

基于 TGF- β 1/Smads 信号通路观察异丙托溴铵雾化液对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能、气道重塑的影响

马琳¹, 张萌¹, 陈光宴^{2*} (1.山东中医药大学第二附属医院职业病科, 济南 250001; 2.兖矿新里程总医院呼吸科, 山东 济宁 273500)

摘要: 目的 研究异丙托溴铵雾化液对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)大鼠肺功能、气道重塑的影响及其对于转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/母体抗生物皮肤生长因子同源物 2/3 (mothers against decapentaplegic homolog 2/3, Smad2/3)通路信号通路的调控机制。方法 将 SD 大鼠按照随机数字表法分为正常组、模型组、实验组、阳性对照组, 每组 15 只; 其中模型组、实验组、阳性对照组中的大鼠以泰山茉莉香烟熏法复制 COPD 大鼠模型: 将大鼠放入烟熏箱内, 点燃 15 只泰山茉莉香烟, 持续 1 h, 每日 3 次, 连续 90 d, 正常组大鼠不进行烟熏操作, 常规喂养。成功复制 COPD 模型后, 实验组大鼠每日在自制微小动物密闭箱内以雾化器吸入用异丙托溴铵溶液 1 mg/4 mL, 每日 1 次, 每次 2 h, 阳性对照组大鼠皮下注射 TGF- β 1 抑制剂 LY2157299(20 mg·kg⁻¹), 每日 1 次, 正常组、模型组大鼠分别皮下注射等剂量的生理盐水。在给药 28 d 后, 使用小动物肺功能测定仪依次检测各组大鼠的肺功能。TUNEL 染色各组大鼠肺组织中的细胞凋亡, 免疫荧光检测各组大鼠肺组织中气道重塑标志蛋白 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达, Western blotting 检测各组大鼠肺组织中 TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达。结果 与正常组相比, 模型组大鼠的呼吸频率、肺组织的细胞凋亡率、 α -SMA 的荧光强度、TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达出现了明显升高, 大鼠的通气量和潮气量出现了明显下降(均 $P < 0.05$); 与模型组相比, 实验组和阳性对照组大鼠的呼吸频率、肺组织的细胞凋亡率、 α -SMA 的荧光强度、TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达出现了明显下降, 大鼠的通气量和潮气量出现了明显升高(均 $P < 0.05$)。结论 异丙托溴铵能抑制肺组织的细胞凋亡, 缓解 COPD 大鼠的气道重塑, 改善其肺功能, 这可能与抑制 TGF- β 1/Smads 通路有关。

关键词: 异丙托溴铵雾化液; 慢性阻塞性肺疾病; 肺功能; 气道重塑; 转化生长因子 β 1/母体抗生物皮肤生长因子同源物 2/3 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)24-3249-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.24.009

引用本文: 马琳, 张萌, 陈光宴. 基于 TGF- β 1/Smads 信号通路观察异丙托溴铵雾化液对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能、气道重塑的影响[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(24): 3249-3255.

Effects of Ipratropium Bromide Atomizing Liquid on Lung Function and Airway Remodeling in Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease via TGF- β 1/Smads Signaling Pathway

MA Lin¹, ZHANG Meng¹, CHEN Guangyan^{2*} (1. Department of Occupational Diseases, The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, China; 2. Department of Respiratory, Yankuang New Journey General Hospital, Jinan 273500, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore effects of ipratropium bromide atomizing liquid on lung function and airway remodeling in rats with chronic obstructive pulmonary disease(COPD) and its regulation on transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/mothers against decapentaplegic homolog 2/3(Smad 2/3) signaling pathway. **METHODS** According to the random number table method, the SD rats were divided into normal group, model group, experimental group, and positive control group, each with 15 rats. The rats in the model group, experimental group and positive control group were smoked with Taishan jasmine cigarettes method to replicate the COPD rat model: the rats were put into a smoking box, 15 Taishan jasmine cigarettes were lightened for 1 h, 3 times a day for 90 consecutive days. The rats in the normal group do not smoke. After successfully replicating the COPD model, rats in the experimental group inhaled ipratropium bromide solution 1 mg/4 mL with a nebulizer in a self-made small animal airtight box, once a day for 2 h each time, rats in the positive control group were injected subcutaneously with TGF- β 1 inhibitor LY2157299(20 mg·kg⁻¹), once a day, rats in the normal group and model group were injected subcutaneously with equal doses of normal saline. After 28 days of administration, the pulmonary function of each group of rats was sequentially tested using a small and micro animal pulmonary function tester. TUNEL staining was used to detect the apoptosis in the lung tissues of rats in each group, and immunofluorescence was used to detect the expression of the airway

