

# 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路探究虫草素对慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠肺损伤及炎症反应的影响<sup>△</sup>

牛磊<sup>1\*</sup>, 刘建<sup>2</sup>, 张磊<sup>1</sup>, 杨静<sup>1</sup> (1. 唐山弘慈医院呼吸与危重症医学科, 河北唐山 063000; 2. 华北理工大学附属医院重症医学科, 河北唐山 063000)

中图分类号 R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2023)07-0815-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2023.07.012



**摘要** 目的:探讨虫草素对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)大鼠肺损伤、炎症反应及磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路的影响。方法:将大鼠随机分为对照组、模型组、虫草素低剂量(80 mg/kg)组、虫草素高剂量(160 mg/kg)组和地塞米松(0.09 mg/kg)组。除对照组(14只)外,其余各组大鼠采用烟熏法联合脂多糖制备AECOPD模型,建模结束后,各组大鼠(各14只)给予对应药物干预14 d。采用全自动血气分析仪检测大鼠腹主动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)水平;采用苏木精-伊红染色观察大鼠肺组织病理学变化并进行肺损伤评分;采用酶联免疫吸附试验检测肺组织中白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)水平;采用荧光定量聚合酶链反应和蛋白质印迹法分别检测大鼠肺组织中PI3K、Akt、mTOR信使RNA(mRNA)和蛋白水平。结果:对照组大鼠肺组织细胞排列规则,结构正常;与对照组相比,模型组大鼠肺组织肺泡破裂,有明显中性粒细胞浸润,并且可见肺泡壁增厚,且有胶原蛋白沉淀,动脉血PaO<sub>2</sub>水平显著降低( $P < 0.05$ ),肺损伤评分、肺组织中IL-6、TNF-α、PI3K、Akt及mTOR的mRNA和蛋白水平显著升高( $P < 0.05$ );与模型组相比,虫草素低、高剂量组大鼠肺组织肺泡壁逐渐变薄,中性粒细胞浸润程度逐渐减轻,肺泡结构逐渐趋于正常,动脉血PaO<sub>2</sub>水平依次升高( $P < 0.05$ ),肺损伤评分、肺组织中IL-6、TNF-α、PI3K、Akt及mTOR的mRNA和蛋白水平依次降低( $P < 0.05$ ),上述差异均有统计学意义。地塞米松组与虫草素高剂量组大鼠肺组织病理学变化及各项指标水平比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论:虫草素可减轻AECOPD大鼠的肺损伤,抑制炎症反应,其机制可能与抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路的激活有关。

**关键词** 虫草素;慢性阻塞性肺疾病急性加重期;磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路;肺损伤;炎症反应

## Effects of Cordycepin on Lung Injury and Inflammatory Response in Rats with Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Based on PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway<sup>△</sup>

NIU Lei<sup>1</sup>, LIU Jian<sup>2</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>, YANG Jing<sup>1</sup> (1. Dept. of Respiratory and Critical Care Medicine, Tangshan Hongci Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 2. Dept. of Critical Care Medicine, the Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Hebei Tangshan 063000, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To probe into the effects of cordycepin on lung injury, inflammatory reaction and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in rats with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **METHOD:** ALL rats were randomly divided into the control group, model group, low-dose cordycepin (80 mg/kg) group, high-dose cordycepin (160 mg/kg) group and dexamethasone (0.09 mg/kg) group. Except for the control group (14 rats), the AECOPD model was prepared by fumigation method combined with lipopolysaccharide in the rest group, and each group (14 rats in each) was given corresponding drug intervention for 14 d after modeling. The partial oxygen pressure (PaO<sub>2</sub>) level of abdominal aorta of rats were measured by automatic blood gas analyzer; the pathologic change in lung tissue of rats were observed by hematoxylin-eosin staining and the lung injury scoring was performed; the interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor α (TNF-α) in lung tissue were measured by enzyme-linked immunosorbent assay;

<sup>△</sup> 基金项目:河北省中医药类科研指令性计划课题项目(No. 2021407)

