

甲泼尼龙琥珀酸钠对自身免疫性肺气肿模型大鼠氧化应激和抗内皮细胞抗体的影响[△]

李佳艺*, 张程#, 李本雪, 张野, 张湘燕(贵州省人民医院呼吸与危重症医学科/国家卫生健康委员会肺脏免疫性疾病重点实验室, 贵阳 550002)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)10-1208-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.10.10

摘要 目的:研究甲泼尼龙琥珀酸钠对自身免疫性肺气肿模型大鼠氧化应激和抗内皮细胞抗体(AECA)的影响。方法:将雄性SD大鼠随机分为对照组、模型组和干预组,每组8只。除对照组大鼠腹腔注射等体积的完全弗氏佐剂外,模型组和干预组大鼠均腹腔注射体外培养的人脐静脉内皮细胞+完全弗氏佐剂混合物以复制自身免疫性肺气肿模型;造模给药后第2天,干预组大鼠腹腔注射甲泼尼龙琥珀酸钠10 mg/(kg·d),对照组和模型组大鼠均腹腔注射等体积的生理盐水,每日1次,连续21 d。末次给药后,取各组大鼠右肺组织制作石蜡切片并行苏木精-伊红染色,观察肺组织病理变化,测量单位面积内的肺泡数(MAN)和内衬间隔(MLI);检测左肺肺泡灌洗液(BALF)中丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,以及BALF和血清中AECA含量。采用Pearson分析模型组大鼠BALF中AECA与MDA、GSH、SOD、GSH-Px的相关性。结果:与对照组比较,模型组大鼠肺组织可见明显的肺气肿病理变化,其MAN显著减少,MLI显著延长($P < 0.01$);BALF中GSH含量和SOD、GSH-Px活性均显著降低,BALF中MDA含量以及BALF、血清中AECA含量均显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,干预组大鼠肺组织的肺气肿病理变化明显改善,其MAN显著增加,MLI显著缩短($P < 0.01$);BALF中GSH含量和SOD、GSH-Px活性均显著升高;BALF中MDA含量以及BALF、血清中AECA含量均显著降低($P < 0.01$)。模型组大鼠BALF中的AECA与MDA呈正相关($r = 0.710, P < 0.05$),与GSH、SOD、GSH-Px呈负相关($r = -0.754, -0.781, -0.736, P < 0.05$)。结论:甲泼尼龙琥珀酸钠可能通过减轻氧化应激反应、抑制AECA的表达,从而达到预防自身免疫性肺气肿的目的。

关键词 自身免疫性肺气肿;氧化应激;抗内皮细胞抗体;甲泼尼龙琥珀酸钠;大鼠

Effects of Methylprednisolone Sodium Succinate on Oxidative Stress and AECA of Autoimmune Emphysema Model Rats

LI Jiayi, ZHANG Cheng, LI Benxue, ZHANG Ye, ZHANG Xiangyan (Dept. of Respiratory and Critical Medicine, Guizhou Provincial People's Hospital/NHC Key Laboratory of Pulmonary Immunological Diseases, Guiyang 550002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of methylprednisolone sodium succinate on oxidative stress and anti-endothelial cell antibody (AECA) of autoimmune emphysema model rats. METHODS: Male SD rats were randomly divided into control group, model group and intervention group, with 8 rats in each group. Except that control group was given same volume of complete Freund's adjuvant intraperitoneally, model group and intervention group were given the mixture of human umbilical vein endothelial cells and complete Freund's adjuvant intraperitoneally to establish the model of autoimmune emphysema. On 2nd day after modeling, intervention group was intraperitoneally injected with 10 mg/(kg·d) methylprednisolone sodium succinate. Control group and model group were intraperitoneally injected the same volume of normal saline, once a day, for consecutive 21 days. After last medication, the right lung tissue of rats were taken for paraffin section and HE staining in each group, and the pathological changes of lung tissue were observed. The mean alveolar number (MAN) and mean linear intercept (MLI) were measured. The contents of MDA and GSH, the activities of SOD and glutathione peroxidase (GSH-Px) in bronchial alveolar lavage fluid (BALF) of left lung were determined; the contents of AECA in BALF and serum were also determined. The correlation of AECA with MDA, GSH, SOD and GSH-Px were determined in model group by Pearson analysis. RESULTS: Compared with control group, the pathological changes of pulmonary emphysema were obvious in model group, MAN decreased significantly, and MLI prolonged significantly ($P < 0.01$); GSH content, GSH-Px and SOD activities in BALF were decreased significantly, the contents of AECA in BALF and serum were increased significantly ($P < 0.01$). Compared with model group, the pathological changes of pulmonary emphysema was improved significantly in the intervention group, MAN increased significantly, while MLI shortened significantly ($P <$

