

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.12.009

阿奇霉素经 TLR-4/NF- κ B 信号通路干预 COPD 大鼠炎症的机制研究

郭彩霞

(河南省胸科医院呼吸内科, 郑州 450000)

[摘要] **目的** 探讨阿奇霉素通过 TLR-4/NF- κ B 信号通路干预慢性阻塞性肺疾病(COPD)大鼠炎症的机制。**方法** 36 只 SD 大鼠分为健康对照组、模型组、阿奇霉素组。模型组及阿奇霉素组采用烟熏联合气管内滴入脂多糖 1 个月建立 COPD 大鼠模型。阿奇霉素组烟熏前 30 min 给予 50 mg/kg 阿奇霉素灌胃,健康对照组及模型组给予等量生理盐水。1 个月后,处死大鼠,苏木素-伊红(HE)染色观察肺组织病理形态;ELISA 法检测肺组织匀浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 β 、IL-6 水平;RT-PCR 检测 Toll 样受体 4(TLR4)及核因子- κ B(NF- κ B)、磷酸化 p65(pp65) mRNA 表达;Western blot 检测 TLR4、pp65、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)及 MMP-9 表达水平。并对大鼠支气管肺泡灌洗液进行细胞分类和计数。**结果** 与模型组比较,阿奇霉素组能改善肺组织形态,降低中性粒细胞数($P < 0.01$),减少肺组织匀浆中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MMP-2 及 MMP-9 的分泌($P < 0.01$),并抑制 TLR4 表达及 pp65($P < 0.01$)。**结论** 阿奇霉素能通过 TLR-4/NF- κ B 信号通路干预 COPD 大鼠炎症。

[关键词] 肺疾病,慢性阻塞性;阿奇霉素;炎症;TLR-4/NF- κ B 信号通路

[中图分类号] R563.9;R-332

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)12-1612-04

Azithromycin for intervening with inflammation in rat with chronic obstructive pulmonary disease via TLR-4/NF- κ B signal pathway

Guo Caixia

(Department of Respiration, Henan Provincial Chest Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of azithromycin for intervening with inflammation of rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) via TLR-4/NF- κ B signal pathway. **Methods** Thirty-six SD rats were divided into health control group, model group and azithromycin group. The rat COPD model in the model group and the azithromycin group was established by smoking and intratracheal administration of lipopolysaccharide for 1 month. At 30 min before smoking, the azithromycin group was given azithromycin 50 mg/kg by gavage, while the health control group and model group were given the equal amount of normal saline. One month later, rats were sacrificed and lung tissue was obtained. The pathological morphology of the lung was observed by the HE staining. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to detect the level of TNF- α , IL-1 β and IL-6 from lung tissue homogenate. The expression of TLR4, NF- κ B and pp65 mRNA was detected by RT-PCR. The expression of TLR4, NF- κ B, pp65, MMP-2 and MMP-9 protein was detected by Western blot. The cytological classification and count in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were performed. **Results** Compared with the model group, the azithromycin group could improve the lung tissue morphology, decreased the neutrophil granulocyte count ($P < 0.01$), reduced the secretion of TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-2 and MMP-9 in lung tissue homogenates ($P < 0.01$), and suppressed the expression of TLR4 and pp65 phosphorylation level ($P < 0.01$). **Conclusion** Azithromycin can intervene with inflammation of rats with COPD.

