·实验研究·

桔梗抑制支原体肺炎上皮间质转化的机制研究

胡鹏，蒙艳丽*，唐静，王晓溪，王欣，马鸿菲，王伟明*
（黑龙江省中医药科学院，黑龙江 哈尔滨 150036）

摘要 目的：探究桔梗对肺炎支原体感染 Beas－2B 细胞和小鼠的治疗作用及机制。方法：Beas－2B 细胞分组，建立支原体肺炎模型，给药 1 d。细胞 HE 染色观察各组细胞生长状态；MTT 和 CCK－8 法检测细胞存活情况。60 只 BALB/c 小鼠随机分为空白组、模型组、阿奇霉素组、桔梗高剂量组、桔梗中剂量组、桔梗低剂量组，每组 10 只。滴鼻法建立小鼠支原体肺炎模型，HE 染色观察肺部病理情况，免疫组织化学法和 RT－PCR 法分别检测 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 的蛋白和 mRNA 表达水平；ELISA 法检测血清 SOD、TNF－α、IL－6 水平；RT－PCR 检测 AQP1 抑制剂对 Beas－2B 细胞 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达量的影响。结果：模型组 Beas－2B 细胞失去原有细胞形态，数量减少；小鼠肺组织 AQP1 蛋白和 mRNA 表达量降低（$P<0.05$，$P<0.01$），Wnt－5α、β－catenin 蛋白和 mRNA 表达量升高（$P<0.05$，$P<0.01$）；血清 SOD 表达量下降（$P<0.01$），血清 TNF－α、IL－6 表达量升高（$P<0.01$）。与模型组相比，桔梗显著改善Beas－2B 细胞的生长状态；小鼠肺组织 AQP1 蛋白和 mRNA 表达量升高（$P<0.05$，$P<0.01$），Wnt－5α、β－catenin 蛋白和 mRNA 表达量降低（$P<0.05$，$P<0.01$），血清 SOD 均升高而 TNF－α、IL－6 表达量均下降（$P<0.05$，$P<0.01$）；与空白组相比，AQP1 抑制剂抑制 Beas－2B 细胞 AQP1 的 mRNA 表达量（$P<0.01$），上调 Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达量（$P<0.05$）。结论：桔梗基于 Wnt/β－catenin 信号通路调控 AQP1 的表达对肺炎支原体引起的肺组织上皮间质转化发挥抑制作用，进而保护肺组织。

关键词 桔梗；AQP1；Wnt/β－catenin 信号通路；肺炎支原体肺炎；Beas－2B 细胞
中图分类号：R285.5 **文献标识码**：A **文章编号**：1002－2392(2025)01－0007－07
DOI：10.19664/j.cnki.1002－2392.250002

肺炎支原体肺炎（Mycoplasma pneumoniae pneumonia，MPP）又称支原体肺炎，是一种由肺炎支原体感染引起的间质性肺炎，儿童是该病的易感人群[1]。该病的临床表现多种多样，初期以感冒为主，如发烧、流鼻涕、咽喉痛、咳嗽等，严重时可能会出现呼吸急促和呼吸困难等症状，严重威胁患儿生命。

收稿日期：2023－12－28 **修回日期**：2024－10－06
基金项目：国家自然科学基金面上项目（82174060）；黑龙江省自然科学基金项目（LH2021H074）；黑龙江省卫生健康委科研课题（20210202040011）；黑龙江中医药科研项目（ZHY2022－075）
作者简介：胡鹏（1999－），男，硕士研究生，研究方向：中药抗支原体作用机制研究。
*通信作者：蒙艳丽（1976－），女，硕士，研究员，硕士研究生导师，研究方向：中药新药研发。
王伟明（1966－），女，博士，研究员，博士生导师，研究方向：新药研发、中药材综合利用与深加工、中药剂型开发、药食同源中药发酵研究。

西医临床治疗 MPP 以抗感染为主，首选大环内酯类抗生素进行治疗，如阿奇霉素等[2]。近年来，由于大环内酰胺类药物的广泛应用，肺炎支原体的耐药现象日益严重[3]。中医学在治疗病原体感染方面有其独特的优势，支原体肺炎在中医学理论中属于“肺热咳喘”范畴。肺主行水，“若雾露以溉”，充养润泽组织器官；肺炎支原体感染后，温邪直袭肺络，气机运行不畅，肺宣发肃降、通调水道的功能失调，肺热灼伤肺阴，引起肺燥阴虚[4]。

桔梗为桔梗科植物桔梗的干燥根，入肺经，具有清肺利咽、润肺止咳、祛痰排脓的功效，最早记载于《神农本草经》[5]。桔梗宣通肺气，以气行水，升清降浊，润肺平喘，用于治疗由肺部疾病引起的炎症、咳嗽等，并修复肺损伤[3,6]。课题组前期研究发现[7]，桔梗对肺炎支原体的生长具有抑制作用，但对于肺炎支原体引起的肺损伤的修复机制尚不明确。

