引用本文:王媛,张敏,孟静,等.柚皮素对肺炎支原体感染小鼠肺组织修复效果及高迁移率族蛋白 B1/核因子-κB 信号通路的影响[J].安徽医药,2024,28(7):1318-1322.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.07.010.** ◇**药学研究**◇



柚皮素对肺炎支原体感染小鼠肺组织修复效果 及高迁移率族蛋白 B1/核因于-κB 信号通路的影响

王媛,张敏,孟静,郭贝贝,王亮

作者单位:河北省胸科医院呼吸与危重症医学三科,河北 石家庄050041 通信作者:王亮,男,主任医师,研究方向为呼吸与危重症医学,Email:wlyc1111@sohu.com 基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20191002)

摘要 目的 探讨柚皮素对肺炎支原体(MP)感染小鼠肺组织的修复效果及高迁移率族蛋白B1(HMGB1)/核因子-κB(NF-κB)信号通路的影响。方法 2022年5—9月,BALB/c小鼠建立MP感染模型,将建模成功的小鼠按照随机数表法分为模型组,柚皮素低(50 mg/kg)、高(100 mg/kg)剂量组,阿奇霉素(90 mg/kg)组。每组12只。另取12只小鼠作为对照组,各组给予对应干预2周。全自动血气分析仪检测小鼠动脉血氧分压(PaO₂);称量小鼠肺湿质量,并计算肺系数;HE染色观察小鼠肺组织病理学变化并对肺损伤进行评分;酶联免疫吸附法检测小鼠肺组织中肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-1β、IL-8水平;荧光定量PCR法检测小鼠肺组织中HMGB1、NF-κB信使核糖核酸(mRNA)水平;蛋白质印迹法检测小鼠肺组织中HMGB1、NF-κB蛋白水平。结果 对照组小鼠肺泡组织结构清晰正常;与对照组相比,模型组小鼠肺泡组织具有明显的炎症细胞浸润,肺泡壁变厚,红细胞、肺水肿液渗入,动脉血PaO₂[(35.57±3.70)mmHg比(88.96±8.66)mmHg]显著降低(P<0.05),肺系数[(0.98±0.08)%比(0.51±0.04)%]、肺损伤评分[(3.63±0.34)分比(0.00±0.00)分]、肺组织中TNF-α[(40.07±5.04)ng/L比(11.43±1.56)ng/L]、IL-1β[(119.60±13.25)ng/L比(50.37±6.38)ng/L]、IL-8、HMGB1、NF-κB mRNA和蛋白水平显著升高(P<0.05);与模型组相比,柚皮素低、高剂量组、阿奇霉素组小鼠肺泡壁变薄,红细胞、分泌液减少,炎症细胞浸润减少,肺泡组织趋于正常,动脉血PaO₂降低不明显(P<0.05),肺系数、肺损伤评分、肺组织中TNF-α、IL-1β、IL-8、HMGB1、NF-κB mRNA和蛋白水平依次降低(P<0.05)。结论 柚皮素能明显改善MP感染小鼠肺组织损伤,可能与抑制HMGB1/NF-κB信号通路的激活有关。

关键词 柚皮素; 高迁移率族蛋白B1; 核因子-κB; 肺炎支原体; 肺组织

Effect of naringenin on lung tissue repair and high mobility group protein B1/nuclear factor-кВ signaling pathway in mice infected with Mycoplasma pneumoniae

WANG Yuan, ZHANG Min, MENG Jing, GUO Beibei, WANG Liang

Author Affiliation: The Third Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050041, China

