

艾奎,李桢.紫菀酮改善 OVA 诱导哮喘 SD 幼鼠的免疫反应及 TLRs 的表达 [J].中国比较医学杂志,2022,32(9):76-81.

Ai K, Li Z. Shionone improves immune responses and Toll-like receptor expression in ovalbumin-induced asthmatic rats [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 76-81.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.09.011

紫菀酮改善 OVA 诱导哮喘 SD 幼鼠的免疫反应及 TLRs 的表达

艾 奎,李 桢*

(武汉市第三医院光谷院区儿科,武汉 430074)

【摘要】 目的 研究紫菀酮对卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 诱导哮喘 SD 幼鼠的 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 表达和免疫反应的影响。**方法** 将 24 只 SD 幼鼠随机分为对照组、模型组、紫菀酮组和地塞米松组,每组 6 只。观察幼鼠行为学变化,苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察治疗后肺组织病理学情况,qPCR 检测血浆中 TLRs mRNA 的表达量;ELISA 检测血清中炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-4、IL-13 的表达水平。**结果** 模型组幼鼠呼吸急促,打喷嚏口鼻发紫,分泌粘液,亢奋易怒;支气管粘膜充血水肿,支气管上皮细胞脱落,气道及肺组织周围有大量炎症细胞浸润。紫菀酮和地塞米松用药后,幼鼠呼吸较为平缓,粘液分泌减少,亢奋易怒也有所减少,但地塞米松组出现了攻击性增强的现象;支气管粘膜充血水肿的程度有所缓解,气道及肺组织周围炎症细胞的数量也有所减少。与模型组比,紫菀酮组和地塞米松组 TLR1、TLR9、TLR10 mRNA 的表达量显著升高 ($P < 0.01$),TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8 mRNA 的表达量显著降低 ($P < 0.01$),TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-4、IL-13 的水平显著降低 ($P < 0.01$)。**结论** 紫菀酮能够改善 OVA 诱导的哮喘 SD 幼鼠肺组织的炎症情况,并能使 TLRs 的表达量产生变化,为后续研究紫菀酮对 TLRs 信号通路的作用机制打下了基础。

【关键词】 紫菀酮;哮喘;免疫反应;Toll 样受体

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 09-0076-06

Shionone improves immune responses and Toll-like receptor expression in ovalbumin-induced asthmatic rats

AI Kui, LI Zhen*

(Department of Pediatrics, Guanggu Hospital Area, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430074, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of shionone on Toll-like receptor (TLR) expression and immune responses in ovalbumin (OVA)-induced asthmatic rats. **Methods** Twenty-four SD rats were randomly divided into four groups (six rats per group): control, model, shionone and dexamethasone. The behavioral changes of young mice were observed, as was their lung histopathology after hematoxylin and eosin staining. mRNA expression of TLRs in plasma was detected by qPCR, and serum expression levels of inflammatory cytokines tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-4 and IL-13 were detected by ELISA. **Results** Rats in the model group were short of breath, sneezed, displayed a purple nose and mouth, secreted mucus and were hyperactive and irritable. In addition, these rats exhibited bronchial mucosa hyperemia edema, bronchial epithelial cell death, and large numbers of infiltrating inflammatory cells in

【基金项目】武汉市卫健委科研项目(WZ21C52)。

【作者简介】艾奎(1974—),男,本科,主治医师,研究方向:儿科。E-mail: 826939800@qq.com

【通信作者】李桢(1972—),女,本科,主治医师,研究方向:儿内科。E-mail: 347541130@qq.com

the airway and lung tissue. After treatment with shionone and dexamethasone, young mice breathed more easily and exhibited decreased mucus secretion and irritability; however, aggression was increased in the dexamethasone group. The degree of hyperemia and edema of bronchial mucosa was relieved, and numbers of inflammatory cells around the airway and lung tissue were reduced. Compared with the model group, mRNA expression levels of TLR1, TLR9 and TLR10 in shionone and dexamethasone groups were significantly increased ($P < 0.01$), whereas mRNA expression levels of TLR2~TLR8 were significantly decreased ($P < 0.01$). Levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-4 and IL-13 were significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusions** Shionone can improve the immune response of OVA-induced SD rats and alter the expression of TLRs, laying the foundation for further study of the mechanism of shionone on TLR signaling pathways.

