

基于 IL-17/NF-κB 信号通路探讨清燥救肺汤对急性肺损伤小鼠炎症反应和凋亡的影响

王 宁<sup>1,2</sup>, 焦太强<sup>3</sup>, 高晨曦<sup>1,2</sup>, 马雅妮<sup>1,2</sup>, 牛 阳<sup>1,2,4</sup>, 茆春阳<sup>1</sup>, 窦红莉<sup>5\*</sup>

(1. 宁夏医科大学中医燥证重点实验室, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏医科大学中医学院, 宁夏 银川 750004; 3. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023; 4. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 5. 陕西中医药大学马克思主义学院, 陕西 咸阳 712099)

**摘要:** **目的** 探讨清燥救肺汤对脂多糖 (LPS) 诱导急性肺损伤 (ALI) 小鼠炎症及细胞凋亡的作用。**方法** 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松组 (0.002 g/kg, 腹腔注射) 及清燥救肺汤低、中、高剂量组 (3.09、6.17、12.34 g/kg, 灌胃), 每组 10 只, 分别给予相应药物, 对照组和模型组灌胃生理盐水, 每天 2 次, 连续 14 d。末次给药后 6 h 内, 除对照组外, 其余各组小鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥 (40 mg/kg) 麻醉后, 气管滴注 LPS (5 mg/kg) 建立 ALI 模型。造模 24 h 后, ELISA 法检测肺泡灌洗液 (BALF) 中 IL-17A、TNF-α、IL-6、IL-1β 水平; HE 染色观察肺组织病理变化并进行病理评分; TUNEL 染色检测肺组织细胞凋亡情况; 免疫组化 (IHC) 及免疫荧光 (IF) 检测肺组织 p-NF-κB p65、Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达; RT-qPCR 法检测肺组织 *Caspase-3*、*Bax* 及 *Bcl-2* mRNA 表达; Western blot 法检测肺组织 IL-17A、p-NF-κB p65、p-IκBα、cleaved Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织存在炎性细胞浸润、肺泡间隔增厚、肺泡实变充血, 肺损伤评分升高 ( $P<0.01$ ); 肺组织凋亡细胞数量增加 ( $P<0.01$ ); BALF 中炎症因子 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 水平升高 ( $P<0.01$ ); 肺组织 *Caspase3*、*Bax* mRNA 及蛋白、p-IκBα、cleaved Caspase-3、IL-17A、p-NF-κB p65 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ ), *Bcl-2* mRNA 及蛋白表达降低 ( $P<0.01$ )。与模型组比较, 清燥救肺汤可改善肺组织病理损伤, 降低肺损伤评分 ( $P<0.01$ ); 减少肺组织凋亡细胞数量 ( $P<0.01$ ); 降低 BALF 中 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-17A 水平 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 降低肺组织 *Caspase3*、*Bax* mRNA 及蛋白、p-IκBα、cleaved Caspase-3、IL-17A、p-NF-κB p65 蛋白表达 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 升高 *Bcl-2* mRNA 及蛋白表达 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。**结论** 清燥救肺汤对 LPS 诱导的 ALI 小鼠具有预防保护作用, 其机制可能与调控 IL-17/NF-κB 信号通路, 抑制炎症反应与细胞凋亡有关。

**关键词:** 清燥救肺汤; 急性肺损伤; 炎症反应; 凋亡; IL-17/NF-κB 信号通路

**中图分类号:** R285.5      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1001-1528(2026)07-2382-07

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.035

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 及其加重急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是临床的急重症, 由多种原因致病, 临床目前以对症和支持治疗为主, 因此预防其发生发展十分重要<sup>[1]</sup>。ALI 发病机制复杂, 激素冲击会造成免疫系统<sup>[2-3]</sup>, 而单药的作用往往无法兼顾其繁复病理进展, 应寻找多靶点兼顾的治疗手段<sup>[4-5]</sup>。

近年来中药在 ALI 发生发展中起到重要作用。清燥救肺汤具有清肺养阴、补益元气功效, 临床有

抗炎、抗氧化等作用, 对 ALI 有防治作用<sup>[6-7]</sup>。研究表明, ALI 与白细胞介素 (interleukin, IL) -17、核因子-κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB) 通路和非程序性凋亡关系密切<sup>[8-9]</sup>。但凋亡炎症因子的过度升高和细胞凋亡的恶性循环是否通过 IL-17/NF-κB 信号通路尚不可知<sup>[10-12]</sup>。本研究旨在探究清燥救肺汤对 ALI 的预防保护机制, 以期清燥救肺汤临床研究提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 体

收稿日期: 2025-10-09

基金项目: 银川市科技局青年科技人才培养-基础研究引导专项 (2025RC20); 2024 年度自治区青年科技托举人才培养项目 (宁科协发组字〔2025〕2 号); 宁夏医科大学校级科研项目 (XY2024218); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科温病学学科建设项目 (zyydxk-2023209)

作者简介: 王 宁, 男, 硕士, 从事肺病燥证相关研究。E-mail: 3395995394@qq.com

\* 通信作者: 窦红莉, 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事中医学研究。E-mail: 842437464@qq.com

