

引用:姚召燕,宋若会.基于PI3K/Akt信号通路探讨紫正地黄汤对人呼吸道合胞病毒感染小鼠肺损伤的作用机制[J].中医导报,2025,31(11):9-13,19.

实验

基于PI3K/Akt信号通路探讨紫正地黄汤 对人呼吸道合胞病毒感染小鼠肺损伤的 作用机制*

姚召燕¹,宋若会²

(1.安徽中医药大学,安徽 合肥 230031;

2.安徽中医药大学第一附属医院,安徽 合肥 230031)

[摘要] 目的:通过磷酸酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路,研究紫正地黄汤对呼吸道合胞病毒(RSV)感染小鼠肺组织炎症水平及病毒表达的影响,探讨紫正地黄汤对RSV感染小鼠肺组织可能发挥的抗炎抗病毒作用。方法:将小鼠随机分为空白组、模型组、对照组(利巴韦林组)及紫正地黄汤低剂量组、中剂量组、高剂量组。给药后对小鼠肺组织进行取材,计算小鼠肺指数;苏木精-伊红染色法(HE)染色后观察小鼠肺组织病理形态;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测肺组织白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平;蛋白质免疫印迹(WB)检测PI3K、Akt及p-PI3K及p-Akt蛋白表达水平;定量聚合酶链式反应(q-PCR)检测RSV相对表达量;同时免疫荧光观察小鼠肺组织中RSV蛋白荧光强度。结果:较模型组,给药组小鼠肺组织炎症浸润得到有效改善,IL-6、TNF- α 、IL-1 β 表达显著下调($P<0.05$),p-PI3K及p-Akt蛋白表达明显提高($P<0.05$),病毒含量减少($P<0.05$)。结论:紫正地黄汤能有效降低RSV感染小鼠肺组织中病毒复制水平,且可上调p-PI3K及p-Akt蛋白的表达,并调控TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎症因子的表达,减轻小鼠肺组织炎症程度,从而发挥抗炎抗病毒作用,减轻小鼠肺损伤。

[关键词] 人呼吸道合胞病毒;紫正地黄汤;PI3K/Akt;抗炎;抗病毒;小鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)11-0009-05

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.11.002

Study on the Mechanism of Zizheng Dihuang Decoction (紫正地黄汤) on Lung Injury in Mice Infected with Human Respiratory Syncytial Virus Based on the PI3K/Akt Signaling Pathway

YAO Zhaoyan¹, SONG Ruohui²

(1. Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei Anhui 230031, China;

2. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei Anhui 230031, China)

[Abstract] Objective: To study the effects of Zizheng Dihuang decoction (ZZDHD) on the level of lung tissue inflammation and viral expression in mice infected with Respiratory Syncytial Virus (RSV) through the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt), and to explore its potential anti-inflammatory and antiviral effects against RSV-induced lung injury in mice. Methods: Mice were randomly divided into blank group, model group, control group (ribavirin group), ZZDHD low concentration group, ZZDHD medium concentration group and ZZDHD high concentration group. The lung tissue of mice was sampled after administration and the lung index was calculated. The pathological morphology of lung tissue was observed after hematoxylin-eosin staining (HE) staining. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-1 β (IL-1 β). Protein expression levels of PI3K, Akt, phosphorylated PI3K (p-PI3K) and phosphorylated Akt (p-Akt) were detected by

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(82074501)

通信作者:宋若会,男,主任医师,研究方向为中医药治疗咽喉病

Western blotting (WB). Quantitative polymerase chain reaction (q-PCR) was used to detect the relative expression of RSV. Meanwhile, the RSV protein fluorescence intensity in mouse lung tissue was observed by immunofluorescence. Results: Compared with the model group, the administration groups showed significant improvement in inflammatory infiltration in lung tissue, significant downregulation of IL-6, TNF- α and IL-1 β expression ($P<0.05$), significantly increased protein expression of p-PI3K and p-Akt ($P<0.05$), and reduced virus content ($P<0.05$). Conclusion: Zizhong Dihuang decoction can effectively reduce the virus replication level in the lung tissue of mice infected with RSV, up-regulate the expression of p-PI3k and p-Akt protein, regulate the expression of TNF- α , IL-6 and IL-1 β , and reduce the degree of inflammation in the lung tissue of mice, thus playing an anti-inflammatory and antiviral role and reducing the degree of lung injury in mice.

