

# 度拉糖肽对脂多糖诱导的 MLE-12 细胞损伤的保护作用

范星宇,段 皓,闫 洁,王 跃,杜益君,潘天荣,钟 兴  
(安徽医科大学第二医院附属医院内分泌科,合肥 230601)

**摘要** **目的** 探讨度拉糖肽对脂多糖(LPS)引起的 MLE-12 细胞损伤的保护作用。**方法** 脂多糖(1  $\mu\text{g/mL}$ )诱导 MLE-12 细胞构建急性肺损伤体外模型,度拉糖肽处理 24 h。细胞分成 4 组:CON、LPS、LPS + 100 nmol/L 度拉糖肽、LPS + 200 nmol/L 度拉糖肽组,提取各组细胞蛋白和 RNA,qRT-PCR 检测细胞中炎症因子白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、IL-1 $\beta$ 、单核细胞趋化因子 1(CCL2)、C-X-C 基序趋化因子配体(CXCL1)、CXCL2 水平,TUNEL 法检测细胞凋亡,Western blot 检测各组细胞磷酸化蛋白激酶 B(P-Akt)与磷酸化细胞外信号调节酶(P-Erk)的表达水平。**结果** 与 CON 组比较,LPS 组细胞炎症介质 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 、CCL2、CXCL1、CXCL2 的 mRNA 水平升高,TUNEL 阳性细胞数增加,P-Akt 与 P-Erk 蛋白表达增加。与 LPS 组相比,LPS + 100 nmol/L 度拉糖肽组的 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 、CCL2、CXCL1、CXCL2 的 mRNA 水平下降,TUNEL 阳性细胞数减少,P-Akt 与 P-Erk 蛋白表达下降;而 LPS + 200 nmol/L 度拉糖肽组对炎症因子的改善作用没有 LPS + 100 nmol/L 度拉糖肽组明显。**结论** 度拉糖肽对 LPS 诱导的 MLE-12 细胞损伤具有保护作用,其作用机制可能是通过抑制 Akt 与 Erk 磷酸化来减少炎性介质的表达,使炎性损伤进一步减轻,从而达到保护肺脏的作用。

**关键词** 度拉糖肽;脂多糖;急性肺损伤;MLE-12 细胞;炎症反应

**中图分类号** R 965

**文献标志码** A **文章编号** 1000 - 1492(2025)08 - 1439 - 06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2025.08.011

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是一种临床综合征,表现为肺水肿和气体交换功能障碍<sup>[1]</sup>,严重时可导致急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)<sup>[2]</sup>。细菌感染是 ALI 最

常见的病因,特别是脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)等革兰阴性细菌内毒素引起的感染<sup>[3]</sup>。目临床上 ALI 主要采用机械通气等对症治疗,尚缺乏特效治疗方案<sup>[4]</sup>。ALI 病理生理学上的表现是肺泡-毛细血管屏障功能障碍,因为它会引起肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells, AECs)损伤,AECs 受损后会释放与损伤相关的分子模式,进一步激活肺泡巨噬细胞,从而加剧炎症反应,导致 ALI 病情恶化<sup>[5]</sup>。因此,明确 AECs 损伤的分子机制可为 ALI 提出潜在的治疗策略。胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)受体激动剂,如度拉糖肽,

2025 - 02 - 15 接收

基金项目:安徽省高等学校自然科学研究项目(编号:2023AH053182);安徽省卫生健康科研项目(编号:AHWJ2023Bac10010)

作者简介:范星宇,女,硕士研究生;

钟 兴,男,主任医师,硕士生导师,通信作者, E-mail: zhongxing@163.com

level decreased by 60% compared with the control group. After overexpressing the HLF gene, the mRNA expression level was 2.13 times compared with that of the control group, and the protein expression level was 1.8 times compared with that of the control group. The mRNA expression level of the HLF gene in the knockout mice decreased by 89% compared with the control group, and the protein expression level decreased by 65% compared with the control group. The results of HE staining showed that there was no significant difference in the cell morphology in the islet tissues between the knockout mice and the control mice. Inhibiting HLF increased the glycogen content in MIN6 cells by approximately 20%. **Conclusion** The HLF gene knockout mice are successfully constructed, providing an animal model for studying the role of HLF in the pathogenesis of diabetes mellitus.