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81560012);贵州省科技计划项目(No.黔科合[2016]支撑2907, No.黔科合基础[2017]1100, No.黔科合基础[2019]1195)

* 住院医师,硕士。研究方向:慢性阻塞性肺疾病的临床与基础。E-mail:549120823@qq.com

通信作者:主任医师,博士。研究方向:慢性阻塞性肺疾病的临床与基础。E-mail:zhangcheng16@sina.com

0.01); GSH content, SOD and GSH-Px activities were increased significantly, while the contents of AECA in BALF and serum were decreased significantly ($P < 0.01$). AECA in BALF of rats in model group was positively correlated with MDA ($r = 0.710$, $P < 0.05$), and the AECA were negatively correlated with GSH, SOD and GSH-Px ($r = -0.754$, -0.781 , -0.736 , $P < 0.05$). CONCLUSIONS: Methylprednisolone sodium succinate may achieve the purpose of the prevention of autoimmune emphysema through reducing oxidative stress and inhibiting the expression of AECA.

KEYWORDS Autoimmune emphysema; Oxidative stress; Anti-endothelial cell antibodies; Methylprednisolone sodium succinate; Rat

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是常见的呼吸道疾病,常因接触有毒的颗粒或气体导致患者气道和肺泡异常,以持续的呼吸道症状和气流限制为特征^[1]。肺气肿是指终末细支气管远端的气道弹性减退,过度膨胀、充气和肺容积增大或伴有气道壁破坏的病理状态。COPD主要包括慢支炎和肺气肿两种病理变化。国内外研究证实,自身免疫反应、氧化应激、抗内皮细胞抗体(AECA)均参与了肺气肿或COPD的发生^[2-5];另外,本课题组前期研究也发现,氧化应激与自身免疫性肺气肿的形成关系密切^[6]。那么,AECA是否可通过增强氧化应激的途径而促进自身免疫性肺气肿的形成?临床上常用的抗免疫药物糖皮质激素对其干预效果如何?目前国内外尚无文献报道。因此,本研究拟以自身免疫性肺气肿模型大鼠为研究对象,在造模给药后(没有形成肺气肿前)第2天立即给予甲泼尼龙琥珀酸钠进行干预,检测其肺泡灌洗液(BALF)中丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,以及BALF和血清中AECA的含量,以验证氧化应激指标与AECA的关系并评估甲泼尼龙琥珀酸钠的预防效果,旨在为肺气肿和COPD的治疗提供参考。

1 材料

1.1 仪器

CX23型光学显微镜(日本Olympus公司);ST16R型高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技公司);HH.W21.420型电热恒温水浴箱(上海跃进医疗器械有限公司);HF160W型CO₂恒温培养箱(新加坡Esco公司);T6新世纪型分光光度仪(北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.2 药品与试剂

注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(比利时Pfizer公司,批号:AJ5591,规格:40 mL);完全弗氏佐剂(美国Sigma-Aldrich公司,批号:20190102,规格:10 mL);GSH检测试剂盒(美国Cayman公司);GSH-Px测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);SOD、MDA检测试剂盒(美国AAT Bioquest公司);AECA酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(美国Abbkine公司);M199培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶溶液(美国Gibco公司);青霉素-链霉素溶液(美国Hyclone公司);血管内皮生长因子(VEGF,英国Peprotech公司);苏木精-伊红(HE)染色液(珠海贝索生物技术有限公司);氯化钠注射液(贵州科伦药业有限

