

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.16.001  
文章编号: 1005-8982 (2022) 16-0001-06

肺部感染性疾病·论著

## 曲美他嗪对重症肺炎大鼠的肺保护作用 及其机制研究\*

范晓航<sup>1</sup>, 刘丽琴<sup>1</sup>, 胡伊瑶<sup>1</sup>, 赵雪红<sup>1</sup>, 李泉<sup>2</sup>, 王颖<sup>3</sup>

[1. 湖北文理学院 医学部, 湖北 襄阳 441053; 2. 湖北文理学院附属医院  
(襄阳市中心医院) 肿瘤科, 湖北 襄阳 441021; 3. 海南省人民医院  
(海南医学院附属海南医院) 麻醉科, 海南海口 570311]

**摘要: 目的** 观察曲美他嗪(TMZ)对重症肺炎大鼠的肺保护作用, 并探讨其可能机制。**方法** 45只SD雄性大鼠中, 取35只大鼠复制重症肺炎模型, 死亡5只, 30只模型大鼠随机分为重症肺炎(SP)组、TMZ组、TMZ联合磷脂酸(PA)[哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)激活剂]组, 每组10只; 余10只仅注射无菌生理盐水, 设为对照组。TMZ组灌胃TMZ生理盐水溶液5 mL, 剂量20 mg/kg, 尾静脉注射生理盐水1 mL; TMZ联合PA组灌胃TMZ生理盐水溶液5 mL, 剂量20 mg/kg, 尾静脉注射PA生理盐水溶液1 mL, 剂量1 mg/kg; 对照组、SP组分别灌胃、尾静脉注射等体积生理盐水。4组大鼠均1次/d, 连续干预6 d。检测外周血辅助性T细胞17(Th17)和调节性T细胞(Treg)细胞、肺功能指标、肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )水平; 采用Western blotting检测肺组织蛋白激酶B(Akt)、p-Akt、mTOR、p-mTOR蛋白的表达。**结果** 对照组、SP组、TMZ组、TMZ联合PA组Th17/Treg、BALF中IL-1 $\beta$ 水平、肺容积变换量、静息通气量、肺组织p-Akt/Akt比较, 经方差分析, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与对照组比较, SP组外周血Th17/Treg、BALF中IL-1 $\beta$ 水平、肺组织p-Akt/Akt升高( $P < 0.05$ ), 肺容积变换量、静息通气量减少( $P < 0.05$ ); 与SP组比较, TMZ组外周血Th17/Treg、BALF中IL-1 $\beta$ 水平、肺组织p-Akt/Akt降低( $P < 0.05$ ), 肺容积变换量、静息通气量增加( $P < 0.05$ ); 与TMZ组比较, TMZ联合PA组外周血Th17/Treg降低( $P < 0.05$ ), BALF中IL-1 $\beta$ 水平、肺组织p-Akt/Akt升高( $P < 0.05$ ), 肺容积变换量、静息通气量减少( $P < 0.05$ )。**结论** TMZ可改善重症肺炎大鼠肺功能及Th17/Treg平衡, 减轻肺部炎症反应及病理变化, 其作用可能通过抑制PI3K/Akt信号通路来实现。

**关键词:** 重症肺炎; 曲美他嗪; 辅助性T细胞17; 调节性T细胞

**中图分类号:** R563.1

**文献标识码:** A

## The protective effect and mechanism of trimetazidine on the lungs of rats with severe pneumonia\*

Xiao-hang Fan<sup>1</sup>, Li-qin Liu<sup>1</sup>, Yi-yao Hu<sup>1</sup>, Xue-hong Zhao<sup>1</sup>, Quan Li<sup>2</sup>, Ying Wang<sup>3</sup>

[1. Department of Medicine, Hubei University of Arts and Sciences, Xiangyang, Hubei 441053, China; 2. Department of Oncology, Xiangyang Central Hospital (Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Sciences), Xiangyang, Hubei 441021, China; 3. Department of Anesthesiology, Hainan Provincial People's Hospital (Hainan Hospital Affiliated to Hainan Medical College), Haikou, Hainan 570311, China]

收稿日期: 2021-11-18

\* 基金项目: 湖北省自然科学基金(No: 2019CFB690); 海南省卫健委科研课题(No: 20A200261); 湖北省襄阳市科技局医疗卫生领域科技计划项目(No: 2021ZD24); 湖北文理学院大学生创新创业项目(No: X202110519014)

