

盐酸氨溴索对毛细支气管炎小鼠 IL-17/STAT3 通路及气道高反应的影响

赵彩霞¹, 叶延玲¹, 张慧玲¹, 陈团营²

1. 洛阳市妇幼保健院 儿科, 河南 洛阳 471000

2. 河南省中医院 儿科, 河南 郑州 450006

摘要: **目的** 探究盐酸氨溴索对毛细支气管炎小鼠气道高反应性及白细胞介素 17 (IL-17)/信号传导转录激活因子 3 (STAT3) 通路的影响。**方法** 采用随机数字表法将 72 只 Balb/c 小鼠随机分为对照组、模型组、布地奈德组 (20 mg/kg)、盐酸氨溴索高、中、低剂量 (60、30、15 mg/kg) 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余各组小鼠用呼吸道合胞病毒 (RSV) 混悬液滴鼻法复制毛细支气管炎小鼠模型。造模完成后, 给药组小鼠雾化吸入相应剂量的药物, 对照组和模型组小鼠雾化吸入生理盐水, 1 次/d, 连续 7 d。双腔体描记法检测小鼠清醒状态下的小鼠气道阻力 (sRaw); 检测血清中 IL-17、IL-6、IL-23 水平; 空斑法测定肺组织匀浆中病毒滴度; 苏木精-伊红染色 (HE) 观察肺组织病理变化; 蛋白免疫印迹法 (Western blotting) 检测肺组织中 IL-17、p-STAT3、STAT3 蛋白的表达。**结果** 与对照组相比, 模型组小鼠 sRaw, 血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平, 肺组织匀浆病毒滴度, IL-17、p-STAT3/STAT3 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), 肺部支气管及肺泡结构明显破坏, 大量炎性细胞浸润, 支气管气道变窄; 与模型组相比, 布地奈德组和盐酸氨溴索高、中剂量组小鼠 sRaw, 血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平, 肺组织匀浆病毒滴度, IL-17、p-STAT3/STAT3 蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$), 肺组织炎症明显减轻。**结论** 盐酸氨溴索可抑制炎性因子的表达, 减轻毛细支气管炎小鼠气道炎症反应和气道高反应性; 其作用机制可能与阻断 IL-17/STAT3 途径有关。

关键词: 盐酸氨溴索; 毛细支气管炎; 气道炎症反应; 气道高反应性; 白细胞介素 17/信号传导转录激活因子 3

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)06-1125-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.06.005

Effects of ambroxol hydrochloride on IL-17/STAT3 pathway and airway hyperresponsiveness in mice with bronchiolitis

ZHAO Cai-xia¹, YE Yan-ling¹, ZHANG Hui-ling¹, CHEN Tuan-ying²

1. Department of Pediatrics, Luoyang Maternal and Child Health Care Hospital, Luoyang 471000, China

2. Department of Pediatrics, Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450006, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of ambroxol hydrochloride on airway hyperresponsiveness and interleukin-17 (IL-17)/signal transduction activator of transcription 3 (STAT3) pathway in mice with bronchiolitis. **Methods** Seventy-two Balb/c mice were randomly divided into control group, model group, budesonide group (20 mg/kg), high, medium and low dose ambroxol hydrochloride groups (60, 30, 15 mg/kg) according to the random number table, with twelve mice in each group. Except for the control group. The mice in other groups were made into bronchiolitis model by nasal drip of respiratory syncytial virus (RSV) suspension. After modeling, mice in the drug groups were given the corresponding dose of drugs, while mice in the control group and model group were inhaled with normal saline, once a day, for 7 d. The airway resistance (sRaw) in conscious mice was measured by dual chamber plethysmography. The levels of serum IL-17, IL-6, and IL-23 were detected. The virus titer in lung homogenate were measured by plaque method. The pathological changes of lung tissue were observed by HE staining, the expression of IL-17, p-STAT3, and STAT3 in lung tissue were detected by Western blotting. **Results** Compared with those in the control group, sRaw, levels of serum IL-17, IL-6 and IL-23, virus titer in lung homogenate, protein expression of IL-17 and p-STAT3/STAT3 of mice in model group were significantly higher ($P < 0.05$), the structure of bronchus and alveoli of lung were destroyed, a large number of inflammatory cells infiltrated, and the bronchial airway became narrow. Compared with those in the model group, sRaw, the levels of serum IL-17, IL-6, and IL-23, virus titer

