

欧前胡素通过 Nrf2/HO-1 抗氧化途径对哮喘模型小鼠气道炎症的影响

咸哲民¹, 姜京植², 赵雨喆¹, 王重阳², 李俊峰², 朴玉华¹, 延光海², 李良昌², 朴红梅^{1*}

1. 延边大学附属医院 呼吸内科, 吉林 延吉 133000

2. 延边大学医学院 解剖学教研室, 吉林 延吉 133002

摘要: **目的** 探究欧前胡素对哮喘模型小鼠气道炎症的影响及其作用机制。**方法** 将 50 只雄性 BALB/c 小鼠随机分成 5 组, 即对照组、模型组及欧前胡素低、中、高剂量 (15、30、60 mg/kg) 组。采用 HE、Masson、PAS 染色观察小鼠肺组织病理学改变; ELISA 法检测小鼠肺泡灌洗液 (BALF) 中免疫球蛋白 E (IgE) 及白细胞介素-4 (IL-4)、IL-5、IL-13、 γ -干扰素 (IFN- γ) 水平; 双氢罗丹明 (DHR)-123 法检测小鼠 BALF 中活性氧 (ROS) 的含量; 检测小鼠肺组织中蛋白羰基含量及丙二醛 (MDA) 水平; 抗氧化酶试剂盒检测小鼠 BALF 中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、谷胱甘肽 (GSH) 水平及总抗氧化能力 (TAOC); 免疫组织化学法和 Western blotting 法检测小鼠肺组织中核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 及血红素加氧酶 1 (HO-1) 蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较, 欧前胡素能够减少哮喘小鼠肺组织炎症细胞的渗出、杯状细胞的增生和胶原沉积; 减少 BALF 中 ROS、总 IgE 和卵清蛋白 (OVA) 特异性 IgE 的表达; 降低 IL-4、IL-5、IL-13、蛋白羰基、MDA 的量并增加 IFN- γ 、SOD、GSH 水平及 TAOC; 提高肺组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平。**结论** 欧前胡素对 OVA 诱导的哮喘模型小鼠具有治疗作用, 其作用机制可能与 Nrf2/HO-1 通路活化有关。

关键词: 欧前胡素; 哮喘; 核因子 E2 相关因子 2; 血红素加氧酶 1; 抗氧化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)19-4596-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.020

Effect of imperatorin on airway inflammation of asthmatic mice model by Nrf2/HO-1 anti-oxidant pathway

XIAN Zhe-min¹, JIANG Jing-zhi², ZHAO Yu-zhe¹, WANG Chong-yang², LI Jun-feng², PIAO Yu-hua¹,
YAN Guang-hai², LI Liang-chang², PIAO Hong-mei¹

1. Department of Respiratory Medicine, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, China

2. Department of Anatomy, School of Basic Medical Sciences, Yanbian University, Yanji 133002, China

Abstract: **Objective** To explore the therapeutic effect of imperatorin (IMP) in the asthmatic mice model, and study whether its mechanism is related to Nrf2/HO-1 signaling pathway. **Methods** A total of 50 male BALB/c mice were randomly divided into five groups, namely the control group, the OVA asthma model group, and the IMP low, medium and high dose treatment groups (15, 30, and 60 mg/kg). HE, Masson, and PAS staining were used to observe lung histopathological changes in mice; ELISA was used to detect the contents of IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ , and IgE in the BALF of mice; DHR-123 was used to detect the content of ROS in the mice BALF; The expression levels of protein carbonyl and MDA in lung tissues of mice were measured; The anti-oxidant enzyme kit was used to detect SOD, GSH, and total antioxidant capacity (TAOC) in BALF; immunohistochemical method was used to detect the expression levels of Nrf2 and HO-1 in lung tissues; The contents of Nrf2 and HO-1 in lung tissues were quantitatively analyzed by Western blotting. **Results** Compared with the model group, IMP reduced the exudation of inflammatory cells, the proliferation of goblet cells, and collagen deposition; IMP reduced the expression of ROS, total IgE, and OVA specific IgE in BALF; IMP decreased the contents of IL-4, IL-5, IL-13, protein carbonyl, and MDA, and increased the content of IFN- γ , SOD, GSH, and TAOC; The results of immunohistochemistry indicated that IMP increased the expression of Nrf2 and HO-1 in lung tissues; Western blotting showed that IMP induced Nrf2 nuclear translocation and the expression of HO-1 at the protein level. **Conclusion** IMP plays a therapeutic role in asthmatic mice induced by OVA, and its mechanism may be related to the activation of Nrf2/HO-1 pathway.

