

· 基础研究 ·

运脾泻肺化痰汤通过抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴减轻幼龄哮喘大鼠气道炎症及黏液高分泌王文洲¹ 高倩倩¹ 陈 竹²

摘要 目的 基于白细胞介素 (IL)-23/ 辅助性 T 细胞 17 (Th17) 炎症轴与磷酸酰肌醇-3 激酶 (PI3K)/ 蛋白激酶 B (AKT) / 核因子 κ B (NF- κ B) 信号轴相关性探讨运脾泻肺化痰汤对幼龄哮喘大鼠气道炎症、黏液高分泌的影响。方法 将幼龄 SD 大鼠 56 只随机分为 7 组: 正常组、模型组、低剂量运脾泻肺化痰汤组 (LTCM)、中剂量运脾泻肺化痰汤组 (MTCM)、高剂量运脾泻肺化痰汤组 (HTCM)、布地奈德组、联合组, 每组各 8 只。除正常组外, 其余各组大鼠腹腔注射卵清白蛋白与氢氧化铝凝胶混合液致敏, 1% 卵清蛋白雾化激发。正常组、模型组均灌胃 0.9% 氯化钠 2 mL; LTCM、MTCM、HTCM 分别灌胃运脾泻肺化痰汤灌胃 10、20、40 g/kg; 布地奈德组予 0.01% 布地奈德 2 mL 雾化吸入 20 min; 联合组给予 MTCM 灌胃及布地奈德组雾化, 连续 4 周。分类计数肺泡灌洗液 (BALF) 中不同种类白细胞; HE、过碘酸-雪夫染色 (PAS) 观察肺组织病理改变; ELISA 检测 BALF 及血清中 IL-17、IL-23 水平, 免疫组化检测肺组织 IL-17、IL-23 表达; Western Blot 检测肺组织 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路相关蛋白及黏蛋白 5AC (MUC5AC) 蛋白表达, RT-PCR 检测肺组织中的 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 相对表达量。结果 与正常组比较, 模型组肺组织 IL-23、IL-17 表达、血清及 BALF 中 IL-17、IL-23 水平、BALF 白细胞计数、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞比例、IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65、MUC5A 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), BALF 嗜碱性粒细胞、淋巴细胞及单核细胞比例下降 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 干预组肺组织 IL-23、IL-17 表达、BALF 白细胞计数、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞比例、IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65、MUC5AC 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 嗜碱性粒细胞比例升高 ($P < 0.05$); MTCM、HTCM、布地奈德、联合组血清及 BALF IL-17、IL-23 水平下降 ($P < 0.05$); LTCM、MTCM、HTCM、联合组 BALF 单核细胞比例升高 ($P < 0.05$); MTCM 及联合组 BALF 淋巴细胞比例升高 ($P < 0.05$)。联合组肺组织 IL-23、IL-17 表达、BALF 嗜酸性粒细胞、中性粒细胞比例、p-PI3K/PI3K、MUC5AC 蛋白表达较 LTCM、MTCM、HTCM、布地奈德组不同程度降低 ($P < 0.05$)。结论 运脾泻肺化痰汤可能通过 IL-23/Th-17 炎症轴抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴转导, 通过降低血清及 BALF 中 IL-23、IL-17 水平, 减少炎细胞迁移、气道炎性浸润及杯状细胞增生从而抑制 MUC5AC 过表达, 减轻气道黏液高分泌及气道炎症。

关键词 支气管哮喘; 运脾泻肺化痰汤; 白细胞介素-17; 白细胞介素-23; 黏蛋白 5AC; 中药复方

Yunpi Xiefei Huatan Decoction Alleviates Airway Inflammation and Mucus Hypersecretion in Young Asthmatic Rats via Inhibiting PI3K/AKT/NF- κ B Signaling Pathway WANG Wen-zhou¹, GAO Qian-qian¹, and CHEN Zhu²
1 Second Clinical Medical College of Guizhou University of Chinese Medicine, Guiyang (550002); 2 Department of Pediatrics, The Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang (550001)

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金资助项目 (No.81860868); 贵州省科技厅项目 (No.[2020]1Y365); 贵州省“十四五”中医药、民族医药重点学科建设项目 (No.黔中医药函[2021]95号)

作者单位: 1. 贵州中医药大学第二临床医学院 (贵阳 550002); 2. 贵州中医药大学第二附属医院儿科 (贵阳 550001)

通讯作者: 陈 竹, Tel: 085-185282507, E-mail: 918236355@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20230306.113

ABSTRACT Objective To explore the effect of Yunpi Xiefei Huatan Decoction (YXHD) on airway inflammation and mucus hypersecretion in young asthmatic rats based on the correlation of interleukin (IL)-23/T helper cell (Th17) inflammation axis and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT)/nuclear factor kappa-B (NF- κ B) signal axis. **Methods** Fifty-six young SD rats were randomly divided into 7 groups: normal group, model group, low-dose group of YXHD (LTCM), middle-dose group of YXHD (MTCM), high-dose group of YXHD (HTCM), budesonide group and combined group, 8 rats in each group. Except for the normal group, rats in other groups were sensitized by intraperitoneal injection of a mixture of ovalbumin and aluminum hydroxide gel, and excited by nebulization of 1% ovalbumin. The rats in the normal group and the model group were given 0.9% sodium chloride 2 mL by gavage. The LTCM, MTCM and HTCM were gavaged with 10, 20 and 40 g/kg YXHD, respectively. In the budesonide group, 2 mL of 0.01% budesonide was atomized and inhaled for 20 min. The rats in the combined group were given intervention in MTCM and budesonide group. The intervention was performed for continuously 4 weeks. The different kind of white blood cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were counted in a classified manner. HE, periodic acid Schiff staining (PAS) were used to observe the pathological changes of lung tissues. The levels of IL-17 and IL-23 in BALF and serum were detected by Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of IL-17 and IL-23 in the lung tissue was detected by immunohistochemistry (ICH). The expressions of PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway related proteins and mucin 5AC (MUC5AC) protein in the lung tissue were detected by Western Blot. The mRNA expression of IL-17, IL-23, PI3K, AKT, NF- κ B p65 and MUC5AC in the lung tissue were detected by reverse transcription PCR (RT-PCR). **Results** Compared with the normal group, the expressions of IL-23 and IL-17 in lung tissue, IL-17 and IL-23 in serum and BALF, BALF white blood cell count, proportion of neutrophils and eosinophils, IL-17, IL-23, PI3K, AKT, NF- κ B p65, MUC5AC mRNA expressions, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, NF- κ B p-p65/NF- κ B p65, and MUC5AC protein expressions increased ($P<0.05$), BALF proportion of basophils, lymphocytes and monocytes decreased in the model group ($P<0.05$). Compared with model group, the expressions of IL-23, IL-17, BALF white blood cell count, proportion of neutrophils and eosinophils, IL-17, IL-23, PI3K, AKT, NF- κ B p-p65/NF- κ B p65, MUC5AC mRNA, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, NF- κ B p-p65/NF- κ B p65, MUC5AC proteins in the lung tissue decreased ($P<0.05$), BALF proportion of basophils increased in intervention group ($P<0.05$). The levels of IL-17, and IL-23 in serum and BALF decreased in MTCM, HTCM, budesonide, and combined group ($P<0.05$). BALF proportion of monocytes increased in LTCM, MTCM, HTCM and combined group ($P<0.05$). BALF proportion of lymphocytes increased in MTCM and combined group ($P<0.05$). The expression of IL-23 and IL-17 in lung tissue, BALF proportion of neutrophils and eosinophils, p-PI3K/PI3K, and MUC5AC protein expressions in the combined group were lower than those in the LTCM, MTCM, HTCM, and budesonide groups to different degrees ($P<0.05$). **Conclusions** YXHD may inhibit PI3K/AKT/NF- κ B signal axis transduction by IL-23/Th17 inflammatory axis. YXHD alleviated airway mucus hypersecretion and airway inflammation by reducing the levels of IL-23 and IL-17 in serum and BALF, inflammatory cell migration, airway inflammatory infiltration, goblet cell proliferation, and the overexpression of MUC5AC.

