

文章编号:1674-6309(2024)01-0086-07

· 论著 ·

补肺纳肾丸治疗慢性阻塞性肺疾病大鼠的效果及对肺组织 ERK 1/2 的影响

闫文瑞¹, 张常喜², 平昕昢³, 赵思超¹

(1. 宁夏医科大学中医学院, 银川 750004; 2. 宁夏回族自治区中医医院暨中医研究院, 银川 750021; 3. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

摘要:目的 探究补肺纳肾丸(BFNSP)对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)大鼠模型的干预效果及对肺组织细胞外调节激酶(ERK 1/2)表达的影响。方法 将 38 只 SPF 级 SD 雄性大鼠随机分成对照组(6 只)、COPD 组(8 只)、BFNSP-H 组(6 只)、BFNSP-M 组(6 只)、BFNSP-L 组(6 只)、地塞米松组(6 只)。除对照组外,各组大鼠通过香烟烟雾联合脂多糖(LPS)气管内滴注的方式制备 COPD 大鼠模型,以高、中、低浓度的 BFNSP 及地塞米松药物连续灌胃相应药物组大鼠 8 周,对照组和 COPD 组大鼠均给予等体积的生理盐水灌胃处理。对比各组大鼠造模后一般情况、HE 染色肺组织、酶联免疫吸附(ELISA)法检测各组大鼠肺泡灌洗液(BALF)中白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平,评价 BFNSP 对 COPD 大鼠的干预效应。采用 Western blot 法检测各组肺组织 P-ERK 1/2 蛋白水平,采用 RT-qPCR 检测 ERK 1/2 mRNA 表达情况。结果 造模后,造模大鼠出现咳嗽、呼吸急促、精神及活动状态差等症状,HE 染色见炎性细胞浸润、肺泡腔皱缩等改变;与 COPD 组比较,BFNSP 各组及地塞米松组中支气管 BALF 的 IL-1 β 水平均降低(P 均 <0.05);肺组织 ERK 1/2 mRNA 和蛋白表达水平表达均下降(P 均 <0.05)。结论 BFNSP 可有效抑制 COPD 大鼠肺组织炎症,同时抑制肺组织中 ERK 1/2 的表达水平,延缓 COPD 进展。

关键词:补肺纳肾丸;慢性阻塞性肺疾病;ERK1/2;大鼠;损伤;保护作用

中图分类号:R285

文献标识码:A

DOI: 10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2024.01.015

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是以气道炎症及持续气流受限为主要特征的呼吸系统疾病,病变累及气道、肺实质、肺血管;病情进展呈持续性,且病程迁延反复,发病率及病残病死率均逐年增高^[1],也是全球呼吸系统慢性疾病的主要死亡原因之一^[2]。现代医学治疗 COPD 的疗效肯定,但仍然存在诸多局限性^[3-4]。长期使用激素类药物可出现如耐药性、胃肠功能紊乱等情况。本课题组采用补肺纳肾丸(bufeinashen pills, BFNSP)复方制剂防治 COPD 及肺相关疾病,发现 BFNSP 不仅可以改善 COPD 患者临床症状、提高患者生活质量,还可改善肺功能,降低炎症因子白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)的表达^[5-6]。香烟烟雾是 COPD 发展的主要危险因素^[7],且烟雾会导

致肺部明显的慢性炎症,增加炎性介质的释放,如白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)等^[8]。同时有研究^[9]显示,炎性细胞因子是加快 COPD 患者病情进展的重要因素,如 IL-1 β 在 COPD 患者中的水平明显升高,加重肺部炎症的发展。COPD 病理生理学改变是外周气道炎症及结构改变致气道狭窄的相互作用过程^[10],细胞外信号调节激酶(ERK)是丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)之一,是包括炎症反应在内的细胞转录活性的重要介质^[11],烟雾暴露(cigarette smoke, CS)激活 ERK,在慢性气道炎症中起重要作用^[12-13]。有研究^[14]表明,ERK 1/2 在 COPD 模型大鼠中广泛表达。本研究通过观察不同浓度的 BFNSP 对 COPD 大鼠模型干预效果及对肺组织中 ERK 1/2 蛋白的活化情况及炎症因子 IL-1 β 的变化,以期 BFNSP 防治 COPD 的临床实践提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 38 只,10~12 周龄,体质量(200 \pm 20) g,购于成都达硕实验动物有限公

收稿日期:2023-07-14

基金项目:宁夏科技重点研发项目(2020BFG03004)

