

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.11.009

阿魏酸钠对肺结核模型大鼠 JNK/P38MAPK 信号通路的调节作用及巨噬细胞凋亡的抑制作用研究*

康冠楠, 侯莉莉, 党 萍, 刘晓飞, 耿书军, 马清艳[△]

(河北省胸科医院, 河北 石家庄 050017)

摘要:目的 探讨阿魏酸钠对肺结核模型大鼠 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)/P38 丝裂原活化蛋白激酶(P38MAPK)信号通路的调节作用, 以及对巨噬细胞凋亡的抑制作用。方法 将 90 只 SD 大鼠随机分为对照组(A 组), 模型组(B 组), 阿魏酸钠低、中、高剂量组(C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组)及阳性对照组(D 组), 每组 15 只。除 A 组外, 其余大鼠均尾静脉注射结核杆菌悬液建立肺结核模型, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组大鼠分别按 50, 100, 150 mg/kg 剂量灌胃给药, D 组大鼠按 10 mL/kg 剂量灌胃康复新液, A 组及 B 组大鼠灌胃等量生理盐水, 所有大鼠均 1 天给药 1 次, 连续给药 12 周。采用酶联免疫吸附法检测大鼠的血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)水平, 肺组织超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)水平, 采用 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡法检测肺泡巨噬细胞凋亡率, 采用苏木精-伊红染色法检查大鼠肺组织的病理学变化, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应法检测大鼠肺组织 JNK 和 P38MAPK mRNA 水平, 采用蛋白质免疫印迹法检测大鼠肺组织 JNK、磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶(p-JNK)、P38MAPK、磷酸化 P38 丝裂原活化蛋白激酶(p-P38MAPK)蛋白水平。结果 与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, 肺组织 MDA、JNK mRNA、P38MAPK mRNA、JNK、p-JNK、P38MAPK、p-P38MAPK 水平, 以及肺组织巨噬细胞凋亡率均显著降低, 肺组织 SOD 活性均显著升高($P < 0.05$); B 组大鼠肺组织可见增生型肺结核结节、肺间质水肿及大量炎性细胞浸润、坏死细胞脱落, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肺组织结构恢复, 炎性细胞浸润及细胞脱落明显减轻。结论 阿魏酸钠能明显降低肺结核模型大鼠炎性反应水平及肺组织氧化应激损伤程度, 抑制肺泡巨噬细胞凋亡, 改善大鼠肺组织病理学, 其作用机制可能与调节 JNK/P38MAPK 信号通路有关。

关键词:阿魏酸钠; 康复新液; 肺结核; 作用机制; c-Jun 氨基末端激酶/P38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路; 巨噬细胞; 凋亡; 大鼠

中图分类号: R965; R978.1

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)11-0031-06

Effect of Sodium Ferulate on the Regulation of JNK/P38MAPK Signal Pathway and Its Inhibition on the Macrophage Apoptosis in Model Rats with Pulmonary Tuberculosis

KANG Guannan, HOU Lili, DANG Ping, LIU Xiaofei, GENG Shujun, MA Qingyan

(Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China 050017)

