

神香草提取物改善慢性阻塞性肺疾病大鼠气道炎症及黏液高分泌的机制

艾来提江·艾克木江¹, 丁 曼², 谭 为³, 哈木拉提·哈斯木², 赵蓉蓉¹, 贺金华^{3*}, 李海芳^{4*}

1. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

2. 新疆维吾尔自治区药物研究院, 新疆 乌鲁木齐 830011

3. 新疆维吾尔自治区儿童医院, 新疆 乌鲁木齐 830054

4. 新疆维吾尔自治区药品检验研究院, 新疆 乌鲁木齐 830054

摘要: 目的 探讨神香草提取物对慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 大鼠气道炎症及黏液高分泌的影响, 并分析其潜在作用机制。方法 雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、氨溴索 (6.3 mg/kg) 组、鲜竹沥 (6.3 mL/kg) 及神香草提取物低、中、高剂量 (35、70、140 mg/kg) 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余各组均采用香烟烟雾暴露联合气道内脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 注入法建立 COPD 模型, 连续给药 18 d。观察大鼠一般状态, 检测每分钟通气量 (minute volume, MV)、吸气峰流速 (peak inspiratory flow, PIF)、呼气峰流速 (peak expiratory flow, PEF) 和呼气中期流速 (expiratory flow-50, EF50); 分别测定外周血和肺泡灌洗液 (bronchial alveolar lavage fluid, BALF) 中炎性细胞数量; ELISA 法检测肺组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、趋化因子 C-X-C 基序配体 1 (chemokine C-X-C motif ligand 1, CXCL1)、黏蛋白 5AC (mucin 5AC, MUC5AC) 水平; qRT-PCR 和 Western blotting 检测肺组织表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)/磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 通路相关基因及蛋白表达; 免疫组化法检测肺组织中 MUC5AC 表达。结果 与模型组比较, 神香草提取物组大鼠一般状态改善, 体质量显著升高 ($P < 0.05$), 肺功能指标显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 外周血和 BALF 中白细胞、中性粒细胞和巨噬细胞数量显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 肺组织中 TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.01$), 肺组织病理损伤减轻, 炎症浸润、胶原沉积及黏液分泌减少, 肺组织中 EGFR/PI3K 通路及黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1)、MUC5AC 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。结论 神香草提取物可有效缓解 COPD 大鼠气道炎症, 抑制气道黏液高分泌, 改善肺功能, 其作用机制可能与抑制 EGFR/PI3K 信号通路相关。

关键词: 神香草; 慢性阻塞性肺疾病; 慢性气道炎症; 黏液高分泌; 表皮生长因子受体/磷脂酰肌醇 3-激酶通路; 迷迭香酸
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)21-7819-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.21.015

Mechanism of *Hyssopus cuspidatus* extract on improving chronic inflammation and mucus hypersecretion in airways of rats with chronic obstructive pulmonary disease

AKIMJAN Hayratjan¹, DING Man², TAN Wei³, HASIM Halmirat², ZHAO Rongrong¹, HE Jinhua³, LI Haifang⁴

1. School of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

2. Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Materia Medica, Urumqi 830011, China

3. Children's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830054, China

4. Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute for Drug Control, Urumqi 830054, China

Abstract: Objective To investigate the effect of *Hyssopus cuspidatus* extract on airway inflammation and mucus hypersecretion in rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and explore its potential mechanism. **Methods** Male SD rats were randomly

收稿日期: 2025-07-11

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年基金项目 (2022D01B189); 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目 (2024B02023); 新疆维吾尔自治区药学会科研基金项目 (YXH202401)

作者简介: 艾来提江·艾克木江, 硕士研究生, 研究方向为中药民族药药效物质基础及作用机制。E-mail: altj1999@163.com

*通信作者: 贺金华, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药民族药药效物质基础及作用机制。E-mail: hejh1216@163.com

李海芳, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为药理毒理研究。E-mail: Lhfhr@163.com

divided into control group, model group, ambroxol (6.3 mg/kg) group, succus bambusae (6.3 mL/kg) group and *H. cuspidatus* extract low-, medium- and high-dose (35, 70, 140 mg/kg) groups, with 10 rats in each group. Except for the control group, COPD model was established by cigarette smoke exposure combined with intratracheal instillation of lipopolysaccharide, after continuous administration for 18 d, the general state of rats was observed, minute volume (MV), peak inspiratory flow (PIF), peak expiratory flow (PEF) and expiratory flow-50 (EF50) were measured. The numbers of inflammatory cells in peripheral blood and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined respectively. ELISA method was used to detect the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), chemokine C-X-C motif ligand 1 (CXCL1) and mucin 5AC (MUC5AC) in lung tissue. qRT-PCR and Western blotting were used to detect the expressions of genes and proteins related to the epidermal growth factor receptor (EGFR)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway in lung tissue. Immunohistochemistry was used to detect the expression of MUC5AC in lung tissue. **Results** Compared with model group, the general condition of rats in *H. cuspidatus* extract group was improved, body weight was significantly increased ($P < 0.05$), lung function indicators were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), the numbers of white blood cells, neutrophils and macrophages in peripheral blood and BALF were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), TNF- α level in lung tissue was significantly decreased ($P < 0.01$), pathological damage in lung tissue was reduced, inflammation infiltration, collagen deposition and mucus secretion were decreased, the mRNA and protein expression levels of EGFR/PI3K pathway, mucin 1 (MUC1) and MUC5AC in lung tissue were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). **Conclusion** *H. cuspidatus* extract could effectively alleviate airway inflammation in COPD rats, inhibit airway mucus hypersecretion, and improve lung function. Its mechanism may be related to the inhibition of EGFR/PI3K signaling pathway.

