槲皮素通过调控Jagged1/Notch1通路对急性支气管炎小鼠辅助性T细胞17/调节性T细胞免疫平衡及肺损伤的影响

黄　慧[1]，田　辉[2*]

1.武汉市中医医院综合药学部，武汉　430010；2.武汉市中医医院呼吸内科，武汉　430010

摘要：目的　探讨槲皮素（quercetin，QUE）通过调控Jagged1/Notch1信号通路对急性支气管炎小鼠辅助性T细胞17（T helper cell 17，Th17）/调节性T细胞（regulatory T cell，Treg）免疫平衡及肺组织损伤的影响。**方法**　将小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松（dexamethasone，DEX）（2 mg·kg^{-1} DEX）组、QUE（50 mg·kg^{-1} QUE）组、QUE＋Jagged1（50 mg·kg^{-1} QUE＋1 mg·kg^{-1} Jagged1）组，每组6只。采用苏木精-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色观察各组小鼠的肺组织及气管病理学形态变化；酶联免疫吸附试验检测小鼠支气管肺泡灌洗液上清中Th17/Treg免疫平衡相关细胞因子水平；实时荧光定量聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）技术检测组织中Th17/Treg细胞特异性基因的表达水平；免疫荧光染色法观察肺组织中Jagged1蛋白的表达情况；流式细胞术检测肺组织中Th17、Treg细胞的比例；蛋白免疫印迹实验检测Jagged1/Notch1通路相关蛋白的表达情况。**结果**　与对照组比较，模型组小鼠的气管组织可见大量粒细胞、淋巴细胞、单核细胞等炎症细胞弥漫性浸润，肺组织炎症损伤明显；小鼠支气管肺泡灌洗液中白细胞介素（interleukin，IL）-17A、IL-6、转化生长因子-β_1（transforming growth factor-β_1，TGF-β_1）、IL-10水平均显著升高，肺组织中信号转导与转录激活因子3（signal transduction and transcriptional activator 3，STAT3）、视黄酸受体相关孤儿受体γ亚型t（retinoic acid receptor-related orphan receptor γ，isoform t，RORγt）、TGF-β_1、叉头框蛋白P3（forkhead box protein P3，Foxp3）的mRNA表达水平及Th17细胞比例均显著升高（$P<0.05$），Jagged1、Notch1蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），而Treg细胞比例显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，DEX组和QUE组小鼠的气管组织炎症细胞浸润程度减轻，上皮细胞水肿症状缓解；肺组织中IL-17A、IL-6水平及STAT3、RORγt mRNA表达水平、Th17细胞比例均显著降低（$P<0.05$），TGF-β_1、IL-10水平及TGF-β_1、Foxp3 mRNA表达水平、Treg细胞比例均显著升高（$P<0.05$），Jagged1、Notch1蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与QUE组比较，QUE＋Jagged1组的肺组织炎症细胞浸润程度加重，Jagged1、Notch1蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），肺组织中IL-17A、IL-6水平及STAT3、RORγt mRNA表达水平、Th17细胞比例均显著升高（$P<0.05$），TGF-β_1、IL-10水平以及TGF-β_1、Foxp3 mRNA表达水平、Treg细胞比例均显著降低（$P<0.05$）。**结论**　QUE可通过抑制Jagged1/Notch1信号通路的激活，维持急性支气管炎小鼠体内Th17/Treg免疫平衡，进而减轻小鼠肺组织炎症损伤。

关键词：槲皮素；急性支气管炎；辅助性T细胞17/调节性T细胞免疫平衡；肺损伤；Jagged1/Notch1通路

DOI:10.3969/j.issn.1004-2407.2026.05.012

CSTR:32412.14.2026.05.012

中图分类号：R974　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1004-2407(2026)05-0087-08

Effects of quercetin on T helper cell 17/regulatory T cell immune balance and lung injury in mice with acute bronchitis by regulating the Jagged1/Notch1 pathway

HUANG Hui[1], TIAN Hui[2*]

1. Department of Integrative Pharmacy, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430010, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430010, China

Abstract: Objective To investigate the effects of quercetin (QUE) on T helper cell 17 (Th17)/regulatory T cell (Treg) immune balance and lung tissue injury in mice with acute bronchitis by regulating the Jagged1/Notch1 signaling pathway. **Methods** Mice were randomly divided into control group, acute bronchitis model group, DEX group (LPS＋DEX, 2 mg·kg^{-1}), QUE group (50 mg·kg^{-1}) and QUE＋Jagged1 group (1 mg·kg^{-1}), with 6 mice in each group. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological morphological changes of lung and tracheal tissues in each group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to detect the levels of cytokines related to Th17/Treg immune balance in the supernatant of bronchoalveolar lavage fluid. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was performed to detect the expression levels of Th17/Treg cell-specific genes in lung tissues. Immunofluorescence staining was used to observe the expression of Jagged1 protein in lung tissues. Flow cytometry was used to determine the proportions of Th17 and Treg cells in lung tissues. Western blotting was applied to detect

