

- using umbilical cord-derived endothelial cells[J]. Circ J, 2013, 77(2): 207-216.
- [6] 连伟光,郑龙,尤红煜,等. HFJ 大鼠与 Wistar 大鼠用于动脉粥样硬化造模的比较研究[J]. 四川动物, 2013, 32(7): 588-594.
- [7] 杨梅,周建光,曹海涛,等. 实验动物动脉粥样硬化模型的建立与评价[J]. 医疗装备, 2010, 23(6): 35-37.
- [8] 李倩,芮耀诚. LOX-1——心血管疾病防治的新靶标[J]. 药实践杂志, 2014, 32(5): 321-323.
- [9] HEIN T W, QAMIRANI E, REN Y, et al. Selective activation of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 mediates C-reactive protein-evoked endothelial vasodilator dysfunction in coronary arterioles[J]. Circ Res, 2014, 114(1): 92-100.

芪仙汤对哮喘模型小鼠的治疗作用及其机制*

孙莉,陈清阁,倪振华,赖一鸣,王雄彪

(上海中医药大学附属普陀医院呼吸科,上海 200062)

摘要 **目的** 观察芪仙汤对哮喘模型小鼠的作用,探讨芪仙汤促进磷酸酶基因(PTEN)表达的机制。**方法** 健康雌性 BALB/c 小鼠 28 只,随机数字表法分为正常对照组、模型对照组、芪仙汤组和地塞米松组,每组 7 只。以卵清蛋白(OVA)致敏法建立哮喘模型小鼠,造模成功后给予药物处理 2 周,采用肺组织苏木精-伊红(HE)染色评价小鼠肺部炎症,过碘酸-希夫(PAS)染色检测气道黏液分泌情况,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清免疫球蛋白 IgE 浓度,实时定量聚合酶链反应检测小鼠肺组织中白细胞介素(IL)-5 和 IL-13 的基因表达变化,Western blotting 法检测小鼠肺组织 PTEN、SIRT1 的表达。**结果** 与正常对照组比较,模型对照组小鼠肺组织呈明显炎症细胞浸润,气道黏液分泌显著增加($P < 0.01$);与模型对照组比较,芪仙汤组上述指标明显缓解。模型对照组、正常对照组、芪仙汤组和地塞米松组小鼠血清 IgE 含量分别为(6.67 ± 2.59), (0.27 ± 0.05), (3.52 ± 1.44), (2.03 ± 1.24) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。模型对照组小鼠肺组织 PTEN 和 SIRT1 的表达量显著低于正常对照组,芪仙汤组则显著高于模型对照组($P < 0.05$)。芪仙汤组 IL-5、IL-13 mRNA 水平显著下降($P < 0.05$)。**结论** 芪仙汤能显著抑制哮喘模型小鼠气道炎症反应,对 IgE、IL-5、IL-13 具有调节作用;上调 SIRT1 可能是上调 PTEN 表达的机制之一。

关键词 芪仙汤;哮喘;磷酸酶基因

中图分类号 R286;R974

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)01-0016-06

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.01.004

Therapeutic and Its Mechanism of Qixiantang Decoction in Asthma Model Mice

SUN Li, CHEN Qingge, NI Zhenhua, LAI Yiming, WANG Xiongbiao (Department of Respiratory, Putuo Hospital, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of qixiantang decoction on asthma model mice and to explore its mechanism of phosphatase gene (PTEN)-up-regulation. **Methods** A total of 28 healthy female BALB/c mice were divided into 4 groups according to the random number table ($n = 7$): normal control group, model control group, qixiantang decoction group, and dexamethasone group. The mice were sensitized with ovalbumin (OVA) for asthma model. Qixiantang decoction group was treated with drug after OVA sensitization. Hematoxylin-eosin (H-E) staining was applied to observe the pulmonary inflammation in mice, and periodic acid Schiff (PAS) staining was used to examine airway mucus secretion. ELISA was used to detect the concentration of serum IgE. Real-time quantitative PCR was used to examine IL-13 and IL-5 gene expression changes in lung tissues of mice. Western blotting was used to detect the expression of PTEN and SIRT1 protein in lung tissues. **Results**