Key words: imperatorin; asthma; Nrf2; HO-1; anti-oxidant

收稿日期: 2018-05-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660003, 81560679)

作者简介: 咸哲民 (1989—), 男, 博士研究生, 研究方向为支气管哮喘。Tel: 13039332201 E-mail: xianzhemin@126.com

*通信作者 朴红梅, 教授, 博士生导师, 主要从事支气管哮喘的研究工作。E-mail: piaohm1969@126.com

支气管哮喘是一种由嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、淋巴细胞及肥大细胞等参与的气道慢性炎症性疾病^[1]。该病的病因及发病机制尚未见报道。目前发现氧化应激在哮喘中起到关键作用,免疫细胞 Th1/Th2 的失衡、过量活性氧(ROS)的生成、免疫球蛋白 E(IgE)的增加及膜脂质过氧化等均可导致氧化与过氧化的失衡,进而引起哮喘。故保持氧化/抗氧化平衡在哮喘的治疗中起到关键作用^[2-3]。

核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)/血红素氧合酶 1(HO-1)通路是体内最主要的抗氧化应激机制之一,可参与大多数组织器官的抗氧化应激反应^[4-5]。研究表明 HO-1 可有效改善气道氧化应激反应、炎症及黏液分泌过多,在哮喘的治疗中起到重要的抗氧化作用^[6]。Nrf2 属于 HO-1 激活的最主要的转录因子,在正常生理状态下,Nrf2 与抑制蛋白 Keap1 相结合储存在细胞质中;当有氧化应激刺激时,Nrf2 被磷酸化,与 Keap1 解离并转移到细胞核,与抗氧化反应元件(ARE)相结合且启动 HO-1 基因的转录,实现抗氧化作用^[7]。

欧前胡素(imperatorin, IMP)是一种天然的 6,7-呋喃香豆素类化合物,存在于伞形科植物独活、当归、欧前胡等常用中药中,并具有镇痛、抗肿瘤、抗炎、抗惊厥等多种药理作用^[8-9]。研究发现 IMP 可通过调节 T 细胞产生白细胞介素-10(IL-10)对哮喘起到抗过敏作用^[10],但 IMP 对哮喘的抗氧化作用机制尚不明确。故本实验进一步探讨 IMP 对哮喘的抗氧化作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

雄性清洁级 BALB/c 小鼠 50 只,体质量(18±5)g,购于延边大学实验动物中心,合格证号为 SCXK(吉)2017-0003。本研究已获得延边大学医学院伦理委员会的批准,整个实验进程遵守《实验动物管理条例》。

1.2 药品与试剂

IMP(批号 MAYA-CR-6162,质量分数 98%)购自中国玛雅试剂有限公司;双氢罗丹明(DHR)-123 试剂盒、氢氧化铝粉、卵清蛋白(OVA)购自美国 Sigma 公司;二氨基联苯胺(DAB)、免疫组化试剂盒及 IgE、 γ -干扰素(IFN- γ)、IL-5、IL-4、IL-13 等酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒购自北京中杉金桥公司;超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)、总抗氧化能力(TAOC)及丙二醛(MDA)检测试

剂盒购自南京建成生物公司;蛋白羧基含量试剂盒购自美国 Abcam 公司;HO-1、Nrf2 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;GAPDH 抗体及 IgG-HRP 标记二抗均购自美国 Cell Signaling 公司。二甲基亚砜(DMSO)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 仪器

2135 型轮转式切片机(德国徕卡公司);U219 雾化器(大连医疗器械厂);15K 高速冷冻台式离心机(美国 Sigma 公司);RT-2100C 酶联免疫检测仪(美国雷杜公司);TXD3 细胞涂片离心机(广州沪瑞明仪器有限公司);Western blotting 转膜仪(Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 分组

