



(扫描二维码查看原文)

· 论著 ·

# 钠钾泵 Scr 复合体对幼年哮喘大鼠气道炎症和气道重塑的影响及其机制研究

黄河清<sup>1</sup>, 白燕<sup>2</sup>

**【摘要】** 背景 研究表明,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性药物具有抑制哮喘的作用, 但具体机制尚不清楚。目的 探究钠钾泵 Scr 复合体对幼年哮喘大鼠气道炎症和气道重塑的影响及其机制。方法 本实验时间为 2019 年 7 月—2020 年 8 月。将 120 只 8 周龄 SD 雄性大鼠分为对照组 (腹腔注射 5% 磷酸盐缓冲液)、哮喘组 [腹腔注射乳化的卵清蛋白 (OVA, V 级) 致敏, 造模成功后腹腔注射二甲亚砷] 及治疗组 (腹腔注射乳化的 OVA 致敏, 造模成功后腹腔注射钠钾泵 Scr 复合体药物), 每组 40 只。采用实用荧光定量聚合酶链式反应 (qPCR) 检测肺组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$  酶相对表达量, 采用蛋白质免疫印迹法检测肺组织 Scr、层粘连蛋白  $\alpha 4$  (LAM  $\alpha 4$ ) 相对表达量, 通过苏木素 - 伊红 (HE) 染色检测气道炎性细胞浸润情况, 通过高碘酸 - 席夫 (PAS) 染色检测杯状细胞, 采用免疫组织化学法 (IHC) 检测转化生长因子  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 表达量, 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测肺组织白介素 13 (IL-13) 和内皮素 1 (ET-1) 含量。结果 哮喘组和治疗组大鼠肺组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$  酶、Scr 相对表达量低于对照组, LAM  $\alpha 4$  相对表达量高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 治疗组大鼠肺组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$  酶、Scr 相对表达量高于哮喘组, 肺组织 LAM  $\alpha 4$  相对表达量低于哮喘组 ( $P < 0.05$ )。哮喘组和治疗组大鼠肺组织炎症评分高于对照组, PAS 阳性面积占比大于对照组 ( $P < 0.05$ ); 治疗组大鼠肺组织炎症评分低于哮喘组, PAS 阳性面积占比小于哮喘组 ( $P < 0.05$ )。哮喘组和治疗组大鼠肺组织 TGF- $\beta 1$  和 VEGF 表达高于对照组, 治疗组大鼠肺组织 TGF- $\beta 1$  和 VEGF 表达低于哮喘组 ( $P < 0.05$ )。哮喘组和治疗组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 高于对照组, 治疗组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 低于哮喘组 ( $P < 0.05$ )。结论 钠钾泵 Scr 复合体可抑制幼年哮喘大鼠气道炎症及气道重塑, 其机制可能与调控 LAM  $\alpha 4$  表达及抑制 TGF- $\beta 1$ 、VEGF、IL-13 和 ET-1 的释放有关。

**【关键词】** 哮喘; 钠钾泵 Scr 复合体; 层粘连蛋白  $\alpha 4$ ; 气道重塑; 炎症

**【中图分类号】** R 562.25 **【文献标识码】** A DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.049

黄河清, 白燕. 钠钾泵 Scr 复合体对幼年哮喘大鼠气道炎症和气道重塑的影响及其机制研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2021, 29 (3): 75-80. [[www.syxnf.net](http://www.syxnf.net)]

HUANG H Q, BAI Y. Impact and mechanism of sodium-potassium pump Scr complex on airway inflammation and airway remodeling in juvenile asthmatic rats [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2021, 29 (3): 75-80.

## Effects and Mechanism of Sodium-potassium Pump Scr Complex on Airway Inflammation and Airway Remodeling in Juvenile Asthmatic Rats HUANG Heqing<sup>1</sup>, BAI Yan<sup>2</sup>

1. Department of Pediatrics, Wuhan Dongxihu District People's Hospital, Wuhan 430040, China

2. Department of Pediatrics, Xiehe Medical College Affiliated Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Corresponding author: BAI Yan, E-mail: 971135735@qq.com

**【Abstract】** **Background** Studies have shown that  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  active drugs can inhibit asthma, but the specific mechanism is unclear. **Objective** To explore the effect and mechanism of sodium-potassium pump Scr complex on airway inflammation and airway remodeling in juvenile asthmatic rats. **Methods** The experiment is from July 2019 to August 2020. One hundred and twenty 8-week-old SD male rats were divided into 3 groups: control group (intraperitoneal injection of 5% phosphate buffer), asthma group [sensitization with intraperitoneal injection of emulsified ovalbumin (OVA, grade V)],

