

雾化吸入人脐带间充质干细胞源胞外囊泡对 中性粒细胞性哮喘小鼠气道炎症的影响

李雯, 董利阳, 郑婷婷, 蒋宁, 罗鑫凯, 徐小卫, 毛朝明

(江苏大学附属医院核医学科, 江苏 镇江 212001)

[摘要] **目的:** 探究雾化人脐带间充质干细胞源胞外囊泡(human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles, hUCMSC-EVs)对屋尘螨(house dust mite, HDM)-脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的中性粒细胞性哮喘小鼠气道炎症的影响及其潜在机制。**方法:** 采用超高速离心法提取 hUCMSC-EVs;透射电镜观察 hUCMSC-EVs 形态;蛋白免疫印迹法检测细胞外囊泡中分化簇 81(cluster of differentiation 81, CD81)、热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)、肿瘤易感基因 101(tumor susceptibility gene 101, TSG101)和钙联蛋白(Calnexin)表达。构建 HDM-LPS 诱导的中性粒细胞性哮喘小鼠模型并给予 hUCMSC-EVs 雾化干预,将 15 只 6~8 周龄、雌性 BALB/c 小鼠随机分为对照组、HDM-LPS 组和 HDM-LPS+EVs 组,每组 5 只;HE 和过碘酸-雪夫(periodic acid-Schiff, PAS)染色法分别观察肺脏气道周围炎性细胞浸润和杯状细胞化生情况;血细胞计数板和瑞氏-吉姆萨染色分别计数肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中炎症细胞和中性粒细胞总数;qRT-PCR 检测小鼠肺脏组织 C-X-C 基序趋化因子配体 15(C-X-C motif chemokine ligand 15, *Cxcl15*)和 *Cxcl5* mRNA 表达;采用相关试剂盒检测各组小鼠肺组织中亚铁离子和丙二醛含量,蛋白免疫印迹法检测谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)表达。激光共聚焦显微镜观察人支气管上皮细胞株 HBE135-E6E7 对 CM-Dil 标记的 hUCMSC-EVs 的摄取情况;体外应用 HDM-LPS、HDM-LPS+EVs 处理 HBE135-E6E7 细胞,qRT-PCR 检测各组细胞中 *IL-8* mRNA 和 *Cxcl5* mRNA 表达,采用相关试剂盒和蛋白免疫印迹法分别检测各组亚铁离子、丙二醛和 GPX4 表达。**结果:** hUCMSC-EVs 呈杯托样膜性结构且表达 CD81、HSP70 和 TSG101。与对照组相比,HDM-LPS 组小鼠气道周围炎性细胞浸润和杯状细胞化生程度明显,炎症和 PAS 染色评分显著升高($P<0.01$),BALF 中总细胞和中性粒细胞数明显增多($P<0.01$),肺组织中 *Cxcl15* mRNA、*Cxcl5* mRNA、亚铁离子和丙二醛含量显著增加而 GPX4 表达明显降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+EVs 组小鼠气道炎症和 PAS 评分显著降低,BALF 中总细胞和中性粒细胞数均明显减少($P<0.01$),肺脏 *Cxcl15* mRNA、*Cxcl5* mRNA、亚铁离子和丙二醛含量明显降低而 GPX4 蛋白表达明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。体外实验结果显示,hUCMSC-EVs 可经 HBE135-E6E7 细胞内吞;与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+EVs 组细胞中亚铁离子、丙二醛含量、*IL-8* mRNA 和 *Cxcl5* mRNA 表达均显著降低而 GPX4 表达明显增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。**结论:** 雾化 hUCMSC-EVs 可显著改善 HDM-LPS 诱导的中性粒细胞性哮喘小鼠气道炎症,其可能是通过抑制支气管上皮细胞铁死亡实现抗炎作用。

[关键词] 人脐带间充质干细胞源胞外囊泡;雾化吸入;中性粒细胞性哮喘;气道炎症;铁死亡

[中图分类号] R562.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-7783(2026)04-0311-09

DOI: 10.13312/j.issn.1671-7783.y250134

[引用格式] 李雯, 董利阳, 郑婷婷, 等. 雾化吸入人脐带间充质干细胞源胞外囊泡对中性粒细胞性哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. 江苏大学学报(医学版), 2026, 36(4): 311-319, 325.

Effect of inhalation of human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles on airway inflammation in neutrophilic asthmatic mice

LI Wen, DONG Liyang, ZHENG Tingting, JIANG Ning, LUO Xinkai, XU Xiaowei, MAO Chaoming

(Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang Jiangsu 212001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of nebulized human umbilical cord mesenchymal stem

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82300035,81900562);江苏省自然科学基金资助项目(BK20251848);江苏省卫健委医学科项目(H2023021);江苏省卫健委“血地寄防”项目(x202306);镇江市临床医学重点实验室项目(SS2023012)

[作者简介] 李雯(2001—),女,硕士研究生;董利阳(通信作者),副主任技师,硕士生导师,E-mail: liyangdong@ujs.edu.cn;郑婷婷(通信作者),副主任技师,硕士生导师,E-mail: tingtingzheng@ujs.edu.cn

cells-derived extracellular vesicles (hUCMSC-EVs) on house dust mite (HDM)- and lipopolysaccharide (LPS)-induced neutrophilic inflammation in asthmatic mice and its potential mechanism. **Methods:** HUCMSC-EVs were isolated using ultra-high-speed centrifugation. The morphology of hUCMSC-EVs was observed via transmission electron microscopy. Western blotting was performed to detect the expression of cluster of differentiation 81 (CD81), heat shock protein 70 (HSP70), tumor susceptibility gene 101 (TSG101) and Calnexin in the EVs. A mouse model of neutrophilic asthma induced by HDM-LPS was established and treated with nebulized hUCMSC-EVs. Fifteen 6–8-week-old female BALB/c mice were randomly divided into three groups: control group, HDM-LPS group, and HDM-LPS+EVs group (5 mice per group). Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe inflammatory cell infiltration around the pulmonary airways, while periodic acid-Schiff (PAS) staining was applied to detect goblet cell metaplasia in the lungs. A hemocytometer was used to count the total number of inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and Wright-Giemsa staining was employed to count the total number of neutrophils in BALF. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) was conducted to measure the mRNA expression levels of C-X-C motif chemokine ligand 15 (*Cxcl15*) and *Cxcl5* in mouse lung tissues. Relevant kits were used to detect the contents of ferrous irons and malondialdehyde (MDA) in lung tissues, and Western blotting was used to determine the expression of glutathione peroxidase 4 (GPX4). *In vitro*, HBE135-E6E7 cells were treated with HDM-LPS or HDM-LPS+EVs; laser confocal microscopy was used to observe the uptake of CM-Dil-labeled hUCMSC-EVs by the human bronchial epithelial cell line HBE135-E6E7 cells. *In vitro*, HBE135-E6E7 cells were treated with HDM-LPS or HDM-LPS+EVs. *IL-8* and *Cxcl5* mRNA expression was analyzed by qRT-PCR, while ferrous ion, MDA, and GPX4 levels were determined using kits and Western blotting, respectively. **Results:** HUCMSC-EVs exhibited cuplike membranous structure and expressed CD81, HSP70 and TSG101. Compared with the control group, the HDM-LPS group exhibited obvious inflammatory cell infiltration around airways and airway epithelial goblet cell metaplasia, with significantly increased inflammation score and PAS staining scores (all $P<0.01$). The total number of cells and neutrophils in the BALF was significantly increased (all $P<0.01$). In lung tissues, the levels of *Cxcl15* mRNA, *Cxcl5* mRNA, ferrous ions, and MDA were significantly upregulated, while GPX4 expression was significantly downregulated ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with the HDM-LPS group, the HDM-LPS+EVs group showed significantly reduced airway inflammation and PAS scores in mice, along with a marked decrease in total cell and neutrophil counts in BALF ($P<0.01$). In lung tissues, the levels of *Cxcl15* mRNA, *Cxcl5* mRNA, ferrous ions, and MDA were reduced, whereas GPX4 expression was increased ($P<0.01$ or $P<0.05$). *In vitro* experiments revealed that hUCMSC-EVs could be endocytosed by HBE135-E6E7 cells; and compared with the HDM-LPS group, the HDM-LPS+EVs group showed significantly reduced levels of ferrous ions, MDA, and the expression of *IL-8* mRNA and *Cxcl5* mRNA, while GPX4 expression was markedly upregulated ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion:** Nebulized hUCMSC-EVs could significantly alleviate airway inflammation in mice with neutrophilic asthma induced by HDM-LPS, likely through inhibition of ferroptosis in bronchial epithelial cells, thereby exerting anti-inflammatory effects. [**Key words**] human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles; nebulized inhalation; neutrophilic asthma; airway inflammation; ferroptosis

