

加味小青龙汤联合 BMSCs 对寒性哮喘大鼠鼻-肺-肠黏膜免疫的影响及机制^Δ

任明月^{1,2*}, 宋桂华^{1,2#}, 王婷婷³, 孙萌萌^{1,2}, 张冰雪^{1,2}, 彭明浩¹(1. 河南中医药大学第一附属医院儿科医院, 郑州 450099; 2. 河南中医药大学儿科医学院, 郑州 450099; 3. 南京中医药大学宿迁附属医院儿科, 江苏 宿迁 223800)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)13-1691-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.13.06



摘要 **目的** 探讨加味小青龙汤联合骨髓间充质干细胞(BMSCs)对寒性哮喘大鼠鼻-肺-肠黏膜免疫的影响及机制。**方法** 将SD大鼠随机分为空白组、模型组、BMSCs组、BMSCs+加味小青龙汤(6.39 g/kg)组、BMSCs+地塞米松(0.125 mg/kg)组,每组10只。采用卵清蛋白联合氢氧化铝致敏及雾化激发,并结合空调冷风吹袭建立寒性哮喘大鼠模型。初次雾化激发前1 h,除空白组和模型组外,其余各组大鼠尾静脉注射BMSCs混悬液;实验第15天起,各组大鼠灌胃相应药液/生理盐水,每日1次,连续7 d。末次给药后,评估大鼠哮喘行为学和肺组织病理学形态变化,检测鼻咽冲洗液、肺泡灌洗液(BALF)和肠黏液中白细胞介素6(IL-6)、IL-10水平;检测鼻、肺、肠组织中磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路相关蛋白表达水平。**结果** 与空白组比较,模型组大鼠哮喘行为学评分、肺组织损伤程度评分,鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6水平,鼻、肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和Akt蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$);鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-10水平均显著降低($P<0.05$);肺泡萎缩、塌陷甚至融合,支气管管壁平滑肌异常增生肥厚,可见大量炎症细胞浸润。与模型组比较,BMSCs组、BMSCs+加味小青龙汤组、BMSCs+地塞米松组上述大部分定量指标均显著逆转($P<0.05$);肺组织病理学损伤均明显减轻。与BMSCs组比较,BMSCs+加味小青龙汤组上述大部分定量指标均进一步改善($P<0.05$)。**结论** 加味小青龙汤联合BMSCs能有效改善寒性哮喘大鼠鼻-肺-肠黏膜免疫,缓解哮喘症状,其作用机制可能与抑制PI3K/Akt信号通路激活有关。

关键词 寒性哮喘;加味小青龙汤;骨髓间充质干细胞;鼻-肺-肠黏膜免疫;PI3K/Akt信号通路

Effects and mechanisms of modified Xiaoqinglong decoction combined with BMSCs on nasal-pulmonary-intestinal mucosal immunity in cold asthma rats

REN Mingyue^{1,2}, SONG Guihua^{1,2}, WANG Tingting³, SUN Mengmeng^{1,2}, ZHANG Bingxue^{1,2}, PENG Minghao¹
(1. Pediatric Hospital, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450099, China; 2. School of Pediatrics, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450099, China; 3. Dept. of Pediatrics, Suqian Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Suqian 223800, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects and mechanism of modified Xiaoqinglong decoction combined with bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) on nasal-pulmonary-intestinal mucosal immunity in rats with cold asthma. **METHODS** SD rats were randomly divided into blank group, model group, BMSCs group, BMSCs+modified Xiaoqinglong decoction (6.39 g/kg) group, and BMSCs+dexamethasone (0.125 mg/kg) group, with 10 rats in each group. The cold asthma rat model was established by sensitization and atomization challenge with ovalbumin combined with aluminum hydroxide, together with cold air stimulation from air conditioners. One hour before the initial atomization challenge, rats in all groups except the blank group and model group were injected with BMSCs suspension via the tail vein. Starting from the 15th day of the experiment, rats in each

group were intragastrically administered corresponding liquid medicine or normal saline once a day for 7 consecutive days. After the last administration, the asthmatic behavioral changes and pathological morphological changes of lung tissues in rats were evaluated. The levels of interleukin-6 (IL-6) and IL-10 in nasopharyngeal lavage fluid, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and intestinal mucus were detected. The expression

^Δ **基金项目** 国家自然科学基金面上项目(No.82274578);河南省中医药传承与创新人才工程(仲景工程)中医药学科领军人才项目(No.豫卫中医函[2021]8号)

