

· 基础研究 ·

胰岛素通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡改善脂多糖诱导的急性肺损伤

吴庆峰^{1,2}, 丁永锴^{1,2}, 刘畅^{1,2}, 章欣³, 徐倩³, 李绒⁴, 张麒³, 杜英臻^{2,4,5*}

(¹ 解放军医学院, 北京 100853; 中国人民解放军总医院; ² 国家老年疾病临床医学研究中心, ³ 第二医学中心卫勤部, ⁴ 第二医学中心发热门诊, ⁵ 第二医学中心疾病预防控制科, 北京 100853)

【摘要】目的 探究胰岛素对脂多糖(LPS)诱导的急性肺损伤(ALI)的作用及具体调控机制。**方法** 采用6~8周龄的C57BL/6 雄性小鼠,按照随机数表法分为对照组(WT组)、LPS组、LPS+胰岛素组(LPS+INS组)和LPS+胰岛素+ML385(Nrf2蛋白抑制剂)组(LPS+INS+ML385组),每组6只。通过气管内滴注LPS建立LPS诱导的ALI模型,造模12h后处死,收集小鼠肺组织并进行检测。采用苏木精-伊红染色法检测肺损伤严重程度,采用吉姆萨染色检测支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症细胞水平,应用酶联免疫吸附试验测定BALF中促炎因子水平及肺组织中铁死亡相关指标,采用免疫印迹法测定铁死亡相关蛋白的表达水平。采用SPSS 19.0和GraphPad Prism 8软件进行数据分析。两组间比较采用 t 检验,多组间差异比较采用单因素方差分析。**结果** 与WT组比较,LPS组小鼠肺组织病理损伤加重,BALF中炎症细胞及促炎因子显著增加(均 $P<0.05$)。与LPS组相比,LPS+INS组小鼠肺组织中丙二醛显著下降,谷胱甘肽水平增加;LPS+INS组小鼠肺组织中核因子红细胞2相关因子2(Nrf2)、谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)蛋白水平显著升高,与LPS+INS组相比,LPS+INS+ML385组Nrf2及GPX4蛋白水平显著下降(均 $P<0.05$)。**结论** 在ALI中,胰岛素通过激活Nrf2/GPX4通路减轻铁死亡,为临床干预ALI提供新靶点。

【关键词】 急性肺损伤;胰岛素;铁死亡;Nrf2/GPX4 信号通路

【中图分类号】 R563.9 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2025.05.080

Insulin inhibits ferroptosis *via* activation of Nrf2/GPX4 pathway to ameliorate lipopolysaccharide induced acute lung injury

Wu Qingfeng^{1,2}, Ding Yongkai^{1,2}, Liu Chang^{1,2}, Zhang Xin³, Xu Qian³, Li Rong⁴, Zhang Qi³, Du Yingzhen^{2,4,5*}

(¹Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; ²National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, ³Department of Medical Service, Second Medical Center, ⁴Fever Clinic, Second Medical Center, ⁵Department of Disease Control and Prevention, Second Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】Objective To investigate the role of insulin (INS) in lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury (ALI) and the underlying mechanism. **Methods** Male C57BL/6 mice (6–8 weeks) were randomly divided into four groups (6 mice per group): control (WT), LPS, LPS + INS, and LPS + INS + ML385 (Nrf2 inhibitor) groups. Mouse model of ALI was established with intratracheal LPS instillation, and the mice were sacrificed to collect lung tissues in 12 h after modelling. HE staining was used to observe the severity of lung injury, Giemsa staining was employed to detect the inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), enzyme-linked immunosorbent assay was utilized to measure the contents of pro-inflammatory cytokines and ferroptosis-related indicators in lung tissues, and Western blotting was applied to determine the expression of ferroptosis-related proteins. SPSS statistics 19.0 and GraphPad Prism 8 were used for statistical analysis. Student's t test was conducted for comparison between two groups, and one-way analysis of variance was performed for comparison among multiple groups. **Results** Compared to the WT group, the LPS group exhibited significantly severer lung injury, more BALF inflammatory, and pro-inflammatory cytokines in lung tissues (all $P<0.05$). INS treatment resulted in decreased malondialdehyde and increased glutathione contents, and elevated protein levels of Nrf2 and GPX4 in lung tissues when compared with the LPS group ($P<0.05$). Compared with the LPS+INS group, the protein levels of Nrf2 and GPX4 in the LPS+INS+ML385 group decreased significantly ($P<0.05$). **Conclusion** Insulin alleviates ferroptosis in ALI by activating the Nrf2/GPX4 pathway, suggesting a promising therapeutic target for ALI treatment.

