

银杏叶提取物联合泼尼松对慢性阻塞性肺疾病小鼠 Ghrelin-Obestatin 信号通路的影响

倪建新(深圳市宝安区人民医院, 广东 深圳 518109)

摘要: 目的 研究银杏叶提取物联合泼尼松对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)小鼠 Ghrelin-Obestatin 信号通路的影响。方法 40 只健康 SPF 小鼠随机分为 5 组。空白组不做处理, 其余 4 组均诱导造 COPD 小鼠模型, 在造模第 8 天开始, 3 组治疗组分别灌胃银杏叶提取物($0.4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、泼尼松($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、联合药物治疗($0.4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 银杏叶提取物+ $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 泼尼松), 空白组、模型组予以生理盐水, 连续给药 28 d, 采用 Buxco 系统检测小鼠肺功能 PIF、PEF、MV 后处死小鼠, 采血样及肺组织样本。HE 染色考察肺组织病理学变化; RT-PCR 检测肺组织 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 表达; Western blotting 检测肺组织 Ghrelin、GHSR、Obestatin、GPR39 蛋白含量; ELISA 检测血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平。结果 与模型组相比, 不同给药组均减轻 COPD 小鼠肺组织病理损伤, 联合用药组效果最佳; 联合用药组肺功能 PIF、PEF、MV 较模型组明显升高($P<0.05$); 联合用药组 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 及蛋白表达较模型组明显升高($P<0.05$), Obestatin 蛋白表达较模型组明显升高($P<0.05$); 仅联合用药组血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 含量较模型组明显降低($P<0.05$), 效果优于单一药物组。结论 银杏叶提取物联合泼尼松可影响 Ghrelin-Obestatin 信号通路, 减轻炎症反应, 改善肺功能, 且较单一用药效果更佳。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; 银杏叶提取物; 泼尼松; Ghrelin-Obestatin 信号通路; 小鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)07-0826-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.07.010

引用本文: 倪建新. 银杏叶提取物联合泼尼松对慢性阻塞性肺疾病小鼠 Ghrelin-Obestatin 信号通路的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(7): 826-831.

Effects of Ginkgo Folium Extract Combined with Prednisone on Ghrelin-Obestatin Signaling Pathway in Mice with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

NI Jianxin(Shenzhen Baoan District People's Hospital, Shenzhen 518109, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of Ginkgo Folium extract combined with prednisone on Ghrelin-Obestatin signaling pathway in mice with chronic obstructive pulmonary disease(COPD). **METHODS** Forty healthy SPF mice were randomly divided into 5 groups, the blank group was not treated, and the other 4 groups of mice were induced with COPD model. On the 8th day of modeling, the three groups were treated with Ginkgo Folium extract($0.4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), prednisone($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and combination therapy($0.4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ Ginkgo Folium extract+ $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ prednisone), while the blank group and model group were given normal saline. The mice were examined for lung function PIF, PEF and MV using the Buxco system and then the mice were sacrificed after 28 d of continuous administration. Blood samples and lung tissue samples were taken. HE staining was used to investigate the pathological changes of lung tissue; RT-PCR was used to detect the expression of Ghrelin, GHSR and GPR39 mRNA in lung tissue; Western blotting was used to detect the content of Ghrelin, GHSR, Obestatin and GPR39 in lung tissue; serum levels of TNF- α , IL-6 and IL-8 were measured by ELISA. **RESULTS** Compared with model group, different groups of administration alleviated the pathological damage of lung tissue in COPD mice, and the effect of combination group was the best. The PIF, PEF and MV of pulmonary function in combination group were significantly higher than model group($P<0.05$); the mRNA and protein expression of Ghrelin, GHSR and GPR39 in combination group was significantly higher than that in model group($P<0.05$), and the expression of Obestatin protein was significantly higher than that in model group($P<0.05$); the levels of serum TNF- α , IL-6 and IL-8 in combination group were significantly lower than those in model group($P<0.05$), and the effect was better than single drug groups. **CONCLUSION** Ginkgo Folium extract combined with prednisone can affect the Ghrelin-Obestatin signaling pathway, significantly reduce inflammation and improve lung function and it is better than single drug.

