

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.20.005

基于 TGF- β 1-Smad2 信号通路探讨布地奈德对高氧诱导支气管肺发育不良新生小鼠的保护作用及机制研究*

李妙晨 卞相丽 郑芳 蒋芹 吴志敏[△]

(上海市第六人民医院临港院区儿科 上海 201306)

摘要 目的:基于转化生长因子- β 1(TGF- β 1)-母亲DPP同源物2(Smad2)信号通路探讨布地奈德对高氧诱导支气管肺发育不良(BPD)新生小鼠的保护作用及机制研究。**方法:**将60只SD小鼠随机分为对照组、模型组以及布地奈德低/中/高等剂量组,每组12只。对照组暴露于空气中,模型组和布地奈德低、中、高剂量组暴露于高氧环境中,建立BPD模型。布地奈德低/中/高等剂量组建模24h后每日雾化吸入1 mL/2 mL/4 mL布地奈德混悬液,12 h/次,持续雾化至处死,对照组和模型组建模24h后每日雾化吸入生理盐水,12 h/次。建模7 d、14 d,HE染色观察各组肺组织形态学变化,Image-Pro Plus 6.0软件测定放射状肺泡计数(RAC)、肺泡平均截距(MLI),免疫印迹法检测肺组织TGF- β 1、Smad2、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)蛋白水平,酶联免疫吸附法检测血清白介素(IL)-1 β 、IL-18水平。**结果:**建模7 d、14 d后,模型组肺组织结构破坏严重,肺泡结构简单,体积增大,形成肺大疱,组织变形随着建模时间延长而加重。布地奈德低、中、高剂量组肺组织结构破坏程度随着布地奈德浓度增加而好转,肺泡结构逐渐完整。与对照组比较,模型组建模7 d、14 d后RAC明显降低,MLI和肺组织TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1蛋白水平及血清IL-1 β 、IL-18水平明显升高($P<0.05$)。与模型组比较,布地奈德低、中、高剂量组建模7 d、14 d后RAC逐渐增加,MLI和肺组织TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1蛋白水平及血清IL-1 β 、IL-18水平逐渐降低($P<0.05$)。**结论:**布地奈德可能通过调控NLRP3/Caspase-1信号通路抑制炎症反应,调控TGF- β 1/Smad2信号通路抑制肺纤维化进程,在BPD新生小鼠中发挥保护作用。

关键词:支气管肺发育不良;布地奈德;炎症反应;TGF- β 1;Smad2;NLRP3;Caspase-1

中图分类号:R-33;Q593;R722 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)20-3823-05

To Investigate the Protective Effect and Mechanism Study of Budesonide on Hyperoxia-induced Bronchopulmonary Dysplasia in Neonatal Mice Based on TGF- β 1-Smad2 Signaling Pathway*

LI Miao-chen, BIAN Xiang-li, ZHENG Fang, JIANG Qin, WU Zhi-min[△]

(Department of Pediatrics, Lingang District of Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai, 201306, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the protective effect and mechanism study of budesonide on hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia (BPD) in neonatal mice based on transforming growth factor- β 1(TGF- β 1)-mothers against decapentaplegic homolog 2 (Smad2) signaling pathway. **Methods:** 60 SD mice were randomly divided into control group, model group, low/middle/high dose budesonide groups, with 12 mice in each group. The control group was exposed to the air, and the model group and low, medium, and high dose budesonide groups were exposed to a high oxygen environment to establish a BPD model. 24 h after modeling, the low/medium/high dose budesonide groups was inhaled with 1 mL/2 mL/4 mL budesonide suspension daily, 12 h/times, and continued to atomize until death, 24 h after modeling, the control group and the model group were atomized and inhaled normal saline daily, 12 h/times. 7 d and 14 d after modeling, HE staining was used to observe the morphological changes of lung tissue in each group. Radial alveolar count (RAC) and mean alveolar intercept (MLI) were measured by Image-Pro Plus 6.0 software, and TGF- β 1, Smad2, nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) and cysteine aspartate protease-1 (caspase-1) protein levels were detected by Western blotting. Serum interleukin (IL)-1 β and IL-18 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results:** 7 d and 14 d after modeling, the lung tissue structure of the model group was severely damaged, the alveolar structure was simple, the volume increased, and bullae were formed, and the tissue deformation increased with the extension of modeling time. The degree of lung tissue damage in low, medium and high dose budesonide groups improved with the increase of budesonide concentration, and the alveolar structure was gradually complete. Compared with the control group, the RAC of the model group was significantly reduced at 7 d and 14

