钩藤碱固体脂质纳米粒抑制哮喘模型小鼠气道平滑肌细胞增殖的作用机制Δ

王　盟[1,2*]，李　慧[2]，吕传峰[3]（1.英吉沙县人民医院医务部，新疆 喀什　844000；2.济宁市第一人民医院医务部，山东 济宁　272000；3.济宁市第一人民医院药学部，山东 济宁　272000）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）09-1066-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.09.08

摘　要　目的　研究钩藤碱固体脂质纳米粒（Rhy-SLN）抑制哮喘模型小鼠气道平滑肌细胞（ASMCs）增殖的作用机制。**方法**　采用卵清蛋白+氢氧化铝过敏法制备哮喘模型小鼠，然后原代分离培养ASMCs并进行形态观察和鉴定[当ASMCs内α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）呈红色，结蛋白（Desmin）呈绿色，表明ASMCs培养成功]；将细胞分为空白组（正常小鼠ASMCs）、模型组（哮喘模型小鼠ASMCs）、Rhy-SLN组（哮喘模型小鼠ASMCs）、细胞因子信号转导抑制蛋白1（SOCS1）过表达组（转染SOCS1过表达载体的哮喘模型小鼠ASMCs）、SOCS1-RNAi组（转染SOCS1-RNAi载体的哮喘模型小鼠ASMCs）、SB203580组[p38丝裂原激活的蛋白激酶（p38 MAPK）抑制剂，哮喘模型小鼠ASMCs]。各组加入相应含药（均为10 μmol/L）或不含药培养基培养24 h。采用MTT法检测ASMCs增殖，采用Western blot法检测ASMCs中α-SMA、白细胞介素1β（IL-1β）、SOCS1、p38 MAPK、磷酸化p38 MAPK（p-p38 MAPK）蛋白表达水平。**结果**　小鼠原代ASMCs形态大小不一，呈不规则形、梭形、三角形；细胞内α-SMA呈红色，Desmin呈绿色，表明ASMCs培养成功。与模型组比较，Rhy-SLN组、SOCS1过表达组和SB203580组ASMCs吸光度值及α-SMA、p38 MAPK和p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著降低，SOCS1蛋白表达水平（SB203580组除外）显著升高（$P<0.05$）；Rhy-SLN组ASMCs中IL-1β蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）；SOCS1-RNAi组ASMCs吸光度值及α-SMA、SOCS1、p38 MAPK和p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。**结论**　Rhy-SLN可抑制AMSCs增殖，其作用机制可能与促进SOCS1过表达，抑制IL-1β、p38 MAPK蛋白表达有关。

关键词　钩藤碱固体脂质纳米粒；气道平滑肌细胞；哮喘；α-平滑肌肌动蛋白；白细胞介素1β；细胞因子信号转导抑制蛋白1；p38丝裂原激活的蛋白激酶

Mechanism of rhynchophylline solid lipid nanoparticles inhibiting the proliferation of airway smooth muscle cells in asthmatic model mice

WANG Meng[1,2], LI Hui[2], LYU Chuanfeng[3] (1. Dept. of Medical Affairs, Yingjisha County People's Hospital, Xinjiang Kashi 844000, China; 2. Dept. of Medical Affairs, Jining First People's Hospital, Shandong Jining 272000, China; 3. Dept. of Pharmacy, Jining First People's Hospital, Shandong Jining 272000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the inhibitory effect mechanism of rhynchophylline solid lipid nanoparticles (Rhy-SLN) on the proliferation of airway smooth muscle cells (ASMCs) in asthmatic model mice. **METHODS** Asthma model was prepared by ovalbumin+calmogastrin sensitization. The primary isolation and culture of ASMCs were performed, and morphological observation and identification were also conducted [when α-smooth muscle actin (α-SMA) appeared red and Desmin appeared green in ASMCs, indicating successful cultivation of ASMCs]. The cells were divided into blank group (ASMCs of normal mice), model group (ASMCs of asthma model mice), Rhy-SLN group (ASMCs of asthma model mice), recombinant suppressors of cytokine signaling 1 (SOCS1) overexpression group (ASMCs of asthma model mice transfected with SOCS1 vector), SOCS1-RNAi group (ASMCs of asthma model mice transfected with SOCS1-RNAi vector) and SB203580 group [p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) inhibitor, ASMCs of asthma model mice]. The cells of each group were added into the corresponding culture medium containing drug (10 μmol/L) or not containing drug for 24 hours. MTT method was used to detect the proliferation of ASMCs in asthmatic mice; Western blot assay was used to detect the protein expressions of α-SMA, interleukin-1β (IL-1β), SOCS1, p38 MAPK and phosphorylated p38 MAPK (p-p38 MAPK) in ASMCs. **RESULTS** The primary ASMCs of mice varied in shape and size, presenting irregular, spindle and triangular shapes; α-SMA appeared red and Desmin appeared green, indicating successful cultivation of ASMCs. Compared with model group, ASMCs absorbance values and protein expressions of α-SMA, p38 MAPK, and p-p38 MAPK were reduced significantly in Rhy-SLN group, SOCS1 overexpression group and SB203580 group, while protein expression of SOCS1 (except for

