

doi : 10.3969/j.issn.1672-397X.2019.01.030

定喘汤对哮喘模型小鼠肺组织炎症病变及 Th2 细胞相关炎症因子的影响

颜延凤¹ 朱佳²

(1.南京中医药大学附属南京市中西医结合医院,江苏南京 210014; 2.南京中医药大学附属医院,江苏南京 210029)

摘要 目的:研究定喘汤对哮喘模型小鼠气道炎症及气道阻力的干预作用及其可能的作用机制。方法:104只雄性C56BL/6小鼠随机均分为生理盐水对照组、定喘汤对照组、哮喘模型组、定喘汤治疗组,每组26只。哮喘模型组与定喘汤治疗组小鼠予卵蛋白(OVA)致敏和激发建立哮喘模型。末次激发24h后,每组取10只小鼠测定气道阻力;每组取8只小鼠右下肺组织行HE染色及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)免疫组化观察肺组织炎症病变,同时取左上肺组织提取蛋白,行蛋白印迹试验(western blot)检测肺组织中GATA-3蛋白表达;每组取8只小鼠采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定支气管肺泡灌洗液(BALF)中白介素(IL)-4、IL-5、IL-13和TNF- α 含量,计数BALF及外周血中炎症细胞。结果:与生理盐水对照组比较,哮喘模型组小鼠气道阻力显著升高,肺组织出现炎症病变,TNF- α 表达升高,BALF及外周血的炎症细胞比例上升,BALF中IL-4、IL-5、IL-13和TNF- α 含量升高,肺组织中GATA-3蛋白表达水平上升。与哮喘模型组比较,定喘汤治疗组小鼠气道阻力显著降低,肺组织炎症病变缓解,TNF- α 表达降低,BALF及外周血的炎症细胞比例下降,BALF中IL-4、IL-5、IL-13和TNF- α 含量降低,肺组织中GATA-3蛋白表达水平下降。上述指标在生理盐水对照组与定喘汤对照组间无显著性差异。结论:定喘汤可减轻哮喘小鼠的气道炎症病变,降低气道高反应性,可能与经GATA-3介导抑制Th2细胞相关炎症因子有关。

关键词 哮喘;定喘汤;2型辅助性T细胞;气道阻力;GATA-3;肺;小鼠;实验研究

中图分类号 R562.250.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2019)01-0081-05

基金项目 南京市卫计委2012年度重点项目(ZKX12042);南京市科学技术委员会科技发展计划项目(201605058)

支气管哮喘(哮喘)是常见的慢性气道炎症性变态反应性疾病,其病变特征为嗜酸性粒细胞增多和2

型辅助性T细胞(type 2 helper T cells,Th2)细胞因子(如白细胞介素-4、-5和-13)产生增加,进而促进

表6 《临证指南医案·疮疡篇》2则瘰癧痰核案

患者	原文	用药
陈	躁急善怒,气火结瘰,烁筋为痛。热郁化风,气阻痹塞,则腹鸣脘胀。苟非开怀欢畅,不能向安	夏枯草、山梔、土贝母、瓜蒌皮、郁金、白芥子、海藻、昆布
沈	肝气郁遏,宿痞乳痛	夏枯草、黑山梔、川楝子、薄荷梗、丹皮、桔萎实、青橘叶、香附汁

分析表6,我们可以看出,陈姓患者病情较急骤,“急则治其标”,处方以消痰散结清火之品为主,疏肝解郁之品为辅;沈姓患者病情较缓,“缓则治其本”,故处方以宣通肝经气血药物为主,而佐以一味桔萎实以祛痰。也反映出叶氏对此类病证的认识:急者以清除病理产物去其标为主(标祛仍需调畅情志以治本),缓者因患者不适感较轻,故以疏调肝经气血缓治为主,也为我们临床治疗乳腺疾患提供了进退之剂。

综上所述,叶氏虽非疡医,但通过对《临证指南

医案·疮疡篇》中所载医案的分析,可以看出其对疮疡的治疗理念已较为系统完备,从新发疮疡的辛凉祛邪、升降阳明到疮疡变证的随证施治,血热久疮的养血凉血,再到瘰癧、痰核的疏肝解郁、消痰散结,丰富了疮疡的内治之法,体现了叶氏对疮疡疾病的辨治和用药特色,值得我们进一步学习。

参考文献

- [1] 李曰庆,何清湖.中医外科学[M].北京:中国中医药出版社,2012:51.
- [2] 叶天士.临证指南医案[M].宋白杨,校注.北京:中国医药科技出版社,2011.