作者简介: 马琳, 女 E-mail: moli1981325@163.com

*通信作者: 陈光宴, 女, 硕士, 副主任医师

E-mail: guangyanchenxubin@163.com

remodeling marker protein α -smooth muscle actin(α -SMA) in the lung tissues of the rats in each group. Western blotting was used to detect the expression of TGF- β 1 and p-Smad2/3 in the lung tissues of rats in each group. **RESULTS** Compared with the normal group, the respiratory rate, the apoptosis rate of lung tissue, the fluorescence intensity of α -SMA, the expression of TGF- β 1 and p-Smad2/3 in the model group appeared a significant increase(all $P<0.05$), the rat's ventilation and tidal volume appeared a significant decreased (all $P<0.05$). Compared with the model group, the respiratory rate, the apoptosis rate of lung tissue, the fluorescence intensity of α -SMA, the expression of TGF- β 1 and p-Smad2/3 in the experimental group and the positive control group appeared significantly decreased(all $P<0.05$), and the rats' ventilation and tidal volume appeared increased significantly(all $P<0.05$). **CONCLUSION** Ipratropium bromide can inhibit lung cell apoptosis, relieve airway remodeling in COPD rats, and improve lung function. This may be related to the inhibition of TGF- β 1/Smads pathway.

KEYWORDS: ipratropium bromide atomizing liquid; chronic obstructive pulmonary disease; lung function; airway remodeling; transforming growth factor- β 1(TGF- β 1)/mothers against decapentaplegic homolog 2/3(Smad2/3) signaling pathway

发病率和死亡率均高的慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种严重威胁公众健康的炎症性呼吸系统疾病^[1]。大量的临床数据显示^[2],因烟雾等外界因素刺激而导致患者机体内多种细胞因子的异常表达,诱发肺部微血管损伤,肺部细胞的大量凋亡,肺动脉血管壁增厚以及平滑肌细胞大量迁移,诱使患者出现气道重塑。如果不能有效地控制患者病症的恶化,COPD患者极易出现肺动脉高血压、肺源性心脏病,严重影响患者的正常生活。由于该病的病理机制尚处于实验探索阶段,临床上尚缺乏有效的药物或治疗手段使所有COPD患者免于疾病困扰。异丙托溴铵雾化液是一种高选择性的抗胆碱药物。研究显示^[3],作为临床常用的支气管扩张剂,异丙托溴铵能明显改善COPD、哮喘患者的喘息症状。党瑞志等^[4]研究显示异丙托溴铵雾化液临床辅助治疗COPD,药物能明显改善患者的肺功能,改善患者免疫功能,同时安全性较好,患者在治疗过程中不良反应的概率明显降低。但是关于异丙托溴铵对疾病的作用机制的报道较少。研究显示^[5]转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)/母体抗生物皮肤生长因子同源物2/3(mothers against decapentaplegic homolog 2/3, Smad2/3)通路在急性肺损伤、肺纤维化、肺缺血再灌注以及急性呼吸窘迫综合征等肺损伤中发挥重要的调控作用。林星等^[6]研究显示在哮喘小鼠模型中,抑制TGF- β 1/Smads通路的表达能明显改善实验动物的气道重塑。本研究通过构建COPD大鼠模型,从TGF- β 1/Smads通路入手,从肺功能和气道重塑的角度出发,探讨异丙托溴铵对COPD的治疗机制,以为临床医师的用药提供可靠的基础数据支撑。

1 材料和方法

1.1 动物、试剂和仪器

60只SD大鼠,♂,9~10周龄,SPF级,体

质量在250~270g,从广东睿谷生物科技有限公司采购,生产许可证号为SCXK(粤)2021-0244,质量合格证号为2020-0807QWV。并在兖矿新里程总医院的动物中心SPF级实验室中进行1周适应性喂养,条件如下:温度(25±3)°C,湿度(35±5)%,12h的明暗交替循环。本实验过程中遵循上述单位基础动物中心相关动物伦理委员会的相关规定,伦理审批号:2021-0762B。

