doi:10.11659/jjssx.02E023025

·基础研究·

金丝桃甙对百草枯诱导的大鼠急性肺损伤的保护作用

武 卓[1],陈 乐[2],王卿语[2],古春昱[2],陈新军[2] (1.陕西省人民医院医学装备部,陕西 西安 710068;2.陕西省人民医院急诊内科,陕西 西安 710068)

[摘 要] **目的** 探究金丝桃甙(HYP)对百草枯(PQ)诱导的大鼠急性肺损伤的保护作用及其机制。**方法** 将大鼠随机分为对照组、PQ组、低剂量金丝桃甙组(HYP-L组)、中剂量金丝桃甙组(HYP-M组)和高剂量金丝桃甙组(HYP-H组),每组12只。给予相应处理7 d后,检测各组大鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)中的白细胞介素(IL)-1β、IL-6和巨噬细胞炎性蛋白-2(MIP-2)水平,以及肺组织中的丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)水平。通过苏木精-伊红(HE)染色和Masson三色染色评估大鼠肺损伤和纤维化程度。通过Western blot检测肺组织中E-cadherin、α平滑肌肌动蛋白(α-SMA)、Vimentin及核因子红细胞2相关因子2(Nrf2)、核因子-κB(NF-κB) p65、p-NF-κB p65、转化生长因子-β1(TGF-β1)、Smad3和p-Smad3蛋白的表达水平。**结果** 与对照组比较,PQ组大鼠BALF中的IL-1β、IL-6和MIP-2水平升高($P<0.05$),肺组织中SOD水平降低($P<0.05$),而MDA水平升高($P<0.05$),肺组织出现明显损伤和纤维化($P<0.05$)。与PQ组比较,HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠BALF中的IL-1β、IL-6和MIP-2水平降低($P<0.05$),肺组织中SOD水平升高($P<0.05$),而MDA水平降低($P<0.05$),肺组织损伤减轻,纤维化评分降低($P<0.05$)。与对照组比较,PQ组大鼠肺组织中E-cadherin的表达水平降低($P<0.05$),α-SMA和Vimentin的表达水平升高($P<0.05$),Nrf2的蛋白表达水平降低($P<0.05$),TGF-β1的蛋白表达水平以及NF-κB p65和Smad3蛋白的磷酸化水平均升高($P<0.05$)。与PQ组比较,HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织中E-cadherin的表达水平升高($P<0.05$),α-SMA和Vimentin的表达水平降低($P<0.05$),Nrf2的蛋白表达水平升高($P<0.05$),TGF-β1的蛋白表达水平以及NF-κB p65和Smad3蛋白的磷酸化水平降低($P<0.05$)。**结论** 金丝桃甙有效减轻了百草枯诱导的大鼠急性肺损伤,其可能通过调节Nrf2、NF-κB和TGF-β1/Smad2/3信号通路减轻肺部氧化应激、炎症和纤维化。

[关键词] 百草枯;金丝桃甙;肺损伤;氧化应激;炎症;纤维化
[中图分类号] R563.9 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-02-06

Protective effect of hyperoside on paraquat-induced acute lung injury in rats

WU Zhuo[1], CHEN Yue[2], WANG Qin-yu[2], GU Chun-yu[2], CHEN Xin-jun[2] (1. Department of Medical Equipment, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an Shaanxi 710068, China; 2. Department of Emergency Internal Medicine, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an Shaanxi 710068, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effect and mechanism of hyperoside (HYP) on paraquat (PQ)-induced acute lung injury in rats. **Methods** Rats were randomly divided into the control group, the PQ group, the low-dose hyperoside group (HYP-L group), the middle-dose hyperoside group (HYP-M group) and the high-dose hyperoside group (HYP-H group), with 12 rats in each group. After 7 days of corresponding treatment, the levels of interleukin (IL)-1β, IL-6 and macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of rats in each group, as well as the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in lung tissue were detected. The degree of lung injury and fibrosis of rats were evaluated by hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson's trichrome staining. The expression levels of E-cadherin, α-smooth muscle actin (α-SMA), Vimentin, and protein expression levels of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), nuclear factor-κB (NF-κB) p65, p-NF-κB p65, transforming growth factor-β1 (TGF-β1), Smad3 and p-Smad3 in lung tissue were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the levels of IL-1β, IL-6 and MIP-2 in BALF of rats in the PQ group increased ($P<0.05$), the level of SOD in the lung tissue decreased, while the level of MDA increased ($P<0.05$), and the lung tissue showed obvious damage and fibrosis ($P<0.05$). Compared with the PQ group, the levels of IL-1β, IL-6 and MIP-2 in BALF of rats in the HYP-L group, the HYP-M group and the HYP-H group decreased ($P<0.05$), the levels of SOD in the lung tissue increased ($P<0.05$), while the levels of MDA decreased ($P<0.05$), and the lung tissue damages were alleviated, and the fibrosis score decreased ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression level of E-cadherin in the lung tissue of rats in the PQ group decreased ($P<0.05$), the expression levels of α-SMA and Vimentin increased ($P<0.05$), the protein expression level of Nrf2 decreased ($P<0.05$), the protein expression level of TGF-β1 and the phosphorylation levels of NF-κB p65 and Smad3 proteins increased ($P<0.05$).

