DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.09.015

淫羊藿女贞子配伍改善哮喘大鼠内源性糖皮质激素抑制的作用研究

马再娜[1,2],谢永豪[1],马紫童[1],李玉曼[1],龙玉婷[1],唐秀凤[3,4],刘仁慧[1]
(1.首都医科大学中医药学院,北京 100069;2.新疆医科大学,新疆 乌鲁木齐 830017;
3.山东省肿瘤医院药学部 山东省中医药临床中药学重点学科,山东 济南 250117;
4.山东第一医科大学 山东省医学科学院,山东 济南 250117)

摘要:目的 研究淫羊藿女贞子配伍改善哮喘大鼠内源性糖皮质激素(Glucocorticoids,GC)抑制的作用机制。方法 SD雄性大鼠,随机分为5组,分别是正常组、模型组、淫羊藿组、女贞子组、配伍组。卵蛋白致敏及激发建立大鼠哮喘模型,灌胃给予药物治疗2周。酶联免疫法检测大鼠血清促肾上腺皮质激素释放激素(Corticotropin-releasing hormone,CRH)、促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotropic hormone,ACTH)、皮质酮(Corticosterone,CORT)水平,靶向代谢组学检测尿液内源性GC代谢物水平,免疫组化法检测肺羟基类固醇脱氢酶(Hydroxysteroid dehydrogenase,HSD)11B1、HSD11B2,及肾上腺细胞色素P450家族11亚家族B成员1(Cytochrome P450 family 11 subfamily B member 1,CYP11B1)、类固醇生成因子1(Steroid generating factor 1,SF1)的蛋白表达,蛋白免疫印迹法检测肝组织CYP11B1、SF1、HSD11B1、HSD11B2的蛋白表达。结果 淫羊藿女贞子单用或合用能升高模型大鼠血清CRH、ACTH、CORT含量,改善尿液内源性GC代谢紊乱,上调肺组织HSD11B1、HSD11B2蛋白表达,肾上腺CYP11B1、SF1蛋白表达,肝组织HSD11B2、CYP11B1的蛋白表达。结论 补肾药淫羊藿女贞子治疗哮喘的作用与调节下丘脑-垂体-肾上腺轴、调节GC合成或代谢途径关键因子表达、上调内源性GC水平,改善内源性GC紊乱有关。

关键词:淫羊藿;女贞子;哮喘;内源性糖皮质激素;下丘脑-垂体-肾上腺轴
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)09-0086-08

Effects of Combination of Yinyanghuo(Epimedii Folium) and Nluvuzhenzi(Ligustrum lucidum Fructus) on Improving Suppression of Endogenous Glucocorticoids in Asthmatic Rats

MA Zaina[1,2],XIE Yonghao[1],MA Zitong[1],LI Yuman[1],LONG Yuting[1],TANG Xiufeng[3,4],LIU Renhui[1]
(1. School of Traditional Chinese Medicine,Capital Medical University,Beijing 100069,China;
2. Xinjiang Medical University, Urumqi 830017,Xinjiang,China;
3. Department of Pharmacy and Shandong Provincial Key Traditional Chinese Medical Discipline of Clinical Chinese Pharmacy, Shandong Cancer Hospital and Institute,Jinan 250117,Shandong,China;
4. Shandong Academy of Medical Sciences,Shandong First Medical University,Jinan 250117,Shandong,China)

Abstract:*Objective* This study aimed to elucidate the mechanism of the combined use of Yinyanghuo(Epimedii Folium) and Nluvuzhenzi(Ligustrum lucidum Fructus) in enhancing the suppression of endogenous glucocorticoids(GC) in asthmatic rats. *Methods* Male SD rats were randomly divided into five groups:normal,model,Yinyanghuo,luvyuzhenzi and compatibility groups. An asthmatic rat model was established using sensitization and stimulation with ovalbumin,followed by a two-week drug treatment via gavage. The serum levels of corticotropin releasing hormone(CRH),adrenocorticotropic hormone(ACTH) and corticosterone(CORT) were assessed using enzyme immunoassay. Targeted metabolomics was used to detect endogenous glucocorticoid(GC) metabolism levels in urine. Immunohistochemical staining was employed to identify protein markers of pulmonary hydroxysteroid dehydrogenase 11β1(HSD11B1),hydroxysteroid dehydrogenase 11β2(HSD11B2) and the expressions of cytochrome P450 family 11 subfamily B member 1(CYP11B1) and steroid generation factor 1(SF1) in the adrenal gland. Western blotting

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(82204880);山东省自然科学基金青年科学基金项目(ZR2022QH049);山东省中医药科技项目(Q-2022112)
作者简介:马再娜(1998-),女(哈萨克族),新疆塔城人,硕士,研究方向:中药药效机制。
通讯作者:刘仁慧(1974-),女,山东烟台人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中药及复方作用机制。E-mail:gzblrh45@ccmu.educ.cn。
唐秀凤(1992-),女,山东济南人,主管药师,博士,研究方向:中药及复方作用机制。E-mail:tangxf927@126.com。

was used to ascertain the protein expressions of CYP11B1, SF1, HSD11B1 and HSD11B2 in liver tissue. *Results* Yinyanghuo (Epimedii Folium) and Nluvuzhenzi (Ligustrum lucidum Fructus) alone or in combination can elevate the levels of serum CRH, ACTH and CORT, ameliorate urinary endogenous GC metabolic disorders, up - regulate the expressions of HSD11B1 and HSD11B2 proteins in lung tissue, CYP11B1 and SF1 proteins in the adrenal gland, and the protein expressions of HSD11B2 and CYP11B1 in liver tissue of the model rats. *Conclusion* The effects of Yinyanghuo (Epimedii Folium) and Nluvuzhenzi (Ligustrum lucidum Fructus) in the treatment of asthma are associated with the regulation of hypothalamic - pituitary - adrenal axis inhibition, the modulation of key factors in the GC synthesis or metabolization pathway, the up - regulation of endogenous GC levels, and the improvement of endogenous GC disorders.