Abstract Objective To investigate the repair effect of naringenin on lung tissue and its effect on high mobility group protein B1 (HMGB1)/nuclear factor-κB (NF-κB) signaling pathway in mice infected with Mycoplasma pneumoniae (MP). Methods From May 2022 to September 2022, MP infection model was established in BALB/c mice. The successful model mice were assigned into model group, naringenin low (50 mg/kg), high (100 mg/kg) dose group and azithromycin (90 mg/kg) group according to the random number method, with 12 mice in each group. Another 12 mice were selected as control group, and each group was given corresponding intervention for 2 weeks. The arterial partial pressure of oxygen (PaO₂) was detected by automatic blood gas analyzer; the wet lung weight of mice was weighed, and the wet lung weight index was calculated; HE staining was used to observe the pathological changes of lung tissue in mice and score the lung injury; the levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin (IL)-1β and IL-8 in lung tissue of mice were detected by enzyme-linked immunosorbent assay; the messenger RNA (mRNA) levels of HMGB1 and NF-κB in lung tissue of mice were detected by fluorescence quantitative PCR; the protein levels of HMGB1 and NF-κB in lung tissue of mice were detected by Western blotting. Results The alveolar tissue structure of mice in control group was clear and normal; compared with the control group, the model group had obvious infiltration of inflammatory cells in alveolar tissue, thickening of alveolar wall, infiltration of red blood cells and pulmonary edema fluid, and a significant reduction in arterial blood PaO₂[(35.57±3.70) mmHg vs. (88.96±8.66) mmHg] (P < 0.05), and the lung wet weight index $[(0.98 \pm 0.08)\% \ vs. \ (0.51 \pm 0.04)\%]$, lung injury score $[(3.63 \pm 0.34) \ points \ vs. \ (0.00 \pm 0.00) \ points]$, TNF-α [(40.07±5.04) ng/L vs. (11.43±1.56) ng/L], IL-1β [(119.60±13.25) ng/L vs. (50.37±6.38) ng/L], IL-8, HMGB1, NF-κB mRNA and protein levels in lung tissue were significantly increased (P<0.05); compared with the model group, the mice in the naringenin low, high dose groups and azithromycin group had thinner alveolar walls, reduced red blood cells and secretion, reduced inflammatory cell infiltration, and tended to have normal alveolar tissue, and no obvious decrease in arterial blood PaO_2 (P<0.05), but the lung wet weight index, lung injury score, TNF- α , IL-1 β , IL-8, HMGB1, NF- κ B mRNA and protein levels in lung tissue were gradually decreased (P<0.05). **Conclusion** Naringenin can significantly improve lung tissue injury in mice infected with MP, which may be related to inhibiting the activation of HMGB1/NF- κ B signaling pathway.

Keywords Naringenin; High mobility group protein B1; Nuclear factor-κB; Mycoplasma pneumoniae; Lung tissue

肺炎支原体(MP)可引发社区获得性肺炎,主要 发病人群为儿童、年轻人,MP引起多种呼吸道和肺 外疾病[1]。MP引起的肺炎症状与促炎性细胞因子 的表达有关[2]。MP感染可导致促炎性细胞因子募 集到感染部位,最终导致肺损伤和肺纤维化[3-4]。高 迁移率族蛋白B1(HMGB1)是识别病原体相关分子 模式的主要传感器,HMGB1可参与针对革兰阴性细 菌的宿主防御^[5]。HMGB1刺激可以激活核因子-κB (NF-κB)诱导编码促炎细胞因子的基因转录,从而 调动炎症细胞在败血症中发挥作用[6-7]。柚皮素为 蔷薇科植物花蕾中的一种类黄酮类化活性物质,其 具有抗菌、抗炎及潜在的抗癌作用,受到临床药学 研究人员的重视[8]。柚皮素对脂多糖诱导的急性肺 损伤具有治疗效果[9]。但柚皮素是否对MP感染有 治疗作用尚未有研究报道,故本研究基于HMGB1/ NF-κB信号通路探讨柚皮素对MP感染小鼠肺损伤 的干预效果,为MP感染的治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

