

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.13.002

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200526.1605.002.html\(2020-05-27\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200526.1605.002.html(2020-05-27))

穿心莲内酯对 LPS 吸入性肺炎新生大鼠 NLRP3、ASC 及 caspase-1 表达的影响*

李学勤,郝长锁,付迎新[△]
(北京怀柔医院儿科 101400)

[摘要] **目的** 探究穿心莲内酯对脂多糖(LPS)吸入性肺炎新生大鼠核苷酸结合域样受体蛋白 3 (NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1(caspase-1)表达的影响。**方法** 通过气管内注射 2 mg/kg LPS 构建新生大鼠肺炎模型,将 72 只新生大鼠分为 6 组,穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠腹腔注射穿心莲内酯 10、20、30 mg·kg⁻¹·d⁻¹,地塞米松组腹腔注射地塞米松 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹,模型组、正常对照组新生大鼠腹腔注射等量生理盐水。分别在干预治疗 1、3、5 d 处死新生大鼠,对各组新生大鼠进行血气分析,检测各组新生大鼠肺脏湿/干重比值,检测各组新生大鼠肺损伤程度评分,苏木素-伊红(HE)染色法观察各组新生大鼠肺组织病理变化,酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清白细胞介素(IL)-1β、IL-6 水平,Western blot 检测肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平。**结果** 在相同时间下,与正常对照组相比,模型组新生大鼠 pH 值、血氧分压(PaO₂)明显降低($P<0.05$),血二氧化碳分压(PaCO₂)值、肺脏湿/干重比值、肺组织损伤程度评分、血清 IL-1β、IL-6 表达水平、肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组 pH 值、PaO₂ 明显升高($P<0.05$),PaCO₂、肺脏湿/干重比值、肺组织损伤程度评分、血清 IL-1β、IL-6 表达水平、肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显降低($P<0.05$)。**结论** 穿心莲内酯可减轻肺损伤,对肺脏组织发挥保护作用,可能与抑制 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达,减少促炎因子 IL-1β、IL-6 分泌有关。

[关键词] 穿心莲内酯;脂多糖;肺炎;核苷酸结合域样受体蛋白 3;凋亡相关斑点样蛋白;半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1

[中图法分类号] R563.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)13-2071-06

The effects of andrographolide on the expressions of NLRP3,ASC and caspase-1 in neonatal rats with LPS inhalation pneumonia*

LI Xueqin,HAO Changsuo,FU Yingxin[△]
(Department of Pediatric,Beijing Huairou Hospital,Beijing 101400,China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of andrographolide on the expressions of nucleotide-binding domain-like receptor protein 3 (NLRP3),apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD(ASC) and caspase-1 in lipopolysaccharide (LPS) induced pneumonia rats. **Methods** The pneumonia model of neonatal rat was established by intratracheal injection of 2 mg/kg LPS. The 72 neonatal rats were divided into six groups. Then,10,20 and 30 mg·kg⁻¹·d⁻¹ andrographolide were intraperitoneally injected in the low,medium and high dose andrographolide groups,10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ dexamethasone was intraperitoneally injected in the dexamethasone group,and equal amount of normal saline was intraperitoneally injected in the model group and the normal control group. The neonatal rats were sacrificed on the first,the third and the fifth day. Blood gas analysis was performed on the neonatal rats in each group,the lung wet/dry weight ratio of the neonatal rats was measured,and the degree of lung injury score of neonatal rats in each group was measured. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of lung tissues of neonatalrats in each group,the serum levels of interleukin (IL)-1β and IL-6 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA),and Western blot was used to detect the expressions of NLRP3,ASC and caspase-1 proteins in lung

* 基金项目:国家自然科学基金(面上)项目(81874421)。 作者简介:李学勤(1982—),主治医师,硕士,主要从事儿童呼吸道疾病和新生儿疾病研究。 [△] 通信作者,E-mail:yingxin1119@163.com。

tissues. **Results** At the same time, compared with the normal control group, the pH value and blood oxygen partial pressure (PaO_2) of neonatal rats in the model group were decreased significantly ($P < 0.05$), while the blood carbon dioxide partial pressure (PaCO_2), wet/dry weight ratio of lung tissues, degree of lung injury score, the serum IL-1 β , IL-6 expression levels, and the expression levels of NLRP3, ASC and caspase-1 proteins in lung tissues were increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, the pH value and PaO_2 of the newborn rats in the dexamethasone group and low, medium and high dose andrographolide groups were significantly increased ($P < 0.05$), while the PaCO_2 , wet/dry weight ratio of lung tissues, degree of lung injury score, the serum IL-1 β , IL-6 expression levels, and the expression levels of NLRP3, ASC and caspase-1 proteins in lung tissues were decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** Andrographolide can reduce lung injury and play a protective role in lung tissue, which may be related to inhibiting the expression of NLRP3, ASC and caspase-1 protein, and reducing the secretion of IL-1 β and IL-6.

