

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.08.015

清金化痰颗粒对慢性阻塞性肺疾病急性加重期痰热郁肺型大鼠肺组织 JAK/STAT 信号通路的影响

赵媚¹, 许光兰^{*}, 李娇¹, 陈平¹, 钟云青¹, 李国生²

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西壮族自治区南宁市东葛路 89-9 号, 530023; 2. 广西中医药大学)

摘要 目的 探讨清金化痰颗粒治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期 (AECOPD) 痰热郁肺型的可能作用机制。方法 将 40 只大鼠随机分成空白组、模型组、西药组及中药低、高剂量组各 8 只。除正常组外, 其余大鼠均采用烟熏 + 脂多糖气管滴入方法建立 AECOPD 痰热郁肺型大鼠模型。造模后西药组给予罗红霉素 0.0315 g/(kg·d) 灌胃, 中药低、高剂量组分别给予清金化痰颗粒 9.4、37.6 g/(kg·d) 灌胃, 空白组及模型组分别给予 10 ml/(kg·d) 生理盐水灌胃。给药 2 周后观察各组大鼠肺泡灌洗液 (BALF) 中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 含量, 肺组织中酪氨酸激酶 2 (JAK2)、细胞因子信号抑制物 3 (SOCS3) mRNA 表达, 检测磷酸化信号转导转录激活因子 1 (p-STAT1)、磷酸化信号转导转录激活因子 3 (p-STAT3)、JAK2、磷酸化酪氨酸激酶 2 (p-JAK2)、SOCS3 蛋白表达。结果 与模型组比较, 各给药组大鼠 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 含量明显降低, 肺组织中 JAK2 mRNA、蛋白表达及 p-STAT1、p-STAT3、p-JAK2 蛋白表达明显下降, SOCS3 mRNA 及蛋白表达明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且中药高剂量组与西药组相当 ($P > 0.05$), 中药低剂量组效果低于中药高剂量组和西药组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 清金化痰颗粒治疗 AECOPD 痰热郁肺型的作用机制之一, 可能通过下调 p-STAT1、p-STAT3、p-JAK2 蛋白及 JAK2 蛋白及基因表达, 上调 SOCS3 蛋白及基因表达从而抑制 AECOPD 炎症反应, 减轻肺组织损伤, 且高剂量效果更好。

关键词 慢性阻塞性肺疾病; 急性加重期; 痰热郁肺; 清金化痰汤; JAK/STAT 信号通路

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是多种炎症因子参与的呼吸系统慢性气道炎症性疾病。酪氨酸激酶/信号转导转录激活因子 (JAK/STAT) 信号转导途径在炎症因子信号转导过程中起着至关重要的作用^[1-2]。研究证实, JAK/STAT 信号通路通过调节炎症因子的释放, 参与 COPD 的发生发展^[3]。目前发现的白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 8 (IL-8) 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等炎症因子, 可通过激活 JAK/STAT 信号传导通路, 在炎症反应的发生、发展过程中发挥作用^[4]。研究发现, 痰热郁肺型在 COPD 急性加重期 (AECOPD) 患者中占据首要位置^[5]。清金化痰汤是中医药治疗肺系疾病痰热郁肺证的经典方剂, 治疗 COPD 急性期痰热郁肺型患者具有显著疗效^[6]。本研究通过复制 AECOPD 痰

热郁肺型大鼠模型, 探讨清金化痰颗粒治疗 AECOPD 的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体重 (200 $\pm$ 20) g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 实验动物许可证号 SCX (湘) 2011-0003。饲养于广西中医药大学 SPF 动物实验, 室内温度 (21 $\pm$ 3) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 30% ~ 50%, 室内整洁, 采光、通风良好。

1.2 药物

清金化痰颗粒组成: 黄芩 15 g, 栀子 15 g, 桔梗 15 g, 麦冬 (去心) 10 g, 浙贝母 10 g, 橘红 15 g, 茯苓 10 g, 桑白皮 12 g, 知母 12 g, 瓜蒌仁 (炒) 15 g, 甘草 10 g, 赤芍 10 g, 丹参 15 g, 川芎 15 g, 各药采用免煎颗粒剂, 由江西天江药业有限公司生产, 广西中医药大学第一附属医院药剂科提

基金项目: 国家自然科学基金 (81360534, 81760848)

