# 百部抑制巨噬细胞趋化作用治疗肺动脉高压的分子机制研究

倪兴彬[1]，常亚娟[2*]，于佳远[2]，肖爽[2]，王兴业[2]，周良钰[2]
（1. 大庆市第五医院，黑龙江 大庆 163711；2. 黑龙江中医药大学附属第二医院，黑龙江 哈尔滨 150001）

**摘要** 目的：探讨百部对肺动脉高压（PH）小鼠巨噬细胞向肺组织富集和炎症因子表达的影响及机制。方法：将人肺动脉内皮细胞（HPAEC）分为空白组和模型组，采用 ELISA 法检测缺氧对 HPAEC 分泌趋化因子配体 9（CXCL9）和趋化因子配体 10（CXCL10）的影响。将 THP－1 细胞分为空白组、模型组、百部低剂量组和百部高剂量组，通过流式细胞术检测百部对缺氧 THP－1 细胞趋化因子受体 3（CXCR3）表达的影响，利用 transwell 小室实验验证百部在缺氧状态下抑制 THP－1 细胞趋化作用的效果。将小鼠分为空白组、模型组和百部组，每组 6 只。利用右心室收缩压（RVSP）和右心室肥厚指数（RVHI）验证百部治疗 PH 小鼠效果，通过肺组织免疫荧光切片观察巨噬细胞在肺内聚集情况，通过 ELISA 法检测肺内 IL－1β、IL－6 和 TNF－α 含量。结果：ELISA 结果显示，与空白组比较，模型组 HPAEC 分泌的 CXCL9、CXCL10 水平显著升高（$P<0.01$），流式细胞结果显示，缺氧状态巨噬细胞 CXCR3 显著增高（$P<0.01$），加入低剂量和高剂量百部后 CXCR3 显著降低（$P<0.01$）。低剂量和高剂量百部均可以减少模型组巨噬细胞的迁移（$P<0.05$，$P<0.01$）。百部可以减轻 PH 小鼠的 RVSP 和 RVHI，免疫荧光显示巨噬细胞肺部聚集减少，差异均有统计学意义（$P<0.01$）。百部喂养 PH 小鼠后，肺组织 IL－1β、IL－6、TNF－α 含量显著降低（$P<0.05$，$P<0.01$）。结论：百部通过降低巨噬细胞表面 CXCR3 的表达，抑制巨噬细胞与 CXCL9 和 CLCL10 的趋化作用，减少其向肺组织迁移，降低炎症因子的表达，从而减轻肺动脉高压症状。

**关键词** 百部；肺动脉高压；巨噬细胞；CXCR3
**中图分类号**：R285.5 **文献标识码**：A **文章编号**：1002－2392（2025）10－0029－06
**DOI**：10.19664/j.cnki.1002－2392.250205

肺动脉高压（Pulmonary hypertension，PH）是一种慢性疑难疾病，主要表现为肺动脉内压力的升高、肺血管阻力的增大，以及血管结构的重塑，最终可能导致右心衰竭和死亡。PH 的病因机制尚未阐明，目前临床上缺乏针对性的药物，大多数治疗手段仅能缓解病症，且该病的预后相对较差[1－2]。因此，深入研究 PH 的病理机制，发现有效治疗药物具有重要的价值。周围血管炎症在 PH 肺血管重塑中发挥重要作用，研究[3]发现，大量免疫细胞如巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞、肥大细胞、T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞在 PH 患者肺血管周围聚集。其中，作为主要浸润在 PH 病变周围的炎症细胞，巨噬细胞在加剧 PH 的肺血管重塑中起着至关重要的作用[4]。