[通信作者] 王颖, E-mail: wyang0326@126.com; Tel: 18789976517

**Abstract: Objective** To observe the protective effect of trimetazidine (TMZ) on the lungs of rats with severe pneumonia (SP) and to explore its possible mechanisms. **Methods** A total of 45 SD male rats were used, among which 35 were taken for the establishment of SP models. Thirty rat SP models were successfully established and randomly divided into SP group, TMZ group, and TMZ combined with PA [mammalian target of rapamycin (mTOR) activator] group, each with 10 rats. The other 10 rats were injected with sterile normal saline and set as the control group. The rats in the TMZ group were gavaged with 5 mL of normal saline containing TMZ at a dose of 20 mg/kg, and were injected with 1 mL of normal saline. The rats in the TMZ combined with PA group were gavaged with 5 mL of normal saline containing TMZ at a dose of 20 mg/kg, and were injected with 1 mL of normal saline containing PA at a dose of 1 mg/kg via the tail veins. The rats in the control group and the SP group were given an equal volume of normal saline by gavage and via the tail veins, respectively. All rats were treated once a day for six days. The proportions of T helper 17 (Th17) cells and regulatory T (Treg) cells in the peripheral blood, the pulmonary function indices, and the level of interleukin-1 (IL-1 $\beta$ ) in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were detected. The protein expressions of protein kinase B (Akt), p-Akt, mTOR, and p-mTOR in lung tissues were detected by Western blotting.

**Results** The Th17/Treg ratio, the lung volume change, resting minute ventilation, and the expression of p-Akt/Akt in the lung tissues were different among the control group, SP group, TMZ group, and TMZ combined with PA group ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the Th17/Treg ratio in the peripheral blood, the level of IL-1 $\beta$  in the BALF, and the expression of p-Akt/Akt in the lung tissues were higher, and the lung volume change and resting minute ventilation were lower in the SP group ( $P < 0.05$ ). Compared with the SP group, the Th17/Treg ratio in the peripheral blood, the level of IL-1 $\beta$  in the BALF, and the expression of p-Akt/Akt in the lung tissues were lower, and the lung volume change and resting minute ventilation were higher in the TMZ group ( $P < 0.05$ ). Compared with the TMZ group, the level of IL-1 $\beta$  in the BALF, and the expression of p-Akt/Akt in the lung tissues were higher, and the lung volume change and resting minute ventilation were lower in the TMZ combined with PA group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions** TMZ can improve the lung function and Th17/Treg balance in SP rats, and ameliorate the inflammatory response and pathological changes in the lungs, which may be achieved by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway.

**Keywords:** severe pneumonia; trimetazidine; T helper 17 cell; regulatory T cell

重症肺炎是常见的进展性呼吸系统危重疾病,除低氧血症及进行性呼吸困难等表现外,还可发展至全身性感染,甚至危及生命<sup>[1]</sup>。曲美他嗪(Trimetazidine, TMZ)是一种代谢调节剂,常作为抗心肌缺血、改善心肌代谢药物使用,可用于慢性肺源性心脏病的治疗<sup>[2]</sup>。有研究显示, TMZ联合中药方剂治疗心力衰竭合并肺部感染的有效率达96.67%,推测其具有肺保护作用<sup>[3]</sup>。然而,目前关于 TMZ 治疗重症肺炎的疗效及机制研究尚少。本研究通过复制重症肺炎大鼠模型,观察 TMZ 的肺保护作用,并探讨其可能机制,为临床用药提供实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

45 只 SD 雄性大鼠,6 周龄,体重(200 $\pm$ 20)g,购自上海昇敞生物科技有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2021-0002],饲养于湖北奥菲

生物科技有限公司[实验动物使用许可证号:SYXK(鄂)2019-0109]。

### 1.2 菌株

肺炎克雷伯菌标准株购自苏州达麦迪生物医学科技有限公司。

### 1.3 主要试剂及仪器

**1.3.1 主要试剂** 盐酸 TMZ 片(南京恒生制药有限公司,国药准字 H20073969),哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)激活剂磷脂酸(phosphatidic acid, PA)(上海甄准生物科技有限公司),CD4<sup>+</sup>抗体、白细胞介素 17(Interleukin-17, IL-17)抗体(上海研晶生物科技有限公司),白细胞介素 1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海酶研生物科技有限公司),兔抗大鼠蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)、p-Akt、mTOR、p-mTOR 一抗(美国 R&D 公司)。

