

柴朴汤对支气管哮喘大鼠气道重塑及肺组织中 α -平滑肌肌动蛋白表达的影响

刘鑫^{1*}, 张恒平², 彭光耀³, 黄艳¹, 邹中兰²

(1. 南华大学附属第一医院中医科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学, 湖南 衡阳 421001;
3. 益阳市中心医院呼吸内科, 湖南 益阳 413000)

[摘要] **目的:** 观察支气管哮喘大鼠气道重塑和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)在哮喘大鼠模型中的动态表达及柴朴汤的干预作用。**方法:** 将70只SD大鼠随机分为对照组、哮喘模型组、柴朴汤干预组,用卵蛋白(OVA)致敏激发建立大鼠哮喘模型,采用HE染色的方法及逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)、免疫组织化学方法研究肺组织气道形态学参数的改变及 α -SMA的表达。**结果:** ①哮喘2,4,8周组总管壁面积(WAt/Pbm)、内壁面积(WAi/Pbm)及平滑肌面积(WAm/Pbm)均高于对照组($P < 0.05$),且随着激发天数的增加,上述指标有增加的趋势,哮喘4周组高于2周组,哮喘8周组高于4周组(均 $P < 0.05$);柴朴汤2,4,8周组,哮喘2,4周组WAt/Pbm, WAi/Pbm, WAm/Pbm均低于哮喘8周组(均 $P < 0.05$),但柴朴汤组高于对照组。②哮喘2,4,8周组的 α -SMA的mRNA和蛋白水平明显高于柴朴汤2,4,8周组及对照组(均 $P < 0.05$); α -SMA的mRNA和蛋白水平随激发天数的增加而明显增加(均 $P < 0.05$);柴朴汤2周组的 α -SMA的mRNA和蛋白水平与对照组相比,差异没有显著性;柴朴汤各周组与哮喘各相应周组比较,差异有显著性($P < 0.05$)。**结论:** 哮喘大鼠肺组织 α -SMA呈动态过量表达。柴朴汤可通过下调 α -SMA表达,抑制气道平滑肌收缩及增生抑制气道重构。

[关键词] 哮喘; α -平滑肌肌动蛋白; 气道重塑; 柴朴汤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0220-05

Investigation of Effect of Chaipu Decoction on Expression of α -smooth Muscle Actin and Airway Remodeling in Asthmatic Rats

LIU Xin^{1*}, ZHANG Heng-ping², PENG Guang-yao³, HUANG Yan¹, ZOU Zhong-lan²

(1. Department of Chinese Medicine, the First Hospital Affiliated to University of South China, Hengyang 421001, China; 2. University of South China, Hengyang 421001, China;
3. Yiyang City Hospital Medical Center of Breathing, Yiyang 413000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Chaipu decoction on ovalbumin (OVA)-induced asthma in rats and the dynamic expression of alpha-smooth muscle actin (α -SMA). **Method:** Seventy sprague dawley (SD) rats were randomly divided into control group, model group (two weeks, four weeks and eight weeks), chaipu decoction-treated group (two weeks, four weeks and eight weeks). Asthma rat model was established by sensitization and stimulation with ovalbumin (OVA) conjuncted with Al (OH)₃. The rat airway morphological parameters changes, the gene and protein expression of α -SMA in bronchopulmonary tissue at different time points were observed by HE staining, RT-PCR and immuno-histochemical method. **Result:** ①The WAt/Pbm, WAI/Pbm, and WAm/Pbm were significantly increased in the asthma group on the two weeks, four weeks, and eight weeks compared with that in normal group (all $P < 0.05$), and the WAt/Pbm, WAI/Pbm, and WAm/Pbm were showed the trend of gradually increasing with the days of stimulation, the asthma group on the four weeks was

[收稿日期] 20111209(022)

[基金项目] 湖南省中医药管理局科研计划项目(2008015);湖南省教育厅课题(07C628)

