

[5]

孙 杰, 王东晓, 桑 凯. 参苓白术散对 COPD 大鼠下丘脑及胃组织 Ghrelin, Obestatin 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 85-90.

[6]

陈祥胜. 焦苍术长于“健脾止泻”物质基础及其作用机理的研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.

[7]

邵长乐. 开胃消食合剂对功能性消化不良大鼠胃肠动力及胃肠激素 MTL 和 SS 的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.

[8]

石金凤, 林茂源, 林 夏, 等. 基于因子分析的附子理中方对脾虚泄泻的治疗作用及关键因子研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(2): 22-26.

[9]

李 灿, 张海艇, 陈玉龙. 采用唾液淀粉酶和 D-木糖排泄率对利血平脾虚证模型的评价研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(7): 746-748.

[10]

李姿慧, 王 键, 蔡荣林, 等. 参苓白术散通过 ERK/p38 MAPK 信号通路干预溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 AQP3、AQP4 的表达[J]. 中成药, 2015, 37(9): 1883-1888.

[11]

陈国英. 五苓散对水负荷大鼠尿量影响及与肾脏 AQP2 相关性的研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.

[12]

石玉莹, 唐洪梅, 吴映秀, 等. 肠激安方对 IBS-D 大鼠肠道通透性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(11): 80-85.

丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织 HMGB1、 α -SMA、IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达的影响

田金娜¹, 陈 迪², 李建保^{1*}, 王 霞³, 李蓝轩⁴, 刘智龙⁴
(1. 成都中医药大学附属医院儿科, 四川 成都 610072; 2. 新津区中医医院, 四川 成都 611430; 3. 遂宁市第一人民医院, 四川 遂宁 629000; 4. 成都中医药大学临床医学院, 四川 成都 610075)

摘要: **目的** 研究丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织 HMGB1、 α -SMA、IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达的影响。**方法** 180 只小鼠随机分为空白对照组、模型组、强的松组、丹龙定喘汤高剂量组、丹龙定喘汤中剂量组、丹龙定喘汤低剂量组, 每组 30 只。除空白对照组外各组小鼠用卵清蛋白+氢氧化铝建立哮喘气道重塑模型, 连续灌胃给予相应药物 42 d (空白对照组灌胃给予生理盐水)。小鼠肺组织 HE 染色后, 观察其病理组织学变化, ELISA 法检测 IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达, Western blot 法检测 α -SMA、HMGB1 表达。**结果** 与空白对照组比较, 模型组小鼠有明显气道重塑现象; 与模型组比较, 各给药组小鼠气道重塑均有所改善。与空白对照组比较, 模型组 HMGB1 升高 ($P<0.05$), IL-4、TGF- β 1 表达升高 ($P<0.01$), IFN- γ 表达降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 丹龙定喘汤中、低剂量组及强的松组 HMGB1 表达降低 ($P<0.05$), 丹龙定喘汤中剂量组 α -SMA 表达降低 ($P<0.05$), 强的松组、丹龙定喘汤低剂量组 IL-4、TGF- β 1 表达降低 ($P<0.01$), 强的松组及丹龙定喘汤中、低剂量组 IFN- γ 表达升高 ($P<0.01$, $P<0.05$)。**结论** 丹龙定喘汤可抑制哮喘小鼠肺组织 IL-4 释放, 减少 HMGB1 表达, 促进 IFN- γ 分泌, 调节 IL-4/IFN- γ 失衡, 使 Th1/Th2 趋向平衡; 减少炎症因子释放, 减轻气道炎性反应; 降低肺组织 TGF- β 1、 α -SMA 水平, 减少气道胶原及基质沉积, 减轻气道纤维化, 改善气道重塑。

关键词: 丹龙定喘汤; 哮喘; HMGB1; α -SMA; IL-4; IFN- γ ; TGF- β 1; 气道重塑

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)01-0195-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.01.040

