布美他尼对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺损伤的影响及机制Δ

雷　宇[1*]，陆　婧[1]，贺文娟[2]，顾佳颖[1]，周登峰[1]（1.武汉市第四医院呼吸与危重症医学科，武汉　430033；2.武汉市第四医院药学部，武汉　430033）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）08-0939-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.08.08

摘　要　目的　探讨布美他尼对慢性阻塞性肺疾病（COPD）大鼠肺损伤的影响及机制。**方法**　采用脂多糖诱导构建COPD大鼠模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组（COPD组），布美他尼低、高剂量组（Bumetanide-L组、Bumetanide-H组），布美他尼高剂量+Yes相关蛋白/含有PDZ结合基序的转录共激活因子（YAP/TAZ）信号通路激活剂组（Bumetanide-H+PY-60组），每组12只；另取12只正常大鼠作为正常对照组（Control组）。大鼠造模前30 min，单次吸入布美他尼/生理盐水或（和）尾静脉单次注射PY-60/生理盐水。造模给药结束次日，检测各组大鼠肺功能指标[0.3 s用力呼气容积（FEV0.3）、用力肺活量（FVC）、呼气流量峰值（PEF）、FEV0.3/FVC]，测定其支气管肺泡灌洗液（BALF）中肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素6（IL-6）、IL-1β水平，观察其肺组织病理形态和肺纤维化程度，检测其肺组织中转化生长因子β（TGF-β）、α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、TAZ蛋白表达水平和YAP蛋白磷酸化水平。**结果**　与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠肺组织病理损伤均减轻，肺上皮细胞脱落及管壁增厚情况和肺纤维化程度均减轻，炎症细胞浸润和蓝色胶原沉积均减少；FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC、PEF均显著升高（$P<0.05$）；肺损伤评分，TNF-α、IL-6、IL-1β水平及TGF-β、α-SMA、TAZ蛋白表达水平和YAP蛋白磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。PY-60能显著逆转布美他尼对上述指标的改善作用（$P<0.05$）。**结论**　布美他尼可减轻COPD大鼠肺损伤，改善炎症反应及肺纤维化，其作用机制与抑制YAP/TAZ信号通路相关。

关键词　布美他尼；慢性阻塞性肺疾病；YAP/TAZ信号通路；肺损伤；肺纤维化

Effect and mechanism of bumetanide on lung injury in chronic obstructive pulmonary disease model rats

LEI Yu[1], LU Jing[1], HE Wenjuan[2], GU Jiaying[1], ZHOU Dengfeng[1]（1. Dept. of Respiratory and Critical Care Medicine, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan 430033, China; 2. Dept. of Pharmacy, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan 430033, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effect and mechanism of bumetanide on lung injury in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) model rats. **METHODS** COPD rat model was induced by lipopolysaccharide, and they were randomly divided into model group (COPD group), bumetanide low-dose and high-dose groups (Bumetanide-L group, Bumetanide-H group), bumetanide high-dose+Yes-associated protein/transcriptional coactivator containing PDZ-binding motif (YAP/TAZ) signaling pathway activator group (Bumetanide-H+PY-60 group), with 12 rats in each group. Another 12 normal rats were selected as normal control group (Control group). Thirty minutes before modeling, bumetanide/normal saline was inhaled or/and PY-60/normal saline was injected into the tail vein. On the next day after the completion of modeling and drug administration, the pulmonary function index of the rats in each group was measured [forced expiratory volume in 0.3 seconds (FEV0.3), forced vital capacity (FVC), peak expiratory flow (PEF), FEV0.3/FVC]. The levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6) and IL-1β in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined; the pathological morphology of lung tissue and degree of pulmonary fibrosis were observed. The expression levels of transforming growth factor-β (TGF-β), α-smooth muscle actin (α-SMA) and TAZ protein as well as the phosphorylation of YAP protein in lung tissues were detected. **RESULTS** Compared with COPD group, the pathological injury of lung tissue in Bumetanide-L and Bumetanide-H groups was alleviated; the exfoliation of lung epithelial cells, tube wall thickening and the degree of pulmonary fibrosis were alleviated; inflammatory cell infiltration was reduced, and blue collagen deposition was reduced; FEV0.3, FVC, FEV0.3/FVC and PEF were significantly increased, while the lung injury score, levels of TNF-α, IL-6, IL-1β, expression levels of TGF-β, α-SMA and TAZ protein and the phosphorylation of YAP protein were significantly decreased ($P<0.05$). PY-60 could significantly reverse the improvement effects of bumetanide on above indexes ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Bumetanide can alleviate lung injury, inflammatory response and pulmonary fibrosis in COPD rats, and its mechanism is related to inhibiting YAP/TAZ signaling pathway.