收稿日期: 2020-12-08

基金项目: 河南省中医药科学专项项目 (2019ZY2042)

作者简介: 赵彩霞 (1990—), 女, 副主任医师, 本科, 主要从事儿科呼吸方向临床研究。E-mail: lxf0705n@163.com

in lung homogenate, protein expression of IL-17 and p-STAT3/STAT3 of mice in budesonide group, high and medium dose ambroxol hydrochloride groups were significantly lower ($P < 0.05$), the inflammation of lung tissue was significantly reduced. **Conclusion** Ambroxol hydrochloride can inhibit the expression of inflammatory factors, reduce airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice with bronchiolitis, and its mechanism may be related to blocking IL-17/STAT3 pathway.

Key words: ambroxol hydrochloride; bronchiolitis; airway inflammation; airway hyperresponsiveness; interleukin-17/signal transduction activator of transcription 3

毛细支气管炎 (bronchiolitis) 是一种常见的婴幼儿感染性呼吸道疾病, 是儿童入院和死亡的主要原因^[1], 多由呼吸道合胞病毒 (RSV) 感染所致^[2]; 病变部位主要发生在肺部的毛细支气管, 临床表现为咳嗽、鼻炎, 随着疾病的恶化可出现喘憋、呼吸困难等症状^[3]。目前临床治疗主要为抗病毒、扩支气管、消除炎症等^[4], 而其治疗的关键是保持呼吸道通畅。盐酸氨溴索为临床常用的化痰药物^[5], 近年来被广泛应用于儿童支气管肺炎和毛细支气管炎的治疗, 效果显著, 可直接作用于支气管腺体, 降低痰液黏度, 促进痰液稀释、排出, 解除痰液阻塞, 保护肺功能^[6-7]; 同时可降低气道高反应性和炎症因子的释放, 减少炎性渗出^[8]。研究发现白细胞介素 17 (IL-17) 在毛细支气管炎重度患儿血清中的水平要明显高于轻、中度患儿, 其水平与毛细支气管炎的严重程度、病情进展呈正相关性^[9]。IL-17 是重要的促炎因子, 主要由 Th17 产生, 参与气道高反应性、气道炎症和黏液分泌^[10]。而盐酸氨溴索对毛细支气管炎的治疗作用是否与 IL-17 有关, 尚无文献报道, 故本研究探究盐酸氨溴索对毛细支气管炎小鼠 IL-17 及气道高反应性的影响, 为盐酸氨溴索临床更广泛的应用提供新的参考。

1 材料

1.1 实验动物

雄性健康 SPF 级 Balb/c 小鼠 72 只, 6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 购自济南朋悦动物繁育有限公司, 合格证号为 SCXK (鲁) 20140007。所有动物均严格按照动物饲养规则喂养, 温度为 (24±2) °C, 湿度为 50%~60%, 12 h 明暗交替, 自由饮水和摄食。动物实验方案已通过河南中医学院动物研究中心动物护理和使用委员会批准, 并遵循《实验动物的护理和使用指南》。

1.2 药品、试剂及仪器

盐酸氨溴索注射液 (Boehringer Ingelheim Espana, S.A., 上海勃林格殷格翰药业有限公司分装, 2 mL: 15 mg, 生产批号: 201806); RSV (山