* **第一作者** 博士研究生。研究方向:中医药防治小儿呼吸系统疾病。E-mail:renmingyuexs@126.com

通信作者 教授,主任医师,博士生导师,博士。研究方向:中医药防治小儿呼吸系统疾病。E-mail:songgh123@126.com

levels of proteins related to the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway in nasal, lung and intestinal tissues were determined. **RESULTS** Compared with the blank group, the asthmatic behavioral score, lung tissue injury score, IL-6 levels in nasopharyngeal lavage fluid, BALF and intestinal mucus, PI3K protein expression and Akt phosphorylation levels in nasal, lung and intestinal tissues of rats in the model group were significantly increased ($P<0.05$); the IL-10 levels in nasopharyngeal lavage fluid, BALF and intestinal mucus were significantly decreased ($P<0.05$). Alveolar atrophy, collapse and even fusion, abnormal hyperplasia and hypertrophy of bronchial smooth muscle, and massive inflammatory cell infiltration were observed. Compared with the model group, most of the above quantitative indicators in the BMSCs group, BMSCs+modified Xiaoqinglong decoction group and BMSCs+dexamethasone group were significantly reversed ($P<0.05$), and pathological injuries of lung tissues were markedly alleviated. Compared with the BMSCs group, most of the above quantitative indicators were further improved in the BMSCs+modified Xiaoqinglong decoction group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Modified Xiaoqinglong decoction combined with BMSCs can effectively improve nasal-pulmonary-intestinal mucosal immunity and relieve asthmatic symptoms in cold asthma rats, and its mechanism may be related to inhibiting the activation of the PI3K/Akt signaling pathway.

KEYWORDS cold asthma; modified Xiaoqinglong decoction; BMSCs; nasal-pulmonary-intestinal mucosal immunity; PI3K/Akt signaling pathway

哮喘是一种以慢性气道炎症、气道高反应性及可逆性气流阻塞为特征的呼吸系统疾病^[1]。预计2050年中国大陆哮喘患病率或将进一步增长至9.76%^[2]。当前,临床治疗哮喘仅能缓解症状,无法从根本上改变其病理进程^[3-4]。研究表明,哮喘不仅局限于肺部,还涉及鼻腔、气道与肠道等多部位黏膜屏障功能障碍及免疫网络失衡^[5-6],这提示多部位黏膜免疫异常在哮喘发生发展中具有重要作用。因此,从鼻-肺-肠黏膜免疫角度开展研究,有助于系统阐明哮喘多环节发病机制及干预靶点。

哮喘属于中医“哮病”范畴,其中,寒性哮喘是机体外感寒邪束肺,引动痰邪所致;临床治疗多以温肺散寒、化痰平喘为主。中药复方具有多成分、多靶点协同调控的特点,可从整体层面改善哮喘相关免疫微环境。加味小青龙汤具有温肺化饮、宣肺散寒、益气扶正之功,本课题组前期研究表明,其可改善寒性哮喘气道炎症,并调节肺-肠黏膜免疫^[7-9]。另外,骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)因具备免疫调节与组织修复功能^[10],可在哮喘治疗中发挥抗炎、调控免疫及抑制气道高反应性等多重作用^[11-12],然而其生物修复效应受机体免疫微环境制约^[13]。研究表明,磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路在哮喘气道炎症及免疫稳态调控中具有关键作用^[14]。然而,加味小青龙汤联合BMSCs是否可通过该通路调节鼻-肺-肠黏膜免疫,尚不明确。基于此,本研究拟建立寒性哮喘大鼠模型,模拟寒邪诱发黏膜免疫失衡的哮喘状态,并基于PI3K/Akt信号通路探讨加味小青龙汤联合BMSCs对模型大鼠鼻-肺-肠黏膜免疫的影响及潜在分子机制,以期为寒性哮喘的中西医结合治疗提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有NE-C28P型压缩式雾化器(日本Omron公司)、H-2050R型超速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、DP73型显微镜(日本Olympus公司)、ELX-800型酶标仪(美国Bio Tek公司)、DH36001B型电热恒温培养箱(天津泰斯特检测有限公司)、DYY-7C型电泳仪(北京六一生物科技有限公司)、Exicycler 96型荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(韩国Bioneer公司)。

