

桑白皮汤对二手烟致肺纤维化小鼠的改善作用及机制研究[△]

吴润蕊*, 张明昊, 陈钰欣, 张 润, 闫秋瑾, 毛彦稳[#](河南中医药大学医学院, 郑州 450046)

中图分类号 R965;R285.5

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2026)14-1851-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.14.09



摘要 **目的** 探讨桑白皮汤(SBP)对二手烟致肺纤维化(PF)小鼠的改善作用及潜在机制。**方法** 借助网络药理学方法,筛选SBP活性成分对应靶点与PF特异性靶点的共同靶点,进行蛋白-蛋白相互作用网络构建、京都基因和基因组数据库通路富集分析,并进行分子对接。基于上述结果,将雄性昆明小鼠分为正常对照组、模型对照组、SBP组(1.08 g/kg,以生药量计)、吡非尼酮组(阳性对照,90 mg/kg),每组8只。除正常对照组外,其余各组均采用香烟静式呼吸道染毒法(每天烟熏30 min×2次,持续20 d)构建二手烟致PF小鼠模型。各药物组小鼠于每天第2次烟熏结束后0.5 h时灌胃相应药液,正常对照组和模型对照组小鼠同步灌胃等体积水,每天1次,连续20 d。末次给药24 h后,观察小鼠肺组织病理改变,检测其肺组织中促炎因子、损伤标志物水平和相关通路蛋白表达情况。**结果** 筛选出共同靶点2 448个,其核心靶点包括蛋白激酶B1(AKT1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6)等,富集于磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/AKT等信号通路;AKT1、PI3K、TNF- α 、IL-6与活性成分chaksine的结合能分别为-11.0、-7.7、-9.0、-9.4 kcal/mol。与模型对照组比较,各药物组小鼠肺组织炎症细胞浸润、胶原沉积的病理改变均有所减轻;肺组织中Ⅲ型胶原蛋白的表达均显著下调;IL-6、TNF- α 、组织金属蛋白酶抑制物1、肺表面活性物质相关蛋白D水平,肺纤维化阳性区域百分比和PI3K、AKT蛋白的磷酸化水平亦显著下调或降低($P<0.05$)。**结论** SBP改善二手烟致PF的作用,可能与调控AKT1等多个核心靶点、抑制PI3K/AKT信号通路,进而减轻肺部炎症及胶原沉积有关。

关键词 桑白皮汤;肺纤维化;二手烟;PI3K/AKT信号通路;网络药理学

Study on the improvement effects and mechanisms of Sangbaipi decoction in mice with second-hand smoke-induced pulmonary fibrosis

WU Runrui, ZHANG Minghao, CHEN Yuxin, ZHANG Run, YAN Qiujin, MAO Yanwen (College of Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the improvement effects and potential mechanisms of Sangbaipi decoction (SBP) on mice with second-hand smoke-induced pulmonary fibrosis (PF). **METHODS** Using network pharmacology methods, the common targets between the active components of SBP and PF-specific targets were screened, the protein-protein interaction network was constructed, the pathway enrichment analysis was performed using the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, and the molecular docking was conducted. Based on these results, the male Kunming mice were divided into a normal control group, a model control group, an SBP group (1.08 g/kg, calculated by crude drugs), and a pirfenidone group (positive control, 90 mg/kg), with eight mice in each group. Except for the normal control group, all other groups were exposed to second-hand smoke via the static respiratory tract smoking method (30 min of smoking twice daily for 20 consecutive days) to establish a mouse model of PF induced by second-hand smoke. Each drug group was administered the corresponding drug solution via gavage 0.5 h after the second daily smoke exposure; the normal control and model control groups were simultaneously administered an equal volume of water via gavage, once daily for 20 consecutive days. Twenty-four hours after the final administration, pathological changes in lung tissue were observed, and the levels of pro-inflammatory factors, injury markers, and the expression of proteins in related signaling pathways in lung tissue were detected. **RESULTS** A total of 2 448 common targets were identified, with core targets including protein kinase B1 (AKT1), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-6 (IL-6), which were enriched in signaling pathways such as phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/AKT. The binding energies of AKT1, PI3K, TNF- α , and IL-6 to the active compound chaksine were -11.0, -7.7, -9.0, and -9.4 kcal/mol, respectively. Compared with the model control group, pathological changes such as inflammatory cell infiltration and collagen deposition in lung tissue were alleviated in the administration groups. The expression of collagen Ⅲ in lung tissue was significantly downregulated, and the levels of IL-6, TNF- α , tissue inhibitor of metalloproteinase 1, and pulmonary surfactant-associated protein D, as well as the percentage of positive areas with pulmonary fibrosis and protein phosphorylation levels of PI3K and AKT, were all significantly downregulated or reduced ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** The role of SBP in improving PF induced by second-hand smoke may be related to the regulation of multiple core targets, including AKT1, and the inhibition of the PI3K/AKT signaling pathway, thereby alleviating pulmonary inflammation and collagen deposition.