【Keywords】 shionone; asthma; immune response; Toll-like receptors

哮喘是最常见的呼吸道疾病之一,具有较高的发病率和死亡率,我国约有 4 千万人患有哮喘^[1]。哮喘起病早,多发于婴幼儿期,小儿哮喘的症状主要为咳嗽、胸闷、呼吸困难、反复发作的喘息等,且多发于凌晨和夜间,其病因主要包括遗传和环境等因素,空气污染、呼吸道感染、气候转变、过敏原、食物等均可诱发哮喘^[2-3]。气道慢性炎症是哮喘的主要特征,免疫功能紊乱是形成气道炎症的基础,而 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是固有免疫系统的主要组分,已被证实能够调节并加速气道炎症^[4-5]。

西医治疗哮喘的传统药物主要以糖皮质激素为主,短期内具有良好效果,但长期服用会产生耐药性和副作用,且停药后易复发^[6]。诸多研究表明中医药在治疗哮喘上具有明显优势,能有效改善哮喘患者的症状,降低气道高反应性^[7]。紫菀酮(shionone)是紫菀最主要的有效活性成分,具有抗炎作用,能够通过抑制炎症细胞因子的产生来减轻肺部炎症从而减轻哮喘^[8],由此推测紫菀酮作用下 TLRs 的表达可能也会受到影响。本研究首先构建卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导哮喘幼鼠模型,并用紫菀酮进行干预治疗,通过比较紫菀酮干预后 TLRs 表达量的变化及肺组织的炎症情况,从而找到紫菀酮治疗哮喘时差异表达的 TLRs,为后续深入探究紫菀对 TLRs 先天免疫反应信号通路的作用机制打下基础,并有望找到新的治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 实验动物

24 只 5 日龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重为 18~22 g,来源于三峡大学[SCXK(鄂)2017-0012],在武汉华联科生物技术有限公司进行实验[SYXK(鄂)2018-0104],动物合格证号:No. 00288340,设施使用证号:NO. 320730208624181627。喂养条件:

室温 21℃~25℃,相对湿度 50%~70%,喂养过程中幼鼠自行摄食及饮水。实验过程中遵循了 3R 原则,经武汉华联科生物技术有限公司伦理审批委员会批准(HLK-20210801-01)。

1.2 主要试剂与仪器

戊巴比妥钠、卵清蛋白(美国 Sigma 公司;货号: P3761、A5503-50G);氢氧化铝、地塞米松(中国阿拉丁公司;货号: A110525-500 g、D137736-1 g);紫菀酮(上海源叶生物科技有限公司;货号: B21703-20 mg);二甲苯(北京沃凯生物科技有限公司;货号: 40091060);碳酸锂、冰醋酸、中性树脂(国药集团上海有限公司;货号: 20022818、10000218、213);伊红(中国 Solarbio 公司;货号: E8090);苏木素(上海碧云天生物技术有限公司;货号: C0107);TRIzol(美国 ambion 公司;货号: 15596026);SYBR FAST qPCR Master Mix(美国 KAPA Biosystems 公司;货号: KM4101);反转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司;货号: 2690A);TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-4、IL-13 ELISA 试剂盒(中国 Bioswamp 公司;货号: RA20035、RA20020、RA20607、RA20088、RA20034)。

电子天平(舜宇光学科技有限公司;型号: FB124);手术直剪、显微剪、显微镊(上海金钟手术器械厂;型号: J21070、WA1020、WA3040);正置显微镜、石蜡切片机(徕卡显微系统有限公司;型号: DM1000、RM2235);摊片烤片机、生物组织包埋机(沈阳恒松科技有限公司;型号: TK7218、HS-B 型);PCR 仪(杭州柏恒科技有限公司;型号: GE48527);荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司;型号: CFX-Connect 96);微量分光光度计、酶标分析仪、酶标洗板机(杭州奥盛仪器有限公司;型号: Nano-300、AMR-100、APW-200)。