\* 主治医师。研究方向:呼吸与急危重症。E-mail: niulei@163.com

the PI3K, Akt, mTOR messenger RNA (mRNA) and protein levels in lung tissue of rats were measured by fluorescence quantitative polymerase chain reaction and Western blotting. RESULTS: In the control group, the lung tissue cells were regularly arranged with normal structure. Compared with the control group, the alveoli of lung tissues of rats were ruptured in the model group, with obvious neutrophil infiltration and thickened alveolar walls and collagen precipitation, the arterial blood PaO<sub>2</sub> level was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the lung injury score, the mRNA and protein levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , PI3K, Akt and mTOR in lung tissues were significantly increased ( $P < 0.05$ ); compared with the model group, the alveolar walls of lung tissues were gradually thinned, the degree of neutrophil infiltration was gradually decreased, the alveolar structure was gradually normalized and the arterial blood PaO<sub>2</sub> levels were increased sequentially in the low-dose and high-dose groups of cordycepin ( $P < 0.05$ ), the mRNA and protein levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , PI3K, Akt and mTOR in lung tissues were decreased sequentially ( $P < 0.05$ ), all the above differences were statistically significant. The differences in pathologic change and various indicators in lung tissue between the dexamethasone group and the high-dose cordycepin group were not statistically significant ( $P > 0.05$ ). CONCLUSIONS: Cordycepin can alleviate lung injury and inhibit inflammatory response in rats with AECOPD, and the mechanism may be related to the inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway activation.

**KEYWORDS** Cordycepin; Acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; Phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin signaling pathway; Lung injury; Inflammatory response

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的特征是持续的呼吸道症状和进行性气流阻塞<sup>[1]</sup>。目前,COPD的治疗大多只能暂时缓解其症状,且COPD的预后较差,容易反复发作,痊愈较为困难<sup>[2]</sup>。COPD的系统性炎症机制与内皮细胞功能改变、氧化应激等方面的因素均有较大联系,多种炎症因子已被证实与COPD之间存在联系<sup>[3]</sup>。慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者支气管炎反应严重、肺功能显著恶化,严重时可引发多种器官受损<sup>[4]</sup>。虫草素为冬虫夏草的主要成分,具有抗炎、抗菌、抗肿瘤及免疫调节等多种药理功能<sup>[5]</sup>。有研究结果发现,虫草素能抑制包括白细胞介素(IL)6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和IL-17在内的炎症因子的分泌,使自身免疫性脑脊髓炎小鼠病情得以缓解<sup>[6]</sup>。文献报道,虫草素可能通过下调脂质代谢和炎症反应来减轻高脂饮食诱导的小鼠非酒精性脂肪肝<sup>[7]</sup>。磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路在炎症中起关键的调节作用,PI3K可促进抗炎小体的黏附,mTOR是靶标分子以及细胞炎症上游通路的汇合点<sup>[8]</sup>。文献报道,抑制PI3K/Akt/mTOR介导的自噬可以加剧细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)诱导的小鼠肺部炎症和纤维化<sup>[9]</sup>。虫草素是否对AECOPD大鼠具有保护作用尚未有研究报道。本研究拟探讨虫草素对AECOPD大鼠肺损伤、炎症反应及PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响,为AECOPD新药的研发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物:SPF级雄性SD大鼠,7~8周龄,体重256~292 g,购自上海焯雅生物科技有限公司,生产许可证号为SCXK(沪)2021-0020。大鼠饲养于以下环境:温度为19~24℃,相对湿度为55%~60%,昼夜循环12 h/12 h的环境中。本研究经唐山弘慈医院伦理委员会批准。

1.1.2 仪器:ABL90型全自动血气分析仪、Varioskan LUX型酶标仪均购自广州中科森木科技有限公司;DM2000型显微镜、Mic-4型荧光定量PCR仪和E-Gel Imager型凝胶成像系统均购自广州博鹭腾生物科技有限公司。

