

白花丹素对AECOPD大鼠炎症反应及氧化应激的影响及机制[△]

王亚茹^{1*}, 许佩佩², 李士荣^{1#} (1. 东南大学附属中大医院江北院区呼吸与危重症医学科, 南京 210044; 2. 南京鼓楼医院血液科, 南京 210008)

中图分类号 R965; R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)18-2250-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.18.06



摘要 **目的** 基于Notch1/GATA3信号通路探究白花丹素对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)大鼠炎症反应及氧化应激的影响及潜在机制。**方法** 随机选择10只大鼠, 作为对照组; 另取65只大鼠, 通过吸入香烟烟雾+气管滴注内毒素+鼻腔给菌的方式构建AECOPD模型, 并将造模成功的50只大鼠随机分为AECOPD组、白花丹素低剂量组(10 mg/kg)、白花丹素高剂量组(50 mg/kg)、阳性对照组(地塞米松0.09 mg/kg)、白花丹素高剂量+Jagged1(Notch1激活剂)组(50 mg/kg+25 mg/kg), 每组10只。各组大鼠灌胃和腹腔注射相应药液或生理盐水, 每天1次, 连续28 d。末次给药后, 检测各组大鼠的肺功能指标(呼气流量峰值、0.3 s用力呼气容积与用力肺活量比值)、支气管肺泡灌洗液中的炎症细胞数(白细胞总数及淋巴细胞数、中性粒细胞数、巨噬细胞数)和炎症因子[白细胞介素6(IL-6)、IL-10、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]水平以及肺组织中氧化应激指标[超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)]含量, 观察肺组织病理学变化并进行病理学评分, 检测肺组织中黏蛋白5ac(Muc5ac)、Notch1、GATA3蛋白的表达情况。**结果** 与对照组比较, AECOPD组大鼠肺泡壁结构严重受损, 可见大量炎症细胞浸润, 并伴有管壁增厚等病理学改变; 肺功能指标、IL-10水平、SOD含量均显著降低; 各炎症细胞数, IL-6、TNF- α 水平, MDA含量, 病理学评分, 以及Muc5ac、Notch1、GATA3蛋白的表达均显著升高或上调($P<0.05$); 与AECOPD组比较, 白花丹素各剂量组大鼠肺组织病理学变化均明显减轻, 上述定量指标均显著改善, 且高剂量组的改善更明显($P<0.05$); Jagged1可显著逆转高剂量白花丹素对AECOPD大鼠肺损伤及相关指标的改善作用($P<0.05$)。**结论** 白花丹素可抑制AECOPD大鼠肺部的炎症反应及氧化应激, 减轻肺损伤, 改善肺功能, 上述作用可能与抑制Notch1/GATA3信号通路有关。

关键词 白花丹素; 慢性阻塞性肺疾病急性加重期; 炎症反应; 氧化应激; Notch1/GATA3信号通路

Effects and mechanism of plumbagin on the inflammatory response and oxidative stress in rats with AECOPD

WANG Yaru¹, XU Peipei², LI Shirong¹ (1. Dept. of Respiratory and Critical Care Medicine, Jiangbei Campus, Zhongda Hospital Southeast University, Nanjing 210044, China; 2. Dept. of Hematology, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the effects and potential mechanism of plumbagin on the inflammatory response and oxidative stress in rats with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) based on Notch1/GATA3 signaling pathway. **METHODS** Ten rats were randomly selected as the control group; another 65 rats were used to establish the AECOPD model by inhaling cigarette smoke, intratracheal administration of endotoxin, and nasal inoculation of bacteria. The 50 successfully modeled rats were randomly divided into the AECOPD group, plumbagin low-dose group (10 mg/kg), plumbagin high-dose group (50 mg/kg), positive control group (dexamethasone 0.09 mg/kg), and high-dose plumbagin+Jagged1 (Notch1 activator) group (50 mg/kg+25 mg/kg), with 10 rats in each group. Each group was administrated intragastrically or intraperitoneally with the corresponding drug solution or normal saline, once a day for 28 consecutive days. After the last administration, the lung function indicators (peak expiratory flow, the ratio of forced expiratory volume in 0.3 seconds to forced vital capacity), the number of inflammatory cells (white blood cells, lymphocytes, neutrophils, macrophages) in bronchoalveolar lavage fluid, the levels of inflammatory factors [interleukin-6 (IL-6), IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α)] in lung tissue, and the contents of oxidative stress indicators [superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA)] in lung tissue were all determined in each group; the pathological changes of lung tissue and the pathological scores, as well as protein expressions of mucin 5ac (Muc5ac), Notch1 and GATA3 in lung tissue were also detected. **RESULTS** Compared with the control group, the lung tissue of the AECOPD group rats showed severe damage to the alveolar wall structure, with a large number of inflammatory cells infiltration and accompanied by pathological changes such as thickening of the airway wall; their lung function indicators, IL-10 level, and SOD content were significantly