* 基金项目:上海市卫生健康委先进适宜技术推广项目(2019SY051);上海市浦东新区卫生和计划生育委员会卫生计生科研项目(PW2017D-7);上海市第六人民医院东院院级科研基金项目(院人才2016021)

作者简介:李妙晨(1988-),女,硕士,住院医师,研究方向:小儿呼吸系统疾病,E-mail: yilvqiufen@163.com

[△] 通讯作者:吴志敏(1973-),男,本科,副主任医师,研究方向:儿童呼吸道感染及儿童哮喘,E-mail: 13626920901@163.com

(收稿日期:2021-04-10 接受日期:2021-04-30)

d after modeling, and the MLI and lung tissue TGF- β 1, Smad2, NLRP3, Caspase-1 protein levels and serum IL-1 β , IL-18 levels were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the RAC of the low, medium and high dose budesonide groups gradually increased, MLI and lung tissue TGF- β 1, Smad2, NLRP3, Caspase-1 protein levels, and serum IL-1 β , IL-6 levels gradually decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Budesonide may inhibit inflammatory response by regulating the NLRP3/Caspase-1 signaling pathway, and regulate the TGF- β 1/Smad2 signaling pathway to inhibit the process of pulmonary fibrosis, and play a protective role in BPD in neonatal mice.

Key words: Bronchopulmonary dysplasia; Budesonide; Inflammatory response; TGF- β 1; Smad2; NLRP3; Caspase-1

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q593; R722 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)20-3823-05

前言

支气管肺发育不良(BPD)是在遗传因素基础上由产前和产后多种因素相互作用引起的肺损伤和损伤后异常修复所致,是早产儿最常见的慢性呼吸系统疾病,以肺泡和肺血管发育不良为主要特征,主要临床表现为进行性呼吸困难和对氧的依赖^[1-3]。糖皮质激素因具有抗炎、缓解支气管痉挛、减轻肺水肿等作用而被应用于 BPD 的治疗中^[4]。布地奈德是一种具有高效局部抗炎作用的糖皮质激素,也是目前唯一被批准的雾化吸入型糖皮质激素,已被证实对 BPD 具有良好疗效,且安全性较高^[5],但尚不明确其作用机制。目前认为,BPD 发生与肺血管发育障碍、炎症反应、氧化应激、肺纤维化、细胞外基质合成及降解失衡有关^[6,7]。转化生长因子- β 1(TGF- β 1)对肺组织发育和呼吸功能维持具有重要作用^[8]。母亲 DPP 同源物 2(Smad2)蛋白依赖型通路为 TGF- β 1 重要通路,与肺纤维化形成相关^[9]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)为重要固有免疫受体,能通过激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)激活白介素(IL)家族细胞因子,参与机体炎症反应^[10]。本研究旨在观察雾化吸入布地奈德对 BPD 新生小鼠炎症因子、TGF- β 1-Smad2 信号通路和 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达的影响,探讨布地奈德改善 BPD 的作用和可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级健康出生后 3 d 的 SD 小鼠 60 只,雌雄不限,由上海市第六人民医院提供,许可证号:SYXK(沪)2016-0020,所有小鼠均由本院动物中心常规饲养,光照 12 h,黑暗 12 h,湿度(50 $\pm$ 10)%、温度(25 $\pm$ 1)%。本研究经本院动物实验伦理委员会批准。

1.1.2 仪器和试剂 蛋白凝胶成像仪:上海天能科技有限公司,型号:3500;光学显微镜:日本奥林巴斯公司,型号:CX23;氧箱:英国 DWS 公司,型号:H35;低温冰箱:中科美菱低温科技股份有限公司,型号:DW-HL528-86;酶标仪:雷杜生命科学股份有限公司,型号:RT-6100;吸入用布地奈德混悬液:国药准字:H20203063,正大天晴药业集团股份有限公司,规格:2 mL:1 mg;HE 染色试剂盒:上海歌凡生物科技有限公司,货号:M020;组织蛋白提取试剂盒:上海彩佑实业有限公司,货号:C-8073;一抗 TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1,二抗山羊抗兔 IgG:北京百奥莱博科技有限公司,货号:YT763-QHB、K28052-WXF、M04359-FWO、K11437-SGM、ARB11900、

