重组表达S100A9蛋白枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠的干预作用

魏轩,李婷,李甜甜,丁明玲,彭勇波*

(中南民族大学 a. 生命科学学院医学研究所; b. 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北省重点实验室,湖北 武汉 430074)

摘 要 为阐明S100A9重组蛋白对哮喘疾病的治疗作用,本研究利用OVA诱导的哮喘小鼠模型,从分子与病理水平探究了重组表达S100A9枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠的治疗作用和最佳剂量.结果表明:与哮喘及空载对照组比较,低剂量重组菌(1.02×10^7 CFU/mL)干预组小鼠的喘息、弓背等症状显著减轻,体重增加,肺系数减小;与低剂量重组菌处理组比较,中剂量(1.18×10^8 CFU/mL)和高剂量处理组(1.25×10^9 CFU/mL)治疗效果不及低剂量组;病理切片结果也显示低剂量处理组小鼠气道炎症细胞浸润明显减少,小鼠支气管内壁增厚程度减轻($P<0.05$);肺组织促炎因子*IL-5*、*IL-6*、*IL-13*的mRNA表达水平显著降低,气道粘液蛋白*Muc5ac*、*Muc5b*的mRNA表达水平也显著下降($P<0.05$);小鼠血清中细胞因子IL-6、TNF-α的含量显著降低;肺组织SOD和CAT酶含量增加,MDA指标有明显增加;肺泡灌洗液中嗜酸性粒细胞等炎症细胞数显著降低($P<0.05$).上述结果表明低剂量的S100A9重组枯草芽孢菌对哮喘干预具有一定的治疗效果.

关键词 S100A9;哮喘;枯草芽孢杆菌;气道炎症

中图分类号 Q937.97 **文献标志码** A **文章编号** 1672-4321(2026)05-0622-08

doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20260730

The inhibitory effects of a recombinant *Bacillus subtilis* expressing mouse S100A9 protein on asthmatic mice

Wei Xuan, Li Ting, Li Tiantian, Ding Minling, Peng Yongbo*

(South-Central Minzu University, a. College of Life Sciences; b. Institute for Medical Biology, Hubei Provincial Key Laboratory for Protection and Application of Special Plants in Wuling Area of China, Wuhan 430074, Hubei China)

Abstract To investigate the therapeutic effect of S100A9 recombinant *Bacillus subtilis* on asthma, the effects and optimal dosage of S100A9 recombinant *Bacillus subtilis* was explored using the OVA-induced asthmatic mouse from the molecular expression and pathological levels. Compared with the groups of asthma and vector control, the low-dose recombinant bacteria group (1.02×10^7 CFU/mL) showed a significant reduction in actions of wheezing and arching back, an increase in body weight, and a reduction in lung coefficients; compared with the low-dose, the effects were weaker in the medium-dose-treated group (1.18×10^8 CFU/mL) and the high-dose-treated group (1.25×10^9 CFU/mL); pathological sections showed a significant reduction of inflammatory cells infiltration in the airways, and a reduction of thickness of the bronchial tubes ($P<0.05$); and the expressions of IL-5, IL-6, and IL-13 were significantly decreased in the lung tissues; the mRNA levels of *Muc5ac* and *Muc5b* were also significantly reduced ($P<0.05$); the levels of IL-6 and TNF-α in the serum of mice in the low-dose recombinant bacteria-treated group was significantly reduced; the content of SOD and CAT enzymes in the lung tissues were increased, and there was a significant recovery of the MDA indexes; the number of

收稿日期 2025-07-18

* **通信作者** 彭勇波(1980-),男,教授,博士,研究方向:疾病相关基因功能研究, E-mail:30952054@qq.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(31371307);中南民族大学研究生教育教学研究项目(YJS22117);动物胚胎工程及分子育种湖北省重点实验室开放课题资助项目(KLAEMB-2024-01)

eosinophils in the alveolar lavage fluid was significantly reduced (P<0.05). The above results indicated that low-dose S100A9 recombinant *Bacillus subtilis* had a better treating effects on asthma.

Keywords　S100A9; asthma; *Bacillus subtilis*; inflammation of the airways

哮喘是一种常见的异质性疾病，气道炎症及其引起的气道重塑、气道高反应性是哮喘的主要病理特征，其中炎症在哮喘病理发生中起关键作用. 使用吸入性皮质类固醇(ICS)进行适当治疗能控制患者气道炎症等症状，但对重度哮喘患控制作用有限[1]. 因此，找寻新的治疗哮喘药物是哮喘治疗亟待解决的问题之一[2-4].

研究表明S100A9蛋白在炎症信号转导中发挥多重作用，且本课题组前期研究发现敲除*S100A9*基因后哮喘小鼠炎症加剧，提示小鼠*S100A9*基因可能在哮喘疾病发生中有发挥保护作用[5]. 其他研究也表明适当水平的S100A9蛋白可发挥抗炎功能[6]，但高效获得有生物活性的S100A9蛋白是开展其功能研究和疾病防治应用的关键.

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, *B. subtilis*)是一种非致病性并被广泛应用于食品工业的一种表达外源蛋白的理想菌株，已有研究报道指出它对哮喘炎症具有一定的潜在治疗保护作用[7]，为高效生产重组蛋白S100A9奠定了坚实的基础[8]. 基于此，本项目前期成功构建了重组表达S100A9蛋白的枯草芽孢杆菌菌株，并在蛋白和细胞水平证明其生物学活性[9].

