

本文引用: 李可芸, 沈娟, 刘亚尊. 疏肝平喘方抑制 Sirt6 表达对哮喘小鼠 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(12): 2263-2270.

疏肝平喘方抑制 Sirt6 表达对哮喘小鼠 Th17/Treg 平衡的影响

李可芸, 沈娟, 刘亚尊*

上海中医药大学附属市中医医院儿科, 上海 201801

[摘要] **目的** 研究疏肝平喘方抑制 Sirtuin6(Sirt6)表达对哮喘小鼠辅助性 T 细胞 17(Th17)细胞和调节性 T 细胞(Treg)平衡的影响。**方法** 雄性 BALB/c 小鼠随机分为对照组、模型组(哮喘造模)、疏肝平喘组(哮喘造模+5.33 g/mL 疏肝平喘方灌胃)、地塞米松组(哮喘造模+0.075 mg/mL 地塞米松灌胃)。治疗 1 周后,通过 HE 染色和 Masson 染色观察肺组织病理改变及胶原沉积,采用整体体积描记法检测气道 Penh 值,ELISA 检测血清和肺组织中白细胞介素 (IL)-17、IL-10 的水平,免疫组化染色检测肺组织中 Sirt6 的积分光密度(IOD)值,Western blot 检测肺组织 Sirt6、视黄酸相关孤儿受体 γ t(ROR γ t)、叉头框蛋白 P3(FoxP3)的蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较,模型组的肺组织可见肺泡壁增厚、平滑肌细胞增生、炎症细胞浸润等病理改变,胶原堆积增多;气道 Penh 值、血清及肺组织 IL-17 水平、肺组织中 Sirt6 的 IOD 值、肺组织 Sirt6 及 ROR γ t 的蛋白表达水平升高($P<0.05$),血清及肺组织 IL-10 水平、肺组织 FoxP3 表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,疏肝平喘组和地塞米松组的肺组织病理改变减轻、胶原沉积减少;气道 Penh 值、血清及肺组织 IL-17 水平、肺组织 Sirt6 的 IOD 值、肺组织 Sirt6 及 ROR γ t 的蛋白表达水平降低($P<0.05$),血清及肺组织 IL-10 水平、肺组织 FoxP3 表达水平升高($P<0.05$)。**结论** 疏肝平喘方可改善哮喘小鼠的气道功能、肺组织病理改变、胶原堆积及 Th17/Treg 失衡,抑制 Sirt6 表达是疏肝平喘方发挥上述改善作用的可能机制。

[关键词] 哮喘;疏肝平喘方;Sirt6;辅助性 T 细胞 17;调节性 T 细胞

[中图分类号]R285.5

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.12.004

Effects of Shugan Pingchuan Formula on the Th17/Treg balance in asthmatic mice by inhibiting Sirt6 expression

LI Keyun, SHEN Juan, LIU Yazun*

Department of Pediatrics, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201801, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of the Shugan Pingchuan Formula (SGPCF) on the balance of helper T cell 17 (Th17) and regulatory T cell (Treg) in asthmatic mice by inhibiting the expression of Sirtuin6 (Sirt6). **Methods** Male BALB/c mice were randomly divided into control group, asthma model group (asthma modeling), SGPCF group (asthma modeling+5.33 g/mL SGPCF by intragastric administration), and dexamethasone group (asthma modeling+0.075 mg/mL dexamethasone by intragastric administration). After one week of treatment, the pathological changes of lung tissue and collagen deposition were observed by HE staining and Masson staining, respectively. The Penh value of the airway was checked by total volume tracing. The levels of interleukin (IL)-17 and IL-10 in serum and lung tissue were measured by ELISA. The integral optical

[收稿日期]2025-07-21

[基金项目]国家自然科学基金项目(82205179)。

[通信作者]* 刘亚尊,女,博士,主治医师,E-mail:liuyzun@163.com。

density (IOD) value of Sirt6 in lung tissue was determined by immunohistochemical staining. The protein expression levels of Sirt6, retinoic acid receptor-related orphan receptor γ (ROR γ t), and forkhead box protein P3 (FoxP3) in lung tissue were assessed by Western blot. **Results** Compared with the control group, the asthma model group showed pathological changes in lung tissue, including alveolar wall thickening, proliferation of smooth muscle cells, inflammatory cell infiltration, and increased collagen deposition. The airway Penh value, IL-17 levels in serum and lung tissue, IOD value of Sirt6 in lung tissue, and the protein expression levels of Sirt6 and ROR γ t were significantly increased ($P < 0.05$). IL-10 levels in serum and lung tissue, as well as FoxP3 expression in lung tissue, were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the asthma model group, both the SGPCF and the dexamethasone groups exhibited alleviated lung pathological changes and reduced collagen deposition. The airway Penh value, IL-17 levels in serum and lung tissue, IOD value of Sirt6, and protein expression levels of Sirt6 and ROR γ t in lung tissue were significantly decreased ($P < 0.05$). IL-10 levels in serum and lung tissue, as well as the expression level of FoxP3 in lung tissue were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The SGPCF can improve airway function, and alleviate pathological changes, collagen deposition, and Th17/Treg imbalance in lung tissue of asthmatic mice. Downregulation of Sirt6 expression is the possible mechanism by which the SGPCF exerts the above effects.