1.2 主要药品与试剂

加味小青龙汤由炙麻黄9 g、桂枝6 g、白芍9 g、干姜6 g、五味子3 g、姜半夏9 g、细辛3 g、黄芪10 g、党参10 g、甘草6 g组成,各药材均购自河南中医药大学第一附属医院,由药学部陈天朝主任药师鉴定均为真品。临用时,将上述药材加8倍量水浸泡30 min,随后煎煮30 min,过滤;药渣再次加水煎煮20 min,过滤,合并2次滤液,加热浓缩制成质量浓度为0.71 g/mL的药液(以生药量计),置于4℃冰箱密封保存。

醋酸地塞米松片(批号015200405,规格0.75 mg/片)购自天津力生制药股份有限公司;胎牛血清(批号11011-8611)购自浙江天杭生物科技有限公司;卵清蛋白(ovalbumin, OVA;批号A5503)购自美国Sigma公司;氢氧化铝干粉(批号A800852)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号EK310)购自杭州联科生物技术股份有限公司;反转录试剂盒(批号MD80101)购自广州美基生物科技有限公司;IL-6 ELISA试剂盒和免源磷酸化Akt(p-Akt)、Akt、PI3K、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号分别为WLE04、WLP001a、

WL0003b、WL02240、WL01372、WLA023)均购自沈阳万类生物科技有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级SD雄性大鼠,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,动物生产许可证编号为SCXK(辽)2020-0001。大鼠于河南中医药大学动物实验中心SPF级屏障环境中适应性喂养1周后进行实验,该中心的动物使用许可证编号为SYXK(豫)2021-0015。本实验通过河南中医药大学动物实验福利伦理委员会批准(编号IACUC-202303026)。

2 方法

2.1 BMSCs的分离与培养

大鼠适应性喂养结束后,取8只大鼠采用颈椎脱臼法处死,置于75%乙醇中浸泡5~10 min,然后于超净工作台上取出股骨和胫骨。采用含10%胎牛血清的MEM α 培养基清洗大鼠骨髓腔,收集冲洗液,再以1 500 r/min离心5 min,弃上清液;取细胞沉淀,以磷酸盐缓冲液(PBS)清洗1次,再加入适量红细胞裂解液,以1 500 r/min离心5 min,弃上清液,即得BMSCs。将BMSCs传代至第3代时,用于后续实验。

2.2 分组、造模与给药

将大鼠随机分为空白组、模型组、BMSCs组、BMSCs+加味小青龙汤组、BMSCs+地塞米松组(阳性对照),每组10只。实验第1、8天,空白组大鼠腹腔注射0.5 mL PBS,模型组、BMSCs组、BMSCs+加味小青龙汤组和BMSCs+地塞米松组大鼠腹腔注射含100 mg OVA和100 mg氢氧化铝的致敏液0.5 mL进行致敏;第15~21天,空白组大鼠以PBS代替OVA雾化激发,其余各组大鼠以1% OVA雾化激发(每天30 min),同时给予空调冷风吹袭(每天40 min),以建立寒性哮喘大鼠模型。当大鼠出现呼吸急促、喘息、反应迟缓、扎堆懒动、进食量减少、毛发杂乱或脱落、四肢末端及唇周温度降低、大便溏软,则表明造模成功^[15]。造模同时,第1次雾化激发前1 h,空白组和模型组大鼠尾静脉注射1 mL PBS,其余各组大鼠尾静脉注射BMSCs混悬液1 mL(1×10^6 个/mL)。实验第15天起,空白组、模型组和BMSCs组大鼠灌胃等体积生理盐水,BMSCs+加味小青龙汤组大鼠灌胃加味小青龙汤药液(6.39 g/kg,剂量根据本课题组前期预实验结果设置),BMSCs+地塞米松组大鼠灌胃地塞米松药液(0.125 mg/kg,剂量根据本课题组前期预实验结果设置),每日1次,连续7 d。

2.3 大鼠一般情况观察

实验过程中观察各组大鼠反应状态、毛发形态、呼

吸情况、唇周颜色等,并于末次给药后对各组大鼠进行哮喘行为学评分^[16]。

2.4 标本采集

哮喘行为学评分结束后,麻醉大鼠(取材前12 h禁食、不禁水),暴露气管和肠组织,制备鼻咽冲洗液、肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、肠黏液,再于4℃条件下离心,收集上清液,置于-80℃条件下保存。剖取大鼠鼻中隔中后段鼻黏膜、右肺下叶、回肠段组织,取一部分置于4%多聚甲醛中固定,剩余部分置于-80℃条件下保存。