兔抗大鼠磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号: SXFI-0726)、TGF- β 1(批号: SXDV-0043)、p-Smad2/3抗体(批号: SXJK-0817)购自美国Sigma公司;免疫荧光试剂盒(南京建成生物技术有限公司,批号: 2020-1119DLP3);TUNEL试剂盒(批号: 2019-0322EC37)、HE试剂盒(批号: 2020-060357XV)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。吸入用异丙托溴铵溶液(2mL: 500 μ g \times 10支,法国Boehringer Ingelheim Pharma GmbH & Co. KG,批号: SNT-0321A);TGF- β 1抑制剂LY2157299(美国Med Chem Express公司,批号: SPR-002GF);泰山茉莉香韵细支香烟(焦油量为6mg,烟气烟碱量为0.6mg,一氧化碳量为5mg,山东中烟工业有限责任公司,批号: 2020-0719FR)。

BX51光学显微镜(日本Olympus公司);凝胶成像自动系统(美国Bio-rad公司);RM2135全自动轮转切片仪(德国Leica公司);低温高速全自动离心机(德国Heraeus公司)。

1.2 模型构建和分组处理

在适应性喂养所有大鼠1周后,按照随机数字表法将大鼠分为正常组、模型组、实验组、阳性对照组,每组15只;其中模型组、实验组、阳性对照组中的大鼠以泰山茉莉香烟烟熏法复制COPD大鼠模型^[7]:将大鼠放入烟熏箱内,点燃15只泰山茉莉香烟,持续1h,每日3次,连续90d,

正常组大鼠不进行烟熏操作, 常规喂养。以大鼠肺功能以及肺组织病理的改变判断 COPD 模型是否构建成功。

成功复制 COPD 模型后, 实验组大鼠每日在自制微小动物密闭箱内以雾化器吸入用异丙托溴铵溶液 1 mg/4 mL, 每日 1 次, 每次 2 h, 阳性对照组大鼠皮下注射 LY2157299(20 mg·kg⁻¹), 每日 1 次, 正常组、模型组大鼠分别皮下注射等剂量的生理盐水。

1.3 小动物肺功能测定仪检测各组大鼠的肺功能指标

在给药 28 d 后, 尾静脉取血 5 mL, 低温高速全自动离心机 1 173.9 × g 离心 20 min, 留取上清液, 并使用酶联免疫吸附法检测各组大鼠血清中细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)和肿瘤坏死因子-α(tumornecrosis factor-α, TNF-α)等相关炎症因子的含量; 采血后使用小动物肺功能测定仪依次检测各组大鼠的肺功能, 并根据仪器自带图像处理系统处理图像, 获取潮气量、每分钟通气量和呼吸频率等参数^[8]。

1.4 各组大鼠肺组织的病理损伤变化

检测肺功能指标结束后, 将大鼠处死, 开胸并暴露其肺脏组织, 取各组大鼠 50% 的右上肺组织, 常规固定, 脱水, 透明, 包埋, 制成厚度在 3~5 μm 的冠状石蜡切片, HE 染色, 镜检, 并定量分析各组大鼠肺组织中的炎性浸润情况并进行评分^[9]。

1.5 各组大鼠肺组织的超微结构改变

取各组大鼠 50% 的右上肺组织, 4% 戊二醛 4 °C 下固定 4 h, PBS 冲洗, 1% 锇酸固定 3 h, 梯度浓度(50%, 70%, 90%)丙酮脱水, 纯 812 树脂浸透 4 h, 中性树脂包埋, 聚合。制成超薄切片, 铀、铅双重染色^[10], 电镜观察, Image J 软件统计分析大鼠超微结构中线粒体的空泡病变率。

1.6 各组大鼠肺组织中的细胞凋亡

取各组大鼠 50% 的左上肺组织, 按 TUNEL 染色试剂盒要求进行预处理, 抗原修复, 封闭, 标记, 避光染色, 脱水, 中性树胶封片, 镜检, 视野中的胞核被染成棕褐色的细胞为凋亡细胞^[11], 细胞的凋亡率等于 TUNEL 阳性细胞数与总细胞的比值。

1.7 免疫荧光检测各组大鼠肺组织中气道重塑标志蛋白 α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)的表达

取各组大鼠 50% 的左上肺组织, 严格按照免

疫荧光试剂盒要求进行操作, 光镜下出现红色荧光为目标蛋白阳性表达^[12], 图像处理系统 Image Pro Plus 8.0 分析 α-SMA 的阳性表达情况。

1.8 各组大鼠肺组织中 TGF-β1、p-Smad2/3 的表达

取各组大鼠 50% 的左下肺组织, 在 4 °C 裂解液中放置 30 min, 离心, 并将上清液稀释, 常规方法提取标本中的总蛋白, 以 50 μg 样品进行上样, 电泳后, 转膜, 封闭, 加入一抗(1 : 1 000), 二抗(1 : 5 000)稀释后, 室温孵育后, 显色 30 min, 以 GAPDH 为参照^[13], 分析目标蛋白的灰度值。