[Key words] pulmonary disease, chronic obstructive; azithromycin; inflammation; TLR-4/NF- κ B signal pathway

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是指患者肺实质、气道、肺血管等发生慢性炎症病变,具有气道气流受阻的临床症状,患者气流受限且不可逆,呈现进行性^[1]。且 COPD 的核心主要是炎性反应,包括中性粒细胞、淋巴细胞和肺泡巨噬细胞等的浸润,该类炎性细胞被激活后,释放出大量炎性介质,并参与到炎症病变发生发展中^[2-3]。Toll 样受体(TLR)是一类天然免疫受体,其被革兰阴性菌外膜脂多糖(LPS)等刺激活化后,经过一系列磷酸化促进作用,可激活核因子- κ B(NF- κ B)信号通路,从而调节各种炎症因子的表达,且在 COPD 患者中 TLR4 及 NF- κ B 处于活化状态,并调节相关炎症因子分泌^[4-6],因此通过干预 TLR4/NF- κ B 信号通路能一定程度上缓解 COPD。

阿奇霉素是第 2 代抗菌药物,属于大环内酯类抗菌药物,具有抗菌广谱、抗菌活性高、口服方便等特点,已在临床上及动

物实验研究中应用于肺炎等疾病的治疗,并取得一定疗效,如阿奇霉素能减轻香烟引起的肺炎疾病^[7]。氨溴索联合小剂量阿奇霉素长期应用能明显改善 COPD 患者的肺功能,改善患者生活质量^[8]。通过随机、双盲、安慰剂对照试验证实阿奇霉素可一定程度减少 30 例 COPD 受试者痰中中性粒细胞数量^[9]。同时 200 mg/kg 阿奇霉素能显著降低 LPS 刺激的小鼠支气管肺泡灌洗液(BALF)内中性粒细胞数目及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,降低肺组织中 IL-6 和 IL-1 β 水平^[10]。说明阿奇霉素一定程度上能缓解 COPD 炎症,但具体机制未知,有报道称阿奇霉素能减轻酵母聚糖诱导人结膜上皮细胞炎症,与抑制 TLR 和 NF- κ B 信号通路有关^[11],因此作者推测阿奇霉素可能可通过 TLR4/NF- κ B 信号通路来干预 COPD 炎症,本文通过香烟联合 LPS 构建 COPD 模型大鼠,来探讨阿奇霉素是否通过此通路来干预 COPD 炎症,从而为阿奇霉素在临床上

治疗 COPD 打下理论基础。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 体质量(200±20)g 的 SD 雄性大鼠 36 只,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证书:SCXK(沪)2012-0002,室内温度控制在(23±2)℃,大鼠自由饮食和摄水。

1.2 主要试剂及仪器 阿奇霉素(辉瑞制药有限公司);LPS(美国 Sigma 公司);兔抗 TLR4、NF-κB、磷酸化 p65(pp65)单克隆抗体(Cell Signal Technology 公司);基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、MMP-9 单克隆抗体(Epitomics 公司);TNF-α、IL-1β、IL-6 ELISA 检测试剂盒(美国 RB 公司分装);定量 PCR 引物(大连宝生物公司合成);总 RNA 提取试剂,反转录试剂盒(日本 Takara 公司);BCA 法蛋白定量试剂盒,ECL 超敏发光液(碧云天生物技术研究所)。电泳仪,转印电泳仪(北京六一仪器厂);ChemiDoc™ XRS 凝胶成像系统(Bio-Rad 公司);ROTOR-GENE3000 型定量 PCR 仪(澳大利亚 Cotbett 公司);酶标分析仪(美国 Bio-Tek 公司)。

1.3 COPD 模型大鼠的建立及分组^[12] 36 只大鼠分为健康对照组、模型组、阿奇霉素组。采用烟熏+LPS 滴入的方法,大鼠每天置于烟室 3 次,每次 45 min,COPD 组和阿奇霉素组向烟室注入香烟烟雾,共 30 d,在第 15 天时模型组及阿奇霉素组气道内注入 1 mg/mL 的 LPS 200 μL,健康对照组正常饲养。阿奇霉素组在每天烟熏前 30 min 灌胃给药,给予 50 mg/kg 阿奇霉素,健康对照组及模型组给予等量生理盐水。

1.4 支气管肺泡灌洗液处理 在第 30 天,用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,并气管插管后,用 5 mL PBS 进行左肺支气管肺泡灌洗。将灌洗液离心、重悬,总细胞数经过血细胞分析仪进行测定,细胞涂片后,Kwik-Diff 染色检测中性粒细胞、单核巨噬细胞及淋巴细胞数目。并取下右肺组织,-80℃ 冰箱冻存待测。