东省病毒研究所); 布地奈德吸入气雾剂 (山东鲁南贝特制药有限公司, 0.1 mg/ 揆, 生产批号: 20170016); 人宫颈癌 (HeLa) 细胞 (ATCC, 上海雅吉生物科技有限公司); 欧姆龙超声雾化器 NB-150U [乐道克电子制造 (南通) 有限公司]; 双腔体积描记系统 (特殊气道阻力及肺顺应性无创测量法, 美国 Buxco Electronics); HE 染色试剂、RIPA 裂解液和 BCA 试剂盒 (碧云天生物科技公司, 批号分别为 C0105、P0013B、P0012S); 小鼠 IL-6 (MU30044)、IL-17 (MU30074)、IL-23 (MU30073) ELISA 试剂盒均购自武汉贝茵莱生物科技有限公司; 兔抗 IL-17 (ab79056)、信号传导转录激活因子 3 (STAT3, ab68153)、p-STAT3 (ab76315)、 β -actin (ab8227)、山羊抗兔 IgG H&L (HRP, ab205718) 均购自英国 Abcam 公司; 多功能酶标仪 (iMark680, Bio-Rad 公司); 荧光显微镜 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 RSV 混悬液的制备

HeLa 细胞复苏后, 吸取 50 μ L RSV 接种于 HeLa 细胞, 当合胞病变融合达到 70%~80% 时, 收集病毒感染细胞, -80 °C 和 37 °C 反复冻融 3 次, 4 °C、10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 空斑法测定病毒滴度, 并调整病毒滴度为 1×10^6 PFU/mL, -80 °C 冰箱保存备用。

2.2 动物分组及模型制备

采用随机数字表法将 72 只小鼠随机分为对照组、模型组、布地奈德组 (20 mg/kg)、盐酸氨溴索高、中、低剂量 (60、30、15 mg/kg) 组^[11], 每组 12 只。除对照组外, 其余各组小鼠参照文献方法^[12]用 RSV 混悬液滴鼻法复制毛细支气管炎小鼠模型, 在小鼠两侧鼻内滴入 RSV 混悬液 100 μ L, 对照组采用等量 HeLa 细胞培养液上清液滴鼻, 1 次/d, 连滴 2 d, 第 3 天观察到造模各组小鼠出现咳喘、口唇和四肢末梢发绀, 呼吸急促, 活动减少等现象, 说明小鼠模型制备成功。

2.3 给药

造模完成后,将给药组小鼠放入超声雾化器内,布地奈德组经雾化吸入 20 mg/kg 布地奈德溶液,盐酸氨溴索高、中、低剂量组分别雾化吸入相应剂量的药物,对照组和模型组给予等量生理盐水,1次/d,连续7d。

2.4 取材和指标检测

2.4.1 双腔体描记法检测小鼠气道阻力 (sRaw)
双腔体描记法检测小鼠清醒状态下的 sRaw,代表气道高反应性,根据鼻腔气流与胸腔气流的相位差计算 sRaw 值。每只小鼠雾化吸入生理盐水和浓度递增的乙酰甲胆碱 (3.125、6.25、12.5、25、50 mg/mL) 1 min, LabChart Pro 8.0 监测记录 sRaw 5 min, 取平均值为该浓度的 sRaw。

2.4.2 ELISA 检测血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平
气道阻力检测完成后,各组小鼠取血,1 000 r/min 离心 5 min,分离血清,ELISA 检测血清中 IL-17、IL-6、IL-23 水平。

2.4.3 肺组织病毒滴度测定 取血后,处死小鼠,打开胸腔,取出小鼠肺组织,于冰上用无菌手术刀片切分为3部分,一部分置于冻存管中,-80℃保存;一部分用4%多聚甲醛固定;另一部分加入预冷的生理盐水研磨后,离心,取上清液,用病毒维持液将肺组织匀浆上清液稀释成不同浓度梯度,加入到含 HeLa 细胞的 96 孔板中,显微镜下观察细胞情况,计算第7天时肺组织匀浆的病毒滴度。