作者简介:闫文瑞(1993—),女,在读硕士研究生,研究方向为呼吸系统疾病。E-mail:340050666@qq.com

通信作者:张常喜(1972—),男,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为中医药治疗呼吸系统疾病。E-mail:zhangchangxizcx@163.com

司,生产许可证号 SCXK(川)2020-030;大鼠饲养造模及灌胃于四川大学华西医院科技武侯区科技园四路 1 号的动物房内。大鼠自由进食、饮水,温度 20~26 ℃,相对湿度 45%~75%,适应性喂养 1 周后进行实验。动物实验经四川大学华西医院实验动物伦理委员会批准(批准号:20230625001)。后续大鼠组织实验于宁夏回族自治区中医医院进行。

1.2 药物与试剂

BFNSP(黄芪、肉苁蓉、细辛、蝉蜕、防风、续断、白术、荆芥穗、紫苏叶、党参、紫苏子、益智仁、瓜蒌、葶苈子、地龙、全蝎等)购于宁夏回族自治区中医医院暨中医研究院(规格:60 g/瓶),分别制备 0.125 g·mL⁻¹、0.25 g·mL⁻¹、0.5 g·mL⁻¹ 的药液,4 ℃保存备用;脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)(批号:517 L031,规格 10 mg/瓶,北京索莱宝科技有限公司);地塞米松片(批号:LB21135,浙江仙琚制药股份有限公司)。

苏木素染色液(G1004X,武汉赛维尔生物科技有限公司);伊红染色液(YE2080,合肥博美生物科技有限责任公司);盐酸(7647-01-0,成都市科隆化学品有限公司);Rat IL-1 β ELISA 试剂盒(ZC-36391,上海茁彩生物科技有限公司);BCA 蛋白含量检测试剂盒(P0009,上海碧云天生物技术股份有限公司);细胞裂解液(P0013;上海碧云天生物技术股份有限公司);P-ERK 1/2 抗体(AP0974X,美国 ABclonal 生物科技有限公司);鼠抗 β -actin(AC026,美国 ABclonal 生物科技有限公司);Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)HRP(S0001,美国 affbiotech 公司);Molpure[®] Cell/Tissue Total RNA Kit[19221ES50,翌圣生物科技(上海)股份有限公司];PrimeScript[™] RT reagent Kit[RR047A,宝日医生物技术(北京)有限公司];TB Green[®] Premix Ex Taq[™] II (Tli RNaseH Plus)[RR820A,宝日医生物技术(北京)有限公司]。

1.3 仪器

组织石蜡包埋机(BMJ-A,常州市郊区中威电子仪器厂)、轮转式石蜡切片机(徕卡-2016,德国徕卡公司);数字切片扫描仪(Pannoramic 250,3DHISTECH 公司);酶标仪(SpectraMAX Plus384,上海美谷分子仪器有限公司);实时荧光定量(RT-PCR)仪(QuantStudio[™]3,美国 Thermo Fisher 科技公司);垂直电泳槽(JY-SCZ4+,北京君意东方电泳设备有限公司);荧光图像分析系统(5200 Multi,上海天能科技有限公司)。

1.4 COPD 大鼠模型的构造

除对照组外,其余大鼠采用香烟烟熏法(烟碱量 15 mg,尼古丁量 1.0 mg,一氧化碳量 13 mg)联合 LPS 制备大鼠 COPD 模型。在造模期的第 1、14、28 天对大鼠进行麻醉,当日不熏蒸,在气道内滴注 LPS 溶液(1 mg·kg⁻¹);在第 2~13、15~27、29~49 天将大鼠置于自制染毒箱被动吸烟,每次吸 30 支香烟,每次 30 min,2 次/d,两次间隔时间 12 h,共 49 d。同时对照组大鼠在熏蒸箱中呼吸正常空气,并于麻醉后第 1、14、28 天用生理盐水 0.2 mL 代替 LPS 溶液滴入气道。期间,观察大鼠呼吸状态、毛发、进食情况、活动度等;第 50 天,随机解剖 2 只大鼠进行肺组织病理观察,显示 COPD 建模成功。

