

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.12.003

三十六荡坎蛤散干预哮喘缓解期小鼠肠组织蛋白质组学差异表达研究*

杨丽琴¹ 丛媛媛¹ 胡洪源¹ 孙继超² 雍亚云² 吴玉苗¹ 李伟伟^{2Δ}

(1 广西中医药大学 广西 南宁 530200; 2 广西中医药大学第一附属医院 广西 南宁 530023)

摘要 目的: 用蛋白质组学方法探究三十六荡坎蛤散对哮喘缓解期小鼠肠组织蛋白差异表达的影响。**方法:** 将 45 只 SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠随机分为正常组、模型组、三十六荡坎蛤散组, 采用 HE 染色法观察小鼠肺组织的病理变化, 采用 ELISA 法检测肺泡灌洗液(BALF)中白介素-1 β (IL-1 β)、白介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平, 提取肠组织蛋白, 利用非标记(Label-free)定量蛋白质组学技术研究蛋白表达差异。**结果:** 与模型组比较, 三十六荡坎蛤散组显著改善了哮喘缓解期小鼠肺组织的病理状态, 减轻炎症反应, 改善小鼠哮喘症状; BALF 中 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 水平降低($P<0.01$); 蛋白质组学研究共鉴定到 6634 个蛋白, 模型组和三十六荡坎蛤散组共有 232 个差异蛋白, 模型组和正常组共有 34 个差异蛋白, 模型组与正常组比较有差异而三十六荡坎蛤散使差异趋势逆转的蛋白有 6 个, 即 Hsd17b2, Plp2, Vnn1, Olfm4, Hsbp1, Gimd。GO 分析显示差异表达蛋白主要参与新陈代谢、炎症反应、神经系统调节等生物过程, KEGG 分析显示, 三十六荡坎蛤散主要涉及新陈代谢、炎症反应和免疫调节等 10 条信号通路。**结论:** 三十六荡坎蛤散可能通过逆转 Hsd17b2, Plp2, Vnn1, Olfm4, Hsbp1, Gimd 的表达, 参与多个生物过程, 作用多条信号通路实现干预哮喘。

关键词: 三十六荡坎蛤散; 哮喘缓解期; 肺-肠轴; 蛋白质组学

中图分类号: R-33; R285.5; R562.25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2023)12-2215-06

Study on Sanshiliudang Kange Powder Intervening Proteomic Differential Expression in Intestinal Tissue of Asthma in Remission Mice*

YANG Li-qin¹, CONG Yuan-yuan¹, HU Hong-yuan¹, SUN Ji-chao², YONG Ya-yun², WU Yu-miao¹, LI Wei-wei^{2Δ}

(1 Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China;

2 The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530023, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Sanshiliudang Kange Powder(SKP) on the proteomic differential expression in the intestinal tissue of mice with bronchial asthma during remission by proteomics technology. **Methods:** Forty-five SPF female C57BL/6 mice were randomly divided into normal group, model group, and Sanshiliudang Kange Powder group. HE staining was used to observe the pathological changes in mice lung tissue. The levels of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were determined by ELISA. Proteins were extracted from the intestinal tissues, and the protein expression differences were studied by Label-free quantitative proteomics. **Results:** Compared with that in the model group, Sanshiliudang Kange Powder significantly improved the pathological state of lung tissue, alleviated inflammation and improved asthma symptoms in mice with asthma during remission. Levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α decreased in BALF ($P<0.05$); A total of 6634 proteins were identified in proteomics research, there were 232 different proteins in the model group and the Sanshiliudang Kange Powder group, and there were 34 different proteins in the model group and the normal group. There were differences between the model group and the normal group, and Sanshiliudang Kange Powder could reverse the trend of the difference. There were six different proteins namely Hsd17b2, Plp2, Vnn1, Olfm4, Hsbp1, Gimd. GO analysis showed that differentially expressed proteins were mainly involved in biological processes such as metabolism, inflammatory response, nervous system regulation. KEGG analysis showed that Sanshiliudang Kange Powder was mainly involved in 10 signaling pathways including metabolism, inflammatory response and immune regulation. **Conclusions:** Sanshiliudang Kange Powder may achieve the intervention of asthma by reversing the expression of Hsd17b2, Plp2, Vnn1, Olfm4, Hsbp1 and Gimd, participating in multiple biological processes and acting on multiple signaling pathways.

Key words: Sanshiliudang Kange Powder; Asthma in remission; Lung-intestinal axis; Proteomics

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R285.5; R562.25 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)12-2215-06

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81860867); 中医药人才队伍建设专项经费 - 广西名中医工作室建设项目(2021022-001-08);

广西中医药大学 2021 年校级博士研究生科研创新项目(YCBXJ2021017)

作者简介: 杨丽琴(1983-), 女, 硕士, 讲师, 博士研究生, 从事儿科肺肾系疾病与体质、免疫相关研究, E-mail: 271783227@qq.com

Δ 通讯作者: 李伟伟, 男, 本科, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事儿科肺肾系疾病与体质、免疫相关研究, E-mail: 13878161612@163.com

(收稿日期: 2022-12-06 接受日期: 2022-12-28)

