

苍耳亭对哮喘小鼠气道炎症和 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的影响

沈玉秀，袁红艳，王梦晓，张莲莲^{*}
(北华大学附属医院药学部，吉林 吉林 132000)

摘要：目的 探讨苍耳亭对哮喘小鼠气道炎症的影响。方法 昆明小鼠腹腔注射卵清蛋白(OVA)致敏并结合连续雾化激发法制备哮喘模型，并随机分为模型组、地塞米松组(2.0 mg/kg)及苍耳亭低、高剂量组(100、200 mg/kg)，另设不造模的小鼠为正常组。给药干预14 d后，检测哮喘行为学评分、呼吸间歇(Penh)值；HE染色观察肺组织病理学并进行肺组织损伤评分；瑞氏染色计数支气管肺泡灌洗液(BALF)中炎性细胞数；ELISA法检测BALF及血清中炎症因子(TNF-α、IL-4、IL-5、IL-17)水平；Western blot法检测肺组织TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白表达。结果 与正常组比较，模型组小鼠哮喘行为学评分、Penh值及肺组织损伤评分增加($P<0.05$)，炎性细胞数、BALF及血清TNF-α、IL-4、IL-5、IL-17水平升高($P<0.05$)，肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达升高($P<0.05$)；与模型组比较，苍耳亭各剂量组和地塞米松组小鼠哮喘行为学评分、Penh值及肺组织损伤评分降低($P<0.05$)，炎性细胞数、BALF及血清TNF-α、IL-4、IL-5、IL-17水平降低($P<0.05$)，肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达降低($P<0.05$)。结论 苍耳亭可以改善小鼠哮喘症状，其机制与抑制TLR4/MyD88/NF-κB信号通路进而减轻气道炎症有关。

关键词：苍耳亭；哮喘；炎症；TLR4/MyD88/NF-κB信号通路

中图分类号：R285.5

文献标志码：B

文章编号：1001-1528(2025)12-4168-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.045

哮喘也称支气管哮喘，是常见的慢性气道炎症性疾病，喘息、咳嗽、呼吸困难和胸闷为哮喘的主要症状，目前尚无根治手段^[1-3]。激素是临幊上治疗哮喘的有效措施，但长期使用会引起骨质疏松、白内障等多种全身或局部的不良反应，故寻找新的治疗哮喘方案极为迫切^[4]。苍耳亭为倍半萜内酯类化合物，是苍耳子的主要功效成分，具有抗炎、抗过敏、镇痛、抑制肿瘤、治疗溃疡等多种作用^[5-6]。既往研究发现，苍耳亭可改善卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导的过敏性鼻炎模型大鼠症状^[7]。苍耳亭也可以通过抑制巨噬细胞产生的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor, TNF-α)和上皮细胞产生的胸腺基质淋巴细胞生成素，发挥抗过敏性皮炎作用^[8]。但苍耳亭对过敏性哮喘的治疗作用及相关机制研究鲜有报道。Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)/髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)/核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)信号通路在哮喘气道慢性炎症进展中具有关键性作用，其激活后可诱发炎症反应，加重哮喘症状^[9]。目前，暂未有研究分析苍耳亭基于TLR4/MyD88/NF-κB信号通路减轻哮喘气道炎症的报道。因此，本研究主要探讨苍耳亭对哮喘症状、气道炎症及TLR4/MyD88/

NF-κB信号通路的影响，旨在为应用苍耳亭治疗哮喘提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 75只SPF级雄性昆明小鼠，体质量18~20 g，购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司[实验动物生产许可证号SCXK(吉)2023-0002]，饲养于吉林医药学院实验动物中心[实验动物使用许可证号SYXK(吉)2022-0003]，环境温度22~25℃，相对湿度(50±5)%，自由获取水和标准饲料，12 h/12 h昼夜交替循环。本实验方案符合动物伦理要求，并经北华大学伦理委员会审核批准(批准号20240103)。

