

雾化吸入不同剂量辛伐他汀对哮喘模型小鼠气道炎症的影响

徐 蓝¹, 孙 云^{2*}

(1. 苏州吴江区第一人民医院, 江苏 苏州 215200; 2. 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225001)

摘要: 他汀类药物对哮喘模型小鼠气道炎症的多效性目前尚不明确, 其抗炎活性机制与本类药物降低胆固醇作用不同。口服高剂量辛伐他汀 (simvastatin, Sim) 可见毒副作用, 若设计成雾化吸入剂, 其毒性反应则明显减轻。本研究分为: 空白对照组 (NS-vehicle)、模型组 [ovalbumin (OVA)-vehicle]、Sim 治疗组和地塞米松 (dexamethasone, DXM) 阳性对照组。假设 Sim 经雾化吸入给予具有生物学意义的抗炎活性。BALB/c 雌性小鼠以卵白蛋白 (ovalbumin, OVA) 致敏、攻击制作哮喘模型, 分别运用 Sim 雾化吸入 ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih, 15 min)、腹腔注射 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) 和灌胃 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig) 等途径干预。结果表明, 不同途径给予 Sim 均可显著降低哮喘模型小鼠肺泡灌洗液 (alveolar lavage fluid, BALF) 中白细胞总数 ($P < 0.01$) 和嗜酸性粒细胞数 (eosinophils number, EOS) ($P < 0.05$); Sim 不同剂量 (1、5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih) 预处理均可不同程度减少 BALF 白细胞总数、EOS 数 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。随着剂量增加, 抑制炎症细胞作用增强, Sim (5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, h) 作用强度与 DXM 相近; 不同剂量 Sim (5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih) 预处理可降低小鼠肺组织白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 和白细胞介素-5 (interleukin-5, IL-5) mRNA 表达 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 小鼠 BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平显著减弱 ($P < 0.01$); Sim ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 预处理组小鼠 BALF 的 IL-4 水平略有下降但差异无显著性, IL-5 水平下降幅度低于 Sim (5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 组。上述结果表明雾化吸入不同剂量 Sim 均可抑制气道炎症反应, 为他汀类药物在哮喘等炎症性疾病中的应用提供实验依据。

关键词: 气道炎症; 辛伐他汀; 雾化吸入; 药物给药途径; 哮喘

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 08-1250-05

Inhalation of simvastatin attenuates airway inflammation in mice of asthma model

XU Lan¹, SUN Yun^{2*}

(1. The First Hospital of Wujiang, Suzhou 215200, China; 2. Yangzhou University Medical Academy, Yangzhou 225001, China)

Abstract: The impact of statins on airway inflammation has not yet been established and it may differ from their cholesterol-lowering effects. Oral administration of statins at large-doses may have adverse effects. It is possible to overcome the side effect to increase the clinical efficacy through the inhalation route. Female BALB/c mice were randomly divided into four groups including the control group (NS-vehicle), model group [ovalbumin (OVA)-vehicle], simvastatin (Sim) group and dexamethasone (DXM) group at 10 mice in each group. In this study, we hypothesize Sim as a potential anti-inflammatory drug with biological and pharmacokinetic properties suitable for delivery through the inhalation route. Mice were immunized with OVA and then challenged with OVA aerosol to induce the asthma reaction. Sim was inhaled at a dosage ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih, 15 min) or administrated by intraperitoneal injection ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) or gavage ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig) during the OVA-challenge. In the mouse model of asthma, Sim significantly attenuated the total inflammatory cell counts

收稿日期: 2017-01-23; 修回日期: 2017-04-06.

*通讯作者 Tel: 86-514-87992152, E-mail: ysun@yzu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0098

and eosinophil counts ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) via the different routes. Pretreatment with Sim at 1, 5, 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih, significantly decreased the total inflammatory cell counts and eosinophil counts in alveolar lavage fluid (BALF) ($P < 0.01$) and the inhibitory effect was increased with the dosages of Sim via inhalation. Both of DXM and Sim at 5, 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih, were more potent than that of Sim at 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih. Sim significantly decreased IL-4 and IL-5 mRNA expression of lung at 5, 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Sim (5, 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih) significantly decreased levels of IL-4 and IL-5 in BALF ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). However, Sim (1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) declined slightly on IL-4 level in BALF. Sim at 5, 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ had a greater rate of decline in IL-5 than at 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. These results suggest Sim with different doses as a potential anti-inflammatory drug for airway inflammatory diseases with properties suitable for delivery by inhalation, which probably overcome the side effects and low clinical efficacy of oral Sim.

