

·方药研究·

咳喘宁对 RSV 诱发哮喘大鼠血清 IL-4、IFN- γ 的调节作用及对支气管平滑肌增殖活性的影响

谭 维¹, 李 英^{2*}, 罗银河², 王孟清², 舒 兰², 唐力琼¹, 龚细妹¹, 李 平¹, 陶 洪², 彭昕欣²
(1.湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208; 2.湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007)

〔摘要〕 目的 观察咳喘宁对 RSV 诱发哮喘大鼠血清 IL-4、IFN- γ 的调节作用及对气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cells, ASMCs)增殖水平(OD 值)的影响。方法 将 60 只大鼠随机分为 6 组, 除正常组外, 其余大鼠通过致敏、哮喘、病毒激发哮喘进行造模。造模完成当天分组干预, 并用 ELISA 进行 IL-4、IFN- γ 水平的测定。造模成功后取支气管平滑肌进行细胞培养, 倒置显微镜下化学荧光法鉴定为平滑肌细胞。制备大鼠不同组含药血清并加入第 3-7 代 ASMCs 中干预。运用 MTT 法检测各组 ASMCs 增殖水平(OD 值)。结果 ELISA 法结果, 与模型组相比, 西药治疗组、咳喘宁各剂量组血清 IL-4、IFN- γ 水平差异具有统计学意义($P<0.05$); 与咳喘宁大、小剂量组相比, 中剂量组血清 IL-4、IFN- γ 水平差异具有统计学意义($P<0.05$)。MTT 法结果, 与空白对照组比较, 其余 5 组差异均有显著统计学意义($P<0.01$); 与咳喘宁大、小剂量血清中比较, 中剂量血清组差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 咳喘宁对治疗 RSV 诱发的哮喘大鼠疗效较为显著, 通过上调 IFN- γ 水平、降低 IL-4 水平表达从而降低气道炎症反应, 维持 Th1/Th2 平衡来调节机体免疫机制。咳喘宁治疗支气管哮喘可能与其能够抑制气道平滑肌增殖、影响哮喘气道重塑关系密切。

〔关键词〕 咳喘宁; 哮喘; 白介素-4; 干扰素- γ ; 气道平滑肌细胞

〔中图分类号〕 R285.5; R256.12

〔文献标识码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.11.002

Effect of Kechuanning on Serum IL-4 and IFN- γ in RSV Induced Asthma Rats and Its Role in ASMC Proliferation

TAN Wei¹, LI Ying^{2*}, LUO Yinhe², WANG Mengqing², SHU Lan², TANG Liqiong¹, GONG Ximei¹,
LI Ping¹, TAO Hong², PENG Xinxin²

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

2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

〔Abstract〕 Objective To observe the regulating effect of Kechuan Ning on serum IL-4, IFN and the proliferation of airway smooth muscle cells (ASMCs) level (OD level) in RSV induced asthma rats. And to provide experimental basis for the prevention and treatment of asthma. **Methods** The 60 rats were randomly divided into 6 groups. Except the normal group, the other rats were induced asthma by sensitization and virus to making models. On the day of successful modeling, the IL-4 and IFN- γ were determined by ELISA. The smooth muscle cells were cultured and the smooth muscle cells were identified as smooth muscle cells by inverted microscope. The containing serum groups were prepared and added ASMCs at 3-7 passages. The proliferation of ASMCs (OD value was determined by MTT method. **Results** The ELISA result shows that the serum levels of IL-4 and IFN- γ levels in the Western medicine group and Kechuanning group were with statistical significance comparing with the model group ($P<0.05$). Compared with high dose and low dose groups, the serum levels of IL-4 and IFN- γ levels had statistic significance ($P<0.05$). MTT assay shows that the rest of five groups had statistical significance comparing

〔收稿日期〕 2016-07-06

〔基金项目〕 国家自然科学基金(81674025); 湖南省自然科学基金(14JJ3120)。

〔作者简介〕 谭 维, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医小儿肺系疾病。

〔通讯作者〕 * 李 英, 女, 讲师, 博士, E-mail: 120812828@qq.com。

the blank control group ($P<0.01$). Compared with the large-dose and small-dose serum groups, the difference in medium-dose serum group was significant statistically ($P<0.05$). **Conclusion** Kechuanning shows obvious effect on treatment of RSV induced asthma rats. The airway inflammation is reduced by upregulating IFN- γ level and reducing IL-4 level expression, the body immune system is regulated by maintaining the balance of Th1/Th2. Kechuanning in treatment of bronchial asthma may be closely related to the inhibition of airway smooth muscle proliferation and influence of airway remodeling.