1.5 分组及给药

将 38 只大鼠按随机数表法分为对照组(6 只)、COPD 组(8 只)、BFNSP 高剂量(BFNSP-H)组(6 只)、BFNSP 中剂量(BFNSP-M)组(6 只)、BFNSP 低剂量(BFNSP-L)组(6 只)、地塞米松组(6 只)。随机选取 COPD 组 2 只大鼠解剖进行肺组织病理观察,显示 COPD 建模成功后,中药给药剂量按照成人日用量与裸鼠体表面积折算成等效剂量,对照组(6 只)和 COPD 组(6 只)灌胃生理盐水 2 mL/次,1 次/d;BFNSP-H 组(6 只)灌胃(0.5 mL/100 g)、BFNSP-M 组(6 只)灌胃(0.25 mL/100 g)、BFNSP-L 组(6 只)灌胃(0.125 mL/100 g),1 次/d,地塞米松组(6 只)灌胃(0.02 mL/100 g),1 次/d;各组大鼠均连续给药 8 周。

1.6 HE 染色观察大鼠肺组织病理学变化

灌胃给药结束 24 h 后,取肺脏组织以 4%多聚甲醛固定 24 h,经脱水、浸蜡、包埋、切片、展片、捞片、烤片后,进行苏木精和伊红染色,封片,在光镜下观察肺组织病理学变化。

1.7 酶联免疫吸附试验测定大鼠气管肺泡灌洗液中 IL-1 β 水平

将大鼠安乐处死,软管气管插管后,5 μ L 预冷 PBS 灌洗,重复 3 次,收集其支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF),采用酶联免疫吸附试验测定 BALF 中 IL-1 β 水平,操作过程严格按照试剂盒说明进行。

1.8 免疫印迹法检测大鼠肺组织中 P-ERK 1/2 蛋白表达

肺组织样本在预冷的 RIPA 裂解液中均质,提取总蛋白,使用 BCA 试剂盒进行蛋白定量,并

在 95 ℃ 条件下变性 5 min。通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白质,转膜,封闭,4 ℃ 条件下用特异性抗体 P-ERK 1/2 (1:2 000) 及内参 β -actin (1:50 000) 孵育过夜。1×TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。加入山羊抗兔 IgG(H+L)HRP(1:50 000) 二抗,室温孵育 2 h。1×TBST 洗涤后,最后 ECL 化学发光液显影,Image J 8.0 软件测定条带灰度值, β -actin 作为内参蛋白。

1.9 RT-qPCR 检测大鼠肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达

NA 表达

取 -80 ℃ 保存肺组织标本,用 Trizol 试剂提取组织总 RNA,反转录合成 cDNA。PCR 反应参数:95 ℃ 预变性 30 s,95 ℃ 变性 5 s,55 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 反应 30 s,45 个循环。使用 Thermo Scientific PikoReal 软件对实验过程中样品的 CT 值进行 PCR 结果分析,以 β -actin 为内参,并使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 mRNA 的相对表达。ERK 1/2 引物由 Sangon Biotech 设计合成。引物序列见表 1。

表 1 各基因 PCR 引物序列

基因名称	引物序列(5'-3')	引物长度 /bp
β -actin	F:5'-GGGAAATCGTGCCTGACATT-3'	76
	R:5'-GCGGCAGTGGCCATCTC-3'	
ERK 1/2	F:5'-TACACTAATCTCTCGTACATCG-3'	169
	R:5'-CATGTCTGAAGCGCAGTAGGATT-3'	

1.10 统计学方法

数据采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,对数据进行正态性及方差齐性检验,计量资料以均数±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 法。 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般状况

大鼠共 38 只,实验过程中,除确认造模随机处死 2 只 COPD 大鼠外,其余各组大鼠均无死亡。实验结束时,对照组大鼠精神状态良好,发育正常,无咳嗽等表现;其余各组大鼠均有不同程度精神差、活动性差、饮食差、被毛脱落、咳嗽、呼吸急促、打喷嚏、鼻腔分泌物增多等表现。经药物干预后,BFNSP-L 组、BFNSP-M 组、BFNSP-H 组及地塞米松组大鼠症状逐渐减轻,精神及活动状态等较 COPD 组明显改善。

2.2 BFNSP 减轻 COPD 大鼠肺组织病理损伤

对照组肺脏组织表面被覆浆膜,未见明显水肿、炎性浸润或纤维结缔组织增生;各级支气管结构完整清晰,支气管上皮细胞形态正常,无明显变性、坏死或脱落;肺泡上皮细胞形态较为正常,未见明显变性、坏死,间质未见明显炎性细胞浸润及纤维组织增生。COPD 组少量肺泡上皮细胞脱落于肺泡腔内,见少量肺泡上皮细胞变性、坏死,坏死细胞胞质溶解,胞核固缩崩解,亦见不同程度的肺泡腔扩张,肺泡腔体积扩大,肺泡间隔断裂,周围肺泡腔被挤压、皱缩;间质内见不同程

