

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.05.001

✦基础医学研究✦

基于转录组学探究参苓白术散调控 Rap1 通路改善慢性阻塞性肺疾病小鼠炎症的作用机制

曾珠¹, 袁倩¹, 朱思聪¹, 唐文君¹, 黄云凌², 陈娟²

(成都中医药大学附属医院, 1. 呼吸内科, 四川 成都 610075; 2. 德阳医院肺病科, 四川 德阳 618000)

【摘要】目的: 探讨参苓白术散对香烟诱导的慢性阻塞性肺疾病(COPD)小鼠模型的影响。**方法:** 将 24 只 BALB/c 雌性小鼠随机分为对照组(Control 组)、模型组(COPD 组)、低剂量参苓白术散组(L-SBP 组)和高剂量参苓白术散组(H-SBP 组)。采用脂多糖(LPS)联合香烟烟雾(CS)构建小鼠 COPD 模型。造模后,参苓白术散低、高剂量组分别给予参苓白术散 1.72 g/kg、3.44 g/kg 灌胃,对照组和模型组给予等体积生理盐水,共治疗 8 周。给药结束后使用苏木精-伊红(HE)染色、Masson 染色和免疫组化观察肺组织的病理改变;采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)和白细胞介素 6(IL-6)水平。通过转录组测序(RNA-seq)筛选差异表达基因(DEGs),并进行基因集富集分析(GSEA)、基因本体(GO)功能及京都基因与基因百科全书(KEGG)通路富集分析,采用蛋白印迹法(WB)对肺组织中目标通路关键蛋白水平进行验证。**结果:** SBP 显著改善了 CS/LPS 诱导的小鼠 COPD 的病理特征。此外,SBP 降低了 Caspase-3 和 α -SMA 蛋白的表达,并提高了 Ki67 蛋白水平。SBP 治疗还降低了 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的水平,在高剂量时更为明显。转录组测序显示 SBP 治疗显著影响了 Rap1 通路。SBP 增加了 Rap1 通路关键蛋白(包括 Rap1、HGF 和 Angpt2)的表达水平。**结论:** SBP 通过激活 Rap1 通路抑制了 COPD 中的炎症反应。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;参苓白术散;炎症反应;小鼠模型

【中图分类号】 R285.5 **【文献标志码】** A

Elucidating the mechanism by which Shenling baizhu powder regulates the Rap1 pathway to ameliorate inflammation in mice with chronic obstructive pulmonary disease based on transcriptomics

ZENG Zhu¹, YUAN Qian¹, ZHU Si-cong¹, TANG Wen-jun¹, HUANG Yun-ling², CHEN Juan²

(1. Department of Respiration, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075; 2. Department of Pulmonology, Deyang Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Deyang 618000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of Shenling baizhu powder (SBP) on cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in mice. **Methods:** 24 male BALB/c mice were randomly divided into four groups: control group, COPD group, low-dose SBP group (L-SBP group), and high-dose SBP group (H-SBP group). A COPD mouse model was established by combined exposure to lipopolysaccharide (LPS) and cigarette smoke (CS). After modeling, the L-SBP and H-SBP groups were administered SBP via oral gavage at doses of 1.72 g/kg and 3.44 g/kg, respectively, while the control and COPD groups received equal volumes of normal saline. Treatment continued for 8 weeks. After treatment, hematoxylin-eosin (HE) staining, Masson staining, and immunohistochemistry were used to observe pathological changes in lung tissue. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-6 (IL-6). Transcriptomic sequencing (RNA-seq) was performed to identify differentially expressed genes (DEGs), followed by gene set enrichment analysis (GSEA), gene ontology (GO) functional analysis, and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis. Western blot (WB) was used to validate the expression levels of key pathway proteins in lung tissue. **Results:** SBP significantly alleviated the pathological features of COPD induced by CS/LPS in mice. Furthermore, SBP treatment reduced the expression of Caspase-3 and α -SMA proteins and increased Ki67 protein levels. SBP also decreased serum levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6, with more pronounced effects at the

基金项目: 四川省科技厅基金项目(2022YFS0423);成都中医药大学杏林学者基金项目(MPRC2022007)

作者简介: 曾珠(1990—),女,博士,主治医师。E-mail: zengzhu@cducm.edu.cn

通讯作者: 陈娟。E-mail: 287068422@qq.com

high dose. Transcriptomic analysis revealed that SBP treatment notably influenced the Rap1 signaling pathway. SBP up-regulated the expression of key proteins in the Rap1 pathway, including Rap1, HGF, and Angpt2. **Conclusion:** SBP inhibits the inflammatory response in COPD by activating the Rap1 signaling pathway.

【Key words】 Chronic obstructive pulmonary disease; Shenling baizhu powder; Inflammatory response; Mouse model

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 以进行性且部分可逆的气流受限为主要特征^[1]。COPD 作为全球公共卫生的重大挑战之一, 在全球死亡原因排名中位列第四, 世界经济负担中位列第八, 造成了巨大的社会负担和经济负担^[2]。

目前, 支气管扩张剂和糖皮质激素是治疗 COPD 的主要药物^[3]。虽然这些药物可以改善 COPD 患者的症状, 但它们具有许多副作用, 仍不能改善其预后^[4]。因此, 寻找有效的 COPD 治疗方案至关重要。中医药用于治疗呼吸系统疾病已有数千年历史。既往研究^[5]表明, 参苓白术散 (Shenling Baizhu Powder, SBP) 可改善稳定期 COPD 患者的运动耐力和生活质量。然而, 参苓白术散在 COPD 中的具体作用及其潜在分子机制仍不清楚。Ras 相关蛋白-1 (Ras-proximate-1, Rap1) 是 Ras GTPase 家族成员, 以其直接激活内皮和上皮细胞对底物粘附的能力而闻名。Rap1 依赖性信号传导对呼吸机相关性肺损伤具有保护作用, 并能减轻肺内皮屏障功能障碍^[6]。此外, Rap1 信号通路受 Epacl 和 Epac2 蛋白调节, 这些蛋白可抑制肺纤维化和炎症^[7]。这些发现表明 Rap1 信号通路可能在 COPD 中发挥作用。因此, 探索 SBP 与 Rap1 信号通路在 COPD 中的相关性具有重要意义。