1.5 苏木素-伊红(HE)染色 肺组织标本经 10% 中性福尔马林浸泡固定 24 h,石蜡包埋,4 μm 连续切片,烘箱中烘烤 30 min。二甲苯 I、II 脱蜡各 15 min;梯度乙醇脱水各 5 min,自来水冲洗 5 min;苏木素浸泡 2~3 min,流水冲洗 5 min,1% 盐酸乙醇浸泡 5 s,自来水冲洗至反蓝,伊红复染 30 s,自来水冲洗 5 min;梯度乙醇脱水,二甲苯 I、II 透明 5 min,吹干后中性树脂胶封片,镜检。

1.6 ELISA 法检测 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平 各组肺组织搅碎匀浆,并离心取上清液进行检测。首先将大鼠 TNF-α 试剂盒取出,室温下放置 20 min,将标准品稀释为:500.0、250.0、125.0、62.5、31.3、15.6 pg/mL,并在第 1 孔加样品稀释液作为调零孔,并分别加入各组 100 μL 上清液,总共 10 孔,各组样品 3 个复孔。每孔加入 100 μL 生物素标记的抗大鼠 TNF-α 抗体,37℃ 反应 120 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次;每孔加入亲和素-过氧化物酶工作液 100 μL,37℃ 反应 30 min,PBS 洗涤 3 次;每孔加入 90 μL TMB 显色液,37℃ 避光反应 30 min;每孔加入 100 μL TMB 终止液,此时溶液为黄色,在酶标仪 450 nm 处测定吸光度(A)值。IL-1β 及 IL-6 也是按照此方法严格进行操作。

1.7 RT-PCR 检测 总 RNA 的提取参考 Trizol 试剂盒(Invitrogen)使用说明书,引物设计见表 1,通过一步法 RT-PCR 试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA 并进行 PCR 扩增,获取 5 μL 扩增产物用于下一步 2% 的琼脂糖凝胶进行检测。紫外分光

光度计检测电泳条带并拍照。反应条件为:94℃ 变性 45 s,59℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 60 s,共 35 个循环。

表 1 RT-PCR 引物

基因	引物序列(5'-3')	产物大小(bp)
TLR4	正向引物:AGGATGATGCCAGGATGATGTC	198
	反向引物:TCAGGTCCAGGTTCTTGGTTGAG	
NF-κB	正向引物:TGCGATGGAGCGACACG	122
	反向引物:CACCTGTGTGCTCACCGAGGCC	
GADPH	正向引物:GCACCGTCAGGCTGAGAC	138
	反向引物:TGGTGAGACGCCAGTGGA	

1.8 Western blot 各组取适量肺组织,按比例加入 RIPA(10 μg/mL)裂解液和蛋白酶抑制剂,超声破碎制成组织匀浆,将破碎后的组织匀浆放置于冰中 30 min,使组织彻底裂解,每隔 10 min 置于涡旋仪中振荡 30 s,40 min 后,4℃,10 000 r/min 离心 10 min,小心吸取上清液,即可获得总蛋白。采用 BCA 法对蛋白浓度进行测定。蛋白上样,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)2~3 h,湿法转膜。一抗 4℃ 孵育过夜,PBS 漂洗 2 次,5 min/次;二抗室温孵育 1~2 h,PBS 漂洗 2 次,5 min/次;滴加 ECL 曝光液,在凝胶成像系统中曝光。用“Quantity one”软件对各抗体条带灰度值进行统计。

1.9 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组肺组织病理形态 健康对照组中,肺泡腔充气良好,肺泡间隔正常,无炎症细胞浸润;模型组中肺组织炎症细胞因子浸润,肺泡壁变薄,管腔变窄,肺泡腔变大,说明大鼠 COPD 模型构建成功;阿奇霉素组中肺组织炎症细胞浸润程度较模型组轻,肺气肿程度较轻。

