

# 基于 IL-6 介导的 JAK1/STAT3 信号通路探讨竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠的改善作用

陈云坤<sup>1</sup>, 王杰<sup>1</sup>, 李秀华<sup>1</sup>, 张文斌<sup>1\*</sup>

(1. 重庆市中医院呼吸与危重症医学科, 重庆 400011; 2. 重庆市中医院呼吸内科, 重庆 400011)

**摘要:** **目的** 探讨竹叶石膏汤合清气化痰丸对慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 大鼠 IL-6 介导 JAK1/STAT3 信号通路的调控作用。**方法** 将 48 只大鼠随机分为正常组, 模型组, 中药低、中、高剂量组 (5、10、15 g/kg 竹叶石膏汤合清气化痰丸) 及中药低、中、高剂量 (5、10、15 g/kg 竹叶石膏汤合清气化痰丸) +伊他替尼 (30 mg/kg) 组, 每组 8 只。采用气道滴注脂多糖 (LPS) 联合烟熏方法建立 COPD 模型, 造模 28 d 后给药干预。给药 2 周后, 采用肺功能检测仪测定肺功能指标 [吸气峰流速 (PIF)、呼气峰流速 (PEF)、分钟通气量 (MV)], HE 染色观察肺组织病理变化, RT-qPCR、免疫印迹分析和免疫组化法检测肺组织 IL-6、JAK1、STAT3、SOCS3 mRNA 和蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 中药各剂量组 PIF、PEF、MV 增加 ( $P < 0.05$ ), 肺组织炎症细胞浸润和充血水肿减轻, 肺大泡减少, 肺泡腔的破坏、扩张和融合得到缓解, IL-6、JAK1、STAT3 mRNA 和蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ), SOCS3 mRNA 和蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ); 给予伊他替尼干预后, 中药各剂量组的作用均被逆转 ( $P < 0.05$ )。**结论** 竹叶石膏汤合清气化痰丸可下调 IL-6 介导的 JAK/STAT 信号通路的过度表达和持续活化, 并抑制 IL-6 表达, 减轻气道炎症, 抑制 COPD 症状。

**关键词:** 竹叶石膏汤合清气化痰丸; 慢性阻塞性肺疾病; IL-6; JAK1/STAT3 信号通路; SOCS3

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)01-0256-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.01.044

呼吸系统疾病给全世界带来了巨大的健康负担, 每年有 3 亿人患 COPD, 导致多达 300 万人死亡, 是全球第三大死因。然而, COPD 的发病机制尚未完全阐明, 研究表明其与吸烟、职业粉尘和化学品、空气污染、气道上皮细胞慢性炎症、氧化应激反应增强、蛋白酶和抗蛋白酶系统失衡有关, 整个过程与许多细胞因子和信号通道有关<sup>[1-3]</sup>。有研究表明, 多种炎症细胞可以在 COPD 机制下释放炎症因子和炎症趋化因子, 通过信号转导子以及转录激活子通路 (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT) 信号通路参与细胞增殖、分化、凋亡和炎症反应等病理生理机制<sup>[4]</sup>。吸烟或感染等外界刺激会激活气道上皮细胞释放大量炎症介质, 造成体内中性粒细胞、巨噬细胞等炎症相关细胞以活性状态聚集于气道内, 进而与 JAKs 受体结合激活 JAK1/STAT3 信号通路, 促进 COPD 炎症反应复发, 导致呼吸道、肺组织以及血管的损伤, 并产生一系列呼吸道临床症状引起 COPD 急性发作<sup>[5-7]</sup>。本研究通过建立 COPD 大鼠模型, 给予竹叶石膏汤合清气化痰丸进行干预, 通过对大鼠肺功能以及相关蛋白表达进行检测, 探讨竹叶石膏汤合清气化痰丸治疗 COPD 发病的潜在机制。

## 1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只, 10~12 周龄, 体重 (200±50) g, 购自湖南省斯莱克景达实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004], 饲养于重庆市中医院实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (渝) 2020-0001], 室温 (23±2) °C, 相对湿度 (60±5)%, 清洁通风, 自由饮水进食, 适应性喂养 7 d。动物实验经重庆市中医院伦理委员会批准 (伦理号 2017-KY-12)。

1.2 药物 竹叶石膏汤合清气化痰丸由淡竹叶 15 g、生石膏 30 g、法半夏 15 g、麦冬 20 g、人参 10 g、甘草 6 g、黄芩 10 g、瓜蒌子 30 g、胆南星 12 g、陈皮 15 g、苦杏仁 10 g、枳实 15 g、鱼腥草 30 g、浙贝母 10 g、竹茹 15 g 组成, 按照剂量分成三等分, 参考临床等效剂量换算为高剂量, 确定低、中、高剂量分别为 5、10、15 g/kg。各药材根据以上比例配制后加水煎煮 2 次, 调至生药量 2 g/mL, 于冰箱中冷藏备用。

