

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research基于 p38MAPK/AP-1 信号通路探索羧甲司坦
对肺炎支原体肺炎小鼠气道炎症和气道重塑的
影响Effects of carbocisteine on airway inflammation and airway remodeling in mice
with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia based on p38MAPK/AP-1 signaling
pathway

王宁湘, 李 辉, 谭 鑫

(长沙市第一医院 儿科, 湖南 长沙 410005)

WANG Ning-xiang, LI Hui,
TAN Xin(Department of Paediatrics, The First
Hospital of Changsha, Changsha 410005,
Hunan Province, China)作者简介: 王宁湘(1988), 女, 主治医师, 主要从
事小儿重症方面的临床诊疗工作

通信作者: 谭鑫, 主任医师, 硕士生导师

MP: 13755051643

E-mail: Tanxin35713067@163.com

摘要:目的 研究羧甲司坦对肺炎支原体肺炎小鼠气道炎症和气道重塑的影响, 及其作用机制。方法 将小鼠随机分为正常组、模型组、实验组、阴性转染组和阳性转染组, 每组 12 只。正常组滴鼻接种等量的 0.9% NaCl, 其余组小鼠均滴鼻接种肺炎支原体混悬液建立肺炎支原体肺炎模型。在造模成功后, 实验组灌胃给予 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的羧甲司坦; 阴性转染组灌胃给予 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的羧甲司坦 + 尾静脉注射含有肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子 2 (TIPE2) 空白对照序列质粒的腺病毒 1.0×10^9 PFU; 阳性转染组灌胃给予 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的羧甲司坦 + 尾静脉注射含有 sh-TIPE2 序列质粒的腺病毒 1.0×10^9 PFU; 正常组和模型组均灌胃给予等量的 0.9% NaCl。5 组小鼠每天给药 1 次, 连续 2 周。用酶联免疫吸附试验法检测各组小鼠肺组织炎症因子水平, 用蛋白质印迹法检测气道重塑指标、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK)/激活蛋白 1 (AP-1) 信号通路相关蛋白的表达情况。结果 正常组、模型组、实验组、阴性转染组和阳性转染组的肿瘤坏死因子- α 水平分别为 (9.18 ± 1.92) 、 (134.32 ± 24.56) 、 (42.20 ± 8.61) 、 (39.95 ± 7.77) 和 $(74.03 \pm 13.59) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 白细胞介素-6 水平分别为 (5.80 ± 1.21) 、 (65.12 ± 11.81) 、 (22.94 ± 4.47) 、 (26.11 ± 5.08) 和 $(42.67 \pm 7.97) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 基质金属蛋白酶 9 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 3.64 ± 0.62 、 1.45 ± 0.22 、 1.39 ± 0.20 和 2.16 ± 0.38 , 金属蛋白酶组织抑制因子-1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.52 ± 0.11 、 0.89 ± 0.16 、 0.84 ± 0.15 和 0.65 ± 0.13 , 磷酸化 p38MAPK/p38MAPK 比值分别为 1.00 ± 0.16 、 2.74 ± 0.48 、 1.57 ± 0.29 、 1.54 ± 0.27 和 2.31 ± 0.36 , 细胞核因子 Jun 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 2.25 ± 0.38 、 1.34 ± 0.21 、 1.37 ± 0.22 和 1.98 ± 0.32 , 细胞核因子 Fos 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 3.07 ± 0.56 、 1.86 ± 0.32 、 1.91 ± 0.35 和 2.51 ± 0.44 。模型组的上述指标与实验组和正常组比较, 阳性转染组的上述指标与阴性转染组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 羧甲司坦通过抑制 p38MAPK/AP-1 信号通路来抑制肺炎支原体肺炎小鼠的气道炎症和气道重塑。

关键词: 羧甲司坦; 肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子 2; 肺炎支原体肺炎; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 激活蛋白

