

• 论 著 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.14.001

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210609.1432.002.html\(2021-06-09\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210609.1432.002.html(2021-06-09))

# TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠气道重塑的作用及对 ERK 信号通路的影响<sup>\*</sup>

黄武锋,余常辉,赵海金,刘爱华,蔡绍曦<sup>△</sup>  
(南方医科大学南方医院呼吸与危重症医学科,广州 510515)

**[摘要]** **目的** 分析胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)小干扰 RNA(siRNA)干预对哮喘模型大鼠气道重塑的作用及对细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路的影响。**方法** 选取清洁及健康的雄性大鼠 56 只,随机选取 14 只为正常组,剩余 42 只建立哮喘模型,分为模型组、空白对照组和 TSLP siRNA 干预组,各 14 只。Image-Pro Plus 软件计算出大鼠的小气道支气管壁总管壁面积、小气道支气管壁内管壁面积和支气管壁平滑肌的面积,生理记录仪记录大鼠的肺顺应性和肺弹性阻力,显微镜下观察大鼠白细胞数量、嗜酸性粒细胞(EOS)数量,并计算出 EOS/白细胞的值,Western blot 法检测细胞外信号调节激酶-1(ERK1)、伤害性信息与即刻早期基因(C-FOS)、血小板衍生因子(PDGF)蛋白水平表达。**结果** 与模型组、空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组小气道支气管壁总管壁面积、小气道支气管壁内壁面积、支气管壁平滑肌面积均减小,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组、空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组肺顺应性均升高,肺弹性阻力均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组、空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组白细胞、EOS/白细胞均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组、空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** TSLP siRNA 干预通过调控 ERK 信号通路相关蛋白,改善气道重塑指标,提高大鼠的肺顺应性,降低大鼠的肺弹性阻力,抑制炎症反应。

**[关键词]** 胸腺基质;小干扰 RNA;哮喘;气道重塑;ERK 信号通路  
**[中图法分类号]** R562.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)14-2341-05

## Effect of TSLP siRNA intervention on airway remodeling and ERK signaling pathway in asthmatic model rats<sup>\*</sup>

HUANG Wufeng, YU Changhui, ZHAO Haijin, LIU Aihua, CAI Shaoxi<sup>△</sup>  
(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Nanfang Hospital,  
Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

**[Abstract]** **Objective** To analyze the effects of thymic stromal lymphopoietic hormone (TSLP) small interfering RNA (siRNA) intervention on the airway remodeling in asthmatic model rats and its effects on extracellular signalling regulated kinase (ERK) signaling pathway. **Methods** Fifty-six clean and healthy male rats were selected. Fourteen cases were randomly selected as the normal group. The remaining 42 cases were built the asthmatic models and divided into the model group, blank control group and TSLP siRNA intervention group, 14 cases in each group. The Image-Pro Plus software was used to calculate the rat small airway wall total area of bronchial wall, small airway smooth muscle of the bronchial wall inside tube wall area and the bronchial wall area. The rat lung compliance and pulmonary elastic resistance were recorded by the physiological recorder. The white blood cells count and eosinophils (EOS) count were observed by microscope, and the ratio of EOS/white blood cells was calculated. Western blot was used to detect the extracellular signal regulated kinase-1 (ERK1), harmful information, the proteins of immediate early gene (C-FOS) and platelet-derived factor (PDGF) protein levels. **Results** Compared with the model group and blank control group, the total bronchial wall area, inner wall area and smooth muscle area of the bronchial wall of the small airway in the TSLP siRNA intervention group were all reduced, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ).

