

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.08.003

小青龙汤对哮喘模型小鼠气道上皮细胞表达 TSLP 的影响研究^{*}

宋桂华,张 岩,于素平,吕伟刚,管志伟,梅晓峰,孙萌萌,王 晶
(河南中医药大学第一附属医院儿科,郑州 450000)

[摘要] **目的** 探讨小青龙汤对哮喘模型小鼠气道上皮细胞表达胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)的影响。**方法** 将 30 只健康雌性 BALB/C 小鼠分为空白对照组、哮喘模型组、小青龙汤组,每组 10 只。各组采取相应干预措施后取支气管、肺组织,免疫荧光检测支气管 TSLP 的表达水平,qRT-PCR 和 Western blot 分别检测肺组织 TSLP mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 小鼠支气管上皮细胞膜上 TSLP 荧光染色在哮喘模型组呈强阳性,小青龙汤组呈弱阳性,空白对照组呈阴性。小青龙汤组与空白对照组小鼠肺组织 TSLP mRNA 表达水平较哮喘模型组降低($P<0.05$),小青龙汤组略高于空白对照组,但组间差异无统计学意义($P>0.05$)。小青龙汤组与空白对照组小鼠肺组织 TSLP 蛋白表达水平均低于哮喘模型组($P<0.05$),小青龙汤组较空白对照组略高,但组间差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 小青龙汤对哮喘模型小鼠气道上皮细胞表达 TSLP 有明显抑制作用。

[关键词] 哮喘;胸腺基质淋巴细胞生成素;小青龙汤

[中图法分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)08-1016-03

Effect of Xiaoqinglong Decoction on the expression of TSLP in airway epithelial cells of asthmatic model mice^{*}
SONG Guihua,ZHANG Yan,YU Suping, LV Weigang,GUAN Zhiwei,MEI Xiaofeng,SUN Mengmeng,WANG Jing
(Department of Pediatrics,First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine,Zhengzhou,Henan 450000,China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of Xiaoqinglong Decoction on the expression of TSLP in airway epithelial cells of asthmatic model mice. **Methods** Thirty healthy female BALB/C mice were divided into the blank control group,asthma model group and Xiaoqinglong Decoction group,10 cases in each group. The each group adopted corresponding intervention measures. Then the bronchial and lung tissues were taken. The expression level of bronchial TSLP was detected by immunofluorescence,and the expression level of TSLP mRNA and protein in lung tissue was detected by qRT-PCR and Western Blot. **Results** The mouse bronchial epithelial cell membrane TSLP staining was strongly positive in the asthma model group,which was weakly positive in the Xiaoqinglong Decoction group and negative in the blank control group. Compared with the asthma model group,mice lung tissue TSLP mRNA expression level in the Xiaoqinglong Decoction group and blank control group was decreased ($P<0.05$),the Xiaoqinglong Decoction group was slightly higher than the blank control group,but the inter-group difference was not statistically significant ($P>0.05$). The expression level of lung tissue TSLP protein in the Xiaoqinglong Decoction group and blank control group was lower than that in the asthma model group ($P<0.05$),the Xiaoqinglong Decoction group was slightly higher than the blank control group,but the inter-group difference was not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** Xiaoqinglong decoction has obvious inhibiting effect on the expression of TSLP in airway epithelial cells of asthmatic model mice.

[Key words] asthma;thymic stromal lymphopoietin;Xiaoqinglong Decoction

支气管哮喘(简称哮喘)是一种由嗜酸性粒细胞(EOS)、淋巴细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等多种细胞及其他相关细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病,其中气道上皮细胞不仅是哮喘炎症形成的直接参与者,同时也是哮喘炎症特定的靶细胞与可被吸入性刺激物(包括抗原/过敏原)直接激活的炎症细胞^[1]。胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)是一种由气道上皮分泌的细胞因子,既往已有大量研究证实,TSLP 在哮喘患者中的表达水平明显增高^[2-3]。当前西医治疗哮喘主要包括应用支气管舒张剂、控制感染及免疫治疗等,疗效尚可,但有相当比例患者在治疗过程中可观察到明显的不良反应,或将刺激哮喘病情加重^[4]。近年来,中医药治疗哮喘因不良反应轻微而被广泛关注,进一步深入探讨对哮喘的合理中药组方具有重要临床意义与社会效益。小青龙汤是治疗哮喘的经典方剂之一,但目前尚未见关于小青龙汤影响气道上皮细胞表达 TSLP 的相关

