

【 实验研究 】

基于 TRPV4 抑制的厚朴酚缓解小鼠急性肺水肿的作用及机制研究

王应勃¹, 闫 瑾¹, 黄 岩¹, 吴佳宣¹, 于佳音¹, 赵玥媛¹, 黎 欣^{2,3,4}, 张 帆^{2,3,4}, 夏中尚^{2,3,4*}, 高 洁^{1*}

1. 药物化学生物学国家重点实验室, 南开大学药学院和天津市分子药物研究重点实验室, 天津 300353
2. 广西中医药大学 广西中药药效研究重点实验室, 广西 南宁 530200
3. 广西中医药大学 中药资源循环利用广西高校工程研究中心, 广西 南宁 530200
4. 广西中医药大学 广西中医湿病方药理论与转化重点实验室, 广西 南宁 530200

摘 要: **目的** 探究厚朴酚抑制瞬时受体电位香草素 4 (TRPV4) 活性缓解脂多糖 (LPS) 诱导小鼠急性肺水肿的作用。**方法** SPF 级昆明小鼠随机分为 6 组: 对照组、模型组、盐酸多巴酚丁胺 (DBT, 阳性药, 5 mg·kg⁻¹) 组和厚朴酚低、中、高剂量 (3.3、10.0、30.0 mg·kg⁻¹) 组。除对照组外, 其他各组建立 LPS 诱导的小鼠肺水肿模型, LPS 滴注前 30 min 和滴注后 8 h 分别 ip 给药 1 次, 检测肺湿/干质量比、病理损伤 (HE 染色); 试剂盒法检测肺泡灌洗液肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、白细胞介素 (IL)-6、IL-1 β 及总蛋白水平; 伊文思蓝法检测肺血管通透性; 免疫荧光法检测紧密连接蛋白闭锁小带蛋白-1 (ZO-1) 表达。使用炔基修饰厚朴酚探针在小鼠肺组织切片和肺微血管内皮细胞 (PMVEC) 中验证厚朴酚与 TRPV4 共定位。体外培养 PMVEC, 分为对照组、模型组、GSK219 (TRPV4 抑制剂, 10 μ mol·L⁻¹) 组和厚朴酚低、中、高浓度 (0.1、1.0、10.0 μ mol·L⁻¹) 组, 除对照组外使用 LPS (10 μ mol·L⁻¹) 处理 24 h 诱导损伤, 造模的同时给药, 活细胞钙成像检测胞内 Ca²⁺ 浓度, 鬼笔环肽染色观察细胞骨架, Western blotting 检测 ZO-1 蛋白表达, Transwell 实验检测跨内皮电阻 (TEER)。**结果** 与对照组比较, 厚朴酚 (30 mg·kg⁻¹) 显著降低肺湿/干质量比 ($P < 0.05$)、肺泡灌洗液总蛋白 ($P < 0.05$) 及炎症因子水平 ($P < 0.01$), 减轻肺组织病理损伤、血管渗漏及逆转 ZO-1 缺失。厚朴酚探针与 TRPV4 共定位良好。与对照组比较, 厚朴酚 (1 μ mol·L⁻¹) 显著抑制 LPS 诱导的 TRPV4 介导 Ca²⁺ 超载 ($P < 0.001$), 减轻 F-actin 应力纤维收缩和细胞间连接断裂, 上调 ZO-1 表达 ($P < 0.01$), 恢复 TEER ($P < 0.001$)。**结论** 厚朴酚通过抑制 TRPV4 活性, 调控肺微血管内皮细胞钙稳态和内皮屏障功能, 有效缓解 LPS 诱导的急性肺水肿, 为阐释中药厚朴“燥湿”功效提供科学依据。

关键词: 厚朴酚; 急性肺水肿; TRPV4; 内皮屏障功能障碍; Ca²⁺ 超载; 脂多糖

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)10-2732-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.002

Investigation of effects and mechanisms of magnolol in alleviating acute pulmonary edema in mice based on TRPV4 inhibition

WANG Yingbo¹, YAN Jin¹, HUANG Yan¹, WU Jiaxuan¹, YU Jiayin¹, ZHAO Yueyuan¹, LI Xin^{2,3,4}, ZHANG Fan^{2,3,4}, XIA Zhongshang^{2,3,4}, GAO Jie¹

1. Tianjin Key Laboratory of Molecular Drug Research, College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300353, China
2. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
3. University Engineering Research Center of Reutilization of Traditional Chinese Medicine Resources, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
4. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Formulas Theory and Transformation for Damp Disease, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

收稿日期: 2025-05-11

基金项目: 广西“带土移植”人才引育计划项目 (桂科 AA23026008); 天津市大学生创新科研计划项目 (202410055330)

作者简介: 王应勃, 男, 本科生, 研究方向为药理学。E-mail: 2210494@mail.nankai.edu.cn

*通信作者: 夏中尚, 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为中药药效机制与毒理。E-mail: xiazhang@163.com

高 洁, 女, 讲师, 研究方向为中医药系统生物学与化学生物学。E-mail: gaojie@nankai.edu.cn

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of magnolol in alleviating lipopolysaccharide (LPS)-induced acute pulmonary edema in mice through inhibition of transient receptor potential vanillin 4 (TRPV4) activity. **Methods** SPF-grade Kunming mice were randomly divided into six groups: control group, model group, dobutamine hydrochloride (DBT, positive drug, 5 mg·kg⁻¹) group, and the magnolol low-, medium-, and high-dose (3.3, 10.0, 30.0 mg·kg⁻¹) groups. Except for control group, LPS-induced mouse pulmonary edema models were established in the other groups. Drugs were administered ip once 30 min before LPS injection and 8 h after LPS injection. The lung wet/dry weight ratio, pathological damage (HE staining), and levels of tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-6, IL-1 β , and total protein in bronchoalveolar lavage fluid were detected. The lung vascular permeability was measured by Evans blue method, and the expression of tight junction protein zonula occludens-1 (ZO-1) was detected by immunofluorescence. The co-localization of magnolol and TRPV4 was verified in mouse lung tissue sections and pulmonary microvascular endothelial cells (PMVEC) using an alkynyl-modified magnolol probe. PMVEC were cultured *in vitro* and divided into control group, model group, GSK219 (TRPV4 inhibitor, 10 μ mol·L⁻¹) group, and magnolol low-, medium-, and high-concentration (0.1, 1.0, 10.0 μ mol·L⁻¹) groups. Except for control group, cells were treated with LPS (10 μ mol·L⁻¹) for 24 h to induce injury, and drugs were administered simultaneously. Intracellular Ca²⁺ concentration was detected by live cell calcium imaging, F-actin stress fiber contraction and intercellular junction disruption were observed by phalloidin staining, and the expression of ZO-1 protein was detected by Western blotting. Transwell assay was used to detect transendothelial electrical resistance (TEER). **Results** Compared with the control group, magnolol (30 mg·kg⁻¹) significantly reduced the lung wet/dry weight ratio ($P < 0.05$), total protein in bronchoalveolar lavage fluid ($P < 0.05$), and levels of inflammatory factors ($P < 0.001$), alleviated lung tissue pathological damage, vascular leakage, and reversed ZO-1 deficiency. The magnolol probe co-localized well with TRPV4. Compared with the control group, magnolol (1 μ mol·L⁻¹) significantly inhibited LPS-induced TRPV4-mediated Ca²⁺ overload ($P < 0.001$), alleviated F-actin stress fiber contraction and intercellular junction disruption, upregulated ZO-1 expression ($P < 0.01$), and restored TEER ($P < 0.001$). **Conclusion** Magnolol alleviates LPS-induced acute pulmonary edema by inhibiting TRPV4 activity, thereby regulating calcium homeostasis and endothelial barrier function in PMVECs. This study provides scientific evidence elucidating the "drying-dampness" efficacy of the traditional Chinese medicine *Magnolia officinalis*.

