

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.24.018

茯苓酸调节 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路对肺炎
支原体肺炎小鼠的治疗作用研究*赵之寒¹, 刘 卓^{2△}, 赵 峥², 张亮亮², 靳 兆²

河北省邯郸市中心医院西区:1. 胸外科;2. 呼吸内科, 河北邯郸 056000

摘要:目的 分析茯苓酸调节白细胞介素(IL)-6/酪氨酸激酶 2(JAK2)/信号转导和转录激活因子 3(STAT3)信号通路在肺炎支原体肺炎(MPP)小鼠治疗中的作用。方法 将 60 只小鼠按照随机数字表法分为对照(CK)组、模型(Model)组、茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组、茯苓酸高剂量+Colivelin(JAK2 激活剂)组、Fedratinib(JAK2 抑制剂)组。采用血气分析仪检测动脉血中氧分压(PaO₂)、二氧化碳分压(PaCO₂),并计算氧合指数(OI);检测肺组织湿/干(W/D)比值;采用酶联免疫吸附试验检测肺组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-10、IL-18 水平;采用苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织病理损伤;采用原位末端标记(TUNEL)染色检测肺组织细胞凋亡情况;采用蛋白印迹法检测小鼠肺组织中 B 淋巴细胞瘤-2 关联 X 蛋白(Bax)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、IL-6、磷酸化酪氨酸激酶 2(p-JAK2)/JAK2、磷酸化信号传导子及转录激活子 3(p-STAT3)/STAT3 蛋白表达水平。结果 CK 组小鼠肺组织形态结构正常;与 CK 组比较,Model 组小鼠肺组织结构明显被破坏,动脉血中 PaCO₂、肺组织 W/D 比值、TNF- α 及 IL-18 水平、凋亡率,以及 Bax、IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平明显升高,动脉血中 PaO₂、OI,以及肺组织 IL-10 水平、Bcl-2 蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 Model 组比较,茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组小鼠肺组织形态有所改善,动脉血中 PaCO₂、肺组织 W/D 比值、TNF- α 及 IL-18 水平、凋亡率,以及 Bax、IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平明显降低,动脉血中 PaO₂、OI,肺组织 IL-10 水平、Bcl-2 蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 茯苓酸可降低 MPP 小鼠肺组织炎症反应和细胞凋亡,改善肺组织功能,可能与抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路有关。

关键词:茯苓酸; IL-6/JAK2/STAT3 信号通路; 肺炎支原体肺炎; B 淋巴细胞瘤-2; 肺组织

中图分类号:R392.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2024)24-3675-07

Study on the therapeutic effect of pachymic acid on regulating IL-6/JAK2/STAT3
signaling pathway in rats with mycoplasma pneumoniae pneumonia*ZHAO Zhihan¹, LIU Zhuo^{2△}, ZHAO Zheng², ZHANG Liangliang², JIN Zhao²1. Department of Thoracic Surgery; 2. Department of Respiratory Medicine, Western Area of
Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China

Abstract: Objective To analyze the role of pachymic acid in regulating the interleukin (IL)-6/tyrosine kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway in the treatment of Mycoplasma pneumoniae pneumonia (MPP) mice. **Methods** Sixty mice were randomly divided into control (CK) group, model group, low-dose pachymic acid group, high-dose pachymic acid group, high-dose pachymic acid+Colivelin (JAK2 activator) group, and Fedratinib (JAK2 inhibitor) group according to a random number table. Blood gas analyzer was used to detect in arterial blood partial pressure of oxygen (PaO₂) and partial pressure of carbon dioxide (PaCO₂) and calculates oxygenation index (OI). The wet/dry (W/D) ratio of lung tissue was detected. Enzyme linked immunosorbent assay was used to detect the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-10 and IL-18 in lung tissue. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe pathological damage in lung tissue. Apoptosis in lung tissue cells was detected using in situ end labeling (TUNEL) staining. Western blot was used to detect the protein expression levels of Bax, Bcl-2, IL-6, p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 in mouse lung tissue. **Results** The lung tissue morphology and structure of the CK group mice were normal. Compared with the CK group, the lung tissue structure of the model group mice was significantly disrupted, and the levels of PaCO₂ in arterial blood, lung tissue W/D ratio, TNF- α , IL-18, apoptosis

* 基金项目:河北省医学科学研究课题(20220022)。

作者简介:赵之寒,女,主治医师,主要从事肺部感染方向的研究。△ 通信作者, E-mail:15333303295@163.com。

rate, Bax, IL-6, p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 protein expression levels increased significantly. The levels of PaO₂, OI, lung tissue IL-10 and Bcl-2 protein expression in the blood decreased significantly, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the model group, the low-dose pachymic acid group, high-dose pachymic acid group and Fedratinib group showed improvement in lung tissue morphology in mice. The levels of PaCO₂ in arterial blood, lung tissue W/D ratio, TNF- α , IL-18, apoptosis rate, Bax, IL-6, p-JAK2/JAK2 and p-STAT3 protein expression levels reduced significantly, while the levels of PaO₂, OI in arterial blood, lung tissue IL-10 and Bcl-2 protein expression levels increased significantly, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Fuling acid can reduce the inflammatory response and cell apoptosis in the lung tissue of MPP mice, improve lung tissue function, and may be related to the inhibition of the IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: pachymic acid; IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway; mycoplasma pneumoniae pneumonia; B-cell lymphoma-2; lung tissue

