

## 红景天苷对支气管肺炎大鼠 Nrf2/Keap1 通路及气道炎症的影响

王莹, 李宏, 谢意

天津医科大学第二医院 药学部, 天津 300211

**摘要:** **目的** 通过构建支气管肺炎 SD 大鼠实验模型, 探究红景天苷对支气管肺炎大鼠核因子红细胞相关因子 2 (Nrf2) / Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 (Keap1) 通路及气道炎症的影响。 **方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组及红景天苷低、高剂量 (30、60 mg/kg) 组和鸦胆子苦醇组, 红景天苷+鸦胆子苦醇组, 每组 10 只。红景天苷组大鼠分别 ip 30、60 mg/kg 红景天苷, 鸦胆子苦醇组大鼠 ip 100 mg/mL 鸦胆子苦醇, 红景天苷+鸦胆子苦醇组 ip 60 mg/kg 红景天苷和 100 mg/mL 鸦胆子苦醇。对照组使用同等剂量生理盐水。取各组大鼠肺泡灌洗液, 对灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量进行分类和计数, ELISA 法检测肺泡灌洗液中白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-13 (IL-13)、白细胞介素-18 (IL-18) 水平。苏木精-伊红 (HE) 染色法观测各组大鼠肺组织形态, Western blotting 法检测大鼠肺组织 IL-1 $\beta$ 、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 及 Nrf2/Keap1 信号通道相关蛋白表达水平。 **结果** 与模型组相比, 红景天苷 30、60 mg/kg 组大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量, IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 水平及肺组织 IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达、炎症评分显著降低, 肺组织 Nrf2 蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与红景天苷 60 mg/kg 组相比, 红景天苷+鸦胆子苦醇组大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量, 肺泡灌洗液 IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 水平, 肺组织 IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达水平, 炎症评分显著升高, 肺组织 Nrf2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。 **结论** 红景天苷可能通过激活 Nrf2/Keap1 信号通道缓解支气管肺炎炎症。

**关键词:** 红景天苷; 支气管肺炎; 气道炎症; 核因子红细胞相关因子 2; Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白; 白细胞介素 1 $\beta$ ; 诱导型一氧化氮合酶

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2022)10-2184-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.10.003

## Effects of salidroside on Nrf2/Keap1 pathway and airway inflammation in rats with bronchopneumonia

WANG Ying, LI Hong, XIE Yi

Department of Pharmacy, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

**Abstract: Objective** To explore the effects of salidroside on Nrf2/Keap1 pathway and airway inflammation in rats with bronchopneumonia by constructing an experimental model of SD rats. **Methods** SD rats were randomly divided into control group, model group, salidroside low and high dose (30 and 60 mg/kg) groups, Brusatol group, salidroside + Brusatol group, with 10 rats in each group. Salidroside group rats ip 30 and 60 mg/kg salidroside, Brusatol group rats ip 100 mg/mL Brusatol, salidroside + Brusatol group ip 60 mg/kg salidroside and 100 mg/mL Brusatol, respectively. The control group received the same dose of normal saline. The numbers of eosinophils, neutrophils, and lymphocytes in the lavage fluid were classified and counted. The levels of IL-1 $\beta$ , IL-13, and IL-18 in the lavage fluid were detected by ELISA. The morphology of lung tissue was observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. The expression levels of IL-1 $\beta$ , iNOS, and Nrf2/Keap1 signaling channel related proteins in lung tissue were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the numbers of eosinophils, neutrophils, and lymphocytes in the alveolar lavage fluid, the levels of IL-1 $\beta$ , IL-13 and IL-18, the protein expressions of IL-1 $\beta$ , iNOS and Keap1 in lung tissue, and the inflammation score of the salidroside 30 and 60 mg/kg groups were significantly decreased, the protein expression level of Nrf2 was significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with salidroside 60 mg/kg group, the number of eosinophils, neutrophils, and lymphocytes in alveolar lavage fluid, the levels of IL-1 $\beta$ , IL-13 and IL-18 in alveolar lavage fluid, the protein expression levels of IL-1 $\beta$ , iNOS and Keap1 in lung tissue, and inflammation score of rats in salidroside + Brusatol group were significantly increased, the protein expression

收稿日期: 2022-04-25

基金项目: 天津医科大学 2019 年度医院管理创新研究项目 (2019YG07)

作者简介: 王莹, 主管药师。E-mail: wy110518@163.com

level of Nrf2 was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Salidroside may alleviate the inflammation of bronchopneumonia by activating the Nrf2/Keap1 signal pathway.

