

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

陈桂英, 刘国慧, 姜雪, 王一, 綦莹, 吴楠, 王春雨*

(首都医科大学附属北京儿童医院黑龙江医院, 黑龙江 哈尔滨 150010)

摘要: **目的** 探讨厚朴多糖减轻哮喘大鼠气道重塑的作用及潜在机制。**方法** 将 60 只大鼠随机分为正常组、模型组、地塞米松组 (1 mg/kg) 及厚朴多糖低、中、高剂量组 (100、200、400 mg/kg), 每组 10 只。采用腹腔注射卵清蛋白致敏及雾化吸入激发法建立大鼠哮喘模型, 灌胃给药 14 d 后, 观察哮喘行为并评分, 监测气道反应性, 观察肺组织病理学并进行肺损伤评分, 检测血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中细胞因子水平, 检测肺组织 *MMP-9*、*TIMP-1*、*Col I* mRNA 表达, 检测肺组织 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 厚朴多糖中、高剂量组大鼠哮喘症状评分降低 ($P<0.01$); 除 6.25、12.50 g/L 乙酰甲胆碱溶液激发后的厚朴多糖低剂量组大鼠 Penh 值无明显变化外 ($P>0.05$), 其余各组大鼠 Penh 值均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 厚朴多糖各剂量组大鼠支气管肺泡灌洗液中巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞数量及肺组织病理损伤评分均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 血清 IgE、支气管肺泡灌洗液中 IL-4、IL-5、IL-13 水平、肺组织 *MMP-9*、*TIMP-1*、*Col I* mRNA 表达及 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 比值均下调 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 厚朴多糖具有减轻哮喘大鼠气道重塑作用, 可能与抑制 PI3K/Akt 信号通路的激活有关。

关键词: 厚朴多糖; 哮喘; 气道重塑; 炎症; PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)04-1332-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.043

长久以来, 哮喘被认为是由多种细胞参与的气道炎症性疾病, 慢性炎症会引起气道黏液分泌过多、阻塞、气道高反应性及气道重塑^[1-2]。气道重塑一方面可以使肺功能下降, 另一方面也可以导致不可逆的气道阻塞, 并使气道阻力及气道高反应性增加, 因此减轻气道重塑作用是哮喘治疗的关键^[3]。目前为止, 哮喘的治疗多以延缓病程、缓解症状为主要目标, 尚未发现可有效减轻气道重塑的治疗药物^[4]。

以厚朴为主的中药方剂对哮喘有明确疗效, 研究发现, 厚朴麻黄汤能够通过调控瞬时受体电位通道蛋白 A1 的表达及降低 Th2 相关细胞因子水平, 改善哮喘小鼠气道炎症^[5-6]。半夏厚朴汤也可通过多靶点、多成分、多途径对变异性哮喘的治疗发挥积极作用^[7]。厚朴的有效成分厚朴酚也表现出了抑制哮喘小鼠的炎症反应及肺组织损伤活性, 具有改善哮喘症状的功效^[8]。而厚朴多糖作为厚朴的水溶性有效成分^[9], 其对哮喘及气道重塑的作用未见报道。本研究利用腹腔注射卵清蛋白致敏及雾化吸入激发法建立大鼠哮喘模型, 经不同剂量的厚朴多糖干预, 分析其对气道重塑的作用及机制, 旨在为哮喘的治疗提供新思路。

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体质量 180~200 g, 购于斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010], 饲养于北京迈德康纳生物技术有限公司 [实验动物使用许可证号 SYXK (京) 2020-0050], 自由摄食饮水, 每天各 12 h 明/暗交替循环。本研究操作符合实验动物的 3R 原则, 并经哈尔滨医科大学附属第二医院医学伦理委员会审查批准 (伦理号 YJSDW2022-033)。

1.2 药物与试剂 厚朴多糖 (批号 20210416, 含量 80%) 购自陕西宝鸡科斯麦植物多糖开发有限公司。醋酸地塞米松片 (批号 015170401, 0.75 mg/片) 购自上海上药信谊药厂有限公司。卵清蛋白 (批号 E6337) 购自上海麦克林生化科技有限公司; 吉姆萨 (批号 C0133)、苏木素-伊红 (HE, 批号 C0105S) 染色试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; 卵清蛋白特异性 IgE (批号 H493-1)、白细胞介素-4 (IL-4, 批号 H005)、IL-5 (批号 H006)、IL-13 (批号 H011) 检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; TRIzol 试剂 (批号 R21086)、二喹啉甲酸 (BCA, 批号 R21250) 试剂盒及裂解液 RIPA (批号 R21237) 均购自上