KEYWORDS asthma; Yunpi Xiefei Huatan Decoction; interleukin-17; interleukin-23; mucin 5AC; Chinese herbal compound formula

近年来我国儿童哮喘患病率呈上升趋势,严重危害了儿童健康^[1]。支气管哮喘发病机制复杂,至今未完全阐明。白细胞介素(interleukin, IL)-23/辅助性T细胞17(T helper cell, Th17)炎症轴在哮喘的发生、发展中发挥重要作用^[2]。IL-23可促进IL-17活化增多,促进嗜酸性粒细胞、中性粒细胞浸润,炎症因子释放增多,并与气道黏液分泌相关^[3, 4]。气道黏液高分泌是哮喘的重要病理特征,目前认为慢性气道

炎症与气道黏液高分泌有关,炎症因子刺激可诱导杯状细胞增生、黏液高分泌相关蛋白黏蛋白5AC(mucin 5AC, MUC5AC)过表达,从而导致气道黏液分泌异常增多^[5]。目前针对炎症轴的药物研究主要从上游信号起始及下游效应信号截断出发,IL-17A特异性抗体作为下游因子IL-17的抑制剂,在哮喘患者人体试验中并未获得预期疗效^[6]。所以针对该炎症轴的药物研究仍需要进一步探索。运脾泻肺化痰汤是本院名中医

黄建业教授经验方,由《医考方》中“清气化痰丸”^[7]加减而来,临床治疗哮喘安全有效,前期动物实验研究证实该方通过核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 及其上游的检测肺组织磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号通路可抑制肺组织炎症及黏液高分泌^[8,9]。IL-23/Th17 炎症轴与哮喘的发生关系密切,文献报道该炎症轴分泌 IL-17A 可调节气道黏液分泌,但未做进一步研究^[10]。IL-17A 可促进 PI3K/AKT 信号的激活,进而可激活下游的 NF- κ B 信号通路,介于 IL-23/Th17 分泌 IL-17A 与 PI3K/AKT、NF- κ B 之间关系,提示 IL-23/Th17 炎症轴可能对 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路产生调控作用。因此,笔者以运脾泻肺化痰汤为研究对象,基于 IL-23/Th17 炎症轴对 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴的调控作用探讨运脾泻肺化痰汤在哮喘治疗中可能的作用机制及对 MUC5AC 的影响。

材料与方法

1 动物 SPF 级幼龄 SD 大鼠 56 只,体重 (95±5) g,雌雄各半,3~4 周龄,由湖南长沙市天勤生物技术有限公司提供,动物许可证号:SCXK(湘)2014—0011。适应性喂养 3 天。本实验经贵州中医药大学第二附属医院伦理委员会批准审查通过 (No. KYW2023002, No. KYW2023003)。

2 药物 运脾泻肺化痰汤 (由胆南星 10 g 全瓜蒌 10 g 黄芩 6 g 浙贝母 6 g 法半夏 6 g 苦杏仁 10 g 茯苓 10 g 槟榔 3 g 焦山楂 3 g 枳实 3 g 陈皮 6 g 甘草 3 g 组成):由贵州中医药大学第二附属医院中药颗粒药房制备而成;吸入用布地奈德混悬液 (普米克令舒):由 AstraZeneca Pty Ltd. Australia 公司生产,批号:320334,2 mL:1 mg×5 支。

3 试剂和仪器 卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 由美国 Sigma 公司生产,批号:9006591;氢氧化铝,由美国 Thermo Fisher Scientific 公司生产,批号:78162;IL-23 酶联免疫吸附测定试剂盒,购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号:E-EL-R0569c;IL-17 检测试剂盒,购自武汉云克隆科技股份有限公司,批号:SEA063Ra;BCA 蛋白浓度测定试剂盒,购自上海碧云天生物公技术司,批号:P0010。显微镜购自奥林巴斯公司,型号:BX53;脱水机,型号:ZJ1-KD-TS3;组织烤片机,型号:ZHB1-KD-H;包埋机,型号:XGNP29-NP-B,均购自武汉俊杰公司;PCR 仪购自东胜创新生物科技有限公司,型号:

EDC-810;Western Blot 电泳仪购自北京六一仪器厂,型号:DYY-7C;酶标仪购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司,型号:Flexstation®3。

