

## 巴瑞替尼对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的治疗作用研究

孙亚楠<sup>1</sup>, 周禹<sup>2</sup>, 刘雯丽<sup>1</sup>, 张天泰<sup>2</sup>, 孙岚<sup>2</sup>, 梁志欣<sup>1</sup>

<sup>1</sup>解放军总医院第一医学中心呼吸与危重症医学科, 北京 100853; <sup>2</sup>中国医学科学院药物研究所, 北京 100050

**摘要:**背景 急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是一类危及生命的呼吸系统疾病, 病死率高, 目前缺乏有效的靶向干预措施。目的 探究巴瑞替尼 (baricitinib) 对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠急性肺损伤的治疗作用。方法 将 36 只周龄 8 周的雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、ALI 组和治疗组 (ALI + baricitinib), 每组 12 只。治疗组给予巴瑞替尼 30 mg/kg 灌胃 1 次, 1 h 后 ALI 组和治疗组以单次气管滴注注射 LPS (10 mg/kg, 溶于 50  $\mu$ L 0.9% 氯化钠注射液) 的方式构建小鼠急性肺损伤模型, 同时对照组小鼠给予气管滴注等剂量 0.9% 氯化钠注射液。气管滴注脂多糖或 0.9% 氯化钠注射液 24 h 后, 取小鼠肺组织和肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF)。观察小鼠一般情况及肺大体情况; HE 染色观察各组小鼠肺组织损伤状况; 检测各组小鼠肺活量 (vital capacity, VC)、深吸气量 (inspiratory capacity, IC)、准静态肺顺应性 (chord compliance, Cchord) 和动态肺顺应性 (dynamic compliance, Cdyn) 等肺功能指标; 记录各组小鼠肺组织湿干质量比值 (wet/dry mass, W/D); BCA 蛋白定量法检测 BALF 中的总蛋白水平; 分析 BALF 中的细胞总数及中性粒细胞数量变化; ELISA 实验分析 BALF 中白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 $\beta$  及肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的水平; RT-qPCR 技术检测小鼠肺组织中 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  的转录水平。结果 与对照组相比, ALI 组小鼠肺组织出现肺损伤, 各项肺功能指标显著降低 ( $P < 0.01$ ), 肺组织 W/D 升高 ( $P < 0.01$ ), BALF 中的蛋白浓度、细胞数量及炎症因子水平升高 ( $P < 0.01$ ), 肺组织中炎症因子的表达水平升高 ( $P < 0.01$ ); 与 ALI 组相比, 治疗组小鼠肺组织损伤情况显著改善, 肺功能指标中 Cdyn 升高 ( $P < 0.05$ ), 肺组织 W/D 降低 ( $P < 0.001$ ), BALF 中的蛋白浓度、细胞数量及炎症因子水平降低 ( $P < 0.01$ ), 肺组织中炎症因子的表达水平降低 ( $P < 0.01$ )。结论 巴瑞替尼预处理可一定程度减轻脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤。

**关键词:** 巴瑞替尼; Jak/Stat 信号通路; 脂多糖; 急性肺损伤; 小鼠肺功能

中图分类号: R568.3

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2024)06-0638-06

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.2024.055

引用本文: 孙亚楠, 周禹, 刘雯丽, 等. 巴瑞替尼对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的治疗作用研究 [J]. 解放军医学院学报, 2024, 45 (6): 638-643.

## Effects of baricitinib in treatment of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice

SUN Ya'nan<sup>1</sup>, ZHOU Yu<sup>2</sup>, LIU Wenli<sup>1</sup>, ZHANG Tiantai<sup>2</sup>, SUN Lan<sup>2</sup>, LIANG Zhixin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory and Critical Medicine, the First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China;

<sup>2</sup>Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Corresponding author: LIANG Zhixin. Email: liangzhixin301@163.com