2.4.4 HE 染色观察肺组织病理变化 取用4%多聚甲醛固定的肺组织,乙醇梯度脱水,石蜡包埋,连续切3 μm 薄片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇脱苯1 min,蒸馏水冲洗。常规 HE 染色,光镜下观察肺组织形态变化。

2.4.5 Western blotting 检测肺组织中相关蛋白的表

达 取-80℃冰箱保存的肺组织,加入 RIPA 裂解液研磨后,置于冰上,静置后离心,提取上清液为总蛋白溶液。用 BCA 法测量蛋白浓度后取等量蛋白质样品 (30 μg/孔), SDS-PAGE 凝胶电泳,湿转法转膜,5%脱脂奶粉封闭,加入相应一抗 (IL-17、p-STAT3、STAT3 按照 1:1 000 比例进行稀释、β-actin 按 1:5 000 比例进行稀释) 于 4℃下孵育过夜,HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, ECL 显色,以 β-actin 为内参,通过与内参的灰度比,得出目的条带的相对表达水平。

2.5 统计学分析

数据均采用 SPSS 22.0 软件进行统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),组间有差异进一步采用 SNK-*q* 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 盐酸氨溴索对小鼠 sRaw 的影响

与对照组相比,模型组小鼠 sRaw 显著升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,布地奈德组和盐酸氨溴索高、中、低剂量组小鼠 sRaw 明显降低 ($P < 0.05$);与布地奈德组相比,盐酸氨溴索高剂量组小鼠 sRaw 差异无统计学意义;见表1。

3.2 盐酸氨溴索对小鼠血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平显著升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,布地奈德组和盐酸氨溴索高、中、低剂量组小鼠血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平明显降低 ($P < 0.05$);与布地奈德组相比,盐酸氨溴索高剂量组血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平差异无统计学意义;见表2。

表1 盐酸氨溴索对小鼠 sRaw 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of ambroxol hydrochloride on sRaw in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	sRaw/(s·cmH ₂ O)					
		生理盐水	乙酰甲胆碱				
			3.125 mg·mL ⁻¹	6.25 mg·mL ⁻¹	12.5 mg·mL ⁻¹	25 mg·mL ⁻¹	50 mg·mL ⁻¹
对照	—	0.86±0.10	1.25±0.13	1.54±0.17	2.08±0.25	2.67±0.29	3.51±0.42
模型	—	1.47±0.16*	1.88±0.19*	2.89±0.31*	3.75±0.40*	4.62±0.48*	6.13±0.57*
布地奈德	20	1.31±0.14*	1.46±0.15*#	1.87±0.22*#	2.45±0.26*#	3.05±0.32*#	3.87±0.46*#
盐酸氨溴索	60	1.29±0.13*	1.49±0.17*#	1.92±0.24*#	2.51±0.27*#	2.97±0.33*#	3.94±0.45*#
	30	1.38±0.16*	1.57±0.16*#▲	2.34±0.29*#▲	2.89±0.32*#▲	3.77±0.39*#▲	4.55±0.50*#▲
	15	1.42±0.15*	1.59±0.18*#▲	2.57±0.28*#▲	3.27±0.38*#▲	4.23±0.45*#▲	5.87±0.53*#▲

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与布地奈德组比较: ▲ $P < 0.05$; 1 cmH₂O=0.098 kPa

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs budesonide group; 1 cmH₂O = 0.098 kPa

表 2 盐酸氨溴索对小鼠血清 IL-17、IL-6、IL-23 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of ambroxol hydrochloride on serum IL-17, IL-6, and IL-23 levels in plasma of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-17/(pg·mL ⁻¹)	IL-23/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	42.25 ± 7.21	48.55 ± 7.33	56.21 ± 9.15
模型	—	95.14 ± 8.32*	115.63 ± 13.26*	138.25 ± 12.08*
布地奈德	20	55.21 ± 6.14*#	72.06 ± 8.18*#	71.38 ± 9.23*#
盐酸氨溴索	60	57.77 ± 7.35*#	75.15 ± 9.74*#	75.49 ± 8.67*#
	30	83.32 ± 8.37*#▲	86.88 ± 8.58*#▲	93.03 ± 10.91*#▲
	15	88.43 ± 9.14*#▲	97.74 ± 10.72*#▲	115.14 ± 11.88*#▲

