

轩银霜,李亚,卞晴晴,等. 调补肺肾三法对慢性阻塞性肺疾病稳定期大鼠肺与肠道炎症指标的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(7): 888-895.

Xuan YS, Li Y, Bian QQ, et al. Effects of three Tiao-Bu Fei-Shen therapies on lung and intestinal inflammation indexes in rats with stable chronic obstructive pulmonary disease [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(7): 888-895.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.07.007

调补肺肾三法对慢性阻塞性肺疾病稳定期大鼠肺与肠道炎症指标的影响

轩银霜^{1,2}, 李亚², 卞晴晴³, 毛静¹, 李晓俊¹, 李素云^{3,4,*}

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第一附属医院中心实验室中药药理(呼吸)实验室
河南省呼吸病防治中医药重点实验室, 郑州 450000; 3. 河南中医药大学第一附属医院呼吸科,
郑州 450000; 4. 河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046)

【摘要】 目的 探讨调补肺肾三法对慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)稳定期大鼠肺与肠道 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 的调控。**方法** 将 60 只 SD 大鼠随机分为空白(Control)组、COPD 模型(Model)组、补肺健脾(Bufei Jianpi, BJ)组、补肺益肾(Bufei Yishen, BY)组、益气滋肾(Yiqi Zishen, ZS)组和氨茶碱(aminophylline, Am)组。第 1 ~ 8 周, 采用香烟烟雾暴露联合脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)滴注法制备稳定期 COPD 大鼠模型, 对应给予生理盐水、补肺健脾方、补肺益肾方、益气滋肾方、氨茶碱灌胃 4 周, 于第 13 周灌胃周期结束后取材。光镜下观察肺与结肠组织形态学改变, 采用免疫组化法(IHC)对肺与结肠组织中白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-33、干扰素(interferon, IFN)- γ 蛋白进行定位与半定量观察。**结果** 与 Control 组相比, Model 组大鼠不仅支气管周围与肺泡腔出现大量炎症细胞及炎性渗出, 结肠黏膜也出现了大量炎症细胞浸润, 肺和结肠 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 水平明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 Model 组相比, 各治疗组不仅支气管和肺泡炎症细胞浸润减少, 而且结肠黏膜炎症细胞也出现减少, 肺与结肠中 IL-33 和 IFN- γ 、结肠 IL-6 水平均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), BY、ZS、Am 组肺 IL-6 水平显著降低($P < 0.01$)。肺 IL-6 与结肠 IL-6 水平呈正相关, 肺 IL-33 与结肠 IL-33 水平呈正相关, 肺 IFN- γ 和结肠 IFN- γ 水平呈正相关。**结论** 调补肺肾三法均可以改善慢性阻塞性肺疾病稳定期大鼠肠道功能障碍, 其机制可能与抑制肺与结肠中 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 的释放, 降低肺与肠道炎症反应有关。

【关键词】 调补肺肾三法; 慢性阻塞性肺疾病; 肠道功能障碍; 炎症介质; 肺与大肠相表里

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 07-0888-08

Effects of three Tiao-Bu Fei-Shen therapies on lung and intestinal inflammation indexes in rats with stable chronic obstructive pulmonary disease

XUAN Yinshuang^{1,2}, LI Ya², BIAN Qingqing³, MAO Jing¹, LI Xiaojun¹, LI Suyun^{3,4,*}

【基金项目】国家重点研发计划项目(2018YFC1704800, 2018YFC1704801), 国家自然科学基金(81904116), 省级科技研发计划联合基金项目(222301420081), 河南省高等学校重点科研项目(23B360005)。

Funded by the National Key Research and Development Program of China(2018YFC1704800, 2018YFC1704801), National Natural Science Foundation of China(81904116), Provincial Science and Technology Research and Development Plan Joint Fund Project(222301420081), Key Research Projects of Colleges and Universities in Henan Province(23B360005)。

【作者简介】轩银霜(1995—), 在读博士研究生, 研究方向: 中医药防治呼吸疾病研究。Email: xuanys2020@163.com

【通信作者】李素云(1965—), 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 中医药防治呼吸疾病临床与基础研究。
Email: lisuyun2000@126.com

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China. 2. Chinese Medicine Pharmacology (Respiratory) Laboratory, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine Henan Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for the Prevention and Treatment of Respiratory Diseases, Zhengzhou 450000. 3. Respiratory Department of the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000. 4. Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of P.R. China, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)
Corresponding author: LI Suyun. E-mail: lisuyun2000@126.com