中药百部（*Stemonae Radix*，SR）来源于百部科百部属植物直立百部、蔓生百部或对叶百部的干燥块根[5]。《本草纲目》记载，这种植物的块根具有药用价值，能够缓解瘙痒、具有驱虫作用，同时内服可起到清肺和缓解咳嗽的作用。百部植物中蕴含有多种生物碱和非生物碱如绿原酸、酚类物质、醌类成分、类鱼藤酮化合物及去氢物质等成分[6]。百部在急（慢）性咳嗽、肺炎、支气管炎等呼吸系统疾病治疗中有广泛的应用[7]。趋化因子受体 3（CXCR3）是一种 G 蛋白偶联受体，由 7 个跨膜域组成，参与免疫细胞的趋化进程，对血管生成具有抑制功能。CXCR3 的激活在白细胞迁移中起着重要作用，CXCR3 在活化的 T 细胞、NK 细胞和巨噬细胞中高度表达，这种高表达促使这些免疫细胞被募集至感染或炎症发生的部位[8]。

**收稿日期**：2025－01－21 **修回日期**：2025－06－20
**基金项目**：黑龙江省卫健委科研课题（20211313010353）；黑龙江省中医药科研项目（ZHY2025－024）
**作者简介**：倪兴彬（1980－），男，主管技师，研究方向：免疫学检验。
*通信作者：常亚娟（1979－），女，硕士，副主任技师，研究方向：中西医结合实验诊断学。

本研究旨在探究百部是否通过降低巨噬细胞CXCR3的表达进而减少肺动脉高压小鼠巨噬细胞在肺组织内聚集及缓解炎症症状,为其治疗肺动脉高压提供实验室依据。

## 1 材料

### 1.1 实验动物和细胞

C57BL/6N 型小鼠购自哈尔滨医科大学第二附属医院实验动物中心,许可证号为 SCXK(黑)2024 - 002,符合 SPF 级实验标准。该实验由黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会审批通过(2024010302)。单核细胞系 THP - 1 细胞、人肺动脉内皮细胞(HPAEC)细胞株购自武汉普诺赛公司。HPAEC 和 THP - 1 细胞在 15% 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM 高糖培养基培养于 37 ℃、5% $CO_2$ 条件下。THP - 1 细胞利用 100 ng/mL 的佛波酯诱导培养 48 h 转化为巨噬细胞。

### 1.2 药物与试剂

百部饮片购自于康美药业。百部饮片加水煎煮 2 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液,60 ℃浓缩至 1.2 g/mL 的药液,冰箱冷藏备用。CD68 抗体(货号:GB113109 - 100)购自 Servicebio 公司;FITC - CXCR3 荧光抗体(货号:353703)购自美国 biolegend 公司;DAPI 染料(货号:C1002)购自碧云天生物公司;α - SMA 抗体(货号:BM0002)购自博士德生物公司;趋化因子配体 9(CXCL9)检测试剂盒(ELISA 法,货号:HM10338)、趋化因子配体 10(CXCL10)试剂盒(ELISA 法,货号:HM10329)购自武汉贝莱茵生物公司。

### 1.3 主要仪器

CYTEKDxP Athena 流式细胞仪购自美国 Cytek Biosciences 公司;ELx808 酶标仪购自美国 BIO - TEK 公司;AF 活细胞工作站购自德国徕卡公司;620M 离体微血管张力测定系统购自丹麦 DMT 公司。

## 2 方法

### 2.1 HPAEC 分泌 CXCL9 与 CXCL10 的检测

将 HPAEC 分别按空白组(5% $CO_2$ 的常氧环境)和模型组(5% $CO_2$、3% $O_2$、90% $N_2$)培养 48 h 后,取上清液。按 ELISA 试剂盒说明书分别配置标准品,加样后加酶标试剂,37 ℃孵育 30 min 弃去液体,使用洗涤液进行 3 次洗涤,再加入底物,在室温下避光孵育 10 min。随后,添加终止液,最后利用酶标仪在 450 nm 波长下进行比色,记录结果,进行统计。

