http://www.zjujournals.com/med
DOI:10.3724/zdxbyxb-2022-0157

高原药学

·专题报道·

红景天苷对急进高原大鼠肺组织的保护作用

王子晗[1,2],郭茜文[1,2],马江红[1,2],程俊飞[2],赵安鹏[2],李文斌[1,2],王　荣[1,2]

1. 甘肃中医药大学药学院,甘肃 兰州 730000
2. 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院药剂科 全军高原医学实验室,甘肃 兰州 730050

[摘　要] **目的**:研究红景天苷对急进高原大鼠肺组织的保护作用及机制。**方法**:Wistar雄性大鼠36只,随机分为空白对照组、模型对照组、红景天胶囊组以及红景天苷小(14 mg/kg)、中(28 mg/kg)、大(56 mg/kg)剂量组,每组6只。除空白对照组外,其他各组预防性灌胃给药5 d后急进海拔4010 m的高原实地建立低压性缺氧模型,检测大鼠血气指标,酶联免疫吸附试验测定血清炎症因子水平,试剂盒测定肺组织氧化应激指标,苏木精-伊红染色观察肺组织病理学改变,蛋白质印迹法检测肺组织中闭合蛋白的表达量。**结果**:与空白对照组比较,模型对照组动脉血氧饱和度(SaO_2)、动脉血氧分压(PaO_2)、血液酸碱度、标准碳酸氢盐(SBC)和实际碳酸氢盐水平显著下降,血红蛋白水平显著上升(均$P<0.05$);肥大细胞蛋白酶(MCP)1、白介素(IL)-6和IL-1β含量显著增加,γ干扰素含量显著减少(均$P<0.01$);肺组织中谷胱甘肽和总超氧化物歧化酶含量显著下降,丙二醛含量显著增加(均$P<0.01$)。红景天胶囊和红景天苷各剂量组SaO_2、血液酸碱度、血红蛋白、SBC和实际碳酸氢盐较模型对照组均有一定改善;炎症因子和氧化应激指标较模型对照组均有不同程度改善,其中红景天苷组MCP-1、IL-6改善情况优于红景天胶囊组。红景天胶囊和红景天苷小、中、大剂量组肺组织缺氧损伤改善,细胞壁逐渐变薄,肺泡壁逐渐完整。模型对照组闭合蛋白含量较空白对照组减少($P<0.05$),而红景天苷大剂量组闭合蛋白含量较模型对照组显著增加($P<0.01$)。**结论**:红景天苷可改善大鼠由于缺氧所致的血气指标失调、缺氧症状和酸碱平衡紊乱、炎症因子失调,改善肺组织损伤、氧化应激损伤等,对急进高原大鼠肺组织损伤具有保护作用,且改善效果总体优于红景天胶囊。

[关键词] 红景天苷;低压性缺氧;肺损伤;炎症因子;氧化应激;闭合蛋白;大鼠
[中图分类号] R965.2　　[文献标志码] A

收稿日期:2022-04-14　　**接受日期**:2022-07-29
基金项目:国家自然科学基金(81673508,82173738);军队后勤科研项目(CLB19J049);中央高校基本科研业务费专项(3192020009);甘肃省青年科技基金计划(20JR10RA014);联勤保障部队第九四〇医院院内应急医学科研项目(20yjky017)
第一作者:王子晗,硕士研究生,主要从事中药药理与毒理研究;E-mail:wzh20210521@163.com;https://orcid.org/0000-0003-2138-064X
通信作者:王　荣,主任药师,教授,博士生导师,主要从事高原药学研究;E-mail:wangrong-69@163.com;https://orcid.org/0000-0001-9139-7311

Protective effect of salidroside on lung tissue in rats exposed rapidly to high altitude

WANG Zihan[1,2], GUO Qianwen[1,2], MA Jianghong[1,2], CHENG Junfei[2], ZHAO Anpeng[2], LI Wenbin[1,2], WANG Rong[1,2] (*1. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Pharmacy, the 940th Hospital of Joint Logistics Support Force of Chinese People's Liberation Army, Key Laboratory of the Plateau Medicine, Lanzhou 730050, China*)

Corresponding author: WANG Rong, E-mail: wangrong-69@163.com, https://orcid.org/0000-0001-9139-7311

