

朱文亮,黄晓佩,邱实,等. 红景天苷对小鼠高氧肺损伤的保护作用及对 Notch 信号通路的调节机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(6): 62-68.

Zhu WL, Huang XP, Qiu S, et al. Protective effect of salidroside on hyperoxic lung injury in mice and regulatory mechanism of Notch signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(6): 62-68.

doi: 10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 06. 010

红景天苷对小鼠高氧肺损伤的保护作用及对 Notch 信号通路的调节机制研究

朱文亮,黄晓佩,邱 实,冯凌霄,邵换璋*

(河南省人民医院 重症医学部,郑州 450000)

【摘要】 目的 观察红景天苷对小鼠高氧肺损伤模型的保护作用,并初步探究其作用机制。方法 将 50 只 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照组、模型组、阳性对照组(10 mg/kg 地塞米松)、红景天苷高剂量组(50 mg/kg)和低剂量组(25 mg/kg)。除正常对照组外,其余各组小鼠均通过持续 3 d 暴露于高氧环境中建立高氧肺损伤模型。检测各组小鼠肺组织湿干重比(W/D)和血氧分压(PaO₂),HE 染色观察肺组织病理学变化,ELISA 试剂盒检测肺组织 TNF-α、IL-1β、IL-6、MDA 含量和 SOD 活力,Western blot 法和 qRT-PCR 法检测肺组织 Notch1、HERP、HES1 蛋白和 mRNA 表达水平。结果 与正常对照组比较,模型组肺组织 W/D 值升高,PaO₂ 水平降低,肺组织结构紊乱,肺泡壁增厚,炎症浸润和胶原蛋白沉积明显,肺组织 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量升高,SOD 活力降低,MDA 含量增加,Notch1、HERP、HES1 mRNA 和蛋白表达降低($P<0.05$)。与模型组比较,红景天苷高剂量组、低剂量组小鼠肺组织 W/D 值显著降低,PaO₂ 水平显著升高,红景天苷高剂量组小鼠肺组织肺泡结构基本正常,炎症细胞和胶原蛋白沉积较少,肺组织炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量降低,SOD 活力增加,MDA 含量降低,肺组织中 Notch1、HERP、HES1 蛋白和 mRNA 表达水平升高($P<0.05$)。高剂量红景天苷的作用与阳性对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 红景天苷对小鼠高氧诱导型肺损伤具有保护作用,其作用机制可能与 Notch 信号通路的表达变化有关。

【关键词】 肺损伤;高氧;红景天苷;Notch 信号通路;小鼠

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2021) 06-0062-07

Protective effect of salidroside on hyperoxic lung injury in mice and regulatory mechanism of Notch signaling pathway

ZHU Wenliang, HUANG Xiaopei, QIU Shi, FENG Lingxiao, SHAO Huanzhang*

(Department of Critical Care Medicine, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the protective effect of salidroside on the mouse model of hyperoxic lung injury and to explore its mechanism of action. **Methods** Fifty C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group, model group, positive control group (10 mg/kg dexamethasone), high-dose salidroside group (50 mg/kg) and low-dose salidroside group (25 mg/kg). All mice except those in the normal control group were exposed to hyperoxia for 3 days to establish a model of hyperoxic lung injury. The wet/dry weight (W/D) ratio and partial pressure of arterial oxygen (PaO₂) of the lung tissues were measured in each group of mice. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the pathological changes in the lung tissues of the mice. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were used to detect the content