**Key words:** salidroside; bronchopneumonia; airway inflammation; Nrf2; Keap1; IL-1 $\beta$ ; iNOS

幼儿支气管肺炎是由于幼儿身体发育未完全, 气管保护性黏膜柔嫩, 抵抗力弱, 再加上恶化的空气及细菌感染引发幼儿肺部炎症<sup>[1-2]</sup>, 并随着季节更替具有复发性<sup>[3]</sup>, 且幼儿支气管肺炎发病率呈直线上升态势<sup>[4-5]</sup>, 虽然对幼儿支气管肺炎的发病机制在不断研究<sup>[6]</sup>, 但有效治疗幼儿支气管肺炎的药物还需要继续寻找。红景天苷是中药红景天中提取的萜元类物质中有效成分, 具有抗缺氧<sup>[7]</sup>、防治炎症<sup>[8]</sup>等作用, 通过抑制转化生长因子- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)/核转录调节因子  $\kappa$ B P65 亚基 (NF- $\kappa$ B P65)/肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 信号通路激活, 下调白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、诱导型一氧化氮合成酶 (iNOS) 等炎症因子的表达, 对缺氧造成的心脏损伤具有保护作用<sup>[9-10]</sup>。红景天苷通过 NF- $\kappa$ B/B 细胞淋巴瘤白血病-2 因子 (Bcl-2) 信号通路抑制肺泡毛细血管内皮凋亡, 达到治疗气道炎症的作用<sup>[11]</sup>。核因子红细胞相关因子 2 (Nrf2)/Kelch 样环氧丙烷相关蛋白 (Keap1) 信号通路是一种细胞内防御机制, 可以参与氧化/还原应激与炎症反应, 此通路被激活后, Nrf2 过表达, Keap1 低表达可以改善支气管肺炎症状<sup>[12]</sup>。因此本研究探讨了红景天苷对支气管肺炎大鼠 Nrf2/Keap1 通路及气道炎症的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SD 雄性大鼠, 3 周龄, 体质量 52~60 g, 购于南京医科大学[许可证号 SCXK (苏) 2021-0001], 所有实验操作均按照《美国国立卫生研究院动物护理与使用指南》进行。本研究经伦理委员会批准(批准文号 2021002)。

### 1.2 试剂与仪器

红景天苷(质量分数 $\geq 98\%$ , 货号 B20504) 购于上海源叶生物科技有限公司; 脂多糖、甲苯噻嗪(货号 L8880、SX8170) 购于北京索莱宝科技有限公司; 鸦胆子苦醇(Nrf2 抑制剂)(货号 14907-98-3) 购于上海蓝木化工有限公司; 大肠杆菌(ATCC25922) 购于美国模式培养物集存库; PIRA(货号 SY4680) 购于北京伊塔生物科技有限公司; PMSF 裂解液(货号 AP0100) 购于上海吉至生化科技有限公司; IL-1 $\beta$ 、白细胞介素-13 (IL-13)、白细

胞介素-18 (IL-18) ELISA 检测试剂盒(货号 BMS630、ERIL13、KRC2341) 购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司; IL-1 $\beta$ 、iNOS、Nrf2、Keap1 兔源抗体、 $\beta$ -actin、山羊抗兔 IgG (货号 12242S、13120S、12721S、8047S、4970T、2985S) 购于美国 CST 公司。

DRP-9052 细胞培养箱购于上海森信实验仪器有限公司; HE-120 凝胶成像系统购于上海生工生物有限公司; JC-1086A 酶标分析仪购于青岛聚创环保集团有限公司。

### 1.3 动物模型的构建与分组

将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组及红景天苷低、高(30、60 mg/kg) 剂量组和鸦胆子苦醇组、红景天苷+鸦胆子苦醇组, 每组 10 只。除对照组外, 其他组大鼠使用 10 mg/kg 的甲苯噻嗪和 100 mg/kg 的氯胺酮进行麻醉, 鼻内注入 100 mg/mL 浓度的大肠杆菌的脂多糖 1 mL/g。此操作 24 h 后, 观察大鼠是否出现气喘、咳嗽、活动减少、毛发枯槁症状, 若出现表明支气管肺炎模型造模成功<sup>[13]</sup>。红景天苷组大鼠分别 ip 30、60 mg/kg 红景天苷<sup>[14]</sup>, 鸦胆子苦醇组大鼠 ip 100 mg/mL 鸦胆子苦醇<sup>[15]</sup>, 红景天苷+鸦胆子苦醇组 ip 60 mg/kg 红景天苷和 100 mg/mL 鸦胆子苦醇。对照组使用同等剂量生理盐水。

