

金嗓散结胶囊对化学刺激法致慢性喉炎大鼠的作用及机制研究

赵林涛¹, 韩曼¹, 苗彦², 宋延平¹, 张小丽^{1*}

1. 陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003

2. 西安碑林药业股份有限公司, 陕西 西安 710048

摘要: 目的 观察金嗓散结胶囊对化学刺激法所致的大鼠慢性喉炎模型的影响。方法 使用10%的吡啶溶液对大鼠喉部进行刺激, 每周2次, 共3周, 造模结束后, 将造模50只大鼠随机分为5组: 模型组、清咽利喉颗粒(阳性药, 1.58 g·kg⁻¹)组和金嗓散结胶囊高、中、低剂量(0.67、0.33、0.17 g·kg⁻¹)组。ig给药, 每天给药1次, 共4周, 对照组和模型组每天ig等体积的纯净水。给药过程中观察各组大鼠一般状态; ELISA法检测血清白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 水平; HE染色后进行喉部组织病理学检查; Western blotting法检测喉部声带组织TNF- α 、C-反应蛋白(CRP)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMPI)、IL-6蛋白表达水平。结果 与模型组比较, 金嗓散结胶囊可以减轻大鼠化学刺激法所致慢性喉炎的声音沙哑等症状, 减轻喉部黏膜增生和坏死、炎细胞浸润等病理症状; 金嗓散结胶囊高、中剂量组血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1水平显著降低($P < 0.05, 0.01$), 低剂量组血清TNF- α 水平显著降低($P < 0.05$); 高、中、低剂量组声带组织TNF- α 、CRP, 高、中剂量组MMP-9、IL-6以及高剂量组TIMPI蛋白相对表达水平均显著降低($P < 0.05, 0.01$)。结论 金嗓散结胶囊可以减轻化学刺激法所致大鼠慢性喉炎, 其作用机制可能与下调促炎因子TNF- α 、IL-6进而降低ICAM-1的表达, 抑制CRP进而降低溶蛋白酶造成的有害作用, 降低MMP-9蛋白表达进而抑制基底膜增厚有关。

关键词: 慢性喉炎; 金嗓散结胶囊; 肿瘤坏死因子- α ; C反应蛋白; 基质金属蛋白酶-9

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 02-0349-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.02.015

Effect and mechanism of Jinsang Sanjie Capsule on chronic laryngitis caused by chemical stimulation method

ZHAO Lintao¹, HAN Man¹, MIAO Yan², SONG Yanping¹, ZHANG Xiaoli¹

1. Pharmacology Laboratory, Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

2. Xi'an Beilin Pharmaceutical Co., Ltd., Xi'an 710048, China

Abstract: Objective To observe the effect of Jinsang Sanjie Capsule on the model of chronic laryngitis in rats caused by chemical stimulation. **Methods** The larynx of rats was stimulated by 10% pyridine solution twice a week for a total of three weeks, and after the molding was completed, 50 SD rats in the module were divided into five groups, namely model group, Qingyan Lihou Granules (positive drug, 1.58 g·kg⁻¹) group and Jinsang Sanjie Capsule high, medium and low-dose (0.67, 0.33, and 0.17 g·kg⁻¹) groups. The drug was ig given once a day for four weeks, and the control group and model group were given equal volume of pure water ig every day. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor - α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were determined by Elisa. Laryngeal histopathology was performed after HE staining. The expression levels of TNF- α , C-reactive protein (CRP), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), matrix metalloproteinase-inhibitor-1 (TIMPI), and IL-6 protein in larynx were detected by Western blotting. **Results** Compared with model group, Jinsang Sanjie Capsule could alleviate the hoarseness and other symptoms of chronic laryngitis caused by chemical stimulation in rats, and alleviate the pathological symptoms of laryngeal mucosa hyperplasia and necrosis, inflammatory cell infiltration and so on. The serum levels of IL-6, TNF- α , IL-1 β and ICAM-1 in Jinsang Sanjie Capsule high and medium dose groups were significantly decreased compared with model group ($P < 0.01, 0.05$), and the serum levels of TNF- α in low dose group were significantly decreased ($P < 0.05$). The relative expression levels of TNF- α and CRP in vocal cord tissue in high, medium and low dose groups, MMP-9 and IL-6 in high and medium dose groups and

