

本文引用: 王竹葳, 孙圣楠, 叶飞, 夏伟娜, 白俊杰, 廖兴徐, 扎西东智, 王坤, 杜庆红, 徐雅. 自拟益气止咳方对肺脾气虚证大鼠的药效及其机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(10): 1764-1770.

自拟益气止咳方对肺脾气虚证大鼠的药效及其机制

王竹葳¹, 孙圣楠¹, 叶飞¹, 夏伟娜¹, 白俊杰^{2*}, 廖兴徐³, 扎西东智³,
王坤¹, 杜庆红¹, 徐雅^{1*}

1.北京中医药大学中医学院,北京 100029;2.北京中医药大学东方医院,北京 100078;
3.西藏金哈达药业有限公司,西藏 拉萨 100037

〔摘要〕目的 探索自拟益气止咳方对肺脾气虚证大鼠的影响及其机制。方法 将60只SPF级健康SD雄性大鼠随机分为正常组($n=12$)和造模组($n=48$),造模组以脂多糖气管滴注加烟熏建立肺气虚证模型,烟熏2周后番泻叶灌胃建立脾气虚证模型。4周后,造模组大鼠随机分为模型组(灌胃等体积生理盐水)、阳性对照组(灌胃香砂六君子丸混悬液2.7 g/kg)及益气止咳方低、高剂量组(灌胃益气止咳方药液2.45、9.8 g/kg),每组12只,均灌胃治疗4周。治疗结束后,称量大鼠体重;检测抓力观察大鼠肌肉力量;HE染色观察大鼠肺和胃组织病理改变;磷酸钼比色法检测肺、胃、股四头肌组织中腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)含量;ELISA法检测肺和胃组织中炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)的含量。结果 与正常组比较,模型组大鼠体重、抓力均降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);肺组织小支气管管壁充血、炎症细胞浸润,黏膜上皮细胞纤毛粘连、倒伏,甚或脱落,管腔内有炎性渗出物,胃黏膜出现腺体排列不规则、炎症细胞浸润等现象;肺、胃和股四头肌组织中ATP含量降低($P<0.01$);肺和胃组织中TNF- α 和IL-8含量升高($P<0.01$)。与模型组比较,益气止咳方低、高剂量组大鼠体重和抓力增加($P<0.01$);肺组织中炎症细胞浸润改善,管壁增厚减轻,炎性渗出物及充血减轻,胃组织中腺体层数增加,排列较整齐,炎症细胞浸润减少;肺、胃和股四头肌组织中ATP的含量增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$),肺和胃中TNF- α 和IL-8的含量减少($P<0.01$)。结论 自拟益气止咳方能有效改善肺脾气虚证大鼠的临床症状,其机制可能与抑制炎症反应、促进ATP合成有关。

〔关键词〕 益气止咳方;肺脾气虚证;药效;炎症;藏医药

〔中图分类号〕R285.5

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.10.007

Efficacy and mechanism of self-drafted Yiqi Zhike Formula on rats with lung and spleen qi deficiency pattern

WANG Zhuwei¹, SUN Shengnan¹, YE Fei¹, XIA Weina¹, BAI Junjie^{2*}, LIAO Xingxu³, ZHAXI Dongzhi³,
WANG Kun¹, DU Qinghong¹, XU Ya^{1*}

1. School of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;

3. Xizang Golden Khada Pharmaceutical Co., LTD, Lhasa, Xizang 100037, China

〔Abstract〕 Objective To explore the effects and mechanism of a self-drafted Yiqi Zhike Formula (YQZKF) on rats with lung and spleen qi deficiency pattern. **Methods** Sixty SPF-grade healthy SD male rats were randomly divided into normal ($n=12$) and modeling groups ($n=48$). In the modeling group, the lung qi deficiency model was established by intratracheal lipopolysaccharide (LPS)