肺炎支原体(MP)是独立生活的最小微生物,大小在病毒与细菌之间,可以通过细菌过滤器,是导致儿童社区获得性肺炎的主要病原体,肺炎支原体肺炎(MPP)占儿童呼吸道感染总量的 20%~40%^[1]。MPP 主要发生于婴幼儿及学龄期儿童,由于儿童免疫力不完善,容易引发感染,因此,MPP 具有易复发的特点,严重影响患儿的健康和生活^[2]。临床针对 MPP 的主要治疗方法是采用抗菌药物,但容易产生耐药性,影响疗效^[3]。中药具有不易产生耐药性等特点,逐渐被用于 MPP 的研究,茯苓酸是从中药茯苓和一些真菌中提取的活性成分,具有抗炎、抗氧化等多种药理作用^[4]。GUI 等^[5]的研究表明茯苓酸可降低肺炎小鼠炎症反应,减少肺组织细胞凋亡,可作为治疗肺炎的药物。LI 等^[6]的研究表明茯苓酸可减轻脓毒症小鼠急性肺损伤,并提高其存活率。茯苓酸具有抑制炎症反应和细胞凋亡的作用,但其具体作用机制尚不明确。白细胞介素(IL)-6 是一种炎症因子,研究显示 IL-6 可激活酪氨酸激酶 2(JAK2)/信号转导和转录激活因子 3(STAT3)信号通路,介导炎症反应的发生^[7]。雷秀等^[7]的研究表明 MP 感染时,儿童体内 IL-6/STAT3 通路被激活。王亚洲等^[8]的研究表明 MPP 患儿体内 IL-6/STAT3 通路被激活,推测 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路可介导炎症反应参与 MPP。因此,本研究探讨了茯苓酸是否可通过调节 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路对 MPP 小鼠产生治疗作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取(18±1)g 的 BALB/c 小鼠 60 只为研究对象,由河北北方学院(药学系)提供,许可证号:SYXK(冀)2019-004。本研究经本院动物伦理委员会审批通过(20220119)。

1.2 仪器与试剂 茯苓酸购自湖北魏氏化学试剂股份有限公司;JAK2 激活剂——Colivelin 和 JAK2 抑制剂——Fedratinib 均购自 MCE 公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-10、IL-18 酶联免疫吸附试验

(ELISA)检测试剂盒均购自广州奥瑞达生物科技有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒和蛋白提取试剂盒购自武汉卡诺斯科技有限公司;B 淋巴细胞瘤-2 关联 X 蛋白(Bax)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、IL-6、JAK2、磷酸化酪氨酸激酶 2(p-JAK2)、STAT3、磷酸化信号传导子及转录激活子 3(p-STAT3)、 β -actin 一抗及二抗均购自英国 Abcam 公司;全自动血气分析仪购自成都斯马特科技股份有限公司;LD-4080 病理切片机购自上海聚慕医疗器械有限公司。

1.3 方法

1.3.1 分组与造模 将 60 只小鼠按照随机数字表法分为对照(CK)组、模型(Model)组、茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组、茯苓酸高剂量+Colivelin 组(JAK2 激活剂)组、Fedratinib(JAK2 抑制剂)组,每组 10 只。除 CK 组外,对其他组小鼠进行造模,将 1 μ L 混悬液(1×10^8 CFU/mL)滴入鼻腔,持续 3 d,建立 MPP 小鼠模型。小鼠呼吸频率加快、寒颤和活动减少,支原体核酸检测呈阳性为造模成功。CK 组小鼠鼻腔内滴入灭菌生理盐水代替^[9]。

1.3.2 给药 茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组小鼠分别腹腔注射 2.5 mg/kg 和 5.0 mg/kg 的茯苓酸(溶于二甲基亚砜)^[10],茯苓酸高剂量+Colivelin 组腹腔注射 5.0 mg/kg 的茯苓酸,并注射 10 nmol/L 的 Colivelin^[11],Fedratinib 组小鼠通过管饲法给予 10 mg/kg 的 Fedratinib^[7],每天 1 次,连续给药 7 d。

1.3.3 标本采集 给药结束后,对小鼠进行麻醉,抽取小鼠主动脉血 3 mL,处死小鼠,取小鼠左肺组织待测。

1.3.4 小鼠血液中氧合指数测定 采用血气分析仪快速检测新鲜动脉血标本中动脉血中氧分压(PaO₂)和二氧化碳分压(PaCO₂),并计算氧合指数(OI), $OI = PaO_2 / FiO_2$ 。