[△] 基金项目 国家重点研发计划项目(No.2020YFA0908204)

* 第一作者 住院医师, 硕士。研究方向: 慢性阻塞性肺疾病、肺曲霉病相关诊疗。E-mail: Wyaru1991@163.com

通信作者 主任医师, 硕士。研究方向: 肺部感染性疾病诊疗。E-mail: Rdoc1974@163.com

decreased; while the number of various inflammatory cells, IL-6 and TNF- α levels, MDA content, pathological score, as well as protein expressions of Muc5ac, Notch1 and GATA3 were significantly increased or upregulated ($P<0.05$). Compared with the AECOPD group, the pathological changes in the lung tissue of the rats in each plumbagin dose group were significantly alleviated, and the above quantitative indicators were significantly improved, and the improvement was more obvious in the plumbagin high-dose group ($P<0.05$). Jagged1 significantly reversed the protective effect of high-dose plumbagin on lung injury and related indicators in AECOPD rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Plumbagin can inhibit the inflammatory response and oxidative stress in the lungs of AECOPD rats, alleviate lung damage, and improve lung function. The above effects may be related to the inhibition of the Notch1/GATA3 signaling pathway.

KEYWORDS plumbagin; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; inflammatory response; oxidative stress; Notch1/GATA3 signaling pathway

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary di-sease, COPD)是呼吸系统常见疾病之一,可因刺激物(如有害气体、烟雾、细菌或病毒)入侵而导致患者病情恶化加重。COPD急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)是COPD进展的重要阶段之一,以肺气肿、阻塞性支气管炎和黏液分泌过多为主要病理特征,可导致患者频繁住院并长期治疗,给患者及其家庭带来沉重的经济负担^[1-2]。AECOPD的发病机制与肺部促炎刺激物引发的炎症细胞聚集密切相关,聚集的炎症细胞可分泌促炎性细胞因子、趋化因子等,并可通过级联效应进一步放大炎症反应,从而导致肺损伤^[3];此外,香烟烟雾是AECOPD的重要致病因素之一,其含有的大量自由基等有害物质可显著增加氧化剂负担,从而进一步加重肺损伤^[4]。目前,支气管扩张剂、抗菌药物及全身性类固醇是临床治疗AECOPD的主要药物。然而,耐药性及不良反应的出现极大地限制了上述治疗药物的应用^[5]。因此,寻找新的治疗方案具有重要的临床意义。

白花丹素是一种重要的植物化学成分,具有抗癌、抗炎、抗氧化等多种药理活性^[6]。Liu等^[7]研究表明,该成分可抑制脂多糖诱导的炎症反应,改善炎症所致的急性肺损伤。鉴于AECOPD与急性肺损伤在炎症机制上的相似性^[8-9],本课题组推测白花丹素可能对AECOPD也有类似的改善作用。Notch1信号通路在进化上高度保守,其中Notch1/GATA3信号通路在过敏性气道炎症的发展进程中具有重要作用,抑制该通路可有效减轻哮喘气道炎症^[10]。考虑到哮喘也是一种气道炎症性疾病,遂本课题组推测Notch1/GATA3信号通路可能也参与了AECOPD的发展。已有研究证实,Notch1信号通路可能是白花丹素的潜在作用靶点^[11]。基于此,本研究拟初步探索白花丹素对AECOPD大鼠炎症反应及氧化应激的影响,并基于Notch1/GATA3信号通路探讨白花丹素上述作用的潜在机制,以期对AECOPD治疗新药的研发提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括MasterScreen IOS型动物肺功能测试仪(德国Jaeger公司),Eclipse 80i型光学显

微镜(日本Nikon公司),ChemiDoc MP型全能型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司),Invitrogen™ EVOS™ FL Auto 2型倒置显微镜、1510型全波长酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)等。