KEYWORDS: chronic obstructive pulmonary disease; Ginkgo Folium extract; prednisone; Ghrelin-Obestatin signaling pathway; mice

作者简介: 倪建新, 男, 副主任中药师 Tel: 13510090161 E-mail: nijianxin6789@126.com

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是以持续气流受限为特征的可预防、治疗的疾病,发展过程中常合并复杂的肺外表现和并发症因素^[1],营养不良是影响 COPD 预后的独立危险因素和导致患者高死亡率的原因之一^[2]。Ghrelin 与 Obestatin 能够通过与中枢食欲调节网络相互作用,具有调节摄食、影响胃肠功能、控制体质量的作用,二者功能的动态平衡可能是机体调控能量代谢与体质量平衡的一个重要机制^[3]。银杏提取物可减少肺组织纤维化^[4],而泼尼松具有抗炎作用^[5],关于二者联合应用是否能通过影响 Ghrelin-Obestatin 信号通路而阻断 COPD 发展目前报道较少。因此,本研究建立小鼠 COPD 模型,采用银杏叶提取物联合泼尼松治疗,评估疗效并研究是否通过影响 Ghrelin-Obestatin 信号通路发挥治疗效果,为二者联合用药治疗 COPD 提供临床指导意义及科研依据。

1 材料

1.1 动物

40 只健康 SPF 级昆明小鼠,♀♂各半,体质量为 18~22 g,购于成都硕达实验动物有限公司。生产许可证号:SCXK(川)2015-030;使用许可证号:SYXK(川)2014-189。

1.2 材料

银杏叶提取物(舒血宁注射液,河北神威药业,折合银杏叶提取物 17.5 mg,批号:Z13020795;规格:每支 5 mL);泼尼松(哈药集团,批号:120031);黄果树牌香烟(贵州中国工业有限责任公司,批号:0901028095884;焦油量 11 mg、烟气烟碱量 1.0 mg、烟气一氧化碳量 13 mg);TNF- α (货号:ZC-39024)、IL-6(货号:ZC-37988)、IL-8(货号:ZC-37953)试剂盒均购自上海茁彩;RNA 提取试剂盒(Invitrogen,批号:RE-03014);一抗 Ghrelin(圣克鲁斯生物,货号:sc-2934221;稀释比 1:500);Obestatin(上海优宁维生物,货号:orb48737;稀释比 1:600);GHSR(货号:abs133173;稀释比 1:500)、GPR39(货号:abs133122;稀释比 1:500)、 β -actin(货号:abs118937;稀释比 1:10 000)均购自上海爱必信;BCA 蛋白浓度试剂盒(碧云天生物,批号:P0009)。

1.3 仪器

PHY-III型病理组织漂烘仪(常州市中威电子仪器有限公司);BA400Digital 数码三目摄像显微

镜(麦克奥迪实业集团有限公司);SpectraMAX Plus384 型酶标仪(美谷分子仪器有限公司);PIKORed 96 型实时荧光定量(RT-PCR)仪(美国 ThermoFisher 仪器有限公司);JY200C 型电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司)。

2 方法

2.1 分组

试验动物随机分为空白组、模型组、银杏叶提取物组、泼尼松组、联合用药组(银杏叶提取物联合泼尼松)5 组,每组 8 只,清洁级实验室饲养。

2.2 小鼠 COPD 模型构建

采用烟熏加滴注脂多糖复合臭氧暴露的方法建立 COPD 小鼠模型^[6]。第 1, 14 天,4%戊巴比妥钠 2 mL·kg⁻¹腹腔注射麻醉小鼠,空白组经气道注入 0.2 mL 生理盐水,其余各组经气道滴注 0.2 mL 脂多糖[0.1 mL·(100 μ g)⁻¹]。除空白组外,其余各组第 2~13, 15~28 天给予烟熏,每日将小鼠放入自制的烟熏箱中(50 cm×35 cm×35 cm),于每天 9:00—10:10、15:00—16:10 给予被动吸烟,每次持续 30 min 后间隔 10 min 再给予第 2 次被动吸烟,烟熏结束后常规饲养。烟熏期间每周臭氧消毒 1 次,每次仪器开启 5 s,密闭 5 min,重复操作 2 次,造模共臭氧 4 次。

