

爱罗咳喘宁对 COPD 大鼠 p38MAPK, TNF- α 及 AQP5 基因表达的影响

尚立芝¹, 谢文英^{1*}, 张良芝¹, 常学辉², 潘晓丽¹, 胡文豪¹, 刘坦¹

(1. 河南中医学院, 郑州 450046; 2. 河南省中医院, 郑州 450003)

[摘要] 目的: 观察爱罗咳喘宁对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)大鼠模型支气管和肺组织中 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen activatein kinase, p38MAPK)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、及水通道蛋白 5(aquaporin 5, AQP5)基因表达的影响, 探讨爱罗咳喘宁对 COPD 炎症及气道高分泌的作用及机制。方法: 采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)加烟雾诱导 COPD 大鼠模型, 随机将大鼠分为正常组、模型组、爱罗咳喘宁低、中、高剂量组。正常组、模型组灌胃生理盐水(15.52 mL·kg⁻¹·d⁻¹), 爱罗咳喘宁口服液低、中、高剂量组分别灌胃(7.75, 15.52, 31.04 g·kg⁻¹·d⁻¹), 连续 15 d。原位杂交、免疫组化检测 p38MAPK、TNF- α 及 AQP5 基因在细支气管和肺组织中的原位表达。结果: 与正常对照组比较, 模型组大鼠 AQP5 mRNA [(4.52 ± 0.11) VS (0.87 ± 0.32), $P < 0.01$] 和蛋白 [(3.98 ± 0.22) VS (0.58 ± 0.02), $P < 0.01$] 表达均显著减弱, 而 p38MAPK mRNA [(0.49 ± 0.02) VS (0.85 ± 0.02), $P < 0.01$], TNF- α mRNA [(0.26 ± 0.01) VS (0.44 ± 0.01), $P < 0.01$] 均显著增强, p-p38MAPK 蛋白 [(0.30 ± 0.01) VS (0.41 ± 0.01), $P < 0.05$] 和 TNF- α 蛋白 [(0.20 ± 0.01) VS (0.38 ± 0.01), $P < 0.05$] 表达均显著增强, AQP5 蛋白与 p-p38MAPK, TNF- α 蛋白表达均呈负相关(r 分别为 -0.547, -0.532, $P < 0.01$); 与模型组相比, 爱罗咳喘宁中剂量组 AQP5 mRNA [(0.87 ± 0.32) VS (1.80 ± 0.32), $P < 0.01$], AQP5 蛋白 [(0.58 ± 0.02) VS (1.61 ± 0.72), $P < 0.01$] 表达显著增强, p38MAPK mRNA [(0.85 ± 0.02) VS (0.51 ± 0.02), $P < 0.01$], TNF- α mRNA [(0.44 ± 0.01) VS (0.40 ± 0.01), $P < 0.01$] 表达减弱, p38MAPK 蛋白 [(0.41 ± 0.01) VS (0.32 ± 0.00), $P < 0.01$] TNF- α 蛋白 [(0.38 ± 0.01) VS (0.31 ± 0.00), $P < 0.01$] 表达显著减弱。AQP5 蛋白表达与 p-P38MAPK, TNF- α 蛋白均呈显著负相关(r 分别为 -0.542, -0.541, 均 $P < 0.01$)。结论: 爱罗咳喘宁有抗炎和抑制 COPD 气道黏液高分泌作用, 其机制可能与下调 p38MAPK, TNF- α 基因表达、上调 AQP5 基因表达有关。

[关键词] 慢性阻塞性肺疾病; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 肿瘤坏死因子- α ; 水通道蛋白 5

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)23-0174-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230174

Effect of Ailuo Kechuanning on Expression of p38MAPK, TNF- α and AQP5 Genes in Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

SHANG Li-zhi¹, XIE Wen-ying^{1*}, ZHANG Liang-zhi¹, CHANG Xue-hui²,
PAN Xiao-li¹, HU Wen-hao¹, LIU Tan¹

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450046, China;
2. Henan Province Hospital of TCM, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Ailuo Kechuanning on expression of p38MAPK, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and aquaporin 5 (AQP5) genes in rats with chronic obstructive pulmonary

