

苏葶平喘汤对支气管哮喘大鼠的改善作用及机制[△]

李梦茵^{1,2*}, 宋桂华^{1,2#}, 任明月^{1,2}, 柴王猛^{1,2} (1. 河南中医药大学第一附属医院儿科二区, 郑州 450003; 2. 河南中医药大学儿科医学院, 郑州 450046)

中图分类号 R285.5; R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)10-1251-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.10.03



摘要 **目的** 探讨苏葶平喘汤(STPC)对支气管哮喘大鼠的改善作用及潜在机制。**方法** 将雄性SD大鼠分为空白组、模型组、STPC低、中、高剂量组(4.14、8.28、16.56 g/kg, 以生药量计), 地塞米松组(阳性对照, 1 mg/kg), 每组8只。除空白组外, 其余各组以腹腔注射卵清蛋白致敏+雾化吸入卵清蛋白激发的方式构建支气管哮喘大鼠模型。自雾化激发之日起, 各组大鼠在雾化前1 h灌胃相应药液或生理盐水, 每天1次, 连续7 d。实验期间, 观察各组大鼠行为学变化; 末次给药后, 检测其支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎症因子(白细胞介素1 β 、白细胞介素18)和肺组织中氧化应激指标[丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)]水平, 观察大鼠肺组织病理学改变, 检测其肺组织细胞凋亡情况以及核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3)mRNA和NLRP3、剪切型胱天蛋白酶1(cleaved caspase-1)、胱天蛋白酶1(caspase-1)、消皮素D(GSDMD)、GSDMD氮端片段(GSDMD-N)蛋白的表达情况。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠出现抓耳挠腮、频繁打喷嚏等症状; 肺组织结构严重受损, 炎症细胞浸润明显; 其BALF中炎症因子水平以及肺组织中MDA水平、TUNEL凋亡细胞率、NLRP3 mRNA和NLRP3、cleaved caspase-1、caspase-1、GSDMD-N、GSDMD蛋白的表达均显著升高或上调, 肺组织中SOD水平显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 各药物组上述症状和肺组织病理损伤均明显改善, 各定量指标(STPC各剂量组GSDMD蛋白表达, 以及STPC低剂量组SOD水平和cleaved caspase-1、caspase-1、GSDMD-N蛋白表达除外)均显著逆转($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** STPC可改善支气管哮喘大鼠的气道炎症及肺组织损伤, 降低氧化应激水平, 减少IL-1 β 、IL-18等炎症因子的释放; 其作用机制可能与抑制NLRP3/caspase-1/GSDMD介导的细胞焦亡通路活化有关。

关键词 苏葶平喘汤; 支气管哮喘; 氧化应激; 细胞焦亡; NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路

Improvement effects and mechanisms of Suting pingchuan decoction in rats with bronchial asthma

LI Mengyin^{1,2}, SONG Guihua^{1,2}, REN Mingyue^{1,2}, CHAI Wangmeng^{1,2} (1. Dept. II of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450003, China; 2. School of Pediatrics, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the improvement effects of Suting pingchuan decoction (STPC) on bronchial asthma in rats and its potential mechanism. **METHODS** Male SD rats were randomly divided into blank group, model group, STPC low-, medium- and high-dose groups (4.14, 8.28, and 16.56 g/kg, respectively, based on the crude drug dosage), and dexamethasone group (positive control, 1 mg/kg), with 8 rats in each group. Except for the blank group, the other groups were sensitized by intraperitoneal injection of ovalbumin and challenged by nebulized inhalation of ovalbumin to establish a bronchial asthma model. From the day of nebulization challenge, rats of each group were administered the corresponding drug solution or normal saline by gavage 1 hour before aerosolization, once a day, for 7 consecutive days. During the experiment, behavioral changes in rats of each group were observed. After the last administration, the levels of inflammatory factors (interleukin-1 β , interleukin-18) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and oxidative stress indexes [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD)] in lung tissue were determined; pathological changes in lung tissue were observed; cell apoptosis in lung tissue, and the mRNA

△基金项目 国家自然科学基金项目(No.82274578); 河南省中医药学科领军人才培养项目(No.豫卫中医函[2021]8号); 河南省“双一流”创建学科中医学科学研究专项(No.HSRP-DFCTCM-2023-3-05)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向: 中西医结合防治小儿呼吸系统疾病。E-mail: li159377@163.com

通信作者 主任医师, 博士生导师, 博士。研究方向: 中西医结合防治小儿呼吸系统疾病。E-mail: songgh123@126.com

expression of nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3 (NLRP3) and the protein expressions of NLRP3, cleaved caspase-1, caspase-1, gasdermin D (GSDMD) and gasdermin D-N-terminal domain (GSDMD-N) in lung tissue were detected. **RESULTS** Compared with the blank group, rats in the model group

showed symptoms such as scratching their ears and noses and frequent sneezing; the lung tissue structure was severely damaged, and there was obvious inflammatory cell infiltration. The levels of inflammatory factors in BALF, as well as the level of MDA, TUNEL-apoptotic cell rate, the mRNA expression of NLRP3, and the protein expressions of NLRP3, cleaved caspase-1, caspase-1, GSDMD-N and GSDMD in lung tissue were significantly increased or up-regulated, while the level of SOD in lung tissue was significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the model group, the above symptoms and pathological damages of lung tissue in each drug group were significantly improved, and all quantitative indicators (except for the protein expressions of GSDMD in the STPC groups, as well as the level of SOD, and the protein expressions of cleaved caspase-1, caspase-1 and GSDMD-N in the STPC low-dose group) were significantly reversed ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** STPC can improve airway inflammation and lung tissue damage in rats with bronchial asthma, reduce the level of oxidative stress, and decrease the release of inflammatory factors such as IL-1 β and IL-18. Its mechanism of action may be related to the inhibition of pyroptosis activation mediated by the NLRP3/caspase-1/GSDMD signaling pathway.

