

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2021.08.016

蝎黄解痉治哮喘颗粒对支气管哮喘模型小鼠肺组织 PI3K/AKT 通路的影响

冯晓纯¹, 陈琼芳², 洪天一², 崔庆科³, 乔伊娜², 延光海⁴, 刘爱东⁵✉

1. 长春中医药大学附属医院, 吉林省长春市朝阳区工农大路 1478 号, 130021; 2. 长春中医药大学中医学院; 3. 上海市儿童医院; 4. 延边大学; 5. 长春中医药大学附属第三临床医院

摘要 目的 探讨蝎黄解痉治哮喘颗粒治疗支气管哮喘的可能作用机制。方法 35 只 BALB/c 小鼠随机分为空白组、模型组、孟鲁司特组和蝎黄解痉治哮喘低剂量组和高剂量组, 每组 7 只。除空白组外, 其余各组采用卵蛋白 (OVA) 雾化吸入制备哮喘小鼠气道重塑模型。孟鲁司特组及蝎黄解痉治哮喘低、高剂量组分别按 0.5、150、300 mg/kg 灌胃处理; 空白组和模型组以生理盐水 200 μ l/只灌胃, 各组均隔日 1 次。检测各组小鼠支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的总细胞数和分类炎性细胞数; HE、PAS 和 Masson 染色观察肺组织病理变化; 免疫组织化学法检测丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT)、缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、 α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 在肺组织中的表达; Western blot 法检测肺组织中 α -SMA 的表达。结果 与空白组相比, 模型组气道周围有大量炎症细胞浸润, 气道杯状细胞、黏液分泌及上皮下纤维化程度明显增加, BALF 中细胞总数及嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数及肺组织 AKT、HIF-1 α 、 α -SMA 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 蝎黄解痉治哮喘高剂量组和孟鲁司特组炎症细胞浸润明显减少, 上皮杯状细胞和黏液减少, 气道上皮下纤维化程度降低, 细胞总数及各类细胞数明显降低, AKT、HIF-1 α 、 α -SMA 蛋白表达明显下降 ($P < 0.05$)。结论 蝎黄解痉治哮喘颗粒可改善哮喘模型小鼠气道重塑, 以高剂量效果更佳, 其机制可能与抑制肺组织 PI3K/AKT 信号通路及 α -SMA、HIF-1 α 蛋白表达有关。

关键词 蝎黄解痉治哮喘颗粒; 支气管哮喘; PI3K/AKT 信号通路; α 平滑肌肌动蛋白; 气道重塑

支气管哮喘 (bronchial asthma, BA) 简称哮喘, 是一种以气道高反应性、气道炎症和气道重塑为特征的慢性炎症性疾病, 其中气道重塑是哮喘的重要特征, 在哮喘发病中具有举足轻重的作用^[1]。磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 信号通路对细胞的生长、分化、代谢、存活/生存和凋亡具有重要意义^[2], 在支气管平滑肌增殖和气道重塑中发挥重要作用^[3]。蝎黄解痉治哮喘颗粒是我们总结国医大师王烈治疗哮喘临床经验, 以《摄生众妙方》中定喘汤为基础, 融合儿科临证特点加减化裁而成。该方加减治疗儿童哮喘发作期总有效率达 93.3%, 且可有效缩短痰鸣音消失时间^[4]。动物实验表明, 蝎黄解痉治哮喘颗粒可有效抑制哮喘小鼠 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 磷酸

化、正向调节辅助性 T 淋巴细胞 1/辅助性 T 淋巴细胞 2 (Th1/Th2) 细胞因子平衡, 减少炎症细胞浸润^[5]。本研究通过 PI3K/AKT 信号通路探讨蝎黄解痉治哮喘颗粒对哮喘小鼠气道重塑的影响, 为其临床运用提供依据。本实验经延边大学医学院伦理委员会批准, 批准号: SYXK (吉) 2020-0009。

1 材料与方法

1.1 动物

清洁级 7 周龄 BALB/c 雌性小鼠 35 只, 体重 (20 $\pm$ 2) g, 由延边大学实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK (吉) 2018-0003。温度 (22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C, 相对湿度 (55% $\pm$ 5%), 12 h 光照/黑暗循环。

1.2 药品

蝎黄解痉治哮喘颗粒, 由麻黄 6 g、苦杏仁 10 g、苦参 10 g、白果 5 g、全蝎 3 g、甘草 3 g 组成, 购于江阴天江药业有限公司; 孟鲁司特钠咀嚼片, 规

基金项目: 国家中医药管理局中医循证能力建设项目 (2019XZZX-EK002); 吉林省科技发展规划 (20190201141JC)