KEYWORDS　bumetanide; chronic obstructive pulmonary disease; YAP/TAZ signaling pathway; lung injury; pulmonary fibrosis

Δ**基金项目**　湖北省自然科学基金项目（No.2022CFB951）

＊**第一作者**　主治医师，硕士。研究方向：气道炎症性疾病及气道良、恶性疾病。电话：027-68831367。E-mail：lnpxf1@163.com

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）是以持续性不完全可逆的气流受限为主要特征的常见肺部疾病，其发病与季节变化相关，好发于秋冬季节寒冷时，常表现为胸闷气短、呼吸困难、慢性咳嗽、咳痰等[1]。COPD发病率逐年增长，预计2030年将成为全球第三大死亡的主要原因，给患者家庭及社会带来沉重经济负担[2]。COPD发病机制为气流持续受阻引发气道炎症及氧化应激反应，导致气道重塑、肺纤维化，肺损伤加剧，若不及时治疗，将进一步发展为肺心病、呼吸衰竭等，甚至危及生命[3]。虽然常用的化学药对COPD有一定改善，但其副作用较大，使用有限。因此，寻求安全、高效的COPD治疗药物已成为目前的研究重点。

肺病患者往往表现出肺水肿现象，而利尿剂对于消除水肿效果良好，适当、谨慎选择利尿剂将有助于肺相关疾病的治疗。布美他尼是一种主要用于治疗心力衰竭、肝病、肾病等水肿性疾病的利尿药。研究显示，布美他尼可减弱脂多糖诱导的小鼠组织炎症和急性肺损伤[4]，但其作用机制尚不清楚。Yes相关蛋白/含有PDZ结合基序的转录共激活因子（Yes-associated protein/transcriptional coactivator containing PDZ-binding motif，YAP/TAZ）信号通路作为高度保守的信号级联通路，在多种细胞及生物中发挥作用，参与包括肺相关疾病在内的多种炎症相关疾病的发生发展[5]。研究发现，YAP/TAZ信号通路异常激活可加剧炎症反应，增加胶原沉积，引发肺泡上皮失调促进肺纤维化[6]。本研究主要基于YAP/TAZ信号通路，探索布美他尼对COPD大鼠肺损伤的影响及机制，以期为COPD的治疗寻求新策略。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括PFT-MR型小动物肺功能检测仪（上海塔望智能科技有限公司）、SuPerMax3000FL型多功能酶标仪（上海闪谱生物科技有限公司）、RX50型光学显微镜[思科诺思生物科技（北京）有限公司]、DM IL LED型荧光显微镜（德国Leica公司）、4200SF型凝胶成像分析系统（上海天能科技有限公司）。

1.2 主要药品与试剂

布美他尼对照品（纯度≥98%，批号B129942）购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；脂多糖（纯度≥99%，批号L8880）购自北京索莱宝科技有限公司；YAP/TAZ信号通路激活剂PY-60（纯度≥98%，批号HY-141644）购自美国MCE公司；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、IL-1β酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为ER006、ER003-48、ER008-16）均购自上海吉泰依科赛生物科技有限公司；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒（批号E-IR-R117）购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；Masson染色试剂盒（批号60532ES58）购自翌圣生物科技（上海）股份有限公司；兔源转化生长因子β（transforming growth factor-β，TGF-β）一抗（批号3711）购自美国CST公司；兔源磷酸化YAP（phosphorylation YAP，p-YAP）、YAP一抗（批号分别为ab76252、ab81183）均购自英国Abcam公司；兔源α-平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA）一抗（批号K10885）购自北京百奥莱博科技有限公司；兔源TAZ一抗（批号sc-518026）购自美国Santa Cruz Biotechnology公司；兔源β-肌动蛋白（β-actin）一抗、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗（批号分别为abs132001、abs20002）均购自爱必信（上海）生物科技有限公司。

1.3 动物

SPF级SD雄性大鼠66只，7周龄，体重（200±20）g，购自湖北贝恩特生物科技有限公司，生产许可证号为SCXK（鄂）2021-0027。大鼠饲养条件：温度20～25 ℃，相对湿度50%～65%，每12 h昼夜交替，自由摄食、饮水。动物实验在湖北贝恩特生物科技有限公司进行，且已通过该公司动物伦理委员会审核批准（批准号：BNT-2023417）。

