

地龙提取物对博来霉素所致肺纤维化小鼠微小 RNA-21 的表达研究

宋倩男¹ 刘松江^{2*}¹ 黑龙江中医药大学 黑龙江哈尔滨 150040² 黑龙江中医药大学附属第一医院 黑龙江哈尔滨 150040

【摘要】目的 观察和评价分析地龙提取物对博来霉素诱导小鼠肺纤维化(PF)的作用及对小鼠微小RNA-21表达的影响。**方法** 经气管一次性滴注博来霉素复制PF小鼠模型,将60只小鼠随机分为正常组、模型组、维生素C组、地塞米松组和地龙组,每组12只。地龙组给予地龙提取物灌胃21d后,解剖肺脏,苏木精-伊红染色法观察小鼠肺组织炎症程度并进行炎症评分,Masson染色观察PF程度,计算肺系数,检测血清还原型谷胱甘肽(GSH)、一氧化氮NO,逆转录聚合酶链反应检测转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA),应用qRT-PCR技术检测miR-21,酶联免疫吸附法检测肺组织匀浆TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA及羟脯氨酸(HYP)的蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较,地龙组GSH在血清中含量均升高,NO含量降低;肺组织匀浆中TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA、HYP含量降低($P < 0.05$),miR-21表达均低于模型组($P < 0.05$)。**结论** 地龙提取物对博来霉素所致PF小鼠有一定防治作用,其机制可能与地龙提取物抗氧化、抑制胶原蛋白形成及下调TGF- $\beta 1$ 有关,miR-21有望成为预防和治疗肺纤维化的新的分子靶点。

【关键词】 地龙提取物;博来霉素;小鼠肺纤维化(PF);微小RNA-21**【中图分类号】** R285.6**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1671-4083 (2023) 09-018-02

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

60只健康昆明雄性小鼠,无特定病原体级,体重18~20g。实验动物在洁净级动物房适应性喂养1周,饲料由中国医科学院动物研究所提供,饮用水为自来水,实验期间小鼠自由饮水和进食。

1.1.2 药品及试剂

地龙提取物,注射用盐酸博来霉素,苏木精-伊红染色、Masson染色、一氧化氮酶及还原性谷胱甘肽试剂盒,Trizol Reagent,逆转录试剂盒,TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA、羟脯氨酸试剂盒。

1.1.3 实验仪器

TS100型倒置显微镜及其配套图像采集系统,Adventurer万分之一电子天平和TDL-5M低温离心机,5417R高速低温离心机和移液器,UV-260型紫外可见分光光度计,BCD-77KD3常温冰箱,置入-80℃冰箱低温保存,SW-CJ-2FD型无菌操作台,PTC-200型PCR,电泳槽^[1]。

1.2 实验方法

1.2.1 模型复制、分组及给药

将60只小鼠随机分为正常组、模型组、维生素C组、地

塞米松组和地龙组,每组12只。除正常组外,其他4组小鼠均经气管滴注博来霉素(2mg/kg),正常组注入等量生理盐水。模型复制后第2天,地龙组给予地龙提取物,维生素C组经腹腔注射维生素C100mg/(kg·d),正常组和模型组给予等体积生理盐水,1次/d,共给药21d,地塞米松组经腹腔注射地塞米松2mg/(kg·d),1次/d,共给药3d。

1.2.2 地龙提取物对小鼠miR-21的表达

收集五组细胞,应用qRT-PCR技术检测miR-21,应用TRIZOL法提取各组细胞总RNA,通过琼脂糖凝胶电泳检测总RNA质量,紫外分光光度计测定总RNA浓度及纯度。采用标准曲线法计算mRNA-21表达量,并计算其相对表达量。

