

·论 著·

甲苯磺酸瑞马唑仑对脂多糖诱导的急性肺损伤的保护作用研究

童飞 孟志鹏

[摘要] 目的 探究甲苯磺酸瑞马唑仑对脂多糖引起急性肺损伤的保护作用。方法 将大鼠随机分为三组:对照组(NS组)、内毒素组(L组)和甲苯磺酸瑞马唑仑组(R组)。大鼠尾静脉注射脂多糖(LPS)建立急性肺损伤模型,大鼠静脉泵注生理盐水、甲苯磺酸瑞马唑仑。CT下观察大鼠肺影像学变化。将大鼠安乐死后,计算湿重/干重。检测血清中白介素 1β (IL- 1β)、白介素18(IL-18)水平。通过聚合酶链式反应(PCR)检测肺组织TLR-4和NLRP3的表达,探讨其相关机制。结果 与NS组比较,L组和R组CT均显示两肺的实质和间质均受累,但与L组比较,R组CT显示损伤明显减轻;与NS组比较,L组和R组的湿重/干重明显增加(t 分别=8.65、5.35, P 均 <0.05),但与L组比较,R组湿重/干重明显降低($t=-3.00$, $P<0.05$);与NS组比较,L组和R组的IL- 1β 、IL-18均升高(t 分别=10.52、7.89、7.91、3.02, P 均 <0.05),但与L组比较,R组IL- 1β 、IL-18均降低(t 分别=-3.00、-3.46, P 均 <0.05)。与NS组比较,L组、R组TLR-4 mRNA和NLRP3 mRNA表达量明显升高(t 分别=7.21、5.55、8.93、7.69, P 均 <0.05),但与L组比较,R组中TLR-4 mRNA和NLRP3 mRNA表达量明显降低(t 分别=-3.90、-6.73, P 均 <0.05)。结论 甲苯磺酸瑞马唑仑可减轻脂多糖诱导的急性肺损伤。

[关键词] 甲苯磺酸瑞马唑仑; 脂多糖; 肺损伤; TLR-4; NLRP3

Remazolam mesylate enhances the protective effect against lipopolysaccharide-induced acute lung injury TONG Fei, MENG Zhipeng. Department of Anesthesiology, Huzhou Central Hospital, Huzhou Central Hospital, Huzhou 313000, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of remazolam mesylate on lipopolysaccharide-induced acute lung injury. **Methods** Rats were randomly divided into 3 groups: control group (group NS), endotoxin group (group L) and remazolam group (group R). Rats were injected with lipopolysaccharide (LPS) intravenously in the tail vein to cause acute lung injury model. Rats were intravenously pumped with saline and remazolam mesylate. Lung imaging changes in rats were observed by CT. After rats were euthanized, the wet/dry weight ratio (W/D) was calculated. Serum levels of IL- 1β and IL-18 were detected. The expressions of TLR-4 and NLRP3 in lung tissue were detected by PCR to explore the related mechanisms. **Results** Compared with the group NS, CT scans of both group L and R showed involvement of both lung parenchyma and interstitium, but compared with the group L, CT scans of the group R showed significantly reduced damage. Compared with the group NS, the W/D of the group L and R increased significantly ($t=8.65, 5.35, P<0.05$). However, compared with group L, group R showed a significant decrease in W/D ($t=-3.00, P<0.05$). Compared with the group NS, the levels of IL- 1β and IL-18 in the group L and R increased ($t=10.52, 7.89, 7.91, 3.02, P<0.05$), but compared with the group L, the levels of IL- 1β and IL-18 in the group R decreased ($t=-3.00, -3.46, P<0.05$).

Compared with the NS group, the mRNA expression levels of TLR-4 and NLRP3 in the group L and R were significantly increased ($t=7.21, 5.55, 8.93, 7.69, P<0.05$), but compared with the group L, the mRNA expression levels of TLR-4 and NLRP3 in the group R were significantly decreased ($t=-3.90, -6.73, P<0.05$). **Conclusion** Rimazolam mesylate

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2025.005.003

基金项目:浙江省自然科学基金公益项目(LY21H090001),浙江省医药卫生科技项目(2023KY315),湖州市公益性应用研究项目(2018GY31)

作者单位:313000 浙江湖州,湖州市中心医院麻醉科,浙江中医药大学第五临床医学院湖州市中心医院

can reduce lipopolysaccharide-induced acute lung injury.

