

● 实验研究 ●

引用:贺思雨,朱沁泉,张涤. 降气平喘方对哮喘大鼠气道平滑肌细胞中 ADAM33 和 ETS-1 表达的影响[J]. 湖南中医杂志,2024,40(4):141-146.

降气平喘方对哮喘大鼠气道平滑肌细胞中 ADAM33 和 ETS-1 表达的影响

贺思雨¹,朱沁泉²,张 涤²

(1. 湖南中医药大学第一中医临床学院,湖南 长沙,410007;

2. 湖南中医药大学第一附属医院,湖南 长沙,410007)

[摘要] 目的:探讨降气平喘方含药血清对哮喘大鼠气道平滑肌细胞(ASMC)中易感基因整合素金属蛋白酶 33(ADAM33)和 E26 转录因子-1(ETS-1)表达的影响及其作用机制。方法:通过卵清蛋白(OVA)致敏建立大鼠哮喘模型,另取 SD 雌性大鼠分组(降气平喘方组、孟鲁司特钠组)灌胃给药制备不同浓度的含药血清,即降气平喘方组血清分别配制为浓度 5%、10%、15% 的中药含药血清培养液,孟鲁司特钠组血清配制为 30% 浓度的西药含药血清培养液,分别对体外培养的 ASMC 进行同化干预 24h。采用 CCK8 法测定不同含药血清对 ASMC 生长的抑制率,ELISA 法检测各组细胞培养上清液中转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、白细胞介素-6(IL-6)的浓度,Western Blot 法检测各组细胞中 ADAM33、ETS-1 蛋白表达情况。结果:培养出的细胞在细胞免疫荧光检测下鉴定成功;5%和 10% 中药血清组均能明显抑制 ASMC 的增殖($P<0.05$ 或 $P<0.01$);ASMC 培养上清液中,10% 中药血清组的 TGF- β 1 和 IL-6 浓度较哮喘模型组明显降低($P<0.05$);与哮喘模型组比较,10% 中药血清组对 ADAM33 蛋白的高表达下调作用更显著($P<0.01$),10%、15% 中药血清组及 30% 西药血清组对 ETS-1 蛋白的高表达下调更显著($P<0.01$)。结论:降气平喘方可通过调控 ADAM33 和转录因子 ETS-1 表达,减少炎症细胞介质 TGF- β 1 和 IL-6 释放以及改善气道重塑,达到干预和治疗哮喘的作用。

[关键词] 哮喘;降气平喘方;气道平滑肌细胞;易感基因;气道重塑

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2024.04.036

Effect of Jiangqi Pingchuan prescription on the expression of a disintegrin and metalloprotease 33 and E26 transformation-specific 1 in airway smooth muscle cells of rats with asthma

HE Siyu¹, ZHU Qinquan², ZHANG Di²

(1. The First Traditional Chinese Medicine Clinical College of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan, China;

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

[Abstract] Objective: To investigate the effect of serum containing Jiangqi Pingchuan prescription on the expression of the susceptibility genes a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) and E26 transformation-specific 1 (ETS-1) in airway smooth muscle cells (ASMCs) of rats with asthma and its mechanism of action. Methods: Ovalbumin sensitization was used to establish a rat model of asthma, and female Sprague-Dawley rats were divided into Jiangqi Ping-

基金项目:湖南省政府特批专项“张涤中医儿科临床研究所专项”(99-16);湖南省教育厅资助项目(18C0397);湖南中医药大学研究生创新课题(2022CX158)