KEYWORDS Suting pingchuan decoction; bronchial asthma; oxidative stress; pyroptosis; NLRP3/caspase-1/GSDMD pathway

支气管哮喘(简称“哮喘”)是一种以可变性气流受限、气道高反应性和慢性气道炎症为主的慢性呼吸系统疾病,以反复喘息、气促、胸闷及咳嗽等为主要临床表现^[1]。流行病学调查显示,2025年全球哮喘患者约2.5亿^[2],该病已被WHO列为优先预防 and 控制的三大疾病之一。目前,哮喘的临床一线治疗药物主要为吸入性糖皮质激素和 β_2 受体激动剂,用于控制患者的急性症状并改善其肺功能。然而,哮喘作为需长期规范管理的慢性疾病,患者在长期用药过程中常发生骨密度下降、呼吸道感染等安全问题,甚至面临药物依赖、激素抵抗等挑战^[3]。可见,探索哮喘发病机制和有效诊疗策略,已成为临床亟待解决的关键问题之一。

已有研究表明,细胞焦亡是一种程序性、炎症性细胞死亡模式,以细胞肿胀、膜孔形成及大量促炎因子释放为主要特征,其与胱天蛋白酶1(caspase-1)依赖的经典通路和caspase-4/5/11参与的非经典通路密切相关^[4];消皮素D(gasdermin D, GSDMD)作为上述通路下游的关键执行蛋白,其经剪切后可转位至细胞膜并寡聚化形成膜孔道,进而介导细胞裂解及炎症因子释放^[5];核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)炎症小体激活的经典焦亡通路在哮喘的发生发展中也尤为关键,其可损伤气道上皮屏障、释放炎症介质、加剧气道炎症和组织重塑^[6]。此外,氧化应激可激活NLRP3并促进细胞焦亡,而焦亡释放的炎症物质可进一步加重炎症损伤,形成“氧化应激-炎症-焦亡”恶性循环,共同推动哮喘进展^[7]。由此可见,对NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路介导的细胞焦亡进行精准调控,有望成为干预哮喘炎症反应的新型治疗策略。

苏葶平喘汤(Suting pingchuan decoction, STPC)是河南中医药大学第一附属医院儿科宋桂华教授治疗哮喘的临床经验方,由炒紫苏子、炒葶苈子、蜜麻黄、炒苦杏仁、姜厚朴、黄芩、地龙、蜜紫菀、蜜款冬花、炙甘草组

方而成,具有化痰祛痰、通络平喘的功效。本课题组前期研究证实,STPC能显著抑制激活蛋白1(activator protein 1, AP-1)的表达,并表现出良好的抗炎活性^[8]。进一步的机制研究发现,AP-1作为上游转录调控因子,可通过促进NLRP3炎症小体及白细胞介素1 β 前体(pro-interleukin-1 β , pro-IL-1 β)等关键分子的表达,为细胞焦亡提供启动条件^[9];同时,细胞焦亡作为下游效应过程,其所释放的成熟白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等炎症介质又可反向激活AP-1,从而形成驱动气道慢性炎症的环路^[10]。由此推测,STPC可能通过抑制AP-1的表达、干预AP-1下游的细胞焦亡进程,进而发挥抗哮喘作用。基于此,本研究在前期工作基础上,进一步通过动物实验系统探讨STPC能否通过调控NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路介导的细胞焦亡来发挥改善哮喘的作用,以期为该方深层药理作用机制的揭示及哮喘的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

402AI型超声雾化器购自江苏鱼跃医疗设备有限公司; CUT5062型病理切片机购自德国SLEE公司; Panoramic MIDI型病理扫描仪购自匈牙利3DHISTECH公司; DS-U3型成像系统、Eclipse Ci-L型正置光学显微镜、Eclipse C1型正置激光共聚焦荧光显微镜均购自日本Nikon公司; HBS-1096A型酶标仪购自南京德铁实验设备有限公司; TL-988型实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)仪购自西安天隆科技有限公司; 164-5050型电泳仪、Mini-PROTEAN型电泳槽、Mini Trans-Blot型转膜仪均购自美国Bio-Rad公司; QuickChemi 5200型化学发光成像系统购自武汉莫纳生物科技有限公司。

1.2 主要药品与试剂

STPC组方药材饮片炒紫苏子、地龙(安徽人民中药饮片有限公司,批号分别为250901、250601),炒葶苈子、

炒苦杏仁(安徽协和成药业饮片有限公司,批号分别为25043006、25090226),蜜麻黄(郑州瑞龙制药股份有限公司,批号25060104),姜厚朴、黄芩、蜜紫菀、蜜款冬花(安徽普仁中药饮片有限公司,批号分别为2507105、2501221、2501102、2506082),炙甘草(河南绿禾药业有限公司,批号250409),均由河南中医药大学第一附属医院中药房提供,经该院药学部陈天朝主任药师鉴定均为真品。

