



空军军医大学学报

Journal of Air Force Medical University

ISSN 2097-1656, CN 61-1526/R

《空军军医大学学报》网络首发论文

题目： 己酮可可碱调控芳烃受体减轻氯气诱导的急性肺损伤的作用研究
作者： 王曹赞, 赵晨茜, 陈潇湘, 花福增, 刘瑞, 于卫华, 海春旭, 张晓迪
收稿日期： 2025-12-31
网络首发日期： 2026-04-15
引用格式： 王曹赞, 赵晨茜, 陈潇湘, 花福增, 刘瑞, 于卫华, 海春旭, 张晓迪. 己酮可可碱调控芳烃受体减轻氯气诱导的急性肺损伤的作用研究[J/OL]. 空军军医大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/61.1526.R.20260414.1812.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

• 军事预防医学专题 •

己酮可可碱调控芳烃受体减轻氯气诱导的急性肺损伤的作用研究

王曹赞, 赵晨茜, 陈潇湘, 花福增, 刘 瑞, 于卫华, 海春旭, 张晓迪

(空军军医大学军事预防医学系军事毒理学与防化医学教研室, 陕西省自由基生物学与医学重点实验室, 陕西省环境健康危害与防护重点实验室, 教育部特殊作业环境危害评估与防治重点实验室, 陕西 西安 710032)

[摘要] **目的** 探讨己酮可可碱 (PTX) 是否通过调控芳烃受体 (Ahr) 通路, 对氯气诱导的急性肺损伤 (ALI) 发挥保护作用。**方法** 雄性 BALB/c 小鼠 6 只, 随机分为对照组和氯气组 (400 μ L/L 氯气染毒 15 min)。取小鼠肺组织制备单细胞悬液, 进行单细胞转录组测序, 采用 PCA 和 UMAP 聚类法将细胞分组, marker 基因确定细胞类型, SCENIC 分析推断上皮细胞转录因子差异表达, 对 *Ahr* 和 *CYP1A1* 基因进行组间可视化分析。40 只雄性 BALB/c 小鼠随机分为对照组、氯气组, 氯气+PTX 组和 PTX 组, 给药组腹腔注射 PTX (50 mg/kg), 非给药组给予等量生理盐水。3 h 后进行肺功能检测, 采用 HE 染色观察肺病理损伤程度, ELISA 检测肺组织中 CYP1A1 活性, 采用免疫组织化学法和 Western blotting 观察肺组织中 Ahr、CYP1A1、IL-6、Occludin 的含量变化。**结果** 氯气损伤后, HE 结果显示肺组织发生实变, 肺泡腔有水肿液渗出, SCENIC 分析发现小鼠肺上皮细胞中 Ahr 水平升高, 进一步基因可视化提示 *Ahr* 和 *CYP1A1* 基因表达呈相关性变化。PTX 可使 Ahr 和 IL-6 蛋白含量显著下降 ($P<0.05$), Occludin 蛋白含量显著升高 ($P<0.05$)。肺功能检测分析发现, PTX 干预可使小鼠呼吸频率升高, 呼吸暂停时间缩短, 呼吸峰值时间比率升高, 肺功能显著改善 ($P<0.05$)。**结论** Ahr 及其相关信号通路在氯气暴露引起的 ALI 中发挥重要作用。PTX 可能通过干预 Ahr, 减轻肺部炎症反应、改善屏障功能, 保护氯气引起的 ALI。

[关键词] 氯气; 急性肺损伤; 己酮可可碱; 芳烃受体; 炎症反应; 肺屏障功能; 单细胞测序; 小鼠

Pentoxifylline alleviates chlorine-induced acute lung injury by regulating aryl hydrocarbon receptor

WANG Caozan, ZHAO Chenqian, CHEN Xiaoxiang, HUA Fuzeng, LIU Rui,

YU Weihua, HAI Chunxu, ZHANG Xiaodi

(Department of Military Toxicology and Chemical Defense Medicine, Shaanxi Provincial Key Laboratory of Free Radical Biology and Medicine, Shaanxi Provincial Key Laboratory of Environmental Health Hazard Assessment and Protection, Ministry of Education Key Laboratory of Hazard Assessment and Control in Special Operational Environment, School of Military Preventive Medicine, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate whether pentoxifylline (PTX) exerts a protective effect on chlorine-induced acute lung injury (ALI) by regulating the aryl hydrocarbon receptor (Ahr)

基金项目: 国家自然科学基金 (82574143); 空军军医大学军事医学与航空医学重大问题科技攻关项目 (2023JSYX21)

