

LY294002 对过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠氧自由基、TRPV1 神经元敏感性及 TSLP 表达的影响^{*}

李丽¹ 许翀² 柴若楠¹

(1. 中国人民解放军北部战区总医院过敏反应科, 辽宁 沈阳 110016; 2. 锦州医科大学过敏反应科, 辽宁 锦州 121001)

【摘要】 目的 研究 LY294002 对过敏性鼻炎-哮喘综合征(CARAS)大鼠氧自由基、TRPV1 神经元敏感性及 TSLP 表达的影响。**方法** 将 40 只大鼠随机分为健康组(健康大鼠常规饲养)、模型组(卵蛋白致敏和鼻部滴注攻击法建立过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠模型)、治疗组(模型+静脉注射 LY294002 0.5 mg/kg)、对照组(模型+布地奈德气雾剂)。ELISA 与免疫组织化学法检测 TSLP 表达, 黄嘌呤氧化酶法检测 SOD, TBA 法检测 MDA, HE 染色观察大鼠肺组织病理形态学变化, 免疫荧光检测 TRPV1 表达, 免疫印迹检测 NF- κ B、I κ B 蛋白表达。**结果** 与健康组相比, 模型组大鼠支气管及周围产生大量炎性细胞, 支气管黏膜水肿、增厚, 管腔狭窄, 黏液分泌增多; 与模型组比较, 治疗组与对照组肺组织病理明显改善。与健康组相比, 模型组 TRPV1、MDA、TSLP、NF- κ B 升高, SOD、I κ B 降低($P < 0.05$); 与模型组相比, 治疗组与对照组 TRPV1、MDA、TSLP、NF- κ B 降低, SOD、I κ B 升高($P < 0.05$); 治疗组与对照组各指标相比无差异($P > 0.05$)。**结论** 通过抑制 TRPV1、TSLP、MDA 并促进 SOD 表达, 降低了 CARAS 大鼠气道神经源性炎症、防止气道高反应性的产生并改善了氧化应激损伤及病理水平, 从而发挥治疗作用。

【关键词】 LY294002; 过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠; 氧自由基; TRPV1、TSLP

【中图分类号】 R765.21 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 09. 006

Effects of LY294002 on oxygen free radical, TRPV1 neuron sensitivity and TSLP expression in allergic rhinitis-asthma syndrome rats

LI Li¹, XU Chong², CHAI Ruonan¹

(1. Department of Allergy, General Hospital of PLA Northern Theater Command, Shenyang 110016, China;

2. Department of Allergy, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning, China)

【Abstract】 Objective To study the effects of LY294002 on oxygen free radical, TRPV1 neuronal sensitivity and TSLP expression in allergic rhinitis-asthma syndrome rats. **Methods** Forty rats were randomly divided into healthy group (healthy rats were routinely fed), model group (model of allergic rhinitis asthma syndrome was established by ovin sensitization and nasal drip attack), treatment group (model+intravenous injection of LY294002 0.5 mg/kg), and control group (model+budesonide aerosol). The expression of TSLP was detected by ELISA and immunohistochemistry, SOD was detected by xanthine oxidase, MDA was detected by TBA, histopathological changes of lung tissues were observed by HE staining, the expression of TRPV1 was detected by immunofluorescence, and the expressions of NF- κ B and I κ B were detected by western blot. **Results** Compared with the healthy group, there were a lot of inflammatory cells infiltration, bronchial mucosa edema and thickening, lumen narrowing and mucus secretion increased in model group. Compared with model group, the pathological changes of lung tissue in treatment group and control group were significantly improved. Compared with the healthy group, TRPV1, MDA, TSLP and NF- κ B were increased, while SOD and I κ B were decreased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, TRPV1, MDA, TSLP and NF- κ B were decreased in the treatment group and the control group, while SOD and I κ B were increased ($P < 0.05$). There was

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(2019-MS-356)

通讯作者: 柴若楠, E-mail: huquechen751@163.com

引用本文: 李丽, 许翀, 柴若楠. LY294002 对过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠氧自由基、TRPV1 神经元敏感性及 TSLP 表达的影响[J]. 西部医学, 2023, 35(9): 1276-1281. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 09. 006

no difference in the indexes between the treatment group and the model group ($P>0.05$). **Conclusion** By inhibiting TRPV1, TSLP and MDA and promoting the expression of SOD, the neurogenic inflammation of airway in CARAS rats is reduced, the generation of airway hyperreactivity is prevented and the level of oxidative stress injury and pathology is improved, thus playing a therapeutic role.