基金项目: 2018 年湖北省知识创新专项 (自然科学基金) 一般面上项目 (2018CFB745)

1.430040 湖北省武汉市东西湖区人民医院儿科

2.430022 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院儿科

通信作者: 白燕, E-mail: 971135735@qq.com

and then intraperitoneal injection of DMSO after successful modeling], and treatment group (sensitization with intraperitoneal injection of OVA, and then intraperitoneal injection of sodium-potassium pump Scr complex). The relative expression levels of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  and  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$  in lung tissue was detected by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The expression of Scr and LAM  $\alpha$  4 was detected by Western blotting. HE staining was used to detect airway inflammatory cell infiltration, and PAS staining was used to detect goblet cells. The expression levels of transforming growth factor  $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected by immunohistochemistry (IHC). The contents of interleukin-13 (IL-13) and endothelin-1 (ET-1) in lung tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results** The  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ ,  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$  and Scr relative expression levels in the lung tissue of asthma group and treatment group were lower than those of control group, and the LAM  $\alpha$  4 relative expression level was higher than that of control group ( $P < 0.05$ ). The  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ ,  $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$  and Scr relative expression levels in lung tissue of treatment group were higher than those of asthma group, and LAM  $\alpha$  4 relative expression level in lung tissue was lower than that of asthma group ( $P < 0.05$ ). The pulmonary inflammation score of asthma group and treatment group was higher than that of control group, and the positive area of PAS was larger than that of control group ( $P < 0.05$ ). The pulmonary inflammation score of treatment group was lower than that of asthma group, and the positive area of PAS was smaller than that of asthma group ( $P < 0.05$ ). The relative expression levels of TGF- $\beta$  1 and VEGF in lung tissue of asthma group and treatment group were higher than those of control group, and the relative expression levels of TGF- $\beta$  1 and VEGF in lung tissue of treatment group were lower than those of asthma group ( $P < 0.05$ ). The IL-13 expression and ET-1 expression in lung tissue of asthma group and treatment group were higher than those of control group, while the IL-13 expression and ET-1 expression in lung tissue of treatment group were lower than those of asthma group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** The sodium-potassium pump Scr complex can inhibit the airway inflammation and airway remodeling in juvenile asthmatic rats by regulating the LAM  $\alpha$  4 expression and inhibiting the release of TGF- $\beta$  1, VEGF, IL-13 and ET-1.

**【Key words】** Asthma; Sodium-potassium pump Scr complex; Laminin  $\alpha$  4; Airway remodeling; Inflammation

哮喘是一种常见疾病,可严重降低人们的生活质量并影响人类健康<sup>[1]</sup>,其发生、发展机制目前尚未完全阐明。研究表明,除炎症和气道高反应外,哮喘患者支气管气道结构也会发生改变,即气道重塑<sup>[2]</sup>。转化生长因子 $\beta$  1 (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta$  1)作为调节气道重塑的主要因子之一,可促进成纤维细胞前体分化为成肌纤维细胞并促使其增殖<sup>[3]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种多功能血管生成调节剂,在哮喘患者中呈过表达,且其表达水平与疾病活动度呈正相关,与支气管直径和气道高反应性呈负相关<sup>[4]</sup>。VEGF和TGF- $\beta$  1均是气道重塑的经典标志物。气道结构细胞中气道上皮细胞、平滑肌细胞及成纤维细胞均是白介素13(interleukin 13, IL-13)的靶细胞,故IL-13在气道重塑中起关键作用<sup>[5]</sup>。内皮素1(endothelin1, ET-1)作为一种具有促进生长特性的有效支气管收缩剂和内源性血管收缩剂肽,可参与香烟烟雾引起的血管和气道高反应<sup>[6]</sup>。有动物实验表明,ET-1会影响鼠哮喘模型的气道重塑<sup>[7]</sup>。三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)水解后钠泵会将3个胞内钠离子交换两个胞外钾离子<sup>[8]</sup>。研究表明,许多与 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶相互作用的化合物可缓解急性或慢性哮喘患者的临床症状<sup>[9]</sup>。层粘连蛋白 $\alpha$  4(LAM  $\alpha$  4)普遍存在于内皮基底膜中。T淋巴细胞、嗜中性粒细胞和单核细胞的外渗主要发生