Key words: magnolol; acute pulmonary edema; TRPV4; endothelial barrier dysfunction; calcium ion overload; lipopolysaccharide

急性肺损伤 (ALI) 及其严重形式急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 以肺泡液体聚集和低氧血症为特征, 其中肺水肿是核心病理表现, 由毛细血管通透性增加引发^[1]。细菌感染相关的过度炎症反应是 ALI 的重要驱动因素^[2], 脂多糖 (LPS) 作为革兰阴性菌内毒素, 可诱导中性粒细胞浸润及促炎因子释放, 被广泛用于建立肺水肿模型^[3-4]。瞬时受体电位香草素 4 (TRPV4) 作为高度钙通透性离子通道, 在调控内皮屏障中起关键作用^[5]。其过度激活通过促进 Ca²⁺ 内流触发细胞骨架重构, 导致内皮细胞收缩和通透性增加, 而 TRPV4 抑制可显著减轻肺水肿形成^[6-7]。

化湿药厚朴, 性味苦辛温, 归脾、胃、肺、大肠经, 具有燥湿消痰、下气除满的功效。厚朴作为《伤寒论》中“大承气汤”和《金匮要略》中“厚朴麻黄汤”的重要成分, 已被证明其抑制气道炎症、保护气道上皮屏障、缓解肺水肿的功效^[8-9], 其主要活性成分是厚朴酚与和厚朴酚。既往研究表明, 厚朴酚可减轻肺组织病理损伤并抑制炎症因子释放, 但其作用机制尚未阐明^[10-11]。实验室前期研究表

明, 在 LPS 和香烟烟雾导致的小鼠慢性阻塞性肺疾病中, 厚朴酚通过直接结合在肺组织 TRPV4 的锚蛋白重复结构域 (ARD) 而抑制 TRPV4 活性, 从而发挥抗炎及抗肺纤维化的作用^[12]; 并在葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的炎症性肠病小鼠模型中发现, 和厚朴酚通过靶向抑制 TRPV4 通道活性, 改善内皮屏障功能, 减轻结肠组织水肿及免疫细胞浸润^[13]。基于前述肺水肿机制, 推测厚朴酚治疗肺水肿的作用可能与抑制 TRPV4 而改善内皮屏障相关。

本研究利用 LPS 诱导的小鼠肺水肿及肺微血管内皮细胞损伤模型, 通过药效学评价、小分子与靶蛋白共定位和功能分析 (Ca²⁺ 成像、跨内皮电阻), 系统阐明厚朴酚通过靶向 TRPV4 抑制 Ca²⁺ 超载、恢复内皮屏障完整性, 从而缓解肺水肿的作用机制。

1 材料

1.1 仪器

TCS SP8 激光扫描共聚焦显微镜、DMI6000B 活细胞工作站 (德国徕卡公司); Spark 多功能微孔板

检测仪(奥地利 TECAN 公司); Millicell-ERS 2 上皮跨膜细胞电阻仪(美国 Millipore 公司); Tanon 5200 Multi 多功能成像仪(上海天能科技有限公司)。

1.2 药品与主要试剂

LPS(货号 L8880, 质量分数>98%), DAPI 溶液(货号 C0065)、4%组织细胞固定液(货号 P1110)购自北京索莱宝科技有限公司; 厚朴酚(货号 M-32401, 质量分数>95%)、盐酸多巴酚丁胺(DBT, 货号 D-47582, 质量分数>98%)购自天津希恩思生化科技有限公司; TRPV4 特异性激动剂 GSK1016790A(GSK101, 货号 HY-19608, 质量分数>99.79%)、TRPV4 特异性抑制剂 GSK2193874(GSK219, 货号 HY-100720, 质量分数>99.91%)、伊文思蓝(货号 HY-B1102)均购自美国 MedChemExpress 公司; 甲酰胺(分析纯)购自天津渤化化学试剂有限公司; TRPV4 抗体(货号 65893S)购自美国 Cell Signaling 公司; Fluo-4/AM 钙离子荧光探针(货号 F312)购自日本同仁化学研究所; 聚氧乙烯聚氧丙烯醚(Pluronic F-127)购自美国 Genecopoeia 公司; 闭锁小带蛋白-1(ZO-1)抗体(货号 21773-1-AP)购自美国 Proteintech 公司; β -actin 抗体(货号 sc-47778)购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司; 罗丹明标记鬼笔环肽(货号 C2207S)购自上海碧云天生物技术股份有限公司; BDP® TMR azide(货号 22430)购自美国 Lumiprobe 公司; 山羊抗兔 IgG H&L(Alexa Fluor® 488, 货号 ab150077), 购自艾博抗(上海)贸易有限公司; BCA 蛋白定量试剂盒(货号 B6169)购自苏州优逸兰迪生物科技有限公司; 小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β) ELISA 检测试剂盒(货号 JL10484-96T、JL20268-96T、JL18442-96T)均购自上海江莱生物科技有限公司。

1.3 实验动物

SPF 级昆明小鼠, 体质量(30 $\pm$ 5) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号为 SCXK(京)2021-0006。实验动物饲养于南开大学实验动物中心, 饲养环境温度 20~25 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 40%~60%, 每 12 小时循环照明, 所有动物均正常饲养, 自由饮水、进食。动物实验操作得到南开大学动物伦理委员会批准(2022-SYDWLL-000023)。

1.4 实验细胞

永生化小鼠肺微血管内皮细胞(PMVEC)购自上海富衡生物科技有限公司(货号 FH-036YSH); PMVEC 在含有 10%胎牛血清及 1%青霉素链霉素双抗的 DMEM 培养基中培养。细胞在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的恒温培养箱中培养, 融合至 80%以上进行传代。

2 方法

2.1 厚朴酚缓解 LPS 诱导的小鼠肺水肿

2.1.1 动物分组、造模与取材 选取 36 只小鼠, 随机分为 6 组: 对照组、模型组、DBT(阳性药, 5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组^[14]和厚朴酚低、中、高剂量(3.3、10.0、30.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组^[15]。小鼠麻醉后, 仰卧位固定暴露气管。使用微量注射器缓慢滴注 LPS(10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)以诱导急性肺水肿, 对照组滴注等体积 0.9%氯化钠溶液。滴注后轻按小鼠胸廓促进液体均匀分布, 缝合^[3]。各组于 LPS 滴注前 30 min 和滴注后 8 h 分别 ip 给药 1 次, 其中 DBT 组和厚朴酚组分别 ip DBT(5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)或厚朴酚(3.3、10.0、30.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 对照组和模型组 ip 等量 0.9%氯化钠溶液。LPS 气管滴注 24 h 后, 小鼠麻醉后暴露胸腔和颈部, 结扎右肺, 左肺支气管插管, 以预冷磷酸盐缓冲液(PBS, 每次 0.5 mL)灌洗肺泡 5 次, 收集肺泡灌洗液(BALF)于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 用于后续检测; 取右肺, 中叶用于计算肺湿/干质量比, 上叶和下叶用 4%组织细胞固定液(PFA)固定后, 分别用于切片 HE 染色和免疫荧光检测。

另取 36 只小鼠, 同上述造模及给药。尾 iv 1%伊文思蓝溶液(50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 溶于 0.9%氯化钠溶液), 30 min 后脱颈椎处死, 开胸后经右心室灌注 15 mL PBS 冲洗肺循环, 完整摘取肺组织, 浸泡于 1 mL 甲酰胺中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h 用于伊文思蓝含量检测。

2.1.2 肺湿/干质量比检测 分离右肺中叶, 立即称量湿质量, 将肺组织置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中连续烘干 72 h 至恒重, 再次称量干质量。计算肺湿/干质量比。

肺湿/干质量比=肺湿质量/肺干质量

2.1.3 BALF 总蛋白含量检测 BALF 离心(500 $\times$ g、10 min、4 $^{\circ}\text{C}$), 取 20 μL 上清加入 96 孔板, 标准曲线以牛血清白蛋白(BSA)标准品(0~2 000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)制作, 按 BCA 蛋白定量试剂盒说明书加入工作液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, 多功能微孔板检测仪于 562 nm 波长读取吸光度(A)值, 根据标准曲线计算总蛋白浓度。

2.1.4 BALF 炎症因子 (TNF- α 、IL-6、IL-1 β) 检测 BALF 离心 (500 $\times$ g、10 min、4 $^{\circ}$ C)，取上清液，根据 ELISA 试剂盒说明书操作，测定 A 值，根据标准曲线计算各炎症因子浓度。

