

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research刺槐素调节 JAK2/STAT3 信号通路对肺炎
支原体肺炎小鼠肺损伤影响的研究Research of effects of acacetin on lung injury in mice with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia by regulating the JAK2/STAT3 signaling pathway杨颖乔¹, 李 燕², 胡一明³

(1. 湖北科技学院 临床医学院 内科, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院 国家级全科医学实验教学示范中心, 湖北 咸宁 437100; 3. 咸宁市中心医院 湖北科技学院附属第一医院 呼吸与危重症医学科, 湖北 咸宁 437000)

YANG Ying-qiao¹, LI Yan²,
HU Yi-ming³

(1. Department of Internal Medicine, School of Clinical Medicine, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei Province, China; 2. National Experimental Teaching Demonstration Center for General Practice, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei Province, China; 3. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Xianning Central Hospital, the First Affiliated Hospital of Hubei University of Science and Technology, Xianning 437000, Hubei Province, China)

基金项目: 湖北省卫生健康委科研基金资助项目 (WJ2021M091)

作者简介: 杨颖乔 (1971 -), 男, 副主任医师, 从事呼吸内科相关的临床工作和研究

通信作者: 杨颖乔, 副主任医师

MP: 13477799076

E-mail: yykaam@163.com

摘要:目的 探究刺槐素对肺炎支原体肺炎 (MPP) 小鼠肺损伤的影响, 分析其机制与 Janus 激酶 2 (JAK2)/信号转导子和转录激活子 3 (STAT3) 信号通路的关系。方法 构建 MPP 小鼠模型, 将造模成功小鼠随机分为模型组、刺槐素低、中、高剂量实验组 (12.5、25.0、50.0 mg·kg⁻¹ 刺槐素)、刺槐素高剂量 + JAK2 激活剂香豆霉素组 (50 mg·kg⁻¹ 刺槐素和 2 mg·kg⁻¹ 香豆霉素), 每组 12 只, 再取 12 只正常健康小鼠鼻腔滴入等量生理盐水作为对照组; 对各组小鼠用血气分析仪检测动脉血二氧化碳分压 (PaCO₂)、动脉血氧分压 (PaO₂), 氧气浓度分析仪检测吸入氧浓度 (FiO₂), 计算氧合指数 (OI); 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血清炎症因子水平; 生物化学法检测氧化应激指标; 称重计算肺指数和肺湿干比; 苏木精伊红 (HE) 染色观察肺组织病理损伤情况; 蛋白质免疫印迹法检测 JAK2/STAT3 信号通路相关蛋白表达。结果 刺槐素低、中、高剂量实验组、对照组、模型组和刺槐素高剂量 + 香豆霉素组的 OI 值分别为 (274.63 ± 30.02)、(320.16 ± 35.79)、(374.55 ± 39.88)、(403.57 ± 43.61)、(220.31 ± 26.78) 和 (241.03 ± 29.14) mmHg; IL-6 水平分别为 (124.56 ± 13.27)、(87.61 ± 9.23)、(56.34 ± 6.77)、(36.50 ± 4.15)、(172.59 ± 18.24) 和 (149.33 ± 16.05) pg·mL⁻¹; MDA 含量分别为 (4.06 ± 0.45)、(2.97 ± 0.31)、(1.93 ± 0.22)、(1.82 ± 0.20)、(5.31 ± 0.58) 和 (4.69 ± 0.49) nmol·mL⁻¹; 肺指数分别为 1.31 ± 0.15、0.99 ± 0.11、0.57 ± 0.07、0.52 ± 0.06、1.78 ± 0.19 和 1.54 ± 0.17; 肺湿干比分别为 (6.83 ± 0.73)%、(5.61 ± 0.58)%、(4.35 ± 0.49)%、(4.10 ± 0.45)%、(7.86 ± 0.86)% 和 (7.33 ± 0.81)%; 磷酸化 (p)-JAK2/JAK2 比值分别为 0.71 ± 0.08、0.56 ± 0.06、0.43 ± 0.05、0.39 ± 0.04、0.86 ± 0.09 和 0.79 ± 0.08; p-STAT3/STAT3 比值分别为 0.67 ± 0.07、0.46 ± 0.06、0.30 ± 0.04、0.16 ± 0.02、0.83 ± 0.09 和 0.74 ± 0.08; 模型组的上述指标与对照组比较, 刺槐素高剂量实验组的上述指标与模型组比较, 刺槐素高剂量 + 香豆霉素组的上述指标与刺槐素高剂量实验组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 刺槐素能够有效改善 MPP 小鼠肺损伤, 可能是通过抑制 JAK2/STAT3 信号通路来实现的。