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: #P<0.05; 与布地奈德组比较: ▲P<0.05

*P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs model group; ▲P<0.05 vs budesonide group

3.3 盐酸氨溴索对小鼠肺组织匀浆病毒滴度的影响

与对照组相比, 模型组小鼠肺组织匀浆病毒滴度显著升高 (P<0.05); 与模型组相比, 布地奈德组和盐酸氨溴索高、中、低剂量组小鼠肺组织匀浆病毒滴度明显降低 (P<0.05); 与布地奈德组相比, 盐酸氨溴索高剂量组肺组织匀浆病毒滴度差异无统计学意义; 见表 3。

3.4 盐酸氨溴索对小鼠肺组织病理变化的影响

HE 染色结果显示, 对照组小鼠肺组织肺泡结构完整, 未见炎性细胞浸润; 与对照组相比, 模型组小鼠肺部支气管及肺泡结构明显破坏, 大量炎性细胞浸润, 黏膜增厚, 黏膜下充血、水肿; 与模型组相比, 布地奈德组和盐酸氨溴索高、中剂量组小鼠肺组织炎症明显减轻, 炎性细胞减少, 气管黏膜增厚、黏膜下充血、水肿情况明显减轻; 见图 1。

表 3 盐酸氨溴索对小鼠肺组织匀浆病毒滴度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of ambroxol hydrochloride on virus titer in lung homogenate of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	病毒滴度/(×10 ⁵ PFU·g ⁻¹)
对照	—	—
模型	—	4.14 ± 0.28*
布地奈德	20	2.89 ± 0.23*#
盐酸氨溴索	60	3.07 ± 0.25*#
	30	3.31 ± 0.38*#▲
	15	3.64 ± 0.34*#▲

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: #P<0.05; 与布地奈德组比较: ▲P<0.05

*P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs model group; ▲P<0.05 vs budesonide group

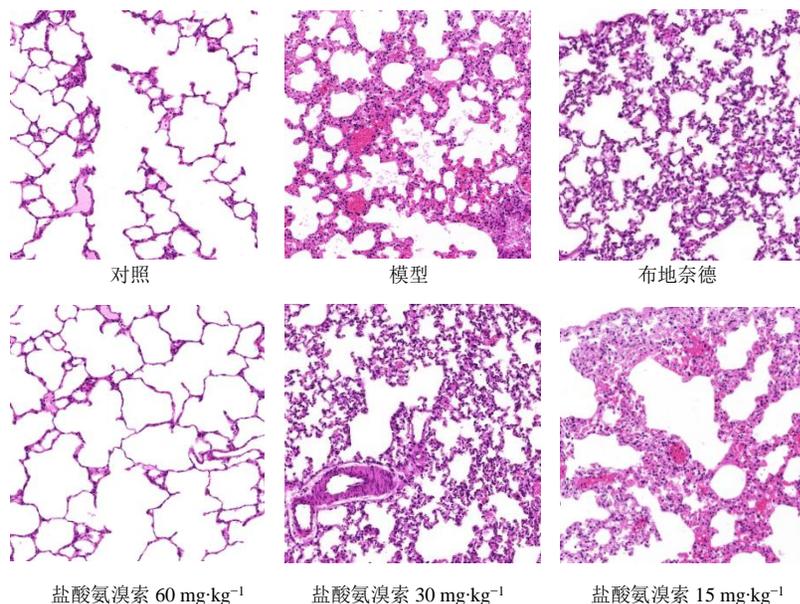


图 1 盐酸氨溴索对小鼠肺组织病理变化的影响 (×100, HE)

