

·实验研究·

本文引用:崔爽,张明倩,梁五林,郭凡帆,张天睿,欧文静,伍永鸿,贾占红,旦增曲培,张硕峰. LPS 诱导慢性支气管炎急性发作大鼠模型的建立和评价[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(11): 1830-1836.

LPS 诱导慢性支气管炎急性发作大鼠模型的建立和评价

崔爽¹,张明倩¹,梁五林¹,郭凡帆¹,张天睿¹,欧文静¹,伍永鸿¹,贾占红¹,旦增曲培²,张硕峰^{1*}
(1.北京中医药大学中药学院,北京 102488;2.西藏藏医药大学,西藏 拉萨 850000)

[摘要] **目的** 通过多次气道内雾化给药的方式建立脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)致大鼠慢性支气管炎急性发作(acute exacerbations of chronic bronchitis, AECB)模型,探讨 LPS 诱导慢性支气管炎急性发作的可行性。**方法** 将 36 只 SD 大鼠按体质量随机分为空白组、模型组、复方甘草组。采用多次气道内雾化吸入 LPS 的方法建立大鼠 AECB 动物模型。采用肺功能仪评估乙酰胆碱(Ach)和组胺激发大鼠的气道高反应,肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)采用细胞计数板进行白细胞总计数,瑞氏染色法进行白细胞分类计数(分为两类:中性粒细胞、巨噬细胞),HE、PAS、Masson 染色观察肺组织的病理形态学变化,ELISA 法检测 BALF 中白介素 6 (interleukin 6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量。**结果** 与空白组相比,模型组大鼠注射不同剂量氯化乙酰胆碱和组胺(1:1)混合液后气道阻力显著升高($P<0.01$);BALF 中白细胞总数、单核巨噬细胞和中性粒细胞数量明显增加($P<0.01$);支气管黏膜上皮存在部分脱落坏死,管腔变窄且腔内出现较多炎性分泌物,伴肺泡塌陷,肺泡间隔增厚和肺出血,大量炎性细胞浸润,气道黏膜杯状细胞增生,出现大量胶原纤维沉积;BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 水平升高($P<0.01$)。复方甘草组较模型组可明显减轻 AECB 大鼠肺组织的炎症损伤和肺出血程度,减轻气道上皮杯状细胞增生以及气道壁周围胶原纤维沉积,改善肺功能等。**结论** 多次气道内雾化吸入 LPS 可成功建立大鼠 AECB 模型。

[关键词] 慢性支气管炎;慢性支气管炎急性发作;动物模型;气道高反应;黏液高分泌;气道重塑

[中图分类号]R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.11.010

Establishment and evaluation of rat model with LPS-induced acute exacerbation of chronic bronchitis

CUI Shuang¹, ZHANG Mingqian¹, LIANG Wulin¹, GUO Fanfan¹, ZHANG Tianrui¹, OU Wenjing¹, WU Yonghong¹,
JIA Zhanhong¹, Danzeng Qupei², ZHANG Shuofeng^{1*}

(1. School of Chinese Materia Medica of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Xizang University of Tibetan Medicine, Lasa, Xizang 850000, China)

[Abstract] **Objective** To establish a rat model of lipopolysaccharide (LPS)-induced acute exacerbation of chronic bronchitis (AECB) established by multiple intra-airway nebulization administration, and to explore the feasibility of LPS-induced acute exacerbation of chronic bronchitis. **Methods** A total of 36 SD rats were randomly divided into blank group, model group, and compound Gancao group according to their body mass. An animal model of AECB in rats was established by multiple intra-airway nebulized inhalation of LPS. The airway hyperresponsiveness of rats caused by acetylcholine (Ach) and histamine was assessed by pulmonary function instrument. Bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was used for total white blood cell (WBC) count by cell counting plate. Wright's staining was used for WBC differential count (two categories: neutrophils, macrophages). HE, PAS and Masson staining