[**Abstract**] **Objective**: To study the protective effect and mechanism of salidroside on lung tissue of rats exposed rapidly to high altitude. **Methods**: Thirty-six Wistar male rats were randomly divided into blank control group, model control group, *Rhodiola rosea* capsule (137 mg/kg) group, salidroside low-dose (14 mg/kg), medium-dose (28 mg/kg) and high-dose (56 mg/kg) groups, with 6 rats in each group. After 5 continuous days of drug administration in the plain lab, rats were rapidly moved to 4010 m plateau field lab. After exposure to hypoxia condition for 3 days the blood gas indexes were detected; the serum levels of inflammatory factors were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); the oxidative stress index of lung tissue was measured; the pathological changes of lung tissue were observed by microscopy with hematoxylin and eosin (HE) staining; and the expression of occludin in lung tissues was determined by western blotting. **Results**: Compared with blank control group, arterial oxygen saturation (SaO_2), arterial oxygen partial pressure (PaO_2), blood pH, standard bicarbonate (SBC) and actual bicarbonate levels in model control group were significantly decreased, and hemoglobin level was significantly increased (all $P<0.05$). In the model control group, the contents of mast cell protease (MCP) 1, interleukin (IL)-6 and IL-1β were significantly increased, while the contents of interferon-γ were significantly decreased (all $P<0.01$). The contents of glutathione and total superoxide dismutase in the lung tissues of model control group were significantly decreased, while the content of malondialdehyde was significantly increased (all $P<0.01$). After *Rhodiola rosea* and salidroside were given, SaO_2, pH, hemoglobin, SBC and actual bicarbonate were improved compared with the model control group. Compared with the model control group, the *Rhodiola rosea* group and salidroside groups had different degrees of improvement in the contents of the above inflammatory factors and oxidative stress indexes, and the salidroside groups had better improvement in MCP-1 and IL-6 than the *Rhodiola rosea* group. HE staining showed that, after the administration of *Rhodiola rosea* capsules and salidroside at low, medium and high doses, the hypoxic injury was significantly improved, the cell wall gradually became thinner, and the alveolar wall gradually became complete. The expression of occludin in the model control group was lower than that in the blank control group ($P<0.05$), while the expression of occludin in the salidroside high-dose group was significantly higher than that in the model control group ($P<0.01$). **Conclusion**: Salidroside can improve the abnormality of blood gas index, hypoxia symptoms and acid-base balance disorder, dysregulation of inflammatory factors caused by hypoxia in rats, and improve lung tissue

injury and oxidative stress injury, which has a protective effect on lung tissue injury of rats exposed rapidly to the high-altitude plateau, and the effect is better than *Rhodiola rosea* capsule on the whole.

[**Key words**] Salidroside; Hypobaric hypoxia; Lung injury; Inflammatory cytokines; Oxidative stress; Occludin; Rats

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2022, 51(4): 422-429.]

[**缩略语**] 白介素(interleukin,IL);放射免疫沉淀法(radioimmunoprecipitation assay,RIPA);含吐温-20的Tris盐缓冲液(tris buffered saline with Tween-20,TBST);总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase,T-SOD);丙二醛(malondialdehyde,MDA);谷胱甘肽(glutathione,GSH);肥大细胞蛋白酶(mast cell protease,MCP);酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA);苏木精-伊红染色(hematoxylin and eosin staining,HE染色);动脉血二氧化碳分压(arterial blood carbon dioxide partial pressure,$PaCO_2$);动脉血氧分压(arterial oxygen partial pressure,PaO_2);标准碳酸氢盐(standard bicarbonate,SBC);动脉血氧饱和度(arterial oxygen saturation,SaO_2)

高原低氧环境会使人体中动脉血氧分压和血氧饱和度下降,影响肺功能[1],从而引发严重缺氧甚至高原肺水肿。红景天胶囊在高原低氧环境下有着明显的抗缺氧作用[2],可以改善慢性阻塞性肺疾病所引起的氧化应激损伤和血氧保护度的下降[3]。有研究发现,红景天的主要活性成分红景天苷可改善慢性间断性缺氧模型小鼠的肺损伤[4],降低低氧性肺动脉高压大鼠肺组织中IL-6及肿瘤坏死因子α阳性细胞比例,改善平均肺动脉压、平均颈动脉压及右心室肥厚指数[5]。野生红景天资源匮乏,但红景天苷可以酪醇为原料,经保护、成苷、脱保护等步骤合成[6],方法较简便、绿色环保、合成产率高。因此,用红景天苷产品代替红景天胶囊具有一定的社会及经济价值。

本文通过研究红景天苷对急进高原(在1 d内急进海拔4010 m的高原实地)大鼠血气指标、氧化应激指标、炎症指标等的影响,评价其对大鼠肺组织在高原缺氧损伤后的保护作用,为红景天苷开发为红景天胶囊的替代或升级产品奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和仪器

红景天胶囊(批号200705)为西藏军区总医院产品;红景天苷(批号HS181211S1,纯度至少98%)为宝鸡市辰光生物科技有限公司产品;0.9%氯化钠注射液为石家庄四药集团产品;多聚甲醛固定液为武汉赛维尔生物科技有限公司产品;肝素钠为南京新百药业有限公司产品;BCA蛋白浓度测定试剂盒、高效RIPA组织裂解液、30%制胶液、10×TBST缓冲液为北京索莱宝科技有限公司产品;T-SOD试剂盒、MDA测定试剂盒、GSH试剂盒为南京建成生物工程研究所产品;大鼠IL-1β、γ干扰素、MCP-1和IL-6 ELISA试剂盒为上海酶联生物科技有限公司产品;闭合蛋白抗体为艾博抗(上海)贸易有限公司产品。