哮喘是一种以气道炎症浸润与黏液高分泌为病理特征的复杂异质性疾病^[1]。根据气道内炎性细胞的异质性,哮喘可分为嗜酸性粒细胞性、中性粒细胞性、混合粒细胞性及少粒细胞性四种亚型^[2]。流

行病学调查数据显示,约 28% 的哮喘患者存在痰液中性粒细胞增多现象^[3];据报道,此类患者中性粒细胞异常升高不仅与疾病严重程度、激素治疗敏感性下降及临床预后不佳密切相关,更是导致患者病

情反复(即难治性哮喘)和医疗负担加重的关键因素^[4-5]。尽管近年来哮喘相关的干预研究已取得一定进展,但临床上仍缺乏针对中性粒细胞性哮喘患者的有效治疗方案。

间充质干细胞源胞外囊泡(mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles, MSC-EVs)是由间充质干细胞(MSC)释放的包裹脂质双分子层且不能自我复制(不含功能性细胞核)的颗粒^[6]。凭借体积小、无细胞核、易于储存等优势, MSC-EVs已成为“MSC非细胞疗法”的典型代表并广泛应用于多种疾病的临床前干预^[7]。近年来, MSC-EVs在哮喘治疗领域的价值受到学界广泛关注且其干预有效性的相关报道日益增多^[8], 彰显其用于哮喘临床干预的潜力。然而, 现有研究多聚焦于 MSC-EVs对嗜酸性粒细胞性哮喘小鼠的治疗作用, 关于其对中性粒细胞性哮喘气道炎症的影响及潜在机制目前尚不完全清楚。本课题组前期研究发现, 人脐带 MSC(一种在临床应用中极具前景与适配性的 MSC 种子细胞^[9])来源的 EVs(human umbilical cord MSC-EVs, hUCMSC-EVs)可显著缓解嗜酸性粒细胞性哮喘小鼠的气道炎症^[10-11]; 后续研究进一步证实, EVs可通过更贴近临床实际的雾化吸入给药方式用于包括哮喘在内的肺脏疾病干预^[12-14]。基于此, 本研究拟探究雾化吸入 hUCMSC-EVs 对中性粒细胞性哮喘小鼠的干预效能及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和动物 人脐带收集经孕妇本人知情同意且采集流程经江苏大学附属医院伦理委员会批准同意, hUCMSCs 提取和鉴定参考本课题组前期报道^[15]。人支气管上皮细胞系 HBE135-E6E7 购自苏州海星生物科技公司。

15 只 6~8 周龄 SPF 级雌性 BALB/c 小鼠购自江苏大学实验动物中心(合格证号: A202503270143)。小鼠于 12 h/12 h 明暗交替且相对湿度为 40%~60%的环境下饲养, 自由进食和饮水。实验按照江苏大学动物保护和使用委员会指南协议进行。

1.1.2 主要试剂和仪器 hUCMSCs 完全培养基购自苏州赛业公司; 屋尘螨(HDM)购自北京博蕾德生物科技有限公司; 人支气管上皮细胞系 HBE135-E6E7 专用培养基购自海星生物科技公司; DMEM 购自美国 Gibco 公司; 脂多糖(LPS)、丙二醛检测试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司; 亚

铁离子检测试剂盒购自盐城爱迪生生物科技有限公司; 逆转录及 qRT-PCR 试剂盒购自南京诺唯赞生物科技有限公司; qRT-PCR 引物由南京擎科生物科技股份有限公司合成, 主要引物序列小鼠 *GAPDH* 正向: 3'-TGTTCTACCCCAATGTGT-5', 反向: 3'-GGTCCTCAGTGTAGCCCAAG-5'; 小鼠 *Cxcl15* 正向: 3'-CTTTCCAATTCGGGAGACCT-5', 反向: 3'-ACTGCCTGTCAAGCTGACTTC-5'; 小鼠 *Cxcl5* 正向: 3'-GTTCCATCTCGCCATTCATGC-5', 反向: 3'-GCGGCTATGACTGAGGAAGG-5'; 人 *GAPDH* 正向: 3'-AGCCACATCGCTCAGACAC-5', 反向: 3'-GCCCAATACGACCAATCC-5'; 人 *IL-8* 正向: 3'-CTGCGCCAACACAGAAATTA-5', 反向: CATCTGGCAACCCTACAACA-5'; 人 *Cxcl5* 正向: 3'-AGCTGCGTTGCGTTTGTTTAC-5', 反向: 3'-TGGCGAACACTTGCAGATTAC-5'。兔抗人/小鼠单克隆抗体 CD81、兔抗人单克隆抗体热休克蛋白 70(HSP70)、兔抗人单克隆抗体肿瘤易感基因 101(TSG101)、兔抗人/小鼠单克隆抗体钙联蛋白(Calnexin)、兔抗人/小鼠单克隆抗体谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、小鼠抗人/小鼠单克隆抗体 β -肌动蛋白抗体、山羊抗兔和山羊抗小鼠二抗购自武汉三鹰生物技术有限公司; 快速封闭液购自新赛美生物科技有限公司; ECL 发光液和 PVDF 膜购自美国 Millipore 公司; DM-YWH 01L 型雾化装置(广州德米医用设备有限公司); JEM-1200EX 型透射电镜(日本电子株式会社)。

