

化痰活血降气方对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能和炎症因子的影响

余 宁, 周新燕, 张 念*, 余 丹, 杨 硕, 叶树鸣
(武汉市中西医结合医院, 湖北 武汉 430022)

摘要:目的 探讨化痰活血降气方对慢性阻塞性肺疾病(COPD)的抗炎作用机制。方法 将 36 只 SPF 级健康 Wistar 大鼠随机分为空白组、模型组、阳性对照组及化痰活血降气方高、中、低剂量组, 采用气管内滴注脂多糖(LPS)加烟熏法建立大鼠 COPD 模型, 成功造模后治疗组灌胃给予化痰活血降气方, 阳性对照组灌胃给予醋酸泼尼松片。观察大鼠肺组织病理变化、肺功能指标 $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、PEF、检测肺泡灌洗液中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、ET-1 水平, 肺组织中 STAT4、STAT6 表达。结果 与空白组比较, 模型组大鼠肺组织病理变化较重, $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、PEF 水平和 STAT6 表达降低 ($P<0.01$), BALF 中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、ET-1 水平和 STAT4 表达升高 ($P<0.01$); 经化痰活血降气方治疗后, 肺组织病理变化好转, $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、PEF 水平和 STAT6 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), BALF 中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、ET-1 水平和 STAT4 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与阳性对照组比较, 化痰活血降气方高剂量组 $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、 $TNF-\alpha$ 、ET-1 水平和 STAT4、STAT6 表达无明显变化 ($P>0.05$)。结论 化痰活血降气方通过降低炎症因子 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、ET-1 水平和促炎因子 STAT4 表达, 升高抑炎因子 STAT6 表达, 改善气道、肺实质及肺血管的炎症反应及结构重塑, 发挥治疗 COPD 的作用。

关键词: 化痰活血降气方; 慢性阻塞性肺疾病; $TNF-\alpha$; $IL-1\beta$; ET-1; STAT4; STAT6

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)03-0927-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.03.044

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种常见的以气流受限为特征的可以预防和治疗的疾病, 其气流受限多呈进行性发展, 与气道和肺组织对烟草烟雾等有害气体或有害颗粒的慢性炎症反应有关^[1], 其发病以炎症机制为核心, 有多种因素的介入包括肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , $TNF-\alpha$)、白介素 1β (interleukin 1β , $IL-1\beta$)、内皮素 1 (endothelin 1, ET-1) 等炎症因子和转录激活因子 4 (STAT4) 和 STAT6, 引起气道、肺实质与肺血管的炎症反应及结构重塑, 导致肺组织的损伤^[2-4]。

中医药在治疗 COPD 方面具有独特的优势, 本团队前期实验研究发现, 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者, 以化痰活血降气方治疗, 可以降低气道局部和全身的炎症相关细胞因子水平, 减轻呼吸道局部和全身的炎症反应水平, 取得良好的临床疗效^[5], 现通过观察气管内滴注 LPS 联合烟熏 COPD 模型大鼠肺组织病理形态学、肺功能、肺泡灌洗液中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、ET-1 的水平和肺组织中 STAT4、STAT6 蛋白表达, 进一步探讨化痰活血降气方治疗慢性阻塞性肺疾病的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 36 只, 体质量 200~

220 g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCKX (京) 2016-0002。

1.2 药物 化痰活血降气方颗粒剂由丹参 (批号 18080028) 30 g、赤芍 (批号 18040038) 10 g、桃仁 (批号 18060087) 10 g、杏仁 (批号 18060087) 10 g、苏子 (批号 18080061) 10 g、款冬花 (批号 18020095) 10 g、瓜蒌皮 (批号 18050010) 10 g、浙贝母 (批号 18040054) 10 g、黄芩 (批号 18030117) 10 g、鱼腥草 (批号 17100130) 30 g、苦参 (批号 18020100) 10 g、麻黄 (批号 17050111) 10 g 组成, 四川新绿色药业科技发展股份有限公司生产。醋酸泼尼松片 (华中药业股份有限公司, 批号 20180505)。

