

基于转录组学研究小檗碱抗脂多糖致肺损伤的作用及机制

孔德美^{1,2}, 武晓东^{1,2}, 项海涛³, 杨 丹^{1*}, 高志祥^{1,3*}

1. 包头医学院, 内蒙古 包头 014040

2. 包头医学院 公共卫生学院, 内蒙古 包头 014040

3. 内蒙古医科大学 公共卫生学院, 内蒙古 呼和浩特 010110

摘要: **目的** 基于转录组学研究小檗碱抗脂多糖(LPS)致肺损伤的作用及机制, 并应用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证筛选出的基因的表达。**方法** 随机将 27 只小鼠分为 3 组(每组 9 只): 对照组、模型(LPS, 3.5 mg·kg⁻¹)组、小檗碱(10 mg·kg⁻¹)组, 模型组和小檗碱组鼻腔使用移液枪吸入 0.9%氯化钠溶液配制的 LPS 溶液, 对照组吸入等量 0.9%氯化钠溶液, 轻晃小鼠使溶液均匀分布, 每天给药 1 次, 连续 7 d。处死小鼠收集肺组织, 苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织病理变化; 进行转录组学检测, 通过样本间基因表达量相关性分析判断聚类情况, 基于差异倍数和 *q* 值来精确筛选差异表达的基因, 差异基因进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析, 利用 STRING 数据库对差异 mRNA 进行网络互作分析; qRT-PCR 检测右肺中下叶肌球蛋白结合蛋白 H(Mybph)、肌球蛋白轻链激酶 2(Myk2)、趋化因子(CC 基序)受体 3(Ccr3) mRNA 表达水平。**结果** 与模型组相比, 小檗碱组肺组织病理损伤明显改善, 单位面积肺泡周长、单位面积肺泡数量、单位面积肺泡面积、肺泡面积百分比显著上升($P<0.001$), 纤维化评分和炎症评分显著下降($P<0.001$)。转录组学相关性分析表明小檗碱组与对照组基因表达相似, 与模型组差异较大; 对照组 vs 模型组和模型组 vs 小檗碱组 2 个比较组共同调控 274 个基因, 其中, 相较于对照组, 模型组上调了 227 个基因、下调了 47 个基因, 小檗碱组能够将这些基因表达恢复到接近对照组的水平; GO 富集分析表明, 对照组 vs 模型组和模型组 vs 小檗碱组共同调控的过程有炎症反应(inflammatory response)、G 蛋白偶联受体信号通路(G protein-coupled receptor signaling pathway)、免疫反应(immune response)、细胞黏附(cell adhesion)、磷酸化(phosphorylation)、细胞质(cytoplasm)、质膜(plasma membrane)、蛋白质结合(protein binding)、核苷酸结合(nucleotide binding)、ATP 结合(ATP binding)等; KEGG 分析结果聚焦于黏着斑(Focal adhesion)、肌动蛋白细胞骨架的调控(Regulation of actin cytoskeleton)、细胞因子-细胞因子受体相互作用(Cytokine-cytokine receptor interaction)、钙信号通路(Calcium signaling pathway)、趋化因子信号通路(Chemokine signaling pathway)等; GO、KEGG 富集分析差异 mRNA 互作网络中的共同基因为 Mybph、Myk2、Ccr3。qRT-PCR 验证结果表明, Mybph、Myk2 表达在 3 个处理组中差异无统计学意义。与对照组相比, 模型组 Ccr3 mRNA 的表达水平显著增加($P<0.001$); 与模型组相比, 小檗碱能显著降低 Ccr3 的表达($P<0.001$)。**结论** 小檗碱可能通过抑制 Ccr3 的表达, 减轻 LPS 所致肺部损伤。**关键词:** 小檗碱; 肺部损伤; 病理学; 转录组学; 趋化因子(CC 基序)受体 3(Ccr3)

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2026)02-0449-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.02.007

Investigation of effects and mechanisms of berberine on lipopolysaccharide-induced lung injury based on transcriptomics

KONG Demei^{1,2}, WU Xiaodong^{1,2}, XIANG Haitao³, YANG Dan¹, GAO Zhixiang^{1,3}

1. Baotou Medical College, Baotou 014040, China

2. College of Public Health, Baotou Medical College, Baotou 014040, China

3. College of Public Health, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

Abstract: Objective The effect and mechanism of berberine on lipopolysaccharide (LPS)-induced lung injury were investigated

收稿日期: 2025-09-25

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助项目(2024MS08048)

作者简介: 孔德美(1999—), 女, 硕士研究生, 主要从事小檗碱缓解 LPS 诱导 ARDS 引起的损伤并促进其修复研究。

E-mail: 2783831136@qq.com

*通信作者: 杨 丹(1984—), 讲师, 主要从事中蒙药质量标准及药动学研究。E-mail: 1006145171@qq.com

高志祥(1967—), 教授, 主要从事毒理学及炎症调控研究。E-mail: 101992072@btmc.edu.cn

based on transcriptomics, and the selected genes were verified by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR). **Methods** A total of 27 mice were randomly divided into three groups (9 mice in each group): control group, model (LPS, 3.5 mg·kg⁻¹) group, and berberine (10 mg·kg⁻¹) group. The model group and the berberine group were intranasally administered LPS solution prepared with 0.9% sodium chloride solution using a pipette, while the control group was administered the same volume of 0.9% sodium chloride solution. The mice were gently shaken to ensure uniform distribution of the solution. The administration was performed once a day for seven consecutive days. The mice were sacrificed and lung tissues were collected. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological changes in lung tissues. Transcriptomics was conducted, and the clustering situation was determined by analyzing the correlation of gene expression levels between samples. Differentially expressed genes were precisely screened based on fold change and *q* value. GO enrichment analysis and KEGG enrichment analysis were performed on the differentially expressed genes. The STRING database was used to analyze the network interaction of differentially expressed mRNAs. The mRNA expression levels of myosin binding protein H (*Mybph*), myosin light chain kinase 2 (*Mylk2*), and chemokine (CC motif) receptor 3 (*Ccr3*) in the lower lobe of the right lung were detected by qRT-PCR. **Results** Compared with the model group, the pathological damage of lung tissue in the berberine group was significantly improved. The alveolar perimeter per unit area, the number of alveoli per unit area, the alveolar area per unit area, and the percentage of alveolar area significantly increased ($P < 0.001$), while the fibrosis score and inflammation score significantly decreased ($P < 0.001$). Transcriptomics correlation analysis indicated that the gene expression in the berberine group was similar to that in the control group and significantly different from that in the model group. The two comparison groups, control group vs. model group and model group vs. berberine group, jointly regulated 274 genes. Compared with the control group, the model group upregulated 227 genes and downregulated 47 genes, and berberine could restore the expression of these genes to a level close to that of the control group. GO enrichment analysis showed that the jointly regulated processes by the control group vs model group and model group vs berberine group included inflammatory response, G protein-coupled receptor signaling pathway, immune response, cell adhesion, phosphorylation, cytoplasm, plasma membrane, protein binding, nucleotide binding, and ATP binding, etc. KEGG analysis results focused on focal adhesion, regulation of actin cytoskeleton, cytokine-cytokine receptor interaction, calcium signaling pathway, and chemokine signaling pathway, etc. The common genes in the GO and KEGG enrichment analysis of the interaction network of differentially expressed mRNAs were *Mybph*, *Mylk2*, and *Ccr3*. The results of qRT-PCR validation indicated that there was no statistically significant difference in the expression of *Mybph* and *Mylk2* among the three treatment groups. Compared with the control group, the expression level of *Ccr3* mRNA in the model group was significantly increased ($P < 0.001$); Compared with the model group, berberine could significantly reduce the expression of *Ccr3* ($P < 0.001$). **Conclusion** Berberine may alleviate LPS-induced lung injury by inhibiting the expression of *Ccr3*.

