

苍术素调节 JNK/p38 MAPK 信号通路对 AECOPD 大鼠肺损伤和 气道炎症的影响^Δ

孙智颖^{1*}, 王英哲², 刘源³, 赵亚鹏¹, 周亭亭^{4#} [1. 河北省中医院重症医学科(二), 石家庄 050011; 2. 河北省中医院呼吸与危重症医学二科, 石家庄 050011; 3. 河北省中医院重症医学科, 石家庄 050011; 4. 河北省中医院呼吸重症科, 石家庄 050011]

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)23-2935-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.23.09



摘要 **目的** 探讨苍术素(ATR)对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)大鼠肺损伤和气道炎症的影响机制。**方法** 采用烟熏法联合气管内注射脂多糖的方法建立 AECOPD 模型,将造模成功的大鼠随机分为模型组和 ATR 低、中、高剂量组(25、50、100 mg/kg)以及高剂量 ATR+茴香霉素[ANS, c-Jun 氨基端激酶(JNK)激活剂]组(100 mg/kg 的 ATR+5 mg/kg 的 ANS),另设不造模的对照组,每组 12 只。各组大鼠腹腔注射相应药液/生理盐水,每天 1 次,连续 14 d。末次给药后,检测大鼠肺功能[呼气峰值流速(PEF)、用力呼气量(FEV)/用力肺活量(FVC)比值、动脉血氧分压(PaO₂)]以及支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症细胞数量和炎症因子[白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)、IL-1β]水平;观察大鼠肺组织病理学形态;检测大鼠肺上皮细胞凋亡情况;检测大鼠肺组织中 JNK/p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)信号通路相关蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较,模型组大鼠 PEF、FEV/FVC、PaO₂均显著减慢或降低($P<0.05$);BALF 中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞数量和 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平,病理学评分,肺上皮细胞凋亡率和肺组织中 JNK、p38 MAPK 蛋白磷酸化水平均显著增多或升高($P<0.05$);肺损伤严重,细胞排列无序,出现明显的炎症细胞浸润。与模型组比较,ATR 各剂量组大鼠上述定量指标水平均显著改善,且具有剂量依赖性($P<0.05$);肺损伤减轻,细胞排列规则有序。与 ATR 高剂量组比较,高剂量 ATR+ANS 组大鼠上述定量指标水平均显著逆转($P<0.05$),肺损伤加重。**结论** ATR 可通过抑制 JNK/p38 MAPK 信号通路活性,抑制气道炎症,从而改善 AECOPD 大鼠肺损伤。**关键词** 苍术素;慢性阻塞性肺疾病急性加重期;肺损伤;气道炎症;JNK/p38 MAPK 信号通路

Effects of atractyolodin on lung injury and airway inflammation in rats with AECOPD by regulating JNK/p38 MAPK signaling pathway

SUN Zhiying¹, WANG Yingzhe², LIU Yuan³, ZHAO Yapeng¹, ZHOU Tingting⁴ [1. Dept. of Critical Care Medicine (II), Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 2. Dept. of Respiratory and Critical Care Medicine II, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 3. Dept. of Critical Care Medicine, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China; 4. Dept. of Respiratory Critical Care, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China]

ABSTRACT **OBJECTIVE** To discuss the effect mechanism of atractyolodin (ATR) on lung injury and airway inflammation in rats with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **METHODS** AECOPD model was established using smoke exposure and intratracheal injection of lipopolysaccharide. Rats were randomly grouped into model group, ATR low-, medium- and high-dose groups (25, 50 and 100 mg/kg), as well as high-dose ATR+anisomycin [ANS, c-Jun N-terminal kinase (JNK) activator] group (100 mg/kg ATR+5 mg/kg ANS). Additionally, a non-modeled control group was set up, with 12 rats in each group. Rats in each group were intraperitoneally injected with the corresponding drug solution/normal saline once daily for 14 consecutive days. After the last medication, lung function [peak expiratory flow (PEF), the ratio of forced expiratory volume (FEV) to forced vital capacity (FVC), arterial partial pressure of oxygen (PaO₂)], as well as the number of inflammatory cells and the levels of inflammatory cytokines [interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-α (TNF-α), and IL-1β] in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), were measured. The pathological morphology of lung tissue in rats was observed. The apoptosis of lung epithelial cells was detected, and the