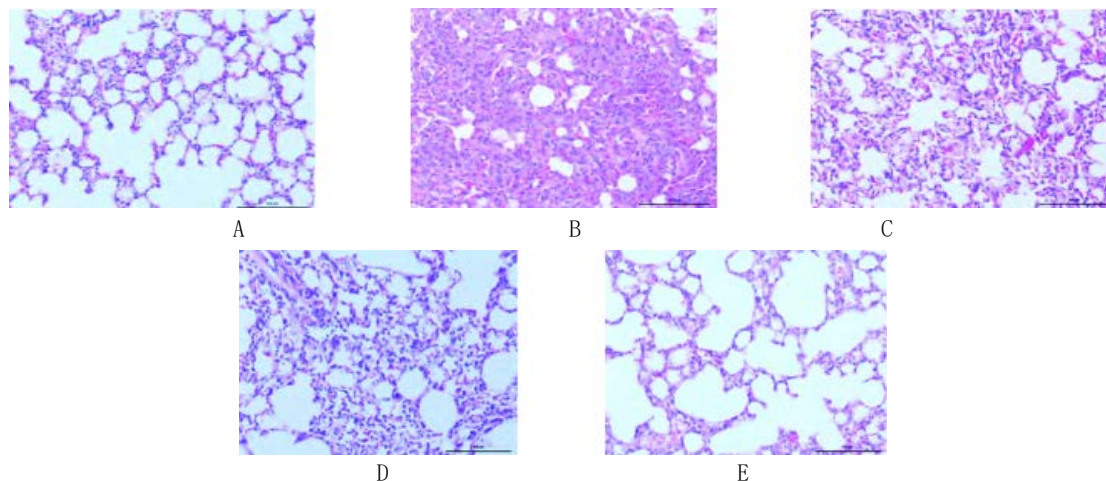
1.3 统计学处理

观察的结果采用SPSS25.0统计软件包进行统计学处理。所有计量资料均用均数±标准差表示,组间比较采用独立样本t检验。计数资料用例数和百分比表示,组间比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 显著差异具有统计意义。

2 结果

2.1 病理改变

除正常组外,其余各组小鼠肺组织结构完整性均受到不同程度破坏,肺泡壁加厚,出现不同程度充血及炎症细胞浸润,且尤以模型组小鼠上述指标改变最为显著(见图1)。



A: 正常组; B: 模型组; C: 维生素C组; D: 地塞米松组; E: 地龙组

图1: 各组小鼠肺组织病理改变(HE×200)

2.2 地龙提取物对博来霉素致肺纤维化小鼠血清 GSH、NO 的影响

各组小鼠血清中 GSH、NO 含量比较,经单因素方差分析,差异有统计学意义。维生素 C 组、地塞米松组与模型组 GSH、NO 含量比较,经 LSD-t 检验,差异有统计学意义。

2.3 地龙提取物对博来霉素致肺纤维化小鼠肺组织中 TGF- β 1、 α -SMA 及 HYP 含量的影响

各组小鼠肺组织中 TGF- β 1、 α -SMA 及 HYP 含量表达,经单因素方差分析,差异有统计学意义。与模型组比较,对照组中 TGF- β 1、 α -SMA 及 HYP 含量比较,经 LSD-t 检验,差异有统计学意义($P=0.000$),对照组含量升高;与模型组相比,给药组小鼠肺组织中 TGF- β 1、 α -SMA 及 HYP 含量均有不同程度的降低,地龙组与维生素 C 组、地塞米松组的 TGF- β 1 和 HYP 含量比较,经 LSD-t 检验,差异有统计学意义($P<0.05$),地龙组最低。

2.4 各组小鼠细胞 miR-21 的表达与模型组相比

各组小鼠细胞 miR-21 的表达与模型组相比,正常组、维生素 C 组、地塞米松组、地龙组 miR-21 表达均低于模型组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

MicroRNA (miRNA) 广泛存在于真核生物细胞中,同其他的寡核苷酸相对比,miRNA 主要有三大不同点^[2]:①是由不同于 mRNA 的独立转录单位表达的,其没有开放阅读框和蛋白质编码基因的特点;②在 3' 端有数个碱基的变化;③成熟 miRNA 在 3' 端具有独特的序列特征。miRNA 的基因转录不同于其他基因,其在人体内靶向性的作用于 mRNA 从而参与基因转录后表达的调控,而并不会直接翻译成蛋白质。miRNA 与

mRNA 的配对并不是唯一的,它们之间可以相互配对组成多种组合,形成错综复杂的调控网络^[3]。miR-21 在特发性肺纤维化患者中的表达增高,具有调节肺成纤维细胞的活化的功能。本研究显示,模型组 GSH 含量低于维生素 C 组、地塞米松组、地龙组,但其 NO 含量高于维生素 C 组、地塞米松组和地龙组。地龙组对抑制 GSH 含量降低的效果弱于维生素 C 组、地塞米松组。与模型组相比,正常组、维生素 C 组、地塞米松组和地龙组 miR-21 表达均低于模型组,差异具有统计学意义^[4]。因此,地龙提取物对博来霉素所致 PF 小鼠有一定防治作用,其机制可能与地龙提取物抗氧化、抑制胶原蛋白形成及下调 TGF- β 1 有关,miR-21 有望成为预防和治疗肺纤维化的新的分子靶点。然而,地龙提取物对博来霉素所致肺纤维化小鼠 miR-21 表达对炎症因子表达的影响及其调控机制尚需进一步实验研究。

