

白藜芦醇对大鼠慢性阻塞性肺疾病的抗氧化作用及其机制

刘世昌¹⁾, 张铁军¹⁾, 邓毅书²⁾, 陆地¹⁾, 詹东¹⁾, 李跃敏¹⁾

(1) 昆明医科大学人体解剖与组织胚胎学教研室, 云南昆明 6505002; 云南省第三人民医院呼吸内科, 云南昆明 650011)

[摘要] **目的** 研究白藜芦醇对 SD 大鼠慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 的抗氧化作用及其机制. **方法** 对照组采用蒸馏水雾化吸入 120 d, 模型组采用丙烯醛 (acrolein) 6.87 $\mu\text{g/L}$ 雾化吸入 120 d, 预防组分为白藜芦醇 (resveratrol) 低剂量 5 mg/(kg·d)、中剂量 15 mg/(kg·d)、高剂量 45 mg/(kg·d) 灌胃给药 1 h 后采用丙烯醛雾化吸入 120 d. 检测肺功能指标: 肺顺应性 (CL)、第 0.3 秒用力呼气容积 (FEV_{0.3}) / 用力肺活量 (FVC)、呼气流量峰值 (PEF)、最大呼气中段流量 (MMF), 用 ELISA 法测定支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中前列腺素 E₂ (PGE₂) 含量, 运用逆转录 PCR 检测大鼠肺组织中环氧合酶 -2 (COX-2)、核转录因子 - κ B / p65 (NF- κ B / p65) mRNA 表达量的变化, 运用 Western Blotting 检测大鼠肺组织中 p38 促分裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK) 通路蛋白的表达及其变化规律. **结果** 白藜芦醇能增加大鼠 COPD 的 CL、FEV_{0.3} / FVC、PEF 和 MMF, 降低 BALF 中 PGE₂ 的含量, 减少大鼠肺组织中 COX-2、NF- κ B / p65 mRNA 的表达并呈剂量依赖性, 降低大鼠肺组织中 p38 MAPK 的磷酸化. **结论** 白藜芦醇对大鼠 COPD 具有干预作用, 其作用机制可能与下调 p38 MAPK 的磷酸化水平从而抑制炎症蛋白酶的释放有关.

[关键词] 白藜芦醇; SD 大鼠; 慢性阻塞性肺疾病; 前列腺素 E₂; 环氧合酶 -2

[中图分类号] R563 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 06 - 0021 - 06

Antioxidation and Its Mechanism of Resveratrol in Rats with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

LIU Shi - chang¹⁾, ZHANG Tie - jun¹⁾, DENG Yi - shu²⁾, LU Di¹⁾, ZHAN Dong¹⁾, LI Yue - min¹⁾

(1) Dept. of Human Anatomy and Embryology, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 2) Dept. of Respiratory, The Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650511, China)

[Abstract] **Objective** The study was purposed to investigate the antioxidation and its mechanism of resveratrol in the acrolein-stimulated rats with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** During the experiments, rats were randomly divided into five groups, including the blank control group, the acrolein-stimulated group (6.87 $\mu\text{g/L}$) and three prevention groups (acrolein treatment after giving resveratrol at 5, 15 and 45 mg/Kg.d for 1 h, respectively). Pulmonary function indicators were detected including lung compliance (CL), 0.3 seconds forced expiratory volume (FEV_{0.3}) / forced vital capacity (FVC), peak expiratory flow (PEF) and maximal mid-expiratory flow (MMF). The content of prostaglandin E₂ (PGE₂) was measured by Griess reagent and ELISA. The mRNA and protein levels of proinflammatory enzymes cyclooxygenase-2 (COX-2) and nuclear transcription factor- κ B / p65 (NF- κ B / p65) were analyzed by RT-PCR. And the phosphorylation levels of p38 MAPK was measured by western blotting. **Results** Compared with the model group, the level of CL and the ratio of FEV_{0.3} / FVC were increased significantly after treatment with resveratrol. Resveratrol

[基金项目] 云南省应用基础研究计划面上项目 (2008CD207); 昆明医科大学硕士研究生创新基金资助项目 (2012J19)

[作者简介] 刘世昌 (1987~), 男, 山东临沂市人, 在读硕士研究生, 主要从事分子生物学研究工作.