^Δ 基金项目 河北省中医药管理局科研计划项目(No.2021053)
* 第一作者 主管护师。研究方向:急危重症学。E-mail: hlkm29@163.com
通信作者 主治医师。研究方向:急危重症学。E-mail: hf9pci@163.com

expression levels of proteins related to the JNK/p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) signaling pathway in rat lung tissues were detected. **RESULTS** Compared with control group, PEF, FEV/FVC and PaO₂ of model group were slowed or decreased significantly ($P<0.05$). The number of white blood cells, neutrophils, lymphocytes and macrophages, as well as the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-6 in BALF, along with the pathological score, the apoptosis rate of lung epithelial cells, and the phosphorylation levels of JNK and p38 MAPK proteins in lung tissues, were all increased or raised significantly ($P<0.05$); lung tissue exhibited severe damage, with disordered cell arrangement and marked infiltration of inflammatory cells. Compared with model group, the levels of above quantitative indicators in rats from all ATR dosage groups showed significant improvement in a dose-dependent manner ($P<0.05$); moreover, the pathological damage in lung tissue was alleviated, with cells arranged in a regular and orderly fashion. Compared with ATR high-dose group, the levels of the above quantitative indicators in rats from the high-dose ATR+ANS group were significantly reversed ($P<0.05$), and the pathological damage in lung tissue was exacerbated. **CONCLUSIONS** ATR inhibits airway inflammation by suppressing the activity of the JNK/p38 MAPK signaling pathway, thereby improving lung tissue damage in AECOPD rats.

KEYWORDS atractylodin; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; lung injury; airway inflammation; JNK/p38 MAPK signaling pathway

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是以肺部进行性气流限制为特征的慢性炎症性疾病。COPD急性加重期(acute exacerbation of COPD, AECOPD)是COPD的突然加重,患者表现为呼吸困难、咳嗽、咳痰和脓性分泌物增多,并可能伴有呼吸急促和/或心动过速,从而引起肺功能异常下降、慢性呼吸衰竭甚至死亡^[1-2]。目前,AECOPD的治疗药物包括大环内酯类药物、长效支气管扩张剂、吸入类固醇、解黏液剂等,其虽可明显缓解症状,但并不能阻止疾病进展^[3]。

AECOPD的发病机制尚不完全明确,目前业界普遍认为与气道上皮细胞的慢性炎症有关^[4]。c-Jun氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)/p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)信号通路在炎症反应、纤维化过程中发挥重要的调控作用,其中JNK可通过调节平滑肌细胞和上皮细胞的增殖及免疫细胞的炎症反应,参与哮喘疾病的进展^[5]。研究显示,抑制JNK/p38 MAPK信号通路的激活,可改善小鼠肺纤维化与炎症反应^[6]。Zhao等^[7]研究显示,下调JNK/p38 MAPK信号通路相关蛋白的表达,可改善吸烟引起的COPD。

苍术素(atractylodin, ATR)为临床常用中药苍术的有效成分,具有抗炎、抗菌、抗肿瘤的作用,对牙周炎、骨关节炎、溃疡性结肠炎等炎症性疾病具有良好的治疗效果^[8]。陈洋洋等^[9]研究显示,ATR可通过抑制炎症反应,改善哮喘大鼠的肺损伤。然而,ATR是否可改善AECOPD尚不明确。基于此,本研究基于JNK/p38 MAPK信号通路,探讨ATR对AECOPD大鼠肺损伤和气道炎症的影响,以期为临床治疗AECOPD提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

AS-507型肺功能仪购自日本Minato公司;DM2500型光学显微镜购自德国Leica公司;iMark680型多功能酶标仪购自美国Bio-Rad公司;pocH-100i型血液分析仪购自上海玉研科学仪器有限公司;Tanon 4100型凝胶成像仪购自上海天能科技有限公司;GA1200型血气生化分析仪购自武汉明德生物科技股份有限公司。

1.2 主要药品与试剂

ATR(纯度大于95%,货号BP0217)购自成都普瑞法科技开发有限公司;红梅香烟(货号6901028315098)购自红塔烟草(集团)有限责任公司;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS;纯度大于98%,货号L8880)购自北京索莱宝科技有限公司;JNK激活剂茴香霉素(anisomycin, ANS;纯度99.82%,货号HY-18982)购自美国MCE公司;白细胞介素(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 试剂盒(货号分别为SP12279、SP12250、SP12225)均购自武汉赛培生物科技有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(货号BP-DL017)购自南京森贝伽生物科技有限公司;TUNEL染色试剂盒(货号E-CK-A422)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;磷酸化JNK(p-JNK)、JNK、磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)、p38 MAPK、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(货号分别为AF1762、AF1048、AF5887、AF7668、AF5003)和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(批号A0208)均购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级雄性SD大鼠,8~10周龄,体重180~200 g,共85只,均购于张家口怀信生物科技有限责任公司[动物生产许可证号为SCXK(冀)2024-003]。大鼠饲养于温度(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、湿度55%~60%、昼