1.2 主要药品、菌株与试剂

白花丹素对照品(纯度 $\geq 98\%$,货号JKG5271)购自上海晶抗生物工程有限公司;地塞米松对照品(阳性对照,纯度 $\geq 99\%$,货号YS-10528R)购自上海雅吉生物科技有限公司;Notch1激活剂Jagged1的对照品(纯度 $\geq 95\%$,货号J658621)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;丙二醛(malondialdehyde,MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(货号分别为A003-1、A001-1)均购自南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号BH-10160)购自济南博航生物技术有限公司;白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)ELISA试剂盒(货号SY-H8750)购自上海双赢生物科技有限公司;IL-10 ELISA试剂盒(货号ERC004)购自深圳欣博盛生物科技有限公司;鼠抗黏蛋白5ac(mucin 5ac, Muc5ac)、Notch1、GATA3、 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体及辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠免疫球蛋白G(H&L)二抗(货号分别为ab3649、ab280898、ab282110、ab8226、ab205719)均购自英国Abcam公司;BCA蛋白定量试剂盒(货号P0012)购自上海碧云天生物技术有限公司;内毒素(货号L2880)购自美国Sigma公司;增强型化学发光试剂(货号IN0004)购自西安中团生物科技有限公司;金黄色葡萄球菌(ATCC6538)购自上海坤肯生物化工有限公司。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠(无特异性病原体,7周龄,体重240~280 g)购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物生产许可证号为SCXK(苏)2023-0009。所有大鼠均饲养于东南大学实验动物中心[温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度55%~65%,12 h光照/12 h黑暗循环],自由摄食、饮水,适应性喂养7 d后进行后续实验。本研究方案获得东南大学附属中大医院伦理委员会批准(伦理批准号2024-15)。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

随机选择10只大鼠,作为对照组;另取65只大鼠,通过吸入香烟烟雾+气管滴注内毒素+鼻腔给菌的方式建立AECOPD大鼠模型^[3],具体操作如下:分别在实验第1、14、28天麻醉大鼠后,使用导管通过其喉部向肺内滴注1 g/L的内毒素0.2 mL(以生理盐水为溶剂),然后轻轻摇晃大鼠以确保内毒素在其肺部均匀分布;分别在实验第2~13、15~27天将大鼠置于玻璃熏箱(50 cm×40 cm×40 cm)中,使其暴露于香烟烟雾中30 min;在实验第29~32天,在大鼠鼻腔内滴注 2.4×10^9 cfu/mL的金黄色葡萄球菌菌液0.3 mL(以生理盐水为溶剂),以建立AECOPD大鼠模型。若大鼠出现打喷嚏、呼吸急促、体温升高、肺功能指标异常等,则判断为AECOPD模型制备成功。

将造模成功的50只大鼠随机分为AECOPD组,白花丹素低、高剂量组(白花丹素-低组、白花丹素-高组),阳性对照组,白花丹素高剂量+Jagged1组(白花丹素-高+Jagged1组),每组10只。其中,白花丹素-低组、白花丹素-高组大鼠分别灌胃白花丹素10、50 mg/kg(以二甲基亚砷为溶剂,剂量参考预实验及相关文献^[12]设置),并腹腔注射等体积生理盐水;阳性对照组大鼠灌胃地塞米松0.09 mg/kg(以二甲基亚砷为溶剂,剂量参考预实验及相关文献^[13]设置),并腹腔注射等体积生理盐水;白花丹素-高+Jagged1组大鼠灌胃白花丹素50 mg/kg,并腹腔注射Jagged1 25 mg/kg(以二甲基亚砷为溶剂,剂量参考预实验及相关文献^[14]设置);对照组和AECOPD组大鼠灌胃并腹腔注射等体积生理盐水,每天1次,连续28 d。

2.2 肺功能检测

末次给药后,麻醉各组大鼠,以仰卧位固定,在其颈部中央作一切口,暴露气管并插管,再与动物肺功能测试仪连接,测量并记录呼气流量峰值(peak expiratory flow, PEF)、0.3 s用力呼气容积(forced expiratory volume in 0.3 seconds, FEV_{0.3})与用力肺活量(forced vital capacity, FVC)比值(FEV_{0.3}/FVC)。

2.3 支气管肺泡灌洗液中炎症细胞数与炎症因子检测

肺功能检测结束后,从各组大鼠气管插管处缓慢注入磷酸盐缓冲液(PBS),灌洗左肺,随后回收相应的支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 2 mL,以2 000 r/min离心10 min后,取上清液。使用光学显微镜观察并记录白细胞总数和淋巴细胞数、中性粒细胞数、巨噬细胞数;使用酶标仪以ELISA法检测其中IL-6、IL-10、TNF- α 水平,所有操作严格按照相应试剂盒说明书进行。