收稿日期: 2023-09-08

基金项目: 黑龙江省卫生健康委科研课题 (20220606011013)

作者简介: 陈桂英 (1979—), 女, 博士, 副主任医师, 从事呼吸系统疾病和小儿支气管哮喘的诊断与治疗研究。Tel: 15545499993,

E-mail: guiyiing421@163.com

* 通信作者: 王春雨 (1974—), 女, 硕士, 副主任医师, 硕士生导师, 从事小儿常见疾病的诊断与治疗研究。Tel: 13945016175,

E-mail: kang19770303@163.com

海源叶生物科技有限公司；逆转录（批号 11855476001）、实时定量 PCR（批号 QR0100）试剂盒均购自德国 Merck 公司；磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K，批号 ab154598）、磷酸化 PI3K（p-PI3K，批号 ab182651）、蛋白激酶 B（Akt，批号 ab8805）、磷酸化 Akt（p-Akt，批号 ab38449）、甘油醛 3 磷酸脱氢酶（GAPDH，批号 ab8245）多克隆抗体均购自英国 Abcam 公司；IgG 二抗（批号 S225）购自北京博尔迈生物科技有限公司。

1.3 仪器 980 型雾化吸入器（上海新天缘医疗设备有限公司）；Fine Pointe TMPFT 型动物肺功能检测仪（美国 Buxco 公司）；RM2135 型切片机（德国 Leica 公司）；CX41 型显微镜（日本 Olympus 公司）；Spectra Max Plus 384 型酶标仪（美国 Molecular Devices 公司）；ABI7500 型实时定量 PCR 仪（美国 Thermo Fisher 公司）；Mini-PROTEAN 型电泳仪及转膜仪（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 将大鼠随机分为正常组、模型组、地塞米松（阳性药物）组及厚朴多糖低、中、高剂量组，每组 10 只，按照文献 [10] 报道，采用腹腔注射卵清蛋白致敏及雾化吸入激发法建立哮喘模型。大鼠适应环境 1 周后，除正常组外其余各组在第 1、8 天腹腔注射含 10 mg 卵清蛋白及 200 mg 氢氧化铝的生理盐水；在第 15 天开始用含 1% 卵清蛋白的生理盐水雾化吸入激发，每天 1 次，每次 30 min，共 14 d；正常组大鼠在相应时间注射或吸入等体积生理盐水。地塞米松组及厚朴多糖低、中、高剂量组大鼠从开始雾化吸入卵清蛋白时灌胃地塞米松（1 mg/kg）、厚朴多糖（100、200、400 mg/kg），地塞米松的给药剂量参考文献 [11] 报道，厚朴多糖的给药剂量依据预实验结果设置。在雾化吸入前 1 h 给药，每天 1 次，共 14 d；正常组及模型组大鼠灌胃等体积生理盐水。

2.2 哮喘行为观察及评分 大鼠末次雾化吸入 24 h 后，按照刘春花等 [12] 报道观察 10 min 内哮喘行为并进行评分，其中无挠痒或抓鼻症状者计为 0 分，1~3 次者计为 1 分，4~6 次者计为 2 分，≥7 次者计为 3 分。

2.3 气道反应性监测 各组大鼠气道反应性通过肺功能检测仪进行监测，分别用不同质量浓度的乙酰甲胆碱溶液（6.25、12.50、25.00、50.00 g/L）雾化激发哮喘，记录不同质量浓度乙酰甲胆碱溶液激发下的各组大鼠增强呼吸间歇（enhanced pause，Penh）值，其增加说明气道反应性升高。测量 Penh 值时，将大鼠放于密闭容器内，其呼吸会使容器内的压力发生改变，通过监测压力的变化得到呼吸曲线，并由仪器自带软件完成 Penh 值的计算。

2.4 标本取材及支气管肺泡灌洗液中炎症细胞计数 气道反应性监测完成后，大鼠吸入乙醚麻醉并于 CO₂ 中窒息处死，立即通过颈动脉采血分离血清。随后将颈部游离气管切开并插管，同时打开胸腔使肺脏充分暴露，右主支气管结扎后在气管插管位置处将 2 mL 预冷的生理盐水灌入，重复 3 次，制得支气管肺泡灌洗液。取适量，按照试剂盒说