**Abstract: Background** Acute lung injury (ALI) is a life-threatening respiratory disease with a high mortality rate, and there is a lack of effective targeted interventions. **Objective** To explore the therapeutic effect of baricitinib on lipopolysaccharide (LPS) - induced acute lung injury in mice. **Methods** A total of 36 male C57BL/6J mice aged 8 weeks were randomly divided into the control group (n=12), ALI group (n=12), and treatment group (ALI + baricitinib, n=12). The treatment group was given baricitinib 30 mg/kg intragastric administration once; one hour later, ALI group and treatment group were given a single tracheal infusion of LPS (10 mg/kg, dissolved in 50  $\mu$ L normal saline) to establish a mouse model of acute lung injury, while the control group was given tracheal infusion of equal dose of normal saline. After 24 h of endotracheal infusion of lipopolysaccharide or normal saline, the lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were collected. The lung tissue injury was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Vital capacity (VC), inspiratory capacity (IC), chord compliance (Cchord), and dynamic compliance (Cdyn) were detected. The wet-dry mass (W/D) ratio of lung tissue was recorded. The total protein level in BALF was detected by the BCA protein quantitative method, and the total number of cells and neutrophils in BALF were analyzed. The levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in BALF were analyzed by ELISA. RT-qPCR was used to detect the transcription levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in mouse lung tissue. **Results** Compared with the control group, the lung tissue of the

收稿日期: 2023-12-06

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2022YFA1104704)

作者简介: 孙亚楠, 女, 在读硕士。Email: sunyanan301@163.com

通信作者: 梁志欣, 男, 博士, 主任医师, 教授。Email: liangzhixin301@163.com

ALI group showed obvious lung injury, the lung function indexes decreased significantly ( $P < 0.001$ ), while the lung tissue W/D was significantly increased ( $P < 0.001$ ), and the protein concentration, cell number, and inflammatory factor levels in BALF were also significantly increased ( $P < 0.01$ ). The expression level of inflammatory factors in lung tissue was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with ALI group, the lung tissue injury of mice in the treatment group was significantly improved, the lung function index of Cdyn was increased ( $P < 0.05$ ), the lung tissue W/D was decreased ( $P < 0.001$ ), the protein concentration, cell number and inflammatory factors in BALF were decreased ( $P < 0.01$ ). The expression level of inflammatory factors in lung tissue was decreased ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Baricitinib pretreatment can alleviate acute lung injury induced by lipopolysaccharide to some extent.

**Keywords:** baricitinib; Jak/Stat signal pathway; lipopolysaccharide; acute lung injury; mouse lung function

**Cited as:** Sun YN, Zhou Y, Liu WL, et al. Effects of baricitinib in treatment of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2024, 45 (6) : 638-643.

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是一种危及生命的呼吸系统疾病, 由多种肺内和肺外致病因素引起, 主要表现为不受控制的氧化应激反应、肺水肿及炎症细胞浸润, 死亡率在 36% ~ 50%<sup>[1]</sup>。目前 ALI 的治疗仍以呼吸支持治疗及抗炎治疗为主, 且尚未发现有效的靶向干预措施<sup>[1-3]</sup>。已有的证据表明细胞因子的升高与 ARDS 的发病、严重程度以及死亡率密切相关<sup>[4]</sup>, 近年来抗细胞因子治疗被大家广泛关注。其中 JAK-STAT 信号通路作为一种细胞内转导信号通路, 可使近 60 种细胞因子与其各自受体之间的相互作用产生转录反应<sup>[5]</sup>, 在多种自身免疫性疾病、骨髓增生性肿瘤和其他炎症性疾病 (COVID-19 细胞因子风暴) 的发展中起到重要作用<sup>[6-7]</sup>。巴瑞替尼是一种可逆的选择性 Janus 激酶 1/2 (Janus kinase 1/2, JAK1/2) 抑制剂, 可通过抑制 JAK1 和 JAK2 活性调节此类信号转导通路, 进而减少转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 的磷酸化和活化<sup>[8]</sup>。鉴于巴瑞替尼抑制 JAK-STAT 信号通路炎症反应激活的作用, 研究人员推测其可能对急性肺损伤有潜在保护作用, 但目前缺少巴瑞替尼在急性肺损伤治疗方面的临床前实验证据。本研究通过无创气管内滴注的方式构建 LPS 诱导的小鼠急性肺损伤模型, 探讨巴瑞替尼对小鼠急性肺损伤治疗作用, 为急性肺损伤提供新的治疗方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6J 小鼠, 雄性, 36 只, 8 周龄, 体质量 20 ~ 22 g。由解放军总医院第一医学中心动物中心提供。实验通过解放军总医院第一医学中心动物伦理委员会许可 (编号: SQ 2023601)。