4 分组、造模及给药 将大鼠采用随机数字表法分为正常组、模型组、低剂量运脾泻肺化痰汤组 (LTCM)、中剂量运脾泻肺化痰汤组 (MTCM)、高剂量运脾泻肺化痰汤组 (HTCM)、布地奈德组、联合组,每组各 8 只。除正常组外,其余各组大鼠分别在实验第 1 天和第 8 天腹腔注射 OVA (100 mg) + 氢氧化铝 (100 mg) 混合液 1 mL,第 15 天起以 1%OVA 雾化激发,隔天 1 次,共 7 次。实验过程中大鼠出现抓耳挠鼻、鼻流清涕、呼吸急促、口唇紫绀、腹肌抽搐、躁动不安等症状时表示造模成功^[11]。各组均造模成功无死亡大鼠。第 16 天造模同时开始干预,给药剂量参考《药理实验与方法》^[12],成人体表面积按 1.72 m² 换算,孩童剂量按 3 岁小儿体表面积 0.59 m² 换算,运脾泻肺化痰汤全方 76 g,3 岁孩童剂量相当于成人剂量 222 g,大鼠剂量为 20 g/kg,低剂量为 10 g/kg,高剂量为 40 g/kg,分别配制 1 mL:1 g、1 mL:2 g、1 mL:3 g 比例运脾泻肺化痰汤,配成 2 mL 溶液灌胃,分别含生药 2、4、8 g。干预时大鼠体重 200 g,按 1 mL/100 g 按换算,低、中、高均按比例灌胃运脾泻肺化痰汤 2 mL,布地奈德组以 0.01% 布地奈德 2 mL 雾化吸入 20 min,模型组和正常组灌胃 0.9% 生理盐水 2 mL,联合组同中剂量运脾泻肺化痰汤灌胃 + 布地奈德雾化,1 日 1 次定时,连续 4 周。

5 观察指标及检测方法

5.1 大鼠行为学变化 观察大鼠行为学变化。

5.2 BALF 细胞分类计数 将小鼠麻醉处死后,行气管插管,结扎左主支气管,右肺用生理盐水灌洗,反复灌洗两次,回收率约 80%。将回收液离心后取沉淀细胞,加入稀释液,200 μ L 滴入细胞板进行细胞计数,室温放置 2 min,行吉姆萨染色镜下观察并进行细胞分类计数。

5.3 HE 及过碘酸-雪夫染色 (schiff periodic acid Shiff, PAS) 染色观察肺组织病理变化 剪取适量肺组织,用多聚甲醛固定液固定,使用不同浓度酒精及无水乙醇让组织脱水,使组织透明,经浸蜡,包埋,切片,切片脱蜡,染色等步骤后,最后风干树脂镜片,进行镜检。观察支气管、肺泡结构形态,炎性细胞浸润情况。PAS 肺组织石蜡切片,切片厚度 5 μ m,脱蜡及脱水同 HE 染色,经水洗返蓝后,予 Mayer 苏木素复染,滴加 Schiff 染液,常规脱水,二

甲苯透明,封片同 HE 染色。

5.4 免疫组化检测肺组织 IL-17、IL-23 表达 采用 SP 法严格按照试剂盒说明书进行,石蜡切片,常规脱蜡,微波修复抗原,各组分别滴加 1:100 稀释的兔抗大鼠 IL-17、IL-23 多克隆抗体,空白对照用 PBS 替代一抗,步骤同前。阴性为不着色,弱阳性为淡黄色,阳性为黄色,强阳性为棕黄色和棕色。采用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件。

5.5 ELISA 检测外周血液及肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) IL-17、IL-23 水平 取肺泡灌洗液及新鲜血液离心后严格按照 IL-17、IL-23 ELISA 试剂盒操作。

5.6 逆转录-聚合酶链反应 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 法检测肺组织 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达 剪取新鲜肺组织,称重后用 Trizol 法提取组织总 RNA,按逆转录试剂盒说明书进行 cDNA 合成。PCR 反应条件:预变性:95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min;变性,退火延伸:95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 40 个循环;绘制溶解曲线,记录 Ct 值,以 cDNA 为模板,用 RT-PCR 仪检测各组 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 的表达水平,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 作为内参,计算各组样本中 IL-17 和 IL-23 基因的表达量,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法进行分析。

5.7 Western Blot 检测 p-PI3K、p13K、p-AKT、AKT、NF- κ B p65、NF- κ B p-p65、MUC5AC 蛋白表达 依照试剂盒说明书要求,提取大鼠肺组织蛋白,加入等量 SDS-PAGE 后以合适恒压电泳。低温条件下转膜,脱脂奶粉封闭液中常温封闭 2 h。加入 p-PI3K (1:1 000)、PI3K (1:2 000)、p-AKT (1:1 000)、AKT (1:2 000)、t、NF- κ B p65 (1:1 000)、NF- κ B p-p65 (1:2 000)、MUC5AC (1:200) 一

抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,将膜取出,在 Tirus 缓冲盐水,PH 7.5,含 0.5% 吐温 20 溶液 (tirus-buffer saline, PH 7.5, 0.5% with TWEEN 20, TBST) 中充分洗涤,洗膜后,加入二抗 (1:50 000) 摇床孵 2 h,底片经扫描仪扫描后显影曝光,确定目的条带的相对吸光度值。

6 统计学方法 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较用单因素方差分析,符合正态分布采用 LSD 检验,不符合正态分布的计量资料用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状态比较 实验过程中,各组大鼠存活率无明显差异。正常组大鼠体重明显增加,体格健壮,反应灵敏,毛发有光泽;模型组大鼠出现打喷嚏、抓鼻挠腮的次数增多,呼吸急促,腹肌紧张,大便次数增多,口唇发绀,站立不稳,干预组较模型组有不同程度好转。

2 各组 BALF 细胞分类计数比较 (表 1) 与正常组比较,模型组 BALF 白细胞计数、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞比例升高 ($P < 0.05$),嗜碱性粒细胞、淋巴细胞及单核细胞比例下降 ($P < 0.05$)。与模型组比较,干预组白细胞计数、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞比例下降 ($P < 0.05$),嗜碱性粒细胞比例升高 ($P < 0.05$); LTCM、MTCM、HTCM、联合组单核细胞比例升高 ($P < 0.05$); MTCM、联合组淋巴细胞比例升高 ($P < 0.05$)。布地奈德组白细胞计数低于 LTCM 组 ($P < 0.05$),白细胞计数高于 MTCM 组 ($P < 0.05$),单核细胞比例低于、嗜酸性粒细胞及中性粒细胞比例高于 LTCM、MTCM、HTCM 组 ($P < 0.05$),中性粒细胞比例高于 LTCM、MTCM、HTCM 组 ($P < 0.05$)。联合组白细胞计数低于 LTCM、HTCM、