Key words: airway inflammation; simvastatin; inhalation; drug delivery route; asthma

哮喘是多种细胞及细胞成分参与的气道慢性炎症反应性疾病。变应性哮喘是以免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 过量合成、嗜酸性粒细胞数 (eosinophils number, EOS) 和肥大细胞浸润、气道反应性增高以及气道重塑为特征的慢性气道炎症性疾病, 是全球范围内高发疾病之一^[1]。糖皮质激素是目前控制哮喘气道炎症的首选药。重度哮喘患者长期大剂量反复使用激素, 可引发高血压、高血糖和骨质疏松等全身不良反应, 因此, 寻找新型控制哮喘药物及其靶点亟待解决。他汀类药物系羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂, 临床上具有降低胆固醇、抗氧化、抗炎和免疫调节等药理学作用。有研究表明口服他汀类药物能降低哮喘患者住院率^[2], 且对慢性阻塞性肺部疾病有预防功效^[3]。此外, 哮喘患者口服他汀类药物可增强吸入性皮质激素的效果, 同时减少唾液中巨噬细胞数, 改变巨噬细胞中色氨酸降解酶吲哚胺 2,3-二加氧酶 (indoleamine 2,3-oxygenase 2, IDO) 活性^[4]。但口服他汀类药物对哮喘的疗效尚有争议, 有临床试验报道^[5]使用辛伐他汀 (simvastatin, Sim) 每日 10 或 40 mg 口服, 对哮喘患者临床症状、炎症生物学标志与肺功能未获得一致性疗效。临床研究中 Sim 最高日剂量仅为 40 mg, 动物实验使用超大剂量的 Sim 也不能排除临床疗效差的原因与患者口服 Sim 剂量太低有关, 而将动物实验剂量换算成人用量用于临床可能引起严重不良反应, 尤其是横纹肌溶解症^[6]。雾化吸入给药可大幅度提高药物在肺部浓度, 降低血药浓度, 进而减少不良反应, 为肺部疾病治疗创造有利条件。本研究探讨雾化吸入 Sim 后, 在较低血药浓度下对哮喘模型小鼠气道炎症的影响。

材料与方法

动物与试剂 BALB/c 小鼠 (6 周龄, 体重 20 ± 2 g),

雌性, 许可证号 SCXK (苏) 2012-0004, 同系交配且无特殊病原体。饲养温度: 23 ± 2 °C, 湿度: $(50 \pm 10)\%$, 12 h 白昼交替。小鼠自由进食和饮水。实验前 8 h 禁食不禁水。在致敏第 0 天, 新鲜配制氢氧化铝凝胶加入 0.2% 卵白蛋白 (OVA, Grade V, Sigma 公司), 于小鼠腹股沟、脚掌、腹腔、颈部皮下和背部皮下多点注射致敏。每只小鼠共注射含 OVA 凝胶溶液 0.5 mL。第 14 天再腹腔注射加强致敏 1 次, 第 21 天开始攻击, 每天 1 次, 每次 15 min, 连续 7 天。

Sim 雾化剂制备 准确称取 Sim 溶解于 50% 二甲基亚砜和 50% 生理盐水的混合溶液, 制成 1、5 和 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ Sim 溶液。

不同给药途径给予 Sim 对哮喘模型小鼠气道炎症的抑制作用 BALB/c 小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只。分别为: 空白对照 (NS-vehicle) 组、模型 (OVA-vehicle) 组、Sim-OVA (40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) 组、Sim-OVA (40 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ig) 组、Sim-OVA (5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih) 组和地塞米松 (DXM)-OVA (1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) 组。将干预组小鼠放入塑料箱中, 分别以腹腔注射、灌胃和雾化吸入途径给予 Sim (持续 15 min), 从第 21 天至第 28 天连续干预 7 天。Sim 干预 1 h 后, 小鼠雾化吸入 OVA (10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 溶解于生理盐水)、持续 30 min, 从第 21 天至第 28 天连续 OVA 攻击 7 天。模型组与空白对照组小鼠吸入等量 50% 二甲基亚砜和 50% 生理盐水, 阳性对照组为 DXM, 连续 7 天。

