

银杏叶提取物下调 TLR4/NLRP3 信号保护 COPD 大鼠气道炎症损伤

潘颖¹,莫雪妮¹,王戈睿¹,冯玉青²,谢芳²,毛美玲¹,韦婷婷¹,向晶¹,黄连健¹,魏凡博¹,杨益宝²

(¹ 广西中医药大学研究生院,南宁 530011;² 广西中医药大学附属瑞康医院重症医学科,南宁 530023)

摘要 目的 探讨银杏叶提取物对慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠气道炎症损伤及 Toll 样受体 4(TLR4)/NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)通路的调控作用。方法 选取 36 只雄性 SD 大鼠,并随机将其分为四个组别:正常对照组、模型组、泼尼松治疗组以及银杏叶提取物治疗组,每组 9 只,除正常对照组外,其余各组均通过气管内灌注脂多糖(LPS)联合烟熏构建 COPD 大鼠模型。造模成功后连续给药 12 周,随后进行取材。观察大鼠的一般状况及呼吸系统症状。通过苏木精-伊红(HE)染色技术观察肺组织的病理变化;采用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)法和蛋白质印迹法(Western blot)法检测大鼠肺组织中 TLR4、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 NLRP3 的 mRNA 及蛋白表达水平。结果 与正常对照组相比,模型组大鼠肺组织明显受损,TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3 蛋白和 mRNA 表达增加($P < 0.05$)。与模型组相比,泼尼松组和银杏叶提取物组肺组织损伤减轻,TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3 蛋白和 mRNA 表达降低($P < 0.05$)。结论 银杏叶提取物可能通过抑制 TLR4/NLRP3 信号通路减少 COPD 大鼠肺组织 TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3 表达量,减轻其气道炎症反应。

关键词 银杏叶提取物;慢性阻塞性肺疾病;TLR4/NLRP3 信号通路;气道炎症;气道重塑;动物实验

中图分类号 R 563.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)10-1833-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.10.008

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种由气道和肺有害颗粒或气体所致的炎症因子异常释放、免疫细胞活性失调和气道重塑引起的慢性肺部炎症性疾病^[1]。COPD 全球倡议提出 COPD 导致的病死率约为 42/10 万人,且受环境污染、人口老龄化等因素影响,呈上升趋势^[2-3]。COPD 目前尚无特效药。因此,探寻新的、安全有效的临床治疗手段及药物干预,对提高患者生存率和生活质量至关重要。银杏叶提取物富含黄酮类化合物、萜内酯类等多种生物活性成分,具有抗氧化、抗感染、保护血管内皮细胞等作用^[4]。研究^[5-6]表明,银杏叶提取物能抑制 COPD 模型大鼠肺气肿的形成与发展及肺血管重塑,抑制炎症反应,提高机体免疫力,具有一定的治疗作用。Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)是一种可将先天免疫与特异性免疫联系起来的跨膜信号受体,可通过与脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)结合激活信号通

路,启动和发展气道炎症,NOD 样受体蛋白 3(nucleotide-binding oligomerization domain-containing 3, NLRP3)炎症小体促使了炎性因子的加工、成熟和释放,其两者组成了信号转导通路的上下游^[7]。研究^[8-9]表明,抑制 TLR4/NLRP3 通路表达可降低体内肺组织损伤和炎症细胞因子水平,但银杏叶提取物能否通过调控该通路影响 COPD 大鼠气道炎症尚不明确。因此,本研究将聚焦于 TLR4/NLRP3 信号通路,探讨银杏叶提取物对 COPD 大鼠气道炎症反应和气道结构重塑的影响,为 COPD 的预防与治疗提供创新性的理论支撑及坚实的科学实验证据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 36 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 190~230 g,均来源于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[生产许可证编号:SYXK(湘)2019-0001]。实验前,大鼠适应性喂养 1 周,期间提供标准饲料和自由饮水,昼夜光照周期调控,温度(25±2)℃,湿度 40%~60%,本实验经广西中医药大学附属瑞康医院医学伦理委员会批准(伦理号:DW20240319-027),并遵循 3R 原则。

