

加味芎蝎散对 CVA 大鼠肺组织 MMP-9 和 TIMP-1 mRNA 表达的影响

史文丽, 徐荣谦*, 齐春燕

(北京中医药大学东直门医院, 北京 100700)

[摘要] **目的:**观察加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘模型鼠肺组织基质金属蛋白酶-9(MMP-9),基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)mRNA表达的影响。**方法:**将4月龄的SPF级Wistar大鼠随机分为正常组,模型组,顺尔宁组($1.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),加味芎蝎散高、中、低剂量组(8.64,4.32,2.16 $\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。除正常组外,从第1天开始,各组 im 4%卵清蛋白(OVA)溶液0.5 mL,同时 ip 2% $\text{Al}(\text{OH})_3$ 0.2 mL,每日1次。除正常组外,从第14天开始,各组CSWH1%OVA溶液攻击2 min,隔日1次,共7次制备模型。造模后第14天起连续 ig 15 d,测定咳嗽次数后取材;HE染色观察肺组织病理学改变,瑞氏染色观察肺泡灌洗液炎性细胞变化,RT-qPCR检测肺组织MMP-9,TIMP-1 mRNA的表达。**结果:**与正常组比较,模型组肺部病理组织损伤和炎性细胞浸润较明显,咳嗽次数明显增加,肺组织MMP-9,TIMP-1 mRNA表达明显升高,均具有统计学差异($P < 0.01$);与模型组比较,加味芎蝎散高、中、低剂量均可改善模型鼠肺部病理损伤及炎性细胞浸润,其中高剂量组最为明显($P < 0.01$),可降低模型鼠咳嗽次数($P < 0.05, P < 0.01$),下调模型鼠肺组织MMP-9,TIMP-1 mRNA表达($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘气道重塑有一定的抑制作用,其机制可能与下调肺组织MMP-9,TIMP-1 mRNA的表达有关。

[关键词] 咳嗽变异性哮喘; 加味芎蝎散; 基质金属蛋白酶-9; 基质金属蛋白酶抑制剂-1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0124-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015090124

Effect of Modified Xiongxie San on mRNA Expressions of MMP-9 and TIMP-1 in Lung Tissue of CVA Rat

SHI Wen-li, XU Rong-qian*, QI Chun-yan (Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of modified Xiongxie San on mRNA expressions of matrix metalloproteinases-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in lung tissue of cough variant asthma (CVA) model rat. **Method:** The 4-month old Wistar rats were randomly divided into the control group, the model group, the singular group ($1.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), and the high-, medium-, low-dose modified Xiongxie San groups (8.64, 4.32, 2.16 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). The CVA model was induced in rats except the rats in the control group by intramuscular injecting of 4% OVA solution of 0.5 mL from the first day, intraperitoneal injecting 2% $\text{Al}(\text{OH})_3$ of 0.2 mL once daily, and inhaling 1% OVA solution for 2 minutes from the fourteenth day once every other one day for 7 times. All rats were administrated intragastrically with the corresponding medicines for continuous 15 days from the fourteenth day. The cough frequency was detected. The pulmonary pathology was observed by HE staining, inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were observed by Wright's staining. The mRNA expressions of MMP-9 and TIMP-1 in rats' lung tissue were observed by RT-qPCR. **Result:** Compared with the normal group, the lung injury and inflammatory cell infiltration condition were serious, the cough frequency increased, the mRNA expressions of MMP-9 and TIMP-1 in lung tissue increased in the model

[收稿日期] 20140927(007)

[基金项目] 北京中医药大学在读研究生自主课题项目(2013-JYB22-XS-124)

[第一作者] 史文丽,在读博士,从事中医药防治小儿呼吸系统及精神行为系统疾病研究, Tel:010-84013158, E-mail: shiwenliwendy@163.com

[通讯作者] *徐荣谦,教授,博士生导师,从事中医药防治小儿呼吸系统及精神行为系统疾病研究, Tel:010-84013158, E-mail: xurongqian1950@163.com

group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the lung injury and inflammatory cell infiltration condition were improved, the cough frequency decreased, and mRNA expressions of MMP-9 and TIMP-1 in lung tissue decreased in all dose of Xiongxie San groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Specially, the pulmonary pathology improvement had better result in the high-dose Xiongxie San group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Modified Xiongxie San could inhibit airway remodeling of CVA, and the pharmacological mechanism may be related to reducing the increased mRNA expressions of MMP-9 and TIMP-1 in lung tissue.