1.1.3 药品与试剂:虫草素(原料药,批号为HK67552,纯度 $\geq 99.5\%$ )、反转录试剂盒(批号为HK90315)购自宁波森元生物科技有限公司;地塞米松片(批号为20220315)购自广东华南药业集团有限公司;脂多糖(LPS)、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒、IL-6、TNF- $\alpha$ 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒,聚合酶链反应(PCR)试剂盒(批号分别为XG21569、XG23684、XG15780、XG56180和XG28240)购自北京金泰宏达生物科技有限公司;Trizol试剂、蛋白裂解液、BCA试剂盒和化学发光试剂(批号分别为YB57814、YB23570、YB45097和YB16420)购自泉州市睿信生物科技有限公司;兔源PI3K、Akt、mTOR、 $\beta$ -actin一抗和羊抗鼠二抗(批号分别为JF28121、JF13849、JF12958、JF27491和JF11568)购自莆田市海星生物科技有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 模型的建立及分组给药:采用烟熏法联合LPS制备AECOPD大鼠模型<sup>[10]</sup>。堵住烟熏箱缝隙,将大鼠置于烟熏箱中,1次熏烟20根,每日进行2次,每次持续时间为1 h,第7、14和21日不进行烟熏改为气道滴注1 mg/kg的LPS,持续8周。观察到大鼠出现精神萎靡、食欲减退、反应迟钝和呼吸急促等症状后,随机取5只大鼠处死收集肺组织,采用HE染色观察大鼠肺组织病理改变,若明显异于正常大鼠且出现肺泡结构破坏、炎症细胞浸润严重等肺损伤症状,即为AECOPD大鼠造模成功<sup>[11]</sup>。将造模成功的56只大鼠随机分为模型组,虫草素低剂量(80 mg/kg)、高剂量(160 mg/kg)组<sup>[12]</sup>,地塞米松(0.09 mg/kg)组<sup>[10]</sup>,每组14只。另取14只健康大鼠作为对照组,实验过程中不进行烟熏且气道滴注等量0.9%氯化钠溶液。

虫草素低、高剂量组大鼠分别给予虫草素灌胃给药 80、160 mg/kg(将虫草素与 0.9%氯化钠溶液混溶成质量浓度分别为 8、16 mg/mL 的混悬液,灌胃体积为 10 mL/kg)<sup>[12]</sup>;地塞米松组大鼠给予 0.09 mg/kg 地塞米松灌胃给药(将地塞米松片和 0.9%氯化钠溶液混溶成质量浓度为 0.009 mg/mL 的混悬液,灌胃体积为 10 mL/kg)<sup>[10]</sup>;对照组和模型组大鼠灌胃等体积 0.9%氯化钠溶液。各组 1 日给药 1 次,连续 14 d。

1.2.2 大鼠动脉血氧分压(PaO<sub>2</sub>)水平测定:给药结束后,麻醉大鼠,腹主动脉取血,采用全自动血气分析仪检测各组大鼠腹主动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平。

1.2.3 大鼠肺组织病理学变化的观察和肺损伤评分测定:处死大鼠,立即取出肺组织,将左肺组织置于-80℃冰箱中保存,右肺组织置于 10%甲醛溶液中固定,石蜡包埋,切片(4 μm),HE 染色,显微镜下观察肺组织病理变化。同时,从肺间质水肿、肺泡水肿、中性粒细胞浸润和肺泡内充血 4 个方面对大鼠肺损伤进行评分,分为无改变(0 分)、轻度改变(1 分)、中度改变(2 分)、重度改变(3 分)和极重度改变(4 分);每项评分 0~4 分,总分 0~16 分,评分越高代表大鼠肺损伤越严重<sup>[13]</sup>。

1.2.4 大鼠肺组织中 IL-6、TNF-α 水平测定:取“1.2.3”中大鼠左肺组织,匀浆,4℃下 4 900 r/min 离心(离心半径 10 cm) 20 min,取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测上清液中 IL-6、TNF-α 水平。

1.2.5 大鼠肺组织中 PI3K、Akt、mTOR 信使 RNA(mRNA)水平测定:取“1.2.3”中大鼠左肺组织,匀浆,以 Trizol 试剂提取总 RNA,反转录合成 cDNA,荧光定量 PCR 法检测大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 水平,内参为 GAPDH。引物由北京中生柏奥生物科技有限公司合成,引物序列见表 1。反应条件和环境根据 PCR 试剂盒进行配置,靶基因 mRNA 水平采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算。