1.9 统计学分析

数据统计采用 SPSS 16.0 软件, 作图工具采用 Graphpad 5.01, 组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况

正常组大鼠呼吸均匀, 无喘息以及咳嗽现象, 口鼻未出现明显的分泌物, 大鼠皮毛光滑, 有光泽, 反应机敏, 活泼好动, 进食以及饮水正常, 大鼠的体质量稳步升高; 模型组大鼠咳嗽频繁, 前肢频繁搔鼻, 烦躁异常, 口鼻处可见大量分泌物, 能听到明显的气道痰鸣音, 毛色枯黄, 皮毛暗淡无光, 活动量明显减少, 反应迟钝, 食欲严重受限, 体质量增长缓慢; 实验组与阳性对照组大鼠的症状均有了明显的改善, 大鼠咳嗽、喘息情况明显减少, 进食与饮水有所改善, 体质量增加量较模型组明显升高。

2.2 各组大鼠的肺功能

小动物肺功能测定仪结果显示, 与正常组大鼠相比, 模型组大鼠的呼吸频率出现了明显升高, 大鼠的通气量和潮气量出现了明显下降(*P* < 0.05); 与模型组大鼠相比, 实验组、阳性对照组大鼠的呼吸频率出现了明显下降, 大鼠的通气量和潮气量出现了明显升高(*P* < 0.05); 实验组大鼠和阳性对照组大鼠相比, 肺功能指标差异不具有统计意义, 结果见图 1。

2.3 各组大鼠肺组织的病理损伤变化

HE 结果显示, 正常组大鼠的肺组织结构正常, 肺组织细胞完整, 肺小血管以及支气管细胞完整, 未见明显异常, 肺泡组织内无渗出、炎性浸润现象; 模型组大鼠的肺组织气道上皮坏死严重, 支气管管壁扩张以及炎性浸润明显, 血管平滑肌细胞增生明显, 肺小血管壁增厚明显, 管腔

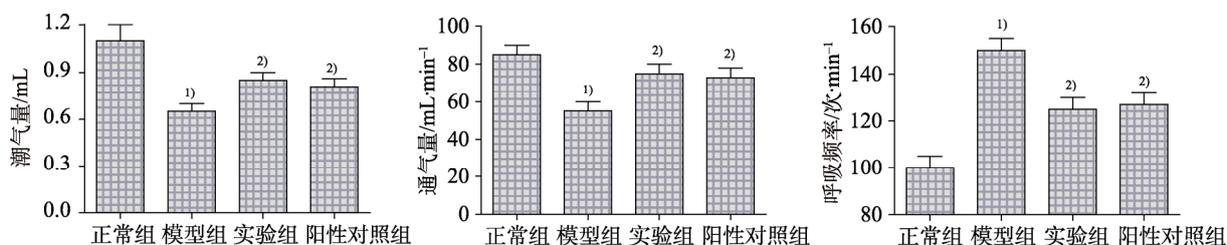


图1 各组大鼠呼吸功能比较($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 1 Comparison of the respiratory function of rats in each group($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$ 。

狭窄,肺泡扩张明显,相邻的肺泡组成较大的囊泡;与模型组大鼠相比,实验组、阳性对照组大鼠的肺组织损伤明显改善,炎性浸润明显缓解。与正常组大鼠相比,模型组大鼠肺组织的炎症评分明显升高($P<0.05$);与模型组大鼠相比,实验组、阳性对照组大鼠肺组织的炎症评分明显降低($P<0.05$);实验组大鼠和阳性对照组大鼠相比,肺组织的炎症评分差异不具有统计意义,结果见图2。

2.4 各组大鼠肺组织的超微结构改变

电镜观察结果显示,正常组大鼠肺组织中的细胞结构完整,胞浆中细胞器如核糖体、内质网、高尔基体等未见异常,线粒体数量较多,嵴结构排列规整;模型组大鼠肺组织的细胞超微结构损伤严重,胞膜溶解或缺损明显,核质界限不明,染色质固缩严重,线粒体多呈现空泡样变性,嵴结构排列紊乱,线粒体数量明显下降;实验组、