收稿日期：2025-03-07

基金项目：武汉市中医药科研项目（编号：WZ22C58）

*通信作者：田辉，主治医师。E-mail：iueky7@163.com

the expression levels of proteins related to the Jagged1/Notch1 signaling pathway. **Results** Compared with the control group, massive diffuse infiltration of granulocytes, lymphocytes, monocytes and other inflammatory cells was observed in the trachea of model group mice, accompanied by severe inflammatory injury in lung tissues. The levels of interleukin (IL)-17A, IL-6, transforming growth factor-β_1 (TGF-β_1) and IL-10 in bronchoalveolar lavage fluid were markedly elevated; the mRNA expression levels of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), retinoic acid receptor-related orphan receptor γt (RORγt), TGF-β_1 and forkhead box protein P3 (Foxp3) as well as the proportion of Th17 cells in lung tissues were significantly increased ($P<0.05$); the protein expression levels of Jagged1 and Notch1 were upregulated distinctly ($P<0.05$), whereas the proportion of Treg cells was remarkably decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the infiltration of inflammatory cells in tracheal tissues and edema of epithelial cells were alleviated in the DEX group and QUE group. The levels of IL-17A and IL-6, the mRNA expression of STAT3 and RORγt, and the proportion of Th17 cells in lung tissues were significantly reduced ($P<0.05$); the levels of TGF-β_1 and IL-10, the mRNA expression of TGF-β_1 and Foxp3, and the proportion of Treg cells were significantly increased ($P<0.05$); meanwhile, the protein expression of Jagged1 and Notch1 was notably downregulated ($P<0.05$). In comparison with the QUE group, inflammatory cell infiltration in lung tissues was aggravated in the QUE+Jagged1 group, the protein expression of Jagged1 and Notch1 was significantly increased ($P<0.05$); the levels of IL-17A and IL-6, the mRNA expression of STAT3 and RORγt, and the proportion of Th17 cells were significantly elevated ($P<0.05$); the levels of TGF-β_1 and IL-10, the mRNA expression of TGF-β_1 and Foxp3, and the proportion of Treg cells were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** QUE maintains Th17/Treg immune balance and alleviates pulmonary inflammatory injury in mice with acute bronchitis by inhibiting the activation of the Jagged1/Notch1 signaling pathway.

Key words: quercetin; acute bronchitis; Th17/Treg immune balance; lung injury; Jagged1/Notch1 pathway

急性支气管炎是临床高发的呼吸道疾病，儿童、老年人、重度吸烟者、哮喘患者及存在潜在呼吸功能障碍的人群，更易在病毒感染、脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）等诱导因素刺激下诱发该病[1]。流行病学研究结果显示，急性支气管炎在冬春季的发病率显著升高，且随着空气污染日趋严重，临床新增病例数量逐年上升，严重影响民众身心健康与生活质量[2]。急性支气管炎以支气管黏膜炎症为核心病理改变，典型临床表现为咳嗽、咳痰。目前，临床以应用抗生素为主要治疗方法，但长期、大剂量应用抗生素会导致细菌耐药、肠道菌群紊乱，进一步加重药物毒性和不良反应[3]。因此，开展急性支气管炎新型治疗药物的相关研究，对改善患者预后、预防肺组织损伤具有重要的临床意义。

槲皮素（quercetin，QUE）是广泛存在于苹果、洋葱、坚果、浆果、花椰菜、卷心菜等天然食材中的黄酮类化合物，具有良好的生物活性，在心血管保护、抗炎、抗氧化、抗过敏、抗肿瘤、抗病毒等多个药理领域均发挥积极作用[4]。已有研究证实，QUE可有效改善由香烟烟雾、肺部缺氧等诱因导致的急性肺损伤，抑制肺组织炎症反应和氧化应激损伤，具有良好的肺保护活性[5-6]。但目前尚无研究阐释QUE对肺部免疫微环境的具体分子机制。

Jagged1/Notch1信号通路在物种进化中高度保守，是调控动物生长发育、组织稳态和疾病发生、发展的关键通路[7]。现有研究结果表明，抑制骨髓来源间充质干细胞中Jagged1/Notch1通路的激活，可有效抑制细胞凋亡、炎症反应和氧化应激，缓解胆道缺血再灌注损伤[8]；下调Jagged1/Notch1通路活性，可以抑制肺组织中炎性分子的表达，减轻细支气管炎模型小鼠的肺组织损伤[9]。基于此，本研究基于Jagged1/Notch1信号通路，探究QUE对急性支气管炎小鼠Th17/Treg免疫平衡及肺损伤的干预效应与分子机制，旨在为QUE应用于急性支气管炎临床治疗提供实验依据，同时为该病的治疗挖掘新的、潜在的靶点。

1 仪器与材料

1.1 仪器

YAN-30012型肺部液体雾化给药器（上海玉研科学仪器有限公司）；PA43 BIO型光学显微镜、PA53 FS6型荧光显微镜，均购自麦克奥迪实业集团有限公司；Varioskan ALF型全自动酶标仪、iBright™ FL1500型凝胶成像系统，均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；CytoFLEX型流式细胞仪（美国Beckman Coulter Life Sciences公司）。

1.2 试药

QUE（批号为HY-N0133，质量分数为98.0%）、地塞米松（dexamethasone，DEX，批号为HY-14648）、Jagged1（批号为HY-P1846A）、兔源一抗Jagged1（批号为HY-P80195）、Notch1（批号为HY-P80768）、Alexa Fluor 594偶联的羊抗兔二抗（批号为HY-P8003），均购自美国Med Chem Express公司；苏木精-伊红（hematoxylin eosin，HE）染色试剂盒