1.1.2 药物与试剂 LPS(美国 Sigma 公司提供,

2025-07-06 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81874453);广西中医药大学校级科研项目(编号:2023ZD007)

作者简介:潘颖,女,硕士研究生;

杨益宝,男,主任医师,教授,硕士生导师,通信作者, E-mail:362311038@qq.com

10 mg/瓶,批号:L2880);过滤嘴香烟(真龙牌香烟,南宁卷烟厂生产,焦油含量 19.0 mg/支,尼古丁含量 1.2 mg/支);舒血宁注射液(河北神威药业有限责任公司,规格 5 mL/支,含 GBE 17.5 mg/支,其中总黄酮醇苷 4.2 mg/支,占比 24%;银杏内酯 0.7 mg/支,占比 4%,批号:221211c1);醋酸泼尼松片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:221124);苏木精染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,批号:BA-4041),肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)抗体、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)抗体、NLRP3 抗体、TLR4 抗体、 β -actin 抗体、羊抗兔二抗(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:29652-1-AP、29530-1-AP、30109-1-AP、19811-1-AP、20536-1-AP、RGAR001);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术公司,批号:P0012S);ECL 发光液(大连美伦生物技术有限公司,批号:MA0186-1);SYBR qPCR Master MIX(上海吐露港生物科技有限公司,批号:22208-sp)。

1.1.3 仪器 自制有机玻璃密封箱(规格:80 cm \times 60 cm \times 50 cm,顶部有一通气圆孔,直径为 2.0 cm);普通光学显微镜(德国徕卡公司,型号:DM500);实时荧光定量 PCR 仪(美国应用生物系统公司 ABI,型号:7500);凝胶成像分析仪(美国 Bio-Rad 伯乐公司,型号:UN HOOD II),全自动冷冻研磨仪(德国 RETSCH 莱驰公司,型号:Cryomill);全波长酶标仪(美国 BIOTEX 伯腾公司,型号:EP-OCH);高速多用途离心机、超低温冰箱(美国 Thermo Fisher 公司,型号:ST16、8930086V)。

1.2 方法

1.2.1 分组、造模及给药 将 36 只大鼠按照随机分配原则分为四个组别,分别为正常对照(Control)组、模型(Model)组、泼尼松(PNSZ)组、银杏叶提取物(GBE)组,每组各 9 只。参考文献^[10]的方法,除 Control 组外,其余各组均给予香烟烟熏吸入联合气管内灌注 LPS 诱导大鼠 COPD 模型:在造模的第 1 天和第 14 天,给大鼠腹腔注射 20% 乌拉坦进行麻醉,随后,将大鼠头高尾低仰卧状态固定在操作台上,将喉部露于外,向大鼠气管内滴注 LPS 100 μ L/100 g(1 mg/mL),注射完毕后,将大鼠直立旋转 10 ~ 20 s,以保证 LPS 在肺部均匀分布。在实验第 2 ~ 13 天、第 15 ~ 28 天,每日将大鼠置于自制烟熏箱(80 cm \times 60 cm \times 50 cm)内,暴露于香烟烟雾中 1 h,每次使用 30 支作为烟源,整个模型构建周期持续 28 d,结束后立即从每组中随机抽取 1 只处死,并对

其肺组织进行病理学检测,进而验证 COPD 模型是否构建成功。造模成功后,Control 组、Model 组均给予 0.9% 氯化钠溶液灌胃[10 mL/(kg \cdot d)],GBE 治疗组采取腹腔注射的方式给予舒血宁注射液,剂量设定为 0.4 mL/(kg \cdot d)(按照成人标准量 0.29 mL/kg,采用体表面积比值法:大鼠用量 = 成人量 \times 70/56),PNSZ 治疗组通过灌胃的途径给予泼尼松水溶液,剂量设定为 0.5 mg/(kg \cdot d)(按照成人标准量 0.4 mg/kg,采用体表面积比值法:大鼠用量 = 成人量 \times 70/56),各组处理均每日 1 次,连续 12 周。