[△]基金项目 国家自然科学基金项目(No.82505165);河南省自然科学基金青年基金项目(No.252300420605);国家资助博士后研究人员计划项目(No.GZC20230743)

*第一作者 硕士研究生。研究方向:中医药防治器官纤维化的机制。E-mail: wurr5313@163.com

[#]通信作者 副教授,硕士生导师,博士。研究方向:中医药防治器官纤维化的机制。E-mail: 779786594@qq.com

KEYWORDS Sangbaipi decoction; pulmonary fibrosis; second-hand smoke; PI3K/AKT signaling pathway; network pharmacology

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是以肺间质进行性纤维增生为特征的慢性疾病,环境暴露是其明确的风险因素之一^[1-2]。研究指出,二手烟暴露可导致肺实质损伤及肺功能进行性下降,加速PF的发生发展,其病理特征为弥漫性肺泡炎症伴间质纤维化^[3-4]。PF的临床治疗以抗纤维化药物为主,疗效有限且副作用明显,如吡非尼酮(pirfenidone, PFD)可延缓患者病情进展,但可引起胃肠道反应、肝损伤等不良反应,且经济负担较重^[5-6]。因此,探寻新的PF防治策略具有重要的临床意义。

在中医理论中,烟草烟雾(包括主动吸烟和被动吸入的二手烟)属“燥热毒邪”,易耗伤肺阴;二手烟长期熏袭,可致“气阴亏虚、痰瘀阻络”,与PF“肺痹”“肺痿”的传变规律相吻合,即早期邪阻肺络、后期肺叶痿弱^[7-8]。目前,临床常用抗纤维化药物来改善二手烟致PF,但疗效欠佳且不良反应明显;而中医经典方剂以其多靶点协同优势,为PF防治提供了新的研究方向。

桑白皮汤(Sangbaipi decoction, SBP)源自《备急千金要方》,以桑白皮为君药,具清热泻肺、化痰逐瘀之功。现代药理学研究显示,该方的主要活性成分具有抗炎及抗纤维化的潜在作用^[9-10]。基于此,本研究以二手烟致PF动物模型为对象,采用网络药理学预测与动物实验验证相结合的策略,系统探讨SBP改善二手烟致PF的作用机制,以期为PF的临床防治提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括SpectraMax iD3型多功能酶标仪[美谷分子仪器(上海)有限公司],RM2235型石蜡切片机(德国Leica公司),YD-6D型包埋机、YD-A型摊片机、YD-B型烤片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司),CX23型光学显微镜(日本Olympus公司),Mini-PROTEAN Tetra Cell型垂直电泳系统、Trans-Blot SD Cell型湿式转膜装置(美国Bio-Rad公司),Tanon-5200Multi型化学发光成像系统(上海天能科技有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