醋酸地塞米松片(批号1710047,规格0.75 mg,天津力生制药股份有限公司)由河南中医药大学第一附属医院提供;卵清蛋白(批号A5253-250G)购自美国Sigma公司;4%氢氧化铝凝胶佐剂(批号BE0324)购自陕西中晖赫彩生物医药科技有限公司;苏木精-伊红(HE)染色液(批号RS3340)购自金克隆(北京)生物技术有限公司;丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)检测试剂盒、IL-1 β 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒、IL-18 ELISA试剂盒、TUNEL染色试剂盒(批号分别为E-BC-K025-M、E-BC-K020-M、E-EL-R0012、E-EL-R0567、E-CK-A320)均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;TRIzol试剂(批号15596026)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;ReverTra Ace[®] qPCR逆转录试剂盒、SYBR[®] Green RT- qPCR预混液(批号分别为FSQ-101、QPK-201)均购自日本TOYOBO公司;兔抗NLRP3抗体、兔源剪切型胱天蛋白酶1(cleaved caspase-1)抗体、兔抗GSDMD氮端片段(gasdermin D-N-terminal domain,GSDMD-N)抗体、兔抗GSDMD抗体(批号分别为DF7438、AF4005、DF13758、AF4012)均购自美国Affinity公司;兔抗caspase-1抗体、兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(批号分别为GTX134551、GTX100118)均购自美国Genetex公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(批号SA00001-2)购自武汉三鹰生物技术有限公司;所用PCR引物由苏州金唯智生物科技有限公司设计、合成。

1.3 实验动物

健康SPF级雄性SD大鼠48只,4~6周龄,体重180~220 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,生产许可证号为SCXK(辽)2025-0001。所有大鼠均饲养于河南中医药大学动物实验中心屏障级实验室[温度为(21 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,相对湿度为(50 $\pm$ 10)%,每12 h明暗交替循环],自由摄食、饮水。本实验所有操作程序均严格遵守实验动物管理相关法规,并经过河南中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(批准编号IACUC-202504049)。

2 方法

2.1 药液的制备

取炒紫苏子、炒葶苈子、蜜麻黄、炒苦杏仁、姜厚朴、黄芩、地龙、蜜紫菀、蜜款冬花、炙甘草饮片(质量比10:10:6:10:10:10:10:10:10:6),混合,加8倍量水浸泡30 min后,武火煮沸,再文火慢煎30 min,过滤;取药渣,同法煎煮30 min,过滤;合并两次滤液,分别浓缩成0.414、0.828、1.656 g/mL(以生药量计)的药液,备用。取阳性对照药醋酸地塞米松片,研磨成粉末,用0.5%羧甲基纤维素钠溶液配制成0.1 mg/mL的混悬液,备用。

2.2 分组、造模与给药

所有大鼠经7 d适应性饲养后,按随机数字表法分为空白组,模型组,STPC低、中、高剂量组(STPC-L、STPC-M、STPC-H组),地塞米松组,每组8只。按预实验方法构建哮喘模型:于实验第0、7天,予模型组和各药物组大鼠腹腔注射含0.2 mg卵清蛋白和100 μ L氢氧化铝凝胶佐剂的致敏液0.2 mL;从实验第14天开始,将模型组和各药物组大鼠置于20 cm $\times$ 20 cm $\times$ 15 cm大小的自制雾化箱内,使其雾化吸入1%卵清蛋白生理盐水溶液,每天雾化30 min,雾化气流量为3 mL/min,连续7 d,进行雾化激发。在上述过程中,空白组大鼠同步腹腔注射和雾化吸入等体积生理盐水。

自首次雾化激发之日(实验第14天)起,STPC-L、M、H组大鼠分别灌胃STPC药液4.14、8.28、16.56 g/kg(以生药量计;剂量按人与大鼠等效剂量换算法计算^[11],分别为临床等效剂量的0.5、1、2倍);地塞米松组大鼠灌胃地塞米松混悬液1 mg/kg(剂量参考预实验结果及相关文献^[12]设置);空白组和模型组大鼠灌胃等体积的生理盐水。各组均于每天雾化前1 h给药1次,持续7 d。

2.3 大鼠行为学观察

在整个实验过程中,每天密切观察并记录各组大鼠的精神状态、活动情况、皮毛光泽度、体重变化、摄食及饮水量,特别注意观察并记录大鼠在雾化激发期间是否出现烦躁不安、毛发竖立、萎靡不振、点头样呼吸、呼吸频率增快、挠鼻、喷嚏样等症状(若出现上述症状,则视为造模成功)。

2.4 样本采集与处理

末次给药后且禁食、不禁水12 h后,随机选取每组6只大鼠,以腹腔注射2.5%三溴乙醇进行麻醉,采用钝性分离法暴露其颈部气管,切开气管、插入导管并结扎右侧主支气管,使用注射器经气管缓慢注入生理盐水0.5 mL,反复灌洗3次,收集支气管肺泡灌洗液(broncho-alveolar lavage fluid,BALF;液体回收率不低于80%),以2 000 r/min离心10 min,取上清液于-80 $^{\circ}$ C下保存,用

