【基础研究】

布地奈德对呼吸道合胞病毒诱发幼龄小鼠肺炎性损伤的保护作用

贺 蓉，张 娟*，周长怀，张森山，卢 旭
（安康市中心医院儿科，陕西安康 725000）

摘要：目的 探究布地奈德对呼吸道合胞病毒（respiratory syncytial virus，RSV）诱发幼龄小鼠肺炎性损伤的作用。**方法** 72只BABL/c幼龄小鼠随机分为健康对照组、RSV组、低剂量组、中剂量组、高剂量组以及阳性对照组，每组12只。健康对照组鼻腔滴注50 μl生理盐水，其余5组给予RSV-long株病毒用于建模。健康对照组和RSV组雾化吸入等量生理盐水，低、中以及高剂量组雾化吸入0.2、0.8以及1.5 mg/kg布地奈德混悬液，阳性对照组雾化吸入46 mg/kg利巴韦林，一日1次，持续7 d。比较小鼠肺指数、肺湿/干重比（wet/dry，W/D）、肺功能以及RSV载量；流式细胞术检测Treg/辅助性T细胞（help T cell，Th17）；酶联免疫吸附试验测定白介素（interleukin，IL）-17、IL-21以及IL-22水平；蛋白质印迹法检测核因子（nuclear factor，NF）κB蛋白。**结果** 与健康对照组相比，RSV组肺指数、W/D、RSV载量、呼气峰值流速（peak exhalation flow，PEF）、吸气阻力（resistance inspiratory，RI）、呼气阻力（resistance exhalation，RE）、Th17比例、肺组织和血清IL-17、IL-21、IL-22、NF-κB蛋白增加，动态肺顺应性（dynamic lung compliance，Cdyn）、Treg以及Treg/Th17比例降低（$P < 0.05$）；与RSV组相比，低、中、高剂量组及阳性对照组肺指数、W/D、RSV载量、PEF、RI、RE以及Th17比例、肺组织、血清IL-17、IL-21、IL-22以及NF-κB蛋白降低，Cydn、Treg以及Treg/Th17比例增加（$P < 0.05$）。**结论** 布地奈德可通过调节NF-κB容量减轻RSV诱发幼龄小鼠肺炎性损伤，改善Treg/Th17比例。

关键词：布地奈德；呼吸道合胞病毒；肺功能；Treg/辅助性T17细胞；肺炎
中图分类号：R563.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2024)10-1023-007
引用：贺蓉, 张娟, 周长怀, 等. 布地奈德对呼吸道合胞病毒诱发幼龄小鼠肺炎性损伤的保护作用[J]. 世界临床药物, 2024, 45(10): 1023-1029. DOI：10.13683/j.wph.2024.10.004

Protective effect of budesonide on pneumonia injury induced by respiratory syncytial virus in young mice

HE Rong, ZHANG Juan*, ZHOU Changhuai, ZHANG Senshan, LU Xu
(*Department of Pediatrics, Ankang Central Hospital, Ankang 725000, Shaanxi Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effect of budesonide on pneumonia injury induced by respiratory syncytial virus(RSV) in young mice. ***Methods*** Seventy-two BABL/c young mice were randomly divided into healthy control group, RSV group, low dose group, medium dose group, high dose group and positive control group, with 12 mice in each group. The healthy control group was given 50 μl physiological saline nasal drip, and the other 5 groups were given RSV-long virus for modeling. The healthy control group and RSV group were atomized with the same amount of physiological saline, the low, medium and high dose groups were atomized with 0.2, 0.8 and 1.5 mg/kg budesonide suspension, and the positive control group was atomized with 46 mg/kg ribavirin once a day for 7 days. The pulmonary index, lung wet/dry weight ratio(W/D), lung function and RSV load were compared. Treg/helper T cells(Th17) were detected by flow