质量 (23±2) g, 购买并饲养于宁夏医科大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (宁) 2020-0001, 实验动物使用许可证号 SYXK (宁) 2020-0001], 饲养环境温度 (22±2)℃, 相对湿度 40%~60%。实验全程依据实验动物伦理学规定, 经宁夏医科大学医学伦理审查委员会批准 (伦理编号 IACUC-NYLAC-2024-305)。

1.2 药物 清燥救肺汤由桑叶 9 g、石膏 8 g、甘草 3 g、人参 2 g、胡麻仁 (黑芝麻) 3 g、真阿胶 3 g、麦门冬 4 g、杏仁 2 g、枇杷叶 3 g 组成, 药材由宁夏明德中药饮片有限公司提供 (批号 201102、2010041、200904、20092901、2203484、2101001、2011068、20102701、20010801), 将上述药材粉碎后, 加 10 倍量水煎煮, 过滤, 浓缩至 60 mL。地塞米松磷酸钠注射液 (华中药业股份有限公司, 批号 H12024492)。

1.3 试剂 LPS (北京索莱宝科技有限公司, 批号 L8880); 小鼠肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、IL-6、IL-1β、IL-17A ELISA 检测试剂盒 (科鹿生物科技有限责任公司, 批号 EM0010、EM0004、EM0029、EM0008); 全蛋白提取试剂盒、BCA 检测试剂盒 (江苏凯基生物技术股份有限公司, 批号 KGB5303-100、KGB2101-500); RNA 提取试剂盒 (山东思科捷生物技术有限公司, 批号 AC0202-A); 反转录试剂盒 [宝日医生物技术 (北京) 有限公司, 批号 RR047A、RR820A]; 苏木素-伊红 (HE) 高清恒染试剂盒、一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒 (武汉赛维尔科技有限公司, 批号 G1076-500ML、G1502-50T); 苏木素染色液 (北京九州柏林生物科技有限公司, 批号 BLGQ-03); 抗荧光淬灭封片剂 (山东思科捷生物技术有限公司, 批号 EE0015); IL-17A 抗体 (苏州康何欣生物科技有限公司, 批号 CPA1598); 核因子 κB 抑制蛋白 α (IκBα)、p-IκBα、NF-κB p65、p-NF-κB p65、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3)、剪切型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (cleaved Caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 蛋白 (Bcl-2) 抗体、Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) HRP 二抗 (江苏亲科生物研究中心有限公司, 批号 AF5002、AF2002、AF5006、AF2006、AF6311、AF7022、AF0120、AF6139、S0001); β-Tubulin、GAPDH 抗体 (南京赛戈巍生物科技有限公司, 批号 50905、52902)。

1.4 仪器 脱水机 (意大利迪佩斯公司); 包埋

机 (武汉俊杰电子有限公司); 病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司); 组织摊片机 (浙江金华市科迪仪器设备有限公司); 正置荧光显微镜 (日本尼康公司); ABI7300 荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 电泳转印仪 (美国 Bio-Rad 公司); Amersham Imager 680 超灵敏多功能成像仪 (美国 GE 公司)。

## 2 方法

2.1 分组、给药及造模 小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、地塞米松组和清燥救肺汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。地塞米松组腹腔注射 0.002 g/kg 地塞米松, 清燥救肺汤低、中、高剂量组分别灌胃给予 3.09、6.17、12.34 g/kg 清燥救肺汤, 对照组和模型组灌胃给予生理盐水, 连续 14 d。末次给药 6 h 后, 腹腔注射 5% 苯巴比妥钠麻醉, 气管滴注 5 mg/kg LPS 建立 ALI 模型。造模结束后, 模型组、地塞米松组、清燥救肺汤低剂量组各死亡 1 只, 存活小鼠 57 只。

2.2 取材 造模 16 h 后, 小鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥溶液 (40 mg/kg), 麻醉后安乐死, 每组选 5 只, 取肺泡灌洗液 (BALF), 并分离肺组织, 左、右肺分装并于液氮中冻存, 放入-80℃冰箱保存; 其余小鼠采用 1 mL 注射器针尖插入左心房, 剪开右心耳后灌注适量生理盐水至肺变白, 用 4% 多聚甲醛溶液继续灌注至肺变硬后停止, 分离肺组织进行相应的病理染色及实验。

2.3 HE 染色观察肺组织病理形态 取灌注后保存于 4% 多聚甲醛溶液中的肺组织, 脱水、包埋、切片及染色。于光学显微镜下观察并随机选取 5 个视野进行肺损伤评分。根据肺损伤的严重程度对炎症细胞浸润、肺泡间隔增厚、肺泡腔实变及肺泡充血分别进行评分, 无症状计 0 分, 轻度计 1 分, 中度计 2 分, 重度计 3 分, 极重度计 4 分。切片经扫描仪扫描后保存。

2.4 ELISA 法检测 BALF 中炎症因子水平 将小鼠 BALF 于 4℃、3 000 r/min 离心 15 min, 取上清, 按照试剂盒说明书操作, 检测 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 和 IL-17A 水平。

2.5 凋亡细胞计数 取肺组织石蜡切片, 脱蜡至水, 蛋白酶 K 修复, 破膜, 室温平衡, 加反应液, DAPI 复染细胞核, 封片, 荧光显微镜采集图片, 随机 5 个视野下计数凋亡细胞。