[基金项目] 陕西省重点研发计划(2018SF-225)
[通信作者] 陈新军,E-mail:DochenXJ06@163.com

Compared with the PQ group, the expression levels of E-cadherin in the lung tissues of rats in the HYP-L group, the HYP-M group and the HYP-H group increased ($P<0.05$), the expression levels of α-SMA and Vimentin decreased ($P<0.05$), the protein expression levels of Nrf2 increased ($P<0.05$), the protein expression level of TGF-β1 and the phosphorylation levels of NF-κB p65 and Smad3 proteins decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Hyperoside effectively alleviates paraquat-induced acute lung injury in rats, and it may reduce lung oxidative stress, inflammation and fibrosis by regulating Nrf2, NF-κB and TGF-β1/Smad2/3 signal pathways.

Keywords: paraquat; hyperoside; lung injury; oxidative stress; inflammation; fibrosis

百草枯(paraquat,PQ)是世界上最常用的除草剂之一,然而,全球每年都有大量民众死于百草枯中毒,肺是百草枯的主要损伤目标[1-2]。百草枯诱导的肺毒性与炎症、氧化应激、细胞凋亡和纤维化相关的各种机制途径有关[3],其中核因子红细胞2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2,Nrf2)途径[4]、核因子-κB(nuclear factor-κB,NF-κB)途径[5]和转化生长因子-β(transforming growth factor-β1,TGF-β1)/Smad2/3途径[6]分别在百草枯诱导的氧化应激、炎症和纤维化中发挥调控作用。金丝桃甙(hyperoside,HYP)是一种存在于金丝桃属植物中的天然黄酮醇甙,分子量为464.38,分子式为$C_{21}H_{20}O_{12}$,具有广谱的生物活性,包括抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒、器官保护等作用[7],还具有良好的抗心[8]、肝[9]、肾[10]纤维化作用。此外,金丝桃甙可减轻博来霉素诱导的小鼠肺纤维化[11]。推测金丝桃甙可能是一种防治百草枯诱导的肺损伤的天然药物。因此,本研究探讨金丝桃甙对百草枯致大鼠急性肺损伤的保护作用以及其可能的分子机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

20%百草枯溶液购自美国Syngenta公司。金丝桃甙(纯度99.56%,批号:HY-N0452-62235)购自美国MedChemExpress公司。苏木精-伊红(HE)染液(批号:20181107)购自南京建成生物工程研究所。Masson三色染色液(批号:20200418)购自北京索莱宝科技有限公司。白细胞介素(interleukin,IL)-1β ELISA试剂盒(批号:20191016)购自北京普利莱基因技术有限公司。IL-6 ELISA试剂盒(批号:20210604)购自派普泰克生物科技(苏州)有限公司。巨噬细胞炎性蛋白-2(macrophage inflammatory protin-2,MIP-2)ELISA试剂盒(批号:20210923)购自上海乔羽生物科技有限公司。丙二醛(malondialdehyde,MDA)试剂盒(批号:0517191107)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)试剂盒(批号:0625201005)购自碧云天生物技术研究所。E-cadherin(批号:20180503)、α平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin,α-SMA;批号:20100822)、Vimentin(批号:20200415)、GAPDH(批号:20190607)一抗购自美国Cell Signaling Technology公司。Nrf2(批号:190416)、NF-κB p65(批号:201209)、p-NF-κB p65(批号:191106)、TGF-β1(批号:180828)、Smad3(批号:210305)、p-Smad3(批号:210417)一抗及HRP偶联的IgG二抗(批号:180624)购自英国Abcam公司。

