

• 基础研究 •

Wortmannin 通过 PI3K/Akt/Caspase-9 通路抑制博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化

杨珊珊¹, 马忠全², 胡浩原², 闫飞²

[1. 临沂市中医医院肺病科(呼吸科), 山东 临沂 276000; 2. 费县妇幼保健院公共卫生科, 山东 临沂 273400]

[摘要] **目的** 探讨 Wortmannin 通过磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 通路抑制博莱霉素 (BLM) 诱导的小鼠肺纤维化 (PF) 的作用及分子机制。**方法** 采用随机数字表法将 36 只雄性小鼠分为生理盐水对照组 (A 组)、BLM 模型组 (B 组)、BLM+Wortmannin 干预组 (Wortmannin 0.175、0.350、0.700 mg/kg, C、D、E 组) 和二甲基亚砜溶剂对照组 (F 组), 每组 6 只。BLM (5 mg/kg) 气管内注射建立 PF 模型, 干预组连续 21 d 尾静脉注射 Wortmannin。通过苏木精-伊红/Masson 染色评估肺组织病理变化情况, 检测羟脯氨酸含量, 采用蛋白质印迹/免疫组织化学分析 PI3K/Akt 通路相关蛋白 Akt、磷酸化 Akt (p-Akt)、半胱天冬酶-9 (Caspase-9)、磷酸化半胱氨酸蛋白酶 9 (p-Caspase-9) 的表达。**结果** 与 A 组比较, B、F 组小鼠肺泡结构破坏明显, 羟脯氨酸含量及 p-Akt、p-Caspase-9 表达均明显升高, Caspase-9 表达明显降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$)。C、D、E 组小鼠纤维化程度呈剂量依赖性减轻, 与 B 组比较, D、E 组小鼠羟脯氨酸含量均明显下降, p-Akt、p-Caspase-9 表达均明显受抑制, Caspase-9 活化明显增强, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。F、B 组小鼠纤维化程度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** Wortmannin 通过抑制 PI3K/Akt 通路磷酸化、促进 Caspase-9 依赖性凋亡, 明显减轻 BLM 诱导的小鼠 PF, 其抗纤维化效应具有剂量依赖性, 但高剂量 (0.700 mg/kg) 可能部分受补偿性信号通路调控。

[关键词] 磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B; 半胱天冬酶-9; Wortmannin; 博莱霉素; 肺纤维化**DOI:** 10.3969/j.issn.1009-5519.2026.03.021 **中图法分类号:** R563**文章编号:** 1009-5519(2026)03-0583-07**文献标识码:** A

Wortmannin inhibits bleomycin-induced pulmonary fibrosis via the PI3K/Akt/Caspase-9 pathway

YANG Shanshan¹, MA Zhongquan², HU Haoyuan², YAN Fei²

[1. Department of Pulmonary Diseases (Department of Respiratory Medicine), Linyi Traditional Chinese Medicine Hospital, Linyi, Shandong 276000, China; 2. Department of Public Health, Feixian Maternal and Child Health Hospital, Linyi, Shandong 273400, China]

[Abstract] **Objective** To investigate the effects and molecular mechanisms of Wortmannin in inhibiting bleomycin (BLM)-induced pulmonary fibrosis (PF) in mice via the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway. **Methods** A total of 36 male mice were randomly divided into six groups using a random number table: normal saline control group (group A), BLM model group (group B), BLM + Wortmannin intervention groups (Wortmannin doses: 0.175, 0.350, 0.700 mg/kg; group C, D, E), and dimethyl sulfoxide solvent control group (group F), with six mice in each group. PF was induced by intratracheal instillation of BLM (5 mg/kg). Wortmannin was administered via tail vein injection for 21 consecutive days. Histopathological changes in lung tissues were assessed by hematoxylin-eosin staining and Masson staining. Hydroxyproline content and the expression of PI3K/Akt pathway-related proteins [Akt, phosphorylated Akt (p-Akt), Caspase-9, phosphorylated Caspase-9 (p-Caspase-9)] were analyzed by western blot and immunohistochemistry. **Results** Compared with group A, groups B and F showed marked alveolar structural destruction, significantly increased hydroxyproline content, elevated expression of p-Akt and p-Caspase-9, and decreased Caspase-9 expression ($P < 0.001$). The degree of pulmonary fibrosis in Groups C, D, and E was attenuated in a dose-dependent manner. Compared with Group B, Groups D and E showed significantly decreased hydroxyproline content, significantly inhibited expression of p-Akt and p-Caspase-9, and significantly enhanced Caspase-9 activation, with statistically significant differences ($P < 0.05$). No significant difference was

作者简介: 杨珊珊 (1989—), 硕士研究生, 主治医师, 主要从事间质性肺病基础和临床研究工作。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20251112.0940.002\(2025-11-12\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20251112.0940.002(2025-11-12))

degrees of fibrosis in mice observed between groups B and F ($P > 0.05$). **Conclusion** Wortmannin significantly ameliorates BLM-induced PF in mice by inhibiting PI3K/Akt pathway phosphorylation and promoting Caspase-9-dependent apoptosis. Its antifibrotic effect is dose-dependent; however, high-dose Wortmannin (0.700 mg/kg) may be partially modulated by compensatory signaling pathways.