收稿日期：2024-03-07
作者简介：贺蓉，副主任医师，研究方向：儿内科。
通信作者：张娟，副主任医师，研究方向：儿童感染、消化、呼吸及重症。
基金项目：陕西省卫生健康科研项目(2018C0267)

cytometry. The levels of interleukin (IL)-17, IL-21 and IL-22 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The nuclear factor (NF)-κB protein was detected by western blotting. ***Results*** Compared with healthy control group, pulmonary index, W/D, RSV load, peak exhalation flow (PEF), resistance inspiratory (RI), resistance exhalation (RE), Th17 proportion, lung tissue and serum IL-17, IL-21, IL-22, NF-κB protein in RSV group increased, dynamic lung compliance (Cdyn), Treg, Treg/Th17 proportion were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with RSV group, pulmonary index, W/D, RSV load, PEF, RI, RE, Th17 proportion, lung tissue and serum IL-17, IL-21, IL-22 and NF-κB protein were decreased in low, medium and high dose groups and positive control group, while Cdyn, Treg and Treg/Th17 proportion were increased ($P<0.05$). ***Conclusion*** Budesonide can reduce pneumonia injury induced by RSV and improve Treg/Th17 ratio in young mice by regulating NF-κB capacity.

Key words: budesonide; respiratory syncytial virus; lung function; pneumonia

呼吸道合胞病毒（respiratory syncytial virus，RSV）是诱发婴幼儿下呼吸道感染常见病毒，也是诱发小儿肺炎的常见原因[1]。研究表明，RSV 感染的肺炎占小儿肺炎的 50%[2]，还可诱发毛细支气管炎、哮喘等疾病，RSV 引发的肺炎是临床较为常见的间质性肺炎，患儿表现为呼吸困难、高热、口唇发紫等，严重者可引发心力衰竭[3]。目前临床治疗 RSV 感染疾病尚无特效药物，多以抗菌、抗炎等对症治疗和支持治疗为主[4]，布地奈德属于糖皮质激素类药物，具有良好局部抗炎作用，也是治疗 RSV 感染的常用药物[5]。有研究报道显示，布地奈德雾化吸入可改善 RSV 感染幼鼠炎症反应和提高免疫功能[6]，但关于布地奈德混悬液在 RSV 诱发幼龄小鼠肺炎性损伤的研究机理尚不清楚。核因子（nuclear factor，NF）-κB 信号通路是经典炎症信号转导途径，可介导参与多种炎症及肺部疾病进展[7]。故本研究探讨布地奈德混悬液通过调节 NF-κB 信号通路对 RSV 诱发幼龄小鼠肺组织炎性损伤、Treg/ 辅助性 T 细胞（help T cell，Th）17 比例的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

72 只 BABL/c 雄性小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司，生产许可证：SCXK（京）2021-0011，使用许可证：SYXK（京）2022-0052，3 周龄，12 ～ 14 g。小鼠置于湿度 55%、温度 23 ～ 25 ℃，昼夜交替各 12 h，在标准条件下饲养，自由进食和饮水。

1.2 主要试剂

RSV long 株，购自中国预防医学科学院病毒所毒种室，保存 −80 ℃冰箱，100 μl 50% 组织细胞培养感染量 100 μl 稀释至 1 000 倍。布地奈德混悬液（2 ml ： 1 mg，221103）购自正大天晴药业集团股份有限公司；利巴韦林（500 ml，220924）购自苏中药业集团股份有限公司；TRIzol 试剂（15596018CN）、逆转录试剂盒（4366597）购自赛默飞世尔公司；白介素（interleukin，IL）-17（E-EL-M0047）、IL-21（E-EL-M1273）、IL-22（E-EL-M2446）购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；NF-κB 抗体（ab288751）、磷酸化 NF-κB（phosphorylated NF-κB，p-NF-κB）抗体（ab239882）、甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体（ab8245）、羊抗兔二抗抗体（ab200699）均购自英国 Abcam 公司；二喹啉甲酸（bicinchoninic acid，BCA）试剂盒（PC0020-50T）、电化学发光（electro-chemiluminescence，ECL）试剂（PE0010-2）均购自北京索莱宝公司；Anti-CD4- 荧光素异硫氰酸酯（fluorescein isothiocyanate，FITC，F1773）、Anti-CD25-APC（MABF548）、Anti-FOXP3-PE（SAB4700611）购自美国 Sigma-Aldrich；Anti-IL-17APE（MABF331）购自美国 merck millipore。

1.3 分组和建模

72 只小鼠分为健康对照组、RSV 组、低剂量

组、中剂量组、高剂量组以及阳性对照组，每组 12 只。除健康对照组外，其余 5 组小鼠用乙醚轻度麻醉，各组小鼠经鼻腔滴注 50 μl RSV-long 株病毒溶液，用于建模，小鼠出现流涕、喘息、呼吸急促、厌食、蜷卧、竖毛等，则提示造模成功 [7]。健康对照组经鼻腔滴注 50 μl 生理盐水，连续 3 d。