关键词: 刺槐素; Janus 激酶/信号转导子和转录激活子 3 信号通路; 肺炎支原体肺炎; 肺损伤

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.24.008

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)24-3499-07

Abstract: Objective To discuss the effects of acacetin on lung injury in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (MPP) mice and analyze the relationship between its mechanism and the Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling

pathway. **Methods** A MPP mouse model was constructed, and successfully modeled mice were stochastically divided into model group, low, medium and high dose acacetin experimental groups (acacetin - L, M, and H groups: 12.5, 25.0, and 50.0 mg · kg⁻¹ acacetin) and high - dose acacetin - H + JAK2 activator coumarin group (acacetin - H + coumarin 50 mg · kg⁻¹ acacetin - L and 2 mg · kg⁻¹ coumarin), each with 12 mice. Twelve normal healthy mice were intranasally instilled with an equal amount of physiological saline as the control group. Blood gas analyzer was used to detect arterial partial pressure of carbon dioxide (PaCO₂) and arterial partial pressure of oxygen (PaO₂) of mice, oxygen concentration analyzer was used to detect fraction of inspired oxygen (FiO₂), and the oxygenation index (OI) was calculated. Enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum inflammatory factors. Biochemical method was used to detect oxidative stress indicators. The lung index and lung wet dry ratio were weighed and calculated. Hematoxylin - eosin (HE) staining was employed to evaluate the pathological lesions in lung tissue. Western blot assay was performed to detect the protein expression of JAK2/STAT3 signaling pathway - related molecules. **Results** The OI value of the acacetin - L, - M, - H groups, control group, model group, and acacetin - H + coumarin group were (274.63 ± 30.02), (320.16 ± 35.79), (374.55 ± 39.88), (403.57 ± 43.61), (220.31 ± 26.78) and (241.03 ± 29.14) mmHg, respectively; the IL - 6 levels were (124.56 ± 13.27), (87.61 ± 9.23), (56.34 ± 6.77), (36.50 ± 4.15), (172.59 ± 18.24) and (149.33 ± 16.05) pg · mL⁻¹, respectively; the MDA contents were (4.06 ± 0.45), (2.97 ± 0.31), (1.93 ± 0.22), (1.82 ± 0.20), (5.31 ± 0.58) and (4.69 ± 0.49) nmol · mL⁻¹, respectively; the lung index was 1.31 ± 0.15, 0.99 ± 0.11, 0.57 ± 0.07, 0.52 ± 0.06, 1.78 ± 0.19, and 1.54 ± 0.17, respectively; the lung wet/dry weight ratio was (6.83 ± 0.73)%, (5.61 ± 0.58)%, (4.35 ± 0.49)%, (4.10 ± 0.45)%, (7.86 ± 0.86)% and (7.33 ± 0.81)%, respectively; the phosphorylated(p) - JAK2/JAK2 ratio were 0.71 ± 0.08, 0.56 ± 0.06, 0.43 ± 0.05, 0.39 ± 0.04, 0.86 ± 0.09 and 0.79 ± 0.08, respectively; the p - STAT3/STAT3 ratio were 0.67 ± 0.07, 0.46 ± 0.06, 0.30 ± 0.04, 0.16 ± 0.02, 0.83 ± 0.09 and 0.74 ± 0.08, respectively. There were statistically significant differences in the above indicators between the model group and the control group, between the acacetin - H group and the model group, and between the acacetin - H + coumarin group and the acacetin - H group (all *P* < 0.05). **Conclusion** Acacetin can effectively improve lung injury in MPP mice, possibly by inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway.

Key words: acacetin; Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway; *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; lung injury

肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, MP)为无细胞壁原核生物,在自然界中能自主复制,可以与呼吸道上皮纤毛细胞结合,从而迅速繁殖,导致肺炎支原体肺炎(*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP)发生^[1-2]。MPP患者的典型表现有发热、痰壅、咳嗽及呼吸急促等,病情严重者还会引发肺外并发症^[3]。已有研究表明,氧化应激介导的肺组织损伤在MPP病理进展中发挥关键作用^[4]。尽管目前治疗儿童MPP主要药物为大环内酯类药物,但从2000年起,全球范围内这类药物耐药性不断加剧,尤其亚洲地区耐药性升至90%~100%,因此,寻找新的MPP治疗方案备受关注^[5]。近年研究显示,刺槐素具有良好的肺组织亲和性与分布特性,在败血症引起的急性肺损伤模型中,能够通过减轻炎症浸润和氧化应激反应,显著改善肺功能和组织病理损伤^[6-7]。这为其应用于MPP治疗提供了直