明书操作，通过吉姆萨染色对炎症细胞进行分类并计数。各组大鼠分离右肺组织，存于液氮中备用。

2.5 血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中细胞因子水平检测 取血清及支气管肺泡灌洗液，按照试剂盒说明书分别检测 IL-4、IL-5、IL-13 水平。

2.6 肺组织病理学观察及损伤评分 取部分肺组织，经固定、脱水、石蜡包埋及切片后行 HE 染色，每个载玻片取 5 个视野，计数后取平均值。肺组织损伤评分标准为无炎症细胞、形态正常，计为 0 分；出现少量炎症细胞，计为 1 分；炎症细胞呈环状，肺泡壁轻度增厚，层厚为 1 个细胞，计为 2 分；炎症细胞呈环状，肺泡壁中度增厚，层厚为 2~4 个细胞，计为 3 分；炎症细胞呈环状，肺泡壁显著增厚，层厚>4 个细胞，计为 4 分。

2.7 肺组织 MMP-9、TIMP-1、Col I mRNA 表达检测 取部分肺组织，加入 TRIzol 试剂分离提取总 RNA，通过逆转录试剂合成 cDNA。以 cDNA 为扩增模板，扩增条件为 95 ℃ 10 s；95 ℃ 5 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，共 35 个循环。以 GAPDH 为内参基因，使用 2^{-ΔΔCT} 法分别计算肺组织基质金属蛋白酶-9（MMP-9）、金属蛋白酶组织抑制因子-1（TIMP-1）及 I 型胶原（Col I）mRNA 表达，引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
MMP-9	正向 AACCTCCAACCTCACGGAC	258
	反向 GATGTTATGATGGTGCCACTTG	
TIMP-1	正向 TGGCATCCTCTTGTTGC	280
	反向 CGGTTCTGGGACTTGTG	
Col I	正向 ACTGGCAACCTCAAGAAGTCCC	173
	反向 AAGTTCGGGTGTGACTCCTGC	
GAPDH	正向 GACATGCCCGCTGGAGAAAC	236
	反向 AGCCCAAGGATGCCCTTTAGT	

2.8 肺组织 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达检测 取冻存的肺组织，研磨后加入 RIPA 裂解 30 min，收集上清液，通过 BCA 试剂盒检测蛋白浓度，随后加入 5×上样缓冲液定量，100 ℃煮沸 10 min。取 20 μg 蛋白上样，依次进行电泳、转膜、封闭，加入稀释 1 000 倍的 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、GAPDH 多克隆抗体，4 ℃孵育过夜。用 TBST 漂洗膜后加入 IgG 抗体（1：2 500），在室温下孵育 1 h，再用 TBST 漂洗膜后显色曝光，通过 Image Pro Plus 6.0 软件分析条带光密度值。

2.9 统计学分析 通过 Graphad Prim 8 软件进行处理，组间两两比较采用 *t* 检验，多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 厚朴多糖对哮喘大鼠哮喘行为的影响 在卵清蛋白雾化吸入激发过程中，模型组及厚朴多糖低剂量组大鼠各死亡 1 只。模型组大鼠出现明显哮喘行为，与正常组比较，哮喘症状评分增加（*P*<0.01）；地塞米松组及厚朴多糖各剂量组大鼠哮喘行为均有不同程度的缓解，与模型组比较，

地塞米松组及厚朴多糖中、高剂量组大鼠哮喘症状评分降低 ($P<0.01$), 而厚朴多糖低剂量组大鼠哮喘症状评分变化无明显差异 ($P>0.05$), 见表 2。

3.2 厚朴多糖对哮喘大鼠气道反应性的影响 各组大鼠 Penh 值随着乙酰甲胆碱溶液质量浓度的增加而呈逐渐升高趋势, 与正常组比较, 不同质量浓度乙酰甲胆碱溶液激发后, Penh 值均升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 除 6.25、12.50 g/L 乙酰甲胆碱溶液激发后的厚朴多糖低剂量组大鼠 Penh 值无明显变化外 ($P>0.05$), 其余各组大鼠 Penh 值均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见表 3。

表 3 厚朴多糖对哮喘大鼠 Penh 值的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=9\sim10$)