2.1.5 肺组织伊文思蓝含量检测 小鼠肺甲酰胺浸出液离心 (5 000 $\times$ g、15 min) 取上清，多功能微孔板检测仪测定 620 nm 处 A 值，以甲酰胺为空白对照，根据标准曲线计算单位肺组织中伊文思蓝含量。

2.1.6 组织病理学分析 小鼠右肺上叶，梯度乙醇脱水后石蜡包埋，制备 5 μ m 厚连续石蜡切片，贴附于载玻片，60 $^{\circ}$ C 烘片过夜。染色步骤包括二甲苯脱蜡 10 min $\times$ 3 次，梯度乙醇水化各 5 min，苏木素染色 5 min，流水冲洗返蓝 10 min，0.5%伊红染色 2 min，流水冲洗分化，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。在正置光学显微镜下观察肺泡结构完整性、炎症细胞浸润及肺泡壁增厚程度。

2.1.7 免疫荧光检测 ZO-1 取小鼠右肺下叶乙醇梯度脱水，OCT 包埋制备 10 μ m 冰冻切片，0.1% Triton X-100 通透 10 min，5%羊血清封闭 1 h，

加入 ZO-1 一抗 (1:10 000) 4 $^{\circ}$ C 过夜，Alexa Fluor[®] 488 标记兔二抗 (1:800) 室温孵育 1 h，DAPI (1 μ g $\cdot$ mL⁻¹) 复染细胞核 5 min，抗荧光淬灭剂封片，激光共聚焦显微镜采集图像。

2.2 厚朴酚靶向 TRPV4 保护内皮屏障的机制探究

2.2.1 荧光共定位 利用已合成的炔基修饰的厚朴酚探针^[15]与 TRPV4 进行免疫荧光共定位检测，验证二者在小鼠肺组织切片和 PMVEC 的直接相互作用^[12]。小鼠分别 ip 厚朴酚或炔基化厚朴酚探针 (每天 30 mg $\cdot$ kg⁻¹，3 d)，处死后取肺组织，10%中性福尔马林固定过夜。制备 5 μ m 石蜡切片，经脱蜡、水化、柠檬酸钠抗原修复及内源酶阻断后，进行点击化学反应：滴加含催化剂 (CuSO₄ 5 μ mol $\cdot$ L⁻¹、TCEP 10 μ mol $\cdot$ L⁻¹、TBTA 0.5 μ mol $\cdot$ L⁻¹) 与 BDP 叠氮染料 (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹) 的 PBS (含 10% DMSO)，37 $^{\circ}$ C 避光反应 4 h (原理见图 1)。随后含 10%羊血清的 PBS 37 $^{\circ}$ C 封闭 1 h，TRPV4 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，Alexa Fluor[®] 488 标记的荧光二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h，脱水透明封片后共聚焦显微镜检测 488 nm (TRPV4-绿色) 与 561 nm (探针-红色) 信号。

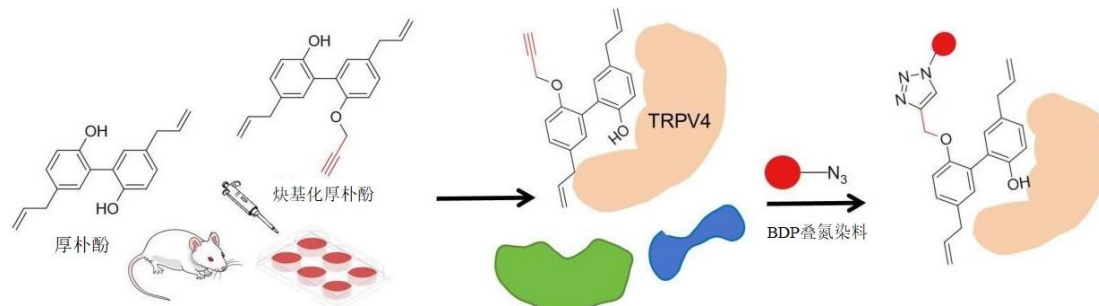


图 1 利用炔基厚朴酚探针通过点击反应标记靶点蛋白

Fig. 1 Labeling target proteins by click reaction using an alkynyl-modified magnolol probe

PMVEC 以每皿 1×10^5 的密度接种于 15 mm 玻底培养皿，培养 24 h 后分别经厚朴酚或炔基化厚朴酚 (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹) 处理 24 h，4%多聚甲醛固定，同上述流程进行含 10%羊血清的 PBS、TRPV4 一抗孵育过夜及点击化学标记 (避光反应时间 2 h)，Alexa Fluor[®] 488 荧光二抗孵育 1 h 后共聚焦成像。2 组实验均使用 Image J 计算 TRPV4 与探针的 Pearson 相关系数。

2.2.2 活细胞钙成像 利用已建立的细胞荧光钙离子成像分析方法检测胞内钙信号^[16]。将 PMVEC 以每孔 2×10^4 的密度接种于 48 孔板，培养 24 h 后分为 6 组给药，对照组使用无血清

培养基培养，模型组使用 LPS (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹) 处理 24 h，GSK219 组使用含 TRPV4 抑制剂 GSK219 (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹) 与 LPS (10 μ mol $\cdot$ L⁻¹) 的培养基共处理 24 h，厚朴酚低、中、高浓度组使用含 0.1、1.0、10.0 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 的厚朴酚和 10 μ mol $\cdot$ L⁻¹ LPS 的培养基共处理 24 h。检测前使用 Hank's 平衡盐溶液 (HBSS) 清洗细胞，随后加入含 1 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 钙荧光探针 Fluo-4/AM 及 0.05% Pluronic F-127 的 HBSS 工作液，置于 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min。染色后再次用 HBSS 洗去残留染料，采用活细胞成像仪动态记录荧光信号。除对照组外，在基线记录 15 s 时加入 TRPV4 特异性激动剂 GSK101 (终浓

度 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 通过计算 $\Delta F/F_0$ 值 ($\Delta F=F-F_0$, F 为实时荧光强度, F_0 为基线荧光强度) 定量分析钙瞬变响应^[16]。

2.2.3 细胞骨架染色 PMVEC 接种及处理方法同“2.2.2”项, 经 4% 细胞固定液固定, 加入罗丹明标记鬼笔环肽 (1:200) 染 F-actin, 避光孵育 15 min, DAPI ($1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 复染核 7 min, 共聚焦显微镜观察 F-actin (红色) 与细胞核 (蓝色), 评估细胞骨架完整性。

2.2.4 Western blotting 检测 ZO-1 蛋白表达 PMVEC 接种及处理方法同“2.2.2”项, 细胞裂解液 (RIPA 裂解液: 蛋白酶抑制剂: 磷酸酶抑制剂 = 100:1:1) 裂解细胞后提取总蛋白, BCA 法测定蛋白含量, 控制蛋白上样量每孔 $10 \mu\text{g}$, 7.5% SDS-PAGE 电泳, 转膜至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗 (ZO-1, 1:10 000; β -actin, 1:2 000) 4°C 孵育过夜, 兔二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h。ECL 显影, Image J 软件定量分析条带灰度值。

2.2.5 跨内皮电阻 (TEER) 检测 Transwell 小室 ($0.4 \mu\text{m}$ 孔径) 接种 PMVEC (5×10^4 个), 培养至单层形成 (电阻值 $>130 \Omega\cdot\text{cm}^2$)。细胞分为 6 组, 分组及处理方式同“2.2.2”项, 37°C 下预给药孵化 30 min, 再置于室温下平衡 10 min, 除对照组外, 各组加入 TRPV4 激动剂 GSK101 ($10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 使用上皮跨膜细胞电阻仪每隔 20 min 检测每个小

室单层内皮屏障 TEER。

2.3 数据统计

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间差异利用 GraphPad Prism 10.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)。