[Key words] andrographolide; lipopolysaccharide; pneumonia; nucleotide-binding domain-like receptor protein 3; apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD; caspase-1

新生儿吸入性肺炎是婴幼儿常患的一种呼吸道感染性疾病,随着新生儿人口的增加,环境的不断恶化,新生儿吸入性肺炎发病率和病死率逐年上升^[1-2]。肺炎是引起肺损伤的主要原因之一,会引起机体肺组织中炎性细胞增多,过度分泌炎症介质,导致肺水肿,因此,控制肺组织中的炎性反应可有效改善肺损伤^[3]。核苷酸结合域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding domain-like receptor protein 3, NLRP3) 炎性小体可被革兰阴性菌刺激而激活凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 (caspase-1), 参与肺损伤的发生、发展过程^[4]。穿心莲内酯具有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗病毒等作用,在心血管疾病、糖尿病、恶性肿瘤等多种疾病中有治疗作用^[5], 但关于穿心莲内酯在肺炎及肺损伤疾病中的作用机制研究报道较少。本研究通过观察穿心莲内酯对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 吸入性肺炎新生大鼠 NLRP3、ASC、caspase-1 表达的影响, 探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级健康雄性 10 d 龄 SD 新生大鼠 72 只, 体重约 20 g, 由浙江省医学科学研究院实验动物中心提供, 动物许可证号: SYXK(浙) 2018-0014。

1.2 仪器与试剂

穿心莲内酯 (货号: SA8260)、LPS (货号: L8880) 购自北京索莱宝科技有限公司; 地塞米松 (国药准字: I-44022090) 购自广州白云山天心制药股份有限公司; β -actin 抗体 (货号: A-AJ1089a) 购自美国 Abgent 公司; NLRP3 抗体 (货号: ab214185)、ASC 抗体 (货号: ab175449)、caspase-1 抗体 (货号: ab1872)、白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (货号: ab216165) 购自美国 Abcam 公司; 白细胞介素-1 β (IL-1 β) ELISA 试剂盒 (货号: SBJ-M0027-48T) 购自南京森贝伽生物科技有限公司; 辣根过氧化物酶标记的二

抗 (货号: BHR101) 购自北京博尔西科技有限公司; BCA 蛋白浓度检测试剂盒 (货号: P0010S) 购自上海碧云天公司; 蛋白电泳及电转移装置 (型号: AU5800) 购自北京市六一仪器厂; 酶联免疫分析仪 (型号: EVO75) 购自澳大利亚 Techan 公司; 血气分析仪 (型号: ABL800) 购自丹麦 Radiometer 公司; 超低温冰箱 (型号: MDF-U32V) 购自美国 Thermo 公司。

1.3 方法

1.3.1 新生大鼠肺炎模型构建及分组

将 72 只 10 d 龄新生大鼠分为正常对照组、地塞米松组、模型组及穿心莲内酯低、中、高剂量组, 每组各 12 只。新生大鼠肺炎模型构建^[6]: 腹腔注射 10% 水合氯醛进行麻醉, 然后用注射器向气管内注射 2 mg/kg LPS, 注射后将新生大鼠直立 5 s, 缝合伤口, 使新生大鼠自然苏醒。新生大鼠出现寒战, 呼吸急促有轻微气管湿啰音, 粪便呈稀水样等症状, 则表明肺炎模型构建成功。模型构建成功后, 穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠分别通过腹腔注射穿心莲内酯 10、20、30 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹, 地塞米松组腹腔注射地塞米松 10 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹, 模型组、正常对照组新生大鼠腹腔注射等量生理盐水, 连续注射 5 d。

1.3.2 各组新生大鼠的血气分析

分别在干预治疗 1、3、5 d, 各组选取 4 只新生大鼠, 腹腔注射 10% 水合氯醛进行麻醉, 通过腹腔主动脉抽取 3 mL 血液, 用血气分析仪测定各组新生大鼠 pH、血氧分压 (PaO_2)、血二氧化碳分压 (PaCO_2)。