2.3 给药方法

每组小鼠在造模第 8 天开始灌胃给药。空白组、模型组:生理盐水,每只 1 mL;银杏叶提取物组:银杏叶提取物 0.4 mL·kg⁻¹^[7];泼尼松组:泼尼松 10 mg·kg⁻¹;联合用药组:先后灌胃 0.4 mL·kg⁻¹银杏叶提取物及 10 mg·kg⁻¹泼尼松,每组均每日 1 次。于每日上午给药,连续给药 28 d,于末次给药 2 h 后检测肺功能后处死小鼠,取样。

2.4 样本采集

剪开小鼠腹腔,腹主动脉取血 1 mL,3 000 r·min⁻¹低温离心 15 min,分离血清,-80 °C 冰箱保存。小鼠处死后,解剖取肺,剪下下叶,每只小鼠的组织样本分为 2 份,一份于 4%多聚甲醛固定,用于后续组织病理检测,另一份于-80 °C 低温保存,用于后续 RT-PCR 检测。

2.5 检测项目

2.5.1 肺功能检测 采用 Buxco 的非束缚清醒动物全身体积描记系统检测各组小鼠的肺功能,具体检测指标:吸气峰流量(peak inspiratory flow, PIF);呼气峰流量(peak expiratory flow, PEF);每

分钟通气量(minute volume, MV)。

2.5.2 病理组织学检测 将固定的肺组织按常规方法制备石蜡切片, HE 染色, 镜检观察。

2.5.3 ELISA 检测血清因子 取血清, 用 ELISA 试剂盒测定血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平。

2.5.4 RT-PCR 检测肺组织 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 表达 采用 RNA 提取试剂盒提取肺组织总 RNA, 测定 A_{260} 和 A_{280} 吸光度值, 琼脂糖电泳法确定 RNA 的完整性后, 依据 mRNA 反转录试剂盒说明, 合成 cDNA, 依据引物设计原则、文献记载和对基因库检索结果, 确定目的基因和内参基因的扩增引物序列见表 1。

表 1 PCR 扩增引物

Tab. 1 PCR amplification primers

扩增片段	引物	序列
GHRELIN	上游	5'-ATGGTGTCTTCACGCGACT ATC-3'
	下游	5'-ACTTGT AGCTGGCGCCTCT-3'
GHSR	上游	5'-CGTTGGACCTGGATTGG-3'
	下游	5'-GTGAGGACCG TGGCGTA-3'
GPR39	上游	5'-CCAAGCGTCCGCACTGTAAC-3'
	下游	5'-CCATGTC ACCACGAT CAGTC-3'
β -actin	上游	5'-CTGCCGCATCCTCTTCCTC-3'
	下游	5'-CTCCT GCTTGCTGATCCACAT-3'

PCR 反应体系 25 μ L, 逆转录反应条件为 50 $^{\circ}$ C 40 min; PCR 扩增反应条件为 94 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 10 min, -70 $^{\circ}$ C 保存; 以 Ghrelin、GHSR、GPR39 与内参的 PCR 产物条带灰度值之比作为 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 的相对表达量。

2.5.5 Western blotting 检测肺组织 Ghrelin、GHSR、Obestatin、GPR39 蛋白表达 取肺组织采用 RIPA 裂解液低温提取总蛋白。BCA 法测定总蛋白量, 于 6%~12% SDS-PAGE 行组织蛋白电泳, 转于 PVDF 膜上, 根据目的蛋白选择相应的条带, 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h, 洗膜后加入稀释后的一抗 Ghrelin(稀释比 1:500); Obestatin(稀释比 1:600); GHSR(稀释比 1:500); GPR39(稀释比 1:500); β -actin(稀释比 1:10 000)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 二抗反应。取出聚偏氟乙烯膜, 化学发光法获得胶片后进行图像采集, 目标条带 A 值采用 Quantity One 凝胶图像软件分析, 以目标条带与 β -actin 条带 A 值的比值作为 Ghrelin、GHSR、Obestatin、GPR39 活性相对表达量。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计处理, 试验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用单因素方差统计分析, 检验水准 α 均设定为 0.05。

