

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.01.018

论著·实验研究

肺炎链球菌诱导 SPLUNC1 表达及白藜芦醇对 SPLUNC1 表达的影响

尚燕萍 林立 李昌崇

(温州医科大学附属第二医院育英儿童医院儿童呼吸科, 浙江 温州 325027)

[摘要] **目的** 探讨肺炎链球菌(SP)感染时短腭、肺及鼻咽上皮克隆1(SPLUNC1)的宿主防御作用,及白藜芦醇(Res)对SPLUNC1表达的影响,为SP感染性疾病的治疗提供新的思路。**方法** 根据感染复数(MOI)不同将SP感染BEAS-2B细胞分为对照组、MOI20 SP组和MOI50 SP组;根据Res药物浓度不同将Res预处理MOI20 SP感染BEAS-2B细胞分为12.5Res+SP组、25Res+SP组、50Res+SP组(Res终浓度分别为12.5 μmol/L、25 μmol/L、50 μmol/L)。通过CCK-8法检测细胞活性,并选出SP、Res最佳作用浓度及时间。正式实验分为对照组、Res组、SP组和Res+SP组,采用实时定量PCR法和ELISA法检测各组SPLUNC1 mRNA及蛋白表达。**结果** 随SP感染时间延长,细胞活性呈降低趋势;与对照组和MOI20 SP组相比,MOI50 SP组细胞活性有下降趋势;与MOI20 SP组相比,25Res+SP组细胞活性增强($P<0.05$),50Res+SP组细胞活性降低($P<0.05$)。以MOI20 SP菌悬液和25 μmol/L Res进行正式实验。SP组和Res+SP组随感染时间延长,BEAS-2B细胞SPLUNC1 mRNA水平表达先增高,后降低($P<0.05$);与SP组相比,各时间点Res+SP组SPLUNC1 mRNA及蛋白表达水平均增高($P<0.05$);与对照组相比,仅Res组SPLUNC1 mRNA及蛋白表达水平随时间延长未见明显改变($P>0.05$)。**结论** SP感染可以诱导SPLUNC1表达,发挥宿主防御作用,Res可以在感染发生时上调SPLUNC1的表达,以浓度及时间依赖的方式加强细胞保护。**[中国当代儿科杂志, 2017, 19(1): 111-116]**

[关键词] 短腭、肺及鼻咽上皮克隆1;白藜芦醇;肺炎链球菌;人支气管上皮细胞

Streptococcus pneumoniae induces SPLUNC1 and the regulatory effects of resveratrol

SHANG Yan-Ping, LIN Li, LI Chang-Chong. Department of Pediatric Pulmonology, Second Affiliated Hospital/Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, Zhejiang 325027, China (Li C-C, Email: wzlichch@21cn.com)

Abstract: Objective To investigate the host-defense role of short palate, lung, and nasal epithelium clone 1 (SPLUNC1) in *Streptococcus pneumoniae* (SP) infection and the effect of resveratrol (Res) on SPLUNC1 expression, and to provide new thoughts for the treatment of diseases caused by SP infection. **Methods** According to the multiplicity of infection (MOI), BEAS-2B cells with SP infection were divided into control group, MOI20 SP group, and MOI50 SP group. According to the different concentrations of Res, the BEAS-2B cells with MOI20 SP infection pretreated by Res were divided into 12.5Res+SP group, 25Res+SP group, and 50Res+SP group (the final concentrations of Res were 12.5, 25, and 50 μmol/L, respectively). Cell Counting Kit-8 was used to measure cell activity and determine the optimal concentration and action time of SP and Res. In the formal experiment, the cells were divided into control group, Res group, SP group, and Res+SP group. Real-time PCR and ELISA were used to measure the mRNA and protein expression of SPLUNC1. **Results** Over the time of SP infection, cell activity tended to decrease. Compared with the control group and the MOI20 SP group, the MOI50 SP group had a reduction in cell activity. Compared with the MOI20 SP group, the 25Res+SP group had increased cell activity and the 50Res+SP group had reduced cell activity ($P<0.05$). MOI20 SP bacterial suspension and 25 μmol/L Res were used for the formal experiment. Over the time of SP infection,