（批号为S20202-2，上海尚宝生物科技有限公司）；白细胞介素（interleukin，IL）-17A酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（批号为E-EL-M0047）、IL-6 ELISA试剂盒（批号为E-EL-M0044）、转化生长因子-β_1（transforming growth factor-β_1，TGF-β_1）ELISA试剂盒（批号为E-EL-0162）、IL-10 ELISA试剂盒（批号为E-EL-M0046），均购自武汉伊莱瑞特生物有限公司；反转录试剂盒（批号为RR037A）、定量聚合酶链式反应（polymerase chain reaction，PCR）试剂盒（批号为RR420A），均购自北京宝日医生物技术有限公司；辣根过氧化物（horseradish peroxidase，HRP）偶联的羊抗兔二抗（批号为SA00001-2）、兔源甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）一抗（批号为10494-1-AP）、流式异硫氰酸荧光素标记抗人CD3单克隆抗体（FITC-labeled anti-human CD3 monoclonal antibody，FITC-CD3，批号为FITC-65060）、别藻蓝蛋白（APC）标记的CD4抗体（APC-conjugated anti-CD4 antibody，APC-CD4，批号为APC-FcA65655）、PE-IL-17A（批号为PE-98005）、PE-CD25（批号为PE-65137），均购自武汉三鹰生物技术有限公司；FITC-Foxp3抗体（批号为ab210230，英国Abcam公司）。

1.3　实验动物

6～8周龄无特定病原体（specific pathogen free，SPF）级雄性BALB/c小鼠，体质量为（20.0±2.0）g，购自湖北贝恩特生物科技有限公司，动物生产许可证号：SCXK（鄂）2021-0027。所有小鼠均饲养于恒温25 ℃、12 h昼夜节律循环的标准饲养环境中，自由摄食、饮水。本研究所有动物实验操作均经贝恩特生物中心动物审查委员会审核、批准。

2　方法

2.1　模型构建与动物分组

将小鼠采用随机数字表法分为对照组、模型组、DEX组、QUE组、QUE＋Jagged1组，每组6只。除对照组外，其余各组小鼠均采用气溶胶吸入LPS的方式构建急性支气管炎模型：小鼠麻醉固定后，轻柔暴露舌体，将肺部液体雾化给药器缓慢插入气道，以5 mg·kg^{-1}剂量雾化吸入质量浓度1 mg·mL^{-1}的LPS，雾化后小鼠解除固定并轻柔翻转，使LPS在气道内均匀分布[1]。造模成功后，DEX组腹腔注射2 mg·kg^{-1} DEX；QUE组腹腔注射50 mg·kg^{-1} QUE[10]；QUE＋Jagged1组腹腔注射50 mg·kg^{-1} QUE联合1 mg·kg^{-1} Jagged1蛋白[9]；对照组和模型组均腹腔注射等量生理盐水。每日1次，持续给药1周。各组小鼠性别、初始体质量、周龄比较，差异均无统计学意义，饲养条件一致，组间具有可比性。见表1。

表1　各组大鼠基本情况的比较（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab. 1 Comparison of the basic conditions of rats in each group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

项目	初始体质量/g	周龄/周
对照组	22.3±1.4	7.0±0.5
模型组	22.1±1.3	7.1±0.6
DEX组	22.5±1.4	7.2±0.5
QUE组	22.7±1.5	7.2±0.5
QUE＋Jagged1组	22.4±1.3	7.1±0.4
F	0.157	0.165
P	0.958	0.954

2.2　样本的采集与处理

各组小鼠给药干预完成后，采用脱颈法处死小鼠。向右肺气道内缓慢注入500 μL磷酸盐缓冲液，反复洗涤5次，收集支气管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF），离心后分离上清液和细胞沉淀，分别保存用于后续炎症因子检测与基因检测。快速分离小鼠左肺组织，取左肺上叶组织和气管组织置于体积分数4%多聚甲醛溶液中固定，用于病理染色；左肺中叶于4 ℃冷藏保存，用于流式细胞术检测；左肺下叶置于－80 ℃超低温冰箱中冻存，备用。

2.3　HE染色观察病理学形态

取固定过夜的左上肺气管组织，清水洗涤后通过梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋处理，制成4 μm连续组织切片。切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水后，依次进行苏木精染色、伊红复染，中性树脂封片。置于光学显微镜下观察各组小鼠的肺组织和气管病理形态变化并拍照。

2.4　ELISA检测BALF上清液中炎症因子的水平

严格按照各ELISA试剂盒说明书操作，检测各组小鼠BALF上清液中IL-17A、IL-6、TGF-β_1、IL-10的表达水平。采用酶标仪测定各待测样本在450 nm波长处的吸光度值，根据标准曲线计算对应的炎症因子水平。

2.5　实时荧光定量聚合酶链式反应（quantitative real-time polymerase chain reaction，qRT-PCR）检测Th17/Treg相关特异性基因mRNA的表达