于ELISA检测;随后,将大鼠处死,剖开胸腔,完整分离肺组织,用预冷的生理盐水冲洗后以滤纸吸干,取部分右肺上叶组织,置于4%多聚甲醛溶液中固定;剩余肺组织经分装后以液氮冷冻,再于-80℃下保存,用于后续其他检测。

2.5 BALF中炎症因子水平检测

采用ELISA法检测。取“2.4”项下各组大鼠的BALF适量(每组6只),按相应ELISA试剂盒说明书方法操作,使用酶标仪于450 nm波长下检测其中IL-1β、IL-18水平。

2.6 肺组织中氧化应激指标水平检测

采用生化法检测。取“2.4”项下各组大鼠冻存的肺组织适量(每组6只),按相应试剂盒说明书方法操作,使用酶标仪分别于532、450 nm波长下检测其中MDA、SOD水平。

2.7 肺组织病理学检查

采用HE染色法观察。取“2.4”项下各组大鼠经4%多聚甲醛固定24 h的肺组织适量(每组3只),经梯度乙醇脱水、透明、石蜡包埋后切片(厚度约4 μm)。取适量组织切片,经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化处理后,进行HE染色(包括苏木精染色、盐酸-乙醇分化、水洗返蓝、伊红染色等步骤);经中性树胶封片后,置于光学显微镜下观察其肺组织病理学变化。

2.8 肺组织细胞凋亡情况检测

采用TUNEL染色法检测。取“2.7”项下各组大鼠的肺组织切片,经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后,加入柠檬酸缓冲液进行抗原修复;随后,依次以蛋白酶K孵育20 min、Triton试剂孵育8 min、TUNEL反应液孵育1 h,再以4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染核;洗涤后,以抗荧光淬灭封片液封片,使用荧光显微镜观察细胞凋亡情况(细胞核呈蓝色荧光,凋亡细胞呈绿色荧光),并采用Image J软件分析TUNEL凋亡细胞率(TUNEL凋亡细胞率=凋亡细胞数/细胞总数×100%)。每张切片随机选取3个视野进行观察,结果取平均值。

2.9 肺组织中NLRP3 mRNA表达检测

采用RT-qPCR法检测。取“2.4”项下各组大鼠冻存的肺组织适量(每组6只),按提取试剂盒说明书方法提取其总RNA并测定其浓度、纯度;然后,按逆转录试剂盒说明书方法操作,将RNA逆转录成cDNA,配制相应反应体系后进行PCR扩增,具体反应条件如下:95℃预变性30 s;95℃变性15 s,60℃退火/延伸30 s,共40个循环。以GAPDH为内参,以2^{-ΔΔCt}法计算NLRP3 mRNA的相对表达量,结果以空白组为参照进行归一化处理。PCR引物序列及产物长度见表1。

表1 PCR引物序列及产物长度

目的基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
NLRP3	正向:CTCACCTCAGCTCTGCTG	122
	反向:AGAACTCAGAGCGTCAC	
GAPDH	正向:ACAGCAACAGGTGGTGAC	252
	反向:TTTGAGGGTGCAGCAACTT	

2.10 肺组织中NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.4”项下各组大鼠冻存的肺组织适量(每组3只),以RIPA强裂解液裂解,提取总蛋白;采用BCA试剂盒检测蛋白浓度后,加热变性15 min。取变性蛋白适量,进行10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,再转膜至聚偏二氯乙烯膜上,以5%脱脂奶粉于室温下封闭1 h;洗膜后,加入NLRP3、cleaved caspase-1、caspase-1、GSDMD-N、GSDMD、GAPDH一抗(稀释比例分别1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:10 000),于4℃下孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例为1:10 000),于室温下孵育1 h;洗膜后,用ECL发光液显影、成像。使用Image J软件对各个条带进行灰度值分析,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)灰度值的比值作为该目的蛋白的相对表达量。

2.11 统计学方法

采用GraphPad Prism 10软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 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(方差齐)或Dunnett's *T*₃检验(方差不齐)。不符合正态性分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验,进一步两两比较采用Dunn's检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 STPC对哮喘大鼠行为学的影响

空白组大鼠精神状态良好,反应灵敏,皮毛顺滑有光泽,饮食饮水正常,体重增长平稳。与空白组相比,模型组大鼠在雾化激发后,可见抓耳挠腮、频繁打喷嚏、挠鼻、烦躁不安、呼吸急促、腹肌明显收缩、点头呼吸,可闻及明显痰鸣音,并伴有活动减少、精神萎靡、动作迟缓、体重增长缓慢甚至有所下降的症状。与模型组相比,STPC各剂量组及地塞米松组大鼠的上述症状均有不同程度改善。

3.2 STPC对哮喘大鼠BALF中炎症因子水平的影响

与空白组相比,模型组大鼠BALF中IL-1β、IL-18水平显著升高($P<0.01$);与模型组相比,各药物组大鼠BALF中IL-1β、IL-18水平均显著降低($P<0.01$)。结果见表2。

