

# 平喘止咳方对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠 $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达及气道重塑的影响

黄柏文, 杨海丽, 李芳

南京市中西医结合医院呼吸内科, 江苏 南京 210014

**摘要:** **目的** 探讨平喘止咳方对慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶( $\gamma$ -GCS)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)表达及气道重塑的影响。**方法** 选取 8 周龄雄性 SD 大鼠 30 只随机分为对照组、模型组和平喘止咳方组, 每组 10 只。对照组正常饲养, 模型组和平喘止咳方组进行烟熏联合脂多糖法构建 COPD 大鼠模型, 模型构建成功后, 平喘止咳方组给予 5 ml/kg 平喘止咳方灌胃, 对照组和模型组给予 5 ml/kg 生理盐水灌胃, 每日 1 次, 共给药 14 d。比较各组肺功能、肺组织病理变化、气道重塑情况、肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达情况, 并分析肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达与气道重塑的相关性。**结果** 各组大鼠第 0.1 秒用力呼气量/用力肺活量(FEV0.1/FVC)、呼气流量峰值(PEF)比较, 差异有统计学意义(模型组 < 平喘止咳方组 < 对照组,  $P < 0.05$ )。三组肺组织损伤评分比较差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。各组大鼠气管壁厚度、气管平滑肌厚度比较, 差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。各组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 mRNA 表达水平比较, 差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。 $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白表达与气管壁厚度分别呈正相关( $r = 0.453, P = 0.012; r = 0.540, P = 0.002$ )。**结论** 平喘止咳方能有效提高 COPD 大鼠肺功能, 减轻肺部病理变化, 改善气道重塑, 其机制可能与下调  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达水平有关。

**关键词:** 平喘止咳方; 慢性阻塞性肺疾病; 大鼠; 气道重塑;  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶; 金属蛋白酶组织抑制因子-1

中图分类号: R 256.1 R 563 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2020)08-1032-05

## Effect of Pingchuan Zhike Decoction on expression of $\gamma$ -GCS, TIMP-1 and airway remodeling in rats with COPD

HUANG Po-wen, YANG Hai-li, LI Fang

Department of Pespiration, Nanjing Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Nanjing, Jiangsu 210014, China

Corresponding author: LI Fang, E-mail: li\_fang\_1968@126.com

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Pingchuan Zhike Decoction on the expression of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthase ( $\gamma$ -GCS), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and airway remodeling in rats with COPD. **Methods**

A total of 30 8-week-old male SD rats were selected and randomly divided into control group, model group and Pingchuan Zhike Decoction group ( $n = 10$ , each). The control group was fed normally, the fumigating and lipopolysaccharide method was used to construct COPD rat model in the model group and the Pingchuan Zhike Decoction group. After the model was successfully constructed, the Pingchuan Zhike Decoction group was given Pingchuan Zhike Decoction by gavage (5 ml/kg), and the control group and model group were given normal saline by gavage (5 ml/kg), one time per day. The lung function, pathological changes of lung tissue, airway remodeling, expression of  $\gamma$ -GCS and TIMP-1 in lung tissue were compared, and the correlation between the expression of  $\gamma$ -GCS and TIMP-1 and airway remodeling were analyzed. **Results**

There were significant differences in FEV0.1/FVC, PEF between three groups (model group < Pingchuan Zhike Decoction group < control group,  $P < 0.05$ ). There were significant differences in lung tissue injury score, airway wall thickness, airway smooth muscle thickness and expression levels of  $\gamma$ -GCS, TIMP-1 mRNA in rat lung tissue between three groups (model group > Pingchuan Zhike Decoction group > control group,  $P < 0.01$ ). The expressions of  $\gamma$ -GCS and TIMP-1 protein were positively correlated with tracheal wall thickness ( $r = 0.453, P = 0.012; r = 0.540, P = 0.002$ ).

**Conclusions** Pingchuan Zhike Decoction could improve the lung function, alleviate the pathological changes of lung and

improve the airway remodeling in COPD rats. The mechanism may be related to the down-regulation of the expression levels of  $\gamma$ -GCS and TIMP-1.