夜循环 12 h/12 h 的环境中,自由饮食饮水。本研究获得张家口怀信生物科技有限责任公司动物伦理委员会批准(批号为 2024-04-082)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

采用烟熏法联合气管内注射 LPS 的方法建立 AECOPD 模型^[10]:将 68 只大鼠置于有机玻璃密闭的熏箱内,每次点燃 20 根红梅香烟,每天 2 次,每次持续 1 h,于烟熏后第 7、14、21 天对大鼠气管注入 LPS 溶液(1 mg/kg),共持续 8 周,作为造模组。取剩余 17 只大鼠,不进行烟熏,仅气管注入等量生理盐水,作为对照组(即 Control 组)。造模结束后,随机处死 Control 组和造模组大鼠各 5 只,剖取肺组织进行 HE 染色;与 Control 组比较,造模组大鼠肺组织病理损伤明显,肺泡壁增厚、肺泡肿大,且有明显的炎症细胞浸润,则表示造模成功。

取造模成功的 60 只大鼠随机分为模型组,ATR 低、中、高剂量组(即 ATR-L、ATR-M、ATR-H 组)以及高剂量 ATR+ANS 组(即 ATR-H+ANS 组),每组 12 只。ATR-L、ATR-M、ATR-H 组大鼠分别腹腔注射 25、50、100 mg/kg 的 ATR^[9],ATR-H+ANS 组大鼠腹腔注射 100 mg/kg 的 ATR 与 5 mg/kg 的 ANS^[11],Control 组、模型组给予等量生理盐水,每天 1 次,连续 14 d。

2.2 肺功能检测

末次给药后次日,通过注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠后,采用肺功能仪检测大鼠肺功能,记录呼气峰值流速(peak expiratory flow, PEF)、用力呼气量(forced expiratory volume, FEV)/用力肺活量(forced vital capacity, FVC)比值;采用血气生化分析仪检测动脉血氧分压(arterial partial pressure of oxygen, PaO₂)。

2.3 支气管肺泡灌洗液中炎症细胞数量与炎症因子水平检测

肺功能检测完成后,采用随机数字表法从各组随机选择 6 只大鼠,麻醉后结扎左侧支气管,使用生理盐水冲洗右肺 3 次,收集支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),采用血液分析仪测定 BALF 中炎症细胞(白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞与淋巴细胞)数量。另外,取适量 BALF 离心后,收集上清液,采用相应试剂盒检测 BALF 中炎症因子(IL-6、TNF-α、IL-1β)水平。

2.4 肺组织病理学形态观察

取各组剩余 6 只大鼠右肺组织(左肺保存备用),以 10% 甲醛溶液固定 24 h,经脱水、包埋、切片后,取部分切片(剩余部分进行肺上皮细胞凋亡检测)进行 HE 染色,在光学显微镜下观察大鼠肺组织的病理学变化,并进行病理学评分:总分 0~16 分,评分越高,表示肺损伤越严重^[12]。

2.5 肺上皮细胞凋亡检测

取“2.4”项下剩余切片,经脱蜡复水后,加入 TUNEL 染色液避光孵育 1 h,再用 DAPI 复染,随机选择 5 个视野

于显微镜下观察肺上皮细胞凋亡情况(凋亡细胞经 TUNEL 染色后为红色荧光,细胞核经 DAPI 染色后为蓝色荧光),并计算细胞凋亡率(细胞凋亡率=TUNEL 阳性染色细胞数/DAPI 阳性细胞数×100%)。

2.6 肺组织中 JNK/p38 MAPK 信号通路相关蛋白表达检测

取“2.4”项下大鼠左肺组织适量,加入蛋白裂解液提取蛋白,采用 BCA 法检测蛋白浓度后进行变性处理。取 30 μg 变性后的蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转移至 PVDF 膜上;经封闭处理后,加入 p-JNK、JNK、p-p38 MAPK、p38 MAPK、β-actin 抗体(稀释度均为 1:1 000),于 4 ℃下孵育过夜;次日,加入相应二抗(稀释度为 1:5 000)孵育 1 h;采用化学发光试剂处理,并采用 Image J 软件分析蛋白灰度值。以目的蛋白与内参 β-actin 的灰度值比值表示蛋白的表达水平,以 p-JNK 与 JNK、p-p38 MAPK 与 p38 MAPK 表达水平的比值表示 JNK、p38 MAPK 蛋白的磷酸化水平。

2.7 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。数据符合正态分布,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 α=0.05。

