

基于 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路探究松果菊苷对缺氧性肺动脉高压新生大鼠肺血管重塑的影响

胡冰, 张艺森

驻马店市中心医院 儿科, 河南 驻马店 463000

摘要: 目的 基于蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) /细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) /核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路探究松果菊苷对缺氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary hypertension, HPH) 新生大鼠肺血管重塑的影响。方法 按照随机数字表法将 Wistar 新生大鼠分为对照组、模型组、大花红景天口服液 (1.78 mL/kg) 组、松果菊苷 (40 mg/kg) + Akt 激活剂 SC79 (0.04 μ g/kg) 组和松果菊苷低、高剂量 (15、40 mg/kg) 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余组大鼠缺氧 15 d 制备 HPH 模型; 对照组大鼠不进行缺氧处理。从缺氧第 1 天至第 15 天, 各给药组给予相应药物, 检测各组大鼠在第 3、7、11、15 天的肺动脉压; 末次给药 24 h 后, 检测各组大鼠右心室肥大指数; 采用苏木素-伊红 (HE) 染色检测各组大鼠肺血管形态, 并计算肺小动脉中层血管壁厚度占肺小动脉外径的百分比 (MT)、肺小动脉中层横截面积占总横截面积的百分比 (MA); 采用 Masson 染色检测各组大鼠肺组织纤维化; 采用 Western blotting 检测大鼠肺组织中 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠肺动脉压、右心室肥大指数、MT、MA、胶原纤维面积占比均显著升高 ($P < 0.05$), 肺组织中 p-Akt、p-ERK1、p-NF- κ B p65 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组以上指标均显著降低 ($P < 0.05$); Akt 激活剂 SC79 明显减弱了高剂量的松果菊苷对 HPH 新生大鼠肺血管重塑的保护作用 ($P < 0.05$)。结论 松果菊苷能够通过抑制 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路抑制 HPH 新生大鼠的肺血管重塑。

关键词: 松果菊苷; 缺氧性肺动脉高压; 新生大鼠; 蛋白激酶 B/细胞外调节蛋白激酶/核因子- κ B 通路; 肺血管重塑

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2022)23 - 7449 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.23.015

Effect of echinacoside on pulmonary vascular remodeling in neonatal rats with hypoxic pulmonary hypertension based on Akt/ERK/NF- κ B signaling pathway

HU Bing, ZHANG Yi-sen

Department of Pediatrics, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

Abstract: Objective To investigate the effect of echinacoside on pulmonary vascular remodeling of neonatal rats with hypoxic pulmonary hypertension (HPH) based on protein kinase B (Akt)/extracellular regulated protein kinase (ERK)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway. **Methods** Wistar neonatal rats were randomly divided into control group, model group, Rhodiola Oral Liquid (大花红景天口服液, 1.78 mL/kg) group, echinacoside (40 mg/kg) + Akt activator SC79 (0.04 μ g/kg) group and echinacoside low- and high-dose (15, 40 mg/kg) groups, with 12 rats in each group. Except the control group, rats in other groups were hypoxic for 15 d to prepare HPH model; Rats in control group were not treated with hypoxia. From 1st day to 15th day of hypoxia, corresponding drugs were given to each administration group, and pulmonary artery pressure of rats in each group was detected on 3rd, 7th, 11th and 15th day. 24 h after the last administration, right ventricular hypertrophy index of rats in each group was detected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to detect the pulmonary vascular morphology of rats in each group, and percentage of thickness of pulmonary arterioles' middle vascular wall to the outer diameter of pulmonary arterioles (MT) and percentage of pulmonary arterioles' middle cross-sectional area to the total cross-sectional area (MA) were calculated. Masson staining was used to detect pulmonary fibrosis of rats in each group. The expressions of Akt/ERK/NF- κ B signaling pathway related proteins in lung tissue of rats were detected by Western blotting. **Results** Compared with control group, pulmonary artery pressure, right ventricular hypertrophy index, MT, MA and percentage of collagen fiber area in model group were significantly increased ($P < 0.05$), p-Akt, p-ERK1 and p-NF- κ B p65 protein expressions in lung tissue