作为水通道蛋白家族成员之一，水通道蛋白 1（Aquaporin 1，AQP1）是位于细胞膜上的通道蛋白，实现水的快速跨膜转运[8]。AQP1 在细胞迁移、增殖和血管生成过程中发挥重要作用[8-9]。Wnt 信号通路是调节上皮间质转化的重要通路。经典的 Wnt 信号通路，即 Wnt 信号以 β－catenin 为关键节点调控下游通路，其激活体现在 β－catenin 蛋白在核内的聚集，激活相关靶标的表达，促进上皮间质转化的形成[10-11]。MENG 等[12]通过免疫共沉淀发现 β－catenin 与 AQP1 蛋白存在相互作用关系，AQP1 可与 β－catenin 形成稳定的复合物。然而，AQP1 与典型 Wnt 信号通路相互作用的机制和生理意义仍然未知。

本研究通过体外观察桔梗含药血清对肺炎支原体感染的人正常肺上皮（Beas－2B）细胞状态的影响以及体内探究桔梗对小鼠肺组织 AQP1 的调控作用，基于 Wnt/β－catenin 信号通路阐释桔梗治疗支原体肺炎的作用机制。

1　材料

1.1　实验动物和细胞

SPF 级 BALB/c 小鼠 60 只，体质量 18～22 g，购于哈尔滨医科大学实验动物学部，合格证号：SCXK（黑）2019－001；SPF 级 SD 大鼠 40 只，体质量 180～220 g，购于哈尔滨医科大学实验动物学部，合格证号：SCXK（黑）2019－001，该实验由黑龙江省中医药科学院实验动物伦理委员会审批通过（SY3R－2022013）。人正常肺支气管上皮（Beas－2B）细胞，购于中国科学院上海生科院细胞资源中心。

1.2　菌株

肺炎支原体（ATCC15531），购于 American Type Culture Collection，使用 20% 灭活的胎牛血清 PPLO 培养基进行培养，14 d 传代 1 次。

1.3　药物与试剂

桔梗饮片购于北京同仁堂；阿奇霉素分散片（批号：274230101）购于石药集团欧意药业有限公司；乙酰唑胺片（批号：H32020345）购于江苏长江药业有限公司；水通道蛋白 1（Aquaporin 1）抗体（批号：ab168387）、Wnt－5α 抗体（批号：ab235966）、β－catenin 抗体（批号：ab32572）均购于艾博抗（上海）贸易有限公司；引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

1.4　主要仪器

RM2235 石蜡切片机（德国莱卡微系统有限公司）；BX41 荧光显微镜（日本 Nikon 公司）；M200 多功能酶标仪（美国 thermo 公司）；Line Gene 9600 Real－Time PCR 仪（中国博日科技公司）；DHP－9052 电热恒温培养箱（上海一恒科学仪器有限公司）。

2　方法

2.1　体外实验

2.1.1　细胞培养与处理

30 只大鼠随机分为空白组、阿奇霉素组和桔梗组。阿奇霉素组和桔梗组以人 5 倍剂量给药，持续7 d。最后 1 d 给药结束 2 h 后，大鼠腹主动脉取血，分离血清，灭活备用。Beas－2B 细胞用 10% 灭活的胎牛血清 DMEM 培养基培养，3 d 传代 1 次。处于对数生长期的 Beas－2B 细胞随机分为空白组、模型组、桔梗组、阿奇霉素组。除空白组，其余各组滴加支原体感染造模 1 h。空白组、模型组给予 10% 空白含药血清培养基；桔梗组给予 10% 桔梗含药血清培养基；阿奇霉素组给予 10% 阿奇霉素含药血清培养基。

2.1.2　细胞 HE 染色

各组细胞接种于六孔板爬片，给药 24 h，甲醇固定 30 min，进行细胞 HE 染色，于光学显微镜下观察细胞的生长状况。

2.1.3　MTT、CCK－8 法检测 Beas－2B 细胞增殖能力

各组细胞接种于 96 孔板，给药 24 h 后进行细胞 MTT 和 CCK－8 实验，分别在酶标仪 450 nm 处测得吸光度（OD）值，每组做 3 个平行实验。细胞存活率（%）＝处理组 OD 值/空白组 OD 值×100%。

2.2　体内实验

2.2.1　动物分组与处理

将小鼠随机分为空白组、模型组、阿奇霉素组和桔梗高、中、低剂量组，每组 10 只。除空白组，其余各组滴鼻法取 10^6 CCU/mL 肺炎支原体菌液 40 μL 造模 3 d。桔梗饮片加水煎煮 2 次，每次 1.5 h，过滤，合并滤液，60 ℃浓缩至 1.30～1.35 g/cm^3 的清膏。各组灌胃给药剂量：阿奇霉素组为 0.03 g·kg^{-1}、桔梗高剂量组为0.5 g·kg^{-1}、桔梗中剂量组为0.25 g·kg^{-1}、桔梗低剂量组为 0.125 g·kg^{-1}，每日给药 1 次，连续 7 d。给药结束后，各组小鼠摘眼球取血，分离血清，－80 ℃保存；脱颈椎处死，取其肺组织备用。

