

引用本文:张静,李静,侯红丽,等.黄芩苷改善呼吸道合胞病毒肺炎幼鼠肺损伤的作用机制[J].安徽医药,2024,28(5):904-908.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.05.012.



◇ 药学研究 ◇

黄芩苷改善呼吸道合胞病毒肺炎幼鼠肺损伤的作用机制

张静^{1a},李静^{1a},侯红丽^{1b},朱宏瑞²

作者单位:¹开封市儿童医院,^a中医科,^b感染科,河南 开封 475000;

²郑州儿童医院、河南省儿童医院、郑州大学附属儿童医院新生儿科,河南 郑州 450053

基金项目:河南省医学科技攻关计划(联合共建项目)(2018020664)

摘要 **目的** 探讨黄芩苷对呼吸道合胞病毒(RSV)肺炎幼鼠肺损伤的改善作用及其可能作用机制。**方法** 2022年3月至2023年7月自杭州子源实验动物科技有限公司购入55只4周龄SPF级雄性SD大鼠,选取其中45只鼻腔接种50 μ L RSV建立RSV肺炎幼鼠模型,造模成功幼鼠采用随机数字表法分为模型组、黄芩苷低、中和高剂量组,各10只,另设对照组(10只),给予相应药物进行干预,1次/天,连续7 d。称取各组幼鼠肺质量,并计算肺指数;肺组织烘干后计算肺组织湿/干比(W/D)评定肺水肿;ELISA法检测幼鼠肺泡灌洗液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和白细胞介素-6(IL-6)水平;流式细胞仪检测幼鼠外周血中T细胞亚群;HE染色观察各组大鼠肺组织病理变化;RT-qPCR和蛋白质印迹法分别检测大鼠肺组织中p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)及其磷酸化mRNA和蛋白表达情况。**结果** 黄芩苷低剂量组幼鼠肺指数、肺组织W/D、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺、p38MAPK mRNA表达和p-p38MAPK蛋白表达水平[(1.05 $\pm$ 0.06)%、(6.13 $\pm$ 0.40)、(392.37 $\pm$ 20.82)ng/L、(72.85 $\pm$ 4.82)ng/L、(103.29 $\pm$ 8.59)ng/L、(25.85 $\pm$ 1.50)%、(3.98 $\pm$ 0.33、0.65 $\pm$ 0.08)],中剂量组[(0.81 $\pm$ 0.06)%、(5.62 $\pm$ 0.41)、(308.17 $\pm$ 18.87)ng/L、(57.59 $\pm$ 4.14)ng/L、(82.36 $\pm$ 6.05)ng/L、(23.59 $\pm$ 1.30)%、(3.36 $\pm$ 0.36、0.54 $\pm$ 0.06)],高剂量组[(0.72 $\pm$ 0.05)%、(4.03 $\pm$ 0.30)、(246.87 $\pm$ 16.44)ng/L、(42.15 $\pm$ 3.33)ng/L、(56.17 $\pm$ 5.13)ng/L、(20.16 $\pm$ 0.99)%、(2.17 $\pm$ 0.24、0.42 $\pm$ 0.05)]均显著低于模型组[(1.43 $\pm$ 0.09)%、(7.82 $\pm$ 0.37)、(487.85 $\pm$ 25.77)ng/L、(91.24 $\pm$ 7.41)ng/L、(132.75 $\pm$ 9.70)ng/L、(27.24 $\pm$ 1.72)%、(4.75 $\pm$ 0.40、0.78 $\pm$ 0.11)](P <0.05);黄芩苷低剂量组幼鼠体质量、CD3⁺水平[(78.05 $\pm$ 1.46)g、(49.66 $\pm$ 0.89)%],中剂量组[(86.04 $\pm$ 2.31)g、(51.17 $\pm$ 1.04)%],高剂量组[(99.34 $\pm$ 2.08)g、(54.87 $\pm$ 1.25)%]均显著高于模型组[(72.53 $\pm$ 1.56)g、(46.25 $\pm$ 0.82)%](P <0.05)。**结论** 黄芩苷能够降低RSV肺炎幼鼠炎症因子水平,调节T淋巴细胞亚群比例,减轻肺损伤,可能是通过影响p38MAPK信号通路发挥作用。