〔收稿日期〕2024-05-14

〔基金项目〕西藏自治区科技计划重点研发计划项目(XZ202201ZY0019G);西藏自治区教育厅项目(90020171720022)。

〔通信作者〕* 徐雅,女,博士,教授,硕士研究生导师,E-mail:xuya@bucm.edu.cn;白俊杰,男,博士,教授,副主任医师,E-mail:345716@163.com。

instillation with fumigation, and then the spleen qi deficiency model was established by intragastric administration of Fanxieye (Sennae Folium) after two weeks of fumigation. After four weeks, the rats in the modeling group were randomly subdivided into model group (gavage with normal saline of equal volume), positive control group (gavage with Xiangsha Liujunzi Pill Suspension 2.7 g/kg), and low- and high- dose YQZKF groups (gavage with YQZKF solution 2.45 and 9.8 g/kg), with 12 rats in each group. All rats were treated by gavage for four weeks. At the end of the treatment, the body mass of the rats was weighed; the muscle strength of rats was observed by detecting the grip force; HE staining was used to observe the histopathological changes in the lung and stomach tissues of rats; phosphomolybdic acid colorimetric assay was used to determine the content of adenosine triphosphate (ATP) in the lungs, stomach, and quadriceps tissue, and ELISA was used to test the levels of inflammatory factors tumour necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-8 (IL-8) in the lung and stomach tissues. **Results** Compared with the normal group, the body weight and grip strength of rats in model group were lower ($P<0.01$ or $P<0.05$). In the lung tissue, the small bronchial walls exhibited congestion, inflammatory cell infiltration, and the ciliated epithelial cells showed adhesion, lodging, or even detachment of cilia, with inflammatory exudates present in the lumens. The gastric mucosa showed irregular arrangement of glands and inflammatory cell infiltration. Additionally, ATP content decreased in lung, stomach, and quadriceps tissues ($P<0.01$ or $P<0.05$), while TNF- α and IL-8 levels increased in lung and gastric tissues ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with the model group, the body mass and grip strength of rats in the low- and high- dose YQZKF groups increased to different degrees ($P<0.01$ or $P<0.05$); the inflammatory cell infiltration in the lung tissue was reduced, with reduced wall thickening, decreased inflammatory exudates and congestion; in the gastric tissue, the number of glandular layers increased, arranged more neatly, and inflammatory cell infiltration decreased. The ATP content increased in the lung, gastric, and quadriceps muscle tissues ($P<0.01$ or $P<0.05$), while the levels of TNF- α and IL-8 decreased in the lung and stomach ($P<0.01$). **Conclusion** Self-drafted YQZKF can effectively alleviate the clinical symptoms of rats with lung and spleen qi deficiency pattern, and its mechanism may be related to inhibition of inflammatory response and promotion of ATP synthesis.

[**Keywords**] Yiqi Zhike Formula; lung and spleen qi deficiency pattern; efficacy; inflammation; Tibetan medicine

肺脾气虚证是指肺脾两脏气虚,以咳嗽、气喘、腹胀、食少、便溏为主要表现的证候^[1],多由久病咳嗽,耗伤肺气,子病及母,运化失常;或饮食劳倦,脾胃受损,土不生金,累积于肺,宣降失司所致。多种呼吸道疾病,如慢性阻塞性肺气肿稳定期^[2]、支气管哮喘缓解期^[3]、非小细胞肺癌晚期^[4]、新型冠状病毒感染恢复期^[5]等均可出现以肺脾气虚证为主的临床表现。本团队根据中医学理论及杜庆红教授在藏区工作的经验,针对肺脾气虚证自拟益气止咳方。此方由炙黄芪、诃子、榜嘎(藏药)、沉香组成,在补益肺脾的同时,清热敛肺、降气平喘止咳。本实验通过制备经典的肺脾气虚证大鼠模型,研究益气止咳方对肺脾气虚证大鼠的影响及其机制,旨在为药物的临床应用奠定基础。

1 实验材料与方法

1.1 实验动物

SPF级健康SD雄性大鼠60只,体质量为(220±10)g,购于北京斯贝福实验动物科技有限公司,许

可证号为SCXK(京)2019-0010。动物饲养于北京中医药大学SPF级动物房,自由进食、饮水,喂养标准颗粒饲料,适应1周后进行实验。本研究通过北京中医药大学动物伦理委员会动物实验伦理审查,编号:BUCM-2023041902-2023。严格按照北京中医药大学中医基础理论动物中心管理规定进行实验。

1.2 实验主要仪器

大小鼠抓力仪(型号:KW-ZL,南京卡尔文生物科技有限公司);iMark吸收光酶标仪(型号:1681130,美国Bio-Rad公司);超分辨显微成像系统(型号:Aperio Versa)、包埋机(型号:EG1150H)、轮转式切片仪(型号:HistoCore BIOCUT)、组织摊片机(型号:HI1210)、烘片机(型号:HI1220)均购自徕卡显微系统(上海)贸易有限公司。

