

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research奥马珠单抗通过 *miR-26a-5p* 减少炎症小体
NLRP3 介导的焦亡对哮喘大鼠气道重塑的
影响Effects of omalizumab on airway remodeling in asthmatic rats by reducing
inflammatory vesicle NLRP3-mediated pyroptosis via *miR-26a-5p*莫俊俏¹, 赵桂铃¹, 焦瀚仪^{2a},
孔德志^{2a}, 张全鹏^{2b}(1. 海南省第五人民医院 药剂科, 海南 海口
570206; 2. 海南医科大学, a. 生理学教研室;
b. 人体解剖学实验室, 海南 海口 571199)MO Jun-qiao¹, ZHAO Gui-ling¹,
JIAO Han-yi^{2a}, KONG De-zhi^{2a},
ZHANG Quan-peng^{2b}(1. Department of Pharmacy, The Fifth
People's Hospital of Hainan Province,
Haikou 570206, Hainan Province,
China; 2. a. Physiology Section;
b. Human Anatomy Laboratory, Hainan
Medical University, Haikou 571199,
Hainan Province, China)作者简介: 莫俊俏(1988-), 女, 主管药师, 主要
从事医院药事管理和质控方面的工作

通信作者: 张全鹏, 教授, 硕士生导师

MP: 18889790750

E-mail: 510056952@qq.com

摘要:目的 基于抑制 Toll 样受体 4(TLR4)/髓样分化因子 88(MyD88)/核因子 κ B(NF- κ B) 信号通路探讨奥马珠单抗通过微小 RNA(*miR*) - 26a - 5p 减少炎症小体即核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白 3(NLRP3) 介导的焦亡对哮喘大鼠气道重塑的影响机制。方法 将 50 只 SD 大鼠分为对照组、模型组、奥马珠单抗组、奥马珠单抗 + agomir NC 组和奥马珠单抗 + *miR* - 26a - 5p agomir 组, 每组 10 只。对照组腹腔注射 0.9% NaCl; 模型组建立哮喘模型; 奥马珠单抗组在模型组的基础上每日腹腔注射 100 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹ 奥马珠单抗; 奥马珠单抗 + agomir NC 组在奥马珠单抗组的基础上尾静脉注射 agomir NC; 奥马珠单抗 + *miR* - 26a - 5p agomir 组在奥马珠单抗组的基础上尾静脉注射 *miR* - 26a - 5p agomir。以苏木精-伊红染色法观察肺组织病理变化, 以酶联免疫吸附法测定检测炎症因子水平, 以实时定量逆转录聚合酶链反应和荧光原位杂交技术检测 *miR* - 26a - 5p 的表达情况, 以蛋白质印迹检测焦亡和 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路相关蛋白的表达水平。结果 对照组、模型组、奥马珠单抗组的管壁厚度分别为 (35.16 $\pm$ 2.95)、(52.94 $\pm$ 4.63) 和 (44.07 $\pm$ 3.78) μ m, 白细胞介素-13(IL-13) 水平分别为 (18.23 $\pm$ 3.94)、(61.84 $\pm$ 10.94) 和 (34.23 $\pm$ 6.11) pg $\cdot$ mL⁻¹, 干扰素 γ (IFN- γ) 水平分别为 (68.43 $\pm$ 11.59)、(22.94 $\pm$ 4.70) 和 (43.10 $\pm$ 8.04) pg $\cdot$ mL⁻¹, *miR* - 26a - 5p mRNA 相对表达水平分别为 1.00 $\pm$ 0.15、2.26 $\pm$ 0.31 和 1.37 $\pm$ 0.19。对照组、模型组、奥马珠单抗组、奥马珠单抗 + agomir NC 组和奥马珠单抗 + *miR* - 26a - 5p agomir 组中 NLRP3 蛋白相对表达水平分别为 1.00 $\pm$ 0.11、3.21 $\pm$ 0.47、1.77 $\pm$ 0.24、1.69 $\pm$ 0.27 和 2.53 $\pm$ 0.38, TLR4 蛋白相对表达水平分别为 1.00 $\pm$ 0.13、2.54 $\pm$ 0.39、1.86 $\pm$ 0.27、1.91 $\pm$ 0.30 和 2.24 $\pm$ 0.34, MyD88 蛋白相对表达水平分别为 1.00 $\pm$ 0.15、1.97 $\pm$ 0.26、1.44 $\pm$ 0.21、1.41 $\pm$ 0.18 和 1.69 $\pm$ 0.23, NF- κ B 蛋白相对表达水平分别为 1.00 $\pm$ 0.12、2.88 $\pm$ 0.37、1.83 $\pm$ 0.29、1.77 $\pm$ 0.25 和 2.54 $\pm$ 0.41。模型组的上述指标与对照组比较, 奥马珠单抗组的上述指标与模型组比较, 奥马珠单抗 + *miR* - 26a - 5p agomir 组的上述指标与奥马珠单抗 + agomir NC 组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 奥马珠单抗可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的激活来减少 NLRP3 炎症小体介导的焦亡, 从而抑制支气管哮喘大鼠气道重塑, 改善大鼠肺功能。