Keywords: Yinyanghuo (Epimedii Folium); Nluvuzhenzi (Ligustrum lucidum Fructus); asthma; endogenous glucocorticoids; hypothalamic - pituitary - adrenal axis

哮喘是以多发性气道反应为特征的一种免疫疾病，以气道炎症、气道重塑、气道高反应为特征[1-2]，反复发作，迁延难愈，严重影响患者的生活质量和身心健康，目前哮喘的患病率和病死率呈逐年上升的趋势[3]。研究发现，哮喘患者自身存在的内源性糖皮质激素（Glucocorticoids，GC）水平偏低，或其受体功能缺陷而造成体内 GC 相对不足是哮喘反复发作和恶化的一个重要因素[4]。在哮喘的持续应激状态下，继发出现肾上腺功能不足，进一步降低内源性 GC 水平，形成恶性循环。学者发现哮喘患者大多存在肾上腺皮质功能低下减退的现象，下丘脑 - 垂体 - 肾上腺（hypothalamic - pituitary - adrenal，HPA）轴活动减弱[5]，故内源性 GC 被认为对哮喘发病具有重要意义。

中医认为哮喘属本虚标实证，病标在肺而本在肾，肾虚是哮喘的基本病机[6-7]。许多学者认为肾虚不仅是哮喘久病的病理转归，也是哮喘发病的病理基础。肾为先天之本，肾为气之根，主纳气，有学者认为哮喘患者即使未出现肾虚症状，机体也存在“隐匿性肾虚”的病理机制，故重视补肾法的应用。而对于中医“肾本质”的现代科学内涵研究提示，HPA 轴的功能属中医学“肾”的范畴，哮喘肾虚证的病理基础为 HPA 轴多层次、多环节的功能紊乱。

基于中医认为哮喘“肾虚”的基本病机，补肾中药是治疗哮喘的一类重要药物。课题组前期研究发现，基于名医经验筛选的补肾中药淫羊藿、女贞子配伍能够显著改善哮喘大鼠气道炎症及气道重塑的病理改变，并能上调血清皮质酮（corticosterone，CORT）水平[8]，但对于内源性 GC 合成及代谢的关键环节的影响机制不明。本研究以卵蛋白致敏及激发模拟哮喘大鼠模型，通过评价 HPA 轴功能、内源性 GC 合成及代谢的关键环节，研究药物补肾作用的现代科学内涵。

1 实验材料

1.1 实验动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 3 月龄 30 只，由北京维通利华实验动物技术股份有限公司提供，合格证号：SCXK（京）2022 - 0015，伦理编号：SDTHEC2022003040，饲养于 SPF 级动物房内，室温（23 ± 2）℃，湿度为（50 ± 5）%，照明昼夜明暗交替时间为 12∶12，自由饮水，自由进食。

1.2 实验药物与试剂

中药材炙淫羊藿（批号：230201）及酒女贞子（批号：230301）均购自于四川洪雅县瓦屋山药业有限公司，参考文献[9]制备淫羊藿煎剂（0.2 g 生药/mL）、女贞子煎剂（0.15 g 生药/mL）、淫羊藿女贞子（0.35 g 生药/mL，4∶3 配伍）煎剂，4 ℃保存。卵蛋白（美国 Sigma 公司，A5253 - 100 g），氢氧化铝凝胶（中晖赫彩公司，BB0810 - 500 mL），GAPDH 抗体（Proteintech，批号：60004 - 1 - l g），细胞色素 P450 家族 11 亚家族 B 成员 1（Cytochrome P450 family 11 subfamily B member 1，CYP11B1）抗体（Signalway Antibody，批号：#C05003），羟基类固醇脱氢酶（Hydroxysteroid dehydrogenase，HSD）11B1 抗体（Proteintech，批号：10928 - 1 - AP），HSD11B2 抗体（Proteintech，货号：14192 - 1 - AP），类固醇生成因子 1（Steroid generating factor 1，SF1）抗体（Santa，货号：sc - 393592），大鼠促肾上腺皮质激素释放激素（corticotropin - releasing hormone，CRH）、促肾上腺皮质激素（Adrenocorticotropic hormone，ACTH）、CORT 酶联免疫试剂盒（武汉华美生物工程有限公司），蛋白酶抑制剂 PMSF（Solarbio，货号：P0100），BCA 蛋白浓度测定试剂盒（KeyGEN-BioTECH，货号：KGPACA），PAGE 凝胶快速制备试剂（Epizeme，货号：PG114 升级版）。

1.3 实验仪器

全自动多功能酶标仪（美国 Molecular Devices 公司，SpectraMaxPlus384），电泳仪（BIO - RAD 公司，MINIPROTEANTetraCellMTB1658004），荧光显微镜（Nikon，ECLIPSE80i），液相色谱质谱联用仪（AB Sciex 公司）。

2 实验方法

2.1 造模及给药

按照随机数字表法分为 5 组，每组 4 只，包括正常组、模型组、淫羊藿组、女贞子组、配伍组。按照课题组前期建立的方法[9]，用卵蛋白致敏及激发建立哮喘大鼠模型。造模 22 d 开始给药，共计 14 d，淫羊藿组、女贞子组、配伍组分别灌胃给予淫羊藿煎剂（2 g/kg）、女贞子煎剂（1.5 g/kg），淫羊藿女贞子煎剂（3.5 g/kg 生药），每日 1 次。

2.2 检测指标

实验 35 d，将大鼠放入代谢笼，收集 12 h 尿液；36 d 处死动物，麻醉，腹主动脉取血，分离血清；剖取肺组织、肝组织、肾上腺。取左肺上叶、左肾上腺置 10% 中性甲醛溶液内固定；其余组织置于 - 80 ℃冰箱保存。

2.2.1 酶免法检测 采用酶联免疫试剂盒检测血清 CORT、ACTH、CRH 水平，评价 HPA 轴功能。根据试剂盒说明书，将血清进行包被、洗涤、封闭、加酶、显色、终止反应等。在酶标仪 450 nm 处读取各孔吸光度值。