2 方法

2.1 COPD大鼠模型构建

取66只大鼠适应性喂养1周后，除对照组（Control组）15只大鼠外，剩余大鼠于实验第1～15天进行麻醉，沿颈中部切口，分离气管，头皮针穿刺气管并沿气管注入2 mg/kg脂多糖溶液，随后将大鼠直立旋转2 min以便药物充分流入肺内，缝合伤口后正常饲养[7]。造模给药结束次日，Control组与造模组各选择3只大鼠使用肺功能检测仪检测大鼠0.3 s用力呼气容积（forced expiratory volume in 0.3 seconds，FEV0.3）、用力肺活量（forced vital capacity，FVC）及呼气流量峰值（peak expiratory flow，PEF）并处死后取肺组织进行病理观察，若上述肺功能指标明显下降且肺组织病理损伤严重，则表示COPD造模成功[8]。

2.2 分组与处理

将COPD造模成功的48只大鼠随机分为模型组（COPD组），布美他尼低、高剂量组（Bumetanide-L组、Bumetanide-H组），布美他尼高剂量+YAP/TAZ信号通路激活剂组（Bumetanide-H+PY-60组），每组12只。Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠分别于造模前30 min单次吸入布美他尼0.15、0.3 mg/kg[9]；Bumetanide-H+PY-60组大鼠于造模前30 min单次吸入布美他尼0.3 mg/kg，并单次尾静脉注射PY-60 16 mg/kg[10]；Control组与COPD组大鼠吸入和尾静脉注射等体积的生理盐水。

2.3 肺功能指标检测

造模给药结束次日，麻醉并固定大鼠，颈中部消毒切口，分离气管，然后连接气管插管与肺功能检测仪，待

平静呼吸后记录FEV0.3、FVC、PEF，并计算FEV0.3与FVC的比值百分数。

2.4 支气管肺泡灌洗液中炎症因子水平检测

肺功能指标检测结束后，处死各组大鼠，取右肺组织，用生理盐水灌洗3次，每次5 mL。回收支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF），混合，按ELISA试剂盒说明书方法操作，检测BALF中TNF-α、IL-6、IL-1β水平。

2.5 肺组织病理形态观察

各组随机选择6个右肺组织，固定后用乙醇梯度脱水，浸蜡包埋，切片（厚度5 μm），常规脱蜡至水，干燥后进行HE染色；乙醇梯度脱水，二甲苯透明，干燥密封后用光学显微镜观察肺组织病理形态。同时分别从肺泡水肿、肺间质水肿、肺泡内充血、中性粒细胞浸润4个方面进行肺损伤评分：0分，正常，无损伤；1分，轻度受损；2分，中度受损；3分，重度受损；4分，极重度受损；每项分值均为0～4分，总分0～16分[11]。

2.6 肺纤维化情况观察

取“2.5”项下剩余右肺组织石蜡切片，脱蜡至水，进行Masson染色，清洗，脱水透明，干燥，用光学显微镜观察蓝色胶原沉积情况，即肺纤维化情况。

2.7 肺纤维化相关因子表达检测

取“2.5”项下剩余右肺组织石蜡切片，常规处理后，进行抗原修复，再加入3%H_2O_2进行反应，随后进行血清封闭。与TGF-β、α-SMA一抗（稀释比例分别为1∶50、1∶500）低温反应过夜，次日与二抗（稀释比例1∶200）室温摇床1 h，最后加入3，3′-二氨基联苯胺四盐酸盐显色，苏木精复染，光学显微镜采集图像并用Image J软件分析TGF-β、α-SMA平均光密度（TGF-β、α-SMA阳性表达呈棕褐色、褐色）。

2.8 肺组织中YAP/TAZ信号通路相关蛋白表达检测

将各组剩余6只大鼠的右肺组织冰冻研磨，与蛋白裂解液充分反应，提取组织中总蛋白并定量。根据蛋白样品进行沸水浴变性，随后电泳、转膜、封闭，加入p-YAP、YAP、TAZ、β-actin一抗（稀释比例分别为1∶1 000、1∶1 000、1∶1 000、1∶20 000），在4 ℃下反应过夜；次日与二抗（稀释比例1∶2 000）在室温下反应1 h，再与ECL反应，最后收集图像并用Image J软件分析蛋白条带灰度值。以目的蛋白与内参蛋白（β-actin）条带灰度值的比值表示目的蛋白的表达水平，以p-YAP与YAP的蛋白表达水平比值表示YAP蛋白磷酸化水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计分析。实验数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间样本均数间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 布美他尼对COPD大鼠肺功能的影响

