

热毒宁注射液对 LPS 诱导 ALI/ARDS 小鼠 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的影响

游丽娇, 袁林*, 杨小芳, 耿欢, 马宇慧, 孟佳磊, 雷鸣
(上海中医药大学附属第七人民医院, 上海 200137)

摘要: **目的** 探讨热毒宁注射液对 LPS 诱导急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征 (ALI/ARDS) 小鼠肺损伤的保护作用及对 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的影响。**方法** 将小鼠随机分为对照组、模型组、热毒宁注射液组、地塞米松 (阳性药) 组, 每组 6 只, 气管注射 LPS 溶液制备 ALI/ARDS 模型, 造模后 3 h 给予各组相应药物, 连续干预 7 d 后, 检测小鼠肺湿/干重比、肺组织 MPO 活性及血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6 (IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β) 水平, HE 染色观察肺组织病理改变, Western blot 法检测肺组织 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 蛋白表达。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠肺湿/干重比、肺组织 MPO 活性、血清炎症因子水平和肺组织 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 蛋白表达均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 肺泡腔增大, 肺泡壁增厚, 肺部有大量的炎性细胞浸润; 与模型组比较, 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠肺湿/干重比、肺组织 MPO 活性、血清炎症因子水平和肺组织 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$), 肺组织病理损伤得到改善。**结论** 热毒宁注射液可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路改善 LPS 诱导的 ALI/ARDS 小鼠炎症损伤。

关键词: 热毒宁注射液; 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征 (ALI/ARDS); 炎症因子; TLR4/MyD88/NF- κ B 通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)05-1625-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.040

急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征 (acute lung injury / acute respiratory distress syndrome, ALI/ARDS) 是常见的呼吸系统疾病^[1]。全球每年患病人数约 300 万人, 死亡率 35%~46%^[2]。ALI/ARDS 以非心源性肺水肿和广泛的炎症为病理特征^[3], 肺部 (直接) 和全身 (间接) 感染是其主要危险因素。感染发生时大量的免疫细胞 (巨噬细胞、单核细胞)、中性粒细胞募集于肺部, 引起肺部炎症风暴。已有研究表明, TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的激活与 ALI/ARDS 发生发展有关^[4]。NF- κ B 控制潜在炎症反应的启动和发展, 在静息状态下, p65/p50 异源二聚体主要存在于与 NF- κ B 抑制蛋白 α (I κ B α) 结合的细胞质中^[5]。当有病原相关分子如 LPS 刺激时, NF- κ B 上游最关键的激酶 I κ B 激酶 β (IKK β) 发生磷酸化, 导致 p65/p50 二聚体转移到细胞核, 并促进促炎细胞因子 (如 TNF- α 、IL-1 β 等) 表达。在 ALI/ARDS 早期, 这种正反馈级联放大环路出现在肺部, 导致肺部过度炎症反应, 造成严重的肺损伤。因此, 阻断 NF- κ B 信号通路是减少 ALI/ARDS 炎性损伤的有效策略。

热毒宁注射液是由青蒿、金银花、栀子三味中药组成, 具有清热、疏风、解毒的功效^[6]。已有报道热毒宁注射液可以改善合胞病毒感染的肺炎^[7]、支原体肺炎^[8]、慢性阻塞性肺疾病^[9]等呼吸系统疾病。本研究旨在探讨热毒宁注射液抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路改善 LPS 诱导 ALI/ARDS 的炎性损伤。

1 材料

1.1 动物 24 只 SPF 级 BALB/c 小鼠, 6~8 周龄, 雄性, 体质量 18~20 g, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0011, 饲养于上海中医药大学动物实验中心, 环境相对湿度 50%~60%, 温度 25 $^{\circ}$ C, 自由摄食饮水。本次动物实验通过上海中医药大学实验动物伦理委员会批准。