[**Keywords**] asthma; Shugan Pingchuan Formula; Sirt6; helper T cell 17; regulatory T cell

支气管哮喘是一种以气道反应性增高和炎症反应激活为特征的慢性异质性疾病,具有反复发作、久治不愈的特点,患者会出现气道重塑及功能受损^[1]。辅助性 T 细胞 17(helper T cell 17, Th17)细胞和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)失衡是哮喘发病过程中导致气道重塑、炎症激活、免疫失衡的重要机制之一^[2]。Th17 分泌的白细胞介素(interleukin, IL)-17 具有强大促炎作用,在气道中招募炎症细胞、促进炎症因子释放并刺激炎症反应激活;Treg 主要分泌 IL-10 等具有免疫抑制作用的细胞因子,能够抑制 Th17 以及其他炎症细胞活化,进而减轻气道炎症反应^[3]。Sirtuin6(Sirt6)是 Sirtuin 家族的成员之一,在炎症反应、免疫应答中均发挥调控作用^[4]。哮喘相关研究表明,Sirt6 能增加 Th17 细胞因子 IL-17 的分泌,进而在哮喘小鼠中促进气道炎症反应激活、引起气道重塑^[4]。

哮喘属于中医学“哮证”范畴,病机在于痰瘀内阻、外邪致病、脏腑虚弱^[5]。平喘方为海派徐氏儿科治哮经验方,临床及基础研究均证实其可以改善哮喘气道炎症及气道重塑^[6]。疏肝平喘方针对哮喘“气机不畅而上逆”的核心病机,在平喘方的基础上增加疏肝理气的柴胡、白芍,增强其调畅气机的作用,气顺则痰瘀易消^[7]。临床研究显示,疏肝平喘方能改善咳嗽变异性哮喘患儿的临床症状、中医证候并抑制炎症反应^[7];基础研究显示,疏肝平喘方可调节哮喘小鼠的 Th17/Treg 平衡^[8]。但是,疏肝平喘方对哮喘小鼠气道功能的影响及调控 Th17/Treg 平衡的机制

尚缺乏研究数据和资料。因此,本研究疏肝平喘方调控 Sirt6 对哮喘小鼠气道功能及 Th17/Treg 平衡的影响,旨在探索疏肝平喘方在哮喘中的治疗价值及可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物

4~6 周龄的清洁级雄性 BALB/c 小鼠共 40 只,体质量 18~22 g,购自上海斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号:20220004073838,许可证号:SCXK(沪)2022-0004。实验经上海中医药大学附属市中医医院伦理委员会批准(审批号:2025009)。实验动物饲养环境为温度 20~25 ℃、湿度 50%~70%。

1.2 药物

疏肝平喘方组成:炙麻黄 6 g,生甘草 6 g,紫苏子 9 g,莱菔子 9 g,地龙 9 g,桃仁 9 g,椒目 6 g,黄芩 9 g,柴胡 6 g,白芍 9 g,丹参 9 g。上述中药材购自上海虹桥中药饮片有限公司,煎煮得到生药浓度为 5.33 g/mL 的疏肝平喘方药液。地塞米松片(广东南国药业有限公司,国药准字 H44024618,批号:20240458,规格:0.75 mg/片)。

1.3 主要试剂

卵清白蛋白(ovalbumin, OVA)、HE 染色试剂盒[批号:A417706、E607318-0200,生工生物工程(上海)股份有限公司];Masson 染色试剂盒(批号:C0189S,上海碧云天生物科技有限公司);IL-17、IL-10 ELISA 试剂盒(批号:JL13427、JL20879,上海将

来实业股份有限公司);兔抗小鼠 Sirt6、视黄酸相关孤儿受体 γ t (retinoic acid receptor-related orphan receptor γ t, ROR γ t)、叉头框蛋白 P3 (forkhead box protein P3, FoxP3) 抗体(批号:ab191385、ab207082、ab253297,美国 Abcam 公司)。

1.4 主要仪器

肺功能检测系统(型号:WBP-4M,上海塔望智能科技有限公司);多功能酶标仪[型号:SpectraMax i3x,美谷分子仪器(上海)有限公司];电泳仪(型号:L01027C,南京金斯瑞生物科技有限公司);电泳槽(型号:L00782,南京金斯瑞生物科技有限公司);凝胶成像系统(型号:JS-1075,上海培清科技有限公司)。

1.5 分组、造模及干预

40 只小鼠分为对照组、模型组、疏肝平喘组、地塞米松组,每组 10 只。除对照组外,其余组建立哮喘模型^[8]。5 g OVA 和 0.5 g 氢氧化铝混合,加入磷酸盐缓冲液制备成 50 mL 的混合液,第 1 天和第 14 天时腹腔注射 0.2 mL 混合液致敏。第 21 天时,使用含有 5%OVA 的生理盐水进行超声雾化,1 次/d、30 min/次,连续 5 d 激发哮喘。以小鼠出现烦躁不安、呼吸急促、易激惹、搔鼻抓耳等症状为造模成功的标准^[8]。