[Key words] cough variant asthma; modified Xiongxie San; metalloproteinases-9; tissue inhibitor of metalloproteinase-1

咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)是以慢性咳嗽为主要或唯一临床表现、不伴明显喘息的一种特殊类型哮喘。主要的病理机制是气道慢性非特异性炎症(chronic airway inflammation)和气道重塑(airway remodeling)^[1],临床以气道的高反应性(airway hyperresponsiveness, AHR)为特点。在CVA急性期,基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)升高,基底膜破坏,大量炎性细胞浸润气管壁,导致气道炎症反应及气道高反应性。MMP-9的升高促进其抑制因子基质金属蛋白酶抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)反应性升高,导致胶原沉积。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分在气道壁过多沉积引起气道壁纤维化和气流阻塞,导致气道重塑。加味芎蝎散为徐荣谦教授治疗CVA经验方,是在宋·陈文中《小儿病源方论》记载的芎蝎散基础上加上白前、当归、桃仁,以增强化痰止咳,尤其是活血化瘀之功效。本课题组前期证明加味芎蝎散可下调模型鼠血清、肺泡灌洗液中神经生长因子水平,缓解气道炎症^[2],为加味芎蝎散治疗CVA提供理论依据;此外,细胞凋亡参与咳嗽变异性哮喘的发病机制^[3],本研究采用实时荧光定量PCR方法检测模型鼠肺组织MMP-9和TIMP-1 mRNA表达,进一步研究加味芎蝎散对其表达的影响,为临床加味芎蝎散治疗CVA提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级健康Wistar大鼠,雄性,47只,4周龄,体重(80±10)g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号SCXK(京)2012-0001。于北京中医药大学东直门医院中药药理学实验室屏障环境动物室中饲养,许可证号SYXK(京)2009-0028。大鼠饲料为清洁级维持鼠料,由北京科澳协力饲料有限公司供给,合格证号SCXK(京)2005-0007,饮用水为消毒水。大鼠垫料为消毒垫料,由中国医学科学院实验动物研究所提供。实验过程中动

物自由摄食和饮水。

1.2 药物及试剂 加味芎蝎散:川芎6g,全蝎5g,芫荽1g,细辛1g,清半夏6g,白前6g,当归6g,桃仁6g。北京康仁堂药业有限公司根据上述基本方剂量制成全成分配方颗粒。孟鲁司特纳片(顺尔宁,杭州默沙东制药有限公司,批号130215),卵清蛋白(OVA,美国Sigma公司,批号201306),氢氧化铝(西陇化工股份有限公司,批号130623),辣椒素(阿拉丁公司,批号201212),瑞氏染液试剂盒(美国R&D公司,批号380048-W1),苏木素(北京索宝生物科技有限公司,批号20131224),伊红(北京索宝生物科技有限公司,批号20120707),RT试剂盒(美国Promega公司,批号0000096065),实时荧光定量PCR试剂盒(美国Promega公司,批号0000084994)。

1.3 仪器 402A1型超声雾化器(中国江苏鱼跃医疗设备股份有限公司),BX53型显微镜及显微照相系统(日本Olympus公司),1658001型电泳系统(美国Bio-Rad公司),glomax multi plus型紫外-可见分光光度计(美国Promega公司),AMI-7500型实时荧光定量PCR仪(美国Roche公司)。

1.4 引物 实时荧光定量PCR引物由上海生工生物技术有限公司合成。MMP-9扩增片段大小为496bp,上游引物:5'-CCAGATGATGGGAGAGAAGC-3',下游引物:5'-TCCAAGTAAGTGGGGACCA-3'。TIMP-1扩增片段大小为503bp,上游引物:5'-ATGACTGTCACTCTCCAG-3',下游引物:5'-TTTG-CATCTCTGGCCTCTG-3'。 β -actin扩增片段大小为287bp,上游引物:5'-ATCCGTAAGACC TCTATGC-3',下游引物:5'-AACGCAGCTCA GTAACAGTC-3'。

2 方法

2.1 模型制备 参考文献[4]采用OVA造模方法制备CVA大鼠模型:除正常组外,从第1天开始,各组im 4% OVA溶液0.5 mL,同时ip 2% Al(OH)₃ 0.2 mL,每日1次。除正常组外,从第14天开始,各组CSWH 1% OVA溶液攻击2 min,隔日1次,共7