度炎性细胞浸润,主要为分叶核或杆状核的中性粒细胞,并伴有极少量纤维组织增生,可见核呈长椭圆形的成纤维细胞,见组织内血管瘀血,可见红细胞蓄积。BFNSP 低中高剂量组、地塞米松组病理改变较模型组均有不同程度的改善,在不同浓度 BFNSP 处理组中,以高剂量组肺组织病理改善最为明显,见图 1。

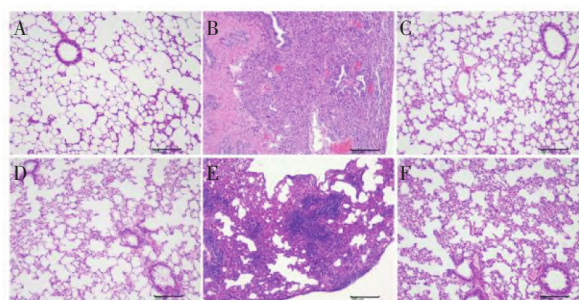


图 1 BFNSP 减轻 COPD 大鼠肺组织损伤(HE×200)

2.3 BFNSP 降低 COPD 大鼠支气管 BALF 中 IL-1 β 含量

与对照组比较,COPD 组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1 β 含量升高($P<0.05$)。与 COPD 组比较,BFNSP-L 组、BFNSP-M 组、地塞米松组、BFNSP-H 组大鼠肺泡灌洗液中 IL-1 β 含量依次降低(P 均 <0.05);BFNSP-H 组肺泡灌洗液中 IL-1 β 含量较地塞米松组降低($P<0.05$);BFNSP 不同剂量组内比较,以高剂量组肺泡灌洗液中 IL-1 β 含量降低最明显($P<0.05$),见表 2。

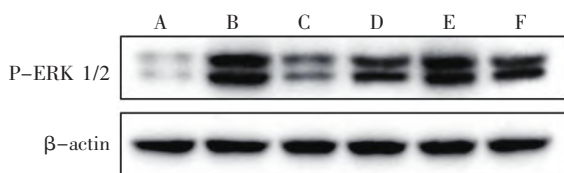
表 2 ELISA 检测 BFNSP 对 COPD 大鼠支气管 BALF 中 IL-1 β 含量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-1 β /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
对照组	6	2.858 \pm 0.687
COPD 组	6	7.811 \pm 0.744*
BFNSP-H 组	6	3.696 \pm 0.267 $\Delta^{\#}\circ$
BFNSP-M 组	6	5.219 \pm 0.823 Δ
BFNSP-L 组	6	6.323 \pm 0.799 Δ
地塞米松组	6	5.067 \pm 0.403 Δ

与对照组比较 * $P<0.05$; 与 COPD 组比较 $\Delta P<0.05$; 与地塞米松组比较 $\#P<0.05$; 与 BFNSP-L 组比较 $\circ P<0.05$ 。

2.4 免疫印迹检测 BFNSP 对 COPD 大鼠肺组织中 P-ERK 1/2 的表达

与对照组比较, COPD 组肺组织中 P-ERK 1/2 表达升高($P<0.05$); 与 COPD 组比较, BFNSP-L 组、BFNSP-M 组、地塞米松组、BFNSP-H 组大鼠肺组织中 P-ERK 1/2 表达依次降低(P 均 < 0.05); 且 BFNSP-H 组肺组织中 P-ERK 1/2 表达较地塞米松组降低($P<0.05$); BFNSP 不同剂量组内比较, 以高剂量组肺组织中 P-ERK 1/2 表达降低最明显($P<0.05$)。见图 2、表 3。



A. 对照组; B. COPD 组; C. BFNSP-H 组; D. BFNSP-M 组; E. BFNSP-L 组; F. 地塞米松组。

图 2 免疫印迹法检测 BFNSP 对 COPD 大鼠 P-ERK 1/2 表达的影响($n=3$)

表 3 BFNSP 对 COPD 大鼠肺组织中 P-ERK 1/2 相对表达量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	蛋白相对表达量
对照组	3	0.805 \pm 0.433
COPD 组	3	7.298 \pm 1.862*
BFNSP-H 组	3	1.636 \pm 0.891 $\Delta\circ$
BFNSP-M 组	3	3.006 \pm 0.739 $\Delta\circ$
BFNSP-L 组	3	5.069 \pm 1.022 $\Delta^{\#}$
地塞米松组	3	2.895 \pm 0.413 Δ