现代医学研究认为, 支气管哮喘是由多种细胞和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病, 这种慢性炎症导致气道高反应性, 并随病程的延长产生不可逆性气道狭窄和气道重塑, 故气道炎症和气道重塑是哮喘的两个主要病理学特征^[1-2]。调节性 T 细胞与哮喘的发病密切相关, Th2 细胞分

泌的细胞因子 IL-4 是发展慢性炎症和气道高反应性的关键调节剂, 而 Th1 细胞因子 IFN- γ 在轻度至中度哮喘患者中阻止这一过程^[3]。HMGB1 是一种核蛋白, 在组织损伤、感染或炎症时, 从细胞核转移到细胞质, 然后释放到细胞外空间调节免疫和炎症反应^[4-9]。有学者认为 TGF- β 1 是气道

收稿日期: 2019-07-13

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81574027)

作者简介: 田金娜, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事小儿肺系疾病的防治研究。Tel: 18010518216, E-mail: tianjinna@cdutcm.edu.cn

* 通信作者: 李建保, 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事小儿肺系疾病的防治研究。Tel: 15882058275, E-mail: lijianbao@cdutcm.edu.cn

重塑的主要中介^[10-11]，促使成纤维细胞分化为肌成纤维细胞，导致过多的胶原蛋白积聚和细胞外基质沉积^[12]，具有强烈的致纤维化作用。 α -SMA 的表达表明成纤维细胞分化为肌成纤维细胞，肌成纤维细胞是细胞外基质信号的来源，包括胶原蛋白和纤维连接蛋白^[13]。本研究建立哮喘气道重塑模型，以丹龙定喘汤及醋酸泼尼松进行干预，对肺组织中 HMGB1、 α -SMA、IL-4、IFN- γ 和 TGF- β 1 的表达情况进行检测，以探讨丹龙定喘汤防治哮喘气道重塑的可能作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠 180 只，体质量 18~20 g，购于成都达硕实验动物有限公司，动物生产许可证号 SCXK (川) 2015-030。

1.2 药物 丹龙定喘汤由丹参 10 g、地龙 10 g、当归 10 g、熟地黄 10 g、炙黄芪 10 g、法半夏 10 g、陈皮 10 g、茯苓 10 g、紫菀 10 g、白芍药 10 g、炙甘草 6 g 组成，所有药物均从成都中医药大学附属医院药剂科一次性购齐并鉴定，由成都中医药大学药学院药理教研室根据其组方比例，采用水煎醇沉法制备原方提取液，真空旋蒸浓缩至 1 mL 含生药 1 g。醋酸泼尼松片 (5 mg/片，批号 388001) 购自重庆科瑞制药 (集团) 有限责任公司，配制成 0.42 g/L 混悬液。

1.3 试剂 卵蛋白 (OVA，批号 A5253-500G，美国 Sigma-Aldrich 公司)；ABC-ELISA 法免疫组化检测试剂盒 (上海西唐生物科技有限公司)；二抗 Peroxidase-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) (货号 111-035-003)、Peroxidase-conjugated AffiniPure Goat Anti-Mouse IgG (H+L) (货号 115-035-003) (美国 Jackson 公司)；一抗 Anti-HMGB1 抗体-ChIPGrade (货号 ab18256)、Anti- α smooth muscle Actin 抗体 (货号 ab5694)、内参抗体 GAPDH (HyTest Ltd，货号 5G4) (英国 Abcam 公司)；改良 Western 及 IP 细胞裂解液 (货号 WB007)、BCA 蛋白定量试剂盒 (货号 WB101) (上海西唐生物技术有限公司)；底物发光液、immobilon western chemilum hrpsubstrate (货号 WBKLS0500)、0.45 μ m immobilon-P transfer membrane (货号 IPVH00010) (美国 Millipore 公司)；HE 染色试剂盒 (碧云天生物技术有限公司，批号 C0105)。