[收稿日期]2022-07-06

[基金项目]西藏自治区科技计划项目(XZ201801-GA-16)。

[第一作者]崔爽,女,硕士研究生,研究方向:中药防治呼吸系统相关疾病研究。

[通信作者]*张硕峰,男,教授,博士研究生导师,E-mail:shuofengzhang@sina.com。

were used to observe the pathomorphological changes of lung tissue, and ELISA was applied to detect the content of interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in BALF. **Results** Compared with blank group, the airway resistance was significantly higher in the model group after injection of different doses of acetylcholine chloride and histamine 1:1 mixture ($P<0.01$); the total number of WBC, mononuclear macrophages and neutrophils in BALF significantly increased ($P<0.01$); there was partial exfoliation and necrosis in the bronchial mucosa epithelium, narrowing of the lumen and more inflammatory secretion in the lumen, accompanied by alveolar collapse, thickening of alveolar septum and pulmonary hemorrhage; there was a large number of inflammatory cells infiltration, airway mucosa goblet cells proliferation, and mass collagen fiber deposition; the levels of proinflammatory cytokines IL-6 and TNF- α in BALF increased ($P<0.01$). Compared with model group, the compound Gancao group showed significant decrease in the inflammatory injury and the degree of pulmonary hemorrhage in the lung tissue of AECB rats, less proliferation of airway epithelial goblet cells and deposition of collagen fiber around the airway wall, and improved lung function, etc. **Conclusion** Multiple intra-airway nebulized inhalation of LPS can successfully establish a model of acute exacerbation of chronic bronchitis in rats.

[**Keywords**] chronic bronchitis; acute exacerbation of chronic bronchitis; animal model; airway hyperresponsiveness; mucus hypersecretion; airway remodeling

慢性支气管炎(chronic bronchitis, CB)是指发生在气管、支气管黏膜部位以及周围组织的慢性非特异性炎症^[1-2]。该病病程初期表现较缓和,临床上常以咳嗽、咳痰、声音嘶哑等为主要症状。CB常呈周期性急性发作,其急性期发病较快,痰量明显增加,易阻塞气道导致感染迁延难愈,一旦发作会导致机体并出现急性肺水肿、肺性脑病、呼吸衰竭、窒息等症。随着急性发作次数增多,机体会出现肺功能进行性恶化,最终导致不可逆性的气道阻力受限,发展为慢性阻塞性肺疾病,严重威胁机体生命安全^[3-4]。目前,对AECB的临床研究已受到国内外科研工作者的关注,但对于慢性支气管炎急性发作(acute exacerbations of chronic bronchitis, AECB)的动物模型研究未有相关报道,本实验结合AECB的致病因素和发病机制,选用多次气道内雾化吸入LPS的方式建立大鼠AECB模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级SD大鼠36只,体质量200~220 g,雌雄各半,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证号为SCXK(京)2019-0010,所有大鼠均在恒温(25℃)、恒湿(50%)的环境条件下饲养,自由饮水进食,所有操作均符合北京中医药大学实验动物伦理要求,批准文号:BUCEM-4-2021120201-4088。

1.2 实验试剂

复方甘草口服溶液(青岛黄海制药有限责任公

司,批号:2005801);脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)、氯化乙酰胆碱(美国Sigma Aldrich公司,批号:L2630、A6625-25G);组胺(上海源叶生物科技有限公司,批号:S20188-1g);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)检测试剂盒(酶联免疫吸附试验法)、白介素6(interleukin 6, IL-6)检测试剂盒(酶联免疫吸附试验法)(武汉云克隆科技股份有限公司,批号:SEA133Ra、SEA079Ra)。

