

引用:李霁航,郭育辰,朱宇子,吴哲伟,周智,刘靖雷,罗银河.小儿久咳合剂对感染后咳嗽大鼠SUMF1/SUMF2平衡的调节作用及对IL-13分泌的影响[J].中医导报,2025,31(9):38-43,49.

# 小儿久咳合剂对感染后咳嗽大鼠SUMF1/SUMF2平衡的调节作用及对IL-13分泌的影响\*

李霁航<sup>1</sup>,郭育辰<sup>1</sup>,朱宇子<sup>1</sup>,吴哲伟<sup>1</sup>,周智<sup>2</sup>,刘靖雷<sup>1</sup>,罗银河<sup>1</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;

2.长沙市妇幼保健院,湖南 长沙 410000)

[摘要] 目的:研究小儿久咳合剂调节感染后咳嗽大鼠SUMF1/SUMF2平衡的效果及其对IL-13分泌水平的调控作用。方法:将40只SD大鼠随机分为空白组(10只)、模型组(10只)、中药组(10只)及西药组(10只)。通过烟熏暴露、LPS鼻腔滴注联合辣椒素雾化刺激,构建大鼠感染后咳嗽(PIC)模型。中药组灌服1.80 g/mL小儿久咳合剂溶液,西药组予0.08 mg/mL孟鲁司特纳水溶液灌胃,空白组和模型组给予等体积0.9%氯化钠溶液灌胃。通过Masson、PAS及HE染色观察肺组织病理变化;ELISA法检测血清及支气管肺泡灌洗液(BALF)中总IgE、特异性IgE及IL-13水平;Western blotting及PCR技术检测肺组织中SUMF1、SUMF2及IL-13的表达。结果:病理切片显示,模型组大鼠出现显著的气管上皮鳞状化生、密集的炎症细胞浸润和肺间质扩张,与空白组形成鲜明对比。肺组织中SUMF1、SUMF1/SUMF2比值及IL-13表达显著升高( $P<0.01$ ),而SUMF2表达显著降低( $P<0.01$ ),中性粒细胞和巨噬细胞密度显著升高( $P<0.01$ )。血清及BALF中总IgE、特异性IgE及IL-13表达均显著升高( $P<0.01$ )。与模型组比较,中药组及西药组大鼠肺组织炎症细胞浸润及气管上皮损伤显著减轻,SUMF1、SUMF1/SUMF2比值及IL-13表达显著降低( $P<0.01$ ),而SUMF2表达显著升高( $P<0.01$ ),炎症细胞密度显著降低( $P<0.01$ )。血清及BALF中总IgE、特异性IgE及IL-13表达亦显著降低( $P<0.01$ )。结论:小儿久咳合剂可通过恢复SUMF1/SUMF2平衡、抑制IL-13的活性和分泌,减轻气道炎症,是其发挥治疗效应的可能机制。

[关键词] 感染后咳嗽;气道炎症;小儿久咳合剂;磷酸酯酶修饰因子;白细胞介素-13;大鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)09-0038-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.09.006

## Effect of Xiao'er Jiuke Mixture (小儿久咳合剂) on Balance of Sumf1/Sumf2 and Secretion of IL-13 in Infected Cough Rats

LI Jihang<sup>1</sup>, GUO Yuchen<sup>1</sup>, ZHU Yuzi<sup>1</sup>, WU Zhewei<sup>1</sup>, ZHOU Zhi<sup>2</sup>, LIU Jinglei<sup>1</sup>, LUO Yinhe<sup>1</sup>

(1.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China;

2.Changsha Maternal and Child Health Care Hospital, Changsha Hunan 410000, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Xiao'er Jiuke mixture on regulating the SUMF1/SUMF2 balance and its modulatory role on IL-13 secretion levels in rats with post-infectious cough (PIC). Methods: Totally 40 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned into blank control group ( $n=10$ ), model group ( $n=10$ ), Chinese medicine group ( $n=10$ ), and Western medicine group ( $n=10$ ). A PIC model was established using a combination of smoke exposure, lipopolysaccharide (LPS) nasal instillation, and capsaicin aerosol challenge. The Chinese medicine group was administered Xiao'er Jiuke mixture solution (1.80 g/mL) via oral gavage. The Western medicine group received Montelukast sodium solution (0.08 mg/mL) via oral gavage, and the blank control group and model group received an equal volume of 0.9% sodium chloride solution via oral gavage. Pathological changes in lung tissue were assessed using Masson, periodic acid-Schiff (PAS), and hematoxylin-eosin (HE) staining. Serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) levels of total IgE, specific IgE, and IL-13 were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression levels of SUMF1, SUMF2, and IL-13 in lung tissue were determined by Western blotting (WB) and polymerase chain reaction (PCR). Results: Compared to the

\*基金项目:湖南省2022年大学生创新创业训练计划项目(2022-2886)(S202210541017)

通信作者:罗银河,女,教授,研究方向为中医药防治小儿肺系疾病

blank control group, lung tissue sections from the model group exhibited significant tracheal epithelial squamous metaplasia, extensive inflammatory cell infiltration, and pulmonary interstitial expansion. Lung tissue levels of SUMF1, the SUMF1/SUMF2 ratio, and IL-13 were significantly increased in model group ( $P<0.01$ ), while SUMF2 levels were significantly decreased ( $P<0.01$ ). Neutrophil and macrophage densities were also significantly elevated in model group ( $P<0.01$ ). Furthermore, serum and BALF levels of total IgE, specific IgE, and IL-13 were all significantly increased in model group ( $P<0.01$ ) compared to the blank control. Compared to the model group, Chinese medicine group and Western medicine group showed significantly reduced inflammatory cell infiltration and tracheal epithelial damage in lung tissue. Levels of SUMF1, SUMF1/SUMF2 ratio, and IL-13 were significantly decreased in Chinese medicine group and Western medicine group ( $P<0.01$ ), while SUMF2 levels were significantly increased ( $P<0.01$ ). Inflammatory cell densities were also significantly reduced in Chinese medicine group and Western medicine group ( $P<0.01$ ). Serum and BALF levels of total IgE, specific IgE, and IL-13 were likewise significantly decreased in Chinese medicine group and Western medicine group ( $P<0.01$ ) compared to the model group. Conclusion: Xiao'er Jiuke Mixture may exert its therapeutic effect by restoring the balance of SUMF1/SUMF2, inhibiting the activity and secretion of IL-13, and reducing airway inflammation.

