

· 二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病作用的研究专题 ·

[编者按] 慢性阻塞性肺疾病(COPD)是以气流受限为主要特征的呼吸系统常见病、多发病。目前由于空气污染及老龄化的加重,COPD在全世界疾病死亡率中居第4位,因其高发病率、高复发率和高经济负担成为公共卫生问题而备受关注。COPD的病因及发病机制复杂。目前认为COPD主要病理机制为炎症,氧化应激,细胞自噬与凋亡,蛋白酶/抗蛋白酶失衡,气道、肺和血管的结构损伤与重塑等。COPD反复复发可合并肺动脉高压及肺源性心脏病。研究表明中医药在治疗COPD方面的优势凸显。本课题组基于COPD的病因病机,选用《太平惠民和剂局方》中的二陈汤和四君子汤加减组成二陈汤加味方,经长期临床观察和实验研究,前期发现二陈汤加味通过增强沉默信息调节因子1(Sirt1),减弱缺氧诱导因子1(Hif-1)mRNA表达,抑制氧化损伤;通过调整免疫细胞,调节COPD患者外周血单个核细胞(PBMC)中组蛋白乙酰基转移酶及组蛋白去乙酰基酶,抑制白细胞介素-17(IL-17),C反应蛋白(CRP),IL-1 β ,IL-6,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等细胞因子的合成与释放,发挥抗炎作用;通过干预转化生长因子- β (TGF- β)/Smads信号转导系统影响蛋白酶/抗蛋白酶系统而阻止细支气管细胞外基质(ECM)沉积,抑制结构重塑,保护气道和肺的结构与功能。COPD的病理基础是炎症,为更全面、深入地揭示二陈汤加味对抗COPD炎症的分子机制,本专题主要报道二陈汤加味通过干预 β 2肾上腺素受体(β 2AR)/ β -抑制蛋白2(β -arrestin2)信号通路,促进 β 2AR, β -arrestin2的表达,抑制核转录因子(NF)- κ B,IL-6,IL-17的表达,起到抗炎作用;通过增强GATA结合蛋白-3(GATA-3)mRNA表达,抑制肺组织中T盒转录因子(T-bet)表达,增加Th1细胞,Th2细胞标志物IL-10,较少IL-12的合成与分泌,以减轻机体免疫紊乱;通过Toll样受体4(TLR4)/髓样分化因子88(MyD88)/NF- κ B信号通路,核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体通路,抑制多种促炎细胞因子、趋化因子的合成与释放,减弱其受体的表达,发挥抗炎和阻止病情加重的作用;通过抑制内皮素-1,血管内皮生长因子(VEGF)等释放,作用于血管内皮细胞和血管平滑肌细胞,抑制其增殖及细胞外基质沉积;通过增强过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)mRNA表达,保护气道、肺和血管组织,预防肺动脉高压及肺心病等合并症的发生。虽然对二陈汤加味的疗效及机制的研究取得阶段性进展。但其作用的细胞和分子机制仍有待深入研究,以期对COPD的临床遣方用药及科学研究提供新的思路。

中医药防治慢性阻塞性肺疾病炎症反应相关 信号通路的研究进展

谢文英, 包永生*, 王俊月, 尚立芝*, 王肖艳, 李亮, 张良芝, 包海燕, 宋倩红
(河南中医药大学, 郑州 450046)

[摘要] 慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种常见的呼吸系统疾病,不仅发病率高,且致残率和致死率也同样居高不下,同时COPD会伴有肺动脉高压、肺纤维化、慢性肺源性心脏病、右心衰竭等多种常见的严重并发症,种种根由都为患者家庭产生严重的经济负担。气道重塑在COPD的发病过程中有举足轻重的地位,正因为气流受限的进行性发展才诱发COPD的咳、喘、闷等主要症状,因此探讨中医药通过缓解气道重塑来干预COPD的发展进程,具有极高的研究价值。研究显示,多条信号通路的介导都会诱进气道重塑的进行性加重,且中医药的治疗作用也被实验研究频频证实,中医药常通过多靶点,多通路的介导来达成对COPD的治疗作用。本文主要包含中医药对COPD气道重塑有干预作用的5条信号通路的研究内容,即基质金属蛋白酶(MMPs)/金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs),转化生长因子- β ₁(TGF- β ₁)/Smads,Ras同源基因家族成员A/Rho相关的卷曲螺旋激酶(RhoA/ROCK),血管内皮生长因子(VEGF)/碱性成纤维细胞生长因子(b-FGF),核转录因子(NF)- κ B。将通过对这5条为研究者所重视的信号通路的研究进展做简要的评述,并对其他或可涉及的信号通路做一定的讨论,冀之为今后的实验研究提供参考和思路。

[关键词] 中医药; 慢性阻塞性肺疾病; 气道重塑; 信号通路; 研究进展

[收稿日期] 20181219(009)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81573881);河南省科技攻关项目(182102311163)

[第一作者] 谢文英,教授,从事中医药治疗肺系疾病的临床研究,E-mail: xiewenyi1963@163.com

[通信作者] *包永生,在读硕士,从事中医药治疗肺系疾病的临床研究,E-mail: 85651402@qq.com;

*尚立芝,教授,从事中医药作用机制研究,Tel:0371-86253082,E-mail:lzshang2014@163.com

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2019)23-0001-08
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191307
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190317.1907.006.html>
[网络出版时间] 2019-03-19 10:12