### 1.2 主要试剂

脂多糖购于 Sigma-Aldrich 公司; 巴瑞替尼由

中国医学科学院药物研究所提供; 小鼠白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒购自 Bio-legend 公司; BCA 蛋白定量试剂盒购自 Thermo Fisher Scientific 公司; 引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成; RNA 提取和逆转录试剂盒购于苏州近岸蛋白质科技股份有限公司。

### 1.3 动物模型构建及实验分组

急性肺损伤模型构建采用本研究组前期建立的方法<sup>[9]</sup>。36 只小鼠随机分为对照组、ALI 组和治疗组 (ALI + Baricitinib), 每组 12 只。治疗组给予巴瑞替尼 30 mg/kg 灌胃 1 次, 1 h 后 ALI 组和治疗组给予单次气管滴注注射 LPS (10 mg/kg, 溶于 50  $\mu$ L 0.9% 氯化钠注射液) 的方式构建小鼠急性肺损伤模型, 同时对照组小鼠给予气管滴注等剂量 0.9% 氯化钠注射液。气管滴注脂多糖或 0.9% 氯化钠注射液 24 h 后处死小鼠, 收集肺泡灌洗液和肺组织。

### 1.4 肺组织 HE 染色

分离小鼠肺组织置于 5% 多聚甲醛溶液中, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 中性树脂封片, 显微镜下观察肺组织病理学变化并拍片保存。

### 1.5 小鼠肺功能检测

注射脂多糖 24 h 后, 使用 3% 水合氯醛 (12.5 mL/kg) 溶液腹腔注射麻醉小鼠, 行气管插管后采用实验动物肺功能检测系统 (美国 DSI 公司的 PFT 系统) 检测肺活量 (vital capacity, VC)、深吸气量 (inspiratory capacity, IC)、准静态肺顺应性 (chord compliance, Cchord) 和动态肺顺应性 (dynamic compliance, Cdyn)。肺功能测量在麻醉下进行。

### 1.6 W/D 比值测量

用滤纸小心擦拭肺组织表面水分后置于分析天平测定肺湿质量, 于 80 $^{\circ}$ C 烤箱内烘烤 2 d 后, 取出干燥的肺组织再次测定肺干质量, 计算

W/D 比值。

### 1.7 肺泡灌洗液蛋白含量、细胞总数、中性粒细胞数检测

小鼠气管暴露后做切口，用一次性静脉留置针对其进行气管插管，取 0.7 mL PBS 用注射器灌洗双侧支气管肺泡，重复灌洗 3 次，回收 BALF，1 000 r/min 离心 10 min，收集上清液和细胞沉淀，BALF 上清液在 -80℃ 保存备用。细胞沉淀用无菌 PBS 溶液重悬，利用细胞计数板进行细胞计数。取细胞沉淀涂片，晾干后进行瑞氏染色，进行中性粒细胞计数。

### 1.8 双抗体夹心酶联免疫分析法检测肺泡灌洗液 BALF 炎症因子

采用双抗体夹心酶联免疫分析法检测肺泡灌洗液上清液中 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 含量，操作步骤严格按照试剂盒说明书加样，用酶标仪测定 OD 值，计算实际样品的浓度。

### 1.9 实时荧光定量 PCR 法检测肺组织炎症因子

提取小鼠肺脏组织 RNA，反转录 cDNA，实时荧光定量 PCR 法分别测定 IL-6、IL-1β 及 TNF-α mRNA 表达量，引物序列见表 1。利用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算促炎细胞因子 mRNA 表达水平。

### 1.10 统计学方法

使用 SPSS 26.0 进行统计分析，GraphPad Prism 9.0 进行绘图，计量数据采用单因素方差分析，两两比较采用 Tukey 检验， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠一般状况及肺大体形态的影响

与对照组小鼠相比，ALI 组小鼠活动明显减少，毛色差，行动迟缓，体温低，呼吸困难，分离出双肺后可观察到肺组织水肿，明显充血，存在出血点；与 ALI 组相比，治疗组小鼠状态明显

