

【 实验研究 】

## 基于 PI3K/Akt 通路探讨返魂草多糖治疗哮喘大鼠的机制

路 静, 刘萌萌, 裴 科, 李禹墨, 林 喆, 张天柱\*, 律广富\*

长春中医药大学, 吉林 长春 130117

**摘要:** 目的 探究返魂草 *Senecio cannabifolius* Less. 多糖对哮喘大鼠的治疗作用及机制。方法 60 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松组和返魂草多糖高、中、低剂量 (400、200、100 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 采用 10% 卵清蛋白 (OVA) 联合氢氧化铝佐剂建立哮喘模型, 对照组、模型组给予等体积蒸馏水, 连续 ig 给药 14 d。记录大鼠体重变化情况; 苏木精-伊红 (HE) 染色观察气管、肺组织病理情况; 肺功能仪检测以 0、3.125、6.250、12.500、25.000、50.000 g·L<sup>-1</sup> 氯化乙酰甲胆碱 (Mch) 雾化下大鼠的气道阻力最大值 (Max Rrs); 对支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中炎症细胞进行分类及计数; ELISA 法检测大鼠血清白细胞介素 4 (IL-4)、 $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ )、免疫球蛋白 E (IgE)、C-反应蛋白 (CRP)、白细胞介素 2 (IL-2)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量; 流式细胞术检测大鼠脾脏辅助性 T 细胞 1 (Th1)/辅助性 T 细胞 2 (Th2) 的平衡状态; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测大鼠肺组织中磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)、核因子  $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65) mRNA 表达水平; Western blotting 法检测大鼠肺组织 PI3K/Akt 通路和 NF- $\kappa$ B p65 活化情况。结果 与模型组相比, 返魂草多糖高剂量组大鼠从实验第 15 天体重显著增加 ( $P < 0.01$ ); 气管、肺组织病理变化显著改善; 在 Mch 浓度为 0、3.125、12.500、25.000、50.000 g·L<sup>-1</sup> 时, Max Rrs 显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01); BALF 中总细胞数、白细胞、中性粒细胞数和嗜酸性粒细胞数均显著下降 ( $P < 0.05$ 、0.01); 血清 IL-4、IFN- $\gamma$ 、CRP、IL-2、TNF- $\alpha$  水平显著下降 ( $P < 0.01$ ); 脾脏 Th1 显著升高 ( $P < 0.01$ ), Th2 显著降低 ( $P < 0.01$ ); 肺组织 PI3K、Akt、NF- $\kappa$ B p65 mRNA 显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01), 肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白显著降低 ( $P < 0.05$ 、0.01); 且返魂草多糖作用均呈剂量相关性。结论 返魂草多糖能缓解哮喘大鼠气管、肺组织病理损伤, 降低血清炎症因子含量, 改善哮喘症状, 其机制可能与通过抑制 NF- $\kappa$ B 磷酸化及其上游的 PI3K/Akt 信号通路, 改善 Th1/Th2 平衡状态相关。

**关键词:** 哮喘; 返魂草多糖; 炎症; PI3K/Akt; NF- $\kappa$ B; Th1/Th2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)08-2124-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.08.007

## Exploring mechanism of *Senecio cannabifolius* polysaccharides in treatment of asthmatic rats based on PI3K/Akt pathway

LU Jing, LIU Mengmeng, PEI Ke, LI Yumo, LIN Zhe, ZHANG Tianzhu, LÜ Guangfu

Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

**Abstract: Objective** To investigate the therapeutic effects and the mechanism of action of *Senecio cannabifolius* polysaccharides in asthmatic rats. **Methods** 60 SD rats were randomly divided into control group, model group, dexamethasone group, and high, medium and low dosage groups (400, 200 and 100 mg·kg<sup>-1</sup>) of *Senecio cannabifolius* polysaccharides, and the asthma model was established by using 10% ovalbumin (OVA) combined with aluminium hydroxide adjuvant, and equal volume of distilled water was given to the control group and the model group for ig 14 consecutive days. The changes in body mass of rats were recorded; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the histopathology of airways and lungs; The maximum airway resistance (Max Rrs) of rats under nebulization with acetylcholine chloride (Mch) at concentrations of 0, 3.125, 6.250, 12.500, 25.000, and 50.000 g·L<sup>-1</sup> was detected by the pulmonary function instrument; inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were classified and counted; The contents of interleukin-4 (IL-4), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), immunoglobulin E (IgE), C-reactive protein (CRP), interleukin-2 (IL-2), and

收稿日期: 2024-12-18

基金项目: 吉林省科技厅发展计划项目 (20240602036RC)

作者简介: 路 静 (1984—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与开发。E-mail: 406252588@qq.com

\*通信作者: 律广富, 副研究员, 研究方向为中药药理学。E-mail: message219@163.com

张天柱, 教授, 研究方向为中药资源与开发。E-mail: 183277264@qq.com

tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in rat serum were detected by ELISA; The balance state of helper T cell 1 (Th1)/helper T cell 2 (Th2) in rat spleen was detected by flow cytometry; The mRNA expression levels of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), and nuclear factor  $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65) in rat lung tissue were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR); and the activation of PI3K/Akt pathway and NF- $\kappa$ B p65 in rat lung tissue was detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the high-dose group of *Senecio cannabifolius* polysaccharides significantly increased the body weight of rats from the 15th day of the experiment ( $P < 0.01$ ); the pathological changes of trachea and lung tissues were significantly improved; when the concentration of Mch was 0, 3.125, 12.500, 25.000, and 50.000 g·L<sup>-1</sup>, Max Rrs was significantly reduced ( $P < 0.05, 0.01$ ); the total cell count, white blood cells, neutrophils, and eosinophils in BALF were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ); the levels of IL-4, IFN- $\gamma$ , CRP, IL-2, and TNF- $\alpha$  in serum were significantly decreased ( $P < 0.01$ ); Th1 in the spleen was significantly increased ( $P < 0.01$ ), and Th2 was significantly decreased ( $P < 0.01$ ); the mRNA levels of PI3K, Akt, and NF- $\kappa$ B p65 in lung tissue were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ), and the protein levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 in lung tissue were significantly decreased ( $P < 0.05, 0.01$ ); and the effects of *Senecio cannabifolius* polysaccharides were dose-dependent. **Conclusion** *Senecio cannabifolius* polysaccharides can alleviate the pathological damage of trachea and lung tissues, reduce serum inflammatory factors and improve asthma symptoms in asthmatic rats, and it may play an anti-asthmatic role by inhibiting the phosphorylation of NF- $\kappa$ B and its upstream PI3K/Akt signalling pathway and improving the balance of Th1/Th2 cells.

**Key words:** asthma; *Senecio cannabifolius* polysaccharides; inflammation; PI3K/Akt; NF- $\kappa$ B; Th1/Th2

支气管哮喘是一种非传染性异质性疾病,以气道重塑和慢性气道炎症反应为特征,主要表现为呼吸短促、胸闷、咳嗽、可变气流受限,具有高发病率和复发率、低控制率、高致残率的特点。发病群体涉及世界各地所有年龄段人群,全球疾病负担研究估算 2019 年全球范围内有 2.62 亿人受哮喘影响<sup>[1-2]</sup>。目前治疗哮喘的基本药物是  $\beta_2$  受体激动剂、吸入性糖皮质激素及茶碱类,长期使用存在不良反应大、控制率低等缺陷<sup>[3]</sup>。哮喘在中医上归为“哮病”“哮证”范畴,治疗历史悠久,临床上应充分发挥中医治疗哮喘的优势<sup>[4]</sup>。