使用TRIzol试剂提取BALF细胞沉淀中的总RNA，使用逆转录试剂盒将RNA反转录合成

cDNA。以cDNA为模板，通过实时荧光定量qPCR试剂盒扩增转导与转录激活因子3(signal transduction and transcriptional activator 3，STAT3)、视黄酸受体相关孤儿受体γ亚型t(RAR-related orphan receptor gamma, isoform t，RORγt)、TGF-β_1、叉头框蛋白P3(forkhead box protein P3，Foxp3)和内参基因β-肌动蛋白(β-actin)序列。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算各目的基因mRNA的相对表达水平。引物序列见表2。

表2 Th17/Treg相关特异性基因的引物序列

Tab. 2 The primers of Th17/ Treg-related specific genes

基因名称	引物序列(5'→3')
β-actin	F:CACTGTCGAGTCGCGTCC
	R:TCATCCATGGCGAACTGGTG
STAT3	F:GCAGGGCCTACAATGCCAAC
	R:GAACCAGGGCCGTGTAGAGG
RORγt	F:CAGCCATGATCAGCCTCCCA
	R:TAGAGCTGGCTCCCTGGACA
TGF-β_1	F:GCCACTGCCCATCGTCTACT
	R:CACTTGCAGGAGCGCACAAT
Foxp3	F:CAGCCATGATCAGCCTCCCA
	R:TAGAGCTGGCTCCCTGGACA

2.6 免疫荧光染色检测Jagged1蛋白的表达

将石蜡切片在37 ℃干燥过夜，使用体积分数1% Triton-X100穿透处理后，用体积分数0.5%牛血清白蛋白封闭后，使用1∶200稀释的Jagged1一抗，4 ℃孵育过夜。充分洗涤后，使用Alexa Fluor 594标记二抗，避光室温孵育；再次洗涤后使用4'，6-二脒基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole，DAPI)染液避光染色，于荧光显微镜下观察各组肺组织Jagged1荧光表达情况并采集图像。

2.7 流式细胞术检测Th17、Treg细胞的比例

取小鼠左肺中叶组织，充分剪碎后采用胶原酶联合DNA酶混合消化，经70 μm细胞筛过滤制备单细胞悬液。向细胞悬液中加入FITC-CD3、APC-CD4表面抗体，4 ℃避光孵育30 min；PBS洗涤、离心弃上清后，采用体积分数4%多聚甲醛室温固定15 min，破膜缓冲液(0.1% Triton X-100/PBS)冰上透化10 min。随后加入PE-IL-17A、PE-CD25、FITC-Foxp3胞内抗体，4 ℃避光孵育30 min。采用流式细胞仪检测并分析Treg($CD25^+FOXP3^+$)、Th17($CD4^+IL\text{-}17^+$)细胞的占比。

2.8 Western blotting检测通路蛋白的表达

取于－80 ℃冰冻的肺组织，置于液氮中充分研磨后，待温度恢复至常温后加入放射免疫沉淀测定(radioimmunoprecipitation assay，RIPA)裂解液提取总蛋白，离心后上清采用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid，BCA)法测定蛋白浓度。加入蛋白上样缓冲液，沸水浴变性8 min。通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白，转印至聚偏二氟乙烯膜后室温封闭2 h。使用1∶2 000稀释的Jagged1、Notch1一抗，4 ℃孵育过夜；洗膜后加入对应二抗室温孵育1.5 h。充分洗膜后，使用超敏化学发光试剂显影成像，ImageJ 1.53k软件定量分析各目的蛋白的相对表达量。

2.9 统计学方法

采用Graphpad Prism 7.0软件对数据进行处理。计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示。方差齐性数据使用单因素方差分析联合Tukey's检验进行多组间比较；方差不齐数据使用Kruskal-Wallis H秩和检验联合Dunnett-T3检验进行多组间比较。$P<0.05$为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠肺组织病理形态的变化

对照组小鼠的肺组织结构完整清晰，肺泡形态规则、大小均匀，无充血水肿现象，气管上皮细胞排列整齐、形态完好，肺间质及肺泡腔内未见明显炎症细胞浸润，无病理性损伤改变。与对照组比较，模型组小鼠的气管及肺组织中可见大量粒细胞、淋巴细胞、单核细胞弥漫性浸润，气管上皮细胞水肿、损伤严重。与模型组比较，DEX组和QUE组小鼠的肺组织炎症细胞浸润减少，气管上皮水肿症状显著缓解，细胞排列趋于规整。与QUE组比较，QUE+Jagged1组小鼠的肺组织炎症细胞浸润程度加重，气管上皮细胞水肿损伤加重。见图1。