2.5 肺组织病理学形态观察

取“2.4”项下于4%多聚甲醛固定的肺组织适量,经梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片后进行苏木素-伊红(HE)染色,再用中性树胶封片。采用显微镜观察大鼠肺组织病理学形态变化(如支气管与血管周围炎症浸润情况、管腔阻塞程度、上皮细胞变性或增生情况、肺泡壁增厚情况、间质炎症等),并根据五等级半定量法^[17]对大鼠肺组织损伤程度进行评分,具体评分规则为:0分,组织结构完整,未见明显病变;0.5分,偶见极轻微病变;1分,病变呈小范围局灶性分布;2分,病变累及中等范围;3分,病变广泛且严重。

2.6 鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6、IL-10水平检测

取“2.4”项下鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液适量(每组取3只大鼠的样本),按照ELISA试剂盒说明书方法操作,检测大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6、IL-10水平。

2.7 鼻、肺、肠组织中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达检测

分别取“2.4”项下各组大鼠冻存的鼻黏膜、右肺下叶、回肠段组织各适量(每组取3只大鼠的样本),经裂解、匀浆后,提取总蛋白。蛋白经BCA法定量后,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、转膜、封闭;加入PI3K、Akt、p-Akt、 β -actin一抗(稀释比例分别为1:500、1:500、1:500、1:1 000)于4℃条件下孵育过夜。次日,以TBST清洗后,加入二抗(稀释比例为1:5 000)于37℃条件下孵育45 min;再以TBST清洗后,滴加ECL发光液,经曝光处理后,使用ImageJ软件分析条带灰度值。以目的蛋白与内参蛋白(β -actin)的条带灰度值比值表示目的蛋白的表达水平;以p-Akt与Akt的表达水平比值,表示Akt蛋白的磷酸化水平。

2.8 统计学方法

采用SPSS 27.0软件进行统计分析。计量资料符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析;进一步组间两两比较时,若方差齐性则选择LSD-*t*检验,若方差不齐则选择Dunnett's *T*3检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 大鼠一般情况观察结果

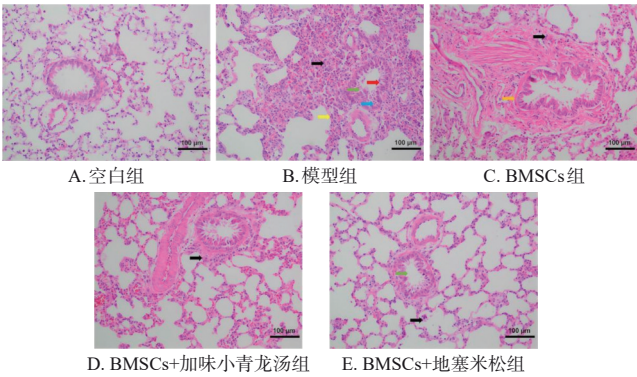
空白组大鼠毛发洁白光亮、行动敏捷、呼吸节律平稳、粪便性状正常。与空白组[哮喘行为学评分为(1.00±1.05)分]比较,模型组大鼠毛发枯黄且蓬乱竖立,伴有呼吸急促、喘息、抓鼻等典型哮喘症状和唇周发白、分泌物增多、大便溏软等中医寒证体征,哮喘行为学评分[(4.30±1.57)分]显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,BMSCs组大鼠哮喘症状有所改善,哮喘行为学评分[(2.90±1.45)分]显著降低($P<0.05$)。与BMSCs组比较,BMSCs+加味小青龙汤组大鼠哮喘症状和寒证体征均明显改善,哮喘行为学评分[(1.60±1.51)分]显著降低($P<0.05$);BMSCs+地塞米松组大鼠哮喘症状和寒证体征稍有改善,哮喘行为学评分[(2.10±1.37)分]有所降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