本研究将重组表达小鼠S100A9的枯草芽胞杆菌灌胃OVA诱导的哮喘小鼠，并在基因、蛋白和病理等水平分析其对哮喘的治疗作用，为阐明S100A9对哮喘调控作用和基于芽胞杆菌表达系统的哮喘防治药物研究提供新的思路.

1　材料与方法

1.1　实验材料

采用6~8周龄的SPF级雄性BALB/C小鼠，每只小鼠体重基数保持差异在0.5 g，实验鼠均构自湖北武汉疾病预防控制中心，饲养在中南民族大学实验动物中心，符合中南民族大学实验动物伦理学规定. 枯草芽孢杆菌WB800N由华中农业大学农业微生物国家重点实验室张安定教授课题组馈赠，重组芽孢杆菌由本课题组构建[8].

1.2　主要试剂

胎牛血清、双抗青霉素-链霉素(德国PAN)；DMEM(美国Gibco)；LPS(美国Sigma)；酵母粉、蛋白胨、瑞氏-姬姆萨染液、5×SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(上海碧云天)；qPCR SYBR® Green Master Mix(武汉爱博泰克)；水解酪蛋白(北京索莱宝)；NF-κB p65、P-NF-κB p65、β-actin Rabbit mAb(美国Cell Signaling Technology).

总RNA快速提取试剂盒、反转录试剂盒(上海翌圣生物)；质粒提取试剂盒(北京康威世纪)；CAT测定试剂盒(上海碧云天)；超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(上海晶抗生物)；Mouse TNF-α Precoated ELISA kit、Mouse IL-6 Precoated ELISA kit(武汉爱博泰克).

1.3　哮喘小鼠模型制备

选用6~8周龄的BALB/C小鼠，参照文献方法，利用OVA构建哮喘模型[5]. 小鼠随机分为对照组(Control)、哮喘组(Asthma)、药物治疗组(DEX)、空载低剂量枯草芽孢杆菌组(pHT43-L)、空载中剂量枯草芽孢杆菌组(pHT43-M)、空载高剂量枯草芽孢杆菌组(pHT43-H)、低剂量(pHT43-S100A9-L)、中剂量(pHT43-S100A9-M)、高剂量(pHT43-S100A9-H)重组枯草芽孢杆菌组，每组小鼠6只. 其中低、中、高剂量菌株浓度为分别为1.02×10^7 CFU/mL、1.18×10^8 CFU/mL、1.25×10^9 CFU/mL. 在OVA致敏和滴鼻激发后第24天，灌胃药物或芽胞杆菌7 d后，处死小鼠.

1.4　枯草芽孢杆菌胃肠道抗逆性评价

枯草芽孢杆菌WB800N接种于液体Cm^+ 2XYT培养基中，37 ℃培养18 h，调整枯草芽孢杆菌浓度至10^9 CFU/mL后，5000 r/min离心收集菌体，并加入PBS重悬2次. 此后，将枯草芽孢杆菌等体积重悬于人工模拟胃肠液GJ(pH 2.5)中，培养3 h；然后，取GJ培养处理的菌液1 mL加入9 mL的十二指肠模拟液DJ(pH 5.0)中，培养2 h；最后，取DJ处理的菌液1 mL加入9 mL模拟肠液IJ(pH 8.0)中，培养8 h. 分别取上述等体积和浓度的不同消化液处理菌液和未处理的菌液，用平板菌落计数法测定活菌数，每个处理重复3次.

枯草芽孢杆菌对肠上皮细胞的黏附能力分析按如下方法进行. 将PBS清洗后的枯草芽孢杆菌以10^9 CFU/mL重悬于无血清和双抗的DMEM培养基. 取1 mL含枯草芽孢杆菌的DMEM加入到含Caco-2

细胞培养24 h后的6孔板中(按10^5个/孔接种)共培养2 h后,用PBS清洗细胞6次,将细胞经甲醇固定后对黏附在细胞的枯草芽孢杆菌进行革兰氏染色,显微镜下每组随机选取3个不同视野进行细胞和枯草芽孢杆菌计数.

1.5 哮喘小鼠肺组织形态和病理切片分析

BALB/C雄性实验小鼠称重后CO_2麻醉并断颈处死小鼠,取完整的肺组织,在预冷的PBS洗去血渍并用吸水纸吸干水分后拍照并称重.观察比较各组肺组织肿胀程度和病变程度,并计算肺系数(小鼠肺组织重量/小鼠体重).随后,将左肺剪下放入4%多聚甲醛室温固定48 h后,委托博尔夫生物科技公司完成后续切片和染色.取小鼠肺组织,冻存于液氮,用于后续提取总RNA.

1.6 Real-time PCR检测炎症因子的表达

利用试剂盒提取总RNA,并采用相对定量方法检测相关基因相对表达水平.其中RNA反转录、Real-time PCR及数据分析参考李婷等的论文[8],引物序列见表1.

