金合欢素对哮喘幼年大鼠的改善作用及机制Δ

吕士申[1*]，张忠文[2]，邵淑琳[1#]（1.滕州市中心人民医院儿科三病区，山东 滕州 277599；2.滕州市中心人民医院儿内科，山东 滕州 277599）

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1001-0408（2024）20-2466-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2024.20.04

摘 要 目的 基于沉默信息调节因子1（SIRT1）/AMP活化蛋白激酶（AMPK）信号通路探讨金合欢素对哮喘幼年大鼠的改善作用及机制。**方法** 将幼年SD大鼠随机分为对照组、哮喘组、金合欢素组（13.33 mg/kg，灌胃）、SIRT抑制剂EX-527组（1 mg/kg，腹腔注射）、金合欢素+EX-527组（13.33 mg/kg金合欢素，灌胃+1 mg/kg EX-527，腹腔注射），每组12只（雌雄各半）。除对照组外，其余各组大鼠以腹腔注射卵清蛋白致敏+雾化吸入卵清蛋白增敏的方式复制哮喘模型。造模后，各药物组大鼠灌胃或（和）腹腔注射相应药液，每天1次，持续2周。末次给药后，检测其支气管肺泡灌洗液（BALF）中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比和白细胞介素5（IL-5）、IL-4、肿瘤坏死因子α（TNF-α）水平，观察肺组织病理形态学变化和杯状细胞异常增生情况，检测肺组织中丙二醛（MDA）、超氧化物歧化酶（SOD）水平，以及SIRT1、AMPK和过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子1α（PGC-1α）蛋白的表达情况。**结果** 与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织中有大量的炎症细胞浸润和明显的杯状细胞异常增生；BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比和IL-5、IL-4、TNF-α水平，肺组织过碘酸希夫染色（PAS）评分，以及肺组织中MDA水平均显著升高（$P<0.05$）；肺组织中SOD水平、SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。与哮喘组比较，金合欢素组大鼠肺组织的病理改变和杯状细胞异常增生均有所减轻，各定量指标均显著改善（$P<0.05$），而EX-527组大鼠肺组织的病理改变和杯状细胞异常增生均有所加重，各定量指标均显著恶化（$P<0.05$）；联用EX-527可显著逆转金合欢素对哮喘幼年大鼠氧化应激及气道炎症的改善作用。**结论** 金合欢素可抑制哮喘幼年大鼠的氧化应激和气道炎症，上述作用可能与激活SIRT1/AMPK信号通路有关。

关键词 金合欢素；哮喘；氧化应激；气道炎症；SIRT1/AMPK信号通路；幼年大鼠

Improvement effect of acacetin on juvenile asthma rats and its mechanism

LYU Shishen[1], ZHANG Zhongwen[2], SHAO Shulin[1] (1. Pediatric Ward Three, Tengzhou Central People's Hospital, Shandong Tengzhou 277599, China; 2. Pediatric Department, Tengzhou Central People's Hospital, Shandong Tengzhou 277599, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To explore the improvement effect and mechanism of acacetin on juvenile asthma rats based on the silence information regulator 1 (SIRT1)/AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway. **METHODS** Juvenile SD rats were randomly divided into control group, asthma group, acacetin group (13.33 mg/kg, gavage), SIRT inhibitor EX-527 group (1 mg/kg, intraperitoneal injection) and acacetin+EX-527 group (13.33 mg/kg acacetin, gavage+1 mg/kg EX-527, intraperitoneal injection), with 12 rats in each group (half male and half female). Except for the control group, the other groups were sensitized by intraperitoneal injection of ovalbumin and nebulized inhalation of ovalbumin to induce the asthma model. After modeling, rats in each drug group were orally administered or (and) intraperitoneally injected with the corresponding medication once a day for 2 weeks. After the last administration, the total number of cells, the proportion of eosinophils, and the levels of interleukin-5 (IL-5), IL-4 and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were measured. The pathological changes and abnormal proliferation of goblet cells in lung tissue were observed, the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in lung tissue and the protein expressions of SIRT1, AMPK and peroxisome proliferator activated receptor-gamma co-activator factor-1α (PGC-1α) were detected. **RESULTS** Compared with control group, there was a large number of inflammatory cell infiltration and obvious goblet cell dysplasia in the lung tissue of rats in asthma group; the total number of cells in BALF, the proportion of eosinophils, the levels of IL-5, IL-4 and TNF-α in BALF, PAS score and MDA level in the lung tissue were significantly increased ($P<0.05$); the SOD level, protein expressions of SIRT1 and PGC-1α and protein phosphorylation level of AMPK in lung tissue were significantly decreased in asthma group ($P<0.05$). Compared with the asthma group, the pathological changes of lung tissue and goblet cell dysplasia of rats were reduced, and all quantitative indexes were significantly improved in acacetin group ($P<0.05$), while the pathological changes of lung tissue and goblet cell dysplasia of rats were increased, and all quantitative indexes were significantly worsened in EX-527 group ($P<0.05$). The combination of EX-527 could significantly reverse the effects of acacetin on oxidative stress and airway inflammation in juvenile asthma rats. **CONCLUSIONS** Acacetin can inhibit oxidative stress and airway inflammation in juvenile asthma rats, which may be related to the activation of the SIRT1/AMPK signaling pathway.