低、中、高剂量组雾化吸入 0.2、0.8、1.5 mg/kg 布地奈德混悬液 [6]，阳性对照组雾化吸入 46 mg/kg 利巴韦林，健康对照组和 RSV 组雾化吸入等量生理盐水，一日 1 次，持续 7 d。每天观察小鼠生长情况，包括饮水量、进食量、毛发及生活状态等，并做好记录。

1.4 方法

1.4.1 肺功能

末次灌胃 12 h 后，腹腔内注射麻醉小鼠，约 5～10 min 达到深度麻醉，切开器官行气管插管，连接 ZS-MVHX 型动物呼吸机（北京众实迪创科技发展有限公司），仰卧位固定在扫描箱内，进行肺功能检查，检测肺功能指标呼气峰值流速（peak exhalation flow，PEF）、动态肺顺应性（dynamic lung compliance，Cdyn）、吸气阻力（resistance inspiratory，RI）、呼气阻力（resistance exhalation，RE）。

1.4.2 小鼠肺指数、肺湿 / 干重比（wet/dry，W/D）检测

末次灌胃 24 h 后，称取所有小鼠体质量，脱颈处死各组小鼠，在无菌条件下剥离完肺组织，计算小鼠肺指数＝肺湿重 / 体质量 ×100%；并留取尾静脉血液 3 ml，置于超低温 −80 ℃冰箱内保存。称取各组小鼠左肺组织，即湿重，置于烘箱内 80 ℃烘至恒重，即干重，用于计算 W/D ＝湿重 / 干重 ×100%。

1.4.3 实时定量聚合酶链式反应（quantitative real-time polymerase chain reaction，qRT-PCR）检测 RSV 载量

取 100 mg 肺组织制备成匀浆液，加 TRIzol 用于提取总 RNA，经紫外分光光度计测定 RNA 浓度和纯度，利用逆转录试剂盒合成 cDNA 模板，并制备扩增反应体系：RNA 10 μl、PrimeScript Buffer 4 μl、PrimeScript RT En-zyme Mix I 1 μl、RT Primer Mix 1 μl，RNase Free dH^2O 补充至 20 μl。以 β-actin 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 RSV 病毒载量。

1.4.4 流式细胞术检测 Treg/Th17 比例

取小鼠肺组织制备成单细胞混悬液，浓度为 1×10^7/ml。取细胞悬液转移至流式管中，培养 6 h，Treg 细胞加 Anti-CD4-FITC，再加入 Anti-IL-17APE 避光孵育 30 min；Th17 加 Anti-CD4-FITC、Anti-CD25-APC 避光孵育 30 min，固定破膜后，加混悬液混匀避光孵育 30 min，加 Anti-FOXP3-PE 孵育。The Attune CytPix 流式细胞仪（赛默飞世尔公司）检测 $CD4^+$、$IL\text{-}17^+$为 Th17 比例、$CD4^+$、$CD25^+$、$FOXP3^+$为 Treg 细胞比例，计算 Treg/Th17 比例。

1.4.5 酶联免疫吸附法测定 IL-17、IL-21 及 IL-22 炎性因子

取 100 mg 肺组织，剪碎成 1 m^2 组织块，制备成匀浆液；并取小鼠外周血，将匀浆液、外周血以 1 500 *g* 条件离心 10 min，取上清液，用酶联免疫吸附法测定 IL-17、IL-21 以及 IL-22。

1.4.6 蛋白质印迹（western blot，WB）法检测 NF-κB 蛋白表达

取小鼠肺组织 100 mg，制备匀浆液后加蛋白裂解液，BCA 法测定蛋白浓度，100 ℃煮沸变性 5 min，经 12% 凝胶电泳处理蛋白样品，转膜、封闭培养后，4 ℃下加一抗 NF-κB、p-NF-κB、内参 GAPDH 孵育 24 h，加羊抗兔二抗室温孵育 1 h，用 ECL 显色、定影、拍照，Image J 分析蛋白条带密度值。

1.5 统计学分析

采用 SPSS21.0 进行统计学分析，符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示，多组间比较采单因素方差分析，组内比较用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