3 结果

3.1 厚朴酚对 LPS 诱导小鼠肺水肿的影响

通过对小鼠右肺中叶进行肺湿/干质量比的检测, 评估厚朴酚对 LPS 诱导的肺水肿的缓解作用。结果如图 2 所示, 模型组小鼠的肺湿/干质量比相较于对照组显著升高 ($P<0.01$), 证实急性肺水肿模型建立成功; DBT 组和厚朴酚高剂量组小鼠的肺湿/干质量比相较于模型组显著降低 ($P<0.05$), 厚朴酚中、低剂量组也有降低趋势。

小鼠肺组织病理学检查 (图 2) 结果显示, 对照组肺组织结构正常, 肺泡壁薄且肺泡腔清晰, 无明显炎症细胞浸润或肺泡壁增厚。模型组则出现明显的肺水肿特征, 包括肺泡壁增厚、肺泡腔内充满蛋白性渗出物及大量炎症细胞浸润, 表明 LPS 成功诱导了肺水肿损伤模型。与模型组相比, 厚朴酚处理组的肺泡壁增厚和炎症细胞浸润程度明显减轻, 显示出一定的抗炎和减轻肺水肿效果, 其效果与阳性药物 DBT 相当。此外, 随着厚朴酚剂量的增加, 肺泡壁的增厚和炎症细胞的浸润逐渐减轻, 表明厚朴酚对 LPS 诱导的小鼠肺水肿有显著改善作用。

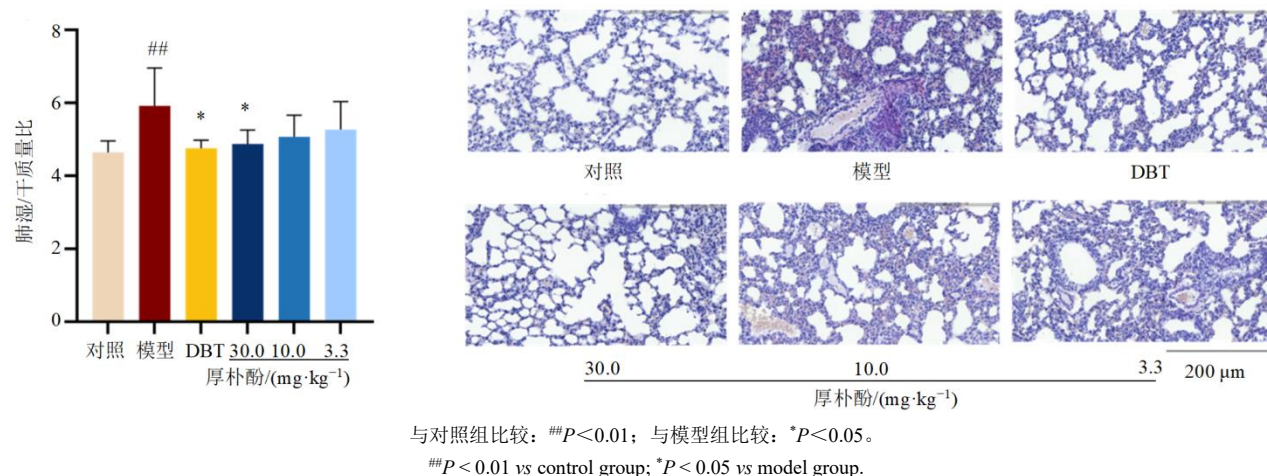


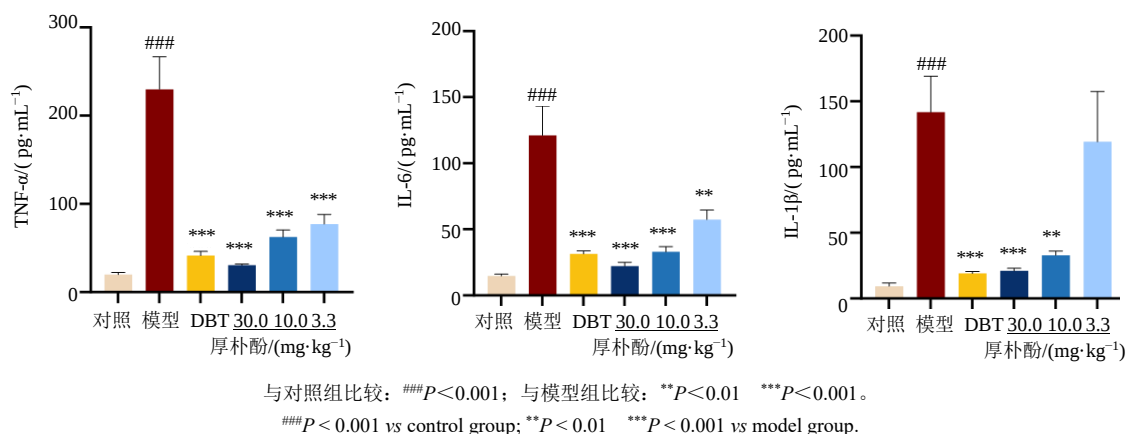
图 2 厚朴酚对 LPS 诱导小鼠肺水肿的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Effect of magnolol on LPS-induced pulmonary edema in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.2 厚朴酚抑制肺部炎症反应

研究表明^[17-18], TRPV4 激活可促进 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达, TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 作为炎症反应的核心介质, 在 ALI 中发挥关键作用^[19-22]。为

了检测厚朴酚对 LPS 诱导的肺组织炎症反应的调控作用, 本研究采用 ELISA 方法测定小鼠 BALF 中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的含量。结果如图 3 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠肺部 TNF- α 、IL-6

图 3 厚朴酚对 LPS 诱导小鼠 BALF 炎症因子含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Fig. 3 Effect of magnolol on inflammatory factors in BALF of LPS-treated mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

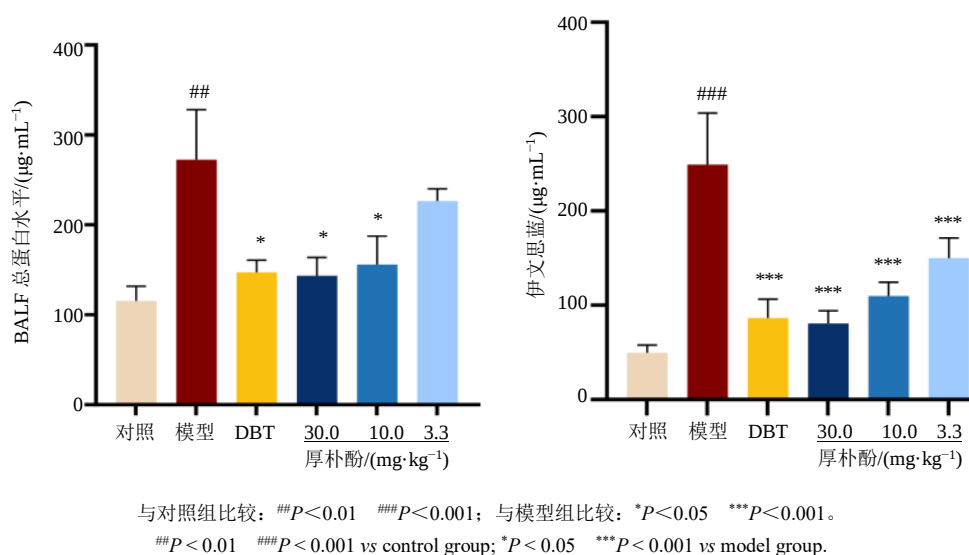
和 IL-1β 的含量显著增加 ($P < 0.001$), 与模型组相比, DBT 和厚朴酚中、高剂量处理组的炎症因子含量显著降低 ($P < 0.01$), 表明厚朴酚具有显著的抗炎作用。

3.3 厚朴酚对 LPS 诱导小鼠肺部组织血管通透性的影响

肺部炎症时, 血管通透性增加导致血浆蛋白渗出到肺泡和间质中, 本研究收集了小鼠 BALF 检测其中总蛋白含量。结果如图 4 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠 BALF 总蛋白含量显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组相比, DBT 组和厚朴酚中、高剂量处理组小鼠 BALF 总蛋白含量显著降低 ($P < 0.05$), 表明厚朴酚对 LPS 诱导的肺泡腔蛋白渗漏具有显著的抑制作用, 剂量相关性地减轻了 LPS 导致的血管通