第一作者: 颜龙飞(1996—),男,“5+3”八年制在读,研究方向为中医经典理论。

通讯作者: 付姝菲,博士,讲师。fushufei2012@163.com

收稿日期:2018-04-10

编辑:吕慰秋

免疫球蛋白E (IgE) 形成, 促进Th2细胞和嗜酸性粒细胞发育、成熟和激活, 从而导致气道高反应性、黏液产生和气道重塑^[1-2]。中药汤剂定喘汤加减已广泛应用于支气管哮喘的治疗, 并取得了良好的疗效^[3], 但至今机制尚不明确。已有研究显示, 定喘汤治疗哮喘可能与其降低白介素(IL)-4、IL-5的表达^[4-5], 或降低嗜酸性粒细胞在气道的积聚^[6], 从而减轻气道炎症, 降低气道高反应性有关。本实验通过建立哮喘小鼠模型, 研究定喘汤是否可通过抑制Th2细胞, 从而有效抑制气道炎症及气道高反应性, 以进一步明确定喘汤治疗哮喘的机制, 为其临床应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 104只8周龄SPF级C57BL/6雄性小鼠, 体重约18~22g, 均由南京医科大学动物实验中心提供, 动物饲养、管理及使用均严格按照《南京医科大学实验动物管理规范》的要求进行。动物合格证号: SCXK(苏)2017-0002。

1.2 主要试剂 卵清蛋白(Ovalbumin, OVA, grade V)购自Sigma公司, 明矾佐剂(Imject Alum)购自Pierce公司, 乙酰甲胆碱(Mch)购自Sigma公司。定喘汤(Ding Chuan Tang, DCT)由南京市中西医结合医院自制。根据《扶寿精方·痰门》, 确定药物组成为白果(去壳炒黄)9g、麻黄9g、苏子6g、甘草3g、款冬花9g、杏仁9g、桑白皮9g、黄芩6g、半夏9g。按处方精确称取传统饮片药材, 每次加水500mL, 煎煮2次, 每次1h, 合并煎液, 过滤, 浓缩至48mL。细胞因子IL-4、IL-5、IL-13和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的酶联免疫吸附(Elisa)检测试剂盒均购自南京建成生物科技有限公司; 免疫组化抗体rabbit anti-TNF- α 购自Abcam公司; Elite ABC Kit购自美国Vector公司; 蛋白定量试剂盒(BCA protein assay kit)购自加拿大Bio-Rad公司, 大鼠抗GATA-3及小鼠抗 β -actin抗体均购自美国Santa Cruz公司。

1.3 主要仪器 Medlab生物信号采集系统及换能器(南京美易科技有限公司); 流式细胞仪(BD FACSCalibur型, 美国BD公司); 石蜡包埋及切片机(德国Leica公司); 正置显微镜(德国Leica公司); Image-Pro Plus 6.0图像分析系统(美国Media Cybernetics公司)。

2 实验方法

2.1 分组、造模与给药 小鼠随机分为生理盐水对照组(CTRL)、定喘汤对照组(NS+DCT)、哮喘模型组(OVA+NS)和定喘汤治疗组(OVA+DCT), 每组26只。哮喘模型组与定喘汤治疗组小鼠参照

Zhang G等^[7]的方法制作哮喘模型, 分别于第0、7天腹腔注射由20 μ g卵清蛋白(OVA)乳化于100 μ L明矾佐剂所制备的致敏液, 再于第28、29、30天分别使用由100 μ g OVA溶于40 μ L生理盐水制备的激发液滴鼻, 每日1次, 以激发小鼠哮喘发作。生理盐水对照组、定喘汤对照组以生理盐水代替OVA行腹腔注射及滴鼻。

定喘汤对照组及定喘汤治疗组小鼠于第24天起予定喘汤10g生药/kg体重灌胃(1.43g/mL), 每日1次, 持续7d。生理盐水对照组与哮喘模型组以生理盐水代替DCT行灌胃。