返魂草是菊科植物麻叶千里光 *Senecio cannabifolius* Less. 的干燥地上部分,具有清热祛痰、活血消肿、镇咳平喘之功效,在临床上用于治疗急性慢性支气管炎、喘息性支气管炎、肺虚久咳等症状,但其具体机制尚未明确<sup>[5]</sup>。有研究表明核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 及其上游的磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt) 信号通路和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路在哮喘发病过程中被激活,与气道炎症反应、气道重构、黏液高分泌状态和气道高反应性等病理表现相关<sup>[6-8]</sup>。本研究通过卵清蛋白 (OVA) 联合氢氧化铝佐剂建立哮喘大鼠模型,观察返魂草多糖是否通过上述信号通路发挥抗哮喘作用,探究其相关作用机制,旨在为其临床应用提供实验数据支持。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

健康雄性 SPF 级 6 周龄 SD 大鼠 60 只,体质

量 180~200 g, 购于辽宁长生生物技术股份有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。本实验经长春中医药大学实验动物伦理委员会批准并在其监督下进行 (伦理号 2022673)。在整个实验期间小鼠被饲养在温度在 (23±2) °C、湿度 (55±10) % 的无特定病原体环境下,光照/黑暗 12 h 循环,并允许摄入足量的饮用水和标准饲料。

### 1.2 主要试剂

返魂草购自抚松县露水河兴旺中草药种植专业合作社,经长春中医药大学中药资源教研室张天柱教授鉴定为麻叶千里光 *Senecio cannabifolius* Less. 的干燥地上部分。醋酸地塞米松 (遂成药业股份有限公司,国药准字 H41021038,批号 231203); OVA (货号 S12016-25G)、氢氧化铝 (货号 S30353-500G)、氯化乙酰甲胆碱 (Mch, 货号 S86008-25G), 上海源叶生物科技有限公司; 氯化钠注射液 (四川科伦药业股份有限公司); Trizol 试剂 (天根生化科技有限公司); HiSeriPt 1 RT SuPerMix for qPCR 试剂盒、Tag Pro Universal SYBR qPCR MasterMix 试剂盒 (南京诺唯赞医疗科技有限公司); 改良苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司);  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素 (IL) -2、C 反应蛋白 (CRP) 试剂盒 (BOSTER 公司,货号 EK0374、EK0399、EK0978); IL-4、免疫球蛋白 E (IgE)、肿瘤坏死因子 (TNF) - $\alpha$  试剂盒 (江苏酶免实业有限公司,货号 MM-0191R1、MM-44916M1、MM-0180R1); PI3K、p-Akt (Ser473)、Akt、NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p-p65 (Ser468) 抗体 (武汉三鹰生物技术有

限公司); p-PI3K (Tyr607) 抗体 (abcam 公司)。

### 1.3 主要仪器

CSW-2004 医用超声雾化器 (汕头光电科技有限公司); JA2003B 千分之一电子天平 (上海越平科学仪器有限公司); WP-40 纯水机 (四川沃特水处理设备有限公司); Flexivent 动物肺功能测试系统 (上海赛睿克生物技术有限公司); Centrifuge 5810R 恒温离心机 (EPPendorf 公司); DY89-II 电动玻璃匀浆机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); EPOCH2 全波长酶标仪、HM340E 半自动轮转式石蜡切片机 (美国赛默飞世尔科技公司); TS-12U 组织脱水机、TB-718L 包埋机冷台、TK-212 恒温漂片仪、TK-213 恒温烘片仪、TR-180II 全自动染色机、电泳系统、转印槽、玻璃板 (宏业医用仪器); Calibur 流式细胞仪 (美国 BD 公司); 电泳仪 (美国伯乐公司); Alliance Q9 荧光发光凝胶成像系统 (瑞士帝肯公司); TB-718D 组织包埋机 (泰维科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 返魂草多糖的制备

取 400 g 药材, 剪成长 1~2 cm 的小段, 加 10 倍量纯化水浸泡 1 h, 回流提取 1 h; 提取 3 次, 合并药液, 浓缩至约 200 mL。加入 95% 乙醇调节乙醇体积分数至 75%, 静置过夜, 取上清, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 弃去上清, 取沉淀, 回收乙醇, 将沉淀溶解于纯化水, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 8 min, 取上清, 冷冻干燥, 即得。分别应用苯酚-硫酸法、间羟基联苯法、二喹啉甲酸 (BCA) 法对提取物中中性糖、糖醛酸、总蛋白含量进行检测, 质量分数分别为 (53.20±1.05)%、(9.90±0.19)%、(0.68±0.02)%。1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮 (PMP) 衍生化法检测显示, 返魂草多糖主要由甘露糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、鼠李糖、葡萄糖、木糖、阿拉伯糖和岩藻糖组成。

### 2.2 动物分组、造模与给药

60 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (ig 醋酸地塞米松, 开始剂量为 1.08 mg·kg<sup>-1</sup>, 给药 3 d 后减至维持剂量 0.09 mg·kg<sup>-1</sup>) 组和返魂草多糖高、中、低剂量 (400、200、100 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 除对照组外, 各组大鼠在实验第 1 天 ip 1 mL 的 10% OVA 致敏液 (100 mg OVA 和 100 mg 氢氧化铝的混合液) 进行致敏, 在实验第 8 天再次致敏, 从第 9 天开始每天雾化吸入 1% OVA 溶液 30 min (体积

流量 2 mL·min<sup>-1</sup>), 连续激发 14 d, 对照组大鼠致敏和激发均采用 0.9% 氯化钠溶液。各组大鼠在每次雾化前 30 min 进行 ig 给药, 对照组和模型组均 ig 给予等体积蒸馏水, 末次雾化后禁食不禁水 12 h, 戊巴比妥钠麻醉取材。

### 2.3 体质量变化

从第 1 次致敏开始, 每 7 天对大鼠体质量进行称量。

### 2.4 气道高反应检测

末次雾化 12 h 后检测大鼠气道反应性, 麻醉后在支气管中央切口并通过 Y 型插管连接肺功能仪, Mch 以 0、3.125、6.250、12.500、25.000、50.000 g·L<sup>-1</sup> 的浓度梯度进行雾化, 检测各浓度下气道阻力最大值 (Max Rrs), 观察大鼠气道阻力变化情况。

### 2.5 支气管肺泡灌洗液 (BALF) 炎症细胞计数及分类

大鼠麻醉后气管插管, 结扎右侧主支气管, 0.9% 氯化钠溶液反复灌洗左肺 3 次, 收集灌洗液, 4 °C、3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min 收集下层沉淀, 0.9% 氯化钠溶液重悬后吸取少量悬液进行总细胞计数, 采用 Diff-Quik 染色涂片, 镜下观察, 对炎症细胞分类计数。

### 2.6 血清炎症因子水平

腹主动脉取血, 4 °C、3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 收集上清, 液氮速冻, -80 °C 保存。严格依照 ELISA 试剂盒说明检测大鼠血清 IL-4、IFN- $\gamma$ 、IgE、CRP、IL-2、TNF- $\alpha$  含量并计算 IL-4/IFN- $\gamma$  值。

### 2.7 气管组织 HE 染色观察

剖开大鼠胸腔, 暴露并完整取出气管、肺组织, 0.9% 氯化钠溶液浸洗去除血液, 采用 4% 多聚甲醛室温下固定 48 h, 脱水、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、HE 染色, 镜下观察结构和炎症细胞浸润情况。

### 2.8 辅助性 T 细胞 1 (Th1)、辅助性 T 细胞 2 (Th2) 含量检测

大鼠脾脏置于 200 目筛网研磨成单细胞悬液, 加入 2 mL 红细胞裂解液重悬, 分离淋巴细胞, 调整成 1×10<sup>7</sup> 个·mL<sup>-1</sup> 的淋巴细胞悬液, 加入细胞刺激剂 [含有丙二醇甲醚醋酸酯 (PMA)、布雷非德菌素 A (BFA)、离子霉素] 在细胞培养箱孵育 4 h, APC-CD4<sup>+</sup> 进行染色, 然后加入破膜液, 待细胞破膜后加入 FITC-IL-4 和 PE-IFN- $\gamma$  进行染色, 混匀后磷酸盐缓冲液 (PBS) 重悬细胞, 上机检测。以 CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$  T 细胞代表 Th1, CD4<sup>+</sup>IL-4 T 细胞