The lung tissue inflammatory infiltration and mucus secretion in model control group were higher than normal control group ($P < 0.01$), and that in the qixiantang decoction group. The level of serum IgE in model control group [$(6.67 \pm 2.59) \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$] was significantly higher than normal control group [$(0.27 \pm 0.05) \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $P < 0.01$], and that in the qixiantang decoction group [$(3.52 \pm 1.44) \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $P < 0.05$]. The expression of PTEN and SIRT1 in lung tissue of model control group were significantly lower than normal control group, and that of qixiantang decoction group. The expression of IL-5 and IL-13 mRNA of qixiantang decoction group was significantly lower ($P < 0.05$). **Conclusion** Qixiantang decoction could significantly ameliorate inflammation in asthmatic mice by regulate IgE、IL-5、IL-13 expression, and might up-regulate PTEN expression via SIRT1 signal.

KEY WORDS Qixiantang decoction; Asthma; Phosphatase gene

哮喘已成为影响全球 3 亿多人的公共卫生问题,其发病率越来越高,迫切需要开发有效的治疗药物^[1]。治疗哮喘的传统方法为使用糖皮质激素和支气管扩张药,然而患者的复发情况依然没有得到理想的控制,生活质量下降。本课题组通过大量的中医临床治疗观察发现,中药方剂在治疗哮喘方面确实有可靠的疗效,因此探讨中药方剂的作用机制对寻找新的哮喘疗法具有重要意义。本课题组选择在哮喘临床治疗中已取得肯定疗效的自拟芪仙汤(主要由补肾要药巴戟天、淫羊藿和益气要药黄芪等组成)进行动物实验以探究其治疗哮喘的作用机制。张力蛋白同源 10 号染色体丢失的磷酸酶基因(phosphatase gene, PTEN)是近年来新发现的一个与哮喘发病相关的基因^[2]。PTEN 基因和沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)基因在哮喘的发病机制中具有重要作用,为此本实验拟通过支气管哮喘小鼠模型,进一步观察芪仙汤对哮喘小鼠的作用,并初步探讨 PTEN 基因表达上调的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级健康雌性 BALB/c 小鼠 28 只,4~6 周龄,体质量(20 ± 2) g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限责任公司,寄养于上海中医药大学附属普陀医院动物实验中心,屏障环境温度 20~26℃,日温差 ≤ 4 ℃,相对湿度 40%~70%,换气频率 10~20 次 $\cdot h^{-1}$,空气清洁度 7 级。动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-0010。动物质量合格证号:2008001637251。动物实验设计和操作严格按照动物实验伦理原则进行。

1.2 试剂 卵清蛋白(ovalbumin, OVA)购于美国 Sigma 公司;抗体结合增强剂试剂盒和 DAB 试剂盒(福州迈新公司,批号:1507140031);过碘酸-希夫(PAS)染色试剂盒(上海虹桥乐翔医用试剂有限公司,

批号:150123);IgE 试剂盒(Cayman Chemical 公司,批号:0462366);Western blotting 试剂盒(碧云天生物技术有限公司);地塞米松磷酸钠注射液(上海通用药业股份有限公司,批号:1501312111)。致敏液的配制:纯化水为 8 mL,加入十二水硫酸钾铝 0.8 g,配制成 $0.1 g \cdot mL^{-1}$ 硫酸钾铝溶液;0.9% 氯化钠溶液 8 mL 中加入 OVA 4 mg 配制成 $0.5 mg \cdot mL^{-1}$ OVA 溶液,将两者混合均匀,用氢氧化钠调节 pH 值至 6.5 后,室温放置 60 min, $750 \times g$ 离心 5 min,弃上清液,沉淀用 0.9% 氯化钠溶液重悬至初始体积后立即使用。激发液配制:将 OVA 4 mg 溶于 0.9% 氯化钠溶液 2 mL 中,配制成 $2 mg \cdot mL^{-1}$ OVA 溶液。