2.2 呼气阻力测定 参考Yun X等^[8]方法行小鼠呼气阻力测定。小鼠于末次OVA滴鼻激发24h后, 3%戊巴比妥钠(4mg/100g体重)腹腔注射麻醉, 分离并暴露气管与颈外静脉。采用内径2mm的塑料导管于第2气管软骨环处行气管插管。呼吸机设置为: 潮气量6mL/kg, 呼吸频率90次/min, 呼吸比1:1。激发前记录小鼠气道阻力作为基础值, 继而颈外静脉依次注射生理盐水和6.25、12.5、25、50mg/mL乙酰甲胆碱, 激发气道高反应性, 每次注射0.2mL, 记录气道阻力值。待气道阻力降至正常后进行下一剂量试验。连续记录波形与数据。

2.3 样本收集及处理 各组取8只小鼠, 经3%戊巴比妥钠(4mg/100g体重)腹腔注射麻醉后, 用1.0mL PBS液行支气管灌洗并收集肺泡灌洗液(BALF), 4 $^{\circ}$ C、1500r/min离心5min, 收集上清, 行ELISA检测相关炎症因子; 细胞沉淀重悬后, 光镜下行细胞计数, 并行瑞氏染色后计数细胞总数及嗜酸性粒细胞数。另取各组8只小鼠, 同上方法麻醉后, 先行摘眼球取血, 抗凝保存, 血涂片行瑞氏染色及细胞计数。取右下肺, 经4%多聚甲醛固定后行组织病理学观察。取左上肺提蛋白, 行western blot检测GATA-3含量变化。

2.4 ELISA法检测BALF中细胞因子含量 采用ELISA法检测BALF中细胞因子IL-4、IL-5、IL-13和TNF- α 含量, 具体步骤按南京建成ELISA检测试剂盒说明书操作。在酶标仪波长450nm上读取吸光度值, 通过标准曲线换算成相应浓度。

2.5 肺组织TNF- α 表达的免疫组化检测 小鼠右下肺组织经4%多聚甲醛固定后, 行酒精梯度脱水, 石蜡包埋切片, 片厚5 μ m。一套切片行HE染色, 镜下观察气道炎症浸润情况, 参考AM.Khan等^[9]方法, 将炎症浸润分为无、轻、中、重度, 分别记为0、1、2、3分, 行半定量分析。另一套切片采用ABC法行TNF- α 免疫组织化学染色, 观察TNF- α 的表达变化。切

片经脱蜡、煮沸法行抗原修复后,一抗rabbit anti-TNF- α (1:100),4℃孵育过夜;生物素标记的羊抗兔IgG (1:200)室温孵育1h,滴加Elite ABC混合液室温孵育30min,DAB底物室温5min显色,常规梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。镜下观察摄片,采用双盲法利用Image Pro Plus行半定量分析单位面积内IL-1 β 及TNF- α 阳性产物的总灰度值(summary total gray,STG)。

2.6 蛋白印迹试验(Western blot)检测肺组织GATA-3表达 小鼠左肺组织提取蛋白采用BCA试剂盒测定蛋白浓度后,行10% SDS-PAGE电泳,转膜,洗膜。样本经3% BSA封闭后,加大鼠抗GATA-3 (1:200),小鼠抗 β -actin (1:2000),4℃孵育过夜,随后加相应二抗(1:2000)室温孵育1h,ECL发光显影,定影。特异性条带采用Image-Pro Plus 6.0软件行光密度值测定,结合 β -actin对照,计算GATA-3的光密度相对值,相同试验重复3次。

2.7 统计学方法 所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示,使用SPSS 13.0统计软件行方差分析。各组间差异采用单因素方差分析(ANOVA),两两比较采用Neuman-Keuls检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组小鼠气道高反应指标比较 4组小鼠的基础气道阻力相似,介于0.40~0.50cmH₂O/(mL·s),生理盐水对照刺激各组间气道阻力无明显差异。不同剂量Mch激发后,平均气道阻力在生理盐水对照组与定喘汤对照组间均无显著性差异,其他组间比较见表1。

3.2 各组小鼠血液及BALF中炎性细胞计数比较 血液和BALF中的炎性细胞在生理盐水对照组与定喘汤对照组间无显著性差异,其他组间比较见表2、表3。

3.3 各组小鼠肺组织炎性反应比较 HE染色结果显示,生理盐水对照组及定喘汤对照组小鼠肺组织均无炎症细胞浸润;哮喘模型组小鼠气道上皮不完整,气道黏膜层、黏膜下层及血管周围可见大量炎性细胞浸润;定喘汤治疗组小鼠气道上皮明显改善,炎性