关键词 黄芩; 黄芩苷; 呼吸道合胞病毒; 肺炎; 肺损伤; p38丝裂原活化蛋白激酶

Baicalin mediates the differentiation of T lymphocyte subsets through p38MAPK signaling pathway to improve lung injury in young rats with respiratory syncytial virus pneumonia

ZHANG Jing^{1a}, LI Jing^{1a}, HOU Hongli^{1b}, ZHU Hongrui²

Author Affiliations:^{1a}Department of Traditional Chinese Medicine,^{1b}Department of Infection, Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng, He'nan 475000, China; ²Department of Neonatology, Zhengzhou Children's Hospital, Henan Children's Hospital, Affiliated Children's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, He'nan 450053, China

Abstract **Objective** To investigate the ameliorative effect of Baicalin on lung injury in young rats with respiratory syncytial virus (RSV) pneumonia and its possible mechanism. **Methods** From March 2022 to July 2023, fifty 4-week-old SPF male SD rats were purchased from Hangzhou Ziyuan Laboratory Animal Technology Co., LTD. Forty-five of them were selected for nasal inoculation with 50 μ L RSV to establish a RSV pneumonia model. The successful young rats were randomly divided into model group, low, medium and high dose of Baicalin groups, with 10 rats in each group, and another control group (10 rats), and the corresponding drugs were given for intervention, once a day for 7 days. The lung mass of young rats in each group was weighed and the lung index was calculated; After the lung tissue was dried, the Wet/Dry ratio (W/D) of lung tissue was calculated to evaluate pulmonary edema; The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-6 (IL-6) in alveolar lavage fluid of rats was detected by ELISA; T cell subsets in peripheral blood of young rats were detected by flow cytometry; The pathological changes of lung tissue was observed by HE staining; RT qPCR and Western blot were used to detect the expression of p38 mitogen activated protein kinase (p38MAPK) and its phosphorylated mRNA and protein in rat lung tissue. **Results** Lung index, lung tissue W/D, TNF- α , IL-1 β , IL-6, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, p38MAPK mRNA expression and p-p38MAPK protein expression levels in baicalin low-dose group [(1.05 $\pm$ 0.06)%、(6.13 $\pm$ 0.40)、(392.37 $\pm$ 20.82)ng/

L, (72.85±4.82)ng/L, (103.29±8.59)ng/L, (25.85±1.50)%, (3.98±0.33, 0.65±0.08)], baicalin medium-dose group[(0.81±0.06)%, (5.62±0.41), (308.17±18.87)ng/L, (57.59±4.14)ng/L, (82.36±6.05)ng/L, (23.59±1.30)%, (3.36±0.36, 0.54±0.06)] and baicalin high-dose group[(0.72±0.05)%, (4.03±0.30), (246.87±16.44)ng/L, (42.15±3.33)ng/L, (56.17±5.13)ng/L, (20.16±0.99)%, (2.17±0.24, 0.42±0.05)] were significantly lower than those in the model group[(1.43±0.09)%, (7.82±0.37), (487.85±25.77)ng/L, (91.24±7.41)ng/L, (132.75±9.70)ng/L, (27.24±1.72)%, (4.75±0.40, 0.78±0.11)] ($P<0.05$); The mass of rat and level of CD3⁺ in baicalin low-dose group[(78.05±1.46)g, (49.66±0.89)%], baicalin medium-dose group[(86.04±2.31)g, (51.17±1.04)%] and baicalin high-dose group[(99.34±2.08)g, (54.87±1.25)%] were higher than those in the model group[(72.53±1.56)g, (46.25±0.82)%] ($P<0.05$). **Conclusion** Baicalin can reduce the level of inflammatory factors, regulate the proportion of T lymphocyte subsets and reduce lung injury in young rats with RSV pneumonia, which may play a role by affecting p38MAPK signal pathway.

Keywords *Scutellaria baicalensis*; Baicalin; Respiratory syncytial virus; Pneumonia; Lung injury; p38 mitogen activated protein kinase

呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)是常见导致下呼吸道感染的单链RNA病毒之一,会导致病人出现咳嗽、哮喘和呼吸困难等症状,严重危害病人生理健康^[1]。RSV肺炎常见于婴幼儿或老年人等免疫力低下的人群,可通过空气飞沫和密切接触传播^[2]。高危人群可在流行季节使用RSV免疫球蛋白进行预防,临床治疗中常使用利巴韦林、干扰素等药物进行治疗,但因耐药性强与毒副作用大面临着治疗困难,亟需寻找安全有效的替代药物^[3]。近年来随着对RSV肺炎病程发展的深入研究,一些传统中医药在临床治疗中取得良好效用。黄芩苷是提取自唇科植物黄芩干燥根的主要活性成分,具有清热润肺、泻火解毒和止血安胎等多种药效,常用于治疗湿温暑热、胸闷恶心和肺热咳嗽等病症^[4-5]。研究报道,黄芩苷可以有效治疗肺炎,但其作用机制尚不明确^[6]。因此,本研究2022年3月至2023年7月建立RSV肺炎幼鼠模型,探讨黄芩苷对RSV肺炎幼鼠肺损伤的修复作用及其可能作用机制,为黄芩苷药物开发及RSV肺炎的临床治疗提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 55只4周龄SPF级雄性SD大鼠购自杭州子源实验动物科技有限公司,体质量60~70 g,动物生产合格证号:SCXK(浙)2019-0004。所有大鼠于相同饲养环境适应性饲养7 d,提供标准饲料和清洁水源,定期更换垫料,保持良好通风。环境条件设置为:温度20~24℃,湿度(50±10)%。研究过程中对动物的处置符合动物委员会的准则。

1.1.2 药品、主要试剂和仪器 黄芩苷(纯度:HPLC≥98%,成都曼思特生物科技有限公司,货号A0016);RSV-long病毒株(中国预防医学科学院病毒所,半数组织培养感染量TCID₅₀为10⁻³);兔抗β-actin多克隆抗体、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)和磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶

(p-p38MAPK)多克隆抗体、山羊抗兔二抗IgG(北京索莱宝科技有限公司)。BIOFUGE28RS型低温高速离心机(德国HERAEUS公司);7500型荧光定量PCR仪(美国ABI公司)。

1.2 方法

1.2.1 模型建立与分组给药 适应性饲养7 d后,选取45只幼鼠采用鼻腔接种RSV病毒株法建立RSV肺炎模型^[7]。将幼鼠使用乙醚进行轻度麻醉,左右鼻腔交替滴入RSV病毒液50 μL建立模型,另选取10只幼鼠作为对照组,对照组滴入等量生理盐水,每日接种1次,连续3 d。大鼠出现行动迟缓、呼吸急促且体温升高,随机抽取5只大鼠制作肺部组织病理切片,观察肺部病理变化,出现肺泡病变、各支气管上皮炎症细胞浸润,肺泡间隔变大等现象视为造模成功。造模成功幼鼠随机分为模型组、黄芩苷低、中和和高剂量组,各10只,另设对照组(10只)。参照文献[8-9],黄芩苷低、中和和高剂量组大鼠分别灌胃25、50和100 mg/kg黄芩苷,1次/天,连续7 d。

1.2.2 标本采集 给药结束1 d后,称取各组幼鼠体质量,麻醉,固定于手术台上,结扎右侧肺叶,注入1 mL PBS溶液并来回抽吸灌洗支气管肺泡,注入5次后回收肺泡灌洗液,离心取上清液,-20℃保存。摘眼球采集血液,离心,分离血清,-20℃保存。处死大鼠,快速取出肺组织,称重,将左肺分成两部分,一部分浸入4%多聚甲醛液固定,用于HE染色,一部分用于称取湿干重量。右肺置于-80℃保存备用。

1.2.3 肺指数与肺组织湿/干比测定 计算各组幼鼠肺指数,肺指数=(肺质量/体质量)×100%。将未用4%多聚甲醛固定的左肺组织在80℃恒温烤箱烘烤至恒重,记为干重,计算肺组织湿/干比(W/D)。肺组织W/D=肺组织湿重/肺组织干重。

1.2.4 炎症因子水平检测 采用双抗体夹心法检测肺泡灌洗液肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)和白细胞介素-6(IL-6)水平,严格按照

试剂盒说明书进行操作,酶标测定仪于450 nm波长处检测各孔吸光度值,根据标准曲线计算样品浓度。

1.2.5 T细胞亚群检测 取出幼鼠外周血,加入单克隆抗体CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺各5 μL,混匀后室温下静置30 min,加入红细胞裂解液300 μL,反应30 min充分裂解,使用流式细胞分析仪检测各组幼鼠外周血中T细胞亚群的变化。