**1.3.2 仪器** CytoFLEX 流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司), SAR-830 小动物呼吸机(美国 CWE 公司), DM500 光学显微镜(德国徕卡微系统有限公司), DYCZ-24 电泳仪(北京六一生物科技有限公司)。

## 1.4 方法

**1.4.1 重症肺炎模型的复制及分组** 模型复制前 1 天制备细菌混悬液。将肺炎克雷伯菌株 ATCC700603 接种至琼脂糖平板, 标准条件下培养 24 h 后收集细菌, 采用比浊法经无菌生理盐水稀释至含有 400 个麦氏浊度单位的混悬液(1 个麦氏浊度单位为  $3 \times 10^{11}$  CFU/L)。45 只 SD 大鼠中随机抽取 35 只, 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 颈部消毒备皮, 暴露并切开大鼠上段气管。采用 24 G Y 型静脉留置针气管插管, 拔除针芯后保持导管完全置入气管, 经导管注入细菌混悬液 0.35 mL(含有 400 个麦氏浊度单位肺炎克雷伯菌), 立起固定台后缓慢注射, 期间左右旋转固定台 2 次, 注射完成后缝合切口, 常规消毒。模型复制成功标准: 术后 72 h 大鼠反应迟钝、呆滞; 呼吸急促, 双侧胸廓明显运动; X 射线可观察到两肺有弥漫性渗出阴影; 动脉血氧分压  $\leq 60$  mmHg 或动脉血氧饱和度  $< 90\%$ <sup>[4]</sup>。35 只大鼠死亡 5 只, 模型复制成功 30 只, 随机分为重症肺炎(SP)组、TMZ 组、TMZ 联合 PA 组, 每组 10 只。余 10 只注射无菌生理盐水 0.35 mL, 设为对照组。

**1.4.2 干预方式** 模型复制成功后, TMZ 组灌胃 TMZ 生理盐水溶液 5 mL, 剂量 20 mg/kg, 尾静脉注射生理盐水 1 mL; TMZ 联合 PA 组灌胃 TMZ 生理盐水溶液 5 mL, 剂量 20 mg/kg, 尾静脉注射 PA 生理盐水溶液 1 mL, 剂量 1 mg/kg; 对照组、SP 组分别灌胃、尾静脉注射等体积生理盐水<sup>[5]</sup>。各组 1 次/d, 连续干预 6 d。

**1.4.3 外周血辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)检测** 末次给药后, 禁食不禁水 24 h。戊巴比妥钠麻醉后抽取大鼠腹主动脉血 5 mL, 转移至加有肝素的抗凝管中, 等比例混合 PBS 缓冲液, 梯度离心, 分离淋巴细胞, 洗涤后调整细胞密度至  $1 \times 10^7$  个/mL。取 96 孔板, 每孔加入淋巴细胞悬液 100  $\mu$ L 和刺激剂 0.5  $\mu$ L, 每组设置同型对照, 培养箱孵育 1 h 后采用阻断剂阻断, 继续孵育 12 h, 转移细胞悬液至流式管中, 加入 CD4 抗体 0.5  $\mu$ L, 常温遮光孵育 20 min, PBS 洗涤

后离心弃上清液, PBS 100  $\mu$ L 重悬, 加入固定破膜工作液, 振荡 5 s, 4 $^{\circ}$ C 遮光孵育 35 min, 加入破膜缓冲工作液 2 mL, 离心弃上清液, 加入 PBS 缓冲液至 100  $\mu$ L, 重悬。在测定管中加入 IL-17 抗体 0.7  $\mu$ L(检测 Th17 细胞)或 Foxp3 抗体 5  $\mu$ L(检测 Treg 细胞), 将等量、同型对照抗体加入对照管中, 4 $^{\circ}$ C 遮光孵育 40 min, 洗涤后弃上清液, 加入 4% 多聚甲醛重悬, 4 $^{\circ}$ C 遮光保存, 24 h 内使用流式细胞仪检测 Th17、Treg<sup>[6]</sup>。