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequence

基因名称	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
PI3K	ATCTACTGCCATGCTCTG	TCACTGATAGTCTCACCA
Akt	CTATGCACTCGGCAGTCCGA	CGCATTCACATATGTTATATG
mTOR	ACTATCGTGTCCAGGTGCATGCT	TCCAATCTGACAGTCCGCTTCA
GAPDH	TATCGTCTCGTCTCAG	AGTCGCTAGATCATAG

1.2.6 大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白水平测定:取“1.2.3”中大鼠左肺组织,以蛋白裂解液分离总蛋白,定量蛋白浓度后,取适量蛋白电泳分离,转膜,以 5%脱脂牛奶在室温(25℃)下封闭 1 h,加入稀释好的兔源 PI3K(1:1 300)、Akt(1:1 500)、mTOR(1:1 750)和 β-actin(1:2 000)一抗 4℃下过夜,加入羊抗鼠二抗(1:2 100),室温孵育 1.5 h,采用化学发光试剂显影,通过凝胶成像系统对蛋白条带灰度值进行分析,以 β-actin 为内参,计算 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白水平。

### 1.3 统计学方法

使用 SPSS 25.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较行 SNK-q 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 虫草素对 AECOPD 大鼠动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平、肺损伤评分的影响

与对照组相比,模型组大鼠动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平显著降低,肺损伤评分显著升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组相比,虫草素低、高剂量组大鼠动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平依次升高,肺损伤评分依次降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );地塞米松组与虫草素高剂量组大鼠动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平、肺损伤评分的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 各组大鼠动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平、肺损伤评分比较

( $\bar{x} \pm s, n = 14$ )

Tab 2 Comparison of arterial blood PaO<sub>2</sub> and lung injury scores of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 14$ )

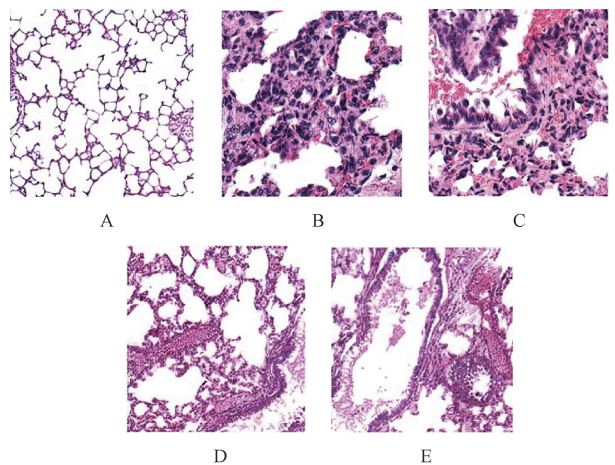
组别	动脉血 PaO <sub>2</sub> /mm Hg	肺损伤评分/分
对照组	119.92±9.21	0.00±0.00
模型组	62.58±7.51 <sup>a</sup>	10.52±1.59 <sup>a</sup>
虫草素低剂量组	85.59±10.25 <sup>b</sup>	8.21±1.22 <sup>b</sup>
虫草素高剂量组	99.10±11.42 <sup>bc</sup>	5.47±0.57 <sup>bc</sup>
地塞米松组	100.52±10.22 <sup>bc</sup>	5.40±0.64 <sup>bc</sup>

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与虫草素低剂量组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;1 mm Hg=0.133 kPa。

Note:vs. the control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; vs. the model group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; vs. the low-dose cordycepin group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ;1 mm Hg=0.133 kPa.

### 2.2 虫草素对 AECOPD 大鼠肺组织病理学变化的影响

对照组大鼠肺组织细胞排列规则,结构正常;模型组大鼠肺组织肺泡破裂,有明显中性粒细胞浸润,并且可见肺泡壁增厚,且有胶原蛋白沉淀;虫草素低、高剂量组大鼠肺组织肺泡壁逐渐变薄,中性粒细胞浸润程度逐渐减轻,肺泡结构逐渐趋于正常;地塞米松组和虫草素高剂量组大鼠肺组织病理学变化无显著差异,见图 1。



A. 对照组;B. 模型组;C. 虫草素低剂量组;D. 虫草素高剂量组;E. 地塞米松组。

A. control group; B. model group; C. low-dose cordycepin group; D. high-dose cordycepin group; E. dexamethasone group.

图 1 各组大鼠肺组织病理变化图(HE, ×200)

