

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2025.11.006
文章编号: 1005-8982 (2025) 11-0033-08

实验研究·论著

桔梗皂苷D对支原体肺炎小鼠肺组织转化生长因子- β_1 、表皮生长因子表达的影响*

郭百慧, 刘楠楠, 王晓溪, 王欣, 蒙艳丽, 王伟明

(黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨 150036)

摘要: **目的** 通过抑制纤维因子的表达,探究桔梗皂苷D对支原体肺炎的治疗机制。**方法** 将桔梗皂苷D与转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)进行结合能力测试,采用Biacore软件进行桔梗皂苷D与TGF- β_1 的亲合力分析,并进行分子对接模拟实验。将雄性SPF级BALB/c小鼠60只分为对照组、模型组、阿奇霉素组、桔梗皂苷D高、中、低剂量组,每组10只。采用滴鼻法复制小鼠支原体肺炎模型,小鼠麻醉后经鼻滴入20 μ L含 1×10^6 ccu/mL肺炎支原体的悬液,对照组采用等体积生理盐水滴鼻,1次/d,持续3 d。桔梗皂苷D高、中、低剂量组小鼠分别给予桔梗皂苷D 10.0、5.0、2.5 g/(kg·d),阿奇霉素组小鼠给予32.0 mg/(kg·d)的阿奇霉素,对照组和模型组小鼠则给予等体积的生理盐水,连续给药7 d。制备小鼠肺组织病理切片,采用苏木精-伊红(HE)染色和Masson染色观察肺组织的病理学变化。采用免疫组织化学染色(IHC)检测小鼠肺组织TGF- β_1 和表皮生长因子(EGF)的蛋白阳性表达。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测TGF- β_1 、EGF mRNA的表达。**结果** Biacore分子互作和分子对接结果显示,桔梗皂苷D在体外能够与TGF- β_1 蛋白进行特异性结合。各组小鼠肺组织的病理学分析显示,与模型组相比,桔梗皂苷D各剂量组小鼠肺组织中仅见少量肺泡壁充血,炎症细胞浸润显著减少,其组织结构与对照组和阿奇霉素组相似,且桔梗皂苷D高剂量组的炎症细胞浸润最少、肺泡壁充血范围最小。各组小鼠肺组织纤维化病理结果显示,与模型组相比,桔梗皂苷D各剂量组的胶原纤维均减少,与对照组和阿奇霉素组的肺组织相似,且桔梗皂苷D高、中剂量组的胶原纤维显著减少、仅有少量肺泡壁增厚。与对照组比较,模型组TGF- β_1 阳性表达升高($P < 0.05$);与模型组比较,桔梗皂苷D高、中、低剂量组TGF- β_1 阳性表达均减少($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组EGF蛋白阳性表达降低($P < 0.05$);与模型组比较,桔梗皂苷D高、中剂量组EGF蛋白阳性表达均增多($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组TGF- β_1 mRNA相对表达量升高($P < 0.05$);与模型组相比,桔梗皂苷D高、中剂量组的TGF- β_1 mRNA相对表达量降低($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组EGF mRNA相对表达量降低($P < 0.05$);与模型组相比,桔梗皂苷D各给药组的EGF mRNA相对表达量均有不同程度升高($P < 0.05$)。**结论** 桔梗皂苷D能够有效改善肺炎支原体肺炎的肺间质纤维化,其作用机制可能是通过降低TGF- β_1 表达、提高EGF表达来抑制上皮间质转化的发生。

关键词: 支原体肺炎; 桔梗皂苷D; 上皮间质转化; 表皮生长因子; 转化生长因子- β_1 ; 分子互作

中图分类号: R563.1

文献标识码: A

Effect of Platycodin D on the expression of transforming growth factor- β_1 and epidermal growth factor in lung tissue of mice with mycoplasma pneumonia*

Guo Bai-hui, Liu Nan-nan, Wang Xiao-xi, Wang Xin, Meng Yan-li, Wang Wei-ming

(Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150036, China)

收稿日期: 2024-12-04

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No: 82174060);黑龙江省自然科学基金(No: LH2021H074);黑龙江中医药科研项目(No: ZHY2022-075)