* 通讯作者: xgl9592@126.com, 13877168028

供,各药物按以上剂量配制,蒸馏水溶解,最终调至含药量 2 g/ml。罗红霉素胶囊(江苏扬子江药业集团有限公司生产,批号: H10970291)。

1.3 主要试剂与仪器

脂多糖(美国 Sigma 公司,批号: L2880)。真龙牌香烟(南宁卷烟厂,焦油含量 8 mg/支,尼古丁含量 0.8 mg/支)。Trizol(批号: 182805)、Revert Aid First Stand cDNA Synthesis kit(批号: K4302)、SYBR Premix EX Taq™ II(批号: AK6042),由宝生物工程(大连)有限公司提供。一抗:磷酸化信号转导转录激活因子 1(p-STAT1)单抗(批号: BS4178)、磷酸化信号转导转录激活因子 3(p-STAT3)单抗(批号: BS4180)、酪氨酸激酶 2(JAK2)单抗(批号: PA1629)、磷酸化酪氨酸激酶 2(p-JAK2)单抗(批号: BM4839)、细胞因子信号抑制物 3(SOCS3)单抗(批号: BA2375),通用型二抗(批号: AR1017),ELISA 试剂盒: IL-1 β (批号: EK0393), TNF- α (批号: EK0526), BCA 蛋白测定试剂盒(批号: AR0197),均由武汉博士德生物工程有限公司提供。增强型 RIPA 裂解液(Beyotime 公司,批号: P0013B)。苯甲基磺酰氟(PMSF, Solarbio 公司,批号: P8340)。ECL 显色试剂盒(Thermo 公司,批号: 34087)。

PCR-220 通道 PCR 扩增仪(美国 MJ 公司), Gel Doc 200 凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司), StepOnePlus Real-Time PCR System(美国 Thermo 公司), DMR + Q550 病理图像分析仪(德国 Leica 公司), 5810R 高速低温离心机(德国 Eppendorf Centrifuge 公司), LAMB DA BIO 20 双光束紫外分光光度计(美国 PE 公司), FAME16 / 30F 型全自动酶标仪(瑞士哈美顿公司)。

1.4 动物模型的建立、分组及给药

参照文献[7]方法并改良建立 AECOPD 痰热郁肺型大鼠模型。AECOPD 大鼠模型: 第 1、14 天,将脂多糖按 2 g/ml 浓度配制,先采用 4% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,然后将麻醉后的大鼠固定在鼠板上,予细绳圈套固定大鼠门牙,颈部备皮消毒后,行颈部正中小切口,切开皮肤约 1.5 cm,逐层剥离组织,直至暴露气管,抬高头部鼠板使其与桌面成 45°,采用 1 ml 无死腔连体注射器穿刺气管,经气管注入脂多糖(1 g/L) 200 μ l,注射后由助手立即将动物直立并轻轻晃动约 2 min 使药液均匀分布于双肺,然后缝合颈部皮

肤,局部消毒,整个手术过程严格执行无菌操作。第 2 至 30 天(第 14 天除外)将大鼠置入 50 cm $\times$ 40 cm $\times$ 40 cm 玻璃熏烟染毒箱内,置锯末适量加 20 支香烟烟丝混合点燃烟熏,每天上、下午各 30 min,每周休息 2 天。痰热郁肺型模型的建立: 在实验第 26 天气管加滴脂多糖 1 次。AECOPD 痰热郁肺型模型成功标准依据组织形态学改变及生物学体征变化,模型评估参照课题组前期研究结果[8]。

