

# 高脂摄入上调肺组织 CYP 4A1 表达缓解丰宫并殖吸虫感染所致大鼠肺损伤

刘思奇<sup>1△</sup>, 王晴晴<sup>1△</sup>, 王卫群<sup>2</sup>, 吴磊<sup>1</sup>, 马志强<sup>3</sup>, 王霖<sup>3</sup>, 常国辉<sup>1</sup>, 丁洁<sup>1</sup>, 华丽娟<sup>1</sup>,

陈华忆<sup>1</sup>, 李生浩<sup>1\*</sup>, 王文林<sup>2\*</sup>

**[摘要]** **目的** 观察高脂摄入对丰宫并殖吸虫感染所致大鼠肺损伤的缓解作用,并初步探讨细胞色素 P450 酶 4A1 (cytochrome P450 4A1, CYP 4A1) 在该过程中的作用。**方法** 将 SD 大鼠分为正常对照组 (10 只)、感染+普通饮食组 (12 只)、感染+高脂饮食组 (12 只)。正常对照组大鼠普通饮食喂养,不予其他任何处理;感染+普通饮食组、感染+高脂饮食组每只大鼠均经腹壁皮下注射 8 条丰宫并殖吸虫后尾蚴,随后分别给予普通饮食、高脂饲料喂养。饲养 28 周后处死 3 组大鼠,收集血清及肺组织。大鼠肺组织苏木素-伊红 (HE) 染色,光学显微镜下观察各组大鼠肺损伤程度,并进行肺泡炎半定量评分;采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法检测大鼠血清中白细胞介素 (IL)-1 $\beta$  和肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$  浓度,通过实时定量 PCR (qPCR) 及 Western blotting 检测大鼠肺组织中 CYP 4A1 mRNA 和蛋白质表达水平。**结果** 丰宫并殖吸虫感染 28 周后与感染+普通饮食组相比,感染+高脂饮食组大鼠肺泡壁增厚、水肿、炎症细胞浸润情况较轻,未见肺泡实变;感染+普通饮食组肺泡炎半定量评分 [(2.200  $\pm$  0.289) 分] 显著高于正常对照组 [(0.300  $\pm$  0.083) 分] 和感染+高脂饮食组 [(1.300  $\pm$  0.475) 分] ( $P$  均  $< 0.05$ ),感染+普通饮食组大鼠血清 IL-1 $\beta$  [(151.586  $\pm$  20.492) pg/mL] 和 TNF- $\alpha$  [(180.207  $\pm$  23.379) pg/mL] 水平均显著高于正常对照组 [(103.226  $\pm$  3.366)、(144.807  $\pm$  1.348) pg/mL] 和感染+高脂饮食组 [(110.131  $\pm$  12.946)、(131.764  $\pm$  27.831) pg/mL] ( $P$  均  $< 0.05$ ),感染+普通饮食组大鼠肺组织中 CYP 4A1 mRNA (3.00  $\pm$  0.81) 和蛋白表达水平 (0.40  $\pm$  0.02) 均显著低于正常对照组 (5.03  $\pm$  2.05、0.84  $\pm$  0.14) 和感染+高脂饮食组 (11.19  $\pm$  3.51、0.68  $\pm$  0.18) ( $P$  均  $< 0.05$ )。**结论** 高脂摄入可能通过上调肺组织中 CYP 4A1 mRNA 及蛋白表达来缓解丰宫并殖吸虫感染所致大鼠肺损伤。

**[关键词]** 丰宫并殖吸虫;细胞色素 P450 酶 4A1;高脂饮食;肺损伤;大鼠

**[中图分类号]** R383.23 **[文献标识码]** A

## High-fat intake alleviates lung injury induced by *Paragonimus proliferus* infection in rats through up-regulating CYP 4A1 expression in lung tissues

LIU Siqi<sup>1△</sup>, WANG Qingqing<sup>1△</sup>, WANG Weiqun<sup>2</sup>, WU Lei<sup>1</sup>, MA Zhiqiang<sup>3</sup>, WANG Lin<sup>3</sup>, CHANG Guoji<sup>1</sup>, DING Jie<sup>1</sup>, HUA Lijuan<sup>1</sup>, CHEN Huayi<sup>1</sup>, LI Shenghao<sup>1\*</sup>, WANG Wenlin<sup>2\*</sup>