[Keywords] human respiratory syncytial virus; Zizheng Dihuang decoction; PI3k/Akt; anti-inflammatory; antiviral; mice

呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)属于肺病毒科和正肺病毒属^[1],是常见的全球儿科及老年人群呼吸系统疾病的重要原因^[2]。在RSV感染的初始阶段,人们通常表现出上呼吸道感染的症状,如咳嗽和喉咙痛。如不及时控制,疾病将迅速发展成严重的下呼吸道感染^[3]。研究表明,RSV感染会导致肺部黏液增加、炎症增加以及炎性细胞因子表达^[4]。早期病毒感染甚至可能导致肺发育或修复改变,从而对以后的肺功能产生负面影响^[5]。数据显示,2015年全球范围内65岁以上人群中,RSV感染相关疾病中约有336 000例发生急性呼吸道感染(acute respiratory infection, ARI)住院,其中约有14 000例RSV相关ARI院内死亡^[6]。2023—2024年数据显示,在所有RSV感染就医病例中,儿童占比达23%,其中0~2个月龄婴儿的发病率最高^[7]。由此可见,RSV感染给全球公共卫生系统带来了沉重的负担。目前,帕利珠单抗是唯一获得许可的RSV的预防药物,但受限于各种因素,无法大规模投入使用^[8]。

紫正地黄汤作为郑氏喉科“辛凉养阴法”代表方,具有养阴散邪之功。相关动物实验发现紫正地黄散加减方可通过下调血清白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量及上调血清IL-10含量发挥其抗炎作用,并改善温热病模型家兔的肝脏损害^[9];紫正地黄合剂可通过调控急性咽炎小鼠核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)/信号通路调节炎症因子水平来发挥抗炎效应^[10];紫正地黄汤可通过核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)和胱天蛋白酶-1(CysteinyI aspartate specific proteinase 1, Caspase-1)有效改善颈深间隙感染大鼠的炎症浸润^[11]。相关临床研究发现紫正地黄汤可有效调节各项炎症指标,改善急性化脓性扁桃体炎症状^[12]。同时研究表明,磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)信号通路在RSV病毒感染及治疗过程中均发挥重要作用^[13-15]。本研究以PI3K/Akt信号通路为方向,进一步探讨紫正地黄汤对RSV感染小鼠肺组织损伤的作用机制。

1 材料与方

1.1 实验动物 36只SPF级雌性BALB/c小鼠,体质量20~22 g, 8周龄,购自浙江维通利华实验动物技术有限公司,实验动物

生产许可证号:SCXK(浙)2024-10-09,合格编号:20241021 Abzz0619000342。饲养于安徽欣乐生物技术有限公司,适应性饲养7 d,温度22~26 $^{\circ}$ C,湿度60%~70%,12 h/12 h明暗交替,自由饮食饮水,保持动物房内环境整洁通风。本研究已通过安徽中医药大学伦理委员会审查,伦理编号:AHUCM-mouse-2024020。

1.2 主要药物与试剂 小鼠IL-1 β 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(批号:JYM0531Mo & 20240706)、小鼠IL-6 ELISA试剂盒(批号:JYM0012Mo & 20240821)、小鼠TNF- α ELISA试剂盒(批号:JYM0218Mo & 20240901)均购于武汉基因美科技有限公司;Akt抗体(批号:4691S&28)、p-Akt抗体(批号:4060S&27)、PI3K抗体(批号:bsm-33219M&AI 02187486)、p-PI3K抗体(批号:ab182651&GR 305773-2)均购于CST公司;GAPDH(批号:TA-08&230040703)、PBS缓冲液粉末(批号:ZLI-906223073101)、山羊抗小鼠IgG(批号:ZB-2305249760706)、山羊抗兔IgG(批号:ZB-23012 49730804)均购于Zsbio公司;RIPA细胞裂解液(强)(批号:P0013B&122223240222)和western快速转膜液(批号:P0575-10LZ885240829)均购于Beyotime公司;PVDF膜(批号:P0013B& 122223240222)购于Millipore公司;预染蛋白Marker(批号:ZLI-906223073101)购于Thermo公司;ECL超敏发光试剂盒(批号:BL520A24158302)购于Biosharp公司。

利巴韦林溶液(上海源叶生物科技有限公司,批号:W14M6D1);RSV-Long株(国际标准株,安徽医科大学微生物学教研室提供);紫正地黄汤(药物组成:薄荷3 g,生地黄10 g,细辛2 g,茜草5 g,牡丹皮4 g,赤芍4 g,灯心草20节,防风4 g,甘草3 g,荆芥4 g,桔梗4 g,紫荆皮10 g)药物均由安徽中医药大学第一附属医院中药房提供,并经李立华主任药师鉴定,加入12倍剂量水,煎煮2次,55 $^{\circ}$ C减压浓缩至相当于生药0.86 g/mL,设置为紫正地黄汤中剂量,高、低剂量分别含生药1.72 g/mL、0.43 g/mL。低温保存。