接的实验依据。然而,刺槐素对MPP肺损伤的具体作用及机制尚未明确。在MPP的病理过程中,过度的炎症反应是核心环节。Janus激酶2(Janus kinase 2, JAK2)/信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路是调控炎症反应的关键细胞内途径。研究表明,MP感染可激活肺泡巨噬细胞及上皮细胞内的JAK2/STAT3通路,促进下游促炎因子的转录与释放,形成“炎症风暴”,从而加剧肺组织损伤^[8]。因此,靶向抑制JAK2/STAT3通路的过度激活,被视为缓解MPP炎症性肺损伤的潜在策略。刺槐素能否通过调控JAK2/STAT3通路改善MPP小鼠肺损伤尚不明确,本研究旨在通过探究刺槐素对MPP小鼠肺损伤的改善作用及对JAK2/STAT3通路的影响,以期MPP治疗寻找新的潜在药物。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级 6 周龄雄性 BALB/c 小鼠(19 ± 2)g, 北京维通利华实验动物公司生产, 动物生产许可证号: SCXK(京)2021-0011, 动物使用许可证号: SYXK(京)2021-0023。本研究经咸宁市中心医院, 湖北科技学院附属第一医院实验动物伦理委员会审批(伦理批号: WH202406015)。

试剂 刺槐素, 规格: 每瓶 5 mg, 纯度: $\geq 98\%$, 批号: 20230608, 温州科森生物科技有限公司生产; MP, 规格: 10 mg, 纯度: $\geq 98\%$, 批号: JF20240518, 上海晶风生物科技有限公司生产; JAK2 激活剂香豆霉素, 规格: 5 mg, 纯度: $\geq 98\%$, 批号: TC20250108, 黄山天萃生物科技有限公司生产; 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-1 β 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒, 均由滁州仕诺达生物科技有限公司生产; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量检测试剂盒, 均由南京建成生物工程研究所生产; 磷酸化(phosphorylated, p)-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体和免疫球蛋白 G(immunoglobulin G secondary antibody, IgG)二抗, 均由英国 Abcam 公司生产。

仪器 Infinite 200 PRO 酶标仪, 瑞士 Tecan 公司产品; Eclipse Ni-E 光学显微镜, 日本 Nikon 公司产品。

2 方法

2.1 MPP 小鼠模型构建

连续 3 d 在小鼠鼻腔滴入 $1 \mu\text{L } 1 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 MP 混悬液, 小鼠活动减少, 寒颤增多, 呼吸频率加快, 且支原体核酸检测呈阳性, 表明造模成功^[9]。对照组小鼠鼻腔滴入等量生理盐水。

2.2 分组与处理

成功造模小鼠以每组 12 只分为模型组、刺槐素低、中、高剂量实验组(刺槐素-L、M、H 组)、刺槐素高剂量 + JAK2 激活剂香豆霉素组(刺槐素-H + 香豆霉素组), 另取 12 只小鼠为对照组。刺槐素-L、M、H 组: 造模成功第 2 天腹腔注射用二甲基亚砷溶解的

12.5、25.0、50.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 刺槐素^[10]; 刺槐素-H + 香豆霉素组: 造模成功第二天腹腔注射 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 刺槐素和 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 香豆霉素^[11]; 对照组与模型组腹腔注射等量生理盐水, 1 d 1 次, 连续 7 d。

2.3 血气分析法检测氧合指数(oxygenation index, OI)^[9]

于末次给药后 1 h, 麻醉并抽取小鼠主动脉血, 血气分析仪检测动脉血二氧化碳分压(arterial partial pressure of carbon dioxide, PaCO_2)、动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO_2)、氧气浓度分析仪检测吸入氧浓度(fraction of inspired oxygen, FiO_2), 并计算 OI, $\text{OI} = \text{PaO}_2 / \text{FiO}_2$ 。

2.4 ELISA 法及生物化学法检测炎症与氧化应激指标^[12-13]

小鼠主动脉血离心取上清, 参照 ELISA 试剂盒说明书分别检测 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平; 生物化学法检测超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。

2.5 称重法计算肺指数和肺湿干比^[14]

维持各组小鼠麻醉状态, 颈椎脱臼法处死, 收集每组 6 只小鼠的双侧肺组织并称重, 计算肺指数和肺湿干比。肺指数 = 肺质量/体质量; 肺湿干比(%) = (湿质量/干质量) $\times 100\%$ 。

2.6 苏木精伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法观察肺组织病理损伤^[14]

取剩余小鼠左侧肺组织, 用甲醛固定, 经浸蜡包埋制石蜡切片, 脱蜡水化后开展 HE 染色, 乙醇脱水、透明, 最后用中性树脂密封, 在显微镜下对切片进行观察。

2.7 蛋白质印迹法检测 JAK2/STAT3 通路相关蛋白表达^[15]

取剩余小鼠右侧肺组织与预冷的裂解液充分反应, 提取总蛋白并定量, 蛋白变性后, 凝胶电泳分离蛋白并转至聚偏氟乙烯膜上, 牛奶封闭, 与 p-JAK2、JAK2、p-STAT3、STAT3 和 GAPDH 一抗低温过夜反应, 次日加入二抗室温孵育, 与化学发光试剂反应 2 h, 采集图像并用 Image J 软件分析。

