

二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病细支气管壁 细胞外基质重塑的影响

吴珂, 尚立芝*, 谢文英, 张静, 王俊月, 包永生, 季书
(河南中医药大学基础医学院, 郑州 450046)

[摘要] **目的:**观察二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠细支气管结构重塑的作用及其机制。**方法:**50只SD大鼠随机分为正常组、模型组、二陈汤加味低、中、高剂量组(5,10,20 g·kg⁻¹),共5组,每组10只。以香烟烟熏加内毒素脂多糖(LPS)制备大鼠COPD模型。造模成功后,各观察组灌胃给药,检测肺功能,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测肺组织中基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinases, MMP-1), MMP-9及金属蛋白酶组织抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP-1)mRNA表达,免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)检测MMP-1, MMP-9, TIMP-1以及I型和Ⅲ型胶原在细支气管中的表达。**结果:**与正常组比较,模型组肺组织匀浆MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA表达均显著增强($P < 0.01$),细支气管壁MMP-1, MMP-9, TIMP-1, I型及Ⅲ型胶原蛋白的表达均显著增强($P < 0.05$)。与模型组比较,中、高剂量组肺组织匀浆MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA表达显著减弱($P < 0.01$),细支气管壁中、高剂量组I型和Ⅲ型胶原蛋白的表达明显减弱($P < 0.05$)。**结论:**二陈汤加味对细支气管壁细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中的胶原有抑制作用。其机制可能与抑制MMP-1, MMP-9,并协调性抑制TIMP-1的表达,阻止细支气管ECM胶原的沉积有关。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病(COPD); 二陈汤; I型胶原; Ⅲ型胶原; 细胞外基质(ECM); 基质金属蛋白酶(MMP)

[中图分类号] R22; R24; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)14-0122-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181425

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180426.1216.005.html>

[网络出版时间] 2018-04-26 16:58

Effect of Modified Erchentang on Extracellular Matrix Remodeling in Bronchiole of Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

WU Ke, SHANG Li-zhi*, XIE Wen-ying, ZHANG Jing, WANG Jun-yue, BAO Yong-sheng, JI Shu
(College of Basic Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of modified Erchentang on extracellular matrix remodeling in the bronchiole of rats with chronic obstructive pulmonary disease. **Method:** Fifty SD rats were randomly divided into normal group, model group, and modified Erchentang groups (5, 10, 20 g·kg⁻¹), with 10 in each group. The COPD model of rats was prepared with cigarette smoke and lipopolysaccharide (LPS). After successful modeling, each observation group was given drugs by gavage (*ig*) and tested for lung function. The expressions of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), MMP-9 and tissue inhibitor metalloproteinase-1 (TIMP-1) mRNA were detected by quantitative Real time PCR (Real-time PCR) assay. The expressions of MMP-1, MMP-9, TIMP-1, Type I and Type III collagen protein were detected by immunohistochemistry (IHC) techniques. **Result:** The

[收稿日期] 20180109(020)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81573881);郑州市科技领军人才项目(121PLJRC535);河南省高等学校重点科研项目(15A360030)

[第一作者] 吴珂,在读硕士,从事中医药作用机制研究, E-mail: wuke1397@163.com

[通信作者] *尚立芝, 硕士, 教授, 从事中医药作用机制研究, Tel: 0371-65835119, E-mail: lzshang2014@163.com

expressions of MMP-1, MMP-9 and TIMP-1 mRNA were increased significantly ($P < 0.01$), the expressions of MMP-1, MMP-9, TIMP-1, Type I and Type III collagen in bronchiole tissue were higher significantly ($P < 0.05$) in model group than those in normal group. Compared with model group, the expressions of MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA were decreased significantly ($P < 0.01$), while the protein expressions of MMP-1, MMP-9, TIMP-1, Type I and Type III collagen were decreased significantly ($P < 0.05$) in middle and high-dose modified Erchentang groups. **Conclusion:** Modified Erchentang has an inhibitory effect on collagen in the extracellular matrix (ECM) of bronchioles. Its mechanism may be related to suppressing the expressions of MMP-1, MMP-9, coordinately inhibiting the expression of TIMP-1 and preventing bronchiolar ECM collagen deposition.