[Key words] remazolam mesylate; lipopolysaccharide; lung injury; TLR-4; NLRP3

甲苯磺酸瑞马唑仑是一种新型苯二氮草类药物,具有镇静、抗焦虑、镇痛和催眠作用,同时又具备起效快、维持和恢复时间短、无蓄积、代谢不依赖肺肾功能、无严重副作用等优点,临床应用前景良好^[1~4]。有文献表明苯二氮唑类药物对急性肺损伤有一定保护作用,但缺乏更深入的相关研究。本次研究旨在动物模型上探索甲苯磺酸瑞马唑仑对内毒素引起的急性肺损伤的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料 选取成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 24 只,质量 200~250 g,7 周龄,由杭州医学院实验动物中心提供(证号:SCXK[浙]2019-0002)。实验大鼠被安置在一个舒适安静的房间里,温度保持在 22℃~25℃,湿度控制在 40%~60%,给予 12 h 的明暗周期(光照时间 08:00~20:00),提供足够的水和食物。

1.2 方法 实验开始前称大鼠体重并记录体重,然后将大鼠放在恒温加热垫上,仰卧位用 1% 戊巴比妥钠(由上海麦克林公司生产)40 mg/kg 腹腔注射进行麻醉。采用尾静脉注射脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(由美国西格玛公司生产)8 mg/kg 建立急性肺损伤模型^[5~8]。将大鼠随机分为生理盐水组(NS组)、内毒素组(L组)、瑞马唑仑组(R组),每组 8 只。NS 组尾静脉注射 0.9% 氯化钠注射液(8 mg/kg),然后以 0.8 mL·kg⁻¹·h⁻¹ 速率持续输注,腹腔注射 0.9% 氯化钠注射液 25 mg/kg; L 组建模后尾静脉以 0.8 mL·kg⁻¹·h⁻¹ 持续滴注 0.9% 氯化钠注射液 0.8 mL/kg,腹腔注射 0.9% 氯化钠注射液 25 mg/kg; R 组建模后发尾静脉以 0.8 mL·kg⁻¹·h⁻¹ 速率持续输注甲苯磺酸瑞马唑仑(由江苏恒瑞公司生产),腹腔注射甲苯磺酸瑞马唑仑 25 mg/kg。所有大鼠于注射 LPS 6 h 后进行 Micro CT 检查,之后安乐死取双肺,取颈动脉血 2 mL 作进一步研究。

1.3 监测指标

1.3.1 大鼠肺 Micro CT 分析 将大鼠放入 Micro CT 仪,对肺部进行扫描。扫描条件为:电压 70 kVp,电流 114 μA,扫描时间为 24.8 ms(单层),间隔时间为 200 ms,分辨率为中度。进行角度为 180°的投射,对同一样品扫描获得 500 张不同截面的 1024 × 1024 像素的图片,对于层厚 2 mm 的肺组

织为兴趣区域(region of interest, ROI) 进行三维重建。完成图像二值化,分析参数。

1.3.2 肺组织病理学 取左肺组织用冰冻生理盐水清洗后,放入 10% 中性甲醛溶液固定 12 h。常规脱水处理石蜡包埋,切片制成 4 μm 切片,经脱蜡按照苏木精-伊红染色后,于光学显微镜下观察肺组织的病理形态改变^[9]。

1.3.3 肺组织湿重/干重比值 大鼠被安乐死后,将相同部位、相同质量的肺组织用磷酸盐缓冲液冲洗后,用电子秤称重,然后在 75% 烤箱中烘烤 72 h,称干肺组织重量。计算肺组织湿重与干重比值。

1.3.4 血清肺功能指标和肺组织匀浆中炎症细胞因子浓度 大鼠被安乐死,取 100 mg 左右的肺组织制备肺组织匀浆,离心后取肺组织匀浆上清液,严格按照 ELISA 试剂盒操作^[10]。检测肺组织中白介素 1β(interleukin-1β, IL-1β)和 IL-18 含量。