公司,规格500 mL:4.5 g,作生理盐水电用);其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

清洁级SD大鼠24只,雄性,10周龄,体质量240~280 g,由重庆市腾鑫科技公司提供,动物生产许可证号为SCXK(渝)2017-0010。实验室按正常昼夜节律,室内温度约为22℃;所有大鼠均以深圳市腾鑫科技公司提供的无菌全营养饲料喂养,饮水为饮用水。

1.4 人脐带

人脐带样品取自贵州中医药大学第一附属医院产科孕妇足月自然分娩后的脐带,且上报医院医学伦理委员会批准、备案,并经产妇及其家属签字同意。

2 方法

2.1 细胞培养

取人脐带样品,参照本课题组前期晏木云^[7]报道的提取人脐带静脉内皮细胞方法并加以改进完善后,提取静脉内皮细胞,并进行培养、传代及鉴定。

2.2 造模

参照国外相关研究及本课题组前期经验^[5,8]复制模型,基本步骤如下:取第5代人脐带静脉内皮细胞 1×10^7 个,加入胰蛋白酶,于37℃消化约45 s,以1 000 r/min离心15 min,取沉淀加入新鲜M199培养基(其中青霉素-链霉素占0.97%,胎牛血清占19.4%,VEGF占1.94%)1 mL后,再加入完全弗氏佐剂1 mL,混匀。将上述混合物注入大鼠腹腔以建立自身免疫性肺气肿模型。

2.3 分组与给药

将SD大鼠随机分为对照组、模型组和干预组,每组8只。除对照组大鼠单次腹腔注射等体积的完全弗氏佐剂外,模型组和干预组大鼠均按“2.2”项下方法单次腹腔注射体外培养的人脐带静脉内皮细胞+完全弗氏佐剂混合物复制自身免疫性肺气肿模型。造模给药后第2天,干预组大鼠腹腔注射甲泼尼龙琥珀酸钠10 mg/(kg·d)(剂量参照李莉等^[9]的报道及本课题组前期研究^[10]设计),对照组和模型组大鼠均腹腔注射等体积氯化钠注射液,每日1次,连续21 d。

2.4 样品采集

末次给药后,称量各组大鼠体质量,腹腔注射10%水合氯醛(0.3 mL/100 g)麻醉,以仰卧位固定四肢,常规碘伏消毒皮肤后打开腹腔,游离腹主动脉,取腹主动脉血15 mL左右,分装于3~5个血清管中,于22℃下静置30 min后,以2 000 r/min离心10 min,取上清液,置于-80℃

冰箱冻存;另参照文献报道的方法^[1],用手术线结扎各组大鼠右主支气管;抽取生理盐水1 mL注入左肺后回收BALF,反复4次,共收集BALF约4 mL,以1 500 r/min离心10 min后取上清液,置于-80 °C冰箱冻存。

2.5 指标检测

参照本课题组前期经验^[1],取各组大鼠右肺制作石蜡切片,经HE染色后,使用光学显微镜观察肺组织的病理变化。随机选取每张HE染色切片3个视野,测量长、宽,计算视野面积,并计数总肺泡数,以总肺泡数/视野面积计算单位面积内的肺泡数(MAN)。然后取视野长和宽中点,画一个十字交叉线,算出十字线总长度,并计数该线上的肺泡隔数,以总长度/肺泡隔数计算内衬间隔(MLI)。使用分光光度计按相应检测试剂盒说明书方法检测各组大鼠BALF中MDA、GSH含量和SOD、GSH-Px活性,以及BALF和血清中AECA含量。

2.6 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。所有数据经K-S检验,符合正态分布且方差齐时,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验;不符合正态分布时,计量资料以四分位数间距表示,采用非参数检验。相关性分析采用Pearson相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 肺组织病理变化

对照组大鼠肺泡间隔完整,肺组织结构正常,详见图1A;模型组大鼠肺组织可见部分区域肺泡扩张,部分肺泡间隔变窄,肺泡间隔断裂所致的相邻肺泡融合成一个大的囊腔,呈现出明显的肺气肿病理现象,详见图1B;干预组大鼠肺组织可见肺气肿病理改变,但改变程度不及模型组严重,详见图1C。

