

杨渊, 鲍家成, 邓业康, 等. 香菇多糖抑制 TNF α -铁自噬拮抗亚砷酸钠染毒小鼠肝组织铁死亡 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(1): 41-48.

Yang Y, Bao JC, Deng YK, et al. Lentinan inhibits tumor necrosis factor α -ferritinophagy and antagonizes hepatic tissue ferroptosis in sodium arsenite-exposed mice [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(1): 41-48.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.01.004

香菇多糖抑制 TNF α -铁自噬拮抗亚砷酸钠染毒小鼠肝组织铁死亡

杨 渊^{1,2*}, 鲍家成¹, 邓业康¹, 陈 秧², 何 琴²

(1. 广西环境暴露组学与全生命周期健康重点实验室, 桂林医学院公共卫生学院, 广西 桂林 541199;

2. 侗医药研究湖南省重点实验室, 湖南医药学院民族医药研究中心, 湖南 怀化 418000)

【摘要】 目的 探讨香菇多糖(lentinan, LNT)对亚砷酸钠(sodium arsenite, SA)染毒小鼠肝组织铁死亡的干预效应与机制。**方法** C57BL/6N 雄性小鼠经 SA 低剂量、高剂量染毒, 以及 LNT 干预 SA 高剂量染毒后, 苏木精-伊红(HE)染色评价肝组织病理损伤; 酶联免疫吸附法或免疫蛋白印迹法检测肝组织肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)、铁自噬或铁死亡标志物含量或表达。**结果** 与对照组相比, SA 染毒诱导小鼠肝组织 TNF α 和 IL-6 水平升高, 铁自噬标志物铁蛋白重链(ferritin heavy chain 1, FTH1)和微管相关蛋白 1 轻链 3B(microtubule associated protein 1 light chain 3B, MAP1LC3B)含量升高, 铁死亡标志物谷胱甘肽过氧化酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)水平下调($P < 0.05$); 与 SA 高剂量组相比, LNT 干预后显示肝组织病理损伤减轻, TNF α 、IL-6、FTH1 和 MAP1LC3B 水平下调, 而 GPX4 水平上调($P < 0.05$); 免疫蛋白印迹实验显示, LNT 干预拮抗 SA 高剂量组 FTH1、自噬标记蛋白 LC3B/A 水平升高或拮抗 FTH1 与 LC3B 或泛素(ubiquitin, Ub)共表达($P < 0.05$)。**结论** LNT 拮抗 SA 染毒小鼠肝组织病理损伤和铁死亡, 可能与 TNF α -铁自噬信号抑制有关。

【关键词】 亚砷酸钠; 肝毒性; 铁死亡; 香菇多糖; 铁自噬

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 01-0041-08

Lentinan inhibits tumor necrosis factor α -ferritinophagy and antagonizes hepatic tissue ferroptosis in sodium arsenite-exposed mice

YANG Yuan^{1,2*}, BAO Jiacheng¹, DENG Yekang¹, CHEN Yang², HE Qin²

(1. Guangxi Key Laboratory of Environmental Exposure Omics and Whole Life Cycle Health, School of Public Health, Guilin Medical College, Guilin 541199, China. 2. Hunan Key Laboratory of Dong Medicine Research, Research Center of Ethnic Medicine, Hunan Medical University, Huaihua 418000)

【Abstract】 Objective To explore the effect and mechanism of lentinan (LNT) on hepatic tissue ferroptosis in mice exposed to sodium arsenite (SA). **Methods** C57BL/6N male mice were exposed to SA low-dose, SA high-dose, and LNT intervention combined with SA high-dose, then, hematoxylin and eosin (HE) staining was applied to

[基金项目] 广西自然科学基金 (2023JJA140042); 湖南省自然科学基金 (2021JJ30484, 2022JJ30426); 广西大学生创新训练项目 (202410601041)。

[作者简介] 杨渊 (1977—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 环境毒理学。E-mail: yang1977yuan@126.com

assess pathological liver tissue damage; Enzyme-linked immunosorbent and Western blot were used to detect the content or expression of tumor necrosis factor α (TNF α), interleukin-6 (IL-6), ferritinophagy or ferroptosis biomarkers. **Results** Compared with the control group, SA exposure induced the elevated levels of TNF α , IL-6, ferritinophagy biomarker ferritin heavy chain 1 (FTH1) and microtubule-associated protein 1 light chain 3B (MAP1LC3B) in mice liver tissue, while levels the ferroptosis biomarker GPX4 decreased ($P < 0.05$). Compared with SA high-dose groups, LNT intervention showed the reduced pathological liver damage and the downregulated levels of TNF α , IL-6, FTH1, and MAP1LC3B, while the level of GPX4 upregulated ($P < 0.05$). Western blot experiment showed that LNT intervention antagonized the upregulated levels of FTH1, and autophagy biomarker LC3B/A, and antagonized the increased co-expressions of FTH1 with LC3B or Ub protein in SA high-dose group ($P < 0.05$). **Conclusions** LNT antagonizes SA-exposed hepatic pathological injury and ferroptosis in mice, possibly associated with inhibition of TNF α -ferritinophagy signaling.