1.3 实验主要药物及试剂

炙黄芪、诃子、沉香、榜嘎、番泻叶均购自北京上医仁家中医诊所有限公司;香砂六君子丸(国药准字:Z11020657,规格:6g×12袋,批号:22081293,北京同仁堂制药有限公司);戊巴比妥钠(批号:

20170318,美国 Sigma 公司);白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)ELISA 试剂盒(批号:LotApr2023)、肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒(批号:LotMar2023)均购自上海酶联生物科技有限公司;腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)含量检测试剂盒(批号:20230314,南京建成生物有限公司);中华牌香烟(焦油量 11 mg/支,批号:10609444594514604,上海烟草集团有限责任公司);BCA 蛋白定量试剂盒[批号:2023QOFP1511,普利莱(北京)基因有限公司];伊红染色液(批号:2307001)、苏木素染色液(批号:2307100)、返蓝液(批号:2307002)、中性树胶(批号:221W021)均购自北京索莱宝科技有限公司;1%酸性乙醇分化液(批号:0714A23,北京雷根生物技术有限公司)。

1.4 益气止咳方的煎药方法

参考 2015 年版《中华人民共和国药典》^[6]及《中华本草·藏药卷》^[7],并结合临床经验,创制益气止咳方。药物组成:炙黄芪 12 g,诃子 4 g,枳椇 1.6 g,沉香 2 g。根据人用量折合成大鼠用量^[8]准备药物。

益气止咳方高剂量组:每 10 只大鼠 1 周需要炙黄芪 168 g、诃子 56 g、枳椇 22.4 g、沉香 28 g。首煎加入 4 倍药量的水,煮 40 min。二煎加入 3 倍药量的水,继续煎煮 30 min。两次煎液合并,最后浓缩定容至 280 mL,每 1 mL 含生药 0.98 g。

益气止咳方低剂量组:每 10 只大鼠 1 周需要炙黄芪 42 g、诃子 14 g、枳椇 5.6 g、沉香 7 g。煎煮法同益气止咳方高剂量组,每 1 mL 含生药 0.245 g。

1.5 香砂六君子丸混悬液的配制

香砂六君子丸具有益气化痰、行气温中的作用,作为本研究的阳性对照药。根据说明书最大人用量折算成大鼠用量,即大鼠给药量为 2.7 g/kg。香砂六君子丸混合药液浓缩至每 1 mL 含生药 0.27 g。

1.6 番泻叶的煎煮方法

将番泻叶投入沸水中浸泡 1 h,番泻叶:水的比例为 1(g):10(mL),滤出药液后存放于 4 °C 冰箱备用。

1.7 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的配制

将 1 mg LPS 重悬于 1 mL 无菌平衡盐溶液中,轻轻旋涡振荡直至粉末完全溶解,即得到 1 g/L 的储存液。

1.8 实验动物分组及造模、给药方法

1.8.1 实验动物分组 SD 大鼠适应性喂养 7 d 后,按照随机数字表法将其随机分为正常组(12 只)、造模组(48 只)。造模结束后,造模组大鼠随机分为模型组、阳性对照组、益气止咳方高剂量组、益气止咳方低剂量组,每组 12 只,分组后进行耳标编号。

1.8.2 肺脾气虚证模型建立及给药 应用 LPS 气管滴入加香烟熏法制作肺气虚证模型^[9]。在第 1 天和第 14 天,将 200 μ L 的 LPS(1 g/L)滴入造模组大鼠气管内,次日将大鼠连同鼠笼一起置于吸烟染毒箱中,每个箱子中放 24 只大鼠,1 次/d,每次 8 支香烟,每次烟熏时间约 40 min(第 1 天、第 14 天滴注 LPS,不烟熏)。造模周期 4 周,自由进食饮水。应用番泻叶灌胃法制作脾气虚证模型^[10]。从烟熏第 15 天开始按大鼠体质量灌胃番泻叶(1 mL/100 g),每天 1 次,周期 2 周。

肺脾气虚证造模成功后,按照组别分别灌胃生理盐水、香砂六君子丸混悬液(2.7 g/kg)、高剂量益气止咳方药液(9.8 g/kg)、低剂量益气止咳方药液(2.45 g/kg),灌胃体积为 1 mL/100 g,治疗时间为 4 周。治疗结束后各组大鼠禁食不禁水 12 h,称重后用 4%戊巴比妥钠(0.5 mL/100 g)麻醉,取材。