3 结果

3.1 一般情况

空白组小鼠未发现明显异常; 模型组小鼠表现消瘦, 皮毛无光泽, 活动减少, 饮食、饮水量减弱, 熏烟时喜扎堆, 呼吸急促, 张口呼吸明显, 腹部胀大等情况; 银杏叶提取物组、泼尼松组小鼠体质量、食欲等情况均有不同程度的改善, 其中联合用药组改善明显。在试验期间, 模型组小鼠死亡 1 只, 联合用药组小鼠死亡 1 只, 未进行检测。

3.2 肺功能数值比较

造模成功后, 模型组较空白组肺功能 PIF、PEF、MV 明显降低($P<0.05$)。经不同药物干预, 与模型组相比, 银杏叶提取物组、泼尼松组、联合用药组 PIF、PEF、MV 明显增加($P<0.05$), 联合用药组增加较明显。结果见表 2。

表 2 小鼠肺功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of lung function indexes in mice($\bar{x} \pm s$)

分组	n	mL $\cdot$ s $^{-1}$		
		PIF	PEF	MV
空白组	8	4.68 $\pm$ 0.25 ¹⁾	3.24 $\pm$ 0.14 ¹⁾	39.79 $\pm$ 2.69 ¹⁾
模型组	7	2.87 $\pm$ 0.18	1.86 $\pm$ 0.13	26.07 $\pm$ 2.30
银杏叶提取物组	8	3.29 $\pm$ 0.17 ¹⁾	2.43 $\pm$ 0.15 ¹⁾	31.91 $\pm$ 2.58 ¹⁾
泼尼松组	8	3.29 $\pm$ 0.16 ¹⁾	2.61 $\pm$ 0.19 ¹⁾	32.83 $\pm$ 2.78 ¹⁾
联合用药组	7	3.60 $\pm$ 0.36 ¹⁾	2.75 $\pm$ 0.15 ¹⁾	34.96 $\pm$ 2.36 ¹⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the model group, ¹⁾ $P<0.05$.

3.3 病理组织学观察

空白组: 可见支气管黏膜上皮纤毛排列整齐, 未见腺体增生, 肺泡大小、结构正常, 无炎性细胞浸润。模型组: 可见支气管黏膜上皮脱落, 纤毛倒伏、断裂, 大量炎性细胞浸润, 平滑肌肥厚增生, 肺泡壁断裂、变薄、结构破坏, 多个肺泡腔融合, 形成肺大疱。银杏叶提取物组: 支气管黏膜上皮断裂、脱落, 仍有炎性细胞浸润。泼尼松组: 可见支气管黏膜上皮脱落, 炎性细胞浸润, 部分肺泡腔融合。联合用药组: 可见支气管黏膜上皮部分脱落, 少量炎性细胞浸润, 肺大疱程度较模型组轻。结果见图 1。

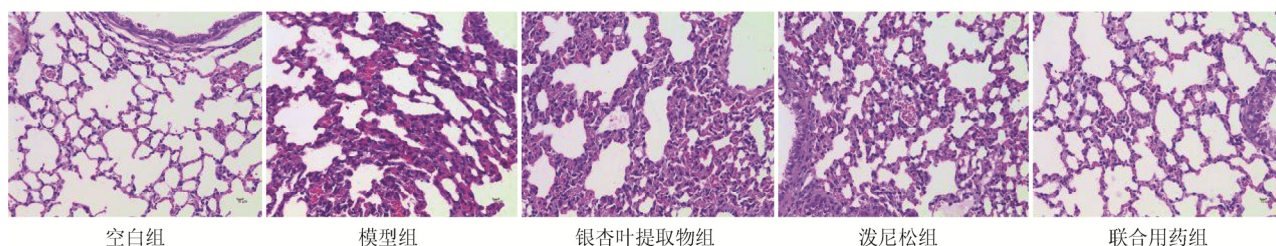


图1 小鼠慢性阻塞性肺病理组织学变化(HE, 400×)

Fig. 1 Histopathological changes of COPD in mice(HE, 400×)

3.4 肺组织 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 表达

造模成功后,模型组较空白组肺组织 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 表达明显降低($P<0.05$)。经不同药物干预,与模型组相比,仅联合用药组 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 表达明显增加($P<0.05$)。结果见表 3。