1.3 实验方法

1.3.1 模型构建及鉴定

SD 幼鼠适应性饲喂 3 d 后,在 1、14 d 分别注射

200 μ L OVA(40 μ L OVA+2 mg 氢氧化铝,溶解于 200 μ L 灭菌的 PBS 中)致敏,第 28~31 天每天用 5% OVA 雾化 30 min 激发哮喘发作,随后鼻内注射 20 μ L OVA(40 mg/mL)1 次,当幼鼠出现呼吸加快、口唇发钳、点头呼吸等哮喘症状时表示哮喘模型构建成功。末次雾化、滴鼻激发后观察 30~60 min,依据症状(喷嚏、流涕、鼻痒)对幼鼠的行为学症状进行打分,采用叠加量化加分的方法,所得总分大于 5 分即建模成功。行为学症状分级评分标准见表 1。

1.3.2 实验分组及取材

将幼鼠随机分为 4 组:对照组、模型组、紫菀酮组、地塞米松组,每组 6 只。对照组幼鼠正常喂养,不作处理;模型组 OVA 诱导哮喘;紫菀酮组 OVA 诱导哮喘后紫菀酮按照每日 80 mg/kg 剂量灌胃治疗,连续 7 d;地塞米松组 OVA 诱导哮喘后每天 1 次雾化吸入 10.5 mg/kg 剂量的地塞米松,连续 7 d。最后 1 次给药后 2 h,称体重,麻醉处死,取血分离血清,接着迅速剥离右肺,摘取右肺中叶,置于 10%福尔马林中固定备用,其余肺组织标本放置去酶 EP 管中,注入 RNAlate 试剂,立即放入 4℃ 冰箱,24 h 后转入-80℃ 冰箱冻存备用。

1.3.3 行为学观察

滴鼻激发后观察幼鼠哮喘一般体征,记录饮食、体重、哮喘一般体征包含是否烦躁不安,呼吸是否困难,口鼻是否有粘液等,药物干预过程中观察幼鼠呼吸的变化。

1.3.4 HE 染色病理学观察

将固定好的右肺叶取横切面,石蜡包埋后切片,厚度约为 3 μ m,水浴展片并及时烤片,按照苏木精-伊红染色法的步骤进行组织染色,显微镜观察支气管粘膜及粘膜下炎症细胞浸润及酸性粒细胞的浸润情况。

1.3.5 qPCR 检测 TLRs 受体因子(TLR1~TLR10)的表达

TRIzol 法提取总 RNA,后逆转录合成 cDNA,进行 PCR 扩增。扩增体系:SYBR FAST qPCR Master Mix 10 μ L,上、下游引物各 0.5 μ L, cDNA 模板 1 μ L, ddH₂O 8 μ L。反应程序:95℃ 预变性 3 min, 95℃ 变性 5 s, 56℃ 退火 10 s, 72℃ 延伸 25 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。引物序列见表 2, PCR 引物由武汉天一华煜基因科技有限公司合成。

1.3.6 ELISA 检测支气管肺泡灌洗液中细胞因子表达

按照 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-4、IL-13 的表达水平。

1.4 统计学方法

利用 SPSS 25.0 和 Excel 进行统计学分析,数据以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析和 LSD 检验。 $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

表 1 SD 幼鼠行为学症状分级评分标准

Table 1 Behavioral symptom grading and scoring standards of young SD rats

评分 Score	喷嚏(个) Sneeze(number)	流涕 Rhinorrhea	鼻痒 Rhinocnesmus
1	1~3	仅前鼻孔 Only anterior nares	轻度抓鼻 Mild scratch nose
2	4~10	超过前鼻孔 Beyond the anterior nares	频繁抓鼻 Often scratch nose
3	>11	流涕满面 Runny nose full face	持续抓鼻 Constant scratch nose