作者简介: 王曹赞, 硕士研究生, 从事自由基毒理学研究, E-mail:wangcaozan@163.com

通信作者: 张晓迪, E-mail:zhangxiaodi@fmmu.edu.cn

pathway. **Methods** Six male BALB/c mice were randomly divided into a control group and a chlorine group (exposed to 400 $\mu\text{L/L}$ chlorine for 15 min). Lung tissues were harvested from the mice to prepare single-cell suspensions for single-cell RNA sequencing. PCA and UMAP clustering methods were used to group the cells, marker genes were used to identify cell types, and SCENIC analysis was used to infer differential expression of epithelial cell transcription factors. Inter-group visualization analysis was performed on *Ahr* and *CYP1A1* genes. Forty male BALB/c mice were randomly divided into a control group, a chlorine group, a chlorine + PTX group, and a PTX group. The treated group received intraperitoneal injection of PTX (50 mg/kg), while the non-treated group received an equal amount of saline. After 3 h, lung function tests were performed, the degree of pathological damage in the lungs was observed using HE staining, and the activity of CYP1A1 in lung tissues was measured by ELISA. Immunohistochemistry and Western blotting were used to observe the changes in the levels of Ahr, CYP1A1, IL-6, and Occludin in lung tissues. **Results** After chlorine injury, HE staining showed consolidation of lung tissue and edema fluid exudation in the alveolar space. SCENIC analysis revealed increased Ahr levels in mouse lung epithelial cells, and further gene visualization suggested a correlated change in the expression of *Ahr* and *CYP1A1* genes. PTX significantly decreased the protein levels of Ahr and IL-6 ($P<0.05$) and significantly increased the protein level of Occludin ($P<0.05$). Lung function tests showed that PTX intervention increased the respiratory rate of mice, shortened the apnea time, increased the peak time ratio, and significantly improved lung function ($P<0.05$). **Conclusion** Ahr and its related signaling pathways play an important role in ALI induced by chlorine exposure. PTX may protect against chlorine-induced ALI by intervening with Ahr and reducing pulmonary inflammatory response and improving barrier function.

[Key words] chlorine; acute lung injury; pentoxifylline; aryl hydrocarbon receptor; inflammatory response; pulmonary barrier function; single-cell sequencing; mouse

氯气作为一种重要的工业原料，广泛应用于化工、水处理、消毒等领域。然而，由于其强氧化性和高反应活性，氯气常因意外暴露导致急性肺损伤（acute lung injury, ALI）、肺水肿、急性呼吸窘迫综合征甚至死亡^[1]。其主要病理表现为肺微血管通透性增加和肺泡-毛细血管屏障破坏。目前，针对氯气致 ALI 的中毒机制不清，临床主要以支持治疗为主，缺乏特效解毒剂或靶向治疗药物。

己酮可可碱（pentoxifylline, PTX）是一种甲基黄嘌呤衍生物和非特异性磷酸二酯酶抑制剂，具有抗炎、抗氧化和免疫调节等作用，常用于改善血管微循环^[2]。有文献报道，PTX 治疗可以减轻 D-半乳糖胺诱导的炎症对大鼠肺部的破坏性影响^[3]。目前 PTX 在 ALI 中也有应用，课题组前期研究发现其对窒息性有毒气体氯气、光气损伤具有一定的保护作用^[4-5]。芳烃受体（aryl hydrocarbon receptor, Ahr）是一种配体激活的转录因子，因其介导二噁英等环境毒物的毒性作用而闻名^[6]。有研究发现，在金黄色葡萄球菌诱导的肺损伤中抑制 Ahr 可减轻血管通透性和炎症反应^[7]。本研究旨在探讨 Ahr 在氯气致 ALI 中的作用，观察其是否可作为干预靶点可能性的同时，探讨 PTX 对 Ahr 的影响及对 ALI 的干预作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠，购自空军军医大学实验动物中心，实验室动物房饲养 5 d 后进行实验。

1.1.2 主要试剂 氯气购自常州市京华气体有限公司，PTX 购自美国 Sigma 公司，一步法 PAGE 凝胶快速制备试剂盒（100 g/L）与无蛋白封闭液购自上海雅梅生物医药科技有限公司，Western 一抗稀释液、HRP 标记二抗羊抗兔 IG、BCA 蛋白定量试剂盒、 β -actin、IL-6、Occludin 和 Ahr 兔多克隆抗体均购自 bioworld 生物科技有限公司，超敏 ECL 发光液购自西安米鼠生物科技有限公司，CYP1A1 活性 ELISA 检测试剂盒购自上海科兴商贸有限公司。

1.1.3 主要实验仪器 全身吸入染毒装置购自天津合普工贸有限公司，高通量组织研磨仪购自新芝生物科技股份有限公司，高速离心机（冷冻）购自美国 Sigma 公司，多功能酶标仪购自瑞士 TECAN 集团公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与氯气染毒模型建立 6 只雄性 BALB/c 小鼠，分为对照组和氯气组，用于单细胞转录组测序（single-cell RNA sequencing, scRNA-seq）。40 只 BALB/c 小鼠，氯气暴露前动物称取体质量后随机分组，分别为对照组、氯气组，氯气+PTX 组和 PTX 组，禁食 12 h，染毒组置于染毒柜中给予 400 μ L/L 氯气处理 15 min^[8]，空白组放入染毒柜通入干净空气 15 min 后取出，染毒完成后立即腹腔注射 PTX（50 mg/kg）或生理盐水 10 μ L/g 体质量，3 h 后取肺组织待测。

