

基于 TGF-β1/Smad3 通路探讨三因补肺汤对 COPD 气道重塑的影响

崔 洁， 陆天逊[#]， 郑培永， 蒋雨薇， 胡转楠， 杨 迪， 王 钰， 鹿振辉^{*}
(上海中医药大学附属龙华医院，上海 200032)

摘要：目的 探讨三因补肺汤对慢性阻塞性肺疾病（COPD）大鼠气道重塑的影响。方法 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、泼尼松组（0.5 g/kg）和三因补肺汤低、中、高剂量组（1.345、2.69、5.38 g/kg），每组 6 只，采用香烟烟雾方法制备 COPD 大鼠模型，灌胃给药 28 d。给药结束后，检测大鼠肺功能（FEV0.1，FEV0.3/FVC、Cdyn）；流式细胞术检测大鼠支气管肺泡灌洗液（BALF）中白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞数量；免疫组化法检测肺组织 α-SMA 蛋白表达；RT-qPCR 法检测肺组织 *TGF-β1*、*TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*IL-17* mRNA 表达；Western blot 法检测肺组织 TGF-β1、Smad3、p-Smad3 蛋白表达。**结果** 与正常组比较，模型组大鼠肺功能 FEV0.1，FEV0.3/FVC、Cdyn 值降低（*P*<0.05）；BALF 中白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞数量增加（*P*<0.05）；肺组织细支气管腔黏膜上皮细胞排列不整齐，部分上皮细胞坏死、脱落，管壁及其周围均有炎性细胞浸润，气道中杯状细胞数量增加，肺组织胶原沉积增加，炎症评分、平均线行截距、杯状细胞指数、胶原纤维百分比升高（*P*<0.05）；肺组织 *TGF-β1*、*TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*IL-17* mRNA 表达升高（*P*<0.05）；肺组织 α-SMA、p-Smad3/Smad3、TGF-β1、CDH2 蛋白表达升高（*P*<0.05），E-cadherin 蛋白表达降低（*P*<0.05）。与模型组比较，三因补肺汤可升高 FEV0.3/FVC、Cdyn 值（*P*<0.05），减少 BALF 中白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞数量（*P*<0.05）；改善大鼠肺组织形态结构及纤维化程度、炎症程度；降低肺组织 *TGF-β1*、*TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*IL-17* mRNA 表达（*P*<0.05）；降低肺组织 α-SMA、p-Smad3/Smad3、TGF-β1、CDH2 蛋白表达（*P*<0.05），升高 E-cadherin 蛋白表达（*P*<0.05）。**结论** 三因补肺汤能够有效改善 COPD 大鼠肺组织炎症反应和气道重塑，其机制可能与抑制 TGF-β1/Smad3 信号通路活化有关。

关键词：三因补肺汤；慢性阻塞性肺疾病（COPD）；肺功能；气道重塑；TGF-β1/Smad3 信号通路
中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2026)07-2389-07
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.036

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）主要特征是持续性的呼吸道症状和不完全可逆的气流受限，已成为全球第三大死因^[1-3]。我国 40 岁及以上人群的患病率高达 13.7%，以 COPD 为主的呼吸系统慢性疾病已被列为我国四大慢病之一^[4-5]，是重大公共卫生问题^[6]。COPD 发病机制复杂，包括炎症反应、氧化应激、蛋白酶/抗蛋白酶失衡以及血管损伤等^[7-9]。COPD 主要特征之一的气流限制是进行性的且不可逆的^[10]，这是由气道重塑、小气道丧失和肺气肿引起的^[11]。其中，气道重塑和炎症被认为是导致气流受限不可逆的主要因素^[12]。COPD 的气道重

塑包括黏膜增生、上皮增生和化生、结缔组织过度沉积及气道平滑肌细胞数量增加^[13]。上皮间充质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）是组织纤维化过程中，上皮细胞脱粘附而转变成具有迁移能力的间质细胞的现象。研究显示，TGF-β1-Smad2/3 通路的激活在气道重塑的进展中起着至关重要的作用^[14-15]。目前对于 COPD 气道重塑的具体机制尚不明确，有效逆转药物较少。

三因补肺汤是由《三因极一病证方论》中的补肺汤化裁而来，课题组前期临床研究发现，补肺汤联合补肾纳气方能增加 COPD 患者的 CAT 评分、中医症候积分，起到改善全身症状的作用^[16]。本