代表 Th2。

## 2.9 各组大鼠肺组织 *PI3K*、*Akt*、*NF-κB p65* mRNA 表达水平测定

大鼠肺组织使用 Trizol 试剂提取总 RNA，逆转录试剂盒去除基因组 DNA，反转录合成 cDNA，使用 PCR 试剂盒在荧光定量 PCR 仪上进行扩增。以 *β-actin* 为内参基因，引物序列见表 1。PCR 扩增条件如下：95 °C 持续 4 min，然后进行 40 个 95 °C 持续 10 s、60 °C 持续 27 s、71 °C 持续 19 s 的循环。使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算 *PI3K*、*Akt*、*NF-κB p65* mRNA 的表达水平，用 *β-actin* 基因对结果进行归一化处理。

表 1 引物序列  
Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'→3')	产物长度/bp
<i>PI3K</i>	上游: ACCTGTGCCTTCTGCCTTAC	20
	下游: ATGTTGTCGTTGTGCCTGTC	20
<i>Akt</i>	上游: AGACTGTGGCTGATGGACTC	20
	下游: TTGGCAACGATGACCTCCTT	20
<i>NF-κB p65</i>	上游: AATCTATCTTCTCTGTGA	18
	下游: GTTGACATCCTTATACTT	18
<i>β-actin</i>	上游: GCAGGAGTACGATGAGTCCG	20
	下游: ACGCAGCTCAGTAACAGTCC	20

表 2 各组大鼠体质量变化情况 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Table 2 Changes in body mass of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	体质量/g			
		第1天	第8天	第15天	第22天
对照	—	214.04±7.53	243.34±7.50	281.76±7.69	327.13±8.53
模型	—	214.15±4.60	240.53±4.64	264.15±8.60 <sup>#</sup>	285.80±14.69 <sup>##</sup>
地塞米松	—	213.23±4.69	241.53±3.51	278.47±6.67 <sup>**</sup>	316.48±9.21 <sup>**</sup>
返魂草多糖	400	214.05±7.19	241.65±7.95	279.00±7.89 <sup>**</sup>	320.02±7.69 <sup>**</sup>
	200	213.89±8.15	239.34±7.81	272.79±10.02	315.07±6.48
	100	214.76±5.37	239.11±9.65	273.13±5.37	305.65±10.24

与对照组比较: <sup>#</sup> $P<0.05$  <sup>##</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

<sup>#</sup> $P<0.05$  <sup>##</sup> $P<0.01$  vs control group; <sup>\*\*</sup> $P<0.01$  vs model group.

天,与对照组相比,模型组体质量显著降低( $P<0.05$ 、 $0.01$ );与模型组相比,地塞米松组和返魂草多糖高剂量组大鼠体质量均显著增加( $P<0.01$ ),返魂草多糖中、低剂量组大鼠体质量增加,差异不显著。

## 3.2 各组大鼠气道高反应性检测

与对照组相比,模型组大鼠在各 Mch 浓度下 Max Rrs 显著增高( $P<0.01$ );与模型组相比,地塞米松组和返魂草多糖高剂量组大鼠在 Mch 浓度为

## 2.10 各组大鼠肺组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、NF-κB p65、NF-κB p-p65 蛋白表达检测

将肺组织进行组织裂解,BCA 法测定总蛋白含量,制备 SDS-PAGE 凝胶,上样,电泳,转膜,5%脱脂奶粉封闭 2 h,一抗(p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、NF-κB p65、NF-κB p-p65、β-actin) 4 °C 孵育过夜,二抗室温孵育 2 h,ECL 发光试剂盒孵育,凝胶成像系统曝光蛋白条带,Image J 分析条带灰度值。

## 2.11 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据均采用 SPSS 22.0 统计分析,使用 GraphPadPrism 8.0 作图,各组实验指标均采用随机设计的单因素方差分析(one-way ANOVA)。

## 3 结果

### 3.1 各组大鼠体质量变化情况

如表 2 所示,在实验期间,各组大鼠体质量均有不同程度的升高,其中对照组升高趋势最大,模型组最小,地塞米松组和返魂草多糖各剂量组在二者之间。在实验第 8 天(第 2 次致敏),与对照组相比,模型组大鼠体质量下降,差异不显著;与模型组相比,地塞米松组和返魂草多糖高剂量组大鼠体质量均有所回升,差异不显著。在实验第 15、22

0、3.125、12.500、25.000、50.000 g·L<sup>-1</sup> 时,Max Rrs 显著降低( $P<0.05$ 、 $0.01$ );返魂草多糖中剂量组在 Mch 浓度为 12.500、25.000、50.000 g·L<sup>-1</sup> 时,Max Rrs 显著降低( $P<0.05$ 、 $0.01$ );返魂草多糖作用呈明显量效关系。结果见表 3。

### 3.3 BALF 细胞总数及炎症细胞分类计数

与对照组相比,模型组大鼠 BALF 总细胞数、白细胞、中性粒细胞数和嗜酸性粒细胞数均显著升

表 3 各组大鼠气道高反应 Max Rrs ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 3 Airway hyperresponsiveness Max Rrs in rats of various group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Max Rrs/ (cm H <sub>2</sub> O·mL <sup>-1</sup> ·s <sup>-1</sup> )					
		Mch 0 g·L <sup>-1</sup>	Mch 3.125 g·L <sup>-1</sup>	Mch 6.250 g·L <sup>-1</sup>	Mch 12.500 g·L <sup>-1</sup>	Mch 25.000 g·L <sup>-1</sup>	Mch 50.000 g·L <sup>-1</sup>
对照	—	0.25±0.03	0.32±0.04	0.43±0.03	0.54±0.03	0.61±0.07	0.73±0.06
模型	—	0.37±0.07 <sup>##</sup>	0.48±0.08 <sup>##</sup>	0.54±0.08 <sup>##</sup>	0.71±0.11 <sup>##</sup>	1.26±0.27 <sup>##</sup>	2.26±0.24 <sup>##</sup>
地塞米松	—	0.24±0.07 <sup>**</sup>	0.33±0.03 <sup>**</sup>	0.41±0.07	0.52±0.06 <sup>**</sup>	0.64±0.11 <sup>**</sup>	1.11±0.27 <sup>**</sup>
返魂草	400	0.30±0.03 <sup>*</sup>	0.34±0.06 <sup>*</sup>	0.46±0.08	0.56±0.06 <sup>**</sup>	0.68±0.03 <sup>**</sup>	1.44±0.10 <sup>**</sup>
多糖	200	0.32±0.05	0.37±0.08	0.47±0.06	0.63±0.05 <sup>*</sup>	1.06±0.15 <sup>*</sup>	2.04±0.16 <sup>**</sup>
	100	0.35±0.05	0.46±0.05	0.54±0.07	0.65±0.07	1.18±0.10	2.21±0.13

与对照组比较: <sup>##</sup>*P*<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>*P*<0.05 <sup>\*\*</sup>*P*<0.01; 1 cm H<sub>2</sub>O=0.098 kPa。

<sup>##</sup>*P*<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>*P*<0.05 <sup>\*\*</sup>*P*<0.01 vs model group; 1 cm H<sub>2</sub>O = 0.098 kPa。

高 (*P*<0.01); 与模型组相比, 地塞米松组和返魂草多糖高剂量组大鼠总细胞数、白细胞、中性粒细胞数和嗜酸性粒细胞数均显著下降 (*P*<0.05、0.01); 返魂草多糖中剂量组大鼠总细胞数和白细胞数量显著下降 (*P*<0.05、0.01), 中性粒细胞数和嗜

酸性粒细胞数下降, 差异不显著; 返魂草多糖低剂量组大鼠总细胞数、白细胞、中性粒细胞数和嗜酸性粒细胞数均下降, 差异不显著。与对照组相比较, 模型组嗜碱性粒细胞稍有增高, 治疗组有下降的趋势, 但差异不显著。见表 4。