表1 RT-PCR涉及的引物序列

Tab. 1 Primers used for RT-PCR

基因	引物序列	产物长度/bp
IL-12	F: 5′-ACAGATGACATGGTGGAAGACG-3′ R: 5′-TCGTTCTTGTGTAGTTCCAGT-3′	140
IL-10	F: 5′-AGCCGGAAAGACAATAACTG-3′ R: 5′-GGAGTCGGTTAGCAGTATGTTG-3′	138
iNOS	F: 5′-CCGAAGCAAACATCACATTCA-3′ R: 5′-GGTCTAAAGGCTCCGGGCT-3′	101
IL-5	F: 5′-CGTCACCCGAGCTCTGTTG-3′ R: 5′-CCAATGCATAGCTGGTGATTTTT-3′	81
IL-13	F: 5′-CACACAAGACCAGACTCCCC-3′ R: 5′-CCAGGGATGGTCTCTCCTCA-3′	288
Muc5ac	F: 5′-ATGGGCTGTGTTCCGTGTGC-3′ R: 5′-CAGAACATGTGTTGGTGTGCAGTC-3′	102
Muc5b	F: 5′-CTGGTTTCCCGTCTCAAAA-3′ R: 5′-CAACTCCTTTGGCAGCACAC-3′	176
Keap1	F: 5′-CATCGGCATCGCCAACTTC-3′ R: 5′-ACCAGTTGGCAGTGGGACAG-3′	135
Nrf2	F: 5′-CCCAGCAGGACATGGATTGA-3′ R: 5′-AGCTAATAGTCCTTCTGTCGC-3′	106
HO-1	F: 5′-GTGACAGAAGAGGCIAAGACCG-3′ R: 5′-ACAGGAAGCTGAGAGTGAGGAC-3′	241
IL-6	F: 5′-TTCCATCCAGTTGCCTTCTT-3′ R: 5′-ATTTCCACGATTTCCCAAGAG-3′	170
TNF-α	F: 5′-CTTCTGTCTACTGAACCTCGGG-3′ R: 5′-CAGGCTTGTCACTCGAATTTTG-3′	134
β-actin	F: 5′-AGAGGAAATCGTGCCTGAC-3′ R: 5′-CAATAGTGATGACCTGGCCGT-3′	137

1.7 小鼠肺组织氧化应激指标检测

按组织样本质量(g):PBS体积(mL)为1∶9的比例,于冰浴将组织匀浆,8000 r/min 4 ℃离心10 min,取上清置冰上,即制备10%组织上清液待测.分别利用南京建成生物的总超氧化物歧化酶(T-SOD)测定试剂盒(WST-1法)、过氧化氢酶(CAT)测定试剂盒(可见光法)、丙二醛(MDA)测定试剂盒(TBA法)按照试剂盒说明测定肺组织中SOD、CAT及MDA含量.

1.8 哮喘小鼠肺泡灌洗液炎症细胞分类计数

小鼠断颈处死后置于解剖板上,剪开颈部及胸部的皮肤和肌肉,暴露气管和肺,在气管上剪出"T"型小口,插入导管,用1.0 mL预冷的生理盐水来回抽吸,重复3次.通过结晶紫染色对小鼠肺泡灌洗液收集到的细胞进行染色,并利用血细胞计数法进行计数.另外,根据碧云天吉姆萨染色说明书方法对细胞其进行染色和分类计数.

1.9 数据统计分析

应用SPSS18.0软件对实验数据进行统计分析,统计结果用"平均值±标准差"表示,两组间差异显著性检验采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析.所有实验至少重复3次,以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 枯草芽孢杆菌对胃肠道环境的适应性评估

前期研究发现S100A9在哮喘肺组织中高表达[5],并成功构建了S100A9重组芽孢杆菌[8].为进一步检测重组表达S100A9枯草芽孢杆菌的对哮喘的干预效果,首先对重组菌株在肠道的存活能力通过体外模拟胃肠环境进行了检测.结果表明在人工模拟的胃肠道环境中,*B. subtilis* WB800N重组菌在模拟胃液(pH 2.5)及模拟十二指肠液(pH 5.0)和模拟肠液(pH 8.0)的存活率分别达到了84.24%±0.5%、58.36%±0.1%和45.56%±0.5%,对胃肠道环境具有一定可耐受性.而Caco-2细胞与重组菌体外黏附实验结果显示Caco-2细胞与重组菌的黏附率达到25±8.0个/cell的水平,能在肠道定值.上述研究结果表明S100A9重组菌可用于后续作为哮喘模型小鼠的灌胃实验.

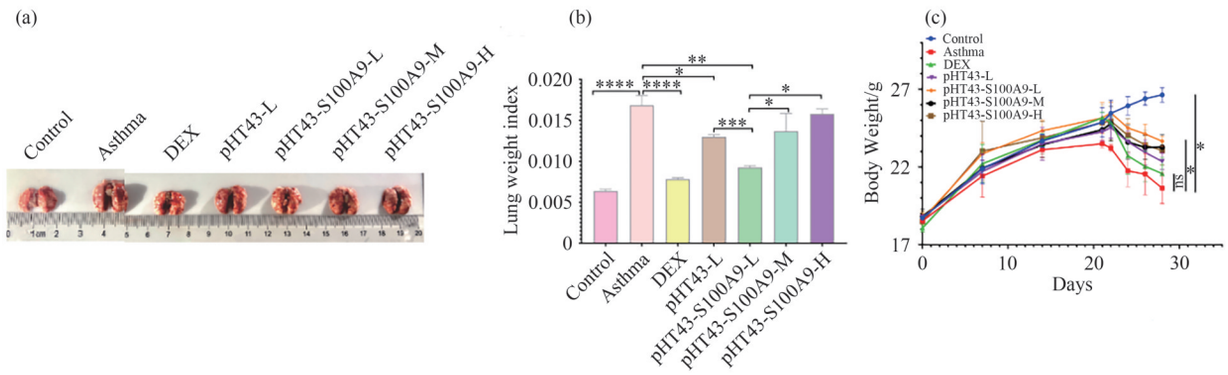
2.2 S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠行为症状的影响

