

三子养亲汤含药血清对支气管上皮细胞中 CysLTs 介导的炎症通路的影响

徐升¹, 董艳^{2*}, 杨昆¹, 龚新月¹, 李娜¹

(1. 成都中医药大学, 成都 610032; 2. 四川省中医医院, 成都 610071)

[摘要] **目的:**探究三子养亲汤含药血清对支气管上皮细胞中半胱氨酰白三烯(cysteinyl leukotrienes, CysLTs)介导的炎症通路的影响。**方法:**采用含药血清药理学的实验方法,以 1.25%、2.50% 和 5.00% 的三子养亲汤含药血清和空白血清来干预白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)和 CysLTs 共同诱导刺激的支气管上皮细胞,采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测培养基上清液中嗜酸性粒细胞趋化因子-1(eotaxin-1, Eot-1)和 Eot-3 的浓度,采用蛋白质免疫印迹法(Western blot)法检测支气管上皮细胞中半胱氨酰白三烯受体 1(cysteinyl leukotrienes receptor 1, CysLTR1)和 CysLTR2 表达水平,采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)法检测支气管上皮细胞中 CysLTR1 和 CysLTR2 mRNA 表达水平。**结果:**2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组的细胞培养基上清液中的 Eot-1 和 Eot-3 含量明显低于同血清含量的空白组($P < 0.05$);1.25%、2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组细胞中 CysLTR2 蛋白表达水平和 CysLTR1 mRNA 表达水平与同血清含量的空白组没有显著性的差异;2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组细胞中 CysLTR1 蛋白表达水平和 CysLTR1 mRNA 表达水平明显低于同血清含量的空白组($P < 0.05$)。**结论:**三子养亲汤含药血清通过下调 CysLTR1 表达以及 Eot-1 和 Eot-3 表达和分泌,阻断 CysLTs 介导的炎症通路来治疗支气管哮喘。

[关键词] 三子养亲汤; 含药血清; 支气管上皮细胞; 支气管上皮细胞中半胱氨酰白三烯受体 1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0137-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110137

Effect of Sanzi Yangqin Tang on CysLTs Mediated Inflammatory Pathways in Bronchial Epithelial Cells

XU Sheng¹, DONG Yan^{2*}, YANG Kun¹, GONG Xin-yue¹, LI Na¹

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610032, China;

2. Sichuan Province Chinese Medicine Hospital, Chengdu 610071, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Sanzi Yangqin Tang drug serum on cysteinyl leukotrienes (CysLTs) -mediated inflammatory pathways in bronchial epithelial cells. **Method:** Serum pharmacology technique was adopted to treat interleukin-4 (IL-4) and CysLTs-induced bronchial epithelial cells with 1.25%, 2.5% and 5% Sanzi Yangqin Tang drug serum as well as blank serum. The concentrations of eotaxin-1 (Eot-1) and Eot-3 in the culture supernatant were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); the expression levels of cysteinyl leukotrienes receptor 1 (CysLTR1) and CysLTR2 in bronchial epithelial cells were detected by Western blot assay; the mRNA expression levels of CysLTR1 and CysLTR2 in bronchial epithelial cells were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** The concentrations of Eot-1 and Eot-3 in the culture supernatant in 2.50% and 5.00% Sanzi Yangqin Tang drug serum were significantly lower than those in the same serum levels of blank group ($P < 0.05$); there were no significant differences in protein expression level of

[收稿日期] 20150626(005)

[基金项目] 四川省科技厅项目(2014SZ0071-2)

[第一作者] 徐升,在读博士,从事呼吸病与老年病的实验与临床研究, Tel:18654511172, E-mail:269021239@qq.com

[通讯作者] *董艳,博士,从事呼吸病与老年病的实验与临床研究, Tel:15589940559, E-mail:1006071854@qq.com

CysLTR2 and mRNA expression levels of CysLTR1 between the culture supernatant of 1.25% , 2.50% and 5.00% Sanzi Yangqin Tang drug serum and the blank group; the protein expression level of CysLTR1 and mRNA expression level of CysLTR2 in the culture supernatant of 2.50% and 5.00% Sanzi Yangqin Tang drug serum were significantly lower than those in same serum levels of blank group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Sanzi Yangqin Tang drug serum could block CysLTs-mediated inflammatory pathways and thus treat bronchial asthma by down-regulating the expression levels of CysLTR, as well as the expression and secretion of Eot-1 and Eot-3.