[Keywords] sodium arsenite; hepatotoxicity; ferroptosis; lentinan; ferritinophagy

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

环境化学污染毒物砷(arsenic, As)可通过污染土壤、饮用水或食物,对机体造成多器官毒性危害,其中肝是主要靶器官,研究显示砷暴露与肝脂肪变性、非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、2型糖尿病等疾病发生密切相关^[1]。既往研究发现,三氧化二砷染毒可诱导小鼠肝自噬水平升高、非酒精性脂肪性肝炎和肝细胞脂肪蓄积^[2]。近来发现铁死亡、自噬与酒精诱导肝细胞脂质沉积^[3]或高脂饮食诱导小鼠非酒精性脂肪肝病发生发展密切相关^[4],线粒体融合蛋白-2介导铁死亡是砷暴露大鼠发生非酒精性脂肪性肝炎的病理机制^[5]。本课题组前期实验证实香菇多糖(lentinan, LNT)干预可改善亚砷酸钠(sodium arsenite, SA)暴露诱导的小鼠肝毒性或肝脂质蓄积,呈现出肝组织炎症相关肿瘤坏死因子受体超家族成员4(tumor necrosis factor receptor superfamily member 4, OX40)降低特征^[6-8], OX40可诱导CD4⁺T细胞分泌TNF α ^[9], OX40水平升高与SA染毒小鼠肝组织TNF α 水平上调及炎症损伤有关^[10]。研究还发现, TNF α 具有诱导人宫颈癌HeLa细胞自噬效应^[11],血清TNF α 水平升高与高脂饮食诱导肥胖大鼠骨组织铁死亡发生密切相关^[12],但目前TNF α 、铁自噬和铁死亡在砷染毒小鼠肝毒性中的作用机制不清楚。因此,本研究开展了SA染毒C57BL/6小鼠实验,应用LNT进行干预处理,检测肝组织TNF α 信号、自噬和铁死亡特征,从炎症因子-自噬角度探讨LNT拮抗SA染毒小鼠肝组织铁死亡的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

以C57BL/6N小鼠为实验对象,动物实验方案经桂林医学院实验动物伦理委员会(GLMC202303169)批准,所有的动物实验操作过程严格按照实验动物使用的3R原则和动物伦理的相关规定进行,给予实验动物人道关怀。20只SPF级C57BL/6N雄性小鼠购自长沙斯莱克实验动物有限公司[SCXK(湘)2021-0002],体重(26.4 $\pm$ 1.1)g, 9~10周龄,实验小鼠饲养于桂林医学院公共卫生学院SPF级动物房[SYXK(桂)2021-0003],动物房内温度20~26℃,相对湿度40%~60%,明暗交替周期为12h,动物自由摄食与饮水。

1.2 主要试剂与仪器

SA(CAS. 7784-46-5, Sigma-Aldrich); LNT(CAS. 37339-90-5),本实验室参考文献报道^[13],使用酶解+发酵法提取,多糖含量(90%);丙氨酸氨基转氨酶(ALT)试剂盒(C009-2, 建成生物);天冬氨酸转氨酶(AST)试剂盒(C010-2, 建成生物);TNF α (X5506, 上海笃玛生物);IL-6(X5508, 上海笃玛生物);微管相关蛋白1A/1B轻链3B(MAP1LC3B)(X6702, 上海笃玛生物);GPX4(X6703, 上海笃玛生物);二价铁离子(Fe²⁺)(X6704, 上海笃玛生物);FTH1(ab75972, Abcam);LC3(ab62721, Abcam);Ub(ab134953, Abcam)。光学显微镜(DMB5-2231P1, Motic公司);酶标仪(800 TS, BioTek公司);垂直电泳仪

(165-8001, Bio-Rad 公司); 红外激光扫描成像系统(Odyssey9120, LI-COR 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

实验分 4 组($n=5$), 分别为: (I) 对照组: 去离子水作为饮用水常规喂养小鼠; (II) SA 低剂量组: SA 用去离子水溶解至 2.5 mg/kg, 灌胃染毒, 隔日 1 次, 共给药 6 周; (III) SA 高剂量组: SA 5.0 mg/kg, 灌胃染毒, 隔日 1 次, 共给药 6 周; (IV) LNT 干预+SA 高剂量组: LNT 与 SA 先后间隔 12 h 处理, LNT 溶于去离子水以 50.0 mg/kg 灌胃, 12 h 后 SA 5.0 mg/kg 灌胃染毒, 隔日 1 次, 共给药 6 周。实验结束后, 用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉并处死小鼠, 随后采集小鼠血清和分离小鼠肝组织, 肝组织一部分用 4% 多聚甲醛固定, 进行石蜡包埋制备病理切片, 经 HE 染色后显微镜下观察小鼠肝组织病理变化; 另一部分肝组织制备肝组织匀浆, 进行总蛋白提取, 检测肝组织铁自噬、铁死亡相关蛋白表达和含量。