在本研究拟探究 SBP 治疗在脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 联合香烟烟雾 (Cigarette smoke, CS) 构建小鼠 COPD 模型中的作用, 并探讨了 SBP 治疗对 Rap1 信号通路的调节。

1 材料与方法

1.1 实验动物

由北京斯贝福生物技术有限公司购入 24 只 BALB/c 雄性小鼠 (6-8 周龄, 18-20 g)。所有动物均饲养在成都中医药大学 SPF 级动物房内, 自然昼夜节律光照环境, 自由饮食饮水。本研究通过成都中医药大学动物伦理委员会审批 (2025053)。

1.2 药物与试剂

参苓白术散购自北京同仁堂股份有限公司; 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒购自碧云天 (C0107); Masson 染色试剂盒购自 Solarbio (C0121); 抗 Ki67 和抗 Caspase 3 购自 Abcam (ab15580; ab13585); 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β) 和

IL-6 ELISA 试剂盒均购自 Merck。

1.3 分组与给药

适应性喂养 1 周后, 将小鼠随机分为对照组 (Control 组)、慢性阻塞性肺疾病模型组 (COPD 组)、低剂量参苓白术散治疗组 (LSBP 组) 和高剂量参苓白术散治疗组 (HSBP 组), 每组各 6 只。参考既往研究^[8]设定高剂量为 3.44 g/kg, 低剂量为其半量 (1.72 g/kg)。除对照组外, 其余各组小鼠均采用 CS 暴露联合 LPS 气管滴注法构建 COPD 小鼠模型^[9]: 在第 1 天和第 14 天采用气管内给药方式予以 LPS (2 mg/kg), 给药当天不给予烟熏。其余每天均将小鼠置于自制玻璃盒中, 暴露于 CS (产自中国重庆烟草工业有限公司) 中, 2 次/d, 连续 12 周。每次共点燃 10 支香烟, 每支 1 h。造模结束后, HSBP 组和 LSBP 组分别灌胃相应浓度的参苓白术散溶液, Control 组和 COPD 组灌胃等体积生理盐水, 1 次/d, 持续 8 周。

1.4 HE 染色和 Masson 染色

将小鼠用 1% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉处死后, 立即取出左肺并固定于 4% 多聚甲醛中, 进行脱水透明, 石蜡包埋后切片。使用 HE 染色和 Masson 染色进行病理学观察。

1.5 免疫组化染色

分别使用 Caspase-3 和 Ki67 的免疫组化 (IHC) 染色分析细胞凋亡率和增殖率。

1.6 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测

采集小鼠眼眶血, 离心取血清, 根据试剂盒说明书采用 ELISA 法检测各组小鼠血清中的促炎因子的表达, 包括 TNF- α 、IL- 1β 及 IL-6。

1.7 转录组测序与富集分析

将液氮保存的 H-SBP 组和 COPD 组的肺组织委托上海欧意生物技术有限公司进行 RNA 提取及转录组测序。使用 mRNA-seq 样本制备试剂盒 (Illumina, San Diego, CA, USA) 构建文库, 并在 HiSeq 2000 (Illumina) 上进行单端测序。差异表达基因 (Differentially expressed genes, DEGs) 的截断标准设定为 $P < 0.05$ 和 $|\log FC| > 1.5$ 。采用 R 语言 “ggplots2” 软件包绘制 DEGs 火山图, “pheatmap” 软件包绘制双向聚类热图。使用 R 语言 “cluster profiler” 软件包对 DEGs 进行基因本体论 (Gene Ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,

KEGG)富集分析。使用 GSEA 平台 (www.gsea-msigdb.org/gsea/index.jsp)进行 GSEA 富集分析。

1.8 蛋白质印迹法 (Western blot, WB)

采用蛋白质印迹法检测肺组织中 Rap1 蛋白的表达。

1.9 统计学分析

使用 GraphPad Prism 软件 8.0 版进行数据分析。计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 进行描述,组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较,采用 SNK-*q* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SBP 对 COPD 小鼠肺组织病理变化的影响

HE 染色显示,COPD 组支气管腔明显变形,上皮细胞明显脱落,肺泡腔融合,支气管壁损伤,支气管壁周围大量炎性细胞浸润。同时,与 COPD 组相比,L-SBP 组气道上皮排列更规则,肺泡受累减少,

炎性细胞浸润减少,而 H-SBP 组的 COPD 病理特征几乎消失,接近健康水平(图 1)。Masson 染色用于评估肺纤维化。COPD 组在气道上皮和粘膜下层显示出明显的蓝色染色的胶原纤维。SBP 治疗后,胶原沉积显著减少,尤其是在 H-SBP 组(图 2)。

2.2 SBP 减少 COPD 小鼠肺组织细胞凋亡和增殖

与对照组相比,COPD 组 Ki67 阳性染色的细胞数量减少($P < 0.05$),而 Caspase-3 阳性染色的细胞数量增加($P < 0.05$)(图 3 及图 4)。

2.3 SBP 降低了 CS/LPS 诱导的小鼠 COPD 模型促炎因子的水平

COPD 组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的浓度高于对照组($P < 0.05$)。值得注意的是,与 COPD 组相比,L-SBP 组和 H-SBP 组的这些促炎因子浓度均降低($P < 0.05$),且在 H-SBP 组中观察到的水平更低(图 5)。这些结果表明 SBP 治疗抑制了 COPD 中的炎症反应。