[**Key words**] Sanzi Yangqin Tang; drug serum; bronchial epithelial cells; cysteinyl leukotrienes receptor 1

近年来随着空气污染加重,支气管哮喘的患病人数呈逐年显著增加的趋势^[1]。支气管哮喘是一种由嗜酸性粒细胞、肥大细胞、中性粒细胞等多种细胞及其产生的炎性因子所导致的慢性气道炎症性的疾病^[2]。其中嗜酸性粒细胞在支气管哮喘的发生和发展的过程中起到非常重要的作用,无论是在支气管哮喘的缓慢期还是急性期,嗜酸性粒细胞都对支气管哮喘病情持续和发展中起到非常关键的作用,而且嗜酸性粒细胞还与支气管上皮细胞的损伤、肺组织发生水肿等有着密切的关系,如果能较少嗜酸性粒细胞在支气管上皮中的黏附、聚集,则可以显著的改善支气管哮喘的病情^[3]。嗜酸性粒细胞趋化因子可以促进嗜酸性粒细胞在支气管上皮中黏附、聚集,促进支气管哮喘的发生和发展。有学者研究表明半胱氨酰白三烯(CysLTs)介导的炎症通路可以促进嗜酸性粒细胞趋化因子水平的增加和活化^[4]。

三子养亲汤出自于明代《韩氏医通》,有紫苏子、白芥子和莱菔子 3 味药组成,是目前中医临床上治疗哮喘的常用方,具有降气消食、温化痰饮之功效^[5]。根据中医治疗支气管哮喘的原则“哮专主于痰,治哮必先治痰”,三子养亲汤以消为补,从化痰的角度来改善哮喘症状。三子养亲汤是中医临床上治疗哮喘的常用方^[6]。本课题组的前期研究已经证实三子养亲汤可以显著的改善支气管哮喘模型大鼠的肺组织病理状况,对支气管哮喘模型大鼠具有显著的治疗效果。但是关于三子养亲汤治疗支气管哮喘的作用机制尚未完全阐明,因此本文运用血清药理学的方法,以支气管上皮细胞为研究对象,来探究三子养亲汤治疗支气管哮喘的作用机制。

1 材料

1.1 动物及细胞株 SD 大鼠 20 只,体重 200 ~ 220 g,雌雄各半,购自成都中医药大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(川)2011-0021。本研究所采用的细胞为人支气管上皮细胞株 BEAS-2B 和正常人

支气管上皮细胞,购自美国 Cambrex 公司。

1.2 药物及试剂 三子养亲汤(白芥子 9 g,紫苏子 9 g 和莱菔子 9 g)购买自成都中医药大学附属医院中药房,并由医院煎药室加工。孟鲁司特(四川大冢制药有限公司,批号 H20064370),卵白蛋白(美国 Sigma 公司,批号 20140912),氢氧化铝(河南万丰海科材料有限公司),嗜酸性粒细胞趋化因子-1(Eot-1)和 Eot-3 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号 141110),半胱氨酰白三烯受体 1(CysLTR1)和 CysLTR2 鼠抗人单克隆抗体(美国 Sigma 公司,批号 145420),引物购买自美国 Invitrogen 公司。

1.3 仪器 IX71 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司),ELx800 型酶标仪(美国 BioTek 公司),2400 型基因扩增仪(美国 PE 公司),170-4467 型电泳仪和 GelDoc 2000 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司),CR21GIII 型低温离心机(日本日立公司)。

2 方法

2.1 含药血清制备 取健康的 SD 大鼠 20 只,购买后先适应性的喂养 1 周,然后随机的将大鼠分为三子养亲汤组和空白组,每组 10 只。三子养亲汤组 *ig* 三子养亲汤,剂量为 $10.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 生药量,每天 8 点和 20 点 *ig* 1 次,连续 *ig* 7 d。在最后 1 次 *ig* 2 h 后,*ip* 3.5% 的水合氯醛麻醉,腹主动脉取血。将取的血静置至血清和血细胞完全分离后使用离心机进行分类,收集分离后的血清,并存放在 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中。