[**Keywords**] Kechuanning; asthma; interleukin-4; interferon- γ ; airway smooth muscle cells

支气管哮喘简称哮喘(asthma),是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病^[1],也是儿童时期常见的呼吸道变应性炎症疾病^[2]。在诸多致哮喘病因中,病毒感染是诱发儿童哮喘最常见的原因,有研究显示^[3],85%的儿童哮喘急性发作与病毒感染有关,呼吸道合胞病毒(RSV)感染所致者可高达78.49%,是儿童哮喘急性发作时的主要病原体^[4]。病毒也是引起哮喘急性加重与恶化的重要因素,且参与所有年龄的哮喘加重^[5]。气道重塑能够引起气道不可逆狭窄和气道持续高反应性,成为气流不可逆阻塞和哮喘反复发作的病理基础^[6]。而这种不可逆性气道狭窄主要是由气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cells, ASMCs)异常增殖引起的。

目前,西医治疗哮喘首推糖皮质激素和 β_2 受体激动剂,其中糖皮质激素对气道重塑抑制作用明确,但长期或大量应用可能引起一系列的副作用^[7],故寻求中医药干预病毒诱发哮喘免疫机制及气道重塑的研究成为哮喘研究的重要课题。本课题选用了由哮喘经验方研制而成的咳喘宁口服液,通过观察咳喘宁对RSV诱发哮喘大鼠血清IL-4、IFN- γ 的调节作用及对ASMCs增殖水平(OD值)的影响,明确咳喘宁治疗哮喘的免疫机制及其抑制RSV诱导ASMCs增殖的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物 大鼠60只(洁净级、雄性、120~180 g、28~42 d,由湖南中医药大学实验动物中心供给)。所有动物均饲养于湖南中医药大学动物实验室。

1.2 实验用药 咳喘宁口服液;麻黄、黄芪、杏仁、桃仁、石膏、大青叶、细茶叶、甘草。由湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供[(湘)卫药剂(06)05第085100号],批号:201405,100 mL/瓶,含50g生药。对照药物:硫酸沙丁胺醇片(姑苏弘森药业有限公司,批号:022150404);醋酸泼尼松片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:20140515)。

1.3 主要仪器和试剂

1.3.1 主要试剂 鸡卵清白蛋白(OVA)(上海丽珠东风技术有限公司);呼吸道合胞病毒(武汉市武昌区华东试验试剂公司);PBS缓冲液(北京索莱宝科技有限公司);4%多聚甲醛(北京鼎园公司);大鼠白介素-4、抗素- γ 酶联免疫检测试剂盒(上海天晶生物科技有限公司);D-Hanks液(南京森贝伽生物科技有限公司);I型胶原型(上海谷研科技有限公司);牛血清白蛋白(成都瑞芬思);木瓜蛋白酶(源叶生物);DMEM(Gibco CM995);优级胎牛血清(天津市海洋生物有限责任公司);胰蛋白酶/EDTA消化液(中国医学科学院生物工程研究所);青霉素-链霉素双抗(ST488);MTT液(ST316);细胞鉴定试剂:大鼠抗 α -actin单克隆抗体、SP免疫组化试剂盒(二抗)(上海研域生物科技有限公司)。

1.3.2 主要仪器 医用超声雾化(江苏鱼跃医疗设备股份有限公司);雾化器(湖南中医药大学动物实验中心提供);湖南中医药大学中西医结合学院细胞培养室提供:离心机、酶标仪、冰箱、自动纯水双蒸器、倒置显微镜,37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱,细胞培养板等。

2 方法

2.1 哮喘模型制备与分组

采用我科已建立的方法^[8],并参照文献^[9]造模。除正常组10只外,其余大鼠于第1天和第8天分3处注射(两下肢内侧皮下各注射0.25 mL,腹腔注射0.5 mL)由PBS稀释的1 mL无菌抗原液(含10 mg卵清白蛋白+100 mg氢氧化铝凝胶)致敏,正常组注射PBS致敏;第9天至第21天为激发阶段,将大鼠放入容积为10 L的雾化箱内(内有一雾化气孔和一通气孔),通过超声雾化器以1%卵清白蛋白生理盐水溶液20 mL雾化,每次20 min,隔天雾化1次,连续2周;观察大鼠精神、饮食、活动及呼吸,如发现大鼠精神变差、饮食减少、活动减少、呼吸频率加快的现象,提示激发成功,停止激发;第21、35、49天以