表 1 各组 BALF 白细胞表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	白细胞计数 ($\times 10^7/\text{L}$)	嗜酸性粒细胞 (%)	中性粒细胞 (%)	嗜碱性粒细胞 (%)	单核细胞 (%)	淋巴细胞 (%)
正常	8	6.08 $\pm$ 0.23	4.42 $\pm$ 0.02	66.53 $\pm$ 0.03	8.48 $\pm$ 1.74	11.16 $\pm$ 0.02	9.31 $\pm$ 0.01
模型	8	86.36 $\pm$ 17.02 *	7.86 $\pm$ 0.01 *	81.15 $\pm$ 0.01 *	3.25 $\pm$ 0.54 *	3.24 $\pm$ 0.01 *	4.29 $\pm$ 0.01 *
LTCM	8	50.42 $\pm$ 18.18 $\Delta^{\Delta\Delta}$	5.48 $\pm$ 0.01 $\Delta^{\Delta\Delta}$	74.22 $\pm$ 0.03 $\Delta^{\Delta\Delta}$	6.14 $\pm$ 0.54 Δ	7.93 $\pm$ 0.02 Δ^{Δ}	6.23 $\pm$ 0.03
MTCM	8	16.76 $\pm$ 3.12 Δ^{Δ}	5.06 $\pm$ 0.02 $\Delta^{\Delta\Delta}$	71.10 $\pm$ 0.01 $\Delta^{\Delta\Delta}$	6.54 $\pm$ 0.69 Δ	9.64 $\pm$ 0.01 Δ^{Δ}	7.62 $\pm$ 0.01
HTCM	8	32.30 $\pm$ 3.92 Δ^{Δ}	5.56 $\pm$ 0.00 $\Delta^{\Delta\Delta}$	73.68 $\pm$ 0.02 $\Delta^{\Delta\Delta}$	5.94 $\pm$ 0.07 Δ	7.06 $\pm$ 0.01 Δ^{Δ}	7.00 $\pm$ 0.02
布地奈德	8	33.40 $\pm$ 3.45 Δ^{Δ}	6.08 $\pm$ 0.01 Δ^{Δ}	76.29 $\pm$ 0.01 Δ^{Δ}	6.89 $\pm$ 1.71 Δ	3.23 $\pm$ 0.02 Δ^{Δ}	6.40 $\pm$ 0.01
联合	8	12.18 $\pm$ 2.53 Δ^{Δ}	4.80 $\pm$ 0.01 Δ^{Δ}	65.92 $\pm$ 0.01 Δ^{Δ}	7.72 $\pm$ 0.80 Δ^{Δ}	8.37 $\pm$ 0.02 Δ^{Δ}	9.17 $\pm$ 0.04 Δ^{Δ}

注:与正常组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, Δ $P < 0.05$;与布地奈德组比较, Δ^{Δ} $P < 0.05$;与联合组比较, $\Delta^{\Delta\Delta}$ $P < 0.05$

布地奈德组 ($P<0.05$), 嗜酸性粒细胞、中性粒细胞比例低于 LTCM、MTCM、HTCM 及布地奈德组 ($P<0.05$), 单核细胞比例高于布地奈德组 ($P<0.05$)。

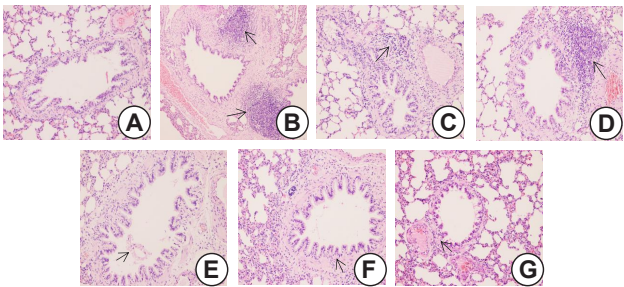
3 各组大鼠肺组织病理变化比较 (图 1、2) HE 染色显示, 正常组支气管、肺泡结构正常; 模型组支气管及周围组织有大量炎性细胞浸润, 支气管腔狭窄, 黏膜褶皱增多, 气道壁增厚, 部分肺泡分隔断裂、增厚, 结构紊乱; 不同剂量运脾泻肺化痰汤组及布地奈德组有不同程度改善。联合组炎性细胞浸润及管腔狭窄情况改善最明显, 见图 1。

PAS 染色显示, 正常组支气管壁上皮细胞完整, 少见杯状细胞增生以及黏液增生; 模型组大鼠气道可见上皮细胞脱落, 较多杯状细胞增生, 糖原分泌增加 (深红色颗粒), 并见到黏液分泌增多 (被染成蓝色)。不同剂量运脾泻肺化痰汤组及布地奈德组有不同程度改善, 联合组杯状细胞增生、糖原分泌减少 (深红色颗粒范围减少) 及黏液分泌 (蓝色范围减少, 颜色变淡) 最为明显, 见图 2。

4 各组肺组织 IL-17、IL-23 表达比较 (图 3, 表 2) 染色图片显示, 正常组支气管壁及管腔周围很少有 IL-17、IL-23 表达 (很少见褐色颗粒), 模型

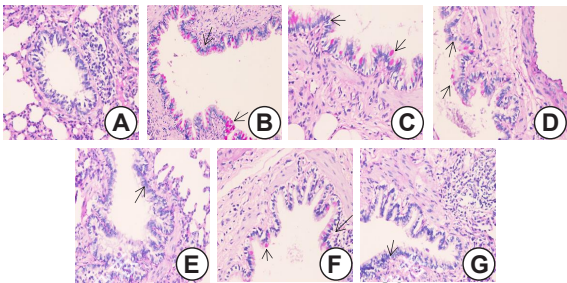
组表达增加 (棕褐色颗粒增多), 干预组较模型组 (褐色染色) 不同程度减轻, 以联合组最为明显 (见少许淡褐色颗粒)。与正常组比较, 模型组 IL-23、IL-17 表达升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 干预组 IL-23、IL-17 表达降低 ($P<0.05$)。联合组 IL-23、IL-17 表达较 LTCM、MTCM、HTCM、布地奈德组降低 ($P<0.05$)。布地奈德组 IL-23、IL-17 表达较 LTCM、HTCM 组降低 ($P<0.05$)。

5 各组血清、BALF 中 IL-17、IL-23 水平比较 (表 3) 与正常组比较, 模型组血清、BALF 中 IL-17、IL-23 水平升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, MTCM、HTCM、布地奈德、联合组血清、BALF 中 IL-17、IL-23 水平下降 ($P<0.05$)。联合组血清、BALF 中 IL-17、IL-23 水平较 LTCM、MTCM 组降低



