

网络出版时间:2026-03-02 16:20:10 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260506.1130.019

IL-17A 在高耐药且高毒力金黄色葡萄球菌急性吸入性肺炎中的作用

匡琪^{1,2},朱小雨²,李璐²,王雪燕^{1,2},闫培杰²,张丽丽²,吕蒙²,胡凌飞²,周冬生²,杨文慧^{1,2}

(¹安徽医科大学基础医学院,合肥 230032;²军事科学院军事医学研究院,北京 100071)

摘要 目的 探究白细胞介素(IL)-17A 在高耐药且高毒力金黄色葡萄球菌 USA300-R 所致小鼠急性吸入性肺炎中的作用。方法 利用气溶胶肺递送技术构建 USA300-R 小鼠急性吸入性肺炎模型,通过转录组测序(RNA-seq)、酶联免疫吸附实验(ELISA)分别检测感染小鼠肺部 *Il17a* 基因、IL-17A 蛋白表达趋势;利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术构建 *Il17a* 基因敲除(*Il17a*^{-/-})小鼠,比较 *Il17a*^{-/-} 小鼠和野生型小鼠吸入感染 USA300-R 后的生存情况、体质量、肺部菌载量和肺组织病理变化趋势。结果 USA300-R 感染后,小鼠肺组织 *Il17a* 基因表达水平、肺泡灌洗液(BALF)中 IL-17A 蛋白表达水平在感染后 12 h 较感染前分别提升 50 倍($P<0.01$)、6 倍($P<0.001$);相比于野生型小鼠,*Il17a*^{-/-} 小鼠肺组织菌载量在感染后 12 h 和 24 h 均提高约 10 倍($P<0.001$, $P<0.05$),但肺组织病理损伤程度显著减弱,肺泡壁增厚程度减轻,中性粒细胞浸润程度显著下降,存活率提高约 50% ($P<0.05$)。结论 IL-17A 在金黄色葡萄球菌 USA300-R 急性吸入性肺炎中通过招募中性粒细胞参与杀菌,但过度浸润的中性粒细胞加剧小鼠肺部炎症损伤,降低存活率,是潜在的治疗靶点。

关键词 IL-17A;金黄色葡萄球菌;肺炎;促炎;中性粒细胞;基因敲除

中图分类号 R378.1;R563.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2026)04-0599-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2026.04.002

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)是一种重要耐药致病菌^[1],被世界卫生组织列为“高度优先”病原体。MRSA 可导致皮肤感染、肺炎等多种疾病,致死率约为 63.1%^[2],其中肺炎致死高达 16.0%^[3-4]。目前,万古霉素是治疗 MRSA 的首选药物^[4],但其副作用显著^[1,5],并存在诱导耐药风险^[6],因此亟需寻找新干预靶点。

白细胞介素(inteleukin, IL)-17A 是 IL-17 家族调控中性粒细胞招募的关键炎性因子^[2-4,7],其功能可能具有模型依赖性:在铜绿假单胞菌所致慢性阻塞性肺病中,IL-17A 驱动晚期中性粒细胞浸润,加剧肺损伤^[8];而在脓毒症^[9]或 MRSA 皮肤感染^[10]中,IL-17A 对中性粒细胞的招募则有利于控制感染。然而,IL-17A 在 MRSA 急性肺炎的具体作用尚未明确。该研究通过构建 *Il17a*^{-/-} 小鼠,比较其与野生型小鼠感染后的生存体质量、肺部菌载量及病理损伤,以阐明 IL-17A 在 MRSA 急性肺炎中的作用

机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 金黄色葡萄球菌 USA300-R 菌株(ATCC BAA-1566),属于 ST8 分型、MRSA 菌株,对甲氧西林和四环素等多种抗生素耐药,由陆军军医大学饶贤才教授馈赠。

1.1.2 实验动物 以 SPF 级 C57BL/6J 小鼠(6~8 周龄,雌性)作为野生型小鼠(wild type, WT),购自北京斯贝福实验动物技术有限公司。SPF 级 *Il17a*^{-/-} C57BL/6J 小鼠(6~8 周龄,雌性),购自江苏集萃药康生物科技有限公司。本实验已通过军事医学研究院微生物流行病学研究所动物实验伦理审查委员会批准,批号:IACUC-DWZX-2025-A013。动物饲养及感染均在军事医学研究院动物中心完成,按照实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.1.3 主要试剂和仪器 脑心浸润液培养基(brain heart infusion broth, BHI,英国 Oxoid 生物公司);琼脂糖(翌圣生物科技股份有限公司);血琼脂平板(北京陆桥技术有限责任公司);泊洛沙姆(美国 Sigma-Aldrich 生物公司);3% 过氧化氢、75% 乙醇(山东安捷高科消毒科技有限公司);磷酸盐缓冲液