将大鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、西药组、中药低剂量组、中药高剂量组,每组 8 只。除空白组外,其余各组大鼠建立 AECOPD 痰热郁肺型大鼠模型。造模后西药组给予罗红霉素 0.0315 g/(kg $\cdot$ d)灌胃,清金化痰颗粒低、高剂量组分别给予清金化痰颗粒 9.4、37.6 g/(kg $\cdot$ d)(分别相当于成人临床用量等效剂量的 1/2 和 2 倍剂量[9])灌胃,空白组及模型组分别给予 10 ml/(kg $\cdot$ d)生理盐水灌胃,连续给药 2 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 支气管肺泡灌洗液(BALF)中 IL-1 β 、TNF- α 含量 采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测。取材前 12 h 禁食,12 h 后腹腔注射 10% 水合氯醛(3 ml/kg)麻醉大鼠,分离出大鼠颈部气管及肺门,夹闭右主支气管,用导管置入左肺无菌线固定,从导管中注射 5 ml 生理盐水,停留 3 min 左右回抽,反复灌入 3 次,回收灌洗液即为 BALF 原液,将 BALF 原液离心 10 min 后,取上清液放入 EP 管中,然后于 -80℃ 冰箱中保存待检。IL-1 β 、TNF- α 检测过程严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.5.2 肺组织 JAK2、SOCS3 mRNA 表达水平 采用免疫荧光 PCR 定量检测。从 -80℃ 冰箱中提取 50 mg 肺组织,剪碎并加入 1 ml Trizol,按 200 ~ 300 μ l 氯仿: 1 ml Trizol 加入氯仿,震荡后 4℃、12000 r/min、离心半径 9.5 cm,离心 10 min,取上清液加入 0.5 ml 异丙醇: 1 ml Trizol 加入异丙醇,4℃、12000 r/min、离心半径 9.5 cm,离心 10 min,弃上清加入 1 ml 75% 乙醇,4℃、12000 r/min、离心半径 9.5 cm,离心 10 min,弃上清挥发酒精,加入 15 ~ 20 μ l 灭菌双蒸水,震荡后采用双光束紫外分光光度计对 RNA 样本纯度测定,按试剂盒要求将 RNA 反转录为 cDNA, -80℃ 保存,待做荧光定量 PCR。qRT-PCR 反应体系(20 μ l): SYBR Green 10 μ l,正向引物 1 μ l,反向引物 1 μ l,Template DNA 1 μ l,PNase-free Water 直到 20 μ l。反应条件: 95℃ $\times$ 30 s $\rightarrow$ 95℃ $\times$ 5 s $\rightarrow$ 60℃ $\times$ 34 s,共

40 个循环。引物由武汉博士德生物工程有限公司合成, JAK2: F: 5'-GCTAAGGAGAAGGACCAGAC-3', R: 5'-TGACTGAAGTCTGAATGAAC-3', 扩增长度 158; SOCS3: F: 5'-GGACCAAGAACCTACG-CATCCA-3', R: 5'-GTGGCTGCTCCTGAACCTCAA-3', 扩增长度 189; GAPDH: F: 5'-AACGACCCCT-TCATTGAC-3', R: 5'-TCCACGACATACTCAGCA-3', 扩增长度 191。提取循环结束后的 ΔCt 值, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因相对表达量的差异, $\Delta\Delta Ct = (Ct_{\text{目的}} - Ct_{\text{内参}})_{\text{待测样本}} - (Ct_{\text{目的}} - Ct_{\text{内参}})_{\text{参照样本}}$ 。

1.5.3 肺组织中 p-STAT1、p-STAT3、JAK2、p-JAK2、SOCS3 蛋白表达 采用 Western-Blot 法检测。按照试剂盒说明书进行操作。采用 Image J 1.48U 软件系统对图像进行积分吸光度测定分析, 并计算各组蛋白条带相对值。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件处理数据。计量资料以均数 $\pm$ 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。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 含量比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组大鼠 BALF 中

表 1 各组大鼠 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 含量比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	IL-1 β	TNF- α
空白组	8	52.35 $\pm$ 6.02	62.70 $\pm$ 7.53
模型组	8	74.95 $\pm$ 6.33*	91.19 $\pm$ 6.30*
西药组	8	59.57 $\pm$ 5.25* $\Delta\Delta$	76.82 $\pm$ 2.78* $\Delta\Delta$
中药低剂量组	8	65.53 $\pm$ 3.34* $\Delta\Delta\Delta$	82.95 $\pm$ 6.08* $\Delta\Delta$
中药高剂量组	8	60.60 $\pm$ 5.25* $\Delta\Delta\#$	79.39 $\pm$ 3.96* $\Delta\Delta$

注: BALF, 支气管肺泡灌洗液; IL-1 β , 白细胞介素 1 β ; TNF- α , 肿瘤坏死因子 α ; 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与西药组比较, $\Delta\Delta P < 0.05$; 与中药低剂量组比较, $\#P < 0.05$