1.2.6 肺组织HE染色观察 取出固定后的左侧肺组织,脱水、包埋、切片,进行HE染色。光学显微镜下观察肺组织病理学变化,随机选取3个清晰视野拍照。

1.2.7 RT-PCR检测mRNA表达 取-80℃保存的右肺组织100 mg尽量剪碎放入EP管中,加入1 mL TRIZOL试剂提取总RNA。反转录试剂盒合成cDNA,配制PCR反应体系20 μL:TB GreenPremix Ex Tap II (2×) 10 μL,正、反向引物各0.8 μL,cDNA 2 μL,RNase free ddH₂O 6.4 μL。反应条件为95℃ 30 s,95℃ 15 s,60℃ 35 s循环40次。引物设计为p38MAPK:正向-5' ATGCCGAAGATGAAGTTTGC 3'、反向-5' CCCTGCTTTCAAAGGACTGA 3';β-actin:正向-5' GGCTGTATTCCCTCCATCG 3'、反向-5' CCAGTTGGTAACAATGCCATGT 3'。采用2^{-ΔΔCt}法以目的基因相对内参表达量进行比较分析。

1.2.8 蛋白质印迹法检测蛋白表达 取剩余-80℃保存的右肺组织加入含有蛋白酶抑制剂的RIPA细胞裂解液,冰上裂解30 min,匀浆提取总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,取40 μL蛋白样品进行电泳,湿转,5%脱脂牛奶封闭,加入1:1 000相应稀释一抗,4℃下摇床封闭,洗膜,再加入1:3 000相应稀释二抗,室温摇床封闭60 min,洗膜。加入ECL显影液进行曝光,保存图像,以β-actin为内参,观察条带上相应的蛋白表达量并对目的条带光密度值进行计算分析。

1.3 统计学方法 SPSS 23.0统计学软件分析数据,计量数据符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方

差分析进行多组间比较,LSD-*t*检验进行两组间比较。校验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 体质量和肺指数比较 与对照组比较,模型组幼鼠体质量降低,肺指数升高($P<0.05$)。与模型组比较,黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠体质量升高,肺指数降低,且各指标具有剂量依赖性($P<0.05$)。见表1。

表1 各组幼鼠体质量和肺指数比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	体质量/g	肺指数/%
对照组	10	103.37±2.00	0.67±0.04
模型组	10	72.53±1.56 ^①	1.43±0.09 ^①
黄芩苷低剂量组	10	78.05±1.46 ^②	1.05±0.06 ^②
黄芩苷中剂量组	10	86.04±2.31 ^{②③}	0.81±0.06 ^{②③}
黄芩苷高剂量组	10	99.34±2.08 ^{②③④}	0.72±0.05 ^{②③④}
<i>F</i> 值		86.37	126.28
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:①与对照组比, $P<0.05$ 。②与模型组比, $P<0.05$ 。③与黄芩苷低剂量组比, $P<0.05$ 。④与黄芩苷中剂量组比, $P<0.05$ 。

2.2 肺组织W/D比较 与对照组比较,模型组幼鼠肺组织W/D(7.82±0.37)显著高于对照组(3.74±0.37),差异有统计学意义($P<0.05$)。黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠肺组织W/D(6.13±0.40、5.62±0.41、4.03±0.30)均显著低于模型组(7.82±0.37),且呈剂量依赖性($P<0.05$)。

2.3 炎症因子水平比较 与对照组比较,模型组幼鼠肺泡灌洗液TNF-α、IL-1β和IL-6水平升高($P<0.05$)。与模型组比较,黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠TNF-α、IL-1β和IL-6水平降低,且各指标具有剂量依赖性($P<0.05$)。见表2。

2.4 T淋巴细胞亚群水平比较 与对照组比较,模型组幼鼠外周血中CD3⁺水平降低,CD4⁺和CD4⁺/CD8⁺水平升高($P<0.05$)。与模型组比较,黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠CD3⁺水平升高,CD4⁺和CD4⁺/CD8⁺水平降低,且各指标具有剂量依赖性($P<0.05$)。见表3。