- 1.1.1 动物 60 只 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠,6 周龄,体质量为23~27 g,购自荆州金程生物科技有限公司,许可证号 SCXK(鄂)2021-0017,所有小鼠放置于温度为21~24°C和湿度为55%~60%的饲养环境中,可自由获取食物和水。本研究经河北省胸科医院伦理委员会批准(批号:LL基础2022-19)。
- 1.1.2 主要药物与试剂 柚皮素(批号AW21343,原料药,纯度>99.5%)购自四川恒诚致远生物科技有限公司;阿奇霉素片(批号20211005)购自厦门万全万特制药有限公司;MP菌株、MP核酸检测试剂盒(批号SK15015-3、SK23509-1)均购自湖州申科生物技术有限公司;肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-1β酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒、蛋白裂解液、反转录试剂盒、HE染色试剂盒、RNA分离试剂盒(批号分别为ks6902、ks6315、ks9014、ks4398、ks7020、ks3951)均购自中山澳达特罗生物技术有限公司;IL-8 ELISA试剂盒、PCR试剂盒、BCA蛋白测定试剂盒(批号分别为RF26170、RF37542、RF14785)均购自无锡欣润生物科技有限公司;兔源HMGB1、NF-κB、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗、羊抗兔二抗

(批号分别为J56936、J49389、J28549、J53286)均购自 宁波景希生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器 血气分析仪(型号ABL80)、显微镜 (型号XSP-104)购自杭州威德医疗科技有限公司;分光 光度计(型号US850)、荧光定量PCR仪(型号SLAN-96P)购自济南佰纳医疗科技有限公司;凝胶成像系统 (型号OSE-470P)购自郑州熙羽医疗科技有限公司。

1.2 方法

- 1.2.1 模型的建立及分组给药 BALB/c 小鼠适应 性喂养1周,参考文献[10]建立MP感染小鼠模型:腹 腔注射戊巴比妥钠麻醉小鼠,将含1×107 CCU/L的 MP菌液共30 μL连续缓缓滴入小鼠鼻孔中,持续3 d。建模结束后,取小鼠尾静脉血,MP核酸检测试 剂盒检测支原体,检测为阳性结果的小鼠视为建模 成功。将建模成功的48只小鼠按照随机数表法分 为模型组、柚皮素低(50 mg/kg)、高(100 mg/kg)剂量 组[11]、阿奇霉素(90 mg/kg)组[12],每组12只。另取 12只小鼠作为对照组,建模期间于小鼠鼻孔内滴入 等量0.9% 氯化钠溶液。柚皮素低、高剂量组小鼠分 别给予50 mg/kg、100 mg/kg 柚皮素灌胃给药[11](将 柚皮素和0.9% 氯化钠溶液混溶成浓度分别为5g/ L、10 g/L的混悬液,灌胃体积1 mL/100 g),1次/天, 连续给药2周;阿奇霉素组小鼠给予90 mg/kg 阿奇 霉素灌胃给药[12](将阿奇霉素片和0.9% 氯化钠溶液 混溶成浓度为9g/L的混悬液,灌胃体积1mL/100 g),1次/天,阿奇霉素连续给药3d后停药4d,停药 的4d灌胃等量0.9%氯化钠溶液替代,循环2个给 药周期:模型组、对照组小鼠给予等体积0.9% 氯化 钠溶液灌胃,1次/天,连续给药2周。
- 1.2.2 动脉血氧分压的测定 BALB/c 小鼠末次给 药后禁食不禁水 12 h,测得体质量后,用戊巴比妥钠 麻醉小鼠,收集小鼠动脉血液样品,全自动血气分析仪检测样品的动脉血氧分压(PaO₂)。
- **1.2.3** 肺系数的测定 采血后处死小鼠,分离肺,用 磷酸盐缓冲盐水洗涤,用滤纸擦干,立即测得肺湿质量,计算肺系数。肺系数=肺湿质量/体质量×100%。
- 1.2.4 肺组织病理学变化观察及肺损伤评分 取小鼠部分左肺组织样品,在福尔马林中固定48h,将样品包埋在石蜡中,切成5μm切片,HE染色,显微

镜下观察肺组织病理学变化,并进行肺损伤评估。根据中性粒细胞浸润、肺泡水肿、肺间质水肿、肺泡内充血四个指标对肺损伤进行评分:无明显变化或变化很小(0分);轻微的变化(1分);适度的变化(2分);严重的变化(3分);非常严重的变化(4分)^[13]。