[**Key words**] chronic obstructive pulmonary disease (COPD); Erchentang; type I collagens; type III collagens; extracellular matrix (ECM); matrix metalloproteinases (MMP)

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 以不完全可逆气流受限为特征的呼吸系统常见病和多发病, 气流受限呈进行性进展^[1-3]。蛋白酶/抗蛋白酶失衡是 COPD 气道结构重建的病理机制, 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs)/金属蛋白酶组织抑制剂 (TIMPs) 是调节细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 合成、降解的主要酶类^[4], MMPs/TIMPs 参与 COPD 支气管壁的结构重塑, 影响肺的通气 and 换气功能^[5]。

二陈汤源于宋代《太平惠民和剂局方》, 有理气和中的功效, 但其作用机制有待深入研究。本课题取二陈汤的燥湿化痰, 加入泄肺逐湿, 活血化瘀, 泄补兼治的中药组成二陈汤加味方, 用烟熏加脂多糖 (LPS) 方法制备肺气虚 COPD 大鼠模型, 前期研究发现二陈汤加味有效改善肺的结构与功能, 抑制气管、细支气管细胞外基质重塑^[7-8]。本文主要报道二陈汤加味对涉及 COPD 细支气管壁 ECM 重建的 MMP-1, MMP-9 及 TIMP-1 基因 mRNA 及蛋白表达, 以及 I 型、III 型胶原蛋白在细支气管中表达的影响, 为后期的研究提供一定的实验依据。

1 材料

1.1 动物 50 只 SD 雄性大鼠, 6 月龄, SPF 级, 体重 230 ~ 270 g, 由河南省动物实验中心提供。动物使用许可证号 SYXY(豫)2010-0001, 动物质量合格证号 41003100001905。本研究所涉及的实验均符合河南中医药大学动物伦理委员会的相关要求, 动物伦理编号 DWLL20130018。饲料购于郑州大学动物实验中心, 合格证号 SCXK(豫)2010-0002。

1.2 药物及试剂 二陈汤加味方药组成为姜半夏 10 g, 蜜麻黄 6 g, 陈皮 10 g, 苦杏仁 10 g, 葶苈子 6 g, 白术 10 g, 党参 10 g, 地龙 10 g, 茯苓 10 g, 干姜 5 g, 山药 10 g, 甘草 5 g (华润三九医药生产的中药配方

颗粒, 批号分别为 1603001S, 1609001S, 1602001H, 1604002S, 1501001W, 1607001W, 1607007W, 1603001S, 1605002W, 1503001H, 1610007H, 1502001S)。苏木素和伊红染色液 (珠海贝索生物技术有限公司, 批号分别为 717082, 717101); 兔抗大鼠 MMP-1 一抗, 兔抗大鼠 MMP-9 一抗, 兔抗大鼠 TIMP-1 一抗 (武汉博士德生物工程有限公司, 批号分别为 9G101, BA1270-1, BA2202); I 型胶原兔抗大鼠一抗, III 型胶原兔抗大鼠一抗 (三鹰 Proteintech 中国分公司, 批号分别为 00018640, 14695-1-AP, 00022539, 13548-1-AP); 总 RNA 提取试剂盒, 逆转录试剂盒, 染料法实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 试剂盒, Oligo 合成试剂盒 (南京诺唯赞生物科技有限公司, 批号分别为 086001, 119041, 112141, D12540)。PCR 引物序列均由南京诺唯赞生物科技有限公司合成, 详见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of PCR

基因	引物序列	长度/bp
MMP-9	上游 5'-TTGACTCCAGTAGACAATCC-3'	158
	下游 5'-CAGAGAAGCTGTTATCCAAGCG-3'	
MMP-1	上游 5'-CCAAATCCGATCCAGCCAACA-3'	641
	下游 5'-CCTCACAAACGGCAGCGTCA-3'	
TIMP1	上游 5'-CCACCTTATACCAGCGTTATG-3'	509
	下游 5'-GGCAAAGTGATCGCTCTG-3'	
GAPDH	上游 5'-AGGCCGCTGCTGACTATGTC-3'	122
	下游 5'-TGCCTGCTTACCACCTTCT-3'	

1.3 仪器 MAX II 型非束缚小动物肺功能测量仪 (美国 Buxco 公司); iofuge startos 型多用途 4 °C 离心机, PT2100 型匀浆机, TP1020-1 型自动组织脱水机, ST5020 型全自动染色机 (德国徕卡显微系统上海有

