

·ARTICLES·

·论著·



DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2025.250246

自主研发的藏四味清肺合剂雾化对香烟烟雾诱导的COPD小鼠气道炎症的影响及网络药理学分析

李美智^{1,2,3,4,5}, 彭菲^{1,2,3,4,5}, 张权^{1,2,3,4,5}, 吴艳娜^{1,2,3,4,5}, 孙静萍^{1,2,3,4,5}, 雷思^{5,6}, 吴尚洁^{1,2,3,4,5}

(1. 中南大学湘雅二医院呼吸与危重症医学科, 长沙 410011; 2. 中南大学呼吸疾病研究所, 长沙 410011;
3. 湖南省呼吸与危重症疾病临床医学研究中心, 长沙 410011; 4. 湖南省呼吸疾病诊疗中心, 长沙 410011;
5. 湖南省循证医学中心, 长沙 410011; 6. 中南大学湘雅二医院全科医学科, 长沙 410011)

[摘要] 目的: 慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)发病率和病死率高, 严重危害患者的生活质量, 造成了严重的经济及公共卫生负担, 以COPD为首的慢性呼吸系统疾病已被世界卫生组织列为全球四大慢性病。藏四味清肺合剂(Zangsiwei Qingfei Mixture, ZSWQF)是本研究团队自主研发的全新藏药处方合剂, 用以治疗慢性呼吸系统疾病。本研究旨在探讨ZSWQF雾化吸入对香烟烟雾诱导的COPD小鼠气道炎症的影响及其潜在作用机制。方法: 30只C57小鼠随机分为对照组、COPD组和ZSWQF组; 其中对照组小鼠不进行烟熏干预, 雾化吸人生理盐水; COPD组和ZSWQF组小鼠均进行烟熏干预, 前者雾化吸人生理盐水, 后者雾化吸人ZSWQF治疗。采用全自动血液细胞分析仪进行白细胞(white blood cell, WBC)计数; 采用酶联免疫吸附试验检测血清丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)、血清肌酐(serum creatinine, SCr)及血清和支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中的白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 水平; 采用血球计数仪对BALF中的细胞进行分类计数; 采用小动物肺功能测定仪检测气道阻力(airway resistance, RI)、循环动态顺应性(cyclic dynamic compliance, CyDN)等指标评价小鼠的肺功能; 最后取小鼠肺组织固定, 苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色后, 采用平均线性截距(mean linear intercept, MLI)和破坏指数(destruction index, DI)评价小鼠肺组织形态学变化。收集疾病相关靶标和ZSWQF组分相关靶标, 对交集靶点和蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络进行分析, 并进行功能和通路富集分析。原代提取分离SD大鼠II型肺泡上皮细胞(type II alveolar epithelial cell, AEC II)细胞并分为对照(Control)组、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组、正常血清(Normal)组、ZSWQF水提物(water extracts of ZSWQF, W-ZSWQF)组、ZSWQF组和MLN-4760[血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)2抑制剂]组。采用蛋白印迹法分析ACE、p38[一种丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)]、磷酸化(phospho, p)-p38、胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinases 1 and 2, ERK1/2)、p-ERK1/2、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、p-JNK、核因子

收稿日期(Date of reception): 2025-05-19

第一作者(First author): 李美智, Email: limeizhi@csu.edu.cn, ORCID: 0000-0003-4865-3097

通信作者(Corresponding author): 雷思, 副研究员, Email: leisi0831@csu.edu.cn, ORCID: 0000-0002-9999-1726; 吴尚洁, 教授, E-mail: wushangjie@csu.edu.cn, ORCID: 0000-0002-4721-0705

基金项目(Foundation item): 国家临床重点专科建设项目; 湖南省重点研发计划(2024JK2125); 湖南省中医药科研计划项目(D2022017); 青海省重大科技成果转化专项(2017-SF-122); 中南大学湘雅二医院新进员工科研启航计划(7828)。This work was supported by the National Key Clinical Specialty Construction Project, the Key Research and Development Plan of Human Province (2024JK2125), the Hunan Provincial Traditional Chinese Medicine Research Project (D2022017), the Science and Technology Achievements Conversion Project of Qinghai Province (2017-SF-122), and the Scientific Research Launch Project for New Employees of the Second Xiangya Hospital of Central South University (7828), China.

开放获取(Open access): 本文遵循知识共享许可协议, 允许第三方用户按照署名-非商业性使用-禁止演绎4.0(CC BY-NC-ND 4.0)的方式, 在任何媒介以任何形式复制、传播本作品(<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)。

κ B 抑制蛋白 α (inhibitor of nuclear factor-kappa B alpha, I κ B α)、p-I κ B α 、p-核因子 κ B p65 亚基(p65 subunit of nuclear factor-kappa B, NF- κ Bp65)的蛋白质表达水平。结果: COPD 组 WBC 计数高于对照组($P<0.01$); ZSWQF 组 WBC 计数低于COPD 组($P<0.05$); 3 组小鼠脏器重量、ALT 和 sCr 差异均无统计学意义(均 $P>0.05$); 3 组血清及 BALF 中 IL-6、IL-8 和 TNF- α 水平及细胞总数、中性粒细胞和巨噬细胞数比较, COPD 组均高于对照组, ZSWQF 组均低于COPD 组(均 $P<0.05$)。COPD 组肺功能 RI 高于对照组, CyDN 低于对照组(均 $P<0.05$)。COPD 组小鼠肺泡腔严重充血, 炎症细胞大量浸润, 肺泡间隔与肺泡壁增厚, MLI 和 DI 均高于对照组(均 $P<0.05$); ZSWQF 组的 MLI 和 DI 均低于COPD 组(均 $P<0.05$)。通过网络药理学分析确定了 151 个靶点作为 ZSWQF 治疗 COPD 的潜在靶点, 核心靶点为 TNF、IL-6、蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)1、白蛋白(albumin, ALB)、肿瘤蛋白 p53(tumor protein p53, TP53)、非受体型酪氨酸激酶(non-receptor tyrosine kinase, SRC)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、信号转导及转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)3、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-9、 β -联蛋白(beta-catenin, CTNNB1), 可能通过癌症通路、磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt、低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1、钙和 MAPK 等信号通路发挥治疗 COPD 的作用。蛋白质印迹法结果表明: 与 LPS 组相比, 经 ZSWQF 含药血清干预后的 AEC II 细胞的 ACE、p-p38/p38、p-ERK1/2/ERK1/2、p-JNK/JNK、p-I κ B α /I κ B α 、p-NF- κ Bp65 水平明显降低, ACE2 水平升高。这表明 ZSWQF 可以影响 MAPK/核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 信号通路, 与网络药理学分析结果一致。结论: ZSWQF 雾化吸入对 COPD 小鼠具有较好的抗炎、减轻气道重塑的保护作用。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; 藏四味清肺合剂; 雾化吸入; 抗炎; 白细胞介素-6; 网络药理学

Effects of nebulized self-developed Zangsiwei Qingfei Mixture on airway inflammation in cigarette smoke-induced COPD mice and a network pharmacology analysis

LI Meizhi^{1, 2, 3, 4, 5}, PENG Fei^{1, 2, 3, 4, 5}, ZHANG Quan^{1, 2, 3, 4, 5}, WU Yanna^{1, 2, 3, 4, 5},
SUN Jingping^{1, 2, 3, 4, 5}, LEI Si^{5, 6}, WU Shangjie^{1, 2, 3, 4, 5}

(1. Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011; 2. Research Unit of Respiratory Disease, Central South University, Changsha 410011; 3. Clinical Medical Research Center for Pulmonary and Critical Care Medicine in Hunan Province, Changsha 410011; 4. Diagnosis and Treatment Center of Respiratory Disease in Hunan Province, Changsha 410011; 5. Hunan Provincial Evidence-based Medicine Center, Changsha 410011; 6. Department of General Medicine, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

ABSTRACT

Objective: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a major chronic respiratory condition with high morbidity and mortality, imposing a serious economic and public health burden. The World Health Organization ranks COPD among the top 4 chronic diseases worldwide. Zangsiwei Qingfei Mixture (ZSWQF), a novel Tibetan herbal formulation independently developed by our research team, has shown therapeutic potential for chronic respiratory diseases. This study aims to evaluate the effects of aerosolized ZSWQF on cigarette smoke-induced COPD in mice and explore its underlying mechanisms.