收稿日期：2025-10-20
基金项目：上海市卫生健康委员会（GWVI-11.1-08）；上海市卫健委医疗卫生优秀学科带头人培养计划（新百人）（2022XD027）；上海市科委医学创新研究专项项目（22Y11920400）；上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划（GFB2503）；上海市 2024 年度“科技创新行动计划”医学创新研究专项（24Y12800800）；上海市科学技术委员会优秀学术-技术带头人（22XD1423500）；徐汇区院地合作项目（生命健康领域）（23XHYD-25）
作者简介：崔 洁（1988—），女，博士，副主任医师，从事中医药防治呼吸系统疾病研究。E-mail: cuij1998@163.com
#共同第一作者：陆天逊（1996—），男，硕士，从事中医药防治炎症感染性疾病研究。E-mail: tianxunlu1996@163.com
***通信作者：**鹿振辉（1980—），男，博士，主任医师，从事中医药对多重耐药病菌肺部感染及气道过敏病的免疫调控机制研究。E-mail: Dr_luzh@shutcm.edu.cn

研究拟采用香烟烟雾暴露制备 COPD 大鼠模型，探究三因补肺汤对 COPD 气道重塑调节的分子机制。

1 材料

1.1 动物 36 只 SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量 180~220 g，购自上海昇敞生物科技有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK（沪）2021-0002]，饲养于上海中医药大学动物实验中心，饲养温度（24±2）℃，12 h/12 h 明暗循环，动物实验经上海中医药大学实验动物伦理委员会批准（伦理审批号 PZSHUTCM2509050026）。

1.2 药物 三因补肺汤由款冬花、桑白皮、桂心、人参、紫菀、白石英、钟乳石、五味子、麦门冬、生姜、大枣、粳米组成，药材均采用中药制药有限公司生产的中药颗粒。过滤嘴香烟（大前门，烤烟型，烟气烟碱量 0.8 mg，烟气一氧化碳量 12 mg，焦油量 10 mg）。

1.3 试剂 TGF-β1、CDH2 抗体（湖南远泰生物技术有限公司，货号 P23643、30042）；Smad3、p-Smad3 抗体（美国 Cell Signaling Technology 公司，货号 9523、9520）；E-cadherin 抗体（武汉三鹰生物技术有限公司，货号 20874）；辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG（H+L）二抗（上海碧云天生物技术有限公司，货号 A0208）；Omni-ECL 显色试剂盒（上海雅酶生物科技有限公司，货号 SQ203）；Liberase™ RNA 试剂（美国 Roche 公司，批号 5401127001）；DNase I（美国 Sigma 公司，货号 D4527）；TRIzol 试剂（美国 Ambion 公司，批号 15596018）；RNA 提取试剂盒、SYBR Green Premix Pro Taq HS qPCR 试剂盒（湖南艾科瑞生物工程有限公司，货号 A6A3191、A6A1088）；逆转录试剂盒（日本 TaKaRa 公司，货号 RR036A）。

1.4 仪器 Buxco-PFT 实验动物肺功能检测系统（美国 DSI 公司）；香烟烟雾发生器、暴露塔（上海瑞曼信息科技有限公司）；倒置显微镜（德国 Leica 公司）；流式细胞仪（美国贝克曼库尔特公司）；实时荧光定量 PCR 仪（德国耶拿公司）。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 大鼠适应性喂养 7 d 后，随机分为正常组、模型组、泼尼松组及三因补肺汤低、中、高剂量组。参考文献 [17] 报道，通过香烟烟熏制备 COPD 大鼠模型。正常组不做烟熏处理，其他各组大鼠放入熏箱内进行香烟烟熏，每次 25 支烟，烟熏 60 min，每天 1 次，共 12 周。第 11 周开始，三因补肺汤低、中、高剂量组分别灌胃给

予 1.345、2.69、5.38 g/kg 三因补肺汤，泼尼松组灌胃给予泼尼松 0.5 g/kg，正常组灌胃给予等体积生理盐水，连续 28 d。

2.2 肺功能测定 用肺功能检测系统检测各组大鼠 0.1 s 用力呼气容积（FEV0.1）、0.3 s 用力呼气容积与用力肺活量的比值（FEV0.3/FVC）、动态肺顺应性（Cdyn）、每分钟通气量（MV）、气道阻力（RI）。

2.3 取材与标本制备 大鼠麻醉后打开胸腔，暴露下呼吸道，结扎右肺，用 2 mL 生理盐水对左肺进行灌洗，收集支气管肺泡灌洗液，4℃、3 000 r/min 离心 10 min，取上清液，保存备用。取右肺中叶，用于 RT-qPCR 和 Western blot 检测；取右肺上叶于 4% 多聚甲醛中固定，用于苏木素-伊红（HE）、马松（Masson）、过碘酸雪夫（PAS）染色。

2.4 肺组织病理学检查 取于 4% 多聚甲醛固定的右肺上叶，0.9% 生理盐水洗净，滤纸吸干表面水分，组织块切取 2 mm 厚度，脱水、包埋后制备组织切片，脱蜡至水后依次分别行 HE（苏木精、伊红）、Masson（酸性品红、苯胺蓝）、PAS（过碘酸溶液、Schiff 试剂）染色，脱水，透明，封片，于显微镜下观察肺组织病理变化。对气道炎症进行评分，气道周围无炎症细胞，计 0 分；气道周围有少量炎症细胞，计 1 分；气道周围有中等炎症细胞，计 2 分；气道周围有大量炎症细胞或完全包围，计 3 分。