[通讯作者] 李跃敏. E-mail: gizkm602@163.com

significantly attenuated the acrolein-induced expression of prostaglandin E2 (PGE2), COX-2 and NF- κ B/p65 in a dose-dependent manner. And resveratrol could attenuate p38 MAPK phosphorylation in rats. **Conclusion** The results demonstrated that the mechanism of intervention effect of resveratrol on rat COPD may be associated with the lower p38 MAPK phosphorylation level inhibiting the release of inflammatory proteases.

[**Key words**] Resveratrol; Sprague-Dawley rat; Chronic obstructive pulmonary disease; PGE2; COX-2

慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种可以预防、可以治疗的疾病, 以不完全可逆的气流受限为特点, 气流受限常呈进行性加重, 它以气道肺实质和肺血管的慢性炎症为特征, 且多与肺部有害颗粒或气体引起的异常炎症反应有关。前列腺素 (prostaglandins, PGs) 是重要的炎症介质, 在气道炎症的作用十分复杂。研究证实 COPD 患者气道中白介素-8 (interleukin-8, IL-8)、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、PGs 等细胞因子明显增高^[1]。吸烟是造成 COPD 气道阻塞的最主要诱因 (85%~90%)^[2]。近来, 有研究表明丙烯醛 (Acrolein) 是香烟烟雾中的主要物质, 吸入丙烯醛后可引起人的肺巨噬细胞释放 IL-8, 肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α), 同时诱导和介导前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 在内皮细胞和肺支气管上皮细胞中的反应^[3-5], 激活多种信号通路及核转录因子, 从而在气道炎症、粘液高分泌和组织重塑过程中产生作用^[6]。

促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 是一条重要的广泛应用于研究信号级联放大包括 LPS 诱导的炎症反应的信号通路^[7]。MAPKs 至少包括 3 个成员: 细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK 1/2)、氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和丝裂原活化蛋白激酶 p38 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK), 这些成员与免疫有关的细胞毒因子和促炎症因子有关^[8]。

白藜芦醇 (Resveratrol) 是植物界分布较广的一种多酚类化合物, 白藜芦醇作用广泛具有潜在的防治心血管疾病、防癌、抗病毒及免疫调节等多方面的功能。随着对其研究的不断深入, 又发现了许多新的药理作用和临床用途, 体内和体外研究表明白藜芦醇具有清除自由基, 抗炎, 抗氧化等药理作用^[9,10]。白藜芦醇能通过抑制 MAPKs 信号通路继而抑制免疫细胞激活减少促炎症介质的释放^[11]。但白藜芦醇治疗 COPD 的研究报道较少。

本实验旨在通过白藜芦醇预防性灌胃后吸入丙烯醛, 研究大鼠肺功能改变, BALF 中 PGE2 含量的变化, 肺组织中 NF- κ B、COX-2 的 mRNA 表达量及 p38 MAPK 的磷酸化水平的变化, 探讨白藜芦醇预防 COPD 发生的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

白藜芦醇、水合氯醛和丙烯醛购自美国 Sigma 公司; PGE2 ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司; COX-2 和 NF- κ B 基因的引物由上海生物工程公司合成; Trizol RNA 提取试剂盒和逆转录试剂盒购自美国 Invitrogen 公司; p38 MAPK 和 phospho-p38 MAPK (Thr180/Tyr182) 购自 Cell Signaling technology, Inc; 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 方法

1.2.1 动物与实验分组 SD 大鼠, 50 只, 雄性, 清洁级, 体重 (400 \pm 25) g, 购自昆明医科大学实验动物中心。适应性饲养 2 周后, 将 50 只大鼠随机分为对照组 10 只、COPD 模型组 10 只和预防组 (白藜芦醇低剂量预防实验组 10 只, 白藜芦醇中剂量预防实验组 10 只, 白藜芦醇高剂量预防实验组 10 只), 分别放入课题组自制动物熏吸箱 (35 cm \times 40 cm \times 50 cm) 中。模型组和对照组给予蒸馏水灌胃 1 h 后, 分别对模型组采用丙烯醛 (6.87 μ g/L) 雾化吸入, 对照组采用蒸馏水雾化吸入; 预防组分为白藜芦醇 (Resveratrol) 低剂量 5 mg/(kg \cdot d)、中剂量 15 mg/(kg \cdot d)、高剂量 45 mg/(kg \cdot d) 灌胃给药 1 h 后采用丙烯醛雾化吸入。雾化吸入分上下午 2 次, 每次持续 2 h, 间隔 5 h, 每周 5 d, 共 120 d。