前言

支气管哮喘(简称哮喘)是以气道慢性炎症和气道高反应性为主要特征的异质性疾病,临床上以反复发作的喘息、咳嗽、气促和胸闷为主要临床特征^[1]。壮医学认为哮喘的病因和病机表现为"虚"、"毒"^[2],小儿哮喘持续期是毒邪侵袭患儿,患儿素体虚弱,痰湿内盛,导致患儿"三道两路"阻滞、"天、地、人"三部之气不能同步,气血运行不畅,痰瘀互结,影响气机紊乱所致^[3]。

三十六荡坎蛤散(SK_P)作为壮医临床的经典方,具备扶正祛邪,调气解毒补虚的作用,被民间广泛应用于儿童哮喘缓解期的治疗,主要有三十六荡、龙胆叶、一匹绸、石蚂蝗、坎气、蛤蚧组成,这六味药调"气道"通"谷道",共同畅通"三道两路"、恢复"天、地、人"三气同步^[3],但其确切作用机制尚未明确。

近年来有学者提出的"肺-肠轴(lung-gut axis)"学说,将肺部相关疾病与肠道的生理病理状态紧密联系在一起^[4],这与传统中医理论"肺与大肠相表里"有异曲同工之妙,"肺与大肠相表里"的内涵是以脏腑、经络与气化为基础,用以描述肺脏与大肠腑的关联性,诠释肺与大肠之间的生理与病理通应关系的概念范畴^[5,6],基于"肺-肠轴"学说,本研究利用非标记(Label-free)定量蛋白质组学技术获取三十六荡坎蛤散干预哮喘缓解期小鼠后肠组织的相关蛋白,通过生物信息学分析这些蛋白参与调控的信号通路,在分子水平上阐释三十六荡坎蛤散治疗哮喘缓解期的作用机制,也从实验中进一步提供阐明"肺与大肠相表里"的现代医学证据。

1 材料与方法

1.1 动物

健康雌性清洁级 C57BL/6 纯系小鼠 45 只,鼠龄 6-8 w,体重 16-20 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,生产许可证号 SCXK(湘)2019-0014。在广西中医药大学第一附属医院标准实验动物室饲养,符合普通级要求,小鼠自由进食常规饲料和水。适应 1 w 后进行实验。

1.2 药物与试剂

三十六荡坎蛤散由广西中医药大学第一附属医院药剂科提供,批号:20200510。三十六荡坎蛤散水煎剂 50 mL/袋(三十六荡、一匹绸、蛤蚧、石蚂蟥、龙胆叶、坎气,水煎浓缩至 2.4 g·mL⁻¹,袋装密封)。孟鲁司特钠片 Merck Sharp&Dohme B.V.公司,批号:2029342;氢氧化铝,天津市大茂化学试剂厂,批号:20170602;卵清蛋白(OVA),北京索莱宝科技有限公司,批号:603J051。

1.3 仪器

电子天平,德国 Sartorius,型号:CPA 225D/224S/1003P;雾化器,东莞英华融泰医疗科技有限公司,型号:FC05-B;NanoElute 色谱系统,德国 Bruker 公司;低温高速离心机,德国 Eppendorf 公司,型号:5430R;电泳仪,美国 BIO-RAD 公司;超声破碎仪,宁波新芝生物科技股份有限公司,型号:JY96-IIN;Votex 振荡器,美国 Scientific Industries 公司;Nano Drop,美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:ND2000;timsTOF Pro 质谱仪,德国 Bruker 公司;Multiskan FC 酶标仪,美国 Thermo Fisher Scien-

tific 公司;真空离心浓缩仪,太仓市华美生化仪器厂,型号:LNG-T98;MP Fastprep-24 匀浆仪,美国 MP 公司,型号:Fastprep-24 5G。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

45 只 SPF 雌性 C57BL/6 纯系小鼠随机分为正常组、模型组、三十六荡坎蛤散组,每组 15 只。参照文献造模方法^[7],修订制备小鼠模型:小鼠腹腔注射 OVA 致敏液 0.2 mL(OVA 100 μg+氢氧化铝 1 mg+0.9%生理盐水 1 mL)致敏,第 11 d、第 12 d 时再次以同剂量腹腔注射致敏,将小鼠放入装有雾化装置的密闭容器中,以 1.0% OVA 致敏液雾化吸入 30 min 致敏,依此每周雾化 2 次,至第 76 d,共雾化 12 次,正常组和模型组以同体积的氯化钠溶液来代替,以小鼠出现喘息、打喷嚏、抓鼻等症状,标志造模初步成功。末次激发后第 2 d,进行药物干预治疗,每日灌胃给药 1 次,正常组、模型组以等体积氯化钠溶液代替,连续用药 28 d。

2.2 HE 染色检测小鼠肺组织病理

末次药物干预后,禁食禁水过夜,统一处死取材。取各组小鼠完整肺组织,置于 4%的多聚甲醛液中固定,用于 HE 染色观察小鼠肺组织病理变化。

2.3 ELISA 检测小鼠肺泡灌洗液(BALF)中 IL-1β, IL-6, TNF-α 的含量

回收右肺泡灌洗液,2000 r/min,离心 15 min 后取上清液,按 ELISA 试剂盒说明书的步骤,分别检测 BALF 中 IL-1β, IL-6, TNF-α 的水平。