2.5 免疫组化法检测肺组织 α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）蛋白表达 大鼠肺组织切片脱蜡至水，抗原修复，3% 过氧化氢处理 10 min 以阻断内源性过氧化物酶，加羊血清封闭，滴加一抗 α-SMA 孵育过夜，滴加羊抗兔 IgG 二抗室温孵育，冲洗后 DAB 显色，苏木素复染细胞核，脱水，封片，于显微镜下观察，阳性染色为棕黄色，分析目的蛋白平均光密度（AOD）值。

2.6 RT-qPCR 法检测肺组织 IL-1β、IL-6、IL-17、TNF-α、TGF-β1 mRNA 表达 取右肺中叶，使用 TRIzol 试剂提取总 RNA 并检测其浓度，使用逆转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA，随后进行 PCR 反应，反应体系为 10 μL，反应条件为 95℃ 预变性 30 s；95℃ 变性 5 s，60℃ 退火 30 s，40 个循环，95℃ 延伸 15 s。分析扩增曲线，得到 Ct 值，以 β-actin 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因表达。引物由生工生物工程（上海）有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列	产物长度/bp
<i>β-actin</i>	正向 5'-CAACGGGAACCCATCACCA-3'	96
	反向 5'-ACGCCAGTAGACTCCACGACAT-3'	
<i>TNF-α</i>	正向 5'-GCCACCACGCTCTTCTGTC-3'	149
	反向 5'-GCTACGGGCTTGCTACTCG-3'	
<i>IL-6</i>	正向 5'-AGACTTCACAGAGGATACCACCCAC-3'	129
	反向 5'-CAATCAGAATTGCCATTGCACAA-3'	
<i>IL-1β</i>	正向 5'-AGACTTCACAGAGGATACCACCCAC-3'	129
	反向 5'-CAATCAGAATTGCCATTGCACAA-3'	
<i>TGF-β1</i>	正向 5'-CAGAGAGCGAGAAGTGCAGA-3'	404
	反向 5'-GCAGCTGATGACAAGGCTTT-3'	

2.7 流式细胞术检测 BALF 中炎症细胞水平 测定肺功能后，在气管插入装有 1 mL 预冷磷酸盐缓冲液（PBS）的注射器，缓慢抽吸 3 次后收集液体，重复 1 次，获得 BALF，于 4 ℃、1 500 r/min 离心 10 min，收集上清液，置于-80 ℃保存。细胞沉淀用 PBS 溶液重悬后，通过流式细胞术检测炎症细胞类型及数量。

2.8 Western blot 法检测肺组织 TGF-β1、Smad3、p-Smad3、E-cadherin、CDH2 蛋白表达 取冷冻保存的右肺中叶，匀浆，加入裂解液并置于冰上充分裂解，12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，采用 BCA 法测定蛋白浓度。制备电泳胶，电泳分离蛋白，转至 PVDF 膜，封闭液封闭，加入一抗 TGF-β1、Smad3、p-Smad3、E-cadherin、CDH2（1：1 000）、β-actin（1：10 000），4 ℃孵育过夜。TBST 充分洗涤后，加入二抗（1：1 000）孵育

表 2 各组大鼠肺功能比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	FEV0.1	FEV0.3/FVC	Cdyn	RI
正常组	18.44±0.87	95.10±0.94	0.887±0.004	0.098±0.002
模型组	11.73±1.42 [*]	70.50±7.35 [*]	0.755±0.065 [*]	0.166±0.019 [*]
三因补肺汤低剂量组	14.77±2.96 [#]	79.81±4.50 [#]	0.817±0.059 [#]	0.103±0.001 [#]
三因补肺汤中剂量组	17.76±1.52 [#]	84.75±2.72	0.884±0.040	0.103±0.003 [#]
三因补肺汤高剂量组	16.01±0.94 [#]	82.48±5.26 [#]	0.886±0.024 [#]	0.120±0.005 [#]
泼尼松组	18.99±0.33 [#]	85.55±1.38 [#]	0.828±0.048 [#]	0.102±0.002 [#]

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

3.3 三因补肺汤对 COPD 大鼠 BALF 中炎症细胞数量的影响 与正常组比较，模型组大鼠 BALF 中总细胞、白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞数量均增加（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，三因补肺汤低剂量组大鼠 BALF 中巨噬细胞数量减少（ $P<0.05$ ），中