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.010

中图分类号: R974 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)08-1102-06

Abstract: Objective To study the effects of carbocisteine on airway inflammation and airway remodeling in mice with *Mycoplasma*

pneumoniae pneumonia and its mechanism. **Methods** Mice were randomly divided into control group, model group, experimental group, negative transfection group and positive transfection group, with 12 mice in each group. The control group were inoculated with 0.9% NaCl by nasal drip, the other groups were inoculated with *Mycoplasma pneumoniae* suspension to establish *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia model. After successful modeling, the experimental group was given $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carbocisteine by intragastric administration; the negative transfection group was given $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carbocisteine by gavage + 1.0×10^9 PFU of adenovirus containing tumor necrosis factor - α - induced protein 8 - like 2 (TIPE2) blank control plasmid in the tail vein, the positive transfection group was given $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carbocisteine by intragastric + 1.0×10^9 PFU containing sh - TIPE2 plasmid was injected into the tail vein, the control and model groups were given 0.9% NaCl by intragastric administration. Five groups were treated for 2 weeks with once a day. The levels of inflammatory factors in lung tissue were detected by enzyme - linked immunosorbent assay. Airway remodeling index and p38 mitogen activated protein kinase (p38MAPK)/activated protein - 1 (AP - 1) signaling pathway related protein expression were detected by Western blot. **Results** The levels of tumor necrosis factor - α in control, model, experimental, negative transfection and positive transfection groups were (9.18 ± 1.92) , (134.32 ± 24.56) , (42.20 ± 8.61) , (39.95 ± 7.77) and $(74.03 \pm 13.59) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; the levels of interleukin - 6 were (5.80 ± 1.21) , (65.12 ± 11.81) , (22.94 ± 4.47) , (26.11 ± 5.08) and $(42.67 \pm 7.97) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; the relative protein expression levels of matrix metalloproteinase 9 were 1.00 ± 0.16 , 3.64 ± 0.62 , 1.45 ± 0.22 , 1.39 ± 0.20 and 2.16 ± 0.38 ; the relative protein expression levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 were 1.00 ± 0.14 , 0.52 ± 0.11 , 0.89 ± 0.16 , 0.84 ± 0.15 and 0.65 ± 0.13 ; the phospho - p38MAPK/p38MAPK ratios were 1.00 ± 0.16 , 2.74 ± 0.48 , 1.57 ± 0.29 , 1.54 ± 0.27 and 2.31 ± 0.36 ; the relative protein expression levels of cellular proto - oncogene Jun were 1.00 ± 0.14 , 2.25 ± 0.38 , 1.34 ± 0.21 , 1.37 ± 0.22 and 1.98 ± 0.32 ; the relative protein expression levels of cellular proto - oncogene Fos were 1.00 ± 0.18 , 3.07 ± 0.56 , 1.86 ± 0.32 , 1.91 ± 0.35 and 2.51 ± 0.44 , respectively. The above indexes in the model group were compared with the experimental and control groups, the above indexes in the positive transfection group were compared with the negative transfection group, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Carbocisteine inhibits airway inflammation and airway remodeling in mice with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia by inhibiting the p38MAPK/AP - 1 signaling pathway.

Key words: carbocisteine; tumor necrosis factor - α - induced protein 8 - like 2; *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; p38 mitogen activated protein kinase; activated protein - 1

肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*, Mp)可以引起多种呼吸道和肺外疾病,其引起的肺炎症状与促炎性细胞因子的表达有关,感染部位促炎性细胞因子募集,最终导致肺损伤和肺纤维化^[1]。羧甲司坦是一种高效的祛痰药物,主要用于慢性支气管炎、支气管哮喘等疾病的对症治疗,其不仅能够降低痰液黏稠程度,同时具有抗炎作用^[2]。肿瘤坏死因子 - α 诱导蛋白 8 样分子 2(tumor necrosis factor - α - induced protein 8 - like 2, TIPE2)是一种新型抗炎蛋白,可以负向调节 T 细胞受体和 Toll 样受体信号表达,调节肺炎支原体肺炎(*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP)的免疫机制^[3]。激活蛋白(activated protein - 1, AP - 1)是由细胞核因子 Jun(cellular proto - oncogene Jun, c - Jun)和细胞核因子 Fos(cellular proto - oncogene Fos, c - Fos)组成的异二聚体,可以促进多种炎症因