收稿日期: 2022-10-14

基金项目: 陕西省科技厅重点产业链项目(2020ZDLSF05-06)

第一作者: 赵林涛, 硕士, 助理研究员, 研究方向为中药药效及物质基础研究。E-mail: zhaolintao1983@163.com

*通信作者: 张小丽, 学士, 研究员, 研究方向为中药药性研究。E-mail: 13038932330@163.com

TIMP1 in high dose groups were significantly decreased compared with model group ($P < 0.01, 0.05$). **Conclusion** Jinsang Sanjie capsule can alleviate chronic laryngitis induced by chemical stimulation in rats, and its mechanism may be related to the down-regulation of pro-inflammatory factors TNF- α and IL-6, thus reducing the expression of ICAM-1, inhibiting CRP, thus reducing the harmful effect caused by lysoprotease, and reducing the expression of MMP-9 protein, thus inhibiting the thickening of basement membrane.

Key words: chronic laryngitis; Jinsang Sanjie Capsule; tumor necrosis factor- α ; C-reactive protein; matrix metalloproteinase-9

慢性喉炎是指喉部黏膜因病原菌感染或者用声不当所引起的非特异性炎症性疾病,以声音嘶哑为主要症状,可伴有喉咽干燥或疼痛、咳嗽咯痰、咽异物感等症状,特点为病程较长、病情反复、迁延不愈,影响患者生活、工作质量,甚至影响身心健康。根据病变的程度,可以分为慢性单纯性喉炎、慢性肥厚性喉炎及慢性萎缩性喉炎3类^[1]。本病多发于青壮年,具有明显的职业倾向,好发于教师、导游、销售、歌唱家、乘务员等职业用嗓较多者,一旦发病,不易治愈。本病常由急性喉炎失治误治发展而来,也有因用嗓过度,声带长期劳损而引起。本病春秋季节,气候多风而干燥,容易发病,而冬月咳嗽是其诱发因素。慢性喉炎的发病无明显的地域性差别,但与环境中的烟尘、化学气体污染以及噪声过多有密切关系,近年来伴随着人们生活工作压力的增大以及大气环境污染的加重使该病的发病率有逐年升高的趋势^[2]。西医认为急性喉炎长期反复发作、呼吸道慢性炎症、用声不当/过度、长期有害气体/粉尘刺激等为引发慢性喉炎的主要因素,因此治疗主张在消除病因的同时,采用抗生素、糖皮质激素及肌松类药物进行治疗,临床效果不一,易复发,且多具有明显副作用^[3-4]。近年来多项研究显示,中医经典方剂在慢性喉炎治疗中具有显著疗效,且用药方便、副作用小、价格低廉^[5-6],金嗓散结胶囊为西安碑林药业股份有限公司研发的中成药,多年来在临床上广泛用于治疗慢性喉炎,有显著效果,并有多位学者进行了临床观察的研究^[7-8]。本研究通过制备化学刺激法所致大鼠慢性喉炎模型,用金嗓散结胶囊进行给药干预,探讨本品对大鼠慢性喉炎模型的作用及可能的机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠60只,体质量180~220 g,由西安交通大学医学院动物实验中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(陕)2018-001。实验动物购回后适应性喂养7 d,动物室温度保持在20~25℃;相对湿度保持在45%~70%。保持门窗密闭,使用空气净化系统,送新风全口开启,送风机隔日换机1次。饲料和垫料由钴60照射处理,每天清扫地面、

笼具架和墙壁,并用紫外线消毒1次,实验前后认真洗手和用75%酒精棉球消毒。实验结束后,对处死动物的尸体、垃圾应袋装后及时清理和焚烧,对动物的所有处理及操作符合动物实验伦理要求的3R原则。