收稿日期: 2024-07-25; 接受日期: 2024-10-09

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(82200091); 国家自然科学基金面上项目(82370083)

通信作者: 杜英臻, Email: zhenzhen52@163.com

【Key words】 acute lung injury; insulin; ferroptosis; Nrf2/GPX4 signaling pathway

This work was supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (82200091) and the General Program of National Natural Science Foundation of China (82370083).

Corresponding author: Du Yingzhen, E-mail: zhenzhen52@163. com

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是临床中常见的危及生命的危重疾病^[1]。关于 ALI 病理生理机制的研究有一定的进展,但针对 ALI 仍缺乏有效的临床治疗方法^[2]。有文献报道铁死亡参与 ALI 的发生^[3]。研究表明,在 ALI 小鼠模型中,铁死亡诱导剂可显著提高肺部组织炎症细胞浸润和促炎因子水平,加重肺损伤^[4-6]。因此,抑制铁死亡有望成为治疗 ALI 的可能靶点。胰岛素是一种由胰岛 β 细胞分泌的激素,有研究证实胰岛素可在肺部发挥抗炎作用^[7]。也有研究发现在脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导神经系统炎症动物模型中,胰岛素可以抑制铁死亡从而减轻神经系统损伤^[8]。但是,在 ALI 中胰岛素是否可以通过抑制铁死亡改善肺损伤,以及胰岛素减轻肺损伤的具体机制尚不明确。因此,本研究旨在探讨胰岛素在 ALI 中作用和机制,聚焦铁死亡,为 ALI 的预防和治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 研究材料

LPS (#L2880, sigma); 一抗 Nrf2 (#163961, Proteintech)、GPX4 (#ab125066, Abcam)、 β -Tubulin (#10094-1-AP, Proteintech)、山羊抗兔二抗 (#SA00001-2, Proteintech); 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒 (#KTB1050, abbkine)、 Fe^{2+} 检测试剂盒 (#ADS-W-QT027, 南京建成生物)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 检测试剂盒 (#KTB1600, abbkine)。白介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β) 检测试剂盒 (#KTE7005, abbkine)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6) 检测试剂盒 (#KTE7009, abbkine)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 检测试剂盒 (#KTE7015, abbkine)。

1.2 方法

1.2.1 动物实验及分组 6~8 周龄,雄性 C57BL/6 小鼠 24 只,均购买于集萃药康公司(北京),并在中国人民解放军总医院动物实验中心饲养,小鼠饲养在环境温度为 (21 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$,光/暗循环 12 h,小鼠可自由获取食物和水。采用随机数字法将小鼠分为对照组 (WT 组)、LPS 组、LPS+胰岛素组 (LPS+INS 组) 和 LPS+胰岛素+ML385 组 (LPS+INS+ML385 组),每组 6 只。LPS 组小鼠气管内滴注 LPS (5 mg/kg); LPS+INS 组,在注射 LPS 前 0.5 h 腹腔注射胰岛素 1 IU/kg 加

葡萄糖 (1 g/kg) 配制预防低血糖的产生^[9],之后气道滴注 LPS (5 mg/kg); LPS+INS+ML385 组在腹腔注射胰岛素与气道滴注 LPS 前连续 7 d 腹腔注射 ML385 (30 mg/kg),每天 1 次,其余三组连续 7 d 腹腔注射生理盐水。在 LPS 干预造模 0、6、12 h 后取尾静脉血液检测小鼠血糖水平变化情况,小鼠麻醉后断颈处死,立即开胸收集小鼠新鲜肺组织。所有动物实验操作均符合美国国立卫生院出版的《实验动物的伦理和使用指南》,并获得中国人民解放军总医院动物伦理委员会批准 (S2024-359-02)。

1.2.2 小鼠机体酸碱状态及感染指标检测 待小鼠麻醉后,在腹主动脉处取血,立即使用血气分析仪检测 pH 值及血氧分压。使用 C-反应蛋白试剂盒,按照说明书进行检测。