【基金项目】2019 年度河南省卫生健康科技英才海外研修工程(HWYX2019109)。

【作者简介】朱文亮(1984—),男,硕士,研究方向:危重症及围术期患者的救治。E-mail:x235ue@163.com

【通信作者】邵换璋(1971—),女,博士,主任医师,研究方向:危重症。E-mail:zhenglei2234@163.com

of TNF- α , IL-1 β , IL-6, MDA and SOD activity of lung tissues. Western blot and real-time quantitative polymerase chain reaction were used to detect Notch1, HERP, and HES1 protein and mRNA expression levels. **Results** Compared with the normal control group, the W/D value of lung tissues in the model group increased, PaO₂ level decreased, lung tissue structure was disordered, alveolar wall thickened, inflammation infiltration and collagen deposition were obvious, TNF- α , IL-1 β , IL-6 content of the lung tissues increased, SOD activity decreased, MDA content increased, Notch1, HERP, HES1 mRNA and protein expression decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the W/D value of the lung tissues of the mice in salidroside high-dose group and the low-dose group was significantly reduced, and the PaO₂ level was significantly increased. The lung tissue alveolar structure of the mice in the high-dose salidroside group was basically normal and inflammation cells and collagen deposits were less, the inflammatory factors TNF- α , IL-1 β , IL-6 content of the lung tissues decreased, SOD activity increased, MDA content decreased, and the expression levels of Notch1, HERP, HES1 protein and mRNA in lung tissues increased ($P<0.05$). Compared with the positive control group, the effect of high-dose salidroside was not statistically different ($P>0.05$). **Conclusions** Salidroside has a protective effect against hyperoxia-induced lung injury in mice, and its mechanism of action may be related to changes in the expression of the Notch signaling pathway.

【Keywords】 lung injury; hyperoxia; salidroside; Notch signaling pathway; mice

目前,氧疗是临床治疗危重症患者的重要疗法之一,高浓度氧疗常与机械通气联合用于重症患者急救过程,为患者争取抢救时间,然而长时间暴露于高氧环境下可诱发机体出现氧化应激和炎症反应,促使细胞凋亡,从而诱发和加重肺损伤,即高氧肺损伤(hyperoxia-induced lung injury),增加患者死亡率^[1-2]。高氧肺损伤的病因和发病机制复杂,研究证明,高氧肺损伤与 MAPK 信号通路、P13K/Akt 信号通路、Notch 信号通路等多个信号通路有关^[3-5]。Notch 信号通路在细胞信号传递中起重要作用,与肺组织发育过程中肺上皮细胞分化活动也密切相关,研究表明高氧治疗可诱导 Notch1、Notch2、HERP 及 HES1 等蛋白表达降低,Notch 信号通路是高氧治疗驱动成纤维细胞活化和增殖的关键^[6]。红景天苷为中药材红景天的主要活性成分,具有抗氧化应激、抗炎、抗纤维化、抗衰老、抗肿瘤和降糖降脂等药理作用,对各种原因引起的肺损伤亦具有保护作用,可降低实验动物肺组织和肺泡灌洗液中炎症因子含量,抑制氧化应激损伤^[7]。目前,虽已有研究证明红景天苷对肺损伤具有保护作用,但红景天苷在高氧肺损伤中的作用研究较少,其作用机制尚不清楚,因此,本研究以 Notch 信号通路为切入点,探究红景天苷对高氧诱导的小鼠肺损伤模型的保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

C57BL/6 小鼠 50 只,SPF 级,雌雄各半,6~8 周龄,体重 18~22 g,由河南省实验动物中心提供

[SCXK(豫)2017-0001],实验于河南省实验动物中心实验室独立动物房[SYXK(豫)2016-0002]进行。研究方案获本院伦理委员会批准(HNSRMYY2019002),实验严格遵循实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

地塞米松磷酸钠注射液(天津天药药业股份有限公司,批号:170123);红景天苷(纯度 $\geq 98\%$,南京泽朗生物科技有限公司,批号 20181108);Notch1、HERP、Hes1 兔源单克隆抗体、羊抗兔二抗(美国 CST 公司,批号:3608、26730、11988、7074);实验所需耗材均购自北京索莱宝科技有限公司。倒置显微镜(日本 OLYMPUS 公司);血气分析仪(美国 Instrumentation Laboratory Company);氧气浓度分析仪(北京世联博研科技有限公司);二氧化碳监测仪(北京中创汇安科贸有限公司);PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司);凝胶成像仪(美国 Syngene 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组与造模

将 50 只 C57BL/6 小鼠随机分为 5 组,每组 10 只。模型组、阳性对照组、红景天苷高、低剂量组小鼠均建立高氧肺损伤模型。造模方法:将小鼠置于自制密闭氧气舱内,氧舱连接输氧管、氧气浓度分析仪和二氧化碳监测仪,箱内放置钠石灰用以吸收小鼠呼出的 CO₂,保持箱内 CO₂ 浓度低于 0.5%,调节氧气流量,使氧舱内氧浓度高于 95%,模型组、阳性对照组、红景天苷高剂量组和低剂量组小鼠均持续暴露于氧气舱内 3 d,正常对照组小鼠暴露于室内