Fig. 1 Effect of ambroxol hydrochloride on pathological changes of lung tissue in mice (×100, HE)

3.5 盐酸氨溴索对小鼠肺组织中 IL-17、p-STAT3、STAT3 蛋白表达的影响

Western blotting 结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠肺组织中 IL-17、p-STAT3/STAT3 表达显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 布地奈德组和

盐酸氨溴索高、中剂量组小鼠肺组织中 IL-17、p-STAT3/STAT3 表达明显降低 ($P < 0.05$); 与布地奈德组相比, 盐酸氨溴索高剂量组肺组织中 IL-17、p-STAT3/STAT3 蛋白表达差异无统计学意义; 结果见图 2、表 4。

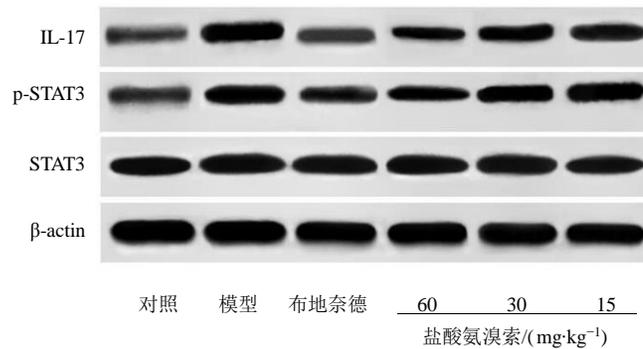


图 2 盐酸氨溴索对小鼠肺组织中 IL-17、p-STAT3、STAT3 蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of ambroxol hydrochloride on expression of IL-17, p-STAT3, and STAT3 protein in lung tissue of mice

表 4 盐酸氨溴索对小鼠肺组织中 IL-17、p-STAT3、STAT3 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of ambroxol hydrochloride on the expression of IL-17, p-STAT3, and STAT3 protein in mouse lung tissue ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-17	p-STAT3/STAT3
对照	—	0.38 ± 0.04	0.45 ± 0.07
模型	—	0.89 ± 0.07*	0.93 ± 0.12*
布地奈德	20	0.54 ± 0.06*#	0.68 ± 0.08*#
	60	0.57 ± 0.05*#	0.72 ± 0.07*#
盐酸氨溴索	30	0.69 ± 0.05*#▲	0.82 ± 0.10*#▲
	15	0.84 ± 0.07*▲	0.89 ± 0.11*▲

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与布地奈德组比较: ▲ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs budesonide group

4 讨论

RSV 是引起全球范围内婴幼儿下呼吸道感染住院最常见病毒病原。研究显示 RSV 感染后, 病毒 RNA 能够持续存在于机体内, 引起长期慢性气道炎症和气道高反应性 (AHR), 后期表现为反复喘息、哮喘甚至引起慢性阻塞性肺疾病 (COPD) [13-14], 若处理不当将严重影响患儿身心健康, 增加家庭负担。

盐酸氨溴索为临床常用的化痰药物, 近年来被广泛应用于毛细支气管炎的治疗, 与布地奈德合用疗效确切, 能有效缩短患儿的住院时间、改善患儿的肺功能 [15]; 而且可降低炎症因子水平、减少氧自由基生成, 抑制肺组织的细胞凋亡, 减轻肺损伤及肺纤维化 [16-17]。本研究通过 RSV 滴鼻构建小鼠毛细

支气管炎模型, 结果发现模型小鼠 sRaw、IL-17、IL-6、IL-23 水平显著升高, 肺部支气管及肺泡结构明显破坏, 大量炎性细胞浸润, 支气管气道直径变窄; 且肺组织匀浆病毒滴度显著高于正常小鼠, 说明 RSV 感染诱导小鼠出现严重的急性气道炎症和气道高反应性。朱其国等 [9] 发现毛细支气管炎患儿血清中 IL-17 存在高表达, 与本研究结果一致。而给予盐酸氨溴索干预后, 小鼠 sRaw、IL-17、IL-6、IL-23 水平明显降低, 肺组织炎症明显减轻, 气管黏膜增厚、黏膜下充血、水肿情况明显减轻, 且肺组织匀浆病毒滴度显著降低, 提示盐酸氨溴索可减轻毛细支气管炎大鼠气道炎症反应和和气道高反应性; 但其作用机制尚不明确。