第 28 天开始进行干预,期间继续进行哮喘激发。使用含有 5%OVA 的生理盐水进行超声雾化,3 次/周、30 min/次。对照组和模型组给予生理盐水 $0.1 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃;地塞米松组给予地塞米松药液(地塞米松浓度 0.075 mg/mL) $0.1 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃^[8];疏肝平喘组给予疏肝平喘方药液(生药浓度为 5.33 g/mL) $0.1 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃^[8]。均连续干预 1 周。

1.6 气道功能检测

末次给药 1 h 后将清醒状态的小鼠放入肺功能检测系统,采用整体体积描记法检测气道功能,待呼吸稳定后依次雾化吸入生理盐水以及 6.25、12.5、25、50、100 mg/mL 乙酰甲胆碱溶液,记录呼气峰压 (peak expiratory pressure, PEP)、吸气峰压 (peak inspiratory pressure, PIP)、呼气时间 (time of expiratory, Te)、松弛时间 (time of relaxation, Tr),计算 Penh 值。Penh=(PEP/PIP) \times (Te-Tr)/Tr。

1.7 病理切片及染色

取各组小鼠的右肺上叶,用 4%多聚甲醛固定后进行石蜡包埋,将蜡块切为厚度 $5 \mu\text{m}$ 的病理切片,

采用试剂盒进行 HE 染色和 Masson 染色。HE 染色步骤如下:石蜡切片进行脱蜡和水化,放入苏木素染色液、室温染色 15 min,自来水冲洗 1 min、1%盐酸乙醇溶液分化 5 s,放入伊红染色液、室温染色 3 min,最后脱水并用中性树脂封片。Masson 染色步骤如下:按照试剂盒说明书用 Masson 染色液进行染色,将切片放入 1%冰醋酸漂洗分化,最后进行脱水及中性树脂封片。在显微镜下观察肺组织病理改变和胶原沉积情况。

1.8 免疫组化染色

取右肺上叶组织的病理切片,采用免疫组化试剂盒进行脱蜡水化、抗原修复,滴加 3%过氧化氢溶液室温避光封闭 25 min,磷酸盐缓冲液清洗 3 次后滴加 3%牛血清白蛋白室温避光封闭 30 min。将切片上的封闭液甩去,滴加 Sirt6 一抗(1:250 稀释)室温孵育 1 h,冲洗 3 次后滴加二抗室温孵育 30 min,二氨基联苯胺显色、苏木素复染。最后进行脱水及二甲苯处理,封片后观察 Sirt6 的染色情况。每个样本随机选定 5 个视野,对图片进行半定量分析,结果以积分光密度(integrated optical density, IOD)值表示。

1.9 ELISA 检测

小鼠麻醉后经眼球后取血,滴入 EP 管内,静置 1 h 后 $2\ 000 \text{ r/min}$ 离心 10 min(离心半径 10 cm),分离血清。取右下肺叶组织约 50 mg,加入磷酸盐缓冲液并在冰浴中匀浆, $12\ 000 \text{ r/min}$ 离心 10 min(离心半径 10 cm),分离上清。采用 ELISA 试剂盒进行实验,设置 2 个空白孔、6 个浓度梯度的标准品孔。在点样孔内加入标准品或待测样品 $50 \mu\text{L}$,然后加入酶标试剂 $100 \mu\text{L}$, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 60 min 后清洗 3 次。加入显色液 A 和显色液 B 各 $50 \mu\text{L}$,孵育 15 min 后在 450 nm 波长处测量吸光度。根据标准品的吸光度得到标准曲线,计算 IL-17、IL-10 的水平。

1.10 Western blot 检测

取各组小鼠的左侧肺叶组织,剪碎后加入裂解液,在冰浴中匀浆, $12\ 000 \text{ r/min}$ 离心 10 min(离心半径 10 cm),分离上清。将上清液与上样缓冲液混合,煮沸变性后加入聚丙烯酰胺凝胶内进行垂直电泳,分离不同分子量的蛋白质后转印至 PVDF 膜。将膜放入封闭液中,在脱色摇床上室温振荡封闭 1 h。根据蛋白质分子量标准裁剪 PVDF 膜,孵育一抗 Sirt6

(1:500)、ROR γ t(1:400)、Foxp3(1:1 000)、 β -actin(1:5 000)4 ℃过夜。次日用含 Tween20 的 Tris 缓冲液清洗 PVDF 膜 3 次,然后加入二抗(1:5 000),在脱色摇床上室温震荡孵育 1 h,再次用含 Tween20 的 Tris 缓冲液清洗。最后在凝胶成像系统中对蛋白条带进行显影。根据条带灰度值,以 β -actin 为内参,计算 Sirt6、ROR γ t、Foxp3 的蛋白表达水平。

1.11 统计学分析

采用 SPSS 27.0 软件进行统计学处理,采用 GraphPad Prism 6.0 软件制图,计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,数据符合正态分布且方差齐者采用单因素方差分析,组间多重比较采用 *LSD-t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疏肝平喘方对哮喘小鼠一般情况的影响