[Keywords] coughing after infection; airway inflammation; Xiao'er Jiuke mixture; phosphatase modifying factor; interleukin-13; rat

感染后咳嗽(post-infectious cough, PIC)指呼吸道感染后继发的迁延性咳嗽。作为儿童慢性咳嗽的首要诱因,其发病与多种病原体有关<sup>[1-3]</sup>。尽管PIC的发病机制尚未完全阐明,但普遍认为其涉及肺部广泛炎症、上皮细胞损伤及气道高反应性<sup>[4]</sup>。研究<sup>[7-9]</sup>表明, PIC小鼠模型中白介素-13(interleukin-13, IL-13)水平显著升高,提示IL-13在气道炎症和高反应性中起关键作用。在IL-13的调控网络中,硫酸酯酶修饰因子(sulfatase modifying factor, SUMF)家族的SUMF1和SUMF2为关键角色, SUMF1通过维持硫酸酯酶活性促进IL-13活化,而SUMF2则通过与IL-13结合抑制其分泌<sup>[9-10]</sup>。然而, SUMF1/SUMF2比例失调在PIC发病中的作用尚未阐明,中医药调节该平衡以干预PIC的治疗机制也有待揭示。

中医药在PIC的辨证论治中具有显著优势,临床研究<sup>[7,11-12]</sup>证实其可通过降低IL-13水平改善气道炎症和高反应性。然而,中药调节IL-13的具体机制仍需进一步探索。鉴于SUMF与IL-13的密切关联及其在PIC中的潜在作用,本研究旨在揭示SUMF在PIC中的调控机制,并探讨中医药通过SUMF1/SUMF2平衡调节IL-13分泌的潜在途径。

为此,本研究采用幼龄大鼠构建PIC模型,通过呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)感染、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)滴鼻及辣椒素雾化诱咳模拟病毒感染后咳嗽的病理过程。通过检测模型大鼠SUMF1、SUMF2及IL-13的基因和蛋白表达水平,明确PIC发病过程中SUMF1/SUMF2失衡的存在及其对IL-13分泌的影响,进一步探讨其在气道炎症和高反应性中的作用机制。

## 1 材料

1.1 实验动物 健康SPF级幼年SD大鼠40只,雌雄各半,体重160~180 g,鼠龄28~42 d,购于湖南斯莱克实验动物有限公司,生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004;质量合格证号:430727221102777675。本实验经湖南中医药大学伦理审查委员会审查通过,伦理审查批号:SLBH-202212020001。动物饲养于湖南中医药大学含浦校区SPF级实验动物中心,温

度(22±2)℃,湿度50%~55%,12 h/12 h明暗交替,常规饲料饲养,自由饮水。

1.2 主要试剂 IL-13试剂盒(批号:E22032227)、ICAM-1试剂盒(批号:E06032147)和CGRP试剂盒(批号:E10032028)均购自武汉华美生物工程有限公司;黄果树牌过滤嘴香烟(湖南中烟工业有限责任公司长沙卷烟厂,类型为烤烟型,焦油量10 mg,烟气碱含量0.9 mg);磷酸盐(PBS)缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,批号:G1285);脂多糖(LPS)溶液(批号:02A221216)、琼脂糖(批号:AWR0002)和辣椒素(批号:09G221017)均购自中国Abiowell公司;戊巴比妥钠(上海阿拉丁生化科技有限公司,批号:20231015-BT-01)。

1.3 主要仪器 台式高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1650R);全自动酶标洗板机(深圳市汇松科技发展有限公司,型号:PW-812);荧光定量RCP仪(美国Thermo公司,型号:PIKOREAL96);水平琼脂糖电泳槽(北京六一生物科技有限公司,型号:DYCP-31DN);多功能酶标分析仪(深圳市汇松科技发展有限公司,型号:MB-530);切片机(金华市益迪医疗设备有限公司,型号:YD-315);石蜡包埋机(常州中威电子仪器有限公司,型号:BMJ-A);电热恒温培养箱(北京市永光明医疗仪器有限公司,型号:DHP-500);雾化箱:自制,大小约63 cm×43 cm×30 cm,两侧分别开10个2 cm×2 cm的小孔。

1.4 药物 小儿久咳合剂由桑白皮600 g、干地龙600 g、地骨皮600 g、枇杷叶500 g、诃子肉600 g、南沙参600 g、麦冬600 g、炙黄芪600 g、百部500 g、款冬花600 g、紫菀600 g、山楂600 g、侧柏叶600 g、前胡600 g和甘草300 g组成,由湖南中医药大学第一附属医院制剂室按照一定比例蒸煮调配加工制成,每瓶100 mL,每毫升约含生药2.8 g。置于4℃冰箱中储存备用,使用前加入蒸馏水配制成浓度为1.8 g/mL的水溶液。对照药物为孟鲁司特钠咀嚼片(Merck Sharp&Dohme Ltd.UK.齐鲁制药有限公司分装,规格:4 mg/片),碾碎后加入蒸馏水配置成浓度为0.08 mg/mL的水溶液,置于4℃冰箱中储存备用,参考前