1.2.3 组织病理染色及肺损伤评分 取小鼠左肺于 4% 甲醛溶液中固定后石蜡包埋切片,对切片行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色,染色完成后在光学显微镜下观察并进行肺损伤评分。采用半定量评分系统^[10]对肺泡及间质炎症、水肿、出血和肺泡间隔增厚等 4 项指标进行评估。

1.2.4 肺湿/干重比测定 小鼠处死后,使用滤纸清理肺部表面的血迹与异物,立即在电子秤测定其湿重。接着,将肺组织置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱内烘干 4 d 至重量恒定,再次称量肺组织干重并计算肺湿/干重比。

1.2.5 支气管肺泡灌洗液中炎症细胞及促炎因子检测 取小鼠支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF),离心后加入红细胞裂解液,冰上裂解后离心重悬。用移液枪将细胞悬液铺满整个圆圈,涂片放置自然晾干并丙酮固定,按照吉姆萨染色试剂盒说明书进行染色。分离 BALF 中的上清,采用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 对白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 含量进行测定,在 593 nm 波长下测量吸光度。

1.2.6 亚铁离子水平检测 将组织样品置于 2.0 ml EP 管中研磨 10 min 后离心。加入标准品和样品至 96 孔板,加入 Iron Reducer 和 Iron Probe,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 后避光显色 60 min,测定 593 nm 波长处吸光度。

1.2.7 MDA 水平检测 将组织样品匀浆后反复冻融或超声处理,离心取上清液备用。稀释样品 5 倍后加入酶标板,加入辣根过氧化物酶 (horseradish

peroxidase, HRP) 标记抗体, 37℃ 孵育 1 h, 洗涤后加入 A 液和 B 液, 37℃ 孵育 15 min, 加入终止液后在对应波长处 ($\Delta A = A_{532} - A_{600}$) 测定吸光度。

1.2.8 GSH 水平检测 将组织样品匀浆后反复冻融或超声处理, 离心取上清液备用。稀释样品 5 倍后加入酶标板, 加入 HRP 标记抗体, 37℃ 孵育 1 h, 洗涤后加入底物 A 和 B, 避光孵育 15 min, 测定 412 nm 波长处吸光度。

1.2.9 蛋白质免疫印迹检测 收集小鼠肺组织, 将其与裂解缓冲液 (radioimmunoprecipitation assay, RIPA) 按说明书比例混合, 在冰上裂解 30 min。超声波进一步破碎, 并离心获取上清液。使用二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法进行蛋白质浓度定量。电泳分离蛋白质, 并将蛋白质转移到 NC 膜上。在 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗 (GPX4, Nrf2, β -Tubulin, 1:1 000) 4℃ 孵育过夜。第 2 天, 在室温下与二抗孵育 2 h。最后, 对蛋白质带进行显色处理^[11]。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism 8 统计软件进行数据分析。计量资料用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间差异比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPS 组和 LPS+INS 组小鼠一般状态和血糖水平变化比较

LPS 气道滴注后 12 h, LPS 组精神状态萎靡、呼吸急促、反应迟钝, 刺激后方可见少许活动。与 LPS 组相比, LPS+INS 组小鼠精神状态稍好, 未施加刺激可有少许自主活动, 但仍有呼吸急促现象。对比两组小鼠各个时间点血糖水平变化, 发现注射胰岛素组血糖水平均低于未注射胰岛素组, 但差异无统计学意义 (*P* > 0.05; 表 1)。

表 1 LPS 组和 LPS+INS 组小鼠不同时间点血糖水平变化比较

Table 1 Comparison of changes in blood glucose levels at different time points between LPS and LPS+INS group (*n* = 6, mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

Group	0 h	6 h	12 h
LPS	7.8±0.4	6.1±0.3	6.0±0.6
LPS+INS	7.5±0.8	6.0±0.3	5.8±0.3
<i>t</i>	1.016	0.391	0.903
<i>P</i> value	0.333	0.704	0.388

LPS: lipopolysaccharide; LPS+INS: Lipopolysaccharide+insulin.