子、趋化因子的表达^[4]。本研究旨在探究羧甲司坦通过 TIPE2 对 MPP 小鼠 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen - activated protein kinase, p38MAPK)/AP - 1 信号通路以及气道炎症和气道重塑的影响。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级 BALB/c 小鼠,鼠龄 8 周,体质量 $(18 \pm 2) \text{ g}$,购自长沙市天勤生物技术有限公司。动物许可证号:SCXK(湘)2022 - 0011。本实验经长沙市第一医院伦理委员会批准[伦理批号:(2024)伦审【基文】第(23)号]。

药品与试剂 羧甲司坦片,规格:每片 0.25 g,批号:230301,批准文号:国药准字 H44022977,广东南国

药业有限公司生产。50%水合氯醛溶液,安徽雷根生物技术有限公司生产;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒,北京索莱宝科技有限公司生产;基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP-1)、 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、c-Jun、c-Fos、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH),均由英国Abcam公司生产;磷酸化p38MAPK(phospho-p38MAPK, p-p38MAPK)、p38MAPK兔抗鼠抗体,均由爱必信(上海)生物科技有限公司生产;白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒,上海轩泽康生物有限公司生产;IL-6 ELISA试剂盒,上海笃玛生物科技有限公司生产;单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) ELISA试剂盒,上海禹绍生物科技有限公司生产;肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、趋化因子(chemokine, KC) ELISA试剂盒,均由上海碧云天公司生产;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) ELISA试剂盒,上海艾连达生物科技有限公司生产;过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO) ELISA试剂盒,上海酶联生物科技有限公司生产。

仪器 CX21生物显微镜,日本Olympus公司产品;HBS-1096A酶标分析仪,南京德铁实验设备有限公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建^[5]

小鼠腹腔注射4%水合氯醛0.05 mL进行麻醉后,以滴鼻的方式接种 1×10^7 CCU $\cdot$ mL⁻¹ Mp混悬液20 μ L构建Mp肺炎模型,每天1次,接种3 d。观察小鼠症状,对小鼠进行支原体核酸检测,结果为阳性即造模成功。

2.2 动物分组与给药方法

将60只BALB/c小鼠随机分为正常组、模型组、实验组、阴性转染组和阳性转染组,每组12只。正常组滴鼻接种等量的0.9% NaCl,其余各组小鼠均按“2.1”的方法构建MPP模型。在造模成功后,实验组灌胃给予10 mg $\cdot$ kg⁻¹的羧甲司坦;阴性转染组灌胃给予10 mg $\cdot$ kg⁻¹的羧甲司坦+尾静脉注射含有TIPE2空白对照序列质粒的腺病毒 1×10^9 PFU;阳性转染组灌胃给予10 mg $\cdot$ kg⁻¹的羧甲司坦+尾静脉注射含有sh-TIPE2序列质粒的腺病毒 1×10^9 PFU;正常组和模型组小鼠均灌胃给予等量的0.9% NaCl。

5组小鼠每天给药1次,连续给药2周。

2.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法检测肺组织病理情况^[6]

取小鼠肺组织,经固定、石蜡包埋后,制作厚度为5 μ m的石蜡切片,按试剂盒说明书的步骤进行HE染色,中性树胶封片,在光学显微镜下观察并拍照。

2.4 检测小鼠肺指数^[7]

剥离小鼠肺组织并称重,计算肺指数。肺指数=肺质量/体质量。

2.5 蛋白质印迹法检测小鼠肺组织中TIPE2、MMP-9、TIMP-1和p38MAPK/AP-1信号通路相关蛋白的水平^[6]

用RIPA裂解液裂解小鼠肺组织,以1 200 r $\cdot$ min⁻¹离心10 min,取上清液。用BCA法测定蛋白浓度并定量。取样品20 μ g进行电泳,转膜后用5%脱脂奶粉封闭1 h,加入一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜,加入二抗室温孵育1 h,显色后,用Image J软件进行灰度分析,以GAPDH为内参,计算小鼠肺组织中各蛋白相对表达水平。

2.6 ELISA法检测肺组织中TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、KC、MCP-1、MPO和SOD的水平^[6]

取小鼠肺组织,制成匀浆,以1 200 r $\cdot$ min⁻¹离心10 min,分离上清液,严格按照试剂盒说明书的步骤进行操作,用ELISA法检测TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、KC、MCP-1、MPO和SOD的水平。