1.3.5 TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 提取细胞总 RNA,用 SYBR PreMix Ex Taq II 试剂盒检测逆转录表达。目标基因 TLR-4, NLRP3 和内参 GAPDH 引物(由苏州金维志生物科技有限公司合成)均被检测。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)反应条件为 95℃ 预变性 3 min, 95℃ 变性 10 s, 55℃ 开槽 15 s, 72℃ 延伸 15 s, 整个过程需要 40 个循环。将 GAPDH 基因归一化后,用 2^{-ΔΔCt} 法检测相应肺组织 TLR4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 的表达水平^[11,12]。靶基因 TLR4 和内部对照 GAPDH 引物序列见表 1。

表 1 靶基因 TLR4 和内部对照 GAPDH 引物序列

基因	引物序列
TLR4_Foward	5'-CAAGAAGCAACAACCTTGACCTG-3'
TLR4_Reverse	5'-CCTGTGAGGTCGTGAGGTIAG-3'
NLRP-3_Foward	5'-GCAGACGAGGTGAATGAGAAG-3'
NLRP-3_Reverse	5'-GGTAGACAGCAAGCGGTAAAA-3'
GAPDH_Foward	5'-TGACGTGCCGCTGGAGAAA-3'
GAPDH_Reverse	5'-AGTGTAGCCCAAGATGCCCTTCAG-3'

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间差异采用方差分析或 Mann-Whitney U 检验,两两比较采用 LSD-t 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组大鼠肺 Micro CT 表现见封二图 1

由封二图 1 可见,与 NS 组比较,L 组大鼠的两肺出现明显实变,正常肺组织基本消失,而 R 组两肺渗出增多,出现部分实变,提示甲苯磺酸瑞马唑仑的应用,使得大鼠的急性肺损伤 CT 影像学上出现了明显改善。

2.2 三组肺脏组织病理学改变见封二图 2

由封二图 2 可见,NS 组在光镜下无明显变化。在 L 组中,有严重的肺泡结构破坏、结构紊乱、渗出性水肿、部分肺泡塌陷和肺不张。此外,肺泡间隔明显增宽,有许多炎症细胞浸润肺间质,并伴有明显的出血。R 组大鼠均有一定的肺损伤,但不如 L 组严重。与 L 组相比,R 组的肺泡结构破坏、结构紊乱、渗出性水肿、部分肺泡塌陷、肺泡腔扩大、间质炎症细胞浸润也较轻。

2.3 三组肺湿重/干重比值比较 NS 组湿重/干重比值 3.24 ± 0.11 ,L 组湿重/干重比值 5.49 ± 0.72 ,R 组湿重/干重比值 4.47 ± 0.64 。三组大鼠肺组织肺湿重/干重比值比较,差异均有统计学意义 ($F=31.81, P<0.05$)。进一步组间比较,与 NS 组比较,L 组和 R 组大鼠湿重/干重比值明显升高 (t 分别 $=8.65、5.35, P<0.05$);且与 L 组比较,R 组肺湿重/干重比值明显降低 ($t=-3.00, P<0.05$)。

2.4 三组血清 IL-1 β 、IL-18 含量比较见表 2

表 2 各组血清炎症因子指标比较/pg/mL		
组别	IL-1 β	IL-18
NS 组	29.08 $\pm$ 1.32	40.85 $\pm$ 5.45
L 组	78.66 $\pm$ 16.32*	211.16 $\pm$ 60.35*
R 组	48.24 $\pm$ 8.45**	106.22 $\pm$ 60.82**

注:*,与 NS 组比较, $P<0.05$; **,与 L 组比较, $P<0.05$ 。

由表 2 可见,三组小鼠血清 IL-1 β 和 IL-18 比较,差异均有统计学意义 (F 分别 $=45.72、26.58, P$ 均 <0.05)。进一步组间比较,与 NS 组比较,L 组和 R 组大鼠 IL-1 β 和 IL-18 明显升高 (t 分别 $=10.52、7.89、7.91、3.02, P$ 均 <0.05);且与 L 组比较,R 组 IL-1 β 和 IL-18 均明显降低 (t 分别 $=-3.00、-3.46, P$ 均 <0.05)。

