

蠲哮汤改善支气管哮喘的机制研究[△]

曹邦卿^{1*},喻强强²,刘美年¹,吴支喜¹,曾丽珍¹,童梦瑶¹,邓云华¹,薛汉荣^{1#}(1.江西中医药大学第二附属医院肺病科,南昌 330012;2.江西中医药大学附属医院肺病科,南昌 330006)

中图分类号 R285.5;R965

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2026)02-0155-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.02.04



摘要 目的 基于核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3)炎症小体信号通路,探讨蠲哮汤改善支气管哮喘(简称“哮喘”的潜在机制。方法 将雌性SD大鼠随机分为正常组,模型组,蠲哮汤低、中、高剂量组(0.36、0.72、1.44 g/kg,以生药量计),阳性对照组(醋酸地塞米松片,0.2 mg/kg),每组10只。除正常组外,其余大鼠均按腹腔注射鸡卵清白蛋白+氢氧化铝联合雾化吸入鸡卵清白蛋白的方式构建哮喘模型。从实验第14天起,各组大鼠灌胃相应药液或生理盐水,每天1次,连续7 d。末次给药后,检测各组大鼠肺功能指标(用力肺活量、第0.3秒用力呼气容积、呼气流量峰值)、血清炎症指标(白细胞介素1β、白细胞介素18)水平、支气管肺泡灌洗液中炎症细胞(淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞)百分比,观察其肺组织病理改变,并检测其肺组织中核因子κB(NF-κB)、NLRP3、胱天蛋白酶1(caspase-1)蛋白及mRNA的表达情况。结果 与正常组相比,模型组大鼠可见肺泡壁增厚、炎症细胞浸润等病理改变;模型组和各药物组大鼠的各项肺功能指标均显著降低,炎症指标水平、炎症细胞百分比以及NF-κB、NLRP3、caspase-1蛋白及mRNA的表达均显著升高或上调($P<0.05$)。与模型组相比,蠲哮汤各剂量组大鼠的病理改变明显缓解,各定量指标均呈剂量依赖性改善($P<0.05$)。结论 訫哮汤可减轻哮喘大鼠的气道炎症反应,缓解肺功能损伤,改善炎症细胞浸润等病理改变;上述作用可能与抑制NLRP3炎症小体信号通路有关。

关键词 訫哮汤;支气管哮喘;NLRP3 炎症小体信号通路

Study on the mechanism of Juanxiao decoction in improving bronchial asthma

CAO Bangqing¹, YU Qiangqiang², LIU Meian¹, WU Zhixi¹, ZENG Lizhen¹, TONG Mengyao¹, DENG Yunhua¹, XUE Hanrong¹ (1. Dept. of Pulmonary Diseases, the Second Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330012, China; 2. Dept. of Pulmonary Diseases, the Affiliated Hospital of Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the potential mechanism by which Juanxiao decoction improves bronchial asthma (hereinafter referred to as “asthma”) based on the nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3 (NLRP3) inflammasome signaling pathway. **METHODS** Female SD rats were randomly assigned to normal group, model group and Juanxiao decoction low-, medium- and high-dose groups (0.36, 0.72 and 1.44 g/kg, calculated based on crude drug weight), as well as positive control group (Dexamethasone acetate tablets, 0.2 mg/kg), with 10 rats in each group. Except for the normal group, asthma models were established in the remaining groups via intraperitoneal injection of ovalbumin combined with aluminum hydroxide, followed by nebulized inhalation of ovalbumin. On day 14 of the experiment, rats in each group received intragastric administration of the corresponding solution or normal saline, once a day, for 7 consecutive days. Following the final administration, the following parameters were measured in each group: lung function indexes (forced vital capacity, forced expiratory volume in 0.3 second, peak expiratory flow), serum levels of inflammatory markers (interleukin-1β, interleukin-18), and the percentages of inflammatory cells (lymphocytes, eosinophils, neutrophils) in bronchoalveolar lavage fluid. Histopathological changes in lung tissue were observed, and the protein and mRNA expressions of nuclear factor-kappa B (NF-κB), NLRP3 and caspase-1 in lung tissue were detected. **RESULTS** Compared with the normal group, pathological changes such as alveolar wall thickening and inflammatory cell infiltration were observed in rats in the model group. All pulmonary function indicators were significantly reduced in rats in the model group and the administration groups. The levels of inflammatory markers, the percentages of inflammatory cells, and the protein and mRNA expressions of NF-κB, NLRP3 and caspase-1 were significantly elevated or up-regulated ($P<0.05$). Compared with the model group, pathological changes in rats in each dosage group of Juanxiao decoction were significantly

△基金项目 国家自然科学基金项目(No.82460876);江西省自然科学基金项目(No.20242BAB25559);江西省中医药管理局科技计划项目(No.2024B0799)

*第一作者 主治中医师,硕士。研究方向:肺系疾病的临床与基础。E-mail:caobangqing199@163.com

#通信作者 主任医师,博士生导师,博士。研究方向:肺系疾病的临床与基础。E-mail:xuehanrong99@163.com

alleviated, and all quantitative indicators showed dose-dependent improvements ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Juanxiao decoction can reduce airway inflammatory responses in asthmatic rats, alleviate lung function impairment, and improve pathological changes such as inflammatory cell infiltration. Those effects may be related to the inhibition of the NLRP3 inflammasome signaling pathway.