[收稿日期] 20140913(003)

[基金项目] 河南省自然科学研究计划项目(2010A360024); 河南省科技攻关项目(112102310314); 郑州市科技领军人才项目(121PLJRC535)

[第一作者] 尚立芝, 硕士, 副教授, 从事经方配伍基础研究, E-mail: 1357865736@qq.com

[通讯作者] * 谢文英, 教授, 从事内科杂病防治研究, E-mail: xiewenyi1963@163.com Tel: 13663007589

disease (COPD). **Method:** Lipopolysaccharide (LPS) smoke was used to COPD rat model, the experimental animals were randomly divided into normal control group, model group, Normal group, model group was given physiological saline ($15.52 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) byintragastric, Ailuo Kechuanning group ($7.75, 15.52, 31.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), *ig* for 15 days. The expression of p38MAPK, TNF- α and AQP5 genes in the trachea, bronchus and lung tissue were detected by *in situ* hybridization and immunohistochemical techniques. **Result:** Compared with the normal group, the expression of mRNA and protein of AQP5 were weakened, but the expression of p38MAPK, TNF- α mRNA and protein were enhanced in model group, the expression of AQP5 protein was negatively correlated with p38MAPK ($r = -0.547, P < 0.01$), TNF- α protein ($r = -0.532, P < 0.01$). Compared Ailuo Kechuanning mediate-dose group with the model group, the expression of AQP5 gene in enhancements, However, the expression of p38MAPK, TNF- α genes was decreased apparently, the expression of AQP5 protein was negatively correlated with p38MAPK ($r = -0.542, P < 0.01$), TNF- α protein ($r = -0.541, P < 0.01$). **Conclusion:** The mechanism of Ailuo Kechuanning regulating COPD airway mucus hypersecretion may increase AQP5 gene and inhibit p38 MAPK, TNF- α genes expression.

[**Key words**] chronic obstructive pulmonarydisease; p38 mitogen activatein kinase; tumor necrosis factor alpha; aquaporin 5

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是以慢性非特异性气道炎症为主要病变的呼吸系统常见病,其特征呈进行性气流受限,伴气道高反应^[1-5]。COPD 主要临床表现咳嗽、咳痰等呼吸道症状,咳、痰与气道黏液分泌有关。属中医“咳嗽”、“痰饮”、“喘证”等范畴。本课题组根据“咳嗽”、“痰饮”、“喘证”病机拟定爱罗咳喘宁方。经多年临床和前期动物实验研究结果均显示,爱罗咳喘宁能显著改善 COPD 患者和动物模型的肺功能,但其作用机制不明^[6-11]。本研究制备脂多糖(LPS)加烟雾诱导 COPD 大鼠模型,观察爱罗咳喘宁对 COPD 大鼠细支气管和肺组织中参与炎症反应的 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen activatein kinase, p38MAPK)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 和参与气道黏液分泌的水通道蛋白 5 (aquaporin 5, AQP5) 基因表达的影响,分析 AQP5 基因表达与 p38MAPK, TNF- α 基因表达的相关性,进一步探究 AQP5 基因表达变化与气道炎症的相关性及爱罗咳喘宁的干预作用与机制。

1 材料

1.1 药物 爱罗咳喘宁方药物组成:炙麻黄(批号 1206031)6 g,党参(批号 1112024)15 g,麦芽(批号 1112031)20 g,白术(批号 1112011)12 g,葶苈子(批号 1112011)10 g,苍术(批号 1112021)10 g 等均为中药配方颗粒(江阴天江药业有限公司);姜半夏(批号 1111001S)10 g,苦杏仁(批号 1110004S)10 g,山药(批号 1103001S)15 g 等均为中药配方颗粒(三九医药)。