### 1.4 各组大鼠肺泡灌洗液收集和细胞计数

取各组大鼠, 利用 1 mL 冷 PBS 液进行右侧肺泡灌洗, 收集肺泡灌洗液进行离心, 4  $^{\circ}$ C, 15 000 r/min 离心 5 min, 上清液至于-80  $^{\circ}$ C 保存。对沉积物进行 Diff-quick 染色, 用血细胞计数板对嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量进行分类和计数, 并每组进行 3 处随机位置进行细胞分类与计数, 保证每个视野细胞总数不少于 200 个。

### 1.5 各组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 检测

取 1.4 项下大鼠肺泡灌洗液的上清液, 完全依照 ELISA 检测试剂盒说明书进行实验操作, 检测各组 100  $\mu$ L 大鼠肺泡灌洗液上清液中 IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 水平。

### 1.6 各组大鼠肺组织形态及炎症评分

取各组麻醉后大鼠的左侧肺组织, 使用甲醛进

行固定，经过酒精脱水、浸蜡和包埋等过程，将 5 μm 的石蜡切片进行苏木精-伊红(HE)染色，显微镜下观察各组大鼠肺组织形态及气道炎症。炎症评分：无炎症细胞评分为 0，偶见炎症细胞评分为 1，多数血管表层和支气管见 1~2 个炎症细胞评分为 2，中层见 3~5 个炎症细胞评分为 3，厚层见大于 5 个炎症细胞评分为 4<sup>[4]</sup>。

### 1.7 各组大鼠肺组织中 IL-1β、iNOS 及 Nrf2/Keap1 信号通道相关蛋白表达水平

取各组麻醉后大鼠的左侧肺组织，将大鼠左肺冰上取出，取适量研磨后加入裂解液进行裂解获取总蛋白，BCA 试剂盒方法检测总蛋白浓度，将总蛋白进行 12%SDS-PAGE 胶上进行电泳分离，电压设置为 90 V，再将分离的蛋白进行转膜，电流设置为 250 mA，转膜 90 min，脱脂奶粉封闭 1 h 后加入 IL-1β、iNOS 及 Nrf2、Keap1、β-actin 一抗，4 °C 的条件下过夜，加入山羊抗兔 IgG 常温孵育 1 h，进行显影并检测灰度值，计算相关蛋白表达水平。

### 1.8 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析。结果数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示，使用单因素方差法进行多组间均数比较，两组间比较采用 SNK-*q* 法进行检验。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠肺泡灌洗液中细胞计数

与对照组相比，模型组大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数量均显著增加 ( $P < 0.05$ )；与模型组相比，红景天苷 30、60 mg/kg 组大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的数目均显著降低 ( $P < 0.05$ )，而鸦胆子苦醇组大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的数目均显著升高 ( $P < 0.05$ )；与红景天苷 60 mg/kg 组相比，红景天苷+鸦胆子苦醇组大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量显著增加 ( $P < 0.05$ )，见表 1。

### 2.2 各组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1β、IL-13、IL-18 水平

与对照组相比，模型组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1β、IL-13、IL-18 水平显著增加 ( $P < 0.05$ )；与模型组相比，红景天苷 30、60 mg/kg 组肺泡灌洗液中 IL-1β、IL-13、IL-18 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )，而鸦胆子苦醇组肺泡灌洗液中 IL-1β、IL-13、IL-18 水平显著增加 ( $P < 0.05$ )；与红景天苷 60 mg/kg 组相比，红景天苷+鸦胆子苦醇组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1β、IL-13、IL-18 水平显著增加 ( $P < 0.05$ )，见表 2。