与对照组比较, * $P<0.05$; 与 COPD 组比较, $\Delta P<0.05$; 与地塞米松组比较, $\#P<0.05$; 与 BFNSP-L 组比较, $\circ P<0.05$ 。

2.5 RT-qPCR 检测 BFNSP 对 COPD 大鼠肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达量的影响

与对照组比较, COPD 组肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达量升高($P<0.05$); 与 COPD 组比较, BFNSP 高、中剂量组及地塞米松组肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达量均降低(P 均 < 0.05); 与地塞米松组比较, BFNSP-H 组肺组织中 ERK 1/2

mRNA 表达量明显降低($P<0.05$); 不同浓度 BFNSP 组内比较, 以 BFNSP-H 组肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达量降低最明显($P<0.05$), 见表 4。

表 4 BFNSP 对 COPD 大鼠肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	ERK 1/2 mRNA 表达量
对照组	3	0.730 \pm 0.242
COPD 组	3	8.446 \pm 0.787*
BFNSP-H 组	3	1.466 \pm 0.151 $\Delta^{\#}\circ$
BFNSP-M 组	3	6.237 \pm 3.794 Δ
BFNSP-L 组	3	4.920 \pm 0.582
地塞米松组	3	4.238 \pm 3.147 Δ

与对照组比较 * $P<0.05$; 与 COPD 组比较 $\Delta P<0.05$; 与地塞米松组比较 $\#P<0.05$; 与 BFNSP-L 组比较 $\circ P<0.05$ 。

3 讨论

COPD 是慢性呼吸系统疾病, 慢性气道炎症和 气道重塑是 COPD 的重要表现, 且气道重塑是 COPD 肺部病理核心^[15], 尤其在小气道(内径 < 2 mm)更为明显^[16]; 由于 COPD 患者长期反复受气道炎症刺激, 引起气道损伤后非正常修复, 导致一系列气道壁、结构壁改变等病理状态, 包括气道上皮细胞增生、网状基底膜(RBM)增厚、胶原蛋白沉积、气道上皮间质转化、支气管平滑肌增厚纤维化等病理改变^[17]。这与多种细胞因子及细胞信号通路存在密切关系。目前认为, COPD 发病机制与气道炎症^[18]、上皮间质转化^[19]、蛋白酶-抗蛋白酶失衡^[20]、氧化应激等有关^[21]。吸烟被公认为是导致 COPD 发展的重要危险因素^[22], 同时大量烟雾刺激气道促炎细胞因子的募集(如 IL-1 β), 研究显示^[18], IL-1 β 在 COPD 大鼠血清中水平增高, IL-1 β 可刺激单核细胞和巨噬细胞介导对中性粒细胞的趋化, 也可诱导内皮细胞活化直接参与炎症反应, 由此发生呼吸道反复炎症并加重气道阻塞^[23-24]; 从本研究各组大鼠的一般情况及组织病理形态可以看出, COPD 造模大鼠在模型制备期间出现咳嗽、打喷嚏、气喘、鼻腔分泌物增多、精神状态差等症状, 与患者临床表现一致, 且 HE 染色结果发现, COPD 大鼠的支气管壁存在大量炎性细胞, 肺泡腔扩大融合, 与慢性阻塞性肺疾病的主要病理特征相似, 证明本研究模型制备成功。同时, COPD 大鼠模型 BALF IL-1 β 含量升高, 且不同浓度 BFNSP 干预组能显著下调 COPD 大鼠中 IL-1 β 的含量, 说明 BFNSP 能够缓解 COPD 大鼠模型中性粒细胞的聚集, 从而抑制相关炎性因子的释放, 减轻炎症反应, 缓解 COPD

进展。结合本实验 HE 染色病理结果,不同浓度 BFNSP 药物组及地塞米松组大鼠肺组织形态等各方面均较 COPD 组大鼠明显改善,BFNSP-H 组肺组织中 IL-1 β 含量较地塞米松组降低明显,且 BFNSP 高、中、低剂量组内比较,高剂量组降低显著。这提示 BFNSP 可能在慢性阻塞性肺疾病的治疗过程中具有积极的意义。