1.9 指标检测方法

1.9.1 大鼠的死亡情况 每天记录大鼠死亡情况,并计算死亡率。死亡率=大鼠死亡总数/大鼠总数量 \times 100%(不包括人为因素死亡)。

1.9.2 体质量 实验第 0、28、56 天上午 8:00 称量大鼠体质量,记录各组大鼠体质量增长情况进行比较分析。

1.9.3 抓力实验 实验选用北京中医药大学科研中心的抓力测定仪,于第 4、8 周进行抓力实验,大鼠的前爪抓住抓力测定仪的前横杆,抓握稳定后再拉动大鼠尾根部拉回来。每只大鼠进行 3 次测试,以平均值为统计数据,观察大鼠肌肉力量。

1.9.4 HE 染色 取大鼠肺、胃(胃底)组织,修剪成 1 cm³大小组织块,取材后立即将大鼠肺和胃组织放入 4%多聚甲醛液中固定,进行石蜡包埋、切片,脱蜡。按苏木素 10 min、1%酸性乙醇分化液 5 s、返蓝液 30 s、伊红 2 min 的顺序染色。最后脱水封片,显微镜下观察。

1.9.5 磷钼酸比色法 取肺、胃、股四头肌组织各

0.05 g, 分别按重量(g):体积(mL)=1:9的比例, 加入9倍体积的冷双蒸水 450 μ L, 冰水浴匀浆, 制成10%的匀浆液。再置于沸水浴中煮 10 min, 取出混匀 1 min, 3 500 r/min 离心(离心半径为 38 mm)10 min, 取上清液待测。按照 ATP 试剂盒说明书检测肺、胃、股四头肌组织中 ATP 含量。

1.9.6 ELISA 法 取肺、胃组织于-80 $^{\circ}$ C冻存, 按照 ELISA 试剂盒说明书步骤, 检测 IL-8、TNF- α 含量。

1.10 统计学分析

使用 SPSS 20.0 软件处理数据, 采用“ $\bar{x}\pm s$ ”描述计量资料。各组数值若符合正态性检验和方差齐性检验, 则进行单因素方差分析, 组间比较用 LSD 法; 若不符合正态性检验或方差齐性检验, 则使用非参数检验, 以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠死亡率

造模期间, 大鼠共死亡 17 只; 取材时, 正常组因麻醉不当致死 2 只。死亡率约为 29.31%。

2.2 益气止咳方对大鼠体质量的影响

造模前, 各组大鼠体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。造模后, 与正常组比较, 模型组大鼠体质量显著降低($P<0.01$)。治疗后, 与模型组比较, 阳性对照组、益气止咳方各剂量组大鼠体质量均升高($P<0.05$); 阳性对照组及益气止咳方各剂量组大鼠体质量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表1。

与正常组比较, 模型组大鼠体质量增长率差异无统计学意义($P>0.05$)。与模型组比较, 阳性对照组、益气止咳方各剂量组大鼠体质量均升高($P<0.01$); 阳性对照组及益气止咳方各剂量组大鼠体质量增长率差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表1。

2.3 益气止咳方对大鼠抓力的影响

造模后, 与正常组比较, 模型组大鼠抓力显著降

低($P<0.01$)。治疗后, 与模型组比较, 阳性对照组及益气止咳方各剂量组抓力显著升高($P<0.01$); 阳性对照组及益气止咳方各剂量组大鼠抓力差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表2。

2.4 HE 染色结果

2.4.1 大鼠肺组织 HE 染色 正常组大鼠肺组织小支气管黏膜上皮完整, 纤毛未见粘连、脱落, 管壁结构完整, 未见炎症细胞浸润, 管腔内未见炎性渗出物, 肺间质未见充血等。模型组小支气管管壁充血、增厚, 管壁有淋巴细胞、中性粒细胞和巨噬细胞浸润, 黏膜上皮细胞纤毛粘连、倒伏, 甚或脱落, 管腔内有炎性渗出物。阳性对照组及益气止咳方各剂量组炎症细胞浸润改善, 管壁增厚减轻, 炎性渗出物及充血减轻。详见图1。

2.4.2 大鼠胃组织 HE 染色 正常组大鼠胃黏膜上皮细胞完整, 腺体密集, 层数较多, 排列整齐。模型组大鼠胃组织出现腺体排列不规则、炎症细胞浸润等现象。与模型组相比, 阳性对照组及益气止咳方各剂量组腺体层数增加, 排列较整齐, 炎症细胞浸润减少。详见图2。