1.2.2 肺功能检测 将小鼠放于全身体积描记腔内，盖上遮光布，并确保气密性良好，根据动物种类在电脑程序中选择对应的检测程序，记录 5 min 小鼠呼吸变化，结束后导出数据，以各指标 5 min 测定平均值为最终结果。

1.2.3 HE 染色 将样本在 4 g/L 的多聚甲醛中固定 24 h，由低到高使用不同浓度梯度的乙醇溶液逐级脱水，各级 40 min。置于环保透明剂中，并移入熔融的石蜡内浸渍。将浸蜡的组织块放置在充满熔融石蜡的包埋框内，迅速冷却，变硬后包埋成块。将包埋好的蜡块切片，制作好的切片依次放入二甲苯和 750 mL/L 乙醇中。苏木精染液浸染 3~5 min，盐酸分化，氨水返蓝后用自来水冲洗。切片依次放入 850、950 mL/L 的梯度乙醇脱水，再放入伊红染液中染色 5 min。将染好的切片依次放入不同梯度的无水乙醇和环保透明剂中各 5 min，最后使用中性树胶封片。在显微镜下观察并采集图像。

1.2.4 ELISA （1）研磨肺组织，4 $^{\circ}$ C，5000 g 离心 10 min 后取上清。（2）从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出所需板条。（3）设置标准孔和样本孔，样本孔加待测样 10 μ L，再加样本稀释液 40 μ L。（4）标准孔和样本孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 100 μ L，封孔，37 $^{\circ}$ C 水浴锅温育 60 min。（5）弃去液体，每孔加满洗涤液，静置 1 min，甩去洗涤液，重复洗板 5 次。（6）每孔加入底物 A、B 各 50 μ L，37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min。（7）每孔加入终止液 50 μ L，15 min 内，测定各孔 $A_{450\text{nm}}$ 值。

1.2.5 免疫组织化学 （1）依次将石蜡切片放入二甲苯 I 20 min、二甲苯 II 20 min、二甲苯 III 15 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、850 mL/L 乙醇 5 min、750 mL/L 乙醇 5 min、蒸馏水洗。（2）组织切片置于盛满柠檬酸抗原修复缓冲液或 EDTA 抗原修复缓冲液的微波炉内进行抗原修复，中火、中高火和高火各 5 min。此过程中应防止缓冲液过度蒸发，切勿干片。自然冷却后将玻片置于 PBS 中晃动洗涤浸泡 3 次，每次 5 min。（3）切片放入 33.3 g/L 双氧水溶液，室温避光孵育 25 min，将玻片置于 PBS 中晃动洗涤浸泡 3 次，每次 5 min。

（4）切片稍甩干后用组化笔在组织周围画圈，在组化圈内滴加山羊血清均匀覆盖组织，室温封闭 30 min。（5）轻轻甩掉封闭液，在切片上滴加 PBS 按一定比例配好的一抗，切片平放于湿盒内 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。（6）切片置于 PBS 中晃动洗涤浸泡 3 次，每次 5 min。切片稍甩干后在圈内滴加与一抗相应种属的二抗覆盖组织，室温孵育 50 min。（7）切片置于 PBS

中晃动洗涤浸泡 3 次，每次 5 min。切片稍甩干后在圈内滴加新鲜配制的 DAB 显色液，显微镜下控制显色时间，阳性为棕黄色，自来水冲洗切片终止显色。（8）苏木素复染 5~10 min 左右，自来水漂洗，10 mL/L 盐酸乙醇分化数秒，自来水漂洗，然后 10 mL/L 氨水水溶液返蓝 1 min，自来水漂洗。（9）将切片依次放入 750 mL/L 乙醇 5 min、850 mL/L 乙醇 5 min、无水乙醇 I 5 min、无水乙醇 II 5 min、二甲苯 I 5 min 中脱水透明，将切片从二甲苯拿出来稍晾干，中性树胶封片。

1.2.6 Western blotting （1）蛋白样品的制备：将 RIPI 裂解液、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂按照 100:1:1 的比例进行混合。取小鼠肺组织 30 mg 放于 1.5 mL EP 管中，加入 3 颗钢珠/管，后加入 250 μ L 裂解液，以上所有步骤均在冰上进行。将 EP 管放入高通量组织研磨器中研磨 2~3 次，每次 40~50 s，获得的组织匀浆进行 4 $^{\circ}$ C，12 000 r/min 离心 20 min，取上清液至新 EP 管中。再将上清液离心一遍，取上清液至新 EP 管中。取 2 μ L 上清液进行 BCA 蛋白定量，剩余上清液用于制备蛋白样品。根据测定结果计算出蛋白浓度后，用 RIPI 裂解液稀释至相同浓度，再加入 5 $\times$ loading buffer，混匀后金属浴 98 $^{\circ}$ C，10 min，制备好的样品放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。（2）按照每孔 50 μ g 上样，SDS-PAGE 电泳后将蛋白转至 PVDF 膜，15 mL 快速封闭液中室温封闭 15~20 min。（3）配制一抗和二抗，一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，TBST 洗膜 3 次，每次 10 min，接着室温孵育二抗 1 h，洗膜 3 次。（4）使用凝胶成像系统检测，滴入发光液，条带显现后保存图片并使用 ImageJ 软件进行灰度值分析。

