

## • 实验研究 •

## 芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体 CARDs TX 的抑制作用及机制研究

蒙艳丽, 孙一#, 雷敏瑞#, 姜焱, 王萍, 王晓溪, 王欣, 王伟明\*

黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨 150036

**摘要:** **目的** 探讨芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体 CARDs TX 毒素蛋白表达的抑制作用。**方法** 将 Balb/c 小鼠随机分为对照组、模型组、阿奇霉素组及芩百清肺浓缩丸 4.6、2.3、1.15 g/kg 组, 每组 9 只。除对照组外, 其余各组小鼠进行支原体滴鼻, 每只滴入 20  $\mu$ L  $1 \times 10^6$  CCU 肺炎支原体菌液, 建立肺炎支原体感染模型。支原体肺炎模型建立成功后各组分别 ig 小鼠相应药物, 连续 ig 7 d, 末次给药结束后进行引咳实验, 并处死小鼠, 取血液与肺组织。显微镜下观察各组小鼠肺组织苏木精-伊红(HE)染色、Masson 染色、免疫组化后的肺组织变化; RT-PCR 法检测各组小鼠肺组织 MPN372、BDKRB2 表达量。**结果** 与模型组相比, 芩百清肺浓缩丸可显著降低肺炎支原体小鼠咳嗽次数; 芩百清肺浓缩丸组小鼠肺组织结构明显得到改善, 结构清晰, 组织形态规整; 芩百清肺浓缩丸组小鼠肺组织纤维化得到缓解; 芩百清肺浓缩丸组小鼠肺组织 MPN372、BDKRB2 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.05$ )。**结论** 芩百清肺浓缩丸通过降低肺组织中 CARDs TX、BDKRB2 的表达, 减缓咳嗽症状, 治疗肺炎支原体肺炎。

**关键词:** 芩百清肺浓缩丸; 肺炎支原体; 肺纤维化; 咳嗽潜伏期

**中图分类号:** R974; R285

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-5515(2023)12-2909-07

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.12.001

## Inhibitory effect and mechanism of Qinbai Qingfei Concentrated Pills on CARDs TX

MENG Yan-li, SUN Yi, LEI Min-rui, JIANG Yan, WANG Ping, WANG Xiao-xi, WANG Xin, WANG Wei-ming

Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China

**Abstract: Objective** To investigate the inhibitory effect of Qinbai Qingfei Concentrated Pills on the expression of CARDs TX toxin protein of mycoplasma pneumoniae. **Methods** Balb/c mice were randomly divided into control group, model group, azithromycin group, and Qinbai Qingfei Concentrated Pills (4.6, 2.3 and 1.15 g/kg) groups, with 9 mice in each group. Except the control group, mice in other groups received mycoplasma nasal drops, each of which was infused with 20  $\mu$ L  $1 \times 10^6$  CCU mycoplasma pneumoniae solution, and the mycoplasma pneumoniae infection model was established. After the successful establishment of mycoplasma pneumonia model, mice in each group were ig treated with the corresponding drug for 7 d. After the last administration, the cough inducing experiment was carried out, and the mice were killed, and blood and lung tissues were collected. The changes of lung tissue after HE staining, Masson staining, and immunohistochemistry were observed under microscope. The expression levels of MPN372 and BDKRB2 in lung tissues of each group were detected by RT-PCR. **Results** Compared with the model group, Qinbai Qingfei Concentrated Pills group can significantly reduce the cough times of mycoplasma pneumoniae mice. In Qinbai Qingfei Concentrated Pills group, the lung tissue structure was obviously improved, the structure was clear and the tissue morphology was regular. The pulmonary fibrosis of mice in Qinbai Qingfei Concentrated Pills group was alleviated. The mRNA expressions of MPN372 and BDKRB2 in lung tissue of Qinbai Qingfei Concentrated Pills group were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Qinbai Qingfei Concentrated Pills can reduce the expression of CARDs TX and BDKRB2 in lung tissue to relieve cough symptoms and treat

收稿日期: 2023-08-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(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)

作者简介: 蒙艳丽, 女, 研究员, 硕士, 从事药理学研究。E-mail: mengyanli2000@163.com

\*通信作者: 王伟明, 女, 研究员, 博士, 从事新药研发。E-mail: wangweiming475@yahoo.com

#共同第一作者

mycoplasma pneumoniae pneumonia.