健康对照组生活状态良好，饮水量、进食量均正常，反应灵敏、毛发光泽，呼吸频率正常，小鼠体质量增加；其中高剂量组与阳性对照组干预效果无明显差异，见表1。

表1 各组小鼠一般情况比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Comparison of the general situation of mice in each group（$\bar{x}\pm s$）

分组	日均饮水量/ml	日均进食量/g	体质量/g
健康对照组（n=12）	27.81±3.44	23.42±1.87	19.75±1.85
RSV组（n=12）	16.37±2.20**	13.11±0.85**	13.75±1.35**
低剂量组（n=12）	19.35±3.02$^{\#\blacktriangle}$	16.74±1.25$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	14.89±1.08$^{\#\blacktriangle\blacktriangle}$
中剂量组（n=12）	21.28±2.75$^{\#\#\blacktriangle}$	19.44±1.75$^{\#\#\blacktriangle}$	17.24±0.87$^{\#\#\blacktriangle}$
高剂量组（n=12）	25.02±3.28$^{\#\#}$	21.67±1.25$^{\#\#}$	18.81±1.24$^{\#\#}$
阳性对照组（n=12）	24.77±4.11$^{\#\#}$	21.50±2.23$^{\#\#}$	18.93±1.75$^{\#\#}$
F值	20.927	67.712	37.991
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：与健康对照组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与RSV组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P<0.01$。

Note: *vs* healthy control group, *$P<0.05$, **$P<0.01$; *vs* RSV group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P<0.05$, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P<0.01$.

2.2 肺功能

与健康对照组相比，RSV组Cdyn显著降低，PEF、RI以及RE显著增加（$P<0.05$）；与RSV组相比，低、中、高剂量组以及阳性对照组PEF、Cdyn显著增加，RI及RE显著降低（$P<0.05$）；与阳性对照组相比，低、中剂量组PEF、Cdyn显著降低，RI以及RE显著增加，见表2。

2.3 肺指数、W/D及RSV载量

与健康对照组相比，RSV组肺指数、W/D以及RSV载量显著增加（$P<0.05$）；与RSV组相比，低、中、高剂量组以及阳性对照组肺指数、W/D以及RSV载量显著降低（$P<0.05$），见表3。

2.4 肺组织Treg/Th17比例

与健康对照组相比，RSV组Treg、Treg/Th17比例显著降低，Th17比例显著增加（$P<0.05$）；与RSV组相比，低、中、高剂量组以及阳性对照组Treg、Treg/Th17比例显著增加，Th17比例显著降低（$P<0.05$）。见表4。

2.5 肺组织炎性因子

与健康对照组相比，RSV组肺组织IL-17、IL-21、IL-22显著增加（$P<0.05$）；与RSV组相比，低、中、高剂量组、阳性对照组肺组织IL-17、IL-21、IL-22显著降低（$P<0.05$）。见表5。

2.6 血清炎性因子

与健康对照组相比，RSV组血清IL-17、IL-21、IL-22显著增加（$P<0.05$）；与RSV组相比，低、中、高剂量组以及阳性对照组血清IL-17、IL-21、IL-22显著降低（$P<0.05$）。见表6。

表2 各组肺功能比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2 Comparison of lung function in each group（$\bar{x}\pm s$）

分组	PEF/L·min^{-1}	Cdyn/ml·cmH$_2$O^{-1}	RI/cmH$_2$O·(L·s)$^{-1}$	RE/cmH$_2$O·(L·s)$^{-1}$
健康对照组（n=12）	11.26±5.69	0.39±0.10	0.69±0.12	0.51±0.10
RSV组（n=12）	82.40±4.87**	0.23±0.05**	0.98±0.06**	0.76±0.09**
低剂量组（n=12）	88.31±3.17$^{\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.27±0.03$^{\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.92±0.04$^{\#\blacktriangle}$	0.68±0.07$^{\#\blacktriangle}$
中剂量组（n=12）	95.46±3.52$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.32±0.05$^{\#\#\blacktriangle}$	0.79±0.03$^{\#\#\blacktriangle}$	0.60±0.05$^{\#\#\blacktriangle}$
高剂量组（n=12）	104.35±4.99$^{\#\#}$	0.38±0.07$^{\#\#}$	0.73±0.11$^{\#\#}$	0.53±0.10$^{\#\#}$
阳性对照组（n=12）	106.66±4.92$^{\#\#}$	0.40±0.08$^{\#\#}$	0.72±0.08$^{\#\#}$	0.56±0.10$^{\#\#}$
F值	535.675	9.006	9.860	10.998
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与健康对照组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与RSV组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P<0.05$，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P<0.01$。

Note: *vs* healthy control group, *$P<0.05$, **$P<0.01$; *vs* RSV group, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P<0.05$, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P<0.01$.