阳性对照组大鼠肺组织的超微结构损伤明显缓解,线粒体空泡样变性明显减轻,数量有所回升,嵴结构排列较为规整,核质界限趋于正常;统计分析结果显示,与正常组大鼠相比,模型组肺组织细胞中的线粒体空泡病变率明显升高($P<0.05$);与模型组大鼠相比,实验组、阳性对照组肺组织细胞中的线粒体空泡病变率明显降低($P<0.05$);实验组和阳性对照组相比,肺组织的细胞凋亡率差异不具有统计意义,结果见图3。

2.5 各组大鼠肺组织的细胞凋亡

TUNEL结果显示,与正常组大鼠相比,模型组肺组织的细胞凋亡率出现明显的升高($P<0.05$);与模型组大鼠相比,实验组、阳性对照组肺组织的细胞凋亡率出现明显降低($P<0.05$);实验组和阳性对照组相比,肺组织的细胞凋亡率差异不具有统计意义,结果见图4。

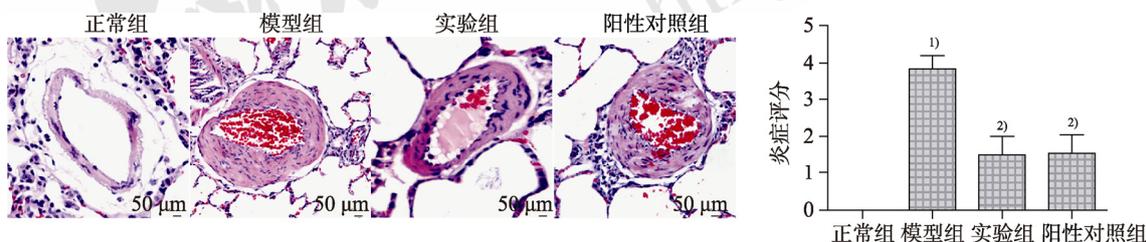


图2 大鼠肺组织的病理损伤(HE, 400 \times , $\bar{x} \pm s$, $n=15$)

与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 Pathological damage of rat lung tissue (HE, 400 \times , $\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$ 。

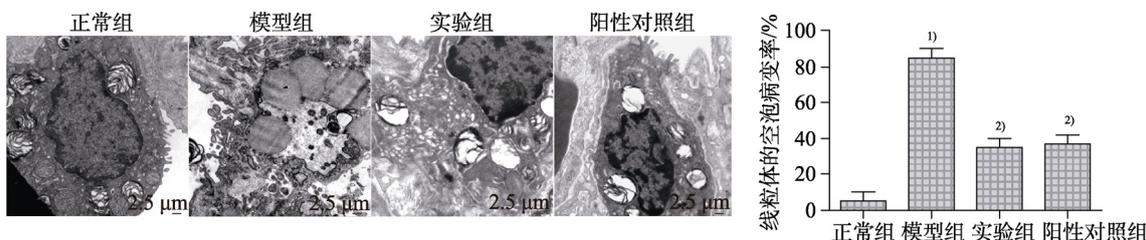


图3 大鼠肺组织的超微结构损伤(电镜, 8 000 \times , $\bar{x} \pm s$, $n=15$)

与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 3 Ultrastructural damage of rat lung tissue (electron microscope, 8 000 \times , $\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$ 。

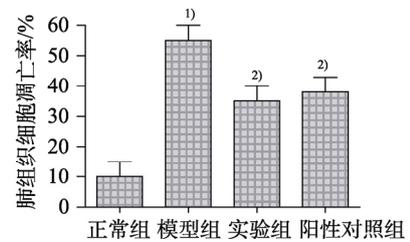
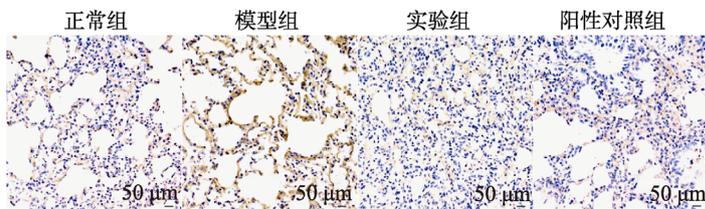


图4 大鼠肺组织的细胞凋亡(TUNEL染色, 400×, $\bar{x} \pm s$, $n=15$)
与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 4 Apoptosis of rat lung tissue(TUNEL staining, 400×, $\bar{x} \pm s$, $n=15$)
Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

2.6 各组大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 水平

酶联免疫吸附法结果显示, 与正常组大鼠相比, 模型组大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 的含量明显升高($P<0.05$); 与模型组大鼠相比, 实验组、阳性对照组大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 的含量明显降低($P<0.05$); 实验组和阳性对照组相比, 大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 的含量差异不具有统计意义, 结果见图 5。