2.7 检测各组小鼠肺组织中Mp的水平^[8]

取小鼠左肺上叶,称重后加入0.9% NaCl,制成匀浆,取20 μ L接种在M-H平板中,于摇床上37 $^{\circ}$ C培养24 h。在无菌条件下进行上述操作,然后计算每克肺组织中Mp含量。

2.8 免疫组化法检测肺组织中 α -SMA蛋白的阳性表达情况^[9]

石蜡切片脱蜡至水、修复抗原,加入3%过氧化氢溶液避光孵育25 min,封闭30 min,加入一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜,加入二抗,室温孵育50 min, DAB显色,脱水封片后,于光学显微镜下观察。

3 统计学处理

用SPSS 24.0软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用独立样本 t 检验。

结 果

1 羧甲司坦对MPP小鼠肺指数和肺组织病理损伤的影响

实验组给予10 mg $\cdot$ kg⁻¹的羧甲司坦;阴性转染

组给予 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的羧甲司坦 + 含有 TIPE2 空白对照序列质粒的腺病毒 1.0×10^9 PFU; 阳性转染组给予 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的羧甲司坦 + 含有 sh-TIPE2 序列质粒的腺病毒 1.0×10^9 PFU; 正常组和模型组均给予等量的 0.9% NaCl。

HE 染色结果显示: 正常组小鼠肺组织形态正常, 肺泡和气管结构清晰, 上皮细胞完整; 模型组小鼠肺泡壁增厚, 有大面积充血, 支气管管腔与间质水肿增厚, 伴有明显的炎性细胞浸润; 实验组小鼠肺泡壁充

血程度减轻, 炎性细胞浸润减少; 阴性转染组小鼠与实验组小鼠肺部损伤程度没有太大差异; 阳性转染组小鼠可见肺泡壁增厚, 损伤程度较阴性转染组再次加重, 见图 1。正常组、模型组、实验组、阴性转染组和阳性转染组的肺指数分别为 $(0.52 \pm 0.07)\%$ 、 $(0.89 \pm 0.11)\%$ 、 $(0.69 \pm 0.09)\%$ 、 $(0.68 \pm 0.08)\%$ 和 $(0.77 \pm 0.08)\%$, 模型组与正常组比较, 实验组与模型组比较, 阳性转染组与阴性转染组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

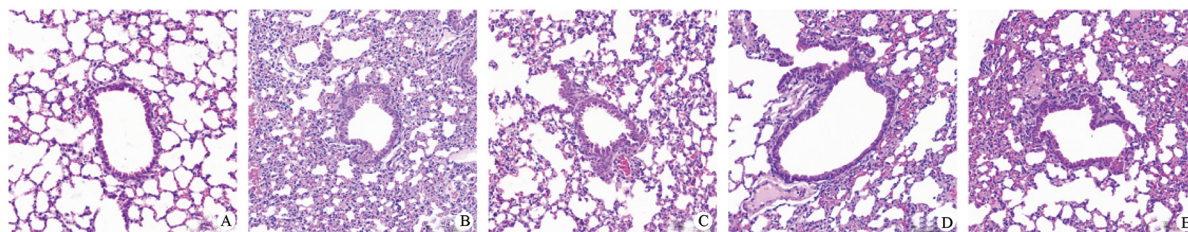


图 1 各组小鼠肺组织病理损伤比较 ($\times 100$)

Figure 1 Comparison of pathological injury of lung tissue in each group ($\times 100$)

A: Control group, 0.9% NaCl; B: Model group, 0.9% NaCl; C: Experimental group, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carbocisteine; D: Negative transfection group, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carbocisteine + 1.0×10^9 PFU sh-NC; E: Positive transfection group, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ carbocisteine + 1.0×10^9 PFU sh-TIPE2.