[通信作者] 蒙艳丽, E-mail: mengyanli2000@163.com; Tel: 18645034109

Abstract: Objective To investigate the therapeutic mechanism of Platycodin D in mycoplasma pneumonia by inhibiting the expression of fibrosis-related factors. **Methods** The binding affinity between Platycodin D and transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) was analyzed by surface plasmon resonance (SPR) using a Biacore system, and molecular docking simulations were performed. Sixty male SPF-grade BALB/c mice were divided into six groups (10/group): control, model, azithromycin, and high/medium/low-dose Platycodin D. The mycoplasma pneumonia model was established via intranasal instillation of 20 μ L suspension containing 10^6 ccu/mL Mycoplasma pneumoniae. Treatments were administered for 7 days. Lung tissues were subjected to histopathological analysis (HE and Masson staining), immunohistochemical staining for TGF- β_1 and EGF protein, and qRT-PCR for mRNA expression. **Results** The results of Biacore molecular interaction and molecular docking showed that Platycodin D could specifically bind to TGF- β_1 protein in vitro. The pathological analysis of the lung tissues of mice in each group showed that, compared with the model group, only a small amount of congestion in the alveolar walls was observed in the lung tissues of mice in each dose group of Platycodin D, and the infiltration of inflammatory cells was significantly reduced. The tissue structure was similar to that of the control group and the azithromycin group, and the high-dose group of Platycodin D had the least infiltration of inflammatory cells and the smallest range of alveolar wall congestion. The pathological results of pulmonary fibrosis in the lung tissues of mice in each group showed that, compared with the model group, the collagen fibers in each dose group of Platycodin D were reduced, which was similar to the lung tissues of the control group and the azithromycin group. Moreover, the collagen fibers in the high- and medium-dose groups of Platycodin D were significantly reduced, and only a small amount of alveolar wall thickening was observed. Compared with the control group, the positive expression of TGF- β_1 in the model group was increased ($P < 0.05$); compared with the model group, the positive expressions of TGF- β_1 in the high-, medium-, and low-dose groups of Platycodin D were all decreased ($P < 0.05$). Compared with the control group, the positive expression of EGF protein in the model group was decreased ($P < 0.05$); compared with the model group, the positive expressions of EGF protein in the high- and medium-dose groups of Platycodin D were both increased ($P < 0.05$). Compared with the control group, the relative expression level of TGF- β_1 mRNA in the model group was increased ($P < 0.05$); compared with the model group, the relative expression levels of TGF- β_1 mRNA in the high- and medium-dose groups of Platycodin D were decreased ($P < 0.05$). Compared with the control group, the relative expression level of EGF mRNA in the model group was decreased ($P < 0.05$); compared with the model group, the relative expression levels of EGF mRNA in each administration group of Platycodin D were all increased to varying degrees ($P < 0.05$). **Conclusion** Platycodin D alleviates pulmonary interstitial fibrosis in mycoplasma pneumonia, potentially by suppressing EMT through TGF- β_1 inhibition and EGF promotion.

Keywords: mycoplasma pneumoniae; Platycodin D; epithelial-mesenchymal transition; epidermal growth factor; transforming growth factor- β_1 ; molecular interaction

肺炎支原体肺炎属于间质性肺炎,是肺炎支原体引起的以肺间质纤维素沉积为主要病理改变的呼吸道感染性肺炎,肺炎支原体经呼吸道侵入后主要侵犯细支气管和支气管周围组织小叶间和肺泡间隔的结缔组织,病变反复迁延导致细胞外基质的反复破坏、修复、重建和过度沉积,进而导致间质纤维化^[1]。现代研究发现,多种器官纤维化的发展过程中均有上皮间质转化的参与^[2]。上皮间质转化是指上皮细胞受到刺激后向间质细胞转化的过程,在肺纤维化的发病过程中发挥重要作用^[3]。目前,临床首选大环内酯类抗生素治疗支原体肺炎,新一代的大环内酯类药物阿奇霉素对支原体肺炎的疗效已得到肯定,但阿奇霉素在实际

使用过程中可能对消化道、神经系统、肝脏产生影响,且产生耐药性,造成病情的反复^[4]。因此,研发治疗支原体肺炎的中药制剂成为研究热点,希望在发挥临床疗效的同时又减少不良反应的发生^[5]。

琴百清肺浓缩丸(Qinbai Qingfei Concentrated Pills)治疗支原体肺炎,主要有清热解毒、润肺止咳的功效,已用于临床十多年,疗效确切,是黑龙江省各医院呼吸科应用量最大的医院制剂,其销售额超过1 000万元,近5年销售额在500万元以上^[6]。其主要由桔梗、黄芩等六味中药材组成,桔梗皂苷D(Platycodin D)是桔梗的主要成分之一^[7]。目前已有研究表明桔梗皂苷D具有镇咳祛痰、抗炎平喘、抑菌、降血脂、抗肿瘤等多种作用^[8],同时能够显著

抑制肺炎支原体增殖,以及治疗后促进细胞生长^[9]。但桔梗皂苷 D 在治疗肺炎支原体肺炎及肺间质纤维化方面的研究还很欠缺。

研究表明,转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 和表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 在上皮间质转化过程中起关键作用^[10]。TGF- β 是目前公认的诱导组织发生纤维化改变的重要因子,TGF- β_1 主要分布在支气管上皮细胞、巨噬细胞、增生的肺泡上皮细胞及间质细胞,广泛参与肺纤维化的发展^[11],是促进肺组织纤维化的启动因子,诱导肺纤维化^[12]。EGF 能够促进肺部上皮细胞的增殖分化,是上皮表达的重要标志物^[13]。

本研究探讨桔梗皂苷 D 对 TGF- β_1 和 EGF 表达的影响,拟初步阐述桔梗皂苷 D 治疗肺炎支原体肺炎的作用机制,为芩百清肺浓缩丸的临床用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试剂、仪器及药品