期实验用量<sup>[13]</sup>。

2 方 法

2.1 造模与分组 幼年SPF级SD大鼠适应性饲养1周后,采用随机数字表法选取10只作为空白组,其余大鼠通过烟熏联合LPS滴鼻及辣椒素雾化建立感染后咳嗽(PIC)模型<sup>[14]</sup>。具体方法如下:将大鼠置于特制烟室中,以50 g锯屑末加10支黄果树牌香烟点燃烟熏,30 min/d,连续10 d;第11、14、17天,在异氟烷浅麻醉下按1 μL/g体质量鼻腔滴注0.4 mg/mL LPS溶液;第12、13、15、16、18、19天,将大鼠置于密闭容器中,以0.1 mmol/L辣椒素溶液雾化吸入,3 min/次,1次/d。造模第20天,采用多功能诱咳引喘仪进行辣椒素咳嗽激发试验,若大鼠出现频繁喷嚏、口鼻分泌物增多、腹肌抽搐、前肢伸展、颈部前伸及张口等特征性表现,且3 min内咳嗽次数>10次,则判定为造模成功<sup>[14-15]</sup>。将造模成功的大鼠随机分为模型组、小儿久咳合剂组(中药组)和孟鲁司特钠组(西药组),每组10只。

2.2 给药方法 根据《药理学实验方法》中人类与动物等效剂量转换规则确定大鼠给药剂量。各组大鼠按1 mL/100 g体质量的剂量灌胃给药,1次/d,持续15 d。具体给药方案如下:空白组和模型组给予0.9%氯化钠溶液;中药治疗组给予1.80 g/mL小儿久咳合剂水溶液;西药治疗组给予0.08 mg/mL孟鲁司特钠水溶液。给药自造模结束(实验第20天)开始。

2.3 取材与处理 实验第25天(给药结束后1 d),腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液(30 mg/kg)麻醉大鼠,经腹主动脉取血后,用4℃生理盐水进行心脏灌注至肺部透明,随后取出肺组织。肺组织立即置于4%多聚甲醛中固定24 h,经70%乙醇梯度脱水后,常规石蜡包埋。

2.4 检测指标

2.4.1 肺组织病理检查 将大鼠肺组织用4%多聚甲醛固定24 h后,进行脱水、石蜡包埋及切片(厚度4~5 μm),随后进行HE染色和免疫组织化学染色,显微镜下观察支气管病变及肺组织炎性细胞浸润等病理变化。采用全定量计数法评估炎症细胞浸润程度:随机选取5个400×高倍视野(HPF),使用Image J软件计数每个视野内的中性粒细胞、巨噬细胞及淋巴细胞总数,计算每平方毫米肺组织的炎症细胞密度(cells/mm<sup>2</sup>)。采用PAS染色定量分析气道杯状细胞,评分标准如下:0分,无;1分,杯状细胞占比<25%;2分,25%~50%;3分,50%~75%;4分,≥75%。采用Masson's三色染色评估胶原沉积及纤维化程度。

2.4.2 气道炎症检测 以1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉取血后,经气管插管注入37℃磷酸盐缓冲液(PBS)0.3 mL灌洗左肺,5 s后回抽液体,重复2次。将回收的支气管肺泡灌洗液(BALF)及外周血在4℃下以1 500 r/min离心10 min(离心半径为7.08 mm),取上清分装保存于-80℃。取上清液于-80℃保存,运用酶联免疫吸附测定(ELISA)技术,定量分析血清及支气管肺泡灌洗液(BALF)样本中的总IgE、特异性IgE和IL-13浓度。

2.4.3 RT-PCR检测SUMF1、SUMF2、IL-13含量 Trizol试剂提取肺组织总RNA,紫外吸收法测定RNA溶液浓度和纯度,按照Real-time PCR试剂盒进行反转录反应,合成单链的cDNA,cDNA产物保存在-20℃。Real-time PCR反应体系:体积为25 μL;反应程序:95℃变性30 s,52℃退火30 s,72℃延伸60 s,共35个循环,最后72℃延伸5 min。每个样本以内参基因

β-actin调整,2-ΔΔCt法定量分析SUMF1、SUMF2、IL-13 mRNA表达。实验重复3次。PCR引物序列见表1。

表 1 PCR 引物序列表

目的基因	序列(5'-3')	扩增产物片段长度bp
R-actin	上游引物:ACATCCGTAAGACCTCTATGCC	223
	下游引物:TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	
R-SUMF1	上游引物:ACCATTTCTGCTGAGGAAACGC	86
	下游引物:ATGGCACATGTAGGATCCACC	
R-IL13	上游引物:GTGCAACAGCAGCATGCTAT	107
	下游引物:GGTCCTCTGGATGGCATTG	
R-SUMF2	上游引物:TTCTGGCTCCTCAGCATGGG	141
	下游引物:AGCATTGGTCCCCATCAGAAA	

2.4.4 Western blotting检测SUMF1、SUMF2、IL-13含量 取肺组织剪碎匀浆后,加入适量RIPA裂解液,冰上裂解10 min,15 000 r/min 4℃离心15 min(离心半径为7.08 mm),弃沉淀,收集上清液,采用BCA法测定总蛋白浓度。取30 μg蛋白上样,进行10% SDS-PAGE凝胶电泳。电泳结束后,使用电转膜仪将蛋白转移至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭1 h。分别加入一抗(1:1 000稀释)孵育1 h,PBST洗涤后,加入辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠IgG二抗(1:2 000稀释)孵育1 h。以β-actin为内参,使用ECL化学发光试剂显色,通过Bio-Rad凝胶成像系统对各组条带进行定量分析。每份样品设5个平行孔,实验重复3次。

2.5 统计学方法 采用SPSS 26.0统计软件进行分析,计量数据资料符合正态分布,用“均数±标准差”(x̄±s)表示。多组间比较,采用单因素方差分析(ANOVA);两组间比较,方差齐用LSD法,方差不齐用Dunett's T3检验。P<0.05为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 咳嗽敏感性检测 与空白组比较,中药组和西药组大鼠咳嗽次数增多(P<0.05),模型组大鼠咳嗽次数明显增多,敏感性显著提高(P<0.01);与模型组比较,中药组和西药组大鼠咳嗽次数明显降低(P<0.01);西药组大鼠咳嗽次数与中药组比较,差异统计学无意义(P>0.05)。(见表2)

表 2 各组大鼠咳嗽敏感性测定 (x̄±s,次)

组别	n	5 min内咳嗽次数
空白组	10	1.5±1.6
模型组	10	15.8±4.6 <sup>b</sup>
中药组	10	5.2±1.8 <sup>a,c,d</sup>
西药组	10	5.8±3.6 <sup>a,c</sup>
F		37.518
P		0.000