Signal Pathways Relating to Prevention and Treatment of Airway Remodeling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease with Traditional Chinese Medicine

XIE Wen-ying, BAO Yong-sheng*, WANG Jun-yue, SHANG Li-zhi*, WANG Xiao-yan, LI Liang, ZHANG Liang-zhi, BAO Hai-yan, SONG Qian-hong
(Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a common respiratory disease with a high morbidity, disability and mortality. At the same time, COPD is always accompanied by pulmonary hypertension, pulmonary fibrosis, chronic pulmonary heart disease, right heart failure and other common serious complications. All of these cause serious financial burden for the family of patients. Airway remodeling plays an important role in the pathogenesis of COPD. It is the progressive development of airflow restriction that induces the main symptoms of COPD, such as cough, asthma and depression. Therefore, it is of great research value to explore the intervention of traditional Chinese medicine (TCM) in the development of COPD by alleviating airway remodeling. Studies have shown that multiple signaling pathways can induce progressive airway remodeling, and the therapeutic effect of TCM has been frequently confirmed by experimental studies. TCM often has a therapeutic effect on COPD through multi-target and multi-channel mediation. This paper mainly includes five signaling pathways that traditional Chinese medicine can intervene COPD airway remodeling, namely matrix metalloproteinases (MMPs) /tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMPs), transforming growth factor (TGF) -beta 1/Smads, RhoA/Rho-associated kinase (ROCK), vascular endothelial growth factor (VEGF) /b-fibroblast growth factor (b-FGF) and nuclear factor (NF) - κ B. This paper briefly reviews the research progress of these five signaling pathways, and discusses other signaling pathways that may be involved, in order to provide reference and ideas for future experimental research.

[Key words] traditional Chinese medicine; chronic obstructive pulmonary disease; airway remodeling; signaling pathway; research progress

慢性阻塞性肺疾病(COPD)在呼吸系统疾病中较为常见,以进行性发展的气流受限为主要特征^[1],有肺动脉高压、肺纤维化、慢性肺源性心脏病、右心衰竭等多种常见的严重并发症^[2],因此病死和致残率极高^[3]。目前,在COPD治疗中,西医常用的支气管舒张剂、糖皮质激素等,虽可短期缓解症状,但远期疗效仍有待确定,且长期服药容易引发耐药性,甚至都有不同程度的不良反应^[4]。而中医药对COPD的防治作用已被大量的临床试验和药理学研究证实,常通过各种不同的信号传导通路对机体发生干预作用以达成对COPD的治疗目的^[5-13]。其中通过对信号通路的影响,阻止肺气管重塑的进程是中医药防治COPD的一大特色,且已经被各种实验研究证实^[14]。

众所周知,气道重塑是COPD的一大特征,并由此引发气流受限和肺通气障碍^[15-16]。COPD患者因有害气体的诱发,以至气道炎症、肺泡血管及组织损伤和伴随而来的非正常修复都会导致气道壁的结构发生改变,这一过程称为气道重塑^[17]。近年来,关于中医药通过介导各种信号通路影响肺气管重塑的研究日渐增多,但鲜有总结中医药的干预途径,本课题组就此问题查阅了十余年的中英文文献,综述如下。

1 基质金属蛋白酶(MMPs)/金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)信号通路

细胞外基质(ECM)会因MMPs的降解而引发气道重塑^[18],而TIMPs会促进ECM的合成^[19]。MMPs增多会促使肺泡壁的基底膜降解以及促进

肺气肿的形成。MMPs/TIMPs 在肺与支气管壁结构重塑的过程中发挥着重要作用,因而 MMPs/TIMPs 的平衡紊乱是 COPD 气道重塑发生的重要机制之一^[20-21],故而对判断中医药的治疗作用有极高的参考价值。

吴珂等^[22]以 5 组共 50 只大鼠为实验对象,造模成功后,使用实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)测定肺组织中基质金属蛋白酶-1(MMP-1),基质金属蛋白酶-9(MMP-9)和金属蛋白酶组织抑制剂-1(TIMP-1)的 mRNA 表达,免疫组织化学法(IHC)测定 I, III 型胶原蛋白和 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 在细支气管上的表达。结果显示 3 组实验组肺组织匀浆液(BALF)中 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 的 mRNA 的表达都显著降低,细支气管壁上的 I, III 型胶原蛋白以及 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 的表达也都显著降低,尤以高剂量组的降低更为明显。提示二陈汤加味治疗作用可能与降低 MMP-1, MMP-9 的表达,并相对性抑制 TIMP-1,来达成阻止 ECM 沉积的目的,达到阻止气道重塑的效果。徐飞等^[23]为研究赤芍对 COPD 的治疗作用,选用 48 只大鼠并分为 6 组,造模成功后,使用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中白细胞介素-8(IL-8),白细胞介素-10(IL-10)和肺泡灌洗液(BALF)中的基质金属蛋白酶-2(MMP)-2, MMP-9, TIMP-1 以及转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)的水平,结果显示,IL-8, IL-10, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 以及 TGF- β_1 的表达都明显升高,IL-10 明显降低。提示赤芍对 COPD 气道重塑的抑制作用,其机制可能与兴奋 IL-10,抑制 IL-8, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TGF- β_1 的表达有关。王映棋^[24]同样以 COPD 气道重塑的重要指标 TIMP-1 和 MMP-9 为主要研究方向,并建立 COPD 大鼠模型,造模成功后,分别使用逆转录(RT)-PCR,蛋白免疫印迹法(Western blot)测定肺组织中 TIMP-1, MMP-9 的 mRNA 和蛋白表达,玉屏风散加“涤痰”与“逐瘀”药方可以显著下调 MMP9/TIMP1 值,干预气道重塑的进行性发展。张毅等^[25]为研究芪蛭皱肺颗粒对 COPD 气道重塑的干预作用,选取了 60 只大鼠为研究对象,以 ELISA 测定大鼠血清中 MMP-9, TIMP-1 的含量,以 Western blot 和 Real-time PCR 分别测定大鼠肺组织中 MMP-9, TIMP-1 蛋白和基因表达,结果显示,芪蛭皱肺颗粒可通过对大鼠血清和肺组织中 MMP-9, TIMP-1 的调节作用,来干预 COPD 大鼠气道重塑的发展,达成治疗 COPD 的目的。石亚莉等^[26]为探讨虎杖对 COPD 大鼠的治疗作用,通过