2.6 免疫组化 (IHC) 染色检测肺组织 p-NF-κB p65 蛋白表达 取肺组织石蜡切片, 脱蜡水化, 抗

原修复, 阻断内源性过氧化物酶, 孵育一抗, 滴加反应增强液, 孵育增强酶标 IgG 混合物, DAB 显色, 复染细胞核, 脱水, 透明, 封片, 切片扫描仪观察, 随机选 5 个视野, 通过 Image J 软件分析平均光密度。

2.7 免疫荧光 (IF) 染色检测肺组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达 取肺组织石蜡切片, 脱蜡水化, 抗原修复, 阻断内源性过氧化物酶, 孵育一抗, 孵育二抗, DAPI 复染细胞核, 封片, 荧光显微镜观察并随机选 5 个视野, 通过 Image J 软件测量平均荧光强度。

2.8 RT-qPCR 法检测肺组织凋亡相关 mRNA 表达 取适量冻存肺组织, 柱式法提取总 RNA, 测定纯度和浓度, 调整至同一浓度区间, 按照说明书提取基因组 DNA, 反转录成 cDNA, 进行 PCR 扩增反应, 反应程序为 95 ℃ 预变性 30 s; 95 ℃ 变性 15 s, 60 ℃ 退火/延伸 30 s, 40 次循环。扩增结束后对相应数据进行分析, 以 GAPDH 为内参, 采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 Caspase-3、Bax、Bcl-2 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

| 表 1 引物序列  |                                   |             |
|-----------|-----------------------------------|-------------|
| 基因        | 序列                                | 产物长度/<br>bp |
| Caspase-3 | 正向 5'-AGTGGGACTGATGAGGAGATGGC-3'  | 140         |
|           | 反向 5'-ATGCTGCAAAGGGACTGGATGAAC-3' |             |
| Bax       | 正向 5'-CGTGAGCGGCTGCTTGTCTG-3'     | 128         |
|           | 反向 5'-ATGCTGAGCGAGCGGTGAG-3'      |             |
| Bcl-2     | 正向 5'-CCGTCGTGACTTCGCAGAGATG-3'   | 97          |
|           | 反向 5'-ATCCCTGAAGAGTTCCTCCACCAC-3' |             |
| GAPDH     | 正向 5'-GCTTGCTCTCTGCGACTTCA-3'     | 183         |
|           | 反向 5'-TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC-3'    |             |

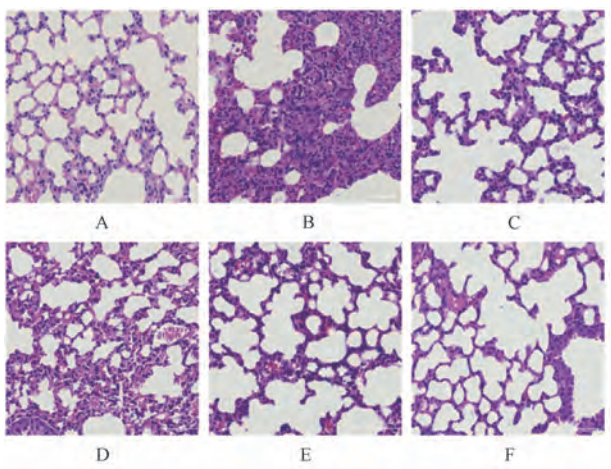
2.9 Western blot 法检测肺组织 IL-17/NF-κB 信号通路及凋亡相关蛋白表达 按照试剂盒说明书提取肺组织蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 配制相应上样样本, 电泳、转膜后丽春红显色, 封闭后加一抗 IL-17A、p-IκBα、IκBα、NF-κB p65、p-NF-κB p65、Caspase-3、cleaved Caspase-3、Bax、Bcl-2、β-Tubulin、GAPDH, 摇床孵育过夜, 回收抗体, 清洗后加二抗室温孵育 2 h, 显色液显色, 通过 Image J 软件分析条带灰度值, 计算相对蛋白表达量。

2.10 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.0 软件进行处理, 计量资料以平均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 对各组数据进行正态性检验 (Shapiro-Wilk 检验) 和方差齐性检验 (Bartlett 检验或 Levene 检验), 若数据满足正态分布且方差齐, 多组间比较

采用单因素方差分析, 两两比较采用最小显著性差异法 (LSD 法) 或 Bonferroni 法; 2 组间比较采用独立样本或配对样本 *t* 检验。 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 清燥救肺汤对 ALI 小鼠肺组织病理形态的影响 对照组小鼠肺泡大小均一, 间隔薄而完整, 未见炎性细胞浸润及肺泡异常内容物; 与对照组比较, 模型组小鼠肺间隔增厚严重, 充斥炎性细胞浸润, 肺泡充血, 肺泡融合扩张, 出现肺实变, 肺损伤评分升高 (*P*<0.01); 与模型组比较, 地塞米松组和清燥救肺汤各剂量组小鼠肺组织病理损伤得到缓解, 肺损伤评分降低 (*P*<0.01), 见图 1、表 2。