1.2.2 标本采集 末次用药后,将各组大鼠以 20% 乌拉坦(5 mL/kg)腹腔注射麻醉后即刻处死,暴露大鼠胸腔,解剖取右肺,剪下上叶,经 4% 多聚甲醛溶液的充分固定,余右肺组织妥善保存于 -80 $^{\circ}$ C 超低温冰箱中,以供后续蛋白与 RNA 的提取分析。

1.2.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)法观察肺组织病理学变化 取大鼠右上肺组织,用 4% 多聚甲醛标准化固定 48 h,依次使用不同浓度的酒精对样本进行梯度脱水,之后将样本浸泡于二甲苯中,直至其变得透明,随后石蜡包埋并切割为厚度 3 μ m 的薄片,经过二甲苯的脱蜡与再次脱水后,置于伊红染液中着色,滴加封片胶并封固,将处理好的切片置于光学显微镜下,观察与分析各组肺组织的病理学变化。

1.2.4 Western blot 法检测 TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3、TLR4 蛋白表达量 从各组中取大鼠肺组织 20 mg,将其切割为微小碎片后,混入 RIPA 组织裂解液,在低温条件下高速匀浆肺组织确保使其充分裂解,随后在 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 25 min,吸取上清液以提取总蛋白,为了对各组样本的蛋白浓度进行标准化调整,选用 BCA 法精确测定各组肺组织样本的蛋白质浓度,在沸水中进行 10 min 的变性。每孔上样 30 μ g 进行凝胶电泳(80 V,20 min 后 120 V,60 min);湿法转膜 60 min、快速封闭液封闭 30 min,随后加入稀释好的一抗 TNF- α (1 : 1 000)、IL-1 β (1 : 3 000)、NLRP3(1 : 3 000)、TLR4(1 : 2 000)、 β -actin(1 : 5 000),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,膜经 3 次洗涤后,加入 1 : 5 000 稀释的羊抗兔二抗室温孵育 1 h,随后用 TBST 洗涤 3 次,以 ECL 超敏发光液显色,凝胶成像系统捕获图像,Image J 软件分析灰度值并计算各蛋白表达量。

1.2.5 实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time

quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 法检测 TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3、TLR4 mRNA 表达量。依据 RNA 提取试剂盒的操作流程,从肺组织样本中提取出总 RNA,并对其进行浓度测定。随后,参照反转录试剂盒的说明书,将所提取的 RNA 作为模板,进行反转录反应以获得单链 cDNA,最后,利用所获得的 cDNA 作为模板,执行聚合酶链式反应(PCR)扩增步骤,扩增条件为:95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$, 10 s;60 $^{\circ}\text{C}$, 30 s,共 40 个循环。以 β -actin 为内部参照,运用 $2^{-\Delta\Delta\text{C}_T}$ 算法相对定量样本中目的基因表达水平,引物序列信息见表 1。

表 1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Genes	Primer sequences(5'-3')	Product length(bp)
TNF- α	F:GATCGGTCCCAACAAGGAGG	137
	R:CTTGGTGGTTTGCTACGACG	
IL-1 β	F:AGCTCTCCACCTCAATGGAC	150
	R:GTGCCGTCTTTCATCACACAG	
NLRP3	F:TGCGTGTGTGTCAGGATCTCG	179
	R:AGCACAGTGAAGTAAGGCCG	
TLR4	F:GATCTGAGCTTCAACCCCTG	148
	R:GTACCAAGTTGAGAGCTGGT	
β -actin	F:ATCATTGCTCCTCTGAGCG	163
	R:CAGCTCAGTAACAGTCCGCC	