近年来许多学者发现 Th17 和 IL-17 与 RSV 感染的严重程度密切相关, 而且发现毛细支气管炎患儿外周血 Th17 细胞和 IL-17 水平均呈高表达^[9,18]; IL-17 是一种主要由 Th17 产生的促炎因子, 也是炎症反应的早期启动子, 其可通过诱导趋化因子和促进炎症因子的释放扩大炎症反应, 可能在气道炎症、气道高反应、呼吸道重塑、黏液分泌及病原清除等多方面参与 RSV 毛细支气管炎的发生和发展。本研究同样发现 RSV 感染诱导小鼠血清 IL-17 和肺组织 IL-17 蛋白表达显著高于正常小鼠, 而且血清 IL-6、IL-23 水平和 p-STAT3/STAT3 蛋白表达也显著升高; 提示毛细支气管炎小鼠中 STAT3 通路被激活。STAT3 是一种信号传导与转录激活因子, 可以在许多信号传递过程中被激活发挥作用, IL-17 可促进 STAT3 的磷酸化, 对于肺组织中持续的炎症至关重要^[19]。阻断 IL-17/STAT3 途径可调节炎症因子的表达, 有效抑制气道炎症^[20]。Ma 等^[21-22]发现在 IL-17 敲除小鼠中, p-STAT3、IL-6 表达水平均降低, 降低 IL-17 的水平可抑制 STAT3 的激活。而盐酸氨溴索可维持肺纤维化大鼠肺组织 Th17/Treg 平衡, 减轻支气管气道炎症反应^[23]; 本研究发现给予盐酸氨溴索后小鼠肺组织中 IL-17、p-STAT3/STAT3 蛋白表达明显降低, 提示盐酸氨溴索可能通过阻断 IL-17/STAT3 途径, 抑制炎症因子的表达。