表 1 嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量统计 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Statistics of eosinophils, neutrophils and lymphocytes ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量	嗜酸性粒细胞( $\times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ )	中性粒细胞( $\times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ )	淋巴细胞( $\times 10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ )
对照	—	1.76 ± 0.24	3.56 ± 2.14	2.35 ± 1.17
模型	—	30.49 ± 5.66*	20.46 ± 1.58*	23.74 ± 2.13*
红景天苷	30 mg·kg <sup>-1</sup>	12.54 ± 3.81#	11.46 ± 1.17#	12.48 ± 1.44#
	60 mg·kg <sup>-1</sup>	6.13 ± 0.78#	5.89 ± 1.03#	8.54 ± 1.11#
鸦胆子苦醇	100 mg·mL <sup>-1</sup>	36.21 ± 6.01#	25.91 ± 1.11#	28.62 ± 1.01#
红景天苷+鸦胆子苦醇	60 mg·kg <sup>-1</sup> +100 mg·mL <sup>-1</sup>	16.14 ± 6.49 <sup>▲</sup>	12.45 ± 2.46 <sup>▲</sup>	13.58 ± 1.42 <sup>▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ; 与红景天苷 60 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs salidroside 60 mg·kg<sup>-1</sup> group

表 2 各组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1β、IL-13、IL-18 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Contents of IL-1β, IL-13 and IL-18 in alveolar lavage fluid of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量	IL-1β/(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-13/(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-18/(pg·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	36.25 ± 2.17	87.62 ± 5.36	111.25 ± 8.12
模型	—	74.96 ± 3.23*	305.43 ± 15.68*	211.93 ± 11.12*
红景天苷	30 mg·kg <sup>-1</sup>	59.46 ± 2.17#	212.48 ± 9.84#	178.13 ± 9.01#
	60 mg·kg <sup>-1</sup>	40.62 ± 1.21#	114.57 ± 5.17#	130.31 ± 7.11#
鸦胆子苦醇	100 mg·mL <sup>-1</sup>	80.12 ± 3.51#	335.51 ± 15.79#	235.87 ± 12.11#
红景天苷+鸦胆子苦醇	60 mg·kg <sup>-1</sup> +100 mg·mL <sup>-1</sup>	62.84 ± 3.11 <sup>▲</sup>	247.94 ± 12.11 <sup>▲</sup>	191.51 ± 10.12 <sup>▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ; 与红景天苷 60 mg·kg<sup>-1</sup> 组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs salidroside 60 mg·kg<sup>-1</sup> group

### 2.3 各组大鼠肺组织病理形态表现

与对照组相比,模型组大鼠气道平滑肌显著增厚,血管周围和支气管周围大量炎症细胞浸润;与模型组相比,红景天苷 30、60 mg/kg 组大鼠肺部组织与气道炎症细胞浸润显著减少,鸦胆子苦醇组大鼠肺部组织与气道炎症细胞浸润显著增加;与红景天苷 60 mg/kg 组相比,红景天苷+鸦胆子苦醇组大鼠肺部组织与气道炎症细胞浸润显著增加。炎症评分结果发现:与对照组相比,模型组大鼠肺组织炎症评分明显增高 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,红景天苷 30、60 mg/kg 组大鼠肺组织炎症评分显著降低 ( $P < 0.05$ ),而鸦胆子苦醇组大鼠肺组织炎症评分显著升高 ( $P < 0.05$ );与红景天苷 60 mg/kg 组相比,红景天苷+鸦胆子苦醇组大鼠肺组织炎症评分显著升高 ( $P < 0.05$ ),见图 1、表 3。

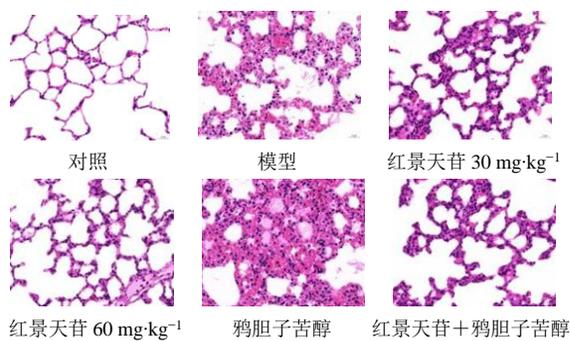


图 1 各组大鼠肺组织形态 ( $\times 200$ )

Fig. 1 Lung morphology of rats in each group ( $\times 200$ )

