

金水宝片对 PM_{2.5} 致大鼠肺损伤的保护作用及其机制研究

夏 伟¹, 刘学武¹, 王小青¹, 陈志雄^{3*}, 信红亚^{1,2*}

1. 湖南省新药药效与安全性评价重点实验室, 湖南省药物安全评价研究中心, 湖南 长沙 410331

2. 中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410008

3. 江西省人民医院, 江西 南昌 330006

摘要: **目的** 观察金水宝片对 PM_{2.5} 致肺损伤大鼠的影响并对其机制进行研究。**方法** SD 雄性大鼠 60 只, 随机分为对照组、模型组及金水宝片低、中、高剂量 (0.225、0.450、0.900 g/kg) 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余各组大鼠气管滴注 PM_{2.5} (10 mg/kg) 混悬液染毒, 隔天 1 次, 一周 3 次, 连续 4 周, 制备大鼠肺损伤模型。染毒结束后, 除对照组、模型组外, 其余各组 ig 给予相应金水宝片药液, 1 次/d, 连续 14 d。观察各组大鼠一般状态; 检查用力肺活量 (FVC)、0.3 秒用力呼出量 (FEV_{0.3})、最大呼吸气流 (PEF); ELISA 法检测肺泡灌洗液 (BALF) 中白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、嗜酸性粒细胞 (EOS) 及肺脏匀浆中转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 的水平; HE 染色观察肺组织病理学改变; Western blotting 检测肺组织中蛋白激酶 B (Akt)、磷酸化-蛋白激酶 B (p-Akt)、基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) 以及人 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的表达。**结果** 与模型组比较, 中、高剂量金水宝片均能提高肺损伤大鼠的 FVC、FEV_{0.3}、PEF、FEV_{0.3}/FVC ($P < 0.01$), 降低 IL-6、TNF- α 、EOS、TGF- β 1 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 显著改善大鼠肺组织病理学变化, 降低大鼠肺脏中 p-Akt、MMP-9、 α -SMA 表达 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 金水宝片对 PM_{2.5} 导致大鼠肺损伤具有明显治疗作用, 其作用机制可能与金水宝片通过 PI3K/Akt 信号通路减少炎症反应, 延缓纤维化进展有关。

关键词: 金水宝片; PM_{2.5}; 肺损伤; 炎症因子; 肺功能; PI3K/Akt

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)13-3113-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.017

Protective effect and mechanism of Jinshuibao Tablets on lung injury induced by PM_{2.5} in rats

XIA Wei¹, LIU Xue-wu¹, WANG Xiao-qing¹, CHEN Zhi-xiong³, XIN Hong-ya^{1,2}

1. Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs & Hunan Provincial Research Center for Safety Evaluation of Drugs, Changsha 410331, China

2. Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

3. Jiangxi Provincial People's Hospital, Nanchang 330006, China

Abstract: **Objective** To observe the protective effect of Jinshuibao Tablets on lung injury of rats induced by particulate matter (PM_{2.5}), and investigate its mechanism. **Methods** A total of 60 healthy adult male SD rats were randomly divided into five groups, the control group, the model group and Jinshuibao Tablets (low, moderate and high-dose) groups that were administered with drug through gavage at the doses of 0.225, 0.450, and 0.900 g/kg body weight (BW), with twelve rats in each group. The blank group was treated with normal saline by intratracheal instillation, the other groups were exposed by intratracheal instillation of PM_{2.5} saline suspension with the dose of 10 mg/kg BW, repeated three times per week for four weeks. At the end of the exposure, the rats in each group except control and model groups were given Jinshuibao Tablets suspension with the doses of 0.225, 0.450, and 0.900 g/kg BW, repeated once a day for 14 d. The peak expiratory flow (PEF), forced vital capacity (FVC) and volume expired in first 30 ms of fast expiration (FEV_{0.3}) were measured, and the ratio of FEV_{0.3}/FVC was calculated. The collected bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was analyzed for the levels of interleukin-6 (IL-6), necrosis factor alpha (TNF- α), and eosinophils (EOS). The level of transforming