1 Department of Hepatology, Clinical Center for Infectious Diseases of Yunnan Province/The Third People's Hospital of Kunming, Kunming, Yunnan 650041, China; 2 Department of Pathogen Biology, Faculty of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650504, China; 3 Changpo Laboratory, Clinical Center for Infectious Diseases of Yunnan Province/The Third People's Hospital of Kunming, Yunnan Province, China

△ Co-first authors

\* Corresponding authors

**[Abstract]** **Objective** To explore the improvements of high-fat intake on lung injury induced by *Paragonimus proliferus* infection in rats, and to preliminarily explore the mechanisms underlying the role of cytochrome P450 4A1 (CYP 4A1) in the improve-

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (82260408); 云南省科技厅基础研究专项 (202101AT070054); 云南省昆明市卫健委卫生科研课题 (2022-03-08-011, 2022-03-08-005)

**[作者单位]** 1 云南省传染病临床中心/云南省昆明市第三人民医院肝病综合科 (云南 昆明 650041); 2 昆明医科大学基础医学院病原生物学教研室 (云南 昆明 650504); 3 云南省传染病临床中心/云南省昆明市第三人民医院长坡检验科 (云南 昆明 650041)

**[作者简介]** 刘思奇,女,硕士,住院医师。研究方向:感染性疾病与肝脏病学研究及临床  
王晴晴,女,硕士,副主任医师。研究方向:感染性疾病与肝脏病学研究及临床  
△ 共同第一作者

\* 通信作者 E-mail: doctorlee3h@163.com, ORCID: 0000-0003-1207-3226;

E-mail: wenlinwang331@163.com, ORCID: 0009-0002-2659-4161

**[数字出版日期]** 2023-04-18 14:17:31

**[数字出版网址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1374.R.20230417.1659.002.html>

ments. **Methods** SD rats were randomly assigned into three groups, including the normal control group ( $n = 10$ ), the infection and normal diet group ( $n = 12$ ) and the infection and high-fat diet group ( $n = 12$ ). Rats in the normal control group were fed with normal diet and without any other treatments, and animals in the infection and normal diet group were subcutaneously injected with 8 excysted metacercariae of *P. proliferus* via the abdominal wall, followed by feeding with normal diet, while rats in the infection and high-fat diet group were subcutaneously injected with 8 excysted metacercariae of *P. proliferus* via the abdominal wall, followed by feeding with high-fat diet. All rats were sacrificed 28 weeks post-infection, and serum samples and lung specimens were collected. Following hematoxylin-eosin (HE) staining of rat lung specimens, the rat lung injury was observed under an optical microscope, and alveolitis was evaluated using semi-quantitative scoring. Serum interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the cytochrome P450 4A1 (CYP 4A1) expression was quantified in rat lung specimens at transcriptional and translational levels using quantitative real-time PCR (qPCR) and Western blotting assays. **Results** Alveolar wall thickening, edema and inflammatory cell infiltration were alleviated 28 weeks post-infection with *P. proliferus* in rats in the infection and high-fat diet group relative to the infection and normal diet group, and no alveolar consolidation was seen in the infection and high-fat diet group. The semi-quantitative score of alveolitis was significantly higher in the infection and normal diet group [(2.200  $\pm$  0.289) points] than in the normal control group [(0.300  $\pm$  0.083) points] and the infection and high-fat diet group [(1.300  $\pm$  0.475) points] (both  $P$  values  $< 0.05$ ), and higher serum IL-1 $\beta$  [(151.586  $\pm$  20.492) pg/mL and TNF- $\alpha$  levels [(180.207  $\pm$  23.379) pg/mL] were detected in the infection and normal diet group than in the normal control group [IL-1 $\beta$ : (103.226  $\pm$  3.366) pg/mL; TNF- $\alpha$ : (144.807  $\pm$  1.348) pg/mL] and the infection and high-fat diet group [IL-1 $\beta$ : (110.131  $\pm$  12.946) pg/mL; TNF- $\alpha$ : (131.764  $\pm$  27.831) pg/mL] (all  $P$  values  $< 0.05$ ). In addition, lower *CYP 4A1* mRNA (3.00  $\pm$  0.81) and protein expression (0.40  $\pm$  0.02) was quantified in lung specimens in the infection and normal diet group than in the normal control group [(5.03  $\pm$  2.05) and (0.84  $\pm$  0.14)] and the infection and high-fat diet group [(11.19  $\pm$  3.51) and (0.68  $\pm$  0.18)] (all  $P$  values  $< 0.05$ ). **Conclusion** High-fat intake may alleviate lung injuries caused by *P. proliferus* infection in rats through up-regulating CYP 4A1 expression in lung tissues at both translational and transcriptional levels.