1.2 试剂与仪器 大鼠 p38MAPK 原位杂交试剂盒 (p382012DIG)、大鼠 TNF- α 原位杂交试剂盒 (BSH0087F),均购自北京博奥森生物技术有限公司。p-p38MAPK 兔抗大鼠一抗 (BA1325),兔抗大鼠 TNF- α 一抗 (BA0131),AQP5 基因原位杂交 (MK2206-r),兔抗大鼠 AQP5 一抗试剂盒 (BA2205),SABC 试剂盒 (SA1022) 和 DAB (AR1022)购自武汉博士的生物工程有限公司。自制动物熏吸箱(50 cm \times 50 cm \times 40 cm),18 号静脉套管针,脂多糖 (LPS, solarbio 公司, L8880, 701c034),红旗渠牌香烟(烤烟型,焦油含量 14 mg/支,尼古丁含量 1.1 mg/支,河南安阳卷烟厂)。电热恒温培养箱(金坛市白塔新宝仪器厂, DHP-260), TGL-16A 低温高速离心机(上海安亭仪器厂), U-CMAD3 型显微镜、GX51 型全自动图像分析系统、20486 型显微摄影仪(日本 Olympus), MotiC 数字切片扫描与应用系统, BP-211D/BL3100 电子天平、自制动物熏吸箱(50 cm \times 50 cm \times 40 cm)由河南中医学院科研实验中心提供。

1.3 动物 6 月龄 SD 大鼠 50 只,雄雄各半,SPF 级,体质量(250 ± 20)g。郑州大学医学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(豫)2012-0001。

2 方法

2.1 动物分组 将大鼠随机分为 5 组:正常对照组、模型组、爱罗咳喘宁口服液低、中、高剂量组 ($7.75, 15.52, 31.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 组,每组 10 只。

2.2 模型制备 参照文献[12-13]制备 LPS 加烟雾诱导 COPD 大鼠模型。采用气管注脂多糖加熏香烟

方法:在第 1,14 天,用 1% 的戊巴比妥钠 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ip 麻醉,仰卧位固定于大鼠固定板,暴露声门,将 18 号静脉套管针快速插入气管,拔出针芯,用 1 mL 注射器注入溶于生理盐水的 LPS $200 \mu\text{L}$ ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),然后将大鼠固定板直立旋转,使 LPS 能够均匀分布于两肺。第 2~28 天(第 14 d 除外)将大鼠置入熏箱内熏香烟烟雾,40 min/次,2 次/d(每次 8 支烟),每周休息 1 d;正常组,第 1,14 天经气管注入 $200 \mu\text{L}$ 生理盐水,其余无特殊处理。

2.3 给药 模型制备成功后,参考文献[14-15],正常组、模型组 ig 给予生理盐水 ($15.52 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),各治疗组大鼠给予爱罗咳喘宁口服液低、中、高剂量组分别 ig 混悬液 ($7.75, 15.52, 31.04 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),连续 15 d。

2.4 HE 染色标本制备 取右下肺组织,10% 甲醛固定,常规包埋切片,HE 染色。

2.5 原位杂交 (in situ hybridization, ISH) 检测肺组织 AQP5 和 p38MAPK, TNF- α mRNA 原位表达 原位杂交主要步骤:原位杂交检测主要步骤 ①石蜡切片常规脱蜡至水,3% H_2O_2 室温 10 min 阻断内源性过氧化物酶。②暴露 mRNA 核酸片段:加 3% 柠檬酸新鲜稀释的胃蛋白酶 (1 mL 3% 柠檬酸加 2 滴浓缩型胃蛋白酶),37 $^{\circ}\text{C}$ 消化 30 min。③预杂交:加预杂交液,恒温箱湿盒内 38~40 $^{\circ}\text{C}$ 3 h。④杂交:加杂交液,盖原位杂交专用盖玻片,恒温箱 40 $^{\circ}\text{C}$ 杂交过夜。⑤杂交后洗涤:揭掉盖玻片,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中 SSC 梯度漂洗后加封闭液。⑥加 SABC 及显色剂,苏木素复染。

2.6 免疫组化 (immunohistochemical, IHC) S-P 法检测 AQP5 和 p38, TNF- α 蛋白表达 免疫组化主要步骤:①石蜡切片常规脱蜡至水;②3% H_2O_2 室温 10 min 阻断内源性过氧化物酶;③羊血清封闭室温 20 min;④加第一抗工作液,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;⑤加生物素