1.3 主要仪器 自动制冰机(常熟市雪科电器有限公司,型号:IMS-20);电泳仪(型号:EPS300)、电泳槽(型号:VE-180)、转膜仪(型号:VE-186)均购于上海天能科技有限公司(Tanon);高速冷冻离心机(型号:JW-3021HR)和离心机(型号:JW3021HR)均购于安徽嘉文仪器装备有限公司;水平摇床

(型号:TS-1000)和漩涡混合器(型号:GL-88B)均购于海口市其林贝尔仪器制造有限公司;纯水机(上海和泰仪器有限公司,型号:Master-S30 UF);自动曝光仪(上海培清科技有限公司,型号:JS-1070P);酶标仪(雷杜公司,型号:RT-6100);移液器(ependorf公司,型号:0.5-10ul)。

1.4 动物分组及造模 随机选取36只小鼠分成空白组(A)、模型组(B)、紫正地黄汤低剂量组(C)、紫正地黄汤中剂量组(D)、紫正地黄汤高剂量组(E)及利巴韦林组(F),共6组,每组6只,正常饲养,定时给水喂食。除空白组外,其余各组小鼠使均以50 μ L RSV病毒滴鼻,具体操作:固定小鼠并充分暴露其正面,将RSV原液于小鼠鼻孔处缓慢滴入,滴鼻完成后保持小鼠仰卧姿势一段时间,随后放回笼内。滴鼻1次/d,连续3 d。以小鼠肺组织中RSV蛋白载量、肺组织炎症水平及损伤程度作为建模成功的依据^[10]。

1.5 实验给药 造模结束后,紫正地黄汤低、中、高剂量组及利巴韦林组于造模后灌胃给药,连续7 d,给药剂量根据《药理学实验方法》进行人鼠剂量换算,紫正地黄汤低、中、高剂量组分别以10 mg/kg为标准给药,利巴韦林组以2.6 mg/kg为标准给药。治疗期间正常饲料喂养。空白组、模型组无特殊处理。

1.6 观察指标

1.6.1 小鼠肺指数 记录小鼠体质量,麻醉并解剖小鼠,取其肺组织,计算其肺指数[肺质量(g)/体质量(g)],以此判断小鼠肺水肿情况。

1.6.2 HE结果 将肺组织脱水、包埋、切片后,将制备好的切片置于光学显微镜下,观察小鼠肺组织病理学变化。

1.6.3 ELISA检测肺组织IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平 用酶标仪在450 nm波长下测定光密度值(OD),并计算靶点蛋白浓度。

1.6.4 WB检测相关蛋白表达水平 取肺组织100 mg,加入裂解液后提取蛋白样品,变性后开展电泳,转膜封闭后开展一抗、二抗孵育,最后使用ECL发光试剂盒来检测蛋白。

1.6.5 q-PCR检测小鼠肺组织中的RSV病毒的相对表达量 称取肺组织50 mg,加入裂解液,裂解后加入氯仿,离心后取沉淀物,检测RNA纯度,并以RNA为模板逆转录合成DNA。加入引物,与目标序列特异性结合。在试管中继续加入反应液,并放入热循环装置中,设置温度及参数,反应结束后筛选并纯化扩增产物。

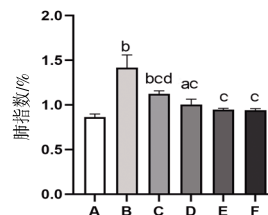
1.6.6 免疫荧光检测小鼠肺组织RSV蛋白 用BSA封闭样本30 min,按照试剂盒说明书依次进行一抗稀释及孵育,复温后用缓冲液充分洗涤,二抗孵育及稀释后再次洗涤,最后滴加DAPI工作液,冲洗后于荧光显微镜下观察结果,并利用Image J进行定量分析。

1.7 统计学方法 采用SPSS 26.0软件进行数据统计,使用Graphpad Prism 9进行图形绘制。计量资料符合正态分布以“均数 \pm 标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较使用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 紫正地黄汤对小鼠肺水肿程度的影响 模型组及紫正地黄汤低、中剂量组小鼠肺指数高于空白组($P<0.01$ 或 $P<0.05$),紫正地黄汤高剂量组及利巴韦林组小鼠肺指数与空白组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);各给药组小鼠肺指数低于

