

基于转录组学的七味冬青叶散抗支气管哮喘作用及机制研究^Δ

金家成^{1*}, 陈雯艳¹, 李欣¹, 徐晴¹, 王航宇¹, 张珂^{1#}, 孙平华¹, 王金辉^{1,2} (1. 石河子大学药学院/新疆植物药资源利用教育部重点实验室/红花产业研究院, 新疆石河子 832002; 2. 哈尔滨医科大学药学院, 哈尔滨 150081)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)05-0595-07
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.05.08



摘要 **目的** 探讨七味冬青叶散(QDP)抗支气管哮喘的作用及机制。**方法** 将小鼠分为空白组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、地塞米松组(2 mg/kg)和QDP低、中、高剂量组(200、400、800 mg/kg), 每组14只。除空白组外, 其余各组小鼠腹腔注射+雾化吸入卵清蛋白以复制支气管哮喘模型; 造模同时, 各组小鼠灌胃/腹腔注射相应药液/生理盐水。末次给药后, 观察小鼠肺泡灌洗液(BALF)中的细胞并计数; 观察小鼠气管和肺组织的病理学形态; 检测小鼠肺组织中丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平, 检测小鼠BALF和血清中白细胞介素17(IL-17)水平; 采用转录组学预测QDP抗支气管哮喘的作用机制并进行验证。**结果** 与模型组比较, QDP高剂量组BALF中总细胞数、中性粒细胞数、淋巴细胞数和巨噬细胞数均显著减少($P<0.05$); 肺组织中MDA、NO水平以及BALF和血清中IL-17水平均显著降低($P<0.05$); 肺组织中T-SOD、GSH-Px水平均显著升高($P<0.05$); 肺组织细胞排列趋于正常, 炎症细胞浸润减轻, 支气管单层柱状上皮细胞脱落减少。转录组学结果显示, 差异基因涉及B细胞受体信号传导通路、核因子 κ B(NF- κ B)信号通路、铁死亡信号通路等。进一步验证发现, 与模型组比较, QDP各剂量组小鼠肺组织中NF- κ B p65、趋化因子配体20表达水平和NF- κ B抑制蛋白 α 磷酸化水平均显著降低($P<0.05$), 核因子E₂相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶1(HO-1)蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。**结论** QDP可通过抑制NF- κ B信号通路、激活Nrf2/HO-1信号通路, 调控氧化应激, 减轻炎症反应, 从而有效缓解支气管哮喘。

关键词 七味冬青叶散; 支气管哮喘; NF- κ B信号通路; Nrf2/HO-1信号通路; 转录组学

Study on the effect and mechanism of Qiwei dongqingye powder against bronchial asthma based on transcriptomics

JIN Jiacheng¹, CHEN Wenyan¹, LI Xin¹, XU Qing¹, WANG Hangyu¹, ZHANG Ke¹, SUN Pinghua¹, WANG Jinhui^{1,2} (1. Pharmacy School/Key Laboratory of Xinjiang Plant Medicine Resources Utilization, Ministry of Education/Safflower Industry Research Institute, Shihezi University, Xinjiang Shihezi 832002, China; 2. School of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the therapeutic effect and mechanism of Qiwei dongqingye powder (QDP) on bronchial asthma in mice. **METHODS** The mice were divided into blank group (normal saline), model group (normal saline), dexamethasone group (2 mg/kg), and QDP low-, medium-, and high-dose groups (200, 400, 800 mg/kg), with 14 mice in each group. Except for the blank group, mice in all other groups were given ovalbumin via intraperitoneal injection followed by aerosol inhalation to induce a bronchial asthma model. During the modeling process, mice in each group were administered corresponding drug solutions or normal saline intragastrically/intraperitoneally. After the last medication, the number of cells in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of the mice was observed and counted; the pathological changes of the bronchus and lung tissue were observed; the levels of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), total superoxide dismutase (T-SOD), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in the lung tissue of the mice were determined, and the level of interleukin-17 (IL-17) in the BALF and serum was determined. Transcriptomics was employed to predict and validate the mechanism of action of QDP against bronchial asthma. **RESULTS** Compared with the model group, the total cell count, neutrophil count, lymphocyte count, and macrophage counts in the BALF of the QDP high-dose group were all significantly reduced ($P<0.05$); the levels of MDA and NO in the lung tissue, and the levels of IL-17 in the BALF and serum were all decreased significantly ($P<0.05$); the levels of T-SOD and GSH-Px were significantly increased ($P<0.05$); the arrangement of lung tissue cells tended to normalize, with reduced infiltration of inflammatory cells and decreased exfoliation of bronchial simple columnar epithelial

^Δ 基金项目 国家自然科学基金联合基金项目(No.U24A20645); 新疆生产建设兵团科技计划项目(No.2025DA071)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向: 天然产物活性、药理学。
E-mail: jjc_cheng2026@163.com

通信作者 教授, 博士生导师, 博士。研究方向: 天然产物活性、药理学。E-mail: tcm_zk@163.com

cells. The transcriptomic results revealed that the differentially expressed genes were B-cell receptor signaling pathway, nuclear factor κ B (NF- κ B) signaling pathway, ferroptosis signaling pathway, and others. Further validation revealed that, compared with the model group, the expression levels of NF- κ B p65 and chemokine ligand 20, as well as the phosphorylation level of NF- κ B inhibitor protein α , were significantly decreased in the lung tissues of the mice in all QDP groups ($P<0.05$). Conversely, the protein expression of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase 1 (HO-1) were significantly increased ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** QDP can effectively alleviate bronchial asthma by inhibiting the NF- κ B signaling pathway, activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway, regulating oxidative stress, and reducing inflammatory responses.