**Key words:** Qinbai Qingfei Concentrated Pills; mycoplasma pneumoniae; pulmonary fibrosis; cough latency

肺炎是影响全球儿童健康的一个公众问题,随着肺炎相关疫苗的应用,肺炎的常见病原谱正在发生变化,肺炎支原体(MP)已成为社区获得性肺炎的最常见病原之一,占社区获得性肺炎的10%~40%,在部分封闭人群中可高达70%。近年来,我国北方地区MP感染的发病率在不断增加,每2~3年有1次流行,流行季节多在秋冬季<sup>[1]</sup>。

社区获得性呼吸窘迫综合征毒素(CARDs TX)蛋白被认为是目前为止肺炎支原体体内单一的毒力因子<sup>[2]</sup>,是由肺炎支原体MPN372基因编码的蛋白,在肺炎支原体的致病过程中起到了至关重要的作用<sup>[3]</sup>。CARDs TX能够引起多种炎症因子释放,导致相关组织病理的改变<sup>[4]</sup>。此外,CARDs TX作为一种可溶性的炎症触发因子,在MP感染控制稳定一段时间后仍具有激发气道神经源性炎症的功能<sup>[5]</sup>,如缓激肽及其缓激肽受体,可引发患者剧烈咳嗽。目前的临床用药常选用阿奇霉素等大环内酯类抗生素,由于临床不规范及反复使用,导致肺炎支原体耐药性剧增,中国尤为突出,耐药率接近90%<sup>[6-7]</sup>,使其临床应用受到限制。无痰而剧烈的干咳往往需镇咳药缓解症状,但镇咳药主要为中枢性镇咳药(可待因、吗啡、右美沙芬等)、周围性镇咳药(那可丁、苯丙哌林)等,属特殊药品,有成瘾性或较大不良反应,儿童不宜服用<sup>[8]</sup>。因此,开发既能杀灭肺炎支原体又能治疗其感染引起干咳的药物是临床的迫切需求。

芩百清肺浓缩丸是国家批准的第1个用于小儿肺炎支原体肺炎治疗的中药,已完成III期临床,前期作为医院制剂用于临床10余年,疗效确切,患儿咳嗽等症能够快速缓解,避免了抗生素不良反应及耐药性,是黑龙江省呼吸科应用量最大的医院制剂。本研究通过验证芩百清肺浓缩丸对CARDs TX、缓激肽受体B2(BDKRB2)表达的影响,探讨芩百清肺浓缩丸减缓患者咳嗽治疗肺炎支原体肺炎的作用机制,为芩百清肺浓缩丸的临床使用提供理论依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 菌株与质粒

肺炎支原体菌株(批号ATCC15531)购自美国Type Culture Collection公司,大肠杆菌表达菌株

BL21(DE3)、pET28 $\alpha$ 质粒由本实验室保存。

### 1.2 主要药品和试剂

LB培养基购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;卡那霉素(批号2021/12)购自索莱宝公司;还原型谷胱甘肽(批号2021/12)、氧化型谷胱甘肽(批号2021/12)、异丙基- $\beta$ -D硫代半乳糖苷(IPTG)(批号410H052)、溶菌酶(批号2020/12)购自北京博奥拓达科技有限公司;胎牛血清(批号11011-8611)购自浙江天杭生物科技股份有限公司;RT-PCR试剂盒(批号15322、17122)购自江苏康为世纪生物科技有限公司。

芩百清肺浓缩丸(规格6g,批号CXZS1000045)购自天合力药业有限公司;阿奇霉素分散片(规格0.25g,批号274150404)购自石药集团欧意药业有限公司。

### 1.3 主要仪器

MDF-382E -80℃低温冰箱(日本三洋公司);多功能酶标仪(瑞士TECAN公司);DP73显微镜成像系统(日本奥林巴斯公司);BP211D型电子天平(Sartorius公司);GT16-3型离心机(北京时代北利离心机有限公司);超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技有限公司)。

### 1.4 实验动物

清洁级雄性BALB/c小鼠,日龄4~6周,体质量18~22g,56只,购自哈尔滨医科大学,实验动物生产许可证号SCXK(黑)2019-001,实验单位使用许可证号SYXK(黑)2019-007,动物实验伦理批准单位为黑龙江省中医药科学院实验动物伦理委员会,动物实验伦理批号SY3R-2021021。