1.3 统计学处理 运用 SPSS 24.0 软件进行数据统计分析,服从正态分布特性且方差保持齐性的计量资料,用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述,ANOVA 方差分析检验评估多组间的差异性,LSD- t 检验进行组间比较,设定 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状况和呼吸系统症状 Control 组大鼠运动灵活,反应灵敏,毛发白亮,呼吸平稳。Model 组大鼠精神不振,反应迟缓,毛色偏黄无光泽,呼吸节律不稳、加深加快,时有咳嗽、咳喘、打喷嚏及口鼻分泌物增多等。上述 Model 组情况在 PNSZ 组与 GBE 组大鼠身上得到明显改善。

2.2 各组大鼠肺泡病理形态 Control 组大鼠肺泡结构基本完整,其周边区域未见明显炎性细胞浸润,且肺泡腔的容积与形态均维持于正常范围,未见扩大。Model 组大鼠肺泡结构明显紊乱,其周边区域显著分布炎性细胞的浸润灶,肺泡腔呈现不规则扩大,广泛观察到肺泡壁断裂与融合病理变化及肺大疱的形成。与 Model 组相比,经 PNSZ 治疗方案与 GBE 治疗方案干预的大鼠,其肺泡结构的紊乱程度

有所缓和,炎性细胞浸润密度相对较低,肺泡腔扩张趋于局限化,仅在部分区域可见肺泡壁断裂融合形成肺大疱,见图 1。各组大鼠标准肺泡数及平均肺泡面积比较,见表 2。

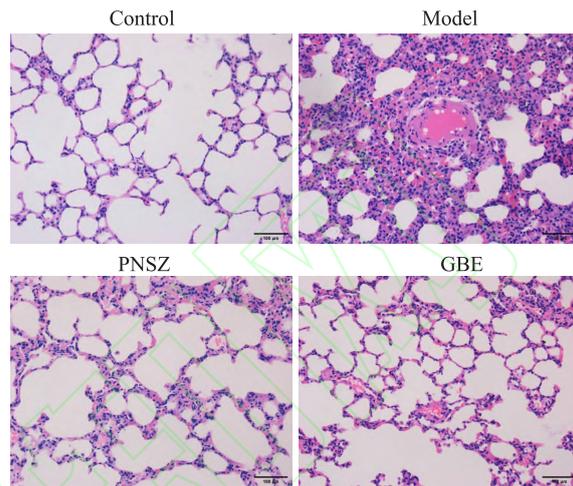


图 1 Control 组和 COPD 各组大鼠肺泡病理表现 HE $\times 100$
Fig.1 Pulmonary alveolar pathological manifestations in normal group and chronic obstructive pulmonary disease group HE $\times 100$

表 2 各组大鼠标准肺泡数及平均肺泡面积的比较($n = 7, \bar{x} \pm s$)
Tab.2 Comparison of standard alveolar number and average alveolar area of rats in each group($n = 7, \bar{x} \pm s$)

Group	Standard alveolar number	Average alveolar area
Control	325.0 \pm 21.691 01	4 259.835 4 \pm 273.328 04
Model	205.2 \pm 6.870 23	6 729.554 2 \pm 217.464 29
PNSZ	277.2 \pm 10.616 03	4 983.169 0 \pm 191.369 63
GBE	313.8 \pm 19.149 41	4 410.004 7 \pm 271.165 55

2.3 各组大鼠气管病理形态改变 Control 组大鼠支气管结构维持正常生理状态,管腔保持通畅,无狭窄,管壁未见异常增厚,纤毛以高度有序的方式排列,管腔周围未观察到炎性细胞的浸润。Model 组大鼠支气管结构出现显著的病理性改变,包括管腔的严重闭塞、管壁的明显增厚,纤毛排列杂乱无序,伴随显著的倒伏、断裂与脱落现象,管腔及其周围显著分布炎性细胞的浸润灶,并伴结缔组织异常增生。与 Model 组相比,PNSZ 治疗组与 GBE 治疗组大鼠在支气管结构损伤方面均有一定程度的改善,表现为支气管管腔狭窄程度缓解,管壁增厚现象减少,纤毛排列趋于规整,仅部分纤毛出现倒伏和脱落,管腔及其周围的炎性细胞浸润密度相对较低。见图 2。