1.3 试剂 Superscript II RT、SYBR Green 试剂盒 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 批号 18064014、11735032); MaxVision™ 试剂盒 (福州迈新生物技术开发有限公司, 批号 KIT-5002); 二氨基联苯胺 (北京百奥莱博科技有限公

收稿日期: 2023-06-27

基金项目: 重庆市自然科学基金面上项目 (cstc2020jcyj-msxmX1084); 重庆市科卫联合中医药技术创新与发展项目 (2020ZY023583)

作者简介: 陈云坤 (1992—), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向向中医防治肺系疾病。Tel: 17623026699, E-mail: cykl@sina.com

\* 通信作者: 张文斌 (1979—), 男, 硕士, 副主任医师, 从事中西医结合防治呼吸系统疾病的基础、临床研究。Tel: 18983283798, E-mail: 56871072@qq.com

司,批号 QN1149-DGR); IL-6、JAK1、STAT3、SOCS3 抗体 (英国 Abcam 公司,批号 ab6672、ab125051、ab31370、ab16030)。

## 2 方法

2.1 模型建立 大鼠按随机数字表法分为正常组,模型组,中药低、中、高剂量组及中药低、中、高剂量+伊他替尼组,每组 6 只。采用气道滴注脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 联合烟熏方法建立 COPD 模型,在自制 50 cm×40 cm×40 cm 玻璃吸烟染毒箱内加 20 支香烟烟丝混合点燃烟熏,每天 2 次,每次 30 min,隔 2 d 休息 1 次,第 1、14 天,每只大鼠气道内滴入 200 μL 1 g/L LPS,当天不予以吸烟;正常组大鼠置于吸烟染毒箱内呼吸正常空气,气道内滴入 0.2 mL 生理盐水。造模 28 d 后开始给药,中药低、中、高剂量组分别每天灌胃给予 5、10、15 g/kg 竹叶石膏汤合清气化痰丸 (1.4 mL/100 g);中药低、中、高剂量+伊他替尼组分别灌胃给予相应剂量竹叶石膏汤合清气化痰丸,同时皮下注射 30 mg/kg 伊他替尼;正常组和模型组灌

胃给予等量生理盐水,连续给药 2 周。

2.2 肺功能检测 采用大鼠肺功能检测仪测量大鼠呼气峰流速 (peak expiratory flow, PEF)、吸气峰流速 (peak inspiratory flow, PIF)、分钟通气量 (minute volume, MV)。

2.3 HE 染色观察肺组织病理形态 大鼠肺组织用含 4% 多聚甲醛的 PBS 溶液在 4 °C 下固定 24 h,石蜡包埋后切成 3 μm 薄片,脱蜡脱水,苏木精和伊红染色,于光学显微镜下观察组织形态,并拍摄照片。

2.4 RT-qPCR 法检测肺组织 IL-6、JAK1、STAT3 和 SOCS3 mRNA 表达 收集各组大鼠肺组织,采用 TRIzol 法提取组织总 RNA,随后使用 Superscript II RT 试剂将 RNA 逆转录成 cDNA。配制反应体系 (0.5 μL Template DNA、10 μL SYBR Green、0.4 μL ROX Reference Dye II、正反向引物各 0.8 μL、双蒸水补充体积至 20 μL) 进行扩增反应,反应条件为 95 °C 预变性 30 s,95 °C 变性 5 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环,通过 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算目的基因相对表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	序列	扩增长度/bp
IL-6	正向 5'-TTCACAGAGGATACCACCCACAAC-3'	93
	反向 5'-CATTTCCAAGATCTCCCTGAGAAC-3'	
JAK1	正向 5'-GTACGCTCCGGAGTGTTAATCC-3'	101
	反向 5'-CTGAGTCACAGTACGTGAGCAAC-3'	
STAT3	正向 5'-TACAGCGATAGCTTCCCCATGG-3'	209
	反向 TGCAGGAACTGCTTGATTCTTCGC-3'	
SOCS3	正向 5'-AGACCTTCAGCTCCAAGAGCGAGT-3'	232
	反向 5'-CCCCCTCGCACTGGATGCGTAGG-3'	
GAPDH	正向 5'-GCAAGTTCAACGGCACAG-3'	140
	反向 5'-GCCAGTAGACTCCACGACATA-3'	