关键词: 奥马珠单抗; 哮喘; 气道重塑; Toll 样受体 4/髓样分化因子 88/核转录因子- κ B; 核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白 3; 焦亡

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.013

中图分类号: R974.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)06-0816-06

Abstract: Objective To explore the omalizumab via microRNA (*miR*) -

26a-5p reduced the inflammasome, or the NOD-like receptor thermal domain associated protein 3 (NLRP3) mediated pyroptosis on airway remodeling in asthmatic rats, based on the inhibition of the Toll-like receptor 4 (TLR4)/myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88)/nuclear factor kappa-B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** Fifty SD rats were divided into control group, model group, omalizumab group, omalizumab + agomir NC group and omalizumab + miR-26a-5p agomir group, with 10 rats in each group. The control group was intraperitoneally injected with 0.9% NaCl; the model group established the asthma model; the omalizumab group was intraperitoneally injected with $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ omalizumab daily on the basis of model group; the omalizumab + agomir NC group received tail vein injection of agomir NC on the basis of the omalizumab group; the omalizumab + miR-26a-5p agomir group received tail vein injection of miR-26a-5p agomir on the basis of omalizumab group. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes of lung tissue; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of inflammatory factors; real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR) and fluorescence in situ hybridization (FISH) were used to detect the expression of miR-26a-5p; Western blotting (WB) was used to detect the pyroptosis and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway-related proteins expression levels. **Results** The tube wall thickness in control group, model group and omalizumab group were (35.16 ± 2.95) , (52.94 ± 4.63) and $(44.07 \pm 3.78) \mu\text{m}$; interleukin-13 (IL-13) levels were (18.23 ± 3.94) , (61.84 ± 10.94) and $(34.23 \pm 6.11) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; interferon gamma (IFN- γ) levels were (68.43 ± 11.59) , (22.94 ± 4.70) and $(43.10 \pm 8.04) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; miR-26a-5p mRNA were 1.00 ± 0.15 , 2.26 ± 0.31 and 1.37 ± 0.19 . The relative expression levels of NLRP3 in control group, the model group, the omalizumab group, the omalizumab + agomir NC group and omalizumab + miR-26a-5p agomir group were 1.00 ± 0.11 , 3.21 ± 0.47 , 1.77 ± 0.24 , 1.69 ± 0.27 and 2.53 ± 0.38 ; the relative expression levels of TLR4 were 1.00 ± 0.13 , 2.54 ± 0.39 , 1.86 ± 0.39 , 1.90 ± 0.30 and 2.24 ± 0.34 ; the relative expression levels of MyD88 were 1.00 ± 0.15 , 1.97 ± 0.26 , 1.44 ± 0.21 , 1.41 ± 0.18 and 1.69 ± 0.23 ; the relative expression levels of NF- κ B were 1.00 ± 0.12 , 2.88 ± 0.37 , 1.83 ± 0.29 , 1.77 ± 0.25 and 2.54 ± 0.41 , respectively. The differences of the above indexes were statistically significant when compared the model group with the control group, the omalizumab group with the model group, and the omalizumab + miR-26a-5p agomir group with the omalizumab + agomir NC group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Omalizumab may reduce NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis by inhibiting the activation of TLR4/MyD88/NF- κ B pathway, thus achieving omalizumab inhibited airway remodeling and improved lung function in bronchial asthmatic rats.

