

泽泻三萜对小鼠急性肺损伤的保护作用

黄小强^{1,2}, 李宣宣³, 吴水生², 刘顺和¹, 贾安¹, 许文^{2*}, 黄涛^{1*}

(1. 黄河科技学院医学院, 河南 郑州 450063; 2. 福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122; 3. 郑州市第二人民医院, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 研究泽泻三萜对脂多糖 (LPS) 诱导小鼠急性肺损伤的保护作用及机制。**方法** 将小鼠随机分为正常组, 模型组, 醋酸地塞米松组 (5 mg/kg), 泽泻三萜低、高剂量组 (25、100 mg/kg), 预防性给药 14 d, 每天 1 次, 末次给药 2 h 后, 正常组小鼠经鼻腔滴入 50 μ L 生理盐水, 其余各组均给予 50 μ L 含 10 μ g LPS 的生理盐水。ELISA 法检测小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平, 肺组织 MPO、SOD、GSH-Px 活性及 MDA、GSH 水平, 计算肺组织湿/干质量比, HE 染色观察肺组织损伤情况并评分, Western blot 法检测肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠湿/干质量比、MPO 活性及 MDA、TNF- α 、IL-1 β 水平升高 ($P<0.01$), GSH 水平及 SOD、GSH-Px 活性降低 ($P<0.01$), 肺损伤明显, 肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表达降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 醋酸地塞米松组和泽泻三萜高剂量组以上指标均有改善 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 泽泻三萜对 LPS 诱导小鼠急性肺损伤有一定的保护作用, 其机制与激活 Nrf2/HO-1 通路及调控 PPAR γ 蛋白表达有关。

关键词: 泽泻三萜; 急性肺损伤; 脂多糖; Nrf2/HO-1 通路; PPAR γ

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)09-2979-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.043

急性肺损伤是由心肺功能衰竭、氧化应激和急性炎症性疾病引起的感染性低氧所致的危及生命的临床综合征^[1-2], 其特征包括毛细血管内皮细胞、肺泡上皮细胞受损和肺间质、肺血管及肺泡内中性粒细胞数量的增加、聚集。急性肺损伤发病机制复杂, 发病率和死亡率一直居高不下^[3]。近年来, 急性肺损伤的治疗以通气或非通气为主, 但是这 2 种策略疗效并不理想, 因此, 研制有效治疗急性肺损伤的新药具有重要意义。

泽泻是一种常用的中药材, 为泽泻科植物东方泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 或泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn. 的干燥块茎, 其味甘、淡, 性寒, 具有利尿渗湿、泄热、化浊降脂功效, 泽泻三萜是其主要活性成分^[4-5]。现代药理学研究表明, 泽泻三萜具有广泛的药理作用, 如抗炎^[6]、抗氧化^[7]等。课题组前期通过体内实验证实泽泻三萜对急性肺损伤具有一定的保护作用^[8], 本研究在此基础上, 通过脂多糖 (LPS) 诱导建立小鼠急性肺损伤模型, 探讨泽泻三萜对急性肺损伤的保护作用与其抗氧

化、抗炎的相关性, 并初步阐明其作用机制。

1 材料

1.1 仪器 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); 光学显微镜、石蜡切片机 (德国 Leica 公司); 高速低温离心机 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 多用途中草药粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); 电热恒温培养箱 (上海一恒科技有限公司); 万分之一电子天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司]; 电泳仪、转膜仪、化学发光成像仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 试剂与药物 泽泻采收于福建省建瓯县, 经福建中医药大学药学院吴水生教授鉴定为泽泻科泽泻属植物泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 的干燥块茎。脂多糖 (LPS, 批号 S11060) 购自上海源叶生物科技有限公司; 醋酸地塞米松片 (Dex, 批号 1904091) 购自郑州遂成药业股份有限公司; 小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α , 批号 2005016)、小鼠白介素-1 β (IL-1 β , 批号 2008012) 酶联免疫吸附剂检测试剂盒均购自上海西唐生物科技有限公司;