[通讯作者] * 刘鑫,教授,主任医师,硕士生导师,主要从事哮喘的基础与临床研究,E-mail:xinxinok@sohu.com

higher than that on the two weeks, the asthma group on the eight weeks was higher than that on the four weeks (all $P < 0.05$). The WAt/Pbm, WAi/Pbm, and WAm/Pbm on the two weeks, four weeks, eight weeks in the chaipu decoction-treated group. And that on the two weeks, four weeks in the asthma group were lower than eight weeks in the asthma group (all $P < 0.05$). But that in the all chaipu-treated group were higher than the control group. ② The gene and protein expression of α -SMA on the two weeks, four weeks and eight weeks were significantly increased in the asthma group compared with that on the two weeks, four weeks, eight weeks in the chaipu decoction-treated group and control group (all $P < 0.05$), and showed the trend of gradually increasing with the days of stimulation (all $P < 0.05$); there was little expression of the gene and protein expression of α -SMA in the lung tissue of chaipu decoction-treated two weeks group compared with the control group; but all the chaipu decoction-treated groups were increased compared with that in the same week of asthma model group ($P < 0.05$).

Conclusion: α -SMA of asthmatic lung tissue is dynamic over expression in the onset of asthmatic. Our study suggest that chaipu decoction involve in the pathogenesis of asthmatic airway remodeling by downregulating the expression of α -SMA inhibiting the airway smooth muscle constriction and hyperplasia.

[**Key words**] asthma; alpha-smooth muscle actin (α -SMA); airway remodeling; chaipu decoction

气道重塑 (airway remodeling) 是支气管哮喘的重要病理特征之一,其病理学变化主要包括气道上皮损伤,平滑肌细胞增生肥大^[1],而气道平滑肌收缩导致支气管狭窄是哮喘时气流受限的主要因素。 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 是平滑肌的特征性标志物,是气道平滑肌合成表型向收缩表型改变的典型标志,可以反映平滑肌数量及其收缩能力的改变,是平滑肌细胞收缩的结构基础^[2],被认为是支气管哮喘早期气道重构的重要指标之一^[3]。

柴朴汤对哮喘的气道炎症和气道重塑均有改善作用,但其作用机制尚未完全明确。因此,笔者将建立哮喘动物模型,从整体水平探讨柴朴汤对哮喘大鼠气道重塑以及对气道平滑肌中 α -SMA 表达的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料 健康成年雄性 SPF 级 SD 大鼠 (体重 150 ~ 200 g) 70 只,由南华大学实验动物中心提供,动物合格证号 SC2004-0009; 卵蛋白 (OVA), 美国 Sigma 公司 (II 级); 柴朴汤, 广东一方制药有限公司; α -SMA 多克隆抗体, 武汉博士德生物工程有限公司; SABC 免疫组化试剂盒, 武汉博士德生物工程有限公司; Trizol, Invitrogen 公司; MMLV 一步法 RT-PCR 试剂盒, 上海生物工程技术有限公司。

1.2 方 法

1.2.1 哮喘大鼠模型的建立 将 70 只 SD 大鼠, 随机分为 7 组, 每组 10 只。按参考文献 [4-5] 复制哮喘模型, 哮喘组在第 1, 8 天腹腔注射 OVA (1 mg) + Al(OH)₃ (100 mg) 生理盐水混合液 1 mL 致敏, 将大鼠置于一半密闭容器中, 于第 15 天开始用超声

雾化器以 1% OVA 雾化激发, 每次 30 min, 隔天 1 次。对照组则以生理盐水代替 OVA 腹腔注射和雾化吸入。每次以大鼠出现烦躁、呛咳、气促、呼吸深快及活动量下降等哮喘典型的发作症状, 代表激发成功。

1.2.2 分组和方法 将 70 只 SD 大鼠按随机数字表法随机分成 7 组, 每组 10 只。对照组雾化吸入生理盐水 8 周; 哮喘组隔日激发哮喘 1 次, 分别于 2, 4, 8 周处死大鼠; 柴朴汤组每次于激发前 0.5 h 予以柴朴汤灌胃 (1.5 g·kg⁻¹), 隔日激发哮喘 1 次, 分别于 2, 4, 8 周处死大鼠。

1.2.3 标本制备 上述各组动物分别于最后一次诱发哮喘后 24 h 内处死, 以水合氯醛 (0.8 g·kg⁻¹) 腹腔注射麻醉, 无菌操作下开胸穿刺心脏取血处死大鼠, 收集标本。取适量支气管肺组织 (约 110 mg) 用于 RT-PCR, 剩余支气管肺组织置于 10% 多聚甲醛固定 24 h 以上, 置 4% 多聚甲醛中保存, 常规石蜡包埋做 HE 染色、病理图像及免疫组化分析。