KEYWORDS Juanxiao decoction; bronchial asthma; NLRP3 inflammasome signaling pathway

支气管哮喘(简称“哮喘”)是一种复杂的慢性气道炎症性疾病,其发病机制涉及免疫、神经、遗传和环境等多方面因素,以反复发作的喘息、气急、胸闷或咳嗽为主要临床表现,常伴有气道高反应性和气道重塑。随着病程延长,患者可能出现不可逆的气道狭窄^[1-2]。目前,哮喘的治疗目标是长期控制症状、减少急性发作、延缓肺功能下降和提高患者生活质量。吸入性皮质类固醇和长效 β_2 受体激动剂疗效独特,是临床治疗哮喘的首选药物,其可通过改善患者气道炎症反应来有效缓解症状、减少哮喘发作次数,但长期使用可能引发肾上腺功能障碍、免疫力低下、骨质疏松等一系列不良反应^[3]。因此,亟需寻找更安全、有效且可持续的替代或辅助治疗方案。

中医认为,哮喘归“哮病”范畴,该病发作的根本原因为“痰瘀伏肺”,上述观点强调了体内痰湿积聚所致气滞血瘀与肺部症状之间的关联。蠲哮汤为国医大师洪广祥教授所创的治疗痰瘀的代表方,由葶苈子、青皮、陈皮、槟榔、牡荆子、大黄、生姜等组方而成,以“治痰治瘀以治气为先”为原则,行泻肺气、调肝气、运脾气、通腑气之功^[4-5]。已有学者分析了蠲哮汤对哮喘的干预效果,但具体调控机制尚不明确^[6]。有研究指出,核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)炎症小体是一类多聚蛋白复合体,可通过识别并激活核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)来触发炎症反应^[7];同时,当NLRP3被激活后,其能够进一步协调其他细胞因子[如白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和IL-18]参与到免疫细胞的活化及增殖过程中,从而加重炎症反应并诱导气道高反应性,与哮喘的发生发展密切相关^[8]。然而,蠲哮汤能否通过调控NLRP3炎症小体信号通路来改善哮喘尚不明确。为此,本研究拟观察蠲哮汤对哮喘大鼠的改善作用,并基于上述信号通路探讨该方的潜在作用机制,以期为蠲哮汤的临床应用及哮喘的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括402型超声雾化器(上海四菱医用恒温设备有限公司),PUS201型肺功能检测仪(广州畅呼医疗器械有限公司),3001型全波长多功能酶标仪、QuantStudio™ 5型实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(美国Thermo Fisher Scientific公司),Bo-1000型核酸蛋白分析仪(北京五洲东方科技发展有限公司),

PowerPac Basic型电泳仪(美国Bio-Rad公司),CX41-BJ202402型显微镜(北京中科仪器设备有限公司),RM2245型石蜡切片机、EG1150型石蜡包埋机(德国Leica公司)等。

1.2 主要药品与试剂

葶苈子、青皮、陈皮、生姜、大黄、槟榔、牡荆子药材(批号分别为2212122、2303271、2209221、2204213、2209063、2211271、2302021)均购自河北橘井药业有限公司,经江西中医药大学附属医院药学部副主任药师陈浩鉴定均为真品。

醋酸地塞米松片(阳性对照药,批号141032,规格0.75 mg)购自浙江仙琚制药股份有限公司;鸡卵清白蛋白(批号048k0671)购自美国Sigma公司;兔抗NF- κ B、胱天蛋白酶1(caspase-1)抗体(批号分别为8242S、PA5-87536)均购自美国CST公司;兔抗NLRP3、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗(批号分别为PA5-79740、PA1-987、31460)均购自美国Thermo Fisher Scientific公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、BCA蛋白浓度检测试剂盒(批号分别为G1121、PC0020)均购自北京索莱宝科技有限公司;IL-1 β 、IL-18酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号分别为30239B、34817B)均购自上海酶联生物科技有限公司;反转录试剂盒(批号0000219081)购自普洛麦格(北京)生物技术有限公司;瑞氏-吉姆萨染色液(批号416092)购自珠海贝索生物技术有限公司;PCR所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司设计、合成。