2026-02-11 接收

基金项目:国家重点研发计划项目(编号:2024YFC2309300)

作者简介:匡琪,女,硕士研究生;

杨文慧,女,博士,副研究员,硕士生导师,通信作者,E-mail: fionyoung@163.com

(phosphate buffered saline, PBS, 天津灏洋生物制品科技有限责任公司); 0.9% 氯化钠注射液(山东华鲁制药有限公司); 鼠尾鉴定试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司); 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)酶预混液(北京博迈德基因技术有限公司); PCR引物(北京天一辉远生物科技有限公司); 核酸凝胶染料(北京擎科生物科技股份有限公司); 50× TAE电泳缓冲液(江苏康润生物科技有限公司); Mouse IL-17A ELISA KIT(北京索莱宝科技有限公司); RNA快速提取试剂盒(上海奕杉生物科技有限公司); HiScript II One Step qRT-PCR SYBR Green Kit(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。生物安全柜(美国Nauire公司, 型号: NU-440-44E); 细菌震荡培养箱(上海精宏实验设备有限公司, 型号: HZQ-F160); 高通量水平电泳槽(上海翌圣生物科技股份有限公司, 型号: MiniPro™ EpBasic); 紫外分光光度计(上海元析仪器有限公司, 型号: UV-8000A); 液体气溶胶肺递送装置(北京慧荣和科技有限公司, 型号: MKC22524); 立式低温高速离心机(日本Hitachi Koki有限公司, 型号: CR22N); 电子天平(苏州培科实验室仪器科技有限公司, 型号: WTC 2000); 微量分光光度计(型号: Nano-Drop2000)、PCR仪(型号: ABIProFlex)、成像系统(型号: iBright CL750)、实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR)系统(型号: Applied Biosystems 7300)(美国赛默飞世尔科技公司)。

1.2 方法

1.2.1 细菌培养及菌液制备 将-80℃保存的甘油菌种以1:1 000的比例接种于20 mL的BHI肉汤中, 置于37℃振荡(220 r/min)培养14 h, 直至细菌生长至平台期, 600 nm处吸光度(absorbance, $A_{600\text{nm}}$)>2.6, 作为第1代菌。随后, 取第1代菌以1:200的比例接种于20 mL BHI肉汤中, 继续在37℃振荡(220 r/min)培养3.5 h, 此时菌液 $A_{600\text{nm}} \approx 1.5$, 作为第2代菌。接着, 将第2代菌以1:200的比例接种于BHI肉汤中, 继续在37℃振荡(220 r/min)培养3.5~4 h, 直至菌液 $A_{600\text{nm}} = (1.8 \sim 2.0)$ 值, 此为第3代菌。收集第3代菌液至无菌1.5 mL离心管, 4 000 r/min, 离心10 min, 弃去上清液, 用适量含0.05%泊洛沙姆0.9%氯化钠注射液重悬, 调整菌液 $A_{600\text{nm}} = 1.8$ 。最后将 $A_{600\text{nm}} \approx 1.8$ 的菌液浓缩至3倍, 此时菌落计数约为 1×10^8 菌落形成单位(colony forming

unit, CFU), 作为后续感染小鼠的剂量^[11]。

1.2.2 RNA-seq分析IL-17家族基因表达水平 基于基因表达综合库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)中高耐药且高毒力金黄色葡萄球菌USA300-R小鼠急性吸入性肺炎模型的肺组织RNA-seq数据集GSE220943^[12], 采用基因表达量标准化指标(fragments per kilobase of transcript per million mapped reads, FPKM值)评估模型中IL-17家族关键基因的表达水平。肺炎模型由USA300-R菌株以 1×10^8 CFU(亚致死剂量)经液体气溶胶肺递送途径攻毒^[13]WT小鼠而得, 感染0~24 h为急性炎症期, 24~48 h为炎症恢复期, 48~96 h为损伤修复期。RNA-seq数据集包括感染后0、12、24、48、96 h共5个时间点的肺组织样本测序结果, 每个时间点含3份肺组织样本。

