

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9463.2026.03.004

甘草查尔酮 A 抑制铁死亡途径减轻 H3N2 病毒诱导 RAW264.7 细胞损伤的机制

黄津¹ 陈家卫¹ 李声忠¹ 黄美珍¹ 张美泉²

【摘要】目的 探讨甘草查尔酮 A (LA) 对 H3N2 亚型甲型流感病毒 (IAV) 感染巨噬细胞损伤的保护作用, 并阐明其调控铁死亡的作用机制。**方法** 建立 IAV H3N2 感染 RAW264.7 细胞模型。实验分为对照组、IAV 模型组、IAV+LA 组、IAV+LA+LY294002 组、IAV+LA+OE-p53 组。采用 CCK-8 法检测细胞活力; qPCR 和 Western Blot 检测铁死亡相关分子 (TFR1、FTH1、GPX4、p53) 的表达; 流式细胞术检测活性氧 (ROS) 水平; ELISA 法检测炎症因子 (IL-6、TNF- α 、IL-1 β) 含量; 试剂盒检测 MDA、Fe²⁺ 和 GSH 水平。**结果** IAV 感染诱导铁死亡: 病毒显著抑制细胞活力 (降至 58.3%), 上调 ROS、炎症因子、MDA、Fe²⁺、TFR1 及 p53 水平, 同时下调 GSH、GPX4 和 FTH1 表达。LA 的保护作用: LA 干预逆转上述变化, 提高细胞活力, 抑制氧化应激与炎症, 并调节铁代谢稳态 (如降低 TFR1、提升 FTH1 和 GPX4)。机制依赖 p53/PI3K 通路: 使用 PI3K 抑制剂 LY294002 或过表达 p53 均削弱 LA 对铁死亡指标 (MDA、Fe²⁺、GSH、TFR1/FTH1/GPX4) 的调控, 同时, 也削弱 LA 对 ROS 和炎症因子的抑制作用, 表明 LA 的抗铁死亡作用可能依赖于该信号轴。**结论** LA 能够减轻 H3N2 流感病毒诱导的巨噬细胞损伤, 其机制可能通过调控 p53/PI3K 信号轴, 抑制 TFR1 介导的铁摄取、促进 FTH1 介导的铁储存、增强 GPX4/GSH 抗氧化系统, 从而抑制铁死亡进程。

【关键词】 甘草查尔酮 A 甲型流感病毒 铁死亡 信号通路 RAW264.7 细胞

Mechanism of Licochalcone A alleviates H3N2 virus-induced in RAW264.7 cells injury by inhibiting the ferroptosis pathway

Huang Jin¹, Chen Jiawei¹, Li Shengzhong¹, Huang Meizhen¹, Zhang Meiquan²

¹Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003; ²Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Fujian Provincial Geriatric Hospital, Fuzhou 350009

Corresponding author: Zhang Meiquan, E-mail: 531104142@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of Licochalcone A (LA) on H3N2 subtype influenza A virus (IAV)-induced macrophage injury and to elucidate its regulatory mechanism on ferroptosis. **Methods** An IAV H3N2-infected RAW264.7 macrophage model was established. Cells were divided into five groups: control, IAV model, IAV+LA, IAV+LA+LY294002, and IAV+LA+OE-p53. Cell viability was assessed using the CCK-8 assay. The expression levels of ferroptosis-related molecules (TFR1, FTH1, GPX4, p53) were measured by quantitative real-time PCR (qPCR) and Western Blot. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels were detected by flow cytometry. The levels of inflammatory factors (IL-6, TNF- α , IL-1 β) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The levels of malondialdehyde (MDA), ferrous ion (Fe²⁺), and glutathione (GSH) were determined using commercial assay kits. **Results** IAV infection induced ferroptosis, as evidenced by a significant decrease in cell viability (to 58.3%), upregulation of ROS, inflammatory cytokines, MDA, Fe²⁺, TFR1, and p53 levels, alongside downregulation of GSH, GPX4, and FTH1 expression. LA intervention reversed these alterations: it improved cell viability, suppressed oxidative stress and inflammation, and modulated iron metabolism homeostasis (e. g.,

▲基金项目:福建省自然科学基金项目(编号:2023J01814)