10%水合氯醛腹腔注射麻醉后再以滴度为 1.0×10^6 空斑形成单位的 RSV 50 μL 经鼻腔滴入使大鼠感染 RSV 诱发哮喘,经 RSV 滴鼻的大鼠出现喷嚏、鼻腔有少量卡他样无色透明分泌物、弓肩耸背、点头样呼吸、腹肌抽搐、甚至站立不稳时即为哮喘急性发作,提示造模成功。正常组以生理盐水进行雾化及滴鼻。

2.2 中药血清制备

选取 9 只大鼠随机分成 3 组,分别为:哮喘宁大、中、小剂量组。药物配制:哮喘宁口服液 30 mL,大中小剂量组给药剂量相当于儿童(体质量)每日用量的 1、5、10 倍(按比例计算)。中剂量为大剂量 1 mL 加蒸馏水 4 mL,小剂量为中剂量 1 mL 加蒸馏水 4 mL。大鼠预先禁食 12 h,灌胃给予相应药物及蒸馏水,2 h 及 3 h 后各加强给药 1 次。10%水合氯醛麻醉,无菌条件下自心脏采血,离心血清(3 000 r/min, 20 min, 4 $^{\circ}\text{C}$),血清 56 $^{\circ}\text{C}$ 下 30 min 灭活,分装于 EP 管中, -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2.3 在体实验

2.3.1 干预与标本提取 造模大鼠分为 5 组,分别为:哮喘模型组,泼尼松与沙丁胺醇混悬液治疗组(简称西药治疗组),哮喘宁大、中、小剂量组。各干预组在造模完成当天(即第 49 天)开始灌胃给药,每日 1 次,连续 7 d,直至处死。按照《中医科研设计与统计学》,体表面积-剂量换算法,将人临床用药剂量折算为大鼠用药剂量,各组药物用量如下:西药治疗组予混悬液醋酸泼尼松 7.0 mg/(kg·d)、沙丁胺醇片剂 1.1 mg/(kg·d),哮喘宁大剂量组 5.0 g/(kg·d),哮喘宁中剂量组 2.5 g/(kg·d),哮喘宁小剂量组 1.25 g/(kg·d),正常组及模型组予蒸馏水灌胃,每日灌胃 1 次。各治疗组药物均以蒸馏水稀释,各组灌胃容量均为 10 mL/(kg·d)。

2.3.2 ELISA 法检测 IL-4、IFN- γ 最后一次灌胃治疗后,称量各组大鼠体质量,以 10%水合氯醛 3.0 ml/kg 腹腔内注射麻醉大鼠。然后打开腹腔,腹主动脉取血 4 mL,标本由无菌干燥管收集,静置 20 min 后,4 $^{\circ}\text{C}$ 2 000 r/min 离心,10 min,分离血清, -20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。取材测定过程中,由于血清量过少、分离不纯、蛋白质凝集沉淀现象等原因导致部分标本不合格,故各组均只选取 7 个标本结果进行比较。取冰冻血清样本,室温下融解,采用 ELISA 法定量检测,严格按试剂盒操作,测量血清 IL-4 和 IFN- γ 值。

2.4 体外实验

2.4.1 ASMCs 的分离、培养及鉴定 哮喘模型组和正常组于造模成功后分别取支气管平滑肌进行细胞培养,参照文献^[10-12]并改良方法,先用 10%水合氯醛(4.0 mL/kg)腹腔注射处死大鼠,后以 75%酒精消毒表皮,从腹部至颈部依次剪开皮肤、肌肉,腹主动脉放血后剪开胸腔,从颈部往下迅速分离出气管与肺部组织,剪去心脏,将气管及肺组织转移至含有 D-Hanks 液培养皿, D-Hanks 液漂洗 2 次,用角膜剪仔细剔除支气管周围结缔组织、血管等,沿支气管纵轴剪开管腔,用手术刀刮除内外膜,直至气管接近透明,用眼科虹膜剪将气管段剪成 1 mm 或以下的组织块。将剪好组织块装入 15 mL 离心管中,加入配制好的 I 型胶原酶溶液 2 mL(用 D-Hanks 液配制含 I 型胶原酶消化液 2 mg/mL、木瓜蛋白酶 2.5 mg/mL、牛血清白蛋白 2.5 mg/mL 的溶液),玻璃滴管反复轻轻吹打混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 孵箱中消化 30 min,取出后用含 20%胎牛血清的 DMEM 培养基终止消化,将离心管 800 r/min 离心 5 min,静置 2 min 后,弃上清,再加 0.25%胰蛋白酶/0.02%EDTA 溶液 2 mL,以同样方法消化 15 min,离心去上清,加入含有 20% FBS、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素的 DMEM 液,吹打 20 次后,静置 10 min,将上层液转移至 25 mL 培养瓶,继续吹打离心管下层组织块,静置,转移至培养瓶,重复几次,直至组织块尽可能分离,最后全部装入培养瓶。2 d 换液 1 次。细胞铺满瓶底 90%进行传代。实验用 3 代细胞,在倒置显微镜下,细胞通过形态学观察并经 α -action 免疫细胞化学染色阳性,鉴定培养的细胞为平滑肌细胞。