1.3.2 肝功能检测

小鼠全血静置后离心, 取上层血清, 按生化试剂盒说明书对血清中 AST 及 ALT 的含量进行检测。

1.3.3 肝组织铁死亡及铁自噬指标检测

剥离小鼠肝组织, 用 PBS 缓冲液冲洗去残余血液, 置于 Dounce 匀浆器(10% w/v) 制备肝组织匀浆, 同时加入含有 0.05% II 型胶原酶的 RPMI 培养基, 37℃ 孵育 30 min, 经反复冻融后在 4500 r/min 条件下低温离心 10 min, 收集上清液后按 ELISA 法说明书进行 Fe^{2+} 、GPX4、MAP1LC3B 和 IL-6 含量检测, 酶标仪检测的 OD 值通过标准曲线换算为 $\mu\text{mol/mL}$ 、 pg/mL 或 ng/mL 浓度。

1.3.4 肝组织免疫蛋白印迹实验(Western blot)

肝组织分离后研磨成匀浆, 加入 RIPA 裂解液使肝组织细胞裂解, 然后经总蛋白提取、变性处理、SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭、一抗孵育、酶标记二抗孵育、化学发光及显影。免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, Co-IP) 实验步骤: 肝组织细胞裂解与蛋白提取、蛋白浓度测定同 Western blot, 然后制备 Input 样品, 剩余的蛋白裂解液加入一抗(anti-FTH1、anti-LC3 或 anti-Ubiquitin) 进行共沉淀, 同时设立阴性对照组(加

入同源 IgG 抗体)。抗体孵育结束后, 向上清中加入磁珠进行磁珠沉淀和磁珠洗涤, 然后加入上样缓冲液后分别对实验组、阴性对照组、Input 组样品 Western blot 检测。实验结果应用条带积分吸光度(integral absorbance, IA) 进行相对定量分析, 以 β -actin 作为内参(IA_0), 分析样品中目的蛋白(FTH1、LC3B/A) 表达, 表示为靶蛋白与内参蛋白吸光度之比(ratio of target protein IA to internal reference β -actin IA_0 , IA/IA_0), 或靶蛋白 A 与 B 吸光度之比(ratio of LC3B to LC3A, IA_B/IA_A), 或 FTH1 与 LC3 或 Ub 共表达水平(IA/IA_0)。

1.3.5 ZDOCK 法分子对接试验

进入 ZDOCK 在线服务网站(<https://zdock.wenglab.org/>), 分别在线导入蛋白分子 3D 结构 PDB 文件, 对其所含肽链分别进行 A 链或 B 链设置, 输入接收结果邮箱后点击运行, 5 min 左右即可得到蛋白大分子相互作用预测结果数据和两蛋白的氨基酸残基之间分子对接图。

1.4 统计学方法

实验数据以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$) 表示, 应用统计软件 SPSS V27.0 进行数据分析。组间统计学差异通过单因素方差分析(ANOVA) 检验和最小显著性差异(LSD) 法进行比较评估, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

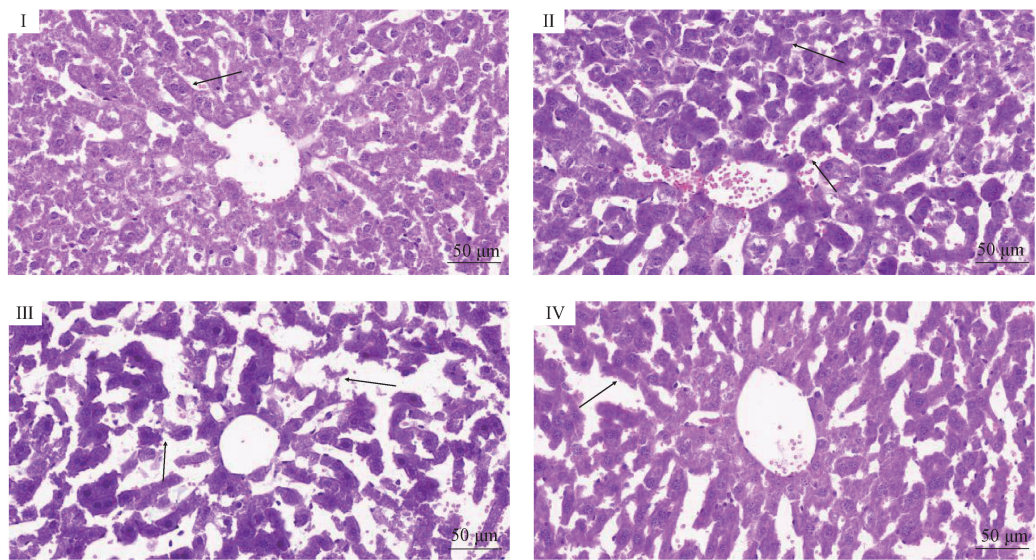
2 结果

2.1 LNT 改善 SA 染毒小鼠肝组织病理损伤

对照组肝组织显示肝细胞核居中, 细胞形态正常, 肝细胞索及细胞边界清楚。与对照组相比, SA 高剂量组或 SA 低剂量组染毒组显示肝组织细胞索离断、部分肝细胞边界不清, 呈现出水肿、变性、胞核萎缩等病理损伤特征。与 SA 低剂量组相比, SA 高剂量组肝组织细胞索离断、肝细胞水肿、变性、胞核萎缩程度进一步加重。与 SA 高剂量组相比, LNT 干预+SA 高剂量组显示肝细胞水肿变性、细胞核萎缩和肝窦扩张等病理损伤程度明显减轻(如图 1 中箭头所示)。