1.2.3 RT-qPCR检测*Il17a*基因表达水平 USA300-R菌株以 1×10^8 CFU剂量(50 μL)经液体气溶胶肺递送途径攻毒^[13]9只WT小鼠, 分别在感染后0、12、24 h取3只小鼠的肺组织, 使用RNA快速提取试剂盒获得该小鼠肺组织总RNA, 根据RT-qPCR试剂盒说明书进行相关RT-qPCR操作, 每只小鼠设置3个复孔。鉴定*Il17a*基因所用RT-qPCR引物为: 正向引物, 5'-GTCCTCCATTCTCTGATGCAC-3'; 反向引物, 5'-GGATGCTTCCTCTACCAGCC-3'。*β-actin*内参所用引物为: 正向引物, 5'-GGC TGTATTCCCCTCCATCG-3'; 反向引物, 5'-CCAGT TGTAACAATGCCATGT-3'。RT-qPCR体系为: 5 μL 2× One Step SYBR Green Mix、0.5 μL One Step SYBR Green Enzyme Mix、Primer F和Primer R各0.5 μL、0.2 μL Dye II、1 μL RNA template, 最后ddH₂O补足体积至10 μL。RT-qPCR反应条件: 50℃逆转录180 s, 95℃预变性30 s, 40次循环反应(95℃变性10 s, 60℃延伸30 s), 溶解曲线解析(95℃变性15 s, 60℃退火60 s, 溶解: 从60℃缓慢、连续升温至95℃, 并在此过程中持续采集荧光信号)。

1.2.4 ELISA检测IL-17A蛋白表达水平 USA300-R菌株以 1×10^8 CFU剂量(50 μL)经液体气溶胶肺递送途径攻毒^[13]30只WT小鼠, 分别在感染后0、12、24 h各取10只小鼠, 对小鼠进行肺泡灌洗操作, 使用小鼠IL-17A ELISA试剂盒检测BALF中IL-17A蛋白表达水平。

1.2.5 PCR鉴定*Il17a*^{-/-}小鼠基因型 对*Il17a*^{-/-}基因敲除小鼠进行鉴定, 并设置WT小鼠作为对照。

根据鼠尾鉴定试剂盒说明书配制消化液,剪取约2 mm鼠尾浸泡在消化液中,使用PCR仪,将消化液在55℃下孵育15 min、95℃下孵育5 min后,加入终止液,吸取上清即为提取的小鼠基因组DNA。使用微量分光光度计测定DNA浓度后,对两种小鼠鼠尾提取基因组样本进行PCR扩增,同时设置空白对照,以鉴定*Il17a*基因是否敲除成功。体系①为鉴定*Il17a*基因所用第1对PCR引物(F1R1):正向引物,5'-TGCTCTGCACTCGTATTCTCATG-3';反向引物,5'-ACATATCCAGCAGGATGCTTCC-3'。体系②为鉴定*Il17a*基因所用第2对PCR引物(F2R2):正向引物,5'-AGCTCAGCGTGTCCAAACAC-3';反向引物,5'-CCCTGCTCTATCCAAGAACTCTG-3'。*β-actin*内参:正向引物,5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3';反向引物,5'-CCAGTTGCTAACAAATGCCATGT-3'。PCR体系为:15 μL 2×Taq pre-mix、Primer F和Primer R各0.5 μL、0.2 μL Dye II、3 μL DNA template,最后ddH₂O补足体积至30 μL。PCR反应条件:94℃预变性180 s,95℃变性30 s,72℃退火30 s,72℃延伸30 s,72℃最终延伸10 min。PCR结束后,对PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳分析,上样量为5 μL,110 V电泳30 min。

1.2.6 小鼠肺组织菌载量检测 USA300-R菌株以 1×10^8 CFU剂量(50 μL)经液体气溶胶肺递送途径攻毒^[13]WT小鼠和*Il17a*^{-/-}小鼠各12只,感染后0、12、24 h每组处死4只,制备肺组织匀浆,取10 μL梯度稀释后的溶液滴血琼脂平板,37℃培养箱中培养16~24 h后进行菌落计数。

1.2.7 小鼠肺组织病理检测 攻毒和分组方法同上,感染后0、12、24 h每组处死4只,取整肺浸泡在4%组织固定液48 h后,由武汉赛维尔生物科技有限公司完成样本包埋、石蜡切片及苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色。在光学显微镜下观察肺组织病理变化,进行病理损伤评分。采用Smith评分方法^[14]对肺水肿、肺泡以及间质炎症、肺泡及间质出血、肺不张和透明膜形成,分别进行0~4分半定量分析:无损伤,0分;病变范围<25%,1分;病变范围占25%~50%,2分;病变范围占50%~75%,3分;病变>75%至满视野,4分;总肺损伤评分为上述各项之和。每只动物观察10个高倍镜视野,取其平均值。