Fig 1 Pathological changes of lung tissue of rats in each group (HE, ×200)

### 2.3 虫草素对 AECOPD 大鼠肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$ 水平的影响

与对照组相比,模型组大鼠肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著升高,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,虫草素低、高剂量组大鼠肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平依次降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );地塞米松组与虫草素高剂量组大鼠肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 各组大鼠肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平比较

( $\bar{x} \pm s$ , pg/mg,  $n = 14$ )

Tab 3 Comparison of IL-6 and TNF- $\alpha$  levels in lung tissues of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ , pg/mg,  $n = 14$ )

组别	IL-6	TNF- $\alpha$
对照组	11.57 $\pm$ 1.68	124.51 $\pm$ 12.59
模型组	47.68 $\pm$ 5.69 <sup>a</sup>	227.41 $\pm$ 26.51 <sup>a</sup>
虫草素低剂量组	35.11 $\pm$ 4.60 <sup>b</sup>	194.48 $\pm$ 20.19 <sup>b</sup>
虫草素高剂量组	24.18 $\pm$ 2.04 <sup>bc</sup>	167.41 $\pm$ 18.51 <sup>bc</sup>
地塞米松组	24.69 $\pm$ 2.62 <sup>bc</sup>	168.28 $\pm$ 19.02 <sup>bc</sup>

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与虫草素低剂量组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

Note:zs. the control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; zs. the model group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; zs. the low-dose cordycepin group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ .

### 2.4 虫草素对 AECOPD 大鼠肺组织中 PI3K、Akt、mTOR mRNA 水平的影响

与对照组相比,模型组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 水平显著升高,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,虫草素低、高剂量组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 水平依次降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );地塞米松组与虫草素高剂量组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 水平的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 4。

表 4 各组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 的 mRNA 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 14$ )

Tab 4 Comparison of PI3K, Akt and mTOR mRNA levels in lung tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 14$ )

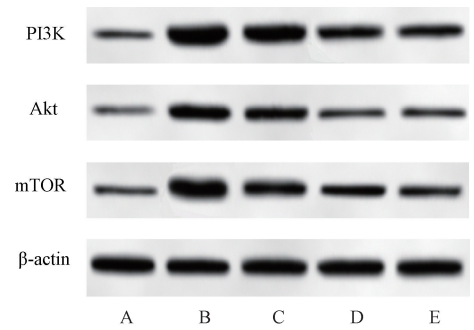
组别	PI3K mRNA	Akt mRNA	mTOR mRNA
对照组	1.01 $\pm$ 0.06	1.02 $\pm$ 0.08	1.05 $\pm$ 0.04
模型组	3.75 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	3.98 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	2.94 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
虫草素低剂量组	2.50 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	2.57 $\pm$ 0.27 <sup>b</sup>	2.03 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
虫草素高剂量组	1.41 $\pm$ 0.11 <sup>bc</sup>	1.43 $\pm$ 0.13 <sup>bc</sup>	1.21 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>
地塞米松组	1.44 $\pm$ 0.13 <sup>bc</sup>	1.47 $\pm$ 0.16 <sup>bc</sup>	1.19 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与虫草素低剂量组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

Note:zs. the control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; zs. the model group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; zs. the low-dose cordycepin group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ .

### 2.5 虫草素对 AECOPD 大鼠肺组织中 PI3K、Akt、mTOR 蛋白水平的影响

与对照组相比,模型组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白水平显著升高,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,虫草素低、高剂量组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白水平依次降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );地塞米松组与虫草素高剂量组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 蛋白水平的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见图 2、表 5。



A. 对照组;B. 模型组;C. 虫草素低剂量组;D. 虫草素高剂量组;E. 地塞米松组。

A. control group; B. model group; C. low-dose cordycepin group; D. high-dose cordycepin group; E. dexamethasone group.

图 2 各组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 的蛋白质印迹图  
Fig 2 Diagram of Western blot of PI3K, Akt, mTOR protein in lung tissue of rats in each group

表 5 各组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR 的蛋白水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 14$ )

Tab 5 Comparison of PI3K, Akt and mTOR protein levels in lung tissue of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 14$ )