1.2 药物 热毒宁注射液 (批号 140103) 购于江苏康缘药业股份有限公司; 脂多糖 (LPS, 批号 O111; B4) 购于美国 Sigma 公司; 地塞米松磷酸钠注射液购于河南润弘制药股份有限公司, 均用 0.9% 生理盐水配制。

1.3 试剂 髓过氧化物酶 (MPO) 检测试剂盒 (南京建

收稿日期: 2021-08-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973649, 82174189); 上海市卫健委中医专科联盟建设项目 [ZY-(2021-2023)-0302]; 急救与创伤研究教育部重点实验室 (海南医学院) 开放基金项目 (KLET-202115); 上海市浦东新区卫生系统领先人才培养计划 (pwr12019-02); 上海市浦东新区卫生系统学科建设 (PWZy2020-07); 上海市浦东新区科技和经济委员会 (PKJ2020-Y65); 上海市第七人民医院人才培养项目 (xx2022-12); 上海市浦东新区国家中医药发展综合改革试验区项目 (PDZY-2022-0701)

作者简介: 游丽娇 (1994—), 女, 硕士, 住院医师, 从事中西医结合急危重症的研究。Tel: 18616826191, E-mail: youlijiao6191@163.com

* **通信作者:** 袁林 (1983—), 女, 硕士, 主治医师, 从事中西医结合急危重症的研究。Tel: 18801792052, E-mail: 18801792052@163.com

成生物工程研究所有限公司, 货号 A044-1-1); 小鼠 IL-1 β 、TNF α 、IL-6 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (北京达科为生物技术有限公司, 批号 1210122、1217202、1210602); 核蛋白提取试剂盒 (江苏凯基生物技术股份有限公司, 货号 KGP1501); BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Thermo Fisher 公司, 批号 23227); 兔抗 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65、 β -肌动蛋白 (β -actin) 单克隆抗体、anti-rabbit IgG 抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 货号 14358S、4283S、2078S、8242T、3033T、4970S、7074S); ECL 化学发光试剂盒 (上海雅酶生物科技有限公司, 批号 014711000)。

1.4 仪器 -80 $^{\circ}$ C 冰箱 (上海海尔医疗科技有限公司, 型号 DW-88L626); 4 $^{\circ}$ C 离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号 5811GM982170); 多功能酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司, 型号 MQ05267); 雪花制冰机 (日本松下公司, 型号 SIM-F140AY65-PC); 快速组织细胞破碎仪 (天津欧诺仪器股份有限公司, 型号 HX-21G); 超纯水仪 (美国 Millipore 公司, 型号 Milli-Q Direct 8); 电泳仪、电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司); 显影仪 (美国 GE 公司, 型号 A1600); 恒温烘箱 (上海恒一科学仪器有限公司, 型号 DHG-9023A); 石蜡切片机、推片机 (湖北徕克医疗仪器有限公司, 型号 SQ2125、PPTHK-21B); 正置显微镜 (日本 Nikon 公司, 型号 Eclipse Ni)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药 24 只 BALB/c 雄性小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组 (生理盐水)、模型组、热毒宁注射液组、地塞米松组, 每组 6 只。术前 12 h 禁食, 采用气管注射 LPS 溶液 (5 mg/kg) 的方法制备 ALL/ARDS 小鼠模型^[10]; 对照组气管注射等量 0.9% 生理盐水。于造模 3 h 后开始给药, 对照组和模型组腹腔注射生理盐水; 热毒宁注射液组腹腔注射 7.2 mL/kg 热毒宁注射液^[11]; 地塞米松组腹腔注射 3 mg/kg 地塞米松磷酸钠注射液, 每只 0.2 mL, 每天 1 次, 连续给药 7 d。

2.2 肺湿/干重比检测 给药 7 d 后, 小鼠取血, 处死, 分离肺脏, 用吸水纸吸干肺脏表面血液后称重。剪取右肺 (下叶), 称重, 即肺组织湿重, 然后将肺脏置于 65 $^{\circ}$ C 烘箱中烘烤 72 h, 称重, 即肺组织干重。肺水肿的评估依据为湿/干重比值。