1.2.2 肺功能测定 实验第 121 天, 采用 3.6% 的水合氯醛 (10 mL/kg) 腹腔注射将大鼠麻醉, 将气管切开插管连接到 AniRes2005 型肺功能仪测定呼吸功能, 测肺顺应性 (CL)、第 0.13 秒用力呼气容积 (FEV0.3) / 用力肺活量 (FVC)、呼气流量峰值 (PEF)、最大呼气中段流量 (MMF)。

1.2.3 ELISA 法测定 BALF 中 PGE2 的含量 测定肺功能, 15 min 后处死动物, 结扎右肺, 左肺收集支气管肺泡灌洗液 (BALF), 即以生理盐水 (10 mL/kg) 经左主支气管灌入, 然后抽出, 再注入与前次抽出量相等的生理盐水, 同法操作, 共灌洗 3 次. 灌洗液经过滤, 4℃ 以 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液分装后保存于 -80℃. 根据 PGE2 的 ELISA 试剂盒说明检测 PGE2 含量.

1.2.4 逆转录 PCR 检测大鼠肺组织中 COX-2、NF-κB 表达量的变化 右肺其余部分用预冷的生理盐水冲洗血污后, 采用 TRNzol RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 逆转录试剂盒合成 cDNA, 然后

以该 cDNA 为模板进行 PCR 反应扩增目的片段. 反应条件如下: NF-κB/p65, GAPDH: 95℃ 预变性 15 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 25 s, 72℃ 延伸 20 s, 循环 45 次; COX-2: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 30 s, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 30 s, 循环 36 次, 72℃ 再延伸 20 min. PCR 反应产物在含 1 mg/mL 溴化乙锭的 1% 琼脂糖胶电泳 45 min, 电压 90V, 电泳完成后将琼脂糖胶置于 Bio-Rad ChemiDoc XRS 凝胶图像分析系统中拍照采集图像, Quantityone 4.0 计算各条带的荧光强度值及其与 GAPDH 的比值, 引物序列及其产物长度 M, 见表 1.

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	正向引物	反向引物	产物长度 (bp)
COX-2	5'-TTGAAGACCAGGAGTACAGC-3'	5'-GGTACAGTTCATGACATCG-3'	240
NF-κB/p65	5'-GCGTACACATTCTGGGGAGT-3'	5'-CCGAAGCAGGAGCTATCAAC-3'	178
GAPDH	5'-GGGTGTGAACCACGAGAAAT-3'	5'-CCACAGTCTTCTGAGTGGCA-3'	222

1.2.5 蛋白质免疫印迹 (Western blotting) 检测 右肺其余部分用预冷的生理盐水冲洗血污后, 取 80 ~ 100 mg 肺组织加入 1 mL 预冷的 1 × SDS 用动物组织匀浆机充分混匀, 将组织裂解液收集到 1.5 mL 的离心管中, 在沸水中煮 25 ~ 30 min; 在 12 000 rpm 将样本 4℃ 离心 15 min, 将上清液移至新离心管中; 进行蛋白定量后, -80℃ 保存备用. 进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜 (半干转移系统), 免疫反应, 化学发光、显影、定影、拍照. 胶片定影后用自来水清洗, 再用单蒸水清洗后晾干. 用扫描仪扫描后进行灰度分析.

1.3 统计学分析

所有数据利用 SPSS 统计软件包进行处理. 各组数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用方差分析比较组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意

义.

2 结果

2.1 白藜芦醇对肺功能的影响

实验表明, 模型组和白藜芦醇预防组 CL、FEV0.3/FVC、MMF、PEF 较对照组降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明有通气阻塞现象. 白藜芦醇低、中和高剂量预防组的 CL、FEV0.3/FVC 与模型组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 并呈现剂量依赖. 白藜芦醇中、高剂量预防组 MMF、PEF 与模型组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$). 白藜芦醇低剂量预防组 MMF、PEF 与模型组相比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2.