1.3.5 肺组织湿/干(W/D)比值 生理盐水冲洗小鼠左肺下叶,滤纸充分吸干表面水分后称重,记录为湿重,将肺组织置于 80 $^{\circ}$ C 烘箱中干燥至恒重(72 h),

称重记为干重,计算肺组织 W/D 比值。

1.3.6 检测肺组织炎症因子 TNF-α、IL-18、IL-10 水平 取新鲜部分左肺组织冰浴研磨,制备组织匀浆,离心后取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF-α、IL-18、IL-10 水平。

1.3.7 HE 染色检测肺组织病理学变化 取小鼠左肺组织,清洗,4%多聚甲醛固定肺组织、乙醇脱水、透明、石蜡包埋、切片,HE 染色,观察肺组织的病理形态。

1.3.8 原位末端标记(TUNEL)染色检测肺组织细胞凋亡情况 取 1.3.7 中固定肺组织,脱水、石蜡包埋后切片,按照 TUNEL 试剂盒说明书检测细胞凋亡,凋亡率 = TUNEL 阳性细胞数/总细胞数 × 100%。

1.3.9 蛋白印迹法检测小鼠肺组织中 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达 取部分小鼠左肺组织冰浴研磨匀浆,离心收集上清液,提取总蛋白,95℃水浴将蛋白变性后进行电泳,转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,室温封闭 2 h,加入 Bax、Bcl-2、IL-6、p-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3、β-actin 一抗稀释液 4℃孵育过夜,加入二抗,采用增强化学发光(ECL)剂显色后,再用 Image J 软件分析蛋白。

1.4 统计学处理 采用 Graphpad Prism 8.0.1 软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,组内两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组 PaO₂、PaCO₂、OI 比较 与 CK 组比较,Model 组 PaO₂、OI 明显降低,PaCO₂ 明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 Model 组比较,茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组 PaO₂、OI 明显升高,PaCO₂ 明显降低,其中茯苓酸高剂量组

相关指标变化优于茯苓酸低剂量组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与茯苓酸高剂量组比较,茯苓酸高剂量+Colivelin 组 PaO₂、OI 明显降低,PaCO₂ 明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$),Fedratinib 组 PaO₂、PaCO₂、OI 与茯苓酸高剂量组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组小鼠肺组织 W/D 比值比较 CK 组、Model 组、茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组、Fedratinib 组、茯苓酸高剂量+Colivelin 组小鼠肺组织 W/D 比值分别为 2.47 ± 0.32 、 4.87 ± 0.46 、 4.03 ± 0.39 、 3.28 ± 0.31 、 3.42 ± 0.35 、 4.36 ± 0.42 。与 CK 组肺组织 W/D 比值比较,Model 组明显升高,差异有统计学意义($t = 13.544, P < 0.05$);茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组小鼠肺组织 W/D 比值明显低于 Model 组,差异均有统计学意义($t = 4.405$ 、 9.064 、 $7.933, P < 0.05$);与茯苓酸高剂量组比较,茯苓酸高剂量+Colivelin 组肺组织 W/D 比值明显升高,差异有统计学意义($t = 6.542, P < 0.05$),Fedratinib 组肺组织 W/D 比值与茯苓酸高剂量组比较,差异无统计学意义($t = 0.947, P = 0.356$)。

2.3 各组小鼠肺组织 TNF-α、IL-18、IL-10 水平比较 与 CK 组比较,Model 组小鼠肺组织 TNF-α、IL-18 水平明显升高,IL-10 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 Model 组比较,茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组小鼠肺组织 TNF-α、IL-18 水平明显降低,IL-10 水平明显升高,其中茯苓酸高剂量组相关指标变化优于茯苓酸低剂量组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与茯苓酸高剂量组比较,茯苓酸高剂量+Colivelin 组小鼠肺组织 TNF-α、IL-18 水平明显升高,IL-10 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);Fedratinib 组小鼠肺组织 TNF-α、IL-18、IL-10 水平与茯苓酸高剂量组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 各组 PaO₂、PaCO₂、OI 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	OI(p/mmHg)
CK 组	10	96.78±6.48	32.42±2.83	460.86±49.35
Model 组	10	50.67±4.23 ^a	58.76±5.47 ^a	241.27±26.28 ^a
茯苓酸低剂量组	10	65.82±5.31 ^b	49.13±4.26 ^b	313.42±32.67 ^b
茯苓酸高剂量组	10	78.54±7.16 ^{bc}	41.82±3.59 ^{bc}	374.58±38.72 ^{bc}
茯苓酸高剂量+Colivelin 组	10	60.36±5.64 ^d	52.34±5.18 ^d	286.91±30.43 ^d
Fedratinib 组	10	79.41±7.52 ^b	42.27±3.73 ^b	378.14±41.26 ^b
<i>F</i>		70.706	46.871	43.973
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CK 组比较,^a $P < 0.05$;与 Model 组比较,^b $P < 0.05$;与茯苓酸低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与茯苓酸高剂量组比较,^d $P < 0.05$ 。