1.4 仪器 ASP300S 全自动真空组织脱水机、EG1150C 分体式石蜡包埋机、RM2235 石蜡切片机、AutoStainer XL 自动染色机 (德国 Leica 公司)；PYX-DHS 数字显示隔水式电热恒温培养箱 (上海跃进医疗器械厂)；TGL-16B 离心机 (上海安亭科学仪器厂)；移液枪 (美国 Thermo lab-systems 公司)；XW-80A 漩涡混合器 (上海青浦沪西仪器厂)；EPS-600 电泳仪 (上海天能科技有限公司)；VE180A 微型垂直电泳槽 (上海天能科技有限公司)；VE186 转移电泳槽 (上海天能科技有限公司)；Clinx ChemiScope 系列荧光及化学发光成像系统 (上海勤翔科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 分组及造模 将 180 只小鼠在实验条件下饲养 1 周，随机分为 6 组，即空白对照组、模型组、强的松组、丹龙定喘汤高剂量组、丹龙定喘汤中剂量组、丹龙定喘汤低剂量组，每组 30 只。参照文献造模方法^[14-15]，除空白对照组外其余各组小鼠于实验第 1、14 天均用 0.2 mL 抗原液 (含卵蛋白 100 μ g、氢氧化铝干粉 1 mg) 腹腔注射致敏。第 28 天开始，小鼠给予 1% OVA 溶液进行雾化吸入，连续 5 d，每天 30 min/次。第 35 天开始雾化吸入激发哮喘，每周雾化 3 次，共 6 周。空白对照组以生理盐水代替。

2.2 给药 于实验第 35 天开始灌胃给药，于每日激发前半小时，空白对照组和模型组均给予 0.9% 生理盐水 (10 mL/kg)，强的松组给予醋酸泼尼松 (13.86 mg/kg)，丹龙定喘汤高、中、低剂量组用药剂量按照人和动物体表面积比进行换算 (计算公式来源于施新猷著《现代医学实验动物学》)，分别按生药量 39.84、26.56、13.28 g/kg 给药，连续给药 42 d。

2.3 标本采集及病理、免疫组化检测 药物干预后的第 42 天随机抽取各组 6 只小鼠，均取右肺上中肺叶放入经 DEPC 水处理的 4% 多聚甲醛固定，常规石蜡包埋，制成 4 μ m 厚的切片，烤片后行 HE 染色，观察肺组织病理变化。第 42 d 随机抽取各组 10 只小鼠，采集肺组织，参照 ELISA 法进行免疫组化检测。采用 Img-Pro6.0 图像分析系统，每张切片在 200 倍显微镜下观察，以染色后细胞呈棕黄色为阳性表达，随机选取 5 个视野计数阳性细胞的平均光密度值，通过标准品的已知浓度和 OD 值得到标准曲线，对应拟合公式 ($y=a+bx+cx^2+dx^3$ ，其中 a 、 b 、 c 、 d 为参数)， R^2 为相关系数，必须大于 0.99。将待测样本的 OD 值代入标准曲线，乘以相应稀释倍数后求出样本浓度，表示各组小鼠肺组织中 IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达量。

2.4 Western blot 法检测肺组织 α -SMA、HMGB1 表达 药物干预后的第 42 天，随机抽取各组 5 只小鼠，剪取肺组织，加入改良 Western 及 IP 细胞裂解液进行裂解，离心，收集上清液即组织总蛋白。按 BCA 蛋白定量试剂盒说明书将提取的蛋白样品进行蛋白定量。灌胶：蒸馏水清洗灌胶玻璃板，竖直晾干；配制 12% 分离胶、10% 分离胶 (GAPDH 用 12% 分离胶，目的蛋白用 10% 分离胶)、5% 浓缩胶，并垂直插入 Teflon 齿梳，室温静置；待胶完全聚合后拔出梳子，将凝胶置于电泳槽中，加入电泳缓冲液，并用电泳缓冲液冲洗上样孔以去除气泡。电泳：制作上样液，加热 5 min，使蛋白充分变性，冰浴骤冷，3 000 r/min 离心 1 min；每孔加上样液 15 μ L (20 μ g 总蛋白)，留一孔加 5 μ L 预染蛋白 Marker，80 V 恒压电泳约 20 min，当指示剂溴酚蓝进入分离胶后改用 110 V 恒压电泳，当指示剂到达距凝胶下端约 0.5 cm 处时关闭电源，取出胶板；转印蛋白及免疫检测：PVDF 膜浸泡在甲醇中 15 s，重蒸水漂洗 2 min，浸泡于转移缓冲液中 5 min 后开始后续操作；剥离凝胶，修胶后将胶浸泡于转移缓冲液中平衡 15 min；制作