雾化吸入不同剂量 Sim 对哮喘小鼠气道炎症的影响 BALB/c 小鼠分为 6 组, 每组 10 只。分别为: NS-vehicle 组、OVA-vehicle 组、Sim-OVA (1、5 和 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ih) 组和 DXM-OVA (1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) 组。小鼠从第 21 天至第 28 天连续吸入 OVA 7 天后, 分别按 1、5 和 20 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 雾化吸入 Sim (持续 15 min)。模型组及空白对照组小鼠吸入等量溶媒。Sim 干预 1 h, 小

鼠雾化吸入 OVA (10 mg·mL⁻¹, 溶解于生理盐水) 持续 30 min, 从第 21 天至第 28 天连续 OVA 攻击 7 天。

收集小鼠肺泡灌洗液 (BALF) 最后一次 OVA 攻击后 24 h 制备小鼠 BALF。乌拉坦 (2 g·kg⁻¹, ip) 麻醉, 剖开小鼠颈部皮肤, 切开气管作肺泡灌洗 (PBS 溶液, 含 1% 小牛血清、5 000 u·L⁻¹ 肝素), 每次注入制备好的灌洗液 0.5 mL, 连续 3 次共收取 1.5 mL。将收集到的 BALF 液于 4 °C、500×g 离心 10 min, 上清液于 -80 °C 保存。BALF 白细胞计数和分类计数: 混匀收集的 BALF 与白细胞稀释液按 1:1 稀释, 用细胞计数板计数白细胞总数, 涂片, 用 EOS 特殊染色后在光学显微镜下作白细胞分类计数。

逆转录聚合酶链式反应 1 mL TRIzol 提取肺组织 RNA。应用 M-MLV 逆转录酶逆转录。建立 25 μL 体系, PCR 扩增: 1.25 U LATap DNA 聚合酶、0.2 μmol·L⁻¹ 正义和反义引物和 400 μmol·L⁻¹ dATP、dTTP、dGTP 及 dCTP。PCR 产物检测采用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 经凝胶成像分析系统成像、条带密度扫描, 以吸光度 (OD) 细胞因子与 OD_{β-actin} 比值进行半定量分析。小鼠引物见表 1。

酶联免疫吸附实验 (ELISA) 将保存于液氮中的 BALF 置冰上溶解后, 于 4 °C、2 000×g 离心 60 min。用 ELISA 试剂盒测定 BALF 上清中 IL-4 和 IL-5 浓度。

数据分析 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 统计, 运用 SigmaStat 软件统计。采用 ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 多项比较法分析细胞因子 mRNA 表达及 BALF 中细胞因子水平。P < 0.05 表示有统计学差异。

结果

1 不同途径给予 Sim 对哮喘小鼠 BALF 白细胞总数和 EOS 的影响

OVA-vehicle 组 BALF 中白细胞总数和 EOS 升高, 分别是空白对照组的 4.5 倍和 85 倍。与模型组相比, 不同途径给予 Sim (5 mg·mL⁻¹, ih、40 mg·kg⁻¹, ig 和 40 mg·kg⁻¹, ip) 可显著降低哮喘小鼠气道白细胞

总数, 分别下降了 29.3%、46.6% 和 51.1% (图 1); OVA 致敏小鼠经不同途径给予 Sim 预处理 7 天, EOS 显著降低, 分别下降了 50.7%、68% 和 75.5%。与灌胃和腹腔注射组相比, Sim 雾化吸入组气道 BALF 白细胞总数与 EOS 减少较明显。结果见图 1。

2 雾化吸入 Sim 对哮喘小鼠 BALF 白细胞总数和 EOS 的影响

OVA-vehicle 组 BALF 中白细胞总数和 EOS 升高, 分别是空白对照组的 6.8 倍和 363.8 倍。与模型组相比, 雾化吸入 Sim (1、5 和 20 mg·mL⁻¹) 预处理可显著降低哮喘小鼠气道白细胞总数, 分别下降了 53.2%、56.1% 和 62.4%; OVA 致敏小鼠经不同剂量 Sim 预处理 7 天, EOS 显著降低, 分别下降了 73.2%、74.2% 和 74.9%。结果见图 2。

3 雾化吸入 Sim 对哮喘小鼠肺组织中 IL-4 和 IL-5 mRNA 表达的影响

最后一次 OVA 攻击 24 h 后检测小鼠肺组织 IL-4 和 IL-5 mRNA 表达。与空白对照组比较, OVA-vehicle 组小鼠肺组织 IL-4 和 IL-5 mRNA 表达显著增强。Sim (5, 20 mg·mL⁻¹, ih) 显著减弱肺组织中 IL-4 和 IL-5 mRNA 表达。结果见图 3。