[Key words] Phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B; Caspase-9; Wortmannin; Bleomycin; Pulmonary fibrosis

肺纤维化(PF)是一种以肺泡结构破坏、成纤维细胞异常增殖、细胞外基质(ECM)过度沉积为特征的终末期肺部疾病,其病理过程伴随持续性炎症反应和不可逆肺组织瘢痕化^[1]。尽管 PF 患者早期病情进展隐匿,但急性加重期可导致肺功能急剧恶化,短期内即可出现呼吸衰竭,甚至死亡,临床预后极差^[2]。目前,糖皮质激素、免疫抑制剂等传统治疗手段仅能部分缓解患者症状,无法逆转纤维化进程,而肺移植因供体稀缺、术后并发症、高昂费用等限制其难以普及^[3]。因此,深入解析 PF 的分子机制并开发靶向治疗药物已成为呼吸疾病研究的核心方向。有研究表明,磷酸肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路的异常激活可促进成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,并通过抑制凋亡信号导致 ECM 过度沉积,最终加速纤维化进程^[4]。Wortmannin 作为一种真菌来源的 PI3K 特异性抑制剂,可通过与 PI3K 催化亚基 p110 结合,非竞争性抑制其活性^[5]。体外研究表明,100 nmol/L 的 Wortmannin 可明显抑制 95% 的 PI3K 活性,且在此浓度下对细胞凋亡的诱导作用可控^[6]。值得注意的是,近期研究提示,Wortmannin 可能通过抑制 PI3K 下游效应分子 Akt 的磷酸化(p-Akt)发挥抗纤维化作用,而非直接靶向 PI3K,但其具体机制尚未明确^[7-8]。这一争议突显了阐明 Wortmannin 作用靶点的必要性。

博莱霉素(BLM)诱导的小鼠 PF 模型因其病理特征与人类特发性 PF(IPF)高度相似,被广泛用于药物机制研究^[9]。该模型的时间依赖性病理分期明确,注射后 7 d 内以急性炎症反应为主,7~14 d 进入胶原合成高峰期,21 d 时肺组织呈现典型的纤维化表现^[10]。本研究基于此模型,通过动态观察 Wortmannin 对 PI3K/Akt 通路及其下游凋亡效应分子半胱天冬酶-9(Caspase-9)的调控作用,旨在揭示其抗纤维化的分子机制,为 PF 的靶向治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 36 只无特定病原体级 C57BL/6J 雄性小鼠购自徐州医科大学实验动物中心[许可证号:SCXK(苏)2020-0008],6~8 周龄,体重 22~28 g。所有小鼠于平均温度(22 ± 2)℃、平均湿度(55 ± 5)%、12 h 昼夜循环的屏障环境中适应性饲养 1 周,自由摄食饮水。实验遵循《实验动物福利伦理审查指南》(GB/T 35892-2018)。本研究获临沂市中医医院医

学伦理委员会批准(20150053)。

1.1.2 试剂 BLM 购自日本化药株式会社(批号 BLM-01)溶于 0.9% 生理盐水至最终质量浓度为 5 mg/mL;Wortmannin 购自美国 Selleckchem 公司(批号 S2752),以二甲基亚砜(DMSO, Sigma-Aldrich, 批号 D2650)配制为母液(10 mmol/L),临用前以生理盐水稀释至 0.175、0.350、0.700 mg/kg;兔抗 Akt(批号 ab32505)、兔抗 p-Akt(Ser473,批号 ab81283)、兔抗 Cleaved Caspase-9(批号 ab32539)均购自美国 Abcam 公司;兔抗 Caspase-9(批号 BSU-001)购自美国 Bioworld 公司; β -actin 抗体(批号 TA-09)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;Masson 染色试剂盒、羟脯氨酸检测试剂盒(批号 A030-2)均购自南京建成生物工程研究所(批号 D026),免疫组织化学(免疫组化)试剂盒购自北京中杉金桥公司(批号 PV-9000),蛋白质印迹化学发光底液购自美国 Thermo Scientific 公司(Pierce™ ECL,批号 32106)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 采用随机数字表法分组,首先将 36 只小鼠按体重由低至高排序,使用 SPSS16.0 统计软件生成 36 个不重复随机数,将随机数按顺序赋予小鼠编号,将小鼠按随机数从小至大重新排序并分为 A、B、C、D、E、F 组,每组 6 只。A 组为生理盐水对照组,气管内滴注 50 μ L 生理盐水;B 组为 BLM 模型组,参照文献[11],气管内单次注射 BLM(5 mg/kg, 50 μ L);C、D、E 组为 Wortmannin 干预组,BLM 造模后 24 h 开始分别尾静脉注射 Wortmannin 0.175、0.350、0.700 mg/kg(溶剂为含 1% DMSO 的生理盐水),每天 1 次,连续 21 d;F 组为溶剂对照组,尾静脉注射等体积含 1% DMSO 的生理盐水。各组小鼠于造模后 21 d 以 10% 水合氯醛(0.3 mL/100 g)麻醉,腹主动脉放血处死后完整剥离肺组织,用滤纸吸干新鲜肺组织表面液体,称取湿重。将右肺中叶在 4% 的多聚甲醛中固定 24 h 后用于组织学检测,其余肺组织则分装后于 -80℃ 冻存,用于羟脯氨酸及蛋白分析。

1.2.2 实验方法

1.2.2.1 肺组织病理学检测 固定后的肺组织经梯度乙醇脱水、石蜡包埋,制备 4 μ m 厚切片。分别行苏木精-伊红(HE)染色及 Masson 染色。HE 染色评估肺泡炎及组织结构破坏程度;Masson 染色按试剂盒说明书操作,胶原纤维染为蓝色,计算胶原容积分数。