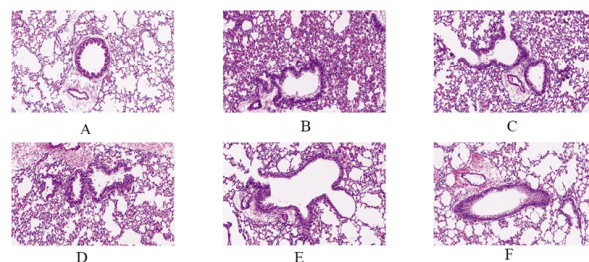
模型组($P<0.01$);紫正地黄汤低剂量组小鼠肺指数高于利巴韦林组($P<0.05$),紫正地黄汤中、高剂量组小鼠肺指数与利巴韦林组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。(见图1)



注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。与空白组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.01$;与利巴韦林组比较,^d $P<0.05$ 。

图1 各组小鼠肺指数比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

2.2 紫正地黄汤对小鼠肺组织病理损伤的影响 与空白组比较,模型组及各给药组小鼠肺组织出现明显的炎性细胞浸润,肺细胞间隙增宽,肺泡内出血明显;与模型组比较,紫正地黄汤低、中、高剂量组及利巴韦林组肺组织炎性浸润均得到改善,肺泡出血情况也得到改善,其中,以紫正地黄汤高剂量组及利巴韦林组改善最为明显。(见图2)



注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。

图2 给药后各组小鼠肺组织 HE 染色情况 ($\times 200$)

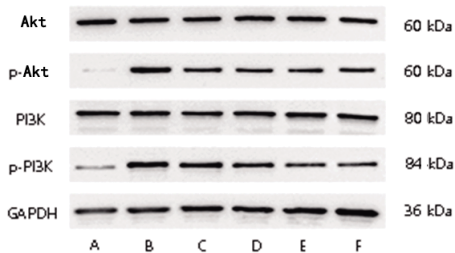
2.3 紫正地黄汤对各组小鼠肺组织细胞因子的影响 与空白组比较,模型组及各给药组肺组织的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 细胞因子显著增加($P<0.01$);与模型组比较,各给药组的细胞因子表达明显低于模型组($P<0.01$);紫正地黄汤低、中剂量组TNF- α 、IL-6、IL-1 β 高于利巴韦林组($P<0.01$),紫正地黄汤高剂量组与利巴韦林组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。(见表1)

表1 各组小鼠细胞因子表达水平 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | IL-1 β | IL-6 | TNF- α |
|----|---|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| A | 6 | 39.47 \pm 2.57 | 36.48 \pm 0.98 | 561.10 \pm 40.63 |
| B | 6 | 229.03 \pm 6.4 ^a | 247.94 \pm 6.57 ^a | 2 193.24 \pm 66.12 ^a |
| C | 6 | 200.65 \pm 5.83 ^{abc} | 211.11 \pm 5.19 ^{abc} | 1 615.98 \pm 26.06 ^{abc} |
| D | 6 | 171.50 \pm 5.55 ^{abc} | 178.54 \pm 4.67 ^{abc} | 1 385.22 \pm 43.79 ^{abc} |
| E | 6 | 144.17 \pm 4.63 ^{ab} | 142.86 \pm 6.86 ^{ab} | 1 149.21 \pm 62.93 ^{ab} |
| F | 6 | 141.41 \pm 3.83 ^{ab} | 146.76 \pm 5.39 ^{ab} | 1 104.46 \pm 28.72 ^{ab} |
| F | | 864.462 | 938.628 | 2 317.623 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与利巴韦林组比较,^c $P<0.01$ 。

2.4 紫正地黄汤对小鼠肺组织相关蛋白表达水平的影响 Akt及PI3K在各组中表达无显著差异。与空白组比较,模型组及各给药组p-Akt及p-PI3K蛋白表达水平显著较空白组显著上调($P<0.01$);与模型组比较,紫正地黄汤高剂量组及利巴韦林组p-Akt表达较模型组显著降低($P<0.05$),紫正地黄汤低、中剂量组较模型组无显著差异($P>0.05$)。紫正地黄汤中、高剂量组及利巴韦林组p-PI3K较模型组差异显著($P<0.05$),紫正地黄汤低剂量组与模型组无显著差异($P>0.05$);与利巴韦林组比较,紫正地黄汤低剂量组与利巴韦林组差异显著($P<0.05$),紫正地黄汤中、高剂量组与利巴韦林组无明显差异($P>0.05$)。(见图3、表2)