Methods: Thirty C57 mice were randomly divided into a Control group, a COPD group, and a ZSWQF group. The Control group received saline aerosol inhalation without

cigarette smoke exposure; both the COPD group and the ZSWQF group were exposed to cigarette smoke, with the former receiving saline inhalation and the latter treated with ZSWQF aerosol. White blood cell (WBC) count was performed using a fully automatic blood cell analyzer. Serum, alanine transaminase (ALT), and serum creatinine (SCr), as well as interleukin (IL)-6, IL-8, and tumor necrosis factor (TNF)- α levels in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). BALF cell classification was determined using a hematology analyzer. Lung function was assessed with a small animal pulmonary function system, including airway resistance (RI) and cyclic dynamic compliance (CyDN). Lung tissues were stained with hematoxylin and eosin (HE), and mean linear intercept (MLI) and destruction index (DI) were calculated to evaluate morphological changes. Network pharmacology was applied to identify disease-related and ZSWQF-related targets, followed by intersection and protein-protein interaction (PPI) network analysis, and enrichment analysis of biological functions and pathways. Primary type II alveolar epithelial cells (AEC II) from SD rats were isolated and divided into a Control group, a lipopolysaccharide (LPS) group, a normal serum group, a water extract of ZSWQF (W-ZSWQF) group, a ZSWQF containing serum group, and a MLN-4760 [angiotensin-converting enzyme (ACE) 2 inhibitor]. Western blotting was performed to assess protein expression of ACE, p38 [a mitogen-activated protein kinase (MAPK)], phospho (p)-p38, extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 (ERK1/2), p-ERK1/2, c-Jun N-terminal kinase (JNK), p-JNK, inhibitor of nuclear factor-kappa B alpha (IkB α), p-IkB α , and p-p65 subunit of nuclear factor-kappa B (NF- κ Bp65).

Results: WBC counts were significantly higher in the COPD group than in controls ($P < 0.01$) and decreased following ZSWQF treatment ($P < 0.05$). No significant intergroup differences were found in organ weights, ALT, or SCr (all $P > 0.05$). Serum and BALF levels of IL-6, IL-8, and TNF- α , as well as total BALF cells, neutrophils, and macrophages, were elevated in the COPD group compared with controls and reduced by ZSWQF treatment ($P < 0.05$). COPD mice exhibited increased RI, decreased CyDN, marked alveolar congestion, inflammatory infiltration, thickened septa, and higher MLI and DI values versus controls ($P < 0.05$); ZSWQF treatment significantly reduced MLI and DI ($P < 0.05$). Network pharmacology identified 151 potential therapeutic targets for ZSWQF against COPD, with key nodes including TNF, IL-6, protein kinase B (Akt) 1, albumin (ALB), tumor protein p53 (TP53), non-receptor tyrosine kinase (SRC), epidermal growth factor receptor (EGFR), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT) 3, matrix metalloproteinase (MMP) -9, and beta-catenin (CTNNB1). Enrichment analysis indicates involvement of cancer-related, phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt, hypoxia-inducible factor (HIF)-1, calcium, and MAPK signaling pathways. Western blotting results showed that compared with the LPS group, AEC II cells treated with ZSWQF-containing serum exhibited decreased expression of ACE, p-p38/p38, p-ERK1/2/ERK1/2, p-JNK/JNK, p-IkB α /IkB α , and p-NF- κ Bp65, while AEC II expression was upregulated, consistent with the MAPK/nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway regulation predicted by network pharmacology.

Conclusion: Aerosolized ZSWQF provides protective effects in COPD mice by reducing airway inflammation and remodeling.

KEY WORDS

chronic obstructive pulmonary disease; Zangsiwei Qingfei Mixture; aerosol inhalation; anti-inflammatory; interleukin-6; network pharmacology

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种持续性进行性气道疾病，以气流受限为特征^[1]。随着疾病进展，后期可出现肺心病、心血管疾病等其他合并症，发病率和病死率高，严重危害患病人群的生活质量，造成了严重的经济及公共卫生负担。以COPD为首的慢性呼吸疾病，目前已被世界卫生组织列为全球四大慢性病，在所有死亡原因中，COPD居第3位^[2]。炎症、蛋白酶-抗蛋白酶、氧化剂-抗氧化剂等多种机制参与了COPD的发病^[1]，主要表现为肺部炎症细胞(如中性粒细胞和巨噬细胞)的累积并释放大量的活性氧(reactive oxygen, ROS)，进一步导致抗蛋白酶的氧化失活、气道上皮细胞损伤、肺泡结构破坏、中性粒细胞滞留及肺微循环中炎症介质表达的增强，从而导致氧化/抗氧化失衡，加重COPD进程^[3]。现代医学对COPD患者的治疗多采用支气管舒张剂、糖皮质激素和氧疗等措施进行干预，治疗上有效，但也存在一些局限性，如不良反应和限制其长期使用。

藏四味清肺合剂(Zangsiwei Qingfei Mixture, ZSWQF)是本研究团队联合藏医、中西医专家自主研发并生产的治疗慢性呼吸系统疾病的全新藏药方，由烈香杜鹃、龙胆花、矮紫堇和小檗皮组成，具有清热化痰、止咳平喘的功效，用于痰热壅肺证所致的咳嗽、喘鸣、痰黄，或兼发热、流涕、咽痛等症状，该方已成功获批国家发明专利(专利号：ZL202111058544.X)。处方中烈香杜鹃、龙胆花清热燥湿为君药；矮紫堇、小檗皮清热化痰为臣药。本研究团队^[4]前期通过相关研究论证，其临床疗效确切，可用于呼吸系统疾病的防治。中医药治疗COPD具有多途径、多作用靶点的优势，可作为现代医学治疗的良好补充。雾化吸入疗法是治疗COPD及其他呼吸系统相关疾病的重要手段之一，具有药物利用度高、代谢损耗低、药物起效快、不良反应小和治疗无痛苦等优点，是呼吸系统疾病的重要治疗方法。本研究团队致力于研发藏药及其雾化技术，将藏药与现代技术相结合，以期达到良好的治疗效果。

ZSWQF能够用于防治呼吸系统疾病，本研究通过ZSWQF雾化吸入治疗烟雾诱导的COPD模型小鼠，探究其能否改善COPD小鼠的炎症反应，并通过网络药理学分析进一步探索ZSWQF治疗COPD的作用机制。

1 材料与方法

1.1 伦理声明

本研究方案根据国际公认的实验动物使用和护理原则进行，且已获得中南大学湘雅二医院实验动物伦理委员会批准(审批号：20240110)。

1.2 动物及分组

雄性C57小鼠30只(湖南斯莱克景达实验动物有限公司)，体重为(20±2) g。小鼠随机分为对照组、COPD组和ZSWQF组(均n=10)，对照组小鼠正常饲养，不进行烟熏干预；COPD组和ZSWQF组小鼠置于1.2 m×0.8 m×0.8 m烟熏箱中，采用5支卷烟(相思鸟，湖南中烟工业有限责任公司)熏蒸30 min，每天4次，每周5 d，共16周。3组小鼠均进行雾化吸入干预，分别将每组小鼠置于14 cm×24 cm×45 cm透明塑料雾化箱中，同时进行雾化吸入，其中对照组和COPD组雾化吸人生理盐水，ZSWQF组雾化吸入ZSWQF(湘药制备字Z20220584000)，3组小鼠雾化剂量均为每次10 mL吸入30 min、每日2次、雾化2周。每日观察并记录小鼠的进食、活动和体重等一般情况。

1.3 方法

1.3.1 白细胞计数

吸取20 μL全血至装有血细胞分析用稀释液的离心管中，采用BC-2800 Vet兽用全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)进行白细胞(white blood cell, WBC)计数。