支原体肉汤培养基(批号:HB7025-2)购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司,胎牛血清(批号:11011-8611)购自浙江天杭生物科技股份有限公司,兔二步法检测试剂盒(批号:PV-9001)和二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒(批号:239010625)均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,TRIzol(批号:304311)购自美国 Ambion 公司,UltraSYBR 一步法实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒(批号:14924)购自北京康为世纪生物科技有限公司,引物购自上海 Invitrogen 公司,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染液(批号:304H021)购自北京索莱宝科技有限公司,TGF- β_1 (批号:ab64715)和 EGF(批号:ab77851)的一抗试剂购自上海艾博抗贸易有限公司。

Reverse Transcribe PCR 仪 Tc-24/H(b) 购自中国博日生物公司,Infinite M200PRO 酶标仪购自瑞士 TecanKD-BM 公司,生物组织包埋机、KDTS3A 自动组织脱水机购自浙江科迪仪器设备公司。

桔梗皂苷 D 对照品购自成都瑞芬思生物科技

有限公司,纯度 98% 以上,批号:58479-68-8;阿奇霉素分散片购自石药集团欧意药业有限公司,批号:274150404。

1.2 实验动物及病毒

选用 6 周龄、雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠 60 只,体重 20 ~ 22 g,购自哈尔滨医科大学(实验动物生产合格证号:SCXK[黑]2019-001)。小鼠饲养于洁净实验室,环境条件为室温 25 ℃、湿度 60 %。本实验获得黑龙江省中医药科学院动物保护和使用委员会批准(许可证号:SY3R-2021014),并严格按照《黑龙江省实验动物护理和使用指南》开展。肺炎支原体(ATCC15531)购自美国 ATCC 生物标准品资源中心。

1.3 方法

1.3.1 桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 的结合能力测试 称取 1 mg 桔梗皂苷 D 对照品,加入无核酸水配制成 10 mg/mL 的溶液。样品以 30 μ L/min 经芯片表面,进样 60 s,等待 60 s,再生 30 s。从输出的传感图中观察和分析响应值(response unit, RU)。

1.3.2 桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 的亲合力分析 采用 Biacore 软件,将桔梗皂苷 D 稀释成 6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 nmol/L 的 5 个不同浓度的溶液注入 Biacore 系统,注射 60 s,体积流量 30 μ L/min,再生 60 s。选取最佳浓度实验 2 次。最后应用软件中的亲和性分析模块分析结果。

1.3.3 分子对接模拟实验 应用软件 Pymol 2.6 和 Autodock vina 1.1.2 模拟分析桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 的相互作用模式,判断二者之间的结合能力。

1.3.4 肺炎支原体培养 在无菌环境中,复苏肺炎支原体,培养于含胎牛血清的液体支原体肉汤培养基中,37 ℃ 培养箱培养,每隔 7 d 传代 1 次。

1.3.5 复制小鼠肺炎支原体肺炎模型 将 60 只雄性 BALB/c 小鼠适应性饲养 7 d,采用随机数字表法分为对照组、模型组、阿奇霉素组(阳性对照)及桔梗皂苷 D 高、中、低剂量组,每组 10 只。参考文献[14]的方法复制小鼠肺炎支原体肺炎模型,小鼠麻醉后经鼻滴入 20 μ L 含 1×10^6 ccu/mL 肺炎支原体的悬液,对照组采用等体积生理盐水滴鼻,1 次/d,持续 3 d。模型复制后,根据小鼠症状判断是否复制成功。小鼠出现精神沉郁、活动量减少、体重降低、呛咳加重、呼吸短促、鼻腔出现脓性分

泌物等表现即为模型复制成功^[15]。根据芩苈清肺浓缩丸人用剂量折合计算^[16],桔梗皂苷 D 高、中、低剂量组小鼠分别给予桔梗皂苷 D 10.0、5.0、2.5 g/(kg·d),阿奇霉素组小鼠给予 32.0 mg/(kg·d)的阿奇霉素,对照组和模型组小鼠则给予等体积的生理盐水。连续给药 7 d 后,处死各组小鼠收集肺组织备用。

1.3.6 HE 染色 取各组小鼠肺组织切片,经过二甲苯脱蜡水化处理后进行 HE 染色、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片后显微镜下观察各组小鼠的肺组织病理变化。

1.3.7 Masson 染色 小鼠肺组织切片,经过二甲苯脱蜡水化处理后,依次进行苏木精染色、丽春红-酸性复红染色、1% 磷钼酸水溶液染色和 2% 醋酸苯胺蓝液染色。随后,进行梯度乙醇脱水和二甲苯透明,最后用中性树脂封片。最后在显微镜下观察切片。

1.3.8 免疫组织化学染色 (immunohistochemistry staining, IHC) 检测肺组织 TGF- β_1 、EGF 的蛋白表达 取各组小鼠肺组织切片,二甲苯和梯度乙醇脱蜡水化,磷酸盐缓冲液洗 3 次,置于装有枸橼酸缓冲液的高压锅中煮沸进行抗原修复,依次孵育阻断内源性过氧化物酶 10 min、一抗 4 ℃ 过夜,滴加反应增强液室温孵育 20 min,二抗室温孵育 20 min,每次孵育后均用磷酸盐缓冲液洗 3 次,然后 DAB 显色,最后苏木精染色液复染 20 s,饱和碳酸锂分化返蓝,自来水冲洗后,梯度乙醇和二甲苯脱水透明,中性树脂封片。通过 200 倍光学显微镜观察小鼠肺组织的抗原分布,每张切片随机选取 3 个不同的视野,观察组织切片的染色强度来判断结果的阳性程度:无棕黄色为阴性,淡棕黄色为弱阳性,黄色为阳性,棕褐色为强阳性。并应用 Image J 软件对阳性区域(棕色区域)面积进行测量和分析。