2.4 Label-free 定量蛋白质组学分析

2.4.1 小鼠肠组织蛋白样品处理 取小鼠肠组织,加入适量 SDT 裂解液,移至 Lysing Matrix A 管中,用 MP 匀浆仪进行匀浆破碎,超声后,沸水浴 10 min。14000×g 离心 15 min,取上清液的蛋白,用 BCA 法进行蛋白质定量。各样品取蛋白质 20 μg,行 12% SDS-PAGE 电泳,考马斯亮蓝染色。各样品取 80 μg 蛋白质溶液,经过 FASP 酶解及 C₁₈ Cartridge 肽段脱盐,待肽段冻干后加入 40 μL 0.1%甲酸溶液复溶。样品经 NanoElute 色谱分离后用 timsTOF Pro 质谱仪的 PASEF 模式进行质谱分析。

2.4.2 数据统计分析 采用 MaxQuant 软件(版本号 1.6.14.0)进行数据库搜索,采用 LFQ (Label Free Quantitation)算法进行蛋白质定量分析,使用 Uniprot 数据库对质谱数据进行蛋白质定性分析,检索条件为 $FDR \leq 0.01$ 且 $P < 0.05$ 。应用 R version 对纳入的数据按照差异倍数定量比值(fold change, FC) > 2.0 或 < 0.5 ,且 $P < 0.05$ 为筛选标准,筛选出 $FC > 2.0$ 、且 $P < 0.05$ 为差异蛋白表达上调, $FC < 0.5$ 、 $P < 0.05$ 为差异蛋白表达下调,即为有统计学意义的差异蛋白。使用 Blast2GO 工具进行 GO 分析和 KEGG 数据库进行富集分析,通过 Fisher 精确富集检验差异蛋白的显著性水平。

2.5 统计学分析

使用 SPSS 24.0 软件进行统计学分析。其中数据属于正态分布、且方差齐者用单因素方差分析(One-Way ANOVA),否则使用非参数检验, $P < 0.05$ 为检验水平考察组间差异。

3 结果

3.1 三十六荡坎蛤散对哮喘模型小鼠肺组织病理形态的影响

图 1(HE 染色)显示:正常组小鼠气管黏膜上皮光滑,无细胞脱落,无增厚或水肿;肺泡壁薄,边界清晰,肺泡腔内无异常分泌物;模型组小鼠气管黏膜上皮粗糙,管腔狭窄,挤压,黏膜

上皮明显肿胀突起;肺泡壁明显萎陷,增厚,边界不清,分泌物增多,可见明显炎症细胞浸润,上皮细胞大量脱落;与模型组比较,三十六荡坎蛤散组小鼠气管黏膜上皮明显改善,管腔扩张,挤压程度明显减轻,未见细胞脱落,黏膜上皮光滑,肿胀明显消除;肺泡壁边界清晰,未见炎症细胞浸润,小鼠气管和肺泡组织病理学损伤明显改善。

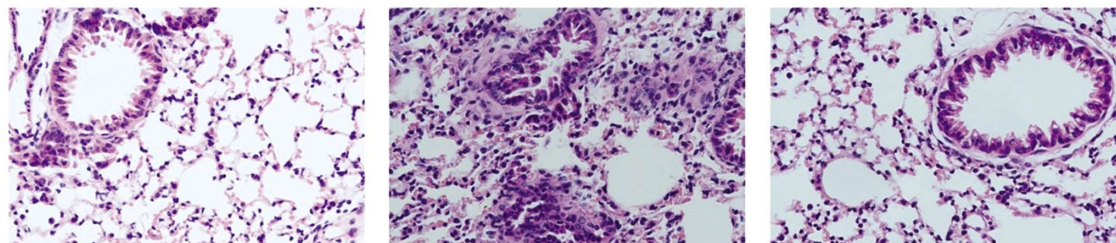


图 1 各组小鼠肺组织病理改变(HE,×200)

Fig.1 Pathological changes of lung tissue in each group(HE,×200)

3.2 三十六荡坎蛤散对小鼠 BALF 中 IL-1 β ,IL-6,TNF- α 含量的影响

与正常组比较,模型组小鼠 BALF 中 IL-1 β ,IL-6,TNF- α

含量均升高($P<0.01$);与模型组比较,三十六荡坎蛤散组小鼠 BALF 中 IL-1 β ,IL-6,TNF- α 含量均降低($P<0.01$),详见表 1。

表 1 各组小鼠 BALF 中 IL-1 β ,IL-6,TNF- α 水平的比较($\bar{x}\pm s$,n=6)

Table 1 Comparison of IL-1 β , IL-6, TNF- α levels in mouse BALF of each group($\bar{x}\pm s$, n=6)

Groups	n	IL-1 β /pg·mL ⁻¹	IL-6/pg·mL ⁻¹	TNF- α /pg·mL ⁻¹
Normal group	6	32.80 $\pm$ 2.38	35.23 $\pm$ 0.54	43.13 $\pm$ 0.30
Model group	6	46.15 $\pm$ 0.36**	56.08 $\pm$ 2.32**	63.26 $\pm$ 0.47**
SKP group	6	35.67 $\pm$ 2.09 ^{##}	35.79 $\pm$ 1.30 ^{##}	51.67 $\pm$ 0.20 ^{***}

Note: compared with normal group, ** $P<0.01$; compared with model group, ^{##} $P<0.01$.