与正常对照组小鼠比较,哮喘组小鼠在OVA激发后,出现抓挠头面部的次数明显增多,且呼吸急

促等哮喘症状明显．S100A9重组菌干预组与哮喘组小鼠比较，虽同样存在抓脸挠鼻等症状，但小鼠胡须断折程度、小鼠抓挠频率明显减少．上述结果表明采用S100A9重组枯草芽孢杆菌干预能缓解经OVA激发的哮喘小鼠出现的异常行为症状．

2.3　S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠肺组织形态的影响

比较低、中、高等不同剂量的S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘的干预效果，结果表明（图1），与哮喘组相比，低剂量的重组枯草芽孢杆菌处理组小鼠的肺肿胀明显减轻，且肺组织系数明显减小（$P<0.01$）．与空载菌和高剂量的S100A9重组菌比较，低剂量的S100A9重组菌处理哮喘小鼠组的肺组织系数也明显降低（$P<0.001$）、小鼠体重显著增加（$P<0.05$）．这表明低剂量S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠的干预效果较高剂量组更显著．



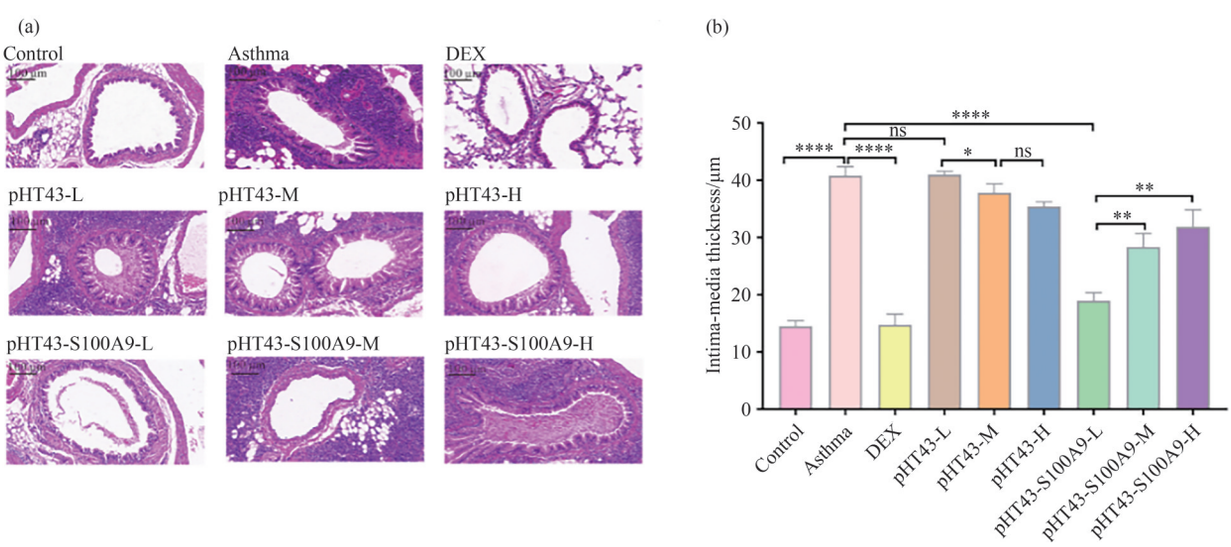
n=6，*P<0.05；**P<0.01；***P<0.001；****P<0.0001．

（a）哮喘小鼠肺形态图；（b）小鼠肺系数统计结果图；（c）小鼠体重数据变化统计结果图

图1　S100A9重组菌干预对哮喘小鼠肺组织形态、肺系数、体重的影响

Fig. 1　Impacts of pHT43-S100A9/*B. subtilis* WB800N on morphological，coefficient of lung and body weight index in asthmatic mice

HE染色结果表明（图2），与Control组小鼠比较，哮喘组小鼠气道壁增厚、发生气道重塑和严重炎性细胞浸润；而与哮喘组相比，低剂量S100A9重组枯草芽孢杆菌处理组小鼠肺部支气管内壁厚度明显减小（$P<0.0001$）．



*P<0.05；**P<0.01；***P<0.001；****P<0.0001，n=3．

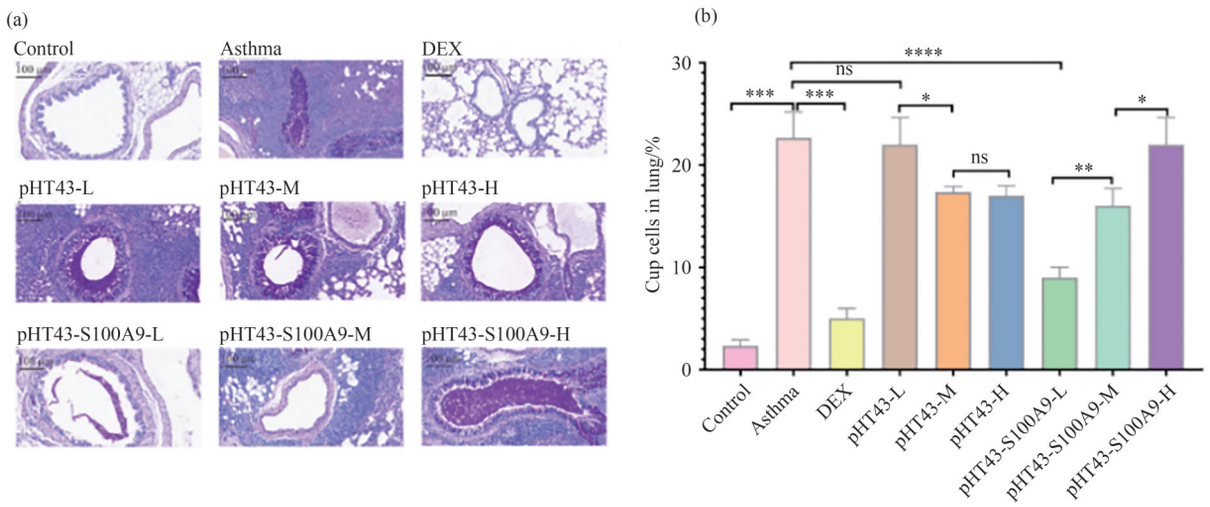
（a）哮喘小鼠肺组织病理学切片HE染色，100 μm比例尺下拍照观察；（b）肺组织气道内壁厚度统计结果