**Key words** hepatic leukemia factor; conditional islet  $\beta$  cells; RT-qPCR; Western blot; gene knockout; C57BL/6J mice

**Fund programs** National Key Research and Development Program of China (No. 2023YFE0100800)

**Corresponding author** Li Yixing, E-mail:631673571@qq.com

被广泛用于2型糖尿病的治疗,最近被报道具有抗炎作用<sup>[6]</sup>,有研究<sup>[7]</sup>证实,在LPS和卵清蛋白引起的小鼠肺部炎症反应中,GLP-1受体激动剂对其有显著的抑制作用。目前国内外对于度拉糖肽与急性肺损伤的研究鲜有报道,该研究探讨了度拉糖肽在受损肺上皮细胞中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器与试剂 小鼠肺上皮细胞MLE-12购自上海澳睿赛生物技术有限公司(货号:ORC0957);DMEM/F12培养基购自上海道鹏生物科技有限公司;胎牛血清、胰蛋白酶和双抗(链霉素及青霉素溶液)购自美国赛默飞世尔科技公司;LPS(货号:L8880)购自北京索莱宝科技有限公司;度拉糖肽(货号:D424037)购自美国礼来公司;P-Akt抗体(货号:AF0016)购自江苏AffinityBiosciences公司,P-Erk抗体(货号:AF1015)购自江苏AffinityBiosciences公司;HRP标记的抗兔二抗(货号:EAB1003)购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司;逆转录与SYBR试剂盒购自新贝(上海)生物科技有限公司;TUNEL试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;4%多聚甲醛通用型组织固定液购自Bio-sharp生物技术有限公司;Triton X-100购自北京兰杰柯科技有限公司。

1.1.2 细胞模型的建立与分组 MLE-12细胞系生长于含有10%胎牛血清和1%双抗的DMEM/F12培养基中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>的无菌细胞培养箱中,每2d换液1次。当细胞密度达85%时,予胰蛋白酶消化细胞,离心后再传代。将细胞分为4组,即对照组(CON)、LPS组(1μg/mL LPS)、度拉糖肽低剂量组(1μg/mL LPS+100nmol/L DUL)、度拉糖肽高剂量组(1μg/mL LPS+200nmol/L DUL)。其中,对照组细胞正常培养不进行其他处理,其余各组细胞在相应药物干预24h后,分别进行检测。

1.2 方法

1.2.1 磺酰罗丹明B(sulforhodamine B, SRB)实验 取对数生长期细胞进行试验,按5000个/100μL/孔,用培养基稀释细胞后加入96孔板,37℃、5%CO<sub>2</sub>培养24h后,加药100μL,每孔总液体量为200μL,每个药物设计5个复孔,并设对照孔(加MLE-12培养基),置37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱培养18h后,每孔加入100μL的30%三氯乙酸,固定细胞过夜。弃去96孔板中液体,用双蒸水洗板,清除固定

液残渣,风干过夜;每孔再加入100μL 4%SRB染色液,室温放置1h。用蒸馏水清洗平板,丢弃各孔中的残留液体,然后用1%的醋酸洗涤5次;风干,在各孔中溶解100μL 10mmol/L三羟甲基氨基甲烷,放在摇床上摇晃混匀5min。使用酶标仪在570nm波长下测定光密度(optical density, OD)。细胞活力(%)=(OD<sub>药物孔</sub>-OD<sub>空白孔</sub>)×100%/OD<sub>对照组</sub>。

1.2.2 定量逆转录聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测 mRNA 表达水平 用TRIzol试剂从细胞中提取总RNA,然后使用逆转录试剂盒的合成cDNA,按照SYBR试剂盒加样后放入PCR系统进行实时定量PCR。统计各组Ct值,采用相对定量2<sup>-ΔΔCt</sup>方法评估基因表达水平,使用GAPDH作为归一化对照。所有引物均由美国Genscript公司定制。引物设计见表1。