**Key words:** Pingchuan Zhike Decoction; Chronic obstructive pulmonary disease; Rat; Airway remodel;  $\gamma$ -glutamylcysteine synthase; Tissue inhibitor of metalloproteinase-1

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以气流阻塞和气道重塑为病理特征的呼吸系统疾病,常合并胃肠道疾病、心血管疾病等。COPD加重期患者临床表现为气短、咳嗽、喘息,部分患者还伴有发热<sup>[1-2]</sup>。平喘止咳方具有化痰、理气、通气功效,在常规西药基础上应用平喘止咳方能有效改善膈肌功能,缓解呼吸肌疲劳,提高COPD治疗效果<sup>[3]</sup>。但关于平喘止咳方治疗COPD的具体机制尚未见报道。 $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶( $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase,  $\gamma$ -GCS)是还原型谷胱甘肽合成过程中的限速酶,与氧化应激反应密切相关,其水平升高能促进还原型谷胱甘肽表达,从而发挥抗氧化作用<sup>[4]</sup>。金属蛋白酶组织抑制因子-1(matrix metalloproteinases tissue inhibiting factor-1, TIMP-1)是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)抑制剂,通过调节细胞外基质动态平衡,从而破坏肺泡结构,参与气道重塑<sup>[5]</sup>。本研究通过构建COPD大鼠模型,分析平喘止咳方对肺组织气道重塑及 $\gamma$ -GCS、TIMP-1表达的影响,初步探讨平喘止咳方的可能作用机制。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 8周龄雄性SD大鼠30只,体重183~224 g。在室温SPF条件下饲养,自由饮水、摄食,适应性喂养7 d后进行实验。

1.2 药物 平喘止咳方:桑叶、黄芩各15 g,百部、北沙参、陈皮各12 g,炙紫菀、款冬花、炙麻黄、桔梗、法半夏、杏仁各10 g,木香6 g,甘草3 g。

1.3 主要试剂 脂多糖购自Sigma公司,Trizol试剂购自Invitrogen公司,逆转录试剂盒购自Thermo公司,荧光定量PCR相关试剂购自Qiagen公司,RIPA裂解液和BCA蛋白质定量试剂盒购自碧云天生物技术有限公司,羊抗鼠 $\gamma$ -GCS一抗、羊抗鼠TIMP-1一抗均购自碧云天生物技术有限公司,GAPDH一抗购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.4 分组及COPD模型大鼠构建 随机将30只SD大鼠分为3组:对照组、模型组和平喘止咳方组,每组10只。对照组正常喂养,模型组和平喘止咳方组构建COPD模型。COPD模型构建方法:自制一个

60 cm × 60 cm × 50 cm的烟箱,将大鼠置于其内,每次燃烧20支香烟,烟熏持续时间1 h,然后打开箱顶,6 h后关闭箱顶再次燃烧20支香烟,烟熏持续时间1 h,每日烟熏2次。另于实验第1天和第14天向气管内注入200  $\mu$ g脂多糖,注射当天不进行烟熏。烟熏联合脂多糖共干预28 d。28 d后检测大鼠肺顺应性、每分钟通气量、气道阻力、平均内衬间隔(MLI)和肺泡破坏指数(DI)及肺组织病理,建模成功标准参照文献<sup>[6]</sup>。平喘止咳方组在造模成功后,予5 ml/kg平喘止咳方进行灌胃,每日1次;对照组和造模成功后的模型组,给予5 ml/kg生理盐水进行灌胃,每日1次,共给药14 d。

1.5 大鼠肺功能检测 给药结束后,采用2%戊巴比妥钠注射于腹腔进行麻醉,待麻醉满意,常规备皮消毒,将颈部皮肤切开,使气管暴露,在气管软骨环间做一切口,插入气管插管并固定,气管插管一端与动物肺功能仪(RSE3020)连接,检测第0.1秒用力呼气量(forced expiratory volume in 0.1 second, FEV<sub>0.1</sub>)、用力肺活量(forced vital capacity, FVC)和呼气流量峰值(peak expiratory flow, PEF),计算FEV<sub>0.1</sub>/FVC。

1.6 肺组织病理检测及肺损伤程度评价 肺功能检测完毕后,解剖获取大鼠右肺组织,采用10%福尔马林固定24 h以上,制作石蜡切片,常规脱蜡至水,苏木精浸染5 min,迅速水洗蓝化,然后伊红染色2~3 s,95%乙醇将残色洗掉,再常规脱水、透明、封片。在光镜下观察肺组织病理变化,采用光镜图像分析系统检测大鼠气管壁厚度、气管平滑肌厚度。根据肺组织损伤评分标准对肺损伤程度进行评分,分数越高提示肺损伤越严重<sup>[7]</sup>。