Abstract: Objective To investigate the effect of sodium ferulate on the regulation of c-Jun N-terminal kinase(JNK)/P38 mitogen-activated protein kinase(P38MAPK) signaling pathway and its inhibition on the macrophage apoptosis in model rats with pulmonary tuberculosis. **Methods** A total of 90 SD rats were randomly divided into the control group(group A), model group(group B), low-, medium- and high-dose sodium ferulate groups(groups C₁, C₂ and C₃) and positive control group(group D), 15 rats in each group. Except those in group A, the other rats were injected with *Mycobacterium tuberculosis* suspension via tail vein to establish the pulmonary tuberculosis models. The rats in groups C₁, C₂ and C₃ were given 50, 100, 150 mg/kg of sodium ferulate by intragastric administration, the rats in group D were given 10 mL/kg of Kangfuxin Liquid by intragastric administration, the rats in group A and group B were given the same amount of normal saline by intragastric administration. All rats were given the drug once a day for 12 weeks. The levels of serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-6(IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β), the activity of superoxide dismutase(SOD) and malondialdehyde(MDA) in lung tissue were measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). The apoptosis rate of alveolar macrophages were detected by Annexin V-FITC/PI method. The pathological change of lung tissue was observed by Hematoxylin-eosin staining. The levels of JNK and P38MAPK mRNA were detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction. The levels of JNK, phosphorylated c-Jun N-terminal kinase(p-JNK), P38MAPK and phosphorylated P38 mitogen activated protein kinase(p-P38MAPK)protein in lung tissue were detected by western blotting. **Results** Compared with those in group B, the levels of serum TNF- α , IL-6 and IL-1 β , the levels of MDA, JNK mRNA, P38MAPK mRNA, JNK, p-JNK, P38MAPK and p-P38MAPK in lung tissue, and the apoptosis rate of macrophages in lung tissue were significantly decreased, while the activity of SOD in lung tissue was significantly increased in groups C₁, C₂, C₃ and D($P < 0.05$). In group B, there were proliferative tuberculous nodules, interstitial edema, infiltration of inflammatory cells and shedding of necrotic cells in lung tissue. In groups C₁, C₂, C₃ and D, the structure of lung

*基金项目: 河北省 2019 年度医学科学研究课题[20191033]。

第一作者: 康冠楠, 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向为耐药肺结核的诊治, (电子信箱)hadesgod7@163.com。

[△]通信作者: 马清艳, 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向为耐药肺结核的诊治, (电子信箱)228595970@qq.com。

tissue recovered, and the infiltration of inflammatory cells and shedding of necrotic cells were significantly improved. **Conclusion** Sodium ferulate can significantly reduce the level of inflammatory reaction and the degree of oxidative stress injury of lung tissue, inhibit the apoptosis of alveolar macrophages, and improve the pathological change of lung tissue in rats with pulmonary tuberculosis, and its mechanism may be related to the regulation of JNK/P38MAPK signal pathway.

Key words: sodium ferulate; Kangfuxin Liquid; pulmonary tuberculosis; mechanism of action; c-Jun N-terminal kinase/P38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway; macrophages; apoptosis; rats

肺结核多发于老年人,以咳嗽咳痰、发热、胸闷等症状为主要临床表现,目前临床主要采用利福平等药物联合治疗,但这些药物对肝肾功能的影响较大,且使用疗程过长,大大降低了患者的治疗依从性^[1-2]。阿魏酸钠是从阿魏、川芎等植物中提取、分离得到的化合物,具有抗炎、抗病毒、抗菌、抗血栓等多种药理活性^[3-4],对肺部疾病有治疗作用,对肺组织有修复作用^[5]。目前,尚未见关于阿魏酸钠对肺结核大鼠药理作用及作用机制的报道。本研究中建立了肺结核大鼠模型,探讨阿魏酸钠对其 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)/P38 丝裂原活化蛋白激酶(P38MAPK)信号通路的调节作用,以及对肺泡巨噬细胞凋亡的抑制作用。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:TS2 型倒置显微镜(日本尼康公司);TGL-22S 型高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司);En-Vision 型多功能酶标仪(珀金埃尔默企业管理有限公司);ChemiDoc XRS 型凝胶成像仪(美国伯乐公司);SPCC-XDS-403 型荧光显微镜(东莞市谱标实验器材科技有限公司);Atellica CH930 型全自动生化分析仪(德国西门子公司)。

试剂:阿魏酸钠(成都亨达药业有限公司,批号为 2018062212);康复新液(四川好医生攀西药业有限责任公司,批号为 190519);结核分枝杆菌 H37Rv(中国药品生物制品检定所,批号为 19080311);二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒(批号为 P0012),超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(批号为 S0101),丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号为 S0131S),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(批号为 PT516),白细胞介素 6(IL-6)ELISA 检测试剂盒(批号为 PI328),白细胞介素 1 β (IL-1 β)ELISA 检测试剂盒(批号为 PI303),P38MAPK 兔单克隆抗体(批号为 AF1111),磷酸化 P38 丝裂原活化蛋白激酶(p-P38MAPK)兔单克隆抗体(批号为 AF5887),c-Jun 氨基末端激酶(JNK)兔单克隆抗体(批号为 AF1048),磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶(p-JNK)兔单克隆抗体(批号为 AF1762),三磷酸甘油脱氢酶(GAPDH)兔单克隆抗体(批号为 AF1186),辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔免疫球蛋白 G(批号为 A0208),Annexin V -

FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(批号为 C1062L),超敏电化学发光(ECL)试剂盒(批号为 P0018M),RNA 提取试剂盒(批号为 R0016),cDNA 反转录试剂盒(批号为 D7160S),胎牛血清(批号为 C0227),台盼蓝染色细胞存活率检测试剂盒(批号为 C0011),均购自碧云天生物科技有限公司;DMEM 培养基(索莱宝科技公司,批号为 31600)。

动物:SPF 级雄性 SD 大鼠 90 只,体质量 200~220 g,购于河北医科大学实验动物学部,适应性饲养 3 d 后进行试验。

1.2 建模、分组与给药

将 90 只 SD 大鼠随机分为对照组(A 组),模型组(B 组),阿魏酸钠低、中、高剂量组(C₁组、C₂组、C₃组)及阳性对照组(D 组),每组 15 只。除 A 组外,其余大鼠参照文献[6-7],尾静脉注射 0.2 mL 结核杆菌悬液(质量浓度为 5 mg/mL),建立肺结核模型。C₁组、C₂组、C₃组大鼠分别按 50, 100, 150 mg/kg 剂量灌胃阿魏酸钠^[8],D 组大鼠按 10 mL/kg 剂量灌胃康复新液^[9],A 组及 B 组大鼠灌胃等量生理盐水,1 次/日。所有大鼠均连续给药 12 周^[6]。

1.3 观察指标及检测

血清 TNF- α , IL-6, IL-8 水平:将大鼠麻醉后取血清,3 500 r/min 离心 15 min,取上清液,严格按试剂盒说明书检测 TNF- α , IL-6, IL-1 β 水平。

大鼠肺组织 SOD 活性及 MDA 水平:处死大鼠,分离肺组织,用生理盐水灌洗,除去血液后,在匀浆器中匀浆,取匀浆液,按试剂盒说明书中提及方法检测肺组织 SOD 及 MDA 水平。

支气管肺泡巨噬细胞收集与纯化:参考文献[10],将大鼠麻醉后切开气管,取 5 mL 生理盐水注入肺组织,重复 3 次,收集肺泡灌洗液(BALF)(回收率为 90%)。取 BALF,4 ℃、800 r/min 离心 15 min,弃去上清液,取下部细胞,沉淀,并加入磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,使用 DMEM 培养液(含 10% 胎牛血清)重悬细胞后,采用台盼蓝染色法计算细胞存活率。>90% 视为大鼠肺泡巨噬细胞收集成功。将收集的肺泡巨噬细胞按照 1×10^5 个/L 接种于培养皿中,细胞培养箱中培养 2 h 至肺泡巨噬细胞贴壁,采用瑞氏-姬姆萨染色法鉴定,提取纯化得到的贴壁肺泡巨噬细胞(纯度 >90%)。

肺泡巨噬细胞凋亡率检测:使用 PBS 洗涤 3 次,加入胰蛋白酶消化后收集肺泡巨噬细胞,1 000 r/min 离心 5 min,留取下部细胞沉淀,用不含血清的培养基将细胞重悬后,再以 2 000 r/min 的速率离心 10 min,取细胞沉淀,弃去上清液,按试剂盒说明书方法,使用 AnnexinV-FITC 结合液及 AnnexinV-FITC 处理细胞,室温下避光孵育 5 min,再加入 10 μ L 碘化丙啶染色液,避光冰浴 10 min,上样至流式细胞仪,测定肺泡巨噬细胞凋亡率。