空气中^[8]。

1.3.2 给药方法

造模第 2 天开始给药。根据文献^[9]及预实验结果确定各组小鼠给药剂量,红景天苷高剂量组和低剂量组小鼠分别采用 50 mg/kg、25 mg/kg 的红景天苷溶液(临用前用蒸馏水配置)灌胃,阳性对照组采用 10 mg/kg 地塞米松注射液灌胃。正常对照组和模型组小鼠灌胃等量生理盐水。各组小鼠均每天给药 1 次,连续 7 d。

1.3.3 肺湿干重比(W/D)和血氧分压(PaO₂)

处死小鼠,分离其右上肺叶,记录湿重(W),随后放入 80℃ 恒温干燥箱烘干,24 h 后称重,记为干重(D),湿重与干重之比即为 W/D。收集各组小鼠外周动脉血,采用血气分析仪检测小鼠血氧分压(PaO₂)。

1.3.4 HE 染色

肺组织 4%多聚甲醛固定,制作石蜡组织切片,常规脱蜡复水,行 HE 染色观察小鼠肺组织病理变化。

1.3.5 ELISA 检测

取小鼠肺组织,剪碎后置于组织研磨器中,加入预冷 PBS 缓冲液于冰盒上研磨成匀浆,10 000 r/min 离心 10 min,吸取上清即为待测样品,严格按照试剂盒说明书检测 TNF-α、IL-1β、IL-6、MDA 含量和 SOD 活性。

1.3.6 SOD 活性和 MDA 含量测定

取小鼠肺组织,剪碎后置于组织研磨器中,加入预冷 PBS 缓冲液于冰盒上研磨成匀浆,10 000 r/min 离心 10 min,吸取上清即为待测样品,-80℃ 保存。①SOD 活性检测:取待测样品 20 μL,依次加入 SOD 检测缓冲液、WST-8 工作液和反应启动工作液,37℃ 孵育 30 min,450 nm 波长测吸光度(A)值,根据标准曲线计算待测样品的 SOD 酶活力(U/mg)。②MDA 含量检测:取待测样品 100 μL,加入工作液、蒸馏水和待测样品,置 100℃ 水浴中孵育 60 min,冷却后 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,测定各组样品 450 nm、532 nm 和 600 nm 处 A 值,计算 $\Delta A_{450} = A_{450\text{测定}} - A_{450\text{空白}}$, $\Delta A_{532} = A_{532\text{测定}} - A_{532\text{空白}}$, $\Delta A_{600} = A_{600\text{测定}} - A_{600\text{空白}}$, MDA 含量(nmol/mg) = $5 \times [12.9 \times (\Delta A_{532} - \Delta A_{600}) - 2.58 \times \Delta A_{450}]$ 。

1.3.7 Western blot

取小鼠肺组织,BCA 法确定样品的蛋白浓度,按照每孔 30 μg 的上样量进行 SDS-PAGE 凝胶电泳

分离蛋白,电转至 PVDF 膜,将 PVDF 膜放入各一抗稀释液(1:1 000)中 4℃ 孵育过夜,TBST 清洗后放入二抗(1:2 000)中 37℃ 孵育 2 h,洗膜,加发光液,置凝胶成像系统进行曝光,计算目的蛋白灰度值,并计算蛋白的相对表达量(蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度值 / GAPDH 蛋白灰度值)。

1.3.8 qRT-PCR

提取各组小鼠肺组织总 RNA,逆转录成 cDNA,按照说明书进行 PCR 扩增。PCR 引物序列见表 1。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 25.0 统计软件分析数据,实验重复 3 次,计量资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本比较采用单因素方差分析,两样本比较采用 SNK-q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 红景天苷对肺组织 W/D 值和 PaO₂ 水平的影响

模型组、阳性对照组、红景天苷高剂量组和低剂量组小鼠肺组织 W/D 值显著高于正常对照组,PaO₂ 水平显著低于正常对照组;阳性对照组、红景天苷高、低剂量组小鼠肺组织 W/D 值显著低于模型组,PaO₂ 水平显著高于模型组($P < 0.05$);与阳性对照组比较,红景天苷高剂量组小鼠肺组织 W/D 值和 PaO₂ 水平差异无统计学意义($P > 0.05$),红景天苷低剂量组小鼠肺组织 W/D 值升高,PaO₂ 水平降低($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 红景天苷对小鼠肺组织病理学形态的影响