[收稿日期] 2016-07-29; **[接受日期]** 2016-11-24

[基金项目] 浙江省自然科学基金资助项目(LZ13H010001);浙江省教育厅项目(Y201432837);卫生部国家临床重点专科开放课题(20130209);温州市2014公益性科技计划项目(Y20140668)。

[作者简介] 尚燕萍,女,硕士研究生。

[通信作者] 李昌崇,男,主任医师,教授。

the mRNA expression of SPLUNC1 in BEAS-2B cells firstly increased and then decreased in the SP group and the Res+SP group ($P<0.05$). Compared with the SP group, the Res+SP group had significant increases in the mRNA and protein expression of SPLUNC1 at all time points ($P<0.05$). Compared with the control group, the Res group had no significant changes in the mRNA and protein expression of SPLUNC1 ($P>0.05$). **Conclusions** SP infection can induce SPLUNC1 expression and the host-defense role of SPLUNC1. Res can upregulate SPLUNC1 expression during the development of infection and enhance cell protection in a concentration- and time-dependent manner.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(1): 111-116]

Key words: Short palate, lung, and nasal epithelium clone 1; Resveratrol; *Streptococcus pneumoniae*; Human bronchial epithelial cell

肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, SP) 是引起鼻窦炎、急性中耳炎的最常见病因,更是导致婴幼儿脑膜炎、菌血症、肺炎等严重疾病的首要病原菌^[1]。SP感染性疾病是全球5岁以下儿童高居第一位的死亡病因^[2]。临床抗生素大量经验性应用,耐药情况日趋加重。短腭、肺及鼻咽上皮克隆1 (short palate, lung, and nasal epithelium clone 1, SPLUNC1) 是新近发现具有抗菌活性的天然免疫蛋白,由呼吸道上皮细胞分泌,研究证实,细菌暴露后, SPLUNC1可对其结合包裹,通过调节离散小孔的形成增加细菌细胞膜通透性,抑制细菌生长,随感染加重, SPLUNC1可驱动中性粒细胞及巨噬细胞的迁移,启动适应性免疫反应,相关炎症因子的分泌又可抑制 SPLUNC1的表达^[3-6]。白藜芦醇 (resveratrol, Res) 提取自虎杖根茎,是最强的天然 SIRT1 激活剂,能通过抑制 NF- κ B 在机体免疫防御系统起抗炎作用^[7-9]。我们推测 Res 预处理 BEAS-2B 细胞,可以通过抑制 NF- κ B 炎症信号通路,下调相关炎症因子,影响 SPLUNC1 的表达。SP感染领域 SPLUNC1、Res 研究甚少, Res 对 SPLUNC1 表达的影响更是尚无定论。本实验建立 SP感染人支气管上皮细胞 (BEAS-2B 细胞) 模型,以不同浓度 Res 预处理,在各感染时间点进行细胞活性、SPLUNC1 表达量检测,探讨 SP感染时 SPLUNC1 的宿主防御作用,及 Res 对 SPLUNC1 表达的影响,为 SP感染性疾病的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 细菌菌株和细胞株系

SP (ATCC 49619) 由首都医科大学附属北京

儿童医院杨永弘教授馈赠。BEAS-2B 细胞购自中科院上海细胞生物研究所细胞库。

1.2 主要试剂及仪器

胎牛血清、DMEM 培养基、胰蛋白酶 (0.25% EDTA) (美国 Gibco 公司), TRIzol (美国 Invitrogen 公司), 逆转录试剂盒 (美国 Fermentas 公司), Lightcycle 480 SYBR Green I Master (美国 Roche 公司), Cell Counting Kit -8 (CCK8) 试剂盒 (日本株式会社同仁化学研究所), Res (美国 Sigma 公司), SPLUNC1 ELISA 试剂盒 (上海酶研生物科技有限公司), 哥伦比亚血琼脂培养基 (温州康泰生物科技有限公司), 奥普托欣试纸 (杭州微生物试剂有限公司), PCR primer (上海捷瑞生物工程有限公司), 二级生物安全柜 (美国 Forma 公司), 超净工作台、CO₂ 培养箱 (Heal Force90) (美国 Thermo 公司), 实时荧光定量 PCR 仪 (Lightcycle 480) (美国 Roche 公司), 低温高速离心机 (德国 Hettich 公司), 酶标仪 (ELX808IU) (美国 Bio-Tek 公司)。

