350) 购于英国 Abcam 公司。酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4) (货号为 38493)、SIRT1 抗体 (货号为 9475)、HO-1 抗体 (货号为 43966) 和 Acetylated-Lysine 抗体 (货号 9441) 购于美国 CST 公司。GAPDH 抗体 (货号 60004-1-Ig)、Lamin B1 抗体 (货号 12987-1-AP) 和 HRP 标记山羊抗兔二抗 (货号 SA00001-2) 均购于武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 细胞分组与干预

选取对数生长期 16HBE 细胞, 接种于 6 孔板 (接种密度为 2×10^5 个/孔), 培养 24 h 至细胞贴壁后, 进行分组处理。实验分为 5 组: 空白组 (正常培养, 不添加任何干预试剂)、模型组 (加入 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS 诱导 24 h, 构建气道上皮细胞炎症模型)、Sch B 低剂量组 (加入 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS + $5 \mu\text{mol/L}$ Sch B, 共培养 24 h)、Sch B 高剂量组 (加入 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS + $10 \mu\text{mol/L}$ Sch B, 共培养 24 h)、SIRT1 激动剂组 (加入 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS + $10 \mu\text{mol/L}$ SRT1720, 共培养 24 h)。每组设置 3 个复孔。

1.4 指标检测

1.4.1 细胞活力检测 为筛选 Sch B 的最佳干预浓度, 采用 CCK-8 法检测细胞活力, 具体操作如下: 将 16HBE 细胞接种于 96 孔板, 每孔 1×10^4 个细胞, 培养 24 h 至细胞贴壁后, 设置不同浓度 Sch B (1 、 5 、 10 、 20 、 40 、 $80 \mu\text{mol/L}$) 干预组以检测其对正常细胞的毒性, 同时设置 DMSO 对照组。另外, 将 16HBE 细胞以相同密度接种于 96 孔板并培养 24 h 贴壁后, 加入 $1 \mu\text{g/mL}$ LPS 诱导构建细胞炎症模型, 同时设置不同浓度 Sch B (1 、 5 、 10 、 20 、 40 、 $80 \mu\text{mol/L}$) 干预组, 另设单纯 LPS 组作为模型对照。干预 24 h 后, 每孔加入 $10 \mu\text{L}$ CCK-8 试剂, 继续培养 4 h, 用酶标

仪在 450 nm 波长处检测各孔吸光度 (optical density, OD) 值, 按照公式“细胞存活率 (%) = (实验组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) / (正常对照组 OD 值 - 空白对照组 OD 值) $\times 100\%$ ”计算细胞存活率。

1.4.2 酶联免疫吸附实验 收集各组细胞培养上清液, 4°C 、 $1\,000 \times g$ 离心 20 min, 弃杂质及细胞碎片, 取上清液待测。按照 IL-6、IL-8、MCP-1、IL-33 ELISA 试剂盒说明书操作, 依次加入标准品、样本及试剂, 孵育、洗涤后加 TMB 底物避光显色, 加终止液后立即用酶标仪在 450 nm 波长检测 OD 值, 扣除空白孔 OD 值后, 拟合标准曲线计算各炎症因子浓度。

1.4.3 生化检测 收集各组细胞, Fe^{2+} 检测样本加 BeyoLysisTM Buffer H 裂解液冰浴 10 min, 4°C $12\,000 \times g$ 离心 5 min 取上清; SIRT1 检测样本加 0.2 mL 生理盐水匀浆, 4°C 、 $10\,000 \times g$ 离心 10 min 取上清并 BCA 法测蛋白浓度。 Fe^{2+} 经试剂盒孵育后, 酶标仪 593 nm 测 OD 值计算浓度; SIRT1 经试剂盒试剂配置与梯度孵育后, 荧光酶标仪 340 nm 激发、440 nm 发射测荧光值, 结合蛋白浓度计算酶活性。

1.4.4 免疫荧光染色 细胞分组处理后, 弃去培养基, 用 PBS 洗涤细胞 2 次。加入用无血清培养基稀释的 BODIPYTM 581/591 C11 荧光探针 (终浓度 $5 \mu\text{mol/L}$), 置于 37°C 、 5% CO_2 培养箱中孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次去除未结合的探针。随后于激光共聚焦显微镜下观察。使用 488 nm 激光激发, 收集 530/30 nm 波段发射光检测还原态探针 (红色荧光); 氧化态探针 (绿色荧光) 采用 568 nm 激光激发, 收集 590/30 nm 波段发射光检测。采用 Image-Pro Plus 软件对荧光强度进行定量分析。