2 羧甲司坦对 MPP 小鼠肺组织中 TIPE2、MMP-9、TIMP-1 和 p38MAPK/AP-1 信号通路相关蛋白表达的影响

正常组、模型组、实验组、阴性转染组和阳性转染组的 TIPE2 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 0.66 ± 0.11 、 0.87 ± 0.14 、 0.89 ± 0.12 和 0.51 ± 0.09 , MMP-9 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16 、 3.64 ± 0.62 、 1.45 ± 0.22 、 1.39 ± 0.20 和 2.16 ± 0.38 , TIMP-1 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 0.52 ± 0.11 、 0.89 ± 0.16 、 0.84 ± 0.15 和 0.65 ± 0.13 , p-p38MAPK/p38MAPK 比值分别为 1.00 ± 0.16 、 2.74 ± 0.48 、 1.57 ± 0.29 、 1.54 ± 0.27 和 2.31 ± 0.36 , c-Jun 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.14 、 2.25 ± 0.38 、 1.34 ± 0.21 、 1.37 ± 0.22 和 1.98 ± 0.32 , c-Fos 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.18 、 3.07 ± 0.56 、 1.86 ± 0.32 、 1.91 ± 0.35 和 2.51 ± 0.44 , 模型组的上述指标与实验组和正常组比较, 阳性转染组的上述指标与阴性转染组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 见图 2。

3 羧甲司坦通过 TIPE2 对 MPP 小鼠肺组织中促炎因子、趋化因子、肺炎支原体和氧化应激水平的影响

模型组的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、KC、MCP-1、M ρ 和 MPO 水平均显著高于正常组, SOD 活性显著低于正常组, 在统计学上差异均有统计学意义 (均

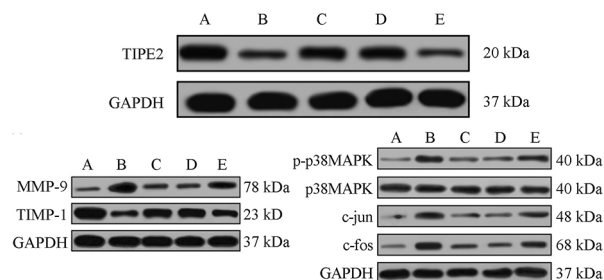


图 2 用蛋白质印迹法检测各组小鼠肺组织中相关蛋白的表达情况

Figure 2 The expression of related proteins in lung tissues of each group was detected by Western blot

A-E refer to figure 1; TIPE2; Tumor necrosis factor- α -induced protein 8-like 2; GAPDH; Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; MMP-9; Matrix metalloproteinase 9; TIMP-1; Tissue inhibitor of metalloproteinases 1; p-p38MAPK; Phospho-p38 mitogen activated protein kinase; p38MAPK; p38 mitogen activated protein kinase; c-Jun; Cellular proto-oncogene Jun; c-Fos; Cellular proto-oncogene Fos.

$P < 0.05$); 实验组的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、KC、MCP-1、M ρ 和 MPO 水平均显著低于模型组, SOD 活性显著高于模型组, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 阳性转染组的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、KC、MCP-1、M ρ 和 MPO 水平均显著高于阴性转染组, SOD 活性显著低于阴性转染组, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结果见表 1。

表1 各组促炎因子、趋化因子、肺炎支原体(Mp)和氧化应激水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The levels of proinflammatory factor, chemokine, Mycoplasma pneumoniae (Mp) and oxidative stress were compared in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	TNF- α (pg·mL ⁻¹)	IL-6(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β (pg·mL ⁻¹)	KC(pg·mL ⁻¹)
Control	12	9.18 $\pm$ 1.92	5.80 $\pm$ 1.21	46.71 $\pm$ 8.04	81.33 $\pm$ 15.84
Model	12	134.32 $\pm$ 24.56 [*]	65.12 $\pm$ 11.81 [*]	110.22 $\pm$ 20.37 [*]	214.86 $\pm$ 37.78 [*]
Experimental	12	42.20 $\pm$ 8.61 [#]	22.94 $\pm$ 4.47 [#]	65.29 $\pm$ 10.40 [#]	102.10 $\pm$ 17.14 [#]
Negative transfection	12	39.95 $\pm$ 7.77	26.11 $\pm$ 5.08	69.27 $\pm$ 11.38	95.73 $\pm$ 15.55
Positive transfection	12	74.03 $\pm$ 13.59 Δ	42.67 $\pm$ 7.97 Δ	87.02 $\pm$ 14.59 Δ	152.19 $\pm$ 26.62 Δ