1.2.8 小鼠生存曲线测定及体质量变化检测 USA300-R菌株以 2×10^8 CFU剂量(半数致死剂

量,50 μL)经液体气溶胶肺递送途径攻毒WT小鼠和*Il17a*^{-/-}小鼠各10只,观察并记录感染后7 d内小鼠的生存情况和体质量变化趋势。

1.3 统计学处理 采用GraphPad Prism 10.1.2软件绘图,并进行统计学分析。*Il17a*基因表达水平比较采用单因素方差分析,小鼠BALF中IL-17A蛋白表达水平比较采用双因素方差分析,小鼠存活率估计采用Kaplan-Meier法,比较采用Log-rank检验,肺组织病理评分比较采用双因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 USA300-R感染后WT小鼠肺部*Il17a*基因表达情况 对肺组织的RNA-seq数据集进行差异基因表达分析,结果显示,与0 h相比,IL-17A家族基因中*Il17a*和*Il17f*在USA300-R感染后12 h上调($P < 0.001$, $P < 0.01$),均较感染前提升约10倍(图1A)。随后通过RT-qPCR进一步验证*Il17a*基因在感染后12 h显著上调,较感染前提升约50倍($P < 0.01$)(图1B)。

2.2 USA300-R感染后WT小鼠肺部IL-17A蛋白水平升高 构建WT小鼠急性吸入性肺炎模型,对感染后0、12、24 h的小鼠BALF进行ELISA检测,发现感染12 h后小鼠肺部IL-17A的表达水平急速升高,较感染前提升约6倍($P < 0.001$);感染后24 h,IL-17A的表达水平较12 h略有降低,但仍较感染前提升约5倍($P < 0.01$)(图2)。IL-17A蛋白与*Il17a*基因表达水平在感染后12 h均保持升高趋势,提示IL-17A在急性吸入性肺炎的急性炎症期(感染后0~24 h之前)发挥重要作用。

2.3 *Il17a*^{-/-}小鼠的构建与鉴定 使用CRISPR/Cas9基因编辑技术,敲除C57BL/6J小鼠体内的*Il17a*基因,构建*Il17a*^{-/-}小鼠,体系①鉴定引物为F1R1,体系②鉴定引物为F2R2(图3A),*Il17a*^{-/-}小鼠仅在体系①中出现单条带,体系②中无条带;WT小鼠在体系①的1 248 bp和体系②的314 bp分别出现单条带。通过PCR鉴定小鼠基因型,1~18泳道,仅在体系①中356 bp左右出现单条带、体系②中无条带,为纯合*Il17a*^{-/-}小鼠;19~20泳道在体系①的1 248 bp、体系②的314 bp分别出现条带,为WT小鼠(图3B);表明纯合*Il17a*基因敲除小鼠构建成功。同时,动物饲养情况表明,*Il17a*^{-/-}小鼠生长发育稳定,能正常繁育后代,可以开展后续实验。

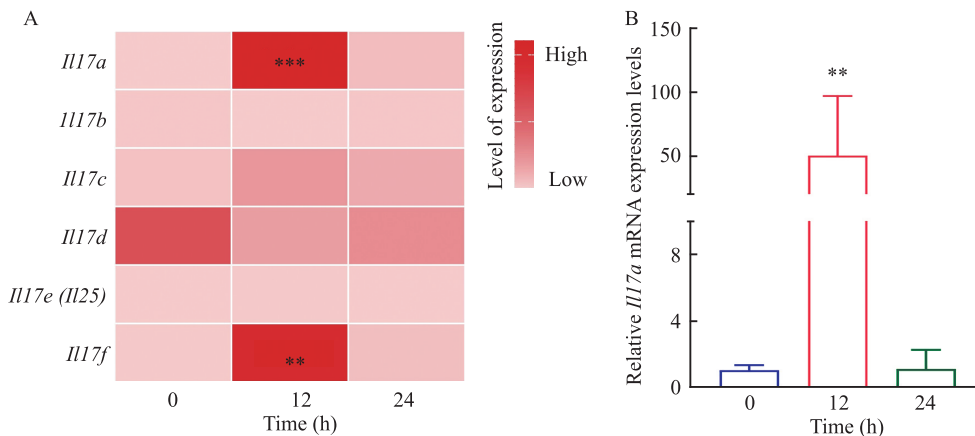


图1 USA300-R感染后WT小鼠肺部 *Il17a* 基因水平变化 ($n = 3$)

Fig. 1 Changes in *Il17a* gene level in the lungs of WT mice after USA300-R infection ($n = 3$)

A: Changes in the expression of *Il17a* family genes in WT mice lung tissue after USA300-R infection; B: Changes in relative *Il17a* mRNA expression levels in lung tissue of WT mice after USA300-R infection; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs 0 h group.

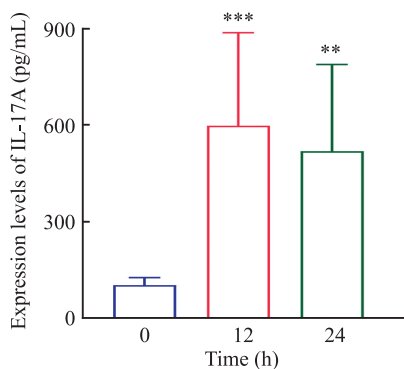


图2 USA300-R感染后WT小鼠BALF中IL-17A表达水平变化 ($n = 10$)

Fig. 2 Changes in IL-17A expression level in BALF of WT mice after USA300-R infection ($n = 10$)

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs 0 h group.