在高表达LAM  $\alpha$  4的部位,表明LAM  $\alpha$  4可能会促进外渗。钠钾泵Scr复合体亦称琥珀酸-细胞色素c氧化还原酶,其是由复合体II和复合体III组成。本研究旨在探究钠钾泵Scr复合体对幼年哮喘大鼠气道炎症和气道重塑的影响及其机制,现报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 本实验时间为2019年7月—2020年8月。从军事医学科学院实验动物中心购买120只8周龄SD雄性大鼠,体质量为110~130 g,放置在有特定病原体、温度和湿度可控的环境中,大鼠可随意进水和食物。

1.2 实验分组及干预方法 将120只SD雄性大鼠随机分为对照组、哮喘组和治疗组,每组40只。对照组大鼠于实验第1天腹腔注射5%磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS) 1  $\mu$ l+氯化钠溶液100  $\mu$ l。哮喘组大鼠先制备哮喘模型<sup>[10]</sup>,具体如下:实验第1天和第14天,腹腔注射乳化的卵清蛋白(OVA, V级)100  $\mu$ g致敏;实验第25~27天,通过大鼠鼻内递送OVA 100  $\mu$ g+PBS 50  $\mu$ l。造模成功后,腹腔注射二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO) 1  $\mu$ l+氯化钠溶液100  $\mu$ l。治疗组大鼠先制备哮喘模型,方法同哮喘组,造模成功后给予钠钾泵Scr复合体药物(Sigma公司生产),具体用法:钠钾泵Scr复合体药物0.3 mg/kg溶解在20 mg/ml的DMSO中,并采用PBS稀释至1 ml,

腹腔注射。实验结束后(即实验第28天)检测三组大鼠相关指标。本实验已通过武汉市东西湖区人民医院动物伦理委员会审核批准。

### 1.3 检测方法

1.3.1 实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR) 使用 TRIzol 试剂(上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:20190258A)从肺组织中提取总 RNA,并采用 ReverTra Ace qPCR RT Master Mix 合成 cDNA。使用 SYBR Premix Ex Taq™ 一式三份进行 qPCR。热循环条件:95℃变性 1 min,60℃退火 10 s,72℃延伸 10 s,共 40 个循环。内参基因为 GAPDH,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$  酶相对表达量。

1.3.2 蛋白质印迹法 使用放射免疫沉淀测定法(RIPA)裂解缓冲液(上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:201801102D)从肺组织中提取蛋白质。在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶上通过电泳分离总蛋白 60  $\mu\text{g}$ ,转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上(Millipor 公司,美国),在室温下用含 TBST 的 5% 脱脂奶粉封闭 1 h。膜与一抗在 4℃ 环境下孵育过夜,与辣根过氧化物酶(上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:20180112D)偶联的抗兔二抗[1:5000;安诺伦(北京)生物科技有限公司生产]在室温下孵育 1 h。使用 Fusion Fx7 图像采集系统(Vilber Lourmat 公司,法国),通过 ECL 化学发光试剂(Beyotime 生物技术研究所)捕获化学发光图像,使用 Image J 软件通过光密度测定法定量测定肺组织 Scr 及 LAM  $\alpha 4$  相对表达量。

1.3.3 肺组织病理学检查 支气管肺泡灌洗后获得完整的左肺,并在 4% 的低聚甲醛中固定 24 h。将样品脱水并包埋在石蜡中,切成 4  $\mu\text{m}$  的组织切片。分别采用苏木素-伊红(HE)(上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:20180560M)、高碘酸-席夫(PAS)(上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:20190956X)染色并分析切片。HE 染色用于评估支气管周围和血管周围炎性细胞浸润情况,PAS 染色用于评估杯状细胞增殖情况。由两名对实验不知情的观察员评估肺组织炎症病变程度,肺组织炎症病变程度由轻到重分为 4 级,分别记为 0~3 分<sup>[11]</sup>,其中无炎症为 0 级(记为 0 分),偶有炎性细胞套扎为 1 级(记为 1 分),大多数支气管或血管被薄层包围为 2 级(记为 2 分),大多数支气管或血管有一层较厚的炎性细胞为 3 级(记为 3 分)。如果炎症病变程度为 2~3 级,则增加 0.5 分,支气管周围和血管周围肺组织炎症评分之和为肺组织炎症评分。使用 Image Pro Plus 6.0 软件测量 PAS 阳性面积占比。

1.3.4 免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)

采用免疫组织化学 EnVision 二步法染色,每个载玻

片随机选择 3 个视野( $\times 250$ ),使用具有 Image-pro Plus 医学图像分析系统的 Olympus Cx31 显微镜(Olympus 公司,日本)定量测定 TGF- $\beta 1$ (抗 TGF- $\beta 1$ , 1:100 稀释;上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:20190523B)和 VEGF(抗 VEGF, 1:100 稀释;上海碧云天生物技术有限公司生产,生产批号:20190630K)表达量。