SBP由桑白皮、半夏、紫苏子、杏仁、贝母、山栀、黄芩、黄连组方而成,上述中药饮片均购自河南中医药大学第一附属医院(产地分别为河南南阳、甘肃陇南、湖北宜昌、河北承德、四川甘孜、江西宜春、山西运城、四川成都,批号依次为231101、230704、23010101、22120201、230802-1、240402-2、240402、240602),经河南中医药大学药学院中药资源与鉴定教研室2位具有副高级及以上职称的专家鉴定均为真品。

PFD胶囊(批号20250608,规格100 mg)购自北京康蒂尼药业股份有限公司;白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、组织金属蛋白酶抑制物1(tissue inhibitor of metallopro-

teinase 1, TIMP1)、肺表面活性物质相关蛋白D(pulmonary surfactant-associated protein D, SP-D)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号分别为E-EL-M0044、E-EL-M3063、E-EL-M3071、E-EL-M0993)均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;兔抗磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)多克隆抗体(批号20584-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗磷酸化PI3K(phosphorylated PI3K, p-PI3K)单克隆抗体(批号4228T)购自安诺伦(北京)生物科技有限公司;兔抗蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)单克隆抗体、兔抗磷酸化AKT(phosphorylated AKT, p-AKT)多克隆抗体(批号分别为WL0003b、WLP001a)均购自沈阳万类生物科技有限公司;鼠抗Ⅲ型胶原蛋白(Collagen Ⅲ)单克隆抗体(批号C7805)购自美国Sigma-Aldrich公司;鼠抗 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(批号66009-1-Ig)购自美国Proteintech公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、山羊抗鼠免疫球蛋白G二抗(货号分别为1907C038、1908A022)均购自美国InCellGene公司;HE、Masson染色试剂盒(批号分别为G1120、G1340)均购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 实验动物

普通级雄性昆明小鼠32只,8周龄,体重(20 ± 5)g,由辽宁长生生物科技股份有限公司提供,实验动物生产许可证号为SCXK(辽)2020-0001。所有小鼠均于屏障环境(温度约23℃,相对湿度约50%,自然光照节律)中分笼饲养,并自由摄食、饮水。本研究方案经河南中医药大学实验动物伦理委员会审议通过,批准编号为DWLL202412330。

2 方法与结果

2.1 网络药理学预测与分子对接分析

2.1.1 SBP活性成分与PF疾病靶点的收集与筛选

通过TCMSP数据库检索SBP组方中药的活性成分,以口服生物利用度 $\geq 30\%$ 及类药性 ≥ 0.18 为标准^[11],筛选对应靶点并在UniProt数据库中进行靶点名称标准化。经合并、去重后,本研究共获得SBP活性成分157个(桑白皮32个、半夏13个、苏子16个、杏仁19个、浙贝母7个、栀子15个、黄芩36个、黄连14个、生姜5个)。以“pulmonary fibrosis”为关键词,在OMIM、GeneCards、DrugBank、TTD数据库中系统检索PF相关靶点。经合并、去重后,本研究共获得PF特异性靶点6 659个。进一步利用Venny 2.0在线软件工具进行靶点映射,本研究最终获得SBP活性成分与PF共同靶点,共2 448个。

2.1.2 网络构建、富集分析与可视化展示

将“2.1.1”项下所获共同靶点导入STRING数据库,构建蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,并利用Cytoscape 3.10.2软件进行可视化分析,筛选出节点度值排名前8位的SBP干预PF的核心靶点,即

AKT1、Src 蛋白、信号转导及转录活化因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、TNF- α 、肿瘤蛋白 p53 (tumor protein p53, TP53)、IL-6、E1A 结合蛋白 p300 (E1A binding protein p300, EP300)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) (限于篇幅, 具体结果可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图 1)。

将“2.1.1”项下所获共同靶点导入 DAVID 数据库进行京都基因和基因组数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析 (设定物种为“Homo sapiens”, 以 $P < 0.05$ 为标准), 共得到相关通路 213 条, 其中 P 由小到大排前 10 位的 KEGG 富集结果如图 1 所示。由图 1 可知, 共同靶点主要富集于癌症通路、PI3K/AKT 通路、EB 病毒感染、脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物-晚期糖基化终末产物受体信号通路、麻疹、乙型肝炎、人巨细胞病毒感染、癌症中的蛋白聚糖、结核病。