表2 STPC对哮喘大鼠体内炎症因子和氧化应激指标水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	IL-1 β /(pg/mL)	IL-18/(pg/mL)	MDA/(nmol/mL)	SOD/(U/mL)
空白组	25.19 $\pm$ 2.60	30.78 $\pm$ 2.68	0.96 $\pm$ 0.22	141.94 $\pm$ 16.70
模型组	76.05 $\pm$ 5.62 ^a	123.91 $\pm$ 28.34 ^a	4.47 $\pm$ 0.79 ^a	77.43 $\pm$ 12.44 ^a
STPC-L组	56.82 $\pm$ 9.00 ^b	75.17 $\pm$ 8.71 ^b	2.36 $\pm$ 0.15 ^b	99.89 $\pm$ 11.25
STPC-M组	47.16 $\pm$ 7.81 ^b	57.90 $\pm$ 11.06 ^b	1.82 $\pm$ 0.02 ^b	107.01 $\pm$ 15.04 ^c
STPC-H组	36.22 $\pm$ 2.98 ^b	49.08 $\pm$ 7.58 ^b	1.58 $\pm$ 0.33 ^b	118.39 $\pm$ 5.92 ^b
地塞米松组	31.86 $\pm$ 3.68 ^b	48.43 $\pm$ 6.77 ^b	1.80 $\pm$ 0.28 ^b	110.90 $\pm$ 27.54 ^c

a:与空白组相比, $P<0.01$;b:与模型组相比, $P<0.01$;c:与模型组相比; $P<0.05$ 。

3.3 STPC对哮喘大鼠肺组织中氧化应激指标水平的影响

与空白组相比,模型组大鼠肺组织中MDA水平显著升高,SOD水平显著降低($P<0.01$);与模型组相比,STPC各剂量组和地塞米松组大鼠肺组织中MDA水平均显著降低,STPC-M、H组和地塞米松组大鼠肺组织中SOD水平均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果见表2。

3.4 STPC对哮喘大鼠肺组织病理改变的影响

空白组大鼠的肺组织及肺泡结构清晰、完整,气道周围未见明显炎症细胞浸润。模型组大鼠肺组织结构出现严重损伤:气道管壁平滑肌增厚,管腔明显狭窄,腔内可见上皮细胞脱落,周围炎症细胞呈多层浸润,细胞排列无序,肺泡壁明显增厚。与模型组相比,STPC各剂量组和地塞米松组大鼠肺组织病理形态结构有所改善,炎症细胞浸润程度明显减轻。结果见图1。

3.5 STPC对哮喘大鼠肺组织细胞凋亡的影响

与空白组[(0.18 $\pm$ 0.10)%, $n=3$]相比,模型组大鼠肺组织TUNEL凋亡细胞率[(6.15 $\pm$ 1.79)%, $n=3$]显著

升高($P<0.01$);与模型组相比,STPC-L、M、H组和地塞米松组大鼠肺组织TUNEL凋亡细胞率[分别为(2.68 $\pm$ 0.28)%、(2.16 $\pm$ 1.10)%、(1.87 $\pm$ 0.44)%、(1.18 $\pm$ 0.56)%, $n=3$]均显著降低($P<0.01$)。结果见图2。

3.6 STPC对哮喘大鼠肺组织中NLRP3 mRNA表达水平的影响

与空白组(1.00 $\pm$ 0.06, $n=6$)相比,模型组大鼠肺组织中NLRP3 mRNA(5.25 $\pm$ 0.14, $n=6$)的表达显著上调($P<0.05$);与模型组相比,STPC-L、M、H组和地塞米松组大鼠NLRP3 mRNA(分别为3.47 $\pm$ 0.20、2.61 $\pm$ 0.18、1.30 $\pm$ 0.10、1.71 $\pm$ 0.08, $n=6$)的表达均显著下调($P<0.01$)。

3.7 STPC对哮喘大鼠肺组织中NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路相关蛋白表达的影响

与空白组比较,模型组大鼠肺组织中NLRP3、cleaved caspase-1、caspase-1、GSDMD-N、GSDMD蛋白的表达均显著上调($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与模型组比较,STPC-L组大鼠肺组织中NLRP3蛋白和STPC-M组、STPC-H组、地塞米松组大鼠肺组织中NLRP3、cleaved caspase-1、caspase-1、GSDMD-N蛋白的表达均显著下调($P<0.01$)。结果见图3、表3。

4 讨论

近年来,哮喘防治已成为全球医疗领域的研究热点之一^[2]。在中医理论体系中,哮喘归属于“喘证”“哮病”范畴,其反复发作、迁延难愈的临床特点与“痰瘀伏络”的核心病机密切相关,正如清代唐容川在《血证论》“咳嗽篇”中提及的“盖人身气道,不可有塞滞,内有瘀血,则

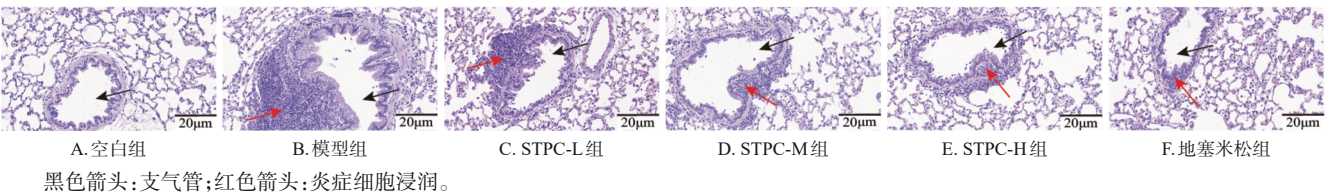


图1 STPC对哮喘大鼠肺组织病理改变影响的显微图(HE染色)