KEYWORDS Qiwei dongqingye powder; bronchial asthma; NF- κ B signaling pathway; Nrf2/HO-1 signaling pathway; transcriptomics

支气管哮喘是一种以慢性气道炎症、气道高反应性及可逆性气流受限为特征的常见呼吸系统疾病,其在全球范围内的患病人数近4亿,这对公共健康构成严峻挑战^[1-2]。支气管哮喘的典型临床表现包括反复发作的喘息、气促、胸闷或咳嗽,其病理学特征包括多种炎症细胞浸润、气道黏液过度分泌以及气道壁结构重塑^[3-4]。目前,临床上主要采用糖皮质激素联合 β_2 受体激动剂作为支气管哮喘的一线治疗方案,该方案虽能有效控制症状,但长期使用可能导致免疫抑制、代谢紊乱及骨质疏松等一系列不良反应,甚至出现激素抵抗,导致治疗失败^[5-7]。因此,开发副作用小的新型治疗药物,对支气管哮喘具有重要意义。

近年来,蒙药、藏药、维药等民族药复方在治疗支气管哮喘方面显示出良好的效果^[8]。七味冬青叶散(Qiwei dongqingye powder, QDP)出自《蒙医药方汇编》,由冬青叶、丹参、北沙参、沙棘、甘草、苦杏仁和天竺黄7味药材组成,具有祛除热邪、化痰止咳、平喘通络等功效,现已由内蒙古民族大学附属医院改良开发为院内制剂,用于治疗支气管哮喘、肺间质纤维化等肺部疾病,且具有疗效高、副作用少的特点^[9-11]。然而,QDP抗支气管哮喘的具体作用机制尚不清楚。转录组学测序具有高通量、全面性和系统性的优势,可在整体水平上全面解析基因表达谱的变化^[12]。基于此,本研究拟采用卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导支气管哮喘模型小鼠,然后结合转录组学,深入探讨QDP抗支气管哮喘的作用及机制,以期QDP治疗支气管哮喘提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Sorvall ST 8R型高速冷冻离心机、3001型全自动酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),DB-09型石蜡包埋机(湖北德力森医疗科技有限公司),RM2125RTS型轮转式石蜡切片机[徕卡显微系统(上海)有限公司],Axio Imager A2型正置高分辨荧光显微镜(北京博瑞斯科技有限公司),Mini-PROTEAN[®]Tetra Cell型凝胶电泳仪(美国Bio-Rad公

司),FUSION FX6-XT型多功能化学发光荧光凝胶成像系统(法国Vilber Bio Imaging公司)。

1.2 主要药品与试剂

冬青叶、丹参、北沙参、沙棘、甘草、苦杏仁、天竺黄药材均由内蒙古民族大学附属医院蒙药制剂室提供,经石河子大学药学院朱芸教授鉴定均为真品。醋酸地塞米松片(批号LB24261,规格0.75 mg)购自浙江仙琚制药股份有限公司;快速瑞氏-吉姆萨复合染色液、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)检测试剂盒(货号分别为D010-1-2、A003-1-2、A012-1-2、A001-3-2、A005-1-2)均购自南京建成生物工程研究所;OVA、高效RIPA裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒、细胞核蛋白提取试剂盒(货号分别为9006-59-1、R0010、PC0020、EX1470)均购自北京索莱宝科技有限公司;白细胞介素17(interleukin-17, IL-17)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(货号F-10911)购自上海西唐生物科技有限公司;兔源核因子 κ B p65(nuclear factor κ B p65, NF- κ B p65)、NF- κ B抑制蛋白 α (inhibitor of NF- κ B α , I κ B α)、核因子E₂相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体和过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(货号分别为A00284-1、PB9221、A00078-1、BM4010、PB9611、BA1055)均购自武汉博士德生物工程有限公司;兔源趋化因子配体20(chemokine ligand 20, CCL20)抗体、磷酸化I κ B α (phosphorylated I κ B α , p-I κ B α)抗体(货号分别为76924、2859)均购自美国CST公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为6~8周龄SPF级雌性BALB/c小鼠,体重约20 g,购自辽宁长生生物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(辽)2023-0002。小鼠饲养于石河子大学药学院实验动物中心,自由摄食和饮水。本实验经石河子大学第一附属医院实验动物伦理委员会批准(伦理批号为A2025-666)。

2 方法

2.1 QDP的制备

准确称量冬青叶 480 g、丹参 320 g、北沙参 320 g、甘草 160 g、沙棘 160 g、苦杏仁 160 g、天竺黄 80 g，混合后用 10 倍量 80% 乙醇煎煮 1 h，过滤；滤渣再用 8 倍量 80% 乙醇煎煮 1 h，过滤；合并 2 次滤液，减压浓缩得七味冬青叶散浸膏（得率为 12.33%）。