1.3 实验仪器

Buxco RC肺功能仪检测系统(美国Buxco公司);精密蠕动泵(保定兰格恒流泵有限公司,型号:BT300-2J);小动物喉镜(北京元森凯德生物技术有限公司,型号:HY-SHJ01);石蜡包埋机、轮转式切片机[德国徕卡公司,型号:HistoCore Arcadia C、RM2255];微量液体气管内雾化器、大小鼠操作平台(北京元森凯德生物技术有限公司,型号:HY-LWH01、HY-SC01);BIOBASE离心机(济南鑫驰医疗科技有限公司,型号:TD-4M)。

1.4 动物分组与给药

将36只SD大鼠适应性喂养5 d后,按体质量随机分为3组,每组12只,分别为空白组、模型组、复方甘草组。采用异氟烷麻醉大鼠,麻醉后将大鼠置于大鼠插管台上,将小动物喉镜沿舌背弯度插至舌根部,挑起会厌软骨显露声门,在喉镜显示器的引导下将微量液体雾化器的给药端通过口腔沿声门插入气管,迅速将1 mg/mL的LPS溶液雾化喷入大鼠气管。第6、13、20天雾化给药25 μ L,第23、27天雾化

给药50 μL , 进行 AECB 的模型制备, 实验于第 30 天采集标本。剩余天数空白组和模型组灌服纯净水(10 mL/kg), 同时复方甘草组灌服复方甘草口服溶液(3 mL/kg), 1次/d, 共计灌胃给药 19 d。实验过程中, 因灌胃失误空白组与模型组大鼠各死亡一只。

1.5 样本采集与检测方法

1.5.1 肺功能检测 1.5%戊巴比妥钠(5 mg/kg)腹腔注射麻醉后气管插管, 另一端连接肺功能仪, 待肺功能仪基线平稳 5 min 后分别雾化吸入氯化乙酰胆碱和组胺 1:1 混合液, 总浓度为 3.125、6.25、12.5、25、50 mg/mL, 激发后通过测定大鼠气道阻力(airway remodeling, RI)较基础变化率的变化来反映大鼠的肺功能情况。

1.5.2 BALF 中白细胞总数计数和白细胞分类计数 分别采用 2 mL、2 mL、1 mL PBS 缓冲液灌洗大鼠左肺, BALF 回收率均在 90%以上, 离心后将细胞沉淀加入 50 μL 磷酸缓冲盐溶液(phosphate-buffered saline, PBS)致细胞重悬。取 10 μL 细胞悬液滴至细胞计数板进行白细胞计数。分别将 20 μL 细胞悬液涂于 2 张载玻片, 经瑞氏染色法进行细胞分类计数(分为两类:巨噬细胞、中性粒细胞), 置于 400 倍光学显微镜下观察, 每张涂片选取两个视野, 每个视野测定后取均值作为该切片的平均细胞数。

1.5.3 HE 肺组织病理学观察 取 4%多聚甲醛固定大鼠右肺, 常规脱水包埋, 切片后进行 HE 染色, 置于 200 倍镜分析肺部病理学变化。

1.5.4 PAS 染色 切片常规脱蜡至水后, 严格按照染色液试剂盒说明书进行糖原 PAS 染色, 并置于 200 倍镜观察大鼠气道黏膜杯状细胞增生结果, 每张切片选取 5 个视野, 结果采用 ImageJ 软件进行计数, 每个视野计数后取均值作为该切片的平均阳性细胞数。

1.5.5 Masson 染色 切片常规脱蜡至水后, 严格按照染色液试剂盒说明书进行 Masson 染色, 并置于 200 倍镜观察大鼠肺组织胶原沉积情况, 每张切片选取 5 个视野, 结果采用 ImageJ 软件进行胶原容积分数(collagen volume fraction, CVF)即胶原纤维面积占视野肺组织面积百分比的测定, 每个视野测定后取均值作为该切片的平均 CVF。