报道。本实验通过观察小青龙汤对哮喘模型小鼠气道上皮细胞表达 TSLP 的影响,旨在为临床运用小青龙汤治疗哮喘提供一定理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雌性 BALB/C 小鼠[上海加科生物科技有限公司,无特定病原体级(SPF 级)]30 只,6~8 周龄,体重(20.2±2.5)g。同室饲养,自然光照明,饲养室温度 18~22℃,相对湿度 50%~70%。

1.1.2 药物与试剂 小青龙汤煎剂药物组成为麻黄 9 g,桂枝 9 g,白芍 9 g,细辛 3 g,甘草 6 g,干姜 6 g,半夏 9 g,五味子 6 g;所有药物经浸泡、煎熬、过滤及浓缩成 100 mL 药汁,置于 4℃ 冰箱保存。按人与动物体表面积折算的等效剂量比值进行计算,以 70 kg 成人 66 g 生药为标准,本实验应用于小鼠的

^{*} **基金项目:**国家自然科学基金资助项目(81473728)。**作者简介:**宋桂华(1965—),主任医师,博士,主要从事中西医结合治疗小儿呼吸系统疾病研究。

生药标准为 0.6 g/100 g。其他药物与试剂主要包括:卵白蛋白(OVA,Ⅳ级,美国 Sigma 公司),灭活百日咳杆菌(北京生物研究所),氢氧化铝(分析纯,福晨化学试剂厂),4%多聚甲醛(自配),0.01 mol/L PBS(pH 7.2,自配),Trizol(美国 Invitrogen 公司),RT-PCR(SYBR Green)试剂盒(美国 BIO-RED 公司),逆转录试剂盒(美国 Thermo 公司),乙基苯基聚乙二醇、脱氧胆酸盐、十二烷基硫酸钠(SDS,上海康朗生物科技有限公司),TSLP 抗体(ab59377,美国 Abcam 公司)。

1.1.3 仪器 402 型超声雾化器(上海鱼跃医疗设备有限公司);F6-10 型手握式电动匀浆机(德国 FLUKO 公司);DHP-9012B 型电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);PTC-150 型 PCR 扩增仪(美国 MJR 公司);ZF-4 型紫外分光光度计(上海长明光学电子仪器厂);Kodsk 型凝胶成像系统(美国 BIO-RAD 公司);OLYMPUS 光学显微镜与照相显微镜(日本 OLYMPUS 公司);电泳槽(北京东方特力科贸中心);BDF-1600 型电泳仪(北京东方仪器厂);ABI-7500 型 RT-PCR 检测仪(美国 ThermoFisher 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与造模 将小鼠分为空白对照组、哮喘模型组、小青龙汤组,每组 10 只。哮喘模型组与小青龙汤组于第 1、8 天采用 OVA 10 mg 与氢氧化铝凝胶 200 mg 进行皮下注射,另采用 5×10^9 个灭活百日咳杆菌腹腔注射致敏^[5]。自第 15 天开始,将全部小鼠放置到密闭玻璃箱内,采用含 OVA(2%)的生理盐水 50 mL 经超声雾化器雾化吸入激发哮喘,每天 1 次,每次 30 min,持续 8 周。OVA 的生理盐水雾化液浓度每 2 周增加 1%。空白对照组均以不含 OVA 的生理盐水替代。小青龙汤组采用小青龙汤水煎液于每日激发哮喘前 1 h 灌胃,给药剂量以小鼠体质量计为 0.5 mL/100 g。