1.3.2 酶联免疫吸附试验

干预结束后收集小鼠静脉血各5 mL于促凝管内，于4 °C下3 000 r/min离心15 min，分离血清后置于-80 °C冰箱内保存。采用的多功能酶标分析仪MB-530(深圳市汇松科技发展有限公司)测定血清丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)、血清肌酐(serum creatinine, SCr)、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-8和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α水平，试剂盒均购自维尔生物科技有限公司。

1.3.3 肺功能测定

小鼠用0.3%的戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔麻醉。固定、整皮、消毒后，切开皮肤，分离气管，轻柔暴露，在气管导管环之间水平切开气管，插入导管，

与小动物肺功能测定仪(英国EMMS, eSpiraTM forced manoeuvres system)连接, 记录气道阻力(airway resistance, RI)、循环动态顺应性(cyclic dynamic compliance, CyDN)等指标。经过一段时间的平静呼吸后, 从呼吸末端的界面迅速注入1.0 mL空气, 使小鼠被动地深吸, 并记录数据。为确保肺功能数据的质量, 手术由同一人进行。

1.3.4 支气管肺泡灌洗液细胞分类计数

颈椎脱臼处死小鼠, 打开左胸, 分离左主支气管, 沿肺叶向上结扎; 从气管切开处置入并结扎22G静脉导管, 静脉导管尾部连接1.0 mL注射器, 快速注入无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS), 使用0.5 mL单侧支气管肺泡灌洗(bronchoalveolar lavage, BAL)。注入PBS后, 用低负压缓慢回收液体, 回收率为90%~92%。将支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)混匀后, 取20 μL在血球计数仪上计数; 剩余的BALF在4 °C、1 000 r/min的条件下离心10次, 取沉淀物重新悬浮于PBS中, 制成3张细胞涂片。瑞氏染色用于细胞分类和计数。

1.3.5 肺组织病理切片

小鼠开胸取出右肺下叶, 4%甲醛溶液固定过夜。石蜡切片后行苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色观察小鼠肺组织病理改变, 光镜下观察肺组织炎症细胞浸润情况。具体判定指标包括: 1)平均线性截距(mean linear intercept, MLI)。每只小鼠取3张HE染色切片, 在低倍镜($\times 100$)下随机取5个视野(避开大血管和支气管), 在每个视野中央画1条交叉线, 计与交叉线相交的肺泡间隔(number of alveolar septa, NS)数, 测量交叉线的总长度(length, L), 并根据公式 $MLI=L/NS$ 计算肺泡平均内径。2)肺泡破坏指数(destructive index, DI)的测定参照既往研究^[5]。每只小鼠取3张HE染色切片, 每张切片在低倍镜($\times 100$)下至少观察20个不重复视野。肺泡结构的破坏分别由正常(normal, N)和受损(damage, D)记录。要求各段N、D值之和 $\geq 3\ 000$, 按公式 $DI=[D/(D+N)]\times 100\%$ 计算。

1.3.6 疾病及组分靶点分析

以“慢性阻塞性肺疾病”作为关键词, 在GeneCards、美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)和Disgenet数据库中进行人类基因搜索, 收集COPD相关靶标, 将3个数据库中的基因合并后, 获得疾病相关基因。

从PubChem数据库中获取ZSWQF中每个组分的SMILES标识符, 并将SMILES标识符导入

SwissTargetPrediction数据库以检索ZSWQF相应的组分靶标, 获得包含似然度得分 >0 的组分靶标。

1.3.7 聚类分析和途径富集分析

通过相互作用基因/蛋白质的搜索工具(Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins, STRING)数据库处理疾病-药物靶标以研究蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)。采用Cytoscape进行PPI网络可视化, 并采用mCode插件检测PPI网络中的密集连接区域并进行聚类分析。通过使用MCODE从节点得分cut-off=0.2、K-core=2和degree of cut-off=2的PPI网络中识别出显著的聚类模块。计算节点的度数值以评估重要聚类模块的拓扑特征。此外, 使用Metascape数据库对重要的聚类模块进行了基因本体论(Gene Ontology, GO)功能富集性分析和京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析。

1.3.8 蛋白质印迹法

原代提取分离SD大鼠(湖南斯莱克景达实验动物有限公司)的II型肺泡上皮细胞(type II alveolar epithelial cell, AEC II), 并在含有10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的DMEM、37 °C、5% CO₂的环境中培养。将细胞分为对照(Control)组、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)组、正常血清(Normal)组、ZSWQF水提物(water extracts of ZSWQF, W-ZSWQF)组、ZSWQF组和MLN-4760(ACE2抑制剂)组, 其中对照组作为空白对照组, LPS组细胞与10 μg/mL LPS共培养, Normal组细胞与LPS和正常血清共培养, W-ZSW组细胞与LPS和ZSWQF水提醇沉物共培养, ZSWQF组细胞与LPS和ZSWQF含药血清共培养, MLN-4760组细胞用10 mol/mL的MLN-4760预处理30 min后将细胞与LPS和正常血清共培养。使用RIPA裂解液提取各组蛋白质。根据二喹啉甲酸(bicinchoninic acid assay, BCA)蛋白质定量试剂盒的说明书测定蛋白质浓度。通过SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质, 并将其转移到硝酸纤维素单抗膜上。然后将膜封闭在含有5%脱脂乳的封闭缓冲液中。膜抗体和一抗血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)、ACE2、p38[一种丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)]、磷酸化(phospho, p)-p38、胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinases 1 and 2, ERK1/2)、p-ERK1/2、核因子κB抑制蛋白α(inhibitor of nuclear factor-kappa B alpha, IκBα)、p-IκBα、p-核因子κB p65亚基(p65 subunit of nuclear factor-kappa B, NF-κBp65)、β-actin在4 °C孵育过夜。辣根过氧化

物酶(horseradish peroxidase, HRP)山羊抗小鼠免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)G 和 HRP 山羊抗兔 IgG 用 PBS+PBST 稀释, 将稀释的二抗与膜在室温下孵育 90 min。将膜与增强型化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)溶液孵育 1 min。最后, 在化学发光成像系统中观察膜并进行条带定量和后续分析。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行数据分析。正态分布的计量数据以均数±标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

表1 3组小鼠基本信息比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of basic information of the 3 groups of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	体重/g			肝/g	脾/g	肾/g
		雾化吸入前	雾化吸入后	变化			
对照组	10	20.40±0.37	28.45±0.99	8.05±1.28	6.17±1.06	0.44±0.16	0.94±0.17
COPD组	10	20.38±0.32	28.55±1.12	8.17±1.16	6.22±1.16	0.40±0.09	1.02±0.25
ZSWQF 组	10	19.92±0.60	28.80±0.70	8.88±0.97	6.65±1.33	0.40±0.02	0.79±0.23
组别		心/g	肺/g	WBC 计数/($10^9\cdot L^{-1}$)	ALT/(U·L $^{-1}$)	SCr/(mg·dL $^{-1}$)	
对照组		0.51±0.12	0.94±0.16	6.36±0.98	35.40±1.67	0.69±0.14	
COPD组		0.48±0.11	0.97±0.11	9.13±1.21**	35.80±3.90	0.67±0.13	
ZSWQF 组		0.45±0.09	0.96±0.17	6.77±1.02†	36.80±5.04	0.65±0.17	

与对照组比较, ** $P<0.01$; 与 COPD 组比较, † $P<0.05$ 。COPD: 慢性阻塞性肺疾病; ZSWQF: 藏四味清肺合剂; WBC: 白细胞; ALT: 丙氨酸转氨酶; SCr: 血清肌酐。

2.3 生化指标

COPD 组 WBC 计数高于对照组($P<0.01$); ZSWQF 组 WBC 计数低于 COPD 组($P<0.05$); 3 组的 ALT 和 SCr 的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$, 表 1)。

2.4 血清和 BALF 中 IL-6、IL-8 和 TNF- α 水平

COPD 组血清及 BALF 中 IL-6、IL-8、TNF- α 水平均高于对照组(均 $P<0.05$); ZSWQF 组血清和 BALF 中 IL-6、IL-8 和 TNF- α 水平均低于 COPD 组($P<0.05$, 图 1)。