收稿日期: 2021-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81872990); 福建省科技厅对外合作项目 (2019J0016); 福建省卫生健康委青年科研项目 (2019-1-66); 郑州市医药创新科技服务平台项目资助 (YYCXPT2016)

作者简介: 黄小强 (1988—), 男, 硕士, 讲师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。Tel: 15880081619, E-mail: 1427733452@qq.com

***通信作者:** 许文 (1986—), 男, 博士, 讲师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。Tel: 15806031248, E-mail: 245066288@qq.com

黄涛 (1974—), 男, 硕士, 教授, 从事中药药理学研究。Tel: 17396510659, E-mail: 502766852@qq.com

网络出版日期: 2021-10-20

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20211020.1301.004.html>

丙二醛 (MDA, 批号 190716)、总超氧化物歧化酶 (SOD, 批号 190419)、还原型谷胱甘肽 (GSH, 批号 190814)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px, 批号 190724)、髓过氧化物酶 (MPO, 批号 20200915) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 兔抗转录因子 NF-E2 相关因子 2 (Nrf2, 批号 sc-722, 1 000 μL /支)、兔抗血红素氧合酶 1 (HO-1, 批号 sc-1796, 1 000 μL /支)、兔抗过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ , 批号 sc-7273, 1 000 μL /支) 抗体均购自美国 Santa Cruz 公司; β -actin 抗体 (批号 AA128, 100 μL /支) 购自上海碧云天生物技术有限公司。其他试剂均为分析纯。

1.3 动物 SPF 级昆明小鼠 50 只, 体质量 18~20 g, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2018-0006, 实验动物使用许可证号 SYXK (闽) 2014-0005。饲养于福建中医药大学动物实验中心, 温度 21~23 $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 55%~75%, 12 h/12 h 明暗交替。小鼠适应性饲养 7 d 后, 开始正式实验。

2 方法

2.1 溶液制备

2.1.1 泽泻三萜提取物溶液 参考文献 [9] 报道, 将泽泻粉碎后过 24 目筛, 80% 乙醇煎煮 2 次, 每次 1 h, 合并 2 次滤液并浓缩, 采用 HP20 大孔树脂柱纯化, 浓缩洗脱液得油状浸膏, 即为泽泻三萜, 得率为 0.72%, 共检测出 14 种成分, 其总含量为 885.9 mg/g [10-11], 在 -20 $^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。精密称取适量至研钵中, 加入适量 0.5% CMC-Na 溶液充分研磨, 得到 0.01、0.002 5 g/mL 混悬液, 灌胃前进行充分混匀。

2.1.2 醋酸地塞米松溶液 取数片醋酸地塞米松片, 研成粉末, 加入生理盐水制成质量浓度为 0.000 5 g/mL 的溶液, 即得。

2.1.3 脂多糖溶液 精密称取 2 mg LPS 粉末, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 加适量生理盐水完全溶解后定容至 10 mL , 即得质量浓度为 0.2 mg/mL 的溶液, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下密封 (不宜长时间保存)。

2.2 分组、造模与给药 将小鼠随机分为正常组, 模型组, 醋酸地塞米松组 (5 mg/kg), 泽泻三萜低、高剂量组 (25、100 mg/kg), 每组 10 只。各给药组小鼠灌胃给予相应剂量药物 (10 mL/kg), 正常组和模型组小鼠灌胃给予等量 0.5% CMC-Na 溶液, 每天 1 次, 连续 14 d。末次给药后 2 h, 造模组小鼠采用鼻腔滴注法, 缓慢滴注 50 μL 含 10 μg LPS 的生理盐水, 正常组小鼠同法给予相同体积生理盐水 [12], 造模 12 h 后, 小鼠眼眶取血, 脱臼处死, 迅速取出肺组织, 保存备用。

2.3 肺组织湿/干质量比计算 切取小鼠右肺上叶, 剔除结缔组织, 滤纸吸干表面水分和血液, 称定质量, 作为肺组织湿质量, 随后置于恒温箱中, 在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下连续干燥 48 h 以上后取出, 称定质量, 作为肺组织干质量, 计算肺组织湿/干质量比 [13]。