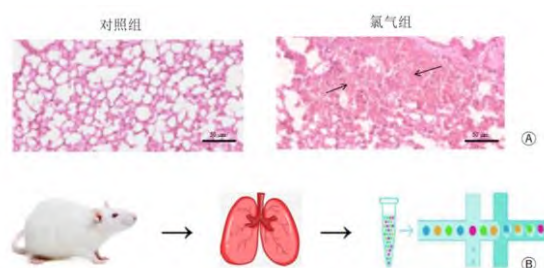
1.2.7 测序数据分析 将两组实验动物肺组织制备成单细胞悬液，进行 scRNA-seq 分析。使用 Fast 质控对原始数据进行质量评估，利用 CellRanger 进行序列比对，生成基因表达矩阵。在聚类分组中，关注肺上皮细胞，使用 SCENIC 分析测序数据推断肺上皮细胞中转录因子差异，并对 *Ahr* 和 *CYP1A1* 基因进行组间可视化分析。

1.2.8 统计学分析 实验数据使用 SPSS 26.0 软件进行处理，两组间比较使用 *t*-test，多组间比较使用 one-way ANOVA 进行统计分析，使用 GraphPad Prism 软件进行绘图，*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氯气损伤模型建立及 scRNA-seq

HE 染色结果可见，对照组肺泡结构清晰、形态规则、肺泡壁薄且连续、细胞分布均匀、间质无异常增厚或浸润，氯气组肺泡间隔明显增厚、部分肺泡腔变形，间质及肺泡腔可见大量炎性细胞聚集，组织整体染色加深，出现水肿和渗出（图 1A）。取出两组小鼠肺组织制成单细胞悬液，进行单细胞转录组检测（图 1B），从正常和对照组中共筛选出 13058 个细胞，其中 5316 个细胞来源于氯气染毒小鼠肺组织，7742 个细胞来源于正常小鼠肺组织。保留 Q30 比例 > 85% 的高质量数据，基因数在 200~6000 的细胞进行下一步实验。



A: HE 染色（标尺为 50 μ m）；B: scRNA-seq 流程。scRNA-seq: 单细胞转录组测序。

图 1 HE 染色与 scRNA-seq 流程

2.2 SCENIC 分析及 Ahr 基因表达可视化观察

课题组前期对上皮细胞测序数据进行 SCENIC 分析发现 *Ahr* 在氯气组中的表达高于对照组，为进一步确认 *Ahr* 基因及其下游分子 *CYP1A1* 基因的表达情况，对氯气组和对照组基因表达量进行了可视化分析显示，小提琴图提示提示氯气损伤后 *Ahr* 基因上调，*CYP1A1* 基因表达相关性升高（图 2）。

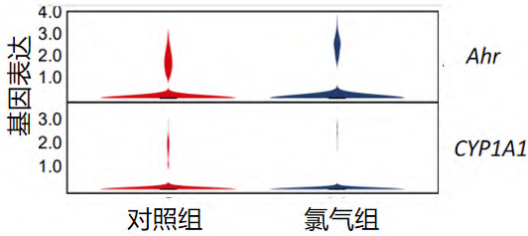
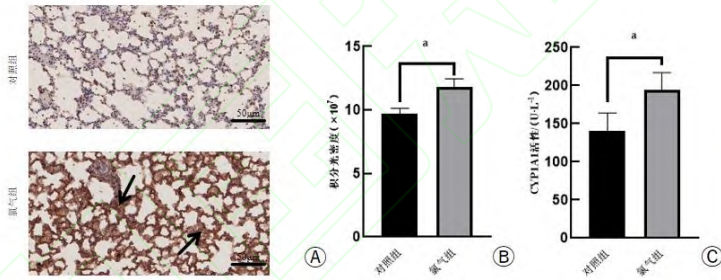


图 2 *Ahr* 和 *CYP1A1* 基因表达可视化

2.3 氯气对小鼠肺组织中 Ahr 通路的影响

对肺组织切片进行了免疫组化染色。结果显示相较于对照组，氯气组中 Ahr 表达水平显著升高（ $P<0.05$ ），且有部分 Ahr 出现在细胞核内（如图中箭头所示）。此外，对照组中 Ahr 表达较弱，仅可见少量的棕色颗粒，氯气组呈现强烈且广泛的棕色染色（图 3A），氯气暴露显著增加了肺组织中 Ahr 蛋白的含量（ $P<0.05$ ，图 3B）。ELISA 结果显示，氯气组肺组织中 CYP1A1 活性升高。