2.5 BALF 中的细胞计数

COPD 组 BALF 中的细胞总数、中性粒细胞和巨噬细胞数均高于对照组(均 $P<0.05$); ZSWQF 组 BALF 中的细胞总数、中性粒细胞和巨噬细胞数均低于 COPD 组(均 $P<0.05$, 图 2)。

2 结 果

2.1 基本情况

对照组小鼠无死亡, 毛发光泽, 呼吸均匀, 活动正常; COPD 组和 ZSWQF 组小鼠熏烟时小鼠毛发无光泽, 部分有脱毛现象, 躁动, 腹部胀大, 呼吸急促, 出现点头运动, 甚者部分有张口呼吸等情况。ZSWQF 组小鼠在 ZSWQF 雾化期间喜扎堆, 倦怠蜷缩, 但无小鼠死亡或出现其他毒性反应。

2.2 体重变化及脏器重量情况

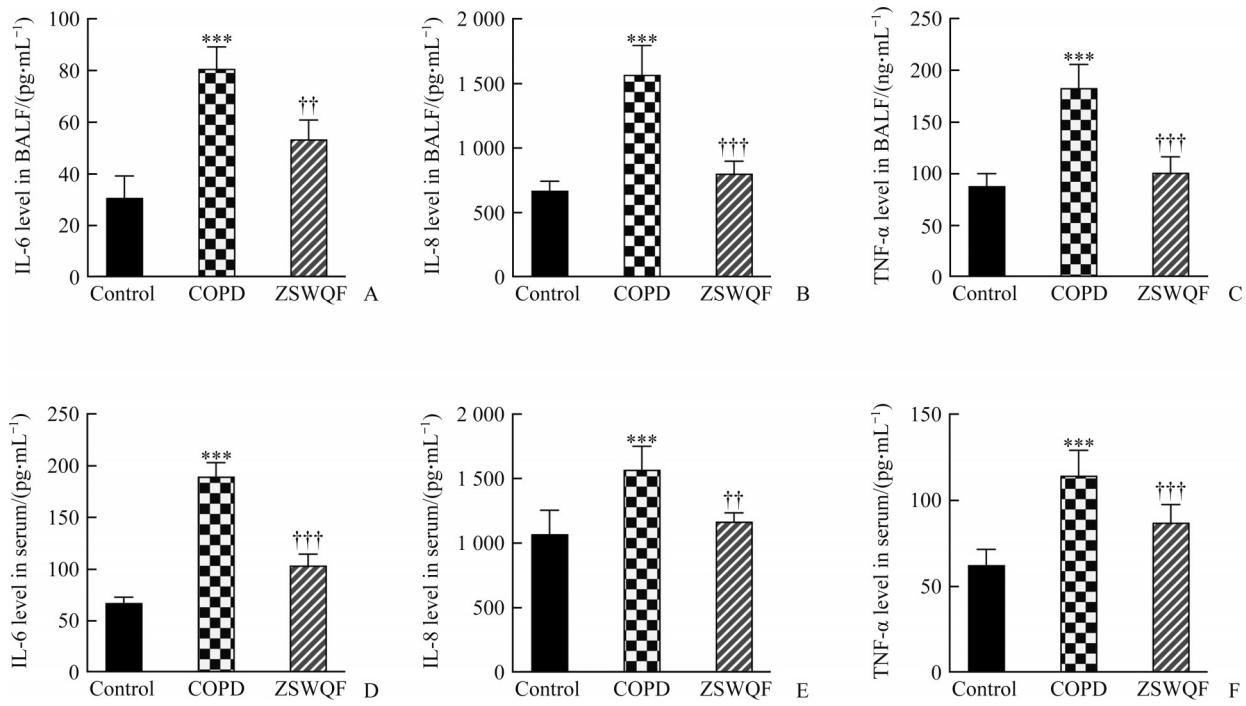
3 组小鼠体重均有所增长, 与对照组相比, COPD 组和 ZSWQF 组小鼠体重增幅及脏器重量的差异均无统计学意义(均 $P>0.05$, 表 1)。

2.6 肺功能

COPD 组小鼠肺功能 RI 高于对照组, CyDN 低于对照组(均 $P<0.05$); 与 COPD 组比较, ZSWQF 组各指标差异无统计学意义, 但有改善趋势(图 3)。

2.7 肺组织病理切片 HE 染色

对照组气道上皮结构完整, 纤毛整齐, 肺泡结构正常, 气道内及血管周围炎症细胞浸润较少; COPD 组细支气管狭窄变形, 纤毛排列紊乱, 支气管杯状细胞脱落坏死, 部分管壁增厚, 肺泡腔扩张, 肺泡间隔膜破裂融合, 气道内及血管周围可见中性粒细胞和巨噬细胞炎症细胞浸润; 与 COPD 组比较, ZSWQF 组肺泡腔明显缩小, 纤毛排列紊乱程度相对较轻, 炎症细胞明显减少(图 4)。COPD 组 MLI 和 DI 水平均高于对照组(均 $P<0.05$); ZSWQF 组的 MLI 和 DI 水平均低于 COPD 组(均 $P<0.05$, 图 5)。

图1 3组小鼠血清和BALF中IL-6、IL-8和TNF- α 比较Figure 1 Levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in serum and BALF in the 3 groups

A-C: Levels of IL-6 (A), IL-8 (B), and TNF- α (C) in BALF; D-E: Levels of IL-6 (D), IL-8 (E), and TNF- α (F) in serum. BALF: Bronchoalveolar lavage fluid; IL: Interleukin; COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; ZSWQF: Zangsiwei Qingfei Mixture; TNF- α : Tumor necrosis factor-alpha. ***P<0.001 vs the Control group; ††P<0.01, †††P<0.001 vs the COPD group.

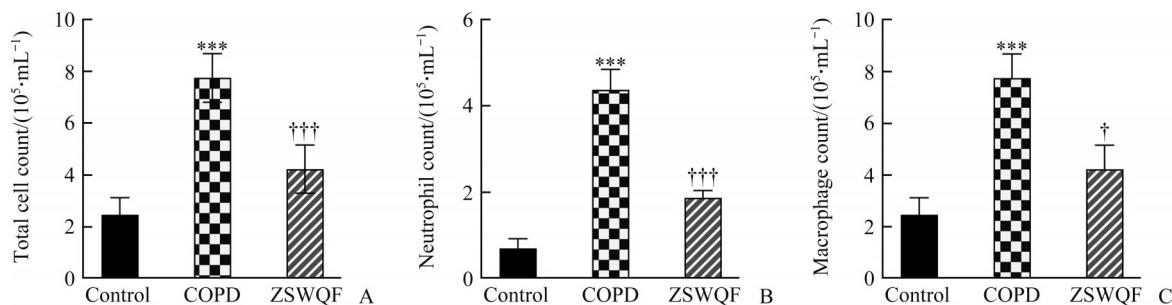


图2 3组小鼠BALF中的细胞计数比较

Figure 2 Cell count in the 3 groups

***P<0.001 vs the Control group; †P<0.05, †††P<0.001 vs the COPD group.

2.8 网络药理学预测ZSWQF抗COPD的作用靶点

本研究对384个ZSWQF相关靶点和673个COPD相关靶点进行匹配分析后，确定了151个靶点作为ZSWQF治疗COPD的潜在靶点(附图1A, <https://doi.org/10.57760/sciencedb.xbyxb.00110>)。PPI网络提供了151个疾病-药物靶点之间关系的全面视图(其他2个基因断开；附图1B, <https://doi.org/10.57760/sciencedb.xbyxb.00110>)，排名前10的核心靶点为TNF、IL-6、蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)1、白蛋白(albumin, ALB)、肿瘤蛋白p53(tumor protein p53,

TP53)、非受体型酪氨酸激酶(non-receptor tyrosine kinase, SRC; SRC proto-oncogene)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、信号转导及转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)3、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-9和β-联蛋白(beta-catenin, CTNNB1)，将IL-6和TNF确定为具有较高度数的中心节点本研究(附图1C, <https://doi.org/10.57760/sciencedb.xbyxb.00110>)。常见药物-疾病靶标GO分析获得了2 655个生物过程(biological process, BP)、70个细胞