KEYWORDS acacetin; asthma; oxidative stress; airway inflammation; SIRT1/AMPK signaling pathway; juvenile rats

Δ **基金项目** 山东省医药卫生科技发展计划项目（No. 202006011247）

＊**第一作者** 主治医师，硕士。研究方向：儿科疾病诊疗。E-mail：jinanlvshishen@163.com

＃**通信作者** 主治医师，硕士。研究方向：儿科疾病诊疗。E-mail：shao_shulin@163.com

哮喘是一种慢性炎症性气道疾病，是儿科人群最常见的慢性疾病，主要临床症状包括干咳、呼吸急促、喘息、胸闷等[1]。目前，吸入性皮质类固醇是临床治疗哮喘使用最广泛的药物，但长期使用会损害患者肾脏、肝脏、心脏和消化、免疫系统，并导致各种恶性肿瘤的发生[2]。因此，亟须寻找更高效、更安全的新型替代治疗药物。

金合欢素是一种从菊花、金合欢和雪莲等多种药用植物中提取的类黄酮化合物，分子量小、毒性低，具有抗炎等药理活性。研究指出，金合欢素可改善模型小鼠的哮喘症状[3]，但具体机制尚不完全明确。相关研究显示，沉默信息调节因子1（silence information regulator 1，SIRT1）/AMP活化蛋白激酶（AMP-activated protein kinase，AMPK）信号通路的激活可抑制过氧化氢诱导的小鼠气道平滑肌细胞增殖，有助于改善哮喘小鼠的气道重塑[4]。此外，相关研究发现，金合欢素可通过激活SIRT1/AMPK信号通路来抑制血管紧张素Ⅱ引起的心肌肥大[5]。基于此，本研究拟通过构建哮喘幼年大鼠模型，初步探究金合欢素对其干预作用及潜在机制，以期为哮喘的药物研发及临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括TC20型全自动细胞计数仪（美国Bio-Rad公司）、Multiskan GO型酶标仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、BX61型光学显微镜（日本Olympus公司）、UV1700型分光光度计（上海奥析科学仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

金合欢素对照品（纯度≥98%，货号SS0721）购自范德（北京）生物科技有限责任公司；SIRT1抑制剂EX-527的原料药（纯度99.89%）、卵清蛋白（货号分别为HY-15452、HY-W250978）均购自美国MCE公司；大鼠白细胞介素5（interleukin-5，IL-5）、IL-4、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（货号分别为YM-S1630、YM-S1727、YM-S1716）均购自上海远慕生物科技有限公司；过碘酸希夫染色（periodic acid-Schiff staining，PAS）试剂盒（货号C0142S）购自上海碧云天生物技术股份有限公司；大鼠丙二醛（malondialdehyde，MDA）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）试剂盒（货号分别为J23786、J23069）均购自武汉吉立德生物科技有限公司；兔源SIRT1、磷酸化AMPK（phosphorylated AMPK，p-AMPK）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（GAPDH）、AMPK、过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子1α（peroxisome proliferator-activated receptor-gamma co-activator factor-1α，PGC-1α）单克隆抗体及辣根过氧物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗（货号分别为ab189494、ab133448、ab181602、ab32047、ab313559、ab6721）均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

SPF级幼年SD大鼠60只（雌雄各半），体重50～52 g，购自山东艾茂达康生命科学有限公司，动物生产许可证号为SCXK（鲁）2023 0010。所有大鼠均在室温22～24 ℃、相对湿度55%～65%、每12 h昼夜循环的环境中饲养，自由饮水、摄食。本实验得到烟台蓝纳成生物技术有限公司实验动物伦理委员会批准，批件编号为2023-07-103。