2.5 三组肺组织 TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 表达比较见表 3

由表 3 可见,三组大鼠 TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 表达比较,差异均有统计学意义 (F 分别 $=27.80、54.20, P$ 均 <0.05)。进一步组间比较,与 NS 组比较,L 组和 R 组大鼠 TLR-4 mRNA 和 NLRP3

mRNA 表达明显升高 (t 分别 $=7.21、5.55、8.93、7.69, P$ 均 <0.05);且与 L 组比较,R 组 TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 表达均明显降低 (t 分别 $=-3.90、-6.73, P$ 均 <0.05)。

表 3 三组 TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 表达比较		
组别	TLR-4 mRNA	NLRP3 mRNA
NS 组	1.03 $\pm$ 0.31	0.43 $\pm$ 0.11
L 组	11.33 $\pm$ 4.02*	9.09 $\pm$ 2.73*
R 组	5.29 $\pm$ 2.14**	2.43 $\pm$ 0.72**

注:*,与 NS 组比较, $P<0.05$; **,与 L 组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

甲苯磺酸瑞马唑仑具有起效迅速、半衰期短的特点,患者苏醒快,且其药代动力学呈线性,时-量相关半衰期不受输注时间影响。此外,该药物对血流动力学影响轻微,并能被氟马西尼逆转,因此可安全应用于全身麻醉的诱导及维持。甲苯磺酸瑞马唑仑几乎可作为理想的镇静药物,同时研究还表明其对肺部具有保护作用。基于这些优势,本次研究设计了动物试验,以初步探索其潜在的作用机制。

本次研究研究结果表明,大鼠在注射 LPS 后增加了肺组织湿重/干重比值,IL-1 β 、IL-18 水平明显升高,且增强了 TLR-4/NLRP3 的活化。而急性肺损伤大鼠注射甲苯磺酸瑞马唑仑后在 CT 影像方面显著减轻了肺损伤,改善了肺功能指标,降低了炎症因子的表达。与内毒素组相比,甲苯磺酸瑞马唑仑组中 TLR-4/NLRP3 表达水平下降,因此推测其潜在机制与调控 TLR-4/NLRP3 有关。这些发现意味着甲苯磺酸瑞马唑仑对 LPS 造成的急性肺损伤具有治疗作用。

本次研究又通过 PCR 检测了 SD 大鼠肺组织蛋白中 TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 的表达情况。结果显示,相比于生理盐水组,LPS 可使 TLR-4 mRNA、NLRP3 mRNA 表达显著升高,而经过注射甲苯磺酸瑞马唑仑后,与内毒素组相比,TLR-4 mRNA 和 NLRP3 mRNA 表达降低,尤其以 NLRP3 mRNA 的改善水平最为明显,表明在 LPS 诱导的急性肺损伤模型中,甲苯磺酸瑞马唑仑通过抑制 TLR-4/NLRP3 通路的活化起到减轻肺损伤作用。

综上所述,本研究表明甲苯磺酸瑞马唑仑可以通过抑制炎症途径减轻大鼠急性肺损伤,其机制可能是甲苯磺酸瑞马唑仑下调的 TLR-4/NLRP3 的表达从而产生治疗急性肺损伤的作用。

(下转第 399 页)

术后重度NPDR合并DME,可有效提高患者视力,减轻黄斑水肿。本次研究中对在基层医院开展白内障术后DR患者治疗的可行性及有效性进行了探索,其远期的效果还不明确,也需更长期的临床及基础研究。