## 2 方法

### 2.1 CARDs TX蛋白的获取与纯化

**2.1.1 CARDs TX表达质粒的构建** 从NCBI上获取MPN372基因序列,按照大肠杆菌密码子偏好进行序列优化,合成目的片段,链接于pET28 $\alpha$ 质粒,得到pET28 $\alpha$ -CARDs TX重组质粒。

**2.1.2 pET28 $\alpha$ -CARDs TX重组质粒的表达** 将pET28 $\alpha$ -CARDs TX重组质粒转化大肠杆菌BL21,涂布于含卡那霉素的LB固体培养基37℃培养过夜。随机挑取饱满的单克隆菌落接种于含1 $\mu$ g/mL卡那霉素的LB液体培养基,37℃、220 r/min至

600 nm 处吸光度 ( $A_{600}$ ) 值为 0.4~0.6 时, 加入终浓度 0.25 mmol/L 的 IPTG 诱导 6 h 收菌。

**2.1.3 CARDs TX 蛋白的纯化** 收集诱导表达后的菌液, 4 °C、7 000 r/min、10 min 离心收集沉淀; 按照湿质量每 100 毫克加 2 mL 的量, 加入含有 10 mmol/L 咪唑的 PBS 溶液, 按照 1 mg/mL 的量加入溶菌酶, 于冰上放置 30 min 后, 进行超声破碎; 破碎后进行离心, 分离上清与含有包涵体的沉淀; 使用复性液洗涤包涵体 3~5 次后离心, 弃上清取沉淀, 加入 3 mL 变性液变性 12 h 后, 再次离心并取上清; 缓慢加入 10 倍体积复性液, 于 4 °C 冰箱复性 24 h 之后, 离心取上清; 将液体转移置透析袋中, 将装满溶液的透析袋置于含大体积 PBS 的烧杯中透析 24 h; 透析后离心去除沉淀, 取上清加入超滤离心管中浓缩, 收样用于后续实验。

## 2.2 Biacore 实验

**2.2.1 CARDs TX 蛋白的预富集试验** 将 CARDs TX 蛋白溶液用 pH 值为 4.0、4.5、5.0 的醋酸钠溶液充分溶解, 用蛋白与氨基直接偶联的方法将 CARDs TX 固定在 CM5 芯片表面 (将 1 通道视为参比通道, 2 通道作为样本的偶联通道)。

**2.2.2 CARDs TX 蛋白的配体偶联试验** 使用 EDC、NHS 活化芯片。依据 2.2.1 项下结果配制 CARDs TX 蛋白溶液 (pH 值 4.0 醋酸盐缓冲溶液) 用于与芯片偶联。

**2.2.3 芩百清肺浓缩丸进样及结合能力检测** 使芩百清肺浓缩丸溶液流经 CM5 芯片表面。pH 为 2.5 甘氨酸-盐酸溶液作为再生试剂流经 CM5 芯片表面。观察芩百清肺浓缩丸溶液与 CARDs TX 蛋白结合的响应曲线变化情况。

## 2.3 动物实验

**2.3.1 肺炎支原体肺炎模型的建立** 小鼠自适应饲养 7 d 后, 56 只 BALB/c 小鼠被随机分为对照组 (9 只) 与模型组 (47 只)。将除对照组外的小鼠用乙醚麻醉后, 每只从鼻滴入 20  $\mu$ L  $1 \times 10^6$  CCU 肺炎支原体, 每天 1 次, 共 3 d<sup>[9]</sup>。剔除实验过程中死亡的小鼠剩余 45 只 (造模成功率为 96%), 将造模成功的小鼠平均分为模型组、阿奇霉素组、以及芩百清肺浓缩丸 (4.6、2.3、1.15 g/kg) 组, 每组 9 只。给药剂量均按照药品说明书上的人用剂量换算为小鼠剂量 ig 给药。阿奇霉素组 ig 0.03 g/kg 阿奇霉素, 芩百清肺浓缩丸 (4.6、2.3、1.15 g/kg) 组分别 ig 4.6、2.3、1.15 g/kg 芩百清肺浓缩丸。对照组与模