2.2 LNT 下调 SA 染毒小鼠血清 ALT、AST 和血清/肝 $\text{TNF}\alpha$ 水平

如图 2 所示, 与对照组相比, SA 高剂量组或 SA 低剂量组显示血清 ALT、AST、 $\text{TNF}\alpha$ 和肝组织 $\text{TNF}\alpha$ 水平升高($P<0.05$)。与 SA 低剂量组相



注：I：对照组，箭头所示为边界清楚的正常肝细胞核和肝细胞索；II：SA 低剂量组，箭头显示肝细胞索离断、细胞核不规则、消失；III：SA 高剂量组，箭头所示更为严重的肝细胞索离断、消失，细胞水肿变性、细胞核萎缩、不规则甚至消失；IV：LNT 干预+SA 高剂量组，箭头所示部分肝细胞索离断、细胞核不规则或消失，病理损伤程度明显减轻。

图 1 SA 染毒及 LNT 干预后小鼠肝组织 HE 染色特征

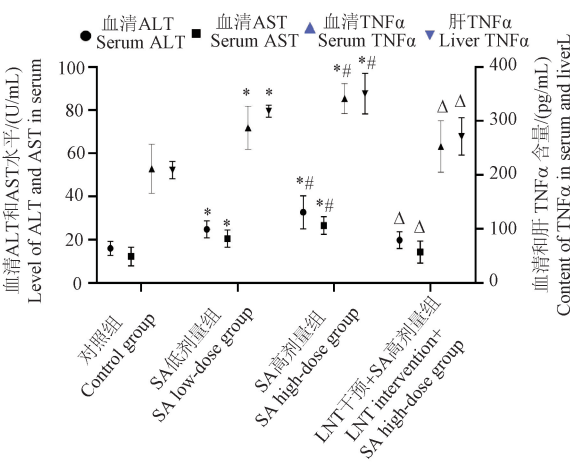
Note. I, Control group, arrow indicated clear boundary normal hepatocyte nuclei and hepatocyte cord. II, SA low-dose group, arrow displayed hepatocyte cord detachment, irregular nucleus, and disappearance. III, SA high-dose group, arrow showed more severe hepatocyte cord detachment, and disappearance, as well as cell edema and degeneration, nuclear atrophy, irregularity, and even disappearance. IV, LNT intervention+SA high-dose group, arrow showed detachment of partial hepatocyte cords, irregular or absent nuclei, and significant reduction in pathological damage.

Figure 1 HE staining characteristics of liver tissue in mice after exposure to SA and intervention with LNT

比,SA 高剂量组显示血清 ALT、AST、TNF α 和肝组织 TNF α 水平进一步升高($P<0.05$)。与 SA 高剂量组相比,LNT 干预+SA 高剂量组显示血清 ALT、AST、TNF α 和肝组织 TNF α 水平明显降低($P<0.05$)。结果提示,LNT 对 SA 诱导的肝功能损害和炎症效应产生拮抗效应。

2.3 LNT 拮抗 SA 染毒组 Fe²⁺、MAP1LC3B、IL-6 和 GPX4 水平

如图 3 所示,与对照组相比,SA 高剂量组或 SA 低剂量组显示肝组织 Fe²⁺、IL-6 和自噬标志物 MAP1LC3B 水平升高,而铁死亡标志物 GPX4 水平降低($P<0.05$)。与 SA 低剂量组相比,SA 高剂量组显示肝组织水平 Fe²⁺和 IL-6 进一步升高($P<0.05$),而 MAP1LC3B 和 GPX4 水平变化无统计学意义($P>0.05$)。与 SA 高剂量组相比,LNT 干预+SA 高剂量组显示肝组织 Fe²⁺、MAP1LC3B 和 IL-6 水平降低,而 GPX4 水平升高($P<0.05$)。结果提示 SA 低或高剂量染毒诱导小鼠肝组织炎症效应、铁自噬和铁死亡,LNT 干预可对此产生拮抗效应。



注：与对照组相比，* $P<0.05$ ；与 SA 低剂量组相比，# $P<0.05$ ；与 SA 高剂量组相比， $\Delta P<0.05$ 。

图 2 血清 ALT、AST、TNF α 和肝 TNF α 水平特征($\bar{x}\pm s, n=5$)

Note. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with SA low-dose group, # $P<0.05$. Compared with SA high-dose group, $\Delta P<0.05$.