成分(cellular components, CC)和213个分子功能(molecular function, MF); 其中, BP主要涉及磷酸化的正调控、正向调节磷代谢过程、细胞运动的正调节、运动的正调节等, CC主要为膜筏、膜微管蛋白、受体复合体、膜的侧面、质膜外侧, MF具体涉及磷酸转移酶活性、激酶蛋白激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、跨膜受体蛋白/酪氨酸激酶活性等(附图1D~1F, <https://doi.org/10.57760/sciencedb.xbyxb.00110>)。

KEGG通路富集分析表明: 富集到的前20个通路主要有癌症通路、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/Akt信号通路、低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1信号通路、钙信号通路、MAPK信号通路等(附图1G, <https://doi.org/10.57760/sciencedb.xbyxb.00110>), 提示ZSWQF可以参与多种生物学途径, 通过“多成分-多靶点-多通路”起到治疗COPD的作用。

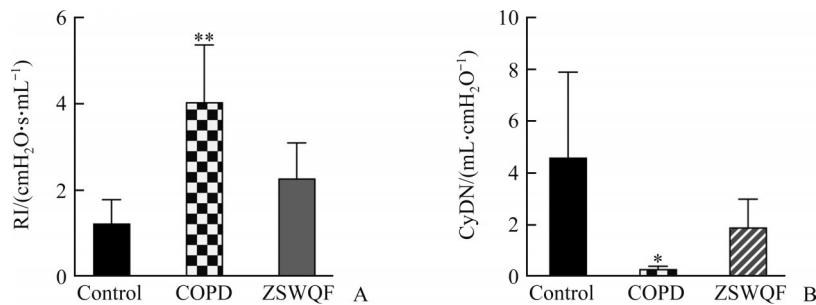


图3 3组小鼠肺功能指标比较

Figure 3 Lung function in the 3 groups

$1 \text{ cm H}_2\text{O}=0.098 \text{ kPa}$. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs the Control group. RI: Airway resistance; CyDN: Cyclic dynamic compliance.

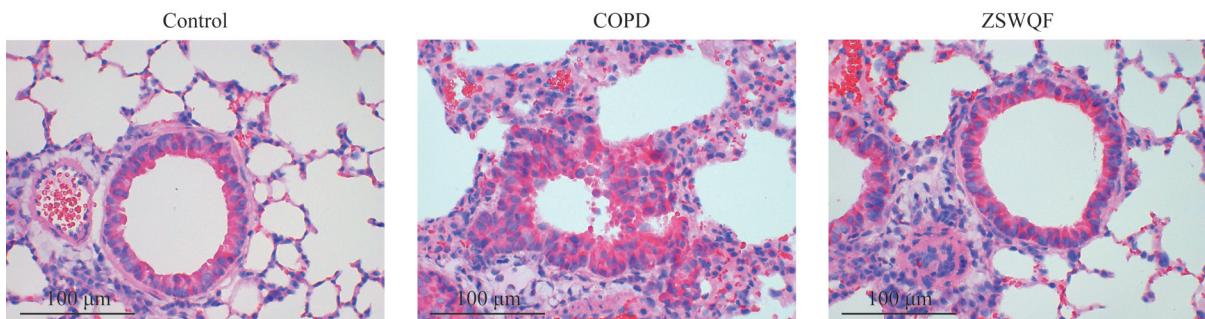


图4 3组小鼠肺组织HE染色

Figure 4 Lung tissue pathological slices by HE staining in the 3 groups

HE: Hematoxylin and eosin.

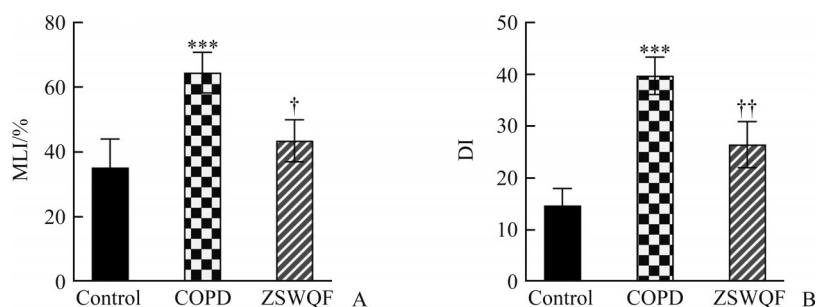


图5 3组小鼠肺组织MLI和DI比较

Figure 5 MLI and DI of Lung tissue pathological slices by HE staining in the 3 groups

MLI: Mean linear intercept; DI: Destruction index. *** $P<0.001$ vs the Control group; † $P<0.05$, †† $P<0.01$ vs the COPD group.

2.9 ZSWQF 影响 MAPK/NF-κB 信号通路

LPS 组 ACE、p-p38/p38、p-ERK1/2/ERK1/2、p-c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)/JNK、p-I_kB_α/I_kB_α 和 p-NF-κBp65 水平均明显高于 Control 组(均 $P<0.05$)，ACE2 水平明显低于 Control 组($P<0.05$)。经 ZSWQF 干预后，与 LPS 组比较，W-ZSWQF 和 ZSWQF 组的 ACE、p-p38/p38、p-ERK1/2/ERK1/2、p-JNK/JNK、p-I_kB_α/I_kB_α、p-NF-κBp65 水平均明显

降低(均 $P<0.05$)，ACE2 水平升高($P<0.05$)。然而，MLN-4760 预处理后，与 LPS 组比较，MLN-4760 组的 ACE、p-p38/p38、p-ERK1/2/ERK1/2、p-JNK/JNK、p-I_kB_α/I_kB_α 和 p-NF-κBp65 水平均显著升高(均 $P<0.05$)，而 ACE2 水平下降($P<0.05$ ，图 6A、6B)。这表明 ZSWQF 可以经 ACE 影响 MAPK/NF-κB 信号通路。