收稿日期: 2022-08-12

作者简介: 胡冰 (1981—), 女, 主治医师, 主要从事儿科临床基础研究。Tel: 13839937509

were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with model group, the above indexes in each dose group of echinacoside and Rhodiola Oral Liquid group were significantly decreased ($P < 0.05$). Akt activator SC79 obviously weakened the protective effect of high-dose echinacoside on pulmonary vascular remodeling in neonatal rats with HPH ($P < 0.05$). **Conclusion** Echinacoside can inhibit pulmonary vascular remodeling in neonatal rats with HPH by inhibiting Akt/ERK/NF- κ B signaling pathway.

Key words: echinacoside; hypoxic pulmonary hypertension; neonatal rats; protein kinase B/extracellular regulated protein kinase/nuclear factor- κ B pathway; pulmonary vascular remodeling

新生儿缺氧性肺动脉高压 (hypoxic pulmonary hypertension, HPH) 是新生儿重症监护室中最常见的由于缺氧性疾病诱发的严重肺血管疾病, 其病理变化包括肺动脉收缩反应增加和远端肺小动脉过度重塑^[1]。基于上述变化, 目前对于新生儿 HPH 的治疗采用综合策略, 包括吸入一氧化氮、机械通气以改善氧合和使用诱导肺血管扩张的药物如前列腺素、内皮素受体拮抗剂和磷酸二酯酶抑制剂等^[2-3]。但该治疗方案存在一定的局限性以及不良反应^[4]。因此, 开发新的药物来治疗新生儿 HPH 具有重要意义。

松果菊苷是肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Ma 的主要活性成分, 具有抗氧化、抗炎、抗细胞凋亡、抗肿瘤等多种药理作用^[5]。研究报道, 松果菊苷能够通过调节肺动脉功能抑制 HPH 进展^[6]。抑制蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) /细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) /核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路可改善肺动脉高压大鼠肺血管重塑和心肺损伤^[7], 但松果菊苷能否通过调控 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路影响 HPH 新生大鼠的肺血管重塑尚不明确。本研究旨在探究松果菊苷对 HPH 新生大鼠肺血管重塑的影响以及其作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 7~10 日龄新生 Wistar 大鼠 72 只, 雌雄各半, 体质量 20~30 g, 购自郑州市惠济区华兴实验动物养殖场, 生产许可证号 SCXK (豫) 2019-0002。动物饲养于驻马店市中心医院动物实验室, 12 h 光/12 h 暗循环、温度 25~27 °C、湿度 50%~70%, 自由进食饮水。动物实验经驻马店市中心医院动物伦理委员会批准 (批准号 20-0436)。

1.2 药品与试剂

松果菊苷 (批号 20211208, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自宝鸡市国康生物公司; Akt 激活剂 SC79 (批号 20220806) 购自上海碧云天生物公司; 大花红景天口服液 (国药准字 B20070002, 批号 20211105) 购自西藏藏药集团股份有限公司; 兔源 p-Akt 抗体

(批号 ab38449)、p-ERK1 抗体 (批号 ab131438)、p-NF- κ B p65 抗体 (批号 ab239882)、Akt 抗体 (批号 ab8805)、ERK1 抗体 (批号 ab109282)、NF- κ B p65 抗体 (批号 ab32536)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 抗体 (批号 ab9485)、HRP 标记的山羊抗兔二抗 (批号 ab205718) 均购自英国 Abcam 公司。

1.3 仪器

Ei 生物显微镜 (日本尼康公司); DYCP-31DN 型电泳仪 (北京六一仪器厂); BL-420 型生物信号采集系统 (成都泰盟软件有限公司); FA2204C 型电子分析天平 (上海恒勤仪器设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