将 50 只雄性 BALB/c 小鼠随机分为 5 组,分别为对照组、模型组及 IMP 低、中、高剂量(IMP-L、IMP-M、IMP-H)组,每组 10 只。

2.2 模型制备及给药

小鼠适应性饲养 1 周,于实验第 1、7、14 天,对照组小鼠 ip 200 μ L 生理盐水,其余 4 组小鼠 ip 致敏液(OVA 10 μ g+氢氧化铝 1 mg)200 μ L。实验第 17 天开始,对照组和模型组小鼠 ip DMSO 200 μ L,IMP-L、IMP-M、IMP-H 组分别 ip IMP 15、30、60 mg/kg(溶于 200 μ L DMSO),每天 1 次,连续给药 7 d(第 21 天起给药时间改为激发前 1 h)。于实验第 21 天开始,对照组小鼠雾化吸入 200 μ L 生理盐水,其余 4 组小鼠雾化吸入激发液(3% OVA 10 mL),连续激发 3 d,每次雾化吸入 30 min。

2.3 样本收集

末次激发后 24 h,小鼠用无水乙醚处死并固定到手术板,纵切颈部皮肤并充分暴露气管,在气管上剪一小切口插入软管,缓慢注射 4 $^{\circ}$ C 生理盐水 1 mL 后缓慢回抽,且连续反复 3 次,保证回抽量在 80%以上。将已收集的小鼠肺泡灌洗液(BALF)3 000 r/min 离心 5 min,并取上清液置于-80 $^{\circ}$ C 冻存,剩余的沉淀物用于细胞涂片。之后取出右肺置于-80 $^{\circ}$ C 冻存,左肺置于 4%甲醛中固定。

2.4 小鼠 BALF 中细胞因子和 IgE、ROS、GSH、水平、SOD 活性及 TAOC 检测

根据 ELISA 试剂盒说明书的步骤,依次检测 BALF 中 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 及 IFN- γ 的含量。采用双氢罗丹明(DHR)-123 试剂盒检测小鼠 BALF 细胞中 ROS 水平,并测荧光强度(FITC)。将 BALF 复融后离心 10 min(3 000 r/min),分别使用对应的

试剂盒检测 SOD 活性、GSH 水平及 TAOC。

2.5 小鼠肺组织学检查及蛋白羧基含量、MDA 水平检测

将固定后的小鼠左肺依次进行脱水、浸蜡、包埋,将所得蜡块切成厚度为 4 μm 的薄片,并分别进行 HE、Masson、PAS 染色。使用相应的检测试剂盒检测小鼠肺组织中蛋白羧基含量和 MDA 水平。

2.6 免疫组织化学检测

将小鼠左肺组织切片置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱内熔蜡,然后进行脱蜡、脱水,并置于 100 $^{\circ}\text{C}$ 的抗体修复液中修复 30 min,分别用 Nrf2 和 HO-1 一抗和相对应的二抗进行孵育。用 DAB 着色、苏木素复染后常规脱水、中性树脂封片并观察。

2.7 Western blotting 法检测小鼠肺组织中 HO-1、Nrf2 蛋白表达

提取小鼠右肺组织蛋白,根据 BCA 试剂盒说明书测定蛋白质量浓度。取 20 μg 蛋白,在 10% 的 SDS/PAGE 中以 80 V 电压电泳。0.3 A 低温条件下转膜,转膜后在 5% 的脱脂奶粉封闭液中常温封闭 1 h。HO-1(1:1 000)、Nrf2(1:1 000)、GAPDH(1:20 000) 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。常规洗膜后加入相应的二抗(1:10 000),常温摇床孵育 2 h。将膜取出后用 ECL 试剂曝光。

2.8 统计学方法

统计分析采用 SPSS 17.0,统计图的绘制采用 GraphPad Prism 6.0。资料的正态性检验采用 D'Agostino-Pearson omnibus normality test 以及