限公司);BX51型病理图像分析系统(日本Olympus公司);Image-Pro Plus 6.0(IPP)显微镜图像分析软件;Motic型全自动数字切片扫描系统(Motic DSAssistant Lite公司);272007028型Real-time PCR仪(美国Applied Biosystem公司)及其检测软件StepOne Software v2.1等均由河南中医药大学科研实验中心及基础医学院科研实验室提供。

2 方法

2.1 分组及给药 50只SD大鼠随机分为正常组、模型组、二陈汤加味高、中、低剂量组,共5组,每组10只。二陈汤加味高、中、低剂量组以20,10,5 g·kg⁻¹分别灌胃(ig),2次/d。正常组及模型组给予相同用量的生理盐水ig。疗程14 d。

2.2 模型制备及给药 制备“肺气虚证”型COPD大鼠模型^[9-10],除正常组外,其余各组均于第1天和第14天,麻醉,气管注入LPS,造模28 d,30 min·d⁻¹。以大鼠肺功能和肺组织病理学改变来作为判定造模成功与否的依据。与正常组相比较,模型组大鼠肺功能用力肺活量(FVC),1 s用力呼气容积(FEV₁)和FEV₁/FVC均显著降低,该数据已发表于文献[7]。病理学改变见结果3.3项镜下观察。造模成功后,二陈汤加味高、中、低剂量组以20,10,5 g·kg⁻¹分别ig,2次/d。正常组及模型组给予相同用量的生理盐水ig。疗程14 d。

2.3 Real-time PCR检测肺匀浆中MMP-1, MMP-9及TIMP-1 mRNA表达 制备10%的肺匀浆液,3 000 r·min⁻¹,4℃,离心5 min后取上清液,于无菌离心管中-80℃冰箱保存。将冻存的部分肺组织取出,置于液氮瓶内。提取总RNA。按逆转录试剂盒说明配制逆转录反应液,Mix 2 μL,2×RT Mix 10 μL,Oligo dT 1 μL,Random hexamers 1 μL,提取的总RNA 3 μL,ddH₂O 3 μL,共20 μL,12 000 r·min⁻¹离心30 s,在普通PCR仪中参照25℃5 min,42℃15 min,85℃5 min合成第一链cDNA,将cDNA置于-20℃冰箱保存。Real-time PCR把从-20℃冰箱取出的样本离心,将染料和目的基因引物、内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)于4℃冰箱融化。按说明书计算配比量一次加入8联排中,放入Real-time PCR仪后,按说明书两步法程序进行反应。反应条件为孵育94℃3 min,循环94℃30 s,退火55℃1 min,延伸72℃1 min;30个循环。取得扩增曲线、扩增产物熔解曲线及C_t值。结果以扩增曲线中C_t值判定Real-time PCR的准确性,以扩增熔解曲线呈现单峰判断反应特异性,

2^{-ΔΔC_t}定量计算各样本指标,得到目的基因的相对定量(相对于GAPDH基因)。

2.4 取材与病理标本制备 4%多聚甲醛固定肺组织72 h,常规包埋、切片厚5 μm,苏木素-伊红(HE)染色,光镜观察。以半定量图像分析法测量小气道管壁和平滑肌层厚度。每只大鼠切片(×100)随机选取3个直径在750~1 000 μm较完整的小支气管横截面。

2.5 免疫组化法检测细支气管中MMP-9, MMP-1, TIMP-1及I型, III型胶原蛋白定位表达 常规脱蜡至水,微波热修复抗原,加一抗4℃过夜(1:100),加二抗磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,DAB显色,苏木素复染。以PBS代替一抗作阴性对照,以已知阳性片作阳性对照,以棕黄为阳性显色。每张切片随机选取5个高倍视野,检测阳性显色平均积分吸光度值。

2.6 统计学分析 采用统计软件SPSS 19.0进行数据分析,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 动物一般情况观察 正常组精神良好,动作敏捷,大小便未发现异常状况,无死亡。模型组大鼠毛略黄无光泽,体质量下降,呼吸频率加快、气喘、咳嗽、鼻腔可见浅黄色分泌物。治疗组上述症状不同程度的改善。模型组、低剂量组各死亡2只,中、高剂量组各死亡1只。