2.4 各组大鼠肺组织中 TNF- α 、IL-1 β 、NLRP3、TLR4 mRNA 表达情况 相较于 Control 组,Model

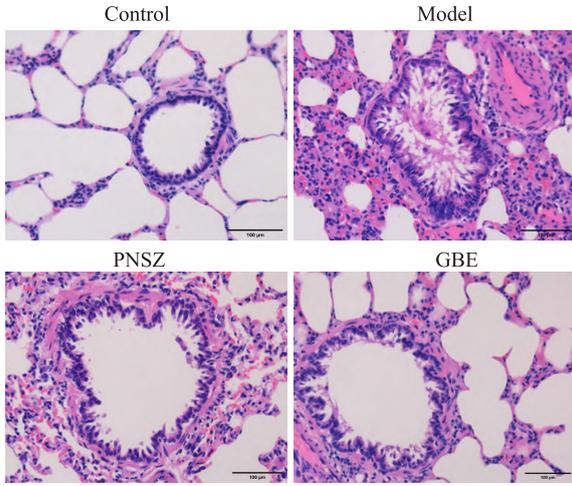


图2 Control组和COPD各组大鼠气道病理表现 HE × 100
Fig.2 Airway pathology of rats in normal control group and chronic obstructive pulmonary disease groups HE × 100

组大鼠肺组织中 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 mRNA 表达水平显著上调,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 相较于 Model 组, PNSZ 组与 GBE 组大鼠肺组织 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 mRNA 表达水平均显著下调,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图 3。

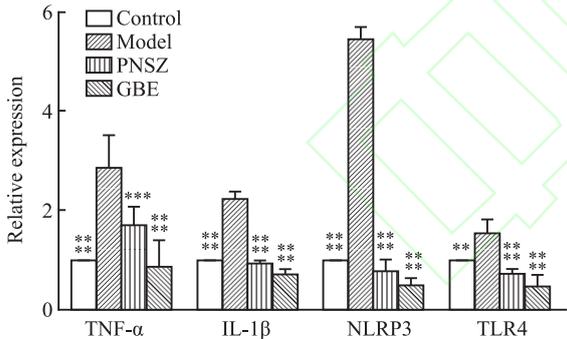


图3 各组大鼠肺组织 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 mRNA 表达量
Fig.3 The mRNA expression levels of TNF-α, IL-1β, NLRP3 and TLR4 in lung tissue of rats in each group
** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs Model group.

2.5 各组大鼠肺组织中 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 蛋白表达情况 相较于 Control 组, Model 组大鼠肺组织中 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 蛋白表达水平显著上调,差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 相较于 Model 组, PNSZ 治疗组与 GBE 治疗组大鼠肺组织 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 蛋白表达水平均显著下调,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图 4、5。

3 讨论

COPD是一种以持续的呼吸道症状和进行性气

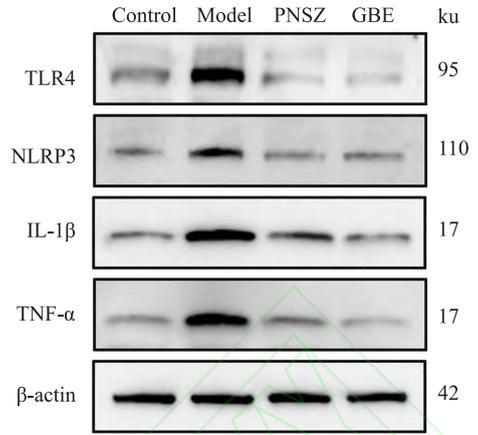


图4 各组大鼠肺组织 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 蛋白条带
Fig.4 Protein bands of TNF-α, IL-1β, NLRP3 and TLR4 in lung tissue of rats in each group

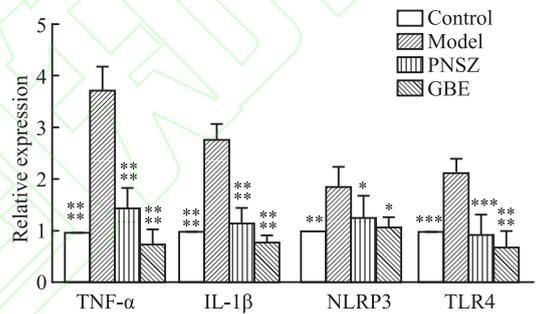


图5 各组大鼠肺组织 TNF-α、IL-1β、NLRP3、TLR4 蛋白表达量
Fig.5 Protein expression levels of TNF-α, IL-1β, NLRP3 and TLR4 in lung tissue of rats in each group
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs Model group.