3.2 大鼠肺组织病理学形态观察结果

由图1可知,空白组[肺组织损伤程度评分为(0.31±0.13)分]大鼠肺组织形态结构完整,肺泡轮廓清晰,支气管与血管周围未观察到明显的炎症细胞浸润现象。与空白组比较,模型组大鼠肺组织明显损伤,具体表现为肺泡萎缩、塌陷甚至融合,肺泡壁厚度增加,支气管管壁平滑肌异常增生肥厚,管腔狭窄且上皮细胞脱落,周围区域可见大量炎症细胞浸润;肺组织损伤程度评分[(12.38±0.45)分]显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,其余各组大鼠肺组织病理损伤均有所缓解;其中,BMSCs组大鼠支气管管壁平滑肌与肺泡壁仅见轻度增厚,炎症细胞浸润程度明显减轻;BMSCs+加味小青龙汤组大鼠支气管与肺泡结构基本保持完整,管腔无明显狭窄,炎症细胞浸润程度明显减轻;BMSCs+地塞米松组大鼠肺组织整体结构破坏较轻,仅见支气管上皮细胞排列紊乱,管腔稍狭窄,周围伴少量炎症细胞浸润;各给药组大鼠肺组织损伤程度评分[分别为(7.58±0.53)、(1.19±0.06)、(1.94±0.06)分]均显著降低($P<0.05$)。与BMSCs组比较,BMSCs+地塞米松组和BMSCs+加味小青龙汤组大鼠肺组织损伤程度评分均显著降低($P<0.05$)。

3.3 大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6、IL-10水平检测结果

与空白组比较,模型组大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6水平均显著升高,IL-10水平均显著降低($P<0.05$)。与模型组比较,各干预组大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6水平均显著降低,IL-10水平



注:黑色箭头所指为炎症细胞,红色箭头所指为支气管管壁肥厚,橙色箭头所指为平滑肌增厚,绿色箭头所指为管腔狭窄,蓝色箭头所指为管腔上皮细胞脱落,黄色箭头所指为肺泡壁增厚。

图1 各组大鼠肺组织病理学形态观察显微图(HE染色)

(BMSCs组肠黏液中除外)均显著升高($P<0.05$)。与BMSCs组比较,BMSCs+加味小青龙汤组、BMSCs+地塞米松组大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6水平均显著降低,IL-10水平均显著升高($P<0.05$)。与BMSCs+地塞米松组比较,BMSCs+加味小青龙汤组大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6水平均显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

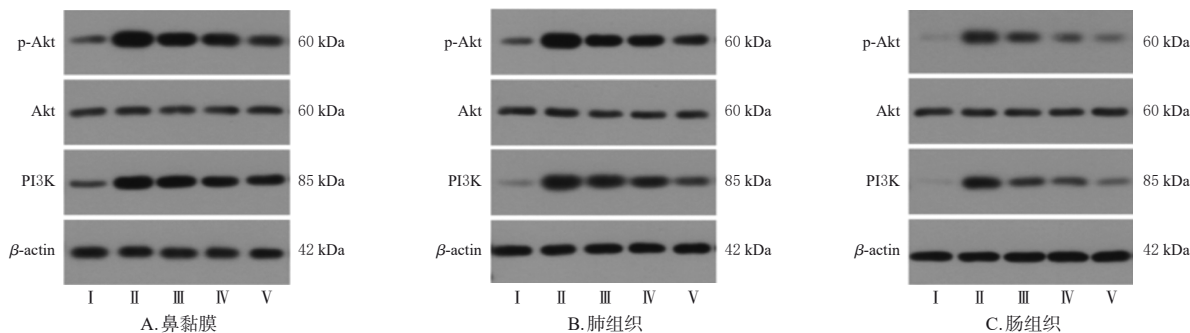
表1 各组大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6、IL-10水平比较($\bar{x} \pm s, n=3, \text{pg/mL}$)

组别	鼻咽冲洗液		BALF		肠黏液	
	IL-6	IL-10	IL-6	IL-10	IL-6	IL-10
空白组	28.23±0.62	50.87±3.66	34.13±0.75	56.62±4.16	17.54±0.77	65.72±6.57
模型组	79.47±0.47 ^a	20.59±0.89 ^a	101.85±0.91 ^a	19.70±1.79 ^a	40.81±0.57 ^a	32.23±0.90 ^a
BMSCs组	68.14±0.68 ^b	27.45±1.37 ^b	82.72±1.00 ^b	28.34±1.37 ^b	35.69±0.69 ^b	37.93±3.16
BMSCs+加味小青龙汤组	40.75±0.58 ^{bcd}	42.13±5.02 ^{bc}	48.51±0.81 ^{bcd}	50.88±7.55 ^{bc}	22.74±0.71 ^{bcd}	54.20±4.99 ^{bc}
BMSCs+地塞米松组	37.52±0.65 ^{bc}	45.44±1.38 ^{bc}	44.32±0.81 ^{bc}	52.29±5.00 ^{bc}	20.92±0.56 ^{bc}	59.35±6.37 ^{bc}

a: 与空白组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与BMSCs组比较, $P<0.05$; d: 与BMSCs+地塞米松组比较, $P<0.05$ 。