正常对照组小鼠肺组织结构正常。模型组小鼠肺组织结构紊乱,肺泡壁明显增厚,失去正常形态,并存在明显炎症浸润现象,肺间质可见胶原蛋白沉淀;与模型组比较,阳性对照组、红景天苷高剂量组小鼠肺组织病变得显著改善,炎症细胞浸润和胶原蛋白沉积的现象相对较少,红景天苷低剂量组小鼠肺泡结构基本完整,但肺泡壁增厚明显,肺组织间仍存在大量的炎症细胞。见图 1。

2.3 红景天苷对肺组织 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量的影响

模型组、阳性对照组、红景天苷高、低剂量组小鼠肺组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量均高于正常对照组($P < 0.05$);阳性对照组、红景天苷高、低剂量组 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量均显著低于模型组($P < 0.05$);与阳性对照组比较,红景天苷高剂量组 TNF-α、

IL-1β、IL-6 含量差异无统计学意义 ($P>0.05$), 红景天苷低剂量组 TNF-α、IL-1β、IL-6 的含量有所增加 ($P<0.05$)。见表 3。

2.4 红景天苷对肺组织 SOD 活性和 MDA 含量的影响

模型组、阳性对照组、红景天苷高、低剂量组小鼠肺组织中 SOD 活性均低于正常对照组, MDA 含量均高于正常对照组 ($P<0.05$); 阳性对照组、红景天苷高、低剂量组 SOD 活性显著高于模型组, MDA 含量显著低于模型组 ($P<0.05$); 红景天苷高剂量组

小鼠肺组织 SOD 活性和 MDA 含量与阳性对照组比较无显著差异 ($P>0.05$); 与阳性对照组比较, 红景天苷低剂量组小鼠肺组织 SOD 活性降低, MDA 含量增加 ($P<0.05$)。见表 4。

2.5 红景天苷对肺组织 Notch1、HERP、HES1 蛋白表达的影响

模型组、阳性对照组、红景天苷高、低剂量组小鼠肺组织 Notch1、HERP、HES1 蛋白表达均低于正常对照组 ($P<0.05$); 阳性对照组、红景天苷高剂量组和低剂量组小鼠肺组织 Notch1、HERP、HES1 蛋

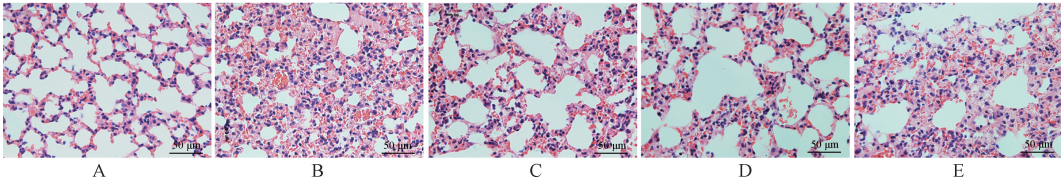
表 1 基因引物序列
Table 1 Primer sequences of genes

基因 Gene name	正向引物(5'-3') Former primer	反向引物(5'-3') Reverse primer
Notch1	TCAGCGGGATCCACTGTGAG	ACACAGGCAGGTGAACGAGTTG
HES1	TGATTTTGGATGCTCTGAAGAAAGATA	GCTGCAGGTTCGCGAGGT
HERP	CACCTGAGCCGAGTCTACC	GTGATCCAACAGCAGCTTCC
GAPDH	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	TGGTGAAGACGCCAGTGGA

表 2 各组小鼠肺组织 W/D 值和 PaO₂ 水平的比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 2 Comparison of W/D value and PaO₂ level of lung tissues of mice in each group

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	肺组织湿干重比 W/D	血氧分压 (mmHg) PaO ₂
正常对照组 Normal control	/	4.81±0.32	123.65±9.61
模型组 Model	/	10.13±0.52 [*]	68.76±9.14 [*]
阳性对照组 Positive control	10	5.96±0.39 ^{**}	115.27±5.36 ^{**}
红景天苷高剂量组 Salidroside high-dose	50	5.85±0.45 ^{**}	113.12±6.81 ^{**}
红景天苷低剂量组 Salidroside low-dose	25	8.36±0.43 ^{**#Δ}	88.97±7.52 ^{**#Δ}
F 值 F value	/	13.65	21.54
P 值 P value	/	<0.01	<0.01

注: 与正常对照组比较, ^{*} $P<0.05$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$; 与阳性对照组比较, ^Δ $P<0.05$ 。下同。
Note. Compared with the normal control group, ^{*} $P<0.05$. Compared with the model group, [#] $P<0.05$. Compared with the positive control group, ^Δ $P<0.05$. The same as below.