<sup>\*</sup> 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81700034);南方医科大学南方医院院长基金项目(2017B028)。 作者简介:黄武锋(1980—),主治医师,博士,主要从事气道上皮细胞在哮喘发病中作用机制的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: hxxkai@126.com。

Compared with the model group and blank control group, the lung compliance in the TSLP siRNA intervention group was increased and the lung elastic resistance was decreased, showing statistical differences ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group and blank control group, the white blood cells and EOS/white blood cells in the TSLP siRNA intervention group were all decreased, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group and blank control group, the levels of ERK1, C-FOS, PDGF pathway proteins in the TSLP siRNA intervention group were all decreased, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** TSLP siRNA intervention can improve airway remodeling indexes by regulating the ERK signaling pathway related proteins, improve the rat lung compliance, reduce the pulmonary elastic resistance and inhibit the inflammatory response.

**[Key words]** thymic stroma; small interfering RNA; asthma; airway remodeling; ERK signaling pathway

支气管哮喘(简称哮喘)是由炎性细胞参与进而产生气道慢性炎症的过程,这个过程会使患者出现喘息、气急、咳嗽和胸闷的症状<sup>[1]</sup>;若不及时的治疗会使患者产生气道不可逆性的缩窄和气道重塑,严重危害患者的生命健康<sup>[2-3]</sup>。气道炎症是气道重塑形成的基础,它会在这个基础上出现大量黏膜、杯状细胞增生、平滑肌细胞增生、黏膜下血管增生、细胞外基质沉淀,气道重塑会使患者的气道顺应性下降、平滑肌增厚、气道壁弹性减退,进而使患者的管腔变得狭窄,肺功能持续下降,病情加重<sup>[4-5]</sup>。细胞外信号调节激酶(ERK)是一种丝氨酸蛋白激酶,是 MAPK 家族中的成员之一,磷酸化的 ERK 具有修复损伤上皮细胞的功能<sup>[6]</sup>。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,在哮喘患者中呈高表达。小干扰 RNA(siRNA)可以通过干扰靶 mRNA 抑制相关基因的表达来控制疾病的发生<sup>[7]</sup>。因此,本文主要研究 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠气道重塑的作用及对 ERK 信号通路的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究动物

选取清洁及健康的雄性大鼠 56 只,鼠龄为 6~12 周,平均周龄为  $(9.47 \pm 1.39)$  周;体重 210~260 g,平均  $(247.37 \pm 0.37)$  g。选取的大鼠是由本校动物所提供的,大鼠的饲养标准为:25℃ 的环境,60% 的湿度,每小时通风 10 次,及时添加水和饲料。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 哮喘模型的建立

选取清洁及健康的雄性大鼠 56 只,14 只分为正常组,剩余 42 只建立哮喘模型。参考文献[8]建立哮喘模型,将新鲜配制的 1 mg 的卵蛋白和 100 mg 的氢氧化铝混合,在第 1、8 天将其注射在大鼠的腹部致敏,从第 9 天开始,将 1% 的卵蛋白和 10 mL 生理盐水混合液进行雾化,诱导大鼠哮喘发作,当大鼠表现为呼吸加快、喘息、皮毛无光泽、打喷嚏时代表哮喘模型建立成功。

#### 1.2.2 气道高反应性测量

建模成功后测量大鼠的气道高反应性,使用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,然后进行气管插管处理,将其置于密闭体扫描箱中并将气管插管连接至呼

吸机上,呼吸机的参数设置为:呼吸频率 140~150 次/min,流量调定以大鼠潮气量达到 0.13~0.15 mL 时为准,然后分别给予浓度为 3.125、6.250、12.500、25.000、50.000 mg/mL 的醋甲胆碱,每次需要雾化 0.5 min,反应记录时间为 3.0 min,恢复至基线时间为 4.0 min,使用气道阻力指数评价气道高反应性。

#### 1.2.3 分组

将 42 只哮喘模型大鼠随机分为模型组、空白对照组和 TSLP siRNA 干预组,各 14 只。TSLP siRNA 干预组给予注射 125  $\mu$ L TSLP siRNA 进行干预,模型组给予等体积的无菌生理盐水进行干预,空白对照组给予 siRNA-control 工作液干预,所有大鼠连续干预 3 周。