流阻塞为特征的常见慢性呼吸系统疾病,其发病机制复杂,主要与氧化应激、炎症因子和信号通路的激活有关,气道慢性炎症是 COPD 的基本病理特征,表现为大量炎性细胞的浸润,这些炎性细胞通过释放 TNF-α、IL-1β 多种炎性因子引起炎症级联反应,最终导致组织修复和气道重塑失调^[11]。因此,减少炎性因子的释放和抑制气道炎症的是治疗 COPD 的关键。

本研究采用公认的香烟烟雾 + LPS 气管滴注法建立 COPD 动物模型,造模后大鼠出现烦躁不安、明显呼吸急促、咳嗽咳痰,肺组织病理改变是诊断 COPD 的标准,该研究显示模型组大鼠肺组织结构紊乱,有大量炎性细胞浸润,大量肺泡壁断裂融合形成肺大疱,与文献^[12]报道结果一致,提示慢阻肺大鼠模型建立成功。银杏叶提取物富含多种活性成分,这些成分在抗感染过程中发挥着关键作用,在榭

皮素对 LPS 诱导肺上皮细胞 A549 细胞的实验中显示,细胞中核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)蛋白表达增加,核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)蛋白表达减少,IL-1 β 、IL-6 和前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)等炎症因子表达减少,揭示槲皮素通过激活 Nrf2 通路、抑制 NF- κ B 通路的作用,抑制促炎基因的表达,激发抗感染效果^[13]。此外,槲皮素还可通过调控 p50 和 p65 亚基的核转位,抑制巨噬细胞促炎因子的基因表达,发挥抗感染作用^[14]。本实验肺组织病理结果表明,银杏叶提取物组较模型组肺组织结构稍紊乱,少量炎性细胞浸润,肺大疱程度明显减轻,说明银杏叶提取物可明显改善 COPD 大鼠的肺组织病理损伤和纤维化,并抑制炎性细胞因子分泌。在 COPD 的发生和发展过程中,中性粒细胞和巨噬细胞在氧化应激下大量在气道中激活和分化,随后引发细胞因子风暴,TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等是其关键细胞因子,是疾病恶化升级的原因。有研究^[6,15]表明,银杏叶提取物可以改善香烟诱导的大鼠气道炎症,降低急性肺损伤中促炎因子的水平。本实验结果表明,COPD 大鼠肺组织中的 TNF- α 和 IL-1 β 的蛋白和 mRNA 表达水平均显著增高,而银杏叶提取物的治疗能下调 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平,从而有效抑制慢阻肺引起的炎症反应和氧化应激反应。

TLR4/NLRP3 通路在调节机体免疫炎症反应方面具有重要作用,TLR4 与 LPS 结合后被激活,启动 NLRP3 炎症小体表达,进而引起促炎细胞因子产生^[16]。有研究^[17]表明,抑制 TLR4/NLRP3 通路可减少气管炎症细胞浸润,改善 COPD 大鼠肺损伤,减少肺纤维化;抑制肺组织中的 NLRP3 炎症小体的活化可降低肺部炎症反应,减少免疫细胞聚集,减轻肺泡破坏^[18]。本实验结果表明,COPD 模型大鼠肺组织的 TLR4、NLRP3 蛋白和 mRNA 均表达升高;经银杏叶提取物干预后,大鼠 TLR4、NLRP3 的蛋白和 mRNA 表达均明显降低,提示银杏叶提取物能抑制 TLR4/NLRP3 通路激活,继而减少 COPD 炎症反应,从而改善 COPD 肺损伤。