1.3 试剂 大鼠 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、ET-1 酶联免疫吸附 (ELISA) 检测试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 脂多糖 (LPS) 购自美国 Sigma 公司 (批号 L-2880); 兔多克隆抗体 GAPDH 购自杭州贤至生物科技股份有限公司 (货号 AB-P-R001); 兔多克隆抗体 STAT4 (货号 51070-2-AP)、兔多克隆抗体 STAT6 (货号 51073-1-AP) 均购自武汉三鹰生物技术有限公司; 黄鹤楼牌香烟购自甘肃烟草工业有限责任公司。

1.4 仪器 AniRes 动物肺功能仪 (北京贝兰博科技有限

收稿日期: 2020-11-01

基金项目: 湖北省卫生健康委员会联合基金项目 (WJ2019H415); 武汉市卫生健康委员会科研基金项目 (WZ19A08)

作者简介: 余 宁 (1995—), 女, 硕士生, 研究方向为中西医结合呼吸系统疾病。Tel: 13487070896, E-mail: yuning0895@163.com

* 通信作者: 张 念 (1977—), 男, 硕士, 副主任医师, 副教授, 从事中西医结合治疗 COPD 研究。Tel: 13797087221, E-mail: 34040989@qq.com

公司);ICV-450型电热恒温培养箱(日本ASONE公司);FlexStation 3型多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司);电转仪(北京六一仪器厂);T8-1型磁力搅拌器(江苏省金坛市中大仪器厂)。

2 方法

2.1 COPD模型制备 参考文献[6]方法加以改良后,采用气管内滴注LPS加烟熏法建立COPD大鼠模型,分别于第1、14天往大鼠气管内滴注LPS(0.1 mg/100 g),第2~13、15~28天,每天上午将大鼠放置在48 L玻璃密闭箱内,持续熏黄鹌牌香烟雾30 min,每只大鼠使用1支,每天1次。

2.2 分组及给药 36只健康雄性Wistar大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、阳性对照组及化痰活血降气方高、中、低剂量组,每组6只。空白组大鼠不予任何处理,其余各组均建立COPD模型。化痰活血降气方临床常规用量160 g/d(按生药计),醋酸泼尼松片临床常规用量50 mg/d,按照人与动物体表面积换算法计算^[7],造模成功后按28.8、14.4、7.2 g/kg生药剂量分别给高、中、低剂量组大鼠灌胃化痰活血降气方,阳性对照组给予灌胃醋酸泼尼松片剂量为4.5 mg/kg,正常组和模型组灌胃给予等容量蒸馏水,持续给药28 d。

2.3 大鼠肺功能的检测 灌胃给药结束后用AniRes动物肺功能分析系统检测大鼠的肺功能指标包括0.3 s用力呼气容积(FEV_{0.3})、0.3 s用力呼气容积与用力肺活量比值百分数(FEV_{0.3}/FVC)、呼气流量峰值(PEF)。

2.4 肺组织与病理形态学观察 大鼠处死后,结扎未灌注的左肺取肺组织,经脱水、透明、石蜡包埋,蜡块4 μm切片后脱蜡水化,进行苏木素-伊红(HE)染色,透明后中性树胶封片,100倍及200倍光镜观察。

2.5 ELISA法检测大鼠肺泡灌洗液中细胞因子TNF-α、IL-1β、ET-1水平 收集大鼠肺泡灌洗液(BALF),3 000 r/min离心10 min,取各组大鼠BALF上清液按照ELISA试剂盒说明操作,计算TNF-α、IL-1β、ET-1水平。

2.6 Western blot法检测大鼠肺组织中STAT4、STAT6蛋白

表达 将少量剪碎的组织置于2 mL EP管中,充分裂解30 min后,在4℃下12 000 r/min离心5 min,取上清液保存。采用BCA试剂盒检测蛋白浓度,取蛋白样本凝胶电泳、转膜,用5%脱脂奶粉封闭,加入一抗GAPDH(1:1 000)、STAT4(1:1 000)、STAT6(1:1 000),4℃孵育过夜。洗涤5次,加入二抗(1:50 000)37℃孵育2 h,TBST洗涤5次,ECL试剂显色曝光,用BandScan分析灰度值。