注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。

图3 各组小鼠相关蛋白电泳图

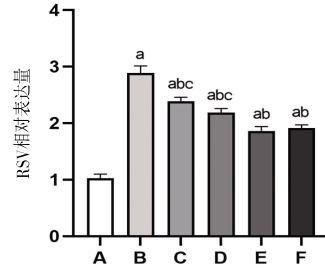
表2 各组小鼠相关蛋白表达水平 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | Akt | p-Akt | PI3K | p-PI3K |
|----|---|------------|--------------------------|-----------|--------------------------|
| A | 6 | 0.84±0.05 | 0.15±0.02 | 0.86±0.02 | 0.23±0.04 |
| B | 6 | 0.81±0.06 | 0.91±0.08 ^a | 0.80±0.09 | 0.89±0.07 ^a |
| C | 6 | 0.84±0.07 | 0.80±0.07 ^{a,c} | 0.80±0.06 | 0.70±0.04 ^{a,c} |
| D | 6 | 0.85±0.06 | 0.75±0.05 ^a | 0.82±0.08 | 0.70±0.02 ^{ab} |
| E | 6 | 0.085±0.07 | 0.67±0.01 ^{ab} | 0.84±0.07 | 0.62±0.02 ^{ab} |
| F | 6 | 0.87±0.01 | 0.62±0.03 ^{ab} | 0.89±0.03 | 0.64±0.05 ^{ab} |
| F | | 0.229 | 55.086 | 0.666 | 57.014 |
| P | | 0.942 | 0.000 | 0.656 | 0.000 |

注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与利巴韦林组比较,^c $P<0.05$ 。

2.5 紫正地黄汤对各组小鼠肺组织中RSV相对表达量的影

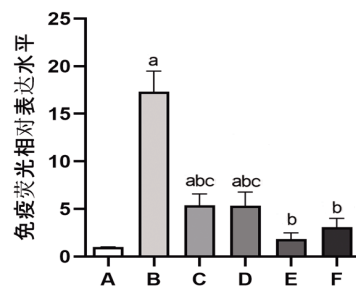
响 与空白组比较,模型组及各给药组较空白组差异显著($P<0.01$);与模型组比较,及各给药组的RSV相对表达量显著增高($P<0.01$);与利巴韦林组比较,紫正地黄汤低、中剂量组较模型组差异显著($P<0.01$),紫正地黄汤高剂量组与利巴韦林组无显著差异($P>0.05$)。(见图4)



注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与利巴韦林组比较,^c $P<0.01$ 。

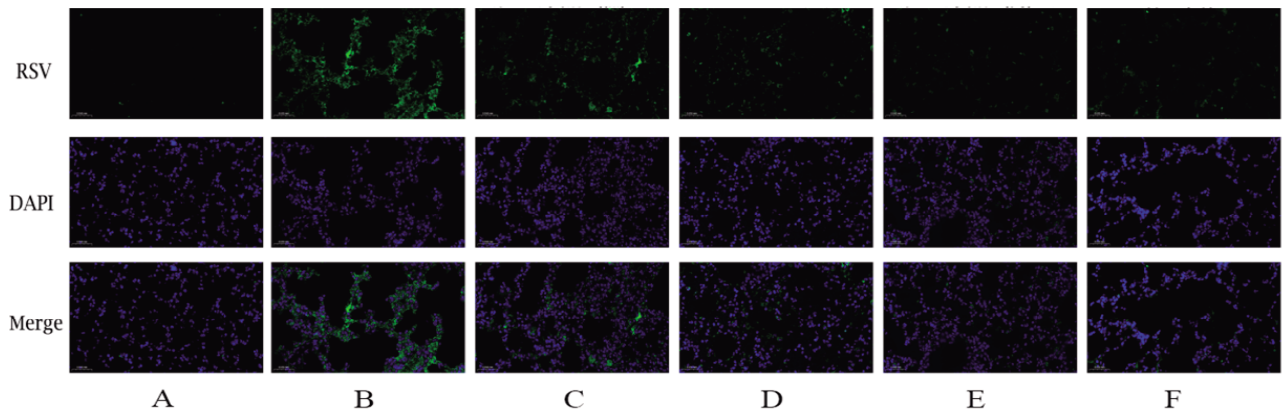
图4 各组小鼠肺组织中RSV相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

2.6 紫正地黄汤对小鼠肺组织RSV蛋白免疫荧光的影响 与空白组比较,模型组及紫正地黄汤低、中剂量组RSV蛋白荧光颗粒显著增多($P<0.01$),紫正地黄汤高剂量组及利巴韦林组RSV蛋白荧光颗粒无显著变化($P>0.05$);与模型组比较,各给药组小鼠肺组织中RSV蛋白荧光颗粒显著减少($P<0.01$);与利巴韦林组比较,紫正地黄汤低、中剂量组差异显著($P<0.01$),而紫正地黄汤高剂量组则无明显差异($P>0.05$)。(见图5-6)