[Abstract] Objective To investigate the effects of three Tiao-Bu Fei-Shen therapies on interleukin (IL)-6, IL-33, and interferon (IFN)- γ in the lung and intestines of rats with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** Sixty Sprague-Dawley rats were divided randomly into blank (Control), COPD model (Model), Bufe Jianpi (BJ), Bufe Yishen (BY), Yiqi Zishen (ZS), and aminophylline (Am) groups. A stable COPD rat model was established by cigarette-smoke exposure combined with lipopolysaccharide nasal drip in the first 8 weeks. The model rats were given normal saline, Bufe Jianpi Formula, Bufe Yishen Formula, Yiqi Zishen Formula, or aminophylline by gavage for 4 weeks. Morphological changes in the lung and colon were observed by light microscopy, and IL-6, IL-33, and IFN- γ protein levels in lung and colon tissues were localized and analyzed semi-quantitatively by immunohistochemistry. **Results** Rats in the model group had more inflammatory cells and inflammatory exudates around the bronchi and alveolar spaces compared with control rats, and also had more inflammatory cell infiltration in the colon mucosa and significantly increased levels of IL-6, IL-33, and IFN- γ in the lung and colon tissues ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Bronchial and alveolar inflammatory cell infiltration and colonic mucosal inflammatory cells were decreased in all treatment groups compared with the model group. IL-33 and IFN- γ in the lung and colon and IL-6 in the colon were significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and IL-6 in the lung was significantly reduced in the BY, ZS, and Am groups ($P < 0.01$). There were positive correlations between lung IL-6 and colon IL-6, lung IL-33 and colon IL-33, and lung IFN- γ and colon IFN- γ levels. **Conclusions** The three tested Tiao-Bu Fei-Shen therapies can reduce intestinal dysfunction in COPD rats. The mechanism may be related to inhibition of the release of IL-6, IL-33, and IFN- γ in lung and colon tissues, and reducing the inflammatory reaction between the lung and intestine.

[Keywords] Tiao-Bu Fei-Shen therapies; chronic obstructive pulmonary disease; intestinal dysfunction; inflammatory mediator; interior-exterior relationship between lung and large intestine

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 作为一种全身性的疾病, 其肺外常见并发症有心血管疾病、糖尿病、骨骼肌功能障碍和肠道功能障碍等^[1-3], 其中肠道功能障碍的症状包括腹胀、食欲减退、便秘、腹泻等^[4-6], 并进一步导致肺功能损害, 影响疾病的预后。

COPD 与肠道功能障碍在病理上相关, 主要表现在炎症、免疫、缺氧、微生物失衡等方面^[7-9], 尤其在炎症方面。前期临床研究表明, 调补肺肾三法可以提高 COPD 患者肺通气功能, 改善临床症状, 并可降低血清白细胞介素 (interleukin, IL)-8、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、C-反应蛋白 (CRP) 水平, 减轻炎症反应^[10]。动物实验中也发现, 调补肺肾三法可以改善 COPD 大鼠肺功能, 减轻肺病理组织损伤, 降低大鼠 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等炎症指标, 改善局部及系统性炎症反应, 且具有较明显的远后效应。研究还发

现其对疾病所引起的食量与饮水量减少、形体消瘦、大便溏薄等胃肠道症状也具有改善作用^[11-12], 但是具体机制尚不清楚。因此, 本研究采用病理学、免疫组化技术方法, 观察并检测肺部与肠道炎症介质 IL-6、IL-33 和干扰素 (interferon, IFN)- γ 的表达, 旨在探讨调补肺肾三法对 COPD 稳定期大鼠肺与肠道炎症指标的调控, 从炎症方面阐释“肺与大肠相表里”的科学内涵。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

60 只 8 周龄的 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各 30 只, 体重为 (200 $\pm$ 20) g, 购买于济南朋悦实验动物繁育有限公司【SCXK (鲁) 20190003】, 并在河南中医药大学第一附属医院中心实验室饲养【SYXK (豫)

2017-0001】，期间自由饮水、摄食，昼夜各半循环照明，相对湿度 40% ~ 70%，温度 21 ~ 25℃。实验通过河南中医药大学的实验动物伦理委员会批准(DWLL2019020002)。

1.1.2 药物

脂多糖(LPS)，美国 Sigma 公司，批号：028M4094V；补肺健脾方(黄芪、白术、党参、茯苓等)，补肺益肾方(人参、山茱萸、黄芪、枸杞子等)，益气滋肾方(人参、麦冬、五味子、黄精等)，来源于河南中医药大学药学院的药物分析实验室；氨茶碱，海南制药厂有限公司制药一厂，批号：国药准字 H41020704。

1.1.3 主要试剂与仪器

红旗渠香烟，河南中烟工业有限责任公司；IFNG Polyclonal Antibody，武汉 Elabscience 公司，批号：E-AB-40075；HE 染色试剂盒(批号：G1120)、羊抗兔 IgG-HRP(批号：SE134)、5% BSA 封闭液(批号：SW3015)、PBS 磷酸盐缓冲液(批号：P1010)，北京 Solarbio 公司；0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液(批号：AR0024)、Anti-IL-6 Antibody(批号：BA4339)、Anti-IL-33 Antibody(批号：M00113-2)、SABC 试剂盒(批号：SA1021)、3%过氧化氢(批号：AR1108)、中性树胶(批号：AR0038)，武汉 BOSTER 公司。

独立送风隔离笼具(苏州冯氏实验动物设备有限公司，中国)，OLYMPUS-DP70 型显微镜及显微照相系统(Olympus 公司，日本)，DNP-9082 型电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司，中国)，全自动生物组织脱水机、超低温冰箱、生物组织石蜡包埋机(Thermo 公司，美国)，RM2245 型切片机(LEICA 公司，德国)。