3 统计学处理

用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 用 $\bar{x} \pm s$ 描述数据, 2 组间比较、多组间比较及两两比较分别行独立样本 t 检验、one-way ANOVA 和 SNK- q 检验。

结 果

1 刺槐素对 MPP 小鼠氧合指数的影响

模型组较对照组, PaO₂ 和 OI 均显著降低, PaCO₂ 显著增加(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - L、M、H 组较模型组, PaO₂ 和 OI 均显著增加, PaCO₂ 显著降低(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - H + 香豆霉素组较刺槐素 - H 组, PaO₂ 和 OI 均显著降低, PaCO₂ 显著增加(均 $P < 0.05$), 见表 1。

2 刺槐素对 MPP 小鼠炎症因子的影响

模型组较对照组, TNF - α 、IL - 6 和 IL - 1 β 水平均显著增加(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - L、M、H 组较模型组, TNF - α 、IL - 6 和 IL - 1 β 水平均显著降低(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - H + 香豆霉素组较刺槐素 - H 组, TNF - α 、IL - 6 和 IL - 1 β 水平均显著增加(均 $P < 0.05$), 见表 2。

3 刺槐素对 MPP 小鼠氧化应激指标的影响

模型组较对照组, SOD 和 GSH - Px 活性均显著降低, MDA 含量显著增加(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - L、M、H 组较模型组, SOD 和 GSH - Px 活性均显著升高, MDA 含量显著降低(均 $P < 0.05$); 刺槐

表 1 刺槐素对肺炎支原体肺炎(MPP)小鼠氧合指数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of acacetin on oxygenation index in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia(MPP) mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	PaO ₂ (mmHg)	PaCO ₂ (mmHg)	OI (mmHg)
Control	12	90.12 ± 9.85	27.19 ± 3.10	403.57 ± 43.61
Model	12	46.23 ± 5.01 [*]	58.51 ± 6.33 [*]	220.31 ± 26.78 [*]
Acacetin - L	12	58.71 ± 6.32 [#]	47.36 ± 5.17 [#]	274.63 ± 30.02 [#]
Acacetin - M	12	70.33 ± 7.65 ^{#△}	39.75 ± 4.31 ^{#△}	320.16 ± 35.79 ^{#△}
Acacetin - H	12	83.06 ± 8.79 ^{#△▲}	28.11 ± 3.25 ^{#△▲}	374.55 ± 39.88 ^{#△▲}
Acacetin - H + Coumamyacin	12	52.61 ± 5.77 ^{&}	52.90 ± 5.89 ^{&}	241.03 ± 29.14 ^{&}

PaO₂: Arterial partial pressure of oxygen; PaCO₂: Arterial partial pressure of carbon dioxide; OI: Oxygenation index; Control group: Received intraperitoneal injections of normal saline on the same schedule; Model group: Modeled and received intraperitoneal injections of normal saline; Acacetin - L, - M, - H groups: Received intraperitoneal injections of 12.5, 25, and 50 mg · kg⁻¹ acacetin after modeled; Acacetin - H + coumamyacin group: Received intraperitoneal injections of 50 mg · kg⁻¹ acacetin combined with 2 mg · kg⁻¹ coumamyacin after modeled; Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with acacetin - L group, [△] $P < 0.05$; Compared with acacetin - M group, [▲] $P < 0.05$; Compared with acacetin - H group, [&] $P < 0.05$.

素 - H + 香豆霉素组较刺槐素 - H 组, SOD 和 GSH - Px 活性均显著降低, MDA 含量显著增加(均 $P < 0.05$), 见表 3。

4 刺槐素对 MPP 小鼠肺指数和肺湿干比的影响

模型组较对照组, 肺指数和肺湿干比均显著升高(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - L、M、H 组较模型组, 肺指数和肺湿干比均显著降低(均 $P < 0.05$); 刺槐素 - H + 香豆霉素组较刺槐素 - H 组, 肺指数和肺湿干比均显著升高(均 $P < 0.05$), 见表 4。

5 刺槐素对 MPP 小鼠肺组织病理变化的影响

对照组小鼠肺组织正常; 模型组小鼠肺泡结构遭受严重破坏, 肺泡壁明显增厚, 肺组织呈现充

表 2 刺槐素对 MPP 小鼠炎症因子的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of acacetin on inflammatory factors in MPP mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	TNF - α (pg · mL ⁻¹)	IL - 6 (pg · mL ⁻¹)	IL - 1 β (pg · mL ⁻¹)
Control	123.51 ± 13.26	36.50 ± 4.15	81.27 ± 8.76
Model	305.67 ± 32.61 [*]	172.59 ± 18.24 [*]	234.16 ± 25.79 [*]
Acacetin - L	241.07 ± 26.42 [#]	124.56 ± 13.27 [#]	182.03 ± 19.51 [#]
Acacetin - M	196.33 ± 21.03 ^{#△}	87.61 ± 9.23 ^{#△}	137.89 ± 15.38 ^{#△}
Acacetin - H	156.79 ± 17.11 ^{#△▲}	56.34 ± 6.77 ^{#△▲}	98.33 ± 10.54 ^{#△▲}
Acacetin - H + Coumamyacin	275.06 ± 29.15 ^{&}	149.33 ± 16.05 ^{&}	201.46 ± 22.04 ^{&}

Dose and n refer to table 1; TNF - α : Tumor necrosis factor - α ; IL - 6: Interleukin - 6; IL - 1 β : Interleukin - 1 β ; Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with acacetin - L group, [△] $P < 0.05$; Compared with acacetin - M group, [▲] $P < 0.05$; Compared with acacetin - H group, [&] $P < 0.05$.