1.3.3 各组新生大鼠肺脏湿/干重比值检测

分别在干预治疗 1、3、5 d, 各组选取 4 只新生大鼠, 腹腔注射 10% 水合氯醛进行麻醉, 分离组织取出右肺上叶, 分别称量其湿重、干重, 计算肺脏湿/干重比值。

1.3.4 苏木素-伊红 (HE) 染色法观察肺组织病理变化

干预治疗 5 d 后, 各组选取 4 只新生大鼠, 腹腔注

射 10%水合氯醛进行麻醉,分离组织取出右肺下叶用甲醛固定,进行常规切片处理,脱水、石蜡包埋、染色,中性树胶进行封片,在显微镜下观察,每个切片随机选取 5 个视野,对肺组织损伤程度进行评分^[6];无损伤为 0 分,损伤面积小于 25%为 1 分,25%~<50%为 2 分,50%~75%为 3 分,>75%为 4 分。

1.3.5 ELISA 测定血清 IL-1β 及 IL-6 水平

干预治疗 5 d 后,各组选取 4 只新生大鼠,腹腔注射 10%水合氯醛进行麻醉,通过腹腔主动脉抽取 3 mL 血液,室温静置 1 h,离心分离血清,通过 ELISA 试剂盒检测血清中 IL-1β、IL-6 表达。

1.3.6 Western blot 检测肺组织中 NLRP3、ASC 及 caspase-1 蛋白表达水平

干预治疗 5 d 后,各组选取 4 只新生大鼠,腹腔注射 10%水合氯醛进行麻醉,分离组织取出左肺叶,提取组织总蛋白,用 BCA 法检测蛋白水平后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,加一抗(NLRP3、ASC、caspase-1、β-actin 抗体 1 : 1 500 稀释)4 ℃ 孵育过夜,次日,洗膜加二抗(1 : 5 000 稀释)室温孵育 2 h, TBST 洗膜后,加电化学发光(ECL)法发光液,在凝胶成像系统中拍照,并进行灰度值分析。

1.4 统计学处理

采用统计学软件 SPSS22.0 进行数据统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较行 *t* 检验,多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组新生大鼠的血气分析指标比较

在相同时间下,与正常对照组相比,模型组新生大鼠 pH 值、PaO₂ 明显降低(*P* < 0.05),PaCO₂ 明显升高(*P* < 0.05);与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠 pH 值、PaO₂ 明显升高(*P* < 0.05),PaCO₂ 明显降低(*P* < 0.05);与穿心莲内酯低、中剂量组相比,穿心莲内酯高剂量组、地塞米松组 pH 值、PaO₂ 明显升高(*P* < 0.05),PaCO₂ 明显降低(*P* < 0.05),见表 1~3。

2.2 各组新生大鼠肺脏湿/干重比值比较

在相同时间下,与正常对照组相比,模型组新生大鼠肺脏湿/干重比值明显升高(*P* < 0.05);与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠肺脏湿/干重比值明显降低(*P* < 0.05);与穿心莲内酯低、中剂量组相比,穿心莲内酯高剂量组、地塞米松组肺脏湿/干重比值明显降低(*P* < 0.05),见表 4。

2.3 各组新生大鼠肺组织病理变化及损伤程度评分

药物干预治疗 5 d 后,与正常对照组相比,模型组新生大鼠肺组织中毛细血管充血、肺泡膈增厚、嗜中性粒细胞数量增加;与模型组比较,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠肺组织中毛细血管充血减少,嗜中性粒细胞数量降低,见图 1。

在相同时间下,与正常对照组相比,模型组新生大鼠肺组织损伤程度评分明显升高(*P* < 0.05);与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠肺组织损伤程度评分明显降低(*P* < 0.05);与穿心莲内酯低、中剂量组相比,穿心莲内酯高剂量组、地塞米松组肺组织损伤程度评分明显降低(*P* < 0.05),见表 5。

表 1 各组新生大鼠动脉血 pH 值比较(*n* = 4, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 d	3 d	5 d
正常对照组	7.46 ± 0.03	7.47 ± 0.03	7.45 ± 0.05
模型组	6.51 ± 0.03 ^a	6.38 ± 0.02 ^a	6.17 ± 0.02 ^a
地塞米松组	7.25 ± 0.05 ^{abcd}	7.21 ± 0.01 ^{abcd}	7.26 ± 0.07 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	6.93 ± 0.06 ^{ab}	7.14 ± 0.04 ^{ab}	7.15 ± 0.06 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	6.95 ± 0.01 ^{ab}	7.16 ± 0.05 ^{ab}	7.17 ± 0.04 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	7.28 ± 0.06 ^{abcd}	7.23 ± 0.04 ^{abcd}	7.25 ± 0.02 ^{abcd}