2.2 LPS 组和 LPS+INS 组小鼠炎症水平及血气指标变化情况比较

LPS 气道滴注后 12 h, 与 LPS 组比较, LPS+INS

组小鼠血中 C-反应蛋白及乳酸含量显著下降 (*P* < 0.05), LPS+INS 组小鼠血氧分压显著增加 (*P* < 0.05)。两组 pH 值未发现明显改变, 差异无统计学意义 (*P* > 0.05; 表 2)。

表 2 LPS 组和 LPS+INS 组小鼠炎症水平及血气指标变化情况比较

Table 2 Comparison of changes in inflammation levels and blood gas markers between LPS and LPS+INS group (*n* = 6, $\bar{x} \pm s$)

Group	C-reactive protein (ng/ml)	Partial pressure of oxygen (mmHg)	Potential of hydrogen	Lactate (mmol/L)
LPS	134.3±22.9	57.8±4.3	7.28±0.01	4.23±0.93
LPS+INS	87.0±21.0	77.2±6.2	7.28±0.01	2.80±0.88
<i>t</i>	3.400	5.780	1.060	2.482
<i>P</i> value	0.007	0.001	0.314	0.032

LPS: lipopolysaccharide; LPS+INS: lipopolysaccharide+insulin. 1 mmHg = 0.133 kPa.

2.3 胰岛素干预对小鼠肺损伤的影响

HE 染色结果表明, 与 WT 组相比, LPS 干预后小鼠肺组织出现明显损伤 (*P* < 0.05); 肺湿/干重比显著增加; 肺损伤得分显著增高 (*P* < 0.05); BALF 中有大量促炎因子 (IL-1 β 、IL-6、TNF- α) 及炎症细胞。在胰岛素处理的情况下, 上述指标均显著下降, 差异有统计学意义 (均 *P* < 0.05; 图 1)。

2.4 胰岛素在 LPS 诱导 ALI 中对铁死亡的影响

与 WT 组相比, LPS 组小鼠肺组织中 Fe²⁺ 水平及 MDA 含量显著增高, GSH 显著降低; 在 LPS+INS 组, 小鼠肺中 Fe²⁺、MDA 水平降低, GSH 水平增加 (*P* < 0.05)。LPS 处理可以显著降低肺组织中谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 表达量, 胰岛素处理可以提高 LPS 组的 GPX4 表达量, 差异均有统计学意义 (均 *P* < 0.05; 图 2)。

2.5 胰岛素在 LPS 诱导的 ALI 中对 Nrf2/GPX4 信号通路的作用

检测 GPX4 的上游蛋白核转录因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 表达水平, 发现胰岛素提高 Nrf2 蛋白水平。猜测胰岛素通过激活 Nrf2 抑制铁死亡。如图 3A~C, 在体内水平发现, LPS+INS 组在使用 Nrf2 蛋白抑制剂 ML385 条件下, 与 LPS+INS 组相比 ML385 应用可以显著降低 Nrf2 蛋白及 GPX4 蛋白水平 (*P* < 0.05)。随后, 检测小鼠肺组织中 GSH 及 MDA 水平, 发现 ML385 干预下调 GSH 水平, 提高 MDA 含量。肺组织 HE 染色、BALF 液炎症细胞吉姆萨染色及 ELISA 检测促炎因子均证实了胰岛素减轻 ALI 损伤程度, 而相对于 LPS+INS 组, ML385 干预可促进肺损伤, 差异均具有统计学差异 (均 *P* < 0.05; 图 3D~K)。