3.4 大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达水平检测结果

与空白组比较,模型组大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和Akt蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,BMSCs组大鼠肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和鼻、肠组织中Akt蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$);BMSCs+加味小青龙汤组、BMSCs+地塞米松组大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和鼻、肠组织中Akt蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。与BMSCs组比较,BMSCs+加味小青龙汤组大鼠肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和鼻、肠组织中Akt蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$),BMSCs+地塞米松组大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和鼻、肠组织中Akt蛋白磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。与BMSCs+地塞米松组比较,BMSCs+加味小青龙汤组大鼠肠组织中PI3K蛋白表达水平和鼻、肠组织中Akt蛋白磷酸化水平均显著升高($P<0.05$)。结果见图2和表2。



I:空白组;II:模型组;III:BMSCs组;IV:BMSCs+加味小青龙汤组;V:BMSCs+地塞米松组。

图2 各组大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达的电泳图

表2 各组大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	鼻黏膜		肺组织		肠组织	
	PI3K/ β -actin	p-Akt/Akt	PI3K/ β -actin	p-Akt/Akt	PI3K/ β -actin	p-Akt/Akt
空白组	0.20 $\pm$ 0.11	0.22 $\pm$ 0.11	0.10 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.17	0.08 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.01
模型组	1.26 $\pm$ 0.17 ^a	1.37 $\pm$ 0.16 ^a	1.12 $\pm$ 0.18 ^a	1.31 $\pm$ 0.23 ^a	1.04 $\pm$ 0.02 ^a	1.23 $\pm$ 0.10 ^a
BMSCs组	0.98 $\pm$ 0.09	1.05 $\pm$ 0.14 ^b	0.87 $\pm$ 0.10 ^b	1.04 $\pm$ 0.11	0.71 $\pm$ 0.12 ^b	0.88 $\pm$ 0.06 ^b
BMSCs+加味小青龙汤组	0.73 $\pm$ 0.17 ^b	0.77 $\pm$ 0.07 ^{bcd}	0.66 $\pm$ 0.15 ^{bc}	0.92 $\pm$ 0.24 ^b	0.53 $\pm$ 0.14 ^{bcd}	0.55 $\pm$ 0.11 ^{bcd}
BMSCs+地塞米松组	0.59 $\pm$ 0.27 ^{bc}	0.44 $\pm$ 0.23 ^{bc}	0.50 $\pm$ 0.05 ^{bc}	0.69 $\pm$ 0.18 ^b	0.26 $\pm$ 0.08 ^{bc}	0.30 $\pm$ 0.09 ^{bc}

a: 与空白组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$; c: 与BMSCs组比较, $P<0.05$; d: 与BMSCs+地塞米松组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

寒性哮喘多因外感寒邪侵袭肺卫,或素体阳虚、寒饮内伏于肺,遇诱因触发而作。寒为阴邪,性主凝滞收引,既易郁遏肺气,致肺失宣肃、津凝痰聚、气道挛急而发哮喘,又可壅塞肺窍,使气机不通、津液失布,出现鼻塞、流涕等鼻窍受损表现;同时,寒邪束肺致肺气郁闭、不得肃降,一则气机升降失常,二则寒邪循肺、肠经络属下移,致肠腑虚寒、运化传导失司。中医认为“肺开窍于鼻”“肺与大肠相表里”,强调鼻、肺、肠在功能上的协同关系^[18]。因此,哮喘病位虽主要在肺,但实则是鼻窍失通、肠腑不健与肺脏受损的多环节病理叠加。现代多组学研究表明,肠道菌群可参与哮喘免疫炎症的调控,从不同层面支持了鼻、肺、肠之间的功能联系^[19]。黏膜免疫系统是机体重要的免疫防御网络,广泛分布于呼吸道和肠道等黏膜部位^[20]。研究表明,鼻-肺-肠黏膜免疫在哮喘发病中具有重要作用^[21]。因此,中医关于哮喘鼻-肺-肠脏腑官窍协同、多部位同步受损的病机认识与现代医学揭示的哮喘鼻-肺-肠黏膜免疫联动高度契合,这为本研究提供了理论基础。