**[Keywords]** *Paragonimus proliferus*; Cytochrome P450 4A1; High-fat diet; Lung injury; Rat

并殖吸虫病是由并殖吸虫感染导致的一种食源性寄生虫病,呈全球性分布,高发于包括我国在内的热带或亚热带地区<sup>[1]</sup>。该病患者以咳嗽、咯痰、咯血、发热、消瘦为主要临床表现,严重者可致死<sup>[1]</sup>。因其临床表现或影像学特征与结核或肿瘤十分相似,易被误诊<sup>[1]</sup>。WHO将并殖吸虫病列为被忽视的热带疾病之一,呼吁加强对该病的防治<sup>[2]</sup>。虽然当前采用吡喹酮、三氯苯达唑等杀虫效果良好,但除杀虫治疗外,尚无专门针对并殖吸虫感染所致肺损伤的治疗策略。

丰宫并殖吸虫属扁形动物门、吸虫纲、复殖亚纲、斜睾目、隐孔科、并殖吸虫属,是美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库中已登记(截至2022年5月14日)的50种并殖吸虫虫种之一,目前报道的自然疫源地包括我国云南省和越南<sup>[3]</sup>。丰宫并殖吸虫感染大鼠可引起肺损伤<sup>[4]</sup>。本课题组前期研究发现,该虫侵入机体后可广泛限制宿主代谢以摄取营养物质,满足自身能量需求,故推测宿主代谢受限是并殖吸虫病发生发展的重要机制之一<sup>[5]</sup>。此外,本课题组还对丰宫并殖吸虫感染大鼠肺组织转录组学进行了研究(转录组序列已在NCBI数据库中登记,基因登录号分别为SRR11749148~SRR11749165),京都基因与基因组

百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析显示,过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)信号是显著富集的主要代谢信号通路之一,其中细胞色素P450酶4A1(cytochrome P450 4A1, CYP 4A1)在丰宫并殖吸虫感染大鼠28 d时呈下调趋势<sup>[5]</sup>。CYP 4A1是过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)信号通路下游的一种重要靶分子<sup>[6]</sup>,主要存在于内质网和线粒体内膜上,其通过促进脂肪酸氧化而发挥生物学效应,是脂肪酸 $\beta$ 氧化的关键酶<sup>[7]</sup>。代谢异常可导致机体免疫功能受损以及清除病原体能力降低<sup>[8]</sup>,且预后更差<sup>[9]</sup>。纠正宿主营养状况能否改善丰宫并殖吸虫感染所致肺损伤严重程度,以及CYP 4A1是否在其机制中发挥了重要作用,国内外尚未见相关报道。

本研究拟建立丰宫并殖吸虫感染导致肺并殖吸虫病动物模型,观察高脂摄入改变宿主代谢状态能否缓解肺损伤严重程度,并结合血清促炎细胞因子白细胞介素1 $\beta$ (interleukin-1 beta, IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )浓度变化及肺组织中*CYP 4A1* mRNA及蛋白表达初步探索其分子机制,从而为并殖吸虫病防治提供参考。

## 材料与方法

### 1 实验动物

清洁级雄性SD大鼠34只(6周龄,体质量180~220 g)购于昆明医科大学实验动物中心,适应性喂养2周后用于实验。

### 2 主要试剂与仪器

抗CYP 4A1抗体(上海康朗),抗 $\beta$ -actin抗体(美国Santa),RNA提取试剂盒、RNA保存液(北京天根),逆转录试剂盒(上海科敏),抗-GADPH抗体(杭州开泰),IL-1 $\beta$ 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒、TNF- $\alpha$  ELISA检测试剂盒(美国赛默飞世尔科技),基础电泳仪、半干转膜仪(美国Bio-rad),Applied Biosystems PCR热循环仪、酶标仪(美国赛默飞),分光光度计(上海尤尼柯)。

高脂饲料(50%脂肪供能)购自北京博泰宏达生物技术有限公司,具体成分(质量百分比,gm%):蛋白质24.2%、碳水化合物40.1%、脂肪27.4%,以及相应维生素和微量元素等,总热量比为4.7 kcal/gm。

### 3 方法

**3.1 实验分组** 将实验大鼠分为正常对照组(10只)、感染+普通饮食组(12只)、感染+高脂饮食组(12只)。正常对照组大鼠普通饮食喂养,不予其他任何处理;感染+普通饮食组、感染+高脂饮食组大鼠感染丰宫并殖吸虫后尾蚴后分别给予普通饮食喂养和高脂饲料喂养。