Key words: berberine; lung injury; pathology; transcriptomics; chemokine (CC motif) receptor 3 (*Ccr3*)

脂多糖 (LPS) 是革兰阴性菌外膜成分, 在诱发急性肺损伤 (ALI) 中起关键作用, LPS 诱导的 ALI 模型可靠成熟, 成为该领域研究的有力工具, ALI 为临床急危重症, 发病率和死亡率均高^[1-2]。糖皮质激素曾是 ALI 首选药, 但效果欠佳且长期使用有严重并发症, 故亟需研发有效经济的新药。小檗碱是生物碱, 通过调节广泛的分子靶标和信号通路表现出多种药理作用, 如抗菌、抗炎、调节免疫功能等^[3-5]。但是, 其治疗 LPS 致 ALI 的临床研究是有限的^[6]。因此, 本研究运用转录组学技术分析小檗碱处理后肺组织基因表达变化, 筛选关键差异基因和信号通路, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证小檗碱对靶蛋白的影响, 为小檗碱治疗 LPS 致 ALI 提供参考^[7-8]。

1 材料

1.1 药品与试剂

小檗碱购自上海麦克林生化科技有限公司 (批号

2086-83-1, 质量分数≥99%); LPS 购自碧云天生物科技有限公司; 小鼠专用麻醉剂 (三溴乙醇) 购自北京吉田生物科技有限公司; 缓冲液 (10%甲醛液) 由购自广州市达诚医疗技术有限公司。

1.2 实验动物

6~8 周龄、体质量 (40±3) g 的 SPF 级健康雄性昆明小鼠, 购自北京大学, 实验动物生产许可证号 SCXK(京)2022-0009。饲养于温度 (25±1)℃、湿度 (50±5)% 的塑料笼中, 标准 12 h 光照/黑暗, 自由进食饮水。实验严格遵循中国动物保护法, 获包头医学院实验动物伦理委员会审批 (包医动伦审 [2024] 8 号), 且按《实验动物福利伦理审查指南 (GB/T 35892-2018)》要求, 保障合法性与伦理性。

1.3 主要仪器

NovaseqTM 6000 基因测序仪, Illumina 公司。

2 方法

2.1 实验动物分组及模型的建立

雄性小鼠适应性喂养 1 周后, 随机将 27 只小鼠分为 3 组 (每组 9 只): 对照组、模型 (LPS, 3.5 mg·kg⁻¹[9-10]) 组、小檗碱 (10 mg·kg⁻¹[11]) 组, 第 1 天, 各组小鼠 ip 三溴乙醇 (0.02 mL·g⁻¹) 麻醉, 模型组和小檗碱组鼻腔使用移液枪吸入 0.9%氯化钠溶液配制的 LPS 溶液, 对照组吸入等量 0.9%氯化钠溶液, 轻晃小鼠使溶液均匀分布, 小鼠苏醒后, 小檗碱组 ip 10 mg·kg⁻¹小檗碱溶液, 对照组和模型组 ip 等量 0.9%氯化钠溶液, 每天 1 次, 连续 7 d, 末次给药 24 h 后, 麻醉小鼠, 颈椎脱臼安乐死, 取肺组织用于研究。

2.2 组织学检查

取小鼠左叶冲洗擦干后, 置于 10%甲醛溶液室温避光保存, 经酒精逐级脱水、石蜡包埋, 用组织切片机切成 5 μm 薄片, 二甲苯脱蜡、乙醇梯度脱水后, 苏木精-伊红 (HE) 溶液染色, 光学显微镜下观察记录肺组织损伤并拍照, 再用 Image J 分析[12]。

2.3 肺组织转录组分析

2.3.1 RNA 提取及测序 右肺上叶用于转录组分析, 按厂商指南用 TRIzol 试剂分离纯化总 RNA, 用 NanoDrop 和 Bioanalyzer 检测其量 (质量浓度 > 50 ng·μL⁻¹)、纯度及完整性 [RNA 完整值 (RIN) 值 > 7.0、总量 > 1 μg]。用 oligo (dT) 磁珠两轮纯化捕获 PolyA+mRNA, 高温下用镁离子打断试剂盒片段化, 逆转录合成 cDNA, 再合成含 dUTP 的双链 DNA。经末端处理、加接头、磁珠筛选纯化, UDG 酶消化二链后 PCR 扩增形成约 (300±50) bp 链特异性文库, 最后用 illumina NovaseqTM 6000 进行 PE150 双端测序。

2.3.2 基因表达分析 首先用 Cutadapt 清除原始数据中测序接头等不合格序列得纯净数据, 再用 Hisat2 将纯净数据与参考基因组比对, 接着用 StringTie 基于比对结果重建转录本并评估基因表达量。最后通过样本间基因表达量相关性分析判断聚

类情况, 分析过程基于 R 语言完成: 采用 corrplot 计算 Pearson 相关系数 (显著性检验水准设为 $P < 0.05$)、prcomp 进行主成分分析 (PCA) 降维, 并用 ggplot2 完成可视化, 相关性系数越大聚类效果越好。