2.5 免疫印迹法检测肺组织 IL-6、JAK1、STAT3、SOCS3 蛋白表达 使用 RIPA 试剂裂解大鼠肺组织,提取总蛋白,BCA 法定量,95 °C 加热 5 min 进行变性。制备 10% SDS-PAGE 凝胶,每条泳道上样 30 μg 蛋白,电泳分离后将其转移到 PVDF 膜上,封闭,加稀释的一抗孵育 1 h,然后加二抗孵育 1~2 h,通过增强的化学发光试剂显色,通过 Image J 1.8.0 软件分析蛋白条带和内参 β-actin 的光密度值,以两者比值表示蛋白相对表达。

2.6 免疫组化法检测肺组织 IL-6、JAK1、STAT3、SOCS3 蛋白表达 采用 4% 多聚甲醛固定大鼠肺组织,脱水后石蜡包埋,制备 5 μm 切片,脱蜡、水合后将载玻片与 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 孵育 10 min,与 0.1% 胰蛋白酶孵育 20 min,滴加一抗,在 4 °C 下孵育过夜,次日与 HRP-聚合物偶联的二抗在 37 °C 下孵育 1 h,DAB 染色 3 min,苏木精复染细胞核,于倒置显微镜下观察,阳性染色为棕黄色。通过 Image J 软件分析肺组织蛋白的平均光密度 (AOD) 值 (累计光密度/有效目标分布区域面积),其数值越大,蛋白阳性表达越高。

2.7 统计学分析 通过 Graphpad Prism 8.0.1 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 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺功能的影响 与正常组比较,模型组大鼠 PIF、PEF、MV 降低 ( $P<0.05$ );与模型组比较,中药各剂量组和中药各剂量+伊他替尼组 PIF、PEF 升高 ( $P<0.05$ ),中药中、高剂量组和中药各剂量+伊他替尼组 MV 升高 ( $P<0.05$ );与中药各剂量组比较,中药各剂量+伊他替尼组 PIF、MV 降低 ( $P<0.05$ );与中药中、高剂量组比较,中药中、高剂量+伊他替尼组 PEF 降低 ( $P<0.05$ ),见表 2。

3.2 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织形态学的影响 如图 1 所示,正常组大鼠肺组织清晰可见,支气管壁结构较规则,无明显损伤,仅见少量炎性细胞浸润,并且未观察到黏液栓、黏液、黏膜充血水肿等;模型组大鼠肺组织多处腺体增生,大量炎性细胞浸润,管壁增厚,肺泡壁结构严重受损、变薄、破裂,继而导致肺大泡形成,肺泡数量减少;与模型组比较,中药中、高剂量组大鼠肺组织病理损伤明显得到改善,支气管壁变薄、局部脱落,炎症细胞浸润和充血水肿减轻,肺大泡减少,并且肺泡腔的破坏、扩张和融合得到缓解;中药中、高剂量+伊他替尼组大鼠肺泡扩张和融合得到改善,炎症细胞浸润和黏膜充

表2 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺功能的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

组别	PIF/(mL·s <sup>-1</sup> )	PEF/(mL·s <sup>-1</sup> )	MV/mL
正常组	5.42±0.16	3.01±0.07	43.48±1.91
模型组	1.20±0.07 <sup>▲</sup>	1.63±0.10 <sup>▲</sup>	22.71±1.88 <sup>▲</sup>
中药低剂量组	2.28±0.18 <sup>*</sup>	2.01±0.10 <sup>*</sup>	30.67±1.33
中药中剂量组	3.50±0.24 <sup>**</sup>	2.40±0.19 <sup>**</sup>	35.23±0.84 <sup>**</sup>
中药高剂量组	3.88±0.07 <sup>*&amp;</sup>	2.65±0.06 <sup>*</sup>	41.33±1.14 <sup>*&amp;</sup>
中药低剂量+伊他替尼组	1.84±0.09 <sup>**</sup>	1.88±0.11 <sup>*</sup>	25.03±0.84 <sup>**</sup>
中药中剂量+伊他替尼组	2.02±0.10 <sup>*&amp;</sup>	2.01±0.23 <sup>*&amp;</sup>	29.29±1.04 <sup>*&amp;</sup>
中药高剂量+伊他替尼组	2.34±0.15 <sup>*Δ</sup>	2.09±0.09 <sup>*Δ</sup>	33.70±1.65 <sup>*Δ</sup>

注：与正常组比较，<sup>▲</sup> $P<0.05$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P<0.05$ ；与中药低剂量组比较，<sup>#</sup> $P<0.05$ ；与中药中剂量组比较，<sup>&</sup> $P<0.05$ ；与中药高剂量组比较，<sup>Δ</sup> $P<0.05$ 。