表 4 各组大鼠 BALF 总细胞数及分类细胞计数比较 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 4 Comparison of total cell counts and sorted cell counts in BALF of rats in various group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	细胞计数(×10 <sup>5</sup> 个·mL <sup>-1</sup> )				
		总细胞	白细胞	中性粒细胞	嗜酸性粒细胞	嗜碱性粒细胞
对照	—	5.81±1.16	1.71±1.03	1.50±0.52	0.94±0.36	0.13±0.06
模型	—	17.12±2.17 <sup>##</sup>	8.21±1.68 <sup>##</sup>	5.10±1.41 <sup>##</sup>	3.34±1.35 <sup>##</sup>	0.18±0.04
地塞米松	—	8.10±1.41 <sup>**</sup>	4.19±0.72 <sup>**</sup>	2.15±0.62 <sup>**</sup>	1.82±0.67 <sup>**</sup>	0.15±0.04
返魂草多糖	400	8.69±2.17 <sup>**</sup>	5.27±0.96 <sup>**</sup>	2.62±0.91 <sup>**</sup>	1.99±0.76 <sup>*</sup>	0.12±0.03
	200	10.80±2.59 <sup>**</sup>	6.04±1.18 <sup>*</sup>	3.87±1.10	2.55±0.80	0.17±0.01
	100	15.70±3.19	7.91±2.16	4.07±0.96	2.99±1.21	0.17±0.06

与对照组比较: <sup>##</sup>*P*<0.01; 与模型组比较: <sup>\*</sup>*P*<0.05 <sup>\*\*</sup>*P*<0.01。

<sup>##</sup>*P*<0.01 vs control group; <sup>\*</sup>*P*<0.05 <sup>\*\*</sup>*P*<0.01 vs model group。

### 3.4 各组大鼠炎症因子水平

与对照组相比, 模型组大鼠血清 IL-4、IFN- $\gamma$ 、CRP、IL-2、TNF- $\alpha$  含量均显著升高 (*P*<0.01), IgE 含量、IL-4/IFN- $\gamma$  值均升高, 但无显著差异; 与模型组相比, 地塞米松组、返魂草多糖高剂量组大鼠血清 IL-4、IFN- $\gamma$ 、CRP、IL-2、TNF- $\alpha$  含量均显著下降 (*P*<0.01), IgE 含量、IL-4/IFN- $\gamma$  值降低, 但无显著差异; 返魂草多糖中剂量组大鼠血清 IL-2、IL-4、CRP、TNF- $\alpha$  含量均显著下降 (*P*<0.05、0.01), IFN- $\gamma$ 、IgE 含量和 IL-4/IFN- $\gamma$  值降低, 但无显著差异; 返魂草多糖低剂量组大鼠血清 CRP、TNF- $\alpha$  含量均显著降低 (*P*<0.05、0.01), IL-4、IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、IgE 含量和 IL-4/IFN- $\gamma$  值降低, 但无显著差异。见表 5。

### 3.5 各组大鼠气管、肺组织 HE 染色结果观察

如图 1 所示, 对照组大鼠肺组织细胞结构完整, 边界清晰, 排列有序, 无炎症细胞浸润; 气管黏膜结构完整, 黏膜壁未见明显增厚, 上皮细胞排列有序。模型组大鼠肺组织细胞排列散乱, 大量炎症细胞浸润 (黑色箭头), 肺泡壁增厚, 肺泡结构间隔增大 (黄色箭头); 气管黏膜壁明显增厚 (红色箭头), 炎症细胞浸润 (黑色箭头), 上皮细胞广泛坏死脱落 (蓝色箭头), 胞核固缩深染、碎裂, 管腔内多见坏死细胞碎片, 伴有嗜酸性黏液浸润 (绿色箭头), 固有层结缔组织排列松散无序, 腺体扩张, 形状不规则, 炎症细胞高度浸润。地塞米松组和返魂草多糖各剂量组肺组织细胞结构较完整, 边界较清晰, 支气管黏膜上皮轻微脱落, 气管黏膜固有层结缔组织

表 5 各组大鼠血清炎症因子水平 ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )Table 5 Serum levels of inflammatory factors in rats of various group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

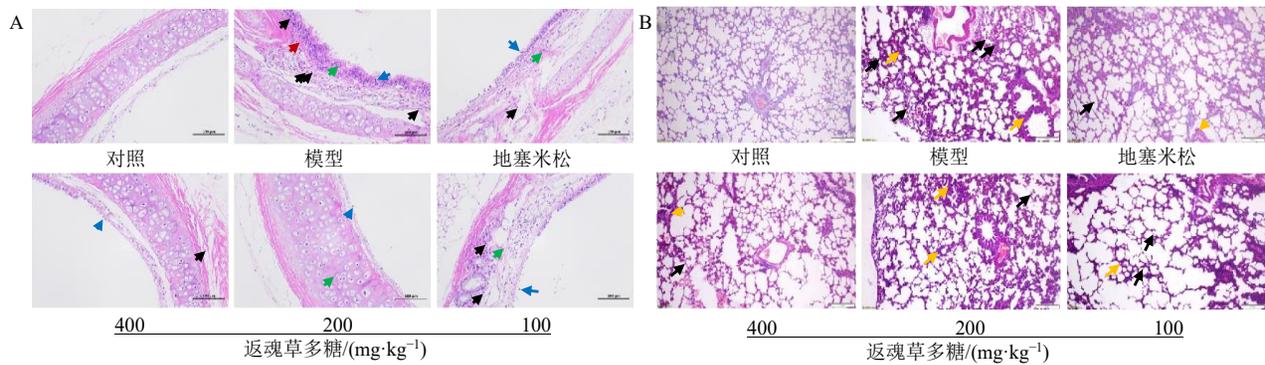
组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	IL-4/(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-2/(pg·mL <sup>-1</sup> )	IFN- $\gamma$ /(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-4/IFN- $\gamma$
对照	—	155.82 ± 23.95	645.23 ± 209.88	241.79 ± 26.19	0.64 ± 0.13
模型	—	294.73 ± 30.31 <sup>##</sup>	1 691.44 ± 242.63 <sup>##</sup>	415.35 ± 36.08 <sup>##</sup>	0.71 ± 0.12
地塞米松	—	165.82 ± 14.99 <sup>**</sup>	950.91 ± 59.70 <sup>**</sup>	263.78 ± 7.25 <sup>**</sup>	0.62 ± 0.21
返魂草多糖	400	177.73 ± 21.06 <sup>**</sup>	1 014.55 ± 64.70 <sup>**</sup>	306.78 ± 28.88 <sup>**</sup>	0.58 ± 0.13
	200	189.27 ± 27.13 <sup>*</sup>	1 287.65 ± 183.44 <sup>*</sup>	370.14 ± 20.65	0.51 ± 0.25
	100	229.91 ± 24.04	1 370.23 ± 236.86	388.92 ± 14.51	0.59 ± 0.17

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	IgE/( $\mu$ g·mL <sup>-1</sup> )	CRP/(ng·mL <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ /(ng·L <sup>-1</sup> )
对照	—	0.72 ± 0.56	1.63 ± 0.05	60.14 ± 28.40
模型	—	1.10 ± 0.30	2.91 ± 0.14 <sup>##</sup>	185.29 ± 44.12 <sup>##</sup>
地塞米松	—	0.74 ± 0.24	1.70 ± 0.14 <sup>**</sup>	61.17 ± 37.24 <sup>**</sup>
返魂草多糖	400	0.66 ± 0.42	1.84 ± 0.49 <sup>**</sup>	92.35 ± 38.33 <sup>**</sup>
	200	0.89 ± 0.28	1.97 ± 0.13 <sup>**</sup>	122.94 ± 28.90 <sup>*</sup>
	100	0.97 ± 0.28	2.41 ± 0.22 <sup>**</sup>	130.29 ± 16.55 <sup>*</sup>

与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.