表1 用于定量实时聚合酶链反应的引物序列  
Tab.1 Primer sequences for quantification of real-time polymerase chain reaction

| Gene  | Sequence(5'to 3')          |
|-------|----------------------------|
| IL-1β | F: GGACAGAAATATCAACCAACAA  |
|       | R: TTACACAGGACAGGTATAGATT  |
| IL-6  | F: TAGTCCTTCTACCCCAATTTC   |
|       | R: TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC   |
| TNF-α | F: CCTGTAGCCACGTCGTAG      |
|       | R: GGGAGTAGACAAGGTACAACCC  |
| CCL2  | F: TTAAAAACCTGGATCGGAACCAA |
|       | R: GCATTAGCTTCAGATTTACGGGT |
| CXCL1 | F: ACTGCACCCAAACCGAAGTC    |
|       | R: TGGGGACACCTTTTAGCATCTT  |
| CXCL2 | F: CCAACCACCAGGCTACAGG     |
|       | R: GCGTCACACTCAAGCTCTG     |
| GAPDH | F: AGTGGCAAAGTGGAGATT      |
|       | R: GTGGAGTCATACTGGAACA     |

1.2.3 末端脱氧核苷酸转移酶 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)法检测细胞凋亡 MLE12细胞在4%多聚甲醛中固定20min,PBS漂洗后,将细胞爬片浸入0.2%Triton X-100中,于37℃烘箱作用10min,然后按照说明书,将样本置于配好的标记工作液中于37℃避光反应60min。PBS洗涤3次后,用DAPI染色细胞核,用抗荧光淬灭密封液包埋细胞,在荧光显微镜下观察。

1.2.4 蛋白质印迹(Western blot)法检测蛋白表达水平 各组细胞置于冰上用裂解液裂解。蛋白质浓度通过BCA方法检测,10%SDS-PAGE分离蛋白质后转移至PVDF膜上。在室内5%脱脂奶粉室温封闭1h,将膜与P-Akt(1:1000)、P-Erk(1:1000)

一抗 4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 并将膜与二抗 (1 : 10 000) 室温下孵育 1 h。最后, 用 TBST 洗涤 3 次, 增敏化学发光剂显影。GAPDH 作为内部参考蛋白, 利用 ImageJ 软件进行数据分析。

**1.3 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据处理。所有实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, 单因素方差分析多组间的比较。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 不同浓度 LPS 及度拉糖肽对 MLE12 细胞活力的影响** 与 CON 组相比, 不同浓度 LPS (200、500 ng/mL, 1 μg/mL) 及度拉糖肽 (100、200 nmol/L) 对 MLE12 细胞活力的影响没有显著差异, 见图 1。

**2.2 度拉糖肽对 LPS 处理的 MLE12 细胞中促炎因子的影响** 经过 LPS 处理的 MLE12 细胞中, 促炎

因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达水平明显增加; 与 LPS 组相比, MLE12 细胞经两种不同浓度 (100、200 nmol/L) 的度拉糖肽处理后, 促炎因子 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达水平降低。其中 100 nmol/L 度拉糖肽处理后下降更为明显。见图 2。上述结果表明度拉糖肽可以通过抑制促炎因子缓解 LPS 诱导的肺上皮细胞炎症的发生。

**2.3 度拉糖肽对 LPS 损伤 MLE12 细胞中促炎趋化因子的影响** CCL2、CXCL1 和 CXCL2 作为促炎趋化因子, 参与调控白细胞迁移, 从而促进炎症的发生。与 CON 组比较, LPS 处理后的 MLE12 中 CCL2、CXCL1 及 CXCL2 的 mRNA 表达都明显升高。经过 100 nmol/L 度拉糖肽处理后, 这 3 种趋化因子的 mRNA 表达均明显下降; 与 LPS 组相比, 200 nmol/L 度拉糖肽处理后, CXCL2 的表达明显下降, 而 CCL2 和 CXCL2 的表达没有明显变化, 见图 3。