1.2.4 柴朴汤 由小柴胡汤和半夏厚朴汤组成, 即将柴胡、半夏、茯苓、黄芩、厚朴、大枣、白参、甘草、苏叶、生姜配伍, 按 7:5:3:3:3:3:2:2:2:1 比例配制。笔者根据预实验结果及前期研究, 采用柴朴汤 1.5 g·kg⁻¹ 灌胃。

1.2.5 肺组织病理组织学观察 取支气管肺组织置于 10% 中性甲醛中固定 24 h 以上, 常规病理学方法脱水、包埋、切片、HE 染色。

1.2.6 气道形态学参数的测定 取石蜡包埋切片作常规 HE 染色的各组大鼠的左肺 3 ~ 4 级完整支气管, 测量支气管厚度。采用 Image-Pro Plus 6.0 病

理图像分析软件,测定支气管基底周径(Pbm)、总管壁面积(WAt)、内壁面积(WAi)、平滑肌面积(WAm),将后 3 个值用 Pbm 进行标准化,分别以 WAt/Pbm, WAi/Pbm, WAm/Pbm 表示,代表相应管壁各层厚度。

1.2.7 RT-PCR 检测 α -SMA 的 mRNA 水平 取适量支气管肺组织立即在液氮下研磨,加入 RNA 提取试剂 Trizol 提取 RNA,严格按照试剂盒说明书进行操作。 α -SMA 引物序列上游引物: 5-ACGGCATCATCACCAACTGG-3', 下游引物: 5-AGACGCATGATGGCA TGAGG-3,引物扩增片段 316 bp; GAPDH 引物,上游引物: 5'-ACTCAGAAGACT GTGGATGG-3', 下游引物: 5-GTTGCTGTT GAAGTCACAGG-3',引物扩增片段 318 bp。 α -SMA, GAPDH RT-PCR 反应条件如下:cDNA 合成和预变性 40 °C 10 min, 94 °C 2 min, PCR 仪扩增 94 °C 15 s, 58 °C 30 s, 72 °C 45 s, 40 轮循环,最后延伸 72 °C 10 min。分别取 α -SMA, GAPDH 的等量 PCR 扩增产物(5 μ L)点样,经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后,采用全自动凝胶成像分析系统凝胶成像,用 ImageTool 2.0 分析各电泳条带灰度积分,以 GAPDH 的灰度积分作为标准校正, α -SMA 产物的相对量 = α -SMA 电泳条带灰度积分/GAPDH 电泳条带灰度积分比值,进行半定量分析。

1.2.8 大鼠肺组织 α -SMA 蛋白表达的检测 用免疫组织化学方法,检测步骤按免疫组化试剂盒说明书依次进行。免疫组化染色后用 BLTS2080 病理图像采集系统和 ImageProPlus 5.02 专业图像分析软件,分别测定阳性颗粒的平均吸光度,进行分析处理(平均)吸光度越高,其蛋白表达越高)。

1.2.9 统计学分析 实验数据采用 SPSS 13.0 进行单因素方差分析,所有计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺组织 HE 染色 对照组气道周围未见明显炎症反应,肺组织形态正常。哮喘 2 周组支气管壁周围有大量炎性细胞浸润,气道平滑肌厚度增加,管腔变扁变窄,在气道壁及血管周围有大量嗜酸性粒细胞和淋巴细胞等炎症细胞浸润,肺间质有血管增生、扩张,胶原大量沉积,基底膜增宽增厚;哮喘 4 周组与 2 周组相比,气道平滑肌增生明显,气道壁明显增厚;哮喘 8 周组与 4 周组相比,气道平滑肌增生,气道壁厚度,管腔狭窄更加明显。柴朴汤 2 周组在支气管壁周围有少量炎症细胞浸润,气道平滑肌增厚不明显,基底膜增生、增厚较轻;柴朴汤 4 周组与 2 周组相比,气道平滑肌及气道壁有增厚的趋势;柴朴汤 8 周组与 4 周组相比,气道平滑肌稍微增厚,管腔进一步稍狭窄。综上,可以看到:哮喘各周组、柴朴汤治疗各周组炎症细胞浸润、气道平滑肌增生、气道壁厚度、支气管管腔狭窄程度均高于对照组。但以上指标,柴朴汤治疗组均低于同时间点的模型组。对照组无明显炎症反应,肺组织形态正常。