按照随机数字表法将 Wistar 新生大鼠随机分为对照组、模型组、大花红景天口服液 (1.78 mL/kg, 阳性对照药物)^[8]组、松果菊苷 (40 mg/kg) + SC79 (0.04 μ g/kg)^[9]组和松果菊苷低、高剂量 (15、40 mg/kg)^[6]组, 每组 12 只。除对照组外, 其余组大鼠参照文献方法^[10]制备 HPH 模型: 在 9.5%~10.5% O₂、温度 22~25 °C、湿度 60%~70%、昼夜比为 12:12 的条件下, 将 Wistar 新生大鼠放入常压低氧舱, 每天缺氧 8 h, 共缺氧 15 d; 对照组大鼠不进行缺氧处理。从缺氧第 1~15 天, 松果菊苷低、高剂量组 ip 松果菊苷, 并 ig 等体积的生理盐水; 大花红景天口服液组 ig 大花红景天口服液, 且 ip 等体积的生理盐水; 松果菊苷+SC79 组 ip 松果菊苷和 SC79, 且 ig 等体积的生理盐水; 对照组和模型组 ip 等体积的生理盐水, 且 ig 等体积的生理盐水, 1 次/d。

2.2 肺动脉压的检测

第 3、7、11、15 天, 各组大鼠 ip 2%戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉后, 利用生物信号采集系统检测各组大鼠肺动脉压。

2.3 右心室肥大指数的检测

末次肺动脉压检测结束后, 大鼠脱颈椎处死, 分离心脏, 去除心房后保留心室组织, 沿心室沟分离右心室、左心室和隔膜, 滤纸吸水后, 分别称定

右心室、左心室和隔膜质量, 计算右心室肥大指数。

右心室肥大指数=右心室质量/(左心室质量+隔膜质量)

2.4 苏木素-伊红 (HE) 染色检测各组大鼠肺血管形态

取各组大鼠肺组织, 于 10% 中性福尔马林缓冲液中固定, 用石蜡包埋制成 5 μm 厚的切片, 进行 HE 染色以评估各组大鼠肺血管形态变化, 根据病理图像分析软件测定肺小动脉中层血管壁厚度、肺小动脉外径、肺小动脉中层横截面积和总横截面积, 计算肺小动脉中层血管壁厚度占肺小动脉外径的百分比 (MT)、肺小动脉中层横截面积占总横截面积的百分比 (MA)。

2.5 Masson 染色检测各组大鼠肺组织纤维化

取各组大鼠肺组织石蜡切片, 用 Weigert 铁苏木素脱蜡染色, 再用丽春红酸性品红染色液染色, 经磷钼酸处理后再用苯胺蓝染色。切片经 1% 冰醋酸处理、乙醇脱水、二甲苯冲洗后, 用中性树脂密封。于光学显微镜下观察每个切片中肺组织纤维化程度, 并评估胶原纤维面积占比。

2.6 Western blotting 检测各组大鼠肺组织中 Akt/ERK/NF-κB 信号通路相关蛋白表达

取各组大鼠肺组织, 加入 RIPA 裂解液, 匀浆

后提取总蛋白, 蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 封闭后分别加入 p-Akt (1:2000)、p-ERK1 (1:2000)、p-NF-κB p65 (1:2000)、Akt (1:1000)、ERK1 (1:1000)、NF-κB p65 (1:1000)、GAPDH (1:2000) 抗体, 4 °C 孵育过夜; 加入二抗 (1:2000), 室温孵育 2 h; 加入 ECL 发光试剂显影, 采用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.7 统计学分析

使用 SPSS 15.0 软件分析数据, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 单因素方差分析用于比较多组之间的差异, 进一步两组间的比较采用 SNK-*q* 检验。