2.4 各组小鼠肺组织形态变化比较 CK 组小鼠肺组织形态结构正常;Model 组小鼠肺泡、肺泡囊、肺泡

管等结构被明显破坏,甚至消失,肺泡间隔和细支气管壁明显增厚,炎症细胞大量浸润,肺泡壁毛细血管

明显扩张;与 Model 组比较,茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组小鼠肺组织形态有所改善;与茯苓酸高剂量组比较,茯苓酸高剂量+Colivelin 组小鼠肺组织损伤明显加重。见图 1。

2.5 各组小鼠肺组织细胞凋亡率比较 CK 组、Model 组、茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组、茯苓酸高剂量+Colivelin 组、Fedratinib 组小鼠肺组织细胞凋亡率分别为(3.42±0.46)%、(37.63±3.87)%、(26.91±2.74)%、(14.79±1.58)%、(29.58±3.23)%、(15.36±1.64)%。与 CK 组比较,Model 组

小鼠肺组织细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 Model 组比较,茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组小鼠肺组织细胞凋亡率明显降低,且茯苓酸高剂量组肺组织细胞凋亡率低于茯苓酸低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$);与茯苓酸高剂量组比较,茯苓酸高剂量+Colivelin 组小鼠肺组织细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);Fedratinib 组小鼠肺组织细胞凋亡率与茯苓酸高剂量组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 2。

表 2 各组小鼠肺组织 TNF- α 、IL-18、IL-10 水平比较($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	<i>n</i>	TNF- α	IL-18	IL-10
CK 组	10	72.61±8.43	48.57±4.72	117.68±12.54
Model 组	10	218.78±23.26 ^a	139.48±12.56 ^a	36.74±3.86 ^a
茯苓酸低剂量组	10	162.47±15.32 ^b	112.24±11.37 ^b	67.32±6.42 ^b
茯苓酸高剂量组	10	98.62±8.57 ^{bc}	76.68±8.16 ^{bc}	95.26±8.71 ^{bc}
茯苓酸高剂量+Colivelin 组	10	176.53±18.64 ^d	118.52±11.24 ^d	61.85±6.34 ^d
Fedratinib 组	10	101.39±9.84 ^b	79.13±8.48 ^b	93.57±8.27 ^b
<i>F</i>		141.256	116.387	126.354
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CK 组比较,^a $P<0.05$;与 Model 组比较,^b $P<0.05$;与茯苓酸低剂量组比较,^c $P<0.05$;与茯苓酸高剂量组比较,^d $P<0.05$ 。

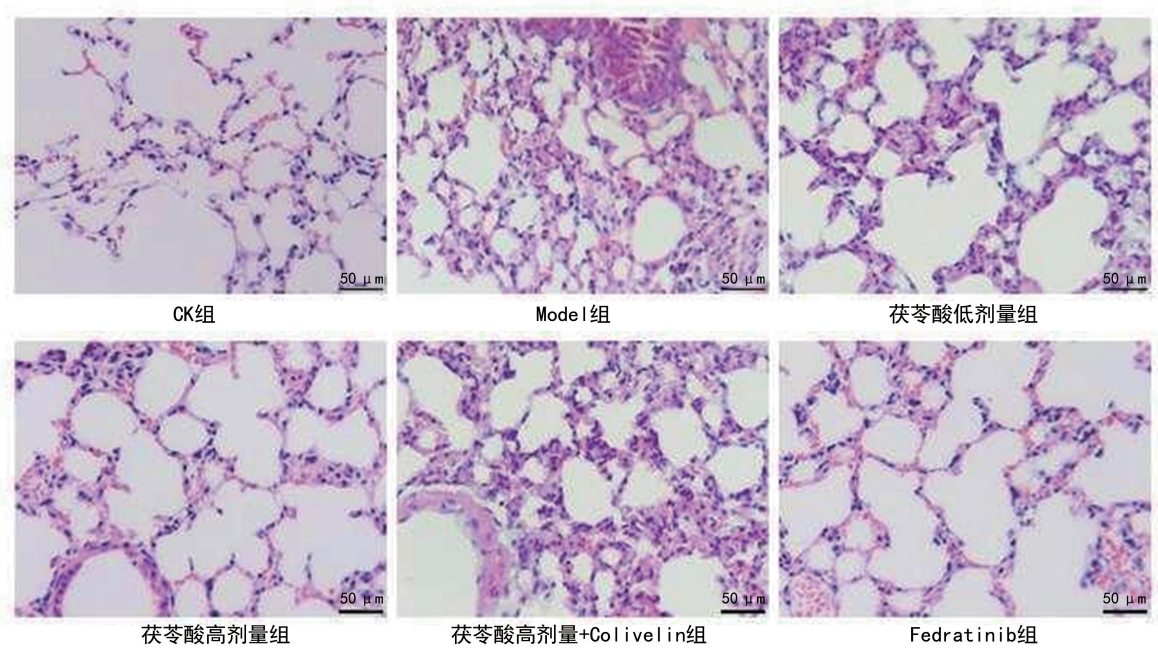


图 1 各组小鼠肺组织 HE 染色(200×)