Group	n	MCP-1(pg·mL ⁻¹)	Mp($\times 10^3$ CFU·left lobe ⁻¹)	MPO(U·g ⁻¹)	SOD(U·mg ⁻¹ prot)
Control	12	53.92 $\pm$ 11.30	0.00 $\pm$ 0.00	0.44 $\pm$ 0.07	188.52 $\pm$ 35.28
Model	12	164.16 $\pm$ 24.65 [*]	74.23 $\pm$ 11.18 [*]	1.55 $\pm$ 0.26 [*]	94.01 $\pm$ 18.44 [*]
Experimental	12	69.08 $\pm$ 13.78 [#]	22.62 $\pm$ 4.75 [#]	0.77 $\pm$ 0.12 [#]	163.26 $\pm$ 30.99 [#]
Negative transfection	12	74.96 $\pm$ 14.62	20.45 $\pm$ 3.66	0.73 $\pm$ 0.11	158.54 $\pm$ 29.16
Positive transfection	12	127.74 $\pm$ 22.29 Δ	48.12 $\pm$ 8.64 Δ	1.24 $\pm$ 0.21 Δ	119.84 $\pm$ 22.47 Δ

TNF- α : Tumor necrosis factor- α ; IL-6: Interleukin-6; KC: Chemokine; MCP-1: Monocyte chemotactic protein-1; MPO: Myeloperoxidase; SOD: Superoxide dismutase; Compared with control group, ^{*} $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$; Compared with negative transfection group, Δ $P < 0.05$.

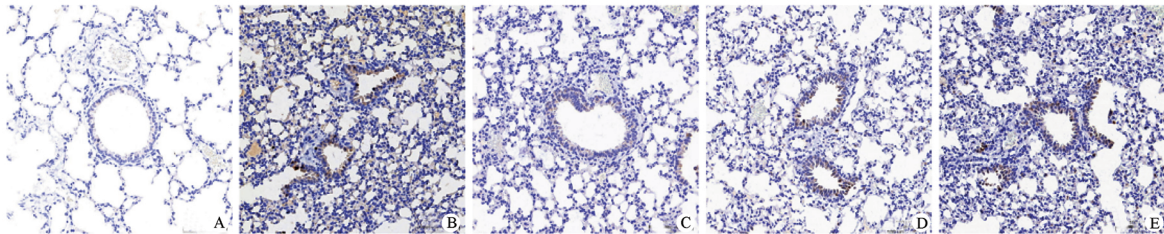


图3 各组小鼠肺组织中 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达情况($\times 100$)

Figure 3 Expression of α -smooth muscle actin (α -SMA) in lung tissue of mice in each group($\times 100$)

A-E refer to figure 1.

4 羧甲司坦通过 TIPE2 对 MPP 小鼠肺组织中 α -SMA 表达的影响

正常组、模型组、实验组、阴性转染组和阳性转染组的 α -SMA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.17 、 4.89 ± 0.87 、 2.07 ± 0.37 、 1.96 ± 0.39 和 3.74 ± 0.61 ，模型组与正常组比较，实验组与模型组比较，阳性转染组与阴性转染组比较，在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)，见图3。

讨 论

Mp 主要经飞沫传播，以青少年发病率最高，感染后能引起异常免疫反应，进而导致肺组织及多种肺外损伤症状^[10]。羧甲司坦能够清除呼吸道痰液，降低炎症。本研究发现，模型组小鼠肺泡壁、支气管管腔与间质水肿增厚、充血，并伴有明显的炎性细胞浸润，而经羧甲司坦处理后，MPP 小鼠肺泡壁充血程度减轻，炎性细胞浸润减少，肺指数降低。