型组小鼠给予等体积生理盐水。每天 1 次, 连续给药 7 d。末次给药 24 h 后, 眼球取血, 摘除小鼠肺组织, 一半用甲醛固定, 另一半冻存备用。

**2.3.2 引咳实验** 小鼠末次给药后被置于内有氨水浸润棉球的倒扣的密闭容器中, 用秒表计时。将小鼠从被放入密闭容器开始到第 1 次出现咳嗽的时间称为咳嗽潜伏期, 记录小鼠从第 1 次咳嗽开始的 2 min 内的咳嗽总次数。

**2.3.3 小鼠肺组织病理学检测** 取各组小鼠肺组织, 用 4% 甲醛固定, 用于病理学检测, 显微镜下观察各组肺组织苏木素-伊红 (HE) 染色、Masson 染色的肺组织变化情况。

**2.3.4 免疫组化方法检测各组肺组织 BDKRB2 的表达** 取各组小鼠肺组织, 进行石蜡包埋并切片制片。将片子脱蜡后冲洗, 进行抗原修复处理, 孵育一抗、二抗, 最后终止反应。在电子显微镜下观察各组组织 BDKRB2 的染色情况, 每张切片分别在不同的位置选取 3 个视野, 以着色深浅程度及面积进行评分, 浅色为弱阳性为 1 分, 棕黄色为中等阳性为 2 分, 褐色为强阳性为 3 分; 着色细胞面积数在 25% 以下为 1 分, 在 25%~49% 为 2 分, 在 50% 以上为 3 分。最终以二者相乘的综合积分计量, 若  $\leq 3$  为阴性, 若  $\geq 4$  为阳性, 若  $\geq 6$  为强阳性<sup>[9]</sup>。

**2.3.5 RT-PCR 法测定小鼠肺组织中 MPN372、BDRKD2 mRNA 表达水平** 取各组小鼠肺组织, 根据 RNA 提取试剂盒提取各组小鼠肺组织总 RNA, 酶标仪检测各组 RNA 浓度。依照 One-step reverse transcription PCR kit 说明书检测 MPN372、BDRKD2 mRNA 的表达水平。其中各引物基因序列如下:

MPN372 正向: 5'-CCGGATCCATGCCAAATCCTGTTAG-3'; 反向: 5'-CTCCTCGAGCTAAAAGCGATCAAA-3'。BDKRB2 正向: 5'-CCGAAAGAAGTCTTGGGAGGT-3'; 反向: 5'-CTGGCGTTCCACGGAGATG-3'

## 2.4 统计学方法

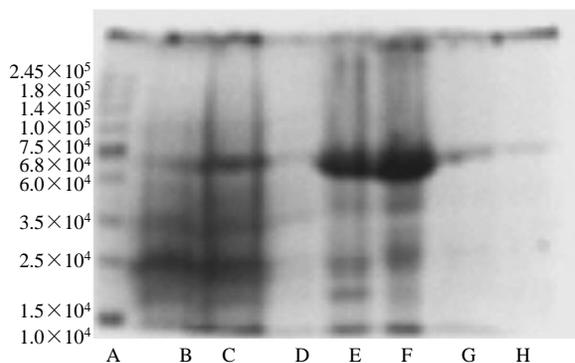
采用 SPSS 26 统计学软件进行分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 单因素方差分析组间差异。

## 3 结果

### 3.1 CARDs TX 蛋白的获取与纯化

经目的蛋白获取与纯化过程中各步留样的 SDS-PAGE 电泳可知, 加入 IPTG 诱导可明显提高转入重组质粒的大肠杆菌的目的蛋白表达量 (图 1B、C); 破碎菌体并离心后, 发现目的蛋白存在于

沉淀中,表明目的蛋白为包涵体表达(图 1D、E);变性后得到可溶性蛋白(图 1F);复性离心后、透析后得到纯度较高的可溶性目的蛋白(图 1G、H)。



A-蛋白 Maker B-未经 IPTG 诱导总蛋白 C-经 IPTG 诱导总蛋白 D-破碎后离心后上清 E-破碎后离心后沉淀 F-变性后上清 G-复性后上清 H-透析后溶液  
A-protein Maker B-total protein not induced by IPTG C-total protein induced by IPTG D-supernatant after centrifugation after crushing E-precipitate after centrifugation after crushing F-supernatant after denaturation G-supernatant after recombination H-post-dialysis solution