细胞外调节蛋白激酶是 MAPKs 信号通路的关键调控因子,ERK 的上游蛋白会磷酸化 ERK,活化后的 P-ERK 作用于细胞质内多种信号分子,同时也会进入细胞核,进而作用于转录因子,对基因表达进行调控^[25],促进细胞增殖、分化、凋亡等过程^[26],同时也参与炎症反应的调控,可以促进炎性细胞因子和趋化因子的释放^[27]。ERK 信号通路可被多种炎性介质激活,包括 CS^[28]。研究^[29-30]表明,在 COPD 病程进展中,ERK 激活产生促炎性细胞因子,如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等,加重肺部炎症。也有研究^[31-32]表明,ERK 在气道平滑肌细胞中广泛表达,参与 COPD 细胞增殖与气道重塑。有报道^[33]显示,香烟提取物可通过 P-ERK 1/2 上调线粒体自噬及溶酶体活性,进而诱导气道平滑肌细胞增殖恶化,导致 COPD 支气管的组织损失和结构重塑。有研究^[34]表明,HDAC6 可通过抑制 ERK 1/2 表达发挥抑制胶原合成及 COPD 患者气道和血管重塑的支气管平滑肌细胞和肺动脉平滑肌细胞增殖。本研究的 Western blot 及 RT-qPCR 结果显示,COPD 大鼠肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达增加,ERK 1/2 蛋白被激活,P-ERK 1/2 增加,经过不同浓度 BFNSP 中药干预后,肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达及 ERK 1/2 磷酸化可被抑制,与西药地塞米松组比较,BFNSP-H 组肺组织中 ERK 1/2 mRNA 表达及 ERK 1/2 磷酸化表达降低,BFNSP 高、中、低剂量组内比较,以 BFNSP-H 组作用最佳。

中医学根据反复咳、痰、喘的临床特点,COPD 多属中医肺胀、喘证等范畴。《灵枢·胀论》曰:“肺胀者,虚满而喘咳”。中医学认为肺主肃降,其认为本病多因长期反复咳喘气逆发作,久病肺虚在此基础上,痰、饮、瘀阻为其病理因素,且贯穿疾病始终^[35]。肺气虚证是痰瘀互结的基石,痰瘀互结、气道涩滞则是导致肺气受阻不能敛降而成肺胀的基础^[36]。以此为依据,研制出宁夏回族自治区中医医院暨中医研究院院内制剂 BFNSP,由黄芪、黄精、肉苁蓉、细辛、蝉蜕、防风、续断、白术、荆芥穗、紫苏叶、党参、紫苏子、益智

仁、瓜蒌、葶苈子、地龙、全蝎等 17 味药物组成。诸味药联合运用,共奏调补肺肾、止咳平喘、化痰祛瘀之效。

综上所述,BFNSP 对 COPD 大鼠肺组织形态结构及气道炎症均有一定的改善作用;并可抑制肺组织中 ERK 1/2 mRNA 及蛋白表达,其机制可能与 ERK 1/2 信号通路有关,但其具体干预机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Christenson SA,Smith BM,Bafadhel M,et al. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. Lancet,2022,399(10342):2227-2242.
- [2] López-Campos JL,Tan W,Soriano JB. Global burden of COPD[J].Respirology,2016,21(1):14-23.
- [3] Ti H,Zhou Y,Liang X,et al. Targeted treatments for chronic obstructive pulmonary disease (COPD) using low-molecular-weight drugs(LMWDs)[J]. J Med Chem,2019,62(13):5944-5978.
- [4] Alabi FO,Alkhateeb HA,Zibanayi MT,et al. The adherence to and utility of the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease guidelines for treating COPD among pulmonary specialists:A retrospective analysis[J]. BMC Pulm Med,2023,23(1):216.
- [5] 王婷. 补肺健肾纳气丸治疗 COPD 稳定期肺肾气虚证的临床观察及对血清 IL-8、TNF- α 的影响[D]. 银川:宁夏医科大学,2020.
- [6] 马静. 补肺纳肾丸治疗肺肾气虚型间质性肺病的疗效观察[D]. 银川:宁夏医科大学,2022.
- [7] Taylor JD. COPD and the response of the lung to tobacco smoke exposure[J]. Pulm Pharmacol Ther,2010,23(5):376-383.
- [8] Xue WH,Shi XQ,Liang SH,et al. Emodin attenuates cigarette smoke induced lung injury in a mouse model via suppression of reactive oxygen species production [J]. J Biochem Mol Toxicol,2015,29(11):526-532.
- [9] 毛建,宋珊,贾钦尧,等. 慢性阻塞性肺疾病患者外周血淋巴细胞 NLRP3 mRNA 的表达及血清 IL-1 β 、IL-18 检测的意义[J]. 临床肺科杂志,2017,22(6):1060-1063.
- [10] Bourdin A,Burgel PR,Chanez P,et al. Recent advances in COPD:Pathophysiology,respiratory physiology and clinical aspects,including comorbidities [J]. Eur Respir Rev,2009,18(114):198-212.
- [11] Luise KR,Diestel A,Lehnardt S,et al. Hypothermia suppresses inflammation via ERK signaling pathway in stimulated microglial cells[J]. J Neuroimmunol,2007,189(1-2):7-16.
- [12] Rahman I,MacNee W. Role of transcription factors