3.3 三十六荡坎蛤散对哮喘模型小鼠肠组织蛋白质组学的影响

3.3.1 差异表达蛋白筛选结果 选取三组小鼠的肠组织进行 Label-free 定量蛋白质组学分析,共鉴定到 6634 个蛋白,相对于正常组,模型组肠组织中有 34 个差异蛋白,其中上调蛋白是 15 个,下调蛋白是 19 个。相对于模型组,三十六荡坎蛤散组出

现了共达 232 个差异蛋白,161 个蛋白显示上调,71 个蛋白显示下调。通过对比分析,发现其中正常组和模型组相比存在差异而三十六荡坎蛤散干预后可让差异趋势逆转的蛋白有 6 个,见表 2。

表 2 各组差异趋势逆转蛋白

Table 2 Different trend reversal proteins in each group

Rotein IDs	Protein Name	Protein function description	Gene Name	Normal groupVS model group(FC	Model group VS SKP
				value/Expression change)	(FC value/Expression change)
P51658	DHB2	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 2	Hsd17b2	3.54/UP	0.48/DOWN
Q9R1Q7	PLP2	Proteolipid protein 2	Plp2	2.40/UP	0.45/DOWN
Q9Z0K8	VNN1	Pantetheinase	Vnn1	2.78/UP	0.34/DOWN
Q3UZZ4	OLFM4	Olfactomedin-4	Olfm4	2.55/UP	0.27/DOWN
Q9CQZ1	HSBP1	Heat shock factor-binding protein 1	Hsbp1	0.47/DOWN	2.00/UP
E9PW74	GIMD1	GTPase IMAF family member GIMD1	Gimd1	0.35/DOWN	2.03/UP

Note: $FC>2.0$ and $P<0.05$ was the up-regulation of differential protein expression; $FC<0.5$ and $P<0.05$ was the down-regulation of differential protein expression.

3.3.2 差异蛋白 GO 功能富集分析 筛选 $P<0.05$ 且排名前 10 位的 GO 功能最显著富集的分类结果,发现相对于正常组,

模型组肠组织中的 34 个差异蛋白主要参与突触调节、神经系统发育的调节、顶体反应等生物过程,大多分布在细胞膜、细胞

器、突触前膜空间,大多具有分子结合、蛋白质结合、蛋白酶活性功能(见图2)。相对模型组,三十六荡坎蛤散调控的差异蛋白主要参与新陈代谢、炎症反应、神经系统调节等生物过程,主

要集中于细胞膜、细胞外空隙,多具有蛋白酶活性、免疫调节等多种分子功能(见图3)。

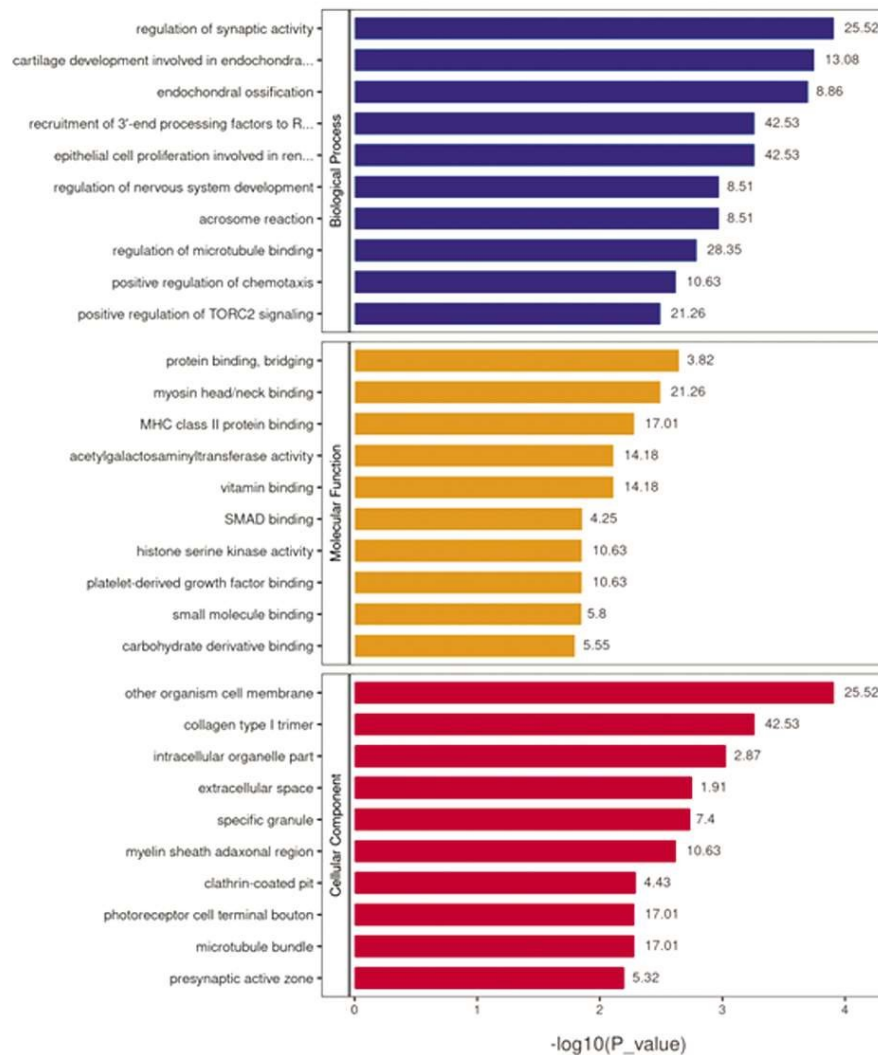


图2 正常组和模型组差异蛋白 GO 分析

Fig. 2 Go analysis of differentially expressed protein between normal group and model group

