

## ◆ 实验研究论著 ◆

补肺汤对 COPD 肺气虚证模型大鼠肺组织形态学及 IL-10、TNF- $\alpha$  含量的影响方正清<sup>1</sup>, 刘向国<sup>2</sup>, 张凯<sup>2</sup>, 吕磊<sup>2</sup>, 董维<sup>2</sup>, 方冬<sup>2</sup>, 张婵<sup>2</sup>, 胡萍<sup>2</sup>

1. 安徽中医药大学护理学院, 安徽 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学中西医结合临床学院, 安徽 合肥 230038

**[摘要]** 目的: 观察补肺汤对慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 肺气虚证模型大鼠肺组织形态学及肺组织中白细胞介素-10 (IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 含量的影响。方法: 将 60 只大鼠随机分为正常对照组、模型组、补肺汤高剂量组、补肺汤中剂量组、补肺汤低剂量组、桂龙咳喘宁 (阳性对照) 组。采用烟熏加脂多糖气管滴入方法建立 COPD 肺气虚证实验动物模型。采用 HE 染色光镜观察肺组织的病理形态学改变; ELISA 法检测肺组织中 IL-10、TNF- $\alpha$  的含量。结果: 与正常对照组比较, 模型组大鼠出现 COPD 肺气虚证症状和体征, 支气管和肺组织出现慢性支气管炎和肺气肿病理改变; 用药各组大鼠症状和体征以及支气管和肺组织病理学变化较模型组均有不同程度的改善和减轻; 模型组大鼠肺组织中 IL-10 的含量降低, TNF- $\alpha$  的含量升高, 与正常对照组比较, 差异均有非常显著性意义 ( $P < 0.01$ ); 补肺汤高、中剂量组大鼠肺组织中 IL-10 的含量升高, TNF- $\alpha$  的含量降低, 与模型组比较, 差异均有非常显著性意义 ( $P < 0.01$ ); 补肺汤低剂量组、桂龙咳喘宁组大鼠肺组织中 IL-10 的含量升高, TNF- $\alpha$  的含量降低, 与模型组比较, 差异均无显著性意义 ( $P > 0.05$ ); 补肺汤高剂量组 2 项指标与桂龙咳喘宁组比较, 差异均有显著性意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 补肺汤可减轻 COPD 肺气虚证大鼠支气管、肺组织病理学变化, 对 COPD 肺气虚证大鼠免疫功能有增强作用。

**[关键词]** 慢性阻塞性肺疾病 (COPD); 补肺汤; 肺气虚证; 肺组织形态学; IL-10; TNF- $\alpha$

**[中图分类号]** R285.5; R563 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 06-0200-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.06.095

### Effect of *Bufei* Decoction on Pulmonary Morphological Changes and of IL-10 and TNF- $\alpha$ Contents in COPD Rat Model with Lung-Qi Deficiency Syndrome

FANG Zhengqing, LIU Xiangguo, ZHANG Kai, et al

**Abstract:** Objective: To observe the effect of *Bufei* decoction (BD) on morphology changes and contents of interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in lung tissue of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) rat model with lung-qi deficiency syndrome. Methods: Sixty SD rats were randomly divided into normal group, model group, high-dose BD group, middle-dose BD group, low-dose BD group and *Guilong Kechuanning* group (positive control group). The rat model of COPD with lung-qi deficiency syndrome was established by exposing to cigarette smoking and intratracheal instillation of lipopolysaccharide (LPS). HE staining was used for observing the morphology changes of lung tissue, and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted for the contents of IL-10 and TNF- $\alpha$  in lung tissue. Results: Compared with the normal group, rats of the model group had the signs and symptoms of COPD with lung-qi deficiency syndrome, chronic bronchitis and emphysema. Signs and symptoms, pathological changes in bronchial and lung tissues of the medication groups were improved to various degrees. In the model group, the content of IL-10 was decreased, and the content of TNF- $\alpha$  was increased in the lung tissue ( $P < 0.01$  compared with the normal group). In high- and middle-dose BD groups, IL-10 content was increased and TNF- $\alpha$  content was decreased in the lung tissue ( $P < 0.01$  compared with model group). In low-dose BD

**[收稿日期]** 2014-02-12

**[基金项目]** 安徽中医药大学科学研究基金项目 (重点) (编号: 2010zr003A)

**[作者简介]** 方正清 (1968-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 中西医结合基础研究。

**[通讯作者]** 刘向国, E-mail: xgliu0508@yahoo.com.cn。

group and *Guilong Kechuanning* group, IL-10 content was increased and TNF- $\alpha$  content was decreased in lung tissue, but there being no significant difference ( $P > 0.05$ ). Conclusion: BD can relieve the pathologic changes of bronchi and lung tissue, and enhance immune function in COPD rat model with lung-qi deficiency syndrome.