**3.2 动物模型制备及实验样品收集** 参照本课题组前期研究制备动物模型<sup>[10]</sup>。自丰宫并殖吸虫疫源地采集溪蟹,带回实验室后用研磨-水洗-沉淀法分离后尾蚴,感染+普通饮食组、感染+高脂饮食组大鼠腹壁皮下注射后尾蚴悬浊液,每只大鼠注射8条后尾蚴,注射完毕后自由进食水。于注射后第7天随机选取以上两组大鼠各2只,经水合氯醛麻醉后处死,剪开胸腔,通过肉眼观察寻找丰宫并殖吸虫虫体,如发现已移行至大鼠胸腔的后尾蚴,则说明动物模型制备成功。

各组大鼠饲养28周后,经水合氯醛麻醉后处死,自腹正中线切口剪开腹腔,继续向上剪开胸腔后立即自心尖取血5 mL,1 500 r/min(离心半径16 cm)离心30 min,取上清储存于-80℃冰箱用于ELISA检测。随后,沿病变最明显部位楔形切取肺组织,生理盐水冲洗干净后分成3块:1块置于多聚甲醛中固定,用于苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色;1块用RNA保存液浸泡后置于-80℃冰箱,用于定量实时PCR(quantitative real time polymerase chain reaction, qP-

CR)检测;1块直接冻存于-80℃冰箱中,用于Western blotting检测。

**3.3 大鼠肺组织HE染色及肺泡炎半定量分析** 取经多聚甲醛固定的大鼠肺组织常规包蜡切片后行HE染色,光学显微镜下观察肺损伤严重程度,并进行肺泡炎半定量评分。0分为无肺泡炎,肺泡壁厚度正常,肺泡结构完整;1分为轻度肺泡炎,主要表现为肺泡壁增厚、局灶性炎细胞浸润、受累肺组织面积小于总面积的20%,肺泡结构尚维持正常;2分为中度肺泡炎,受累面积占总面积20%~50%,可见肺泡壁断裂、肺泡腔融合;3分为严重肺损伤,受损面积占总面积50%以上,肺泡壁肿胀及大量炎细胞浸润导致大范围肺实变,部分肺泡壁断裂、肺泡腔融合<sup>[11]</sup>。每只大鼠随机选取3张肺组织HE染色切片,由同一名经验丰富、具高级职称的病理学专家采用盲法在光学显微镜下观察后进行评分。

### 3.4 ELISA检测血清细胞因子IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 浓度

按ELISA检测试剂盒说明书,采用双抗夹心ELISA法检测大鼠血清IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 浓度,用酶标仪检测450 nm波长处吸光度值( $A_{450}$ ),绘制标准曲线计算IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 浓度。

**3.5 q-PCR检测CYP 4A1 mRNA表达** 取大鼠肺组织100 mg,裂解及匀浆后用Trizol法提取总RNA,测定纯度和浓度。按照试剂盒说明书中的实验步骤合成cDNA,然后进行qPCR检测。反应体系(共20  $\mu$ L):2  $\times$  SYBR Green qPCR Master Mix (High ROX) 10  $\mu$ L、上游引物0.4  $\mu$ L、下游引物0.4  $\mu$ L、模板2  $\mu$ L、无核酸酶水7.2  $\mu$ L,以GAPDH为内参。引物序列由北京擎科生物有限公司合成(表1)。扩增程序:95℃30 s预变性;95℃15 s变性;60℃30 s退火/延伸,40个循环。用相对定量法计算CYP 4A1 mRNA的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值。

**3.6 Western blotting检测CYP 4A1蛋白表达** 提取的总蛋白经BCA法定量。蛋白样品经电泳、转膜、封闭后,加入CYP 4A1(1:1 000)特异性抗体,4℃孵育过夜;PBST缓冲液洗涤后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000),室温下孵育聚偏二氟乙烯膜,Tris-盐酸-吐温缓冲盐溶液洗膜后,适量发光混合液均匀滴于膜正面,在BIO-RAD ChemiDOC化学发光成像系统进行成像。以 $\beta$ -actin作为内参计算CYP 4A1蛋白质相对表达量。

**3.7 统计分析** 采用SPSS 20.0软件进行统计分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验或Dunnett's T3检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