注: A 为对照组, B 为模型组, C 为地塞米松组, D~F 分别为清燥救肺汤低、中、高剂量组。

图 1 各组小鼠肺组织 HE 染色 (×100)

| 表 2 各组小鼠肺损伤评分比较 ( $\bar{x}\pm s$ , <i>n</i> =5) |                          |
|-------------------------------------------------|--------------------------|
| 组别                                              | 肺损伤评分/分                  |
| 对照组                                             | 0.30±0.45                |
| 模型组                                             | 15.30±0.55 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组                                           | 3.50±0.50 <sup>**</sup>  |
| 清燥救肺汤低剂量组                                       | 9.66±0.88 <sup>**</sup>  |
| 清燥救肺汤中剂量组                                       | 6.70±0.27 <sup>**</sup>  |
| 清燥救肺汤高剂量组                                       | 1.84±0.85 <sup>**</sup>  |

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

3.2 清燥救肺汤对 ALI 小鼠 BALF 中炎症因子水平的影响 与对照组比较, 模型组小鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 和 IL-17A 水平均升高 (*P*<0.01); 与模型组比较, 地塞米松组和清燥救肺汤高剂量组小鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 和 IL-17A 水平降低 (*P*<0.05, *P*<0.01), 清燥救肺汤低、中剂量组小鼠 BALF 中 IL-6、IL-1β 和 IL-17A 水平降低 (*P*<0.05, *P*<0.01), 见表 3。

表 3 各组小鼠 BALF 中 TNF-α、IL-6、IL-1β 和 IL-17A 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

| 组别        | TNF-α                     | IL-1β                     | IL-6                      | IL-17A                   |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 对照组       | 26.05±8.93                | 33.90±2.84                | 69.51±10.04               | 10.13±0.50               |
| 模型组       | 64.15±19.12 <sup>##</sup> | 74.16±2.36 <sup>##</sup>  | 171.14±5.38 <sup>##</sup> | 19.99±0.60 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组     | 48.01±2.70 <sup>*</sup>   | 40.70±6.97 <sup>**</sup>  | 93.39±4.12 <sup>**</sup>  | 14.02±0.93 <sup>**</sup> |
| 清燥救肺汤低剂量组 | 55.40±6.60                | 51.98±6.89 <sup>*</sup>   | 115.82±11.86 <sup>*</sup> | 17.83±0.50 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤中剂量组 | 53.49±5.16                | 42.10±11.94 <sup>*</sup>  | 96.57±7.81 <sup>**</sup>  | 16.11±0.37 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤高剂量组 | 41.59±1.47 <sup>**</sup>  | 37.17±10.18 <sup>**</sup> | 83.65±3.20 <sup>**</sup>  | 12.17±0.88 <sup>**</sup> |

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

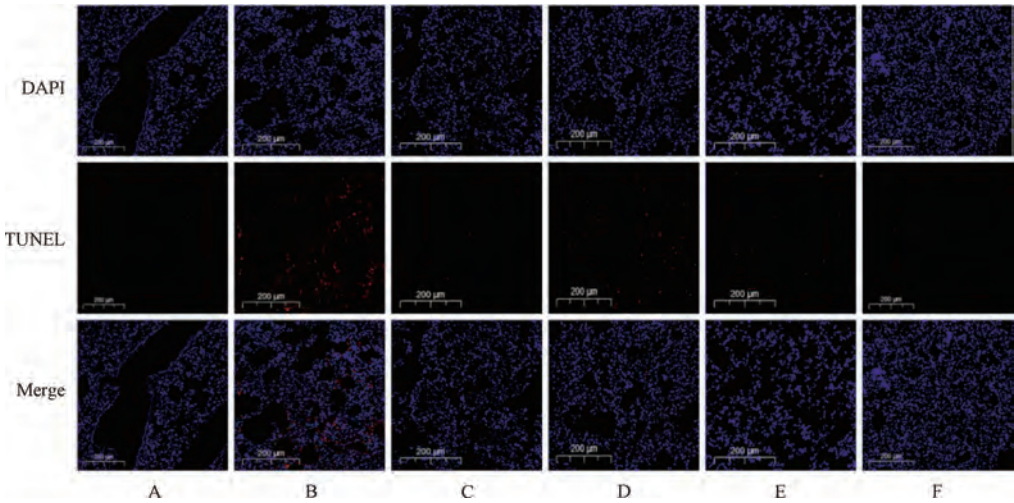
3.3 清燥救肺汤对 ALI 小鼠肺组织细胞凋亡的影响 对照组可见少量凋亡细胞；与对照组比较，模型组小鼠肺组织凋亡细胞数量增加 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，地塞米松组和清燥救肺汤各剂量组小鼠肺组织凋亡细胞数量减少 ( $P<0.01$ )，见表 4、图 2。

3.4 清燥救肺汤对 ALI 小鼠肺组织 p-NF-κB p65 蛋白表达的影响 对照组可见肺组织结构整齐，细胞核仅见 p-NF-κB p65 少量表达；与对照组比较，

表 4 各组小鼠肺组织凋亡细胞数比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

| 组别        | 凋亡细胞数/个                  |
|-----------|--------------------------|
| 对照组       | 9.20±0.45                |
| 模型组       | 37.40±5.41 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组     | 17.60±2.51 <sup>**</sup> |
| 清燥救肺汤低剂量组 | 25.80±1.80 <sup>**</sup> |
| 清燥救肺汤中剂量组 | 20.80±2.49 <sup>**</sup> |
| 清燥救肺汤高剂量组 | 14.20±2.59 <sup>**</sup> |

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



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为清燥救肺汤低、中、高剂量组。

图 2 各组小鼠肺组织 TUNEL 染色 ( $\times 100$ )