RT-PCR 检测肺组织中 MMP-9 和 TIMP-1 的基因表达,结果显示虎杖组的 MMP-9 与 TIMP-1 的基因表达水平显著降低,证实虎杖对其表达的抑制作用,并以此达成控制气道重塑的目的。黄少君等^[27]为探讨培土生金方对 COPD 肺气虚兼血瘀证气道重塑的干预作用,选择 160 例患者,分别检测 IL-6, IL-8, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), TGF- β_1 , 血管内皮生长因子(VEGF), 基质金属蛋白酶-2(MMP-2), MMP-9 和 TIMP-1 水平,结果显示,培土生金方治疗 COPD 气虚证兼血瘀证的患者,能缓解临床症状、提高肺功能,并能抑制炎症反应,调节蛋白酶-抗蛋白酶失衡,减轻 COPD 患者的气道重塑。

纵观多年来对 MMPs/TIMPs 信号通路对 COPD 气道重塑的干预研究,可发现多呈现出单极化特点,即多以 MMP-9, TIMP1 为主要研究对象,甚少涉及其他的 MMPs 和 TIMPs 家族。单极化研究常不能收获更有价值的成果,值得深思。

2 TGF- β_1 /Smads 信号通路

转化生长因子 TGF- β_1 是一种既能够改善免疫调节,又能调节致纤维化活性的细胞外基质调节因子,是调节机体气道重塑的重要炎症因子之一^[28]。而作为活化 TGF- β_1 ,并将其信号传递至细胞核的重要信号转录子,信号转导蛋白(Smads)通过介导 TGF- β_1 来调控 ECM 的合成和降解,尤其是 Smad3,在此过程中发挥了尤为重要的作用^[29-30]。磷酸化(p)-Smad2, p-Smad3 诱导 TGF- β_1 R/Smad 的复合物形成,并增加合成蛋白多糖、纤连蛋白, I 型胶原蛋白等多种的细胞外基质;除此之外, Smad6 和 Smad7 属于抑制型的 Smads 家族成员,兴奋 Smad6, Smad7, 并降低 Smad2, Smad3 的磷酸化过程可以成功的阻止肺纤维化和气道重塑的发生^[31-32]。TGF- β_1 可通过兴奋血管内皮生长因子以及血小板衍生因子,来激活 Smad2 和 Smad3 通路,并将成纤维细胞激活,诱导的 ECM 的合成与沉积,来使气道重塑持续发生^[33]。因而使用药物对 TGF- β /Smad 进行干预有望成为防治基质沉积的新思路。

刘坦^[34]将 50 只大鼠进行造模,成功后用 ELISA 测定 BALF 中的白细胞介素-6(IL-6)和可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)的含量, IHC 测定大鼠肺组织中的与 ECM 有关联的 TGF- β_1 , MMP-9, TIMP-1 以及 Smad3/4/6/7 和 I, III 型胶原的蛋白表达, RT-PCR 测定肺组织 Smad3/4/6/7 的 mRNA 表达,结果显示爱罗咳喘宁的三组实验组的 BALF 中的血清可溶性细胞黏附分子-1(sICAM-1), 白细胞

介素-6(IL-6)均降低,其中中剂量最为明显,且 3 组 Smad3/4 的 mRNA 和蛋白表达显著下降,Smad6 的 mRNA 和蛋白表达显著上升,TGF- β_1 的蛋白表达也显著减弱。I, III 型胶原的蛋白表达相比模型组明显减弱,且模型组的镜下观中支气管腔体内有大量痰液堵塞,黏膜之上有上皮的变性和坏死,甚至部分脱落,大量炎症细胞浸润,肺间质增大增厚,而实验组,尤其是中剂量组对支气管黏膜有很大程度的修复。结果显示爱罗咳喘宁方可有效改善肺通气,并有效的阻止气道重塑,发挥止咳平喘之功,其作用机制与抑制 Smad3,兴奋 Smad6/7,并协调兴奋 Smad4 的基因表达,并降低 TGF- β_1 的表达有关。尚立芝等^[35]通过对 48 例行肺叶切除术患者的肺组织,并按术前的 COPD 肺功能状态分为 A,B 两组,苏木素-伊红(HE)染色观察肺组织的形态改变和平滑肌层厚度,并采用 Western blot 测定所摘取肺叶中的 Smad2,Smad3,Smad7 以及 TGF- β_1 的表达情况,结果显示,A 组的表达明显低于 B 组,提示在 COPD 的肺组织发生气道重塑的过程中,TGF- β_1 /Smads 信号通路起到了关键性的作用,即二陈汤加味可通过干预 TGF- β_1 /Smads 信号通路,达到抑制肺气道重塑,增加肺通气,改善肺功能的作用。王晓晓^[36]为证实玉屏风散加味对 COPD 的治疗作用,以大鼠为研究对象,造模成功后,采用免疫组化和 Western blot 测定大鼠肺组织核转录因子(NF)- κ B,Smad2/3,Smad7 蛋白表达,RT-PCR 测定大鼠肺组织 TGF- β_1 的 mRNA 表达,结果显示中药组大鼠肺间隔增宽、细支气管上皮增生、管腔狭窄、管壁增厚、大量纤维组织增生等病理改变有所减轻,而模型组大鼠肺组织中 NF- κ B,Smad2/3 表达增强,Smad7 表达减弱,因此玉屏风散加味能够降低肺组织中 NF- κ B 的表达,下调 TGF- β_1 的表达,降低 Smad2/3 的水平,上调 Smad7 的水平,来干预 COPD 的气道重塑。