2.2 各组大鼠支气管肺泡灌洗液细胞数 与健康对照组比较,模型组中白细胞总数、中性粒细胞、单核巨噬细胞、淋巴细胞数目都显著提高(*P* < 0.01);与模型组比较,阿奇霉素组中白细胞总数、中性粒细胞、单核巨噬细胞、淋巴细胞数目都显著下降(*P* < 0.01),见表 2。

表 2 各组大鼠支气管肺泡灌洗液细胞数($\bar{x} \pm s$)

组别	白细胞总数 (×10 ⁸ /L)	中性粒细胞 (×10 ⁶ /L)	单核巨噬细胞 (×10 ⁸ /L)	淋巴细胞 (×10 ⁶ /L)
健康对照组	1.18±0.22	1.99±0.18	1.00±0.15	6.48±0.53
模型组	1.92±0.23 ^a	31.84±7.65 ^a	1.59±0.20 ^a	40.50±7.83 ^a
阿奇霉素组	1.51±0.19 ^b	11.68±2.35 ^b	1.08±0.18 ^b	13.62±3.42 ^b

^a:*P* < 0.01,与:健康对照组比较;^b:*P* < 0.01,与模型组比较。

2.3 各组大鼠肺组织匀浆中 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平 与健康对照组比较,模型组中 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平显著提高(*P* < 0.01)。与模型组比较,阿奇霉素中 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平显著下降(*P* < 0.05),见表 3。

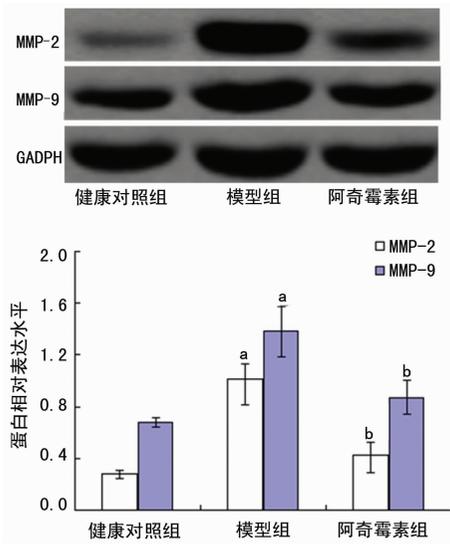
2.4 各组大鼠肺组织中 MMP-2 及 MMP-9 的表达 与健康对照组比较,模型组中 MMP-2 及 MMP-9 表达水平显著提高

($P < 0.01$); 与模型组比较, 阿奇霉素组中 MMP-2 及 MMP-9 表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 见图 1。

表 3 各组大鼠肺组织匀浆中 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (ng/mL)	IL-1 β (ng/mL)	IL-6(pg/mL)
健康对照组	11.48 \pm 3.26	7.34 \pm 1.15	15.65 \pm 1.94
模型组	39.54 \pm 1.47 ^a	18.31 \pm 2.34 ^a	38.36 \pm 3.21 ^a
阿奇霉素组	16.48 \pm 2.38 ^b	9.58 \pm 1.90 ^b	19.64 \pm 2.72 ^b

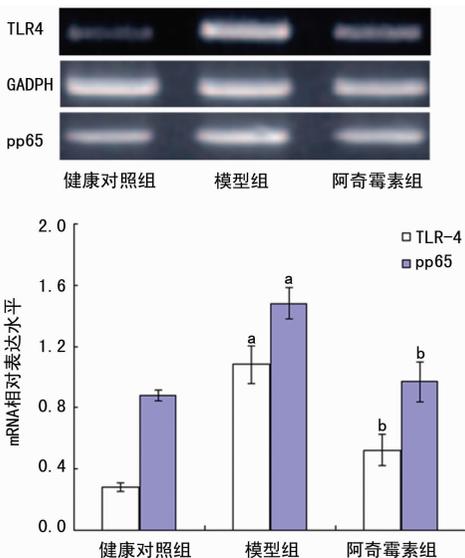
^a: $P < 0.01$, 与健康对照组比较; ^b: $P < 0.01$, 与模型组比较。