Komogorov-Smirnov test (with Dallal-Wilkinson-Lilliev for P value),计量资料的比较采用 Kruskal-Wallis test (组间比较采用 Dunn's multiple comparison test) 以及 One-way ANOVA (组间比较采用 Holm-Sidak's multiple comparisons test)。

3 结果

3.1 IMP 对哮喘小鼠肺组织形态的影响

HE 染色结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织可见广泛的血管及细支气管周围的炎症细胞浸润,而 IMP 各剂量可显著减少炎症细胞的浸润,并呈剂量依赖性。PAS 染色结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中 PAS 阳性细胞数显著增多,而各给药组随着 IMP 剂量升高,PAS 阳性细胞数明显减少。Masson 染色结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中胶原蛋白沉积明显增多;与模型组比较,IMP 各剂量组小鼠肺组织中胶原蛋白沉积明显减少,且 IMP-H 组减少最明显。由此可见,IMP 可明显减少炎症细胞渗出、杯状细胞的增生及胶原纤维沉积,见图 1。

3.2 IMP 对哮喘小鼠 BALF 中总 IgE 和 OVA 特异性 IgE 表达的影响

由图 2 可见,与对照组比较,模型组小鼠 BALF 中总 IgE 和 OVA 特异性 IgE 表达显著增加($P<0.05$)。与模型组比较,IMP 各剂量组小鼠 BALF 中总 IgE 和 OVA 特异性 IgE 表达显著减少($P<0.05$),且 IMP-H 组减少最明显。说明 IMP 可抑制哮喘小鼠 BALF 中总 IgE 和 OVA 特异性 IgE 的表达,并呈剂量依赖性。

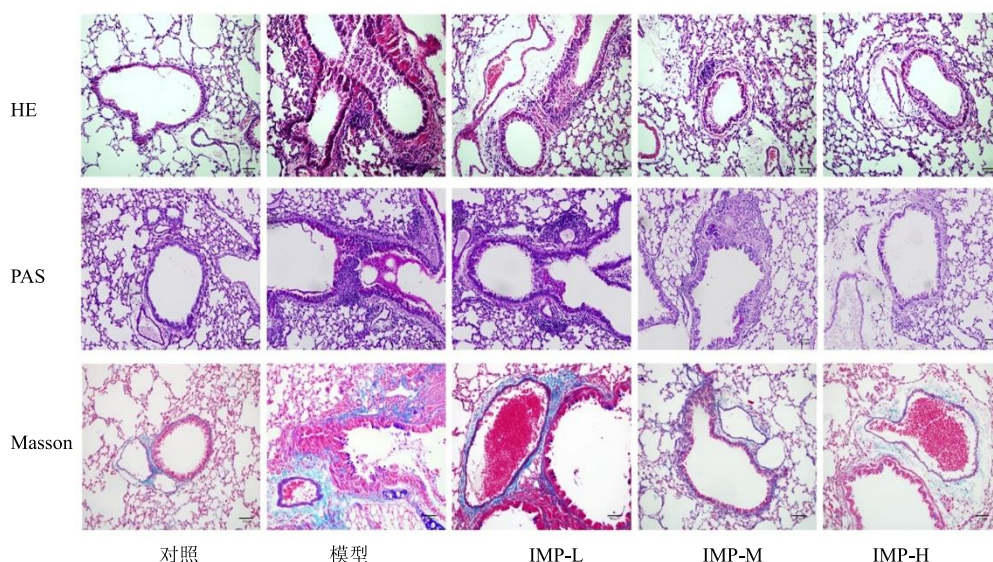
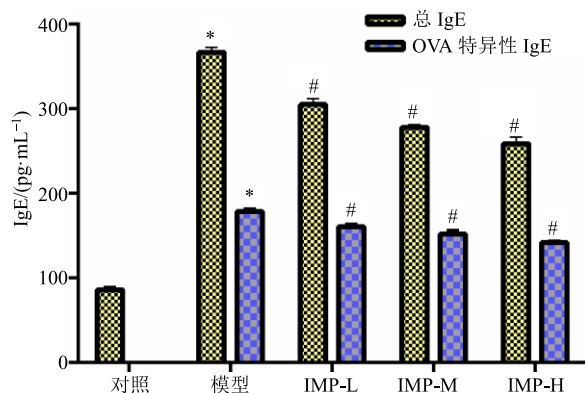