转膜；300 mA 恒流转膜 1 h；放入 5% BSA 室温封闭 2 h；TBST 洗膜 5 min，共 3 次；加入 TBST 稀释的相应一抗稀释液 GAPDH（1：1 000）、 α -SMA（1 μ g/mL），HMGB1（1 μ g/mL），4 $^{\circ}$ C 孵育过夜；TBST 洗膜 5 min，共 3 次，辣根过氧化物酶（HRP）标记的相应二抗稀释液（1：10 000）室温孵育 2 h；TBST 洗膜 10 min，共 3 次。膜于 ECL 化学发光光检测试剂（试剂 A：试剂 B=1：1）反应 2 min，暗室中用 X 胶片感光、显影、定影。采用 Clinx ChemiScope 系列荧光及化学发光成像系统，进行图像采集和 OD 值分析。

2.5 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理，计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用单因素方差分析，方差齐用 LSD 检验，方差不齐用 Games-Howell 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

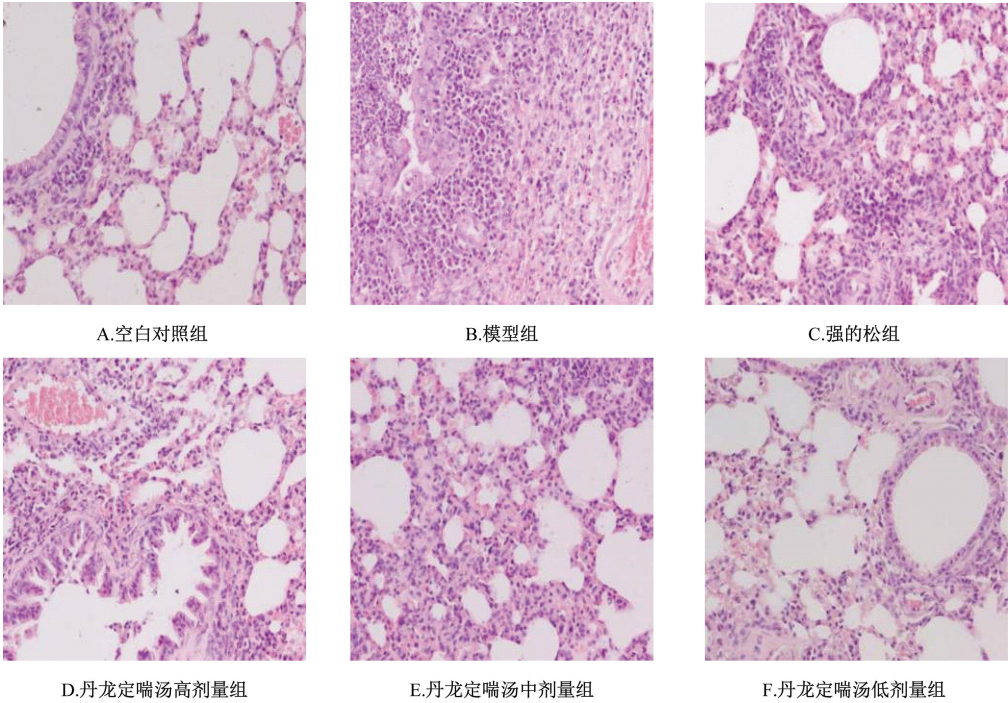


图 1 各组小鼠肺组织病理学变化（HE，200 \times ）

3.2 丹龙定喘汤对小鼠肺组织 IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达的影响 与空白对照组比较，模型组小鼠肺组织 IL-4、TGF- β 1 表达升高（ $P<0.01$ ），IFN- γ 表达降低（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，强的松组及丹龙定喘汤低剂量组小鼠肺组