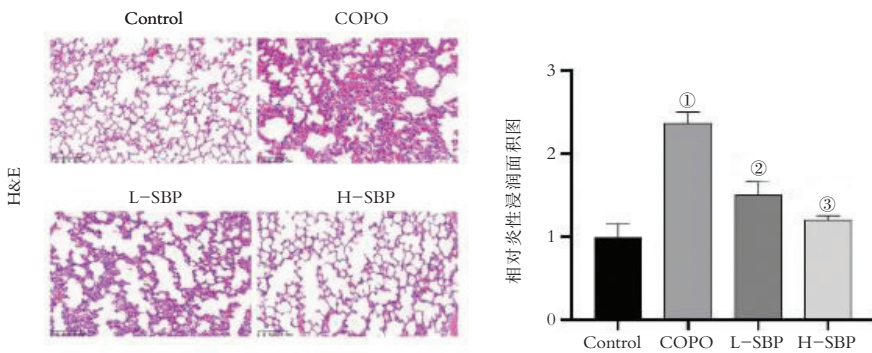


图 1 肺组织染色结果(HE×200)

A. 比例尺:100 μ m;B. 以 Control 组为标准,相对炎性浸润面积统计结果。

① $P < 0.001$,与 Control 组比较;② $P < 0.001$,与 COPD 组比较;③ $P < 0.001$,与 COPD 组比较。

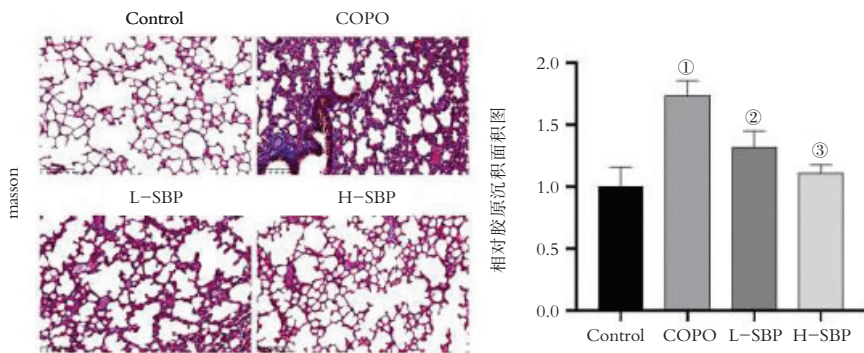


图 2 肺组织 Masson 染色结果(HE×200)

A. 比例尺:100 μ m;B. 以 Control 组为标准,相对胶原沉积面积统计结果。

① $P < 0.001$,与 Control 组比较;② $P < 0.05$,与 COPD 组比较;③ $P < 0.01$,与 COPD 组比较。

2.4 转录组测序鉴定 H-SBP 组与 COPD 组之间的差异表达基因(DEGs)

鉴于 H-SBP 对 COPD 治疗效果最佳,故选择其进行后续实验。选择 COPD 组和 H-SBP 组小鼠

的肺组织样本进行转录组测序以鉴定 DEGs。使用 FPKM 值使表达水平标准化(图 6A)。结果显示有 321 个 DEGs,包括 168 个上调基因和 153 个下调基因,通过火山图进行可视化(图 6B)。然后课题组筛

选了前 40 个 DEGs(表 2,3)并绘制了热图(图 6C)以清晰展示 DEGs 的表达趋势。此外,对炎性细胞因子和凋亡相关因子的 RNA 转录测序结果进行了聚类分析。研究表明,在 SBP 组中,大多数炎性细胞因子和凋亡相关因子的表达水平显著低于 COPD 组。此外,SBP 组中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的水平降低,这与 ELISA 结果一致(图 7)。

2.5 DEGs 的 GO 和 KEGG 功能富集分析

将 DEGs 提交至 DAVID 进行 GO 和 KEGG 通路富集分析。GO 分析表明,上调基因主要与以下方面相关:生物过程(BPs)方面,包括细胞粘附、神经元投射发育、神经系统发育和多细胞生物发育;分子功能(MFs)方面,包括钙离子结合、神经元分化和神经元分化生成;细胞组分(CCs)方面,包括质膜、细胞外周和细胞外基质(图 8A)。下调基因主要参与:生物过程(BPs)方面,包括晶状体发育、视觉感知、光刺激的感觉感知和感觉系统发育;分子功能(MFs)方面,包括晶状体结构成分、趋化因子活性和 CXCR 趋化因子受体结合;细胞组分(CCs)方面,包

括超分子纤维、聚合物和复合物(图 8B)。此外,KEGG 分析显示,上调基因主要富集在 Rap1、MAPK、TGF- β 和 Wnt 信号通路(图 8C)。下调基因主要涉及 IL-17、TNF、p53 和雌激素信号通路(图 8D)。此外,所有 DEGs 的 GO 注释主要富集在同源细胞粘附和晶状体结构成分(图 9A)。对于 KEGG 富集分析,总 DEGs 主要与酪氨酸代谢、非洲锥虫病和 IL-7 信号通路相关(图 9B)。

2.6 SBP 在 CS/LPS 诱导的小鼠 COPD 模型中激活了 Rap1 信号通路

GSEA 显示,Rap1 信号通路在 SBP 组增强,而在 COPD 组受到抑制(图 10A),表明 SBP 可能通过激活 Rap1 信号通路对 COPD 发挥治疗作用。随后,通过 Western blot 评估了 Rap1 信号通路相关蛋白的表达水平。结果显示,与对照组相比,COPD 组中 Rap1、HGF 和 Angpt2 水平均降低($P < 0.05$)。低剂量和高剂量 SBP 治疗提高了这些蛋白的表达水平($P < 0.05$)(图 10B)。总之,SBP 治疗激活了 COPD 中的 Rap1 信号通路。