✉ 通讯作者: laddoc8808@163.com, (0431) 89912001

格: 5 mg/片, 鲁南贝特制药有限公司, 批号: 170412。

1.3 主要试剂及仪器

卵蛋白 (OVA, 批号: 9006-59-1)、氢氧化铝粉 (批号: 24623-77-6), 美国 Sigma 公司; HE 染色剂 (批号: G1120)、PAS 染色剂 (批号: G1281)、Masson 染色剂 (批号: G1340)、Diff-Quick 染色液 (批号: G1541-2)、苏木精 (批号: 20180316), 北京索莱宝科技有限公司; α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA, 批号: D4K9N)、丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT, 批号: 40D4)、 β -actin (批号: 13E5)、缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α , 批号: D1S7W), CST 公司; DAB 试剂盒 (批号: ab64259)、BCA 试剂盒 (批号: ab102536), Abcam 公司。

雾化器 (U219 型, 大连医疗器械厂); 伯乐小型垂直电泳仪及电泳槽 (1658003 型)、伯乐蛋白快速转膜仪 (全能型), 美国 Bio-Rad 公司; 高速冷冻离心机 (3K15 型, 美国 Sigma 公司); 轮转式切片机 (2135 型, 德国徕卡公司); 细胞成像微孔板检测系统 (cytation5 型, Biotek 公司); 光学显微镜 (CX31 型, 日本奥林巴斯公司); 烤箱 (DKN412C 型, Yamato 公司)。

1.4 模型制备及给药

将 35 只 BALB/c 小鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、孟鲁司特组及蝎黄解痉治哮喘低剂量组、高剂量组, 每组 7 只。除空白组外, 其余各组参照文献 [6] 制备哮喘小鼠气道重塑模型。1.5 mg OVA 和氢氧化铝粉混合制成 0.25 mg/ml 的致敏液, 于实验第 1、7、14 天给予模型组、孟鲁司特组及蝎黄解痉治哮喘低剂量组、高剂量组腹腔注射 0.2 ml/只致敏。在第 3 周至第 7 周, 模型组、孟鲁司特组及蝎黄解痉治哮喘低剂量组、高剂量组予 1% OVA 溶液 (OVA 0.2 mg + 生理盐水 20 ml) 雾化激发, 隔日进行 1 次, 共激发 21 次, 空白组以等量生理盐水致敏和激发。参照文献 [7] 进行给药剂量换算, 给予孟鲁司特组及蝎黄解痉治哮喘低剂量组、高剂量组在第 15 天到第 56 天分别按 0.5、150、300 mg/(kg·d) 灌胃处理, 隔日 1 次; 空白组和模型组以生理盐水 200 μ l/只灌胃。第 57 天麻醉处死各组小鼠。

1.5 观察指标及方法

处死后的小鼠逐层剥离颈部组织, 暴露气管, 行气管插管, 气管上剪一小口, 插入软管, 并加以

固定; 用 1 ml 注射器缓慢注入 4 $^{\circ}$ C 生理盐水后不断按压肺部, 缓慢回抽, 收集支气管肺泡灌洗液 (BALF) 0.8 ml 以上为合格标本。之后充分暴露小鼠胸腔, 剪取肺组织, 其中左肺放入 4% 甲醛溶液中固定以备切片; 右肺剪碎后放入 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存以备后续实验。

1.5.1 BALF 中细胞分类及计数 BALF 细胞沉渣 4 $^{\circ}$ C 2500 r/min, 离心半径 15 cm, 离心 10 min, 制备细胞涂片, 经 Diff-Quick 染色, 在光学显微镜下进行细胞计数。

1.5.2 肺组织病理学检查 将固定后的左肺依次进行脱水、浸蜡、包埋等步骤后切成厚度为 4 μ m 的薄片, 按试剂盒操作说明分别进行 HE、Masson、PAS 染色, 在 200 倍光学显微镜下观察肺组织病理。

1.5.3 免疫组织化学法检测肺组织中 AKT、HIF-1 α 、 α -SMA 表达 将肺组织切片置于烤箱烤片后脱蜡, 再水化, 抗原修复; 根据试剂盒要求操作, 加入稀释的一抗 (AKT、HIF-1 α 、 α -SMA), 在 4 $^{\circ}$ C 过夜, PBS 冲洗, 3 min $\times$ 3 次; 加第二代生物素标记二抗工作液, 室温孵育 20 min, PBS 冲洗, 3 min $\times$ 3 次; 之后加第二代辣根酶标记链霉卵白素工作液, 室温孵育 20 min; PBS 冲洗, 3 min $\times$ 3 次; 用 DAB 染色、苏木精复染, 风干标本, 脱水透明, 封片, 用光学显微镜进行观察并用细胞成像微孔板检测系统进行拍照。