试验过程中每天上午观察小鼠一般情况。对照组小鼠实验过程中呼吸平稳,未见明显咳嗽,精神

活跃,背毛顺滑。模型组、疏肝平喘组、地塞米松组哮喘激发时均可见咳嗽频率及抓耳挠鼻次数增加的行为学表现,精神弱、懒动、背毛凌乱。治疗后,疏肝平喘组、地塞米松组的上述改变均较模型组有所改善。

2.2 疏肝平喘方对哮喘小鼠气道功能的影响

不同浓度乙酰甲胆碱(0、6.25、12.5、25、50、100 mg/mL)吸入后,模型组 Penh 值均高于对照组($P<0.05$),疏肝平喘组、地塞米松组 Penh 值均低于模型组($P<0.05$)。详见表 1。

2.3 疏肝平喘方对哮喘小鼠肺组织病理改变及气道重塑的影响

HE 染色可见,对照组小鼠肺组织的支气管及肺泡结构清晰,未见炎症细胞浸润;模型组小鼠肺组织内可见肺泡壁增厚、上皮脱落、平滑肌细胞增生、炎症细胞浸润等病理改变;疏肝平喘组与地塞米松组小鼠肺组织内的病理改变均较模型组改善。详见图 1。

表 1 各组小鼠气道 Penh 值比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of airway Penh values among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	乙酰甲胆碱浓度/(mg/mL)					
	0	6.25	12.5	25	50	100
对照组	1.36 \pm 0.14	1.75 \pm 0.16	1.88 \pm 0.17	1.81 \pm 0.16	2.44 \pm 0.18	2.86 \pm 0.24
模型组	1.87 \pm 0.21*	4.53 \pm 0.39*	7.98 \pm 0.77*	9.40 \pm 1.35*	12.79 \pm 1.47*	16.77 \pm 1.95*
疏肝平喘组	1.45 \pm 0.17#	2.62 \pm 0.25#	3.87 \pm 0.35#	5.02 \pm 0.46#	6.56 \pm 0.58#	8.70 \pm 0.77#
地塞米松组	1.43 \pm 0.16#	2.60 \pm 0.22#	3.82 \pm 0.35#	4.94 \pm 0.45#	6.77 \pm 0.57#	8.97 \pm 0.73#

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

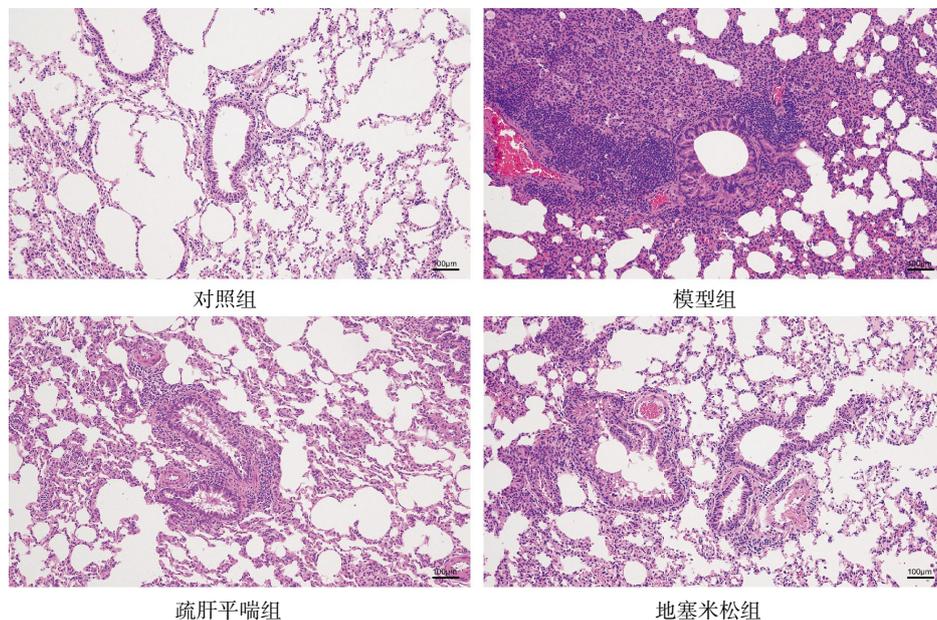


图 1 各组小鼠肺组织病理改变(HE, $\times 100$)

Fig.1 Pathological changes in the lung tissue of different groups of mice (HE, $\times 100$)

Masson 染色可见,对照组小鼠肺组织无明显胶原沉积;模型组小鼠肺组织内可见支气管上皮下明显胶原沉积;疏肝平喘组与地塞米松组小鼠肺组织内的支气管上皮胶原沉积较模型组减少。详见图 2。

2.4 疏肝平喘方对哮喘小鼠肺组织 Sirt6 表达的影响

与对照组比较,模型组小鼠肺组织中 Sirt6 的 IOD 值及蛋白表达水平升高($P<0.05$);与模型组比较,

疏肝平喘组与地塞米松组小鼠肺组织中 Sirt6 的 IOD 值及蛋白表达水平降低($P<0.05$)。详见图3—4。

2.5 疏肝平喘方对哮喘小鼠血清和肺组织 IL-17、IL-10 水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠血清和肺组织 IL-17 的水平升高($P<0.05$),IL-10 的水平降低($P<0.05$);与模型组比较,疏肝平喘组与地塞米松组小鼠血清和肺组织 IL-17 的水平降低($P<0.05$),IL-10 的水平升高($P<0.05$)。详见表 2。