3 结果

3.1 松果菊苷对 HPH 大鼠肺动脉压的影响

如表 1 所示, 第 3、7、11、15 天, 与对照组比较, 模型组大鼠肺动脉压均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组大鼠肺动脉压均显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷低剂量组比较, 松果菊苷高剂量组和大花红景天口服液组大鼠肺动脉压均显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷高剂量组比较, 松果菊苷+SC79 组大鼠肺动脉压显著升高 ($P < 0.05$)。

表 1 松果菊苷对 HPH 大鼠肺动脉压的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of echinacoside on pulmonary arterial pressure of HPH rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量	肺动脉压/mm Hg			
		第 3 天	第 7 天	第 11 天	第 15 天
对照	—	9.36 ± 0.22	10.45 ± 0.24	12.88 ± 0.27	15.06 ± 0.23
模型	—	14.67 ± 0.26*	15.73 ± 0.25*	17.96 ± 0.26*	21.13 ± 0.29*
松果菊苷	15 mg·kg ⁻¹	12.75 ± 0.21 [#]	13.86 ± 0.22 [#]	15.74 ± 0.23 [#]	19.45 ± 0.26 [#]
	40 mg·kg ⁻¹	10.44 ± 0.19 ^{#&}	11.17 ± 0.16 ^{#&}	13.39 ± 0.22 ^{#&}	16.52 ± 0.23 ^{#&}
大花红景天口服液	1.78 mL·kg ⁻¹	10.41 ± 0.20 ^{#&}	11.16 ± 0.15 ^{#&}	13.35 ± 0.23 ^{#&}	16.50 ± 0.24 ^{#&}
松果菊苷+SC79	40 mg·kg ⁻¹ +0.04 μg·kg ⁻¹	12.63 ± 0.18 [@]	13.58 ± 0.17 [@]	15.61 ± 0.24 [@]	19.17 ± 0.26 [@]

1 mm Hg = 133 Pa 与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与松果菊苷低剂量组比较: [&] $P < 0.05$; 与松果菊苷高剂量组比较: [@] $P < 0.05$, 下表同

1 mm Hg = 133 Pa * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs echinacoside low-dose group; [@] $P < 0.05$ vs echinacoside high-dose group, same as below tables

3.2 松果菊苷对 HPH 大鼠右心室肥大指数的影响

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠右心室肥大指数显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组大鼠右心室肥大指数均显著降低 ($P < 0.05$); 松果菊苷低剂量组比较, 松果菊苷高剂量组和大花红景天口服液组大鼠右心室肥大指数显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷高剂量组比较, 松果菊苷+SC79 组大鼠右心室肥大指数显著升高 ($P < 0.05$)。

表 2 松果菊苷对 HPH 大鼠右心室肥大指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of echinacoside on right ventricular hypertrophy index of HPH rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量	右心室肥大指数
对照	—	0.23 ± 0.02
模型	—	0.57 ± 0.05*
松果菊苷	15 mg·kg ⁻¹	0.42 ± 0.03 [#]
	40 mg·kg ⁻¹	0.29 ± 0.02 ^{#&}
大花红景天口服液	1.78 mL·kg ⁻¹	0.27 ± 0.02 ^{#&}
松果菊苷+SC79	40 mg·kg ⁻¹ +0.04 μg·kg ⁻¹	0.38 ± 0.03 [@]

3.3 松果菊苷对 HPH 大鼠肺血管形态及肺血管重塑指标 MT、MA 的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肺小动脉壁明显增厚, 肺小动脉管腔变窄; 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组大鼠肺小动脉壁厚度减小, 肺小动脉管腔变宽; 与松果菊苷高剂量组比较, 松果菊苷+SC79 组大鼠肺小动脉壁增厚, 肺小动脉管腔变窄。