2.3 肺组织 MPO 活性检测 按照试剂盒说明书制备肺组织匀浆, 配制试剂后, 样品于紫外分光光度计 460 nm 波长处检测 OD 值, 计算 MPO 活性, 公式为 $MPO = (OD_{\text{样品}} - OD_{\text{对照}}) / (11.3 \times \text{取样量})$ 。

2.4 炎症因子水平检测 取小鼠血液, 离心后取血清, 按 ELISA 试剂盒说明书检测血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

2.5 HE 染色观察肺组织形态 小鼠肺组织置于 10% 福尔马林中浸泡 48 h, 梯度乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡包埋、切片、烤片脱蜡、苏木素和伊红染色、树胶封片后, 显微镜下观察并拍照, 对每组肺组织病理变化进行评分。根据

肺组织充血、肺泡腔破坏、肺泡壁增厚、中性粒细胞浸润等病理损害将肺组织损伤程度分 5 个等级^[12], 即 0 分, 无损伤; 1 分, <25% 肺组织损伤; 2 分, 25%~50% 肺组织损伤; 3 分, 50%~75% 肺组织损伤; 4 分, >75% 肺组织存在损伤。以累积病变的总评分为 ALL/ARDS 病理评分, 分数越高, 损伤越严重。

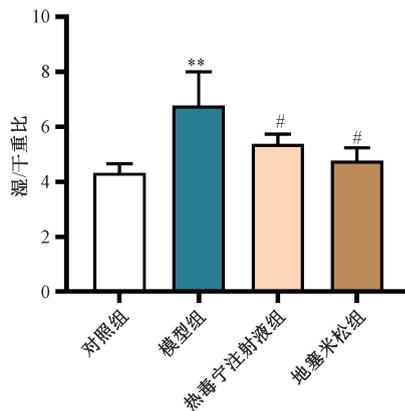
2.6 Western blot 法检测肺组织 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 蛋白表达 取适量小鼠肺组织, 加 RIPA 裂解液 (含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂) 匀浆, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清蛋白裂解液, BCA 法定量, 蛋白样本经 SDS-PAGE 凝胶电泳, 然后转膜, 5% 脱脂奶粉溶液封闭 1 h, TBST 洗涤, 加入相应一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日 TBST 洗涤, 加入二抗室温孵育 1 h, TBST 洗涤后加 ECL 发光试剂, 显影, 采用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值, 计算目的条带灰度值与内参条带灰度值比值。

2.7 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。P<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠一般情况 对照组小鼠饮食正常, 活动自如; 模型组小鼠出现耸毛, 毛发无光泽、灰暗, 精神萎靡, 呼吸短促, 并且出现嗜睡、喜欢扎堆抱团、不思饮食、便溏、双眼紧闭且有大量分泌物等现象, 体质量较 7 d 前明显减轻; 与模型组比较, 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠精神状态、进食量明显改善。

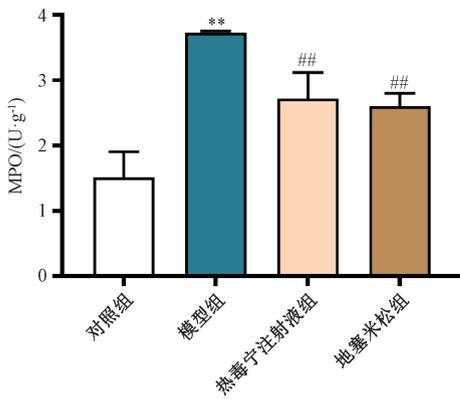
3.2 热毒宁注射液对 ALL/ARDS 小鼠肺水肿的影响 与对照组比较, 模型组小鼠肺湿/干重比升高 (P<0.01); 与模型组比较, 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠肺湿/干重比降低 (P<0.05), 表明热毒宁注射液能够缓解肺水肿的发生, 见图 1。



注: 与对照组比较, **P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05。

图 1 热毒宁注射液对小鼠肺湿/干重比的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=6)