模型组肺组织结构异常，p-NF-κB p65 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，地塞米松组和清燥救肺汤中、高剂量组小鼠肺组织结构逐渐恢复，p-NF-κB p65 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ， $P<0.01$ )，见表 5、图 3。

表 5 各组小鼠肺组织 p-NF-κB p65 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

| 组别        | p-NF-κB p65             |
|-----------|-------------------------|
| 对照组       | 0.09±0.01               |
| 模型组       | 0.13±0.03 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组     | 0.11±0.07 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤低剂量组 | 0.12±0.03               |
| 清燥救肺汤中剂量组 | 0.11±0.04 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤高剂量组 | 0.10±0.02 <sup>**</sup> |

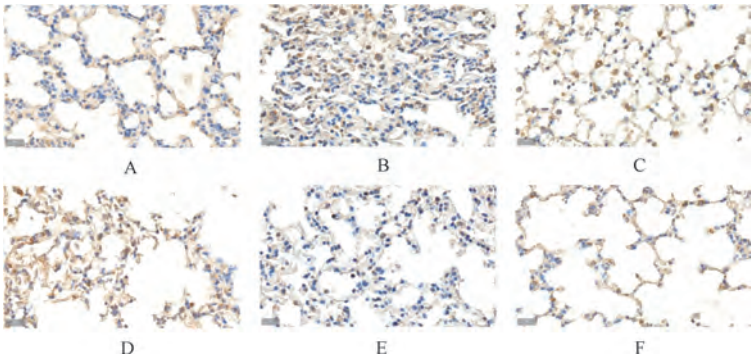
注：与对照组比较，<sup>##</sup> $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P<0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ 。

3.5 清燥救肺汤对 ALI 小鼠肺组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肺组织 Caspase-3、Bax 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ )，Bcl-2 蛋白表达降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，地塞米松组和清燥救肺汤中、高剂量组小鼠肺组织 Caspase-3、Bax 蛋白表达降低 ( $P<0.01$ )，Bcl-2 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ， $P<0.01$ )，见图 4、表 6。

3.6 清燥救肺汤对 ALI 小鼠肺组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 mRNA 表达的影响 与对照比较，模型组小鼠肺组织 Caspase-3、Bax mRNA 表达升高 ( $P<0.01$ )，Bcl-2 mRNA 表达降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，地塞米松组和清燥救肺汤中、高剂量组小鼠肺组织 Caspase-3、Bax mRNA 表达降低

( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), *Bcl-2* mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 清燥救肺汤低剂量组小鼠肺组织

*Caspase-3*、*Bax* mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ ), 见表 7。



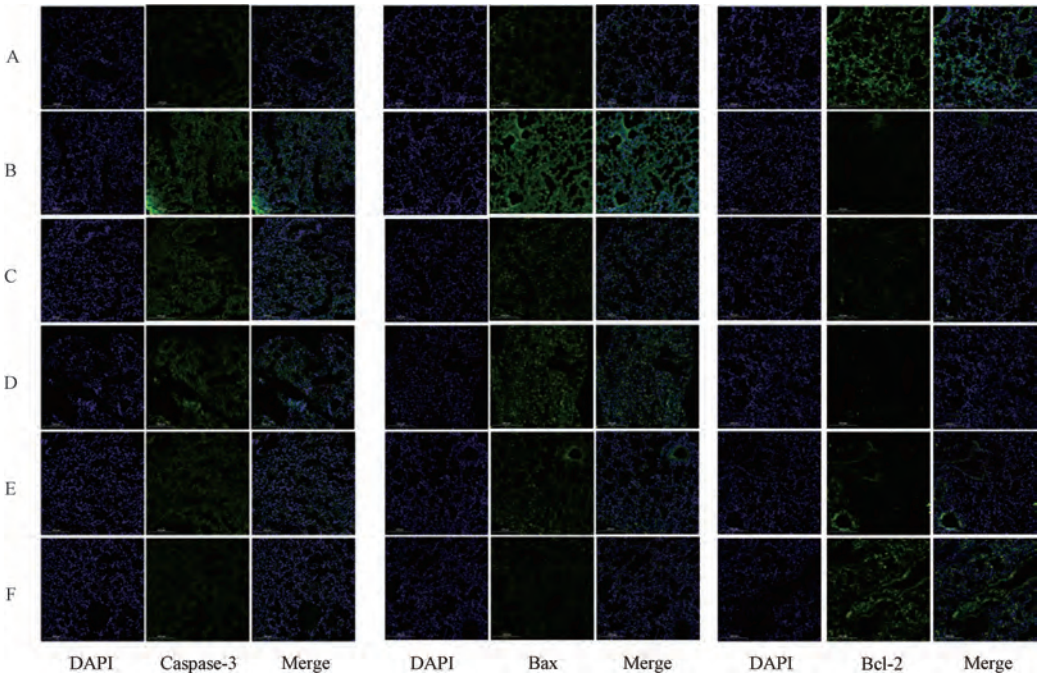
注：A 为对照组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为清燥救肺汤低、中、高剂量组。

图 3 各组小鼠肺组织 p-NF-κB p65 蛋白 IHC 染色 (×100)