3.1 小鼠肺组织病理学变化 空白对照组小鼠支气管结构正常，气道上皮完整，无明显炎性细胞浸润，而其余各组小鼠支气管结构出现不同程度病理形态学改变。其中，模型组小鼠气道壁增厚，管腔变窄，气道黏膜皱襞增多，上皮细胞脱落、坏死，平滑肌痉挛，气道平滑肌层及基底膜增厚，黏膜下及管壁大量中性粒细胞、淋巴细胞浸润；强的松组、丹龙定喘汤各剂量组小鼠病理变化较轻。

各组小鼠肺组织非特异性炎症程度依次为模型组>强的松组 \approx 丹龙定喘汤高剂量组>丹龙定喘汤低剂量组 \approx 丹龙定喘汤中剂量组>空白对照组。用药 42 d 时，模型组肺小鼠组织表现出明显的炎细胞浸润及纤维增生等一系列病理改变，以中性粒细胞性炎症为主，表明气道重塑造模成功；各给药组小鼠气道炎症及气道重塑程度明显减轻，表明丹龙定喘汤可有效改善哮喘气道重塑，并且中、低剂量组更显著，可能与中药复方代谢动力学有关。见图 1。

织 IL-4、TGF- β 1 表达降低（ $P<0.01$ ），强的松组及丹龙定喘汤中、低剂量组小鼠肺组织 IFN- γ 表达升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。见表 1。

表 1 丹龙定喘汤对肺组织 IL-4、IFN- γ 、TGF- β 1 表达的影响（ng/mL， $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

组别	IL-4	IFN- γ	TGF- β 1
空白对照组	36.05 \pm 7.67	56.76 \pm 32.66	6 077.89 \pm 2 287.15
模型组	63.26 \pm 14.99 ^{$\Delta\Delta$}	18.75 \pm 2.98 ^{Δ}	11 397.99 \pm 1 785.00 ^{$\Delta\Delta$}
强的松组	37.88 \pm 10.89 ^{$**$}	53.01 \pm 9.97 ^{$**$}	7 109.92 \pm 1 398.58 ^{$**$}
丹龙定喘汤高剂量组	60.37 \pm 14.05	22.69 \pm 5.79	10 700.25 \pm 1 569.72
丹龙定喘汤中剂量组	55.63 \pm 9.11	27.21 \pm 6.40 ^{$*$}	11 006.92 \pm 1 569.29
丹龙定喘汤低剂量组	42.44 \pm 12.847 ^{$**$}	41.57 \pm 15.72 ^{$**$}	7 536.31 \pm 1 551.97 ^{$**$}

注：与空白对照组比较， ^{Δ} $P<0.05$ ， ^{$\Delta\Delta$} $P<0.01$ ；与模型组比较， ^{$*$} $P<0.05$ ， ^{$**$} $P<0.01$ 。

3.3 丹龙定喘汤对小鼠肺组织 HMGB1、 α -SMA 表达的影响 与空白对照组比较,模型组小鼠肺组织 HMGB1 表达升高 ($P<0.05$);与模型组比较,丹龙定喘汤中剂量组小鼠肺组织 α -SMA 表达降低 ($P<0.05$),强的松组及丹龙定喘汤中、低剂量组小鼠肺组织 HMGB1 表达降低 ($P<0.05$)。见表 2、图 2。