2.4 USA300-R感染后 *Il17a*^{-/-}小鼠与WT小鼠肺组织细菌载量变化 对感染后0、12、24 h的两组小鼠肺组织匀浆样本进行菌落培养,相比于WT小鼠, *Il17a*^{-/-}小鼠细菌清除速度减缓,在12、24 h时,敲除小鼠的细菌载量提升约10倍 ($P < 0.001, P < 0.05$),表明IL-17A能够促进小鼠肺部细菌清除。见图4。

2.5 USA300-R感染后 *Il17a*^{-/-}小鼠与WT小鼠肺组织病理学分析 针对 *Il17a*^{-/-}小鼠和WT小鼠急性吸入性肺炎模型,取感染后0、12、24 h的两组小鼠肺组织进行HE染色与观察。结果显示,0 h时WT小鼠与 *Il17a*^{-/-}小鼠均未见明显异常;12 h时WT小鼠比 *Il17a*^{-/-}小鼠肺部损伤更严重、肺泡壁更厚、肺泡间隔更宽,并伴有大量中性粒细胞浸润现象,但病理评分无显著差异;24 h时,WT小鼠明显比 *Il17a*^{-/-}小鼠出现更多粒细胞浸润,小范围肺泡实质

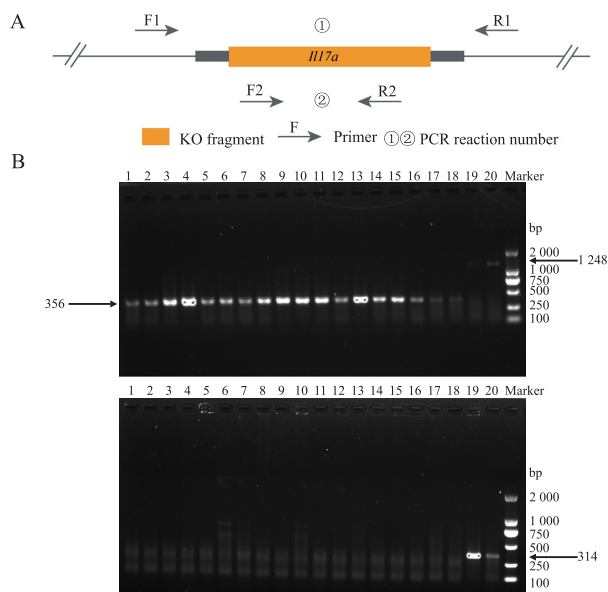


图3 *Il17a*^{-/-}小鼠敲除策略及基因型鉴定

Fig. 3 The knockout strategy and genotyping identification of *Il17a*^{-/-} mice

A: Schematic diagram of the *Il17a* gene knockout protocol in C57BL/6J mice; B: Genotyping results of *Il17a*^{-/-} mice; The upper panel shows the PCR product amplified in reaction ①; the lower panel shows the product amplified in reaction ②; Lanes 1-18: *Il17a*^{-/-} mice; lanes 19, 20: WT mice.

化,较多的细胞碎片(图5A),病理评分显示 *Il17a*^{-/-}小鼠肺组织病理评分低于WT小鼠 ($P < 0.05$) (图5B)。

2.6 USA300-R感染后 *Il17a*^{-/-}小鼠与WT小鼠生存曲线与体质量变化 对攻毒后的两组小鼠进行临床观察,发现 *Il17a*^{-/-}小鼠相较WT小鼠存活率提升约50% ($P < 0.05$) (图6A),在急性炎症期(0~2 d)

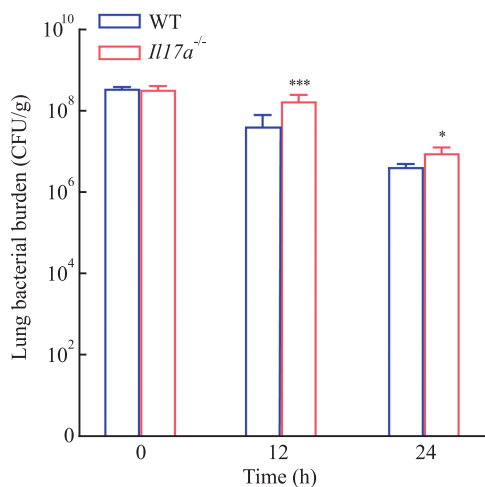


图4 USA300-R感染小鼠细菌载量变化($n=4$)

Fig. 4 Changes in bacterial load in mice infected with USA300-R ($n=4$)

* $P<0.05$, *** $P<0.001$ vs WT group.