表2 各组幼鼠炎症因子水平比较/(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TNF-α	IL-1β	IL-6
对照组	10	241.37±21.15	37.47±3.43	49.96±3.37
模型组	10	487.85±25.77 ^①	91.24±7.41 ^①	132.75±9.70 ^①
黄芩苷低剂量组	10	392.37±20.82 ^②	72.85±4.82 ^②	103.29±8.59 ^②
黄芩苷中剂量组	10	308.17±18.87 ^{②③}	57.59±4.14 ^{②③}	82.36±6.05 ^{②③}
黄芩苷高剂量组	10	246.87±16.44 ^{②③④}	42.15±3.33 ^{②③④}	56.17±5.13 ^{②③④}
<i>F</i> 值		214.55	152.67	201.36
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:TNF-α为肿瘤坏死因子-α,IL-1β为白细胞介素-1β,IL-6为白细胞介素-6。

①与对照组比, $P<0.05$ 。②与模型组比, $P<0.05$ 。③与黄芩苷低剂量组比, $P<0.05$ 。④与黄芩苷中剂量组比, $P<0.05$ 。

表3 各组幼鼠T淋巴细胞亚群水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	CD3 ⁺ /%	CD4 ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	10	54.37±1.23	20.75±0.96	2.46±0.19
模型组	10	46.25±0.82 ^①	27.24±1.72 ^①	4.75±0.40 ^①
黄芩苷低剂量组	10	49.66±0.89 ^②	25.85±1.50 ^②	3.98±0.33 ^②
黄芩苷中剂量组	10	51.17±1.04 ^{②③}	23.59±1.30 ^{②③}	3.36±0.36 ^{②③}
黄芩苷高剂量组	10	54.87±1.25 ^{②③④}	20.16±0.99 ^{②③④}	2.17±0.24 ^{②③④}
F值		53.28	42.34	69.82
P值		<0.001	<0.001	<0.001

注:①与对照组比, $P<0.05$ 。②与模型组比, $P<0.05$ 。③与黄芩苷低剂量组比, $P<0.05$ 。④与黄芩苷中剂量组比, $P<0.05$ 。

2.5 肺组织HE染色比较 结果显示,对照组幼鼠肺组织结构完整,形态正常,未见炎症细胞浸润、水肿等现象。模型组幼鼠肺泡间隔明显增宽,肺泡壁明显增厚,部分肺泡可见出血、间质水肿现象,存在大量炎症细胞浸润现象。黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠肺组织结构受损现象得到改善。见图1。

2.6 p38MAPK mRNA水平比较 模型组幼鼠肺组织p38MAPK mRNA表达水平(1.28 ± 0.11)显著高于对照组(0.32 ± 0.03) ($P<0.05$)。黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠肺组织p38MAPK mRNA表达水平(0.97 ± 0.10 、 0.73 ± 0.06 、 0.55 ± 0.04)显著低于模型组(1.28 ± 0.11),且呈剂量依赖性($P<0.05$)。

2.7 p38MAPK蛋白水平比较 与对照组比较,模型组幼鼠肺组织p-p38MAPK蛋白表达水平升高($P<0.05$)。与模型组比,黄芩苷低、中和高剂量组幼鼠肺组织p-p38MAPK蛋白表达水平降低,且各指标具有剂量依赖性($P<0.05$)。见表4;图2。

表4 各组幼鼠p38MAPK蛋白水平比较/ $\bar{x} \pm s$

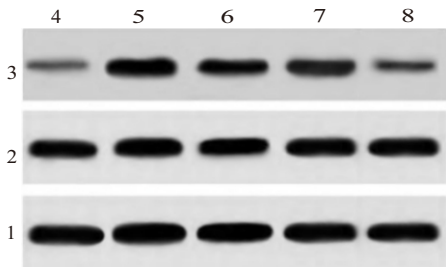
组别	鼠数	p-p38MAPK蛋白	p38MAPK蛋白
对照组	10	0.29±0.03	0.81±0.08
模型组	10	0.78±0.11 ^①	0.78±0.08
黄芩苷低剂量组	10	0.65±0.08 ^②	0.79±0.07
黄芩苷中剂量组	10	0.54±0.06 ^{②③}	0.80±0.06
黄芩苷高剂量组	10	0.42±0.05 ^{②③④}	0.81±0.06
F值		245.37	231.86
P值		<0.001	<0.001

注:p38MAPK为p38丝裂原活化蛋白激酶,p-p38MAPK为磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶。