1.2 药物与试剂 苍耳亭(纯度90%，批号2022110901)购自南京尚书生物科技有限公司；地塞米松(规格0.75 mg/片，国药准字H44024618)购自广东南国药业有限公司。OVA(货号9006-59-1)购自美国Sigma公司；乙酰甲胆碱(货号PHR1943)购自美国Supelco公司；苏木素-伊红(HE)染色液、瑞氏染色液(货号R0953、SP6024)购自上海士锋生物科技有限公司；TNF-α、白细胞介素(interleukin, IL)-4、IL-5、IL-17检测试剂盒(货号ZN2764、ZN2669、ZN2670、ZN2653)购自北京百奥莱博

收稿日期：2025-02-27

基金项目：吉林省卫生健康委员会项目(202411)

作者简介：沈玉秀(1984—)，女，硕士，副主任药师，研究方向为药物的基础理论与临床应用。Tel: 13384401555, E-mail: shenyuxiu900@163.com

*通信作者：张莲莲(1980—)，女，副主任药师，研究方向为中药药理与临床应用研究。Tel: 13596242688, E-mail: 897832171@qq.com

科技有限公司; TLR4、MyD88、NF- κ B p65 多克隆抗体(货号 CSB-PA001434、CSB-PA003338、CSB-PA003148)购自武汉华美生物工程有限公司; β -肌动蛋白(β -actin)多克隆抗体、IgG 二抗(货号 ABP50151、AS09-627)购自武汉艾美捷科技有限公司。

1.3 仪器 BS1103 型天平(精度 0.1 mg)购自德国 Sartorius 公司; VELOCITY18R 型离心机购自澳大利亚 Dynamica 公司; ZDS230-A 型雾化机购自江苏鱼跃医疗设备股份有限公司; VentStar 型小动物呼吸机购自深圳瑞沃德生命科技有限公司; CX43 型显微镜购自日本 Olympus 公司; Elx808 型酶标仪购自美国 BioTek 公司; VE-180 型蛋白电泳仪购自上海天能科技有限公司; JS-1070P 型凝胶成像仪购自上海培清科技有限公司。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 昆明小鼠适应性饲养 1 周后, 按体质量随机取 15 只作为正常组, 剩余 60 只小鼠参考杨瑛等^[10]方法, 通过腹腔注射 OVA 致敏并结合连续雾化激发法制备哮喘模型。第 1 天, 小鼠腹腔注射 0.2 mL 含 20 μ g OVA 与 2 mg 氢氧化铝的生理盐水混悬液; 第 8 天, 重复上述操作。第 15 天, 将小鼠置于雾化吸入箱中, 用 5% OVA 生理盐水溶液激发, 每天 1 次, 每次 30 min, 持续 7 d。正常组小鼠以生理盐水代替, 其余操作步骤相同。当小鼠出现呛咳或喷嚏、挠鼻、腹式呼吸、呼吸急促、烦躁不安、动作迟缓等症时, 表明哮喘小鼠模型成功建立。哮喘模型小鼠进一步分为模型组、地塞米松(阳性药物)组及苍耳亭低、高剂量组, 每组 15 只。地塞米松组小鼠灌胃 2.0 mg/kg 地塞米松混悬液(地塞米松片研碎后用 0.5% 羧甲基纤维素钠配制成 0.2 mg/mL 混悬液)^[11]; 苍耳亭低、高剂量组小鼠灌胃 100、200 mg/kg 苍耳亭混悬液(苍耳亭用 0.5% 羧甲基纤维素钠分别配制成 10、20 mg/mL 混悬液)^[12]; 正常组及模型组小鼠灌胃 0.5% 羧甲基纤维素钠, 灌胃体积均为 10 mL/kg, 每天 1 次, 持续 14 d。

2.2 一般情况观察及哮喘行为学评分 实验期间, 观察各组小鼠一般情况, 并对哮喘行为进行评分。10 min 内, 小鼠无哮喘症状及挠痒、抓鼻等动作, 计 0 分; 挠痒、抓鼻等动作发生 1~3 次, 计 1 分; 挠痒、抓鼻等动作发生 4~6 次, 计 2 分; 挠痒、抓鼻等动作发生 7 次及以上, 计 3 分。