表 4 IL-1 $\beta$ 、iNOS 及 Nrf2/Keap1 信号通道相关蛋白表达情况 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Expression of IL-1 $\beta$ , iNOS, and Nrf2/Keap1 signal pathway related proteins ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量	IL-1 $\beta$ / $\beta$ -actin	iNOS/ $\beta$ -actin	Nrf2/ $\beta$ -actin	Keap1/ $\beta$ -actin
对照	—	0.31 $\pm$ 0.07	0.44 $\pm$ 0.16	1.75 $\pm$ 0.35	0.47 $\pm$ 0.12
模型	—	2.94 $\pm$ 0.44*	3.97 $\pm$ 0.54*	0.45 $\pm$ 0.11*	2.55 $\pm$ 0.41*
红景天苷	30 mg·kg $^{-1}$	1.74 $\pm$ 0.13 <sup>#</sup>	2.43 $\pm$ 0.11 <sup>#</sup>	0.79 $\pm$ 0.19 <sup>#</sup>	2.01 $\pm$ 0.35 <sup>#</sup>
	60 mg·kg $^{-1}$	0.68 $\pm$ 0.17 <sup>#</sup>	1.06 $\pm$ 0.12 <sup>#</sup>	1.23 $\pm$ 0.22 <sup>#</sup>	1.11 $\pm$ 0.21 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇	100 mg·mL $^{-1}$	3.45 $\pm$ 0.48 <sup>#</sup>	4.55 $\pm$ 0.58 <sup>#</sup>	0.31 $\pm$ 0.09 <sup>#</sup>	3.02 $\pm$ 0.44 <sup>#</sup>
红景天苷+鸦胆子苦醇	60 mg·kg $^{-1}$ +100 mg·mL $^{-1}$	2.14 $\pm$ 0.31 <sup>▲</sup>	2.54 $\pm$ 0.33 <sup>▲</sup>	0.55 $\pm$ 0.12 <sup>▲</sup>	2.23 $\pm$ 0.25 <sup>▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与红景天苷 60 mg·kg $^{-1}$  组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

<sup>#</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs salidroside 60 mg·kg $^{-1}$  group

### 3 讨论

细菌感染可以导致支气管肺炎的发生。支气管肺炎是儿童中最常见的传染病,威胁患者的生命健康<sup>[16-19]</sup>。发生支气管肺炎后患者呼吸黏膜增厚和下呼吸道阻塞,表现症状有发热、咳嗽、肺疼,口服

表 3 各组大鼠肺组织炎症评分结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Results of lung inflammation score of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量	炎症评分
对照	—	0.25 $\pm$ 0.02
模型	—	3.56 $\pm$ 0.23*
红景天苷	30 mg·kg $^{-1}$	2.46 $\pm$ 0.17 <sup>#</sup>
	60 mg·kg $^{-1}$	1.12 $\pm$ 0.11 <sup>#</sup>
鸦胆子苦醇	100 mg·mL $^{-1}$	4.12 $\pm$ 0.31 <sup>#</sup>
红景天苷+鸦胆子苦醇	60 mg·kg $^{-1}$ +100 mg·mL $^{-1}$	2.14 $\pm$ 0.13 <sup>▲</sup>

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与红景天苷 60 mg·kg $^{-1}$  组比较: <sup>▲</sup> $P < 0.05$

<sup>#</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs model group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  vs salidroside 60 mg·kg $^{-1}$  group

### 2.4 各组大鼠肺组织中 IL-1 $\beta$ 、iNOS 及 Nrf2/Keap1 信号通道相关蛋白表达情况

与对照组相比,模型组大鼠肺组织中 IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达显著升高, Nrf2 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,红景天苷 30、60 mg/kg 组大鼠肺组织中 IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达水平显著降低, Nrf2 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$ ),而鸦胆子苦醇组大鼠肺组织中 IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达水平显著升高, Nrf2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ );与红景天苷 60 mg/kg 组相比,红景天苷+鸦胆子苦醇组大鼠肺组织中 IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达显著升高, Nrf2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ),见表 4、图 2。

抗生素是一种基本治疗法式,但会造成组织损伤,而且由于儿童害怕也会影响治疗依从性<sup>[20]</sup>。红景天苷是一种来自传统草药红景天的活性提取物,安全且来源广泛<sup>[21-22]</sup>,具有抗炎的作用,可以显著降低促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  的水平<sup>[23]</sup>,可以保护心血管系