PrimeCCSComp全自动血气分析仪为美国Nova生物医学公司产品;SpectraMax i3型全自动荧光酶标仪为美国Molecular公司产品;全能型凝胶成像分析系统为美国Bio-Rad公司产品;Tissuelyser-24多样品组织研磨机为上海净信实业发展有限公司产品;涡旋混匀器为海门市其林贝尔仪器制造公司产品;倒置显微镜为日本Olympus公司产品;MDF-U2086S超低温冰箱为日本三洋公司产品;3K15型4 ℃高速台式冷冻离心机为德国Sigma公司产品。

1.2 实验动物及分组

36只(200 ± 20)g雄性Wistar大鼠来源于中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院实验动物科,动物许可证号为SCXK(军)2017-0023。将实验大鼠随机分成6组,每组6只,分别为空白对照组(0.9%氯化钠注射液)、模型对照组(0.9%氯化钠注射液)、红景天胶囊组(0.9%氯化钠注射液+红景

天胶囊137 mg/kg)、红景天苷小剂量组(0.9%氯化钠注射液+红景天苷14 mg/kg)、红景天苷中剂量组(0.9%氯化钠注射液+红景天苷28 mg/kg)、红景天苷大剂量组(0.9%氯化钠注射液+红景天苷56 mg/kg)，红景天苷剂量设置参考文献[5]。除空白对照组外,其他各组按上述方案预防性灌胃给药5 d后急进青海玉树巴塘全军高原环境损伤防治重点实验室(海拔4010 m)，运送途中果冻补水。抵达高原后,缺氧暴露3 d，期间继续每日按剂量给药,自由获取食水,于缺氧暴露第3天末次给药后1 h开始实验。严格按照“3R”原则设计动物实验,方案通过中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院伦理委员会审查(2021KYLL182)。

1.3 血气分析仪测定各组血气分析指标

末次给药1 h后,腹腔注射水合氯醛麻醉实验大鼠,取其腹主动脉血,避免接触空气,立即使用血气分析仪进行检测。主要血气分析指标有酸碱度、$PaCO_2$、PaO_2、实际碳酸氢盐、SBC、SaO_2和血红蛋白等。

1.4 ELISA测定血清炎症因子水平

将收集于离心管里的全血标本在室温放置2 h或4℃过夜,然后1000×*g*离心20 min，取上清液,置于–20℃或–80℃保存(避免反复冻融),采用ELISA测定血清中MCP-1、IL-6、γ干扰素和IL-1β等炎症因子水平。

1.5 采用试剂盒测定肺组织氧化应激水平

称取大鼠肺组织,加入相应体积的等渗氯化钠溶液制备10%组织匀浆。用BCA试剂盒测定各组织匀浆的蛋白浓度后通过试剂盒检测T-SOD活性、MDA含量和GSH含量。

1.6 HE染色观察肺组织病理学改变

末次给药后1 h，通过腹腔注射10%水合氯醛麻醉大鼠,处死动物,进行中线剖腹术和门静脉切开术,然后剪开腹主动脉排出血液。切除肺组织,用冰冷等渗氯化钠溶液冲洗,称重并收集,用多聚甲醛固定液固定,使组织充分展开。组织固定好后切成4 μm切片,洗涤,脱水,并透明化处理,石蜡包埋后HE染色,脱水,最后树脂封片。

1.7 蛋白质印迹法检测肺组织中闭合蛋白表达量

用预冷的磷酸盐缓冲液冲洗组织,去除残留血液,加入适量高效RIPA组织和蛋白酶抑制剂。充分裂解后4℃、14 462×*g*离心10 min，收集上清液。采用BCA法测定蛋白质浓度后,开水煮沸5 min使蛋白质变性,冷却至室温,7378×*g*离心5 min，取上清液即为样品。将上清液上样、电泳、转膜后,用5%脱脂牛奶于室温封闭2 h，加入一抗(稀释比例闭合蛋白为1∶1000,β-actin为1∶5000),于4℃下孵育过夜,用1×TBST缓冲液漂洗,加入二抗(稀释比例为 1∶5000),于室温下孵育90 min，用1×TBST缓冲液漂洗。用凝胶成像分析系统显影,使用ImageJ软件以目的条带与β-actin的吸光度值之比反映蛋白质表达量。

1.8 统计学方法

使用SPSS 22.0软件进行统计分析。正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)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,$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血气分析指标检测结果