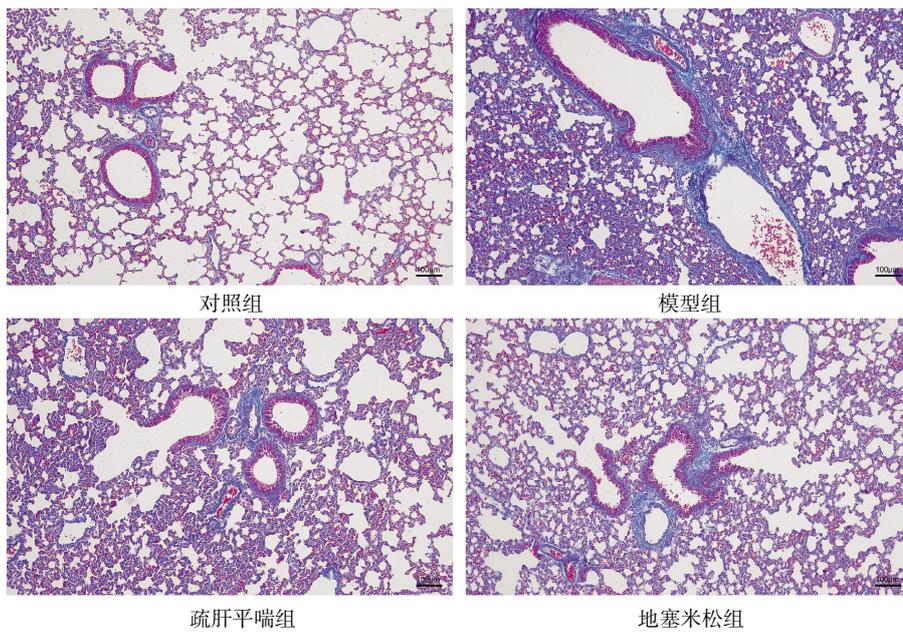


图 2 各组小鼠肺组织胶原沉积 (Masson,×100)

Fig.2 Collagen deposition in the lung tissue of different groups of mice (Masson,×100)

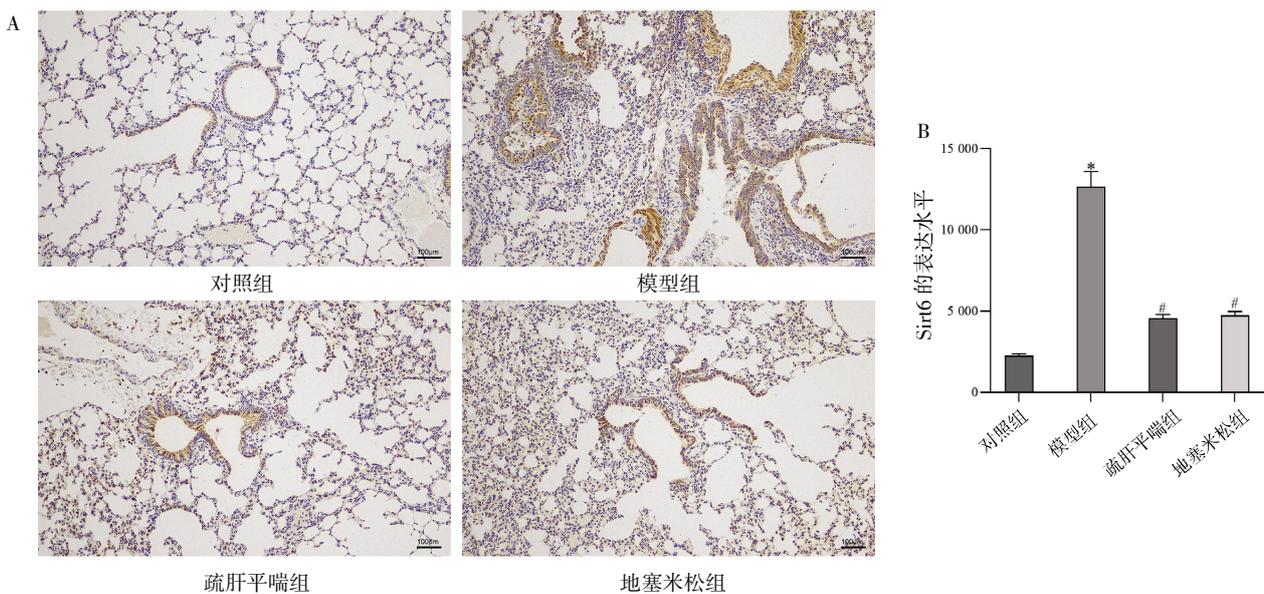


图 3 各组小鼠肺组织 Sirt6 的 IOD 值比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig.3 Comparison of IOD values of Sirt6 in the lung tissue among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

注:A.各组小鼠肺组织 Sirt6 免疫组化染色图(×100);B.各组小鼠肺组织 Sirt6 的 IOD 值比较。与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