1.7 肺组织 $\gamma$ -GCS、TIMP-1 mRNA表达水平检测 解剖获取大鼠左肺组织,切取100 mg,采用Trizol试剂提取肺组织总RNA,根据逆转录试剂盒说明书将总RNA逆转录为单链cDNA,然后进行实时荧光定量PCR。反应条件:95  $^{\circ}$ C反应5 min,然后开始36个循环反应,95  $^{\circ}$ C反应30 s,55  $^{\circ}$ C反应30 s,72  $^{\circ}$ C反应30 s,结束36个循环,再72  $^{\circ}$ C反应10 min。以GAPDH作为内参,获得数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行分析,每个样品做3个复孔。引物序列见表1。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

引物名称	上游引物	下游引物
$\gamma$ -GCS	5'-AAAGTGGCACAGGAGCGAGAT-3'	5'-GGGATGACTCCAGGAAAACACG-3'
TIMP-1	5'-AATGGCTACCTGAAGGTGGTGG-3'	5'-AAACTCGCTGGATFTCTGGACTG-3'
GAPDH	5'-CAACGGGAAACCCATCACCA-3'	5'-ACGCCAGTAGACTCCACGACAT-3'

1.8 肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白表达水平检测 解剖获取大鼠左肺组织,切取 100 mg,采用 RIPA 裂解液提取肺组织总蛋白,BCA 蛋白浓度检测试剂盒检测蛋白浓度。定量 40  $\mu$ g 进行 SDS-PAGE 电泳,然后将蛋白条带转至 PVDF 膜上,采用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,一抗 4  $^{\circ}$ C 孵育 12 h,二抗室温孵育 1 h,暗室环境下加显色剂并曝光拍照,条带灰度分析采用 LI-COR Odyssey 软件 V3.0。以 GAPDH 作为内参,蛋白相对表达量为样品量/内参量。

1.9 统计学方法 采用 Graphpad Prism 6.0 进行图片处理,采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK- $q$  检验。相关性分析采用 Pearson 分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠肺功能比较 三组大鼠 FEV0.1/FVC 及 PEF 比较,差异有统计学意义(模型组 < 平喘止咳方组 < 对照组,  $P < 0.05$ )。见表 2。

2.2 各组大鼠肺组织病理学分析 对照组肺组织结构完整,无水肿、充血及炎性渗出物;模型组肺组织黏膜上皮细胞部分脱落,黏膜水肿、充血,支气管腔有大量炎性细胞浸润,平滑肌层增厚;平喘止咳方组也存在肺组织黏膜上皮细胞部分脱落,黏膜水肿、充血,支气管腔有大量炎性细胞浸润,平滑肌层增厚等现象。见图 1。三组肺组织损伤评分比较差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。见表 3。

2.3 各组大鼠气道重塑情况比较 三组大鼠气管壁厚度、气管平滑肌厚度比较,差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。见表 3。

2.4 各组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 mRNA 表达水平比较 三组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 mRNA 表达水平比较,差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。见表 4。

2.5 各组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白表达水平比较 三组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白表达水平比较差异有统计学意义(模型组 > 平喘止咳方

组 > 对照组,  $P < 0.01$ )。见表 5。

2.6  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白表达与气管壁厚度相关性分析  $\gamma$ -GCS 蛋白表达与气管壁厚度呈正相关( $r = 0.453, P = 0.012$ ),TIMP-1 蛋白表达与气管壁厚度呈正相关( $r = 0.540, P = 0.002$ )。见图 2、图 3。

表 2 各组大鼠肺功能比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	FEV0.1/FVC	PEF(L/min)
对照组	0.78 $\pm$ 0.11	27.21 $\pm$ 4.13
平喘止咳方组	0.74 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	25.12 $\pm$ 3.78 <sup>b</sup>
模型组	0.65 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	20.74 $\pm$ 3.07 <sup>a</sup>
F 值	5.299	8.022
P 值	0.011	0.002