2.4 肺组织中氧化应激指标检测

收集BALF后,将各组大鼠处死,打开胸腔,暴露肺部,收集其右肺下叶组织适量,匀浆后,使用酶标仪以硫代巴比妥酸法检测其中MDA含量,以黄嘌呤氧化酶法

检测其中SOD含量,所有操作严格按照相应试剂盒说明书进行。

2.5 肺组织病理学变化观察

收集各组大鼠的右肺中叶组织,取适量,置于10%福尔马林溶液中固定,经梯度乙醇脱水后,行常规石蜡包埋、切片;取切片,脱蜡后,依次进行苏木精、伊红染色;以中性树胶封片,使用光学显微镜观察肺组织病理学变化,并进行病理学评分,即炎症细胞浸润(0~3分)、肺泡结构受损(0~3分)、支气管上皮损伤(0~3分)3个维度的评分之和,分值越高表示肺损伤越严重^[15]。

2.6 肺组织中Muc5ac蛋白表达检测

采用免疫组化法检测。取“2.5”项下各组大鼠的肺组织切片,经脱蜡、抗原修复后,加入Muc5ac一抗(稀释比例为1:500),于4℃下孵育过夜;加入相应二抗(稀释比例为1:1 000),于37℃下孵育1 h,以3,3'-二氨基联苯胺显色后,再以苏木精复染,经分化、返蓝后封片,使用倒置显微镜观察并使用Image J软件定量分析Muc5ac蛋白的阳性表达(呈棕黄色)情况,以阳性区域面积占观察视野总面积的百分比表示Muc5ac蛋白的表达量。

2.7 肺组织中Notch1、GATA3蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.4”项下各组大鼠的右肺下叶组织适量,裂解后提取总蛋白,经BCA法测定浓度后进行变性处理。取变性蛋白适量,经凝胶电泳分离后转膜,以5%脱脂牛奶封闭2 h;洗膜后,加入Notch1、GATA3、 β -actin一抗(稀释比例均为1:1 000),于4℃下孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例为1:2 000),于室温下孵育1~2 h;洗膜后,以增强型化学发光试剂显色后成像。采用Image J软件检测各蛋白条带的灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的灰度值比值表示各目的蛋白的相对表达量。

2.8 统计学方法

采用SPSS 27.0软件对数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK- q 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 白花丹素对大鼠肺功能指标的影响

与对照组比较,AECOPD组大鼠PEF、FEV_{0.3}/FVC均显著降低($P<0.05$);与AECOPD组比较,白花丹素-低组、白花丹素-高组、阳性对照组大鼠上述指标均显著升高,且白花丹素-高组、阳性对照组均显著高于白花丹素-低组($P<0.05$);与白花丹素-高组比较,白花丹素-高+Jagged1组大鼠上述指标均显著降低($P<0.05$)。结果见表1。

3.2 白花丹素对大鼠BALF中炎症细胞数和炎症因子水平的影响

与对照组比较,AECOPD组大鼠BALF中白细胞总数及淋巴细胞数、中性粒细胞数、巨噬细胞数均显著升高($P<0.05$);与AECOPD组比较,白花丹素-低组、白花

表1 各组大鼠肺功能指标比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	PEF/(L/min)	(FEV _{0.3} /FVC)/%
对照组	4.02±0.42	84.34±8.52
AECOPD组	1.34±0.15 ^a	48.21±4.92 ^a
白花丹素-低组	2.21±0.24 ^b	62.05±6.24 ^b
白花丹素-高组	3.85±0.40 ^{bc}	82.52±8.30 ^{bc}
阳性对照组	3.94±0.41 ^{bc}	83.02±8.34 ^{bc}
白花丹素-高+Jagged1组	2.19±0.23 ^d	61.05±6.18 ^d

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与AECOPD组比较, $P<0.05$; c: 与白花丹素-低组比较, $P<0.05$; d: 与白花丹素-高组比较, $P<0.05$ 。

丹素-高组、阳性对照组大鼠上述炎症细胞数均显著降低, 且白花丹素-高组、阳性对照组均显著低于白花丹素-低组 ($P<0.05$); 与白花丹素-高组比较, 白花丹素-高+Jagged1组大鼠上述炎症细胞数均显著升高 ($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠BALF中炎症细胞数比较($\bar{x} \pm s, n=10, \times 10^6 L^{-1}$)

组别	白细胞总数	淋巴细胞数	中性粒细胞数	巨噬细胞数
对照组	295.34±24.35	82.06±7.94	32.01±3.24	181.24±18.22
AECOPD组	675.21±63.51 ^a	175.62±17.73 ^a	113.95±11.42 ^a	385.62±39.21 ^a
白花丹素-低组	511.34±51.21 ^b	123.21±12.41 ^b	83.78±8.52 ^b	284.35±28.52 ^b
白花丹素-高组	324.52±32.85 ^{bc}	91.02±9.14 ^{bc}	38.98±3.91 ^{bc}	194.52±19.76 ^{bc}
阳性对照组	314.21±31.79 ^{bc}	85.25±8.61 ^{bc}	38.54±3.90 ^{bc}	190.42±19.18 ^{bc}
白花丹素-高+Jagged1组	498.65±50.03 ^d	120.34±12.11 ^d	98.46±9.91 ^d	279.85±28.09 ^d