2.5 益气止咳方对大鼠肺、胃、股四头肌组织中 ATP 含量的影响

与正常组比较, 模型组大鼠肺、胃、股四头肌组织中 ATP 含量显著降低($P<0.01$)。与模型组比较, 阳性对照组、益气止咳方各剂量组大鼠肺、胃、股四头肌组织中 ATP 含量升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。与益气止咳方低剂量组比较, 益气止咳方高剂量组大鼠肺组织中 ATP 含量升高($P<0.05$)。阳性对照组与益气止咳方各剂量组肺、胃、股四头肌中 ATP 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表3。

2.6 益气止咳方对大鼠肺和胃组织中细胞因子 IL-8、TNF- α 的影响

与正常组比较, 模型组大鼠肺和胃组织中 IL-8

表1 各组大鼠体质量比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of body mass among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	造模前/g	造模后/g	治疗后/g	体质量增长率
正常组	10	230.20 \pm 9.79	366.60 \pm 20.91	490.90 \pm 47.85	0.337 8 \pm 0.06
模型组	8	230.75 \pm 6.96	312.25 \pm 12.61**	418.88 \pm 18.20**	0.342 3 \pm 0.05
阳性对照组	7	236.29 \pm 11.79	314.29 \pm 20.32**	474.43 \pm 43.04 [#]	0.508 0 \pm 0.05 ^{##}
益气止咳方低剂量组	8	239.86 \pm 7.74	305.63 \pm 24.64**	460.63 \pm 40.77 [#]	0.508 0 \pm 0.06 ^{##}
益气止咳方高剂量组	8	236.00 \pm 10.85	317.00 \pm 11.70**	470.75 \pm 39.12 [#]	0.483 2 \pm 0.08 ^{##}

注: 与正常组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ 。

表2 各组大鼠抓力比较($\bar{x}\pm s$)Table 2 Comparison of grip strength among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	造模后/N	治疗后/N
正常组	10	5.85±0.95	8.69±0.25
模型组	8	4.76±0.50**	6.39±0.35**
阳性对照组	7	4.93±0.76*	7.38±0.30 ^{##}
益气止咳方低剂量组	8	4.85±0.71**	7.44±0.11 ^{##}
益气止咳方高剂量组	8	4.78±0.41**	7.55±0.41 ^{##}

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,^{##} $P<0.01$ 。

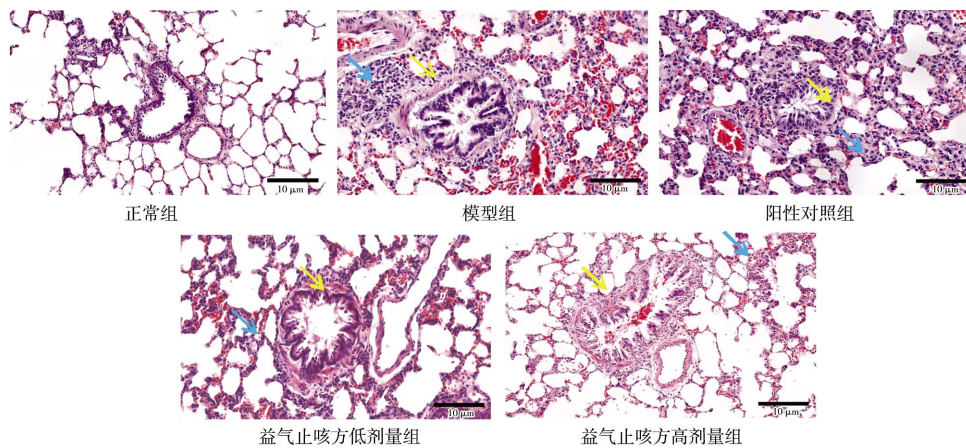
含量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,阳性对照组、益气止咳方各剂量组肺和胃组织中 IL-8 含量显著降低($P<0.01$)。阳性对照组及益气止咳方各剂量组肺和胃组织中 IL-8 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 4。