Δ **基金项目** 新疆维吾尔自治区自然科学基金地州科学基金资助项目（No.2021D01F19）

＊ **第一作者** 副主任药师，博士。研究方向：中医药防治哮喘。E-mail：wangmeng106@163.com

SB203580 group) was increased significantly ($P<0.05$); protein expressions of IL-1β was reduced significantly in ASMCs ($P<0.05$). ASMCs absorbance values and protein expressions of α-SMA, SOCS1, p38 MAPK and p-p38 MAPK were increased significantly in SOCS1-RNAi group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Rhy-SLN can inhibit the proliferation of ASMCs, the mechanism of which may be associated with overexpression of SOCS1 and inhibiting the protein expressions of IL-1β and p38 MAPK.

KEYWORDS rhynchophylline solid lipid nanoparticles; airway smooth muscle cells; asthma; α-smooth muscle actin; interleukin-1β; recombinant suppressors of cytokine signaling 1; p38 mitogen-activated protein kinase

支气管哮喘是一类以可逆的气流阻塞、气道炎症反应及气道重塑为特征的慢性呼吸道疾病，可严重危害人类健康[1－2]。据统计，目前全球哮喘患者约有3亿人，少数国家哮喘的患病率高达18%[3]。有关研究表明，受环境中的过敏原影响，哮喘发作会激发气道中淋巴细胞及嗜酸性粒细胞的分泌活性，诱导炎症反应并刺激气道平滑肌细胞（airway smooth muscle cell，ASMCs）的增殖[4]。如何缓解AMSCs的增殖肥大，已经成为治疗哮喘的关键问题。

钩藤碱为中药钩藤的主要有效成分，其可通过抑制血管平滑肌中的钙离子通道诱导血管舒张，同时抑制血管平滑肌的增殖[5]。研究发现，钩藤碱对哮喘模型大鼠具有一定的平喘作用[6]。本课题组前期制备了钩藤碱固体脂质纳米粒（rhynchophylline solid lipid nanoparticles，Rhy-SLN），并发现其可通过抑制AMSCs增殖，发挥平喘作用[7]，但具体的作用机制尚未完全明确。白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）与ASMCs的增殖密切相关[8]，过表达的IL-1β能够影响细胞因子信号转导抑制蛋白1（recombinant suppressors of cytokine signaling 1，SOCS1）诱导的p38丝裂原激活的蛋白激酶（p38 mitogen-activated protein kinase，p38 MAPK）的磷酸化，从而影响ASMCs增殖[9－11]。基于此，本研究通过检测ASMCs中IL-1β、SOCS1、p38 MAPK蛋白的表达情况，进一步阐明Rhy-SLN抑制哮喘的具体作用机制，以期为哮喘药物的开发提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括BPN-80CH型CO_2培养箱（上海一恒科学仪器有限公司）；SW-CJ-1FD型超净工作台（苏州安泰空气技术有限公司）；CKX53型倒置荧光显微镜（日本Olympus公司）；CMAX PLUS型酶标仪（美国Molecular Devices公司）；JY04S-3C型凝胶成像系统（北京君意东方电泳设备有限公司）；LightCycler96型荧光定量聚合酶链式反应（PCR）仪（瑞士Roche公司）