^a: *P* < 0.05, 与正常对照组比较; ^b: *P* < 0.05, 与模型组比较; ^c: *P* < 0.05, 与穿心莲内酯低剂量组比较; ^d: *P* < 0.05, 与穿心莲内酯中剂量组比较。

表 2 各组新生大鼠动脉血 PaO₂ 比较(*n* = 4, $\bar{x} \pm s$, mm Hg)

组别	1 d	3 d	5 d
正常对照组	113.07 ± 1.36	112.04 ± 1.40	113.14 ± 1.35
模型组	69.21 ± 2.31 ^a	65.12 ± 2.54 ^a	62.24 ± 2.10 ^a
地塞米松组	77.97 ± 1.15 ^{abcd}	77.67 ± 1.04 ^{abcd}	77.59 ± 1.17 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	72.32 ± 1.06 ^{ab}	72.01 ± 1.14 ^{ab}	71.51 ± 1.06 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	72.30 ± 1.10 ^{ab}	72.05 ± 1.64 ^{ab}	71.53 ± 1.45 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	78.01 ± 1.26 ^{abcd}	77.64 ± 1.24 ^{abcd}	77.68 ± 1.04 ^{abcd}

^a: *P* < 0.05, 与正常对照组比较; ^b: *P* < 0.05, 与模型组比较; ^c: *P* < 0.05, 与穿心莲内酯低剂量组比较; ^d: *P* < 0.05, 与穿心莲内酯中剂量组比较。

表 3 各组新生大鼠动脉血 PaCO₂ 比较 (n=4, $\bar{x} \pm s$, mm Hg)

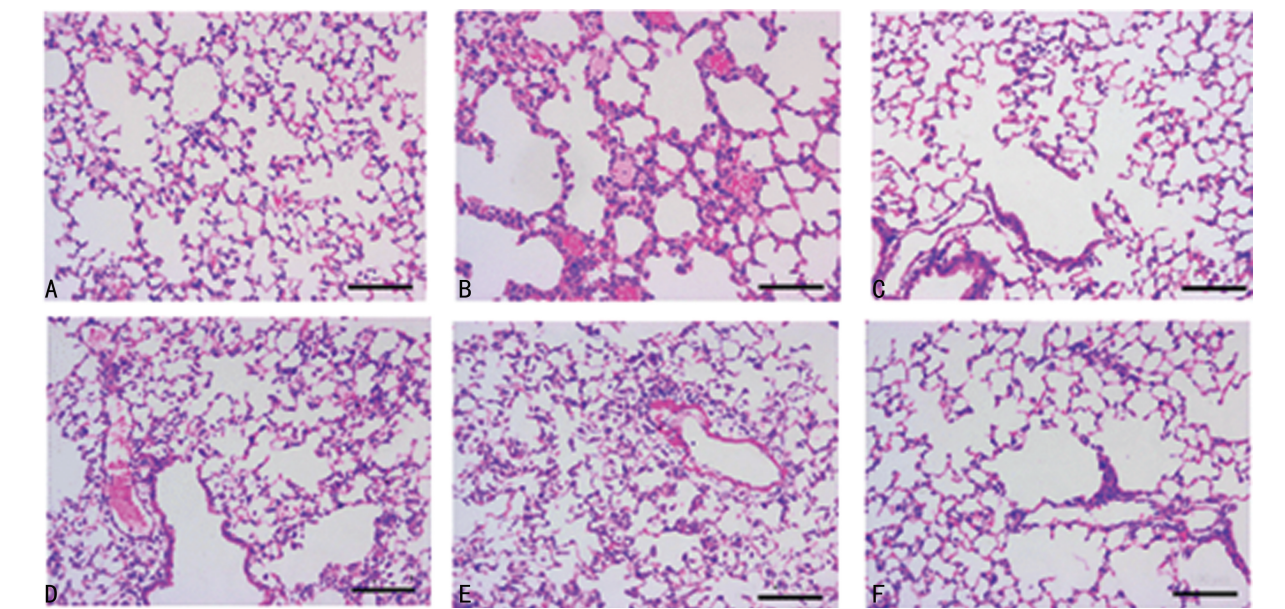
组别	1 d	3 d	5 d
正常对照组	30.98±1.03	31.00±1.04	30.96±1.05
模型组	54.21±1.03 ^a	57.12±1.14 ^a	60.24±1.02 ^a
地塞米松组	38.05±1.15 ^{abcd}	36.17±1.04 ^{abcd}	35.59±1.07 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	46.16±1.06 ^{ab}	46.09±1.14 ^{ab}	45.95±1.06 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	46.13±1.02 ^{ab}	46.04±0.98 ^{ab}	45.90±1.03 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	37.97±0.96 ^{abcd}	36.34±1.04 ^{abcd}	35.86±1.00 ^{abcd}