1.5.4 Western blot 法检测肺组织中 α -SMA 表达 右肺组织充分裂解后, 4 $^{\circ}$ C 下 2500 r/min, 离心半径 15 cm, 离心 10 min, 取上清液, BCA 试剂盒测定蛋白质浓度; 配制分离胶和浓缩胶置于电泳槽, 进行蛋白凝胶电泳, 70 V 30 min, 待 Mark 分离清晰后, 90 V 1 h, 跑至近底线; 将蛋白转移到 PVDF 膜上, 5% 的脱脂牛奶进行常温封闭 1 h; 加入配好的 α -SMA、 β -actin 抗体, 4 $^{\circ}$ C 过夜后常规洗膜, 加入相应的二抗, 常温摇床孵育 2 h 后, 用 TBST 冲洗 3 次; 曝光显影。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 分析数据, 计量资料用均数 $\pm$ 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 法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠 BALF 中炎性细胞计数比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组小鼠 BALF 中

细胞总数及嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数明显增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 孟鲁司特组及蝎黄解痉治哮喘高、低剂量组细胞总数及各类细胞数明显减少 ($P < 0.05$); 与孟鲁司特组比较, 蝎黄解痉治哮喘低剂量组细胞总数及各类细胞数明显增加 ($P < 0.05$), 而蝎黄解痉治哮喘高剂量组仅细胞总数和嗜酸性粒细胞数明显增加 ($P < 0.05$); 与蝎黄解痉治哮喘高剂量组比较, 蝎黄解痉治哮喘低剂量组细胞总数及各类细胞数明显增加 ($P < 0.05$)。

2.2 各组小鼠肺组织病理学结果

图 1 示, 用 HE 染色法观察肺切片中炎症细胞数, 空白组中未见明显炎症细胞分泌; 与空白组相比, 模型组气道周围有大量浸润性炎症细胞; 蝎黄解痉治哮喘低、高剂量组和孟鲁司特组炎症细胞浸润明显少于模型组; 蝎黄解痉治哮喘高剂量组炎症细胞浸润情况明显低于蝎黄解痉治哮喘低剂量组而高于孟

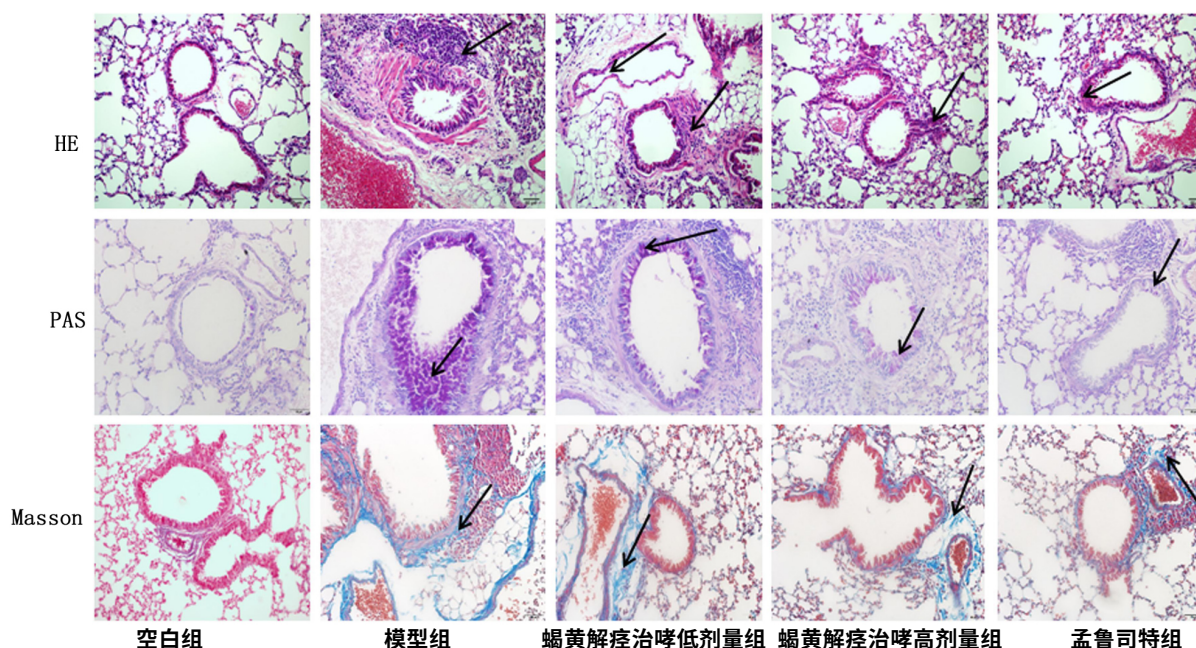
鲁司特组。用 PAS 染色观察杯状细胞的产生, 空白组中仅见少量上皮杯状细胞产生和黏液分泌; 与空白组比较, 模型组上皮杯状细胞产生和黏液分泌明显升高; 与模型组比较, 蝎黄解痉治哮喘低、高剂量组和孟鲁司特组上皮杯状细胞和黏液减少; 蝎黄解痉治哮喘高剂量组上皮杯状细胞产生和黏液分泌少于蝎黄解痉治哮喘低剂量组而多于孟鲁司特组。Masson 染色结果显示, 空白组小鼠肺脏气道上皮仅有少量淡蓝色胶原纤维沉积; 与空白组小鼠比较, 模型组可见上皮细胞紊乱、脱落, 气道壁增厚, 管腔狭窄, 部分小血管形成和大量胶原纤维沉积; 经蝎黄解痉治哮喘颗粒和孟鲁司特处理后, 哮喘小鼠气道壁增厚、管腔狭窄、小血管形成和胶原纤维沉积情况得到明显改善; 蝎黄解痉治哮喘高剂量组抑制气道狭窄及纤维化程度优于蝎黄解痉治哮喘低剂量组而差于孟鲁司特组。