1.2 HUCMSC-EVs 提取与鉴定

1.2.1 HUCMSC-EVs 提取与观察 hUCMSCs 在培养皿中生长至 80% 融合度时更换为无血清培养基继续培养 24 h; 收集细胞上清液, 于 4℃ 行梯度离心, 具体步骤如下: 先 300×g 离心 10 min, 再 2 000×g 离心 20 min, 最后 100 000×g 离心 90 min; 收集沉淀, 用 PBS 轻柔洗涤; 之后重复上述梯度离心流程, 再次收集沉淀即为 hUCMSCs-EVs。将新提取的 hUCMSCs-EVs 分装后于 -80℃ 冰箱储存备用。用雾化装置制造雾化态 hUCMSC-EVs, 随后用 50 mL 冰浴的离心管对其进行液化处理^[16], 收集液体后经超速离心法提取 EVs(命名为冷凝液中的 EVs)。

参考文献[17-18], 用 4% 多聚甲醛和 4% 戊二醛对 hUCMSC-EVs 进行固定, 随后滴加至碳涂层的铜网上, 再滴加 2% 磷钨酸溶液(pH 7.0), 染色 30 s 后进行烘干。在透射电镜下观察 hUCMSC-EVs 形态并拍照记录。

1.2.2 蛋白免疫印迹实验检测 hUCMSC-EVs 中

CD81、HSP70、TSG101 和 Calnexin 蛋白表达 向冷凝液中的 EVs 和新提取的 hUCMSC-EVs 中分别加入适量体积的 RIPA 裂解液进行充分匀浆裂解;随后于 4 ℃ 行 $12\,000\times g$ 离心 10 min;取上清液,加入上样缓冲液,充分混匀,100 ℃ 水浴 10 min;配制 10%分离胶行蛋白电泳(60 mA, 50 min);将凝胶上的蛋白转至 PVDF 膜(100 V, 90 min);将 PVDF 膜置于快速封闭液中封闭 10 min;加入相应一抗 CD81(1:1 000)、HSP70(1:1 000)、TSG101(1:3 000)或 Calnexin(1:5 000),4 ℃ 孵育过夜;TBST 洗膜 3 次;加入 HPR 标记的二抗(1:5 000),37 ℃ 孵育 1 h;TBST 洗膜 3 次;ECL 曝光显影。

1.3 动物实验

1.3.1 动物模型构建 将 15 只小鼠随机分为对照组、HDM-LPS 组和 HDM-LPS+EVs 组,每组 5 只。对照组小鼠不做处理;HDM-LPS 诱导的中性粒细胞性哮喘模型构建参考文献[19],简要如下:在第 1~3 天予以小鼠 5 μg HDM+3 μg LPS,支气管内给药,每天 1 次(致敏阶段),在第 16、17 天予以 2.5 μg HDM+1.5 μg LPS(激发阶段);HDM-LPS+EVs 组小鼠即在 HDM-LPS 组基础上,在第 16、17 天予以雾化吸入 hUCMSC-EVs(40 μg/次)进行干预。于第 18 天,安乐死(三溴乙醇腹腔麻醉后进行脱臼处理)小鼠并收集肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)和肺组织。哮喘模型构建成功以肺脏病理诊断为准,即出现气道炎症细胞浸润和杯状细胞化生。

1.3.2 肺组织 HE 和过碘酸-雪夫(PAS)染色及评分 取小鼠右肺组织,PBS 清洗;置于 4%多聚甲醛中固定 24 h;常规石蜡包埋切片,用 HE、PAS 染色以评估肺部病理。采用半定量炎症评分评估支气管周围炎性细胞浸润^[20],分级如下:0 级(未见炎性细胞)、1 级(偶见炎性细胞)、2 级(支气管被 1~3 层炎性细胞包围)、3 级(支气管或血管被 4~5 层炎性细胞包围)、4 级(大多数支气管或血管被 5 层以上炎性细胞包围)。采用半定量法评估肺组织黏液分泌情况^[21],以 PAS 阳性杯状细胞数占整个气道上皮细胞的百分比表示,0 分(无 PAS 阳性杯状细胞),1 分(阳性杯状细胞≤25%),2 分(阳性杯状细胞占比为 25%~50%),3 分(阳性杯状细胞占比为 50%~75%),4 分(阳性杯状细胞>75%)。每只小鼠在一张载玻片上计数 5 个细支气管评分情况,并计算每只小鼠的炎症和 PAS 平均评分。其中,HE 和 PSA 染色由武汉塞维尔生物科技有限公司完成。

1.3.3 BALF 获取及细胞计数 小鼠行安乐死后,

使其保持仰卧位并固定于解剖板;用手术刀沿气管前正中切开皮肤组织并暴露气管,随后行气管插管并用缝合线固定气管;结扎右支气管,将 0.5 mL 预冷的无菌 PBS 分两次注入左肺,缓慢抽吸 3 次后收集 BALF,每只小鼠重复灌洗 2 次。BALF 于 4 ℃ 行 $1\,500\text{ r/min}$ 离心 10 min;取沉淀,重悬于 1 mL PBS,用血细胞计数器计数炎性细胞总量。中性粒细胞计数如下:取 100 μL 重悬液滴于洁净载玻片中央,用推片以 30 度角缓慢推制成薄而均匀的涂片,室温自然晾干;置于瑞氏染液中染色 10 min;沥干后,于吉姆萨染液中染色 4 min;流水轻柔缓慢冲洗;晾干;在显微镜下随机计数 100 个细胞,按细胞形态分类并计算中性粒细胞占比,百分比乘以细胞总量即为中性粒细胞数量。

1.3.4 亚铁离子含量测定 取 0.1 g 肺组织,加入 1 mL 亚铁离子提取液,冰浴条件下进行匀浆;匀浆液于 4 ℃ 行 $12\,000\text{ r/min}$ 离心 5 min,收集上清液,置于冰上待测。显色与检测步骤如下:分别取 120 μL 待测上清液、亚铁离子标准品(用于标准曲线绘制)或蒸馏水(空白对照),依次加入试剂 1 和试剂 2,充分振荡混匀,室温孵育 15 min。若反应液出现浑浊,需经 $3\,000\text{ r/min}$ 离心 5 min,取澄清上清液;随后取 200 μL 反应液(或澄清上清液)加入 96 孔板,用酶标仪在 562 nm 波长处测定光密度值。具体步骤参考说明书。

1.3.5 丙二醛含量测定 取 0.1 g 小鼠肺组织,加入适量体积的 RIPA 裂解液,轻轻振荡混匀,置于冰上 30 min 行充分匀浆裂解;随后 $12\,000\times g$ 离心 10 min,取上清液用于后续测定。依据丙二醛含量测定盒说明书,配置标准液和丙二醛检测工作液。在离心管内加入 0.1 mL PBS 作为空白对照,加入 0.1 mL 不同浓度的标准品用于制作标准曲线,加入 0.1 mL 样品用于测定;随后各管中加入 0.2 mL 丙二醛检测工作液,混匀,100 ℃ 或沸水浴中加热 15 min;冷却至室温, $1\,000\times g$ 室温离心 10 min;取 200 μL 上清液加入至 96 孔板,随后用酶标仪测定 532 nm 波长处光密度值。