2 方法

2.1 哮喘幼年大鼠模型构建

分别在造模的第1、8、15天腹腔注射卵清蛋白混悬液（卵清蛋白20 μg+氢氧化铝凝胶2 mg）0.2 mL致敏，造模的第16～22天雾化吸入含4%卵清蛋白的生理盐水（每天1次）增敏[6]。当大鼠出现打喷嚏、呼吸加快、精神萎靡不振等症状，且支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比均较正常大鼠明显升高，肺组织中有大量炎症细胞浸润和杯状细胞异常增生时，表明哮喘模型构建成功。

2.2 分组与给药

将大鼠随机分为对照组、哮喘组、金合欢素组、EX-527组、金合欢素+EX-527组，每组12只（雌雄各半）。除对照组外，其余各组大鼠按“2.1”项下方法复制哮喘幼年大鼠模型。对照组大鼠以生理盐水代替致敏药物，其余操作同“2.1”项。

造模成功后，金合欢素组大鼠灌胃13.33 mg/kg金合欢素（溶于少量乙醇后，再用生理盐水稀释）[3]，同时腹腔注射与EX-527腹腔注射体积相同的生理盐水；EX-527组大鼠腹腔注射1 mg/kg EX-527[7]，同时灌胃与金合欢素灌胃体积相同的生理盐水；金合欢素+EX-527组大鼠灌胃13.33 mg/kg金合欢素+腹腔注射1 mg/kg EX-527；对照组、哮喘组大鼠均灌胃与金合欢素灌胃体积相同的生理盐水+腹腔注射与EX-527腹腔注射体积相同的生理盐水。每天1次，持续2周。

2.3 大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比检测

末次给药后，取各组大鼠，依次向其气管中缓慢注入2、2、1 mL生理盐水；收集相应BALF，混匀，取适量，于室温下以1 500 r/min离心10 min，取上清液，加入磷酸盐缓冲液（PBS）2 mL，混匀，利用全自动细胞计数仪检测其中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比。

2.4 大鼠BALF中IL-5、IL-4、TNF-α水平检测

取“2.3”项下各组大鼠剩余的BALF，按照相应试剂盒说明书操作，采用ELISA法以酶标仪检测其中IL-5、IL-4、TNF-α水平。

2.5 大鼠肺组织病理形态学观察

收集BALF后，对各组大鼠腹腔注射4%戊巴比妥钠进行麻醉，采用脊椎脱臼法处死后收集双侧肺组织。取大鼠左肺组织适量，于4%多聚甲醛中固定24 h，经脱水、二甲苯浸泡、石蜡包埋后切片；取切片，进行苏木精-伊红（HE）染色，使用显微镜观察大鼠的肺组织病理形态学变化。

2.6 大鼠肺组织中杯状细胞异常增生情况观察

取“2.5”项下各组大鼠左肺组织切片，进行PAS，使用显微镜观察杯状细胞异常增生情况并进行PAS评分，具体标准为：未见杯状细胞异常增生，记0分；杯状细胞

异常增生面积＜25%，记1分；杯状细胞异常增生面积为25%～＜50%，记2分；杯状细胞异常增生面积为50%～＜75%，记3分；杯状细胞异常增生面积≥75%，记4分[8]。

2.7 大鼠肺组织中MDA、SOD水平检测

取“2.5”项下各组大鼠右肺组织适量，加入生理盐水1 mL，匀浆，按照相应试剂盒说明书操作，采用比色法以分光光度计检测肺组织匀浆中MDA、SOD水平。

2.8 大鼠肺组织中信号通路相关蛋白表达检测

取“2.5”项下各组大鼠右肺组织适量，以RIPA裂解缓冲液提取总蛋白。所得蛋白以BCA法测定浓度后，于95 ℃下加热5 min变性。取变性蛋白适量，进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移到聚偏二氟乙烯膜上，以5%脱脂牛奶封闭；洗膜后，加入SIRT1、p-AMPK、AMPK、PGC-1α、GAPDH一抗（稀释比例分别为1∶5 000、1∶4 000、1∶5 000、1∶5 000、1∶5 000），孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗（稀释比例为1∶6 000），孵育1 h；洗膜后，使用ECL试剂显影后成像。采用Image J软件进行定量分析，分别以SIRT1与GAPDH、PGC-1α与GAPDH蛋白的条带灰度值比值作为SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平，以p-AMPK与AMPK蛋白的灰度值比值作为AMPK蛋白的磷酸化水平。