黑色箭头-炎症细胞浸润; 黄色箭头-肺泡壁增厚, 肺泡结构间隔增大; 红色箭头-气管黏膜壁明显增厚; 蓝色箭头-上皮细胞广泛坏死脱落; 绿色箭头-嗜酸性黏液浸润。

Black arrow-inflammatory cell infiltration; Yellow arrow-thickened alveolar walls and increased alveolar structural intervals; Red arrow-tracheal mucosal wall is significantly thickened; Blue arrow-extensive necrosis and shedding of epithelial cells; Green arrow-cosinophilic mucus infiltration.

图 1 各组大鼠气管 (A)、肺 (B) 组织病理变化 ( $\times 200$ )Fig. 1 Histopathological changes in trachea (A) and lungs (B) of rats in various group ( $\times 200$ )

炎症减轻, 少量腺体扩张, 炎症细胞浸润情况得到不同程度的改善。

### 3.6 各组大鼠脾脏 Th1、Th2 含量

如图 2、表 6 所示, 与对照组相比, 模型组大

鼠 Th1 含量显著降低, Th2 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 地塞米松组和返魂草多糖高、中剂量组大鼠脾脏 Th1 含量显著升高, Th2 含量显著降低 ( $P < 0.01$ ); 返魂草多糖低剂量组大鼠脾脏

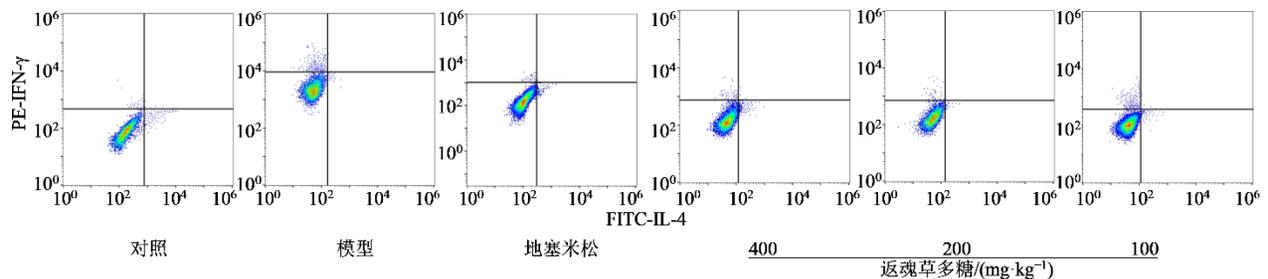


图 2 各组大鼠脾脏 Th1、Th2 含量

Fig. 2 Splenic Th1 and Th2 cell contents in rats of various group

表 6 各组大鼠脾脏 Th1、Th2 含量 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )  
Table 6 Splenic Th1 and Th2 cell contents in rats of various group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	Th1/%	Th2/%
对照	—	3.96 ± 0.57	1.40 ± 0.55
模型	—	0.99 ± 0.17 <sup>##</sup>	4.96 ± 0.53 <sup>##</sup>
地塞米松	—	3.12 ± 0.54 <sup>**</sup>	2.10 ± 0.54 <sup>**</sup>
返魂草多糖	400	2.94 ± 0.41 <sup>**</sup>	2.80 ± 0.23 <sup>**</sup>
	200	1.94 ± 0.45 <sup>**</sup>	3.40 ± 0.53 <sup>**</sup>
	100	1.52 ± 0.50	4.52 ± 0.77

与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。  
<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.

表 7 各组大鼠肺组织 PI3K、Akt、NF-κB p65 mRNA 含量( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 7 PI3K, Akt, and NF-κB p65 mRNA content in rat lung tissues of each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	剂量/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	PI3K/ $\beta$ -actin	Akt/ $\beta$ -actin	NF-κB p65/ $\beta$ -actin
对照	—	1.02 ± 0.07	1.05 ± 0.14	1.16 ± 0.12
模型	—	3.17 ± 0.27 <sup>##</sup>	2.75 ± 0.34 <sup>##</sup>	3.16 ± 0.55 <sup>##</sup>
地塞米松	—	1.28 ± 0.35 <sup>**</sup>	1.11 ± 0.17 <sup>**</sup>	1.69 ± 0.31 <sup>**</sup>
返魂草多糖	400	2.32 ± 0.54 <sup>**</sup>	1.29 ± 0.25 <sup>**</sup>	2.82 ± 0.33 <sup>*</sup>
	200	2.53 ± 0.46 <sup>*</sup>	1.68 ± 0.37 <sup>**</sup>	2.88 ± 0.36
	100	2.71 ± 0.46 <sup>*</sup>	1.83 ± 0.29 <sup>*</sup>	3.15 ± 0.51

与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。  
<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group.

### 3.8 各组大鼠肺组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、NF-κB p65、NF-κB p-p65 蛋白表达情况

如图 3 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-p65/p65 均显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 地塞米松组和返魂草多糖高剂量组大鼠肺组织 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、NF-κB p-p65/NF-κB p65 均显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 返魂草多糖中、低剂量组大鼠 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), NF-κB p-p65/NF-κB p65 降低, 但差异不显著。

## 4 讨论

支气管哮喘是以气道高反应性、气道重塑为主要病理改变的慢性炎症性呼吸系统异质性疾病, 疾病主要病理特征为气道慢性炎症损伤和黏液腺增生。哮喘发作时, 嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、肥大细胞、淋巴细胞等炎症细胞活化并向气道募集, 随后释放 IL-2、IL-4、TNF- $\alpha$  等, 与炎症细胞在气道及周围组织相互作用, 形成炎症网络, 反复刺激引发上皮细胞坏死脱落, 气道平滑肌细胞异常增殖, 基底膜增厚, 支气管弹性损伤等气道组织结构改变, 导致气道重塑、气道炎症反应和气道高反应

Th1 含量有所升高, Th2 含量有所降低, 但无显著性差异, 返魂草多糖对哮喘大鼠脾脏 Th1、Th2 含量的作用具有剂量相关性。

### 3.7 各组大鼠肺组织 PI3K、Akt、NF-κB p65 mRNA 表达情况

与对照组相比, 模型组大鼠肺组织 PI3K、Akt、NF-κB p65 mRNA 表达均显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 地塞米松组和返魂草多糖高剂量组大鼠肺组织 PI3K、Akt、NF-κB p65 mRNA 显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 返魂草多糖中、低剂量组大鼠肺组织 PI3K、Akt mRNA 显著降低 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), NF-κB p65 mRNA 均有所降低, 但差异不显著。见表 7。

性等病理损伤表现<sup>[9-12]</sup>。国内外关于支气管哮喘治疗的最新指南将糖皮质激素作为一线药物, 对哮喘症状加以控制, 但对其是否能够缓解气道炎症损伤, 逆转气道重塑尚存在争议, 其需要长期应用且不良反应难以控制, 用药安全无法保障, 基于此, 关于对哮喘气道炎症发病机制以及相关干预药物的开发尤为重要<sup>[13-15]</sup>。

哮喘在中医上被归纳为“哮喘”“喘证”的范畴, 其病机在于肺失宣肃, 当外邪犯肺, 致痰湿阻塞气道, 肺失宣降而上逆, 痰瘀互结而肺气不畅, 本着“治痰先治气”的理念, 提出宣肺降气、化痰平喘的治疗原则<sup>[16]</sup>。返魂草为菊科千里光属植物包括麻叶千里光(宽叶返魂草)及其变种单叶返魂草, 传统中药研究发现返魂草具有清热祛痰、活血消肿、镇咳平喘等功效, 在民间被广泛应用于急慢性支气管炎、喘息性支气管炎、急性呼吸道感染、肺内感染、病毒性感冒等疾病, 具有抗炎、止痛、散瘀等疗效<sup>[17-18]</sup>。有研究报道返魂草多糖可提高机体免疫功能<sup>[19]</sup>。目前, 以返魂草单一药材为原料制成的肺宁颗粒在治疗哮喘等方面效果显著, 销量逐年攀升。但目前肺宁颗粒治疗哮喘的具体机制尚不