表 1 各组小鼠 BALF 中细胞计数比较 ($\times 10^4$ 个/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	细胞总数	嗜酸性粒细胞	中性粒细胞	淋巴细胞
空白组	7	46.28 $\pm$ 3.12	20.53 $\pm$ 2.11	4.62 $\pm$ 0.19	19.18 $\pm$ 0.79
模型组	7	163.24 $\pm$ 4.31 ^{a)}	81.32 $\pm$ 2.86 ^{a)}	19.42 $\pm$ 0.90 ^{a)}	53.53 $\pm$ 2.28 ^{a)}
孟鲁司特组	7	36.57 $\pm$ 3.22 ^{b)}	15.81 $\pm$ 1.90 ^{a) b)}	5.69 $\pm$ 0.52 ^{b)}	14.72 $\pm$ 1.10 ^{a) b)}
蝎黄解痉治哮喘高剂量组	7	50.76 $\pm$ 2.54 ^{b) c)}	20.49 $\pm$ 2.71 ^{b) c)}	6.31 $\pm$ 1.78 ^{b)}	16.50 $\pm$ 2.11 ^{b)}
蝎黄解痉治哮喘低剂量组	7	86.62 $\pm$ 3.37 ^{a) b) c) d)}	56.62 $\pm$ 2.78 ^{a) b) c) d)}	12.51 $\pm$ 1.11 ^{a) b) c) d)}	33.38 $\pm$ 2.01 ^{a) b) c) d)}

注: BALF, 支气管肺泡灌洗液。

a) 与空白组比较, $P < 0.05$; b) 与模型组比较, $P < 0.05$; c) 与孟鲁司特组比较, $P < 0.05$; d) 与蝎黄解痉治哮喘高剂量组比较, $P < 0.05$ 。



注: HE 染色中箭头所示为浸润性炎症细胞; PAS 染色中箭头所示为杯状细胞及黏液; Masson 染色中箭头所示为胶原纤维。

图 1 各组小鼠肺组织 HE、PAS、Masson 的染色结果 ($\times 200$)

2.3 各组小鼠肺组织 AKT、HIF-1 α 蛋白表达比较

表 2、图 2 示,与空白组相比,模型组肺组织 AKT、HIF-1 α 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$);与模型组相比,蝎黄解痉治哮喘高、低剂量组和孟鲁司特组 AKT、HIF-1 α 蛋白表达明显下降 ($P < 0.05$);与孟鲁司特组比较,蝎黄解痉治哮喘低、高剂量组 AKT、HIF-1 α 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$);与蝎黄解痉治哮喘高剂量组比较,蝎黄解痉治哮喘低剂量组 AKT、HIF-1 α 水平升高 ($P < 0.05$)。

2.4 各组小鼠肺组织免疫组化、免疫印迹 α -SMA 表达比较

表 2、图 3 示,免疫组化结果显示,与空白组

相比,模型组 α -SMA 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$);与模型组相比,蝎黄解痉治哮喘高、低剂量组和孟鲁司特组 α -SMA 蛋白表达明显下降 ($P < 0.05$);孟鲁司特组、蝎黄解痉治哮喘高剂量组 α -SMA 蛋白表达比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);与孟鲁司特组、蝎黄解痉治哮喘高剂量组比较,蝎黄解痉治哮喘低剂量组 α -SMA 蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$)。