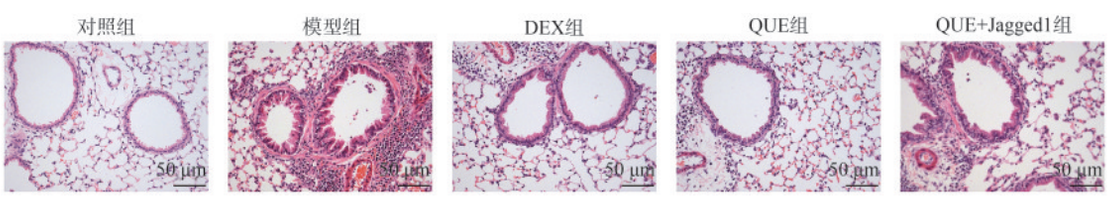


图1 HE染色观察各组小鼠的肺组织形态

Fig. 1 HE staining results of lung tissue morphology of mice in each group

3.2　QUE对小鼠BALF炎症因子水平的影响

与对照组比较，模型组小鼠BALF中IL-17A、IL-6、TGF-β_1、IL-10水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，DEX组与QUE组促炎因子IL-17A、IL-6水平均显著降低，抗炎因子TGF-β_1、IL-10水平均显著升高（$P<0.05$）。与QUE组比较，QUE+Jagged1组的IL-17A、IL-6水平均显著升高，TGF-β_1、IL-10水平均显著降低（$P<0.05$）。见表3。

表3　各组急性支气管炎小鼠BALF中IL-17A、IL-6、TGF-β_1和IL-10水平的比较（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab. 3 Comparison of expression levels IL-17A, IL-6, TGF-β_1 and IL-10 in BALF of mice with acute bronchitis in each group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

项目	IL-17A/(pg·mL^{-1})	IL-6/(pg·mL^{-1})	TGF-β_1/(pg·mL^{-1})	IL-10/(pg·mL^{-1})
对照组	19.14±3.37	175.18±64.73	21.24±3.17	41.76±36.17
模型组	57.95±8.29^{a}	857.61±142.25^{a}	41.37±6.82^{a}	95.21±15.42^{a}
DEX组	20.26±3.96^{b}	241.36±50.82^{ab}	79.83±15.19^{ab}	221.93±38.26^{ab}
QUE组	21.42±3.72^{b}	262.52±49.61^{ab}	77.62±14.25^{ab}	226.42±41.59^{ab}
QUE+Jagged1组	58.37±9.43^{acd}	828.93±146.19^{acd}	49.45±8.64^{acd}	99.86±19.38^{acd}
F/H	F=65.174	H=68.046	H=32.900	F=40.183
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与DEX组比较，$^{c}P<0.05$；与QUE组比较，$^{d}P<0.05$。

3.3　QUE对小鼠Th17/Treg相关基因mRNA表达的影响

与对照组比较，模型组小鼠BALF中STAT3、RORγt、TGF-β_1、Foxp3 mRNA相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，DEX组与QUE组的STAT3、RORγt mRNA相对表达量均显著降低，TGF-β_1、Foxp3 mRNA相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。与QUE组比较，QUE+Jagged1组的STAT3、RORγt mRNA相对表达量均显著升高（$P<0.05$），TGF-β_1和Foxp3 mRNA相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。见表4。

表4　各组小鼠BALF中STAT3、RORγt、TGF-β_1和Foxp3 mRNA表达水平的比较（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab. 4 Comparison of mRNA levels of STAT3, RORγt, TGF-β_1 and Foxp3 in BALF of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

项目	STAT3	RORγt	TGF-β_1	Foxp3
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	1.83±0.28^{a}	2.34±0.31^{a}	1.31±0.19^{a}	1.29±0.16^{a}
DEX组	1.15±0.14^{b}	1.21±0.16^{b}	2.24±0.31^{ab}	2.67±0.32^{b}
QUE组	1.18±0.16^{b}	1.19±0.15^{b}	2.15±0.34^{ab}	2.53±0.29^{b}
QUE+Jagged1组	1.72±0.21^{acd}	2.40±0.33^{acd}	1.37±0.18^{acd}	1.25±0.17^{acd}
H	24.835	55.232	32.337	77.144
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与DEX组比较，$^{c}P<0.05$；与QUE组比较，$^{d}P<0.05$。

3.4　QUE对小鼠肺组织中Jagged1蛋白表达的影响

与对照组比较，模型组小鼠肺组织Jagged1蛋白阳性率显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，DEX组和QUE组的Jagged1蛋白阳性率均显著降低（$P<0.05$）。与QUE组比较，QUE+Jagged1组的Jagged1阳性率显著升高（$P<0.05$）。见图2。