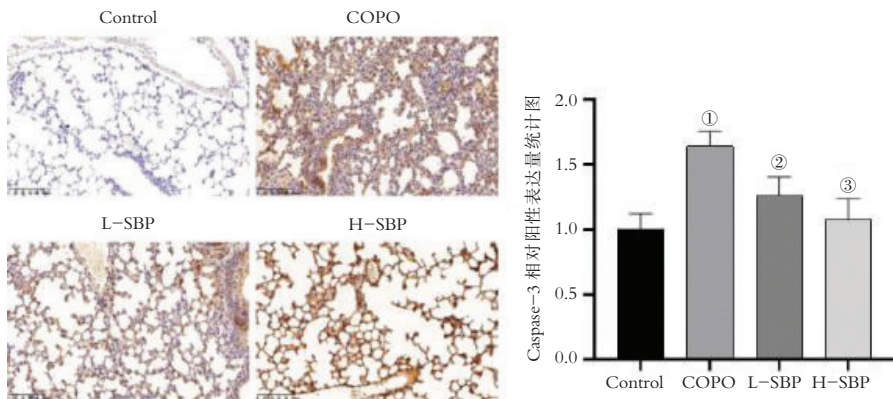


图 3 肺组织 Caspase-3 的 IHC 染色结果($\times 200$)

A. 比例尺:100 μm ;B. 以 Control 组为标准,相对阳性表达量统计结果。

① $P < 0.001$,与 Control 组比较;② $P < 0.05$,与 COPD 组比较;③ $P < 0.01$,与 COPD 组比较。

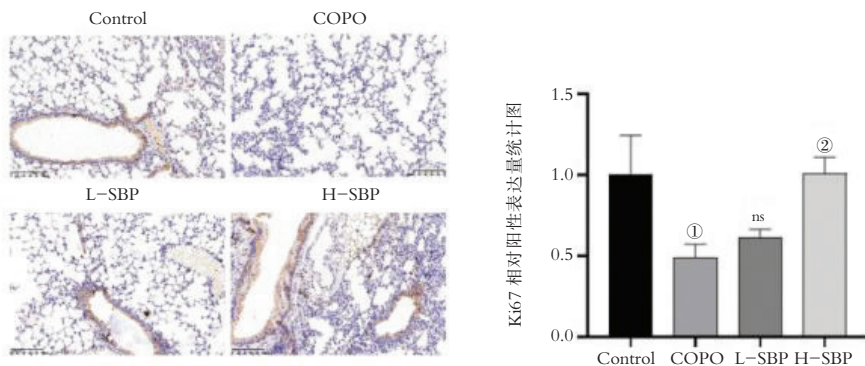


图 4 肺组织 Ki67 的 IHC 染色结果($\times 200$)

A. 比例尺:100 μm ;B. 以 Control 组为标准,相对阳性表达量统计结果。

① $P < 0.01$,与 Control 组比较;ns $P > 0.05$,与 COPD 组比较;② $P < 0.01$,与 COPD 组比较。

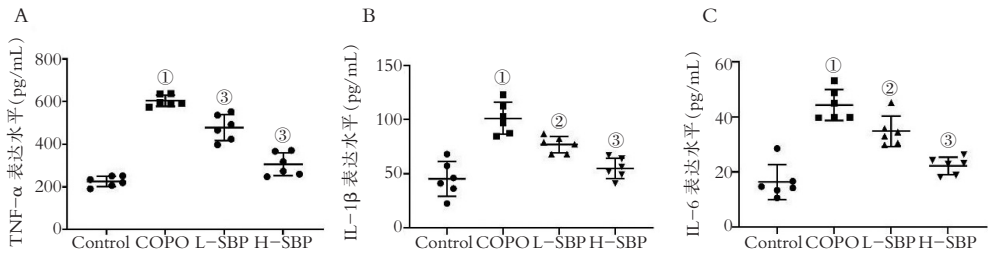


图5 血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平

① $P < 0.001$, 与 Control 组比较; ② $P < 0.05$, 与 COPD 组比较; ③ $P < 0.001$, 与 COPD 组比较。