^a: P<0.05, 与正常对照组比较; ^b: P<0.05, 与模型组比较; ^c: P<0.05, 与穿心莲内酯低剂量组比较; ^d: P<0.05, 与穿心莲内酯中剂量组比较。

表 4 各组新生大鼠肺脏湿/干重比值比较 (n=4, $\bar{x} \pm s$)

组别	1 d	3 d	5 d
正常对照组	5.23±0.09	5.24±0.04	5.22±0.07
模型组	5.62±0.03 ^a	6.04±0.04 ^a	7.13±0.10 ^a
地塞米松组	5.42±0.05 ^{abcd}	5.59±0.07 ^{abcd}	5.65±0.02 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	5.50±0.09 ^{ab}	5.67±0.04 ^{ab}	6.25±0.06 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	5.49±0.01 ^{ab}	5.65±0.06 ^{ab}	6.17±0.04 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	5.41±0.06 ^{abcd}	5.57±0.02 ^{abcd}	5.64±0.05 ^{abcd}

^a: P<0.05, 与正常对照组比较; ^b: P<0.05, 与模型组比较; ^c: P<0.05, 与穿心莲内酯低剂量组比较; ^d: P<0.05, 与穿心莲内酯中剂量组比较。



A: 正常对照组; B: 模型组; C: 地塞米松组; D: 穿心莲内酯低剂量组; E: 穿心莲内酯中剂量组; F: 穿心莲内酯高剂量组。

图 1 各组新生大鼠肺组织 HE 染色 (×400)

表 5 各组新生大鼠肺组织损伤程度评分比较 (n=4, $\bar{x} \pm s$, 分)

组别	1 d	3 d	5 d
正常对照组	0.10±0.03	0.05±0.04	0.08±0.02
模型组	6.62±0.14 ^a	9.84±0.24 ^a	12.37±1.15 ^a
地塞米松组	3.45±0.15 ^{abcd}	6.62±0.17 ^{abcd}	6.25±1.13 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	4.48±0.18 ^{ab}	7.64±0.24 ^{ab}	10.07±1.12 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	4.42±0.13 ^{ab}	7.65±0.26 ^{ab}	8.13±1.16 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	3.39±0.16 ^{abcd}	6.57±0.19 ^{abcd}	6.21±1.18 ^{abcd}

^a: P<0.05, 与正常对照组比较; ^b: P<0.05, 与模型组比较; ^c: P<0.05, 与穿心莲内酯低剂量组比较; ^d: P<0.05, 与穿心莲内酯中剂量组比较。

2.4 各组新生大鼠血清 IL-1β 及 IL-6 表达水平比较

与正常对照组相比,模型组新生大鼠血清 IL-1β、IL-6 表达水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠血清 IL-1β、IL-6 表达水平明显降低($P<0.05$);与穿心莲内酯低、中剂量组相比,穿心莲内酯高剂量组、地塞米松组新生大鼠血清 IL-1β、IL-6 表达水平明显降低($P<0.05$),见表 6。

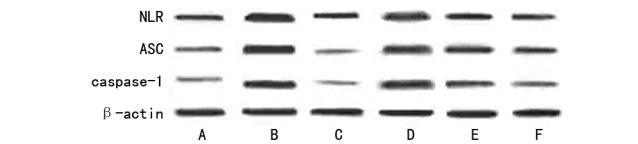
2.5 各组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC 及 caspase-1 蛋白表达水平比较

与正常对照组相比,模型组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显降低($P<0.05$);与穿心莲内酯低、中剂量组相比,穿心莲内酯高剂量组、地塞米松组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),见图 2、表 7。

表 6 各组新生大鼠血清 IL-1β 及 IL-6 表达水平比较($n=4,\bar{x}\pm s$)

组别	IL-1β(pg/mL)	IL-6(ng/L)
正常对照组	110.25±10.32	124.15±15.24
模型组	267.21±12.13 ^a	321.72±20.21 ^a
地塞米松组	156.05±11.15 ^{abcd}	176.23±16.14 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	179.03±10.06 ^{ab}	198.41±15.07 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	172.25±12.01 ^{ab}	186.74±16.32 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	152.51±12.06 ^{abcd}	175.32±19.20 ^{abcd}