表 2 白藜芦醇对肺功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)Tab. 2 Effect of resveratrol on pulmonary function ($\bar{x} \pm s$)

分组	肺顺应性	第 0.3 秒用力呼气容积 / 用力肺活量 (%)	最大呼气中段流量	呼气流量峰值
对照组	0.86 ± 0.061	116.15 ± 10.76	28.24 ± 2.16	28.6 ± 2.5
模型组	0.61 ± 0.056*	79.88 ± 11.63*	11.73 ± 0.33*	9.18 ± 0.67*
低剂量预防组 5 Ing/(kg·d)	0.66 ± 0.041* [△]	94.28 ± 3.01* [△]	11.57 ± 1.63*	9.37 ± 0.69*
中剂量预防组 15 Ing/(kg·d)	0.71 ± 0.03* [△]	95.74 ± 2.98* [△]	15.26 ± 1.73* [△]	11.93 ± 0.81* [△]
高剂量预防组 45 Ing/(kg·d)	0.77 ± 0.062* [△]	102.65 ± 2.55* [△]	14.28 ± 0.70* [△]	10.94 ± 0.67* [△]

与模型组比较, [△] $P < 0.05$; 与对照组比较, * $P < 0.05$.

2.2 白藜芦醇对肺泡灌洗液中 PGE2 含量的影响

与对照组比较, 模型组、白藜芦醇预防组中的 PGE2 的含量均增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 白藜芦醇低、中剂量预防组的 PGE2 的含量均降低 ($P < 0.05$), 并呈现剂量依赖, 见图 1.

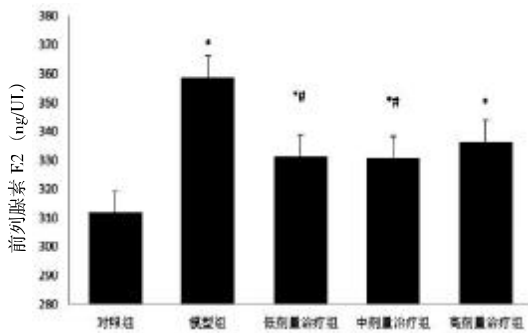


图 1 不同剂量的白藜芦醇抑制丙烯醛诱导大鼠 COPD 肺泡灌洗液中 PGE2 含量的变化

Fig. 1 The content of PGE2 in the bronchoalveolar lavage fluid of the acrolein-stimulated rats with COPD treated with resveratrol

与模型组比较, * $P < 0.05$; 与对照组比较, * $P < 0.05$.

2.3 白藜芦醇在转录水平抑制丙烯醛诱导的肺组织炎性蛋白酶 COX-2 和炎性信号蛋白 NF- κ B/P65 的表达水平

与对照组比较, 模型组、白藜芦醇预防组 COX-2 和 NF- κ B/P65 的 mRNA 水平均增高, 有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 白藜芦醇低、中和高剂量预防组 COX-2 和 NF- κ B/P65 的 mRNA 水平均降低, 见图 2, 有统计学意义 ($P < 0.05$), 并呈现剂量依赖.

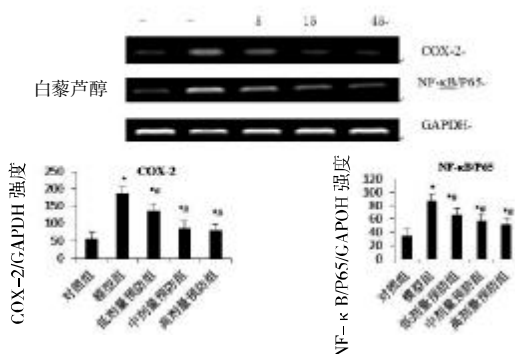


图 2 不同剂量的白藜芦醇抑制丙烯醛诱导肺组织炎性蛋白酶 COX-2 和炎性蛋白 NF- κ B/P65 的表达水平

Fig. 2 The expression level of COX-2 and NF- κ B/P65 in the acrolein-stimulated rats with COPD treated with resveratrol

与模型组比较, * $P < 0.05$; 与对照组比较, * $P < 0.05$.