2.3 呼吸间歇值(Penh)检测 末次干预结束 30 min 后, 小鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠溶液(50 mg/kg)进行麻醉, 各组随机选取 5 只小鼠, 将气管切开后插管, 置于同呼吸机相连的空腔中, 等待小鼠状态平稳后, 用不同质量浓度的乙酰甲胆碱(3.125、6.25、12.5 mg/mL)激发, 检测呼吸间歇值(enhanced pause, Penh)。

2.4 组织取材 各组剩余 10 只小鼠, 采用摘眼球法取血, 离心获得血清。颈椎脱臼法处死小鼠, 暴露气管后将左支气管结扎, 用 1 mL 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)灌洗肺泡及支气管, 重复抽取 3 次, 收集支气管肺泡灌洗液(broncho alveolar lavage fluid, BALF),

回收液体量不小于 80%。手术摘取肺脏, 右肺组织用 4% 多聚甲醛固定并保存于常温环境中, 左肺组织置于 1.5 mL 离心管中并保存于 -80 ℃ 冰箱中。

2.5 肺组织病理学观察及损伤评分 将固定于 4% 多聚甲醛中的右肺组织取出, 石蜡包埋后连续切片 4 μ m, 常规方法行 HE 染色, 于显微镜下观察肺组织病理学变化并对损伤情况进行评分。无任何病变区域, 计 0 分; 病变区域比例 $\leq 12\%$, 计 0.5 分; 病变区域比例 $> 12\%$ 且 $\leq 25\%$, 计 1 分; 病变区域比例 $> 25\%$ 且 $\leq 50\%$, 计 2 分; 病变区域比例 $> 50\%$ 且 $\leq 75\%$, 计 3 分; 病变区域比例 $> 75\%$, 计 4 分。

2.6 BALF 中炎性细胞计数 取 BALF, 4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min, 留存上清液, 细胞沉淀用 0.5 mL PBS 溶液重悬, 吸取 200 μ L 细胞悬液均匀涂抹在载玻片上, 经瑞氏染色后, 计数肺泡灌洗液中炎性细胞。其中, 淋巴细胞呈蓝紫色, 中性粒细胞呈淡紫红色, 嗜酸性粒细胞呈粉红色。

2.7 ELISA 法检测 BALF 及血清中炎症因子水平 参照试剂盒说明书分别检测 BALF 及血清炎症因子 TNF- α 、IL-4、IL-5 及 IL-17 水平。

2.8 Western blot 法检测肺组织 TLR4、MyD88 及 NF- κ B p65 蛋白表达 取冻存的左肺组织, 加入裂解液后离心, 制备总蛋白。BCA 法测总蛋白水平, 取 20 μ g 总蛋白等体积上样, 行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后转移至硝酸纤维素膜, 洗膜 3 次。加入脱脂牛奶, 封闭 2 h; 再加入稀释的 TLR4、MyD88、NF- κ B p65 抗体(1:1 000)及 β -actin 抗体(1:2 500), 于摇床上 4 ℃ 孵育过夜。次日洗膜 3 次, 加入 IgG 二抗(1:5 000), 于摇床上室温孵育 2 h。ECL 法显影、成像, 分析目的蛋白相对表达。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 计量资料以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-t 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义

3 结果

3.1 苍耳亭对哮喘小鼠一般情况的影响 正常组小鼠未见呛咳或喷嚏、挠鼻、腹式呼吸、呼吸急促、烦躁不安等症, 饮水、进食及二便均正常, 毛发光泽且柔顺, 动作灵活, 精神状态良好; 模型组小鼠出现呛咳或喷嚏、挠鼻、腹式呼吸、呼吸急促、烦躁不安等症, 饮水、进食及二便减少, 毛发无光泽且粗糙, 动作迟缓, 精神萎靡; 地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠上述哮喘症状均有不同程度的改善, 饮水、进食及二便有所增加, 动作迟缓及精神萎靡现象也有不同程度的改善。

3.2 苍耳亭对哮喘小鼠行为学评分的影响 如表 1 所示, 与正常组比较, 干预前后模型组小鼠哮喘行为学评分均升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 干预后, 地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠哮喘行为学评分降低($P < 0.05$); 与地塞米松组比较, 干预后, 苍耳亭各剂量组小鼠哮喘行为学评分增加($P < 0.05$); 干预后, 地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠哮喘行为学评分较干预前降低($P < 0.05$)。