Key words: *Hyssopus cuspidatus* Boriss.; chronic obstructive pulmonary disease; chronic airway inflammation; mucus hypersecretion; epidermal growth factor receptor (EGFR)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pathway; rosmarinic acid

神香草为唇形科植物硬尖神香草 *Hyssopus cuspidatus* Boriss.的干燥地上部分, 主要含挥发油类、三萜类、黄酮类、酚酸类、多糖类等多种化学成分^[1], 具有清除异常黏液质、温肺平喘、祛寒止咳、燥湿祛痰、发汗解毒、消炎退肿等功效, 民间常用于治疗寒湿型及黏液质型呼吸系统疾病, 如寒性哮喘、感冒咳嗽、支气管炎和肺炎等^[2-3]。现代药理学研究也证实神香草具有解痉、镇咳、平喘作用^[4-5]。

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以持续性呼吸道症状和不可逆性气流受限为特征的慢性炎症性呼吸系统疾病, 其临床表现包括慢性咳嗽、咳痰、胸闷气喘等症状, 且病情呈进行性加重, 严重影响患者的生活质量^[6-7]。COPD 的主要病理生理特征为气道炎症和黏液高分泌, 其中气道黏液高分泌是导致病情加重及死亡的独立危险因素。研究表明, 气道黏液高分泌患者的死亡率是非黏液高分泌患者的 3.5 倍^[8-9]。此外, 吸烟和细菌/病毒感染已被证实是诱发气道炎症和黏液高分泌的重要危险因素, 可直接或间接导致 COPD 急性加重^[10]。目前临床上针对 COPD 气道黏液高分泌的常用治疗药物包括黏液调节剂与祛痰剂, 如鲜竹沥和盐酸氨溴索等。鲜竹沥作为一种传统中药祛痰剂, 具有明确的清热化痰功效, 能有效促进气道黏液排出, 改善呼吸道症状^[11]; 而氨溴索作为临床广泛应用的黏液溶解剂, 可通过

促进浆液分泌、调节黏液组分及增强纤毛运动等机制改善黏液清除功能, 已被多项临床与研究证实能够显著缓解 COPD 患者的气道黏液高分泌状态^[12-13]。将这 2 种机制明确、疗效确定的药物作为阳性对照药, 有助于科学评价神香草在干预 COPD 气道黏液高分泌方面的潜在效果。

近期研究发现, 神香草能显著改善香烟烟雾引起的小鼠肺损伤和炎症反应^[14-15], 但其对 COPD 状态下气道炎症及黏液高分泌的具体作用机制尚不明确。本研究旨在探讨神香草对 COPD 大鼠气道炎症及黏液高分泌的影响, 明确其在气道炎症和黏液高分泌中的干预效果, 并进一步分析相关分子机制, 从而为神香草治疗 COPD 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级昆明小鼠 20 只, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 购自新疆实验动物研究中心, 生产许可证号 SCXK (新疆) 2016-0001。动物随机分组, 常规饲养。本动物实验经新疆维吾尔自治区药物研究所实验动物伦理委员会审核批准 (批准号 XJIMM-20160912), 动物实验遵循动物伦理相关规定。

SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只, 4~5 周龄, 体质量 120~160 g, 购自新疆医科大学实验动物中心, 生产许可证号 SCXK (新疆) 2023-0001。动物饲养于温度 20~26 °C、相对湿度 30%~50%、12 h 光

照/黑暗循环的清洁级动物房内,自由进食饮水。本动物实验经新疆维吾尔自治区药物研究院实验动物伦理委员会审核批准(批准号 XJIMM-20240401),动物实验遵循动物伦理相关规定。

1.2 药品与试剂

神香草提取物(批号 20230826)由新疆维吾尔自治区药物研究院药物分析实验室制备;盐酸氨溴索口服液(批号 03123075)购自国药集团致君(深圳)坪山制药有限公司;鲜竹沥(批号 230620)购自四川天德制药有限公司;脂多糖(批号 L2880-100MG)购自美国 Sigma 公司;苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色液(批号 C231102、C220901)购自珠海贝索生物技术有限公司;过碘酸雪夫(periodic acid-schiff, PAS)染色液(批号 240008006)、马松三色(Masson)染色液(批号 240008007)购自北京索莱宝科技有限公司;肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、趋化因子 C-X-C 基序配体 1(chemokine C-X-C motif ligand 1, CXCL1)、黏蛋白 5AC(mucin 5AC, MUC5AC)ELISA 检测试剂盒(批号分别为 KD070340712402、KD041140712401、KD012940712501、KD052340712403)购自武汉瑞迪生物科技有限公司;RNA 提取试剂盒(批号 ET111)购自北京全式金生物技术有限公司;表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抗体(批号 ET1603-37)、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)抗体(批号 ET1608-70)、黏蛋白 1(mucin 1, MUC1)抗体(批号 ET1611-14)购自杭州华安生物技术有限公司;p-EGFR 抗体(批号 3777T)、p-PI3K 抗体(批号 4257T)购自赛信通(上海)生物试剂有限公司;MUC5AC 抗体(批号 20725-1-AP)购自武汉三鹰生物技术有限公司;HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(批号 210830106)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号 G8795)购自美国 Sigma 公司。

1.3 仪器

WBP 型 FinePointe™ 动物无创肺功能呼吸检测系统(美国 BUXCO 公司);XT-2000i 型全自动血细胞分析仪(日本希森美康株式会社);H1650RB 型高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公

司);JXFSTPRP-CL 型低温组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司);Np80 Touch 型超微量分光光度计(德国 Implen 公司);Cytation3 型多功能酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);QuantStudio™ 3 System 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher 科技公司);PowerPac HC 电泳仪、Semi-Dry Transfer Cell(美国 Bio-Rad 公司);VE-180 型垂直电泳槽(上海天能公司);DY-B1 型脱色摇床(上海青浦沪西仪器公司)。

2 方法

2.1 神香草提取物的制备及酚类和黄酮类成分含量测定

取神香草干燥地上部分 350 g,用 16 倍量的 50%乙醇加热回流提取,提取液减压浓缩干燥,得干浸膏,将干浸膏粉碎用水混悬,再用聚酰胺树脂进行分离纯化,将 40%乙醇洗脱液进行浓缩、干燥,即得神香草提取物。神香草提取物主要含迷迭香酸、咖啡酸、三裂鼠尾草素、金丝桃苷、木犀草素 7-*O*- α -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷、金合欢素、地奥司明、金合欢素 7-*O*- α -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷、3,4-二甲氧基肉桂酸等酚酸类和黄酮类成分,谱效关系分析结果显示迷迭香酸对抗炎作用贡献最大^[16-18]。

2.2 急性毒性实验

取昆明小鼠 20 只,雌雄各半,分为对照组和给药组,每组 10 只。实验前小鼠禁食 6 h,不禁水。给药组 ig 神香草提取物(12 g/kg, 1g 提取物相当于 62 g 生药),对照组 ig 蒸馏水。给药后对小鼠状态进行观察,包括体质量变化、饮食、外观行为、中毒反应、死亡等情况。第 15 天解剖小鼠,观察脏器变化^[18]。