注:与空白组比较,<sup>a</sup>P<0.05,<sup>b</sup>P<0.01;与模型组比较,<sup>c</sup>P<0.01;与西药组比较,<sup>d</sup>P>0.05。

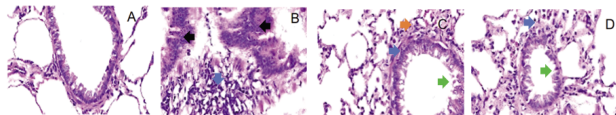
3.2 各组大鼠肺组织病理改变

3.2.1 各组大鼠肺组织HE染色 空白组大鼠肺组织和支气管结构正常,未见明显炎症细胞浸润,气道上皮完整。模型组大鼠肺组织HE染色显示显著气道上皮鳞状化生及炎症细胞浸润,定量分析显示炎症细胞密度较空白组显著升高(P<0.01)。(见表3)中药治疗组大鼠炎症细胞浸润减少,气道上皮损伤有所改善;西药治疗组大鼠则观察到轻度肺纤维组织增生。(见图1)

表3 各组大鼠肺组织 HE 染色炎症细胞密度比较

组别	n	炎症细胞密度 ( $\bar{x} \pm s$ , cells/mm <sup>2</sup> )
空白组	10	150.25±31.07
模型组	10	1 190.40±82.15 <sup>a</sup>
中药组	10	440.15±62.83 <sup>a,b,c</sup>
西药组	10	610.30±72.45 <sup>a,b</sup>
F		476.850
P		0.000

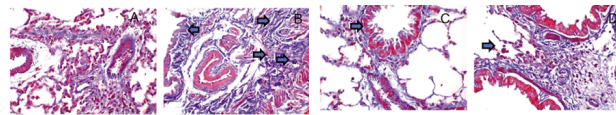
注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.001$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.001$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.001$ 。



注:A.空白组;B.模型组;C.西药组;D.中药组;蓝色箭头指示为炎症细胞浸润;黑色箭头指示为气道上皮鳞状化生;橙色箭头指示为肺间质增生;绿色箭头指示为气道上皮损伤。

图1 各组大鼠肺组织 HE 染色病理图 (×400)

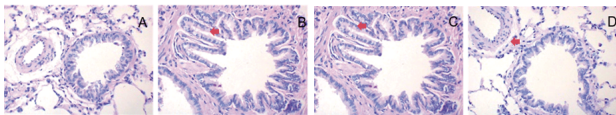
3.2.2 各组大鼠肺组织Masson染色 空白组大鼠肺组织和支气管结构正常,未见明显纤维组织增生或其他病理改变。模型组、中药组和西药组大鼠肺组织均呈现不同程度纤维化,其中模型组纤维化最为显著,胶原沉积明显。中药组大鼠纤维化程度较模型组减轻,胶原沉积呈分散分布,主要集中于大气道周围。西药组大鼠纤维化程度介于中药组与模型组之间。(见图2)



注:A.空白组;B.模型组;C.西药组;D.中药组;黑色箭头指示为纤维组织增生。

图2 各组大鼠肺组织 Masson 染色病理图 (×400)

3.2.3 各组大鼠肺组织PAS染色 空白组、中药组及西药组大鼠视野内未见杯状细胞及异常细胞增生或结构畸变;模型组大鼠支气管及小道周围可见少量杯状细胞,占总细胞的比例少于25%。(见图3)



注:A.空白组;B.模型组;C.西药组;D.中药组;红色箭头指示为红染的杯状细胞。

图3 各组大鼠肺组织 PAS 染色病理图 (×400)

3.3 RT-PCR检测各组大鼠肺组织SUMF1 mRNA、SUMF2 mRNA、IL-13 mRNA含量及炎症细胞密度 与空白组比较,其余各组大鼠肺组织中SUMF1和IL-13水平显著升高( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著降低( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值显著增加( $P<0.01$ )。中药治疗后,SUMF1和IL-13水平较模型组显著下降( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著升高( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值显著降低。与模型组比较,西药组大鼠SUMF1和IL-13水平显著下降( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著升高( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值显著降低。与西药组比较,中药组大鼠SUMF1和IL-13水

平升高( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著降低( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值略有升高。炎症细胞密度分析显示,与空白组比较,模型组大鼠肺组织中中性粒细胞和巨噬细胞密度显著升高( $P<0.01$ ),而中药组和西药组大鼠炎症细胞密度显著降低( $P<0.01$ )。这一结果与SUMF1/SUMF2失衡及IL-13表达异常的生物学效应一致,表明炎症细胞浸润与气道炎症密切相关。(见表4)

表4 各组大鼠肺组织 SUMF1 mRNA、SUMF2 mRNA、IL-13 mRNA 含量及炎症细胞密度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SUMF1/ $\beta$ -actin	SUMF2/ $\beta$ -actin	SUMF1/SUMF2	IL-13/ $\beta$ -actin	炎症细胞密度(个/mm <sup>2</sup> )
空白组	10	1.043±0.263	0.992±0.161	1.055±0.205	1.091±0.304	147.232±30.456
模型组	10	5.754±0.783 <sup>a</sup>	0.134±0.031 <sup>a</sup>	44.848±13.705 <sup>a</sup>	7.751±0.404 <sup>a</sup>	1 198.235±80.892 <sup>a</sup>
中药组	10	3.973±0.803 <sup>a,b,c</sup>	0.372±0.091 <sup>a,b,c</sup>	11.443±4.661 <sup>a,b,c</sup>	6.094±0.734 <sup>a,b,c</sup>	438.365±60.256 <sup>a,b,c</sup>
西药组	10	2.412±0.532 <sup>a,b</sup>	0.621±0.141 <sup>a,b</sup>	3.974±0.874 <sup>a,b</sup>	3.304±0.844 <sup>a,b</sup>	621.354±70.359 <sup>a,b</sup>
F		102.333	97.724	77.312	231.399	489.613
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