2.4.2 MTT 检测各组大鼠 ASMCs 的增殖水平 取第 3-7 代培养的大鼠 ASMCs,0.25%胰蛋白酶/0.02%EDTA 溶液 2 mL,消化 10 min,用含 10%FBS 的 DMEM 培养 24 h 后,换无血清 DMEM 培养 24 h,使细胞生长同步于 G₀ 期,换用含 10%FBS 的 DMEM 液,随机分为 6 组:空白对照组:培养的正常大鼠 ASMCs,每孔/瓶中加入 DMEM 干预;哮喘模型组:培养的哮喘大鼠 ASMCs,每孔/瓶中加入 DMEM 干预;西药治疗组:培养的哮喘大鼠 ASMCs,每孔/瓶中加入等剂量沙丁胺醇+泼尼松溶液(终浓度为 10 nmol/L);哮喘宁大、中、小剂量血清组:培养的哮喘大鼠 ASMCs,每孔/瓶,分别加入大、中、小剂量哮喘宁血清,给药剂量分别为 12.5 g/(kg·d)、6.25 g/(kg·d)、1.25 g/(kg·d)。每 4 个复孔/瓶为一组,培养 24 h 后,每孔加入 MTT(5 mg/mL)

50 μL ,放入 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱 4 h 后去除上清,实验重复 3 次,然后加入二甲基亚砷 150 μL ,震荡 10 min 后,酶联免疫检测仪于 450 nm 处测定各孔吸光度(OD)值。

2.5 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件包处理,数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。采用单因素方差分析进行统计学处理,组间比较采用 LSD 法, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 酶联免疫检测各组大鼠血清 IL-4、IFN- γ 的表达变化

与正常组比较,哮喘模型组血清 IL-4 值明显升高、血清 IFN- γ 值明显降低,差异有显著统计学意义($P<0.01$);与哮喘模型组相比,西药治疗组、咳喘宁各剂量组血清 IL-4 明显降低、IFN- γ 明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);与西药治疗组比较,咳喘宁中、小剂量组血清 IL-4、IFN- γ 值无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$);与大、小剂量组相比,中剂量组血清 IL-4 值降低较为明显、IFN- γ 值相对升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠血清 IL-4、IFN- γ 结果 ($\bar{x}\pm s, n=7, \text{pg/mL}$)

组别	剂量	IL-4	IFN- γ
正常组	-	17.97 \pm 0.54	52.28 \pm 1.77
模型组	-	34.28 \pm 3.45**	34.72 \pm 1.24**
西药治疗组	7 mg(泼)+1.1 mg(沙)/(kg·d)	15.87 \pm 1.10 [#]	47.76 \pm 4.37 [#]
咳喘宁小剂量组	1.25 g/(kg·d)	14.57 \pm 2.16 [#]	43.20 \pm 6.20 [#]
咳喘宁中剂量组	2.5 g/(kg·d)	14.08 \pm 1.56 ^{#◆}	48.24 \pm 3.46 ^{#◆}
咳喘宁大剂量组	5.0 g/(kg·d)	19.67 \pm 1.31 [#]	46.97 \pm 3.23 [#]
F 值		41.09	14.62
P 值		<0.01	<0.01

注:与正常组比较,★★ $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$;与大、小剂量组比较,◆ $P<0.05$ 。

3.2 细胞鉴定

在倒置显微镜($\times 100$)下,经原代培养的 ASMCs 呈梭形,有较长的突起,圆形的细胞核位于细胞中央,呈疏密相间、典型“峰和谷”生长状态。a-actin 免疫细胞化学染色,反应产物呈棕黄色。97%细胞 a-actin 染色阳性,所培养的细胞为平滑肌细胞(见图 1)。

3.3 各组 ASMCs 增殖水平(OD 值)