注: A: 正常对照组; B: 模型组; C: 阳性对照组; D: 红景天苷高剂量组; E: 红景天苷低剂量组。

图 1 各组小鼠肺组织病理学形态比较

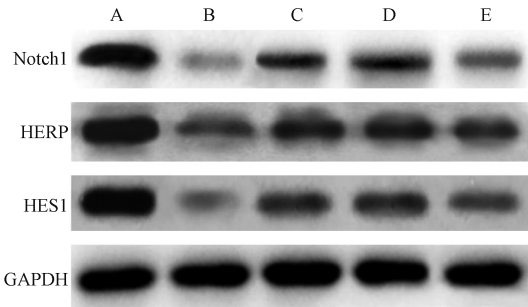
Note. A, Normal control group. B, Model group. C, Positive control group. D, Salidroside high-dose group. E, Salidroside low-dose group.

Figure 1 Comparison of histopathological morphology of the lungs of mice in each group

表 3 各组小鼠肺组织中炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Comparison of the levels of inflammatory factors TNF-α, IL-1β and IL-6 in the lung tissues of mice in each group

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	TNF-α (ng/mL)	IL-1β (pg/mL)	IL-6 (ng/mL)
正常对照组 Normal control	/	5.88±1.25	12.33±2.01	18.61±2.15
模型组 Model	/	82.55±6.27 [*]	62.63±4.25 [*]	145.25±8.11 [*]
阳性对照组 Positive control	10	32.41±3.25 ^{**}	20.55±2.54 ^{**}	58.84±5.24 ^{**}
红景天苷高剂量组 Salidroside high-dose	50	33.54±3.39 ^{**}	21.26±2.87 ^{**}	59.97±5.39 ^{**}
红景天苷低剂量组 Salidroside low-dose	25	63.28±4.96 ^{**#Δ}	35.12±3.44 ^{**#Δ}	101.52±7.54 ^{**#Δ}
F 值 F value	/	24.26	19.72	13.58
P 值 P value	/	<0.01	<0.01	<0.01



注:A:正常对照组;B:模型组;C:阳性对照组;D:红景天苷高剂量组;E:红景天苷低剂量组。

图2 Western blot 法检测各组小鼠肺组织中 Notch 信号通路相关蛋白表达情况

Note. A, Normal control group. B, Model group. C, Positive control group. D, Salidroside high-dose group. E, Salidroside low-dose group.

Figure 2 Western blot method to detect the expressions of Notch signaling pathway related proteins in the lung tissues of each group of mice

白表达均高于模型组 ($P<0.05$);与阳性对照组比较,红景天苷高剂量组 Notch1、HERP、HES1 蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$),红景天苷低剂量组 Notch1、HERP、HES1 蛋白表达降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。见图 2,表 5。

2.6 红景天苷对肺组织 Notch1、HERP、HES1 mRNA 表达水平的影响

模型组、阳性对照组、红景天苷高、低剂量组小鼠肺组织 Notch1、HERP、HES1 mRNA 表达均低于正常对照组 ($P<0.05$);阳性对照组、红景天苷高剂量组和低剂量组小鼠肺组织 Notch1、HERP、HES1 mRNA 表达均高于模型组 ($P<0.05$);与阳性对照组比较,红景天苷高剂量组 Notch1、HERP、HES1 mRNA 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$),红景天苷低剂量组 Notch1、HERP、HES1 mRNA 表达降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 6。

表 4 各组小鼠肺组织 SOD 活性和 MDA 含量比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Comparison of SOD activity and MDA content in lung tissues of mice in each group

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
正常对照组 Normal control	/	60.65±4.65	12.25±2.47
模型组 Model	/	28.95±3.49 *	31.89±3.18 *
阳性对照组 Positive control	10	51.21±4.99 **	16.48±2.54 **
红景天苷高剂量组 Salidroside high-dose	50	49.98±6.15 **	15.99±2.01 **
红景天苷低剂量组 Salidroside low-dose	25	39.73±3.82 **△	24.76±2.69 **△
F 值 F value	/	14.19	13.85
P 值 P value	/	<0.01	<0.01

表 5 各组小鼠肺组织中 Notch 信号通路蛋白相对表达水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Comparison of relative expression levels of Notch signaling pathway proteins in lung tissues of mice in each group