收稿日期: 2019-04-24

基金项目: 湖南省重点研究计划 (2018SK2115)

作者简介: 夏 伟 (1987—), 男, 硕士, 从事中药药理学与毒理研究。Tel: 13548618133 E-mail: xiawei@hnse.org

*通信作者 信红亚, 女, 主治医师, 研究方向为血液药理学。E-mail: xinhongya@163.com

陈志雄, 男, 副主任医师, 研究方向为内分泌与代谢。Tel: 13870889742 E-mail: bullyman97@163.com

growth factor- β 1 (TGF- β 1) was analyzed in lung homogenate. The histological changes of lung were observed. The protein kinase B (Akt), phosphorylation-protein kinase B (p-Akt), α smooth muscle actin (α -SMA) and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) of lung were assayed by western blotting. **Results** Compared to the model group, the PEF, FVC, FEV_{0.3} and FEV_{0.3}/FVC of the moderate and high-dose groups were significantly increased ($P < 0.01$), the levels of IL-6, TNF- α , EOS, TGF- β 1 in moderate and high-dose groups were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The pathological changes of the lungs in moderate and high-dose groups treated with Jinshuibao Tablets were obviously relieved. The expression of p-Akt, α -SMA, and MMP-9 in the moderate and high-dose groups were obviously reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** Jinshuibao Tablets has obvious antagonistic effect on PM_{2.5}-induced damage of rat respiratory system, and its regulation mechanism may be related to the reduction of inflammatory reactions and the delay of fibrosis progression through the PI3K/Akt signaling pathway.

Key words: Jinshuibao Tablets; PM_{2.5}; pulmonary injury; inflammatory factor; pulmonary function; PI3K/Akt

雾霾不仅对气候、环境、经济等方面造成严重影响,而且对人类健康也会产生严重的威胁^[1]。雾霾的主要成分为 PM_{2.5}, PM_{2.5} 是指空气动力学当量直径 $\leq 2.5 \mu\text{m}$ 的细颗粒物,能随人体呼吸气流进入呼吸道下段,如细支气管,并能穿过肺泡,沉积在肺脏内,对人们的健康产生直接影响^[2]。近年来研究发现,大气颗粒物可引发和加重多种呼吸系统疾病,直接引起咳嗽、呼吸困难、喘息等呼吸道症状,诱发或加重哮喘、支气管炎、肺脏损伤和/或纤维化、慢性阻塞性肺疾病等,对血液和生殖系统疾病也具有一定的影响^[3]。有效干预 PM_{2.5} 造成的健康风险已经成为我国医药研究领域的重大科学问题。金水宝方主要成分为发酵虫草菌粉,其化学成分与药理作用与天然虫草相似^[4]。目前应用于临床的有金水宝片和金水宝胶囊 2 种剂型。大量临床用药与理论研究证明,金水宝对呼吸系统、心血管系统、泌尿生殖系统以及免疫系统等均具有明显临床疗效^[5]。近年来有研究报道,金水宝可以延缓哮喘大鼠气道重塑的发生^[6],对尘肺大鼠具有改善全身及肺组织炎症反应、提高机体抗氧化应激能力,抵御肺组织纤维化的功效^[7],而其对 PM_{2.5} 引起的肺损伤的功效尚未见报道。本研究通过气管滴注 PM_{2.5} 生理盐水混悬液的方法制备肺损伤大鼠模型,并用金水宝片进行干预治疗,观察其对 PM_{2.5} 致肺损伤模型大鼠的影响,探究金水宝片对肺功能、机体炎症反应、炎症因子的影响,为临床防治 PM_{2.5} 致呼吸系统疾病提供一种新的治疗思路。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠,雄性,SPF 级,体质量 180~220 g,动物合格证号 43004700049843;购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,生产许可证号 SCXK(湘)2016-0002;在湖南省药物安全评价研究中心屏障环境饲养,使用许可证号 SYXK(湘)2015-0016。