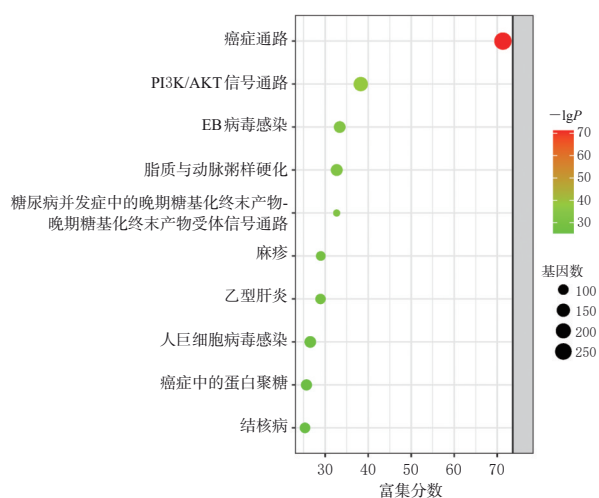


图 1 SBP 干预 PF 共同靶点的 KEGG 富集分析图

2.1.3 分子对接验证及可视化展示

从 RCSB PDB 数据库获取核心靶点的晶体结构, 使用 Pymol 软件去除水分子并进行加氢处理, 再使用 AutoDock 软件识别对接部位, 构建受体-配体“PDBQT”文件; 从 TCMSP、PubChem 数据库中获取靶点对应活性成分的 3D 结构, 并保存为“mol2”格式。使用 AutoDock 软件以 Lamarckian 遗传算法进行分子对接, 以结合能 ≤ -5 kcal/mol ($1 \text{ kcal} = 4.184 \text{ kJ}$) 为标准^[12]进行筛选。结果显示, AKT1、PI3K、TNF- α 、IL-6 均与活性成分 chaksine 具有较强的结合能力, 结合能分别为 -11.0 、 -7.7 、 -9.0 、 -9.4 kcal/mol (限于篇幅, 具体结果可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图 2)。

2.2 实验验证

上述网络药理学及分子对接分析结果显示, SBP 干预 PF 的核心靶点 (如 AKT1、TNF- α 等) 显著富集于 PI3K/AKT 信号通路, 且 AKT1、PI3K、TNF- α 、IL-6 与 SBP 活性成分 chaksine 之间的结合能 ($-11.0 \sim -7.7$ kcal/mol) 均较高, 提示 PI3K/AKT 可能是 SBP 发挥抗 PF 作用的重要信号通路。为验证这一推测, 本研究进一步通过动物实验, 观察 SBP 对二手烟致 PF 模型小鼠的改

善情况, 并重点检测 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白的表达情况。

2.2.1 SBP 药液的制备

取等量的桑白皮、半夏、紫苏子、杏仁、贝母、山栀、黄芩、黄连饮片, 混合、粉碎 (过 40 目筛), 备用。采用水提法, 加热回流 $1.5 \text{ h} \times 2$ 次 (第 1 次加 10 倍量水, 第 2 次加 8 倍量水); 药液经纱布过滤、合并、浓缩, 得质量浓度为 1.0 g/mL (按生药量计) 的药液, 作为储备液, 灌胃前以水稀释至所需质量浓度。

2.2.2 造模、分组与给药

将所有小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为正常对照组、模型对照组、PFD 组、SBP 组, 每组 8 只。除正常对照组外, 其余各组均采用香烟静式呼吸道染毒法进行造模, 每天烟熏 2 次 (每次 5 支香烟, 持续 30 min), 连续 20 d。以小鼠是否出现相关症状 (呼吸困难、活动减少及体重下降) 并结合后续肺组织病理学检查确认造模情况^[13-14]。