3 结果

3.1 ATR 对大鼠肺功能的影响

与 Control 组比较,模型组大鼠 PEF、FEV/FVC、PaO₂ 均显著减慢或降低($P<0.05$);与模型组比较,ATR-L 组、ATR-M 组、ATR-H 组大鼠 PEF、FEV/FVC、PaO₂ 均显著加快或升高,且具有剂量依赖性($P<0.05$);与 ATR-H 组比较,ATR-H+ANS 组大鼠 PEF、FEV/FVC、PaO₂ 均显著减慢或降低($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 各组大鼠肺功能指标比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	PEF/(L/min)	(FEV/FVC)/%	PaO ₂ /mmHg
Control 组	5.05±0.63	81.32±8.64	117.25±10.91
模型组	2.12±0.25 ^a	54.26±5.41 ^a	65.42±7.56 ^a
ATR-L 组	2.75±0.36 ^b	63.59±7.26 ^b	82.34±9.12 ^b
ATR-M 组	3.41±0.42 ^{bc}	72.64±8.02 ^{bc}	96.48±10.31 ^{bc}
ATR-H 组	4.58±0.55 ^{cd}	80.98±8.42 ^{cd}	109.28±11.34 ^{cd}
ATR-H+ANS 组	2.84±0.41 ^c	67.42±7.36 ^c	91.56±10.47 ^c

a: 与 Control 组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与 ATR-L 组比较, $P<0.05$; d: 与 ATR-M 组比较, $P<0.05$; e: 与 ATR-H 组比较, $P<0.05$; 1 mmHg=0.133 kPa。

3.2 ATR 对大鼠 BALF 中炎症细胞数量的影响

与 Control 组比较,模型组大鼠 BALF 中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞数量均显著增多($P<0.05$);与模型组比较,ATR-L 组、ATR-M 组、ATR-H 组大鼠 BALF 中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞数量均显著减少,且具有剂量依赖性($P<0.05$);与 ATR-H 组比较,ATR-H+ANS 组大鼠 BALF 中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞数量均显著增多($P<0.05$)。结果见表 2。

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

组别	白细胞	中性粒细胞	淋巴细胞	巨噬细胞
Control组	312.85 ± 35.42	21.32 ± 3.21	85.61 ± 9.12	203.46 ± 25.34
模型组	682.56 ± 70.21 ^a	103.24 ± 11.24 ^a	172.61 ± 19.38 ^a	417.45 ± 42.31 ^a
ATR-L组	586.47 ± 58.46 ^b	82.42 ± 9.37 ^b	143.26 ± 15.42 ^b	353.67 ± 36.24 ^b
ATR-M组	503.26 ± 47.25 ^{bc}	51.82 ± 6.94 ^{bc}	112.45 ± 12.15 ^{bc}	294.14 ± 35.26 ^{bc}
ATR-H组	432.82 ± 46.32 ^{cd}	34.64 ± 5.28 ^{cd}	88.59 ± 10.85 ^{cd}	225.43 ± 25.61 ^{cd}
ATR-H+ANS组	561.38 ± 58.21 ^c	62.92 ± 7.46 ^c	132.41 ± 15.36 ^c	354.85 ± 37.81 ^c

a: 与Control组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与ATR-L组比较, $P < 0.05$; d: 与ATR-M组比较, $P < 0.05$; e: 与ATR-H组比较, $P < 0.05$ 。

3.3 ATR对大鼠BALF中炎症因子水平的影响

与Control组比较, 模型组大鼠BALF中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6水平均显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, ATR-L组、ATR-M组、ATR-H组大鼠BALF中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6水平均显著降低, 且具有剂量依赖性($P < 0.05$); 与ATR-H组比较, ATR-H+ANS组大鼠BALF中IL-1 β 、TNF- α 、IL-6水平均显著升高($P < 0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠BALF中炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s, n=6, pg/mL$)