2.6 各组小鼠肺组织中 Bax、Bcl-2、IL-6、p-JAK2、JAK2、p-STAT3 和 STAT3 蛋白表达水平比较 与 CK 组比较,Model 组小鼠肺组织 Bax、IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平明显升高,Bcl-2 蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);与 Model 组比较,茯苓酸低剂量组、茯苓酸高剂量组和 Fedratinib 组小鼠肺组织 Bax、IL-6、p-

JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平明显降低,Bcl-2 蛋白表达水平明显升高,其中茯苓酸高剂量组相关指标变化优于茯苓酸低剂量组,差异均有统计学意义($P<0.05$);与茯苓酸高剂量组比较,茯苓酸高剂量+Colivelin 组小鼠肺组织 Bax、IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平明显升高,Bcl-2 蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义

($P<0.05$), Fedratinib 组小鼠肺组织 Bax、Bcl-2、IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平与茯苓酸高剂量组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3、图 3。

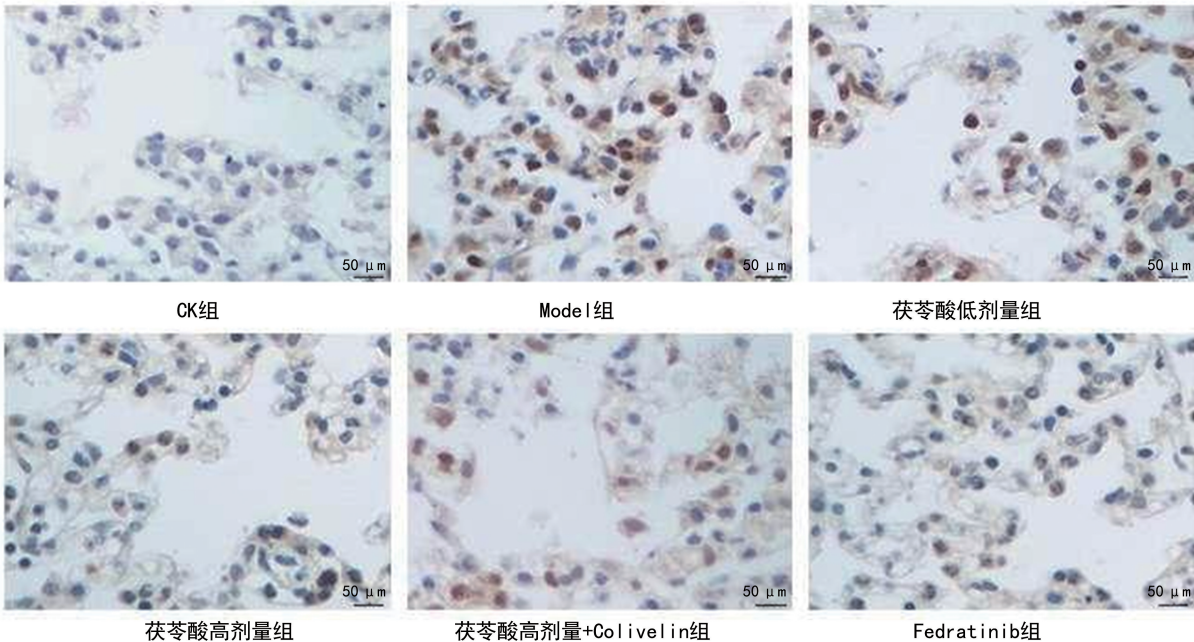
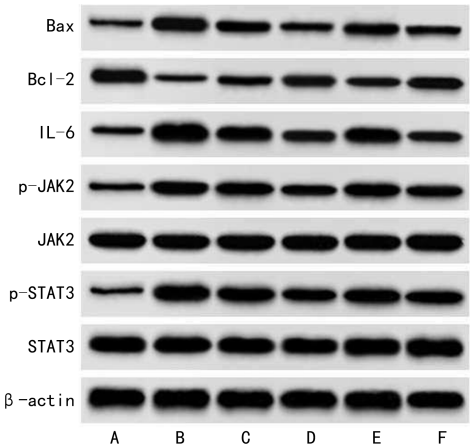


图 2 TUNEL 染色检测肺组织细胞凋亡情况(400×)