2.4 试剂盒检测小鼠肺组织 MPO、GSH-Px、SOD 活性及

MDA、GSH 水平 剪取适量小鼠肺组织, 置于预冷的玻璃研磨器中, 加入预冷生理盐水, 并在冰水浴中研磨, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心 10 min , 吸取上清液, 分别制成 5%、10% 肺组织匀浆液, 按照试剂盒说明书检测肺组织 MPO、GSH-Px、SOD 活性及 MDA、GSH 水平。

2.5 酶联免疫吸附法小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平 小鼠血液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心 10 min , 分离取血清, 按照试剂盒说明书检测血清 TNF- α 、IL-1 β 水平。

2.6 小鼠肺组织病理学检查 切取小鼠右肺组织下叶, 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h, 蒸馏水冲洗至无多聚甲醛味, 常规梯度乙醇脱水, 包埋成蜡块, 切片 (5 μm), 在 65 $^{\circ}\text{C}$ 下烘干 2 h, 梯度乙醇洗脱, 二甲苯脱蜡, 苏木素-伊红染色, 封片, 晾干, 在光学显微镜下观察并拍照, 根据肺泡壁厚度、肺组织破坏、炎症细胞浸润情况进行评分 [14], 评分标准见表 1。

表 1 急性肺损伤评分标准

评分/分	肺组织受损情况	程度
0	肺组织正常	最小损伤
1	肺组织受损程度少于 25%	轻度损伤
2	肺组织受损程度 25%~50%	中度损伤
3	肺组织受损程度 50%~75%	重度损伤
4	肺组织受损程度超过 75%	最大损伤

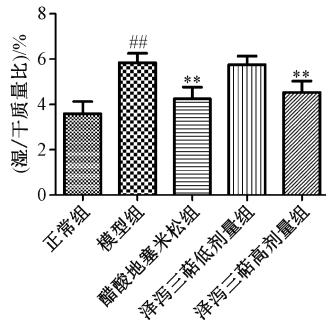
2.7 Western blot 法检测小鼠肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表达 取超低温保存的剩余小鼠肺组织, 采用液氮研磨法, 按照 1:10 比例加入 RIPA 裂解液和 PMSF 混合溶液 (100:1), 冰上匀浆后静置 30 min , 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 10 min , 分离取上清, 采用 BCA 蛋白定量检测试剂盒检测蛋白浓度, 通过加热变性制备蛋白样品, 配制 SDS-PAGE 凝胶, 蛋白样品上样, 电泳分离, 转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, TBST 缓冲液洗膜 3 次, 加一抗 (1:1 000) 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜, TBST 缓冲液洗膜 3 次, 加入二抗 (1:5 000) 室温孵育, TBST 缓冲液洗膜 3 次, ECL 发光液显影、曝光, 通过 Image Lab 软件对条带进行灰度值分析。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