1.3 BEAS-2B 细胞培养

BEAS-2B 细胞分别接种于 25 cm² 培养瓶中,使细胞生长于含 10% FBS 的 DMEM 培养基,置 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,用胰蛋白酶 (0.25% EDTA) 常规消化传代。

1.4 细菌培养及菌悬液的制备

用灭菌接种环将 SP 接种于哥伦比亚血琼脂平板,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中,传代 2 次至生长旺盛,用灭菌环刮取单个细菌菌落,接种至装有 5 mL 脑心浸液肉汤的玻璃试管中增菌,离心、洗涤、重悬细菌,取适量菌液加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液中,用麦氏比浊仪调整菌悬液至所需浓度。

1.5 SP感染损伤 BEAS-2B 细胞及 Res 对 BEAS-2B 细胞活性的影响

根据感染复数 (MOI) 不同将 SP 感染 BEAS-2B 细胞分为对照组、MOI20 SP 组和 MOI50 SP 组; 根据 Res 药物浓度不同将 Res 预处理 MOI20 SP 感染 BEAS-2B 细胞分为 12.5Res+SP 组、25Res+SP 组、50Res+SP 组。将 BEAS-2B 细胞按 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板, 置 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养, 待细胞生长至 70%~80% 融合, 取出 96 孔板, 用无菌 PBS 溶液冲洗细胞, 分别向 12.5Res+SP 组、25Res+SP 组、50Res+SP 组加入 Res (终浓度分别为 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 、25 $\mu\text{mol/L}$ 、50 $\mu\text{mol/L}$) 无双抗培养液, 余各组加入等量新鲜无双抗培养液, 放置培养箱孵育 24 h, 取出 96 孔板, 向 MOI20 SP 组、12.5Res+SP 组、25Res+SP 组、50Res+SP 组加入菌悬液 (MOI 20), 向 MOI50 SP 组加入菌悬液 (MOI 50), 放置培养箱孵育, 于感染后 0、3、6、12、18 h 取出相应 96 孔板, 用于 CCK8 法检测细胞活力。以此就 SP、Res 不同作用浓度及时间对 BEAS-2B 细胞活性的影响进行分析讨论, 并选出 SP、Res 最佳作用浓度及时间进行后续研究。

1.6 CCK8 法检测细胞活力

从培养箱中取出 96 孔板, 用无菌 PBS 溶液冲洗细胞, 向每孔加入新的培养基及 10 μL CCK-8 溶液。继续培养 45 min, 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。每组设 6 个复孔, 实验独立重复 3 次。

1.7 SP 诱导 BEAS-2B 细胞表达 SPLUNC1 及 Res 对 SPLUNC1 表达的影响

实验分为对照组、Res 组、SP 组和 Res+SP 组。将 BEAS-2B 细胞按 5×10^5 个/皿接种于 6 cm 细胞培养皿中, 置 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养, 待细胞生长至 70%~80% 融合, 取出培养皿, 用无菌 PBS 溶液冲洗细胞, 向 Res 组及 Res+SP 组加入 Res (终浓度 25 $\mu\text{mol/L}$) 无双抗培养液, 余各组加入等量新鲜无双抗培养液, 放置培养箱孵育 24 h, 向 SP 组和 Res+SP 组加入 SP 菌悬液 (MOI 20), 于感染后 0、3、6 h, 收集各组细胞培养上清液, 用于 ELISA 检测 SPLUNC1 蛋白表达; 无菌 PBS 溶液冲洗细胞, 提取细胞总 RNA, 用于实时定量 (qRT-PCR) 检测 SPLUNC1 mRNA 水平。