1.2 药品与试剂

金水宝片(0.42 g/片,每片含有 0.25 g 发酵虫草菌粉,批号 180402),由江西济民可信金水宝制药有限公司提供;PM_{2.5} 混悬液自制(采集湖南省长沙市浏阳工业园区大气颗粒物 PM_{2.5},经超声震荡脱颗粒,滤过、冷冻、真空干燥处理,取粉末用 0.9%氯化钠溶液配制成 20 mg/mL 混悬液);大鼠白细胞介素-6(IL-6,批号 201809)、大鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,批号 201809)、大鼠转化生长因子- β 1(TGF- β 1,批号 201810)酶联免疫试剂盒均购自 Bio-Swamp 公司;蛋白激酶 B(Akt)抗体(货号 10176-2-AP)、磷酸化-蛋白激酶 B(p-Akt)抗体(货号 66444-1-Ig)、 β -actin(货号 60008-1-Ig)均购自美国 Proteintech 公司;基质金属蛋白酶 9(MMP-9,货号 ab38898)抗体、人 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)抗体(货号 ab215715)均购自英国 Abcam 公司。

1.3 仪器

TSP-PM_{2.5} 粉尘颗粒采集器 MJ-2200A(北京明杰蓝天科技有限公司);KQ-250GTDV 高频恒 SPD121P 真空浓缩仪(美国 Thermo 公司);BC-5000Vet 型兽用五分类血液细胞分析仪(深圳迈瑞公司);ML880/P 型多通道生理记录仪(澳大利亚埃德公司);Spectra Max i3x 型多功能酶标仪(奥地利美谷光子公司);DFC420C 病理成像系统(德国 Leica 公司);PowerPacTM Basic 电泳仪(美国 BIO-RAD 公司);JY04S-3C 凝胶成像分析系统(北京君意东方公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

雄性 SD 大鼠 60 只,按体质量随机分成 5 组,分别为对照组、模型组及金水宝片低、中、高剂量(0.225、0.450、0.900 g/kg)组,每组 12 只。除对照组外,其余各组大鼠按 0.5 mL/kg 经气管滴入

PM2.5 溶液 (20 mg/mL) 进行染毒, 对照组经气管滴注等体积 0.9% 氯化钠注射液, 隔天 1 次, 一周 3 次, 连续 4 周。各组大鼠于造模结束后, 每日给药前将金水宝片 (研磨成粉) 用蒸馏水配制成相应质量浓度药液, 金水宝片低、中、高剂量组按 10 mL/kg ig 给予相应药液, 对照组与模型组按 10 mL/kg ig 给予蒸馏水, 1 次/d, 连续 14 d。

2.2 肺功能检测

各组大鼠末次给药后称体质量, ip 20% 乌拉坦 1 000 mg/kg 麻醉, 剪开颈部皮肤, 钝性分离出气管, 于气管近头部处剪一纵横均约 1.0 mm 的 T 形切口, 行气管插管, 并用棉线固定, 转移大鼠至体描仪平台, 连接辅助呼吸机与气管接头, 记录大鼠用力肺活量 (FVC)、0.3 s 用力呼出量 (FEV_{0.3})、最大呼气气流 (PEF) 指标的变化, 计算 FEV_{0.3}/FVC 值。

2.3 肺泡灌洗液和肺组织匀浆中指标测定

剥离气管及肺脏, 结扎左主支气管, 经气管注入 0.9% 氯化钠注射液 7 mL 至右主支气管和右肺, 回收约 5 mL 灌洗液, 血液细胞分析仪检测大鼠肺泡灌洗液 (BALF) 中嗜酸性粒细胞 (EOS) 数目; 将 BALF 3 000 r/min 离心 15 min, ELISA 试剂盒检测 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平; 取部分左侧肺脏, 称质量后匀浆, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 采用 ELISA 试剂盒检测上清液中 TGF- β 1 水平。