- in inflammatory lung diseases[J]. *Thorax*, 1998, 53(7): 601-612.
- [13] Li D, Xu D, Wang T, et al. Silymarin attenuates airway inflammation induced by cigarette smoke in mice [J]. *Inflammation*, 2015, 38(2): 871-878.
- [14] 申严,戴爱国. 丝裂原活化蛋白激酶与 γ 谷氨酰半胱氨酸合成酶在大鼠慢性阻塞性肺疾病肺组织中的表达[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2005, 28(4): 276-277.
- [15] Kume H. Role of airway smooth muscle in inflammation related to asthma and COPD[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1303: 139-172.
- [16] Hogg JC, Chu FS, Tan WC, et al. Survival after lung volume reduction in chronic obstructive pulmonary disease: Insights from small airway pathology[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(5): 454-459.
- [17] 卢瑞龙, 苗玉芳, 田燕歌. 中医药治疗慢性阻塞性肺疾病气道重塑研究述评[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2023, 29(6): 1044-1048.
- [18] 刘淑娟, 李亚, 范正媛, 等. 泊马度胺通过抑制 TNF- α /NF- κ B 信号通路改善 COPD 大鼠气道炎症及黏液高分泌[J/OL]. *解放军医学杂志*: (2023-06-19) [2023-07-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1056.R.20230619.1056.002.html>.
- [19] 贺薇静, 赵鹏, 李建生, 等. 补肺益肾组方对 PM_{2.5} 诱发慢性阻塞性肺疾病加重模型大鼠上皮-间质转化的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2023, 43(4): 461-468.
- [20] Fischer BM, Pavlisko E, Voynow JA. Pathogenic triad in COPD: Oxidative stress, protease-antiprotease imbalance, and inflammation[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2011, 6: 413-421.
- [21] Zhu WT, Li CH, Dai TT, et al. Effect of allyl isothiocyanate on oxidative stress in COPD via the AhR / CYP1A1 and Nrf2 / NQO1 pathways and the underlying mechanism[J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154774.
- [22] Ma L, Huo X, Yang A, et al. Metal exposure, smoking, and the risk of COPD: A nested case-control study in a Chinese occupational population[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2022, 19(17): 10896.
- [23] Hill W, Lim EL, Weeden CE, et al. Lung adenocarcinoma promotion by air pollutants[J]. *Nature*, 2023, 616(7955): 159-167.
- [24] Che L, Yu C, Chen G, et al. The inflammatory response induced by RELM β upregulates IL-8 and IL-1 β expression in bronchial epithelial cells in COPD[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2021, 16: 2503-2513.
- [25] 李点, 郑正, 江叶舟. S1P 对慢性阻塞性肺疾病大鼠 caspase-3、ERK 及肺动脉平滑肌细胞的影响[J]. *西部医学*, 2022, 34(1): 28-32.
- [26] Mercer BA, D'Armiento JM. Emerging role of MAP kinase pathways as therapeutic targets in COPD[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2006, 1(2): 137-150.
- [27] Kyriakis JM, Avruch J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: A 10-year update[J]. *Physiol Rev*, 2012, 92(2): 689-737.
- [28] Lee SU, Ryu HW, Lee S, et al. Lignans isolated from flower buds of *magnolia fargesii* attenuate airway inflammation induced by cigarette smoke in vitro and in vivo[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 970.
- [29] Li C, Yan Y, Shi Q, et al. Recuperating lung decoc-tion attenuates inflammation and oxidation in cigarette smoke-induced COPD in rats via activation of ERK and Nrf2 pathways[J]. *Cell Biochem Funct*, 2017, 35(5): 278-286.
- [30] 陈恺, 邓巧娟, 贾真, 等. 根皮素通过抑制 ERK 的激活发挥慢阻肺气道的保护作用研究[J]. *中医药导报*, 2021, 27(1): 37-41.
- [31] Wang J, Shang YX, Cai XX, et al. Vasoactive intestinal peptide inhibits airway smooth muscle cell proliferation in a mouse model of asthma via the ERK 1/2 signaling pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 364(2): 168-174.
- [32] 沈文婷, 秦建品, 许诣. miR-339 对气道平滑肌细胞增殖及 ERK1/2 通路的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2023, 39(1): 48-52.
- [33] Fang L, Zhang M, Li J, et al. Airway smooth muscle cell mitochondria damage and mitophagy in COPD via ERK1/2 MAPK[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13987.
- [34] Su Y, Han W, Kovacs-Kasa A, et al. HDAC6 activates ERK in airway and pulmonary vascular remodeling of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2021, 65(6): 603-614.
- [35] 马妍. 中医治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期研究进展[J]. *光明中医*, 2022, 37(21): 4008-4011.
- [36] 崔力心, 张新宇, 周瑞玲, 等. 基于“血不利则为水”理论探讨慢性阻塞性肺疾病肺血管重塑的病机及治疗[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2023, 31(7): 6-10.