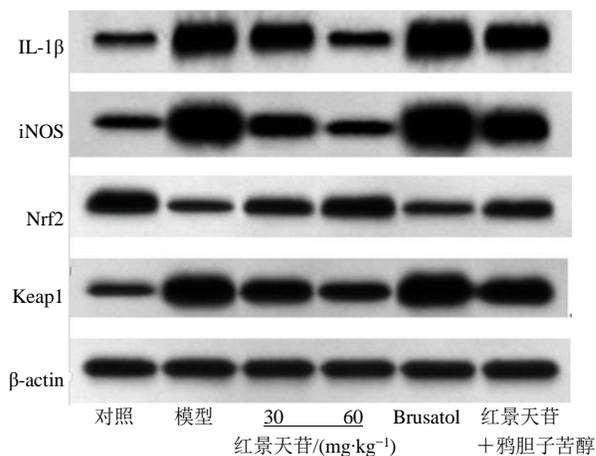


图 2 IL-1 $\beta$ 、iNOS 及 Nrf2/Keap1 信号通道相关蛋白表达情况

Fig. 2 Expression of IL-1 $\beta$ , iNOS, and Nrf2/Keap1 signal pathway related proteins

统和肺组织<sup>[24]</sup>。本研究以 SD 大鼠为研究对象，使用大肠杆菌制造支气管肺炎模型，研究发现与对照组相比，模型组肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量、炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 水平，及 IL-1 $\beta$ 、iNOS 蛋白表达均显著升高，血管周围和支气管周围大量炎症细胞和炎症评分显著升高，说明 SD 大鼠支气管肺炎模型制作成功。给支气管肺炎 SD 大鼠 ip 红景天苷，结果发现与模型组相比，红景天苷 30、60 mg/kg 组 SD 大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量、炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 水平，IL-1 $\beta$ 、iNOS 蛋白表达、炎症评分显著降低，血管周围和支气管周围炎症细胞显著减少，提示红景天苷对支气管肺炎 SD 大鼠的气道炎症具有显著抑制作用。

Nrf2/Keap1 信号通道是信号级联反应的一种，可以控制细胞保护反应，Nrf2 是由核基因编码诱导保护细胞反应的关键调节剂<sup>[25]</sup>，Nrf2 与 Keap1 蛋白相互作用可以直接抑制 Nrf2 的激活，而 Nrf2 的激活可以减少炎症介质的产生<sup>[26]</sup>。无论在体外还是在体内上调 Nrf2 蛋白的表达均可以减轻肺损伤与气管炎症<sup>[27]</sup>，而红景天苷可以激活 Nrf2<sup>[28]</sup>。本研究发现，使用 Nrf2 抑制剂鸦胆子苦醇可以显著抑制 SD 大鼠肺组织中 Nrf2 蛋白表达，与红景天苷 60 mg/kg 组相比，红景天苷+鸦胆子苦醇组 SD 大鼠肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量、炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-13、IL-18 水平、IL-1 $\beta$ 、iNOS、Keap1 蛋白表达、炎症评分显著升高，血管

周围和支气管周围炎症细胞显著增多，Nrf2 蛋白表达水平显著降低，表明红景天苷对支气管肺炎 SD 大鼠的气道炎症抑制作用可能同通过激活 Nrf2 蛋白表达，抑制 Keap1 蛋白表达有关。

综上所述，红景天苷可以通过激活 Nrf2/Keap1 信号通道缓解支气管肺炎炎症，Nrf2/Keap1 信号通道有可能作为治疗支气管肺炎的新靶点之一。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Celis C, Castelló C, Boira I, *et al.* Liver abscess syndrome and hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* bronchopneumonia [J]. *Arch Bronconeumol*, 2021, 57(10): 668-670.
- [2] Song H X, Lei T, Wu F, *et al.* Two new luminescent Cd(II) coordination polymers and their application values on children bronchopneumonia [J]. *Arabian J Chemist*, 2021, 14(8): 103297.
- [3] 蒋黎静, 丁晓燕. 吸入用布地奈德混悬液联合异丙托溴铵及硫酸特布他林雾化液用于小儿喘息性支气管炎或支气管肺炎治疗中的作用 [J]. *中国社区医师*, 2021, 37(30): 90-91.
- [4] 冯宏达. 小儿定喘口服液辅助治疗小儿支气管肺炎的疗效及其对炎症因子的影响 [J]. *中国现代医生*, 2021, 59(2): 60-62.
- [5] Zhang C, Jian L, Xie Y M, *et al.* Clinical evaluation on xiyanping injection in the treatment of bronchopneumonia in children based on meta-analysis [J]. *World J Tradit Chin Med*, 2020, 6(3): 307.
- [6] Wang Y, Sun Y, Zhang H, *et al.* Comprehensive analysis of the diagnosis and treatment of tracheobronchial foreign bodies in children [J]. *Ear Nose Throat J*, 2021, 10: 1455613211023019.
- [7] 毛稼琦, 刘川川, 张雨薇, 等. 红景天苷对低氧诱导的大鼠肺动脉平滑肌细胞表型转化的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(4): 1024-1030.
- [8] 赵万花, 王平义, 宋丹, 等. 基于网络药理学与分子对接研究大花红景天防治炎症风暴作用机制及实验验证 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(10): 756.
- [9] 龚嘎蓝孜, 普珍, 仁增卓嘎, 等. 红景天苷对平原移居高原大鼠心脏损伤的保护作用研究 [J]. *免疫学杂志*, 2021, 37(11): 939-946.
- [10] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷心脏保护药理作用的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(1): 125-132.
- [11] 陈鹏. 红景天苷对慢性气道炎症大鼠肺血管内皮凋亡的作用研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
- [12] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, *et al.* Nrf2-Keap1