^a: $P < 0.01$, 与健康对照组比较; ^b: $P < 0.01$, 与模型组比较。

图 1 各组大鼠肺组织中 MMP-2 及 MMP-9 的表达

2.5 各组大鼠肺组织中 TLR4、pp65、mRNA 的表达 与健康对照组比较, 模型组中 TLR4 及 pp65 mRNA 表达量提高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阿奇霉素组中 TLR4 及 pp65 mRNA 表达量降低 ($P < 0.01$), 见图 2。

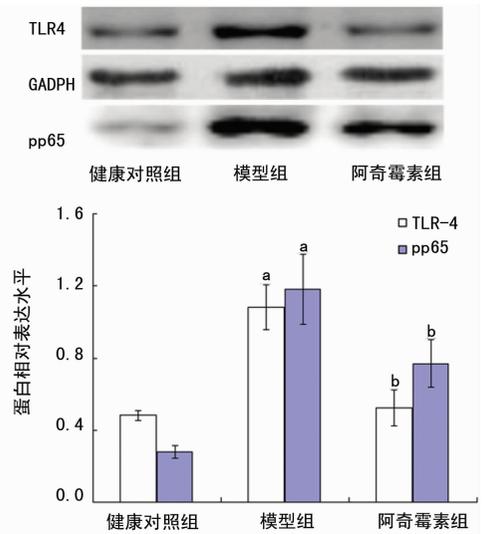


^a: $P < 0.01$, 与健康对照组比较; ^b: $P < 0.01$, 与模型组比较。

图 2 各组大鼠肺组织中 TLR4、pp65 mRNA 的表达

2.6 各组大鼠肺组织中 TLR4、pp65 蛋白的表达 与健康对照组比较, 模型组中 TLR4 及 pp65 蛋白表达提高 ($P < 0.01$);

与模型组比较, 阿奇霉素组中 TLR4 及 pp65 表达量降低 ($P < 0.01$), 见图 3。



^a: $P < 0.01$, 与健康对照组比较; ^b: $P < 0.01$, 与模型组比较。

图 3 各组大鼠血清中 NF- κ B 信号通路蛋白的表达

3 讨论

COPD 是一种高发病率及高病死率的全球性疾病, 以不完全可逆的气流受限为特征, 但至今未阐明其发病机制, 目前认为 COPD 是肺部对香烟烟雾等有害气体或有害颗粒的异常炎症反应。因此, 建立动物模型进行相关实验研究具有重要意义, 香烟+LPS 是公认的建立 COPD 动物模型的最佳方法, 可以用此法在较短时间内成功复制大鼠 COPD 模型。因此本研究通过此方法造模, 也发现模型组中支气管肺泡灌洗液中中性粒细胞等炎症细胞数目显著增加, TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等炎症因子分泌也显著增加, 肺组织炎症因子浸润程度深, 与已报道文献结果是一致的, 说明造模成功。而阿奇霉素是新型抗菌药物, 能显著抑制 COPD 炎症, 本实验也证实了阿奇霉素能改善 COPD 大鼠肺部病理形态, 并抑制炎症细胞分泌, 与阿奇霉素能抑制吸烟引起的大鼠 COPD 炎症, 能部分逆转中性粒细胞、单核巨噬细胞数目观点一致^[13]。