作者单位:¹福建中医药大学附属第二人民医院感染性疾病科,福建 福州 350003²福建省老年医院呼吸与危重症医学科,福建 福州 350009

通信作者:张美泉,E-mail:531104142@qq.com

decreased TFR1, increased FTH1 and GPX4). The mechanism depended on the p53/PI3K pathway. Both the application of the PI3K inhibitor LY294002 and p53 overexpression attenuated LA's regulatory effects on ferroptosis indicators (MDA, Fe²⁺, GSH, and TFR1/FTH1/GPX4) and its inhibitory effects on ROS and inflammatory cytokines, indicating that LA's anti-ferroptosis action was likely dependent on this signaling axis. **Conclusion** LA can alleviate H3N2 influenza virus-induced macrophage injury. The underlying mechanism may involve the regulation of the p53/PI3K signaling axis, leading to the inhibition of TFR1-mediated iron uptake, promotion of FTH1-mediated iron storage, and enhancement of the GPX4/GSH antioxidant system, thereby suppressing the ferroptosis process.

【Key words】 Licochalcone A Influenza A virus Ferroptosis Pathway RAW264.7 cells

甲型流感病毒 (influenza A virus, IAV) 是引起季节性流感及周期性大流行的重要病原体, 其感染可导致严重的呼吸道疾病及全身性炎症反应^[1]。巨噬细胞作为先天免疫的关键效应细胞, 在 IAV 感染的病理过程中扮演着双重角色, 既可清除病毒, 也可能因过度活化导致剧烈的炎症因子风暴和组织损伤^[2]。近年来, 程序性细胞死亡的新形式—铁死亡 (ferroptosis), 在病毒感染及相关肺损伤中的作用日益受到关注。铁死亡的特征是铁依赖性的脂质过氧化物累积, 其核心调控机制涉及谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 抗氧化系统的失活、铁代谢紊乱 (如转铁蛋白受体 1 TFR1 上调和铁蛋白重链 FTH1 下调) 以及活性氧 (ROS) 的爆发^[3]。

甘草查尔酮 A (licochalcone A, LA) 是从中药甘草中提取的一种黄酮类化合物, 已被证实具有抗炎、抗氧化、抗病毒等多种药理活性^[4]。然而, LA 是否通过调控铁死亡途径来缓解 IAV 感染引起的细胞损伤, 及其具体的分子机制尚未阐明。p53 作为重要的肿瘤抑制因子, 也被发现可通过调节多个靶基因参与铁死亡的调控。同时, PI3K 信号通路是细胞存活、增殖和代谢的核心通路, 其与铁死亡和 p53 信号之间存在复杂的交互对话^[5]。基于此, 本研究以 H3N2 亚型 IAV 感染的 RAW264.7 巨噬细胞为模型, 探究 LA 的抗病毒损伤作用, 并从 p53 与 PI3K 通路交互调控铁死亡的角度, 深入阐明其分子机制, 为流感防治提供新的潜在策略和理论依据。

1 资料与方法

1.1 细胞、病毒与试剂 小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 (ATCC, 美国)。甘草查尔酮 A (LA, 纯度≥98%, 上海源叶生物科技有限公司)。PI3K

抑制剂 LY294002 (碧云天生物技术研究所以)。CCK-8 细胞增殖检测试剂盒 (碧云天)。DCFH-DA ROS 检测试剂盒 (碧云天)。RNA 提取试剂 TRIzol (Invitrogen, 美国)。逆转录试剂盒、SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit (TaKaRa, 日本)。抗体: TFR1 (货号 PB9233, BOSTER 公司)、FTH1 (货号 ab75973, Abcam 公司)、GPX4 (货号 67763-1-Ig, Proteintech 公司)、β-actin (货号 66009-1-Ig, Proteintech 公司)。小鼠 IL-6、TNF-α、IL-1β ELISA 试剂盒 (欣博盛生物科技有限公司)。MDA、GSH、Fe²⁺ 检测试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。流式细胞仪 (CytoFLEX, 贝克曼库尔特)。实时荧光定量 PCR 仪 (QuantStudio 5, Applied Biosystems)。

1.2 细胞培养与病毒感染 RAW264.7 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素的 DMEM 完全培养基中, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱。取对数生长期细胞进行实验。病毒感染前用无血清 DMEM 稀释病毒至适宜感染复数 (MOI=1), 与细胞共孵育 2 h 后, 更换为含 2% 血清的维持培养基。

1.3 实验分组与处理 ①对照组: 正常培养细胞。②IAV 模型组: MOI=1 的 H3N2 病毒感染细胞。③IAV+LA 组: 病毒感染同时给予 15 μmol/L LA 处理。④IAV+LA+LY294002 组: 在病毒感染和 LA 处理基础上, 加入 15 μmol/L LY294002。⑤IAV+LA+OE-p53 组: 通过脂质体转染法将 p53 过表达质粒 (或空载对照) 转染至细胞, 24 h 后进行病毒感染和 LA 处理。所有药物处理持续至检测终点。