表1 各组小鼠哮喘行为学评分比较 ($\bar{x}\pm s$, n=15)

组别	哮喘行为学评分/分	
	干预前	干预后
正常组	0.15±0.03	0.14±0.02
模型组	2.73±0.45*	2.61±0.39*
地塞米松组	2.70±0.31	0.89±0.18 ^{A#}
苍耳亭低剂量组	2.82±0.42	1.55±0.26 ^{A#▲}
苍耳亭高剂量组	2.76±0.27	1.23±0.15 ^{A#▲}

注：与干预前比较，^AP<0.05；与正常组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05；与地塞米松组比较，▲P<0.05。

3.3 苍耳亭对哮喘小鼠Penh值的影响 如表2所示，各组小鼠分别经不同质量浓度(3.125、6.25、12.5 mg/mL)的乙酰甲胆碱溶液激发后，与正常组比较，模型组小鼠Penh值均增加(P<0.05)；与模型组比较，地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠Penh值均降低(P<0.05)；与地塞米松组比较，苍耳亭低剂量组小鼠Penh值均增加(P<0.05)，苍耳亭高剂量组小鼠经3.125 mg/mL乙酰甲胆碱溶液激发后Penh值也增加(P<0.05)。

表2 各组小鼠Penh值比较 ($\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	乙酰甲胆碱/(mg·mL ⁻¹)		
	3.125	6.25	12.5
正常组	0.13±0.01	0.75±0.09	2.18±0.34
模型组	0.66±0.08*	2.04±0.31*	6.65±0.86*
地塞米松组	0.19±0.02 [#]	0.81±0.10 [#]	2.33±0.27 [#]
苍耳亭低剂量组	0.47±0.05 [▲]	1.46±0.22 [▲]	3.91±0.42 ^{▲#}
苍耳亭高剂量组	0.25±0.03 [▲]	0.90±0.13 [#]	2.49±0.35 [#]

注：与正常组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05；与地塞米松组比较，▲P<0.05。

3.4 苍耳亭对哮喘小鼠肺组织病理学变化的影响 正常组小鼠肺组织未见炎性细胞浸润，支气管黏膜结构正常；模型组小鼠可见明显的炎性细胞浸润，支气管管壁及基底膜变厚；地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠上述病理学变化减轻，尤其是地塞米松组及苍耳亭高剂量组效果最佳，见图1。各组小鼠肺组织损伤评分结果见表3，由此可知，与正常组比较，模型组小鼠肺组织损伤评分升高(P<0.05)；

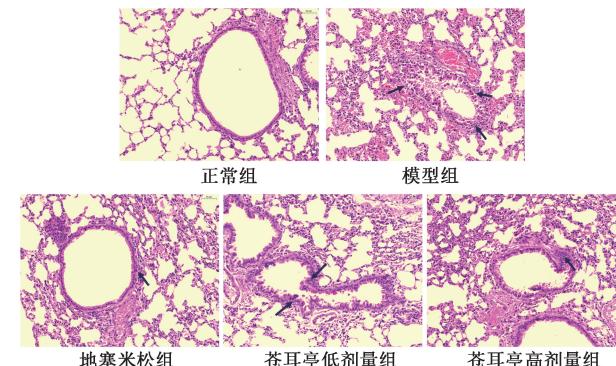
表4 各组小鼠BALF中炎性细胞数比较 ($\times 10^4$ 个/mL, $\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	炎性细胞总数	淋巴细胞数	中性粒细胞数	嗜酸性粒细胞数
正常组	8.09±1.03	1.04±0.18	3.28±0.54	3.65±0.59
模型组	125.41±16.78*	45.70±5.63*	36.19±4.94*	41.82±5.12*
地塞米松组	35.90±5.32 [#]	12.73±1.46 [#]	8.26±1.10 [#]	14.35±2.56 [#]
苍耳亭低剂量组	98.33±12.17 [▲]	38.34±4.37 [▲]	22.68±2.41 ^{▲#}	37.09±4.72 [▲]
苍耳亭高剂量组	67.84±8.29 [▲]	21.27±3.11 [▲]	19.13±2.37 [▲]	25.36±3.28 [▲]