1.2.2 标本采集与染色镜检 末次激发哮喘 24 h 内将各组小鼠麻醉解剖,快速剥离肺组织,剪开气管并将支气管取出。于肺组织右侧灌注 6%多聚甲醛进行固定,之后再放置到 4%多聚甲醛中保存备用。采集肺组织标本,将部分经石蜡包埋处理后的标本进行常规苏木精-伊红染色法(HE)染色镜检。

1.2.3 免疫荧光检测支气管 TSLP 表达 取支气管组织 50 mg 置于 PBS 中,室温浸泡 30 min,滴加稀释好的正常血清,室温封闭 30 min,加一抗,室温避光孵育 10~12 h,洗片,加荧光二抗,室温避光孵育 1 h,洗片 4 次,用含抗荧光淬灭剂的封片液封片,然后在荧光显微镜下观察采集图像。

1.2.4 qRT-PCR 检测肺组织 TSLP mRNA 表达 参照 Trizol 试剂说明书进行肺组织总 RNA 提取,反转录 cDNA,在 PCR 仪上扩增。应用 primer Premier 5.0 软件进行引物设计。TSLP:上游引物 5'-GAC CTG ACT GGA GAT TTG-3',下游引物 5'-CAT TGA GGG CTT CTC TTG-3'; β -actin:上游引物 5'-ATC ACT GCC ACC CAG AAG-3',下游引物 5'-TCC ACG ACG GAC ACA TTG-3'。qRT-PCR 反应体系采用 SYBR Green,循环条件为 95 ℃ 10 s、95 ℃ 15 s、60 ℃ 45 s,共 40 个循环。绘制熔解曲线,获得 TSLP 及内参 β -actin 的荧光域值循环数(Ct 值),计算其均值的比值, $\Delta Ct = Ct_{TSLP} - Ct_{\beta-actin}$,数值为 mRNA 的增殖拷贝数倍数。

1.2.5 Western blot 检测肺组织 TSLP 蛋白表达 称取各组小鼠肺组织 50 mg,加 RIPA 蛋白裂解液(1%乙基苯基聚乙二醇、0.5%脱氧胆酸盐和 0.1%十二烷基硫酸钠加入 PBS 中)500 μ L,经摇动、离心、取上清液,提取蛋白。10%SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳后,用转湿仪转至硝酸纤维素膜。5%脱脂奶室

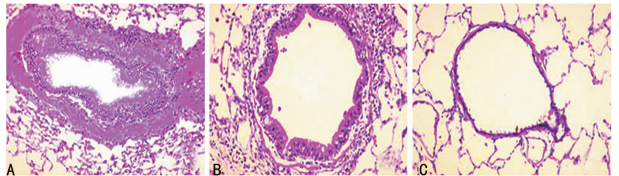
温 4 ℃封闭过夜,加一抗,水平摇床平缓摇动 2 h,TBS-Tween 洗膜 3 次,加二抗摇床平缓摇动 2 h,TBS-Tween 洗膜 3 次,应用发光剂在 X 线片上曝光、显影、定影。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