Keywords: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD); *Bufe* decoction; Lung-qi deficiency syndrome; Lung morphology; Interleukin-10; Tumor necrosis factor alpha

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是具有气流受限特征的慢性支气管炎和(或)肺气肿,其慢性气道阻塞呈进行性发展,与肺部对有害气体或有害颗粒的异常炎症反应有关,主要累及肺脏<sup>[1]</sup>。COPD 多属于中医学咳嗽、喘病、肺胀等范畴。肺气虚证贯穿于 COPD 整个病程,是稳定期主要证型<sup>[2]</sup>。补肺汤由人参、黄芪、熟地黄、五味子、紫菀、桑白皮等药物组成,具有补肺、敛肺、清肺的功效,临床上治疗 COPD 肺气虚证有较好疗效,但本方实验研究尚不深入。本实验结合现代医学,探讨补肺汤对 COPD 肺气虚证模型大鼠肺组织形态学及白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )含量的影响及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 健康 SD 大鼠 60 只,清洁级,雄性,体质量 160~180 g,由安徽省全椒县翔飞养殖场专业合作社提供。实验动物生产许可证:SCXK(苏)2008-0004;合格证书:劳动(饲)字 95001。

1.1.2 药品与试剂 补肺汤:黄芪 30 g,人参、紫菀各 10 g,熟地黄 20 g,桑白皮 15 g,五味子 5 g,由安徽中医学院国医堂煎制提供;桂龙咳喘宁:桂龙药业(安徽)有限公司,批号 Z20053135。脂多糖(LPS):美国 Sigma 公司,批号 20100109558;造模用香烟:滁州卷烟厂生产的红三环牌香烟,焦油含量 11 mg/支,尼古丁含量 0.8 mg/支。IL-10、TNF- $\alpha$  试剂盒:上海森雄生物技术有限公司。

1.1.3 仪器 BM-IX 生物组织石蜡包埋机;TS-12 生物组织自动脱水机;LEICA 2016 轮转式切片仪;OLYMPUS BX51 显微镜;捷达 JD-801D 形态学图像分析系统。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 药物及试剂配制

1.2.2 动物分组、造模及给药方法 将健康 SD 大鼠 60 只随机分为正常对照组、模型组、补肺汤高剂量组、补肺汤中剂量组、补肺汤低剂量组、桂龙咳喘宁(阳性对照)组,每组 10 只。除正常对照组外,其余各组大鼠于实验第 1 天、14 天,6%水合氯醛麻醉大鼠后,手术暴露气管,注入 LPS(1 mg/mL)200  $\mu$ L 至气管内;LPS 滴入的次日,将大鼠置于自制的烟室中,用锯末 50 g 加 10 支红三环牌香烟烟丝混合点燃烟熏,每天烟熏 1 次,每次 30 min<sup>[3]</sup>。造模 1 月后开始给药,每天 1 次,连续 15 天。正常对照组灌服生理盐水 10 mL/(kg·d);模型组灌服生理盐水 10 mL/(kg·d);补肺汤高剂量组灌服补肺汤水煎剂

35.2 mg/(g·d)(相当于成人常规临床用量的 4 倍);④补肺汤中剂量组灌服补肺汤水煎剂 17.6 mg/(g·d)(相当于成人常规临床用量的 2 倍);⑤补肺汤低剂量组灌服补肺汤水煎剂 8.8 mg/(g·d)(相当于成人常规临床用量等效量);⑥桂龙咳喘宁组灌服桂龙咳喘宁 0.5 mL/100g(相当于成人常规临床用量的 2 倍)。除正常对照组外,其它各组给药同时继续给予烟熏,每天烟熏 30 min。

1.2.3 测定指标和方法 每天观察大鼠的一般情况包括活动度、对外界反应的灵敏度、精神状况、皮毛光泽度、饮食和大便情况及呼吸系统体征包括咳嗽、呼吸道分泌物、气道痰鸣音。结束给药次日取右肺置于 10% 甲醛中固定,常规石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜观察肺组织形态学变化;取左肺近肺门处组织约 400 mg,加入生理盐水 1 mL 匀浆,3 000 rpm 离心 15 min,取上清液检测 IL-10、TNF- $\alpha$  含量。