1.5.6 BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 水平 采用

ELISA 试剂盒的方法进行 BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 的测定, 用酶标仪测定 OD 值后再计算试剂样品的浓度。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 22.0 进行统计分析。计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示, 所有数据均进行正态检验, 数据满足方差齐时采用单因素方差分析, 组间比较采用 LSD 检验; 数据呈非正态或方差不齐时采用非参数检验或 Kruskal-Wallis 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠气道反应性测定

与空白组相比, 模型组大鼠注射不同剂量氯化乙酰胆碱和组胺 1:1 混合液后气道阻力显著升高($P<0.01$); 且随着氯化乙酰胆碱和组胺 1:1 混合液刺激浓度的增加, 气道阻力不断上升。与模型组相比, 复方甘草组大鼠气道阻力显著下降($P<0.01$)。详见图 1。

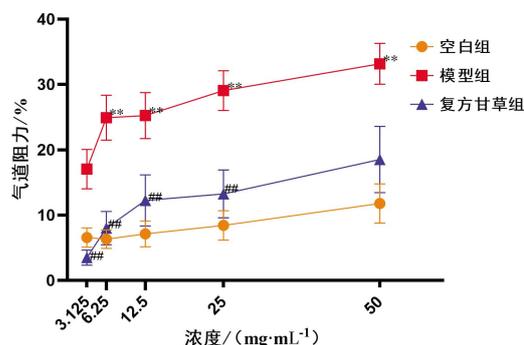


图 1 氯化乙酰胆碱和组胺对各组大鼠气道阻力的影响

注:与空白组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.01$ 。

2.2 各组大鼠 BALF 白细胞总数计数及分类计数

与空白组相比, 模型组大鼠 BALF 中白细胞总数显著上升($P<0.01$); 与模型组相比, 复方甘草组白细胞总数明显降低($P<0.05$)。详见图 2。

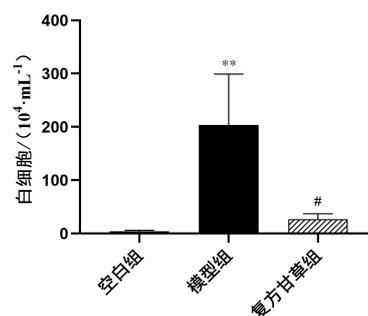


图 2 各组大鼠 BALF 中白细胞总数计数结果

注:与空白组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.05$ 。

与空白组相比,模型组大鼠 BALF 中中性粒细胞和单核巨噬细胞数量显著增加($P<0.01$);与模型组相比,复方甘草组 BALF 中中性粒细胞和单核巨噬细胞数量明显减少($P<0.05$)。详见图 3。

2.3 各组大鼠肺组织病理学改变

与空白组相比,模型组大鼠支气管黏膜上皮存在局部脱落缺损,管腔变窄且腔内出现较多炎性分泌物,伴肺泡塌陷,肺泡间隔增厚和肺出血,大量炎性细胞浸润。与模型组相比,复方甘草组大鼠支气管黏膜上皮基本完好,肺泡壁和肺泡腔存在轻微的充血扩张,可见少量炎性细胞浸润。详见图 4。

2.4 各组大鼠气道黏膜杯状细胞增生结果比较

糖原 PAS 染色,大鼠气道黏膜中杯状细胞呈紫红色。与空白组相比,模型组大鼠气道黏膜杯状细

胞数量明显增多,气道黏液分泌增加($P<0.01$);与模型组相比,复方甘草组大鼠气道黏膜杯状细胞数量明显减少,气道黏液分泌减轻($P<0.05$)。详见图 5、图 6。

2.5 各组大鼠气道重塑结果比较

与空白组相比,模型组大鼠肺组织出现明显病变,气管周围及肺泡间隔出现大量呈束状或片状的蓝色胶原纤维增生,细支气管相邻肺泡发生融合,支气管壁出现明显增厚,蓝色胶原纤维面积占视野肺组织面积百分比即气道外周 CVF 显著增加($P<0.01$);与模型组相比,复方甘草组大鼠肺组织结构较为完整,气管周围及肺泡间隔中胶原纤维沉积和管壁增厚情况明显减轻,CVF 显著降低($P<0.01$)。详见图 7、图 8。