2.9 统计学方法

使用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。数据以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用SNK-q检验。检测水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 金合欢素对大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比的影响

与对照组比较，哮喘组大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比均显著升高（$P<0.05$）；与哮喘组比较，金合欢素组大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比均显著降低（$P<0.05$），而EX-527组大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比均显著升高（$P<0.05$）；与金合欢素组比较，金合欢素+EX-527组大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。

3.2 金合欢素对大鼠BALF中炎症因子水平的影响

与对照组比较，哮喘组大鼠BALF中IL-5、IL-4、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）；与哮喘组比较，金合欢素组大鼠BALF中IL-5、IL-4、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$），而EX-527组大鼠BALF中IL-5、IL-4、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）；与金合欢素组比较，金合欢素+EX-527组大鼠BALF中IL-5、IL-4、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表2。

表1 各组大鼠BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	细胞总数（×10⁷）/（个/mL）	嗜酸性粒细胞数占比/%
对照组	26.63±1.31	0.06±0.01
哮喘组	103.44±4.68[a]	4.13±0.19[a]
金合欢素组	54.45±2.14[b]	2.36±0.11[b]
EX-527组	136.65±5.67[b]	5.88±0.21[b]
金合欢素+EX-527组	75.56±3.14[c]	3.66±0.14[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与哮喘组比较，$P<0.05$；c：与金合欢素组比较，$P<0.05$。

表2 各组大鼠BALF中IL-5、IL-4、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，ng/mL）

组别	IL-5	IL-4	TNF-α
对照组	45.56±1.95	165.54±7.18	83.36±3.15
哮喘组	138.39±6.12[a]	223.51±10.44[a]	201.15±9.77[a]
金合欢素组	73.36±2.95[b]	183.34±7.25[b]	125.56±5.44[b]
EX-527组	165.56±6.88[b]	251.65±11.14[b]	237.74±10.02[b]
金合欢素+EX-527组	121.83±5.02[c]	206.54±9.83[c]	151.52±6.34[c]

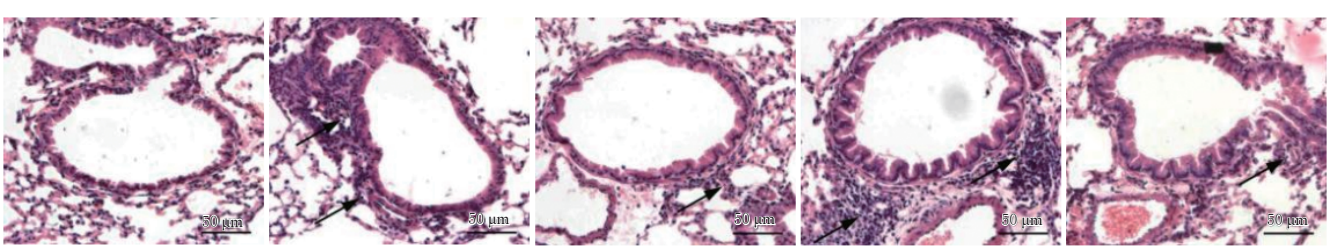
a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与哮喘组比较，$P<0.05$；c：与金合欢素组比较，$P<0.05$。

3.3 金合欢素对大鼠肺组织病理形态学的影响

对照组大鼠肺组织结构正常，无明显的炎症细胞浸润现象；哮喘组大鼠肺组织中有大量炎症细胞浸润；与哮喘组比较，金合欢素组大鼠肺组织中炎症细胞浸润有所改善，而EX-527组大鼠肺组织中炎症细胞浸润更加严重；与金合欢素组比较，金合欢素+EX-527组大鼠肺组织中炎症细胞浸润加重。结果见图1。