ZN1991-KVZ。IL-1 β 、IL-18 试剂盒:武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:E-EL-H0149c、E-EL-M0044c。

1.2 方法

1.2.1 建模和分组 参考 Han 等^[11]方法建立高氧诱导 BPD 模型,其中 12 只小鼠不做任何处理,常规暴露于空气中为对照组。剩余小鼠暴露于 60%氧浓度氧箱中构建 BPD 模型,随机分为模型组和布地奈德低/中/高等剂量组,每组 12 只。24 h 后布地奈德低/中/高等剂量组建模 24 h 后每日雾化吸入 1 mL/2 mL/4 mL 布地奈德混悬液,12 h/次,持续雾化至处死,对照组和模型组建模 24 h 后每日雾化吸入生理盐水,12 h/次。

1.2.2 标本采集和处理 建模 7 d 后随机选取各组 6 只小鼠,腹腔注射麻醉处死,腹主动脉采血,3000 r/min 离心 10 min(半径 8 cm),取上清液,置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用,采用酶联免疫吸附法检测。打开胸腔,切除部分肺组织,部分肺组织 4%多聚甲醛中固定,石蜡包埋,用于 HE 染色。其余部分盐水漂洗,滤纸吸干表面水分后置于液氮中保存备用,用于免疫印迹实验。建模 14 d 后采用同样方法处理。

1.2.3 肺组织病理检查 石蜡包埋肺组织连续切片 4 mm,行 HE 染色,每个标本随机选取 3 张切片,再随机选取 5 个视野,显微镜下观察肺组织形态学变化。选用 Image-Pro Plus 6.0 软件统计各视野放射状肺泡计数(radical alveolar counts,RAC)和计算肺泡平均截距(mean linear intercept,MLI),取平均值。

1.2.4 免疫印迹法检测肺组织 TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平 蛋白提取试剂盒提取肺组织总蛋白,凝胶电泳分离蛋白质后转 PVDF 膜,5%脱脂奶粉封闭 2 h,加入一抗 TGF- β 1(1:500)、Smad2(1:500)、NLRP3(1:200)、Caspase-1(1:500)、GADPH(1:500),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,对应添加二抗,室温孵育 1 h,曝光,采集图像,选用 Quantity One 4.6 软件分析条带灰度值,以靶蛋白灰度值/GADPH 灰度值为靶蛋白相对表达量。

1.2.5 酶联免疫吸附法检测血清 IL-1 β 、IL-18 水平 酶联免疫吸附法检测血清 IL-1 β 、IL-18 水平。

1.3 统计学处理

选用 SPSS 26.0 统计学软件,正态分布且方差齐计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠肺组织形态学变化

建模 7 d、14 d 后,对照组肺组织结构完整,肺泡排列整齐,无间隔损伤。模型组肺组织结构破坏严重,肺泡结构简单,体积

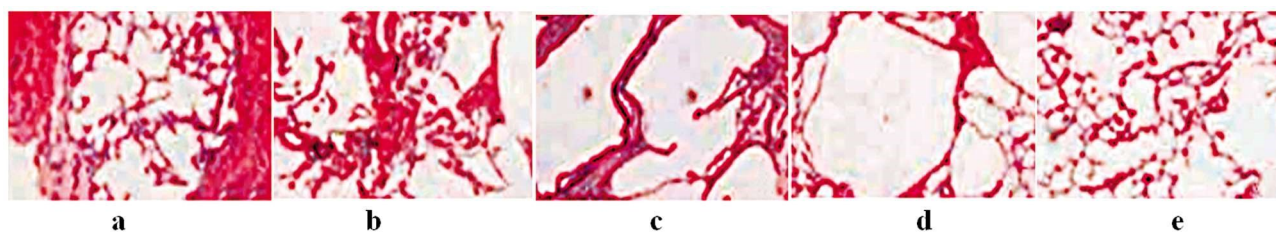
增大,形成肺大疱,组织变形随着建模时间延长而加重。布地奈德低剂量组肺组织结构破坏严重,体积增大,形成肺大疱,组织变形随着建模时间延长而有所缓解。布地奈德中、高剂量组肺组织结构破坏较轻,且随着建模时间延长而缓解。与对照组比较,模型组、布地奈德低剂量组建模 7 d、14 d 后,布地奈德中、高剂量组建模 7 d 后 RAC 明显降低,MLI 明显增加($P<0.05$);与模型组比较,布地奈德低剂量组建模 14 d 后,布地奈德中、