1.3 统计学方法 采用 SPSS19.0 for Windows 软件处理。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。

## 2 结果

2.1 一般情况及呼吸系统体征 正常对照组大鼠健康活泼;模型组大鼠逐渐出现精神萎靡,蜷伏少动;毛失光泽、发黄、易脱落;大便稀溏,肛门有稀便附着;并出现咳嗽,有呼吸道分泌物从口鼻流出,偶可闻及气道痰鸣音;体重较正常对照组减轻。在随后进行药物治疗过程中,模型组大鼠上述症状和体征逐渐加重,而用药组则有不同程度的改善。

2.2 肺组织形态学观察 正常对照组:大鼠支气管黏膜结构和肺组织结构清晰,支气管黏膜上皮排列整齐,纤毛明显可见。无支气管管腔扩张、上皮坏死脱落、纤毛脱失、炎细胞浸润等病理改变;肺泡壁无明显增厚,肺泡腔干净、匀称(图 1)。模型组:与正常对照组相比,模型组大鼠普遍存在细支气管管壁有慢性炎性细胞轻度浸润;呼吸性细支气管及肺泡管、肺泡囊扩张;其周围的肺泡间隔变薄或断裂,扩张成大小不等的囊泡;部分呼吸细支气管及肺泡管扩张呈不规则气腔;部分肺泡相互融合形成肺大泡;细支气管管壁有慢性炎性细胞重度浸润,黏膜有杯状细胞增生;纤毛上皮破损、坏死、脱落,纤毛减少、粘连和倒伏(图 2)。各治疗组大鼠支气管黏膜结构和肺组织结构有不同程度改善(图 3~6)。

2.3 各组大鼠肺组织中 IL-10、TNF- $\alpha$  含量变化比较 见表 1。模型组大鼠肺组织中 IL-10 的含量降低, TNF- $\alpha$  的含量升高,与正常对照组比较,差异均有非常显著性意义( $P <$

0.01); 补肺汤高、中剂量组大鼠肺组织中 IL-10 的含量升高, TNF- $\alpha$  的含量降低, 与模型组比较, 差异有显著性或非常显著性意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 补肺汤低剂量组、桂龙咳喘宁组大

鼠肺组织中 IL-10 的含量升高, TNF- $\alpha$  的含量降低, 与模型组比较, 差异均无显著性意义( $P > 0.05$ ); 补肺汤高剂量组 2 项指标分别与桂龙咳喘宁组比较, 差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。

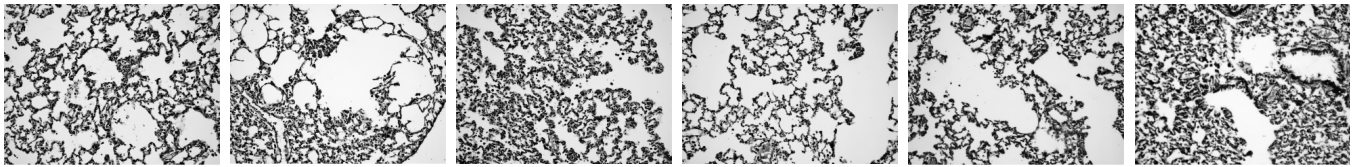


图 1 正常对照组肺组织 (HE 染色×200) 图 2 模型组肺组织 (HE 染色×200) 图 3 补肺汤高剂量组肺组织 (HE 染色×200) 图 4 补肺汤中剂量组肺组织 (HE 染色×200) 图 5 补肺汤低剂量组肺组织 (HE 染色×200) 图 6 桂龙咳喘宁组肺组织 (HE 染色×200)

表 1 各组大鼠肺组织中 IL-10、TNF- $\alpha$  含量变化比较( $\bar{x} \pm s$ ) ng/L

组别	n	IL-10	TNF- $\alpha$
正常对照组	10	1.18 ± 0.16	0.62 ± 0.14
模型组	10	0.60 ± 0.12	1.15 ± 0.16
补肺汤高剂量组	10	0.92 ± 0.14	0.74 ± 0.15
补肺汤中剂量组	10	0.81 ± 0.09	0.83 ± 0.13
补肺汤低剂量组	10	0.72 ± 0.08	0.94 ± 0.16
桂龙咳喘宁组	10	0.74 ± 0.07	0.93 ± 0.11