1.3 实验动物

SPF级雌性SD大鼠60只,体重(200 ± 20)g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号为SCXK(湘)2019-0004。所有动物均饲养于江西中医药大学实验动物中心[温度22~25 °C,相对湿度(50±10)%,明暗循环],自由摄食、饮水,适应性喂养1周。所有实验程序均经江西中医药大学动物医学伦理委员会批准(受理编号20240509004)。

2 方法

2.1 訴哮汤的制备

取葶苈子、青皮、陈皮、生姜、大黄、槟榔、牡荆子药材,粉碎,按质量比10:10:10:10:10:15混合,加10倍量水,文火煎煮30 min,过滤;药渣再加8倍量水,同法煎煮,过滤;收集两次滤液,浓缩至1.06 g/mL(以生药量计)。取上述药液,按每袋约30 mL分装,备用。

2.2 分组、造模与给药

将大鼠随机分为正常组,模型组,蠲哮汤低、中、高剂量组,阳性对照组,每组10只。除正常组外,其余各组大鼠均参考相关文献^[9]方法造模:将大鼠置于气雾装置内,在实验的第1天和第8天通过腹腔注射的方式给予鸡卵清白蛋白10 mg和氢氧化铝溶液100 mg;从实验的第14天起,用2%鸡卵清白蛋白雾化吸入激发哮喘,每天1次,每次0.5 h,连续7 d。在雾化吸入同时,蠲哮汤低、中、高剂量组大鼠分别按0.36、0.72、1.44 g/kg的剂量灌胃蠲哮汤药液(以生药量计。60 kg成人的生药使用量为1.25 g/kg,根据剂量换算系数估算,大鼠等效剂量约为成人的6倍;本文所设低、中、高3个剂量分别相当于临床等效剂量的0.048、0.096、0.192倍^[10]),阳性对照组大鼠按0.2 mg/kg的剂量灌胃地塞米松(以生理盐水为溶剂)^[11],正常组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续7 d。

2.3 肺功能指标检测

末次给药后,待各组大鼠适应30 min,采用肺功能检测仪记录其在呼吸稳定状态下的关键肺功能指标,包括用力肺活量(forced vital capacity,FVC)、第0.3秒用力呼气容积(forced expiratory volume in 0.3 second,FEV_{0.3})和呼气流量峰值(peak expiratory flow,PEF)。

2.4 取材

检测肺功能指标后,以1%戊巴比妥钠(4 mL/kg)腹腔注射麻醉各组大鼠,然后采集其腹主动脉血4 mL,离心后分离上层血清,备用。随后,将各组大鼠处死,切开其颈气管,向气管内注射生理盐水1 mL,再慢慢抽出,重复3次,取抽出液2.4 mL,即支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid,BALF),离心,收集上清液,于-80 °C下保存,备用。最后,剖取、分离各组大鼠肺脏,取一部分置于4%多聚甲醛溶液中固定,用于HE染色观察及免疫组化染色检测;余下部分经液氮快速冷冻后,于-80 °C下保存,备用。

2.5 血清炎症指标检测

取各组大鼠血清样品适量,采用ELISA法检测其血清中IL-1β、IL-18水平,严格按照相应试剂盒说明书操作。

2.6 BALF中炎症细胞百分比检测

取各组大鼠BALF适量,用磷酸盐缓冲液(PBS)重悬;取上述悬液0.1 μL,置于载玻片上,经晾干、涂片、固定后,进行瑞氏-吉姆萨染色,使用显微镜观察并计算淋巴细胞百分比、嗜酸性粒细胞百分比、中性粒细胞百分比(某细胞百分比=该细胞数/细胞总数×100%)。

2.7 肺组织病理观察

收集各组大鼠经4%多聚甲醛溶液固定好的肺组织,用乙二胺四乙酸(EDTA)脱钙,再经乙醇梯度脱水、石蜡包埋后切片(厚约5 μm);取上述切片,进行HE染色,再以中性树胶封片,使用显微镜观察其肺组织病理变化。

2.8 肺组织中NF-κB、NLRP3、caspase-1蛋白表达检测

2.8.1 免疫组化实验

取“2.7”项下各组大鼠的肺组织切片,进行抗原修复后再进行内源性过氧化物酶清除,以PBS(含10%驴血清)封闭;加入NF-κB、NLRP3、caspase-1一抗(稀释比例均为1:1 000),于4 °C下孵育过夜;加入相应二抗(稀释比例为1:5 000),于室温下孵育;经3,3'-二氨基联苯胺显影、苏木精复染后漂洗,再经干燥、密封后,使用显微镜观察并采集图像,运用Image J图像分析软件对蛋白表达阳性区域(呈棕色)的平均光密度进行定量分析。