### 2.2 流式细胞实验检测巨噬细胞 CXCR3 表达

巨噬细胞按空白组、模型组、百部低剂量组(10.0 mg/mL)和百部高剂量组(50.0 mg /mL)分组,加入不同浓度的百部处理后培养 48 h,收集巨噬细胞并用 PBS 冲洗两次,随后向每孔加入 200 μL 的染色缓冲液以重悬细胞,并添加 5 μL 的 Fc - R 阻断剂,在冰浴条件下反应 30 min。之后再用缓冲液洗涤,然后重悬细胞,接着加入 FITC 标记的人 CXCR3 抗体进行染色,4 ℃条件下避光孵育 15 min,再用 200 μL 甲醛进行固定,最后进行检测。

### 2.3 Transwell 小室迁移实验检测巨噬细胞趋化功能

HPAEC 接种于 24 孔板中,通过使用孔径为 0.4 μm的 Transwell 小室,构建无接触的细胞共培养环境。经过刺激的 THP - 1 细胞放置在 Transwell 小室的底部,然后将这个小室放入已接种内皮细胞的孔中。按空白组、模型组、百部低剂量组(10.0 mg/mL)和百部高剂量组(50.0 mg/mL)分别培养 48 h。取出 Transwell 小室,用 PBS 洗涤 2 ~ 3 遍。接着加入无水乙醇进行固定。甲苯胺蓝染色固定后的细胞,显微镜观察和计数(×40)倍放大下 5 个视野的细胞。

### 2.4 动物分组与处理

将 6 周龄的雄性小鼠(体质量约 22 g)18 只,随机分为空白组、模型组和百部组,每组 6 只,饲养于温度(22 ± 2)℃、相对湿度(50 ± 5)% 的环境中,采用 12 h 明暗交替的光照周期,所有小鼠均饲养在清洁环境中,自由进食和饮水。空白组小鼠在氧分压为 21% 的环境中饲养21 d。模型组小鼠放置于低氧环境箱内,氧气分压维持在 9 ~ 10%,饲养 21 d,然后再转入常氧条件下饲养 14 d。百部组基本饲养条件和模型组相同,缺氧饲养期间每天再进行 6 $g \cdot kg^{-1}$ 的百部给药,相当于成人的临床用药量。空白组和模型组的小鼠同时接受等量的生理盐水灌胃处理。

### 2.5 小鼠心脏功能的检测和分析

戊巴比妥注射麻醉小鼠,右侧颈静脉中放置Millar导管,利用 Power Lab 仪器监控右心室收缩压(RVSP),记录稳定后数值。剪开小鼠胸腔,取出肺部组织和心脏,手术剪沿心室隔膜小心分开右心室(RV),其余组织为左心室加室间隔(LV + S),随后称重,以评估右心的肥厚程度,右心室肥厚指数(RVHI)公式为 RV/LV + S。小鼠的肺叶放入 PBS 缓冲液中进行清洗,直到不再有血液流出,随后进行下一步处理。

### 2.6 免疫荧光染色检测巨噬细胞浸润

肺部样本利用恒温冷却切片机进行连续性切片处理,随后在冷风中干燥,并在室温下进行血清封闭 20 min,接着甩去多余液体,滴加 CD68 抗体和 α - SMA 抗体,并在 4 ℃条件下过夜孵育。用 PBS 彻底冲洗样本后,滴加抗体和 DAPI 染料,孵育 40 min,随后再冲洗并封片。选取来自左肺同一区域的切片,每组

3 张，利用荧光显微镜观察细胞显色，其中细胞核为蓝色荧光，α－SMA 为绿色荧光，CD68 显示为红色荧光。

2.7 肺组织炎性因子检测

取出肺部样本，并将其混合于 9 倍体积的 PBS 中，利用匀浆仪将组织破碎，随后循环进行 3 次液氮的冷冻与解冻处理。12 000 r/min 离心 10 min 冲洗，作为实验所需的蛋白质样品采用 ELISA 法，依照试剂盒说明书检测小鼠肺组织中炎症因子的表达水平，包括 TNF－α、IL－6 与 IL－1β。

2.8 统计学分析

数据的分析及图形绘制使用了 Graphpad 软件版本 7.0 进行处理。计量资料以平均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）形式表示，满足正态分布且方差齐时，组间比较采用单因素方差分析 LSD 法，进一步两两比较采用 SNK－q 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