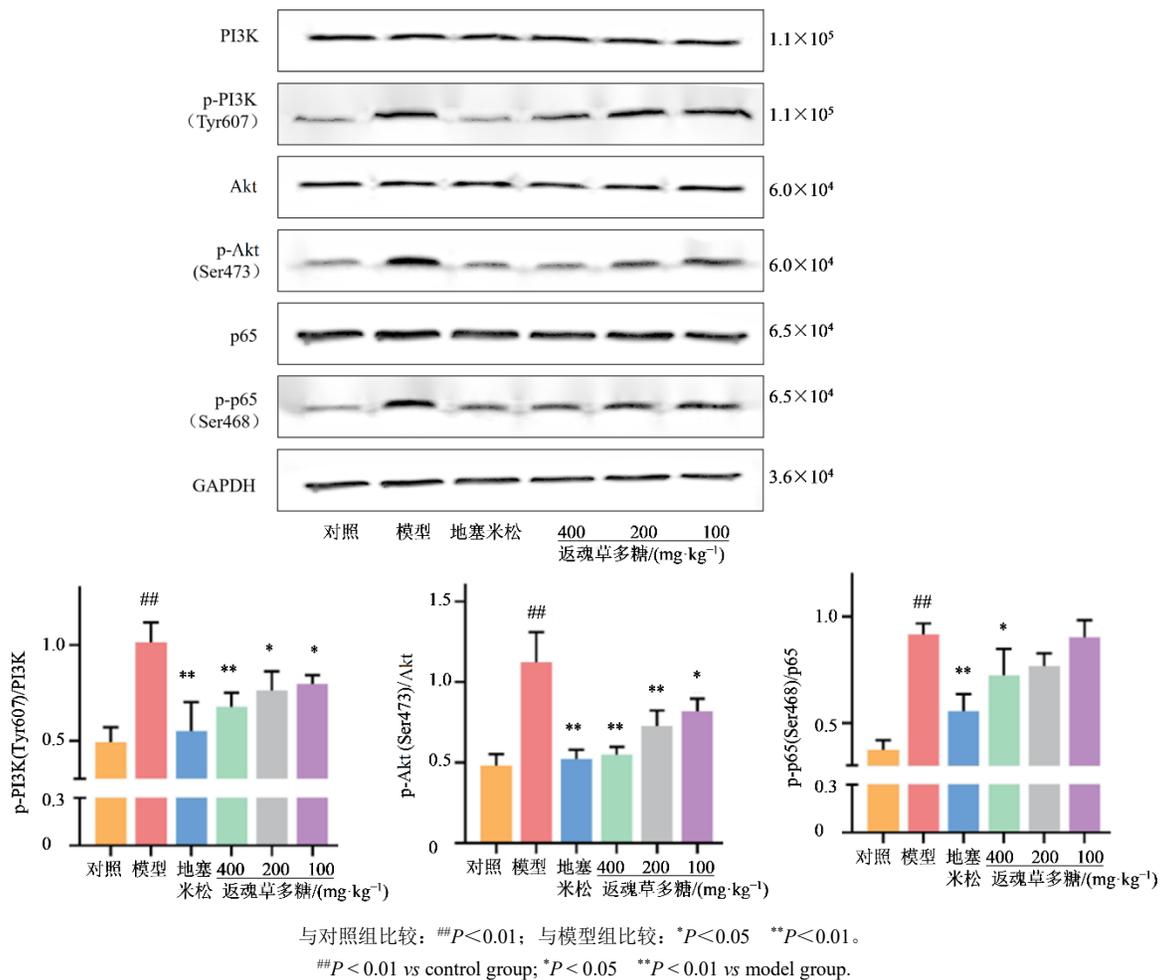


图 3 各组大鼠肺组织 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p-p65 蛋白表达情况 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )  
Fig. 3 Protein expression of p-PI3K, PI3K, p-Akt, Akt, NF- $\kappa$ B p65, NF- $\kappa$ B p-p65 in rat lung tissues of each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

清晰, 因此本研究对返魂草多糖对哮喘模型大鼠的治疗作用及具体作用机制进行了研究, 为返魂草及中药制剂肺宁颗粒在治疗呼吸系统疾病上的应用提供理论参考。

本研究通过 OVA 联合氢氧化铝佐剂复制大鼠哮喘模型, 收集肺泡灌洗液进行炎症细胞分类, 发现模型组大鼠嗜酸性粒细胞和中性粒细胞数量均增加, 说明模型大鼠气道及其周围肺组织有大量炎症细胞浸润, 伴随炎症反应发生。HE 染色观察到模型组大鼠气管组织炎症细胞大量浸润, 气管壁增厚, 气管黏膜上皮细胞坏死, 脱落, 固有层结缔组织排列松散无序, 部分分泌腺增生, 由此推测模型组大鼠气管存在炎症损伤情况, 气管形态结构出现改变。CRP 是急性时相反应蛋白, 当机体出现感染或炎症损伤, CRP 会在短时间内快速升高, 促进巨噬细胞吞噬, 激活补体, 在临床上也作为哮喘病程

中常见的非特异性炎症指标, 当患者机体存在炎症损伤, 血清 CRP 含量会异常升高, 导致患者气道高反应性, 加重夜间喘咳、胸闷气短等哮喘临床表现, 因而 CRP 可以直观的反映哮喘的严重程度<sup>[20-21]</sup>。在本次研究中, 哮喘大鼠血清 CRP 含量升高, 与以往研究结果一致<sup>[22]</sup>。基于上述结果, 模型组大鼠气道反应性升高, 气道表现出支气管哮喘的病理改变, 血清中炎症指标升高, 表明模型建立成功, 给予地塞米松和返魂草多糖进行干预, 大鼠气道反应性降低、BALF 嗜酸性粒细胞、中性粒细胞数量下降, 气管形态结构得到改善, 淋巴细胞浸润面积减小, 血清 CRP 含量下降, 且治疗效果与返魂草多糖给药剂量表现出明显相关性, 表明返魂草多糖可能通过降低气道高反应性、改善气道组织结构、减少炎症细胞募集、减少哮喘大鼠炎症损伤, 改善哮喘症状。

大量文献表明免疫系统失调是支气管哮喘主

要发病因素之一，其主要特征是 Th1/Th2 的失衡及 Th2 免疫优势，Th1、Th2 均由 Th0 分化而来，Th1 通过介导巨噬细胞上人类相关组织抗原 II 表达，介导细胞免疫，促进细胞毒性 T 细胞分离，参与迟发型超敏反应的发生；Th2 参与体液免疫，促进嗜酸性粒细胞募集，刺激 B 细胞分泌 IgG 和 IgE。Th1、Th2 之间相互抑制，防止单方面过度激活，而哮喘患者 Th0 向 Th2 优势转化，导致 Th1/Th2 失衡，炎症因子大量释放，最终在气道引起以嗜酸性粒细胞浸润为主的迟发型超敏反应发生<sup>[23-25]</sup>。IL-4 由 Th2 特异性分泌，介导 B 细胞产生 IgE 抗体，导致嗜酸性粒细胞数量增多，并诱导肥大细胞释放组胺、白三烯等炎症介质，抑制 Th1 激活的同时维持 Th2 增殖。IFN- $\gamma$  是 Th1 的特征性细胞因子，促进 Th0 向 Th1 转化，与 IL-4 相互拮抗，抑制嗜酸性粒细胞向炎症部位募集。以往研究表明哮喘患者 Th1 功能处于抑制状态，而 Th2 过度活化，由此引发气道炎症反应加重<sup>[26-28]</sup>。本次研究中哮喘模型大鼠脾脏 Th1 含量降低，Th2 含量升高，且血清 IgE、IL-4 含量及 IL-4/IFN- $\gamma$  均高于正常大鼠，血清 IFN- $\gamma$  低于正常大鼠，表明哮喘大鼠体内 Th1/Th2 失衡。Th2 过度活化，介导 IgE 抗体大量分泌，血清 IgE 含量升高，而 Th1 被抑制，导致血清中 IFN- $\gamma$  含量降低。IL-2 由 Th1 释放入血，刺激 T 细胞分泌 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等细胞因子，TNF- $\alpha$  作为多效性细胞因子，通过激活淋巴细胞和中性粒细胞，引发炎症因子的大量分泌，与此同时 IL-2 还会刺激 B 细胞增殖并分泌抗体，发挥 Th2 型细胞因子效应，因此 IL-2 对 Th1/Th2 平衡状态的调节发挥重要作用。有研究表明，哮喘患者外周血 IL-2 含量明显高于正常水平，而本次实验哮喘模型大鼠血清 IL-2 含量明显升高，与以往文献报道一致<sup>[29]</sup>。本实验中返魂草多糖降低哮喘大鼠血清 IL-2、TNF- $\alpha$  含量，表明返魂草多糖可能通过抑制 Th1 向外周血释放 IL-2，减少对 T 细胞的刺激，进而抑制 TNF- $\alpha$  分泌，结合流式分析结果，返魂草多糖通过改善大鼠脾脏 Th1/Th2 平衡状态，以此发挥抗哮喘作用。