表 3 各组肺指数、W/D、RSV 载量比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 3 Comparison of lung index, W/D and RSV load in each group（$\bar{x}\pm s$）

分组	肺指数/%	W/D	RSV载量
健康对照组（n=12）	2.23±0.26	0.69±0.09	0.00±0.00
RSV组（n=12）	5.95±0.46**	1.64±0.19**	11.48±1.44**
低剂量组（n=12）	3.17±0.28$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	1.31±0.16$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	9.63±0.90$^{\#\blacktriangle\blacktriangle}$
中剂量组（n=12）	4.50±0.42$^{\#\#\blacktriangle}$	0.98±0.10$^{\#\#\&\&}$	6.03±0.61$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
高剂量组（n=12）	5.25±0.40$^{\#\#}$	0.79±0.12$^{\#\#}$	3.17±0.67$^{\#\#}$
阳性对照组（n=12）	5.20±0.44$^{\#\#}$	0.81±0.09$^{\#\#}$	3.31±0.64$^{\#\#}$
F值	121.617	71.191	245.467
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与健康对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与 RSV 组比较，$^{\#}P$＜0.05，$^{\#\#}P$＜0.01；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01。

Note: *vs* healthy control group, *P ＜ 0.05, **P ＜ 0.01; *vs* RSV group, $^{\#}P$＜0.05, $^{\#\#}P$＜0.01; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01.

表 4 各组 Treg/Th17 比例比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Comparison of Treg/Th17 in each group（$\bar{x}\pm s$）

分组	Treg细胞比例/%	Th17比例/%	Treg/Th17比例
健康对照组（n=12）	4.67±0.50	1.29±0.29	3.82±0.93
RSV组（n=12）	2.38±0.25**	2.86±0.26**	0.84±0.10**
低剂量组（n=12）	2.92±0.23$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	2.38±0.23$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	1.25±0.14$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
中剂量组（n=12）	3.74±0.44$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	1.93±0.25$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	2.04±0.32$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
高剂量组（n=12）	4.55±0.39$^{\#\#}$	1.51±0.16$^{\#\#}$	3.13±0.47$^{\#\#}$
阳性对照组（n=12）	4.61±0.38$^{\#\#}$	1.45±0.25$^{\#\#}$	3.20±0.73$^{\#\#}$
F值	60.206	57.148	43.631
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与健康对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与 RSV 组比较，$^{\#}P$＜0.05，$^{\#\#}P$＜0.01；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01。

Note: *vs* healthy control group, *P ＜ 0.05, **P ＜ 0.01; *vs* RSV group, $^{\#}P$＜0.05, $^{\#\#}P$＜0.01; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01.

2.7 肺组织 NF-κB 信号通路蛋白表达

与健康对照组相比，RSV 组 p-NF-κB 蛋白表达显著增加（P＜0.05）；与 RSV 组相比，低、中、高剂量组、阳性对照组 p-NF-κB 蛋白表达显著降低（P＜0.05）。见表 7、图 1。

表 5 各组肺组织 IL-17、IL-21 以及 IL-22 比较（$\bar{x}\pm s$，pg/ml）

Table 5 Comparison of IL-17, IL-21 and IL-22 in lung tissues in each group（$\bar{x}\pm s$, pg/ml）

分组	IL-17	IL-21	IL-22
健康对照组（n=12）	9.72±1.17	48.95±7.64	23.33±2.71
RSV组（n=12）	41.71±4.06**	249.58±27.75**	195.62±13.56**
低剂量组（n=12）	36.74±3.87$^{\#\blacktriangle\blacktriangle}$	187.09±16.77$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	145.05±14.79$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
中剂量组（n=12）	27.24±3.78$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	116.75±14.84$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	95.04±7.26$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
高剂量组（n=12）	14.53±2.71$^{\#\#}$	75.40±10.59$^{\#\#}$	56.66±9.49$^{\#\#}$
阳性对照组（n=12）	16.10±2.54$^{\#\#}$	77.55±8.81$^{\#\#}$	57.38±10.22$^{\#\#}$
F值	149.245	212.737	339.354
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与健康对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与 RSV 组比较，$^{\#}P$＜0.05，$^{\#\#}P$＜0.01；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01。

Note: *vs* healthy control group, *P ＜ 0.05, **P ＜ 0.01; *vs* RSV group, $^{\#}P$＜0.05, $^{\#\#}P$＜0.01; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01.

