

引用:顾静雯,傅伟,顾映衡,董晨洁,孔德澎,郑玉珠,沈毅韵.平喘方通过外泌体miR-21-5p调控TGF- β /Smad2/3信号通路对哮喘小鼠气道重塑的保护作用[J].中医导报,2026,32(5):49-54.

平喘方通过外泌体miR-21-5p调控TGF- β /Smad2/3信号通路对哮喘小鼠气道重塑的保护作用*

顾静雯¹,傅伟¹,顾映衡¹,董晨洁¹,孔德澎¹,郑玉珠¹,沈毅韵²
(1.上海市宝山区仁和医院,上海 200431;
2.上海中医药大学附属宝山医院,上海 201999)

[摘要] 目的:探讨平喘方对哮喘小鼠气道重塑的治疗作用及其潜在机制。方法:将40只6~8周龄的雄性BALB/c小鼠根据体质量随机分成空白组、哮喘模型组、平喘方治疗组和地塞米松治疗组,每组10只。除正常组外,其余3组均通过腹腔注射卵白蛋白(OVA)与铝镁佐剂混合物(20 μ g/mL)的方式建立哮喘小鼠模型。平喘方治疗组小鼠从第15天开始每日灌胃给药0.2 mL;地塞米松治疗组小鼠则在相同时间段内灌胃地塞米松[0.75 mg/(kg·d)];空白组小鼠灌胃生理盐水。持续28 d。给药完成后,通过HE染色、Masson染色、免疫组化、实时荧光定量PCR(qRT-PCR)和酶联免疫吸附试验(ELISA)等方法,检测小鼠肺组织病理学变化、气道重塑相关指标、外泌体miR-21-5p表达及转化生长因子- β (TGF- β)/Smad信号通路的变化。结果:与空白组比较,哮喘模型组小鼠出现显著气道炎症、平滑肌增厚、胶原沉积及上皮间质转化(E-cad表达下降、N-cad表达上升),且其外泌体miR-21-5p和肺组织TGF- β 、p-Smad2/3表达显著上调,而Smad7表达显著下调。平喘方治疗组与哮喘模型组比较,上述病理变化均得到明显改善,并能显著下调miR-21-5p、TGF- β 、p-Smad2/3的表达,同时上调Smad7的表达,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。平喘方治疗组在改善气道重塑、抑制纤维化及调节该信号通路的关键分子方面,效果与地塞米松治疗组相当,两组间差异不明显($P > 0.05$)。结论:平喘方具有显著的抗哮喘作用,其机制可能与下调外泌体miR-21-5p,抑制TGF- β /Smad2/3信号通路,从而改善气道重塑有关。

[关键词] 哮喘;平喘方;地塞米松;气道重塑;外泌体;miR-21-5p;转化生长因子 β /Smad信号通路;小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2026)05-0049-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2026.05.008

Protective Effect of Pingchuan Formula (平喘方) on Airway Remodeling in Asthmatic Mice by Regulating the TGF- β /Smad2/3 Signaling Pathway through Exosomal miR-21-5p

GU Jingwen¹, FU Wei¹, GU Yiheng¹, DONG Chenjie¹, KONG Depeng¹, ZHENG Yuzhu¹, SHEN Yiyun²
(1.Renhe Hospital, Baoshan District, Shanghai 200431, China; 2.Baoshan Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201999, China)

[Abstract] Objective: To investigate the therapeutic effect of Pingchuan formula (PCF) on airway remodeling in a murine model of asthma and to elucidate its underlying mechanisms. Methods: Totally 40 male BALB/c mice (6-8 weeks old) were randomly divided into four groups based on body weight ($n=10$ per group): a blank group, an asthma model group, a PCF-treated group, and a dexamethasone (DEX)-treated group. Asthma was induced in the latter three groups by intraperitoneal injection of a mixture of ovalbumin (OVA) and aluminum-magnesium adjuvant (20 μ g/mL). Starting on day 15th, the PCF-treated group received a daily oral gavage of

*基金项目:上海市宝山区科学技术委员会科技创新专项资金项目(2023-E-32);上海市宝山区仁和医院优秀中青年拔尖人才培养计划项目(BSRHYX-2021-01)