3 RhoA/ROCK 信号通路

RhoA/ROCK 信号通路包括 Rho 激酶,Rho 蛋白以及肌球蛋白磷酸酶。RhoA 通过对 ROCK 的激活,使其作用在气管的平滑肌细胞中,以之调节炎症因子的产生,据研究 RhoA/ROCK 信号通路在 COPD 气管重塑中发挥了重要作用^[37-39],并抑制气道炎症,改善肺的通气功能。

黄鹤^[40]以 30 例 COPD 患者为研究对象,采用参七化痰方治疗的方法治疗其中一组 COPD 患者,并设立对照组,通过 ELISA 来检测 3 组患者血清中的 ROCK1 的表达水平,并检测心脏彩超以估测肺

动脉收缩压,然后将两组数据进行综合分析。结果显示肺动脉收缩压的压力值与患者血清中 ROCK1 表达的水平呈正相关。复用大鼠造模实验,成功后,用镜下观察大鼠肺组织的病理变化,并用 IHC 检测肺组织 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2),Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)的蛋白表达,RT-PCR 测定 RhoA 和 Rock I, Rock II 的 mRNA 表达。结果显示,参七化痰方组的 Bcl-2 的蛋白表达受抑制,Bax 的蛋白表达得到了提升,而 RhoA 和 Rock I, Rock II 的 mRNA 表达也受到抑制,提示参七化痰方可通过对 RhoA/ROCK 信号通路的干预作用来抑制 COPD 的气道重塑。

同为经典的信号通路之一,RhoA/ROCK 信号通路在支气管哮喘气道重塑中的作用已被反复证实^[41-42],而 COPD 作为死亡率 8 倍于哮喘的严重疾病,其实验研究至今尚未展开,中医药对 COPD 的干预作用是多通路的,RhoA/ROCK 信号通路同样非常值得研究,这还有待于研究者的深入探索。

4 血管内皮生长因子(VEGF),碱性成纤维细胞生长因子(b-FGF)信号通路

VEGF 在 COPD 发病及加重的全过程都有参与,其异常高表达可以直接参与血管再生以及气道上皮细胞增殖^[43-44]。b-FGF 作为有丝分裂原,在细胞的增殖以及分化中起到了调控作用,b-FGF 能够参与 COPD 的气道重塑已被研究证实,其通过对肥大细胞的增殖促进而发挥作用的^[45-47]。

宋素莉^[48]以 120 例 COPD 患者为研究对象,随机分组,并于治疗前后,分别检测两组患者的肺功能,并用 ELISA 检测 IL-2,IL-4,IL-18,VEGF,b-FGF,神经生长因子(NGF)的含量,并通过化学发光法以检测血清纤维的相关指标含量,如透明质酸(HA),IV 型胶原(C-IV),层黏连蛋白(LN),结果显示,两组患者血清中的 IL-2,IL-4,IL-18,VEGF,b-FGF,NGF,HA,C-IV,LN 均少于治疗前,且观察组的这些指标在血清中的含量明显低于对照组。提示百令胶囊能有效的缓解和治疗 COPD 患者的气道重塑进程,并有效的抑制肺纤维化的产生。彭静等^[49]未研究白术和黄芪的配伍对 COPD 气道重塑的干预作用,选取 50 只大鼠随机分为 5 组,造模成功后,采用 ELISA 测定 BALF 中的 VEGF,分泌片(SC),分泌型免疫球蛋白 A(SIgA),TGF- β_1 的表达,结果显示,模型组中 VEGF,SC,SIgA,TGF- β_1 的含量高于实验组,提示黄芪和白术配伍对 COPD 气道重塑的治疗作用与降低 VEGF 的表达有关。王璐等^[50]通过对 30 只大鼠进行造模实验,成功后,分别运用 ELISA 和 IHC