3.4 金合欢素对大鼠肺组织中杯状细胞异常增生的影响

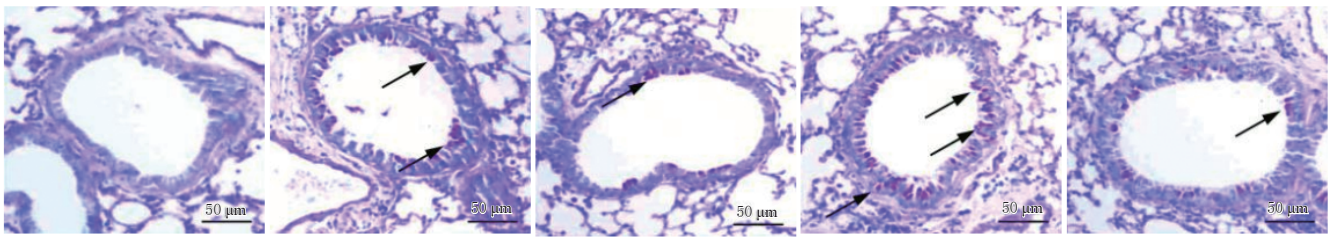
与对照组[（0.10±0.03）分]比较，哮喘组大鼠肺组织中有大量杯状细胞异常增生，PAS评分[（2.89±0.11）分]显著升高（$P<0.05$）。与哮喘组比较，金合欢素组大鼠肺组织中杯状细胞异常增生有所改善，PAS评分[（1.06±0.08）分]显著降低（$P<0.05$）；而EX-527组大鼠肺组织中杯状细胞异常增生现象更加严重，PAS评分[（3.62±0.08）分]显著升高（$P<0.05$）。与金合欢素组比较，金合欢素+EX-527组大鼠肺组织中杯状细胞异常增生现象加重，PAS评分[（1.55±0.09）分]显著升高（$P<0.05$）。结果见图2。



A.对照组　B.哮喘组　C.金合欢素组　D.EX-527组　E.金合欢素+EX-527组

→：炎症细胞浸润。

图1 各组大鼠肺组织病理形态学显微图（HE染色法）



A. 对照组　B. 哮喘组　C. 金合欢素组　D. EX-527组　E. 金合欢素+EX-527组

→：杯状细胞异常增生。

图2　大鼠肺组织中杯状细胞异常增生显微图（PAS法）

3.5　金合欢素对大鼠肺组织中MDA、SOD水平的影响

与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织中MDA水平显著升高，SOD水平显著降低（$P<0.05$）；与哮喘组比较，金合欢素组大鼠肺组织中MDA水平显著降低，SOD水平显著升高（$P<0.05$），而EX-527组大鼠肺组织中MDA、SOD水平的变化趋势相反（$P<0.05$）；与金合欢素组比较，金合欢素+EX-527组大鼠肺组织中MDA水平显著升高，SOD水平显著降低（$P<0.05$）。结果见表3。

表3　各组大鼠肺组织中MDA、SOD水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	MDA/（nmol/mg）	SOD/（U/mg）
对照组	4.13±0.19	6.76±0.26
哮喘组	16.65±0.68[a]	2.43±0.11[a]
金合欢素组	8.08±0.36[b]	5.01±0.20[b]
EX-527组	20.15±0.93[b]	1.12±0.07[b]
金合欢素+EX-527组	12.33±0.51[c]	3.86±0.14[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与哮喘组比较，$P<0.05$；c：与金合欢素组比较，$P<0.05$。

3.6　金合欢素对大鼠肺组织中相关蛋白表达的影响

与对照组比较，哮喘组大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）；与哮喘组比较，金合欢素组大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均显著升高（$P<0.05$），而EX-527组大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）；与金合欢素组比较，金合欢素+EX-527组大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见图3、表4。

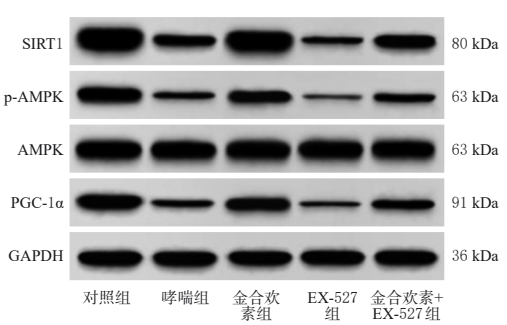


图3　大鼠肺组织中信号通路相关蛋白表达的电泳图

表4　各组大鼠肺组织中信号通路相关蛋白表达情况比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

组别	SIRT1/GAPDH	p-AMPK/AMPK	PGC-1α/GAPDH
对照组	1.85±0.14	0.89±0.08	1.03±0.09
哮喘组	0.69±0.06[a]	0.26±0.02[a]	0.36±0.03[a]
金合欢素组	1.51±0.17[b]	0.63±0.05[b]	0.85±0.07[b]
EX-527组	0.34±0.03[b]	0.11±0.01[b]	0.19±0.02[b]
金合欢素+EX-527组	1.06±0.10[c]	0.40±0.04[c]	0.58±0.05[c]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与哮喘组比较，$P<0.05$；c：与金合欢素组比较，$P<0.05$。