1.2 药物及主要试剂

金嗓散结胶囊,由西安碑林药业股份有限公司提供,批号JA121070803;清咽利喉颗粒,桂龙药业(安徽)有限公司,批号20210305;基质金属蛋白酶-9(MMP-9)抗体(货号27306-1-AP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)抗体(货号17590-1-AP)、白细胞介素(IL)-6抗体(货号21865-1-AP)、C-反应蛋白(CRP)抗体(货号66250-1-Ig)、基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP1)抗体(货号16644-1-AP),购自武汉三鹰公司;IL-6 ELISA试剂盒(货号ERC003)、TNF- α ELISA试剂盒(货号GERC102A)、IL-1 β ELISA试剂盒(货号ERC007),购自深圳欣博盛生物科技有限公司;细胞间黏附分子-1(ICAM-1) ELISA试剂盒(货号RA20614),购自武汉贝茵莱生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

LEICA RM2235型组织切片机(德国徕卡公司);YB-7LF型包埋机(孝感市亚光医用电子技术有限公司);MULTISKAN SKY型酶标仪(美国赛默飞公司);E200型生物显微镜(日本NiKon公司);ChemiDoc™ Touch化学发光成像仪(美国伯乐公司)。

2 方法

2.1 建立动物模型

将50只雄性SD大鼠,适应性喂养1周后,用10%的水合氯醛以3 mL·kg⁻¹剂量进行ip麻醉,待大鼠进入深度睡眠后,采用止血钳和镊子将大鼠的口腔打开,将其舌向外提出并拉向一边,使用棉签蘸取10%的吡啶溶液,深入大鼠咽喉部,感到阻力后,稍向回拉,停留转动5~6 s,连续3~4次,每周造模2次,共计3周。另取10只大鼠作为对照组。

2.2 分组给药

造模3周后,模型组大鼠在抓取时均有声音沙哑症状,符合慢性喉炎的症状,视为造模成功。将

造模成功50只大鼠随机分为5组:模型组、清咽利喉颗粒(阳性药,1.58 g·kg⁻¹,临床等效剂量的6.3倍)组和金嗓散结胶囊高、中、低剂量(0.67、0.33、0.17 g·kg⁻¹,相当于临床等效剂量的12.60、6.30、3.15倍)组。ig给药,体积为10 mL·kg⁻¹,每天给药1次,每周给药7 d,共4周,对照组和模型组每天ig等体积的纯净水。每周对所有大鼠称体质量。

2.3 组织样本采集及处理

末次给药结束后,禁食12 h,使用1 g·kg⁻¹乌拉坦麻醉,腹主动脉取血,室温静置后,经4 °C、3 500 r·min⁻¹离心10 min取血清,放置4 °C冰箱保存。取喉部开声带部分,纵切一半置于4%聚甲醛固定以备组织病理学及免疫荧光检测用;其余部分置EP管中冻存于-80 °C冰箱保存。

2.4 一般状态观察

给药过程中观察各组大鼠一般状态,包括体质量、皮毛、声音。

2.5 血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1水平

取血清,根据ELISA试剂盒说明书操作,在酶标仪上检测IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1吸光度值,通过标准曲线计算含量。

2.6 组织病理学检查

取喉部声带组织,置于4%甲醛中固定48 h后横切1 cm取材,随后进行乙醇梯度脱水、二甲苯透明,石蜡浸蜡,包埋机包埋,用组织切片器4 μ m切片,进行HE染色,生物显微镜下观察组织病理学改变。

2.7 Western blotting 检测大鼠声带组织TNF- α 、CRP、MMP-9、TIMP、IL-6蛋白表达水平

组织块用预冷的PBS洗涤3次,加入RIPA裂解液(使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂),4 °C匀浆,取上清。用BCA法测定蛋白浓度,将50 μ g的蛋白样品上样后SDS-PAGE电泳,通过湿式蛋白电转到PVDF膜,使用5%的脱脂奶粉TBST中进行避光封闭1 h,洗涤之后加入一抗(TNF- α 、CRP、MMP-9、TIMP、IL-6以及内参 β -actin)稀释溶液,在4 °C的环

境中过夜保存,洗涤后加入二抗稀释溶液在温床中孵育1 h后再次洗涤,加入发光液ECL,在化学发光成像仪上显色。使用AlphaEase FC软件分析蛋白条带灰度值,以目的蛋白灰度值和内参灰度值的比值作为统计数据。