1.3.9 qRT-PCR 检测 TGF- β_1 、EGF mRNA 的表达 取各组小鼠肺组织,根据 RNA 提取试剂盒提取各组小鼠肺组织总 RNA,酶标仪检测各组 RNA 浓度。严格按照 Ultra SYBR 一步法 qRT-PCR Kit 说明书步骤操作,检测 TGF- β_1 、EGF mRNA 的表达,反应条件:45 ℃ 逆转录 10 min,95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 10 s,60 ℃ 延伸 45 s,重复 40 次。反应体系:2×Ultra SYBR One Step Buffer 12.5 μ L、正向引物(10 μ mol)0.5 μ L、反向引物(10 μ mol)0.5 μ L、

Ultra SYBR One Step Enzyme Mix 0.5 μ L、RNA 模板 1.0 μ L、RNase-Free Water 10.0 μ L。 β -actin 为内参基因。实验重复 3 次,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 TGF- β_1 和 EGF 的 mRNA 相对表达量。各引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
TGF- β_1	正向:5'-AGAAACGAGCAGAGATTGAGC-3'	22
	反向:5'-CTGAAAGTGTGGCAGGGACAA-3'	21
EGF	正向:5'-GTCACCCACAGAAACAAT-3'	18
	反向:5'-AGGAGCGAACCTZCTAAA-3'	18
β -actin	正向:5'-CTGGGACGACATGGAGAAAA-3'	20
	反向:5'-AAGGAAGGCTGGAAGAGTGC-3'	20

1.4 统计学方法

数据分析采用 GraphPad Prism 8.0.1 统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,比较用方差分析,两两比较用 LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 桔梗皂苷 D 对 TGF- β_1 蛋白结合的影响

桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 存在结合解离峰,根据 binding 报告,二者的结合峰值为 27.2 RU,说明桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 能够较好地结合。见图 1。

2.2 桔梗皂苷 D 对 TGF- β_1 亲和力的影响

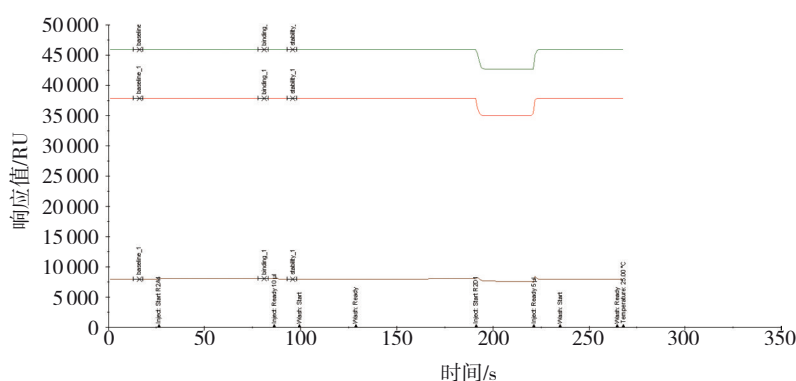
信号响应强度随着桔梗皂苷 D 溶液浓度的增大而逐渐增大。表明桔梗皂苷 D 能够与 TGF- β_1 蛋白在体外进行特异性结合。见图 2。

2.3 桔梗皂苷 D 对 TGF- β_1 分子对接结果的影响

计算得到的结合能为 -7.7 kcal/mol。较低的结合能值表明活性成分与靶点的结合更为紧密,结合能 ≤ -7 kcal/mol 则提示较强的结合活性。可视化结果发现,ARG-291、ILE-294 和 ARG-312 氨基酸残基在与小分子药物的相互作用中起到关键作用,见图 3。

2.4 桔梗皂苷 D 对小鼠肺组织病理的影响

对照组小鼠肺组织结构正常,无明显病变。模型组小鼠肺组织表现出明显的肺泡壁水肿和增厚(蓝色箭头),同时伴有大规模的充血、严重的炎症细胞浸润(黑色箭头)及多处肺泡腔塌陷(灰色