**1.4.4 肺功能指标检测** 抽取大鼠腹主动脉血 5 mL 后取大鼠颈部正中切口, 在第 3 与第 4 气管环中进行倒 T 型切口插管, 采用手术线系紧气管插管, 将大鼠置入体描箱, 与呼吸机连接, 通过 AniRes 2005 软件记录其肺容积变换量、静息通气量<sup>[7]</sup>。

**1.4.5 ELISA 检测肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平** 肺功能指标检测完成后颈椎脱臼处死大鼠, 迅速逐层分离颈部皮肤, 暴露气管取肺, 手术线结扎、固定右肺; 左肺经 37 $^{\circ}$ C 生理盐水 2 mL 灌洗 3 次, 回收后(回收率  $> 80\%$ )离心收集 BALF 上清液。采用 ELISA 检测 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平, 实验流程严格按照试剂盒说明书设计, 采用酶标仪测定 570 nm 波长处的吸光度值, 根据标准曲线计算 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平<sup>[8]</sup>。

**1.4.6 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察肺组织病理学变化** 取结扎未经灌洗的右肺, 分成 2 份, 一份用 4% 多聚甲醛固定, 另一份在 -80 $^{\circ}$ C 条件下保存。取 4% 多聚甲醛固定 48 h 的肺组织, 流水冲洗 30 min, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 病理切片切片机切成 4  $\mu$ m 厚切片, HE 染色后用显微镜观察肺组织病理学变化<sup>[9]</sup>。

**1.4.7 Western blotting 检测肺组织 Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 蛋白的表达** 取 -80 $^{\circ}$ C 保存的肺组织, RIPA 细胞裂解液裂解, 冰上离心取上清液, BCA 法测定蛋白含量。取 50  $\mu$ g 待测蛋白, 按 1:5 与样品缓冲液混合, 金属浴煮沸 5 min, 离心取上清液, 上样电泳, 湿转至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温摇床封闭 2 h, TBST 清洗, 加入兔抗大鼠 Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 一抗(1:500), 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育 2 h, TBST 清洗, 加入山羊抗兔 IgG 二抗(1:2 000), 室温孵育 2 h, TBST 清洗, ECL 发光液显色, 置于暗室曝光, 采用一体式凝胶成像系统分析, 以 Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 蛋白与内参 GAPDH 灰度值的比值

表示蛋白相对表达量<sup>[10]</sup>。

### 1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 24.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 LSD-*t* 检验。  $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠外周血 Th17、Treg、Th17/Treg 比较

对照组、SP 组、TMZ 组、TMZ 联合 PA 组外周血 Th17、Treg、Th17/Treg 比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 57.766$ 、 $16.254$  和  $239.835$ , 均  $P = 0.000$ )。进一步两两比较结果: 与对照组比较, SP 组外周血 Th17 和 Th17/Treg 升高 ( $P < 0.05$ ), Treg 降低 ( $P < 0.05$ ); 与 SP 组比较, TMZ 组外周血 Th17 和 Th17/Treg 降低 ( $P < 0.05$ ), Treg 升高 ( $P < 0.05$ ); 与 TMZ 组比较, TMZ 联合 PA 组外周血 Th17 和 Th17/Treg 降低 ( $P < 0.05$ ), Treg 升高 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠外周血 Th17、Treg、Th17/Treg 比较  
( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	Th17/%	Treg/%	Th17/Treg
对照组	1.45 ± 0.20	4.92 ± 0.74	0.29 ± 0.03
SP 组	3.39 ± 0.48 <sup>①</sup>	2.91 ± 0.64 <sup>①</sup>	1.16 ± 0.12 <sup>①</sup>
TMZ 组	2.46 ± 0.37 <sup>②</sup>	3.55 ± 0.71 <sup>②</sup>	0.69 ± 0.08 <sup>②</sup>
TMZ + PA 组	1.89 ± 0.28 <sup>③</sup>	4.25 ± 0.63 <sup>③</sup>	0.44 ± 0.05 <sup>③</sup>
F 值	57.766	16.254	239.835
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 SP 组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 TMZ 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.2 各组大鼠肺功能比较

对照组、SP 组、TMZ 组、TMZ 联合 PA 组肺容积变换量、静息通气量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 85.960$  和  $47.149$ , 均  $P = 0.000$ )。进一步两两比较结果: 与对照组比较, SP 组肺容积变换量、静息通气量减少 ( $P < 0.05$ ); 与 SP 组比较, TMZ 组肺容积变换量、静息通气量增加 ( $P < 0.05$ ); 与 TMZ 组比较, TMZ 联合 PA 组肺容积变换量、静息通气量减少 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 各组大鼠 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平比较