图 1 IMP 对哮喘小鼠肺组织形态的影响 ($\times 200$)

Fig. 1 Effect of imperatorin on lung histological morphology of asthmatic mice ($\times 200$)



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, 下同
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group, same as below

图 2 IMP 对哮喘小鼠 BALF 中总 IgE 和 OVA 特异性 IgE 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Effect of IMP on expression of total IgE and OVA specific IgE in BALF of asthma mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.3 IMP 对哮喘小鼠 BALF 中细胞因子水平的影响

如图 3 所示,与对照组比较,模型组小鼠 BALF 中 IL-4、IL-5、IL-13 的量显著升高 ($P < 0.05$),而 IFN- γ 量显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较,IMP 各剂量组 IL-4、IL-5、IL-13 量均显著降低 ($P < 0.05$),IFN- γ 量显著升高 ($P < 0.05$),且呈剂量依赖性。说明 IMP 可有效抑制哮喘小鼠肺泡中 IL-4、IL-5、IL-13 的产生和促进 IFN- γ 的生成,进而抑制 Th1/Th2 失衡。

3.4 IMP 对哮喘小鼠 BALF 中 ROS、GSH 水平, SOD 活性及 TAOC 的影响

如图 4 所示,与对照组比较,模型组小鼠 BALF 中 ROS 的量显著增加 ($P < 0.05$),TAOC 显著降低

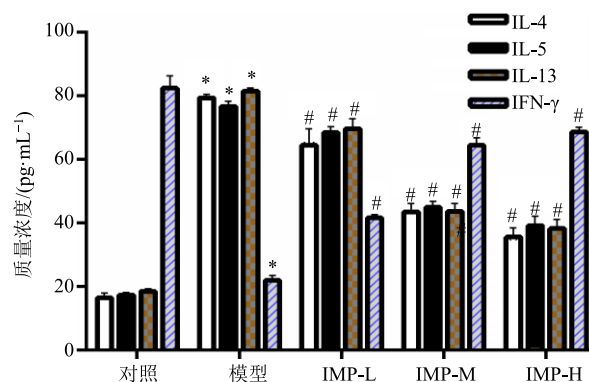


图 3 IMP 对哮喘小鼠 BALF 中细胞因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Effects of imperatorin on cytokine levels in BALF of asthmatic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

($P < 0.05$), GSH 水平和 SOD 活性显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较,IMP 各剂量组小鼠 BALF 中 ROS 量显著减少 ($P < 0.05$),TAOC 显著升高 ($P < 0.05$),GSH 水平和 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$)。

3.5 IMP 对哮喘小鼠肺组织中蛋白羰基含量、MDA 水平的影响

如图 5 所示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中 MDA 水平及蛋白羰基含量显著增加 ($P < 0.05$)。与模型组比较,IMP 各剂量组小鼠肺组织中 MDA 水平及蛋白羰基含量显著减少 ($P < 0.05$)。

3.6 IMP 对哮喘小鼠肺组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

免疫组化结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中 Nrf2 及 HO-1 蛋白阳性面积增加。与模