1.2.5 肺组织炎症指标测定 取小鼠部分左肺组织样品,清洗后匀浆,采用ELISA试剂盒测定匀浆中TNF-α、IL-1β、IL-8水平。

1.2.6 肺组织中 HMGB1、NF-κB 信使核糖核酸 (mRNA)水平测定 取小鼠左肺组织样品,匀浆,使用带有旋转柱的 RNA 分离试剂盒提取肺组织的总 RNA,使用分光光度计测量 280 nm 波长处 RNA 的浓度和纯度,根据 RNA 反转录试剂盒说明将 RNA 反转录为互补 DNA(cDNA)。以此为模板通过荧光定量 PCR 法检测肺组织中 HMGB1、NF-κB mRNA 水平(GAPDH为内参),引物由连云港莫纳生物科技有限公司设计合成,引物序列见表1,具体反应环境及条件参照 PCR 试剂盒说明,采用 2-ΔΔCI 法计算肺组织中 HMGB1、NF-κB mRNA 水平。

表1 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)引物序列

_		
引物(5′-3′)		
正向 AGTTGCCTTCTTGGGACTGA		
反向TCCACGATTTCCCAGAGAAC		
正向CGTCAGCCGATTTGCTATCT		
反向CGGACTCCGCAAAGTCTAAG		
正向 GCCTCGTCTCATAGACAAGATG		
反向CAGTAGACTCCACGACATAC		

注:HMGB1为高迁移率族蛋白B1,NF-κB为核因子-κB,GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

1.2.7 肺组织中 HMGB1、NF-κB蛋白水平测定取小鼠左肺组织样品,匀浆,并加入裂解缓冲液裂解,4℃下离心半径8 cm、8 900 r/min离心17 min,收集上清液。BCA法测定总蛋白浓度,上样、电泳、转膜后清洗,脱脂牛奶(5%)封闭2.5 h,加入稀释好的兔源 HMGB1(1:1 320)、NF-κB(1:780)、GAPDH(1:1 300)—抗,4℃下孵育过夜,加入羊抗兔二抗(1:1 550),室温孵育3.5 h,以GAPDH为内参,使用Image J软件分析条带灰度值,将目的蛋白和内参蛋白的灰度值之比记为蛋白水平。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-q 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 柚皮素对MP感染小鼠动脉血PaO₂、肺系数的影响 与对照组相比,模型组小鼠动脉血PaO,显著降低

(*P*<0.05),肺系数显著升高(*P*<0.05);与模型组相比,柚皮素低、高剂量组、阿奇霉素组小鼠动脉血PaO₂依次升高(*P*<0.05),肺系数依次降低(*P*<0.05)。见表2。

表2 各组小鼠动脉血氧分压 (PaO_2) 、肺系数比较 $/x \pm s$

组别	鼠数/只	$PaO_2/mmHg$	肺系数/%
对照组	12	88.96±8.66	0.51±0.04
模型组	12	$35.57 \pm 3.70^{\odot}$	$0.98 \pm 0.08^{\odot}$
柚皮素低剂量组	12	48.19±3.93 ²	$0.87 \pm 0.08^{\circ}$
柚皮素高剂量组	12	63.66±5.73 ^{2/3}	$0.75 \pm 0.07^{2/3}$
阿奇霉素组	12	74.34 ± 8.29^{234}	0.62 ± 0.05^{23}
F值		129.15	97.51
P值		< 0.001	< 0.001