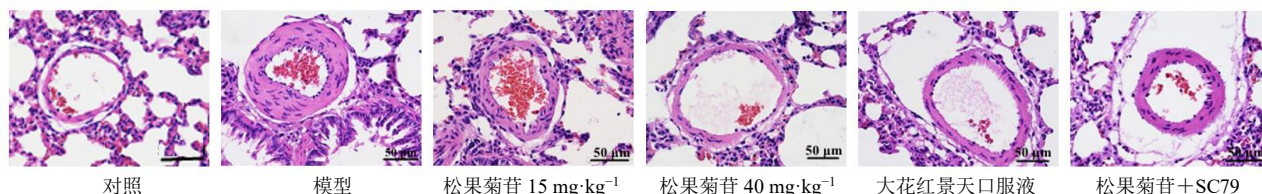


图 1 松果菊苷对 HPH 大鼠肺血管形态的影响 (HE, ×200)

Fig. 1 Effect of echinacoside on morphology of pulmonary blood vessels in HPH rats (HE, × 200)

表 3 松果菊苷对 HPH 大鼠肺血管重塑指标 MT、MA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of echinacoside on pulmonary vascular remodeling indexes MT and MA of HPH rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	MT/%	MA/%
对照	—	51.27±2.13	55.58±2.24
模型	—	68.86±2.11*	76.64±2.58*
松果菊苷	15 mg·kg ⁻¹	62.54±2.17 [#]	69.68±2.33 [#]
	40 mg·kg ⁻¹	53.36±2.26 ^{#&}	58.85±2.14 ^{#&}
大花红景天口服液	1.78 mL·kg ⁻¹	53.32±2.23 ^{#&}	58.76±2.15 ^{#&}
松果菊苷+SC79	40 mg·kg ⁻¹ +0.04 μg·kg ⁻¹	61.15±2.19 [@]	67.73±2.46 [@]

如表 3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠 MT、MA 明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组大鼠 MT、MA 均显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷低剂量组比较, 松果菊苷高剂量组和大花红景天口服液组大鼠 MT、MA 显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷高剂量组比较, 松果菊苷+SC79 组大鼠 MT、MA 显著升高 ($P < 0.05$)。

3.4 松果菊苷对 HPH 大鼠肺组织纤维化的影响

如图 2 和表 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织中有大量胶原沉积, 胶原纤维面积占比明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组大鼠肺组织中胶原沉积有所改善, 胶原纤维面积占比显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷高剂量组比较, 松果菊苷+SC79 组大鼠肺组织中胶原沉积增多, 胶原纤维面积占比明显升高 ($P < 0.05$)。

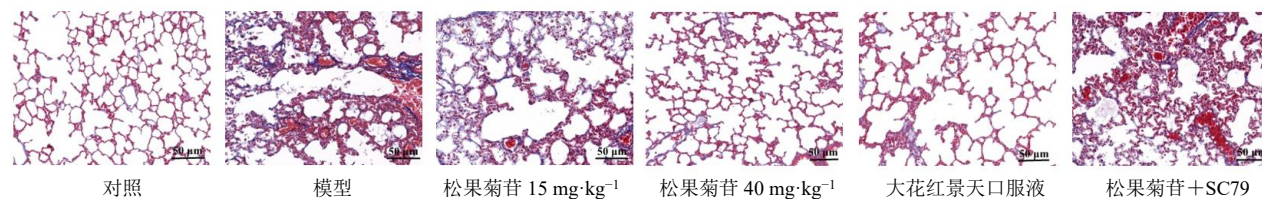


图 2 松果菊苷对 HPH 大鼠肺组织纤维化的影响 (Masson, ×400)

Fig. 2 Effect of echinacoside on fibrosis in lung tissue of HPH rats (Masson, × 400)

表 4 松果菊苷对 HPH 大鼠肺组织胶原纤维面积占比的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of echinacoside on percentage of collagen fibers in lung tissue of HPH rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	胶原纤维面积占比/%
对照	—	3.56±0.24
模型	—	34.45±2.36*
松果菊苷	15 mg·kg ⁻¹	27.76±2.24 [#]
	40 mg·kg ⁻¹	8.69±0.56 ^{#&}
大花红景天口服液	1.78 mL·kg ⁻¹	8.67±0.52 ^{#&}
松果菊苷+SC79	40 mg·kg ⁻¹ +0.04 μg·kg ⁻¹	22.46±2.05 [@]