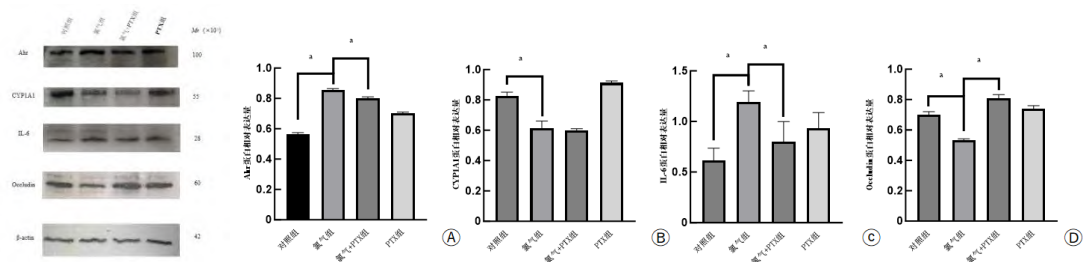


A: 肺组织免疫组化结果（标尺为 50 μm ）；B: 积分光密度；C: 肺组织中 CYP1A1 活性。
Ahr: 芳烃受体。 $n=3$ 。 $^aP<0.05$ 。

图 3 氯气暴露后肺组织 Ahr 通路的变化

2.4 PTX 对小鼠肺组织中 Ahr 的干预作用

与对照组相比，氯气染毒后 Ahr 和促炎因子 IL-6 含量显著升高（ $P<0.05$ ），CYP1A1 与紧密连接蛋白 Occludin 含量显著下降（ $P<0.05$ ）；PTX 干预后，Ahr 与 IL-6 含量显著下降（ $P<0.05$ ），Occludin 含量得到显著升高（ $P<0.05$ ，图 4）。以上结果说明氯气损伤可致 Ahr 含量升高，IL-6 和 Occludin 呈现相关性变化，PTX 可通过干预 Ahr 改善氯气引起的炎症反应和屏障破坏，减轻 ALI。

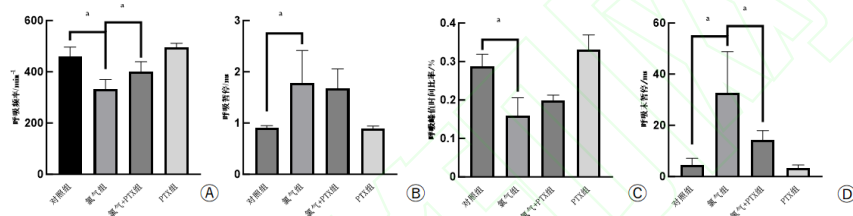


A: AhR 相对表达量; B: CYP1A1 相对表达量; C: IL-6 相对表达量; D: Occludin 相对表达量。PTX: 己酮可可碱; AhR: 芳烃受体。所有一抗稀释配比均为 1:1 000。n=3。^aP<0.05。

图 4 PTX 干预对肺组织 AhR 及相关指标的作用

2.5 PTX 对氯气损伤小鼠肺功能的干预作用

肺功能检测结果显示 PTX 干预可通过提高染毒小鼠呼吸频率、减少呼吸暂停、呼吸末暂停，增加呼吸峰值时间比率（ $P<0.05$ ），改善小鼠呼吸节律、肺气体交换能力、肺容量及小气道通气能力（图 5）。表明 PTX 能够改善小鼠肺功能，减轻氯气诱导的 ALI。



A: 呼吸频率; B: 呼吸暂停; C: 呼吸峰值时间比率; D: 呼吸末暂停。PTX: 己酮可可碱。n=10。^aP<0.05。

图 5 PTX 对氯气染毒小鼠肺功能的影响

3 讨论

氯气中毒频发。2024 年河南舞阳发生了化工液氯钢瓶爆炸事故，直接损失经济 200 多万元。2025 年哥伦比亚某省发生了氯气泄露，37 人中毒，400 多居民紧急疏散。氯气暴露事故因其突发性、快速扩散性、高危害性和救援难度大等特性，给国家和人民安全带来巨大的威胁，故针对氯气损伤的预防和治疗至关重要^[9]。临床上，氯气中毒主要以对症支持治疗为主，明确其中毒机制是特效药研发和救治率提升的关键。

符合实际中毒场景下的染毒模型是氯气损伤中毒的关键和前提。课题组采用 400 $\mu\text{L/L}$ 染毒 15 min 作为亚致死剂量进行了静态吸入染毒。染毒后实验小鼠口鼻处可见分泌物、伏卧不动、排泄次数增加、饮水减少，病理结果显示肺泡腔可见大量炎性细胞聚集，水肿和渗出，表明模型复制成功。该染毒剂量与 RADBEL 等^[10]报道的一致，符合氯气暴露实际情况，可作为氯气染毒及开展体内中毒机制和药物筛选等研究的借鉴参考。