1.4.5 透射电镜 收集各组处理后的细胞, 用胰蛋白酶消化后离心收集细胞沉淀, PBS 洗涤 2 次, 加入 2.5% 戊二醛固定液 4°C 固定 24 h, 梯度脱水、包埋、切片后, 经醋酸铀染色, 透射电子显微镜下观察线粒体形态, 拍照记录, 每个样本观察 5 个随机视野, 分析线粒体结构变化。

1.4.6 Western blot 检测 收集各组细胞, 加入 RIPA 裂解液冰浴裂解 30 min, 提取总蛋白; 核蛋白与胞质蛋白按照核质分离试剂盒说明书提取。BCA 法测定蛋白浓度, 调整蛋白浓度后, 加入上样缓冲液煮沸变性。每孔上样 $30 \mu\text{g}$ 蛋白, 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS - PAGE) 电泳, 转膜至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温

封闭1 h,加入一抗(GPX4、ACSL4、SIRT1、Nrf2、HO-1、GAPDH和Lamin B1)4℃孵育过夜,三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水吐温(Tris buffered saline with Tween,TBST)洗涤3次,每次10 min,加入二抗室温孵育1 h,TBST洗涤3次,ECL化学发光试剂盒显色,凝胶成像系统拍照,Image-Pro Plus软件定量分析各蛋白条带灰度值,以GAPDH作为总蛋白/胞质蛋白内参,Lamin B1作为核蛋白内参,计算目的蛋白相对表达量。

1.4.7 免疫共沉淀(co-immunoprecipitation,CO-IP)

收集各组细胞,加入免疫共沉淀裂解液冰浴裂解30 min,4℃、12 000 r/min离心10 min,取上清液,加入Nrf2一抗,4℃孵育过夜,加入Protein A/G琼脂糖珠,4℃孵育4 h,离心收集沉淀,用洗涤液洗涤3次,煮沸洗脱免疫沉淀复合物。通过Western Blot,使用Acetylated-Lysine抗体检测沉淀物中Nrf2的乙酰化水平,并以Input组Nrf2总量为参照进行定量分析。

1.5 统计学处理

应用SPSS27.0统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较采用独立样本 t 检验,

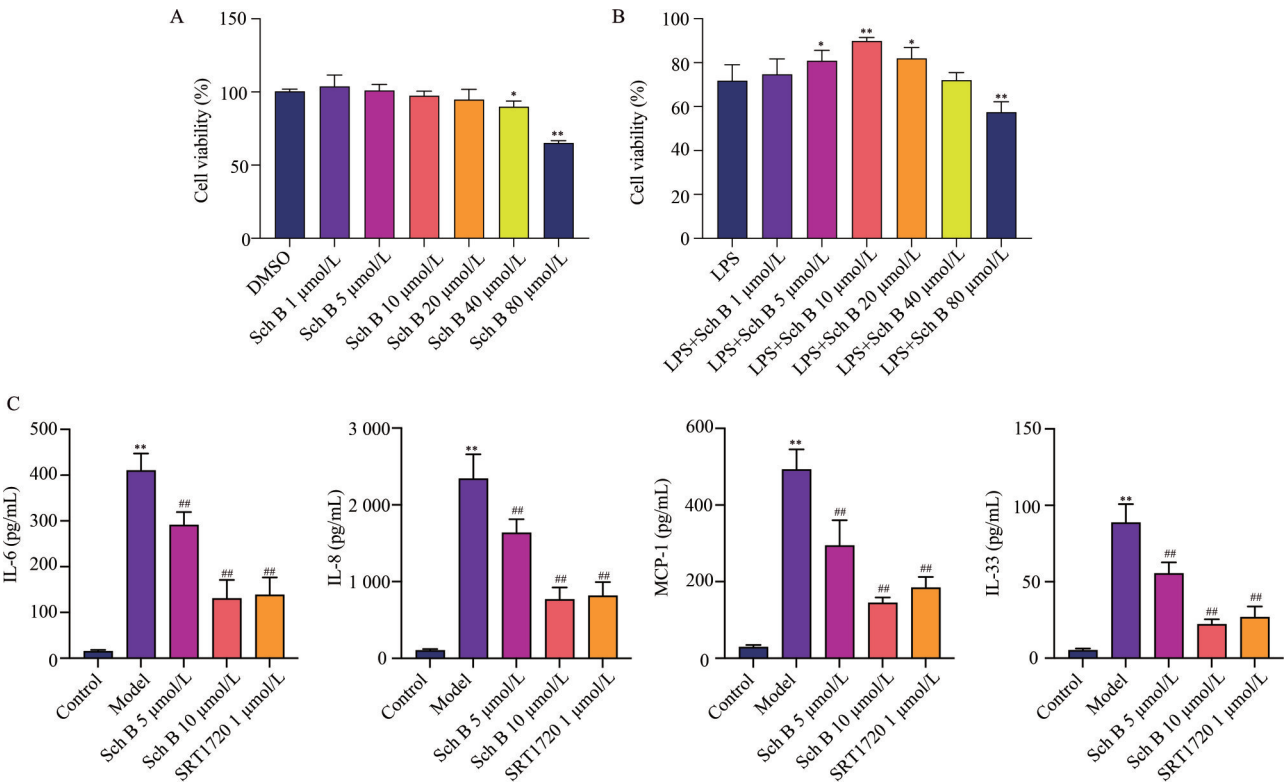
多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用LSD- t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物浓度筛选