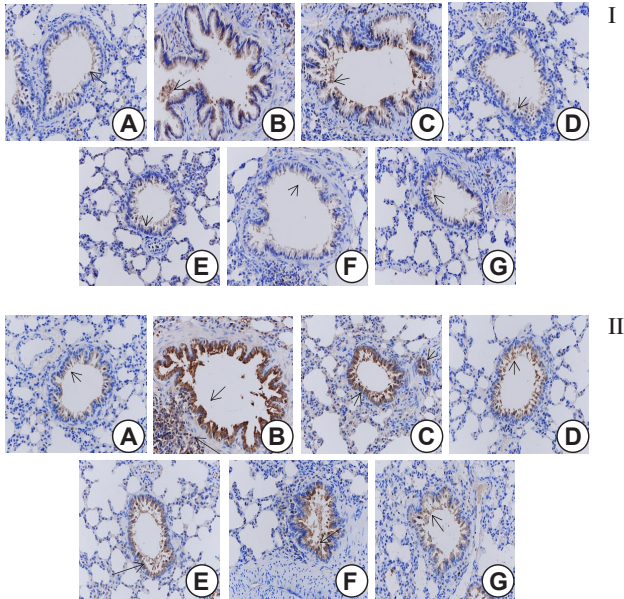
注: A 为正常组, B 为模型组, C 为 LTCM, D 为 MTCM, E 为 HTCM, F 为布地奈德组, G 为联合组, 下图同; 箭头所指为不同组炎性细胞浸润情况展示, 从 B~G 图所示炎性细胞不同程度减少

图 1 各组大鼠肺组织病理结果 (HE, $\times 200$)



注: 箭头所指为不同组糖原分泌 (红色颗粒)、杯状细胞增生及黏液分泌 (蓝紫色) 情况展示, 从 B~G 图所示糖原分泌、杯状细胞增生及黏液分泌不同程度减少

图 2 各组大鼠肺组织病理结果 (PAS, $\times 400$)



注: I 为 IL-17 表达, II 为 IL-23 表达; 箭头所指为不同组 IL-17、IL-23 表达情况 (棕褐色颗粒), 从 B~G 图所示 IL-17、IL-23 表达不同程度减少

图 3 各组大鼠肺组织 IL-17、IL-23 表达病理图 (免疫组化, $\times 400$)

表 2 各组大鼠肺组织 IL-17、IL-23 表达比较 (IOD, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17	IL-23
正常	8	0.00178 $\pm$ 0.00043	0.00188 $\pm$ 0.00043
模型	8	0.02162 $\pm$ 0.00036 *	0.02363 $\pm$ 0.00055 *
LTCM	8	0.01789 $\pm$ 0.00038 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.01791 $\pm$ 0.00041 $\Delta^{\Delta\Delta}$
MTCM	8	0.00718 $\pm$ 0.00010 Δ^{Δ}	0.00617 $\pm$ 0.00015 Δ^{Δ}
HTCM	8	0.01432 $\pm$ 0.00026 Δ^{Δ}	0.01422 $\pm$ 0.00046 Δ^{Δ}
布地奈德	8	0.00865 $\pm$ 0.00030 Δ^{Δ}	0.00845 $\pm$ 0.00010 Δ^{Δ}
联合	8	0.00428 $\pm$ 0.00012 Δ	0.00438 $\pm$ 0.00015 Δ

注: 与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, Δ $P<0.05$; 与布地奈德组比较, Δ^{Δ} $P<0.05$; 与联合组比较, $\Delta^{\Delta\Delta}$ $P<0.05$

($P<0.05$)。布地奈德组血清、BALF 中 IL-17、IL-23 水平较 LTCM 组降低 ($P<0.05$)。

6 各组肺组织 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达比较 (表 4) 与正常组比较, 模型组 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 干预组 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达下降 ($P<0.05$)。联合组 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达低于 LTCM 组 ($P<0.05$), IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达低于 MTCM 组 ($P<0.05$), IL-17、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达低于 HTCM 组 ($P<0.05$), IL-17、IL-23、PI3K、AKT、MUC5AC mRNA 表达低于布地奈德组

($P<0.05$)。布地奈德组 IL-17 mRNA 表达低于 LTCM 组 ($P<0.05$), 布地奈德组 IL-17、IL-23、NF- κ B p65 mRNA 表达低于 MTCM 组 ($P<0.05$)。

7 各组 p-PI3K、p3K、p-AKT、AKT、NF- κ B p65、NF- κ B p-p65、MUC5AC 蛋白表达比较 (图 4, 表 5) 与正常组比较, 模型组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65、MUC5AC 蛋白表达升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 干预组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65、MUC5AC 蛋白表达下降 ($P<0.05$)。联合组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65、MUC5AC 蛋白表达低于 LTCM、布地奈德组 ($P<0.05$), 联合组 p-PI3K/PI3K、MUC5AC 低于 MTCM、HTCM 组 ($P<0.05$)。布地奈德组 p-PI3K/

表 3 各组血清、BALF 中 IL-17、IL-23 水平比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17		IL-23	
		BALF	外周血	BALF	外周血
正常	6	15.61 $\pm$ 2.10	5.79 $\pm$ 2.01	23.08 $\pm$ 7.51	21.84 $\pm$ 6.60
模型	6	45.30 $\pm$ 2.65 *	26.14 $\pm$ 2.92 *	78.69 $\pm$ 7.92 *	94.62 $\pm$ 14.74 *
LTCM	6	42.20 $\pm$ 3.11 $\Delta^{\Delta\Delta}$	23.29 $\pm$ 3.59 $\Delta^{\Delta\Delta}$	70.21 $\pm$ 9.03 $\Delta^{\Delta\Delta}$	88.98 $\pm$ 10.34 $\Delta^{\Delta\Delta}$
MTCM	6	22.32 $\pm$ 2.14 $\Delta^{\Delta\Delta}$	16.89 $\pm$ 2.94 $\Delta^{\Delta\Delta}$	55.90 $\pm$ 9.40 $\Delta^{\Delta\Delta}$	62.38 $\pm$ 11.36 $\Delta^{\Delta\Delta}$
HTCM	6	20.43 $\pm$ 1.08 Δ^{Δ}	16.14 $\pm$ 2.93 Δ^{Δ}	51.71 $\pm$ 9.67 Δ^{Δ}	58.09 $\pm$ 12.59 Δ^{Δ}
布地奈德	6	18.80 $\pm$ 2.10 Δ^{Δ}	14.82 $\pm$ 2.14 Δ^{Δ}	52.74 $\pm$ 7.35 Δ^{Δ}	57.05 $\pm$ 10.79 Δ^{Δ}
联合	6	16.50 $\pm$ 1.31 Δ^{Δ}	13.42 $\pm$ 2.45 Δ^{Δ}	48.01 $\pm$ 7.21 Δ^{Δ}	49.49 $\pm$ 9.61 Δ^{Δ}

注: 与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$; 与布地奈德组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$; 与联合组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$