1.2 实验动物

SPF级雄性SD大鼠,7周龄,体质量220~250 g,购自陕西师范大学[生产许可证号:SCXK(陕)2021-002]。饲养环境:温度(23±2)℃,湿度(55±5)%,12 h光暗循环。饲养期间不限制饮食。本研究通过我院医学伦理委员会批准(2021-10-D07)。

1.3 大鼠分组及处理

将大鼠随机分为对照组、PQ组、低剂量金丝桃甙组(HYP-L组)、中剂量金丝桃甙组(HYP-M组)和高剂量金丝桃甙组(HYP-H组),每组12只。对照组大鼠一次性灌胃蒸馏水1 mL,其他组大鼠分别一次性灌胃1 mL百草枯(终使用剂量为50 mg/kg)。灌胃30 min后,对照组和PQ组大鼠灌胃2%二甲基亚砜(DMSO)1 mL;参考文献[9,12],HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠分别灌胃金丝桃甙100 mg/kg、200 mg/kg和400 mg/kg,每天1次,共7 d。

1.4 大鼠支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,BALF)中IL-1、IL-6和MIP-2的测定

治疗7 d后,大鼠左气管插管,PBS灌洗肺3次,收集BALF,于4 ℃下以1500 r/min离心15 min,取上清。通过ELISA法测定BALF中IL-1、IL-6和MIP-2的水平。

1.5 大鼠肺组织中SOD和MDA的测定

治疗7 d后,采用3%戊巴比妥钠麻醉大鼠,开胸取两侧肺,右肺研磨制备匀浆,于4 ℃下以3 000 r/min离心10 min,取上清。按照试剂盒说明书检测肺组织中SOD和MDA的水平。

1.6 大鼠肺组织学染色

用4%多聚甲醛固定大鼠左肺,常规制备4 μm厚的石蜡切片。通过HE染色观察肺组织形态,通过

Masson三色染色观察肺纤维化情况，并进行纤维化评分[13]。

1.7 免疫组织化学染色

大鼠肺组织切片脱蜡和再水化后，用3%过氧化氢室温孵育15 min，0.01 mol/L柠檬酸盐缓冲液（pH 6.0）煮沸15 min，5%BSA和0.03%Triton X-100室温封闭30 min。将切片在4 ℃下与Nrf2、p-NF-κB p65和TGF-β1一抗（1∶500）孵育过夜。然后，将切片在37 ℃下与HRP偶联的IgG二抗（1∶500）孵育30 min。DAB显色，苏木素复染。在Olympus BX51光学显微镜下观察并拍照。使用Image-Pro Plus 6.0软件检测积分光密度（integral optical density,IOD）值。

1.8 Western blot检测

使用RIPA裂解液和BCA试剂盒分离和测定大鼠肺组织总蛋白。各组取等量的蛋白质（60 μg）经10% SDS-PAGE电泳分离并转移到PVDF膜。室温下用5%脱脂牛奶封闭1 h后，将膜在4 ℃下与E-cadherin（1∶2 000）、α-SMA（1∶2 000）、Vimentin（1∶1 000）、Nrf2（1∶1 000）、NF-κB p65（1∶3 000）、p-NF-κB p65（1∶3 000）、TGF-β1（1∶5 000）、Smad3（1∶5 000）、p-Smad3（1∶5 000）和GAPDH（1∶3 000）一抗孵育过夜。随后在室温下将膜与HRP偶联的IgG二抗（1∶2 000）孵育1 h。免疫条带用ECL试剂盒显影。用Image J软件分析灰度值，GAPDH作为内参蛋白。

1.9 统计学分析

数据使用SPSS 22.0统计软件分析处理。计量数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用*LSD-t*检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 金丝桃甙抑制百草枯诱导的大鼠肺部炎症反应

与对照组比较，PQ组大鼠BALF中IL-1β、IL-6和MIP-2水平升高（$P<0.05$）；与PQ组比较，HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠BALF中IL-1β、IL-6和MIP-2水平降低（$P<0.05$），变化趋势具有金丝桃甙剂量依赖性（$P<0.05$），见表1。

2.2 金丝桃甙抑制百草枯诱导的大鼠肺部氧化应激反应

与对照组比较，PQ组大鼠肺组织中SOD水平降低（$P<0.05$），MDA水平升高（$P<0.05$）；与PQ组比较，HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织中SOD水平升高（$P<0.05$），MDA水平降低（$P<0.05$），变化趋势具有金丝桃甙剂量依赖性（$P<0.05$），见表2。