注：与正常组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05；与地塞米松组比较，▲P<0.05。

3.6 苍耳亭对哮喘小鼠BALF和血清中炎症因子水平的影响 如表5~6所示，与正常组比较，模型组小鼠BALF和血清中TNF-α、IL-4、IL-5及IL-17水平均升高(P<0.05)；与模型组比较，地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠BALF和血清中TNF-α、IL-4、IL-5及IL-17水平均降低(P<0.05)；与地塞米松组比较，除苍耳亭高剂量组血清TNF-α水平无明显变化外(P>0.05)，苍耳亭各剂量组小鼠BALF和血清中IL-4、IL-5及IL-17水平均升高(P<0.05)。

与模型组比较，地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠肺组织损伤评分降低(P<0.05)；与地塞米松组比较，苍耳亭低剂量组小鼠肺组织损伤评分升高(P<0.05)，而苍耳亭高剂量组小鼠肺组织损伤评分无明显变化(P>0.05)。

图1 各组小鼠肺组织HE染色($\times 400$)表3 各组小鼠肺组织损伤评分比较 ($\bar{x}\pm s$, n=5)

组别	损伤评分/分
正常组	0
模型组	3.40±0.58*
地塞米松组	0.70±0.29 [#]
苍耳亭低剂量组	1.80±0.58 ^{▲#}
苍耳亭高剂量组	1.10±0.29 [#]

注：与正常组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05；与地塞米松组比较，▲P<0.05。

3.5 苍耳亭对哮喘小鼠BALF中炎性细胞数的影响 如表4所示，与正常组比较，模型组小鼠BALF中炎性细胞总数、淋巴细胞数、中性粒细胞数、嗜酸性粒细胞数均增加(P<0.05)；与模型组比较，地塞米松组及苍耳亭各剂量组小鼠BALF中炎性细胞总数及各炎性细胞数均减少(P<0.05)；与地塞米松组比较，苍耳亭各剂量组小鼠BALF中炎性细胞总数及各炎性细胞数均增加(P<0.05)。

表4 各组小鼠BALF中炎性细胞数比较 ($\times 10^4$ 个/mL, $\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	炎性细胞总数	淋巴细胞数	中性粒细胞数	嗜酸性粒细胞数
正常组	8.09±1.03	1.04±0.18	3.28±0.54	3.65±0.59
模型组	125.41±16.78*	45.70±5.63*	36.19±4.94*	41.82±5.12*
地塞米松组	35.90±5.32 [#]	12.73±1.46 [#]	8.26±1.10 [#]	14.35±2.56 [#]
苍耳亭低剂量组	98.33±12.17 [▲]	38.34±4.37 [▲]	22.68±2.41 ^{▲#}	37.09±4.72 [▲]
苍耳亭高剂量组	67.84±8.29 [▲]	21.27±3.11 [▲]	19.13±2.37 [▲]	25.36±3.28 [▲]

注：与正常组比较，*P<0.05；与模型组比较，#P<0.05；与地塞米松组比较，▲P<0.05。

3.7 苍耳亭对哮喘小鼠肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达的影响 如图2、表7所示，与正常组比较，模型组小鼠肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达均升高(P<0.05)；与模型组比较，地塞米松组及苍耳亭各剂量组TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达均降低(P<0.05)；与地塞米松组比较，苍耳亭低剂量组TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达升高(P<0.05)，高剂量组NF-κB p65蛋白表达升高(P<0.05)。

表5 各组小鼠BALF中TNF- α 、IL-4、IL-5及IL-17水平比较(pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=10)