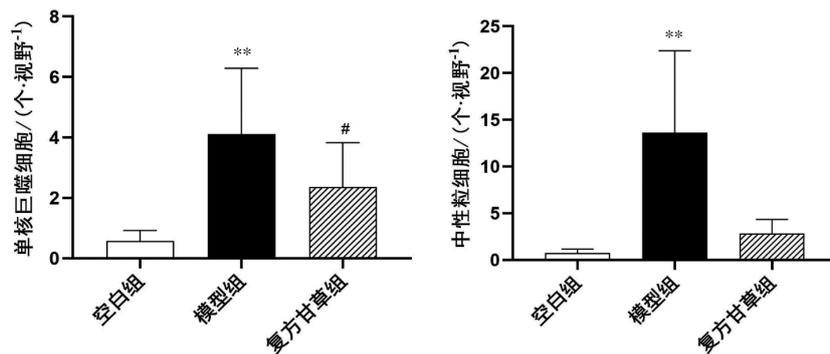


图 3 各组大鼠 BALF 中中性粒细胞、单核巨噬细胞计数结果

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

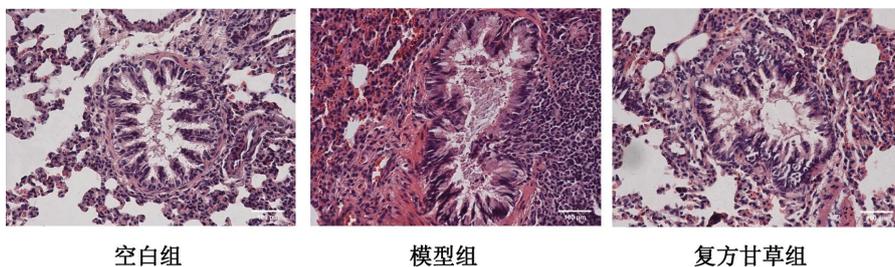


图 4 各组大鼠肺组织病理学(HE,×200)

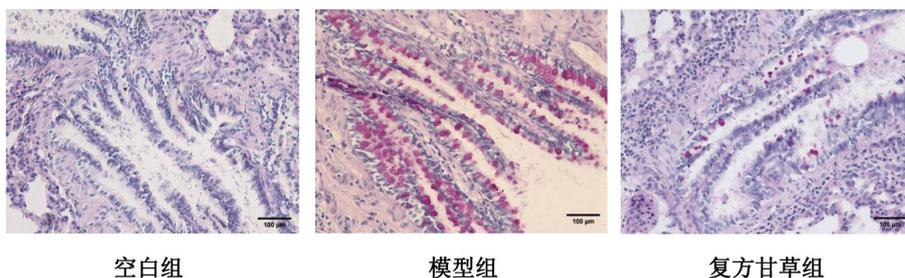


图 5 各组大鼠气道黏膜杯状细胞染色结果(PAS,×200)

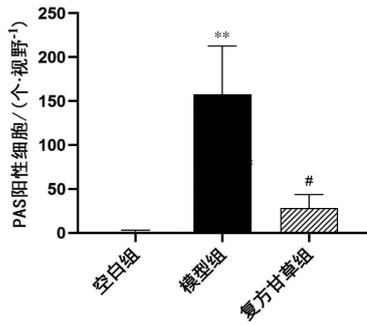


图6 各组大鼠肺组织 PAS 阳性细胞数结果
注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

2.6 各组大鼠 BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 含量比较

与空白组比较,模型组大鼠 BALF 中促炎因子 IL-6 和 TNF- α 含量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,

复方甘草组大鼠 BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 含量显著降低($P<0.01$)。详见图9。