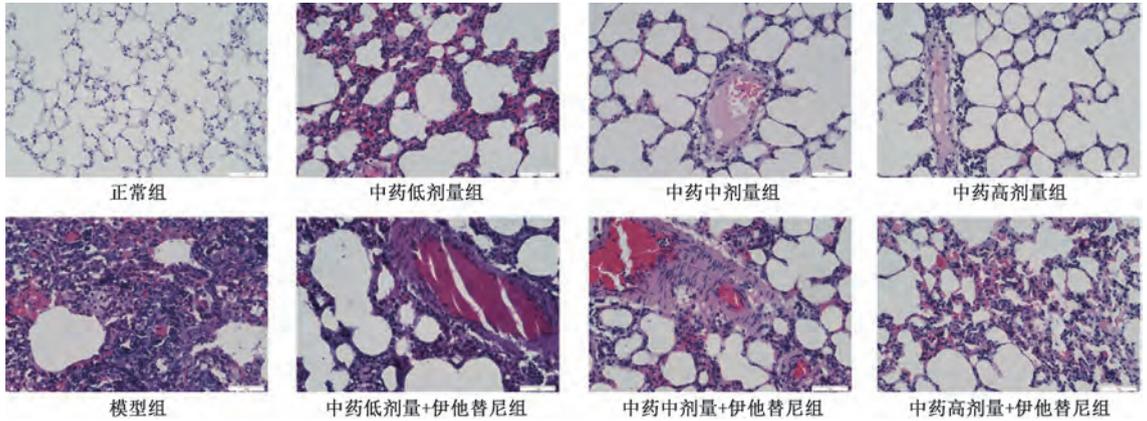


图1 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织形态学的影响 (HE, ×400)

血减少，以中药高剂量+伊他替尼组更优。

3.3 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 和 *SOCS3* mRNA 表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ )，*SOCS3* mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ )；与模型组

比较，中药各剂量组大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ )，*SOCS3* mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ )；与中药各剂量组比较，中药各剂量+伊他替尼组 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ )，*SOCS3* mRNA 表达降低 ( $P<0.05$ )，见表3。

表3 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 和 *SOCS3* mRNA 表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

组别	<i>IL-6</i>	<i>JAK1</i>	<i>STAT3</i>	<i>SOCS3</i>
正常组	1.00±0.01	1.00±0.03	1.00±0.09	1.00±0.02
模型组	8.09±0.32 <sup>▲</sup>	8.08±0.32 <sup>▲</sup>	8.07±0.30 <sup>▲</sup>	0.15±0.01 <sup>▲</sup>
中药低剂量组	6.14±0.12 <sup>*</sup>	6.05±0.27 <sup>*</sup>	6.21±0.40 <sup>*</sup>	0.38±0.01 <sup>*</sup>
中药中剂量组	4.31±0.17 <sup>**</sup>	4.13±0.10 <sup>**</sup>	4.06±0.29 <sup>**</sup>	0.72±0.05 <sup>**</sup>
中药高剂量组	2.03±0.06 <sup>*</sup>	2.04±0.03 <sup>*&amp;</sup>	1.97±0.18 <sup>*&amp;</sup>	0.88±0.03 <sup>*&amp;</sup>
中药低剂量+伊他替尼组	8.11±0.20 <sup>#</sup>	7.71±0.45 <sup>#</sup>	8.11±0.28 <sup>#</sup>	0.16±0.01 <sup>#</sup>
中药中剂量+伊他替尼组	7.17±0.12 <sup>*&amp;</sup>	7.02±0.13 <sup>&amp;</sup>	6.90±0.30 <sup>&amp;</sup>	0.24±0.01 <sup>&amp;</sup>
中药高剂量+伊他替尼组	6.22±0.04 <sup>*Δ</sup>	6.35±0.35 <sup>*Δ</sup>	6.15±0.21 <sup>*Δ</sup>	0.41±0.03 <sup>*Δ</sup>

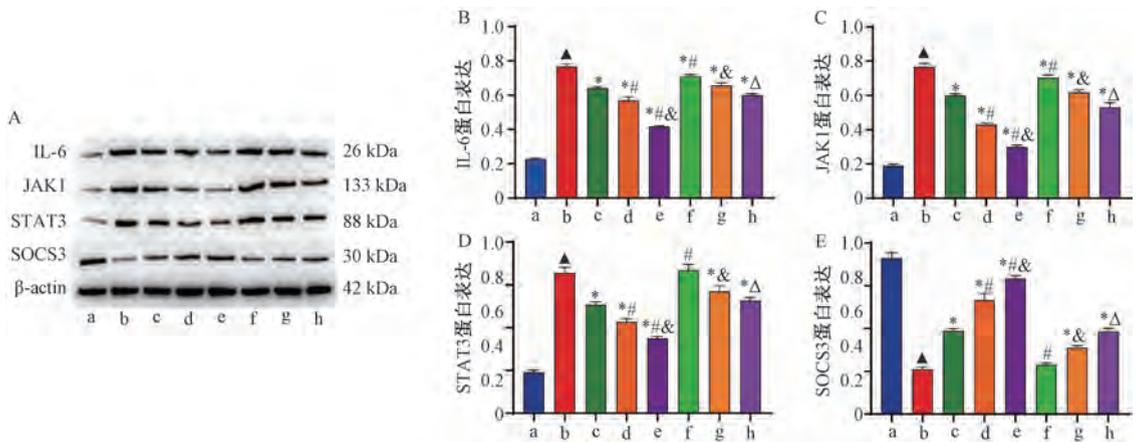
注：与正常组比较，<sup>▲</sup> $P<0.05$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P<0.05$ ；与中药低剂量组比较，<sup>#</sup> $P<0.05$ ；与中药中剂量组比较，<sup>&</sup> $P<0.05$ ；与中药高剂量组比较，<sup>Δ</sup> $P<0.05$ 。