COPD 的核心是炎症反应, 由炎症细胞产生大量的炎症因子如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MMPs 等。其中 TNF- α 主要由活化的单核细胞和巨噬细胞产生, 可促进炎症部位白细胞的聚集和活化, 加重炎症。IL-6、IL-1 β 在传递信息, 激活免疫细胞, 介导 T、B 细胞活化、增殖与分化及在炎症反应中起重要作用。炎症细胞大量分泌 MMPs, 促进基底膜降解, 进而介导中性粒细胞等炎症细胞穿过血管, 向靶器官浸润, 促进炎症反应及组织损伤, 并促进肺泡基底膜降解及肺气肿形成, 最终导致 COPD 形成。COPD 模型大鼠气道炎症反应, 可能与中性粒细胞聚集、活化和炎症细胞分泌 IL-6、IL-8 及 TNF- α 等炎症介质分泌增加有关^[12]。COPD 模型大鼠中 MMP-9 活性较高, 金属蛋白酶组织抑制剂 1 (TIMP1) 活性较低, 炎症反应明显, 最终导致肺功能降低^[14]。Xie 等^[15]通过 ELISA 法检测 52 例 COPD 患者及 48 例健康对照者血清、肺组织及支气管肺泡灌洗中 MMP-9 活性, 发现 COPD 中 MMP-9 活性显著高于健康对照。充分说明 COPD 能促使大量炎症因子分泌, 通过抑制 COPD 炎症反应能一定程度上缓解 COPD 病情。本研究中, 阿奇霉素通过

抑制中性粒细胞聚集与活化和减少炎症细胞分泌 IL-6、IL-8 及 TNF- α 来减轻 COPD 模型大鼠气道炎性反应。这与阿奇霉素抑制稳定期 COPD 患者气道中炎症促进因子 TNF- α 、降低气道炎性反应观点一致^[16]。同时本研究也发现阿奇霉素能降低 MMP-2 及 MMP-9 的表达量。与 Cory 等^[17]、Fernandez-Robredo 等^[18]结论一致。从而说明阿奇霉素通过降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MMP-2 及 MMP-9 等炎症因子分泌,来减轻香烟+LPS 引起的 COPD 大鼠炎症。而 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MMPs 等含有 NF- κ B 的特异性结合位点,其表达受 NF- κ B 的调控。推测阿奇霉素有可能通过 NF- κ B 信号通路来干预 COPD 炎性反应,因此,本研究进一步探讨了阿奇霉素在此通路中的作用。

NF- κ B 信号通路受多种上游信号分子刺激而激活,TLR 是其中之一。TLR 为跨膜蛋白,在肺部主要分布于肺泡巨噬细胞、气道上皮细胞等。其中 TLR4 是最早发现的 TLR,能识别革兰阴性菌外膜的 LPS。TLR4 信号通路可通过髓样分化因子 88(MyD88)来控制 TLR 介导的炎症介质基因的表达。LPS 激活 TLR4 后,从而激活 IL-1 受体相关激酶家族成员,再通过一系列磷酸化作用后激活转化生长因子- β 活化酶,从而激活 NF- κ B 上游抑制蛋白 IKK 及 I κ B,使得 I κ B 磷酸化降解,并促使 NF- κ B p65 转入细胞核,从而诱导 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 及 MMPs 等炎症介质的表达。已有研究证实 COPD 患者支气管肺泡灌洗液及外周血中 TLR4 阳性表达较健康人群显著提高^[4,6]。NF- κ B 信号通路与吸烟导致的气道炎症、COPD 密切相关^[5],说明 TLR4 及 NF- κ B 在 COPD 中过度活化,通过抑制 TLR4/NF- κ B 在一定程度能缓解 COPD 炎症。而阿奇霉素的干预恰好抑制了 TLR4 表达及 pp65 磷酸化水平,说明阿奇霉素能通过 TLR4/NF- κ B 信号通路来干预 COPD 炎性反应,并下调相关炎症因子的表达。

综上所述,香烟+LPS 能成功复制 COPD 大鼠模型,促使模型大鼠产生炎性反应,而阿奇霉素的干预,能降低支气管肺泡灌洗液中中性粒细胞等炎症细胞的分泌,也能减少 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、MMP-2 及 MMP-9 水平,并进一步抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路,说明阿奇霉素能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路来干预 COPD 大鼠炎症。