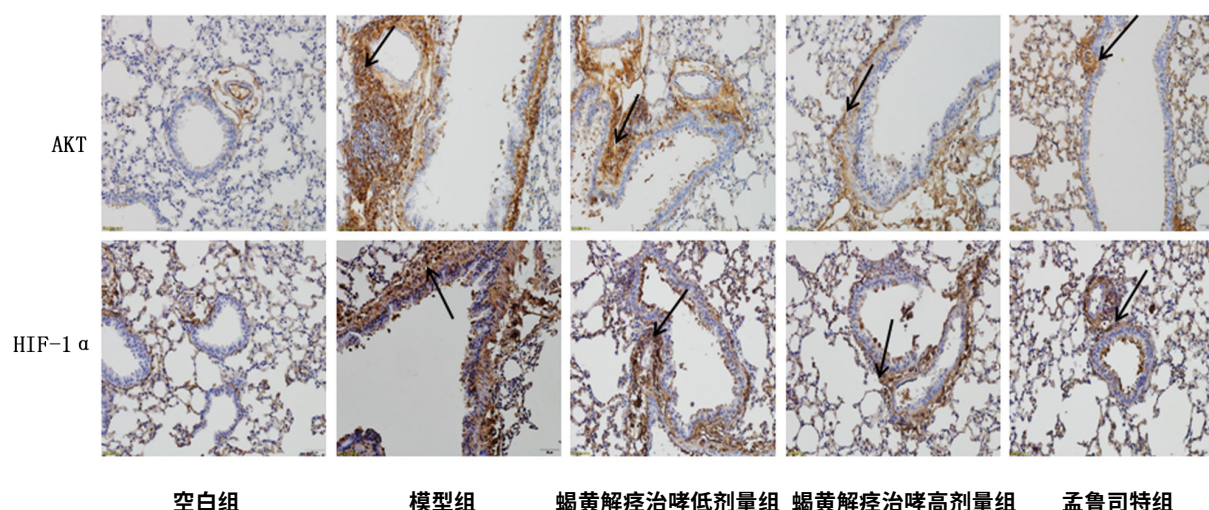
表 2、图 4 示,免疫印迹结果显示,与空白组相比,模型组 α -SMA 表达增加 ($P < 0.05$);与模型组相比,蝎黄解痉治哮喘高剂量组和孟鲁司特组中 α -SMA 表达减少 ($P < 0.05$),蝎黄解痉治哮喘低剂

表 2 各组小鼠肺组织 AKT、HIF-1 α 、 α -SMA 水平比较(% , $\bar{x} \pm s$)

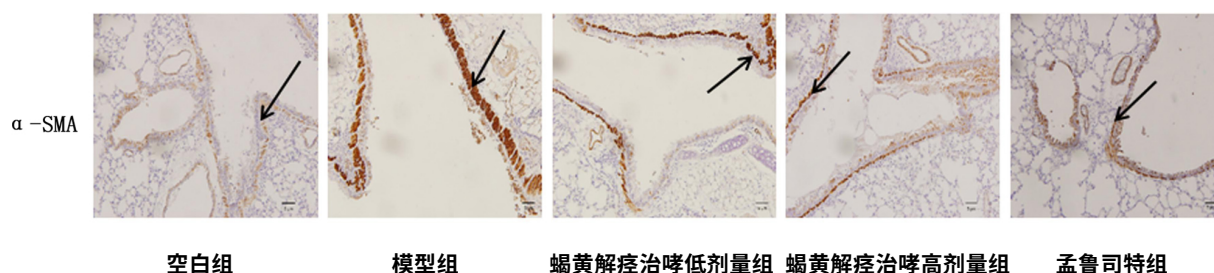
组别	鼠数	AKT	HIF-1 α	α -SMA 免疫组化	α -SMA 免疫印迹
空白组	7	0.12 $\pm$ 0.00	0.78 $\pm$ 0.21	0.38 $\pm$ 0.19	0.01 $\pm$ 0.06
模型组	7	8.27 $\pm$ 0.23 ^{a)}	9.62 $\pm$ 0.16 ^{a)}	6.20 $\pm$ 0.41 ^{a)}	1.23 $\pm$ 0.05 ^{a)}
孟鲁司特组	7	1.62 $\pm$ 0.12 ^{b)}	1.20 $\pm$ 0.16 ^{a) b)}	0.71 $\pm$ 0.16 ^{b)}	0.21 $\pm$ 0.05 ^{b)}
蝎黄解痉治哮喘高剂量组	7	2.23 $\pm$ 0.12 ^{b) c)}	2.61 $\pm$ 0.16 ^{b) c)}	0.91 $\pm$ 0.18 ^{b)}	0.61 $\pm$ 0.08 ^{b) c)}
蝎黄解痉治哮喘低剂量组	7	3.51 $\pm$ 0.13 ^{a) b) c) d)}	3.23 $\pm$ 0.16 ^{a) b) c) d)}	3.13 $\pm$ 0.18 ^{a) b) c) d)}	1.30 $\pm$ 0.08 ^{a) c) d)}