3.4 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 和 *SOCS3* 蛋白表达的影响

3.4.1 免疫印迹检测 如图2所示，与正常组比较，模型组大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ )，*SOCS3* 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ )；与模型组比较，中药各剂量组大鼠肺组织 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ )，*SOCS3* 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ )；与中药各剂量组比较，中药各剂量+伊他替尼组 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ )，*SOCS3* 蛋白表达降低 ( $P<$

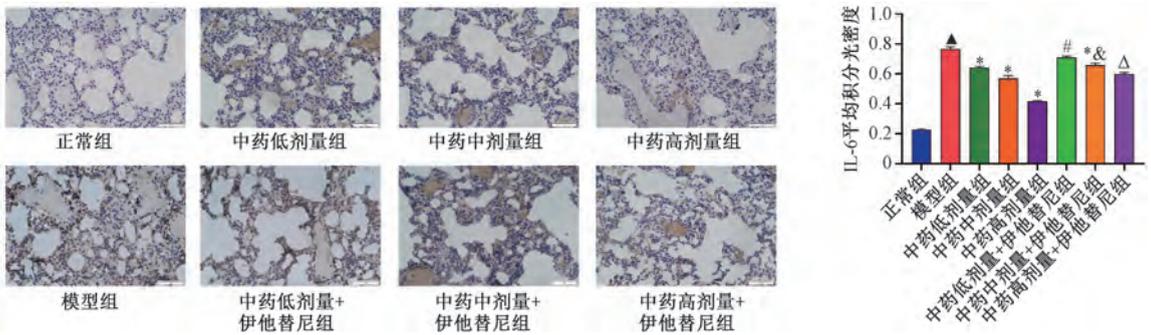
0.05)。

3.4.2 免疫组化检测 如图3~6所示，正常组 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 阳性表达较少，*IL-6* 主要表达于细胞核，*SOCS3* 阳性表达较强，呈深褐色，*SOCS3* 主要在细胞质中表达。与正常组比较，模型组 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 阳性表达最多，*IL-6* 主要在细胞核和细胞质表达，*JAK1*、*STAT3* 定位于细胞核或细胞质，*SOCS3* 呈弱阳性表达；与模型组比较，中药各剂量组 *IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 阳性表达减少，*IL-6*、*JAK1*、*STAT3* 主要表达于细胞质或细胞核，*SOCS3*



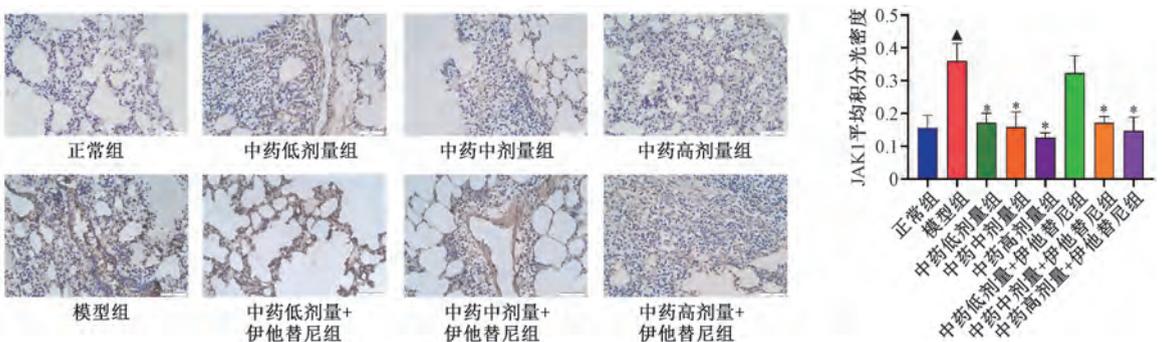
注：a为正常组，b为模型组，c~e分别为中药低、中、高剂量组，f~h分别为中药低、中、高剂量+伊他替尼组。A为蛋白条带图，B~E分别为IL-6、JAK1、STAT3、SOCS3蛋白表达。与正常组比较，▲ $P < 0.05$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ；与中药低剂量组比较，# $P < 0.05$ ；与中药中剂量组比较，& $P < 0.05$ ；与中药高剂量组比较，Δ $P < 0.05$ 。