体质量下降具有变慢的趋势(图6B),在损伤修复期(2~7 d),体质量恢复也存在同样趋势。上述结果表明IL-17A在USA300-R感染后的急性炎症期(0~2 d)发挥促炎作用,能够导致小鼠病死率增加。

3 讨论

MRSA所致急性吸入性肺炎因病情进展迅速、治疗难度大,成为临床棘手问题^[15]。常规抗生素治疗不仅存在副作用,还易加速耐药性进化^[16]。因此,深入探究MRSA与宿主免疫应答的相互作用,对于疾病预防和临床用药具有重要意义。

本研究以高耐药且高毒力MRSA菌株USA300-R为对象,采用液体气溶胶肺递送技术构建小鼠急性肺炎模型^[11],此方法将细菌精准递送至下呼吸道,更好地模拟细菌在肺部的自然定植与感染^[13]。本研究中MRSA感染后小鼠肺组织及BALF中IL-17A表达水平显著升高,提示其可能参与宿主抗感染免疫应答。为明确IL-17A的具体作用,本研究通过CRISPR/Cas9技术构建了*Il17a*基因敲除小鼠,比较其与WT小鼠的感染表型。结果显示,亚致死剂量MRSA感染后,两组小鼠肺组织细菌载量均随时间降低,但*Il17a*^{-/-}小鼠细菌载量显著高于WT小鼠,表明IL-17A可促进肺部细菌清除。肺组织病理观察进一步证实,与*Il17a*^{-/-}相比,WT小鼠感染后中性粒细胞浸润显著增加,这与IL-17A通过招募中性粒细胞参与抗菌防御的已知功能一致^[17-18]。

然而,与菌载量结果相反的是,*Il17a*^{-/-}小鼠肺组织病理损伤程度显著减轻,粒细胞浸润减少,肺泡

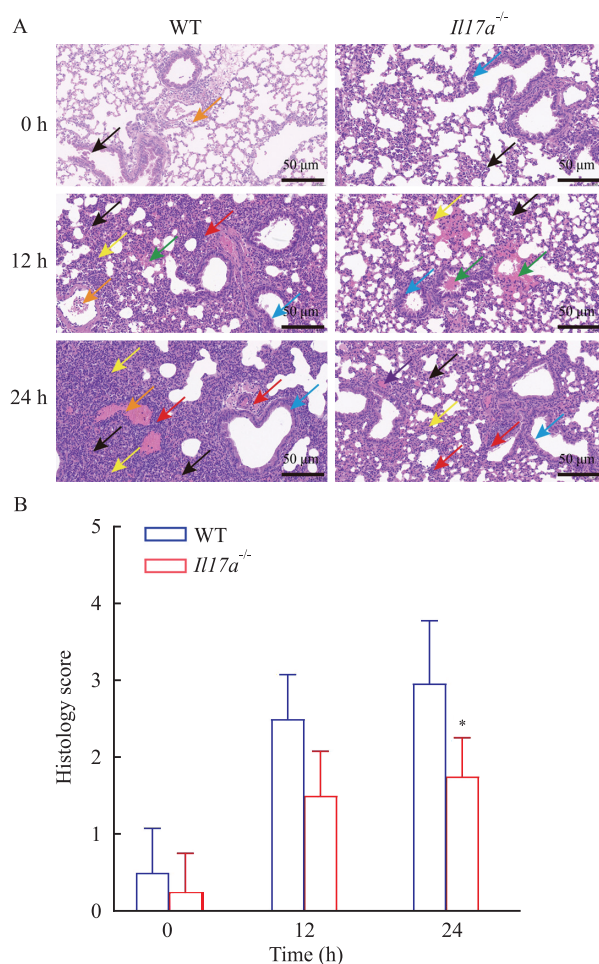


图5 USA300-R感染小鼠后肺组织病理变化(A)及评分(B) ($n=4$) $\times 20$

Fig. 5 Histopathological changes in lung tissue of mice after USA300-R infection (A) and corresponding scoring (B) ($n=4$) $\times 20$

Black arrows indicate granulocyte infiltration; blue arrows indicate irregular arrangement of bronchiolar epithelial cells; yellow arrows indicate necrotic cellular debris; orange arrows indicate minimal peripheral edema; green arrows indicate focal hemorrhage; red arrows indicate perivascular focal infiltration of granulocytes; * $P<0.05$ vs WT group.