2.8.2 Western blot实验

取各组大鼠冻存的肺组织适量,研磨后加入裂解液,匀浆,离心后分离上层蛋白;采用BCA法测定蛋白浓度后,以沸水浴加热使蛋白变性。取变性蛋白适量,经凝胶电泳分离后转膜、封闭1 h;洗膜后,加入NF-κB、NLRP3、caspase-1、GAPDH一抗(稀释比例均为1:1 000);洗膜后,加入相应二抗(稀释比例为1:5 000),于室温下孵育;洗膜后,进行显影、成像。采用Image J图像分析软件对各蛋白的条带灰度值进行分析,以各目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示各目的蛋白的表达水平。

2.9 肺组织中NF-κB、NLRP3、caspase-1 mRNA表达检测

取各组大鼠冻存的肺组织适量,加入TRIzol试剂提取总RNA,经测定浓度、纯度后,按反转录试剂盒说明书方法将总RNA反转录成cDNA,然后以此为模板,进行PCR扩增。PCR体系(25 μL)包括cDNA模板2.0 μL,2×SanTaqPCR Mix 12.5 μL,正、反向引物各1.0 μL,去离子水8.5 μL。PCR反应条件:95 °C预变性5 min;94 °C变性1 min,55 °C退火1 min,72 °C延伸1.5 min,共30个循环;最后,72 °C终延伸5 min。以GAPDH为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算NF-κB、NLRP3、caspase-1 mRNA的相对表达量,结果以正常组为参照进行归一化处理。PCR引物序列及产物大小见表1。

表1 PCR引物序列及产物大小

目的基因	方向	序列	产物大小/bp
NF-κB	正向	5'-ACCTGCCTCTATGCTTCATCC-3'	239
	反向	5'-CACTGAGTACACGTCGTCCACAC-3'	
NLRP3	正向	5'-CTCGTCACCATGGGTCTGGT-3'	146
	反向	5'-AACGGACACTCGTCATCTCA-3'	
caspase-1	正向	5'-CGTCTTGCCCTATTATC-3'	127
	反向	5'-CACCTTTCACCATCTC-3'	
GAPDH	正向	5'-TCATGACCACAGTCATGCC-3'	250
	反向	5'-TTCTAGACGGCAGGTCAAGT-3'	

2.10 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-t检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 罂粟壳汤对哮喘大鼠肺功能的影响

与正常组相比,模型组和各药物组大鼠的各项肺功能指标均显著降低($P<0.05$)。与模型组相比,罂粟壳汤各剂量组、阳性对照组大鼠的各项肺功能指标均显著升高($P<0.05$);且罂粟壳汤的改善作用具有剂量依赖性,阳性对照组的改善作用亦较罂粟壳汤低、中剂量组更显著($P<0.05$)。结果见表2。

表2 各组大鼠肺功能指标比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	FVC/mL	FEV _{0.3} /mL	PEF/(mL/s)
正常组	9.26±0.32	12.58±0.24	38.52±2.51
模型组	3.02±0.14 ^a	3.22±0.34 ^a	12.22±1.06 ^a
罂粟壳汤低剂量组	4.96±0.10 ^{ab}	5.96±0.22 ^{ab}	18.55±1.45 ^{ab}
罂粟壳汤中剂量组	5.82±0.18 ^{abc}	7.88±0.19 ^{abc}	25.54±1.85 ^{ab}
罂粟壳汤高剂量组	7.88±0.20 ^{abcd}	10.70±0.20 ^{abcd}	33.54±2.23 ^{abcd}
阳性对照组	7.90±0.20 ^{abcd}	10.80±0.30 ^{abcd}	33.80±2.50 ^{abcd}
F	1299.449	1889.367	255.049
P	<0.001	<0.001	<0.001

a:与正常组相比, $P<0.05$;b:与模型组相比, $P<0.05$;c:与罂粟壳汤低剂量组相比, $P<0.05$;d:与罂粟壳汤中剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.2 罂粟壳汤对哮喘大鼠血清炎症指标的影响

与正常组相比,模型组和各药物组大鼠血清中IL-1 β 、IL-18水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组相比,罂粟壳汤各剂量组、阳性对照组大鼠血清中IL-1 β 、IL-18水平均显著降低($P<0.05$);且罂粟壳汤的改善作用具有剂量依赖性,阳性对照组的改善作用亦较罂粟壳汤低、中剂量组更显著($P<0.05$)。结果见表3。

表3 各组大鼠血清炎症指标水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$, pg/mL)

组别	IL-1 β	IL-18
正常组	60.54±8.77	94.50±8.96
模型组	128.58±15.65 ^a	180.25±16.58 ^a
罂粟壳汤低剂量组	112.60±12.40 ^{ab}	161.28±14.40 ^{ab}
罂粟壳汤中剂量组	96.24±10.14 ^{abc}	138.65±13.84 ^{abc}
罂粟壳汤高剂量组	79.41±9.22 ^{abcd}	119.88±10.50 ^{abcd}
阳性对照组	78.56±9.50 ^{abcd}	118.50±10.80 ^{abcd}
F	49.464	59.848
P	<0.001	<0.001

a:与正常组相比, $P<0.05$;b:与模型组相比, $P<0.05$;c:与罂粟壳汤低剂量组相比, $P<0.05$;d:与罂粟壳汤中剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.3 罂粟壳汤对哮喘大鼠BALF中炎症细胞百分比的影响