图2 竹叶石膏汤合清气化痰丸对COPD大鼠肺组织IL-6、JAK1、STAT3、SOCS3蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )



注：与正常组比较，▲ $P < 0.05$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ；与中药低剂量组比较，# $P < 0.05$ ；与中药中剂量组比较，& $P < 0.05$ ；与中药高剂量组比较，Δ $P < 0.05$ 。

图3 竹叶石膏汤合清气化痰丸对COPD大鼠肺组织IL-6表达的影响 (免疫组化,  $\times 400, \bar{x} \pm s, n=3$ )



注：与正常组比较，▲ $P < 0.05$ ；与模型组比较，\* $P < 0.05$ ；与中药低剂量组比较，# $P < 0.05$ ；与中药中剂量组比较，& $P < 0.05$ ；与中药高剂量组比较，Δ $P < 0.05$ 。

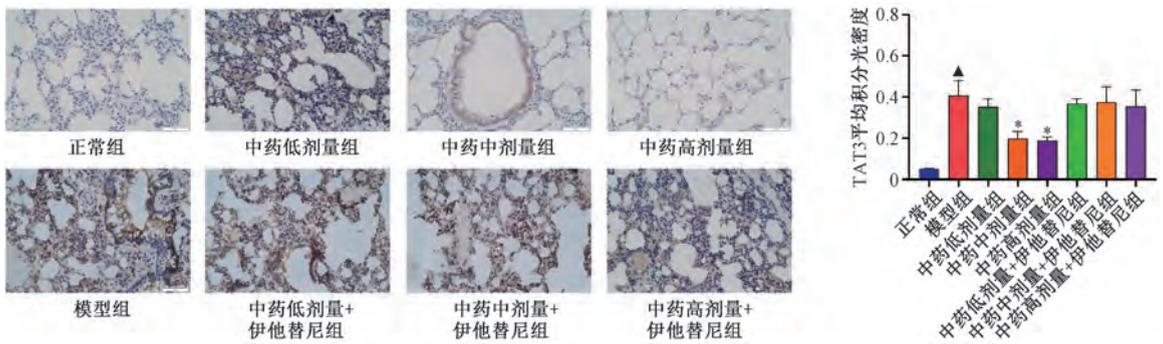
图4 竹叶石膏汤合清气化痰丸对COPD大鼠肺组织JAK1表达的影响 (免疫组化,  $\times 400, \bar{x} \pm s, n=3$ )

阳性表达增强，主要定位于细胞质或质膜；与中药各剂量组比较，中药各剂量+伊他替尼组IL-6、JAK1、STAT3阳性表达增加，SOCS3阳性表达减少。与正常组比较，模型组IL-6、JAK1、STAT3的AOD值升高 ( $P < 0.05$ )，SOCS3的AOD值降低 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较，中药各剂量组IL-6、JAK1的AOD值降低 ( $P < 0.05$ )，中药中、高剂量组

STAT3的AOD值降低 ( $P < 0.05$ )，SOCS3的AOD值升高 ( $P < 0.05$ )；与中药各剂量组比较，中药各剂量+伊他替尼组IL-6的AOD值升高 ( $P < 0.05$ )；与中药高剂量组比较，中药高剂量+伊他替尼组SOCS3的AOD值降低 ( $P < 0.05$ )。