1.2 主要药品与试剂

钩藤碱（纯度98%）、p38 MAPK信号通路抑制剂SB203580（批号分别为R102720、S125924）均购自上海阿拉丁生化科技有限公司；DMEM培养基（批号CM15019）购自中科迈晨（北京）科技有限公司；胰酶、DAPI染液（批号分别为T1300、C0060）均购自北京索莱宝科技有限公司；胎牛血清（批号FCS500）购自上海吉泰依科赛生物科技有限公司；磷酸盐缓冲液（PBS）、MTT试剂盒、兔源磷酸化p38 MAPK（p-p38 MAPK）单克隆抗体（批号分别为G4202、G4101、GB113380）均购自武汉赛维尔生物科技有限公司；兔源SOCS1单克隆抗体、兔源p38 MAPK单克隆抗体（批号分别为A7754、A5049）均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；兔源IL-1β单克隆抗体、兔源α-平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA）单克隆抗体（批号分别为bs-0812R、bms-52392R）均购自北京博奥森生物技术有限公司；兔源β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体（批号TA-09）购自北京中杉金桥生物有限公司；TRNzol Universal总RNA提取试剂、FastQuant cDNA第一链合成试剂盒（批号分别为DP424、KR116）均购自北京天根生化科技有限公司；Lipofectamine 3000试剂盒（批号L300015）购自美国Invitrogen公司；辣根过氧化物酶标记的免疫球蛋白G二抗（批号LS0500）购自上海源叶生物科技有限公司。

1.3 动物

本研究所用动物为BALB/c雌性小鼠，共10只，5周龄，体质量18～24 g，购自北京维通利华实验动物技术公司，动物生产许可证号为SCXK（京）2021-0011。小鼠饲养于济宁医学院动物中心，饲养温度为20～23 ℃，相对湿度为40%～70%，在此期间自由进食、饮水，昼夜节律正常。本研究动物实验经济宁市第一人民医院动物伦理委员会审核批准，批准号为JNMC-2022-YX-021。

2 方法

2.1 Rhy-SLN的制备

参考本课题组前期研究方法，精密称取处方量的钩藤碱、脂质、卵磷脂等，采用纳米乳法制备Rhy-SLN（钩藤碱的载药量为3.52%）[7]，并于4 ℃密封保存备用。

2.2 哮喘模型小鼠的构建

将小鼠随机分为正常组和造模组，每组各5只。造模组小鼠参考文献[7]方法，采用卵清蛋白+氢氧化铝过敏法建立哮喘模型，具体方法如下：小鼠分别在第0、14、28、42天皮下注射卵清蛋白+氢氧化铝溶液（20 μg卵清蛋白和1 mg氢氧化铝溶于200 μL PBS中备用）；在第21～42天，小鼠雾化吸入卵清蛋白+氢氧化铝溶液进行致敏，每次雾化30 min，每周3次。正常组小鼠不做任何处理。末次给药后，腹腔注射戊巴比妥钠（200 mg/kg）处

死小鼠，然后收集各组小鼠肺组织和支气管组织。取造模组小鼠肺组织适量，以4%多聚甲醛溶液固定，然后进行包埋、切片、染色、封片等操作，采用显微镜观察造模组小鼠肺组织病理形态学情况，当其发生病理改变时，表明造模成功。

2.3 ASMCs的形态观察及鉴定

在无菌条件下将“2.2”项下分离的正常组和造模组小鼠支气管组织以PBS洗2遍，然后利用组织贴片法[12]，于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养原代ASMCs，以胰酶消化传代，并采用光学显微镜对细胞进行形态学观察。在传代培养时，将正常组小鼠ASMCs接种至预先放置有处理过的盖玻片的培养皿中，待细胞长成单层后取出盖玻片，PBS洗2次；以4%多聚甲醛固定细胞，加入300 μL 0.3%Triton X-100，室温静置20 min；在盖玻片上滴加适量山羊血清工作液，37 ℃封闭1 h；滴加DAPI染液孵育、封片。采用荧光显微镜观察ASMCs中α-SMA和结蛋白（Desmin）的染色情况以进行细胞鉴定，当ASMCs内α-SMA呈红色，Desmin呈绿色，表明ASMCs培养成功。

2.4 ASMCs的转染

将对数生长期的造模组小鼠ASMCs离心后制备细胞悬液，接种于6孔板中（细胞转染时融合度为80%左右），根据Lipofectamine 3000试剂盒说明书操作，分别转染SOCS1过表达载体和SOCS1-RNAi载体（即干扰载体），将转染后的细胞置于37 ℃、5%CO_2培养箱中培养4～6 h；更换培养基，继续培养至48 h，收集细胞用于后续试验。