- signaling in oxidative and reductive stress [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2018, 1865(5): 721-733.
- [13] 谈进, 王华斌, 朱飞鹏, 等. 支气管肺炎大鼠的肺炎影像学与高尔基体应激水平和肺功能的关系 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(24): 2589-2593.
- [14] 栾雪, 延光海, 李海波, 等. 红景天苷对哮喘模型小鼠气道炎症的抑制作用及其机制 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2021, 47(3): 537-544.
- [15] Yang L, Shen C, Estrada-Bernal A, *et al.* Oncogenic KRAS drives radioresistance through upregulation of NRF2-53BP1-mediated non-homologous end-joining repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(19):11067-11082.
- [16] Van Driessche L, Vanneste K, Bogaerts B, *et al.* Isolation of drug-resistant *Gallibacterium anatis* from calves with unresponsive bronchopneumonia, Belgium [J]. *Emerg Infect Dis*, 2020, 26(4): 721-730.
- [17] Zhao D, Chen M, Shi K, *et al.* A long short-term memory-fully connected (LSTM-FC) neural network for predicting the incidence of bronchopneumonia in children [J]. *Environ Sci and Pollut Res Int*, 2021, 28(40): 56892-56905.
- [18] Chen L J, Li J M, Zhang W D, *et al.* LncRNA NEAT1 activates MyD88/NF- $\kappa$ B pathway in bronchopneumonia through targeting miR-155-5p [J]. *Autoimmunity*, 2021, 54(2): 104-113.
- [19] 李毓赟, 李阳, 王瑞杰, 等. 口服中成药治疗儿童支气管肺炎的网状 Meta 分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(1): 176-195.
- [20] Liu H, Wang W, Gao X. 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.
- [21] Fan F, Yang L, Li R, *et al.* Salidroside as a potential neuroprotective agent for ischemic stroke: A review of sources, pharmacokinetics, mechanism and safety [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129(1): 110458.
- [22] 伍小艳, 张桥, 杨素德, 等. HPLC-ELSD 法测定红景天中红景天苷及大花红天素 [J]. *中草药*, 2014, 45(8): 1157-1159.
- [23] Hu R, Wang M, Ni S, *et al.* Salidroside ameliorates endothelial inflammation and oxidative stress by regulating the AMPK/NF- $\kappa$ B/NLRP3 signaling pathway in AGEs-induced HUVECs [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 867: 172797.
- [24] Xie H, Shen C Y, Jiang J G. The sources of salidroside and its targeting for multiple chronic diseases [J]. *J Funct Foods*, 2020, 64: 103648.
- [25] Panieri E, Telkoparan-Akillilar P, Suzen S, *et al.* The NRF2/KEAP1 axis in the regulation of tumor metabolism: mechanisms and therapeutic perspectives [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(5): 791.
- [26] Kim S, Viswanath A N I, Park J H, *et al.* Nrf2 activator via interference of Nrf2-Keap1 interaction has antioxidant and anti-inflammatory properties in Parkinson's disease animal model [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 167: 107989.
- [27] Wang W, Yang X, Chen Q, *et al.* Sinomenine attenuates septic-associated lung injury through the Nrf2-Keap1 and autophagy [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2020, 72(2): 259-270.
- [28] Wu Y, Wang Y, Wu Y, *et al.* Salidroside shows anticonvulsant and neuroprotective effects by activating the Nrf2-ARE pathway in a pentylenetetrazol-kindling epileptic model [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 164: 14-20.

[责任编辑 高源]