表 3 各组大鼠肺组织 p-STAT1、p-STAT3、JAK2、p-JAK2、SOCS3 蛋白表达比较 (相对表达量, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	p-STAT1	p-STAT3	JAK2	p-JAK2	SOCS3
空白组	8	0.19 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.05	0.73 $\pm$ 0.22
模型组	8	0.89 $\pm$ 0.05**	1.21 $\pm$ 0.06**	1.30 $\pm$ 0.18**	0.93 $\pm$ 0.10**	0.20 $\pm$ 0.08**
西药组	8	0.48 $\pm$ 0.06** Δ	0.55 $\pm$ 0.14** Δ	0.40 $\pm$ 0.11** Δ	0.27 $\pm$ 0.08** Δ	0.57 $\pm$ 0.07** Δ
中药低剂量组	8	0.66 $\pm$ 0.05** $\Delta\Delta\Delta$	0.67 $\pm$ 0.18** $\Delta\Delta$	0.51 $\pm$ 0.06** $\Delta\Delta$	0.39 $\pm$ 0.13** $\Delta\Delta$	0.39 $\pm$ 0.05** $\Delta\Delta\Delta$
中药高剂量组	8	0.49 $\pm$ 0.06** $\Delta\#$	0.66 $\pm$ 0.07** Δ	0.46 $\pm$ 0.07** Δ	0.31 $\pm$ 0.07** Δ	0.49 $\pm$ 0.04** Δ

注: p-STAT1, 磷酸化信号转导转录激活因子 1; p-STAT3, 磷酸化信号转导转录激活因子 3; JAK2, 酪氨酸激酶 2; p-JAK2, 磷酸化酪氨酸激酶 2; SOCS3, 细胞因子信号抑制物 3; 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与西药组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与中药低剂量组比较, $\#P < 0.01$

IL-1 β 、TNF- α 含量均明显升高 ($P < 0.01$); 各给药组大鼠 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 含量较模型组均明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与西药组比较, 中药低剂量组 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 含量明显升高 ($P < 0.05$), 中药高剂量组 BALF 中 IL-1 β 、TNF- α 含量差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示罗红霉素组在降低 IL-1 β 、TNF- α 水平优于中药低剂量组, 与中药高剂量组效果相当; 中药高剂量组 IL-1 β 含量低于中药低剂量组 ($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠肺组织 JAK2、SOCS3 mRNA 表达比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组大鼠肺组织中 JAK2 mRNA 表达上升、SOCS3 mRNA 表达下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠肺组织中 JAK2 mRNA 表达下降、SOCS3 mRNA 表达上升 ($P < 0.01$)。与西药组比较, 中药低剂量组大鼠肺组织中 JAK2 mRNA 表达上升、SOCS3 mRNA 表达下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 中药高剂量组大鼠肺组织中 JAK2、SOCS3 mRNA 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 中药低剂量组大鼠肺组织中 JAK2 mRNA 水平高于中药高剂量组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠肺组织 JAK2、SOCS3 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	JAK2	SOCS3
空白组	8	0.22 $\pm$ 0.01	0.69 $\pm$ 0.06
模型组	8	0.87 $\pm$ 0.07*	0.18 $\pm$ 0.02*
西药组	8	0.40 $\pm$ 0.13* Δ	0.42 $\pm$ 0.12* Δ
中药低剂量组	8	0.51 $\pm$ 0.12* $\Delta\Delta\Delta$	0.32 $\pm$ 0.03* $\Delta\Delta$
中药高剂量组	8	0.41 $\pm$ 0.04* $\Delta\#$	0.38 $\pm$ 0.08* Δ

注: JAK2, 酪氨酸激酶 2; SOCS3, 细胞因子信号抑制物 3; 与空白组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与西药组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与中药低剂量组比较, $\#P < 0.05$

2.3 各组大鼠肺组织 p-STAT1、p-STAT3、JAK2、p-JAK2、SOCS3 蛋白表达比较

表 3 示, 与空白组比较, 模型组大鼠肺组织中

p-STAT1、p-STAT3、JAK2、p-JAK2 蛋白表达降低, SOCS3 蛋白表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠肺组织中 p-STAT1、p-STAT3、JAK2、p-JAK2 蛋白表达升高, SOCS3 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。与西药组比较, 中药低剂量组大鼠肺组织中 p-STAT1、p-STAT3、JAK2、p-JAK2 蛋白表达升高, SOCS3 蛋白表达降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 中药高剂量组大鼠肺组织中 p-STAT1、p-STAT3、p-JAK2、SOCS3 蛋白表达比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明中药高剂量组与西药组效果相当; 与中药低剂量组比较, 中药高剂量组 p-STAT1 蛋白表达降低, p-STAT3、JAK2、p-JAK2、SOCS3 蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