与正常对照组比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型组比较, ② $P < 0.05$ , ③ $P < 0.01$ ; 与桂龙咳喘宁组比较, ④ $P < 0.05$

### 3 讨论

本实验采用双因素复合制作的病证结合的 COPD 肺气虚证大鼠模型, 证候符合肺气虚证诊断标准, 支气管和肺组织形态的大体和光镜观察出现 COPD 的病理学改变, 以上特征是判断模型成功与否的主要标准。本模型既符合西医 COPD “病”的病理模型特点, 又与中医肺气虚“证”的证候基本相符。

近年来, 多数学者认为, 机体免疫功能低下与 COPD 患者的反复感染及病情的发展和转归有密切关系。COPD 的形成并持续发展会进一步加重肺气虚, 肺气虚患者细胞免疫和体液免疫功能均较正常人低下<sup>[4-5]</sup>。

COPD 的发病机制目前尚未明确, 现公认 COPD 为慢性持续性炎症气道疾病, 可累及各级支气管和肺实质。巨噬细胞、中性粒细胞、上皮细胞是 COPD 炎症的主要参与细胞, 释放的炎症因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-10 会对气道结构细胞和促进中性粒细胞炎症反应均产生重要的影响。TNF- $\alpha$  是重要的炎症介质, 能刺激靶细胞表面分子表达, 从而启动炎症反应<sup>[6]</sup>; IL-10 有广泛的抗炎作用, 可抑制 LPS 刺激巨噬细胞活化及分泌前炎症因子, 抑制 TNF- $\alpha$  的产生, 是体内重要的炎症抑制因子<sup>[7]</sup>。炎症因子与抑炎因子之间的平衡是防止炎症性损伤的重要机制之一。COPD 肺气虚证模型大鼠 IL-10 生成减少, TNF- $\alpha$  产生增多, 出现炎症因子与抑炎因子之间失衡, 从而诱导呼吸道炎症和肺组织损伤。

补肺汤出自于《备急千金要方》, 方含人参、黄芪、熟地黄、五味子、紫菀、桑白皮等药物。人参性微苦微寒, 归脾、肺、心经, 具有补脾益肺的作用, 脾为肺母, 气为水母, 采用了虚则补其母的方法; 黄芪性甘微温, 归脾、肺经, 具有补脾益肺、益卫固表的作用。二者相须配伍使用可增强补脾益肺的作用。熟地黄, 性甘, 微温, 归肝、肾经, 具有补血养阴、填精益髓的作用, 肾为肺之子, 子虚必盗母气以自养, 故用肾药先滋其水, 咳则气伤; 五味子酸温, 能敛肺气; 咳由火盛, 桑白皮甘寒, 能泻肺火; 紫菀辛能润肺, 温能补虚。诸药合用可以补益肺肾, 纳气平喘, 缓解 COPD 肺气虚的症状, 而以补肺气为首要, 其治疗 COPD 肺气虚证在临床上取得了肯定的疗效<sup>[8-9]</sup>。

本研究显示, COPD 肺气虚证模型大鼠肺组织中 IL-10 含量降低, TNF- $\alpha$  的含量升高, 提示存在气道的慢性炎症和反复感染的情况。补肺汤可以增加大鼠肺组织中 IL-10 含量, 降低 TNF- $\alpha$  的含量, 表明补肺汤能增强 COPD 肺气虚证大鼠的免疫功能, 抑制炎症介质的产生, 增强机体对病原菌的清除功能。补肺汤可能通过补益肺气, 增强模型大鼠免疫功能, 抑制炎症因子释放, 减轻 COPD 肺气虚证大鼠支气管、肺组织病理学变化, 减轻和抑制 COPD 肺气虚证的发生发展。

### [参考文献]

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(8): 453-460.
- [2] 中华中医药学会内科分会肺系病专业委员会. 慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011 版)[J]. 中医杂志, 2012, 53(1): 80-84.
- [3] 宋一平, 崔德健, 茅培英, 等. 慢性阻塞性肺病大鼠模型的建立及药物干预的影响[J]. 军医进修学院学报, 2001, 22(2): 99.
- [4] 徐锡鸿, 韩冬, 沈金美, 等. 肺气虚证患者免疫功能探析[J]. 中医药研究, 1999, 15(3): 37-38.