2.4 白藜芦醇对大鼠肺组织有丝分裂原活化蛋白激酶家族的调控作用

与对照组比较, 模型组大鼠肺组织中丝分裂原活化蛋白激酶家族的应激蛋白 p38 的磷酸化水平升高, 被激活, 有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 白藜芦醇低、中和高剂量预防组大鼠肺组织中丝分裂原活化蛋白激酶家族的应激蛋白 p38 的磷酸化水平均降低, 见图 3, 有统计学意义 ($P < 0.05$). 白藜芦醇具有调控 MAPKs 家族 p38 信号通路作用.

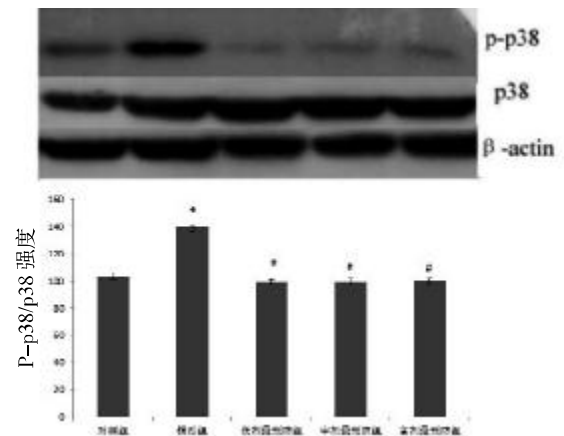


图 3 不同剂量的白藜芦醇抑制丙烯醛诱导肺组织中丝分裂原活化蛋白激酶家族的应激蛋白 p38 的磷酸化水平

Fig. 3 The p38 MAPK phosphorylation level of the acrolein-stimulated rats with COPD treated with resveratrol

与模型组比较, * $P < 0.05$; 与对照组比较, * $P < 0.05$.

3 讨论

COPD 是肺对有害颗粒或气体的异常炎症反应, 在呼吸道的不同部位有多种细胞参与该炎症反应, 如气道上皮细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、肥大细胞、淋巴细胞等, 各种细胞释放炎症介质和细胞因子, 从而破坏肺的结构和 (或) 促进中性粒细胞炎症反应^[12]. 前列腺素是重要的炎症介质^[13], 多种炎症反应发挥重要作用, 环氧合酶 (COX) 是前列腺素类物质 (PGs) 合成过程中的限速酶, 它将花生四烯酸代谢成各种前列腺素产物, 后者参与维持机体的各种生理和病理过程. 有报 COPD 患者诱导痰肺泡灌洗液及肺组织活检中 COX-2 表达增加, 导致前列腺素生成增加, 产生抑制神经信号转导, 平滑肌收缩, 抑制脂解作用和水分重吸收作用, 参与 COPD 的气道慢性炎症过程^[14].

NF- κ B 信号转导通路是重要的细胞转录调控通路, 该通路包括 NF- κ B、I κ B 及其 I κ B 的激

酶 (Inhibitor κ B kinase, I κ B) 等. NF- κ B 家族是由 Rel 蛋白同型二聚体或异型二聚体组成的转录因子, 具有调节细胞免疫功能、炎症和凋亡的作用, 促进 COPD 的炎症反应^[15,16].

最近研究表明, 白藜芦醇的抗炎作用于阻止 NF- κ B 的转录密切相关. NF- κ B 的激活与许多炎症蛋白的表达有关, 如 GM-CSF, IL-8, COX-2. 抑制炎症基因的表达可能是糖皮质激素发挥抗炎作用的机制之一. 有研究证实, 白藜芦醇可以抑制肺巨噬细胞的激活, 这可能是这种化合物发挥抗炎作用的一个原因^[17].

MAPKs 家族主要由 3 个具有显著特征的亚族组成: ERK1/2、JNK 和 p38 MAPK, 其在生理条件和病理疾病下能产生很多细胞功能^[18]. 在多种细胞类型中 MAPKs 家族被证实对 LPS 诱导 iNOS、COX-2 和促炎性细胞因子的表达起着重要的作用^[19]. MAPKs 家族 3 个亚族被证实其信号传导在白藜芦醇抑制促炎症介质和促炎症因子产生中起着决定性的作用^[20].