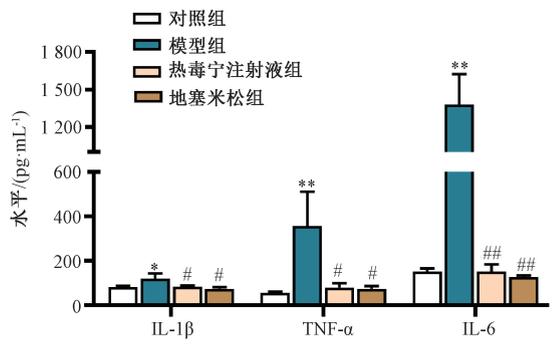
3.3 热毒宁注射液对 ALL/ARDS 小鼠肺组织 MPO 活性的影响 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织 MPO 活性升高 (P<0.01); 与模型组比较, 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠肺组织 MPO 活性降低 (P<0.01), 见图 2。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$ 。

图2 热毒宁注射液对小鼠肺组织 MPO 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

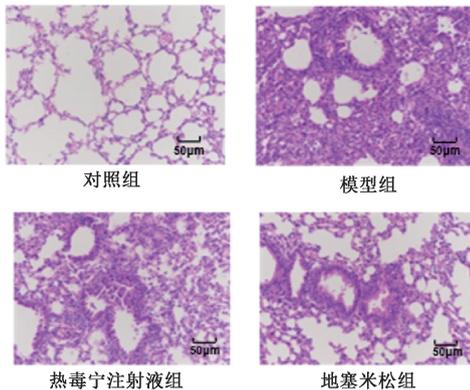
3.4 热毒宁注射液对 ALI/ARDS 小鼠血清炎性因子水平的影响 与对照组比较, 模型组小鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平均升高 ($P < 0.05, P < 0.01$); 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平均降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 表明热毒宁注射液能够改善 ALI/ARDS 的“炎症风暴”, 见图 3。



注:与对照组比较, * $P < 0.05, ** P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05, ## P < 0.01$ 。

图3 热毒宁注射液对小鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.5 热毒宁注射液对 ALI/ARDS 小鼠肺组织病理损伤的影响 对照组小鼠肺组织结构完整, 肺泡腔清晰, 肺泡壁无充血水肿以及炎性细胞浸润; 模型组小鼠肺泡结构破坏, 肺泡壁充血水肿, 且伴有炎性细胞浸润, 出现明显的肺损伤; 与模型组比较, 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠肺组织病理损伤均有改善, 肺组织结构与对照组相似, 见图 4。



注:与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图4 热毒宁注射液对小鼠肺组织病理损伤的影响 ($\times 200, \bar{x} \pm s, n = 6$)

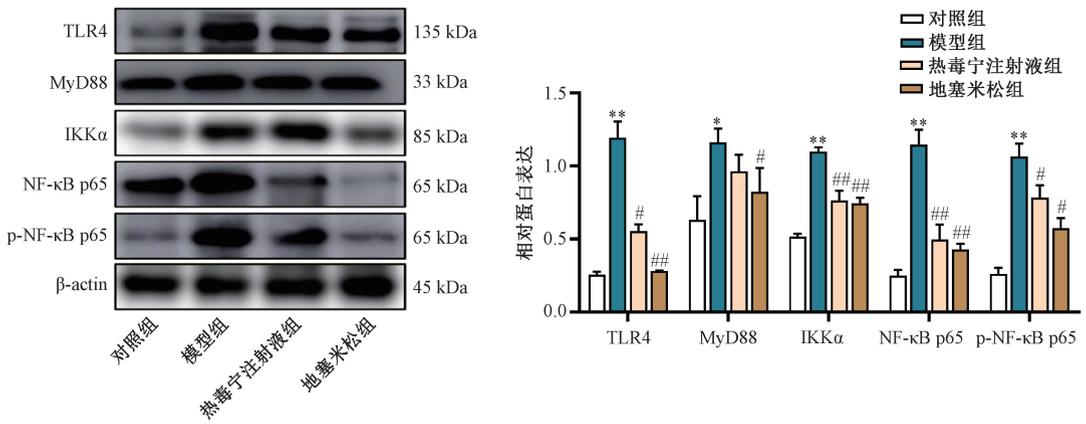
3.6 热毒宁注射液对 ALI/ARDS 小鼠肺组织 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P < 0.05, P < 0.01$), 表明 LPS 激活了 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路; 与模型组比较, 热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠肺组织 TLR4、MyD88、IKK α 、NF- κ B p65、p-NF- κ B p65 蛋白表达量降低 ($P < 0.05, P < 0.01$), 表明热毒宁注射液和地塞米松能抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路, 见图 5。