肺组织病理学检查:取大鼠肺组织,于中性甲醛中固定 24 h,经自动组织脱水机脱水、透明处理,于石蜡包埋机中包埋,5 μ m 切片,按常规苏木精-伊红(HE)步骤染色,在光学显微镜下观察大鼠肺组织病理学的变化。

大鼠肺组织 JNK, P38MAPK mRNA 水平:处死大鼠,取部分肺组织,使用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,并逆转录成 cDNA 后,按荧光实时定量聚合酶链反应(PCR)法检测 GAPDH, JNK, P38MAPK mRNA 水平。基因引物见表 1,结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析。

表 1 用于实时定量 PCR 检测的基因引物序列

Tab. 1 Primer sequences for real-time quantitative PCR detection

基因	引物名称	引物序列(5'-3')
JNK	正向引物	5'-GAAACCTGCTGCTCACCTTG-3'
	反向引物	5'-GGGCTACTGGGAGGAAAACA-3'
P38MAPK	正向引物	5'-AGGTGTCCCAAGAAGCTGT-3'
	反向引物	5'-ACAGAAGTGCTTGAGGTGCT-3'
GAPDH	正向引物	5'-CGTAAAGACCTCTATGCCAACA-3'
	反向引物	5'-TAGGAGCCAGGCCAGTAATC-3'

肺组织 JNK, p-JNK, P38MAPK, p-P38MAPK 蛋白水平:采用蛋白质免疫印迹法,取大鼠肺组织,使用 RIPA 蛋白裂解液充分裂解,并匀浆,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,于 100 $^{\circ}$ C 水浴变性 5 min,按 BCA 试剂盒方法测定各样品蛋白水平,取 60 μ g 蛋白电泳分离,转膜及封闭液封闭 1 h,使用 JNK, p-JNK, P38MAPK, p-P38MAPK, GAPDH 抗体(1:1 000)于 4 $^{\circ}$ C 下孵育 12 h,使用磷酸盐吐温缓冲液(PBST)洗膜 3 次,加入二抗(1:1 000)于室温下孵育 1 h, PBST 再次清洗后,使用凝胶成像仪及 Image J 软件进行免疫印迹灰度值检测、分析及定量。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件分析,使用 Graphpad prism 软件作图。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差(One Way ANOVA)分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对血清 TNF- α , IL-6, IL-1 β 水平的影响

与 A 组比较, B 组大鼠的血清 TNF- α , IL-6, IL-1 β

水平均显著升高($P < 0.05$);与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清的上述指标水平均显著降低,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。详见表 2。

表 2 各组大鼠血清 TNF- α , IL-6, IL-1 β 水平比较
($\bar{X} \pm s$, pg/mL, $n = 15$)

Tab. 2 Comparison of serum TNF- α , IL-6, IL-1 β levels of rats in each group($\bar{X} \pm s$, pg/mL, $n = 15$)

组别	TNF- α	IL-6	IL-1 β
A 组	12.85 $\pm$ 1.29	26.89 $\pm$ 2.75	13.86 $\pm$ 1.54
B 组	78.99 $\pm$ 2.34 [*]	189.92 $\pm$ 1.59 [*]	84.79 $\pm$ 1.59 [*]
C ₁ 组	53.13 $\pm$ 1.76 [#]	72.25 $\pm$ 1.83 [#]	60.09 $\pm$ 2.46 [#]
C ₂ 组	33.08 $\pm$ 2.04 ^{#a}	48.01 $\pm$ 2.73 ^{#a}	41.08 $\pm$ 1.55 ^{#a}
C ₃ 组	18.52 $\pm$ 1.14 ^{#ab}	31.33 $\pm$ 2.27 ^{#ab}	26.62 $\pm$ 2.82 ^{#ab}
D 组	17.15 $\pm$ 1.68 [#]	35.03 $\pm$ 2.68 [#]	23.59 $\pm$ 1.62 [#]

注:与 A 组比较, ^{*} $P < 0.05$;与 B 组比较, [#] $P < 0.05$;与 C₁ 组比较, ^a $P < 0.05$;与 C₂ 组比较, ^b $P < 0.05$ 。表 3 和表 4、图 2 和图 4 同。

Note: Compared with those in group A, ^{*} $P < 0.05$; compared with those in group B, [#] $P < 0.05$; compared with those in group C₁, ^a $P < 0.05$; compared with those in group C₂, ^b $P < 0.05$; as well as Tab. 3 and Tab. 4, Fig. 2 and Fig. 4.