高剂量组建模 7 d、14 d 后 RAC 明显增加,MLI 明显降低 ($P<0.05$);与布地奈德低剂量组比较,布地奈德中、高剂量组建模 7 d、14 d 后 RAC 明显增加,MLI 明显降低($P<0.05$);与布地奈德中剂量组比较,布地奈德高剂量组建模 7 d、14 d 后 RAC 明显增加,MLI 明显降低($P<0.05$)。见表 1。各组肺组织形态学变化见图 1 和图 2。

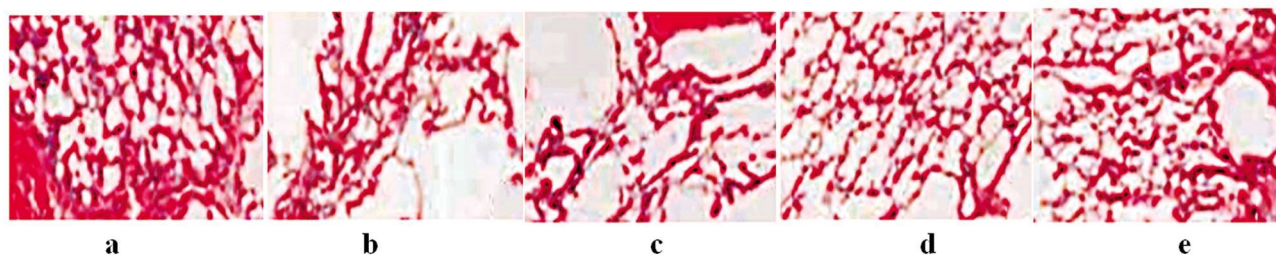
表 1 各组 RAC 和 MLI 比较($\bar{x}\pm s$)Table 1 Comparison of RAC and MLI in each group ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	RAC(n)		MLI(μm)	
		7 d after modeling	14 d after modeling	7 d after modeling	14 d after modeling
Control group	6	9.67 $\pm$ 2.52	10.25 $\pm$ 2.75	40.63 $\pm$ 1.32	38.82 $\pm$ 1.71
Model group	6	3.25 $\pm$ 0.86 ^a	1.53 $\pm$ 0.27 ^a	50.25 $\pm$ 1.79 ^a	53.34 $\pm$ 2.20 ^a
Low dose budesonide group	6	3.52 $\pm$ 0.89 ^a	4.52 $\pm$ 0.95 ^{ab}	49.11 $\pm$ 1.72 ^a	47.82 $\pm$ 2.07 ^{ab}
Medium dose budesonide group	6	5.96 $\pm$ 1.21 ^{abc}	8.98 $\pm$ 0.91 ^{bc}	46.32 $\pm$ 1.84 ^{abc}	41.07 $\pm$ 1.83 ^{bc}
High dose budesonide group	6	7.11 $\pm$ 1.18 ^{abcd}	9.69 $\pm$ 1.67 ^{bcd}	42.86 $\pm$ 1.35 ^{abcd}	39.86 $\pm$ 1.08 ^{bcd}

Note: compared with the control group, ^a $P<0.05$; compared with the model group, ^b $P<0.05$; Compared with low dose budesonide group, ^c $P<0.05$; compared with medium dose budesonide group, ^d $P<0.05$.

图 1 各组建模 7d 肺组织形态学变化(HE $\times$ 400)Fig.1 Lung histomorphological changes in each group on the 7d after modeling (HE $\times$ 400)

Note: a: Control group, b: Model group, c: Low dose budesonide group, d: Medium dose budesonide group, e: High dose budesonide group.