参照临床 SBP 人用剂量, 经体表面积换算等效剂量, 以所得等效剂量作为中剂量 (1.08 g/kg , 按生药量计, 下同), 再向上、向下各设 1 个剂量梯度 (0.54 、 2.16 g/kg); 随后, 通过预实验 (肺脏外观观察和 TIMP1、SP-D 检测, 其中 ELISA 实验具体操作见后文) 结果, 最终确定 SBP 的干预剂量为 1.08 g/kg 。参照临床 PFD 人用剂量和预实验结果, 设定 PFD 剂量为 90 mg/kg 。各药物组小鼠于每天第 2 次烟熏结束后 0.5 h 时灌胃相应药液 (以水为溶剂, 均以每 10 g 体重灌胃 0.1 mL 的固定体积给药), 正常对照组和模型对照组小鼠同步灌胃等体积水, 每天 1 次, 连续 20 d。

2.2.3 小鼠肺组织中 IL-6、TNF- α 、TIMP1、SP-D 水平检测

末次给药 24 h 后, 将各组小鼠麻醉后处死, 迅速取其右肺组织, 将一部分固定于 4% 多聚甲醛溶液中, 另一部分冻存, 备用。取各组小鼠冻存的肺组织适量, 经冲洗、称重后, 于冰浴中匀浆, 再于 4°C 下以 $12\,000 \times g$ 离心 15 min , 吸取上清液, 按相应 ELISA 试剂盒说明书操作, 使用酶标仪检测上清液中 IL-6、TNF- α 、TIMP1、SP-D 水平。采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析; 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 (方差齐时) 或 Tamhane's T^2 检验 (方差不齐时); 检验水准 $\alpha = 0.05$ (统计学方法下同)。

结果 (表 1) 显示, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠肺组织中 IL-6、TNF- α 、TIMP1、SP-D 水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型对照组比较, PFD 组、SBP 组小鼠肺组织中上述指标水平均显著降低 ($P < 0.05$)。

2.2.4 小鼠肺组织病理损伤观察

取“2.2.3”项下各组小鼠经固定的肺组织适量, 经常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡后, 分别进行 HE 染色和 Masson 染色; 经中性树胶封片后, 使用光学显微镜观察肺组织的整体病变情况和胶原沉积、纤维化程度, 并采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对 Masson 染色结果进行

表1 SBP对PF小鼠肺组织中IL-6、TNF- α 、TIMP1、SP-D水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	IL-6/(pg/mL)	TNF- α /(ng/mL)	TIMP1/(ng/mL)	SP-D/(pg/mL)
正常对照组	7.31 $\pm$ 2.56	1.31 $\pm$ 0.38	5.64 $\pm$ 0.11	1 000.75 $\pm$ 200.38
模型对照组	37.32 $\pm$ 11.82 ^a	7.01 $\pm$ 1.00 ^a	18.10 $\pm$ 3.44 ^a	4 000.44 $\pm$ 200.01 ^a
PFD组	23.59 $\pm$ 9.68 ^b	4.06 $\pm$ 1.01 ^b	12.65 $\pm$ 1.10 ^b	2 300.06 $\pm$ 100.98 ^b
SBP组	13.58 $\pm$ 5.59 ^b	2.05 $\pm$ 0.18 ^b	9.54 $\pm$ 2.45 ^b	1 300.77 $\pm$ 100.35 ^b

a:与正常对照组比较, $P<0.05$;b:与模型对照组比较, $P<0.05$ 。

定量分析[每张切片随机选取5个400倍视野,计算灰蓝色阳性染色区域占视野总面积的百分比(简称“阳性区域百分比”)]。

HE染色结果显示,与正常对照组比较,模型对照组小鼠肺泡壁增厚、肺泡腔狭窄,并伴大量炎症细胞浸润及散在纤维化;与模型对照组比较,PFD组、SBP组小鼠肺组织的上述病理改变均有所减轻。Masson染色结果显示,与正常对照组[(6.64 $\pm$ 1.00)%]比较,模型对照组小鼠肺组织可见大面积灰蓝色胶原纤维,阳性区域百分比[(34.00 $\pm$ 6.01)%]显著升高($P<0.05$);与模型对照组比较,PFD组、SBP组小鼠肺组织上述纤维化均有所改善,阳性区域百分比[(24.57 $\pm$ 4.58)%、(15.04 $\pm$ 7.57)%]均显著降低($P<0.05$)。结果见图2。