2.4 肺组织病理学观察

取左肺上叶, 置于 10% 福尔马林固定液固定, 制成石蜡切片, 厚度为 5 μ m, HE 染色, 在光学显微镜下观察肺组织的病理改变。

2.5 肺脏组织中相关蛋白表达水平的测定

取右侧肺约 0.025 g, 用预冷 PBS 清洗组织, 加入 RIPA 裂解液 200 μ L 于匀浆器中反复研磨组织至看不见组织块, 冰上蛋白裂解 10 min, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min, 将离心后的上清分装转移至 0.5

mL 离心管中, 并进行蛋白定量。分别取 50 μ g 总蛋白上样, 进行凝胶电泳, 半干法转聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜, 以 5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h。用多克隆一抗 (兔抗大鼠 Akt、p-Akt、MMP-9、 α -SMA) 与 PVDF 膜 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗 3 次, 每次 15 min。室温孵育 HRP 标记的二抗 (Proteintech) 90 min, TBST 洗 3 次, 每次 15 min, ECL 化学发光法曝光扫描拍照, 用 quantity one 软件分析各组大鼠肺脏中 Akt、p-Akt、MMP-9、 α -SMA 的蛋白相对表达量, 并计算各组中相应蛋白与内参 β -actin 的相对比值。

2.6 统计学分析

数据采用 SPSS 16.0 软件分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间显著性差异比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 方差齐性者组间比较采用 LSD 检验, 不满足方差齐性者采用 Tamhane's T2 检验。

3 结果

3.1 对肺损伤大鼠一般体征的影响

与对照组比较, 模型组大鼠染毒后后期出现呼吸急促、活动减少、皮毛无光泽; 与模型组比较, 各给药组大鼠的活动状态明显增加, 呼吸症状明显缓解。

3.2 对肺损伤大鼠肺功能参数的影响

与对照组比较, 模型组大鼠的 FVC、FEV_{0.3}、PEF、FEV_{0.3}/FVC 显著减小 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金水宝片低剂量组大鼠的 FVC、FEV_{0.3}、PEF、FEV_{0.3}/FVC 无明显差异, 金水宝片中、高剂量组大鼠的 FVC、FEV_{0.3}、PEF、FEV_{0.3}/FVC 显著增加 ($P < 0.01$), 见表 1。

3.3 对肺损伤大鼠肺脏病理学改变的影响

如图 1 所示, 对照组肺脏组织切片可见肺泡壁结构正常, 间质未见炎症细胞浸润, 肺泡腔内未见明显的渗出物; 模型组可见脏局灶性肺泡腔变小、肺泡壁增生、肺泡完整性倍破坏, 周围大量炎症细胞浸润;

表 1 金水宝片对肺损伤大鼠肺功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of Jinshuibao Tablets on lung function in rats with lung injury ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	FVC/mL	FEV _{0.3} /mL	(FEV _{0.3} /FVC)/%	PEF/(L·min ⁻¹)
对照	—	5.69 $\pm$ 0.37	5.44 $\pm$ 0.29	95.80 $\pm$ 2.04	54.01 $\pm$ 3.47
模型	—	2.98 $\pm$ 0.37**	2.06 $\pm$ 0.36**	68.59 $\pm$ 3.48**	29.38 $\pm$ 3.44**
金水宝片	0.225	3.09 $\pm$ 0.32	2.17 $\pm$ 0.26	70.13 $\pm$ 2.95	28.61 $\pm$ 2.93
	0.450	5.40 $\pm$ 0.36 ^{##}	4.89 $\pm$ 0.20 ^{##}	90.78 $\pm$ 2.52 ^{##}	46.22 $\pm$ 3.11 ^{##}
	0.900	5.48 $\pm$ 0.34 ^{##}	5.00 $\pm$ 0.19 ^{##}	91.28 $\pm$ 2.40 ^{##}	48.90 $\pm$ 3.03 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$, 下同