化二抗工作液,37 $^{\circ}\text{C}$ 湿盒孵育 20 min;加链霉亲和素-过氧化物酶复合物 37 $^{\circ}\text{C}$ 湿盒孵育 20 min;⑥DAB 显色,苏木素复染。用已知阳性组织切片作为阳性对照,以 PBS 替代一抗作空白对照。

2.7 原位杂交、免疫组化结果判断^[16-17] 原位杂交、免疫组化均以切片有棕黄色颗粒为阳性表达,以不着色为阴性。每张切片随即选取 10 个高倍视野 ($\times 400$),采用 Olympus GX51 全自动图像分析系统,检测阳性染色吸光度 (A),取平均值进行分析。

2.8 统计学处理 数据处理在 SPSS 11.5 中进行,计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差分析,相关性检验用 Spearman 等级相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

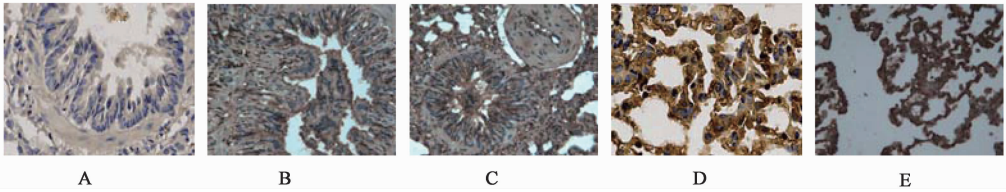
3.1 大鼠一般情况 实验结束时,正常组,一般状况好,体重增长,无死亡。模型组,爱罗咳喘宁低剂量组体重下降或略有增加,各死亡 2 只。爱罗咳喘宁高、中剂量组大鼠体重增加,各死亡 1 只。

3.2 爱罗咳喘宁对 COPD 大鼠肺组织中 p38MAPK, TNF- α 和 AQP5 基因表达的影响 模型组肺组织中 TNF- α , p38MAPK mRNA 和蛋白表达都显著高于正常组 (均 $P < 0.01$);与模型组比较爱罗咳喘宁低、中、高剂量组中 TNF- α , p38MAPK mRNA 和表达蛋白都显著降低 ($P < 0.05$, 或 $P < 0.01$, 表 1)。AQP5 在模型组和正常组气道黏膜下腺腺泡细胞及肺泡上皮细胞均有一定程度的表达。免疫组化阳性信号表现为胞浆内有棕黄色颗粒,细胞膜也可有阳性反应,但以胞浆为主;肺泡 I 型上皮 (+), II 型上皮 (-), 巨噬细胞 (+)。与正常组比较,模型组 AQP5 mRNA 和蛋白表达均显著降低 (均 $P < 0.01$);与模型组比较,爱罗咳喘宁中剂量组 AQP5 mRNA 和蛋白表达均显著增强 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, 表 1, 图 1~6)。

表 1 爱罗咳喘宁对各组大鼠肺组织 p-p38MAPK 和 TNF- α , AQP5 基因表达强度 (A) 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	原位杂交 mRNA			免疫组化 protein		
			p38MAPK	TNF- α	AQP5	p-p38MAPK	TNF- α	AQP5
正常	10	-	0.49 \pm 0.02	0.26 \pm 0.01	4.52 \pm 0.11	0.30 \pm 0.01	0.20 \pm 0.01	3.98 \pm 0.22
模型	8	-	0.85 \pm 0.02 ²⁾	0.44 \pm 0.01 ²⁾	0.87 \pm 0.32 ²⁾	0.41 \pm 0.01 ¹⁾	0.38 \pm 0.01 ¹⁾	0.58 \pm 0.02 ²⁾
爱罗咳喘宁	8	7.75	0.73 \pm 0.01 ⁴⁾	0.41 \pm 0.01 ³⁾	1.54 (3.34 ³⁾	0.36 \pm 0.01 ⁴⁾	0.31 \pm 0.00 ⁴⁾	1.32 \pm 1.46 ⁴⁾
	9	15.52	0.51 \pm 0.02 ⁴⁾	0.40 \pm 0.01 ⁴⁾	1.80 \pm 0.32 ⁴⁾	0.32 \pm 0.00 ⁴⁾	0.31 \pm 0.00 ⁴⁾	1.61 \pm 0.72 ⁴⁾
	9	31.04	0.63 \pm 0.01 ⁴⁾	0.39 \pm 0.01 ⁴⁾	0.92 (1.08 ³⁾	0.33 \pm 0.01 ⁴⁾	0.32 \pm 0.00 ⁴⁾	0.63 \pm 1.26 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⁾ $P < 0.01$ 。