1 h。显色、曝光后，通过 Image J 软件分析条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白 β-actin 灰度值比值来表示目的蛋白相对表达量。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，符合正态分布且方差齐的计量资料以平均数±标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，2 组间比较采用 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析；非正态分布或方差不齐的资料采用两独立样本的 Wilcoxon 秩和检验，多个独立样本的比较则采用 Kruskal-Wallis H 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般状况 正常组大鼠无死亡，呼吸平稳、皮毛呈正常光泽，体质量增加；造模过程中，除正常组外，其余各组大鼠均有不同程度的毛色萎黄、体质量下降、活动度变差；给药后，三因补肺汤中、高剂量组大鼠毛色光泽度有所改善。

3.2 三因补肺汤对 COPD 大鼠肺功能的影响 与正常组比较，模型组大鼠 FEV0.1、FEV0.3/FVC、Cdyn 值降低（ $P<0.05$ ），RI 值升高（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，三因补肺汤低、高剂量组和泼尼松组大鼠 FEV0.1、FEV0.3/FVC、Cdyn 值升高（ $P<0.05$ ），RI 值降低（ $P<0.05$ ），三因补肺汤中剂量组大鼠 FEV0.1 值升高（ $P<0.05$ ），RI 值降低（ $P<0.05$ ），见表 2。

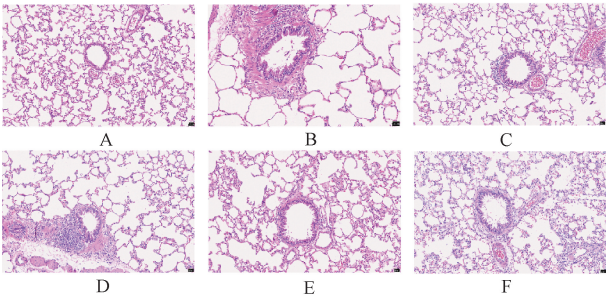
剂量组大鼠 BALF 中总细胞、中性粒细胞、巨噬细胞数量减少（ $P<0.05$ ），高剂量组大鼠 BALF 中总细胞、白细胞、巨噬细胞数量减少（ $P<0.05$ ），泼尼松组大鼠 BALF 中总细胞、白细胞、中性粒细胞、巨噬细胞数量均减少（ $P<0.05$ ），见表 3。

表 3 各组大鼠 BALF 中炎症细胞数量比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	总细胞数	白细胞数	中性粒细胞数	巨噬细胞数
正常组	456.30±48.54	101.30±13.94	6.135±4.080	61.99±9.82
模型组	827.90±122.10 [*]	311.10±67.63 [*]	41.190±12.500 [*]	190.30±20.38 [*]
三因补肺汤低剂量组	518.50±104.00	243.70±40.86	26.410±5.658	141.40±31.54 [#]
三因补肺汤中剂量组	409.50±73.86 [#]	238.30±60.03	20.640±8.193 [#]	100.40±15.99 [#]
三因补肺汤高剂量组	421.50±33.33 [#]	192.70±14.32 [#]	28.390±4.862	123.70±14.00 [#]
泼尼松组	344.20±45.46 [#]	138.40±35.63 [#]	16.750±3.259 [#]	66.14±15.44 [#]

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

3.4 三因补肺汤对 COPD 大鼠肺组织病理学的影响 正常组大鼠细支气管腔内无渗出物, 上皮细胞排列整齐、无坏死, 无杯状细胞, 黏膜以外的各层无腺体和软骨组织, 平滑肌呈环状, 各层均未见炎性细胞浸润; 模型组大鼠细支气管腔内有脱落的上皮及渗出的炎症细胞, 细支气管黏膜上皮细胞排列不整齐, 部分上皮细胞坏死、脱落, 支气管管壁及其周围均有炎性细胞浸润; 三因补肺汤中、高剂量组大鼠细支气管腔内有少量渗出物, 管壁炎性细胞浸润明显减少, 结构趋于正常; 三因补肺汤低剂量组大鼠细支气管腔内渗出物减少, 黏膜上皮细胞脱落减轻, 管壁及周围仍有炎细胞浸润, 见图 1。与正常组比较, 模型组大鼠肺泡结构受损, 肺泡间隙不规则增大, 部分融合成肺大疱, 平均线性截距 (mean linear intercept, MLI) 增加 ($P<0.05$); 与模型组比较, 三因补肺汤中、高剂量组和泼尼松组大鼠肺组织 MLI 缩小 ($P<0.05$), 见表 4。



注: A 为正常组, B 为模型组, C 为泼尼松组, D~F 分别为三因补肺汤低、中、高剂量组。

图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色 (×400)

PAS 染色可见, 正常组大鼠肺组织气道中仅发现少数杯状细胞; 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织气道中杯状细胞数量增加, 杯状细胞指数升高