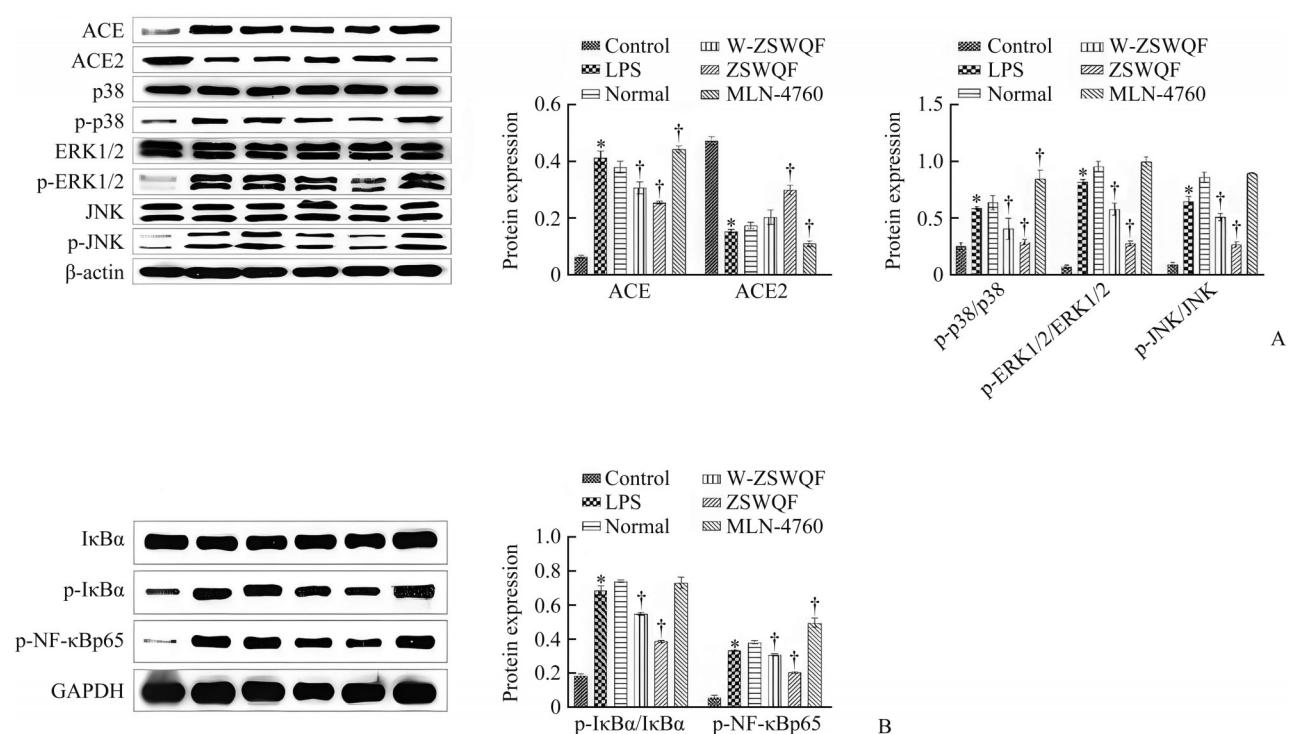


图 6 ZSWQF 影响 MAPK/NF-κB 信号通路

Figure 6 ZSWQF affects the MAPK/NF-κB signaling pathway

A: Western blotting was used to analyze the ACE, ACE2, p-p38/p38, p-ERK1/2/ERK1/2, and p-JNK/JNK levels. B: Western blotting was used for detecting the I_kB_α, p-I_kB_α, and p-NF-κBp65 levels. * $P<0.05$ vs the Control group; † $P<0.05$ vs the Normal group. W-ZSWQF: Water extracts of ZSWQF; LPS: Lipopolysaccharide; ACE: Angiotensin converting enzyme; p-p38: Phospho-p38; p38: A kind of mitogen-activated protein kinase; p-ERK1/2: Phospho-ERK1/2; ERK1/2: Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2; p-JNK: Phospho-JNK; JNK: c-Jun N-terminal kinase; I_kB_α: Inhibitor of kappa B alpha; p-I_kB_α: Phospho-I_kB_α; p-NF-κBp65: Phospho-p65 subunit of nuclear factor-kappa B.

3 讨 论

藏医学发展历史长达千余年，在特殊的高海拔、低氧的高原地区得以发生和发展，其诊治手段、技术均有其独特性和适应性。针对缺氧性的肺部疾病，藏医药发明了多味藏药，通过制成胶囊、汤药，以药浴、气蒸等方式给予患者表里治疗。研究^[6-9]表明藏药在抗炎、解热、抗菌、止咳等方面具有良好的

疗效。在 ZSWQF 中，龙胆花作为 ZSWQF 的主要成分，由龙胆碱和龙胆苦苷组成，具有良好的抗炎作用^[8]；烈香杜鹃的活性成分主要包括挥发油、黄酮类、三萜类、香豆素类等，还具有镇咳、平喘、抗炎、抗菌、祛痰等作用^[10]；矮紫堇为中国青藏高原地区民间常用藏药，主要含有生物碱、黄酮类等化学成分，具有解热、抗炎止痛、抗血小板聚集、抗氧化等药理作用^[11]；小檗皮中主要含有小檗碱、药根碱

等, 具有明显的抗炎、抗菌等生物活性^[12]。ZSWQF自临床应用以来, 临床疗效确切, 有明确的止咳、化痰等改善呼吸道症状及抗炎的功效^[4]。

COPD以慢性气道炎症、肺血管系统和肺实质为特征^[13], 其慢性炎症主要累及气道、肺实质和肺血管, 可引发支气管壁损伤-修复过程反复进行, 并诱导血管重构, 是COPD的发病基础。近年来, 中医药在改善COPD患者临床症状和减轻临床症状方面显示出优势^[14-15]。雾化吸入是将药物放入雾化装置中, 转化为气溶胶态后转移到呼吸道和肺部的一种给药方法。与口服、静脉、肌内注射相比, 具有用药剂量小、起效快、局部药浓度高、全身不良反应少等优点^[16-17], 在呼吸系统疾病的治疗中发挥重要的作用。国内有关中药雾化吸入的现代研究始于20世纪80年代末, 由于中药成分复杂, 其雾化吸入的安全性和有效性仍需进一步探讨, 包括质量控制、不良反应监测等。目前, 国内尚未获得批准的中药雾化吸入制剂, 也缺乏相关的指导原则或技术要求。藏药雾化技术因其具有疗效显著、操作简便等优点, 现已逐步应用于临床^[7]。本研究将自主研发新药采用雾化吸入的方式进行干预, 安全可靠, 并有显著的治疗效果。

气道炎症通过释放多种氧化剂和蛋白酶引起组织损伤, 与COPD患者的疾病严重程度和肺功能相关, 中性粒细胞、淋巴细胞和巨噬细胞参与慢性炎症的发生和发展。这些细胞释放包括IL-6、IL-8和TNF- α 等多种炎症介质^[18]。研究^[19]表明COPD患者血清IL-6、BALF中巨噬细胞和中性粒细胞水平显著升高。痰中IL-6水平与COPD的严重程度、病死率和肺功能下降显著相关^[20]。IL-8作为CXC趋化因子家族核心成员, 强力招募中性粒细胞至气道释放弹性蛋白酶、MMP等, 可诱导COPD气道炎症和气道重塑、黏液腺增生、纤毛功能障碍和上皮屏障破坏。TNF- α 可激活中性粒细胞和巨噬细胞, 使其细胞毒性增加, 释放更多的炎症细胞因子(如IL-6、IL-8等), 进而加速炎症反应过程^[21-22]。研究^[23-24]表明: 与健康人群比较, COPD患者血清TNF- α 水平显著升高, 且随着疾病严重程度的增加而上升。本研究结果同样显示: COPD组血清IL-6、IL-8、TNF- α 水平明显升高, COPD小鼠存在上述炎症反应和气道重塑。同时, ZSWQF雾化吸入后小鼠炎症反应明显减轻, 这均表明ZSWQF雾化吸入对COPD小鼠有良好的抗炎作用。

气道重塑是COPD发展过程中的一个重要特征, 病理表现为纤毛减少、脱落, 炎症细胞浸润; 随着疾病的进展, 后期可出现细支气管管壁的胶原化和

终末细支气管远端的异常扩张, 进而导致肺气肿^[25]。本研究结果表明ZSWQF组肺泡腔明显缩小, 炎症细胞明显减少, 且ZSWQF组的MLI和DI低于COPD组, 这均表明ZSWQF对COPD具有保护作用。最后, 对小鼠进行肺功能测定发现COPD组小鼠RI增加, 肺动态顺应性降低, 提示小鼠气道气流受限, 而ZSWQF组小鼠肺功能的RI/CyDN有改善的趋势, 但差异无统计学意义, 这可能与本研究的样本量不足所致, 在后续的研究中可进一步扩大样本量或延长治疗周期来探讨ZSWQF对肺功能的改善作用。

本研究通过PPI网络图进行分析发现核心靶点之间联系紧密, 涉及TNF、IL-6、AKT1、ALB、TP53、SRC、EGFR、STAT3、MMP-9、CTNNB1等作用靶点, 其中TNF与IL-6为关联度较高的节点, 这也与实验结果相符, ZSWQF可以有效改善COPD小鼠气道TNF- α 和IL-6的炎症反应水平, 从而缓解气道重塑和肺组织损伤。本团队前期研究^[26]也发现藏四味含药血清干预可以显著抑制ACE/核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)信号通路, 进而减轻肺部炎症。本研究还通过KEGG通路分析富集到癌症通路、PI3K/Akt信号通路、HIF-1信号通路、钙信号通路、MAPK信号通路等。研究表明: 多种中药中的有效成分可通过PI3K-Akt信号通路调控COPD气道重塑^[27]; PI3K/Akt与转化生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β)之间的相互作用可促进 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)的过度表达, 从而导致肺纤维化形成^[28], 且MAPK、JAK/STAT和PI3K/Akt信号通路可以对细胞增殖、迁移、分化和凋亡等起调节作用^[29-31]。而癌症通路是否也通过调节细胞增殖、凋亡在COPD的治疗中发挥作用值得进一步研究。已有中药及其复方制剂的研究^[32]结果表明: 通过调控上述信号通路能够明显减轻氧化应激反应, 抑制胶原蛋白沉积, 缓解炎症细胞浸润, 减少气道黏液分泌, 延缓COPD进展, 并且还具有安全、疗效显著、疗法多样等独特优势。上述结果均进一步提示ZSWQF可以通过调控多个信号通路, 参与气道的慢性炎症及重塑的作用。其中, MAPK/NF- κ B信号通路参与了COPD的气道重塑、自身免疫功能、炎症反应等, 并且与COPD的肺血管及组织重构、氧化应激、细胞凋亡、肺泡破坏等引起的病理改变密切相关, 是COPD的重要信号通路^[33]。MAPK信号通路中JNK和ELK1磷酸化水平的降低可改善肺组织损伤^[34]。此外, NF- κ B信号通路中p-p65和p-I κ B α 水平的降低可缓解LPS诱导的肺部炎症^[35]。抑制p38 MAPK/NF- κ B通路可减轻氧化应激和炎症^[36]; 抑制NF- κ B并促进ERK1/2可缓解肺泡巨