表 3 刺槐素对 MPP 小鼠氧化应激指标的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of acacetin on oxidative stress indices in MPP mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	SOD (U · mL ⁻¹)	GSH - Px (U · mL ⁻¹)	MDA (nmol · mL ⁻¹)
Control	59.16 ± 6.71	26.11 ± 2.96	1.82 ± 0.20
Model	21.05 ± 2.36 [*]	5.06 ± 0.53 [*]	5.31 ± 0.58 [*]
Acacetin - L	30.57 ± 3.31 [#]	12.19 ± 1.37 [#]	4.06 ± 0.45 [#]
Acacetin - M	41.36 ± 4.37 ^{#△}	18.55 ± 1.98 ^{#△}	2.97 ± 0.31 ^{#△}
Acacetin - H	53.78 ± 5.69 ^{#△▲}	25.34 ± 2.77 ^{#△▲}	1.93 ± 0.22 ^{#△▲}
Acacetin - H + Coumamyacin	26.97 ± 2.85 ^{&}	8.60 ± 0.92 ^{&}	4.69 ± 0.49 ^{&}

Dose refer to table 1; SOD: Superoxide dismutase; GSH - Px: Glutathione peroxidase; MDA: Malondialdehyde; Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with acacetin - L group, [△] $P < 0.05$; Compared with acacetin - M group, [▲] $P < 0.05$; Compared with acacetin - H group, [&] $P < 0.05$.

血水肿状态,且存在炎性细胞浸润;刺槐素 - L、M、H 组较 MPP 组,肺组织病变状况改善,充血水肿程度减轻,炎性细胞浸润减少;刺槐素 - H + 香豆霉素组较刺槐素 - H 组,肺组织损伤有所加重,见图 1。

6 刺槐素对 MPP 小鼠 JAK2/STAT3 信号通路的影响

模型组较对照组, p - JAK2/JAK2 和 p - STAT3/STAT3 比值均显著增加(均 $P < 0.05$);刺槐素 - L、M、H 组较模型组, p - JAK2/JAK2 和 p - STAT3/STAT3 比值均显著降低(均 $P < 0.05$);刺槐素 - H + 香豆霉素组较刺槐素 - H 组, p - JAK2/JAK2 和 p - STAT3/STAT3 比值均显著增加(均 $P < 0.05$),见表 5 和图 2。

表 4 刺槐素对 MPP 小鼠肺指数和肺湿干比的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 4 Effects of acacetin on lung index and lung wet/dry weight ratio in MPP mice($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Lung index	Lung wet/dry weight ratio (%)
Control	6	0.52 ± 0.06	4.10 ± 0.45
Model	6	1.78 ± 0.19 *	7.86 ± 0.86 *
Acacetin - L	6	1.31 ± 0.15 #	6.83 ± 0.73 #
Acacetin - M	6	0.99 ± 0.11 #△	5.61 ± 0.58 #△
Acacetin - H	6	0.57 ± 0.07 #△▲	4.35 ± 0.49 #△▲
Acacetin - H + Coumamycin	6	1.54 ± 0.17 &	7.33 ± 0.81 &

Dose refer to table 1; Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with acacetin - L group, △ $P < 0.05$; Compared with acacetin - M group, ▲ $P < 0.05$; Compared with acacetin - H group, & $P < 0.05$.

表 5 刺槐素对 MPP 小鼠 Janus 激酶 2/信号转导子和转录激酶子 3(JAK2/STAT3)信号通路的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of acacetin on Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 (JAK2/STAT3) signaling pathway in MPP mice($\bar{x} \pm s$)

Group	n	p - JAK2/JAK2	p - STAT3/STAT3
Control	6	0.39 ± 0.04	0.16 ± 0.02
Model	6	0.86 ± 0.09 *	0.83 ± 0.09 *
Acacetin - L	6	0.71 ± 0.08 #	0.67 ± 0.07 #
Acacetin - M	6	0.56 ± 0.06 #△	0.46 ± 0.06 #△
Acacetin - H	6	0.43 ± 0.05 #△▲	0.30 ± 0.04 #△▲
Acacetin - H + Coumamycin	6	0.79 ± 0.08 &	0.74 ± 0.08 &

Dose refer to Table 1; Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$; Compared with acacetin - L group, △ $P < 0.05$; Compared with acacetin - M group, ▲ $P < 0.05$; Compared with acacetin - H group, & $P < 0.05$.