与空白对照组比较,模型对照组SaO_2、PaO_2、血液酸碱度、SBC和实际碳酸氢盐水平显著下降,血红蛋白水平显著上升(均$P<0.05$);红景天胶囊组和红景天苷组SaO_2、血液酸碱度、血红蛋白、SBC和实际碳酸氢盐较模型对照组均有一定改善,除红景天苷小剂量组血红蛋白改善情况明显不如红景天胶囊组外,其他各项指标的改善情况红景天苷组与红景天胶囊组差异均无统计学意义。见表1。结果提示,红景天苷能缓解模型大鼠的缺氧症状和酸碱平衡紊乱,红景天苷中、大剂量组的效果总体优于小剂量组。

2.2 各组血清炎症因子含量比较

与空白对照组比较,模型对照组MCP-1、IL-6和IL-1β含量显著增加,γ干扰素含量显著减少;红景天胶囊组和红景天苷各剂量组上述炎症因子含量较模型对照组均有不同程度改善,其中红景天苷组MCP-1、IL-6改善情况优于红景天胶囊组,γ干扰素、IL-1β改善情况与红景天胶囊组差异无统计学意义。见表2。结果提示,红景天苷对缺氧引起血清中炎症因子MCP-1、IL-6、IL-1β的升高和γ干扰素下降有明显改善作用,改善效果总体优于红景天胶囊。

2.3 各组肺组织氧化应激指标检测结果比较

与空白对照组比较,模型对照组肺组织中GSH和T-SOD含量显著减少,MDA含量显著增加;红景天胶囊组和红景天苷组上述氧化应激指标较

表 1　各组血气分析指标检测结果比较
Table 1　Results of blood gas indexes of rats in each group

(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组　别	SaO_2(%)	$PaCO_2$(mmHg)	PaO_2(mmHg)	血液酸碱度	血红蛋白(g/L)	SBC	实际碳酸氢盐(mmol/L)
空白对照组	95.90 ± 1.86	40.53 ± 6.60	83.27 ± 12.65	7.42 ± 0.05	125.83 ± 8.42	26.83 ± 5.36	26.73 ± 6.37
模型对照组	86.05 ± 3.54*	39.05 ± 7.07	63.20 ± 11.24*	7.22 ± 0.24*	137.50 ± 3.02*	18.55 ± 8.39*	18.72 ± 9.20*
红景天胶囊组	88.75 ± 1.14#*	37.03 ± 4.27	58.63 ± 1.77*	7.35 ± 0.01#	122.50 ± 8.60#	21.10 ± 1.78*	20.67 ± 2.53*
红景天苷小剂量组	87.87 ± 2.26*	41.87 ± 3.19	56.87 ± 3.58*	7.36 ± 0.03#	132.83 ± 8.42△	23.70 ± 2.34	24.15 ± 2.62
红景天苷中剂量组	89.08 ± 1.73#*	42.55 ± 2.14	58.08 ± 3.42*	7.39 ± 0.03#	125.83 ± 10.82#	25.30 ± 2.23#	25.78 ± 2.46#
红景天苷大剂量组	89.83 ± 2.40#*	41.78 ± 3.62	60.53 ± 6.20*	7.38 ± 0.01#	130.50 ± 9.18	24.47 ± 1.89#	24.83 ± 2.42#

与空白对照组比较,*P<0.05;与模型对照组比较,#P<0.05;与红景天胶囊组比较,△P<0.05. SaO_2:动脉血氧饱和度;$PaCO_2$:动脉血二氧化碳分压;PaO_2:动脉血氧分压;SBC:标准碳酸氢盐.

表 2　各组血清炎症因子含量和肺组织氧化应激相关指标检测结果比较
Table 2　Contents of serum inflammatory factors and oxidative stress-related indexes in lung tissues of rats in each group

(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组　别	MCP-1(ng/mL)	IL-6(pg/mL)	γ干扰素(pg/mL)	IL-1β(pg/mL)	GSH(g/L)	T-SOD(U/mg蛋白)	MDA(nmol/mL)
空白对照组	10.34 ± 3.28	30.19 ± 10.67	70.69 ± 23.64	8.65 ± 3.05	9.04 ± 1.23	3.66 ± 0.35	1.08 ± 0.08
模型对照组	35.38 ± 2.28*	142.54 ± 43.89*	21.87 ± 12.23*	22.70 ± 7.40*	5.62 ± 0.21*	2.37 ± 0.57*	1.32 ± 0.10*
红景天胶囊组	33.03 ± 4.59	123.30 ± 63.13*	38.26 ± 22.35	10.23 ± 6.10#	7.46 ± 1.87*#	2.95 ± 0.51*#	0.95 ± 0.07#
红景天苷小剂量组	19.27 ± 3.24#△	35.70 ± 22.22#△	27.11 ± 9.87*	7.23 ± 2.93#	7.44 ± 0.57*#	3.54 ± 0.39#△	1.15 ± 0.18#
红景天苷中剂量组	27.43 ± 2.00	49.64 ± 18.84#△	58.76 ± 28.84	13.56 ± 5.65#	8.94 ± 1.45#△	3.28 ± 0.44#	1.15 ± 0.06#
红景天苷大剂量组	17.88 ± 3.66#△	20.55 ± 8.93#△	34.07 ± 25.64*	8.51 ± 4.84#	10.14 ± 0.92#△	3.40 ± 0.32#	0.92 ± 0.12*#