细胞浸润显著减少(见图1-A)。

肺组织炎性指数比较结果:与生理盐水对照组(0.30 $\pm$ 0.03)相比,哮喘模型组(0.95 $\pm$ 0.07)及定喘汤治疗组(0.48 $\pm$ 0.02)肺组织炎性指数均显著升高($P<0.001$, $P<0.01$),定喘汤对照组(0.30 $\pm$ 0.02)无显著性差异;而与哮喘模型组比较,定喘汤治疗组小鼠炎性指数显著降低($P<0.01$)。见图1-B。

炎性因子TNF- α 免疫组织化学染色结果显示:与生理盐水对照组(2.04 $\pm$ 0.14)相比,哮喘模型组小鼠TNF- α 在气道上皮、黏膜及周围肺组织的表达均显著增高(20.51 $\pm$ 1.18)($P<0.001$),定喘汤治疗组TNF- α 表达仍上调(5.42 $\pm$ 0.41)($P<0.05$),定喘汤对照组TNF- α 表达无显著性差异(2.13 $\pm$ 0.20);与哮喘模型组比较,定喘汤治疗组小鼠TNF- α 表达显著下调($P<0.01$)。见图1-A、图1-C。

3.4 各组小鼠BALF中炎性因子比较 生理盐水对照组与定喘汤对照组小鼠BALF中炎性因子含量比较无显著性差异,其他组间比较结果见表4。

3.5 各组小鼠肺组织内GATA-3表达比较 结果见图2。Western blot检测结果显示,与生理盐水对照组(0.30 $\pm$ 0.03)相比,定喘汤对照组小鼠肺组织的

表1 各组小鼠不同剂量 Mch 激发后平均气道阻力比较 ($\bar{x} \pm s$) cmH₂O/(mL·s)

组别	动物数(只)	Baseline	NS	6.25	12.5	25	50
生理盐水对照组	10	0.37 $\pm$ 0.03	0.47 $\pm$ 0.02	0.62 $\pm$ 0.02	0.87 $\pm$ 0.05	1.35 $\pm$ 0.08	2.71 $\pm$ 0.22
定喘汤对照组	10	0.42 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.02	0.79 $\pm$ 0.03	1.15 $\pm$ 0.06	2.38 $\pm$ 0.13
哮喘模型组	10	0.47 $\pm$ 0.03	0.52 $\pm$ 0.02	1.47 $\pm$ 0.04 [#]	3.17 $\pm$ 0.22 ^{##}	4.89 $\pm$ 0.23 ^{###}	8.09 $\pm$ 0.36 ^{###}
定喘汤治疗组	10	0.50 $\pm$ 0.01	0.44 $\pm$ 0.02	0.79 $\pm$ 0.02 [#]	1.61 $\pm$ 0.08 [#]	2.63 $\pm$ 0.10 ^{##}	3.98 $\pm$ 0.21 ^{###}

注:与生理盐水对照组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$;与哮喘模型组比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

表2 各组小鼠血液中细胞总数及分类计数比较 ($\bar{x} \pm s$) $\times 10^4$ 个/mL

组别	动物数(只)	白细胞总数	中性粒细胞数	淋巴细胞数
生理盐水对照组	8	220.00 $\pm$ 21.13	127.50 $\pm$ 18.40	87.50 $\pm$ 10.82
定喘汤对照组	8	252.50 $\pm$ 23.13	125.00 $\pm$ 12.68	105.00 $\pm$ 10.52
哮喘模型组	8	401.25 $\pm$ 38.97 ^{###}	156.25 $\pm$ 15.58	285.00 $\pm$ 15.21 ^{###}
定喘汤治疗组	8	250.00 $\pm$ 20.07 ^{###}	121.25 $\pm$ 13.03	126.25 $\pm$ 12.41 ^{###}