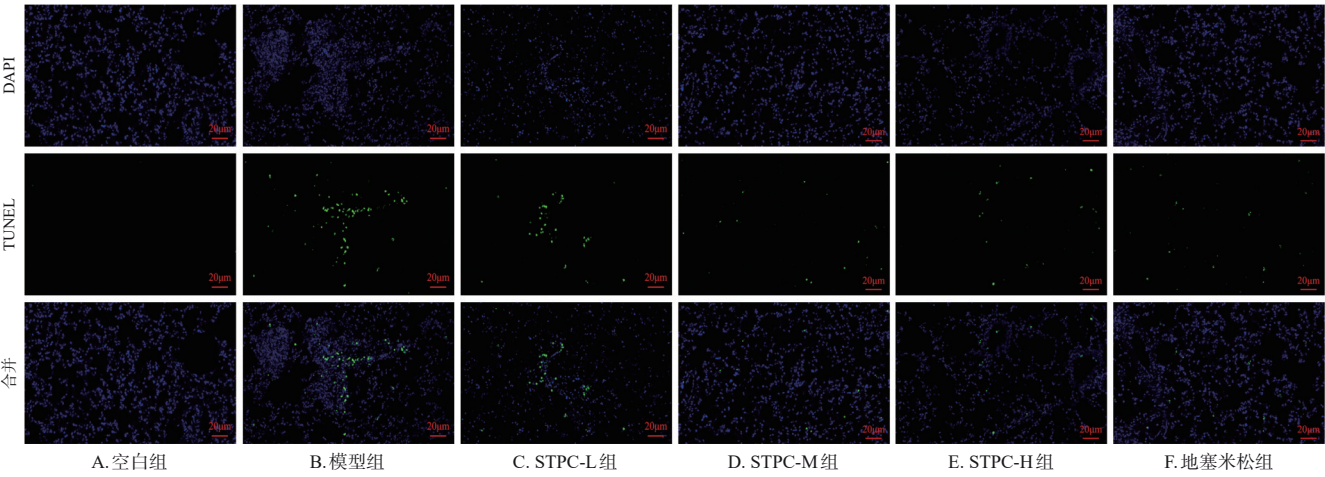
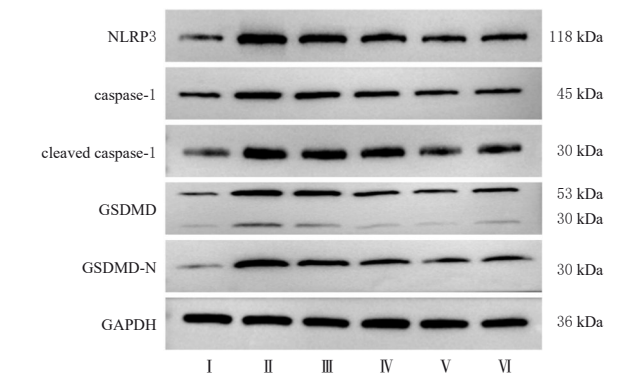


图2 STPC对哮喘大鼠肺组织细胞凋亡影响的显微图(TUNEL染色)



I :空白组; II :模型组; III :STPC-L组; IV :STPC-M组; V :STPC-H组; VI :地塞米松组。

图3 STPC对哮喘大鼠肺组织中NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路相关蛋白表达影响的电泳图

表3 STPC对哮喘大鼠肺组织中NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路相关蛋白表达的影响 $[\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75}), n=3]$

组别	NLRP3/ GAPDH	cleaved caspase-1/ GAPDH	caspase-1/ GAPDH	GSDMD-N/ GAPDH	GSDMD/ GAPDH
空白组	0.32±0.04	0.55±0.05	0.43±0.05	0.29±0.04	0.30(0.29,0.31)
模型组	1.05±0.12 ^a	1.07±0.09 ^a	1.03±0.11 ^a	1.20±0.04 ^a	1.19(1.16,1.19) ^b
STPC-L组	0.82±0.04 ^c	1.07±0.07	1.00±0.12	0.99±0.05	1.08(0.98,1.14)
STPC-M组	0.62±0.05 ^d	0.76±0.04 ^d	0.70±0.07 ^d	0.67±0.12 ^d	0.66(0.64,0.69)
STPC-H组	0.47±0.08 ^d	0.69±0.02 ^d	0.56±0.07 ^d	0.49±0.12 ^d	0.51(0.49,0.53)
地塞米松组	0.59±0.04 ^d	0.76±0.03 ^d	0.68±0.05 ^d	0.64±0.10 ^d	0.62(0.61,0.69)