2.2 细胞培养、分组及给药 将购买的人支气管上皮细胞 BEAS-2B 置于含有 5% FBS 的 M199 培养液中,在 CO_2 浓度为 5%,温度为 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中培养,当细胞密度为 2.5×10^5 个/mL 进行接种。本研究共分为 6 组。空白组 3 个不同含药血清组先加入浓度为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的白三烯 D_4 (LTD_4),干预 1 h 后用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,再重新加入培养基后在加质量浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 IL-4,干预 24 h,

然后再加入 1.25%、2.50% 和 5.00% 的空白血清处理 24 h;三子养亲汤 3 个不同含药血清组先加入浓度为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LTD₄, 干预 1 h 后用 PBS 洗涤,再重新加入培养基后在加质量浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 IL-4, 干预 24 h, 然后再加入 1.25%、2.50% 和 5.00% 的含药血清处理 24 h。

2.3 ELISA 法检测培养基上清液中 Eot-1 和 Eot-3 含量 将空白组和三子养亲汤组细胞培养基上的上清液进行收集,然后按照 Eot-1 和 Eot-3 ELISA 试剂盒上的操作说明检测各组培养基上清液中 Eot-1 和 Eot-3 的含量。

2.4 蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测各组细胞中 CysLTR1 和 CysLTR2 蛋白表达水平 收集空白组和三子养亲汤组的细胞,在提取的细胞中加入适量的裂解液,在低温的条件下裂解细胞,在 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,吸取上清液,加入适量的上样缓冲液水煮后用凝胶电泳仪对总蛋白进行分离,将目的蛋白转膜至 NC 醋酸纤维素膜上,在 5% 脱脂奶粉溶液中封闭 1 h,洗膜后,加入 CysLTR1 和 CysLTR2 鼠抗人单克隆抗体,在 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的条件性孵育过夜,漂洗后,在辣根过氧化物酶标记的二抗中常温下孵育 2 h,洗膜后,涂抹增强型化学发光试剂(ECL)发光试剂,暗室内曝光,拍照,靶蛋白条带吸光度值与内参蛋白条带吸光度的比值作为目标蛋白的表达水平参数。

2.5 逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)检测各组细胞中 CysLTR1 和 CysLTR2 mRNA 表达水平 收集空白组和三子养亲汤组的细胞,提取各组细胞中的总的 RNA,取 $1 \text{ }\mu\text{g}$ 总 RNA 进行逆转录反应。其中 CysLTR1 和 CysLTR2 mRNA 的引物分别为 CysLTR1 上游为 5'-CCTCACCACCTATGCCTTA-3', 下游为 5'-AACACACACAAACCTGGCTT-3', 产物长度为 146 bp; CysLTR1 上游为 5'-CGGGTCTTGTTAAAGGTGGA-3', 下游为 5'-CAAGTGGATGGTCCGAAGT-3', 产物长度为 138 bp。 β -肌动蛋白(β -actin)上游为 5'-ATCATGTTTGGACCTCAACA-3', 下游为 5'-CATCTCTTGCTCGAAGTCCA-3', 产物长度 318 bp。反应体系为 $5 \text{ }\mu\text{L}$ 的 $10 \times \text{Taq}$ buffer, $1 \text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 dNTP, $23 \text{ }\mu\text{L}$ 的浓度为 $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MgCl₂, $1.5 \text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CysLTR1 和 CysLTR2 上下游引物, $2 \text{ }\mu\text{L}$ cDNA, $1 \text{ }\mu\text{L}$ 的浓度为 $1 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的 Taq 聚合酶, $35 \text{ }\mu\text{L}$ 的灭菌超纯水,反应顺序为 $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下预变性 3 min, 变性 30 s, $58 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下退火 30 s, $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下延伸 45 s, 总共进行

35 个反应循环,在 $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下补齐 10 min 后电泳检测。电泳后的结果在凝胶成像分析仪下拍照并分析,靶基因条带积分吸光度与内参基因条带积分吸光度之比值作为 mRNA 的表达水平参数。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计软件进行统计学处理,计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料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。