第一作者:贺思雨,女,2021 级硕士研究生,研究方向:中医药防治小儿呼吸系统疾病

通信作者:张涤,男,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中医药防治儿科疾病,E-mail:2655357548@qq.com

chuan prescription group and montelukast sodium group and were given drug-containing serum at different concentrations. The serum containing 5%, 10%, and 15% Jiangqi Pingchuan prescription was prepared for the Jiangqi Pingchuan prescription group, and the serum containing 30% montelukast sodium was prepared for the montelukast sodium group. ASMCs cultured in vitro were assimilated and intervened using the drug-containing serums for 24 hours. CCK8 assay was used to measure the inhibition rate of different drug-containing serums on the growth of ASMCs; ELISA was used to measure the concentration of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and interleukin-6 (IL-6) in the supernatant of each group; Western blot was used to measure the protein expression levels of ADAM33 and ETS-1 in cells. Results: The cells cultured were successfully identified by cellular immunofluorescence technique. The serum containing 5% and 10% Jiangqi Pingchuan prescription significantly inhibited the proliferation of ASMCs ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In the supernatant of ASMCs, the 10% Jiangqi Pingchuan prescription group had significant reductions in the concentration of TGF- β 1 and IL-6 compared with the asthma model group ($P < 0.05$). Compared with the asthma model group, the 10% Jiangqi Pingchuan prescription group had significantly greater downregulation of the high expression level of ADAM33 protein ($P < 0.01$), and the 10% and 15% Jiangqi Pingchuan prescription groups and the 30% Western medicine group had significantly greater downregulation of the high expression level of ETS-1 protein ($P < 0.01$). Conclusion: Jiangqi Pingchuan prescription can reduce the release of the inflammatory cytokines TGF- β 1 and IL-6 and improve airway remodeling by regulating the expression of ADAM33 and the transcription factor ETS-1, thereby exerting an interventional and therapeutic effect on asthma.

[**Keywords**] asthma; Jiangqi Pingchuan prescription; airway smooth muscle cells; susceptibility gene; airway remodeling

哮喘是一种常见的慢性呼吸道疾病,其发病率逐年上升^[1]。据统计,我国有半数哮喘患者是在儿童期发病的^[1-2]。哮喘患儿往往病程持续时间长,可能对学习、生活及日常活动产生不同程度的影响,严重危害儿童的身体和心理健康^[3]。目前,现代医学通常将激素作为长期控制儿童哮喘发作的首选药物^[4-5],虽能取得一定疗效,但由于儿童与成人在药物新陈代谢水平上存在差异,加上患儿对激素反应性的个体差异,儿童使用糖皮质激素类药物存在一定风险且控制效果不佳^[6]。与西医相比,中医注重整体观念,强调未病先防、既病防变,可通过提高患儿的免疫力以治疾病之本,且中医药治疗有着成本较低、毒副作用小、耐受性好的优点,因此,中医药在儿童哮喘的诊疗和管理方面独具优势^[7-8]。

湖南省名中医张涤教授在儿童哮喘诊疗方面经验丰富,其自创的降气平喘方治疗小儿哮喘急性发作期疗效显著^[9-10]。本研究通过观察降气平喘方含药血清对体外培养大鼠气道平滑肌细胞(ASMC)的增殖及其转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、白细胞介素-6(IL-6)释放和易感基因解整合素金属蛋白酶33(ADAM33)、E26转录因子-1(ETS-1)表达的影响,从气道重塑、易感基因异常表达等角度探讨降气平喘方治疗哮喘的作用机制。

1 实验材料

1.1 动物 40只SPF级SD雌性大鼠,体质量180~220g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号SCXK(湘)2019-0004,在SPF级动物实验室分笼喂养,饲养环境温度:(23±3)℃,饲养环境湿度:(55±15)%。动物实验经湖南中医药大学第一附属医院伦理委员会批准进行,实验动物符合伦理委员会规定,伦理委员会编号:ZYFY20210408。

1.2 药物及试剂 降气平喘方:蜜麻黄1g,桔梗3g,苦杏仁3g,桑白皮5g,地骨皮5g,白果2g,紫苏子2g,葶苈子2g,白前3g,百部3g,款冬花3g,紫菀3g,甘草2g。处方药物均购自湖南中医药大学第一附属医院门诊中药房,经浸泡、煎煮、浓缩至生药量为1g/ml,置于4℃冰箱中保存;孟鲁司特钠咀嚼片(杭州默沙东药业股份有限公司,批准文号:国药准字J20130054,规格:5mg/片)。高纯卵清蛋白(DVA,美国Sigma公司,批号:A8041-1g),氢氧化铝AR(批号:A800852-500g);DAPI溶液(即用型)10μg/ml(批号:C0065-10ml),SDS(批号:#S8010-500g),Tween 20(批号:#T8220)均购自北京索莱宝科技有限公司;1640(西安融智生物技术有限公司,批号:C11875500BT),胎牛血清(批号:FSP500),青霉素-链霉素溶液(双抗)100×(批号:

PB180120),胰蛋白酶-EDTA 消化液(0.25%)含酚红(批号:PB180226),无血清非程序冻存液(批号:PB180438),磷酸缓冲盐溶液(PBS)(批号:PB180327)均购于武汉普诺赛生命科技有限公司;BSA(广州赛国生物科技有限公司,批号:4240GR025);Anti- α smooth muscle Actin 抗体[1A4](ab7817)(英国 Abcam 公司,批号:ab7817);Fluorescein (FITC)-conjugated Affinipure Goat Anti-MouseIgG(H+L)(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:SA00003-1);CCK8 试剂盒(兰杰柯科技有限公司,批号:BS350B);Rat IL-6 ELISA 试剂盒(批号:E-EL-R0015c),TGF- β 1 ELISA 试剂盒(批号:E-EL-0162c)均购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;ADAM33 Rabbit pAb(武汉爱博泰克生物技术有限公司,批号:A8265);Anti-ETS1 antibody(杭州华安生物技术有限公司,批号:HA500065),PierceTM Rapid Gold BCA Protein Assay Kit(批号:69107317);5 $\times$ 蛋白上样缓冲液(武汉四维加生物技术有限公司,批号:8190011128);TRIS(批号:115KG001-1KG),甘氨酸(批号:1275KG2P5-2.5KG)均购自广州赛国生物科技有限公司;甲醇(国药集团化学试剂有限公司,批号:10014118);ECL 化学发光底物(美国 Bio-Rad 公司,批号:170-5060),蛋白 Marker(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号:26616)。

1.3 主要仪器 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司,型号:SW-CJ-2FD)、二氧化碳培养箱(德国 Eppendorf 公司,型号:Galaxy170RCO2)、倒置生物显微镜(广州粤显光学仪器有限责任公司,型号:XDS-3)、激光共聚焦(德国 Carl Zeiss AG,型号:LSM800)、倒置荧光显微镜(日本奥林巴斯公司,型号:IX71)、H1850 高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1850)、多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司,型号:FlexStation 3)、电泳槽(北京六一生物技术有限公司,型号:DYY-6C)、高速离心机(江苏科析仪器有限公司,型号:TGL-16)、暗匣(广东粤华医疗器械厂有限公司,型号:AX-II)。

2 实验方法

2.1 哮喘模型建立 取 10 只 SPF 级 SD 雌性大鼠,按体质量随机分为正常组大鼠和哮喘模型组大鼠 2 组,每组各 5 只。模型组大鼠参照文献[11]报

道并加以改进复制哮喘模型,分别于第 0 天、第 7 天予大鼠腹腔注射 0.2 ml OVA 致敏液致敏,第 14 天将大鼠放入雾化器的有机玻璃盒中雾化吸入 30 min 激发,每天 1 次,连续雾化吸入 14 d,之后在第 31、34、37、40、44、47、50、53 天以同样方法雾化激发,共激发 22 次。

2.2 含药血清制备 取 30 只 SPF 级 SD 雌性大鼠,按体质量随机分为验方组(降气平喘方,生药量为 1 g/ml)、孟鲁司特钠组(用 0.9%氯化钠注射液配制成含药量为 0.26 mg/ml 药液)、空白组(等量 0.9%氯化钠注射液),每组各 10 只。根据药物临床等效剂量对各给药组进行灌胃干预,灌胃体积为 10 ml/kg,每天 1 次,连续灌胃 7 d。在最后 1 次给药 2 h 后,用 3%戊巴比妥钠腹腔注射对大鼠进行腹腔麻醉,腹主动脉收集全血后离心分离血清,恒温水浴灭活、分装、于-80℃冰箱中保存备用。