加味小青龙汤从“鼻-肺-肠同治”理念出发,以《伤寒杂病论》中小青龙汤为基础,加黄芪、党参等药化裁而成。方中小青龙汤温肺化饮、宣肺散寒,加黄芪、党参益气扶正,诸药相伍,旨在通鼻窍以杜外邪入侵,宣肺气以复气机升降,畅肠腑以清浊气上逆。BMSCs具有免疫调节和组织修复作用,但其疗效受免疫微环境影响^[13]。因此,将加味小青龙汤和BMSCs联合,以中药复方调控鼻-

肺-肠寒性病机为核心,联合BMSCs在细胞层面的免疫调节与组织修复作用以协同增效,有助于改善寒性哮喘多部位黏膜免疫紊乱。

IL-6、IL-10是呼吸道、肠道黏膜免疫调节的关键介质^[22-23]。IL-6可诱导Treg细胞向促炎性辅助性T细胞17亚群分化,影响哮喘炎症反应^[24]。IL-10可通过抑制哮喘机体释放促炎因子,发挥抗炎和免疫调节的双重作用^[25]。生理状态下,IL-6和IL-10相互拮抗,共同维持机体的免疫稳态;而在哮喘病理状态下,这种平衡被打破,导致机体免疫紊乱和炎症反应加剧。本研究所建寒性哮喘模型模拟寒邪诱发、痰饮内伏所致的哮喘发作状态,其特点不仅表现为喘息、大便溏软等典型寒性哮喘症状,也表现出鼻、肺、肠黏膜免疫炎症(IL-6水平均显著升高,IL-10水平均显著降低)的同步异常。经加味小青龙汤联合BMSCs干预后,大鼠鼻咽冲洗液、BALF和肠黏液中IL-6水平均显著降低,IL-10水平均显著升高。这表明加味小青龙汤不仅能有效改善寒性哮喘大鼠鼻-肺-肠黏膜免疫的失衡状态,还能重塑有利于组织修复的免疫微环境,增强BMSCs的抗炎与组织修复作用,二者联用的协同疗效显著优于单一BMSCs干预。

PI3K/Akt信号通路是由PI3K催化其磷脂底物磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸转化为磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸,进而激活Akt的核心信号级联,广泛参与细胞增殖、活化、代谢及炎症反应^[26]。在哮喘过程中,该通路异常激活可促进IL-6等促炎因子大量释放,同时抑制IL-10等抗炎因子表达,进而破坏黏膜免疫稳态^[27]。本研究结果显示,模型组大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和Akt蛋白磷酸化水平均高于空白组,这提示在寒性哮喘模型中,PI3K/Akt信号通路被异常激活,且呈现鼻、肺、肠多部位同步变化的特点。经加味小青龙汤联合BMSCs干预后,大鼠鼻、肺、肠组织中PI3K蛋白表达水平和Akt蛋白磷酸化水平均降低,这表明加味小青龙汤联合BMSCs可通过抑制PI3K/Akt信号通路的异常激活,减轻鼻-肺-肠黏膜免疫炎症反应,从而改善哮喘症状。

综上所述,加味小青龙汤联合BMSCs能有效改善寒性哮喘大鼠鼻-肺-肠黏膜免疫,缓解哮喘症状,其作用机制可能与抑制PI3K/Akt信号通路激活有关。然而,本研究样本量有限,PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达仅用于初步机制验证,后续将扩大样本量,进一步深入探索其关键分子机制。