注: AKT, 丝氨酸/苏氨酸激酶; HIF-1 α , 缺氧诱导因子 1 α ; α -SMA, α 平滑肌肌动蛋白。

a) 与空白组比较, $P < 0.05$; b) 与模型组比较, $P < 0.05$; c) 与孟鲁司特组比较, $P < 0.05$; d) 与蝎黄解痉治哮喘高剂量组比较, $P < 0.05$ 。



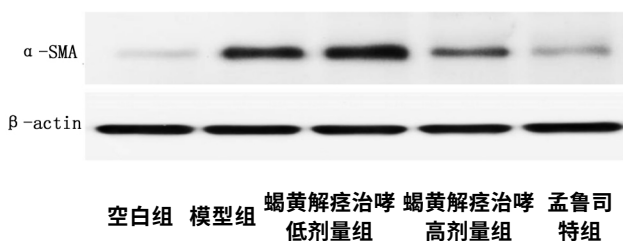
注: 箭头所示为 AKT 和 HIF-1 α 蛋白; AKT, 丝氨酸/苏氨酸激酶; HIF-1 α , 缺氧诱导因子 1 α 。

图 2 各组小鼠肺组织 AKT、HIF-1 α 蛋白表达结果 ($\times 200$)

注: 箭头所示为 α -SMA 蛋白; α -SMA, α 平滑肌肌动蛋白。

图 3 各组小鼠肺组织 α -SMA 的表达免疫组化法检测结果 ($\times 200$)

量组 α -SMA 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ; 与孟鲁司特组比较, 蝎黄解痉治哮喘高剂量组 α -SMA 表达升高 ($P < 0.05$)。



注: α -SMA, α 平滑肌肌动蛋白。

图 4 各组小鼠肺组织 α -SMA 电泳图

3 讨论

中医学认为, 支气管哮喘的发病与风邪、痰饮密切相关。饮食不当、气候变化、外邪侵袭等引动痰饮之伏邪, 致痰阻气道, 肺气上逆而为哮喘。病机为风邪犯肺, 痰气壅阻, 肺气不宣。故选用蝎黄解痉治哮喘颗粒发挥宣肺解痉、治哮喘平喘之功效。方中麻黄、杏仁具有宣肺平喘治哮喘之功; 甘草缓急化痰, 调和诸药; 白果敛肺气、定喘除痰; 苦参平喘祛痰; 全蝎搜风走络, 祛除久恋难愈之疾, 发挥祛风通络解痉之效。在临床中运用此方加减治疗儿童咳嗽变异性哮喘^[8]、亚急性咳嗽^[9]取得较好疗效。

哮喘患者的气道壁结构改变被称为气道重塑^[10], 主要病理变化为上皮细胞变化和黏液腺增生、上皮下纤维化、气道平滑肌细胞增殖与迁移、气道壁血管再生等^[11]。HIF-1 α 和 α -SMA 在气道重塑中发挥了重要作用, HIF-1 α 活化后能够促进多种基因的转录, 从而能促进气道壁和血管平滑肌细胞的重塑, 加重哮喘^[12]。 α -SMA 通常被认为是血管平滑肌细胞增殖和迁移的标志^[13]。研究表明, 增加 α -SMA 的水平有助于促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移^[14]。本研究结果显示, 与空白组相比, 模型组中炎性细胞总数及嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞数明显升高。肺组织病理结果显示, 气道周围有大量炎症细胞浸润, 上皮杯状细胞和黏液分泌量增加, 气道壁增厚, 管腔狭窄, 小血管形成和大量胶原纤维沉积, 表明哮喘气道重塑模型造模成功; 而经蝎黄解痉治哮喘颗粒处理后炎性细胞数明显减少, 气道周围炎症细胞浸润情况得到改善, 同时还可抑制上皮杯状细胞和黏液分泌, 降低气道上皮下纤维化程度。本研究结果还显示, 与空白组相比, 模型组中 α -SMA、HIF-1 α 表达水平增加, 与既往研究^[15-16]结果一致; 与模型组相比, 经蝎黄解痉治哮喘颗粒和孟鲁司特处理后可明显抑制 α -