3.1 缺氧对 HPAEC 分泌 CXCL9、CXCL10 的影响

ELISA 结果显示，与空白组比较，模型组 HPAEC 培养上清液中分泌的 CXCL9 水平显著升高（$P<0.01$）。模型组 HPAEC 培养上清液中分泌的 CXCL10 相对空白组水平显著升高（$P<0.01$），见表 1。

**表 1 各组 HPAEC 的 CXCL9、CXCL10 表达结果（$\bar{x} \pm s$，$n=6$，pg/mL）**

| 组别 | CXCL9 | CXCL10 |
|---|---|---|
| 空白组 | 129.54 ± 44.07 | 73.87 ± 18.26 |
| 模型组 | 222.51 ± 42.33$^{\#\#}$ | 148.59 ± 36.92$^{\#\#}$ |

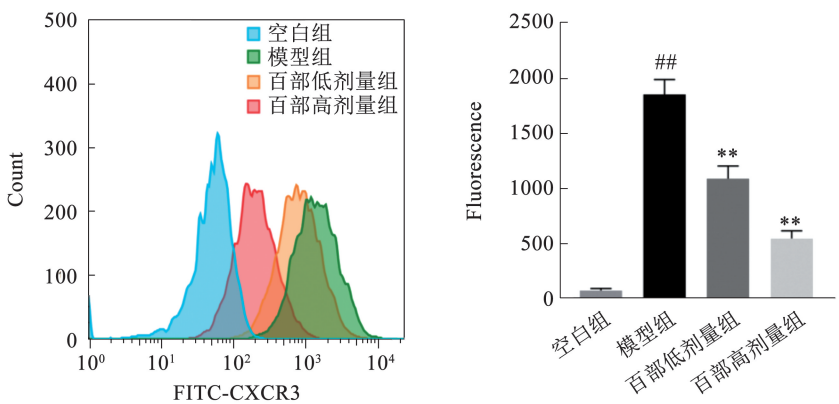
注：与空白组比较，$^{\#\#}P<0.01$。

3.2 百部对缺氧巨噬细胞 CXCR3 表达的影响

流式细胞分析结果显示，与空白组相比，模型组中巨噬细胞 CXCR3 的表达水平显著升高，差异具有统计学意义（$P<0.01$）。与模型组比较，百部低剂量组和百部高剂量组巨噬细胞 CXCR3 表达降低，差异有统计学意义（$P<0.01$），见图 1。

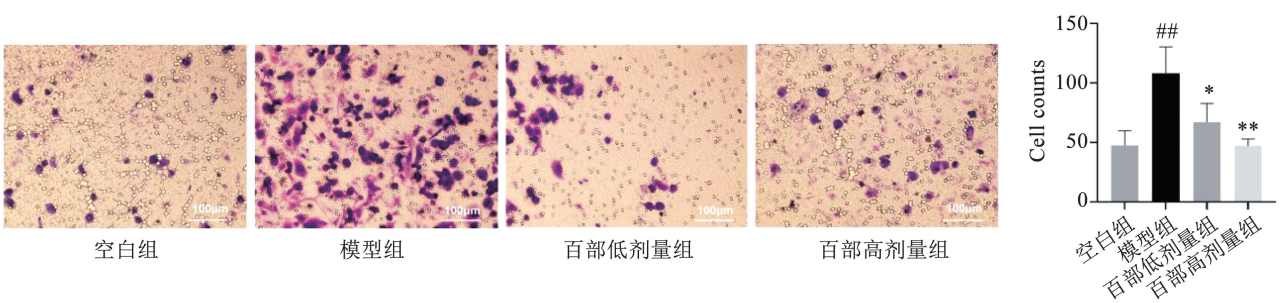
3.3 百部对巨噬细胞趋化作用的影响

与空白组相比，模型组巨噬细胞迁移数增加，差异有统计学意义（$P<0.01$），而在缺氧状态下添加了百部的细胞（百部低剂量组和百部高剂量组），细胞迁移数减少，差异有统计学意义（$P<0.05$，$P<0.01$），见图 2。