1.8 qRT-PCR 检测 BEAS-2B 细胞 SPLUNC1 mRNA 相对表达量

按照试剂盒要求提取细胞总 RNA 并反转录成 cDNA, 最后进行 qRT-PCR 检测。反应体系为 20 μL , 包括 cDNA 2 μL 、SYBR 10 μL 、上下游引物各 1 μL 、DEPC 水 6 μL 。SPLUNC1 基因上游引物序列为: 5'-TGAGAGATAAGCAGGAGAGG-3', 下游引物序列为: 5'-AAGTCCATCAAGCAGAGAAA-3', 扩增产物大小为 102 bp。内参基因 β -actin 上游引物序列为: 5'-CTACCTCATGAAGATCCTCA-CCGA-3', 下游引物序列为: 5'-TTCTCCTTAATGTC-ACGCACGATT-3', 扩增产物大小为 84 bp。反应程序如下: 95°C 5 min; 95°C 10 s、 60°C 10 s、 72°C 10 s, 45 个循环。每组设 3 个平行样本, 实验独立重复 3 次。数据以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 进行分析。

1.9 ELISA 法检测 BEAS-2B 细胞 SPLUNC1 蛋白表达量

按照试剂盒要求收集细胞培养上清液, 应用双抗体夹心法测定 SPLUNC1 蛋白表达量, 最后使用酶标仪测定 450 nm 处吸光度值 (OD 值), 绘制标准曲线, 根据样本 OD 值确定实际浓度。每组设 3 个复孔, 实验独立重复 3 次。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组样本均数比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SP 感染损伤 BEAS-2B 细胞及 Res 对 BEAS-2B 细胞活性的影响

以感染复数 (MOI) 不同将 SP 感染 BEAS-2B 细胞分为对照组、MOI20 SP 组和 MOI50 SP 组; 结果显示 MOI50 SP 组随感染时间延长, 细胞活性显著降低 ($P < 0.05$); 在感染后 18 h 时, 与对照组相比, MOI50 SP 组细胞活性显著降低 ($P < 0.01$); 提示 MOI50 SP 组较 MOI20 SP 组细胞损伤更明显, SP 感染对 BEAS-2B 细胞活性的影响具有时间及浓度依赖性 (表 1)。根据 Res 药物浓度不

同将 Res 预处理 MOI20 SP 感染 BEAS-2B 细胞分为 12.5Res+SP 组、25Res+SP 组、50Res+SP 组。结果显示不同浓度 Res+SP 组随时间延长, 细胞活性显著降低 ($P<0.05$); 在 3 h 和 6 h 时, 25 Res+SP 组细胞活性显著高于 MOI20 SP 组 ($P<0.05$), 在 12 h 和 18 h 时, 50Res+SP 组细

胞活性显著低于 MOI20 SP 组 ($P<0.05$); 提示 RES 预处理对 SP 感染 BEAS-2B 细胞活性的影响具有时间及浓度依赖性, 低 Res 可增强 SP 感染 BEAS-2B 细胞活性, 而高浓度 Res 可抑制 SP 感染 BEAS-2B 细胞活性 (表 2)。

表 1 SP 感染对 BEAS-2B 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	F 值	P 值
对照组	1.013 ± 0.074	1.003 ± 0.025	1.000 ± 0.026	1.067 ± 0.031	1.010 ± 0.090	0.710	>0.05
MOI20 SP 组	1.010 ± 0.010	0.973 ± 0.104	0.957 ± 0.110	0.907 ± 0.146	0.837 ± 0.095	1.272	>0.05
MOI50 SP 组	1.013 ± 0.015	0.943 ± 0.102	0.913 ± 0.105	0.827 ± 0.140	0.680 ± 0.136 ^a	4.502	<0.05
F 值	0.006	0.370	0.711	3.310	7.657		
P 值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05		