图 1 重组质粒的表达及蛋白纯化

Fig. 1 Recombinant plasmid expression and protein purification

### 3.2 Biacore 验证芩百清肺浓缩丸与 CARDs TX 结合结果

**3.2.1 CARDs TX 预富集实验** 将 CARDs TX 蛋白分别用 pH 值为 4.0、4.5、5.0 的醋酸钠溶液中充分溶解,用蛋白与氨基直接偶联的方法将 CARDs TX 固定在 CM5 芯片表面。图 2 显示当醋酸钠溶液的 pH 值为 4.0 时(0~250 s),CARDs TX 的富集效果最佳。则 pH 值 4.0 醋酸钠溶液即为正式偶联时的实验条件。

**3.2.2 CARDs TX 蛋白与 CM5 芯片的偶联** 结果显示 CARDs TX 蛋白与 CM5 芯片的偶联值为 953.5。

**3.2.3 Biacore 验证芩百清肺浓缩丸与 CARDs TX 蛋白的结合结果** 图 3 为芩百清肺浓缩丸溶液与 CARDs TX 蛋白结合的相应曲线。图中显示通道中 CARDs TX 蛋白与芩百清肺浓缩丸溶液的结合曲线有上升趋势,且始终高于通道 1。当结合状态稳定时,通道 2-1 结合值为 130.5 RU (RU>100 即有效结合)。因此芩百清肺浓缩丸在体外能与 CARDs TX 存在分子间结合作用,故 CARDs TX 可能是芩百清

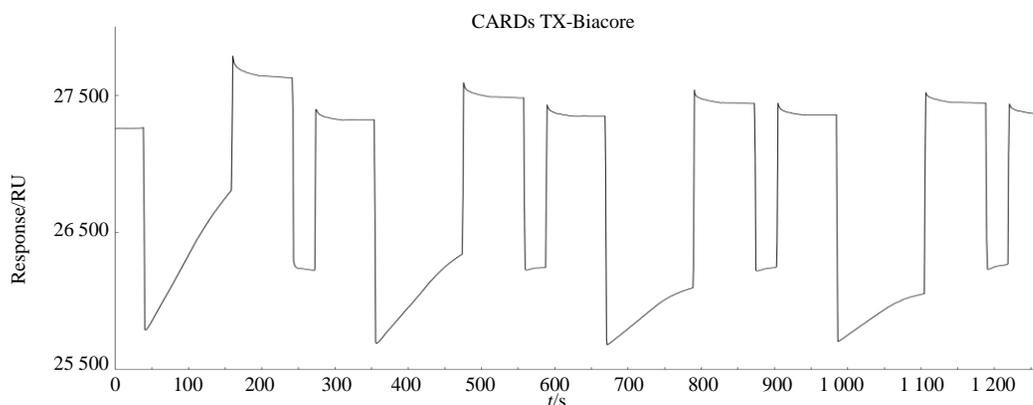


图 2 CARDs TX 蛋白预富集

Fig. 2 CARDs TX protein preenrichment

肺浓缩丸治疗肺炎支原体肺炎作用的靶点。

### 3.3 动物实验结果

**3.3.1 小鼠氨水引咳实验结果** 如表 1 所示,与模型组比较,芩百清肺浓缩丸各剂量组小鼠的咳嗽潜伏期显著延长 ( $P<0.01$ );芩百清肺浓缩丸 4.6、2.3 g/kg 组 2 min 内咳嗽次数显著减少 ( $P<0.05$ )。

**3.3.2 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织病理状态的影响** 如图 4 所示,对照组小鼠无感染现象,其肺组织结构完整。模型组小鼠肺组织明显有大量炎细胞浸润,肺泡壁充血严重,肺泡出现塌陷,支气管

上皮大量脱落,还伴有黏膜水肿以及间隙变窄等情况。阿奇霉素组小鼠肺组织结构较模型组有所好转,炎细胞浸润程度降低。芩百清肺浓缩丸各剂量组小鼠肺组织结构的完整性、支气管肺组织的水肿情况、炎细胞浸润程度等都较模型组有显著改善。