表1 引物序列

Table 1 Sequences of primers used for qPCR assay

基因 Gene	序列(5'→3') Sequence(5'→3')	长度 Length (bp)	GC含量(%) GC content (%)
CYP 4A1	F: CTACTGCCAGATCCCACCAA;	20	55
	R: AGTGGAGCTTCTTGAGATACAG	22	45
GAPDH	F: ACATCAAGAAGGTGGTGAAGCA;	22	45
	R: TGGAAGAATGGGAGTTGCTGTT	22	45

4 伦理学声明

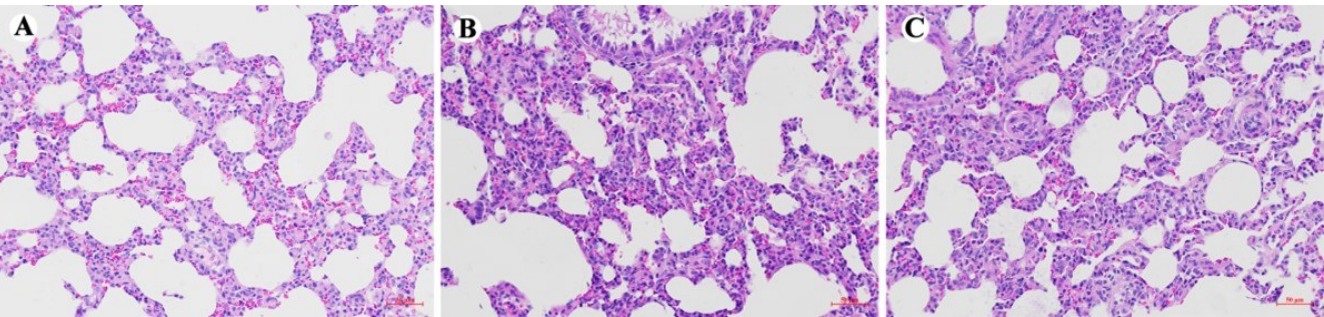
本研究经昆明医科大学伦理审查委员会审查批准通过(伦理批号:KMMU2019047)。

结 果

1 大鼠肺组织形态学观察及肺泡炎半定量分析

正常对照组大鼠肺组织结构正常,未见炎细胞浸润(图1A)。丰宫并殖吸虫感染28周后,感染+普通饮食组大鼠肺泡壁明显增厚、水肿,大量炎症细胞浸润,

部分肺泡壁断裂,可见多个肺泡融合、肺泡腔消失甚至实变(图1B);感染+高脂饮食组大鼠肺泡壁增厚、水肿、炎症细胞浸润情况较轻,亦可见部分断裂的肺泡壁及肺泡腔融合,未见肺泡实变情况(图1C)。正常对照组、感染+普通饮食组、感染+高脂饮食组肺泡炎半定量评分分别为(0.300 ± 0.083)、(2.200 ± 0.289)、(1.300 ± 0.475)分,差异有统计学意义( $F = 20.669, P = 0.001$ )。两两比较结果显示,感染+普通饮食组评分高于正常对照组和感染+高脂饮食组( $P$ 均< 0.05)。



注:A 正常对照组;B 感染+普通饮食组;C 感染+高脂饮食组。  
Note: A Normal control group; B Infection + normal diet group; C Infection + high-fat diet group.

图1 3组大鼠肺组织结构(×400)

Fig. 1 Lung tissues of rats in three groups (× 400)

2 大鼠血清炎症因子IL-1β、TNF-α水平

丰宫并殖吸虫感染28周后,正常对照组、感染+普通饮食组、感染+高脂饮食组大鼠IL-1β水平分别为(103.226 ± 3.366)、(151.586 ± 20.492)、(110.131 ± 12.946) pg/mL, TNF-α水平分别为(144.807 ± 1.348)、(180.207 ± 23.379)、(131.764 ± 27.831) pg/mL,差异均有统计学意义( $F = 21.362, 29.255, P$ 均< 0.05)。两两比较结果表明,感染+普通饮食组大鼠血清IL-1β和TNF-α水平均低于正常对照组和感染+高脂饮食组( $P$ 均< 0.05)。