1.4 细胞增殖活性检测 (CCK-8 法) 细胞接种于 96 孔板, 按分组处理 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 孵育 2 h, 用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度值 (OD), 计算细胞活力 (%) = (实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白组 OD 值) × 100%。

1.5 qPCR 检测基因表达 TRIzol 法提取总 RNA, 测定浓度与纯度, 取 1 μg RNA 进行逆转录。以 GAPDH 为内参, 使用 SYBR Green 法进行 qPCR。引物序列: TFR1 (F: 5'-GCTGTCAGTGTGACTG-GGAA-3', R: 5'-CAGCCACAGTGACCATCTTC-3'); FTH1 (F: 5'-CAGATCAACCGCCAGATCA-AC-3', R: 5'-TGGGCACATCATCACACTC-3'); GPX4 (F: 5'-AGCCAAGACCAAAGA-ACGG-3', R: 5'-CAGCTCGTTCACCTTCTCGGA-3'); p53 (F: 5'-CAGCACATGACGGAGTTGT-3', R: 5'-TCA-TCCAAATACTCCACACGC-3'); GAPDH (F: 5'-A-GGTCGGTGTGAACGGATTTG-3', R: 5'-TGTA-ACCATGTAGTTGAGGTCA-3')。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算靶基因 TFR1、FTH1、GPX4 的相对表达量。

1.6 Western Blot 检测蛋白表达 RIPA 裂解液提取总蛋白, BCA 法测定浓度。取等量蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 转至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 孵育一抗 (TFR1、FTH1、GPX4、p53、 β -actin) 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 及相应 HRP 标记的二抗 (室温 1 h)。ECL 化学发光法显影, ImageJ 软件分析条带灰度值, 以 β -actin 为内参计算目的蛋白相对表达量。

1.7 细胞内 ROS 水平检测 采用 DCFH-DA 探针法, 收集各组细胞, 用无血清培养基稀释的 DCFH-DA (10 $\mu\text{mol/L}$) 探针于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min, PBS 洗涤 2 次后, 用流式细胞仪检测荧光强度 (激发波长 488 nm, 发射波长 525 nm), 分析 ROS 阳性细胞百分比。

1.8 炎症因子与氧化应激指标检测 收集细胞培养上清液, 严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 检测 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 浓度。同时收集细胞裂

液, 分别采用 TBA 法、DTNB 法和菲罗嗪法检测 MDA 含量、GSH 含量和 Fe^{2+} 浓度, 操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.9 统计学分析 采用 SPSS 26.0 统计软件分析, 实验均独立重复 3 次, 正态分布计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 组间两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PI3K 抑制剂 LY294002 对 RAW264.7 细胞增殖活性的影响及 IAV 模型验证 本研究首先通过细胞活力检测验证了 IAV 感染模型的有效性, 及 LA 的保护作用。如图 1A 所示, 随着 LA 干预浓度的增加, IAV 感染 24 h 后细胞活力呈现显著变化 ($F=45.32, P < 0.001$)。具体而言, 当 LA 浓度升至 15 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞增殖率最接近正常水平 (约 100%), 表明该浓度下 LA 能有效缓解病毒诱导的细胞损伤。因此, 15 $\mu\text{mol/L}$ 被确定为最佳保护浓度, 并用于后续实验, 这充分证实了 LA 对 IAV 感染具有明确的保护作用。

同时, 为评估 PI3K 抑制剂 LY294002 的安全性, 我们检测了其浓度梯度对细胞活力的影响。图 1B 结果显示, LY294002 在 1~15 $\mu\text{mol/L}$ 范围内对细胞活力无显著性影响 ($F=1.24, P > 0.05$), 但当浓度增加至 20 $\mu\text{mol/L}$ 及以上时, 细胞活力出现显著性抑制 ($F=8.76, P < 0.05$)。基于这一剂量效应关系, 后续实验选择 20 $\mu\text{mol/L}$ 作为 LY294002 的干预浓度, 以平衡抑制效果与细胞毒性。