组别	乙酰甲胆碱/(g·L ⁻¹)			
	6.25	12.50	25.00	50.00
正常组	0.57±0.06	0.65±0.07	0.76±0.09	0.96±0.10
模型组	1.68±0.24**	1.96±0.27**	2.34±0.35**	4.18±0.62**
地塞米松组	0.74±0.09 ^{##}	0.90±0.13 ^{##}	0.98±0.13 ^{##}	1.34±0.21 ^{##}
厚朴多糖低剂量组	1.53±0.16	1.77±0.21	2.01±0.24 [#]	3.42±0.45 ^{##}
厚朴多糖中剂量组	1.14±0.15 ^{##}	1.23±0.14 ^{##}	1.55±0.26 ^{##}	2.65±0.43 ^{##}
厚朴多糖高剂量组	0.80±0.08 ^{##}	1.01±0.20 ^{##}	1.17±0.17 ^{##}	1.72±0.18 ^{##}

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

3.3 厚朴多糖对哮喘大鼠支气管肺泡灌洗液中炎症细胞数量的影响 与正常组比较, 模型组大鼠支气管肺泡灌洗液中巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞数量均增加 ($P<0.01$); 与模型组比较, 地塞米松组及厚朴多

表 2 厚朴多糖对哮喘大鼠哮喘症状评分的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=9\sim10$)

组别	哮喘症状评分/分
正常组	0.10±0.02
模型组	1.77±0.31**
地塞米松组	0.33±0.04 ^{##}
厚朴多糖低剂量组	1.60±0.25
厚朴多糖中剂量组	1.10±0.18 ^{##}
厚朴多糖高剂量组	0.80±0.12 ^{##}

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

糖各剂量组大鼠支气管肺泡灌洗液中巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞数量均减少 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见表 4。

表 4 厚朴多糖对哮喘大鼠支气管肺泡灌洗液中炎症细胞数量的影响 [($\times 10^5$) /mL, $\bar{x}\pm s$, $n=9\sim10$]

组别	巨噬细胞	中性粒细胞	嗜酸性粒细胞	淋巴细胞
正常组	6.24±0.83	2.07±0.36	2.90±0.28	3.66±0.40
模型组	15.67±2.31**	7.81±0.93**	9.63±1.25**	10.75±1.43**
地塞米松组	7.06±0.98 ^{##}	2.52±0.41 ^{##}	4.82±0.64 ^{##}	5.58±0.75 ^{##}
厚朴多糖低剂量组	12.55±1.59 ^{##}	6.89±0.62 [#]	7.43±1.17 ^{##}	9.40±1.12 [#]
厚朴多糖中剂量组	10.42±1.84 ^{##}	4.26±0.45 ^{##}	7.19±0.81 ^{##}	6.12±0.81 ^{##}
厚朴多糖高剂量组	9.38±1.07 ^{##}	4.14±0.53 ^{##}	6.75±0.53 ^{##}	5.34±0.68 ^{##}

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

3.4 厚朴多糖对哮喘大鼠血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中细胞因子水平的影响 模型组大鼠血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中 IL-4、IL-5、IL-13 水平均高于正常组 ($P<0.01$);

地塞米松组及厚朴多糖各剂量组大鼠血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中细胞因子 IL-4、IL-5、IL-13 水平均低于模型组 ($P<0.05$, $P<0.01$), 见表 5。

表 5 厚朴多糖对哮喘大鼠血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中细胞因子水平的影响 (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, $n=9\sim10$)