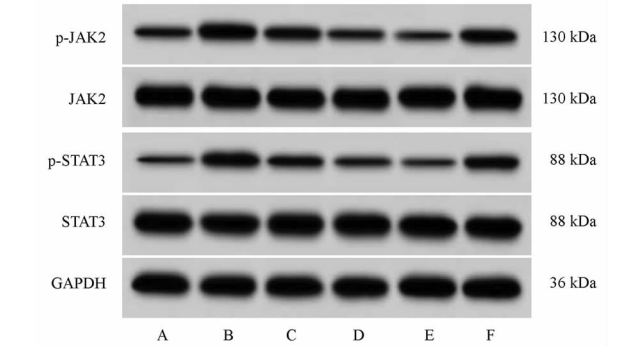


图 2 蛋白质免疫印迹法检测 JAK2/STAT3 通路相关蛋白
Figure 2 Detection of JAK2/STAT3 signaling pathway - related proteins by Western blot

A: Control group; B: Model group; C: Acacetin - L group; D: Acacetin - M group; E: Acacetin - H group; F: Acacetin - H + Coumamycin group

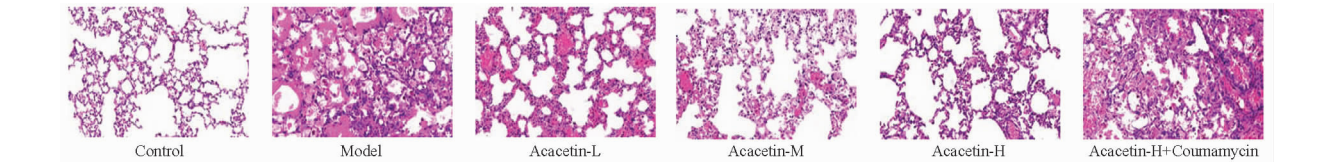


图 1 苏木精 - 伊红 (HE) 染色检测小鼠肺组织病理变化(×200)

Figure 1 Detection of pathological changes in mouse lung tissues by hematoxylin - eosin (HE) staining(×200)

讨 论

MPP 为儿童群体中高发呼吸系统疾病,主要通过直接接触及飞沫传播,常爆发于人员密集且封闭的小区域内^[16]。MPP 常引发显著呼吸系统损害,其核心病理特征以间质性肺炎为主,表现为肺泡间隔增厚、间质炎性细胞浸润及肺间质纤维化倾向,部分病情进

展较快或免疫功能较弱的患者,还可继发支气管肺炎,伴随气道黏膜充血水肿、肺泡内渗出物增多等表现,严重时加重肺功能损伤^[17]。目前,治疗 MPP 的常见药物大环内酯类抗生素的频繁使用,不仅有药物不良反应,干扰儿童发育还易产生耐药^[18]。因此,开发新型安全有效治疗药物十分重要。

刺槐素具有抗炎及抗氧化作用,研究显示,刺槐素通过抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 炎

症小体及活性氧产生,发挥对脑缺血再灌注损伤的保护作用^[19]。SUN等^[20]研究发现,刺槐素能够通过调节氧化应激、炎症因子发挥抗氧化、抗炎作用,进而减轻脓毒症诱导的急性肺损伤。值得注意的是,本研究采用腹腔注射途径给予刺槐素。虽现有药代动力学研究提示刺槐素静脉给药后在肺组织中具有良好分布^[6],但其腹腔注射后的生物利用度及肺组织靶向效率尚待进一步阐明。动脉血中, O_2 和 CO_2 溶解后所产生的张力分别对应为 PaO_2 和 $PaCO_2$,其中 PaO_2 是衡量机体是否缺氧的关键指标, $PaCO_2$ 可用于评估肺泡通气状况及血液酸碱平衡状态,当出现呼吸功能障碍时, $PaCO_2$ 上升, PaO_2 下降,此外,OI是判断肺损伤程度的重要依据^[21]。已有研究显示,淫羊藿苷能够降低急性肺损伤肺组织中 $TNF-\alpha$ 、IL-6和IL-1 β 等炎症因子产生,从而对肺组织炎症进行改善^[22]。GSH-Px是体内重要抗氧化酶,可以维系细胞内氧化还原稳态;氧自由基的清除主要依赖SOD的作用,因此SOD含量可直接反映机体氧化应激状态;当体内氧自由基大量蓄积时,脂质过氧化反应会被激活,MDA作为该反应的代谢终产物,其含量会随氧化应激水平的升高而显著增加^[23]。肺指数和肺湿干比常常被用来评估肺组织水肿,一般二者升高说明肺组织含水量增加,存在肺水肿情况,进而反映肺损伤严重程度^[24]。在本研究中,MPP组小鼠肺泡结构遭受严重破坏,肺泡壁明显增厚,肺组织呈现充血水肿状态,且存在炎性细胞浸润; PaO_2 、OI、SOD、GSH-Px活性降低, $PaCO_2$ 、 $TNF-\alpha$ 、IL-6、IL-1 β 水平、MDA含量、肺指数和肺湿干比均增加,表明MPP小鼠肺组织损伤明显,炎症及氧化应激水平增加。经刺槐素干预后, PaO_2 、OI、SOD和GSH-Px活性均增加, $PaCO_2$ 、 $TNF-\alpha$ 、IL-6、IL-1 β 水平、MDA含量、肺指数和肺湿干比均降低,提示刺槐素对MPP小鼠炎症反应、氧化应激水平及肺组织损伤程度具有缓解作用。