图 2 各组建模 14d 肺组织形态学变化(HE $\times$ 400)Fig.2 Lung histomorphological changes in each group on the 14d after modeling (HE $\times$ 400)

Note: a: Control group, b: Model group, c: Low dose budesonide group, d: Medium dose budesonide group, e: High dose budesonide group.

2.2 各组肺组织 TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平比较

与对照组比较,模型组、布地奈德低、中、高剂量组建模 7 d、14 d 后肺组织 TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平明显升高($P<0.05$);与模型组比较,布地奈德低、中、高剂量组建模 7 d、14 d 后肺组织 TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平明显降低($P<0.05$);与布地奈德低剂量组比较,布地奈德中、高剂量组建模 7 d、14 d 后肺组织 TGF- β 1、Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平明显降低($P<0.05$);与布地奈德中剂量组比较,布地奈德高剂量组建模 7 d、14 d 后肺组织 TGF- β 1、

Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平明显降低($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组血清 IL-1 β 、IL-18 水平比较

与对照组比较,模型组、布地奈德低、中、高剂量组建模 7 d、14 d 后血清 IL-1 β 、IL-18 水平明显升高($P<0.05$);与模型组比较,布地奈德低、中、高剂量组建模 7 d、14 d 后血清 IL-1 β 、IL-18 水平明显降低($P<0.05$);与布地奈德低剂量组比较,布地奈德中、高剂量组建模 7 d、14 d 后血清 IL-1 β 、IL-18 水平明显降低($P<0.05$);与布地奈德中剂量组比较,布地奈德高剂量组建模 7 d、14 d 后血清 IL-1 β 、IL-18 水平明显降低($P<0.05$)。见表 3。

表 2 各组肺组织 TGF-β1、Smad2、NLRP3、Caspase-1 蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of TGF-β1, Smad2, NLRP3 and caspase-1 protein levels in lung tissue of each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups		n	TGF-β1/GADPH	Smad2/GADPH	NLRP3/GADPH	Caspase-1/GADPH
Control group	7 d after modeling	6	1.00± 0.21	0.96± 0.18	0.16± 0.03	0.13± 0.02
	14 d after modeling	6	1.03± 0.31	1.02± 0.23	0.27± 0.04	0.21± 0.03
Model group	7 d after modeling	6	3.75± 0.56 ^a	1.86± 0.56 ^a	0.57± 0.08 ^a	0.57± 0.06 ^a
	14 d after modeling	6	3.89± 0.69 ^a	2.52± 0.51 ^a	1.35± 0.12 ^a	0.78± 0.09 ^a
Low dose budesonide group	7 d after modeling	6	3.12± 0.4 ^{ab}	1.79± 0.49 ^{ab}	0.52± 0.06 ^{ab}	1.23± 0.11 ^{ab}
	14 d after modeling	6	2.99± 0.76 ^{ab}	1.86± 0.39 ^{ab}	0.50± 0.05 ^{ab}	0.62± 0.08 ^{ab}
Medium dose budesonide group	7 d after modeling	6	2.51± 0.38 ^{abc}	1.43± 0.26 ^{abc}	0.47± 0.09 ^{abc}	1.02± 0.08 ^{abc}
	14 d after modeling	6	2.43± 0.58 ^{abc}	1.35± 0.22 ^{abc}	0.41± 0.07 ^{abc}	0.54± 0.09 ^{abc}
High dose budesonide group	7 d after modeling	6	1.79± 0.36 ^{abcd}	1.21± 0.22 ^{abcd}	0.38± 0.06 ^{abcd}	0.75± 0.09 ^{abcd}
	14 d after modeling	6	1.81± 0.47 ^{abcd}	1.08± 0.18 ^{abcd}	0.29± 0.03 ^{abcd}	0.43± 0.04 ^{abcd}

Note: compared with the control group, ^a $P < 0.05$; compared with the model group, ^b $P < 0.05$; Compared with low dose budesonide group, ^c $P < 0.05$; compared with medium dose budesonide group, ^d $P < 0.05$.