3 讨论

CB 是指发生在气管、支气管黏膜部位以及周围组织的慢性非特异性炎症,分为慢性发作期以及急性发作期。AECB 是支气管黏膜炎症急剧增加,常由呼吸道感染等原因所诱发,临床表现的主要症状为发热、痰量增加、喘息加重等^[5-6]。50%~70%的 CB 是由细菌感染引起的,现主要采取抗炎、镇咳祛痰、平喘等方法进行治疗。复方甘草口服溶液收载于《中华人民共和国药典》(2020 版二部),系由甘草流浸膏、愈创甘油醚、复方樟脑酊、甘油等制成的复方制剂,

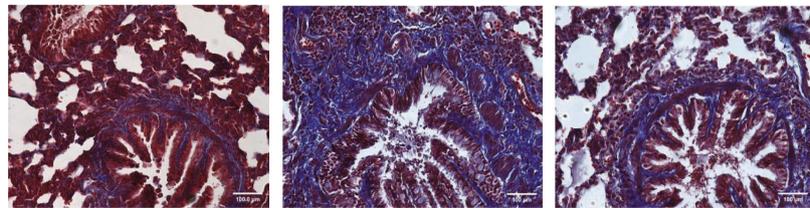


图7 各组大鼠肺组织胶原纤维沉积结果(Masson, $\times 200$)
A.空白组 B.模型组 C.复方甘草组

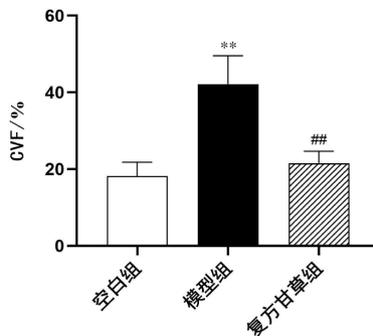


图8 各组大鼠气道 CVF 比较
注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

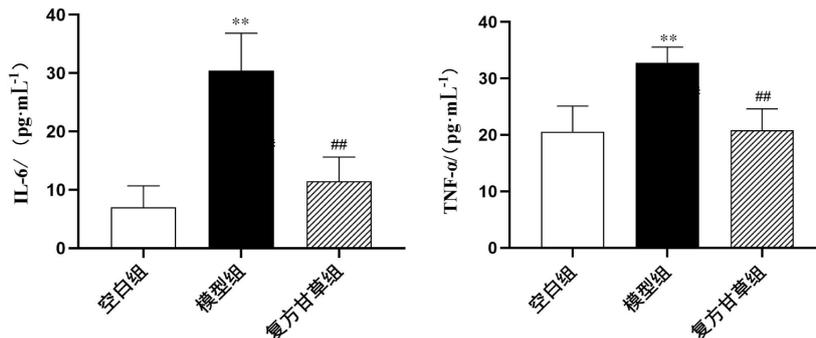


图9 各组大鼠 BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 水平
注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

其中甘草流浸膏为保护性祛痰剂,复方樟脑酊为镇咳药,愈创甘油醚为祛痰止咳剂,该制剂能减轻咽部黏膜的刺激,主要用于治疗上呼吸道感染、支气管炎和感冒产生的咳嗽及咳痰不爽^[7-8]。相关实验证明,复方甘草口服溶液可显著减少枸橼酸刺激豚鼠呼吸道后引起的咳嗽次数,促进小鼠气管内酚红排泄量,保护因乙酰胆碱合并组胺喷雾造成的喘息症状,作用显著,疗效确切^[9]。