表 3 各组小鼠肺组织中 Bax、Bcl-2、IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	Bax	Bcl-2	IL-6	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3
CK 组	10	0.21±0.02	0.85±0.08	0.37±0.04	0.32±0.03	0.28±0.03
Model 组	10	0.76±0.07 ^a	0.27±0.03 ^a	1.24±0.12 ^a	0.93±0.08 ^a	1.07±0.09 ^a
茯苓酸低剂量组	10	0.57±0.05 ^b	0.46±0.04 ^b	0.91±0.08 ^b	0.72±0.06 ^b	0.82±0.07 ^b
茯苓酸高剂量组	10	0.35±0.03 ^{bc}	0.67±0.06 ^{bc}	0.58±0.06 ^{bc}	0.49±0.05 ^{bc}	0.54±0.05 ^{bc}
茯苓酸高剂量+Colivelin 组	10	0.63±0.06 ^d	0.41±0.04 ^d	0.97±0.08 ^d	0.78±0.07 ^d	0.86±0.06 ^d
Fedratinib 组	10	0.36±0.04 ^b	0.65±0.06 ^b	0.56±0.05 ^b	0.51±0.05 ^b	0.52±0.06 ^b
<i>F</i>		184.058	149.480	179.032	144.548	208.110
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 CK 组比较,^a $P<0.05$;与 Model 组比较,^b $P<0.05$;与茯苓酸低剂量组比较比较,^c $P<0.05$;与茯苓酸高剂量组比较,^d $P<0.05$ 。



注:A 为 CK 组;B 为 Model 组;C 为茯苓酸低剂量组;D 为茯苓酸高剂量组;E 为茯苓酸高剂量+Colivelin 组;F 为 Fedratinib 组。

图 3 各组小鼠肺组织中 Bax、Bcl-2、IL-6、p-JAK2、JAK2、p-STAT3 和 STAT3 蛋白表达情况

3 讨 论

MPP 是一种由 MP 感染引起的疾病,主要发生于儿童,可通过空气飞沫传播,具有地区流行的特点^[12-13]。MP 感染后还会引起其他肺外并发症,如心血管疾病和神经系统疾病等^[14]。近年来,MPP 的发病率有逐渐升高的趋势,严重威胁儿童健康。目前,针对 MPP 的治疗主要是使用大环内酯类抗菌药物,但抗菌药物的使用会影响儿童的生长发育,可能还存在不确定风险。因此,急需开发新的不良反应小的药物用于 MPP 的治疗。中药因不良反应小而被广泛研究,茯苓酸是一种天然中药成分,具有抗菌抗炎的药理特性^[15]。杨依等^[16]的研究表明茯苓酸可降低肺部炎症反应和肺组织损伤。陈云等^[17]的研究表明茯苓酸可减轻急性肺损伤小鼠的炎症反应,降低肺组织损伤程度,推测茯苓酸具有降低炎症反应的作用。

PaO₂ 是指动脉血中物理溶解的氧分子所产生的张力,是反映机体缺氧的敏感指标,可判断机体是否存在缺氧情况^[18]。PaCO₂ 是指动脉血物理溶解的二氧化碳所产生的张力,可衡量肺泡通气情况,还可反映血液酸碱平衡,当呼吸功能出现障碍时,PaO₂ 下降,PaCO₂ 升高。OI 是动脉氧分压与吸入氧浓度的比值,可评估肺损伤程度。本研究结果显示,与 CK 组比较,Model 组小鼠血液中 PaCO₂ 明显升高,PaO₂、OI 明显降低,表明 Model 组小鼠肺功能出现一定损伤,推测模型小鼠的呼吸功能出现障碍。茯苓酸干预可改善血气分析指标及肺功能。W/D 比值是肺组织水肿指标,可反映肺损伤的严重程度^[19]。本研究结果显示,茯苓酸可明显降低 W/D 比值,降低肺损伤程度。进一步通过肺组织染色观察到茯苓酸可明显改善肺组织损伤。MP 通过侵入儿童呼吸道上皮细胞可触发炎症反应,产生 TNF- α 、IL-18 等炎症因子,TNF- α 、IL-18 过表达可促进嗜中性粒细胞浸润,导致肺组织炎症反应加重,以及肺组织损伤加重。IL-10 是一种抗炎免疫抑制细胞因子,可抑制细菌、病毒引起的组织损伤^[5]。本研究结果显示,茯苓酸干预后可明显降低肺组织 TNF- α 、IL-18 水平,提高 IL-10 水平,抑制炎症反应。Bax 和 Bcl-2 蛋白属于凋亡调控蛋白,Bax 蛋白可促进细胞凋亡,Bcl-2 具有抑制蛋白凋亡的作用,MPP 模型小鼠肺组织 Bax 蛋白表达水平升高,Bcl-2 蛋白表达水平降低,肺部细胞凋亡被促进^[20]。本研究结果显示,茯苓酸可下调 Bax 蛋白表达水平,并上调 Bcl-2 蛋白表达水平,进而降低肺组织细胞凋亡,提示茯苓酸可抑制 MPP 小鼠肺组织炎症反应、细胞凋亡,改善肺功能。