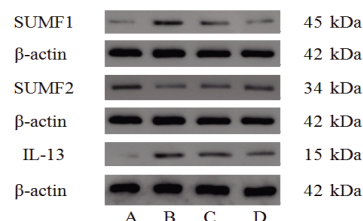
注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.001$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.001$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.001$ 。

3.4 Western blotting检测各组大鼠肺组织SUMF1、SUMF2、IL-13蛋白含量及炎症细胞密度 与空白组比较,模型组大鼠肺组织中SUMF1和IL-13水平显著升高( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著降低( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值显著增加( $P<0.01$ )。中药和西药治疗后,SUMF1和IL-13水平较模型组大鼠显著下降( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著升高( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值显著降低。与西药组比较,中药组大鼠SUMF1和IL-13水平略有升高( $P<0.01$ ),SUMF2水平显著降低( $P<0.01$ ),SUMF1/SUMF2比值略有升高。炎症细胞密度分析显示,与空白组比较,模型组大鼠肺组织中中性粒细胞和巨噬细胞密度显著升高( $P<0.01$ ),而中药组和西药组大鼠炎症细胞密度显著降低( $P<0.01$ )。这一结果与SUMF1/SUMF2失衡及IL-13表达异常的生物学效应一致,表明炎症细胞浸润与气道炎症密切相关。(见表5、图4)

表5 各组大鼠肺组织 SUMF1、SUMF2、IL-13 蛋白含量及炎症细胞密度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	SUMF1/ $\beta$ -actin	SUMF2/ $\beta$ -actin	SUMF1/SUMF2	IL-13/ $\beta$ -actin	炎症细胞密度(个/mm <sup>2</sup> )
空白组	10	0.095±0.028	0.325±0.033	0.282±0.072	0.055±0.013	150.853±305.000
模型组	10	0.343±0.012 <sup>a</sup>	0.072±0.022 <sup>a</sup>	5.334±1.154 <sup>a</sup>	0.304±0.014 <sup>a</sup>	1 258.365±80.380 <sup>a</sup>
中药组	10	0.235±0.033 <sup>a,b,c</sup>	0.153±0.033 <sup>a,b,c</sup>	1.632±0.333 <sup>a,b,c</sup>	0.194±0.023 <sup>a,b,c</sup>	456.368±60.538 <sup>a,b,c</sup>
西药组	10	0.175±0.023 <sup>a,b</sup>	0.223±0.033 <sup>a,b</sup>	0.783±0.135 <sup>a,b</sup>	0.133±0.023 <sup>a,b</sup>	600.253±70.582 <sup>a,b</sup>
F		171.527	122.826	142.665	310.101	80.725
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.001$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.001$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.001$ 。



注:A.空白组,B.模型组,C.中药组,D.西药组。

图4 各组大鼠肺组织 SUMF1、SUMF2、IL-13 蛋白表达条带图

3.5 ELISA检测各组大鼠血清及BALF中总IgE、特异性IgE、IL-13水平 与空白组比较,模型组大鼠血清及BALF中总IgE、特异性IgE、IL-13水平显著升高( $P<0.01$ ),中药组大鼠血清及BALF中总IgE、特异性IgE、IL-13水平显著升高( $P<0.01$ ),西药组大鼠血清及BALF中总IgE、特异性IgE、IL-13水平显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,中药组及西药组大鼠血清及BALF中总IgE、特异性IgE、IL-13水平显著下降( $P<0.01$ ),西药组较中药组下降更显著。(见表6~7)

表6 各组大鼠血清中总IgE、特异性IgE及IL-13水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	总IgE/(ng/mL)	特异性IgE/(ng/mL)	IL-13/(pg/mL)
空白组	10	25.770±0.691	8.351±0.334	29.171±0.677
模型组	10	95.574±2.842 <sup>a</sup>	31.751±2.294 <sup>a</sup>	116.744±3.944 <sup>a</sup>
中药组	10	67.667±3.997 <sup>abc</sup>	21.727±1.531 <sup>abc</sup>	79.617±4.667 <sup>abc</sup>
西药组	10	46.040±5.261 <sup>ab</sup>	15.567±1.941 <sup>ab</sup>	52.571±6.037 <sup>ab</sup>
F		685.791	342.172	763.118
P		0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.001$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.001$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.001$ 。

表7 各组大鼠BALF中总IgE、特异性IgE及IL-13水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	总IgE/(ng/mL)	特异性IgE/(ng/mL)	IL-13/(pg/mL)
空白组	10	29.717±0.361	9.707±0.331	24.807±0.917
模型组	10	105.022±3.722 <sup>a</sup>	33.738±1.742 <sup>a</sup>	90.212±4.632 <sup>a</sup>
中药组	10	78.352±2.762 <sup>abc</sup>	24.888±1.336 <sup>abc</sup>	62.378±3.475 <sup>abc</sup>
西药组	10	55.122±1.162 <sup>ab</sup>	17.586±0.875 <sup>ab</sup>	43.555±2.225 <sup>ab</sup>
F		1 803.531	738.772	792.774
P		0.000	0.000	0.000

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.001$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.001$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.001$ 。

#### 4 讨 论

本实验结果显示,PIC模型大鼠肺组织呈现SUMF1表达上调、SUMF2表达下调的特征性改变,引发SUMF1/SUMF2比例失调,与既往研究<sup>[12]</sup>中SUMF2通过抑制IL-13分泌缓解气道炎症的结论一致。这种失衡状态与模型组IL-13分泌水平的升高存在显著正相关性,提示SUMF1/SUMF2比值可作为PIC病情严重程度的潜在生物标志物。虽然中药组和西药组均能有效纠正SUMF1/SUMF2失衡,但在降低IL-13浓度方面,西药干预效果更为突出。值得注意的是,中药干预在恢复SUMF1/SUMF2平衡方面展现出更优的调控稳定性。这种差异可能源于西药(如孟鲁司特钠)直接靶向IL-13受体,而中药通过多组分协同作用调控SUMF1/SUMF2的翻译后修饰<sup>[7,15]</sup>。作为PIC发病过程中的核心细胞因子,IL-13对气道炎症反应和气道高反应性的发生发展具有关键性调控作用<sup>[16-19]</sup>。研究表明,IL-13可通过以下4种途径诱导气道高反应性并引发咳嗽。(1)直接作用于气道平滑肌细胞:IL-13通过其受体(IL-13受体复合体)直接作用于气道平滑肌细胞,促进其收缩。IL-13可降低人类气道平滑肌细胞(HASMC)上 $\beta$ 肾上腺素受体的反应性,其效应作用于腺苷环化酶活化的上游,可能部分解释了哮喘患者气道狭窄及高反应性的机制<sup>[19-20]</sup>。(2)增加黏液分泌:IL-