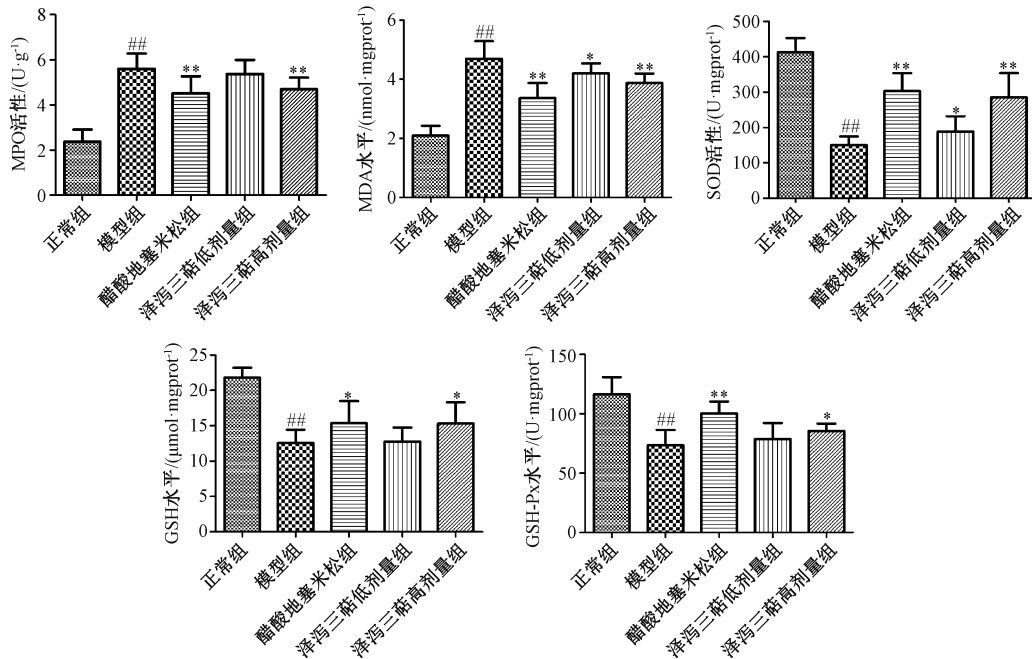
3.1 泽泻三萜对小鼠肺组织湿/干质量比的影响 与正常组比较, 模型组小鼠肺组织湿/干质量比值升高 (P<0.01); 与模型组比较, 醋酸地塞米松组和泽泻三萜高剂量组小鼠肺组织湿/干质量比值降低 (P<0.01), 见图 1。

3.2 泽泻三萜对小鼠肺组织 MPO、GSH-Px、SOD 活性及 MDA、GSH 水平的影响 与正常组比较, 模型组小鼠肺组织 MPO 活性、MDA 水平升高 (P<0.01), GSH 水平及 GSH-Px、SOD 活性降低 (P<0.01); 与模型组比较, 醋酸地塞米松组和泽泻三萜高剂量组小鼠肺组织 MPO 活性、



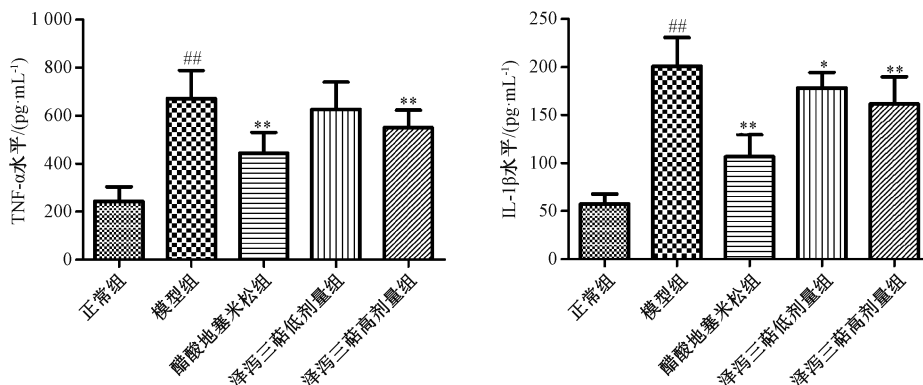
注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图1 泽泻三萜对小鼠肺组织湿/干质量比的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图2 泽泻三萜对小鼠肺组织 MPO、GSH-Px、SOD 活性及 MDA、GSH 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)



注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图3 泽泻三萜对小鼠血清 TNF-α、IL-1β 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

水肿及炎细胞浸润等病理现象；与正常组比较，模型组小鼠肺组织结构紊乱，肺泡间隔增厚，出现明显的炎性浸润

和间质水肿等病理现象，肺损伤评分升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，各给药组小鼠肺组织损伤均有不同程度的缓

解,以醋酸地塞米松组、泽泻三萜高剂量组更明显,表现为肺组织充血水肿减轻,出血减少,肺泡壁增厚程度减轻,炎性细胞浸润有一定程度减轻,肺损伤评分降低($P < 0.01$),见图4~5。