对于差异表达基因分析, 有生物学重复的样本用 DESeq2 分析; 无生物学重复 (样本间比较) 和多组样本比较用 edgeR 分析。

2.3.3 基因本体 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析 通过 GO 富集分析, 将显著性差异表达基因映射到 GO 数据库各 Term, 计算基因数目并应用超几何检验, 找出显著富集的 GO 条目以揭示基因功能倾向。同时, 以 KEGG Pathway 为单位进行 Pathway 富集分析, 应用超几何检验找出显著富集的 Pathway。利用 STRING 数据库对差异 mRNA 基因进行网络互作分析, 借助 MCL 聚类解析功能模块。

2.4 qRT-PCR 实验

经美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 等数据库获取与实验目的契合的目标基因名称、种属、转录本等序列信息; 若基因有多个转录本, 依检测目的选共有或特有序列设计引物 (表 1)。右肺中下叶用于肌球蛋白结合蛋白 H (*Mybph*)、肌球蛋白轻链激酶 2 (*Mylk2*)、趋化因子 (CC 基序) 受体 3 (*Ccr3*) mRNA 表达水平的测定, 首先进行总 RNA 抽提, 随后开展反转录工作, 包括配制逆转录反应体系、轻轻混匀并离心, 再设置逆转录程序于普通 PCR 仪上完成逆转录; 接着进行定量 PCR, 取 0.1 mL PCR 反应板, 为每个反转录产物配制 3 管反应体系, 点样后用 PCR 封板膜配合封膜仪封膜, 再用微孔板离心机离心, 之后在荧光定量 PCR 仪上完成 PCR 扩增, 独立实验重复 3 次, 最后采用 2^{-ΔΔC_t} 法对实验结果进行处理。

2.5 数据统计及分析

转录组学数据以差异倍数 (fold change) ≥ 2 (即 |log₂FC| ≥ 1) 和 q 值 < 0.05 (q 值是 P 值的校正值)

表 1 PCR 引物
Table 1 PCR primers

基因	标识符	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>Ccr3</i>	NM_009914.4	TCCAGAGGGTGAAGAAGACAGC	GCTGTGAAAAGCAGAAAAAAGG
<i>Mybph</i>	NM_001357515.1	GCAGCCACTAAGCCTGAACC	GGATTCACAGGCACCCATTCT
<i>Mylk2</i>	NM_001081044.2	CACTGGGCACTTGGTGAAGATAA	CACTGGGCACTTGGTGAAGATAA
<i>Gapdh</i>	NM_008084.2	CCTCGTCCCGTAGACAAAATG	TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT

为筛选差异表达基因的阈值标准, 两组或多组间的比较采用统计软件 IBM SPSS Statistics 27 进行单因素方差分析 (ANOVA) 和多重比较。采用 Graph Pad 9.5 对实验图像进行编辑。

基于转录组学分析筛选出具有研究价值的目标基因后, 采用 qRT-PCR 检测目标基因表达水平, 针对所获取的原始荧光信号数据, 先计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值随后运用统计软件 IBM SPSS Statistics 27 开展单因素方差分析, 多重比较比较则用 LSD-*t* 检验。利用 Origine 绘图软件进行数据可视化作图。借助 Adobe Photoshop 2020 对实验图像进行编辑。

3 结果

3.1 组织学分析

HE 染色用于评估肺部的病理变化 (图 1), 光镜下观察, 对照组肺组织形态正常; 模型组肺组织病理改变显著, 包括大量白细胞浸润、弥漫性水肿、肺泡间隔增厚、肺出血、透明膜形成及肺泡塌陷; 应用小檗碱后, 肺组织的损伤程度有所减轻, 炎症细胞浸润相应减少, 肺泡壁的完整性得到恢复, 肺泡间隔增厚现象减轻, 肺泡腔内的渗出物减少。由此可见, 组织病理学显示小檗碱的给药减轻了肺损伤。