【Key words】 LY294002; Allergic rhinitis asthma syndrome rats; Oxygen free radical; TRPV1; TSLP

过敏性鼻炎-哮喘综合征(Combined allergic rhinitis and asthma syndrome, CARAS)是一种变态反应性疾病,近年来发病率逐年增加^[1]。磷酸酰肌醇-3 激酶(PI3K)被证实参与 CARAS 的产生及发展^[2],因此抑制 PI3K 对 CARAS 大鼠的治疗至关重要。瞬时感受器电位离子通道蛋白 1(Transient Receptor Potential Vanilloid type 1, TRPV1)主要定位在神经纤维中,可受多种因素激活,其中神经炎性介质也可直接或者间接激活 TRPV1。目前证实 TRPV1 参与咳嗽、疼痛、炎症、肿瘤等的产生及发展^[3-6]。目前已有多项研究证实 TRPV1 在过敏性鼻炎中为高表达^[7-8],但具体作用机制暂未完全掌握。另外在 CARAS 中炎症反应被认为是其产生及发展的重要因素之一。胸腺基质淋巴生成素(Thymicstromal lymphopoietin, TSLP)是炎症反应的启动因素。相关炎症因子刺激上皮细胞分泌 TSLP,通过促进树突细胞成熟诱导炎症因子的释放,最终导致淋巴细胞受到炎症因子浸润,加重哮喘炎症反应^[9]。氧化应激是 CARAS 的病理机制之一,会造成 DNA 损伤,可激活核转录因子(Nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)等,活化炎症因子,加重气道炎症反应^[10]。但目前关于 TRPV1、TSLP 在 CARAS 中作用的相关研究鲜少,具体机制尚不明确。因此,本文旨在研究 PI3K 抑制剂 LY294002 对过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠氧自由基、TRPV1 神经元敏感性及 TSLP 表达的影响,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级 SD 健康大鼠 40 只,购自苏州市顾秀实验动物设备公司[生产许可证号:SCXK(苏)-2019-0124],体质量在 200~300 g 之间,鼠龄在 6~8 周,适应饲养 1 周后进行实验。本次实验已通过我院动物伦理委员会审批(批号:20190204)。

1.2 主要实验试剂与仪器 BCA 试剂盒(上海酶联生物公司),TSLP 试剂盒(厦门仑昌硕生物科技有限公司),TSLP、NF- κ B、I κ B、TRPV1 一抗(南京森贝伽生物公司),苏木精染色液(厦门海标科技有限公司),辣根过氧化物酶二抗(上海李记生物科技有限公司),SOD、MDA 试剂盒(上海铭博生物科技有限公司),枸橼酸盐缓冲液(北京诺博莱德科技公司),凝胶成像仪

(上海贺琛能源科技有限公司,型号:GelSMART),酶标仪(青岛聚创环保集团有限公司,型号:JC-1087A)。

1.3 LY294002 混悬液配置 取 2 mg LY294002 粉末溶解于 200 μ L 的二甲基亚砜(DMSO)中,0.9% NaCl 溶液定容至 6 mL,震荡混匀。

1.4 模型建立 根据文献^[11]运用卵蛋白致敏和鼻部滴注攻击法建立过敏性鼻炎-哮喘大鼠模型:将卵蛋白于大鼠腹腔注射 2 周后在连续鼻部滴注 1 周,建模。从初次致敏第 7 d 开始运用卵蛋白滴鼻,10 μ L/1 次/d,共 7 d。后隔日给予 1 g/L 卵蛋白滴鼻,持续对鼻粘膜进行刺激。每隔 7 d 观察一次鼻部滴蛋白液 30 min 内搔鼻次数和喷嚏次数。记录大鼠鼻分泌物量、喷嚏次数及鼻痒程度。方法如下:①鼻涕流至前鼻孔为 1 分;超过前鼻孔为 2 分;涕流满面为 3 分。②喷嚏 4 个以内为 1 分;5~10 个为 2 分;10 个以上为 3 分。③鼻痒轻度抓鼻为 1 分;频繁抓为 2 分;不停抓为 3 分。总分超过 5 分为动物造模成功。30 只大鼠全部建模成功,均未发生死亡。