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 各组大鼠肺组织损伤评分和气道重塑情况比较

( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	肺组织损伤评分(分)	气管壁厚度( $\mu$ m)	气管平滑肌厚度( $\mu$ m)
对照组	0.17 $\pm$ 0.12	37.35 $\pm$ 5.67	11.50 $\pm$ 3.08
平喘止咳方组	1.04 $\pm$ 0.28 <sup>ab</sup>	44.68 $\pm$ 10.14 <sup>b</sup>	13.75 $\pm$ 4.24 <sup>b</sup>
模型组	3.74 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	56.13 $\pm$ 12.46 <sup>a</sup>	20.46 $\pm$ 5.31 <sup>a</sup>
F 值	24.241	9.261	11.711
P 值	0.000	0.001	0.001

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 4 各组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 mRNA 相对表达水平比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

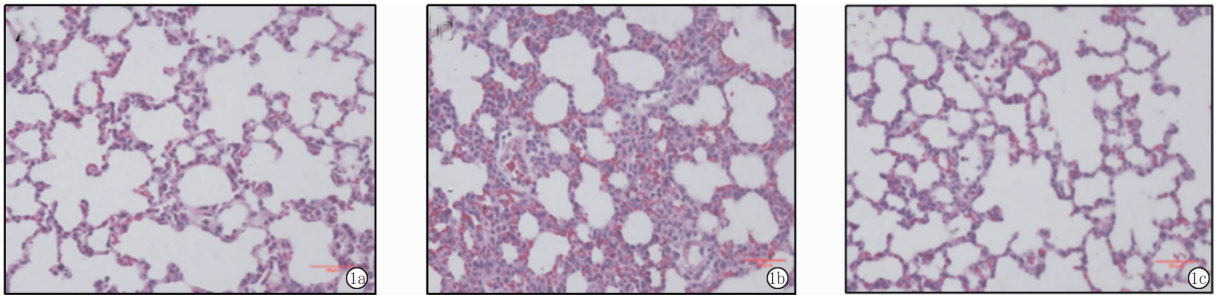
组别	$\gamma$ -GCS	TIMP-1
对照组	0.27 $\pm$ 0.07	0.31 $\pm$ 0.06
平喘止咳方组	0.49 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>	0.52 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup>
模型组	0.71 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	0.83 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>
F 值	25.095	26.456
P 值	0.000	0.000

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

表 5 各组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白相对表达水平比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	$\gamma$ -GCS 蛋白	TIMP-1 蛋白
对照组	0.21 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02
平喘止咳方组	0.42 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup>	0.53 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>
模型组	0.62 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
F 值	6.846	11.878
P 值	0.000	0.000

注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。



注:1a:对照组;1b:模型组;1c:平喘止咳方组。

图 1 各组大鼠肺组织病理图 (HE 染色, ×400)