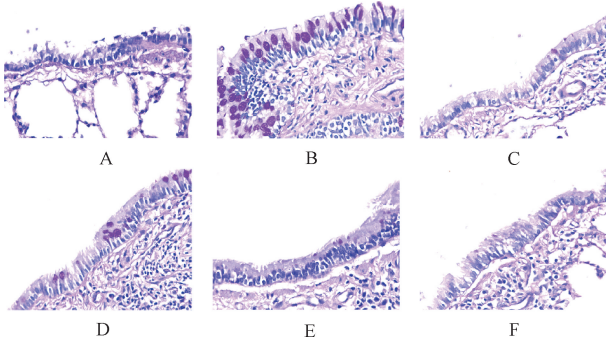
表 4 各组大鼠肺组织病理学指标比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	炎症评分/分	MLI/ μm	杯状细胞指数	胶原纤维百分比/%
正常组	0.588±0.449	95.88±13.68	0.238±0.177	13.940±3.212
模型组	2.625±0.604 [*]	146.60±18.20 [*]	2.025±0.430 [*]	42.740±10.690 [*]
三因补肺汤低剂量组	2.483±0.736	135.80±12.12	1.800±0.415	42.340±9.159
三因补肺汤中剂量组	1.429±0.468 [#]	117.40±14.49 [#]	0.986±0.367 [#]	23.310±4.693 [#]
三因补肺汤高剂量组	1.629±0.538 [#]	121.90±9.21 [#]	1.243±0.395 [#]	24.670±7.279 [#]
泼尼松组	1.500±0.483 [#]	115.90±13.33 [#]	0.957±0.428 [#]	19.920±5.603 [#]

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

3.5 三因补肺汤对 COPD 大鼠肺组织 α -SMA 蛋白表达的影响 正常组 α -SMA 表达量较少; 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织可见大量呈棕褐色颗粒的阳性表达, α -SMA 蛋白表达升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 各给药组大鼠肺组织可见阳性表达棕褐色颗粒减少, 三因补肺汤中、高剂量组大鼠肺

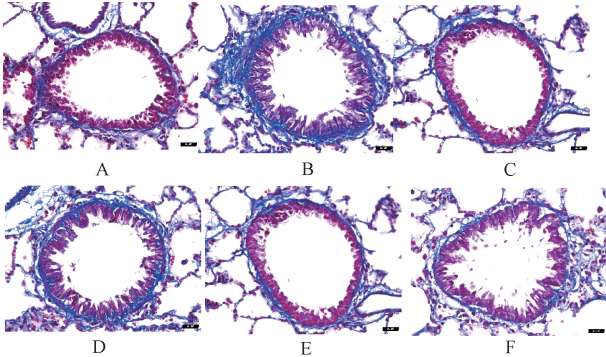
($P<0.05$); 与模型组比较, 三因补肺汤中、高剂量组及泼尼松组大鼠肺组织杯状细胞数明显减少, 杯状细胞指数降低 ($P<0.05$), 图 2、表 4。



注: A 为正常组, B 为模型组, C 为泼尼松组, D~F 分别为三因补肺汤低、中、高剂量组。

图 2 各组大鼠肺组织 PAS 染色 (×200)

Masson 染色可见, 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织胶原沉积增加 ($P<0.05$); 与模型组比较, 三因补肺汤中、高剂量组和泼尼松组大鼠肺组织胶原沉积减少 ($P<0.05$), 见图 3、表 4。

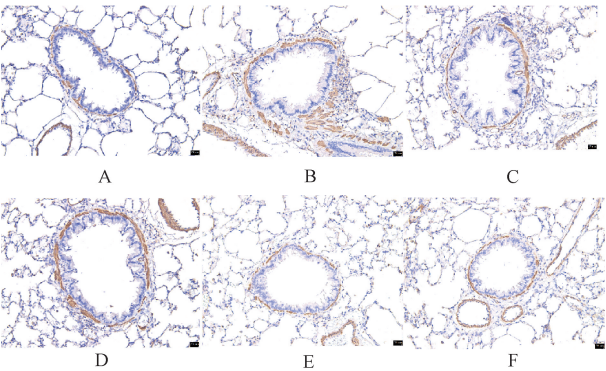


注: A 为正常组, B 为模型组, C 为泼尼松组, D~F 分别为三因补肺汤低、中、高剂量组。

图 3 各组大鼠肺组织 Masson 染色 (×200)

组织 α -SMA 蛋白表达降低 ($P<0.05$), 见图 4、表 5。

3.6 三因补肺汤对 COPD 大鼠肺组织 TNF - α 、 IL -6、 IL -1 β 、 IL -17 及 TGF - β 1 mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织 TNF - α 、 IL -6、 IL -1 β 、 IL -17 及 TGF - β 1 mRNA 表达升高 ($P<0.05$);



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为泼尼松组，D~F 分别为三因补肺汤低、中、高剂量组。

图 4 各组大鼠肺组织 α-SMA 蛋白免疫组化染色 (×400)