2.2.2 内源性GC靶向代谢组学检测 准确称取一定量的内源性GC各种代谢物标准品，溶于50%甲醇水中配制成标准储备液，将标准储备液用50%甲醇水稀释成不同浓度的标准系列工作液。准确称取一定量的GC标准品，溶于50%甲醇水中配制成内标储备液，将内标标准储备液用50%甲醇水稀释成内标工作液。取500 μL样本，加入500 μL一定浓度的乙酸铵溶液、5 μL β-葡萄糖醛酸酶及100 μL内标工作液，混匀振荡1 min，37 ℃孵育4 h，加入3 mL MTBE，混匀振荡2 min，3000 r/min离心10 min取上清，氮吹近干，用初始流动相复溶，过微滤后作为上机样本。采用液相色谱-质谱的方法检测。

2.2.3 免疫组织化学法检测 采用免疫组织化学法检测肺组织HSD11B1、HSD11B2蛋白表达，肾上腺组织CYP11B1、SF1蛋白表达。根据免疫组化试剂盒说明，经脱蜡、洗涤、封闭后，分别加入一抗，过夜。洗涤，37 ℃复温1 h，加入二抗孵育0.5 h，洗涤。滴加DAB显色液显色1～4 min后，洗涤，加苏木素染液复染，脱水，晾干，封片。一抗稀释度均为1∶200。用图像分析系统随机采取3个视野，在20倍镜下用NIS-ElementsBR 3.2软件测定阳性染色面积(area)，计算均值[10-11]。

2.2.4 Western blotting检测 采用Western blotting检测肝组织HSD11B1、HSD11B2、CYP11B1、SF1的表达。剪取肝组织60 mg，加入600 μL RIPA裂解液，6 μL蛋白酶抑制剂研磨，冰上孵育40 min，BCA法蛋白定量。采用10% SDS-PAGE凝胶进行电泳分离蛋白，转移至PVDF膜后封闭2 h；加入一抗(兔抗HSD11B1、鼠抗HSD11B2、兔抗CYP11B1、鼠抗SF1，均1∶2000；兔抗GAPDH，1∶5000)，4 ℃孵育过夜；加入二抗(山羊抗兔或山羊抗小鼠，均1∶10 000)孵育1 h，化学发光法显色，凝胶成像系统扫描Image J软件分析条带灰度。

2.3 统计学处理

采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。数据分析符合正态分布，采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用方差齐性检验及单因素方差分析，根据方差齐性检验结果选择LSD-t检验或$T2$检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 淫羊藿女贞子对哮喘大鼠HPA轴的影响

与正常组比较，模型组大鼠血清CRH、ACTH、CORT水平显著降低(均$P<0.01$)。与模型组比较，淫羊藿、女贞子单用及配伍均能升高大鼠血清CRH、ACTH、CORT水平(均$P<0.01$)，提示中药能改善哮喘大鼠抑制的HPA轴功能。见表1。

表1 各组大鼠血清CRH、ACTH、CORT水平的比较($\bar{x} \pm s$)

单位：ng/mL

组别	n	CRH	ACTH	CORT
正常组	4	90.28±15.18	243.43±10.12	38.29±1.31
模型组	4	58.32±5.18**	137.08±14.77**	28.63±3.47**
淫羊藿组	4	74.01±2.43##	205.54±13.96#	38.12±1.44##
女贞子组	4	77.77±5.48##	208.75±13.24##	36.34±2.26##
配伍组	4	79.04±4.03##	204.83±10.55##	38.26±2.04##

注：**与正常组比较，$P<0.01$；#与模型组比较，$P<0.05$；##与模型组比较，$P<0.01$。

3.2 淫羊藿女贞子对哮喘大鼠尿液内源性GC代谢的影响

与正常组比较，模型组大鼠尿液CORT、孕酮降低，17α-羟基孕烯酮、皮质醇升高。与模型组比较，淫羊藿组大鼠尿液皮质酮、皮质醇、11去氧皮质醇、孕酮、11去氧皮质酮均升高($P<0.05$或0.01)，而17α-羟基孕烯酮降低($P<0.01$)；女贞子组11去氧皮质醇、孕酮、17α-羟基孕酮($P<0.05$或0.01)升高，17α-羟基孕烯酮降低($P<0.05$)；配伍组CORT、可的松、11去氧皮质醇、17α-羟基孕酮、孕酮均升高($P<0.05$或0.01)。见表2。

3.3 淫羊藿女贞子对哮喘大鼠肾上腺CYP11B1、SF1蛋白表达的影响

模型组大鼠肾上腺CYP11B1、SF1的蛋白表达均显著低于正常组($P<0.05$或0.01)。与模型组比较，淫羊藿女贞子单用或配伍均能上调SF1的蛋白表达(均$P<0.01$)；女贞子及配伍组能显著上调CYP11B1的蛋白表达(均$P<0.01$)。提示中药对哮喘内源性GC合成酶的抑制有激活作用。见表3、插页ⅩⅩⅦ图1。

3.4 淫羊藿女贞子对哮喘大鼠肺组织HSD11B1、HSD11B2蛋白表达的影响

模型组大鼠肺组织HSD11B1、$HSD11B_2$的蛋白表达均显著低于正常组(均$P<0.01$)。与模型组比较，淫羊藿女贞子单用或配伍均能上调肺组织此2种蛋白表达(均$P<0.01$)，提示中药防治哮喘的作用与靶器官肺组织对内源性GC的激活或转化有关。见表4、插页ⅩⅩⅧ图2。

3.5 淫羊藿女贞子对哮喘大鼠肝组织HSD11B1、HSD11B2、CYP11B1、SF1蛋白表达的影响

与正常组比较，模型组大鼠肝组织HSD11B2、CYP11B1表达显著降低(均$P<0.01$)，HSD11B1、SF1各组之间差异无统计学意义。与模型组比较，淫羊藿女贞子单用及合用均能显著上调HSD11B2、CYP11B蛋白表达，从而促进非活性GC催化为活性状态而发挥作用。见表5、图3。