2.2 分组、造模、给药与取材

将 84 只小鼠适应性饲养 7 d 后，随机分为空白组、模型组、地塞米松组（阳性对照，2 mg/kg^[13]）和 QDP 低、中、高剂量组（200、400、800 mg/kg，以生药量计，剂量分别相当于临床等效剂量的 0.5、1、2 倍），每组 14 只。除空白组外，其余各组小鼠于第 1 天和第 14 天腹腔注射 0.2 mL OVA 致敏液（将 100 mg OVA、2 mg 氢氧化铝溶于 200 mL 生理盐水中制备而成）致敏；再于第 27 天至第 34 天，将小鼠置于含有 1% OVA（将 500 mg OVA 溶于 50 mL 生理盐水制备而成）的超声雾化器中气道刺激 30 min，以此复制支气管哮喘模型^[13]。空白组则同步腹腔注射与雾化吸入等体积的生理盐水。若气道刺激过程中造模小鼠出现搔鼻、腹部惊厥等症状，则表明造模成功。造模同时，于第 21 天至第 34 天，QDP 各剂量组小鼠灌胃相应药液；地塞米松组小鼠腹腔注射相应药液，空白组和模型组小鼠灌胃和注射等体积生理盐水；每天给药 1 次。整个过程中，模型组死亡 3 只小鼠，QDP 低剂量组死亡 2 只小鼠，地塞米松组死亡 1 只小鼠，其余组无死亡。

末次给药后次日，麻醉各组小鼠，尾静脉采血并制备血清。取血完成后，暴露小鼠颈部气管，经气管向肺部注射 0.4 mL 生理盐水，重复 3 次，收集到 1 mL 肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid, BALF）；然后处死小鼠，剖取气管和肺组织，取部分气管和肺组织以 4% 多聚甲醛固定 24 h，用于病理学形态观察，剩余肺组织置于液氮中保存备用。

2.3 统计学方法

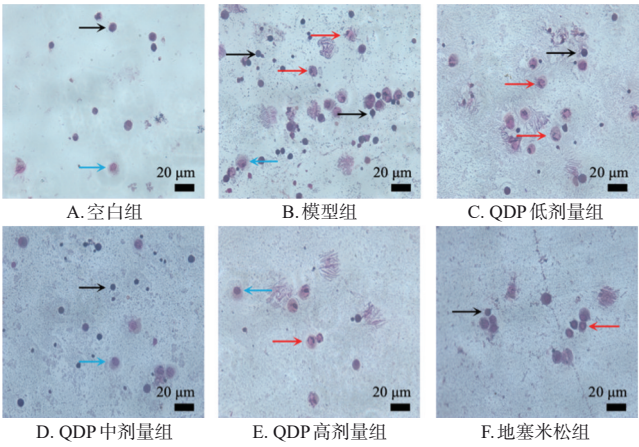
采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计学分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2.4 常规指标检测和肺组织、气管病理学形态观察

2.4.1 BALF 中的细胞观察

各组分别取 8 只小鼠的 BALF 适量，于 4 °C 条件下以 3 000 r/min 离心 10 min；取沉淀物用生理盐水重悬，吸取 10 μ L 混悬液置于显微镜下观察并进行 BALF 中总细胞计数。另吸取 20 μ L 混悬液均匀涂于载玻片上，根据试剂盒说明书方法操作进行瑞氏-吉姆萨染色，然后置于显微镜下观察，对细胞（包括中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞）进行分类并计数。结果（图 1、表 1）显示，与空白组比较，模型组 BALF 中总细胞数、中性粒细胞数、淋巴细胞数和巨噬细胞数均显著增加（ $P < 0.05$ ）。与模型组比较，QDP 各剂量组和地塞米松组 BALF 中上

述细胞数均显著减少（ $P < 0.05$ ）。



注：黑色箭头所指为淋巴细胞；蓝色箭头所指为巨噬细胞；红色箭头所指为中性粒细胞。

图 1 小鼠 BALF 中的细胞染色观察结果（瑞氏-吉姆萨染色）

表 1 小鼠 BALF 中不同细胞数量比较（ $\bar{x} \pm s, n = 8, \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ ）

组别	总细胞数	淋巴细胞	中性粒细胞	巨噬细胞数
空白组	5.11 ± 0.58	3.13 ± 0.58	1.01 ± 0.24	0.97 ± 0.30
模型组	17.41 ± 0.54 ^a	7.30 ± 0.74 ^a	5.32 ± 0.45 ^a	4.79 ± 0.51 ^a
QDP 低剂量组	11.38 ± 1.09 ^b	5.34 ± 0.82 ^b	3.22 ± 0.55 ^b	2.82 ± 0.52 ^b
QDP 中剂量组	7.71 ± 0.92 ^b	4.36 ± 0.41 ^b	2.12 ± 0.32 ^b	1.23 ± 0.37 ^b
QDP 高剂量组	6.02 ± 0.64 ^b	3.66 ± 0.25 ^b	1.26 ± 0.36 ^b	1.11 ± 0.13 ^b
地塞米松组	6.13 ± 0.65 ^b	4.02 ± 0.31 ^b	1.18 ± 0.48 ^b	0.93 ± 0.11 ^b