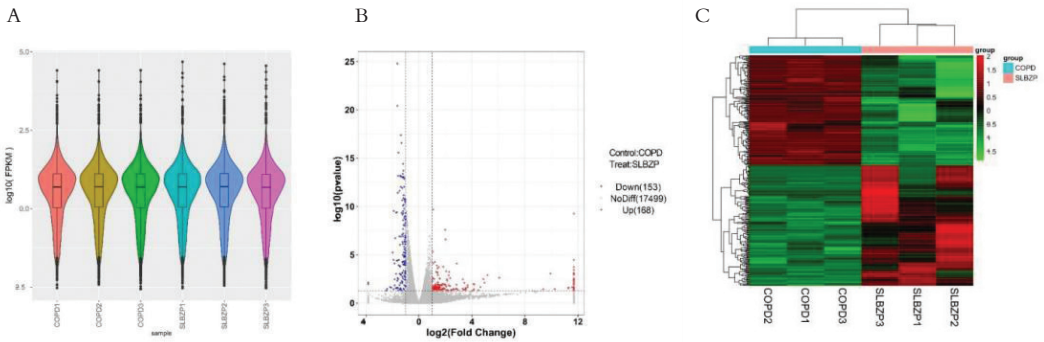


图6 COPD组和H-SBP组的top40的DEGs

A. FPKM 算法进行归一化处理; B. DEGs 火山图; C. top4 的 DEGs 热图。

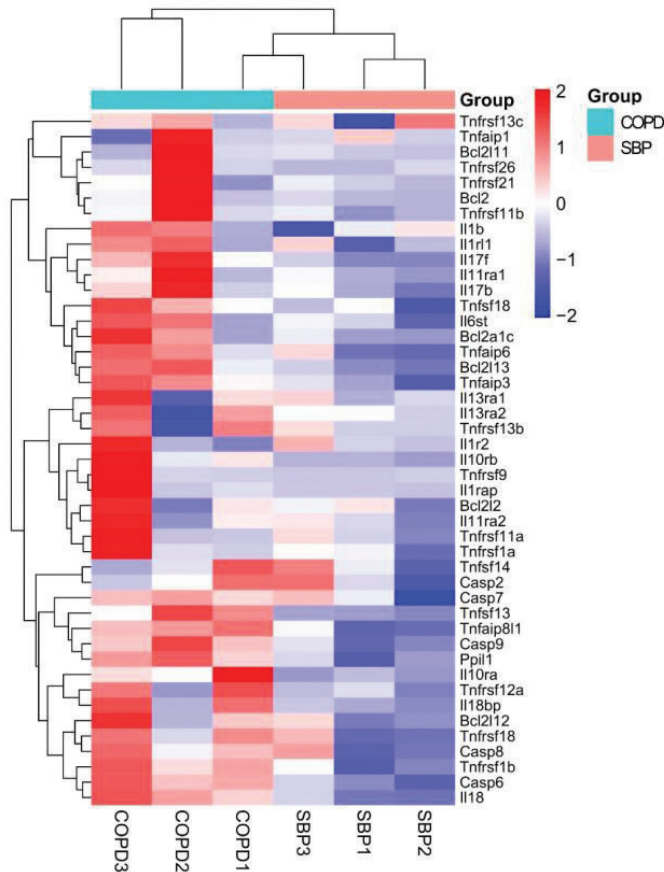


图7 ELISA 检测血清炎症因子的表达

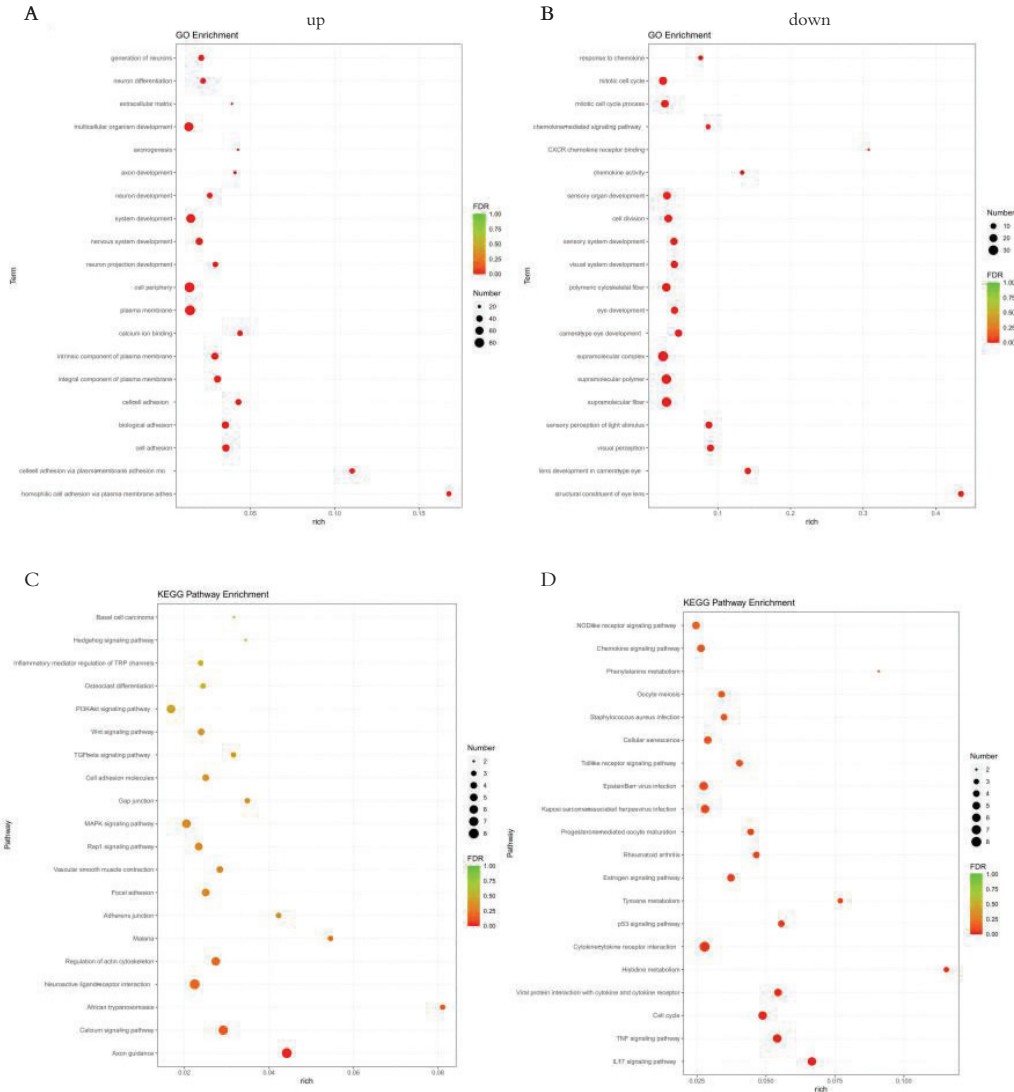


图 8 DEGs 的 GO 和 KEGG 功能富集分析-上调基因与下调基因

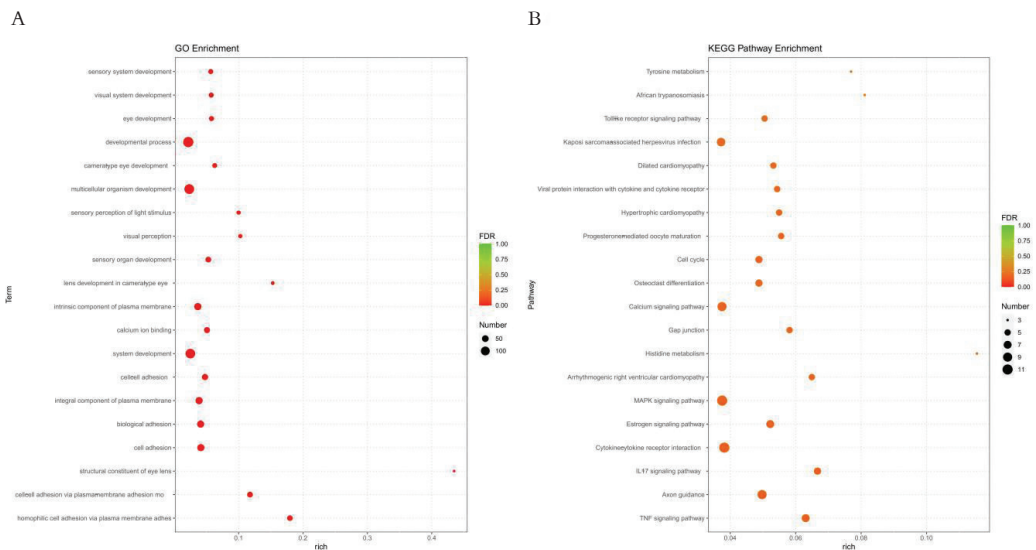


图 9 DEGs 的 GO 和 KEGG 功能富集分析-所有基因

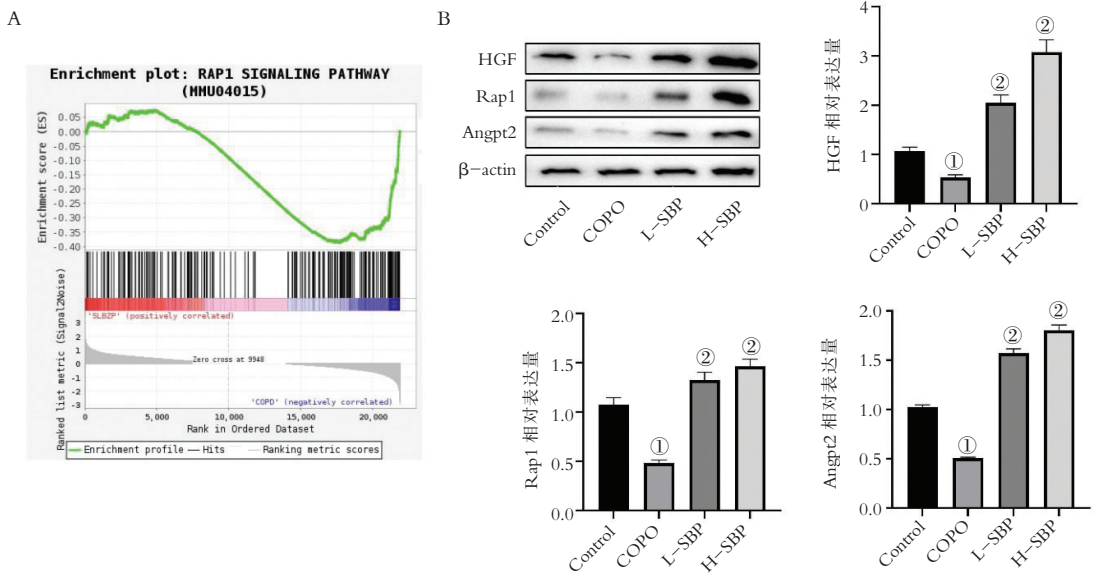


图 10 参苓白术散可激活 COPD 小鼠的 Rap1 信号通路

A. DEGs 的 GSEA 富集分析; B. Rap1 蛋白表达水平的 Western blot 结果。