2.5 分组、给药与培养

本研究设置空白组（正常小鼠ASMCs）、模型组（哮喘模型小鼠ASMCs）、Rhy-SLN组（哮喘模型小鼠ASMCs）、SOCS1过表达组（转染SOCS1过表达载体的哮喘模型小鼠ASMCs）、SOCS1-RNAi组（转染SOCS1-RNAi载体的哮喘模型小鼠ASMCs）、SB203580组（哮喘模型小鼠ASMCs）。空白组、模型组、SOCS1过表达组、SOCS1-RNAi组ASMCs以不含药的培养基培养24 h，Rhy-SLN组和SB203580组ASMCs分别以含10 μmol/L Rhy-SLN、SB203580的培养基培养24 h[13]。

2.6 ASMCs增殖活力的检测

采用MTT法进行检测。将ASMCs按1.0×10^5个/孔接种于96孔板中，培养24 h后，按“2.5”项下方法分组、给药与培养，每组设3个复孔。培养结束后，加入20 μL新鲜配制的MTT溶液（5 mg/mL），培养4 h；吸除上清液，每孔加入二甲基亚砜100 μL终止反应。采用酶标仪于570 nm波长处检测每孔吸光度值，以吸光度值评价细胞增殖情况，吸光度值越大，表明细胞增殖活力越强。

2.7 ASMCs中α-SMA、IL-1β、SOCS1、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。将ASMCs按2.0×10^5个/孔接种于6孔板中，取对数生长期的细胞，按“2.2”项下方法分组、给药与培养，每组设3个复孔。培养结束后，收集细胞，加入适量RIPA裂解液匀浆至充分裂解，BCA法进行蛋白定量，然后煮沸变性。取20 μg蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜，5%脱脂奶粉封闭1 h，加入α-SMA、IL-1β、SOCS1、p38 MAPK、p-p38 MAPK、β-actin一抗（稀释度均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；PBST洗涤后，加入辣根过氧化物酶标记的二抗（稀释度为1∶2 000）孵育1 h；加入ECL化学发光试剂，室温条件下反应1～2 min。采用凝胶成像分析系统进行分析，以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白（β-actin）条带灰度值的比值，表示目的蛋白的表达水平。

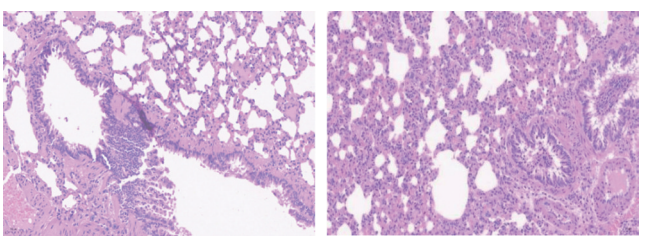
2.8 统计学处理

采用SPSS 23.0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，组间两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 哮喘模型小鼠的肺组织病理形态学观察结果

与正常组小鼠比较，造模组小鼠肺组织可见肺泡壁增厚，粒细胞浸润，黏膜上皮细胞脱落；管腔内可见黏液及脱落的上皮细胞混合物，局部可见血管管壁增厚，厚薄不一；偶见淋巴细胞灶性浸润，血管淤血扩张及小灶性出血。这表明小鼠哮喘模型构建成功。结果见图1。



A.正常组　　B.造模组

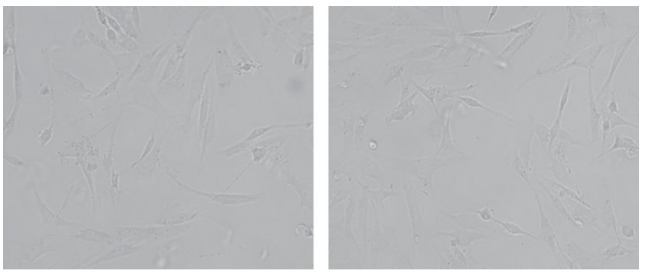
图1 小鼠肺组织病理形态学观察显微图（HE染色，×200）

3.2 ASMCs的形态观察及鉴定结果

由图2可见，本研究培养的正常组和造模组小鼠原代ASMCs形态大小不一，呈不规则形、梭形、三角形等。进一步对正常组小鼠ASMCs进行免疫荧光染色发现（见图3），细胞内α-SMA呈红色，Desmin呈绿色，细胞核呈蓝色，且90%以上细胞呈阳性染色，表明ASMCs培养成功。