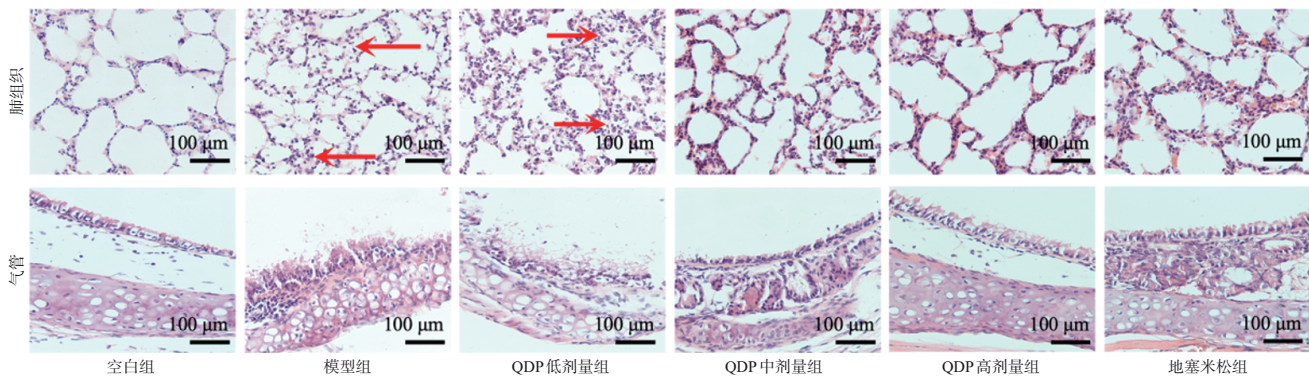
a：与空白组比较， $P < 0.05$ ；b：与模型组比较， $P < 0.05$ 。

2.4.2 气管和肺组织的病理学形态观察

取“2.2”项下固定于 4% 多聚甲醛中的气管和肺组织（每组取 6 只小鼠的气管和肺组织）适量，经脱水处理后包埋于石蜡中，再进行切片（厚度为 5 μ m）；取部分切片（剩余切片进行免疫组化染色）进行苏木素-伊红（HE）染色，再置于显微镜下观察气管和肺组织的病理损伤及炎症细胞浸润情况。结果（图 2）显示，与空白组相比，模型组小鼠肺组织细胞排列紊乱，伴随大量炎症细胞浸润；肺部血管和气管壁明显增厚，支气管单层柱状上皮细胞脱落增多；与模型组相比，QDP 各剂量组和地塞米松组小鼠肺组织细胞排列趋于正常，炎症细胞浸润减轻，支气管单层柱状上皮细胞脱落减少。

2.4.3 肺组织中 MDA、NO、T-SOD、GSH-Px 水平检测

各组取 8 只小鼠的肺组织适量，加入适量生理盐水用组织研磨机研磨，得肺组织匀浆；于 4 °C 下以 3 500 r/min 离心 10 min，取上清液；根据相应试剂盒说明书方法操作，检测小鼠肺组织中 MDA、NO、T-SOD、GSH-Px 水平。结果（表 2）显示，与空白组比较，模型组小鼠肺组织中 MDA、NO 水平均显著升高，T-SOD、GSH-Px 水平均显著降低（ $P < 0.05$ ）；与模型组比较，QDP 中、高剂量组和地塞米松组小鼠肺组织中 MDA、NO 水平均显著降低，T-SOD、GSH-Px 水平均显著升高（ $P < 0.05$ ）。



注:红色箭头所指为炎症细胞浸润。

图2 小鼠肺组织及气管的病理学形态显微图(HE染色)

表2 各组小鼠肺组织中MDA、NO、T-SOD、GSH-Px水平比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	MDA/(nmol/mg)	NO/(nmol/mL)	T-SOD/(U/mL)	GSH-Px/(U/mL)
空白组	1.46 ± 0.16	1.09 ± 0.38	259.64 ± 24.54	1 080.40 ± 42.11
模型组	2.47 ± 0.22 ^a	2.46 ± 0.48 ^a	129.89 ± 6.16 ^a	568.94 ± 49.91 ^a
QDP低剂量组	1.60 ± 0.07 ^b	1.97 ± 0.51	160.21 ± 21.15 ^b	713.91 ± 78.17
QDP中剂量组	1.38 ± 0.25 ^b	1.67 ± 0.43 ^b	184.94 ± 32.23 ^b	795.73 ± 60.33 ^b
QDP高剂量组	1.37 ± 0.23 ^b	1.27 ± 0.46 ^b	232.39 ± 26.94 ^b	956.10 ± 57.44 ^b
地塞米松组	1.41 ± 0.13 ^b	1.37 ± 0.34 ^b	211.68 ± 18.02 ^b	940.03 ± 52.71 ^b

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.4.4 小鼠BALF和血清中IL-17水平检测

各组分别取8只小鼠的BALF和血清样品适量,于4℃下以3 500 r/min离心10 min,取上清液;根据试剂盒说明书方法操作,检测小鼠BALF和血清中IL-17水平。结果(表3)显示,与空白组比较,模型组小鼠BALF和血清中IL-17水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,QDP中、高剂量组和地塞米松组小鼠血清中IL-17水平以及QDP高剂量组小鼠BALF中IL-17水平均显著降低($P<0.05$)。

表3 各组小鼠BALF和血清中IL-17水平比较($\bar{x} \pm s, n=8, \text{pg/mL}$)

组别	BALF	血清
空白组	16.52 ± 0.84	24.54 ± 2.06
模型组	19.95 ± 1.33 ^a	30.63 ± 3.26 ^a
QDP低剂量组	19.71 ± 1.46	25.64 ± 2.00
QDP中剂量组	18.65 ± 0.92	24.89 ± 2.08 ^b
QDP高剂量组	18.08 ± 1.91 ^b	24.84 ± 2.03 ^b
地塞米松组	19.13 ± 2.07	24.94 ± 1.53 ^b

a:与空白组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.5 转录组学预测QDP抗支气管哮喘机制及验证

2.5.1 作用机制预测

采用TRIzol试剂分别提取空白组、模型组、QDP高剂量组小鼠的肺组织总RNA,采用NanoDrop分光光度计定量,并用HiSeq X-Ten高通量全基因测序仪进行RNA-Seq分析,并将检测结果与NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中小鼠基因组进行比对,筛选差异基因($|\log_2$ 差异倍数| >1 且 $P<0.05$ 为筛选条件),再利用DAVID数据库(<https://davidbioinformatics.nih.gov>)对