图2　S100A9重组菌干预对哮喘小鼠肺组织病理变化的影响

Fig. 2　HE staining of lung histopathological sections of asthmatic mice

对肺组织杯状细胞的PAS染色结果表明：如图3所示，与Control组相比，哮喘组小鼠肺组织粘液分泌量显著增多，杯状细胞增生明显；而低剂量重组枯草芽孢杆菌干预处理后，与哮喘组相比，其肺泡结构相对完整，肺组织杯状细胞数量显著减少（$P<0.001$）．这进一步提示低剂量S100A9重组菌对哮喘

病理改变有显著干预作用.因此,在后续分析S100A9重组菌对哮喘干预作用机制的实验中仅使用低剂量的S100A9重组菌开展相关试验.



n=3, *P<0.05;**P<0.01;***P<0.001;****P<0.0001.

(a)哮喘模型小鼠肺组织PAS染色,100 μm比例尺下;(b)肺组织杯状细胞数统计图

图3 哮喘小鼠气管组织病理切片的PAS染色

Fig. 3 PAS staining of lung histopathological sections of asthmatic mice

2.4 S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠炎症的影响

为进一步确定S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠的干预效果,利用ELISA检测了小鼠血清炎症相关因子的变化情况.结果表明:与哮喘组小鼠比较,低剂量S100A9重组枯草芽孢杆菌处理后,小鼠血清中TNF-α、IL-6水平显著性降低(图4(a)和(b));qPCR结果也表明,与哮喘组相比,低剂量S100A9重组枯草芽孢杆菌处理后,肺组织促炎相关因子IL-5、IL-6、IL-13的表达显著降低(P<0.01),抑炎因子IL-10 mRNA的表达显著升高(P<0.01)(图4(c)-(f));对肺泡灌洗液中炎症细胞计数统计结果也表明,与哮喘组相比,S100A9重组枯草芽孢杆菌组小鼠肺泡灌洗液中细胞总数和噬酸性粒细胞数均显著下降(图4(g)-(h)).对炎症相关信号通路蛋白PI3K、AKT、ERK与NF-κB等表达水平的检测结果也表明低剂量S100A9重组菌可显著性降低哮喘小鼠肺组织中PI3K蛋白水平及AKT、ERK与NF-κB等蛋白的磷酸化水平(P<0.01)(图4(i)-(m)).上述结果表明低剂量S100A9重组菌可能通过影响炎症相关信号通路蛋白表达和磷酸化及炎症细胞的水平,从而对哮喘气道炎症发挥了显著的干预作用.