SMA、HIF-1 α 蛋白表达, 其中蝎黄解痉治哮喘高剂量组抑制 α -SMA、HIF-1 α 蛋白表达优于蝎黄解痉治哮喘低剂量组而低于孟鲁司特组。表明蝎黄解痉治哮喘颗粒可通过抑制 α -SMA、HIF-1 α 的表达, 而改善哮喘气道重塑。

研究^[17]表明, microRNA、蛋白、酶等一些体内活性物质可通过 PI3K/AKT 信号通路来调节气道炎症和重塑。PI3K 是细胞内信号蛋白的总称, 主要在气道上皮和气道平滑肌中表达, 有促进支气管平滑肌增生的作用^[18]。AKT 是 PI3K 的下游效应因子, 是 PI3K 的直接靶基因, 也是 PI3K/AKT 信号通路的中心环节^[19], 因而 AKT 能有效代表 PI3K/AKT 信号通路的表达活性。以往研究表明, 有些药物可通过抑制 AKT 表达, 从而抑制 PI3K/AKT 信号通路的表达来干预哮喘气道重塑^[16,19]。本研究结果显示, 模型组小鼠 AKT 水平明显高于空白组, 经蝎黄解痉治哮喘颗粒和孟鲁司特干预后能显著降低 AKT 表达水平, 其中蝎黄解痉治哮喘高剂量组抑制 AKT 表达水平优于蝎黄解痉治哮喘低剂量组而低于孟鲁司特组, 提示蝎黄解痉治哮喘颗粒可通过抑制 PI3K/AKT 信号通路的表达而抑制哮喘小鼠的气道重塑。

综上所述, 蝎黄解痉治哮喘颗粒对哮喘小鼠气道重塑的形成有抑制作用, 其机制可能与抑制 PI3K/AKT 通路有关。同时, 蝎黄解痉治哮喘颗粒还可通过抑制肺组织 α -SMA、HIF-1 α 蛋白表达而发挥治疗哮喘的作用。

参考文献

- [1] 潘亦林, 朱燕亭, 李满祥. 支气管哮喘气道重塑的研究进展 [J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2015, 8(6): 773-776.
- [2] PAN J, YANG Q, ZHOU Y, et al. MicroRNA-221 modulates airway remodeling via the PI3K/AKT pathway in OVA-induced chronic murine asthma [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 495. doi: 10.3389/fcell.2020.00495.
- [3] ZHANG W, NIE Y, CHONG L, et al. PI3K and Notch signal pathways coordinately regulate the activation and proliferation of T lymphocytes in asthma [J]. Life Sci, 2013, 92(17-19): 890-895.
- [4] 段晓征, 冯晓纯. 止哮喘颗粒治疗小儿哮喘发作期 60 例 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2015, 13(11): 35-36.
- [5] 冯晓纯, 段晓征, 朱浩宇, 等. 蝎黄解痉治哮喘颗粒对哮喘小鼠模型中 p38MAPK 和 Th1/Th2 类细胞因子变化的影响 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2015, 7(4): 316-319.
- [6] KANG HS, RHEE CK, LEE HY, et al. Different anti-remodeling effect of nilotinib and fluticasone in a chronic asthma model [J]. Korean J Intern Med, 2016, 31(6):

1150–1158.

〔7〕 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 〔J〕. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069–1072.

〔8〕 刘秀云. 蝎黄解痉治哮喘颗粒治疗小儿嗜酸粒细胞性气道炎症 CVA 的疗效评价研究 〔J〕. 长春: 长春中医药大学, 2019.

〔9〕 洪天一, 刘锋, 冯晓纯. 蝎黄解痉方治疗亚急性咳嗽 〔J〕. 长春中医药大学学报, 2020, 36(1): 52–54.

〔10〕 邹璐, 孙祝美, 郭春荣, 等. 中医药防治支气管哮喘气道重塑相关信号通路研究进展 〔J〕. 中华中医药杂志, 2018, 33(11): 5057–5060.

〔11〕 潘亦林, 朱燕亭, 李满祥. 支气管哮喘气道重塑的研究进展 〔J〕. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2015, 8(6): 773–776.

〔12〕 张玉英, 罗思宁, 杨军, 等. 姜半夏方对哮喘大鼠气道重建中 HIF-1 α 及 VEGF 表达的影响 〔J〕. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(11): 131–134.