表3 小鼠肺组织 Ghrelin、GHSR、GPR39 mRNA 表达($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Expression of Ghrelin, GHSR and GPR39 mRNA in mice lung tissue($\bar{x} \pm s$)

分组	n	Ghrelin	GHSR	GPR39
空白组	8	1.00±0.12 ¹⁾	1.01±0.16 ¹⁾	1.00±0.05 ¹⁾
模型组	7	0.49±0.11	0.51±0.07	0.51±0.12
银杏叶提取物组	8	0.64±0.17	0.58±0.12	0.58±0.06
泼尼松组	8	0.62±0.04	0.57±0.08	0.56±0.07
联合用药组	7	0.75±0.12 ¹⁾	0.80±0.06 ¹⁾	0.73±0.13 ¹⁾

注:与模型组比较, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the model group, ¹⁾ $P<0.05$ 。

3.5 肺组织 Ghrelin、GHSR、Obestatin、GPR39 蛋白表达

造模成功后,模型组小鼠肺组织 Ghrelin、

GHSR、Obestatin、GPR39 蛋白表达较空白组均明显降低($P<0.05$)。通过不同药物干预,仅联合用药组 Ghrelin、GHSR、Obestatin、GPR39 蛋白表达较模型组均明显升高($P<0.05$)。结果见图 2。

3.6 血清中 TNF- α 、IL-6、IL-8 的表达

造模成功后,模型组小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 含量较空白组均明显增加($P<0.05$)。通过不同药物干预,仅联合用药组 TNF- α 、IL-6、IL-8 含量较模型组均明显降低($P<0.05$)。结果见表 4。

表4 小鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-8 含量($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Contents of TNF- α , IL-6, IL-8 in mice serum($\bar{x} \pm s$)

分组	n	TNF- α	IL-6	IL-8
空白组	8	188.19±4.40 ¹⁾	28.81±0.93 ¹⁾	25.18±0.29 ¹⁾
模型组	7	215.85±6.95	34.50±1.13	28.70±1.07
银杏叶提取物组	8	209.11±2.31	32.08±2.22	27.63±1.07
泼尼松组	8	209.42±2.50	32.02±2.02	27.40±1.42
联合用药组	7	194.08±2.57 ¹⁾	29.69±2.41 ¹⁾	26.23±1.01 ¹⁾

注:与模型组比较, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the model group, ¹⁾ $P<0.05$ 。

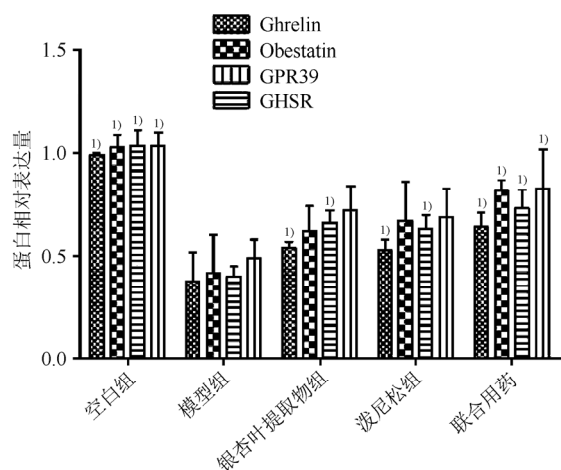
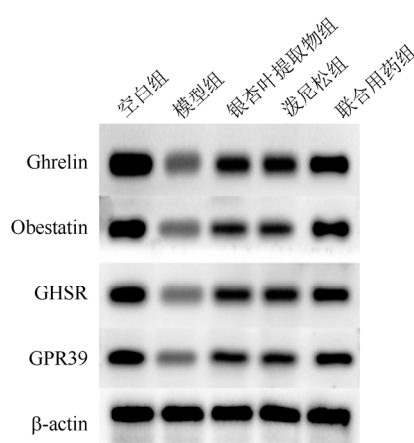


图2 各组小鼠肺组织中相关蛋白表达情况

与模型组比较, ¹⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 Expression of related proteins in lung tissue of mice in each group