表 4 各组 IL-17、IL-23、PI3K、AKT、NF- κ B p65、MUC5AC mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-17 mRNA	IL-23 mRNA	PI3K mRNA	AKT mRNA	NF- κ B p65 mRNA	MUC5AC mRNA
正常	8	1.019 $\pm$ 0.186	1.507 $\pm$ 0.187	1.080 $\pm$ 0.206	1.071 $\pm$ 0.195	0.967 $\pm$ 0.116	0.963 $\pm$ 0.172
模型	8	4.013 $\pm$ 0.740 *	4.292 $\pm$ 0.590 *	7.468 $\pm$ 1.483 *	7.528 $\pm$ 1.393 *	4.906 $\pm$ 1.060 *	5.836 $\pm$ 1.039 *
LTCM	8	3.116 $\pm$ 0.441 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.760 $\pm$ 0.570 $\Delta^{\Delta\Delta}$	5.355 $\pm$ 0.796 $\Delta^{\Delta\Delta}$	5.445 $\pm$ 0.786 $\Delta^{\Delta\Delta}$	3.117 $\pm$ 0.518 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.457 $\pm$ 0.939 $\Delta^{\Delta\Delta}$
MTCM	8	1.932 $\pm$ 0.434 $\Delta^{\Delta\Delta}$	3.665 $\pm$ 0.522 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.864 $\pm$ 0.996 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.756 $\pm$ 0.896 $\Delta^{\Delta\Delta}$	3.230 $\pm$ 0.324 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.117 $\pm$ 0.774 $\Delta^{\Delta\Delta}$
HTCM	8	2.810 $\pm$ 0.365 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.576 $\pm$ 0.352 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.119 $\pm$ 1.032 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.449 $\pm$ 1.116 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.838 $\pm$ 0.618 $\Delta^{\Delta\Delta}$	3.640 $\pm$ 0.929 $\Delta^{\Delta\Delta}$
布地奈德	8	2.394 $\pm$ 0.489 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.750 $\pm$ 0.569 $\Delta^{\Delta\Delta}$	5.273 $\pm$ 1.510 $\Delta^{\Delta\Delta}$	5.184 $\pm$ 1.490 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.491 $\pm$ 0.559 $\Delta^{\Delta\Delta}$	4.145 $\pm$ 0.917 $\Delta^{\Delta\Delta}$
联合	8	1.588 $\pm$ 0.067 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.035 $\pm$ 0.392 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.971 $\pm$ 1.203 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.871 $\pm$ 1.183 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.138 $\pm$ 0.613 $\Delta^{\Delta\Delta}$	2.414 $\pm$ 0.528 $\Delta^{\Delta\Delta}$

注: 与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$; 与布地奈德组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$; 与联合组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$

表 5 各组 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65 及 MUC5AC 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	p-PI3K/PI3K	p-AKT/AKT	NF- κ B p-p65/ NF- κ B p65	MUC5AC
正常	6	0.158 $\pm$ 0.047	0.141 $\pm$ 0.029	0.186 $\pm$ 0.009	0.158 $\pm$ 0.047
模型	6	0.852 $\pm$ 0.067 *	0.729 $\pm$ 0.050 *	0.824 $\pm$ 0.021 *	0.851 $\pm$ 0.067 *
LTCM	6	0.712 $\pm$ 0.076 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.567 $\pm$ 0.094 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.634 $\pm$ 0.113 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.712 $\pm$ 0.756 $\Delta^{\Delta\Delta}$
MTCM	6	0.363 $\pm$ 0.057 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.269 $\pm$ 0.013 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.382 $\pm$ 0.102 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.363 $\pm$ 0.057 $\Delta^{\Delta\Delta}$
HTCM	6	0.542 $\pm$ 0.083 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.376 $\pm$ 0.082 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.504 $\pm$ 0.097 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.542 $\pm$ 0.082 $\Delta^{\Delta\Delta}$
布地奈德	6	0.630 $\pm$ 0.065 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.472 $\pm$ 0.016 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.580 $\pm$ 0.050 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.630 $\pm$ 0.065 $\Delta^{\Delta\Delta}$
联合	6	0.223 $\pm$ 0.079 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.218 $\pm$ 0.039 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.345 $\pm$ 0.011 $\Delta^{\Delta\Delta}$	0.223 $\pm$ 0.079 $\Delta^{\Delta\Delta}$

注: 与正常组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$; 与布地奈德组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$; 与联合组比较, $\Delta^{\Delta} P<0.05$

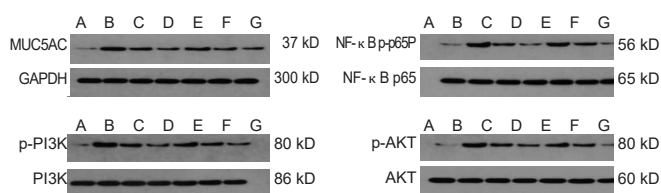


图4 各组 p-PI3K、p-PI3K、P-Akt、Akt、NF- κ B p65、NF- κ B P-P65、MUC5AC 蛋白印迹图

PI3K 表达低于 LTCM 组 ($P<0.05$)；p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、NF- κ B p-p65/NF- κ B p65、MUC5AC 蛋白表达低于 MTCM 组 ($P<0.05$)。

讨 论

运脾泻肺化痰汤由古方清气化痰丸加减而成，清气化痰丸出自古方《医方考》^[7]，具有清热化痰的功效，主治因痰热互结所致痰热咳嗽。清气化痰丸重在清肺化痰，小儿哮喘急性发作期痰涎雍滞，内郁化火，痰热郁肺，用清气化痰丸切中病机。黄建业教授在前方基础之上加入槟榔、焦山楂、瓜蒌壳及苦杏仁形成运脾泻肺化痰方，由胆南星、全瓜蒌、黄芩、浙贝母、枳实、焦山楂、槟榔、法半夏、苦杏仁、陈皮、茯苓及甘草组成。其君药胆南星、全瓜蒌清肺泻热、涤痰宽胸。臣药黄芩清泻肺内痰热、理气止咳，浙贝母清肺而不伤肺津。黄芩配伍法半夏，化痰散结。枳实、陈皮理气化痰，苦杏仁降肺气、止咳平喘；配以茯苓健脾化痰，以治其源。佐以槟榔、焦山楂，行气利水、助脾胃运化，使药甘草调和药性。全方共奏清化热痰，宣肺止喘之效。运脾泻肺化痰汤能够减少儿童气道痰液的形成，也可以缓解哮喘患者痰多难咯、痰鸣难除的症状^[13]。既往研究显示，运脾泻肺化痰汤能缓解哮喘动物模型肺组织炎症^[14]。从临床及动物实验水平证实其治疗哮喘具有良好的疗效及安全性。