2.2 对肺组织 SOD 活性及 MDA 水平的影响

与 A 组比较, B 组大鼠肺组织 SOD 活性显著降低($P < 0.05$), MDA 水平显著升高($P < 0.05$);与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肺组织 SOD 活性均显著升高($P < 0.05$), MDA 水平均显著降低,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠肺组织 SOD 活性及 MDA 水平比较($\bar{X} \pm s$, $n = 15$)

Tab. 3 Comparison of SOD activity and MDA level in lung tissue of rats in each group($\bar{X} \pm s$, $n = 15$)

组别	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)
A 组	83.34 $\pm$ 1.21	0.73 $\pm$ 0.12
B 组	36.79 $\pm$ 1.65 [*]	3.11 $\pm$ 0.14 [*]
C ₁ 组	47.12 $\pm$ 1.83 [#]	2.11 $\pm$ 0.08 [#]
C ₂ 组	56.94 $\pm$ 2.03 ^{#a}	1.67 $\pm$ 0.04 ^{#a}
C ₃ 组	68.92 $\pm$ 1.98 ^{#ab}	1.03 $\pm$ 0.21 ^{#ab}
D 组	71.34 $\pm$ 2.31 [#]	0.98 $\pm$ 0.11 [#]

2.3 对肺组织巨噬细胞凋亡率的影响

与 A 组比较, B 组大鼠肺组织巨噬细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$);与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠肺组织巨噬细胞凋亡率均显著降低,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。详见图 1 和图 2。

2.4 对肺组织病理学的影响

A 组大鼠肺组织未见明显病理学变化;B 组大鼠肺组织可见增生型结核结节,肺间质水肿及大量炎性细胞浸润、坏死细胞脱落,提示造模成功;C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、

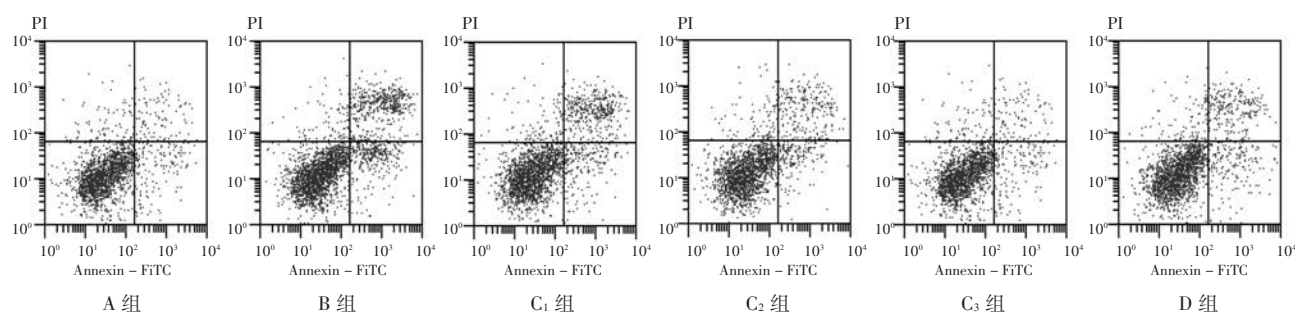


图1 各组大鼠肺组织巨噬细胞凋亡情况($n=15$)

Fig. 1 Comparison of macrophage apoptosis in lung tissue of rats in each group($n=15$)