4　讨论

哮喘是临床常见的气道慢性炎症性疾病之一，由浸润性炎症细胞和黏液分泌过多所致，以气道高反应性为主要特征。炎症是哮喘的主要发病机制。嗜酸性粒细胞作为过敏反应的最终效应细胞，可以合成和分泌许多促炎因子，导致上皮细胞脱落、黏膜通透性增加、黏液分泌增多、支气管平滑肌增厚和肺部上皮屏障受损，从而引起炎症反应、气道高反应性[9]。IL-5是导致气道内嗜酸性粒细胞数量增加的重要介质，可控制该细胞的生长、成熟、黏附、分泌和凋亡；IL-4可在过敏原初始致敏的过程中发挥关键作用；TNF-α是与肺部疾病密切相关的常见炎症介质，可促进炎症细胞在炎症部位的蓄积，从而加重炎症反应[10]。实验动物经呼吸道接触卵清蛋白后，会发生气道炎症，其病理生理特征与人类哮喘相似。基于此，本研究利用卵清蛋白诱导构建了哮喘幼年大鼠模型，结果显示，哮喘幼年大鼠的肺组织中有大量的炎症细胞浸润和明显的杯状细胞异常增生，且BALF中细胞总数、嗜酸性粒细胞数占比和IL-5、IL-4、TNF-α水平均较对照组显著升高，表明哮喘大鼠存在明显的气道炎症，模型复制成功。此外，有研究表明，氧化应激失衡与哮喘的病理过程密切相关[11]。其中，MDA反映了机体的脂质过氧化程度，SOD是一种重要的抗氧化酶和氧化应激标志物。在哮喘大鼠肺组织中，MDA水平升高，SOD水平降低[12]。本研究结果与上述文献基本一致，表明哮喘幼年大鼠发生了氧化应激失衡。由此可见，抑制气道炎症及氧化应激可能是治疗哮喘的有效途径之一。

金合欢素是一种*O*-甲基化类黄酮单体，存在于多种天然植物中，具有抗氧化、抗炎等药理活性。已有研究发现，金合欢具有抗哮喘的作用[13]。本研究结果显示，金合欢素可减轻哮喘幼年大鼠肺组织炎症细胞浸润，缓解杯状细胞异常增生，并可降低BALF中细胞总数、嗜

酸性粒细胞数占比，IL-5、IL-4、TNF-α水平和肺组织中MDA水平，升高肺组织中SOD水平，提示该成分可抑制哮喘幼年大鼠的氧化应激及气道炎症，改善其肺组织损伤，具有潜在的哮喘治疗作用。

SIRT1蛋白在氧化应激中具有关键作用，可激活并磷酸化AMPK蛋白，激活下游PGC-1α蛋白的表达，从而抑制氧化应激损伤[14]。据报道，激活的AMPK/SIRT1信号通路及SIRT1/PGC-1α信号通路均可减轻哮喘小鼠的氧化应激和气道炎症[15]。本研究结果显示，哮喘幼年大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均较对照组显著降低，且SIRT1抑制剂EX-527可进一步降低哮喘幼年大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达和AMPK蛋白的磷酸化，加重其气道炎症及氧化应激，表明SIRT1/AMPK信号通路在哮喘幼年大鼠体内处于抑制状态。经金合欢素干预后，大鼠肺组织中SIRT1、PGC-1α蛋白的表达水平和AMPK蛋白的磷酸化水平均较哮喘组显著升高。由此笔者推测，金合欢素抑制哮喘幼年大鼠氧化应激及气道炎症的机制可能与激活SIRT1/AMPK信号通路有关。为了证明该推测，本研究以金合欢素+EX-527联合干预哮喘幼年大鼠，结果显示，EX-527可显著逆转金合欢素对哮喘幼年大鼠氧化应激及气道炎症的改善作用，初步证实了笔者推测的合理性。

综上所述，金合欢素可抑制哮喘幼年大鼠的氧化应激和气道炎症，上述作用可能与激活SIRT1/AMPK信号通路有关。本研究为哮喘的治疗和金合欢素的应用提供了新的理论依据，将有助于新型抗哮喘治疗药物的开发，但金合欢素能否通过其他途径发挥抗哮喘作用尚需深入分析。

参考文献

[1] SHAKERINASAB N, BEJESHK M A, POURGHADAMYARI H, et al. The hydroalcoholic extract of *Nasturtium officinale* reduces lung inflammation and oxidative stress in an ovalbumin-induced rat model of asthma[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 5319237.