2.2.2　小鼠肺组织病理情况

小鼠肺组织固定，脱水，石蜡包埋，4 μm 切片，置于二甲苯中脱蜡，梯度酒精洗脱，进行 HE 染色，显微镜观察其病理情况。

2.2.3　免疫组化检测肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达水平

将各组石蜡切片脱蜡后，按照免疫组化试剂盒说明书规范操作。一抗（AQP1 1∶500、Wnt－5α 1∶500、β－catenin 1∶500），电子显微镜拍照后，使用 Image J

软件测定阳性细胞吸光度(OD)值。

2.2.4 RT-PCR 检测肺组织 AQP1、Wnt-5α、β-catenin 的 mRNA 表达量

Trizol 法提取肺组织 RNA,根据 RT-PCR 试剂盒说明书配制 25 μL 反应体系,检测各组小鼠肺组织 AQP1、Wnt-5α、β-catenin 的 mRNA 相对表达量。引物序列为:ACTB 内参上游引物 5′-GTG CTA TGT TGC TCT AGA CTT CG-3′、下游引物 5′-ATG CCA CAG GAT TCC ATA CC-3′;AQP1 上游引物 5′-CCG CAA TGA CCT GGC TGA TGG -3′、下游引物 5′-CGC CTC CGG TCG GTA GTA GC-3′;Wnt-5α 上游引物 5′-AGG GCT CCT ACG AGA GTG CT-3′、下游引物 5′-GAC ACC CCA TGG CAC TTG-3′;β-catenin 上游引物 5′-AAG GTA GAG TGA TGA AAG TTG TT-3′、下游引物 5′-CAC CAT GTC CTC TGT CTA TTC -3′。

2.2.5 ELISA 法检测小鼠血清 SOD、TNF-α 水平

取各组小鼠血清,按照酶联免疫吸附法(ELISA 法)试剂盒说明书检测各组小鼠血清 SOD、TNF-α 表达情况,酶标仪 450 nm 处检测各孔 OD 值。

2.3 AQPI 抑制剂乙酰唑胺对 Beas-2B 细胞 AQP1、Wnt-5α、β-catenin 表达水平的影响

Beas-2B 细胞中加入含乙酰唑胺的培养基培养 2 d,提取 RNA, RT-PCR 法检测其 AQP1、Wnt-5α、β-catenin 的 mRNA 表达水平。

2.4 统计学分析

通过 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析,采用单因素(ANOVA)方差分析进行组间差异分析,各组数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

3 结果

3.1 Beas-2B 细胞生长状态

空白组细胞形态呈多边形,大小均一,细胞核饱满,核仁清晰,可见细胞质轮廓。模型组细胞形态不规则,已失去原有 Beas-2B 细胞的基本形态,细胞核实体化,细胞质皱缩,细胞数目明显减少。与模型组相比,给药组细胞数量明显增加,形态规则,细胞活性增加,见图 1。表明桔梗含药血清对肺炎支原体感染的 Beas-2B 细胞具有保护作用。

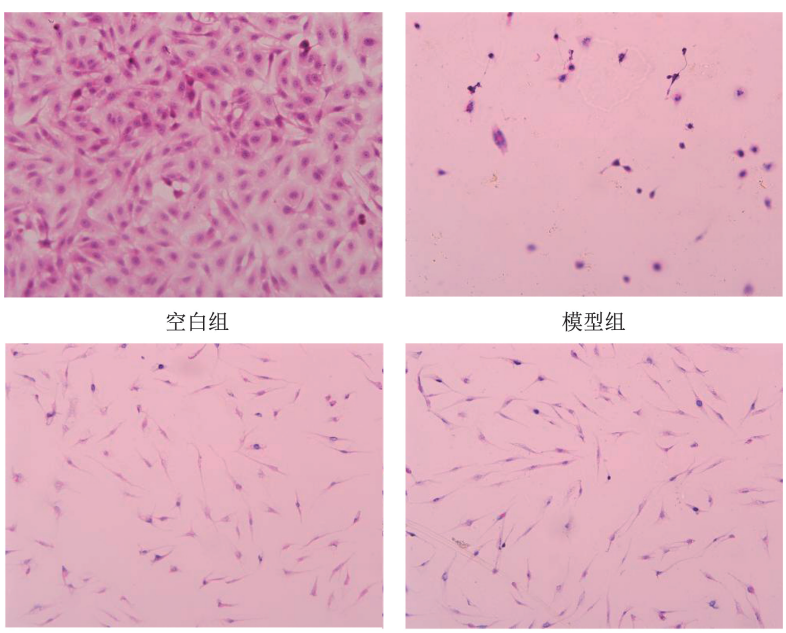


图 1 细胞 HE 染色(×200)