①与对照组比, $P<0.05$ 。②与模型组比, $P<0.05$ 。③与黄芩苷低剂量组比, $P<0.05$ 。④与黄芩苷中剂量组比, $P<0.05$ 。

3 讨论

RSV致病机制复杂,主要与病原体毒作用、固有免疫和适应性免疫等综合作用相关^[10]。RSV感染后,通过诱发肺组织炎症导致肺组织Th1/Th2失衡,破坏免疫系统。此时肺组织的炎症反应失控,导致肺组织受损,促使蛋白质等大分子物质进入支



注:1—β肌动蛋白(β-actin);2—p38MAPK;3—p-p38MAPK;4—对照组;5—模型组;6—黄芩苷低剂量组;7—黄芩苷中剂量组;8—黄芩苷高剂量组。

图2 幼鼠肺组织p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)蛋白检测

气管与肺泡内,诱发肺水肿,降低肺功能,严重时可能引发呼吸衰竭^[11]。炎症在中医上属“热”,外邪入体引发内热,常见红肿、热痛等症状,中医学中未见“肺炎”病名,属“肺热病”范围。病位在于肺部,病因为风温外侵,病理为痰、热、淤、毒阻塞于肺,导致肺功能失常。中药在治疗炎症时多以清热解毒和行气活血为主^[12]。黄芩首次记录于《神农本草经》,为唇形科植物黄芩的干燥根,含有多种活性物质^[13]。黄芩苷作为其主要药效物质,多项研究表明,黄芩苷可以调节机体免疫力和抗炎等功效^[14]。本研究探讨黄芩苷对RSV肺炎幼鼠肺脏损伤的修复作用。

在本研究结果显示,模型组幼鼠体质量明显降低,而肺指数和肺组织W/D均显著升高。检测炎症因子水平也发现,模型组幼鼠炎症因子水平(TNF-α、IL-1β和IL-6水平)均升高。肺指数与肺组织W/D比值是判断肺功能的主要指标,当肺组织受到病毒感染,由于异常升高的炎症反应致使肺组织水肿,因而肺质量明显升高。提示RSV肺炎模型建立成功且模型组幼鼠肺组织受到严重损伤,幼鼠体内伴有严重的炎症反应。在给予了不同剂量黄芩苷治疗后各组幼鼠均表现肺指数、肺组织W/D和炎症因子水平均呈下降趋势,幼鼠体质量随之恢复正常,且表现出浓度依赖性,以黄芩苷高剂量组效果最佳。提示幼鼠肺组织损伤在黄芩苷的治疗下得到修复,体内的炎症反应也明显减轻。此外,黄芩

苷治疗后幼鼠肺组织病理损伤程度减轻,进一步证实黄芩苷对RSV肺炎幼鼠肺组织损伤的修复作用。

炎症反应是影响肺炎病情进展的重要机制之一,而外周血T淋巴细胞亚群作为机体免疫的重要检测指标,可直观反映机体免疫情况^[15]。在肺炎进程中,MAPK家族信号通路一直发挥着重要作用,是一类丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶类信号通路,在一定量的炎症因子、神经递质等刺激条件下会激活,p38MAPK是主要参与并控制这炎症反应的典型通路之一^[16]。在本研究中,模型组幼鼠肺组织p38MAPK基因水平与p-p38MAPK蛋白水平均高度表达,结合幼鼠外周血中CD3⁺水平降低,CD4⁺和CD4⁺/CD8⁺比值升高。提示模型组幼鼠在RSV的感染刺激下,体内p38MAPK信号通路被激活,炎症细胞合成并释放出大量的炎症因子,促使炎症因子高度表达,免疫系统平衡失调。CD3⁺T淋巴细胞是成熟T细胞的表面标志,通过适当多种细胞因子辅助B细胞和效应T细胞活化,促进细胞免疫,从而调节免疫功能^[17]。CD4⁺/CD8⁺比值的相对平衡对未知机体免疫稳定起着重要作用,是反映机体免疫功能的重要标志之一。在本研究中,黄芩苷各剂量组幼鼠肺组织中p38MAPK基因水平与p-p38MAPK蛋白表达水平均明显降低,且外周血中CD3⁺水平升高,CD4⁺和CD4⁺/CD8⁺比值降低。提示黄芩苷通过影响p38MAPK表达,降低炎症因子水平,调节T淋巴细胞亚群比例,改善免疫细胞失衡,控制与延缓RSV肺炎的发展过程,对RSV肺炎幼鼠肺损伤有积极影响。

综上所述,黄芩苷能够降低RSV肺炎幼鼠炎症因子水平,调节T淋巴细胞亚群比例,减轻肺损伤,可能是通过影响p38MAPK信号通路发挥作用,为临床治疗RSV肺炎提供实验依据。