1.3 芪仙汤的制备 仙灵脾、黄芪、生地黄、枇杷叶、虎杖和巴戟天各 30 g,旋覆花 9 g,川芎 15 g,一煎加水 500 mL,煎汁 150 mL;二煎加水 300 mL,煎汁 150 mL,两煎混合。文火煎成溶液(每毫升相当于生药 1.5 g),冷藏备用。黄芪(批号:2015101802)、生地黄(批号:2015031202)、巴戟天(批号:2015063001)、虎杖(批号:2015040904)等 4 味药材均购自上海德华国药制品有限公司,由上海华宇药业有限公司质量管理部依据《上海市中药饮片炮制规范》2008 年版进行质量鉴定为合格。旋覆花(批号:14102204)、枇杷叶(批号:15102303)、淫羊藿(批号:15091001)购自上海信德中药公司饮片厂,川芎(批号:1511038)均购自上海雷允上中药饮片厂,均由上海华宇药业有限公司质量管理部依据《中华人民共和国药典》《上海市中药饮片炮制规范》2008 年版进行质量鉴定为合格。

1.4 分组及模型建立 所有小鼠按照随机数字表法分为正常对照组、模型对照组、芪仙汤组和地塞米松组,每组 7 只。后 3 组在第 1 和 14 天腹腔注射致敏液 0.2 mL 致敏,在第 14、25、26、27 天给予戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,给予激发液 0.05 mL 滴鼻激发。在第 28~41 天模型对照组给予 0.9% 氯化钠溶液 0.5 mL 灌胃,芪仙汤组给予芪仙汤(含药量 $1.5 g \cdot mL^{-1}$) 0.5 mL 灌胃,地塞米松组腹腔注射地塞米松 $0.5 mL (1 mg \cdot kg^{-1})$ 。正常对照组在致敏、激发、灌胃干预阶段均以 0.9% 氯化钠溶液代替。所有小鼠均于第 42 天给药 24 h 后摘眼球取血处死,留取右肺组织,固定于 4% 甲醛溶液中。

1.5 苏木精-伊红(HE)染色 取小鼠肺组织,石蜡包埋、切片后行 HE 染色。常规脱蜡,苏木精染核,盐酸乙醇分化,伊红染细胞质,脱水,中性树胶封片。

1.6 PAS 染色 取各组小鼠肺组织,常规石蜡切片,脱蜡。进行 PAS 特殊染色。

收稿日期 2015-09-01 修回日期 2015-10-24

基金项目 *上海市科学技术委员会 2012 年科技攻关项目(12401900404);上海市科学委员会引领计划(10411969100);上海市教育委员会科研创新项目(13ZZ096);“085”一流学科建设科技创新支撑计划(085ZY1216);国家自然科学基金资助项目(81402988)

作者简介 孙莉(1990-),女,安徽阜阳人,在读硕士,专业:中西医结合内科(呼吸系统疾病)。电话:021-22233222, E-mail: 531678837@qq.com。

通信作者 王雄彪(1962-),男,浙江杭州人,主任医师,博士生导师,博士,研究方向:呼吸系统疾病。电话:021-22233674, E-mail: xiongbiao6@hotmail.com。

1.7 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 IgE 离心收集各组小鼠血清,根据 ELISA 试剂盒说明书检测血清中含量。

1.8 Western blotting 检测小鼠肺组织 PTEN、SIRT1 蛋白表达 取等量蛋白质样本进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后将蛋白质转移至聚偏氟乙烯膜上, TBST + 5% BSA 封闭液封闭2 h。将膜分别与 PTEN 和 SIRT1 一抗4 ℃孵育过夜,然后 TBST 洗涤3次,每次10 min,之后加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗,室温孵育2 h。用 TBST 洗膜3次,每次10 min,最后加入 ECL 发光液显色。

1.9 实时定量聚合酶链反应(qPCR)检测各组小鼠肺组织中基因表达变化 RNA 的提取采用 Qiagen 公司的 RNeasy Plus Kit 试剂,按说明书操作方法进行。cDNA 合成采用 Invitrogen 公司 SuperScript III 第一链合成试剂盒,按说明书操作方法进行。荧光定量 PCR 反应试剂采用 Roche 公司 PCR master mix,反应条件为:94 ℃ 10 min, 94 ℃ 30 s,60 ℃ 1 min,共 40 个循环,ABI STEP one 全自动荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司),以 GAPDH 基因作为内参,引物序列见表 1。