注:①与对照组相比,P<0.001。②与模型组相比,P<0.05。③与柚皮素低剂量组相比,P<0.05。④与柚皮素高剂量组相比,P<0.05。

2.2 柚皮素对MP感染小鼠肺组织病理学变化和肺损伤评分的影响 对照组小鼠肺泡组织结构清晰正常;模型组小鼠肺泡组织炎症细胞浸润明显,肺泡壁变厚,红细胞、肺水肿液渗入;柚皮素或阿奇霉素干预后,肺泡壁变薄,红细胞、分泌液减少,炎症细胞浸润减少,肺泡组织趋于正常。见图1。与对照组相比,模型组小鼠肺损伤评分显著升高(P<0.05);与模型组相比,柚皮素低、高剂量组、阿奇霉素组小鼠肺损伤评分依次降低(P<0.05)。见表3。

表3 各组小鼠肺损伤评分比较

组别	鼠数/只	肺损伤评分/(分, $\bar{x} \pm s$)
对照组	12	0.00±0.00
模型组	12	$3.63\pm0.34^{\odot}$
柚皮素低剂量组	12	$2.71\pm0.33^{\circ}$
柚皮素高剂量组	12	1.68±0.25 ²⁽³⁾
阿奇霉素组	12	0.83±0.12 ²³³
F值		194.26
P值		< 0.001

注:①与对照组相比,P<0.001。②与模型组相比,P<0.05。③与柚皮素低剂量组相比,P<0.05。④与柚皮素高剂量组相比,P<0.05。

2.3 柚皮素对 MP 感染小鼠肺组织炎症指标的影响 与对照组相比,模型组小鼠肺组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 水平升高(P<0.05);与模型组相比,柚皮素低、高剂量组、阿奇霉素组小鼠肺组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8 水平降低(P<0.05)。见表4。

2.4 柚皮素对MP感染小鼠肺组织中HMGB1、NF-κBmRNA水平的影响 与对照组相比,模型组小鼠肺组织中HMGB1、NF-κBmRNA升高(P<0.05);与模型组相比,柚皮素低、高剂量组、阿奇霉素组小鼠肺组织中HMGB1、NF-κBmRNA水平降低(P<0.05)。见表5。

2.5 柚皮素对 MP 感染小鼠肺组织中 HMGB1、NF-κB蛋白水平的影响 与对照组相比,模型组小

表4 各组小鼠肺组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-8水平比较/(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/	TNF-α	IL-1β	IL-8
组加	只	1 ΝΓ -α	IL-1b	IL-0
对照组	12	11.43±1.56	50.37±6.38	186.64±20.61
模型组	12	$40.07 \pm 5.04^{\odot}$	119.60±13.25 ^①	391.58±34.07 ^①
柚皮素	12	31.55+2.61 ^②	98.52+11.50 ²	323.74±30.58 ²
低剂量组	12	31.33±2.01	98.52±11.50°	
柚皮素	12	21.84±	73.56±	251.30±
高剂量组	12	$2.07^{2/3}$	9.04^{23}	27.42^{2}
阿奇霉素组 12	14.39±	57.13±	210.52±	
	1.74 ²³⁰	1.74 ²³⁴	7.91^{234}	22.53 ²³⁴
F值		69.22	117.33	136.27
P值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:TNF-α为肿瘤坏死因子α,IL为白细胞介素。

①与对照组相比,P<0.001。②与模型组相比,P<0.05。③与柚皮素低剂量组相比,P<0.001。④与柚皮素高剂量组相比,P<0.005。

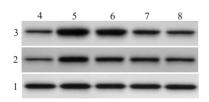
表5 各组小鼠肺组织中HMGB1、NF-кBmRNA水平比较/x±s

组别	鼠数/只	HMGB1 mRNA	NF-κB mRNA
对照组	12	1.01±0.03	1.02±0.02
模型组	12	$2.25 \pm 0.27^{\odot}$	$2.36 \pm 0.28^{\odot}$
柚皮素低剂量组	12	$1.93\pm0.23^{\circ}$	1.97±0.21 ²
柚皮素高剂量组	12	$1.68 \pm 0.17^{2/3}$	1.61±0.18 ^{2/3}
阿奇霉素组	12	1.25±0.15 ²³⁴	1.29±0.13 ²³⁴
F值		90.31	104.29
P值		< 0.001	< 0.001