测定 BALF, 血清以及肺组织中 VEGF, VEGFR-1/2 的表达和变化情况。结果显示模型组大鼠的细支气管、肺组织病理改变明显不如中药组, 且血清中的 VEGF, VEGFR-1/2 以及肺组织和 BALF 中的 VEGF, VEGFR-1 受到了抑制。因而保肺定喘汤对 COPD 大鼠的气道重塑有抑制作用, 提示其作用机制与对 VEGF 的信号传导产生的抑制作用有关。吴雪琴^[51]以 60 只大鼠为研究对象, 在造模成功之后, 采用 ELISA 以及硝酸还原酶法测定血浆之中 VEGF, 内皮素-1(ET-1) 的表达, 结果显示, 冬虫夏草组的 VEGF, ET-1 表达均受到抑制, 可知冬虫夏草能够阻止 COPD 气道重塑, 其作用机制可能和抑制 VEGF, ET-1 的表达有关。王晓然^[52]通过建立 COPD 大鼠模型, 并检测不同组大鼠气道平滑肌数量、结构、形态的变化, 同时检测血清中与气道平滑肌增殖相关的生长因子 FGF, PDGF, TGF- β_1 , 以及肺组织中的增殖细胞核抗原(PCNA), 细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2), p-ERK1/2 蛋白表达, 来探讨益气消癥方对 COPD 大鼠气道重塑的干预作用, 结果显示模型组 TGF- β_1 , FGF, PDGF 表达较空白组升高, 各治疗组中, FGF, PDGF, TGF- β_1 表达含量均较模型组降低, 表明益气消癥方可以有效抑制上述生长因子的表达, 且 COPD 模型组大鼠的肺组织内 ERK1/2 信号通路被明显活化, 因此益气消癥方可以改善 COPD 大鼠气道平滑肌的增殖情况, 对气道重构有一定抑制作用。薛晓明等^[53]为研究宣肺平喘胶囊对 COPD 的作用机制, 以 60 只大鼠为研究对象, 造模成功后, 采用 ELISA 测定 TNF- α , VEGF, IL-1 β , IL-8 的含量, Western blot 测定大鼠肺组织中血小板源生长因子-B(PDGF-B) 的蛋白表达, 检测大鼠支气管 BALF 中白细胞计数与分类, 同时进行病理组织观察, 结果显示模型组大鼠血清中 TNF- α , IL-1 β , IL-8 的表达升高, VEGF 的表达降低, 肺组织 PDGF-B 含量升高, 与模型组比较, 宣肺平喘胶囊的各剂量组大鼠血清 TNF- α , IL-1 β , IL-8 显著降低, VEGF 显著增多, PDGF-B 的蛋白表达显著降低, 因此宣肺平喘胶囊能够降低 COPD 大鼠血清中的 TNF- α , IL-1 β , IL-8, 降低肺组织中 PDGF-B 的蛋白表达, 增高血清中 VEGF 的表达, 其机制可能与减少炎症介质的生成与释放, 发挥抗炎作用, 减轻气道表皮黏液的分泌, 并抑制气道重塑有关。

5 NF- κ B 信号通路

作为在肺组织细胞凋亡, 氧化应激反应中都密切参与的核转录因子, NF- κ B 是多种炎症基因兴奋

表达的只要参与者, 并由之影响炎症反应的发生和气道重塑的进行^[54]。且研究发现 NF- κ B 可通过对气道平滑肌之中的 TGF- β_1 进行诱导, 以参与 TGF- β_1 /Smads 的信号转导^[55], 并进一步发挥其多靶点效应, 促进 COPD 的气道重塑, 导致肺通气的下降^[56-58]。Toll 样受体 2(TLR2) 作为 Toll 样受体的一员, 在炎症反应中发挥着重要作用^[59], 其在对配体进行识别后, 通过髓样分化因子 88(MyD88) 进行信号的传导, 并由此对 NF- κ B 进行活化, 并由此发挥 TLR2 在 COPD 气道重塑中的重要作用^[60]。

何博^[61]对 60 只大鼠进行实验, 在造模成功之后, 检测大鼠的肺功能情况, 取材完成, 先用 HE 染色观察大鼠的肺组织损伤, 然后分别用 Western blot, RT-PCR 检测 NF- κ B/p65 及人核转录因子- κ B 抑制蛋白 α (I κ B α) 的蛋白和 mRNA 表达, 结果显示实验组相对于模型组, p65 受到了抑制作用, I κ B α 受到了兴奋作用, 提示理肺汤可阻止 COPD 大鼠的气道重塑, 其作用机制与抑制 I κ B α 的降解和 p65 表达有关。詹少锋^[62]对 6 组 60 只实验小鼠进行造模, 成功后, 采用 IHC 测定小鼠肺组织中的气道黏蛋白(Muc5ac), IL-17, TNF- α 的表达, 采用 ELISA 测定小鼠 BALF 以及血浆中的 IL-17, TNF- α 的表达以及 BALF 内的 Muc5ac 的表达, 采用 RT-PCR 技术测定小鼠肺组织之中 AQP5, Muc5ac 的 mRNA 表达, Western blot 测定 p-NF- κ B, JNK, p38, ERK 的蛋白质含量情况。最终得出结论, 益气化痰方可通过介导 IL-17/TNF- α 来对 MAPK/NF- κ B 信号通路产生影响, 最终引发 Muc5ac, AQP5 的表达来达到治疗 COPD, 并抑制气道重塑的发生。文秀华等^[63]以 84 只大鼠为研究对象, 在分组并造模成功后, 采用 IHC 法测定 NF- κ B, MyD88, TLR2, TLR4 的表达, 并用 Western blot 测定 NF- κ B, MyD88, TLR2 的表达。结果显示, 实验组 NF- κ B, MyD88, TLR2, TLR4 都受到了不同程度的抑制作用, 因此补肺汤可改善 COPD 的气道重塑, 其机制可能和补肺汤对 TLR2, TLR4 的抑制作用, 并介导 MyD88, 抑制 NF- κ B 的表达有关。李宁^[64]为研究三七、莪术对 COPD 气道重塑的干预作用, 以其中最重要的三种活性成分莪术醇、姜黄素、三七总皂苷为研究对象, 并制作细胞损伤模型分别给药治疗, 以 RT-PCR 检测 TNF- α , IL-6, IL-1 β , α -SMA, Smad2/3, TGF- β 的 mRNA 表达, Western blot 检测 p-NF- κ B p65, p-Smad2/3 的蛋白表达, 结果显示姜黄素、莪术醇、三七总皂苷可以降低 NF- κ B p65 蛋白表达, 抑制 TNF- α , IL-6, IL-1 β 的 mRNA 表达,