细胞内的JAK2/STAT3通路在信号转导中发挥重要作用,能够介导细胞膜信号向细胞核的转导,其参与调控的生物学过程包括细胞增殖、分化过程,同时与炎症反应及氧化应激等生物学事件密切相关^[25]。当通路被触发时,相关受体可启动JAK2激活与磷酸化,进而促进STAT3的磷酸化修饰,该磷酸化信号可从激活受体或胞内激酶向细胞核内传导,从而完成对基因转录的调控作用^[26-27]。活化的STAT3入核后,可调控多种下游靶基因的表达,除了促进IL-6、 $TNF-\alpha$ 等促炎因子的转录外,还能影响Bcl-2、Bax等凋亡相关蛋白的表达平衡。有研究表

明,细胞因子信号转导抑制因子3过表达可对JAK2/STAT3通路进行调控,从而有效抑制脂多糖诱发的急性肺损伤^[15]。其保护作用不仅与抑制炎症有关,也与调节下游凋亡通路、减少肺组织细胞死亡相关。赵之寒等^[9]研究显示,茯苓酸可能通过抑制IL-6/JAK2/STAT3通路,缓解MPP小鼠肺组织细胞凋亡和炎症反应,促进肺组织功能恢复。相关报道表明,双氢青蒿素能够借助对JAK2/STAT3信号传导的抑制作用,减轻继发性肺纤维化大鼠肺部纤维化和炎症^[28]。本研究显示,在MPP小鼠模型中,p-JAK2/JAK2和p-STAT3/STAT3比值均增加,表明在MPP小鼠模型内JAK2/STAT3通路被激活。进一步研究发现,刺槐素可以下调p-JAK2/JAK2和p-STAT3/STAT3比值,推测刺槐素可能通过抑制JAK2/STAT3通路对MPP小鼠发挥改善肺损伤的作用。为此本研究对高剂量刺槐素干预的小鼠进行JAK2激活剂香豆霉素干预,发现其可部分逆转刺槐素对MPP小鼠改善肺损伤的作用,说明刺槐素可通过抑制JAK2/STAT3通路对MPP小鼠发挥改善肺损伤的作用。

综上所述,刺槐素可改善MPP小鼠肺损伤,其作用机制可能与抑制JAK2/STAT3通路有关。该研究为MPP治疗开发新思路。然而,本研究尚存在一定局限:首先,未设置阳性药物(如阿奇霉素)组,难以评估刺槐素相对疗效;其次,机制验证仅在高剂量组使用通路激活剂,未覆盖中低剂量,尚不能完全排除中、低剂量刺槐素可能通过其他主导通路起效的可能性,这对机制论证的完整性构成了一定限制。未来需纳入阳性对照并进行多剂量通路验证,以完善机制论证。

参考文献:

- [1] 辜德明,周家仍,罗旋,等. 细胞因子IL-6、 $TNF-\alpha$ “评估小儿支原体肺炎病情进展和预后[J]. 中华肺部疾病杂志:电子版, 2021, 14(4): 505—507.
- [2] 徐怀彦,尚莉丽. 小儿支原体肺炎诊疗研究进展[J]. 中医临床研究, 2021, 13(29): 146—148.
- [3] TONG L, HUANG S, ZHENG C, et al. Refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children: Early recognition and management[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(10): 2824.
- [4] 申冬冬,侯江红,袁飞. 金丝桃苷抑制肺炎支原体肺炎模型小鼠的损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(5): 884—889.
- [5] 李晓蕾,罗平. 儿童耐大环内酯类肺炎支原体肺炎抗感染治疗的研究进展[J]. 临床合理用药, 2023, 16(25): 174—180.
- [6] FAN L H, LI X, CHEN D Y, et al. Determination of acacetin in rat plasma by UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study[J/OL]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 986—987: 18—22. 2015-02-07 [2025-07-21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25703948/>.