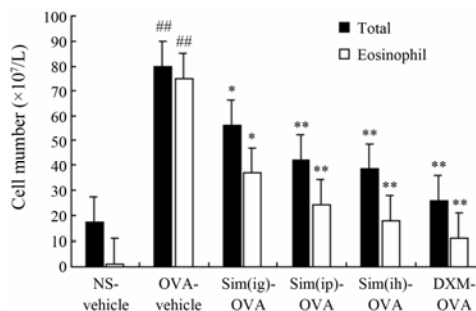


Figure 1 The effects of simvastatin (Sim) delivered via the different routes on the airway inflammatory cells in alveolar lavage fluid (BALF). BALF was harvested 24 h after the final ovalbumin (OVA) challenge. The treatments were as follows: Sim at 5 mg·mL⁻¹ via inhalation (ih) for 15 min, 40 mg·kg⁻¹ by intragastric injection (ig) or 40 mg·kg⁻¹ by intraperitoneal injection (ip); dexamethasone (DXM) at 1 mg·kg⁻¹ by ip, daily, for 7 consecutive days. n = 9-10, $\bar{x} \pm s$. ###P < 0.01 vs NS-vehicle group; *P < 0.05, **P < 0.01 vs OVA-vehicle group

Table 1 The gene primers (5'-3'), annealing temperature and cycle

Subject	Gene primer	Annealing temperature/°C	Cycle
IL-4	Forward-ACGGCACAGAGCTATTGATG	55	35
	Reverse-ATGGTGGCTCAGTACTACGA		
IL-5	Forward-ATGACTGTGCTCTGTGCCTGGAGC	61	35
	Reverse-CTGTTTTTCCTGGAGTAAACTGGGG		
β-actin	Forward-CTGTCCCTGTATGCCTCTG	55	32
	Reverse-ATGTCACGCACGATTTC		

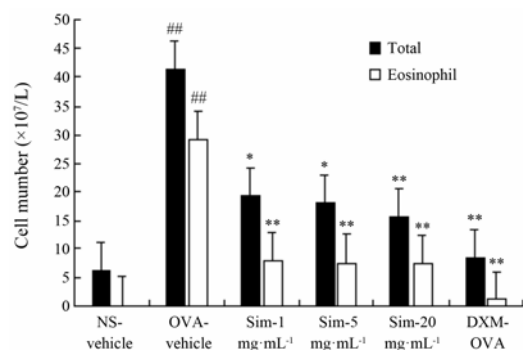


Figure 2 The dose-response of Sim delivered *via* inhalation route on the airway inflammatory cells in the BALF. $n=9-10$, $\bar{x} \pm s$. $^{##}P < 0.01$ vs NS-vehicle group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ vs OVA-vehicle group

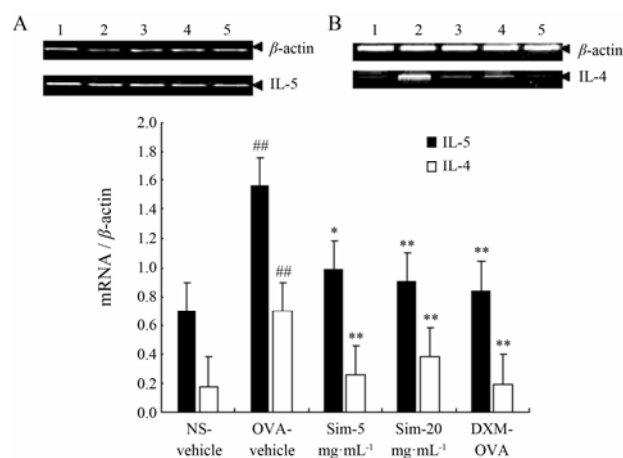


Figure 3 The effects of Sim *via* inhalation on the mRNA expression of IL-4 and IL-5 in the lungs of asthmatic mice. A: IL-5; B: IL-4. 1: NS-vehicle; 2: OVA-vehicle; 3: Sim ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 4: Sim ($20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 5: DXM-OVA. Twenty-four hours after the final OVA challenge, 100 mg of lung tissue from each mouse was harvested for the isolation of total RNA, and $1 \mu\text{g}$ aliquots of the total RNA sample were used for reverse transcriptional synthesis of first-strand that was used as template for the PCR amplification. The PCR products were analyzed by electrophoresis on 1.5% agarose gels, and specific bands were digitized using an imaging system. The PCR reactions were performed in triplicates. C: Relative expression of the mRNA from the independent triplicate experiments was normalized by dividing the IL-4 and IL-5 values by the β -actin values. $n=9-10$, $\bar{x} \pm s$. $^{##}P < 0.01$ vs NS-vehicle group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ vs OVA-vehicle group