3.3.3 差异蛋白的 KEGG 富集分析 KEGG 富集分析发现,相对于正常组,模型组肠组织中的差异蛋白主要参与糖胺聚糖生物合成、卵巢类固醇生成、蛋白质消化吸收、单环内酰胺生物合成、泛酸和 CoA 生物合成、胰腺分泌物等通路(见图4)。三十六荡坎蛤散调控的差异蛋白主要参与新陈代谢、炎症反应和免疫调节等通路有关,如蛋白质消化吸收、癌症中的转录失调、肾素-血管紧张素系统、花生四烯酸代谢、肠道免疫 IgA 等通路(见图5)。

4 讨论

小儿哮喘,祖国医学认为其反复发作的夙根在于患儿素体虚弱,肺、脾、肾不足,痰饮内盛,留伏体内,阻于气道,气逆上冲,毒邪诱发则发为哮喘,哮喘缓解期在临床中依然会有不同程度和不同频度的喘息、气促、咳嗽和胸闷等症状^[3]。现代医学普遍认为哮喘病作为一种顽固的呼吸系统病种,与多种因素相关,如遗传、变应原的吸入、感染、炎症免疫等^[8,9]。研究者从微生

物菌群的角度将肠道的生理病理状态与肺部相关疾病紧密联系在一起^[10]。有许多研究表明肠道菌群作为肠道定植的细菌,不仅数量巨大,还存在多样性、复杂性和动态性等特点,并且对宿主发挥着防御感染、维护屏障、免疫、代谢和营养等生理功能^[11,12]。师留杰^[13]发现调控肠道菌群可以减轻哮喘小鼠气道炎症反应。余涛等^[14]发现益气温阳护卫汤可以调节肠道菌群达到治疗哮喘的目的。

在本次研究中,模型组小鼠在三十六荡坎蛤散灌胃后,显著改善了哮喘缓解期小鼠肺组织的病理状态,减轻炎症反应,改善小鼠哮喘症状,降低了 BALF 中 IL-1 β , IL-6, TNF- α 水平。由此可见,从动物实验水平验证了三十六荡坎蛤散具备扶正补虚,解毒平喘的功效和治疗哮喘缓解期的可行性,虽其作用机制仍不明确,但蛋白质组学研究可以直接阐明清楚疾病在生理以及病理条件下的变化机制^[15]。

蛋白质组学研究结果显示,相对于正常组,模型组肠组织中有34个差异蛋白,其中上调蛋白有15个,下调蛋白有19

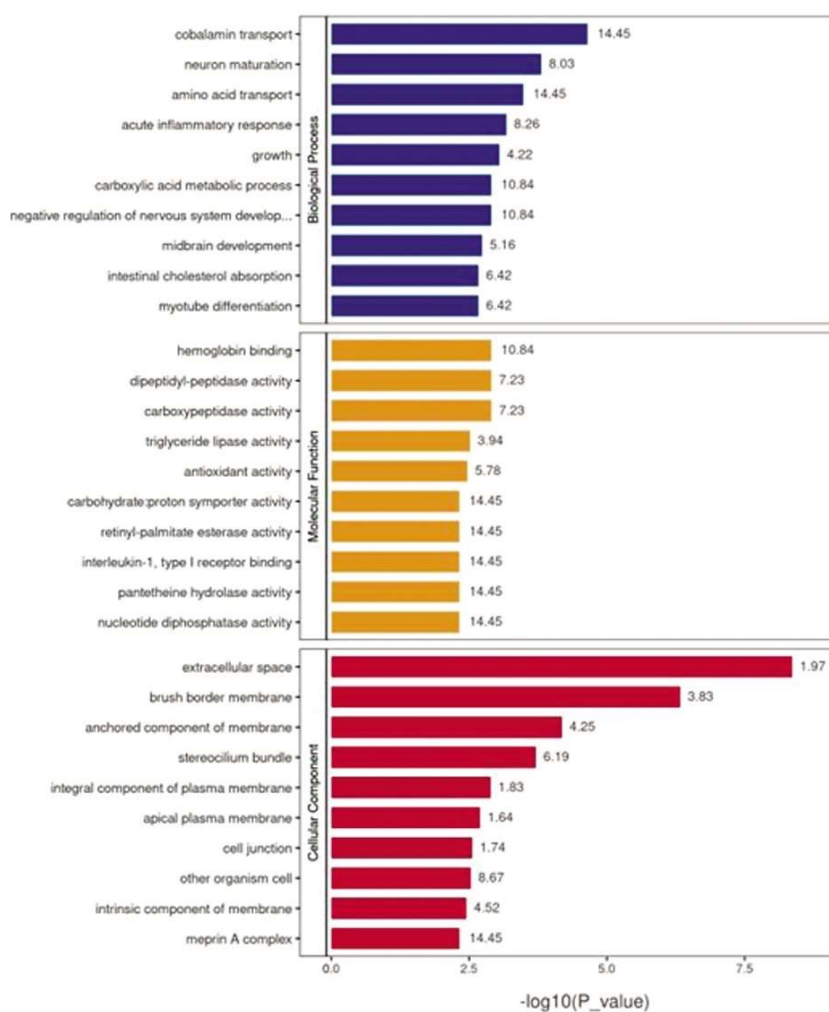


图3 模型组和SKP组差异蛋白GO分析

Fig. 3 Go analysis of differentially expressed protein between model group and SKP group