1.2.2.2 羟脯氨酸含量测定 取冻存肺组织 10 mg,

液氮研磨后按羟脯氨酸试剂盒说明书进行酸水解、氧化及比色测定(波长 560 nm)。以标准曲线计算羟脯氨酸含量(组织)。

1.2.2.3 免疫组化检测 石蜡切片经柠檬酸钠抗原修复(微波法, 95 °C、15 min), 用 3% 的过氧化氢阻断内源性过氧化物酶后依次滴加一抗(p-Akt 1 : 200; Caspase-9 1 : 150, 4 °C 孵育过夜)、HRP 标记二抗(室温 1 h), 二氨基联苯胺显色, 苏木素复染核。阴性对照以磷酸盐缓冲液替代一抗。染色结果采用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析积分光密度值。

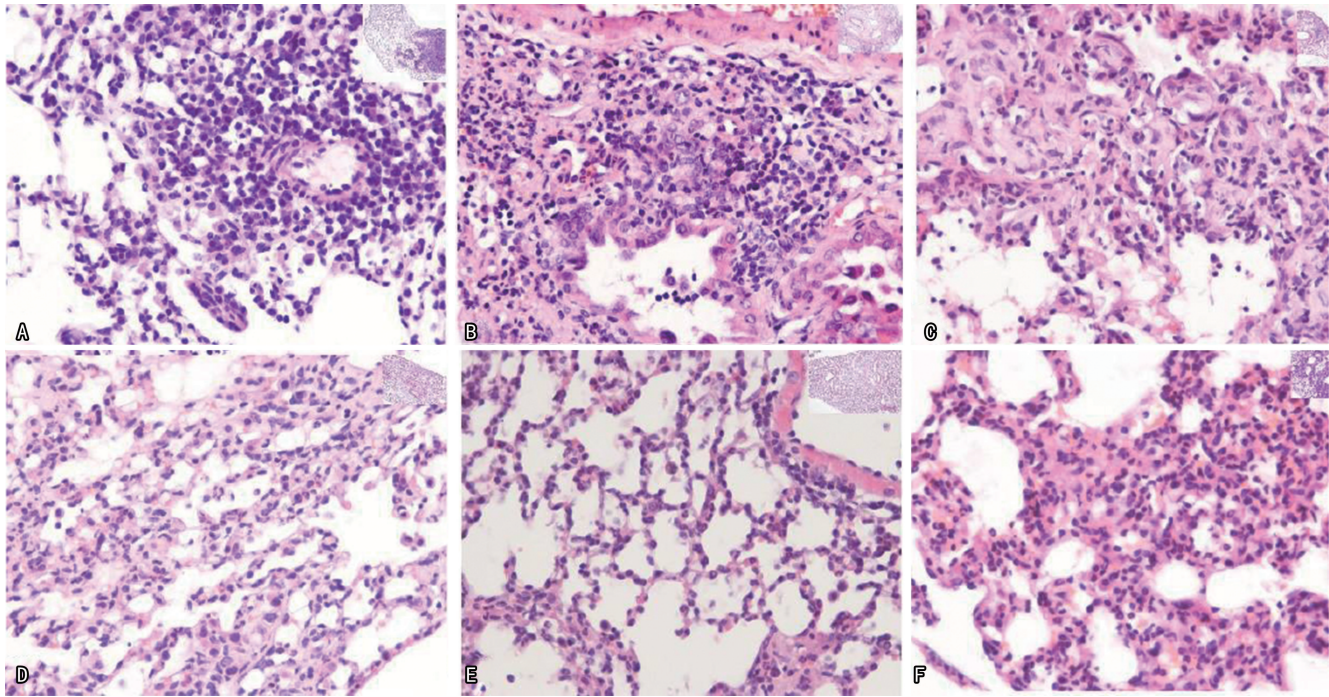
1.2.2.4 蛋白质印迹检测 将肺组织匀浆后提取总蛋白, 采用二喹啉甲酸蛋白浓度测定试剂盒进行定量检测。取 30 μg 蛋白经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺电泳后转印至聚偏氟乙烯膜, 然后用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 孵育一抗(Akt 1 : 1 000; p-Akt 1 : 800; Caspase-9 1 : 1 000; β -actin 1 : 5 000, 4 °C 过夜), AP 标记二抗(1 : 5 000, 室温 2 h) 结合后, 5-溴-4-氯-3-吲

哚-磷酸盐/亚硝基蓝四氮唑显色。以 β -actin 为内参, ImageJ 分析目标蛋白灰度值。

1.3 统计学处理 应用 SPSS16.0 统计学软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 首先进行方差齐性检验, 方差齐则采用 LSD 法进行组间比较, 方差不齐采用 Welch 法和 Brown-Forsythe 法进行校正。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组小鼠肺组织病理形态变化比较 B、F 组小鼠肺泡炎症较 A 组明显, 肺泡间隔增宽, 可见大量成纤维细胞及胶原纤维增生。D、E 组肺泡炎症均较 B 组明显减轻, 肺泡间隔较窄, 仅见少量的成纤维细胞及胶原纤维增生。见图 1。B、F 组小鼠胶原纤维较 A 组明显增多, 成片状; D、E 组小鼠胶原纤维均较 B 组明显减少。见图 2。



注: A. A 组(生理盐水对照组); B. B 组(BLM 模型组); C~E. C~E 组(Wortmannin 干预组); F. F 组(溶剂对照组)。

图 1 各组小鼠肺组织病理学变化比较(HE, 400 \times)