Ahr 是一类配体激活型转录因子，主要负责感知环境毒素和内源代谢物，在免疫调节，细胞分化和组织稳态维持中扮演着至关重要的角色^[11]。特别是在炎症性疾病中，Ahr 被证明能够通过调控炎症因子的表达，发挥重要的“双刃剑”作用，其最终效应高度依赖配体类型，细胞微环境和作用时机^[12-13]。本研究发现氯气组 Ahr 升高，进一步分析组化观察到有部分 Ahr 进入细胞核，这表明氯气或其体内代谢物可以结合并激活 Ahr，使其进入细胞核发挥作用，与现已明确 Ahr 配体激活一致^[14]。同时我们还发现炎症和紧密连接蛋白也有相关变化，提示氯气损伤后 Ahr 通路被激活，可通过调控下游 CYP1A1 基因表达，参与了炎症反应和屏障破坏。Li X 等在研究吸入电子烟引起的肺损伤中也有类似发现^[15]。ELISA 发现氯气损伤后肺组织中

CYP1A1 活性升高,这进一步表明 Ahr 通路被激活。本研究为氯气损伤的毒性作用提供了重要研究数据,具体的分子调控机制尚待进一步实验验证。

scRNA-seq 是近年来发展起来的一种可精确计算每种细胞类型中基因表达差异的转录组测序技术,是从“看一群细胞”到“看清每一个细胞”质的跨越,揭示了细胞间的异质性^[16]。本研究中肺上皮细胞 SCENIC 分析发现 *Ahr* 基因表达升高,小提琴图也提示 *Ahr* 和 *CYP1A1* 基因表达也升高,进一步的小鼠肺组织检测也验证了该变化。但值得注意的是,CYP1A1 的基因表达和蛋白含量变化不一致,这表明 Ahr 信号在氯气损伤中的复杂性。早期的 Ahr 激活可能代表细胞试图启动解毒程序,但剧烈的损伤微环境可能迅速抑制了细胞的翻译能力,同时应激状态下新合成的 CYP1A1 蛋白无法正确折叠与成熟,进而被细胞清除,导致最终的蛋白下降。此外,CYP1A1 蛋白本身半衰期极短,极易被快速降解。Ahr 信号主要作为一个“损伤感应器”和转录启动开关,其下游蛋白的命运受到损伤微环境和 Ahr 配体类型的强力塑造。同时,我们也检测到肺组织发生了炎症反应和屏障破坏,HAMMOND 等^[17-18]也在环境污染物二噁英造成损伤中也发现 Ahr 表达升高以及其介导的 CYP1A1 会导致活性氧过量产生和炎症反应。在氯气致 ALI 中 Ahr 激活机制尚不清楚。

生理状态下,Ahr 被内源性配体(如色氨酸代谢物)适度激活,参与维持上皮屏障完整性、调节免疫耐受和氧化应激平衡,对肺部稳态至关重要^[19-21]。病理状态下,特别是在外源性毒物刺激下,这种平衡被打破,Ahr 的持续强烈激活与氧化应激加剧,细胞焦亡和促纤维化信号的上调密切相关^[22-24]。MASAKI 等^[25]也发现肺动脉高压患者血清中 Ahr 激活活性显著高于健康志愿者,Ahr 过度激活会加重肺部损伤。这种从“保护性”到“损害性”的转变,提示 Ahr 的激活程度、持续时间及下游通路的选择性调控,是决定肺损伤结局的关键因素。更重要的是,Ahr 的功能效应高度依赖于其所结合的配体类型^[26]。当 Ahr 介导二噁英等环境毒物时往往表现为毒性作用,这是因为环境毒物强效持久激活 Ahr,具有显著的炎症反应^[27-28];而当内源性配体或天然植物源性物质与 Ahr 结合时,常表现为保护作用^[29]。鉴于 Ahr 的功能高度依赖于其所结合配体的性质,氯气或其诱导产生的内源性代谢物可能作为一类配体,与 Ahr 结合并促使其异常激活。研究显示,氯气进入呼吸道后可与细胞成分反应生成多种次生氧化产物和卤代化合物,其中部分结构与已知 Ahr 配体具有相似性^[30]。氯气暴露可能通过直接或间接方式产生类似“环境毒物”性质的配体,导致 Ahr 持续过度激活,从而诱发强烈的炎症反应,这可能是氯气致肺损伤有别于其他类型肺损伤的重要机制之一。