差异基因进行基因本体(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)富集分析。结果(图3)显示,与空白组比较,模型组小鼠肺组织中有499个基因表现出差异,其中215个上调、284个下调;与模型组比较,QDP高剂量组小鼠肺组织中有253个基因表现出差异,其中131个上调、122个下调。进一步进行GO、KEGG功能富集分析发现,差异基因涉及的分子功能包括白细胞活化调控、淋巴细胞活化调控、炎症反应调控,涉及的细胞组分包括质膜外侧、肌节、肌原纤维,涉及的生物过程包括受体配体活性、细胞外基质结构组分、信号受体调节活性,涉及的KEGG通路包括B细胞受体信号传导通路、NF-κB信号通路、铁死亡信号通路等。研究发现,NF-κB信号通路是驱动支气管哮喘慢性气道炎症的核心转录枢纽,并且以铁依赖的脂质过氧化为特征的铁死亡也被证实与支气管哮喘气道炎症和上皮损伤密切相关;其中作为铁死亡上游的关键调控通路,Nrf2/HO-1信号通路在抗氧化方面扮演了核心保护角色^[14]。因此,本研究后续选择NF-κB、Nrf2/HO-1信号通路进行验证。

2.5.2 作用机制验证

(1)免疫组化法检测相关蛋白表达。取“2.4.2”项下剩余切片,经二甲苯脱蜡、乙醇梯度脱水后,用3% H₂O₂溶液封闭10 min;以磷酸盐缓冲液清洗后,加入NF-κB p65(稀释度为1:10)、IκBα(稀释度为1:10)、CCL20(稀释度为1:60)一抗,于4℃孵育过夜;次日,以磷酸盐缓冲液清洗后,加入相应二抗于37℃孵育30 min;以二氨基联苯胺染色3 min,再用苏木素复染1 min;置于显微镜下观察阳性染色(棕黄色)情况,再采用Image-Pro Plus 6.0软件分析阳性染色的平均光密度值,以表示目的蛋白的表达水平。结果(图4、表4)显示,与空白组比较,小鼠肺组织中NF-κB p65、CCL20表达水平均显著升高,IκBα蛋白表达水平显著降低($P<0.05$);与模型组比较,QDP各剂量组和地塞米松组小鼠肺组织中NF-κB p65、CCL20表达水平均显著降低,IκBα蛋白(QDP低剂量组除外)表达水平显著升高($P<0.05$)。

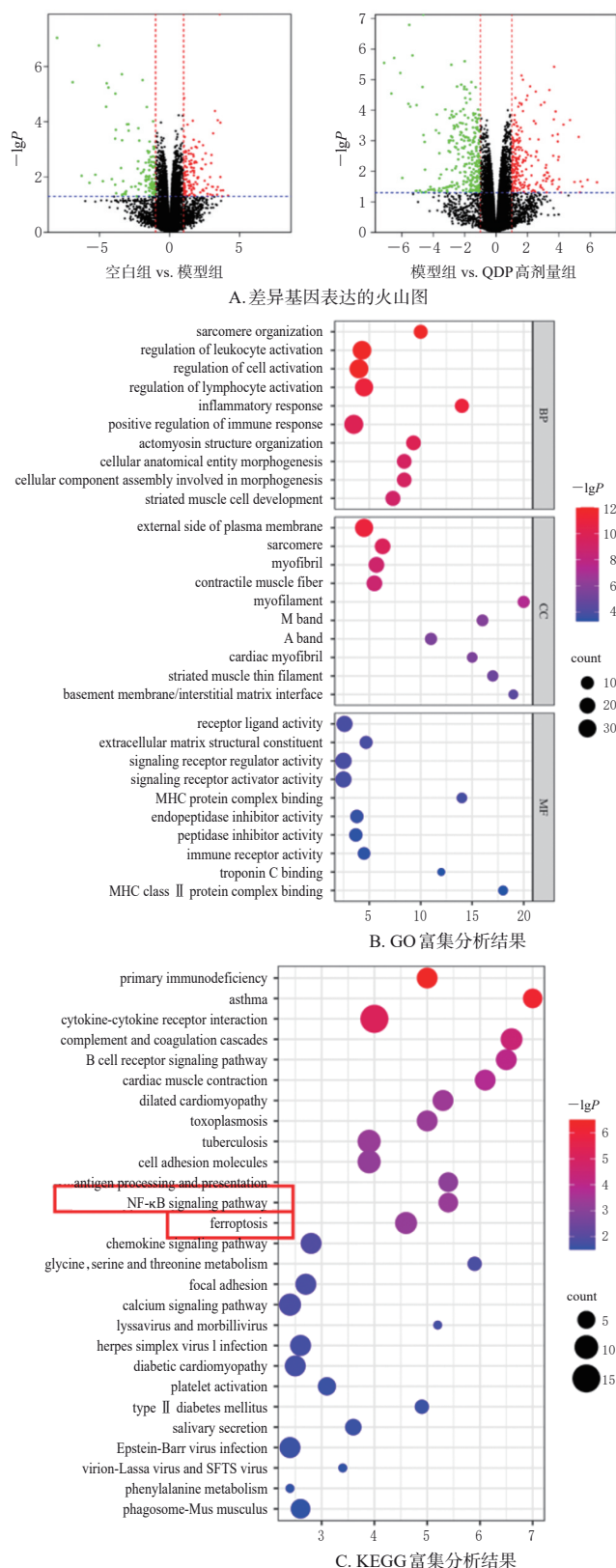


图3 转录组学分析结果

(2) Western blot法检测相关蛋白表达。各组取3只小鼠肺组织适量,用RIPA裂解液裂解提取总蛋白;采用BCA法测定蛋白浓度,再将蛋白进行变性处理。取变性后蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,经转膜、封闭后,加入NF- κ B p65、p-I κ B α 、I κ B α 、CCL20、