1.5 分组及干预 40 只大鼠随机分为健康组、模型组、治疗组、对照组,每组各 10 只。除正常组大鼠外,其余大鼠建立过敏性鼻炎-哮喘综合征模型。治疗组:大鼠静脉注射 LY294002(0.5 mg/kg),1 次/周,共 8 周。对照组:大鼠给予布地奈德气雾剂(鲁南贝特制药有限公司)经鼻吸入治疗,2 次/d,1~2 吸/次,共 8 周。实验期间动物自由进食、饮水,模型组与正常组注射等量生理盐水。

1.6 检测指标

1.6.1 ELISA 检测 TSLP 表达 治疗 8 周后,取 5 mg 左右肺组织,离心 5 min,1500 r/min,取上清。运用 ELISA 检测 TSLP 表达,实验步骤按照试剂盒说明进行。

1.6.2 免疫组织化学法检测 TSLP 在肺组织中蛋白含量 治疗 8 周后,取各组大鼠 5 mg 肺组织石蜡切片,脱蜡、脱水后 PBS 清洗,将肺组织切片浸染于 3% 过氧化氢溶液,约 10 min;0.01 mol/L PBS 冲洗 3 次,加热至沸腾后自然冷却,PBS 冲洗,封闭 0.5 h,一抗滴加 TSLP 抗体(1:100 稀释),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;PBS(0.01 mol/L)冲洗 3 次,1 次/5 min,在室温下滴加稀释度为 1:200 的生物素化山羊抗兔 IgG,孵育 0.5 h,PBS(0.01 mol/L)冲洗 3 次,1 次/5 min,室温 SABC 试剂浸

染 1 h; PBS(0.01 mol/L) 冲洗 2 次, 1 次/5 min, DAB 显色, 蒸馏水终止, 乙醇脱水, 二甲苯浸染 10 min(2 次), 中性树胶封片, 显微镜下观察, 用 Image Pro Plus 6.0 软件进行图片分析。

1.6.3 检测各组大鼠氧自由基相关指标表达 治疗 8 周后, 取各组大鼠 5 mg 肺组织剪碎, 裂解液裂解, 匀浆机匀浆制成 10% 悬液, 离心 5 min, 1250 r/min, 后取血清。格按照说明书进行, 黄嘌呤氧化酶法检测 SOD, TBA 法检测 MDA。

1.6.4 HE 染色观察小鼠肺组织病理形态学变化 治疗 8 周后, 取各组大鼠 10 mg 肺组织, 4% 多聚甲醛溶液中固定, -70 °C 冰箱中冻存。将石蜡切片置于 60 °C 的保温箱中 1 h, 经二甲苯及 70%~100% 等浓度的酒精反复脱蜡 5 次至水, 蒸馏水清洗, 苏木素染色 10 min, 蒸馏水冲洗, 待切片褪色适中后, 蒸馏水漂洗 1 h, 伊红复染后用 90% 和 100% 乙醇脱水 2 次, 1 min/次, 将切片彻底脱水, 再浸入二甲苯溶液中 10 min 进行透明, 把树胶滴在肺组织切片上, 盖玻片封固, 200 倍光学显微镜下观察肺组织的病理变化。

1.6.5 免疫荧光检测 TRPV1 表达 治疗 8 周后, 取各组大鼠 10 mg 肺组织石蜡切片脱蜡, 乙醇脱水后 PBS 冲洗, 封闭 1 h, PBS(0.01 mol/L) 冲洗 2 次, 1 次/5 min, 然后按照 1:100 稀释比例加入 TRPV1 一抗抗体, 4 °C 孵育过夜, 倒去 TRPV1 抗体, 0.01 mol/L PBS 冲洗 2 次, 1 次/5 min, 加入荧光标记二抗, 室温孵育 1 h, PBS 虫死, DAPI 染色, 室温孵育染色 5 min, PBS 冲洗, 加入抗荧光淬灭封片液, 盖玻片封片后共聚焦显微镜下观察。TRPV1 绿色荧光, 细胞核 DAPI 为蓝色荧光; 用

Image Pro Plus 6.0 软件进行图片分析。

1.6.6 免疫印迹检测 NF- κ B、I κ B 蛋白表达 10 mg 肺组织剪碎后研磨, 裂解液裂解后匀浆机匀浆, 离心 5 min, 1500 r/min, 取上清。BCA 法测定总蛋白, 调整蛋白浓度后电泳仪电泳, 后将蛋白样品转至 PVDF 膜上, 脱脂奶粉封闭 1 h, 加入 NF- κ B、I κ B 一抗 4 °C 孵育过夜, PBS 清洗后, 加入羊抗兔二抗室温孵育 2 h, PBS 清洗, ECL 法显色, 凝胶成像仪观察, 以 Image J 分析各组蛋白的相对表达量。