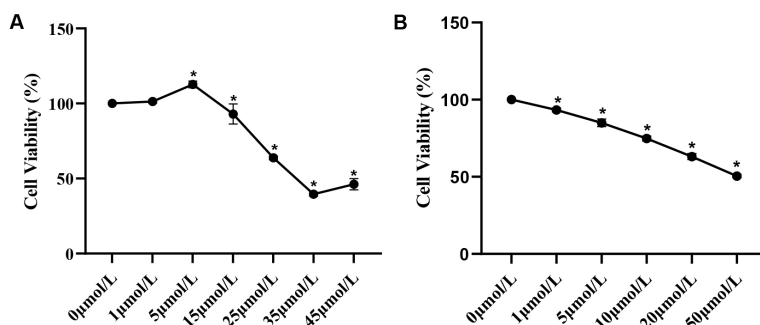


图 1 LA 和 LY294002 对 RAW264.7 细胞增殖活性的影响 ($n=3$)

注: *表示多组间比较, $P < 0.05$

2.2 p53 过表达细胞模型的构建与验证 为探究 p53 在 LA 作用机制中的功能, 构建了 p53 稳定过表达

的 RAW264.7 细胞模型。通过 qPCR 检测 p53 mRNA 的表达水平以验证转染效率。结果显示, 转染 p53

过表达质粒的细胞 (RAW264.7-p53) 中, p53 mRNA 的相对表达量是对照组 (转染空载质粒, RAW264.7-NC) 的 (14.13±0.93) 倍 ($F=256.41, P<0.001$), 表明 p53 过表达载体成功转染并显著上调了目的基因表达, 亦表明 p53 过表达模型构建成功 (见图 2)。

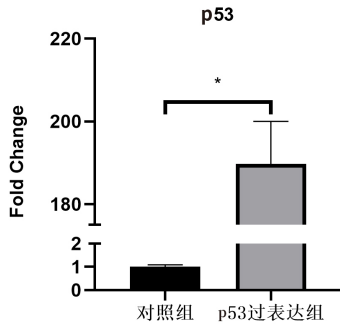


图2 p53 验证转染效率(n=3)

注: *表示 $P<0.001$

2.3 LA 通过 p53/PI3K 轴调控铁死亡相关基因的转录 为探究 LA 对铁死亡关键基因转录的调控作用, 本研究以 IAV 模型组为基准 (设为 1), 分

析了各组 TFR1、FTH1 和 GPX4 mRNA 的相对表达变化 (见图 3)。结果显示, 与其他三组比较发现 IAV 模型组经过 IAV 感染后显著上调了 TFR1 的表达 ($F=35.67, P<0.01$), 并下调了 FTH1 ($F=28.91, P<0.01$) 和 GPX4 ($F=12.45, P<0.01$) 的表达, 组间比较具有差异性。与 IAV 模型组相比, LA 干预能有效逆转病毒诱导的基因表达异常: 显著下调 TFR1 的表达至 0.64 倍 ($F=6.89, P<0.05$), 并显著上调 FTH1 和 GPX4 的表达, 分别升至 1.73 倍 ($F=42.18, P<0.001$) 和 1.50 倍 ($F=5.23, P<0.05$), 表明 LA 可在转录水平重塑铁稳态。值得注意的是, 当在 LA 干预基础上联合使用 PI3K 抑制剂 LY294002 或过表达 p53 后, LA 对上述基因的调控作用被显著削弱。与 IAV+LA 组相比, IAV+LA+LY294002 组和 IAV+LA+OE-p53 组的 TFR1 表达均有所回升 ($P<0.05$); 而 FTH1 和 GPX4 的表达则出现不同程度的下降 (均 $P<0.05$), 表明抑制 PI3K 或过表达 p53 均可拮抗 LA 对铁死亡相关基因的转录调控效果。

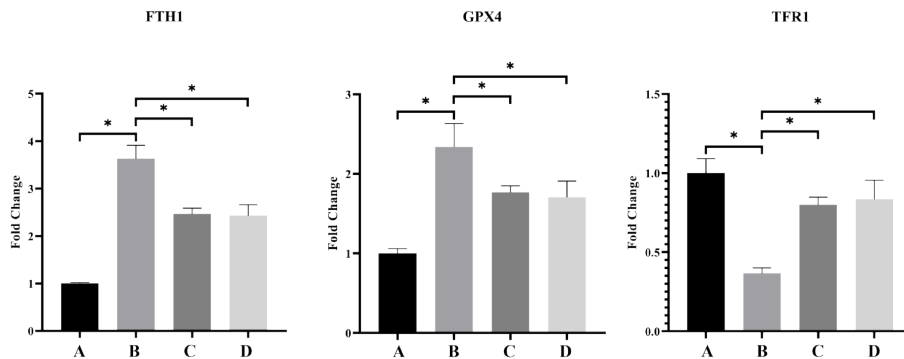


图3 各组 TFR1、FTH1 和 GPX4 基因的表达(n=3)