注: a 示与对照组相比, $P<0.01$; [SP] 肺炎链球菌; [MOI] 感染复数。

表 2 Res 预处理对 SP 感染 BEAS-2B 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	0 h	3 h	6 h	12 h	18 h	F 值	P 值
对照组	1.013 ± 0.074	1.003 ± 0.025	1.000 ± 0.026	1.067 ± 0.031	1.010 ± 0.090	0.710	>0.05
MOI20 SP 组	1.010 ± 0.010	0.973 ± 0.104	0.957 ± 0.110	0.907 ± 0.146	0.837 ± 0.095	1.272	>0.05
12.5Res+SP 组	1.207 ± 0.104	1.170 ± 0.111	1.153 ± 0.065 ^a	1.057 ± 0.146	0.860 ± 0.137	4.316	<0.05
25Res+SP 组	1.223 ± 0.085	1.197 ± 0.133 ^a	1.187 ± 0.120 ^a	1.077 ± 0.115	0.793 ± 0.145	6.442	<0.01
50Res +SP 组	1.053 ± 0.175	0.930 ± 0.140	0.860 ± 0.113	0.653 ± 0.042 ^a	0.347 ± 0.097 ^b	15.547	<0.01
F 值	3.074	3.570	6.371	8.382	14.113		
P 值	>0.05	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01		

注: a 示与 MOI20 SP 组相比, $P<0.05$; b 示与 MOI20 SP 组相比, $P<0.01$; [SP] 肺炎链球菌; [Res] 白藜芦醇; [MOI] 感染复数。

2.2 SP 诱导 BEAS-2B 细胞表达 SPLUNC1 及 Res 对 SPLUNC1 表达的影响

SP 组和 Res+SP 组随感染时间延长, BEAS-2B 细胞 SPLUNC1 mRNA 表达水平增高, 3 h 达到峰值, 6 h 下降 ($P<0.05$); 与 SP 组比较, Res+SP 组 SPLUNC1 mRNA 表达水平在 3 h 和 6 h 均显著

增高 ($P<0.05$) (表 3)。与对照组相比, Res 组 SPLUNC1 mRNA 表达稳定, 随时间延长未见明显改变 ($P>0.05$) (表 3)。各组 SPLUNC1 蛋白表达情况与 SPLUNC1 mRNA 表达水平变化相一致, 见表 4。

表 3 各组 BEAS-2B 细胞 SPLUNC1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	0 h	3 h	6 h	F 值	P 值
对照组	1.000	1.000	1.000	—	—
Res 组	1.02 ± 0.13	1.05 ± 0.11	1.02 ± 0.11	0.070	>0.05
SP 组	1.04 ± 0.19	2.53 ± 0.69 ^{a,d}	1.53 ± 0.46 ^c	7.231	<0.05
Res +SP 组	1.12 ± 0.23	4.31 ± 0.85 ^{a,c,d}	2.65 ± 0.89 ^{a,b,e}	14.679	<0.01
F 值	0.288	24.295	7.090		
P 值	>0.05	<0.01	<0.05		

注: a 示与对照组相比, $P<0.01$; b 示与 SP 组相比, $P<0.05$; c 示与 SP 组相比, $P<0.01$; d 示与同组 0 h 相比, $P<0.05$; e 示与同组 3 h 相比, $P<0.05$ 。[SP] 肺炎链球菌; [Res] 白藜芦醇。

表4 各组 BEAS-2B 细胞 SPLUNC1 蛋白表达量比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	0 h	3 h	6 h	F 值	P 值
对照组	30.1 ± 3.0	30.2 ± 3.0	28.6 ± 6.1	0.202	>0.05
Res 组	30.1 ± 5.1	30.7 ± 6.2	30.2 ± 7.1	0.007	>0.05
SP 组	31.4 ± 3.6	54.0 ± 10.9 ^{a,c}	40.4 ± 9.5 ^d	5.264	<0.05
Res +SP 组	32.1 ± 3.0	71.7 ± 11.2 ^{a,b,c}	57.0 ± 8.3 ^{a,b,d}	17.766	<0.01
F 值	0.202	16.523	8.235		
P 值	>0.05	<0.01	<0.01		

注: a 示与对照组相比, $P<0.01$; b 示与 SP 组相比, $P<0.05$; c 示与同组 0 h 相比, $P<0.05$; d 示与同组 3 h 相比, $P<0.05$; [SP]肺炎链球菌; [Res]白藜芦醇。