透性增加。

伊文思蓝与血浆蛋白结合形成较大复合物, 不能通过完整的血管内皮屏障。小鼠尾 iv 伊文思蓝染液后, 由于 LPS 诱导了小鼠肺损伤, 肺血管内皮屏障破坏, 染液可穿过血管进入组织中, 导致肺组织伊文思蓝积累, 其积累量可反映肺血管内皮屏障被破坏程度。因此, 采用伊文思蓝染色法验证厚朴酚对 LPS 诱导的小鼠肺部组织血管通透性增加的抑制作用。结果如图 4 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠肺组织甲酰胺浸出液中伊文思蓝含量显著增加 ($P < 0.001$), 表明 LPS 成功诱导了肺血管内皮屏障的破坏。与模型组相比, DBT 组和厚朴酚低、中、高剂量处理组小鼠肺组织甲酰胺浸出液中伊文思蓝含量显著降低 ($P < 0.001$), 再次证实厚朴酚

图 4 厚朴酚对 LPS 诱导小鼠肺部组织血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)Fig. 4 Effect of magnolol on vascular permeability of lung tissue in LPS-induced mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

对 LPS 诱导的小鼠肺部组织血管通透性增加有显著的抑制作用。

3.4 厚朴酚对小鼠肺部 ZO-1 含量的影响

紧密连接蛋白 ZO-1 在肺泡上皮细胞和肺微血管内皮细胞之间的紧密连接中发挥作用，是维持肺泡和肺血管内皮屏障完整性的关键^[23]。通过免疫荧光检测小鼠肺组织 ZO-1 表达，评估厚朴酚保护肺血管内皮屏障完整性的作用。结果如图 5 所示，对

照组红色荧光（ZO-1）信号均匀分布，表明肺组织内皮屏障完整；模型组红色荧光信号显著减弱，出现断裂和缺失，表明 LPS 破坏了紧密连接蛋白，增加了肺血管的通透性。DBT 组和厚朴酚处理组（3.3、10.0、30.0 mg·kg⁻¹）的红色荧光信号分布逐渐改善，中、高剂量厚朴酚组的紧密连接蛋白分布更均匀，断裂和缺失减少，表明厚朴酚在中、高剂量下可逆转 ZO-1 缺失，增强肺泡和肺血管内皮屏障的完整性。

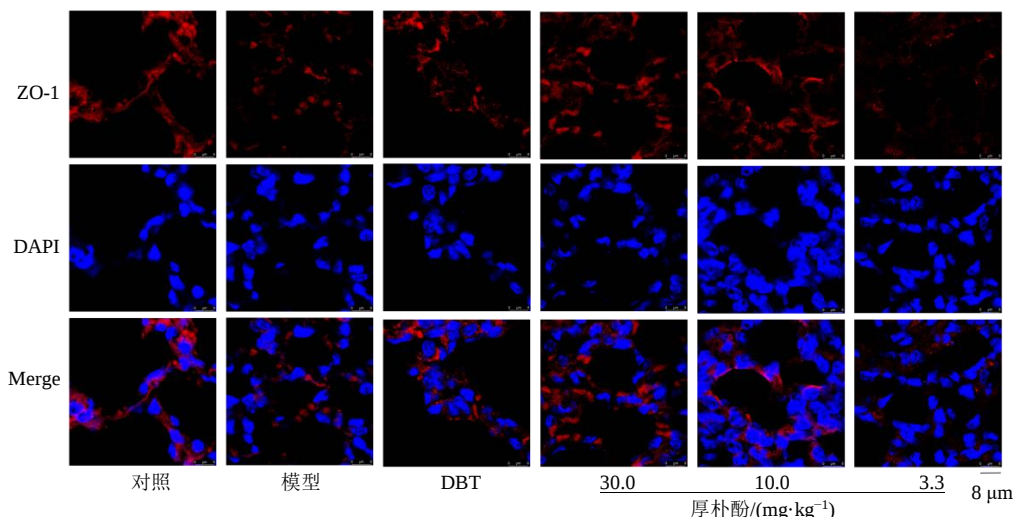


图 5 免疫荧光检测厚朴酚对 LPS 诱导小鼠肺部紧密连接蛋白 ZO-1 含量的影响

Fig. 5 Immunofluorescence analysis of effect of magnolol on expression of ZO-1 protein in lungs of LPS-treated mice

3.5 厚朴酚与 TRPV4 的共定位验证

由以上结果可知，厚朴酚可通过恢复肺组织内皮屏障的完整性，减轻 LPS 导致的肺水肿。基于 TRPV4 在内皮屏障中的作用^[6-7]及厚朴酚对 TRPV4 的抑制活性，推测厚朴酚可能通过抑制 TRPV4 发挥保护内皮屏障的作用。本研究利用已合成的炔基修饰的厚朴酚与 TRPV4 进行免疫荧光共定位检测，在小鼠肺组织切片和 PMVEC 验证二者的直接相互作用。

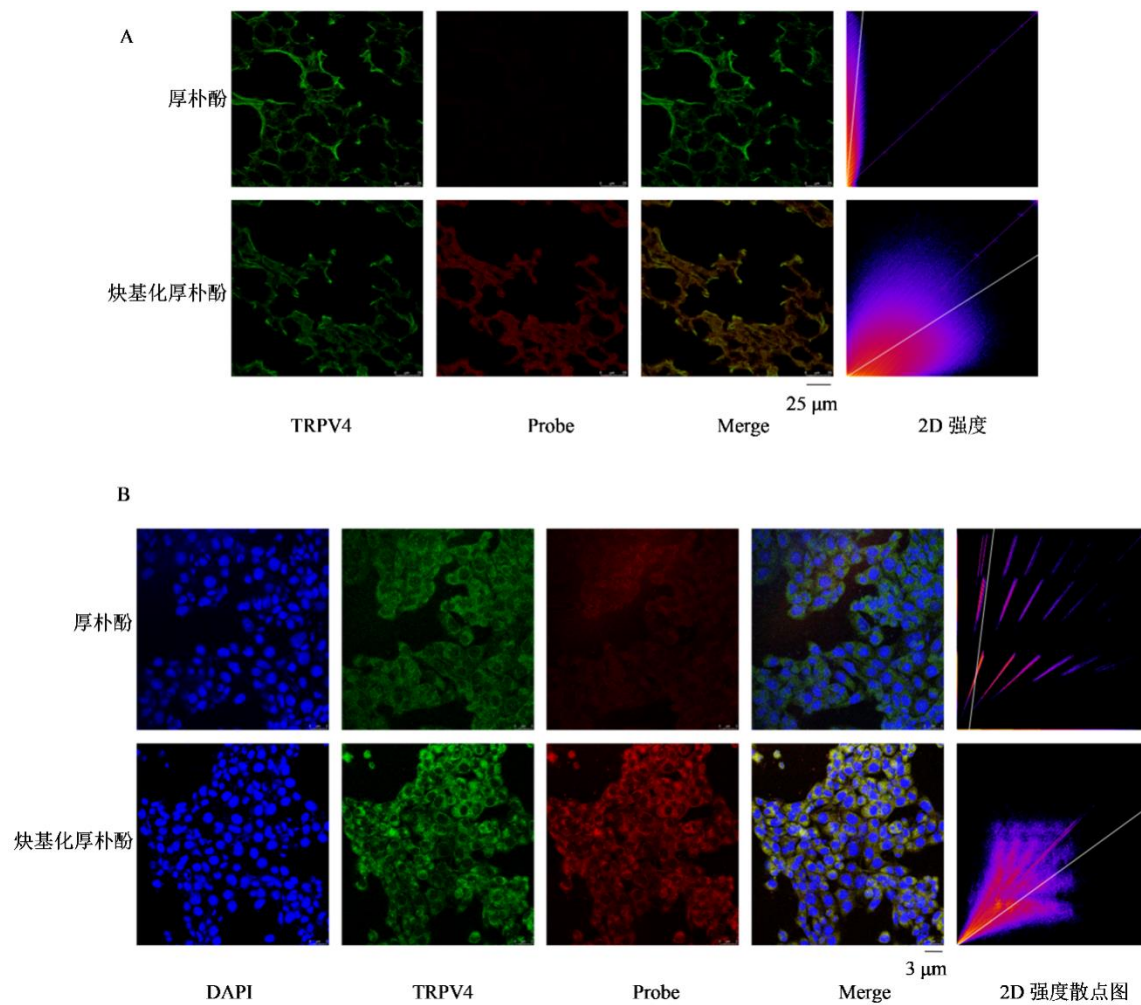
结果如图 6 所示，厚朴酚原形化合物处理组代表 TRPV4 荧光二抗和 BDP 2 种荧光在小鼠肺组织切片（图 6-A）和 PMVEC（图 6-B）的 Pearson 相关系数分别为 0.37 和 0.16，2D 强度散点图中的像素点偏向单侧通道；炔基化厚朴酚处理组二者在小鼠肺组织切片和 PMVEC 的 Pearson 相关系数分别为 0.72 和 0.83，2D 强度散点图中的像素点主要集中在对角线附近，表明厚朴酚与 TRPV4 在分布空间上高度一致，存在直接相互作用的可能性。