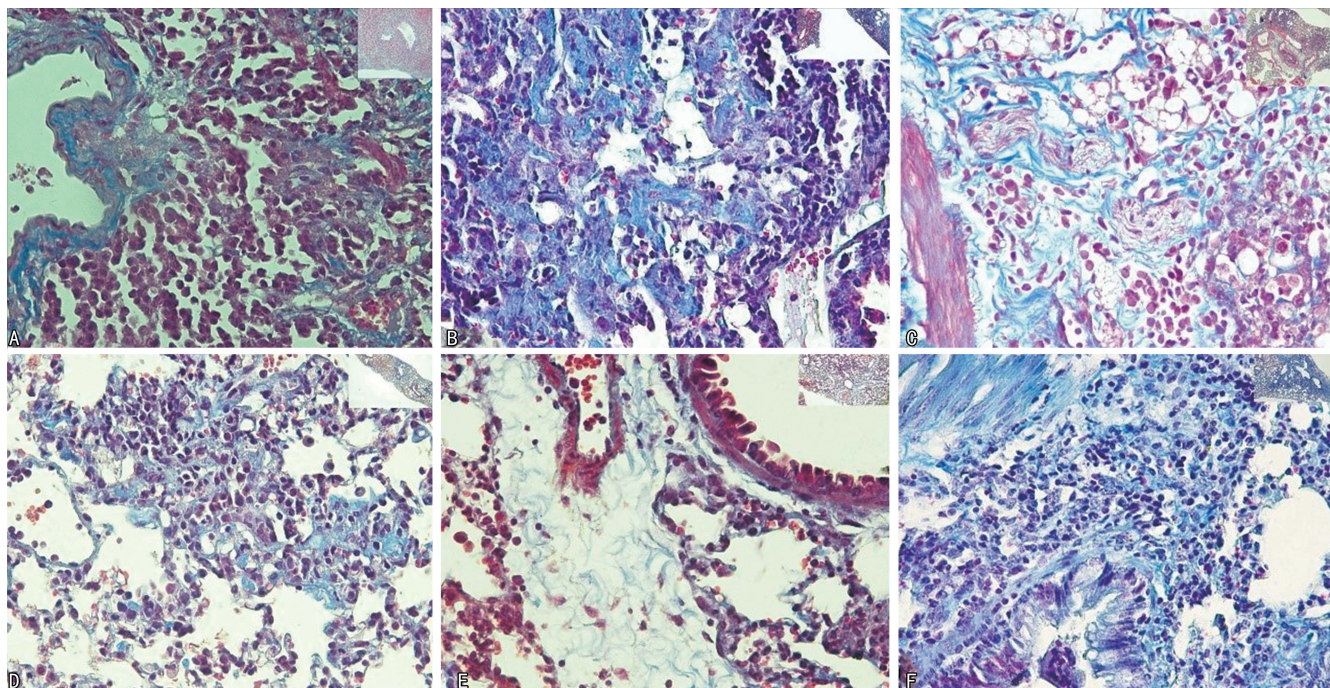
2.2 肺组织羟脯氨酸含量 B、F 组羟脯氨酸含量[分别为(106.24 \pm 4.39)、(108.16 \pm 3.96) $\mu\text{g}/\text{mg}$]均明显高于 A 组[(25.24 \pm 2.41) $\mu\text{g}/\text{mg}$], 差异有统计学意义($P < 0.001$); C、D、E 组羟脯氨酸含量[分别为(76.50 \pm 2.43)、(52.18 \pm 2.18)、(29.53 \pm 2.56) $\mu\text{g}/\text{mg}$]均明显低于 B 组, 差异有统计学意义($P < 0.001$); B、F 组羟脯氨酸含量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 各组小鼠肺组织 Akt、p-Akt、Caspase-9、p-Caspase-9 蛋白相对表达量比较 各组小鼠肺组织 Akt 蛋白相对表达量[分别为(1.90 \pm 0.33)、(1.94 \pm

0.36)、(1.92 \pm 0.40)、(1.95 \pm 0.56)、(1.92 \pm 0.90)、(1.90 \pm 0.77)]比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。B、F 组小鼠肺组织 p-Akt 蛋白相对表达量[分别为(0.44 \pm 0.02)、(0.46 \pm 0.03)]均较 A 组(0.65 \pm 0.02)明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.001$); C、D、E 组小鼠肺组织 p-Akt 蛋白相对表达量[分别为(0.33 \pm 0.02)、(0.29 \pm 0.02)、(0.22 \pm 0.02)]均较 B 组明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。C、D、E 组小鼠肺组织 Caspase-9 蛋白相对表达量[分别为(0.29 \pm 0.01)、(0.36 \pm 0.03)、(0.42 \pm 0.02)]均较 B 组(0.21 \pm 0.01)明显升高, 差异有统计学意义