IL-6 通过与膜结合型的 IL-6 受体- α 结合,形成由两个 IL-6 分子组成的异构体复合物(IL-6 受体- α 和 IL-6 受体亚基- β),该复合物诱导激活 JAK2/STAT3 信号通路,促进 STAT3 磷酸化,进而诱导炎症反应发生^[19]。SHI 等^[21] 研究表明,抑制 JAK2/STAT3 信号通路可缓解 MPP 小鼠炎症反应和肺组织损伤。JIE 等^[19] 研究表明,抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路可降低哮喘小鼠炎症反应、氧化应激和肺组织损伤,改善肺功能。另有研究显示,茯苓酸通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路可降低炎症反应^[22]。本研究结果显示,Model 组小鼠肺组织 IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平明显升高,提示 MP 肺部感染可能激活 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路。而茯苓酸干预后可明显降低 IL-6、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平,抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路。为进一步验证该结论,本研究采用 JAK2 抑制剂 Fedratinib 干预小鼠,结果显示,Fedratinib 组小鼠各项检测指标与茯苓酸高剂量组处于同一水平,也可以有效治疗 MPP 小

鼠。为进一步验证茯苓酸的作用靶点是 IL-6/JAK2/STAT3 通路,本研究在茯苓酸干预基础上用 JAK2 激活剂 Colivelin 干预小鼠,结果发现,Colivelin 可部分逆转茯苓酸对 MPP 小鼠的治疗作用。综合以上结果得出结论,茯苓酸通过抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路可降低 MPP 小鼠肺组织炎症反应和细胞凋亡,改善肺功能。

综上所述,茯苓酸通过抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路可降低 MPP 小鼠肺组织炎症反应和细胞凋亡,改善肺功能。这些发现为茯苓酸作为一种潜在的治疗小儿 MPP 中药成分提供了直接证据。但茯苓酸在小鼠体内可能还存在其他通路,后续还需进一步研究。

参考文献

- [1] CHEN J, YIN Y, ZHAO L, et al. Mycoplasma pneumoniae infection prediction model for hospitalized community-acquired pneumonia children[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2021, 56(12):4020-4028.
- [2] LI J, LUU L D W, 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.
- [3] 马晓婧, 刘玉清, 罗雨薇, 等. 麻杏石甘汤对风热闭肺证肺炎支原体肺炎患儿血清 TLR2、TLR4 和 Th1/Th2 免疫平衡的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(24):4647-4650.
- [4] 黄斯, 潘雨薇, 蓝海, 等. 茯苓酸药理学研究进展[J]. *中成药*, 2015, 37(12):2719-2721.
- [5] GUI Y, SUN L, LIU R, et al. Pachymic acid inhibits inflammation and cell apoptosis in lipopolysaccharide (LPS)-induced rat model with pneumonia by regulating NF- κ B and MAPK pathways[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2021, 49(5):87-93.
- [6] LI J Y, WU H X, YANG G. Pachymic acid improves survival and attenuates acute lung injury in septic rats induced by cecal ligation and puncture[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8):1904-1910.
- [7] 雷秀, 陈珊, 池莹莹, 等. 儿童肺炎支原体感染的危险因素及 IL-6/STAT3 通路表达[J]. *中华医院感染学杂志*, 2024, 34(2):263-266.
- [8] 王亚洲, 何鹏, 王丹虹, 等. 儿童支原体肺炎感染 Th17/Treg 平衡及 IL-6/STAT3、IL-2/STAT5 通路影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(7):1043-1047.
- [9] DING N, LEI A, SHI Z, et al. Total flavonoids from *Camellia oleifera* alleviated Mycoplasma pneumoniae-induced lung injury via inhibition of the TLR2-mediated NF- κ B and MAPK pathways[J]. *Molecules*, 2023, 28(20):7077-7086.
- [10] WANG S, TAN W, ZHANG L, et al. Pachymic acid protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis by

suppressing fibrotic, inflammatory, and oxidative stress pathways in mice[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2023, 31 (2):s12010-s12022.

[11] WANG X, YANG B, LI Y, et al. AKR1C1 alleviates LPS induced ALI in mice by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(6):833-845.

[12] LUO Y, WANG Y. Risk prediction model for necrotizing pneumonia in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. J Inflamm Res, 2023, 16(2):2079-2087.

[13] LEE E, CHOI I. Clinical usefulness of serum lactate dehydrogenase levels in Mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. Indian J Pediatr, 2022, 89(10):1003-1009.

[14] WANG L, XIE Q, XU S, et al. The role of flexible bronchoscopy in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Pediatr Res, 2023, 93(1):198-206.