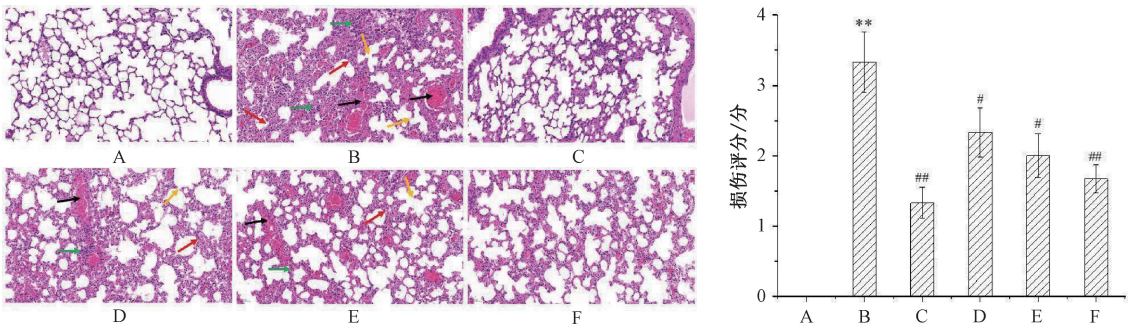
组别	IgE	IL-4	IL-5	IL-13
正常组	58.46±7.62	86.18±10.20	79.63±8.19	58.56±6.52
模型组	1 120.29±154.94**	395.57±42.07**	346.66±45.48**	223.27±24.46**
地塞米松组	629.43±82.05 ^{##}	136.10±16.65 ^{##}	125.78±14.64 ^{##}	97.32±12.70 ^{##}
厚朴多糖低剂量组	993.72±116.57 ^{##}	308.95±36.91 ^{##}	302.31±33.49 [#]	192.44±25.31 ^{##}
厚朴多糖中剂量组	786.06±98.21 ^{##}	224.36±29.16 ^{##}	269.25±28.51 ^{##}	184.16±19.65 ^{##}
厚朴多糖高剂量组	705.80±101.78 ^{##}	167.11±20.43 ^{##}	245.42±31.32 ^{##}	113.28±13.87 ^{##}

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

3.5 厚朴多糖对哮喘大鼠肺组织病理损伤的影响 正常组大鼠肺组织形态无明显变化, 肺泡数量丰富, 肺泡结构完整; 模型组大鼠肺泡萎缩塌陷或融合, 大量炎症细胞浸润, 肺泡间隔明显增宽, 肺组织病理损伤评分高于正常组 ($P<0.01$); 地塞米松组及厚朴多糖各剂量组大鼠肺组织病变程度均减轻, 肺组织病理损伤评分均低于模型组 ($P<$

0.05, $P<0.01$), 其中地塞米松组及厚朴多糖高剂量组效果更为明显, 见图 1。

3.6 厚朴多糖对哮喘大鼠肺组织 MMP-9、TIMP-1、Col I mRNA 表达的影响 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织 MMP-9、TIMP-1、Col I mRNA 表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 地塞米松组及厚朴多糖各剂量组大鼠肺组织



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为厚朴多糖低、中、高剂量组。黄色箭头表示肺泡扩张融合，红色箭头表示肺泡壁增厚，绿色箭头表示炎性细胞浸润，黑色箭头表示间质充血出血。与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 1 厚朴多糖对哮喘大鼠肺组织病理损伤的影响 ($\times 200$, $\bar{x}\pm s$, $n=5$)

MMP-9、*TIMP-1*、*Col I* mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 6。

3.7 厚朴多糖对哮喘大鼠肺组织 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠肺组织 p-PI3K/PI3K 及 p-Akt/Akt 比值升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，地塞米松组及厚朴多糖各剂量组大鼠肺组织 p-PI3K/PI3K 及 p-Akt/Akt 比值均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，且随着厚朴多糖剂量的增加下降趋势越显著，见图 2。

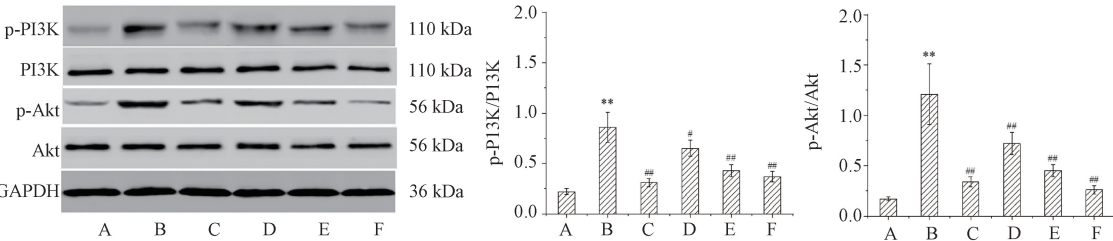
4 讨论

本研究采用腹腔注射卵清蛋白致敏及雾化吸入激发法

表 6 厚朴多糖对哮喘大鼠肺组织 *MMP-9*、*TIMP-1*、*Col I* mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	<i>MMP-9</i>	<i>TIMP-1</i>	<i>Col I</i>
正常组	1.08±0.05	1.12±0.10	1.04±0.03
模型组	4.16±0.58**	7.28±1.04**	2.74±0.35**
地塞米松组	1.48±0.16##	2.93±0.42##	1.51±0.18##
厚朴多糖低剂量组	3.17±0.42##	5.47±0.55#	2.16±0.30#
厚朴多糖中剂量组	2.45±0.39##	3.72±0.49##	1.80±0.27##
厚朴多糖高剂量组	1.93±0.24##	2.89±0.31##	1.55±0.23##