- [5] 黄开珍, 王朝晖. 肺气虚证的免疫功能研究进展[J]. 广西中医学院学报, 2008, 11(3): 94-96.
- [6] 李浩, 高雪, 侯辉, 等. 肺气虚证大鼠上下呼吸道病理变化的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2000, 7(5): 277-278.
- [7] 刘向国, 方志斌, 蔡圣荣, 等. 肺气肿肺气虚证模型大鼠免疫功能状态的实验研究[J]. 甘肃中医学院学报, 2007, 24(3): 9-12.
- [8] 张培琴, 张葵, 刘瑶, 等. 参芪补肺汤对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠气道结构和肺功能的影响[J]. 中国药房, 2010, 21(7): 595-597.
- [9] 张葵, 张樱, 陈昱江, 等. 参芪补肺汤对肺气虚证慢性阻塞性肺疾病大鼠气道重构中 MMP-9 和 TIMP-1 蛋白表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(8): 40-42.

(责任编辑: 马力)

## 甘遂对重症急性胰腺炎大鼠血清内毒素影响的实验研究

黄有星, 沈展涛, 钟小生, 何军明

广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510120

**[摘要]** 目的: 观察甘遂灌胃对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠血清内毒素的影响。方法: 通过牛磺胆酸钠胰腺包膜下注射的方法建立大鼠急性重症胰腺炎模型, 将60只造模成功的大鼠, 随机分为治疗组和对照组, 各30只。治疗组在模型制作成功15 min后立即给予甘遂灌胃; 对照组给予同等容积的生理盐水灌胃。观察3 h、24 h、72 h后大鼠血清内毒素的变化。结果: 大鼠血中内毒素水平明显升高, 3 h时血中内毒素含量, 2组比较, 差异无显著性意义( $P > 0.05$ )。24 h、72 h时, 治疗组内毒素含量较对照组明显下降, 2组比较, 差异均有显著性意义( $P < 0.05$ )。结论: 甘遂可明显降低内毒素水平, 能够减少胰腺和胰周感染发生率。

**[关键词]** 重症急性胰腺炎(SAP); 血清内毒素; 甘遂

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 0256-7415(2014)06-0203-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2014.06.096

重症急性胰腺炎(SAP)是外科常见的急腹症。其起病急, 进展快, 并发症多, 病情凶险, 其目前仍然是腹部外科领域的疑难病和危重病, 发病率约占急性胰腺炎发病率20%~30%, 死亡率高达20%~30%<sup>[1]</sup>。甘遂作为通腑泄热泄水之代表药, 具有较强的通里攻下、泄水逐饮的作用<sup>[2]</sup>, 可直接增强肠蠕动, 也可直接吸收腹腔水份自肠道排出, 能降低腹内压, 保护肠黏膜屏障, 减少胰腺和胰周感染发生率。本研究采用甘遂灌胃观察SAP大鼠血清内毒素的变化。现报道如下。

### 1 材料与方

**1.1 材料** 健康雄性SD大鼠60只, 体重(300±30)g。甘遂粉由广东省中医院中药房提供, 3%戊巴比妥钠由广东省中医院西药房提供。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型制备及分组** SD大鼠术前禁食12 h, 3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 进腹后将胃提出腹外翻转, 使胰腺充

分暴露, 针头平面朝上于胰尾被膜下穿刺, 逐渐向胰管开口方向推进, 缓慢推注5%牛磺胆酸钠0.4 mL/100 g, 使整个胰腺均匀隆起, 约10 min后胰腺出现肉眼可见的水肿出血, 表明制作SAP模型成功。随机分为甘遂治疗组及对照组, 各30只。

**1.2.2 给药方法** 治疗组: 在模型制作成功15 min后立即给予甘遂灌胃, 剂量200 mg/kg, 用生理盐水配成1.5~2 mL混悬液灌胃, 每8 h 1次。对照组: 给予同等容积的生理盐水灌胃。

**1.2.3 检测指标及方法** 于术后3、24和72 h取血, 留取血液标本, 采用改良的基质显色法检测血中内毒素水平。

**1.2.4 统计学方法** 运用SPSS19.0软件统计, 计量资料组间比较采用 $t$ 检验, 非正态分布或方差不齐采用秩和检验; 计数资料组间比较采用 $\chi^2$ 检验, 等级资料组间比较采用秩和检验。

**[收稿日期]** 2014-02-24

**[基金项目]** 广东省中医药局资助项目(编号: 20121176)

**[作者简介]** 黄有星(1978-), 男, 主治医师, 研究方向: 重症急性胰腺炎的诊治。