注: HMGB1 mRNA 为高迁移率族蛋白 B1 信使核糖核酸,NF-κB mRNA 为核因子-κB信使核糖核酸。

①与对照组相比,P<0.001。②与模型组相比,P<0.05。③与柚皮素低剂量组相比,P<0.05。④与柚皮素高剂量组相比,P<0.05。

鼠肺组织中 HMGB1、NF-κB蛋白水平显著升高(P<0.05);与模型组相比,柚皮素低、高剂量组、阿奇霉素组小鼠肺组织中 HMGB1、NF-κB蛋白水平依次降低(P<0.05)。见图2,表6。



注:1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH);2—核因子-κB(NF-κB);3—高迁移率族蛋白B1(HMGB1);4—对照组;5—模型组;6—柚皮素低剂量组;7—柚皮素高剂量组;8—阿奇霉素组。

图2 各组小鼠肺组织中HMGB1、NF-κB蛋白印迹图

3 讨论

MP能引起人类原发性非典型肺炎、气管支气管炎、咽炎和哮喘^[14]。此外,在慢性稳定期的小儿哮喘病人中,有3%~64%病儿被MP感染。同时,MP也是已知的急性加重期和慢性稳定期哮喘症状的加重因素。使用大环内酯类药物治疗MP感染后,呼吸系

表6 各组小鼠肺组织中HMGB1、NF-κB蛋白水平比较 $[x \pm s]$

组别	鼠数/只	HMGB1蛋白	NF-ĸB蛋白
		(/GAPDH)	(/GAPDH)
对照组	12	0.34 ± 0.02	0.27±0.02
模型组	12	1.58±0.17 ^①	$1.08 \pm 0.08^{\odot}$
柚皮素低剂量组	12	1.24±0.13 ^②	$0.77 \pm 0.07^{\circ}$
柚皮素高剂量组	12	0.82 ± 0.07^{23}	0.60 ± 0.05^{23}
阿奇霉素组	12	0.56 ± 0.05^{234}	0.41 ± 0.03^{234}
F值		169.12	110.52
P值		< 0.001	< 0.001

注:HMGB1为高迁移率族蛋白B1,NF-κB为核因子-κB,GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

①与对照组相比,*P*<0.001。②与模型组相比,*P*<0.05。③与柚皮素低剂量组相比,*P*<0.001。

统症状得到减轻,肺功能得到改善[15]。 这表明由 MP 诱导的过度免疫反应在肺炎的发展中起重要作用。 柚皮素是一种二氢黄酮类化合物,广泛存在于柑橘 类水果中,有研究表明,柚皮素对成纤维细胞和炎症 反应具有调节作用[16]。Hernández-Aquino等[17]研究 显示,柚皮素可通过阻断转化生长因子-β信号传导 来预防实验性肝纤维化。Yu等[18]研究发现,柚皮素 还可抑制应激诱导的自噬,并对氧化应激诱导的肺 损伤具有保护作用。本实验显示,MP感染的小鼠动 脉血PaO、显著低于健康小鼠,肺系数、肺损伤评分显 著高于健康小鼠;经柚皮素治疗后的MP感染小鼠, 肺系数、肺损伤评分显著降低,动脉血PaO。显著升 高,提示柚皮素对MP感染引起的肺损伤具有保护作 用。病理学结果显示,对照组肺泡组织结构清晰正 常;模型组小鼠肺泡组织具有明显的炎症细胞浸润, 肺泡壁变厚,红细胞、肺水肿液渗入;经柚皮素干预 后,肺泡壁变薄,红细胞、分泌液减少,炎症细胞浸润 减少,肺泡组织趋于正常,提示柚皮素能明显改善 MP感染小鼠肺部病理状况,修复小鼠肺组织损伤。