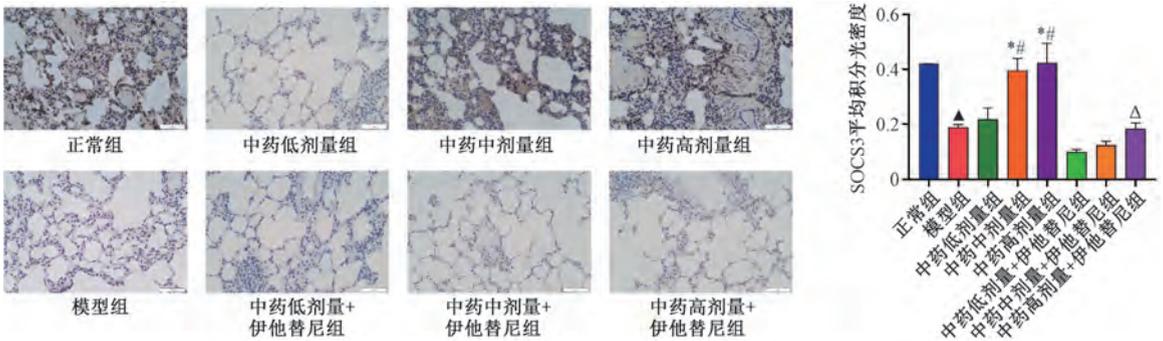
#### 4 讨论

COPD是临床上常见的呼吸系统疾病之一，以持续气



注：与正常组比较， $\blacktriangle P < 0.05$ ；与模型组比较， $* P < 0.05$ ；与中药低剂量组比较， $\# P < 0.05$ ；与中药中剂量组比较， $\delta P < 0.05$ ；与中药高剂量组比较， $\Delta P < 0.05$ 。

图5 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织 STAT3 表达的影响（免疫组化， $\times 400$ ， $\bar{x} \pm s$ ， $n = 3$ ）



注：与正常组比较， $\blacktriangle P < 0.05$ ；与模型组比较， $* P < 0.05$ ；与中药低剂量组比较， $\# P < 0.05$ ；与中药中剂量组比较， $\delta P < 0.05$ ；与中药高剂量组比较， $\Delta P < 0.05$ 。

图6 竹叶石膏汤合清气化痰丸对 COPD 大鼠肺组织 SOCS3 表达的影响（免疫组化， $\times 400$ ， $\bar{x} \pm s$ ， $n = 3$ ）

流受限为主要表现，伴随呼吸困难、咳嗽、咳出黏液（痰）和喘息，严重影响患者的生存与生活质量<sup>[8-10]</sup>。炎症因子在 COPD 的发生发展中起主导作用，涉及多种炎症细胞、细胞因子和炎症介质，包括中性粒细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞、IL-6、L-8 和肿瘤坏死因子- $\alpha$  等，其中 IL-6 是 COPD 气道炎症中的重要促炎因子，在 COPD 患者痰液、肺实质和血液中都发现 IL-6 不同程度的升高<sup>[11-12]</sup>。

本研究发现，中药各剂量组均能改善 COPD 模型大鼠肺功能，缓解肺气流受限、通气功能障碍，并减缓肺组织疾病和支气管壁炎症，同时还发现，IL-6、JAK1、STAT3 mRNA 和蛋白表达在 COPD 大鼠肺组织中均升高，说明 COPD 的发生发展与 JAK1/STAT3 的持续激活和过表达及肺组织信号转导通路异常密切相关。STAT3 的激活水平与 IL-6 表达呈正相关。以往研究也表明，STAT3 在肺泡上皮细胞中可被 IL-6 激活，导致 STAT3 持续激活和过度表达，与气道炎症和肺气肿的发生密切相关<sup>[13-14]</sup>。许光兰等<sup>[15]</sup>研究发现，清金化痰颗粒可下调 COPD 急性期大鼠 STAT3 过度表达，抑制 IL-6 表达的升高，减轻气道炎症。此外，王成阳等<sup>[16]</sup>研究也发现，JAK1、STAT3、p-STAT3 在 COPD 大鼠模型中过度表达，JAK1 活化后，迅速激活 STAT3 使其磷酸化，p-STAT3 反过来又促进炎症因子表达的升高，进而加重 COPD。在烟熏和 LPS 联合诱导下，大鼠肺组织中促炎

因子 IL-6 表达增加，结合细胞表面的 IL-6R，进一步诱导 JAK1 磷酸化。JAK1 激活迅速与 STAT3 结合使 STAT3 磷酸化并被激活。此外，有研究表明，抑制 STAT3 后，能够导致 LPS 诱导的 IL-6 基因及蛋白表达降低<sup>[17]</sup>。本研究结果表明，竹叶石膏汤合清气化痰丸通过下调 JAK1、STAT3 蛋白表达，抑制其过度表达，缓解大鼠肺部组织炎症，降低 IL-6 炎症因子表达，抑制 JAK1/STAT3 通路。

本研究还表明了竹叶石膏汤合清气化痰丸可上调 SOCS3 基因和蛋白表达。JAK/STAT 信号通路的 IL-6 依赖性激活受到 SOCS 蛋白家族成员的严格调控，SOCS1/SOCS3 上调的快速反馈有效抑制生理条件下 STAT3 的磷酸化，目前普遍认为 SOCS3 是 STATs 的靶基因，能够直接抑制 STATs 的活化<sup>[13,18]</sup>。最新研究发现，IL-6 能够与 JAK/STAT 信号通路上的受体结合引起炎症反应并可启动 SOCS3 基因表达，起负反馈调节作用<sup>[19-20]</sup>。本研究结果还表明，添加伊他替尼后会抑制竹叶石膏汤合清气化痰丸提升肺功能和抑制炎症相关基因和蛋白表达的能力。本研究初步表明，竹叶石膏汤合清气化痰丸可能通过调控 IL-6 介导的 JAK/STAT 通路减缓 COPD 炎症和发作。