以往研究表明哮喘患者气道炎症反应涉及 PI3K 和 MAPKs 信号传导途径<sup>[30]</sup>。PI3K/Akt 通路及其下游相关蛋白与气道炎症反应发生发展密切相关，该通路能促进 Th2 过度活化，进而引发气道炎症反应。NF- $\kappa$ B 作为炎症基因转录的重要促进因子，受到上游 PI3K/Akt 信号通路的调控，磷酸化 Akt 可

激活下游 p50-p65 (NF- $\kappa$ B) 转录入核，随后 NF- $\kappa$ B 主要以 p65 形式入核启动炎症相关基因的转录，进一步产生 IL-4、TNF- $\alpha$  等促炎因子，激活炎症细胞，引发气道炎症，通过抑制 PI3K/Akt 信号通路可以减少肺组织炎症细胞的浸润、胶原的大量沉积以及气道高反应性，缓解气道重塑<sup>[31-32]</sup>。本实验结果表明哮喘大鼠气管组织出现炎症细胞浸润，肺组织中 PI3K、Akt、NF- $\kappa$ B p65 mRNA 以及 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、p-p65/p65 蛋白表达均升高，提示 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 通路相关蛋白在哮喘大鼠肺组织活化，引发大鼠肺组织炎症损伤，而地塞米松、返魂草多糖组相比模型组大鼠肺组织 PI3K、p65 mRNA 表达降低，PI3K、Akt、p65 蛋白磷酸化程度降低，且返魂草多糖组的抑制作用表现出剂量相关性，表明返魂草多糖可能抑制 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 通路，减轻哮喘大鼠肺组织炎症反应。

返魂草多糖可能通过抑制 PI3K/Akt 通路和 MAPKs 信号通路 mRNA 表达和相关蛋白的磷酸化激活，进而阻止 NF- $\kappa$ B 磷酸化，抑制炎症相关细胞因子的释放，从而调整 Th1/Th2 平衡状态，抑制气道炎症反应和气道重塑，发挥抗哮喘作用。本研究通过炎症因子水平及其相关蛋白通路的表达在整体水平对返魂草多糖治疗支气管哮喘的药效加以研究，但并未在体外通过分子生物学相应手段对其 Th1/Th2 平衡状态进行进一步探索，有待深入研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Levy M L, Bacharier L B, Bateman E, et al. Key recommendations for primary care from the 2022 Global Initiative for Asthma (GINA) update [J]. NPJ Prim Care Respir Med, 2023, 33(1): 7.
- [2] 侯凡, 张明远, 闫永彬. 射干麻黄汤及其组分治疗哮喘的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(8): 162-167.  
Hou F, Zhang M Y, Yan Y B. Research progress of Shegan Mahuang decoction(射干麻黄汤) and its components treating asthma [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023, 41(8): 162-167.
- [3] 欧允裕, 乔赞. 中医外治法治疗哮喘慢性持续期的临床研究进展 [J]. 甘肃科技, 2022, 38(19): 97-99.  
Ou Y Y, Qiao Y. Progress of clinical research on treatment of chronic persistent of asthma by external treatment of traditional Chinese medicine [J]. Gansu Sci Technol, 2022, 38(19): 97-99.

- [4] 任燕群. 国医大师治疗支气管哮喘的经验挖掘和麻芍平喘方对 LPS 诱导的 16HBE 细胞自噬机制研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2023.  
Ren Y Q. Exploration of the experience of a master of traditional Chinese medicine in treating bronchial asthma and research on the autophagy mechanism of LPS-induced 16HBE cells with the Mashao Pingchuan Formula [D]. Hefei: Anhui University of Chinese Medicine, 2023.
- [5] 孙佳丹, 张治然, 王晓波. 返魂草主要成分及其提取物的药理作用研究进展 [J]. 解放军药学学报, 2016, 32(3): 266-268.  
Sun J D, Zhang Z R, Wang X B. Research progress on pharmacological effects of main components and extracts of *Senecio cannabifolius* [J]. Pharm J Chin People's Liberation Army, 2016, 32(3): 266-268.
- [6] 付蕾, 王宏, 赵慎谦. 自制缓解剂对哮喘小鼠气道重塑及 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的影响 [J/OL]. 中国免疫学杂志, 2023: 1-11. (2023-09-14) [2024-11-10]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20230914.0055.002.html>.  
Fu Q, Wang H, Zhao S Q. Effects of self-made relieving mixture on airway remodeling and PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in asthmatic mice [J/OL]. Chin J Immunol, 2023: 1-11. (2023-09-14) [2024-11-10]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20230914.0055.002.html>.
- [7] 王文洲, 高倩倩, 陈竹. 健脾泻肺化痰汤通过抑制 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号轴减轻幼龄哮喘大鼠气道炎症及黏液高分泌 [J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(9): 1108-1116.  
Wang W Z, Gao Q Q, Chen Z. Yunpi Xiefei Huatan decoction alleviates airway inflammation and mucus hypersecretion in young asthmatic rats via inhibiting PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2023, 43(9): 1108-1116.
- [8] 开沙尔江·麦提吐逊, 陈春丽, 娜迪热木·肖克拉提, 等. 阿里红调控 MAPK/NF- $\kappa$ B 信号通路对过敏性哮喘小鼠的影响及作用机制 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(14): 1554-1559.  
Kaishaerjiang M M T T X, Chen C L, NADIREMU Xiaokelati, et al. Effect of Fomes officinalis on regulating MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathway on allergic asthma in mice and its mechanism [J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(14): 1554-1559.
- [9] Trevor J L, Deshane J S. Refractory asthma: Mechanisms, targets, and therapy [J]. Allergy, 2014, 69(7): 817-827.
- [10] 刘礼荣, 符诒慧, 周黎明, 等. 抑制 HMGB1 对支气管哮喘小鼠气道炎症的影响及机制 [J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32(11): 1632-1637.  
Liu L R, Fu Y H, Zhou L M, et al. Effect and mechanism of inhibition of HMGB1 on airway inflammation in mice with bronchial asthma [J]. Chin J Nosocomiol, 2022, 32(11): 1632-1637.
- [11] 王志霞, 罗湘, 王利江, 等. 组蛋白去甲基化酶 KDM2A 在支气管哮喘大鼠气道炎症和气道重塑中的作用 [J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(4): 610-615.  
Wang Z X, Luo X, Wang L J, et al. The role of histone demethylase KDM2A on airway inflammation and airway remodeling in a rat asthma model [J]. Acta Univ Med Anhui, 2022, 57(4): 610-615.
- [12] 赵慧梅, 唐志书, 全心雨, 等. 五味沙棘散对卵清蛋白诱导的过敏性支气管哮喘大鼠的保护作用及机制 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4423-4433.  
Zhao H M, Tang Z S, Quan X Y, et al. Protective effect and mechanism of Wuwei Shaji Powder against ovalbumin-induced allergic bronchial asthma in rats [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(13): 4423-4433.
- [13] 郭秦星, 刘婉莹, 姚欣. 重症哮喘的治疗进展 [J]. 中国临床研究, 2023, 36(4): 487-491.  
Guo Q X, Liu W Y, Yao X. Advances in research on treatment of severe asthma [J]. Chin J Clin Res, 2023, 36(4): 487-491.
- [14] 张杰. 支气管哮喘治疗的相关研究进展 [J]. 中国城乡企业卫生, 2022, 37(12): 31-33.  
Zhang J. Related research progress in the treatment of bronchial asthma [J]. Chin J Urban Rural Enterp Hyg, 2022, 37(12): 31-33.
- [15] Devonshire A L, Kumar R. Pediatric asthma: Principles and treatment [J]. Allergy Asthma Proc, 2019, 40(6): 389-392.
- [16] 杨芳源, 曲妮妮. 基于“治痰先治气”理论治疗支气管哮喘探析 [J]. 云南中医中药杂志, 2023, 44(4): 14-18.  
Yang F Y, Qu N N. Analysis on the treatment of bronchial asthma based on the theory of “treating phlegm first treating Qi” [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med, 2023, 44(4): 14-18.
- [17] 刘岩. 返魂草的药理作用及东北地区人工栽培技术 [J]. 新农业, 2024(2): 22-23.  
Liu Y. Pharmacological function of *Senecio cannabifolius* and its artificial cultivation techniques in NorthEast China [J]. New Agric, 2024(2): 22-23.
- [18] 傅钰, 范红艳, 杨颖杰, 等. 返魂草提取物的药理作用研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2014, 35(4): 294-297.  
Fu Y, Fan H Y, Yang Y J, et al. Research progress on pharmacological effects of *Senecio cannabifolius* Less extract [J]. J Jilin Med Coll, 2014, 35(4): 294-297.
- [19] 周婷婷, 朱迪夫, 纪圣君, 等. 返魂草多糖中免疫增强