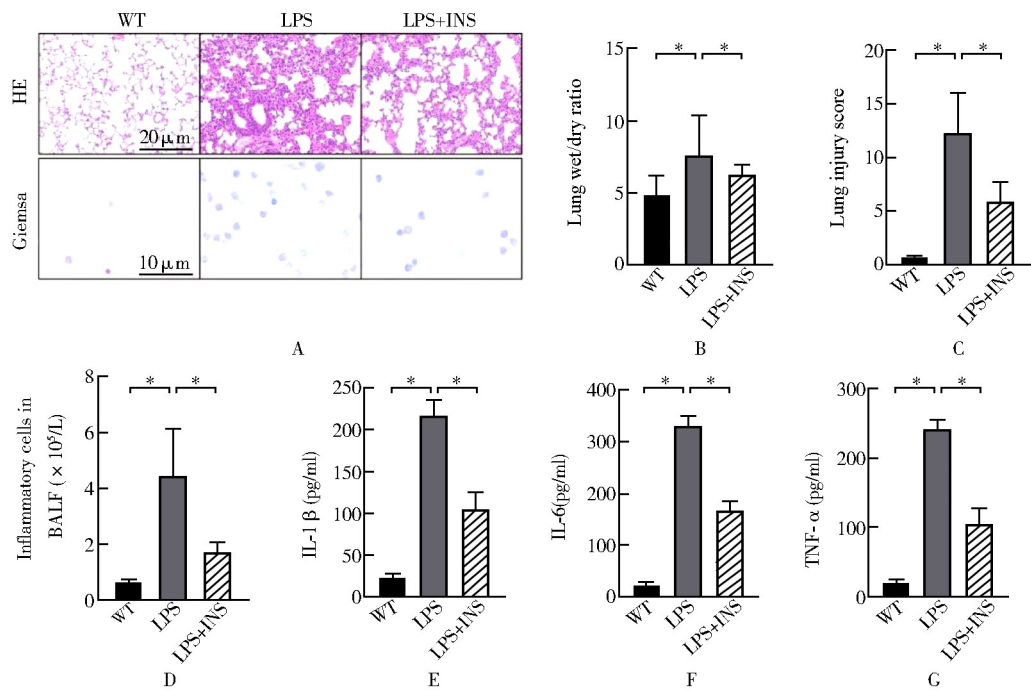


图 1 胰岛素干预对小鼠肺损伤的影响

Figure 1 Effect of insulin intervention on lung injury in mice (*n*=6)

A: HE staining of lung tissues and Giemsa staining of inflammatory cells in BALF; B: lung tissue wet-to-dry weight ratio; C: lung injury score; D: counting of inflammatory cells in BALF of each group of mice based on Giemsa staining; E-G: changes in levels of pro-inflammatory factors in mouse BALF. HE: hematoxylin-eosin staining; BALF: bronchoalveolar lavage fluid; IL-1β: interleukin-1 beta; IL-6: interleukin-6; TNF-α: tumor necrosis factor-α; WT: wild type; LPS: lipopolysaccharide; LPS+INS: lipopolysaccharide + insulin. Compared with LPS group, * *P*<0.05.

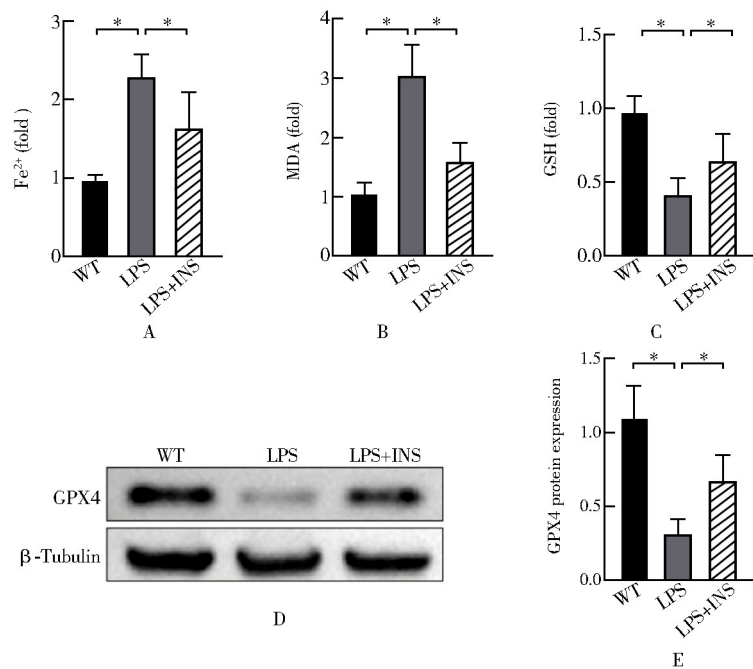


图 2 胰岛素干预对小鼠肺部铁死亡的影响

Figure 2 Effect of insulin intervention on ferroptosis in the lungs of mice (*n*=6)

A: levels of Fe²⁺ in lung tissues of each group of mice; B: levels of MDA in lung tissues of each group of mice; C: levels of GSH in lung tissues of each group of mice; D, E: Western blotting for detection of relative expression levels of GPX4 in lung tissues. MDA: malondialdehyde; GSH: glutathione; GPX4: glutathione peroxidase 4; WT: wild type; LPS: lipopolysaccharide; LPS+INS: lipopolysaccharide + insulin. Compared with LPS group, * *P*<0.05.