TLR2 作为评估 MPP 病情严重程度的指标。当存

在 Mp 感染时，TLR2 受体会促进细胞分泌前炎性因子，促进气道黏液的分泌，导致病情的发展^[3]。高阳等^[11]研究发现，TIPE2 在重症 MPP 组的水平低于轻症 MPP 组。李珊珊等^[12]研究发现，加味麻杏石甘汤治疗能够提高 MPP 患儿的 TIPE2 水平，改善病情。本研究中，模型组小鼠肺组织中 TIPE2 水平降低，经羧甲司坦处理后，TIPE2 水平明显升高。在 Mp 感染后，进展为重症肺炎和肺外并发症的主要病因是异常的免疫反应及细胞因子风暴。赵若莲等^[13]研究发现，Mp 感染后，能上调 TNF- α 和 IL-6 等炎症因子的释放，板蓝根可以抑制免疫炎症反应，减轻免疫病理损伤和肺组织炎性病变。卓艳霞等^[14]研究发现，在 Mp 感染合并哮喘预后不良患儿体内，MCP-1 水平升高，炎性损伤程度加重，病情较为严重。本研究发现，经羧甲司坦处理后，MPP 小鼠的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、KC 和 MCP-1 水平均显著降低，在此基础上下调 TIPE2 表达，则显著提高促炎因子及趋化因子水平，这提示羧甲司坦能够通过提高 TIPE2 水平，降低炎症反应，减轻 MPP 小鼠的肺损伤。

感染引发机体炎症反应后,炎症因子释放并诱导 MMP-9 活化与表达^[15]。MMP-9 与 TIMP-1 通常处于动态平衡中,协同维持细胞微环境的稳态,当 MMP-9 活性增强,TIMP-1 活性受到抑制,肺细胞通透性增加,细胞基质沉积,肺泡结构破坏,功能障碍^[16]。MMP-9/TIMP-1 系统平衡是阻止气道重塑的有效途径之一^[17]。党照康^[18]研究发现,在肺炎恶化组患者肺泡灌洗液中,随着时间推移, α -SMA 水平逐渐升高。在肺炎形成过程中, α -SMA 逐渐移动至肺泡间隙纤维渗出物中,损伤肺正常修复。此外, α -SMA 持续处于高水平与气道狭窄和气道重塑相关^[19]。郭晓华等^[20]研究发现,SOD 在 MPP 小鼠中表达降低,莫西沙星治疗能够改善其水平。本研究中,实验组的 MMP-9、 α -SMA、MPO 和 Mp 水平均较模型组显著降低,SOD 和 TIMP-1 水平均较模型组显著升高,在此基础上下调 TIPE2 表达,则表现出相反的结果,这提示羧甲司坦能够通过提高 TIPE2 水平,减轻 Mp 感染情况,缓解机体氧化应激,改善气道重塑,促进肺损伤修复。有研究发现,麻杏解毒合剂能够抑制 p38MAPK/AP-1 通路,减少炎症因子的合成和释放,降低冠状病毒感染导致的肺组织损伤^[21]。另有研究发现,杆努尽烟能够降低 c-Jun 和 c-Fos 的表达,抑制气道炎症^[22]。本研究中,实验组的 p-p38MAPK/p38MAPK、c-Jun 和 c-Fos 水平均较模型组显著降低,在此基础上下调 TIPE2 表达,则表现出相反的结果。这提示羧甲司坦能够通过提高 TIPE2 水平,抑制 p38MAPK/AP-1 信号通路。

本研究提示:羧甲司坦能够减轻 MPP 小鼠的气道炎症,改善气道重塑,这可能是通过 TIPE2 抑制 p38MAPK/AP-1 信号通路实现的。

参考文献:

- [1] 王媛,张敏,孟静,等. 柚皮素对肺炎支原体感染小鼠肺组织修复效果及高迁移率族蛋白 B1/核因子- κ B 信号通路的影响[J]. 安徽医药,2024,28(7):1318—1322,1486.
- [2] 刘燕. 羧甲司坦联合布地奈德治疗支气管炎的效果分析[J]. 中国社区医师,2024,40(14):58—60.
- [3] 朱欢,朱圆,吕倩. 外周血中 TLR2、TIPE2 和 D-dimer 表达水平对支原体肺炎病情严重程度的预测价值[J]. 实验与检验医学,2024,42(1):20—22,30.
- [4] 陈阳西,余幼微,杨帆,等. 转染 DPP-4 siRNA 或(和)加入 SP600125 的小鼠肺泡巨噬细胞极化及 JNK/AP-1 信号通路激活情况观察[J]. 山东医药,2024,64(12):10—14.
- [5] 吴文娟,曾妮,王硕莹,等. 黄芩苷对支原体肺炎小鼠 TLR4/NF- κ B 信号通路的抗炎及肺功能保护作用[J]. 中华医院感染学杂志,2023,33(23):3521—3526.
- [6] 肖韵,王建刚,王莹巍,等. 丹酚酸 B 对支原体肺炎幼鼠肺组织的保护作用及可能机制[J]. 解剖科学进展,2024,30(2):128—130.
- [7] 孙静,赵荣华,郭姗姗,等. BD-77 雾化吸入给药对肺炎支原体感染小鼠的治疗作用[J]. 中国药物警戒,2024,21(3):253—256,262.
- [8] 顾盼瑾,张立红,胡锡池,等. 黄芪多糖联合替加环素对白细胞减少性鲍曼不动杆菌感染肺炎大鼠的疗效及机制研究[J]. 陕西医学杂志,2023,52(10):1319—1325.
- [9] 黄勇,苏韞,龚红霞,等. 野菊花颗粒对 COPD 模型大鼠气道炎症与重塑及 MMP-9/TIMP-1 平衡的影响[J]. 中国老年学杂志,2023,43(17):4230—4233.
- [10] 王淑敏,李雪军,张奕星,等. 清肺通络方下调 RAGE 抑制 NLRP3 炎症小体表达对 MPP 小鼠的保护机制研究[J]. 时珍国医国药,2023,34(8):1849—1853.
- [11] 高阳,贺琳晰,赵璠,等. 儿童肺炎支原体肺炎 TIPE2、TLR2 及 TLR4 表达及意义[J]. 中华医院感染学杂志,2022,32(15):2373—2377.
- [12] 李珊珊,李英会,张瑾. 加味麻杏石甘汤对小儿支原体肺炎抗炎因子及机体免疫和外周血 ESR、TLR2、TIPE2 表达影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2022,24(9):127—130.
- [13] 赵若莲,柴琳,周宏,等. 板蓝根提取物对肺炎支原体感染小鼠血清白介素-6、肿瘤坏死因子- α 和白介素-17A 的影响研究[J]. 中国当代医药,2024,31(7):14—17.
- [14] 卓艳霞,张敬芳,张永卓,等. MP 感染合并哮喘患儿血清 miR-424-5p、MCP-1、TLR4 水平联合检测预测预后的效能[J]. 海南医学,2024,35(17):2496—2500.
- [15] 郭建明,左一字,赵爱宝. 血清过氧化物酶体增殖物激活受体和基质金属蛋白酶 9 水平与支原体肺炎患儿肠道菌群的相关性及其诊断价值[J]. 新发传染病电子杂志,2023,8(4):20—24.
- [16] 赵利芳,杨建功,文先杰,等. 激活蛋白-1 对机械通气性肺损伤小鼠肺组织炎症反应、细胞凋亡和 MMP-9/TIMP-1 平衡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版),2022,57(1):97—102.
- [17] 黄锦榕,杨妙玲,黄小华,等. 补气健脾化痰方对肺脾气虚兼痰浊阻肺型 COPD 稳定期患者血清 IL-8、MMP-9、TIMP-1 水平的影响[J]. 福建中医药,2024,55(1):63—65.
- [18] 党照康. α -SMA 和肺泡灌洗液细胞因子水平在重症肺炎中检测意义[J]. 辽宁医学杂志,2024,38(2):16—19.
- [19] 李欣,荣英杰,吕睿冰. 哮喘-慢阻肺重叠综合征患者血清 SIRT1、 α -SMA 水平及临床意义研究[J]. 临床肺科杂志,2024,29(1):48—53.
- [20] 郭晓华,祝伟,张倩. 莫西沙星对肺炎支原体肺炎小鼠肺损伤的作用研究[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(19):2853—2857.
- [21] 邱敏,刘莉,江飞龙,等. 麻杏解毒合剂通过 p38MAPK/AP-1 通路对冠状病毒肺炎模型小鼠炎症因子的调控作用研究[J]. 中国中医急症,2023,32(9):1520—1524.
- [22] 刘彦吉,蒙光敏,李贵雪,等. 苗药“杆努尽烟”对慢性支气管炎大鼠肺组织 AP-1 因子表达的影响[J]. 中国医药科学,2023,13(9):18—21.

(收稿日期 2024-10-17)