1.3.5 酶联免疫吸附试验(ELISA) 采用 ELISA 试剂盒(eBioscience 公司,美国)定量检测肺组织中 IL-13、ET-1 含量,并严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计学软件(美国 IBM 公司)进行数据处理。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肺组织  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$  酶、Scr、LAM  $\alpha 4$  相对表达量 三组大鼠肺组织  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$  酶、Scr 及 LAM  $\alpha 4$  相对表达量比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );哮喘组和治疗组大鼠肺组织  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$  酶、Scr 相对表达量低于对照组,LAM  $\alpha 4$  相对表达量高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗组大鼠肺组织  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$  酶、Scr 相对表达量高于哮喘组,LAM  $\alpha 4$  相对表达量低于哮喘组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 三组大鼠肺组织  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$  酶、 $\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$  酶、Scr 及 LAM  $\alpha 4$  相对表达量比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of relative expression levels of  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ ,  $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ , Scr and LAM  $\alpha 4$  in lung tissue among the three groups

组别	只数	$\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶	$\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$ 酶	Scr	LAM $\alpha 4$
对照组	40	1.83 $\pm$ 0.14	2.55 $\pm$ 0.24	4.78 $\pm$ 0.32	1.89 $\pm$ 0.14
哮喘组	40	0.66 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.89 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	1.55 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	8.47 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
治疗组	40	1.64 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>	2.18 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>	3.47 $\pm$ 0.28 <sup>ab</sup>	4.11 $\pm$ 0.36 <sup>ab</sup>
F 值		17.292	13.171	13.907	13.748
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注:ATP=三磷酸腺苷,LAM  $\alpha 4$ =层粘连蛋白  $\alpha 4$ ;与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与哮喘组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

2.2 肺组织炎症评分和 PAS 阳性面积占比 三组大鼠肺组织炎症评分和 PAS 阳性面积占比比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );哮喘组和治疗组大鼠肺组织炎症评分高于对照组,PAS 阳性面积占比大于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );治疗组大鼠肺组织炎症评分低于哮喘组,PAS 阳性面积占比小于哮喘组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。与对照组大鼠相比,

**表 2** 三组大鼠肺组织炎症评分和 PAS 阳性面积占比比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
**Table 2** Comparison of inflammation score and PAS positive area in lung tissue among the three groups

组别	只数	炎症评分(分)	PAS 阳性面积占比(%)
对照组	40	0.53 ± 0.06	0.88 ± 0.21
哮喘组	40	2.87 ± 0.12 <sup>a</sup>	6.78 ± 0.34 <sup>a</sup>
治疗组	40	1.35 ± 0.17 <sup>ab</sup>	4.23 ± 0.26 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		12.738	12.738
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001

注: PAS= 高碘酸-席夫; 与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.05; 与哮喘组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.05

哮喘组大鼠细支气管周围和血管周围存在更多的炎性细胞浸润及大量的杯状细胞, 治疗组较哮喘组大鼠炎性细胞浸润及杯状细胞减少, 见图 1。

**2.3 肺组织 TGF-β 1 和 VEGF 表达情况** 三组大鼠肺组织 TGF-β 1 和 VEGF 表达比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 哮喘组和治疗组大鼠肺组织中 TGF-β 1 和 VEGF 表达高于对照组, 治疗组大鼠肺组织 TGF-β 1 和 VEGF 表达低于哮喘组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 3、图 2。

**2.4 肺组织 IL-13 和 ET-1** 三组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 比较, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05); 哮喘组和治疗组肺组织大鼠 IL-13 和 ET-1 高于对照组, 治疗

组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 低于哮喘组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 4。

**表 3** 三组大鼠肺组织 TGF-β 1 和 VEGF 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
**Table 3** Comparison of expression level of TGF-β 1 and VEGF in lung tissue among the three groups