注:与生理盐水对照组比较, # $P<0.05$, ### $P<0.001$;与哮喘模型组比较, *** $P<0.001$ 。

表3 各组小鼠 BALF 白细胞总数及分类计数比较 ($\bar{x} \pm s$) $\times 10^4$ 个/mL

组别	动物数(只)	白细胞总数	巨噬细胞数	嗜酸性粒细胞数	淋巴细胞数	中性粒细胞数
生理盐水对照组	8	12.00 $\pm$ 0.85	11.00 $\pm$ 0.78	0.38 $\pm$ 0.18	0.50 $\pm$ 0.19	0.63 $\pm$ 0.18
定喘汤对照组	8	11.50 $\pm$ 1.05	10.50 $\pm$ 0.75	0.50 $\pm$ 0.19	0.50 $\pm$ 0.19	0.75 $\pm$ 0.25
哮喘模型组	8	92.63 $\pm$ 5.12 ^{###}	20.50 $\pm$ 1.02	38.25 $\pm$ 1.87 ^{###}	18.75 $\pm$ 1.18 ^{###}	12.63 $\pm$ 1.54 ^{###}
定喘汤治疗组	8	36.25 $\pm$ 3.12 ^{###}	10.88 $\pm$ 1.01 [*]	14.40 $\pm$ 0.65 ^{###}	6.88 $\pm$ 0.72 [*]	6.50 $\pm$ 0.76

注:与生理盐水对照组比较, ### $P<0.001$;与哮喘模型组比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

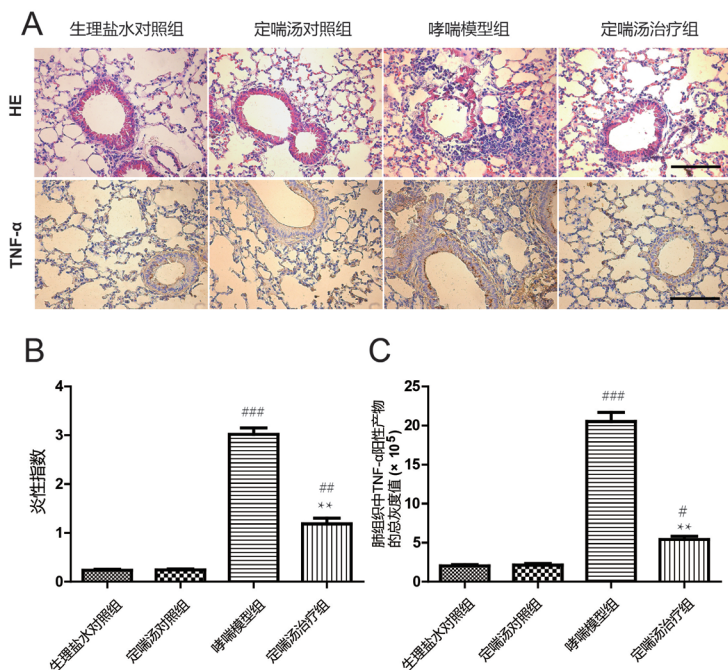


图1 各组小鼠肺组织病理学情况(400×, bar=100 μm)

注: A. HE染色及TNF-α免疫组织化学染色示意图; B. 各组小鼠炎症指数统计结果; C. 各组小鼠肺组织TNF-α免疫组化总灰度值统计结果。与生理盐水对照组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$; 与哮喘模型组比较, ** $P<0.01$ 。

表4 各组小鼠BALF中炎症因子含量比较($\bar{x} \pm s$) pg/mL

组别	动物数(只)	TNF-α	IL-4	IL-5	IL-13
生理盐水对照组	8	44.88±3.55	47.53±3.95	9.50±1.05	23.50±2.39
定喘汤对照组	8	42.38±3.48	51.00±4.12	8.63±1.15	22.00±2.43
哮喘模型组	8	132.30±4.15 ^{###}	179.3±10.12 ^{###}	28.30±2.00 ^{###}	80.00±3.59 ^{###}
定喘汤治疗组	8	67.50±3.96 ^{***}	94.20±5.25 ^{***}	15.50±0.95 ^{***}	52.70±2.53 ^{***}

注: 与生理盐水对照组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$; 与哮喘模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

GATA-3蛋白表达(0.32 ± 0.04)无显著性差异,而哮喘模型组小鼠肺组织GATA-3蛋白表达(0.95 ± 0.07)显著升高($P<0.001$)。与哮喘模型组比较,定喘汤治疗组GATA-3蛋白表达(0.48 ± 0.02)显著降低($P<0.01$),但仍高于生理盐水对照组($P<0.05$)。