4 讨论

支气管哮喘是世界范围内严重影响人类健康的常见慢性病之一，目前哮喘的患病率和病死率呈逐年上升的趋势[3]。哮喘反复发作，迁延难愈，严重影响患者的生活质量和身心健康。研究发现，哮喘患者自身存在的内源性GC水平偏低，或其受体功能缺陷而造成体内GC相对不足是哮喘反复发作和恶化的一个重要因素[4]。在哮喘的持续应激状态下，继发出现肾上腺功能不足，进一步降低内源性GC水平，形成恶性循环，可见改善内源性GC水平是哮喘治疗的一个新思路。

中医药防治哮喘有悠久的历史、系统的理论和丰富的临床经验，中医认为哮喘属本虚标实证，病标在肺而本在肾，肾虚是哮喘的基本病机。许多学者认为肾虚不仅是哮喘久病的病理转归，也是哮喘发病的病理基础[12]，哮喘患者大多存在肾上腺皮质功能低下或减退的现象，HPA轴活动减弱。本研究结果也有同样的发现，哮喘大鼠出现血清CORT水平显著降低，同时ACTH、CRH水平降低，肺泡灌洗液细胞中的GC-GR(glucocorticoid receptor，GR)结合率降低[13]采用基于名医经验筛选的补肾药淫羊藿、女贞子单用或配伍治疗2周，均能显著改善HPA轴功能抑制，提示补肾药防治哮喘的机制与改善内源性

表 2 各组大鼠尿液内源性 GC 代谢产物的比较($\bar{x} \pm s$) 单位:ng/mL

组别	n	CORT	皮质醇	可的松	11 去氧皮质醇	11 去氧皮质酮	孕酮	17α - 羟基孕酮	孕烯醇酮	17α - 羟基孕烯酮
正常组	4	33.13 ± 10.42	0.45 ± 0.12	0.65 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.43 ± 0.03	5.60 ± 1.57	0.22 ± 0.03	5.03 ± 2.10	0.15 ± 0.08
模型组	4	20.38 ± 2.98 *	1.94 ± 0.10 * *	0.70 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.46 ± 0.04	3.05 ± 0.42 * *	0.20 ± 0.04	6.86 ± 1.88	0.69 ± 0.37 * *
淫羊藿组	4	42.09 ± 10.26##	3.57 ± 0.90##	0.57 ± 0.032	0.25 ± 0.03##	0.51 ± 0.05#	6.57 ± 1.09##	0.25 ± 0.04	11.04 ± 4.03	0.23 ± 0.11##
女贞子组	4	31.15 ± 4.33	1.57 ± 0.30	0.77 ± 0.03#	0.29 ± 0.05##	0.50 ± 0.03	5.02 ± 0.83#	0.26 ± 0.04#	6.71 ± 3.30	0.37 ± 0.12#
配伍组	4	37.61 ± 4.34##	1.35 ± 0.17	0.83 ± 0.12##	0.37 ± 0.04##	0.43 ± 0.02	4.94 ± 0.42#	0.37 ± 0.05##	9.75 ± 8.47	0.40 ± 0.18

注:* 与正常组比较,$P < 0.05$;* * 与正常组比较,$P < 0.01$;# 与模型组比较,$P < 0.05$;## 与模型组比较,$P < 0.01$。

表 3 各组大鼠肾上腺织 CYP11B1、SF1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CYP11B1 蛋白(Area)	SF1 蛋白(Area)
正常组	4	58.32 ± 1.51	27.13 ± 8.58
模型组	4	36.49 ± 5.51 * *	17.39 ± 4.63 *
淫羊藿组	4	54.625 ± 0.71	24.50 ± 4.82##
女贞子组	4	58.35 ± 2.31##	35.81 ± 5.8##
配伍组	4	56.83 ± 3.69##	30.65 ± 5.97##

注:* 与正常组比较,$P < 0.05$;* * 与正常组比较,$P < 0.01$;## 与模型组比较,$P < 0.01$。

表 4 各组大鼠肺组织 HSD11B1、HSD11B2 蛋白的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HSD11B1 蛋白(Area)	HSD11B2 蛋白(Area)
正常组	4	23.27 ± 3.76	19.70 ± 1.91
模型组	4	9.32 ± 2.54 * *	10.91 ± 1.16 * *
淫羊藿组	4	21.18 ± 3.47##	21.19 ± 0.59##
女贞子组	4	21.29 ± 1.80##	15.83 ± 1.07##
配伍组	4	19.67 ± 3.46##	16.16 ± 0.68##

注:* * 与正常组比较,$P < 0.01$;## 与模型组比较,$P < 0.01$。

表 5 各组大鼠肝组织 HSD11B1、HSD11B2、CYP11B1、SF1 蛋白表达的比较($\bar{x} \pm s$) 单位:GAPDH

组别	n	HSD11B2	HSD11B1	CYP11B1	SF1
正常组	4	0.25 ± 0.09	0.29 ± 0.07	0.25 ± 0.04	0.24 ± 0.08
模型组	4	0.04 ± 0.02 * *	0.11 ± 0.10	0.12 ± 0.03 * *	0.29 ± 0.13
淫羊藿组	4	0.20 ± 0.10#	0.24 ± 0.21	0.25 ± 0.07##	0.33 ± 0.10
女贞子组	4	0.24 ± 0.09##	0.26 ± 0.08	0.29 ± 0.11##	0.26 ± 0.13
配伍组	4	0.28 ± 0.12##	0.26 ± 0.09	0.26 ± 0.02##	0.26 ± 0.12