3 讨论

SP 为革兰阳性菌, 成双或短链状排列, 电镜下菌体似矛头状, 其致病性与其毒力因子密切相关, 主要包括荚膜多糖、SP 相关蛋白、细胞壁与细胞壁多糖^[10-11]。本研究以 MOI20、MOI50 SP 分别感染 BEAS-2B 细胞, 结果显示随感染时间延长, 细胞活性降低, 说明 SP 感染对 BEAS-2B 细胞的损伤具有时间依赖性, 较 MOI20 组相比, MOI50 组细胞损伤更显著, 说明 SP 感染致细胞损伤具有浓度依赖性。故本研究选取 MOI20 SP 感染 18 h 内进行后续实验, 期间细胞活性较对照组相比, 差异无统计学意义, 可以认为 SP 感染不影响细胞的正常生长, 后续实验结果具有可比性。

SPLUNC1 是具有抗菌活性的天然免疫蛋白质, 研究证实, SPLUNC1 可通过抑制病原体生长、增强呼吸道表面活性及促进纤毛清除等发挥先天免疫作用, 并在必要时启动适应性免疫反应, 有效抵御革兰阴性菌、肺炎支原体的侵袭^[12-17]。本研究以 MOI 20 SP 感染人支气管上皮 BEAS-2B 细胞, qRT-PCR、ELISA 结果均显示细胞 SPLUNC1 高水平表达, 说明 SP 感染可以诱导 SPLUNC1 的表达。感染初期 SPLUNC1 分泌量相对较少, 尚不能发挥细胞保护作用, 直至 3 h 分泌达高峰, 足以有效减少 SP 感染对细胞的损伤, 维持细胞活性的稳定, SP 感染 3~6 h 期间细胞活性趋于稳定, 降低较缓慢, 相关研究证实适应性免疫反应的激活可以抑制 SPLUNC1 的表达^[4], 随着 SP 感染加重, 适应性免疫反应启动, SPLUNC1 分泌受到抑制, 细胞保护作用再次减弱, 感染 6 h SPLUNC1 分泌明显减少, 细胞损伤迅速加重。Britto 等^[4]研究显示革兰阴性菌感染后小鼠支气管肺泡灌洗液中 SPLUNC1 蛋白

表达增加, 达高峰后下降, 而 SPLUNC1 mRNA 表达呈持续下降趋势, 并无增加阶段, 这与本次实验结果不一致, 考虑与本研究为细胞体外培养, 自身 SPLUNC1 mRNA 储存不足有关。本次实验 SPLUNC1 mRNA 与蛋白高峰同时出现, 较 mRNA 表达相比, 蛋白分泌并未滞后, 可能与检测时间点设置略少有关, 结果显示了先增高后减少的趋势, 却未能捕捉到真正的高峰点。

Res 属于非黄酮类多酚化合物, 在抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化等多方面发挥作用^[7-9]。本实验以不同浓度 Res 预处理 BEAS-2B 细胞, 结果显示 SP 感染 0 h 时, 各浓度 Res+SP 组较 MOI20 SP 组相比, 细胞活性水平基本一致, 差异无统计学意义, 说明 Res 药物预处理不影响细胞的正常生长, 后续实验结果具有可比性。SP 感染后, 25Res+SP 组细胞活性增强, 50Res+SP 组显著降低, 说明 Res 可以浓度依赖的方式发挥细胞保护作用。随 SP 感染时间延长, 各组细胞活性均呈降低趋势, 较 MOI20 SP 组相比, 25Res+SP 组 6 h 后下降更迅速, 提示 Res 的细胞保护作用具有时间依赖性。故本研究选用 25 μ mol/L Res 预处理 BEAS-2B 细胞, SP 感染 6 h 内进行后续实验, 期间 Res 具有显著的细胞保护作用。结果显示较 SP 组相比, Res+SP 组 SPLUNC1 高水平表达, 同期细胞活性更好, 提示 Res 可以通过上调 SPLUNC1 的表达减少 SP 感染对细胞的损伤。较对照组相比, Res 组 SPLUNC1 表达水平稳定, 随时间延长未见明显变化, 说明未感染 SP 状态下, Res 不影响 SPLUNC1 的表达。