3.5 松果菊苷对 HPH 大鼠肺组织中 Akt/ERK/NF-κB 信号通路相关蛋白表达的影响

如图 3 和表 5 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织中 p-Akt/Akt、p-ERK1/ERK1 和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 松果菊苷各剂量组和大花红景天口服液组大鼠肺组织中 p-Akt/Akt、p-ERK1/ERK1 和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$); 与松果菊苷低剂量组比较, 松果菊苷高剂量组和大花红景天口服液组大鼠

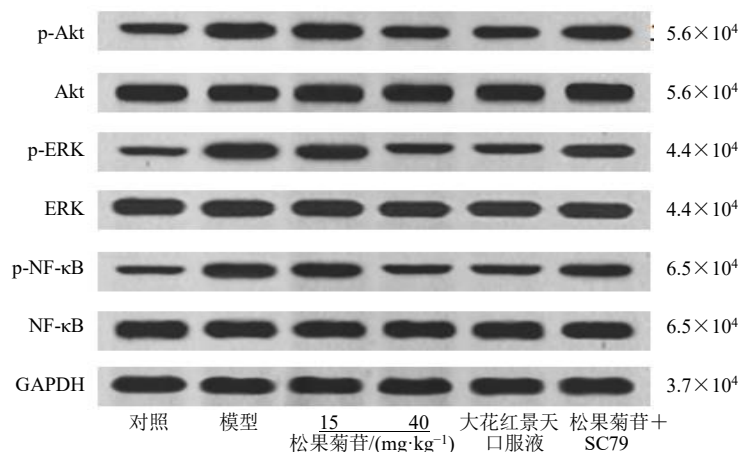


图3 松果菊苷对 HPH 大鼠肺组织中 Akt/ERK/NF-κB 信号通路相关蛋白表达的影响

Fig. 3 Effect of echinacoside on Akt/ERK/NF-κB signaling pathway related protein expressions in lung tissue of HPH rats

表5 松果菊苷对 HPH 大鼠肺组织中 Akt/ERK/NF-κB 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of echinacoside on Akt/ERK/NF-κB signaling pathway related protein expressions in lung tissue of HPH rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量	蛋白相对表达量		
		p-Akt/Akt	p-ERK1/ERK1	p-NF-κB p65/NF-κB p65
对照	—	0.42 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.29 ± 0.02
模型	—	0.95 ± 0.08*	0.89 ± 0.07*	0.84 ± 0.08*
松果菊苷	15 mg·kg ⁻¹	0.82 ± 0.07#	0.77 ± 0.06#	0.73 ± 0.06#
	40 mg·kg ⁻¹	0.56 ± 0.05#&	0.44 ± 0.04#&	0.39 ± 0.03#&
大花红景天口服液	1.78 mL·kg ⁻¹	0.54 ± 0.04#&	0.43 ± 0.04#&	0.38 ± 0.03#&
松果菊苷+SC79	40 mg·kg ⁻¹ +0.04 μg·kg ⁻¹	0.69 ± 0.05@	0.65 ± 0.06@	0.57 ± 0.06@

肺组织中 p-Akt/Akt、p-ERK1/ERK1 和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$)；与松果菊苷高剂量组比较，松果菊苷+SC79 组大鼠肺组织中 p-Akt/Akt、p-ERK1/ERK1 和 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。