1.10 统计学方法 采用 SPSS16.0 版统计学软件。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间均数比较采用两独立样本 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺组织病理特征 正常对照组小鼠肺组织小支气管无炎症细胞浸润、气道无明显黏液分泌;模型对照组小鼠肺组织呈明显炎症细胞浸润、气道黏液分泌显著增加;芪仙汤组小鼠肺组织炎症细胞浸润较哮喘组

明显缓解,气道黏液分泌显著降低。见图 1。

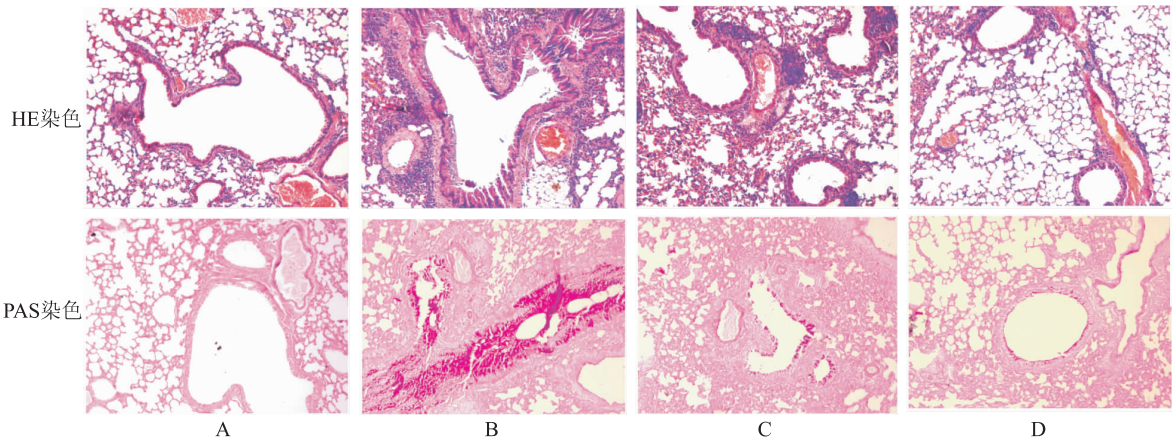
表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequence

引物	序列
mIL-5-F	5'-CTCTGTTGACAAGCAATGAGACG-3'
mIL-5-R	5-TCTTCAGTATGTCTAGCCCCCTG-3
mIL-13-F	5-TGAGCAACATCACACAAGACC-3
mIL-13-R	5-GGCCTTGCGGTTACAGAGG-3
mSIRT1-F	5-CAGCCGTCTCTGTGTACAAAA-3
mSIRT1-R	5-GCACCGAGGAACCTACCTGAT-3
mPTEN-F	5-AGGCACAAGAGGCCCTAGAT-3
mPTEN-R	5-CTGACTGGGAATTGTGACTCC-3
mGAPDH-F	5-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3
mGAPDH-R	5-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3

2.2 4 组小鼠血清 IgE 含量 正常对照组、模型对照组、芪仙汤组和地塞米松组小鼠血清 IgE 含量分别为 (0.27 ± 0.05), (6.67 ± 2.59), (3.52 ± 1.44), (2.03 ± 1.24) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。与正常对照组比较,模型对照组小鼠血清 IgE 含量显著增加 ($t = 3.327, P < 0.01$),而在给予芪仙汤干预后小鼠血清的 IgE 含量显著降低($t = 2.890, P < 0.05$)。

2.3 qPCR 检测芪仙汤对哮喘小鼠 IL-5 和 IL-13 的调节作用 4 组小鼠肺组织中 IL-5 和 IL-13 的基因表达变化见图 2,结果显示芪仙汤降低了 IL-5 和 IL-13 的表达水平($t = 2.597, 2.890, P < 0.05$)。