表 6 各组大鼠肺组织 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*IL-17* 和 *TGF-β1* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	<i>TNF-α</i>	<i>IL-6</i>	<i>IL-1β</i>	<i>IL-17</i>	<i>TGF-β1</i>
正常组	1.027±0.071	1.042±0.062	1.048±0.052	1.098±0.064	1.008±0.049
模型组	2.675±0.365 *	2.808±0.892 *	3.265±0.697 *	2.823±0.573 *	1.928±0.244 *
三因补肺汤低剂量组	2.022±0.352 [#]	1.567±0.159 [#]	2.283±0.367 [#]	1.835±0.374 [#]	1.87±0.294
三因补肺汤中剂量组	1.342±0.130 [#]	1.428±0.397 [#]	1.441±0.481 [#]	1.565±0.289 [#]	1.346±0.135 [#]
三因补肺汤高剂量组	1.502±0.335 [#]	1.265±0.151 [#]	1.748±0.258 [#]	1.422±0.178 [#]	1.315±0.193 [#]
泼尼松组	1.500±0.438 [#]	1.203±0.113 [#]	1.211±0.320 [#]	1.867±0.356 [#]	1.383±0.211 [#]

注：与正常组比较, * $P<0.05$ ；与模型组比较, [#] $P<0.05$ 。

3.7 三因补肺汤对 COPD 大鼠肺组织 TGF-β1、p-Smad3/Smad3、E-cadherin、CDH2 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠肺组织 TGF-β1、CDH2 蛋白表达和 p-Smad3/Smad3 比值升高 ($P<0.05$)，E-cadherin 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与模型组比较，三因补肺汤中、高剂量组大鼠肺组织 TGF-β1、CDH2 蛋白表达和 p-Smad3/Smad3 比值降

表 7 各组大鼠肺组织 TGF-β1、p-Smad3/Smad3、E-cadherin 和 CDH2 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	p-Smad3/Smad3	TGF-β1/β-actin	E-cadherin/β-actin	CDH2/β-actin
正常组	1.038±0.049	0.649±0.143	0.943±0.031	0.393±0.025
模型组	2.114±0.095 *	1.295±0.087 *	0.403±0.193 *	0.886±0.136 *
三因补肺汤低剂量组	1.573±0.113 [#]	1.113±0.133	0.699±0.010 [#]	0.619±0.062 [#]
三因补肺汤中剂量组	1.292±0.109 [#]	0.727±0.108 [#]	0.855±0.101 [#]	0.535±0.036 [#]
三因补肺汤高剂量组	1.203±0.067 [#]	0.863±0.065 [#]	0.843±0.088 [#]	0.362±0.116 [#]
泼尼松组	1.407±0.150 [#]	0.927±0.136 [#]	0.287±0.014	0.671±0.064 [#]

注：与正常组比较, * $P<0.05$ ；与模型组比较, [#] $P<0.05$ 。

4 讨论

中医对 COPD 的认识主要来自对“肺胀”“喘”“咳”等相关病证的理论和实践^[18]。COPD 起病多从肺之气络亏虚开始，主要表现为肺气及肺络功能障碍，随着疾病的进展进一步引起血络及其末端的孙络受损，肺络虚损贯穿 COPD 发展的始终^[19]。肺之气络亏虚，无力行血，血络中的血液运行不畅阻于络道^[20]，同时肺络瘀阻影响肺络之气的正常循行而致肺络气滞，气不布津，津液代谢

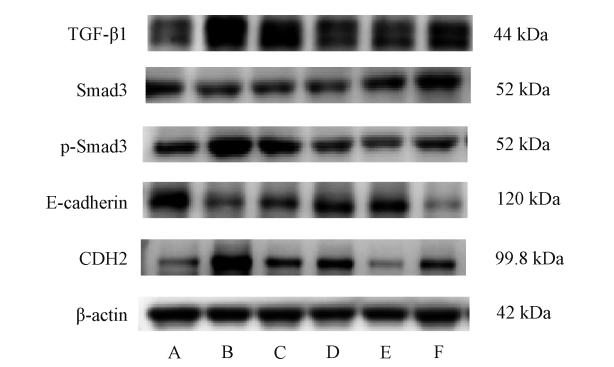
表 5 各组大鼠肺组织 α-SMA 蛋白表达比较 (AOD 值, $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	α-SMA
正常组	0.048±0.026
模型组	0.193±0.055 *
三因补肺汤低剂量组	0.158±0.039
三因补肺汤中剂量组	0.111±0.031 [#]
三因补肺汤高剂量组	0.123±0.039 [#]
泼尼松组	0.140±0.037

注：与正常组比较, * $P<0.05$ ；与模型组比较, [#] $P<0.05$ 。
与模型组比较，三因补肺汤中、高剂量组和泼尼松组大鼠肺组织 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β*、*IL-17* 及 *TGF-β1* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，三因补肺汤低剂量组大鼠肺组织 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-1β* 及 *IL-17* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，见表 6。