通信作者:沈毅韵,女,副主任医师,研究方向为中西医结合防治儿科呼吸系统疾病

PCF (0.2 mL), while the DEX-treated group received dexamethasone [0.75 mg/(kg·d)] as a positive control over the same period. The blank group received equivalent volumes of physiological saline without any sensitization. Each group was administered for 28 days. After treatment completion, pathological changes in lung tissue, airway remodeling-related indicators, exosomal miR-21-5p expression, and changes in the TGF-β/Smad signaling pathway were detected using methods including HE staining, Masson staining, immunohistochemistry, qRT-PCR, and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) respectively. Results: Compared to the blank group, the asthma model group exhibited marked airway inflammation, bronchial smooth muscle thickening, collagen deposition, and features of epithelial-mesenchymal transition (EMT), evidenced by decreased E-cadherin and increased N-cadherin expression. Furthermore, the asthma model group demonstrated a significant upregulation of exosomal miR-21-5p and pulmonary expression of TGF-β and phosphorylated Smad2/3 (p-Smad2/3), alongside a down-regulation of Smad7. These pathological alterations were reversed in PCF-treated group compared to the asthma model group, leading to a notable downregulation of miR-21-5p, TGF-β, and p-Smad2/3 expression, and an upregulation of Smad7 ($P<0.05$). The efficacy of PCF-treated group in mitigating airway remodeling, inhibiting fibrosis and modulating the key molecules of this pathway was comparable to that of DEX-treated group, with no statistically significant differences observed between the two groups ($P<0.05$). Conclusion: Pingchuan formula has a significant anti-asthma effect. Its mechanism may be related to the downregulation of exosomal miR-21-5p and the inhibition of the TGF-β/Smad2/3 signaling pathway, thereby improving airway remodeling.

[Keywords] asthma; Pingchuan formula; dexamethasone; airway remodeling; exosomes; miR-21-5p; transforming growth factor β/Smad signaling pathway; mouse

哮喘是一种常见的慢性气道疾病,通常表现为气道的慢性炎症、气道高反应性和气道重塑,其发病机制复杂,涉及免疫系统、环境因素、遗传易感性等多个方面的作用^[1-3]。气道重塑是哮喘的核心特征之一,主要表现为气道上皮损伤、气道平滑肌肥大和增生、胶原沉积及上皮基底膜增厚和纤维化^[3-6]。平滑肌细胞的过度增殖产生多种促炎和促纤维化介质,进而导致气流阻塞的严重化和细胞外基质的沉积,并最终造成哮喘个体的肺纤维化^[7-9]。这一过程主要由转化生长因子-β (TGF-β)诱导^[10-11]。TGF-β/Smad2/3通过调节一系列目的基因的转录诱导上皮细胞间质转化(EMT)、促进胶原蛋白和基质金属蛋白酶的表达,进而影响支气管上皮细胞增生以及平滑肌的增殖,促进气道重塑的发生^[12-14]。近年来,研究发现miRNAs同样参与气道重塑的过程^[15]。

细胞分泌的外泌体通过携带的miRNA等多种生物分子(miRNA、mRNA、蛋白质等)来介导细胞间通信,在哮喘等免疫疾病中发挥重要调节作用^[16]。其中,异常表达的miR-21-5p在哮喘中的作用尚未完全明确^[17-18]。已有研究表明LPS刺激大鼠肺泡巨噬细胞分泌的外泌体miR-21-5p可通过靶向抑制大鼠支气管上皮细胞中Smad7的表达,诱导TGF-β1的上调,促进支气管上皮细胞的EMT转化^[19]。此外,支气管哮喘患儿的miR-21-5p水平呈高表达趋势^[19]。在另一项研究^[20]中,miR-21-5p的下调可通过减轻气道炎症、抑制EMT过程及调节聚(ADP-核糖)聚合酶1(PARP-1)/磷酸肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路,来改善慢性过敏性呼吸道疾病(chronic allergic respiratory airway disease, CARAS)相关的肺损伤。但是具体的作用机制还有待进一步的研究阐明。

中医药在哮喘的治疗中有着悠久的历史和丰富的经验^[21]。平喘方作为一种经典方剂,被广泛应用于哮喘的临床治疗中^[22]。

多项研究表明,平喘方具有缓解哮喘症状、减轻气道炎症和改善气道重塑等多重作用^[23]。本研究旨在探究平喘方对小鼠肺泡灌洗液中miR-21-5p的表达干预作用,并检测其对下游TGF-β/Smad2/3信号轴分子的影响,从而为在临床治疗哮喘中应用平喘方提供新的理论依据。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 40只6~8周龄、体质量(20±2)g的雄性BALB/c小鼠,购自上海吉辉实验动物饲养有限公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)-2022-0009,动物质量合格证号:20220009 014100,动物在上海睿太莫斯生物科技有限公司饲养,动物使用许可证号:SYXK(沪)-2021-0007。所有小鼠在实验前适应性饲养1周,饲养环境为温度(22±2)℃,相对湿度50%~60%,12 h/12 h昼夜循环。实验前,所有小鼠均禁食12 h,饮水自由。本研究通过上海睿太莫斯生物科技有限公司动物实验伦理委员会审查(伦理号:SHRM-2023-0603)。