参考文献

- [1] Batard T, Taillé C, Guilleminault L, et al. Allergen immunotherapy for the prevention and treatment of asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2025, 55(2):111-141.
- [2] Yu J R, Xu L, Han A Z, et al. The epidemiology of asthma in Mainland China: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Public Health*, 2024, 24(1):2888.
- [3] Chen S H, Gao J Q, Zhang T Y. From mesenchymal stem cells to their extracellular vesicles: progress and prospects for asthma therapy[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2024, 19(4):100942.
- [4] Huang S, Li Y Y, Zeng J Q, et al. Mesenchymal stem/stromal cells in asthma therapy: mechanisms and strategies for enhancement[J]. *Cell Transplant*, 2023, 32:9636897231180128.
- [5] 楼招欢,赵华军,吕圭源.“肺与大肠相表里”的黏膜免疫调节机制及中药干预作用研究进展[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2020, 49(6):665-678.
- [6] 徐瀛瀛,田静,张翔,等.气道上皮细胞在哮喘发病机制中的作用研究进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2023, 43(5):619-623.
- [7] 宋桂华,彭明浩,张岩,等.加味小青龙汤治疗支气管哮喘慢性持续期临床疗效及对IL-6、IL-10、SIgA的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(9):5-9.
- [8] 宋桂华,赵慧颖,于素平,等.加味小青龙汤对哮喘大鼠肺-肠黏膜免疫影响及相关作用机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(3):542-545.
- [9] 任佳营,宋桂华,孙萌萌,等.加味小青龙汤影响Treg/Th17细胞失衡改善小鼠哮喘的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(3):532-537.
- [10] Tynecka M, Moniuszko M, Eljaszewicz A. Old friends with unexploited perspectives: current advances in mesenchymal stem cell-based therapies in asthma[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2021, 17(4):1323-1342.
- [11] Wang K, Cao X M, Yang L, et al. Modulating Th1/Th2 drift in asthma-related immune inflammation by enhancing bone mesenchymal stem cell homing through targeted inhibition of the Notch1/Jagged1 signaling pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 130:111713.
- [12] Choi J Y, Hur J, Jeon S, et al. Effects of human adipose tissue- and bone marrow-derived mesenchymal stem cells on airway inflammation and remodeling in a murine model of chronic asthma[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):12032.
- [13] Li X, Zhan J H, Hou Y, et al. Coenzyme Q10 regulation of apoptosis and oxidative stress in H₂O₂ induced BMSC death by modulating the Nrf-2/NQO-1 signaling pathway and its application in a model of spinal cord injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019:6493081.
- [14] 邓亚胜,范燕萍,李汶玥,等.中医药调控PI3K/Akt信号通路干预哮喘的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(17):262-275.
- [15] 王心恒,邵小涵,李童童,等.平喘宁方通过调控HMGB1/Beclin-1轴介导的自噬改善患寒哮证大鼠的气道炎症[J]. *南方医科大学学报*, 2025, 45(6):1153-1162.
- [16] 颜维孝,宋亚娣,李娟.培菲康通过下调TLR4/NF-κB信号减轻哮喘小鼠气道炎症及气道重塑[J]. *免疫学杂志*, 2023, 39(6):478-486.
- [17] 杨盼盼,刘燕,李晨阳,等.基于NLRP3/caspase-1/IL-1β信号通路探讨胀果甘草总黄酮对哮喘小鼠的保护作用及机制[J/OL]. *中国药理学通报*, 2026:1-12. <https://link.cnki.net/urlid/34.1086.r.20251216.1715.004>.
- [18] 秦慧娟.基于哮喘黏膜免疫研究“肺开窍于鼻”,“肺与大肠相表里”理论[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2009:27.
- [19] 徐子骞,朱星星,孟野松,等.肠道菌群与哮喘研究进展[J]. *海军军医大学学报*, 2025, 46(11):1467-1475.
- [20] 张晓娜,史锁芳.基于“肺合大肠”理论探讨肠道微生态、黏膜免疫与支气管哮喘之间的相关性[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(11):6394-6397.
- [21] 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.
- [22] Souza L S, Ferreira-Junior A S, Estella P C, et al. Bacteriome signature in SARS-CoV-2-infected patients correlates with increased gut permeability and systemic inflammatory cytokines[J]. *Microorganisms*, 2025, 13(6):1407.
- [23] Branchett W J, Saraiva M, O'Garra A. Regulation of inflammation by interleukin-10 in the intestinal and respiratory mucosa[J]. *Curr Opin Immunol*, 2024, 91:102495.
- [24] 陈奕帆,王雨欣,顾雨菲,等.支气管哮喘气道炎症损伤中免疫失衡的研究进展[J]. *中国医科大学学报*, 2023, 52(4):371-374.
- [25] 郑朵,杨丽娟,林娜.白介素-10基因启动子rs1800896和rs1800871位点基因多态性与黑衣壮儿童支气管哮喘关系的研究[J]. *右江医学*, 2023, 51(6):519-525.
- [26] Hoxhaj G, Manning B D. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signaling and cancer metabolism[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(2):74-88.
- [27] 蔡丽鑫.PI3K/AKT信号通路在支气管哮喘的研究进展及中医药干预现状[J]. *中医学*, 2023, 12(10):2819-2825.

(收稿日期:2026-01-15 修回日期:2026-06-16)

(本文责编:唐晓莲)