低 ($P<0.05$)，E-cadherin 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，三因补肺汤低剂量组大鼠肺组织 CDH2 蛋白表达和 p-Smad3/Smad3 比值降低 ($P<0.05$)，E-cadherin 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，泼尼松组大鼠肺组织 TGF-β1、CDH2 蛋白表达和 p-Smad3/Smad3 比值降低 ($P<0.05$)，见表 7、图 5。

异常，进而凝聚生痰；阻于肺络之气滞、血瘀、痰凝相互作用^[21]，进一步损伤肺络，使得 COPD 进行性加重。三因补肺汤有温阳补肺、止咳消痰功效，方中人参大补元气、补肺健脾，白石英温肺益气、补肾壮阳，二者共为君药；钟乳石温肺益气、补肾壮阳，款冬花、紫菀温肺止咳、下气化痰，桂心温经通脉，共为臣药；麦冬养阴润肺，五味子益气生津，桑白皮清肺热，生姜温肺止咳，大枣、粳米调和脾胃，共为佐使药。本研究结果显示，三因



注：A 为正常组，B 为模型组，C~E 分别为三因补肺汤低、中、高剂量组，F 为泼尼松组。

图 5 各组大鼠肺组织 TGF-β1、Smad3、p-Smad3、E-cadherin 和 CDH2 蛋白条带图

补肺汤可提升大鼠肺功能，降低气道阻力，减轻肺组织病理破坏、炎症及肺气肿，改善气道杯状细胞化生和肺组织胶原沉积。进一步研究发现，三因补肺汤能降低大鼠肺组织气道周围 α -SMA 蛋白表达，改善气道重塑，减少 BALF 中炎性细胞数量，还能降低大鼠肺组织 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-17$ mRNA 表达，这些结果都提示三因补肺汤能抑制肺部炎症，对 COPD 有一定改善效果。

TGF-β1 可以通过激活丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）等通路的信号传导调节 Smad 蛋白并介导 Smad 非依赖性 TGF-β 应答^[22]。香烟烟雾中的氧化物或烟雾诱发的炎性细胞释放的氧化物可引起气道上皮细胞上潜伏的 TGF-β 活化，导致胶原蛋白产生增加^[23]。已经有研究证实，TGF-β1/Smad3 信号通路 with 气道重塑的发生和进展有关^[24-25]。Smad3 是这一途径中不可或缺的转录调节因子，通过受体激活 Smad 锚点（SARA）被招募到 TGF-β1 受体上进行磷酸化，与 Smad4 形成复合物。组装的 Smad 异二聚体通过与 DNA 结合转录因子如 ZEB、Snail 和 bHLH 家族的相互作用触发靶基因的转录，最终降低内皮细胞标志物的表达和增加间充质标志物的表达^[26]。雷灵倩等^[27]研究显示，苦参碱可通过抑制 TGF-β1/Smad3 通路的激活改善 COPD 大鼠肺部炎症和纤维化。王思颖等^[28]研究显示，灯盏花素注射液通过抑制 TGF-β1/Smad3 通路过度激活，改善患者肺功能，提高生活质量，减轻气道重塑。Pan 等^[29]研究显示，青蒿琥酯通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ （PPAR γ ）表达，抑制 TGF-β1/Smad2/Smad3 信号传导，从而有效减轻 COPD 气道炎症及气道重塑，缓解氧化应激。陶思冥等^[30]研究显示，益气固表丸可以降低 TGF-β2、Smad2、

Smad3 蛋白表达，同时上调 CD4⁺ T 细胞表达，下调 CD8⁺ T 细胞表达，在 COPD 中发挥免疫调节作用。本研究结果显示，三因补肺汤能降低 TGF-β1 mRNA 和蛋白表达，p-Smad3/Smad3 比值及 CDH2 蛋白表达，升高 E-cadherin 蛋白表达，说明三因补肺汤能抑制该信号通路的激活并抑制 EMT 的过程。

综上所述，三因补肺汤可能通过抑制 TGF-β1/Smad3 信号通路活化，有效减轻 COPD 大鼠肺部炎症反应及肺功能，抑制肺纤维化和 EMT 的过程，逆转气道重塑。

参考文献：

[1] Tanner L, Single A B. Animal models reflecting chronic obstructive pulmonary disease and related respiratory disorders: translating pre-clinical data into clinical relevance[J]. *J Innate Immun*, 2020, 12(3): 203-225.

[2] Lee H, Sin D D. GETting to know the many causes and faces of COPD[J]. *Lancet Respir Med*, 2022, 10(5): 426-428.

[3] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.

[4] Li L Y, Zhang C T, Zhu F Y, *et al.* Potential natural small molecular compounds for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease: an overview[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 821941.

[5] Wang C, Xu J F, Yang L, *et al.* Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10131): 1706-1717.

[6] Koh J H, Chong L C Y, Koh G C H, *et al.* Telemedical interventions for chronic obstructive pulmonary disease management: umbrella review[J]. *J Med Internet Res*, 2023, 25: e33185.