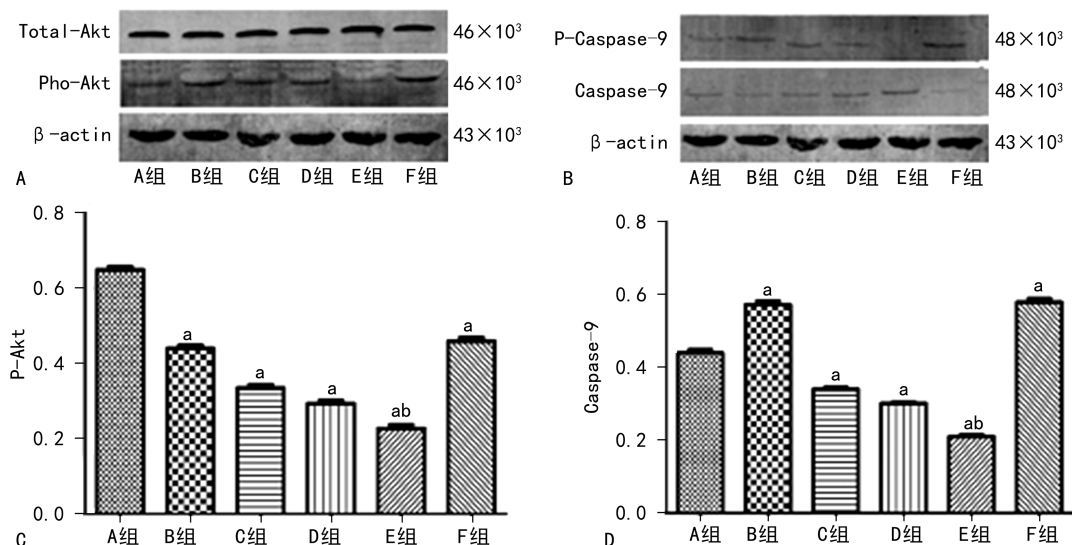
($P < 0.001$)。B 组小鼠肺组织 p-Akt、Caspase-9 蛋白相对表达量与 F 组比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。B、F 组小鼠肺组织 p-Caspase-9 蛋白相对表达量 [分别为 (0.57 ± 0.02) 、 (0.58 ± 0.03)] 均较 A 组 (0.44 ± 0.02) 明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); C、D、E 组小鼠肺组织 p-Caspase-9 蛋白相对表达量 [分别为 (0.34 ± 0.01) 、 (0.30 ± 0.01) 、 (0.21 ± 0.01)] 均明显低于 B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); B 组小鼠肺组织 p-Caspase-9 蛋白相对表达量与 F 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

2.4 各组小鼠肺组织免疫组化情况比较 B、F 组小鼠肺组织 p-Akt 免疫组化光镜观察可见大量棕黄色颗粒, C、D、E 组小鼠肺组织 p-Akt 蛋白表达均明显低于 B 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); B 组小鼠肺组织 p-Akt 蛋白表达与 F 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 4、表 1。B、F 组小鼠肺组织 Caspase-9 免疫组化光镜观察仅有少量棕黄色颗粒散在分布, C、D、E 组小鼠肺组织棕黄色颗粒均较 B 组明显增多, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); B 组小鼠肺组织棕黄色颗粒与 F 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 5、表 2。



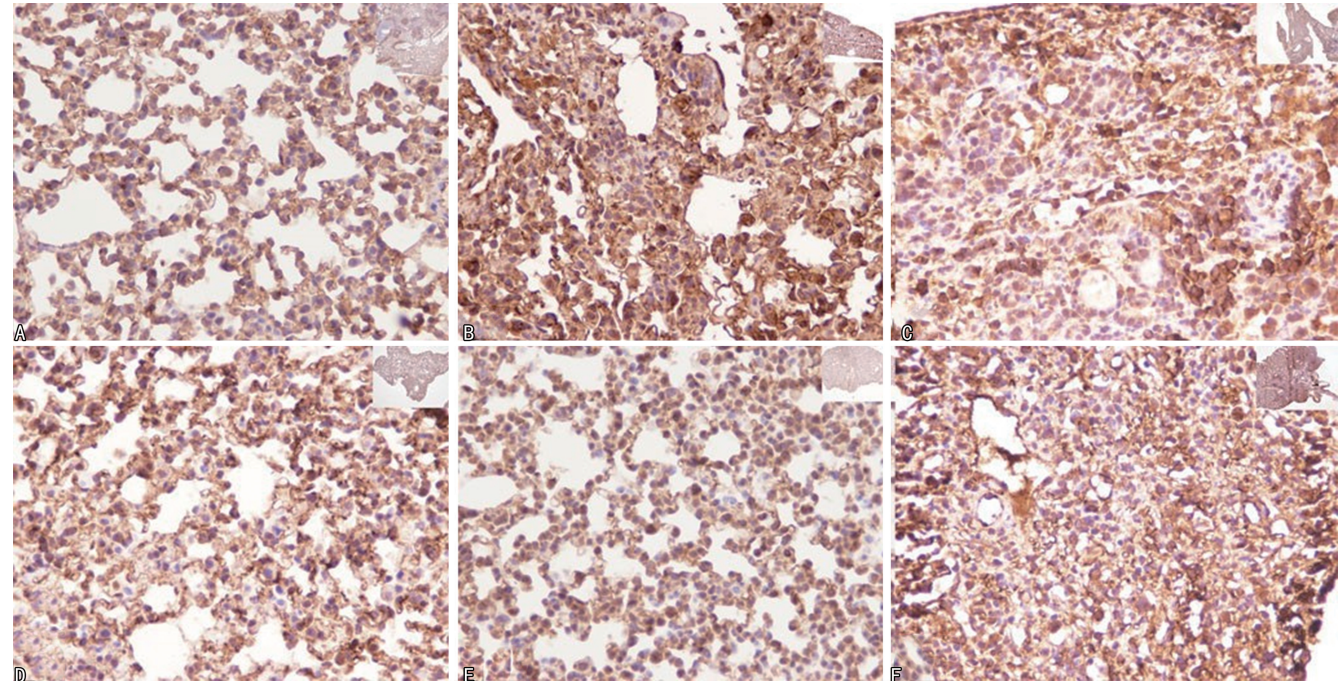
注: 蓝色为胶原染色; A. A 组 (生理盐水对照组); B. B 组 (BLM 模型组); C~E. C~E 组 (Wortmannin 干预组); F. F 组 (溶剂对照组)。

图 2 各组小鼠肺组织胶原纤维含量比较 (Masson, 400×)