1.2 药物与试剂 平喘方药物由上海市宝山区仁和医院中药房提供,厂家为上海同济堂药业有限公司,饮片经上海中医药大学附属宝山医院苟小军主任药师鉴定为正品。平喘方由炙麻黄(批号:240501)、杏仁(批号:240901)、甘草(批号:240501)、紫苏子(批号:240501)、莱菔子(批号:240501)、地龙(批号:240301)、桃仁(批号:240501)、椒目(批号:240501)、黄芩(批号:240301)组成。剂量比为1:2:2:2:2:1:2:2,第一次加6倍水,旺火煮沸后,温火煮1 h,保温2 h,将药液滤出。第二次加3倍水,旺火煮沸后,温火煮1 h,保温2 h,将药液滤出。滤液合并浓缩,加入95%乙醇适量[95%乙醇体积=药液体积×60/(95-60)],冷藏静置24 h后滤出。将滤液浓缩至流浸膏样,质量浓度6.99 g/mL(按生药计)。醋酸地塞米松片(0.75 mg/片,上海信谊药厂有限公司,批号:501230104)。抗E-cad抗体(批

号:ab308347)、抗N-cad抗体(批号:ab207608)、抗Smad2抗体(批号:ab280888)、抗Smad7抗体(批号:ab216428)、山羊抗兔IgG H&L-HRP抗体(批号:ab6721)均购自英国Abcam公司;抗Smad3抗体(美国MedChemExpress公司,批号:HY-P80477);TRIzol试剂(武汉赛维尔公司,批号:G3013);第一链反转录试剂盒(批号:B532451)、PCR试剂(批号:B532461)均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;HE染色液(武汉赛维尔公司,批号:G1005);TGF- β 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(杭州联科生物技术有限公司,批号:EK-981)。

1.3 主要仪器 TU-1901紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);Q2000A型荧光定量PCR系统(杭州朗基科学仪器有限公司);SCILOGEX冷冻离心机(上海科雅生物科技有限公司)。

1.4 造模与分组 适应期结束后,实验动物随机分为4组:空白组、哮喘模型组、平喘方治疗组和地塞米松治疗组。哮喘模型组、平喘方治疗组和地塞米松治疗组的小鼠从第1天开始采用腹腔注射10%卵白蛋白(OVA)与铝镁佐剂的混合物(20 μ g/mL)的方式进行致敏处理,每只小鼠注射0.2 mL,持续14 d。在第14天后,为了诱导气道高反应性,所有小鼠均进行OVA雾化激发,隔日1次,持续至第49天^[24]。

1.5 实验给药 平喘方治疗组小鼠从第15天开始接受药物干预,依据人用剂量和小鼠的体表换算后,每日灌胃给药0.2 mL,持续28 d。地塞米松治疗组小鼠则在相同时间段内接受地塞米松[0.75 mg/(kg·d)]治疗,作为阳性对照。空白组小鼠不进行任何致敏处理,仅接受生理盐水的相应处理。给药完成后所有小鼠通过腹腔注射氯胺酮(60 mg/kg)和地西洋(10 mg/kg)的混合溶液进行麻醉处理。待小鼠完全麻醉后,快速切开胸部并暴露肺脏,迅速切除肺组织。为了进行组织学分析,将部分肺组织放置于4%的多聚甲醛中固定。同时使用生理盐水对小鼠的肺部进行灌洗提取支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)。

1.6 观察指标

1.6.1 HE染色观察小鼠肺组织病理变化 首先,将4%多聚甲醛固定的肺组织经石蜡包埋后,切成4~5 μ m厚的切片,在60 $^{\circ}$ C的烘箱中烘干1 h。依次浸泡于二甲苯中2次,每次5 min,然后通过梯度浓度的乙醇溶液逐步进行水化,每次5 min,最后用蒸馏水冲洗切片。水化后的切片被浸泡在苏木精染液中染色5~10 min,染色后用流水冲洗2~3 min。接着,将切片浸入伊红染液中染色2~3 min,染色完成后用流水冲洗切片,最终通过梯度浓度的乙醇系列逐步脱水,每次5 min,然后用二甲苯透明化,最后使用中性树胶封片。