壁增厚、细胞碎片堆积等改变明显缓解。Ellson et al^[18]研究表明,中性粒细胞通过吞噬、脱颗粒及释放胞外陷阱直接清除细菌,但过度激活的中性粒细胞释放的活性氧和炎症因子,会破坏肺泡结构,加剧肺部损伤,最终导致宿主死亡。同样在本研究中,半数致死剂量MRSA感染后,*Il17a*^{-/-}小鼠存活率显著高于WT小鼠,可能是IL-17A虽通过招募中性粒细胞清除细菌,但大量中性粒细胞激活后释放的炎症因子和活性氧会加剧肺泡结构破坏,导致严重肺损伤。而*Il17a*^{-/-}小鼠因缺乏IL-17A的趋化信号,中性粒细胞浸润减少,炎症损伤减轻,生存结局得以

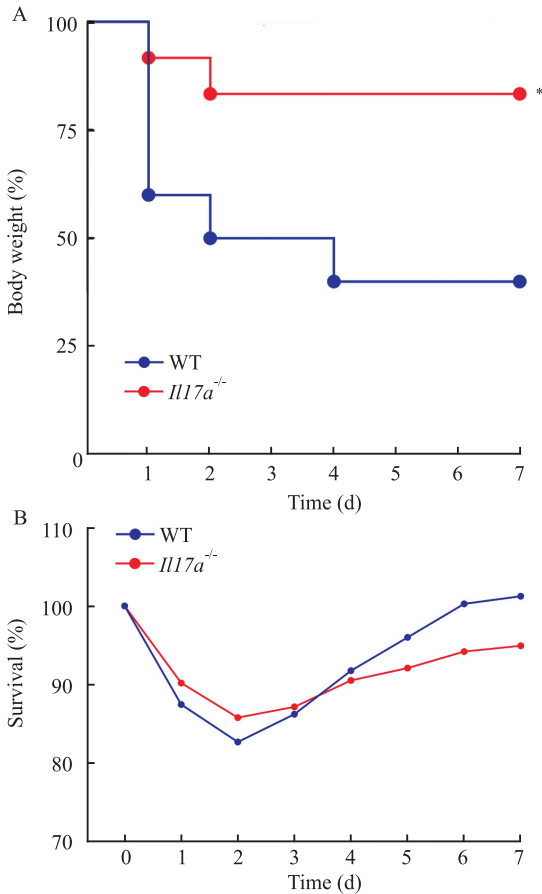


图6 USA300-R感染小鼠生存和体质量变化 (n = 10)

Fig. 6 Survival and body weight changes of mice infected with USA300-R (n = 10)

A: Survival curves of wild-type mice and *Il17a^{-/-}* mice infected with USA300-R; B: Body weight changes of wild-type mice and *Il17a^{-/-}* mice infected with USA300-R; **P*<0.05 vs WT group.

改善。

综上所述,IL-17A在MRSA急性吸入性肺炎中具有双重作用:既通过招募中性粒细胞促进细菌清除,又因过度炎症反应加剧肺损伤、降低存活率。研究为揭示MRSA肺炎免疫病理机制提供了相关实验依据,为优化临床抗炎治疗策略提供参考。

参考文献

[1] Masuta K, Oba Y, Iwata K. Linezolid versus vancomycin for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nosocomial pneumonia: controversy continues[J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(1): 161. doi:10.1093/cid/cis331.

[2] Ikuta K S, Swetschinski L R, Robles Aguilar G, et al. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet, 2023, 400(10369): 2221-48. doi:10.1016/S0140-6736(22)02185-7.

[3] 刘周, 杨凯, 姚杰, 等. 金黄色葡萄球菌临床流行趋势

及耐药性分析[J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(4): 409-12. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2013.04.021.

[3] Liu Z, Yang K, Yao J, et al. Antimicrobial resistance and clinical epidemic trend of *Staphylococcus aureus* [J]. Acta Univ Med Anhui, 2013, 48(4): 409-12. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2013.04.021.

[4] Ota C, Ng-Blichfeldt J P, Korfei M, et al. Dynamic expression of HOPX in alveolar epithelial cells reflects injury and repair during the progression of pulmonary fibrosis[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 12983. doi:10.1038/s41598-018-31214-x.

[5] An M M, Shen H, Zhang J D, et al. Linezolid versus vancomycin for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection: a meta-analysis of randomised controlled trials [J]. Int J Antimicrob Agents, 2013, 41(5): 426-33. doi:10.1016/j.ijantimicag.2012.12.012.

[6] Naghavi M, Vollset S E, Ikuta K S, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050 [J]. Lancet, 2024, 404(10459): 1199-226. doi:10.1016/s0140-6736(24)01867-1.

[7] Sun L, Wang L, Moore B B, et al. IL-17: balancing protective immunity and pathogenesis [J]. J Immunol Res, 2023, 2023: 3360310. doi:10.1155/2023/3360310.

[8] Ding F, Han L, Fu Q, et al. IL-17 aggravates *Pseudomonas aeruginosa* airway infection in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Front Immunol, 2022, 12: 811803. doi:10.3389/fimmu.2021.811803.