2.4 Western blotting 检测小鼠肺组织中 PTEN 和 SIRT1 表达的变化 模型对照组小鼠的肺组织 PTEN 和 SIRT1 的表达量显著低于正常对照组 ($t = -2.499$,



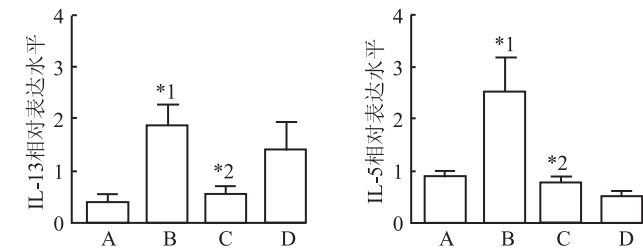
A. 正常对照组;B. 模型对照组;C. 芪仙汤组;D. 地塞米松组

图 1 4 组小鼠肺组织病理特征 (×200)

A. normal control group; B. model control group; C. qixiantang decoction group; D. dexamethasone group

Fig. 1 Pathological features of lung tissues in four groups of mice (×200)

$P < 0.05$; $t = -3.435$, $P < 0.01$), 芪仙汤组小鼠肺组织 PTEN 和 SIRT1 的表达量显著高于模型对照组 ($t = -2.309$, -2.588 , 均 $P < 0.05$), 见图 3。

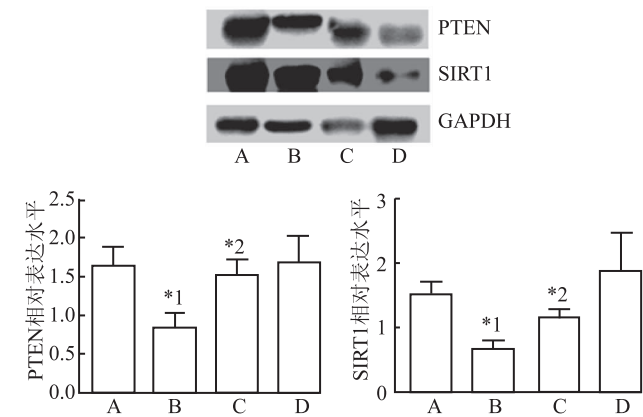


A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. 芪仙汤组; D. 地塞米松组; 与正常对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$; 与模型对照组比较, ^{*2} $P < 0.05$

图 2 4 组小鼠肺组织中 IL-5 和 IL-13 基因的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

A. normal control group; B. model control group; C. qixiantang decoction group; D. dexamethasone group; Compared with normal control group, ^{*1} $P < 0.05$; compared with model control group, ^{*2} $P < 0.05$

Fig. 2 Gene expression of IL-13 and IL-5 in lung tissues of four groups of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)



A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. 芪仙汤组; D. 地塞米松组; 与正常对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$; 与模型对照组比较, ^{*2} $P < 0.05$

图 3 4 组小鼠肺组织中 PTEN 和 SIRT1 的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

A. normal control group; B. model control group; C. qixiantang decoction group; D. dexamethasone group; Compared with normal control group, ^{*1} $P < 0.05$; compared with model control group, ^{*2} $P < 0.05$

Fig. 3 Expression of PTEN and SIRT1 in lung tissue of four groups of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

3 讨论

哮喘是一种气道慢性炎症性疾病, 先天性免疫和

获得性免疫系统中的许多细胞, 连同上皮细胞引起支气管高反应性, 黏液产生过剩, 气道炎症细胞浸润、气道重塑和气道狭窄。其 Th1/Th2 类细胞因子失衡状态可能是哮喘发病的重要原因, 特别是 Th2 细胞产生的细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13 在此过程中发挥巨大作用, 与哮喘发病密切相关^[3]。IL-5 在调控气道炎症细胞浸润 (特别是嗜酸性粒细胞) 中占据主要位置, 可以促进炎症细胞在气道内的聚集、浸润和活化^[4], DOLGIN^[5] 研究认为抗 IL-5 的生物制剂为重症哮喘提供了新的突破口, 而 IL-13 促进浆细胞分泌 IgE, 促进嗜酸性粒细胞释放趋化因子, 参与气道平滑肌收缩^[6]。本实验结果表明, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠的肺组织呈明显炎症细胞浸润, 而给予芪仙汤治疗以后, 气道炎症细胞浸润明显缓解, 气道黏液的分泌显著降低, 血清免疫球蛋白 IgE 浓度降低, IL-5 和 IL-13 的表达水平降低。说明芪仙汤可以抑制气道炎症反应, 改善小鼠肺脏的病理损伤。