3.2 Beas-2B 细胞存活率

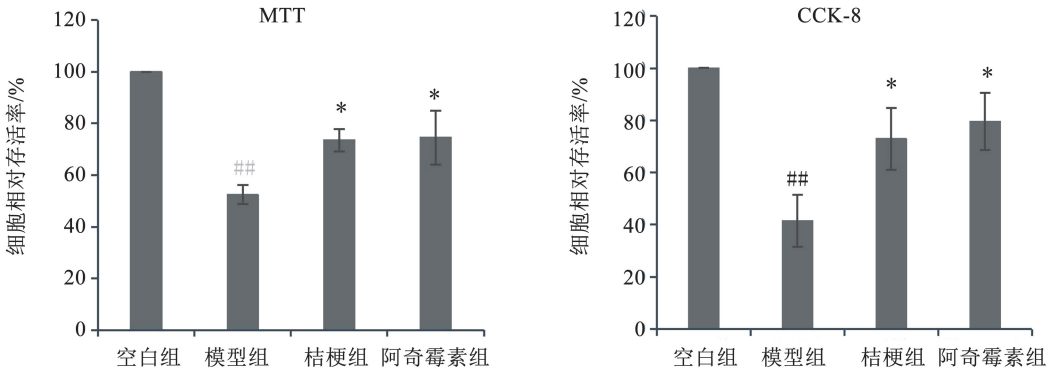
MTT 和 CCK-8 实验探究桔梗含药血清对支原体感染的肺正常上皮细胞的影响,见图 2。MTT 结果显示,与空白组相比,模型组细胞存活率显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$);与模型组相比,给药组细胞存活率显著提高,差异具有统计学意义($P<0.05$);CCK-8 结果与 MTT 结果相吻合,见图 2。表明桔梗含药血清有利于肺炎支原体感染 Beas-2B 细胞存活。

3.3 小鼠肺组织病理情况

各组小鼠肺组织 HE 染色结果见图 3。空白组小鼠的肺组织结构完整,肺泡清晰,未见异常情况。模型组小鼠肺组织结构不完整,肺泡塌陷,肺泡壁毛细血管充血,大量炎症细胞浸润。给药组小鼠肺组织病理情况较模型组均明显减轻。桔梗高剂量组表现出较好的治疗效果。

3.4　各组小鼠肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达情况

免疫组化检测各组小鼠 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达情况，见图 4，表 1。空白组小鼠肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 表达正常，维持动态平衡。与空白组相比，模型组肺组织 AQP1 降低（$P<0.05$），Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达均上升（$P<0.05$，$P<0.01$）。桔梗给药后显著提高小鼠肺组织 AQP1，下调 Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达量（$P<0.05$，$P<0.01$）。