与Control组比较，COPD组大鼠FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC、PEF均显著降低（$P<0.05$）；与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠上述指标均显著升高（$P<0.05$），且Bumetanide-H组大鼠上述指标均显著高于Bumetanide-L组（$P<0.05$）；与Bumetanide-H组比较，Bumetanide-H+PY-60组大鼠上述指标均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1。

表1 各组大鼠肺功能指标比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	FEV0.3/(V/mL)	FVC/(V/mL)	(FEV0.3/FVC)/%	PEF/(mL/s)
Control组	9.41±0.96	12.46±1.31	75.52±0.78	33.59±3.42
COPD组	4.52±0.53[a]	7.12±0.72[a]	63.48±0.69[a]	20.71±2.16[a]
Bumetanide-L组	6.73±0.74[b]	9.53±0.97[b]	70.62±0.72[b]	26.38±2.75[b]
Bumetanide-H组	9.15±0.96[bc]	12.21±1.28[bc]	74.94±0.77[bc]	32.76±3.38[bc]
Bumetanide-H+PY-60组	7.04±0.76[d]	9.84±1.01[d]	71.54±0.74[d]	27.05±2.81[d]

a：与Control组比较，$P<0.05$；b：与COPD组比较，$P<0.05$；c：与Bumetanide-L组比较，$P<0.05$；d：与Bumetanide-H组比较，$P<0.05$。

3.2 布美他尼对COPD大鼠BALF中炎症因子水平的影响

与Control组比较，COPD组大鼠BALF中TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著升高（$P<0.05$）；与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠BALF中TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著降低（$P<0.05$），且Bumetanide-H组大鼠上述指标水平均显著低于Bumetanide-L组（$P<0.05$）；与Bumetanide-H组比较，Bumetanide-H+PY-60组大鼠BALF中TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

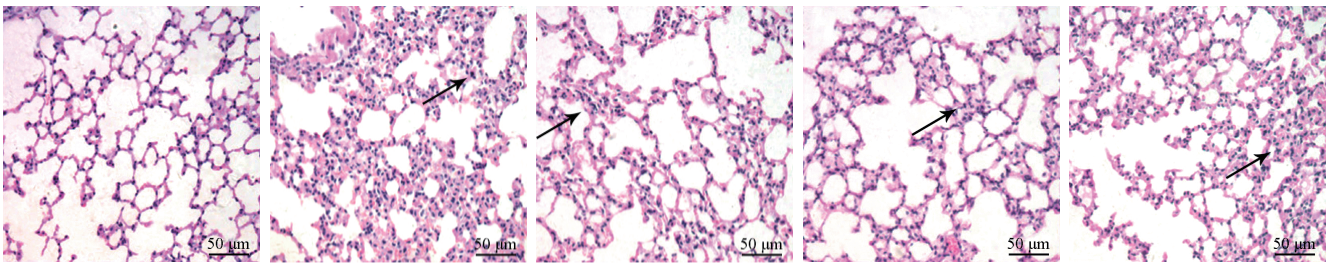
表2 各组大鼠BALF中炎症因子水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mL）

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β
Control组	45.83±4.61	92.67±9.42	30.82±3.15
COPD组	109.62±11.05[a]	302.49±31.24[a]	96.74±9.73[a]
Bumetanide-L组	83.71±8.64[b]	229.63±23.68[b]	69.53±7.11[b]
Bumetanide-H组	55.49±5.72[bc]	137.51±14.52[bc]	38.26±3.96[bc]
Bumetanide-H+PY-60组	80.27±8.13[d]	205.74±21.47[d]	65.33±6.75[d]

a：与Control组比较，$P<0.05$；b：与COPD组比较，$P<0.05$；c：与Bumetanide-L组比较，$P<0.05$；d：与Bumetanide-H组比较，$P<0.05$。

3.3 布美他尼对COPD大鼠肺组织病理形态的影响

Control组大鼠肺组织及细胞结构、形态正常；与Control组比较，COPD组大鼠肺组织结构遭到破坏，肺上皮细胞大量脱落，管壁增厚，炎症细胞浸润明显，肺损伤评分显著升高（$P<0.05$）；与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠肺组织病理损伤均减轻，肺上皮细胞脱落及管壁增厚情况均得到改善，炎症细胞浸润均减少，肺损伤评分均显著降低（$P<0.05$），且Bumetanide-H组大鼠肺损伤评分显著低于Bumetanide-L组（$P<0.05$）；与Bumetanide-H组比较，Bumetanide-H+PY-60组大鼠肺组织病理损伤加重，肺上皮细胞脱落严重，管壁明显增厚，炎症细胞浸润明显增多，肺损伤评分显著升高（$P<0.05$）。结果见图1和表3。