1.6.2 Masson染色观察小鼠肺组织病理变化 肺组织切片脱蜡和水化步骤同上,细胞核染色使用Weigert铁苏木素染液(A液:苏木精1 g/无水乙醇100 mL;B液:30%三氯化铁水溶液4 mL、蒸馏水95 mL、盐酸1 mL。使用前1:1混合)染色5 min,流水冲洗10 min。随后采用酸性品红-丽春红混合液(品红0.5 g、丽春红2.0 g、冰醋酸1 mL,蒸馏水定容至100 mL)染色5 min,1%磷钼酸水溶液分色5 min,苯胺蓝染液(苯胺蓝2 g、冰醋酸

2 mL,蒸馏水定容至蒸馏水100 mL)染色2 min,1%冰醋酸分化30 s。最后切片经95%乙醇脱水10 s,二甲苯透明5 min,中性树胶封固。

1.6.3 免疫组化观察小鼠肺组织病理变化 首先将切片浸置于柠檬酸缓冲液(pH值=6.0)中,微波加热15~20 min以进行抗原修复。然后,用5%牛血清白蛋白(BSA)室温孵育1 h。接着,加入一抗[抗E-cad抗体(1:100);抗N-cad抗体(1:100);抗Smad2抗体(1:2 000);抗Smad3抗体(1:200);抗Smad7抗体(1:200)],4 $^{\circ}$ C过夜孵育。然后,用PBS洗涤3次,每次5 min。随后,加入适当的二抗[山羊抗兔IgG H&L-HRP抗体(1:1 000)],继续室温孵育1 h。最后,用PBS洗涤3次后,加入DAB显色底物,反应5~10 min进行显色。

1.6.4 qRT-PCR检测Smad7 mRNA表达 使用TRIzol试剂从肺组织中提取总RNA。通过紫外分光光度计测定RNA的浓度和纯度。将提取的RNA逆转录为cDNA。反应条件设置为:25 $^{\circ}$ C孵育10 min,42 $^{\circ}$ C孵育60 min,最后70 $^{\circ}$ C灭活逆转录酶10 min。合成的cDNA可用于后续的PCR扩增。反应程序为:预变性(95 $^{\circ}$ C 5 min),循环反应(95 $^{\circ}$ C 30 s,适宜的退火温度30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s),循环30~35个周期,最后72 $^{\circ}$ C延伸5 min。使用GAPDH作为内参基因进行校准处理,最后,通过2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法计算相对表达量。

1.6.5 外泌体提取、鉴定 收集到的BALF经过离心取上清液用于外泌体提取。从BALF中提取外泌体,使用常规的超速离心法进行分离。首先,将BALF样本离心去除细胞和较大颗粒物质,再通过高转速(约100 000 \times g,持续1 h)进行超速离心,沉淀即为外泌体。

1.6.6 ELISA检测小鼠肺组织中TGF- β 表达水平 采用小鼠TGF- β ELISA检测试剂盒对肺组织匀浆中的TGF- β 进行定量检测。具体检测方法参考试剂盒说明书操作。

1.7 统计学方法 采用SPSS 24.0统计软件分析,计量资料以“均数 \pm 标准差”($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(Oneway ANOVA),多重比较采用Tukey检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 平喘方对哮喘小鼠气道重塑的改善作用 采用HE染色观察不同组小鼠的肺组织。空白组小鼠的气道无明显炎症或结构改变;哮喘模型组小鼠表现出明显的气道炎症、气道高反应性、支气管平滑肌增厚及气道重塑;平喘方治疗组的小鼠气道炎症明显减轻,支气管平滑肌增厚和气道狭窄的情况有所改善;地塞米松治疗组小鼠的气道炎症得到显著抑制,气道结构变化得到较大改善,且接近空白组水平。(见图1)

Masson染色结果显示:哮喘模型组小鼠肺组织的胶原蛋白沉积增多,表现出显著的气道纤维化现象;平喘方治疗组小鼠的胶原沉积明显减少,气道纤维化情况得到一定程度的缓解;地塞米松治疗组小鼠的纤维化表现显著减轻,接近空白组水平。(见图1)

免疫组化的检测结果显示:空白组小鼠的E-cad表达水平较高,N-cad的表达较低;哮喘模型组小鼠的E-cad表达明显下降,N-cad的表达显著上升,表明气道发生了上皮间质转

化(EMT);平喘方治疗组的小鼠E-cad表达得到恢复,N-cad的表达有所下降,表明平喘方对气道重塑具有一定的抑制作用;地塞米松治疗组的小鼠也表现出E-cad的上调和N-cad的下调,提示地塞米松能有效减轻肺组织的上皮间质转化。(见图1)