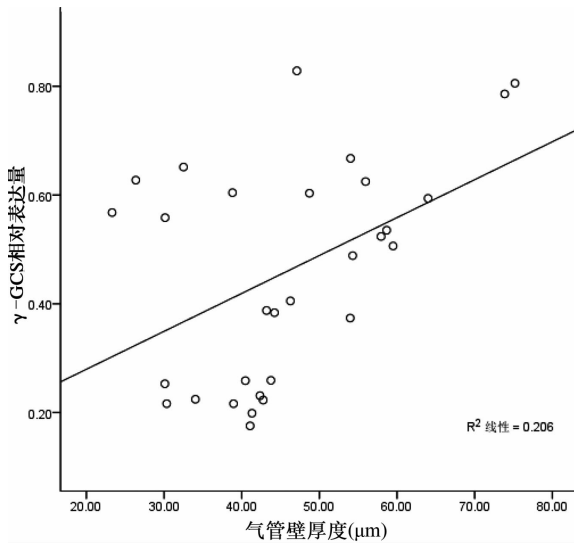


图 2 γ-GCS 蛋白表达与气道壁厚度相关性分析

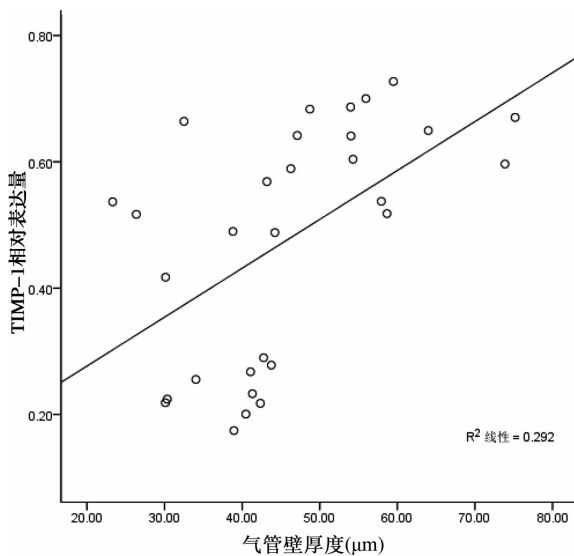


图 3 TIMP-1 蛋白表达与气道壁厚度相关性分析

### 3 讨论

COPD 患者临床表现为气短、咳嗽、喘息,部分患者还伴有发热症状,临床一般采用吸氧、祛痰药、支气管扩张药、抗炎药等治疗,但并不能达到理想治疗效果。研究显示,中药与西药联合治疗能有效提高 COPD 的治疗效果<sup>[7-8]</sup>。COPD 在中医学中属于“肺胀”、“喘证”范畴,发病原因主要是肺部受损,肺失宣

降,久而久之累及脾肾,使脾之健运功能及肾之纳气功能减弱,最终引起痰浊,肺络受阻<sup>[9]</sup>。平喘止咳方中,君药为桑叶和炙麻黄,具有清肺止咳、疏风散热、宣肺平喘作用;臣药为黄芩、北沙参、百部和炙紫菀,具有宣肺、清肺、润肺作用;佐药为陈皮、款冬花、桔梗、法半夏和杏仁,具有清泻肝火、润肠作用;使药为木香和甘草,具有清热、止咳化痰及调和诸药作用。诸药合用共奏清肺平喘、止咳化痰之功效。因此马波等<sup>[3]</sup>研究显示平喘止咳方能有效提高 COPD 患者肺功能,改善血气指标,提高治疗疗效。

虽然临床上证实平喘止咳方对 COPD 具有一定疗效,但关于其具体作用机制尚未见报道。吸烟是 COPD 发生的高危因素,流行病学调查研究显示,吸烟者 COPD 发生率明显高于不吸烟者<sup>[10]</sup>。香烟中含有尼古丁、焦油,燃烧后释放一氧化碳、氨等多种有害成分,人体吸入后会激活免疫细胞,引起局部炎症反应,损伤内皮细胞<sup>[11]</sup>。另外,香烟中还含有脂多糖,脂多糖作为革兰阴性菌细胞壁成分之一,进入体内可释放内毒素,通过移行至肺间质,引起肺结构损伤,导致哮喘发生<sup>[12]</sup>。单独采用烟熏进行 COPD 造模,所需时间较长(不少于 4 个月),单独采用脂多糖进行 COPD 造模,虽能快速造模成功,但造模期间许多动物因不耐受而死亡。本研究则采用烟熏联合脂多糖方法进行造模,可尽量在较短时间内成功模拟人类 COPD 发生过程。

本研究结果显示,与对照组相比,模型组 FEV0.1/FVC、PEF 显著降低,大鼠肺组织结构明显受到破坏,黏膜上皮细胞部分脱落,黏膜水肿、充血,支气管腔有大量炎性细胞浸润,气管壁厚度、气管平滑肌厚度明显较大。与模型组相比,平喘止咳方组 FEV0.1/FVC、PEF 显著升高,且肺组织损伤明显减轻,气管壁厚度、气管平滑肌厚度明显减小。以上研究结果提示,COPD 大鼠模型造模成功,大鼠肺功能受损,病理变化与人类 COPD 病变相似,气道发生重塑,当给予平喘止咳方干预后,肺功能、病理变化及气道重塑明显改善,进一步在动物体上证实了平喘止咳