与正常组比较,模型组大鼠肺、胃组织中 TNF-

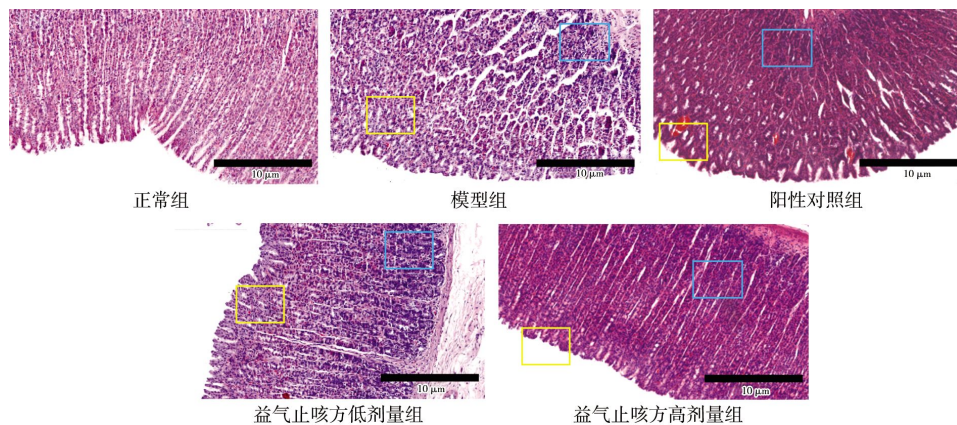
α 含量显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,阳性对照组、益气止咳方各剂量组肺、胃组织中 TNF- α 含量显著降低($P<0.01$)。阳性对照组及益气止咳方各剂量组肺和胃组织中 TNF- α 含量差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 5。

3 讨论

益气止咳方包含炙黄芪、诃子、沉香、枳椇 4 味药物。其中,黄芪能健脾补中、升阳举陷、益卫固表;诃子能涩肠止泻、敛肺止咳、降火利咽;枳椇为藏医常用药物,能清热解毒利湿,可清除余邪;沉香能行气止痛、温中止呕、纳气平喘。四药相合,补益肺脾、清热敛肺、降气平喘止咳。本方以补虚为主,清肺平喘为辅。纵观全方,清补与收涩兼用,补虚不敛邪;升中有降,使气机畅达。

图1 各组大鼠肺脏组织 HE 染色图($\times 200$)Fig.1 HE staining images of lung tissues in each group of rats ($\times 200$)

注:黄箭头表示管壁变化情况;蓝箭头表示炎症细胞浸润情况。

图2 各组大鼠胃组织 HE 染色图($\times 400$)Fig.2 HE staining images of stomach tissues in each group of rats ($\times 400$)

注:黄框表示腺体排列情况;蓝框表示炎症细胞浸润情况。

表3 各组大鼠肺、胃、股四头肌组织中ATP含量比较($\bar{x}\pm s$)Table 3 Comparison of ATP content in lung, stomach, and quadriceps tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	肺/($\mu\text{mol/gprot}$)	胃/($\mu\text{mol/gprot}$)	股四头肌/($\mu\text{mol/gprot}$)
正常组	10	440.89 \pm 75.83	343.94 \pm 181.14	836.60 \pm 84.21
模型组	8	142.71 \pm 14.79**	49.19 \pm 15.96**	138.68 \pm 53.43**
阳性对照组	7	258.54 \pm 41.13 [#]	155.03 \pm 20.68 [#]	610.57 \pm 293.69 [#]
益气止咳方低剂量组	8	216.20 \pm 56.06 [#]	169.87 \pm 57.92 [#]	609.32 \pm 201.71 [#]
益气止咳方高剂量组	8	304.59 \pm 83.79 [#] \blacktriangle	279.14 \pm 138.14 [#]	745.01 \pm 230.05 [#]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,[#] $P<0.01$;与益气止咳方低剂量组比较, $\blacktriangle P<0.05$ 。

表4 各组大鼠肺和胃组织中IL-8含量比较($\bar{x}\pm s$)Table 4 Comparison of IL-8 content in lung and stomach tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	肺/(pg/mL)	胃/(pg/mL)
正常组	10	86.90 \pm 19.03	72.71 \pm 7.45
模型组	8	955.81 \pm 106.48**	651.86 \pm 3.73**
阳性对照组	7	110.43 \pm 17.89 [#]	72.25 \pm 6.89 [#]
益气止咳方低剂量组	8	99.66 \pm 13.43 [#]	73.76 \pm 7.29 [#]
益气止咳方高剂量组	8	100.98 \pm 14.11 [#]	69.09 \pm 11.99 [#]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