本研究表明, 盐酸氨溴索可抑制炎症因子的表达, 减轻毛细支气管炎小鼠气道炎症反应和气道高反应性; 其作用机制可能与阻断 IL-17/STAT3 途径有关。本研究主要从动物水平进行了初步研究, 下一步将从体外细胞水平进一步深入探究盐酸氨溴索对毛细支气管炎及 IL-17/STAT3 信号通路的影响。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Mersine A B, Amy T, Zhou C, *et al.* Associations between quality measures and outcomes for children hospitalized with bronchiolitis [J]. *Hosp Pediatr*, 2020, 10(11): 932-940.
- [2] Regina G C, Bibiane R P B, Priscilla H C A F, *et al.* High-flow nasal cannula versus continuous positive airway pressure in critical bronchiolitis: A randomized controlled pilot [J]. *J Pediatr Intens Care*, 2020, 9(4): 248-255.
- [3] Emilya E, Tuğçe T, Tuğba E, *et al.* The incidence and clinical effects of Bordetella pertussis in children hospitalized with acute bronchiolitis [J]. *Turk J Pediatr*, 2020, 62(5): 726-733.
- [4] Omendra N, Anthony B, Katie M, *et al.* Updated cost-effectiveness analysis of palivizumab (Synagis) for the prophylaxis of respiratory syncytial virus in infant populations in the UK [J]. *J Med Econ*, 2020, 27: 1-13.
- [5] Adenike O, Michael A O, Matthew I A. Microsphere formulations of ambroxol hydrochloride: influence of Okra (*Abelmoschus esculentus*) mucilage as a sustained release polymer [J]. *Prog Biomater*, 2020, 9(1/2): 65-80.
- [6] Liu H B, Wang W X, Gao X J. Comparison of the efficacy of ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine in the treatment of children with bronchopneumonia and their influence on prognosis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(6): 130.
- [7] 郝娟, 陈旭婷, 杨慧, 等. 盐酸氨溴索治疗新生儿肺炎的临床价值研究及对预后影响 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(5): 952-955.
- [8] Li L, Xu L H, Wu X P, *et al.* Effect of Daiqin phlegm-expelling pill on development of inflammation in rats with chronic obstructive pulmonary disease induced by lipopolysaccharide and smoke [J]. *J Tradit Chin Med*, 2019, 39(1): 59-64.
- [9] 朱其国, 袁林, 林建成, 等. 毛细支气管炎患儿血 IL-4、IL-10、IL-17 的变化及意义 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2020, 31(5): 649-652.
- [10] Zeng Z Y, Wang L, Ma W H, *et al.* Inhibiting the Notch signaling pathway suppresses Th17-associated airway hyperresponsiveness in obese asthmatic mice [J]. *Lab Invest*, 2019, 99(12): 1784-1794.
- [11] 黄泰博, 王学林, 张群成, 等. 盐酸氨溴索对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺纤维化的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(1): 26-28.
- [12] 史洋洋, 秦英飞, 吴福玲, 等. 胎盘间充质干细胞预处理预防小鼠毛细支气管炎 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(7): 991-995.
- [13] Carlotta B, Alessandro R, Giulia P, *et al.* Rhinovirus infection in children with acute bronchiolitis and its impact on recurrent wheezing and asthma development [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(10): 1620.
- [14] Pio L, Gianfranco M. Nasal high frequency oscillatory ventilation for respiratory failure due to respiratory syncytial virus bronchiolitis: Case report [J]. *AJP Rep*, 2020, 10(3): 253-254.
- [15] 陆冬慧, 严成明. 布地奈德联合盐酸氨溴索雾化吸入对毛细支气管炎患儿住院时长及肺功能的影响 [J]. *当代临床医刊*, 2019, 32(6): 527-528.
- [16] 黄泰博, 王学林, 张群成, 等. 盐酸氨溴索对急性呼吸

- 窘迫综合征大鼠肺纤维化的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(1): 26-28.
- [17] Shota Y, Masanao Y, Keiko Y, *et al.* Effects of the expectorant drug ambroxol hydrochloride on chemically induced lung inflammatory and neoplastic lesions in rodents [J]. *J Toxicol Pathol*, 2018, 31(4): 255-265.
- [18] 张 茜, 谢 丽. 白细胞介素-17、中性粒细胞在呼吸道合胞病毒毛细支气管炎发病中的作用 [J]. 广东医学, 2019, 40(20): 2876-2879.
- [19] Li L, Wu Z H, Wu M, *et al.* IBI112, a selective anti-IL23p19 monoclonal antibody, displays high efficacy in IL-23-induced psoriasiform dermatitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 89(Pt B): 107008.
- [20] Kim S H, Hong J H, Yang W K, *et al.* Herbal combinational medication of *Glycyrrhiza glabra*, *Agastache rugosa* containing glycyrrhizic acid, tilianin inhibits neutrophilic lung inflammation by affecting CXCL2, interleukin-17/STAT3 signal pathways in a murine model of COPD [J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 926.
- [21] Ma M, Huang W, Kong D H. IL-17 inhibits the accumulation of myeloid-derived suppressor cells in breast cancer via activating STAT3 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 59: 148-156.
- [22] Hu Z Q, Luo D, Wang D D, *et al.* IL-17 activates the IL-6/STAT3 signal pathway in the proliferation of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2379-2390.
- [23] 马远东, 黄祖伟, 安 培, 等. 盐酸氨溴索治疗大鼠肺纤维化的作用研究及其对 TGF- β /Smad/ERK 信号转导通路和 Th17/Treg 细胞失衡的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(11): 1201-1208.

[责任编辑 刘东博]