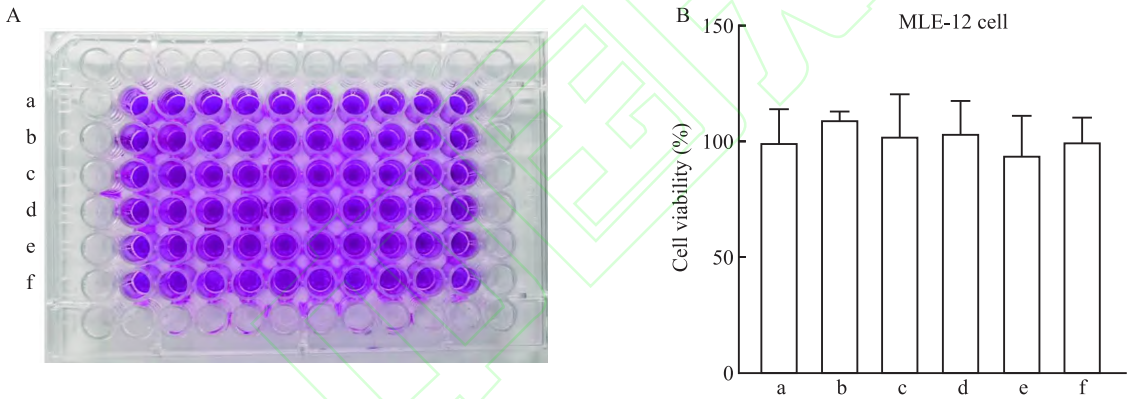


图 1 不同浓度 LPS 及度拉糖肽对 MLE12 细胞的细胞毒作用

Fig. 1 Cytotoxic effects of different concentrations of LPS and dulaglutide on MLE12 cells

A: Different concentrations of drugs were set up in the 96-well plate; B: Histogram analysis of cell viability at different drug concentrations; a: CON; b: LPS (200 ng/mL); c: LPS (500 ng/mL); d: LPS (1 μg/mL); e: 1 μg/mL LPS + 100 nmol/L DUL; f: 1 μg/mL LPS + 200 nmol/L DUL.

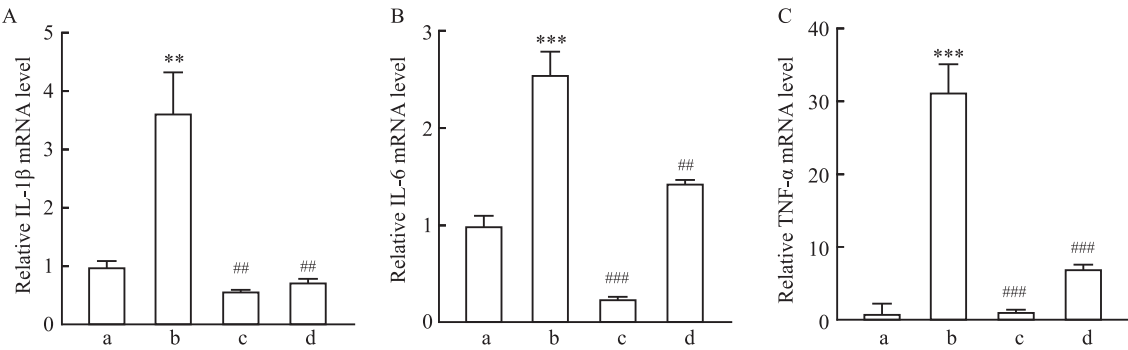


图 2 MLE12 细胞中 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 的 mRNA 表达情况

Fig. 2 mRNA expressions of IL-1β, IL-6 and TNF-α in MLE12 cells

a: CON; b: 1 μg/mL LPS; c: 1 μg/mL LPS + 100 nmol/L DUL; d: 1 μg/mL LPS + 200 nmol/L DUL; \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs CON group; ##  $P < 0.01$ , ###  $P < 0.001$  vs LPS group.