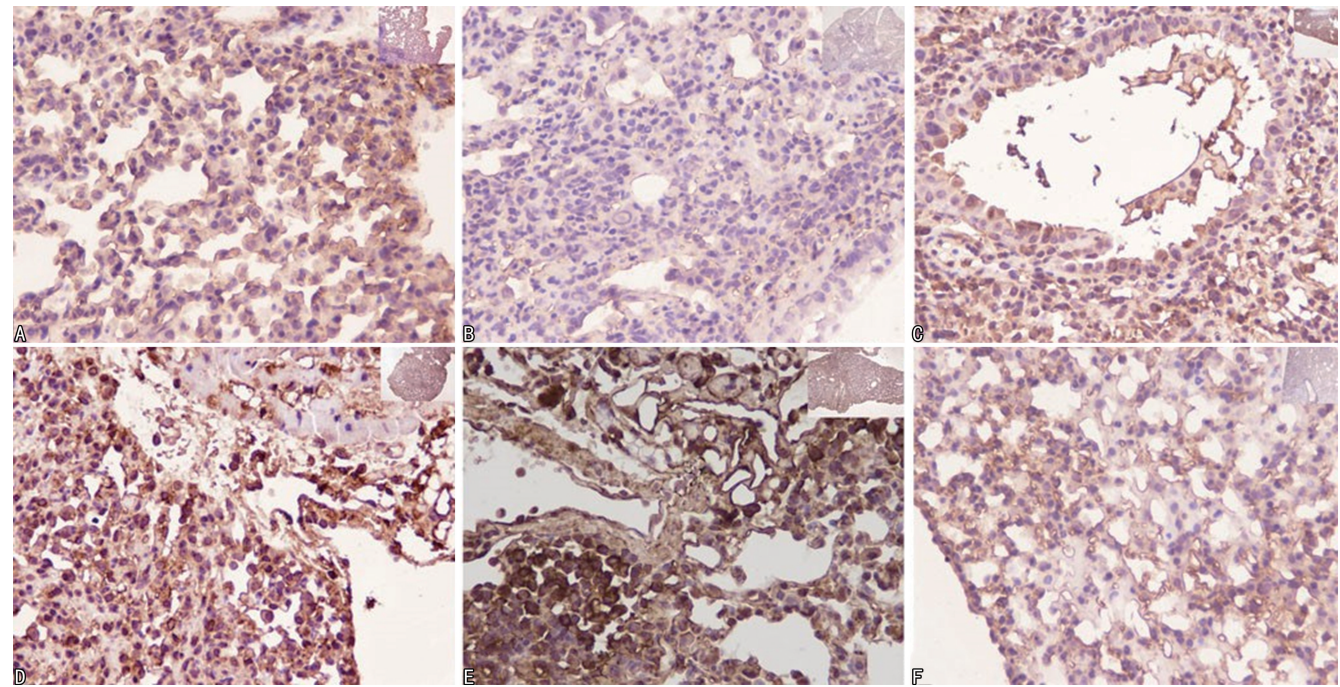
注: A. Akt、p-Akt 蛋白表达条带图; B. Caspase-9、p-Caspase-9 蛋白表达条带图; C. p-Akt 蛋白相对表达量灰度直柱状图; D. p-Caspase-9 蛋白相对表达量灰度直柱状图; 与 A 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 B 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 3 各组小鼠肺组织 Akt、p-Akt、Caspase-9、p-Caspase-9 蛋白相对表达量比较



注: A. A 组(生理盐水对照组); B. B 组(BLM 模型组); C~E. C~E 组(Wortmannin 干预组); F. F 组(溶剂对照组)。

图 4 各组小鼠肺组织 p-Akt 蛋白表达情况比较(免疫组化, 400×)



注: A. A 组(生理盐水对照组); B. B 组(BLM 模型组); C~E. C~E 组(Wortmannin 干预组); F. F 组(溶剂对照组)。

图 5 各组小鼠肺组织 Caspase-9 蛋白表达情况比较(免疫组化, 400×)

表 1 各组小鼠肺组织 p-Akt 蛋白表达情况比较(n)

组别	n	-	+	++	+++
A 组	6	6	0	0	0
B 组	6	0	0	1	5
C 组	6	0	1	2	3
D 组	6	1	1	3	1
E 组	6	4	2	0	0
F 组	6	0	0	2	4

注: -为阴性, +为阳性, ++为强阳性, +++为极强阳性。

表 2 各组小鼠肺组织 Caspase-9 蛋白表达情况比较(n)

组别	n	-	+	++	+++
A 组	6	0	2	3	1
B 组	6	5	1	0	0
C 组	6	3	2	1	0
D 组	6	1	1	2	2
E 组	6	0	1	1	4
F 组	6	4	1	1	0

注: -为阴性, +为阳性, ++为强阳性, +++为极强阳性。

3 讨 论

PF 的发病机制涉及成纤维细胞异常活化、ECM 过度沉积、肺泡上皮细胞凋亡失衡等^[12]。PI3K/Akt 通路的异常激活是 PF 进展的核心机制之一。PI3K 被细胞因子或生长因子激活后催化磷脂酰肌醇二磷酸转化为磷脂酰肌醇三磷酸,进而招募 Akt 至细胞膜并被磷酸化激活为 p-Akt^[13]。活化的 p-Akt 通过磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、糖原合成酶激酶-3 β 、FoxO 是叉头框蛋白 O 家族蛋白等下游靶点,促进成纤维细胞增殖并向肌成纤维细胞转化,同时,抑制促 Bad、Bax 凋亡蛋白并激活 B 淋巴细胞瘤-2 基因抗凋亡蛋白,最终导致 ECM 过度沉积和纤维化进程加速^[14]。近期研究表明,Wortmannin 作为 PI3K 特异性抑制剂,可通过阻断 PI3K/Akt 轴,抑制上述病理过程^[15]。本研究通过建立 BLM 诱导的小鼠 PF 模型首次在体内证实 Wortmannin 通过调控 PI3K/Akt/Caspase-9 通路明显抑制纤维化进展,为靶向干预提供了新的实验依据。