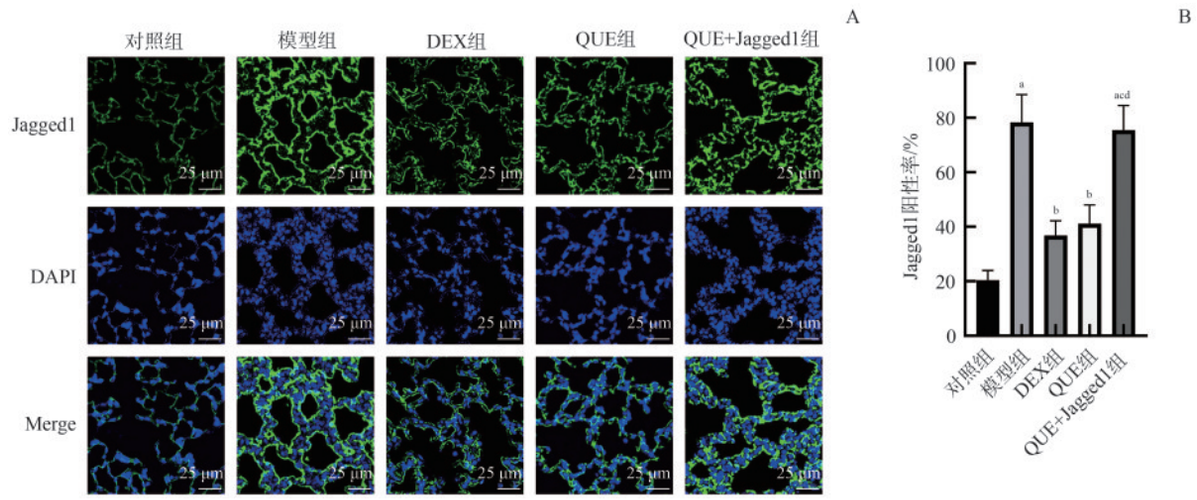
3.5　QUE对小鼠肺组织Th17、Treg细胞比例的影响

与对照组比较，模型组小鼠的肺组织Th17细胞比例显著升高，Treg细胞比例显著降低（$P<0.05$）。与模型组比较，DEX组与QUE组的Th17细胞比例均显著降低，Treg细胞比例均显著升高（$P<0.05$）。与QUE组比较，QUE+Jagged1组的Th17细胞比例显著升高，Treg细胞比例显著降低（$P<0.05$）。见图3、表5。

3.6　QUE对Jagged1/Notch1通路蛋白表达的影响

与对照组比较，模型组小鼠的肺组织Jagged1、Notch1蛋白相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。与模型组比较，DEX组和QUE组的Jagged1、Notch1蛋白相对表达量均显著降低（$P<0.05$）。与QUE组比

较，QUE＋Jagged1组的Jagged1、Notch1蛋白相对表达量均显著升高（$P<0.05$）。见图4，表6。



注：A.各组小鼠肺部组织中Jagged1免疫荧光染色结果；B.各组小鼠肺部组织中Jagged1蛋白阳性率的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）；与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与DEX组比较，$^{c}P<0.05$；与QUE组比较，$^{d}P<0.05$。

图2 QUE对小鼠肺组织中Jagged1蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Fig. 2 The effect of QUE on the expression of Jagged1 protein in the lung tissue of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

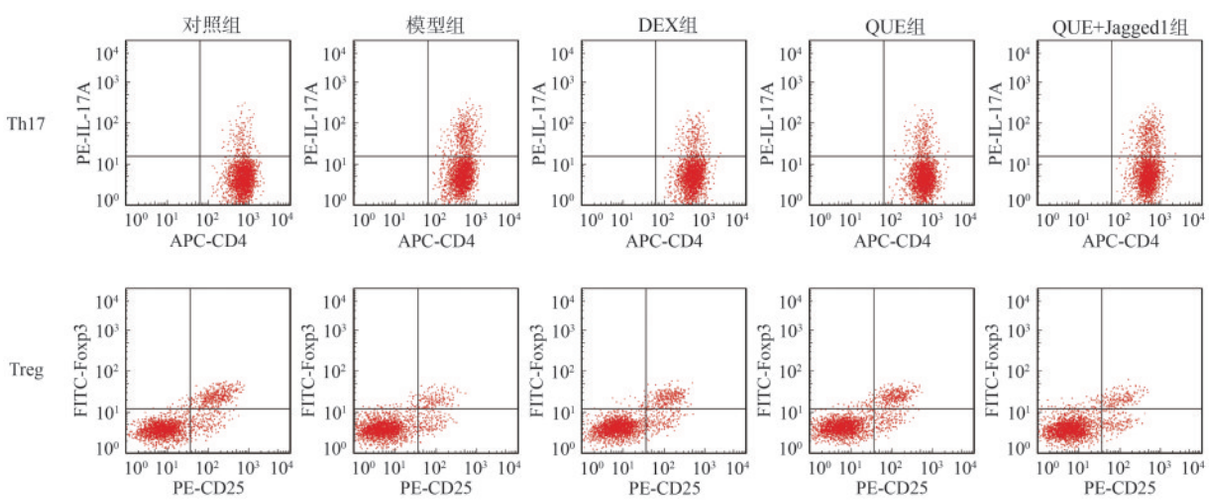


图3 各组小鼠肺组织中Th17和Treg细胞比例的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Fig. 3 Comparison of the proportions of Th17 and Treg cells in the lung tissues of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表5 各组小鼠肺部组织中Th17和Treg细胞比例的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Tab. 5 Comparison of the proportions of Th17 and Treg cells in the lung tissues of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

项目	Th17	Treg
对照组	1.82%±0.31%	8.25%±0.58%
模型组	5.47%±0.42%^{a}	3.48%±0.39%^{a}
DEX组	2.26%±0.28%^{b}	6.79%±0.52%^{b}
QUE组	1.91%±0.23%^{b}	6.94%±1.05%^{b}
QUE＋Jagged1组	5.23%±1.12%^{acd}	3.68%±0.47%^{acd}
F	61.650	65.390
P	<0.001	<0.001

注：与对照组比较，$^{a}P<0.05$；与模型组比较，$^{b}P<0.05$；与DEX组比较，$^{c}P<0.05$；与QUE组比较，$^{d}P<0.05$。