注：与空白组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{**}P<0.01$。

图 1 百部对缺氧巨噬细胞 CXCR3 表达的影响（$\bar{x} \pm s$，$n=6$）




注：与空白组比较，$^{\#\#}P<0.01$；与模型组比较，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$。

图 2 百部对缺氧内皮细胞趋化巨噬细胞作用的影响

3.4 百部对 PH 小鼠心脏功能的影响

在动物实验中，发现百部灌胃后显著减轻肺动脉高压小鼠的 RVSP 和 RVHI，差异均有统计学意义（$P<0.01$），见表 2。结果证明，百部可以改善 PH

小鼠的心脏功能。

**表 2 各组小鼠心脏 RVSP 和 RVHI 检测结果($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)**

| 组别 | RVSP/mmHg | RVHI/% |
|---|---|---|
| 空白组 | 24.30 ± 2.59 | 17.10 ± 1.73 |
| 模型组 | 37.02 ± 4.88$^{\#\#}$ | 34.54 ± 2.61$^{\#\#}$ |
| 百部组 | 28.12 ± 5.06$^{**}$ | 23.28 ± 2.88$^{**}$ |

注：与空白组比较，$^{\#\#}P < 0.01$；与模型组比较，$^{**}P < 0.01$。

### 3.5 百部对 PH 小鼠肺部巨噬细胞和炎症因子的影响

组织切片的免疫荧光显示，巨噬细胞在模型组中富集增加，经过百部治疗后，巨噬细胞在肺部显著减少，见图 3。相对于空白组，模型组肺部细胞因子 IL－1β、TNF－α 和 IL－6 表达显著增高（$P < 0.05$，$P < 0.01$），在经过百部治疗后，IL－1β、TNF－α 和 IL－6 均显著降低（$P < 0.05$，$P < 0.01$），见表 3。

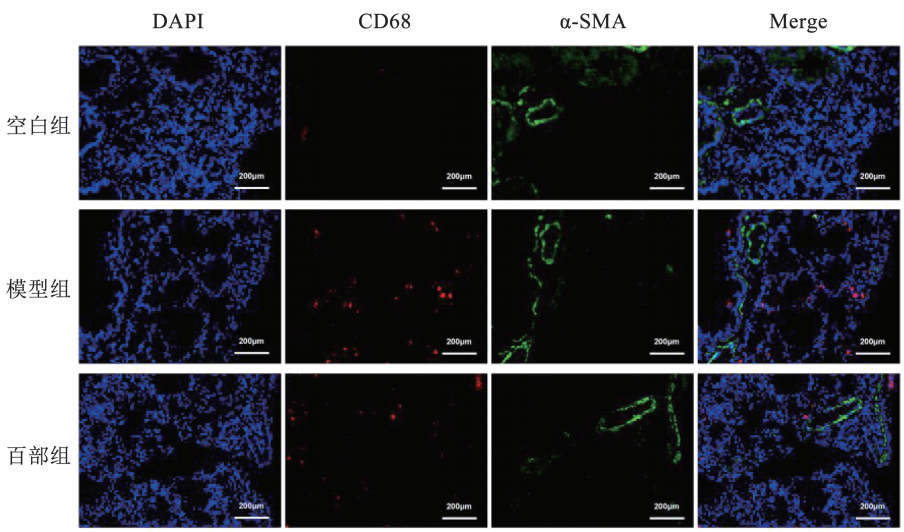



图 3 使用百部后对小鼠肺部巨噬细胞聚集的影响

**表 3 各组小鼠肺组织 IL－1β、IL－6 和 TNF－α 细胞因子表达结果($\bar{x} \pm s$, $n = 6$, pg/mL)**

| 组别 | IL－1β | IL－6 | TNF－α |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 130.57 ± 21.86 | 78.15 ± 26.46 | 164.85 ± 28.91 |
| 模型组 | 178.35 ± 35.32$^{\#}$ | 148.06 ± 27.05$^{\#\#}$ | 291.10 ± 34.26$^{\#\#}$ |
| 百部组 | 134.25 ± 13.04$^{*}$ | 89.85 ± 10.59$^{**}$ | 221.40 ± 36.36$^{**}$ |