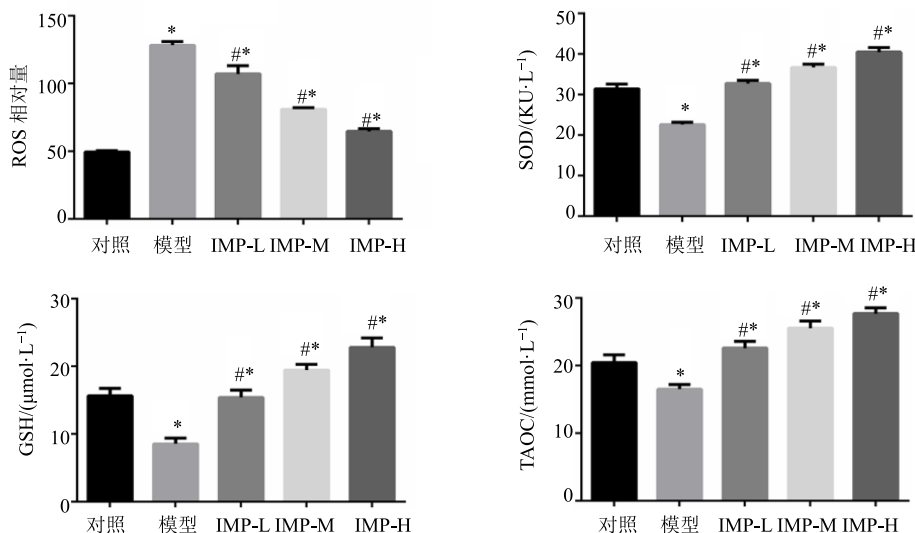


图 4 IMP 对哮喘小鼠 BALF 中 ROS 的量, GSH、SOD 活性及 TAOC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 4 Effects of IMP on ROS, GSH, TAOC, and SOD activity in BALF of asthmatic mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

型组比较, IMP 各剂量组小鼠肺组织中 Nrf2 及 HO-1 蛋白阳性面积显著增多, 且呈剂量依赖性 (图 6)。

Western blotting 结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织中 Nrf2、HO-1 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$)。与模型组比较, IMP 各剂量组大鼠肺组织中 Nrf2、HO-1 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$, 图 7)。结果表明, IMP 对哮喘小鼠的作用可能与 Nrf2/HO-1 抗氧化途径相关。

4 讨论

支气管哮喘是一种普遍存在的全球健康问题, 其以气道炎症、黏液分泌的增加和杯状细胞的增生、胶原沉积为主要特征^[11-12]。本实验中 HE 染色、PAS 染色、Masson 染色结果均显示 IMP 能够显著抑制哮喘小鼠血管和支气管周围的炎症细胞的浸润, 减少黏液分泌及杯状细胞的增生, 降低胶原纤维的沉积, 且均呈剂量依赖性。Th1/Th2 失衡在哮喘中起到重要作用^[13]。本研究结果显示, IMP 通过减少哮

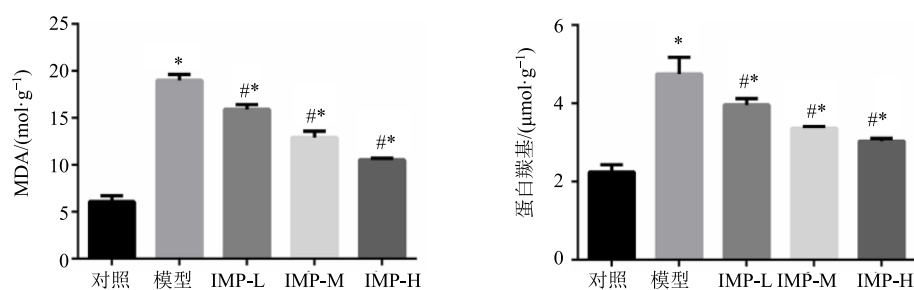


图 5 IMP 对哮喘小鼠肺组织中蛋白羰基含量、MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 5 Effects of IMP on content of protein carbonyl and MDA in lung tissue of asthmatic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

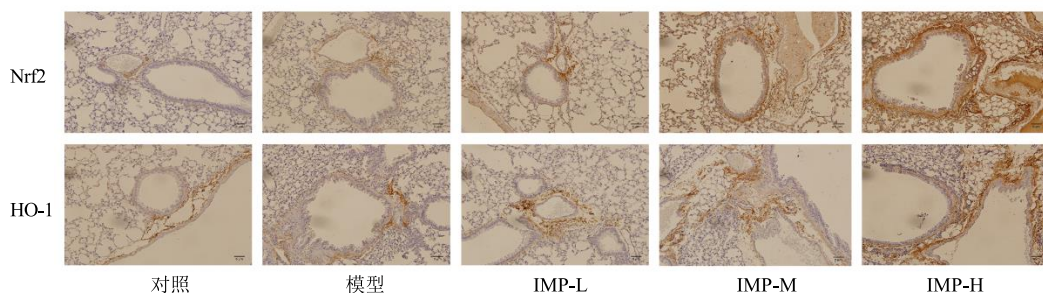


图 6 IMP 对哮喘小鼠肺组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响 ($\times 200$, 免疫组化)