4 讨论

哮喘气道重塑主要表现为上皮下纤维化伴基底膜增厚、成纤维细胞和肌成纤维细胞聚集、纤维生长因子分泌增加、近端气道上皮细胞外基质沉积、气道平滑肌增厚、杯

表 2 丹龙定喘汤对哮喘小鼠肺组织 α -SMA、HMGB1 表达的影响 (g/L, $\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	α -SMA	HMGB1
空白对照组	2 962.82 \pm 1 436.77	3 153.12 \pm 1 054.22
模型组	6 619.98 \pm 2 020.41	4 970.07 \pm 1 659.43 ^Δ
强的松组	2 768.53 \pm 557.84	3 338.98 \pm 1 458.38 [*]
丹龙定喘汤高剂量组	4 726.06 \pm 2 813.80	3 563.73 \pm 1 157.38
丹龙定喘汤中剂量组	1 738.96 \pm 471.96 [*]	3 305.51 \pm 922.60 [*]
丹龙定喘汤低剂量组	3 964.19 \pm 1 379.12	3 244.85 \pm 608.28 [*]

注:与空白对照组比较,^Δ $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。



注:1~4 为连续条带的分段。

图 2 各组小鼠肺组织 HMGB1、 α -SMA 表达

状细胞增生、血管再生等一系列复杂改变^[16-18]。来源于 Th2 的细胞因子 IL-4,能够诱导释放促嗜酸性粒细胞聚集的细胞因子和促炎因子^[19],加速平滑肌细胞增殖,也可刺激呼吸道上皮细胞分泌 TGF- β 1,促进成纤维细胞分化并合成胶原,导致呼吸道重构^[20]。IFN- γ 主要来源于 Th1 细胞,是 IL-4 的拮抗子,调节嗜酸性粒细胞的活化、分化和募集作用;同时抑制 IgE 生成,促进 IgG 合成,从而引起支气管扩张。先前的研究发现了 HMGB1 在过敏性哮喘小鼠模型气道炎症的发生和发展中的起着至关重要的上游作用^[21]。HMGB1 对 Th2 反应具有上调作用,增加包括 IL-4 在内的 Th2 细胞因子的产生,另外减弱一些 Th1 细胞及包括 IFN- γ 在内的 Th2 细胞因子的表达^[18]。TGF- β 1 由体内多种细胞分泌,在哮喘的发病过程中具有抗炎、促炎双重作用,能促进成纤维细胞生长,具有强力的致纤维化作用,当气道反复受到抗原刺激或出现慢性炎症时,TGF- β 1 可通过各种途径致使气道平滑肌细胞增生、胶原合成、基质沉积,最终引起组织纤维化和气道重建^[22]。

气道重塑贯穿于哮喘始终,后期多伴有肺功能损害,归属于中医学“肺痿”“肺痹”“喘证”等范畴。本病首先责之于肺脾肾三脏阳气虚损,水液代谢失常而化生痰饮;阳气亏虚,气不行血,血行不畅,痰瘀胶结,潜伏肺窍,日久气道失养,渐致肺因痹而痿。因此,“气虚夹痰夹瘀”是哮喘气道重塑的主要病机。丹龙定喘汤在张景岳金水六君煎的基础上加味而成,由丹参、地龙、当归、熟地黄、炙黄芪、法半夏、陈皮、茯苓、紫菀、白芍药、炙甘草等药物组成。方中以丹参、地龙活血化瘀、通络平喘为君。法半夏、陈皮、茯苓、紫菀等药健脾化痰、降气平喘为臣。配以炙黄芪补中益气、健脾益肺,当归、熟地黄、白芍滋阴养血,调和血脉为佐使。全方共奏益气扶正、活血通络、化痰平喘等功效。