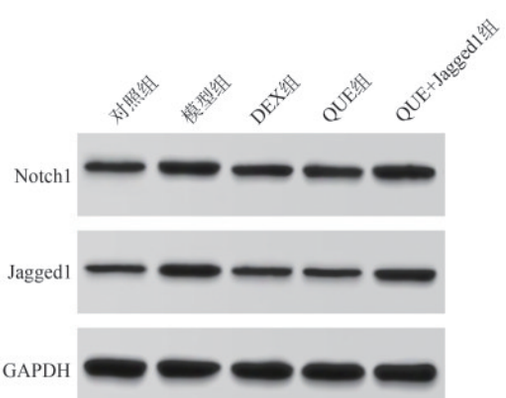


图4 各组小鼠肺部组织中Jagged1和Notch1水平的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Fig. 4 Comparison of Jagged1 and Notch1 levels in lung tissues of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

表6　各组小鼠肺部组织中Jagged1和Notch1水平的比较（$\bar{x}\pm s$，n=6）

Tab. 6 Comparison of Jagged1 and Notch1 levels in lung tissues of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, n=6)

项目	Jagged1/GAPDH	Notch1/GAPDH
对照组	0.28±0.05	0.53±0.10
模型组	0.62±0.09[a]	0.87±0.13[a]
DEX组	0.31±0.06[b]	0.58±0.11[b]
QUE组	0.34±0.06[b]	0.60±0.09[b]
QUE＋Jagged1组	0.65±0.10[acd]	0.83±0.12[acd]
F	34.803	11.892
P	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，[a]P＜0.05；与模型组比较，[b]P＜0.05；与DEX组比较，[c]P＜0.05；与QUE组比较，[d]P＜0.05。

4　讨论

急性支气管炎的发病通常与病毒感染、外源性致炎因子刺激密切相关，致病因素可激活机体免疫系统，诱导分泌大量炎性细胞因子，进而引发气道炎症损伤；呼吸功能障碍人群为该病的易感群体，发病个体存在一定差异，但核心病理机制均以气道炎症浸润、免疫紊乱为主[1,11]。现有研究已证实，炎症反应是急性支气管炎发生、发展的重要机制，致病因子可刺激支气管分泌IL-6、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）等大量促炎介质，多种信号通路共同参与调控炎症进程[1,12]。既往临床研究发现，急性支气管炎患者普遍存在机体免疫功能障碍，其中Th17细胞和Treg细胞及相应细胞因子的失衡是介导气道炎症损伤、加重病情进展的关键免疫学机制[13]。Th17细胞可通过激活STAT3/RORγt信号通路，促进IL-17A、IL-6等促炎因子产生，加剧肺部炎症损伤；而Treg细胞可通过Foxp3转录因子调控，促进TGF-β_1、IL-10等抗炎因子产生，抑制炎症过度反应，因此Th17/Treg平衡具有重要的免疫调节功能[14]。本研究结果显示，由LPS诱导的急性支气管炎模型小鼠肺组织存在粒细胞、淋巴细胞、单核细胞等大量炎症细胞弥漫性浸润，肺组织中IL-17A、IL-6、TGF-β_1和IL-10水平以及STAT3、RORγt、TGF-β_1和Foxp3 mRNA水平均显著降低，而Th17细胞比例升高，Treg细胞比例显著降低，Th17/Treg免疫平衡被打破，表明急性支气管炎小鼠模型构建成功。

QUE作为天然黄酮类活性化合物，凭借广谱的抗炎、抗氧化、抗过敏、抗肿瘤、抗病毒药理活性，在多种炎症性疾病的防治研究中被广泛报道[4-6]。已有研究表明，QUE可下调肺组织中IL-1β、TNF-α等炎性细胞因子表达、提升机体抗氧化能力，有效缓解肺缺血再灌注损伤、氧化应激损伤及细胞凋亡[15]；同时可抑制中性粒细胞活性，减轻关节炎症、肺纤维化等多种炎症性病理变化[16-17]。本研究结果与既往研究的结果一致，QUE干预可显著减轻急性支气管炎小鼠肺组织炎症细胞浸润，下调促炎因子IL-17A、IL-6及STAT3、RORγt mRNA的表达，上调抗炎因子TGF-β_1、IL-10及TGF-β_1、Foxp3 mRNA的表达，有效维持Th17/Treg免疫平衡，抑制肺组织过度炎症反应，发挥肺组织保护作用。

Jagged1/Notch1是调控组织炎症、细胞增殖与分化的经典保守通路，其异常激活可参与多种炎症性疾病的发生、发展[18]。已有研究表明，靶向抑制Jagged1/Notch1通路可有效抑制炎症因子释放，缓解细支气管、心肌缺血再灌注损伤等炎症病变[9,19-20]。本研究结果显示，LPS可诱导小鼠肺组织Jagged1、Notch1蛋白高表达，表明Jagged1/Notch1通路异常激活参与急性支气管炎发病进程；QUE干预可显著下调通路蛋白表达，抑制通路激活。而外源性补充Jagged1激活通路后，QUE对急性支气管炎小鼠肺部炎症的改善作用、对Th17/Treg免疫平衡的调控效应均被显著逆转，表明QUE可通过抑制Jagged1/Notch1通路溶化，进而维持Th17/Treg免疫平衡，缓解急性支气管炎小鼠肺损伤。