注:* * 与正常组比较,$P < 0.01$;# 与模型组比较,$P < 0.05$;## 与模型组比较,$P < 0.01$。

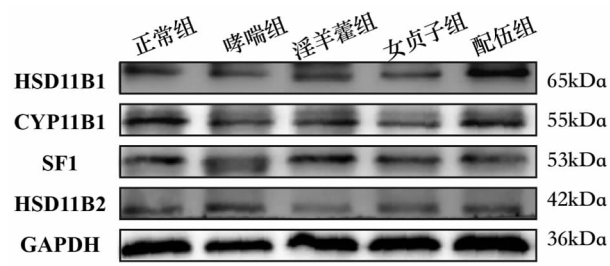


图 3 肝组织 HSD11B1、HSD11B2、CYP11B1、SF1 蛋白表达

GC 作用有关。

内源性 GC 的生物合成是以胆固醇为原料[14],在肾上腺皮质一系列关键酶的催化下产生[15],并主要通过肝脏代谢,约 80% 由尿液排出;而 GC 随血液到达靶器官发挥生理作用时,也会通过靶器官表达的一系列重要的酶进行活性转化。内源性 GC 合成与转化的关键分子见插页 XXX 图 4[16]。

CYP11B1 是存在于肾上腺中合成内源性 GC(啮齿类动物以 CORT 为主,人以皮质醇为主[17])所需的关键酶,具有 11β - 羟化酶活性,可以使 11 - 去氧皮质酮和 11 - 去氧皮质醇 11β - 羟化,催化皮质醇和 CORT 的合成。CYP11B1 在肾上腺束状带呈高表达,主要参与皮质醇的合成,受 ACTH 调节,它是一种酶类蛋白,除此之外,肝脏中的 CYP11B1 也呈高度表达,可参与肾上腺 CORT 生成。CYP11B1 在肺中的表达几乎检测不到。与 CYP11B1 相比,HSD11B1 主要是将血清来源的脱氢皮质酮重新激活为具有活性的皮质酮,这是肺组织局部 GC 合成的重要途径[18]。有文献研究表明,成年小鼠的肺似乎依赖于局部 CORT 的再激活,而不是肾上腺中胆固醇从头合成 GC[19]。此外,肺组织能够将 14C 标记的脱氢皮质酮转化为 CORT,但不能将脱氧皮质酮转化为 CORT。这些发现表明,肺、肾上腺都能够产生 GC,但通过不同的酶途径,CYP11B1 对于肺部重新合成皮质酮作用不大[20]。孤儿核受体 SF1 最初作为肾上腺和性腺中的 P450 羟化酶必需的调节因子而被鉴定,SF1 在基因结构上具有不同于其他核受体的特征结构域,并广泛参与合成许多基因,如类固醇合成酶类[21]。

肺脏是哮喘的靶器官。肺部急性和慢性炎症经常用 GC 治疗,GC 刺激Ⅱ型上皮细胞产生表面活性剂,从而调节细支气管的稳定性,肺部也是内源性 GC 的有效局部来源[22-23]。在发现肺作为类固醇生成组织之前,GC 在肺发育中的作用已被认识到,合成 GC 被用来加速早产儿出生前的肺部发育[24-25]。早在 1999 年,就报道了小鼠肺部中类固醇生成酶表达的第一个证据,并且在接下来的几年中,通过实验验证了肺部生成 CORT 需要的所有类固醇生成酶的表达[26-27]。当哮喘发作,肺部受到刺激支气管炎症收缩时,肺部可以重新合成 CORT,有文献报道当肺部重新合成 CORT 时,HSD11B 起到重要作用。HSD11B 是一种 $NADP^+$/NADPH 依赖性氧化还原酶,在机体内扮演着调节作用,主要存在于肝脏、肾脏、肌肉等组织中,并参与胆固醇和脂肪酸的代谢过程。肝脏是参与糖皮质激素代谢的重要器官,因为肝脏中的 11β - HSD1 有助于调节局部皮质醇水平,这会影响各种代谢过程[28-29]。HSD11B 的两种亚型(HSD11B1 和 B2)通过 CORT 和 11 - 脱氢皮质酮(生物惰性形式)之间的相互转化,在 CORT 的调节中发挥重要作用[30]。

本实验测定肾上腺、肝脏及肺脏中 GC 合成或代谢发挥关键作用酶的蛋白表达,以进一步阐明补肾药改善哮喘内源性 GC 抑制的机制。结果表明,淫羊藿女贞子单用或配伍能上调哮喘大鼠肾上腺 CYP11B1、SF1 的蛋白表达,激活内源性 GC

的从头合成;上调肺组织 HSD11B1、HSD11B2 的蛋白表达,激活 GC 在靶器官肺脏的合成与转化;上调肝脏 HSD11B2、CYP11B1 表达,有助于提高肾上腺重新合成 CORT 水平。尿液 GC 靶向代谢组学结果进一步证实,淫羊藿女贞子配伍对内源性 GC 的代谢有良好的调节作用。上述研究结果表明,淫羊藿女贞子配伍防治哮喘的"补肾"作用内涵可能与改善 HPA 轴抑制,调节 GC 合成途径关键因子表达,上调内源性 GC 水平有关。

参考文献

[1] ALANGARI A A. Genomic and non-genomic actions of glucocorticoids in asthma[J]. Ann Thorac Med,2010,5(3):133-139.

[2] HENDERSON I,CAIAZZO E,MCSHARRY C,et al. Why do some asthma patients respond poorly to glucocorticoid therapy? [J]. Pharmacol Res,2020,160:105189.

[3] SABETI Z,ANSARIN K,SEYEDREZAZADEH E,et al. A comparison of asthma prevalence in adolescents living in urban and semi-urban areas in northwestern Iran[J]. Human and Ecological Risk Assessment,2021,27(1): 1-18.

[4] HUNDERI J,ROLFSJORD L,CARLSEN K,et al. allergic sensitisation and cortisol in infant bronchiolitis and risk of early asthma[J]. ERJ Open Res,2020,6(1):2019.

[5] WECHSLER M E,COLICE G,GRIFFITHS J M,et al. SOURCE: a phase 3, multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled,parallel group trial to evaluate the efficacy and safety of tezepelumab in reducing oral corticosteroid use in adults with oral corticosteroid dependent asthma[J]. Respir Res,2020,21(1):264.