2.7 各组大鼠肺组织中气道重塑标志蛋白 α -SMA 的表达

免疫荧光结果显示, 与正常组大鼠相比, 模型组大鼠肺组织中 α -SMA 的荧光强度明显增强, α -SMA 的表达明显升高($P<0.05$); 与模型组大鼠相比, 实验组、阳性对照组大鼠肺组织中 α -SMA 的荧光强度明显减弱, α -SMA 的表达明显降低($P<0.05$); 实验组和阳性对照组相比, α -SMA 的荧光强度差异不具有统计意义, 结果见图 6。

2.8 各组大鼠肺组织中 TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达

Western blotting 实验结果显示, 与正常组相比, 模型组大鼠肺组织的 TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达明显升高($P<0.05$); 与模型组相比, 实验组和阳性对照组大鼠肺组织的 TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达明显降低($P<0.05$); 实验组和对照组相比, TGF- β 1、p-Smad2/3 的表达差异不具有统计意义, 结果见图 7。

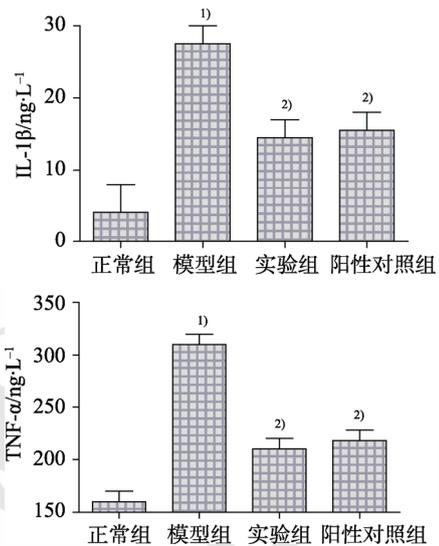


图5 大鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 的含量($\bar{x} \pm s$, $n=15$)
与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 5 Content of IL-1 β and TNF- α in rat serum ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)
Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

3 讨论

COPD 是一种临床常见病, 肺功能进行性下降和病情极易反复是该病的主要临床表现。而气道和肺组织的慢性炎症导致的气道重塑是该病的基本病理特征^[14]。由于该病的病理机制尚未完全阐明, 临床上尚缺乏恰当而有效的针对性干预手段。因此深入揭示疾病的分子机制, 阻滞患者

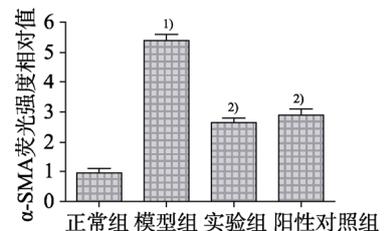
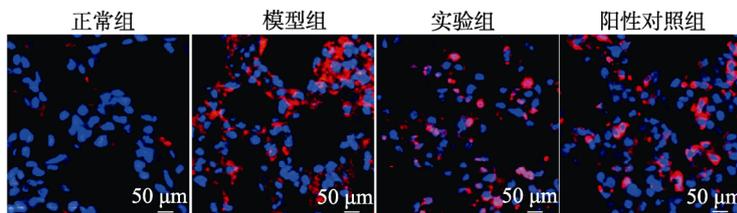


图6 各组大鼠肺组织中 α -SMA 的表达(免疫荧光, 400×, $\bar{x} \pm s$, $n=15$)
与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 6 Expression of α -SMA in rat lung tissue (immunofluorescence, 400×, $\bar{x} \pm s$, $n=15$)
Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

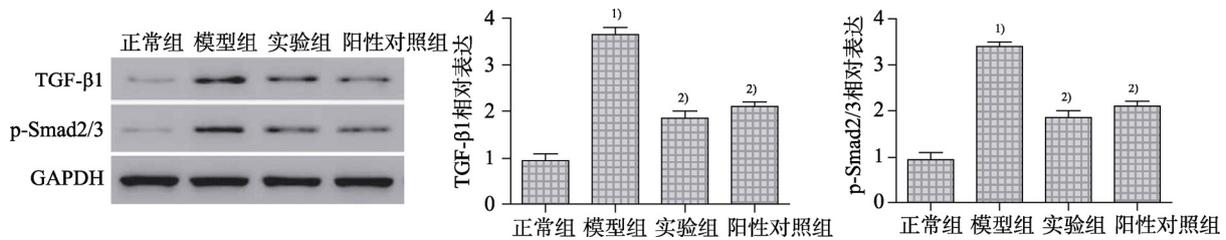


图7 大鼠肺组织的 TGF-β1、p-Smad2/3 的表达($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