改善，活动明显活跃，皮毛顺滑，体温偏高，呼吸平稳，双肺水肿及充血情况明显改善。

### 2.2 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠肺组织病理的影响

HE 染色明确各组的病理学变化。与对照组相比，ALI 组小鼠肺组织病理表现出明显的组织病理学变化，包括肺组织出血、水肿，肺泡壁增厚，炎症细胞大量浸润等。与 ALI 组相比，治疗组小鼠肺损伤明显改善，表现为肺组织水肿减轻，肺泡腔内炎症细胞浸润减少。病理结果提示急性肺损伤模型构建成功，巴瑞替尼可以改善急性肺损伤病理改变。见图 1。

### 2.3 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠肺功能的影响

与对照组相比，ALI 组小鼠 VC、IC、Cchord 及 Cdyn 降低 ( $P < 0.01$ )；与 ALI 组相比，治疗组小鼠肺功能有所改善，表现为 Cdyn 升高 ( $P < 0.05$ )，其余各项肺功能指标均值均有升高，但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。提示急性肺损伤过程中小鼠肺功能显著降低，巴瑞替尼治疗能改善急性肺损伤小鼠肺功能。见图 2。

### 2.4 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠肺水肿、肺泡-毛细血管通透性的影响

为进一步评价巴瑞替尼对脂多糖引起的急性肺损伤的保护作用，对肺水肿程度及肺泡-毛细血管通透性进行评估。结果提示，对照组、ALI 组和治疗组的 W/D 分别为  $4.7 \pm 0.1$ 、 $5.7 \pm 0.2$  和  $4.9 \pm 0.3$ 。与对照组相比，ALI 组肺组织 W/D 升高

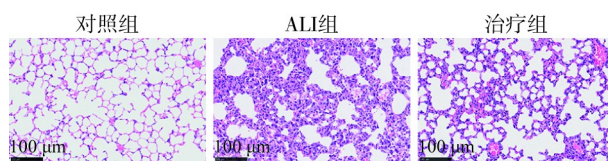


图 1 3 组小鼠肺组织 HE 染色病理结果 (200 ×)

Fig.1 HE staining pathological results of lung tissue of mice in the three groups (200 ×)

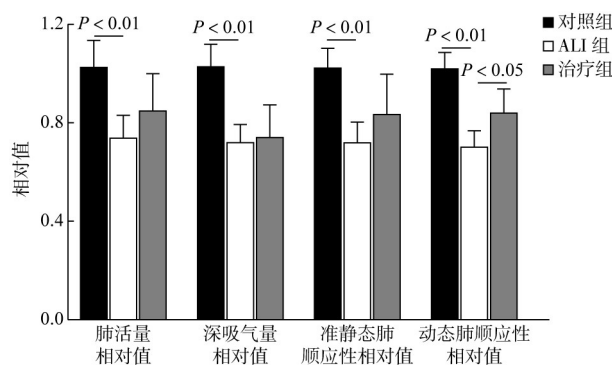


图 2 各组小鼠肺功能指标比较 (n=5)

Fig.2 Comparisons of lung function indexes of mice in each group (n=5)

表 1 RT-PCR 引物序列

Tab.1 RT-PCR primer sequence

基因	引物序列(5' - 3')
Actin	F-AGAGGGAAATCGTGCGTGAC
Actin	R-CAATAGTGATGACCTGGCCGT
IL-6	F-CTGCAAGAGACTTCCATCCAG
IL-6	R-AGTGGTATAGACAGGTCTGTTGG
IL-1β	F-GAAATGCCACCTTTTGACAGTG
IL-1β	R-TGGATGCTCTCATCAGGACAG
TNF-α	F-CCTGTAGCCCACGTCGTAG
TNF-α	R-GGGAGTAGACAAGGTACAACCC

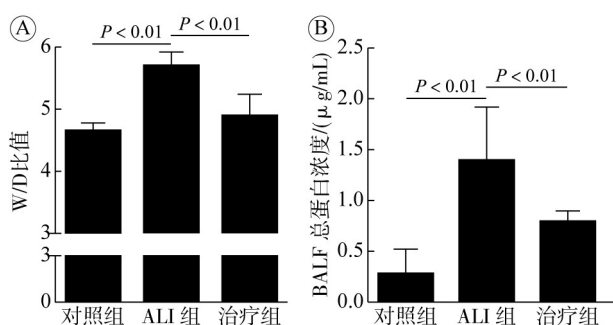


图3 各组小鼠肺组织 W/D (A)、BALF 总蛋白浓度 (B) 比较 (n=6)  
Fig.3 Comparisons of W/D in lung tissue (A) and protein content in BALF (B) of mice in each group (n=6)