表 6 各组小鼠肺组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=5$ )

| 组别        | Caspase-3                  | Bax                        | Bcl-2                     |
|-----------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 对照组       | 122.43±9.15                | 128.83±4.17                | 203.99±7.52               |
| 模型组       | 209.00±8.78 <sup>##</sup>  | 209.52±4.90 <sup>##</sup>  | 122.28±7.89 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组     | 153.26±8.81 <sup>**</sup>  | 155.70±12.20 <sup>**</sup> | 154.00±17.04 <sup>*</sup> |
| 清燥救肺汤低剂量组 | 187.32±11.02               | 193.47±12.05               | 148.35±17.73              |
| 清燥救肺汤中剂量组 | 156.25±18.41 <sup>**</sup> | 174.99±4.79 <sup>**</sup>  | 166.06±19.85 <sup>*</sup> |
| 清燥救肺汤高剂量组 | 134.95±11.20 <sup>**</sup> | 161.68±7.55 <sup>**</sup>  | 187.06±9.29 <sup>**</sup> |

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



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为清燥救肺汤低、中、高剂量组。

图 4 各组小鼠肺组织 Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 蛋白 IF 染色 (×100)

3.7 清燥救肺汤对 ALI 小鼠肺组织 IL-17/NF-κB 信号通路及凋亡相关蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肺组织 IL-17A、p-NF-κB p65、p-IκBα、cleaved Caspase-3 及 Bax 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ ),

Bcl-2 蛋白表达降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，地塞米松组和清燥救肺汤高剂量组小鼠肺组织 IL-17A、p-NF-κB p65、p-IκBα、cleaved Caspase-3 及 Bax 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), Bcl-2 蛋

白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 清燥救肺汤中剂量组小鼠肺组织 p-I $\kappa$ B $\alpha$ 、cleaved Caspase-3 及 Bax 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ), 见表 8、图 5。

表 7 各组小鼠肺组织 *Caspase-3*、*Bax* 及 *Bcl-2* mRNA 表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

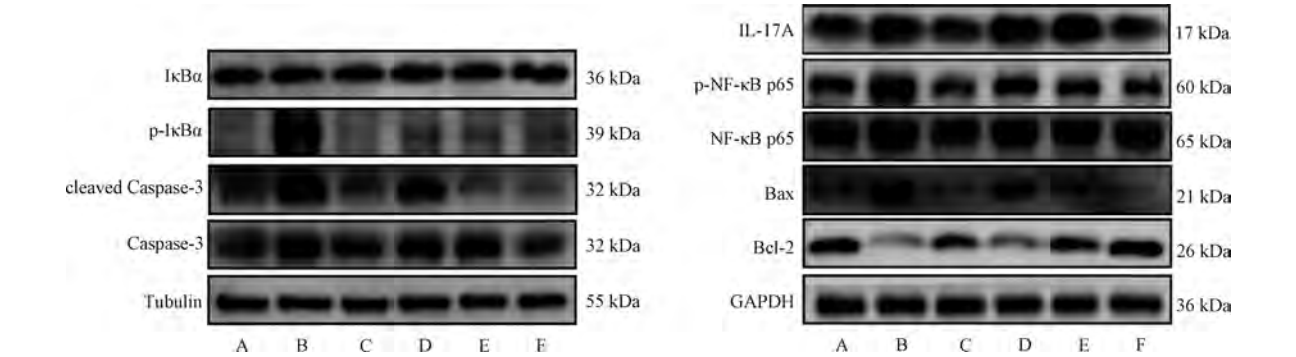
| 组别        | <i>Caspase-3</i>              | <i>Bax</i>                    | <i>Bcl-2</i>                  |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 对照组       | 1.00 $\pm$ 0.00               | 1.00 $\pm$ 0.00               | 1.00 $\pm$ 0.00               |
| 模型组       | 6.01 $\pm$ 0.27 <sup>##</sup> | 3.90 $\pm$ 0.48 <sup>##</sup> | 0.75 $\pm$ 0.19 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组     | 2.82 $\pm$ 0.83 <sup>**</sup> | 0.95 $\pm$ 0.25 <sup>**</sup> | 0.97 $\pm$ 0.12 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤低剂量组 | 3.78 $\pm$ 1.44 <sup>*</sup>  | 1.78 $\pm$ 0.89 <sup>*</sup>  | 0.82 $\pm$ 0.29               |
| 清燥救肺汤中剂量组 | 2.31 $\pm$ 0.83 <sup>**</sup> | 1.18 $\pm$ 0.27 <sup>*</sup>  | 0.91 $\pm$ 0.13 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤高剂量组 | 1.39 $\pm$ 0.71 <sup>**</sup> | 0.95 $\pm$ 0.09 <sup>**</sup> | 1.15 $\pm$ 0.40 <sup>**</sup> |