注：与空白组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$。

图 2　各组 Beas－2B 细胞存活情况（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

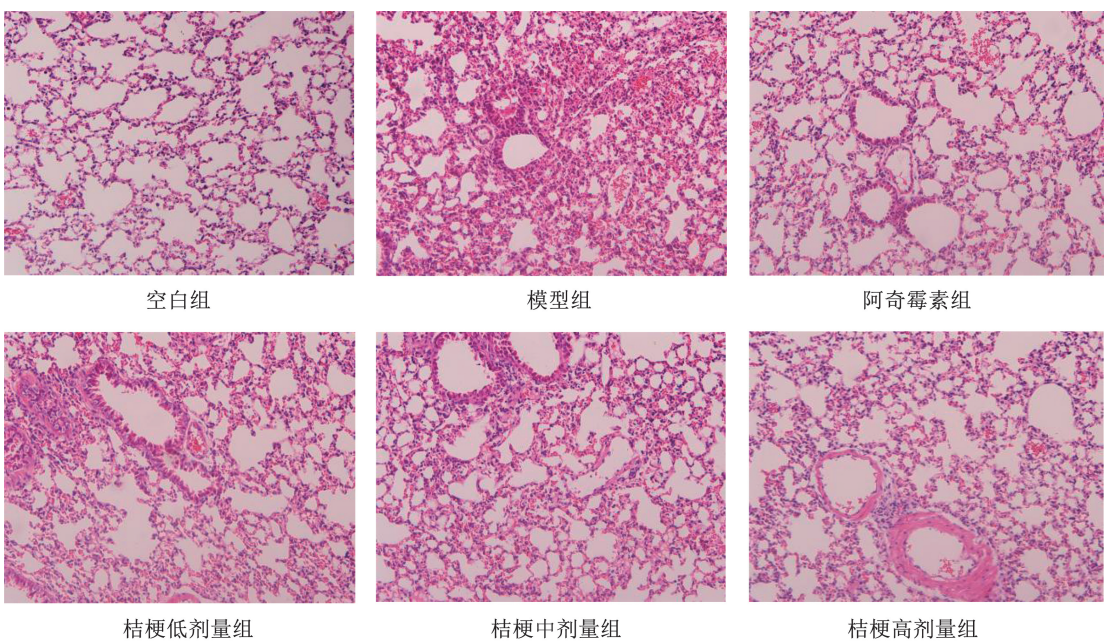


图 3　各组小鼠肺组织病理情况（HE，×200）

表 1　各组小鼠肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	AQP1	Wnt－5α	β－catenin
空白组	0.558 ±0.012	0.260 ±0.017	0.237 ±0.004
模型组	0.527 ±0.002$^{\#}$	0.296 ±0.010$^{\#\#}$	0.253 ±0.002$^{\#}$
阿奇霉素组	0.559 ±0.017**	0.240 ±0.017**	0.248 ±0.012
桔梗低剂量组	0.537 ±0.011	0.282 ±0.007$^{\#}$	0.244 ±0.006
桔梗中剂量组	0.550 ±0.006*	0.253 ±0.008**	0.238 ±0.010*
桔梗高剂量组	0.567 ±0.018**	0.236 ±0.007$^{\#**}$	0.225 ±0.009**

注：与空白组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$。

3.5　各组小鼠肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达水平

与空白组相比，模型组小鼠肺组织中 AQP1 的 mRNA 表达水平明显降低（$P<0.01$）；Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达水平明显升高（$P<0.05$，$P<0.01$）。与模型组相比，各给药组都上调 AQP1 的 mRNA 表达量（$P<0.05$，$P<0.01$）；下调 Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达量（$P<0.05$，$P<0.01$）。且随桔梗剂量增加，AQP1 的 mRNA 表达量与 Wnt－5α、β－catenin 呈负相关。见表 2。

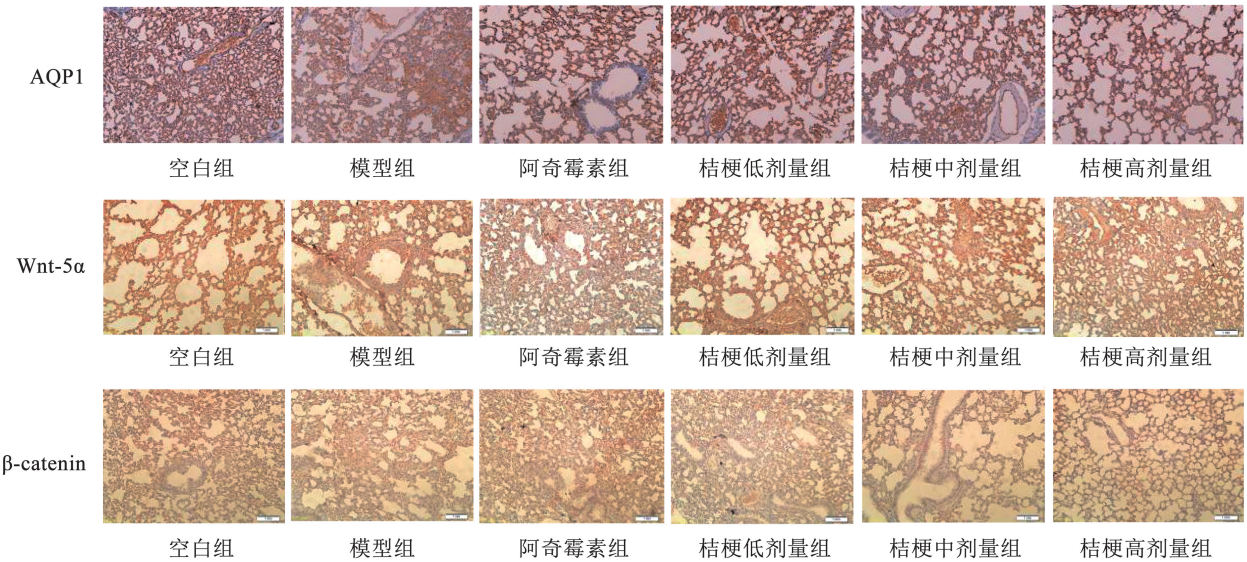


图 4 各组小鼠肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 蛋白表达情况(免疫组化，×200)

表 2 各组小鼠肺组织 AQP1、Wnt－5α、β－catenin mRNA 的相对表达量($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	AQP1	Wnt－5α	β－catenin
空白组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组	0.37 ± 0.03$^{\#\#}$	2.88 ± 0.34$^{\#}$	2.07 ± 0.26$^{\#\#}$
阿奇霉素组	0.71 ± 0.13**	1.09 ± 0.09**	0.93 ± 0.07**
桔梗低剂量组	0.47 ± 0.06*	2.76 ± 0.44	1.27 ± 0.12**
桔梗中剂量组	0.54 ± 0.07**	1.66 ± 0.18**	1.24 ± 0.39**
桔梗高剂量组	0.63 ± 0.38**	1.15 ± 0.07**	1.04 ± 0.06**