1.7 统计学分析 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析, 实验数据符合正太分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间对比采用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清及肺组织中 TSLP 表达 与健康组相比, 模型组大鼠血清中 TSLP 及肺组织蛋白含量的表达升高 ($P < 0.05$), 与模型组相比, 治疗组与对照组大鼠血清中 TSLP 及肺组织蛋白含量的表达降低 ($P < 0.05$), 治疗组与对照组大鼠血清及肺组织中 TSLP 表达对比无差异 ($P > 0.05$), 见表 1、图 1。

表 1 各组大鼠 TSLP 表达对比 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Comparison of TSLP expression in each group

分组	血清 TSLP(ng/mL)	蛋白 TSLP(pg/mL)
健康组	113.64 $\pm$ 12.45	19.84 $\pm$ 1.84
模型组	178.65 $\pm$ 16.24 ^①	52.31 $\pm$ 4.25 ^①
治疗组	142.54 $\pm$ 13.87 ^②	34.26 $\pm$ 3.31 ^②
对照组	145.39 $\pm$ 13.62 ^②	35.71 $\pm$ 3.22 ^②
F	35.520	284.900
P	<0.001	<0.001

注: 与健康组相比, ① $P < 0.05$; 与模型组相比, ② $P < 0.05$ 。

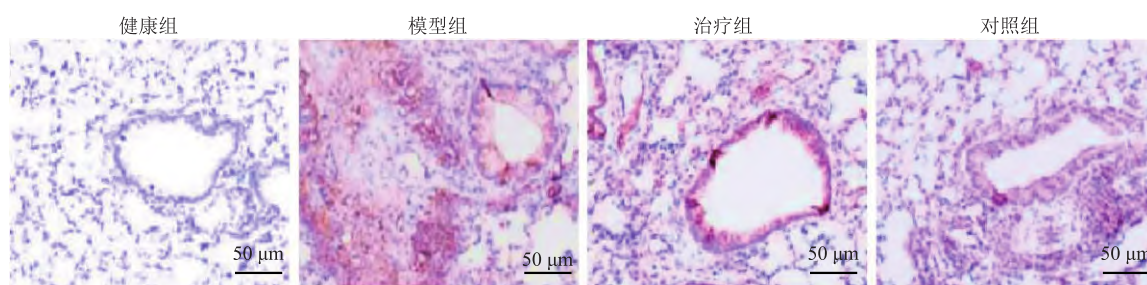


图 1 免疫组织化学法检测各组中 TSLP 蛋白含量 (200 $\times$)

Figure 1 The content of TSLP protein in each group was detected by immunohistochemistry

2.2 各组大鼠氧自由基相关指标表达 与健康组相比, 模型组大鼠肺组织中氧自由基相关指标 SOD 表达降低、MDA 表达升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 治疗组与对照组 SOD 表达升高、MDA 表达降低 ($P < 0.05$); SOD、MDA 在治疗组与对照组中的表达无差异 ($P > 0.05$), 见表 2、图 2。

2.3 各组大鼠肺组织病理形态 与健康组相比, 模

表 2 各组大鼠 SOD、MDA 表达对比 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison of SOD and MDA expression in each group

分组	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)
健康组	22.45 $\pm$ 3.14	1.73 $\pm$ 0.52
模型组	10.24 $\pm$ 2.57 ^①	3.54 $\pm$ 0.49 ^①
治疗组	19.15 $\pm$ 3.61 ^②	2.16 $\pm$ 0.64 ^②
对照组	18.67 $\pm$ 3.79 ^②	2.18 $\pm$ 0.59 ^②
F	24.700	19.500
P	<0.001	<0.001