与空白对照组比较,*P<0.05;与模型对照组比较,#P<0.05;与红景天胶囊组比较,△P<0.05. MCP:肥大细胞蛋白酶;IL:白介素;GSH:谷胱甘肽;T-SOD:总超氧化物歧化酶;MDA:丙二醛.

模型对照组均改善,其中红景天苷中、大剂量组GSH改善情况优于红景天胶囊组,红景天苷小剂量组T-SOD改善情况优于红景天胶囊组。见表2。结果提示,红景天胶囊和红景天苷均能改善缺氧引起大鼠肺组织的氧化应激损伤,且红景天苷的改善效果总体优于红景天胶囊。

2.4　各组肺组织病理学变化比较

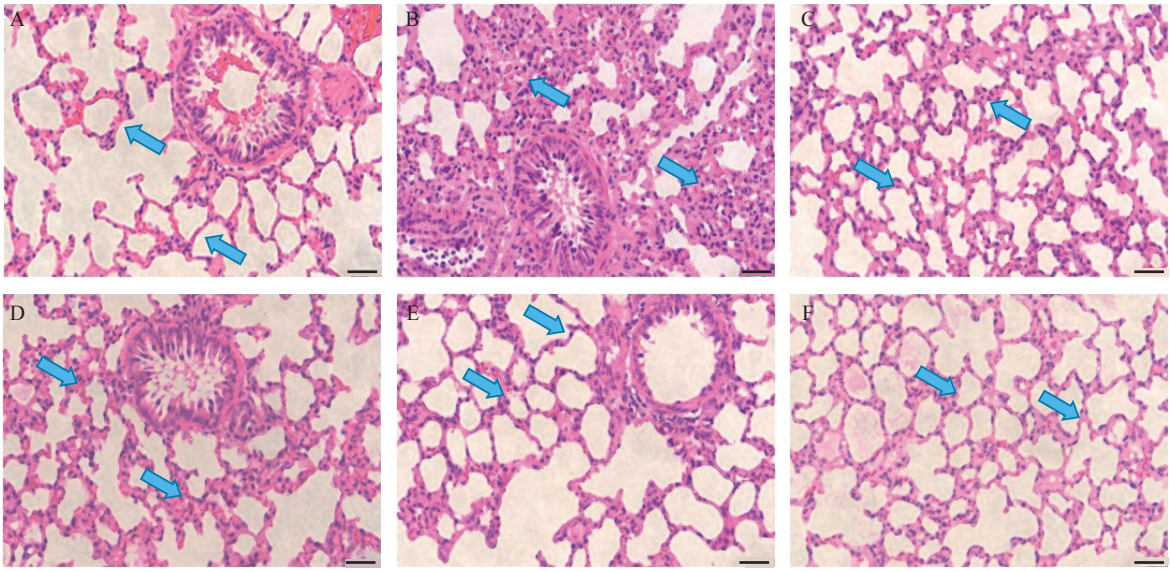
空白对照组肺泡腔内无分泌物,肺泡壁完整,壁薄,无充血、水肿,无炎性细胞浸润及红细胞渗出。模型对照组肺泡腔内可见渗出物及大量炎症细胞、红细胞渗出,部分肺隔间增厚,支气管上皮杂乱,支气管腔狭窄、变形,大量炎性细胞聚集。与模型对照组比较,红景天胶囊组肺泡腔内分泌物减少,炎性细胞和红细胞减少,细胞壁较缺氧模型组相比较薄,肺泡壁相对完整。红景天苷小、中剂量组肺组织损伤明显缓解;红景天苷大剂量组细胞壁明显变薄,细胞壁完整,肺泡腔内少量分泌物,少量红细胞渗出。随着红景天苷剂量的增加,肺组织形态逐渐趋于正常。红景天苷大剂量组改善肺组织损伤效果优于红景天胶囊组。见图1。上述结果提示,红景天胶囊和红景天苷各剂量均能改善缺氧引起的大鼠肺组织病变,其中大剂量红景天苷保护效果最好。