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



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为地塞米松组，D~F 分别为厚朴多糖低、中、高剂量组。与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 2 厚朴多糖对哮喘大鼠肺组织 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

建立大鼠哮喘模型，灌胃厚朴多糖 14 d 后发现，厚朴多糖可以有效降低哮喘症状评分及 Penh 值，表明其具有缓解哮喘症状作用。

气道重塑是哮喘发生的不可逆的病理变化，在哮喘进展中具有至关重要的作用，而持续的气道炎症正是导致气道重塑的主要原因之一^[13]。气道中巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、淋巴细胞等炎症细胞数量增加，可以促进炎症细胞浸润，使气道平滑肌细胞增殖和迁移，进而导致气道重塑^[14]。Th2 型细胞能够分泌 IL-4、IL-5 及 IL-13 等细胞因子，其中 IL-4 可以诱导黏蛋白基因表达上调，增加肺组织中黏液分泌，促进淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等炎症细胞聚集在呼吸道，引起气道高反应性及气道炎症细胞浸润；IL-4、IL-5 及 IL-13 也可以发生协同作用，升高 IgE 水平，进而引起平滑肌收缩、气道高反应性及气道重

塑^[15-16]。本研究发现，厚朴多糖可以降低支气管肺泡灌洗液中巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及淋巴细胞数量，下调血清 IgE 及支气管肺泡灌洗液中 IL-4、IL-5、IL-13 水平，对持续的气道炎症具有较好的抑制作用。胶原沉积为气道重塑的重要标志，MMP-9 是参与哮喘的主要基质金属蛋白酶，与气道重塑和组织损伤有关，能够促使气道壁胶原沉积，引起气道功能障碍^[17]。TIMP-1 可由各种组织细胞分泌，为 MMP-9 的特异性抑制物，MMP-9 会促进 TIMP-1 的反应性升高，减少细胞外基质降解，使胶原沉积增加^[18]。本研究发现，厚朴多糖各剂量组大鼠肺组织 *MMP-9*、*TIMP-1* 及 *Col I* mRNA 表达降低，提示厚朴多糖可以有效抑制胶原沉积。上述结果表明，厚朴多糖具有减轻哮喘大鼠气道重塑的作用。

PI3K/Akt 信号通路具有调节细胞、增殖、分化和迁移

等多种生物学功能^[19]。Takeda 等^[20]研究发现, 在小鼠 PI3K 基因缺陷模型中, 炎性细胞积聚、气道高反应性及气道重构等现象均减轻。在卵清蛋白诱导的哮喘模型中, PI3K/Akt 信号通路异常激活, p-PI3K/PI3K 及 p-Akt/Akt 比值增加, 而罗红霉素可下调 PI3K/Akt 信号通路的活化状态, 抑制哮喘大鼠平滑肌增殖及气道重塑^[21]。本研究同样发现, 厚朴多糖各剂量组大鼠肺组织 p-PI3K/PI3K 及 p-Akt/Akt 比值降低, 证实抑制 PI3K/Akt 信号通路的激活是厚朴多糖减轻哮喘大鼠气道重塑作用的潜在机制。

综上所述, 本研究证实厚朴多糖可以通过抑制 PI3K/Akt 信号通路的激活, 减轻哮喘大鼠气道重塑作用, 从而起到缓解哮喘症状的目的, 表明厚朴多糖具有潜在的治疗哮喘价值, 值得进一步关注及深入研究。

参考文献:

[1] Tian J, Shi H, Wang X, *et al.* The cardiotoxicity of asthmatic rats after traffic-related PM2.5 and water-soluble components exposure mediated by endoplasmic reticulum stress and autophagy[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2022, 29(33): 50704-50716.

[2] Kim J M, Im Y N, Chung Y J, *et al.* Glutamine deficiency shifts the asthmatic state toward neutrophilic airway inflammation[J]. *Allergy*, 2022, 77(4) : 1180-1191.

[3] Zhou L, Liu J, Wang L, *et al.* Carbocistein improves airway remodeling in asthmatic mice[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(8): 5583-5590.