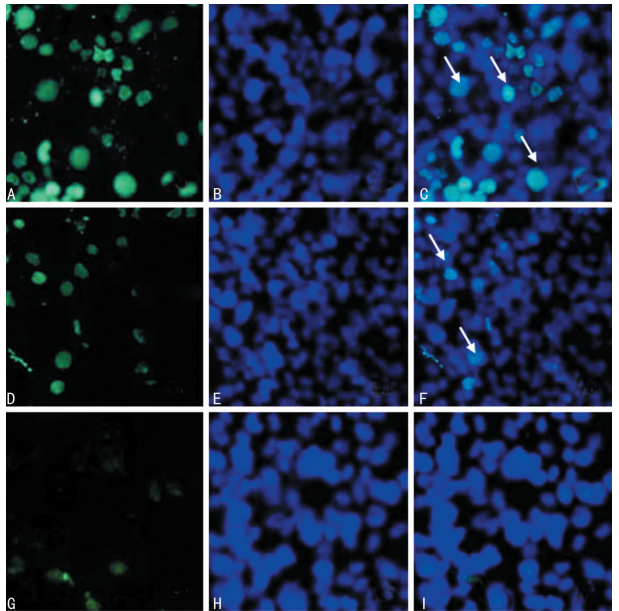
2.1 肺组织标本的 HE 染色及镜检情况 哮喘模型组支气管与血管周围、肺间质及肺泡腔均观察到明显的以 EOS 和淋巴细胞为主的炎症细胞浸润,支气管黏膜皱折增多且其下出现水肿,肺泡隔与气道平滑肌显著增厚,部分黏膜上皮细胞发生脱落;小青龙汤组与哮喘模型组有相似改变,但程度明显减轻;空白对照组几乎未发生组织结构改变,各级支气管上皮基本完整,见图 1。

2.2 支气管 TSLP 表达的免疫荧光检测 小鼠支气管上皮细胞膜上 TSLP 荧光染色在哮喘模型组呈强阳性,小青龙汤组呈弱阳性,空白对照组呈阴性,见图 2。



A:哮喘模型组;B:小青龙汤组;C:空白对照组

图 1 各组小鼠肺组织标本的 HE 染色及镜检情况



A:哮喘模型组 TSLP 染色;B:哮喘模型组 DAPI 核染;C:哮喘模型组合成图;D:小青龙汤组 TSLP 染色;E:小青龙汤组 DAPI 核染;F:小青龙汤组合成图;G:空白对照组 TSLP 染色;H:空白对照组 DAPI 核染;I:空白对照组合成图

图 2 各组小鼠支气管 TSLP 表达的免疫荧光检测

2.3 各组小鼠肺组织 TSLP mRNA 表达 与哮喘模型组小鼠肺组织 TSLP mRNA 表达(3.880 ± 0.467)比较,小青龙汤组(2.932 ± 0.455)与空白对照组(2.750 ± 0.522)均降低($P < 0.05$),小青龙汤组略高于空白对照组,但组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 3。