次,制成咳嗽变异性哮喘模型。

2.2 分组与给药 动物适应性饲养 7 d 后采用随机数字表法分为 6 组,分别为正常组,模型组,顺尔宁组,加味芎蝎散高、中、低剂量组。正常组 7 只,其余各组 8 只。自造模第 14 天开始,正常组与模型组予同体积生理盐水 ig ;顺尔宁组予 $1.2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} ig$;加味芎蝎散高、中、低剂量组分别予 $8.64, 4.32, 2.16\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1} ig$ 。给药频率:每日 1 次。给药疗程:共 15 d。给药体积 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。加味芎蝎散配方颗粒及顺尔宁用生理盐水配制成水溶液,贮藏于冰箱保存备用。

2.3 咳嗽次数测定 第 29 天,将大鼠放入玻璃罩内,雾化吸入 $1\times 10^{-4}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 辣椒素溶液 60 s,然后关掉雾化器,再在玻璃罩内停留 60 s,揭开盖子,记录此时开始 2 min 内各大鼠的咳嗽次数。

2.4 取材与处理 大鼠于末次给药进行咳嗽次数测定后,禁食 12 h(不禁水),取材检测相关指标。大鼠予 10% 水合氯醛($3.3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$) ip 麻醉,夹板固定后打开胸腔,快速结扎右侧肺门,取右侧肺上叶组织立刻置于冻存管内,迅速移入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 液氮冻存,待做实时荧光定量 PCR。取右侧肺下叶组织生理盐水冲洗后,置于 4% 中性多聚甲醛中固定,待做病理。切开颈部皮肤,钝性分离出气管,于环状软骨下方切开小口,插入灌胃针,固定灌胃针后进行肺泡灌洗。每次经灌胃针注入 2 mL 的 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 生理盐水,然后回收灌洗液(最少回收 80%),反复灌洗 3 次,回收总灌洗液。

2.5 肺组织 HE 染色 肺组织置于 4% 中性多聚甲醛($\text{pH } 7.4$)中固定 72 h,常规石蜡包埋, $4\text{ }\mu\text{m}$ 切片,常规 HE 染色,光学显微镜下观察肺组织病理变化。

2.6 肺泡灌洗液(BALF)瑞氏染色 将新鲜肺泡灌洗液立即置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下离心($1\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$) 10 min。离心后将细胞沉淀图片,进行瑞氏染色后观察大鼠 BALF 炎性细胞变化。

2.7 RT-qPCR 方法检测肺组织 MMP-9 和 TIMP-1 mRNA 表达 总 RNA 提取:取肺组织约 100 mg,采用异硫氰酸胍-酚-三氯甲烷抽提一步法提取肺组织总 RNA。采用紫外分光光度法将提取的总 RNA 经琼脂糖凝胶电泳确定其完整性,并检测所提 RNA 浓度和纯度。RNA 纯度要求比值在 $1.8\sim 2.0$ 。

总 RNA 的 RT 反应:取模板 RNA $1\text{ }\mu\text{L}$, MgCl_2 $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $4\text{ }\mu\text{L}$, dNTP 混合物 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ $2\text{ }\mu\text{L}$, 反转录 $10\times$ Buffer $2\text{ }\mu\text{L}$, 重组的 RNasin® 核糖核酸抑制剂 $0.5\text{ }\mu\text{L}$, AMV 反转录酶($15\text{ }\mu\text{g}$) $1\text{ }\mu\text{L}$; Oligo(dT) 与引物 $1\text{ }\mu\text{L}$, 加入无核酸酶的水至 $20\text{ }\mu\text{L}$

总体积,混匀后离心,孵育 $2\text{ }^{\circ}\text{C } 15\text{ min}$, $95\text{ }^{\circ}\text{C } 5\text{ min}$, $0\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C } 5\text{ min}$ 。

实时荧光定量 PCR 扩增:Sybgreen mix $10\text{ }\mu\text{L}$, cDNA $0.5\text{ }\mu\text{L}$, Primer $0.4\text{ }\mu\text{L}$, ROX $0.4\text{ }\mu\text{L}$, ddH₂O $8.7\text{ }\mu\text{L}$,组成 $20\text{ }\mu\text{L}$ 反应体系。反应条件为预变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C } 0.5\text{ s}$;变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C } 0.5\text{ s}$;退火 $60\text{ }^{\circ}\text{C } 30\text{ s}$,40 个循环。 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 收集数据。同时做溶解曲线以确认是否是单一峰。记录循环阈值(C_t 值),每个样品中靶基因的相对 mRNA 表达采用相对表达量 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值。