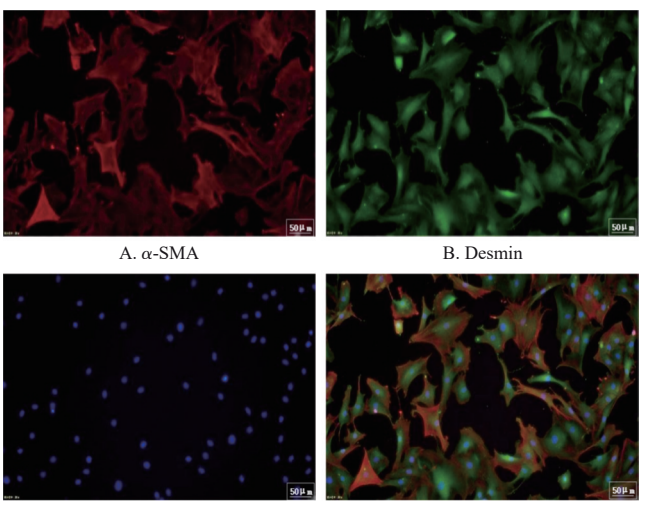
3.3 Rhy-SLN对ASMCs增殖的影响

与空白组比较，模型组ASMCs吸光度值显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，Rhy-SLN组、SOCS1过表达组和SB203580组ASMCs吸光度值均显著降低（$P<0.05$），SOCS1-RNAi组ASMCs吸光度值显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。



A. 正常组小鼠ASMCs　　B. 造模组小鼠ASMCs

图2　ASMCs的形态观察显微图（×200）



A. α-SMA　　B. Desmin

C. DPAI　　D. Merge

图3　正常组小鼠ASMCs的鉴定结果（免疫荧光染色，×200）

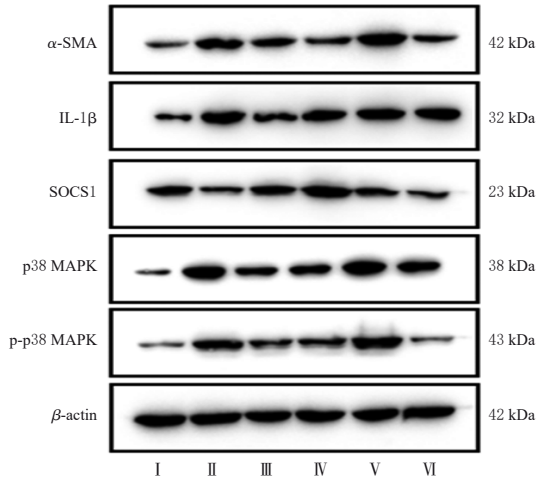
表1　各组ASMCs吸光度值及α-SMA、IL-1β、SOCS1、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	吸光度值	α-SMA	IL-1β	SOCS1	p38 MAPK	p-p38 MAPK
空白组	0.590±0.023	1.00±0.11	1.00±0.06	1.00±0.07	1.00±0.04	1.00±0.06
模型组	0.815±0.029[a]	4.63±0.32[a]	4.24±0.25[a]	0.49±0.04[a]	6.84±0.45[a]	5.96±0.51[a]
Rhy-SLN组	0.697±0.027[b]	3.57±0.42[b]	2.56±0.31[b]	1.19±0.12[b]	4.66±0.54[b]	3.71±0.24[b]
SOCS1过表达组	0.681±0.045[b]	1.94±0.18[b]	3.95±0.28	1.67±0.14[b]	5.06±0.46[b]	4.01±0.52[b]
SOCS1-RNAi组	0.914±0.035[b]	6.39±0.48[b]	4.48±0.32	0.79±0.08[b]	7.79±0.75[b]	8.89±0.79[b]
SB203580组	0.574±0.051[b]	2.08±0.36[b]	4.28±0.56	0.42±0.05	5.42±0.29[b]	1.13±0.14[b]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$

3.4　Rhy-SLN对ASMCs中α-SMA、IL-1β、SOCS1、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达的影响

与空白组比较，模型组ASMCs中α-SMA、IL-1β、p38 MAPK和p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），SOCS1蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，Rhy-SLN组、SOCS1过表达组和SB203580组ASMCs中α-SMA、p38 MAPK和p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著降低，SOCS1蛋白表达水平（SB203580组除外）显著升高（$P<0.05$），Rhy-SLN组ASMCs中IL-1β蛋白表达水平显著降低（$P<0.05$），SOCS1-RNAi组ASMCs中α-SMA、SOCS1、p38 MAPK和p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1、图4。