与DMSO组相比,浓度 $\leq 20 \mu\text{mol/L}$ 的Sch B处理对细胞活力无明显影响。当浓度升至 $40 \mu\text{mol/L}$ 时,细胞活力开始显著下降,差异具有统计学意义($P<0.05$)。当Sch B浓度达到 $80 \mu\text{mol/L}$ 时则表现出明显的细胞毒性,差异具有统计学意义($P<0.01$),表明Sch B在较高浓度下对正常细胞具有毒性作用。见图1A。

采用LPS诱导构建体外细胞模型,与LPS组相比,Sch B干预后,细胞活力得到显著改善,并呈现出剂量依赖性保护效应。其中, $1 \mu\text{mol/L}$ Sch B的保护作用不明显,差异无统计学意义($P>0.05$)。而 $5 \mu\text{mol/L}$ 和 $10 \mu\text{mol/L}$ Sch B可分别将细胞活力恢复至 $(80.90 \pm 4.74)\%$ ($P<0.05$)和 $(89.89 \pm 1.59)\%$ ($P<0.01$)。当浓度继续增加至 $20 \mu\text{mol/L}$ 时,保护效应略有下降($P<0.05$),在 $40 \mu\text{mol/L}$ 时保护作用已基本消失($P>0.05$)。见图1B。



A:不同浓度Sch B对正常16HBE细胞活力的影响;B:不同浓度Sch B对LPS诱导的16HBE细胞活力的影响;C:Sch B对各组炎症因子表达的影响;与LPS诱导组/空白组比较, $*P<0.05$;与LPS诱导组/空白组比较, $**P<0.01$;与模型组比较, $^{##}P<0.01$

图1 五味子乙素浓度筛选及对炎症因子的影响

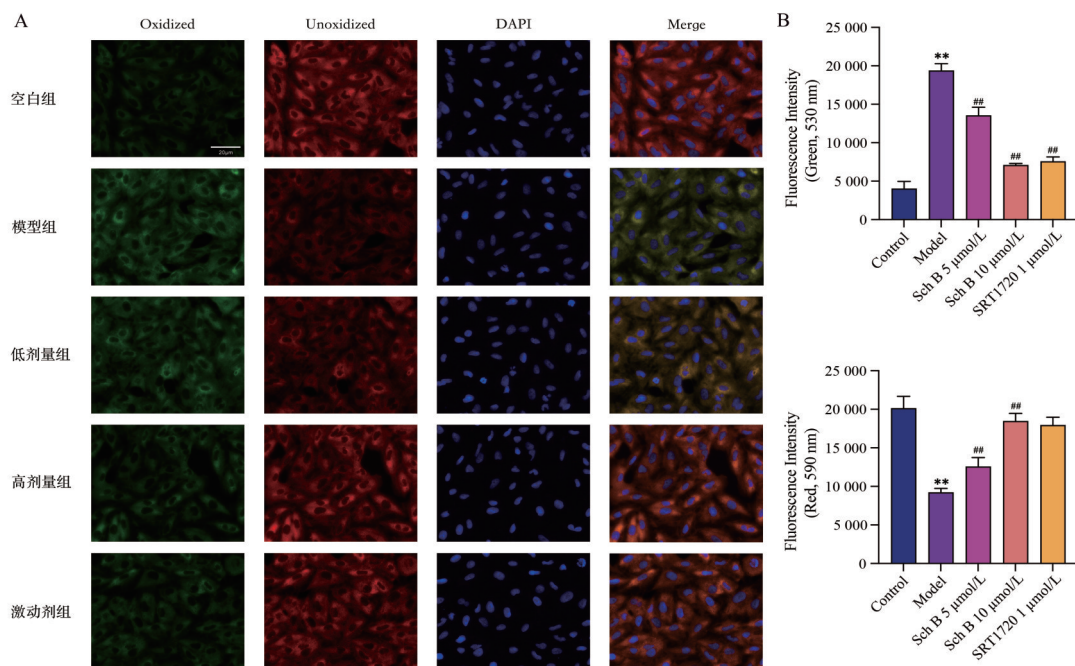
Fig 1 Concentration screening of Schisandrin B and its effects on inflammatory cytokines.