〔13〕 LI X, ZHOU L, ZHANG Z, et al. IL-27 alleviates airway remodeling in a mouse model of asthma via PI3K/AKT pathway 〔J〕. Exp Lung Res, 2020, 46(3–4): 98–108.

〔14〕 XU GN, YANG K, XU ZP, et al. Protective effects of anisodamine on cigarette smoke extract-induced airway smooth muscle cell proliferation and tracheal contractility 〔J〕. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 262(1): 70–79.

〔15〕 毛光宇, 巩建华, 关伟, 等. 银杏黄酮对哮喘大鼠缺氧诱导因子-1 α 表达水平和气道重塑的影响 〔J〕. 西部医学, 2019, 31(11): 1674–1677, 1684.

〔16〕 咸哲民, 王重阳, 朴玉华, 等. 欧前胡素通过 TGF- β 1/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.

〔17〕 LIU D, PAN J, ZHAO D, et al. Micro RNA-223 inhibits deposition of the extracellular matrix by airway smooth muscle cells through targeting IGF-1R in the PI3K/AKT pathway 〔J〕. Am J Transl Res, 2018, 10(3): 744–752.

〔18〕 THOMAS CF, LEMPER AH. Phosphatidylinositol kinase regulation of airway smooth muscle cell proliferation 〔J〕. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 23(4): 429–430.

〔19〕 车楠, 李莉, 李良昌, 等. 桦褐孔菌多糖通过 PI3K/AKT/NF- κ B/MMP-9 抑制哮喘小鼠气道重构 〔J〕. 中国免疫学杂志, 2018, 34(11): 1654–1657.

Effect of Xiehuang Jiejing Zhixiao Granules (蝎黄解痉治哮喘颗粒) on PI3K/AKT Pathway in Lung Tissues of Bronchial Asthma Model Mice

FENG Xiaochun¹, CHEN Qiongfang², HONG Tianyi², CUI Qingke³, QIAO Yina², YAN Guanghai⁴, LIU Aidong⁵

1. Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine, Changchun, 130021; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine; 3. Children's Hospital of Shanghai; 4. Yanbian University; 5. The 3rd Affiliated Hospital of Changchun University of Chinese Medicine

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of Xiehuang Jiejing Zhixiao Granules (XJZG, 蝎黄解痉治哮喘颗粒) for the treatment of bronchial asthma. **Methods** Thirty-five female BALB/c mice were randomly divided into blank group, model group, montelukast group, XJZG low-dose and high-dose groups, with 7 rats in each group. The mice model of airway remodeling in asthma was established by aerosol inhalation of ovalbumin (OVA) in all the groups except for blank group. The montelukast group, the XJZG low-dose and high-dose groups were administered with 0.5 mg/kg montelukast, and 150 mg/kg and 300 mg/kg XJZG by gavage, respectively, while the blank group and model group were given normal saline by gavage, with 200 μ l per mouse; each group received intervention once every other day. The total number of cells and classified inflammatory cells in alveolar lavage fluid (BALF) of mice in each group were recorded, and the pathological changes of lung tissues were identified by HE, PAS and Masson staining. The expression of serine/threonine-protein kinases (AKT), hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) and α -smooth muscle actin (α -SMA) in lung tissue were detected by immunohistochemical method. Western blotting was used to detect the expression of α -SMA in lung tissue. **Results** Compared to those of the blank group, a large number of inflammatory cells infiltrated around the airway in the model group; the number of airway goblet cells and the degree of mucus secretion and subepithelial fibrosis increased significantly; the total number of cells and the number of eosinophils, neutrophils, and lymphocytes, as well as the expression of AKT, HIF-1 α and α -SMA protein significantly increased ($P < 0.05$). Compared to model group, high-dose XJZG group and montelukast group significantly reduced the infiltration of inflammatory cells, the number of epithelial goblet cells and mucus, the degree of airway subepithelial fibrosis, the number of total cells and various types of cells, and the expression of AKT, HIF-1 α and α -SMA protein ($P < 0.05$). **Conclusion** XJZG can improve airway remodeling in asthmatic model mice, and high-dose XJZG has better effects. The mechanism may be related to the inhibition of PI3K/AKT signaling pathway and the α -SMA and HIF-1 α proteins expression in the lung tissues.

Keywords Xiehuang Jiejing Zhixiao Granules (蝎黄解痉治哮喘颗粒); bronchial asthma; PI3K/AKT signaling pathway; α -smooth muscle actin; airway remodeling

(收稿日期: 2020–11–06; 修回日期: 2021–02–10)

编辑: 王利芬