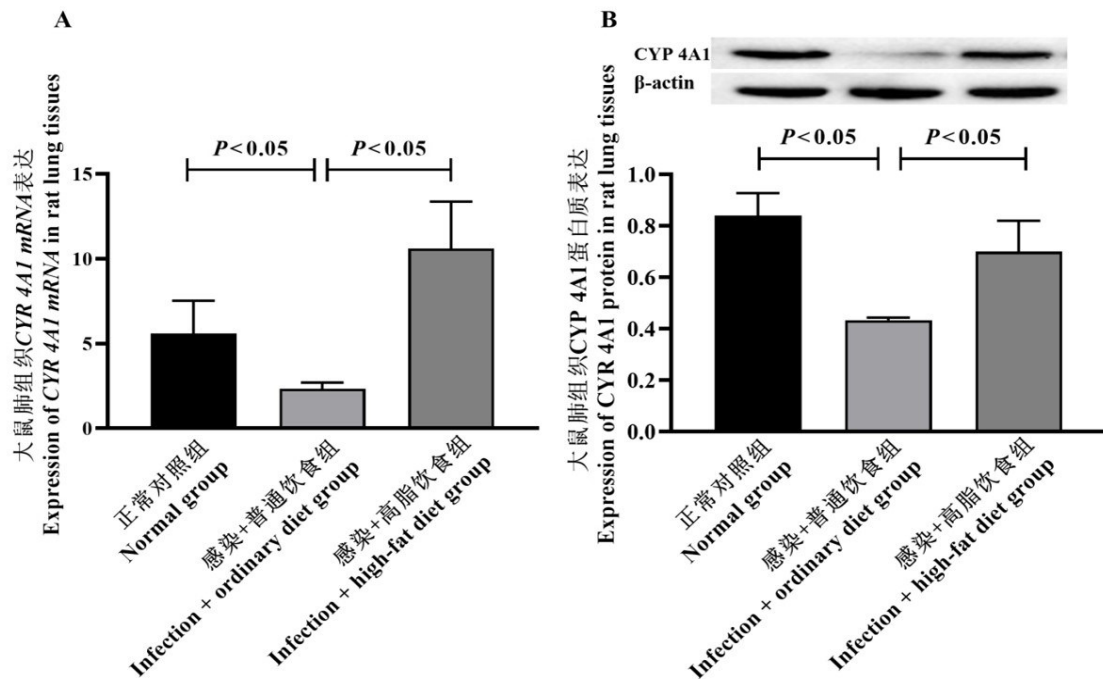
3 大鼠肺组织中CYP 4A1 mRNA及蛋白表达水平

qPCR及Western blotting检测结果显示,丰宫并

殖吸虫感染28周后,正常对照组、感染+普通饮食组、感染+高脂饮食组大鼠肺组织中CYP 4A1 mRNA相对表达量分别为5.03 ± 2.05、3.00 ± 0.81、11.19 ± 3.51,蛋白相对表达量分别为0.84 ± 0.14、0.40 ± 0.02、0.68 ± 0.18,差异均有统计学意义( $F = 20.889, 40.383, P$ 均< 0.05)。两两比较结果表明,感染+普通饮食组大鼠肺组织中CYP 4A1 mRNA、CYP 4A1蛋白表达水平均较正常对照组、感染+高脂饮食组下调( $P$ 均< 0.05)(图2A、2B)。

讨 论

宿主代谢改变在蠕虫感染中十分常见,伴随蠕虫



注: A CYP 4A1 mRNA; B CYP 4A1 蛋白。

Note: A CYP 4A1 mRNA; B CYP 4A1 protein.

图2 3组大鼠肺组织CYP 4A1 mRNA和蛋白表达水平

Fig. 2 CYP 4A1 mRNA and protein expression in rat lung tissues in three groups

病发生发展过程。在孕后期或哺乳期妇女中,肠道线虫感染疾病负担大幅增加与营养需求增加密切相关<sup>[12]</sup>。后睾吸虫感染可激发宿主系统性代谢重塑,包括改变脂质代谢、血清氨基酸池消耗、生酮信号通路调控、脾脏代谢活性抑制等,是宿主的一种代谢适应状态,这种“代谢介导的机体免疫抑制状态”可促进机体慢性感染,是后睾吸虫感染慢性化阶段重要特征<sup>[13]</sup>。

本课题组前期研究发现,丰宫并殖吸虫感染大鼠第3天时即出现广泛宿主代谢改变,主要表现为代谢相关基因表达下调。此时虫体尚处于自腹腔向膈肌移行过程中,未达胸腔或肺脏,提示蠕虫可对宿主代谢产生全身性影响,对远离寄生部位的组织器官代谢造成广泛影响<sup>[5]</sup>。以上结果表明,对宿主代谢进行调控可能是治疗蠕虫病的重要手段之一。