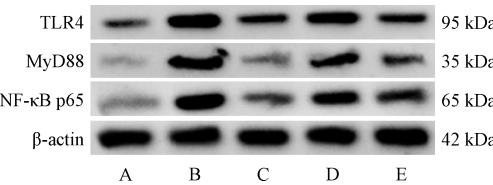
组别	TNF- α	IL-4	IL-5	IL-17
正常组	42.90±5.13	89.72±10.21	67.32±8.40	291.34±31.48
模型组	106.14±12.57*	261.38±32.33*	178.54±19.05*	684.13±75.91*
地塞米松组	65.36±8.74#	135.46±15.54#	95.88±11.62#	366.42±43.74#
苍耳亭低剂量组	92.01±11.62#▲	198.45±26.38#▲	141.17±16.58#▲	541.86±67.82#▲
苍耳亭高剂量组	78.86±9.93#▲	173.07±23.29#▲	115.59±12.47#▲	419.67±44.10#▲

注: 与正常组比较, *P<0.05; 与模型组比较, #P<0.05; 与地塞米松组比较, ▲P<0.05。

表6 各组小鼠血清中TNF- α 、IL-4、IL-5及IL-17水平比较(pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	TNF- α	IL-4	IL-5	IL-17
正常组	28.12±3.89	49.09±5.47	34.78±4.26	156.89±18.17
模型组	75.20±9.45*	112.47±14.70*	71.52±8.61*	429.04±57.65*
地塞米松组	35.24±4.02#	62.34±8.75#	37.93±3.74#	175.16±16.42#
苍耳亭低剂量组	56.17±7.93#▲	91.20±10.33#▲	50.45±6.93#▲	353.54±40.48#▲
苍耳亭高剂量组	37.52±4.10#	87.29±11.58#▲	42.27±5.22#▲	232.13±31.30#▲

注: 与正常组比较, *P<0.05; 与模型组比较, #P<0.05; 与地塞米松组比较, ▲P<0.05。



注: A为正常组, B为模型组, C为地塞米松组, D~E为苍耳亭低、高剂量组。

图2 各组小鼠肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白条带图

表7 各组小鼠肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$, n=3)

组别	TLR4/β-actin	MyD88/β-actin	NF-κB p65/β-actin
正常组	0.15±0.02	0.08±0.01	0.10±0.01
模型组	0.96±0.10*	0.82±0.08*	0.91±0.09*
地塞米松组	0.33±0.04#	0.14±0.02#	0.18±0.02#
苍耳亭低剂量组	0.74±0.06#▲	0.37±0.04#▲	0.66±0.07#▲
苍耳亭高剂量组	0.42±0.05#	0.21±0.04#	0.35±0.03#▲

注: 与正常组比较, *P<0.05; 与模型组比较, #P<0.05; 与地塞米松组比较, ▲P<0.05。

4 讨论

4.1 苍耳亭对小鼠哮喘症状的影响 本研究通过腹腔注射OVA致敏并结合连续雾化激发法制备哮喘模型, 小鼠出现呛咳、喷嚏、挠鼻、腹式呼吸、呼吸急促、烦躁不安等症, 与文献报道的OVA致敏小鼠哮喘的症状类似^[13-14], 且哮喘行为学评分升高, 提示成功制备哮喘模型。地塞米松是治疗哮喘的临床常用药物, 可有效缓解哮喘症状, 改善气道炎症反应, 故选作阳性药物^[15]。哮喘小鼠经地塞米松及苍耳亭干预后, 哮喘症状缓解, 行为学评分下降, 提示苍耳亭具有改善小鼠哮喘症状作用。哮喘发作时, 支气管平滑肌敏感性增强, 收缩反应加剧, 导致气道狭窄及阻力增加, 引起气道高反应, 而Penh值常用于评价气道高反应的强弱^[16]。本研究发现, 地塞米松及苍耳亭干预后, 各组小鼠Penh值均下降, 进一步证实了苍耳亭能有效改善小鼠哮喘