3 结果

3.1 对细胞上清液中 Eot-1 和 Eot-3 含量的影响 2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组的细胞培养基上清液中的 Eot-1 和 Eot-3 含量显著性的低于同血清含量的空白组 ($P < 0.05$); 1.25% 三子养亲汤含药血清组的细胞培养基上清液中的 Eot-1 和 Eot-3 含量与同血清含量的空白组无明显差异。见表 1。

表 1 三子养亲汤含药血清对细胞上清液中 Eot-1 和 Eot-3 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of Sanzi Yangqin Tang of drug-containing serum on Eot-1 and Eot-3 content in supernatant of cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	含药血清 /%	Eot-1	Eot-3
空白	1.25	110.21 ± 17.53	341.64 ± 35.01
	2.50	113.42 ± 18.62	353.92 ± 42.56
	5.00	120.64 ± 20.10	368.12 ± 36.32
三子养亲汤	1.25	98.10 ± 15.03	322.64 ± 33.68
	2.50	71.53 ± 14.65 ¹⁾	284.69 ± 29.63 ¹⁾
	5.00	54.21 ± 13.56 ¹⁾	186.50 ± 27.03 ¹⁾

注:与同血清含量空白组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 2,3 同)。

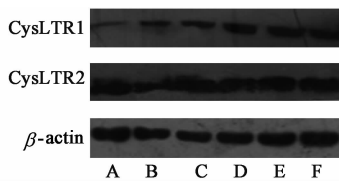
3.2 对细胞中 CysLTR1 和 CysLTR2 蛋白表达水平的影响 1.25%、2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组细胞中 CysLTR2 蛋白表达水平与同血清含量的空白组无明显差异; 2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组细胞中 CysLTR1 蛋白表达水平显著的低于同血清含量的空白组 ($P < 0.05$); 1.25% 三子养亲汤含药血清组细胞中的 CysLTR1 蛋白表达水平与 1.25% 空白血清组无明显差异。见表 2, 图 1。

3.3 对细胞中 CysLTR1 mRNA 和 CysLTR2 mRNA 表达水平的影响 1.25%、2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组细胞中 CysLTR2 mRNA 蛋白表达水平与同血清含量的空白组无明显差异; 2.50% 和 5.00% 三子养亲汤含药血清组细胞中 CysLTR1

表 2 三子养亲汤含药血清对细胞中 CysLTR1 和 CysLTR2 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of Sanzi Yangqin Tang of drug-containing serum on CysLTR1 and CysLTR2 protein expression level in cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	含药血清/%	CysLTR1 蛋白	CysLTR2 蛋白
空白	1.25	0.854 ± 0.056	0.631 ± 0.025
	2.50	0.846 ± 0.066	0.631 ± 0.025
	5.00	0.852 ± 0.071	0.635 ± 0.021
三子养亲汤	1.25	0.801 ± 0.068	0.630 ± 0.029
	2.50	0.722 ± 0.059 ¹⁾	0.651 ± 0.025
	5.00	0.633 ± 0.048 ¹⁾	0.642 ± 0.024



A. 5.00% 含药血清组; B. 2.50% 含药血清组; C. 1.25% 含药血清组; D. 5.00% 空白血清组; E. 2.50% 空白血清组; F. 1.25% 空白血清组 (图 2 同)

图 1 三子养亲汤含药血清对细胞中 CysLTR1 和 CysLTR2 蛋白表达水平的影响

Fig. 1 Effects of Sanzi Yangqin Tang of drug-containing serum on CysLTR1 and CysLTR2 protein expression level in cells

mRNA 蛋白表达水平显著的低于同血清含量的空白组 ($P < 0.05$); 1.25% 三子养亲汤含药血清组细胞中的 CysLTR1 mRNA 蛋白表达水平与 1.25% 空白血清组无明显差异。见表 3, 图 2。