组别	PI3K 蛋白(/ $\beta$ -actin)	Akt 蛋白(/ $\beta$ -actin)	mTOR 蛋白(/ $\beta$ -actin)
对照组	0.32 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.04
模型组	1.53 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	1.04 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.36 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
虫草素低剂量组	1.10 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	0.76 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	0.86 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
虫草素高剂量组	0.73 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup>	0.44 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>	0.52 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>
地塞米松组	0.69 $\pm$ 0.07 <sup>bc</sup>	0.46 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>	0.49 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与虫草素低剂量组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

Note:zs. the control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; zs. the model group, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; zs. the low-dose cordycepin group, <sup>c</sup> $P < 0.05$ .

## 3 讨论

AECOPD 发病急,病情发展迅速,且随着病情的加重,还会导致肺心病等疾病的发生,严重时还会威胁患者的生命健康<sup>[14-15]</sup>。本研究构建了 AECOPD 大鼠模型,结果发现,模型组大鼠肺组织肺泡破裂,有明显中性粒细胞浸润,并且可见肺泡壁增厚,且有胶原蛋白沉淀,动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平显著降低,肺损伤评分、肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著升高,表明 AECOPD 大鼠肺组织损伤严重、炎症反应明显。

虫草素是冬虫夏草主要活性成分,是一种腺苷衍生物,具有多种药理效果。Ku 等<sup>[16]</sup>的研究结果表明,虫草素能通过 PI3K/Akt/内皮型一氧化氮合酶信号通路减轻棕榈酸诱导的血管内皮细胞炎症和凋亡。Han 等<sup>[17]</sup>发现,虫草素能减轻炎症和氧化应激,从而改善大鼠肾脏缺血再灌注损伤。Guo 等<sup>[18]</sup>报道,虫草素通过下调趋化因子受体 4 抑制肝癌细胞的迁移和侵袭。有研究结果发现,虫草素能显著改善链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠大脑中氧化应激,改善小鼠认知能力<sup>[19]</sup>。本研究结果发现,虫草素处理后的 AECOPD 大鼠肺组织肺泡壁变薄,中性粒细胞浸润程度减轻,肺泡结构趋于正常,动脉血 PaO<sub>2</sub> 水平显著升高,肺损伤评分和肺组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著降低,且呈现剂量依赖性,表明虫草素能抑制

AECOPD 大鼠炎症反应,减轻大鼠肺组织损伤。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是细胞周期调控的经典通路之一,在细胞分裂、分化和肿瘤发生等方面均有重要调控作用。郭栋伟等<sup>[20]</sup>的研究结果表明,抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路可使得 COPD 大鼠肺部巨噬细胞浸润和炎症反应减轻,保护肺泡形态,恢复气道重塑。韩欣等<sup>[21]</sup>报道,PI3K/Akt/mTOR 信号通路活性降低,可促进肺纤维化大鼠肺组织细胞自噬功能,改善大鼠肺纤维化。Qu 等<sup>[22]</sup>的研究结果发现,甘草酸可通过调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路相关自噬来抑制 LPS 诱导的急性肺损伤小鼠炎症因子的产生。本研究结果发现,模型组大鼠肺组织中 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 和蛋白水平较健康大鼠显著升高,虫草素处理后的 AECOPD 大鼠 PI3K、Akt 和 mTOR mRNA 和蛋白水平显著降低,且虫草素剂量越高变化越明显。结合郭栋伟等<sup>[20]</sup>、韩欣等<sup>[21]</sup>和 Qu 等<sup>[22]</sup>的研究,虫草素对 AECOPD 大鼠肺损伤的保护作用和对炎症的抑制效果,可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活有关。

综上所述,虫草素能抑制 AECOPD 大鼠的炎症反应,保护大鼠肺组织,其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。但本研究仅探究了虫草素对 AECOPD 大鼠影响的可能作用机制,下一步将通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路激活剂进一步验证本研究结果。

## 参考文献

[1] CHRISTENSON S A, SMITH B M, BAFADHEL M, et al. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Lancet*, 2022, 399(10342): 2227-2242.