表 3 各组血清 IL-1β、IL-18 水平比较 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of serum IL-1β and IL-18 levels in each group (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

Groups	n	IL-1β		IL-18	
		7 d after modeling	14 d after modeling	7 d after modeling	14 d after modeling
Control group	6	11.32± 2.79	11.88± 2.97	127.67± 15.97	136.19± 26.67
Model group	6	37.67± 7.52 ^a	41.33± 6.80 ^a	273.57± 28.11 ^a	482.18± 27.77 ^a
Low dose budesonide group	6	32.18± 6.33 ^{ab}	27.69± 5.76 ^{ab}	154.18± 26.69 ^{ab}	249.70± 27.19 ^{ab}
Medium dose budesonide group	6	25.16± 5.08 ^{abc}	21.67± 4.44 ^{abc}	149.33± 24.77 ^{abc}	237.21± 26.43 ^{abc}
High dose budesonide group	6	21.38± 4.07 ^{abcd}	16.68± 3.16 ^{abcd}	132.19± 24.89 ^{abcd}	227.59± 23.20 ^{abcd}

Note: compared with the control group, ^a $P < 0.05$; compared with the model group, ^b $P < 0.05$; Compared with low dose budesonide group, ^c $P < 0.05$; compared with medium dose budesonide group, ^d $P < 0.05$.

3 讨论

早产儿出生后通常会接受高氧等辅助呼吸,但长时间辅助呼吸易引起肺损伤,导致 BPD^[12-14]。研究显示^[3],极早早产儿与超低出生体重儿 BPD 发生率高达 50%,合并 BPD 早产儿并发症发生率和死亡率远高于一般早产儿,且存活新生儿往往伴有精神运动发育迟滞、肺功能减退等问题,已成为儿科医师面临的挑战性难题。布地奈德是一种糖皮质激素,对 BPD 的治疗效果已得到广大医师的肯定^[15-17]。本研究结果显示,模型组建模 7 d、14 d 后肺组织严重破坏,肺泡结构简单,体积增大,形成肺大疱,组织变形随着建模时间延长而加重,表明建模成功。布地奈德低、中、高剂量组肺组织结构破坏程度随着布地奈德浓度增加而好转,肺泡结构逐渐完整,RAC 逐渐增加,MLI 逐渐降低,说明布地奈德能有效改善 BPD 导致的肺组织破坏。

炎症能使中性粒细胞聚集于呼吸道和肺组织,影响肺微血管发育,引起肺泡异常形成,最终导致 BPD^[18]。研究表明,脓毒症可显著增加中重度 BPD 患病风险^[19]。另有研究报道,IL-1 受体拮抗剂能有效预防高氧诱导的肺泡损伤和气道纤维化^[20]。本研究结果显示,相比对照组,模型组建模 7 d、14 d 后血清 IL-1β、IL-18 水平明显升高,说明 BPD 可引起机体炎症反应。与模型组比较,布地奈德低、中、高剂量组血清 IL-1β、IL-18 水平明显降低,且随着布地奈德浓度增加而进一步降低,说明布

地奈德能通过降低血清 IL-1β、IL-18 水平,缓解 BPD 引起的炎症反应,发挥 BPD 保护作用。尽管大量研究报道炎症反应是 BPD 发生的关键,但关于其具体分子通路仍然未阐明^[21-23]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体是一类胞浆受体,能启动天然免疫系统,以维持机体免疫稳态^[24]。NLRP3 由核苷酸结合寡聚化结构域样受体激活后形成的一种蛋白复合体,当 NLRP3 被激活后,能促进 pro-Caspase-1 聚合催化为 Caspase-1, Caspase-1 又可活化 pro-IL-1β、pro-IL-18,裂解为 IL-1β、IL-18,参与人体免疫炎症反应过程^[25]。咖啡因是临床 BPD 一线防治药物,研究报道,咖啡因可抑制脂多糖诱导的 THP-1 巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体活化^[26]。本研究结果显示,相比对照组,模型组建模 7 d、14 d 后肺组织 NLRP3、Caspase-1 蛋白水平明显提升,说明 BPD 中 NLRP3/Caspase-1 信号通路被激活,可加重炎症反应。与模型组比较,布地奈德低、中、高剂量组肺组织 NLRP3、Caspase-1 蛋白水平随着布地奈德浓度增加而明显降低,说明布地奈德可能通过抑制 BPD 引起的 NLRP3/Caspase-1 信号通路激活,进而抑制血清 IL-1β、IL-18 水平表达,发挥 BPD 保护作用。