注: 与健康组相比, ① $P < 0.05$; 与模型组相比, ② $P < 0.05$ 。

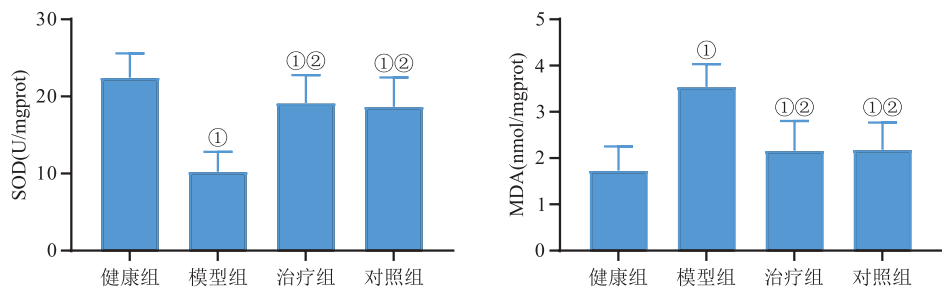


图 2 各组大鼠 SOD、MDA 表达对比
Figure 2 Comparison of SOD and MDA expression in each group
注：与健康组相比，① $P<0.05$ ；与模型组相比，② $P<0.05$ 。

型组大鼠肺组织中支气管及管壁产生大量炎性细胞，支气管黏膜水肿、增厚，管腔狭窄，黏液分泌增多；与模型组比较，治疗组与对照组肺组织病理明显有所改善，见图 3。

2.4 各组大鼠肺组织 TRPV1 表达 与健康组相比，模型组大鼠肺组织中 TRPV1 蛋白含量明显增加($P<0.05$)，与模型组相比，治疗组与对照组 TRPV1 蛋白含量明显降低($P<0.05$)，见图 4A、B。

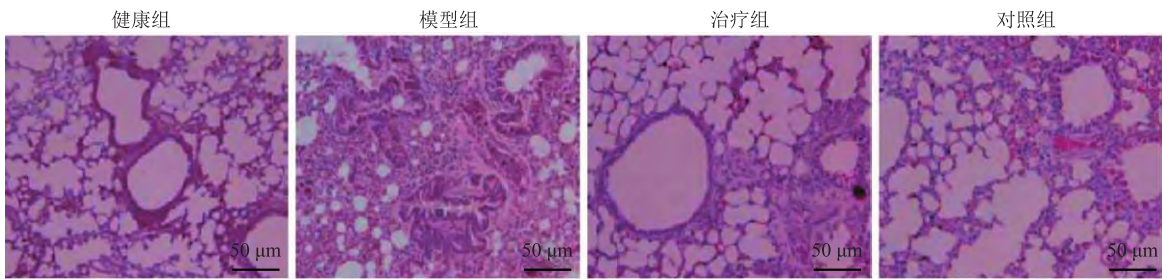


图 3 HE 染色观察各组大鼠肺组织病理形态(200×)
Figure 3 HE staining was used to observe the pathological morphology of lung tissue in each group

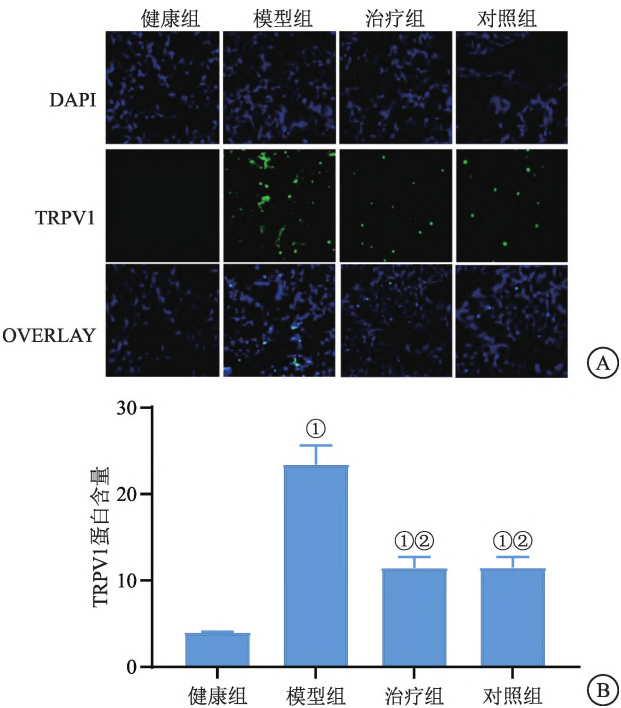


图 4 各组大鼠肺组织 TRPV1 表达
Figure 4 TRPV1 expression in lung tissue of rats in each group
注：A. TRPV1 免疫荧光检测；B. 各组 TRPV1 蛋白含量对比。与健康组相比，① $P<0.05$ ；与模型组相比，② $P<0.05$ 。