2.8 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件处理,组间比较采用单因素方差分析,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,显著性水平取 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对咳嗽变异性哮喘大鼠咳嗽次数的影响 模型组咳嗽变异性哮喘大鼠咳嗽次数高于正常组($P<0.01$)。与模型组比较,顺尔宁组及加味芎蝎散高、中剂量组的咳嗽次数减少($P<0.01$),加味芎蝎散低剂量组的咳嗽次数也减少($P<0.05$)。见表 1。

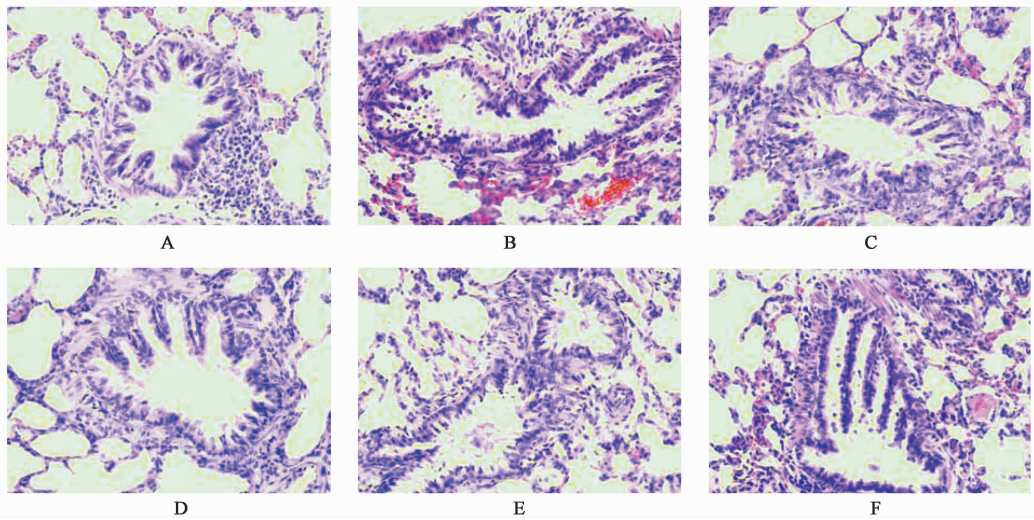
表 1 加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘大鼠咳嗽次数的影响($\bar{x}\pm s$)
Table 1 Effects of modified Xiongjie San on cough frequency of cough variant asthma in rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	咳嗽数/次
正常	7	-	1.14 ± 0.69
模型	8	-	$5.38\pm 0.92^{1)}$
顺尔宁	8	0.001 2	$4.00\pm 0.76^{2)}$
加味芎蝎散	8	8.64	$2.25\pm 0.71^{2)}$
	8	4.32	$3.38\pm 0.52^{2)}$
	8	2.16	$4.38\pm 1.06^{3)}$

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

3.2 对咳嗽变异性哮喘大鼠肺组织病理变化的影响 正常组细支气管结构正常,连续、清晰,偶见炎性细胞浸润,无渗出;模型组咳嗽变异性哮喘大鼠细支气管腔变形、狭窄,细胞排列紊乱,局部黏膜上皮损伤脱落,黏膜皱襞增多,可见大量炎性细胞浸润,腔内可见分泌物,肺间质血管充血、水肿。顺尔宁组及加味芎蝎散高、中、低剂量组上述病理改善,其中加味芎蝎散高剂量组改善尤为明显。见图 1。

3.3 对咳嗽变异性哮喘大鼠 BALF 炎性细胞的影响 正常组无明显的炎性细胞。模型组咳嗽变异性哮喘大鼠 BALF 可见大量炎性细胞,主要有嗜酸粒细胞、单核细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等。顺尔宁组及加味芎蝎散高、中、低剂量组上述炎性细胞浸润改善,



A. 正常组; B. 模型组; C. 顺尔宁 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; D. 加味芎蝎散 $8.64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 加味芎蝎散 $4.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 加味芎蝎散 $2.16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 (图 2 同)

图 1 加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘大鼠肺组织病理变化的影响 (HE, $\times 400$)

Fig. 1 Effects of modified Xiongxi San on lung tissue pathological changes of cough variant asthma in rats (HE, $\times 400$)