4 讨论

新生儿 HPH 是儿童的一种严重肺动脉高压类型，发病率为 0.04%~0.68%^[11]。在以肺血管收缩为特征的新生儿 HPH 的早期阶段，若对症治疗在一定程度上是有效的^[12]。然而，一旦疾病进展为肺血管重塑和右心室肥大，治疗的有效性就会降低，从而导致高死亡率^[13]。因此，制定有效的策略来抑制新生儿 HPH 肺血管重塑和右心室肥大至关重要。据报道，新生儿缺氧可导致肺血管阻力变大，最终引起肺动脉压升高^[14]。本研究通过缺氧处理以诱导 HPH 新生大鼠模型，结果显示，与对照组比较，模型组大鼠肺动脉压升高，提示 HPH 大鼠模型构建成功。缺氧会升高 HPH 小鼠右心室肥大指数，且增加肺组织中胶原纤维的形成^[15]；MT、MA 作为肺血管重塑的指标，在 HPH 新生大鼠肺组织中异常升高^[16]。本研究发现，与对照组比较，模型组大鼠右

心室肥大指数升高，肺组织中 MT、MA 及胶原纤维面积所占百分比升高，提示 HPH 新生大鼠肺血管重塑及肺组织纤维化严重。

研究发现，松果菊苷可抑制去甲肾上腺素诱导的大鼠肺动脉高压^[17]。本研究结果与其一致，松果菊苷可降低 HPH 新生大鼠肺动脉压及右心室肥大指数，抑制肺血管重塑及肺组织纤维化，且呈剂量相关性，提示松果菊苷可能通过抑制肺血管重塑对 HPH 新生大鼠发挥保护作用。

抑制 Akt 通过下调依赖于 ERK 的 NF-κB 信号通路可有效改善机体的炎症反应^[18]。据报道，抑制 Akt/ERK/NF-κB 信号通路可改善小鼠脂多糖诱导的急性肺损伤^[19]；抑制 Akt/ERK 通路可有效改善肺动脉高压大鼠的肺血管重塑^[20]；抑制 NF-κB 活化可以减轻缺氧诱导的小鼠肺动脉高压^[21]。以上研究表明抑制 Akt/ERK/NF-κB 信号通路可发挥对肺组织的保护作用以及对肺动脉高压的抑制作用。本研究结果显示，与对照组比较，模型组大鼠肺组织中 p-Akt、p-ERK1、p-NF-κB p65 蛋白表达升高，表明 Akt/ERK/NF-κB 信号通路可能参与了 HPH 新生大鼠肺血管重塑过程；各剂量的松果菊苷均可降低

HPH 大鼠肺组织中 p-Akt、p-ERK1、p-NF- κ B p65 蛋白表达水平,且呈剂量相关性,推测松果菊苷可能通过抑制 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路抑制 HPH 新生大鼠肺血管重塑。为了验证该推测,本研究在给予高剂量松果菊苷处理的基础上再加上 Akt 激活剂 SC79 干预 HPH 新生大鼠,结果显示,SC79 减弱了高剂量松果菊苷对 HPH 新生大鼠肺血管重塑的抑制作用,证明松果菊苷通过抑制 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路抑制 HPH 新生大鼠肺血管重塑。