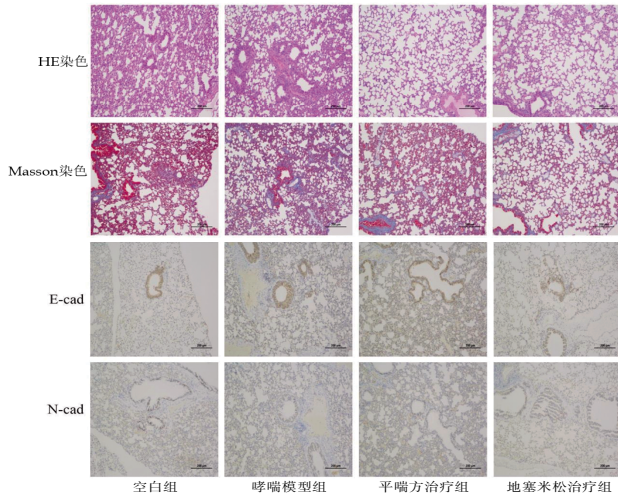


图1 各组小鼠肺组织病理检测图

2.2 平喘方对哮喘小鼠外泌体中miR-21-5p表达的影响 透射电子显微镜的观察结果显示,提取的外泌体呈双凹的圆盘状(见图2)。通过qRT-PCR检测不同组小鼠外泌体中miR-21-5p的表达水平。空白组小鼠外泌体中miR-21-5p的表达水平较低,哮喘模型组小鼠的外泌体miR-21-5p表达显著上调,差异有统计学意义($P<0.01$)。平喘方治疗组小鼠外泌体中miR-21-5p的表达水平明显下降,接近空白组水平,显示平喘方能够显著下调miR-21-5p的表达。地塞米松治疗组的miR-21-5p表达同样较低,但与平喘方治疗组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。(见图3)

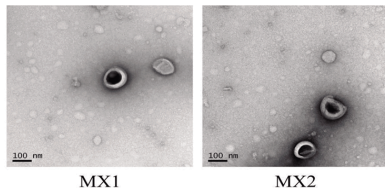
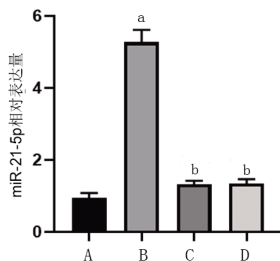


图2 哮喘模型组(MX)小鼠 BALF 中外泌体的透射电子显微镜图像



注:A.空白组,B.哮喘模型组,C.平喘方治疗组,D.地塞米松治疗组。与空白组比较,^a $P<0.01$;与哮喘模型组比较,^b $P<0.01$ 。

图3 各组小鼠 BALF 中外泌体 miR-21-5p 的表达

2.3 平喘方对哮喘小鼠肺组织中Smad7和TGF-β表达的调节作用 哮喘模型组小鼠TGF-β的表达显著上升($P<0.01$);平喘方治疗组和地塞米松治疗组中,TGF-β的蛋白表达得到一

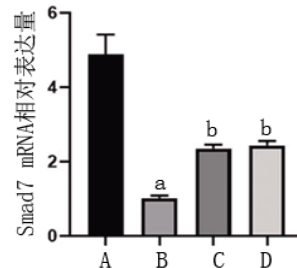
定程度的恢复($P<0.01$),且平喘方组的恢复效果与地塞米松组之间不存在显著性差异($P>0.05$)。(见表1)

表1 各组小鼠肺组织中 TGF-β 的 ELISA 检测结果

组别	$(\bar{x}\pm s, \text{pg/mg})$	
	n	TGF-β
空白组	8	30.00±2.94
哮喘模型组	8	220.00±30.21 ^a
平喘方治疗组	8	75.98±19.29 ^{b,d}
地塞米松治疗组	8	70.67±12.58 ^{c,d}

注:与空白组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$;与哮喘模型组比较,^d $P<0.01$ 。

哮喘模型组小鼠Smad7 mRNA的表达显著下降($P<0.01$);平喘方治疗组和地塞米松治疗组中,Smad7 mRNA的表达得到恢复($P<0.01$),且平喘方组的恢复效果与地塞米松组之间不存在明显差异($P>0.05$)(见图4)。免疫组化的结果(见图5)与qRT-PCR的检测结果一致。