Nrf2、HO-1、 β -actin一抗(稀释度均为1:1 000),于4℃孵育过夜;次日,加入相应二抗(稀释度为1:10 000),室温孵育2 h;以ECL试剂显影,采用凝胶成像系统成像,再利用Image J软件分析蛋白灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平,以p-I κ B α 与I κ B α 的表达水平比值表示I κ B α 蛋白的磷酸化水平。结果(图5、表5)显示,与空白组比较,模型组小鼠肺组织中NF- κ B、CCL20蛋白表达水平和I κ B α 蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$),Nrf2、HO-1蛋白表达水平差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,QDP各剂量组和地塞米松组小鼠肺组织中NF- κ B、CCL20蛋白表达水平和I κ B α 蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$),Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著升高($P<0.05$)。

3 讨论

支气管哮喘是常见的呼吸系统疾病,易反复发作,给患者生活带来严重影响。中药复方因具有多成分、多靶点协同优势,在治疗支气管哮喘方面具有重要作用。QDP由冬青叶、丹参、北沙参等7味药材组成,具有化痰止咳、平喘通络的作用,且在临床上用于治疗支气管哮喘。然而,其具体的抗支气管哮喘机制尚不明确。基于此,本研究采用OVA诱导支气管哮喘模型小鼠,并结合转录组学深入探讨QDP抗支气管哮喘的作用及机制。

转录组学结果显示,QDP调控支气管哮喘涉及的通路包括B细胞受体信号传导通路、NF- κ B信号通路、铁死亡信号通路等。NF- κ B是调控气道炎症的核心转录因子^[15]。在静息状态下,NF- κ B被I κ B α 结合后滞留在细胞质中,当I κ B α 被磷酸化降解后,NF- κ B则活化入核并诱导炎症介质表达^[16]。CCL20是NF- κ B信号通路的直接转录靶点,其表达由NF- κ B的活化所驱动;在支气管哮喘中,CCL20作为核心趋化因子,可募集大量炎症细胞,从而加剧气道炎症的恶性循环^[17]。本研究结果显示,与空白组比较,模型组小鼠BALF中总细胞数、中性粒细胞数、淋巴细胞数和巨噬细胞数均显著增加,肺组织中炎症细胞浸润明显,NF- κ B p65、CCL20蛋白表达水平和I κ B α 蛋白磷酸化水平均显著升高;经不同剂量QDP干预后,小鼠BALF中总细胞数、中性粒细胞数、淋巴细胞数和巨噬细胞数均显著减少,肺组织中炎症细胞浸润减轻,肺组织中上述蛋白表达水平/磷酸化水平均显著降低。这提示,QDP可能通过抑制NF- κ B信号通路,减轻炎症反应,从而发挥抗支气管哮喘的作用。

在支气管哮喘的病理过程中,氧化应激与炎症反应相互促进,构成恶性循环。MDA作为脂质过氧化终产物,直接反映气道组织的氧化应激损伤程度^[18]。NO在支气管哮喘的炎症环境下可过量产生,从而参与气道高反应性的形成并加重氧化应激^[19]。机体自身的抗氧化

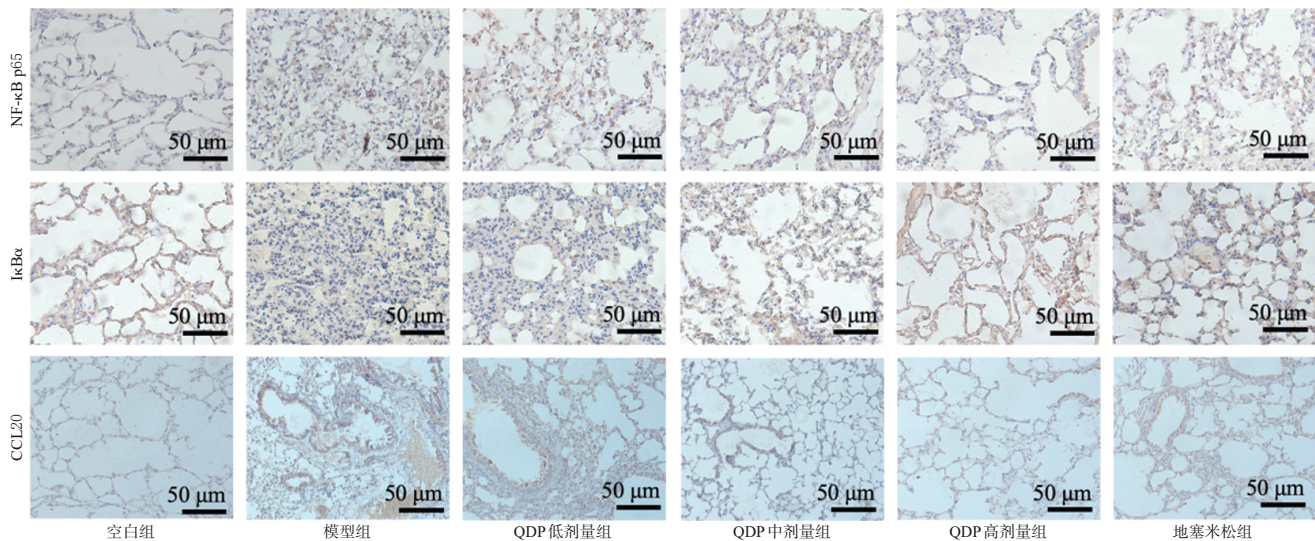
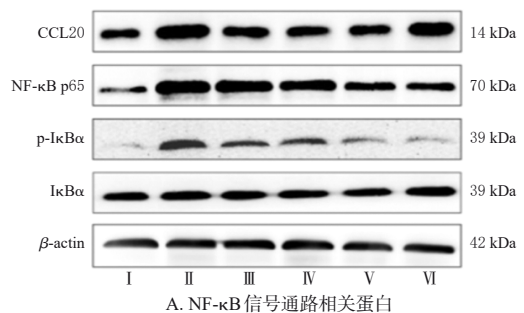