A. Control组　B. COPD组　C. Bumetanide-L组　D. Bumetanide-H组　E. Bumetanide-H+PY-60组

箭头：损伤部位。

图1　各组大鼠肺组织病理形态的显微图（HE染色）

表3　各组大鼠肺损伤评分及肺组织中TGF-β、α-SMA蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	肺损伤评分/分	TGF-β	α-SMA
Control组	0	0.58±0.07	0.46±0.05
COPD组	10.33±1.12[a]	1.25±0.13[a]	1.08±0.11[a]
Bumetanide-L组	8.17±0.93[b]	0.98±0.10[b]	0.85±0.09[b]
Bumetanide-H组	5.17±0.62[bc]	0.67±0.07[bc]	0.57±0.06[bc]
Bumetanide-H+PY-60组	8.00±0.91[d]	0.95±0.10[d]	0.80±0.08[d]

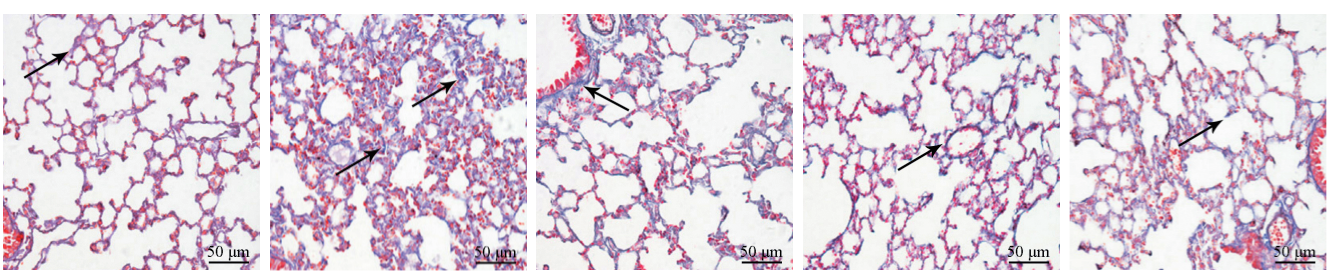
a：与Control组比较，$P<0.05$；b：与COPD组比较，$P<0.05$；c：与Bumetanide-L组比较，$P<0.05$；d：与Bumetanide-H组比较，$P<0.05$。

3.4　布美他尼对COPD大鼠肺纤维化的影响

Control组大鼠肺组织结构形态正常，蓝色胶原沉积不明显；与Control组比较，COPD组大鼠肺组织出现大量蓝色胶原沉积，肺纤维化严重；与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠肺组织蓝色胶原沉积均减少，肺纤维化程度均减轻；与Bumetanide-H组比较，Bumetanide-H+PY-60组大鼠肺组织蓝色胶原沉积增多，纤维化加剧。结果见图2。

3.5　布美他尼对COPD大鼠肺纤维化相关蛋白表达的影响

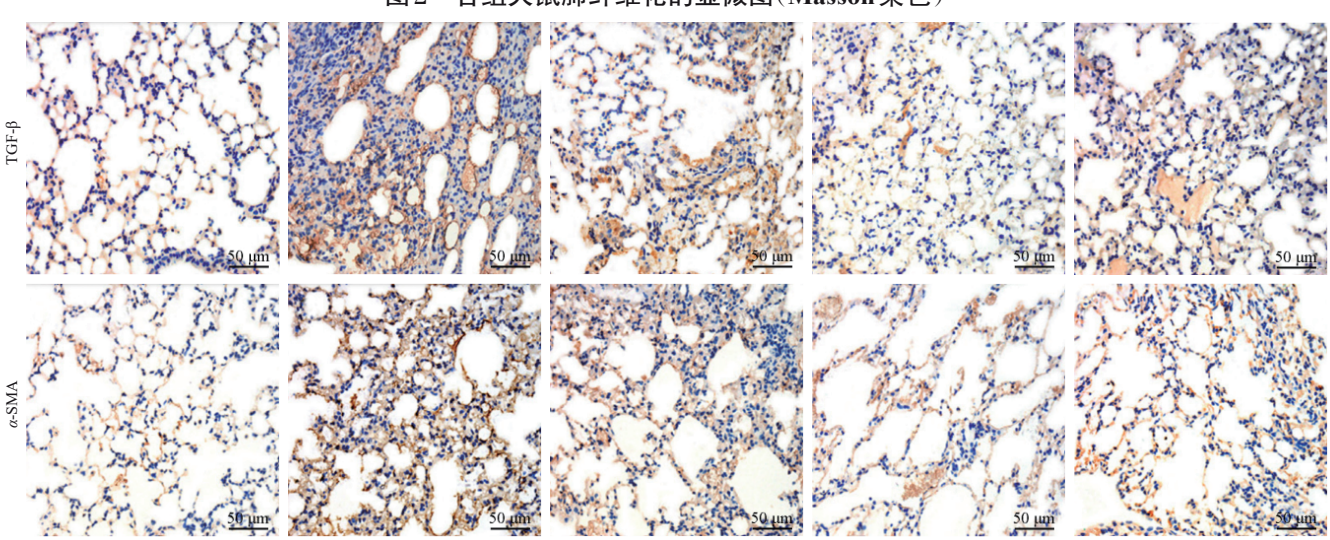
与Control组比较，COPD组大鼠肺组织中TGF-β、α-SMA蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠肺组织中TGF-β、α-SMA蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$），且Bumetanide-H组大鼠上述指标水平显著低于Bumetanide-L组（$P<0.05$）；与Bumetanide-H组比较，Bumetanide-H+PY-60组大鼠肺组织中TGF-β、α-SMA蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表3、图3。