2.2 五味子乙素对炎症因子的影响

与空白组相比,LPS显著增加气道上皮细胞中IL-6、IL-8、MCP-1和IL-33的释放,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,5 $\mu\text{mol/L}$ 和10 $\mu\text{mol/L}$ Sch B均能显著抑制上皮细胞中IL-6、IL-8、MCP-1和IL-33的水平,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。SIRT1激动剂表现为相同的趋势。见图1C。

2.3 五味子乙素对ROS的影响

与空白组相比,模型组细胞的氧化态(绿色)荧光强度显著升高,还原态(红色)荧光强度则显著降低,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。经Sch B干预后,上述变化呈剂量依赖性逆转。与模型组相比,5、10 $\mu\text{mol/L}$ Sch B和SRT1720均能降低氧化态荧光强度和升高还原态荧光强度,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。见图2。



A: 各组BODIPYTM581/591 C11荧光染色图; B: 氧化态和还原态荧光强度定量分析; 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, ## $P<0.01$ 。

图2 C11-BODIPY 581/591 探针检测各组气道上皮细胞ROS水平(免疫荧光染色 $\times 200$, 比例尺=20 μm)

Fig 2 Detection of ROS levels in airway epithelial cells of each group using C11-BODIPY 581/591 probe(Immunofluorescent staining $\times 200$, Scale bar=20 μm)

2.4 五味子乙素对铁死亡的影响

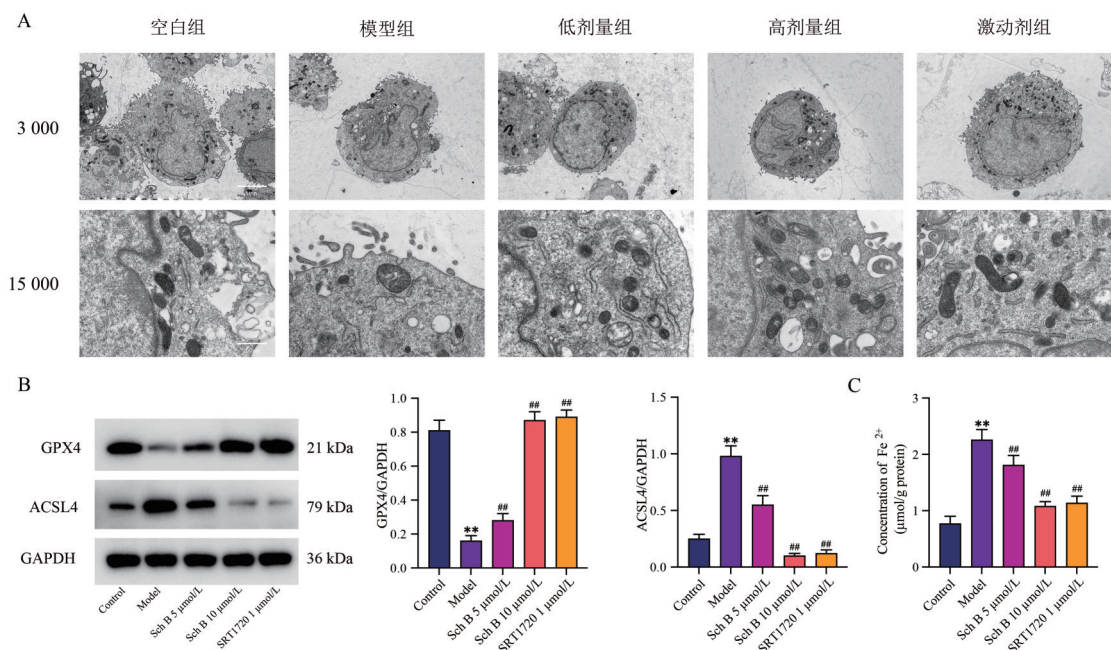
空白组细胞线粒体形态正常,呈椭圆形或杆状,嵴结构清晰。与空白组相比,模型组细胞线粒体呈现出典型的铁死亡形态学特征:体积明显缩小、膜密度增高、嵴减少或消失。经Sch B干预后,线粒体损伤得到明显改善。其中低剂量组部分线粒体形态有所恢复,而高剂量组及激动剂组细胞线粒体形态与空白组相似,接近正常状态。见图3A。