Key words: omalizumab; asthmatic; airway remodeling; Toll-like receptor 4/myeloid differentiation primary response protein 88/nuclear factor kappa-B; NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3; pyroptosis

哮喘是一种常见的肺部慢性炎症性气道疾病,其主要特征是气道反复出现喘息、呼吸急促、胸闷和咳嗽等,其中气道重塑是指气道结构的改变,如上皮损伤、基底膜增厚、平滑肌增生和纤维化,对患者日常生活和工作产生很多负面影响^[1]。奥马珠单抗是重组人源化抗人免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 单克隆抗体,可以与 IgE 特异性结合抑制气道炎症,有效改善肺功能,被广泛用于中重度过敏性哮喘,但关于奥马珠单抗治疗哮喘的作用机制尚未明确^[2-3]。研究表明, Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子 88 (myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88)/核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 通路

与炎症小体介导的凋亡有关,抑制该通路激活可以减轻哮喘患者中性粒细胞气道炎症^[4]。微小 RNA (microRNA, miR)-26a-5p 可以通过调控靶基因来影响哮喘小鼠细胞纤维化^[5]。本研究构建哮喘大鼠模型,分析奥马珠单抗对哮喘大鼠气道重塑指标的影响机制,为哮喘的精准治疗提供新的分子靶点和理论依据。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雄性 SD 健康大鼠,体质量 290~310 g,鼠龄 8 周,购自珠海百试通生物科技有限

公司。动物生产许可证号:SCXK(粤)2020-0051。本研究经海南省第五人民医院实验动物伦理委员会批准[伦理批件号:(2024)年论审第(014)号]。

药品与试剂 奥马珠单抗,规格:每瓶5 mg,纯度:99.60%,批号:146126;卵清蛋白(ovalbumin, OVA),规格:每瓶1 g,纯度:98.00%,批号:232196,均由美国TargetMol公司生产;大鼠白细胞介素-13(interleukin-13, IL-13)、IL-4、IgE、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,均为北京索莱宝科技有限公司生产;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒、Trizol试剂、逆转录试剂盒、核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)抗体、胱天蛋白酶1(cysteinyI aspartate specific proteinase-1, caspase-1)抗体、TLR4抗体、MyD88抗体、NF- κ B抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔IgG,均为上海碧云天生物技术公司生产;IL-1 β 抗体,武汉三鹰生物技术有限公司生产;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白含量测定试剂盒,英国Abcam公司生产;U6及miR-26a-5p引物、荧光探针,均购自生工生物(上海)有限公司。

仪器 402AI超声雾化器,上海聚慕医疗器械有限公司产品;CM1850UV冰冻切片机,北京昊诺斯科技有限公司产品;OEM光学显微镜模块,仪景通光学科技(上海)有限公司产品;LightCycler 480 II荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)系统,美国罗氏公司产品;BS-330E全自动生化分析仪,深圳迈瑞生物医疗有限公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[4]、动物分组与给药方法