2.4 各组小鼠肺组织 TSLP 蛋白表达 小青龙汤组与空白对照组小鼠肺组织 TSLP 蛋白表达均低于哮喘模型组($P <$

0.05),小青龙汤组较空白对照组略高,但组间比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4。

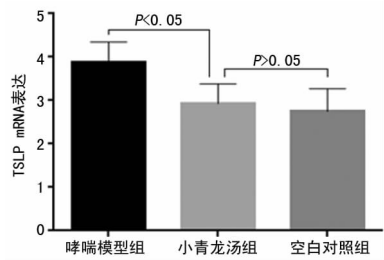


图 3 各组小鼠肺组织 TSLP mRNA 表达

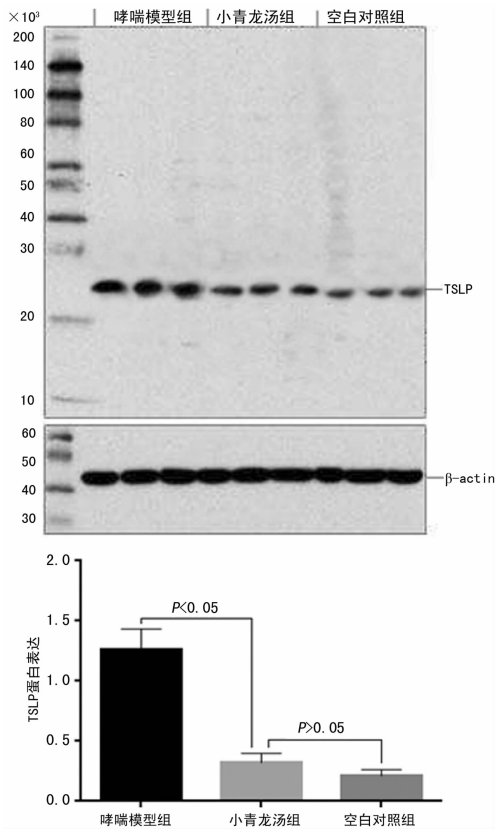


图 4 各组小鼠肺组织 TSLP 蛋白表达

3 讨 论

目前公认的结论为,哮喘是一种由 EOS、淋巴细胞、中性粒细胞、气道上皮细胞等多种细胞及其他相关细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病。本实验结果与既往报道一致^[6-8],与空白对照组比较,哮喘模型组的小鼠肺支气管与血管周围、肺间质及肺泡腔均观察到明显的以 EOS 和淋巴细胞为主的炎症细胞浸润,支气管黏膜皱折增多且其下出现水肿,肺泡隔与气道平滑肌显著增厚,部分黏膜上皮细胞发生脱落。上述改变符合临床哮喘病理特征,说明本实验造模方法可行。

Th1/Th2 功能失衡在哮喘发病中扮演重要角色,Th2 优势应答所导致的 EOS 性气道炎症为变应性哮喘的基本特征之一^[9-11]。TSLP 是于 1994 年由 Friend 等从小鼠胸腺基质细胞中首次鉴定出的一种与白细胞介素(IL)-17 极为类似的细胞因子,主要表达于上皮细胞,其中经抗原激活的支气管上皮细胞及肺成纤维细胞表达 TSLP 最为活跃^[12]。有学者在进行哮喘模型小鼠 RNA 分离时发现,TSLP mRNA 表达水平较正常小鼠显著上调,且 TSLP 高水平表达可导致转基因小鼠气道出现超敏反应^[13]。临床研究进一步证实,哮喘患者气道 TSLP

明显增加,而将 TSLP 受体(TSLPR)人为阻断后可一定程度控制气道的变态反应性炎症^[14]。另有研究发现,在树突状细胞(DC)表面存在有 TSLPR,其为 I 型细胞因子受体蛋白,具有该族受体分子的典型结构特征,如胞外区的半胱氨酸(Cys)残基序列与近膜区的 WSXWS 保守序列等^[15]。TSLP 与 TSLPR 的结合可将转录因子 STAT3、STAT5 激活,继而启动下游基因表达。TSLP 还可与 DC 直接相互作用,被认为是 DC 的激活剂^[16]。TSLP 对 CD11c+DCs(TSLP-DC)具活化作用,并使其在活化后增加 CD40、CD80 及 CD86 的表达水平,这将促使初始 CD4⁺T 细胞向 Th2 型细胞分化,Th2 型细胞则能进一步产生 IL-4、IL-5、IL-13 等多种炎症因子,继而导致以 EOS 为主的炎症细胞聚集并使气道发生或加重炎症^[17]。

祖国中医学将哮喘称作“哮病”,认为其主要病机为痰饮内伏导致的肺、脾、肾三脏功能失调,气机升降失利,气痰搏结于喉间,以致气息喘促而发生哮喘。《素问·咳论》曰:“其寒饮输入胃,从肺脉上至于肺则肺寒,肺寒则内外和邪,因而客之,则为肺咳”^[18]。小青龙汤出自医圣张仲景的《伤寒杂病论》,乃医治“外寒内饮”之经典方剂。方中麻黄发汗、平喘、利水,配桂枝则增强通阳宣散之力,桂枝配芍药调和营卫,干姜、细辛为热药则散寒温肺化饮,五味子敛肺止咳,半夏燥湿化痰、降逆止呕,甘草调和诸药,诸药合用则温肺化饮、止咳平喘。本研究发现,哮喘模型小鼠的支气管 TSLP 表达及肺组织 TSLP mRNA 和 TSLP 蛋白表达均明显增高,而经小青龙汤干预后 TSLP 表达被明显抑制。

综上所述,小青龙汤对哮喘模型小鼠气道上皮细胞表达 TSLP 具有明显抑制作用,可有效控制气道炎症并改善哮喘症状。本实验研究不仅进一步揭示了小青龙汤治疗哮喘的可能性作用机制,也为古方的现代应用提供了一定的科学依据。

参考文献

[1] 韩向莉,姜志杰. 支气管哮喘发病机制及治疗研究新进展[J]. 四川中医,2014,32(4):186-189.