#### 1.2.4 白细胞、嗜酸性粒细胞(EOS)/白细胞检测

白细胞计数用移液枪抽取 1 040  $\mu$ L 的血液,放入 EP 管中,另外取出 40  $\mu$ L 的血液放入新的 EP 管中,用浓度为 75% 的乙醇将细胞计数板清洗 3 次,然后用滤纸将计数板周围的水吸干,将盖玻片平铺在细胞计数板上,在显微镜下数 4 个方格白细胞数,得出白细胞数量。EOS 计数将剩余的 1 000  $\mu$ L 血液与 100  $\mu$ L PBS 充分混匀,抽取 50  $\mu$ L 放在载玻片上,用吸管滴入 3 滴无水乙醇并固定,让瑞氏蓝液覆盖在涂片上,放置 2.0 min,玻片晾干以后再滴入无水乙醇进行脱水,然后滴加一滴中性树胶,封片,晾干,在显微镜下得出 EOS 的数量,最后计算 EOS/白细胞的值。

#### 1.2.5 病理学观察

大鼠在干预 3 周后断头处死,将取出的右侧支气管组织固定以后用石蜡包埋,然后制成厚度为 4  $\mu$ m 的切片,将切片放置在 70℃ 的烤箱中,待 30 min 后取出,用二甲苯进行脱蜡,分别用无水乙醇、95% 的乙醇、80% 的乙醇清洗 1 min,最后用蒸馏水清洗 2 min,用 HE 染色 6 min,着色以后再用自来水清洗 2 min,然后再用 1% 的稀氨水返蓝 2 min,脱水、封片、晾干、中性树脂封闭,在显微镜下观察组织的病理学状态。

#### 1.2.6 气道重塑参数、肺顺应性、肺弹性阻力的测量

取出经过染色的大鼠右侧支气管组织切片,用 Image-Pro Plus 软件计算出大鼠的小气道支气管壁总管壁面积、小气道支气管壁内管壁面积和支气管壁平滑肌的面积。称取大鼠体重后,将 3.5 mL/kg 浓度

为 10%的水合氯醛注射在大鼠的腹腔中,进行麻醉处理,然后使大鼠仰卧在木板上,暴露出胸部,剥离大鼠的支气管皮下组织,清除心脏和周围的血管,将气管和食管切开以后插入插管并固定,然后连接生理记录仪,记录大鼠的肺顺应性和肺弹性阻力。

1.2.7 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白检测

将采集到的大鼠支气管组织提取液,通过 1 000 r/min 离心处理后提取沉淀,滴加裂解液,反复冰融后,12 000 r/min 离心处理,提取上清液,采用酶标仪检测 ERK1、C-FOS、PDGF 蛋白浓度,保存。滴加 10%的分离胶,封闭,吸干水分,给予 5%的浓缩胶灌注,凝固后,将其在电泳槽中固定,加 5  $\mu$ L Marker,变性蛋白样品,电泳干预 30 min,待蛋白分离胶底,结束电泳;转膜成功后将硝酸纤维素膜(NC)在 5%的脱脂奶粉中封闭固定 1 h,加一抗(ERK1、C-FOS、PDGF 1:1 000)孵育,经过振荡洗膜后加二抗(ERK1、C-FOS、PDGF 1:10 000)孵育,再次振荡洗膜,使用红外荧光成像系统对结果给予分析。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参蛋白。

1.3 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析,其中计量资料采用  $\bar{x}\pm s$  进行描述,四组间比较采用方差检验,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 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠气道重塑指标的影响

与正常组相比,模型组、空白对照组、TSLP siRNA 干预组小气道支气管壁总管壁面积、小气道支气管壁内壁面积、支气管壁平滑肌面积均较大,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组相比,空白对照组 TSLP siRNA 干预组小气道支气管壁总管壁面积、小气道支气管壁内壁面积、支气管壁平滑肌面积均减小,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组小气道支气管壁总管壁面积、小气道支气管壁内壁面积、支气管壁平滑肌面积均减小,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