注:A 为 IAV 模型组;B 为 IAV+LA 组;C 为 IAV+LA+LY294002 组;D 为 IAV+LA+OE-p53 组。*表示与 IAV+LA 组比较, $P<0.05$

2.4 LA 对铁死亡相关蛋白表达的影响 Western Blot 结果进一步在蛋白水平验证了 LA 的调控作用 (见图 4)。与其他三组比较发现 IAV 模型组经过 IAV 感染后显著上调了 TFR1 ($F=15.78, P<0.01$) 蛋白表达, 并下调了 FTH1 ($F=8.45, P<0.05$) 和 GPX4 ($F=7.12, P<0.05$) 蛋白表达。LA 干预显著逆转了这些蛋白的表达变化 (TFR1: $F=13.56, P<0.01$, 呈下降趋势; FTH1: $F=16.89, P<0.01$, 呈上升趋势; GPX4: $F=3.45, P=0.078$, 呈上升趋势)。这表明 LA 不仅能在转录水平, 更能在翻译水平调控铁死亡关键分子。联合 LY294002 后, 可减弱 LA 对 FTH1 和 GPX4 的上调作用 ($F=6.23, P<0.05$), 及减弱 LA 对 TFR1 的下调作用。还发现, 过表达

p53 也表现出类似 PI3K 抑制剂作用。

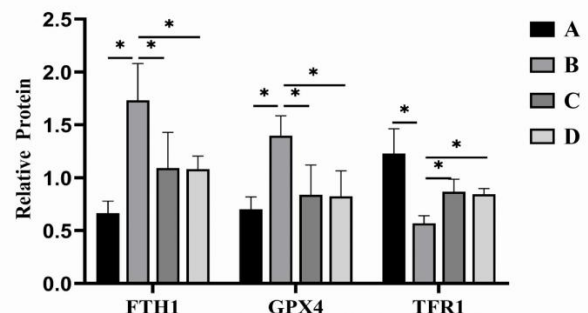


图4 各组 GPX4、FTH1、TFR1 蛋白表达情况(n=3)

注:A 为 IAV 模型组;B 为 IAV+LA 组;C 为 IAV+LA+LY294002 组;D 为 IAV+LA+OE-p53 组。*表示与 IAV+LA 组比较, $P<0.05$

2.5 LA 对细胞内 ROS 水平的抑制作用 流式细胞术检测细胞内 ROS 水平 (见图 5)。与其他三组比较发现 IAV 感染导致 ROS 阳性细胞百分比显著升高至 (57.27±0.70) % ($F=312.45, P<0.001$)。LA 干预能显著抑制 ROS 生成, 使其降至 (29.43±0.38) % ($F=198.76, P<0.001$)。然而, 在 LA 基础上联合 LY294002 或过表达 p53, LA 的抗氧化作用

被部分逆转, ROS 水平分别为 (40.00±2.21) % 和 (40.23±2.42) %, 且两组间差异无统计学意义 ($F=0.12, P>0.05$)。结果显示, 过表达 p53 和 PI3K 抑制剂干预后, LA 对 ROS 的清除作用减弱, 可见 LA 对 ROS 的清除作用可能依赖于本研究所关注的 p53-PI3K 轴。

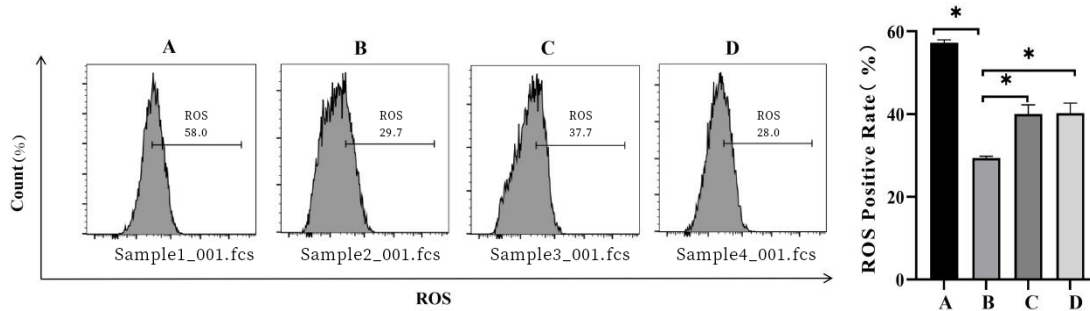


图 5 四组 ROS 流式细胞分析的表达水平 (n=3)