对照组、SP 组、TMZ 组、TMZ 联合 PA 组 BALF

表 2 各组大鼠肺功能指标比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	肺容积变换量/mL	静息通气量/(mL/min)
对照组	0.29 ± 0.03	3.30 ± 0.47
SP 组	0.09 ± 0.02 <sup>①</sup>	1.46 ± 0.28 <sup>①</sup>
TMZ 组	0.21 ± 0.04 <sup>②</sup>	2.70 ± 0.36 <sup>②</sup>
TMZ + PA 组	0.16 ± 0.02 <sup>③</sup>	2.13 ± 0.31 <sup>③</sup>
F 值	85.960	47.149
P 值	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 SP 组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 TMZ 组比较,  $P < 0.05$ 。

中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 186.449$  和  $230.659$ , 均  $P = 0.000$ )。进一步两两比较结果: 与对照组比较, SP 组 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平升高 ( $P < 0.05$ ); 与 SP 组比较, TMZ 组 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平降低 ( $P < 0.05$ ); 与 TMZ 组比较, TMZ 联合 PA 组 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平升高 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 各组大鼠 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平比较  
( $n = 10, \text{pg/mL}, \bar{x} \pm s$ )

组别	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
对照组	75.24 ± 12.69	42.69 ± 6.72
SP 组	563.97 ± 79.32 <sup>①</sup>	498.51 ± 68.24 <sup>①</sup>
TMZ 组	195.23 ± 28.02 <sup>②</sup>	160.27 ± 25.70 <sup>②</sup>
TMZ + PA 组	301.81 ± 45.50 <sup>③</sup>	297.83 ± 35.91 <sup>③</sup>
F 值	186.449	230.659
P 值	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 SP 组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 TMZ 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.4 肺组织病理学变化

HE 染色结果显示, 对照组肺泡结构及支气管壁清晰、完整, 未观察到明显的炎症浸润; SP 组肺泡结构被破坏, 肺泡间隔扩大, 支气管壁厚度明显增加, 可观察到大量炎症细胞浸润; TMZ 组、TMZ 联合 PA 组较 SP 组肺泡间隔缩小, 支气管壁厚度变小, 炎症细胞浸润减少, 其中 TMZ 组病理变化改善程度优于 TMZ 联合 PA 组。见图 1。

### 2.5 各组大鼠肺组织 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 比较

对照组、SP 组、TMZ 组、TMZ 联合 PA 组肺组织 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 比较, 经方差分析,

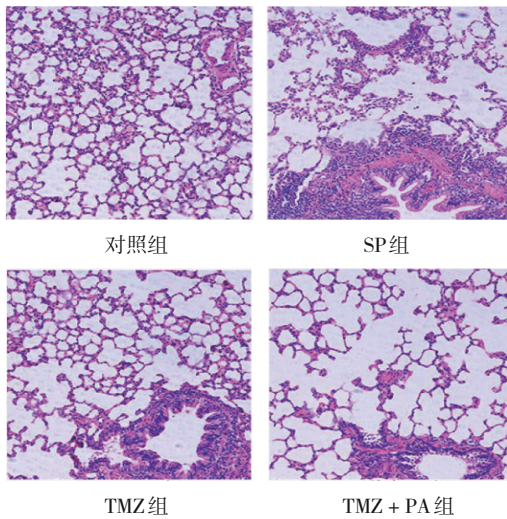


图 1 各组大鼠肺组织病理学变化 (HE 染色 × 200)

差异有统计学意义 ( $F = 128.429$  和  $246.000$ , 均  $P = 0.000$ )。进一步两两比较结果: 与对照组比较, SP 组 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 升高 ( $P < 0.05$ ); 与 SP 组比较, TMZ 组 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 降低 ( $P < 0.05$ ); 与 TMZ 组比较, TMZ 联合 PA 组 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 升高 ( $P < 0.05$ )。见表 4 和图 2。