本研究采用 OVA 联合氢氧化铝经典造模方法对幼龄大鼠进行造模。造模结束后幼龄哮喘大鼠出现行为学改变，如鼻流清涕、躁动不安、呼吸急促，腹肌紧张等症状。模型组 HE 染色见气道狭窄及大量炎性细胞浸润，PAS 染色提示糖原分泌增加，杯状细胞增生及黏液分泌增多。肺泡灌洗液分析提示嗜酸性粒细胞及中性粒细胞明显升高。综合以上结果，提示模型组幼龄大鼠存在气道炎症及黏液异常分泌病理变化，符合哮喘典型病理改变。各组干预后哮喘大鼠行为状态及肺组织炎症有不同程度好转，HE 及 PAS 染色结果显示气道炎症及黏液分泌情况改善。联合组行为学及病理学改善情况最佳。

早期研究发现 IL-23、IL-17 在哮喘患者外周血、

痰液、肺泡灌洗液中分泌增加，提示 IL-23 及 IL-17 分泌与哮喘有关^[15]。IL-23 属于 IL-12 家族成员之一，其受体表达于 Th17 细胞表面，结合其特异性受体 IL-23R，可促进 IL-17 分泌，IL-23 与 IL-17 密切相关组成了 IL-23/Th17 炎症轴^[16]。IL-17 源自 Th17 细胞亚群，具有广泛的生物学效应，又称为 IL-17A，与机体炎症及免疫反应有关^[17]。IL-17 在哮喘过程中主要发挥增强 Th2 细胞因子分化，募集中性粒细胞及嗜酸性粒细胞浸润的作用^[18, 19]。因此激活 IL-23/Th17 炎症轴可诱导嗜酸性粒细胞和中性粒细胞浸润，参与气道炎症，从而促进哮喘病发生、发展^[20]。本研究发现 BALF 及外周血 IL-23、IL-17 分泌明显增多，两者呈同步上升关系。经 RT-PCR 及免疫组化进一步从基因及蛋白水平证实其分泌上升与哮喘有关。联合组明显下调 IL-23 及 IL-17 在肺组织、外周血及 BALF 中的表达水平，嗜酸性粒细胞及中性粒细胞等炎细胞比例下降。MTCM、HTCM 及布地奈德组有不同程度改善，布地奈德组优于 LTCM，以联合组改善最为明显。基于 IL-23/Th17 炎症轴主要依赖于 IL-23 及 IL-17 过表达，而运脾泻肺化痰方可降低其分泌水平，所以其缓解气道炎症可能与抑制 IL-23/Th17 炎症轴激活有关。同时运脾泻肺化痰汤不仅可以下调 IL-17 过表达而且可以减少中性粒细胞在肺组织聚集，这可能为低 Th2 型哮喘提供了新的治疗思路，需要进一步的研究探索。

研究发现 PI3K/AKT 通路相关蛋白表达上调参与气道炎症及黏液分泌^[21]。OVA 诱导哮喘大鼠过敏性气道炎症，HE 及 PAS 染色提示肺部炎性浸润及杯状细胞增生^[22]。NF- κ B 作为重要的转录因子，与促进炎症基因转录、细胞生长抑制等有关，而 NF- κ B 作为 PI3K/AKT 下游信号分子，通过 I κ B 激酶 (I κ B kinase, IKK) 链接，AKT 磷酸化后可激活下游 p50-p65 (NF- κ B) 转录入核，但一般来说 p65 分子量较大，活化后的 NF- κ B 主要以 p65 形式进行核转录过程^[23, 24]。p65 入核后转录产生 TNF- α 、IL-6 等，TNF- α 作为促炎因子可促进气道上皮杯状细胞增生，导致黏液分泌增加^[25]。综上所述，根据 PI3K/AKT 及 NF- κ B 之间关系组成了与黏液高分分泌密切相关的 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴。通过 RT-PCR、Western Blot 检测，研究发现哮喘状态下 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴上相关基因及蛋白磷酸化表达明显升高。给予不同分组干预后对其信号轴上的关键基因及蛋白水平分析，结果提示运脾泻肺化痰方下调其水平有一定剂量依赖性，布地奈德组同 HTCM 相接近。联合组对

p-PI3K、p-AKT、NF- κ B p-P65 下调水平最佳。有学者研究发现, IL-17A 可激活 PI3K/AKT 信号通路促进癌细胞增生^[26]。磷酸化 AKT 进一步激活 NF- κ B 促进 NF- κ B p65 转录。实验结果提示经 OVA 诱导后模型组 IL-17 与磷酸化 PI3K、磷酸化 AKT 及磷酸化 NF- κ B p65 蛋白表达同时升高, 经干预后同时下降。提示 IL-23/Th17 炎症轴与 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路转导存在联系。

MUC5AC 在气道中主要来源于支气管上皮中的杯状细胞, MUC5AC 是黏液分泌的主要蛋白, 其表达上调黏液分泌增多, 是导致黏液高分泌状态的主要原因^[27]。本次研究发现, 模型组肺组织 PAS 染色见大量糖原分泌增加、杯状细胞增生明显及黏液分泌增多, 同时 RT-PCR、Western Blot 数据提示 MUC5AC 基因及蛋白表达上升, 提示模型组存在黏液高分泌状态。MUC5AC 合成、分泌与气道炎症刺激密切相关, 气道炎症可促进黏液高分泌。研究发现利用烟雾诱导气道上皮 IL-17 分泌增多, MUC5AC mRNA 表达上升^[28]。MUC5AC 作为 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴下游蛋白, IL-17 分泌上调 MUC5AC 表达升高。因此, IL-23/Th17 炎症轴可能依赖于 IL-17 参与 PI3K/AKT/NF- κ B 信号转导, 抑制 IL-17 分泌可导致下游 PI3K/AKT/NF- κ B 信号轴转录 MUC5AC 表达水平下降。经各干预组干预后, 数据提示 MUC5AC 表达下调, 布地奈德组下调水平优于 LTCM; HTCM、MTCM 优于布地奈德组, 但联合组下调水平最佳。

实验结果表明经运脾泻肺化痰汤干预后哮喘大鼠, IL-17、IL-23 BALF 及血清表达下降、免疫组化支气管上皮细胞表达量及 IL-17、IL-23 基因转录水平下降, IL-23/Th17 炎症轴与 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路相关蛋白基因及 MUC5AC 蛋白、基因表达呈下降趋势。通过肺组织病理切片观察 PAS 染色提示杯状细胞增生减少, 黏液分泌减轻; HE 染色提示炎性细胞浸润减少, 炎症状态改善。综上所述, 运脾泻肺化痰汤参与哮喘气道黏液高分泌及气道炎症反应, 可能通过调控 IL-23/Th17 炎症轴影响 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路, 抑制嗜酸性粒细胞、中性粒细胞向肺组织迁移及降低 IL-23 及 IL-17 炎症因子分泌, 从而减少炎症因子对气道上皮刺激、抑制杯状细胞增生, 下调黏液高分泌相关蛋白 MUC5AC 过表达有关。综合分析, 联合组对幼龄哮喘大鼠气道炎症及黏液高分泌状态改善最佳。