2.2.5 小鼠肺组织中Collagen III蛋白表达和PI3K、AKT蛋白磷酸化水平检测

取“2.2.3”项下各组小鼠冻存的肺组织,经匀浆、裂解、离心后提取总蛋白,并以BCA法测定蛋白浓度;蛋白经变性处理后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,再转移至聚偏二氟乙烯膜上,以5%脱脂牛奶封闭1 h;加入PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、Collagen III、 β -actin一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:2 000、1:2 000、1:800、1:3 000),于4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜;以TBST洗膜后,加入相应二抗(稀释比例均为1:5 000),于室温下孵育1 h;以ECL化学发光试剂显影、成像。采用Image J软件分析各蛋白的条带灰度值,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水平,以p-PI3K与PI3K、p-AKT与AKT的灰度值比值表示PI3K、AKT蛋白的磷酸化水平。

结果(图3、表2)显示,与正常对照组比较,模型对照

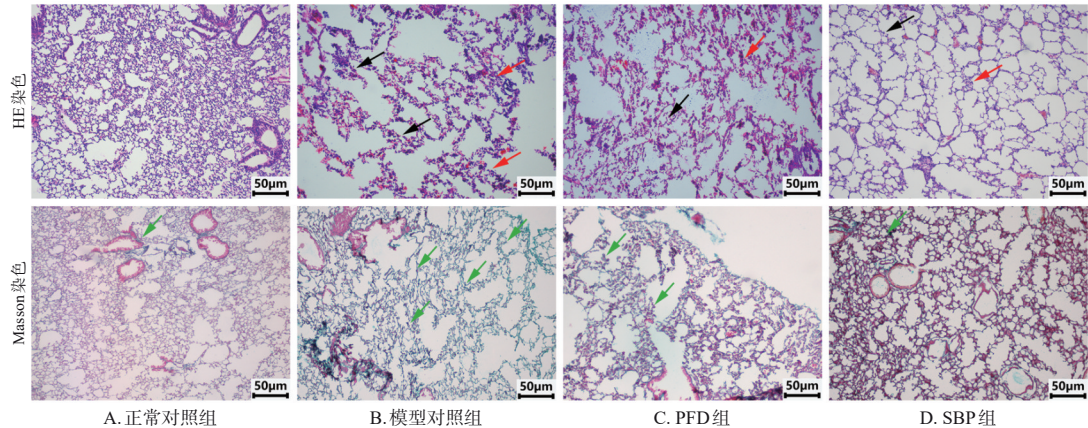
组小鼠肺组织中Collagen III蛋白的表达和PI3K、AKT蛋白的磷酸化水平均显著上调或升高($P<0.05$);与模型对照组比较,PFD组、SBP组小鼠肺组织中上述蛋白的表达和磷酸化水平均显著下调或降低($P<0.05$)。

3 讨论

本研究首先通过网络药理学预测发现,SBP的活性成分可能通过调控AKT1、TNF- α 、IL-6等核心靶点及炎症相关通路发挥抗PF作用,分子对接结果也为活性成分与靶点的结合提供了初步证据。其中,SBP活性成分chaksine与AKT1、PI3K、TNF- α 、IL-6的结合能介于-11.0~-7.7 kcal/mol,提示该成分可能通过与上述靶点结合,参与调控二手烟暴露所诱导的炎症反应与纤维化进程。这与近年来运用系统药理学方法揭示复方作用机制的研究思路基本一致^[15]。