2.5　各组肺组织肺泡上皮闭合蛋白表达比较

空白对照组、模型对照组以及改善肺组织缺氧损伤效果最好的红景天苷大剂量组肺泡上皮闭合蛋白的表达情况见图2。模型对照组闭合蛋白表达量(0.68 ± 0.16)较空白对照组(1.04 ± 0.21)减少(P<0.05),而红景天苷大剂量组闭合蛋白表达量(1.33 ± 0.20)较模型对照组显著增加(P<0.01)。上述结果提示,红景天苷可以逆转由于缺氧引起闭合蛋白表达的减少。

3　讨　论

急进高海拔地区时易诱发急性高原病,急性高原反应的发生率为40%~90%[7],其中5%会发展



A:空白对照组肺泡腔内无分泌物,肺泡壁薄而完整(箭头所示);B:模型对照组肺泡腔内可见大量渗出物,细胞壁变厚,支气管腔变形(箭头所示);C:红景天胶囊组肺泡腔内分泌物减少,肺泡壁相对完整(箭头所示);D:红景天苷小剂量组肺泡腔内分泌物减少,细胞壁变薄(箭头所示);E:红景天苷中剂量组肺泡腔内分泌物减少,细胞壁变薄,肺泡壁较完整(箭头所示);F:红景天苷大剂量组肺泡腔仅少量分泌物,肺泡壁薄而完整(箭头所示). 标尺=50 μm.

图 1 各组肺组织苏木精-伊红染色结果

Figure 1 Pathological sections of lung tissues of rats in each group (HE staining)

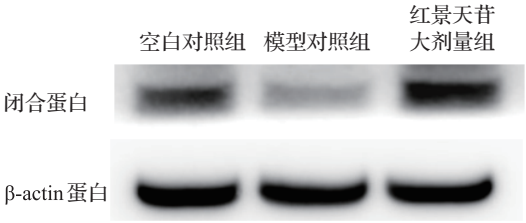


图 2 各组肺组织中闭合蛋白电泳图

Figure 2 Expression of occludin in lung tissues of rats in each group

为更为严重的高原肺水肿和高原脑水肿[8]。如何防治高原肺损伤及高原肺水肿备受高原科研人员的关注。生理上的高原缺氧是指在海拔2500 m以上高原发生的缺氧反应[9]。本研究中,空白对照组饲养于兰州市(海拔1500 m)进行实验,而模型对照组饲养于玉树市(海拔4010 m)进行实验。实验结果显示,急进高原缺氧3 d后大鼠出现血红蛋白代偿性增加,PaO_2、$PaCO_2$、SBC和实际碳酸氢盐均下降,出现氧合不足,血氧饱和度下降,影响了机体肺氧合功能并出现呼吸性碱中毒合并代谢性酸中毒,使动脉血酸碱度下降。代谢性酸中毒增强了肺血管收缩[10],进而发展为肺动脉高压。预防性给予红景天苷小、中、大剂量均能提高缺氧大鼠的SaO_2,减少动脉血中血红蛋白含量,并使血液的酸碱度值恢复至正常范围。可见红景天苷可改善血液中酸碱失衡和代谢性酸中毒,进而改善肺血管收缩肺组织损伤和血气指标,缓解大鼠的低氧血症。

机体从平原进入高原后,红细胞过度增生,组织内血液缺氧,导致氧自由基和活性氧的释放增多,引起内皮细胞脂质过氧化和酶羟基化,从而损伤内皮细胞,使炎症因子生成增多[11]。血清炎症因子是机体缺氧后细胞增殖与坏死时被激活、释放的一系列细胞因子。红景天苷可减少机体由于缺氧引起的MCP-1、IL-6、IL-1β炎症因子的升高,增加γ干扰素含量。缺氧3 d后,大鼠肺组织中出现氧化应激损伤,给予红景天苷和红景天胶囊后,氧化应激各指标归于正常,且随着红景天苷剂量的升高,保护效果整体更好,提示红景天苷对于大鼠肺组织的氧化应激损伤具有一定的剂量依赖性。HE染色结果显示,急进高原缺氧3 d后大鼠肺组织受到损伤,肺血管收缩,肺支气管狭窄。急性高原暴露可导致缺氧性肺血管收缩,引起肺血管阻力增加以及肺动脉压力升高,损伤严重者会诱导高原肺水肿[12]。高原肺水肿的特征是液体从肺的血管内腔向血管外腔渗出[13]。由于肺泡上皮屏障非常紧密,正常情况下毛细血管流出的液体不能从血管内皮细胞的微小间隙进入肺泡间隙,相反该液体可从基质层中的淋巴管返回体循环。肺