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与AECOPD组比较, $P<0.05$; c: 与白花丹素-低组比较, $P<0.05$; d: 与白花丹素-高组比较, $P<0.05$ 。

与对照组比较, AECOPD组大鼠BALF中IL-6、TNF- α 水平均显著升高, IL-10水平显著降低 ($P<0.05$); 与AECOPD组比较, 白花丹素-低组、白花丹素-高组、阳性对照组大鼠BALF中上述炎症指标均显著改善, 且白花丹素-高组、阳性对照组均显著优于白花丹素-低组 ($P<0.05$); 与白花丹素-高组比较, 白花丹素-高+Jagged1组大鼠BALF中IL-6、TNF- α 水平均显著升高, IL-10水平显著降低 ($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠BALF中IL-6、IL-10、TNF- α 水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	IL-6/(ng/mL)	IL-10/(pg/mL)	TNF- α /(ng/mL)
对照组	57.26±5.84	63.52±6.42	9.52±1.02
AECOPD组	120.35±12.17 ^a	28.64±2.94 ^a	32.13±2.28 ^a
白花丹素-低组	85.24±8.64 ^b	40.25±4.12 ^b	17.86±1.81 ^b
白花丹素-高组	63.84±6.42 ^{bc}	57.85±5.82 ^{bc}	10.89±1.15 ^{bc}
阳性对照组	62.74±6.33 ^{bc}	58.06±5.88 ^{bc}	10.52±1.11 ^{bc}
白花丹素-高+Jagged1组	86.05±8.64 ^d	39.86±4.05 ^d	18.53±1.91 ^d

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与AECOPD组比较, $P<0.05$; c: 与白花丹素-低组比较, $P<0.05$; d: 与白花丹素-高组比较, $P<0.05$ 。

3.3 白花丹素对大鼠肺组织中氧化应激指标的影响

与对照组比较, AECOPD组大鼠肺组织中MDA含量显著升高, SOD含量显著降低 ($P<0.05$); 与AECOPD组比较, 白花丹素-低组、白花丹素-高组、阳性对照组大鼠肺组织中上述氧化应激指标均显著改善, 且白花丹素-高组、阳性对照组均显著优于白花丹素-低组 ($P<0.05$); 与白花丹素-高组比较, 白花丹素-高+Jagged1组

大鼠肺组织中MDA含量显著升高, SOD含量显著降低 ($P<0.05$)。结果见表4。

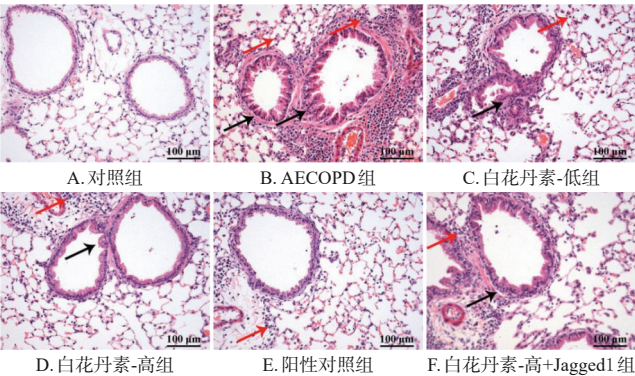
表4 各组大鼠肺组织中MDA、SOD含量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	MDA/(μ mol/mg)	SOD/(U/mg)
对照组	3.52±0.37	14.63±1.51
AECOPD组	7.87±0.81 ^a	4.02±0.42 ^a
白花丹素-低组	5.25±0.55 ^b	7.16±0.79 ^b
白花丹素-高组	3.84±0.41 ^{bc}	11.56±1.21 ^{bc}
阳性对照组	3.68±0.38 ^{bc}	12.53±1.28 ^{bc}
白花丹素-高+Jagged1组	5.34±0.56 ^d	7.08±0.72 ^d

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与AECOPD组比较, $P<0.05$; c: 与白花丹素-低组比较, $P<0.05$; d: 与白花丹素-高组比较, $P<0.05$ 。