在分子标志物水平上,与空白组相比,模型组GPX4蛋白的表达降低,ACSL4蛋白的表达上调,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。经Sch B干预后,上述变化呈剂量依赖性逆转。与模型组相比,Sch B处理能以剂量依赖的方式上调GPX4蛋白的表达和降低ACSL4蛋白的表达,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。见图3B。

细胞内 Fe^{2+} 浓度检测结果显示,与空白组相比,模型组细胞内 Fe^{2+} 浓度明显增加,差异具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,Sch B治疗能剂量依赖性地降低 Fe^{2+} 的积聚,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。其中,高剂量Sch B及SRT1720处理均能使 Fe^{2+} 浓度恢复至接近正常水平。见图3C。

2.5 五味子乙素对SIRT1/Nrf2/HO-1信号通路的影响

与空白组相比,模型组细胞中SIRT1、细胞核Nrf2和HO-1蛋白的表达明显降低,细胞质Nrf2蛋白的表达明显上调,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,5 $\mu\text{mol/L}$ 和10 $\mu\text{mol/L}$ Sch B和SRT1720均能增加细胞中SIRT1、细胞核Nrf2和HO-1蛋白的表达,降低细胞质Nrf2蛋白的表达,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。见图4A。



A: 各组细胞线粒体超微结构; B: 铁死亡标志蛋白 GPX4 和 ACSL4 的表达; C: 各组细胞内 Fe^{2+} 含量的比较; 与空白组比较, $**P<0.01$; 与模型组比较, $^{##}P<0.01$

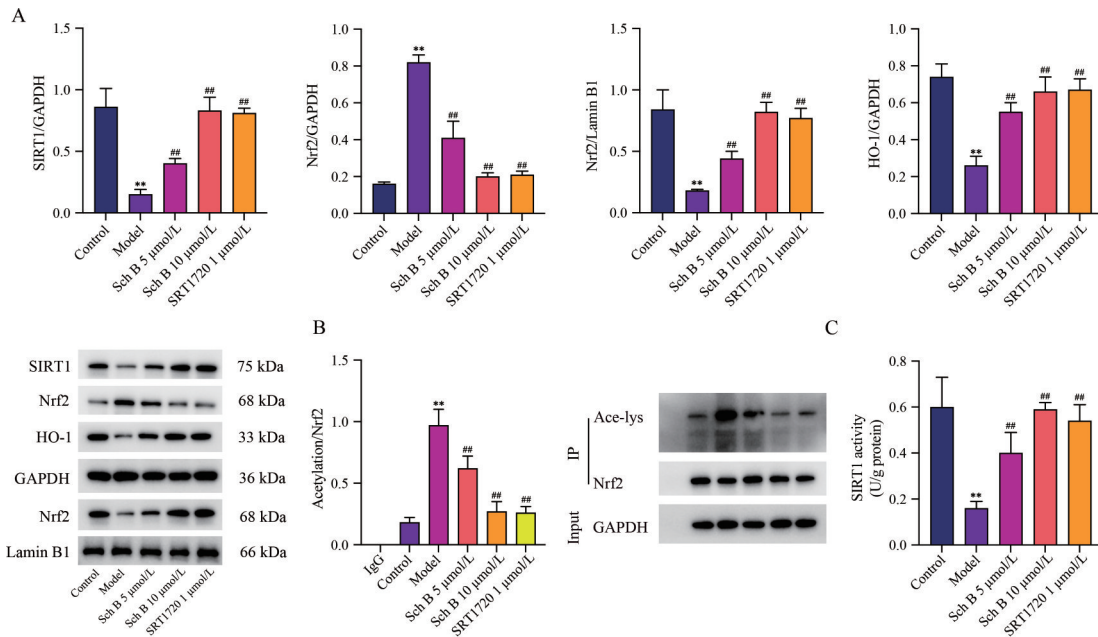
图3 五味子乙素对气道上皮细胞铁死亡的影响

Fig 3 Effect of Schisandrin B on ferroptosis in airway epithelial cells

CO-IP 结果显示,与空白组相比,模型组细胞中 Nrf2 蛋白的乙酰化修饰水平明显增加,差异具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,Sch B 处理能以剂量依赖的方式抑制细胞中 Nrf2 蛋白的乙酰化修饰水平,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。见图 4B。