2.5 S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠肺组织黏液蛋白表达的影响

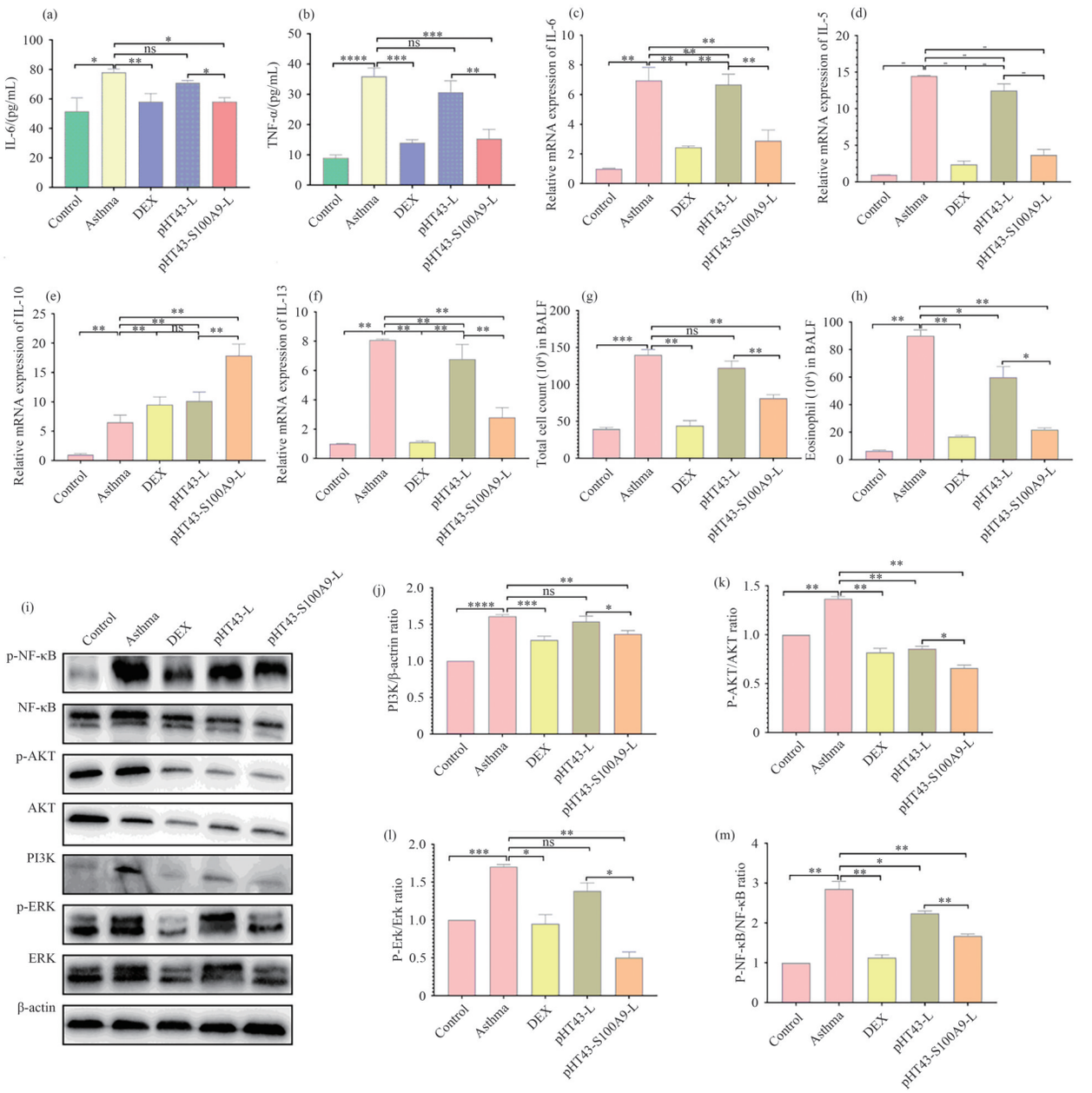
哮喘气道和肺部炎症会引起呼吸道黏液分泌量的增加.对哮喘小鼠肺组织黏液蛋白基因*MUC5ac*和*MUC5b*表达水平的检测结果表明:与哮喘组相比(图5),低剂量S100A9重组枯草芽孢杆菌干预后,小鼠肺组织*MUC5ac*和*MUC5b*的表达有较明显降低(P<0.001).

2.6 重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠肺组织氧化应激的影响

哮喘肺部炎症也可引起肺组织氧化损伤的增加,为进一步明确S100A9重组芽孢杆菌对哮喘的干预作用,对氧化应激相关指标进行检测结果表明(图6):哮喘小鼠肺组织中SOD和CAT酶含量显著下降,MDA含量上升,空载芽孢杆菌株干预显著增加了SOD酶和CAT酶的含量(P<0.01),与枯草芽孢杆菌干预具有抗氧化作用的报道一致;与空载菌株处理相比,低剂量S100A9重组菌干预能进一步增加SOD和CAT水平;qPCR及WB对氧化应激相关因子基因和蛋白的检测结果也显示S100A9重组枯草芽孢杆菌干预能显著增加小鼠肺组织抗氧化相关基因*Nrf2*和*HO-1*的表达水平(P<0.001),而抗氧化负调控因子*Keap 1*的表达著降低(P<0.0001).上述结果进一步证实了S100A9重组菌株增强了枯草芽胞杆菌对哮喘气道抗氧化作用,从而在缓解哮喘肺部炎症中发挥作用.

3 讨论

哮喘是一种慢性气道炎症性疾病,长期慢性炎症及其引起的气道重塑和气道高反应性是其主要



n=6，*：P<0.05；**：P<0.01；***：P<0.001；****：P<0.0001.

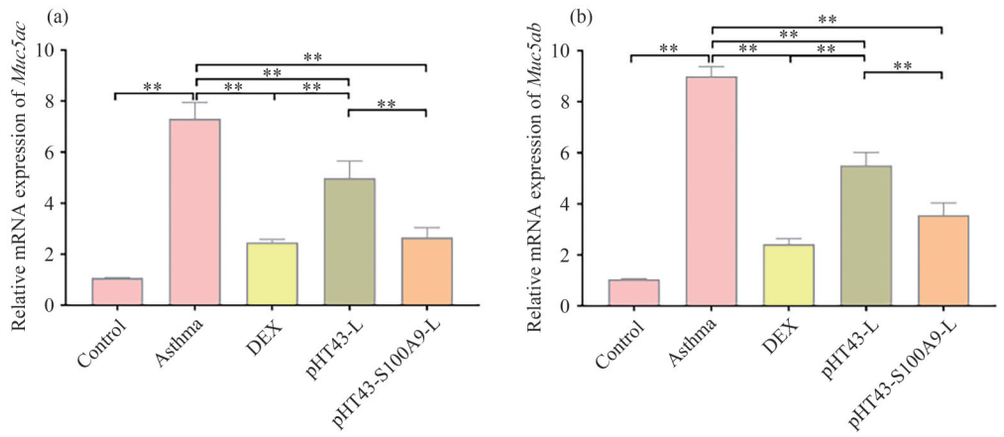
(a)-(b)ELISA检测小鼠血清中TNF-α、IL-6表达水平；(c)-(f)qPCR检测小鼠肺组织中炎症因子相关基因的表达；(g)-(h)肺泡灌洗液中不同炎症细胞数量统计结果图；(i)-(m)为WB检测小鼠肺组织中炎症相关蛋白的表达

图4　S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠肺组织炎症因子表达水平的影响

Fig. 4　Impacts of pHT43-S100A9-L/*B. subtilis* on the expression of inflammation related genes in the lung tissue of asthmatic mice

病理特征，其发病机制主要是炎症细胞释放多种细胞因子、趋化因子和其他炎性介质导致肺组织炎性细胞浸润、气道重塑、以及TH1/TH2细胞比例失衡[10-11]. 嗜酸性粒细胞性哮喘是哮喘的主要类型之一，以气道嗜酸性粒细胞数增多为主要特征，由Th2型细胞分泌的IL-5、IL-9和IL-13等细胞因子促进Th2表型及嗜酸性粒细胞的动员、成熟、激活等引起[12-13].