注：与空白组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$。

3.6 各组小鼠血清 SOD、TNF－α、IL－6 水平

结果见表 3。与空白组相比，模型组血清 SOD 水平显著降低($P<0.01$)；与模型组相比，桔梗低、中、高剂量组小鼠血清 SOD 表达均增加($P<0.05$，$P<0.01$)。与空白组相比，模型组小鼠血清 TNF－α、IL－6表达水平显著升高($P<0.01$)；与模型组相比，桔梗给药组小鼠血清 TNF－α、IL－6 表达量相对降低($P<0.01$)。

表 3 各组小鼠血清 SOD、TNF－α、IL－6 含量($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	SOD/(U/mL)	TNF－α/(pg/mL)	IL－6/(pg/mL)
空白组	1 251.19 ± 172.42	3.47 ± 2.07	35.33 ± 1.98
模型组	700.59 ± 75.33$^{\#\#}$	24.77 ± 1.65$^{\#\#}$	117.46 ± 3.68$^{\#\#}$
阿奇霉素组	1 085.08 ± 116.34**	5.73 ± 2.04**	61.05 ± 2.90**
桔梗低剂量组	913.67 ± 157.14	9.24 ± 1.31**	75.17 ± 0.72**
桔梗中剂量组	990.60 ± 81.42*	13.60 ± 5.75**	61.28 ± 2.20**
桔梗高剂量组	1 686.91 ± 169.24**	8.93 ± 2.00**	54.55 ± 5.38**

注：与空白组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$。

3.7 各组细胞 AQP1、Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达水平

在 Beas－2B 细胞中加入 AQP1 抑制剂乙酰唑胺，探究其对 Wnt/β－catenin 信号通路的影响，见表 4。结果显示，加入乙酰唑胺能有效抑制 Beas－2B 细胞 AQP1 的表达($P<0.01$)，Wnt－5α、β－catenin 的 mRNA 表达量明显升高($P<0.05$)。

表 4 各组细胞 AQP1、Wnt－5α、β－catenin mRNA 相对表达量($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	AQP1	Wnt－5α	β－catenin
空白组	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
乙酰唑胺处理组	0.07 ± 0.02$^{\#\#}$	1.31 ± 0.17$^{\#}$	1.40 ± 0.18$^{\#}$

注：与空白组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$。

4 讨论

肺炎支原体是一种常见的社区获得性病原体，可引起急性呼吸道感染，其疾病严重程度从轻度到危及生命不等。近年来，随着支原体肺炎患儿的数量逐年增加，临床上难治型支原体肺炎并发症越来越多，成为各地儿科肺病热点问题之一[13－14]。

桔梗作为一味药食同源的中药，具有宣肺的作用，通调人体气液代谢，以濡养肺脏，临床上常用于治疗肺部疾病[3,14]。现代研究发现[5]，桔梗有抑菌、抗氧化、止咳化痰、调节免疫功能等功效。桔梗皂苷和多糖是桔梗的主要有效成分，其中桔梗皂苷具有抗炎、镇咳的功效，桔梗多糖具有抗氧化、调节免疫等多种药理效应[3,5]。桔梗治疗支原体肺炎，一方面在于桔梗含药血清可以抑制支原体的生长和繁殖，另一方面桔梗可能增强肺脏的输导和排泄能力，达到润肺、修复肺损伤

的作用。

AQP1 是一种水特异性膜通道蛋白,在肺组织中主要定位于肺微血管内皮,调节内皮通透性,维持肺内皮屏障的正常功能[8,15]。水是细胞中最主要的成分,是细胞间物质交换的媒介。研究表明[16],抑制肺微血管内皮中 AQP1 蛋白表达会降低细胞膜 VE - 粘蛋白的完整性,并激活 Rho/ROCK 信号通路。由此可见,AQP1 还可以作为细胞与细胞连接的关键蛋白,维持细胞正常信息交流。过度炎症反应是各种肺损伤的核心机制之一,慢性阻塞性肺疾病、急性肺损伤、哮喘等肺损伤都表现为肺组织 AQP1 表达水平下降[17-19]。本实验发现,模型组小鼠肺组织中 AQP1 表达量降低,大量炎症因子浸润肺组织。炎症反应在细胞水环境中进行,AQP1 通过控制细胞内外水液进出,可能间接影响炎症反应。氧化应激与炎症反应相互促进,炎症因子聚集诱导氧化应激,造成血管内皮损伤,并上调血管内皮细胞自噬水平,加速细胞凋亡[20]。肺炎支原体感染引起机体应激性免疫反应,免疫细胞分泌炎症因子,如 TNF - α、IL - 6 等,引起系统性炎症。SOD 在机体氧化与抗氧化平衡中起到至关重要的作用,桔梗上调 AQP1 的表达,促进机体 SOD 的产生,SOD 释放入血,抑制炎症因子的释放,减轻机体的氧化应激。