综上所述,银杏叶提取物可降低 COPD 模型动物肺组织 TLR4 与 NLRP3 的相对表达量,抑制炎症因子释放,减轻炎症反应,改善肺部病理变化和肺功能,缓解肺纤维化,可能是通过抑制 TLR4/NLRP3 信号通路发挥作用。但由于慢阻肺发病机制复杂,还需对银杏叶提取物的具体作用机制进行深入分

析,为慢阻肺的临床治疗提供新的思路和依据。

参考文献

- [1] Ou G, Zhu M, Huang Y, et al. HSP60 regulates the cigarette smoke-induced activation of TLR4-NF- κ B-MyD88 signalling pathway and NLRP3 inflammasome[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 103: 108445. doi:10.1016/j.intimp.2021.108445.
- [2] Tamondong-Lachica D R, Skolnik N, Hurst J R, et al. GOLD 2023 update: implications for clinical practice[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2023, 18: 745–54. doi:10.2147/COPD.S404690.
- [3] Bartzikas K, Papaporfiriou A, Hillas G, et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) recommendations: strengths and concerns for future needs[J]. *Postgrad Med*, 2023, 135(4): 327–33. doi:10.1080/00325481.2022.2135893.
- [4] 哈建利. 银杏叶提取物药理作用的生理基础及其临床应用[J]. *湖北职业技术学院学报*, 2024, 27(3): 102–6. doi:10.16347/j.cnki.cn42-1742/z.2024.03.003.
- [4] Ha J L. Physiological basis of pharmacological effects of Ginkgo biloba extract and its clinical application[J]. *J Hubei Polytech Inst*, 2024, 27(3): 102–6. doi:10.16347/j.cnki.cn42-1742/z.2024.03.003.
- [5] Xu A, Xu Y, Chen H, et al. Ginkgo biloba extract alleviates ferroptosis in lung epithelial cells induced by cigarette smoke extract through miR-3, 619-5p/GPX4 axis[J]. *Toxicol Res*, 2025, 14(1): tfae225. doi:10.1093/toxres/tafe225.
- [6] Tao Z, Bai S, Wu G, et al. Therapeutic effect of ginkgetin on smoke-induced airway inflammation by down-regulating the c/EBP β signaling pathway and CCL2 expression[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 331: 118284. doi:10.1016/j.jep.2024.118284.
- [7] Zhang C, Wang X, Wang C, et al. Qingwenzhike prescription alleviates acute lung injury induced by LPS via inhibiting TLR4/NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome activation[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 790072. doi:10.3389/fphar.2021.790072.
- [8] Tao X, Li J, He J, et al. Pinellia ternata (Thunb.) Breit. attenuates the allergic airway inflammation of cold asthma via inhibiting the activation of TLR4-mediated NF- κ B and NLRP3 signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 315: 116720. doi:10.1016/j.jep.2023.116720.
- [9] Zhang Q, Yang C, Ma S, et al. Shiwei Qingwen decoction regulates TLR4/NF- κ B signaling pathway and NLRP3 inflammasome to reduce inflammatory response in lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 313: 116615. doi:10.1016/j.jep.2023.116615.
- [10] 欧阳桂兰, 游柏稳. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立与比较[J]. *中西医结合研究*, 2023, 15(2): 86–90. doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2023.02.004.
- [10] Ouyang G L, You B W. Establishment and comparison of rat model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Res Integr Tradit Chin West Med*, 2023, 15(2): 86–90. doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2023.02.004.
- [11] Brightling C, Greening N. Airway inflammation in COPD: progress to precision medicine[J]. *Eur Respir J*, 2019, 54(2): 1900651. doi:10.1183/13993003.00651-2019.
- [12] Upadhyay P, Wu C W, Pham A, et al. Animal models and mechanisms of tobacco smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*,

2023, 26 (5): 275 – 305. doi: 10. 1080/10937404. 2023. 2208886.