注：与空白组比较，$^{\#}P < 0.05$，$^{\#\#}P < 0.01$；与模型组比较，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$。

## 4 讨论

巨噬细胞是参与缺氧性肺动脉高压发展的关键细胞[9－11]。巨噬细胞可以分为 M1 型巨噬细胞和 M2 型巨噬细胞，在正常稳态下，M1 和 M2 型巨噬细胞处于平衡状态，但缺氧或其他外部因素可能导致 M1 和 M2 型失衡，通过流式细胞术分析 PAH 患者巨噬细胞的不同分群发现，M1 型巨噬细胞比例显著升高，而 M2 型巨噬细胞标记无显著变化[12－14]。来源于巨噬细胞的各类细胞因子和趋化因子，能够引发周围血管中膜平滑肌细胞的增殖现象以及内皮细胞的渗漏和凋亡，这与肺血管结构的重塑有着紧密的联系。其中 M1 型巨噬细胞在受到刺激后会分泌大量 IL－1β、IL－6 和 TNF－α 等细胞因子。因此，对于改善血管的重塑过程、延缓疾病的进展以及提升患者的长期生存率，抑制肺周巨噬细胞的招募具有重要意义[15]。CXCR3 于活化的巨噬细胞表面高表达，YE 等[16]发现，CXCR3 受体的拮抗作用可以调节斑马鱼感染和损伤期间巨噬细胞的迁移。CXCR3 的 C－X－C 趋化因子配体（C－X－C chemokine ligands，CXCLs）包括 CXCL9、CXCL10 和 CXCL11[17－18]。CXCL9、10、11 主要由单核细胞、内皮细胞、成纤维细胞和癌细胞响应 IFN－γ 分泌，它们可被 TNF－α 协同增强[19]。

百部所含的主要化学成分中已经鉴定出 77 种类型的生物碱，这些碱类化合物主要包括狭叶百部碱型、金刚大碱型、百部新碱型、百部叶碱型和对叶百部碱型等[20]。金刚大碱、百部碱、对叶百部碱、原百部碱等化合物在治疗咳嗽、慢性阻塞性肺疾病、急性肺损伤和急性肺纤维化的研究中均有报道[21－24]。FU 等[25]发现新对叶百部碱可以通过 PI3K 依赖性 AKT 和 ERK 途径抑制巨噬细胞和成纤维细胞分泌的 TGF－β 和 SDF－1，从而改善肺纤维化。为了验证百部对巨噬细胞在缺氧状态下趋化作用的影响，作者首先检测了 HPAEC 细胞在缺氧状态下，分泌的趋化因子 CXCL9、CXCL10 的水平，结果发现，二者分泌水平均升高。同时，缺氧巨噬细胞 CXCR3 也表达增高，但百部可以抑制 CXCR3 的表达。在 HPAEC 和巨噬细胞迁移实验

中,模型组巨噬细胞受 HPAEC 趋化作用迁移数增加,在添加了不同剂量百部后,细胞迁移数均减少,实验结果说明百部通过降低 CXCR3 的表达,降低了 CXCL9 和 CXCL10 对巨噬细胞的趋化作用,使巨噬细胞迁移数量减少。在肺动脉高压的模型中,百部的应用有效减轻了 RVSP 和 RVHI,显示出其具有治疗作用。组织切片的免疫荧光实验显示,巨噬细胞在缺氧型肺动脉高压小鼠模型中肺部富集增加,在经过百部治疗后,巨噬细胞富集显著减少,同时百部也抑制了 PH 小鼠肺部表达增高的炎症因子(IL-1β、IL-6、TNF-α)。这些结果反映了百部能够通过减少巨噬细胞在肺部的浸润,减少肺内炎症,从而减轻肺动脉高压症状。