提升 Smad2/3 蛋白表达及 Smad2/3, TGF- β 的 mRNA 表达,因此三七、莪术的主要成分可通过抑制 NF- κ B 信号通路,并下调炎症因子 TNF- α , IL-6,

IL-1 β 表达水平,来缓解 COPD 的气道重塑。中医药防治 COPD 气道重塑的信号通路及检测的指标总结见表 1。

表 1 中医药防治 COPD 气道重塑的信号通路及检测的指标

Table 1 Signal pathways and detection indicators of traditional Chinese medicine (TCM) in preventing and treating COPD airway remodeling

信号通路	使用方药	检测指标
MMPs/TIMPs	二陈汤加味 ^[22] ;赤芍 ^[23] ;玉屏风散加祛痰 ^[24] ;芪蛭皱肺颗粒 ^[25] ;虎杖 ^[26] ;培土生金方 ^[27]	MMP-1, MMP-9, TIMP-1, I, III 型胶原; IL-8, IL-10, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TGF- β_1 ; TIMP-1, MMP-9; TIMP-1, MMP-9; TIMP-1, MMP-9; MMP-2, MMP-9, TIMP-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β_1 , VEGF
TGF- β_1 /Smads	爱罗咳喘宁 ^[34] ;二陈汤加味 ^[35] ;玉屏风散加味 ^[36]	TGF- β_1 , MMP-9, TIMP-1, Smad3/4/6/7, I, III 型胶原; Smad2, Smad3, Smad7 以及 TGF- β_1 ; TGF- β_1 , NF- κ B, Smad2/3, Smad7
RhoA/ROCK	参七化痰方 ^[40]	RhoA, Rock I, Rock II
VEGF, b-FGF	百令胶囊 ^[48] ;黄芪,白术 ^[49] ;保肺定喘汤 ^[50] ;冬虫夏草 ^[51] ;益气消癥方 ^[52] ;宣肺平喘胶囊 ^[53]	IL-2, IL-4, IL-18, VEGF, b-FGF, NGF, HA, C-IV, LN; VEGF, SC, SiG A, TGF- β_1 ; VEGF, VEGFR-1/2; VEGF, ET-1, NO; FGF, PDGF, TGF- β_1 , PCNA, ERK1/2, p-ERK1/2; TNF- α , VEGF, IL-8, IL-1 β , PDGF-B
NF- κ B	补肺汤 ^[61] ;理肺汤 ^[62] ;三七,莪术 ^[63] ;益气化痰方 ^[64]	NF- κ B, MyD88, TLR2, TLR4; NF- κ B p65 及 I κ B α ; p-p65, p-Smad2/3, TNF- α , IL-6, IL-1 β , α -SMA, TGF- β ; p-NF- κ B, JNK, P38, ERK, AQP5, Muc5ac, IL-17, TNF- α

中医药的研究早已向微观世界大踏步的迈入,研究内容也逐渐的充实。仅中医药防治慢性阻塞性肺疾病气道重塑相关信号通路的研究较多,而其他的通路,可能对 COPD 气道重塑产生干预作用的其他通路却较少,如 JAK/STAT 与气道重塑的研究,还有单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 等等。除此之外,如此多的研究成果,无不昭示着中医药对信号通路的干预能力,一剂方甚至一味药都会对疾病产生多靶点的干预作用,展现出已有 5 000 年发展史的中医药仍然保持着旺盛的生命力,有望通过细致入微的努力让中医药再一次涅槃。

[5] 谢文英,季书,尚立芝,等.慢性阻塞性肺疾病结构重塑机制与中医药治疗进展[J].中国老年学杂志,2018,38(21):5342-5346.

[6] 田燕歌,董浩然,刘学芳,等.补肺益肾方对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺泡表面活性蛋白 A、D 及肺泡结构的影响[J].中医学报,2018,33(1):99-105.

[7] 陈四清,季书,尚立芝,等.二陈汤加味对 COPD 大鼠转化生长因子- β_1 、组蛋白去乙酰化酶 2 基因表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):147-154.

[8] 陈四清,谢文英,尚立芝,等.二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病氧化应激、沉默信息调节因子 1 表达的影响[J].中国老年学杂志,2016,36(23):5774-5777.

[9] 陈四清,谢文英,尚立芝,等.二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病急性加重期老年患者免疫功能及 CCL18, CC16, IL-8 和 sICAM-1 的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):171-177.

[10] 尚立芝,季书,谢文英,等.二陈汤加味对 COPD 急性期患者 CC16, SP-D 及 HAT/HDAC 的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):163-170.

[11] 桂坤,杨俊,龙启忠,等.固肾定喘丸对稳定期肺肾气虚证慢性阻塞性肺疾病患者的康复观察[J].中国实验方剂学杂志,2019,doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20190731.