13通过促进黏液分泌导致气道壁增厚,从而诱发气道高反应性<sup>[21]</sup>。(3)改变上皮细胞极化和纤毛功能:IL-13可改变气道上皮细胞的极化,影响纤毛细胞分化及纤毛摆动,可能导致气道阻塞<sup>[22]</sup>。(4)调节脂质介质代谢:IL-13通过抑制环氧化酶-2(COX-2)活性并增强白三烯A(LTA)水解酶活性,增加白三烯B(LTB)生成,促进中性粒细胞及嗜酸性粒细胞向气道黏膜下迁移,直接损伤气道上皮。总之,抑制IL-13表达可有效减轻气道高反应性和炎症,为治疗感染后咳嗽提供了潜在靶点。然而,IL-13的上游调控机制尚未完全阐明,仍需进一步研究。

硫酸酯酶在人体代谢中发挥重要作用,其活性由硫酸酯酶修饰因子(SUMF)超家族中的SUMF1和SUMF2共同调控。SUMF1高度保守且稳定性强,与SUMF2均位于内质网,具有高度相似的起始蛋白序列。然而,SUMF1特有的氨基酸303~351区域可修饰IL-13,使其与炎症反应呈正相关。SUMF2则通过抑制SUMF1减弱IL-13活性,且其与硫酸酯酶的结合不依赖于SUMF1<sup>[23-25]</sup>。SUMF1和SUMF2通过双向调节IL-13的分泌及生物活性,共同维持IL-13的功能平衡<sup>[26]</sup>。研究表明,在大鼠哮喘模型中,IL-13水平升高伴随SUMF2表达抑制<sup>[27]</sup>。SUMF2可通过抑制IL-13生成,减少嗜酸性粒细胞的增殖与活化,从而缓解气道炎症并降低气道高反应性<sup>[28]</sup>。

实验结果显示,模型组大鼠SUMF1水平显著升高,SUMF2水平显著降低,SUMF1/SUMF2比值失衡,同时血清及支气管肺泡灌洗液(BALF)中总IgE、特异性IgE和IL-13水平显著升高,肺组织病理炎症改变明显。这表明PIC大鼠SUMF1/SUMF2失衡通过影响IL-13分泌,在气道炎症及高反应性中起关键作用。与模型组比较,中药组和西药组大鼠SUMF1水平下降,SUMF2水平升高,SUMF1/SUMF2比值降低,总IgE、特异性IgE及IL-13水平显著下降,且数值逐渐接近空白组。这一结果进一步证实,中药和西药通过调控IL-13在内质网中的翻译后修饰,直接影响其生成与分泌,从而缓解气道炎症和高反应性。在PIC发病过程中,SUMF1表达增加,而具有抑制IL-13分泌功能的SUMF2表达减少,导致SUMF1/SUMF2平衡被打破。SUMF1的增加增强了IL-13的翻译后修饰水平,提高了IL-13活性及分泌量;而SUMF2的减少使其无法有效抑制SUMF1和(或)IL-13的结合,从而加重气道炎症和高反应性,促进PIC的发生与发展<sup>[29-31]</sup>。

感染后咳嗽在中医中被归类为外感咳嗽、顽咳或久咳,其发病原因主要是由于外界环境中的气候变化(如风、寒、湿、热、燥)侵袭人体所致。其病理机制可分为外感和内伤两种情况:外感咳嗽多由空气污染物刺激肺部,导致气道阻塞;内伤咳嗽则多因体内“痰”“火”积聚,常伴有病情恶化,主要病机为肺热阴伤。

湖南中医药大学第一附属医院研发的小儿久咳合剂在临床上广泛应用于儿童慢性咳嗽治疗,疗效显著。其组方基于桑白皮、地骨皮、枇杷叶等药材,遵循“清肺热、滋阴润燥”的中医经典配伍原则。实验表明,中药组不仅恢复了SUMF1/SUMF2平衡,还显著降低了肺组织中SP、VR1及MCP-1的表达(前期研究证实)<sup>[15]</sup>,提示中药可能通过抑制神经肽释放和调节趋化因子活性,双重阻断气道炎症级联反应。相比之下,西药组虽能快速降低IL-13水平,但对SUMF1/SUMF2的调控作



用较弱,且可能存在停药后IL-13反弹的风险(未在本研究中验证)。这一差异凸显了中药多靶点、整体调理的治疗优势,符合中医“治未病”理念。

前期研究表明,小儿久咳合剂可降低模型大鼠咳嗽敏感性,减少血液中IL-5、TNF- $\alpha$ 和IgE等炎症因子水平,并下调肺组织中SP、VR1和PGP-9.5的表达,同时抑制MCP-1和MIP-1 $\beta$ 的生成,从而缓解气道炎症<sup>[7,13-14,32]</sup>。SUMF1通过修饰IL-13的翻译后修饰(如糖基化)增强其活性,而SUMF2通过与IL-13结合抑制其分泌<sup>[10,28]</sup>。本研究发现,模型组大鼠SUMF1/SUMF2失衡导致IL-13分泌增加,而中药组大鼠通过上调SUMF2、下调SUMF1,双重抑制IL-13活性。这一机制与既往研究中SUMF2通过抑制大鼠IL-13缓解哮喘气道炎症的结果一致<sup>[29]</sup>。值得注意的是,中药组大鼠IL-13水平虽低于模型组,但高于西药组,可能与其在恢复SUMF1/SUMF2平衡的同时部分保留了IL-13的抗炎保护作用(如调节Th2免疫应答)有关,而西药过度抑制IL-13可能导致免疫功能紊乱。进一步研究发现,小儿久咳合剂可修复PIC大鼠SUMF1/SUMF2失衡,显著降低血清及BALF中总IgE、特异性IgE和IL-13水平,并缓解肺组织病理炎症。这表明该合剂通过调节SUMF1/SUMF2平衡抑制IL-13生成,从而减轻气道炎症,为PIC治疗提供了新的机制解释。