与空白对照组比较,其余 5 组差异均有显著统计学意义($P<0.01$);与哮喘模型组比较,其余五组差异有显著统计学意义($P<0.01$);与沙泼干预组比

较,咳喘宁大剂量血清组、中剂量组、小剂量组间差异无统计学意义($P>0.05$);与咳喘宁大、小剂量血清中比较,中剂量血清组差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

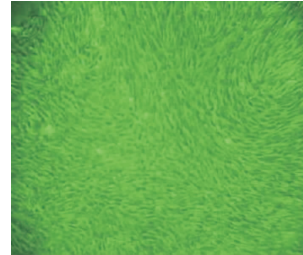


图 1 大鼠 ASMCs a-actin 染色显微光镜图($\times 100$)

表 2 各组 ASMCs 增殖水平光密度值(OD 值) ($\bar{x}\pm s$)

组别	复孔	OD 值
空白对照组	4	0.74 \pm 0.05 [#]
哮喘模型组	4	1.00 \pm 0.04**
西药治疗组	4	0.54 \pm 0.03** [#]
咳喘宁小剂量血清组	4	0.61 \pm 0.04** [#]
咳喘宁中剂量血清组	4	0.51 \pm 0.03** ^{#◆}
咳喘宁大剂量血清组	4	0.58 \pm 0.03** [#]
F 值		93.9
P 值		<0.01

注:与空白对照组比较,★★ $P<0.01$;与哮喘模型组比较,## $P<0.05$;与大、小剂量组比较,◆ $P<0.05$ 。

4 讨论

支气管哮喘属中医学“哮证”“喘”等领域。《丹溪心法》首先命名为“哮喘”,提出“哮喘专主于痰”。历代治喘名家都很重视伏痰在哮喘中的作用,将哮喘的发病机制概括为“外因诱发,触动伏痰,痰随气升,气因痰阻,相互搏结于气道”。自古以来,中医药防治哮喘有着丰富的经验,具有疗效显著、方式多样、副作用小等优势。

本实验以哮喘实验动物模型为载体,从动物整体水平研究中药治疗哮喘的作用机制。选用的咳喘宁口服液是由湖南中医药大学第一附属医院儿科主任根据病毒诱发儿童哮喘的机理,以清热化痰平喘的传统古方五虎汤为基本方研制而成。方中君药为麻黄和苦杏仁,功在调畅肺气、止咳平喘、祛除伏痰;黄芪、石膏、大青叶,三者共为臣药,合用以清除哮喘激发因素、提高机体免疫力;桃仁、细茶叶、甘草三药共为佐使,共奏宣肺化痰、止咳平喘、扶正祛邪、清热解毒之良效。从现代医学角度出发,亦能清除哮喘激发因素、降低(下转第 17 页)

炎大鼠抗炎的作用,其机制可能是通过调控 TLR2/4-NF- κ B 炎性介质变化信号通路的传导而实现的。

参考文献:

- [1] 袁兴辉,尹 胜,刘向东.妇科千金片临床研究总结[J]. 医学信息,2011,(7):3249-3250.
- [2] 袁建菱,郭建生,曾贵荣,等.妇科千金片对急性盆腔炎模型大鼠血清 IgA、IgG、IgM 的影响[J].湖南中医药大学学报,2010,30(9):87-89.
- [3] 袁建菱,郭建生,曾贵荣,等.妇科千金片对大鼠盆腔炎子宫、卵巢、输卵管 aspase-3 表达的影响 [J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(12):58-60.
- [4] Geng HL, LU HQ, Zhong RQ, et al. Increased expression of Toll like receptor 4 on Peripheral-blood mononuclear cells in Patients with coronary arteriosclerosis disease [J]. Clinical and Experimental Immunology, 2006,143(2):269-273.
- [5] 潘振宇,李勇敏.妇炎宁片对细菌性盆腔炎大鼠免疫功能及盆腔炎的影响[J].湖南中医杂志,2013,29(10):124-126.
- [6] Micheal W, Pfaffl. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. Nucleic Acids Research,

2001,29(9):469-475.