^a: $P<0.05$,与正常对照组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较;^c: $P<0.05$,与穿心莲内酯低剂量组比较;^d: $P<0.05$,与穿心莲内酯中剂量组比较。



A:正常对照组;B:模型组;C:地塞米松组;D:穿心莲内酯低剂量组;E:穿心莲内酯中剂量组;F:穿心莲内酯高剂量组。

图 2 各组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC 及 caspase-1 蛋白表达

表 7 各组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC 及 caspase-1 蛋白表达水平比较($n=4,\bar{x}\pm s$)

组别	NLRP3/β-actin	ASC/β-actin	caspase-1/β-actin
正常对照组	0.73±0.12	0.51±0.04	0.26±0.01
模型组	1.52±0.13 ^a	1.21±0.08 ^a	1.06±0.03 ^a
地塞米松组	0.98±0.05 ^{abcd}	0.71±0.04 ^{abcd}	0.54±0.02 ^{abcd}
穿心莲内酯低剂量组	1.32±0.06 ^{ab}	1.04±0.01 ^{ab}	0.98±0.05 ^{ab}
穿心莲内酯中剂量组	1.29±0.01 ^{ab}	0.97±0.06 ^{ab}	0.92±0.07 ^{ab}
穿心莲内酯高剂量组	1.02±0.03 ^{abcd}	0.74±0.02 ^{abcd}	0.57±0.04 ^{abcd}

^a: $P<0.05$,与正常对照组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较;^c: $P<0.05$,与穿心莲内酯低剂量组比较;^d: $P<0.05$,与穿心莲内酯中剂量组比较。

3 讨 论

吸入性肺损伤是由于气管误吸入炎性刺激物,如酸性物质、异物等,引起的肺炎、肺部损伤、急性呼吸窘迫综合征等一系列疾病,临床上吸入性肺损伤常见于儿童^[7]。吸入性肺损伤常导致低氧血症,吴晓静等^[8]研究表明,LPS 诱导的急性肺损伤大鼠体内动脉 PaO₂、pH 值降低,PaCO₂ 升高。本研究发现,与正常对照组相比,模型组新生大鼠 pH 值、PaO₂ 降低,PaCO₂ 升高,提示 LPS 吸入引起的肺炎会造成肺功能下降。穿心莲内酯是二萜内酯类化合物,是中草药穿心莲的有效成分,在呼吸系统疾病中发挥重要作用^[9]。董广涛等^[10]研究发现,穿心莲内酯治疗吸入 LPS 引起的肺炎小鼠体内 pH 值、PaO₂ 明显升高,PaCO₂ 明显降低,与本研究结果一致,提示穿心莲内酯可改善 LPS 吸入引起的肺功能障碍。

吸入性肺炎出现弥漫性毛细血管损伤,造成肺水肿和肺不张等病理特征症状^[11-12]。毕继蕊等^[13]研究发现,LPS 诱导的急性肺损伤小鼠肺脏湿/干重比值

升高,病理评分升高。本研究发现,与正常对照组相比,模型组新生大鼠肺脏湿/干重比值、肺组织损伤程度评分明显升高,提示 LPS 吸入后引起肺水肿和炎症反应,造成肺组织不同程度的损伤。早期研究发现,穿心莲可以缓解 LPS 吸入引起的肺损伤。本研究发现,与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠肺脏湿/干重比值、肺组织损伤程度评分明显降低,提示穿心莲内酯可减轻肺水肿,改善肺损伤。

肺炎发病过程中常伴随着炎症发生,炎症因子与抗炎因子的不平衡是引起炎症反应的重要因素^[14]。IL-1β 和 IL-6 是促炎细胞因子,与炎症反应的发生有密切关系,是炎症反应的重要指标^[15]。陈朝阳等^[16]研究发现,LPS 诱导的急性肺损伤小鼠体内 IL-6、IL-1β、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)水平明显增加。本研究发现,与正常对照组相比,模型组新生大鼠血清 IL-1β、IL-6 表达水平明显升高,提示 IL-1β、IL-6 参与肺炎发生。赵晨等^[17]研究发现,穿心莲内酯磺化物与阿

奇霉素联合使用可下调炎性因子水平,提高疗效。徐永芳等^[18]研究发现,穿心莲内酯能降低内毒素诱导急性肺损伤大鼠血浆炎性因子水平,减轻肺组织病理损伤。本研究发现,与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠血清 IL-1 β 、IL-6 表达水平降低,提示穿心莲内酯减轻大鼠肺损伤可能与下调 IL-1 β 、IL-6 炎性因子表达有关。