1.2 方法

1.2.1 造模、分组及给药

大鼠适应性饲养 1 周，采用香烟烟雾暴露联合 LPS 滴注法建立 COPD 稳定期大鼠模型^[13]：每天烟雾暴露 2 次(烟熏箱烟雾浓度达到 3000 ± 500 ppm)，每次 30 min；每周 2 次将 1 mg/kg 的 LPS 滴入大鼠鼻腔，造模持续 8 周。大鼠被随机分为空白(Control)组、COPD 模型(Model)组、补肺健脾(Bufei Jianpi, BJ)组、补肺益肾(Bufei Yishen, BY)组、益气滋肾(Yiqi Zishen, ZS)组、氨茶碱(aminophylline, Am)组，每组 10 只，雌雄各半。第 9 ~ 12 周，治疗组分别给予补肺健脾方、补肺益肾方、益气滋肾方、氨茶碱灌胃，剂量分别：12.42

g/(kg·d)、11.61 g/(kg·d)、12.42 g/(kg·d)、27 mg/(kg·d)，其余大鼠通过灌胃给予生理盐水，每日 2 次，每周给大鼠称重以调整滴鼻及灌胃的剂量。药物剂量的计算使用等效剂量换算公式^[14]。

1.2.2 指标检测

(1) 大鼠一般情况

观察所有大鼠每天精神状态、皮毛光泽度及活动灵敏度、进食饲料量及大小便的情况，记录每周的体重。

(2) 大鼠肺组织与结肠组织形态学

将大鼠麻醉，先后取出结肠组织与肺组织，用中性甲醛进行固定，经过石蜡包埋后切片，脱蜡后 HE 染色，使用光镜观察组织的形态学变化。

(3) 大鼠肺组织与结肠组织 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 蛋白水平

肺与结肠组织石蜡包埋后进行 4 μ m 切片，采用免疫组化试剂盒测定肺与结肠组织 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 蛋白表达。

1.3 统计学分析

用 SPSS 21.0 软件统计分析。结果用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用单因素方差分析进行计量资料的组间比较。方差齐使用最小显著差法，方差不齐使用 Dunnett's T3 法。采用 Pearson 或 Spearman 相关性分析，探讨大鼠肺中炎症介质水平与肠道炎症介质水平的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

Control 组大鼠状态良好。Model 组大鼠皮毛枯黄杂乱、无光泽，行动迟缓，精神逐渐萎靡，偶有喘鸣音，食量减少，大便稀溏或干结，消瘦。各治疗组大鼠精神状态好转、反应较灵敏，进食与体重增加，大便正常。

2.2 肺组织病理变化

Control 组大鼠支气管管壁与肺泡结构完整，黏膜上皮细胞整齐，偶有炎症细胞。Model 组大鼠支气管黏膜皱襞增多、变厚，管腔狭窄；肺泡壁断裂形成大气腔，支气管与肺泡腔出现大量炎症细胞及炎性渗出。各治疗组支气管及肺泡结构明显恢复，炎症细胞减少。见图 1。

2.3 结肠组织病理变化

Control 组大鼠结肠黏膜完整而连续，未见炎症

细胞。Model 组大鼠结肠黏膜损伤,上皮细胞破损、脱落,杯状细胞明显减少,炎症细胞浸润增多。各治疗组经药物干预后黏膜上皮恢复完整,偶有少量炎症细胞浸润。见图 1。

2.4 肺与结肠中 IL-6 的变化

肺组织 IL-6 主要表达于气管与支气管上皮细胞、炎症细胞、小血管内皮细胞的细胞质中,结肠组织 IL-6 主要表达于结肠吸收上皮细胞、固有层炎症细胞、小血管内皮细胞的细胞质中。与 Control 组比较,Model 组肺组织与结肠组织 IL-6 阳性染色增强,各药物干预组肺与结肠组织的 IL-6 阳性表达均较 Model 组有减少趋势。见图 2A、2B。

Model 组肺组织 IL-6(图 2C)和结肠组织 IL-6(图 2D)与 Control 组比较均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 Model 组比较,各治疗组上述指标均有不同程度降低,其中 BY、ZS 和 Am 组肺组织 IL-6 显著降低($P < 0.01$),各治疗组结肠组织 IL-6 均明显降低($P < 0.05$),且肺组织 IL-6 在 Am 组降低水平最为显著,结肠组织 IL-6 在 BY 组降低水平最为

显著。Am 组肺组织 IL-6 较各中药组明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。BY 组肺组织 IL-6 较 BJ 组明显降低($P < 0.05$)。各治疗组间结肠组织 IL-6 的变化无显著性统计学差异($P > 0.05$)。

2.5 肺与结肠中 IL-33 的变化

肺组织 IL-33 在气管、支气管上皮细胞、血管内皮、炎症细胞(以吞噬细胞为主)、环形平滑肌中均有表达,并主要以气道上皮及其周围浸润的炎症细胞为主,结肠组织 IL-33 主要表达于结肠吸收上皮细胞的细胞质、固有层炎症细胞和部分黏膜肌层中,其中以吸收上皮细胞为主要表达部位。与 Control 组比较,Model 组肺组织与结肠组织 IL-33 阳性染色增强,各药物干预组肺与结肠组织的 IL-33 阳性表达均较 Model 组有减少趋势。见图 3A、3B。

Model 组肺组织 IL-33(图 3C)和结肠组织 IL-33(图 3D)均较 Control 组显著升高($P < 0.01$)。与 Model 组比,各治疗组肺和结肠组织 IL-33 均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。各治疗组间肺组织 IL-33 和结肠组织 IL-33 的变化无显著性差异($P > 0.05$)。