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

表 8 各组小鼠肺组织 IL-17A、p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 、cleaved Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

| 组别        | IL-17A/<br>GAPDH              | p-NF- $\kappa$ B p65/<br>GAPDH | p-I $\kappa$ B $\alpha$ /<br>Tubulin | cleaved Caspase-3/<br>Tubulin | Bax/<br>GAPDH                 | Bcl-2/<br>GAPDH               |
|-----------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 对照组       | 1.00 $\pm$ 0.00               | 1.00 $\pm$ 0.00                | 1.00 $\pm$ 0.00                      | 1.00 $\pm$ 0.00               | 1.00 $\pm$ 0.00               | 1.00 $\pm$ 0.00               |
| 模型组       | 1.38 $\pm$ 0.04 <sup>##</sup> | 1.33 $\pm$ 0.10 <sup>##</sup>  | 1.98 $\pm$ 0.33 <sup>##</sup>        | 1.66 $\pm$ 0.23 <sup>##</sup> | 1.64 $\pm$ 0.37 <sup>##</sup> | 0.24 $\pm$ 0.18 <sup>##</sup> |
| 地塞米松组     | 1.17 $\pm$ 0.06 <sup>*</sup>  | 1.06 $\pm$ 0.02 <sup>**</sup>  | 1.23 $\pm$ 0.31 <sup>**</sup>        | 1.24 $\pm$ 0.15 <sup>**</sup> | 1.05 $\pm$ 0.30 <sup>**</sup> | 0.42 $\pm$ 0.05 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤低剂量组 | 1.22 $\pm$ 0.11               | 1.24 $\pm$ 0.06                | 1.94 $\pm$ 0.33                      | 1.47 $\pm$ 0.06               | 1.51 $\pm$ 0.09               | 0.23 $\pm$ 0.05               |
| 清燥救肺汤中剂量组 | 1.15 $\pm$ 0.14               | 1.07 $\pm$ 0.14                | 1.41 $\pm$ 0.17 <sup>*</sup>         | 1.43 $\pm$ 0.17 <sup>*</sup>  | 1.38 $\pm$ 0.13 <sup>*</sup>  | 0.44 $\pm$ 0.11 <sup>*</sup>  |
| 清燥救肺汤高剂量组 | 1.10 $\pm$ 0.08 <sup>**</sup> | 1.01 $\pm$ 0.05 <sup>**</sup>  | 1.31 $\pm$ 0.13 <sup>**</sup>        | 1.13 $\pm$ 0.12 <sup>**</sup> | 0.96 $\pm$ 0.19 <sup>**</sup> | 0.71 $\pm$ 0.21 <sup>**</sup> |

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



注: A 为对照组, B 为模型组, C 为地塞米松组, D~F 分别为清燥救肺汤低、中、高剂量组。

图 5 各组小鼠肺组织 IL-17A、p-NF- $\kappa$ B p65、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 、cleaved Caspase-3、Bax 及 Bcl-2 蛋白条带图

4 讨论

ALI 是一种由多因素诱发, 以弥漫性肺泡、毛细血管损伤为特征的临床综合征, 目前临床治疗以肺保护性通气和原发病治疗为主, 其引发的 ARDS 和脓毒血症是病人死亡的主要原因<sup>[13-14]</sup>。革兰氏阴性菌外膜主要成分 LPS 是致 ALI 的关键诱因, 已广泛用于该疾病的基础研究<sup>[15]</sup>。本研究结果显示, 模型组小鼠肺泡实变, 间隔增厚, 大量炎性细胞浸润, 内部伴有出血; BALF 中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  和 IL-17A 水平升高, 提示组织炎症反应强烈; 地塞米松和清燥救肺汤缓解了 ALI 进展, 且清燥救肺汤对肺结构和炎症因子的改善作用优于地塞米松组。

凋亡本身有助于抑制炎症, 但凋亡细胞未被及时清理时会加剧炎症反应, ALI 过度的炎症反应和

细胞凋亡形成病理互作关系, IL-17A 与受体 IL-17RA/RC 结合后, 募集接头蛋白 Act1 和 E3 泛素连接酶 TRAF6, 通过催化 K63 泛素链激活 TAK1 激酶复合物<sup>[16]</sup>。活化的 TAK1 磷酸化 IKK 复合物, 进而促使 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化并经蛋白酶体降解, 从而释放 NF- $\kappa$ B (p65) 二聚体入核。NF- $\kappa$ B 驱动促炎因子 (如 TNF- $\alpha$ 、IL-6) 和趋化因子表达, 同时可能上调促凋亡分子并抑制细胞存活信号, 最终在持续的炎症应激下导致特定细胞发生过度凋亡, 成为相关炎症性疾病组织损伤的关键机制<sup>[16-17]</sup>。IF 染色可见模型组细胞凋亡蛋白 Caspase-3、Bax 表达升高, Bcl-2 表达降低; IHC 染色显示模型组 p-NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达升高, 提示组织的炎症凋亡水平与病理结构改变呈正相关。Caspase-3 作为凋亡的执行者, 能切割细胞内数百种关键蛋白, 使细胞瓦解, NF-

κB p65 具有抗凋亡作用,当两者失衡,Bax 与 Caspase 大量激活,使得 Caspase-3 在加速凋亡中,会切割 NF-κB p65 等组分从而削弱生存信号,造成恶性循环<sup>[18-23]</sup>。地塞米松和清燥救肺汤能缓解恶性反应的进展,而后者调节炎症和凋亡失衡的作用强于前者。

研究表明,IL-17 通路在过度炎症反应中会加速炎性细胞的聚集,释放多种因子,引发细胞凋亡和 NF-κB 通路激活,从而重构肺泡血管结构<sup>[8-9]</sup>。本研究结果显示,模型组促凋亡相关蛋白 cleaved Caspase-3、Bax 表达升高,与 IL-17A、p-NF-κB p65、p-IκBα 蛋白表达升高相对应,说明 ALI 的炎症凋亡机制与之有关;而清燥救肺汤在抗炎、抗凋亡的基础上,下调了 IL-17A 蛋白表达,上调了 Bcl-2 蛋白表达,提示清燥救肺汤有更强的抗炎、抗凋亡潜力。

综上所述,本研究初步证明了清燥救肺汤对于 LPS 诱导的 ALI 有抗炎、抗凋亡和促进机体平衡的能力,其机制可能与抑制 IL-17/NF-κB 信号通路过度激活,提高细胞抗凋亡能力,缓解细胞非程序性凋亡有关。

参考文献:

[ 1 ] Liu H, Dong J, Xu C, *et al.* Acute lung injury: pathogenesis and treatment[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1): 926.