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	Notch1	HERP	HES1
正常对照组 Normal control	/	0.99±0.08	1.05±0.09	1.09±0.08
模型组 Model	/	0.22±0.03 *	0.39±0.03 *	0.29±0.03 *
阳性对照组 Positive control	10	0.62±0.05 **	0.71±0.05 **	0.54±0.05 **
红景天苷高剂量组 Salidroside high-dose	50	0.59±0.04 **	0.69±0.06 **	0.57±0.04 **
红景天苷低剂量组 Salidroside low-dose	25	0.38±0.03 **△	0.50±0.04 **△	0.38±0.03 **△
F 值 F value	/	10.68	11.88	21.67
P 值 P value	/	<0.01	<0.01	<0.01

表 6 各组小鼠肺组织中 Notch1、HERP、HES1 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Comparison of Notch1, HERP and HES1 mRNA expression levels in lung tissues of mice in each group

组别 Groups	剂量 (mg/kg) Dose	Notch1	HERP	HES1
正常对照组 Normal control	/	1.75±0.15	0.95±0.09	0.81±0.06
模型组 Model	/	1.01±0.11 *	0.38±0.02 *	0.25±0.02 *
阳性对照组 Positive control	10	1.62±0.13 **	0.75±0.04 **	0.66±0.05 **
红景天苷高剂量组 Salidroside high-dose	50	1.59±0.18 **	0.70±0.08 **	0.68±0.04 **
红景天苷低剂量组 Salidroside low-dose	25	1.23±0.09 **△	0.48±0.03 **△	0.39±0.02 **△
F 值 F value	/	11.95	22.38	16.43
P 值 P value	/	<0.01	<0.01	<0.01

3 讨论

在临床治疗中,氧疗是必不可少的急救措施,但长时间暴露在高浓度氧环境下可引起氧中毒,使肺组织产生并释放大炎症细胞介质,同时使机体呈现氧化应激状态,肺泡毛细血管通透性增加,最终发展为不可逆损伤^[10]。Notch 信号通路是一种高度保守的传导途径,在肺稳态、肺损伤和修复过程中起关键作用,尤其与慢性阻塞性肺疾病(COPD)、哮喘、肺纤维化、肺动脉高压(PAH)、肺癌等多种肺部疾病的发病机制密切相关^[11]。Bai 等^[5]研究发现,增强 Notch1 和 HERP 表达可抑制高氧诱导的 II 型肺泡上皮细胞凋亡和氧化应激损伤,抑制活性氧的产生。研究证明,红景天苷具有抗衰老、抗炎、抗氧化、抗癌和保肝特性,同时具有高效低毒的特点^[12]。Lan 等^[13]研究发现,红景天苷通过上调 SIRT1 抑制 NF- κ B/HMGB1 途径预防并减轻败血症诱导的小鼠急性肺损伤,改善肺水肿和脂质过氧化,降低死亡率。然而,红景天苷对高氧诱导的小鼠肺损伤是否具有保护和治疗作用尚不清楚,仍需进一步探讨。

肺损伤是临床急性呼吸衰竭的重要因素,目前比较公认的病因是肺内炎症因子释放增加,损伤肺泡上皮细胞和血管内皮细胞,触发氧化应激反应,导致肺功能受损、低氧合、高生理死腔,进而发展为呼吸衰竭^[14]。Lu 等^[15]研究证明,红景天苷可降低脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤模型 W/D 值,改善肺组织病理学改变,显著抑制 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症因子的产生。本研究发现,红景天苷可显著降低小鼠肺组织 W/D,升高 PaO₂ 水平,降低肺组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的含量,同时显著改善小鼠肺组织病理学改变,其中红景天苷高剂量组和阳性对照组小鼠肺组织肺泡结构基本正常,仅有少量炎症细胞浸润,几乎无胶原蛋白沉淀。在肺损伤中,炎症反应和氧化应激反应是其基本病理过程^[16]。陈少忠等^[17]研究发现,红景天苷注射液能够增加脓毒性休克肺损伤大鼠抗氧化酶的活性,减少脂过氧化产物的生成,提高机体抗氧化应激的能力。本研究显示,红景天苷可提高肺组织 SOD 活性,降低 MDA 含量,且高剂量红景天苷的作用与阳性药物的作用比较无显著差异,表明高剂量红景天苷对小鼠高氧肺损伤具有保护作用,可显著抑制氧化应激反应。