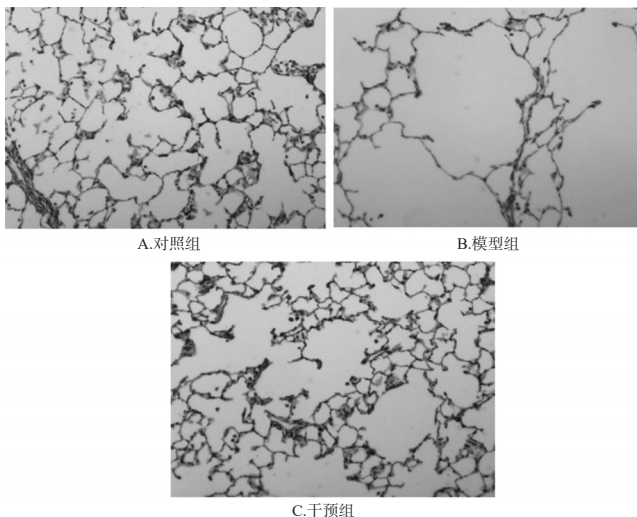


图1 各组大鼠肺组织病理切片的显微图(HE染色,×400)

Fig 1 Micrographs of pathological sections of lung tissues of rats in each group(HE staining, ×400)

与对照组比较,模型组大鼠的MAN显著减少,MLI

显著延长($P < 0.01$);与模型组比较,干预组大鼠的MAN显著增加,MLI显著缩短($P < 0.01$),详见表1。

表1 各组大鼠肺组织中MAN、MLI比较($\bar{x} \pm s, n=8$)
Tab 1 Comparison of MAN and MLI in lung tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	MAN, $\times 10^6$ 个/ m^2	MLI, $\times 10^{-6}$ m/个
对照组	673.00 \pm 25.96	34.88 \pm 3.44
模型组	225.88 \pm 42.24*	59.63 \pm 4.63*
干预组	425.13 \pm 55.96 [#]	46.38 \pm 4.63 [#]

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

Note: vs. control group,* $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.01$

3.2 氧化应激相关指标变化

与对照组比较,模型组大鼠BALF中MDA含量显著升高,GSH含量和SOD、GSH-Px活性均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,干预组大鼠BALF中MDA含量显著降低,GSH含量和SOD、GSH-Px活性均显著升高($P < 0.01$),详见表2。

表2 各组大鼠BALF中MDA、GSH含量和SOD、GSH-Px活性比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Comparison of MDA and GSH contents, SOD and GSH-Px activities in BALF of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	GSH, μ mol/L	MDA, μ mol/L	SOD, U/mL	GSH-Px, U/mL
对照组	0.78 \pm 0.12	28.54 \pm 9.04	34.01 \pm 4.89	18.11 \pm 3.22
模型组	0.23 \pm 0.11*	253.43 \pm 41.80*	13.98 \pm 3.98*	6.11 \pm 1.93*
干预组	0.50 \pm 0.18 [#]	160.20 \pm 31.37 [#]	21.49 \pm 2.43 [#]	11.79 \pm 1.29 [#]

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

Note: vs. control group,* $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.01$

3.3 AECA含量变化

与对照组比较,模型组大鼠BALF和血清中AECA含量均显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,干预组大鼠BALF和血清中AECA含量均显著降低($P < 0.01$),详见表3。

表3 各组大鼠BALF和血清中AECA含量比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 3 Comparison of AECA contents in BALF and serum of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	AECA, ng/mL	
	BALF	血清
对照组	14.56 \pm 4.29	10.77 \pm 7.16
模型组	55.04 \pm 8.41*	47.46 \pm 9.78*
干预组	35.79 \pm 7.08 [#]	31.16 \pm 7.41 [#]

注:与对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

Note: vs. control group,* $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.01$