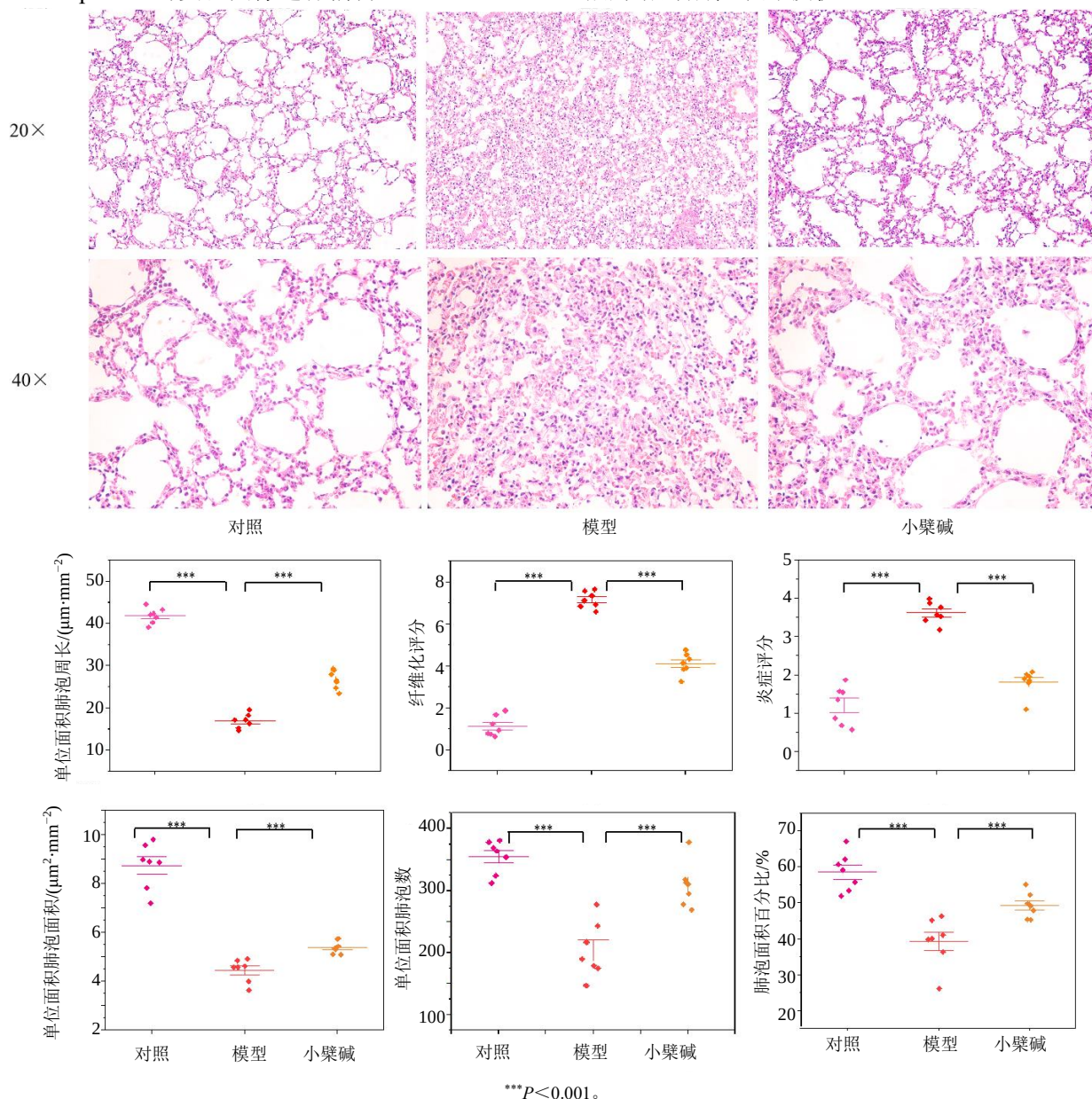


图 1 不同组别小鼠的肺部病理图及定量分析 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Fig. 1 Lung pathology images and quantitative analysis of mice in different groups ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

为了定量分析,测量了肺组织的损伤情况(图 1)。与对照组相比,模型组的单位面积肺泡周长、单位面积肺泡数量、单位面积肺泡面积、肺泡面积百分比显著下降($P<0.001$),纤维化评分和炎症评分显著增加($P<0.001$);与模型组相比,小檗碱组单位面积肺泡周长、单位面积肺泡数量、单位面积肺泡面积、肺泡面积百分比显著上升($P<0.001$),纤维化评分和炎症评分显著下降($P<0.001$)。以上结果显示,小檗碱能促进肺损伤的好转。

3.2 鉴定 LPS 所致肺损伤中的基因表达

3.2.1 基因表达量相关性分析 通过分析样本的

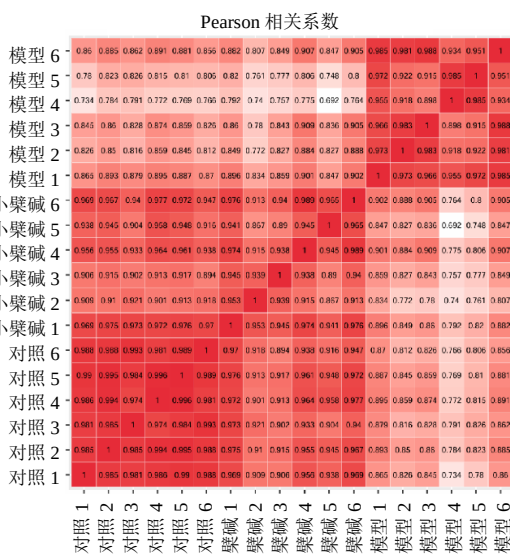


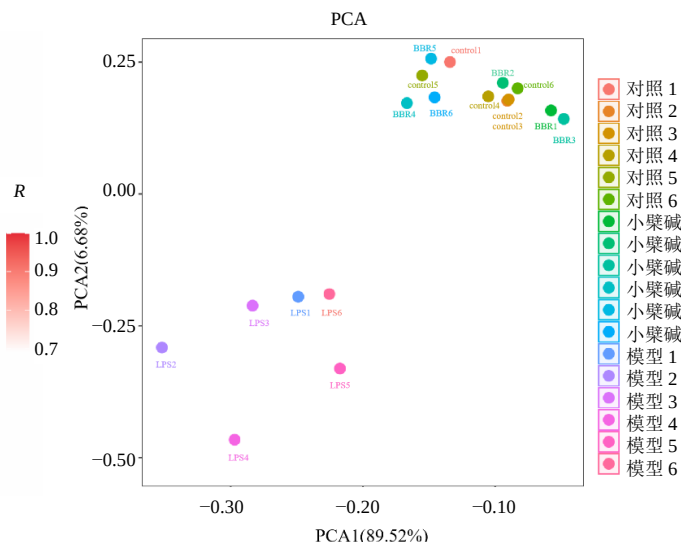
图 2 基因表达量的 Pearson 相关系数和 PCA

Fig. 2 Pearson correlation coefficient and PCA of gene expression levels

3.2.2 基因差异表达分析 通过高通量测序技术,能够基于差异倍数和 q 值来精确筛选差异表达的基因。只有同时满足 $|\log_2FC| \geq 1$ 和 q 值 < 0.05 的基因,才被认定为在不同条件下表达水平发生显著变化的差异表达基因。与对照组相比,模型组中差异表达基因 1 537 个(上调 1 300 个、下调 237 个);与模型组相比,小檗碱组差异表达基因 1 486 个(上调 565 个、下调 921 个)(图 3-A)。

对比分析结果显示,对照组 vs 模型组和模型组 vs 小檗碱组 2 个比较组共同调控 274 个基因(图 3-B),其中,相较于对照组,模型组上调了 227 个基因,但小檗碱组能够将这 227 个基因表达恢复到接近对照组的水平;同时,模型组下调了 47 个基因,而小檗碱组能够使这 47 个基因上调。结果显示,转录组基因的表达在各组间存在差异。

基因表达量之间的相关性,可以更准确地评估样本聚类效果。利用 Pearson 相关系数以及 PCA,了解样本之间的重复性并识别不同样本。Pearson 相关系数图中,颜色越红相关性系数越高(越接近 1),意味着样本聚类性越好,数据置信度越高;相反,颜色越白相关性越小,由此可知,不同处理组颜色越近,基因表达差异越小。如图 2 显示,小檗碱组与对照组基因表达相似,与模型组差异较大。另外,通过 PCA 降维将高维数据转为二维图,识别出不同样本组,数据在图上聚类明显,小檗碱组与对照组基因表达特征相似,和模型组不同。