白藜芦醇具有抗肿瘤、抑制血小板凝集、免疫调节及抗炎作用^[21]. 在 COPD 治疗中, 抗炎疗法具有重要地位, 在肺疾病研究中, 白藜芦醇多用于离体细胞方面的研究, 疾病的动物模型研究甚少, 本实验把白藜芦醇引入体内研究, 具有一定意义.

本研究应用丙烯醛刺激建立了大鼠 COPD 动物模型, 模型组动物通气阻塞、气道炎症增加, 与 COPD 主要病理特征相一致, 说明本研究的动物造模是成功的. 在本研究中, 白藜芦醇有效改善肺功能, 升高 FEV_{0.3}/FVC CL、FEV_{0.3}/FVC、PEF 和 MMF, 明显降低肺泡灌洗液中 PGE₂ 的含量, 光镜下显示肺组织病理学病变均有所改善, 并降低肺组织炎性蛋白酶 COX-2 和核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的 mRNA 表达水平. 表明白藜芦醇对大鼠 COPD 的确具有一定的干预作用.

综上所述, 白藜芦醇可能是通过抑制丙烯醛诱导大鼠肺组织炎性信号通路中的关键蛋白 NF- κ B 的表达, 从而抑制炎性蛋白酶的释放 (如 PGE₂ 和 COX-2) 释放, 发挥抗炎的作用.

[参考文献]

[1] SIMONE R E, RUSSO M, CATALANO A, et al. Lycopene Inhibits NF- κ B-Mediated IL-8 Expression and Changes Redox and PPAR γ Signalling in Cigarette Smoke Stimu-

lated Macrophages[J]. PLoS One, 2011, 6(5):19 652.

- [2] LAU W K, CHAN-YEUNG M M, YIP B H, et al. The Role of circulating serotonin in the development of chronic obstructive pulmonary disease[J]. PLoS One, 2012, 7(2):31 617.
- [3] PARK Y S, KIM J, MISONOU Y, et al. Acrolein induces cyclooxygenase-2 and prostaglandin production in human umbilical vein endothelial cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(6):1 319 - 1 325.
- [4] ZHANG H Q, FORMAN H J. Acrolein induces heme oxygenase-1 through PKC-d and PI3K in human bronchial epithelial cells [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2008, 38(4): 483 - 490.
- [5] LEE M, KIM S, KWON O K, et al. Anti-inflammatory and anti-asthmatic effects of resveratrol, a polyphenolic stilbene, in a mouse model of allergic asthma[J]. International Immunopharmacology, 2009, 9(4):418 - 424.
- [6] CSISZAR A, SMITH K, LABINSKY N, et al. Resveratrol attenuates TNF-alpha-induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF-kappaB inhibition [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 291(4):1 694 - 1 699.
- [7] HSIEH T P, SHEU S Y, SUN J S. Icaritin inhibits osteoclast differentiation and bone resorption by suppression of MAPKs/NF- κ B regulated HIF-1 α and PGE(2) synthesis[J]. Phytomedicine, 2011, 18(2-3):176 - 185.
- [8] LIU H E, CHANG A S, TENG C M, et al. Potent anti-inflammatory effects of denbinobin mediated by dual inhibition of expression of inducible nitric synthase and cyclooxygenase 2[J]. Shock, 2011, 35(2):191 - 197.
- [9] CSISZAR A, SMITH K, LABINSKY N, et al. Resveratrol attenuates TNF-alpha-induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF-kappaB inhibition [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 291(4): 1 694 - 1 699.
- [10] KODE A, RAJENDRASOZHAN S, CAITO S, et al. Resveratrol induces glutathione synthesis by activation of Nrf2 and protects against cigarette smoke-mediated oxidative stress in human lung epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008, 294(3):478 - 488.
- [11] HUANG Z, WANG C, WEI L, et al. Resveratrol inhibits EMMPRIN expression via P38 and ERK1/2 pathways in PMA-induced THP-1 cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 374(3):517 - 521.
- [12] KUNZ L I, LAPPERRE T S, SNOECK-STROBAND J B, et al. Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD [J]. Respir Res, 2011, 12(1):1 186.
- [13] ZAHER A, RADI, DAVID K, et al. Ackermann. Pulmonary cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-2 cellular ex-

(下转第 45 页)