2.2 支气管肺组织气道形态学参数的比较 哮喘 2, 4, 8 周组 WAt/Pbm, WAi/Pbm, Wam/Pbm 均高于对照组(均 $P < 0.05$),且随着哮喘天数的增加上述指标亦有增加趋势,哮喘 4 周组高于哮喘 2 周组,哮喘 8 周组高于哮喘 4 周组(均 $P < 0.05$);柴朴汤 2, 4, 8 周组、哮喘 2, 4 周组均低于哮喘 8 周组(均 $P < 0.05$);但柴朴汤组高于对照组,见表 1。

表 1 柴朴汤对各组大鼠 WAt/Pbm, WAi/Pbm, Wam/Pbm 影响的比较($\bar{x} \pm s$)

$\mu\text{m}^2/\mu\text{m}$

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	支气管 数/支	WAt/Pbm	WAi/Pbm	Wam/Pbm
对照	-	10	24.03 \pm 1.30	17.64 \pm 1.30	3.95 \pm 0.27
哮喘 2 周	-	10	31.54 \pm 1.68 ^{1,4)}	24.46 \pm 1.22 ^{1,4)}	5.82 \pm 0.30 ^{1,4)}
哮喘 4 周	-	10	36.25 \pm 1.49 ^{1,2,4)}	28.02 \pm 1.02 ^{1,2,4)}	6.99 \pm 0.21 ^{1,2,4)}
哮喘 8 周	-	10	41.68 \pm 2.08 ^{1,2,3)}	33.53 \pm 1.14 ^{1,2,3)}	8.18 \pm 0.18 ^{1,2,3)}
柴朴汤 2 周	1.5	10	25.70 \pm 1.49 ^{1,4)}	19.02 \pm 1.24 ^{1,4)}	4.23 \pm 0.18 ^{1,4)}
柴朴汤 4 周	1.5	10	27.25 \pm 1.13 ^{1,4)}	21.19 \pm 1.02 ^{1,4)}	4.87 \pm 0.16 ^{1,4)}
柴朴汤 8 周	1.5	10	29.41 \pm 1.42 ^{1,4)}	22.75 \pm 1.17 ^{1,4)}	5.42 \pm 0.22 ^{1,4)}

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与哮喘 2 周组比较²⁾ $P < 0.05$;与哮喘 4 周组比较³⁾ $P < 0.05$;与哮喘 8 周组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

2.3 RT-PCR 检测大鼠肺组织 α -SMA 的 mRNA 和 蛋白水平 哮喘 2, 4, 8 周组的 α -SMA 的 mRNA 和

蛋白水平明显高于柴朴汤 2,4,8 周组及对照组(均 $P < 0.05$); α -SMA 的 mRNA 和蛋白水平随激发天数的增加而明显增加(均 $P < 0.05$);柴朴汤各周组的 α -SMA 的 mRNA 和蛋白表达水平均低于同时时间点的哮喘模型组,差异有显著性($P < 0.05$);柴朴汤 4,8 周组的 α -SMA 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$);但柴朴汤 2 周组的 α -SMA 的 mRNA 和蛋白水平与对照组相比,差异没有显著性。见表 2 及图 1,图 1A ~ G 各组支气管 α -SMA 在肺组织的表达: α -SMA 的阳性表达主要集中在气道上皮细胞、黏膜下、平滑肌层,对照组(图 1A)呈棕黄色弱阳性表达;哮喘 2 周组(图 1B),哮喘 4 周组(图 1C),哮喘 8 周组(图 1D),柴朴汤治疗 2 周组(图 1E)均呈棕黄色强阳性表达;柴朴汤治疗 4 周组(图 1F),柴朴汤治疗 8 周组(图 1G)均呈棕黄色弱阳性表达。