图4 小鼠肺组织中NF-κB信号通路相关蛋白表达的免疫组化图

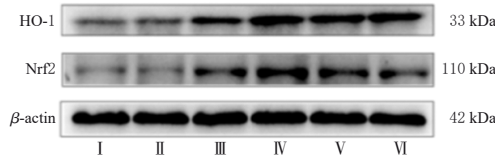
表4 各组小鼠肺组织中NF-κB信号通路相关蛋白的平均光密度值比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	NF-κB p65	IκBα	CCL20
空白组	11.43 ± 0.69	30.09 ± 2.45	4.49 ± 1.04
模型组	33.41 ± 2.82 ^a	16.26 ± 1.06 ^a	30.85 ± 3.67 ^a
QDP 低剂量组	19.78 ± 1.21 ^b	19.06 ± 0.95	23.42 ± 0.99 ^b
QDP 中剂量组	17.73 ± 1.03 ^b	20.36 ± 1.56 ^b	17.15 ± 0.70 ^b
QDP 高剂量组	14.16 ± 0.37 ^b	27.03 ± 1.37 ^b	11.63 ± 0.78 ^b
地塞米松组	16.04 ± 0.92 ^b	25.49 ± 2.42 ^b	13.41 ± 0.82 ^b

a: 与空白组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。



A. NF-κB 信号通路相关蛋白



B. Nrf2/HO-1 信号通路相关蛋白

I: 空白组; II: 模型组; III: QDP低剂量组; IV: QDP中剂量组; V: QDP高剂量组; VI: 地塞米松组。

图5 小鼠肺组织中NF-κB、Nrf2/HO-1信号通路相关蛋白表达电泳图

防御系统体现为T-SOD与GSH-Px等酶活性的代偿性改变,其活性下降将加剧氧化应激损伤^[20-21]。与此同时,以IL-17为核心的细胞因子网络可驱动中性粒细胞等炎症细胞浸润,进一步放大氧化应激反应,从而促进疾病进展^[22]。铁死亡在支气管哮喘的发病机制中也扮演关键角色,其介导的脂质过氧化可直接加剧气道上皮损伤

表5 各组小鼠肺组织中NF-κB、Nrf2/HO-1信号通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	NF-κB p65/β-actin	p-IκBα/IκBα	CCL20/β-actin	Nrf2/β-actin	HO-1/β-actin
空白组	0.26 ± 0.03	0.69 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.47 ± 0.06
模型组	0.82 ± 0.03 ^a	0.92 ± 0.04 ^a	0.94 ± 0.04 ^a	0.49 ± 0.08	0.50 ± 0.06
QDP 低剂量组	0.65 ± 0.03 ^b	0.85 ± 0.03 ^b	0.74 ± 0.02 ^b	0.75 ± 0.04 ^b	0.84 ± 0.06 ^b
QDP 中剂量组	0.65 ± 0.04 ^b	0.70 ± 0.03 ^b	0.65 ± 0.02 ^b	0.92 ± 0.05 ^b	1.03 ± 0.04 ^b
QDP 高剂量组	0.45 ± 0.04 ^b	0.69 ± 0.03 ^b	0.63 ± 0.03 ^b	0.80 ± 0.04 ^b	0.93 ± 0.04 ^b
地塞米松组	0.31 ± 0.03 ^b	0.70 ± 0.03 ^b	0.76 ± 0.03 ^b	0.65 ± 0.08 ^b	0.99 ± 0.02 ^b

a: 与空白组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

和炎症反应;而机体对抗该过程的核心内在防御机制,则依赖于Nrf2/HO-1信号通路的激活^[23]。在氧化应激刺激下,细胞质中的Nrf2会与细胞质接头蛋白Keap1解离并移位至细胞核内,从而启动下游效应分子HO-1的表达;HO-1可催化降解血红素产生CO、胆绿素、胆红素和游离铁,从而减轻铁依赖的氧化应激损伤^[24-25]。本研究结果显示,与空白组比较,模型组小鼠肺组织中MDA、NO、IL-17水平均显著升高,T-SOD、GSH-Px水平均显著降低,而Nrf2、HO-1蛋白表达水平变化差异无统计学意义。这可能是因为Nrf2/HO-1信号通路作为铁死亡相关的强抗氧化途径在无病理损伤状态下无需被激活,而在支气管哮喘这一持续性的病理状态下已呈现出功能耗尽的状态,故该信号通路相关蛋白的表达水平差异无统计学意义。经中、高剂量QDP干预后,小鼠肺组织中MDA、NO、IL-17水平均显著降低,T-SOD、GSH-Px水平和Nrf2、HO-1蛋白表达水平均显著升高。这提示,QDP可激活Nrf2/HO-1信号通路,调控氧化应激,从而发挥抗支气管哮喘的作用。