(责任编辑:路锦绣)

Effect of the Bufeinashen Pills on the Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in Rats and Its Impacts on ERK 1/2 in Pulmonary Tissue

YAN Wenrui¹, ZHANG Changxi², PING Xinchong³, ZHAO Sichao¹

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Ningxia Chinese Medicine Research Center, Yinchuan 750021, China; 3. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Objective To investigate the intervention effect of Bufeinashen pills (BFNSP) on a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and its influence on the expression of extracellular regulated protein kinase 1/2 (ERK 1/2) in lung tissue. **Methods** Thirty-eight SPF SD male rats were randomly divided into control group (6 rats), COPD group (8 rats), BFNSP-H group (6 rats), BFNSP-M group (6 rats), and BFNSP-L group (6 rats), and dexamethasone group (6 rats). Except for the control group, COPD rat models were prepared by cigarette smoke combined with intratracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS). The high, medium, and low dose BFNSP and dexamethasone groups were treated with corresponding drugs via gavage for 8 weeks, while the control and COPD groups were given equal volumes of normal saline by gavage. The general condition, HE staining of lung tissue, and levels of interleukin-1 β (IL-1 β) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of rats in each group were compared to evaluate the intervention effect of BFNSP on COPD rats. The protein levels of P-ERK 1/2 in lung tissue were detected by Western blot, and the mRNA expression of ERK 1/2 was detected by RT-qPCR. **Results** After modeling, the model rats showed symptoms consistent with clinical observations, such as cough, dyspnea, poor mental and activity status. HE staining showed inflammatory cell infiltration and alveolar cavity shrinkage. Compared with the COPD group, the levels of IL-1 β in BALF of the BFNSP and dexamethasone groups were significantly lower (P all < 0.05), and the expression levels of ERK 1/2 mRNA and protein in lung tissue were significantly decreased (P all < 0.05). **Conclusion** BFNSP can effectively inhibit lung tissue inflammation in COPD rats and suppress the expression of ERK 1/2, thereby delaying the progression of COPD.

Key words: Bufeinashen pills; chronic obstructive pulmonary disease; ERK 1/2; rat; injury; protective effect

本刊对统计学符号及统计学方法的要求

按 GB 3358—1982《统计学名词及符号》的有关规定书写,常用如下:1)样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} (中位数用 M);2)标准差用英文小写 s ;3)标准误用英文小写 s_x ;4) t 检验用英文小写 t ;5) F 检验用英文大写 F ;6)卡方检验用英文小写 χ^2 ;7)相关系数用英文小写 r ;8)自由度用英文小写 v ;9)概率用英文大写 P (P 值前应给出具体检验值,如 t 值、 χ^2 值、 q 值等),以上符号均用斜体。关于资料的统计学分析:对于定量资料,应根据实验或调查设计类型和资料的条件选用合适的统计学分析方法,不能盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据实验或调查设计类型、列联表中定性变量的性质和分析目的选用合适的统计学分析方法,不能盲目套用 χ^2 检验;对于回归分析,应结合专业知识和散布图选用合适的回归类型,不能盲目套用简单直线回归分析。

(本刊编辑部)