综上所述,松果菊苷能够通过抑制 Akt/ERK/NF- κ B 信号通路抑制 HPH 新生大鼠肺血管重塑。松果菊苷可能成为临床上治疗新生儿 HPH 的潜在药物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Huang W J, Liu N, Tong X, *et al.* Sildenafil protects against pulmonary hypertension induced by hypoxia in neonatal rats via activation of PPAR γ -mediated downregulation of TRPC [J]. *Int J Mol Med*, 2022, 49(2): 19.
- [2] Lai M Y, Chu S M, Lakshminrusimha S, *et al.* Beyond the inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn [J]. *Pediatr Neonatol*, 2018, 59(1): 15-23.
- [3] Wedgwood S, Steinhorn R H, Lakshminrusimha S. Optimal oxygenation and role of free radicals in PPHN [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 142: 97-106.
- [4] Abdelkreem E, Mahmoud S M, Aboelez M O, *et al.* Nebulized magnesium sulfate for treatment of persistent pulmonary hypertension of newborn: A pilot randomized controlled trial [J]. *Indian J Pediatr*, 2021, 88(8): 771-777.
- [5] Gai X Y, Wei Y H, Zhang W, *et al.* Echinacoside induces rat pulmonary artery vasorelaxation by opening the NO-cGMP-PKG-BKCa channels and reducing intracellular Ca²⁺ levels [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(5): 587-596.
- [6] Gai X Y, Lin P C, He Y F, *et al.* Echinacoside prevents hypoxic pulmonary hypertension by regulating the pulmonary artery function [J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 144(4): 237-244.
- [7] Yan G S, Wang J X, Yi T, *et al.* Erratum: "Baicalin prevents pulmonary arterial remodeling *in vivo* via the AKT/ERK/NF- κ B signaling pathways" [J]. *Pulm Circ*, 2022, 12(3): e12122.
- [8] 刘洋, 罗兰, 代红燕, 等. 松果菊苷对低氧性肺动脉高压大鼠血管生长因子的影响 [J]. *中南药学*, 2016, 14(3): 263-266.
- [9] 李晓丹, 王强. 补肺颗粒通过调控 Akt 通路对慢阻肺大鼠肺组织自噬和凋亡的影响 [J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2020, 41(6): 904-910.
- [10] 曹静, 罗佳媛, 吴典, 等. 血管内皮生长因子 A 对缺氧性肺动脉高压新生大鼠肺血管重塑的影响及其机制研究 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2021, 23(1): 103-110.
- [11] Cao J, Yang L J, Wang L, *et al.* Heat shock protein 70 attenuates hypoxia-induced apoptosis of pulmonary microvascular endothelial cells isolated from neonatal rats [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(4): 690.
- [12] Distefano G, Sciacca P. Molecular physiopathogenetic mechanisms and development of new potential therapeutic strategies in persistent pulmonary hypertension of the newborn [J]. *Ital J Pediatr*, 2015, 41: 6.
- [13] Hudalla H, Michael Z, Christodoulou N, *et al.* Carbonic anhydrase inhibition ameliorates inflammation and experimental pulmonary hypertension [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 61(4): 512-524.
- [14] 吴晓宁, 许桂凤. 多巴胺联合西地那非治疗新生儿肺动脉高压的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(5): 572-575.
- [15] 刘坤珍, 王乐, 李明霞. 热休克蛋白 70 对缺氧性肺动脉高压新生大鼠肺血管重塑的作用研究 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(2): 152-158.
- [16] Ni Y J, Deng J, Liu X, *et al.* Echinacoside reverses myocardial remodeling and improves heart function via regulating SIRT1/FOXO3a/MnSOD axis in HF rats induced by isoproterenol [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(1): 203-216.
- [17] Santos L A M D, Rodrigues G B, Mota F V B, *et al.* New thiazolidinedione LPSF/GQ-2 inhibits NF- κ B and MAPK activation in LPS-induced acute lung inflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 57: 91-101.
- [18] Jiang K F, Guo S, Yang C, *et al.* Barbaloin protects against lipopolysaccharide (LPS)-induced acute lung injury by inhibiting the ROS-mediated PI3K/AKT/NF- κ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 64: 140-150.
- [19] Lee H C, Liu F C, Tsai C N, *et al.* Esculetin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via modulation of the AKT/ERK/NF- κ B and ROR γ t/IL-17 pathways [J]. *Inflammation*, 2020, 43(3): 962-974.
- [20] Cheng C C, Chi P L, Shen M C, *et al.* Caffeic acid phenethyl ester rescues pulmonary arterial hypertension through the inhibition of AKT/ERK-dependent PDGF/HIF-1 α *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): E1468.
- [21] Chen M X, Ding Z Y, Zhang F Y, *et al.* A20 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension by inhibiting NF- κ B activation and pulmonary artery smooth muscle cell proliferation [J]. *Exp Cell Res*, 2020, 390(2): 111982-111991.

[责任编辑 李亚楠]