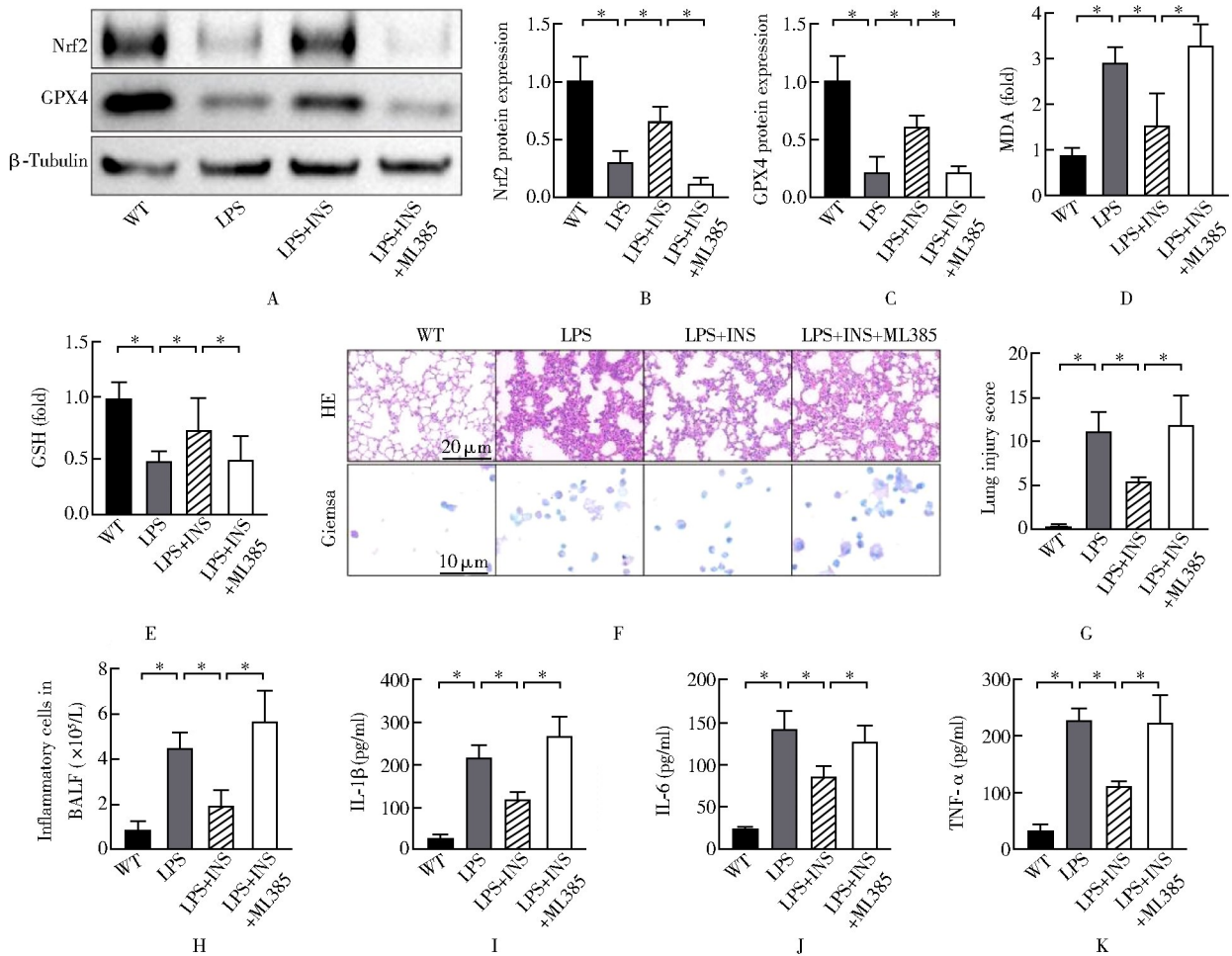


图3 胰岛素对小鼠肺部铁死亡相关信号通路的影响

Figure 3 Effect of insulin on ferroptosis-related signaling pathways in the lungs of mice ($n=6$)