2.7 免疫组化法检测大鼠肺组织STAT4、STAT6蛋白表达 各组大鼠肺组织经脱水透明、浸蜡包埋、脱蜡、抗原修复后,添加3%过氧化氢室温孵育15 min,洗涤3次后加血清室温封闭30 min,甩干后加一抗(稀释比例为1:100)4℃孵育15 h,PBS冲洗3次后加酶标二抗,37℃孵育30 min,PBS冲洗4次滴加DAB显色液,苏木素复染后PBS浸洗返蓝,脱水分片镜检,棕黄色或棕褐色为目标蛋白。观察每张切片4个高倍视野(×400),通过图像分析软件Image J软件分析每个视野的平均光密度(MOD)值,取平均值,整理数据并统计分析。

2.8 统计学分析 通过SPSS 23.0软件进行处理,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,若服从正态分布及方差齐性,采用单因素方差分析及方差分析事后检验多重比较(LSD);方差不齐,采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 化痰活血降气方对大鼠肺组织病理学的影响 空白组大鼠支气管结构基本完整,肺血管壁未见明显增厚,肺泡结构基本完整,少量散在的炎症细胞浸润;模型组大鼠气管上皮细胞脱落,杯状细胞增生,管腔内可见分泌物,大量炎症细胞浸润,肺血管壁增厚,肺泡间隔变窄并断裂,融合成较大的囊腔;阳性对照组大鼠支气管结构的破坏、炎症细胞的浸润、肺泡间的融合均较前改善,但肺血管壁仍可见明显增厚;化痰活血降气方高剂量组大鼠支气管上皮细胞的破坏较模型组减轻,血管壁增厚不明显,炎症细胞的浸润及肺泡融合扩张明显减轻,与阳性对照组相当,中剂量组肺组织病理变化较模型组稍有减轻,低剂量组病理学变化接近模型组。见图1。

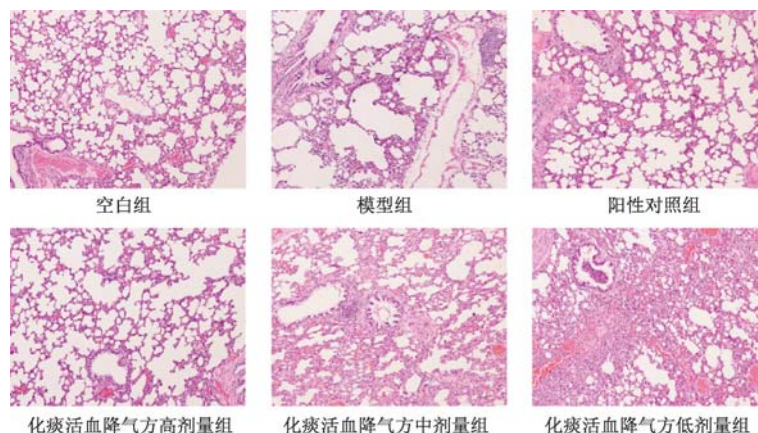


图1 各组大鼠肺组织HE染色图(×100)

3.2 化痰活血降气方对大鼠肺功能的影响 与空白组比较,模型组大鼠FEV_{0.3}、FEV_{0.3}/FVC、PEF水平均降低

($P<0.01$)；与模型组比较，阳性对照组及化痰活血降气方各剂量组大鼠 $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、 PEF 水平均升高 ($P<0.01$)，且呈剂量依赖性；与阳性对照组比较，化痰活血降

气方高剂量组 $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、 PEF 水平无无明显变化 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠肺功能 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/($g\cdot kg^{-1}$)	$FEV_{0.3}/mL$	($FEV_{0.3}/FVC$)/%	$PEF/(mL\cdot s^{-1})$
空白组	—	9.74±0.41	89.28±3.81	40.28±2.33
模型组	—	7.37±0.24 ^{##}	54.58±3.25 ^{##}	30.74±1.87 ^{##}
阳性对照组	4.5×10^{-3}	9.41±0.17 ^{**}	86.34±2.40 ^{**}	37.93±1.58 ^{**}
化痰活血降气方高剂量组	28.8	9.38±0.12 ^{**}	83.63±2.26 ^{**}	37.05±1.08 ^{**}
化痰活血降气方中剂量组	14.4	8.60±0.21 ^{**}	79.61±3.34 ^{**}	34.40±0.91 ^{**}
化痰活血降气方低剂量组	7.2	7.60±0.22	61.62±2.68 ^{**}	30.95±1.29