注:A.空白组,B.哮喘模型组,C.平喘方治疗组,D.地塞米松治疗组。与空白组比较,^a $P<0.01$;与哮喘模型组比较,^b $P<0.01$ 。

图4 各组小鼠肺组织 Smad7 mRNA 相对表达比较

$(\bar{x}\pm s, n=8)$

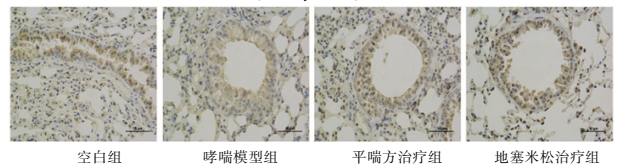


图5 各组小鼠肺组织 Smad7 免疫组化检测

2.4 平喘方对哮喘小鼠肺组织中TGF-β/Smad2/3信号通路的影响 采用免疫组化检测各组Smad2/3的蛋白表达情况。哮喘模型组小鼠的磷酸化Smad2/3(p-Smad2/3)表达显著上升,显示TGF-β信号通路在哮喘小鼠中的激活。平喘方治疗组小鼠中,p-Smad2/3的表达显著降低,且恢复到接近空白组水平,表明平喘方能够有效抑制TGF-β/Smad2/3信号通路的过度激活。(见图6)

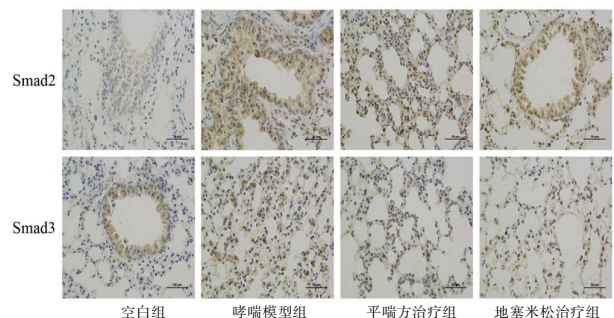


图6 各组小鼠气道重塑关键分子的免疫组化检测

3 讨 论

哮喘是一种复杂的慢性炎症性气道疾病,虽然治疗手段不断进步,但仍存在许多难以克服的挑战。尤其是在气道重塑的治疗上,现有药物的疗效有限,难以有效改善患者的长期症状^[25]。平喘方作为一种经典的中医方剂,近年来在临床实践中展现出了显著的疗效,其复方成分在哮喘等多基因、多通路复杂疾病的治疗中展现出显著优势。本研究发现表明,平喘方通过靶向分泌递送的miR-21-5p,有效抑制TGF- β /Smad2/3信号通路的过度激活,这可能是其显著改善哮喘小鼠气道炎症和重塑的关键分子机制之一。

平喘方长期以来在临床上用于治疗哮喘等多种呼吸系统疾病^[26],其成分包括炙麻黄、苦杏仁、紫苏子等药材,具有清肺解表、止咳平喘的功效。近年来,随着中药现代研究的不断深入,平喘方的作用机制逐渐被揭示。研究^[27-29]表明,平喘方通过多条信号通路干预气道的炎症反应与重塑过程,展现出一定的抗炎、抗纤维化作用。与本研究中平喘方对小鼠气道重塑的改善作用一致。HE染色和Masson染色结果表明,平喘方能够显著减轻气道炎症及气道平滑肌增生,并在一定程度上减缓气道纤维化的发生,这与地塞米松组相当,且平喘方在改善气道结构方面的效果更为持久。这一现象不仅支持了平喘方作为哮喘治疗药物的潜力,也凸显了中药复方治疗多靶点、多层次干预复杂病理过程的潜在优势。相较于单靶点西药(如地塞米松),平喘方可能通过其多组分协同作用,在抑制炎症(如降低IL-4、IL-17、TGF- β 1)的同时,更持久地改善气道结构(如减轻平滑肌增生和纤维化)。结合方剂组成(炙麻黄宣肺平喘,苦杏仁降气止咳,紫苏子降气消痰,等等),笔者推测其改善气道重塑的核心功效物质可能来源于具有抗炎、抗纤维化活性的成分组合,例如麻黄生物碱(如麻黄碱、伪麻黄碱)、苦杏仁苷及其代谢产物、紫苏子中的木犀草素等黄酮类化合物。这些成分可能分别或协同作用于炎症因子网络、氧化应激通路以及本研究聚焦的miR-21-5p/TGF- β -Smad轴,共同构成平喘方“清肺解表、止咳平喘”功效的现代药理学基础。