综上所述,QDP可通过抑制NF-κB信号通路、激活Nrf2/HO-1信号通路,调控氧化应激,减轻炎症反应,从而有效缓解支气管哮喘。

参考文献

- [1] CELESTE P, ERIK M, LAURI L, et al. Asthma[J]. *Lancet*, 2023, 401(10379):858-873.
- [2] MCINTYRE A, BUSSE W W. Asthma exacerbations: the Achilles heel of asthma care[J]. *Trends Mol Med*, 2022, 28(12):1112-1127.
- [3] LAMBRECHT B N, AHMED E, HAMMAD H. The immunology of asthma[J]. *Nat Immunol*, 2025, 26(8):1233-1245.
- [4] 李梦茵, 宋桂华, 王婷婷, 等. 中药通过调控细胞自噬治疗支气管哮喘的研究进展[J]. *中国药房*, 2024, 35(17):2158-2164.
- [5] RHOADS S L, SELUK L, WECHSLER M E. Asthma therapeutics: past, present, and future[J]. *Pharmacol Rev*, 2025, 77(4):100062.
- [6] AL-SAJEE D, OLIVERIA J P, SEHMI R, et al. Antialarmins for treatment of asthma: future perspectives[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2018, 24(1):32-41.
- [7] 赵宇, 邹文静, 符州. 气道上皮细胞及相关细胞因子在哮喘中作用研究进展[J]. *临床儿科杂志*, 2025, 43(8):635-642.
- [8] 孙梦迪, 孙志运, 王克婧, 等. 中药复方调控肺-肠轴治疗呼吸系统疾病的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2025, 48(9):2689-2702.
- [9] 陈龙, 张珂, 刘雪滢, 等. RP-HPLC法同时测定七味冬青叶散中苦杏仁苷、丹酚酸B和杜鹃素的含量[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2018, 36(6):700-704.
- [10] 曾锴均, 黄洪楠, 韦飞扬, 等. 基于网络药理学和分子对接技术分析蒙药七味冬青叶散治疗过敏性哮喘的潜在作用机制[J]. *中国当代医药*, 2025, 32(18):10-15.
- [11] 王金辉, 杨宝峰, 甘春丽, 等. 七味冬青叶颗粒剂在制备治疗过敏性哮喘药物中的应用: CN115845000A[P]. 2023-03-28.
- [12] 刘霞, 李俊霆, 刘晨曦, 等. 多组学技术在中药研究中的进展[J]. *中国现代中药*, 2025, 27(11):2185-2194.
- [13] 蔡金, 华诏召, 张昌容, 等. 异钩藤碱对哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. *中国药房*, 2023, 34(22):2740-2744.
- [14] 邓亚胜, 林江, 郝域江, 等. 哮喘气道重塑发病机制及中药干预机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(8):2050-2070.
- [15] PARK K, LEE J H, SHIN E, et al. Single-cell RNA sequencing reveals transcriptional changes in circulating immune cells from patients with severe asthma induced by biologics[J]. *Exp Mol Med*, 2024, 56(12):2755-2762.
- [16] KANNAN G, PAUL B M, THANGARAJ P. Stimulation, regulation, and inflammaging interventions of natural compounds on nuclear factor kappa B (NF- κ B) pathway: a comprehensive review[J]. *Inflammopharmacology*, 2025, 33(1):145-162.
- [17] KUCHIBHOTLA V N S, JONKER M R, DE BRUIN H G, et al. Inhibition of β -catenin/CBP signaling improves airway epithelial barrier function and suppresses CCL20 release[J]. *Allergy*, 2020, 75(7):1786-1789.
- [18] 廖嘉巍, 李锦秀, 包爱华. 气道上皮细胞氧化应激损伤的分子机制研究进展[J]. *临床肺科杂志*, 2024, 29(10):1569-1574.
- [19] 何洁, 许洁, 俞捷. 环境内分泌干扰物在哮喘发生发展中的作用机制研究进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2022, 36(11):872-880.
- [20] WANG L, XU J Y, LIU H, et al. PM_{2.5} inhibits SOD1 expression by up-regulating microRNA-206 and promotes ROS accumulation and disease progression in asthmatic mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 76:105871.
- [21] 郑旭阳, 舒臻辉, 李怡, 等. 中医药调控氧化应激相关信号通路防治支气管哮喘研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(18):260-269.
- [22] BULLONE M, CARRIERO V, BERTOLINI F, et al. Elevated serum IgE, oral corticosteroid dependence and IL-17/22 expression in highly neutrophilic asthma[J]. *Eur Respir J*, 2019, 54(5):1900068.
- [23] 李东楠, 刘璐佳, 王海. 基于“细胞自噬-铁死亡”交相互作用探讨支气管哮喘发病机制及中医药干预的研究进展[J]. *现代中西医结合杂志*, 2024, 33(23):3334-3342.
- [24] ZHENG J S, CONRAD M. The metabolic underpinnings of ferroptosis[J]. *Cell Metab*, 2020, 32(6):920-937.
- [25] CONRAD M, PRATT D A. The chemical basis of ferroptosis[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, 15(12):1137-1147.

(收稿日期:2025-11-12 修回日期:2026-02-11)

(编辑:唐晓莲)