症状。

4.2 苍耳亭对哮喘小鼠气道炎症的影响 气道炎症可由淋巴细胞、中性粒细胞及嗜酸性粒细胞等多种炎性细胞所介导, 是哮喘发生、发展的重要机制^[17-18]。淋巴细胞中的Th2细胞可分泌IL-4、IL-5等炎症因子, 中性粒细胞的细胞膜能释放花生四烯酸, 从而促进炎症反应的发生或使炎症反应加重; 嗜酸性粒细胞能破坏气道上皮细胞并通过释放白三烯等促进气道重塑, 已被确定为气道炎症的主要驱动因素^[19-20]。本研究HE染色结果显示, 苍耳亭组小鼠肺组织炎性细胞浸润减轻; 瑞氏染色结果显示, 苍耳亭组小鼠BALF中炎性细胞数减少。进一步对炎症因子水平进行检测, 发现苍耳亭组BALF及血清中TNF- α 、IL-4、IL-5及IL-17水平均降低, 上述结果表明苍耳亭可减少炎性细胞的浸润及数量, 降低炎症因子水平, 能够通过抑制气道炎症改善哮喘小鼠症状。研究发现, 在脂多糖诱导的巨噬细胞RAW264.7炎症模型中, 苍耳亭处理组一氧化氮、活性氧及相关促炎因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)水平降低, 一氧化氮合酶、环氧合酶-2、TNF- α 、IL-1 β 和IL-6 mRNA表达下调, 表现出明显的体外抗炎作用^[21]。在小鼠骨关节炎模型中, 苍耳亭能通过降低TNF- α 、IL-1 β 和IL-6等炎症因子水平, 发挥保护关节软骨组织的作用^[22]。苍耳亭在体外与体内模型中均被证实有较强的抗炎活性, 本研究结果与之相符。

4.3 苍耳亭对哮喘小鼠TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的影响 TLR蛋白家族在多种炎症性疾病中均发挥关键作用, 其中TLR4蛋白可通过MyD88依赖性通路调控NF-κB蛋白表达, 进而上调多种炎症因子分泌, 最终促进哮喘的发生及进展^[23]。TLR4/MyD88/NF-κB信号通路是目前治疗哮喘的热门靶标, 多种潜在药物均可以通过抑制该信号通路介导的炎症反应达到缓解哮喘症状的目的^[24-25]。Liu等^[26]研究证实, 苍耳亭对NF-κB信号通路的异常激活有较好的抑制作用, 是一种很有前途的抗炎候选药物。本研究发现, 哮喘小鼠肺组织TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白表达升

高，苍耳亭组 TLR4、MyD88 及 NF-κB p65 蛋白表达均降低，提示苍耳亭可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的活化，进而减轻气道炎症。

综上所述，苍耳亭可以改善小鼠哮喘症状，其机制与抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路减轻气道炎症有关，但是否涉及其它机制还有待进一步深入研究。