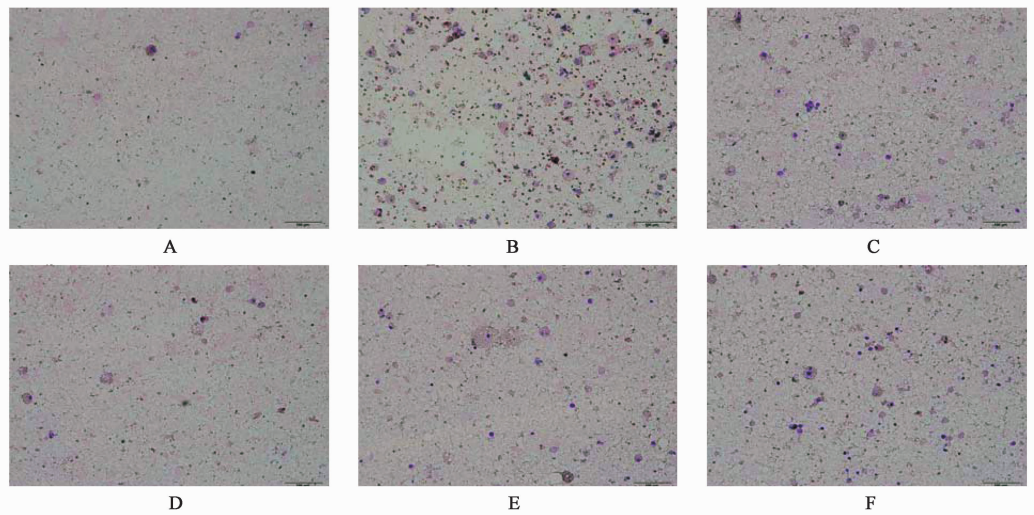


图 2 加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘大鼠 BALF 炎症细胞的影响 (瑞氏, $\times 200$)

Fig. 2 Effects of modified Xiongxi San on BALF inflammatory cells of cough variant asthma in rats (wright, $\times 200$)

其中加味芎蝎散高剂量组改善尤为明显。见图 2。

3.4 对咳嗽变异性哮喘大鼠肺组织 MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达的影响 模型组咳嗽变异性哮喘大鼠肺组织 MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达较正常组增强 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 顺尔宁组及加味芎蝎散高、中剂量组 MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达减少 ($P < 0.01$), 加味芎蝎散低剂量组的表达也减少 ($P < 0.05$)。见表 2。

4 讨论

CVA 病位在肺, 主要临床表现为慢性咳嗽。风痰瘀互结致咳是发病的基本病理机制。风邪为标, 是发病的主要诱因, 痰瘀互结为本, 壅阻气道,

是发病的病机。目前认为风邪是引发哮喘的重要因素, 哮喘专主于风^[5]。五脏伏风是发病关键, 气管痉挛是“风盛则痉”的病理表现^[6]。CVA 病程较长, 且久病多瘀, 痰瘀既是 CVA 病程中出现的病理产物, 又是重要的致病因素, 贯穿于整个病程始终^[7], 因此徐荣谦教授临证十分重视化痰之品应用。方中川芎祛风活血行气; 全蝎搜风通络以散肺风; 细辛, 葶苈温肺化痰; 白前、清半夏化痰止咳; 当归、桃仁活血化瘀, 全方共奏祛风活血、化痰止咳之功。临床采用祛风、活血、化痰、止咳的治疗原则治疗咳嗽变异性哮喘, 取得良好的临床疗效^[8-9]。

表 2 加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘大鼠肺组织 MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of modified Xiongjie San on expression of MMP-9 and TIMP-1 mRNA of cough variant asthma in rats lung tissue ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	MMP-9 /β-actin	TIMP-1 /β-actin
正常	7	-	0.10 ± 0.05	0.41 ± 0.16
模型	8	-	0.91 ± 0.28 ¹⁾	1.80 ± 0.23 ¹⁾
顺尔宁	8	0.001 2	0.56 ± 0.20 ²⁾	1.32 ± 0.34 ²⁾
加味芎蝎散	8	8.64	0.30 ± 0.10 ²⁾	0.76 ± 0.20 ²⁾
	8	4.32	0.50 ± 0.17 ²⁾	1.11 ± 0.41 ²⁾
	8	2.16	0.70 ± 0.20 ³⁾	1.47 ± 0.37 ³⁾