正常组大鼠右侧支气管组织形态完整,右侧支气管纤维排列整齐,间隙分布均匀;模型组大鼠右侧支气管组织有明显的吸收陷窝,纤维排列紊乱;空白对照组右侧支气管组织伴有吸收陷窝的现象,且组织破坏明显;TSLP siRNA 干预组大鼠右侧支气管组织形态、纤维排列逐渐恢复,见图 1。

表 1 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠气道重塑指标的影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	小气道支气管壁总管壁面积 ( $\mu\text{m}^2/\text{m}$ )	小气道支气管壁内壁面积 ( $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$ )	支气管壁平滑肌面积 ( $\mu\text{m}^2/\text{m}$ )
正常组	14	26.89 $\pm$ 2.35	21.57 $\pm$ 3.25	4.59 $\pm$ 2.58
模型组	14	45.87 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>	32.69 $\pm$ 2.85 <sup>a</sup>	11.42 $\pm$ 2.14 <sup>a</sup>
空白对照组	14	40.58 $\pm$ 1.47 <sup>ab</sup>	29.67 $\pm$ 2.41 <sup>ab</sup>	8.54 $\pm$ 1.12 <sup>ab</sup>
TSLP siRNA 干预组	14	31.57 $\pm$ 0.87 <sup>abc</sup>	25.88 $\pm$ 1.99 <sup>abc</sup>	5.64 $\pm$ 0.58 <sup>abc</sup>
<i>F</i>		42.510	16.377	14.496
<i>P</i>		0.001	0.001	0.001

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与正常组相比;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组相比;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与空白对照组相比。

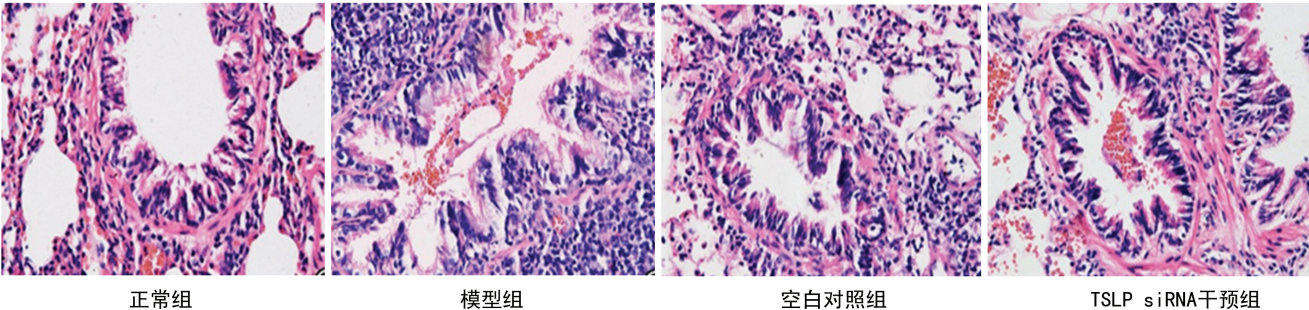


图 1 4 组大鼠病理学观察(HE 染色, $\times 200$ )

2.2 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠肺顺应性、肺弹性阻力的影响

与正常组相比,模型组、空白对照组、TSLP siRNA 干预组肺顺应性均降低,肺弹性阻力均升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组相比,空白对照组、TSLP siRNA 干预组肺顺应性均升高,肺弹性阻力均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与空白对照

组相比,TSLP siRNA 干预组肺顺应性升高,肺弹性阻力降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

2.3 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠白细胞、EOS/白细胞的影响

与正常对照组相比,模型组、空白对照组、TSLP siRNA 干预组白细胞、EOS/白细胞均升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组相比,空白对照组、



TSLP siRNA 干预组白细胞、EOS/白细胞均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组白细胞、EOS/白细胞均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