表 4 各组大鼠肺组织 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR
对照组	0.32 ± 0.04	0.11 ± 0.02
SP 组	0.92 ± 0.07 <sup>①</sup>	0.75 ± 0.08 <sup>①</sup>
TMZ 组	0.71 ± 0.08 <sup>②</sup>	0.32 ± 0.04 <sup>②</sup>
TMZ + PA 组	0.80 ± 0.09 <sup>③</sup>	0.50 ± 0.06 <sup>③</sup>
F 值	128.429	246.000
P 值	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 SP 组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 TMZ 组比较,  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

目前肺炎仍是感染性疾病死亡的重要病因之一。统计资料显示, 重症肺炎占肺炎的 10% ~ 20%, 且病死率高达 30% ~ 50%<sup>[11]</sup>。有报道显示, 重症肺炎不仅是病原菌与毒素直接损伤所致, 而且与机体被病原体感染后炎症反应失控关系密切<sup>[12]</sup>。重症肺炎发生时淋巴细胞、中性粒细胞等炎症细胞释放大量炎性介质聚集于肺, 形成“瀑布样”炎症级联反应, 导致免疫功能紊乱。因此, 抑制重症肺炎炎症

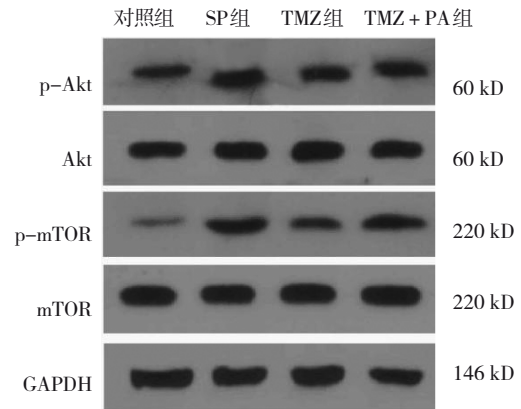


图 2 各组大鼠肺组织 p-Akt、Akt、p-mTOR、mTOR 蛋白的表达

反应、改善免疫失衡是治疗该病的重要思路。

本研究采用 TMZ 干预重症肺炎大鼠后发现, 其外周血 Th17、Th17/Treg 降低, Treg 升高, 肺容积变换量、静息通气量增加, 且 BALF 中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平降低, 提示 TMZ 可改善肺功能及 Th17/Treg 平衡, 减轻肺部炎症反应。Th17 细胞是一种经核转录因子维甲酸相关孤儿受体  $\gamma$ t 调控的 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 主要通过释放炎症因子 IL-17 促进炎症反应, 在重症肺炎中异常高表达<sup>[13]</sup>。Treg 细胞可抑制抗原呈递细胞及 T 细胞功能, 减少炎症细胞因子及抗体产生, 减轻炎症对机体的损伤。TMZ 可促进葡萄糖发生有氧化, 同时抑制脂肪酸  $\beta$  氧化, 减少 ATP 生成过程中耗氧量; 清除氧自由基、提高细胞膜稳定性; 降低炎症因子水平, 维持自身免疫耐受及免疫内环境平衡。COSGUN 等<sup>[14]</sup>研究发现, TMZ 离体给药供体肺, 可降低支气管肺泡灌洗样本中的硫代巴比妥酸水平及髓过氧化物酶活性, 显著改善移植后肺功能, 提示 TMZ 具有肺保护作用, 与本研究结论相似。

本研究结果显示, 与 SP 组比较, TMZ 组 p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR 降低, 且 TMZ 与 PA 联用可减少 TMZ 对重症肺炎大鼠的肺功能保护作用, 推测 TMZ 对大鼠的治疗作用可能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路来实现。有研究发现, PI3K/Akt 信号通路的激活或抑制与多种病原体在宿主体中增殖、致病过程密切相关。Akt、mTOR 是 PI3K 下游关键效应分子<sup>[15]</sup>。PI3K 活化生成 mPIP3, 可诱导 Akt、mTOR 磷酸化, 进而抑制或激活一系列下游底物调节细胞分化、增殖、迁移等行为。mTOR 是介导淋巴细胞激活 PI3K/Akt 信号通路的重要蛋白激酶, 在调控细胞

增殖、分化及 Th17/Treg 平衡中起到重要作用。ROSTAMZADEH 等<sup>[6]</sup>认为 mTOR 是负向调节 Treg 细胞分化、扩增的关键因子,抑制 mTOR 活性可阻断 CD4<sup>+</sup>T 细胞向 Th17 细胞的分化进程,同时促进 Treg 细胞分化。PA 是 mTOR 的强效激活剂,可通过与 mTOR 的结构域 FRB 竞争性结合激活 mTOR1,从而增强 PI3K/Akt 信号通路活性。