( $P < 0.01$ ); 与 ALI 组相比, 治疗组肺组织 W/D 显著降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 3A, 表明急性肺损伤过程中出现明显肺水肿, 巴瑞替尼治疗可缓解其过程中发生的肺水肿。与对照组相比, ALI 组 BALF 总蛋白浓度升高 ( $P < 0.01$ ); 与 ALI 组相比, 治疗组 BALF 总蛋白浓度降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 3B。提示脂多糖气管滴注可引起小鼠肺泡 - 毛细血管通透性增加, 而巴瑞替尼治疗能改善小鼠肺泡 - 毛细血管通透性。

### 2.5 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠肺组织浸润炎症细胞数的影响

与对照组相比, ALI 组 BALF 中细胞总数及中性粒细胞计数升高 ( $P < 0.01$ ); 与 ALI 组相比, 治疗组 BALF 中细胞总数及中性粒细胞计数降低 ( $P < 0.01$ )。提示急性肺损伤过程中出现小鼠肺组织炎症细胞浸润增多, 巴瑞替尼治疗可显著减轻 LPS 诱导小鼠 ALI 炎症细胞的浸润。见图 4。

### 2.6 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠 BALF 中细胞因子的影响

与对照组相比, ALI 组 BALF 中促炎细胞因子 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  水平升高 ( $P < 0.01$ ); 治疗组 BALF 中促炎细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$

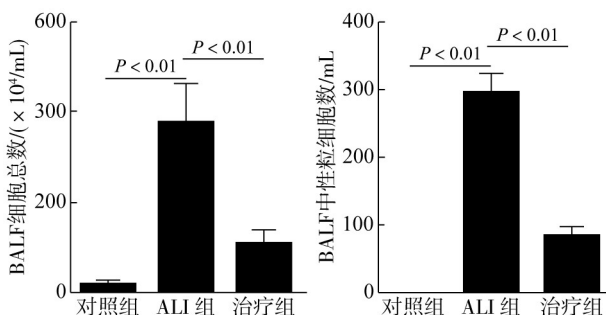


图4 各组小鼠 BALF 细胞总数及中性粒细胞数的比较 (n=6)  
Fig.4 Comparison of the total number and neutrophils of BALF inflammatory cells in mice of each group (n=6)

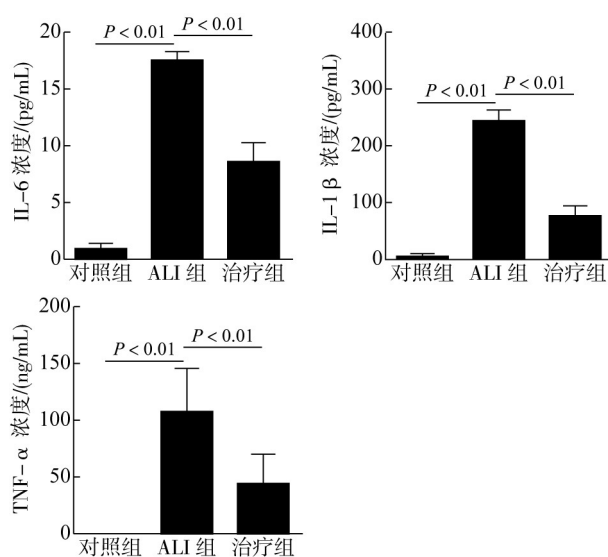


图5 各组 BALF 中细胞因子的比较 (n=6)

Fig.5 Comparisons of cytokines in BALF in each group (n=6)