与正常组相比,模型组和各药物组大鼠BALF中各炎症细胞百分比均显著升高($P<0.05$)。与模型组相

比,罂粟壳汤各剂量组、阳性对照组大鼠BALF中各炎症细胞百分比均显著降低($P<0.05$);且罂粟壳汤的改善作用具有剂量依赖性,阳性对照组的改善作用亦较罂粟壳汤低、中剂量组更显著($P<0.05$)。结果见表4。

表4 各组大鼠BALF中炎症细胞百分比如比较($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

组别	淋巴细胞百分比	嗜酸性粒细胞百分比	中性粒细胞百分比
正常组	4.50±0.80	2.80±0.50	3.22±0.80
模型组	35.44±3.20 ^a	35.80±5.05 ^a	22.50±2.86 ^a
罂粟壳汤低剂量组	26.40±2.45 ^{ab}	27.20±3.60 ^{ab}	16.84±1.54 ^{ab}
罂粟壳汤中剂量组	16.52±1.65 ^{abc}	16.80±1.22 ^{abc}	11.30±1.02 ^{abc}
罂粟壳汤高剂量组	7.20±1.05 ^{abcd}	8.20±1.60 ^{abcd}	7.20±0.50 ^{abcd}
阳性对照组	7.00±1.20 ^{abcd}	8.50±1.90 ^{abcd}	7.20±0.40 ^{abcd}
F	421.218	208.774	241.952
P	<0.001	<0.001	<0.001

a:与正常组相比, $P<0.05$;b:与模型组相比, $P<0.05$;c:与罂粟壳汤低剂量组相比, $P<0.05$;d:与罂粟壳汤中剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.4 罂粟壳汤对哮喘大鼠肺组织病理损伤的影响

正常组大鼠肺组织细胞形态良好,核分布均匀,肺泡腔清晰,未见炎症细胞浸润,亦未见肺泡壁因炎症而增厚的迹象;模型组大鼠肺泡上皮细胞浸润、核变性明显,嗜中性粒细胞增多,肺泡壁显著增厚,肺泡间质水肿增生,并伴有明显的炎症细胞浸润;罂粟壳汤各剂量组和阳性对照组大鼠上述肺组织病理损伤均有不同程度改善。结果见图1。

3.5 罂粟壳汤对哮喘大鼠肺组织中NF- κ B、NLRP3、caspase-1蛋白表达的影响

与正常组相比,模型组和各药物组大鼠肺组织中NF- κ B、NLRP3、caspase-1蛋白的阳性染色明显增多,广泛分布于支气管上皮细胞和炎症细胞(如中性粒细胞、淋巴细胞)的细胞核及细胞质中,亦弥散于肺泡间隔,上述蛋白的表达均显著上调($P<0.05$)。与模型组相比,罂粟壳汤各剂量组、阳性对照组大鼠肺组织中上述蛋白的阳性染色范围及强度均有所缩小或减弱,上述蛋白的表达均显著下调($P<0.05$);且罂粟壳汤的改善作用具有剂量依赖性,阳性对照组的改善作用亦较罂粟壳汤低、中剂量组更显著($P<0.05$)。结果见图2、表5(限于篇幅,免

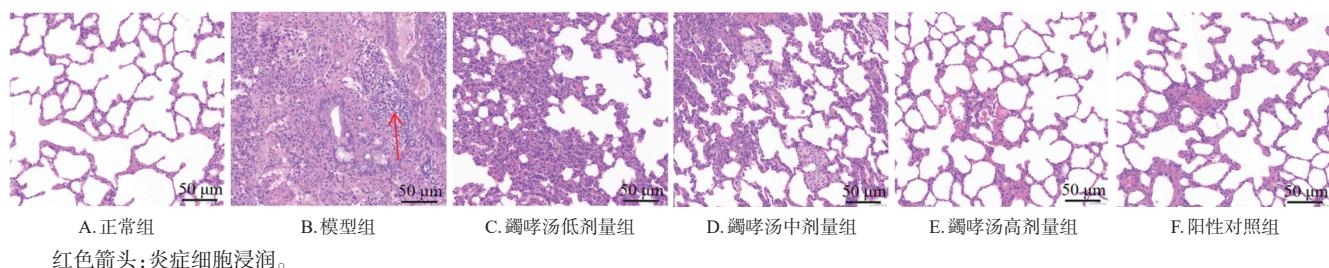
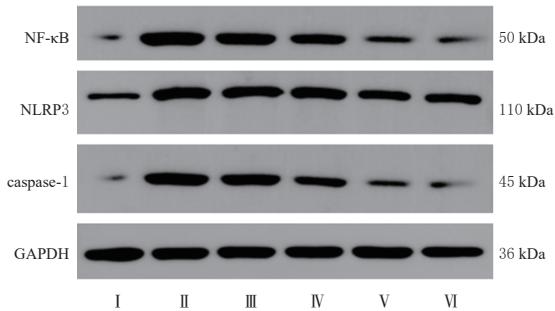