**3.3.3 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织纤维化的影响** 如图 5 所示,对照组小鼠支气管壁胶原表现正常,肺泡有少量胶原纤维;模型组小鼠肺实质、支气管有大量胶原纤维增生且肺纤维化呈弥漫性;阿奇霉素组、芩百清肺浓缩丸各剂量组小鼠肺泡间

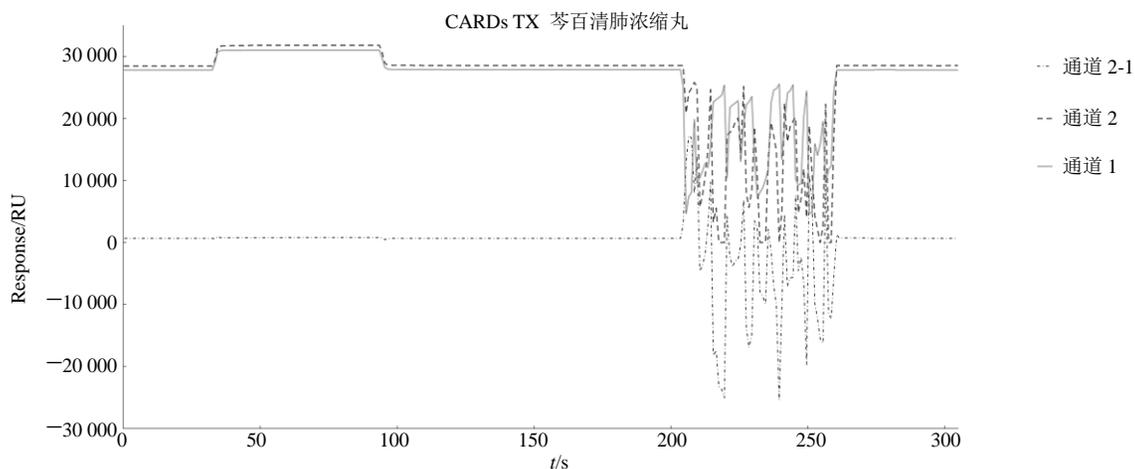


图 3 Biacore 验证芩百清肺浓缩丸与 CARDs TX 蛋白的结合

Fig. 3 Biacore verified the combination of Qinbai Qingfei Concentrated Pills and CARDs TX protein

表 1 小鼠氨水引咳实验结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

Table 1 Experimental results of cough induced by ammonia water in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	咳嗽潜伏期/s	2 min 内咳嗽次数
对照	—	42.78 ± 8.03	24.11 ± 3.95
模型	—	30.78 ± 5.63**	42.11 ± 10.30**
阿奇霉素	0.03	30.67 ± 5.41##	34.44 ± 7.09
芩百清肺浓缩丸	4.6	74.00 ± 15.22##	30.44 ± 9.80#
	2.3	58.44 ± 14.96##	32.11 ± 5.53#
	1.15	70.00 ± 11.55##	35.33 ± 7.42

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$  ## $P < 0.01$  vs model group

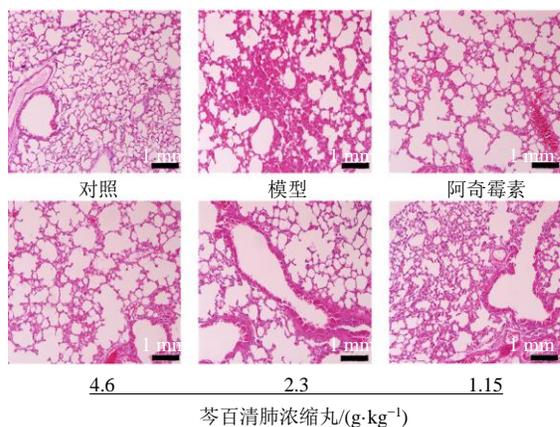


图 4 各组小鼠肺组织 HE 染色显微图 (×200)

Fig. 4 HE staining micrograph of lung tissue in each group (×200)

隔、支气管纤维化都得到缓解。

**3.3.4 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织 BDKRB2 表达的影响** 如图 6、7 所示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中细胞着色程度以及着色面积数最高, BDKRB2 蛋白表达评分显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较,阿奇霉素组、芩百清肺浓缩丸各剂量组 BDKRB2 蛋白表达评分显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ )。