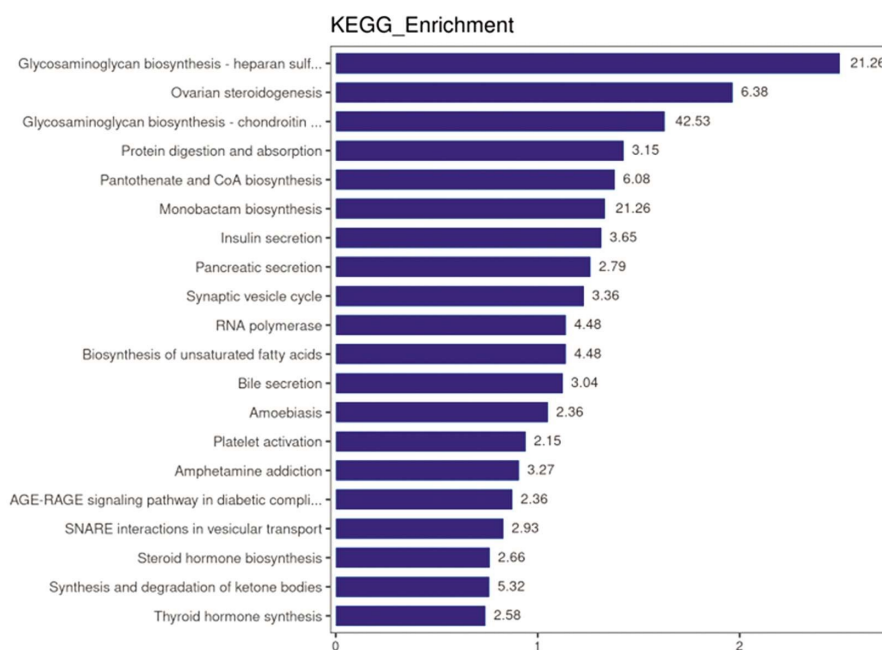


图4 正常组与模型组KEGG通路分析

Fig. 4 KEGG pathway analysis of differentially expressed protein between normal group and model group

个。相对于模型组，三十六荡坎蛤散组出现 232 个差异蛋白，161 个蛋白表达上调，71 个蛋白表达下调。其中正常组和模型

组相比存在差异而三十六荡坎蛤散干预后可让差异趋势逆转的蛋白有 6 个，分别为 Hsd17b2、Plp2、Vnn1、Olfm4、Hsbp1、Gimd。

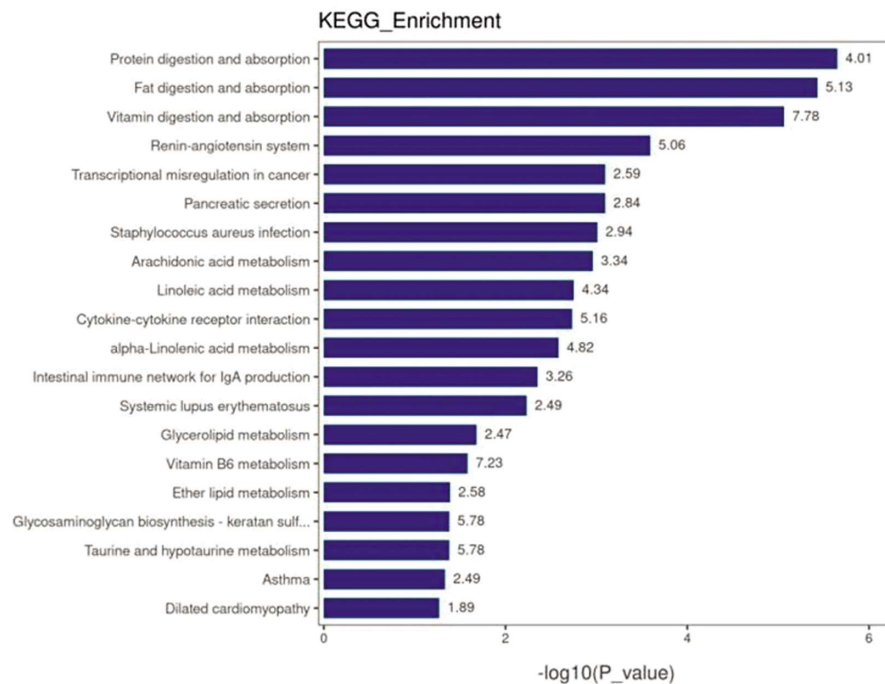


图 5 模型组与 SKP 组 KEGG 通路分析

Fig. 5 KEGG pathway analysis of differentially expressed protein between model group and SKP group