① $P < 0.001$, 与 Control 组比较; ② $P < 0.001$, 与 COPD 组比较。

3 讨论

COPD 是一种以进行性且部分可逆的气流受限为特征的慢性炎症性疾病^[10]。既往研究^[11]已证明多种中药对 COPD 具有治疗益处。在本研究中,课题组发现 SBP 改善了 CS/LPS 诱导的小鼠 COPD 模型的病理特征,并降低了凋亡相关因子和炎症因子的水平。转录组测序分析揭示,SBP 可能通过调节 Rap1 通路抑制 COPD 的发展。除此之外,Western blot 结果显示,与对照组相比 SBP 干预不仅逆转了 COPD 小鼠肺组织中 Rap1 蛋白的低表达,还显著上调 HGF 和 Angpt2 的水平,且三者表达均高于正常对照,既往研究^[12-14]表明,HGF 与 Angpt2 本身即是 Rap1 信号通路的上游激活因子,据此课题组推测,SBP 可能首先激活了 Rap1 信号通路,进而通过某种未知的负反馈或旁分泌机制,诱导了 HGF 与 Angpt2 的表达升高;而后者又可进一步反哺并放大 Rap1 的激活,从而形成一个潜在的正向反馈回路,导致三者修复过程中出现协同性过度表达。这一推测尚需后续实验加以验证。