泡上皮屏障破坏,进而导致肺泡液泛滥的机制有以下两种,即肺毛细血管静水压力增加和肺血气屏障通透性增加[14]。给予红景天胶囊和红景天苷后,模型鼠肺组织的损伤部位得到改善,细胞壁明显变薄,肺泡腔内渗出物减少。根据病理结果可知,缺氧后肺泡上皮屏障遭到破坏,从而导致炎性因子、红细胞渗透,紧密连接主要存在于上皮细胞、内皮细胞间的连接复合体中,相邻细胞膜紧靠在一起形成环绕细胞的物理屏障结构,具有封闭上皮细胞间隙,防止可溶性物质从细胞一侧扩散到另一侧的屏障功能[15]。闭合蛋白是组成紧密连接结构的关键蛋白[16],本研究通过蛋白质印迹法测定闭合蛋白的表达,发现大剂量红景天苷可以通过增加闭合蛋白的表达来保护肺组织结构的稳定。

综上所述,红景天苷可改善大鼠由于缺氧所致的血气指标失调、缺氧症状和酸碱平衡紊乱,改善由于缺氧导致的炎症因子失调,改善肺组织损伤、氧化应激损伤等,对急进高原大鼠肺组织损伤具有保护作用,且效果整体上优于红景天胶囊。本研究结果为红景天苷开发为红景天胶囊的替代或升级产品奠定了理论基础,为红景天苷预防和治疗高原肺水肿提供了思路。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 张　钢, 郝利民, 刘福玉, 等. 抗缺氧制剂对高原战士肺功能和血氧饱和度的影响[J]. **解放军预防医学杂志**, 2008, 26(2): 89-92.
ZHANG Gang, HAO Limin, LIU Fuyu, et al. Effect of anti-hypoxic preparation on lung function and blood oxygen saturation at high aititude[J]. **Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army**, 2008, 26(2): 89-92. (in Chinese)

[2] 杨来启, 吴兴曲, 李新田, 等. 芪参复康胶囊与红景天高原环境应激条件下抗疲劳抗缺氧对照研究[J]. **中华中医药学刊**, 2010, 28(6): 1170-1172.
YANG Laiqi, WU Xingqu, LI Xintian, et al. Comparative study of anti-fatigue and anti-hypoxia function of Qishen Fukang capsule with rhodiola rosea in in plateau environment[J]. **Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine**, 2010, 28(6): 1170-1172. (in Chinese)

[3] 杨生岳, 冯恩志, 闫自强, 等. 高原地区慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并慢性肺心病抗氧化治疗的研究[J/CD]. **中华肺部疾病杂志(电子版)**, 2013, 6(1): 30-34.
YANG Shengyue, FENG Enzhi, YAN Ziqiang, et al. Study on intervention of antioxidant in patients with chronic obstructive pulmonary disease in acute exacerbation complicated chronic cor pulmonale at high altitude areas[J/CD]. **Chinese Journal of Lung Diseases (Electronic Edition)**, 2013, 6(1): 30-34. (in Chinese)

[4] 皇甫志敏, 徐　倩, 王　晓, 等. 红景天甙干预可改善慢性间断性缺氧模型小鼠的肺损伤[J]. **中国组织工程研究**, 2019, 23(31): 5036-5040.
HUANGFU Zhimin, XU Qian, WANG Xiao, et al. Salidroside can improve lung injury in mouse models of chronic intermittent hypoxia[J]. **Chinese Journal of Tissue Engineering Research**, 2019, 23(31): 5036-5040. (in Chinese)

[5] 李风峰, 康金旺, 吕建东, 等. 红景天苷对低氧性肺动脉高压大鼠肺组织炎性因子表达的影响[J]. **中国临床药理学杂志**, 2019, 35(10): 996-999.
LI Fengfeng, KANG Jinwang, LYU Jiandong, et al. Effect of salidroside on the expression of inflammatory factors in lung tissue of rats with hypoaerobic pulmonary arterial hypertension[J]. **The Chinese Journal of Clinical Pharmacology**, 2019, 35(10): 996-999. (in Chinese)

[6] 黄文华, 王　波, 胡亚丹, 等. 红景天苷的合成与工艺研究[J]. **广东化工**, 2019, 46(17): 71-72.
HUANG Wenhua, WANG Bo, HU Yadan, et al. Study on synthesis and technology of salidroside[J]. **Guangdong Chemical Industry**, 2019, 46(17): 71-72. (in Chinese)

[7] LUKS A M, SWENSON E R, BÄRTSCH P. Acute high-altitude sickness[J]. **Eur Respir Rev**, 2017, 26(143): 160096.

[8] DAVIS C, HACKETT P. Advances in the prevention and treatment of high altitude illness[J]. **Emergency Med Clin N Am**, 2017, 35(2): 241-260.

[9] GRIMMINGER J, RICHTER M, TELLO K, et al. Thin air resulting in high pressure: mountain sickness and hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. **Canadian Respiratory J**, 2017, 2017: 8381653.

[10] LEJEUNE P, BRIMIOULLE S, LEEMAN M, et al. Enhancement of hypoxic pulmonary vasoconstriction by metabolic acidosis in dogs[J]. **Anesthesiology**, 1990, 73(2): 256-264.