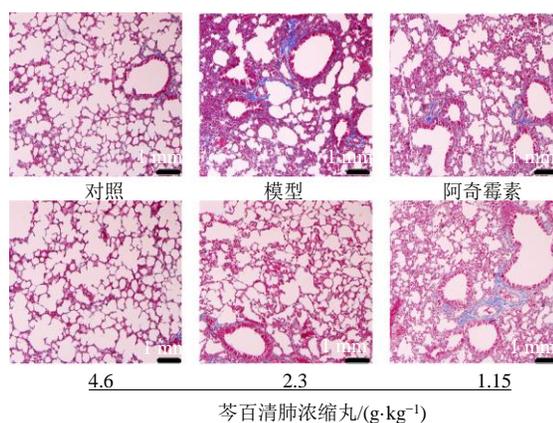


图 5 各组小鼠肺组织 Masson 染色显微图 (×200)

Fig. 5 Masson staining micrograph of lung tissue of mice in each group (×200)

### 3.3.5 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织 MPN372、BDKRB2 mRNA 表达的影响

如表 2 所示,与模型组比较,阿奇霉素组、芩百清肺浓缩丸各剂量组小鼠肺组织中 MPN372、BDKRB2 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.05, 0.01$ )。

## 4 讨论

芩百清肺浓缩丸最早由黑龙江省中医药科学

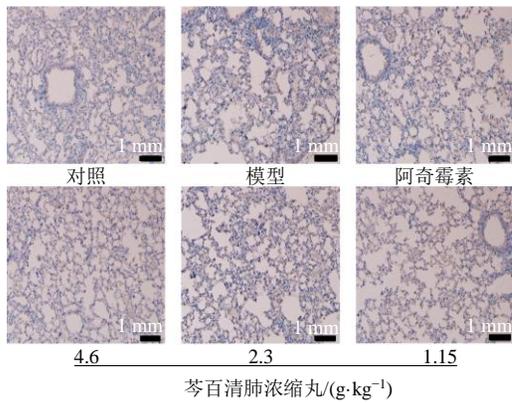


图 6 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织 BDKRB2 表达的影响 (×200)

Fig. 6 Effect of Qinbaiqingfei Concentrated Pills on the expression of BDKRB2 in lung tissue of mice (×200)

表 2 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织 MPN372、BDKRB2 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

Table 2 Effects of Qinbaiqingfei Concentrated Pills on MPN372 and BDKRB2 mRNA expression in mouse lung tissue ( $\bar{x} \pm s, n = 9$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	MPN372 mRNA 相对表达量	BDKRB2 mRNA 相对表达量
对照	—	0.02 ± 0.01	0.29 ± 0.28
模型	—	1.00 ± 0.00**	1.00 ± 0.00*
阿奇霉素	0.03	0.02 ± 0.02###	0.24 ± 0.15###
芩百清肺浓缩丸	4.6	0.04 ± 0.02###	0.10 ± 0.04###
	2.3	0.06 ± 0.08###	0.23 ± 0.07###
	1.15	0.07 ± 0.35	0.78 ± 0.42#

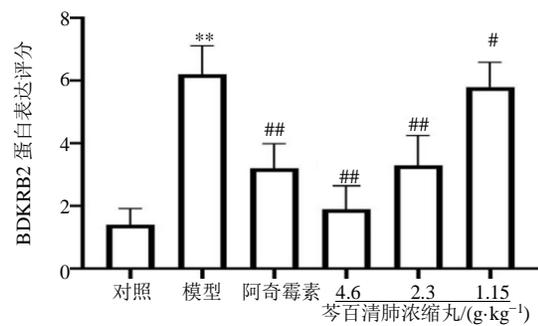
与对照组比较: \*\*P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01

\*\*P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group

院研发, 作为院内制剂在临床上治疗小儿肺炎支原体肺炎 10 余年, 疗效确切。前期研究证实芩百清肺浓缩丸有抑制纤维素沉积的作用<sup>[9]</sup>, 能促进肺组织修复<sup>[10-11]</sup>。

CARDs TX 毒素是由 MPN372 基因编码的毒素蛋白, 在肺炎支原体肺炎发病中发挥着重要作用, 与表面活性蛋白 A 结合, 黏附气道表面, 刺激气道神经源性炎症介质缓激肽及其 BDKRB2 表达, BDKRB2 的激活会导致阵发性咳嗽, 因此选择 CARDs TX 与 BDKRB2 为靶蛋白, 研究芩百清肺浓缩丸治疗肺炎支原体肺炎缓解咳嗽症状的效果。