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below

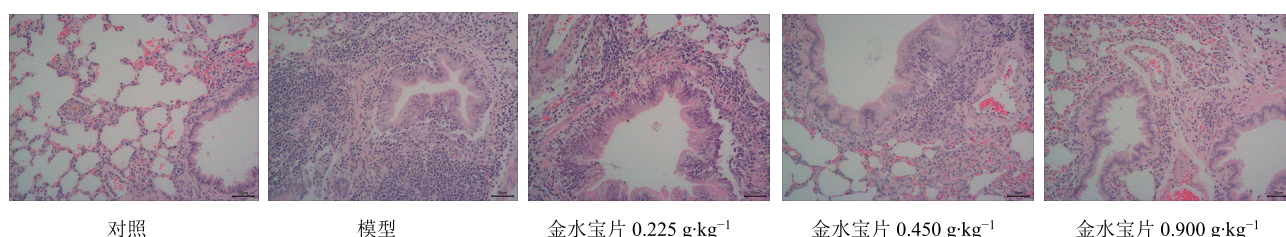


图 1 金水宝片对肺损伤大鼠肺脏病理学改变的影响 (HE, ×100)

Fig. 1 Effect of JinShuiBao Tablets on pathological changes of lung in rats with lung injury (HE, ×100)

金水宝片低剂量组可见肺泡壁增厚, 金水宝片中、高剂量组可见肺泡间隔增厚程度明显减少, 肺泡腔体积明显变大, 肺间质和肺泡腔内炎性细胞浸润明显减少。

3.4 对肺损伤大鼠 BALF 中炎症反应相关指标的影响

与对照组比较, 模型组大鼠 BALF 中 IL-6、TNF- α 、EOS 水平显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金水宝片低剂量组大鼠 BALF 中的 IL-6、TNF- α 、EOS 无明显差异, 金水宝片中、高剂量组大鼠 BALF 中 IL-6、TNF- α 、EOS 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 见表 2。

3.5 对肺脏纤维化相关指标的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肺组织匀浆中 TGF- β 1 水平以及 MMP-9 和 α -SMA 蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金水宝片低剂量组大鼠肺脏中的 TGF- β 1 水平以及 MMP-9 和

α -SMA 蛋白表达水平均无明显差异, 金水宝片中、高剂量组大鼠肺组织匀浆中的 TGF- β 1 水平以及 MMP-9 和 α -SMA 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.01$)。见表 3 和图 2。

3.6 对肺损伤大鼠肺脏 Akt 蛋白表达的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肺脏中 Akt 蛋白表达水平无显著变化, p-Akt 蛋白的表达水平显著增强 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 金水宝片低剂量组大鼠肺脏中 p-Akt 的蛋白表达水平无明显差异, 金水宝片中、高剂量组大鼠肺脏中 p-Akt 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。结果见图 3 和表 4。

4 讨论

空气中的 PM2.5 随人呼吸气流进入呼吸道, 并沉积在肺脏内, 对呼吸系统造成损伤^[2]。研究显示 PM2.5 对肺组织病理学影响主要表现为炎性改变, 严重者可引起肺纤维化, 肺间质有大量的炎性细胞浸润, 肺间隔增厚, 毛细血管受损, 细支气管和毛

表 2 金水宝片对肺损伤大鼠 BALF 中 EOS、IL-6、TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 2 Effect of Jinshuibao Tablets on EOS, IL-6, TNF- α in BALF of rats with lung injury ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	EOS/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)
对照	—	0.02 $\pm$ 0.01	39.99 $\pm$ 8.56	64.64 $\pm$ 12.81
模型	—	0.16 $\pm$ 0.06**	52.04 $\pm$ 4.76**	83.74 $\pm$ 3.28**
金水宝片	0.225	0.10 $\pm$ 0.04	49.60 $\pm$ 4.73	78.19 $\pm$ 7.79
	0.450	0.05 $\pm$ 0.02 ^{##}	43.48 $\pm$ 8.07 [#]	73.70 $\pm$ 8.17 [#]
	0.900	0.05 $\pm$ 0.02 ^{##}	43.25 $\pm$ 7.63 ^{##}	69.48 $\pm$ 10.34 ^{##}