在此基础上,本研究通过二手烟暴露构建了PF小鼠模型,该模型能较好地模拟人类长期被动吸入二手烟后肺组织的病理演变过程^[13-14]。随后的动物实验结果显示,SBP能显著降低肺组织中促炎因子(IL-6、TNF- α)及损伤标志物(SP-D、TIMP1)水平。其中,IL-6和TNF- α 是二手烟暴露后肺部发生炎症反应的核心促炎因子,其水平可反映肺组织炎症程度;SP-D主要由肺泡II型上皮细胞分泌,其水平升高可反映肺泡上皮损伤加重,是PF评估中常用的上皮损伤标志物^[16];TIMP1作为基质金属蛋白酶的抑制因子,其过度表达可抑制细胞外基质降解,从而促进胶原沉积及纤维化进展^[17]。上述指标的异常变化与二手烟致PF的病理特征(肺泡上皮损伤、胶原沉积等)高度吻合。本研究病理学观察进一步显示,SBP可改善PF小鼠肺泡结构受损、减少炎症细胞浸润并抑制胶原异常沉积。

在潜在机制分析方面,本研究Western blot实验结果显示,与模型对照组相比,SBP组小鼠肺组织中Collagen III蛋白的表达和PI3K、AKT蛋白的磷酸化水平均显著下调或降低,提示该方能下调Collagen III蛋白的表达,并显著抑制PI3K/AKT信号通路的过度激活。这一结果将网络药理学预测的核心信号通路(PI3K/AKT)、核心靶点AKT1与SBP的抗PF效应进行了明确关联^[18]。



黑色箭头:肺泡壁增厚、肺泡腔狭窄;红色箭头:炎症细胞浸润;绿色箭头:胶原沉积阳性区域。

图2 SBP对PF小鼠肺组织病理形态影响的显微镜

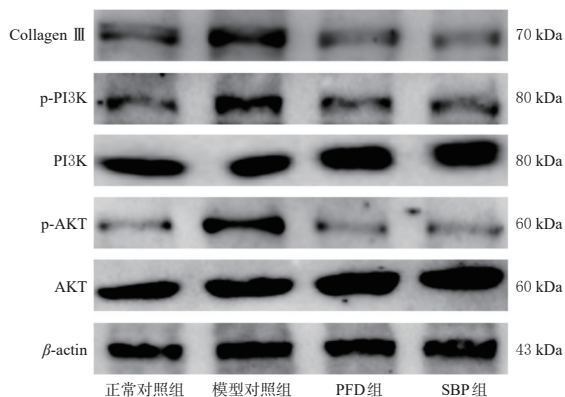


图3 SBP对PF小鼠肺组织中CollagenⅢ、p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT蛋白表达影响的电泳图

表2 SBP对PF小鼠肺组织中CollagenⅢ蛋白表达及PI3K、AKT蛋白磷酸化水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	CollagenⅢ/β-actin	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT
正常对照组	0.31 ± 0.02	0.50 ± 0.05	0.55 ± 0.04
模型对照组	0.87 ± 0.06 ^a	1.13 ± 0.03 ^a	1.16 ± 0.02 ^a
PFD组	0.43 ± 0.03 ^b	0.60 ± 0.08 ^b	0.40 ± 0.03 ^b
SBP组	0.45 ± 0.01 ^b	0.53 ± 0.03 ^b	0.30 ± 0.01 ^b

a: 与正常对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型对照组比较, $P < 0.05$ 。

同时,从中医理论角度分析,二手烟烟雾属“外邪”,侵袭肺系,可致痰、瘀、热、毒互结,痹阻肺络;SBP具有清肺泄热、化痰逐瘀之功,其抗PF作用的发挥可能与抑制PI3K/AKT促纤维化信号通路、实现“通肺络”效应有关,与PF“气虚痰结络瘀”的核心病机相契合^[19],亦为中医相关病机理论及该方的临床应用提供了实验依据。

综上所述,SBP改善二手烟致PF的作用,可能与调控AKT1等多个核心靶点、抑制PI3K/AKT信号通路,进而减轻肺部炎症及胶原沉积有关。本研究聚焦于复方整体药效与核心信号通路验证,后续可进一步就chak-sine等潜在活性成分进行深入挖掘及功能机制解析。

参考文献

[1] Dong C S, Li B, Liu C, et al. Inhibition of circadian rhythm gene *per1* promotes macrophage infiltration in e-cigarette aerosol-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. Environ Health(Wash), 2025, 3(8):866-877.