既往研究发现,高脂摄入可降低利什曼原虫在宿主体内感染度<sup>[14]</sup>,对克氏锥虫感染小鼠心肌损伤起保护作用<sup>[15]</sup>,降低死亡率<sup>[16]</sup>;还可促进曼氏裂体吸虫感染后肝细胞再生<sup>[17]</sup>。亦有研究表明,疟原虫感染小鼠体内包括CYP 4a亚家族在内的多种P450酶表达下调、药物清除率降低<sup>[18]</sup>,但通过高脂饮食可诱导机体CYP 4A表达上调<sup>[19]</sup>。Sweeny等<sup>[20]</sup>发现,小鼠补充营

养可提高其对多形螺旋线虫抵抗力,产生更强的寄生虫特异性抗体反应。本研究通过高脂摄入改变丰宫并殖吸虫感染实验大鼠代谢状态,观察了大鼠肺组织病理学改变及血清炎症因子浓度变化,发现高脂摄入可减轻宿主肺损伤严重程度,初步探索了CYP 4A1表达在并殖吸虫病治疗中的作用和可能机制。

CYP 4A家族可促进中长链脂肪酸的脂质 $\omega$ -羟基化,后者是脂肪酸代谢的重要途径之一<sup>[21]</sup>。CYP 4A1参与环境化合物在体内的代谢过程,受PPAR- $\alpha$ 调控,是促进脂肪酸 $\beta$ 氧化的关键酶,可通过脂质过氧化对肝脏发挥毒性作用<sup>[7]</sup>。虽人体内CYP 4A1在mRNA及其编码的蛋白的表达水平较低,但该酶及其代谢物花生四烯酸活性与高血压、糖尿病、局部脑血管缺血性疾病、肝肾综合征、非酒精诱导的肝病、妊娠毒血症等疾病均密切相关<sup>[22]</sup>。高脂饮食可通过PPAR- $\gamma$ 上调脂肪酸氧化<sup>[23]</sup>,而巨噬细胞M2极化和II型免疫反应均依赖于脂肪酸氧化<sup>[24-25]</sup>。此外,巨噬细胞M2极化或II型免疫反应可消除蠕虫感染导致的炎症,修复组织损伤<sup>[26]</sup>。本课题组前期研究发现,实验大鼠感染丰宫并殖吸虫中后期(14~28 d及以后)机体II型免疫反应逐渐取代I型免疫反应,占据主导地

位<sup>[10]</sup>。本研究亦发现,感染+高脂饮食组大鼠血清中代表 I 型免疫反应的促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  浓度均较低,且肺组织炎症损伤程度较感染+普通饮食组轻。故推测高脂摄入通过促进脂肪酸氧化诱导了 II 型免疫反应发生,同时限制了 I 型免疫反应强度。

综上,丰宫并殖吸虫感染可下调宿主肺组织中 *CYP 4A1 mRNA* 及蛋白表达,降低血清促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  浓度;高脂摄入则能逆转该趋势,并缓解宿主肺肺炎严重程度。其可能机制为高脂摄入通过上调 *CYP 4A1* 基因表达水平促进肺组织脂肪酸氧化,在诱导 II 型免疫反应的同时限制 I 型免疫反应,从而发挥缓解肺损伤的作用。但后续仍需通过基因敲除或使用 *CYP 4A1* 抑制剂等进一步深入验证这一推论。此外,检测 *CYP 4A1* 蛋白表达定位、进一步通过荧光/共聚焦等技术明确丰宫并殖吸虫感染调控宿主肺组织细胞中 *CYP 4A1* 蛋白表达,对于深入探索丰宫并殖吸虫感染所致肺损伤的致病机制亦具有十分重要的意义。

**利益冲突声明** 作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 刘思奇、王晴晴设计、实施研究项目,收集、分析数据,撰写、修改论文;丁洁、华丽娟、陈华忆参与实验研究、数据整理;王卫群、王霖、常国楫参与实验研究;吴磊、马志强指导、修改论文;李生浩、王文林提出选题方向,指导研究设计与实施、论文修改并提供经费、技术支持