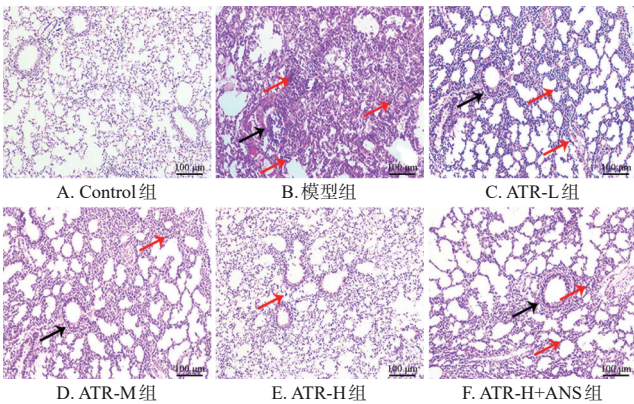
组别	IL-1 β	TNF- α	IL-6
Control组	28.72 ± 4.56	56.93 ± 7.64	13.67 ± 2.45
模型组	124.51 ± 15.36 ^a	213.32 ± 23.55 ^a	57.49 ± 6.45 ^a
ATR-L组	95.64 ± 10.26 ^b	186.35 ± 19.61 ^b	43.62 ± 5.95 ^b
ATR-M组	67.12 ± 7.84 ^{bc}	129.56 ± 15.67 ^{bc}	32.75 ± 3.78 ^{bc}
ATR-H组	41.69 ± 6.38 ^{cd}	75.33 ± 8.10 ^{cd}	22.95 ± 3.64 ^{cd}
ATR-H+ANS组	88.65 ± 9.20 ^e	132.44 ± 15.42 ^e	46.56 ± 6.01 ^e

a: 与Control组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与ATR-L组比较, $P < 0.05$; d: 与ATR-M组比较, $P < 0.05$; e: 与ATR-H组比较, $P < 0.05$ 。

3.4 ATR对大鼠肺组织病理学形态的影响

如图1所示, Control组大鼠肺组织结构正常, 细胞排列整齐, 无炎症细胞浸润, 病理学评分为0分。与

Control组比较, 模型组大鼠肺损伤严重, 细胞排列无序, 肺泡肿大、肺泡壁增厚, 出现明显的炎症细胞浸润, 病理学评分[(9.50 ± 1.50)分]显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, ATR-L组、ATR-M组、ATR-H组大鼠肺损伤均减轻, 肺泡壁均逐渐变薄, 结构趋于正常, 细胞排列规则有序, 病理学评分[分别为(7.93 ± 0.95)、(5.50 ± 0.64)、(3.67 ± 0.38)分]均显著降低($P < 0.05$)。与ATR-H组比较, ATR-H+ANS组大鼠肺损伤加重, 病理学评分[(5.67 ± 0.64)分]显著升高($P < 0.05$)。



注: 黑色箭头指向肺泡损伤; 红色箭头指向炎症细胞。
图1 各组大鼠肺组织病理学形态观察显微图(HE染色)

3.5 ATR对大鼠肺上皮细胞凋亡的影响

与Control组[肺上皮细胞凋亡率为(2.73 ± 0.42)%]比较, 模型组大鼠肺上皮细胞凋亡率[(32.32 ± 4.21)%]显著升高($P < 0.05$); 与模型组比较, ATR-L组、ATR-M组、ATR-H组大鼠肺上皮细胞凋亡率[分别为(24.53 ± 3.25)%、(18.12 ± 2.34)%、(11.74 ± 1.89)%]均显著降低, 且具有剂量依赖性($P < 0.05$); 与ATR-H组比较, ATR-H+ANS组大鼠肺上皮细胞凋亡率[(23.46 ± 2.56)%]显著升高($P < 0.05$)。结果见图2。