将50只健康SD大鼠分为对照组、模型组、奥马珠单抗组、奥马珠单抗+agomir NC组和奥马珠单抗+miR-26a-5p agomir组,每组10只。除对照组外,其余各组于第1、4天腹腔注射10% OVA+10%氢氧化铝的磷酸盐缓冲液混合液1 mL致敏,第7天将大鼠置于超声雾化器中,1% OVA雾化激发哮喘发作,对照组以磷酸盐缓冲液代替OVA。当大鼠出现口唇发绀、呼吸加快、腹肌痉挛、点头呼吸或站立不稳等,表明造模成功。奥马珠单抗组在模型组的基础上每日给予腹腔注射 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 奥马珠单抗(对照组和模型组注射等量的0.9% NaCl);奥马珠单抗+

agomir NC组在奥马珠单抗组的基础上尾静脉注射agomir NC;奥马珠单抗+miR-26a-5p agomir组在奥马珠单抗组的基础上尾静脉注射miR-26a-5p agomir,隔日1次,共3次,干预周期为2周。

2.2 HE染色法检测大鼠肺组织病理变化^[4]

将SD大鼠的肺组织洗涤后,置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h,经脱水、石蜡包埋、切片(4 μm),参照HE染色试剂盒说明书进行HE染色,在光学显微镜下观察肺(小气道、肺泡壁、肺间质、基底膜等结构)组织的病理变化,随机选取3张不同切片,找到完整的小支气管横断面,并拍照保存。用Image J图像分析软件测量图片中支气管腔内周长、管壁面积及平滑肌面积,以单位长度的管壁面积(管壁面积/腔内周长)表示支气管壁厚度,以单位长度的平滑肌层面积(平滑肌面积/腔内周长)表示支气管平滑肌厚度。

2.3 ELISA法检测各组大鼠血清中IL-13、IL-4、IgE和IFN- γ 的水平^[2]

取各组大鼠腹主动脉血3 mL,在4 $^{\circ}\text{C}$ 下,以 $2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min(离心半径8 cm)分离血清,按ELISA试剂盒说明书依次按照包被抗体、洗板、封闭、加样品或标准品、加待检测抗体、加酶标二抗、加底物反应、终止反应步骤操作,用酶标仪在450 nm的波长下测定每孔光密度值,光密度值与IL-13、IL-4、IgE和IFN- γ 浓度正相关,制作标准曲线并计算样本中各指标浓度值。

2.4 实时定量逆转录聚合酶链反应(quantitative real-time PCR, RT-qPCR)法检测miR-26a-5p在各组大鼠肺组织中的表达情况^[6]

称取肺组织制备肺匀浆,按照说明书要求用Trizol试剂提取各组大鼠肺组织匀浆总RNA,并将RNA反转录获得cRNA,以cRNA为模板进行RT-qPCR扩增反应,在95 $^{\circ}\text{C}$,30 s预变性,95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,40个循环,65 $^{\circ}\text{C}$ ~95 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行扩增,以U6为内参,计算目的基因Ct数值后,用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析miR-26a-5p相对表达水平。miR-26a-5p上游引物为5'-CTGGTGTCTGGAGTCGG-3',下游引物为5'-GGGGTTCAAGTAATCCAGGA-3';U6上游引物为5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物为5'-CTCAACTGCTGTCGTGGA-3'。

2.5 荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测各组大鼠肺组织中miR-26a-5p的表达水平^[5]

将肺组织石蜡切片置于自动染色机中脱蜡和水

化,放入装有柠檬酸-柠檬酸三钠缓冲液的烧杯中,于90℃水浴锅中煮沸10 min,自然冷却,滴加适量蛋白酶K,37℃恒温箱中消化15 min,冲洗后滴加适量预杂交液,37℃恒温箱孵育1 h,倾去预杂交液,滴加适量含miR-26a-5p探针(探针序列:5'-DIG-CC-UUGGGACCUGCACAGCCU-DIG-3')杂交液,37℃恒温箱杂交过夜,倾去杂交液,梯度清洗后滴加抗荧光衰减封片剂(含4',6-二脒基-2-苯基吡啶)封片,荧光显微镜下观察并进行判读。