综上所述，QUE可通过抑制Jagged1/Notch1信号通路的异常激活，纠正急性支气管炎小鼠肺组织Th17/Treg免疫平衡，减轻气道炎症浸润与肺组织损伤，具备成为急性支气管炎新型治疗药物的潜力。但本研究仍存在一定局限性，仅聚焦Th17/Treg免疫平衡及Jagged1/Notch1单通路机制开展研究，未验证QUE对小鼠整体生存状态的改善效果，也未排除其他信号通路的调控作用。后续研究将进一步完善实验体系，从多角度深入探究QUE治疗急性支气管炎的分子机制，为其临床转化应用提供更全面的实验支撑。

参考文献：

[1] Yang N, Li C, Tian G, et al. Organic acid component from *Taraxacum mongolicum* Hand. -Mazz alleviates inflammatory injury in lipopolysaccharide-induced acute tracheobronchitis of ICR mice through TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2016, 34: 92-100.

[2] Meyburg J, Ries M. Decision-making in acute viral bronchiolitis: A universal guideline and a publication gap[J].

PLoS One,2020,15(8):e0237801.
[3] Virgili F,Nenna R,Di Mattia G,et al. Acute bronchiolitis: The less,the better?[J]. CPR,2024,20(3):216-223.
[4] Azeem M, Hanif M, Mahmood K, et al. An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: A review[J]. Polym Bull (Berl),2023,80(1):241-262.
[5] da Silva Araújo N P, de Matos N A, Leticia Antunes Mota S, et al. Quercetin attenuates acute lung injury caused by cigarette smoke both *in vitro* and *in vivo*[J]. COPD,2020,17(2):205-214.
[6] Tripathi A, Kumar B, Sagi S S K. Hypoxia-mediated alterations in pulmonary surfactant protein expressions: Beneficial effects of quercetin prophylaxis[J]. Respir Physiol Neurobiol,2021,291:103695.
[7] Pancewicz J, Niklinska W, Eljaszewicz A. Anti-Jagged1 immunotherapy in cancer[J]. Adv Med Sci,2022,67(2):196-202.
[8] Yasen A,Feng J,Xie X M,et al. Exosomes derived from TGF-β_1-pretreated mesenchymal stem cells alleviate biliary ischemia-reperfusion injury through Jagged1/Notch1/SOX9 pathway[J]. Int Immunopharmacol,2023,119:110253.
[9] 赵兴艳,汤正珍,岳春,等. 橙皮苷调控Jagged1/Notch1通路对巨噬细胞极化及细支气管炎小鼠肺损伤的影响[J]. 中国医学科学院学报,2022,44(5):777-784.
Zhao Xingyan, Tang Zhengzhen, Yue Chun, et al. Hesperidin regulates Jagged1/Notch1 pathway to promote macrophage polarization and alleviate lung injury in mice with bronchiolitis[J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae, 2022,44(5):777-784.
[10] Sang A, Wang Y, Wang S, et al. Quercetin attenuates sepsis-induced acute lung injury *via* suppressing oxidative stress-mediated ER stress through activation of SIRT1/AMPK pathways[J]. Cell Signal,2022,96:110363.
[11] Schubert N,Kühlein T,Burggraf L. The conceptualization of acute bronchitis in general practice-a fuzzy problem with consequences? A qualitative study in primary care[J]. BMC Prim Care,2023,24(1):92.
[12] Kızılsoy Ö F, Korkmaz M F, Şenkan G E, et al. Relationship between the systemic immune-inflammatory index and the severity of acute bronchiolitis in children[J]. Lab Med,2024,55(2):169-173.
[13] Tu Z,Xue H,Chen W,et al. Changes of Treg and Th17 cells as well as cytokines in children with acute bronchitis[J]. Exp Ther Med,2017,14(4):3846-3850.
[14] Xiang Q, Yu Q, Wang H, et al. Immunomodulatory effect of *Ganoderma atrum* polysaccharides on Th17/Treg balance[J]. J Funct Foods,2018,45:215-222.
[15] Yousefi Zardak M, Keshavarz F, Mahyaei A, et al. Quercetin as a therapeutic agent activate the Nrf2/Keap1 pathway to alleviate lung ischemia-reperfusion injury[J]. Sci Rep,2024,14(1):23074.
[16] Yuan K, Zhu Q, Lu Q, et al. Quercetin alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting neutrophil inflammatory activities[J]. J Nutr Biochem,2020,84:108454.
[17] Ding S,Jiang J,Li Y. Quercetin alleviates $PM_{2.5}$-induced chronic lung injury in mice by targeting ferroptosis[J]. PeerJ,2024,12:e16703.
[18] Xiu M X,Liu Y M,Kuang B H. The oncogenic role of Jagged1/Notch signaling in cancer[J]. Biomed Pharmacother,2020,129:110416.
[19] Andrieu G,Tran A H,Strissel K J,et al. BRD4 regulates breast cancer dissemination through Jagged1/Notch1 signaling[J]. Cancer Res,2016,76(22):6555-6567.
[20] Liang Y, Yin C, Lu X I, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells protect lungs from smoke inhalation injury by differentiating into alveolar epithelial cells *via* Notch signaling[J]. J Biosci,2019,44(1):2.