LPS 作为革兰氏阴性细菌胞壁外膜层的主要成分,是一种非常有效的刺激性物质,其优点是简单经济、易定量、刺激强度稳定^[2]。LPS 腹腔注射或静脉注射实验动物进而引发炎症反应作为早期常用的炎症造模方法,优点是简便易行,但易引发强烈的全身性炎症反应,导致实验动物休克甚至死亡。而局部给药法如口咽吸入、气管滴入、经鼻滴入等给药途径对肺部损伤较大,在给药过程中会出现药物聚集现象,肺部损伤程度不一致且可复制性差;而雾化吸入给药肺部损伤程度较为明显,造模成功率较高^[10]。本研究综合前期预实验结果以及相关参考文献,采用直接气道内雾化给药的方式,相较于传统雾化给药方法,实现耗时短、吸入剂量可控、雾化分布均匀,病理变化稳定,可复制性强等优点,最终建立大鼠 AECB 模型。

LPS 可刺激活化肺泡巨噬细胞,致使机体中 IL-6、TNF- α 等炎症因子释放异常,从而导致炎症反应的发生发展及自身组织的破坏,其病理特征表现为炎性细胞浸润、气道黏液堵塞、肺泡间隔增厚和肺出血,支气管壁杯状细胞增殖以及气道重塑等。IL-6 可参与机体炎症反应、调节免疫应答等,其表达水平的高低可以表示炎症的轻重,可作为 LPS 所致 AECB 模型中急性炎症的标志^[11]。TNF- α 由单核巨噬细胞产生,能够直接激活炎性细胞,促使其释放大量的氧和氮基团,破坏氧化-抗氧化平衡,引起气道组织损伤^[12]。TNF- α 作为气道炎症反应过程中重要的启动因子,还可诱导一系列炎症因子如 IL-6、TNF- α 的产生与释放,引起肺组织的炎症反应级联放大,加重支气管炎反应^[13]。IL-6、TNF- α 二者水平的波动是 AECB 炎症程度的直接表现,也是判定

AECB 的疗效、病情自然转归的关键指标,与临床诊断相一致^[14-17]。本研究结果显示,模型组大鼠 BALF 中白细胞计数、单核巨噬细胞和中性粒细胞数量显著增加($P<0.01$);BALF 中促炎因子 IL-6、TNF- α 水平升高($P<0.01$),提示模型组大鼠气道存在炎症反应,且慢性和急性炎症症状兼存。而复方甘草组较模型组相关症状减轻,可能通过降低 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平,减少炎症因子连锁释放,减轻大鼠肺部炎症,从而发挥对 AECB 的治疗作用。

AECB 的炎症反应能够引起气道黏膜杯状细胞增生,支气管黏液腺增生与肥大,炎性刺激引起黏液增生与化生,造成黏液高分泌现象,加重气道阻塞,引起通气功能障碍^[18-19]。此外,大量细胞因子如 TNF- α 等的分泌导致血管内皮细胞增生,增加血液通透性及诱导血管生成,改变气道微循环,结果主要表现为气道重塑,而气道黏膜损伤、气道重塑会导致气道狭窄和气管痉挛,其主要临床表现为气流阻塞^[20]。本研究结果显示,模型组大鼠气道阻力随氯化乙酰胆碱和组胺浓度的不断升高而升高;支气管黏膜上皮存在部分脱落坏死,管腔变窄且腔内出现较多炎性分泌物,伴肺泡塌陷,肺泡间隔增厚和肺出血,气道上皮杯状细胞增生,气道黏液分泌增加,气管周围及肺泡间隔出现大量胶原纤维沉积,提示模型组存在急慢性炎症损伤、黏液高分泌、气道重塑、气道高反应等。而复方甘草组较模型组相关症状减轻,可能与减轻炎症反应、缓解气道重塑以及改善气道高反应等有关。

综上所述,本研究采用多次气道内雾化吸入 LPS 成功建立大鼠 AECB 模型,通过肺功能、炎症因子等指标,以及组织病理学检测进行验证,为深入研究 AECB 的发病机制和研究开发新药提供参考。

参考文献

- [1] 凌 嫻, 闵 锐, 范伏元. 基于信号通路 p38 MAPK 探讨疏风宣肺汤对大鼠慢性支气管炎模型 TNF- α 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(6): 708-712.
- [2] 崔 爽, 张明倩, 梁五林, 等. 慢性支气管炎动物模型的研究进展[J]. 实验动物科学, 2021, 38(4): 78-83.
- [3] KIM V, CRINER G J. Chronic bronchitis and chronic