3.2.3 差异基因 GO 富集分析 为了探究 274 个关键基因的功能,进行了 GO 富集气泡图分析(横坐标值越大、气泡越大、颜色越红分别代表通路显著性越高、富集基因越多、 P 值越小)(图 4-A、B)。筛选 GO 富集分析 P 值最小的前 20 个通路,研究揭示了 2 组核心调控差异:对照组 vs 模型组主要富集于细胞突起 (cell projection)、胞外区域 (extracellular region) 及细胞突起排布 (cell projection organization),而模型组 vs 小檗碱组则显著富集炎症反应 (inflammatory response)、先天免疫反应 (innate immune response) 及对 II 型干扰素的细胞反应 (cellular response to type II interferon)。

根据 GO 富集柱状图,274 个基因在生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF) 中呈现特征。因富集项众多,为突出重点, BP、CC、MF

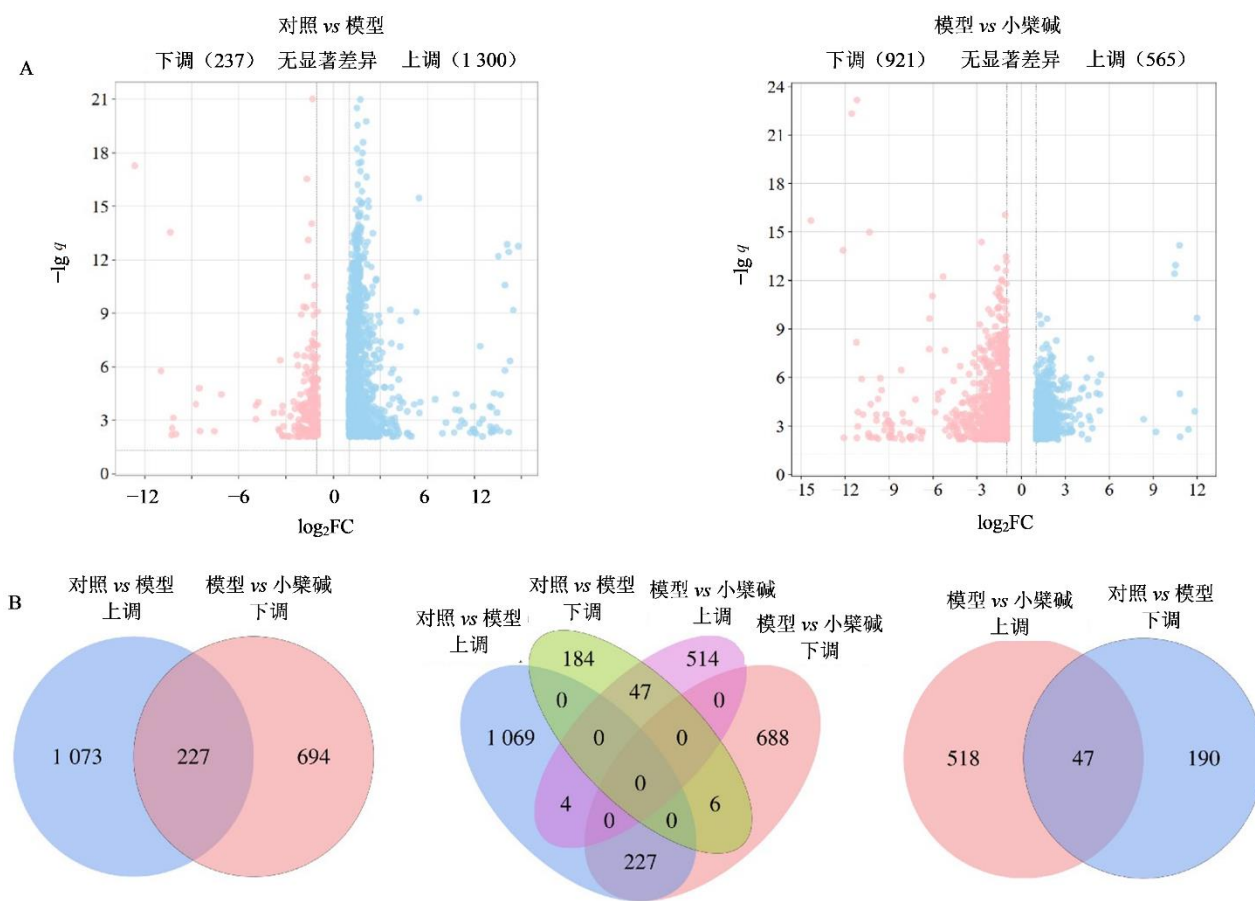


图 3 差异基因火山图及韦恩图

Fig. 3 Differential gene volcano plot and Venn diagram

分别选取注释差异基因数前 25、15、10 项，按数量降序绘制柱状图展示（图 4-C、D）。可以筛选出对照组 vs 模型组和模型组 vs 小檗碱组在 BP 中共同调控的过程有炎症反应（inflammatory response）、G 蛋白偶联受体信号通路（G protein-coupled receptor signaling pathway）、免疫反应（immune response）、细胞黏附（cell adhesion）、磷酸化（phosphorylation）；在 CC 中共同调控的过程有细胞质（cytoplasm）、质膜（plasma membrane）、核（nucleus）、细胞外空间（extracellular space）；在 MF 中共同调控的过程有蛋白质结合（protein binding）、核苷酸结合（nucleotide binding）、ATP 结合（ATP binding）。通过基因差异表达得到的 274 个关键基因，在上述对照组 vs 模型组和模型组 vs 小檗碱组 GO 富集柱状图共同调控过程中，43 个基因（模型组 39 个基因上调、4 个下调，而小檗碱组则相反）参与上述 BP、CC 和 MF 的调控。

3.2.4 KEGG 富集分析 对 274 个关键基因进行 KEGG 通路分析，在 KEGG 气泡图中，Rich Factor

越大、气泡越大、颜色越红分别代表富集程度越高、显著性差异基因数越多、富集越显著。筛选出 P 值最小的前 20 个通路，气泡图显示差异基因显著富集于肺损伤相关通路（ $P < 0.05$ ）（图 5-A、B），对照组 vs 模型组中，差异基因显著富集的核心通路包括细胞外基质受体相互作用（ECM-receptor interaction）、钙信号通路（Calcium signaling pathway）、细胞因子-细胞因子受体相互作用（Cytokine-cytokine receptor interaction）以及补体和凝血级联反应（Complement and coagulation cascades）。而在模型组 vs 小檗碱组中，富集通路涵盖细胞因子-细胞因子受体相互作用（Cytokine-cytokine receptor interaction）、NOD 样受体信号通路（NOD-like receptor signaling pathway）、细胞黏附分子（Cell adhesion molecules）、破骨细胞分化（Osteoclast differentiation）。