3.2 对COPD大鼠肺组织中MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠肺组织中MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA表达显著升高(P<0.01)。与模型组比较,二陈汤加味中、高剂量组MMP-9, TIMP-1表达显著下降(P<0.01)。见表2。

3.3 对COPD大鼠肺组织形态结构的影响 大体观,正常组支气管及肺脏颜色粉红。气道黏膜表面光滑,管腔未见分泌物。模型组气道腔内可见脓性痰,气道黏膜红肿、弹性差。二陈汤加味高、中、低剂量组气道分泌物少、黏膜较完整。镜下观察,正常组气道腔无明显渗出物,气道黏膜上皮结构完整,固有层未见纤维化,黏膜下层未见腺体增生及炎细胞浸润。模型组细支气管管腔内可见大量黏液、纤维素、中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞及脱落的黏膜上皮等。细支气管管壁明显增厚,局部黏膜上皮脱落,各层均可见不同程度的炎细胞浸润,黏膜下组织水肿、

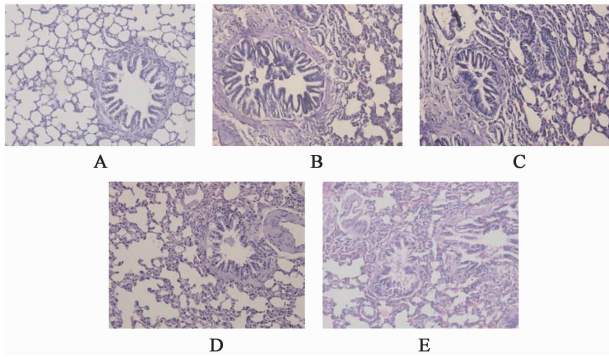
表 2 二陈汤加味对 COPD 大鼠肺组织 MMP-1, MMP-9 及 TIMP-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of modified Erchentang on expression of MMP-1, MMP-9 and TIMP-1 mRNA in COPD rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	MMP-1	MMP-9	TIMP-1
正常	-	10	6.36 ± 0.21	7.62 ± 0.11	83.44 ± 2.11
模型	-	8	20.44 ± 0.26 ²⁾	40.77 ± 0.09 ²⁾	510.37 ± 6.21 ²⁾
二陈汤加味	5	8	3.78 ± 0.17	5.72 ± 0.15	66.05 ± 2.42
	10	9	5.20 ± 0.13 ⁴⁾	6.51 ± 0.10 ⁴⁾	79.92 ± 2.46 ⁴⁾
	20	9	4.32 ± 0.20 ⁴⁾	6.17 ± 0.14 ⁴⁾	70.02 ± 3.37 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

血管充血、成纤维细胞增生、细胞外胶原增多。与模型组比较,二陈汤加味中剂量组细支气管腔内内容物少,黏膜上皮轻度损伤,修复近于正常,黏膜下炎细胞减少,纤维化较轻。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 二陈汤加味 5 g·kg⁻¹ 组; D. 二陈汤加味 10 g·kg⁻¹ 组; E. 二陈汤加味 20 g·kg⁻¹ 组(图 2~5 同)

图 1 二陈汤加味对 COPD 大鼠细支气管组织结构的影 响(HE, ×100)

Fig.1 Effect of modified Erchentang on bronchiole tissue pathology in COPD rats(HE, ×100)

3.4 对 COPD 大鼠细支气管中 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 及 I 型, III 型胶原蛋白表达的影响

MMP-1 和 MMP-9 以细支气管管壁肺间质表达阳性,细支气管上皮胞浆表达阳性见图 2。TIMP-1 于细支气管间质表达阳性、黏膜上皮细胞浆表达阳性,见图 3。I 型胶原主要于细支气管上皮表达阳性,基底膜及间质表达阳性,纤维细胞、成纤维细胞均表达阳性见图 4。III 型胶细支气管上皮胞浆表达阳性,黏膜下层间质表达阳性,纤维细胞表达阳性,成纤维细胞表达阳性见图 5。与正常组比较,模型组大鼠肺组织中 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 I 型和 III 型胶原表达均明显增强 ($P < 0.05$);与模型组比较,二陈汤加味高、中