注: A 为 IAV 模型组; B 为 IAV+LA 组; C 为 IAV+LA+LY294002 组; D 为 IAV+LA+OE-p53 组。*表示与 IAV+LA 组比较, $P<0.05$

2.6 LA 对 IAV 诱导的炎症反应的抑制作用 ELISA 法检测细胞上清液中的炎症因子水平 (见表 1)。与其他三组比较发现 IAV 感染显著促进了 IL-6 ($F=86.54, P<0.001$)、TNF- α ($F=124.67, P<0.001$) 和 IL-1 β ($F=78.91, P<0.001$) 的分泌。与 IAV 模型组比较, LA 干预 (15 $\mu\text{mol/L}$) 显现出显著的抗炎效果, 使 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平分别降至 (10.32±1.06) pg/mL、(19.47±3.19) pg/mL 和 (4.39±0.45) pg/mL (均 $P<0.001$)。然而, 当联合使用 PI3K 抑制剂 LY294002 或过表达 p53 后, LA 的抗炎作用被明显削弱, 这提示 LA 的抗炎效应可能受 p53-PI3K 轴拮抗。

与 IAV+LA 组比较, 使用 LY294002 或过表达 p53 时, LA 对 MDA、Fe²⁺ 和 GSH 的调控作用被明显削弱, 这些指标均恢复至接近 IAV 组的水平 (均 $P<0.05$)。这表明 LA 维持氧化还原稳态和铁稳态的作用, 高度依赖于 PI3K 和 p53 的正常功能。

表 2 各组 Fe²⁺、GSH 和 MDA 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	Fe ²⁺ ($\mu\text{mol/L}$)	GSH ($\mu\text{mol/L}$)	MDA (nmol/mL)
IAV 模型组	17.02±1.92*	16.22±3.43*	11.17±3.49*
IAV+LA 组	7.05±1.06	28.36±5.40	5.03±1.82
IAV+LA+LY294002 组	15.00±0.74*	18.61±2.18*	10.24±1.11*
IAV+LA+OE-p53 组	15.31±1.38*	19.60±2.11*	10.19±1.01*

注: 与 IAV+LA 组比较, * $P<0.05$

表 1 各组炎症因子的表达水平 ($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}, n=3$)

组别	IL-6	TNF- α	IL-1 β
IAV 模型组	18.58±1.46*	34.17±1.45*	14.80±1.45*
IAV+LA 组	10.32±1.06	19.47±3.19	4.39±0.45
IAV+LA+LY294002 组	16.52±1.06*	31.65±1.82*	12.99±1.06*
IAV+LA+OE-p53 组	16.57±0.98*	30.82±0.31*	12.39±2.66*

注: 与 IAV+LA 组比较, * $P<0.05$

2.7 LA 对氧化应激及铁代谢稳态指标的调控 表 2 显示, 与其他三组比较发现 IAV 模型组 MDA ($F=32.45, P<0.001$) 和 Fe²⁺ ($F=89.12, P<0.001$) 含量显著升高, GSH ($F=28.67, P<0.001$) 含量显著降低。LA 干预能有效逆转这些变化: 降低 MDA ($F=10.23, P<0.01$) 和 Fe²⁺ 水平 ($F=56.78, P<0.001$), 显著提高 GSH 水平 ($F=12.34, P<0.01$)。然而,

3 讨论

本研究探讨了 LA 对 IAV 感染 RAW264.7 巨噬细胞损伤的保护作用及其分子机制。结果表明, LA 通过调控 p53/PI3K 信号轴, 恢复铁代谢稳态、增强抗氧化防御并抑制炎症反应, 从而有效减轻病毒诱导的细胞损伤。近年来, 铁死亡被证实广泛参与病毒性肺炎等感染性疾病的病理过程 [6]。本研究证实 H3N2 IAV 感染可成功诱导巨噬细胞发生铁死亡, 其特征与经典定义相符 [7], 即细胞内 Fe²⁺ 和脂质过氧化物 (如 MDA) 显著累积, 而关键抗氧化蛋白 GPX4 及其底物 GSH 水平下降。这一发现与最新研究相符, 例如有证据表明流感病

毒可通过调节铁代谢相关基因诱导肺上皮细胞铁死亡^[8]。此外, IAV 感染引发的剧烈炎症反应(IL-6、TNF- α 、IL-1 β 升高)与铁死亡过程相互加剧, 形成恶性循环, 这与“细胞死亡-炎症”正反馈环路的新观点一致^[9]。