研究表明,肺组织异常修复和纤维化过程参与 BPD 发生,新生儿肺发育正处于小管期和囊泡期,抗氧化机制不成熟,此时给予氧疗会导致肺部过度炎症反应,引起肺泡化和毛细血管重塑,最终引起肺纤维化^[27]。TGF-β1 是目前已知最强的致纤维化因子,基础研究发现,肺纤维化小鼠肺成纤维细胞和肺支气

管 TGF- β 1 表达显著上调, 且与肺纤维化程度呈正相关^[28]。TGF- β 1 通过结合其 II 型受体激活 Smad 信号通路, 促进成纤维细胞增殖、分化、生长, 抑制肺上皮和内皮细胞增殖及生长因子释放、肺泡上皮细胞-间质细胞转化, 降低胶原蛋白合成和降解, 导致肺纤维化^[29]。近年有研究报道, 抑制 TGF- β 1/Smad2 信号通路可改善 BPD 肺组织弹性蛋白表达和分布, 抑制肺部纤维化进程^[30,31]。本研究结果显示, 相比对照组, 模型组建模 7 d、14 d 后肺组织 TGF- β 1、Smad2 蛋白水平明显提升, 说明 BPD 中 TGF- β 1/Smad2 信号通路被激活。与模型组比较, 布地奈德低、中、高剂量组肺组织 TGF- β 1、Smad2 蛋白水平随着布地奈德浓度增加而明显降低, 说明布地奈德可能通过抑制 BPD 引起的 TGF- β 1/Smad2 信号通路激活, 进而抑制肺纤维化进程, 在 BPD 中发挥保护作用。

综上所述, 布地奈德可能通过调控 NLRP3/Caspase-1 信号通路抑制炎症反应, 调控 TGF- β 1/Smad2 信号通路抑制肺纤维化进程, 在 BPD 新生小鼠中发挥保护作用。

参考文献(References)