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

3.3 化痰活血降气方对大鼠 BLAF 中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $ET-1$ 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠 BALF 中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $ET-1$ 水平均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，阳性对照组及化痰活血降气方低剂量组大鼠 BLAF 中 $TNF-\alpha$ 、

$IL-1\beta$ 、 $ET-1$ 水平均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，且呈剂量依赖性。各组间比较，以化痰活血降气方高剂量组疗效最优，其降低 $TNF-\alpha$ 、 $ET-1$ 水平作用与阳性对照组相当。见表 2。

表 2 各组大鼠肺泡灌洗液中细胞因子水平 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/($g\cdot kg^{-1}$)	$TNF-\alpha/(pg\cdot mL^{-1})$	$IL-1\beta/(pg\cdot mL^{-1})$	$ET-1/(pg\cdot mL^{-1})$
空白组	—	57.13±5.93	19.79±2.44	25.87±6.98
模型组	—	165.65±15.67 ^{##}	71.22±9.28 ^{##}	66.13±9.30 ^{##}
阳性对照组	4.5×10^{-3}	73.36±7.93 ^{**}	34.39±6.05 ^{**}	32.38±6.73 ^{**}
化痰活血降气方高剂量组	28.8	85.68±9.52 ^{**}	46.91±9.26 ^{**}	38.56±11.42 ^{**}
化痰活血降气方中剂量组	14.4	107.28±13.25 ^{**}	56.46±7.63 ^{**}	47.15±11.04 ^{**}
化痰活血降气方低剂量组	7.2	133.02±18.91 ^{**}	59.57±7.56 [*]	58.32±7.18

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

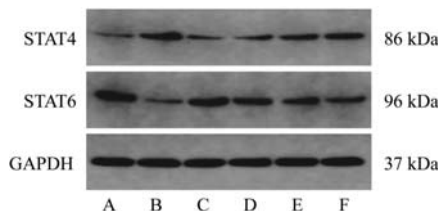
3.4 化痰活血降气方对大鼠肺组织中的 $STAT4$ 、 $STAT6$ 蛋白表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠肺组织中 $STAT4$ 、 $STAT6$ 表达均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，阳性对照组及化痰活血降气方各剂量组 $STAT4$ 、 $STAT6$ 表达

均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，且呈剂量依赖性。各组间比较，以化痰活血降气方高剂量组疗效最优，与阳性对照组相当。见表 3、图 2。

表 3 各组大鼠肺组织中 $STAT4$ 、 $STAT6$ 蛋白表达 ($\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/($g\cdot kg^{-1}$)	$STAT4/GAPDH$	$STAT6/GAPDH$
空白组	—	0.26±0.05	0.75±0.09
模型组	—	0.79±0.14 ^{##}	0.28±0.08 ^{##}
阳性对照组	4.5×10^{-3}	0.38±0.06 ^{**}	0.66±0.11 ^{**}
化痰活血降气方高剂量组	28.8	0.43±0.07 ^{**}	0.57±0.10 ^{**}
化痰活血降气方中剂量组	14.4	0.54±0.10 ^{**}	0.46±0.08 ^{**}
化痰活血降气方低剂量组	7.2	0.66±0.13 [*]	0.39±0.09

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



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为阳性对照组，D~F 为化痰活血降气方高、中、低剂量组。

图 2 各组大鼠肺组织中 $STAT4$ 、 $STAT6$ 蛋白表达

3.5 化痰活血降气方对大鼠肺组织中 $STAT4$ 、 $STAT6$ 表达的影响 免疫组化染色后 $STAT4$ 、 $STAT6$ 阳性表达在镜下表现为棕黄色颗粒。与空白组比较，模型组大鼠肺组织中

$STAT4$ 、 $STAT6$ 表达均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，阳性对照组及化痰活血降气方各剂量组 $STAT4$ 、 $STAT6$ 表达均降低 ($P<0.01$)，且呈剂量依赖性。见表 4、图 3~4。

表 4 各组大鼠肺组织中 $STAT4$ 、 $STAT6$ 表达 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/($g\cdot kg^{-1}$)	$STAT4$	$STAT6$
空白组	—	38.72±11.49	53.92±20.71
模型组	—	51.90±9.86 ^{##}	16.18±11.81 ^{##}
阳性对照组	4.5×10^{-3}	32.99±10.89 ^{**}	36.19±12.84 ^{**}
化痰活血降气方高剂量组	28.8	41.62±11.55 ^{**}	35.09±6.93 ^{**}
化痰活血降气方中剂量组	14.4	53.14±7.49	28.48±9.57 ^{**}
化痰活血降气方低剂量组	7.2	47.37±13.57	22.13±11.97