LA 作为一种从甘草中提取的活性黄酮, 本研究系统阐述了其抗 IAV 损伤的新机制——抑制铁死亡, 与近期报道的 LA 抑制铁死亡减轻黄曲霉毒素 B1 机制相似^[10]。我们的数据显示, LA 可通过多靶点逆转铁死亡标志性事件: 下调铁摄取蛋白 TFR1 表达、上调铁储存蛋白 FTH1 水平以恢复铁稳态; 同时上调 GPX4 表达并增加 GSH 合成以抑制脂质过氧化。上述作用共同导致了 ROS、MDA 等氧化损伤指标的下降。LA 强大的抗氧化与抗炎特性已被多项新研究所证实^[11], 本研究则将其与抗病毒过程中的细胞死亡模式调控直接关联。

本研究的核心在于揭示了 p53/PI3K 信号轴是 LA 发挥保护作用的关键。p53 不仅是经典的肿瘤抑制因子, 更是铁死亡的重要调控者^[12]。我们发现 IAV 感染后 p53 表达上调, 而 LA 干预可抑制其表达。当人为过表达 p53 时, LA 对铁死亡的拮抗作用被显著削弱。这一结果支持了 p53 在特定情境下可促进铁死亡的观点, 其机制可能涉及对下游基因的转录抑制^[13]。另一方面, PI3K/Akt 通路是细胞存活的核心信号, 我们使用 LY294002 抑制 PI3K 后, LA 对 FTH1、GPX4 的上调作用及对 ROS 的清除作用均被部分阻断。最新的机制研究表明, 激活的 PI3K/Akt 通路可通过磷酸化并激活转录因子 Nrf2, 促进包括 GPX4、FTH1 在内的一系列抗氧化和铁稳态相关基因的表达, 从而对抗铁死亡^[14]。因此我们推测, LA 可能通过抑制 p53 同时激活 PI3K/Akt/Nrf2 轴, 形成协同调控网络, 最终抑制铁死亡。p53 与 PI3K 通路之间存在复杂的交互对话, p53 可负调控 PI3K 信号, 而 Akt 也能磷酸化并抑制 p53 活性^[15]。LA 如何精确调控这一交互网络, 将是未来深入研究的方向。

与既往研究相比, 本研究将 LA 的抗病毒作用与铁死亡联系起来, 并阐明了 p53/PI3K 信号轴作为关键调控机制的作用, 为解析流感病毒致病机制及开发靶向铁死亡的新型抗病毒策略提供了新视角。近期有研究指出, 靶向铁死亡是治疗病毒性肺炎的潜在新策略, 我们的发现为此提供了直接的实验证据和一种候选化合物^[16]。然而, 本研

究存在一定局限性: 首先, 结论基于小鼠巨噬细胞系得出, 需在原代人巨噬细胞或动物模型中进行验证; 其次, p53/PI3K 轴下游的具体效应分子及其交互细节有待进一步阐明; 最后, LA 是否直接影响病毒复制周期, 其抗病毒效应与抗铁死亡效应孰先孰后, 仍需探索。

综上, LA 通过靶向 p53 和 PI3K 信号通路, 调控 TFR1/FTH1 介导的铁代谢稳态并增强 GPX4/GSH 抗氧化系统功能, 进而抑制 H3N2 流感病毒感染诱导的巨噬细胞铁死亡, 最终减轻细胞损伤和炎症反应。本研究为理解 LA 的抗病毒损伤机制提供了新视角, 也为其作为防治流感及其并发症的潜在候选药物提供了重要的实验依据。