表 2 各组大鼠肺组织中 α -SMA mRNA 和蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	标本数	α -SMA / GAPDH	α -SMA
对照	10	0.39 ± 0.04	36.22 ± 1.73
哮喘 2 周组	10	0.61 ± 0.06 ^{1,4,5,6)}	52.36 ± 2.69 ^{1,4,5,6)}
哮喘 4 周组	10	0.74 ± 0.07 ^{1,2,3,4,5,6)}	62.97 ± 3.38 ^{1,2,3,4,5,6)}
哮喘 8 周组	10	0.86 ± 0.05 ^{1,2,3,4,5,6)}	73.17 ± 2.69 ^{1,2,3,4,5,6)}
柴朴汤 2 周组	10	0.41 ± 0.04 ²⁾	40.40 ± 1.42 ²⁾
柴朴汤 4 周组	10	0.49 ± 0.04 ^{1,3)}	44.46 ± 1.61 ^{1,3)}
柴朴汤 8 周组	10	0.55 ± 0.05 ^{1,5,7)}	48.47 ± 1.63 ^{1,5,7)}

注:与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与哮喘 2 周组比较,²⁾ $P < 0.05$;与哮喘 4 周组比较,³⁾ $P < 0.05$;与哮喘 8 周组比较,⁴⁾ $P < 0.05$;与柴朴汤治疗 2 周组比较,⁵⁾ $P < 0.05$;与柴朴汤治疗 4 周组比较,⁶⁾ $P < 0.05$;与柴朴汤治疗 8 周组比较,⁷⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

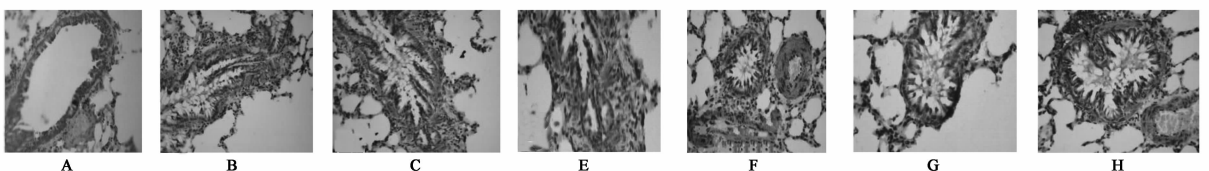
哮喘是进行性、逐渐加重的气道阻塞性病变,主要包括气道炎症细胞活化、平滑肌细胞增生肥大、杯状细胞增生以及黏液腺体肥大、上皮细胞下血管内皮细胞和肌成纤维细胞增生,新生血管形成,小气道壁增厚及小支气管管腔变窄等^[6-7]。平滑肌肌动蛋白是平滑肌细胞中比较重要的结构蛋白,参与细胞

收缩、舒张及维持细胞正常的结构和功能。目前发现支气管平滑肌有三种肌动蛋白(α 、 β 、 γ 亚型),其中占有比例最高的是 α 亚型。肌动蛋白含量在较大程度上影响了平滑肌的收缩能力^[8]。

本研究结果显示,哮喘组 α -SMA 的 mRNA 和蛋白水平随激发天数的增加而显著增加。这与支气管壁厚度、支气管壁平滑肌面积在各组大鼠气道中的变化趋势一致,因此,笔者推测 α -SMA 在气道重塑中起较重要的作用。有研究表明:支气管肺组织 α -SMA mRNA 水平与支气管壁厚度成正相关^[9]。笔者推测支气管肺组织 α -SMA mRNA 的升高可能与以下因素有关:①气道平滑肌(ASM)表型改变,即哮喘时气道平滑肌以收缩型为主,故 α -SMA 表达亦升高;②ASM 增生与肥大^[10]。笔者发现:SMA- α mRNA 升高的程度大于支气管平滑肌肌层增厚的程度,提示哮喘 ASM 表型由分泌型向收缩型的转变,可能是 SMA- α mRNA 升高的原因之一,这与文献报道相一致^[10]。其具体机制可能与 ASM 增生肥大及收缩型 ASM 比例升高有关^[10]。有研究认为: α -SMA 可以促进 I 型胶原的沉积及纤维化,因而具有收缩潜能及胶原合成能力;同时肺成纤维细胞聚集细胞外基质,可以诱导 α -SMA 增生和 I 型胶原过度沉积。两者相互促进,加速气道重塑的形成,进而诱发气道高反应性,造成气流不可逆受限,终致哮喘的发生、发展^[11]。