[ 2 ] 钱宏梁,潘志强,王晓敏,等. 不同剂量地塞米松诱发小鼠药源性虚证评价研究[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(2): 611-615.

[ 3 ] Neyton L P A, Patel R K, Sarma A, *et al.* Distinct pulmonary and systemic effects of dexamethasone in severe COVID-19[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5483.

[ 4 ] Zheng Z, Qiao X, Yin J, *et al.* Advancements in omics technologies: Molecular mechanisms of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2025, 55(3): 38.

[ 5 ] 赵菡扬,王汛江,薛琼雯,等. 人参皂苷改善急性肺损伤的分子机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(16): 4451-4470.

[ 6 ] Hou F, Shi N, Yuan H, *et al.* Targeting alveolar macrophages: a promising intervention for pulmonary infection and acute lung injury[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2025, 30(1): 69.

[ 7 ] 李 华,刘梓晗,孟 欣,等. 经典名方清燥救肺汤的多成分含量测定方法和抗氧化活性研究[J]. *药科学报*, 2021, 56(12): 3511-3517.

[ 8 ] Shaikh S B, Prabhakar Bhandary Y. Effect of curcumin on IL-17A mediated pulmonary AMPK kinase/cyclooxygenase-2 expressions *via* activation of NFκB in bleomycin-induced acute lung injury *in vivo*[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020,

85: 106676.

[ 9 ] Wu W, Li L, Su X, *et al.* Nuclear factor-κB regulates the transcription of NADPH oxidase 1 in human alveolar epithelial cells[J]. *BMC Pulm Med*, 2021, 21(1): 98.

[10] 焦太强,南 一,袁 玲,等. 基于 p38 MAPK/NF-κB 信号通路探讨麻杏苦甘汤对油酸诱导的急性肺损伤大鼠炎症反应及细胞凋亡的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(7): 108-116.

[11] Xie B, Wang M, Zhang X, *et al.* Gut-derived memory γδ T17 cells exacerbate sepsis-induced acute lung injury in mice[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 6737.

[12] 吴振起,杨 璐,敏 娜,等. 清燥救肺汤及其拆方对肺炎支原体感染小鼠 Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白的影响[J]. *中草药*, 2018, 49(2): 389-395.

[13] Matthay M A, Arabi Y, Arroliga A C, *et al.* A new global definition of acute respiratory distress syndrome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 207(1): 37-47.

[14] Mokrá D. Acute lung injury—from pathophysiology to treatment[J]. *Physiol Res*, 2020, 69(Suppl 3): S353-S366.

[15] Xia L, Zhang C, Lv N, *et al.* AdMSC-derived exosomes alleviate acute lung injury *via* transferring mitochondrial component to improve homeostasis of alveolar macrophages[J]. *Theranostics*, 2022, 12(6): 2928-2947.

[16] Ning X, Wang Y, Jing M, *et al.* Apoptotic caspases suppress type I interferon production *via* the cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3[J]. *Mol Cell*, 2019, 74(1): 19-31.

[17] Sangiuliano B, Pérez N M, Moreira D F, *et al.* Cell death-associated molecular-pattern molecules: inflammatory signaling and control[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 821043.

[18] Luo Q, Liu Y, Shi K, *et al.* An autonomous activation of interleukin-17 receptor signaling sustains inflammation and promotes disease progression[J]. *Immunity*, 2023, 56(9): 2006-2020.

[19] 郝光勇,张昕雨,刘 柯. 小檗碱调节 NF-κB/NLRP3 信号通路对脂多糖诱导的人牙周膜干细胞增殖、凋亡、炎症和成骨分化的影响[J]. *实用口腔医学杂志*, 2025, 41(6): 768-773.

[20] 温志刚,董军格,孙永强,等. 附子汤联合外敷温经药酒对膝关节炎大鼠滑膜炎症、成骨细胞凋亡及 NFATc1 信号通路的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2025, 45(21): 5227-5232.

[21] Li C, Lian Y, Lin Y, *et al.* A network pharmacology and molecular dynamics simulation-based study of Qing Run Hua Jie Decoction in interstitial pneumonia treatment[J]. *Infect Drug Resist*, 2024, 17: 605-621.

[22] 石 龙,李 扬,颜鸿宇,等. 基于 SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路探讨二精丸改善肌少症骨骼肌细胞炎症反应和细胞凋亡的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2026, 32(3): 57-66.

[23] 刘 荆,马玉龙,杜俊杰,等. 左旋紫草素升高 miR-27a 表达对 LPS 诱导的急性肺损伤大鼠炎症、氧化应激和细胞凋亡的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(11): 3798-3802.