3.4 AECA与氧化应激指标相关性

通过对模型组大鼠BALF中AECA与氧化应激指标进行相关性分析发现,AECA与MDA呈正相关($r = 0.710, P < 0.05$);AECA与GSH、SOD、GSH-Px呈负相关($r = -0.754, -0.781, -0.736, P < 0.05$),详见图2。

4 讨论

众所周知,慢性气道炎症、氧化应激反应、蛋白酶-

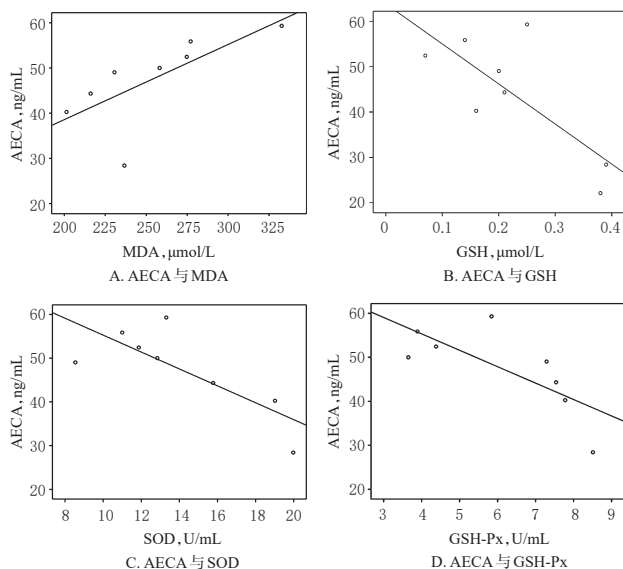


图2 模型组大鼠BALF中AECA与MDA、GSH、SOD、GSH-Px的相关性分析图

Fig 2 Analysis charts of the correlation between AECA and MDA, GSH, SOD, GSH-Px in BALF of rats in model group

抗蛋白酶失衡三大机制在COPD发生发展过程中占有至关重要的地位^[12-15]。越来越多的证据表明,细胞和抗体介导的自身免疫在COPD的发生发展过程中发挥着重要作用^[3]。Caramori G等^[16]证实氧化应激产生的蛋白可能通过自身免疫反应引起特征性小气道异常,参与COPD的发生,因而COPD可被认为是一种自身免疫性疾病。

国外学者及本课题组前期研究均提取人脐静脉内皮细胞并建立自身免疫性肺气肿大鼠模型,实践证实,将异种血管内皮细胞接种至免疫功能正常的大鼠体内可诱导血清中AECA含量升高,最终导致自身免疫性肺气肿的发生^[5,7,11]。本研究通过复制模型制作病理标本,于显微镜下可观察到模型组大鼠肺组织呈现明显的肺气肿改变,且与对照组比较,模型组大鼠的MAN显著减少、MLI显著延长;BALF及血清中AECA含量也显著升高,和文献报道^[5]一致,提示自身免疫性肺气肿模型已成功建立。

糖皮质激素能够通过糖皮质激素受体结合,抑制炎症基因的表达,影响花生四烯酸的代谢、促进炎症细胞凋亡、抑制炎症介质的合成^[17-18],对慢性气道炎症具有良好的抗炎作用,故被广泛用于COPD急性加重患者的临床治疗。此外,该药亦可通过与细胞质中的糖皮质激素受体结合,对免疫细胞的多种功能及免疫反应的多个环节发挥抑制作用(主要抑制细胞免疫);且作为一种免疫抑制剂,该药亦被用于皮炎、系统性红斑狼疮、抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关性血管炎等自身免疫性疾病的治疗^[19]。本研究结果显示,干预组大鼠肺组织切片亦可见肺气肿改变,但不及模型组严重,提示甲泼

尼龙琥珀酸钠可以预防病理学意义上的肺气肿。此外,通过测定血清和BALF中AECA含量以及BALF中氧化应激相关指标可知,与模型组比较,干预组大鼠BALF中GSH含量和SOD、GSH-Px活性均显著升高;BALF中MDA含量以及BALF、血清中AECA含量均显著降低。