综上所述,本研究利用细胞迁移实验和 PH 小鼠模型治疗实验,验证了百部通过下调巨噬细胞 CXCR3 表达,抑制 CXCL9/CXCL10 介导的趋化作用,减少肺组织巨噬细胞浸润及炎症因子(IL-1β、IL-6、TNF-α)释放,减轻血管周围炎症,改善 PH 小鼠症状,为百部作为一种有效的药物应用于肺动脉高压的治疗提供了参考。

**参考文献:**

[1] MOCUMBI A, HUMBERT M, SAXENA A, et al. Pulmonary hypertension[J]. Nat Rev Dis Primers, 2024, 10: 1.

[2] HUMBERT M, KOVACS G, HOEPER M M, et al. 2022 ESC/ERSGuidelilles for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension[J]. Eur Heart J, 2022, 43(38): 3618-3731.

[3] HU Y J, CHI L, KUEBLER W M, et al. Perivascular inflammation in pulmonary arterial hypertension[J]. Cells, 2020, 9(11): 2338.

[4] ZHANG M Q, WANG C C, PANG X B, et al. Role of macrophages in pulmonary arterial hypertension[J]. Front Immunol, 2023, 19, 14: 1152881.

[5] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 138.

[6] 樊兰兰, 陆丽妃, 王孝勋, 等. 百部药理作用与临床应用研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(8): 55-59.

[7] 王振伟, 沈丽, 张喆, 等. 百部在治疗肺系统疾病中的研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(3): 520-522.

[8] CHOW M T, OZGA A J, SERVIS R L, et al. Intratumoral activity of the CXCR3 chemokine system is required for the efficacy of anti-PD-1 therapy[J]. Immunity, 2019, 50(6): 1498-1512. e5.

[9] FLORENTIN J, COPPIN E, VASAMSETTI S B, et al. Inflammatory macrophage expansion in pulmonary hypertension depends upon mobilization of blood-borne monocytes[J]. J Immunol, 2018, 200(10): 3612-3625.

[10] ZAWIA A, ARNOLD N D, WEST L, et al. Altered macrophage polarization induces experimental pulmonary hypertension and is observed in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2021, 41(1): 430-445.

[11] AL-QAZAZI R, LIMA P D A, PRISCO S Z, et al. Macrophage-NLRP3 activation promotes right ventricle failure in pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2022, 206(5): 608-624.

[12] SHEU K M, HOFFMANN A. Functional hallmarks of healthy macrophage responses: their regulatory basis and disease relevance[J]. Annu Rev Immunol, 2022, 40: 295-321.

[13] LIU H, WANG Y X, ZHANG Q Q, et al. Macrophage-derived inflammation promotes pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension mice[J]. Immunol Lett, 2023, 263: 113-122.

[14] ZAWIA A, ARNOLD N D, WEST L, et al. Altered macrophage polarization induces experimental pulmonary hypertension and is observed in patients with pulmonary arterial hypertension[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2021, 41(1): 430-445.

[15] 陈倩冰, 李逸轩, 刘怡曼, 等. 肺动脉高压血管重塑过程中的巨噬细胞核心作用机制研究探讨[J]. 天津中医药, 2024, 41(10): 1325-1334.

[16] YE Y Y, LI L X, KANG H, et al. LAMP1 controls CXCL10-CXCR3 axis mediated inflammatory regulation of macrophage polarization during inflammatory stimulation[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 132: 111929.

[17] HUMBLIN E, KAMPHORST A O. CXCR3-CXCL9: it's all in the tumor[J]. Immunity, 2019, 50(6): 1347-1349.

[18] PAN M J, WEI X S, XIANG X, et al. Targeting CXCL9/10/11-CXCR3 axis: an important component of tumor-promoting and antitumor immunity[J]. Clin Transl Oncol, 2023, 25(8): 2306-2320.

[19] 吴菲, 许铖铖, 郑婷婷, 等. IFN-γ 通过激活 STAT3 促进甲状腺上皮细胞分泌 CXC 趋化因子配体 10(CXCL10)[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(6): 811-814, 819.