(本文图1见插图5-4)

参考文献

- [1] NIKONOVA A, SHILOVSKIY I, GALITSKAYA M, et al. Respiratory syncytial virus upregulates IL-33 expression in mouse model of virus-induced inflammation exacerbation in OVA-sensitized mice and in asthmatic subjects [J]. Cytokine, 2021, 138: 155349. DOI: 10.1016/j.cyt.2020.155349.
- [2] VAN ERP EA, LAKERVELD AJ, MULDER HL, et al. Pathogenesis of respiratory syncytial virus infection in BALB/c mice differs between intratracheal and intranasal inoculation [J]. Viruses, 2019, 11(6):508.
- [3] 吴哲乾, 戴李华. 血液净化联合乌司他丁治疗脓毒症急性肺损伤的疗效和对基质金属蛋白酶水平的影响 [J]. 安徽医药, 2019, 23(12):2382-2385.
- [4] SHI H, REN K, LV B, et al. Baicalin from scutellaria baicalensis blocks respiratory syncytial virus (RSV) infection and reduces inflammatory cell infiltration and lung injury in mice [J]. Sci Rep, 2016, 21(6):358-361.
- [5] QIN S, HUANG XZ, QU SG, et al. Baicalin induces a potent innate immune response to inhibit respiratory syncytial virus replication via regulating viral non-structural 1 and matrix RNA [J]. Front Immunol, 2022, 13: 907047. DOI: 10.3389/fimmu.2022.907047.
- [6] LONG Y, XIANG Y, LIU SY, et al. Baicalin liposome alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via inhibiting TLR4/JNK/ERK/NF- κ B pathway [J]. Mediators Inflamm, 2020, 2020:8414062. DOI: 10.1155/2020/8414062.
- [7] SCHMIDT ME, OOMENS AG, VARGA SM, et al. Vaccination with a single-cycle respiratory syncytial virus is immunogenic and protective in mice [J]. J Immunol, 2019, 202(11):3234-3245.
- [8] MENG XL, HU L, LI WQ, et al. Baicalin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by suppressing oxidative stress and inflammation via the activation of the Nrf2-mediated HO-1 signaling pathway [J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2019, 392(11):1421-1433.
- [9] 徐明杭, 蒙艳丽, 王晓溪, 等. 黄芩苷对肺纤维化小鼠组织中纤维化因子TGF- β 1及mmp2, timp2表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23):5738-5744.
- [10] 龙晓茹, 谢军, 李伟, 等. 干扰素 γ 对小鼠再感染呼吸道合胞病毒气道炎症的影响 [J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(10):760-765.
- [11] 苏华振, 魏明. 氯沙坦对急性肺损伤小鼠肺部组织及肺树突状细胞结构功能的作用 [J]. 安徽医药, 2020, 24(4):651-655, 后插1.
- [12] 崔长升, 孙丽平, 左明锦, 等. 黄芩配伍川贝母后黄芩中主要化学成分含量变化及抗肺炎作用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(1):34-40.
- [13] 蒙艳丽, 徐佳莹, 王晓溪, 等. 黄芩苷抗肺炎支原体研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(2):158-161, 后插21.
- [14] SHAH MA, PARK DJ, KANG JB, et al. Baicalin attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in cerebral cortex of mice via inhibiting nuclear factor kappa B (NF- κ B) activation [J]. J Vet Med Sci, 2019, 81(9):1359-1367.
- [15] 陈曦, 吴海明, 杨云燕. 肺炎支原体患儿免疫球蛋白、补体及T淋巴细胞亚群变化分析 [J]. 辽宁医学杂志, 2022, 36(2):29-31.
- [16] GAO P, GAO P, ZHAO JJ, et al. MKL1 cooperates with p38MAPK to promote vascular senescence, inflammation, and abdominal aortic aneurysm [J]. Redox Biol, 2021, 41: 101903. DOI: 10.1016/j.redox.2021.101903.
- [17] LI T, WU YN, WANG H, et al. Dapk1 improves inflammation, oxidative stress and autophagy in LPS-induced acute lung injury via p38MAPK/NF- κ B signaling pathway [J]. Mol Immunol, 2020, 120:13-22.

(收稿日期:2023-09-12,修回日期:2023-10-20)