1.3.6 蛋白免疫印迹实验检测小鼠肺组织中 GPX4 蛋白表达 小鼠肺组织上清液处理同“1.3.5”,后续方法同“1.2.2”,130 V 电泳 45 min,100 V PVDF 转膜 60 min;一抗 GPX4(1:1 000)和 β-肌动蛋白(1:5 000),HPR 标记的山羊抗兔/小鼠二抗(1:5 000)。进行 3 次独立实验,每次/每组 1 只,每组共 3 只,各组目的条带灰度值经 GAPDH

标准化,随后相对表达数值以相对于对照组标准化数值的倍数表示。

1.3.7 RNA 提取和 qRT-PCR 检测小鼠肺脏中 *Cxcl15* 和 *Cxcl5* mRNA 含量 取小鼠肺组织,加入适量 Trizol 试剂,充分裂解后加入适量氯仿(Trizol : 氯仿=5 : 1),涡旋 20 s,置于冰上静置 10 min;4 ℃ 行 12 000 r/min 离心 15 min;取上层水相液,加入等体积异丙醇,轻轻混匀后于冰上静置 10 min;4 ℃ 行 12 000 r/min 离心 10 min;取沉淀,加入 1 mL 75%乙醇,轻轻混匀,4 ℃ 行 8 000 r/min 离心 5 min;取沉淀,加入 DEPC 水溶解 RNA。参照说明书将 RNA 逆转录为 cDNA,反应条件:37 ℃ 15 min;87 ℃ 5 s。取 cDNA,参照说明书配制扩增反应体系[2×ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 10.0 μL,上游引物(10 μmol/L) 0.4 μL,下游引物(10 μmol/L) 0.4 μL,cDNA 2 μL,双蒸水 7.2 μL],加入 96 孔板中行 qRT-PCR;95 ℃ 预变 30 s;95 ℃ 变性 5 s;60 ℃ 退火和延伸 30 s;40 个循环。

1.4 细胞实验

1.4.1 细胞分组及处理 HBE135-E6E7 细胞培养于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中,当细胞密度达 80%~90%时,将其接种于 6 孔板并给予相应处理。细胞分为 3 组:对照组、HDM-LPS 组、HDM-LPS+EVs 组;对照组不做任何处理;HDM-LPS 组加入 25 μg/mL HDM 以及 0.25 μg/mL LPS;HDM-LPS+EVs 组即在 HDM-LPS 组基础上加入 20 μg/mL hUCMSC-EVs 处理^[19];培养 24 h 后收集各组细胞,进行后续相关实验。

1.4.2 激光共聚焦显微镜观察细胞内吞 将细胞玻片置于 24 孔板中,随后将 HBE135-E6E7 细胞接种于培养板。细胞分为 2 组:对照组(不做处理)和 hUCMSC-EVs 组(加入相应的 DiI 标记的 hUCMSC-EVs 共培养);待细胞融合度达 60%时,两组培养基均换为 DMEM,于 37 ℃ 孵育 4 h;PBS 洗涤 3 次;每孔加入 4% 多聚甲醛固定 30 min;PBS 洗涤 3 次;

加入 0.5% Triton X-100 孵育 5 min;弃上清液,用 0.5 μg/mL DAPI 对细胞核染色 10 min;PBS 洗涤并封片;采用共聚焦显微镜进行观察和拍照。

1.4.3 亚铁离子含量测定 取“1.4.1”分组处理细胞,每组细胞加入适量体积亚铁离子提取液,超声破碎细胞(冰浴,功率 200 W,超声 3 s,间隔 10 s,重复 30 次),匀浆液于 4 ℃ 行 12 000 r/min 离心 5 min;收集上清液,置于冰上待测,后续实验步骤同“1.3.4”。

1.4.4 丙二醛含量测定 取“1.4.1”分组处理细胞,每组细胞加入适量体积 RIPA 裂解液,进行充分匀浆裂解。后续实验步骤同“1.3.5”。

1.4.5 蛋白免疫印迹实验检测细胞中 GPX4 蛋白表达 取“1.4.1”分组处理细胞,弃上清液,PBS 洗涤 2 遍,后续方法同“1.2.2”。实验独立重复 3 次。

1.4.6 RNA 提取和 qRT-PCR 检测细胞中 *IL-8* 和 *Cxcl5* mRNA 含量 取“1.4.1”分组处理细胞,每组细胞加入适量 Trizol 试剂,后续实验步骤同“1.3.7”。

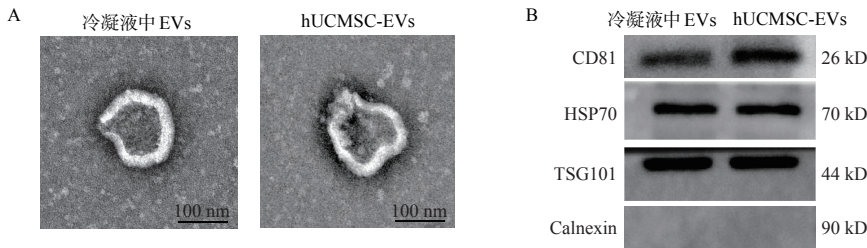
1.5 统计学分析

应用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计学分析与绘图,各组计量数据先进行正态检验和方差齐性检验,符合正态分布和方差齐性的数据用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HUCMSC-EVs 鉴定

透射电镜结果显示,冷凝液中 EVs 与 hUCMSC 培养上清液中新提取的 hUCMSC-EVs 均呈圆形杯托样式且膜性结构完整,直径约 100 nm(图 1A)。蛋白免疫印迹结果显示,冷凝液中 EVs 与新提取的 hUCMSC-EVs 均表达 CD81、HSP70 和 TSG101,不表达 Calnexin(图 1B)。由此表明,成功提取 hUCMSC-EVs,且雾化处理不会破坏 EVs 的结构完整性。



A:透射电子显微镜观察雾化冷凝液中和新鲜提取的 hUCMSC-EVs 形态(×80 000),标尺=100 nm;B:蛋白免疫印迹检测 CD81、HSP70、TSG101 和 Calnexin 表达

图 1 HUCMSC-EVs 形态与蛋白标志物鉴定

2.2 雾化 hUCMSC-EVs 减轻 HDM-LPS 诱导的哮喘小鼠气道炎症

HE 染色结果显示,对照组小鼠支气管结构正常,气道周围无明显炎性细胞浸润;与对照组相比,HDM-LPS 组小鼠支气管壁增厚,气道周围存在大量炎性细胞浸润且炎症评分较显著增高($P<0.01$);与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+Evs 组支气管壁厚度