A. Control组　B. COPD组　C. Bumetanide-L组　D. Bumetanide-H组　E. Bumetanide-H+PY-60组

箭头：胶原沉积。

图2　各组大鼠肺纤维化的显微图（Masson染色）

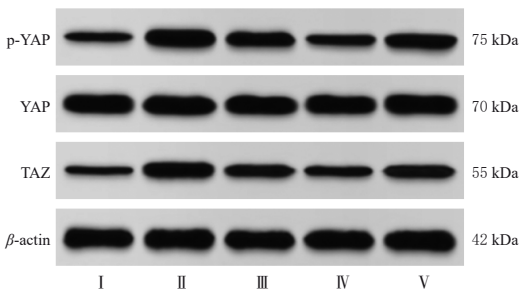


A. Control组　B. COPD组　C. Bumetanide-L组　D. Bumetanide-H组　E. Bumetanide-H+PY-60组

图3　各组大鼠肺组织中TGF-β、α-SMA蛋白表达的免疫组化图

3.6 布美他尼对COPD大鼠肺组织中YAP/TAZ信号通路相关蛋白表达的影响

与Control组比较，COPD组大鼠肺组织中TAZ蛋白表达水平和YAP蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）；与COPD组比较，Bumetanide-L组、Bumetanide-H组大鼠肺组织中TAZ蛋白表达水平和YAP蛋白磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$），且Bumetanide-H组大鼠上述指标水平显著低于Bumetanide-L组（$P<0.05$）；与Bumetanide-H组比较，Bumetanide-H+PY-60组大鼠肺组织中TAZ蛋白表达水平和YAP蛋白磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见图4和表4。



Ⅰ：Control组；Ⅱ：COPD组；Ⅲ：Bumetanide-L组；Ⅳ：Bumetanide-H组；Ⅴ：Bumetanide-H+PY-60组。

图4 各组大鼠肺组织中p-YAP、YAP、TAZ蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠肺组织中YAP/TAZ信号通路相关蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	p-YAP/YAP	TAZ
Control组	0.39±0.04	0.32±0.04
COPD组	0.97±0.10[a]	0.93±0.10[a]
Bumetanide-L组	0.72±0.08[b]	0.66±0.07[b]
Bumetanide-H组	0.43±0.05[bc]	0.37±0.04[bc]
Bumetanide-H+PY-60组	0.70±0.08[d]	0.64±0.07[d]

a：与Control组比较，$P<0.05$；b：与COPD组比较，$P<0.05$；c：与Bumetanide-L组比较，$P<0.05$；d：与Bumetanide-H组比较，$P<0.05$。

4 讨论

COPD可能受吸烟、扬尘、有害气体、病原微生物、遗传等多种因素的影响，导致患者出现不完全可逆的持续气流受限，导致慢性支气管炎、肺水肿、呼吸道症状急性恶化等症状，给家庭、医疗及社会带来巨大经济负担[12]。然而目前尚未发现治疗COPD的特效药，根据发病特点寻求有针对性的治疗药物至关重要。