[15] XUE C, XU Z, LIU Z, et al. Pachymic acid protects hepatic cells against oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury by activating sirtuin 1 to inhibit HMGB1 acetylation and inflammatory signaling[J]. Chin J Physiol, 2023, 66(4):239-247.

[16] 杨依, 陈凡, 冯瑞兴, 等. 茯苓酸对小鼠急性放射性肺损伤的防护作用机制[J]. 中国高原医学与生物学杂志, 2022, 43(4):268-274.

[17] 陈云, 王婷婷, 郝明明, 等. 茯苓酸对 LPS 诱导的急性肺

损伤小鼠的保护作用及机制[J]. 广东药科大学学报, 2022, 38(1):83-89.

[18] 张晓玉, 胡占升. 动态 FRC 监测滴定最适 PEEP 在中重度 ARDS 患者中的应用[J]. 锦州医科大学学报, 2023, 44 (2):35-39.

[19] JIE X L, LUO Z R, YU J, et al. Pi-Pa-Run-Fei-Tang alleviates lung injury by modulating IL-6/JAK2/STAT3/IL-17 and PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway and balancing Th17 and Treg in murine model of OVA-induced asthma[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 317 (2): 116719-116731.

[20] CHEN Y, ZHANG W, XIN L, et al. Modulatory apoptotic effects of sinomenine on Mycoplasma pneumonia through the attenuation of inflammation via ERK/JNK/NF- κ B signaling pathway [J]. Arch Microbiol, 2022, 204 (7): 441.

[21] SHI J, MA C, HAO X, et al. Reserve of Wnt/ β -catenin signaling alleviates Mycoplasma pneumoniae P1-C-induced inflammation in airway epithelial cells and lungs of mice[J]. Mol Immunol, 2023, 153(2):60-74.

[22] 冯莉莉, 曹慧, 李贺. 茯苓酸通过调节 JAK2/STAT3/SOCS3 信号通路减轻急性心肌梗死大鼠的心肌纤维化[J]. 标记免疫分析与临床, 2023, 30(9):1539-1545.

(收稿日期:2024-02-20

修回日期:2024-07-29)

(上接第 3674 页)

对小鼠高糖离体心肌细胞缺氧复氧损伤的影响:与线粒体自噬的关系[J]. 中华麻醉学杂志, 2021, 41(8):996-999.

[7] LIU G, CHEN H, LIU H, et al. Emerging roles of SIRT6 in human diseases and its modulators[J]. Med Res Rev, 2021, 41(2):1089-1137.

[8] 涂清鲜, 姜黔峰, 焦阳, 等. 血浆 Hcy, CysC 及 Fbg 水平与急性心肌梗死心肌缺血再灌注损伤的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(17):3585-3587.

[9] 潘颖洁, 陈蕊, 许尧, 等. CD137 与急性 ST 段抬高型心肌梗死患者缺血再灌注损伤的相关性研究[J]. 中华心血管病杂志, 2021, 49(12):1198-1205.

[10] YAN H F, TUO Q Z, YIN Q Z, et al. The pathological role of ferroptosis in ischemia/reperfusion-related injury [J]. Zool Res, 2020, 41(3):220-230.

[11] CHEN X, CAI Q, LIANG R, et al. Copper homeostasis and copper-induced cell death in the pathogenesis of cardiovascular disease and therapeutic strategies [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(2):105.

[12] WANG J, ZHOU H. Mitochondrial quality control mechanisms as molecular targets in cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. Acta Pharm Sin B, 2020, 10(10):1866-1879.

[13] KUMARI R, RANJAN P, SULEIMAN Z G, et al. mR-NA modifications in cardiovascular biology and disease: with a focus on m6A modification [J]. Cardiovasc Res, 2022, 118(7):1680-1692.

[14] MENG L, LIN H, HUANG X, et al. METTL14 suppresses pyroptosis and diabetic cardiomyopathy by downregulating TINCR lncRNA [J]. Cell Death Dis, 2022, 13(1): 38.

[15] LUO D, LI W, XIE C, et al. Capsaicin attenuates arterial calcification through promoting SIRT6-mediated deacetylation and degradation of Hif1 α (Hypoxic-inducible factor-1 α) [J]. Hypertension, 2022, 79(5):906-917.

[16] XING Y, SUI Z, LIU Y, et al. Blunting TRPML1 channels protects myocardial ischemia/reperfusion injury by restoring impaired cardiomyocyte autophagy [J]. Basic Res Cardiol, 2022, 117(1):20.

[17] XIE W, ZHU T, ZHANG S, et al. Protective effects of Gypenoside XIII against cerebral ischemia/reperfusion injury via SIRT1-FOXO3A-and Hif1 α -BNIP3-mediated mitochondrial autophagy [J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 622.

(收稿日期:2024-02-26

修回日期:2024-08-18)