此外,与空白组相比,模型组细胞的 SIRT1 酶

活性明显降低,差异具有统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,Sch B 处理能以剂量依赖的方式增加细胞中 SIRT1 活性,差异均具有统计学意义($P<0.01$)。而 SIRT1 特异性激动剂 SRT1720 处理组也表现出相似的激活效果。见图 4C。



A: SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路中相关蛋白的表达; B: 各组 Nrf2 乙酰化水平; C: 各组 SIRT1 酶活性; 与空白组比较, $**P<0.01$; 与模型组比较, $^{##}P<0.01$

图4 五味子乙素对 SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路的影响

Fig 4 Effect of Schisandrin B on the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway

3 讨论

生理状态下,气道上皮细胞通过紧密连接维持气道屏障完整性,调控氧化还原稳态及低水平炎症平衡,对抵御外界刺激、保护气道组织稳态具有重要生理意义。在病理状态下,气道上皮细胞受刺激后发生异常活化与损伤,大量释放各类炎症介质,进而招募炎症细胞浸润、促进黏液高分泌、加剧气道高反应性,形成炎症级联放大的恶性循环,最终推动哮喘的发生与进展^[10]。IL-6作为重要的促炎细胞因子,可促进Th17细胞分化、增强局部炎症反应强度,同时参与气道高反应性的调控,其表达水平与哮喘病情严重程度呈正相关^[11,12]。IL-8属于CXC类趋化因子,主要介导中性粒细胞向气道炎症部位浸润,在中性粒细胞主导型哮喘及重症哮喘中表达显著升高,进一步加重气道组织损伤^[13]。MCP-1主要趋化单核细胞/巨噬细胞向气道炎症灶浸润,促进巨噬细胞活化并释放更多炎症介质,放大慢性气道炎症反应^[14]。IL-33主要由受损气道上皮细胞释放,可激活肥大细胞、2型固有淋巴细胞等免疫细胞,驱动Th2型免疫应答,促进嗜酸性粒细胞浸润、气道高反应性及气道重塑^[15]。本研究结果显示,LPS刺激可显著上调16HBE细胞中IL-6、IL-8、MCP-1及IL-33的释放水平,提示LPS可成功诱导气道上皮细胞发生炎症活化。Sch B干预均可显著改善细胞活性并降低上述炎症因子的表达水平,且呈明显剂量依赖性,表明Sch B可发挥抗哮喘气道炎症作用,为其抗哮喘效应提供了直接的实验佐证。

细胞内 Fe^{2+} 的异常蓄积可通过芬顿反应催化生成大量ROS,ROS进一步引发脂质过氧化链式反应,导致脂质过氧化物在细胞内大量蓄积,最终破坏细胞膜完整性,诱导细胞发生铁死亡^[16]。GPX4作为清除细胞内脂质过氧化物的核心抗氧化蛋白,可将毒性脂质氢过氧化物还原为无毒醇类物质,其表达下调会导致脂质过氧化物无法有效清除,加速铁死亡进程^[17]。ACSL4通过促进细胞膜上多不饱和脂肪酸的合成与富集,增加脂质过氧化反应的底物供给,从而促进铁死亡的发生与发展^[18]。本研究结果显示,LPS模型组细胞线粒体呈现典型的铁死亡形态学特征,同时伴有细胞内 Fe^{2+} 浓度显著升高,ROS水平明显上升,GPX4蛋白表达显著下调,ACSL4蛋白表达显著上调。Sch B干预后,细胞内 Fe^{2+} 蓄积明显减少,ROS水平显著降低,GPX4蛋白表达显著回升,ACSL4蛋白表达显著下调,线粒体形态得到明显改善,且呈剂量依赖性,表明Sch B可