2.3 动物分组、造模及给药

雄性 SD 大鼠适应性饲养 10 d 后,根据体质量随机分为对照组、模型组、氨溴索(6.3 mg/kg)组、鲜竹沥(6.3 mL/kg)组和神香草提取物低、中、高剂量(35、70、140 mg/kg)组,每组 10 只。除对照组外,其余各组采用香烟烟雾暴露联合气道内注入脂多糖的方法制备 COPD 大鼠模型。实验采用自制烟熏箱,每次放入 10 只大鼠,取 8 支香烟点燃,30 min/次,2 次/d,2 次间隔时间 $\geq$ 4 h,连续 68 d。于实验第 1、32 天,大鼠 ip 2%戊巴比妥钠溶液(3 mL/kg)麻醉,碘伏消毒颈部皮肤,剪开颈部皮肤,充分暴露气管,并向其内注入 1 mg/mL 脂多糖溶液

20 μL 后, 将大鼠快速直立旋转, 使脂多糖溶液能够均匀分布于肺组织内。术后大鼠保温苏醒, 正常饲养, 滴药日不熏烟。于第 51 天起, 各给药组 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 1 次/d, 连续给药 18 d。

2.4 大鼠一般状态观察

实验过程中, 观察各组大鼠的精神状态、饮食状况、活动度、皮毛状态, 同时观察大鼠是否出现咳嗽、气喘现象, 以及鼻尖黏膜是否有分泌物等状况。每 3 天称定大鼠体质量, 比较各组大鼠造模及给药期间的体质量变化。

2.5 肺功能检测

于实验第 68 天, 将大鼠放入动物无创肺功能呼吸检测系统附带的密闭容器内, 调整参数 (适应时间 5 min, 检测时间 3 min, 恢复时间 1 min), 监测并记录肺功能指标 [每分钟通气量 (minute volume, MV)、吸气峰流速 (peak inspiratory flow, PIF)、呼气峰流速 (peak expiratory flow, PEF) 和呼气中期流速 (expiratory flow-50, EF50)]。

2.6 外周血和肺泡灌洗液 (bronchial alveolar lavage fluid, BALF) 中炎性细胞数量的测定

末次给药 3 h 后, 大鼠 ip 2%戊巴比妥钠溶液麻醉后, 腹主动脉取血; 结扎右支气管, 抽取预冷的生理盐水注入气管内进行左肺灌洗, 得到 BALF。采用全自动血细胞分析仪测定外周血、BALF 中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞数量。

2.7 肺组织中炎症因子水平的测定

取各组大鼠肺组织, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测肺组织中 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 、 CXCL1 和 MUC5AC 水平。

2.8 肺部解剖学观察

将大鼠肺部连同气道完整取出, 用生理盐水冲洗残留肺部的瘀血, 观察各组大鼠完整肺组织的外观变化并拍照。

2.9 肺组织病理观察

2.9.1 HE 染色观察肺组织病理变化 取大鼠肺组织, 于 4%多聚甲醛中固定, 修块、乙醇脱水、石蜡包埋后切片, 经脱蜡、复水、苏木素染色、返蓝, 再以伊红染色、脱水、透明、中性树胶封固, 于光学显微镜下观察肺组织的病理损伤、炎性细胞浸润等情况。

2.9.2 Masson 染色观察气道壁胶原变化 将肺组织石蜡切片脱蜡至水后, 分别进行苏木素染色、酸

性乙醇分化、蓝化液返蓝、丽春红品红染色、磷钼酸染色、苯胺蓝染色、乙醇脱水、二甲苯透明后, 进行中性树胶封固, 于显微镜下观察厚胶原束的染色情况。

2.9.3 PAS 染色观察气道上皮黏液增生情况 将肺组织石蜡切片脱蜡至水后, 进行阿利新蓝染液染色、1%过碘酸水溶液氧化、Schiff 染色、苏木素染色、酸性分化液分化、Scott 蓝化液返蓝、无水乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封固后, 于显微镜下观察气道上皮黏液增生情况。

2.10 qRT-PCR 检测肺组织中 *EGFR*、*PI3K*、*MUC1*、*MUC5AC* mRNA 表达

取大鼠肺组织, 加入裂解液进行匀浆, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列 (5'-3')
<i>MUC5AC</i>	F: ACAACAGACAGACGTGACGG R: TCATGGTGAGCATCGCATA
<i>PI3K</i>	F: TATCCCTGTCTTGCCCTCGGA R: CCACACATTCCAGAGCACCT
<i>EGFR</i>	F: CCTATGGGCCAAAGATCCCA R: AGGTTCCACGAGCTCTCTCT
<i>MUC1</i>	F: CCTACCTACCACACTCACGG R: ATTGCCTGTGCAACCTCTT
<i>GAPDH</i>	F: GTCGGTGTGAACGGATTTGG R: CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT

2.11 Western blotting 检测肺组织中 *EGFR*、p-*EGFR*、*PI3K*、p-*PI3K*、*MUC1* 和 *MUC5AC* 蛋白表达

取大鼠肺组织, 按照 1:10 的比例加入裂解液进行匀浆, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液, 采用 BCA 法测定蛋白浓度后, 加入 5 $\times$ 还原型蛋白上样缓冲液, 金属浴中高温 10 min 使蛋白变性。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于 5%脱脂牛奶中封闭 2 h, 分别加入相应一抗 (1:1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; TBST 冲洗 3 次, 每次 10 min, 加入二抗 (1:5 000), 室温孵育 1 h。TBST 冲洗 3 次后, 加入 ECL 发光试剂进行显影处理, 通过化学发光成像系统观察蛋白条带, 并用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.12 免疫组化法观察气道上皮 MUC5AC 表达

取肺组织石蜡切片,滴加 MUC5AC 抗体(1:400),4℃孵育过夜;滴加 HRP 标记的山羊抗兔二抗,室温孵育 30 min。PBS 洗涤 3 次,DAB 显色,蒸馏水洗涤,苏木素轻度复染,脱水,透明并封片,于显微镜下观察气道上皮 MUC5AC 的阳性表达。

2.13 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析,组间样本比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 急性毒性实验结果