- [7] 胡系伟,闻心培.细胞因子与感染[J].贵州医药,2004,25(2):187-188.
- [8] 尤昭玲,马红霞,陈俊明,等.恒河猴子宫内膜炎出血模型的建立[J].中国比较医学杂志,2003,13(5):310-312.
- [9] 马红霞,尤昭玲,王若光,等.三七复合有效成分对恒河猴细菌感染子宫出血模型内膜组织 NF- κ B 活性的影响[J].中国中医药信息杂志,2004,11(7):599-601.
- [10] 丁 青,尤昭玲.三七复合有效成分对子宫内膜炎症细胞 MMP-1 和 TIMP-1 及 VEGF 的影响 [J]. 中国中医药科技,2007,14(12):118-120.
- [11] 丁 青,尤昭玲.三七复合有效成分对子宫内膜炎症细胞 NF- κ B 及 TNF- α 、IL-1 β 变化的影响 [J]. 中国中医药科技,2007,14(12):113-115.
- [12] 袁建菱,郭建生,曾贵荣,等.妇科千金片对大鼠盆腔炎子宫超微结构的研究[J]. 中国保健营养杂志,2013,23(1):49-50.
- [13] 袁建菱,郭建生,曾贵荣,等.妇科千金片对盆腔炎模型大鼠组织病理改变的研究[J].中国中医药导刊,2012,14(2):623-624.
- [14] 袁建菱,郭建生,曾贵荣,等.妇科千金片对盆腔炎模型大鼠血清中 IL-2、IL-6、IL-8 含量的影响 [J]. 中华中医药杂志,2013,28(1):250-252.

(本文编辑 杨 瑛)

(上接第 8 页) 气道反应、抑制气道重塑等,从而防治哮喘^[13]。

本实验证实,咳喘宁口服液,尤其是中剂量组对治疗 RSV 诱发的哮喘大鼠疗效较为显著,通过上调 IFN- γ 水平、降低 IL-4 水平表达从而降低气道炎症反应,维持 Th1/Th2 平衡来调节机体免疫。咳喘宁治疗支气管哮喘可能与其能够抑制气道平滑肌增殖、影响哮喘气道重塑关系密切,同时也为“伏痰、瘀”理论在病毒诱发哮喘中的作用机制提供了实验依据。

参考文献:

- [1] Xu YP, Szilvia Szep, Lu Z, et al. The antioxidant role of in The pathogenesis of cystic fibrosis and other inflammation-related diseases[J]. ProcNatl Acad Sci USA,2009,106(48):20515-20519.
- [2] 王孟清,罗银河,陈锡军,等.咳喘宁治疗病毒诱发小儿哮喘的临床研究[J].新中医,2007,39(4):16-17.
- [3] Openshaw PJ, Yamaguchi Y, Tregoning JS. Childhood infections, the developing immune system and the origins of asthma[J]. Allergy Clin Immunol,2004,11(6):1275-1277.
- [4] Zheng JS, Zhu C, Su MS, Li CC, Jin XH, Chen XF. The etiological analysis of respi-ratory tract when acute asthma attacked

of the following children under 5 years old [J]. Journal of Wenzhou Medical College,2005,35(6):483-484.

- [5] Lee JJ, Dimina D, Macias MP, et al. Defining a link with asthma in mice congenitally deficient in eosinophils [J]. Science, 2004, 305(5691): 1773-1776.
- [6] 管敏昌,汤卫红,王惠庭,等.尾加压素 II 在哮喘小鼠气道重塑中的表达[J].中国卫生检验杂志,2013,23(8):1912-1914.
- [7] 赵德育,秦厚兵.支气管哮喘患儿长期吸入糖皮质激素的安全性研究进展与对策[J].中华实用儿科临床杂志,2013,28(4):249-251.
- [8] 肖长江.小儿热哮微观辨证及清肺平喘法的疗效机理研究[D].长沙:湖南中医学院,2001.
- [9] 刘丽娜,杨季国,程东庆.呼吸道合胞病毒诱发的哮喘小鼠模型的建立[J].浙江中医药大学学报,2007,31(2):154-155,157.
- [10] Salmon M, Walsh DA, Koto H, et al. Repeated allergen exposure of sensitized Brown-Norway rats induces airway cell DNA synthesis and remodeling[J]. Eur Respir J, 1999, 14(3): 633-641.
- [11] 刘建博,张玉芳,等.射麻止咳汤对哮喘大鼠支气管平滑肌细胞增殖的影响[J].广州中医药大学学报,2010,27(6):595-597.
- [12] 刘 媛,黄 茂,等.组织贴块法建立人气道平滑肌细胞体外培养模型的研究[J].现代生物医学进展,2011,11(11):2065-2067.
- [13] 唐力琼,李 英,罗银河,等.咳喘宁对 RSV 诱发哮喘大鼠 ACAM-1 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2016,36(10):27-30.

(本文编辑 杨 瑛)