水平较 ALI 组下降 ( $P < 0.01$ )。提示巴瑞替尼可抑制急性肺损伤小鼠细胞因子的分泌, 可抑制脂多糖诱导的炎症反应。见图 5。

### 2.7 巴瑞替尼对急性肺损伤小鼠肺组织中细胞因子的影响

与对照组相比, ALI 组肺组织中促炎细胞因子 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  水平升高 ( $P < 0.01$ ); 治疗组肺组织中促炎细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平较 ALI 组下降 ( $P < 0.01$ )。提示巴瑞替尼可抑制急性肺损伤小鼠肺组织中细胞因子的表达, 减轻肺部炎症反应。见表 2、图 6。

表2 各组小鼠肺组织 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达的比较 (n=5,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab.2 Comparison of mRNA expression of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in lung tissues of mice in each group (n=5,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	对照组	ALI组	治疗组	F值	P值
IL-6 mRNA 表达	0.84 $\pm$ 0.50	1.62 $\pm$ 0.52	0.44 $\pm$ 0.19	9.71	<0.01
IL-1 $\beta$ mRNA 表达	0.79 $\pm$ 0.24	30.08 $\pm$ 1.66	20.45 $\pm$ 2.32	81.84	<0.01
TNF- $\alpha$ mRNA 表达	0.85 $\pm$ 0.51	10.88 $\pm$ 1.68	7.85 $\pm$ 1.02	96.37	<0.01

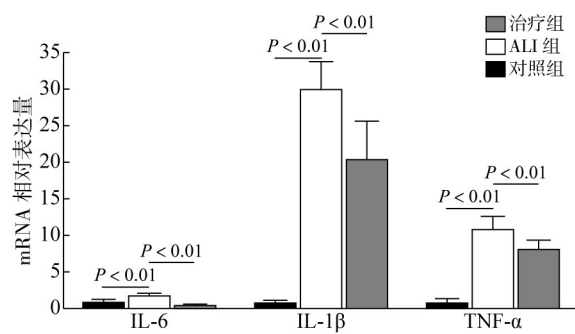


图6 各组肺组织中细胞因子的比较 (n=5)

Fig.6 Comparison of cytokines in lung tissues of each group (n=5)

### 3 讨论

急性肺损伤是临床常见呼吸系统危重症之一，主要发病机制为细胞内各种炎症信号通路引起多种炎症因子的过度释放，促炎和抗炎反应的失衡导致肺部大量炎症细胞和细胞因子浸润<sup>[10]</sup>，进而引起内皮细胞和上皮细胞的损伤和凋亡，从而破坏肺泡-毛细血管屏障<sup>[11]</sup>。目前的证据表明，过度的炎症反应在急性肺损伤发病机制中起到关键作用，故而其下游信号通路的细胞因子、细胞因子受体和蛋白质成为前景广阔的治疗靶点。

JAK/STAT 通路是细胞外细胞因子激活受体介导的信号转导的核心，参与细胞增殖和分化、器官发育和免疫稳态等过程<sup>[12]</sup>。JAK 包含 Jak1、Jak2、Jak3 和 Tyk2 四个家族成员，由于其在细胞因子介导的免疫病理学变化中的作用，JAK-STAT 通路已成为许多自身免疫性、过敏性和炎症性疾病(包括癌症)的潜在药物靶点<sup>[13]</sup>。巴瑞替尼是一种选择性 JAK1 和 JAK2 抑制剂，可阻断包括 IL-2、IL-6、IL-10、INF- $\gamma$  以及 GM-CSF 在内的细胞因子信号通路，导致下游免疫细胞功能降低<sup>[14]</sup>。目前巴瑞替尼较多应用于类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病的治疗中<sup>[15]</sup>，前期在 COVID-19 患者中的大规模临床试验得到了令人鼓舞的结果。适应性 COVID-19 治疗试验 2(ACTT-2) 表明，与单独使用瑞德西韦相比，巴瑞替尼联合瑞德西韦可缩短痊愈时间，并降低 28 d 死亡率<sup>[16]</sup>。一项纳入了 4 项巴瑞替尼治疗 COVID-19 住院患者的随机对照试验的 Meta 分析得出，巴瑞替尼与地塞米松和(或)抗 IL-6 抑制剂联合使用，可降低死亡率，并缩短住院时间<sup>[17]</sup>。一项由 RECOVERY 协作小组完成的 COVID-19 治疗随机评估(RECOVERY) 试验得出，迄今为止的所有随机证据表明，JAK 抑制剂(主要是巴瑞替尼)可将 COVID-19 住院患者的死亡率降低约 1/5<sup>[18]</sup>。这使得 JAK/STAT 信号通路成为 ALI 潜在目标，但仍需更多的临床前和临床研究来进一步验证其疗效。