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

引物名称 Primer name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	扩增片段 大小(bp) Amplified fragment size
TLR1-F	TCTGGGATTGAGCGGTT	121
TLR1-R	ACACTTGGGATCTTCTTTTTC	
TLR2-F	TAGAAACGGTAACAATACGGAG	187
TLR2-R	AGATTTTCGCTGAGGTCTAAG	
TLR3-F	TCTGCTTGCGAAGAGGAA	111
TLR3-R	TCCGAGACCCAAGTGCTAC	
TLR4-F	TGATGCATTGTGATCTACTCG	140
TLR4-R	TGGCAGCAATGGCTACAC	
TLR5-F	TTTCTTCGCTCCGTGCC	282
TLR5-R	TTGTGACTATGAGGGTGATGA	
TLR6-F	TGGTCTTTTCATCCGAATAGC	173
TLR6-R	GTGCTGGAGGGTCAGATTC	
TLR7-F	CAACTGTCCCTGCGAGAT	254
TLR7-R	CCAGACAAACCACACAGCA	
TLR8-F	GGAAGAGTGTATGAGCCATAG	245
TLR8-R	GGATGCGTCTTTGGTGTC	
TLR9-F	GAAACTGGATGTCAGTAGCAA	214
TLR9-R	CAGCAGTAAGTCTACAAAGGGT	
TLR10-F	TTCTGACTGACCTCCCTGG	121
TLR10-R	AGAGTCTTTACCTCCTGGCA	
GAPDH-F	CAAGTTCAACGGCAGAG	138
GAPDH-R	CCAGTAGACTCCACGACAT	

2 结果

2.1 模型鉴定及行为学变化

模型组的行为学症状为 (7.00 ± 0.89) 分,表明模型构建成功。

对照组幼鼠呼吸和精神状态均正常;实验前期模型组、紫菀酮组和地塞米松组幼鼠均出现呼吸急促,打喷嚏口鼻发紫,有粘液分泌,亢奋易怒的情况;紫菀酮组用药 3 d 后呼吸仍急促,口鼻颜色呈紫红色,4 d 后个别幼鼠出现怠惰嗜睡的情况,用药后期幼鼠粘液分泌减少或消失,呼吸趋于平缓,亢奋易怒的情况也有所减少;地塞米松组用药后期呼吸较为平缓,仍打喷嚏,但几乎不抓鼻,还出现攻击性增强的情况,而紫菀酮组未出现攻击性增强的现象。整个实验过程未出现幼鼠死亡,所有实验正常进行。

2.2 SD 幼鼠肺组织病理学变化

HE 染色结果如图 1 所示。对照组幼鼠的肺泡和支气管正常,无炎症细胞;模型组的支气管粘膜充血水肿,各级支气管上皮细胞呈现不同程度的脱

落,气道及肺组织周围有大量炎症细胞浸润,主要包括嗜酸性粒细胞、肥大细胞、淋巴细胞、中性粒细胞等;与模型组相比,紫菀酮组和地塞米松组的支气管粘膜充血水肿的程度有所缓解,气道及肺组织周围炎症细胞的数量也有所减少。

2.3 各组 TLRs 受体因子表达水平的比较

结果如表 3 所示。与对照组相比,模型组 TLR1、TLR9、TLR10 mRNA 的表达量显著降低 ($P < 0.01$), TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8 mRNA 的表达量显著升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,紫菀酮组和地塞米松组 TLR1、TLR9、TLR10 mRNA 的表达量显著升高 ($P < 0.01$), TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR6、TLR7、TLR8 mRNA 的表达量显著降低 ($P < 0.01$)。

2.4 各组炎症因子表达水平的比较

结果如表 4 所示。与对照组相比,模型组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-4、IL-13 的水平均显著升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,紫菀酮组和地塞米松组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-4、IL-13 的水平均显著降低 ($P < 0.01$)。