BLM 诱导的 PF 模型因其与 IPF 的高度相似性被广泛采用^[9]。本研究结果显示,B 组小鼠表现出肺泡结构塌陷、炎症细胞浸润及胶原异常沉积,与 IPF 患者病理特征一致^[16]。值得注意的是,F 组小鼠羟脯氨酸含量及 p-Akt、Caspase-9 表达与 B 组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),表明 1% 的 DMSO 本身对纤维化进程无干预效应,排除了溶剂干扰,增强了 Wortmannin 药效评价的可靠性。PI3K/Akt 通路的过度激活是 PF 的核心机制之一。

p-Akt 可促进成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,并通过抑制凋亡信号导致 ECM 异常沉积^[17]。本研究结果显示,B 组小鼠肺组织 p-Akt 表达明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);C、D、E 组小鼠肺组织呈剂量依赖性抑制 p-Akt 水平。提示 Wortmannin 可能通过直接靶向 PI3K/Akt 轴,阻断其下游促纤维化信号,与 CONTE 等^[18]进行的体外研究结果一致,但其体内效应及剂量响应关系为本研究的创新点。

Caspase-9 作为 PI3K/Akt 通路的下游效应分子,其激活可触发线粒体依赖性凋亡,从而清除过度活化的成纤维细胞^[19]。本研究结果显示,C、D、E 组小鼠肺组织 Caspase-9 蛋白相对表达量明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),且与 p-Akt 水平呈负相关。表明 p-Akt 抑制可能通过解除对 Caspase-9 的负调控,促进成纤维细胞凋亡。这一机制在 LUO 等^[20]的研究中进一步得到支持,BLM 通过抑制 Caspase-9 活性加剧纤维化,而药物干预可逆转此过程^[21]。值得注意的是,E 组(Wortmannin 0.700 mg/kg)小鼠虽明显降低了羟脯氨酸含量($P < 0.05$),但其 p-Akt 抑制效应弱于 D 组(Wortmannin 0.350 mg/kg),提示高剂

量可能激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、丝裂原活化蛋白激酶等补偿性通路,尚需后续研究验证。

本研究虽然首次在体内模型中揭示了 Wortmannin 通过 PI3K/Akt/Caspase-9 轴抗纤维化的作用,但仍存在局限性:(1)未通过基因敲除或激动剂联用实验明确 Akt 与 Caspase-9 的直接调控关系;(2)未检测其他凋亡相关分子,机制链条未完整展现。今后可结合单细胞测序技术解析 Wortmannin 对肺内不同细胞亚群的特异性作用,并探索其与现有抗纤维化药物的协同效应。总之,Wortmannin 可改善 BLM 所致的小鼠 PF,其机制可能与 PI3K/Akt/Caspase 信号通路有关。

参考文献

- MEYER K C. Pulmonary fibrosis, part I: epidemiology, pathogenesis, and diagnosis[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2017, 11(5): 343-359.
- GEORGE P M, PATTERSON C M, REED A K, et al. Lung transplantation for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(3): 271-282.
- POWIS G, BONJOUKLIAN R, BERGGREN M M, et al. Wortmannin, a potent and selective inhibitor of phosphatidylinositol-3-kinase[J]. *Cancer Res*, 1994, 54(9): 2419-2423.
- HAO C F, LI X F, YAO W. Role of insulin-like growth factor II receptor in transdifferentiation of free silica-induced primary rat lung fibroblasts[J]. *Biomed Environ Sci*, 2013, 26(12): 979-985.
- TSUCHIYA A, KANNO T, NISHIZAKI T. PI3 kinase directly phosphorylates Akt1/2 at Ser473/474 in the insulin signal transduction pathway[J]. *J Endocrinol*, 2014, 220(1): 49-59.
- LIU T, DE LOS SANTOS F G, PHAN S H. The bleomycin model of pulmonary fibrosis[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1627: 27-42.
- GUO J B, HARDIE W D, CLEVELAND Z I, et al. Longitudinal free-breathing MRI measurement of murine lung physiology in a progressive model of lung fibrosis[J]. *J Appl Physiol*(1985), 2019, 126(4): 1138-1149.
- 杜旭,袁源,简华宏,等. 渥曼青霉素通过调节 AKT/NF- κ B 通路抑制人黑色素瘤细胞的迁移和侵袭[J]. *四川医学*, 2022, 43(12): 1185-1191.
- 张欣欣,谢银子,黄慧婷,等. 不同浓度博来霉素诱导特发性肺纤维化小鼠模型的比较研究[J]. *中国实验动物学报*, 2025, 33(5): 673-683.
- 桑星洁,张琴,关庆洲,等. 博来霉素多次给药诱导小鼠肺纤维化模型的建立及评价[J]. *中国病理生理杂志*, 2024, 40(12): 2393-2400.
- USUKI J, FUKUDA Y. Evolution of three patterns of intra-alveolar fibrosis produced by bleomycin in rats[J]. *Pathol Int*, 1995, 45(8): 552-564.