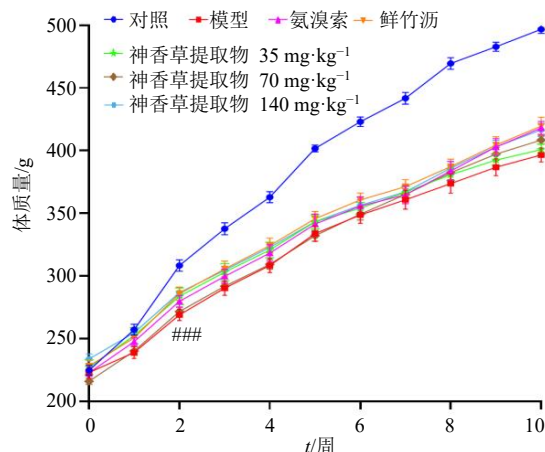
昆明小鼠 ig 神香草提取物(12 g/kg)后,连续 14 d 对小鼠状态进行观察,未见异常反应和死亡发生。第 15 天解剖小鼠,各脏器未见明显异常改变。

3.2 神香草提取物对 COPD 大鼠一般情况和体质量的影响

COPD 大鼠造模期间,精神萎靡,毛发发黄、失去光泽且粗糙,体质量下降,活动量减少,出现不同程度的咳嗽、喷嚏,严重者会有呼吸急促、口鼻分泌物增加的现象。药物干预 18 d 后,与模型组比较,氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组大鼠精神状态有明显的好转,毛色略有光泽,体质量均显著升高($P < 0.05$,图 1),咳嗽、喷嚏和气喘症状有所缓解。

3.3 神香草提取物对 COPD 大鼠肺功能的影响

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠 MV、PIF、PEF 和 EF50 显著降低($P < 0.001$);与模型组比较,氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物中、高剂量组大鼠 MV 显著升高($P < 0.01$ 、 0.001),氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组大鼠 PIF 和 EF50 显著升高($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),氨溴索



与对照组比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ $^{\#\#\#}P < 0.001$;与模型组比较: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$,下同。
 $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ $^{\#\#\#}P < 0.001$ vs control group; $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 1 神香草提取物对 COPD 大鼠体质量的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effect of *H. cuspidatus* extract on body weight of COPD rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组和神香草提取物高剂量组大鼠 PEF 显著升高($P < 0.05$ 、 0.001),表明神香草提取物可以有效改善 COPD 大鼠的肺功能。

3.4 神香草提取物对 COPD 大鼠外周血和 BALF 中炎性细胞数量的影响

如图 3 所示,与对照组比较,模型组大鼠外周血和 BALF 中白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞数量显著升高($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001);与模型组比较,氨溴索组和神香草提取物高剂量组大鼠外周血中白细胞和巨噬细胞数量显著降低($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物中、高剂量组大鼠外周血中中性粒细胞数量显著降低($P < 0.05$ 、 0.001),氨溴索组大鼠外周血

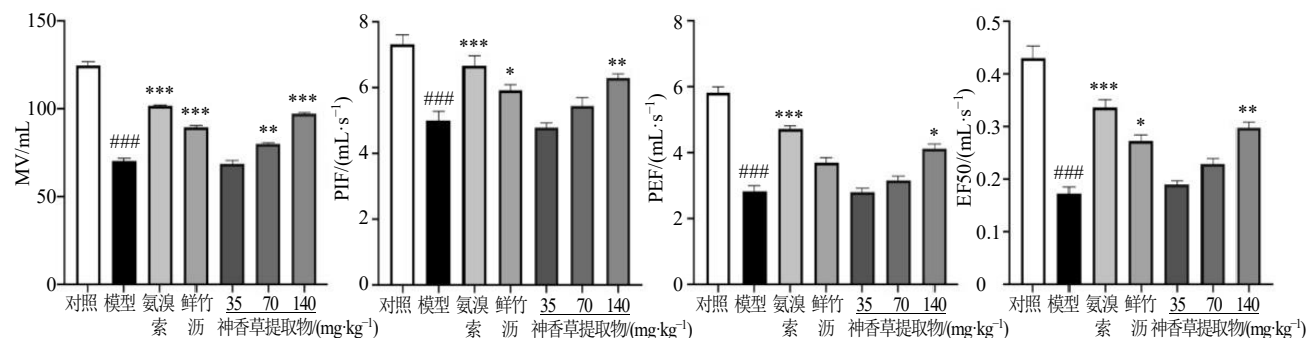


图 2 神香草提取物对 COPD 大鼠肺功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 2 Effect of *H. cuspidatus* extract on lung function of COPD rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