a:与空白组相比, $P<0.01$;b:与空白组相比, $P<0.05$;c:与模型组相比, $P<0.05$;d:与模型组相比, $P<0.01$ 。

阻碍气道,不得升降,是以壅而为咳,气壅即水壅,气即水故也,水壅即为痰饮,痰饮为瘀血所阻,则益冲犯肺经”^[13]。针对此病机特点,河南中医药大学第一附属医院儿科宋桂华教授提出自拟方STPC,以化痰祛痰、通络平喘为治法。方中,炒紫苏子与炒葶苈子相须为用,归肺经,味辛通络,寒温并调,共为君药,旨在降气肃肺、泻肺平喘。蜜紫菀、蜜款冬花、蜜麻黄、炒苦杏仁共为臣药:蜜紫菀温肺下气、止咳化痰,蜜款冬花润肺下气、止咳平喘,二者相须为用,润肺化痰止咳之力倍增;蜜麻黄与炒苦杏仁配伍,蜜麻黄辛香走窜、开宣肺气,炒苦杏仁苦降润利、肃降肺气,二者升降相因、宣降相济,共奏宣肺平喘之效。姜厚朴行气化湿、宽中降逆平喘;地龙为虫类药,长于搜风剔络、解痉通络;痰湿伏络日久化热,复以黄芩清泄肺热,三者共为佐药。炙甘草甘温平和,为使药,益气和缓、润肺止咳,兼调和诸药。本研究结果显示,经STPC干预后,哮喘大鼠气道中的炎症细胞浸润及气管结构的异常变化均显著改善,TUNEL凋亡细胞率显著降低,BALF中促炎性细胞因子IL-1 β 、IL-18的释放明显减少,气道炎症反应和肺组织损伤明显减轻,疾病进展得以缓解。

相关证据表明,NLRP3作为细胞焦亡发生的关键蛋白,在哮喘的发生发展中具有关键作用:NLRP3炎症小

体作为胞质内重要的模式识别受体复合物,可激活caspase-1,进而切割产生具有活性的cleaved caspase-1,后者具有双重功能——一方面,其可切割pro-IL-1 β 和pro-IL-18,产生成熟的促炎性细胞因子IL-1 β 和IL-18,促进Th2型炎症反应;另一方面,其可切割GSDMD,生成GSDMD-N,该片段可在细胞膜上成孔,从而导致细胞渗透性肿胀、膜破裂及内容物释放,最终引发细胞焦亡^[14]。研究指出,在尘螨诱导的哮喘小鼠模型中,其肺部NLRP3、IL-1 β 、IL-18的表达均显著上升,而抑制NLRP3活性可有效改善哮喘小鼠的支气管炎症^[15]。还有研究指出,抑制NLRP3炎症小体,可减少支气管上皮细胞内caspase-1、GSDMD的切割活化,从而抑制细胞焦亡进程,减轻气道炎症反应^[16]。研究亦证实,焦亡细胞可“爆发式”释放大量炎症介质,进而放大局部乃至全身性炎症级联反应,与哮喘的发生发展密切相关^[17]。本研究结果显示,模型组大鼠肺组织中NLRP3、cleaved caspase-1、caspase-1、GSDMD-N、GSDMD蛋白的表达均显著上调,提示NLRP3炎症小体被激活并诱导了下游焦亡通路的启动;经STPC干预后,STPC-L组大鼠肺组织中NLRP3蛋白和STPC-M组、STPC-H组、地塞米松组大鼠肺组织中NLRP3、cleaved caspase-1、caspase-1蛋白的表达均较模型组显著下调。这提示中、高剂量的STPC不仅可显著降低NLRP3蛋白的表达,还可同步下调caspase-1及cleaved caspase-1的表达;而低剂量STPC虽对NLRP3表达具有一定抑制作用,但对caspase-1及cleaved caspase-1表达的影响尚不明显。可见,STPC对NLRP3/caspase-1/GSDMD信号通路介导的细胞焦亡通路的调控具有一定的剂量依赖趋势。另外,本研究结果还显示,与模型组相比,STPC中、高剂量组大鼠肺组织中GSDMD-N蛋白的表达均显著下调,而各剂量组大鼠肺组织中GSDMD蛋白的表达虽有下降趋势,但组间比较的差异均无统计学意义,提示该方抑制细胞焦亡的作用可能主要是通过抑制GSDMD裂解活化过程来实现的,而非直接影响其蛋白表达水平^[18],但具体分子机制仍有待进一步深入研究加以阐释。

研究发现,氧化应激通常为细胞焦亡的上游触发因素,既能影响NLRP3炎症小体的活化,也能调控GSDMD依赖性炎症细胞的死亡机制;反之,焦亡过程中释放的大量炎症因子又会进一步加剧局部氧化应激水平,二者在病理状态下常形成“氧化应激-焦亡-炎症”恶性循环^[7,19]。其中,MDA是脂质过氧化标志,其水平显著上升,反映出细胞膜结构遭受氧化损伤的程度加剧;而SOD作为关键的内源性抗氧化酶,其水平显著下降,提示机体内源性抗氧化防御系统功能受损,氧化应激状态进一步加剧^[20]。而这种氧化微环境的改变,可有效促进

NLRP3 炎症小体的组装与活化,并增强 caspase-1 对 GSDMD 的切割能力,从而推动细胞焦亡进程^[21]。本研究结果显示,STPC 可显著降低肺组织中 MDA 水平,提高 SOD 水平,改善大鼠氧化应激状态,从而发挥改善哮喘的作用。