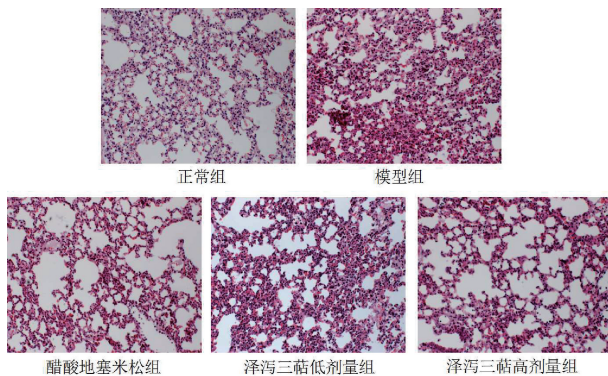
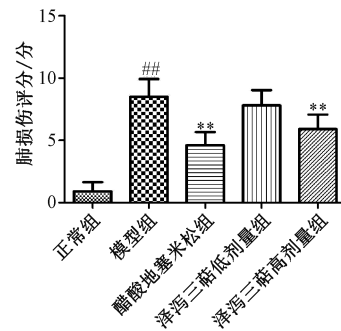


图4 各组小鼠肺组织病理形态(HE, $\times 200$)

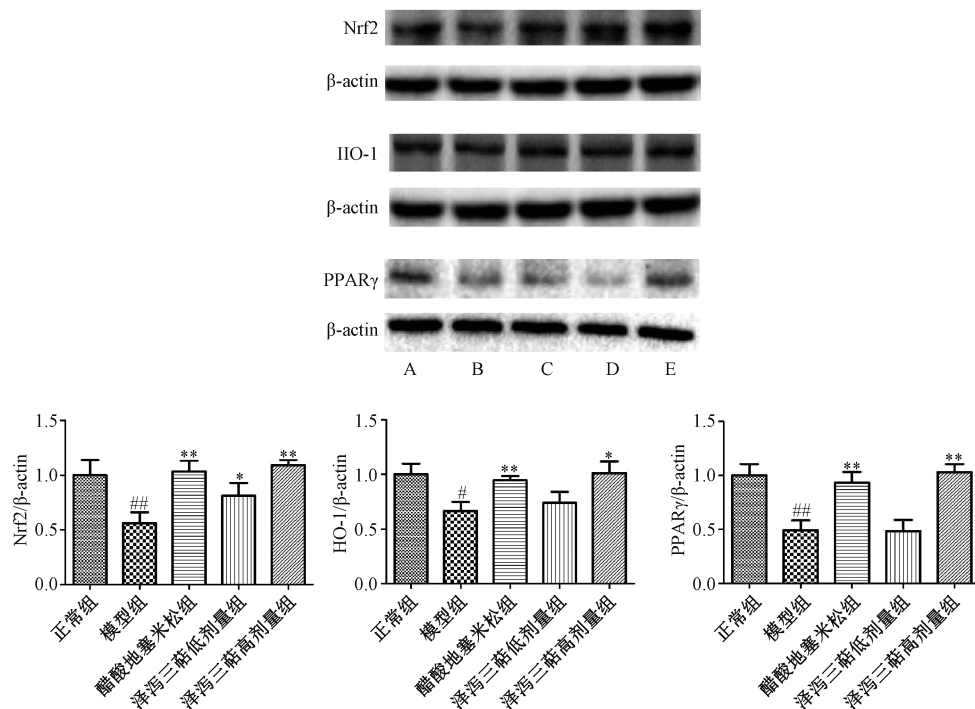
3.5 泽泻三萜对小鼠肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表



注:与正常组比较,## $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.01$ 。

图5 泽泻三萜对小鼠肺损伤评分的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

达的影响 与正常组比较,模型组小鼠肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表达均降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,醋酸地塞米松组和泽泻三萜高剂量组小鼠肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表达均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),泽泻三萜低剂量组小鼠肺组织 Nrf2 蛋白表达升高($P < 0.05$),见图6。



注: A~E 分别为正常组、模型组、醋酸地塞米松组及泽泻三萜低、高剂量组。与正常组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图6 各组小鼠肺组织 Nrf2、HO-1、PPAR γ 蛋白表达($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