[6] 张合雷,蔡萱,靳培培,等. 中医药治疗支气管哮喘的研究进展[J]. 西部中医药,2021,34(12):155-158.

[7] 任玲,周竞颖,来奕恬,等. 基于伏邪理论探讨哮喘的病因病机与针灸治疗策略[J]. 湖南中医药大学学报,2024,44(7):1286-1291.

[8] 刘仁慧,王秀娟,张伟华,等. 淫羊藿和女贞子对激素干预哮喘大鼠模型 HPA 轴及糖皮质激素受体的影响[J]. 中华中医药杂志,2013,28(11): 3215-3219.

[9] 刘仁慧,郑君芳,袁颖,等. 淫羊藿女贞子配伍调节哮喘大鼠 NO/ET 及 HPA 轴作用的研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(12):1590-1593.

[10] JUN Y J,PARK S J,HWANG J W,et al. Differential expression of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 in mild and moderate/severe persistent allergic nasal mucosa and regulation of their expression by Th2 cytokines: asthma and rhinitis[J]. Clin Exp Allergy,2014,44(2):197-211.

[11] ZHUO Z,NIE J,XIE B,et al. A comprehensive study of Ephedra sinica Stapf-Schisandra chinensis (Turcz.) Baill herb pair on airway protection in asthma [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 322:117614.

[12] 李玉兰,曹雅茜,张凯,等. 益气补肾止喘汤结合中医推拿对哮喘患儿 PET、C-ACT 评分的影响[J]. 河南中医,2024,44(4):604-608.

[13] TANG X,LI X,NIAN H,et al. Active ingredients of epimedii folium and ligustri lucidi fructus balanced GR/HSP90 to improve the sensitivity of asthmatic rats to budesonide[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2017,2017:7961231.

[14] SCHERHOLZ M L,SCHLESINGER N,ANDROULAKIS I P. Chronopharmacology of glucocorticoids[J]. Adv Drug Deliv Rev,2019(12):151-152,245-261.

[15] MERK V M,RENZULLI P,VRUGT B,et al. Glucocorticoids are differentially synthesized along the murine and human respiratory tree[J]. Allergy,2023,78(9):2428-2440.

[16] LUU-THE V. Assessment of steroidogenesis and steroidogenic enzyme functions [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2013, 137: 176-182.

[17] 叶伟琼,陈洁,苏俊芳,等. 龟鹿二仙胶对创伤后障碍大鼠 HPA 轴负反馈功能的影响及其机制[J]. 中华行为医学与脑科学杂志,2020,29(4):296-302.

[18] PHAN T S,MERK V M,BRUNNER T. Extra-adrenal glucocorticoid synthesis at epithelial barriers[J]. Genes Immun, 2019, 20(8):627-640.

[19] PROVOST P R,TREMBLAY Y. Genes involved in the glucocorticoid synthesis are transiently expressed in the developing lung[J]. Endocrinology, 2005,146: 2239-2245.

[20] CHEN J,XIA J,WANG S Q,et al. Pathway enrichment analysis of human osteosarcoma U-2 OS bone cells expose to dexamethasone [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2014,18(18): 2631-2639.

[21] 陈彬,陈敏,周度金. 孤儿核受体类固醇生成因子1[J]. 生命的化学,2002 (2):115-118.

[22] HOSTETTLER N,BIANCHI P,GENNARI-MOSER C,et al. Local glucocorticoid production in the mouse lung is induced by immune cell stimulation[J]. Allergy,2012,67: 227-234.

[23] NKADI P O,MERRITT T A,PILLERS D A M. An overview of pulmonary surfactant in the neonate: genetics,metabolism,and the role of surfactant in health and disease[J]. Mol Genet Metab,2009,97: 95-101.

[24] TAYLOR K M,RAY D W,SOMMER P. Glucocorticoid receptors in lung cancer: new perspectives[J]. J Endocrinol,2016,229: R17-R28.

[25] BOLT R J,WEISSENBRUCH M M,VAN,et al. Glucocorticoids and lung development in the fetus and preterm infant[J]. Pediatr Pulmonol,2001,32(1): 76-91.

[26] 黄秋霞,刘俊,杨红忠. 苏黄止咳胶囊联合茶碱缓释片治疗哮喘急性发作的临床疗效[J]. 实用中医内科杂志,2023,37(5):87-89.

[27] 谢靓,黄建勤,李小梅. 基于中医治未病理论的汤剂联合布地奈德治疗小儿变应性鼻炎合并哮喘的效果及对免疫功能的影响[J]. 辽宁中医杂志,2023,50(9):116-119.

[28] MCCORMICK K L,WANG X,MICK G J. Evidence that the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11 beta-HSD1) is regulated by pentose pathway flux. Studies in rat adipocytes and microsomes [J]. J Biol Chem,2006,281(1):341-347.

[29] THEILER-SCHWETZ V,ZAUFEL A,SCHLAGER H,et al. Bile acids and glucocorticoid metabolism in health and disease[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2019,1865(1):243-251.

[30] HUANG Y,LI X,LIN H,et al. Regulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 by IGF-1 in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun,2010,391(4):1752-1756.