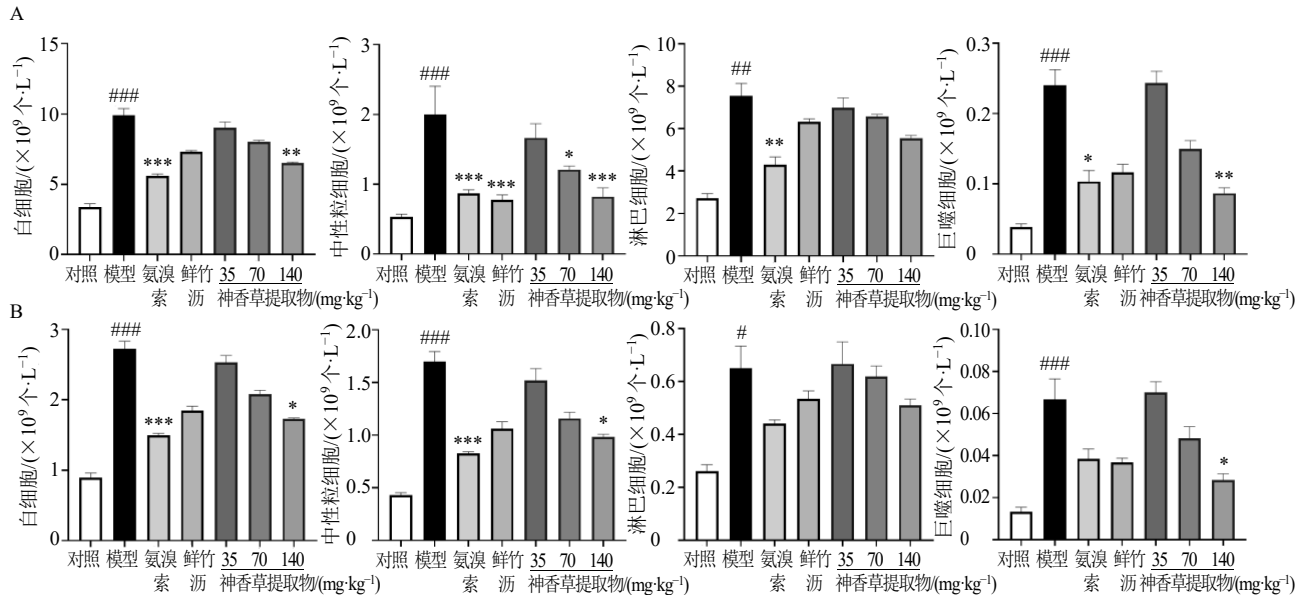


图3 神香草提取物对 COPD 大鼠外周血 (A) 和 BALF (B) 中炎性细胞数量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of *H. cuspidatus* extract on numbers of inflammatory cells in peripheral blood (A) and BALF (B) of COPD rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

中淋巴细胞数量显著降低 ($P < 0.01$), 氨溴索组和神香草提取物高剂量组大鼠 BALF 中白细胞、中性粒细胞和巨噬细胞数量均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.001), 表明神香草提取物可以有效减少 COPD 大鼠外周血和 BALF 中炎性细胞数量。

3.5 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织中炎症因子水平的影响

如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $CXCL1$ 和 $MUC5AC$ 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与模型组比较, 氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组肺组织中 $TNF-\alpha$ 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 神香草提取物中剂量组肺组织中 $MUC5AC$ 水平显著升高 ($P < 0.05$), 表明神香草提取物可以有效改善 COPD 大鼠炎症反应。

3.6 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织病理学变化的影响

3.6.1 肺部外观 如图 5 所示, 对照组大鼠肺组织表面光滑, 无明显皱缩, 颜色鲜红, 触感质地柔软; 模型组大鼠肺组织体积明显增大, 且颜色泛白, 组织明显皱缩坍塌, 触感质地僵硬; 与模型组比较, 氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组上述状况均有明显改善。表明神香草提取物可以有效改善 COPD 大鼠肺组织外观变化。

3.6.2 HE 染色结果 如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠气道上皮增厚, 肺泡大小不一, 排列紊乱, 细支气管黏膜皱壁增多、变长, 气管周围可见大量炎性细胞浸润; 与模型组比较, 氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组大鼠气道上皮病理损伤减轻, 肺泡结构相对完整, 细支气管黏膜皱

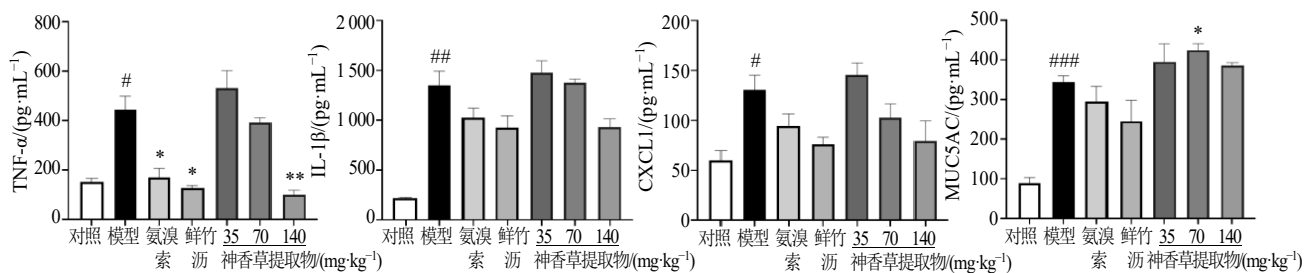


图4 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织中炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of *H. cuspidatus* extract on levels of inflammatory factors in lung tissues of COPD rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

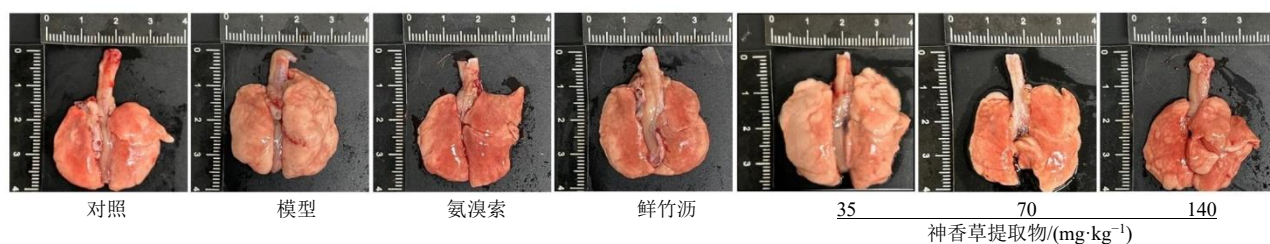


图 5 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织外观的影响

Fig. 5 Effect of *H. cuspidatus* extract on appearance of lung tissue in COPD rats