4 雾化吸入 Sim 对哮喘小鼠肺 BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平的影响

ELISA 法测定 BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平。OVA-vehicle 组小鼠 BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平升高, 分别为空白对照组的 9.0 倍和 18.6 倍。与模型组相比, Sim 雾化吸入预处理组 (1 、 5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 小鼠 BALF 中 IL-4 分别下降了 35%、64.6% 和 76.7%; IL-5 分别下降了 80.2%、84.5% 和 91.2%。其中 5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

剂量组小鼠显著减弱了 BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平; $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 剂量组小鼠 BALF 的 IL-4 水平略有下降但差异无显著性, IL-5 水平下降幅度低于 5 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 剂量组。结果见图 4。

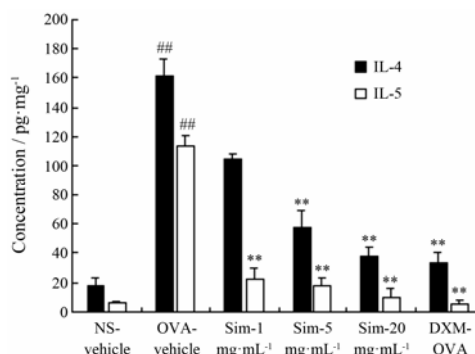


Figure 4 The effects of Sim *via* inhalation on the protein level of IL-4 and IL-5 in the BALF of asthmatic mice. The levels of IL-4 and IL-5 in the BALF were analyzed by ELISA. $n=9-10$, $\bar{x} \pm s$. $^{##}P < 0.01$ vs NS-vehicle group; $^{**}P < 0.01$ vs OVA-vehicle group

讨论

随着工业化发展以及生活方式与环境的改变, 哮喘发生率正逐年升高。吸入性糖皮质激素是哮喘治疗的主要手段, 但一些重度哮喘患者产生糖皮质激素抵抗, 且频繁口服大剂量糖皮质激素产生的严重不良反应。因此, 急需寻找新型抗炎药物^[7]。目前, 临床上 Sim 被广泛用作调脂药, 研究表明他汀类亦具抗炎、抗氧化和免疫调节作用, 该作用与他汀类降脂活性不同。已有研究显示他汀类在治疗哮喘和其他气道炎症性疾病具有良好的应用前景。但临床口服高剂量的他汀类药物可能造成严重不良反应, 如横纹肌溶解症和肝损害等后果。探讨他汀类新的给药途径尤为重要, 如雾化吸入途径^[6]。

将 Sim 作为研究对象基于以下药动学性质。首先, Sim 吸收差, 生物利用度较低。药动学实验表明口服 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Sim 的生物利用度仅 5%, 口服全身吸收易造成不良反应^[8], 而肺部局部浓度仍然很低。若吸入给药则优势明显, 吸入性的糖皮质激素与长效 M 受体阻断剂即为成功研究案例^[8,9]; 其次, 他汀类的血浆蛋白结合率高达 94%~98%, 口服后体内游离药物浓度较低; 第三, Sim 亲脂性强, 能穿透肺泡上皮屏障到达靶细胞发挥作用^[10]。因此, Sim 适合作为雾化吸入用干粉剂或压力定量吸入剂^[11]。