Fig. 6 Effects of IMP on expressions of Nrf2 and HO-1 protein in lung tissue of asthmatic mice ($\times 200$, IHC)

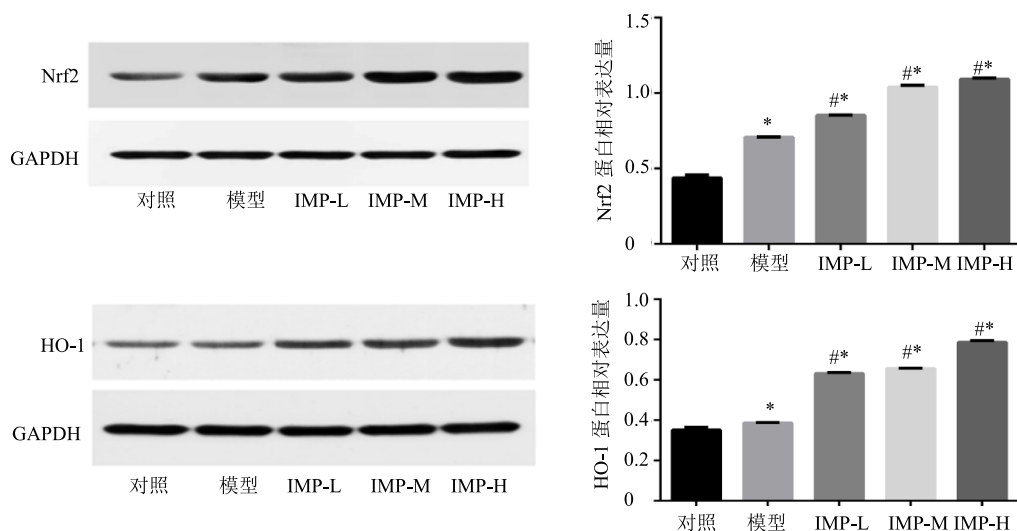


图 7 IMP 对哮喘小鼠肺组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 7 Effects of IMP on expressions of Nrf2 and HO-1 protein in lung tissue of asthmatic mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

喘小鼠 BALF 中 IL-4、IL-5、IL-13 的量和增加 IFN- γ 的量来调节 Th1/Th2 的失衡。IMP 还可有效降低 BALF 中总 IgE 及 OVA 特异性 IgE 的表达水平。表明 IMP 对支气管哮喘有治疗作用。

目前研究发现氧化/抗氧化系统的失衡对哮喘起到关键作用, 可通过抗氧化途径调节 OVA 诱导的小鼠哮喘模型中的 Th1/Th2 失衡^[14]。本实验从蛋和脂质氧化损伤的角度验证 OVA 诱导的哮喘小鼠肺组织中是否出现显著的氧化损伤, 结果显示, 模型组小鼠较对照组呈现出明显的氧化损伤, 即 ROS、MDA 及蛋白羰基含量显著增加, 而 IMP 能够显著减少 ROS、MDA 及蛋白羰基含量, 说明 IMP 可有效减少组织中的氧化损伤。本实验进一步验证 IMP 是否影响防止组织内脂质过氧化及蛋白过氧化的抗氧化酶的生成, 结果表明, 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织中 SOD 活性、GSH 水平及 TAOC 显著减少, 说明组织内源性抗氧化酶过量消耗。而 IMP 各剂量组小鼠肺组织中 SOD 活性、GSH 水平及 TAOC 显著增加, 且呈剂量依赖性, 提示 IMP 可有效地增加组织内内源性抗氧化酶的能力, 进而减少氧化损伤。以上结果表明, IMP 可有效抑制脂质及蛋白质氧化损伤, 并通过增加抗氧化酶的量来防止氧化损伤。