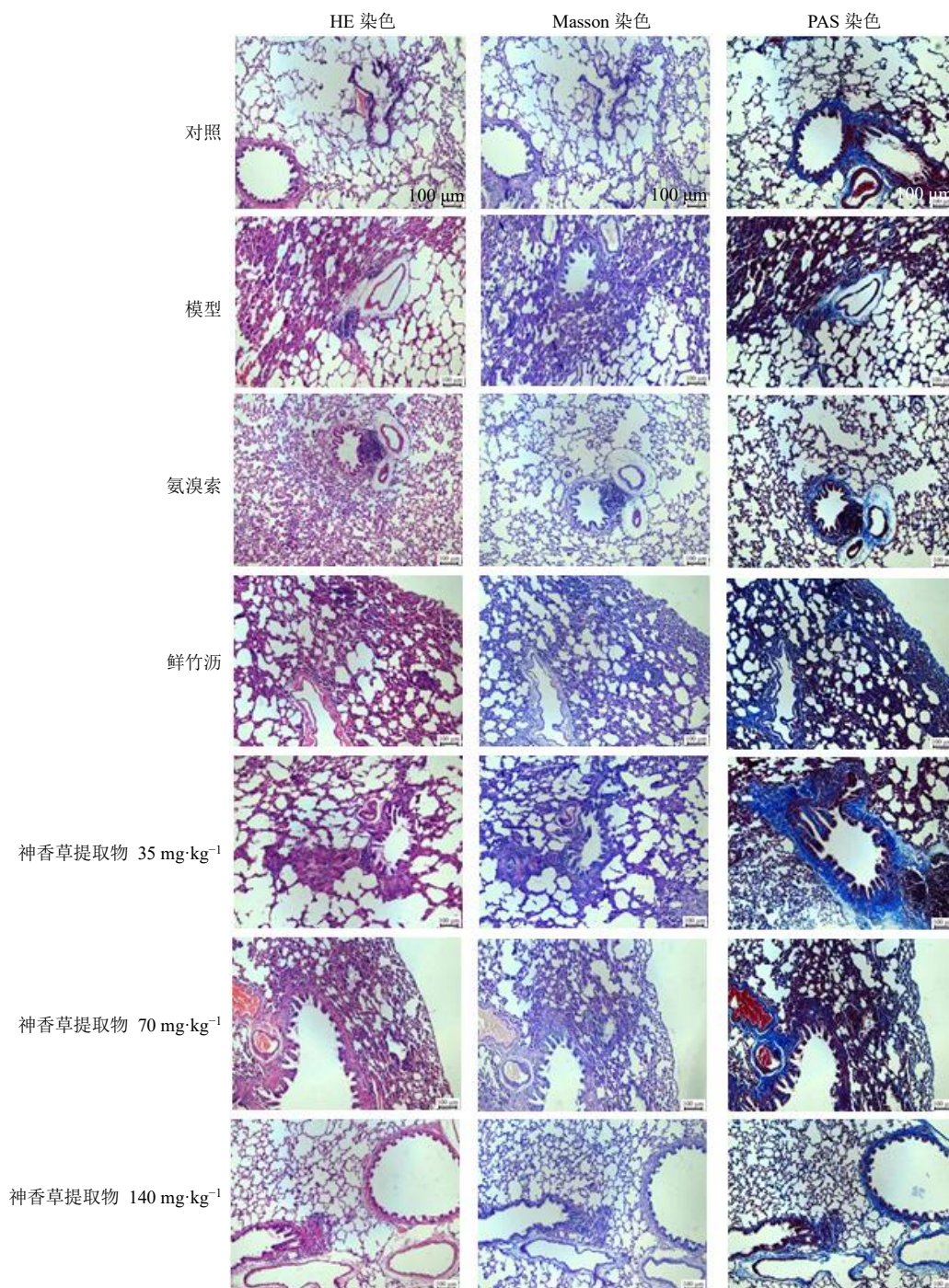


图 6 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织病理变化的影响 (×100)

Fig. 6 Effect of *H. cuspidatus* extract on pathological changes of lung tissues in COPD rats (×100)

壁轻度增多、变长,气管周围炎性细胞浸润明显减少。表明神香草提取物可以有效改善 COPD 大鼠炎症病理状态。

3.6.3 Masson 染色结果 如图 6 所示,与对照组比较,模型组大鼠气道壁厚度显著升高,纤维化程度增强;与模型组比较,氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组大鼠气道壁厚度均显著降低。表明神香草提取物可以有效抑制 COPD 大鼠气道壁胶原纤维化。

3.6.4 PAS 染色结果 如图 6 所示,与对照组比较,模型组大鼠气道上皮的蓝色杯状细胞增生显著增加,黏蛋白染色程度更为明显;与模型组比较,氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组大鼠气

道上皮杯状细胞增生显著减少,黏蛋白染色程度相对减轻。表明神香草提取物可以有效减少气道上皮杯状细胞增生和黏膜下层黏蛋白的分泌。

3.7 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织中 *EGFR*、*PI3K*、*MUC1*、*MUC5AC* mRNA 表达的影响

如图 7 所示,与对照组比较,模型组大鼠肺组织中 *EGFR*、*PI3K*、*MUC1* 和 *MUC5AC* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001);与模型组比较,氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物中、高剂量组大鼠肺组织中 *EGFR* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.001),各给药组 *PI3K*、*MUC1* 和 *MUC5AC* mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。

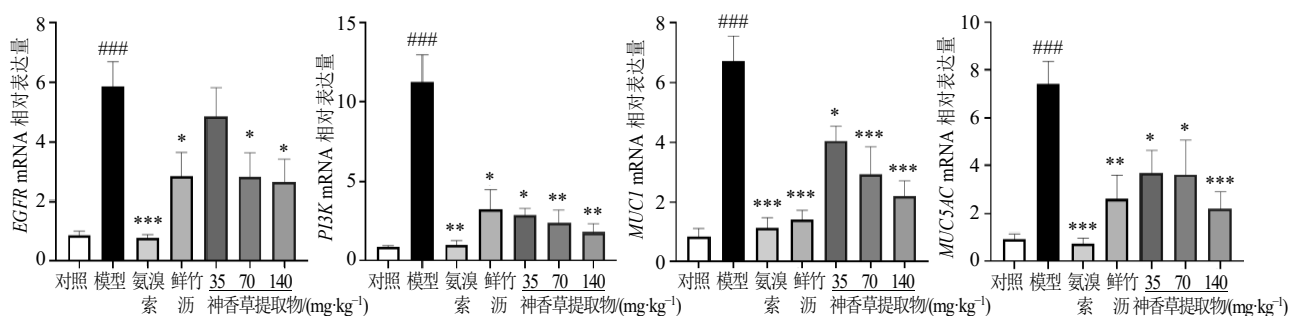


图 7 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织中 *EGFR*、*PI3K*、*MUC1*、*MUC5AC* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 7 Effect of *H. cuspidatus* extract on expressions of *EGFR*, *PI3K*, *MUC1* and *MUC5AC* mRNA in lung tissues of COPD rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.8 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织 *EGFR*、p-*EGFR*、*PI3K*、p-*PI3K*、*MUC1* 和 *MUC5AC* 蛋白表达的影响

如图 8 所示,与对照组比较,模型组大鼠肺组织中 *EGFR*、p-*EGFR*、*PI3K*、p-*PI3K*、*MUC1* 和 *MUC5AC* 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$);与模型组比较,神香草提取物各剂量组大鼠肺组织中 *EGFR*、p-*EGFR*、*PI3K*、p-*PI3K*、*MUC1* 和 *MUC5AC* 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.001$),表明神香草提取物可能通过抑制 *EGFR*/*PI3K* 通路,降低 *MUC5AC* 的表达,从而有效抑制 COPD 大鼠气道黏液高分泌。