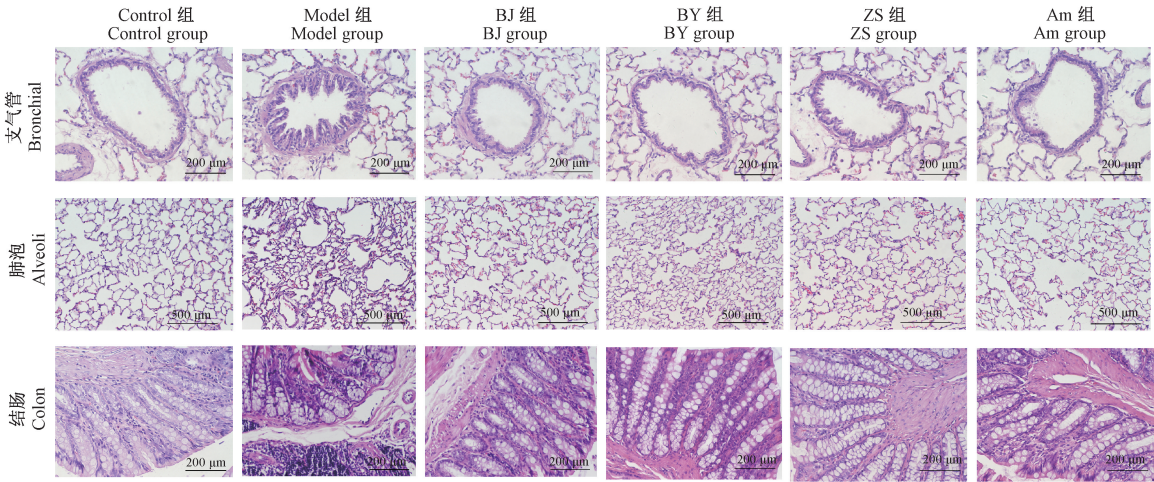


图 1 肺组织支气管病理(HE 染色)

Figure 1 Bronchial pathology of lung tissue (HE staining)

2.6 肺与结肠中 IFN-γ 的变化

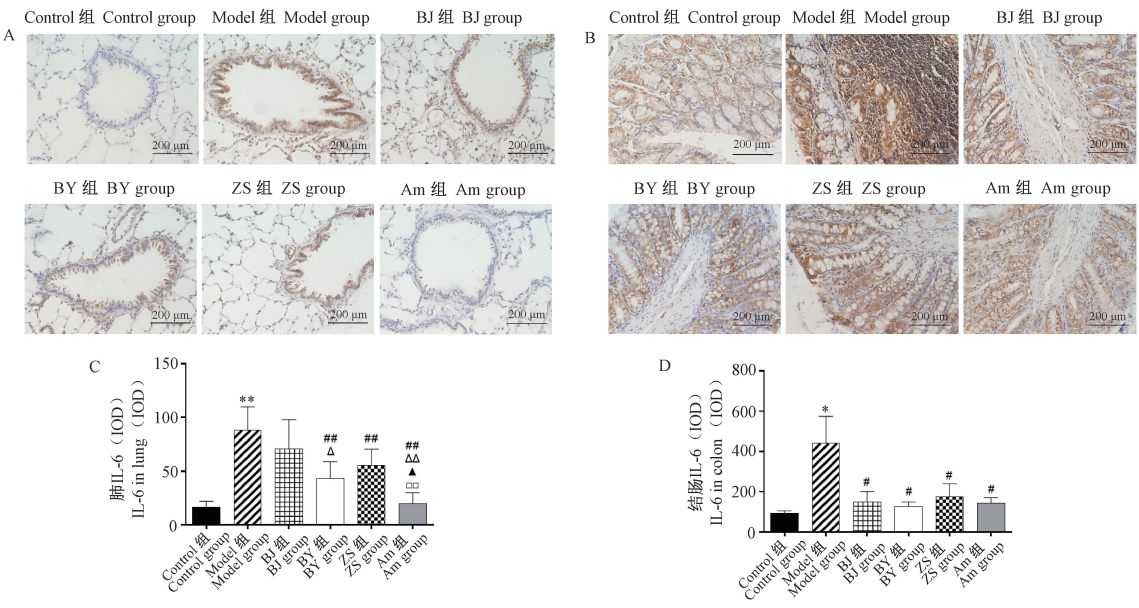
肺组织 IFN-γ 主要表达于气管、支气管上皮细胞、气管周围炎症细胞的细胞质中,结肠组织 IFN-γ 主要表达于结肠吸收上皮细胞的细胞质中。与 Control 组比,Model 组肺组织与结肠组织 IFN-γ 阳性染色明显增强,各治疗组肺组织与结肠组织 IFN-γ 阳性表达均较 Model 组有减少趋势。见图 4A、4B。

Model 组肺组织 IFN-γ(图 4C)和结肠组织 IFN-γ(图 4D)与 Control 组比较均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 Model 组比较,各治疗组上述指标均明

显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),且肺组织 IFN-γ 在 Am 组降低水平最显著,且结肠组织 IFN-γ 在 BJ 组降低水平最显著。各治疗组间肺组织 IFN-γ 与结肠组织 IFN-γ 的变化无显著性统计学差异($P > 0.05$)。