研究表明S100A9在哮喘小鼠肺组织中的表达显著上调[5]，通过调节适应性免疫应答能防止Th2介导的小鼠过敏性气道炎症的发生[10]. 在OVA激发的大鼠哮喘中的研究也显示外源S100A9重组蛋白的干预能显著降低气道阻力和抑制离体气管环的收缩[14]，对哮喘疾病具有保护作用. 同时，不同研究均显示益生菌能部分缓解哮喘炎症的发生[15-16]. 枯草芽孢杆菌是目前被广泛使用的一种表达外源蛋白的WB800N益生菌菌株，能否将枯草芽孢杆菌和S100A9蛋白对哮喘及其炎症等的调控作用结合起来，并探讨其对哮喘的干预效果.

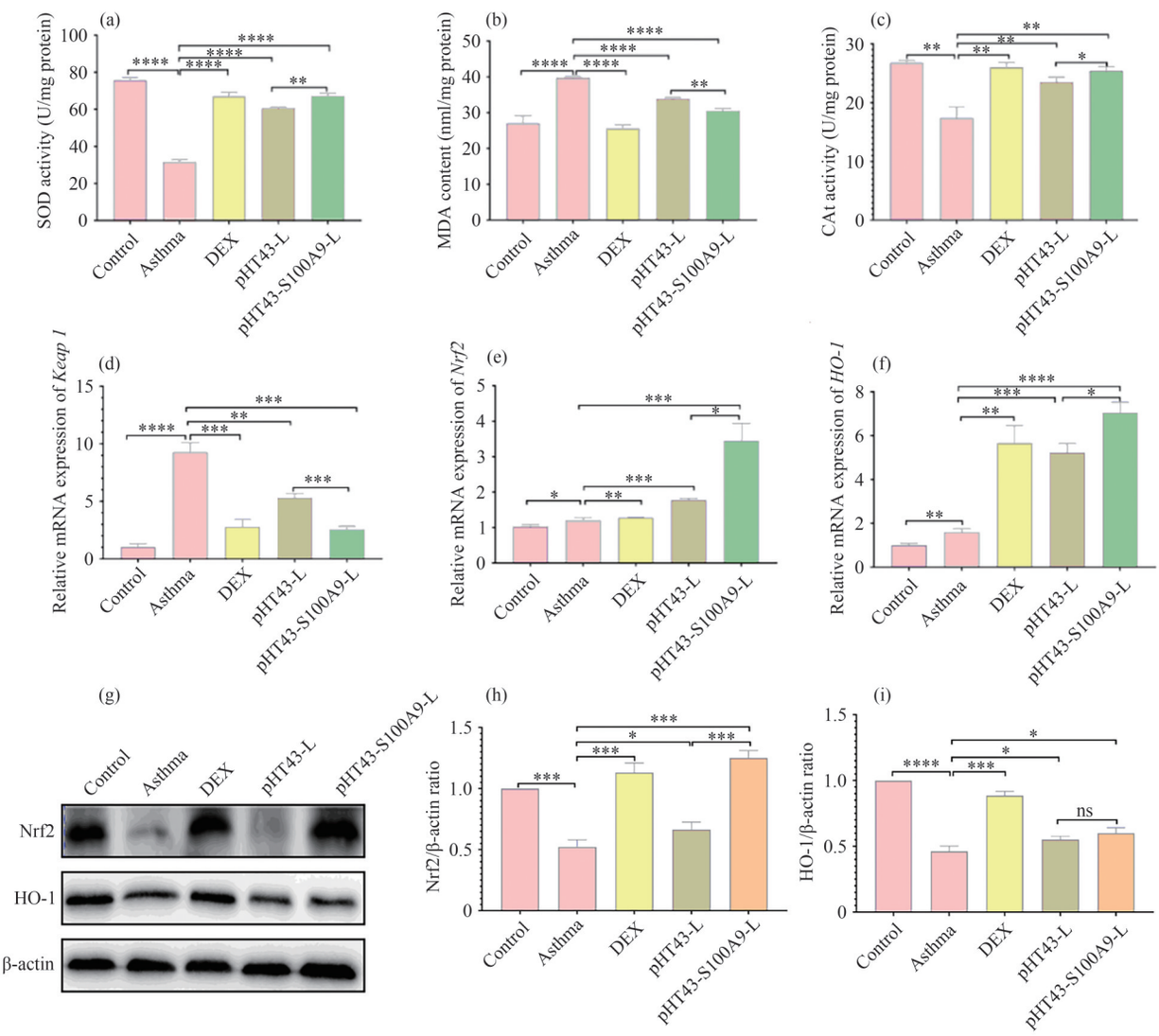


*:P<0.05; **:P<0.01; ***:P<0.001; ****:P<0.0001, n = 6,

(a) S100A9重组菌对哮喘小鼠肺组织*Muc5ac*表达的影响;(b) S100A9重组菌对哮喘小鼠肺组织*MUC5b*表达的影响

图5 S100A9重组枯草芽孢杆菌对 哮喘小鼠肺组织粘液蛋白基因表达的影响

Fig. 5 Impacts of pHT43-S100A9-L/*B. subtilis* on the expression of *Muc5ac and MUC5b* in lung tissue of asthmatic mice



n=6, *:P<0.05;**:P<0.01;***:P<0.001;****:P<0.0001.