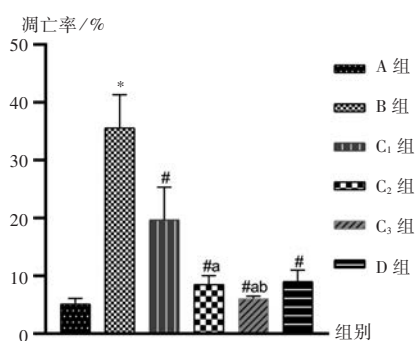


图2 各组大鼠肺组织巨噬细胞凋亡率比较($n=15$)

Fig. 2 Comparison of macrophages apoptosis in lung tissue of rats in each group($n=15$)

D组大鼠肺组织结构恢复,炎性细胞浸润及坏死细胞脱落明显减少,肺组织病理学明显改善。详见图3。

2.5 对肺组织 JNK, P38MAPK mRNA 水平的影响

与A组比较,B组大鼠肺组织 JNK, P38MAPK mRNA水平均显著升高($P < 0.05$);与B组比较,C₁组、C₂组、C₃组、D组大鼠肺组织 JNK, P38MAPK mRNA水平均显著降低($P < 0.05$),且呈剂量依赖性。详见表4。

2.6 对肺组织 p-JNK, JNK, P38MAPK, p-P38MAPK 水平的影响

与A组比较,B组大鼠肺组织 p-JNK, JNK, P38MAPK, p-P38MAPK水平均显著升高($P < 0.05$);与B组比较,C₁组、C₂组、C₃组、D组大鼠肺组织 p-JNK, JNK, P38MAPK, p-P38MAPK水平均显著降低,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。详见图4。

3 讨论

阿魏酸钠是由从伞形科植物阿魏 *Ferula assafoetida* L.、

表4 各组大鼠肺组织 JNK, P38MAPK mRNA 水平比较
($\bar{X} \pm s, n=15$)

Tab. 4 Comparison of JNK and P38MAPK mRNA levels in lung tissue of rats in each group($\bar{X} \pm s, n=15$)

组别	JNK mRNA	P38MAPK mRNA
A组	1.06 ± 0.14	0.76 ± 0.08
B组	$5.16 \pm 0.27^*$	$4.13 \pm 0.34^*$
C ₁ 组	$4.03 \pm 0.15^\#$	$2.89 \pm 0.46^\#$
C ₂ 组	$2.83 \pm 0.21^{\#a}$	$1.57 \pm 0.19^{\#a}$
C ₃ 组	$1.34 \pm 0.11^{\#ab}$	$0.97 \pm 0.14^{\#ab}$
D组	$1.55 \pm 0.16^\#$	$1.07 \pm 0.23^\#$

川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 根茎、石松科植物卷柏状石松 *Lycopodium selago* L. 等植物中提取得到的阿魏酸进一步成盐得到的化合物,具有抗血小板聚集,抑制血小板5-羟色胺释放,抑制血小板血栓素A₂的生成,增强前列腺素活性,抗炎、抗病毒、抗感染等多种药理作用^[3-4]。钟正灵等^[11]研究发现,阿魏酸钠能明显抑制脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠体内炎性介质释放,进而发挥肺组织保护作用。韩静茵等^[12]报道了阿魏酸钠能拮抗ET病理效应,从而抑制肺部胶原蛋白合成,有效改善尘肺病患者的肺通气功能,抑制肺纤维化。况菊等^[13]报道了阿魏酸钠能抑制氧化应激诱导的NALP3炎性复合体及成纤维细胞的活性,发挥其对肺组织的保护作用。康复新液从美洲大蠊干燥虫体中提取分离得到,具有通利血脉、养阴生肌功效,用于治疗胃、十二指肠溃疡及阴虚肺病等疾病。其对肺结核具有明显的缓解及治疗作用,且临床疗效显著^[14],故本研究中使用康复新液