- [7] XIAO Y, ZHANG B, HOU S, *et al.* Acacetin attenuates sepsis - induced acute lung injury *via* NLRC3 - NF - κ B pathway [J]. *Inflammation*, 2025, 48(1): 75—88.
- [8] CHEN Y, DONG S, TIAN L, *et al.* Combination of azithromycin and methylprednisolone alleviates *Mycoplasma pneumoniae* induced pneumonia by regulating *miR* - 499a - 5p/STAT3 axis [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 24(3): 578.
- [9] 赵之寒, 刘卓, 赵峥, 等. 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 [J]. 检验医学与临床, 2024, 21(24): 3675—3681.
- [10] 牛晓珊, 杨丽娟, 补娟. 刺槐素对小鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2020, 27(5): 572—575, 603.
- [11] 李娜, 张岚, 秦岩, 等. 大黄素通过调节 JAK2/STAT3 信号通路减轻卒中相关性肺炎大鼠肺损伤 [J]. 广州中医药大学学报, 2025, 42(1): 191—197.
- [12] 田佳玉, 冯丹, 胡婷, 等. 奥卡西平对三叉神经痛大鼠 BDNF/Nr2 通路及机械痛敏的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(1): 88—92.
- [13] 方欢乐, 李瑶瑶, 陈晶晶, 等. 黄精多糖通过调节 JAK2/STAT3 通路改善异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌肥厚 [J]. 实用药物与临床, 2019, 22(4): 354—358.
- [14] 杨雨婷, 张茂. 淫羊藿苷对肺炎支原体肺炎小鼠炎症和 Notch 信号影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(16): 1925—1929.
- [15] 周斌, 万少兵, 王瑛, 等. SOCS3 通过调控 JAK2/STAT3 信号通路改善急性肺损伤 [J]. 山西医科大学学报, 2023, 54(6): 778—784.
- [16] 彭献华, 李冰冰, 李晓琳, 等. 2021 - 2022 年某医院呼吸道感染患儿肺炎支原体感染流行特征 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(18): 2851—2854.
- [17] 朱云芳, 刘亚辉, 梁宽, 等. 肺炎支原体感染致塑型性支气管炎患儿的临床研究 [J]. 检验医学与临床, 2023, 20(3): 406—409.
- [18] 谭丹, 姜之炎. 中医药治疗儿童肺炎支原体肺炎的机制研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(9): 1403—1406.
- [19] 补娟, 纪国庆, 叶勒丹·马汉, 等. 刺槐素通过自噬调控 ROS/NLRP3 信号通路对脑缺血再灌注损伤发挥保护作用 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2023, 40(2): 99—102.
- [20] SUN L C, ZHANG H B, GU C D, *et al.* Protective effect of acacetin on sepsis - induced acute lung injury *via* its anti - inflammatory and an - ti-oxidative activity [J]. *Arch Pharm Res*, 2018, 41(12): 1199—1210.
- [21] 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.
- [22] 胡起波. CRP 在小鼠肺炎支原体肺炎模型中的表达及相关机制的研究 [D]. 吉林 长春: 吉林大学, 2011.
- [23] 宁海燕, 梁斌, 梁扬师. 西帕依固龈液对慢性牙周炎患者牙周指标和龈沟液中细胞因子的影响 [J]. 中国医药, 2019, 14(4): 600—604.
- [24] 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 balan - cing Th17 and Treg in murine model of OVA - induced asthma [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116719. 2023 - 05 - 31 [2025 - 07 - 21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37268260/>.
- [25] GUO B, YU Y, WANG M, *et al.* Targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway with natural plants and phytochemical ingredients: A novel therapeutic method for combatting cardiovascular diseases [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 172: 116313. 2024 - 02 - 20 [2025 - 07 - 21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38377736/>.
- [26] CAO F, TIAN X, LI Z, *et al.* Suppression of NLRP3 inflammasome by erythropoietin *via* the EPOR/JAK2/STAT3 pathway contributes to attenuation of acute lung injury in mice [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:306. 2020 - 03 - 19 [2025 - 07 - 21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32265704/>.
- [27] YANG S, SONG Y, WANG Q, *et al.* Daphnetin ameliorates acute lung injury in mice with severe acute pancreatitis by inhibiting the JAK2 - STAT3 pathway [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):11491.
- [28] YOU X, JIANG X, ZHANG C, *et al.* Dihydroartemisinin attenuates pulmonary inflammation and fibrosis in rats by suppressing JAK2/STAT3 signaling [J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(3): 1110—1127.

(收稿日期 2025 - 08 - 07)

· 信息 · 书讯 · 其他 ·

作者更正

付胜楠, 张家欣, 刘昀, 林晓纯, 裴旭哲, 倪穗琴于 2025, 41(17): 2503 - 2509 发表的《HPLC - MS/MS 法同时测定三种抗癫痫药及其活性代谢物的血清浓度》, 现增补基金项目, 基金项目为广州市卫生健康科技项目 (20241A011002); 广州市科技计划项目 (2023A04J1277); 国家自然科学基金项目 (82204383)。