参 考 文 献

- 佚名. 流行性感冒诊疗方案(2025年版)[J]. 中国感染控制杂志, 2025, 24(2): 290-294.
- Dai CH, Gao ZC, Cheng JH, et al. The competitive endogenous RNA (ceRNA) regulation in porcine alveolar macrophages (3D4/21) infected by swine influenza virus (H1N1 and H3N2) [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1875.
- Ouyang AT, Chen T, Feng Y, et al. The hemagglutinin of influenza A virus induces ferroptosis to facilitate viral replication [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(39): 2404365.
- Li ZY, Li BH, Chen ZN, et al. Licochalcone A plays dual antiviral roles by inhibiting RSV and protecting against host damage [J]. *J Med Virol*, 2023, 95(8): e29059.
- 陈家卫, 黄津, 李声忠, 等. 基于网络药理学探讨麻杏石甘汤治疗甲型流感的作用机制 [J]. *国际呼吸杂志*, 2024, 44(6): 712-719.
- Ding LQ. Ferroptosis in viral infection: a potential therapeutic target [J]. *Future Microbiol*, 2024, 19(6): 519-524.
- Jiang XJ, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282.
- Zheng YX, Zhang Y, Chen YB, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 drives epithelial cells ferroptosis in influenza-induced acute lung injury [J]. *Redox Biol*, 2025, 81: 103572.
- Ren ZX, Zhou BX, Wang LX, et al. Inhibitory effect of 5-hydroxy-6, 7-dimethoxyflavone on H1N1 influenza virus-induced ferroptosis and inflammation in A549 cells and its possible mechanisms [J]. *J South Med Univ*, 2024, 44(6): 1070-1078.
- Xia SJ, He YX, Yang SY, et al. Licochalcone A mitigates aflatoxin B1-induced immunotoxicity via ferroptosis in bursa of broilers and macrophages [J]. *Poult Sci*, 2024, 103(10): 104080.
- Li P, Yu C, Zeng FS, et al. Licochalcone A attenuates chronic neuropathic pain in rats by inhibiting microglia activation and inflammation [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(5): 1112-1118.
- Punziano C, Trombetti S, Grosso M, et al. The molecular interplay

- between p53-mediated ferroptosis and non-coding RNAs in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26 (14): 6588.
- 13 Chu B, Kon N, Chen DL, et al. ALOX12 is required for p53-mediated tumour suppression through a distinct ferroptosis pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21 (5): 579-591.
- 14 Dai EY, Zhang WL, Cong D et al. AIFM2 blocks ferroptosis independent of ubiquinol metabolism [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 523 (4): 966-971.
- 15 Zhang XT, Ming Y, Fu XZ, et al. PI3K/AKT/p53 pathway inhibits infectious spleen and kidney necrosis virus infection by regulating autophagy and immune responses [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2022, 120: 648-657.
- 16 Xu XB, Lin DF, Tu S, et al. Is ferroptosis a future direction in exploring cryptococcal meningitis? [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 598601.

(收稿:2026-01-15)

读者·作者·编者

本刊对论文中插图的要求

1. 图应主题明确, 具有进一步说明和补充文字的功能, 或者有提供实证的作用(如照片图)。如果强调的是事物的性状或参数变化的总体趋势, 以使用统计图为宜; 如果讨论的重点是项目的隶属关系或对比的准确程度, 则使用统计表为宜。图应具有自明性。图的内容文字不应与正文文字及表格内容文字重复。

2. 图应有简短准确的标题, 连同图序号置于图形下方。图序号一律用阿拉伯数字顺序连续编排。图题下方可加一简短的图注, 说明图中看到的主要结果。

3. 曲线图大小、比例应适中, 线条均匀, 主轴线分明, 高度与宽度之比一般以 5:7 左右为宜。纵、横标目的量和单位符号应齐全, 置于纵、横坐标轴的外侧居中排列。

4. 条图各直条宽度以及各直条之间的间隙应相等。条图指标数量的尺度必须从“0”开始, 等距不能折断, 否则会改变各直条长短的比例使人产生错觉。复式条图一组包括 2 个及以上直条, 直条所表示的类别应使用图例予以说明。同一组的直条间不留空隙, 各组内直条的排列顺序应一致。

5. 半对数图的纵坐标没有零点, 起点根据资料的情况可为 0.1, 1, 10...若起点为 0.1 ~ 10, 第二单元为 1 ~ 10; 起点为 1, 则第一单元为 1 ~ 10, 第二单元为 10 ~ 100..., 即后一单元的对数尺标指示数值为前一单元的 10 倍。各单元距离相同, 但同一单元内不等距。

6. 点图的横轴代表自变量, 纵轴代表因变量。纵轴和横轴尺度的起点不一定从“0”开始, 可根据资料情况来定。点图的点一般用大小相等的实心圆表示, 应注意核对图内画出的点数与图题中注明的总例(次)数相一致。

7. 照片图要求主要显示的部分轮廓清晰, 层次分明, 反差适中, 无杂乱的背景。人体照片只需显示必要部位, 但应能看出是人体的哪一部分。如确涉及患者隐私需提供患者知情同意书, 显微照片应标明染色方法和放大倍数(物镜与目镜的乘积), 如: HE × 20, 刚果红 × 20。显微照片中使用的符号、箭头或字母应该与背景有很好的对比度。涉及尺寸的照片应附有表示目的物尺寸大小的标度。

8. 图中的量、单位、符号、缩略语等必须与正文中使用的一致。为保持图的自明性, 图中使用的缩略语应有注释。