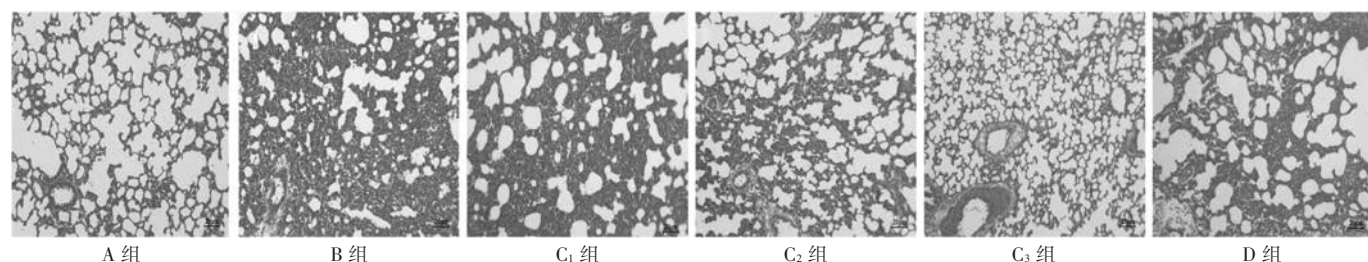


图3 各组大鼠肺组织病理学检查结果(HE, $\times 100$)

Fig. 3 Pathological examination results of lung tissue of rats in each group(HE, $\times 100$)

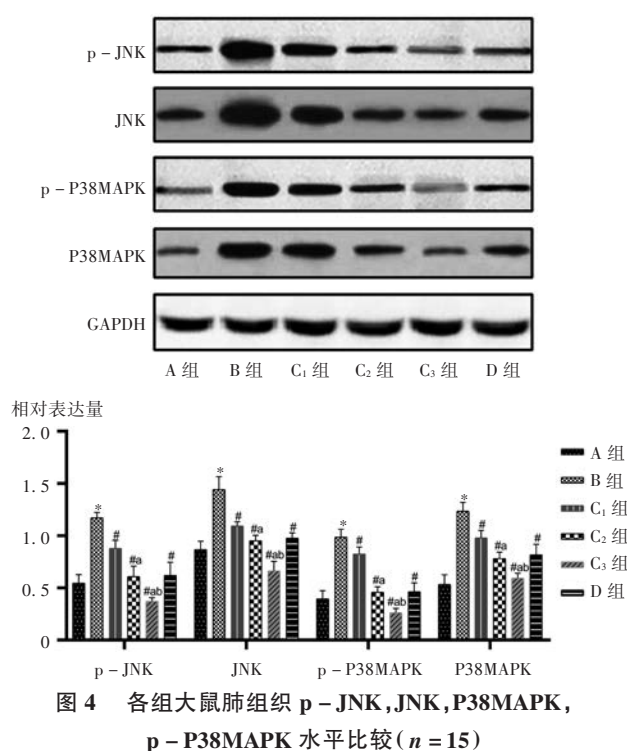


图4 各组大鼠肺组织 p-JNK, JNK, P38MAPK, p-P38MAPK 水平比较 (n=15)

Fig. 4 Comparison of p-JNK, JNK, P38MAPK and p-P38MAPK levels in lung tissue of rats in each group (n=15)

作为阳性对照药物。

JNK 及 P38MAPK 信号通路均是 MAPK 信号通路的亚族。MAPK 是信号从细胞表面传导到细胞核内部的重要传递者,在细胞因子、神经递质等多种因素的刺激下被激活,调节细胞对环境的应激适应性及细胞分化等多种生理、病理过程^[15]。大鼠肺损伤及肺组织细胞凋亡与 JNK 及 P38MAPK 信号通路的过度激活密切相关^[16-18]。罗梓垠等^[16]研究发现,小鼠肺缺血再灌注时细胞凋亡与 JNK 及 p-JNK 水平升高有关。严春霞等^[17]研究发现,大鼠肺部感染及组织细胞损伤与 P38MAPK 信号通路异常激活有关。