Figure 2 Characteristics of serum ALT,AST, TNF α ,and hepatic TNF α levels($\bar{x}\pm s, n=5$)

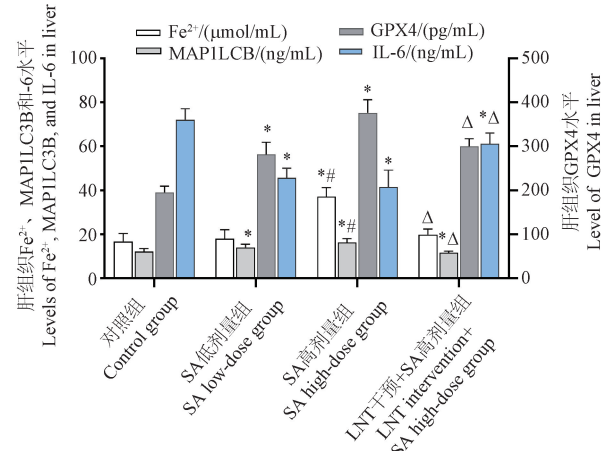
2.4 LNT 下调 SA 染毒组 FTH1、LC3B/A、FTH1-LC3 和 FTH1-Ub 水平

肝组织 Western blot 和 Co-IP 实验结果显示 (图 4), 与对照组相比, SA 低剂量组显示 FTH1 表达和 LC3B/A 比值升高, FTH1-LC3 蛋白或

FTH1-Ub 蛋白共表达水平升高($P<0.05$)。与 SA 低剂量组相比, SA 高剂量组 FTH1、LC3B/A 比值、FTH1-LC3 和 FTH1-Ub 水平进一步升高($P<0.05$)。LNT 干预+SA 高剂量组与 SA 高剂量组相比, LNT 干预+SA 高剂量组显示 FTH1、LC3B/A 比值、FTH1-LC3 和 FTH1-Ub 水平降低($P<0.05$)。结果提示, SA 暴露诱导小鼠肝组织线粒体铁蛋白 (mitochondrial ferritin, FTMT) 表达上调及其介导的铁自噬, 而 LNT 干预可抑制 SA 染毒小鼠 FTMT 表达和铁自噬。

2.5 FTMT 与 LC3A/B 或 Ub 之间存在互作

FTMT 主要分布在细胞线粒体中, 是一种结合铁离子的蛋白复合物, 包含铁传输蛋白结构域, 具有调节细胞铁离子平衡功能。如图 5 ZDOCK 分子对接实验结果显示, FTMT 的精氨酸 (arginine, ARG) 残基分别与自噬标志物 LC3A 或 LC3B 的蛋氨酸 (methionine, MET) 和丝氨酸 (serine, SER) 发生较稳定的氢键结合 (结合能分别为 -11.5 kcal/mol 和 -8.3 kcal/mol)。同时, FTMT 的丙氨酸 (alanine, ALA) 和苏氨酸 (threonine, THR) 残基与 Ub 的谷氨酸 (glutamate, GLU)、甘氨酸 (glycine, GLY) 和 ARG 发生较稳定的氢键结合 (结合能为 -6.4 kcal/mol)。结果提示, 线粒体中的 FTMT 释放进入细胞内, 与自噬相

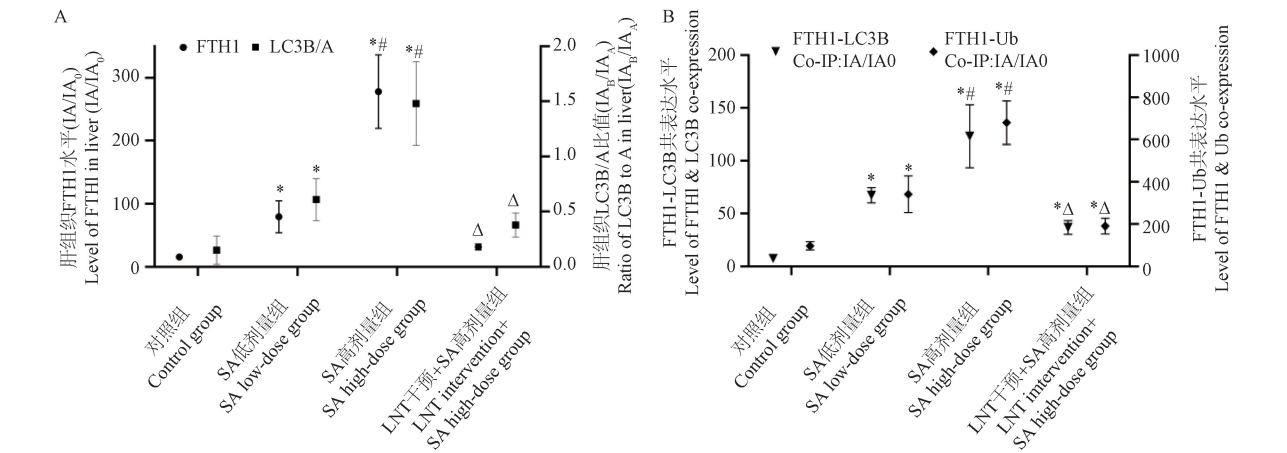


注:与对照组相比, * $P<0.05$;与 SA 低剂量组相比, # $P<0.05$;与 SA 高剂量组相比, $\Delta P<0.05$ 。

图 3 SA 染毒或 LNT 干预后 Fe^{2+} 、MAP1LC3B、IL-6 和 GPX4 水平 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Note. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with SA low-dose group, # $P<0.05$. Compared with SA high-dose group, $\Delta P<0.05$.