## 【参考文献】

- [1] Tidman R, Kanankege KST, Bangert M, et al. Global prevalence of 4 neglected foodborne trematodes targeted for control by WHO: A scoping review to highlight the gaps[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2023, 17(3): e0011073.
- [2] Donato RA, Donato RJ. Pulmonary, liver and cerebral paragonimiasis: An unusual clinical case in Colombia[J]. *Travel Med Infect Dis*, 2022, 46: 102253.
- [3] 束秋红. 基于蛋白质组学探索治疗丰宫并殖吸虫感染的新靶点[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2022.
- [4] 李芳. MMP-9 和 TIMP-1 在丰宫并殖吸虫感染大鼠致肺纤维化中的表达及意义[J]. *中国医药科学*, 2018, 8(5): 51-55, 164.
- [5] 李生浩. 丰宫并殖吸虫成功寄生大鼠及致并殖吸虫病的机制研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2021.
- [6] Ripp SL, Fitzpatrick JL, Peters JM, et al. Induction of CYP3A expression by dehydroepiandrosterone: involvement of the pregnane X receptor[J]. *Drug Metab Dispos*, 2002, 30(5): 570-575.
- [7] 王力, 赵凤莲, 阙梦颖, 等. 全氟辛酸对大鼠肝脏氧化应激与 PPAR 及其所调控的 *CYP4A1* 基因表达的影响[J]. *卫生研究*, 2017, 46(5): 802-806.
- [8] Calder PC, Jackson AA. Undernutrition, infection and immune function[J]. *Nutr Res Rev*, 2000, 13(1): 3-29.
- [9] Strunz EC, Suchdev PS, Addiss DG. Soil-transmitted helminthiasis and vitamin A deficiency: two problems, one policy[J]. *Trends Par-*

*asitol*, 2016, 32(1): 10-18.

- [10] 李生浩, 杜映荣, 武昆利, 等. 丰宫并殖吸虫感染诱导大鼠 Th1/Th2 免疫应答的偏移模式研究[J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16(2): 171-176.
- [11] 元润智, 杨玉莹, 刘剑刚, 等. 沙参桔梗汤对急性放射性肺损伤模型大鼠肺组织的病理改变及肺肺炎半定量分析[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(2): 616-619.
- [12] Houdijk JG. Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock[J]. *Parasite Immunol*, 2008, 30(2): 113-121.
- [13] Kokova D, Verhoeven A, Perina EA, et al. Metabolic homeostasis in chronic helminth infection is sustained by organ-specific metabolic rewiring[J]. *ACS Infect Dis*, 2021, 7(4): 906-916.
- [14] Kiser ET, Wacker MA, Dixit UG, et al. The inflammatory effects of dietary lipids regulate growth of parasites during visceral leishmaniasis[J]. *mSphere*, 2021, 6(4): e0042321.
- [15] Nagajyothi F, Weiss LM, Zhao D, et al. High fat diet modulates *Trypanosoma cruzi* infection associated myocarditis[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2014, 8(10): e3118.
- [16] Brima W, Eden DJ, Mehdi SF, et al. The brighter (and evolutionarily older) face of the metabolic syndrome: evidence from *Trypanosoma cruzi* infection in CD-1 mice[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2015, 31(4): 346-359.
- [17] Neves RH, Alencar AC, Aguila MB, et al. Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat diet[J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2006, 101(Suppl 1): 253-260.
- [18] Mimche SM, Lee CM, Liu KH, et al. A non-lethal malarial infection results in reduced drug metabolizing enzyme expression and drug clearance in mice[J]. *Malar J*, 2019, 18(1): 234.
- [19] 高惠芳, 曹雅茹, 夏宏光, 等. 高脂饮食诱导 CYP4A 高表达参与小鼠非酒精性脂肪肝病研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(11): 1678-1682.
- [20] Sweeny AR, Clerc M, Pontifes PA, et al. Supplemented nutrition decreases helminth burden and increases drug efficacy in a natural host - helminth system[J]. *Proc Biol Sci*, 2021, 288(1943): 20202722.
- [21] Yang Z, Smalling RV, Huang Y, et al. The role of SHP/REV-ERB $\alpha$ /CYP4A axis in the pathogenesis of alcohol-associated liver disease[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(16): e140687.
- [22] Roman RJ, Renic M, Dunn KM, et al. Evidence that 20-HETE contributes to the development of acute and delayed cerebral vasospasm[J]. *Neurol Res*, 2006, 28(7): 738-749.
- [23] Sikder K, Shukla SK, Patel N, et al. High fat diet upregulates fatty acid oxidation and ketogenesis via intervention of PPAR- $\gamma$ [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(3): 1317-1331.
- [24] Huang SC, Everts B, Ivanova Y, et al. Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for alternative activation of macrophages[J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(9): 846-855.
- [25] Pelgrom LR, Everts B. Metabolic control of type 2 immunity[J]. *Eur J Immunol*, 2017, 47(8): 1266-1275.
- [26] Allen JE, Sutherland TE. Host protective roles of type 2 immunity: parasite killing and tissue repair, flip sides of the same coin[J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(4): 329-340.