重度哮喘患者血液与痰液 EOS 水平提高与肺功能受损、肺疾患恶化和生活质量下降呈正相关^[12],

EOS 是参与哮喘气道炎症最主要的效应细胞, EOS 募集入肺并释放损伤性介质是气道炎症的中心环节。因此控制肺组织 IL-4、IL-5 及 EOS 水平成为治疗哮喘的重要靶标。临床前研究表明, 口服 Sim 通过诱导哮喘小鼠细胞自噬和细胞凋亡, 抑制气道炎症和气道重塑^[13], 但雾化吸入是否影响炎症细胞及炎症因子尚不明确。本实验表明不同途径给予 Sim 显著降低哮喘小鼠 BALF 白细胞总数和/或 EOS 数量; 不同剂量 Sim (1、5 和 20 mg·mL⁻¹, ih) 预处理, 均可减少 BALF 中白细胞总数和 EOS 数量; 不同剂量 Sim (5 和 20 mg·mL⁻¹, ih) 预处理可降低小鼠肺组织中 IL-4 和 IL-5 mRNA 的表达水平; Sim (5 和 20 mg·mL⁻¹, ih) 预处理可显著降低 BALF 中 IL-4 和 IL-5 水平, 但 1 mg·mL⁻¹ 预处理组小鼠 BALF 的 IL-4 水平略有下降, 差异无显著性; IL-5 水平与模型组相比有显著差异, 但下降幅度低于 Sim (5 和 20 mg·mL⁻¹, ih) 组。IL-4 和 IL-5 分别在 Th1 和 Th2 介导的过敏性炎症反应和气道高反应性中具有重要作用。IL-4 通过调节肺组织中 eotaxin、IL-5 产生而激活 EOS 特异性黏附通路, 共同对 EOS 产生作用。IL-5 可调节 EOS 生长、活化和存活, 并能为 EOS 从骨髓迁移至肺部及其他器官提供重要信号。通过抑制 IL-4/IL-13 路径与 IL-5/eotaxin 路径可减少 EOS, 降低气道高反应性^[14], 耗竭 eotaxin 与 IL-5 可显著减少肺部气道炎症、气道高反应性与气道重塑^[15]。

综上, 研究表明雾化吸入不同剂量 Sim 能抑制气道炎症, 抑制 BALF 中炎症细胞因子和肺组织趋化因子 mRNA 表达。因此雾化吸入 Sim 在气道炎症性疾病中优势明显, 可避免因口服大剂量 Sim 而产生的毒副作用使临床疗效降低。

References

- [1] Zhang BY, Chi S, Sun Y. Modulation of Toll-like signal path of allergic asthma by CpG-ODNs from *Bordetella pertussis* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2011, 46: 285–292.
- [2] Huang CC, Chan WL, Chen YC, et al. Statin use in patients with asthma – a nationwide population-based study [J]. Eur J Clin Invest, 2011, 41: 507–512.
- [3] Wang W, Le W, Ahuja R, et al. Inhibition of inflammatory mediators: role of statins in airway inflammation [J]. Otolaryngol Head Neck Sur, 2011, 144: 982–987.
- [4] Maneechotesuwan K, Ekjitrakul W, Kasetsinsombat K, et al. Statins enhance the anti-inflammatory effects of inhaled corticosteroids in asthmatic patients through increased induction of indoleamine 2, 3-dioxygenase [J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 126: 754–762.
- [5] Ostroukhova M, Kouides RW, Friedman E. The effect of statin therapy on allergic patients with asthma [J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2009, 103: 463–468.
- [6] Barnes PJ. Future treatments for chronic obstructive pulmonary disease and its comorbidities [J]. Proc Am Thorac Soc, 2008, 5: 857–864.
- [7] Barnes PJ. Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 131: 636–645.
- [8] Cerasoli F Jr. Developing the ideal inhaled corticosteroid [J]. Chest, 2006, 130: 54S–64S.
- [9] Disse B, Speck GA, Rominger KL, et al. Tiotropium (Spiriva): mechanistical considerations and clinical profile in obstructive lung disease [J]. Life Sci, 1999, 64: 457–464.
- [10] Knobloch J, Yakin Y, Körber S, et al. Simvastatin requires activation in accessory cells to modulate T-cell responses in asthma and COPD [J]. Eur J Pharm, 2016, 788: 294–305.
- [11] Crim C, Pierre LN, Daley-Yates PT. A review of the pharmacology and pharmacokinetics of inhaled fluticasone propionate and mometasone furoate [J]. Clin Therapeut, 2001, 23: 1339–1354.
- [12] Mukherjee M, Sehmi R, Nair P. Anti-IL5 therapy for asthma and beyond [J]. World Allergy Organ J, 2014, 7: 32.
- [13] Gu W, Cui R, Ding T, et al. Simvastatin alleviates airway inflammation and remodelling through up-regulation of autophagy in mouse models of asthma [J]. Respirology, 2017, 22: 533–541.
- [14] Foster PS, Mould AW, Yang M, et al. Elemental signals regulating eosinophil accumulation in the lung [J]. Immunol Rev, 2001, 179: 173–181.
- [15] Halwani R, Alabri J, Beland M, et al. CC and CXC chemokines induce airway smooth muscle proliferation and survival [J]. J Immunol, 2011, 186: 4156–4163.