Figure 3 Levels of Fe^{2+} , MAP1LC3B, IL-6 and GPX4 after SA exposure or LNT intervention ($\bar{x}\pm s, n=5$)

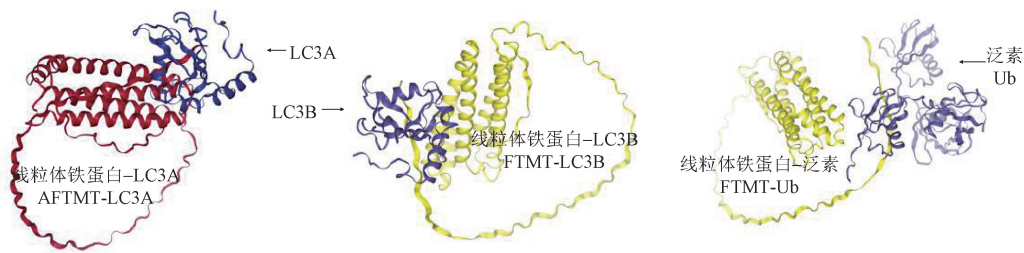


注:A: Western blot 实验结果; B: Co-IP 实验结果。与对照组相比, * $P<0.05$;与 SA 低剂量组相比, # $P<0.05$;与 SA 高剂量组相比, $\Delta P<0.05$ 。

图 4 肝组织 FTH1、LC3B/A 水平与 FTH1-LC3B、FTH1-Ub 共表达特征 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Note. A, Experimental results of Western blot. B, Experimental results of Co-IP. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with SA low-dose group, # $P<0.05$. Compared with SA high-dose group, $\Delta P<0.05$.

Figure 4 FTH1 or LC3B/A levels and co-expressions of FTH1-LC3B, FTH1-Ub in liver tissue ($\bar{x}\pm s, n=3$)



注:A:对接位点:FTMT(ARG) = LC3A(MET/SER), 结合能-11.5 kcal/mol;B:对接位点:FTMT(ARG) = LC3B(MET/SER), 结合能-8.3 kcal/mol;C:对接位点:FTMT(ALA/THR) = Ub(GLU/GLY/ARG), 结合能-6.4 kcal/mol。

图5 FTMT 与 LC3A、LC3B 及 Ub 分子对接 ZDOCK 实验

Note. A, Docking site, FTMT(ARG) = LC3A(MET/SER), binding energy-11.5 kcal/mol. B, Docking site, FTMT(ARG) = LC3B(MET/SER), binding energy -8.3 kcal/mol. C, Docking site, FTMT(ALA/THR) and Ub(GLU/GLY/ARG), binding energy -6.4 kcal/mol.

Figure 5 ZDOCK experiment on the docking of FTMT with LC3A,LC3B and ubiquitin

关蛋白 LC3A/B 或 Ub 发生相互作用,从而诱发 FTMT 依赖的铁自噬。

3 讨论

铁死亡是一种近年来发现的体内铁超载介导脂质过氧化物和脂质活性氧蓄积一种新型细胞死亡模式,其特征性表现是 Fe²⁺ 水平升高和 GPX4 水平降低^[14]。研究发现,铁死亡是砷、镉、铜等非铁金属/类金属的毒性特征,其潜在机制为线粒体功能障碍、线粒体活性氧释放,进一步诱发铁自噬和细胞铁死亡^[15-16]。例如,砷染毒鸡肝细胞发生线粒体功能障碍和 AMP 活化蛋白激酶(AMPK)-Unc-51 样激酶 1 自噬通路激活,诱导铁自噬介导肝细胞铁死亡^[17]。目前认为,铁自噬是细胞铁超载及铁死亡发生的上游机制,当细胞内线粒体功能障碍发生后,受损的线粒体释放 FTMT 和核受体辅激活因子 4 构成复合物并与自噬体融合,可靶向溶酶体降解 FTMT 而释放出游离铁,从而诱发铁超载、铁自噬及铁死亡发生^[18]。在本次研究中发现 SA 低剂量或高剂量染毒组小鼠肝组织自噬标志物 MAP1LC3B 升高而铁死亡标志物 GPX4 水平降低,提示肝组织发生自噬和铁死亡。进一步发现,肝组织 Fe²⁺ 和炎症因子 TNFα、IL-6 水平呈 SA 低剂量→高剂量升高的正向剂量-效应关系,且肝组织 FTH1 表达、LC3B/A 比值、FTH1-LC3 和 FTH1-Ub 共表达亦呈随剂量增加而增加的升高趋势。而且,ZDOCK 分子对接实验亦显示 FTMT 具有结合自噬相关蛋白 LC3 和泛素蛋白 Ub 的生物学活性。结果提示 SA 诱导