Compared with the model group, ¹⁾ $P<0.05$ 。



4 讨论

COPD 是临床上最为常见、多发的慢性呼吸系统疾病,基本病理改变以慢性非特异性炎症、炎症导致的反复损伤和修复造成气道、血管重塑为特征^[8]。本试验分别采用银杏叶提取物、泼尼松及二者联合用药治疗小鼠 COPD,病理组织考察结果表明,联合用药组较模型组支气管黏膜上皮部分脱落,少量炎性细胞浸润,肺大疱程度明显减轻。说明银杏叶提取物联合泼尼松可明显减轻肺组织的病理损伤。肺功能检测作为判断气流受限的客观指标,在 COPD 诊断及疗效评价中起着重要作用^[9]。本试验结果显示,联合用药组 PIF、PEF、MV 较模型组明显升高($P<0.05$),说明联合用药明显改善 COPD 小鼠肺功能。

在 COPD 的疾病过程中,Ghrelin 与 Obestatin 作为体内调节摄食和能量稳态控制的重要胃肠激素^[10]。Ghrelin 主要由位于胃泌酸黏膜内特定类型的内分泌细胞分泌,可改善心血管功能等,其含量能够反映营养不良的状态,且可通过影响患者的营养状况及机体的能量代谢参与 COPD 的发病^[11]。Obestatin 主要由一种常见的生长激素释放肽和 Obestatin 激素原衍生的 23 个氨基酸的肽,可减少食物摄入量,通过营养代谢参与 COPD 的发展,有研究表明 Ghrelin、Obestatin 与细胞因子之间有着密切关系,而其中有些细胞因子已证明参与了 COPD 合并营养不良的发生发展^[12-13]。GHSR、GPR39 分别是 Ghrelin 与 Obestatin 的受体,是 Ghrelin、Obestatin 作用的基础,是调节的主要位点^[14-15]。孙杰等^[12]研究表明,COPD 大鼠组织 Ghrelin、Obestatin 蛋白表达明显降低($P<0.05$)。另研究表明,COPD 营养不良发生时,Ghrelin 与体质量指数之间存在着正相关的关系,当机体引发 COPD 营养不良时,Ghrelin 随着患者的体质量指数下降,从而在体内形成恶性循环,加剧营养不良状况^[16]。本实验结果显示,模型组 Ghrelin、Obestatin、GHSR、GPR39 表达较空白组明显降低($P<0.05$),联合用药组 Ghrelin、Obestatin、GHSR、GPR39 表达较模型组明显升高($P<0.05$),与上述研究结果一致。另 Zhang 等^[17]的一项 Meta 分析表明 COPD 患者循环中 Ghrelin 水平明显升高,特别是在体质量不足的患者中,本研究结果与其报道不一致,还需进一步研究其原因。

TNF- α 是 COPD 炎症机制中非常重要的炎症

因子,其释放可以反馈性激活更多的炎症细胞,参与了 COPD 营养不良的发病过程,影响 COPD 的预后^[18]。IL-6 可参与体内多种炎症反应,参与 COPD 慢性炎症反应,加重 COPD 慢性炎症^[19]。IL-8 作为一种中性粒细胞和 T 淋巴细胞的趋化因子,在炎症反应中发挥重要的调节作用,研究发现,由 IL-8、TNF- α 和中性粒细胞等炎症介质和炎症效应细胞所组成的支气管腔内自分泌环路^[18]。本试验结果显示,模型组血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 含量较空白组明显升高($P<0.05$),3 组药物治疗后,联合用药组可明显降低血清 TNF- α 、IL-6、IL-8 含量($P<0.05$)。提示银杏叶提取物联合泼尼松组平衡炎症因子,减轻 COPD 炎症反应。

综上所述,银杏叶提取物联合泼尼松能够修复 COPD 小鼠肺组织损伤,通过影响 Ghrelin-Obestatin 信号通路,减轻气道炎症反应,达到治疗 COPD 的目的。