进一步研究 IMP 抗氧化应激反应潜在的分子机制。Nrf2/HO-1 通路在机体抗氧化应激反应中起到至关重要的作用, 且 Nrf2 核移位是活化 HO-1 的关键^[15]。本实验通过 Western blotting 和免疫组化法验证 IMP 是否通过 Nrf2/HO-1 通路引起抗氧化应激反应。Western blotting 结果显示, 与模型组比较, IMP 各剂量组中的 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达显著增加 ($P < 0.05$), 且呈剂量依赖性。免疫组化结果与 Western blotting 结果相符。表明在 OVA 诱导的哮喘小鼠模型中, IMP 可通过诱导 Nrf2 的核移位增加 HO-1 蛋白的表达, 并起到气道抗氧化损伤的保护作用。

综上所述, IMP 能够改善哮喘小鼠气道炎症细胞的浸润、抑制黏液分泌和杯状细胞的增生, 减少气道胶原的沉积, 且通过降低 IgE 的水平、调节 Th1/Th2 的失衡和氧化/抗氧化系统的失衡起到治疗哮喘的目的, 并进一步证实其抗氧化作用与 Nrf2/HO-1 通路密切相关。

参考文献

[1] Duan L, Li J, Ma P, et al. Vitamin E antagonizes ozone-induced asthma exacerbation in Balb/c mice through the Nrf2 pathway [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017,

doi: 10.1016/j.fct.2017.06.025.

- [2] Alharbi N O, Nadeem A, Alharbi M M, et al. Oxidative airway inflammation leads to systemic and vascular oxidative stress in a murine model of allergic asthma [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 26(1): 237-245.
- [3] 杨今实, 金香, 孙天一, 等. 朝医麻黄定喘汤对哮喘小鼠 MAPKs/NF- κ B/VEGF 信号通路的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(10): 4448-4452.
- [4] Ye P, Yang X L, Chen X, et al. Hyperoside attenuates OVA-induced allergic airway inflammation by activating Nrf2 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, doi: 10.1016/j.intimp.2017.01.003.
- [5] Qian J, Ma X, Xun Y, et al. Protective effect of forsythiaside A on OVA-induced asthma in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, doi: 10.1016/j.ejphar.2017.07.033.
- [6] Ryter S W, Choi A M K. Targeting heme oxygenase-1 and carbon monoxide for therapeutic modulation of inflammation [J]. *Transl Res*, 2016, 167(1): 7-34.
- [7] Qing R, Huang Z, Tang Y, et al. Cordycepin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, doi: 10.1016/j.intimp.2018.04.032.
- [8] Yang W Q, Zhu Z X, Song Y L, et al. Dimeric furanocoumarins from the roots of *Angelica dahurica* [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(8): 1-8.
- [9] Sarkhail P. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties of the genus *Peucedanum*: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, doi: 10.1016/j.jep.2014.08.034.
- [10] Lin C L, Hsiao G, Wang C C, et al. Imperatorin exerts antiallergic effects in Th2-mediated allergic asthma via induction of IL-10-producing regulatory T cells by modulating the function of dendritic cells [J]. *Pharmacol Res*, 2016, doi: 10.1016/j.phrs.2016.04.030.
- [11] 张春晶, 李淑艳, 赵容杰, 等. 人参皂苷 Rh₁ 对哮喘模型小鼠炎症因子表达的抑制作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(1): 163-167.
- [12] 郑明显, 金哲悟, 朴红梅, 等. 红景天苷通过 NF- κ B/TGF- β 1 信号通路抑制哮喘小鼠气道重塑的实验研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(17): 2511-2516.
- [13] Huang C, Zhang Z, Wang L, et al. ML-7 attenuates airway inflammation and remodeling via inhibiting the secretion of Th2 cytokines in mice model of asthma [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 6293-6300.
- [14] 宋冬梅, 牛英豪, 于磊, 等. 乌司他丁通过 Nrf2/HO-1 抗氧化途径在 OVA 诱导的支气管哮喘小鼠中发挥治疗作用 [J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(12): 1713-1720.
- [15] Wang Z, Zhang H, Sun X, et al. The protective role of vitamin D3 in a murine model of asthma via the suppression of TGF- β /Smad signaling and activation of the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3): 2389-2396.