吸烟是 COPD 首要且最普遍的危险因素。CS 中的有害物质可诱导自噬损伤、肺屏障功能障碍、上皮-间质转化、组织重塑、肺血管内皮细胞凋亡和炎症反应^[15]。在本研究中,课题组通过让小鼠暴露于 CS 和 LPS 建立小鼠 COPD 模型。SBP 治疗有效减轻了肺纤维化和细胞凋亡,这是 COPD 的特征性病理变化。此外,凋亡和纤维化与炎症反应相关^[16]。在正常情况下,NF- κ B 与 NF- κ B 抑制剂(I κ Bs)结合,以无活性的胞质形式存在^[17]CS 刺激导致 I κ B α

磷酸化和降解,从而激活 NF- κ B,促进多种炎症介质(如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α)的转录^[18]。CS 诱导的促炎细胞因子(如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6)的释放导致气道的多种改变,包括上皮脱落、杯状细胞化生、血管生成和纤维化^[19]。既往研究表明 CS 会加剧炎症反应和细胞凋亡^[20-21]。课题组的研究结果显示,在 CS/LPS 诱导的小鼠 COPD 模型中凋亡率增加。促炎因子(包括 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6)的水平与健康对照组相比显著升高,这与先前研究的结果一致。

中医药可以通过调节多种信号通路发挥其抗 COPD 作用。六味补气胶囊通过调节 JAK/STAT 通路减轻 COPD 进展^[22]。调补肺肾方在 COPD 相关气管支气管软化症的细胞模型中抑制 caveolin 1-p38 MAPK 信号通路^[23]。青蒿琥酯通过调节 PPAR- γ /TGF- β 1/Smad2/3 信号通路有效减轻 CS 引起的气道重塑^[24]。本研究发现 SBP 治疗影响了 PI3K/Akt、Wnt、Rap1 和 TNF 信号通路。此外,GSEA 揭示了 SBP 与 Rap1 通路在 COPD 中存在显著的正相关性。SBP 提高了 Rap1、Angpt2 和 HGF 的蛋白表达水平,这些是 Rap1 信号通路的关键蛋白。Rap1 参与肺纤维化^[25]。通过调节 Rap1,前列环素后处理可改善 LPS 诱导的急性肺损伤和内皮屏障恢复^[26]。Angpt2 是一种糖蛋白,在肺的血管发育、血管生成和血管通透性调节中具有重要功能^[27]。HGF 参与维持肺泡稳态,增强的 HGF 信号可改善肺气肿小鼠的气腔形态^[28]。此外,HGF 信号促进肺切除术后肺生长,刺激分支形态发生,并减轻炎症性肺损伤^[29-30]。这表明 SBP 通过调节 Rap1 信号通路改善 COPD。

本研究存在一定局限性。首先,对高通量测序鉴定出的 DEGs 进行的 KEGG 富集分析表明,H-SBP 可能与 Rap1、MAPK、TGF- β 和 Wnt 信号通路存在显著的潜在相关性,提示 SBP 可能通过多靶点、多通路协同调控 COPD 进程。然而,本研究仅对其中 Rap1 信号通路进行了初步验证,其余相关通路的作用机制有待后续深入探究。其次,本研究采用香烟烟雾诱导的小鼠 COPD 模型开展,尚未设置阳性药物对照,且 RNA-seq 分析中每组样本量 ($n=3$) 相对有限。尽管上述结果初步揭示了 SBP 治疗 COPD 的潜在作用机制,其可靠性与普适性仍需通过扩大样本量、增设对照及开展多模型验证进一步确认。

综上,课题组揭示了在 CS 诱导的 COPD 模型中,SBP 通过激活 Rap1 通路介导,抑制了细胞凋亡并降低了促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的水平。

参考文献

- [1] 申永春,陈磊,文富强. 2019 年慢性阻塞性肺疾病全球倡议更新要点[J]. 中华医学杂志,2018,98(48):3913-3916.
- [2] World Health Organization. The global health observatory, global health estimates: life expectancy and leading causes of death and disability [EB/OL]. [2024-08-07]. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- [3] Barnes PJ. Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Nature Reviews Immunology, 2018,18(7):454-466.
- [4] Bowerman KL, Rehman SF, Vaughan A, et al. Disease-associated gut microbiome and metabolome changes in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Nature Communications, 2020,11:5886.
- [5] Mao Y, Hu G, Meng Q, et al. Efficacy of Shenling Baizhu San on stable chronic obstructive pulmonary disease patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021,272:113927.
- [6] Birukova AA, Fu P, Xing J, et al. Rap1 mediates protective effects of iloprost against ventilator-induced lung injury[J]. Journal of Applied Physiology, 2009,107(6):1900-1910.
- [7] Haag S, Warnken M, Juergens UR, et al. Role of Epacl1 in mediating anti-proliferative effects of prostanoid EP2 receptors and cAMP in human lung fibroblasts [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2008, 378 (6): 617-630.
- [8] Feng J, Dai W, Zhang C, et al. Shen-Ling-Bai-Zhu-San ameliorates inflammation and lung injury by increasing the gut microbiota in the murine model of Streptococcus pneumonia-induced pneumonia[J]. BMC Complementary Medicine and Therapies,

2020,20(1):159.