2.8 统计方法

数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用GraphPad 7.0软件做图和统计分析,各组数据采用两两 t 检验的方法进行组间差异统计。

3 结果

3.1 一般状态观察

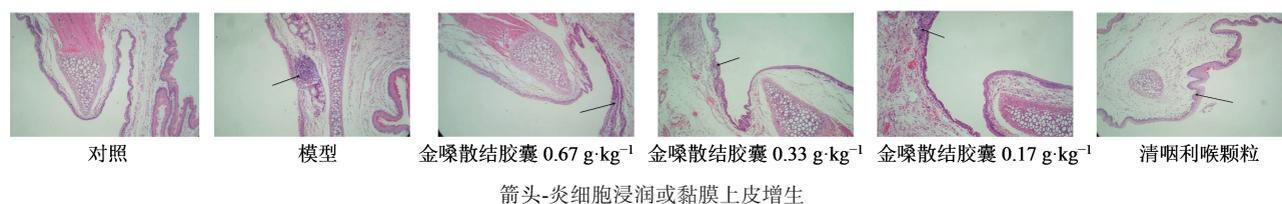
给药过程中,对照组大鼠精神状态良好,毛色有光泽,声音宏亮纤细;模型组大鼠声音沙哑,毛色发黄,易怒;金嗓散结胶囊高、中、低剂量及清咽利喉颗粒组随着给药的进行,声音沙哑、毛色发黄、易怒症状有所改善。各组间体质量无明显差异。

3.2 组织病理学检查

病理检查结果如图1所示,对照组大鼠喉部组织分界清晰,腺体较为丰富,腺体未见增生,黏膜组织较为正常;模型组大鼠喉部黏膜上皮增生明显,存在部分上皮脱落、坏死,黏膜出现水肿,有大量的炎性细胞浸润,有部分小血管增生显著;金嗓散结胶囊高剂量组大鼠喉部黏膜无增生、坏死现象,可见少量炎细胞浸润,结构趋于正常;金嗓散结胶囊中剂量组大鼠喉部黏膜轻度增生,无坏死现象,可见少量炎细胞浸润;金嗓散结胶囊低剂量组大鼠喉部黏膜轻度增生,无坏死现象,可见炎细胞浸润。清咽利喉颗粒组大鼠喉部黏膜轻度增生,无坏死现象,可见少量炎细胞浸润。

3.3 血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1水平

结果如表1所示,与对照组比较,模型组血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,金嗓散结胶囊高、中剂量组及清咽利喉颗粒组血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1水平显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),金嗓散结胶囊低剂量组TNF- α 水平显著降低($P < 0.05$)。



Arrow - inflammatory cell infiltration or mucosal epithelial hyperplasia

图1 声带组织病理学结果(HE染色,×100)

Fig. 1 Results of vocal cord histopathological (HE staining, ×100)

表1 各组大鼠血清IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1水平($\bar{x}\pm s, n=10$)
Table 1 Contents of serum IL-6, TNF- α , IL-1 β and ICAM-1 in each group ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	ICAM-1/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	40.10±12.07	18.07±8.62	19.16±5.68	5.09±1.10
模型	—	84.80±23.32 ^{##}	33.03±9.11 ^{##}	29.07±4.14 ^{##}	7.99±1.34 ^{##}
金嗓散结胶囊	0.67	44.20±13.92 ^{**}	20.44±5.75 ^{**}	21.17±3.88 ^{**}	5.57±1.71 ^{**}
	0.33	54.90±12.50 [*]	22.59±8.09 [*]	22.44±8.74 [*]	6.24±2.12 [*]
	0.17	68.30±23.44	25.15±7.03 [*]	25.45±6.98	7.23±1.71
清咽利喉颗粒	1.58	62.20±17.03 [*]	22.78±5.07 [*]	24.46±4.63 [*]	5.71±2.25 [*]