参考文献：

- [1] Subali D, Kurniawan R, Surya R, et al. Revealing the mechanism and efficacy of natural products on treating the asthma: current insights from traditional medicine to modern drug discovery[J]. *Heliyon*, 2024, 10(11): e32008.
- [2] Li Y, Deng Z, Wen J, et al. Efficacy of dupilumab and risk factors for dupilumab-induced hypereosinophilia in severe asthma: a preliminary study from China[J]. *Ann Med*, 2024, 56(1): 2311843.
- [3] Li Z, Zhao M, Wang Z, et al. Combining metabolomics with network pharmacology to reveal the therapeutic mechanism of Dingchuan Decoction in rats with OVA-induced allergic asthma[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 247: 116265.
- [4] Noble J, Hatter L, Eathorne A, et al. Patterns of asthma medication use and hospital discharges in New Zealand[J]. *J Allergy Clin Immunol Glob*, 2024, 3(3): 100258.
- [5] Wetten P A, Arismendi S A C, Mariani M L, et al. Dehydroleucodine and xanthatin, two natural anti-inflammatory lactones, inhibit mast cell degranulation by affecting the actin cytoskeleton[J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2024, 81(4-5): 215-226.
- [6] Liu Y, Zhang X, Cheng F, et al. Xanthatin induce DDP-resistance lung cancer cells apoptosis through regulation of GLUT1 mediated ROS accumulation[J]. *Drug Dev Res*, 2023, 84(6): 1266-1278.
- [7] 柏璐, 李伟东, 朱星宇, 等. 苍耳亭对卵清蛋白诱导大鼠过敏性鼻炎的影响[J]. 徐州医科大学学报, 2017, 37(8): 498-501.
- [8] 王霄彤, 许一凡, 王思齐, 等. 苍耳亭缓解过敏性皮炎及机制探索[J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(4): 415-420.
- [9] Gong R, Liu X, Zhao J. Electroacupuncture-induced activation of GABAergic system alleviates airway inflammation in asthma model by suppressing TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2023, 136(4): 451-460.
- [10] 杨瑛, 席建宏, 唐仲亮, 等. 金水六君煎对哮喘小鼠肺水代谢及 TNF-α/NF-κB 信号通路的影响[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(9): 1168-1172.
- [11] 蔡金, 华诏召, 张昌容, 等. 异钩藤碱对哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. 中国药房, 2023, 34(22): 2740-2744.
- [12] 张瑜, 吕小燕. 苍耳亭通过 ERK/JNK 信号通路对溃疡性结肠炎大鼠肠道黏膜组织损伤的影响[J]. 中医药导报, 2022, 28(8): 12-16; 21.
- [13] Huang S, Zhou R, Yuan Y, et al. Stigmasterol alleviates airway inflammation in OVA-induced asthmatic mice via inhibiting the TGF-β1/Smad2 and IL-17A signaling pathways[J]. *Aging (Albany NY)*, 2024, 16(7): 6478-6487.
- [14] Lin H, Yi J. CTRP3 regulates NF-κB and TGFβ1/Smad3 pathways to alleviate airway inflammation and remodeling in asthmatic mice induced by OVA[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2023, 51(4): 31-39.
- [15] 刘芬, 胡润芳, 茅松, 等. 地塞米松减轻轻度哮喘模型小鼠气道炎性反应[J]. 基础医学与临床, 2023, 43(3): 402-407.
- [16] 陈桂英, 刘国慧, 姜雪, 等. 厚朴多糖通过调控 PI3K/Akt 信号通路对哮喘大鼠气道重塑的作用[J]. 中成药, 2024, 46(4): 1332-1336.
- [17] 杨今实, 金香, 孙天一, 等. 朝医麻黄定喘汤对哮喘小鼠 MAPKs/NF-κB/VEGF 信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(10): 4448-4452.
- [18] 刘嘉研, 李莉, 李良昌, 等. 桦褐孔菌多糖对哮喘小鼠气道炎症的影响[J]. 延边大学医学学报, 2018, 41(2): 88-90.
- [19] Xiang Q, Yan X, Lin X, et al. Intestinal microflora altered by vancomycin exposure in early life up-regulates type 2 innate lymphocyte and aggravates airway inflammation in asthmatic mice[J]. *Inflammation*, 2023, 46(2): 509-521.
- [20] 付蔷, 王宏, 赵慎谦. 自制缓解合剂对哮喘小鼠气道重塑及 PI3K/AKT/mTOR 信号通路的影响[J/OL]. 中国免疫学杂志: 1-11 (2023-09-14) [2025-05-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20230914.0055.002.html>.
- [21] Liu Y, Chen W, Zheng F, et al. Xanthatin alleviates LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages by inhibiting NF-κB, MAPK and STATs activation[J]. *Molecules*, 2022, 27(14): 4603.
- [22] Xu Y, Chen Z, Lu X, et al. Targeted inhibition of STAT3 (Tyr705) by xanthatin alleviates osteoarthritis progression through the NF-κB signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 174: 116451.
- [23] Wang L, Cui Y, Liu H, et al. PM2.5 aggravates airway inflammation in asthmatic mice: activating NF-κB via MyD88 signaling pathway[J]. *Int J Environ Health Res*, 2023, 33(6): 563-574.
- [24] 付智慧, 周霖, 聂安政. 基于 TLR4/MyD88/NF-κB 与 p38 MAPK 信号通路研究麻杏石甘汤减轻咳嗽变异性哮喘大鼠炎症反应的作用及机制[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(4): 1000-1006.
- [25] Wang Q, Cui Y, Wu X, et al. Evodiamine protects against airway remodelling and inflammation in asthmatic rats by modulating the HMGB1/NF-κB/TLR-4 signalling pathway[J]. *Pharm Biol*, 2021, 59(1): 192-199.
- [26] Liu M, Xiao C Q, Sun M W, et al. Xanthatin inhibits STAT3 and NF-κB signalling by covalently binding to JAK and IKK kinases[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6): 4301-4312.