4 讨论

ALI/ARDS 是一种以肺水肿和炎症细胞浸润 (特别是中性粒细胞浸润) 为特征的危及生命的疾病。该疾病进展过程中, 大量的细胞因子和趋化因子被诱导表达, 导致不可控的炎症反应^[13]。目前主要的治疗策略是原发病控制、

炎症反应抑制、呼吸支持、体液管理、激素治疗等, 但因药物的毒副作用大, 预后差^[14]。现代医家选用中药联合治疗, 以期缩短病程, 改善预后, 减少病死率^[15]。热毒宁注射液作为一种中药注射剂, 具有清热解毒、疏风解表的功效, 可以保护肺组织免受严重的炎症介导损伤并且能加速肺部炎症反应的消退。

LPS 是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要成分之一, 当感染 LPS 时, 炎症介质释放的炎症级联反应的激活与 ALI/ARDS 的发生发展密切相关^[16]。气管内 LPS 刺激导致炎症细胞, 特别是肺泡巨噬细胞的快速激活, 导致炎症介质的形成, 随后中性粒细胞招募和组织损伤^[17]。在 ALI/ARDS 疾病中, 肺泡巨噬细胞被激活, 导致大量促炎介质的分泌, 这些促炎介质导致多形核白细胞从血液进入肺组织, 最终使肺微血管通透性增加, 肺内出血, 富含蛋白质的水肿液



注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图5 热毒宁注射液对小鼠肺组织 TLR4/MyD88/NF-κB 通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

和纤维蛋白积累^[18]。本研究发现，与模型组比较，热毒宁注射液组和阳性药地塞米松组小鼠肺湿/干重比和 MPO 活性均降低，表明热毒宁注射液能改善肺水肿、肺部血管通透性和中性粒细胞招募。热毒宁注射液组和地塞米松组小鼠肺部病理变化、炎性细胞浸润、肺泡腔的破坏程度以及血清炎性因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平均有改善，这可能与热毒宁注射液阻断炎性细胞募集肺部有关。

LPS 诱导 ALL/ARDS 的可能机制是通过激活 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路以增加包括 IL-6、IL-1β、TNF-α 在内的许多细胞因子的表达。内毒素首先与 Toll 样受体 4 (TLR4) 结合，TLR4 可以通过募集细胞内衔接子蛋白髓样分化初级反应基因 88 (MyD88) 来激活 IKK 复合体 (IKKα)，后者将 IκB 蛋白磷酸化并降解，导致 NF-κB 的释放，然后从胞质转位到细胞核，启动促炎基因的转录，并上调许多促炎细胞因子的表达^[19-21]。本研究表明，热毒宁注射液可以抑制 TLR4、MyD88、IKKα、NF-κB p65、p-NF-κB p65 的表达，进而减少炎症级联反应。

综上所述，热毒宁注射液能够减轻 LPS 诱导 ALL/ARDS 相关的炎性损伤，其机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 通路的激活有关，这为今后热毒宁注射液在临床中治疗 ALL/ARDS 提供基础依据。

参考文献:

[1] Root-Bernstein R. Innate receptor activation patterns involving TLR and NLR synergisms in COVID-19, ALL/ARDS and sepsis cytokine storms: A review and model making novel predictions and therapeutic suggestions [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (4): 2108.