[20] 刘美, 刘艳, 王昶. 百部生物碱的药理研究概况[J]. 黑龙江中医药, 2015, 44(4): 70-71.

[21] LIN L G, PAK-HO LEUNG H, ZHU J Y, et al. Croomine- and tuberostemonine-type alkaloids from roots of *Stemona tuberosa* and their antitussive activity[J]. Tetrahedron, 2008, 64(44): 10155-10161.

[22] ZHANG J B, LI S Q, SUN L, et al. Therapeutic effects of stemonine on particulate matter 2.5-induced chronic obstructive pulmonary disease in mice[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(5): 4453-4459.

[23] JUNG K H, BEAK H, PARK S, et al. The therapeutic effects of tuberostemonine against cigarette smoke-induced acute lung inflammation in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 774: 80-86.

[24] 向娟, 余平, 李明丹, 等. 百部生物碱对博来霉素诱导肺纤维化小鼠的保护作用[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(1): 76-81.

[25] FU S, SONG X R, HU Y Y, et al. Neotuberostemonine and tuberostemonine ameliorate pulmonary fibrosis through suppressing TGF-β and SDF-1 secreted by macrophages and fibroblasts via the PI3K-dependent AKT and ERK pathways[J]. Chin J Nat Med, 2023, 21(7): 527-539.

# Molecular Mechanism of Stemonae Radix in Inhibiting Macrophage Chemotaxis for Treating Pulmonary Hypertension

NI Xingbin[1], CHANG Yajuan[2], YU Jiayuan[2], XIAO Shuang[2], WANG Xingye[2], ZHOU Liangyu[2]

(1. *The Fifth Hospital of Daqing City*, *Daqing* 163711, *China*; 2. *The Second Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine*, *Harbin* 150001, *China*)

**Abstract** Objective: To investigate the effects and mechanisms of Stemonae Radix (SR) on macrophage recruitment to lung tissue and inflammatory factor expression in mice with pulmonary hypertension (PH). Methods: Human pulmonary artery endothelial cells (HPAECs) were divided into a control group and a model group. ELISA was used to detect the effect of hypoxia on HPAEC secretion of chemokine ligand 9 (CXCL9) and chemokine ligand 10 (CXCL10). THP-1 cells were divided into a control group, model group, low-dose SR group, and high-dose SR group. Flow cytometry was used to assess the effect of SR on chemokine receptor 3 (CXCR3) expression in hypoxic THP-1 cells, and a transwell assay was conducted to verify SR's inhibitory effect on THP-1 cell chemotaxis under hypoxia. Mice were divided into a control group, model group, and SR group. Right ventricular systolic pressure (RVSP) and right ventricular hypertrophy index (RVHI) were measured to evaluate SR's therapeutic effect on PH mice. Lung tissue immunofluorescence staining was performed to observe macrophage aggregation, and ELISA was used to detect IL-1β, IL-6, and TNF-α levels in lung tissue. Results: ELISA results showed that CXCL9 and CXCL10 levels secreted by hypoxic HPAECs were significantly higher than those in the control group ($P<0.01$). Flow cytometry revealed that CXCR3 expression in hypoxic macrophages was significantly increased ($P<0.01$), which was markedly reduced after treatment with low- and high-dose SR ($P<0.01$). Both low- and high-dose SR inhibited macrophage migration in the model group ($P<0.05$, $P<0.01$). SR alleviated RVSP and RVHI in PH mice, and immunofluorescence showed reduced macrophage aggregation in lung tissue, with statistically significant differences ($P<0.01$). After SR treatment, IL-1β, IL-6, and TNF-α levels in lung tissue were significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). Conclusion: SR reduces CXCR3 expression on macrophages, inhibits their chemotaxis toward CXCL9 and CXCL10, decreases migration to lung tissue, and lowers inflammatory factor levels, thereby ameliorating pulmonary hypertension symptoms.

**Key words** Stemonae Radix; Pulmonary hypertension; Macrophage; CXCR3