柴朴汤具有理气、化痰、平喘,及较强的抗炎解痉作用^[12]。柴朴汤可减少 EOS 在气道的浸润,抑制哮喘炎症和气道高反应性^[13],进而抑制哮喘气道中平滑肌的增殖,延缓气道重塑的进程。

本研究结果显示,柴朴汤 2 周组与哮喘 2 周组、柴朴汤 4 周组与哮喘 4 周组、柴朴汤 8 周组与哮喘 8 周组气道壁厚度、支气管壁平滑肌厚度相比均显著降低(均 $P < 0.05$)(见表 1)。柴朴汤干预治疗后哮喘大鼠气道重塑的程度明显改善。随着柴朴汤治疗时间的延长,气道重塑明显改善,这与 α -SMA 在哮喘大鼠气道平滑肌中的表达一致,推测柴朴汤可能通过下调 α -SMA 的表达延缓气道重塑。



A. 对照组; B. 哮喘 2 周组; C. 哮喘 4 周组; D. 哮喘 8 周组; E. 柴朴汤 2 周组; F. 柴朴汤 4 周组; G. 柴朴汤 8 周组

图 1 α -SMA mRNA 在各组大鼠肺组织的表达

笔者发现,柴朴汤治疗 4,8 周组的 α -SMA 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$);但柴朴汤 2 周组的 α -SMA 的 mRNA 和蛋白水平与对照组相比,差异没有显著性。由此 α -SMA 在哮喘早期就表达增高,柴朴汤在哮喘早期可以通过下调 α -SMA 的 mRNA 和蛋白的表达抑制气道重塑,但不能逆转气道重塑的病理学改变。且肺组织 α -SMA 表达水平与气道壁厚度、支气管壁平滑肌厚度呈正相关,这再一次提示柴朴汤对气道平滑肌增殖、气道上皮增生的抑制作用,部分是通过抑制 α -SMA 的表达而实现的。

[参考文献]

[1] Bergeron C, Boulet L P. Structural changes in airway diseases: characteristics, mechanisms consequences and pharmacologic modulation [J]. Chest, 2006, 129 (4):1068.

[2] Schmidt M, Sun G, Stacey M A, et al. Identification of circulating fibrocytes as precursors of bronchial myofibroblasts in asthma[J]. J Immunol,2003,171(1):380.

[3] Davies D E, Wicks J, Powell R M, et al. Airway remodeling in asthma: new insights [J]. Allergy Clin Immunol,2003,111(2):215.

[4] Eynottpr, Nath P, Leung S Y, et al. Allergen-induced inflammation and airway epithelial and smoothmuscle cell proliferation: role of Jun N-terminal kinase[J]. Br

J Pharmacol,2003,140(8):1373.

[5] Els Palmans, Johan C K. Prolonged allergen exposure induces structural airway changes in sensitized rats[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161 (2): 627.

[6] Anss, Fredberg J. Biophysical basis for airway hyperresponsiveness[J]. Can J Physiol Pharmacol,2007,85(7):700.

[7] Bentley J K, Hershenson M B. Airway smooth muscle growth in asthma: proliferation, hypertrophy, and migration[J]. Proc Am Thorac Soc,2008,5(1):89.

[8] Halyko A J, Hassan S, Ma X F, et al. Marker of airway smooth muscle cell phenotype [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 1996,14(6):L1040.

[9] 吴昭萍,罗凤鸣,王曾礼,等. 哮喘大鼠模型肺组织平滑肌肌动蛋白- α mRNA 的表达 [J]. 四川大学学报:医学版,2003,34(2):330.

[10] 罗凤鸣,刘小箐,王曾礼,等. 支气管哮喘大鼠气道重构与平滑肌肌动蛋白 α 表达的关系 [J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,25(12):762.

[11] 田红,王淑娟,李洪佳,等. 转录因子 T-bet/GATA-3 诱导哮喘模型中 α -SMA 和 I 型胶原高表达的实验研究 [J]. 山东大学学报:医学版,2007,45(11):1110.

[12] 田兆雅夫. 用小柴朴汤与半夏厚朴汤合方后症状改善和 IgE 降低的 I 型慢性支气管哮喘 3 例 [J]. 国外医学:中医中药分册,1990,1212(3):53.

[13] 张华敏,孙其伟. 中医药治疗支气管哮喘研究进展 [J]. 中医医学刊,2001,19:448.

[责任编辑 邹晓翠]