PTX 是一种非选择性磷酸二酯酶抑制剂,其核心药理作用是通过抑制环核苷酸二酯酶活性,显著提升细胞内环磷酸腺苷水平,进而调控下游信号通路,发挥抗炎、抗氧化、抗纤维化及保护血管内皮等多重生物学效应^[31]。这种多靶点调控特性使其在复杂中毒性肺损伤中展现出可能的治疗潜力,也成为本研究关注的主要干预手段。氯气暴露会引发剧烈的炎症反应和氧化应激。本研究发现 PTX 可显著降低肺组织中 Ahr 含量,有效减轻肺部炎症和保护屏障,并显著改善肺功能,最终减轻氯气致 ALI。这与 SARHAN 等^[32]研究的 PTX 可通过抑制炎症信号,缓解新冠肺炎患者炎症相似。前期研究发现,PTX 可以显著改善氯气暴露导致的活性氧升高和过氧化氢酶表达下调,增强下游抗氧化基因转录,从而提升细胞清除活性氧的能力,减轻氧化应激对肺组织的继发性损伤。此外,PTX 还能通过影响线粒体数量和功能,减轻肺内氧化损伤,保护氯气引起的 ALI^[33]。因此,PTX 多靶点特性对氯气引起的 ALI 具有潜在的应用价值。

综上所述,本研究观察了 Ahr 在氯气损伤中的变化,发现 Ahr 被激活,并参与了炎症反应和屏障破坏。PTX 可能通过抑制 Ahr 信号通路、协同调控炎症反应与屏障破坏,减轻氯气致 ALI。本文为 Ahr 作为氯气致 ALI 潜在治疗靶点提供了理论和实验依据,为 PTX 在 ALI 中的应用提供了依据,PTX 的多靶点功效具有重要的医学转化价值。

【参考文献】

- [1] GOVIER P, COULSON J M. Civilian exposure to chlorine gas: a systematic review[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 293: 249-252. DOI: 10.1016/j.toxlet.2018.01.014.
- [2] ANNAMARAJU P, PATEL P, BARADHI K M. Pentoxifylline. 2024 Feb 29. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. PMID: 32644522.
- [3] TASLIDERE E, VARDI N, YILDIZ A, et al. The effects of pentoxifylline and caffeic acid phenethyl ester on TNF- α and lung histopathology in D-galactosamine-induced pulmonary injury in rats[J]. *Tissue Cell*, 2023, 82: 102085. DOI: 10.1016/j.tice.2023.102085.
- [4] ZHANG X D, YU W H, LIU M M, et al. Pentoxifylline inhibits phosgene-induced lung injury *via* improving hypoxia[J]. *Drug Chem Toxicol*, 2023, 46(6): 1100-1107. DOI: 10.1080/01480545.2022.2131811.
- [5] LIU M M, LIU J Z, ZHAO C Q, et al. Protective effects of pentoxifylline against chlorine-induced acute lung injury in rats[J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2023, 24(1): 12. DOI: 10.1186/s40360-023-00645-2.
- [6] STOCKINGER B, DIAZ O E, WINCENT E. The influence of AHR on immune and tissue biology[J]. *EMBO Mol Med*, 2024, 16(10): 2290-2298. DOI: 10.1038/s44321-024-00135-w.
- [7] HAA W, MELITON L N, CHEN W G, et al. Epigenetic mechanisms mediate cytochrome P450 1A1 expression and lung endothelial injury caused by MRSA *in vitro* and *in vivo*[J]. *FASEB J*, 2024, 38(22): e70205. DOI: 10.1096/fj.202401812R.
- [8] 赵晨茜. 己酮可可碱保护内皮糖萼对氯气致急性肺损伤的分子机制与干预的多作用研究[D]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2023.
- [9] NAMBIEMA A, COYO G, BARBE-RICHAUD J B, et al. Human chlorine gas exposition and its management - an umbrella review on human data[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2022, 52(1): 32-50. DOI: 10.1080/10408444.2022.2035317.
- [10] RADBEL J, LASKIN D L, LASKIN J D, et al. Disease-modifying treatment of chemical threat agent-induced acute lung injury[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2020, 1480(1): 14-29. DOI: 10.1111/nyas.14438.
- [11] SONDERMANN N C, FAßBENDER S, HARTUNG F, et al. Functions of the aryl hydrocarbon receptor (AHR) beyond the canonical AHR/ARNT signaling pathway[J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 208: 115371. DOI: 10.1016/j.bcp.2022.115371.
- [12] NEAVIN D R, LIU D, RAY B, et al. The role of the aryl hydrocarbon receptor (AHR) in immune and inflammatory diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3851. DOI: 10.3390/ijms19123851.
- [13] SHIVANNA B, CHU C, MOORTHY B. The aryl hydrocarbon receptor (AHR): a novel therapeutic target for pulmonary diseases?[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1516. DOI: 10.3390/ijms23031516.
- [14] SAFE S, JIN U H, PARK H, et al. Aryl hydrocarbon receptor (AHR) ligands as selective AHR modulators (SAhRMs)[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6654. DOI: 10.3390/ijms21186654.
- [15] LI X H, ROSSI A, HAARMANN-STEMMANN T, et al. Vitamin E acetate and its aerosol activate aryl hydrocarbon receptor signaling and exacerbate inflammation in human U937-derived macrophages[J]. *Toxicol In Vitro*, 2026, 112: 106196. DOI: 10.1016/j.tiv.2026.106196.
- [16] RAFI F R, HEYA N R, HAFIZ M S, et al. A systematic review of single-cell RNA sequencing

applications and innovations[J]. Comput Biol Chem, 2025, 115: 108362. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2025.108362.