图1 各组大鼠肺组织病理观察的显微图(HE染色)



I : 正常组; II : 模型组; III : 罂粟壳汤低剂量组; IV : 罂粟壳汤中剂量组; V : 罂粟壳汤高剂量组; VI : 阳性对照组。

图2 各组大鼠肺组织中 NF-κB、NLRP3、caspase-1 蛋白表达的电泳图

表5 各组大鼠肺组织中 NF-κB、NLRP3、caspase-1 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	免疫组化实验			Western blot实验		
	NF-κB	NLRP3	caspase-1	NF-κB	NLRP3	caspase-1
正常组	0.12±0.03	0.15±0.04	0.08±0.02	0.18±0.07	0.16±0.06	0.25±0.05
模型组	0.85±0.10 ^a	0.92±0.12 ^a	0.80±0.11 ^a	0.98±0.09 ^a	0.92±0.12 ^a	1.10±0.19 ^a
罂粟壳汤低剂量组	0.60±0.08 ^{ab}	0.65±0.09 ^{ab}	0.55±0.08 ^{ab}	0.75±0.07 ^{ab}	0.80±0.10 ^b	0.91±0.14 ^{ab}
罂粟壳汤中剂量组	0.35±0.06 ^{abc}	0.40±0.07 ^{bc}	0.30±0.06 ^{abc}	0.52±0.06 ^{abc}	0.63±0.10 ^{bc}	0.73±0.11 ^{abc}
罂粟壳汤高剂量组	0.20±0.04 ^{abcd}	0.25±0.05 ^{abcd}	0.18±0.08 ^{abcd}	0.39±0.04 ^{abcd}	0.40±0.07 ^{abcd}	0.54±0.08 ^{abcd}
阳性对照组	0.22±0.05 ^{abcd}	0.28±0.06 ^{abcd}	0.20±0.04 ^{abcd}	0.39±0.06 ^{abcd}	0.40±0.05 ^{abcd}	0.52±0.10 ^{abcd}
F	185.107	151.697	139.687	183.440	106.281	63.699
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

a:与正常组相比, $P<0.05$;b:与模型组相比, $P<0.05$;c:与罂粟壳汤低剂量组相比, $P<0.05$;d:与罂粟壳汤中剂量组相比, $P<0.05$ 。

3.6 罂粟壳汤对哮喘大鼠肺组织中 NF-κB、NLRP3、caspase-1 mRNA 表达的影响

与正常组相比,模型组和各药物组大鼠肺组织中 NF-κB、NLRP3、caspase-1 mRNA 的表达均显著上调($P<0.05$)。与模型组相比,罂粟壳汤各剂量组、阳性对照组大鼠肺组织中 NF-κB、NLRP3、caspase-1 mRNA 的表达均显著下调($P<0.05$),且罂粟壳汤的改善作用具有剂量依赖性,阳性对照组的改善作用亦较罂粟壳汤低、中剂量组更显著($P<0.05$)。结果见表6。

表6 各组大鼠肺组织中 NF-κB、NLRP3、caspase-1 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	NF-κB mRNA	NLRP3 mRNA	caspase-1 mRNA
正常组	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.02
模型组	2.21±0.11 ^a	2.09±0.13 ^a	2.33±0.15 ^a
罂粟壳汤低剂量组	1.88±0.10 ^{ab}	1.81±0.10 ^{ab}	2.10±0.13 ^{ab}
罂粟壳汤中剂量组	1.51±0.08 ^{abc}	1.44±0.09 ^{abc}	1.82±0.10 ^{abc}
罂粟壳汤高剂量组	1.24±0.05 ^{abcd}	1.20±0.06 ^{abcd}	1.45±0.06 ^{abcd}
阳性对照组	1.24±0.04 ^{abcd}	1.20±0.05 ^{abcd}	1.44±0.06 ^{abcd}
F	387.048	253.610	248.646
P	<0.001	<0.001	<0.001

a:与正常组相比, $P<0.05$;b:与模型组相比, $P<0.05$;c:与罂粟壳汤低剂量组相比, $P<0.05$;d:与罂粟壳汤中剂量组相比, $P<0.05$ 。