TMZ 治疗重症肺炎的机制研究弥补了以往研究的不足,具有一定创新性,为临床重症肺炎的治疗提供了理论依据,并为该病的靶向治疗药物研究奠定基础。

#### 参 考 文 献 :

- [1] TORRES A, CHALMERS J D, DELA CRUZ C S, et al. Challenges in severe community-acquired pneumonia: a point-of-view review[J]. *Intensive Care Med*, 2019, 45(2): 159-171.
- [2] 何渝,高培惠. 芪苈强心胶囊联合曲美他嗪对慢性肺源性心脏病患者心肺功能及生活质量的影响[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(6): 83-86.
- [3] 郑芳,杨晰晰,曹东,等. 曲美他嗪联合中药方剂对老年心力衰竭合并肺部感染的疗效观察[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(9): 1323-1327.
- [4] 王小雨,朱述阳,朱清晨. Th17 细胞相关因子在重症肺炎克雷伯菌肺炎大鼠中的调控作用[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(23): 2500-2504.
- [5] RAMEZANI-ALIAKBARI F, BADAVI M, DIANAT M, et al. The beneficial effects of trimetazidine on reperfusion-induced arrhythmia in diabetic rats[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2019, 127(5): 320-325.
- [6] 高丽萍,毛小荣. 辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞失衡在大鼠自身免疫性肝炎模型中的研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(19): 3021-3025.
- [7] 刘露,冯伟,郭铁男. 糖皮质激素对高氧诱导的新生小鼠肺功能损伤、炎症反应和 JAK2/STAT5 通路的影响[J]. *实验动物科学*, 2020, 37(1): 42-49.
- [8] ZHU Z T, WU H, SU W W, et al. Effects of total flavonoids from *Exocarpium citri grandis* on air pollution particle-induced pulmonary inflammation and oxidative stress in mice[J]. *J Food Sci*, 2019, 84(12): 3843-3849.
- [9] SARI ASLANI F, KARGAR H, SAFAEI A, et al. Comparison of immunostaining with hematoxylin-eosin and special stains in the diagnosis of cutaneous macular amyloidosis[J]. *Cureus*, 2020, 12(4): e7606.
- [10] PILLAI-KASTOORI L, HEATON S, SHIFLETT S D, et al. Antibody validation for Western blot: by the user, for the user[J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(4): 926-939.
- [11] 贺凤兰,夏文,倪贤生,等. 2013—2018 年江西省南昌市重症肺炎病例流行病学特征分析[J]. *疾病监测*, 2019, 34(5): 398-400.
- [12] JOUAN Y, SI-TAHAR M, PAGET C. Severe pneumonia and acute respiratory distress syndrome: implication of unconventional T cells[J]. *Rev Mal Respir*, 2019, 36(4): 451-454.
- [13] LIU H Z, QIU F F, WANG Y Y, et al. A recombinant protein rLZ-8, originally extracted from *Ganoderma lucidum*, ameliorates OVA-induced lung inflammation by regulating Th17/Treg balance[J]. *J Leukoc Biol*, 2020, 108(2): 531-545.
- [14] COSGUN T, ISKENDER I, YAMADA Y, et al. *Ex vivo* administration of trimetazidine improves post-transplant lung function in pig model[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2017, 52(1): 171-177.
- [15] GUO L F, WANG Q H, ZHANG D Q. MicroRNA-4485 ameliorates severe influenza pneumonia via inhibition of the STAT3/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(5): 215.
- [16] ROSTAMZADEH D, YOUSEFI M, HAGHSHENAS M R, et al. mTOR signaling pathway as a master regulator of memory CD8<sup>+</sup> t-cells, Th17, and NK cells development and their functional properties[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12353-12368.

(童颖丹 编辑)

**本文引用格式:** 范晓航,刘丽琴,胡伊瑶,等. 曲美他嗪对重症肺炎大鼠的肺保护作用及其机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(16): 1-6.

**Cite this article as:** FAN X H, LIU L Q, HU Y Y, et al. The protective effect and mechanism of trimetazidine on the lungs of rats with severe pneumonia[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(16): 1-6.