A–C: Western blotting for detection of relative expression levels of Nrf2 and GPX4 in lung tissues; D: levels of MDA in lung tissues of each group of mice; E: levels of GSH in lung tissues of each group of mice; F: HE staining of lung tissues of each group of mice, and Giemsa staining of inflammatory cells in BALF of each group of mice; G: semi-quantitative lung injury scoring of lung tissues of each group of mice based on HE staining slices; H: counting of inflammatory cells in BALF of each group of mice; I–K: levels of pro-inflammatory factors in BALF of each group of mice. Nrf2: nuclear factor-erythroid 2-related factor 2; GPX4: glutathione peroxidase 4; MDA: malondialdehyde; GSH: glutathione; HE: hematoxylin-eosin staining; BALF: bronchoalveolar lavage fluid; IL-1 β : interleukin-1 beta; IL-6: interleukin-6; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; WT: wild type; LPS: lipopolysaccharide; LP+INS: lipopolysaccharide+insulin. Compared with LPS group, * $P < 0.05$; compared with LPS+INS+ML385 group, # $P < 0.05$.

3 讨论

ALI 可引起严重的肺部疾病,并诱发级联放大的肺部炎症^[12]。越来越多的研究表明,铁死亡在 ALI 的发病机制中起着至关重要的作用^[3,13]。胰岛素在减轻肺部损伤方面证据已有报道^[14]。在小鼠 ALI 中,胰岛素可以调控丝氨酸/苏氨酸蛋白酶-1 信号通路,发挥抗炎减轻肺水肿作用^[15],促进血红素加氧酶-1 表达减轻肺部炎症^[16]。最近研究发现胰岛素在神经系统疾病中与铁死亡相关^[8]。然而,在 ALI 中,胰岛素能否通过抑制铁死亡发挥保护作用目前尚不清楚。

本研究使用 LPS 建立了小鼠 ALI 疾病模型,使

用胰岛素干预后,肺损伤程度大幅下降,这与之前的报道类似^[16]。机制研究发现,在 LPS 诱导 ALI 中,胰岛素通过激活 Nrf2/GPX4 通路发挥保护作用。本研究在动物水平使用 Nrf2 的抑制剂 ML385,结果显示,ML385 可明显阻断胰岛素对小鼠肺部铁死亡的抑制作用并加重肺损伤,证实胰岛素可激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡,从而减轻 ALI。但在 ALI 中,胰岛素调控 Nrf2/GPX4 的分子机制还不清楚。Nrf2 表达受多种途径影响,包括 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 依赖性和非依赖途径。Keap1 是一种锚定在肌动蛋白上的高分子蛋白,在正常情况下可以与 Nrf2 结

合,诱导 Nrf2 通过泛素蛋白酶体途径持续失活。当细胞暴露于氧化应激或受到细胞毒性物质的刺激时,Nrf2 与 Keap1 解离并转移至细胞核以维持细胞的氧化还原稳态^[17]。Keap1 非依赖性通路是指 Nrf2 的翻译后修饰,Nrf2 含有大量丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基,可以被多种激酶磷酸化修饰,调节 Nrf2 的核内迁移和降解。糖原合成酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β) 是糖原合酶激酶 3 的一种亚型,已被证明是调节 Nrf2 磷酸化的关键因子^[18]。研究发现,胰岛素可以通过磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase,PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)信号通路影响铁死亡^[19]。我们猜测胰岛素可以通过激活 PI3K/AKT/GSK3 β 通路来调节细胞内 Nrf2 蛋白水平,进而激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡。

综上,本研究发现胰岛素可作为 ALI 患者潜在的治疗药物,可以通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡,从而减轻小鼠 ALI,为其治疗提供新思路。本研究存在局限性,胰岛素在小鼠肺部是否通过 AKT/GSK3 β 通路激活 Nrf2/GPX4 信号通路还需进一步验证。