巨噬细胞在肺结核的发生、发展及疾病预后过程中起重要作用。结核分枝杆菌进入机体后,巨噬细胞通过表面受体识别结核分枝杆菌,进入巨噬细胞后与溶酶体融合,在蛋白酶、溶酶体酶等多种酶的作用下杀死结核杆菌,还能被巨噬细胞呈递给 T 淋巴细胞,激活体内特异性免疫过程,而巨噬细胞所产生的高浓度自由基及多种炎性因子也具有杀死结核分枝杆菌的作用^[19]。结核分枝杆菌感染者的肺部巨噬细胞达到一定程度后,会引起巨噬细胞的外源性凋亡,这一凋亡会促进巨噬细胞内部结核杆菌的释放,加重肺部感染^[20]。TNF- α , IL-6, IL-1 β 水平与机体炎性反应的发生、发展相关,其水平升高能激活体内相关信号通路,并调节巨噬细胞的凋亡及自噬;SOD 活性及 MDA 水平是体现组织器官氧化应激水平的指标,SOD 活性下降及 MDA 水平升高提示组

织细胞发生了氧化应激损伤。本研究结果表明,与 B 组比较,C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组大鼠血清 TNF- α , IL-6, IL-1 β 水平,肺组织 MDA 水平,肺泡巨噬细胞凋亡率均显著降低,肺组织 SOD 活性均显著升高,大鼠肺组织病理学明显改善,提示阿魏酸钠能显著改善肺结核大鼠肺组织病理学,降低大鼠炎性因子水平及氧化应激损伤程度。同时,C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组大鼠肺组织 JNK, P38MAPK mRNA 水平及 JNK, p-JNK, P38MAPK, p-P38MAPK 蛋白水平均显著降低,提示阿魏酸钠对肺结核大鼠的保护作用可能与抑制 JNK/P38MAPK 信号通路的过度激活有关。由于时间及资金等因素的限制,本研究未对阿魏酸钠抑制肺泡巨噬细胞凋亡的机制进行深入研究,拟在今后的试验中对上述问题作进一步探讨。

综上所述,阿魏酸钠能明显降低肺结核模型大鼠的炎性因子水平及肺组织氧化应激损伤程度,抑制肺泡巨噬细胞凋亡,改善大鼠肺组织病理学,其作用机制可能与调节 JNK/P38MAPK 信号通路有关。

参考文献

- [1] HAWROT H. Pulmonary tuberculosis[J]. Diagn Histopathol, 2019,25(11):460-462.
- [2] LEE YH, CHA SI, LIM JK, et al. Clinical and radiological features of pulmonary tuberculosis in patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Respiratory Investigation, 2019,57(6):544-551.
- [3] 张欣,高增平. 阿魏酸的研究进展[J]. 中国现代中药, 2020,22(1):138-147.
- [4] ZHU YH, SHAO Y, QU XY, et al. Sodium ferulate protects against influenza virus infection by activation of the I κ B/ κ B signaling pathway and inhibition of the NF- κ B signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019,512(4):793-798.
- [5] LI FQ, SU H, WANG J, et al. Preparation and characterization of sodium ferulate entrapped bovine serum albumin nanoparticles for liver targeting[J]. Int J Pharm. 2008,349(1/2):274-282.
- [6] 李树义,鲍承贤,董雪松. 百合固金汤合生脉散加减方对肺结核模型大鼠肺组织 MIF、TNF- α 蛋白表达的影响[J]. 陕西中医, 2016,37(2):244-245.
- [7] 武丽,张艳丽,李福建,等. 微小 RNA-223 对肺结核大鼠的巨噬细胞凋亡的抑制作用及其机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2019,35(17):1865-1867.
- [8] 胡楚璇,林壮民,全佳. 阿魏酸钠对慢性不可预知温和刺激抑郁大鼠抑郁行为的影响及其机制[J]. 中国医院药学杂志, 2017,37(17):1697-1701.
- [9] 胡婷婷,彭成,彭尧,等. 康复新液治疗实验性胃溃疡的作用机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2017,35(10):2504-2508.
- [10] CHEN J, LIU XJ, SHU QL, et al. Ghrelin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through NO pathway[J]. Med Sci Monit, 2008,14(7):BR141-BR146.
- [11] 钟正灵,江玉华,杨沿浪,等. 阿魏酸对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 安徽工程大学学报, 2019,34(4):8-12.