肺损伤的发病机制复杂,有研究证明,Notch 信号通路在肺损伤的发生发展进程中具有重要的调控作用^[18]。马建齐等^[19]研究发现,姜黄素通过抑制 Notch2 和 HES1 的表达减轻脓毒症大鼠急性肺损伤的炎症反应。但邓健^[20]研究发现,高氧暴露可使 Notch1、HERP、HES1 表达下调,肺组织出现相应的病理损伤,促进 Notch 信号通路的表达则可发挥药物对高氧肺损伤的保护作用。本研究结果显示,红景天苷可增加高氧诱导型小鼠肺损伤模型 Notch 信号通路 Notch1、HERP、HES1 蛋白和 mRNA 表达水平,与阳性对照组比较,红景天苷高剂量组 Notch1、HERP、HES1 的表达水平差异无统计学意义,表明红景天苷可能通过调控高氧肺损伤模型 Notch 信号通路的表达达到肺损伤的保护作用。另外,已有毒理学研究证明,红景天苷在动物实验中未出现遗传毒性,副作用低,安全性良好,对呼吸系统具有显著保护作用,是临床治疗急性肺损伤的潜在单体药物,具有广阔的应用前景^[21]。

综上所述,红景天苷能够减轻高氧诱导的小鼠肺损伤,其机制可能与 Notch 信号通路表达变化有关。

参考文献:

- [1] Girardis M, Busani S, Damiani E, et al. Effect of conservative vs conventional oxygen therapy on mortality among patients in an intensive care unit: the oxygen-ICU randomized clinical trial [J]. JAMA, 2016, 316(15): 1583-1589.
- [2] Page D, Ablordeppey E, Wessman BT, et al. Emergency department hyperoxia is associated with increased mortality in mechanically ventilated patients: a cohort study [J]. Crit Care, 2018, 22(1): 9.
- [3] Zhao S, Luo G, Wu H, et al. Placental growth factor gene silencing mitigates the epithelial-to-mesenchymal transition via the p38 MAPK pathway in rats with hyperoxia-induced lung injury [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(6): 4867-4874.
- [4] Cao H, Feng Y, Ning Y, et al. Edaravone protects rats and human pulmonary alveolar epithelial cells against hyperoxia injury: heme oxygenase-1 and PI3K/Akt pathway may be involved [J]. Exp Lung Res, 2015, 41(7): 404-414.
- [5] Bai YX, Fang F, Jiang JL, et al. Extrinsic calcitonin gene-related peptide inhibits hyperoxia-induced alveolar epithelial type II cells apoptosis, oxidative stress, and reactive oxygen species (ROS) production by enhancing Notch 1 and homocysteine-induced endoplasmic reticulum protein (HERP) expression [J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 5774-5782.
- [6] Huang J, Chen Y, Li J, et al. Notch-1 confers chemoresistance in lung adenocarcinoma to Taxanes through AP-1/microRNA-451 mediated regulation of MDR-1 [J]. Mol Ther Nucleic Acids,

2016, 5(10): e375.

[7] 黄倩, 蔡艳春, 危晓莉, 等. 人工合成红景天苷对大鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. 生理学报, 2017, 69(3): 291-297.

[8] 刘国跃, 牟胜旭, 陈森, 等. 一种简便可控的高氧急性肺损伤模型的建立方法 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(1): 27-32.

[9] 林文宏, 卢海燕, 卢沛珠, 等. 红景天苷对流感病毒感染小鼠血清和肺组织炎症因子及免疫指标的影响 [J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(2): 292-296.

[10] Harijith A, Pendyala S, Ebenezer DL, et al. Hyperoxia-induced p47phox activation and ROS generation is mediated through S1P transporter Spns2, and S1P/S1P1&2 signaling axis in lung endothelium [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2016, 311(2): 337-351.

[11] Zong D, Ouyang R, Li J, et al. Notch signaling in lung diseases: focus on Notch1 and Notch3 [J]. Ther Adv Respir Dis, 2016, 10(5): 468-484.

[12] Zhong Z, Han J, Zhang J, et al. Pharmacological activities, mechanisms of action, and safety of salidroside in the central nervous system [J]. Drug Des Devel Ther, 2018, 12: 1479-1489.

[13] Lan KC, Chao SC, Wu HY, et al. Salidroside ameliorates sepsis-induced acute lung injury and mortality via downregulating NF- κ B and HMGB1 pathways through the upregulation of SIRT1 [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12026.