表1 大鼠BALF中IL-1β、IL-6和MIP-2水平（$\bar{x}\pm s$，n=12，nmol/L）

组别	IL-1β	IL-6	MIP-2
对照组	49.84±8.85	60.39±6.79	25.07±2.85
PQ组	139.23±18.30*	115.70±16.46*	69.91±5.55*
HYP-L组	108.69±14.51*#	103.37±11.15*#	50.48±6.30*#
HYP-M组	91.76±10.14*#△	88.67±10.27*#△	45.50±4.98*#△
HYP-H组	70.30±11.17*#△▲	68.22±8.06*#△▲	33.51±3.60*#△▲
F	83.820	52.847	152.223
P	<0.001	<0.001	<0.001

*：与对照组比较，$P<0.05$；#：与PQ组比较，$P<0.05$；△：与HYP-L组比较，$P<0.05$；▲：与HYP-M组比较，$P<0.05$

表2 大鼠肺组织中SOD和MDA水平（$\bar{x}\pm s$，n=12）

组别	SOD(U/mg)	MDA(nmol/mg)
对照组	3.03±0.19	1.32±0.10
PQ组	1.16±0.16*	6.53±0.83*
HYP-L组	1.68±0.15*#	4.70±0.53*#
HYP-M组	2.18±0.20*#△	3.92±0.28*#△
HYP-H组	2.53±0.19*#△▲	2.71±0.31*#△▲
F	197.397	202.208
P	<0.001	<0.001

*：与对照组比较，$P<0.05$；#：与PQ组比较，$P<0.05$；△：与HYP-L组比较，$P<0.05$；▲：与HYP-M组比较，$P<0.05$

2.3 金丝桃甙减轻百草枯诱导的大鼠肺损伤和纤维化

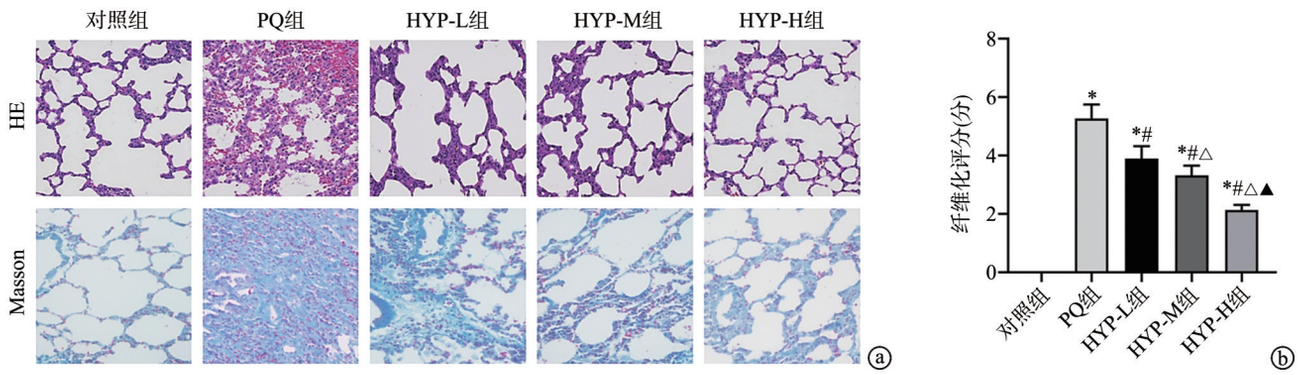
HE染色结果显示，对照组大鼠肺组织形态正常；PQ组大鼠肺组织出现肺泡出血，肺泡壁断裂、增厚、间隔水肿，出现明显炎症细胞浸润等病变；HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织损伤程度较PQ组减轻，见图1a。Masson三色染色结果显示，对照组大鼠肺组织无纤维化；PQ组大鼠肺组织出现明显纤维化；HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肝组织纤维化程度较PQ组减轻，见图1a。各组大鼠肺组织纤维化评分结果显示，与对照组比较，PQ组大鼠肺组织纤维化评分升高（$P<0.05$）；与PQ组比较，HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织纤维化评分降低（$P<0.05$），见图1b。

2.4 金丝桃甙抑制百草枯诱导的大鼠肺组织上皮-间质转化（epithelial-mesenchymal transition,EMT）过程

与对照组比较，PQ组大鼠肺组织中E-cadherin的表达水平降低（$P<0.05$），α-SMA和Vimentin的表达水平升高（$P<0.05$）；与PQ组比较，HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织中E-cadherin的表达水平升高（$P<0.05$），α-SMA和Vimentin的表达水平降低（$P<0.05$），见图2。