肺组织中,Wnt/β - catenin 信号通路在创伤修复和纤维化形成过程中起关键作用[21]。β - catenin 是 Wnt 信号通路中重要的调节因子,在 Wnt 未激活的情况下,细胞质 β - catenin 被蛋白酶不断降解;Wnt 被激活后, Wnt 结合下游分子形成复合物抑制 β - catenin 的降解,β - catenin 不断积累并转移至细胞核[22-23]。Wnt/β - catenin 信号通路已被证明通过调节炎症信号通路和炎症因子的分泌在细菌感染中发挥调节作用,在由肺炎支原体感染引起的肺上皮间质转化过程中发挥重要作用[24-25]。AQP1 在 β - 连环蛋白降解途径中发挥调控成分的作用,AQP1 诱导的 β - catenin 核易位未激活 Wnt 下游靶基因[24]。本研究通过免疫组化和 RT - PCR 实验发现,随着 AQP1 表达上调,Wnt - 5α/β - catenin 信号通路受到显著的抑制;而抑制肺正常上皮细胞 AQP1 的表达,可上调 Wnt - 5α/β - catenin 信号通路,由此可以推断,桔梗有效成分一方面可能直接抑制 Wnt 蛋白表达,抑制 Wnt - 5α/β - catenin 信号通路,另一方面可能上调 AQP1 蛋白表达从而下调Wnt - 5α/β - catenin 信号通路,进而抑制肺组织上皮间质转化,减轻肺纤维化。

综上所述,桔梗调控 AQP1 表达抑制肺炎支原体感染引起的上皮间质转化,其作用机制与 Wnt - 5α/β - catenin 信号通路有关。但桔梗保护肺组织的具体有效成分尚不明确,需进一步探究,为其治疗支原体肺炎产品的深度开发提供理论依据。

参考文献:

[1] BAO Y G, LI X B, WANG K X, et al. Central retinal artery occlusion and cerebral infarction associated with *Mycoplasma* pneumonia infection in children[J]. BMC Pediatr, 2016, 16(1): 210.

[2] LI J J, LIU M L, LV J N, et al. Polysaccharides from *Platycodonis Radix* ameliorated respiratory syncytial virus - induced epithelial cell apoptosis and inflammation through activation of miR - 181a - mediated Hippo and SIRT1 pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 104: 108510.

[3] 裴彩霞,王振兴,汪晓敏,等. 桔梗皂苷 D 经 NF - κB 通路抑制炎症及氧化应激反应减轻脂多糖诱导的大鼠急性肺损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(4): 672 - 679.

[4] 胡港,俞赟丰,邓羿驶,等. 基于“玄府 - 肺络”理论探讨小儿支原体肺炎 Th1/Th2 免疫失衡的证治[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(6): 103 - 108.

[5] 孙萍,徐慧,黄艳红,等. 桔梗化学成分的提取方法和药理作用概述[J]. 中国酿造, 2022, 41(9): 18 - 23.

[6] 范文京,任娟宁,战秀俊,等. 桔梗汤及其活性成分治疗急性肺损伤的作用机制研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(4): 1230 - 1239.

[7] 姚琳,隋美娇,隋文霞,等. 桔梗抗肺炎支原体有效部位的分离纯化工艺研究[J]. 中国药房, 2015, 26(10): 1386 - 1389.

[8] YUN X, PHILIP N M, JIANG H Y, et al. Upregulation of aquaporin 1 mediates increased migration and proliferation in pulmonary vascular cells from the rat SU5416/hypoxia model of pulmonary hypertension[J]. Front Physiol, 2021, 12: 763444.

[9] WANG W L, LI F, SUN Y, et al. Aquaporin - 1 retards renal cyst development in polycystic kidney disease by inhibition of Wnt signaling[J]. FASEB J, 2015, 29(4): 1551 - 1563.

[10] CONLON T M, JOHN - SCHUSTER G, HEIDE D, et al. Inhibition of LTβR signalling activates WNT - induced regeneration in lung[J]. Nature, 2020, 588(7836): 151 - 156.

[11] CHEN Z Y, HE S, LIAN S Y, et al. The Wnt/β - catenin pathway regulates inflammation and apoptosis in ventilator - induced lung injury[J]. Biosci Rep, 2023, 43(3): BSR20222429.

[12] MENG F B, RUI Y F, XU L L, et al. Aqp1 enhances migration of bone marrow mesenchymal stem cells through regulation of FAK and β - catenin[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(1): 66 - 75.

[13] ZHAI Y Y, WU S Z, YANG Y, et al. An analysis of 20 clinical cases of refractory mycoplasma pneumonia in children[J]. Ann Palliat Med, 2020, 9(5): 2592 - 2599.

[14] 邓亚羚,叶先文,刘敏敏,等. 药食同源桔梗和百合配伍治疗肺炎的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(10): 2403 - 2412.

[15] KESKINIDOU C, LOTSIOS N S, VASSILIOU A G, et al. The interplay between aquaporin - 1 and the hypoxia - inducible factor 1α in a lipopolysaccharide - induced lung injury model in human pulmonary microvascular endothelial cells[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(18): 10588.