2.3 ASMC 分离培养 取造模成功的大鼠,用戊巴比妥钠麻醉后,在无菌台上迅速分离大鼠的肺组织以及气管支气管,随后将大鼠处死。ASMC 分离方法参照文献[12-13]中的有关内容并加以改进。在超净台内分离出支气管树,用眼科剪将组织剪碎(≤ 1 mm),消化、离心后转入 25 ml 培养瓶并使组织块较均匀地铺满底部,置培养箱中半开放式培养,3 d 后换液。细胞长满后用差速贴壁法进行细胞纯化,经 2 次差速贴壁后得到较纯的 ASMCs^[14]。待细胞生长密度至近满瓶底时,以 1:2 进行传代接种在新的培养瓶中,细胞传代周期约 4~6 d。此实验选用第 4 代细胞,此时细胞生长活性更好,增长速度最佳,且更好地保留了造模后细胞的主要特性。

2.4 细胞干预及实验分组 取第 3 代生长的 ASMC,经消化、离心、重悬、铺板,待细胞贴壁完全并融合至 80%左右时进行换液。参考相关文献进行细胞干预及分组^[15-17],用含有不同浓度的血清等量培养基同步干预 24 h,分为以下 6 组:正常细胞组、哮喘模型组、5%中药血清组、10%中药血清组、15%中药血清组、30%西药血清组。其中正常细胞组:正常大鼠细胞+完全培养液,哮喘模型组:哮喘模型细胞+完全培养液,5%中药血清组:哮喘模型细胞+含 5%验方组大鼠血清的完全培养液,10%中药血清组:哮喘模型细胞+含 10%验方组大鼠血清的完全培养液,15%中药血清组:哮喘模型细胞+含 15%验方组

大鼠血清的完全培养液,30%西药血清组:哮喘模型细胞+含30%孟鲁司特钠组大鼠血清的完全培养液。其中完全培养液由10%胎牛血清,1%青霉素、链霉素混合液和RPMI 1640培养基组成。

2.5 观察指标

2.5.1 ASMC 鉴定 经纯化后的 ASMC 分别通过细胞形态学观察和细胞免疫荧光检测 α -肌动蛋白的表达。

2.5.2 测定不同含药血清对 ASMC 生长的抑制率

采用 CCK8 法检测,根据不同血清及浓度分组、种板,每组设置6个复孔,含药血清同步干预24 h,避光条件下加入含10% CCK-8 溶液的培养基,放入培养箱内避光继续孵育2 h,再在酶标仪上选取450 nm 波长测定每孔的吸光度值并记录结果。

2.5.3 检测各组细胞培养上清中 TGF- β 1、IL-6 的含量 采用 ELISA 法检测,根据不同血清及浓度分组、种板,每组设置2个复孔。含药血清同步干预24 h 后收集细胞上清液,离心20 min 以除去杂质和细胞碎片,取上清液检测,接种于酶标板内,每个样本设置3个复孔。按照 ELISA 说明书的具体步骤进行操作,反应终止后立即用酶标仪在450 nm 波长下测量各孔的光密度(OD 值)。根据标准孔的浓度及 OD 值绘制出标准曲线,再计算出每个待测样本所对应的浓度,进行统计学分析。

2.5.4 检测各组细胞中 ADAM33、ETS-1 蛋白的表达情况 采用 Western Blot 法检测,将细胞分组后,接种于培养瓶中,至细胞密度为 1×10^6 以上,含药血清干预24 h 后裂解细胞提取蛋白,离心、收集上清,即为总蛋白溶液。每个样品总蛋白溶液加入 $5 \times$ loading buffer,涡旋混匀,98℃加热10 min,后进行电泳、转膜、封闭,加入一抗4℃孵育过夜,用 TBST 洗5次,加入二抗孵育1 h,用 TBST 洗5次,滴加新鲜配制的 ECL 混合溶液到膜的蛋白面侧,发光检测。经 AlphaEaseFC 软件处理系统分析目标带的光密度值,所测的目的蛋白灰度值和内参条带的灰度值之间比值即为所测目的蛋白的相对表达量。