- obstructive pulmonary disease[J]. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2013, 187(3): 228-237.
- [4] PELKONEN M K, NOTKOLA I L K, LAATIKAINEN T K, et al. Chronic bronchitis in relation to hospitalization and mortality over three decades[J]. *Respiratory Medicine*, 2017, 123: 87-93.
- [5] 储小毛,杨勤军,李泽庚,等.疏风解毒胶囊辅助治疗慢性支气管炎急性发作的 Meta 分析[J].*中国民族民间医药*,2022,31(5):71-80.
- [6] YAKOOT M, SALEM A, OMAR A M. Clinical efficacy of farcosolvin syrup (ambroxol-theophylline-guaiphenesin mixture) in the treatment of acute exacerbation of chronic bronchitis[J]. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 2010, 5: 251-256.
- [7] 高毅哲,李占清,高木火,等.复方甘草口服溶液联合复方甲氧那明治疗肺切除术后持续咳嗽的有效性[J].*中国医药指南*,2021,19(31): 128-129,132.
- [8] 杨娜,朱健萍,卢日刚.GC 测定复方甘草口服溶液中乙醇和甘油含量[J].*广东化工*,2020,47(16):172-173,195.
- [9] 叶晓宗,何艳玲,刘新贵.复方甘草口服溶液止咳平喘祛痰的实验研究[J].*今日药学*,2009,19(12):24-26.
- [10] 张亚平,张广平,苏萍,等.不同途径吸入脂多糖致大鼠急性肺炎模型的优选[J].*中国实验方剂学杂志*,2018,24(7):82-88.
- [11] ZHANG B, LIU Z Y, LI Y Y, et al. Antiinflammatory effects of matrine in LPS-induced acute lung injury in mice [J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011, 44 (5): 573-579.
- [12] 田伟,张淑香,江柏华.清肺止咳灵糖浆对慢性支气管炎急性发作期大鼠肺组织病理学及血清 IL-8、TNF- α 的影响[J].*上海中医药杂志*,2016,50(11):78-81.
- [13] 孙璐,谭静,阳仁达,等.隔药饼灸对慢性支气管炎模型大鼠肺组织 TNF- α 蛋白及其 mRNA 表达的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2018,38(11):1273-1277.
- [14] 杨恂,刘晓俊,官和立,等.白细胞介素对慢性支气管炎急性期的诊断性试验[J].*华西医学*,2010,25(5):821-824.
- [15] 肖泽洲.川芎嗪注射液联合注射用头孢呋辛钠治疗老年慢性支气管炎急性发作期患者的疗效及安全性分析[J].*实用中西医结合临床*,2021,21(13):74-75.
- [16] 王军华,王懿怡,黄龙.咳喘胶囊联合头孢他啶治疗慢性支气管炎急性发作期[J].*实用中西医结合临床*,2021,21(23):11-12,76.
- [17] 范洪涛,黄小平,黄鑫成,等.强力枇杷露联合西药治疗慢性支气管炎急性加重期的效果及对炎症因子、生活质量的影响[J].*中国医药导报*,2020,17(4):102-105.
- [18] KESIMER M, FORD A A, CEPPE A, et al. Airway mucin concentration as a marker of chronic bronchitis[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2017, 377(10): 911-922.
- [19] 康睿,张亚琼.阿比多尔对慢性阻塞性肺疾病大鼠气道炎症及气道黏液高分泌影响的实验研究[J].*陕西医学杂志*,2022,51(4): 391-395.
- [20] FANG L, SUN Q Z, ROTH M. Immunologic and non-immunologic mechanisms leading to airway remodeling in asthma[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (3): 757.

(本文编辑 苏维)