表 2 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠肺顺应性、肺弹性阻力的影响( $\bar{x}\pm s$ )			
组别	<i>n</i>	肺顺应性 (mL/H <sub>2</sub> O)	肺弹性阻力 (CO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O/mL)
正常组	14	25.97±5.21	0.66±0.12
模型组	14	8.54±2.57 <sup>a</sup>	2.75±0.97 <sup>a</sup>
空白对照组	14	12.89±3.25 <sup>ab</sup>	2.05±0.14 <sup>ab</sup>
TSLP siRNA 干预组	14	22.48±3.69 <sup>abc</sup>	1.24±0.67 <sup>abc</sup>
<i>F</i>		16.839	10.968
<i>P</i>		0.001	0.001

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与正常组相比;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组相比;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与空白对照组相比。

表 3 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠白细胞、EOS/白细胞的影响( $\bar{x}\pm s$ )			
组别	<i>n</i>	白细胞(10 <sup>9</sup> /L)	EOS/白细胞(%)
正常组	14	5.02±1.02	2.58±0.25
模型组	14	15.69±3.58 <sup>a</sup>	5.97±1.57 <sup>a</sup>
空白对照组	14	12.58±2.25 <sup>ab</sup>	4.02±1.26 <sup>ab</sup>
TSLP siRNA 干预组	14	8.54±1.87 <sup>abc</sup>	3.21±0.85 <sup>abc</sup>
<i>F</i>		16.087	11.968
<i>P</i>		0.001	0.001

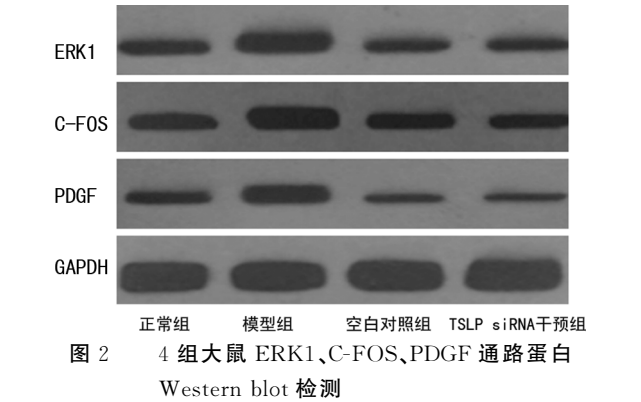
<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与正常组相比;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组相比;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与空白对照组相比。

### 2.4 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白的影响

与正常组相比,模型组、空白对照组、TSLP siRNA 干预组 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白均升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组相比,空白对照组、TSLP siRNA 干预组 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与空白对照组相比,TSLP siRNA 干预组 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白均降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 4、图 2。

表 4 TSLP siRNA 干预对哮喘模型大鼠 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白的影响( $\bar{x}\pm s$ )				
组别	<i>n</i>	ERK1	C-FOS	PDGF
正常组	14	0.38±0.25	0.39±0.13	0.56±0.75
模型组	14	2.56±0.87 <sup>a</sup>	2.03±0.54 <sup>a</sup>	2.04±0.23 <sup>a</sup>
空白对照组	14	1.60±0.14 <sup>ab</sup>	1.32±0.41 <sup>ab</sup>	1.45±0.42 <sup>ab</sup>
TSLP siRNA 干预组	14	0.99±0.23 <sup>abc</sup>	0.75±0.54 <sup>abc</sup>	0.99±0.47 <sup>abc</sup>
<i>F</i>		13.885	16.572	10.446
<i>P</i>		0.001	0.001	0.001

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与正常组相比;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组相比;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与空白对照组相比。