Vnn1 (血管非炎症分子 1, vascular non-inflammatory molecule 1), 是 vanin 家族的糖磷脂酰肌醇固定的一种细胞表面分子, 在氧化应激、炎症和细胞迁移中起作用^[16], Xiao C 等发现在患有急性哮喘加重的儿童中, 低 VNN1 基因表达与皮质类固醇治疗反应不良有关, 且在 Vnn1 基因敲除小鼠上对地塞米松治疗的反应性差^[17]。Johnson RK 等发现 Vnn1 是遗传代谢物中与哮喘具有强相关性的一种, 与哮喘存在共同的因果变异^[18]。Xing Y 等发现哮喘小鼠中升高的 vannin-1 (由 Vnn1 基因编码) 激活了 PI3K/Akt/NFκB 信号通路, 导致 ROS 和炎症反应, 从而引发哮喘^[19]。本实验中 Vnn1 蛋白在三十六荡坎蛤散干预后确实上调了, 趋势与文献相关研究是一致的。

Olfm4 (Olfactomedin 4, 又称 HGC-1 和 GW112), 是嗅觉抑制蛋白家族中的一种^[20], 主要存在于中性粒细胞和胃肠道上皮细胞上^[21], Olfm4 可能是 Notch 信号通路的靶基因, 对细胞分化、增殖和炎症免疫反应中发挥作用^[22]。Chen X 等^[23]发现哮喘患者血清 Olfm4 水平升高, 且 Olfm4 水平可能作为评估哮喘成人哮喘控制状态的有用生物标志物。本实验中 Olfm4 在三十六荡坎蛤散干预后上调了, 与文献相关研究也是一致的。

三十六荡坎蛤散干预后出现差异趋势逆转的蛋白 Hsd17b2, Plp2, Hsbp1, Gimd 目前尚无相关文献报道与哮喘的关系, 这为进一步探索三十六荡坎蛤散治疗哮喘的作用机制提供新的研究思路。

综上所述, 三十六荡坎蛤散可能通过逆转肠组织 Hsd17b2, Plp2, Vnn1, Olfm4, Hsbp1, Gimd 的表达, 主要通过参与新陈代谢、炎症反应、神经系统及免疫系统调节等生物过程, 作用蛋白质消化吸收、癌症中的转录失调、肾素-血管紧张素系统、花生四烯酸代谢等多条信号通路实现干预哮喘的。Hsd17b2, Plp2, Vnn1, Olfm4, Hsbp1, Gimd 蛋白可能是三十六荡坎蛤散基于肺-肠轴理论治疗哮喘的潜在药物靶点, 有待进

行进一步的验证和研究。

参考文献 (References)

- [1] 尚云晓, 王雪峰. 中西医结合防治儿童哮喘专家共识 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2020, 12(3): 185-191
- [2] 仁锋, 庞宇舟. 庞宇舟论壮医气血理论及其临床经验 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(12): 1967-1970
- [3] 李伟伟, 雍亚云, 赵美莉, 等. 壮药三十六荡坎蛤散治疗小儿哮喘慢性持续期的机理探析 [J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(10): 54-55
- [4] Barcik W, Boutin RCT, Sokolowska MB. The Role of Lung and Gut Microbiota in the Pathology of Asthma [J]. Immunity, 2020, 52(2): 241-255
- [5] 彭远平, 葛兰, 黄从付. 肠-肺轴互作沟通机制及膳食纤维预防呼吸道感染病毒感染研究进展 [J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(10): 1228-1231+1237
- [6] 徐天成, 吴晓亮, 裴丽霞, 等. 肺与大肠相表里的微生物学解释 [J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(01): 100-103
- [7] 王爱华. 基于 ADAM33, ETS-1, MMPs/TIMPs 从“体质-伏痰”探讨固本防哮干预哮喘气道重塑的机制 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2016
- [8] Kuruvilla ME, Vanijcharoenkarn K, Shih JA. Epidemiology and risk factors for asthma [J]. Respir Med, 2019, 149: 16-22
- [9] Saglani S, Fleming L, Sonnappa S, et al. Advances in the aetiology, management, and prevention of acute asthma attacks in children [J]. Lancet Child Adolesc Health, 2019, 3(5): 354-364
- [10] Durack J, Boushey HA, Lynch SV. Airway Microbiota and the Implications of Dysbiosis in Asthma [J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2016, 16(8): 52
- [11] Aron-Wisnewsky J, Vigliotti C, Witjes J, et al. Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2020, 17(5): 279-297