[7] Li J, Yang L L, Yao Y X, *et al.* Associations between long-term night shift work and incidence of chronic obstructive pulmonary disease: a prospective cohort study of 277, 059 UK Biobank participants[J]. *BMC Med*, 2024, 22(1): 16.

[8] Leitao Filho F S, Alotaibi N M, Ngan D, *et al.* Sputum microbiome is associated with 1-year mortality after chronic obstructive pulmonary disease hospitalizations[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 199(10): 1205-1213.

[9] Guiedem E, Ikomey G M, Nkenfou C, *et al.* Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): neutrophils, macrophages and lymphocytes in patients with anterior tuberculosis compared to tobacco related COPD[J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 192.

[10] Woodruff P G, Barr R G, Bleecker E, *et al.* Clinical significance of symptoms in smokers with preserved pulmonary function[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(19): 1811-1821.

[11] Han B, Poppinga W J, Zuo H, *et al.* The novel compound Sul-121 inhibits airway inflammation and hyperresponsiveness in experimental models of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26928.

[12] McDonough J E, Suzuki M, Seyednejad N, *et al.* Small-airway obstruction and emphysema in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(17): 1567-1575.

[13] Yan F, Gao H, Zhao H, *et al.* Roles of airway smooth muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 262.

[14] Zhao C, Chen W, Yang L, *et al.* PPAR γ agonists prevent TGF β 1/Smad3-signaling in human hepatic stellate cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 350(2): 385-391.

[15] Guan S B, Xu W G, Han F F, *et al.* Ginsenoside Rg1 attenuates cigarette smoke-induced pulmonary epithelial-mesenchymal transition *via* inhibition of the TGF- β 1/Smad pathway[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 7171404.

[16] 马改霞. 补肺汤合补肾纳气方对稳定期慢阻肺患者的运动耐受干预效应的临床评价研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2021.

[17] Wen C L, Yu Z Q, Wang J, *et al.* Inhalation of *Citrus Reticulata* essential oil alleviates airway inflammation and emphysema in COPD rats through regulation of macrophages[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 320: 117407.

[18] 刘小虹, 梁直英, 林文芳, 等. 慢性阻塞性肺部疾病证治规律探讨——附 126 例辨证分析[J]. 新中医, 1994(9): 21-22; 30.

[19] 屈建峰, 杨金生, 马秀霞, 等. 基于“肺络络伤”探析慢性阻塞性肺疾病肺气病理变化机制[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(7): 1079-1081.

[20] 吴海斌. 从肺络论治慢性阻塞性肺疾病[J]. 中国民间疗法, 2012, 20(11): 5-6.

[21] 崔英海, 胡镜清, 李丁蕾, 等. 基于“痰瘀互结”理论论治慢性阻塞性肺疾病[J]. 世界中医药, 2021, 16(21): 3111-3115; 3121.

[22] Derynck R, Zhang Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- β family signalling[J]. *Nature*, 2003, 425(6958): 577-584.

[23] Chung A, Cosio M, Wright J L. Mechanisms of cigarette smoke-induced COPD: insights from animal models[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 294(4): L612-L631.

[24] Roberts A B, Tian F, Byfield S D, *et al.* Smad3 is key to TGF- β -mediated epithelial-to-mesenchymal transition, fibrosis, tumor suppression and metastasis[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2006, 17(1-2): 19-27.

[25] Wu H Y, Wang D, Shi H, *et al.* PM_{2.5} and water-soluble components induce airway fibrosis through TGF- β 1/Smad3 signaling pathway in asthmatic rats[J]. *Mol Immunol*, 2021, 137: 1-10.

[26] Ooshima A, Park J, Kim S J. Phosphorylation status at Smad3 linker region modulates transforming growth factor- β -induced epithelial-mesenchymal transition and cancer progression[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(2): 481-488.

[27] 雷灵倩, 戴周丽. 基于 TGF- β 1/Smad3 通路探究苦参碱对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠的改善作用及机制[J]. 中国免疫学杂志, 2025, 41(6): 1401-1406.

[28] 王思颖, 赵琦, 杨欣, 等. 灯盏花素注射液治疗稳定期 COPD 的临床疗效及对 TGF- β 1 含量、T β RI、Smad2、Smad3 表达水平的影响[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2023, 15(2): 335-338; 343.

[29] Pan K, Lu J, Song Y. Artesunate ameliorates cigarette smoke-induced airway remodelling *via* PPAR- γ /TGF- β 1/Smad2/3 signalling pathway[J]. *Respir Res*, 2021, 22(1): 91.

[30] 陶思冥, 罗建江, 李争, 等. 益气固表丸含药血清对炎症肺上皮细胞 TGF- β ₂-Smad 信号通路的影响[J]. 世界中医药, 2023, 18(9): 1240-1245.