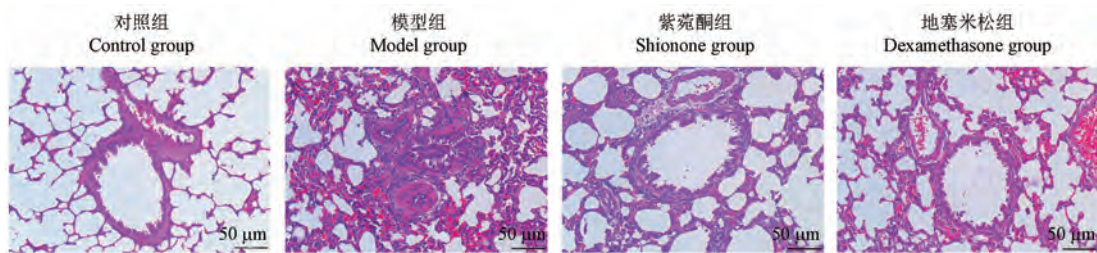


图 1 SD 幼鼠肺组织 HE 染色结果

Figure 1 HE staining results of lung tissue of young SD rats

表 3 各组 TLRs 受体因子表达水平的比较

Table 3 Comparison of TLRs receptor factor expression levels in each group

TLRs	对照组 Control group	模型组 Model group	紫菀酮组 Shionone group	地塞米松组 Dexamethasone group
TLR1	1.00±0.08	0.18±0.02 *	0.44±0.04 *^	0.33±0.02 *^
TLR2	1.01±0.12	4.19±0.32 *	2.33±0.19 *^	2.39±0.17 *^
TLR3	1.00±0.09	5.56±0.54 *	1.86±0.12 *^	2.36±0.21 *^
TLR4	1.01±0.11	4.17±0.28 *	1.82±0.15 *^	2.44±0.35 *^
TLR5	1.00±0.07	4.96±0.29 *	2.10±0.22 *^	2.16±0.21 *^
TLR6	1.00±0.10	5.51±0.47 *	2.15±0.18 *^	2.45±0.26 *^
TLR7	1.01±0.16	5.01±0.38 *	2.62±0.24 *^	2.33±0.16 *^
TLR8	1.01±0.17	5.19±0.38 *	1.98±0.12 *^	2.67±0.24 *^
TLR9	1.00±0.10	0.19±0.02 *	0.45±0.04 *^	0.32±0.02 *^
TLR10	1.00±0.06	0.12±0.01 *	0.42±0.03 *^	0.40±0.05 *^

注:与对照组相比, * $P < 0.01$;与模型组相比, ^ $P < 0.01$ 。

Note. Compared with control group, * $P < 0.01$. Compared with model group, ^ $P < 0.01$.

表 4 各组炎症因子表达水平的比较

Table 4 Comparison of the expression levels of inflammatory factors in each group

炎症因子 (pg/mL) Inflammatory factor	对照组 Control group	模型组 Model group	紫菀酮组 Shionone group	地塞米松组 Dexamethasone group
TNF- α	49.70 $\pm$ 11.86	412.37 $\pm$ 40.91 [*]	137.85 $\pm$ 13.10 ^{*^}	172.55 $\pm$ 8.09 ^{*^}
IL-1 β	43.53 $\pm$ 2.13	248.85 $\pm$ 22.92 [*]	101.90 $\pm$ 16.78 ^{*^}	99.99 $\pm$ 19.61 ^{*^}
IL-6	46.62 $\pm$ 2.53	268.32 $\pm$ 21.91 [*]	122.91 $\pm$ 13.36 ^{*^}	151.86 $\pm$ 4.78 ^{*^}
IL-4	38.35 $\pm$ 8.50	256.43 $\pm$ 38.02 [*]	120.10 $\pm$ 4.52 ^{*^}	103.59 $\pm$ 8.56 ^{*^}
IL-13	12.60 $\pm$ 4.96	115.55 $\pm$ 13.31 [*]	52.80 $\pm$ 10.20 ^{*^}	51.10 $\pm$ 6.09 ^{*^}

注:与对照组相比, * $P<0.01$;与模型组相比, ^ $P<0.01$ 。

Note. Compared with control group, * $P<0.01$. Compared with model group, ^ $P<0.01$.

3 讨论

支气管哮喘是一种由遗传和环境等因素引发的气道慢性炎症性疾病,多种细胞和细胞成分参与其中^[9]。目前,世界范围内有超过 3 亿人患有哮喘,且患病率呈逐年升高的趋势^[10]。哮喘目前仍无法被根治,对人类健康具有严重危害,因此进一步研究哮喘的发病机制,对治疗哮喘、改善预后以及研制新药物具有重要意义。本研究用 OVA 诱导哮喘幼鼠模型,结果显示行为学评分大于 5 分,表明模型构建成功。

紫菀具有消痰止咳、抗炎、抗氧化的功效,紫菀酮是提取自紫菀的 1 种三萜类化合物,是紫菀的主要有效活性成分^[8]。研究表明,紫菀酮能够通过降低诱导型一氧化氮合酶的表达抑制核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路的激活发挥抗炎作用^[11]。本研究发现紫菀酮能够改善哮喘幼鼠肺组织的病理变化,表明紫菀酮对治疗哮喘具有一定的作用。