TNF-α、IL-1β、IL-8可反映机体炎症活性情况。 王子等[19]研究显示,MP小鼠肺泡灌洗液中IL-1β、 TNF-α水平显著升高,而清肺透邪汤可降低肺泡灌洗液中IL-1β、TNF-α水平改善肺组织病理状况。田金娜等[20]研究发现,哮喘小鼠肺组织中IL-1β、IL-8含量较健康小鼠显著升高,而降低肺组织中IL-1β、IL-8表达可改善气道重塑和纤维化。本研究发现,MP感染的小鼠肺组织TNF-α、IL-1β、IL-8显著水平高于健康小鼠,经柚皮素治疗后,小鼠肺组织TNF-α、IL-1β、IL-8水平显著降低,表明柚皮素可降低MP感染小鼠肺部炎症反应。

HMGB1是一种跨膜受体蛋白,不仅参与先天性免疫激活的免疫反应,而且还触发适应性免疫^[21]。 NF-κB作为HMGB1的下游因子可参与多种病理过 程^[22]。冯玲玲等^[23]研究发现,抑制 HMGB1/NF-кВ通路激活可改善脂多糖诱导的吸入性肺损伤新生大鼠炎症和氧化应激反应,发挥对肺损伤的保护效果。Xu等^[24]报道显示,阻断 HMGB1/NF-кВ通路表达可降低肺组织细胞凋亡,从而减轻烟雾吸入性肺损伤。张泽莲等^[25]研究表明,抑制 HMGB1/NF-кВ通路能改善重症肺炎大鼠肺组织病理损伤和肺功能,减轻炎症反应。本实验结果显示,MP感染小鼠肺组织中HMGB1、NF-кВ mRNA和蛋白水平显著升高;经柚皮素治疗后,小鼠肺组织中HMGB1、NF-кВ mRNA和蛋白水平显著降低,与冯玲玲等^[23]、Xu等^[24]、张泽莲等^[25]研究结果一致。提示柚皮素可能通过抑制 HMGB1/NF-кВ通路激活,发挥对 MP感染小鼠的保护作用。

综上所述,柚皮素能明显改善MP感染小鼠肺组织损伤,抑制其肺部炎症反应,其机制可能与抑制 HMGB1/NF-κB信号通路的激活有关。但本研究仅分析了柚皮素调控 HMGB1/NF-κB信号通路对MP感染小鼠的影响,柚皮素是否可以通过其他信号通路改善MP感染小鼠肺组织损伤,有待后续深入研究。

(本文图1见插图7-2)

参考文献

- [1] ÁLVARO VARELA AI, AGUINAGA PÉREZ A, NAVASCUÉS ORTEGA A, et al. Clinical characteristics of patients with Mycoplasma pneumoniae infection [J]. Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed), 2022, 40(8):449-452.
- [2] 秦小菀,高伟霞,陈朴.长链非编码RNAH19在肺炎支原体肺炎病儿血清中的表达及其意义[J].安徽医药,2022,26(4):805-808.
- [3] WANG F, NAN K, HAO L, et al. Effects of a combination of erythromycin sequential therapy and azithromycin on lung function and inflammatory factors in children with severe mycoplasma pneumonia[J]. Pak J Pharm Sci, 2021,34(6(Special)):2447-2454.
- [4] ZHANG C, ZHANG Q, DU JL, et al. Correlation between the clinical severity, bacterial load, and inflammatory reaction in children with mycoplasma pneumoniae pneumonia [J]. Curr Med Sci, 2020, 40(5):822-828.
- [5] GAO Q, WANG S, LI F, et al. High mobility group protein B1 decreases surface localization of PD-1 to augment T-cell activation [J]. Cancer Immunol Res, 2022, 10(7):844-855.
- [6] ZUO T, YUE Y, WANG X, et al. Luteolin relieved DSS-induced colitis in mice via HMGB1-TLR-NF-κB signaling pathway [J]. Inflammation, 2021, 44(2):570-579.
- [7] BI X, JIANG B, ZHOU J, et al. CBP bromodomain inhibition rescues mice from lethal sepsis through blocking HMGB1-mediated inflammatory responses [J]. Front Immunol, 2020, 11: 625542. DOI: 10.3389/fimmu.2020.625542.
- [8] 王锐, 王明月, 王向涛, 等. 柚皮素纳米制剂的药理作用研究 进展[J]. 现代药物与临床, 2020, 35(9):1923-1929.
- [9] 陈倩倩, 王荣丽. 柚皮素对急性肺损伤小鼠保护作用的机制