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

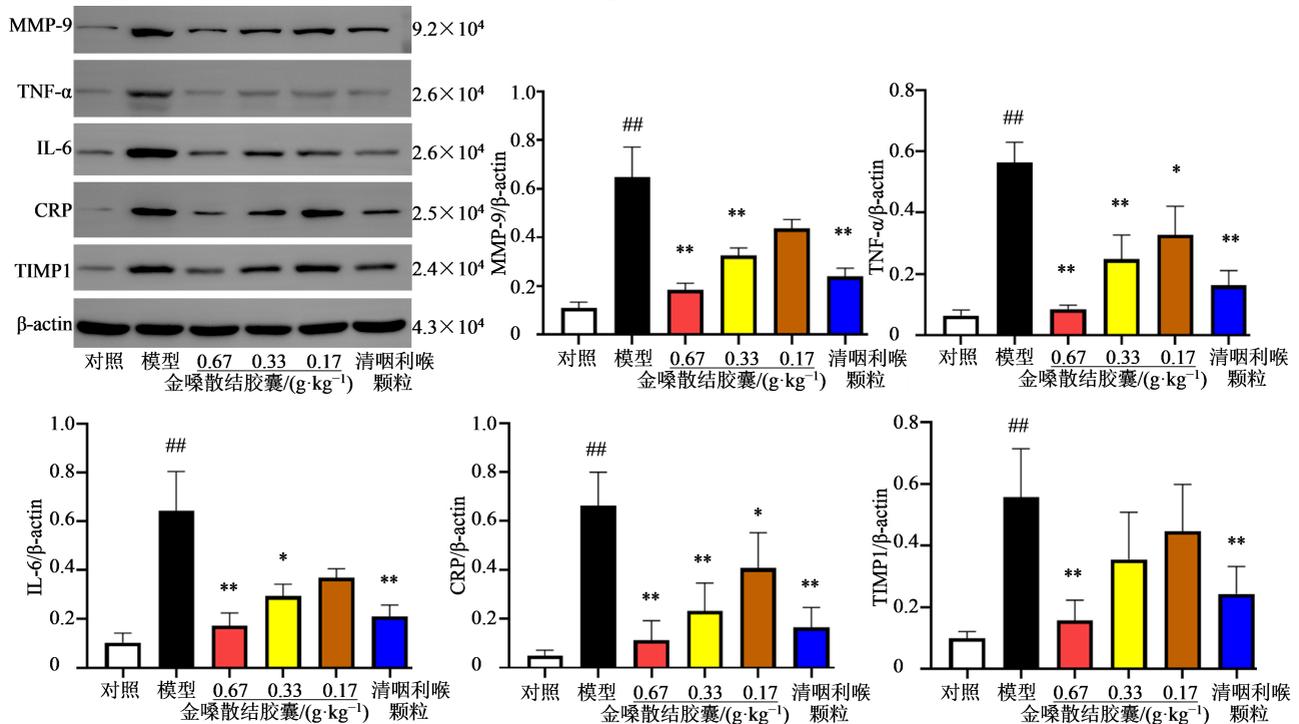
3.4 声带组织 TNF- α 、CRP、MMP-9、TIMP、IL-6 蛋白表达水平

结果如图2所示,与对照组比较,模型组 TNF- α 、CRP、MMP-9、TIMP、IL-6 蛋白相对表达水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,金嗓散结胶囊高、中、低剂量组 TNF- α 、CRP 蛋白相对表达水平显著降低($P < 0.05, 0.01$),高、中剂量组 MMP-9、IL-6 蛋白相对表达水平显著降低($P < 0.05, 0.01$),高剂量组 TIMP1 蛋白相对表达水平显著降低($P < 0.01$)。