- [9] Cai Q, Chen S, Zhu Y, et al. Knockdown of GNL3L alleviates the progression of COPD through inhibiting the ATM/p53 pathway[J]. International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2023,18:2645-2659.
- [10] Vestbo J, Hurd SS, Agustí AG, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2013, 187 (4):347-365.
- [11] Cao X, Wang Y, Chen Y, et al. Advances in traditional Chinese medicine for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023,307:116229.
- [12] Sakkab D, Lewitzky M, Posern G, et al. Signaling of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF) to the small GTPase Rap1 via the large docking protein Gab1 and the adapter protein CRKL[J]. Journal of Biological Chemistry, 2000, 275 (15): 10772-10778.
- [13] Wang L, Zhang L, Fan Y, et al. Human placenta-based genome-wide mRNA sequencing to identify TEK/IGF1/CSF1/ANGPT2 as crucial segments in the pathogenesis of pre-eclampsia[J]. Frontiers in Genetics, 2022,13:944932.
- [14] Wuttimongkolchai N, Kanlaya R, Nanthawuttiphon S, et al. Chlorogenic acid enhances endothelial barrier function and promotes endothelial tube formation: a proteomics approach and functional validation [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022,153:113471.
- [15] Hikichi M, Mizumura K, Maruoka S, et al. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by cigarette smoke [J]. Journal of Thoracic Disease, 2019, 11 (Suppl 17):S2129-S2140.
- [16] Wang L, Scabilloni JF, Antonini JM, et al. Induction of secondary apoptosis, inflammation, and lung fibrosis after intratracheal instillation of apoptotic cells in rats[J]. American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology, 2006,290 (4):L695-L702.
- [17] Li Q, Verma IM. NF-kappaB regulation in the immune system [J]. Nature Reviews Immunology, 2002,2(10):725-734.
- [18] Karimi K, Sarir H, Mortaz E, et al. Toll-like receptor-4 mediates cigarette smoke-induced cytokine production by human macrophages[J]. Respiratory Research, 2006,7(1):66.
- [19] Song HH, Shin IS, Woo SY, et al. Piscoside C, a novel iridoid glycoside isolated from Pseudolysimachion rotundum var. sub-negrum suppresses airway inflammation induced by cigarette smoke[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015,170:20-27.
- [20] Dang X, He B, Ning Q, et al. Alantolactone suppresses inflammation, apoptosis and oxidative stress in cigarette smoke-induced human bronchial epithelial cells through activation of Nrf2/HO-1 and inhibition of the NF- κ B pathways[J]. Respiratory Research, 2020,21(1):95.

(下转第 528 页)

- [28] Rensing-Ehl A, Vökl S, Speckmann C, *et al.* Abnormally differentiated CD4⁺ or CD8⁺ T cells with phenotypic and genetic features of double negative T cells in human Fas deficiency[J]. *Blood*, 2014, 124(6): 851–860.
- [29] Crispin JC, Tsokos GC. Human TCR- $\alpha\beta$ +CD4-CD8-T cells can derive from CD8⁺ T cells and display an inflammatory effector phenotype[J]. *The Journal of Immunology*, 2009, 183(7): 4675–4681.
- [30] Hsu J, Krishnan A, Lee SA, *et al.* CD3⁺CD4-CD8-Double-negative $\alpha\beta$ T cells attenuate lung ischemia-reperfusion injury[J]. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2021, 161(1): e81–e90.
- [31] Fang M, Zhong WH, Song WL, *et al.* Ulinastatin ameliorates pulmonary capillary endothelial permeability induced by sepsis through protection of tight junctions via inhibition of TNF- α and related pathways[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 823.
- [32] Kmiecik M, Gowda M, Graham L, *et al.* Human T cells express CD25 and Foxp3 upon activation and exhibit effector/memory phenotypes without any regulatory/suppressor function[J]. *Journal of Translational Medicine*, 2009, 7(1): 89.
- [33] Halász H, Papp AB, Lesinszki LS, *et al.* Neutrophil deficiency increases T cell numbers at the site of tissue injury in mice[J]. *FEBS Letters*, 2025, 599(18): 2644–2662.

(收稿日期: 2025-06-27

修回日期: 2026-01-06)

(上接第 520 页)

- [21] Sun X, Feng X, Zheng D, *et al.* Ergosterol attenuates cigarette smoke extract-induced COPD by modulating inflammation, oxidative stress and apoptosis in vitro and in vivo[J]. *Clinical Science*, 2019, 133(13): 1523–1536.
- [22] Zhou R, Luo F, Lei H, *et al.* Liujunzi Tang, a famous traditional Chinese medicine, ameliorates cigarette smoke-induced mouse model of COPD[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 193: 643–651.
- [23] Zhou P, Yu W, Zhang C, *et al.* Tiao-bu-Fei-Shen formula promotes downregulation of the caveolin 1-p38 mapk signaling pathway in COPD-Associated tracheobronchomalacia cell model[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 293: 115256.
- [24] Pan K, Lu J, Song Y. Artesunate ameliorates cigarette smoke-induced airway remodelling via PPAR- γ /TGF- β 1/Smad2/3 signalling pathway[J]. *Respiratory Research*, 2021, 22(1): 91.
- [25] Luo J, Zhang T, Zhu C, *et al.* Asiaticoside might attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis by activating cAMP and Rap1 signalling pathway assisted by A2AR[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(14): 8248–8261.
- [26] Birukova AA, Meng F, Tian Y, *et al.* Prostacyclin post-treatment improves LPS-induced acute lung injury and endothelial barrier recovery via Rap1[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2015, 1852(5): 778–791.
- [27] Uehara M, Enomoto N, Mikamo M, *et al.* Impact of angiopoietin-1 and-2 on clinical course of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respiratory Medicine*, 2016, 114: 18–26.
- [28] Calvi C, Podowski M, Lopez-Mercado A, *et al.* Hepatocyte growth factor, a determinant of airspace homeostasis in the murine lung[J]. *PLoS Genetics*, 2013, 9(2): e1003228.
- [29] Sakamaki Y, Matsumoto K, Mizuno S, *et al.* Hepatocyte growth factor stimulates proliferation of respiratory epithelial cells during postpneumonectomy compensatory lung growth in mice[J]. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2002, 26(5): 525–533.
- [30] Gazdhar A, Fachinger P, van Leer C, *et al.* Gene transfer of hepatocyte growth factor by electroporation reduces bleomycin-induced lung fibrosis[J]. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2007, 292(2): L529–L536.

(收稿日期: 2025-08-08

修回日期: 2026-01-19)