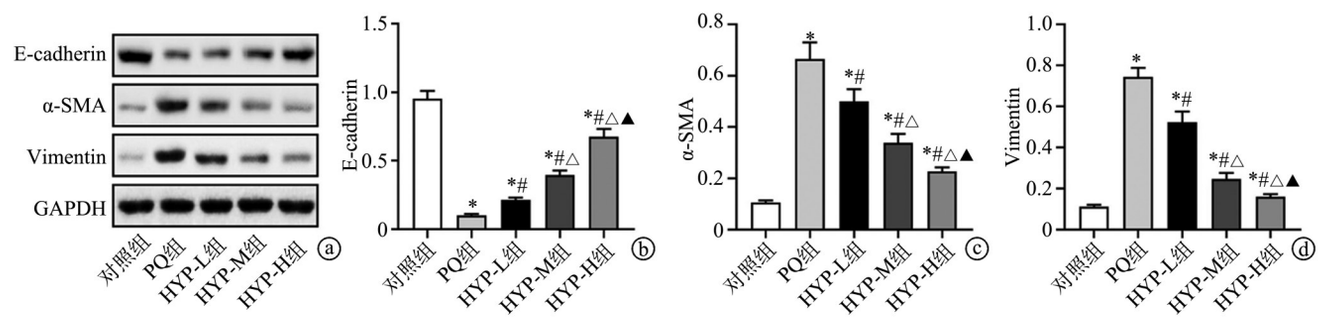
2.5 金丝桃甙激活百草枯诱导的大鼠肺组织Nrf2信号通路并抑制NF-κB和TGF-β1/Smad2/3信号通路

与对照组比较，PQ组大鼠肺组织中Nrf2的蛋白表达水平降低（$P<0.05$），TGF-β1的蛋白表达水平以及



a:HE和Masson三色染色结果(×400);b:纤维化评分 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与PQ组比较,$P<0.05$;△:与HYP-L组比较,$P<0.05$;▲:与HYP-M组比较,$P<0.05$

图1 大鼠肺组织HE染色和Masson三色染色



a:Western blot结果;b~d:E-cadherin、α-SMA和Vimentin的相对表达水平 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与PQ组比较,$P<0.05$;△:与HYP-L组比较,$P<0.05$;▲:与HYP-M组比较,$P<0.05$

图2 Western blot检测大鼠肺组织中E-cadherin、α-SMA和Vimentin的表达水平

NF-κB p65和Smad3蛋白的磷酸化水平均升高($P<0.05$);与PQ组比较,HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织中Nrf2的蛋白表达水平升高($P<0.05$),TGF-β1的蛋白表达水平以及NF-κB p65和Smad3蛋白的磷酸化水平均降低($P<0.05$),见图3。

与对照组比较,PQ组大鼠肺组织中Nrf2的IOD值降低($P<0.05$),p-NF-κB p65和TGF-β1的IOD值均升高($P<0.05$)。与PQ组比较,HYP-L组、HYP-M组和HYP-H组大鼠肺组织中Nrf2的IOD值升高($P<0.05$),p-NF-κB p65和TGF-β1的IOD值均降低($P<0.05$),见图4。