小鼠肝组织细胞发生剂量依赖的炎症和铁自噬激活,导致肝细胞铁死亡。

食用菌香菇属于蘑菇科真菌类植物,具有较高的营养和药用价值,其富含的 LNT 是一种主链 β-(1,3),侧链 β-(1,6)-葡聚糖结构为主链的活性多糖,具有较高的抗氧化能力^[19] 和免疫调节活性^[20]。本课题组前期发现 LNT 具有抑制砷染毒小鼠肝组织炎症因子 IL-17A 或 IL-1β 水平和拮抗肝脂质蓄积效应^[6-7]。本研究发现,LNT 干预可降低砷染毒小鼠肝组织炎症因子 TNFα/IL-6 水平,相应的,铁自噬标志物 FTH1、LC3B/A 水平亦降低,而铁死亡标志物水平 GPX4 升高,结果提示 LNT 可能通过抑制炎症因子 TNFα/IL-6 相关的铁自噬通路,对砷染毒小鼠肝组织铁死亡产生拮抗效应。

自噬是真核生物细胞维持内环境稳态的保守机制,自噬过程主要依赖于溶酶体对受损的细胞结构或线粒体等启动泛素化-蛋白酶体水解的自我降解过程,可分为大自噬、小自噬和分子伴侣介导的自噬 3 种形式^[21]。TNFα 是一种由活化的巨噬细胞、单核细胞、T 淋巴细胞、自然杀伤细胞、内皮细胞和成纤维细胞多效炎症因子,具有诱导炎症、自噬和细胞凋亡效应^[11]。研究发现,过表达 TNFα 可通过肿瘤坏死因子受体 1(TNF receptor 1, TNFR1) 信号介导促炎症因子 IL-6 和 TNF 相关促凋亡配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 上调,诱导细胞线粒体功能障碍、自噬水平上调和早期细胞凋亡^[22]。研究还发现,内皮细胞炎症因子 TNFα/IL-6 上调与铁

自噬激活和铁死亡有关^[23]。而动物实验亦证实, 饮水亚砷酸钠暴露通过激活铁自噬诱导 C57BL/6J 雄性小鼠神经细胞铁死亡^[24]。在本次研究中, 我们发现 LNT 干预后小鼠肝组织炎症因子 TNF α 和 IL-6 水平降低, Fe²⁺、FTH1、LC3B/A 比值以及 FTH1-LC3 和 FTH1-Ub 共表达水平亦降低, 因此推测 LNT 可能通过抑制肝组织 TNF α /IL-6 炎症信号, 进而拮抗肝细胞线粒体损伤相关的铁自噬通路, 从而改善肝组织细胞铁死亡。由于本次研究仅从体内实验发现香菇多糖抑制 TNF α -铁自噬和拮抗 SA 染毒小鼠肝组织细胞铁死亡, 体外实验的相应证据尚显不足, 在未来的工作中应增加体外肝细胞 SA 染毒及 LNT 干预模型, 通过铁自噬或铁死亡靶向干预, 进一步从炎症-铁自噬角度探索 LNT 改善砷诱导肝毒性的生物学机制。

参考文献:

[1] FREDIANI J K, NAIOTI E A, VOS M B, et al. Arsenic exposure and risk of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) among U. S. adolescents and adults; an association modified by race/ethnicity, NHANES 2005-2014 [J]. *Environ Health*, 2018, 17(1): 6.

[2] QIU T, PEI P, YAO X, et al. Taurine attenuates arsenic-induced pyroptosis and nonalcoholic steatohepatitis by inhibiting the autophagic-inflammasomal pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 946.

[3] 祝子鹤, 张茜茜, 张骞骞, 等. 基于铁死亡和自噬研究酒精的致肝脏细胞损伤作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(7): 1265-1272.

ZHU Z H, ZHANG Q Q, ZHANG Q Q, et al. Roles of ferroptosis and autophagy in ethanol-induced liver cell injury [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2023, 39(7): 1265-1272.

[4] 张新. 铁死亡引发小鼠非酒精性脂肪肝病的分子机制及黄芪甲苷的调控作用研究 [D]. 辽宁: 辽宁中医药大学, 2022.

ZHANG X. The molecular mechanism of ferroptosis induced non-alcoholic fatty liver disease in mice and the regulatory effect of astragaloside IV [D]. Liaoning: Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2022.

[5] WEI S, QIU T, WANG N, et al. Ferroptosis mediated by the interaction between Mfn2 and IRE α promotes arsenic-induced nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Environ Res*, 2020, 188: 109824.

[6] 杨渊, 宋爽, 刘永莲, 等. 香菇多糖拮抗亚砷酸钠诱导小鼠肝毒性作用研究 [J]. *公共卫生与预防医学*, 2023, 34(1): 1-5.