[14] 陈艳, 董良, 朱昭琼. 急性肺损伤治疗措施的研究进展 [J]. 临床与病理杂志, 2020, 40(1): 157-161.

[15] Lu R, Wu Y, Guo H, et al. Salidroside protects lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. Dose Response, 2016, 14(4): 1559325816678492.

[16] Perez M, Robbins ME, Revhaug C, et al. Oxygen radical disease in the newborn, revisited: oxidative stress and disease in the newborn period [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 142: 61-72.

[17] 陈少忠, 林梅瑟, 程黎民, 等. 红景天苷注射液对脂多糖诱导脓毒性休克肺损伤大鼠肺血管通透性的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2019, 24(11): 1256-1262.

[18] Jin Y, Liu W, Liu X, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells attenuated paraquat-induced acute lung injury via miR-141-3p-Notch-Nrf2 axis [J]. Cell Biosci, 2018, 8: 21.

[19] 马建齐, 穆盛田, 阎东莉. 姜黄素对脓毒症急性肺损伤的炎症反应及 Notch2/Hes-1 通路的影响 [J]. 解剖科学进展, 2020, 26(1): 83-85, 89.

[20] 邓健. 降钙素基因相关肽调控 Notch 信号通路对早产鼠高氧肺损伤的保护作用机制研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2019.

[21] Zhu J, Wan X, Zhu Y, et al. Evaluation of salidroside *in vitro* and *in vivo* genotoxicity [J]. Drug Chem Toxicol, 2010, 33(2): 220-226.

[收稿日期] 2020-07-06

(上接第 29 页)

[5] Cui YH, Zhang XQ, Wang ND, et al. Vitexin protects against ischemia/reperfusion-induced brain endothelial permeability [J]. Eur J pharmacol, 2019, 853(15): 210-219.

[6] Jiang J, Jia Y, Lu X, et al. Vitexin suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis and prevents lipopolysaccharide (LPS)-induced osteolysis [J]. J cell physiol, 2019, 234(10): 17549-17560.

[7] Qi Y, Chen L, Shan S, et al. Vitexin improves neuron apoptosis and memory impairment induced by isoflurane via regulation of miR-409 expression [J]. Adv Clin Exp Med, 2020, 29(1): 135-145.

[8] Lu Y, Yu T, Liu J, et al. Vitexin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by controlling the Nrf2 pathway [J]. PLoS One, 2018, 13(4): e0196405.

[9] 秦劭晨, 王爱梅, 李若瑜. 芍药甘草汤加减对 MPTP 诱导的帕金森病模型小鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 15-21.

[10] 刘磊, 吴一飞. 牡荆苷对急性脑缺血再灌注大鼠的神经保护作用及对其 Th1/Th2 漂移的影响 [J]. 中草药, 2019, 50(11): 2645-2650.

[11] Beaudry F, Huot P. The MPTP-lesioned marmoset model of Parkinson's disease: proposed efficacy thresholds that may potentially predict successful clinical trial results [J]. J Neural

Transm (Vienna), 2020, 127(10): 1343-1358.

[12] Li J, Gu C, Zhu M, et al. Correlations between blood lipid, serum cystatin C, and homocysteine levels in patients with Parkinson's disease [J]. Psychogeriatrics, 2020, 20(2): 180-188.

[13] 王丽恒, 李梦竹, 曾跃. 神经元特异性烯醇化酶的临床应用及研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(12): 2301-2305.

[14] 房泽海, 董含秋, 陈亮, 等. 龟苓平颤方联合多巴丝肼片对帕金森病小鼠行为学和神经递质的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2020, 39(7): 429-434.

[15] Means JC, Lopez AA, Koulen P. Resveratrol protects optic nerve head astrocytes from oxidative stress-induced cell death by preventing caspase-3 activation, tau dephosphorylation at Ser (422) and formation of misfolded protein aggregates [J]. Cell Mol Neurobiol, 2020, 40(6): 911-926.

[16] 赵忆宁, 何颖, 沈先荣, 等. 西咪替丁对低剂量电离辐射致大鼠氧化应激的保护作用 [J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(2): 128-133.

[17] 张晓愉, 张昆鹏, 王建民, 等. 圣草次苷调控 MPTP 诱导的慢性小鼠帕金森疾病和机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(3): 369-374.

[收稿日期] 2020-10-14