通过 KEGG 层级柱状图分析揭示 274 个关键基因的通路（图 5-C、D），小檗碱干预 LPS 诱导的肺损伤模型时，核心调控网络聚焦于黏着斑（Focal

3.2.6 小檗碱对 LPS 所致肺损伤小鼠组织 *Ccr3* 表达的影响 基于转录组学分析筛选所得的 *Ccr3*、*Mybph*、*Mylk2* 基因, 运用 qRT-PCR 技术开展进一步验证。*Mybph*、*Mylk2* 表达在 3 个处理组中差异

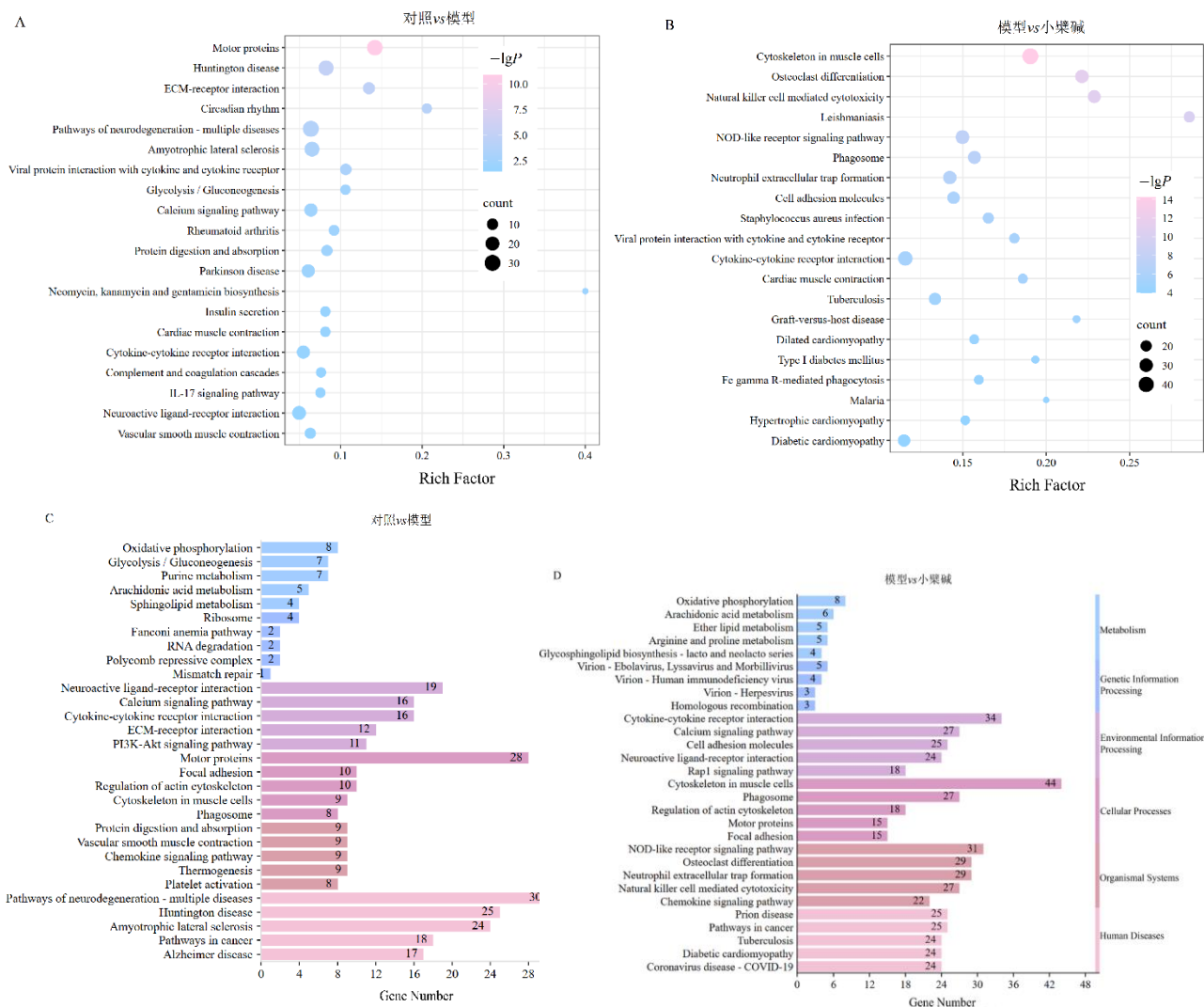


图 5 KEGG 富集气泡图 (A、B) 和层级柱状图 (C、D)

Fig. 5 KEGG enrichment bubble plot (A, B) and hierarchical bar chart (C, D)

无统计学意义。与对照组相比，模型组 *Ccr3* mRNA 的表达水平显著增加 ($P < 0.001$)；同时，与模型组相比，小檗碱能显著降低 *Ccr3* 的表达 ($P < 0.001$ ，图 6-C)。*Ccr3* 可能与小檗碱治疗 LPS 所致肺损伤有关。

4 讨论

研究运用转录组学，通过 GO 与 KEGG 通路富集分析，挖掘模型组与小檗碱组间差异基因的相互作用网络及生物学功能，筛选出关键基因 *Ccr3*、*Mybph*、*Mylk2*。将筛选出的差异表达基因进行 qRT-PCR 验证实验，其中关键基因 *Ccr3* 的表达与转录组结果一致，小檗碱可抑制 *Ccr3* 表达，逆转 LPS 诱导的基因表达上调。而 *Mybph* 和 *Mylk2* 基因未表现出显著差异，可能原因包括转录组学分析基于全肺组织 RNA 测序，而 qRT-PCR 验证可能仅针对特

定肺叶或区域，样本异质性可能掩盖 *Mybph* 和 *Mylk2* 的微小表达变化；此外，qRT-PCR 虽灵敏度高，但对低丰度或微小变化的检测能力有限，而转录组学测序覆盖更广，能识别更多差异基因；加之基因表达调控的多层次性，*Mybph* 和 *Mylk2* 可能受未知因素调控，导致其表达变化在 LPS 诱导肺损伤及小檗碱治疗中未与转录组学结果完全一致^[13]。