本研究通过前期所做的芩百清肺浓缩丸与 CARDs TX 的 Biacore 实验以及后续的体内动物实验, 探讨芩百清肺浓缩丸干预后小鼠肺组织咳嗽相关蛋白与 mRNA 表达水平的变化并得出结论。HE 染色检测实验小鼠肺结构变化, 结果表明, 芩百清肺浓缩丸各剂量组小鼠肺组织结构的完整性、支气管肺组织的水肿情况、炎症细胞浸润程度等都较模



与对照组比较: \*\*P<0.01; 与模型组比较: #P<0.05 ##P<0.01

\*\*P<0.01 vs control group; #P<0.05 ##P<0.01 vs model group

图 7 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺组织 BDKRB2 表达的影响 (IHC 评分)

Fig. 7 Effect of Qinbaiqingfei Concentrated Pills on the expression of BDKRB2 in mouse lung tissue (IHC score)

型组有显著的改善。Masson 染色检测实验小鼠肺组织纤维化程度, 结果显示模型组病变明显, 肺组织中出现大量的胶原纤维增生, 且肺纤维化呈弥散性; 芩百清肺浓缩丸各剂量组小鼠肺泡间隔、支气管纤维化都得到缓解, 胶原含量降低。免疫组化实验检测 BDKRB2 在小鼠肺组织内蛋白量表达, 结果表明与模型组比较, 芩百清肺浓缩丸各剂量组 BDKRB2 表达显著降低。

综上所述, 芩百清肺浓缩丸可以抑制肺炎支原体 CARDs TX 蛋白的作用, 具有抑制 MPN372、BDKRB2 的表达的作用, 减缓患者咳嗽症状治疗肺炎支原体肺炎。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 蔡玲利, 钟森. 肺炎支原体肺炎的研究进展 [J]. 河北医药, 2022, 44(11): 1726-1731.  
 [2] Kannan T R, Krishnan M, Ramasamy K, et al. Functional mapping of community-acquired respiratory distress syndrome

- (CARDS) toxin of mycoplasma pneumoniae defines regions with ADP-ribosyltransferase, vacuolating and receptor-binding activities [J]. *Mol Microbiol*, 2014, 93(3): 568-581.
- [3] Becker A, Kannan T R, Taylor A B, *et al*. Structure of CARDS toxin, a unique ADP-ribosylating and vacuolating cytotoxin from mycoplasma pneumonia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(16): 5165-5170.
- [4] Hardy R D, Coalson J J, Peters J, *et al*. Analysis of pulmonary inflammation and function in the mouse and baboon after exposure to mycoplasma pneumoniae CARDS toxin [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7562.
- [5] Medina J L, Coalson J J, Brooks E G, *et al*. Mycoplasma pneumoniae CARDS toxin induces pulmonary eosinophilic and lymphocytic inflammation [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012, 46(6): 815-822.
- [6] Zhou Y, Wang J, Chen W, *et al*. Impact of viral coinfection and macrolide-resistant mycoplasma infection in children with refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia [J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 633.
- [7] 陈晨, 黄旭强, 赵丹洋, 等. 2014—2018 年患儿肺炎支原体耐药调查分析 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(12): 1850-1855.
- [8] Patel K, Goldman J L. Safety concerns surrounding quinolone use in children [J]. *J Clin Pharmacol*, 2016, 56(9): 1060-1075.
- [9] 蒙艳丽, 徐慧星, 王晓溪, 等. 苈百清肺浓缩丸对肺炎支原体肺炎小鼠  $\beta$ -catenin、 $\alpha$ -SMA 表达影响 [J]. *中药材*, 2019, 42(7): 1635-1639.
- [10] 姚琳, 张俊威, 王博, 等. 苈百清肺浓缩丸对肺炎支原体感染大鼠肺组织中 TGF- $\beta$  和 SP-A 表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(4): 564-569.
- [11] 蒙艳丽, 姜焱, 雷敏瑞, 等. 苈百清肺浓缩丸对支原体肺炎小鼠肺组织上皮间质转化的影响 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(3): 493-498.

[责任编辑 高源]