[2] BONTSEVICH R A, ADONINA A V, VOVK Y R, et al. Management of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Arch Razi Inst*, 2022, 77(1): 439-447.

[3] WANG X S, WANG Z Q, TANG D H. Aerobic exercise alleviates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in mice with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2021, 16: 1369-1379.

[4] RITCHIE A I, WEDZICHA J A. Definition, causes, pathogenesis, and consequences of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations[J]. *Clin Chest Med*, 2020, 41(3): 421-438.

[5] 周艳丽, 许剑怡, 王宏娟, 等. 虫草素的药理作用及应用前景[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(8): 39-42.

[6] SONG Y C, LIU C T, LEE H J, et al. Cordycepin prevents and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting leukocyte infiltration and reducing neuroinflammation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 197: 114918.

[7] GONG X B, LI T J, WAN R Z, et al. Cordycepin attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease via down-regulation of lipid metabolism and inflammatory responses[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 91: 107173.

[8] ZHENG X J, LI W, XU H L, et al. Sinomenine ester derivative inhibits glioblastoma by inducing mitochondria-dependent apoptosis and autophagy by PI3K/AKT/mTOR and AMPK/mTOR pathway[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(11): 3465-3480.

[9] CONG L H, LI T, WANG H, et al. IL-17A-producing T cells exacerbate fine particulate matter-induced lung inflammation and fibrosis by inhibiting PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(15): 8532-8544.

[10] 廖小红, 张毅靖, 唐洪梅, 等. 葶苈汤对慢性阻塞性肺疾病急性加重期模型大鼠的改善作用及机制[J]. *中国药房*, 2021, 32(21): 2593-2598.

[11] 王妍, 李晓, 徐莹, 等. 清肺化痰颗粒对慢性阻塞性肺疾病急性加重期大鼠的保护作用[J]. *河北医药*, 2021, 43(1): 5-9, 15.

[12] 鲍楠, 吴冰, 张蓬杰, 等. 虫草素对慢性肾脏病大鼠血管内皮损伤的保护作用及其机制[J]. *现代生物医学进展*, 2022, 22(5): 818-821, 856.

[13] 刘畅, 程晓丹, 孙家安, 等. 绿原酸通过调控 miR-223/NLRP3 轴减脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤的机制[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2022, 47(3): 280-288.

[14] CELLI B R, FABBRI L M, AARON S D, et al. An updated definition and severity classification of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: the Rome proposal[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 204(11): 1251-1258.

[15] MATHIOUDAKIS A G, JANSSENS W, SIVAPALAN P, et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: in search of diagnostic biomarkers and treatable traits[J]. *Thorax*, 2020, 75(6): 520-527.

[16] KU C W, HO T J, HUANG C Y, et al. Cordycepin attenuates palmitic acid-induced inflammation and apoptosis of vascular endothelial cells through mediating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway[J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(7): 1703-1722.

[17] HAN F, DOU M, WANG Y X, et al. Cordycepin protects renal ischemia/reperfusion injury through regulating inflammation, apoptosis, and oxidative stress[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(2): 125-132.

[18] GUO Z R, CHEN W, DAI G S, et al. Cordycepin suppresses the migration and invasion of human liver cancer cells by down-regulating the expression of CXCR4[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(1): 141-150.

[19] SRISUKSAI K, PARUNYAKUL K, PHAONAKROP N, et al. The effect of cordycepin on brain oxidative stress and protein expression in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *J Vet Med Sci*, 2021, 83(9): 1425-1434.

[20] 郭栋伟, 张鹏飞, 任明君, 等. 银杏叶提取物防治慢性阻塞性肺疾病的机制研究: 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控肺泡巨噬细胞自噬[J]. *中国全科医学*, 2023, 26(3): 293-303.

[21] 韩欣, 丁晓玲, 余涛, 等. 益肺散结对肺纤维化大鼠模型自噬及 PI3K-AKT-mTOR 通路的影响[J]. *西部医学*, 2021, 33(1): 38-43.

[22] QU L H, CHEN C, HE W, et al. Glycyrrhizic acid ameliorates LPS-induced acute lung injury by regulating autophagy through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(4): 2042-2055.

(收稿日期:2022-12-10 修回日期:2023-03-02)