与正常组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 7 Expression of TGF-β1 and p-Smad2/3 in rat lung tissue ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

COPD 病情进展中的气道重塑,有助于改善患者的肺功能,提高患者的生存质量。

COPD 的病情进展主要包括气道损伤、炎症应激级联放大、组织修复和重塑等生理病理过程^[15]。其中气道重塑是 COPD 治疗中必须解决的关键问题,气道重塑主要包括末端细支气管的丧失,细胞的异常坏死或凋亡,上皮基膜的纤维化,上皮杯状细胞异常增生,气道壁和平滑肌层的扩张,肺血管密度的增加以及肺泡的增大和破坏等整个呼吸系统的的变化^[16]。研究显示^[17]临床常用药异丙托溴铵能通过竞争相关靶蛋白的结合位点,抑制胞内 α -SMA 等重塑相关蛋白的转录、翻译、剪接水平,减少 IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的释放,阻滞肺组织细胞凋亡的进展,缓解气管、支气管、细支气管平滑肌细胞的紧张程度,改善患者的肺功能。Hysinger 等^[18]研究显示异丙托溴铵用于治疗支气管肺发育不良患者后,支气管镜检查结果显示没有明显的并发症,缓解气道水肿。董辉^[19]临床研究证实异丙托溴铵用于治疗 COPD,显示了良好安全性的同时能明显改善患者的肺功能。本研究中采用异丙托溴铵干预 COPD 大鼠后,实验组大鼠临床症状明显缓解,实验动物的肺功能明显改善,大鼠肺组织损伤病理明显减轻,气道重塑明显受限,气道重塑蛋白 α -SMA 随之下降,炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 释放明显减少,肺组织的细胞凋亡明显下降,显示了药物良好的治疗作用。

大量的动物实验数据显示^[20]TGF-β1/Smads 通路在急性肺损伤、呼吸机肺损伤等疾病中参与调控气道重塑的进展。研究显示^[21]肺损伤发生后,受损部位的炎症细胞应激实验大量促炎分子如 TNF- α 的释放, TGF-β1 随之激活,增强更大范围炎症因子如 IL-1 β 的合成与分泌,作为细胞中特有的 TGF-β1 信号转导分子, Smads 蛋白在炎症应激下发生磷酸化,将炎症信号携带至胞核中,可调

控更为广泛的炎症因子以及细胞损伤转录因子的转录与翻译,进一步加重肺组织损伤。大量的研究事实证实^[22]TGF-β1/Smads 通路在 COPD 病情进展中异常活跃,与炎症进展以及重塑进程的关系密切。蔡丹磊等^[23]研究显示在 COPD 患者中抑制 Smad2/3 的磷酸化,抑制 TGF-β1/Smads 通路的传导能明显抑制患者体内促炎性介质的水平,改善患者的临床症状。本研究采用 TGF-β1/Smads 通路抑制剂为阳性对照组,结果发现,阳性对照组大鼠的参数指标改善程度与实验组大鼠的改善程度相近,推断异丙托溴铵可能是通过抑制该通路而发挥作用。

综上所述,异丙托溴铵能减少炎症因子的释放,抑制肺组织的细胞凋亡,缓解 COPD 大鼠的气道重塑,改善其肺功能,这可能与抑制 TGF-β1/Smads 通路有关,但是异丙托溴铵是否还通过其他作用靶点保护 COPD 大鼠的肺组织还需要更为系统的实验研究。

REFERENCES

- [1] TIEW P Y, JAGGI T K, CHAN L L Y, et al. The airway microbiome in COPD, bronchiectasis and bronchiectasis-COPD overlap[J]. Clin Respir J, 2021, 15(2): 123-133.
- [2] SOKAR S S, AFIFY E H, OSMAN E Y. Dexamethasone and losartan combination treatment protected cigarette smoke-induced COPD in rats[J]. Hum Exp Toxicol, 2021, 40(2): 284-296.
- [3] LI W H, JIA B, LIU J Y. Effect of interferon alpha 2b inhalation on the treatment and immune function of children with bronchiolitis[J]. China J Mod Med(中国现代医学杂志), 2020, 30(2): 50-54.
- [4] 党瑞志, 刘羽. 胸腺肽联合异丙托溴铵雾化吸入对老年 COPD 合并肺部感染患者肺功能及免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(22): 4760-4762.
- [5] LIANG Z D, YIN X R, SUN W C, et al. Enhanced protection against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by autologous transplantation of adipose-derived stromal cells combined with low tidal volume ventilation in rats[J]. J Cell