- 活性有效组分的筛选及表征 [J]. 中国药房, 2019, 30(4): 523-527.
- Zhou T T, Zhu D F, Ji S J, et al. Screening and characterization of effective components of immunopotentiating activity in *Senecionis cannabifolii herba* [J]. *China Pharm*, 2019, 30(4): 523-527.
- [20] 李惠娟, 许淑娟, 杨洋, 等. 支气管哮喘急性发作期患儿血清 CRP 水平及与 C-ACT 评分、肺功能相关性 [J]. 临床误诊误治, 2023, 36(6): 53-56.
- Li H X, Xu S J, Yang Y, et al. Serum CRP level and its correlation with C-ACT score and lung function in children with acute attack of bronchial asthma [J]. *Clin Misdiag Misth*, 2023, 36(6): 53-56.
- [21] 刘海红. 哮喘、慢阻肺及哮喘-慢阻肺患者血清中 IgE、CRP、IL-6 的比较及临床意义 [J]. 徐州医科大学学报, 2022, 42(1): 7-12.
- Liu H H. Comparison and clinical significance of serum IgE, CRP and IL-6 in patients with asthma, chronic obstructive pulmonary disease and asthma-chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Xuzhou Med Univ*, 2022, 42(1): 7-12.
- [22] 梁伟烽, 于海建, 王灿良, 等. 布地奈德对哮喘大鼠免疫功能、细胞炎症因子水平的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(15): 3644-3646.
- Liang W F, Yu H J, Wang C L, et al. Effects of budesonide on immune function and cytokine levels in asthmatic rats [J]. *Chin J Gerontol*, 2016, 36(15): 3644-3646.
- [23] 韦彦羽, 杜思思, 顾悻丰, 等. 宣肺平喘方对哮喘大鼠肺、肠组织病理形态变化及 Th1/Th2 影响的研究 [J]. 中国中医药科技, 2019, 26(6): 838-841.
- Wei Y Y, Du S S, Gu Y F, et al. Effects of Xuanfei Pingchuan Fang (宣肺平喘方) on pathological morphology changes of lung and intestinal in asthmatic rats and Th1/Th2 [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol*, 2019, 26(6): 838-841.
- [24] 王禹清, 张露, 郭松伟, 等. 宣白承气汤对痰热腑实型哮喘大鼠肺组织病理损伤及 Th1/Th2 失衡影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(2): 26-30.
- Wang Y Q, Zhang L, Guo S W, et al. Effect of Xuanbai Chengqi Decoction (宣白承气汤) on pathological damage and Th1/Th2 imbalance of lung tissue in asthmatic rats with phlegm-heat and excess of fu-organs [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2024, 26(2): 26-30.
- [25] 崔建茹, 孙美好, 王蓓蕾, 等. 抗敏止咳颗粒对哮喘小鼠 PI3K/Akt 通路和 Th1/Th2 的调控作用研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(7): 909-914.
- Cui J R, Sun M H, Wang B L, et al. Regulation of Anti-Allergic Anti-tussive Granules on PI3K/Akt pathway and Th1/Th2 in asthmatic mice [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med*, 2023, 32(7): 909-914.
- [26] 莫珍珍, 徐建, 周林华, 等. 槐杞黄颗粒对哮喘大鼠炎症因子调控作用的研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(14): 2064-2068.
- Mo Z Z, Xu J, Zhou L H, et al. Modulation of inflammatory factors in asthmatic rats by Huaiqihuang Granules [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2023, 39(14): 2064-2068.
- [27] 江庆, 赵军, 刘斌. 气管支气管恶性病变狭窄患者肺泡灌洗液中 TNF- $\alpha$  和 Th1/Th2 对再狭窄的预测价值 [J]. 中国急救医学, 2022, 42(11): 969-974.
- Jiang Q, Zhao J, Liu B. Predictive value of TNF- $\alpha$  and Th1/Th2 levels in alveolar lavage fluid for the restenosis in patients with malignant stenosis of Trachea and Bronchus [J]. *Chin J Crit Care Med*, 2022, 42(11): 969-974.
- [28] 华金双, 邵素菊, 王培育, 等. 逆针灸对过敏性哮喘大鼠血清 IL-2 含量及肺组织 GATA-3 蛋白表达的影响 [J]. 中医研究, 2020, 33(5): 63-67.
- Hua J S, Shao S J, Wang P Y, et al. Effect of acupuncture on serum IL-2 level and the expression of GATA-3 in lung tissue of allergic asthmatic rats [J]. *Tradit Chin Med Res*, 2020, 33(5): 63-67.
- [29] 李牧瑶, 陈晨, 郭旭冉, 等. 搜风愈喘方基于 ERK/p38MAPK 信号通路对支气管哮喘模型大鼠气道炎症的作用机制探讨 [J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(4): 487-493.
- Li M Y, Chen C, Guo X R, et al. Investigation on the mechanism of Soufeng Yuchuan recipe on airway inflammation in rats model of bronchial asthma based on ERK/p38MAPK signaling pathway [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2023, 34(4): 487-493.
- [30] Wang S Y, Wuniquemu T, Tang W F, et al. Luteolin inhibits autophagy in allergic asthma by activating PI3K/Akt/mTOR signaling and inhibiting Beclin-1-PI3KC3 complex [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94: 107460.
- [31] Xian Z M, Choi Y H, Zheng M Y, et al. Imperatorin alleviates ROS-mediated airway remodeling by targeting the Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2020, 84(5): 898-910.
- [32] Lin H Y, Xu L, Xie S S, et al. Mesenchymal stem cells suppress lung inflammation and airway remodeling in chronic asthma rat model via PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Int J clin ex Periment Pathol*, 2015, 8(8): 8958.