结合上述结果,后续选择 100 nmol/L 度拉糖肽进行实验。

**2.4 度拉糖肽抑制 LPS 诱导的 MLE12 细胞凋亡反应** TUNEL 染色结果显示与对照组相比,LPS 增加了 MLE12 细胞的凋亡,给予度拉糖肽处理后,凋亡阳性细胞数明显下降。见图 4。

**2.5 度拉糖肽对 LPS 损伤的 MLE12 细胞中 P-Erk 及 P-Akt 的影响** LPS 组 MLE12 细胞中 P-Erk 和 P-Akt 的蛋白表达量均明显高于对照组,给予度拉糖肽后,二者表达水平较 LPS 组均明显下降,见图 5。

3 讨论

感染引起的脓毒症很容易进展为脓毒性休克和危及生命的器官功能障碍,相应并发症在全世界的

发生率和病死率都很高。LPS 是导致脓毒症的主要因素,可引起严重炎症从而导致广泛性肺损伤<sup>[8]</sup>。在 LPS 诱导的内毒素血症下,ALI 是肺部的过度炎症反应<sup>[9]</sup>。因此,任何抑制炎症反应的方法都可能预防和治疗 ALI。LPS 的主要识别受体是 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4),高浓度的 LPS 可与之结合,增强 NF-κB 活性,促进炎症因子的产生,如 IL-6、IL-1β、TNF-α 等<sup>[10]</sup>。丝裂原活化蛋白激酶家族 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-Kinase, PI3K) 两条信号通路,通过激活细胞内信号级联反应,使 ALI 中炎症因子实现倍增。MAPK 信号通路对于调节炎症反应至关重要,其中 Erk1/2 是一个关键组分,在细胞增殖、分化和肿瘤发生等过程中起关键作用<sup>[11]</sup>。另一方面,PI3K-Akt 通路根据所涉及的免疫

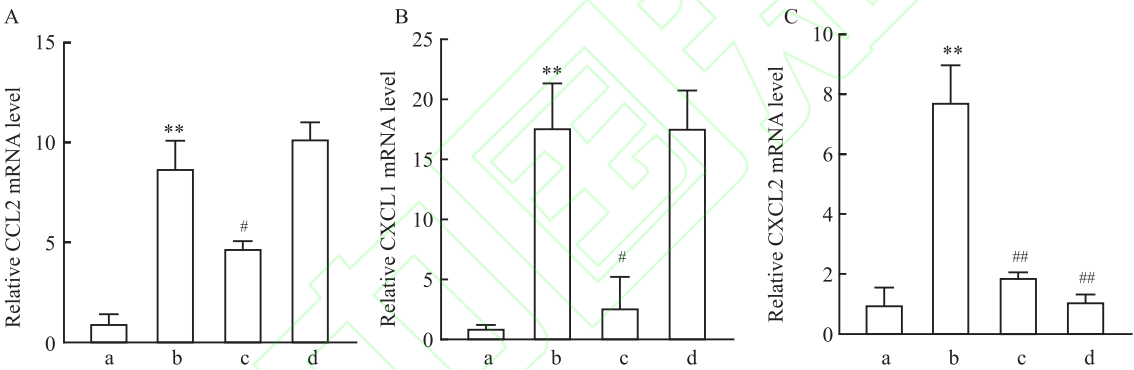


图 3 MLE12 细胞中 CCL2 (A)、CXCL1 (B) 和 CXCL2 (C) 的 mRNA 表达情况  
Fig.3 mRNA expressions of CCL2 (A), CXCL1 (B) and CXCL2 (C) in MLE12 cells

a: CON; b: 1 μg/mL LPS; c: 1 μg/mL LPS + 100 nmol/L DUL; d: 1 μg/mL LPS + 200 nmol/L DUL; \*  $P < 0.01$  vs CON group; #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$  vs LPS group.