2.6 统计学方法 采用 SPSS Statistics 25.0 统计软件进行数据分析,实验结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。若统计数据符合正态分布和方差齐性,采用单因素方差分析;如不符合正态分布,采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 ASMC 鉴定 1)细胞形态学观察。通过倒置显微镜观察,培养的 ASMC 汇合后形成长条状梭形细胞,以平行方式生长,细胞排列呈束状。在细胞集中与分散区域,纵横交错呈现“峰谷”状的结构。2)细胞免疫荧光检测。通过细胞免疫荧光检测,在共聚焦显微镜下观察则可见抗平滑肌 α -actin 抗体呈阳性染色,大量绿色荧光和平行于细胞纵轴的平滑肌 α 肌动蛋白丝在胞浆内清晰可见,细胞核在 DAPI 染色下为蓝色。(见图1~2)

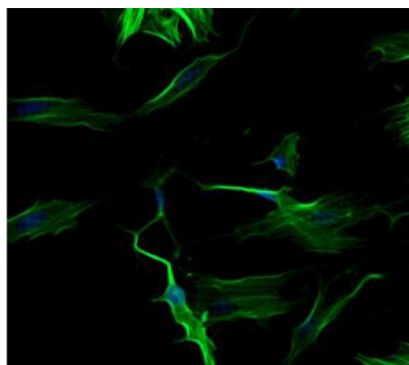


图1 ASMC 胞浆中平滑肌 α 肌动蛋白丝 (免疫荧光, $\times 200$)

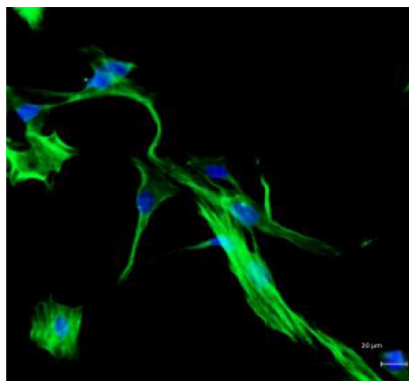


图2 ASMC 染色胞浆细胞核(免疫荧光, $\times 200$)

3.2 不同含药血清对增殖 ASMC 的抑制率及 ASMC 上清液中 TGF- β 1、IL-6 含量比较 与哮喘模型组比较,不同含药血清组对 ASMC 的增殖均有不同程度的抑制,但仅5%中药血清组和10%中药血清组能明显抑制 ASMC 的增殖($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

与正常细胞组比较,哮喘模型组细胞培养上清液中 TGF- β 1 和 IL-6 的浓度均升高($P < 0.01$);与哮喘模型组比较,仅10%中药血清组干预后的上清液中 TGF- β 1 和 IL-6 的浓度明显降低($P < 0.05$)。(见表1)

表 1 不同含药血清对增殖 ASMC 的抑制率及 ASMC 上清液中 TGF-β1、IL-6 含量比较(̄x±s)

组别	只数	抑制率/%	TGF-β1 (ng/ml)	IL-6 (pg/ml)
正常细胞组	30	-	0.19±0.13	16.22±0.40
哮喘模型组	30	0	6.31±1.99 ^a	36.15±12.81 ^a
5%中药血清组	30	0.20±0.03 ^b	2.39±0.76	18.59±1.18
10%中药血清组	30	0.29±0.06 ^c	0.32±0.08 ^b	18.28±1.19 ^b
15%中药血清组	30	0.16±0.02	2.72±0.33	19.15±0.46
30%西药血清组	30	0.10±0.11	3.27±0.33	20.93±1.18

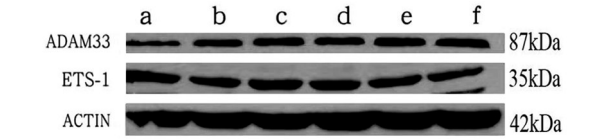
注:与正常细胞组比较,^a*P*<0.01;与哮喘模型组比较,^b*P*<0.05,^c*P*<0.01。