研究显示 HMGB1 显著增强了 GATA3 及 IL-4、IL-5 的

分泌,但抑制肺中 T-bet 的表达和 IFN- γ 的分泌^[23-24]。本实验结果显示,在 OVA 致敏的哮喘模型组小鼠肺组织中 HMGB1、IL-4 的表达明显升高,但 IFN- γ 表达明显降低,说明 HMGB1 的增加确实可以促进 IL-4 的分泌,抑制 IFN- γ 的表达,与上述研究结果一致;丹龙定喘汤组小鼠肺组织 HMGB1、IL-4 表达明显降低,IFN- γ 表达明显升高,说明丹龙定喘汤可以直接通过抑制小鼠肺组织中 IL-4 的表达、促进 IFN- γ 的分泌,或间接通过减少 HMGB1 的分泌而减轻气道炎性反应。基于 IL-4 和 IL-5 在促进气道过敏性嗜酸性粒细胞炎症中的重要作用^[25],有研究认为 HMGB1 可能通过诱导 Th2 型反应的优势而加重急性过敏性哮喘的嗜酸性粒细胞炎症^[22];另有研究发现 HMGB1 还可以促进气道中的中性粒细胞炎症^[26],而气道中的中性粒细胞炎症与哮喘的严重程度密切相关^[27-29]。本实验结果显示各组哮喘模型小鼠肺组织以中性粒细胞性炎症为主,似乎与 IL-4/IFN- γ 引起嗜酸性粒细胞炎症的结论相悖,但本实验证实丹龙定喘汤仍然可以减轻哮喘模型小鼠肺组织炎性反应,可能与其他促中性粒细胞性细胞因子,如:IL-6、IL-8、IL-1 β 在肺组织中的表达增多,而丹龙定喘汤可以抑制这类细胞因子的分泌有关。Elliot 等^[30]的最新研究证实,气道炎症或其他刺激都可以诱导气道重塑,但在少粒细胞性哮喘中,重塑包括气道平滑肌和网状基底膜层的厚度增加;而在粒细胞性哮喘中,重塑还包括气道壁厚度增加及由于气道平滑肌缩短和黏液阻塞所致的气道狭窄。本实验结果显示,各组哮喘模型小鼠肺组织除了平滑肌和网状基底膜层的厚度增加外,还表现出气道平滑肌和网状基底膜层的厚度增加及气道狭窄,与上述研究结果一致。

本实验研究证明,丹龙定喘汤以其“益气扶正、活血通络、化痰平喘”之功,丹龙定喘汤抑制肺组织中 IL-4 释放,减少 HMGB1 的表达,促进 IFN- γ 的分泌,调节 IL-4/IFN- γ 失衡,使 Th1/Th2 趋向平衡,减少炎症因子释放,

减轻气道炎症反应；降低肺组织中 TGF-β1 及 α-SMA 的水平，减少气道胶原及基质沉积，减轻气道纤维化，从而改善气道重塑。

参考文献：

[1] 中华医学会呼吸病学会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南 (2016 年版) [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(9): 675-697.

[2] 李昌崇. 儿童支气管哮喘基础与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[3] Bosnjak B, Stelzmueller B, Erb K J, *et al.* Treatment of allergic asthma: modulation of Th2 cells and their responses[J]. *Respir Res*, 2011, 12(1): 114.

[4] Yang H, Wang H, Chavan S S, *et al.* High mobility group box protein 1 (HMGB1): the prototypical endogenous danger molecule[J]. *Mol Med*, 2015, 21(Suppl 1): S6-S12.

[5] Kang R, Chen R, Zhang Q, *et al.* HMGB1 in health and disease[J]. *Mol Aspects Med*, 2014, 40: 1-116.

[6] Yanai H, Taniguchi T. Nucleic acid sensing and beyond: virtues and vices of high-mobility group box 1[J]. *J Intern Med*, 2014, 276(5): 444-453.

[7] Tang Y T, Zhao X, Antoine D, *et al.* Regulation of posttranslational modifications of HMGB1 during immune responses[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 24(12): 620-634.

[8] Andersson U, Antoine D J, Tracey K J. The functions of HMGB1 depend on molecular localization and post-translational modifications[J]. *J Intern Med*, 2014, 276(5): 420-424.

[9] Tsung A, Tohme S, Billiar T R. High-mobility group box-1 in sterile inflammation [J]. *J Intern Med*, 2014, 276 (5): 425-443.

[10] Zhou Y F, Mirza S, Xu T, *et al.* Aryl hydrocarbon receptor (AhR) modulates cockroach allergen-induced immune responses through active TGFβ1 release [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 591479.