### 3 讨 论

哮喘患病率在全球范围内有逐年增加的趋势,严重危害人类健康。随着哮喘病情反复发作,会出现不可逆的气流阻塞<sup>[8]</sup>,导致肺功能下降,目前认为气道重塑是造成不可逆性气流阻塞和肺功能下降的主要原因,也被认为是引发哮喘发展为顽固性、难治性疾病的主要因素。气道重塑是一种炎症反应的结果。在哮喘发生过程中,多种细胞会通过释放炎症因子而促使患者的气道平滑肌细胞增生,支气管上皮细胞增殖倒伏,炎症细胞浸润,进而导致基底膜增厚和上皮下游胶原纤维沉积<sup>[9-10]</sup>。有研究表明,气道重塑是由于长期的气道慢性炎症及支气管痉挛发生的损伤-修复循环所导致的气道结构改变<sup>[11]</sup>。在哮喘发病早期会出现成纤维细胞增殖和上皮下胶原沉积等一系列气道重塑的现象,进而促进哮喘的发生和发展<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,TSLP siRNA 干预可改善哮喘模型大鼠的气道重塑指标,因此,进一步明确气道重塑的机制和寻找有效的治疗方法是哮喘防治的焦点。

TSLP 具有调节上皮细胞功能、诱导免疫应答的作用,可通过激活髓系树突状细胞来促进炎症细胞因子的释放,进而加重哮喘的病情<sup>[13-14]</sup>。进一步研究显示:TSLP 可以活化平滑肌细胞及成纤维细胞,加重气道重塑。已有相关研究表明,靶向上皮来源因子如 TSLP 可减少难治性哮喘患者急性加重。Tezepelumab 是一种抗 TSLP 单克隆抗体,可明显减轻哮喘症状,防止病情的进一步恶化。已有相关研究证明,Tezepelumab 在 3 期实验中成功,与其他抗体干预相比,Tezepelumab 效果更好<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,siRNA 干预 TSLP 基因表达可有效降低哮喘大鼠气道上皮 TSLP 水平,提示 TSLP siRNA 干预可改善大鼠气道炎症,控制哮喘进一步发展。

肺顺应性可以反映出胸腔压力改变时对肺容积的改变<sup>[16-17]</sup>。肺弹性阻力与肺的顺应性呈负相关,在外力作用下当肺的弹性组织扩张时,肺顺应性越小,肺弹性阻力越大<sup>[18]</sup>。本研究结果中,TSLP siRNA 干预可改善哮喘模型大鼠的肺顺应性和肺弹性阻力,控制大鼠病情的进一步发展。EOS 是白细胞的组成部分之一,可损伤机体气道上皮细胞,加重气道炎症反应,当白细胞数量和 EOS 数量减少时,可降低大鼠气

道炎症反应<sup>[19-20]</sup>。本研究结果表明,TSLP siRNA 干预可减少哮喘模型大鼠白细胞数量和 EOS 数量,进而降低 EOS/白细胞的值。

ERK 是丝裂原活化蛋白激酶的信号传导途径,外界的抗原成分可以激活支气管上皮细胞上的 ERK 信号通路,其在哮喘的发病机制中发挥着重要作用,但活化的 ERK 可增强哮喘患者气道平滑肌细胞上的细胞周期素 D1 的表达,进而调节患者气道平滑肌的增殖<sup>[21]</sup>。C-FOS 属于转录因子家族中的成员,C-FOS 基因功能的实现是通过核蛋白 FOS 来完成的,ERK 信号通路可以通过酶联反应增加上皮组织中 C-FOS 基因的表达,进而产生气道重塑导致哮喘的发生,当 C-FOS 基因表达增高时会调节炎症反应,损伤支气管上皮细胞,阻止糖皮质激素对某些基因转录的诱导,继而导致哮喘的发生和加重<sup>[22]</sup>。机体中的多种细胞都可以产生 PDGF,当 PDGF 增多时,会促进胶原蛋白的合成。有研究表明,当 PDGF 与靶细胞膜上的受体结合时,会立刻激活受体上的酪氨酸激酶,继而参与哮喘气道的重构<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,TSLP siRNA 干预可通过激活 ERK 信号通路调控 ERK1、C-FOS、PDGF 通路蛋白的水平来缓解病情的发展。

综上所述,TSLP siRNA 干预通过调控 ERK 信号通路相关蛋白,可改善大鼠的气道重塑指标,提高大鼠的肺顺应性,降低大鼠的肺弹性阻力,抑制炎症反应,为临床上治疗哮喘提供了新的方向。