表 3 金水宝片对肺损伤大鼠肺脏纤维化相关指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 3 Effect of Jinshuibao Tablets on related indexes of lung fibrosis of rats with lung injury ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TGF- β 1/(pg·mL ⁻¹)	MMP-9/ β -actin	α -SMA/ β -actin
对照	—	73.33 $\pm$ 9.77	0.15 $\pm$ 0.07	0.26 $\pm$ 0.07
模型	—	137.51 $\pm$ 28.05**	0.46 $\pm$ 0.06**	0.56 $\pm$ 0.05**
金水宝片	0.225	103.23 $\pm$ 23.22	0.40 $\pm$ 0.06	0.57 $\pm$ 0.10
	0.450	81.39 $\pm$ 6.54 ^{##}	0.23 $\pm$ 0.09 ^{##}	0.30 $\pm$ 0.10 ^{##}
	0.900	80.41 $\pm$ 8.25 ^{##}	0.17 $\pm$ 0.10 ^{##}	0.29 $\pm$ 0.09 ^{##}

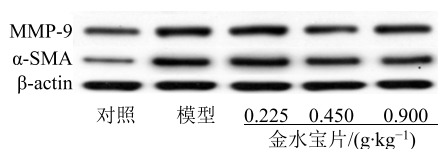


图 2 金水宝片对肺损伤大鼠肺脏中 MMP-9、 α -SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effect of Jinshuibao Tablets on protein expression of MMP-9 and α -SMA in lung of rats with lung injury ($\bar{x} \pm s, n = 12$)



图 3 金水宝片对肺损伤大鼠肺脏中 Akt、p-Akt 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 3 Effect of Jinshuibao Tablets on protein expression of Akt, p-Akt in lung of rats with lung injury ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

表 4 金水宝片对大鼠肺脏中 Akt 蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)
Table 4 Effect of Jinshuibao Tablets on Akt protein in rats with lung injury ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	Akt/β-actin	p-Akt/β-actin
对照	—	0.53 ± 0.04	0.15 ± 0.05
模型	—	0.62 ± 0.07	0.45 ± 0.05**
金水宝片	0.225	0.50 ± 0.15	0.41 ± 0.06
	0.450	0.50 ± 0.06	0.23 ± 0.08 ^{##}
	0.900	0.55 ± 0.15	0.18 ± 0.09 ^{##}

细血管周围亦有大量的炎性细胞浸润^[8]。本实验采用气管滴入 PM2.5 混悬液复制 PM2.5 致肺损伤模型，病理观察结果显示，与对照组比较，模型组动物肺脏组织中炎性细胞浸润严重，肺泡结构完整性被破坏，肺泡壁增等，提示造模成功。与模型组比较，金水宝片低剂量组可见肺泡壁增厚，金水宝片中、高剂量组可见肺泡间隔增厚程度明显减少，肺泡腔体积明显变大，肺间质和肺泡腔内炎性细胞浸润明显减少，这表明金水宝片明显缓解了 PM2.5 所致的病理损伤；与此同时，气道检测结果显示，金水宝片组的 FVC、FEV_{0.3}、PEF、FEV_{0.3}/FVC 均较模型组有明显上升，提示金水宝片具有增强肺损伤大鼠肺功能的作用。