SPLUNC1 制剂及 Res 相关药物的研发可能将为儿童 SP 感染性疾病的治疗提供新的思路, 或许有助于减少抗生素的使用, 改善抗生素耐药情况。

[参 考 文 献]

- [1] Yao KH, Yang YH. Streptococcus pneumoniae diseases in Chinese children: past, present and future[J]. Vaccine, 2008, 26(35): 4425-4433.
- [2] Denapaite D, Brückner R, Hakenbeck R, et al. Biosynthesis of teichoic acids in Streptococcus pneumoniae and closely related species: lessons from genomes[J]. Microb Drug Resist, 2012, 18(3): 344-358.
- [3] McGillivray G, Bakaletz LO. The multifunctional host defense peptide SPLUNC1 is critical for homeostasis of the mammalian upper airway[J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13224.
- [4] Britto CJ, Liu Q, Curran DR, et al. Short palate, lung, and nasal epithelial clone-1 is a tightly regulated airway sensor in innate and adaptive immunity[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 48(6):717-724.
- [5] Di YP. Functional roles of SPLUNC1 in the innate immune response against Gram-negative bacteria[J]. Biochem Soc Trans, 2011, 39(4): 1051-1055.
- [6] Ning F, Wang C, Berry KZ, et al. Structural characterization of the pulmonary innate immune protein SPLUNC1 and identification of lipid ligands[J]. FASEB J, 2014, 28(12): 5349-5360.
- [7] Lee M, Kim S, Kwon OK, et al. Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of resveratrol, a polyphenolic stilbene, in a mouse model of allergic asthma[J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9(4): 418-424.
- [8] Miki H, Uehara N, Kimura A, et al. Resveratrol induces apoptosis via ROS-triggered autophagy in human colon cancer cells[J]. Int J Oncol, 2012, 40(4): 1020-1028.
- [9] Yuan Y, Xue X, Guo RB, et al. Resveratrol enhances the antitumor effects of temozolomide in glioblastoma via ROS-dependent AMPK-TSC-mTOR signaling pathway[J]. CNS Neurosci Ther, 2012, 18(7): 536-546.
- [10] Hathaway LJ, Brugger SD, Morand B, et al. Capsule type of Streptococcus pneumoniae determines growth phenotype[J]. PLoS Pathog, 2012, 8(3): e1002574.
- [11] Blumental S, Granger-Farbos A, Moïsi JC, et al. Virulence factors of Streptococcus pneumoniae. Comparison between African and French invasive isolates and implication for future vaccines[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133885.
- [12] Sayeed S, Nistico L, St Croix C, et al. Multifunctional role of human SPLUNC1 in Pseudomonas aeruginosa infection[J]. Infect Immun, 2013, 81(1): 285-291.
- [13] Liu Y, Di ME, Chu HW, et al. Increased susceptibility to pulmonary Pseudomonas infection in Splunc1 knockout mice[J]. J Immunol, 2013, 191(8): 4259-4268.
- [14] Gally F, Di YP, Smith SK, et al. SPLUNC1 promotes lung innate defense against Mycoplasma pneumoniae infection in mice[J]. Am J Pathol, 2011, 178(5): 2159-2167.
- [15] Chu HW, Thaikoottathil J, Rino JG, et al. Function and regulation of SPLUNC1 protein in Mycoplasma infection and allergic inflammation[J]. J Immunol, 2007, 179(6): 3995-4002.
- [16] Liu Y, Bartlett JA, Di ME, et al. SPLUNC1/BPIFA1 contributes to pulmonary host defense against Klebsiella pneumoniae respiratory infection[J]. Am J Pathol, 2013, 182(5): 1519-1531.
- [17] Hobbs CA, Blanchard MG, Alijevic O, et al. Identification of the SPLUNC1 ENaC-inhibitory domain yields novel strategies to treat sodium hyperabsorption in cystic fibrosis airway epithelial cultures[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2013, 305(12): L990-L1001.

(本文编辑: 万静)