国内外有许多文献均提示,氧化应激参与了吸烟肺气肿的发生^[14,20];本课题组前期研究也证实,氧化应激对自身免疫性肺气肿的形成有重要作用^[6]。张琳琼等^[21]研究指出,氧化/抗氧化失衡可导致细胞代谢紊乱,亦可损伤血管内皮细胞;胡晶等^[22]发现,过敏性紫癜患儿血清中AECA与MDA呈正相关,与抗氧化指标对氧磷酶、过氧化氢酶呈负相关,提示AECA可通过加重氧化/抗氧化失衡而导致过敏性紫癜的发生。本研究通过对自身免疫性肺气肿模型大鼠BALF中AECA与氧化应激指标相关性分析发现,AECA与MDA呈正相关,与GSH、SOD、GSH-Px呈负相关,提示上述指标间存在显著相关性,进而说明AECA可能通过增强氧化应激引起大鼠自身免疫性肺气肿的发生。

综上所述,甲泼尼龙琥珀酸钠可能通过减轻氧化应激反应、抑制AECA的表达,从而达到预防自身免疫性肺气肿的目的。本研究的不足之处在于仅以大鼠为研究对象,后期本课题组将进行临床相关研究。

参考文献

- [1] MIRZA S, CLAY RD, KOSLOW MA, et al. COPD guidelines: a review of the 2018 gold report[J]. *Mayo Clin Proc*, 2018, 93(10):1488-1502.
- [2] XIA X, XIANG X, HUANG F, et al. Dietary canolol induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells through ROS-MAPK mediated mitochondrial signaling pathway: in vitro and in vivo[J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 300(11):138-150.
- [3] JIN Y, WAN Y, CHEN G, et al. Treg/IL-17 ratio and Treg differentiation in patients with COPD[J]. *PLoS One*, 2014. DOI:10.1371/journal.pone.0111044.
- [4] LABIB S, WAGIH K, WAGIH Y, et al. Evaluation of anti-endothelial cell antibodies in COPD patients, with and without cor pulmonale[J]. *Egypt J Chest Dis Tuberc*, 2014, 63(3):589-596.
- [5] TARASEVICIENE-STEWARD L, SCERBAVICIUS R, CHOE KH, et al. An animal model of autoimmune emphysema[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171(7):734-742.
- [6] 李佳艺, 张野, 张程. 氧化应激在大鼠自身免疫性肺气肿中的作用[J]. *广东医学*, 2019, 40(12):1694-1697.
- [7] 晏木云. CD4⁺T淋巴细胞穿孔素基因启动子区域甲基化状态及肺泡隔细胞凋亡在自身免疫性肺气肿大鼠中的作用[D]. 遵义:遵义医学院, 2012.
- [8] 马丽, 张璐, 张程, 等. 抗血管内皮细胞抗体在吸烟肺气肿大鼠肺泡隔细胞凋亡中的作用及甲泼尼龙的干预效

基于综合评分和聚类分析的不同海拔、生长年限及干燥加工方法的黄连花茎的品质评价^Δ

伍利华^{1*}, 杨 慧², 杨俊莉², 曾奇璐², 刘 涛², 徐玉玲^{2#}(1.成都大学期刊中心, 成都 610106; 2.成都大学药学与生物工程学院, 成都 610106)

中图分类号 R282 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)10-1212-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.10.11

摘要 目的:对不同海拔、生长年限及干燥加工方法的黄连花茎进行品质评价,为其开发利用及质量控制提供参考。方法:分别采用紫外-可见分光光度法和高效液相色谱法测定24批不同产地、不同生长年限及不同干燥加工方法的黄连花茎样品(S1~S24)中总黄酮和盐酸小檗碱的含量。以总黄酮和盐酸小檗碱含量为指标,并兼顾以干燥加工时间较短为优,分别对总黄酮含量、盐酸小檗碱含量、干燥时间标准化值赋予权重比例为30、40、30,计算其综合评分,对24批样品进行品质评价。以总黄酮和盐酸小檗碱含量为变量,应用SPSS 19.0统计学软件对24批样品进行聚类分析。结果:海拔为1 200 m左右、生长年限在4年及以上的黄连花茎综合评分较高(84~94分),采用梯度干燥方法所得黄连花茎的综合评分普遍高于其他干燥加工方法所得样品。聚类分析结果显示,S1~S4、S9、S10、S13~S18聚为一类,其余12批聚为一类,与综合评分法分析结果基本一致。结论:不同海拔、生长年限及干燥加工方法对黄连花茎的品质均有一定影响,其中以海拔为1 200 m左右、生长年限在4年及以上、梯度干燥法加工的样品为优。