表 6 各组血清 IL-17、IL-21 以及 IL-22 比较（$\bar{x}\pm s$，pg/ml）

Table 6 Comparison of serum IL-17, IL-21 and IL-22 in each group（$\bar{x}\pm s$, pg/ml）

分组	IL-17	IL-21	IL-22
健康对照组（n=12）	4.90±0.79	34.48±3.84	19.17±2.11
RSV组（n=12）	35.33±2.85**	180.74±17.61**	161.59±16.90**
低剂量组（n=12）	26.13±2.92$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	136.80±15.63$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	108.59±12.18$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
中剂量组（n=12）	19.06±2.93$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	82.43±9.52$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	79.11±7.60$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$
高剂量组（n=12）	8.46±0.97$^{\#\#}$	54.94±6.28$^{\#\#}$	35.60±6.60$^{\#\#}$
阳性对照组（n=12）	8.70±1.11$^{\#\#}$	56.15±8.75$^{\#\#}$	37.36±5.30$^{\#\#}$
F值	274.235	221.819	279.914
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与健康对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01；与 RSV 组比较，$^{\#}P$＜0.05，$^{\#\#}P$＜0.01；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01。

Note: *vs* healthy control group, *P ＜ 0.05, **P ＜ 0.01; *vs* RSV group, $^{\#}P$＜0.05, $^{\#\#}P$＜0.01; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P$＜0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$＜0.01.

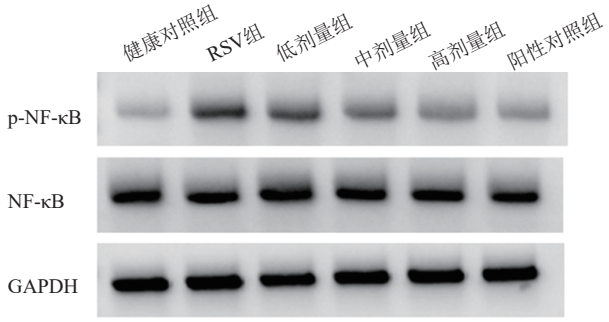


图 1 WB 法检测 NF-κB 蛋白表达

Figure 1 WB analysis of NF-κB protein expression

表 7 各组小鼠 NF-κB 信号通路蛋白比较

($\bar{x}\pm s$，pg/ml)

Table 7 Comparison of NF-κB signaling pathway proteins in each group ($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

分组	p-NF-κB	NF-κB
健康对照组（n=12）	0.36±0.05	0.95±0.12
RSV组（n=12）	1.06±0.11**	0.93±0.10
低剂量组（n=12）	0.87±0.09$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.96±0.12
中剂量组（n=12）	0.68±0.06$^{\#\#\blacktriangle\blacktriangle}$	0.96±0.08
高剂量组（n=12）	0.52±0.09$^{\#\#}$	0.95±0.09
阳性对照组（n=12）	0.50±0.07$^{\#\#}$	0.94±0.10
F值	95.311	0.117
P值	<0.001	0.988

注：与健康对照组比较，*P < 0.05，**P < 0.01；与 RSV 组比较，$^{\#}P$ < 0.05，$^{\#\#}P$ < 0.01；与阳性对照组比较，$^{\blacktriangle}P$ < 0.05，$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$ < 0.01。

Note: *vs* healthy control group, *P < 0.05, **P < 0.01; *vs* RSV group, $^{\#}P$ < 0.05, $^{\#\#}P$ < 0.01; *vs* positive control group, $^{\blacktriangle}P$ < 0.05, $^{\blacktriangle\blacktriangle}P$ < 0.01.