布美他尼是一种强效利尿剂，可通过抑制Na^+、K^+、腺苷三磷酸酶活性等参与肺泡液分泌、离子转运、细胞体积调节等多种生理活动，进而在肺损伤、肺水肿的发展和消退过程中发挥重要作用。研究显示，布美他尼可减少促炎细胞因子、中性粒细胞和M1型巨噬细胞水平，增加M2型巨噬细胞水平，减轻炎症反应及肺水肿，从而减轻急性高血糖加重的肺损伤[9]。布美他尼可以抑制胶原生物合成，减轻博莱霉素引发的肺纤维化[13]。本研究结果显示，COPD大鼠经布美他尼干预后，其肺功能指标FEV0.3、FVC、FEV0.3/FVC、PEF均显著升高，肺组织病理损伤及纤维化均减轻，说明布美他尼可减轻COPD大鼠肺损伤。

炎症反应被认为是影响COPD发生发展的关键因素，当大鼠受外界多种致病因素的影响，促使肺腔内的炎症细胞大量增加，继而释放TNF-α、IL-6、IL-1β等促炎因子，加剧炎症反应，进而促使肺结构损伤，发生纤维化[14]，故抑制炎症反应对于治疗COPD至关重要。研究显示，降低TNF-α、IL-6、IL-1β水平可减轻炎症反应，改善肺气肿、肺病理损伤，进而减轻香烟烟雾和脂多糖诱导的COPD症状，改善肺功能[15]。另外，降低TNF-α、IL-1β、IL-6等促炎因子水平，可减轻气道炎症反应，从而减轻COPD大鼠的肺损伤[16]。本研究结果显示，COPD大鼠经布美他尼干预后，其BALF中的TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著降低。这说明布美他尼可抑制炎症反应，减轻COPD大鼠肺损伤。

肺纤维化是COPD发生发展的重要病理基础，可加剧肺损伤且具有不可逆性。肺纤维化的主要发病机制为多重因素影响促使肺部发生实质性损伤，诱发炎症反应，释放大量炎症介质及TGF-β等促纤维化细胞因子，促使成纤维化细胞大量聚集、活化、增殖，然后分化成含α-SMA的肌成纤维细胞，分泌大量胶原及纤连蛋白等细胞外基质成分，促使细胞外基质过度沉积，发生上皮间质转化，进而发展为肺纤维化，甚至促使终末器官衰竭、导致死亡[17]。研究显示，抑制TGF-β、α-SMA表达可抑制气道平滑肌细胞增殖与迁移，减轻香烟烟雾及脂多糖诱导的COPD症状[18]。另外，下调TGF-β、α-SMA表达及TNF-α、IL-6、IL-1β水平，可减轻肺部炎症反应和上皮间质转化，改善香烟烟雾诱导的COPD进展[19]。本研究结果显示，COPD大鼠经布美他尼干预后，其肺组织中TGF-β、α-SMA蛋白表达水平均显著降低，肺纤维化明显改善。这说明布美他尼可抑制肺纤维化，减轻COPD大鼠肺损伤。

YAP/TAZ信号通路是一种高度保守的信号级联通路，参与多种生理病理进程，在肺损伤相关疾病的发生发展过程中发挥重要作用[5]。YAP、TAZ作为Hippo信号通路下游的主要效应物，当Hippo信号通路失活，YAP磷酸化受到抑制，YAP和TAZ从细胞质转移至细胞核，与转录增强因子结构域家族1/2/3/4等结合，共同调控下游相关因子表达[20]。研究显示，抑制YAP/TAZ信号通路激活可减轻炎症诱导的肺纤维化[21]。另外，降低肺组织中YAP和TAZ表达，可减轻肺气肿的严重程度和炎症反应，改善COPD小鼠肺功能[22]。本研究结果显示，COPD大鼠经布美他尼干预后，其肺组织中TAZ蛋白表达水平和YAP的磷酸化水平均显著降低，肺损伤明显减轻。故笔者推测，布美他尼可能通过抑制YAP/TAZ信号通路来减轻COPD大鼠肺损伤。为了验证上述推测，本研究对

高剂量布美他尼处理的COPD大鼠给予PY-60处理，发现PY-60可显著逆转布美他尼对COPD大鼠肺损伤的改善作用，进一步证明了布美他尼可通过抑制YAP/TAZ信号通路来减轻COPD大鼠肺损伤。

综上所述，布美他尼可减轻COPD大鼠肺损伤，改善炎症反应及肺纤维化，其作用机制与抑制YAP/TAZ信号通路相关。

参考文献

[1] 徐高俊，潘选良，潘微微. 孟鲁司特联合噻托溴铵用于治疗哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠综合征患者的临床观察[J]. 中国药师，2019，22(4)：699-702.

[2] FAZLEEN A，WILKINSON T. Early COPD：current evidence for diagnosis and management[J]. Ther Adv Respir Dis，2020，14：1753466620942128.