注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。与空白组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$;与利巴韦林组比较,^c $P<0.01$ 。

图6 免疫荧光结果定量分析 ($\bar{x}\pm s, n=6$)



注:A.空白组;B.模型组;C.紫正地黄汤低剂量组;D.紫正地黄汤中剂量组;E.紫正地黄汤高剂量组;F.利巴韦林组。

图6 给药第3天各组小鼠肺组织免疫荧光结果 ($\times 400$)

3 讨 论

中医学认为,RSV诱导的小鼠肺部病毒感染属于中医“风温肺热”的范畴^[7],病机多由于热毒耗伤气伤阴导致肺失宣肃,肺络受损所致。临床常以清热养阴、宣肺排毒之剂配合治疗。研究表明,无论是中药复方还是单体中药都能从不同作用机制通路对RSV感染后的肺部感染发挥作用,如大黄被证实能够促进miR-509-3p对Rab5c mRNA的降解,从而抑制RSV的增殖^[8];梔子能通过PD-1检查点通路、PI3K/Akt通路、CLRs通路等信号通路发挥抗RSV感染的作用^[9];连翘能通过抑制TLR4/MyD88信号通路的表达有效改善RSV感染小鼠的肺损伤情况^[20]等。综上所述,中药治疗RSV感染的作用机制得到了广泛的支持。紫正地黄汤作为新安郑氏喉科的代表方,其治法为辛凉养阴,长于治疗喉风诸症,功在养阴散邪^[21]。方中紫荆皮、茜草清热解毒,活血通经;牡丹皮、生地黄、赤芍黄清热凉血,养阴生津;防风、细辛、荆芥解表祛风;薄荷疏风散热;灯心草清火利湿;桔梗宣肺祛痰。全方以辛凉养阴、气血并治为大法,既祛气分之邪,也清血分之热,是临床治疗温热病的良方。前期研究表明,紫正地黄汤能有效调控炎症感染后的炎症因子水平并减轻相关器官损伤^[9-12]。本研究在此基础上,通过PI3K/Akt信号通路,进一步探索紫正地黄汤对RSV感染小鼠肺损伤的改善作用。

PI3K/Akt信号通路作为一条酪氨酸激酶级联信号传导通路,能广泛影响细胞生命活动^[22],在细胞存活、凋亡及增殖等活动中发挥重要的生物学功能^[23]。研究证明,PI3k/Akt信号通路在很多疾病中都发挥着重要作用,如许云姣等^[24]认为应激性胃黏膜损伤时,PI3K/Akt/NF- κ B信号通路激活,导致损伤因子增加;钟华林等^[25]认为,虎杖可能通过PI3K/Akt/mTOR信号通路,抑制鼻咽癌细胞的增殖并促进凋亡;孙微等^[26]认为乌灵胶囊可通过海马PI3K/Akt/mTOR通路,调节神经递质水平。同时,PI3K/Akt信号通路在RSV感染过程中也发挥着重要作用。研究表明,RSV感染能够通过激活胰岛素受体(IR)-PI3K-Akt轴或上调ROS水平增加HIF-1 α 介导的糖酵解,为后代RSV病毒粒子的产生提供了能量^[3],而药物可能通过调节PI3K/Akt信号通路抑制炎症体相关蛋白NLRP3的表达,进而改善病毒感染引起的炎症反应^[14],或者促进细胞凋亡,缩短细胞存活时间,从而发挥抗RSV作用^[15]。

IL-6、TNF- α 、IL1 β 是一类传统的促炎因子,当机体有炎症反应时,上述因子可剧烈表达^[27-28]。本实验证实,紫正地黄汤能有效降低RSV感染后小鼠肺组织的炎症因子水平,减轻小鼠肺水肿的程度及肺组织病理损害程度,有效减轻小鼠肺部炎症;WB结果提示紫正地黄汤则能有效降低RSV感染后小鼠肺组织中PI3K、Akt的磷酸化水平,从而调控PI3K/Akt信号通路;PCR及免疫荧光结果提示,紫正地黄汤能有效降低RSV感染后小鼠肺组织中RSV表达,抑制病毒复制,发挥抗病毒作用。