红色线为1通道结合曲线;绿色线为2通道结合曲线;棕色线为1,2通道结合曲线。

图1 桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 蛋白结合响应

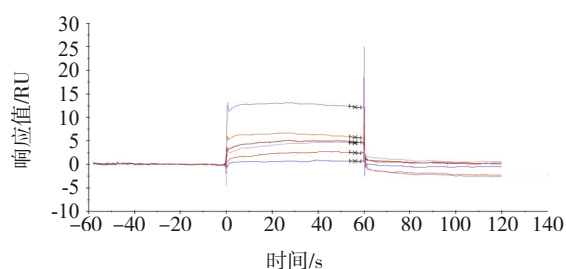


图2 梯度浓度的桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 蛋白结合响应

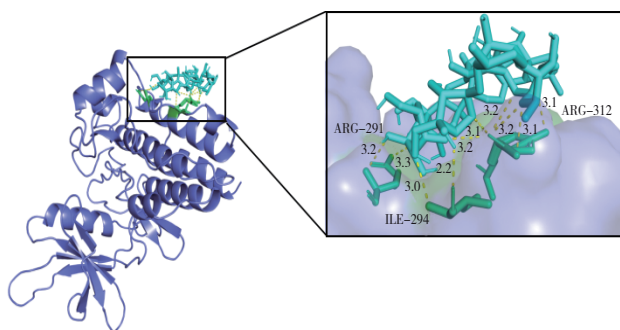


图3 桔梗皂苷 D 与 TGF- β_1 模拟分子对接示意图

箭头)。与模型组相比,桔梗皂苷 D 各剂量组小鼠肺组织中仅见少量肺泡壁充血,炎症细胞浸润显著减少,其组织结构与对照组和阿奇霉素组相似;其中,桔梗皂苷 D 高剂量组的治疗效果最佳,炎症细胞浸润最少,肺泡壁充血范围最小。见图 4。

2.5 桔梗皂苷 D 对小鼠肺组织纤维化的影响

对照组小鼠肺组织切片组织形态清晰完整,存在极少量胶原纤维沉积。模型组小鼠肺组织形态紊乱,且有大量胶原纤维(呈蓝色)分布,肺泡腔塌陷(灰色箭头),肺泡壁增厚(蓝色箭头)且周围有大量炎症细胞(黑色箭头)聚集。与模型组相比,桔梗皂苷 D 各剂量组蓝色面积的胶原纤维均减少,与对照组和阿奇霉素组的肺组织相似,且桔梗皂苷 D 高、中剂量组的治疗效果最好,蓝色面积的胶原纤

维显著减少且仅有少量肺泡壁增厚。见图 5。

2.6 桔梗皂苷 D 对肺组织 TGF- β_1 、EGF 蛋白表达的影响

观察各组小鼠肺组织 TGF- β_1 阳性表达,对照组细胞轻度染色,模型组细胞染色较深且棕褐色的阳性细胞较多,桔梗皂苷 D 高、中、低剂量组以及阿奇霉素组轻度染色;对照组、模型组、阿奇霉素组、桔梗皂苷 D 高中低剂量组小鼠的肺组织切片 TGF- β_1 蛋白阳性区域面积占比比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);与对照组比较,模型组 TGF- β_1 阳性表达升高($P < 0.05$);与模型组比较,桔梗皂苷 D 高、中、低剂量组 TGF- β_1 阳性表达均减少($P < 0.05$)。各组小鼠肺组织 EGF 阳性表达,对照组细胞染色较深且棕褐色阳性细胞较多,模型组细胞轻度染色,桔梗皂苷 D 高、中剂量组及阿奇霉素组染色较深且棕褐色阳性细胞较多,桔梗皂苷 D 低剂量组染色较深且黄色的阳性细胞较多;各组小鼠肺组织切片 EGF 蛋白阳性区域面积占比比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);与对照组比较,模型组 EGF 蛋白阳性表达降低($P < 0.05$);与模型组比较,桔梗皂苷 D 高、中剂量组 EGF 蛋白阳性表达均增多($P < 0.05$)。见图 6、7 和表 2。

2.7 桔梗皂苷 D 对 TGF- β_1 、EGF mRNA 表达的影响

对照组、模型组、阿奇霉素组、桔梗皂苷 D 高中低剂量组小鼠肺组织 TGF- β_1 mRNA 相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);与对照组比较,模型组 TGF- β_1 mRNA 相对表达量明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,桔梗皂苷 D 高、中剂量组的 TGF- β_1 mRNA 相对表达量降低