3.3 各组含药血清对 ASMC 中 ADAM33、ETS-1 蛋白的表达情况比较 与正常细胞组比较,哮喘模型组中细胞 ADAM33 和 ETS-1 蛋白的相对表达量均有所上调(*P*<0.05)。与哮喘模型组比较,10%中药血清组中细胞的 ADAM33 蛋白表达水平显著降低(*P*<0.01),5%中药血清组中细胞的 ADAM33 蛋白表达水平上调(*P*<0.05);10%、15%中药血清组及 30%西药血清组中细胞的 ETS-1 蛋白表达水平降低(*P*<0.01)。(见表 2、图 3)

表 2 各组含药血清对 ASMC 中 ADAM33、ETS-1 蛋白的表达情况比较(̄x±s)

组别	只数	ADAM33	ETS-1
正常细胞组	30	1.602±0.133	1.537±0.122
哮喘模型组	30	1.678±0.142 ^a	1.837±0.128 ^a
5%中药血清组	30	1.993±0.153 ^b	1.969±0.118
10%中药血清组	30	1.279±0.096 ^c	1.305±0.083 ^c
15%中药血清组	30	1.643±0.107	1.288±0.098 ^c
30%西药血清组	30	1.473±0.091	1.103±0.111 ^c

注:与正常细胞组比较,^a*P*<0.05;与哮喘模型组比较,^b*P*<0.05,^c*P*<0.01。



注:a—正常细胞组;b—哮喘模型组;c—5%中药血清组;d—10%中药血清组;e—15%中药血清组;f—30%西药血清组。

图 3 各组含药血清处理后 ASMC 中 ADAM33、ETS-1 蛋白的表达情况

4 讨 论

哮喘是一种复杂的多基因疾病,很难指出某单一的病因,一般与变应原、气候变化、遗传、精神等方面相关^[18-19],非特异性刺激是诱发哮喘急性发作

的直接原因,但对于不同个体而言,遗传因素则决定了哮喘易感性的差异。

中医治疗疾病强调整体观念,以“治病求本”为原则进行辨证论治。张教授认为,儿童哮喘多发为外寒肺热之证,小儿肺常不足又乃纯阳之体,多因外感风寒邪气,后郁而化热,或伏痰内宿,积久热化,痰热胶着蕴结而壅塞气道。其治疗原则上遵循三因制宜、辨证论治,临床常运用自拟降气平喘方治疗^[20]。降气平喘方是根据《摄生众妙方》中的定喘汤化裁而来,该方由蜜麻黄、桔梗、苦杏仁、桑白皮、地骨皮、白果、紫苏子、葶苈子、白前、百部、款冬花、紫菀、甘草等组成,具有化痰止咳、降气平喘的作用。通过临床实践证明降气平喘方治疗小儿哮喘具有疗效显著、不良反应小、愈后良好、不易复发等特点^[10]。

大量临床研究证据表明,以气道平滑肌层肥厚为特征的气道重塑,是造成支气管哮喘患儿肺功能进行性减低和气道高反应持续状态的病理学基础^[21-22]。ADAM33 主要在 ASMC 中表达,其活性影响 ASMC 的功能,与细胞增殖和受损相关^[23]。气道平滑肌增殖也与分裂素的参与有关,这是一类能促进细胞裂解和有丝分裂的化学物质总称,其中就包括 TGF-β、IL-6 等,它们通过与细胞因子受体、络氨酸激酶受体(RTK)、G 蛋白偶联受体(GPCR)结合,激活 ERK 及 PI3K 通路,活化下游转录因子,磷酸化细胞周期导致气道平滑肌增殖^[24-25]。接触过敏原后,上皮细胞释放各种细胞因子和生长因子,如胰岛素样生长因子 IGF-1、转化生长因子 TGF-β1、炎症因子白细胞介素-1β(IL-1β)等,其参与炎症反应并促进平滑肌细胞的增殖^[26-27]。