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

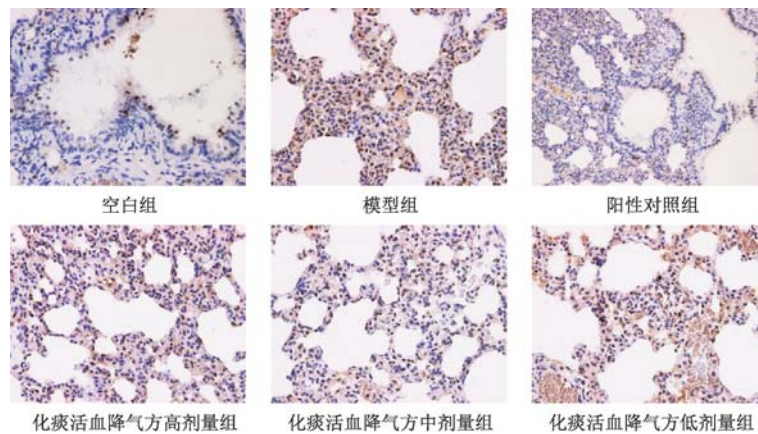


图 3 各组大鼠肺组织中 STAT4 表达 (免疫组化, $\times 400$)

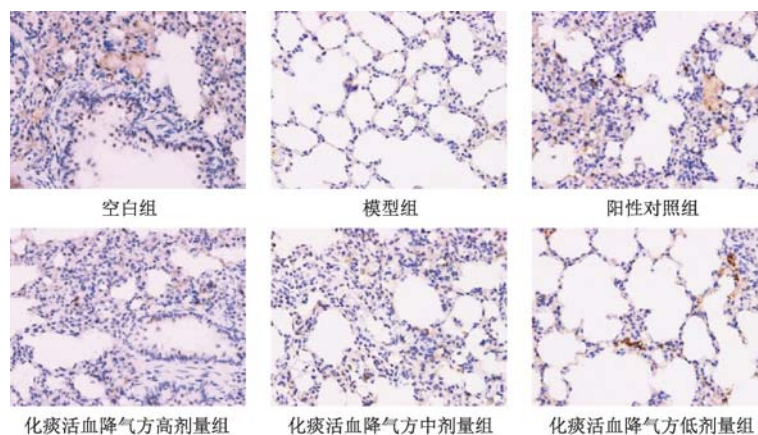


图 4 各组大鼠肺组织中 STAT6 表达 (免疫组化, $\times 400$)

4 讨论

COPD 属中医“喘病”“肺胀”等病,中医认为“痰”“瘀”是其关键病理因素,痰瘀阻肺,肺气不降始终是本病的主要病机,化痰活血降气方以赤芍、桃仁、丹参活血化瘀;杏仁、苏子利肺降气;炙麻黄宣肺平喘;款冬花降气化痰;全瓜蒌、浙贝母、黄芩、鱼腥草、苦参清热化痰,该方化痰、活血、降气三法并施,使本病尽快进入缓解期,促进正气的恢复,改善体质,减少再次发作,在前期临床观察证实疗效显著,现通过大鼠实验研究探讨其作用机制。

COPD 模型组大鼠肺组织病理切片可见气道黏膜上皮细胞破坏,杯状细胞增生,大量炎性细胞浸润,肺泡间隔变窄并断裂,血管壁增厚,符合 COPD 的病理学特点,提示气管内滴注 LPS 联合烟熏法 COPD 建模成功。与模型组比较,化痰活血降气方高剂量组炎性细胞的浸润及肺泡融合扩张明显减轻,中剂量组肺组织炎性改变也有所减轻,并且高剂量组的抗炎作用与醋酸泼尼松相当,佐证了化痰活血降气方可以通过抗炎和减轻肺组织重构治疗 COPD。