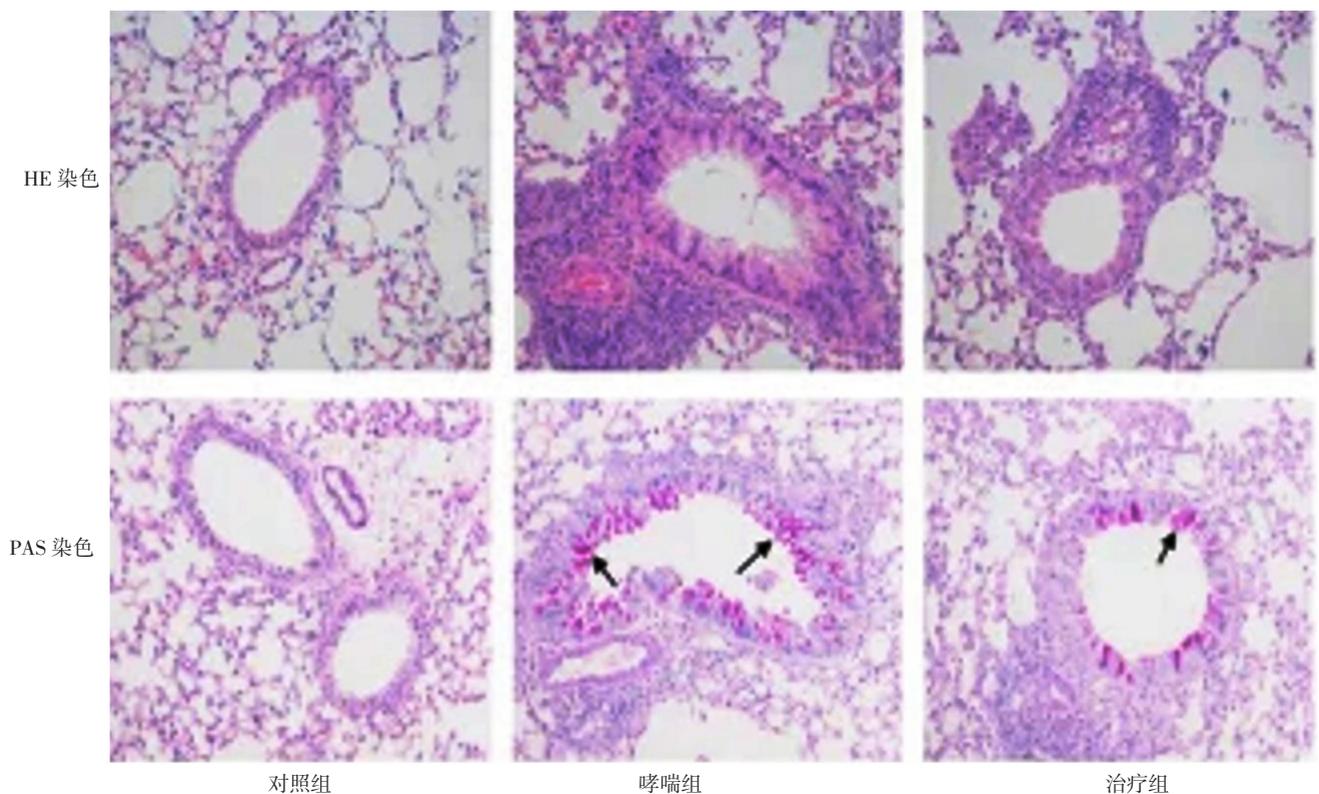
组别	只数	TGF-β 1	VEGF
对照组	40	3.47 ± 0.32	2.78 ± 0.11
哮喘组	40	11.57 ± 1.13 <sup>a</sup>	8.98 ± 0.23 <sup>a</sup>
治疗组	40	6.34 ± 0.18 <sup>ab</sup>	4.67 ± 0.22 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		14.829	16.289
<i>P</i> 值		0.013	0.008

注: TGF-β 1= 转化生长因子 β 1, VEGF= 血管内皮生长因子; 与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.05; 与哮喘组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.05

**表 4** 三组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 比较 ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mg)  
**Table 4** Comparison of IL-13 and ET-1 in lung tissue among the three groups

组别	只数	IL-13	ET-1
对照组	40	130.27 ± 8.29	15.33 ± 1.45
哮喘组	40	324.66 ± 14.82 <sup>a</sup>	42.92 ± 1.48 <sup>a</sup>
治疗组	40	189.07 ± 12.03 <sup>ab</sup>	26.82 ± 2.93 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		18.927	13.930
<i>P</i> 值		0.016	0.007