有效抑制LPS诱导的气道上皮细胞铁死亡,减轻细胞损伤,进而缓解气道炎症,这是Sch B改善哮喘气道炎症的重要机制之一。

乙酰化修饰作为蛋白质功能调控的重要翻译后修饰方式,是指在乙酰转移酶的催化下,将乙酰基转移至蛋白质的赖氨酸残基上,进而改变蛋白质的空间构象、稳定性、核转位能力及转录活性^[19]。而去乙酰化修饰则由去乙酰化酶催化,可逆转乙酰化修饰的调控效应,实现对蛋白质功能的精细调控。SIRT1作为去乙酰化酶,可通过对下游多种转录因子进行去乙酰化修饰,调控氧化应激、炎症反应及细胞死亡等多种生理病理过程^[20]。Nrf2作为细胞抵御氧化应激的核心转录因子,通过与Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1,Keap1)结合形成复合物,处于失活状态并被持续降解^[21]。一旦Nrf2与Keap1解离并转位入核,结合抗氧化反应元件,启动下游HO-1等抗氧化蛋白的转录与表达,进而清除细胞内过量ROS,维持氧化还原平衡,抑制铁死亡与炎症反应^[22]。本研究结果显示,LPS模型组细胞中SIRT1蛋白表达及酶活性均明显降低,Nrf2乙酰化水平明显升高,胞质Nrf2蛋白表达明显增加,核Nrf2蛋白表达明显降低,HO-1蛋白表达下调,提示LPS可抑制SIRT1/Nrf2/HO-1信号通路的激活,进而加剧气道上皮细胞损伤与炎症反应。Sch B干预后,可提高SIRT1蛋白表达及酶活性,剂量依赖性地降低Nrf2乙酰化水平,促进胞质Nrf2向核内转移,上调HO-1蛋白表达,其作用效果与SIRT1激动剂SRT1720一致,证实Sch B可通过激活SIRT1,调控Nrf2的乙酰化修饰,激活SIRT1/Nrf2/HO-1信号通路,进而发挥抗氧化、抑制铁死亡及减轻气道炎症的作用。

综上所述,本研究结果显示Sch B可激活SIRT1,通过促进Nrf2去乙酰化修饰,增强核转位能力,进而激活下游HO-1的表达,通过抑制铁死亡发挥抗炎作用。

作者贡献度说明:

李竹英:实验设计;高鑫:细胞实验、数据统计、撰写论文;田春燕:细胞实验、指标检测。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

- 1 Yuan X, Li C, Yang L, et al. Unraveling asthma through single-cell RNA sequencing in understanding disease mechanisms [J]. J Asthma, 2025, 62 (8) :