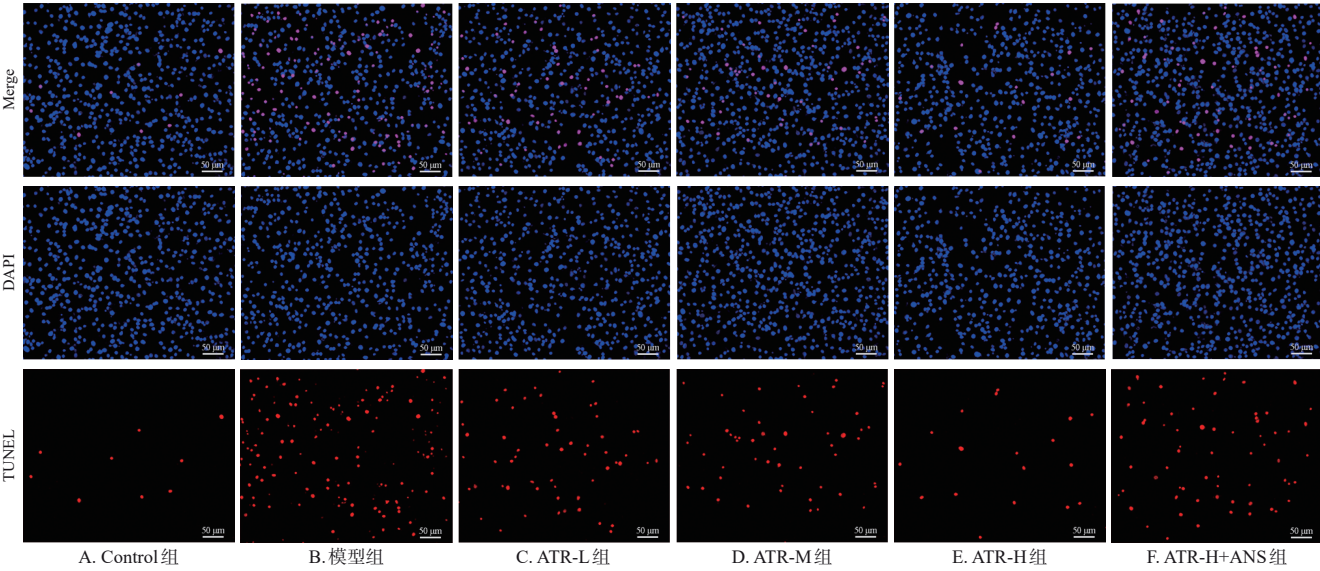


图2 大鼠肺上皮细胞凋亡情况的显微图(TUNEL染色)

3.6 ATR对大鼠肺组织中JNK/p38 MAPK信号通路相关蛋白表达的影响

与Control组比较,模型组大鼠肺组织中JNK、p38 MAPK蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,ATR-L组、ATR-M组、ATR-H组大鼠肺组织中JNK、p38 MAPK蛋白磷酸化水平均显著降低,且具有剂量依赖性($P<0.05$);与ATR-H组比较,ATR-H+ANS组大鼠肺组织中JNK、p38 MAPK蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$)。结果见图3、表4。

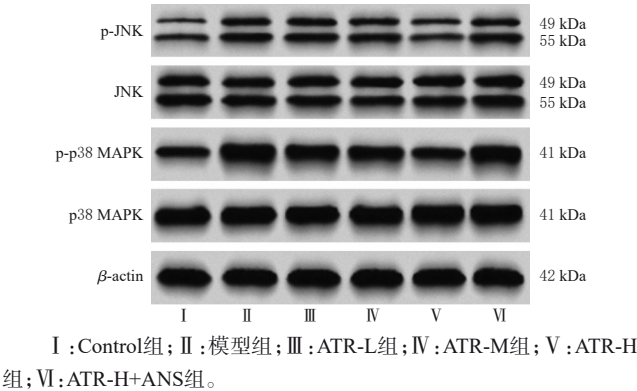


图3 各组大鼠肺组织中JNK/p38 MAPK信号通路相关蛋白表达的电泳图

表4 各组大鼠肺组织中JNK/p38 MAPK信号通路相关蛋白磷酸化水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	p-JNK/JNK	p-p38 MAPK/p38 MAPK
Control组	0.21±0.03	0.42±0.05
模型组	0.87±0.08 ^a	0.93±0.09 ^a
ATR-L组	0.72±0.07 ^b	0.78±0.07 ^b
ATR-M组	0.61±0.06 ^{bc}	0.57±0.05 ^{bc}
ATR-H组	0.35±0.04 ^{dcd}	0.45±0.05 ^{dcd}
ATR-H+ANS组	0.68±0.07 ^e	0.82±0.08 ^e

a: 与Control组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与ATR-L组比较, $P<0.05$; d: 与ATR-M组比较, $P<0.05$; e: 与ATR-H组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

据报道,在我国40岁以上的成年人中,COPD的发生率为13.7%;预计到2030年,COPD将成为第四大致死疾病^[13]。COPD急性发作时,患者肺组织出现炎症细胞浸润,肺泡结构被破坏,从而导致患者呼吸困难,严重时还可引发呼吸衰竭,威胁患者生命健康,因此AECOPD是COPD病程管理中的核心关注点^[14]。研究认为,COPD与吸烟、空气污染及气道上皮细胞的慢性炎症等因素有关;当气道上皮细胞受到外界刺激时,可释放大量的炎症介质,进而招募中性粒细胞和巨噬细胞在气道内聚集^[15]。因此,降低机体气道炎症有可能会缓解气道高反应性,改善患者肺功能,减缓疾病进展。本研究通过烟熏法联合气管内注射LPS建立AECOPD大鼠模型,结果显示,大鼠肺损伤严重,细胞排列无序,肺泡壁增厚,肺泡肿大,有明显的炎症细胞浸润;肺功能指标水平均显著降低;BALF中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬

细胞数量和IL-1 β 、TNF- α 、IL-6水平以及病理学评分均显著增多或升高。这提示AECOPD大鼠气道炎症反应明显,肺损伤严重。

ATR是从苍术中提取出的有效单体成分,具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤的作用。临床研究显示,复方苍术方在改善COPD患者肺功能及抑制促炎因子表达方面具有显著效果^[16]。据报道,ATR能在非酒精性脂肪性肝炎、直性脊柱炎、膝关节关节炎等多种炎症性疾病中发挥抗炎作用^[17]。ATR可通过激活NOD样受体蛋白3炎性小体、Toll样受体4、核因子 κ B信号通路活性,抑制IL-6、IL-8等炎症因子的表达,从而改善小鼠气道炎症反应,减轻肺损伤^[18]。另有研究显示,ATR可通过抑制小鼠肺泡上皮细胞的上皮间质转化,来减轻博来霉素诱导的肺纤维化^[19]。以上研究表明,ATR具有改善肺损伤的作用。本研究结果显示,使用不同剂量ATR干预AECOPD大鼠后,大鼠肺损伤减轻,肺功能指标水平显著升高,BALF中炎症细胞数量和炎症因子水平均显著减少或降低。该结果与张巍巍等^[20]的研究结论基本一致,不同之处在于本研究不仅关注了炎症因子的变化(两项研究涉及的具体炎症因子存在差异),还纳入了炎症细胞数量的观察结果。上述结果提示ATR可抑制气道炎症,改善AECOPD大鼠的肺损伤。

JNK/p38 MAPK信号通路参与调节炎症反应与氧化应激反应,与多种炎症性疾病的发生发展密切相关。据报道,JNK抑制剂可改善幼年大鼠过敏性气道炎症^[21]。研究显示,抑制JNK/p38 MAPK信号通路的激活可抑制香烟提取物诱导的支气管上皮细胞氧化应激反应及上皮细胞凋亡^[22]。史凤霞等^[23]研究显示,齐墩果酸可改善哮喘小鼠气道炎症,减轻小鼠肺损伤,其作用机制可能与抑制JNK/p38 MAPK信号通路有关。在COPD小鼠模型中,抑制JNK信号通路可减轻气道炎症反应和内质网应激反应,从而减轻长期吸烟引起的肺损伤^[24]。另有研究显示,通塞颗粒可降低AECOPD大鼠肺组织中p-JNK、p-p38 MAPK水平^[25]。本研究结果显示,AECOPD大鼠肺组织中JNK、p38 MAPK蛋白磷酸化水平均显著升高,这提示JNK/p38 MAPK信号通路被激活。经不同剂量ATR干预后,大鼠肺组织中上述蛋白磷酸化水平均显著降低,这与Tao等^[25]的研究结果一致,提示ATR可能通过抑制JNK/p38 MAPK信号通路活性,来改善AECOPD大鼠肺损伤。进一步的回复实验表明,JNK信号通路激活剂ANS可逆转ATR对AECOPD大鼠的改善作用,证实ATR改善AECOPD大鼠肺损伤的作用机制与抑制JNK/p38 MAPK信号通路活性有关。

综上所述,ATR可通过抑制JNK/p38 MAPK信号通路活性,抑制气道炎症,从而改善AECOPD大鼠肺损伤。ATR具有治疗AECOPD的潜在价值,但其作用机制是否与其他通路相关,仍需做进一步研究。