剂量组 TIMP-1, MMP-9, MMP-1, I 型和 III 型胶原,表达均明显减弱 ($P < 0.05$)。见表 3。

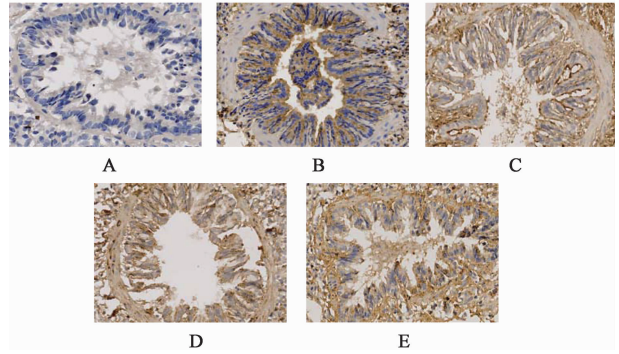


图 2 各组大鼠细支气管 MMP-1, MMP-9 蛋白表达(免疫组化, ×200)

Fig.2 Expression of MMP-1, MMP-9 protein in bronchiole tissue of each group rats(IHC, ×200)

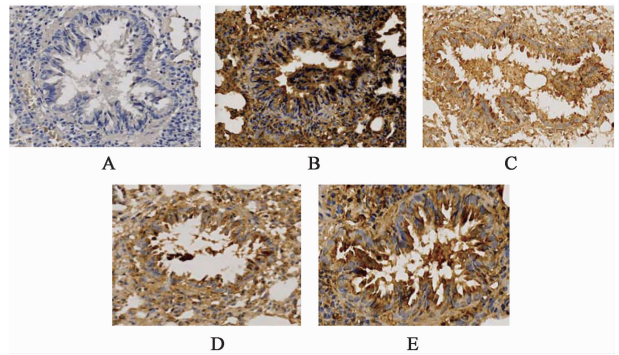


图 3 各组大鼠细支气管 TIMP-1 表达(免疫组化, ×200)

Fig.3 Expression of TIMP-1 protein in bronchiole tissue of each group rats(IHC, ×200)

4 讨论

COPD 的主要症状为咳、痰、喘,属中医学“咳”、“喘证”等范畴^[11]。COPD 多因久咳久喘而至肺气亏虚,脾虚津亏,痰瘀阻滞成为 COPD 发生的主要病机。肺失宣降,气机不畅;脾失运化,聚湿成痰;肺气逆行,胸闷咳喘,后期多累及肺、脾、肾三脏。补益肺气、提高免疫功能的中药治疗可以改善 COPD 患者临床症状,达到良好的治疗效果^[12]。

本课题组经反复临床观察和实验研究发现,以二陈汤加减方治疗 COPD,取得较好的疗效^[13-16]。其药物组成姜半夏、陈皮、党参、白术、蜜麻黄、苦杏仁、茯苓、山药、干姜、葶苈子、地龙、甘草。其中党参、白术、甘草补肺健脾,体现“培土生金”之法;麻黄、苦杏仁宣降肺气;姜半夏、茯苓、山药化痰健脾;干姜温肺止咳;陈皮理气和中;葶苈子燥湿化痰;地龙逐瘀通肺。全方补益肺气,平喘化痰,健脾利水,补泄兼施,对 COPD 肺气虚证的疗效显著。

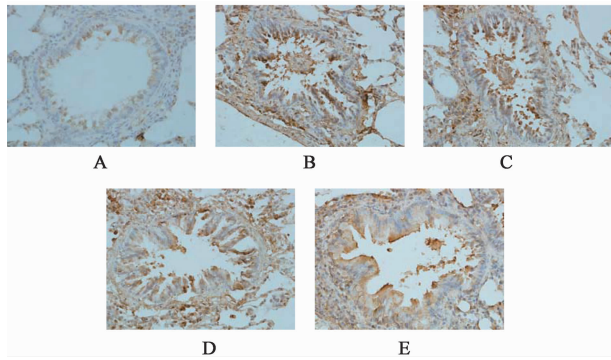


图 4 各组大鼠细支气管 I 型胶原蛋白表达(免疫组化, ×200)
Fig. 4 Expression of type I collagen protein in bronchiole tissue of each group rats(IHC, ×200)