## 参考文献

- [1] 杨华,王慧,陈卓昌.哮喘临床管理效能的研究进展[J].临床肺科杂志,2020,25(6):938-941.
- [2] 杨宏宽.重度哮喘精准治疗的研究进展[J].中国全科医学,2020,23(15):1843-1848.
- [3] 李芳学,刘娟.难治性支气管哮喘药物治疗的研究进展[J].医学综述,2020,26(8):1573-1577.
- [4] 张宁宁,吴力群,霍婧伟,等.加味六安煎对咳嗽变异性哮喘大鼠模型气道重塑的影响[J].世界中西医结合杂志,2020,15(2):288-291.
- [5] 任培中,陈秋仪,王佳美,等.升陷乌梅汤对哮喘大鼠激素干预模型气道重塑及肺功能的影响[J].中国中西医结合杂志,2020,40(5):608-613.
- [6] HAN M,JI X,LI G,et al. inhalation enhances asthma susceptibility in a rat mode[J]. Environ Sci Pollut Res Int. 2017,24(36):27843-27854.
- [7] KIANMEHER M,GHORANI V,BOSKABADY M H. Animal model of asthma, various methods and measured parameters:a methodological review[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol,2016,15(6):445-465.
- [8] WANG J,WANG H S,SU Z B. MicroRNA-142

inhibits proliferation and promotes apoptosis in airway smooth muscle cells during airway remodeling in asthmatic rats via the inhibition of TGF- $\beta$ -dependent EGFR signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem,2018,47(4):1682-1695.

- [9] 林益平,吴美玲,魏艳丽,等.汉防己甲素对卵蛋白诱导大鼠哮喘模型的抗氧化保护作用[J].浙江医学,2020,42(3):227-231.
- [10] 孙靖辉,吕希,王春梅,等.五味子木脂素对哮喘模型小鼠 Th2 相关炎症因子的影响[J].北华大学学报(自然科学版),2020,21(3):325-328.
- [11] 徐增梅,丁伟伟,李泽庚.麻芍平喘汤对哮喘模型大鼠气道重塑的干预作用[J].中医药导报,2020,26(5):23-26.
- [12] HAN M,RAJPUT C,ISHIKAWA T,et al. Small animal models of respiratory viral infection related to asthma[J]. Viruses,2018,10(12):682.
- [13] KHALDI T,CHEKCHAKI N,BOUMENDJEL M,et al. Ameliorating effects of Nigella sativa oil on aggravation of inflammation, oxidative stress and cytotoxicity induced by smokeless tobacco extract in an allergic asthma model in Wistar rats [J]. Allergol Immunopathol (Madr),2018,46(5):472-481.
- [14] TANG X,NIAN H,LI X,et al. Effects of the combined extracts of Herba Epimedii and Fructus Ligustrilucidi on airway remodeling in the asthmatic rats with the treatment of budesonide[J]. BMC Complement Altern Med,2017,17(1):380.
- [15] MARON G,SPADARO G,BRAILE M,et al. Tezepelumab:a novel biological therapy for the treatment of severe uncontrolled asthma[J]. Expert Opin Investig Drugs,2019,28(11):931-940.
- [16] LIU T,LIU Y,MILLER M,et al. Autophagy plays a role in FSTL1-induced epithelial mesenchymal transition and airway remodeling in asthma[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2017,313(1):L27-L40.
- [17] 常琴,田新利,霍如婕,等.人脐带间充质干细胞对支气管哮喘大鼠气道重塑的治疗作用及可能机制[J].中华医学杂志,2018,98(28):2258-2263.
- [18] BELVISI M G,BAKER K,MALLOY N,et al. Modelling the asthma phenotype: impact of cigarette smoke exposure[J]. Respir Res,2018,19(1):89.
- [19] CHENG Z,WANG X,DAI L L,et al. Thymic stromal lymphopoietin signaling pathway inhibition attenuates airway inflammation and remodeling in rats with asthma[J]. Cell Physiol Biochem,2018,47(4):1482-1496. (下转第 2351 页)