噬细胞的过度炎症反应^[37]。而ACE2是一种参与肾素-血管紧张素系统活性的末端羧肽酶，在控制肺部炎症中至关重要，ACE2的缺乏可加重小鼠的肺组织损伤^[38]。ZSWQF可能经MAPK信号通路发挥作用。本研究进行ZSWQF干预后发现，LPS组的ACE、p-p38/p38、p-ERK1/2/ERK1/2、p-JNK/JNK、p-IκBα/IκBα 和 p-NF-κBp65水平均显著降低，ACE2水平升高，而MLN-4760可逆转这一作用，且无论是经水提醇沉方式还是制备ZSWQF含药血清干预后，均存在上述效应，证实ZSWQF可调控MAPK/NF-κB信号通路，这同时也进一步验证了本研究中网络药理学分析结果。

本研究仍存在一定的局限性：首先，由于实验资源及周期的限制，仅对MAPK/NF-κB信号通路进行了功能学验证，尚未能对预测涉及的所有潜在靶点与通路进行系统、多层次的分析；其次，缺少临床应用相关数据，在反映人体生理环境及药物体内代谢过程方面存在不足。未来，本团队计划在此基础上，完善细胞实验、动物实验等对本研究筛选出的可能机制及靶点进一步验证，同时扩大实验样本量、增加不同实验模型等多方位验证，在进一步探讨药物长期毒性后进行人体临床试验，构建阶梯式转化验证体系以及基于临床样本开展更深入的靶点验证与机制研究，以全面揭示其药理作用网络，进一步提升研究的可靠性与转化价值。

综上所述，ZSWQF雾化吸入对COPD小鼠具有较好的抗炎、减轻气道重塑的保护作用。

作者贡献声明：李美智 研究设计与实施，数据采集、统计与分析，论文撰写与修改；彭菲、张权、吴艳娜、孙静萍 研究实施，数据统计与分析；雷思、吴尚洁 研究构思、设计与实施指导，论文撰写、指导与修订，最终版本审核。所有作者阅读并同意最终的文本。

利益冲突声明：作者声称无任何利益冲突。

参考文献

- [1] Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: 2023 report [EB/OL]. (2023-11-01) [2025-01-25]. <https://goldcopd.org/2023-gold-report-2/>.
- [2] Agustí A, Celli BR, Criner GJ, et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: gold executive summary[J]. Eur Respir J, 2023, 61(4): 2300239. <https://doi.org/10.1183/13993003.00239-2023>.
- [3] Wang CX, Zhou JD, Wang JQ, et al. Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 248. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00345-x>.
- [4] 易琼, 李方, 雷思, 等. 自主研发的藏四味清肺合剂联合常规治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的临床疗效和安全性[J]. 中南大学学报(医学版), 2024, 49(6): 921-931. <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2024.230546>.
- [5] YI Qiong, LI Fang, LEI Si, et al. Clinical efficacy and safety of the self-developed Zangsiwei Qingfei Mixture combined with conventional treatment in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2024, 49(6): 921-931. <https://doi.org/10.11817/j.issn.1672-7347.2024.230546>.
- [6] Chen Y, Hanaoka M, Chen P, et al. Protective effect of beraprost sodium, a stable prostacyclin analog, in the development of cigarette smoke extract-induced emphysema [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 296(4): L648-L656. <https://doi.org/10.1152/ajplung.90270.2008>.
- [7] 乌兰, 青玉, 邱晓军, 等. 十味龙胆花颗粒治疗痰热壅肺证临床疗效观察[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2013, 28(5): 584-586. <https://doi.org/10.14045/j.cnki.15-1220.2013.05.025>. WU Lan, QING Yu, QIU Xiaojun, et al. Clinical observation on the curative effect of Shiwei Longdanhua granules for syndrome of phlegm-heat obstructing lung[J]. Journal of Inner Mongolia Minzu University. Natural Sciences Edition, 2013, 28(5): 584-586. <https://doi.org/10.14045/j.cnki.15-1220.2013.05.025>.
- [8] 次德吉, 拉巴卓玛, 强巴卓嘎. 藏药十味龙胆花颗粒雾化治疗替布乃(慢支)的临床疗效[J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(1): 7-8. <https://doi.org/10.16041/j.cnki.cn15-1175.2020.01.005>. Deji CI, Bazhuoma LA, QIANG Bazhuoga. Clinical effect of Tibetan medicine Shiwei longdanhua granule atomization on tebunai (chronic branch)[J]. Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities, 2020, 26(1): 7-8. <https://doi.org/10.16041/j.cnki.cn15-1175.2020.01.005>.
- [9] 李巧云, 刘卫健, 李霞. 十味龙胆花胶囊抗炎解热抗菌作用的实验研究[J]. 四川省卫生管理干部学院学报, 2001, 20(1): 5-7. LI Qiaoyun, LIU Weijian, LI Xia. Experimental Study on Anti inflammatory, Reduce Temperature, Anti bacteria Action of Shi Wei Long Dan Hua Capsule[J]. Journal of Sichuan Continuing Education College of Medical Sciences, 2001, 20(1): 5-7.
- [10] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册[M]. 植物药有效成分手册, 1986. Chinese Herbal Medicine Information Center of the State Administration of Medicine. Manual of Active Ingredients of Plant Medicines[M]. Manual of Active Ingredients of Plant Medicines, 1986.
- [11] 张娟红, 王荣, 贾正平, 等. 藏药烈香杜鹃研究概况[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(8): 104-107. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-5304.2012.08.050>. ZHANG Juanhong, WANG Rong, JIA Zhengping, et al. General situation of research on Tibetan medicine *Rhododendron odoratum*[J]. Chinese Journal of Information on