- 1257-1265.
- 2 Varricchi G, Brightling CE, Grainge C, et al. Airway remodelling in asthma and the epithelium: on the edge of a new era[J]. *Eur Respir J*, 2024, 63(4):2301619.
- 3 Russell RJ, Boulet LP, Brightling CE, et al. The airway epithelium: an orchestrator of inflammation, a key structural barrier and a therapeutic target in severe asthma[J]. *Eur Respir J*, 2024, 63(4):2301397.
- 4 Ni FX, Hu J, Chen PS, et al. Ferroptosis-immune-metabolic axis in asthma: mechanistic crosstalk, endotype-specific regulation, and translational targeting[J]. *Front Immunol*, 2026, 16:1714608.
- 5 Li M, Li M, Hou Y, et al. Ferroptosis triggers airway inflammation in asthma[J]. *Ther Adv Respir Dis*, 2023, 17:1-16.
- 6 Zeng Z, Huang H, Zhang J, et al. HDM induce airway epithelial cell ferroptosis and promote inflammation by activating ferritinophagy in asthma[J]. *FASEB J*, 2022, 36(6):e22359.
- 7 李智,李汶泽,倪秀一,等. 五味子提取物及其有效成分对心血管疾病的药理作用研究进展[J]. *药物评价研究*, 2023,46(8):1827-1832.
- Li Z, Li WZ, Ni XY, et al. Research progress on pharmacological effects of *Schisandra chinensis* extract and its active ingredients on cardiovascular diseases[J]. *Drug Eval Res*, 2023, 46(8):1827-1832.
- 8 Sun B, Cai F, Yu L, et al. Quercetin inhibits ferroptosis through the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway and alleviates asthma disease[J]. *Transl Pediatr*, 2024, 13(10):1747-1759.
- 9 Yuan D, Yang X, He B, et al. Yanghe Pingchuan granules inhibit cellular senescence in airway smooth muscle cells to improve bronchial asthma via modulating Nrf2 acetylation[J]. *Respir Res*, 2025, 26(1):266.
- 10 Singh S, Dutta J, Ray A, et al. Airway Epithelium: A neglected but crucial cell type in asthma pathobiology[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2023, 13(4):808
- 11 李泽明,周建永,陈婷婷,等. 小柴胡汤抑制 IL-6/STAT3 信号轴及 Th17 分化降低咳嗽变异性哮喘气道炎症的机制研究[J]. *中国现代医生*, 2025, 63(35):60-63,73.
- Li ZM, Zhou JY, Chen TT, et al. Mechanism of Xiaochaihu Decoction in reducing airway inflammation of cough variant asthma by inhibiting IL-6/STAT3 signaling axis and Th17 differentiation[J]. *China Mod Doctor*, 2025, 63(35):60-63,73.
- 12 王荟,魏梦月,闵凌峰. 支气管哮喘合并肺部感染患儿血清 IL-6、NLRP3 表达水平及其与预后关系研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2025,46(19):2334-2338.
- Wang H, Wei MY, Min LF, et al. Expression levels of serum IL-6 and NLRP3 in children with bronchial asthma complicated with pulmonary infection and their relationship with prognosis[J]. *Int J Lab Med*, 2025, 46(19):2334-2338.
- 13 杨大琼. 无创正压机械通气对重症急性哮喘合并呼吸衰竭的效果及对 IL-17、IL-8 水平的影响[J]. *吉林医学*, 2024,45(7):1652-1655.
- Yang DQ. Efficacy of non-invasive positive pressure ventilation in severe acute asthma complicated with respiratory failure and its influence on IL-17 and IL-8 levels[J]. *Jilin Med J*, 2024, 45(7):1652-1655.
- 14 岑红霞,蔡思铭,姜虹羽,等. JNK/CCl2 通路诱导巨噬细胞募集并促进 PM(2.5) 颗粒物暴露诱导的幼年大鼠过敏性气道炎症[J]. *中国免疫学杂志*, 2024, 40(4):720-725.
- Cen HX, Cai SM, Jiang HY, et al. JNK/CCl2 pathway induces macrophage recruitment and promotes allergic airway inflammation in juvenile rats exposed to PM2.5[J]. *Chin J Immunol*, 2024, 40(4):720-725.
- 15 林玛丽,盛放. IL-33 敲低减轻小鼠哮喘模型气道炎症的作用研究[J]. *现代免疫学*, 2025, 45(5):570-577.
- Lin ML, Sheng F. Study on the effect of IL-33 knockdown on alleviating airway inflammation in mouse asthma model[J]. *Mod Immunol*, 2025, 45(5):570-577.
- 16 Dixon SJ, Olzmann JA. The cell biology of ferroptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(6):424-442.
- 17 袁琛,宁楠,刘超武,等. 基于 NCOA4 介导的铁自噬探讨针刺对哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. *天津中医药*, 2026,43(2):224-230.
- Yuan C, Ning N, Liu CW, et al. Intervention effect of acupuncture on airway inflammation in asthmatic mice based on NCOA4-mediated ferritinophagy[J]. *Tianjin J Tradit Chin Med*, 2026, 43(2):224-230.
- 18 Wu D, Spencer CB, Ortoga L, et al. Histone lactylation-regulated METTL3 promotes ferroptosis via m6A-modification on ACSL4 in sepsis-associated lung injury[J]. *Redox Biol*, 2024, 74:103194.
- 19 丁瑜,赵博,张瑾,等. SIRT1 去乙酰化修饰调控 HMGB1 介导的细胞焦亡在慢性鼻窦炎伴鼻息肉中的作用[J]. *生物技术进展*, 2025,15(3):535-543.
- Ding Y, Zhao B, Zhang J, et al. Role of SIRT1 deacetylation modification in regulating HMGB1-mediated pyroptosis in chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. *Biotechnol Prog*, 2025, 15(3):535-543.
- 20 刘香漫,李成建,郑惠. SIRT1 去乙酰化 Nrf2 对创伤性颅脑损伤大鼠铁死亡的影响[J]. *中国临床神经科学*,

- 2025,33(3):296-302.
- Liu XM, Li CJ, Zheng H. Regulatory effect of SIRT1 deacetylated Nrf2 on ferroptosis in rats with traumatic brain injury[J]. Chin J Clin Neurosci, 2025, 33(3): 296-302.
- 21 李佩如,盛璇,孙文秀,等.基于Nrf2/Keap1/HO-1信号通路探讨芒柄花素对H₂O₂诱导的HT22细胞氧化应激损伤的影响[J].中成药,2026,48(2):640-645.
- Li PR, Sheng X, Sun WX, et al. Protective effect of formononetin on H₂O₂-induced oxidative stress injury in HT22 cells based on Nrf2/Keap1/HO-1 signaling pathway [J]. Chin Tradit Pat Med, 2026, 48(2):640-645.
- 22 龙兴江,覃娇凤,黄贤贵.黄芩素通过激活Keap1/Nrf2/HO-1通路减轻铁过载引起的心肌细胞损伤[J].中国临床新医学,2026,19(1):83-90.
- Long XJ, Qin JF, Huang XG. Baicalein alleviates cardiomyocyte injury induced by iron overload by activating Keap1/Nrf2/HO-1 pathway [J]. Chin J New Clin Med, 2026, 19(1):83-90.

[本文编辑] 刘斯静