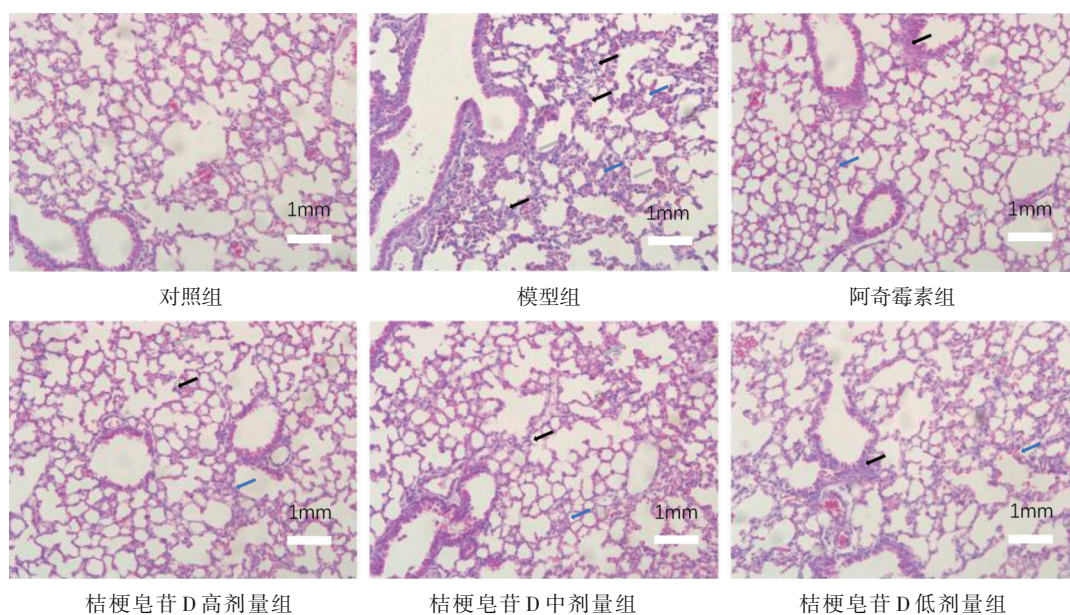


图4 各组小鼠肺组织HE染色 (×200)

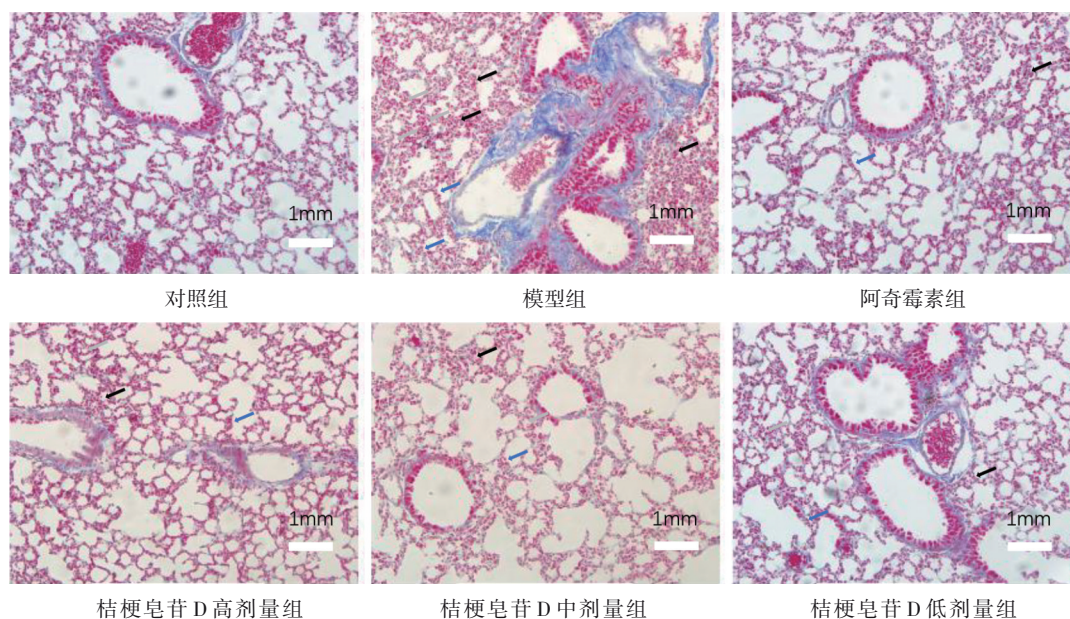
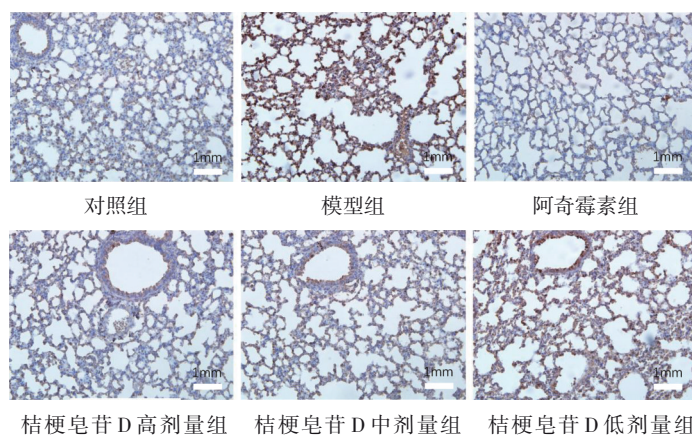


图5 各组小鼠肺组织Masson染色 (×200)

图6 各组小鼠肺组织TGF- β_1 蛋白表达 (×200)

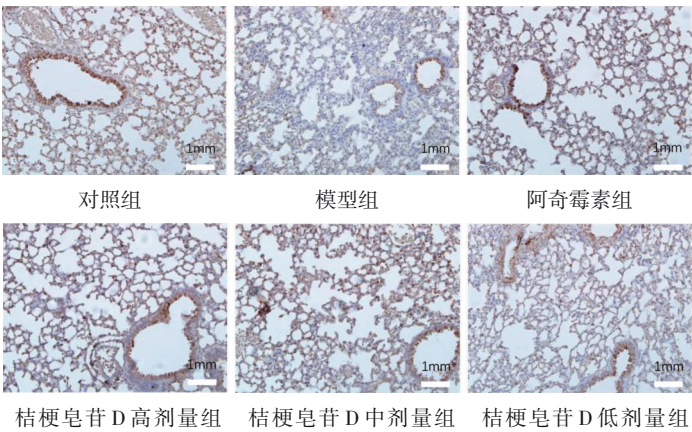


图 7 各组小鼠肺组织 EGF 蛋白表达 (× 200)