芪仙汤是基于中医传统理论和临床实践总结的验方。久病必虚, 是疾病发展的一般规律, 当哮喘久发不愈, 可导致正气的不足。哮喘缓解期多为正虚与邪实并存的虚实夹杂证。《类证治裁》云: “肺为气之主, 肾为气之根, 肺主出气, 肾主纳气, 阴阳相交, 呼吸乃和, 若出纳升降失常, 斯喘作焉”; 朱丹溪云 “若无瘀血, 何致气道如此阻塞, 以致咳逆倚息不得卧哉”。由此可见肺肾气虚和瘀血是哮喘缓解期的两大病机。张介宾《景岳全书》说: “然发久者, 气无不虚, 故于消散中宜酌加温补, 于温补中酌加消散, 此等症候, 当倦倦以元气为念, 必使元气渐充”, 主张攻补兼施的治则。芪仙汤以 “二仙汤” 和 “补肺汤” 为基础方, 以补肾培本, 活血化痰, 降气消痰为治则, 攻补兼施。其中黄芪味甘、性温、归肺脾二经, 入肺补肺气, 入脾补益中土, 杜绝生痰之源, 仙灵脾补肾温阳、止咳平喘共为君药, 巴戟天补肾助阳, 虎杖活血散瘀共为臣药, 生地凉血活血, 川芎行气活血, 旋覆花降气消痰, 枇杷叶清肺止咳共为佐药, 全方攻补兼施, 临床效果显著。

药理实验也证明本方各药在治疗哮喘中发挥不同作用。在支气管哮喘小鼠中, 淫羊藿苷能促进嗜酸性粒细胞凋亡, 调节 Th17/Treg 细胞免疫功能, 抑制皮质酮的增加, 减少气道炎症^[7-9]。淫羊藿苷调节哮喘大鼠肺组织和脾淋巴细胞中 Th1/Th2 失衡相关转录因子 T-bet 和 GATA-3 的水平, 抑制哮喘大鼠肺组织中核因子- κ B、p65 蛋白的活性^[10]。黄芪中的主要活性成分为黄芪多糖、黄芪皂苷和黄芪异黄酮, 临床和实验研究发现黄芪甲苷具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、降糖和改善

心血管疾病等广泛的生物活性^[11-12]。旋覆花提取物抑制小鼠哮喘模型肺组织炎症细胞浸润和黏液分泌,抑制血清 IgE 水平,降低体外培养小鼠脾细胞培养液上清液中 Th2 型细胞因子,旋覆花提取物锦葵素抑制炎症单核细胞粘附^[13-14]。川芎可以舒张支气管平滑肌,改善肺功能,减轻炎症^[15-16]。叶建敏^[17]在川芎嗪对哮喘患儿外周血 Th1/Th2 细胞因子的影响研究中发现川芎嗪治疗组治疗后培养上清液中 IL-4 水平较治疗前明显下降。研究发现,虎杖的提取物白藜芦醇有显著的抗炎作用,在 OVA 诱导的哮喘模型小鼠中白藜芦醇通过上调 PTEN 的表达而发挥平喘作用^[18-20]。从巴戟天根中分离的水晶兰苷有镇痛抗炎作用^[21-23]。枇杷苷 I、熊果酸和总三萜酸是枇杷叶抗炎、止咳作用的主要成分^[24]。