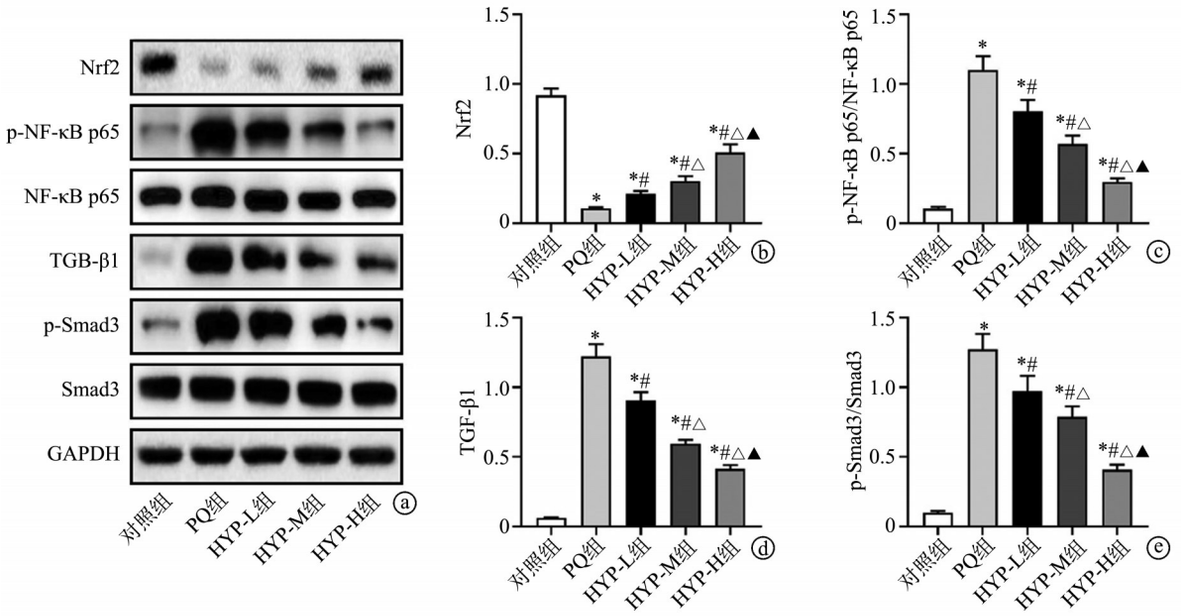
3 讨论

本研究使用3个剂量(100、200、400 mg/kg)的金丝桃甙治疗百草枯诱导的肺纤维化大鼠模型,结果显示,金丝桃甙呈剂量依赖性地减轻了百草枯诱导的大鼠肺损伤和纤维化,提示金丝桃甙可能是一种治疗百草枯中毒的天然药物。有研究报道,金丝桃甙具有对心肌[8]、肝[9]、肾[10]和肺[11]的抗纤维化作用。结合本研究结果可知,金丝桃甙可能是一种良好的抗纤维化天然药物,具有较高的研究开发价值。

过度的氧化应激和炎症反应是百草枯诱导肺损伤和纤维化的重要病理过程[14-15]。本研究结果显示,金丝桃甙上调了大鼠肺组织中抗氧化酶SOD水平,下调了膜脂质氧化产物MDA水平,有效缓解了百草枯诱导的肺氧化应激。此外,金丝桃甙下调了大鼠BALF中炎症细胞因子IL-1β[16]和IL-6[17]以及炎症细胞趋化因子MIP-2[18]水平,抑制了炎症反应。因此,金丝桃甙可能通过抑制氧化应激和炎症反应减轻百草枯诱导的肺损伤和纤维化。

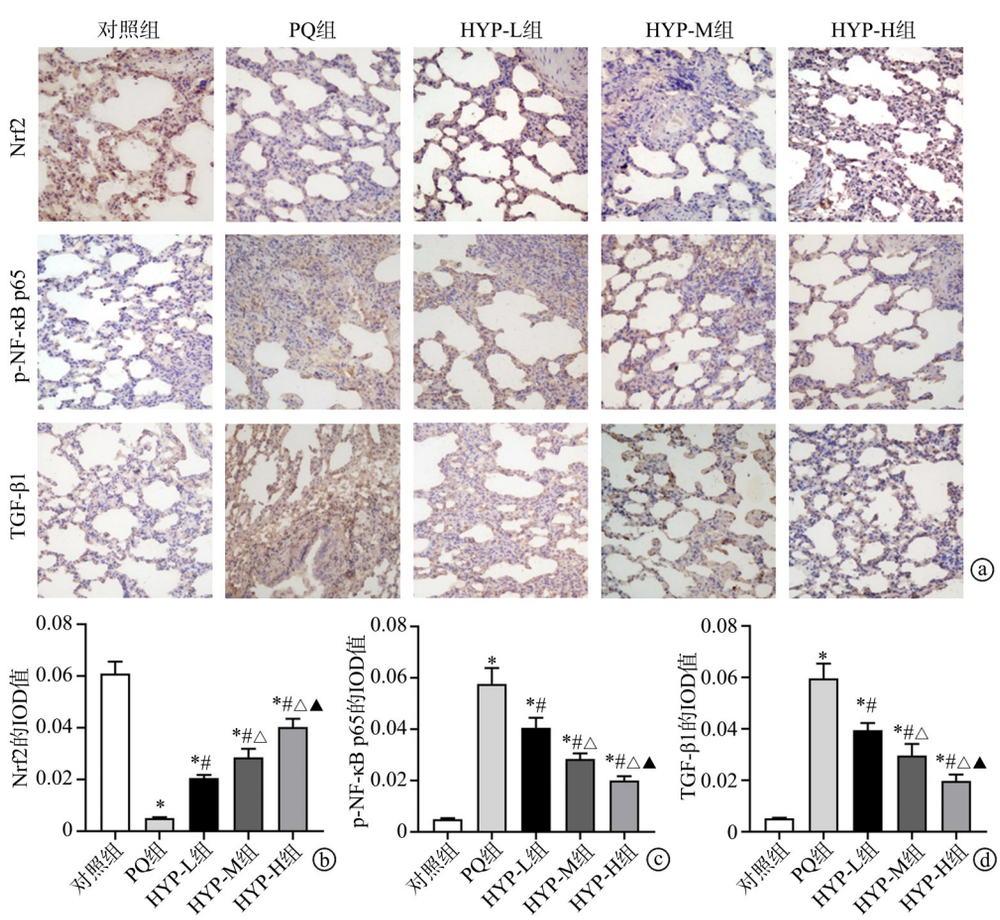
EMT在百草枯诱导的肺纤维化中起着至关重要的作用[19]。百草枯可增强大鼠肺组织中EMT标志物的表达,包括α-SMA和Vimentin[19]。有研究报道,金丝桃甙可抑制EMT过程[11]。本研究结果显示,金丝桃甙上调了大鼠肺组织中E-cadherin的表达水平,下调了α-SMA和Vimentin的表达水平,有效抑制了肺组织EMT。