[16] ZHANG H H, ZHOU X J, ZHONG Y S, et al. Naringin suppressed air-

way inflammation and ameliorated pulmonary endothelial hyperpermeability by upregulating Aquaporin1 in lipopolysaccharide/cigarette smoke - induced mice[J]. Biomedecine Pharmacother, 2022, 150: 113035.

[17] GAO Z, UPUR H, WANG J, et al. Effect of abnormal savda munziq, a traditional Uighur herbal medicine, on pulmonary function and aquaporins of COPD rat model with abnormal savda syndrome[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017: 7176263.

[18] WANG W B, LI J T, HUI Y, et al. Combination of pseudoephedrine and emodin ameliorates LPS - induced acute lung injury by regulating macrophage M1/M2 polarization through the VIP/cAMP/PKA pathway[J]. Chin Med, 2022, 17(1): 19.

[19] 李荣科,李海龙,王志旺,等. 当归对阴虚哮喘 BALB/c 小鼠肺水通道蛋白 1、5 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(10): 2309 - 2311.

[20] LU T C, WU Y H, CHEN W Y, et al. Targeting oxidative stress and endothelial dysfunction using tanshinone IIA for the treatment of tissue inflammation and fibrosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 2811789.

[21] KNEIDINGER N, YILDIRIM A Ö, CALLEGARI J, et al. Activation of the WNT/β - catenin pathway attenuates experimental emphysema[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(6): 723 - 733.

[22] YUN X, JIANG H Y, LAI N, et al. Aquaporin 1 - mediated changes in pulmonary arterial smooth muscle cell migration and proliferation involve β - catenin[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2017, 313(5): L889 - L898.

[23] HUSSAIN M, XU C Y, LU M P, et al. Wnt/β - catenin signaling links embryonic lung development and asthmatic airway remodeling[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(12): 3226 - 3242.

[24] SHI J, MA C J, HAO X J, 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: 60 - 74.

[25] CHONG W, ZHANG H K, GUO Z F, et al. Aquaporin 1 promotes sensitivity of anthracycline chemotherapy in breast cancer by inhibiting β - catenin degradation to enhance TopoIIα activity[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(1): 382 - 400.

Mechanism of Platycodonis radix in Inhibiting Epithelial - Mesenchymal Transition in Mycoplasma Pneumoniae

HU Peng, MENG Yanli, TANG Jing, WANG Xiaoxi, WANG Xin, MA Hongfei, WANG Weiming
(*Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine*, *Harbin* 150036, *China*)

Abstract Objective: To investigate the therapeutic effect of Platycodonis radix on mycoplasma pneumoniae infection in Beas - 2B cells and mice. Methods: Beas - 2B cells were divided into groups, and a mycoplasma pneumonia model was established, with drug administration for 1 day. HE staining was used to observe the cell growth status in each group, and MTT and CCK - 8 assays were used to assess cell viability. Sixty BALB/c mice were randomly divided into six groups: blank group, model group, azithromycin group, high - dose, medium - dose, and low - dose Platycodonis radix groups, with 10 mice per group. A Mycoplasma pneumonia model was established in mice using the nasal drop method. Lung pathology was observed using HE staining, and the expression levels of AQP1, Wnt - 5α, and β - catenin were detected by immunohistochemistry and RT - PCR. Elisa was used to measure serum SOD, TNF - α, and IL - 6 levels. RT - PCR was used to detect the effect of AQP1 inhibitor on the mRNA expression of AQP1, Wnt - 5α, and β - catenin in Beas - 2B cells. Results: In the model group, Beas - 2B cells lost their original morphology and decreased in number. The protein and mRNA expression levels of AQP1 in mouse lung tissues were reduced ($P<0.05$, $P<0.01$), while the protein and mRNA levels of Wnt - 5α and β - catenin were increased ($P<0.05$, $P<0.01$). Serum SOD levels decreased, and serum TNF - α and IL - 6 levels increased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, Platycodonis radix significantly improved the growth state of Beas - 2B cells. The expression of AQP1 protein and mRNA in mouse lung tissues increased ($P<0.05$, $P<0.01$), while Wnt - 5α and β - catenin protein and mRNA levels decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Serum SOD levels increased, and TNF - α levels decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the blank group, AQP1 inhibitors suppressed AQP1 mRNA expression in Beas - 2B cells ($P<0.05$, $P<0.01$), leading to the upregulation of Wnt - 5α and β - catenin mRNA expression ($P<0.05$, $P<0.01$). Conclusion: Platycodonis radix inhibits epithelial - mesenchymal transition in lung tissues caused by Mycoplasma pneumoniae by regulating AQP1 expression through the Wnt/β - catenin signaling pathway, thus protecting lung tissues.

Key words Platycodonis radix; AQP1; Wnt/β - catenin signaling pathway; Mycoplasma pneumoniae pneumonia; Beas - 2B cells