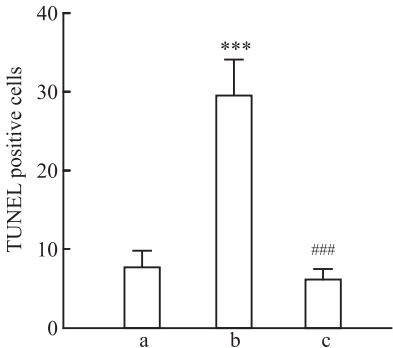
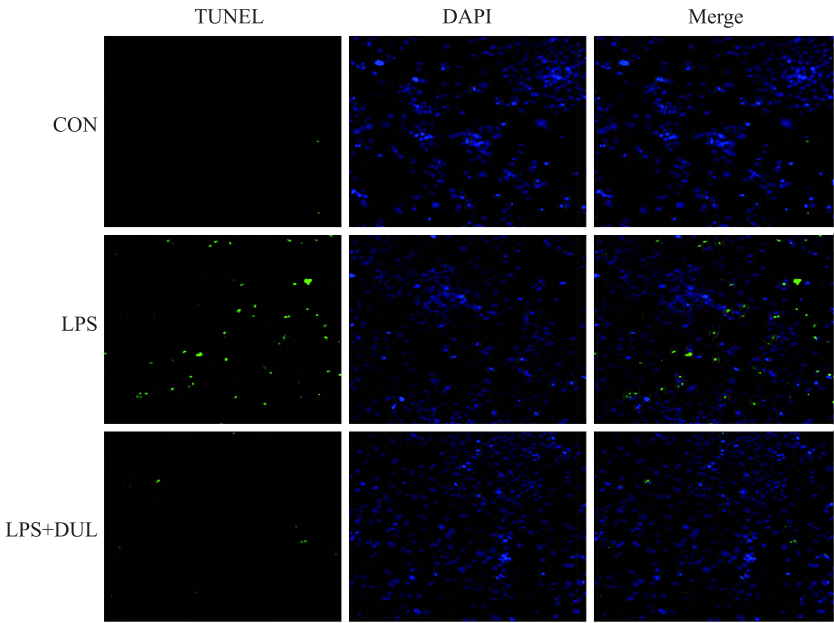


图 4 度拉糖肽抑制 LPS 诱导的 MLE12 细胞凋亡反应 × 200  
Fig.4 Dulaglutide inhibited LPS-induced apoptotic response in MLE12 cells × 200  
a: CON; b: 1 μg/mL LPS; c: 1 μg/mL LPS + 100 nmol/L DUL; \*\*\*  $P < 0.001$  vs CON group; ###  $P < 0.001$  vs LPS group.

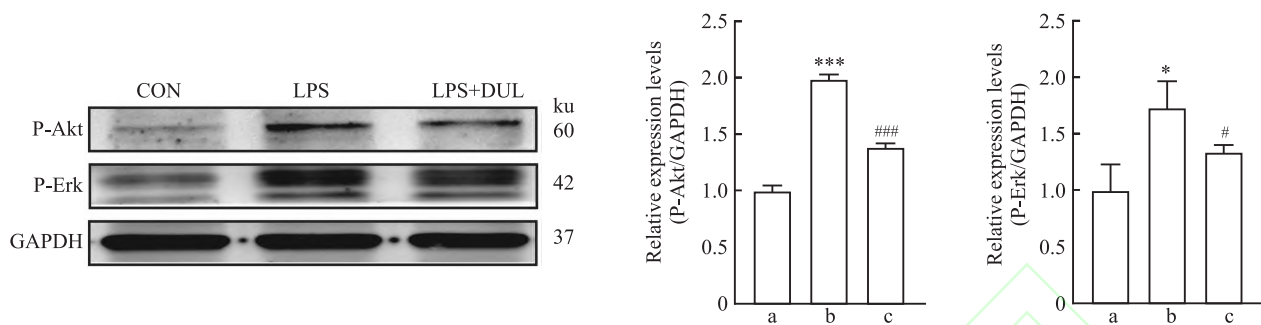


图5 度拉糖肽对 LPS 损伤的 MLE12 细胞中 P-Erk 及 P-Akt 的影响

Fig. 5 The effects of dulaglutide on P-Erk and P-Akt in LPS-damaged MLE12 cells

a: CON; b: 1  $\mu\text{g/mL}$  LPS; c: 1  $\mu\text{g/mL}$  LPS + 100 nmol/L DUL; \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs CON group; #  $P < 0.05$ , ###  $P < 0.001$  vs LPS group.