2.7 肺和结肠 IL-6、IL-33 和 IFN-γ 的相关性分析

大鼠肺 IL-6 与结肠 IL-6 水平呈正相关($P < 0.01$),肺 IL-33 与结肠 IL-33 水平呈正相关($P < 0.05$),肺 IFN-γ 与结肠 IFN-γ 水平呈正相关($P < 0.01$)。见表 1。

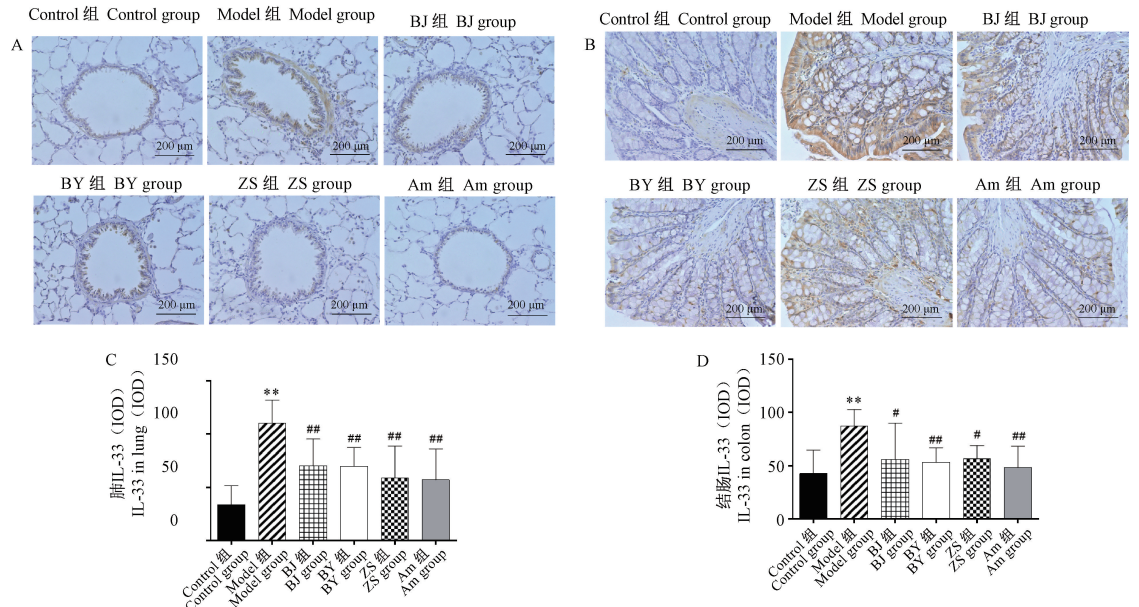


注:A,C:肺组织 IL-6 免疫组化照片及半定量分析(光镜);B,D:结肠组织 IL-6 免疫组化照片及半定量分析(光镜);棕黄色为阳性表达;与 Control 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 Model 组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与 BJ 组比较, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$;与 BY 组比较, ▲ $P < 0.05$;与 ZS 比较, □□ $P < 0.01$ 。(下同)

图 2 各组大鼠肺组织与结肠组织 IL-6 的表达变化($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Note. A, C. Immunohistochemical photos and semiquantitative analysis of IL-6 in lung tissue (light microscope). B, D. Immunohistochemical photos and semiquantitative analysis of IL-6 in colon tissue (light microscope). Brown yellow is positive expression. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$. Compared with BJ group, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$. Compared with BY group, ▲ $P < 0.05$. Compared with ZS group, □□ $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 2 Changes in levels of IL-6 in the lung and colon tissues of rats($\bar{x} \pm s, n = 6$)