[12] 王靓雅,刘冰,祖权,等.补肺健脾益肾方治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病营养状况和对免疫功能的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(22):182-187.

[13] 孙杰,王东晓,桑凯.参苓白术散对 COPD 大鼠下丘脑

[参考文献]

[1] 钟南山.慢性阻塞性肺疾病在中国[J].中国实用内科杂志,2011,31(5):321-322.

[2] 中华医学会呼吸病学会分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J].中华结核和呼吸杂志,2013,36(4):255-264.

[3] Vestbo J, Mathioudakis A G. The emerging Chinese COPD epidemic [J]. Lancet, 2018, 391 (10131): 1642-1643.

[4] Masala S, Magrini A, Taglieri A, et al. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients with osteoporotic vertebral compression fractures (OVCFs): improvement of pulmonary function after percutaneous vertebroplasty (VTP) [J]. Eur Radiol, 2014, 24 (7): 1577-1585.

- 及胃组织 Ghrelin, Obestatin 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 85-90.
- [14] 谢文英, 季书, 尚立芝, 等. 二陈汤加味对 COPD 患者缺氧诱导因子-1 α 及沉默信息调节因子 1 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(10): 155-162.
- [15] Diagnosis and management of stable chronic obstructive pulmonary disease: a clinical practice guideline update from the American College of Physicians, American College of Chest Physicians, American Thoracic Society and European Respiratory Society[J]. *Ann Intern Med*, 2011, 155(3): 179-191.
- [16] 武红莉, 冯淬灵, 武维屏. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型气道炎症与重塑的实验研究[J]. 中日友好医院学报, 2006, 20(2): 95-98.
- [17] Harju T, Kinnula V L, Paakko P, et al. Variability in the precursor proteins of collagen I and III in different stages of COPD[J]. *Respir Res*, 2010, 11(1): 165-170.
- [18] Bassiouny A R, Zaky A Z, Abdumalek S A, et al. Modulation of P-endonuclease I levels associated with hepatic cirrhosis in rat model treated with human umbilical cord blood mononuclear stem cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011, 4(7): 692-707.
- [19] Yildirim E, Kormi I, Baolu K, et al. Periodontal health and serum, saliva matrix metalloproteinases in patients with mild chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Periodontal Res*, 2013, 48(3): 269-275.
- [20] 李红梅, 崔德健, 佟欣, 等. 基质金属蛋白酶在大鼠慢性阻塞性肺疾病模型气道细胞外基质重塑中的作用[J]. 中华内科杂志, 2002, 41(6): 393-398.
- [21] 王成阳, 刘向国, 彭青和, 等. MMPs 系统和细胞因子在慢性阻塞性肺疾病模型大鼠中的作用[J]. 免疫学杂志, 2013, 29(12): 1024-1029.
- [22] 吴珂, 尚立芝, 谢文英, 等. 二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病细支气管壁细胞外基质重塑的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14): 122-127.
- [23] 徐飞, 林锦培, 李璐璐, 等. 赤芍对慢性阻塞性肺疾病大鼠气道重塑的影响及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1755-1760.
- [24] 王映棋. 玉屏风散加味方及“涤痰”和“逐瘀”药调节 MMP-9 与 TIMP-1 影响 COPD 气道重塑的机制研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2017.
- [25] 张毅, 李娟, 王庆胜, 等. 芪蛭皱肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺组织基质金属蛋白酶 9 和金属蛋白酶抑制剂 1 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2019, 26(1): 63-67.
- [26] 石亚莉, 楼黎明, 陈素珍, 等. 虎杖对 COPD 模型大鼠肺组织 MMP-9、TIMP-1 表达的干预研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2018, 28(4): 271-273, 281, 344.
- [27] 黄少君, 傅汝梅. 培土生金方对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者气道重塑机制的观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 174-179.
- [28] YANG Y C, ZHANG N, Van Crombruggen K, et al. Transforming growth factor-beta1 in inflammatory airway disease: a key for understanding inflammation and remodeling[J]. *Allergy*, 2012, 67(10): 1193-1202.
- [29] Ten Dijke P, Hill C S. New insights into TGF-beta-Smad signaling[J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(5): 265.
- [30] 周语平, 杨成林. 理肺化纤方对肺纤维化大鼠的防治作用及对 TGF- β_1 /Smad3 信号转导通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 151-155.
- [31] TIAN X P, YIN Y Y, LI X. Effects and mechanisms of *Acremonium terricola milleretal* mycelium on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats[J]. *Am J Chin Med*, 2011, 39(3): 537-50.
- [32] HONG S W, Jung K H, Lee H S, et al. Suppression by fucoidan of liver fibrogenesis via the TGF- β /Smad pathway in protecting against oxidative stress[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75(5): 833-840.
- [33] Kim D Y, Kwon E Y, HONG G U, et al. Cigarette smoke exacerbates mouse allergic asthma through Smad proteins expressed in mast cells [J]. *Respir Res*, 2011, doi: 10.1186/1465-9921-12-49.
- [34] 刘坦. COPD 肺气虚证大鼠肺组织结构变化及爱罗咳嗽宁方干预研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.
- [35] 尚立芝, 季书, 刘坦, 等. 二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病大鼠信号转导蛋白 Smad3, 4, 6, 7 基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(10): 139-146.
- [36] 王晓晓. 基于 NF- κ B 和 TGF- β_1 /Smads 信号通路探讨益肺散结法调节 COPD 气道重塑机理的研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2017.
- [37] ZHANG W W, DU L P, Susan J, et al. The effects of the small GTPase RhoA on the Muscarinic contraction of Airway smooth Muscle result from its role in regulating actin polymerization [J]. *Am J Physiol Cell physiol*, 2010, 299(5): 298-306.
- [38] 周静, 庞剑. 小青龙汤对哮喘缓解期患者外周血中 IL-4、IL-12 影响的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9(12): 1333-1335.
- [39] 黄健莹, 梁健健, 钟维农, 等. RhoA/Rho 激酶及其抑制剂对 COPD 大鼠气道重塑的影响[J]. 广州医药, 2014, 45(4): 27-30.
- [40] 黄鹤. COPD 患者血清 Rho 激酶水平测定的临床意义及参七化痰方对 COPD 模型大鼠肺组织 Bax、Bcl-2、RhoA mRNA、Rock I/II mRNA 表达的影响[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2017.
- [41] 赵克明, 鞠宝兆, 曲妮妮, 等. 加味小柴胡汤对哮喘大