肺功能检查是诊断 COPD 的金标准^[8], FEV_1 和 FEV_1/FVC 是提示气流受限和 COPD 严重程度的敏感指标,PEF 能够反映气道阻塞程度,因大鼠的呼吸频率比人快,所以选用 $FEV_{0.3}/FVC$ 来代替 FEV_1/FVC ^[9]。本研究结果显示,模型组大鼠 $FEV_{0.3}$ 、 $FEV_{0.3}/FVC$ 、PEF 较空白组降低,客

观指标提示气管内滴注 LPS 联合烟熏法 COPD 建模成功,经化痰活血降气方治疗后都有不同程度的回升,其中以高剂量组的疗效最优,与醋酸泼尼松疗效相当,所以化痰活血降气方可以改善肺功能,减轻气道阻塞。

炎症细胞参与了慢性阻塞性肺病的病理过程,释放多种炎性介质,诱导损伤和修复的反复循环^[10]。其中 $TNF-\alpha$ 是单核-巨噬细胞所形成的单核因子,是在细胞炎症反应中起关键作用的巨噬细胞核转录因子 κB ($NF-\kappa B$) 的有效激活剂^[11],并且能够诱导中性粒细胞释放蛋白水解酶破坏肺血管内皮和肺泡上皮^[12]。 $IL-1\beta$ 也是 COPD 的主要促炎因子,可促进中性粒细胞在气道周围募集,不断加重炎症反应,并且引起支气管黏膜水肿,腺体分泌增多,加重气道阻塞,使气流受限进一步恶化^[13-14]。 $ET-1$ 是由内皮细胞分泌的内源性血管收缩剂^[15],有促进细胞增殖的作用,引起血管壁增厚及管狭窄,血管收缩和细胞增殖导致血管重塑^[16],同时 $ET-1$ 参与 $NF-\kappa B$ 的激活及其他促炎细胞因子(包括 $TNF-\alpha$) 的表达^[17]。本研究结果显示,模型组大鼠 BALF 中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $ET-1$ 炎症因子较空白组均升高,经化痰活血降气方治疗后都有不同程度的降低,其中以高剂量组的疗效最优,与醋酸泼尼松疗效相当,所以化痰活血降气方可通过降低肺组织中炎症因子 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $ET-1$ 的水平来减轻肺组织的炎症反应,并且 $ET-1$ 水平降

低可以减轻肺血管重塑, IL-1 β 水平的降低可以缓解支气管粘膜水肿, 减轻气道阻塞, 阻止 COPD 病情加重。

近年来相关研究表明 Th1/Th2 功能平衡在肺部疾病中起关键作用^[18], Th1 细胞和 Th2 细胞可通过分泌相关的因子, 引发机体的一系列促炎与抗炎反应。Th1 细胞主要分泌 INF- γ 等炎症因子, INF- γ 激活中性粒细胞引起肺部炎症反应, 其转录因子 STAT4 蛋白能够诱导 Th0 向 Th1 分化, 并且具有促炎作用^[19-20]。Th2 细胞分泌 IL-4 等抑炎因子, 可引起免疫细胞对机体产生保护, 减轻肺部炎症, 并且能够抑制 Th1 细胞增殖作用, 其转录因子 STAT6 蛋白能诱导 Th0 向 Th2 的分化, 具有免疫调节和抑炎作用^[19-21]。本研究结果显示, 模型组大鼠 STAT4 蛋白表达升高, STAT6 蛋白表达降低, 经化痰活血降气方治疗后, STAT4 蛋白表达有不同程度降低, STAT6 蛋白表达有不同程度的提升, 均以化痰活血降气方高剂量组为最优, 其作用与醋酸泼尼松片相当。所以化痰活血降气方可以通过抑制 STAT4 蛋白表达使 Th0 向 Th1 细胞分化减弱, 减少 INF- γ 等促炎因子的分泌, 减轻肺部炎症反应; 同时促进 STAT6 蛋白表达, 加强 Th0 向 Th2 细胞分化, 增加 IL-4 等抑炎因子的分泌, 有助于 Th1/Th2 恢复平衡, 达到治疗慢性阻塞性肺疾病的作用。