[3] CHRISTENSON S A，SMITH B M，BAFADHEL M，et al. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. Lancet，2022，399(10342)：2227-2242.

[4] HUNG C M，PENG C K，WU C P，et al. Bumetanide attenuates acute lung injury by suppressing macrophage activation[J]. Biochem Pharmacol，2018，156：60-67.

[5] MELI V S，VEERASUBRAMANIAN P K，DOWNING T L，et al. Mechanosensation to inflammation：roles for YAP/TAZ in innate immune cells[J]. Sci Signal，2023，16(783)：eadc9656.

[6] DIGIOVANNI G T，HAN W，SHERRILL T P，et al. Epithelial YAP/TAZ are required for functional alveolar regeneration following acute lung injury[J]. JCI Insight，2023，8(19)：e173374.

[7] 周芳，陈林，蔡佳，等. 姜黄素基于IL-8/MUC5ac信号通路对慢性阻塞性肺疾病大鼠的干预效果[J]. 中国老年学杂志，2021，41(23)：5262-5266.

[8] 刘文美，张新芳，江传玮，等. 针刺对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺中硫化氢含量及胱硫醚β-合酶、胱硫醚γ裂解酶表达的影响[J]. 中国医药导报，2023，20(29)：25-28，38.

[9] WU C P，HUANG K L，PENG C K，et al. Acute hyperglycemia aggravates lung injury via activation of the SGK1-NKCC1 pathway[J]. Int J Mol Sci，2020，21(13)：4803.

[10] SHALHOUT S Z，YANG P Y，GRZELAK E M，et al. YAP-dependent proliferation by a small molecule targeting annexin A2[J]. Nat Chem Biol，2021，17(7)：767-775.

[11] 牛磊，刘建，张磊，等. 基于PI3K/Akt/mTOR信号通路探究虫草素对慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠肺损伤及炎症反应的影响[J]. 中国医院用药评价与分析，2023，23(7)：815-819.

[12] IHEANACHO I，ZHANG S Y，KING D，et al. Economic burden of chronic obstructive pulmonary disease(COPD)：a systematic literature review[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis，2020，15：439-460.

[13] ZUO S K，WANG B，LIU J，et al. ER-anchored CRTH2 antagonizes collagen biosynthesis and organ fibrosis via binding LARP6[J]. EMBO J，2021，40(16)：e107403.

[14] YANG Y，HUANG L，TIAN C C，et al. Magnesium isoglycyrrhizinate inhibits airway inflammation in rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. BMC Pulm Med，2021，21(1)：371.

[15] SONG H J，JIANG L J，YANG W C，et al. Cryptotanshinone alleviates lipopolysaccharide and cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease in mice via the Keap1/Nrf2 axis[J]. Biomed Pharmacother，2023，165：115105.

[16] 秦玉春，邝向东，蔡林再，等. 双氢青蒿素减轻慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠肺损伤[J]. 基础医学与临床，2023，43(3)：427-432.

[17] CHEN J Y，CHENG W H，LEE K Y，et al. Abnormal ADAM17 expression causes airway fibrosis in chronic obstructive asthma[J]. Biomed Pharmacother，2021，140：111701-111712.

[18] LI X Y，CHEN K，SHI X F，et al. Notoginsenoside R_1 restrains the proliferation and migration of airway smooth muscle cells isolated from rats with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Inhal Toxicol，2024，36(3)：145-157.

[19] 热依拉·牙合甫，买热木古·阿不都热依木，王琴，等. 下调HMGB1表达通过抑制炎性反应与上皮间质转化改善慢性阻塞性肺疾病小鼠疾病进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志，2022，38(8)：685-691.

[20] VAN SOLDT B J，CARDOSO W V. Hippo-YAP/TAZ signaling：complex network interactions and impact in epithelial cell behavior[J]. Wiley Interdiscip Rev Dev Biol，2020，9(3)：e371.

[21] ZHU T，MA Z F，WANG H Y，et al. YAP/TAZ affects the development of pulmonary fibrosis by regulating multiple signaling pathways[J]. Mol Cell Biochem，2020，475(1/2)：137-149.

[22] YEH L Y，FANG Y T，LEE H S，et al. A potent histone deacetylase inhibitor MPT0E028 mitigates emphysema severity via components of the hippo signaling pathway in an emphysematous mouse model[J]. Front Med (Lausanne)，2022，9：794025.

（收稿日期：2024-08-02　修回日期：2025-03-20）

（编辑：邹丽娟）