近些年,随着分子和基因水平的研究发展,研究发现哮喘和很多基因的表达活性等密切相关^[28],ADAM33 是通过定位克隆发现的第一个哮喘特异性基因^[29],通过编码一种基质金属蛋白酶(MMPs),可以降解细胞外基质(ECM),相关研究表明 ECM 的过度产生和堆积是哮喘气道重塑最重要的病理变化之一^[30]。转录因子 ETS-1 是 ETS 家族的一员,与多种自身免疫性疾病有关^[31],可调节许多与哮喘有关的细胞因子和趋化因子的表达来参与哮喘的发病,其中就包括通过调节 MMPs 的转录来刺激表达,进而调节 ECM 的合成和降解。此外,许多参与气道炎症和气道重塑过程的基因表达也

受到 ETS-1 的调控^[32]。

本实验通过建立哮喘模型、制备含药血清干预体外培养的哮喘 ASMC,结果显示,降气平喘方含药血清能明显抑制异常的 ASMC 增殖;不同浓度的含药血清均可减少哮喘模型中 TGF- β 1 和 IL-6 释放;10%中药血清组可抑制 ADAM33 蛋白表达,10%、15%中药血清组及 30%西药血清组可抑制 ETS-1 蛋白表达,其作用程度还可能与药物的剂量和浓度有关。

因此,通过实验可推测降气平喘方治疗哮喘的作用机制是通过抑制易感基因的蛋白表达,进而减少相关炎症因子的释放、改善气道重塑以达到治疗哮喘、缓解症状的目的。综上所述,易感基因 ADAM33、ETS-1 可能为降气平喘方的作用靶点,为指导降气平喘方的临床应用及产业开发提供实验依据,也为中医药治疗小儿哮喘的研究提供思路。