表 3 三子养亲汤含药血清对细胞中 CysLTR1 mRNA 和 CysLTR2 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of Sanzi Yangqin Tang of drug-containing serum on CysLTR1 and CysLTR2 mRNA expression level in cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	含药血清/%	CysLTR1 mRNA	CysLTR2 mRNA
空白	1.25	0.861 ± 0.034	0.713 ± 0.032
	2.50	0.842 ± 0.033	0.710 ± 0.029
	5.00	0.837 ± 0.031	0.712 ± 0.028
三子养亲汤	1.25	0.811 ± 0.029	0.714 ± 0.030
	2.50	0.748 ± 0.028 ¹⁾	0.713 ± 0.029
	5.00	0.650 ± 0.027 ¹⁾	0.710 ± 0.032

4 讨论

支气管哮喘在中医中属于哮喘的范畴,而中医认为痰饮内付是哮喘发病的根本原因。根据伏痰是

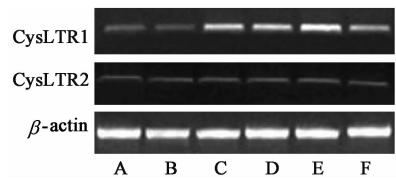


图 2 三子养亲汤含药血清对细胞中 CysLTR1 mRNA 和 CysLTR2 mRNA 表达水平的影响

Fig. 2 Effects of Sanzi Yangqin Tang of drug-containing serum on CysLTR1 and CysLTR2 mRNA expression level in cells

哮喘发病的主要病机,历代医家均将祛痰作为治疗哮喘的必要手段。此外,在哮喘发病中,寒邪所致进为多。寒邪阻遏肺气,引起咳嗽气喘,加之宿痰伏肺,痰气搏击,则喉间漉漉有声,因此“病痰饮者当以温药和之”,故哮喘发病以祛寒化饮、温肺止哮为重要治疗原则^[7]。三子养亲汤是由白芥子、紫苏子和莱菔子三味药组成,方中的白芥子具有温肺利气、快膈消痰之功效,紫苏子具有降气行痰、止咳平喘之功效,莱菔子具有消食导滞、行气祛痰之功效,三味药物合用具有顺气消痰、消化食积、止咳平喘之功效^[8]。三子养亲汤在临床中广泛的应用于支气管炎、支气管哮喘等呼吸系统疾病^[9],近些年来的药理学研究结果同样表明三子养亲汤具有抗炎、止咳、平喘、祛痰的药理作用^[10]。

CysLTs 作为一种前炎症介质,在支气管哮喘的发病过程中起着非常重要的作用,该物质可以强烈的收缩支气管平滑肌、扩张支气管黏膜血管、增加支气管黏膜血管的通透性,促使支气管出现水肿。多项研究已经证实当支气管哮喘发生时支气管组织中的 CysLTs 水平显著的增加,CysLTs 通过与其受体 CysLTR 想结合而促进 Eot 的分泌与活化^[11]。Eot 是目前发现的唯一的一种能显著促进嗜酸性粒细胞聚集趋化的特异性的细胞活性因子,同时也是对 Eos 细胞聚集和趋化作用最强的一种活性因子,但在正常情况下支气管上皮细胞中是不分泌或者极少分泌 Eot 的,但在 IL-4 的诱导之下可以使之气管上皮细胞中的 Eot 的分泌量显著的增加^[12]。因此在本研究中采用 IL-4 和 CysLTs 两种炎症因子共同诱导刺激来复制 CysLTs 介导的炎症通路。Eot 聚集和趋化的 EOS 细胞会严重的浸润支气管上皮,产生严重的炎症反应,最终导致支气管哮喘一系列症状的发生。目前临床上已有上市的药物如孟鲁司特、扎鲁斯特等药物通过阻断 CysLTs 与 CysLTR 的结合而减少 EOS 细胞的聚集、趋化、浸润,最终来缓解支气管哮喘的临床症状^[13]。Nagata 等^[14] 研究表明 CysLTs 和 CysLTR 结合后来是 EOS 细胞的黏附性增