研究发现，PI3K/Akt 信号传导通路在炎症的发

生、发展中起着至关重要的作用，PI3K 属于信号转导酶家族，Akt 是 PI3K 的下游产物，经信号传导后，通过活化肺泡上皮细胞释放多种炎症因子与促纤维化生成因子，如 TNF- α 、IL-6 以及 TGF- β 1、MMP-9 和 α -SMA 等。TGF- β 1 可加速成纤维细胞转化为肌成纤维细胞^[9]，同时大量炎症因子通过异常活化 α -SMA 诱导肺脏胶原沉积，促进肺纤维化形成^[10]。与此同时，MMP-9 可能通过降解肺组织中的弹性纤维造成肺组织弹性支持作用减低，而且 MMP-9 降解的细胞外基质片段对炎性细胞还有趋化作用，可放大肺组织局部的炎性反应，进一步加重肺实质的毁损^[11]。本研究结果显示，PM2.5 染毒大鼠 BALF 中 TNF- α 和 IL-6 的水平显著升高，肺脏组织中 TGF- β 1 的水平以及 MMP-9、 α -SMA 的蛋白表达均显著上升，金水宝片干预治疗后，大鼠肺脏组织中 TGF- β 1 的水平显著减少，MMP-9、 α -SMA 表达显著下降，BALF 中 TNF- α 和 IL-6 显著降低，提示金水宝片能够调控炎症因子的释放，减轻 PM2.5 所致的大鼠肺部炎性损伤，还能通过对 TGF- β 1、MMP-9、 α -SMA 的影响，调控肺脏损伤所致的肺纤维化进程。同时金水宝片还能显著降低模型大鼠肺脏中 p-Akt 蛋白表达，且上述炎症因子与纤维化因子的变化均与 p-Akt 的表达密切相关，提示金水宝片能通过 PI3K/Akt 信号传导通路影响 PM2.5 诱导的肺脏炎症反应和纤维化进程。

综上所述，金水宝片能改善肺脏通气功能，减轻肺脏病变，对 PM2.5 所致的呼吸系统损伤具有明显治疗作用，其作用机制可能与金水宝片通过 PI3K/Akt 信号传导通路减少炎症反应，延缓纤维化进展有关。

参考文献

- [1] Medina S. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: A European assessment [J]. *Lancet*, 2000, 356(9232): 795-801.
- [2] Heald C L, Kroll J H, Jimenez J L, et al. A simplified description of the evolution of organic aerosol composition in the atmosphere [J]. *Geophys Res Lett*, 2010, 37(8): 162-169.
- [3] Tsai S S, Chiu H F, Yang C Y. Short-term effects of fine particulate air pollution on hospital admissions for respiratory diseases: A case-crossover study in a tropical city [J]. *J Toxicol Environm Health Part A*, 2014, 77(18): 1091-1101.
- [4] 王林萍, 余意, 冯成强. 冬虫夏草活性成分及药理作

- 用研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(7): 132-136.
- [5] 钟丽萍. 金水宝的临床应用及作用机理探讨 [J]. 实用临床医学, 2001, 2(4): 99-100.
- [6] 王 尧, 况九龙. 金水宝对哮喘大鼠气道重塑、气道炎症及氧化应激水平影响的研究 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2009, 49(4): 27-31.
- [7] 刘 薇, 蒋舒凡, 涂 雷, 等. 金水宝胶囊对尘肺模型大鼠的改善作用及其机制 [J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(4): 476-482.
- [8] Wang C, Zeng L, Zhang T, *et al.* Tenuigenin prevents IL-1 β -induced inflammation in human osteoarthritis chondrocytes by suppressing PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. *Inflammation*, 2016, 39(2): 807-812.
- [9] Coffey E, Newman D R, Sannes P L. Expression of fibroblast growth factor 9 in normal human lung and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *J Histochem Cytochem*, 2013, 61(9): 671-679.
- [10] Pechkovsky D V, Hackett T L, An S S, *et al.* Human lung parenchyma but not proximal bronchi produces fibroblasts with enhanced TGF- β signaling and α -SMA expression [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43(6): 641-651.
- [11] Chetty A, Cao G J, Severgnini M, *et al.* Role of matrix metalloprotease-9 in hyperoxic injury in developing lung [J]. *Amer J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295(4): 584-592.