4 讨论

慢性喉炎在中医又称为慢喉疔,古代对本病的病因病机认识主要有以下几个方面,脏腑虚损学说:《灵枢·经脉》曰:“手少阴之别……虚则不能

言”,《灵枢·邪气脏腑病形》曰:“心脉……涩甚为疔”;久嗽失音学说:认同此类学说的医家也较多,如明代医家徐春甫的《古今医统大全·卷四十六》曰:“有咳嗽久远,伤气而散者,此内因也”及“凡病人久嗽声哑,乃元气不足,肺气不滋”;阴虚致疔学说:《素问·宣明五气论偏》曰:“五邪所乱……搏阴则为疔”,指出邪搏于阴则阴伤致疔;气虚致疔学说:《仁斋直指方·卷八》曰“惟夫肾虚为病……其嗽愈重,其气愈乏,其声愈干”;痰湿瘀血致疔学说:《素问·脉要精微论篇》曰“五藏者……声如从宫中言,是中气之湿也”。以上医论提出了脾虚湿盛,湿聚生痰,痰湿阻于气道,则声道不畅为疔以及淤血阻滞致疔的痰湿淤血致疔学说。而痰湿淤血致疔



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图2 声带组织 TNF- α 、CRP、MMP-9、TIMP、IL-6 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig. 2 Expression levels of TNF- α , CRP, MMP-9, TIMP and IL-6 protein in vocal cord tissue ($\bar{x}\pm s, n=6$)

学说虽早在古代就有提及和明确的论述,但是局限于“金破不鸣”思想的束缚,在当时并没有被广泛接受和认可,没有得到足够的重视,后世医家对这一学说进行了广泛的临床运用,从实践证明了这一学说的科学性、可行性以及有效性,从而发展、丰富和形成了从气滞血瘀、痰湿阻滞等实证方面论治慢喉瘖的系统理论^[2]。自从明代张景岳在《景岳全书》中对慢喉暗进行全面概括性总结,提出“金实则不鸣,金破亦不鸣”理论,后来医家大多沿用此套理论,该理论主要从肺脏出发,前者属实证,后者属虚症。国医大师干祖望打破了这一局限,提出了“肝生筋”理论,认为“声带属筋,当肝所主”^[9]。由于现代医学观察到多数声嘶患者患有声带小结、声带息肉,周小军等^[10]提出了“金瘀不鸣”的理论,对比观察声带小结、声带息肉患者与其他喉科声嘶疾病中医辨证分型,前者气滞血瘀型明显高于后者,且对患者全血黏度(高切、中切、低切)、血浆黏度、全血还原黏度进行检测,结果提示前者血液呈高凝状态,客观上也证实了气滞血瘀理论。

金嗓散结胶囊功能主治为清热解毒、活血化瘀、利湿化痰。用于热毒蓄结、气滞血瘀而形成的慢喉暗(声带小结、声带息肉、声带黏膜增厚)及由此而引起的声音嘶哑等症。金嗓散结胶囊方中重用金银花、丹参清热解毒、活血化瘀、消肿利咽,为君药;板蓝根、马勃、蒲公英清热凉血、解毒散结、消肿利咽,桃仁、红花养血活血,三菱、莪术破血散瘀,为臣药;玄参、麦冬养阴清热,浙贝母、泽泻利湿化痰、散结利咽,鸡内金善消结块,蝉蜕、木蝴蝶疏风清肺、润燥利咽,为佐药。诸药合用,共奏清热解毒、活血化瘀、利湿化痰之效。金嗓散结胶囊自上市以来就成为临床治疗慢性喉炎极为广泛且长久的药物,傅彬^[11]曾对大鼠进行基础研究及对112例慢喉暗患者的临床疗效进行观察,证实金嗓散结丸具有抗炎、镇痛、活血化瘀、改善微循环作用,能改善慢喉暗患者声音嘶哑症状。张甦琳等^[12]曾运用金嗓散结胶囊对75例声带小结、声带息肉患者进行自身前后治疗观察,治愈率高达91.8%。

TNF- α 、IL-6作为促炎因子,表达水平与反流性咽喉炎病理演变过程呈正相关,可促进T淋巴细胞、中性粒细胞等分泌产生各种炎症因子,促进和加重咽喉局部炎性反应的发生^[13-14]。ICAM-1是一种重要的黏附分子免疫球蛋白,在内皮细胞、肿瘤细胞、白细胞、上皮细胞中均有分布。研究显示ICAM-1主要受多种因子调控,IL-1 β 、TNF- α 均会促进