CVA 的发病机制尚不十分明确,目前认为多种细胞及其细胞组分参与的慢性气道炎症,从而引起气道壁损伤,而机体对气道壁损伤反应性的修复过程即是气道重塑的初始阶段,修复过程的失调导致了气道重塑^[10]。MMP-9 属 IV 型胶原酶,是调节 ECM 代谢的主要限速酶。MMP-9 升高,大量裂解生长因子前体的某些片段,过度降解 ECM、弹性蛋白和胶原蛋白,最终破坏基底膜,炎性细胞透过基底膜进而浸润支气管壁,促进气道炎症和气道高反应的发生^[11]。此外, MMP-9 可黏附 IL-8 并加强它作为中性粒细胞趋化因子的活性,这种作用比 IL-8 单独作用至少高 10 倍,因此肺组织中 MMP-9 水平与其炎症的严重程度密切相关。TIMPs 是 MMPs 天然的、活性最强的特异性抑制物。TIMP-1 是 MMP-9 的抑制物,可由各种组织细胞和炎症细胞分泌, MMP-9 的升高可促使 TIMP-1 反应性升高。TIMP-1 通过抑制 ECM 的降解,促进胶原纤维的异常增生,导致胶原过度沉积,干扰组织修复,因此肺组织 TIMP-1 水平与其纤维化的严重程度密切相关,被认为是气道重塑的标志。

本研究观察加味芎蝎散对 CVA 模型鼠肺组织 MMP-9, TIMP-1 mRNA 表达影响,分析其对 CVA 的干预作用。本组资料显示,通过观察 HE, BALF 及咳嗽次数,可知模型鼠肺组织存在炎症反应,咳嗽次数增多,实验造模成功。不同剂量加味芎蝎散可改善肺组织的病理变化,减轻炎性细胞浸润,降低模型鼠咳嗽次数。模型组肺组织中 MMP-9 增高,说明 MMP-9 在 CVA 的形成过程中起着重要作用,可能与炎症反应、基底膜破坏相关,但经不同剂量加味芎

蝎散治疗后, MMP-9 降低,抑制了肺组织的炎症反应。模型组肺组织 TIMP-1 增高,说明炎症反应过程中 MMP-9 的增高刺激肺组织 TIMP-1 反应性增高,促进胶原纤维的异常增生及过度沉积,可能与 CVA 的气道纤维化形成相关,但经不同剂量加味芎蝎散治疗后, TIMP-1 降低,减少细胞外基质沉积,抑制肺组织的纤维化。综上所述,肺组织内 MMP-9, TIMP-1 的升高参与了 CVA 的形成过程,加味芎蝎散可下调肺组织二者表达,抑制肺组织炎症反应及气道纤维化,这可能是加味芎蝎散抑制气道重塑的效应机制之一,为进一步探讨加味芎蝎散及祛风活血、化痰止咳治法在治疗 CVA 方面提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 王世英, 忽新刚, 吴春芳, 等. 支气管哮喘患者血清免疫球蛋白 E 和支气管肺泡灌洗液中白介素 8 测定及意义[J]. 新乡医学院学报, 2009, 26(1): 56-58.

[2] 张晶洁, 徐荣谦. 加味芎蝎散对咳嗽变异性哮喘大鼠血清及肺泡灌洗液中神经生长因子含量的影响[J]. 中国中医急症, 2012, 21(2): 223-225.

[3] 张晶洁, 徐荣谦, 王俊宏, 等. 细胞凋亡相关因子与咳嗽变异性哮喘关系的研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(1): 139-140.

[4] 蔡黎, 毕小利, 王忆勤, 等. 咳嗽变异性哮喘豚鼠模型的构建[J]. 山西医科大学学报, 2007, 38(12): 1070-1073.

[5] 谈欧, 王德钧, 韩树人. 谈“哮喘专主于风”[J]. 南京中医药大学学报, 2007, 23(4): 259-261.

[6] 李彦军, 马淑然, 肖延龄, 等. 风邪在过敏性哮喘发病机制中的重要作用[J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(10): 47-49.

[7] 梁丽娜, 李江全. 论风邪在小儿过敏性咳嗽发病机制中的重要作用[J]. 中国中医急症, 2011, 20(8): 1355-1356.

[8] 伍利芬, 徐荣谦. “加味芎蝎散”治疗小儿咳嗽变异性哮喘 30 例临床观察[J]. 北京中医, 2007, 26(10): 665-667.

[9] 伍利芬, 徐荣谦. 徐荣谦治疗小儿咳嗽变异性哮喘经验[J]. 中医杂志, 2008, 49(9): 785-788.

[10] Postma D S, Timens W. Remodeling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Proc Am Thorac Soc, 2006, 3: 434-439.

[11] 王文建, 杨莉. 气道平滑肌与哮喘气道炎症[J]. 国外医学: 儿科学分册, 2002, 29(2): 60-62.

[责任编辑 周冰冰]