[17] HAMMOND C L, ROZTOCIL E, GUPTA V, et al. More than meets the eye: the aryl hydrocarbon receptor is an environmental sensor, physiological regulator and a therapeutic target in ocular disease[J]. Front Toxicol, 2022, 4: 791082. DOI: 10.3389/ftox.2022.791082.

[18] VOGEL C F A, VAN WINKLE L S, ESSER C, et al. The aryl hydrocarbon receptor as a target of environmental stressors - Implications for pollution mediated stress and inflammatory responses[J]. Redox Biol, 2020, 34: 101530. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101530.

[19] LI Y Y, WANG X J, SU Y L, et al. Baicalein ameliorates ulcerative colitis by improving intestinal epithelial barrier *via* AhR/IL-22 pathway in ILC3s[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(6): 1495-1507. DOI: 10.1038/s41401-021-00781-7.

[20] SALMINEN A. Activation of aryl hydrocarbon receptor (AhR) in Alzheimer's disease: role of tryptophan metabolites generated by gut host-microbiota[J]. J Mol Med (Berl), 2023, 101(3): 201-222. DOI: 10.1007/s00109-023-02289-5.

[21] DAWE H R, DI MEGLIO P. The aryl hydrocarbon receptor (AHR): peacekeeper of the skin[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(4): 1618. DOI: 10.3390/ijms26041618.

[22] PANDA S K, PENG V, SUDAN R, et al. Repression of the aryl-hydrocarbon receptor prevents oxidative stress and ferroptosis of intestinal intraepithelial lymphocytes[J]. Immunity, 2023, 56(4): 797-812.e4. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.01.023.

[23] YUAN J S, LIAO Z H, ZHU X H, et al. PM_{2.5} exacerbates nasal epithelial barrier dysfunction in allergic rhinitis by inducing NLRP3-mediated pyroptosis *via* the AhR/CYP1A1/ROS axis[J]. J Hazard Mater, 2025, 492: 138145. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2025.138145.

[24] XIE H Y, YANG N H, LU L, et al. Uremic toxin receptor AhR facilitates renal senescence and fibrosis *via* suppressing mitochondrial biogenesis[J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(33): e2402066. DOI: 10.1002/advs.202402066.

[25] MASAKI T, OKAZAWA M, ASANO R, et al. Aryl hydrocarbon receptor is essential for the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(11): e2023899118. DOI: 10.1073/pnas.2023899118.

[26] DIAO X T, SHANG Q H, GUO M Q, et al. Structural basis for the ligand-dependent activation of heterodimeric AHR-ARNT complex[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 1282. DOI: 10.1038/s41467-025-56574-7.

[27] CHEN Y, WANG Y D, FU Y W, et al. Modulating AHR function offers exciting therapeutic potential in gut immunity and inflammation[J]. Cell Biosci, 2023, 13(1): 85. DOI: 10.1186/s13578-023-01046-y.

[28] LI M D, CHEN L H, XIANG H X, et al. Benzo [a] pyrene evokes epithelial-mesenchymal transition and pulmonary fibrosis through AhR-mediated Nrf2-p62 signaling[J]. J Hazard Mater, 2024, 473: 134560. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2024.134560.

[29] YOSHIKAWA Y, IZAWA T, HAMADA Y, et al. Roles for B [a] P and FICZ in subchondral bone metabolism and experimental temporomandibular joint osteoarthritis *via* the AhR/Cyp1a1 signaling axis[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 14927. DOI: 10.1038/s41598-021-94470-4.

[30] ACHANTA S, JORDT S E. Toxic effects of chlorine gas and potential treatments: a literature review[J]. Toxicol Mech Methods, 2021, 31(4): 244-256. DOI: 10.1080/15376516.2019.1669244.

[31] RAMZI A, MAYA S, BALOUSHAN N, et al. Pentoxifylline in COVID-19 and considerations for its research in long COVID[J]. Inflamm Res, 2024, 73(12): 2057-2068. DOI: 10.1007/s00011-

024-01942-0.

[32] SARHAN R M, E ALTYAR A, ESSAM ABOU WARDA A, et al. Pentoxifylline effects on hospitalized COVID-19 patients with cytokine storm syndrome: a randomized clinical trial[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(4): 631. DOI: 10.3390/ph16040631.

[33] 刘萌萌, 赵晨茜, 刘姗姗, 等. 己酮可可碱干预氧化应激-线粒体机制在氯气致大鼠急性肺损伤中的作用[J]. *空军军医大学学报*, 2022, 43(7): 690-695. DOI: 10.13276/j.issn.2097-1656.2022.06.006.

(2025-12-31 收稿; 2026-04-13 修回)

(编辑: 蒋 悦)