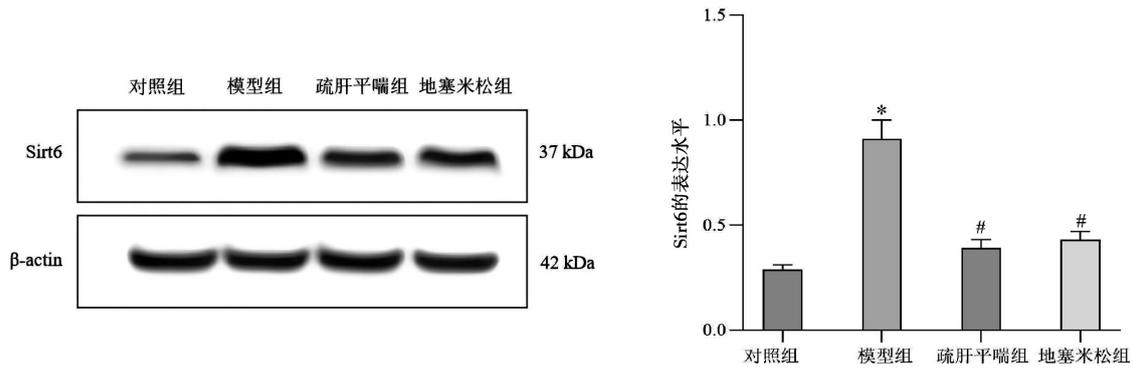


图 4 各组小鼠肺组织匀浆液中 Sirt6 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig.4 Comparison of Sirt6 protein expression levels in lung tissue homogenates among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

表 2 各组小鼠血清和肺组织 IL-17、IL-10 水平比较 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of IL-17 and IL-10 levels in serum and lung tissue among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	血清/(ng/mL)		肺组织/($\mu\text{g/mL}$)	
	IL-17	IL-10	IL-17	IL-10
对照组	41.58 \pm 2.52	327.58 \pm 17.74	35.51 \pm 2.26	413.28 \pm 18.28
模型组	64.92 \pm 4.23*	261.46 \pm 16.61*	59.18 \pm 3.04*	289.39 \pm 16.33*
疏肝平喘组	51.29 \pm 3.80#	298.11 \pm 15.23#	46.81 \pm 2.60#	353.68 \pm 17.19#
地塞米松组	49.23 \pm 4.16#	304.09 \pm 15.68#	44.99 \pm 2.84#	346.61 \pm 16.51#

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

2.6 疏肝平喘方对哮喘小鼠肺组织 ROR γ t、FoxP3 蛋白表达水平的影响

与对照组比较,模型组小鼠肺组织 ROR γ t 蛋白表达水平升高,FoxP3 蛋白表达水平降低($P<0.05$);与模型组比较,疏肝平喘组与地塞米松组小鼠肺组织 ROR γ t 蛋白表达水平降低,FoxP3 蛋白表达水平升高($P<0.05$)。详见图 5。

3 讨论

中医学认为,正气不足是哮喘发作的内因,正气虚损容易感召邪气,进而引动宿痰,发为哮喘^[9-11]。平喘方是海派徐氏儿科的经验方,用于哮喘的治疗,能

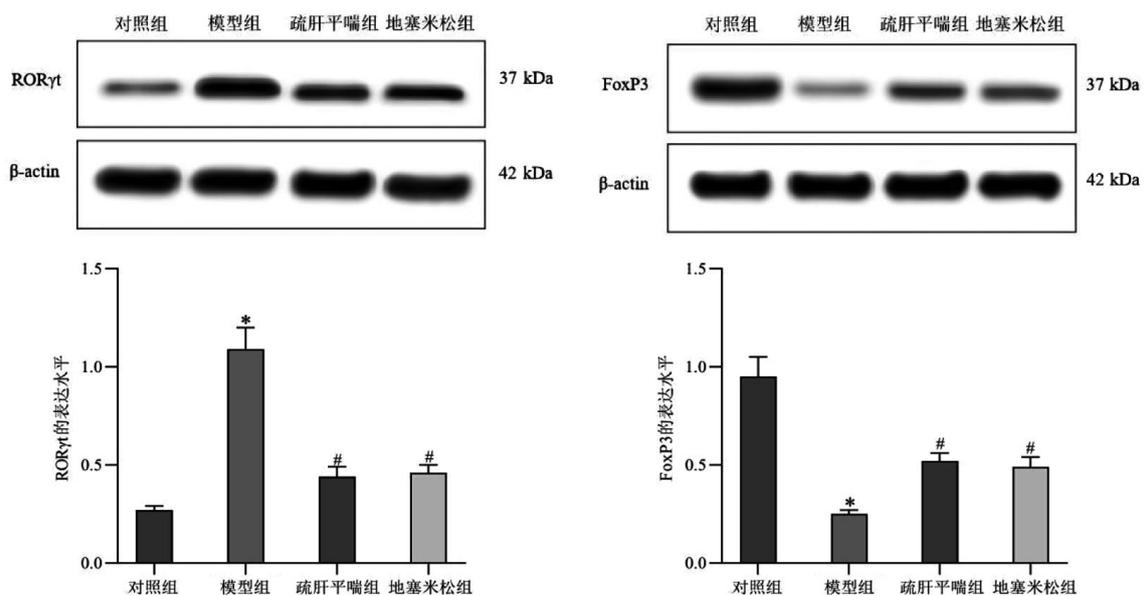


图 5 各组小鼠肺组织匀浆液中 ROR γ t、FoxP3 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig.5 Comparison of the protein expression levels of ROR γ t and FoxP3 in lung tissue homogenates among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