淫羊藿女贞子配伍改善哮喘大鼠内源性糖皮质激素抑制的作用研究

(正文见 86－90 页)

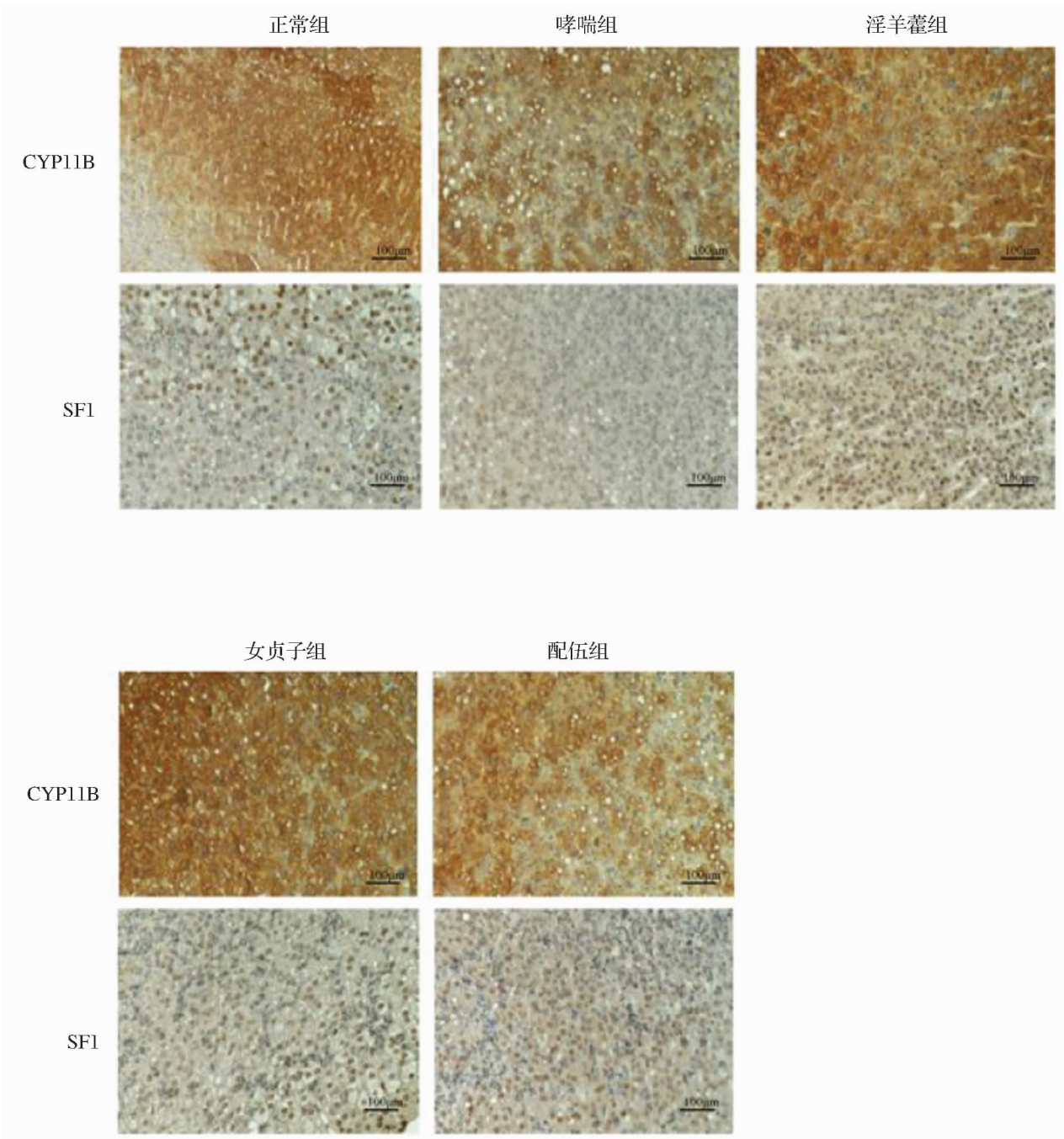


图 1 肾上腺 CYP11B1、SF1 免疫组化代表图(×20)