Ⅰ：空白组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：Rhy-SLN组；Ⅳ：SOCS1过表达组；Ⅴ：SOCS1-RNAi组；Ⅵ：SB203580组

图4　各组ASMCs中α-SMA、IL-1β、SOCS1、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达的电泳图

4　讨论

哮喘是过敏原刺激后由免疫球蛋白E介导的炎症疾病，以气道炎症、气道高反应和气道重塑为主要特征，现已成为世界流行的慢性疾病之一[14]。哮喘的发作会诱导炎症反应并刺激ASMCs增殖，ASMCs增殖在中央气道表现为平滑肌细胞的增生，在小气道主要表现为平滑肌细胞的肥厚，同时伴有上皮异常、血管增生及黏液腺体肥大等现象，从而增强气道的反应性，导致哮喘[15]。

钩藤为我国传统中药，是治疗哮喘方剂麻藤定喘方的臣药，该方具有清热平肝、祛风解痉、清热化痰、平喘的功效。钩藤碱是从钩藤中提取的主要有效成分，具有抗炎、降血压、舒张血管及扩张气道平滑肌等多种药理作用[16]。然而，钩藤碱存在水溶性差、生物利用度相对较低等缺陷[17]。本课题组前期研究将钩藤碱制备成固体脂质纳米粒，可较好地解决钩藤碱水溶性差的缺陷，且已被证实具有缓解小鼠哮喘的作用[18]。基于此，笔者进一步研究Rhy-SLN改善哮喘的具体作用机制。本研究结果显示，与模型组比较，Rhy-SLN组、SOCS1过表达组和SB203580组ASMCs吸光度值显著降低，这说明Rhy-SLN、过表达的SOCS1及p38 MAPK抑制剂SB203580均可抑制小鼠AMSCs增殖。

IL-1β是一种促炎细胞因子，在哮喘的生理病理过程中发挥重要作用，可调控ASMCs的增殖[19]。SOCS1是细胞因子转导抑制因子家族成员之一，也是抑制炎症反应通路的一类关键调控因子[20]，其可通过调控p38 MAPK信号通路活性，影响AMSCs增殖[21]。α-SMA是反映AMSCs数量的敏感指标，是哮喘早期气道重塑的重要指标之一[22]。本研究结果显示，与模型组比较，Rhy-SLN组和SB203580组AMSCs中α-SMA、IL-1β（SB203580组除外）、p38 MAPK和p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著降低，SOCS1蛋白表达水平（SB203580组

除外）显著升高。过表达SOCS1后，AMSCs中α-SMA、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著降低；干扰SOCS1后，AMSCs中α-SMA、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达水平均显著升高，这说明SOCS1可以靶向调节p38 MAPK。由此可知，Rhy-SLN可通过促进SOCS1过表达，抑制IL-1β、p38 MAPK蛋白表达，从而抑制AMSCs增殖。

综上所述，Rhy-SLN可抑制AMSCs增殖，其作用机制可能与促进SOCS1过表达，抑制IL-1β、p38 MAPK蛋白表达有关。

参考文献

[1] ABOU-JAOUDE A, COURTES M, BADIQUE L, et al. ShcA promotes chondrocyte hypertrophic commitment and osteoarthritis in mice through RunX2 nuclear translocation and YAP1 inactivation[J]. Osteoarthr Cartil, 2022, 30(10): 1365-1375.

[2] PEI Q M, JIANG P, YANG M, et al. Upregulation of a disintegrin and metalloproteinase-33 by VEGF in human airway smooth muscle cells: implications for asthma[J]. Cell Cycle, 2016, 15(20): 2819-2826.

[3] 刘永生，王金菊，孟泳，等. 基于p38 MAPK/NF-κB信号通路探讨麻黄-苦杏仁药对治疗支气管哮喘大鼠的机制[J]. 中药新药与临床药理，2022，33(8)：1025-1031.

[4] AMMIT A J, HASTIE A T, EDSALL L C, et al. Sphingosine 1-phosphate modulates human airway smooth muscle cell functions that promote inflammation and airway remodeling in asthma[J]. FASEB J, 2001, 15(7): 1212-1214.