表 2 各组小鼠肺组织切片阳性区域面积占比比较
(*n* = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	TGF-β ₁	EGF
对照组	1.49 ± 0.33	9.73 ± 0.28
模型组	16.10 ± 0.63 ^①	1.53 ± 0.19 ^①
阿奇霉素组	2.55 ± 0.52	8.75 ± 0.72
桔梗皂苷 D 高剂量组	2.90 ± 0.54 ^②	9.60 ± 0.36 ^②
桔梗皂苷 D 中剂量组	3.32 ± 0.56 ^②	5.93 ± 0.62 ^②
桔梗皂苷 D 低剂量组	8.85 ± 0.44 ^②	2.83 ± 0.55
<i>F</i> 值	243.700	105.800
<i>P</i> 值	0.000	0.000

注：①与对照组比较,*P* < 0.05; ②与模型组比较,*P* < 0.05。

(*P* < 0.05)。各组小鼠肺组织 EGF mRNA 相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与对照组比较,模型组 EGF mRNA 相对表达量降低(*P* < 0.05);与模型组相比,桔梗皂苷 D 各给药组的 EGF mRNA 相对表达量均有不同程度升高(*P* < 0.05)。见表 3。

表 3 各组小鼠肺组织 TGF-β₁、EGF mRNA 相对表达量比较
(*n* = 10, $\bar{x} \pm s$)

组别	TGF-β ₁	EGF
对照组	0.57 ± 0.24	1.52 ± 0.29
模型组	1.00 ± 0.17 ^①	1.00 ± 0.30 ^①
阿奇霉素组	0.73 ± 0.15	1.50 ± 0.14
桔梗皂苷 D 高剂量组	0.66 ± 0.21 ^②	2.82 ± 0.09 ^②
桔梗皂苷 D 中剂量组	0.78 ± 0.26 ^②	1.64 ± 0.21 ^②
桔梗皂苷 D 低剂量组	0.91 ± 0.18	1.26 ± 0.22 ^②
<i>F</i> 值	10.260	141.800
<i>P</i> 值	0.000	0.000

注：①与对照组比较,*P* < 0.05; ②与模型组比较,*P* < 0.05。

3 讨论

芩百清肺浓缩丸是临床治疗小儿肺炎支原体肺炎的中药制剂^[17],由黑龙江省中医药科学院研发。有研究表明芩百清肺浓缩丸能够促进受损肺上皮细胞的增殖与修复^[18],降低炎症因子的表达,治疗支原体感染后咳嗽^[19],同时对肺炎支原体肺炎大鼠黏膜免疫功能和肠道微生态具有调控作用^[20]。但其中的活性成分桔梗皂苷 D 对肺炎支原体肺炎引起肺纤维化的作用机制目前仍不明确。

肺炎支原体感染宿主后,引起的主要病理表现为间质性肺炎,病情严重者或反复发作可引起上皮间质转化,即上皮细胞失去上皮属性^[21]。有研究表明 TGF-β₁ 在诱导肺泡上皮间质转化、介导细胞外基质沉积等方面具有极其重要的作用^[22]。经典的诱导上皮间质转化因子除了 TGF-β₁,还有 EGF^[23],两者均介导上皮间质转化的发生^[24]。

本研究通过体外分子对接实验模拟了桔梗皂苷 D 与 TGF-β₁ 的结合情况,结果显示,桔梗皂苷 D 与 TGF-β₁ 能较好结合,说明桔梗皂苷 D 对 TGF-β₁ 作用强度较大。进一步结合动物实验,探讨桔梗皂苷 D 对小鼠肺组织 TGF-β₁、EGF 表达的影响,以进一步阐明肺炎支原体肺炎引起的上皮间质转化的作用机制。动物实验结果显示,模型组小鼠肺组织 TGF-β₁ 的表达显著增加,并且组织切片分析显示肺组织出现了不同程度的病变,表现为肺泡壁塌陷,炎症细胞增多,肺泡周围出现了大量的胶原纤维沉积。而经桔梗皂苷 D 干预后的小鼠肺组织形态结构治愈情况良好,肺组织中的胶原纤维和炎症细胞减少, TGF-β₁ 的表达显著减少,EGF 表达明显升高。这表明,桔梗皂苷 D 可能通过降低小鼠肺组织 TGF-β₁

表达、升高 EGF 表达来延缓肺纤维化进程,可能通过减缓上皮间质转化过程实现。而 EGF 可以使受损的表皮细胞代谢加快,运动活性增强,老化的组织及细胞得到更新^[25]。

综上所述,桔梗皂苷 D 能够有效治疗肺炎支原体肺炎的肺间质纤维化,其作用机制可能是通过降低 TGF- β_1 表达、提高 EGF 表达来抑制上皮间质转化的发生。该研究为开发治疗肺炎支原体肺炎的中药相关研究提供了相关实验依据和理论基础。

参 考 文 献 :