变薄,气道周围炎性细胞浸润且炎症评分显著降低($P<0.01$,图 2A)。PAS 染色结果显示,对照组小鼠支气管壁未观察到阳性染色细胞,而 HDM-LPS 组小鼠支气管壁周围可观察到大量的阳性细胞,提示有明显的糖原沉积即杯状细胞化生显著;与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+Evs 组杯状细胞化生减轻,PAS 评分显著降低($P<0.01$,图 2B)。

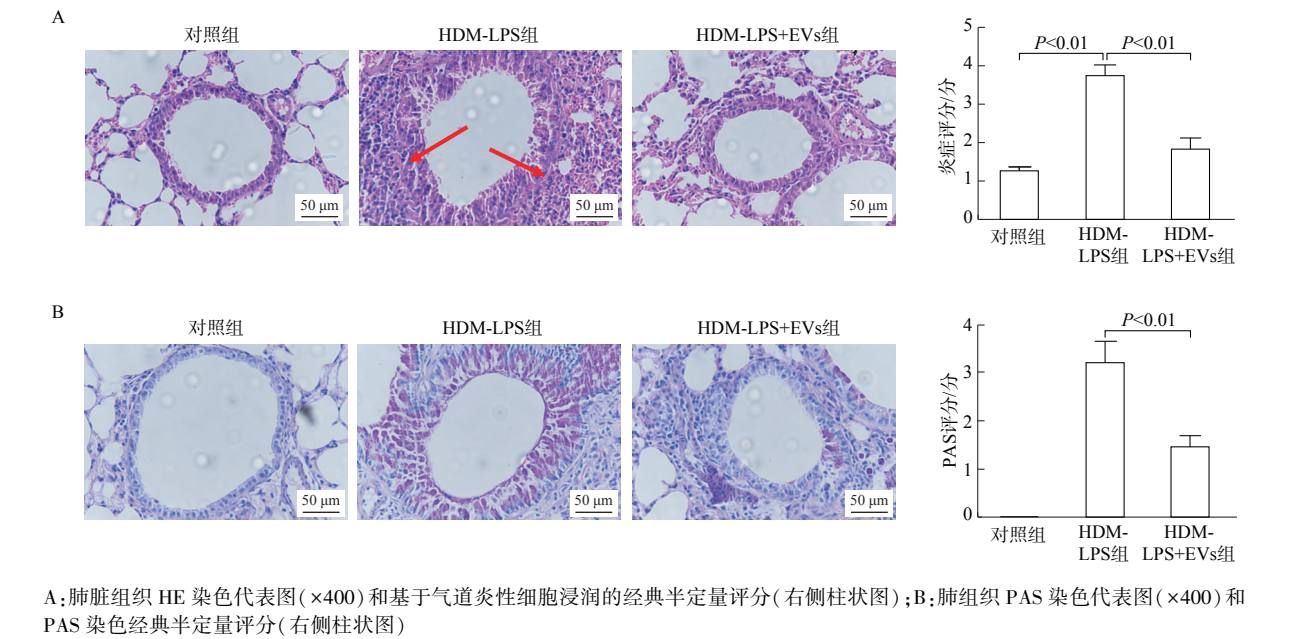


图 2 各组小鼠气道炎性细胞浸润和杯状细胞化生情况及评分比较

2.3 雾化 hUCMSC-EVs 降低哮喘小鼠 BALF 中炎性细胞数量并下调肺组织中炎性因子 mRNA 表达

细胞计数结果显示,与对照组相比,HDM-LPS 组 BALF 中总细胞和中性粒细胞数量明显增加(P 均 <0.01);与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+Evs 组总细胞和中性粒细胞数量显著下降(P 均 <0.01 ,

图 3A、3B)。qRT-PCR 结果显示,与对照组相比,HDM-LPS 组 *Cxcl15* mRNA 和 *Cxcl5* mRNA 相对表达水平显著升高(P 均 <0.01);与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+Evs 组 *Cxcl15* mRNA 和 *Cxcl5* mRNA 相对表达水平显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$,图 3C、3D)。

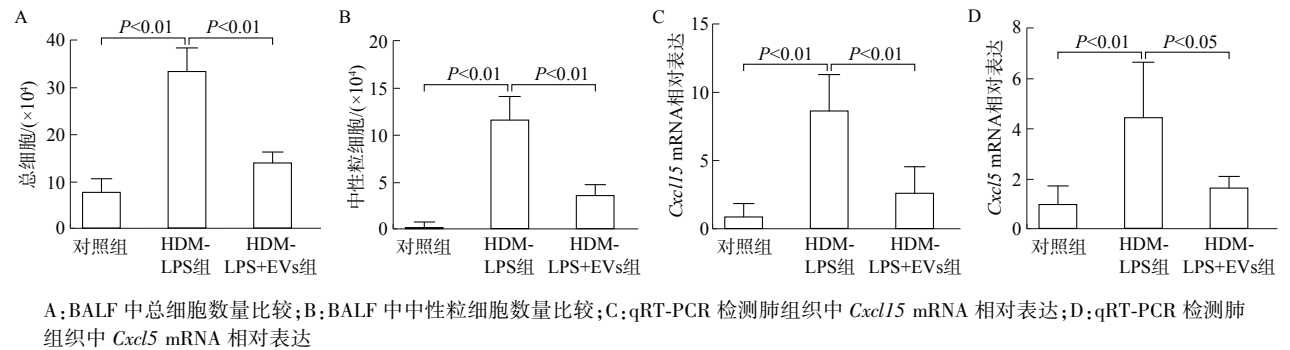
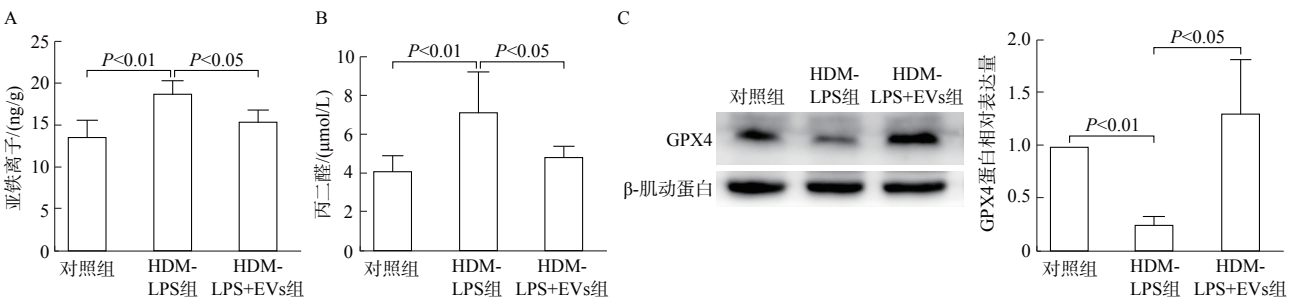