在基础研究中，目前缺少巴瑞替尼改善急性肺损伤的实验依据，故本研究推测巴瑞替尼作为一种 JAK/STAT 通路抑制剂可以改善小鼠急性肺损伤。急性肺损伤过程中，脂多糖引起小鼠肺组织淋巴细胞、中性粒细胞聚集，与内皮细胞、上皮细胞和单核巨噬细胞表面的 TLR-4 受体结合后，释放过度的炎症介质，如 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等，引起强烈广泛的炎症反应，使得小鼠肺组

织与血管内皮细胞出现损伤，导致血管通透性增加，出现蛋白的渗出，进而加重肺水肿程度<sup>[19]</sup>，引起肺泡塌陷和低氧血症<sup>[20-21]</sup>。

本研究采用气管滴注脂多糖的方式制备小鼠急性肺损伤模型，并于建模后 24 h 测定各项指标。肺 W/D 比值体现肺水肿程度；BALF 中的蛋白浓度与肺毛细血管通透性呈正相关，是反映肺损伤程度的重要指标之一；BALF 总细胞数及中性粒细胞计数反应肺部炎症浸润情况；IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  均为肺炎反应及急性肺损伤过程中所释放的细胞因子，其水平与炎症反应程度呈正相关，而肺部炎症反应与肺功能情况密切相关。本研究表明，与对照组相比，急性肺损伤组可见肺泡间隔增宽，并出现以淋巴细胞及中性粒细胞为主的炎性细胞浸润等典型急性肺损伤病理表现，肺功能明显受损，W/D 比值、BALF 总蛋白浓度、BALF 总细胞数、BALF 中性粒细胞数及细胞因子水平升高等均提示小鼠急性肺损伤模型构建成功。其肺功能指标与其余各项指标变化趋势相似，提示肺功能检测参数 VC、IC、Cchord、Cdyn 的降低可作为急性肺损伤评价指标。

本研究于造模前 1 h 巴瑞替尼 30 mg/kg 灌胃治疗，研究结果显示，巴瑞替尼可减轻脂多糖引起的肺泡间隔增宽、肺泡结构破坏以及炎性细胞浸润，减轻肺水肿，降低了肺血管通透性；肺功能结果提示，巴瑞替尼可通过提高动态肺顺应性改善急性肺损伤小鼠肺功能。动态肺顺应性受气道阻力及呼吸频率影响，巴瑞替尼治疗后该指标有明显改善，提示药物治疗后可降低气道阻力或减慢呼吸频率，考虑与减轻急性肺损伤过程中的肺水肿程度，减轻脂多糖对气道的刺激进而减慢呼吸频率相关。其余肺功能指标虽未见有统计学意义的改善，但从水平上看均有缓解；巴瑞替尼可减少 BALF 中细胞总数及中性粒细胞数量，改善肺组织中炎性细胞浸润。JAK/STAT 信号通路在急性肺损伤的细胞因子风暴过程中发挥关键作用，不仅是由于其参与细胞因子的信号传导过程，更是由于 JAK/STAT 信号通路与其他上皮损伤相关的信号通路之间存在的交互作用<sup>[22]</sup>。本研究结果显示，巴瑞替尼可通过降低 BALF 促炎细胞因子水平，减少肺组织促炎细胞因子表达，从而抑制脂多糖气管内滴注后所引起的肺部炎症反应，并改善肺部组织病理表现。

综上所述，本研究证实巴瑞替尼可缓解脂多糖引起的急性肺损伤，为巴瑞替尼治疗急性肺损

伤提供了依据。课题组计划未来围绕巴瑞替尼治疗小鼠急性肺损伤的作用机制展开研究,系统阐明发挥治疗作用过程中涉及的信号通路,以明确治疗靶点,为寻找更多有潜在价值的治疗方法奠定基础。