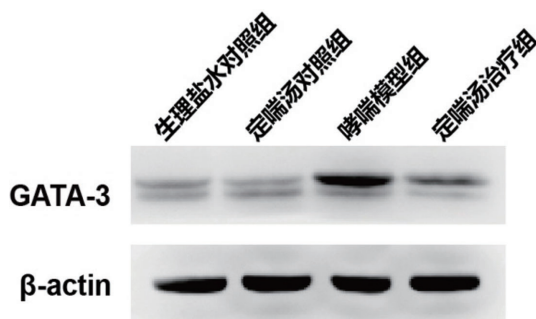


图2 定喘汤对哮喘小鼠肺组织GATA-3表达的影响

4 讨论

中医学认为,哮喘发作往往与患者素体痰多又感风寒,肺气壅闭,不得宣降,郁而化热,故见哮喘咳嗽、痰多色黄、痰稠不易咯出,治当宣肺以祛外邪,祛痰以平喘。定喘汤由白果、麻黄、桑白皮、款冬花、半夏、杏仁、苏子、黄芩、甘草9味药组成,长期以来应用于支气管哮喘的临床治疗,取得较好疗效,但其作用机制不详^[10-11]。已有部分国内研究报道提示定喘汤治疗哮喘可能与下调血浆和BALF中IL-4^[4]、IL-5,抑制BALF中NO、ET-1的合成和释放,从而减轻哮喘气道炎症及气道上皮重建,降低气道高反应性有关^[5]。其中,IL-4、IL-5均为Th2细胞因子。

目前认为,在哮喘的发病机制中,Th1与Th2细胞亚群的比例或功能失衡,Th2细胞数目增加与功能亢进是重要的免疫学异常因素,发挥着关键作用^[12]。Th2细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-13等细胞因子,通过多条途径介导哮喘发生,如高效募集、激活嗜酸性粒细胞,刺激免疫球蛋白类转换,产生IgE等^[13]。而TNF-α为一种促炎细胞因子,参与免疫及炎症

反应,可介导多种炎性细胞如嗜酸性粒细胞与中性粒细胞的聚集,生成多种炎性介质,加重炎症反应;同时也可刺激内皮细胞与巨噬细胞释放IL-6等炎性介质;可引起气道炎症及破坏胶原网络,参与气道重塑等。在哮喘状态下,TNF-α在气道与肺的表达明显增高,促进炎症反应的发生与发展。

本实验中,我们首先检测各组动物气道阻力的变化,以观察各组动物气道反应性的变化;采用HE染色观察肺组织的病理学改变;采用免疫组化检测肺组织炎症因子TNF-α表达变化;采用ELISA检测Th2细胞因子IL-4、IL-5、IL-13的变化。结果显示,OVA诱导的哮喘组小鼠气道阻力增加,肺组织出现明显炎症病变,炎症因子TNF-α表达显著上调,外周血及BALF中炎性细胞均增高,说明OVA处理已成功诱导出小鼠哮喘发作,且哮喘小鼠IL-4、IL-5、IL-13

表达显著增高,出现Th1/Th2的失衡。而经定喘汤干预的哮喘小鼠IL-4、IL-5、IL-13表达显著下降,气道阻力降低,肺组织炎性改变改善,炎性因子TNF- α 表达下调。说明定喘汤可能通过降低Th2细胞相关的炎性因子表达,缓解哮喘症状。本实验结果同时也显示定喘汤对照组小鼠与生理盐水对照组小鼠在气道阻力、肺组织形态与外周血及BALF中的炎性细胞、炎性因子等方面均无显著性差异,提示定喘汤处理对于正常生理状态下小鼠的肺通气功能及Th2细胞相关因子并无明显影响。

已有研究显示GATA-3在介导Th2细胞相关因子降低哮喘炎性反应中起重要作用^[14-15]。转录因子GATA-3是GATA锌指家族重要成员之一,其选择性表达于Th2细胞,是Th2细胞的特异性转录因子,可促进Th2细胞分化和IL-4表达,增强Th2型免疫效应,是Th2分化中的一个关键信号分子^[16]。故为进一步探讨定喘汤抑制Th2细胞相关炎性因子表达的可能机制,我们采用western blot检测定喘汤治疗前后哮喘小鼠肺组织内GATA-3的表达变化。结果显示定喘汤治疗可显著降低哮喘小鼠肺组织的GATA-3的表达。提示GATA-3可能介导了定喘汤降低哮喘小鼠Th2细胞相关炎性因子的表达。