气道炎症和气道重塑是哮喘的病理基础,多种炎症细胞和介质参与哮喘的发生和发展^[12]。辅助性 T 淋巴细胞(helper T cell, Th) 1/Th2 失衡对哮喘的发生发展具有重要影响,能够促进嗜酸性粒细胞向气道的迁移和浸润,促进哮喘炎症形成^[13]。活化的 Th2 细胞能够分泌 IL-4, IL-4 能够促进免疫球蛋白 E 的分泌,从而参与哮喘的气道炎症^[14]。IL-13 是 Th2 型细胞因子,通过促进黏液分泌、提高气道免疫球蛋白 E 的水平、促进肺部嗜酸性粒细胞浸润等介导气道炎症^[15]。TNF- α 能够活化 NF- κ B 信号通路,介导多种炎症细胞因子在肺组织中大量浸润,调节哮喘患者的炎症反应^[16]。IL-1 β 能够活化 Th2 细胞促进气道炎症部位嗜酸性粒细胞的活化^[17]。IL-6 是适应性免疫的主要参与者,由先天免疫细胞分泌,能够诱导 Th2 效应细胞的扩张^[18]。本研究检测了相关炎症因子在血清中的水平,结果显示,紫

菀酮能够降低炎症因子的水平,表明紫菀酮能够抑制哮喘中的炎症反应,与王芳等^[11]的研究结果一致。

TLRs 是一种模式识别受体,能够连接先天性免疫和获得性免疫,机体内各个部位均有分布,在巨噬细胞、中性粒细胞和上皮细胞等多种细胞内均有表达^[19]。目前人体中已经鉴定出 10 种 TLR,分别命名为 TLR1~TLR10,主要位于细胞膜上,是参与炎症反应的重要因子,TLRs 通过激活巨噬细胞释放促炎细胞因子,激活周围细胞产生黏附和趋化因子,最终将炎症细胞募集到炎症部位^[20-21]。研究表明,TLRs 参与哮喘的发生^[22]。杨艳等^[23]发现敲除 TLR4 基因能够减轻哮喘模型小鼠的气道炎症,并能纠正 Th1/Th2 和 Th17/Treg 的失衡。本研究检测了 TLR1~TLR10 的水平,结果显示,紫菀酮能显著升高 TLR1、TLR9 和 TLR10 的水平,而显著降低其他 TLRs 水平,表明紫菀酮通过调节 TLRs 的水平抑制炎症反应,控制哮喘的发生和发展,与上述研究结果一致。

综上所述,紫菀酮能够调节 OVA 诱导哮喘 SD 幼鼠的炎症反应,并能使 TLRs 的表达量产生变化,其机制是否与 TLRs 先天免疫反应信号有关还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 段亚辉,秦雪梅,李震宇. 中药干预哮喘的作用机制及调控信号通路研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(15): 3700-3706.
- [2] Papi A, Brightling C, Pedersen SE, et al. Asthma [J]. Lancet, 2018, 391(10122): 783-800.
- [3] Ramratnam SK, Bacharier LB, Guilbert TW. Severe asthma in children [J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2017, 5(4): 889-898.
- [4] Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like receptors and the control of immunity [J]. Cell, 2020, 180(6): 1044-1066.
- [5] Zakeri A, Yazdi FG. Toll-like receptor-mediated involvement of