本课题组通过大量临床实践发现芪仙汤对哮喘缓解期的疗效显著,李钊等^[25]对芪仙汤治疗难治性肺肾气虚型哮喘进行临床观察,发现芪仙汤对肺肾气虚型哮喘疗效显著。故本课题组通过动物实验探究芪仙汤治疗哮喘的机制。CAI 等^[26]发现以 OVA 致敏并激发制备大鼠慢性哮喘研究结果显示,哮喘反复发作时出现肺病及肾而致“肺肾两虚”的表现。故采用 OVA 致敏并激发建立哮喘肺肾气虚模型。SIRT1 是一个具有 NAD 依赖的Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶(HDAC),主要通过翻译后修饰调节肺免疫/炎症系统^[27-28]。WANG 等^[29]在 OVA 致敏哮喘小鼠模型中,证实血清 SIRT1 水平升高,而在肺组织中观察到低 SIRT1 的表达,认为上调哮喘肺组织 SIRT1 表达可为哮喘的治疗提供新的方案。IKENOUE 等^[30]认为,PTEN 磷酸酶链接 Treg 细胞稳定 1 型辅助性 T 细胞(Th1 细胞)抑制滤泡辅助性 T 细胞(Tfh 细胞)的反应。SHRESTHA 等^[31]认为,在 Treg 细胞 PTEN 缺失时导致自发性炎症性疾病。以上研究证明 PTEN 基因在哮喘炎症机制中发挥重要作用。CHAE 等^[32]研究发现 SIRT1 缺乏时会下调 PTEN/Akt/JNK 通路,阻断活性氧诱导的小鼠胚胎干细胞的凋亡。QU 等^[33]研究发现在哺乳动物细胞中,SIRT1 降低 PTEN 乙酰化水平。本次实验结果表明,模型对照组小鼠肺组织 PTEN 和 SIRT1 的表达量显著低于正常对照组,芪仙汤治疗后小鼠肺组织 PTEN 和 SIRT1 的表达量显著高于模型对照组。

本研究结果表明,芪仙汤具有抑制哮喘炎症的效果,其作用机制是通过上调 SIRT1/PTEN 通路的激活,即上调 SIRT1 和 PTEN。SIRT1 可能是调节 PTEN 的上游信号通路。

参考文献

- [1] MATHIAS C B. Natural killer cells in the development of asthma[J]. Current Allergy Asthma Reports, 2015, 15(2): 1-8.
- [2] IKENOUE T, INOKI K, ZHAO B, et al. PTEN acetylation modulates its interaction with PDZ domain[J]. Cancer Res, 2008, 68(17): 6908-6912.
- [3] BARNES P J. Th2 cytokines and asthma: an introduction[J]. Respir Res, 2001, 2(2): 64-65.
- [4] 胡娜,王红. Th2 细胞因子与支气管哮喘发病机制的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2008, 28(19): 1185-1187.
- [5] DOLGIN E. Anti-IL-5 biologics carve out severe-asthma niche[J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(11): 1075-1076.
- [6] MENZELLA F, LUSUARDI M, GALEONE C, et al. Tailored therapy for severe asthma[J]. Multidiscip Respira Med, 2015, 10(1): 1-8.
- [7] DU W J, DONG J C, CAI C. Effects of icariin on Bcl-2 and Bax protein expressions and eosinophils apoptosis in bronchial asthmatic mice[J]. Chin J Integ Tradit West Med, 2011, 31(9): 1248-1253.
- [8] LI B, DUAN X, XU C, et al. Icariin attenuates glucocorticoid insensitivity mediated by repeated psychosocial stress on an ovalbumin-induced murine model of asthma[J]. Int Immunopharm, 2014, 19(2): 381-390.
- [9] WEI Y, LIU B, SUN J, et al. Regulation of Th17/Treg function contributes to the attenuation of chronic airway inflammation by icariin in ovalbumin-induced murine asthma model[J]. Immunobiology, 2015, 220(6): 789-797.
- [10] XU C Q, LE J J, DUAN X H, et al. Molecular mechanism of icariin on rat asthmatic model[J]. Chin Med J, 2011, 124(18): 2899-2906.
- [11] 张丽敏,贺永贵,伊红丽,等. 黄芪甲苷药理作用研究进展[J]. 河北联合大学学报(医学版), 2014, 16(2): 160-161.
- [12] 路玲,王勇强,高红梅. 对黄芪调节革兰阳性菌脓毒症炎症反应部分机制的探讨[J]. 中国急救医学, 2015, (1): 9-14.
- [13] PARK Y N, LEE Y J, CHOI J H, et al. Alleviation of OVA-induced airway inflammation by flowers of *Inula japonica* in a murine model of asthma[J]. Biosci Biotech Biochem, 2011, 75(5): 871-876.
- [14] NAM K W, OH G T, SEO E K, et al. Nuclear factor kappaB-mediated down-regulation of adhesion molecules: possible mechanism for inhibitory activity of bigelovin against inflammatory monocytes adhesion to endothelial