参考文献

- [1] 孙林清,王发选,周倩文,等.转化生长因子- β 1 对肺成纤维细胞中 lncRNA-ATB 和纤维化因子 mRNA 水平的影响[J].环境与职业医学,2019,36(03):261-262.
- [2] 彭秋风,高静珍,叶奎,等.转化生长因子 β 1 基因沉默内皮祖细胞移植抑制大鼠肺纤维化[J].中国组织工程研究,2019,23(01):90-92.
- [3] 杜润超,梁竹,许剑涛,等.植物来源的磷脂酰胆碱可介导抗肺纤维化小 RNA (HJT-sRNA-m7) 进入哺乳动物细胞[J].中国科学:生命科学,2018,48(04):469-470.
- [4] 李伟,李鑫,李琦,等.甘草酸对博来霉素诱导的实验性肺纤维化的干预作用[J].中国病理生理杂志,2017,33(03):528-530.

(上接第 16 页)

2 组对比随诊/治疗后 E2、FSH、LH 等峰值、PAH、BA/CA 水平及不良反应率的数据结果中研究组更优,统计结果差异满足要求($P<0.05$),ICPP 患儿应用 GnRHa 治疗有极大优势和作用。

综上,ICPP 患儿应用 GnRHa 治疗的效果显著,即可有效延缓 BA 成熟,可有效抑制性早熟,无严重不良反应,安全可靠,可做进一步推广。

参考文献

- [1] 谢雨芳.促性腺激素释放激素类似物治疗对中枢性性早熟患儿的效果[J].中国处方药,2022,17(6):116-117.
- [2] 张倩茹,陈瑞敏,蔡春艳,等.促性腺激素释放激素

类似物治疗对特发性中枢性性早熟女性患儿远期糖脂代谢及性腺轴功能影响观察[J].中国实用儿科杂志,2019,32(12):933-936.

[3] 刘亚军,庞敏,黄丽敏,等.促性腺激素释放激素类似物联合司坦唑醇对特发性中枢性性早熟女性患儿的身高影响[J].中国现代医学杂志,2022,24(34):86-89.

[4] 黄丽琴.促性腺激素释放激素类似物改善特发性中枢性性早熟儿童成年身高及相关因素分析[J].世界复合医学,2023,6(7):161-163.

[5] 许慧洁,叶进,袁雪晶,等.促性腺激素释放激素类似物改善特发性中枢性性早熟女童成年身高及相关因素分析[J].中国儿童保健杂志,2023,27(3):262-264,295.

(上接第 17 页)

化。而 TNF- α 在 III a 型患者、III b 型和健康对照组中存在显著差异;两种细胞因子的水平升高,提示其表达水平明显高于健康对照组。同时前列腺液中 TNF- α 的水平在慢性前列腺炎的病理学改变中起重要作用,可作为慢性前列腺炎的诊断依据之一,并为疾病的诊断和疗效评估及其预后提供借鉴。

综上所述,高龄 III 型前列腺炎患者血清和前列腺液中神经生长因子、炎症因子的表达水平,可为疾病严重程度及其治疗效果和预后的重要指标,值得临床大力推广实施。

参考文献

- [1] 莫先红.前列舒通胶囊联合体外冲击波治疗对慢性前列腺炎患者炎症因子和免疫功能的影响[J].中国医师进修杂志,2022,45(1):54-60.
- [2] 王金霞.热淋清颗粒对慢性前列腺炎患者炎症因子及

性功能障碍的影响[J].中国性科学,2020,29(10):129-132.

[3] 施田力,黄小惠,肖鑫,等.清热利湿活血方对慢性非细菌性前列腺炎患者前列腺液中炎症因子、TGF- β 1、MCP-1 及 PDGF-BB 水平的影响[J].新中医,2020,52(14):88-91.

[4] 朱云海,许云飞,陈耀武,等.高龄 III 型前列腺炎患者血清和前列腺液中神经生长因子、炎症因子的表达水平及临床意义[J].现代生物医学进展,2018,18(2):272-275.

[5] 姜丰泽,于洋,王炜,等.氯美扎酮联合索利那新治疗 III 型前列腺炎临床疗效及对前列腺液神经生长因子、巨噬细胞炎症蛋白-1 α 、干扰素- γ 影响[J].临床军医杂志,2019,47(1):99-100.

[6] 李永章,周岩,王军浩,等.盐酸坦索罗辛联合宁泌泰胶囊治疗慢性前列腺炎的疗效及对血清炎症因子的影响[J].中华实验外科杂志,2023,40(6):1047-1050.