参考文献

- [1] VENKATESAN P. Gold COPD report: 2024 update[J]. Lancet Respir Med, 2024, 12(1): 15-16.
- [2] HAO Y J, WANG T X, HOU Y L, et al. Therapeutic potential of Lianhua qingke in airway mucus hypersecretion of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Chin Med, 2023, 18(1): 145.
- [3] MACLEOD M, PAPI A, CONTOLI M, et al. Chronic obstructive pulmonary disease exacerbation fundamentals: diagnosis, treatment, prevention and disease impact[J]. Respirology, 2021, 26(6): 532-551.
- [4] CHEN Y K, ZHANG W B. Zhuye shigao decoction combined with Qingqi huatan pills in alleviating the acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (phlegm-heat stagnating in the lungs) via the IL-6-mediated JAK1/STAT3 signaling pathway[J]. Evid Based Complementary Altern Med, 2022, 2022: 7942623.
- [5] SIM S, PARK H J, KIM Y K, et al. *Lactobacillus paracasei*-derived extracellular vesicles alleviate neutrophilic asthma by inhibiting the JNK pathway in airway epithelium[J]. Allergol Int, 2024, 73(2): 302-312.
- [6] XIONG Y, CUI X C, ZHOU Y J, et al. Dehydrocostus lactone inhibits BLM-induced pulmonary fibrosis and inflammation in mice via the JNK and p38 MAPK-mediated NF- κ B signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 98: 107780.
- [7] ZHAO Z J, TONG Y Q, KANG Y T, et al. Sodium butyrate (SB) ameliorated inflammation of COPD induced by cigarette smoke through activating the GPR43 to inhibit NF- κ B/MAPKs signaling pathways[J]. Mol Immunol, 2023, 163: 224-234.
- [8] 苏娟娟, 王旭, 陈洪婷, 等. 苍术素对牙周炎大鼠牙周组织炎性损伤和牙槽骨丢失的影响及机制[J]. 中国药房, 2023, 34(23): 2868-2873.
- [9] 陈洋洋, 马鸿琦, 杨静, 等. 苍术素调节 CXCL12/CXCR4 信号通路对哮喘幼年大鼠肺组织损伤的影响[J]. 实用医学杂志, 2024, 40(19): 2672-2677.
- [10] 马生娟, 丁蕾, 韩娜. 连翘苷调节环鸟苷酸-腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激蛋白信号通路对慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠气道炎症的影响[J]. 中国慢性病预防与控制, 2024, 32(3): 225-229.
- [11] 叶维, 张红, 王莉, 等. 汉黄芩素通过调控 JNK/AP-1 信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经功能障碍、脑组织损伤的影响[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3241-3246.
- [12] 牛磊, 刘建, 张磊, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探究虫草素对慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠肺损伤及炎症反应的影响[J]. 中国医院用药评价与分析, 2023, 23(7): 815-819.
- [13] AGUSTÍ A, CELLI B R, CRINER G J, et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: GOLD executive summary[J]. Eur Respir J, 2023, 61(4): 2300239.
- [14] CELLI B R, FABBRI L M, AARON S D, et al. An updated definition and severity classification of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: the Rome proposal[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2021, 204(11): 1251-1258.
- [15] HUANG J H, ZHOU X J, XU Y L, et al. Shenqi wan regulates OPN/CD44/PI3K pathway to improve airway inflammation in COPD: network pharmacology, bioinformatics, and experimental validation[J]. Int Immunopharmacol, 2025, 144: 113624.
- [16] 卢有亮, 黄斯琪, 刘树生. 运用复方苍术方治疗慢性阻塞性肺疾病论证“肺与大肠相表里”理论[J]. 中医临床研究, 2022, 14(20): 78-80.
- [17] LYU Z, JI X F, CHEN G, et al. Atractylodin ameliorates lipopolysaccharide and d-galactosamine-induced acute liver failure via the suppression of inflammation and oxidative stress[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 72: 348-357.
- [18] DONG Y P, ZHANG X, YAO C, et al. Atractylodin attenuates the expression of MUC5AC and extracellular matrix in lipopolysaccharide-induced airway inflammation by inhibiting the NF- κ B pathway[J]. Environ Toxicol, 2021, 36(9): 1911-1922.
- [19] CHANG K W, ZHANG X, LIN S C, et al. Atractylodin suppresses TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells and attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(20): 11152.
- [20] 张巍巍, 于海霞, 刘霞, 等. 苍术素调节 AMPK/SIRT1 信号通路对慢性阻塞性肺疾病大鼠的改善作用[J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(11): 2699-2704.
- [21] 岑红霞, 蔡思铭, 姜虹羽, 等. JNK/CCL₂ 通路诱导巨噬细胞募集并促进 PM_{2.5} 颗粒物暴露诱导的幼年大鼠过敏性气道炎症[J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(4): 720-725.
- [22] LIU H, WANG X X, CHEN P. Angiopoietin-like 4 knock-down attenuates cigarette smoke extract-induced oxidative stress and apoptosis in lung bronchial epithelial cells by inhibiting NADPH oxidase[J]. Allergol Immunopathol (Madr), 2022, 50(5): 47-56.
- [23] 史凤霞, 张娟, 刘秀珍. 齐墩果酸对哮喘小鼠气道炎症、肺组织损伤及 JNK/p38 MAPK 信号通路的影响[J]. 临床肺科杂志, 2024, 29(9): 1385-1390.
- [24] YU Y, YANG A L, HE X, et al. Soluble epoxide hydrolase deficiency attenuates airway inflammation in COPD via IRE1 α /JNK/AP-1 signaling pathway[J]. J Inflamm (Lond), 2023, 20(1): 36.
- [25] TAO L Y, LU X F, FU Z J, et al. Tong Sai granule improves AECOPD via regulation of MAPK-SIRT1-NF- κ B pathway and cellular senescence alleviation[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 314: 116622.

(收稿日期: 2025-06-11 修回日期: 2025-11-06)

(编辑: 唐晓莲)