- Physiol, 2021, 236(2): 1295-1308.
- [6] LIN X, GAO G, LI J F, et al. Shikonin ameliorates airway remodeling through TGF- β 1/Smad3 signaling pathway in asthmatic mice[J]. Immunol J(免疫学杂志), 2020, 36(6): 521-525.
- [7] SHANG L Z, JI S, SHI L T, et al. Mechanism of modified erchentang on expression of CXCL8-CXCR1/2 axle genes in lung tissue of rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae(中国实验方剂学杂志), 2020, 26(11): 40-48.
- [8] LI P C, HAN J, ZHANG D, et al. Effects of dexmedetomidine on oxidative stress and inflammatory response in lungs during mechanical ventilation in COPD rats[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(2): 1219-1224.
- [9] WEI H, LAN L. Effects of loquat leaf extract on airway inflammation and airway remodeling induced by ovalbumin in asthmatic mice[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(1): 20-27.
- [10] ZAKARIA D M, ZAHRAN N M, ARAFA S A A, et al. Histological and physiological studies of the effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on bleomycin induced lung fibrosis in adult albino rats[J]. Tissue Eng Regen Med, 2021, 18(1): 127-141.
- [11] XU R M, SHAO Z Y, CAO Q M. microRNA-144-3p enhances LPS induced septic acute lung injury in mice through downregulating Caveolin-2[J]. Immunol Lett, 2021(231): 18-25.
- [12] DENG Z N, XIE H J, CHENG W Y, et al. Dabigatran ameliorates airway smooth muscle remodeling in asthma by modulating Yes-associated protein[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(14): 8179-8193.
- [13] YU H Y, QI N N, ZHOU Q X. LncRNA H19 inhibits proliferation and migration of airway smooth muscle cells induced by PDGF-BB through miR-21/PTEN/Akt axis[J]. J Asthma Allergy, 2021(14): 71-80.
- [14] ZHANG L, LUO B L, TING Y, et al. SIRT1 attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in rat models of COPD[J]. Growth Factors, 2020, 38(2): 94-104.
- [15] LU Z, VAN EECKHOUTTE HP, LIU G, et al. Necroptosis Signaling Promotes Inflammation, Airway Remodeling, and Emphysema in Chronic Obstructive Pulmonary Disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021, 204(6): 667-681.
- [16] WU W, WU M, WANG Y L, et al. Ultrasonic examination of differences in bone density of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rats constructed by different methods[J]. Ann Palliat Med, 2020, 9(4): 1872-1878.
- [17] 何凌云, 吕华军, 金盛峰. 舒利迭联合异丙托溴铵治疗老年稳定期 COPD 患者疗效及对炎性因子、TWEAK 和淀粉样蛋白 AA 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(2): 320-322.
- [18] HYSINGER E, FRIEDMAN N, JENSEN E, et al. Bronchoscopy in neonates with severe bronchopulmonary dysplasia in the NICU[J]. J Perinatol, 2019, 39(2): 263-268.
- [19] DONG H. Effect of atomized inhalation of ipratropium bromide on the treatment of patients with COPD[J]. China Heal Stand Manag(中国卫生标准管理), 2020, 11(20): 119-122.
- [20] XIONG Q, ZHOU M, TIAN X, et al. Inhibitory effect of tea polyphenols on apoptosis of rat alveolar macrophages induced by PM_{2.5}[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(19): 2337-2345.
- [21] FENG X J, YANG Y K, ZHENG Y W, et al. Effects of catalpol on asthma by airway remodeling via inhibiting TGF- β 1 and EGF in ovalbumin-induced asthmatic mice[J]. Am J Transl Res, 2020, 12(7): 4084-4093.
- [22] ZHANG Z Y, WU L Q, DING L M, et al. Effect of salidroside on the expression of TGF- β 1 in lung tissue of acute paraquat poisoned rats[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(11): 1308-1312.
- [23] CAI D L, HUANG Z W, BAO Y H, et al. Expression of TGF- β 1/Smads signaling pathway in chronic obstructive pulmonary disease patients complicated with pulmonary infection[J]. Chin J Nosocomiology(中华医院感染学杂志), 2020, 30(21): 3253-3257.

收稿日期: 2021-09-30
(本文责编: 蔡珊珊)