2.5 各组大鼠肺组织 NF- κ B、I κ B 蛋白表达 与健康组相比，模型组大鼠肺组织中 NF- κ B 蛋白表达升高、I κ B 蛋白表达降低($P<0.05$)；与模型组相比，治疗组与对照组 NF- κ B 表达降低、I κ B 表达升高($P<0.05$)；NF- κ B、I κ B 在治疗组与对照组中的表达无差异($P>0.05$)，见表 3、图 5。

表 3 各组大鼠 NF- κ B、I κ B 蛋白表达对比($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of NF κ B and I κ B protein expression in each group			
分组	NF- κ B	I κ B	
健康组	0.43 $\pm$ 0.03	1.58 $\pm$ 0.13	
模型组	1.48 $\pm$ 0.15 ^①	0.62 $\pm$ 0.05 ^①	
治疗组	0.93 $\pm$ 0.07 ^{①②}	1.14 $\pm$ 0.10 ^{①②}	
对照组	0.98 $\pm$ 0.06 ^{①②}	1.18 $\pm$ 0.08 ^{①②}	
F	20.880	173.300	
P	<0.001	<0.001	

注：与健康组相比，① $P<0.05$ ；与模型组相比，② $P<0.05$ 。

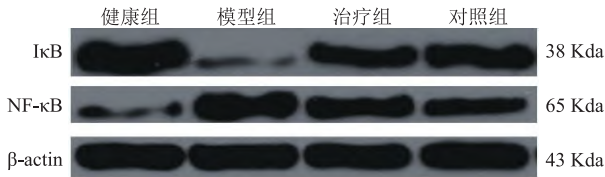


图 5 免疫印迹检测各组大鼠 NF- κ B、I κ B 蛋白表达对比
Figure 5 Western blotting was used to detect the expression of NF κ B and I κ B in each group

3 讨论

CARAS 会使气道通气阻力增加,其在发病过程中会释放大量的炎症介质,此时机体会产生大量的氧自由基。氧自由基会造成机体细胞及组织等损伤,增加自由基的产生,从而导致 SOD 等拮抗物消耗增加,引发脂质过氧化反应使得 MDA 增加,形成恶性循环损伤气道,从而加重炎症反应,致使气道炎症发生^[12]。因此,清除过多的氧自由基和氧化反应产物对 CARAS 的治疗至关重要。研究发现,活性氧能够激活 PI3K/AKT 信号通路,促进转录因子,如 NF- κ B 的激活^[13]。NF- κ B 激活后诱导白介素-4 等促炎细胞因子的表达,导致气道纤维化,平滑肌细胞增殖等进一步加重哮喘。本实验结果显示,与健康大鼠相比,模型大鼠体内 SOD 表达降低、MDA 升高,在经过 PI3K 抑制剂 LY294002 干预后 SOD 表达升高、MDA 降低,且为了验证实验的准确性,本文运用治疗过敏性鼻炎-哮喘综合征较为成熟的药物布地奈德进行对比,发现治疗组与对照组 SOD、MDA 表达对比无意义,提示 LY294002 具有维持氧自由基生成与清除的动态平衡,可能是治疗 CARAS 的作用机制。

TRPV1 可对多种有害刺激做出反应^[14]。TRPV1 可增加咳嗽的敏感性,与咳嗽反应强度呈正相关。当呼吸道受到感染后前列腺素 E₂ 合成增加并与其受体结合,通过相关蛋白转导,活化 TRPV1 通道。氧化应激反应时刺激 TRPV1 的主要因素。被活性氧消化还原的谷胱甘肽可增加蛋白激酶 C 的活化,活化的该指标可磷酸化 TRPV1,TRPV1 活化后导致神经末梢释放神经介质如 SP 增加,SP 增加会刺激气道引起咳嗽^[15]。丁惠娟等^[16]研究提示,在坐骨神经慢性结扎损伤模型中,PI3K/Akt 通过上调 TRPV1 的表达,参与 CCI 致神经病理性疼痛的形成。Liu 等^[17]在对脑损伤大鼠的实验研究中提出,通过刺激通过 TRPV1 表达后可激活 PI3K/Akt 信号通路,从而诱导脑损伤,抑制 TRPV1 表达后,PI3K/Akt 激活受到抑制,有助于缓解脑损伤严重情况。上述研究均提示,PI3K/Akt 通路与 TRPV1 可相互调节,具有一定的相关性。本实验结果显示,与健康大鼠相比,模型大鼠 TRPV1 表达显著增加,在经过给予 PI3K 抑制剂 LY294002 后,TRPV1 表达显著下降,提示 LY294002 可抑制 TRPV1 表达,从而降低过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠气道神经源性炎症,最终达到治疗该病的效果。