参考文献：

[ 1 ] Chen J, Dai L, Wang T, et al. The elevated CXCL5 levels in circulation are associated with lung function decline in COPD

- patients and cigarette smoking-induced mouse model of COPD [J]. *Ann Med*, 2019, 51(5-6): 314-329.
- [ 2 ] Lv X X, Liu S S, Li K, *et al.* Cigarette smoke promotes COPD by activating platelet-activating factor receptor and inducing neutrophil autophagic death in mice [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (43): 74720-74735.
- [ 3 ] Yang M, Kohler M, Heyder T, *et al.* Proteomic profiling of lung immune cells reveals dysregulation of phagocytotic pathways in female-dominated molecular COPD phenotype [J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 39.
- [ 4 ] Jenkins B J. Transcriptional regulation of pattern recognition receptors by Jak/STAT signaling, and the implications for disease pathogenesis [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2014, 34 (10): 750-758.
- [ 5 ] Kuusanmäki H, Dufva O, Parri E, *et al.* Drug sensitivity profiling identifies potential therapies for lymphoproliferative disorders with overactive JAK/STAT3 signaling [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(57): 97516-97527.
- [ 6 ] Wang C, Li Z, Liu X, *et al.* Effect of Liuweibuqi capsule, a Chinese patent medicine, on the JAK1/STAT3 pathway and MMP9/TIMP1 in a chronic obstructive pulmonary disease rat model [J]. *J Tradit Chin Med*, 2015, 35(1): 54-62.
- [ 7 ] Higham A, Booth G, Lea S, *et al.* The effects of corticosteroids on COPD lung macrophages: a pooled analysis [J]. *Respir Res*, 2015, 16(1): 98.
- [ 8 ] Kukrety S P, Parekh J D, Bailey K L. Chronic obstructive pulmonary disease and the hallmarks of aging [J]. *Lung India*, 2018, 35(4): 321-327.
- [ 9 ] Joshi M, Varkey B. Editorial: Reflections on chronic obstructive pulmonary disease and related topics and respiratory health consequences of wildfires [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2019, 25 (2): 129-131.
- [ 10 ] Tulic M K, Piche T, Verhasselt V. Lung-gut cross-talk: evidence, mechanisms and implications for the mucosal inflammatory diseases [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46(4): 519-528.
- [ 11 ] Caetano M S, Zhang H, Cumpian A M, *et al.* IL6 blockade reprograms the lung tumor microenvironment to limit the development and progression of K-ras-mutant lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(11): 3189-3199.
- [ 12 ] Xu H, Shi X, Li X, *et al.* Neurotransmitter and neuropeptide regulation of mast cell function: a systematic review [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 356.
- [ 13 ] Gong J H, Shin D, Han S Y, *et al.* Blockade of airway inflammation by kaempferol *via* disturbing Tyk-STAT signaling in airway epithelial cells and in asthmatic mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 250725.
- [ 14 ] Chen M M, Bird M D, Zabs A, *et al.* Pulmonary inflammation after ethanol exposure and burn injury is attenuated in the absence of IL-6 [J]. *Alcohol*, 2013, 47(3): 223-229.
- [ 15 ] 许光兰, 赵 媚, 钟云青, 等. 清金化痰颗粒对 COPD 急性期 (痰热郁肺型) 大鼠肺组织 STAT1, STAT3 的调控作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(2): 91-97.
- [ 16 ] 王成阳, 李泽庚. 六味补气胶囊对 COPD 肺气虚证大鼠 JAK/STAT 通路、MMPs/TIMP 的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5): 1384-1390.
- [ 17 ] Li X, Xie Y, Kang A, *et al.* New bitongling (NBTL) ameliorates rheumatoid arthritis in rats through inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *Eur J Histochem*, 2021, 65 (1): 3202.
- [ 18 ] Li X D, Li X M, Gu J W, *et al.* MiR-155 regulates lymphoma cell proliferation and apoptosis through targeting SOCS3/JAK-STAT3 signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(14): 7577.
- [ 19 ] Nishimura K, Nakamura S, Kusunose M, *et al.* Comparison of patient-reported outcomes during acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *BMJ Open Respir Res*, 2018, 5(1): e000305.
- [ 20 ] Dugan L L, Ali S S, Shekhtman G, *et al.* IL-6 mediated degeneration of forebrain GABAergic interneurons and cognitive impairment in aged mice through activation of neuronal NADPH oxidase [J]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5518.