- virus infection[J]. *Lancet*, 2014, 384(9959): 2053-2063.
  - [2] KENNEDY P T F, SANDALOVA E, JO J, et al. Preserved T-cell function in children and young adults with immune-tolerant chronic hepatitis B[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(3): 637-645.
  - [3] PERRILLO R. Benefits and risks of interferon therapy for hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5 Suppl): S103-111.
  - [4] ONG E B, WATANABE N, SAITO A, et al. Vipirinin, a coumarin-based HIV-1 Vpr inhibitor, interacts with a hydrophobic region of VPR[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(16): 14049-14056.
  - [5] 黄月芬. 香豆素类化合物在肿瘤治疗上的应用[J]. *海峡药学*, 2015, 27(8): 1-4.
  - [6] WU B, WANG R, LI S, et al. Antifibrotic effects of fraxetin on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by targeting NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B $\alpha$ , MAPKs and Bcl-2/Bax pathways[J]. *Pharmacol Rep*, 2019, 71(3): 409-416.
  - [7] HUANG S X, MOU J F, LUO Q, et al. Anti-hepatitis B virus activity of esculetin from *microsorium fortunei* in vitro and in vivo[J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3475.
  - [8] YIN H L, LI J H, LI J, et al. Four new coumarinolignoids from seeds of *Solanum indicum* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 84: 360-365.
  - [9] KATO S, SEKI T, KATSUMURA Y, et al. Mechanism for 6-methylcoumarin photoallergenicity[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1985, 81(2): 295-301.
  - [10] 张观流, 杨明, 夏娟娟, 等. 6-甲基香豆素分子印迹聚合物微球与共聚微球的制备与研究[J]. *武汉工业学院学报*, 2013, 32(3): 22-26.
  - [11] 易振, 张茂新, 凌冰, 等. 马缨丹及其酚类化合物对水葫芦生长的抑制作用[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(9): 1637-1640.
  - [12] 卢红, 朱一帆, 吕品, 等. 6-甲基香豆素联合紫杉醇对人食管癌细胞增殖, 迁移的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2020, 55(1): 29-32.
  - [13] SETO W K, LO Y R, PAWLOTSKY J M, et al. Chronic hepatitis B virus infection[J]. *Lancet*, 2018, 392(10161): 2313-2324.
  - [14] LI L Q, LI J, HUANG Y, WU Q, et al. Lignans from the heartwood of *Streblus asper* and their inhibiting activities to hepatitis B virus[J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(2): 303-309.
  - [15] TAKEUCHI F, IKEDA S, TSUKAMOTO Y, et al. Screening for inhibitor of episomal DNA identified dicumarol as a hepatitis B virus inhibitor[J]. *PLoS One*, 2019, 14(2): e0212233.
- 
- (收稿日期: 2021-01-12 修回日期: 2021-04-17)
- (上接第 2345 页)
- [20] KONG Y H, SHI Q, HAN N, et al. Structural modulation of gut microbiota in rats with allergic bronchial asthma treated with recuperating lung decoction[J]. *Biomed Environ Sci*, 2016, 29(8): 574-583.
  - [21] YU L, YAN J, SUN Z. D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(4): 2339-2346.
  - [22] FENG Y, YANG C, YANG W, et al. Effect of dexamethasone on TGF- $\beta$ 1/Smad3 signalling pathway in airway remodelling model of asthmatic rats[J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2019, 29(6): 537-540.
  - [23] DREVYTSKA T, MORHACHOV R, TUMA NOVSKA L, et al. shRNA-induced knockdown of a bioinformatically predicted target IL10 influences functional parameters in spontaneously hypertensive rats with asthma[J]. *J Integr Bioinform*, 2018, 15(4): 20180053.
- (收稿日期: 2020-09-22 修回日期: 2021-02-28)