细胞类型表现出不同的免疫作用,例如先天性骨髓瘤免疫细胞和获得性淋巴瘤免疫细胞。这些差异会导致不同的免疫反应。本研究给予了 LPS 诱导的小鼠肺上皮细胞模型度拉糖肽处理。当度拉糖肽为 100 nmol/L 时有更明显的效果,可能与浓度梯度设置差异不大、检测指标的局限性以及药物作用机制有关,未来可以扩大浓度梯度范围,结合多种检测方法,并在不同模型中进行验证,以更全面地阐明度拉糖肽的浓度依赖性效应。经度拉糖肽处理的肺上皮细胞中,LPS 诱导的炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的表达水平降低;LPS 诱导的炎症趋化因子 CCL2、CXCL1 和 CXCL2 的表达降低;LPS 诱导的 Akt 及 Erk 的磷酸化水平降低。

最近一项队列研究<sup>[12]</sup>结果表明,与所有其他降糖疗法相比,GLP-1 受体激动剂和钠-葡萄糖协同转运蛋白 2(sodium-dependent glucose transporters 2, SGLT-2)抑制剂的治疗与肺炎和严重脓毒症发病率降低有关,其中 GLP-1 受体激动剂效果更明显。GLP-1 受体不仅在胰腺中表达,还分布在胰腺外的器官和组织中,例如肺和脑<sup>[13]</sup>。有研究<sup>[14]</sup>表明利拉鲁肽处理可降低肺部炎症趋化因子和细胞因子的 mRNA 表达,并改善 LPS 诱导的急性肺损伤。本研究结果与之一致,即度拉糖肽治疗显著减少了肺上皮细胞炎症因子的表达。

Erk 和 Akt 是 MAPK 和 PI3K 信号通路中的重要蛋白,其磷酸化水平与炎症的发生和进展密切相关。本研究中,度拉糖肽可以降低 P-Erk 和 P-Akt 的表达,并伴随着促炎因子产生的减少,表明其对炎症过程可能有影响。ALI 的发病机制不仅限于炎症性损伤,还涉及细胞凋亡<sup>[15]</sup>,本研究结果也表明,度拉糖肽显著减少了 LPS 诱导的肺泡上皮细胞中

TUNEL 阳性细胞数,但具体作用机制还有待深入研究。

综上所述,度拉糖肽对肺功能具有保护作用,有助于降低促炎因子的释放,减轻肺组织损伤,可能与 MAPK/Erk 和 PI3K/Akt 信号通路的调控有关,但具体机制仍需进一步研究。本研究为度拉糖肽减轻肺损伤提供了初步的实验证据,提示 GLP-1 受体激动剂在治疗 ALI 和 ARDS 等疾病中的潜在应用价值,为探索炎症相关肺部疾病的治疗策略提供了新的思路。

## 参考文献

- [1] Long M E, Mallampalli R K, Horowitz J C. Pathogenesis of pneumonia and acute lung injury[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2022, 136 (10): 747–69. doi:10.1042/CS20210879.
- [2] Wang L, Wang D, Zhang T, et al. The role of immunometabolism in macrophage polarization and its impact on acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1117548. doi:10.3389/fimmu.2023.1117548.
- [3] Zhou M, Meng L, He Q, et al. Valsartan attenuates LPS-induced ALI by modulating NF- $\kappa$ B and MAPK pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1321095. doi:10.3389/fphar.2024.1321095.
- [4] Rose L. Clinical application of ventilator modes: ventilatory strategies for lung protection[J]. *Aust Crit Care*, 2010, 23(2): 71–80. doi:10.1016/j.aucc.2010.03.003.
- [5] Bos L D J, Ware L B. Acute respiratory distress syndrome: causes, pathophysiology, and phenotypes[J]. *Lancet*, 2022, 400 (10358): 1145–56. doi:10.1016/S0140-6736(22)01485-4.
- [6] Yang F, Zeng F, Luo X, et al. GLP-1 receptor: a new target for sepsis[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 706908. doi:10.3389/fphar.2021.706908.
- [7] Viby N E, Isidor M S, Buggeskov K B, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) reduces mortality and improves lung function in a