3.4 白花丹素对大鼠肺组织病理损伤的影响

对照组大鼠肺组织未见水肿、充血。AECOPD组大鼠肺泡壁变薄且破裂, 其结构严重受损, 同时可见大量炎症细胞浸润, 并伴有管壁增厚、肺泡数量减少; 病理学评分[(8.04±0.92)分]较对照组[(1.05±0.12)分]显著升高 ($P<0.05$)。白花丹素-低组、白花丹素-高组、阳性对照组大鼠肺组织上述病理学变化均有所恢复, 炎症细胞浸润、充血、水肿均得以缓解; 病理学评分[(6.12±0.63)、(3.21±0.35)、(3.01±0.32)分]均较AECOPD组显著降低, 且白花丹素-高组、阳性对照组均显著低于白花丹素-低组 ($P<0.05$); 白花丹素-高+Jagged1组大鼠肺组织充血、水肿等症状较白花丹素-高组加重, 病理损伤程度接近于白花丹素-低组, 病理学评分[(5.94±0.61)分]较白花丹素-高组显著升高 ($P<0.05$)。结果见图1。



黑色箭头: 管壁增厚; 红色箭头: 炎症细胞浸润。

图1 各组大鼠肺组织病理学变化的显微图(苏木精-伊红染色法)

3.5 白花丹素对大鼠肺组织中Muc5ac蛋白表达的影响

与对照组[(8.06±0.82)%]比较, AECOPD组大鼠肺组织中Muc5ac蛋白的表达量[(28.64±2.94)%]显著上调 ($P<0.05$); 与AECOPD组比较, 白花丹素-低组、白花丹素-高组、阳性对照组大鼠肺组织中Muc5ac蛋白的表达量[(15.24±1.61)%、(9.27±1.01)%、(9.15±0.99)%]均显著降低, 且白花丹素-高组、阳性对照组均显著低于白花丹素-低组 ($P<0.05$); 与白花丹素-高组比较, 白花

丹素-高+Jagged1组大鼠肺组织中Muc5ac蛋白的表达量[(14.95±1.55)%]显著升高($P<0.05$)。结果见图2。

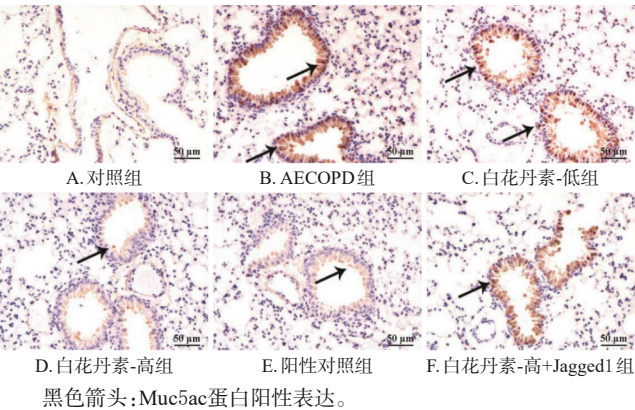
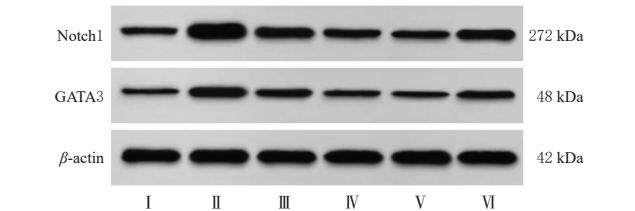


图2 各组大鼠肺组织中Muc5ac蛋白表达变化的显微图(免疫组化法)

3.6 白花丹素对大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白表达的影响

与对照组比较,AECOPD组大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白的表达均显著上调($P<0.05$);与AECOPD组比较,白花丹素-低组、白花丹素-高组、阳性对照组大鼠肺组织中上述蛋白的表达均显著下调,且白花丹素-高组、阳性对照组均显著低于白花丹素-低组($P<0.05$);与白花丹素-高组比较,白花丹素-高+Jagged1组大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白的表达均显著上调($P<0.05$)。结果见图3、表5。



I :对照组; II :AECOPD组; III :白花丹素-低组; IV :白花丹素-高组; V :阳性对照组; VI :白花丹素-高+Jagged1组。

图3 各组大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白表达的电泳图

表5 各组大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白的相对表达量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	Notch1/ β -actin	GATA3/ β -actin
对照组	0.37±0.05	0.18±0.03
AECOPD组	1.28±0.14 ^a	0.86±0.10 ^a
白花丹素-低组	0.82±0.09 ^b	0.52±0.07 ^b
白花丹素-高组	0.49±0.06 ^{bc}	0.31±0.04 ^{bc}
阳性对照组	0.42±0.05 ^{bc}	0.28±0.04 ^{bc}
白花丹素-高+Jagged1组	0.88±0.09 ^d	0.49±0.06 ^d

a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与AECOPD组比较, $P<0.05$;c:与白花丹素-低组比较, $P<0.05$;d:与白花丹素-高组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