3 讨论

RSV 感染引起肺部炎性损伤，严重者可诱导肺部细胞坏死和上皮细胞脱落进入气道，造成气道阻塞[8—9]。有研究显示，RSV 感染是诱发小儿肺炎及住院的危险因素之一，其感染过程较为复杂，若治疗不及时可进展为重症肺炎，严重影响患儿预后[10]。故本研究利用 RSV 感染幼龄小鼠构建 RSV 肺炎模型，结果发现，RSV 感染幼龄小鼠可明显引发呼吸道症状，RSV 载量异常升高，肺功能、炎性损伤明显异常，这与王蕾等[11]研究一致，提示 RSV 感染可引起幼龄小鼠肺组织炎性损伤，并引起 Treg/Th17 比例失衡。

临床上治疗 RSV 感染尚无特效药物，多以抗病毒、抗炎以及镇咳祛痰等为主[12]，布地奈德是一种局部高效的抗炎药物，该药物进入机体后可强化内皮细胞、平滑肌细胞和溶酶体膜稳定性，从而发挥抗过敏、止痒、抗炎等作用，临床上广泛用于治疗哮喘、过敏性鼻炎等疾病[13—14]。目前基础研究显示，布地奈德雾化吸入或灌胃混悬液可有效改善哮喘小鼠肺组织损伤，并减轻嗜酸性粒细胞、淋巴细胞等炎性浸润，有助于减轻气道上皮细胞损伤[15—16]。董伟然等[17]研究显示，布地奈德雾化吸入可有效改善 RSV 感染大鼠血清和肺泡灌洗液炎性因子表达，从而有效抑制机体炎性损伤。上述研究表明，布地奈德具有明显抗炎作用。本研究结果显示，雾化吸入布地奈德可明显改善幼龄小鼠呼吸症状，并提高肺功能，降低 RSV 载量，改善 Treg、Treg/Th17 以及 Th17 比例表达，减少血清和肺组织 IL-17、IL-21 以及 IL-22 释放，这与方丽萍等[18]研究观点相似，表明布地奈德可改善 RSV 感染幼龄小鼠肺部炎性损伤，并改善 Treg/Th17 比例。IL-17、IL-21、IL-22 是 Treg/Th17 因子，病原体入侵机体后可刺激肺组织释放炎性因子，不能抵御胞外病原微生物，导致血清 IL-17、IL-21、IL-22 异常升高[19—20]，雾化吸入布地奈德后可明显减轻炎性因子释放，有助于缓解幼龄小鼠炎性损伤，进而改善 Treg/Th17 比例表达。

NF-κB 信号通路与机体免疫炎性应答过程密切相关，其主要分布在真核细胞中，生理状态下在细胞质中形成复杂复合物，抑制下游基因转录，激活 NF-κB 发生磷酸化，从而减少多种 IL 因子释放，缓解机体炎性损伤[21—23]。本研究中，RSV 组 p-NF-κB 蛋白表达上调，雾化吸入布地奈德后可降低 p-NF-κB 蛋白表达，提示布地奈德可通过调节 NF-κB 信号通路影响 RSV 肺炎疾病进展，但具体作用机制尚不清楚，有待进一步探究。

4 结论

综上所述，布地奈德通过调节 NF-κB 信号通

路从而减轻 RSV 诱发幼龄小鼠肺炎性损伤，改善 Treg/Th17 比例、肺功能，有助于缓解肺部炎性损伤，旨在为研究 RSV 肺炎提供参考。

参考文献：

[1] Krilov LR, Roberts NJ Jr. Respiratory syncytial virus (RSV) update[J]. Viruses, 2022, 14(10): 2110.

[2] Swets MC, Russell CD, Harrison EM, *et al*. SARS-CoV-2 co-infection with influenza viruses, respiratory syncytial virus, or adenoviruses[J]. Lancet, 2022, 399(10334): 1463-1464.

[3] Ren L, Lin L, Zhang H, *et al*. Epidemiological and clinical characteristics of respiratory syncytial virus and influenza infections in hospitalized children before and during the COVID-19 pandemic in Central China[J]. Influenza Other Respir Viruses, 2023, 17(2): e13103.

[4] Tejada S, Martinez-Reviejo R, Karakoc HN, *et al*. Ribavirin for treatment of subjects with respiratory syncytial virus-related infection: a systematic review and meta-analysis[J]. Adv Ther, 2022, 39(9): 4037-4051.