**作者贡献** 孙亚楠:总体构思,进行实验,数据分析处理,文章撰写;周禹、刘雯丽:协助实验;张天泰、孙岚:指导实验,参与实验方案设计;梁志欣:监督指导,方法设计,资金获取。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突。

**数据共享声明** 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取,Email: sunyanan301@163.com。

#### 参考文献

- 1 Acute Respiratory Distress Syndrome: Advances in Diagnosis and Treatment - PubMed [EB/OL]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29466596>.
- 2 Huang X, Zhang RY, Fan GH, et al. Incidence and outcomes of acute respiratory distress syndrome in intensive care units of mainland China: a multicentre prospective longitudinal study [J]. *Crit Care*, 2020, 24 (1): 515.
- 3 Beitler JR, Thompson BT, Baron RM, et al. Advancing precision medicine for acute respiratory distress syndrome [J]. *Lancet Respir Med*, 2022, 10 (1): 107-120.
- 4 Wang JJ, Yang XJ, Li YS, et al. Specific cytokines in the inflammatory cytokine storm of patients with COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome and extrapulmonary multiple-organ dysfunction [J]. *Viol J*, 2021, 18 (1): 117.
- 5 Philips RL, Wang YX, Cheon H, et al. The JAK-STAT pathway at 30: much learned, much more to do [J]. *Cell*, 2022, 185 (21): 3857-3876.
- 6 Bose P, Verstovsek S. Management of myelofibrosis after ruxolitinib failure [J]. *Leuk Lymphoma*, 2020, 61 (8): 1797-1809.
- 7 Kim JS, Lee JY, Yang JW, et al. Immunopathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19 [J]. *Theranostics*, 2021, 11 (1): 316-329.
- 8 Kerschbaumer A, Sepriano A, Smolen JS, et al. Efficacy of pharmacological treatment in rheumatoid arthritis: a systematic literature research informing the 2019 update of the EULAR recommendations for management of rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79 (6): 744-759.
- 9 赵聪慧,王妍,周禹,等.使用一次性硬膜外麻醉导管进行无创小鼠气管插管的方法建立[J].*中国比较医学杂志*, 2021, 31 (7): 106-111.
- 10 Hu Q, Zhang S, Yang Y, et al. Extracellular vesicles in the pathogenesis and treatment of acute lung injury [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9 (1): 61.
- 11 Tu Q, Zhu YB, Yuan Y, et al. Gypenosides inhibit inflammatory response and apoptosis of endothelial and epithelial cells in LPS-Induced ALI: a study based on bioinformatic analysis and in vivo/vitro experiments [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 289-303.
- 12 Hu XY, Li J, Fu MR, et al. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6 (1): 402.
- 13 Jain NK, Tailang M, Jain HK, et al. Therapeutic implications of Current Janus kinase inhibitors as anti-COVID agents: a review [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1135145.
- 14 Richardson P, Griffin I, Tucker C, et al. Baricitinib as potential treatment for 2019-nCoV acute respiratory disease [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10223): e30-e31.
- 15 Assadiasl S, Fatahi Y, Mosharmovahed B, et al. Baricitinib: from rheumatoid arthritis to COVID-19 [J]. *J Clin Pharmacol*, 2021, 61 (10): 1274-1285.
- 16 Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, et al. Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19 [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384 (9): 795-807.
- 17 Selvaraj V, Finn A, Lal A, et al. Baricitinib in hospitalised patients with COVID-19: a meta-analysis of randomised controlled trials [J]. *EClinicalMedicine*, 2022, 49: 101489.
- 18 Group RC. Baricitinib in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial and updated meta-analysis [J]. *Lancet*, 2022, 400 (10349): 359-368.
- 19 Qin YJ, Lao QF, Huang B, et al. Influence regulation of inflammatory immune response by interleukin-17 lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2019, 31 (8): 983-988.
- 20 Lu Y, Xu D, Liu JY, et al. Protective effect of sophocarpine on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 70: 180-186.
- 21 Liu JX, Li X, Yan FG, et al. Protective effect of forsythoside B against lipopolysaccharide-induced acute lung injury by attenuating the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 66: 336-346.
- 22 Zhang YT, Gao ZZ, Jiang F, et al. JAK-STAT signaling as an ARDS therapeutic target: status and future trends [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 208: 115382.

(责任编辑:孟晓彤)