Nrf2是一种可调节抗氧化系统组成成分的转录因子,在活性氧(reactive oxygen species,ROS)清除中起着关键作用。虽然百草枯可诱导Nrf2的激活和抗氧化相关基因的转录,但内源性Nrf2的激活不足以消除百草枯诱导的细胞损伤[14],并且百草枯仅在3 h内诱导



a:Western blot结果;b:Nrf2的蛋白相对表达水平;c:NF-κB p65蛋白的相对磷酸化水平;d:TGF-β1的蛋白相对表达水平;e:Smad3蛋白的相对磷酸化水平 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与PQ组比较,$P<0.05$;△:与HYP-L组比较,$P<0.05$;▲:与HYP-M组比较,$P<0.05$

图3 Western blot检测大鼠肺组织中Nrf2、p-NF-κB p65、NF-κB p65、TGF-β1、p-Smad3和Smad3的蛋白表达水平



a:免疫组化染色结果(×400);b~d:Nrf2、p-NF-κB p65和TGF-β1的IOD值 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与PQ组比较,$P<0.05$;△:与HYP-L组比较,$P<0.05$;▲:与HYP-M组比较,$P<0.05$

图4 免疫组化染色检测大鼠肺组织中Nrf2、p-NF-κB p65和TGF-β1的蛋白表达

Nrf2的表达,随着中毒时间的延长,Nrf2的活性降低[20]。因此,寻找新的依赖于Nrf2的抗氧化剂是百草枯新药研发的关键。本研究结果显示,金丝桃甙诱导了大鼠肺组织中Nrf2的表达,提示金丝桃甙可能通过激活Nrf2信号通路清除ROS,从而减轻百草枯诱导的氧化应激。目前,金丝桃甙激活Nrf2信号通路的作用已被广泛报道,本研究观点与之一致[21-23]。

NF-κB信号通路在百草枯诱导的肺损伤和炎症中起重要作用。据报道,百草枯诱导IκB家族的抑制蛋白IκBα降解和磷酸化,从而增加肺组织中NF-κB p65的水平[24]。此外,NF-κB信号通路的激活与百草枯触发的ROS的产生有关[15]。本研究结果显示,金丝桃甙抑制了大鼠肺组织NF-κB信号通路的活化,进而减轻了炎症反应。目前,金丝桃甙抑制NF-κB信号通路的作用也已被广泛报道[25-26]。

TGF-β/Smad信号通路是抗肺纤维化治疗的有效靶点,已被证明在体内和体外参与百草枯诱导的EMT[19],其通过调节EMT诱导纤维化[27]。有研究表明,金丝桃甙通过抑制TGF-β1/Smad通路减轻大鼠肝纤维化[9]。本研究结果显示,金丝桃甙抑制了大鼠肺组织TGF-β1/Smad2/3信号通路的激活,从而抑制了百草枯诱导的大鼠肺纤维化。

综上,金丝桃甙可有效减轻百草枯诱导的大鼠急性肺损伤,其可能是通过调节Nrf2、NF-κB和TGF-β1/Smad2/3信号通路减轻肺部氧化应激、炎症和纤维化。

[参考文献]

[1] Sun Z, Yang Z, Wang M, et al. Paraquat induces pulmonary fibrosis through Wnt/β-catenin signaling pathway and myofibroblast differentiation [J]. Toxicol Lett, 2020, 333: 170-183. doi: 10.1016/j.toxlet.2020.08.004.