中医学将 COPD 归属于“咳嗽”“喘证”“肺胀”等范畴, 认为其主要病位在肺, 病机为本虚标实。痰热郁肺为 AECOPD 的首要证候^[5]。在急性加重期, 痰壅肺气导致肺宣发肃降功能失常形成痰浊, 感受风热之邪或表邪入里化热进一步导致痰热壅塞肺气, 痰热郁阻于肺, 气道受阻, 气机不利, 常兼夹瘀血内生。本研究清金化痰颗粒在清金化痰汤原方基础上进一步加用具有活血化瘀的赤芍、川芎、丹参三味中药组成, 方中黄芩、桑白皮、栀子、知母共为君药, 具有清肺泄热之效; 浙贝母、瓜蒌仁、桔梗为臣药, 具有清热化痰止咳之效; 茯苓、橘红具有理气化痰作用, 知母、麦冬养阴清肺, 四药共为佐药; 甘草为使药, 缓和药性。诸药合用达到清热化痰、活血化瘀之效。

慢性气道炎症是 COPD 的重要病理特征之一, 炎症反应伴随 COPD 疾病的始终^[6]。JAK/STAT 信号通路由上游 JAKs 家族、下游 STATs 家族和信号转导抑制因子 (SOCS) 家族构成, JAK/STAT 通路在促使各种炎症介质及炎症因子的激活和释放的过程中发挥着重要作用^[7]。上游的 JAKs 与细胞因子受体结合后可使 JAKs 激酶产生聚集导致 JAKs 磷酸化从而被激活, 激活后的 JAKs 可让酪氨酸位点的受体磷酸化与 STATs 特定区域结合, 导致 STATs 磷酸化的激活从而促使细胞因子信号从胞膜向核内的传递^[8]。SOCS 家族作为 JAK/STAT 信号通路中的负调控蛋白, 能特异性地负反馈抑制 JAK/STAT 通路的活化^[9]。本研究结果显示, 中药高剂量组肺组织中 JAK2 mRNA 及蛋白表达明显下

降, p-JAK2、p-STAT1、p-STAT3 蛋白表达亦明显下降, SOCS3 mRNA 及蛋白表达明显升高, 其效果与西药组相当, 且优于中药低剂量组。结果提示, 清金化痰颗粒可能通过 JAK/STAT 相关蛋白及基因发挥抗炎性反应作用。TNF- α 是一种在体内由单核巨噬细胞分泌的具有加速细胞炎症反应的细胞因子^[10], 可以通过参与 COPD 的炎症反应导致肺组织凋亡蛋白表达增高^[11]。IL-1 β 激活体内巨噬细胞分泌炎症因子, 使肺组织中的中性粒细胞、巨噬细胞诱发大量炎症反应加重 COPD 的炎性进程^[12]。本研究结果显示, 中药高剂量组大鼠血清中的 TNF- α 、IL-1 β 含量明显降低, 通过降低炎症因子的释放来减轻 AECOPD 痰热郁肺型大鼠肺组织炎症反应。

综上所述, 清金化痰颗粒能够在一定程度上通过下调肺组织中 JAK2 mRNA 及蛋白表达及下调 p-JAK2、p-STAT1、p-STAT3 蛋白表达及上调 SOCS3 mRNA 和蛋白表达从而降低 TNF- α 、IL-1 β 等炎症介质。据此, 我们推测清金化痰颗粒治疗 AECOPD 痰热郁肺型的作用机制之一可能通过调控 JAK/STAT 信号通路, 从而抑制 AECOPD 炎症反应, 减轻气道炎症来保护肺组织, 达到治疗目的。

参考文献

- [1] LEE IT, YANG CM. Inflammatory signalings involved in airway and pulmonary diseases [J]. Mediators Inflamm, 2013; 791213. doi: 10.1155/2013/791231.
- [2] 田燕歌, 李亚, 李建生, 等. 调补肺肾法对 COPD 大鼠 JAK/STAT 信号转导的影响及远后效应 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 75-80.
- [3] YEW-BOOTH L, BIRRELL MA, LAU MS, et al. JAK-STAT pathway activation in COPD [J]. Eur Respir J, 2015, 46(3): 843-845.
- [4] FRIDMAN JS, SCHERLE PA, COLLINS R, et al. Selective inhibition of JAK1 and JAK2 is efficacious in rodent models of arthritis: preclinical characterization of INCB028050 [J]. J Immunol, 2010, 184(9): 5298-5307.
- [5] 李建生, 张海龙, 王海峰, 等. 慢性阻塞性肺疾病证候演变特点临床调查 [J]. 中医杂志, 2017, 58(9): 772-776.
- [6] 赵媚. 清金化痰汤对慢性阻塞性肺疾病急性加重期痰热郁肺证患者临床疗效及相关炎症因子的影响 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2016.
- [7] 宋小莲, 王昌惠, 白冲. 脂多糖结合熏烟法和单纯熏烟法建立慢性阻塞性肺病大鼠模型的比较 [J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(3): 246-249.
- [8] 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.