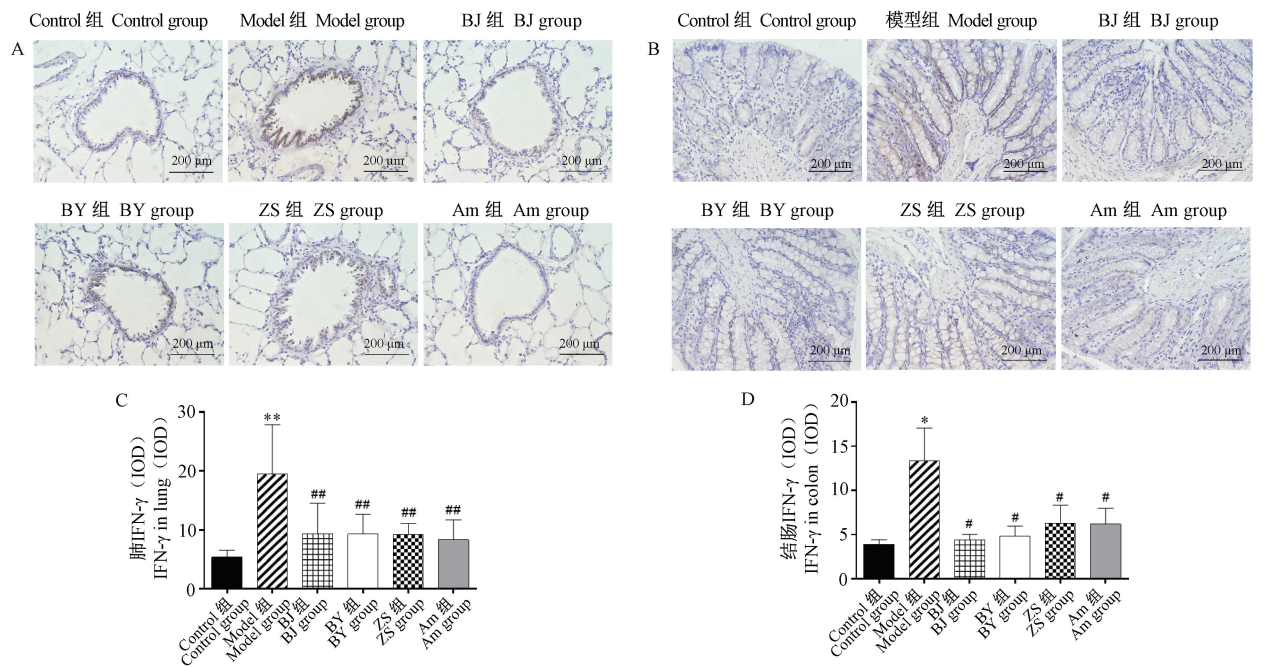


注:A,C:肺组织 IL-33 免疫组化照片及半定量分析(光镜);B,D:结肠组织 IL-33 免疫组化照片及半定量分析(光镜)。

图 3 各组大鼠肺组织与结肠组织 IL-33 的表达变化($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Note. A, C. Immunohistochemical photos and semiquantitative analysis of IL-33 in lung tissue (light microscope). B, D. Immunohistochemical photos and semiquantitative analysis of IL-33 in colon tissue (light microscope).

Figure 3 Changes of IL-33 expression in lung and colon tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



注:A,C:肺组织 IFN- γ 免疫组化照片及半定量分析(光镜); B,D:结肠组织 IFN- γ 免疫组化照片及半定量分析(光镜)。

图 4 各组大鼠肺组织与结肠组织 IFN- γ 的表达变化($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Note. A, C. Immunohistochemical photos and semiquantitative analysis of IFN- γ in lung tissue (light microscope). B, D. Immunohistochemical photos and semiquantitative analysis of IFN- γ in colon tissue (light microscope).

Figure 4 Changes of IFN- γ expression in lung and colon tissues of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 1 大鼠肺和结肠 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 的相关性($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Correlation between IL-6, IL-33 and IFN- γ in rat lung and colon ($\bar{x} \pm s$)				
指标 Indexes		结肠 IL-6 IL-6 in colon	结肠 IL-33 IL-33 in colon	结肠 IFN- γ IFN- γ in colon
肺 IL-6	<i>r</i>	0.501 **	0.371 *	0.305
IL-6 in lung	<i>P</i>	0.003	0.034	0.084
肺 IL-33	<i>r</i>	0.535 **	0.354 *	0.380 *
IL-33 in lung	<i>P</i>	0.001	0.043	0.029
肺 IFN- γ	<i>r</i>	0.449 **	0.495 **	0.572 **
IFN- γ in lung	<i>P</i>	0.009	0.003	0.001

注: * 说明相关性在 $P < 0.05$ 水平; ** 说明相关性在 $P < 0.01$ 水平。
Note. * Correlation is significant at the 0.05 level. ** Correlation is significant at the 0.01 level.

3 讨论

中医学认为“肺与大肠相表里”,两者在经络上相互络属,构成表里关系。肺主一身之气,肺气肃降则气机调畅,布散津液,有利于大肠的传导;大肠为传导之官,传化物而不藏,传导正常,有利于肺气的肃降。反之,若肺病及肠,大肠传导功能失常,浊气壅阻,则出现腹胀、纳差、便溏和便秘等症状,引起肠道的功能障碍。

课题组前期临床证候研究表明,COPD 稳定期

有肺肾气虚、肺脾气虚及肺肾气阴两虚等常见证候^[15-16],调补肺肾三方不仅能减轻 COPD 肺与全身炎症反应,还能明显改善疾病引起的胃肠道症状。现代研究表明,COPD 与肠道功能障碍在炎症、免疫、缺氧、微生物失衡等方面相关,尤其在炎症方面。因此,本研究通过探讨调补肺肾三法对 COPD 大鼠肺与肠道炎症介质的调控,从炎症方面阐释“肺与大肠相表里”的科学内涵。

COPD 是慢性炎症性疾病,患者肺部炎症细胞释放大量炎症介质,溢出肺外引发全身炎症^[17]。肠道作为全身炎症反应的靶器官,在各种感染、炎症或者应激反应中,其结构和功能极易受到影响。有研究表明,香烟烟雾暴露所致 COPD 小鼠模型中,肠道的完整性受损,结肠促炎细胞因子表达增加,并可能诱发肠道炎症性疾病^[18]。本研究结果表明,COPD 大鼠支气管黏膜皱襞增多明显,管腔变窄,腔内可见粘液栓及炎性渗出,管壁周围可见大量炎性细胞浸润。肺泡结构紊乱,肺泡腔及肺泡间隔有较多炎性细胞浸润。研究还发现大鼠同时出现了结肠黏膜结构破坏,上皮细胞坏死脱落,黏膜大量炎症细胞浸润。调补肺肾三方治疗后上述情况均明显改善,支气管、肺泡和结肠黏膜结构恢复,肺与肠