- cells[J]. *J Ethnopharm*, 2009, 123(2): 250–256.
- [15] SHAO C R, CHEN F M, TANG Y X. Clinical and experimental study on *Ligusticum wallichii* mixture in preventing and treating bronchial asthma [J]. *中国中西医结合杂志*, 1994, 14(8): 465–468.
- [16] HU J Z, HUANG J H, XIAO Z M, et al. Tetramethylpyrazine accelerates the function recovery of traumatic spinal cord in rat model by attenuating inflammation[J]. *J Neurolog Sci*, 2013, 324(1): 94–99.
- [17] 叶建敏. 川芎嗪对哮喘患儿外周血 Th1/Th2 细胞因子的调节作用[J]. *医药导报*, 2008, 27(5): 538–539.
- [18] MA C, WANG Y, DONG L, et al. Anti-inflammatory effect of resveratrol through the suppression of NF- κ B and JAK/STAT signaling pathways [J]. *Acta Biochim Biophysica Sinica*, 2015, 47(3): 207–213.
- [19] ZHANG L, LI Y, GU Z, et al. Resveratrol inhibits enterovirus 71 replication and pro-inflammatory cytokine secretion in rhabdomyosarcoma cells through blocking IKKs/NF- κ B signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): 1–13.
- [20] CHEN G, TANG J H, NI Z, et al. Antiasthmatic effects of resveratrol in ovalbumin-induced asthma model mice involved in the upregulation of PTEN [J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(4): 507–513.
- [21] CHOI J, LEE K T, CHOI M Y, et al. Antinociceptive anti-inflammatory effect of monotropein isolated from the root of *morinda officinalis* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(10): 1915–1918.
- [22] SHIN J S, YUN K J, CHUNG K S, et al. Monotropein isolated from the roots of *Morinda officinalis* ameliorates proinflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages and dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis via NF- κ B inactivation [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 53(2): 263–271.
- [23] WANG F, WU L, LI L, et al. Monotropein exerts protective effects against IL-1-induced apoptosis and catabolic responses on osteoarthritis chondrocytes [J]. *Int Immunopharm*, 2014, 23(2): 575–580.
- [24] 王立为, 刘新民, 余世春, 等. 枇杷叶抗炎和止咳作用研究[J]. *中草药*, 2004, 35(2): 174–176.
- [25] 李钊, 罗旭明, 唐继红, 等. 芪仙汤治疗难治性的初步临床观察[J]. *青海医药杂志*, 2015, 45(1): 66–69.
- [26] CAI C, ZHANG H, LE J J, et al. Inflammatory airway features and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in asthmatic rats combined with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin Med J*, 2010, 123(13): 1720–1726.
- [27] SHI J, MENG A M, HOU Q. Sirtuin1 and lung disease [J]. *Acta Pharm Sinica*, 2012, 47(4): 417–420.
- [28] YAO H, RAHMAN I. Perspectives on translational and therapeutic aspects of SIRT1 in inflammaging and senescence [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(10): 1332–1339.
- [29] WANG Y, LI D, MA G, et al. Increases in peripheral SIRT1: a new biological characteristic of asthma [J]. *Respirology*, 2015, doi:10.1111/resp.12558.
- [30] IKENOUE T, INOKI K, ZHAO B, et al. PTEN acetylation modulates its interaction with PDZ domain [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(17): 6908–6912.
- [31] SHRESTHA S, YANG K, GUY C, et al. Treg cells require the phosphatase PTEN to restrain TH1 and TFH cell responses [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(2): 178–187.
- [32] CHAE H D, BROXMEYER H E. SIRT1 deficiency downregulates PTEN/JNK/FOXO1 pathway to block reactive oxygen species-induced apoptosis in mouse embryonic stem cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2010, 20(7): 1277–1285.
- [33] QU Y, ZHANG J, WU S, et al. SIRT1 promotes proliferation and inhibits apoptosis of human malignant glioma cell lines [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 525(2): 168–172.