[2] Luo C, Wu X H, Zhang S P, et al. Effects of air pollutants on the incidence, progression, and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and meta-analysis [J]. BMC Public Health, 2025, 25(1):2880.

[3] Wang Q X, Goracci C, Sundar I K, et al. Environmental tobacco smoke exposure exaggerates bleomycin-induced collagen overexpression during pulmonary fibrogenesis [J]. Res Sq, 2023; rs.3.rs-rs.3406872.

[4] Cantor J. The potential role of cigarette smoke, elastic fibers, and secondary lung injury in the transition of pulmonary emphysema to combined pulmonary fibrosis and emphysema[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(21):11793.

[5] Tsyplakova N, Ismailos G, Karalis V D. Optimising pirfenidone dosage regimens in idiopathic pulmonary fibrosis: towards a guide for personalised treatment[J]. Xeno-

biotica, 2025, 55(1):25-36.

[6] Chianese M, Screm G, Salton F, et al. Pirfenidone and nintedanib in pulmonary fibrosis: lights and shadows[J]. Pharmaceuticals, 2024, 17(6):709.

[7] 景传庆,孔慧,张伟,等. 基于“虚瘀毒”探析特发性肺纤维化[J]. 山东中医杂志, 2025, 44(7):729-733.

[8] 何昊燃,肖庆龄. 中医视角下的特发性肺纤维化[J]. 现代临床医学, 2025, 51(2):150-152.

[9] 刘默,张一鸣,范欣生. 桑白皮汤成方考证[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(2):1065-1068.

[10] He H D, Sun S H, Xu W H, et al. Network pharmacology followed by experimental validation to explore the mechanism of stigmasterol 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.

[11] Zhou W G, Wu Y G, Yang J H, et al. Validate the treatment of Crohn's disease with Chaihu guizhi decoction through network pharmacology, molecular dynamics simulation, and *in vivo* experiments[J]. J Inflamm Res, 2025, 18:13235-13254.

[12] Pant J, Singh L, Mittal P, et al. Valencene as a novel potential downregulator of THRB in NSCLC: network pharmacology, molecular docking, molecular dynamics simulation, ADMET analysis, and *in vitro* analysis[J]. Mol Divers, 2025, 29(3):2543-2563.

[13] Hur J, Rhee C K, Choi J Y, et al. Experimental modeling of pulmonary fibrosis and combined emphysema in mice using repeated doses of bleomycin and cigarette smoke extract[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2025, 90:102376.

[14] 何家祺,周园园,聂永强,等. 香烟烟雾暴露诱导慢性阻塞性肺疾病小鼠模型的构建及多维度病理评估[J]. 实验动物与比较医学, 2026, 46(1):11-19.

[15] Xu Z H, Li Z S, Qu J M, et al. Multi-targeted therapeutic mechanisms of Huangqi guizhi wuwu decoction against rheumatoid arthritis: an integrated approach combining serum pharmacochimistry, network pharmacology, metabolomics, and experimental validation[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2026, 19(2):236.

[16] Tzang C C, Lin W C, Huang E S, et al. Interstitial lung disease biomarkers: a systematic review and meta-analysis [J]. Clin Chim Acta, 2025, 577:120473.

[17] Almontashiri S, Alhumaid A, Zhu Y, et al. TIMP-1 and its potential diagnostic and prognostic value in pulmonary diseases[J]. Chin Med J Pulm Crit Care Med, 2023, 1(2):67-76.

[18] 罗成,叶远航,柯佳. 中药基于PI3K/AKT信号通路治疗肺纤维化的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2025, 42(4):311-321.

[19] 谢廷逸,黄智兰,李亚清,等. 基于“气虚痰结络瘀”探讨肺纤维化病机演变与辨治思路[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(1):134-138.

(收稿日期:2026-01-28 修回日期:2026-05-21)

(本文责编:张元媛)