研究表明,导致哮喘生物学功能紊乱的关键miRNA对于寻找最优miRNA抑制剂作为哮喘的新型治疗药物具有重要意义。多项研究表明,miR-21是哮喘发生发展的关键促进因子。在哮喘患者体内,miR-21水平显著升高,并可作为过敏性炎症性疾病的生物标志物^[30-31]。与此同时,miR-21可能成为诊断哮喘的生物标志物^[32]。在过敏性气道疾病的小鼠模型中,miR-21的高表达可激活PI3K/Akt通路并抑制组蛋白去乙酰化酶2(HDAC2),导致严重的类固醇耐受性^[33]。miR-21抑制剂通过调节PTEN/PI3K通路可减少气道平滑肌细胞的增殖和迁移。此外,miR-21还可通过增加气道炎症和氧化应激,加重哮喘症状^[34]。已有研究^[35-36]表明,抑制miR-21可通过减少气道炎症、气道高反应性和气道重塑,改善肺功能,从而有效治疗急性肺损伤。

本研究揭示了平喘方通过调节外泌体中miR-21-5p的表达,进而调控TGF- β /Smad2/3信号通路的关键作用。外泌体作为细胞间信息传递的载体,其在哮喘中的调节作用已逐渐受

到关注。首先,miR-21-5p在哮喘小鼠中的表达显著升高,且这种升高在平喘方治疗后得到了有效抑制。进一步的实验表明,miR-21-5p通过靶向Smad7,抑制了其对TGF- β /Smad2/3通路的负反馈作用,进而加剧了气道重塑的发生。平喘方能够通过调节外泌体介导的细胞间通信,特异性抑制致病性miR-21-5p的传递,从而解除其对Smad7的抑制作用,最终阻断了TGF- β /Smad2/3信号通路的病理性放大,抑制气道纤维化和重塑。值得注意的是,本研究聚焦于miR-21-5p/TGF- β -Smad轴,这仅是阐释平喘方多组分、多靶点、多通路协同作用网络中的一个重要环节,其具体的作用机制仍有进一步深入研究的空间。尤其是在miRNA调控和外泌体介导的细胞间信号传递方面,仍存在许多未解之谜。未来的研究可以进一步探讨平喘方在其他免疫相关通路中的作用,探索其在临床治疗中的应用潜力。此外,利用现代分离技术[如高效液相色谱(HPLC)法、液相色谱-质谱联用(LC-MS)技术]结合生物活性导向追踪,明确平喘方中直接调控miR-21-5p或TGF- β 通路的核心活性成分(单体或组分),并研究其相互作用(增效或减毒),可能为临床治疗提供新的理论依据。

参 考 文 献

- [1] KOLKHIR P, AKDIS C A, AKDIS M, et al. Type 2 chronic inflammatory diseases: Targets, therapies and unmet needs[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(9): 743-767.
- [2] 数据“说”哮喘[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2024, 32(6): 4.
- [3] HOUGH K P, CURTISS M L, BLAIN T J, et al. Airway remodeling in asthma[J]. *Front Med*, 2020, 7: 191.
- [4] 邓亚胜, 林江, 郗域江, 等. 哮喘气道重塑发病机制及中药干预机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(8): 2050-2070.
- [5] PALACIONYTE J, JANUSKEVICIUS A, VASYLE E, et al. IL-5 and GM-CSF, but not IL-3, promote the proliferative properties of inflammatory-like and lung resident-like eosinophils in the blood of asthma patients[J]. *Cells*, 2022, 11(23): 3804.
- [6] ABOHALAKA R. Bronchial epithelial and airway smooth muscle cell interactions in health and disease[J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19976.
- [7] SAVIN I A, ZENKOVA M A, SEN'KOVA A V. Bronchial asthma, airway remodeling and lung fibrosis as successive steps of one process[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(22): 16042.
- [8] BERAIR R, BRIGHTLING C E. Asthma therapy and its effect on airway remodelling[J]. *Drugs*, 2014, 74(12): 1345-1369.
- [9] SAVIN I A, MARKOV A V, ZENKOVA M A, et al. Asthma and post-asthmatic fibrosis: A search for new promising molecular markers of transition from acute inflammation to pulmonary fibrosis[J]. *Biomedicines*, 2022,