[2] Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sánchez-Navarro A, et al. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment [J]. Crit Rev Toxicol, 2008, 38(1): 13-71. doi: 10.1080/10408440701669959.

[3] Liu X, Yang H, Liu Z. Signaling pathways involved in paraquat-induced pulmonary toxicity: molecular mechanisms and potential therapeutic drugs [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 113(Pt A): 109301. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109301.

[4] Tai W, Deng S, Wu W, et al. Rapamycin attenuates the paraquat-induced pulmonary fibrosisthrough activating Nrf2 pathway [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(2): 1759-1768. doi: 10.1002/jcp.29094.

[5] Jin H. Imrecoxib inhibits paraquat-induced pulmonary fibrosis through the NF-κB/Snail signaling pathway [J]. Comput Math Methods Med, 2020, 2020: 6374014. doi: 10.1155/2020/6374014.

[6] Bai YW, Ye MJ, Yang DL, et al. Hydrogen sulfide attenuates paraquat-induced epithelial-mesenchymal transition of human alveolar epithelial cells through regulating transforming growth factor-β1/Smad2/3 signaling pathway [J]. J Appl Toxicol, 2019, 39(3): 432-440. doi: 10.1002/jat.3734.

[7] Wang Q, Wei HC, Zhou SJ, et al. Hyperoside: A review on its sources, biological activities, and molecular mechanisms [J]. Phytother Res, 2022, 36(7): 2779-2802. doi: 10.1002/ptr.7478.

[8] Wang X, Liu Y, Xiao L, et al. Hyperoside protects against pressure overload-induced cardiac remodeling via the AKT signaling pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51(2): 827-841. doi: 10.1159/000495368.

[9] Guo X, Zhu C, Liu X, et al. Hyperoside protects against heart failure-induced liver fibrosis in rats [J]. Acta Histochem, 2019, 121(7): 804-811. doi: 10.1016/j.acthis.2019.07.005.

[10] Yan Y, Feng Y, Li W, et al. Protective effects of quercetin and hyperoside on renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(3): 727-730. doi: 10.3892/etm.2014.1841.

[11] Huang J, Tong X, Zhang L, et al. Hyperoside attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis development in mice [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 550955. doi: 10.3389/fphar.2020.550955.

[12] Zou L, Chen S, Li L, et al. The protective effect of hyperoside on carbon tetrachloride-induced chronic liver fibrosis in mice via upregulation of Nrf2 [J]. Exp Toxicol Pathol, 2017, 69(7): 451-460. doi: 10.1016/j.etp.2017.04.001.

[13] Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale [J]. J Clin Pathol, 1988, 41(4): 467-470. doi: 10.1136/jcp.41.4.467.

[14] Podder B, Kim YS, Zerin T, et al. Antioxidant effect of silymarin on paraquat-induced human lung adenocarcinoma A549 cell line [J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(9): 3206-3214. doi: 10.1016/j.fct.2012.06.007.

[15] Zhu Y, Meng X, Yang W, et al. HIF-1α promotes paraquat induced acute lung injury and implicates a role NF-κB and Rac2 activity [J]. Toxicology, 2023, 483: 153388. doi: 10.1016/j.tox.2022.153388.

[16] Klueh U, Antar O, Qiao Y, et al. Role of interleukin-1/interleukin-1 receptor antagonist family of cytokines in long-term continuous glucose monitoring in vivo [J]. J Diabetes Sci Technol, 2013, 7(6): 1538-1546. doi: 10.1177/193229681300700614.

[17] Miao JW, Liu LJ, Huang J. Interleukin-6-induced epithelial-mesenchymal transition through signal transducer and activator of transcription 3 in human cervical carcinoma [J]. Int J Oncol, 2014, 45(1): 165-176. doi: 10.3892/ijo.2014.2422.

[18] Fu PK, Yang CY, Tsai TH, et al. Moutan cortex radicis improves lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats through anti-inflammation [J]. Phytomedicine, 2012, 19(13): 1206-1215. doi: 10.1016/j.phymed.2012.07.013.

[19] Han YY, Shen P, Chang WX. Involvement of epithelial-to-mesenchymal transition and associated transforming growth factor-β/Smad signaling in paraquat-induced pulmonary fibrosis [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(6): 7979-7984. doi: 10.3892/mmr.2015.4454.