过敏性炎症中多种因素均可刺激 TSLP 表达,其中 NF- κ B 通路是调控 TSLP 表达的重要机制^[18]。研究提示,TNF- α 通过刺激 NF- κ B 通路,从而诱导气道上皮细胞分泌 TSLP;I κ B 升高或 NF- κ B 信号抑制剂

干预,则减少上皮细胞表达 TSLP^[19]。另有研究证实,人基因启动子位点含有 NF- κ B 的结合位点是 TSLP 蛋白表达所必需的^[20]。此外,NF- κ B 通路通过调控相关促炎因子等的表达促进气道上皮细胞中 TSLP 的表达,最终引起呼吸道炎症产生。在敲除 TSLP 和过表达 TSLP 的动物模型上,过表达 TSLP 肺组织炎症反应增加并伴有气道高反应产生,而在 TSLP 敲除小鼠肺组织中没有产生明显的过敏性哮喘相关症状。以上结论均提示,NF- κ B 通路可刺激 TSLP 表达升高,从而引起肺组织炎症产生,诱发气道高反应性产生。研究还发现,PI3K 是多种信号通路的关键分子,影响炎症细胞的募集、激活及凋亡等^[21]。本实验结果显示,与健康大鼠相比,模型组 TSLP、NF- κ B 升高,I κ B 降低,在经过 PI3K 抑制剂 LY294002 干预后,TSLP、NF- κ B 降低,I κ B 升高。刘双等^[22]研究提示,AKT 通过刺激 I κ B 磷酸化,从而激活 NF- κ B 使其磷酸化,发挥转录调控的作用,从而调控炎症因子的合成和释放。结合上述结论,本研究认为,LY294002 通过抑制 PI3K 水平,降低了 NF- κ B 的活性,并抑制 I κ B 的降解,从而抑制了 TSLP 的表达,防止气道高反应性的产生,阻滞疾病恶性发展。

4 结论

综上所述,通过抑制 TRPV1、TSLP、MDA 并促进 SOD 表达,降低了 CARAS 大鼠气道神经源性炎症、防止气道高反应性的产生并改善了氧化应激损伤及病理水平,从而发挥治疗作用。

【参考文献】

- [1] BARROS G, FERREIRA L, FERREIRA L, *et al.* 4-Carvomenthenol ameliorates the murine combined allergic rhinitis and asthma syndrome by inhibiting IL-13 and mucus production via p38MAPK/NF- κ B signaling pathway axis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88:106938.
- [2] 孟芝, 方向明. 平喘宁对寒性哮喘大鼠 PI3K/Akt 信号通路相关信号分子表达的影响 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2019, 38(3): 75-79.
- [3] 王颖, 史利卿, 马建岭, 等. 祛风宣肺方对咳嗽高敏感性豚鼠神经源性炎症的作用及机制研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2020, 43(4): 304-309.
- [4] SCHWARZ M G, NAMER B, REEH P W, *et al.* TRPA1 and TRPV1 Antagonists Do Not Inhibit Human Acidosis-Induced Pain [J]. *J Pain*, 2017, 18(5): 526-534.
- [5] K SATTTLER, EL-BATTRAWY I, CYGANIEK L, *et al.* TRPV1 activation and internalization is part of the LPS-induced inflammation in human iPSC-derived cardiomyocytes [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 14689.
- [6] 余潮, 钱开宇. TRPV1 及其激动剂辣椒素在膀胱癌中的作用 [J]. *医学综述*, 2019, 25(13): 42-48.