[5] Papi A, Chipps BE, Beasley R, *et al*. Albuterol-budesonide fixed-dose combination rescue inhaler for asthma[J]. N Engl J Med, 2022, 386(22): 2071-2083.

[6] Rayavara K, Kurosky A, Hosakote YM. Respiratory syncytial virus infection induces the release of transglutaminase 2 from human airway epithelial cells[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2022, 322(1): L1-L12.

[7] 董伟然, 张燕, 安会波, 等. 吸入用布地奈德联合重组人干扰素α-1b注射液雾化干预对呼吸道合胞病毒感染幼鼠模型血清白介素13水平及$CD2^+$T淋巴细胞占比的影响[J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2022, 30(10): 75-80.

[8] Haddadin Z, Beveridge S, Fernandez K, *et al*. Respiratory syncytial virus disease severity in young children[J]. Clin Infect Dis, 2021, 73(11): e4384-e4391.

[9] Xu JM, Wu WZ, Chen HY, *et al*. Substituted *N*-(4-amino-2-chlorophenyl)-5-chloro-2-hydroxybenzamide analogues potently inhibit respiratory syncytial virus (RSV) replication and RSV infection-associated inflammatory responses[J]. Bioorg Med Chem, 2021, 39: 116157.

[10] Bozzola E, Barni S, Villani A. Respiratory syncytial virus pediatric hospitalization in the COVID-19 era[J]. Int J Environ Res Public Health, 2022, 19(23): 15455.

[11] 王蕾, 张秀英, 杨梦菲, 等. 清肺通络敷胸方调控RORγt/$Foxp3^+$干预呼吸道合胞病毒肺炎幼鼠炎性损伤的机制[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(7): 877-881.

[12] Domachowske JB, Anderson EJ, Goldstein M. The future of respiratory syncytial virus disease prevention and treatment[J]. Infect Dis Ther, 2021, 10(Suppl 1): 47-60.

[13] Heo YA. Budesonide/glycopyrronium/formoterol: a review in COPD[J]. Drugs, 2021, 81(12): 1411-1422.

[14] Beasley R, Harrison T, Peterson S, *et al*. Evaluation of budesonide-formoterol for maintenance and reliever therapy among patients with poorly controlled asthma: a systematic review and meta-analysis[J]. J Am Med Assoc Netw Open, 2022, 5(3): e220615.

[15] 刘虹, 王洁英, 刘娜, 等. 布地奈德混悬液对哮喘模型小鼠肺组织TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(23): 4432-4435.

[16] 姚如婕, 刘沉涛, 黄榕, 等. 布地奈德雾化治疗对哮喘小鼠糖皮质激素受体及核因子-κB表达的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 17(1): 86-89.

[17] 董伟然, 张燕, 安会波, 等. 重组人干扰素α-1b联合布地奈德对呼吸道合胞病毒感染小鼠血清、肺泡灌洗液白介素-4水平的影响[J]. 河北医药, 2022, 44(13): 1966-1969.

[18] 方丽萍, 高慧, 江山娇, 等. 布地奈德雾化吸入对哮喘小鼠肺泡灌洗液中炎性细胞分布和炎性因子表达水平的影响[J]. 世界临床药物, 2020, 41(7): 513-517.

[19] Wang M, Li W, Cui W, *et al*. The therapeutic promises of Lianhuaqingke in the mice model of coronavirus pneumonia (HCoV-229E and SARS-CoV-2)[J]. Chin Med, 2021, 16(1): 104.

[20] Xiao S, Yan Y, Shao M, *et al*. Kuijieling decoction regulates the Treg/Th17 cell balance in ulcerative colitis through the RA/RARα signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 318(Pt A): 116909.

[21] Huang Z, Liu X, Wu X, *et al*. MiR-146a alleviates lung injury caused by RSV infection in young rats by targeting TRAF-6 and regulating JNK/ERKMAPK signaling pathways[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 3481.

[22] Youjun D, Huang Y, Lai Y, *et al*. Mechanisms of resveratrol against diabetic wound by network pharmacology and experimental validation[J]. Ann Med, 2023, 55(2): 2280811.

[23] Ahmad Hairi H, Jayusman PA, Shuid AN. Revisiting resveratrol as an osteoprotective agent: molecular evidence from *in vivo* and *in vitro* studies[J]. Biomedicines, 2023, 11(5): 1453.

（编辑：沈佳婕）