4 讨论

脂多糖是革兰氏阴性菌细胞外壁的主要化学成分之一^[15],进入体内后能够引起肺泡上皮细胞受损、肺部结构和生理功能的改变,感染小鼠后能够建立急性肺损伤动物模型^[16]。急性肺损伤的主要病理学特征为肺泡水肿、通透性增加、肺组织微循环发生障碍,其中肺泡水肿程度的大小也能够反映肺损伤的严重程度^[17]。肺组织湿/干质量比值能客观反映毛细血管通透性的相对程度,同时也是反映

肺水肿的重要指标^[17-18]。当 LPS 刺激机体后,能够激活体内巨噬细胞,导致机体产生大量炎症因子,例如 TNF- α 、IL-1 β 等^[19],诱导中性粒细胞在肺间质和肺泡内聚集,从而导致一系列肺组织损伤,如血管充血、肺水肿、肺泡萎缩等。本研究结果显示,泽泻三萜对肺组织湿/干质量比值、MPO 活性及 TNF- α 、IL-1 β 水平均有调节作用,提示,泽泻三萜可通过抑制肺组织水肿, TNF- α 、IL-1 β 分泌及 MPO 活性缓解 LPS 诱导小鼠急性肺损伤作用。

氧化应激被认为是肺损伤的另一个重要原因,它不仅能直接诱导组织损伤,还能调节参与肺炎反应的通路,肺损伤患者和动物模型均出现严重的氧化应激,MDA水平升高^[20]。机体在氧化应激过程中会产生大量活性氧(ROS),能够对肺实质细胞造成一定程度的氧化损伤^[21]。研究报道,在急性肺损伤的发生发展全过程均有氧化应激反应伴随^[22]。ROS产生过多,可抑制氧自由基清除剂SOD活性及GSH水平,使脂质过氧化终产物MDA水平升高,损伤肺组织造成急性肺损伤的发生^[23]。

文献研究报道,泽泻三萜具有抗氧化作用^[24],但其是否对LPS诱导产生急性肺损伤引起的肺组织局部氧化应激反应具有调节作用,目前尚未报道。本研究结果显示,泽泻三萜能够降低小鼠肺组织MDA水平,同时升高SOD、GSH-Px活性及GSH水平,提示,泽泻三萜对急性肺损伤小鼠氧化应激反应具有一定调节作用。

Nrf2在调节MDA、SOD、GSH、GSH-Px过程中起着非常重要的作用^[25-26]。正常情况下,Nrf2与Keap1相结合,处于非活性、易降解的状态,当细胞受相关信号刺激时Keap1构象会发生改变或Nrf2直接被磷酸化,从而导致两者解离,Nrf2进入细胞核,并与ARE结合,激活ARE下游的抗氧化蛋白HO-1的表达,从而发挥抵抗体内外界的刺激^[25,27]。HO-1是机体调节氧化应激的重要因子,通过上调HO-1的表达,可以调节MDA、SOD、GSH和GSH-Px等表达,从调节氧化应激引起的损伤^[28]。增加Nrf2表达可降低机体抗氧化应激表达,从而对细胞产生保护作用^[29]。本实验结果显示,泽泻三萜能够上调小鼠肺组织Nrf2、HO-1蛋白表达,提示,泽泻三萜对急性肺损伤的保护作用与Nrf2/HO-1信号通路激活有关。

PPAR γ 具有促进自噬的作用^[30],激活PPAR γ 通路能够抑制炎症因子的分泌^[31-32]。本研究结果发现,泽泻三萜能够上调急性肺损伤小鼠肺组织PPAR γ 蛋白表达,提示,泽泻三萜能够通过激活PPAR γ 表达抑制炎症因子的分泌,从而起到保护急性肺损伤的作用。

综上所述,泽泻三萜对急性肺损伤小鼠有保护作用,一方面通过激活Nrf2/HO-1信号通路及调节机体氧化应激,从而减轻肺组织氧化损伤;另一方面,通过上调PPAR γ 蛋白表达抑制炎症因子TNF- α 、IL-1 β 产生,抑制炎症反应。

参考文献:

- [1] Meng X L, Hu L, Li W Q. Baicalin ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by suppressing oxidative stress and inflammation via the activation of the Nrf2-mediated HO-1 signaling pathway [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2019, 392(11): 1421-1433.
- [2] Zhang L M, Zhang J, Zhang Y, et al. Interleukin-18 binding protein attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice via suppression NF- κ B and activation Nrf2 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(3): 837-842.
- [3] Brandenberger C, Kling K M, Vital M, et al. The role of pulmonary and systemic immunosenescence in acute lung injury [J]. *Aging Dis*, 2018, 9(4): 553-565.
- [4] 刘珊珊, 郭杰, 李宗艾, 等. 泽泻化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(7): 1578-1595.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 239.
- [6] 杨利利, 蓝梦柳, 陈国翔, 等. 泽泻不同部位提取物体外抗氧化活性的比较研究 [J]. *福建中医药*, 2019, 50(5): 20-22.
- [7] 林娜, 黄锦芳, 张雪, 等. 泽泻总三萜的抗炎活性研究 [J]. *福建中医药*, 2018, 49(4): 68-69; 71.
- [8] 黄小强, 朱怀昌, 许文, 等. 泽泻总三萜对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的保护作用 [J]. *福建中医药*, 2020, 51(6): 37-39.
- [9] Huang M Q, Xu W, Wu S S, et al. A 90-day subchronic oral toxicity study of triterpene-enriched extract from *Alismatis Rhizoma* in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58(1): 318-323.
- [10] Zhao W L, Huang X Q, Li X Y, et al. Qualitative and quantitative analysis of major triterpenoids in *Alismatis Rhizoma* by high performance liquid chromatography/diode-array detector/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry and ultra-performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2015, 20(8): 13958-13981.
- [11] Zhang X, Li X Y, Lin N, et al. Diuretic activity of compatible triterpene components of *Alismatis Rhizoma* [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1459.
- [12] Jiang K F, Zhang T, Yin N N, et al. Geraniol alleviates LPS-induced acute lung injury in mice via inhibiting inflammation and apoptosis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(41): 71038-71053.
- [13] 王林, 李红波, 刘南, 等. 和厚朴酚对脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠的保护作用 [J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(6): 810-815.
- [14] Wolthuis E K, Vlaar A P J, Choi G, et al. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of pre-existing lung injury in healthy mice [J]. *Crit Care*, 2009, 13(1): R1.
- [15] Dong Y, Zhang L, Jiang Y, et al. Emodin reactivated autophagy and alleviated inflammatory lung injury in mice with lethal endotoxemia [J]. *Exp Anim*, 2019, 68(4): 559-568.
- [16] Smith P, Jeffers L A, Koval M. Effects of different routes of endotoxin injury on barrier function in alcoholic lung syndrome [J]. *Alcohol*, 2019, 80: 81-89.
- [17] Liu G, Zheng Q X, Pan K L, et al. Protective effect of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. ethanol extract on lipopolysaccharide induced acute lung injury in mice [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 235.
- [18] Störmann P, Lustenberger T, Relja B, et al. Role of biomarkers in acute traumatic lung injury [J]. *Injury*, 2017, 40(1): 2400-2406.
- [19] 郭苏兰, 李佳娜, 肖水秀. 阿里红多糖对用脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠肺组织的保护作用及相关机制 [J]. *当代*