[11] Yang Z C, Yi M J, Ran N, *et al.* Transforming growth factor-β1 induces bronchial epithelial cells to mesenchymal transition by activating the snail pathway and promotes airway remodeling in asthma [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8 (6): 1663-1668.

[12] Sriram N, Kalayarasan S, Manikandan R, *et al.* Epigallocatechin gallate attenuates fibroblast proliferation and excessive collagen production by effectively intervening TGF-β1 signalling[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, 42 (8): 849-859.

[13] Wang Y N, Lin C, Ren Q, *et al.* Astragaloside effect on TGF-β1, SMAD2/3, and α-SMA expression in the kidney tissues of diabetic KKAY mice [J]. *Int J Clinical and Experimental Pathol*, 2015, 8(6): 6828-6834.

[14] Fraga-Iriso R, Núñez-Naveira L, Brienza N S, *et al.* Development of a murine model of airway inflammation and remodeling in experimental asthma [J]. *Archivos de Bronconeumología (English Edition)*, 2009, 45(9): 422-428.

[15] Ishizaki M, Tanaka H, Kajiwara D, *et al.* Nafamostatmesilate, a potent serine protease inhibitor, inhibits airway eosinophilic inflammation and airway epithelial remodeling in a murine model of allergic asthma [J]. *J Pharmacol Sci*, 2008, 108 (3): 355-363.

[16] Najafi A, Masoudi-Nejad A, Ghanei M, *et al.* Pathway reconstruction of airway remodeling in chronic lung diseases: a systems biology approach [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (6): e100094.

[17] Girodet P O, Ozier A, Bara I, *et al.* Airway remodeling in asthma: new mechanisms and potential for pharmacological intervention[J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 130(3): 325-337.

[18] 赵智丽, 覃冬云. 支气管哮喘气道重塑平滑肌增生机制[J]. 中华哮喘杂志 (电子版), 2011, 5(6): 442-445.

[19] 尹德锋, 熊 瑛. 白细胞介素 4 和干扰素 γ 及转化生长因子 β1 在支气管哮喘发病机制中的研究进展[J]. 医学综述, 2015, 21(1): 20-22.

[20] Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2004, 4(2): 123-131.

[21] Ullah M A, Loh Z, Gan W J, *et al.* Receptor for advanced glycation end products and its ligand high-mobility group box-1 mediate allergic airway sensitization and airway inflammation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(2): 440-450. e3.

[22] 周丽萍, 王荣丽. HIF-1α 及 TGF-β1 与哮喘关系研究进展 [J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(11): 2089-2092.

[23] Grogan J L, Mohrs M, Harmon B, *et al.* Early transcription and silencing of cytokine genes underlie polarization of T helper cell subsets[J]. *Immunity*, 2001, 14(3): 205-215.

[24] Szabo S J, Kim S T, Costa G L, *et al.* A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment[J]. *Cell*, 2000, 100(6): 655-669.

[25] Ngoc L P, Gold D R, Tzianabos A O, *et al.* Cytokines, allergy, and asthma[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2005, 5(2): 161-166.

[26] Ma L B, Zeng J R, Mo B W, *et al.* High mobility group box 1: A novel mediator of Th2-type response-induced airway inflammation of acute allergic asthma[J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(10): 1732-1741.

[27] Green R H, Brightling C E, Woltmann G, *et al.* Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids[J]. *Thorax*, 2002, 57(10): 875-879.

[28] Berry M, Morgan A, Shaw D E, *et al.* Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma[J]. *Thorax*, 2007, 62(12): 1043-1049.

[29] Shaw D E, Berry M A, Hargadon B, *et al.* Association between neutrophilic airway inflammation and airflow limitation in adults with asthma[J]. *Chest*, 2007, 132(6): 1871-1875.

[30] Elliot J G, Noble P B, Mauad T, *et al.* Inflammation-dependent and independent airway remodelling in asthma[J]. *Respirology*, 2018, 23(12): 1138-1145.