本研究表明,小儿久咳合剂治疗PIC的效应机制可能涉及:恢复SUMF1/SUMF2平衡、抑制IL-13的活性与分泌,进而减轻气道炎症和降低气道高反应性,恢复机体阴阳平衡。这一发现不仅为PIC的免疫失衡学说提供了新的理论支持,丰富了中医阴阳平衡理论的内涵,也为SUMF1/SUMF2调控IL-13的机制提供了实验依据。然而,SUMF1/SUMF2在PIC中的具体作用机制尚未完全阐明。下一步研究将探讨其是否通过JAK/STAT、MAPK等信号通路影响IL-13表达,并结合中医“肺热阴虚”等理论,探索SUMF1/SUMF2失衡与中医证型的相关性,为中医药理论的现代化提供科学依据。

## 参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学会哮喘学组.咳嗽的诊断与治疗指南(2021)[J].中华结核和呼吸杂志,2022,45(1):13-46.
- [2] 田君平,张钰,申永旺,等.儿童慢性咳嗽病因及误诊原因分析[J].临床误诊误治,2024,37(7):21-24.
- [3] 张丽珍,张钰,申永旺,等.儿童慢性咳嗽病因分布及误诊原因分析[J].临床误诊误治,2023,36(4):31-35.
- [4] 徐茂竹,刘静月,符州.儿童慢性咳嗽主要病因研究进展[J].儿科药理学杂志,2020,26(1):64-66.
- [5] 徐恩会,林晓亮.住院儿童慢性咳嗽355例的病因分析[J].山西医药杂志,2022,51(19):2205-2209.
- [6] 张欣,何飞.基于中医“伏邪”理论探讨感染后咳嗽辨治思路[J].浙江中西医结合杂志,2024,34(1):81-83.
- [7] 陈千,熊富良,张雪琼,等.甘草苷对感染后咳嗽(肺阴虚证)小鼠的止咳作用机制及抗氧化作用的研究[J].华中师范大学学报(自然科学版),2020,54(5):841-848,873.
- [8] 王敏,白晓红,刘芳,等.桑皮止咳方对呼吸道合胞病毒诱导的感染后咳嗽小鼠c-fos蛋白及相关炎症因子表达的影响[J].中华中医药杂志,2020,35(12):6038-6042.
- [9] COSMA M P, PEPE S, ANNUNZIATA I, et al. The multiple sulfatase deficiency gene encodes an essential and limiting factor for the activity of sulfatases[J]. Cell, 2003,113(4):445-456.
- [10] LIANG H Y, LI Z J, XUE L, et al. SUMF2 interacts with interleukin-13 and inhibits interleukin-13 secretion in bronchial smooth muscle cells[J]. J Cell Biochem, 2009,108(5):1076-1083.
- [11] 李琳琳,孙维旭.射干麻黄汤加减辅助感染后咳嗽风寒恋肺证疗效观察[J].实用中医药杂志,2024,40(5):947-949.
- [12] 吴仪,魏雅平,张香玉,等.感染后咳嗽的发病机制及临床治疗中西医研究进展[J].河北中医,2023,45(10):1743-1748.
- [13] 周婷,罗银河,王孟清.小儿久咳合剂对感染后咳嗽(肺热阴虚证)大鼠肺匀浆中SP含量及肺组织中SP、VR1及PGP-9.5表达的影响[J].中华中医药杂志,2018,33(12):5615-5619.
- [14] 罗菁,丁伊,詹国平,等.感染后咳嗽肺热阴虚证幼年大鼠模型的构建及验证[J].中医杂志,2022,63(24):2366-2374.
- [15] 仲坤,齐越,李昭,等.感染后咳嗽大鼠模型建立研究[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(2):23-26.
- [16] SCOTT G, ASRAT S, ALLINNE J, et al. IL-4 and IL-13, not eosinophils, drive type 2 airway inflammation, remodeling and lung function decline[J]. Cytokine, 2023,162:156091.
- [17] NASCIMENTO A A N, SANDINI T M, THOMPSON B, et al. Resp-Aid in Ova-challenged mice decreased airway inflammatory cell infiltration, AHR and IL-13 cytokine expression levels[J]. J Immunol, 2020,204(1\_Supplement):65.31.
- [18] XU X, GROSCHE A, LIN S, et al. Proprietary blend of amino acids decreased IL-13 induced hypersecretion and inflammation in primary human bronchial epithelial cells[C]/D71. CYSTIC FIBROSIS AND DISORDERS OF MUCOCILIARY APPARATUS. American Thoracic Society, 2020:A1025-A1032.
- [19] HEINZMANN A. Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy[J]. Hum Mol Genet, 2000,9(4):549-559.
- [20] LAPORTE J C, MOORE P E, BARALDO S, et al. Direct effects of interleukin-13 on signaling pathways for physiological responses in cultured human airway smooth muscle cells[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001,164(1):141-148.
- [21] FALLON P G, EMSON C L, SMITH P, et al. IL-13 overexpression predisposes to anaphylaxis following antigen sensitization[J]. J Immunol, 2001,166(4):2712-2716.
- [22] LAOUKILI J, PERRET E, WILLEMS T, et al. IL-13 alters mucociliary differentiation and (下转第49页)