- [1] 蒙艳丽,王晓溪,徐慧星,等. 芩百清肺浓缩丸对小鼠肺部慢性炎症合并肺炎支原体肺炎的疗效观察[J]. 中南药学, 2019, 17(11): 1805-1808.
- [2] MARCONI G D, FONTICOLI L, RAJAN T S, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): the type-2 EMT in wound healing, tissue regeneration and organ fibrosis[J]. Cells, 2021, 10(7): 1587.
- [3] 李泽峰,李传慧,周博文,等. 益肺通络方对肺纤维化大鼠上皮间质转化的影响[J]. 中医药信息, 2024, 41(8): 20-27.
- [4] 李天力,蒲凤兰,吴洋,等. 小儿消积止咳口服液联合阿奇霉素治疗小儿支原体肺炎的系统评价与 Meta 分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 2193-2202.
- [5] 余德钊,徐嘉辉,韦泓娟,等. 中药外治法联合大桑菊合剂口服治疗儿童肺炎支原体肺炎临床研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(3): 23-26.
- [6] 王巍,徐庆,程少平,等. 芩百清肺浓缩丸治疗感染后咳嗽的临床疗效及其对痰中 P 物质的干预作用[J]. 黑龙江中医药, 2018, 47(4): 118-119.
- [7] 褚衍涛,魏文峰,霍金海,等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩百清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药, 2016, 38(6): 1303-1310.
- [8] 钟渊涵. 桔梗皂苷 D 镇咳祛痰活性与机制研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.
- [9] MENG Y L, YANG Y, LU W H, et al. The inhibition of Platycodin D on *Mycoplasma pneumoniae* proliferation and its effect on promoting cell growth after anti-*Mycoplasma pneumoniae* treatment[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2014, 4: 192.
- [10] CHEN S, CHEN X, LI W, et al. Conversion of epithelial-to-mesenchymal transition to mesenchymal-to-epithelial transition is mediated by oxygen concentration in pancreatic cancer cells[J]. Oncol Lett, 2022, 23(4): 107.
- [11] 潘玲,卢岳虹,宋策,等. 银杏叶提取物治疗肺纤维化的作用机制[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(6): 57-61.
- [12] 李红梅,张旭辉,武妍琳,等. TGF- β_1 /Smad 信号通路在肺纤维化中的作用及中医药调控研究进展[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(1): 123-128.
- [13] 李海静,刘岩,郝海生,等. 表皮生长因子受体与肺脏发育的关系[J]. 遗传, 2012, 34(1): 27-32.
- [14] 张俊,柴琳,刘荣均,等. 鱼腥草提取物对支原体肺炎小鼠 TLR-2/MyD88/NF- κ B 信号通路的影响[J]. 中药材, 2021, 44(9): 2189-2193.
- [15] 杜改梅,王月,茅慧华,等. 绵羊肺炎支原体小鼠感染模型的建立[J]. 畜牧兽医学报, 2024, 55(4): 1728-1737.
- [16] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203-206.
- [17] 张万方,王琳,潘鹏涛,等. IncSIL 通过 EZH2/P21/CDK6 信号通路负向调控 TGF- β_1 诱导的肺泡上皮细胞间质转化[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(4): 600-604.
- [18] 杨志敏,蒙艳丽,王慧慧,等. 芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体感染的影响[J]. 中成药, 2020, 42(5): 1150-1155.
- [19] 王磊,蒙艳丽,王博,等. 芩百清肺浓缩丸对感染肺炎支原体小鼠 TRPA1、P 物质的影响[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(4): 541-544.
- [20] 刘政. 基于肠道菌群和粘膜免疫的芩百清肺浓缩丸治疗支原体肺炎作用机制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院, 2021.
- [21] 姚琳,张俊威,王博,等. 芩百清肺浓缩丸对肺炎支原体感染大鼠肺泡 II 型上皮细胞修复作用的研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1493-1497.
- [22] 王晓溪,徐慧星,王博,等. 紫菀水提液对肺炎支原体感染小鼠肺组织病理变化、细胞凋亡及 TGF- β_1 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(6): 975-977.
- [23] 杜瑞霞,侯学东,富公弼,等. 转化生长因子 β_1 联合表皮生长因子诱导上皮向间质转化对人喉癌细胞株 Hep-2 侵袭能力影响的研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2012, 18(1): 10-14.
- [24] 郑启智,赵劲博,盛伟伟,等. TMEM206 促进表皮生长因子诱导的结直肠癌上皮-间质转化[J]. 中国医科大学学报, 2020, 49(3): 224-229.
- [25] 梁明川,蒙艳丽,王晓溪,等. 地龙对肺炎支原体感染小鼠肺组织中表皮生长因子 EGF 表达的影响[J]. 中南药学, 2022, 20(2): 291-296.

(张蕾 编辑)

本文引用格式:郭百慧,刘楠楠,王晓溪,等. 桔梗皂苷 D 对支原体肺炎小鼠肺组织转化生长因子- β_1 、表皮生长因子表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2025, 35(11): 33-40.

Cite this article as: GUO B H, LIU N N, WANG X X, et al. Effect of Platycodin D on the expression of transforming growth factor- β_1 and epidermal growth factor in lung tissue of mice with mycoplasma pneumonia[J]. China Journal of Modern Medicine, 2025, 35(11): 33-40.