A. 正常组; B. 模型组; C. 爱罗咳喘宁 7.75 g·kg⁻¹组; D. 爱罗咳喘宁 15.52 g·kg⁻¹组;
E. 爱罗咳喘宁 31.04 g·kg⁻¹组(图 2~6 同)

图 1 爱罗咳喘宁给药 15 d 对 COPD 大鼠细支气管、肺组织 p38MAPK mRNA 原位表达的影响 (ISH, $\times 400$)

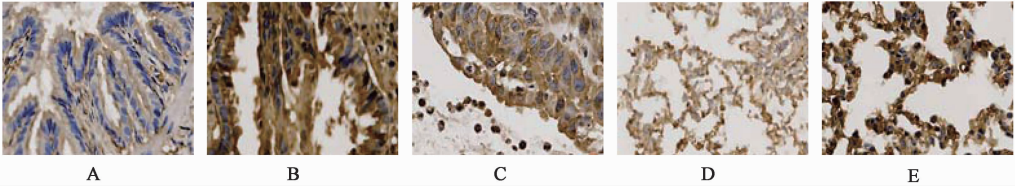


图 2 爱罗咳喘宁给药 15 d 对 COPD 大鼠细支气管、肺组织 p38MAPK 蛋白表达的影响 (IHC, $\times 400$)

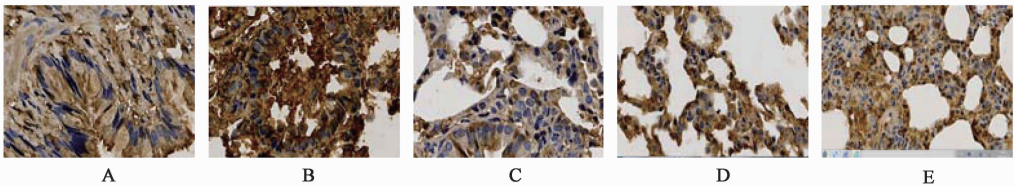


图 3 爱罗咳喘宁给药 15 d 对 COPD 大鼠细支气管、肺组织 TNF- α mRNA 原位表达的影响 (ISH, $\times 400$)

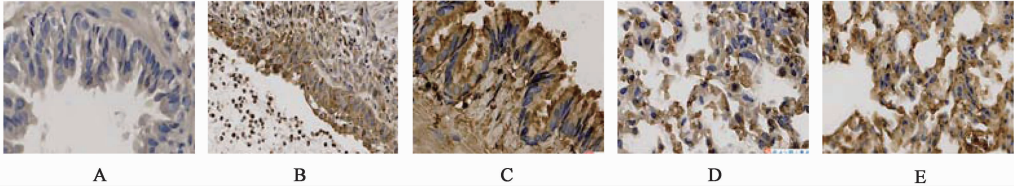


图 4 爱罗咳喘宁给药 15 d 对 COPD 细支气管、肺组织 TNF- α 蛋白表达的影响 (IHC, $\times 400$)

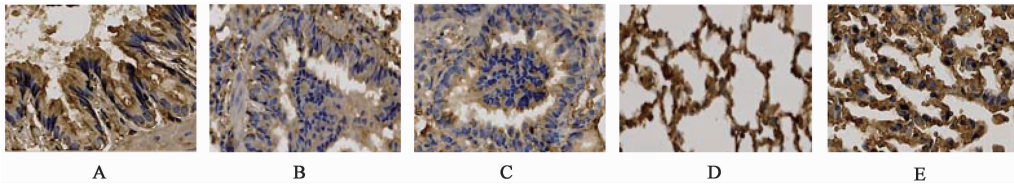


图 5 爱罗咳喘宁给药 15 d 对 COPD 细支气管、肺组织 AQP5 mRNA 原位表达的影响 (ISH, $\times 400$)