- [13] Lv P, Han P, Cui Y, et al. Quercetin attenuates inflammation in LPS-induced lung epithelial cells *via* the Nrf2 signaling pathway [J]. *Immun Inflamm Dis*, 2024, 12(2): e1185. doi:10.1002/iid3.1185.
- [14] Hong Y H, Kim J H, Cho J Y. Ranunculus bulumei methanol extract exerts anti-inflammatory activity by targeting src/syk in NF- κ B signaling[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(4): 546. doi:10.3390/biom10040546.
- [15] Sherif I O, Al-Shaalan N H. Alleviation of chemotherapy-induced acute lung injury *via* NLRP3/ASC/Caspase-1 signaling pathway [J]. *Toxicol Res*, 2022, 11(3): 417 – 25. doi:10.1093/toxres/tafac021.
- [16] Zhang J, Xu Q, Sun W, et al. New insights into the role of NLRP3 inflammasome in pathogenesis and treatment of chronic ob-

structive pulmonary disease[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 4155 – 68. doi:10.2147/JIR.S324323.

- [17] 陈训春, 李名兰, 潘碧云, 等. TLR4/NF- κ B 信号通路激活 LncRNA RP11-20G6 调控慢性阻塞性肺疾病气道炎症和重塑 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(4): 586 – 93. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.015.
- [17] Chen X C, Li M L, Pan B Y, et al. Role of LncRNA RP11-20G6.3 and TLR4/NF- κ B signaling pathway in airway inflammation and remodeling in COPD[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(4): 586 – 93. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.015.
- [18] Qin Y, Zhai J, Yang J, et al. Effective-component compatibility of Bufeifei Yishen formula alleviates chronic obstructive pulmonary disease inflammation by regulating GSK3 β -mediated NLRP3 inflammasome activation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115614. doi:10.1016/j.biopha.2023.115614.

Ginkgo biloba extract down-regulates TLR4/NLRP3 signaling to protect airway inflammation in COPD rats

Pan Ying¹, Mo Xueni¹, Wang Gerui¹, Feng Yuqing², Xie Fang², Mao Meiling¹, Wei Tingting¹, Xiang Jing¹, Huang Lianjian¹, Wei Fanbo¹, Yang Yibao²

(¹Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011; ²Dept of Critical Care Medicine Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023)

Abstract Objective To explore the regulatory effects of ginkgo biloba extract on airway inflammatory injury and Toll-like receptor 4 (TLR4)/nucleotide-binding oligomerization domain-containing 3 (NLRP3) pathway in rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** Thirty-six male SD rats were selected and randomly divided into four groups: the normal control group, the model group, the prednisone treatment group, and the ginkgo biloba extract treatment group, with 9 rats in each group. Except for the normal control group, the COPD rat models in the other groups was constructed by intratracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS) combined with cigarette smoke exposure. After successful modeling, the rats were continuously administered drugs for 12 weeks, followed by sampling. The general conditions and respiratory symptoms of the rats were observed. The pathological changes of lung tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining technique; the mRNA and protein expression levels of TLR4, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and NLRP3 in rat lung tissues were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blot. **Results** Compared with the normal control group, the lung tissues of rats in the model group were significantly damaged, and the protein and mRNA expression of TLR4, TNF- α , IL-1 β , and NLRP3 increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, lung tissue damage was reduced in the prednisone group and the ginkgo biloba extract group, and TLR4, TNF- α , IL-1 β , NLRP3 protein and mRNA expression decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Ginkgo biloba extract may reduce TLR4, TNF- α , IL-1 β , and NLRP3 expression in lung tissues of COPD rats and alleviate their airway inflammatory response by inhibiting the TLR4/NLRP3 signaling pathway.

Key words ginkgo biloba extract; chronic obstructive pulmonary disease; TLR4/NLRP3 signaling pathway; inflammation of the airways; airway remodeling; animal experiment

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81874453); Scientific Research Project of Guangxi University of Chinese Medicine (No. 2023ZD007)

Corresponding author Yang Yibao, E-mail: 362311038@qq.com