ICAM-1表达^[15]。ICAM-1水平升高,会导致内皮细胞和白细胞受到损害或者被激活。相关研究指出,血清IL-1 β 、IL-6、ICAM-1、TNF- α 具有一定的相关性,同时能够抑制CRP水平,减少细菌扩散,对纤维细胞增长有缓解作用,抑制毛细血管通透性,从而提高机体抵抗力^[16-17]。CRP是肝脏合成的一种急性反应蛋白,主要调节炎症部位的反应,对抗创伤及感染部位的反应和对抗创伤及感染部位释放的溶蛋白酶的有害作用等,其升高是机体对细菌感染的应急反应之一^[18]。慢性喉炎患者组织基底膜增厚,主要由于III、IV型胶原的沉积及纤维连接蛋白的作用,在发生组织纤维化过程中,早期以III型胶原为主^[19]。MMP-9是宿主细胞如巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞等分泌的一种参与细胞基质合成的重要因子,相对分子质量92 000,TIMP-1是其天然拮抗剂,相对分子质量28 000。二者在组织基底膜降解及重塑方面发挥重要作用。

为进一步推广金嗓散结胶囊应用,本研究进行金嗓散结胶囊治疗慢性喉炎药效学实验。通过制备大鼠慢性喉炎模型,进行给药干预,检测血清和声带中炎症及胶原沉积相关蛋白表达。结果显示,金嗓散结胶囊可以减轻大鼠化学刺激法所致慢性喉炎的声音沙哑、喉部不适等症状,减轻慢性喉炎的病理症状,提示其对慢性喉炎有一定的治疗作用。金嗓散结胶囊可以显著降低大鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1含量,可显著降低大鼠声带组织中TNF- α 、CRP、MMP-9、IL-6、TIMP1蛋白表达,表明其作用机制可能与下调促炎因子TNF- α 、IL-6,进而降低ICAM-1的表达;抑制CRP,降低喉部感染区域的溶蛋白酶造成的有害作用;降低MMP-9蛋白表达,抑制由慢性喉炎引起的基底膜增厚有关,初步阐明了金嗓散结胶囊的作用机制,也为慢性喉炎的临床治疗提供了新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王永钦. 中医耳鼻咽喉口腔科学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
Wang Y Q. *Traditional Chinese Medicine Otolaryngology* [M]. 2nd Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011.
- [2] 闫随刚. 慢喉瘖的古今文献研究[D]. 昆明: 云南中医学院, 2017.
Yan S G. The ancient and modern literature research of chronic laryngitis [D]. Kunming: Yunnan University of

- Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [3] 赖丹, 黄毅岚, 蒲俊梅. 嗓音声学分析评估不同中医证型慢性喉炎患者的疗效 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2016, 24(5): 461-464.
- Lai D, Huang Y L, Pu J M. Evaluation of curative effects of different chronic laryngitis by voice acoustic analysis [J]. J Audiol Speech Pathol, 2016, 24(5): 461-464.
- [4] Kryukov A I, Romanenko S G, Pavlikhin O G, et al. Chronic catarrhal laryngitis in singers [J]. Vestn Otorinolaringol, 2021, 86(2): 33-37.
- [5] 胡少争, 景朝丽, 董韶昱, 等. 半夏厚朴汤加减在慢性咽喉炎患者治疗中的效果分析 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2017, 27(21): 51-52.
- Hu S Z, Jing C L, Dong S Y, et al. Effect analysis of modified Banxia Houpu Decoction in the treatment of chronic pharyngolaryngitis [J]. Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med, 2017, 27(21): 51-52.
- [6] 王文兰, 付彩文, 付文浩, 等. 冬凌草煎剂联合超声雾化吸入治疗慢性咽喉炎68例 [J]. 河南中医, 2015, 35(3): 582-583.
- Wang W L, Fu C W, Fu W H, et al. 30 cases of chronic laryngopharyngitis treated with decoction of *Rabdosia rubescens* combined with ultrasonic atomizing inhalation [J]. Henan Tradit Chin Med, 2015, 35(3): 582-583.
- [7] 崔云江. 金嗓散结胶囊联合庆大霉素雾化吸入对慢性喉炎疗效及血清炎症因子的影响 [J]. 中国医药科学, 2019, 9(14): 250-253.
- Cui Y J. Effects of Jinsangsanjie Capsule combined with aerosol inhalation of gentamicin on chronic laryngitis and serum inflammatory factors [J]. China Med Pharm, 2019, 9(14): 250-253.
- [8] 李海翠, 张雄. 金嗓散结胶囊与金嗓开音胶囊对声带息肉及小结术后复发率140例 [J]. 云南中医中药杂志, 2015, 36(9): 30-31.
- Li H C, Zhang X. 140 cases of postoperative recurrence rate of vocal polyp and nodule treated by Jinsang Sanjie Capsule and Jinsang Kaiyin Capsule [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med, 2015, 36(9): 30-31.
- [9] 赵晶晶, 陈小宁. 山萸肉治疗慢喉暗的理论探索 [J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 2014, 22(1): 59-60.
- Zhao J J, Chen X N. Theoretical exploration of *Corni Fructus* in treating slow throat [J]. Chin J Otorhinolaryngol Integr Med, 2014, 22(1): 59-60.
- [10] 周小军, 周爱华, 赵时梅. 慢喉暗患者血流变学特征观察 [J]. 中医药研究, 2000(6): 12-13.
- Zhou X J, Zhou A H, Zhao S M. Observation on hemorheological characteristics of patients with slow throat [J]. Res Tradit Chin Med, 2000(6): 12-13.
- [11] 傅彬. 金嗓散结丸药理研究、药效分析和临床观察 [J]. 中国中西医结合耳鼻咽喉科杂志, 1997, 5(1): 24-25.
- Fu B. Pharmacological study, efficacy analysis and clinical observation of Jinsang Sanjie pill [J]. Chin J Otorhinolaryngol Integr Med, 1997, 5(1): 24-25.
- [12] 张甦琳, 李云程, 王彦君, 等. 金嗓散结胶囊治疗声带息肉及声带小结的临床疗效分析 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2012, 26(15): 690-691.
- Zhang S L, Li Y C, Wang Y J, et al. Jinsangsanjie Capsule for treating vocal fold polyps and vocal nodules [J]. J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg, 2012, 26(15): 690-691.
- [13] 樊冬杰, 侯健, 黄玉伟. 六郁汤治疗反流性食管炎临床药效及对血浆TNF- α 、IL-6影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1): 200-202.
- Fan D J, Hou J, Huang Y W. Effect of Liuyu Decoction on clinical efficacy of reflux esophagitis and its effects on TNF- α and il-6 in patients [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(1): 200-202.
- [14] 袁红霞, 张鹏, 杨幼新, 等. 旋覆代赭汤对反流性食管炎模型大鼠食管及血浆TNF- α 的影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 5-6.
- Yuan H X, Zhang P, Yang Y X, et al. Influence of Xuanfu Daizhe Decoction on level of TNF- α in esophagus and serum of RE rats [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2012, 14(6): 5-6.
- [15] Arkenbout E K, Dekker R J, de Vries C J M, et al. Focusing on transcription factor families in atherogenesis: The function of LKLF and TR3 [J]. Thromb Haemost, 2003, 89(3): 522-529.
- [16] Slaats J, Ten Oever J, van de Veerndonk F L, et al. IL-1 β /IL-6/CRP and IL-18/ferritin: Distinct inflammatory programs in infections [J]. PLoS Pathog, 2016, 12(12): e1005973.
- [17] Ng A, Tam W W, Zhang M W, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in elderly patients with depression or alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 12050.
- [18] 王小虎, 张卫国, 吴清明, 等. 胃黏膜肥大细胞及C-反应蛋白与Hp致病关系的探讨 [J]. 中国实验诊断学, 2002, 6(6): 397-398.
- Wang X H, Zhang W G, Wu Q M, et al. A study on the relation between the gastric mucosal mast cell, C-reactive protein and the pathogenesis of *Helicobacter pylori* [J]. Chin J Lab Diagn, 2002, 6(6): 397-398.
- [19] Chu H W, Halliday J L, Martin R J, et al. Collagen deposition in large airways may not differentiate severe asthma from milder forms of the disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 158(6): 1936-1944.