(a)-(c)氧化应激相关指标检测;(d)-(f)qPCR检测氧化应激相关因子表达水平;(g)-(i)WB检测氧化应激相关因子

图6 S100A9重组枯草芽孢杆菌对哮喘小鼠肺组织氧化应激相关指标影响

Fig. 6 Impacts of pHT43-S100A9-L/*B. subtilis* on oxidative stress related markers in the lung tissue of asthmatic mice

S100A9在肠炎、类风湿性关节炎和哮喘等炎症性疾病中表达上调[17]，不同水平的S100A9表达对疾病发生发展具有不同的调控作用[18]. 在前期研究中，构建了能分泌表达外源蛋白S100A9的重组菌株，并通过体外实验证实了重组表达S100A9蛋白的枯草芽孢杆菌能调控炎症细胞的应答，这为本研究利用枯草芽孢杆菌作为外源S100A9蛋白递送载体奠定了基础. 本研究结果也显示低剂量S100A9重组枯草芽孢杆菌灌胃哮喘小鼠后肺组织促炎相关因子IL-5、IL-6、IL-13的表达降低，抑炎因子IL-10表达量升高，这与相关报道结果一致[1,14]. 同时，肺组织病理切片、黏液相关蛋白基因的表达分析及炎症相关通路关键调控因子蛋白表达水平也证明了低水平的S100A9重组芽孢杆菌的干预显著缓解哮喘炎症发生.

本研究通过低剂量水平S100A9蛋白的重组枯草芽孢菌株干预哮喘小鼠，从病理切片、炎症因子基因表达与分泌、炎症信号通路关键蛋白表达、黏液蛋白及氧化应激等不同角度证实了其对哮喘的缓解作用，为哮喘疾病的治疗药物开发提供了新的参考.

参 考 文 献

[1] Skolnik N S, Carnahan S P. Primary care of asthma: New options for severe eosinophilic asthma [J]. Current Medical Research and Opinion, 2019, 35(7): 1309-1318.

[2] Maselli D J, Peters J I. Medication regimens for managing acute asthma [J]. Respiratory Care, 2018, 63(6): 783-796.

[3] Thepfani E, Tsitsopoulou A, Morianos I, et al. Severe asthmatic responses: The impact of TSLP [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(8): 7581.

[4] 沈金花，张梦菲，乐艳玲，等. 雪茶乙醇提取物缓解哮喘症状的作用机理[J]. 中南民族大学学报(自然科学版)，2023，42(5)：609-619.

[5] 严珮，梁大焱，许文豪，等. CRISPR/Cas9技术制备S100A9基因编辑小鼠及表型研究[J]. 生理学报，2021，73(3)：482-490.

[6] Wang S, Song R, Wang Z, et al. S100A8/A9 in inflammation [J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 1298.

[7] Li R, Kou X, Tian J, et al. Effect of sulfur dioxide on inflammatory and immune regulation in asthmatic rats [J]. Chemosphere, 2014, 112: 296-304.

[8] 李婷，李甜甜，丁明玲，等. 小鼠S100A9蛋白在枯草芽孢杆菌中的表达及生物学活性分析[J]. 中南民族大学学报(自然科学版)，2025，44(1)：36-42.

[9] Seo S O, Schemidt-Dannert C. Development of a synthetic cumate-inducible gene expression system for *Bacillus* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(1): 303-313.

[10] Holgate S T. Innate and adaptive immune responses in asthma [J]. Nature Medicine, 2012, 18(5): 673-683.

[11] Licona-Limón P, Kim L K, Palm N W, et al. TH2, allergy and group 2 innate lymphoid cells [J]. Nature Immunology, 2013, 14(6): 536-542.

[12] Page C, O'Shaughnessy B, Barnes P. Pathogenesis of COPD and asthma [M]//Pharmacology and Therapeutics of Asthma and COPD. Cham: Springer International Publishing, 2016: 1-21.

[13] Yang T, Li Y, Lyu Z, et al. Characteristics of proinflammatory cytokines and chemokines in airways of asthmatics: Relationships with disease severity and infiltration of inflammatory cells [J]. Chinese Medical Journal, 2017, 130(17): 2033-2040.

[14] Yin L M, Li H Y, Zhang Q H, et al. Effects of S100A9 in a rat model of asthma and in isolated tracheal spirals [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010, 398(3): 547-552.

[15] Song X L, Liang J, Lin S Z, et al. Gut-lung axis and asthma: A historical review on mechanism and future perspective [J]. Clinical and Translational Allergy, 2024, 14(5): e12356.

[16] Hufnagl K, Pali-Schöll I, Roth-Walter F, et al. Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma [J]. Seminars in Immunopathology, 2020, 42(1): 75-93.

[17] Mellor L F, Gago-Lopez N, Bakiri L, et al. Keratinocyte-derived S100A9 modulates neutrophil infiltration and affects psoriasis-like skin and joint disease [J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2022, 81(10): 1400-1408.

[18] Thorey I S, Roth J, Regenbogen J, et al. The Ca^{2+}-binding proteins S100A8 and S100A9 are encoded by novel injury-regulated genes [J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(38): 35818-35825.

(责编&校对　姚春娜)