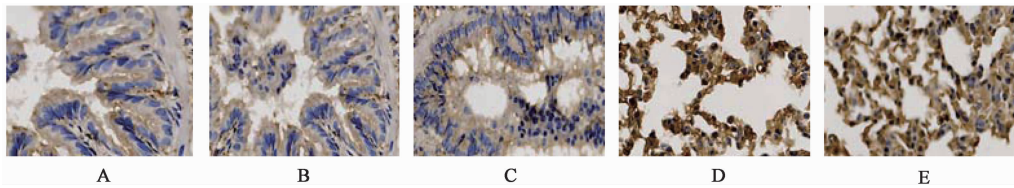


图 6 爱罗咳喘宁给药 15 d 对 COPD 细支气管、肺组织 AQP5 蛋白表达的影响 (IHC, $\times 400$)

3.3 p-p38MAPK 蛋白表达与 TNF- α , AQP5 基因表达的相关性分析 经 Spearman 等级相关分析,模型组中 p38MAPK mRNA 与 p-p38MAPK 蛋白表达呈正相关 ($r = 0.768, P = 0.000$), p-p38MAPK 蛋白与

TNF- α mRNA; TNF- α 蛋白表达均呈正相关 ($r = 0.732, P = 0.000; r = 0.653, P = 0.000$); p-p38MAPK 蛋白与 AQP5 mRNA、蛋白表达均呈负相关 ($r = -0.533, P < 0.01; r = -0.547, P < 0.01$);

AQP5 蛋白与 p-p38MAPK; TNF- α 蛋白表达均呈负相关(r 分别为 -0.547 ; -0.532 , $P < 0.01$)。爱罗咳喘宁中剂量组中 p-p38MAPK 蛋白表达与 TNF- α mRNA; TNF- α 蛋白表达均呈显著正相关(r 分别为 0.634 ; 0.571 , 均 $P < 0.01$) ; p-p38MAPK 蛋白表达与 AQP5 mRNA; 蛋白均呈显著负相关(r 分别为 -0.542 ; -0.541 , 均 $P < 0.01$) ; AQP5 蛋白表达与 p-p38MAPK; TNF- α 蛋白均呈显著负相关(r 分别为 -0.542 ; -0.541 , 均 $P < 0.01$)。

4 讨论

COPD 的病理改变包括慢性支气管炎、阻塞性细支气管炎等。参与 COPD 反应的炎症细胞主要有中性粒细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞(尤其是 CD8⁺) 和嗜酸性粒细胞等^[18]。激活的炎症细胞释放细胞因子等多种炎症介质,炎症介质趋化并激活更多的炎症细胞参与到 COPD 的炎症过程,共同构成炎症细胞和炎症介质网络。长期刺激可致大气道黏液分泌增加,小气道阻塞,气道重构和气流阻塞,导致 COPD 患者肺功能下降呈进行性发展并且不完全可逆。因此在对 COPD 患者的治疗过程中抑制气道炎症及气道黏液高分泌将起到治疗作用。