通过 GO 筛选出的研究相关过程和功能：G 蛋白偶联受体信号通路、细胞黏附等核心过程，已有研究表明，*Ccr3* 是一种跨膜转运的 G 蛋白偶联受体^[14]，*Ccr3* 作为一种 G 蛋白偶联受体，其寡聚状态的变化可能影响其信号转导功能，进而调控细胞黏附等生物学过程^[15-17]。揭示小檗碱可能通过抑制 *Ccr3* 调控 G 蛋白偶联受体通路进而调控细胞黏附发挥治疗作用^[18]。整合 KEGG 结果，发现差异基因

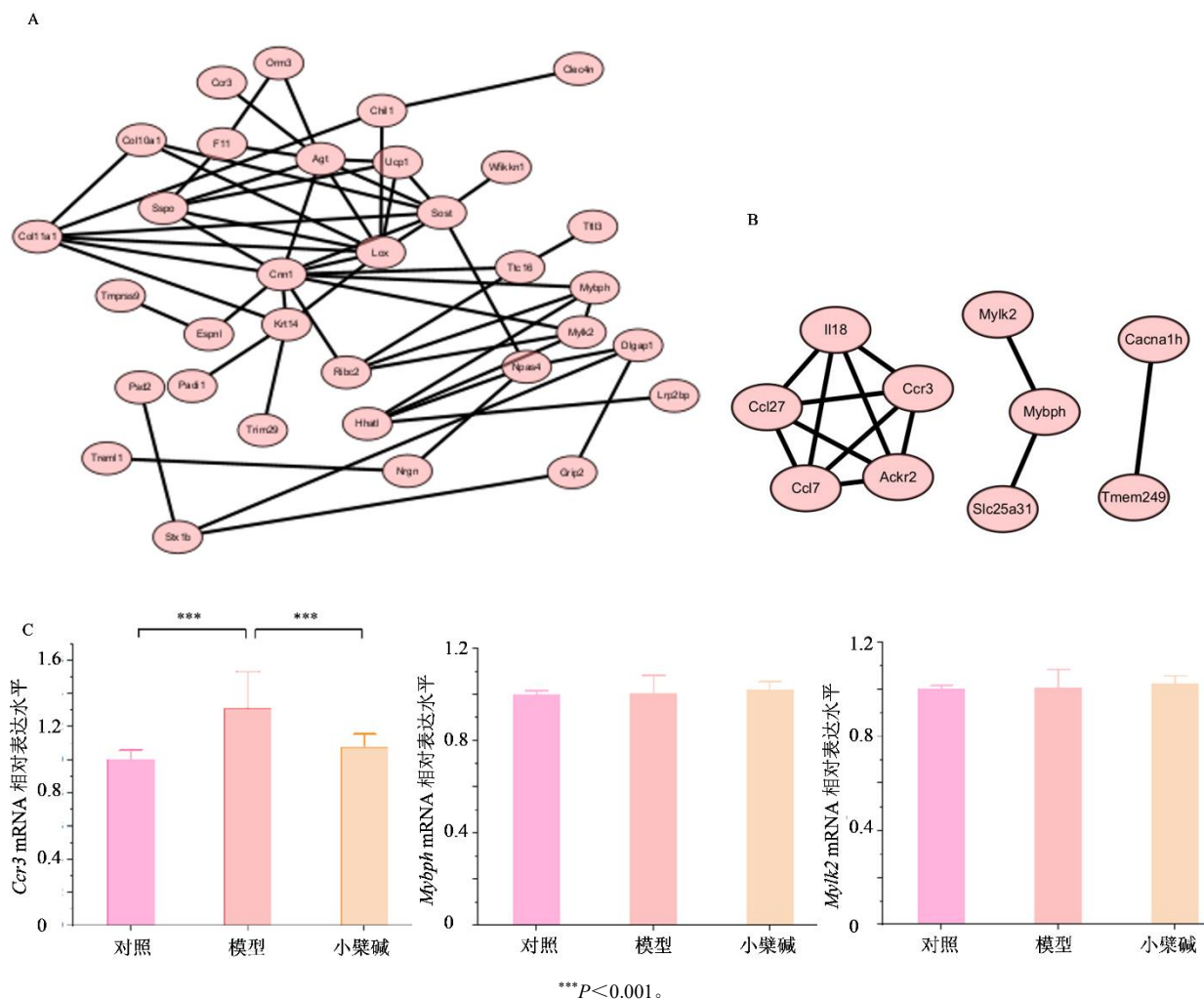


图 6 GO (A)、KEGG (B) 富集分析差异 mRNA 网络互作及共同基因 *Mybph*、*Mylk2*、*Ccr3* 的检测 (C) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Differential mRNA network interactions of GO (A) and KEGG (B) enrichment analysis and detection of common genes *Mybph*, *Mylk2*, and *Ccr3* (C) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

显著富集于细胞外基质 (ECM) 受体互作介导的白细胞渗出、由细胞因子及其受体网络构成的炎症调控枢纽 (IL-17 轴驱动细胞因子) 及补体-凝血级联反应等核心通路^[16,19]。有研究表明, *Ccr3* 可调控 ECM 受体^[20], 诱导细胞因子释放从而加重损伤。本研究表明, 转录组学和 qRT-PCR 结果都支持 LPS 所致 ALI 可增加 *Ccr3* 的表达, 而小檗碱可以减少 *Ccr3* 的表达, 结合 GO 和 KEGG 功能和通路解析发现, 小檗碱可能通过抑制 *Ccr3* 基因表达控制 G 蛋白偶联、细胞黏附、ECM 受体、细胞因子-细胞因子受体相互作用信号通路。小檗碱可能是一种很有前途的药物制剂, 可能通过调节关键靶点 *Ccr3*, 对抗 LPS 所致的 ALI 的发展^[21]。

研究通过转录组学分析筛选了小檗碱抗 LPS 所致 ALI 的治疗靶点, 运用 qRT-PCR 实验加以验证。

结果显示转录组学与 qRT-PCR 结果一致, LPS 致 ALI 可使 *Ccr3* 基因表达上调, 小檗碱处理可逆转 *Ccr3* 基因的异常表达。本研究揭示了小檗碱抗 LPS 所致 ALI 的潜在治疗靶点, 为小檗碱应用于 ALI 的治疗提供了理论依据。但上游激酶-靶基因互作、表观遗传调控酶动态作用、免疫细胞异质性响应、长期用药安全性及剂量相关性等关键问题待解。后续将深入探讨, 解析小檗碱在复杂炎症系统中的精准调控逻辑, 为肺损伤多靶点治疗提供转化医学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ma A J, Feng Z X, Li Y, et al. Ferroptosis-related signature and immune infiltration characterization in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. *Respir Res*,