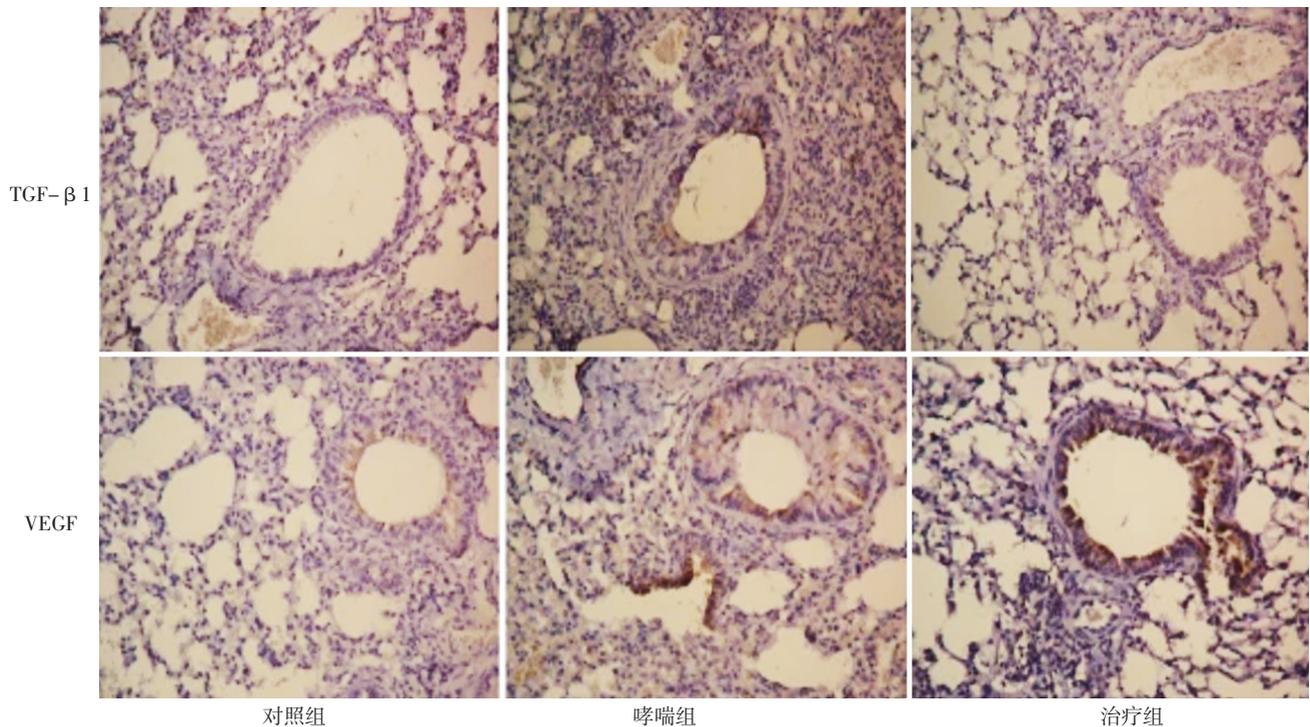
注: IL-13= 白介素 13, ET-1= 内皮素 1; 与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.05; 与哮喘组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.05



注: HE= 苏木素-伊红, PAS= 高碘酸-席夫; 箭头所指处为杯状细胞

**图 1** 三组大鼠肺组织病理学检查结果 (×200)

**Figure 1** Pathological examination results in lung tissue of the three groups



注: TGF- $\beta$ 1=转化生长因子 $\beta$ 1, VEGF=血管内皮生长因子

图2 三组大鼠肺组织免疫组织化学染色结果(SP染色,  $\times 200$ )

Figure 2 Immunohistochemical results in lung tissue of the three groups

### 3 讨论

哮喘是一种慢性气道炎性疾病,与气道炎症和气道结构改变有关,而气道炎症和气道重塑均可导致气道高反应。目前,支气管哮喘的常见治疗方法是吸入长效 $\beta_2$ -肾上腺素激动剂和糖皮质激素,以迅速缓解急性哮喘症状,减轻支气管收缩和气道炎症,但部分患者联合用药依从性较差或存在不良反应。因此,寻找补充疗法(尤其是植物疗法)及有效控制气道重塑的药物已成为哮喘新的研究方向。

既往研究表明,Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活性药物具有抑制哮喘的作用<sup>[12]</sup>,质子泵抑制剂能有效缓解咳嗽症状<sup>[13]</sup>。体液和轴突的钠泵会调节膜电位,而抑制其调节作用将会抑制动作电位的产生。研究表明,钠泵调节剂会选择性作用于同工酶<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,哮喘组和治疗组大鼠肺组织Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶、Ca<sup>2+</sup>-ATP酶相对表达量低于对照组,治疗组大鼠肺组织Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶、Ca<sup>2+</sup>-ATP酶相对表达量高于哮喘组,提示Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-ATP酶表达下调可能与哮喘发生有关。