[11] 于前进, 孔佩艳. 与高原红细胞增多症有关的血清炎症因子的研究进展[J]. **西南国防医药**, 2014, 24(9): 1026-1027.
YU Qianjin, KONG Peiyan. Research progress of serum inflammatory factors related to high altitude polycythemia[J]. **Medical Journal of National Defending Forces in Southwest China**, 2014, 24(9): 1026-1027. (in Chinese)

[12] 黄 岚. 高原对肺血管生物学及相关疾病的影响[J]. **中华心血管病杂志**, 2018, 46(12): 921-925.
HUANG Lan. Effects of altitude on pulmonary vascular biology and related diseases[J]. **Chinese Journal of Cardiology**, 2018, 46(12): 921-925. (in Chinese)
[13] SCHOENE R B. Unraveling the mechanism of high altitude pulmonary edema[J]. **High Altitude Med Biol**, 2004, 5(2): 125-135.
[14] SARTORI C, ALLEMANN Y, SCHERRER U. Pathogenesis of pulmonary edema: learning from high-altitude pulmonary edema[J]. **Respiratory Physiol Neurobiol**, 2007, 159(3): 338-349.
[15] 邵立健, 朱清仙. 一种跨膜蛋白——闭锁蛋白的研究现状[J]. **国外医学(生理、病理科学与临床分册)**, 2004, 24(3): 263-266.
SHAO Lijian, ZHU Qingxian. Research status of atretin——a transmembrane protein[J]. **Foreign Medical Sciences (Section of Pathophysiology and Clinical Medicine)**, 2004, 24(3): 263-266. (in Chinese)
[16] 张子洲. MMP-9和紧密连接蛋白Occludin在慢性阻塞性肺疾病大鼠肺部的表达[J]. **中国老年学杂志**, 2018, 38(4): 930-932.
ZHANG Zizhou. Expression of MMP-9 and tight junction protein Occludin in the lungs of rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. **Chinese Journal of Gerontology**, 2018, 38(4): 930-932. (in Chinese)

[本文编辑 沈 敏 余 方]

· 学术动态 ·

周如鸿教授和易文教授团队揭示糖基化调控MDH1酶活性促进胰腺癌生长的分子机制

2022年7月25日,浙江大学生命科学学院周如鸿教授团队和易文教授团队合作在《自然·化学生物学》(*Nature Chemical Biology*)发表了题为“O-GlcNAcylation promotes pancreatic tumor growth by regulating malate dehydrogenase 1”的研究论文(DOI: 10.1038/s41589-022-01085-5),揭示了O-GlcNAc糖基化调控胰腺导管腺癌(PDAC)细胞生长的新机制,阐明了糖基化增强苹果酸脱氢酶(MDH)1活性的分子生物学机制。

代谢改变是肿瘤细胞的重要特征之一,癌基因Kras突变PDAC细胞的增殖高度依赖谷氨酰胺分解代谢途径,该途径对于PDAC细胞的增殖和存活至关重要。研究人员通过糖化学生物学、肿瘤生物学和计算生物学等多学科交叉手段,揭示了O-GlcNAc糖基化调控谷氨酰胺代谢从而促进PDAC生长的分子机制。

研究人员发现介导O-GlcNAc修饰的糖基转移酶(OGT)的表达在胰腺癌患者组织中显著升高,敲低OGT显著抑制了PDAC细胞增殖。研究者发现O-GlcNAc糖基化通过调控谷氨酰胺代谢途径中的关键酶MDH1来促进PDAC细胞增殖,并鉴定出Ser189位为MDH1的糖基化位点。进一步研究发现,MDH1糖基化通过增强其酶活性从而促进了谷氨酰胺代谢和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的产生。此外,MDH1参与细胞内协调糖酵解和线粒体呼吸作用的苹果酸-天冬氨酸穿梭途径,有利于还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的再生,促进了线粒体的呼吸。研究人员通过全原子分子动力学模拟进一步探究了O-GlcNAc糖基化增强MDH1蛋白酶活性的分子机制,结果表明Ser189 O-GlcNAc可以充当“分子胶”的作用,通过稳定MDH1单体上的底物结合口袋,增强蛋白与底物,底物与底物之间的相互作用,来提高底物的结合及稳定性,最终促进MDH1的酶活性。

该研究揭示了OGT-MDH1轴在PDAC发生和发展过程中的主要功能。鉴于MDH1在PDAC中高表达,且MDH1糖基化水平与PDAC进程呈正相关,该研究强调了干预MDH1糖基化可以作为治疗PDAC的潜在策略。

朱强和周红博士系论文第一作者。研究得到了国家重点研发计划、国家自然科学基金、国家自主创新示范区上海张江重大专项、浙江大学上海高等研究院繁星科学基金等资助。