- [7] 刘莉莉. 鼻内针刺治疗变应性鼻炎临床疗效及基于“TRPV1/SP”炎性机制研究[D].北京中医药大学,2019.
- [8] 关东朗. TRPV1 参与过敏性鼻炎机制研究[D].南京中医药大学,2021.
- [9] 王华, 王嵩, 丁肖媛, 等. 玉屏风散对哮喘模型小鼠气道上皮细胞表达 TSLP 的影响[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(2):4-8.
- [10] 李春雷, 史琦, 阎玥, 等. 芪味理肺汤对哮喘大鼠血清清除氧自由基能力的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(5):16-21.
- [11] 史锁芳, 周奎龙. 过敏性鼻炎-哮喘综合征大鼠模型的建立与评价[J]. 江西中医药大学学报, 2014, 26(3):71-74.
- [12] LI X, MA L, JI H, *et al.* Resveratrol protects against oxidative stress by activating the Keap-1/Nrf2 antioxidant defense system in obese-asthmatic rats[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4339-4348.
- [13] 金炳熔, 车楠, 李良昌, 等. 番茄红素抗哮喘作用及机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(3):5-11.
- [14] X JING, YAN W, ZENG H, *et al.* Qingfei oral liquid alleviates airway hyperresponsiveness and mucus hypersecretion via TRPV1 signaling in RSV-infected asthmatic mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 128(8): 110340.
- [15] 马素忍. TRPV1 敏感性调节药物对咳嗽高敏综合征的治疗作用及机制的探讨[D].北京协和医学院,2019.
- [16] 丁惠娟, 程智刚. PI3K/Akt 介导 TRPV1 表达上调参与 CCI 大鼠神经病理性疼痛[J]. 中国医师杂志, 2018, 20(9):119-121.
- [17] LIU Y, LIU Y, JIN H, *et al.* Cold stress-induced brain injury regulates TRPV1 channels and the PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Brain Research*, 2017, 1670:201.
- [18] 康君. DNP 通过激活 NF- κ B 调节 TRPA1 离子通道加重小鼠过敏性皮炎[D]. 华中师范大学, 2018.
- [19] 潘增峰. 儿茶素抑制 NF- κ B-TSLP 通路缓解过敏性哮喘小鼠炎症反应[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(2):6.
- [20] 李金泉. 过敏性疾病自然进程分子机制的探索及臭氧的诱导作用[D].华中师范大学,2018.
- [21] MATOBA A, MATSUYAMA N, SHIBATA S, *et al.* The free fatty acid receptor 1 promotes airway smooth muscle cell proliferation through MEK/ERK and PI3K/Akt signaling pathways[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314(3): L333-L348.
- [22] 刘双, 王雪峰, 郝欧美. 清肺通络膏对 IV 性肺炎大鼠肺组织 PI3K/AKT/NF-KBP65 蛋白表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(9):4-9.

(收稿日期:2022-07-06;修回日期:2023-06-27;编辑:张翰林)

(上接第 1275 页)

- [14] OKAMOTO A, FUNAKOSHI Y, OE M, *et al.* Identification of breast cancer stem cells using a newly developed long-acting fluorescence probe, C5S-A, targeting ALDH1A1 [J]. *Anticancer Res*, 2022, 42(3): 1199-1205.
- [15] AL-KAABI M, NOEL K, AL-RUBAI A J. Evaluation of immunohistochemical expression of stem cell markers (NANOG and CD133) in normal, hyperplastic, and malignant endometrium[J]. *J Med Life*, 2022, 15(1):117-123.
- [16] BUYUK B, JIN S, YE K. Epithelial-to-mesenchymal transition signaling pathways responsible for breast cancer metastasis [J]. *Cell Mol Bioeng*, 2021, 15(1): 1-13.
- [17] PARK M, KIM D, KO S, *et al.* Breast cancer metastasis: mechanisms and therapeutic implications [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(12): 6806.
- [18] YAN P, LYU X, WANG S, *et al.* Insufficient ablation promotes the metastasis of residual non-small cell lung cancer (NSCLC) cells via upregulating carboxypeptidase A4[J]. *Int J Hyperthermia*, 2021, 38(1): 1037-1051.
- [19] SHAO Q, ZHANG Z, CAO R, *et al.* CPA4 promotes EMT in pancreatic cancer via stimulating PI3K-AKT-mTOR signaling [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 8567-8580.
- [20] MIGUEL R M, NATALIA A B. The Cross-Talk Between EGFR and E-Cadherin[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 9:828673.
- [21] FU Y, SU L, CAI M, *et al.* Downregulation of CPA4 inhibits non small-cell lung cancer growth by suppressing the AKT/c-MYC pathway[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(11): 2026-2039.
- [22] PAN H, PAN J, JI L, *et al.* Carboxypeptidase A4 promotes cell growth via activating STAT3 and ERK signaling pathways and predicts a poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 138:125-134.

(收稿日期:2022-07-29;修回日期:2023-08-29;编辑:张翰林)