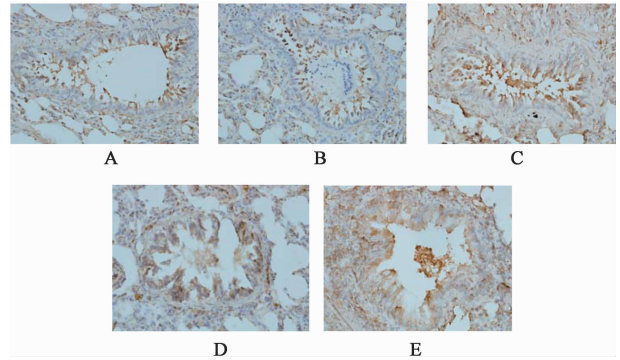


图 5 各组大鼠细支气管 III 型胶原蛋白表达(免疫组化, ×200)
Fig. 5 Expression of type III collagen protein in bronchiole tissue of each group rats (IHC, ×200)

表 3 二陈汤加味对 COPD 大鼠细支气管中 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 及 I 型, III 型胶原蛋白表达积分吸光度的影响(̄x ± s)

Table 3 Effect of modified Erchentang on expression of MMP-1, MMP-9, TIMP-1 and type I collagen, type III collagen protein IA in COPD rats(̄x ± s)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	MMP-1	MMP-9	TIMP-1	I 型胶原	III 型胶原
正常	-	10	20.30 ± 1.16	26.95 ± 1.22	26.78 ± 1.06	40.41 ± 4.06	54.20 ± 2.65
模型	-	8	89.45 ± 1.25 ¹⁾	119.00 ± 0.82 ¹⁾	187.20 ± 1.30 ¹⁾	126.68 ± 9.09 ¹⁾	156.79 ± 2.01 ¹⁾
二陈汤加味	5	8	76.12 ± 1.54	86.78 ± 2.14 ³⁾	121.00 ± 2.95	87.13 ± 2.56	92.17 ± 1.86
	10	9	46.27 ± 1.32 ³⁾	68.22 ± 1.03 ³⁾	76.22 ± 2.31 ³⁾	67.87 ± 1.29 ³⁾	70.34 ± 2.44 ³⁾
	20	9	55.78 ± 1.31 ³⁾	77.00 ± 1.74 ³⁾	95.39 ± 5.98 ³⁾	78.75 ± 0.88 ³⁾	86.61 ± 2.40 ³⁾

MMPS 与 TIMPS 平衡失调是 COPD 气道重塑的重要机制之一^[17-18]。气道重塑是 ECM 在炎症因子的影响之下,发生降解与合成失衡,气道 ECM 的过度沉积,导致气流受限^[19]。MMPs 是降解 ECM 的主要酶类。MMP-1 属胶原酶, MMP-9 属明胶酶。本研究结果显示,正常肺组织中 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA 及蛋白均几乎不表达,或表达量很少。与正常组比较,模型组细支气管 MMP-1, MMP-9 蛋白表达均增高,细支气管 I 型, III 型胶原蛋白的表达显著增强,与文献报道一致^[17]。细支气管壁血管内皮基膜因被 MMP-1, MMP-9 降解而疏松,利于炎细胞的渗出、游走,促进细支气管壁炎症反应,渗出的炎细胞释放多种炎症介质如白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8), IL-1 β 等,细胞因子趋化炎症细胞,并刺激成纤维细胞增生及胶原纤维显著增多,促使 ECM 沉着。TIMPs 是 MMPs 的内源性抑制剂,与活化的 MMPs 结合并抑制其活性。TIMPs 由上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞等产生, TIMPs 促进成纤维细胞分裂、增生,并增加胶原蛋白的合成与分泌,使细胞外基质中的 I, III 型胶原蛋白沉积。在细支气管 TIMP-1 抑制 MMP-1, MMP-9 活性,抑制 ECM 降解,同时也引起胶原过度沉积, TIMP-1 是气道纤维