表5 各组大鼠肺和胃组织中TNF- α 含量比较($\bar{x}\pm s$)Table 5 Comparison of TNF- α content in lung and stomach tissues among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	肺/(pg/mL)	胃/(pg/mL)
正常组	10	245.81 \pm 34.09	360.90 \pm 31.73
模型组	8	460.54 \pm 25.90**	365.70 \pm 107.46**
阳性对照组	7	287.12 \pm 44.54 [#]	294.89 \pm 53.90 [#]
益气止咳方低剂量组	8	288.91 \pm 42.60 [#]	328.89 \pm 26.49 [#]
益气止咳方高剂量组	8	260.62 \pm 54.82 [#]	326.02 \pm 16.15 [#]

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$ 。

目前,肺气虚证常见的造模方法有单纯烟熏^[11]、烟熏加LPS^[12]等;脾气虚证常见的造模方法有灌胃大黄^[13]、灌胃番泻叶^[14]等。在肺气虚证模型制备上,本研究选用香烟雾熏联合LPS气道滴注的方法。相比于单纯烟熏,联合LPS气道滴注可使肺功能急剧下降、气道黏液高分泌,更能促进炎症细胞浸润,导致肺组织气管壁增厚,通气能力下降^[15],从而使肺气虚证表现于外的症状非常明显,更符合临床常见呼吸道疾病肺损伤的病理过程。在脾气虚证模型制备上,本研究选择番泻叶灌胃的方法。大黄因鞣质含量较高,产生泻下作用的同时又可导致便秘^[16],而番泻叶纯泻无补,泻下作用较强于大黄^[17]。本研究结果显

示,肺脾气虚证大鼠体质量减轻,抓力减小,与肺脾气虚证患者倦怠乏力、纳差等症状相吻合,说明造模成功。经益气止咳方治疗后,大鼠体质量增长加快,乏力症状明显减轻。益气止咳方各剂量组与阳性对照组的大鼠体质量及抓力结果比较,二者差异无统计学意义,可见益气止咳方与香砂六君子丸改善气虚的疗效相似。

HE染色结果显示,大鼠造模后肺组织炎症损伤明显,胃黏膜腺体数量减少、排列紊乱,这与田津等^[18]研究结果相吻合。经益气止咳方治疗后,肺组织中小支气管炎症损伤减轻,胃组织中腺体层数增加、排列较整齐,表明益气止咳方能有效缓解肺、胃组织结构的损伤。

ATP是生物体进行各项生命活动所需的直接能源物质^[19]。研究表明,肺脾气虚状态下,机体中的 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}-\text{ATPase}$ 的活性均降低,使肺、胃和肌肉中ATP能量生成不足,导致临床患者及大鼠模型出现气短、倦怠乏力、呕恶纳差的症状^[20-22]。本研究结果显示,益气止咳方各剂量组肺、胃、股四头肌组织中的ATP含量显著增高,表明益气止咳方能促进ATP的能量释放。在促进肺组织中ATP生成方面,益气止咳方药效随剂量增加而增强。

本实验所用肺脾气虚证模型的机制与炎症因子引发的炎症反应有关,如IL-8、TNF- α ^[23]。IL-8是趋化细胞因子,能对白细胞如中性粒细胞产生一定的趋化、激活作用,从而促进炎症反应^[24]。TNF- α 是一种促炎细胞因子,能增加粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和IL-8的分泌^[25]。本研究结果显示,益气止咳方能有效降低肺和胃组织中TNF- α 和IL-8的合成,与HE染色肺和胃组织中炎症减轻结果一致,由此说明益气止咳方能显著缓解肺脾气虚证大鼠肺和胃组织中的炎症反应。在缓解炎症方面,益气止

咳方与香砂六君子丸效果相似。

综上所述,益气止咳方可有效改善肺脾气虚证大鼠的症状,减轻肺的炎性渗出和胃的组织学改变,其机制可能与抑制炎症因子合成、促进 ATP 合成有关,上述研究结果可为益气止咳方的临床应用提供有力支撑。