道炎症细胞浸润减少。提示 COPD 不仅存在肺部病变,其肠道也出现结构破坏和炎症反应。调补肺肾三法不仅可以改善 COPD 大鼠肺部炎症,也能恢复其肠道结构,减轻其肠道炎症反应。

炎症介质作为 COPD 与肠道功能障碍在炎症反应中联系的关键点,在病情的发展及患者的预后中发挥重要作用。IFN- γ 作为较常见的细胞因子,具有介导炎症反应的作用,尤其 IL-6、IFN- γ 、IL-33^[19]。IL-6 是一种多效性细胞因子,主要由 T 细胞和巨噬细胞在人体内分泌,是 COPD 炎症小鼠模型中升高程度最高的细胞因子^[20-21]。IFN- γ 主要由活化的淋巴细胞产生,作为 Th1 型促炎症细胞因子,IFN- γ 是先天性和适应性免疫的关键细胞因子,可调节上皮和内皮屏障功能,在病毒和细菌病原体清除中起到中心作用^[22-23]。IL-33 是 IL-1 细胞因子家族新发现的成员,属于 Th2 型细胞因子,三者 in 肺部与肠道组织损伤和慢性炎症中起关键作用^[24-26]。

本实验结果显示,COPD 大鼠不仅肺组织 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 显著升高,结肠组织 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 也明显升高,提示 COPD 对肠道功能的影响可能与炎症因子有关。药物干预后三者均有不同程度降低,其中 BY、ZS 和 Am 组肺组织 IL-6 显著降低,各治疗组肺组织 IL-33 和 IFN- γ 均显著降低,不仅如此,各干预组治疗后结肠组织 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 也明显降低。提示调补肺肾三法不仅对肺部 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 的表达有调节作用,还可以降低肠道中三者的释放,进而改善肠道功能障碍。通过相关性分析,发现肺 IL-6 与结肠 IL-6 水平呈正相关,肺 IL-33 与结肠 IL-33 水平呈正相关,肺 IFN- γ 和结肠 IFN- γ 水平呈正相关,说明肺部炎症介质水平越高,肠道炎症介质表达越多,肺部炎症水平可影响肠道炎症。炎症介质 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 在 COPD 与肠道功能障碍的病理与治疗中的变化具有相关性,验证了炎症因子也可能是“肺与大肠相表里”的科学内涵之一。

综上所述,调补肺肾三法均可以改善慢性阻塞性肺疾病稳定期大鼠肠道功能障碍,其机制可能与抑制肺与结肠中 IL-6、IL-33 和 IFN- γ 的释放,降低肺与肠道炎症反应有关,这也进一步丰富了“肺与大肠相表里”理论的内涵。但调补肺肾三法在炎症反应中的作用差异并不明显,有待进一步研究。

参 考 文 献(References)

[1] 齐奇,叶蕊,赵立.降血糖药物对慢性阻塞性肺疾病潜在作

用的研究现状[J].中国临床药理学杂志,2022,38(8):859-863.

Qi Q, Ye R, Zhao L. Current situation on potential effects of hypoglycemic drugs on chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 38(8): 859-863.

[2] 王靖宇,崔钰伟,李品,等.基于缺氧诱导线粒体自噬探讨补肺健脾通络法治疗慢性阻塞性肺疾病合并骨骼肌功能障碍机制[J].中华中医药学刊,2022,40(7):87-90,279.

Wang JY, Cui YW, Li P, et al. Exploration on mechanism of tonifying lung, invigorating spleen and clearing collaterals in treatment of COPD combined with skeletal muscle dysfunction based on hypoxia-induced mitochondrial autophagy [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(7): 87-90, 279.

[3] 王亚芬,旷湘楠,尹玉洁,等.慢性阻塞性肺疾病合并心血管病的研究进展[J].医学研究生学报,2022,35(4):418-423.

Wang YF, Kuang XN, Yin YJ, et al. Research progress of chronic obstructive pulmonary disease combined with cardiovascular disease [J]. J Med Postgrad, 2022, 35(4): 418-423.

[4] Rutten EPA, Lenaerts K, Buurman WA, et al. Disturbed intestinal integrity in patients with COPD: effects of activities of daily living [J]. Chest, 2014, 145(2): 245-252.

[5] 戴伟,吴海兰,赵明,等.COPD 大鼠肠粘膜屏障功能障碍的观察研究[J].肠外与肠内营养,2022,29(1):18-23.

Dai W, Wu HL, Zhao M, et al. Observational study of intestinal mucosal barrier dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease rats [J]. Parenter Enter Nutr, 2022, 29(1): 18-23.

[6] 周甜,周洵.慢性阻塞性肺疾病合并肠道功能障碍研究进展[J].贵州中医药大学学报,2022,44(3):85-90.

Zhou T, Zhou X. Research progress of chronic obstructive pulmonary disease with intestinal dysfunction [J]. J Guizhou Univ Tradit Chin Med, 2022, 44(3): 85-90.

[7] Olbrich CL, Bivas-Benita M, Xenakis JJ, et al. Remote allergen exposure elicits eosinophil infiltration into allergen nonexposed mucosal organs and primes for allergic inflammation [J]. Mucosal Immunol, 2020, 13(5): 777-787.