- 10(5):1017.
- [10] 史梦迪,王超,刘璐佳,等.中医药调控TGF- β 1/Smads通路治疗咳嗽变异性哮喘的研究进展[J].世界中医药,2024,19(21):3385-3391,3398.
- [11] PAW M, WNUK D, MADEJA Z, et al. PPAR δ agonist GW501516 suppresses the TGF- β -induced profibrotic response of human bronchial fibroblasts from asthmatic patients[J]. *Int J Mol Sci*,2023,24(9):7721.
- [12] YAO Z P, FU Y L. Glycyrrhizic acid restrains airway inflammation and remodeling in asthma via the TGF- β 1/Smad signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*,2021,21(5):461.
- [13] KRAIK K, TOTA M, LASKA J, et al. The role of transforming growth factor- β (TGF- β) in asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. *Cells*, 2024,13(15):1271.
- [14] LEE J H, MASSAGUÉ J. TGF- β in developmental and fibrogenic EMTs[J]. *Semin Cancer Biol*,2022,86(Pt 2):136-145.
- [15] SHARMA R, TIWARI A, MCGEACHIE M J. Recent miRNA research in asthma[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2022,22(12):231-258.
- [16] KANANNEJAD Z, ARAB S, SOLEIMANIAN S, et al. Exosomes in asthma: Underappreciated contributors to the pathogenesis and novel therapeutic tools [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2024,12(6):e1325.
- [17] WANG X B, ZHAO F C, YI L H, et al. microRNA-21-5p as a novel therapeutic target for osteoarthritis [J]. *Rheumatology (Oxford)*,2019:kez102.
- [18] 范昊龙,王素欢,陶美淳,等.miR-21-5p调控MMP-9对急性缺血性卒中认知障碍的影响[J].脑与神经疾病杂志,2024,32(10):619-623.
- [19] 尚朋娟,高涛.miR-21、miR-155在支气管哮喘患儿血清中的表达及与气道炎症的相关性分析[J].中国妇幼保健,2019,34(2):434-437.
- [20] MAO Z D, DING Z Q, LIU Z G, et al. miR-21-5p modulates airway inflammation and epithelial-mesenchymal transition processes in a mouse model of combined allergic rhinitis and asthma syndrome [J]. *Int Arch Allergy Immunol*,2024,185(8):775-785.
- [21] 任雪雷,李建保,田金娜.基于“肾阳虚-痰气交阻-痰瘀互结”探析哮喘的病机[J].中医导报,2022,28(1):168-171.
- [22] 刘斐,王羽,潘玮,等.通络平喘方治疗儿童咳嗽变异性哮喘的临床应用研究[J].浙江中医药大学学报,2024,48(5):590-596.
- [23] 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.
- [24] 胡婕,邹文静,王韵婷,等.经口气管插管激发和雾化激发建立哮喘小鼠模型比较[J].中国临床解剖学杂志,2021,39(1):65-70,75.
- [25] HUANG Y M, QIU C. Research advances in airway remodeling in asthma: A narrative review[J]. *Ann Transl Med*,2022,10(18):1023.
- [26] 吴美贤,薛征,李芸.平喘方治疗儿童支气管哮喘的疗效观察[J].成都中医药大学学报,2019,42(3):49-51,59.
- [27] 徐万超.平喘方治疗小儿哮喘疗效观察及通过NLRP3干预气道炎症及重塑的机制研究[D].上海:上海中医药大学,2021.
- [28] 杨艳,薛征,虞坚尔,等.平喘方对哮喘急性发作期小鼠MMP-9、TIMP-1、E-cadherin及Collagen I的影响[J].上海中医药杂志,2021,55(6):67-71.
- [29] 吴淑艳,虞坚尔,薛征.平喘方调控HMGB1/TLR4通路对哮喘小鼠气道炎症的影响[J].湖南中医药大学学报,2021,41(10):1510-1516.
- [30] SAWANT D V, YAO W G, WRIGHT Z, et al. Serum microRNA-21 as a biomarker for allergic inflammatory disease in children[J]. *Microma*,2015,4(1):36-40.
- [31] WU X B, WANG M Y, ZHU H Y, et al. Overexpression of microRNA-21 and microRNA-126 in the patients of bronchial asthma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014,7(5):1307-1312.
- [32] XU L, YI M H, TAN Y, et al. A comprehensive analysis of microRNAs as diagnostic biomarkers for asthma[J]. *Ther Adv Respir Dis*,2020,14:1753466620981863.
- [33] LIU Y, YANG K Z, SHI H Y, et al. miR-21 modulates human airway smooth muscle cell proliferation and migration in asthma through regulation of PTEN expression[J]. *Exp Lung Res*,2015,41(10):535-545.
- [34] ZOU Y, ZHOU Q X, ZHANG Y F. microRNA-21 released from mast cells-derived extracellular vesicles drives asthma in mice by potentiating airway inflammation and oxidative stress[J]. *Am J Transl Res*,2021,13(7):7475-7491.
- [35] LEE H Y, HUR J, KANG J Y, et al. microRNA-21 inhibition suppresses alveolar M2 macrophages in an ovalbumin-induced allergic asthma mice model [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2021,13(2):312-329.
- [36] DING Y, HOU Y P, LIU Y H, et al. Prospects for miR-21 as a target in the treatment of lung diseases[J]. *Curr Pharm Des*,2021,27(3):415-422.

(收稿日期:2025-03-25 编辑:刘国华)