3.6 厚朴酚抑制 TRPV4 介导的胞内 Ca²⁺超载

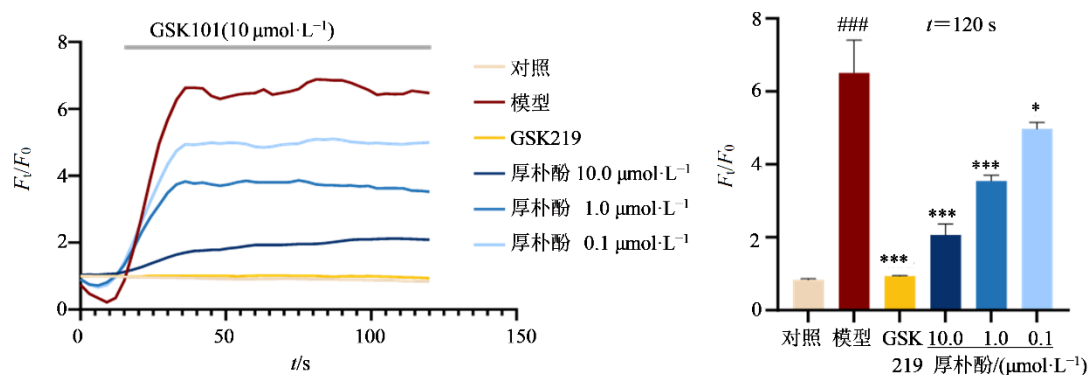
TRPV4 是增加内皮通透性的关键通道，其介导 Ca²⁺流入细胞，激活肌球蛋白轻链激酶（MLCK），促进肌动蛋白-肌凝蛋白相互作用，导致内皮通透性增加^[24]，有研究表明，LPS 在转染 TRPV4 构建体的 HEK293T 细胞中可增强 GSK101 通过激活 TRPV4 而引发的 Ca²⁺超载^[25-26]。采用 Ca²⁺敏感的荧光染料 Fluo-4，通过检测其荧光强度反映细胞内 Ca²⁺浓度的变化，以证实厚朴酚在 PMVEC 对 TRPV4 的抑制作用。由图 7 可见，模型组 LPS 处理可显著加剧 GSK101 诱导的钙内流，在检测 120 s 时，模型组细胞荧光信号强度显著增加（ $P < 0.001$ ）；TRPV4 抑制剂 GSK219 处理组和厚朴酚低、中、高浓度处理组细胞荧光信号强度显著降低（ $P < 0.05$ 、 0.001 ），表明厚朴酚可剂量相关性抑制 TRPV4 介导的 Ca²⁺内流。

3.7 厚朴酚保护内皮细胞骨架完整性

细胞骨架 F-actin 的动态重组反映内皮屏障功能的失调。LPS 激活 TRPV4 通道引发 F-actin



A-小鼠肺组织切片；B-PMVEC。
A-lung tissue sections of mice; B- PMVEC.
图 6 厚朴酚与 TRPV4 的共定位情况
Fig. 6 Co-localization of magnolol and TRPV4



与对照组比较：### $P < 0.001$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ 。
$P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 7 厚朴酚对 PMVECS Ca^{2+} 内流的影响 (Fluo-4/ Ca^{2+} 检测) 及 120 s 时胞内 Ca^{2+} 含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Fig. 7 Effect of magnolol on Ca^{2+} influx in PMVECS (Fluo-4/ Ca^{2+} assay), with intracellular Ca^{2+} concentration at 120 s ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

应力纤维收缩和细胞间连接断裂，增加内皮通透性^[24, 27]。本研究用罗丹明标记的鬼笔环肽染色 PMVEC，观察 F-actin 的分布。结果如图 8 所示，对照组 F-actin 完整连续；10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 LPS 刺激 24 h 后，细胞骨架破坏严重，形成明显应力纤维；

阳性药 TRPV4 抑制剂 GSK219 组和厚朴酚高剂量（10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ）组细胞骨架完整；厚朴酚组 F-actin 较 LPS 模型组有一定程度恢复。结果表明厚朴酚可通过抑制 TRPV4 介导的胞内 Ca^{2+} 超载，恢复 F-actin 的网状结构，维持内皮屏障完整。

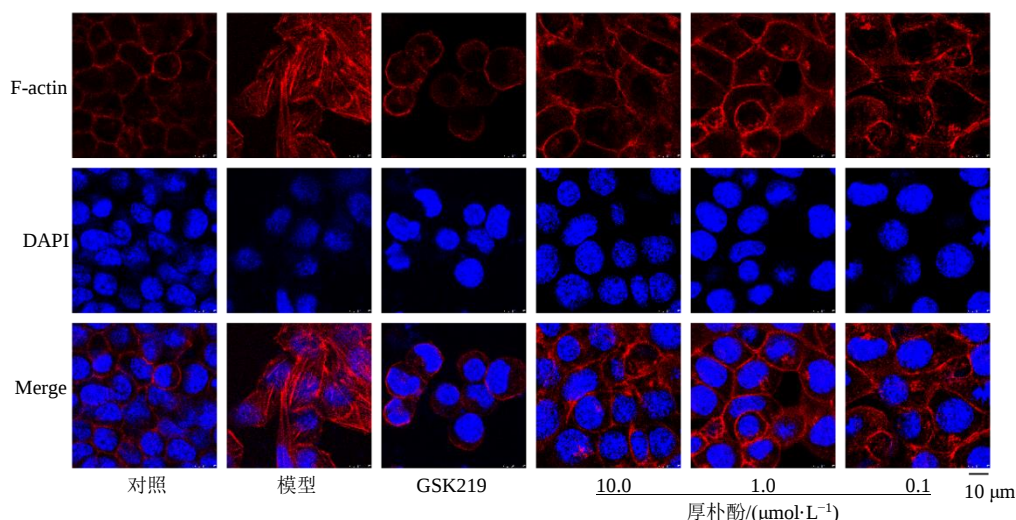


图 8 厚朴酚对 PMVEC 骨架完整性的影响

Fig. 8 Effect of magnolol on integrity of cytoskeleton of PMVEC

3.8 厚朴酚上调紧密连接蛋白表达

ZO-1 是维持内皮屏障完整性的核心分子，其表达下调会导致细胞间隙增宽和液体渗出^[23]。在 LPS 诱导的肺水肿模型中，炎症因子通过激活 NF- κB 信号通路抑制 ZO-1 的转录与表达^[28]，同时 TRPV4 通道的激活引发钙离子内流加剧，间接影响紧密连接蛋白的

分布和功能^[24]。本研究通过 Western blotting 检测 PMVEC ZO-1 的表达变化。结果如图 9 所示，与对照组相比，LPS 刺激显著降低 ZO-1 表达（ $P<0.001$ ）。与模型组相比，厚朴酚（1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ）处理可上调 ZO-1 的表达（ $P<0.01$ ），且效果接近 GSK219，证实了厚朴酚可上调 ZO-1 的表达，从而修复内皮屏障结构。