[2] Bellan G, Laffey J G, Pham T, et al. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries[J]. *J Am Med Assoc*, 2016, 315(8): 788-800.

[3] Chambers E D, White A, Vang A, et al. Blockade of equilibrative nucleoside transporter 1/2 protects against *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung injury and NLRP3

inflammasome activation [J]. *FASEB J*, 2020, 34 (1): 1516-1531.

[4] Gross C M, Kellner M, Wang T, et al. LPS-induced acute lung injury involves NF-κB-mediated downregulation of SOX18 [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 58(5): 614-624.

[5] Chen Z Y, Amro E M, Becker F, et al. Cohesin-mediated NF-κB signaling limits hematopoietic stem cell self-renewal in aging and inflammation[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(1): 152-175.

[6] 安会杰, 邹江冰, 黄雪峰, 等. 基于细胞色素 P450 酶的新型冠状病毒肺炎治疗用中药注射剂与心血管病常用化学药潜在相互作用分析[J]. *中草药*, 2021, 52(7): 2178-2183.

[7] 范建荣, 毕研龙, 范铭兴, 等. 热毒宁联合雾化重组人干扰素 α-1b 对儿童呼吸道合胞病毒感染肺炎的疗效及免疫功能影响[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(11): 189-192.

[8] 张永法, 张海军, 蔺萃, 等. 热毒宁联合小儿定喘口服液治疗儿童支原体肺炎的疗效及对 Th1/Th2 免疫应答的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2021, 30(2): 181-183; 187.

[9] 唐欢. 热毒宁注射液在慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中的疗效观察及对炎性因子和肺功能的影响研究 [J]. *山西医药杂志*, 2021, 50(2): 257-260.

[10] Chen R D, Xie F, Zhao J, et al. Suppressed nuclear factor-kappa B alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through downregulation of CXCR4 mediated by microRNA-194 [J]. *Respir Res*, 2020, 21(1): 144.

[11] 左丽娜, 陈玉玲, 张文辉. 热毒宁注射液抑制肺内鼠巨细胞病毒的复制增殖并下调 IFN-γ 及 IL-6 的表达[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 29(12): 1242-1244; 1250.

[12] 叶嘉. Nogo-B 在急性肺损伤肺泡上皮细胞凋亡中的作用 [D]. 上海: 第二军医大学, 2015.

[13] Xu F, Liu Q, Lin S H, et al. IL-27 is elevated in acute lung injury and mediates inflammation[J]. *J Clin Immunol*, 2013, 33(7): 1257-1268.

[14] Wang C, Wang X R, Long X S, et al. Publication trends of research on acute lung injury and acute respiratory distress syndrome during 2009-2019: a 10-year bibliometric analysis[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(10): 6366-6380.

[15] 孙德阳, 杨洋, 梁群. 中医药治疗脓毒症急性肺损伤的

- 研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(5): 1108-1110.
- [16] Wu D Q, Wu H B, Zhang M, et al. Effects of zinc finger protein A20 on lipopolysaccharide (LPS) -induced pulmonary inflammation/anti-inflammatory mediators in an acute lung injury/acute respiratory distress syndrome rat model[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 3536-3545.
- [17] Krupa A, Fol M, Rahman M, et al. Silencing Bruton's tyrosine kinase in alveolar neutrophils protects mice from LPS/immune complex-induced acute lung injury[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 307(6): L435-L448.
- [18] Joshi J C, Joshi B, Rochford I, et al. SPHK2-generated S1P in CD11b⁺ macrophages blocks STING to suppress the inflammatory function of alveolar macrophages[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(12): 4096-4109.
- [19] Griffin C, Eter L, Lanzetta N, et al. TLR4, TRIF, and MyD88 are essential for myelopoiesis and CD11c⁺ adipose tissue macrophage production in obese mice[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(23): 8775-8786.
- [20] Liu H Y, Chen K, Feng W Q, et al. TLR4-MyD88/Mal-NF- κ B axis is involved in infection of HSV-2 in human cervical epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80327.
- [21] Chen Z, Dong W H, Wu Q, et al. Two-layer regulation of TRAF6 mediated by both TLR4/NF- κ B signaling and miR-589-5p increases proinflammatory cytokines in the pathology of severe acute pancreatitis [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(6): 2379-2395.