- 2023, 24(1): 154.
- [2] Jia X X, Huang J H, Wu B, et al. RNA-Seq profiling of circular RNAs in mice with lipopolysaccharide-induced acute lung injury [J]. *Genomics*, 2024, 116(1): 110755.
- [3] 陈美琳, 李芝奇, 范琦琦, 等. 小檗碱药理作用及其相关作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(18): 5861-5872.
- Chen M L, Li Z Q, Fan Q Q, et al. Research progress on pharmacological action and related mechanism of berberine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(18): 5861-5872.
- [4] Souza J A M, Carvalho A F S, Grossi L C, et al. Glucocorticoid-induced leucine zipper alleviates lung inflammation and enhances bacterial clearance during pneumococcal pneumonia [J]. *Cells*, 2022, 11(3): 532.
- [5] Izadparast F, Riahi-Zajani B, Yarmohammadi F, et al. Protective effect of berberine against LPS-induced injury in the intestine: A review [J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(22): 2365-2378.
- [6] Wang Y, Du P F, Jiang D H. Berberine functions as a negative regulator in lipopolysaccharide-induced sepsis by suppressing NF- κ B and IL-6 mediated STAT3 activation [J]. *Pathog Dis*, 2020, 78(7): ftaa047.
- [7] 程龙, 熊媛, 钱铭, 等. 冠心舒通胶囊通过调控 AHR/SRC/ERK 通路减轻心肌梗死小鼠心肌细胞凋亡 [J]. *药物评价研究*, 2025, 48(6): 1460-1469.
- Cheng L, Xiong Y, Qian M, et al. Effect of Guanxin Shutong Capsule in alleviating myocardial cell apoptosis in myocardial infarction mice via AHR/SRC/ERK pathway [J]. *Drug Eval Res*, 2025, 48(6): 1460-1469.
- [8] Haute G V, Luft C, Pedrazza L, et al. Simvastatin attenuates inflammatory process on LPS-induced acute lung injury in mice [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2023, 309: 104002.
- [9] 方虹, 龙凤, 鲁林. 骨碎补总黄酮对去卵巢骨质疏松大鼠子宫内炎症损伤的缓解作用 [J]. *现代免疫学*, 2025, 45(2): 118-124.
- Fang H, Long F, Lu L. Alleviating effect of boneset total flavonoids on endometrial inflammatory lesion in ovariectomized osteoporotic rats [J]. *Curr Immunol*, 2025, 45(2): 118-124.
- [10] Szarka R J, Wang N, Gordon L, et al. A murine model of pulmonary damage induced by lipopolysaccharide via intranasal instillation [J]. *J Immunol Methods*, 1997, 202(1): 49-57.
- [11] Elfsmark L, Ågren L, Akfur C, et al. Comparisons of acute inflammatory responses of nose-only inhalation and intratracheal instillation of ammonia in rats [J]. *Inhal Toxicol*, 2019, 31(3): 107-118.
- [12] 姜越, 张宇林, 董盈妹, 等. 固本防哮饮对哮喘缓解期小鼠气道上皮紧密连接蛋白及 CCSP 的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2022, 38(6): 483-489.
- Jiang Y, Zhang Y L, Dong Y M, et al. Effects of Guben Fangxiao Decoction on airway epithelial tight junction protein and CCSP in mice of asthma in remission stage [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2022, 38(6): 483-489.
- [13] 黄暄淇, 王雪松, 王长州, 等. 基于网络药理学及细胞实验探讨当归补血汤抗糖尿病肾病作用机制 [J]. *药物评价研究*, 2025, 48(6): 1470-1484.
- Huang X Q, Wang X S, Wang C Z, et al. Mechanism of Danggui Buxue Decoction against diabetic nephropathy based on network pharmacology and cell experiment [J]. *Drug Eval Res*, 2025, 48(6): 1470-1484.
- [14] Tang S Y, Shu X H. Effect of CCR3 gene on related inflammatory cells in respiratory allergic diseases [J]. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2021, 35(1): 80-84.
- [15] Song Y Z, Ge B S, Lao J, et al. Regulation of the oligomeric status of CCR3 with binding ligands revealed by single-molecule fluorescence imaging [J]. *Biochemistry*, 2018, 57(5): 852-860.
- [16] Chen Z H, Su Y X, Ding J T, et al. Lobetyolin protects mice against LPS-induced sepsis by downregulating the production of inflammatory cytokines in macrophage [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1405163.
- [17] 李想, 杨贵霞, 沈锋, 等. 黄连素剂量依赖性抑制脂多糖刺激下大鼠 II 型肺泡上皮细胞促凝和纤溶抑制因子的表达 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33(1): 53-58.
- Li X, Yang G X, Shen F, et al. Berberine dose-dependently inhibits the expression of procoagulant and fibrinolytic inhibitory factors in lipopolysaccharide-induced rat type II alveolar epithelial cells [J]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2021, 33(1): 53-58.
- [18] Yuan J S, Liu Y H, Yu J, et al. Gene knockdown of CCR3 reduces eosinophilic inflammation and the Th2 immune response by inhibiting the PI3K/Akt pathway in allergic rhinitis mice [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5411.
- [19] 刘梦, 孟激光, 韩志海. 双歧杆菌四联活菌辅助治疗对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者 BODE 指数及免疫炎症因子的影响 [J]. *药物评价研究*, 2023, 46(11): 2415-2420.
- Liu M, Meng J G, Han Z H. Effects of probiotic adjuvant therapy on BODE index and expression of immune inflammatory factors in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Drug Eval Res*, 2023, 46(11): 2415-2420.
- [20] Dai M N, Zhu X H, Yu J, et al. CCR3 gene knockout in bone marrow cells ameliorates combined allergic rhinitis and asthma syndrome (CARAS) by reducing airway inflammatory cell infiltration and Th2 cytokines expression in mice model [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 104: 108509.
- [21] 邵文, 刘东博, 吴疆, 等. T 细胞受体基因修饰在过继免疫治疗中的应用 [J]. *药物评价研究*, 2021, 34(2): 105-109.
- Tai Wen, Liu Dongbo, Wu Jiang, et al. Application of T cell receptor gene modification in adoptive immune therapy [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 34(2): 105-109.