综上所述,紫正地黄汤能有效针对RSV感染后的肺组织发挥抗炎抗病毒的效果,从而减轻肺损伤程度,其作用机制可能为调控PI3K/Akt通路。

参考文献

- [1] BONNEUX B, CECONI M, STOBBELAAR K, et al. Insights in the RSV L polymerase function and structure[J]. *Antiviral Res*, 2025, 237: 106148.
- [2] TRESTON B, GEOGHEGAN S. Exploring parental perspectives: Maternal RSV vaccination versus infant RSV monoclonal antibody[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2024, 20(1): 2341505.
- [3] WANG X X, REN W L, WANG P, et al. Investigating the active components and mechanistic effects of Forsythia suspensa Leaf against RSV via the PI3K/Akt-NLRP3 pathway[J]. *Heliyon*, 2024, 10(19): e38285.
- [4] MALINCZAK C A, LUKACS N W, FONSECA W. Early-life respiratory syncytial virus infection, trained immunity and subsequent pulmonary diseases[J]. *Viruses*, 2020, 12(5): 505.
- [5] MALINCZAK C A, FONSECA W, HRYCAJ S M, et al. Early-life pulmonary viral infection leads to long-term functional and lower airway structural changes in the lungs[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2024, 326(3): L280-L291.
- [6] DOTY B, GHASWALLA P, BOHN R L, et al. Incidence of RSV in adults: A comprehensive review of observational studies and critical gaps in information[J]. *J Infect Dis*, 2024, 230(6): e1182-e1201.
- [7] Moline HL, Toepfer AP, Tannis A, et al. New Vaccine Surveillance Network Collaborators. Respiratory Syncytial Virus Disease Burden and Nirsevimab Effectiveness in Young Children From 2023-2024[J]. *JAMA Pediatr*, 2025, 179(2): 179-187.
- [8] BARALDI E, CHECCUCCI LISI G, COSTANTINO C, et al. RSV disease in infants and young children: Can we see a brighter future?[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2022, 18(4): 2079322.
- [9] 宋若会.郑日新教授运用辛凉养阴法治疗咽喉外感热病的经验总结及实验研究[D].合肥:安徽中医药大学, 2016.
- [10] 檀倩倩.基于NF- κ B通路探讨郑氏辛凉养阴法对急性咽喉炎的免疫炎症机制[D].合肥:安徽中医药大学, 2023.
- [11] 金芬芬,宋若会,屠彦红.紫正地黄汤对颈深间隙感染大鼠炎性小体NLRP3的影响[J].*山东中医药大学学报*, 2019, 43(2): 181-187.
- [12] 王楚丁.宋若会主任运用“辛凉养阴法”治疗急性化脓性扁桃体炎的临床经验总结暨实验研究[D].合肥:安徽中医药大学, 2023.
- [13] CHEN L F, CAI J X, ZHANG J J, et al. Respiratory syncytial virus co-opts hypoxia-inducible factor-1 α -mediated glycolysis to favor the production of infectious virus[J]. *mBio*, 2023, 14(5): e0211023.
- [14] WANG X X, REN W L, WANG P, et al. Investigating the active components and mechanistic effects of Forsythia suspensa Leaf against RSV via the PI3K/Akt-NLRP3 pathway[J]. *Heliyon*, 2024, 10(19): e38285.

(下转第19页)

- [11] SIES H, JONES D P. Reactive oxygen species(ROS) as pleiotropic physiological signalling agents[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2020,21(7):363–383.
- [12] WANG J, ZHANG Y, CAO J, et al. The role of autophagy in bone metabolism and clinical significance[J]. *Autophagy*,2023,19(9):2409–2427.
- [13] XIE X H, WANG F, GE W X, et al. Scutellarin attenuates oxidative stress and neuroinflammation in cerebral ischemia/reperfusion injury through PI3K/Akt-mediated Nrf2 signaling pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023,957:175979.
- [14] LI J, KARIM M A, CHE H, et al. Deletion of p16 prevents estrogen deficiency –induced osteoporosis by inhibiting oxidative stress and osteocyte senescence[J]. *Am J Transl Res*,2020,12(2):672–683.
- [15] COLAIANNI G, ERREDE M, SANESI L, et al. Irisin correlates positively with BMD in a cohort of older adult patients and downregulates the senescent marker p21 in osteoblasts[J]. *J Bone Miner Res*,2021,36(2):305–314.
- [16] ZHAI Y K, WANG Q F, LI Y Y, et al. The higher osteoprotective activity of psoralidin in vivo than coumestrol is attributed by its presence of an isopentenyl group and through activated PI3K/Akt axis [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*,2018,102:1015–1024.
- [17] 程志安,宋少云,吴燕峰,等.健骨二仙丸介导间充质干细胞的成骨细胞定向诱导及其成骨活性[J].*中国中医骨伤科杂志*,2005,13(1):8–11.
- [18] 程志安,危建安,韩凌,等.六味地黄丸、金匱肾气丸、健骨二仙丸含药血清对BMSCs成脂、成骨细胞分化相关基因的影响[J].*中国中西医结合杂志*,2013,33(2):261–265.
- [19] HAN D D, GU X L, GAO J, et al. Chlorogenic acid promotes the Nrf2/HO-1 anti-oxidative pathway by activating p21 (Waf1/Cip1) to resist dexamethasone-induced apoptosis in osteoblastic cells [J]. *Free Radical Biology & Medicine*,2019,137:1–12.
- [20] 周群,曾弦,黄丹,等.骨碎补化学成分和生物活性研究进展[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2021,23(8):2727–2741.
- [21] 白如君,邢晓磊,张虎.巴戟天多糖对骨质疏松大鼠骨质量、生物力学、 β_2 肾上腺素能受体及OX-LDL水平的影响[J].*中国老年学杂志*,2023,43(13):3251–3255.
- [22] 鲁林,方虹.骨碎补总黄酮抑制Notch1/Hes1/Prdx1通路对骨质疏松大鼠抗氧化能力的影响[J].*中国骨质疏松杂志*,2023,29(10):1431–1436.
- (收稿日期:2025-04-30 编辑:李海洋)