参考文献

- [1] 任 健. 中医诊断学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2020: 174.
- [2] 张 丽, 申 畅, 曾龙欢. 补肺健脾方+缩唇-腹式呼吸训练治疗稳定期慢性阻塞性肺疾病肺脾气虚证的临床观察[J]. 中国中医药科技, 2023, 30(5): 912-913.
- [3] 贺月星. 基于络病理论自拟补气通络汤对儿童哮喘肺脾气虚兼瘀阻型的临床观察[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2023.
- [4] 赵桂侠, 邹善思, 周晓蕾, 等. 参芪解毒汤加味联合 TP 方案治疗肺脾气虚型晚期非小细胞肺癌[J]. 中医学报, 2023, 38(9): 1999-2006.
- [5] 丁 波, 刘令令, 段 飞. 基于网络药理学和分子对接探讨新型冠状病毒肺炎肺脾气虚证恢复期复方的作用机制[J]. 中医研究, 2022, 35(9): 63-69.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 186-187, 303.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 《中华本草·藏药卷》[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 306-307.
- [8] 邵义祥. 医学实验动物学教程[M]. 南京: 东南大学出版社, 2016: 223-224.
- [9] 吕 磊, 王成阳, 刘向国, 等. 六味补气胶囊对肺气虚型慢性阻塞性肺疾病大鼠气道重塑中病理形态和 MMP-9、MMP-12 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(24): 6181-6184.
- [10] 张永辉, 孙 鑫, 邵建彬, 等. 益气固表方对于肺脾气虚型免疫低下 RRTIs 小鼠 IgA、IgG、IgM 和 SIgA 的干预作用[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2022, 24(9): 3589-3595.
- [11] 任秀玲, 赵清树, 程振芳, 等. “肺气虚”大鼠模型肺、皮肤、大肠 Fas、Fas-L 表达相关性的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(7): 478-480.
- [12] 吴孝政, 陆丽青, 蒲水莉, 等. 玉屏风散对肺气虚证大鼠气道黏液高分泌因子 MUC5AC、NE 水平的影响[J]. 亚太传统医药, 2023, 19(9): 20-26.
- [13] YOU Y, LUO L, YOU Y Y, et al. Shengmai Yin formula modulates the gut microbiota of spleen-deficiency rats[J]. Chinese Medicine, 2020, 15: 114.
- [14] XIONG R, LI Y D, ZHENG K X, et al. Er Shen Wan extract alleviates polyuria and regulates AQP 2 and AVPR 2 in a rat model of spleen-kidney Yang deficiency-induced diarrhea[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 110: 302-311.
- [15] 卢心鹏, 刘 蓉, 黄文博, 等. 不同方法建立大鼠慢性阻塞性肺疾病模型的比较研究[J]. 实验动物与比较医学, 2022, 42(3): 201-206.
- [16] 周 萍. 生大黄“先泻后敛”药效作用及基于代谢组学的作用机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- [17] 曲长江, 林庶如, 夏淑杰, 等. 苦寒泻下两种脾虚模型的免疫学比较研究[J]. 辽宁中医杂志, 1999, 26(3): 37-38.
- [18] 田 津, 叶佐玉, 付丹丹, 等. 升阳益胃汤对慢性阻塞性肺疾病肺脾气虚证模型大鼠组织病理学及血清炎症因子、外周血 Th17/Treg 平衡的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(1): 62-70.
- [19] 李小兵, 沈丽萍, 刘小虹, 等. 补肺化痰方对肺虚痰阻证模型大鼠 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性的影响[J]. 中医杂志, 2010, 51(7): 648-650.
- [20] 曾益宏, 刘友章, 徐 升. 益气健脾法对脾虚证大鼠模型骨骼肌线粒体 ATPase 活性的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(2): 171-172.
- [21] 刘德芳, 张耀雷, 刘碧莹, 等. 基于脾虚湿阻研究佐剂性关节炎大鼠模型炎症因子、钠钾 ATP 酶及病理组织学变化[J]. 风湿病与关节炎, 2023, 12(1): 1-5, 18.
- [22] NATH S. Analysis of molecular mechanisms of ATP synthesis from the standpoint of the principle of electrical neutrality[J]. Biophysical Chemistry, 2017, 224: 49-58.
- [23] 吴镇湖. 慢性阻塞性肺病稳定期 IL-8、TNF- α 水平与中医证型及吸烟的相关性研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [24] 刘 梅, 贺飞燕. 白细胞介素-8 基因多态性与疾病关系的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(9): 1769-1771.
- [25] MA X J. TNF- α and IL-12: A balancing act in macrophage functioning[J]. Microbes and Infection, 2001, 3(2): 121-129.

(本文编辑 周 旦)