镰形棘豆总黄酮对特发性肺纤维化大鼠的影响

王彦君^{1,2}, 李杨¹, 王雪林³, 李欣泽¹, 梁乾坤¹, 陈彦文¹, 杨玲玲¹, 明海霞^{1,4,5*}

[1. 甘肃中医药大学基础医学院, 甘肃兰州 730000; 2. 甘肃中医药大学附属医院重症医学科, 甘肃兰州 730000; 3. 陕西中医药大学第二附属医院(西咸新区中心医院), 陕西咸阳 710075; 4. 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究重点实验室, 甘肃兰州 730000; 5. 甘肃中医药大学中西医结合研究所, 甘肃兰州 730000]

摘要: **目的** 探讨镰形棘豆总黄酮对博来霉素所致特发性肺纤维化(IPF)大鼠的影响。**方法** 将大鼠随机分为空白组、模型组、醋酸泼尼松组(阳性对照, 20 mg/kg)及镰形棘豆总黄酮低、中、高剂量组(100、200、400 mg/kg), 每组10只。除空白组外, 其余各组经气管单次滴注博来霉素(5 mg/kg)进行造模; 第15天开始, 镰形棘豆总黄酮组和醋酸泼尼松组灌胃相应剂量药液, 空白组和模型组灌胃等量生理盐水, 每天1次, 连续28 d。第29天, 处死所有大鼠, HE染色观察肺泡炎症程度, 透射电镜观察肺组织超微结构, Western blot、RT-qPCR法检测p-JAK1、p-STAT1蛋白及JAK1、STAT1 mRNA表达。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠肺组织肺泡炎性细胞浸润评分、肺组织p-JAK1、p-STAT1蛋白与JAK1、STAT1 mRNA表达升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 镰形棘豆总黄酮中、高剂量组及醋酸泼尼松组大鼠肺组织肺泡炎性细胞浸润评分、肺组织p-JAK1、p-STAT1蛋白与JAK1、STAT1 mRNA表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 镰形棘豆总黄酮可能通过降低JAK1、STAT1表达改善IPF大鼠肺损伤。

关键词: 镰形棘豆总黄酮; 特发性肺纤维化; JAK1; STAT1

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)05-1629-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.041

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种以渐进性呼吸困难为特点的慢性间质性肺疾病, 最终发展至呼吸衰竭而死亡^[1-2]。IPF的病因及发病机制目前仍不明确^[3]。多数学者认为IPF的发生与肺泡上皮损伤, 释放炎性因子, 促进成纤维细胞增殖并向肌成纤维细胞分化, 致细胞外基质过度沉积相关^[4]。

研究表明, 在众多的信号通路中, IPF的发生与Janus激酶信号转导子和转录激活子(JAK/STAT)信号转导途径密切相关^[5-6]。JAK/STAT信号通路参与炎症过程^[7]。肺泡II型上皮细胞(alveolar type II epithelial cells, AEC II)对维持肺功能正常起关键作用^[8]。因此, 观察AEC II的变化也可间接做为评判肺功能的参考指标之一。

收稿日期: 2022-02-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81860830)

作者简介: 王彦君(1995—), 女, 硕士, 研究方向为常见肺系疾病的中医药防治。Tel: 18794855083, E-mail: 1834027326@qq.com

* **通信作者:** 明海霞(1976—), 女, 教授, 博士, 研究方向为肿瘤生物学性状及常见肺系疾病的中医药防治。Tel: (0931) 5161218,

E-mail: 18909429885@163.com