(上接第13页)

- [15] WANG X X, WANG P, DU H T, et al. Prediction of the active components and mechanism of *Forsythia suspensa* leaf against respiratory syncytial virus based on network pharmacology[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022,2022:5643345.
- [16] ZHANG G X, ZHAO B B, LIU J N. The development of animal models for respiratory syncytial virus (RSV) infection and enhanced RSV disease[J]. *Viruses*,2024,16(11):1701.
- [17] 黄家望,马心悦,朱梦晨,等.基于“扶正祛邪”治则的中医药抗病毒性肺炎作用机制的研究进展[J].*中医药学报*,2022,50(12):97–101.
- [18] 王秀丽,陈美汐,王艳玲,等.大黄通过NRV1调节miR-509-3p/Rab5c轴抑制呼吸道合胞病毒的效果[J].*河北医药*,2024,46(19):2949–2953.
- [19] 侯长周,张建锋,安海,等.栀子抗呼吸道合胞病毒作用及基于网络药理学和分子对接的机制研究[J].*药物评价研究*,2024,47(9):1985–1994.
- [20] 胡秋芳,李凡敏.连翘苷对呼吸道合胞病毒感染小鼠的治疗作用 [J]. *中国临床药理学杂志*,2024,40 (15):2202–2206.
- [21] 高加胜,鲁建,钱雅琴,等.紫正地黄汤联合孟鲁司特钠治疗儿童腺样体肥大疗效及对患儿血清变态反应指标、氧化应激的影响[J].*陕西中医*,2021,42(9):1247–1249.
- [22] 刘丹,廖亮英,张稳.复方钩藤降压片对自发性高血压大鼠PI3K/Akt信号通路及其下游细胞炎性因子的影响[J].*时珍国医国药*,2020,31(2):292–296.
- [23] ZHOU Q X, HE M, JIN Q, et al. Mechanism of action of Taohong Siwu decoction in the alleviation of primary dysmenorrhea[J]. *Front Med (Lausanne)*,2024,11:1343179.
- [24] 许云姣,吴文笛,张志毕,等.基于PI3K/Akt及NF- κ B信号通路探讨大鼠应激性溃疡的关键保护因子[J].*云南中医中药杂志*,2021,42(6):79–83.
- [25] 钟华林,李玲波,覃焕桦,等.基于PI3K/AKT/mTOR信号通路探讨虎杖苷诱导鼻咽癌细胞凋亡的初步研究[J].*中国耳鼻咽喉头颈外科*,2019,26(10):536–540.
- [26] 孙微,王一帆,李贺,等.乌灵胶囊对卒中后抑郁大鼠海马PI3K/Akt/m TOR通路和神经递质的影响[J].*中国现代医学杂志*,2021,31(14):47–51.
- [27] 刘芬之,郭珈宜,李峰,等.中药熏洗联合西药治疗骨关节炎疗效及对患者IL-6、TNF- α 的影响[J].*陕西中医*,2020,41(4):474–476.
- [28] 朱博超,李彦杰,秦宏伟,等.针刺通过TLR4/NF- κ B信号通路调控炎症反应治疗中枢神经系统疾病的作用机制研究进展[J].*中医药导报*,2023,29(2):160–165.
- (收稿日期:2025-03-11 编辑:时格格)