图 3 各组小鼠 BALF 中炎性细胞含量及肺组织中 *Cxcl15* mRNA 和 *Cxcl5* mRNA 表达比较

2.4 雾化 hUCMSC-EVs 抑制哮喘小鼠肺组织亚铁离子和丙二醛含量并上调 GPX4 表达

与对照组相比,HDM-LPS 组小鼠肺组织中亚铁离子和丙二醛含量显著增加(P 均 <0.01 ,图 4A、4B),

GPX4 蛋白表达水平明显下降($P<0.01$,图 4C);与 HDM-LPS 组相比,HDM-LPS+Evs 组肺组织中亚铁离子和丙二醛含量明显下降(P 均 <0.05 ,图 4A、4B),GPX4 蛋白表达水平明显增加($P<0.05$,图 4C)。



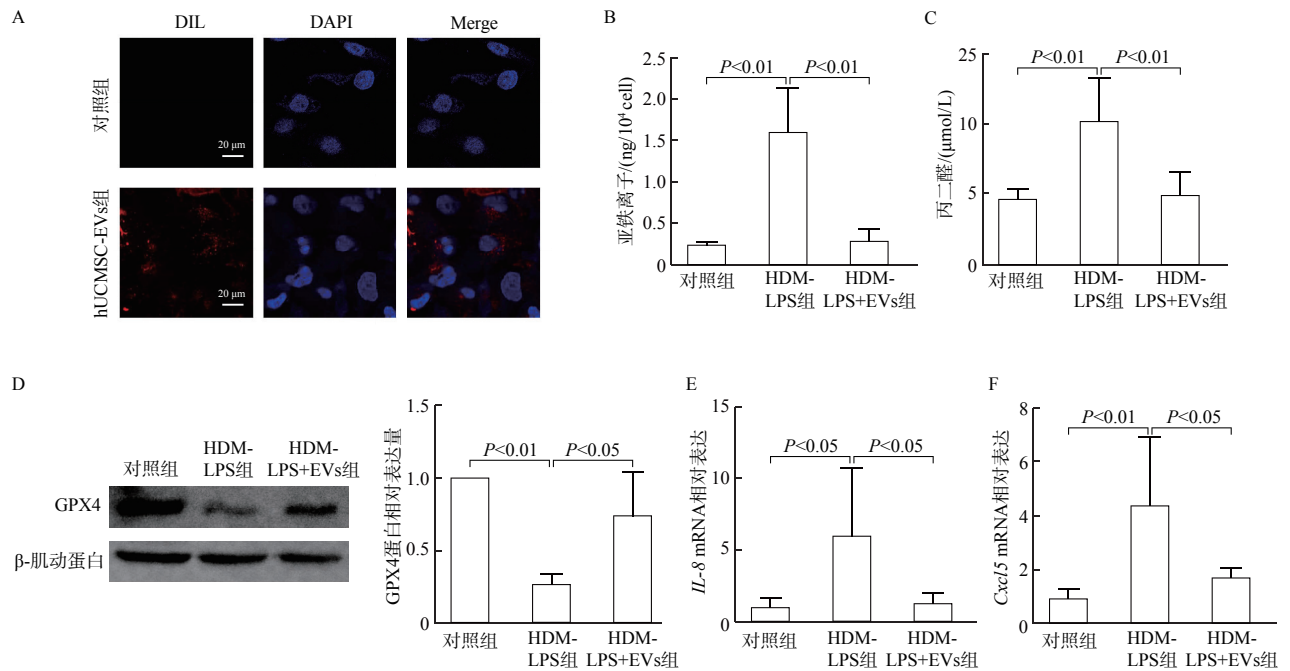
A:肺组织中亚铁离子含量比较;B:肺组织中丙二醛含量比较;C:蛋白免疫印迹法检测肺组织中 GPX4 蛋白相对表达及统计分析

图 4 各组小鼠肺组织中亚铁离子、丙二醛含量和 GPX4 表达比较

2.5 HUCMSC-EVs 抑制 HDM-LPS 诱导的支气管上皮细胞铁死亡及 *IL-8* 和 *Cxcl5* mRNA 表达

荧光显微镜结果显示, hUCMSC-EVs 组 HBE135-E6E7 细胞胞质周围出现红色荧光,而对照组无红色荧光(图 5A),说明 hUCMSC-EVs 可被 HBE135-E6E7 细胞摄取。与对照组相比, HDM-LPS 组中亚铁离子、丙二醛含量以及 *IL-8* mRNA

和 *Cxcl5* mRNA 相对表达水平显著上升 ($P<0.01$ 或 <0.05), GPX4 蛋白表达水平显著下降 ($P<0.01$);与 HDM-LPS 组相比, HDM-LPS+EVs 组细胞中亚铁离子、丙二醛含量以及 *IL-8* mRNA 和 *Cxcl5* mRNA 表达水平明显降低 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), GPX4 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)。见图 5B-5F。



A:荧光显微镜观察各组细胞被支气管上皮细胞摄取情况,标尺=20 μm;B:各组细胞中亚铁离子含量比较;C:各组细胞内丙二醛含量比较;D:蛋白免疫印迹实验检测各组细胞中 GPX4 表达及统计分析;E:qRT-PCR 检测各组细胞中 *IL-8* mRNA 表达;F:qRT-PCR 检测各组细胞 *Cxcl5* mRNA 表达

图 5 各组细胞中铁死亡相关分子及炎症因子表达比较

3 讨论

屋尘螨为一种包含多种螨类变应原及微生物代谢产物的混合物,是诱发哮喘发生的首要室内过敏原^[22]。脂多糖是革兰氏阴性菌细胞膜上的内毒素成分,可来源于定植于呼吸道的菌群,也可通过空气颗粒物、屋尘螨等环境载体进入机体,其暴露水平与

哮喘严重疾病重程度及肺功能下降程度呈显著正相关^[23]。相较于实验室常用过敏原卵清蛋白,屋尘螨联合脂多糖构建的哮喘动物模型更贴近人类“通过呼吸道接触环境过敏原”的自然发病路径,进而广泛用于难治性哮喘的发病机制解析及治疗策略筛选^[19,24-25]。本研究采用屋尘螨-脂多糖致敏加激发的方式构建中性粒细胞性哮喘小鼠模型,结果显示,

屋尘螨-脂多糖处理可导致小鼠气道周围炎性细胞浸润及杯状细胞化生且 BALF 中炎性细胞和中性粒细胞数量上调,提示模型构建成功;而雾化 hUCMSC-EVs 干预显著改善气道周围病理,降低哮喘小鼠 BALF 中中性粒细胞绝对数量。由此表明, MSC-EVs 对中性粒细胞性哮喘治疗有效。此外,雾化 hUCMSC-EVs 对哮喘小鼠 BALF 中中性粒细胞占比(相对于总细胞)影响不显著(数据未展示),提示 hUCMSC-EVs 在抑制中性粒细胞浸润的同时,可能亦同步抑制巨噬细胞、淋巴细胞、肥大细胞等其他炎性细胞向肺泡腔浸润。