[5] LI P Y, ZENG X R, CHENG J, et al. Rhynchophylline-induced vasodilation in human mesenteric artery is mainly due to blockage of L-type calcium channels in vascular smooth muscle cells[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2013, 386(11): 973-982.

[6] 柳威，邓林华，赵英强. 钩藤提取物及钩藤碱的药理研究进展[J]. 中药新药与临床药理，2021，32(6)：899-904.

[7] 王盟，毕倩宇，季旭明. 钩藤碱固体脂质纳米粒缓解小鼠哮喘作用及对TGF-β1/Smad/MAPK通路的影响[J]. 中华中医药杂志，2019，34(10)：4531-4535.

[8] LANG C, ROY S, WANG Y, et al. Efferocytosis drives myeloid NLRP3 dependent inflammasome signaling secretion of IL-1β to promote tumor growth[J]. Front Immunol, 2022, 13: 993771.

[9] WANG L, WANG Y G, CHEN Y J, et al. Rhynchophylline ameliorates cerebral ischemia by improving the synaptic plasticity in a middle cerebral artery occlusion induced stroke model[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 940: 175390.

[10] NITA-LAZAR M, BANERJEE A, FENG C, et al. Galectins regulate the inflammatory response in airway epithelial cells exposed to microbial neuraminidase by modulating the expression of SOCS1 and RIG1[J]. Mol Immunol, 2015, 68(2 Pt A): 194-202.

[11] GUI Y R, KHAN M G M, BOBBALA D, et al. Attenuation of MET-mediated migration and invasion in hepatocellular carcinoma cells by SOCS1[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(36): 6639-6649.

[12] LV C F, LI H, CUI H X, et al. Solid lipid nanoparticle delivery of rhynchophylline enhanced the efficiency of allergic asthma treatment via the upregulation of suppressor of cytokine signaling 1 by repressing the p38 signaling pathway[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 8635-8649.

[13] 王盟，李慧，吕传峰. 钩藤碱固体脂质纳米粒对小鼠气道平滑肌细胞增殖及TGF-β1/ERK/P38通路的影响[J]. 国际中医中药杂志，2020，42(12)：1127-1131.

[14] 陈淑珍. 中药单体治疗哮喘的作用与机制研究进展[J]. 中医药学报，2021，49(10)：89-93.

[15] WOO J A, CASTAÑO M, KEE T R, et al. A Par3/LIM kinase/cofilin pathway mediates human airway smooth muscle relaxation by TAS2R14[J/OL]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2023[2023-03-24]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36662576/ .DOI: 10.1165/rcmb.2022-0303OC.

[16] WANG M, LI H, ZHAO Y X, et al. Rhynchophylline attenuates allergic bronchial asthma by inhibiting transforming growth factor-β1-mediated Smad and mitogen-activated protein kinase signaling transductions *in vivo* and *in vitro*[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(1): 251-259.

[17] LI X, WANG X H, QIANG W, et al. Transcriptome revealing the dual regulatory mechanism of ethylene on the rhynchophylline and isorhynchophylline in *Uncaria rhynchophylla*[J]. J Plant Res, 2022, 135(3): 485-500.

[18] 王盟，毕倩宇，李慧，等. 钩藤碱固体脂质纳米粒对小鼠气道平滑肌细胞增殖及TGF-β1/Smad通路的影响[J]. 世界中医药，2021，16(16)：2419-2422.

[19] TSUBOKAWA D, SATOH M. *Strongyloides venezuelensis*-derived venestatin ameliorates asthma pathogenesis by suppressing receptor for advanced glycation end-products-mediated signaling[J]. Pulm Pharmacol Ther, 2022, 75: 102148.

[20] ALMEIDA-OLIVEIRA A R, AQUINO-JUNIOR J, ABBASI A, et al. Effects of aerobic exercise on molecular aspects of asthma: involvement of SOCS-JAK-STAT[J]. Exerc Immunol Rev, 2019, 25: 50-62.

[21] 段垚，朱立宏，董延萍. 基于SOCS1/JAK-STAT3通路探究雷公藤红素治疗特应性皮炎小鼠的作用机制[J]. 广西医科大学学报，2022，39(2)：290-297.

[22] 田金娜，陈迪，李建保，等. 丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织HMGB1、α-SMA及炎症因子的影响[J]. 中华中医药杂志，2022，37(3)：1347-1351.

（收稿日期：2022-10-22　修回日期：2023-03-30）

（编辑：唐晓莲）