[9] Cho J S, Pietras E M, Garcia N C, et al. IL-17 is essential for host defense against cutaneous *Staphylococcus aureus* infection in mice [J]. J Clin Invest, 2010, 120(5): 1762-73. doi:10.1172/jci40891.

[10] Marchitto M C, Dillen C A, Liu H, et al. Clonal Vγ6⁺Vδ4⁺T cells promote IL-17-mediated immunity against *Staphylococcus aureus* skin infection [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(22): 10917-26. doi:10.1073/pnas.1818256116.

[11] Zhao Y, Zhou D S, Yang W H, et al. Model construction and characteristic analysis of pneumonia induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice [J]. Chin J Zoonoses, 2023, 39(5): 447-54. doi:10.3969/j.issn.1002-2694.2023.00.042.

[12] Zhao Y, Zhai L, Qin T, et al. Time-course transcriptome analysis of the lungs of mice challenged with aerosols of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone reveals inflammatory balance [J]. Biomolecules, 2023, 13(2): 347. doi:10.3390/biom13020347.

[13] Wang J, Hu L, Zhang Z, et al. Mice fatal pneumonia model induced by less-virulent *Streptococcus pneumoniae* via intratracheal aerosolization [J]. Future Microbiol, 2024, 19(12): 1055-1070. doi:10.1080/17460913.2024.2355738.

[14] Eltzschig H K, Bratton D L, Colgan S P. Targeting hypoxia signalling for the treatment of ischaemic and inflammatory diseases [J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(11): 852-69. doi:10.1038/nrd4422.

- [15] Lodise T P Jr, McKinnon P S. Burden of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: focus on clinical and economic outcomes [J]. *Pharmacotherapy*, 2007, 27(7): 1001-12. doi:10.1592/phco.27.7.1001.
- [16] Howden B P, Giulieri S G, Wong Fok Lung T, et al. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21(6): 380-95. doi:10.1038/s41579-023-00852-y.
- [17] Gurczynski S J, Moore B B. IL-17 in the lung: the good, the bad, and the ugly [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314(1): L6-L16. doi:10.1152/ajplung.00344.2017.
- [18] Ellson C D, Riça I G, Kim J S, et al. An integrated pharmacological, structural, and genetic analysis of extracellular versus intracellular ROS production in neutrophils [J]. *J Mol Biol*, 2022, 434(9): 167533. doi:10.1016/j.jmb.2022.167533.

Role of IL-17A in acute inhalational pneumonia caused by highly virulent and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*

Kuang Qi^{1,2}, Zhu Xiaoyu², Li Lu², Wang Xueyan^{1,2}, Yan Peijie², Zhang Lili²,

Lü Meng², Hu Lingfei², Zhou Dongsheng², Yang Wenhui^{1,2}

(¹ School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032; ² Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100071)

Abstract Objective To investigate the role of interleukin (IL)-17A in acute inhalational pneumonia induced by the highly drug-resistant and hypervirulent *Staphylococcus aureus* strain USA300-R in mice. **Methods** An acute inhalational pneumonia model was established in mice using an aerosolized pulmonary delivery technique. RNA sequencing (RNA-seq) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were employed to examine the expression dynamics of *Il17a* mRNA and IL-17A protein, respectively, in the lungs of infected mice. *Il17a* knockout (*Il17a*^{-/-}) mice were generated using CRISPR/Cas9 gene editing technology. The survival rate, body weight, bacterial load in lung tissue, and histopathological changes were compared between *Il17a*^{-/-} and wild-type (WT) mice following inhalational infection with USA300-R. **Results** 12 hours after USA300-R infection, compared to pre-infection, the expression level of *Il17a* mRNA in lung tissue and the level of IL-17A protein in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) increased by approximately 50-fold ($P < 0.01$) and 6-fold ($P < 0.001$), respectively. Compared to WT mice, *Il17a*^{-/-} mice exhibited approximately 10-fold higher bacterial loads in lung tissue at both 12 and 24 hours post-infection ($P < 0.001$, $P < 0.05$). However, they showed significantly attenuated lung histopathological injury, reduced alveolar wall thickening, markedly decreased neutrophil infiltration, and an approximately 50% improvement in survival rate ($P < 0.05$). **Conclusion** In acute *Staphylococcus aureus* USA300-R inhalational pneumonia, IL-17A contributes to bacterial clearance by recruiting neutrophils; however, excessive neutrophil infiltration exacerbates pulmonary inflammation and injury, reduces survival rates, and represents a potential therapeutic target.

Key words IL-17A; *Staphylococcus aureus*; pneumonia; pro-inflammatory effect; neutrophil; gene knockout

Fund program National Key Research and Development Program of China (No. 2024YFC2309300)

Corresponding author Yang Wenhui, E-mail: fionyoung@163.com