儿童支气管哮喘长期治疗方案以吸入糖皮质激素

为主且需长期用药, 虽能控制哮喘症状, 但不能预防及根治其发生, 长时间使用糖皮质激素对患儿的生长发育有潜在影响^[29]。本研究结果显示运脾泻肺化痰汤联合布地奈德治疗干预幼龄哮喘大鼠, 在气道炎症、黏液高分泌方面疗效优于单纯西药, 值得进一步推广。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] Asher MI, Rutter CE, Bissell K, et al. Worldwide trends in the burden of asthma symptoms in school-aged children: Global Asthma Network Phase I cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2021, 398(10311): 1569–1580.
- [2] Elaidy SM, Essawy SS, Hussain MA, et al. Modulation of the IL-23/IL-17 axis by fenofibrate ameliorates the ovalbumin/lipopolysaccharide-induced airway inflammation and bronchial asthma in rats[J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2018, 391 (3): 309–321.
- [3] Ramakrishnan RK, Alheialy S, Hamid Q. Role of IL-17 in asthma pathogenesis and its implications for the clinic[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2019, 13 (11): 1057–1068.
- [4] Östling J, Van Geest M, Schofield J, et al. IL-17-high asthma with features of a psoriasis immunophenotype[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 144 (5): 1198–1213.
- [5] Tajiri T, Matsumoto H, Jinnai M, et al. Pathophysiological relevance of sputum MUC5AC and MUC5B levels in patients with mild asthma[J]. *Allergol Int*, 2022, 71 (2): 193–199.
- [6] Yasuda K, Takeuchi Y, Hirota K. The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases[J]. *Semin Immunopathol*, 2019, 41 (3): 283–297.
- [7] 明·吴昆著, 李顺保, 蒲朝晖校注. 医方考[M]. 北京: 学苑出版社, 2013: 30–33.
- [8] 陈娜, 陈竹, 郑芝, 等. 运脾泻肺化痰汤减轻哮喘大鼠气道黏液高分泌作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36 (19): 3049–3052.
- [9] 张芷瑞, 陈竹, 陈娜, 等. 运脾泻肺化痰汤对幼龄哮喘大鼠气道黏液高分泌的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37 (18): 2460–2462, 2467.
- [10] Manson ML, Säfholm J, James A, et al. IL-

- 13 and IL-4, but not IL-5 nor IL-17A, induce hyperresponsiveness in isolated human small airways[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145 (3): 808–817.e2.
- [11] 李春雷, 史琦, 阎玥, 等. 卵蛋白致敏复加臭氧暴露建立氧化应激特征性支气管哮喘 SD 大鼠模型研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2014, 32 (12): 2901–2903.
- [12] 魏伟, 吴希美, 李元健主编. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1698.
- [13] 陈竹, 彭玉, 杨见辉, 等. 清气化痰汤治疗小儿痰热壅肺型哮喘 30 例疗效观察 [J]. *中医儿科杂志*, 2014, 10 (4): 18–21.
- [14] 陈竹, 彭玉, 陶琼, 等. 清气化痰汤对哮喘小鼠肺组织 TLR4 和 MUC5AC 表达影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53 (8): 1203–1209, 1216.
- [15] Lee HS, Park HW. IL-23 plays a significant role in the augmentation of particulate matter-mediated allergic airway inflammation[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26 (16): 4506–4519.
- [16] Hong L, Herjan T, Bulek K, et al. Mechanisms of corticosteroid resistance in type 17 asthma[J]. *J Immunol*, 2022, 209 (10): 1860–1869.
- [17] Hong Y, Chu Z, Kong J, et al. IL-17A aggravates asthma-induced intestinal immune injury by promoting neutrophil trafficking[J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 112 (3): 425–435.
- [18] Xie Y, Abel PW, Casale TB, et al. T (H) 17 cells and corticosteroid insensitivity in severe asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, 149 (2): 467–479.
- [19] Wilson SC, Caveney NA, Yen M, et al. Organizing structural principles of the IL-17 ligand-receptor axis[J]. *Nature*, 2022, 609 (7927): 622–629.
- [20] Lee HS, Park HW. IL-23 plays a significant role in the augmentation of particulate matter-mediated allergic airway inflammation[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26 (16): 4506–4519.
- [21] Jin X, Jin W, Li G, et al. Zeaxanthin attenuates OVA-induced allergic asthma in mice by regulating the p38 MAPK/ β -catenin signaling pathway[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2022, 50 (5): 75–83.
- [22] Ma B, Athari SS, Mehrabi Nasab E, et al. PI3K/AKT/mTOR and TLR4/MyD88/NF- κ B signaling inhibitors attenuate pathological mechanisms of allergic asthma[J]. *Inflammation*, 2021, 44 (5): 1895–1907.
- [23] Gong Y, Hu Y, Huang J, et al. RAB11A aggravates PDGF-BB-stimulated proliferation, migration, and inflammation of airway smooth muscle cells via affecting the NF- κ B and PI3K/AKT pathways[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2022, 50 (4): 147–154.
- [24] Hara S, Tojima I, Shimizu S, et al. 17, 18-epoxyeicosatetraenoic acid inhibits TNF- α -induced inflammation in cultured human airway epithelium and LPS-induced murine airway inflammation[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2022, 36 (1): 106–114.
- [25] 陈芬芬. IL-6 与肥胖哮喘粘液高分泌的关系及机制 [D]. 山东: 青岛大学, 2019.
- [26] 杨明, 宋杨, 张红健, 等. IL-17 调控 PI3K/AKT/Fas/FasI 信号通路抑制 Hep-2 细胞凋亡 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53 (11): 1681–1684.
- [27] 翟建宾, 赵宏达, 赵臣亮, 等. 益肺化痰汤减轻哮喘脾虚证大鼠气道高黏状态的作用与机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28 (16): 100–108.
- [28] 白晶, 苗北平, 夏文彤, 等. 白细胞介素 -17A 对鼻黏膜上皮细胞表达黏蛋白 MUC5AC 的刺激作用及分子机制 [J]. *中国耳鼻咽喉头颈外科*, 2013, 20 (6): 319–322.
- [29] Naja AS, Permaul P, Phipatanakul W. Asthma in School-Aged Children: a comprehensive review[J]. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2018, 6 (3): 726–735.

(收稿: 2022–12–04 在线: 2023–05–12)

责任编辑: 邱 禹