[J] 徐淑云, 卞如瀛, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 202-203.

[10] VESTBO J, HOGG JC. Convergence of the epidemiology and pathology of COPD [J]. Thorax, 2006, 61(1): 86-88.

[11] JENKINS BJ. 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.

[12] YANG L, LIAN X, COWEN A, et al. Synergy between signal transducer and activator of transcription 3 and retinoic acid receptor- α in regulation of the surfactant protein B gene in the lung [J]. Mol Endocrinol, 2004, 18(6):

1520-1532.

[13] 许光兰, 赵媚, 李娇, 等. JAK/STAT 信号通路在慢性呼吸系统中的研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(7): 1549-1552.

[14] FERRARI L, KRANE MK, FICHERA A. Inflammatory bowel disease surgery in the biologic era [J]. World J Gastrointest Surg, 2016, 8(5): 363-370.

[15] SHAW JG, VAUGHAN A, DENT AG, et al. Biomarkers of progression of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. J Thorac Dis, 2014, 6(11): 1532-1547.

[16] CARAMORI G, ADCOCK IM, DI STEFANO A, et al. Cytokine inhibition in the treatment of COPD [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2014, 9: 397-412. doi: 10.2147/COPD.S42544.

Effects of *Qingjin Huatan Granules* (清金化痰颗粒) on JAK/STAT Signaling Pathways in Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Model Rats with Phlegm-Heat Stagnating in Lung

ZHAO Mei¹, XU Guanglan¹, LI Jiao¹, CHEN Ping¹, ZHONG Yunqing¹, LI Guosheng²

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023; 2. Guangxi University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To discuss the potential mechanism of *Qingjin Huatan Granule* (QJHTG) (清金化痰颗粒) in treating acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) with phlegm-heat stagnating in lung. **Methods** A total of 40 Sprague Dawley rats were randomized into blank group, model group, western medicine group and the low, high dose QJHTG groups, with 8 rats in each group. The rat model of phlegm-heat stagnating in lung of AECOPD was established by smoking and dripping the LPS into the trachea except those in the blank group. After modeling, the western medicine group was intragastrical administration 0.0315 g/(kg · d) of roxithromycin (ROX). The low, high dose QJHTG groups were respectively intragastrical administration 9.4 g/(kg · d), and 37.6 g/(kg · d) of QJHTG. The blank group and the model group were respectively intragastrical administration 10 ml/(kg · d) of normal saline. After 2 weeks' drug administration, the inflammatory mediators contents of interleukin- β (IL- β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in each group were observed, and the expression of Janus kinase 2 (JAK2) and suppressors-of-cytokine-signaling 3 (SOCS3) mRNA in lung tissues was detected. The phosphorylation signal transducer and activator of transcription 1 (p-STAT1), phosphorylation signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3), JAK2, p-JAK2, SOCS3 protein expression were detected by Western Blot. **Results** After drug administration, compared with the model group, the inflammatory mediators contents of IL- β , TNF- α in BALF in the QJHTG groups were significantly decreased, and JAK2 mRNA and protein expression, p-STAT1, p-STAT3, p-JAK2 protein expression decreased obviously in the lung tissues. SOCS3 mRNA and protein expression significantly increased in the lung tissues ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The effects of high dose QJHTG group and western medicine group was similar ($P > 0.05$). The effects of low dose QJHTG group were lower than that of high dose QJHTG group and Western medicine group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** One of the mechanisms for QJHTG treatment phlegm-heat stagnating in the lung of AECOPD may be by down-regulated the expression of p-STAT1, p-STAT3, JAK2, p-JAK2 and up-regulated the expression of SOCS3, consequently inhibiting the inflammatory response of AECOPD and alleviating the lung tissue injury. The high dose shows better effects.

Keywords chronic obstructive pulmonary disease; acute exacerbation; phlegm-heat stagnating in the lung; *Qingjin Huatan Granule*; JAK/STAT signaling pathways

(收稿日期: 2018-05-14; 修回日期: 2019-01-13)

编辑: 王利芬