3.9 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织 *MUC5AC* 表达的影响

如图 9 所示,与对照组比较,模型组大鼠气道上皮 *MUC5AC* 阳性表达显著升高;与模型组比较,氨溴索组、鲜竹沥组和神香草提取物高剂量组 *MUC5AC* 阳性表达均显著降低。表明神香草提取物能有效抑制 *MUC5AC* 的表达。

4 讨论

COPD 黏液高分泌是由大气道内杯状细胞和黏液腺增生及小气道内细胞化生形成,其本质是黏蛋白基因过度表达和黏液分泌细胞的过度增生,其中 *MUC5AC* 是人体呼吸道的主要分泌型黏蛋白,与杯状细胞化生密切相关^[19-21],而 *MUC1* 是一种高度糖基化的跨膜蛋白,近年来研究显示其参与多种肺部炎症疾病的病理进程,痰中黏蛋白可作为慢性支气管炎诊断的生物标志物和治疗靶点^[22-23]。*EGFR* 在气道黏液高分泌的信号转导通路中处于中心地位,多种刺激因素通过激活 *EGFR* 及其下游通路诱导杯状细胞增生,导致黏蛋白分泌过量。

本研究系统探讨了神香草提取物对 COPD 大鼠模型的治疗作用及其分子机制。结果显示,神香草提取物不仅能显著改善 COPD 大鼠的肺功能指标,减轻肺组织病理损伤,还能有效抑制气道炎症反应和黏液高分泌状态。在机制层面,研究发现神香草提取物通过下调 *EGFR*/*PI3K* 信号通路,减少促炎因子 *TNF-α*、*IL-1β* 和 *CXCL1* 的表达,同时降低

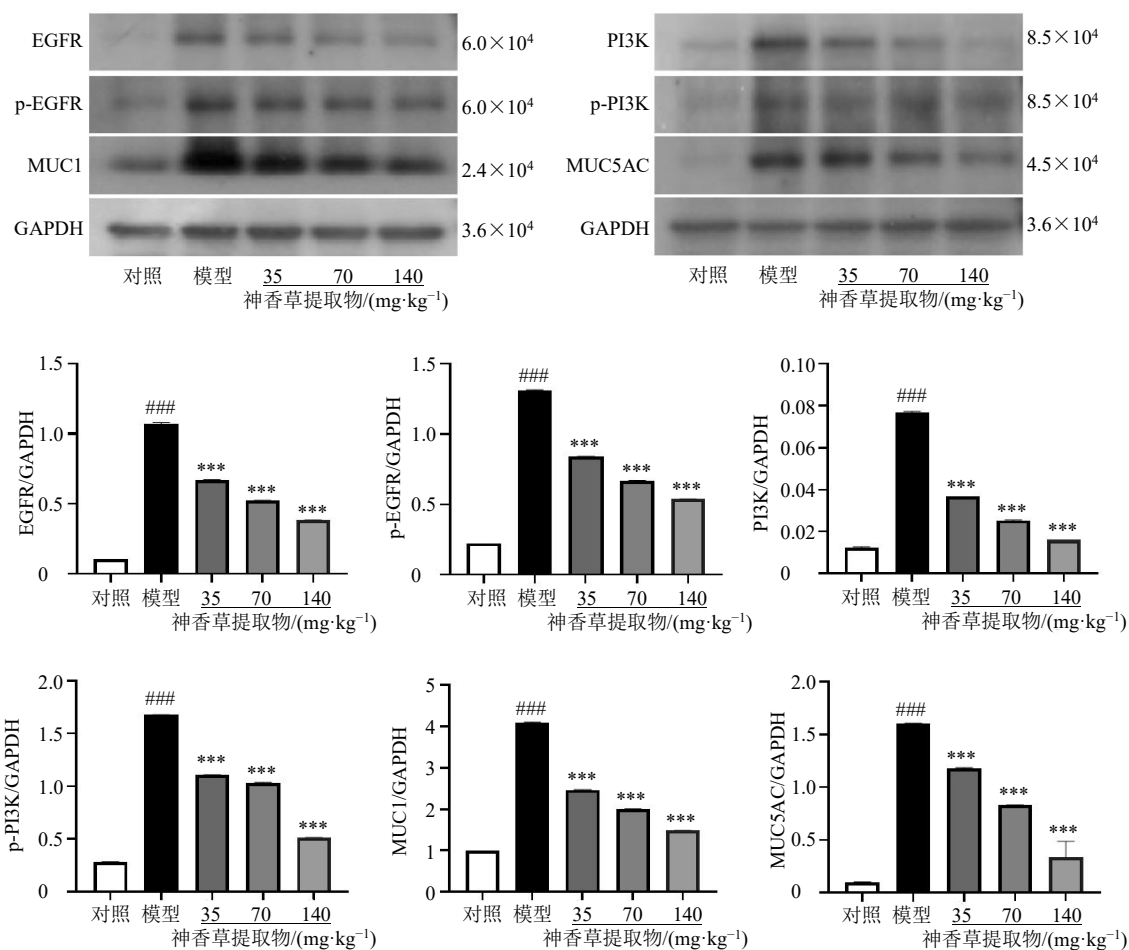


图 8 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织 EGFR、p-EGFR、PI3K、p-PI3K、MUC1 和 MUC5AC 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 8 Effect of *H. cuspidatus* extract on expressions of EGFR, p-EGFR, PI3K, p-PI3K, MUC1 and MUC5AC proteins in lung tissue of COPD rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

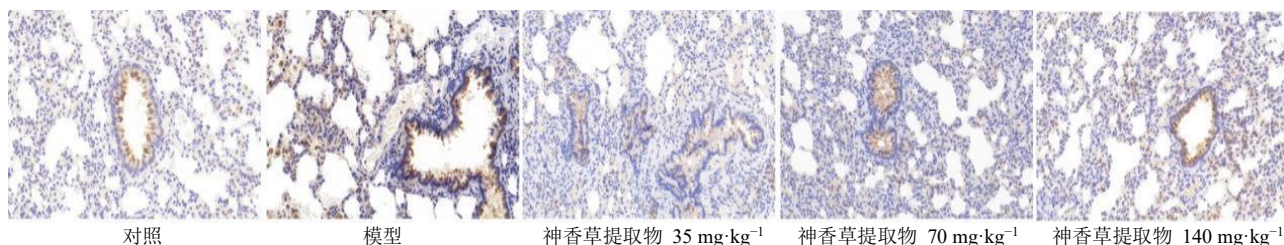


图 9 神香草提取物对 COPD 大鼠肺组织 MUC5AC 表达的影响 ($\times 100$)