够起到宣肺平喘、化痰祛瘀的作用^[12]。疏肝平喘方在传统平喘方的基础上增加柴胡和白芍,针对“痰瘀互结”的病机发挥疏肝理气、活血祛瘀的作用,进而从“肺”和“肝”两个脏器入手使“痰瘀”祛除^[13]。顾静雯等^[8]的研究显示,疏肝平喘方能改善哮喘小鼠肺组织中支气管管径变窄、肺间质水肿及炎症细胞浸润等病理改变,但其是否改善哮喘的气流受限、气道重塑尚不清楚。本研究采用OVA腹腔注射致敏及雾化吸入激发的方式建立哮喘小鼠模型,模型建立成功后给予疏肝平喘方和地塞米松灌胃治疗,治疗后两组小鼠的气道Penh值降低、肺组织内胶原沉积减少。上述结果说明疏肝平喘方能改善哮喘小鼠的肺组织病理改变,与顾静雯等^[8]的研究结果一致;此外,上述结果还表明疏肝平喘方能改善哮喘小鼠的气流受限和气道重塑。

Th17和Treg是两种不同的T细胞亚群,Th17/Treg免疫失衡是哮喘发病的重要环节^[14]。Th17是一种促炎细胞,在转录因子ROR γ t的作用下分化成熟;Th17分泌的细胞因子IL-17能够激活气道炎症反应、引起气道重塑^[15-16]。Treg是一种维持免疫耐受的免疫调节细胞,在转录因子FoxP3的作用下分化成熟;Treg分泌的细胞因子IL-10能够抑制Th17细胞的分化以及IL-17的生成,进而在气道内抑制炎症反应、改善气道重塑^[17]。哮喘相关的临床研究和基础研究均证实,Th17转录因子ROR γ t及细胞因子IL-17增多、Treg转录因子FoxP3及细胞因子IL-10减少与哮喘的发生和发展密切相关^[18-20]。疏肝平喘方在咳嗽变异性哮喘的临床治疗中展现出抗炎活性^[7],在哮喘小鼠的治疗中调控Th17/Treg平衡^[8]。本研究结果显示,哮喘小鼠血清IL-17水平及肺组织中IL-17、ROR γ t水平均显著升高,血清IL-10水平及肺组织IL-10、FoxP3水平均显著降低,与既往其他研究中哮喘模型Th17/Treg失衡的相关结果吻合^[18-20];疏肝平喘方和地塞米松灌胃治疗后,哮喘小鼠IL-17及ROR γ t的水平降低、IL-10及FoxP3的水平增加,说明疏肝平喘方能纠正哮喘小鼠的Th17/Treg失衡。

本研究对疏肝平喘方改善哮喘小鼠气道功能及气道重塑,纠正Th17/Treg失衡的分子机制进行初步探索。Sirt6属于Sirtuin家族,具有组蛋白去乙酰化活性^[21]。WAWRZYNIAK等^[22]的研究结果显示,Sirt6在哮喘患者气道分离出的支气管上皮细胞中表达增

加;QUAN等^[14]动物实验结果显示,特异性敲除气道上皮中Sirt6的表达对哮喘小鼠的气道炎症和气道重塑具有改善作用,这一改善作用与靶向调控ROR γ t的乙酰化水平、抑制Th17细胞分化并减少IL-17释放有关。上述结果表明,Sirt6通过促进Th17/Treg平衡向Th17偏移、增加IL-17释放参与哮喘的气道炎症及气道重塑。本研究结果显示,哮喘小鼠肺组织中Sirt6的表达水平增加,与WAWRZYNIAK等^[22]的实验结果一致;疏肝平喘方和地塞米松灌胃治疗均使哮喘小鼠肺组织中Sirt6的表达水平降低,提示疏肝平喘方对哮喘小鼠气道功能、气道重塑、Th17/Treg失衡的改善作用与抑制Sirt6的表达有关。

综上所述,疏肝平喘方用于哮喘小鼠治疗能改善气道功能及肺组织病理改变、胶原堆积、Th17/Treg失衡,且其治疗作用与地塞米松相当。Sirt6在哮喘中促进炎症反应和气道重塑、导致Th17/Treg失衡,疏肝平喘方在哮喘小鼠中发挥改善作用的可能分子机制是抑制Sirt6表达。但本研究未设计疏肝平喘方联合Sirt6过表达组,因而无法直接证明疏肝平喘方通过抑制Sirt6表达改善哮喘气道功能、病理改变、气道重塑的机制。此外,疏肝平喘方用于哮喘小鼠发挥治疗作用的分子机制复杂,除Sirt6外,今后还应从铁死亡、circRNA等角度进行探索。