[2] HAMMAD H,LAMBRECHT B N. Barrier epithelial cells and the control of type 2 immunity[J]. Immunity,2015,43(1):29-40.

[3] BUNYAVANICH S,MELEN E,WILK J B,et al. Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) is associated with allergic rhinitis in children with asthma[J]. Clin Mol Allergy,2011,9(1):1-11.

[4] 葛均波. 内科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2013:33-36.

[5] 杨帆,易桂生. 小青龙汤对哮喘大鼠 TGF-β1/Smad3 信号通路的影响[J]. 河南中医,2014,34(6):1041-1043.

[6] CHEN G,TANG J,NI Z,et al. Antiasthmatic effects of resveratrol in ovalbumin-induced asthma model mice involved in the upregulation of PTEN[J]. Biol Pharm Bull,2015,38(4):507-513.

[7] WANG Y Y,ZHANG C Y,MA Y Q,et al. Therapeutic effects of C-28 methyl ester of 2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic acid (CDDO-Me;bardoxolone methyl) on radiation-induced lung inflammation and fibrosis in mice [J]. Drug Des Devel Ther,2015,9(6):3163-3178.

[8] 李丽燕,林能. 补脾益气方对哮喘模型大鼠气道炎症反应及气道嗜酸性粒细胞浸润的影响[J]. 新中医,2017,49(1):5-8.

(下转第 1022 页)

- ment and diabetes[J]. *Int J Diabetes Dev Ctries*, 2010, 30(2):63-68.
- [2] 汪会琴,胡如英,武海滨,等. 2 型糖尿病报告发病率研究进展[J]. *浙江预防医学*, 2016, 28(1):37-39.
- [3] TENGHOLM A, GYLFE E. Oscillatory control of insulin secretion[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 297(1/2):58-72.
- [4] 陈立强. 谷氨酸信号转导与胰岛素慢分泌调节机制研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(3):357-359.
- [5] 王伟福,宁晓燕,陈晓武,等. 维生素 D3 对胰腺癌 PANC-1 细胞中 PTCH、Gli-1 基因表达及细胞增殖凋亡的影响[J]. *广东医学*, 2016, 37(6):815-819.
- [6] 梁敏,王海峰,王剑松,等. 不同分级与分期膀胱癌微小核糖核酸 3658 和人源性长寿保障基因 II 型表达的变化[J]. *广东医学*, 2016, 37(14):2110-2114.
- [7] 田戈,姜敏. Nrf2-ARE 信号通路在调节慢性阻塞性肺疾病氧化失衡过程中的作用机制[J]. *广东医学*, 2016, 37(12):1808-1810.
- [8] MAECHLER P, GJINOVCI A, WOLLHEIM C B. Implication of glutamate in the kinetics of insulin secretion in rat and mouse perfused pancreas[J]. *Diabetes*, 2002, 51(Suppl 1):S99-102.
- [9] LI T, BAI L, LI J, et al. Sp1 is required for glucose-induced transcriptional regulation of mouse vesicular glutamate transporter 2 gene[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7):1994-2003.
- [10] RUTTER G A. Insulin secretion: feed-forward control of insulin biosynthesis? [J]. *Curr Biol*, 1999, 9(12):R443-445.
- [11] OHSUGI M, CRAS-MNEUR C, ZHOU Y, et al. Reduced expression of the insulin receptor in mouse insulinoma (RIN-5F) cells reveals multiple roles of insulin signaling in gene expression, proliferation, insulin content, and secretion[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(6):4992-5003.
- [12] LEIBIGER I B, LEIBIGER B, BERGGREN P O. Insulin signaling in the pancreatic beta-cell[J]. *Annu Rev Nutr*, 2008, 28:233-251.
- [13] 唐辰义,周后德. 胰岛素受体底物家族成员的结构和组织特异性与功能的关系[J]. *临床与病理杂志*, 2016, 36(3):295-302.
- [14] BRIAUD I, DICKSON L M, LINGOHR M K, et al. Insulin receptor substrate-2 proteasomal degradation mediated by a mammalian target of rapamycin (mTOR)-induced negative feedback down-regulates protein kinase B-mediated signaling pathway in beta-cells[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(3):2282-2293.
- [15] TSUNEKAWA S, DEMOZAY D, BRIAUD I, et al. FoxO feedback control of basal IRS-2 expression in pancreatic beta cells is distinct from that in hepatocytes[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(1):S50.
- [16] DEMOZAY D, TSUNEKAWA S, BRIAUD I, et al. Specific glucose-induced control of insulin receptor substrate-2 expression is mediated via Ca^{2+} -dependent calcineurin/NFAT signaling in primary pancreatic islet β -cells[J]. *Diabetes*, 2011, 60(11):2892-2902.
- [17] SIMON-SZABO L, KOKAS M, GREFF Z, et al. Novel compounds reducing IRS-1 serine phosphorylation for treatment of diabetes[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(2):424-428.
- [18] KANETO H. Pathophysiology of type2 diabetes mellitus [J]. *Nippon Rinsho*, 2015, 73(12):2003-2007.