化, ECM 重塑的标志^[20]。本研究结果显示,与正常组比较,模型组大鼠细支气管 TIMP-1 蛋白表达增高。与模型组比较,二陈汤加味中、高剂量组 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA 及蛋白表达均明显下降。正常情况下, MMP-9 与 TIMP-1 处于平衡,若 MMP-9/TIMP-1 升高,气道壁以基质降解为主,促使弹力纤维的降解^[21];若 MMP-9/TIMP-1 下降,表明以基质沉积为主,引起气道阻塞^[22]。本实验 COPD 模型组支气管 MMP-1, MMP-9 和 TIMP-1 mRNA 表达均显著增加,与文献报道^[17]一致,提示细胞外基质合成代谢增强,降解代谢同时也增强。与模型组比较,二陈汤加味中、高剂量组 MMP-1, MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达有明显下降, I 型, III 型胶原蛋白的表达在细支气管明显下降;提示二陈汤加味有补肺健脾、化痰平喘,燥湿化痰、逐瘀通肺功效,其机制可能通过调整 MMPS/TIMPS 平衡,维护气道结构,阻止气道狭窄等并发症。二陈汤加味对肺泡壁间质结构重建的影响见后续报道。

[参考文献]

[1] 钟南山. 慢性阻塞性肺疾病在中国[J]. 中国实用内

- 科杂志,2011,31(5):321-323.
- [2] 葛均波,徐永健,内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:21-25.
- [3] 朱成圣,黄美健,梁斌,等.姜黄素对COPD患者内皮祖细胞一氧化氮分泌及内皮型一氧化氮合酶表达的影响[J].中药药理与临床,2014,30(2):168-171.
- [4] Corbel M, Langente V, Boichot E. Pulmonary inflammation and tissue remodelling: role of metalloproteinase [J]. Eur Respir Rev, 2000, 10: 260-263.
- [5] Yildirim E, Kormi I, Baolu K, et al. Periodontal health and serum, saliva matrix metalloproteinases in patients with mild chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Periodontal Res, 2013, 48(3):269-275.
- [6] 陈四清,季书,尚立芝,等.二陈汤加味对COPD大鼠转化生长因子- β_1 ,组蛋白去乙酰化酶2基因表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):147-154.
- [7] 尚立芝,季书,刘坦,等.二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病大鼠Smad3,4,6,7基因表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):139-146.
- [8] 谢文英,尚立芝,张良芝,等.爱罗咳喘宁对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺功能、血气指标及病理变化的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(22):117-121.
- [9] 李逊.加减补肺汤对COPD“肺气虚证”大鼠免疫功能、血液流变学的影响[J].中国中医基础医学杂志,2014,40(9):1211-1212.
- [10] 王成阳,李泽庚.六味补气胶囊对COPD肺气虚证大鼠JAK/STAT通路、MMPs/TIMP的影响[J].中华中医药杂志,2014,29(5):1384-1390.
- [11] 朱文峰,中医诊断与鉴别诊断学[M].北京:人民卫生出版社,2006:124-134.
- [12] 陈志斌,刘中友,连林辉,等.补肺一号方治疗COPD肺气虚证的临床研究[J].中医临床研究,2011,3(19):14-16,18.
- [13] 谢文英,尚立芝,胡文豪,等.慢性阻塞性肺疾病的发病机制及中医药治疗进展[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(9):227-230.
- [14] 陈四清,谢文英,尚立芝,等.二陈汤加味对慢性阻塞性肺疾病急性加重期老年患者免疫功能及CCL18,CC16,IL-8,sICAM-1的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):171-177.
- [15] 谢文英,季书,尚立芝,等.二陈汤加味对COPD患者氧化应激、缺氧诱导因子1 α 及沉默信息调节因子1(Sirt1)的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):155-162.
- [16] 尚立芝,季书,谢文英,等.二陈汤加味对COPD急性期患者CC16、SP-D及HAT/HDAC的影响[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(10):163-170.
- [17] 李红梅,崔德健,佟欣,等.基质金属蛋白酶在大鼠慢性阻塞性肺疾病模型气道细胞外基质重塑中的作用[J].中华内科杂志,2002,41(6):393-398.
- [18] 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):1024-1029.
- [19] 蒋辉,朱清艺,毕迎春,等.MMP-9/TIMP-1与COPD肺气肿关系研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(6):108-110.
- [20] Hayakawa T. Tissue inhibitor of metalloproteinases and their cell growth promoting activity [J]. Cell Struct Funct, 1994, 19(3):1286-1292.
- [21] Yoon H K, Cho H Y, Kleeberger S R. Protective role of matrix metalloproteinase-9 in ozone-induced airway inflammation [J]. Environ Health Perspect, 2007, 115(11):1557-1563.
- [22] Vignola A M, Riccobono L, Mirabella A, et al. Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 158(6):1945-1950.

[责任编辑 周冰冰]