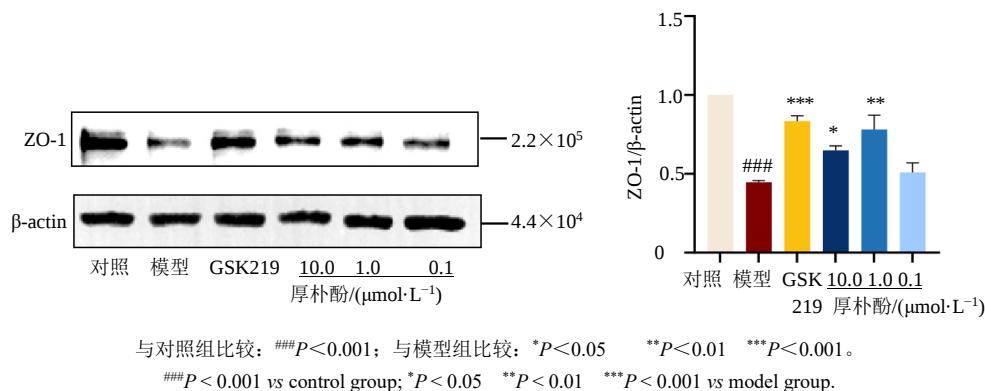


图 9 厚朴酚对紧密连接蛋白 ZO-1 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 9 Effect of magnolol on expression of tight junction protein ZO-1 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.9 厚朴酚缓解 LPS 诱导的内皮细胞屏障破坏

通过 Transwell 实验检测 TEER 可反映内皮屏障完整性，通过检测 TEER 评价厚朴酚对内皮屏障的影响。结果如图 10 所示，与对照组比较，LPS 刺

激导致 TEER 显著降低（ $P<0.001$ ）；与模型组比较，厚朴酚（10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ）TEER 显著升高（ $P<0.001$ ），GSK219 组 TEER 无显著变化。结果表明厚朴酚可拮抗 TRPV4 激活导致的屏障功能下降，

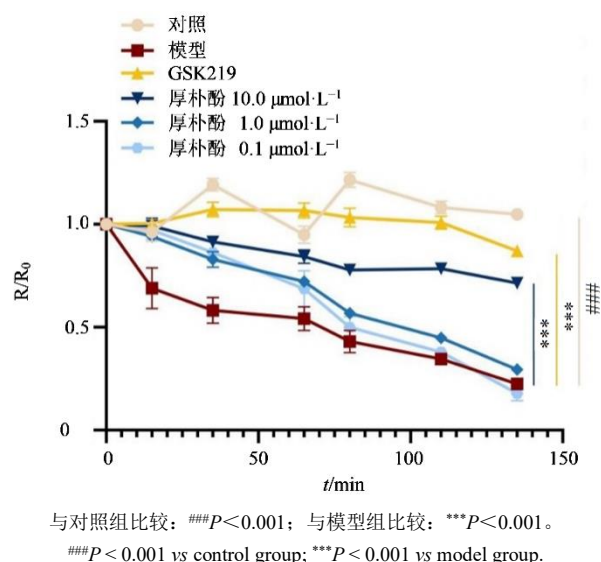


图 10 厚朴酚对 PMVEC 单层内皮 TEER 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 10 Effect of magnolol on TEER of PMVEC monolayer ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

维护内皮细胞屏障完整性。

4 讨论

肺水肿作为 ALI 的核心病理表现,其典型特征包括肺泡内液体积聚、气体交换障碍导致的低氧血症,以及影像学可见的弥漫性肺部浸润^[29-30]。血管通透性增加在肺水肿发生中起关键作用,肺微血管内皮屏障的破坏促使富含蛋白的液体从血管腔渗入肺泡间隙^[30]。肺水肿的形成与炎症因子风暴诱导的内皮细胞紧密连接解体^[22]、细胞骨架重构引起的内皮细胞收缩^[27]导致的内皮屏障功能障碍密切相关,其中 TRPV4 通道异常激活引发的钙超载发挥了重要作用^[24]。目前,天然产物通过恢复上调的血管通透性而发挥对肺水肿的缓解作用成为研究的热点。例如,杨学敏等^[31]报道柚皮苷可降低 LPS 诱导的肺泡-血管通透性,改善 ALI 小鼠的肺水肿,机制研究表明,柚皮苷主要通过抑制氧化应激(降低丙二醛、提升超氧化物歧化酶活性)减轻内皮损伤;刘梅梅等^[32]研究发现甘草酸二铵脂质配体(DGLL)可有效缓解 LPS 诱导的大鼠肺微血管屏障破坏,而 DGLL 则以抑制炎症细胞浸润为主要机制。

Thorneloe 等^[7]研究发现,肺水肿时血管通透性的升高与 TRPV4 通道介导的内皮屏障破坏密切相关。TRPV4 作为调控内皮通透性的关键分子,其过度激活可引发 Ca^{2+} 内流^[5-6],通过 CaM/MLCK 信号轴驱动肌球蛋白轻链磷酸化,导致细胞骨架重构和

紧密连接解体,最终促进富含蛋白的液体渗漏^[24]。本研究通过对肺湿/干质量比、肺泡病理损伤(HE 染色)、肺泡灌洗液炎症因子(TNF- α 、IL-6、IL-1 β)的影响,证实了厚朴酚作为 TRPV4 抑制剂对 LPS 诱导的小鼠急性肺水肿的缓解作用。通过检测 BALF 总蛋白含量、肺组织伊文思蓝染色及免疫荧光法检测紧密连接蛋白 ZO-1 的分布及表达发现,厚朴酚可有效改善肺血管内皮屏障功能,从而发挥缓解肺水肿的作用。体外实验通过荧光共定位实验和活细胞钙成像结果证实,厚朴酚可抑制 PMVEC 中靶蛋白 TRPV4 通道活性,减轻 Ca^{2+} 超载。基于 Ca^{2+} 在内皮屏障破坏中的作用,F-actin 和 ZO-1 蛋白表达的恢复及跨内皮屏障电阻的维持证实了厚朴酚可通过 TRPV4 抑制作用修复内皮屏障,从而下调血管通透性,改善肺水肿。另一方面,内皮屏障功能的恢复又能抑制炎症因子(TNF- α 、IL-6、IL-1 β)释放发挥抗炎作用^[33]。这种多维调控模式,使其在肺水肿模型中发挥良好的治疗效果。这一发现与厚朴酚在肠道和脑损伤模型中表现的多效性相呼应^[25, 34],提示其抗水肿作用的广泛适用性。

与柚皮苷抑制氧化应激减轻内皮损伤^[31],或 DGLL 抑制炎症细胞浸润缓解肺微血管屏障破坏^[32]等机制不同,厚朴酚的 TRPV4 靶向性提示中药活性成分可通过直接干预离子通道功能实现“湿邪”调控。本课题组前期研究表明,厚朴酚通过特异性结合至 TRPV4 蛋白锚蛋白重复结构域(ARD)中的谷氨酰胺(Q239)位点,竞争性抑制 ATP 与 ARD 的结合,从而阻断 TRPV4 通道的开放^[12],有效抑制了 TRPV4 介导的钙超载,从而修复内皮屏障,为从离子通道层面解析厚朴“燥湿”的科学内涵提供了证据。

本研究通过研究厚朴中主要代表性活性成分厚朴酚对 LPS 诱导的急性肺水肿的缓解作用及机制,将厚朴在肺水肿治疗中的“燥湿”功效与 TRPV4 介导的内皮屏障调控相关联,为中药功效物质基础研究提供了范例。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wheeler A P, Bernard G R. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: A clinical review [J]. Lancet, 2007, 369(9572): 1553-1564.
- [2] Tsushima K, King L S, Aggarwal N R, et al. Acute lung injury review [J]. Intern Med, 2009, 48(9): 621-630.