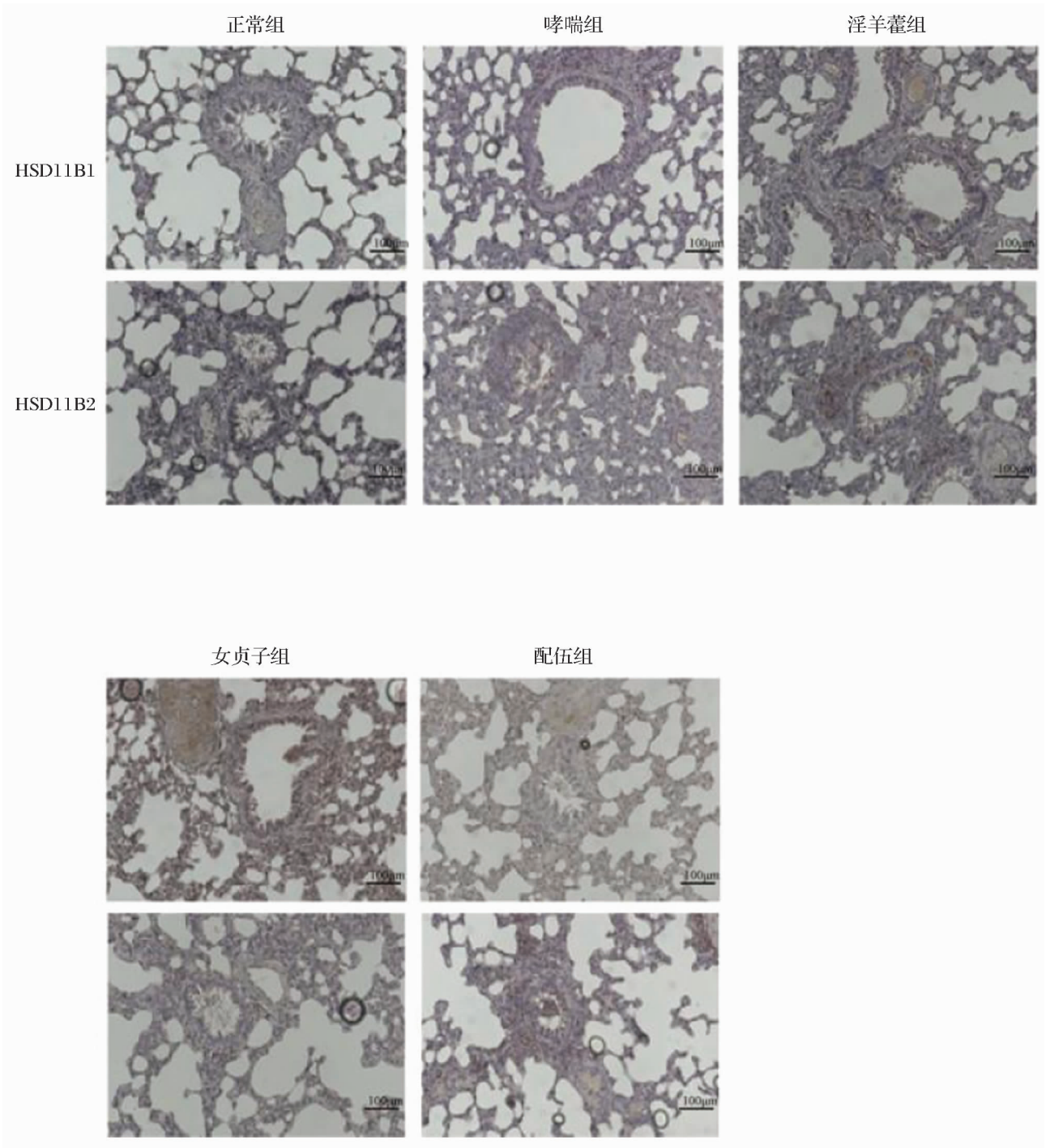


图 2 肺组织 HSD11B1、HSD11B2 免疫组化代表图（×20）

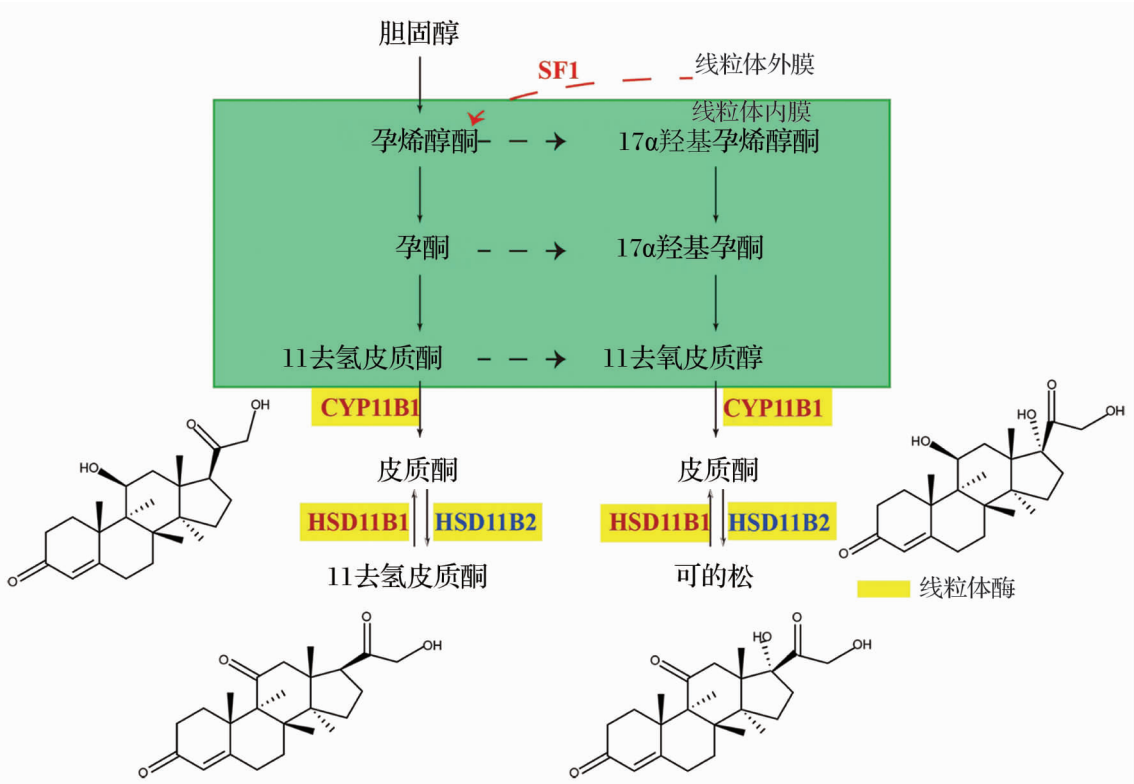
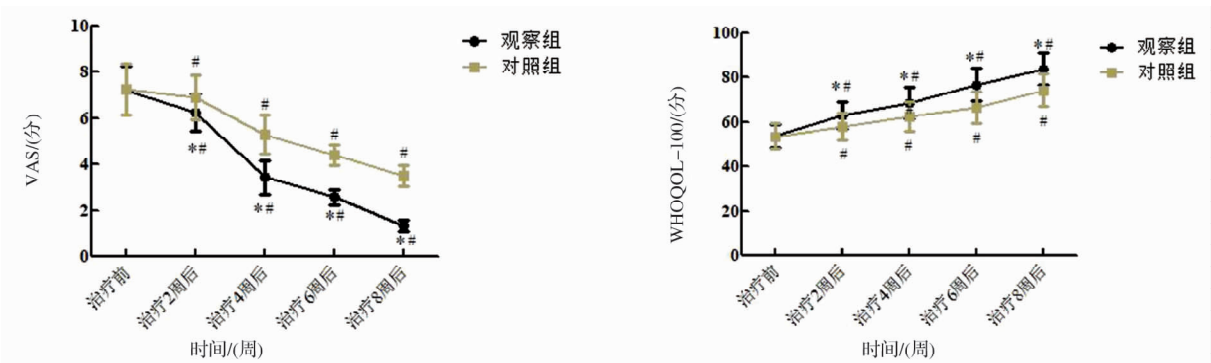


图 4　内源性 GC 合成、代谢关键分子图

加味葛根芩连汤治疗复发性口腔溃疡患者疗效及对免疫功能的影响

（正文见 231 – 234 页）



注：* 与对照组相比，$P<0.05$；# 与同组治疗前相比，$P<0.05$。

图 1　两组复发性口腔溃疡患者疼痛和生存质量评分对比（$\bar{x}\pm s$）