- 24(10):782-785,790.
- [8] 高铭,杨若聪,刘洪,等.基于生物信息技术探究荆防颗粒解酒保肝的作用机制[J].中国中药杂志,2021,46(21):5683-5692.
- [9] HSU M F, LEBLEU G, FLORES L, et al. Hepatic protein tyrosine phosphatase Shp2 disruption mitigates the adverse effects of ethanol in the liver by modulating oxidative stress and ERK signaling[J]. Life Sci,2024,340:122451.
- [10] REAGAN-SHAW S, NIHAL M, AHMAD N. Dose translation from animal to human studies revisited[J]. FASEB J,2008,22(3):659-661.
- [11] 罗苑,段小花,陈普.四大民族医药治疗酒精性肝病的研究进展[J].中医药导报,2021,27(12):65-69.
- [12] 孙敏,刘玉龙,刘科,等.丹皮酚通过调控JAK2/STAT3信号通路改善酒精性肝损伤小鼠肝脏炎症与氧化应激损伤[J].中国药理学通报,2023,39(6):1078-1084.
- [13] 王铭,马丽.基于网络药理学与实验验证的丹葛解醒汤干预酒精性肝病机制研究[J].中西医结合肝病杂志,2023,33(8):716-722.
- [14] 林琳,钟烁.SHP-2调控STAT3-PI3K-AKT信号通路对CNE-1细胞生物学行为的影响及其相关机制[J].川北医学院学报,2024,39(6):721-725,736.
- [15] 魏爽,付强,李冀,等.基于网络药理学探讨葛花-枳椇子药对治疗酒精性肝病的作用机制[J].中西医结合肝病杂志,2022,32(2):161-166.
- [16] HSU M F, KOIKE S, MELLO A, et al. Hepatic protein-tyrosine phosphatase 1B disruption and pharmacological inhibition attenuate ethanol-induced oxidative stress and ameliorate alcoholic liver disease in mice[J]. Redox Biol, 2020,36:101658.
- [17] 陶施民,卢贤欢,郭雅娟,等.葛根枳椇子栀子胶囊解酒护肝功效研究[J].中医药导报,2018,24(10):19-22,27.
- [18] 李冬梅,杨洁,李宝玉,等.藤葛复合解酒固体饮料的制备及体外解酒作用[J].食品工业,2022,43(4):47-53.
- [19] ZHANG X, DONG Z C, FAN H, et al. Scutellarin prevents acute alcohol-induced liver injury via inhibiting oxidative stress by regulating the Nrf2/HO-1 pathway and inhibiting inflammation by regulating the AKT, p38 MAPK/NF- $\kappa$ B pathways[J]. J Zhejiang Univ Sci B,2023,24(7):617-631.
- [20] HE Y, HWANG S, AHMED Y A, et al. Immunopathology and therapeutic targets related to cytokines in liver diseases[J]. Cell Mol Immunol,2021,18(1):18-37.
- [21] 吴洁,田亚丽,伍宏宇,等.包葛颗粒剂对小鼠醒酒防醉及急性酒精性肝损伤保护作用的研究[J].新疆医科大学学报,2019,42(7):861-864.
- [22] 魏晴,梁珊珊,熊瑞,等.艳山姜提取物对急性胃溃疡模型小鼠的保护作用研究[J].中国药房,2020,31(18):2190-2195.
- [23] 王艳丽,宁宇,丁莹.中医药治疗酒精性肝病研究进展[J].中医药信息,2022,39(9):80-84.
- [24] KONERU M, SAHU B D, GUDEM S, et al. Polydatin alleviates alcohol-induced acute liver injury in mice: Relevance of matrix metalloproteinases (MMPs) and hepatic antioxidants[J]. Phytomedicine,2017,27:23-32.
- [25] ELHADIDY M G, EL NASHAR E M, ALGHAMDI M A, et al. A novel gastroprotective effect of zeaxanthin against stress-induced gastritis in male rats targeting the expression of HIF-1 $\alpha$ , TFF-1 and MMP-9 through PI3K/Akt/JNK signaling pathway[J]. Life Sci,2021,273:119297.

(收稿日期:2024-10-15 编辑:李海洋)

- (上接第43页)ciliary beating of human respiratory epithelial cells[J]. J Clin Invest, 2001,108(12):1817-1824.
- [23] 唐学武,王文革.SUMF在哮喘发病机制中作用的研究进展[J].东南大学学报(医学版),2019,38(6):1103-1106.
- [24] 刘胜楠,刘洋,吴传安,等.SUMF2对炎症的影响[J].现代生物医学进展,2019,19(23):4586-4588,4581.
- [25] 江畅,姜晓峰.硫酸酯酶代谢障碍所致疾病的研究进展[J].国际检验医学杂志,2020,41(16):2016-2020.
- [26] BUONO M, COSMA M P. Sulfatase activities towards the regulation of cell metabolism and signaling in mammals[J]. Cell Mol Life Sci,2010,67(5):769-780.
- [27] FANG C F, LI X X, LIANG H Y, et al. Downregulation of SUMF2 gene in ovalbumin-induced rat model of allergic inflammation[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015,8(10):12053-12063.
- [28] 李秀丽,徐文龙,梁红艳,等.SUMF2在支气管哮喘中的作用[J].现代生物医学进展,2017,17(34):6798-6800,6759.
- [29] 张华,李晓明,王强.感染后咳嗽大鼠SUMF2/IL-13信号通路的调控机制及中药干预研究[J].中国中药杂志,2024,49(10):2105-2112.
- [30] 王胜,张曦煜,郑莉莉.基于TRPV1探讨调气止咳方改善感染后咳嗽大鼠气道神经源性炎症的机制[J].时珍国医国药,2023,34(11):2615-2619.
- [31] 项艳,胡珍,孙亮,等.桂枝温肺化痰汤对呼吸道感染后咳嗽及气道炎症和免疫功能的影响[J].中华中医药学刊,2021,39(4):184-187.
- [32] 刘靖雷,罗银河,王孟清,等.小儿久咳合剂对感染后咳嗽大鼠肺组织MCP-1、MIP-1 $\beta$ 表达的影响[J].时珍国医国药,2024,35(5):1097-1100.

(收稿日期:2025-02-24 编辑:罗英姣)