- 医药论丛, 2019, 17(10): 127-130.
- [20] Ge X, Meng X L, Fei D S, et al. Lycorine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through the HMGB1/TLRs/NF- κ B pathway [J]. *3 Biotech*, 2020, 10(8): 369.
- [21] Qi D, Wang D X, Zhang C R, et al. Vaspurin protects against LPS-induced ARDS by inhibiting inflammation, apoptosis and reactive oxygen species generation in pulmonary endothelial cells via the Akt/GSK3 β pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(6): 1803-1817.
- [22] 陈向军, 谢永宏, 金发光. 氧化应激与急性肺损伤的研究进展[J]. 中华肺部疾病杂志 (电子版), 2014, 7(2): 206-208.
- [23] 马李杰, 李王平, 金发光. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征发病机制的研究进展[J]. 中华肺部疾病杂志 (电子版), 2013, 6(1): 65-68.
- [24] 毕丽伟, 庞海月, 陈煜沛, 等. 三种泽泻提取物的抗氧化活性及23-乙酰泽泻醇B表达的研究[J]. 化学与生物工程, 2021, 38(1): 34-37.
- [25] Velagapudi R, Kumar A, Bhatia H S, et al. Inhibition of neuroinflammation by thymoquinone requires activation of Nrf2/ARE signalling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 48: 17-29.
- [26] 吕莹, 郝尧坤, 张照兰. 槲皮苷通过Nrf2/HO-1通路抑制H₂O₂诱导人肝细胞L-02凋亡和损伤[J]. 中南药学, 2021, 19(1): 44-50.
- [27] Ahmed S M U, Luo L, Namani A, et al. Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(2): 585-597.
- [28] 王甜甜, 陈淳媛, 杨雷, 等. Nrf2/HO-1信号轴在氧化应激性疾病中的机制[J]. 中南大学学报 (医学版), 2019, 44(1): 74-80.
- [29] 曲敬蓉, 张艳艳, 宿宏佳, 等. 黄芪多糖激活Nrf2/HO-1信号通路改善模型大鼠糖尿病性肝损伤[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(10): 1422-1427.
- [30] Ji J, Xue T F, Guo X D, et al. Antagonizing peroxisome proliferator-activated receptor γ facilitates M1-to-M2 shift of microglia by enhancing autophagy via the LKB1-AMPK signaling pathway [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(4): e12774.
- [31] 史婧, 关键. PPAR γ 相关自噬在急性肺损伤中的作用机制研究[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(12): 1817-1821.
- [32] He J, Qi D, Tang X M, et al. Rosiglitazone promotes ENaC-mediated alveolar fluid clearance in acute lung injury through the PPAR γ /SGK1 signaling pathway [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 35.

鹿茸大补汤对支气管哮喘豚鼠的作用机制

金丽娜, 姜京植, 宋艺兰, 李良昌, 延光海, 孟庆玲, 李欢, 郑明显*
(延边大学医学院, 吉林省过敏性常见疾病免疫与靶向研究重点实验室, 吉林 延吉 133002)

摘要: **目的** 探究鹿茸大补汤对支气管哮喘豚鼠的作用机制。**方法** 将豚鼠随机分成正常组, 模型组, 鹿茸大补汤低、高剂量组, 地塞米松组。通过致敏激发建立哮喘模型。取豚鼠肺组织, 采用HE、PAS、Masson染色观察病理改变, ELISA法检测肺泡灌洗液(BALF)炎症细胞种类及水平, 免疫组织化学染色观察ULK1蛋白表达, Western blot检测LC3-II、LC3-I、ULK1、Beclin-1蛋白表达, 免疫荧光法检测ULK1、LC3表达的荧光强度。**结果** 与正常组比较, 模型组豚鼠BALF炎症细胞数和水平升高 ($P<0.05$), LC3-II、LC3-I、ULK1、Beclin-1蛋白表达升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 鹿茸大补汤各剂量组和地塞米松组豚鼠炎症细胞数和水平降低 ($P<0.05$), LC3-II、LC3-I、ULK1、Beclin-1蛋白表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 鹿茸大补汤可能通过调节ULK1信号通路来抑制自噬的发生, 从而抑制支气管哮喘。

关键词: 鹿茸大补汤; 支气管哮喘; ULK1信号通路; 自噬

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)09-2984-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.044

收稿日期: 2021-04-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82060911)

作者简介: 金丽娜 (1993—), 女, 硕士生, 从事中西医结合临床科研工作。Tel: 15585588192, E-mail: 1838652761@qq.com

*通信作者: 郑明显 (1974—), 男, 硕士, 教授, 从事中医儿科学科研工作。Tel: 13894315885, E-mail: myzheng@ybu.edu.cn

网络出版日期: 2021-10-25

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20211025.1540.002.html>