MAPKs 是细胞内信息传递的交汇点和共同通路。MAPKs 家族主要包括 p38MAPK, 细胞外信号调节激酶(ERK1/2) 和应激活化蛋白激酶(JNK) 3 条级联信号通路,不同的 MAPK 通路构成复杂的网络系统,p38MAPK 通路的激活与多种炎症因子的释放有密切关系。TNF- α 主要是被激活的单核巨噬细胞系统分泌的细胞因子,过量的 TNF- α 增强微血管壁通透性,增强炎症局部淋巴细胞浸润和增殖, TNF- α 可刺激中性粒细胞黏附于血管内皮、渗出并释放中性粒细胞酶如蛋白酶、弹性酶等溶解细胞外基质进而炎细胞浸润,诱发炎症反应和肺组织损伤^[19-20]。在 COPD 炎症中 TNF- α 升高,是 COPD 严重程度重要标志^[21-22]。本研究免疫组化显示,模型组大鼠肺泡和支气管处 p38MAPK 蛋白的表达明显高于正常对照组,说明可能有 p38 信号通路的激活,介导炎症反应。模型组 p38MAPK mRNA 与 p-p38MAPK 蛋白表达呈正相关($P < 0.01$) , p-p38MAPK 蛋白与 TNF- α mRNA、蛋白表达呈均正相关(均 $P < 0.01$) ;大量研究从反面证明,特异性阻断 p38MAPK 通路能抑制脂多糖诱导、TNF- α 等细胞因子的释放^[23]。p38MAPK 特异性抑制剂,有助于慢性阻塞性肺疾病的防治^[24]。爱罗咳喘宁中剂量组 p38MAPK mRNA 与 p-p38MAPK 蛋白表达均明显减

弱, TNF- α mRNA 和蛋白表达均明显减弱, p-p38MAPK 蛋白表达与 TNF- α mRNA, TNF- α 蛋白表达均呈显著正相关。其机制可能通过抑制 p38MAPK 信号通路,减少 TNF- α 等炎症介质的释放而起到抗炎作用。

水通道蛋白是一组与水通透有关的介导水跨膜转运的细胞膜转运蛋白。在肺组织中, AQP1 和 AQP5 是主要的水转运通道,黏液下腺 AQP5 的减少可以导致气道液体水分含量减少和黏蛋白浓度增加^[25],气道黏液黏稠不易咳出,有利于气道病原体的繁殖,炎症加重,使患者的肺功能进一步恶化,加重 COPD 的发生发展^[26-28]。本研究结果显示,与正常组比较,模型组气道 AQP5 mRNA 和蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.01$)。说明 AQP5 表达降低引起的黏液水分分泌下降。因此, AQP5 功能下调可能是引起 COPD 气道分泌的黏液水分含量下降的原因之一。COPD 黏膜下腺与对照组比较, AQP5 低表达,可能参与了 COPD 气道黏液高分泌的病理过程。Towne 等^[29]研究发现,用 TNF- α 干预培养小鼠肺上皮细胞后 AQP5 mRNA 表达下降 2 倍, AQP5 蛋白表达下降 10 倍,其作用可能是通过激活 TNF- α 实现的^[30]。本研究在模型组, AQP5 mRNA 与 TNF- α mRNA 表达呈负相关($P < 0.01$) , AQP5 蛋白与 p-p38MAPK; TNF- α 蛋白表达均呈负相关。与模型组相比,爱罗咳喘宁口服液中剂量组 AQP5 蛋白表达与 p-p38MAPK; TNF- α 蛋白均呈显著负相关,提示爱罗咳喘宁可能通过抑制 p-p38MAPK,下调 TNF- α 基因表达,同时影响 COPD 气道黏液中水分的分泌,从而发挥抗炎和抗气道黏液高分泌作用。

[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.
- [2] Bianco A, Mazzarella G, Turchiarelli V, et al. Adiponectin: an attractive marker for metabolic disorders in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) [J]. Nutrients, 2013, 5(10): 4115.
- [3] Tsaroucha A, Daniil Z, Malli F, et al. Leptin, adiponectin, and ghrelin levels in female patients with asthma during stable and exacerbation periods [J]. J Asthma, 2013, 50(2): 88.
- [4] Weiss S T. What genes tell us about the pathogenesis of asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(11): 1170.
- [5] 祝小惠, 钟相根, 李宇航. 通利大肠对 COPD 大鼠