参考文献

- [1] 中华儿科杂志编辑委员会,中华医学会儿科学分会呼吸学组,中国医师协会儿科医师分会儿童呼吸专业委员会. 儿童支气管哮喘规范化诊治建议(2020年版)[J]. 中华儿科杂志, 2020,58(9):708-717.
- [2] 顾丹彤,林燧恒. 多项膨胀效应模型对美国城市 4~9 岁儿童哮喘危险因素的分析[J]. 复旦学报:医学版,2021,48(1):47-54.
- [3] 殷菊,高琦,刘婷婷,等. 儿童支气管哮喘相关死亡的现状与危险因素[J]. 中华实用儿科临床杂志,2021,36(6):447-452.
- [4] RABE K F, NAIR P, BRUSSELLE G, et al. Efficacy and safety of dupilumab in glucocorticoid-dependent severe asthma[J]. N Engl J Med, 2018,378(26):2475-2485.
- [5] TANG Y, ZHANG C, ZHANG Z, et al. The efficacy and safety of different long-acting β_2 -agonists combined with inhaled glucocorticoid regimens in patients with asthma: A network meta-analysis[J]. Asthma, 2019,56(11):1159-1171.
- [6] 王志丹,何婷婷,姜倩雯,等. 哮喘患儿雾化吸入疗效与呼吸道感染及哮喘易感基因多态性的关联性[J]. 中华医院感染学杂志, 2021,31(11):1748-1753.
- [7] 陈赛男,于盼,方旭鹏,等. 儿童支气管哮喘常用中医外治法研究现状[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2018,20(5):728-733.
- [8] 杨勤军,杨程,童佳兵,等. 近 30 年中医药治疗支气管哮喘临床用药规律数据挖掘研究[J]. 北京中医药大学学报,2019,42(8):697-704.
- [9] 何炜星,张南. 张涤教授治疗肺炎喘嗽经验拾萃[J]. 湖南中医药大学学报,2019,39(12):1462-1465.
- [10] 陈创,刘微艳,朱沁泉,等. 张涤教授运用降气平喘汤治疗儿童哮喘经验介绍[J]. 中医儿科杂志,2017,13(2):14-17.
- [11] HUANG Z, GAO L, ZHAO X, et al. Effect of Gubenfangxiao decoction on respiratory syncytial virus-induced asthma and expression of asthma susceptibility gene orosomucoid 1-like protein 3 in mice[J]. Tradit Chin Med, 2016,36(1):101-6.
- [12] 吴海亚,戴元荣,尹娟. 改良组织贴块法培养大鼠气道平滑肌细胞[J]. 温州医学院学报,2010,40(6):571-573.
- [13] 亓玉心,杨文平,刘爽,等. 布地奈德对哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖及凋亡的影响[J]. 解剖学报,2021,52(5):795-802.
- [14] 邱晨,李娜. 气道平滑肌细胞培养方法探讨[J]. 广东医学, 2008,29(11):1791-1793.
- [15] 郑鑫鑫,吴晓玲,肖琳琳,等. 柴朴汤含药血清对气道上皮细胞株中 MAL、CADM1、TSLP、YKL-40 表达的影响[J]. 时珍国医国药,2022,33(8):1839-1842.
- [16] 叶卫东. 基于 TRPV1/TAS2R14 激活 Bel-2/Bnip3 介导线粒体活性探讨射干麻黄汤抑制哮喘大鼠平滑肌增殖的机制研究[D]. 合肥:安徽中医药大学,2023.
- [17] 龙声志,朱海燕,吴贤波,等. 防风乌梅含药血清对血小板衍生生长因子诱导气道平滑肌细胞迁移的影响[J]. 中医杂志, 2019,60(12):1062-1066.
- [18] 刘树俊,王婷婷,曹世钰,等. 中国儿童哮喘危险因素的 Meta 分析[J]. 中国当代儿科杂志,2018,20(3):218-223.
- [19] 芮晓清,姜艳蕊,朱绮,等. 学龄前儿童过敏性鼻炎合并哮喘的危险因素与生活质量分析[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科, 2020,27(5):263-266.
- [20] 朱沁泉,陈创,张涤. 基于中医传承辅助系统的张涤教授治疗儿童哮喘急性发作期组方用药经验挖掘[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(2):280-285.
- [21] 梁磊,张宇婧,李淑娣,等. 搜风愈喘方抑制哮喘大鼠气道重塑的作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理,2022,33(1):50-56.
- [22] EVASOVIC J M, SINGER C A. Regulation of IL-17A and implications for TGF- β 1 comodulation of airway smooth muscle remodeling in severe asthma[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2019,316(5):L843-L868.
- [23] 朱淑芬,杜立平. 内蒙古地区汉族支气管哮喘与 ADAM33 基因多态性的关系[J]. 现代免疫学,2018,38(6):470-474.
- [24] SHIFREN A, WITT C, CHRISTIE C, et al. Mechanisms of remodeling in asthmatic airways[J]. Allergy (Cairo), 2012, 2012:316049.
- [25] 龙声志,朱海燕,吴贤波,等. 防风-乌梅配伍含药血清对气道平滑肌细胞增殖模型表型转化调控作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(2):1-7.
- [26] 孙兆玉,任军华,杨斌. 川芎嗪对咳嗽变异性哮喘大鼠气道平滑肌组织转化生长因子通路相关蛋白表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2021,37(23):3266-3268,3278.
- [27] 黄少君,傅汝梅. 培土生金方对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者气道重塑机制的观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):174-179.
- [28] 谢宜俐,罗健. 儿童哮喘与成人慢性阻塞性肺疾病相关性研究进展[J]. 临床儿科杂志,2021,39(6):467-470.
- [29] VAN EERDEWEGH P, LITTLE R D, DUPUIS J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness[J]. Nature, 2002,418(6896):426-430.
- [30] 颜玺,郭亚蕾,薛中峰. 苍耳子挥发油对支气管哮喘大鼠气道重塑的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(14):106-111.
- [31] RUSSELL L, GARRETT-SINHA L A. Transcription factor Ets-1 in cytokine and chemokine gene regulation[J]. Cytokine, 2010,51(3):217-226.
- [32] 金蕊,邱灵芝,袁文霄,等. ORMDL3 和 Ets-1 基因在反复喘息患儿外周血中的表达[J]. 江苏医药,2014,40(12):1398-1400.

(收稿日期:2023-12-20)

[编辑:徐霜俐]