- [3] Ogi T, Higa M, Maruyama S. Melanin synthesis inhibitors from *Balanophora fungosa* [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(4): 1109-1114.
- [4] Ouderkirk J L, Krendel M. Myosin 1e is a component of the invadosome core that contributes to regulation of invadosome dynamics [J]. Exp Cell Res, 2014, 322(2): 265-276.
- [5] Yin J, Michalick L, Tang C, et al. Role of transient receptor potential vanilloid 4 in neutrophil activation and acute lung injury [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 54(3): 370-383.
- [6] Zergane M, Kuebler W M, Michalick L. Heteromeric TRP channels in lung inflammation [J]. Cells, 2021, 10(7): 1654.
- [7] Thorneloe K S, Cheung M, Bao W K, et al. An orally active TRPV4 channel blocker prevents and resolves pulmonary edema induced by heart failure [J]. Sci Transl Med, 2012, 4(159): 159ra148.
- [8] 孙宇博, 范欣生, 杨耀景, 等. 厚朴麻黄汤的研究现状与展望 [J]. 南京中医药大学学报, 2023, 39(12): 1249-1259.
Sun Y B, Fan X S, Yang Y J, et al. Research status and prospect on the houpu Mahuang decoction [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2023, 39(12): 1249-1259.
- [9] Zhang M Q, Shang L R, Zhou F Y, et al. Dachengqi Decoction dispensing granule ameliorates LPS-induced acute lung injury by inhibiting panoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 336: 118699.
- [10] Ni Y F, Jiang T, Cheng Q S, et al. Protective effect of magnolol on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. Inflammation, 2012, 35(6): 1860-1866.
- [11] 秦晓颖, 陈文静, 刘玉萍, 等. 和厚朴酚与厚朴酚治疗免疫紊乱疾病及其免疫调控作用研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8602-8612.
Qin X Y, Chen W J, Liu Y P, et al. Research progress on treatment of immune-disordered diseases and their immunomodulatory effects by honokiol and magnolol [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(24): 8602-8612.
- [12] Niu L, Lu Y J, Zu X W, et al. Magnolol alleviates pulmonary fibrosis in chronic obstructive pulmonary disease by targeting transient receptor potential vanilloid 4-ankyrin repeat domain [J]. Phytother Res, 2023, 37(9): 4282-4297.
- [13] Niu L, Wang S L, Xu Y Y, et al. Honokiol targeting ankyrin repeat domain of TRPV4 ameliorates endothelial permeability in mice inflammatory bowel disease induced by DSS [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 325: 117825.
- [14] Sun C Z, Shen H, He X W, et al. Effect of dobutamine on lung aquaporin 5 in endotoxine shock-induced acute lung injury rabbit [J]. J Thorac Dis, 2015, 7(8): 1467-1477.
- [15] Fu Y H, Liu B, Feng X S, et al. The effect of magnolol on the Toll-like receptor 4/nuclear factor κ B signaling pathway in lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2012, 689(1/2/3): 255-261.
- [16] 王世龙, 李俊杰, 闫瑾, 等. 基于 TRPA1 通道探讨白藜芦醇联合和厚朴酚在缓解特应性皮炎中的应用 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(3): 606-17.
Wang S L, Li J J, Yan J, et al. Investigation of application of resveratrol combined with honokiol in relieving atopic dermatitis based on TRPA1 channel [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(3): 606-17.
- [17] Walter B A, Purmessur D, Moon A, et al. Reduced tissue osmolarity increases TRPV4 expression and pro-inflammatory cytokines in intervertebral disc cells [J]. Eur Cell Mater, 2016, 32: 123-136.
- [18] Choi G W, Kim M L, Sung K R. Modulation of TRPV4-mediated TNF- α expression in Müller Glia and subsequent RGC apoptosis by statins [J]. Exp Eye Res, 2024, 239: 109781.
- [19] 陈铁龙, 祝光礼, 张旭栋, 等. TNF- α 诱导人脐静脉血管内皮细胞凋亡和炎症机制研究 [J]. 中华全科医学, 2018, 16(2): 184-187.
Chen T L, Zhu G L, Zhang X D, et al. The effect of TNF- α on apoptosis and inflammation of human umbilical vein endothelial cells by NF- κ B and AP-1 signal pathway [J]. Chin J Gen Pract, 2018, 16(2): 184-187.
- [20] 朱玲玲, 张亚妮, 史婷婷, 等. 白细胞介素-6 在肿瘤免疫检查点抑制剂治疗中的作用研究进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2024, 51(11): 585-589.
Zhu L L, Zhang Y N, Shi T T, et al. Research progress on the role of interleukin-6 in tumor immune checkpoint inhibitor therapy [J]. Chin J Clin Oncol, 2024, 51(11): 585-589.
- [21] 房佩佩, 付晓燕, 吴沛恩, 等. 肿瘤源性 IL-1 β 激活血管内皮细胞中 NF- κ B p65 通路促进其对肝癌细胞的粘附 [J]. 华中科技大学学报(医学版), 2022, 51(3): 294-302.
Fang P P, Fu X Y, Wu P E, et al. Tumor-derived IL-1 β promotes adhesion of vascular endothelial cells with hepatoma cells through NF- κ B p65 signaling pathway [J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2022, 51(3): 294-302.
- [22] Chen X S, Wang S H, Liu C Y, et al. Losartan attenuates sepsis-induced cardiomyopathy by regulating macrophage

- polarization via TLR4-mediated NF- κ B and MAPK signaling [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 185: 106473.
- [23] Tornavaca O, Chia M H, Dufton N, et al. ZO-1 controls endothelial adherens junctions, cell-cell tension, angiogenesis, and barrier formation [J]. *J Cell Biol*, 2015, 208(6): 821-838.
- [24] Rajan S, Schremmer C, Weber J, et al. Ca²⁺ signaling by TRPV4 channels in respiratory function and disease [J]. *Cells*, 2021, 10(4): 822.
- [25] Hao Y P, Wu L Y, Wang Y H, et al. LPS exacerbates TRPV4-mediated itch through the intracellular TLR4-PI3K signalling [J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28(13): e18509.
- [26] Alpizar Y A, Boonen B, Sanchez A, et al. TRPV4 activation triggers protective responses to bacterial lipopolysaccharides in airway epithelial cells [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1059.
- [27] Ryskamp D A, Frye A M, Phuong T T T, et al. TRPV4 regulates calcium homeostasis, cytoskeletal remodeling, conventional outflow and intraocular pressure in the mammalian eye [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30583.
- [28] Ibrahim S, Zhu X, Luo X L, et al. PIK3R3 regulates ZO-1 expression through the NF- κ B pathway in inflammatory bowel disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 85: 106610.
- [29] Assaad S, Kratzert W B, Shelley B, et al. Assessment of pulmonary edema: Principles and practice [J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2018, 32(2): 901-914.
- [30] Bossardi Ramos R, Adam A P. Molecular mechanisms of vascular damage during lung injury [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1304: 95-107.
- [31] 杨学敏, 张欢欢, 宋立强. 柚皮苷通过减轻氧化应激降低急性肺损伤小鼠内皮通透性的研究 [J]. *现代药物与临床*, 2023, 38(10): 2389-2396.
- Yang X M, Zhang H H, Song L Q. Effect of naringin on endothelial permeability in mice with acute lung injury by alleviating oxidative stress [J]. *Drugs Clin*, 2023, 38(10): 2389-2396.
- [32] 刘梅梅, 黄焱平, 季丹, 等. 甘草酸二铵脂质配体对大鼠急性肺损伤的改善作用 [J]. *包头医学院学报*, 2022, 38(11): 91-96.
- Liu M M, Huang Y P, Ji D, et al. The improvement of diammonium glycyrrhizinate lipid ligand on acute lung injury in rats [J]. *J Baotou Med Coll*, 2022, 38(11): 91-96.
- [33] Klein O R, Ktena Y P, Pierce E, et al. Defibrotide modulates pulmonary endothelial cell activation and protects against lung inflammation in pre-clinical models of LPS-induced lung injury and idiopathic pneumonia syndrome [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1186422.
- [34] Liu X Y, Chen X L, Zhu Y J, et al. Effect of magnolol on cerebral injury and blood brain barrier dysfunction induced by ischemia-reperfusion *in vivo* and *in vitro* [J]. *Metab Brain Dis*, 2017, 32(4): 1109-1118.

[责任编辑 兰新新]