综上所述,STPC 可改善哮喘大鼠的气道炎症及肺组织损伤,降低氧化应激水平,减少 IL-1 β 、IL-18 等促炎性细胞因子的释放;其作用机制可能与抑制 NLRP3/caspase-1/GSDMD 信号通路介导的细胞焦亡通路活化有关。然而,本研究仍存在一定局限性:氧化应激指标检测范围较为有限,未来应纳入更多相关指标以全面评估氧化-抗氧化平衡状态;目前仅通过动物实验验证了 STPC 对细胞焦亡的干预效果,并未在细胞层面深入探讨其具体分子机制及焦亡通路调控环节,尚有待后续研究予以完善。

参考文献

- [1] FERRARI A J, SANTOMAURO D F, AALI A, et al. Global incidence, prevalence, years lived with disability (YLDs), disability-adjusted life-years (DALYs), and healthy life expectancy (HALE) for 371 diseases and injuries in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990-2021: a systematic analysis for the global burden of disease study 2021[J]. *Lancet*, 2024, 403 (10440):2133-2161.
- [2] Global Asthma Network. Global asthma report 2025: patient stories[EB/OL]. [2026-01-10].<https://sway.cloud.microsoft/mFGrHGlgFPFGI8eH> ref=email.
- [3] DHAR R, RHEE C K, PERNG D W, et al. The burden of systemic corticosteroid use in asthma management in Asia[J]. *Respirology*, 2023, 28(8):744-757.
- [4] PANGANIBAN R A, NADEAU K C, LU Q. Pyroptosis, gasdermins and allergic diseases[J]. *Allergy*, 2024, 79(9):2380-2395.
- [5] LIU X, XIA S Y, ZHANG Z B, et al. Channelling inflammation: gasdermins in physiology and disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(5):384-405.
- [6] LI X, YANG N. Exosome miR-223-3p in the bone marrow-derived mesenchymal stem cells alleviates the inflammation and airway remodeling through NLRP3-induced ASC/Caspase-1/GSDMD signaling pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 123:110746.
- [7] DING Y, LUO J, DENG Y J, et al. Wuhu decoction regulates ROS/AMPK/mTOR pathway-mediated dendritic cells autophagy and pyroptosis for the treatment of respiratory syncytial virus-induced asthma[J]. *J Thorac Dis*, 2025, 17(10):7810-7825.
- [8] 宋桂华,周琼阁,张岩,等. 苏葶平喘汤对激素抵抗型哮喘小鼠模型 AP-1、c-Fos 表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(2):5-8.
- [9] PAIK S, KIM J K, SHIN H J, et al. Updated insights into the molecular networks for NLRP3 inflammasome activation[J]. *Cell Mol Immunol*, 2025, 22(6):563-596.
- [10] WAN P, ZHANG S M, RUAN Z H, et al. AP-1 signaling pathway promotes pro-IL-1 β transcription to facilitate NLRP3 inflammasome activation upon influenza A virus infection[J]. *Virulence*, 2022, 13(1):502-513.
- [11] 陈育宁. 中药药理研究方法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2006:1167-1170.
- [12] 赵明哲,王彬,赵晓旻,等. 麻黄-桂枝药对对哮喘寒饮蕴肺证大鼠呼吸功能和气道炎症的影响及机制研究[J]. *中国药房*, 2025, 36(14):1717-1721.
- [13] 唐容川. 血证论[M]. 彭荣琛,齐玲玲,点评. 北京:中国医药科技出版社, 2020:115.
- [14] HAO Y Q, WANG W R, ZHANG L, et al. Pyroptosis in asthma: inflammatory phenotypes, immune and non-immune cells, and novel treatment approaches[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15:1452845.
- [15] ZHANG Z Z, HE Y W, LIU H, et al. NLRP3 regulates ferroptosis via the JAK2/STAT3 pathway in asthma inflammation: insights from *in vivo* and *in vitro* studies[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143:113416.
- [16] ZHUANG J, CUI H Y, ZHUANG L L, et al. Bronchial epithelial pyroptosis promotes airway inflammation in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125:109925.
- [17] ZHOU L, ZHANG H J, LIU L, et al. Intermittent hypoxia aggravates asthma inflammation via NLRP3/IL-1 β -dependent pyroptosis mediated by HIF-1 α signalling pathway[J]. *Chin Med J*, 2025, 138(14):1714-1729.
- [18] LI Y J, GUO B. GSDMD-mediated pyroptosis: molecular mechanisms, diseases and therapeutic targets[J]. *Mol Biomed*, 2025, 6(1):11.
- [19] CHHUNCHHA B, KUBO E, LEHRI D, et al. NLRP3 inflammasome and inflammatory response in aging disorders: the entanglement of redox modulation in different outcomes[J]. *Cells*, 2025, 14(13):994.
- [20] YANG J, CHEN Z Y, ZHU Y, et al. Mechanisms of *Aletris spicata* (Thunb.) Franch. extract in asthma therapy: oxidative stress, inflammation, and gut microbiota[J]. *Biology*, 2025, 14(6):731.
- [21] GAI Y, BAI C, ZHANG W, et al. Nootkatone attenuates airway inflammation in asthmatic mice through repressing ROS-induced NLRP3 inflammasome activation[J]. *Biochem Cell Biol*, 2023, 101(6):513-522.

(收稿日期:2025-11-19 修回日期:2026-04-17)

(编辑:张元媛)