参考文献

- [1] DU X, YANF M. Unraveling the mechanisms of virus-induced asthma exacerbation: Epithelial injury, immune dysregulation, and novel interventions[J]. Chinese Medical Journal Pulmonary and Critical Care Medicine, 2025, 3(3): 164-181.
- [2] THOMAS R, QIAO S, YANG X. Th17/treg imbalance: Implications in lung inflammatory diseases[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(5): 4865.
- [3] JIN X L, WANG J. Down-regulation of INSR restores Th17/treg immune balance and alleviates airway hyperviscosity in asthmatic mice via inactivation of STAT3 pathway[J]. Discovery Medicine, 2024, 36(181): 372-384.
- [4] QUAN J Y, WEN X X, SU G M, et al. Epithelial SIRT6 governs IL-17A pathogenicity and drives allergic airway inflammation and remodeling[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 8525.
- [5] 太 然, 袁振华, 姜妍琳, 等. 基于《证治汇补·哮喘》探析儿童哮喘防治思路[J]. 世界中医药, 2024, 19(14): 2175-2179.

- [6] 沈世平, 杨 艳, 薛 征, 等. 基于 TLR2/NF- κ B 信号通路探讨平喘方及拆方改善哮喘小鼠气道重塑作用机制[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(12): 129–134.
- [7] 沈毅韵, 庄 承, 刘小敏. 疏肝平喘方治疗小儿咳嗽变异性哮喘的临床研究[J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(4): 348–352.
- [8] 顾静雯, 朴 香, 傅 伟, 等. 疏肝平喘方通过转化生长因子- β 1/Smad 信号通路对哮喘小鼠免疫平衡的影响[J]. 世界中医药, 2023, 18(14): 1974–1978, 1985.
- [9] CHEN Y J, SHIMIZU BASSI G, WANG Y, et al. Research hotspot and frontier analysis of traditional Chinese medicine in asthma using bibliometric methods from 1991 to 2021[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology: Global, 2022, 1(4): 185–197.
- [10] PIAO X, JIANG S H, WANG J N, et al. Pingchuan formula attenuates airway mucus hypersecretion via regulation of the PNEC-GABA-IL13-Muc5ac axis in asthmatic mice[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2021, 140: 111746.
- [11] 于国竞, 李 杰, 于汶任, 等. 从“痰湿内停、三焦失司”探讨线粒体功能障碍与支气管哮喘的关系[J]. 湖北中医药大学学报, 2024, 26(6): 53–56.
- [12] 朴 香, 吴 杰, 虞坚尔, 等. 平喘方干预哮喘模型观察“IL-33-ST2”肺肠免疫变化的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(12): 1445–1450.
- [13] WU M Y, YU J E, BAI L, et al. Pingchuan formula (平喘方) improves allergic asthma in mice through inhibiting nuclear factor- κ B/mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 41 (6): 883–890.
- [14] ZHANG B B, ZENG M N, ZHANG Q Q, et al. Ephedrae Herba polysaccharides inhibit the inflammation of ovalbumin induced asthma by regulating Th1/Th2 and Th17/Treg cell immune imbalance[J]. Molecular Immunology, 2022, 152: 14–26.
- [15] CARVAJAL GONCZI C M, HAJIAGHAYI M, GHOLIZADEH F, et al. The β 2-adrenergic receptor agonist terbutaline upregulates T helper-17 cells in a protein kinase A-dependent manner[J]. Human Immunology, 2023, 84(10): 515–524.
- [16] JI T F, LI H Q. T-helper cells and their cytokines in pathogenesis and treatment of asthma[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1149203.
- [17] XIE C L, XU W X, RAO S K, et al. The role of Th17/treg imbalance, FeNO, eosinophils, IgE and their correlation with lung function parameters with asthma-chronic obstructive pulmonary disease[J]. Iranian Journal of Allergy, Asthma, and Immunology, 2024, 23(6): 625–640.
- [18] SADRIFAR S, ABBASI-DOKHT T, FOROUZANDEH S, et al. The impact of multistrains of probiotics on Th17-related cytokines in patients with asthma: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. The Journal of Asthma: Official Journal of the Association for the Care of Asthma, 2023, 60(7): 1306–1315.
- [19] CHUANG H C, CHUANG K J, CHENG P C, et al. Indirubin induces tolerogenic dendritic cells via aryl hydrocarbon receptor activation and ameliorates allergic asthma in a murine model by expanding Foxp3-expressing regulatory T cells[J]. Phytomedicine, 2024, 135: 156013.
- [20] FAN L X, WU J Q, WANG H J, et al. METTL3-mediated N6-methyladenosine methylation modifies Foxp3 mRNA levels and affects the Treg cells proportion in peripheral blood of patients with asthma[J]. Annals of Clinical and Laboratory Science, 2022, 52(6): 884–894.
- [21] TIAN Y, FENG T, HOU T, et al. Protocol to purify the histone deacetylase SIRT6 and assess its activity invitro[J]. STAR Protocols, 2023, 4(2): 02206.
- [22] WAWRZYNIAK P, WAWRZYNIAK M, WANKE K, et al. Regulation of bronchial epithelial barrier integrity by type 2 cytokines and histone deacetylases in asthmatic patients[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2017, 139(1): 93–103.

(本文编辑 周 旦)