铁死亡是一种由铁依赖的脂质过氧化驱动的调节性细胞死亡方式,主要标志为铁稳态失衡(如亚铁离子蓄积)、脂质过氧化增强(如丙二醛产生)和谷胱甘肽系统功能受损(如 GPX4 表达降低)^[26]。研究表明,重症哮喘患者气道上皮细胞中存在显著的脂质过氧化累积^[27-28];亦有研究表明,屋尘螨与脂多糖联合刺激可诱导支气管上皮 HBE135-E6E7 细胞发生铁死亡,且在屋尘螨-脂多糖诱导的哮喘模型小鼠中,铁死亡水平亦显著升高,重要的是,铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 干预可显著降低体内外屋尘螨-脂多糖诱导的铁死亡水平^[29]。此外,在中性粒细胞哮喘动物模型中, Ferrostatin-1 可显著减轻气道炎症及肺部病理损伤^[29-30]。由此提示,铁死亡参与哮喘的发生发展且抑制铁死亡是难治性哮喘的有效治疗策略^[31]。多项研究发现, hUCMSC-EVs 可通过抑制铁死亡在疾病治疗中起积极作用,如 Gong 等^[32]研究发现, hUCMSC-EVs 可抑制老化肝脏细胞铁死亡并减轻肝缺血/再灌注损伤; Yang 等^[33]研究发现, hUMSC-EVs 可抑制神经元铁死亡进而在脑缺血疾病中彰显治疗潜力。与上述实验结果相似,本研究结果显示, hUCMSC-EVs 可显著抑制哮喘小鼠或体外哮喘模型中铁死亡相关分子表达,表明 hUCMSC-EVs 可能通过抑制支气管上皮细胞铁死亡来改善中性粒细胞性哮喘小鼠气道病理。

铁死亡的发生常伴随炎性因子的释放,如香烟烟雾提取物可通过增加转铁蛋白受体 1 表达,致细胞内亚铁离子水平升高,进而诱导支气管上皮细胞发生铁死亡并增加 IL-8 生成^[34]。在脂多糖诱导的败血症模型中, Ferrostatin-1 可通过抑制心肌细胞铁死亡相关基因表达,进而降低心脏组织中 CXCL5 等中性粒细胞趋化因子的表达^[35]。与此相一致,本研究结果显示,屋尘螨-脂多糖诱导支气管上皮细胞发生铁死亡的同时伴随炎性因子 IL-8 mRNA 和 Cxcl5

mRNA 相对表达量显著增加。由此提示,支气管上皮细胞铁死亡导致的趋化因子释放可能是铁死亡引发中性粒细胞聚集的机制。此外,本研究结果显示, hUCMSC-EVs 干预可显著抑制 IL-8 mRNA 和 Cxcl5 mRNA 表达,表明 hUCMSC-EVs 可能通过阻断“铁死亡—趋化因子”轴进而减轻哮喘小鼠肺部中性粒细胞浸润及气道病理损伤。

综上所述,雾化 hUCMSC-EVs 可有效抑制屋尘螨-脂多糖诱导的中性粒细胞性哮喘小鼠气道炎症,可能与 hUCMSC-EVs 抑制支气管上皮细胞铁死亡、进而减少趋化因子生成相关;支气管上皮细胞铁死亡的激活可能通过释放趋化因子(如 IL-8、CXCL5 等)招募中性粒细胞浸润,而 hUCMSC-EVs 可通过调控该通路减轻气道炎症反应。然而, hUCMSC-EVs 调控上皮细胞铁死亡的具体分子机制有待进一步研究;同时,中性粒细胞浸润加剧可能是多因素协同作用的结果,支气管上皮细胞铁死亡释放的趋化因子在其中的调控权重及上下游信号关联,尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] Porsbjerg C, Melén E, Lehtimäki L, et al. Asthma[J]. Lancet, 2023, 401(10379): 858–873.

[2] Nair P, Prabhavalkar KS. Neutrophilic asthma and potentially related target therapies[J]. Curr Drug Targets, 2020, 21(4): 374–388.

[3] Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, et al. Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum[J]. Respirology, 2006, 11(1): 54–61.

[4] Heaney LG, Perez de Llano L, Al-Ahmad M, et al. Eosinophilic and noneosinophilic asthma: an expert consensus framework to characterize phenotypes in a global real-life severe asthma cohort[J]. Chest, 2021, 160(3): 814–830.

[5] Brusselle GG, Koppelman GH. Biologic therapies for severe asthma[J]. N Engl J Med, 2022, 386(2): 157–171.

[6] Welsh JA, Goberdhan DCI, O’Driscoll L, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): from basic to advanced approaches[J]. J Extracell Vesicles, 2024, 13(2): e12404.

[7] Toh WS, Lai RC, Hui JHP, et al. MSC exosome as a cell-free MSC therapy for cartilage regeneration: implications for osteoarthritis treatment[J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 67: 56–64.