参考文献

- [1] Steidl E,Ribeiro CS,Gonçalves BF,et al. Relationship between dysphagia and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease:a literature review[J]. *Int Arch Otorhinolaryngol*,2015,19(1):74-79.
- [2] Malay S,Puja Negi R,Jasmin K. Anemia in chronic obstructive pulmonary disease:prevalence,pathogenesis,and potential impact[J]. *Lung India*,2015,32(2):142-151.
- [3] 黄冬妹,何志义.慢性阻塞性肺疾病抗炎治疗研究新进展[J]. *重庆医学*,2015,44(14):1982-1985.
- [4] Pace E,Ferraro M,Giarratano A,et al. TLR4 up-regulation and reduced Foxp3 expression in mechanically ventilated smokers with obstructive chronic bronchitis [J]. *COPD*,2013,10(2):147-155.
- [5] Rom O,Avezov K,Aizenbud D,et al. Cigarette smoking

and inflammation revisited[J]. *Respir Physiol Neurobiol*,2013,187(1):5-10.

- [6] 张馨文,丛金鹏,董蕾,等. Toll 样受体 4 及骨形成蛋白 2 表达在慢性阻塞性肺疾病患者血管重塑中的作用研究[J]. *中国全科医学*,2014,17(36):4298-4301.
- [7] Chen M,Yang T,Meng X,et al. Azithromycin attenuates cigarette smoke extract-induced oxidative stress injury in human alveolar epithelial cells[J]. *Mol Med Rep*,2015,11(5):3414-3422.
- [8] 胡友松,蔡斌,谭隰. 氨溴索联合小剂量阿奇霉素长期应用治疗稳定期 COPD 的效果观察[J]. *中国临床研究*,2013,26(4):339-341.
- [9] Simpson JL,Powell H,Baines KJ,et al. The effect of azithromycin in adults with stable neutrophilic COPD: a double blind randomised,placebo controlled trial[J]. *PLoS One*,2014,9(8):e105609.
- [10] Balloy V,Deveaux A,Lebeaux D,et al. Azithromycin analogue CSY0073 attenuates lung inflammation induced by LPS challenge[J]. *Br J Pharmacol*,2014,171(7):1783-1794.
- [11] Li DQ,Zhou N,Zhang L,et al. Suppressive effects of azithromycin on zymosan-induced production of proinflammatory mediators by human corneal epithelial cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2010,51(11):5623-5629.
- [12] 王贻,顾翔,王玉峰,等.阿奇霉素对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠气道炎症的影响[J]. *江苏医药*,2014,40(8):889-892.
- [13] Wan YF,Huang ZH,Jing K,et al. Azithromycin attenuates pulmonary inflammation and emphysema in Smoking-Induced COPD model in rats[J]. *Respir Care*,2015,60(1):128-134.
- [14] 王成阳,刘向国,彭青和,等. MMPs 系统和细胞因子在慢性阻塞性肺疾病模型大鼠中的作用[J]. *免疫学杂志*,2013,29(12):1024-1028.
- [15] Xie SS,Hu F,Tan M,et al. Relationship between expression of matrix metalloproteinase-9 and adenylyl cyclase-associated protein 1 in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Int Med Res*,2014,42(6):1272-1284.
- [16] 欧立文,卢平.低剂量阿奇霉素对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者气道中肿瘤坏死因子- α 的影响及疗效[J]. *中国老年学杂志*,2014,34(3):656-657.
- [17] Cory TJ,Birket SE,Murphy BS,et al. Impact of azithromycin treatment on Macrophage gene expression in subjects with cystic fibrosis[J]. *J Cyst Fibros*,2014,13(2):164-171.
- [18] Fernandez-Robredo P,Recalde S,Moreno-Ordua M,et al. Azithromycin reduces inflammation in a rat model of acute conjunctivitis[J]. *Mol Vis*,2013,19:153-165.