强,而 CysLTR 阻断药可以显著的拮抗这种作用。

本课题组前期对三子养亲汤对支气管大鼠肺组织病理光学观察结果和电镜观察结果都表明,三子养亲汤对支气管哮喘大鼠肺组织具有保护作用,可降低支气管哮喘大鼠肺组织中 EOS 细胞浸润,降低炎症反应等^[15]。本研究中使用三子养亲汤的含药血清来干预 IL-4 和 CysLTs 协同诱导的 CysLTs 介导的炎症通路。结果发现三子养亲汤 2.50% 和 5.00% 含药血清可以显著的减少支气管上皮细胞培养液中 Eot-1 和 Eot-3 的含量,这个研究结果分析表明三子养亲汤 2.50% 和 5.00% 含药血清可以抑制支气管上皮细胞中 Eot 的表达,进而达到抑制 EOS 的聚集和趋化,最终减轻支气管哮喘的临床症状;同时本研究还发现三子养亲汤 2.50% 和 5.00% 含药血清可以显著的降低支气管上皮细胞中 CysLTR1 蛋白和 mRNA 的表达,但三子养亲汤 1.25%, 2.50% 和 5.00% 含药血清对支气管上皮细胞中 CysLTR2 蛋白和 mRNA 的表达没有显著性的影响。这个结果分析表明三子养亲汤 2.50% 和 5.00% 含药血清对 CysLTs 介导的炎症通路是通过减少 CysLTR1 受体的表达而不是通过减少 CysLTR2 受体的表达,达到减少 Eot-1 和 Eot-3 的表达,最终使 EOS 聚集和趋化程度降低,减轻支气管哮喘的临床症状。本研究结果为三子养亲汤治疗支气管哮喘提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 王祺,郭振武,崔英海,等.金龙固本合剂治疗支气管哮喘缓解期 113 例[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(3):180-182.
[2] 张玉英,罗思宁,杨军,等.姜辛夏方对哮喘大鼠气道重建中 HIF-1 α 及 VEGF 表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(11):131-134.
[3] 张方琪,杨学敏,唐元元,等.嗜酸性粒细胞在哮喘发病机制中的研究进展[J].中华肺部疾病杂志:电子

版,2013,6(2):55-58.

[4] 欧维琳,朱春江,黄健,等.白三烯 D4 对白细胞介素 4 诱导嗜酸性粒细胞趋化因子-3 在支气管上皮细胞表达的影响[J].中国实用妇科与产科杂志,2007,22(4):285-288.
[5] 尹桂华.三子养亲汤的药理学及临床应用研究进展[J].当代医学,2010,16(24):22-23.
[6] 吴琼.加味三子养亲汤治疗支气管哮喘慢性持续期(痰阻气壅证)临床研究[D].武汉:湖北中医药大学,2010.
[7] 朱慧华,刘俊方,虞坚尔.支气管哮喘中医证候现代研究进展[J].甘肃中医学院学报,2013,30(1):68-70.
[8] 董滢,车虹.三子养亲汤对支气管哮喘大鼠 IL-5 及 IgE 作用的实验研究[J].四川中医,2010,28(7):11-13.
[9] 王立茹.三子养亲汤治疗支气管哮喘 120 例[J].四川中医,2012,30(4):84-84.
[10] 韦立新.三子养亲汤药理及临床应用研究进展[J].实用中医内科杂志,2006,20(6):572-573.
[11] Kotani H, Kishi R, Mouri A, et al. Influence of leukotriene pathway polymorphisms on clinical responses to montelukast in Japanese patients with asthma[J]. J Clin Pharm Ther,2012,37(1):112-116.
[12] 欧维琳,朱春江,韦欢,等.白三烯受体拮抗剂影响支气管上皮细胞表达 Eotaxin 的研究[J].华夏医学,2010,23(2):111-114.
[13] 邵婧昕,汪慧英.嗜酸粒细胞在气道激活机制中的研究进展[J].中华哮喘杂志:电子版,2011,5(1):46-50.
[14] Nagata Makoto, Saito Keiko, Tsuchiya Koji, et al. Leukotriene D4 upregulates eosinophil adhesion via the cysteinyl leukotriene 1 receptor [J]. J Allergy Clin Immunol,2002,109(4):676-680.
[15] 魏小林.三子养亲汤治疗支气管哮喘的临床观察及其对支气管哮喘大鼠白三烯受体 mRNA 表达水平的影响[D].成都:成都中医药大学,2009.

[责任编辑 周冰冰]