4 讨论

哮喘的发病机制比较复杂,涉及多种炎症细胞及细胞因子的参与。近年来,NLRP3 炎症小体信号通路在哮喘中的作用逐渐成为相关研究的热点之一^[12]。NLRP3

炎症小体作为先天免疫系统的重要组成部分,能够通过激活 caspase-1、促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟与释放,进而加重气道炎症反应^[13~14]。由此可见,调控 NLRP3 炎症小体信号通路可能成为哮喘防治的新靶点。中医药在哮喘治疗中具有独特优势,蠲哮汤作为一种传统中药复方,其抗炎和调节免疫的作用已被初步证实^[15],但具体作用机制尚不明确。

本研究结果显示,与正常组相比,模型组大鼠的各项肺功能指标(FVC、FEV_{0.3}、PEF)均显著降低,炎症细胞浸润等肺组织病理损伤加重,符合哮喘气道狭窄、气流受限的基本特征;经蠲哮汤干预后,大鼠的各项肺功能指标及肺组织病理损伤均显著改善,且蠲哮汤的改善作用具有剂量依赖性,其高剂量的作用与阳性对照药相当。这提示蠲哮汤可以有效改善哮喘大鼠的通气功能,有效减轻其肺组织病理损伤,佐证了该方对气道结构的保护作用。

研究认为,炎症细胞(包括淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞等)在哮喘的发病机制中具有关键作用,这些细胞的数量变化可反映哮喘的炎症状态及患者病情严重程度^[16~17]。基于此,本研究对大鼠 BALF 中的炎症细胞百分比进行了检测,结果显示,模型组大鼠 BALF 中各炎症细胞百分比均较正常组显著升高;经蠲哮汤干预后,各药物组大鼠 BALF 中上述炎症细胞百分比均显著降低,且蠲哮汤的改善作用具有剂量依赖性,其高剂量的作用与阳性对照药相当。这提示蠲哮汤可有效改善哮喘大鼠的气道炎症。此外,研究证实,炎症细胞因子水平的升高与哮喘发作密切相关:炎症细胞因子一旦被激活、释放并进入循环系统,便会触发一系列复杂的生理过程,最终引发气道炎症和过敏性哮喘症状,而抑制炎症细胞因子的表达则可阻止哮喘发展或减轻哮喘症状^[18~19]。基于此,本研究对各组大鼠血清炎症因子进行了检测,结果显示,模型组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-18 水平均显著高于正常组,符合哮喘发病后免疫炎症激活这一特征。经蠲哮汤干预后,各药物组大鼠血清中 IL-1 β 、IL-18 水平均显著降低,且蠲哮汤的改善作用具有剂量依赖性,其高剂量的作用与阳性对照药相当。这表明该方可抑制哮喘大鼠体内过度的炎症反应。

研究认为,NLRP3 炎症小体的激活是一个多步骤过程,涉及 NF-κB 信号通路的启动和 NLRP3 炎症小体的活化^[20]。NF-κB 作为上游调控因子,能够促进 NLRP3 和 IL-1 β 的转录,为炎症小体的激活奠定了物质基础^[21]; caspase-1 则是 NLRP3 炎症小体的效应蛋白,具有促炎作用,能够直接参与炎症反应的调控:其经 NLRP3 激活后,可切割促炎因子 IL-1 β 、IL-18 前体,使上述促炎因子成熟并分泌,从而引发炎症反应^[22~23]。本研究采用免疫组化、Western blot、实时荧光定量 PCR 实验对 NLRP3、NF-κB、caspase-1 蛋白及 mRNA 的表达进行了检测,结果显示,模型组大鼠肺组织中 NLRP3、NF-κB、caspase-1

蛋白的阳性表达明显增强,其蛋白及mRNA的表达均较正常组显著上调,说明哮喘发作时,NLRP3炎症小体信号通路呈激活状态。经蠲哮汤干预后,各药物组大鼠肺组织中NLRP3、NF-κB、caspase-1蛋白的阳性表达均有所减弱,其蛋白及mRNA的表达均较模型组显著下调,蠲哮汤的改善作用具有剂量依赖性,其高剂量的作用与阳性对照药相当,提示该方可能通过“泻肺气、通腑气”的作用,从上游抑制NF-κB的异常活化及NLRP3、IL-1β的表达,从源头上抑制了炎症小体的激活;此外,该方可能干扰了NLRP3、caspase-1的表达,阻断了炎症小体的活化核心步骤。

综上所述,蠲哮汤可减轻哮喘大鼠的气道炎症反应,缓解肺功能损伤,改善炎症细胞浸润等病理改变;上述作用可能是通过抑制NLRP3炎症小体信号通路实现的。但本研究仅仅是初步分析,NLRP3炎症小体这一靶点还涉及诸多上下游分子,后续可以进一步探讨蠲哮汤的具体活性成分,并结合现代药理学,深入研究该方的多靶点作用机制,为哮喘的临床治疗提供更可靠的参考依据。