Fig. 9 Effect of *H. cuspidatus* extract on MUC5AC expression in lung tissue of COPD rats ($\times 100$)

黏蛋白 MUC1 和 MUC5AC 的表达。这些发现与中医理论相吻合，证实了神香草治疗湿寒性喘病的科学价值，其温阳散寒、宣肺平喘的功效可能通过多靶点、多途径发挥作用。与临床常用药物氨溴索和鲜竹沥相比，神香草提取物在调节黏液分泌和抑制炎症反应方面表现出相似甚至更优的效果，这为开发新型 COPD 治疗药物提供了实验依据。

从现代医学角度分析，本研究深入阐释了

COPD 发病过程中气道炎症与黏液高分分泌的病理表征相互关系。香烟烟雾和脂多糖刺激通过激活 EGFR/PI3K 信号通路，引发以中性粒细胞、巨噬细胞浸润为主的炎症级联反应，导致杯状细胞增生和黏液分泌异常。神香草提取物的干预不仅抑制了这一通路的过度激活，还显著降低了相关炎症介质和黏蛋白的表达水平。本研究采用香烟烟雾暴露联合脂多糖气道内注入的方法构建 COPD 大鼠模型，较

好地模拟了人类 COPD 的病理特征,包括慢性气道炎症、气道重塑和肺气肿样改变,为评价药物疗效提供了可靠的实验平台。然而,本研究仍存在一定局限性,如未评估长期治疗效果及剂量相关性,且神香草提取物的作用可能涉及多靶点机制。未来研究需进一步验证其对 COPD 的长期疗效,深入探索 EGFR/PI3K 通路及其他相关信号途径的作用,并通过体外实验和临床样本完善机制研究。此外,神香草提取物与其他药物的联合应用潜力也值得探讨,以期 COPD 的综合治疗提供更多策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 顾政一. 维吾尔药现代化研究与应用 [M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2015: 404-408.
- [2] 国家中药管理局编委会. 中华本草 (维吾尔族药卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 295-297.
- [3] 刘勇民. 维吾尔药志-上册 [M]. 修订版. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999: 423.
- [4] 袁凤娟, 孙玉华, 哈木拉提·哈斯木, 等. 神香草不同洗脱物对豚鼠离体气管平滑肌收缩的影响 [J]. 中国药房, 2017, 28(13): 1790-1793.
- [5] 袁凤娟, 胡梦颖, 哈木拉提·哈斯木, 等. 神香草提取物防治支气管哮喘的作用机制 [J]. 中成药, 2017, 39(4): 809-812.
- [6] Lareau S C, Fahy B, Meek P, et al. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(1): P1-P2.
- [7] Negewo N A, Gibson P G, McDonald V M. COPD and its comorbidities: Impact, measurement and mechanisms [J]. *Respirology*, 2015, 20(8): 1160-1171.
- [8] Shen Y, Huang S, Kang J, et al. Management of airway mucus hypersecretion in chronic airway inflammatory disease: Chinese expert consensus (English edition) [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2018, 13: 399-407.
- [9] Kahnert K, Jörres R A, Behr J, et al. The diagnosis and treatment of COPD and its comorbidities [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2023, 120(25): 434-444.
- [10] Zhou J S, Zhao Y, Zhou H B, et al. Autophagy plays an essential role in cigarette smoke-induced expression of MUC5AC in airway epithelium [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310(11): L1042-L1052.
- [11] 危佳敏, 王蒙, 刘宗林, 等. 鲜竹沥治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期痰热壅肺证临床研究 [J]. 医师在线, 2025(7): 91-95.
- [12] 陈楠, 贾金广. 氨溴索纤维支气管镜灌注治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效观察 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(8): 815-817.
- [13] 劳新南, 梅伟强. 盐酸氨溴索片治疗慢性阻塞性肺病急性加重期 90 例临床疗效观察 [J]. 海峡药学, 2017, 29(3): 99-101.
- [14] 田戈, 姜敏, 王晶, 等. 维药神香草对 COPD 小鼠血清中 IL-13 和 IL-18 的影响 [J]. 中国药物经济学, 2013, 8(S2): 259-261.
- [15] 姜敏, 田戈, 王晶, 等. 维药神香草对 COPD 小鼠 Th1/Th2 和 Th17/Treg 平衡的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2013, 15(3): 591-594.
- [16] 毛艳, 贺金华, 铁偲, 等. 维药神香草聚酰胺树脂柱 40%乙醇洗脱物的成分分析及其对哮喘小鼠炎症的改善作用 [J]. 中国药房, 2017, 28(25): 3532-3535.
- [17] 戎晓娟, 康雨彤, 袁凤娟, 等. 神香草抗哮喘有效部位定性定量研究 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(8): 1437-1441.
- [18] Yuan F J, Liu R, Hu M Y, et al. JAX2, an ethanol extract of *Hyssopus cuspidatus* Boriss, can prevent bronchial asthma by inhibiting MAPK/NF- κ B inflammatory signaling [J]. *Phytomedicine*, 2019, 57: 305-314.
- [19] Alcântara A L, Pastana L F, Gellen L P A, et al. Mucin (MUC) family influence on acute lymphoblastic leukemia in cancer and non-cancer native American populations from the Brazilian Amazon [J]. *J Pers Med*, 2022, 12(12): 2053.
- [20] Ma J, Rubin B K, Voynow J A. Mucins, mucus, and goblet cells [J]. *Chest*, 2018, 154(1): 169-176.
- [21] Huang X, Guan W, Xiang B, et al. MUC5B regulates goblet cell differentiation and reduces inflammation in a murine COPD model [J]. *Respir Res*, 2022, 23(1): 11.
- [22] Kesimer M, Ford A A, Ceppe A, et al. Airway mucin concentration as a marker of chronic bronchitis [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(10): 911-922.
- [23] Merikallio H, Kaarteenaho R, Lindén S, et al. Smoking-associated increase in mucins 1 and 4 in human airways [J]. *Respir Res*, 2020, 21: 239.

[责任编辑 李亚楠]