- 鼠 Rho/Reok 信号传导通路的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(4):500-503.
- [42] 郭春荣, 孙祝美, 陈晨, 等. 宣肺平喘方对哮喘大鼠 Rho/Rock 信号通路调控作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2016, 23(6):656-659.
- [43] Boeck L, Mandal J, Costa L, et al. Longitudinal measurement of serum vascular endothelial growth factor in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Respiration*, 2015, 90(2):97-104.
- [44] 吴刚. 慢性阻塞性肺疾病患者血清基质金属蛋白酶、VEGF 水平的变化及其临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(1):79-83.
- [45] GE Z, LI B, ZHOU X, et al. Basic fibroblast growth factor activates β -catenin/RhoA signaling in pulmonary fibroblasts with chronic obstructive pulmonary disease in rats[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 423(12):165-174.
- [46] 高蔚, 李敏. COPD 患者诱导痰中血管内皮生长因子水平的变化及意义[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(3):447-448.
- [47] Tsai M J, WANG T N, LIN Y S, et al. Aryl hydrocarbon receptor agonists upregulate VEGF secretion from bronchial epithelial cells[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2015, 93(11):1257-1269.
- [48] 宋素莉. 百令胶囊联合常规西医药物对稳定期 COPD 患者气道重塑进程的影响[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(15):2033-2036.
- [49] 彭静, 陈静, 田守征. 黄芪白术配伍干预慢性阻塞性肺疾病气道重塑的实验研究[J]. 河北中医, 2018, 40(9):1379-1383.
- [50] 王璐, 陈芳, 徐志波, 等. 保肺定喘汤对 COPD 大鼠气道重塑中 VEGF 及受体 R1、R2 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(10):3647-3650.
- [51] 吴雪琴. 冬虫夏草早期干预对 COPD 模型大鼠气道重塑及血管内皮功能的影响[J]. 中华全科医学, 2015, 13(4):594-595, 620, 689.
- [52] 王晓然. 基于“肺络微型癥瘕”假说中药干预 COPD 模型大鼠气道平滑肌细胞增殖及对 ERK 通路影响的研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2017.
- [53] 薛晓明, 王洋, 赵勤萍, 等. 宣肺平喘胶囊对慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2):120-125.
- [54] Vanessa B J, Stuart E, Judy B, et al. Dysregulated apoptosis and NF- κ B expression in COPD subjects[J]. *Respir Res*, 2009, 10(1):24.
- [55] Lee K Y, Ho S C, LIN H C, et al. Neutrophil-derived elastase induces TGF beta1 secretion in human airway smooth muscle via NF-kappaB pathway[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006, 35(4):407-414.
- [56] Gundemir S, Colak G, Tucholski J, et al. Transglutaminase 2: a molecular Swiss army knife[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823(2):406-419.
- [57] XIAO M, ZHU T, WANG T, et al. Hydrogen-rich saline reduces airway remodeling via inactivation of NF- κ B in a murine model of asthma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(8):1033-1043.
- [58] Milara J, Serrano A, Peiró T, et al. Acridinium inhibits human lung fibroblast to myofibroblast transition[J]. *Thorax*, 2012, 67(3):229-237.
- [59] ZHU Y G, QU J M. Toll like receptors and inflammatory factors in sepsis and differential expression related to age[J]. *Chin Med J*, 2007, 120(1):56-61.
- [60] Yamamoto M, Akira S. Mechanisms of innate immune responses mediated by Toll-like receptors[J]. *Clinical Applied Immunol Rev*, 2005, 5(3):167-183.
- [61] 何博. 理肺汤治疗慢性阻塞性肺病大鼠调控 NF- κ B 机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2016.
- [62] 詹少锋. 益气化痰方对慢性阻塞性肺疾病小鼠气道炎症及黏液分泌的调节机制研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2015.
- [63] 文秀华, 王飞, 苏凯. 补肺汤通过调控 TLR2/NF- κ B 信号转导通路改善慢性阻塞性肺疾病气道重塑机制研究[J]. 河南中医, 2018, 38(6):838-843.
- [64] 李宁. 三七、莪术主成分调控巨噬细胞 NF- κ B、TGF- β 信号通路的实验研究[D]. 昆明:云南中医学院, 2018.

[责任编辑 周冰冰]