- [1] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中华儿科杂志编辑委员会. 早产儿支气管肺发育不良临床管理专家共识 [J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(5): 358-365
- [2] Askie LM, Darlow BA, Finer N, et al. Association Between Oxygen Saturation Targeting and Death or Disability in Extremely Preterm Infants in the Neonatal Oxygenation Prospective Meta-analysis Collaboration[J]. JAMA, 2018, 319(21): 2190-2201
- [3] 付晶, 刘芳. 早产儿支气管肺发育不良研究进展 [J]. 临床误诊误治, 2018, 31(3): 107-111
- [4] 张蓉, 林新祝, 常艳美, 等. 早产儿支气管肺发育不良营养管理专家共识[J]. 中国当代儿科杂志, 2020, 22(8): 805-814
- [5] 黄智峰, 李欢, 黄鹏, 等. 早期雾化吸入布地奈德预防极低出生体重儿支气管肺发育不良 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(2): 117-119
- [6] Principi N, Di Pietro GM, Esposito S. Bronchopulmonary dysplasia: clinical aspects and preventive and therapeutic strategies [J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 36
- [7] Lal CV, Bhandari V, Ambalavanan N. Genomics, microbiomics, proteomics, and metabolomics in bronchopulmonary dysplasia[J]. Semin Perinatol, 2018, 42(7): 425-431
- [8] Negreros M, Hagood JS, Espinoza CR, et al. Transforming growth factor beta 1 induces methylation changes in lung fibroblasts [J]. PLoS One, 2019, 14(10): e0223512
- [9] 周滢如, 鹿昶, 陈思露, 等. 多西环素通过 TGF- β 1/Smad 通路抑制百草枯诱导的肺纤维化研究[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2019, 37(5): 337-341
- [10] Wang Z, Meng S, Cao L, et al. Critical role of NLRP3-caspase-1 pathway in age-dependent isoflurane-induced microglial inflammatory response and cognitive impairment[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1): 109
- [11] Han W, Guo C, Liu Q, et al. Aberrant elastin remodeling in the lungs of O₂-exposed newborn mice; primarily results from perturbed interaction between integrins and elastin[J]. Cell Tissue Res, 2015, 359(2): 589-603
- [12] 袁二伟, 曲海新, 王玲玲, 等. 早产儿支气管肺发育不良的影响因素及血清 MMP-16、NF- κ B 检测的临床意义 [J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(3): 561-564, 557
- [13] Siddaiah R, Oji-Mmuo CN, Montes DT, et al. MicroRNA Signatures Associated with Bronchopulmonary Dysplasia Severity in Tracheal Aspirates of Preterm Infants[J]. Biomedicines, 2021, 9(3): 25
- [14] Go H, Ohto H, Nollet KE, et al. Red cell distribution width as a predictor for bronchopulmonary dysplasia in premature infants [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 7221
- [15] McEvoy CT, Ballard PL, Ward RM, et al. Dose-escalation trial of budesonide in surfactant for prevention of bronchopulmonary dysplasia in extremely low gestational age high-risk newborns (SASSIE)[J]. Pediatr Res, 2020, 88(4): 629-636
- [16] 黄进洁, 闫玉琴, 李志光, 等. 布地奈德防治早产儿支气管肺发育不良的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(4): 390-392
- [17] Heo M, Jeon GW. Intratracheal administration of budesonide with surfactant in very low birth weight infants to prevent bronchopulmonary dysplasia[J]. Turk J Pediatr, 2020, 62(4): 551-559
- [18] Savani RC. Modulators of inflammation in Bronchopulmonary Dysplasia[J]. Semin Perinatol, 2018, 42(7): 459-470
- [19] Dong Y, Speer CP, Glaser K. Beyond sepsis: Staphylococcus epidermidis is an underestimated but significant contributor to neonatal morbidity[J]. Virulence, 2018, 9(1): 621-633
- [20] Wang J, Bao L, Yu B, et al. Interleukin-1 β Promotes Epithelial-Derived Alveolar Elastogenesis via α v β 6 Integrin-Dependent TGF- β Activation[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(6): 2198-2216
- [21] 李静. 血清 25 羟基维生素 D、白细胞介素-6 水平与早产儿支气管肺发育不良的关系[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(3): 361-363
- [22] Reicherzer T, Häffner S, Shahzad T, et al. Activation of the NF- κ B pathway alters the phenotype of MSCs in the tracheal aspirates of preterm infants with severe BPD [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 315(1): L87-L101
- [23] Hsiao CC, Lin HC, Chang YJ, et al. Intravenous fish oil containing lipid emulsion attenuates inflammatory cytokines and the development of bronchopulmonary dysplasia in very premature infants: A double-blind, randomized controlled trial [J]. Clin Nutr, 2019, 38(3): 1045-1052
- [24] 兀娜, 沈敏. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 炎性小体抑制剂[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2020, 14(1): 60-66
- [25] Karasawa T, Takahashi M. Role of NLRP3 Inflammasomes in Atherosclerosis[J]. J Atheroscler Thromb, 2017, 24(5): 443-451
- [26] Li N, Wu K, Feng F, et al. Astragaloside IV alleviates silica-induced pulmonary fibrosis via inactivation of the TGF- β 1/Smad2/3 signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2021, 47(3): 16
- [27] 左敬叶, 王艺睿, 杨宇婷. 早产儿支气管肺发育不良的发病机制研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2019, 46(11): 831-834
- [28] Ruan H, Lv Z, Liu S, et al. Anlotinib attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis via the TGF- β 1 signalling pathway [J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 72(1): 44-55
- [29] Kim KK, Sheppard D, Chapman HA. TGF- β 1 Signaling and Tissue Fibrosis[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(4): a022293
- [30] Jin M, Lee J, Lee KY, et al. Alteration of TGF- β -ALK-Smad signaling in hyperoxia-induced bronchopulmonary dysplasia model of newborn rats[J]. Exp Lung Res, 2016, 42(7): 354-364
- [31] Kunzmann S, Ottensmeier B, Speer CP, et al. Effect of progesterone on Smad signaling and TGF- β /Smad-regulated genes in lung epithelial cells[J]. PLoS One, 2018, 13(7): e0200661