参考文献

- 1 Tan GS, Cheung N, Simó R, et al. Diabetic macular oedema[J]. Lancet Diabetes Endo, 2017, 5(2): 143-155.
- 2 Ixamey M, Palma C. Diabetic macular edema[J]. Dis Mon, 2021, 67(5): 101138.
- 3 中华医学会眼科学分会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南[J]. 中华眼科杂志, 2014, 50(11): 851-865.
- 4 戴虹, 卢颖毅. 糖尿病黄斑水肿治疗方案的选择及需要关注的几个问题[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(12): 1061-1064.
- 5 魏文斌, 陈积中. 眼底病鉴别诊断学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2023: 604.
- 6 姚克. 中国糖尿病患者白内障围手术期管理策略专家共识[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(5): 337-342.
- 7 Shah AS, Chen SH. Cataract surgery and diabetes[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2010, 21(1): 4-9.
- 8 王露露, 孙艳红, 韦企平, 等. 糖尿病视网膜病变激光治疗的并发症及其防治[J]. 国际眼科杂志, 2019, 19(3): 405-408.
- 9 刘晓玲, 孙祖华. 合理使用激光与抗血管内皮生长因子药物, 提高糖尿病视网膜病变的治疗水平[J]. 中华眼底病杂志, 2020, 36(10): 749-753.
- 10 Kodjikian L, Bellocq D, Bandello F, et al. First-line treatment algorithm and guidelines in center-involving diabetic macular edema[J]. Eur J Ophthalmol, 2019, 29(6): 573-584.
- 11 杨宋阳, 张明亮, 李筱荣. 眼部抗VEGF药物缓释系统研究进展[J]. 中华实验眼科杂志, 2023, 41(6): 612-616.
- 12 郑颖, 索燕, 杨晓璐, 等. 改良糖尿病视网膜病变早期治疗研究组格栅样光凝与轻度黄斑格栅样光凝在治疗糖尿病黄斑水肿中的疗效比较[J]. 中华糖尿病杂志, 2012, 4(10): 596-600.
- 13 Palanker D, Blumenkranz M. Blumenkranz, panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy[J]. Am J Ophthalmol, 2012, 153(4): 780-781.
- 14 Galetovic D, Bojić L, Bućan K, et al. The role of oxidative stress after retinal laser photocoagulation in non-proliferative diabetic retinopathy[J]. Coll Antropol, 2011, 35(3): 835-840.

(收稿日期 2025-01-25)

(本文编辑 高金莲)

(上接第395页)

参考文献

- 1 罗凯, 符黄德, 姚洁民. 瑞马唑仑临床应用的研究进展[J]. 中华重症医学电子杂志(网络版), 2021, 7(1): 71-75.
- 2 张君宝, 杨满平, 石力文, 等. 瑞马唑仑围手术期应用研究进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2022, 43(4): 396-400.
- 3 金宝伟, 蒋宗明, 郭建荣. 瑞马唑仑的临床应用与研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2021, 26(12): 1444-1448.
- 4 卞新荣, 杨梅. 瑞马唑仑与咪达唑仑对甲状腺手术患者的麻醉效果及安全性分析[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2021, 42(22): 1975-1978.
- 5 孟强, 董伟, 屈峰. 早期血液滤过对脓毒血症患者血浆IL-10和单核细胞人白细胞抗原-DR表达的影响[J]. 中国医学创新, 2014, 7(7): 6-8.
- 6 孙贺, 张震, 杨子泉, 等. 右美托咪定对高氧诱导急性肺损伤大鼠肺损伤及肺组织NLRP3炎性体水平的影响[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2023, 30(3): 311-315.
- 7 潘旭东, 陈思文, 沈旦, 等. 戈米辛A通过调控TLR-4、Akt/FoxO1信号通路降低LPS诱导的大鼠急性肺损伤[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(12): 1248-1252.
- 8 雷莲莲, 李力, 毕婧. 胃饥饿素对小鼠急性肺损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2021, 11(2): 83-89.
- 9 李飞波, 郑志强. 阻断p38MAPK信号通路对肝脏缺血再灌注损伤保护作用的机制研究[J]. 全科医学临床与教育, 2015, 13(5): 500-503.
- 10 耿焱玲, 朱丽丽, 李喜梅, 等. 奥拉帕利对内毒素致急性肺损伤小鼠的保护作用[J]. 山西医科大学学报, 2024, 55(5): 560-570.
- 11 韩冰, 陈梦婷, 杨传铭, 等. 右美托咪定预处理通过抑制NLRP3炎性小体激活减轻大鼠肠缺血再灌注诱导的急性肺损伤[J]. 南方医科大学学报, 2021, 32(12): 1857-1863.
- 12 罗亚岚, 许才明, 李兆霞, 等. NLRP3炎性小体-急性肺损伤的发病核心[J]. 中国急救医学, 2019, 39(3): 285-289.

(收稿日期 2025-01-15)

(本文编辑 葛芳君)