参考文献

- [1] QIAN K J, XU H Z, CHEN Z M, et al. Advances in pulmonary rehabilitation for children with bronchial asthma[J]. Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2023, 52(4): 518-525.
- [2] SAVIN I A, ZENKOVA M A, SEN' KOVA A V. Bronchial asthma, airway remodeling and lung fibrosis as successive steps of one process[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(22): 16042.
- [3] YI L, CUI J, WANG W Q, et al. Formononetin attenuates airway inflammation and oxidative stress in murine allergic asthma[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 533841.
- [4] 喻强强, 鲍梦婕, 叶超, 等. 国医大师洪广祥哮喘“气阳虚”理论探析[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(4): 1715-1718.
- [5] 鲍梦婕, 喻强强, 叶超, 等. 基于“伏邪”理论探讨国医大师洪广祥教授治疗哮喘经验[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(10): 1953-1958.
- [6] 闫五玲, 鲍伟杰, 王富利, 等. 不同剂量蠲哮汤对支气管哮喘大鼠气道重塑、TGF-β/IL-4表达的影响[J]. 中医药信息, 2025, 42(12): 20-26.
- [7] SCHWAID A G, SPENCER K B. Strategies for targeting the NLRP3 inflammasome in the clinical and preclinical space[J]. J Med Chem, 2021, 64(1): 101-122.
- [8] XU S M, WANG D, TAN L N, et al. The role of NLRP3 inflammasome in type 2 inflammation related diseases[J]. Autoimmunity, 2024, 57(1): 2310269.
- [9] 董佳裕, 刘鑫, 苏真真, 等. 金振口服液治疗支气管哮喘的药效作用和分子机制[J]. 药物评价研究, 2024, 47(7): 1486-1501.
- [10] 喻强强, 鲍梦婕, 余建玮, 等. 訫哮汤对哮喘大鼠肺组织CysLTs和CysLTR1 mRNA的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2437-2440.
- [11] 曹邦卿, 吴支喜, 刘美年, 等. 訫哮汤干预支气管哮喘大鼠对ICAM-1、TGF-β、IL-4及气道重塑的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(12): 1712-1717.
- [12] 王心恒, 邵小涵, 李童童, 等. 平喘宁方通过调控HMGB1/Beclin-1轴介导的自噬改善患寒哮证大鼠的气道炎症[J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(6): 1153-1162.
- [13] 彭果然, 程贝贝, 丁蓉珍, 等. 中药单体抑制NLRP3炎症小体治疗哮喘的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2025, 36(6): 1134-1140.
- [14] 田莹, 张秀峰. 鞣向核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3炎症小体治疗中性粒细胞性哮喘的研究进展[J]. 中国医药, 2025, 20(6): 930-934.
- [15] 田敏萍, 张清源, 薛汉荣. 基于网络药理学探讨蠲哮汤治疗哮喘的作用机制[J]. 中医临床研究, 2024, 16(7): 35-44.
- [16] 王玉, 王峻游达, 李玉杰, 等. 宣肺解痉方调控NF-κB信号通路改善支气管哮喘患者气道炎症水平的机制研究[J]. 中药材, 2023, 46(8): 2076-2079.
- [17] 余涛, 丁明, 喻强强, 等. 益气温阳护卫汤对哮喘大鼠肺组织炎症及肠道菌群的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(4): 1924-1928.
- [18] MARUTHAMUTHU V, HENRY L J K, RAMAR M K, et al. *Myxopyrum serratulum* ameliorates airway inflammation in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages and OVA-induced murine model of allergic asthma[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 255: 112369.
- [19] YANG J, ZHANG M X, LUO Y M, et al. Protopine ameliorates OVA-induced asthma through modulating TLR4/MyD88/NF-κB pathway and NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. Phytomedicine, 2024, 126: 155410.
- [20] TANG Y, ZHAO Y, GUAN Y Y, et al. Silencing TRIM8 alleviates allergic asthma and suppressing Th2 differentiation through inhibiting NF-κB/NLRP3 signaling pathway [J]. Immunol Lett, 2024, 270: 106923.
- [21] LIU L, ZHOU L, WANG L L, et al. MUC1 attenuates neutrophilic airway inflammation in asthma by reducing NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis through the inhibition of the TLR4/MyD88/NF-κB pathway[J]. Respir Res, 2023, 24(1): 255.
- [22] 黄霞艳, 王正根. 刺芒柄花素防治炎症相关疾病的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2025, 40(5): 1327-1333.
- [23] 莫俊俏, 赵桂铃, 焦瀚仪, 等. 奥马珠单抗通过miR-26a-5p减少炎症小体NLRP3介导的焦亡对哮喘大鼠气道重塑的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(6): 816-821.

(收稿日期:2025-08-15 修回日期:2025-12-15)

(编辑:张元媛)