炎性小体是一种细胞内多分子复合物,可控制先天免疫系统中 caspase-1 活性,NLRP3 属于胞质型模式识别受体家族 NOD 样受体(pyrin domain containing,NLR)家族,通过与衔接蛋白 ASC 结合介导 caspase-1 激活,调节适应性免疫应答^[19]。研究表明,肺损伤小鼠体内 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显升高^[20-21]。本研究发现,与正常对照组相比,模型组新生大鼠肺组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显升高,提示 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达可能与肺炎发生密切相关。研究表明,穿心莲内酯对 LPS 诱导的急性肺损伤大鼠具有保护作用^[18],NLRP3 参与大鼠机械通气所致的肺损伤^[22]。本研究发现,与模型组相比,地塞米松组、穿心莲内酯低、中、高剂量组新生大鼠肺脏组织中 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达水平明显降低,提示穿心莲内酯可抑制 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达,对肺损伤大鼠发挥保护作用。

综上所述,穿心莲内酯对肺损伤大鼠可发挥保护作用,可能与抑制 NLRP3、ASC、caspase-1 蛋白表达,减少促炎因子 IL-1 β 、IL-6 分泌有关,但其具体作用机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 张琳. 婴幼儿肺炎与急性肺损伤的鉴别诊断和治疗[J/CD]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(60):11714,11716.
- [2] 张炫炜,姚建军,高刘炯,等. 儿童急性重症肺炎伴呼吸衰竭急救体会及病原学分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(6):941-944.
- [3] PATEL D, GAIKWAD S, CHALLAGUNDLA N, et al. Spleen tyrosine kinase inhibition ameliorates airway inflammation through modulation of NLRP3 inflammasome and Th17/Treg axis[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 54(5): 375-384.
- [4] ELLIOTT E I, SUTTERWALA F S. Initiation and perpetuation of NLRP3 inflammasome activation and assembly[J]. Immunol Rev, 2015, 265(1):35-52.
- [5] 张晓,唐力英,吴宏伟,等. 穿心莲现代研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18):222-234.
- [6] 成果,廖瑛,周君,等. 脂多糖诱导大鼠吸入性肺炎动物模型的建立[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(5):396-399.
- [7] GONG K Q, FREVERT C, MANICONE A M. Deletion of lysm in lysmcre recombinase homozygous mice is non-contributory in lps-induced acute lung injury[J]. Lung, 2019, 197(6):819-823.
- [8] 吴晓静,孔倩,张颖,等. 盐酸戊乙奎醚对大鼠内毒素性肺损伤时小窝蛋白-1 表达的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2019, 39(1):93-96.
- [9] 施桂秀,陈伟强,丁志英. 穿心莲内酯抗人体呼吸系统感染及机制研究进展[J]. 广东医学, 2019, 40(11):1660-1664.
- [10] 董广涛,焦润生,高丽萍,等. 穿心莲内酯对内毒素诱导大鼠急性肺损伤的保护作用及机制的实验研究[J]. 中国急救医学, 2013, 33(8):735-738.
- [11] YANG M, MENG F, GAO M, et al. Cytokine signatures associate with disease severity in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):17853-17863.
- [12] 梅枚,张聪聪,陈超,等. 先天性上气道疾病相关性吸入性肺炎 72 例病例系列报告[J]. 中国循证儿科杂志, 2019, 14(3):191-195.
- [13] 毕继蕊,杨进,汪影,等. 丙咪嗪对小鼠急性肺损伤肺泡上皮屏障功能保护作用的研究[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(6):638-643.
- [14] NAGAHARA H, YAMAMOTO A, SENO T, et al. Allograft inflammatory factor-1 in the pathogenesis of bleomycin-induced acute lung injury[J]. Biosci Trends, 2016, 10(1):47-53.
- [15] PENG S, GAO J, LIU W, et al. Andrographolide ameliorates OVA-induced lung injury in mice by suppressing ROS-mediated NF- κ B signaling and NLRP3 inflammasome activation[J]. Oncotarget, 2016, 7(49):80262-80274.
- [16] 陈朝阳,姚茹,王璐,等. 莲心碱对 LPS 诱导小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(3):343-348. (下转第 2081 页)