- [8] Abbaszadeh H, Ghorbani F, Abbaspour-Aghdam S, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and asthma: mesenchymal stem cells and their extracellular vesicles as potential therapeutic tools[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1): 262.
- [9] Ding DC, Chang YH, Shyu WC, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy[J]. *Cell Transplant*, 2015, 24(3): 339-347.
- [10] Dong L, Wang Y, Zheng T, et al. Hypoxic hUCMSC-derived extracellular vesicles attenuate allergic airway inflammation and airway remodeling in chronic asthma mice[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 4.
- [11] 罗鑫凯, 郑婷婷, 董利阳, 等. 人脐带间充质干细胞源胞外囊泡对屋尘螨诱导的哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2024, 34(2): 138-144.
- [12] Xu X, Wang Y, Luo X, et al. A non-invasive strategy for suppressing asthmatic airway inflammation and remodeling: inhalation of nebulized hypoxic hUCMSC-derived extracellular vesicles[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1150971.
- [13] Luo X, Wang Y, Mao Y, et al. Nebulization of hypoxic hUCMSC-EVs attenuates airway epithelial barrier defects in chronic asthma mice by transferring CAV-1[J]. *Int J Nanomedicine*, 2024, 19: 10941-10959.
- [14] Wang Y, Liu N, Xu C, et al. Nebulized inhalation of extracellular vesicles containing SPOCK2 suppresses lung adenocarcinoma progression via MAPK inhibition[J]. *Discov Oncol*, 2025, 16(1): 797.
- [15] 丁超, 董利阳, 郑婷婷, 等. 人脐带间充质干细胞培养上清液对甲状腺乳头状癌细胞诱导人脐静脉内皮细胞血管形成的影响[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2020, 30(3): 229-233, 238.
- [16] 董利阳, 徐小卫, 郑婷婷, 等. 一种用于实验动物的雾化吸入给药装置: CN219332082U[P]. 2023-07-14.
- [17] Pasetto L, Callegaro S, Corbelli A, et al. Decoding distinctive features of plasma extracellular vesicles in amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Mol Neurodegener*, 2021, 16(1): 52.
- [18] 刘金婧, 徐海铭, 高歌, 等. 肿瘤相关巨噬细胞外泌体调控喉癌细胞增殖、迁移、侵袭的功能研究[J]. *解放军医学院学报*, 2024, 45(12): 1265-1271, 1284.
- [19] Quan J, Wen X, Su G, et al. Epithelial SIRT6 governs IL-17A pathogenicity and drives allergic airway inflammation and remodeling[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 8525.
- [20] Cho KS, Park MK, Kang SA, et al. Adipose-derived stem cells ameliorate allergic airway inflammation by inducing regulatory T cells in a mouse model of asthma[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 436476.
- [21] Padrid P, Snook S, Finucane T, et al. Persistent airway hyperresponsiveness and histologic alterations after chronic antigen challenge in cats[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995, 151(1): 184-193.
- [22] Calderón MA, Linneberg A, Kleine-Tebbe J, et al. Respiratory allergy caused by house dust mites: what do we really know? [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(1): 38-48.
- [23] Krishnamoorthy N, Douda DN, Brüggemann TR, et al. Neutrophil cytoplasts induce T_H17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma[J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(26): EAA04747.
- [24] Wang D, Liu C, Bao C, et al. Inhibition of the ATP synthase c subunit ameliorates HDM/LPS-induced inflammatory responses in asthmatic bronchial epithelial cells by blocking the mPTP-mtDNA-cGAS-STING axis[J]. *Respir Res*, 2025, 26(1): 219.
- [25] Feng KN, Meng P, Zhang M, et al. IL-24 contributes to neutrophilic asthma in an IL-17A-dependent manner and is suppressed by IL-37[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2022, 14(5): 505-527.
- [26] Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282.
- [27] Zhao J, Dar HH, Deng Y, et al. PEBP1 acts as a rheostat between prosurvival autophagy and ferroptotic death in asthmatic epithelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(25): 14376-14385.
- [28] Nagasaki T, Schuyler AJ, Zhao J, et al. 15LO1 dictates glutathione redox changes in asthmatic airway epithelium to worsen type 2 inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(1): e151685.
- [29] Zhang W, Huang F, Ding X, et al. Identifying ALOX15-initiated lipid peroxidation increases susceptibility to ferroptosis in asthma epithelial cells[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(5): 167176.
- [30] Bao C, Liu C, Liu Q, et al. Liproxstatin-1 alleviates LPS/IL-13-induced bronchial epithelial cell injury and neutrophilic asthma in mice by inhibiting ferroptosis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 109: 108770.
- [31] Lv X, Dong M, Tang W, et al. Ferroptosis, novel therapeutics in asthma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 153: 113516.

Dement, 2018, 14(9): 1171–1183.

[5] Jia L, Du Y, Chu L, et al. Prevalence, risk factors, and management of dementia and mild cognitive impairment in adults aged 60 years or older in China: a cross-sectional study[J]. *Lancet Public Health*, 2020, 5(12): e661–e671.

[6] Gong J, Harris K, Peters SAE, et al. Reproductive factors and the risk of incident dementia: a cohort study of UK Biobank participants [J]. *PLoS Med*, 2022, 19(4): e1003955.

[7] Prince MJ, Acosta D, Guerra M, et al. Reproductive period, endogenous estrogen exposure and dementia incidence among women in Latin America and China; A 10/66 population-based cohort study[J]. *PLoS One*, 2018, 13(2): e0192889.

[8] Bove R, Secor E, Chibnik LB, et al. Age at surgical menopause influences cognitive decline and Alzheimer pathology in older women[J]. *Neurology*, 2014, 82(3): 222–229.

[9] Song X, Wu J, Zhou Y, et al. Reproductive and hormonal factors and risk of cognitive impairment among Singapore Chinese women[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2020, 223(3): 410. e1–410. e23.

[10] Li FD, He F, Chen TR, et al. Reproductive history and risk of cognitive impairment in elderly women: a cross-sectional study in Eastern China[J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 49(1): 139–147.

[11] 游春娇, 徐艳杰, 余超, 等. 女性高血压患者月经初潮年龄、绝经年龄及生殖期与认知功能的关系[J]. *中国医学科学院学报*, 2023, 45(5): 760–767.

[12] Chou HT, Wu PY, Huang JC, et al. Late menarche, not reproductive period, is associated with poor cognitive function in postmenopausal women in Taiwan[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(5): 2345.

[13] Zhao Y, Hu Y, Smith JP, et al. Cohort profile: the China Health and Retirement Longitudinal Study (CHARLS)[J]. *Int J Epidemiol*, 2014, 43(1): 61–68.

[14] 中华医学会妇产科学分会绝经学组. 中国绝经管理与绝经激素治疗指南 2023 版[J]. *中华妇产科杂志*, 2023, 58(1): 4–21.

[15] Guo M, Wu Y, Gross AL, et al. Age at menopause and cognitive function and decline among middle-aged and older women in the China Health and Retirement Longitudinal Study, 2011–2018[J]. *Alzheimers Dement*, 2025, 21(2): e14580.

[16] 韦慧燕, 刘乐, 杨光媚, 等. 我国老年人认知功能障碍现状及其影响因素[J]. *医学与社会*, 2022, 35(2): 55–59.

[17] Najar J, Östling S, Waern M, et al. Reproductive period and dementia: A 44-year longitudinal population study of Swedish women[J]. *Alzheimers Dement*, 2020, 16(8): 1153–1163.

[18] Gilsanz P, Lee C, Corrada MM, et al. Reproductive period and risk of dementia in a diverse cohort of health care members[J]. *Neurology*, 2019, 92(17): e2005–e2014.

[19] Han SL, Liu DC, Tan CC, et al. Male- and female-specific reproductive risk factors across the lifespan for dementia or cognitive decline: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Med*, 2023, 21(1): 457.

[20] Xi H, Gan J, Liu S, et al. Reproductive factors and cognitive impairment in natural menopausal women: a cross-sectional study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 893901.

[21] Conde DM, Verdade RC, Valadares ALR, et al. Menopause and cognitive impairment: a narrative review of current knowledge [J]. *World J Psychiatry*, 2021, 11(8): 412–428.

[22] Sochocka M, Karska J, Pszczółowska M, et al. Cognitive decline in early and premature menopause[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6566.

[收稿日期] 2025–09–01 [编辑] 刘星星

(上接第 319 页)

[32] Gong Y, You Q, Yuan X, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles attenuate ferroptosis in aged hepatic ischemia/reperfusion injury by transferring miR-1275[J]. *Redox Biol*, 2025, 81: 103556.

[33] Yang Y, Gao L, Xi J, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles mitigate neuronal damage from intracerebral hemorrhage by modulating ferroptosis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2024, 15(1): 255.

[34] Pan L, Yu Z, Xiang WX, et al. Cigarette smoke-induced epithelial cell ferroptosis promotes neutrophilic inflammation in patients with nasal polyps[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2025, 155(6): 1882–1897.

[35] Li J, Xiao F, Lin B, et al. Ferrostatin-1 improves acute sepsis-induced cardiomyopathy via inhibiting neutrophil infiltration through impaired chemokine axis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1510232.

[收稿日期] 2025–09–01 [编辑] 刘星星