2.6 蛋白质印迹(Western blot, WB)法检测各组大鼠支气管组织中焦亡通路和TLR4/MyD88/NF-κB通路相关蛋白的表达水平^[5]

用放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay, RIPA)裂解缓冲液提取肺总蛋白,用二喹啉甲酸试剂盒测定蛋白浓度,取样电泳,分离蛋白转膜、室温封闭2 h。加入NLRP3、caspase-1、TLR4、MyD88、NF-κB、GAPDH(1:1 000)、IL-1β(1:2 000)抗体,4℃孵育过夜,次日冲洗后加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记二抗(1:2 000),室温孵育2 h,显色后进行扫描成像,用Image J软件分析灰度值。

3 统计学处理

用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较用独立样本t检验,多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 奥马珠单抗对哮喘大鼠肺组织病理变化的影响

对照组腹腔注射0.9% NaCl;模型组建立哮喘模型;奥马珠单抗组在模型组的基础上每日腹腔注射100 mg·kg⁻¹·d⁻¹奥马珠单抗;奥马珠单抗+agomir NC组在奥马珠单抗组的基础上尾静脉注射agomir NC;奥马珠单抗+miR-26a-5p agomir组在奥马珠

单抗组的基础上尾静脉注射miR-26a-5p agomir。
对照组大鼠肺组织结构完整,未见明显炎症细胞浸润;模型组大鼠肺组织可见明显的气道增厚,分泌物增多,肺泡结构破坏,同时伴有炎症细胞浸润;奥马珠单抗组大鼠的肺组织结构相较于模型组有所改善。结果见图1。

2 奥马珠单抗对哮喘大鼠支气管壁厚度、支气管平滑肌厚度及血清炎症因子的影响

模型组与对照组相比,大鼠支气管壁厚度和支气管平滑肌厚度均显著增加(均P<0.05);奥马珠单抗组与模型组相比,大鼠支气管壁厚度和支气管平滑肌厚度均显著降低(均P<0.05),见表1。

ELISA结果显示,与对照组相比,IL-13、IL-4、IgE在模型组大鼠血清中的水平均显著升高,IFN-γ水平显著降低(均P<0.05);与模型组相比,IL-13、IL-4、IgE在奥马珠单抗组大鼠血清中的水平均显著降低,IFN-γ水平显著升高(均P<0.05),见表1。

3 miR-26a-5p在各组大鼠肺组织中的表达

模型组与对照组相比,miR-26a-5p相对表达水平和荧光强度均显著升高(均P<0.01);奥马珠单抗组与模型组相比,miR-26a-5p相对表达水平和荧光强度均显著降低(均P<0.01)。结果见表2。

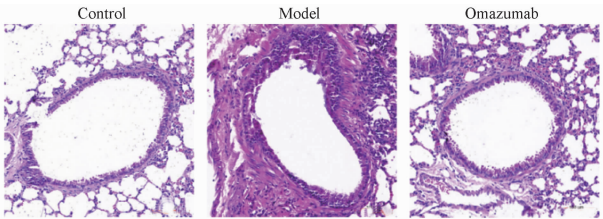


图1 各组大鼠肺组织病理学变化(苏木精-伊红染色,×100)

Figure 1 Histopathological changes in rats (hematoxylin-eosin staining, ×100)

Control group: No treatment; Model group: Asthma model; Omazumab group: Asthma model +100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ omazumab.