REFERENCES

- [1] HE F, RU C H, XU J P, et al. Effect of tonifying qi, promoting blood flow and dredging collaterals treatment on pulmonary vascular remodeling of COPD rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(10): 1439-1442.
- [2] GRAU CARMONA T, LÓPEZ MARTÍNEZ J, VILA GARCÍA B, et al. Guidelines for specialized nutritional and metabolic support in the critically-ill patient: Update. Consensus SEMICYUC-SENPE: Respiratory failure [J]. Nutr Hosp, 2011, 26(Suppl 2): 37-40.
- [3] ZHOU S L, LI J, TONG J B, et al. Chinese medicine acupoint sticking therapy COPD stabilization lung with kidney deficiency syndrome [J]. Jilin J Tradit Chin Med(吉林中医药), 2016, 36(12): 1282-1285.
- [4] PAN L, DENG Z, TAN Y P, et al. Effect of *Ginkgo biloba* extract on pulmonary ultrastructures of rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. China J Mod Med(中国现代医学杂志), 2017, 27(26): 1-6.
- [5] WANG X J, ZHAO J. The effect of prednisone on chronic obstructive pulmonary disease and the regulation on metalloproteinase proteins [J]. J Clin Exp Med(临床和实验医学杂志), 2016, 15(15): 1465-1468.
- [6] 张兰英, 张婧, 欧阳瑶. 烟熏诱导慢性阻塞性肺疾病小鼠模型的建立及验证[J]. 山东医药, 2016, 56(32): 35-38, 114.
- [7] LIANG W, YANG H M, LIANG A W, et al. Effects of *Ginkgo biloba* extract on CRP and TNF- α in rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Pract Med(实用医学杂志), 2017, 33(12): 1936-1938.
- [8] JIANG H, LI Z G, GAO J R, et al. Effect of Qibai Pingfei capsules on cytokines in rats with COPD [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(4): 397-401.
- [9] FENG Y X, HOU J Q. Effect of *Salvia miltiorrhiza* and ligustrazine combined intervention on inflammatory response

- and pulmonary function in patients with AECOPD complicated with RF [J]. *Jilin J Chin Med*(吉林中医药), 2018, 38(1): 41-44.
- [10] YAVUZ Y, KUMRAL Z N, MEMI G, et al. Serum leptin, obestatin, and ghrelin levels and gastric emptying rates of liquid and solid meals in non-obese rats with roux-en-Y bypass surgery or prosthesis placement: Implications for the role of vagal afferents [J]. *Obes Surg*, 2017, 27(4): 1037-1046.
- [11] MIKI K, MAEKURA R, NAGAYA N, et al. Effects of ghrelin treatment on exertional dyspnea in COPD: an exploratory analysis [J]. *J Physiol Sci*, 2015, 65(3): 277-284.
- [12] SUN J, WANG D X, SANG K. Effect of shenling baizhusan on expression of ghrelin and obestatin in hypothalamus and gastric tissue of COPD rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(1): 85-90.
- [13] LEI Y, LIANG Y S, CHEN Y F, et al. Increased circulating obestatin in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Multidiscip Respir Med*, 2014, 9(1): 5.
- [14] SUN J, SANG K, WANG D X, et al. Expressions of ghrelin and its receptors in hypothalamus and gastrointestinal tract of lung and spleen deficiency-type chronic obstructive pulmonary disease model rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2018, 24(4): 124-130.
- [15] EDWARDS A, ABIZAID A. Clarifying the ghrelin system's ability to regulate feeding behaviours despite enigmatic spatial separation of the GHSR and its endogenous ligand [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(4): E859.
- [16] DEVECI Y, DEVECI F, ILHAN N, et al. Serum ghrelin, IL-6 and TNF- α levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Tüberküloz Ve Toraks*, 2010, 58(2): 162.
- [17] ZHANG X, YANG T, WANG J L, et al. Elevated circulating ghrelin in patients with COPD: A meta-analysis [J]. *Chron Respir Dis*, 2018, 15(4): 365-373.
- [18] CHEN B B, LI Z H, GAO S. Circulating miR-146a/b correlates with inflammatory cytokines in COPD and could predict the risk of acute exacerbation COPD [J]. *Medicine* (Baltimore), 2018, 97(7): e9820. Doi:10.1097/MD.00000000000009820.
- [19] CHEN W L, LIU X J. Clinical study on the effects of huatan Zhike mixture on the levels of serum SAA, IL-6, IL-1 β and lung function in acute exacerbated chronic obstructive pulmonary disease patients [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2017, 34(3): 432-435.

收稿日期: 2019-03-26

(本文责编: 李艳芳)