[4] Lommatzsch M, Brusselle G G, Canonica G W, *et al.* Disease-modifying anti-asthmatic drugs [J]. *Lancet*, 2022, 399(10335): 1664-1668.

[5] 胡方媛, 范玉浩, 范欣生, 等. 厚朴麻黄汤对哮喘小鼠气道炎症及 *TRPA1*, *TRPV1* mRNA 与蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(1) : 37-42.

[6] 孟 泳, 崔应麟, 李 彬. 厚朴麻黄汤对哮喘小鼠血清 IgE、IL-4、IL-13 及半胱氨酰白三烯水平的影响[J]. 郑州大学学报 (医学版), 2017, 52(2) : 193-196.

[7] 李 琦, 唐以军, 王梅芳. 半夏厚朴汤治疗咳嗽变异性哮喘的网络药理学研究[J]. 西部中医药, 2023, 36(1) : 23-29.

[8] 秦 超, 戴 曦, 杨小琼, 等. 和厚朴酚对哮喘小鼠肺组织炎症反应的干预作用及其机制[J]. 吉林大学学报 (医学版), 2020, 46(2) : 214-220.

[9] 姜 宁, 刘晓鹏, 陈 芳, 等. 厚朴多糖提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(6) : 12-17.

[10] 刘 健, 王佳丽, 曹慧丹, 等. 补肺颗粒对哮喘小鼠气道重塑的影响及机制研究[J]. 陕西中医, 2022, 43(5) : 559-563.

[11] 咸哲民, 王重阳, 朴玉华, 等. 欧前胡素通过 TGF-β1/Smad3 和 PI3K/Akt 信号通路对哮喘小鼠气道重塑模型的影响[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(12) : 1719-1724.

[12] 刘春花, 游景瑞, 周 坤, 等. 毛大丁草抗卵清蛋白诱导的小鼠支气管哮喘作用的活性部位筛选[J]. 中国现代应用药理学, 2022, 39(9) : 1142-1148.

[13] Jiang T, Zhao D, Zheng Z, *et al.* Sigma-1 receptor alleviates airway inflammation and airway remodeling through AMPK/CXCR4 signal pathway [J]. *Inflammation*, 2022, 45 (3): 1298-1312.

[14] 雷 俊. 牛蒡子苷元抑制 TLR4/TRAF6/NF-κB 信号通路对哮喘模型大鼠气道重塑和 Th1/Th2 免疫平衡的影响[J]. 免疫学杂志, 2023, 39(1) : 12-20.

[15] 张宁宁, 吴力群, 陈海鹏, 等. 加味六安煎对咳嗽变异性哮喘模型豚鼠白细胞介素-4、白细胞介素-13 水平及气道重塑相关基因表达的影响[J]. 环球中医药, 2021, 14(9): 1573-1579.

[16] 胡 蔚, 李 岚. 枇杷叶提取物对卵清蛋白诱导的哮喘小鼠气道炎症和气道重塑的影响[J]. 中国现代应用药理学, 2021, 38(1) : 20-27.

[17] Kumari A, Singh D K, Dash D, *et al.* Intranasal curcumin protects against LPS-induced airway remodeling by modulating toll-like receptor-4 (TLR-4) and matrixmetalloproteinase-9 (MMP-9) expression *via* affecting MAP kinases in mouse model [J]. *Inflammopharmacology*, 2019, 27(4) : 731-748.

[18] 张胜碧, 刘燕玲, 李 岚. 地龙提取液对卵清蛋白诱导哮喘小鼠气道重塑及肺组织 MMP2、MMP9、TIMP-1 表达的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2021, 40(7) : 523-530.

[19] Gong Y, Hu Y, Huang J, *et al.* RAB11A aggravates PDGF-BB-stimulated proliferation, migration, and inflammation of airway smooth muscle cells *via* affecting the NF-κB and PI3K/AKT pathways[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2022, 50(4) : 147-154.

[20] Takeda M, Ito W, Tanabe M, *et al.* Allergic airway hyperresponsiveness, inflammation, and remodeling do not develop in phosphoinositide 3-kinase gamma-deficient mice[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123(4) : 805-812.

[21] 徐 慧, 戴元荣, 李凤琴, 等. 罗红霉素对哮喘平滑肌细胞增殖以及微囊蛋白-1 及 PI3K/Akt 的影响[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(3) : 407-411.