另外,本研究主要集中于探索中药古方“定喘汤”治疗哮喘的作用机制,在组方上没有突破性的改良。后续实验中,我们拟根据相关中医药理论对该方进行拆方研究,或结合药物物质基础研究,探讨和分析方中关键单味药的组分,进一步深入探讨中药抑制哮喘的作用与机制。

参考文献

- [1] BARNES P J.Targeting cytokines to treat asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J].Nature Reviews Immunology, 2018, 18 (7): 454.
- [2] CHUNG K F.Targeting the interleukin pathway in the treatment of asthma[J].The Lancet, 2015, 386 (9998): 1086.
- [3] 唐晓,高雅婷,李泽庚.定喘汤治疗哮喘研究进展[J].中医药临床杂志, 2017, 29 (11): 1955.
- [4] 李京玉,冯晓纯,金京丽,等.朝医加味麻黄定喘汤在小鼠哮喘模型中对ERK信号通路的影响[J].中华中医药杂志, 2013, 28 (12): 3744.
- [5] 张瑾,高秋静.定喘汤加减治疗老年急性发作期哮喘临床研究[J].中医学报, 2016, 31 (12): 1870.
- [6] KAO S T, CHANG C H, CHEN Y S, et al.Effects of Ding-Chuan-Tang on bronchoconstriction and airway leucocyte infiltration in sensitized guinea pigs[J].Immunopharmacol Immunotoxicol, 2004, 26 (1): 113.
- [7] ZHANG G S, WANG P P, YANG G D, et al.The inhibitory role of hydrogen sulfide in airway hyperresponsiveness and inflammation in a mouse model of asthma[J].Am J Pathol, 2013, 182 (4): 1188.
- [8] YUN X, SHANG Y X, LI M.Effect of Lactobacillus salivarius on Th1/Th2 cytokines and the number of spleen CD4 (+) CD25 (+) Foxp3 (+) Treg in asthma Balb/c mouse[J].Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8 (7): 7661.
- [9] KHAN A M, SHAHZAD M, RAZA ASIM M B, et al.Zingiber officinale ameliorates allergic asthma via suppression of Th2-mediated immune response[J].Pharm Biol, 2015, 53 (3): 359.
- [10] HUANG T P, LIU P H, LIEN A S, et al.Characteristics of traditional Chinese medicine use in children with asthma: a nationwide population-based study[J].Allergy, 2013, 68 (12): 1610.
- [11] 李一民.定喘汤对哮喘患儿肺功能及CC16的影响[J].南京中医药大学学报, 2013, 29 (5): 432.
- [12] LIU L, WANG L P, HE S, et al.Immune homeostasis: effects of Chinese herbal formulae and herb-derived compounds on allergic asthma in different experimental models[J].Chin J Integr Med, 2018, 24 (5): 390.
- [13] FAHY J V.Type 2 inflammation in asthma: present in most, absent in many[J].Nat Rev Immunol, 2015, 15 (1): 57.
- [14] KIM S H, HONG J H, LEE J E, et al.18 β -Glycyrrhetic acid, the major bioactive component of Glycyrrhizae Radix, attenuates airway inflammation by modulating Th2 cytokines, GATA-3, STAT6, and Foxp3 transcription factors in an asthmatic mouse model[J].Environ Toxicol Pharmacol, 2017, 52: 99.
- [15] 刘兰英,乔明,高峰,等.哮喘停贴剂穴位贴敷对慢性哮喘气道炎症大鼠肺组织T-bet、GATA-3 mRNA表达的影响[J].南京中医药大学学报, 2014, 30 (6): 550.
- [16] BARNES P.Role of GATA-3 in allergic diseases[J].Current Molecular Medicine, 2008, 8 (5): 330.

第一作者: 颜延凤 (1970—), 女, 本科学历, 主任中医师, 研究方向为中医肺系疾病的诊疗。

通讯作者: 朱佳, 医学博士, 主任中医师, 博士研究生导师。2102353696@qq.com

收稿日期: 2018-06-03

编辑: 吴宁