关键词 黄连花茎;总黄酮;盐酸小檗碱;海拔;生长年限;干燥加工方法;综合评分法;聚类分析

- 果[J].广东医学,2016,37(10):1447-1450.
- [9] 李莉,王向东.大鼠被动吸烟气道磷酸二酯酶4D和白介素-8的关系研究[J].临床肺科杂志,2010,11(11):1570-1573.
- [10] 张朝杰,张程,路苹,等.甲泼尼龙琥珀酸钠对自身免疫性肺气肿大鼠TNF- α 、MMP-9、IL-8及VEGF水平的影响[J].贵州医药,2014,38(4):300-303.
- [11] ZHANG C, YAN MY, LU P. Hypomethylation of perforin regulatory element in CD4⁺ cells from rat spleens contributes to the development of autoimmune Emphysema[J]. *Respirology*, 2014, 4(19): 376-381.
- [12] CARAMORI G, KIRKHAM P, BARCZYK A, et al. Molecular pathogenesis of cigarette smoking-induced stable COPD[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2015. DOI: 10.1111/nyas.12619.
- [13] HASSETT DJ, BORCHERS MT, PANOS RJ. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): evaluation from clinical, immunological and bacterial pathogenesis perspectives[J]. *J Microbiol*, 2014, 52(3): 211-216.
- [14] LIU XY, MA CQ, WANG XY, et al. Hydrogen coadministration slows the development of COPD-like lung disease in a cigarette smoke-induced rat model[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12(4): 1309-1324.
- [15] SUN JW, BAO J, SHI YN, et al. Effect of simvastatin on MMPs and TIMPs in cigarette smoke-induced rat COPD model[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12(2): 717-724.
- [16] CARAMORI G, RUGGERI P, DI SA, et al. Autoimmunity and COPD: clinical implications[J]. *Chest*, 2018, 153(6): 1424-1431.
- [17] BARNES PJ. Glucocorticosteroids[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2017, 237(5): 93-115.
- [18] 周绚,杨文贤.糖皮质激素治疗急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征的抗炎机制研究进展[J].中国药房,2015,26(23):3306-3308.
- [19] SASAKI H, KOHSAKA H. Current diagnosis and treatment of polymyositis and dermatomyositis[J]. *Mod Rheumatol*, 2018, 28(6): 913-921.
- [20] BRUNNQUELL CR, VIEIRA NA, SÁBIO LR, et al. Oxidative and proteolysis-related parameters of skeletal muscle from hamsters with experimental pulmonary emphysema: a comparison between papain and elastase induction[J]. *Int J Exp Pathol*, 2015, 96(3): 140-150.
- [21] 张琳琼,陈善昌.炎性细胞因子和血管内皮细胞损伤因子在过敏性紫癜患儿肾损伤中的意义[J].浙江临床医学,2013,4(10):1451-1453.
- [22] 胡晶,朱敏,苏华平,等.过敏性紫癜患儿血清AECA-IgA、PON、CAT、MDA水平及相关性研究[J].疑难病杂志,2016,15(9):943-946.

^Δ 基金项目:国家重点研发计划资助项目(No.2017YFC1701900)

* 硕士。研究方向:中成药再评价及中药资源综合利用。电话:028-84616167。E-mail:914549716@qq.com

通信作者:副教授,硕士。研究方向:中成药开发及再评价。电话:028-61302236。E-mail:xuyuling@cdu.edu.cn

(收稿日期:2019-12-10 修回日期:2020-02-26)

(编辑:邹丽娟)