表1 各组大鼠管壁厚度、平滑肌厚度及大鼠血清中白细胞介素(IL)-13、IL-4、免疫球蛋白E(IgE)、干扰素γ(IFN-γ)水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of tube wall thickness, smooth muscle thickness and levels of interleukin (IL)-13, IL-4, immunoglobulin E (IgE), interferon-γ (IFN-γ) in rats serum of each group($\bar{x} \pm s$)

Group	n	Tube wall thickness (μm)	Smooth muscle thickness(μm)	IL-13 (pg·mL ⁻¹)	IL-4 (pg·mL ⁻¹)	IgE (pg·mL ⁻¹)	IFN-γ (pg·mL ⁻¹)
Control	10	35.16±2.95	14.25±1.13	18.23±3.94	59.06±10.14	14.66±3.12	68.43±11.59
Model	10	52.94±4.63**	27.84±2.32**	61.84±10.94**	248.11±39.78**	94.36±18.16**	22.94±4.70**
Omazumab	10	44.07±3.78##	19.81±1.72##	34.23±6.11##	118.73±20.59##	51.37±9.61##	43.10±8.04##

Dose refer to figure 1; Compared with control group, **P<0.01; Compared with model group, ##P<0.01.

表2 *miR-26a-5p* 在各组大鼠肺组织中的相对表达水平及荧光强度的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression and fluorescence intensity of *miR-26a-5p* in rat lung tissues of each group($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>miR-26a-5p</i>	Relative fluorescence intensity of <i>miR-26a-5p</i>
Control	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.12
Model	2.26 ± 0.31 **	2.74 ± 0.36 **
Omazumab	1.37 ± 0.19 ##	1.69 ± 0.25 ##

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with control group, ** *P* < 0.01; Compared with model group, ## *P* < 0.01.

4 奥马珠单抗通过 *miR-26a-5p* 对哮喘大鼠支气管组织细胞焦亡的影响

对照组、模型组、奥马珠单抗组、奥马珠单抗 + agomir NC 组和奥马珠单抗 + *miR-26a-5p* agomir 组的 NLRP3 分别为 1.00 ± 0.11、3.21 ± 0.47、1.77 ± 0.24、1.69 ± 0.27 和 2.53 ± 0.38, caspase-1 分别为 1.00 ± 0.14、4.33 ± 0.51、2.26 ± 0.34、2.31 ± 0.32 和 3.43 ± 0.48, IL-1β 分别为 1.00 ± 0.16、2.99 ± 0.37、1.82 ± 0.29、1.76 ± 0.31 和 2.36 ± 0.35。模型组的上述指标与对照组相比,奥马珠单抗组的上述指标与模型组相比,奥马珠单抗 + *miR-26a-5p* agomir 组的上述指标与奥马珠单抗 + agomir NC 组相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 *P* < 0.001)。

5 奥马珠单抗通过 *miR-26a-5p* 对哮喘大鼠 TLR4/MyD88/NF-κB 通路相关蛋白表达的影响

对照组、模型组、奥马珠单抗组、奥马珠单抗 + agomir NC 组和奥马珠单抗 + *miR-26a-5p* agomir 组的 TLR4 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13、2.54 ± 0.39、1.86 ± 0.27、1.91 ± 0.30 和 2.24 ± 0.34, MyD88 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.15、1.97 ± 0.26、1.44 ± 0.21、1.41 ± 0.18 和 1.69 ± 0.23, NF-κB 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12、2.88 ± 0.37、1.83 ± 0.29、1.77 ± 0.25 和 2.54 ± 0.41。模型组的上述指标与对照组相比,奥马珠单抗组的上述指标与模型组相比,奥马珠单抗 + *miR-26a-5p* agomir 组的上述指标与奥马珠单抗 + agomir NC 组相比,在统计学上差异均有统计学意义(均 *P* < 0.001)。