- (3): 563-581
- [4] Toms J, Kogler J, Maschauer S, et al. Targeting Fibroblast Activation Protein: Radiosynthesis and Preclinical Evaluation of an (18) F-Labeled FAP Inhibitor[J]. J Nucl Med, 2020, 61(12): 1806-1813
- [5] O'Brien P, O'Connor B F. Seprase: an overview of an important matrix serine protease[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1784(9): 1130-1145
- [6] 朴明慧, 曲文博, 刘冰, 等. 纳米载药在心肌梗死及其并发症防治中的应用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(11): 989-994
- [7] Virani S S, Alonso A, Aparicio H J, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association[J]. Circulation, 2021, 143(8): e254-e743
- [8] Frangogiannis N G. Cardiac fibrosis[J]. Cardiovasc Res, 2021, 117(6): 1450-1488
- [9] Fitzgerald A A, Weiner L M. The role of fibroblast activation protein in health and malignancy [J]. Cancer Metastasis Rev, 2020, 39(3): 783-803
- [10] Lay A J, Zhang H E, McCaughan G W, et al. Fibroblast activation protein in liver fibrosis[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2019, 24(1): 1-17
- [11] 孙朝晖, 邹立伟, 杨凌. 成纤维细胞活化蛋白的研究进展 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2020, 47(01): 39-52
- [12] Juillat-Jeanneret L, Tafelmeyer P, Golshayan D. Regulation of Fibroblast Activation Protein- α Expression: Focus on Intracellular Protein Interactions [J]. J Med Chem, 2021, 64(19): 14028-14045
- [13] Aghajanian H, Kimura T, Rurik J G, et al. Targeting cardiac fibrosis with engineered T cells[J]. Nature, 2019, 573(7774): 430-433
- [14] Simkova A, Busek P, Sedo A, et al. Molecular recognition of fibroblast activation protein for diagnostic and therapeutic applications[J]. Biochim Biophys Acta Proteins Proteom, 2020, 1868(7): 140409
- [15] Hoffmann D B, Fraccarollo D, Galuppo P, et al. Genetic ablation of fibroblast activation protein α attenuates left ventricular dilation after myocardial infarction[J]. PLoS One, 2021, 16(3): e248196
- [16] Nagaraju C K, Dries E, Popovic N, et al. Global fibroblast activation throughout the left ventricle but localized fibrosis after myocardial infarction[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 10801
- [17] Prabhu S D, Frangogiannis N G. The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis [J]. Circ Res, 2016, 119(1): 91-112
- [18] Brokopp C E, Schoenauer R, Richards P, et al. Fibroblast activation protein is induced by inflammation and degrades type I collagen in thin-cap fibroatheromata[J]. Eur Heart J, 2011, 32(21): 2713-2722
- [19] Heckmann M B, Reinhardt F, Finke D, et al. Relationship Between Cardiac Fibroblast Activation Protein Activity by Positron Emission Tomography and Cardiovascular Disease [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2020, 13(9): e10628
- [20] Varasteh Z, Mohanta S, Robu S, et al. Molecular Imaging of Fibroblast Activity After Myocardial Infarction Using a (68) Ga-Labeled Fibroblast Activation Protein Inhibitor, FAPI-04 [J]. J Nucl Med, 2019, 60(12): 1743-1749
- [21] Tillmanns J, Widera C, Habbaba Y, et al. Circulating concentrations of fibroblast activation protein α in apparently healthy individuals and patients with acute coronary syndrome as assessed by sandwich ELISA[J]. Int J Cardiol, 2013, 168(4): 3926-3931

(上接第 2220 页)

- [12] Brown EM, Kenny DJ, Xavier RJ. Gut Microbiota Regulation of T Cells During Inflammation and Autoimmunity [J]. Annu Rev Immunol, 2019, 37: 599-624
- [13] 师留杰. 平喘颗粒通过肠道菌群介导的 IL33/ST2/ILC2s 信号轴改善气道上皮黏膜屏障抑制哮喘气道炎症的机制研究[D]. 黑龙江中医药大学, 2021
- [14] 余涛, 丁明, 喻强强, 等. 益气温阳护卫汤对哮喘大鼠肺组织炎症及肠道菌群的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 4(37): 1924-1928
- [15] 林虹君, 张爱红, 李高伟, 等. 蛋白质组学在疾病研究中的应用[J]. 生物技术通讯, 2014, 3(25): 425-428
- [16] Sendo F, Araki Y. Regulation of leukocyte adherence and migration by glycosylphosphatidyl-inositol-anchored proteins [J]. Leukoc Biol, 1999, 66(3): 369-74
- [17] Xiao C, Biagini Myers JM, Ji H, et al. Vanin-1 expression and methylation discriminate pediatric asthma corticosteroid treatment response[J]. Allergy Clin Immunol, 2015, 136(4): 923-931
- [18] Johnson RK, Brunetti T, Quinn K, et al. Discovering metabolite quantitative trait loci in asthma using an isolated population [J]. Allergy Clin Immunol, 2022, 149(5): 1807-1811
- [19] Xing Y, Wei H, Xiao X, et al. Methylated Vnn1 at promoter regions induces asthma occurrence via the PI3K/Akt/NF κ B-mediated inflammation in IUGR mice[J]. Biol Open, 2020, 9(4): bio049106
- [20] Oue N, Sentani K, Noguchi T, et al. Serum olfactomedin 4 (GW112, hGC-1) in combination with Reg IV is a highly sensitive biomarker for gastric cancer patients[J]. Int J Cancer, 2009, 125: 2383-2392
- [21] Clemmensen SN, Bohr CT, Rorvig S, et al. Olfactomedin 4 defines a subset of human neutrophils[J]. Leukoc Biol, 2012, 91: 495-500
- [22] Liu W, Rodgers GP. Olfactomedin 4 expression and functions in innate immunity, inflammation, and cancer [J]. Cancer Metastasis Rev, 2016, 35: 201-212
- [23] Chen X, Khalid K, Chen D, et al. Serum levels of olfactomedin 4: a biomarker for asthma control state in asthmatics[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(7): 494