- 研究[J]. 临床肺科杂志, 2022, 27(5):711-715.
- [10] 李向峰, 陈文霞. 鱼腥草总黄酮对肺炎支原体感染小鼠 Bel-2 和 Bax 表达的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(14):1695-1699.
- [11] 蒋怡芳, 范晓杰, 刘晓, 等. 柚皮素对博莱霉素诱导的小鼠肺 纤维化的改善作用及其作用机制[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(2):202-207.
- [12] 王子, 王雪峰, 张秀英, 等. 清肺透邪汤对肺炎支原体感染小鼠 CARDS TX/NLRP3 炎性小体相关因子表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(7);121-126.
- [13] 刘秀秀, 阚倩娜, 肖臻, 等. 基于 Nrf2/ARE 信号通路探讨清肺 通络方对肺炎支原体感染小鼠肺氧化损伤的影响[J]. 中华中 医药杂志, 2022, 37(1):441-445.
- [14] LI J, LUU LDW, WANG X, et al. Metabolomic analysis reveals potential biomarkers and the underlying pathogenesis involved in mycoplasma pneumoniae pneumonia [J]. Emerg Microbes Infect, 2022, 11(1):593-605.
- [15] KIM YS, LEE YY, LEE E. Cases of macrolide-resistant mycoplasma pneumoniae pneumonia-associated pulmonary thromboembolism[J]. Pediatr Pulmonol, 2021, 56(6):1796-1799.
- [16] KAMPA RP, KICINSKA A, JARMUSZKIEWICZ W, et al. Naringenin as an opener of mitochondrial potassium channels in dermal fibroblasts [J]. Exp Dermatol, 2019, 28(5):543-550.
- [17] HERNÁNDEZ-AQUINO E, MURIEL P. Beneficial effects of naringenin in liver diseases; molecular mechanisms[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(16):1679-1707.
- [18] YU Z, LIU X, CHEN H, et al. Naringenin-loaded dipalmitoylphosphatidylcholine phytosome dry powders for inhaled treatment of acute lung injury [J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2020, 33(4):194-204.
- [19] 王子, 王雪峰, 吴振起. 清肺透邪汤介导 NLRP3炎性小体抑制 NF-κB信号通路改善肺炎支原体小鼠炎性反应[J]. 中国实验 动物学报, 2020, 28(4):470-477.
- [20] 田金娜, 陈迪, 李建保, 等. 丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织 HMGB1、α-SMA 及炎症因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(3):1347-1351.
- [21] CHEN G, ZHAO Q, YUAN B, et al. ALKBH5-modified HMGB1-STING activation contributes to radiation induced liver disease via innate immune response [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2021, 111(2):491-501.
- [22] CHEN H, LI N, ZHAN X, et al. Capsaicin protects against lipopolysaccharide-induced acute lung injury through the HMGB1/ NF- κB and PI3K/AKT/mTOR pathways [J]. J Inflamm Res, 2021,14;5291-5304.
- [23] 冯玲玲, 杜鑫, 葛瑜,等. 葶苈子水提液通过调控 HMGB1/ TLR4/NF-κB信号通路对 LPS 吸入性肺损伤新生大鼠的影响 [J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(3):342-347.
- [24] XU B, GAN CX, CHEN SS, et al. BMSC-derived exosomes alleviate smoke inhalation lung injury through blockade of the HMGB1/NF-κB pathway[J]. Life Sci, 2020, 257:118042. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118042.
- [25] 张泽莲, 刘培俊, 陈娟, 等. 桑黄素通过抑制 HMGB1/TLR4/NF-κB通路改善重症肺炎大鼠肺损伤[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(6):478-486.

(收稿日期:2022-12-20,修回日期:2023-02-08)