参考文献

- [1] 张熙,段育任,南志勇,等.老年感音神经性耳聋的干预进展[J].世界中西医结合杂志,2018,13(11):1620-1623,1628.
- [2] 张志存.嗅鞘细胞促损伤大鼠耳蜗螺旋神经节细胞保护和修复作用的实验研究[D].上海:复旦大学,2011.
- [3] 王玉杏,徐鸥,刘砚星,等.听觉剥夺大鼠听皮层 BDNF 和 TrkB 的表达变化[J].听力学及言语疾病杂志,2013,21(4):379-382.
- [4] VANNUCCI R C,BRUCKLACHER R M,VANNUCCI S J. Intracellular Calcium accumulation during the evolution of hypoxic-ischemic brain damage in the immature rat[J]. Brain Res Dev Brain Res,2001,126(1):117-120.
- [5] 林昱,马静,张铁松,等.脑源性神经营养因子与氨基糖苷类抗生素耳中毒[J].听力学及言语疾病杂志,2012,20(3):293-296.
- [6] 李鹏,谢景华,吴晓钟,等.腺相关病毒介导脑源性神经营养因子拮抗顺铂耳毒性的研究[J].临床医学,2010,30(1):92-94.
- [7] 刘莹莹,杨一兵,汤勇.神经营养因子对损伤的 SGNs 保护的研究进展[J].临床医学,2014,34(6):119-121,122.
- [8] MURILLO-CUESTA S,CONTRERAS J,CEDIEL R,et al. Comparison of different aminoglycoside antibiotic treatments to refine ototoxicity studies in adult mice[J]. Lab Anim,2010,44(2):124-131.
- [9] 王晨露,王永华,王一鸣,等.川芎嗪干预庆大霉

素耳毒性作用的机理研究[J].中国听力语言康复科学杂志,2019,17(1):9-12.

- [10] 宣伟军,黄力毅,韦瑀龙,等.复方健耳剂干预庆大霉素耳毒性致豚鼠毛细胞损害的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2018,38(6):731-736.
- [11] GEALDOR M,FREEMAN S,LI G,et al. Development of hearing in neonatal rats: air and bone conducted ABR thresholds[J]. Hear Res,1993,69(1/2):236-242.
- [12] TABUCHI K,NISHIMURA B,NAKAMAGOE M,et al. Ototoxicity: mechanisms of cochlear impairment and its prevention [J]. Curr Med Chem,2011,18(31):4866-4871.
- [13] NIWA K,MATSUNOBU T,KURIOKA T,et al. The beneficial effect of Hangesha-shin-to (TJ-014) in gentamicin-induced hair cell loss in the rat cochlea[J]. Auris Nasus Larynx,2016,43(5):507-513.
- [14] 顾博思.重组灵芝免疫调节蛋白对神经性耳聋模型豚鼠的保护作用及机制研究[D].长春:吉林大学,2015.
- [15] 刘莹莹.耳蜗螺旋神经节细胞损伤后 BDNF 对其存活的影响[D].昆明:昆明医科大学,2014.
- [16] 翟所强,郭维,胡吟燕,等.脑源性神经营养因子对耳蜗螺旋神经节的保护作用[J].中华耳鼻咽喉科杂志,2002,37(2):109-111.
- [17] 朱庆丰. BDNF 在生物医学领域的研究新进展[J].安庆师范学院学报(自然科学版),2012,18(4):104-108.

(收稿日期:2019-12-30 修回日期:2020-04-11)

(上接第 2076 页)

- [17] 赵晨,白燕,邹平,等.阿奇霉素和穿心莲内酯氯化物的联合应用对肺炎支原体肺炎患儿临床疗效和血清炎症因子的影响[J].中国医药导刊,2018,20(4):216-220.
- [18] 徐永芳,陈刚,徐长青,等.穿心莲内酯对内毒素诱导急性肺损伤大鼠炎症介质的影响[J].中华中医药学刊,2015,33(1):159-161.
- [19] HONG C Y,ZHANG H D,LIU X Y,et al. Attenuation of hyperoxic acute lung injury by Lycium barbarum polysaccharide via inhibiting NLRP3 inflammasome[J]. Arch Pharm Res,

2019,42(10):902-908.

- [20] 蒋磊,赵鸣雁. NLRP3 炎性体在肺损伤的作用进展[J].中华急诊医学杂志,2017,26(7):829-833.
- [21] 王锴,陈瑞庆,傅冷西,等. miR-223 通过抑制 NLRP3 防护小鼠急性放射性肺损伤[J].中华放射医学与防护杂志,2019,39(3):166-171.
- [22] 张维康,潘灵辉. NOD 样受体蛋白 3 炎症小体在呼吸机相关性肺损伤中的作用机制研究[J].中华危重病急救医学,2015,27(10):821-825.

(收稿日期:2019-12-18 修回日期:2020-02-21)