- innate immune cells in asthma disease [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(1 Pt A): 3270–3277.
- [6] 陈淑珍. 中药单体治疗哮喘的作用与机制研究进展 [J]. *中医药学报*, 2021, 49(10): 89–93.
- [7] 汪奎, 牛彩琴, 张博达. 中医药治疗支气管哮喘慢性持续期的研究进展 [J]. *黔南民族医学学报*, 2021, 34(2): 113–115.
- [8] 鲜恩英, 边巴卓玛, 格央, 等. 紫菀酮抑制 HeLa 细胞迁移侵袭的作用及机制 [J]. *高原科学研究*, 2021, 5(2): 57–63.
- [9] 王丹, 杨丹, 王小虎, 等. 支气管哮喘发病中的固有免疫机制 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2018, 41(3): 228–231.
- [10] Boonpiyathad T, Sözen ZC, Satitsuksanoa P, et al. Immunologic mechanisms in asthma [J]. *Semin Immunol*, 2019, 46: 101333.
- [11] 王芳, 任刚, 潘玲玲, 等. 紫菀酮基于 NF- κ B 信号通路的体外抗炎机制研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(4): 1430–1433.
- [12] Banno A, Reddy AT, Lakshmi SP, et al. Bidirectional interaction of airway epithelial remodeling and inflammation in asthma [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(9): 1063–1079.
- [13] 冯海燕, 谭建新. IL-4、IL-5 和 IL-13 与哮喘发生发展的关系 [J]. *心理医生*, 2017, 23(3): 119–120.
- [14] 刘渝. 血清 IL-10、IL-4 及 IgE 在小儿支气管哮喘中的检测意义分析 [J]. *中外医疗*, 2017, 36(2): 31–31.
- [15] 唐学武, 王文革. 白介素 13 参与哮喘发病机制的研究进展 [J]. *国际呼吸杂志*, 2018, 38(23): 1810–1814.
- [16] Vieira CP, de Oliveira LP, Da Silva MB, et al. Role of metalloproteinases and TNF- α in obesity-associated asthma in mice [J]. *Life Sci*, 2020, 259: 118191.
- [17] Caucheteux SM, Hu-Li J, Guo L, et al. IL-1 β enhances inflammatory TH2 differentiation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(3): 898–901.
- [18] Diehl S, Rincón M. The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation [J]. *Mol Immunol*, 2002, 39(9): 531–536.
- [19] Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 461.
- [20] 张铭露, 吴彦霖, 张媛, 等. Toll 样受体在慢性疾病中的研究进展 [J]. *中国新药杂志*, 2021, 30(3): 215–219.
- [21] Vijay K. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 59: 391–412.
- [22] 张军, 李成城. Toll 样受体在支气管哮喘发生中作用的研究进展 [J]. *山东医药*, 2018, 58(40): 95–98.
- [23] 杨艳, 薛征. TLR4 基因敲除对哮喘小鼠气道炎症的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(24): 2945–2949.

[收稿日期] 2022-02-14

(上接第 46 页)

- [13] Zhao X, Sun Y, Ding Y, et al. miR-34a inhibitor may effectively protect against sevoflurane-induced hippocampal apoptosis through the Wnt/ β -Catenin pathway by targeting Wnt1 [J]. *Yonsei Med J*, 2018, 59(10): 1205–1213.
- [14] Zhao X, Shu F, Wang X, et al. Inhibition of microRNA-375 ameliorated ketamine-induced neurotoxicity in human embryonic stem cell derived neurons [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 844: 56–64.
- [15] Gao M, Liu Y, Chen Y, et al. miR-214 protects erythroid cells against oxidative stress by targeting ATF4 and EZH2 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 92: 39–49.
- [16] Yang S, Fei X, Lu Y, et al. miRNA-214 suppresses oxidative stress in diabetic nephropathy via the ROS/Akt/mTOR signaling pathway and uncoupling protein 2 [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5): 3530–3538.
- [17] 王敏, 余薇, 查文良. 自噬和线粒体自噬在糖尿病心肌病中的作用研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(10): 1337–1340.
- [18] Hua R, Wei H, Liu C, et al. Phosphorylated mTORC1 represses autophagic-related mRNA translation in neurons exposed to ischemia-reperfusion injury [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15915–15923.
- [19] Yuskaitis CJ, Rossitto LA, Gurnani S, et al. Chronic mTORC1 inhibition rescues behavioral and biochemical deficits resulting from neuronal Depdc5 loss in mice [J]. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(17): 2952–2964.
- [20] Sun X, Zhou Y, Zhang R, et al. Dsty mutation leads to congenital scoliosis-like vertebral malformations in zebrafish via dysregulated mTORC1/TFEB pathway [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 479.
- [21] Palmieri M, Pal R, Nelvagal HR, et al. mTORC1-independent TFEB activation via Akt inhibition promotes cellular clearance in neurodegenerative storage diseases [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1–19.

[收稿日期] 2021-11-14