AECOPD通常由细菌或病毒感染触发,导致多种炎症细胞聚集、炎症因子分泌。炎症反应是AECOPD进展的核心环节,与患者肺功能下降、死亡率增加密切相关

关^[4]。有研究指出,当机体受到香烟烟雾或灰尘等有害物质刺激时,TNF- α 、IL-6等促炎性细胞因子将被大量释放,随后作用于气道上皮细胞,从而导致气道黏液过多分泌;而IL-10等抗炎细胞因子则可抑制巨噬细胞活性,引发免疫抑制并减弱炎症反应^[4,16]。白细胞(淋巴细胞、中性粒细胞)及由单核细胞分化的巨噬细胞均是参与AECOPD的主要炎症细胞,可分泌多种炎症因子,促进炎症反应的发生^[17]。在AECOPD发展过程中,气道上皮杯状细胞受炎症刺激后,由该细胞分泌的Muc5ac蛋白的表达将明显上调,从而导致黏液分泌过多、黏液黏稠度增加,最终加重气道阻塞和气流受限^[18]。氧化应激是AECOPD发病机制的关键因素,其可导致炎症发生和黏液过度分泌,并诱导中性粒细胞流入肺部,损伤气道上皮并阻塞气道^[19]。可见,抑制炎症反应和氧化应激可能是缓解AECOPD患者症状、改善其肺功能及预后的有效途径之一。

白花丹素对肺纤维化等多种肺部疾病具有积极作用^[20]。本研究以地塞米松为阳性对照药,以AECOPD模型大鼠为对象,初步探讨了白花丹素对大鼠炎症反应及氧化应激的影响。结果显示,与对照组比较,AECOPD组大鼠肺功能严重受损,白细胞等炎症细胞显著增多,IL-6、TNF- α 水平,MDA含量和Muc5ac蛋白的表达量均显著升高,IL-10水平和SOD含量均显著降低,肺泡壁变薄且破裂,可见大量炎症细胞浸润等病理学改变;经白花丹素干预后,AECOPD大鼠肺功能明显好转,白细胞等炎症细胞显著减少,IL-6、TNF- α 水平,MDA含量和Muc5ac蛋白的表达量均显著降低,IL-10水平和SOD含量均显著升高,肺组织病理学改变明显缓解,提示白花丹素可抑制AECOPD大鼠肺组织的炎症反应及氧化应激,改善肺功能,从而减轻肺损伤。

Notch1信号通路在细胞分化、增殖、凋亡过程中具有关键调控作用,抑制该通路可明显减轻氧化应激所导致的肺损伤(如烧伤后的急性肺损伤)^[21]。有研究指出,Notch1信号通路可通过调控下游效应因子GATA3的表达而发挥协同作用,激活Notch1/GATA3信号通路可促进AECOPD患者体内Th2细胞因子分化,与AECOPD的发展密切相关^[22]。本研究结果显示,与对照组比较,AECOPD组大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白的表达均显著上调,炎症反应及氧化应激均显著增加,肺损伤明显,提示活化的Notch1/GATA3信号通路可能参与了AECOPD的发展。经白花丹素干预后,大鼠肺组织中Notch1、GATA3蛋白的表达均显著下调,炎症反应及氧化应激均得以抑制,肺损伤得以改善,推测白花丹素对AECOPD大鼠肺组织具有保护作用,这种作用可能与抑制Notch1/GATA3信号通路有关。为进一步验证上述推测,本研究以Notch1激活剂Jagged1联合高剂量白花丹素进行干预,结果显示,Jagged1可显著逆转白花丹素对

AECOPD大鼠炎症反应及氧化应激的抑制作用,表明该成分可通过抑制 Notch1/GATA3 信号通路来改善 AECOPD大鼠的肺损伤。

综上所述,白花丹素可抑制 AECOPD大鼠肺部的炎症反应及氧化应激,减轻肺损伤,改善肺功能,上述作用可能与抑制 Notch1/GATA3 信号通路有关。但 AECOPD 发病机制复杂,核因子 κ B、促分裂原活化的蛋白激酶等经典炎症信号通路可能同样在 AECOPD 炎症级联反应中扮演了重要角色,故白花丹素能否通过上述多条通路发挥调控作用仍有待进一步探索。

参考文献

[1] 邹曲,符丹丹,范腾阳,等. 汉黄芩素对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠气道炎症的影响及机制[J]. 中国药房,2023,34(9):1060-1065.

[2] WANG X Q,HAO Y J,YIN Y J, et al. Lianhua qingke preserves mucociliary clearance in rat with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease by maintaining ciliated cells proportion and protecting structural integrity and beat function of cilia[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis,2024,19:403-418.