(收稿日期:2017-10-11 修回日期:2017-12-21)

(上接第 1018 页)

- [9] 孙德彬,熊雪芳,周家峰,等. 哮喘患者外周血调节性 T 细胞和 Th1/Th2 的变化及其与哮喘病情的关系[J]. *中国现代医生*, 2016, 54(16):6-9.
- [10] 高俊. Th1/Th2 及红细胞免疫指标在支气管哮喘患者中的变化[J]. *海南医学院学报*, 2015, 21(5):630-632.
- [11] JI N F, XIE Y C, ZHANG M S, et al. Ligustrazine corrects Th1/Th2 and Treg/Th17 imbalance in a mouse asthma model[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(1):76-81.
- [12] WEI W, YAN L, ZHE L, et al. The Th2 cell-promoting cytokines IL-33 and TSLP, but not IL-25, are potential biomarkers for endotypes of asthma[J]. *Chest*, 2016, 149(4):147-151.
- [13] MITCHELL P D, O'BYRNE P M. Biologics and the lung: TSLP and other epithelial cell-derived cytokines in asthma[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 169(23):104-112.
- [14] LI H T, CHEN Z G, LIU H, et al. Treatment of allergic rhinitis with CpG oligodeoxynucleotides alleviates the lower airway outcomes of combined allergic rhinitis and asthma syndrome via a mechanism that possibly involves in TSLP[J]. *Exp Lung Res*, 2016, 42(6):322-333.
- [15] COOK E B, STAHL J L, SCHWANTES E A, et al. IL-3 and TNF α increase Thymic Stromal Lymphopoietin Receptor (TSLPR) expression on eosinophils and enhance TSLP-stimulated degranulation[J]. *Clin Mol Allergy*, 2012, 10(1):8.
- [16] 钱江,吴健,安弘,等. Ag85B 调节小鼠髓样树突状细胞的成熟和 TSLP 介导下 TSLPR 和 OX40L 的表达[J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 27(9):1680-1687.
- [17] KAUR D, BRIGHTLING C. OX40/OX40 ligand interactions in T-cell regulation and asthma[J]. *Chest*, 2012, 141(2):494-499.
- [18] 吴奎,王彦,毕玉田,等. 小青龙汤对哮喘小鼠气道变应性炎症作用的研究[J]. *重庆医学*, 2014, 43(17):2145-2148.

(收稿日期:2017-08-19 修回日期:2017-11-06)