- model of experimental obstructive lung disease in female mice[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(12): 4503 – 11. doi:10.1210/en.2013 – 1666.
- [8] Domscheit H, Hegeman M A, Carvalho N, et al. Molecular dynamics of lipopolysaccharide-induced lung injury in rodents[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 36. doi:10.3389/fphys.2020.00036.
- [9] Chen H, Bai C, Wang X. The value of the lipopolysaccharide-induced acute lung injury model in respiratory medicine[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2010, 4(6): 773 – 83. doi:10.1586/ers.10.71.
- [10] Ciesielska A, Matyjek M, Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(4): 1233 – 61. doi:10.1007/s00018 – 020 – 03656 – y.
- [11] Lu N, Malesmud C J. Extracellular signal-regulated kinase: a regulator of cell growth, inflammation, chondrocyte and bone cell receptor-mediated gene expression[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3792. doi:10.3390/ijms20153792.
- [12] Rezaeianzadeh R, Sadatsafavi M. Beyond glycaemic control: reduced pneumonia and sepsis risk with GLP-1 RAs and SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes[J]. *Thorax*, 2024, 80(1): 5 – 6. doi:10.1136/thorax – 2024 – 222540.
- [13] Andersen D B, Grunddal K V, Pedersen J, et al. Using a reporter mouse to map known and novel sites of GLP-1 receptor expression in peripheral tissues of male mice[J]. *Endocrinology*, 2021, 162(3): bqaa246. doi:10.1210/endo/bqaa246.
- [14] Zhou W, Shao W, Zhang Y, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor mediates the beneficial effect of liraglutide in an acute lung injury mouse model involving the thioredoxin-interacting protein[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, 319(3): E568 – 78. doi:10.1152/ajpendo.00292.2020.
- [15] Jiang Y, Wang X, Yang W, et al. Procyanidin B2 suppresses lipopolysaccharides-induced inflammation and apoptosis in human type II alveolar epithelial cells and lung fibroblasts[J]. *J Interf Cytokine Res*, 2020, 40(1): 54 – 63. doi:10.1089/jir.2019.0083.

## Protective effect of dulaglutide on lipopolysaccharide-induced MLE-12 cells

Fan Xingyu, Duan Hao, Yan Jie, Wang Yue, Du Yijun, Pan Tianrong, Zhong Xing

(Dept of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

**Abstract Objective** To investigate the protective effect of dulaglutide on lipopolysaccharide (LPS)-induced injury in MLE-12 cells. **Methods** An *in vitro* model of acute lung injury was established by inducing MLE-12 cells with LPS (1  $\mu\text{g/mL}$ ), followed by treatment with dulaglutide for 24 hours. The cells were divided into four groups: CON group, LPS group, LPS + 100 nmol/L dulaglutide group, and LPS + 200 nmol/L dulaglutide group. Protein and RNA were extracted from each group. The mRNA levels of inflammatory factors, including interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-1 $\beta$ , monocyte chemotactic protein 1 (CCL2), C-X-C motif chemokine ligand (CXCL) 1 and CXCL2, were detected by qRT-PCR. Cell apoptosis was assessed by TUNEL assay, and the expression levels of phosphorylated protein kinase B (P-Akt) and phosphorylated extracellular signal-regulated kinase (P-Erk) were measured by Western blot. **Results** Compared with the CON group, the LPS group showed increased mRNA levels of inflammatory mediators (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , CCL2, CXCL1, and CXCL2), increased TUNEL-positive cells, and elevated expression of P-Akt and P-Erk proteins. Compared with the LPS group, the LPS + 100 nmol/L dulaglutide treatment group exhibited reduced mRNA levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , CCL2, CXCL1, and CXCL2, decreased TUNEL-positive cells, and downregulated expression of P-Akt and P-Erk proteins. However, the LPS + 200 nmol/L dulaglutide treatment group showed less pronounced improvement in inflammatory factors compared to the LPS + 100 nmol/L dulaglutide group. **Conclusion** Dulaglutide has a protective effect on LPS-induced injury in MLE-12 cells, potentially through inhibiting Akt and Erk phosphorylation, thereby reducing the expression of inflammatory mediators and alleviating inflammatory damage, ultimately protecting the lungs.

**Key words** dulaglutide; lipopolysaccharide; acute lung injury; MLE-12 cells; inflammatory response

**Fund programs** Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH053182); Health Research Project of Anhui Province (No. AHWJ2023Bac10010)

**Corresponding authors** Zhong Xing, E-mail: zhongxing761@163.com