[8] 李立华,邱新萍,郭霞珍.基于“四时五藏阴阳”理论整体论思想的研究不同含氧量对大鼠肺、肠组织 VIP、CCK 及 P 物质表达影响的实验观察[J].世界中医药,2018,13(5):1095-1099.

Li LH, Qiu XP, Guo XZ. Experimental observation on effects of different oxygen contents on the expression of VIP, CCK and P substances in the lung and intestine of rats based on “Yin-Yang of the four seasons and the five viscera” [J]. World Chin Med, 2018, 13(5): 1095-1099.

[9] 慕之勇,魏艳玲,李宁,等.“肠-肺”轴与肺部疾病关系的研究进展[J].解放军医学杂志,2020,45(11):1178-1183.

Mu ZY, Wei YL, Li N, et al. Research progress in gut-lung axis and lung diseases [J]. Med J Chin People's Liberat Army, 2020, 45(11): 1178-1183.

[10] 张海龙.辨证治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期的疗效及对全身炎症反应的影响[D].郑州:河南中医学院;2010.

Zhang HL. Efficacy of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease by differentiation treatment and the influence

- of systemic inflammatory response with traditional Chinese medicine [D]. Zhengzhou: Henan College of Chinese Medicine; 2010.
- [11] 李素云, 李亚, 李建生, 等. 调补肺肾三法治疗慢性阻塞性肺疾病大鼠疗效及远后效应 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(12): 3116–3121.
- Li SY, Li Y, Li JS, et al. Efficacy and long-term effect of three therapies of invigorating lung and kidney for rat with stable COPD [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2012, 27(12): 3116–3121.
- [12] 李建生, 李亚, 李素云, 等. 调补肺肾三法对慢性阻塞性肺疾病稳定期大鼠模型全身和肺炎炎症反应的影响及远期效应(英文) [J]. 中西医结合学报, 2012, 10(9): 1039–1048.
- Li JS, Li Y, Li SY, et al. Long-term effects of Tiaobu Feishen therapies on systemic and local inflammation responses in rats with stable chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Chin Integrat Med, 2012, 10(9): 1039–1048.
- [13] Mao J, Li Y, Bian Q, et al. The Bufeijianpi formula improves mucosal immune function by remodeling gut microbiota through the SCFAs/GPR43/NLRP3 pathway in chronic obstructive pulmonary disease rats [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2022, 17: 1285–1298.
- [14] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069–1072.
- Huang JH, Huang XH, Chen ZY, et al. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2004, 9(9): 1069–1072.
- [15] 李建生. 慢性阻塞性肺疾病中医辨证治疗概要 [J]. 河南中医学院学报, 2009, 24(4): 9–11.
- Li JS. The treatment summary with Chinese medical differentiation of symptoms and signs on chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Henan Univ Chin Med, 2009, 24(4): 9–11.
- [16] 李建生, 张海龙, 王海峰, 等. 慢性阻塞性肺疾病证候演变特点临床调查 [J]. 中医杂志, 2017, 58(9): 772–776.
- Li JS, Zhang HL, Wang HF, et al. Clinical survey on syndrome evolution characteristics in chronic obstructive pulmonary disease patients [J]. J Tradit Chin Med, 2017, 58(9): 772–776.
- [17] Xin X, Dai W, Wu J, et al. Mechanism of intestinal mucosal barrier dysfunction in a rat model of chronic obstructive pulmonary disease; an observational study [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(3): 1331–1336.
- [18] Fricker M, Goggins BJ, Mateer S, et al. Chronic cigarette smoke exposure induces systemic hypoxia that drives intestinal dysfunction [J]. JCI Insight, 2018, 3(3): e94040.
- [19] 孔雪英, 杨怀珍, 周晏阳, 等. 消化道、呼吸道黏膜免疫系统研究进展 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016, 23: 68–72.
- Kong XY, Yang HZ, Zhou YY, et al. Research progress of mucosal immune system in digestive tract and respiratory tract [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2016, 23: 68–72.
- [20] Kang S, Narazaki M, Metwally H, et al. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine [J]. J Exp Med, 2020, 217(5): e20190347.
- [21] Unver N, McAllister F. IL-6 family cytokines: key inflammatory mediators as biomarkers and potential therapeutic targets [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2018, 41: 10–17.
- [22] Reynolds CJ, Chong DLW, Li Y, et al. Bioluminescent reporting of *in vivo* IFN- γ immune responses during infection and autoimmunity [J]. J Immunol, 2019, 202(8): 2502–2510.
- [23] Capaldo CT, Nusrat A. Cytokine regulation of tight junctions [J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1788(4): 864–871.
- [24] Akata K, van Eeden SF. Lung macrophage functional properties in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 853.
- [25] Eriguchi Y, Nakamura K, Yokoi Y, et al. Essential role of IFN- γ in T cell-associated intestinal inflammation [J]. JCI Insight, 2018, 3(18): e121886.
- [26] Imai J, Kitamoto S, Sugihara K, et al. Flagellin-mediated activation of IL-33-ST2 signaling by a pathobiont promotes intestinal fibrosis [J]. Mucosal Immunol, 2019, 12(3): 632–643.

[收稿日期] 2023-04-07