层粘连蛋白(LAM)是一组异源三聚体蛋白质,由5个 $\alpha$ 、3个 $\beta$ 、3个 $\gamma$ 链组成,其与胶原蛋白IV、尼古丁和蛋白聚糖一起构成了基底膜的主要功能成分。在健康肺组织中,LAM $\alpha$ 2、 $\alpha$ 3、 $\alpha$ 5、 $\beta$ 1、 $\beta$ 2、 $\beta$ 3、 $\gamma$ 1及 $\gamma$ 2存在于气道上皮下的基底膜中,而LAM $\alpha$ 4、 $\beta$ 1、 $\beta$ 2和 $\gamma$ 1存在于气道平滑肌基底膜

中<sup>[15-16]</sup>。研究表明,气道平滑肌质量增加可能与气道平滑肌细胞在增生和收缩表型之间转换有关,暴露于增生刺激会诱导增生的气道平滑肌表型<sup>[17]</sup>。本研究结果显示,哮喘组和治疗组大鼠肺组织LAM $\alpha$ 4相对表达量高于对照组,治疗组大鼠肺组织LAM $\alpha$ 4相对表达量低于哮喘组。本研究结果还显示,哮喘组和治疗组大鼠肺组织炎症评分高于对照组,PAS阳性面积大于对照组;治疗组大鼠肺组织炎症评分低于哮喘组,PAS阳性面积小于哮喘组,提示钠钾泵Scr复合体可有效减轻幼年哮喘大鼠气道炎症。

目前,钠钾泵在分子层面如何抵抗气道重塑及涉及哪些下游分子和信号传导途径仍不清楚。气道重塑的主要改变包括气道上皮完整性破坏、细胞外基质沉积、新血管形成、血管重塑及黏液腺增生,尤其是气道平滑肌细胞增生和肥大。研究表明,哮喘患者气道平滑肌细胞数量异常增多,且其数量与哮喘持续时间及严重程度有关<sup>[18]</sup>。VEGF和TGF- $\beta$ 1均是气道重塑的经典标志物。理论上讲,气道平滑肌质量增加可通过细胞增殖、细胞肥大或两者实现。IL-13是由活化的T细胞、嗜碱粒细胞或肥大细胞产生的Th2型细胞因子<sup>[19]</sup>,其是变应原诱导的气道高反应的重要递质,可直接或单独调节气道平滑肌细胞,而不依赖于炎症反应,其在气道平滑肌细胞、成纤维细胞、内皮和上皮细胞诱导的气道重塑中起关键作用。ET-1是气道平滑肌细胞的促分裂原和

收缩激动剂, 支气管肺泡液中 ET-1 水平升高与气道高反应和哮喘严重程度有关。机械压缩支气管上皮细胞有助于气道平滑肌细胞的增殖和基础收缩, 而增强的增殖和收缩取决于上皮细胞衍生的 ET-1。本研究结果显示, 哮喘组和治疗组大鼠肺组织 TGF- $\beta$  1 和 VEGF 表达高于对照组, 治疗组大鼠肺组织 TGF- $\beta$  1 和 VEGF 表达低于哮喘组; 哮喘组和治疗组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 高于对照组, 治疗组大鼠肺组织 IL-13 和 ET-1 低于哮喘组, 提示钠钾泵 Scr 复合体可抑制 TGF- $\beta$  1、VEGF、IL-13、ET-1 释放, 进而抑制气道重塑。

综上所述, 钠钾泵 Scr 复合体可抑制幼年哮喘大鼠气道炎症及气道重塑, 其机制可能与调控 LAM  $\alpha$  4 表达及抑制 TGF- $\beta$  1、VEGF、IL-13 和 ET-1 的释放有关。

作者贡献: 黄河清进行文章的构思与设计, 研究的实施与可行性分析, 撰写并修订论文, 负责文章的质量控制及审校, 并对文章整体负责、监督管理; 白燕进行数据收集、整理、分析, 结果分析与解释。