- AQPs mRNA 表达的影响及与气道炎症相关性研究 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 2246.
- [6] 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.
- [7] 谢文英, 景晓平. 爱罗咳喘宁口服液治疗支气管哮喘 42 例 [J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(2): 82.
- [8] 谢文英, 常学辉, 张良芝. 爱罗咳喘宁汤治疗咳嗽变异性哮喘 30 例 [J]. 中医研究, 2007, 20(5): 35.
- [9] 谢文英, 常学辉, 张良芝. 爱罗咳喘宁口服液对支气管哮喘患者白细胞介素 2 及白细胞介素 13 的影响 [J]. 中医杂志, 2007, 48(7): 614.
- [10] 谢文英, 张良芝, 刘霖, 等. 爱罗咳喘宁口服液对慢性支气管炎大鼠白细胞介素-13 和肿瘤坏死因子- α 含量的影响 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(5): 551.
- [11] Mahadeva R, Shapiro S D. Chronic obstructive pulmonary disease: experimental animal models of pulmonary emphysema [J]. Thorax, 2002, 57: 908.
- [12] 宋小莲, 王昌惠, 白冲. 脂多糖结合熏烟法和单纯熏烟法建立慢性阻塞性肺病大鼠模型比较 [J]. 第二军医大学学报, 2010, 31(3): 246.
- [13] 宋一平, 崔德健, 茅培英, 等. 慢性阻塞性肺疾病大鼠模型的建立及药物干预的影响 [J]. 中华内科杂志, 2000, 39: 556.
- [14] 尚立芝, 谢文英, 张良芝, 等. 爱罗咳喘宁对慢性阻塞性肺疾病大鼠白三烯 B₄、白细胞介素-6 及肺组织病理形态的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(12): 170.
- [15] 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肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-8 和白细胞介素-18 及炎细胞的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2014(4): 448.
- [16] 尚立芝, 王付, 苗小玲, 等. 四逆散加味抗大鼠肝纤维化的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(18): 194.
- [17] 尚立芝, 王付, 苗小玲, 等. 四逆散加味抗肝纤维化的作用及机制研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 207.
- [18] Ross Vlahos, Steven Bozinovski. Recent advances in pre-clinical mouse models of COPD. Clin Sci, 2014, 126(4): 253.
- [19] 陈庆云, 谢灿茂, 黄白丽, 等. IL-8, IL-13 和 TNF- α 在慢性阻塞性肺疾病中的变化及意义 [J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(22): 2796.
- [20] Herfs M, Hubert P, Poirrier A L, et al. Proinflammatory cytokines induce bronchial hyperplasia and squamous metaplasia in smokers: implications for chronic obstructive pulmonary disease therapy [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 47(1): 67.
- [21] 郭式敦, 蒋庆贺. COPD 的炎症机制 [J]. 山东医药, 2010, 50(27): 106.
- [22] 姚坚, 陈金亮, 陶一江. COPD 患者血清中 LTB₄ 和 TNF- α 的检测及其临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(3): 459.
- [23] 刘代顺, 文富强, 陈亚娟. p38MAPK 与 MMP-9 在气道粘液高分泌中的调控作用 [J]. 西部医学, 2007, 19(3): 335.
- [24] Huang C P, Zhang Z X, Xu, Y J. Effect of p38 protein kinase on the activation of rat alveolar macrophages by Lipopolysaccharide [J]. Chin J, Pathophysiol, 2003, 19(5): 661.
- [25] Verlrnian A S. Physiological importance of aquaporin water channels [J]. Ann Med, 2002(34): 192.
- [26] Krane C M, Goldstein D L. Comparative functional analysis of aquaporins/glyceroprin in mammals and anurans [J]. Mamm Genome, 2007, 18(6): 452.
- [27] Verkman A S. Role of aquaporins in lung liquid physiology [J]. Respir Physiol Neurobiol, 2007, 159(3): 324.
- [28] Song Y, Ma T, Matthay M A, et al. Role of aquaporin-4 in airspace to capillary water permeability in intact mouse lung measured by a novel gravimetric method [J]. Gen Physiol, 2000, 115(1): 17.
- [29] Towne J E, Krane C M, Bachurski C J, et al. Tumor necrosis factor- α inhibits aquaporin 5 expression in mouse lung epithelial cells [J]. J Bio Chemistry, 2001, 276: 18657.
- [30] 黄静, 冯玉麟, 刘春涛, 等. 蛋白激酶 C 参与调节肿瘤坏死因子 α 刺激大鼠气管上皮细胞 MUC5AC 蛋白的表达 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28: 130.

[责任编辑 聂淑琴]