YANG Y, SONG S, LIU Y L, et al. Antagonism of Lentinan on sodium arsenite induced hepatotoxicity in mice [J]. *J Public Health Prev Med*, 2023, 34(1): 1-5.

[7] 戴宗英, 伍纤纤, 杨渊. 香菇多糖拮抗亚砷酸钠诱导小鼠肝脏脂质沉积的实验研究 [J]. *公共卫生与预防医学*, 2024, 35(1): 20-23.

DAI Z Y, WU Q Q, YANG Y. Experimental study of Lentinan antagonizes against hepatic lipid deposition induced by sodium arsenite in mice [J]. *J Public Health Prev Med*, 2024, 35(1): 20-23.

[8] YANG Y, SONG S, NIE Y, et al. Lentinan alleviates arsenic-induced hepatotoxicity in mice via downregulation of OX40/IL-17A and activation of Nrf2 signaling [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2022, 23(1): 16.

[9] KUMARI R, CHAKRABORTY S, JAIN R, et al. Inhibiting OX40 restores regulatory T-cell function and suppresses inflammation in pulmonary sarcoidosis [J]. *Chest*, 2021, 160(3): 969-982.

[10] RENU K, SARAVANAN A, ELANGO VAN A, et al. An appraisal on molecular and biochemical signalling cascades during arsenic-induced hepatotoxicity [J]. *Life Sci*, 2020, 260: 118438.

[11] NAJAFI S, ABO-ALI E M, DUKHANDE V V. Methods for studying TNF α -induced autophagy [J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2108: 131-146.

[12] CHEN X, LIU C, YU R, et al. Interaction between ferroptosis and TNF- α : Impact in obesity-related osteoporosis [J]. *FASEB J*, 2023, 37(6): e22947.

[13] 敖珍, 罗迎春, 刘杨, 等. 香菇多糖提取技术研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(8): 202-208.

AO Z, LUO Y C, LIU Y, et al. Extraction technology of lentinan; a review [J]. *Food Res Dev*, 2022, 43(8): 202-208.

[14] 马明和, 刘川川. 铁死亡与急性肝损伤研究进展 [J]. *中国普外基础与临床杂志*, 2023, 30(12): 1501-1506.

MA M H, LIU C C. Research progress of iron death and acute liver injury [J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*, 2023, 30(12): 1501-1506.

[15] ASCHNER M, SKALNY A V, MARTINS A C, et al. Ferroptosis as a mechanism of non-ferrous metal toxicity [J]. *Arch Toxicol*, 2022, 96(9): 2391-2417.

[16] QIN X, ZHANG J, WANG B, et al. Ferritinophagy is involved in the zinc oxide nanoparticles-induced ferroptosis of vascular endothelial cells [J]. *Autophagy*, 2021, 17(12): 4266-4285.

[17] YU L, LV Z, LI S, et al. Chronic arsenic exposure induces ferroptosis via enhancing ferritinophagy in chicken livers [J]. *Sci Total Environ*, 2023, 890: 164172.

[18] 张鹏宇, 李彦青, 张筱晨, 等. 铁自噬与铁死亡的关系及

铁自噬相关疾病 [J]. 生命的化学, 2023, 43(8): 1221-1228.

ZHANG P Y, LI Y Q, ZHANG X C, et al. The relationship between ferritinophagy and Ferroptosis, as well as ferritinophagy related diseases [J]. Chem Life, 2023, 43(8): 1221-1228.

[19] ZI Y, ZHANG B, JIANG B, et al. Antioxidant action and protective and reparative effects of lentinan on oxidative damage in HaCaT cells [J]. J Cosmet Dermatol, 2018, 17(6): 1108-1114.

[20] XU X, YAN H, TANG J, et al. Polysaccharides in Lentinus edodes: isolation, structure, immunomodulating activity and future prospective [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2014, 54(4): 474-487.

[21] RAVIKUMAR B, SARKAR S, DAVIES J E, et al. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology [J]. Physiol Rev, 2010, 90(4): 1383-1435.

[22] TYCIAKOVA S, VALOVA V, SVITKOVA B, et al. Overexpression of TNF α induces senescence, autophagy and mitochondrial dysfunctions in melanoma cells [J]. BMC Cancer, 2021, 21(1): 507.

[23] HOU H, QIN X, LI G, et al. Nrf2-mediated redox balance alleviates LPS-induced vascular endothelial cell inflammation by inhibiting endothelial cell ferroptosis [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 3335.

[24] 肖钧霆. 亚砷酸钠通过激活铁自噬诱导神经细胞铁死亡 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021.

XIAO J T. Arsenite induces ferroptosis in the neuronal cells via activation of ferritinophagy [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2021.

[收稿日期] 2024-06-14



《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R 国际刊号 ISSN 1671-7856 邮局代号 82-917

一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊),以理论与实践、普及与提高相结合为宗旨,征稿的范围是与实验动物与比较医学相关的生命科学各分支学科,栏目设置包括研究报告、研究进展、继续教育、设施设备、3R 等。要求来稿材料翔实、数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》等数据库收录。

二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章字数在 6000 字之内。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com>
期待您的来稿!