综上所述, 化痰活血降气方可通过降低 BLAF 中 TNF- α 、IL-1 β 、ET-1 等炎症因子水平, 抑制 STAT4 蛋白表达, 促进 STAT6 蛋白表达, 从而有助于 Th1/Th2 恢复平衡, 抑制气道炎症反应、修复肺泡间的融合、缓解血管壁增厚, 改善 COPD 大鼠肺组织的炎症反应, 证实化痰活血降气方确能有效抑制 COPD 的炎症反应, 阻止病情加重。

参考文献:

- [1] 佚名. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2014, 6(2): 67-80.
- [2] 谢文英, 尚立芝, 张良芝, 等. 爱罗咳嗽宁对慢性阻塞性肺疾病大鼠肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-8 和白细胞介素-18 及炎细胞的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(4): 448-451.
- [3] 王同生, 毛毅敏, 孙玉霞, 等. 白介素-6 和内皮素-1 在慢性阻塞性肺疾病合并肺动脉高压患者中的表达[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(12): 1977-1979.
- [4] 黄明儒, 许忠波, 何帆, 等. 补中益气汤加味联合缩唇呼吸疗法对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者血清 TNF- α 、IL-8、IL-6、IL-1 β 、Cys-C 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(22): 60-65.
- [5] 张念, 殷人易, 袁文胜, 等. 化痰活血降气方治疗慢性阻塞性肺疾病的临床试验[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(7): 1176-1179.
- [6] 马慧敏, 刘起展, 陆璐, 等. 慢性阻塞性肺病动物模型建立的研究进展[J]. 实用预防医学, 2019, 26(11): 1406-1409.

- [7] 朱艳琴. 医学实验基本操作技能[M]. 北京: 人民军医出版社, 2007.
- [8] 郑文江, 彭紫荆, 严倩, 等. 桑白皮汤加减治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的 Meta 分析和试验序贯分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(17): 3806-3815.
- [9] 陈霞, 刘丹, 段娟娟, 等. 利肺片对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠的影响[J]. 中成药, 2020, 42(2): 504-507.
- [10] Victoria A, J C P, Steven B, et al. COPD and stroke: are systemic inflammation and oxidative stress the missing links? [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(13): 1039-1050.
- [11] Ilyas M, Agussalim A, Megawati M, et al. Relationship between vitamin D level and serum TNF- α concentration on the severity of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2019, 7(14): 2298-2304.
- [12] 孙剑峰, 郭鸿, 曾珠, 等. 三拗芩苈汤对 COPD 急性加重期(痰热壅肺证)肺功能和 TNF- α 影响的临床研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(4): 169-172.
- [13] Ozretić P, da Silva Filho M I, Catalano C, et al. Association of NLRP1 coding polymorphism with lung function and serum IL-1 β concentration in patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. *Genes (Basel)*, 2019, 10(10): 783.
- [14] 谢文英, 王俊月, 包永生, 等. 二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病大鼠 VEGF、VEGFR2、IL-4、ET-1 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(23): 48-55.
- [15] 郭瑛, 李燕芹, 刘斌, 等. 血管内皮功能变化与慢性阻塞性肺疾病的关系[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2010, 30(9): 1152-1155.
- [16] 唐卓然, 吴海斌, 李勇铭, 等. 益气消癥通络方对慢性阻塞性肺疾病血管重塑模型大鼠 VEGF、ET-1 和 CTGF 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(5): 1137-1140; 1301.
- [17] Kowalczyk A, Kleniewska P, Kolodziejczyk M, et al. The role of endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in inflammatory response and sepsis [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2015, 63(1): 41-52.
- [18] 夏红梅, 尹卫华, 耿耘, 等. 加味陷胸承汤合参麦注射液对急性呼吸窘迫综合征大鼠模型 Th1/Th2 细胞因子表达的影响[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(19): 3176-3179.
- [19] 王成阳, 李泽庚. 慢性阻塞性肺病大鼠肺功能降低与 Th1/Th2 极化、STAT4/6 表达的关系[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(12): 1233-1236; 1241.
- [20] 汪鑫, 罗壮, 郑圆圆, 等. 慢性阻塞性肺病患者血清 IL-33、IFN- γ 表达与 Th1/Th2 平衡失调[J]. 中国临床研究, 2019, 32(5): 624-626.
- [21] 李艳霞, 柴燕玲. γ 干扰素和白介素-4 的特点及其在慢性阻塞性肺疾病发病过程中的作用[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(6): 1139-1143.