[2] JASEMI S V, KHAZAEI H, FAKHRI S, et al. Naringenin improves ovalbumin-induced allergic asthma in rats through antioxidant and anti-inflammatory effects[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 9110798.

[3] HUANG W C, LIOU C J. Dietary acacetin reduces airway hyperresponsiveness and eosinophil infiltration by modulating eotaxin-1 and Th2 cytokines in a mouse model of asthma[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 910520.

[4] HUANG Y F, OU G C, MA S H, et al. Effect of icariin on the H_2O_2-induced proliferation of mouse airway smooth muscle cells through miR-138-5p regulating SIRT1/AMPK/PGC-1α axis[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2023, 37: 3946320231151515.

[5] CUI Y K, HONG Y X, WU W Y, et al. Acacetin ameliorates cardiac hypertrophy by activating Sirt1/AMPK/PGC-1α pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2022, 920: 174858.

[6] 伍爽，李微，黎达，等. 黄芪皂苷Ⅱ对哮喘幼年大鼠IL-21/STAT3通路及气道炎症反应的影响[J]. 中国比较医学杂志，2021，31(12)：53-59.
WU S, LI W, LI D, et al. Effects of astragaloside Ⅱ on the IL-21/STAT3 pathway and airway inflammation in young asthmatic rats[J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(12): 53-59.

[7] 董海平，亢丽娟，宋艳艳. 罗哌卡因调节SIRT1/AMPK通路对妊娠期糖尿病大鼠的保护作用[J]. 解剖学研究，2024，46(1)：25-31.
DONG H P, KANG L J, SONG Y Y. Protective effect of ropivacaine on gestational diabetes mellitus rats by regulating SIRT1/AMPK signaling pathway[J]. Anat Res, 2024, 46(1): 25-31.

[8] 陈恂，燕晓茹，李敏，等. 小儿健脾益肺方改善哮喘小鼠气道高反应的实验研究[J]. 北京中医药大学学报，2023，46(9)：1267-1279.
CHEN X, YAN X R, LI M, et al. Experimental study of Xiao' er jianpi yifei formula improving airway hyperresponsiveness in asthmatic mice[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2023, 46(9): 1267-1279.

[9] GAO Q Q, FENG C R, SHI Q, et al. Guishaozichuan granules can attenuate asthma in rats via the MUC5AC/EGFR signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2023, 13: 1011751.

[10] SHILOVSKIY I P, KOVCHINA V I, TIMOTIEVICH E D, et al. Role and molecular mechanisms of alternative splicing of Th2-cytokines IL-4 and IL-5 in atopic bronchial asthma[J]. Biochemistry, 2023, 88(10): 1608-1621.

[11] VINCENZO S D, FERRANTE G, FERRARO M, et al. Oxidative stress, environmental pollution, and lifestyle as determinants of asthma in children[J]. Biology, 2023, 12(1): 133.

[12] RAJIZADEH M A, BEJESHK M A, DOUSTIMOTLAGH A H, et al. The alleviating impacts of quercetin on inflammation and oxidant-antioxidant imbalance in rats with allergic asthma[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2023, 22(2): 138-149.

[13] ALNUSAIRE T S, QASIM S, AL-SANEA M M, et al. Revealing the underlying mechanism of *Acacia nilotica* against asthma from a systematic perspective: a network pharmacology and molecular docking study[J]. Life, 2023, 13(2): 411.

[14] LIANG D Y, ZHUO Y S, GUO Z H, et al. SIRT1/PGC-1 pathway activation triggers autophagy/mitophagy and attenuates oxidative damage in intestinal epithelial cells[J]. Biochimie, 2020, 170: 10-20.

[15] XU C, SONG Y L, WANG Z G, et al. Pterostilbene suppresses oxidative stress and allergic airway inflammation through AMPK/Sirt1 and Nrf2/HO-1 pathways[J]. Immun Inflamm Dis, 2021, 9(4): 1406-1417.

（收稿日期：2024-03-13　修回日期：2024-08-26）
（编辑：张元媛）