- Traditional Chinese Medicine, 2012, 19(8): 104-107. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-5304.2012.08.050>.
- [11] 田静, 张盼盼, 卢永昌, 等. 矮紫堇化学成分与生物活性研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(1): 135-140. <https://doi.org/10.19378/j.issn.1003-9783.2019.01.022>.
- TIAN Jing, ZHANG Panpan, LU Yongchang, et al. The Corydalis hendersonii Hemsl. : A review of phytochemistry and bioactivities[J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2019, 30(1): 135-140. <https://doi.org/10.19378/j.issn.1003-9783.2019.01.022>.
- [12] 李琪, 杜欢, 文焕松, 等. 藏族药小檗皮中6种成分的含量测定及不同品种比较研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 968-974. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20181226.014>.
- LI Qi, DU Huan, WEN Huansong, et al. Determination of six compounds in Berberidis Cortex and comparative study of its different species[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2019, 44(5): 968-974. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20181226.014>.
- [13] Celikbas E, Penque D, Zoidakis J. Systematic review on recent potential biomarkers of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2019, 19(1): 37-45. <https://doi.org/10.1080/14737159.2018.1559054>.
- [14] Jiang S, Sun J, Mohammad-tursun N, et al. Dual role of autophagy/mitophagy in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Pulm Pharmacol Ther, 2019, 56: 116-125. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2019.04.002>.
- [15] Ma J, Zheng J, Zhong N, et al. Effects of YuPingFeng granules on acute exacerbations of COPD: a randomized, placebo-controlled study[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2018, 13: 3107-3114. <https://doi.org/10.2147/COPD.S170555>.
- [16] 杜光, 赵杰, 卜书红, 等. 雾化吸入疗法合理用药专家共识(2019年版)[J]. 医药导报, 2019, 38(2): 135-146. <https://doi.org/10.3870/j.issn.1004-0781.2019.02.001>.
- DU Guang, ZHAO Jie, BU Shuhong, et al. Expert consensus on rational drug use in aerosol inhalation therapy (2019 edition) [J]. Herald of Medicine, 2019, 38(2): 135-146. <https://doi.org/10.3870/j.issn.1004-0781.2019.02.001>.
- [17] 唐荣国, 欧维琳. 雾化吸入抗生素的临床应用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(30): 132-133. <https://doi.org/10.19613/j.cnki.1671-3141.2019.30.061>.
- TANG Ringguo, OU Weilin. Advances in clinical application of aerosol inhaled antibiotics[J]. World Latest Medicine Information, 2019, 19(30): 132-133. <https://doi.org/10.19613/j.cnki.1671-3141.2019.30.061>.
- [18] Barnes PJ. Inflammatory endotypes in COPD[J]. Allergy, 2019, 74(7): 1249-1256. <https://doi.org/10.1111/all.13760>.
- [19] Rose-John S. Interleukin-6 family cytokines[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(2): a028415. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028415>.
- [20] Cazzola M, Page CP, Calzetta L, et al. Emerging anti-inflammatory strategies for COPD[J]. Eur Respir J, 2012, 40 (3): 724-741. <https://doi.org/10.1183/09031936.00213711>.
- [21] Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in inflammatory disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 6008. <https://doi.org/10.3390/ijms20236008>.
- [22] Golpe R, Martín-Robles I, Sanjuán-López P, et al. Differences in systemic inflammation between cigarette and biomass smoke-induced COPD[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2017, 12: 2639-2646. <https://doi.org/10.2147/copd.s141068>.
- [23] Singh S, Verma SK, Kumar S, et al. Correlation of severity of chronic obstructive pulmonary disease with potential biomarkers[J]. Immunol Lett, 2018, 196: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.01.004>.
- [24] Yazici O, Gulen ST, Yenisey C, et al. Comparison of inflammation biomarkers among chronic obstructive pulmonary disease groups: a cross sectional study[J]. Niger J Clin Pract, 2020, 23(6): 817-824. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_222_19.
- [25] Brandsma CA, Van den Berge M, Hackett TL, et al. Recent advances in chronic obstructive pulmonary disease pathogenesis: from disease mechanisms to precision medicine [J]. J Pathol, 2020, 250(5): 624-635. <https://doi.org/10.1002/path.5364>.
- [26] Lei S, Wu S. Zang Siwei Qingfei Mixture alleviates inflammatory response to attenuate acute lung injury by the ACE2/NF- κ B signaling pathway in mice[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2024, 27(19): 2871-2884. <https://doi.org/10.2174/0113862073259884231024111447>.
- [27] 梁可克, 王志旺, 黄柯婷, 等. PI3K-AKT信号通路调控慢阻肺气道重塑及中药干预作用研究新进展[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(5): 103-108. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20230725.004>.
- LIANG Keke, WANG Zhiwang, HUANG Keting, et al. Traditional Chinese medicine regulates airway remodeling of chronic obstructive pulmonary disease via PI3K-AKT signaling pathway: a review[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2024, 40(5): 103-108. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20230725.004>.
- [28] Wang J, Hu K, Cai X, et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(1): 18-32. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.07.023>.
- [29] 李媚, 陈盛君, 王协和, 等. 广藿香UPLC指纹图谱研究及基于网络药理学的广藿香潜在质量标志物预测[J]. 中草药, 2021, 52(9): 2665-2677. <https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2021.09.017>.
- LI Mei, CHEN Shengjun, WANG Xiehe, et al. UPLC fingerprint of Pogostemonis Herba and prediction of its potential quality markers based on network pharmacology[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(9): 2665-2677. <https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2021.09.017>.
- [30] 朱张求, 朱洁, 童佳兵, 等. 基于JAK1/STAT3信号通路研究芪白平肺胶囊对COPD继发PAH大鼠的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(1): 324-330.
- ZHU Zhangqiu, ZHU Jie, TONG Jiabing, et al. Effects of Qibai Pingfei Capsule on rats with COPD complicated with PAH based on JAK1/STAT3 signal pathway[J]. China Journal of

- Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2023, 38(1): 324-330.
- [31] 陈斯宁, 李瑞祥, 黎展华, 等. 利金方对慢性阻塞性肺疾病大鼠模型JAK2-STAT3-RORyt信号通路的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(1): 89-95. <https://doi.org/10.7661/j.cjim.20210717.183>.
CHEN Sining, LI Ruixiang, LI Zhanhua, et al. Effect of Lijin recipe on JAK2-STAT3-RORYT signaling pathway in chronic obstructive pulmonary disease rat model[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2022, 42(1): 89-95. <https://doi.org/10.7661/j.cjim.20210717.183>.
- [32] 贾蓓, 何家琛, 李佳玮, 等. 中药治疗慢性阻塞性肺疾病机制的研究进展[J]. 天津中医药, 2023, 40(9): 1208-1217. <https://doi.org/10.11656/j.issn.1672-1519.2023.09.19>.
JIA Bei, HE Jiachen, LI Jiawei, et al. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 40(9): 1208-1217. <https://doi.org/10.11656/j.issn.1672-1519.2023.09.19>.
- [33] 叶欣鑫, 张鹏飞, 潘玲, 等. 中医药调控p38MAPK/NF-κB信号通路防治慢性阻塞性肺疾病研究进展[J]. 山西中医, 2023, 39(6): 66-68. <https://doi.org/10.20002/j.issn.1000-7156.2023.06.024>.
YE Xinxin, ZHANG Pengfei, PAN Ling, et al. Research progress on prevention and treatment of chronic obstructive pulmonary disease by regulating p38MAPK/NF-κB signaling pathway with traditional Chinese medicine[J]. Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 2023, 39(6): 66-68. <https://doi.org/10.20002/j.issn.1000-7156.2023.06.024>.
- [34] Xu Q, Xu J, Wu Y. Regulation of inflammation and apoptosis by GPR43 via JNK/ELK1 in acute lung injury[J]. Inflamm Res, 2022, 71(5/6): 603-614. <https://doi.org/10.1007/s00011-022-01556-4>.
- [35] Yue Q, Zhang W, Lin S, et al. Ejiao ameliorates lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation via inhibition of NFκB regulating NLRP3 inflammasome and mitochondrial ROS[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 152: 113275. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113275>.
- [36] Li T, Wu YN, Wang H, et al. Dapk1 improves inflammation, oxidative stress and autophagy in LPS-induced acute lung injury via p38MAPK/NF- κB signaling pathway[J]. Mol Immunol, 2020, 120: 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2020.01.014>.
- [37] Cong Z, Yang C, Zeng Z, et al. α₁-adrenoceptor stimulation ameliorates lipopolysaccharide-induced lung injury by inhibiting alveolar macrophage inflammatory responses through NF-κB and ERK1/2 pathway in ARDS[J]. Front Immunol, 2023, 13: 1090773. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1090773>.
- [38] Zhu P, Zhang W, Feng F, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 in fine particulate matter-induced acute lung injury [J]. Sci Total Environ, 2022, 825: 153964. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153964>.

(责任编辑 宋柳)

本文引用: 李美智, 彭菲, 张权, 吴艳娜, 孙静萍, 雷思, 吴尚洁. 自主研发的藏四味清肺合剂雾化对香烟烟雾诱导的COPD小鼠气道炎症的影响及网络药理学分析[J]. 中南大学学报(医学版), 2025, 50(7): 1113-1125. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2025.250246
Cite this article as: LI Meizhi, PENG Fei, ZHANG Quan, WU Yanna, SUN Jingping, LEI Si, WU Shangjie. Effects of nebulized self-developed Zangsiwei Qingfei Mixture on airway inflammation in cigarette smoke-induced COPD mice and a network pharmacology analysis[J]. Journal of Central South University Medical Science, 2025, 50(7): 1113-1125. DOI: 10.11817/j. issn. 1672-7347.2025.250246