讨 论

近年来,哮喘的发病率和患病率呈增长趋势,支气管哮喘可导致肺功能低下,而气道重塑是哮喘的主

要特征之一,当外界刺激源进入体内,T细胞过度活化产生大量激素激活B细胞合成IgE,促使平滑肌收缩、炎症细胞浸润等,导致气道重塑,发生不可逆的气流受限,损害肺功能,严重者会出现呼吸衰竭^[7-9]。有研究表明,气道重塑的发生机制复杂,治疗难度较大,目前临床尚无有效防治措施^[10]。奥马珠单抗是95%人源化抗IgE单克隆抗体,可以下调气道平滑肌细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞上的IgE高亲和力受体表达,特异性结合血液循环中的IgE,从而阻止和减少促炎介质的后续释放,发挥平喘作用,对中重度支气管哮喘控制效果较好^[11]。本研究中,模型组大鼠的肺组织可见明显的气道增厚,分泌物增多,肺泡结构破坏,同时伴有炎症细胞浸润,经过奥马珠单抗治疗后,大鼠肺组织结构相较于模型组有所改善,分泌物大幅减少,并且奥马珠单抗治疗使哮喘大鼠支气管壁厚度、支气管平滑肌厚度均显著减小,血清中IL-4、IL-5、IL-13和IFN-γ水平均显著降低,这说明奥马珠单抗可同时在改善哮喘大鼠致敏状态、气道炎症和肺功能方面发挥积极作用。

有研究表明,miRNA在哮喘发生发展中起着重要作用,其中*miR-26a-5p*表达水平异常与多种疾病发生发展有关,如*miR-26a-5p*可影响炎症因子释放介导高糖诱导的视网膜细胞凋亡,且与结直肠癌的增殖和转移有关^[12-13]。ROFFEL等^[14]研究报道,*miR-26a-5p*表达水平与哮喘患者血液、痰和支气管中嗜酸性炎症程度相一致。这提示调控*miR-26a-5p*表达可能为治疗中重度哮喘的潜在机制。本研究中,*miR-26a-5p*在模型组中的表达显著升高,在奥马珠单抗组中的表达显著降低,这说明奥马珠单抗可能通过下调*miR-26a-5p*水平,抑制气道重塑。NLRP3炎症小体是先天免疫系统的一个重要组成部分,其激活的经典途径包括启动信号发生并导致NF-κB转录激活,随后NLRP3、pro-IL-1β表达上调,活性形态的caspase-1将pro-IL-1β加工成活性形成IL-1β,释放到细胞外,而NLRP3炎症小体及其下游产物IL-1β可诱导Th2细胞分化并分泌炎症因子促进气道炎症发生^[15-17]。史玉柱等^[18]研究发现,抑制NLRP3/caspase-1/IL-1β信号通路激活可进一步减轻气道炎症,缓解哮喘小鼠模型症状的发生发展。TLR4/MyD88/NF-κB信号转导通路是诱导T细胞分化的关键因素,作为NLRP3上游通路的TLR4,可结合MyD88促进依赖的TLR4途径产生炎症因子,激活NF-κB信号通路,形成滚雪球式正反馈调节,促进细胞焦亡的发生^[19]。杨爽等^[20]研究表明,抑制TLR4、

MyD88 和 NF- κ B 蛋白表达可以改善抗菌药物加重过敏性哮喘小鼠的肺部炎症,调节炎症免疫反应。本研究结果显示,奥马珠单抗治疗可以显著降低支气管组织 NLRP3、caspase-1、IL-1 β 及 TLR4、MyD88、NF- κ B 的表达水平,当加入 miR-26a-5p 模拟物可逆转上述指标变化,这表明奥马珠单抗可能通过调节 miR-26a-5p 表达来抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 及 NLRP3/caspase-1/IL-1 β 信号通路激活,抑制细胞焦亡,从而抑制哮喘大鼠气道重塑,最终改善大鼠肺功能。

本研究提示:奥马珠单抗可能通过调控 miR-26a-5p 抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的激活来减少炎症小体 NLRP3 介导的焦亡,从而实现奥马珠单抗抑制支气管哮喘大鼠气道重塑,改善大鼠肺功能。

参考文献:

- [1] 张志杰,黄贵锐,张诗瑜,等. 9 个常用经典名方治疗成人支气管哮喘疗效的网状 Meta 分析[J]. 世界中医药,2024,19(8): 1092—1098,1107.
- [2] 张越,佟训靓,李艳,等. 奥马珠单抗对过敏性哮喘小鼠气道重塑的影响[J]. 临床药物治疗杂志,2022,20(7):40—45.
- [3] 杨文平,李刚,亓玉心,等. 奥马珠单抗对支气管哮喘大鼠肺功能及气道重塑的影响及机制研究[J]. 中国现代医学杂志,2023,33(14):16—21.
- [4] LIU L, ZHOU L, WANG L, et al. MUC1 attenuates neutrophilic airway inflammation in asthma by reducing NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis through the inhibition of the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *Respir Res*, 2023, 24(1):255.
- [5] ZHONG J, LIU M, CHEN S, et al. Study of the regulatory mechanism of miR-26a-5p in allergic asthma[J]. *Cells*, 2022, 12(1):38.
- [6] 张修红,傅开龙,林侃,等. 补阳还五汤通过 miR-26a-5p 激活 PTEN/PI3K/Akt 信号通路减轻大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. 中国中药杂志,2024,49(15):4197—4206.
- [7] 中国老年医学学会. 老年人支气管哮喘诊断与管理中国专家共识[J]. 中华医学杂志,2020,100(38):2970—2981.
- [8] 雷俊. 牛蒡子苷元抑制 TLR4/TRAF6/NF- κ B 信号通路对哮喘模型大鼠气道重塑和 Th1/Th2 免疫平衡的影响[J]. 免疫学杂志,2023,39(1):12—20.
- [9] LI J, CHEN Q, HE X, et al. Dexmedetomidine attenuates lung apoptosis induced by renal ischemia-reperfusion injury through α 2AR/PI3K/Akt pathway[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1):78.
- [10] KE Q, YANG L, CUI Q, et al. Ciprofibrate attenuates airway remodeling in cigarette smoke-exposed rats [J/OL]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2020, 271:103290. 2019-09-13 [2024-07-30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31525465/>.
- [11] 柳亚慧,时国朝. 支气管哮喘的精准治疗[J]. 中国实用内科杂志,2020,40(5):371—376.
- [12] 唐德荣,杨雨雯,石蕊,等. miR-26a-5p 调控 PTEN/PI3K/Akt 信号通路对高糖诱导视网膜 Müller 细胞活化及凋亡的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版),2024,40(5):705—711.
- [13] 冶俊,郑小影,郭新建,等. LncRNA SNHG5/miR-26a-5p/MTDH 信号轴促进结直肠癌转移的机制研究[J]. 中国癌症杂志,2023,33(7):673—685.
- [14] ROFFEL M P, BOUDEWIJN I M, VAN NIJNATTEN J L L, et al. Identification of asthma-associated microRNAs in bronchial biopsies[J]. *Eur Respir J*, 2022, 59(3):2101294.
- [15] 徐万超,虞坚尔,薛征. NLRP3 炎症小体与支气管哮喘关系研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2021,37(13):1643—1647.
- [16] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y, et al. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13):3328.
- [17] OSEI E T, BRANDSMA C A, TIMENS W, et al. Current perspectives on the role of interleukin-1 signalling in the pathogenesis of asthma and COPD[J]. *Eur Respir J*, 2020, 55(2):1900563.
- [18] 史玉柱,刘燕,徐磊,等. 天山莖菜提取物基于 NLRP3/caspase-1/IL-1 β 信号通路改善哮喘小鼠气道炎症的作用及机制[J]. 中国药理学通报,2024,40(5):929—936.
- [19] 付智慧,周霖,聂安政. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 与 p38 MAPK 信号通路研究麻杏石甘汤减轻咳嗽变异性哮喘大鼠炎症反应的作用及机制[J]. 中国中药杂志,2024,49(4):1000—1006.
- [20] 杨爽,王亚楠,黄燕. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路探讨加味过敏煎对抗生素加重过敏性哮喘小鼠的抗炎机制[J]. 中医药学报,2025,53(1):35—39.

(收稿日期 2024-10-22)