- [12] RAO J D, MEI L, LIU J, et al. Size-adjustable micelles co-loaded with a chemotherapeutic agent and an autophagy inhibitor for enhancing cancer treatment via increased tumor retention[J]. *Acta Biomater*, 2019, 89 (3): 300-312.
- [13] WANG J C, HU K L, CAI X Y, et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 18-32.
- [14] PAN L, CHENG Y J, YANG W T, et al. Nintedanib ameliorates Bleomycin-Induced pulmonary fibrosis, inflammation, apoptosis, and oxidative stress by modulating PI3K/Akt/mTOR pathway in mice[J]. *Inflammation*, 2023, 46(4): 1531-1542.
- [15] MA Z Z, YU R H, ZHU Q, et al. CXCL16/CXCR6 axis promotes bleomycin-induced fibrotic process in MRC-5 cells via the PI3K/AKT/FOXO3a pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81(1): 106035.
- [16] ZHANG M F, HAGAN C T 4, MIN Y A E, et al. Nanoparticle co-delivery of wortmannin and cisplatin synergistically enhances chemoradiotherapy and reverses platinum resistance in ovarian cancer models [J]. *Biomaterials*, 2018, 169(1): 1-10.
- [17] AKTER R, HOSSAIN M Z, KLEVE M G, et al. Wortmannin induces MCF-7 breast cancer cell death via the apoptotic pathway, involving chromatin condensation, generation of reactive oxygen species, and membrane blebbing[J]. *Breast Cancer (Dove Med Press)*, 2012, 4 (2): 103-113.
- [18] CONTE E, FRUCIANO M, FAGONE E, et al. Inhibition of PI3K prevents the proliferation and differentiation of human lung fibroblasts into myofibroblasts; the role of class I P110 isoforms [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (10): e24663.
- [19] PAN L, LU Y H, LI Z H, et al. Ginkgo biloba extract EGB761 attenuates bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis in mice by regulating the balance of M1/M2 macrophages and nuclear factor kappa B (NF- κ B)-mediated cellular apoptosis [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26 (1): e922634.
- [20] LUO S, GONG J Z, CAO X P, et al. Ligustilide modulates oxidative stress, apoptosis, and immunity to avoid pathological damages in bleomycin induced pulmonary fibrosis rats via inactivating TLR4/MyD88/NF-KB P65 [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(15): 931-933.
- [21] CHO H J, HWANG J A, YANG E J, et al. Nintedanib induces senolytic effect via STAT3 inhibition [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(9): 760-763.

(收稿日期: 2025-04-15 修回日期: 2025-10-20)

(上接第 582 页)

- Global, regional, and National causes of under-5 mortality in 2000-19: an updated systematic analysis with implications for the sustainable development goals [J]. *Lancet Child Adolesc Health*, 2022, 6(2): 106-115.
- [2] 董汉权. 呼吸道感染儿童病原体感染现状调查及精准应用抗菌药物的效果 [J]. *吉林医学*, 2022, 43 (12): 3328-3331.
- [3] 高立伟, 申昆玲. 儿童反复呼吸道感染病毒感[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2021, 36(24): 1852-1856.
- [4] 姚开虎, 邓江红. 警惕感染性疾病不同寻常的流行病学变化 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2023, 38 (11): 829-832.
- [5] 王天有, 申昆玲, 沈颖. 诸福棠实用儿科学 [M]. 9 版. 北京: 人民卫生出版社, 2022: 1247-1249.
- [6] GONG C, HUANG F, SUO L D, et al. Increase of respiratory illnesses among children in Beijing, China, during the autumn and winter of 2023 [J]. *Euro Surveill*, 2024, 29 (2): 2300704.
- [7] 中华人民共和国国家健康委员会, 国家中医药局. 儿童社区获得性肺炎诊疗规范(2019 年版) [J]. *中华临床感染病杂志*, 2019, 12(1): 6-13.
- [8] 杨琳东, 黄红艳. 分泌型 IgA 应用上呼吸道感染患儿对炎症反应和免疫功能指标的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2019, 25(14): 1087-1091.
- [9] MENG G L, KANG R, CHENG X Y, et al. Laboratory analysis of positive rate of *Mycoplasma pneumoniae* antibody among 53,273 children with respiratory tract infections in xi'an from 2017 to 2020 [J]. *Transl Pediatr*, 2022, 11(5): 625-630.
- [10] CAI F Q, SHOU X Y, YE Q. Epidemiological study on *mycoplasma pneumoniae* and *chlamydia pneumoniae* infection of hospitalized children in a single center during the COVID-19 pandemic [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 843463.
- [11] 王菲, 程琪, 景淑军, 等. 辽宁省三家医院儿童肺炎支原体感染临床表现及流行病学特征 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2024, 34(23): 3611-3617.
- [12] 林健, 李伟, 周超, 等. 儿童流感样疾病患者病毒病原学检测及流行病学特征分析 [J]. *中华检验医学杂志*, 2022, 45 (6): 574-580.
- [13] 郑壹林, 杨志芳, 邹良能, 等. 厦门市 2 426 例呼吸道感染住院患儿常见病原学分析 [J]. *中国现代药物应用*, 2023, 17(24): 77-81.
- [14] 潘春丽, 黄盛毅, 罗曼飞, 等. 8 986 例儿童 7 种呼吸道病毒抗原检测结果分析 [J]. *中国医学创新*, 2023, 20(21): 65-69.
- [15] 陈海梅, 张宇庆, 蔡思铭, 等. 海南省 2012-2021 年儿童 RSV 急性呼吸道感染流行病学特征分析 [J]. *中国临床新医学*, 2023, 16(8): 833-838.

(收稿日期: 2025-03-22 修回日期: 2025-10-19)