本文无利益冲突。

#### 参考文献

- [1] MCALINDEN K D, DESHPANDE D A, GHAVAMI S, et al. Autophagy activation in asthma airways remodeling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 60 (5): 541-553. DOI: 10.1165/rmb.2018-0169oc.
- [2] KUO C S, PAVLIDIS S, ZHU J, et al. Contribution of airway eosinophils in airway wall remodeling in asthma: role of MMP-10 and MET [J]. *Allergy*, 2019, 74 (9347): 1102-1112. DOI: 10.1111/all.13727.
- [3] MOSTAÇO-GUIDOLIN L B, OSEI E T, ULLAH J, et al. Defective fibrillar collagen organization by fibroblasts contributes to airway remodeling in asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200 (4): 431-443. DOI: 10.1164/rccm.201810-1855oc.
- [4] FENG X, PAYNE S C, BORISH L, et al. Differential expression of extracellular matrix components in nasal polyp endotypes [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2019, 33 (6): 665-670. DOI: 10.1177/1945892419860634.
- [5] SETZKE C, BROYTMAN O, RUSSELL J A, et al. Effects of inhaled fluticasone propionate on extrinsic tongue muscles in rats [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2020, 128 (3): 576-585. DOI: 10.1152/jappphysiol.00359.2019.
- [6] BULLONE M, LAVOIE J P. The equine asthma model of airway remodeling: from a veterinary to a human perspective [J]. *Cell Tissue Res*, 2020, 380 (2): 223-236. DOI: 10.1007/s00441-019-03117-4.
- [7] HUR G Y, BROIDE D H. Genes and pathways regulating decline in lung function and airway remodeling in asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2019, 11 (5): 604-621. DOI: 10.4168/aair.2019.11.5.604.
- [8] ZHANG Y, LI S, HUANG S, et al. IL33/ST2 contributes to airway remodeling via p-JNK MAPK/STAT3 signaling pathway in OVA-induced allergic airway inflammation in mice [J]. *Exp Lung Res*, 2019, 45 (3/4): 65-75. DOI: 10.1080/01902148.2019.1611972.
- [9] SHAO Y, CHONG L, LIN P, et al. MicroRNA-133a alleviates airway remodeling in asthma through PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by targeting IGF1R [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (4): 4068-4080. DOI: 10.1002/jcp.27201.
- [10] LI Y, CHEN L, GUO F, et al. Effects of epigallocatechin-3-gallate on the HMGB1/RAGE pathway in PM (2.5)-exposed asthmatic rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 513 (4): 898-903. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.03.165.
- [11] KACZMAREK K A, CLIFFORD R L, KNOX A J. Epigenetic changes in airway smooth muscle as a driver of airway inflammation and remodeling in asthma [J]. *Chest*, 2019, 155 (4): 816-824. DOI: 10.1016/j.chest.2018.10.038.
- [12] WIEGMAN C H, MICHAELOUDES C, HAJI G, et al. Oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction drives inflammation and airway smooth muscle remodeling in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136 (3): 769-780. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.01.046.
- [13] BARRETT N A, SHALEK A K. Revisiting airway epithelial remodeling in type 2 immunity: beyond goblet cell metaplasia [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144 (5): 1158-1160. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.09.017.
- [14] CAULEY E S, PITTMAN A, MUMMIDIVARPU S, et al. Novel mutation identification and copy number variant detection via exome sequencing in congenital muscular dystrophy [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8 (11): e1387. DOI: 10.1002/mgg3.1387.
- [15] VELÁZQUEZ-QUESADA I, RUIZ-MORENO A J, CASIQUE-AGUIRRE D, et al. Pranlukast antagonizes CD49f and reduces stemness in triple-negative breast cancer cells [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2020, 14: 1799-1811. DOI: 10.2147/dddt.s247730.
- [16] HASHEMI-GORJI F, YASSAE V R, DASHTI P, et al. Novel LAMA2 gene mutations associated with merosin-deficient congenital muscular dystrophy [J]. *Iran Biomed J*, 2018, 22 (6): 408-414. DOI: 10.29252/22.6.408.
- [17] ÁLVAREZ-SANTOS M, RAMOS-RAMÍREZ P, GUTIÉRREZ-AGUILAR F, et al. Antigen-induced airway hyperresponsiveness and obstruction is related to caveolin-1 expression in airway smooth muscle in a guinea pig asthma model [J]. *Clin Transl Allergy*, 2015, 5 (3): 14. DOI: 10.1186/s13601-015-0058-7.
- [18] YAO Z H, XIE H J, YUAN Y L, et al. Contraction-dependent TGF- $\beta$ 1 activation is required for thrombin-induced remodeling in human airway smooth muscle cells [J]. *Life Sci*, 2019, 197: 130-139. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.02.012.
- [19] SYMOWSKI C, VOEHRINGER D. Th2 cell-derived IL-4/IL-13 promote ILC2 accumulation in the lung by ILC2-intrinsic STAT6 signaling in mice [J]. *Eur J Immunol*, 2019, 49 (9): 1421-1432. DOI: 10.1002/eji.201948161.

(收稿日期: 2020-10-05; 修回日期: 2020-12-24)

(本文编辑: 谢武英)