【参考文献】

- [1] Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS. Acute respiratory distress syndrome[J]. *Lancet*, 2021, 398(10300): 622-637. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)00439-6.
- [2] He J, Zhao Y, Fu Z, *et al.* A novel tree shrew model of lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome[J]. *J Adv Res*, 2024, 56: 157-165. DOI: 10.1016/j.jare. 2023. 03. 009.
- [3] Liu X, Zhang J, Xie W. The role of ferroptosis in acute lung injury[J]. *Mol Cell Biochem*, 2022, 477(5): 1453-1461. DOI: 10.1007/s11010-021-04327-7.
- [4] Yan K, Hou T, Zhu L, *et al.* PM2. 5 inhibits system Xc-activity to induce ferroptosis by activating the AMPK-Beclin1 pathway in acute lung injury[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 245: 114083. DOI: 10.1016/j.ecoenv. 2022. 114083.
- [5] Wang W, Xu R, Zhao H, *et al.* CircEXOC5 promotes ferroptosis by enhancing ACSL4 mRNA stability *via* binding to PTBP1 in sepsis-induced acute lung injury[J]. *Immunobiology*, 2022, 227(4): 152219. DOI: 10.1016/j.imbio. 2022. 152219.
- [6] Xu Y, Li X, Cheng Y, *et al.* Inhibition of ACSL4 attenuates ferroptotic damage after pulmonary ischemia-reperfusion[J]. *Faseb J*, 2020, 34(12): 16262-16275. DOI: 10.1096/fj. 202001758R.
- [7] Van Niekerk G, Christowitz C, Conradie D, *et al.* Insulin as an immunomodulatory hormone[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2020, 52: 34-44. DOI: 10.1016/j.cytogfr. 2019. 11. 006.
- [8] Sun M, Li Y, Liu M, *et al.* Insulin alleviates lipopolysaccharide-induced cognitive impairment *via* inhibiting neuroinflammation and ferroptosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 955: 175929. DOI: 10.1016/j.ejphar. 2023. 175929.
- [9] Wen XP, Li M, Zhang RQ, *et al.* Insulin reverses impaired alveolar fluid clearance in ARDS by inhibiting LPS-induced autophagy and inflammatory[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1162159. DOI: 10.3389/fimmu. 2023. 1162159.
- [10] 何如愿, 刘博昊, 付庭吕, 等. 衣康酸减轻脂多糖诱导的急性肺损伤的机制研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2022, 31(9): 1223-1228. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 1671-0282. 2022. 09. 012.
- [11] 黄丽丹, 王博. FSTL3 在不同诱因所致的小鼠急性肺损伤中的表达[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2024, 23(1): 59-65. DOI: 10.11915/j. issn. 1671-5403. 2024. 01. 011.
- [12] Zheng J, Li Y, Kong X, *et al.* Exploring immune-related pathogenesis in lung injury: providing new insights into ALL/ARDS[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116773. DOI: 10.1016/j.biopha. 2024. 116773.
- [13] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al.* Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072. DOI: 10.1016/j.cell. 2012. 03. 042.
- [14] Chen HI, Yeh DY, Liou HL, *et al.* Insulin attenuates endotoxin-induced acute lung injury in conscious rats[J]. *Crit Care Med*, 2006, 34(3): 758-764. DOI: 10.1097/01. Ccm. 0000201902. 37115. 22.
- [15] 邓欣雨, 罗晓庆, 童瑾, 等. 胰岛素调控丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶-1 信号通路对急性肺损伤小鼠肺水肿的清除作用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2023, 36(7): 805-809, 814. DOI: 10.13200/j. cnki. cjb. 003951.
- [16] 彭登高, 卿国忠, 张晶, 等. 小剂量胰岛素对脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织血红素加氧酶-1 表达的影响及肺保护作用[J]. *广东医学*, 2015, 36(24): 3766-3769. DOI: 10.13820/j. cnki. gdx. 2015. 24. 005.
- [17] Luo L, Huang F, Zhong S, *et al.* Astaxanthin attenuates ferroptosis *via* Keap1-Nrf2/HO-1 signaling pathways in LPS-induced acute lung injury[J]. *Life Sci*, 2022, 311(PtA): 121091. DOI: 10.1016/j.lfs. 2022. 121091.
- [18] Wang YM, Gong FC, Qi X, *et al.* Mucin 1 inhibits ferroptosis and sensitizes vitamin E to alleviate sepsis-induced acute lung injury through GSK3 β /Keap1-Nrf2-GPX4 pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 2405943. DOI: 10.1155/2022/2405943.
- [19] Ye L, Liu X, Jin K, *et al.* Effects of insulin on proliferation, apoptosis, and ferroptosis in primordial germ cells *via* PI3K-AKT-mTOR signaling pathway[J]. *Genes (Basel)*, 2023, 14(10): 1975. DOI: 10.3390/genes14101975.

(编辑: 温玲玲)