方的治疗效果。

$\gamma$ -GCS 是一个二聚体,具有全酶催化功能,对还原型谷胱甘肽的合成起到调控作用,炎症介质、氧化剂、抗肿瘤药物等均可激活  $\gamma$ -GCS,从而升高还原型谷胱甘肽水平,起到抗氧化作用,当还原型谷胱甘肽水平足够高时,才会负反馈抑制  $\gamma$ -GCS 活性<sup>[4]</sup>。有研究显示,COPD 患者肺组织  $\gamma$ -GCS 含量较健康者升高,分析原因可能是 COPD 患者肺部的氧化应激可激活相关信号通路,引起炎症细胞、肺泡上皮细胞  $\gamma$ -GCS 活性及表达量升高,通过加快还原型谷胱甘肽合成,发挥抗氧化作用<sup>[13]</sup>。TIMP-1 由内皮细胞、炎症细胞、纤维细胞等合成,可通过非共价键形式与 MMPs 结合而抑制 MMPs 活性,TIMP-1 与 MMPs 共同维持着细胞外基质分泌、降解的平衡<sup>[14]</sup>。细胞外基质分泌、降解平衡一旦被打破,极易出现间质增生、肺实质受损、气道壁结构异常等改变。本研究为进一步探讨平喘止咳方的可能作用机制,检测各组大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达情况,结果显示,无论是在 mRNA 水平上还是蛋白水平上,模型组  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达量均较对照组明显升高,而平喘止咳方组  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达量均较模型组明显降低,且经相关性分析发现,大鼠肺组织  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 蛋白表达水平与气管壁厚度呈正相关,提示平喘止咳方治疗 COPD 机制可能与降低  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达水平,改善氧化应激,纠正细胞外基质分泌、降解的失衡,从而减轻气道重塑有关。

综上所述,平喘止咳方具有清肺平喘、止咳化痰之功效,能有效提高 COPD 大鼠肺功能,减轻肺部病理变化,改善气道重塑,延缓疾病发展,其机制可能与下调  $\gamma$ -GCS、TIMP-1 表达水平有关,这可为 COPD 靶点治疗提供一定参考。

#### 参考文献

[1] Khan HN, Suleman A, Ullah R, et al. Gastro oesophageal reflux diseases in chronic obstructive pulmonary disease patients[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2018, 30(1): 64-66.

- [2] Budnevsky AV, Malysh EY. Clinico-pathogenetic relationship of cardiovascular diseases and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Kardiologia, 2017, 57(4): 89-93.
- [3] 马波, 王思恒, 王善博. 平喘止咳汤对慢阻肺急性加重期(AE-COPD)的临床治疗价值观察[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(16): 182, 186.
- [4] 李洁, 戴爱国, 黄畅宇, 等. 锌指 Krüppel 样转录因子 2 对慢性阻塞性肺疾病支气管上皮细胞中  $\gamma$  谷氨酰半胱氨酸合成酶的作用[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(2): 112-118.
- [5] Linder R, Rönmark E, Pourazar J, et al. Proteolytic biomarkers are related to prognosis in COPD-report from a population-based cohort[J]. Respir Res, 2018, 19(1): 64.
- [6] 吴洁, 辛晓峰, 戴伟, 等. COPD 大鼠对糖皮质激素不敏感与丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 的关系[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(1): 48-53.
- [7] Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 44(5): 725-738.
- [8] 雷新锋, 李凝香, 于立杰. 痰热清联合头孢哌酮舒巴坦对 COPD 患者临床疗效及炎症细胞因子水平的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2018, 25(6): 578-580.
- [9] 程茹, 张明华, 俞万钧. 通腑平喘汤对老年慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭的疗效及 FVC、FEV<sub>1</sub>/FVC 水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(7): 1653-1656.
- [10] Jiménez Ruiz CA, Buljubasich D, Riesco Miranda JA, et al. Using PICO methodology to answer questions about smoking in COPD patients[J]. Arch Bronconeumol, 2017, 53(11): 622-628.
- [11] Ma XH, Jiao XG, Wu JX, et al. The function of Ophiocordyceps sinensis in airway epithelial cell senescence in a rat COPD model[J]. Can Respir J, 2018, 2018: 6080348.
- [12] Zhang XF, Qin Q, Geng WY, et al. Electroacupuncture reduces hypothalamic and medullary expression of orexins and their receptors in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Acupunct Med, 2018, 36(5): 312-318.
- [13] 李洁, 戴爱国, 胡瑞成, 等. 慢性阻塞性肺病患者肺组织中 ATF3 与 ATF4 对  $\gamma$ -GCS 表达的影响[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2017, 16(1): 9-14.
- [14] Wu LY, Luo ZJ, Zheng JX, et al. IL-33 can promote the process of pulmonary fibrosis by inducing the imbalance between MMP-9 and TIMP-1[J]. Inflammation, 2018, 41(3): 878-885.

收稿日期: 2019-12-02 修回日期: 2020-01-12 编辑: 王娜娜