[3] 张孝侠,吴友涛. 金雀异黄酮对慢性阻塞性肺疾病急性加重期模型大鼠肺组织炎症反应的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2023,39(24):3633-3637.

[4] CHEN Z Y,LIN Y M,WU J H, et al. Effect of doxofylline on pulmonary inflammatory response and oxidative stress during mechanical ventilation in rats with COPD[J]. BMC Pulm Med,2022,22(1):66.

[5] HE H D,SUN S H,XU W H, et al. Network pharmacology followed by experimental validation to explore the mechanism of stigmaterol in Sangbaipi decoction regulating PI3K/Akt signaling to alleviate acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis,2024,19:1819-1834.

[6] RAHAMAN A, ANJUM F, KUMARI A, et al. Deciphering the binding mechanism of an anti-cancer phytochemical plumbagin with calf thymus DNA using biophysical and *in silico* techniques[J]. Front Chem, 2023, 11: 1248458.

[7] LIU Z J,WEI J H,SUN H B, et al. Plumbagin ameliorates LPS-induced acute lung injury by regulating PI3K/Akt/mTOR and Keap1-Nrf2/HO-1 signalling pathways[J]. J Cell Mol Med,2024,28(13):e18386.

[8] 黎阿果,蔡爱华,李浩甲,等. PD-L1 在肺部炎症性疾病中的研究进展[J]. 生理学报,2024,76(2):346-352.

[9] 杨霞,宁宗. 巨噬细胞极化调控信号通路及 M1/M2 失衡在肺部炎症性疾病中作用的研究进展[J]. 山东医药,2023,63(26):88-91.

[10] HUANG J J,HU Y,WANG Y X, et al. Activation of

Notch1-GATA3 pathway in asthma bronchial epithelial cells induced by acute PM_{2.5} exposure and the potential protective role of microRNA-139-5p[J]. J Asthma, 2024, 61(9):959-969.

[11] QIAO H,WANG T Y,YAN W, et al. Synergistic suppression of human breast cancer cells by combination of plumbagin and zoledronic acid *in vitro*[J]. Acta Pharmacol Sin, 2015,36(9):1085-1098.

[12] 高晓卫,刘迎迎,于潇,等. 白花丹素介导 sirt1-FOXO1 通路对糖尿病肾病大鼠氧化应激损伤的影响[J]. 中国老年学杂志,2024,44(1):170-174.

[13] 廖小红,张毅靖,唐洪梅,等. 苇茎汤对慢性阻塞性肺疾病急性加重期模型大鼠的改善作用及机制[J]. 中国药房,2021,32(21):2593-2598.

[14] 李伟艺,刘红松,高山瑛,等. 基于 Notch1/NF- κ B 信号通路探究补阳还五汤对脑缺血再灌注损伤的拮抗作用及其机制[J]. 西部中医药,2022,35(11):16-21.

[15] 杨善军,王玥,邢露茗,等. 麦粒灸合补肺祛瘀方对肺纤维化大鼠肺功能和核因子 κ B 信号通路的影响[J]. 世界中医药,2022,17(24):3501-3505.

[16] DU X Q,CHEN Y,ZHANG R D, et al. Effects of Qingjin huatan decoction on pulmonary function and inflammatory mediators in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Front Pharmacol,2024,15:1466677.

[17] 白春昀,翁稚颖,肖创,等. 慢性阻塞性肺病相关炎症细胞及因子的研究进展[J]. 慢性病学杂志,2019,20(1):42-46.

[18] 王蓓,李皖豫,张珂,等. 连翘提取物对肺炎链球菌感染慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠的干预机制[J]. 中华医院感染学杂志,2024,34(5):678-683.

[19] LI Z Z,LI L,LV X H, et al. Ginseng saponin Rb, attenuates cigarette smoke exposure-induced inflammation, apoptosis and oxidative stress via activating Nrf2 and inhibiting NF- κ B signaling pathways[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis,2023,18:1883-1897.

[20] MEHDIZADEH S, TAHERIAN M, BAYATI P, et al. Plumbagin attenuates bleomycin-induced lung fibrosis in mice[J]. Allergy Asthma Clin Immunol,2022,18(1):93.

[21] CAI W X, SHEN K, JI P, et al. The Notch pathway attenuates burn-induced acute lung injury in rats by repressing reactive oxygen species[J]. Burns Trauma, 2022, 10: tkac008.

[22] JIANG M, CAI R, WANG J, et al. ILC2 cells promote Th2 cell differentiation in AECOPD through activated Notch-GATA3 signaling pathway[J]. Front Immunol, 2021,12:685400.

(收稿日期:2025-03-12 修回日期:2025-07-14)

(编辑:张元媛)